



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**COMPOSTOS MESOIÔNICOS: REARRANJO MOLECULAR,
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE INIBIÇÃO DA TIROSINASE**

ANDRÉ VINICIUS DOS SANTOS CANUTO

2009



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

**COMPOSTOS MESOIÔNICOS: REARRANJO MOLECULAR,
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE INIBIÇÃO DA TIROSINASE**

ANDRÉ VINICIUS DOS SANTOS CANUTO

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 Orgânica, Área de Concentração Síntese Orgânica.

Seropédica, RJ

Abril de 2009

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

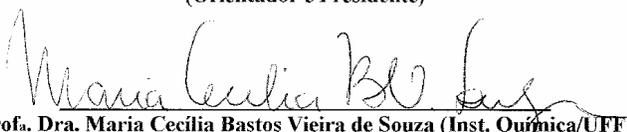
ANDRÉ VINICIUS DOS SANTOS CANUTO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** em Química Orgânica, na área de concentração de Síntese Orgânica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 07/04/09



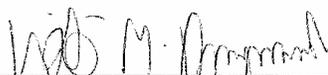
**Prof. Aurea Echevarria (Dep. De Química/ICE/UFRRJ)
(Orientador e Presidente)**



Prof. Dra. Maria Cecília Bastos Vieira de Souza (Inst. Química/UFF)



Prof. Dra. Andréa-Luzia Ferreira de Souza (UEZO)



**Prof. Dr. Victor Marcos Rumjanek (Dep. Química/ICE/UFRRJ)
(Membro Suplente)**

**Agradeço e dedico este trabalho a DEUS,
aos meus familiares e amigos.**

**Aos meus pais, Renato e Cátia, pela ajuda,
oportunidade, incentivo e apoio.**

AGRADECIMENTOS

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

Aos amigos e companheiros de laboratório Cláudio Eduardo, Kenia, Camilla e Andressa pela amizade e companheirismo nos anos de trabalho.

Aos amigos José Geraldo, Vinicius, Letícia e Daniel pela ajuda, conselhos e incentivo desde a época de graduação.

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

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

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

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Heterocíclicos mesoiônicos do tipo A	7
Tabela 2: Heterocíclicos mesoiônicos do tipo B	9
Tabela 3: Resultados da atividade de compostos mesoiônicos contra as três formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> e suas citotoxicidades contra macrófagos murinos	21
Tabela 4: Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos substituídos	32
Tabela 5: Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-glicinas	35
Tabela 6: Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-N-nitroso-glicinas	36
Tabela 7: 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	38
Tabela 8: Rendimentos dos mesoiônicos da classe 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e dos 4-fenil-5-(4'-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida	39
Tabela 9: Rendimentos e pontos de fusão dos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato preparados via metodologias A e B	41
Tabela 10: Rendimentos, o tempo reacional e os pontos de fusão dos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazólio-5-olato (sidnonas)	42
Tabela 11: Valores de absorvâncias e concentrações para o composto 55 como demonstrativo de cálculo utilizado para a avaliação da atividade antioxidante	62
Tabela 12: Valores de absorvâncias e concentrações para o composto 61 como demonstrativo de cálculo utilizado para a avaliação da atividade antitirozinase	64
Tabela 13: Rendimentos e pontos de fusão obtidos para os sais dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	70
Tabela 14: Rendimento dos derivados obtidos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	72
Tabela 15: Redimentos obtidos na preparação das glicinas substituídas	75
Tabela 16: Rendimentos obtidos na preparação das nitroso-glicinas substituídas	76
Tabela 17: Redimentos obtidos na preparação das sidnonas substituídas	77

Tabela 18: Comprimentos de onda máximos de absorção e os valores de ϵ_{\max} para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato	80
Tabela 19: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais característicos de RMN ^{13}C para os derivados mesoiônicos estiril-substituídos inéditos	83
Tabela 20: Valores de EC_{50} e seus respectivos desvios padrões para os compostos avaliados quanto à atividade antioxidante	85
Tabela 21: Valores de IC_{50} e seus respectivos desvios padrões para os compostos avaliados quanto à atividade da inibição da tirosinase	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação, na época, da estrutura química do primeiro composto mesoiônico sintetizado	1
Figura 2: Representações dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-5-tiolato	1
Figura 3: Estrutura química das betaínas (5) e das troponas (6)	3
Figura 4: Sobreposição dos orbitais p do anel das sidnonas	4
Figura 5: Estrutura genérica de um mesoiônico	4
Figura 6: Representação e exemplos dos compostos mesoiônicos dos tipos A e B	5
Figura 7: Representações mais utilizadas para os compostos mesoiônicos	10
Figura 8: Seqüência de numeração para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e os da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato, respectivamente	11
Figura 9: Representação estrutural das classes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,2,3-oxadiazol-5-olato	11
Figura 10: Estruturas dos compostos mesoiônicos que mostraram alguma atividade biológica	20
Figura 11: Estrutura genérica de alguns dos novos mesoiônicos sintetizados por FERREIRA	21
Figura 12: Estruturas de sidnonas que mostraram atividade fungicida, antiinflamatória, analgésica e antitumoral	23
Figura 13: Exemplo de cálculo do valor de EC ₅₀ (μM) para o derivado 55	63
Figura 14: Exemplo de cálculo do valor de IC ₅₀ (μM) para o derivado 61	65
Figura 15. Espectros de UV dos derivados 43 , 49 e 55 sobrepostos indicando a diferença nos perfis observados.	79

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Estruturas de ressonância de uma sidnona	3
Esquema 2: Reação de cicloadição 1,3-dipolar do 2,4-difenil-3-metil-1,3-oxazólio-5-olato	6
Esquema 3: Reação de abertura de anel da desidroditizona	6
Esquema 4: Síntese por ciclodesidratação do mesoiônico 1,4,5-oxazólio-2-olato	12
Esquema 5: Síntese do mesoiônico 1,3,4-triazólio-2-olato	13
Esquema 6: Interconversão do mesoiônico 1,2,3-oxadiazol-5-tiolato em 1,2,3-tiadiazol-4-olato	14
Esquema 7: Esquema de reações para a formação de mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	14
Esquema 8: Influência do meio reacional na reação de formação de mesoiônicos das classes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolatos	15
Esquema 9: Rota sintética utilizada para a preparação dos derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas	16
Esquema 10: Reação entre dibromodiazabutadienos substituídos e N-tiobenzoil-hidrazinas, também substituídas, originando compostos mesoiônicos	16
Esquema 11: Rotas sintéticas utilizadas na preparação do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato	17
Esquema 12: Rotas sintética mais utilizada na preparação do sistema 1,2,3-oxadiazólio-5-olato	18
Esquema 13: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de microondas	26
Esquema 14: Reação de hidrogenação utilizando solvente e irradiação de microondas	26
Esquema 15: Síntese de ftalimidas sob irradiação de microondas	27
Esquema 16: Síntese de mesoiônicos sob irradiação de microondas utilizando-se o cloreto de tionila (SOCl ₂) como ácido de Lewis	28
Esquemas 17: Retrossíntese para a obtenção dos cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido benzóico substituído	66
Esquemas 18: Retrossíntese para a obtenção dos cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido cinâmico substituído	67

Esquema 19: Mecanismo de reação sugerido para a reação de obtenção dos ácidos cinâmicos substituídos	68
Esquema 20: Mecanismo de reação proposto para a obtenção dos cloretos de ácidos utilizando cloreto de tionila	69
Esquema 21: Mecanismo de reação proposto para a obtenção dos cloretos de ácidos utilizando cloreto de oxalila	69
Esquema 22: Mecanismo da reação sugerido para a formação dos compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na forma de cloridratos	70
Esquema 23: Reação de equilíbrio entre o cloridrato e sua forma livre dos mesoionicos derivados da classe tiadiazólio-aminida	72
Esquema 24: Isomerização do composto mesoiônico da classe tiadiazólio-aminida para a classe triazólio-tiolato na presença de solvente nucleofílico	73
Esquema 25: Retrossíntese para a obtenção dos mesoiônicos oxadiazólio-olatos preparados a partir do ácido monocloroacético e uma amina aromática devidamente substituída	74
Esquema 26: Mecanismo de reação proposto para a formação das glicinas substituídas	75
Esquema 27: Mecanismo de reação proposto para a formação das nitroso-glicinas substituídas	76
Esquema 28: Mecanismo de reação proposto para a formação das sidnonas substituídas	77
Esquema 29: Exemplo de estabilização dos radicais mesoiônicos (43) gerados após a captura pelo DPPH	87

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico	1
1.2 Conceitos e definições de compostos mesoiônicos	2
1.3 Classificação dos compostos mesoiônicos	4
1.4 Representação das estruturas mesoiônicas	9
1.5 Nomenclatura dos compostos mesoiônicos	10
1.6 Síntese dos mesoiônicos	12
1.6.1 Síntese via ciclodesidratação	12
1.6.2 Ciclização de compostos hidrazínicos N,N-dissubstituídos	13
1.6.3 Interconversão de sistemas mesoiônicos	13
1.6.4 Síntese de compostos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolato	14
1.7 Mesoiônicos e suas propriedades	18
1.7.1 Atividade biológica dos compostos mesoiônicos	19
1.8 Novas Metodologias para a Síntese Orgânica	24
1.8.1 Uso de microondas em síntese orgânica	25
2 OBJETIVOS	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Equipamentos utilizados nas caracterizações espectroscópicas	30
3.2 Outros equipamentos	30
3.3 Solventes para as sínteses	31
3.4 Reagentes utilizados	31
3.5 Sínteses	31
3.5.1 Síntese da 1,4-difeniltiosemicarbazida	31
3.5.2 Preparação dos ácidos cinâmicos	32
3.5.3 Preparação dos cloretos de ácido	33
3.5.3.a Preparação dos cloretos de ácido benzóico substituídos	33
3.5.3.b Preparação dos cloretos de ácido cinâmico substituídos	33
3.5.4 Preparação das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-glicinas	34
3.5.5 Preparação das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-N-nitroso-glicinas	35

3.5.6 Síntese dos compostos mesoiônicos	37
3.5.6.1 Preparação dos cloridratos mesoiônicos	37
3.5.6.2 Preparação dos compostos mesoiônicos	38
3.5.6.2.a Síntese dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida	38
3.5.6.2.b Síntese dos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato	40
3.5.6.2.c Síntese dos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazólio-5-olato	41
3.6 Dados espectrométricos para os compostos mesoiônicos sintetizados	43
3.7 Ensaio Químico-biológico	61
3.7.1 Avaliação da atividade antioxidante	61
3.7.2 Avaliação da inibição da atividade da tirosinase	64
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1 Síntese	66
4.1.1 Mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminidas	66
4.1.2 Mesoiônicos da classe triazólio-tiolatos	72
4.1.3 Mesoiônicos da classe oxadiazólio-olatos	74
4.2 Caracterização dos mesoiônicos	78
4.2.1 Infravermelho	78
4.2.2 Ultravioleta	79
4.2.3 RMN ^1H e ^{13}C	82
4.3 Avaliação da atividade antioxidante	83
4.4 Avaliação da atividade de inibição da tirosinase	88
5 CONCLUSÕES	90
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
7 ANEXOS	97

LISTA DE ABREVIÇÕES

ACS – American Chemical Society
CCF – Cromatografia em camada fina
DCC – Dicicloexilcarbodiimida
DMF – Dimetilformamida
DMSO – Dimetilsulfóxido
DPPH – Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila
DS – Desenvolvimento auto-sustentável
EPA – Environmental Protection Agency
HPLC – High performance liquid chromatography
IMO – Irradiação por microondas
IV – Infravermelho
MO – Microondas
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
STD – Sal de tiadiazólio
TAZ – Triazólio
TMS – Tetrametilsilano
UV – Ultravioleta
VOCs – Compostos orgânicos voláteis

RESUMO

Este trabalho envolveu o estudo do rearranjo de compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida nos correspondentes 1,3,4-triazólio-2-tiolato e suas propriedades químio-biológicas, tais como atividade antioxidante e antitirosinase. Os mesoiônicos de forma geral apresentam estruturas que possibilitam a síntese de novas substâncias heterocíclicas, além de interações com biomoléculas, tais como o DNA e proteínas, fatores importantes que contribuem para explicar suas variadas atividades biológicas.

Os compostos mesoiônicos estudados nesta dissertação foram os derivados da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato obtidos através do rearranjo molecular de seus isômeros 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na presença de solventes nucleofílicos a refluxo e sob irradiação de microondas, e os da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato (sidnonas). Os derivados mesoiônicos das classes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, tanto na forma de cloridrato como a de base livre, e os da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato foram obtidos através de reações clássicas já descritas na literatura.

O uso da irradiação de microondas na presença de suporte sólido e ácido de Lewis proporcionou a síntese dos mesoiônicos, 1,3,4-triazólio-2-tiolato, de forma inédita, em rendimentos quantitativos e em tempos de reação muito menores (3 minutos) quando comparados os da metodologia tradicional (8 horas) apresentando, portanto, grande eficiência no rearranjo molecular. Todos os compostos mesoiônicos obtidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, como Infravermelho, UV, RMN ^1H e ^{13}C .

A avaliação da atividade antioxidante dos compostos mesoiônicos mostrou-se promissora para os derivados da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato e para os da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, especialmente na forma de cloridratos. A avaliação da atividade de inibição frente à enzima tirosinase foi realizada para todos os compostos sintetizados e os resultados mostraram maior atividade para os derivados da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato.

Palavras-chave: compostos mesoiônicos, rearranjo molecular, 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, 1,3,4-triazólio-2-tiolato, 1,2,3-oxadiazol-5-olato, atividade antioxidante e antitirosinase.

ABSTRACT

This work involved the study of the 1,3,4-thiadiazolium-2-amine mesoionic compounds class rearrangement, in the corresponding 1,3,4-triazolium-2-thiolate and the chemo-biological properties evaluation, such as antioxidant and antityrosinase activities. The mesoionic compounds generally possess structures which allow new heterocycles synthesis, and also interactions with biomolecules, such as DNA and proteins, which are important factors to explain their different biological activities.

The mesoionic compounds studied in this work were the 1,3,4-triazolium-2-thiolate class obtained by the molecular rearrangement of their 1,3,4-thiadiazole-2-amine isomers in the presence of the nucleophilic solvents, under reflux and microwave irradiation. The 1,2,3-oxadiazolium-5-olate (sydnones) class were further synthesized. Mesoionic derivatives of the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide class, in hydrochloride form as well as a free base, and the 1,2,3-oxadiazolium-5-olate class were obtained by classical reactions already described in the literature.

The use of microwave irradiation, in the presence of solid support and the Lewis acid, provided the mesoionic compounds 1,3,4-triazolium-2-thiolate in unprecedented quantitative yields, and much smaller reaction times (3 minutes) when compared to traditional methods (8 hours). Therefore, it presented high efficiency in molecular rearrangement. All synthesized mesoionic compounds were characterized by spectroscopic techniques, such as IR, UV, ^1H and ^{13}C NMR.

The antioxidant activity evaluation of the mesoionic compounds showed to be promising for the 1,3,4-triazolium-2-thiolate and 1,3,4-thiadiazole-2-amine classes, especially in the hydrochloride form. The evaluation of the tyrosinase enzyme inhibition was performed to all synthesized compounds, but a higher activity was noticed in the 1,2,3-oxadiazole-5-olate class derivatives results.

Keywords: mesoionic compounds, molecular rearrangement, 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide, 1,3,4-triazolium-2-thiolate, 1,2,3-oxadiazolium-5-olate, antioxidant and antityrosinase activities.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico

O primeiro composto mesoiônico foi sintetizado por Fisher e Besthorn (OLLIS *et al.*, 1985) há mais de cem anos, chamado na época de “desidrotizona” e representado pela estrutura bicíclica, **Figura 1**.

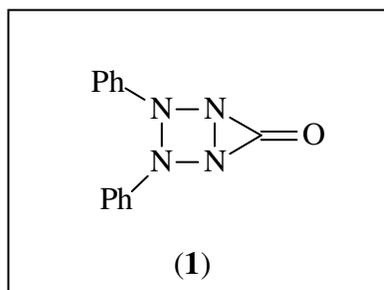


Figura 1: Representação, na época, da estrutura química do primeiro composto mesoiônico sintetizado (OLLIS *et al.*, 1985)

Posteriormente, Busch durante o período de 1895-1905 descreveu a preparação e as propriedades químicas de alguns compostos conhecidos hoje como mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-5-tiolato (2), que originalmente chamou de “endo-tiadiidrotiadiazólio” e sugeriu as estruturas 3 e/ou 4 como possíveis representações, **Figura 2** (BAKER *et al.*, 1949).

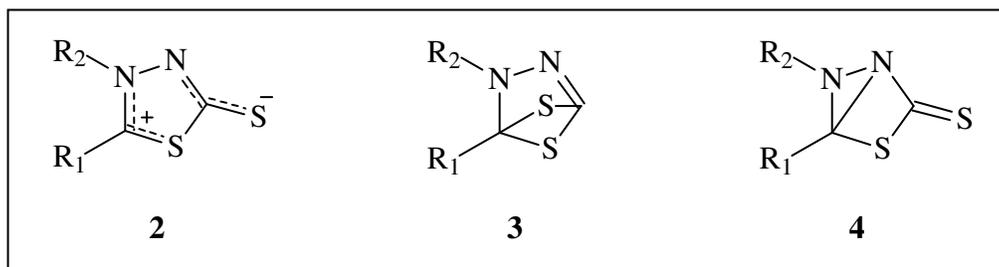


Figura 2: Representações dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-5-tiolato (BAKER *et al.*, 1949).

Foi Schömberg que representou, pela primeira vez, os compostos mesoiônicos com estruturas de ressonância com cargas, em 1938, utilizando-se dos compostos sintetizados por Busch e os representando como estruturas monocíclicas de cinco membros híbridos de ressonância (KIER & ROCHE, 1967).

1.2 Conceitos e definições de compostos mesoiônicos

O conceito de mesoiônico tem sofrido várias mudanças através dos anos. Baker e Ollis, em 1955 sugeriram que um composto pode ser chamado de mesoiônico se apresentar uma estrutura heterocíclica com cinco ou seis membros, que não pode ser satisfatoriamente representada por uma estrutura polar ou covalente. Deve possuir também, um sexteto de elétrons π em associação com todos os átomos que constituem o anel. Este deve apresentar ainda, carga positiva no heterociclo e um átomo ou grupo de átomos ligados ao anel com carga oposta.

Em 1957 Baker e Ollis sugeriram o termo “mesoiônico” para descrever compostos heterocíclicos com características ao mesmo tempo mesoméricas e iônicas (BAKER *et al.*, 1957).

Em 1976, Ollis e Ramsden resolveram mudar o conceito aplicado a esses compostos com o objetivo de limitar o uso do termo “mesoiônico” apenas aos compostos heterocíclicos de 5 membros (OLLIS *et al.*, 1976).

Atualmente, o conceito de compostos mesoiônicos tem sido utilizado quando suas estruturas se enquadram na seguinte definição: “compostos heterocíclicos dipolares com cinco membros nos quais ambas as cargas positiva e negativa estão deslocalizadas, sendo que uma estrutura totalmente covalente não pode ser escrita, e também não se pode representar satisfatoriamente por nenhuma estrutura polar, envolvendo no anel a presença de caráter aromático $(4n + 2) \pi$ elétrons”. A carga formal positiva está associada com os átomos do anel, e a carga formal negativa está associada a um átomo ou grupo de átomos exocíclicos. Esta definição para os compostos mesoiônicos está apropriadamente relacionada à definição de betaínas mesoméricas, que são moléculas neutras, conjugadas e que podem ser representadas somente por estruturas dipolares nas quais as cargas positivas e negativas estão deslocalizadas dentro de um sistema π de elétrons. Dessa forma, compostos mesoiônicos têm sido descritos, também, como sendo betaínas heterocíclicas mesomérico-conjugadas (OLLIS *et al.*, 1985).

Assim, estruturas que apresentam localização de cargas em átomos específicos como, por exemplo, as betaínas (**5**) ou que possam ser representadas por estruturas covalentes como as troponas (**6**), não podem ser classificadas como heterocíclicos mesoiônicos (**Figura 3**) (KIER & ROCHE, 1967; OLLIS & RAMSDEN, 1976).

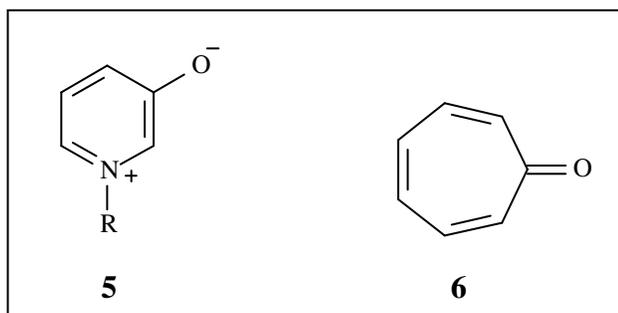
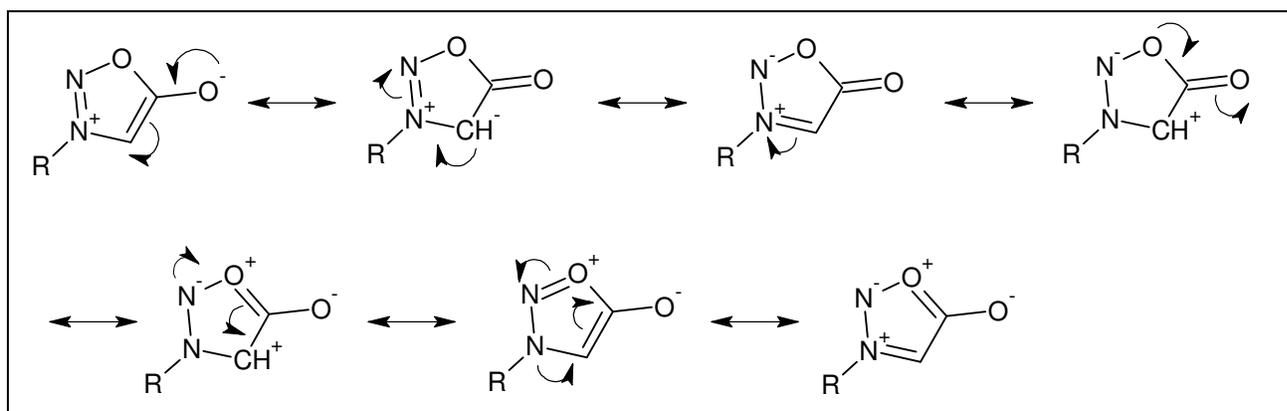


Figura 3: Estrutura química das betaínas (**5**) e das troponas (**6**) (KIER &. ROCHE, 1967; OLLIS & RAMSDEN, 1976).

Esta definição atual é ilustrada com o anel de uma sidnona genérica – um composto mesoiônico representativo. Como pode ser visto nas estruturas de ressonância do **Esquema 1**, não é possível escrever uma estrutura covalente para as sidnonas sem separar as cargas positivas e negativas. O termo “mesoiônico” (mesomérico + iônico) foi criado por BAKER *et al.* em 1949 para indicar esta característica iônica peculiar de tais heterociclos.



Esquema 1: Estruturas de ressonância de uma sidnona.

A aromaticidade dos anéis é explicada pela teoria clássica do sexteto. Um total de sete elétrons 2p_z são distribuídos pelos cinco átomos do anel sendo um deles localizado no átomo exocíclico. O sexteto de elétrons vai ser obtido quando um dos sete elétrons 2p_z estiver pareado com o elétron do átomo exocíclico.

O círculo, normalmente utilizado na representação destas estruturas, indica a deslocalização dos 6 elétrons como mostra a **Figura 4**. Esta polarização de cargas é evidenciada por grandes momentos de dipolos (4-6 Debyes) para anéis mesoiônicos (CHEUNG *et al.*, 1992).

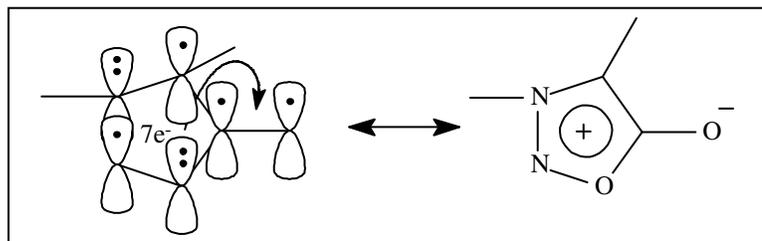


Figura 4: Sobreposição dos orbitais p do anel das sidnonas.

De acordo com a definição atual apresentada os compostos mesoiônicos são representados mais comumente conforme a estrutura genérica (**Figura 5**), onde a-f são átomos ou grupos derivados de carbono ou heteroátomos.

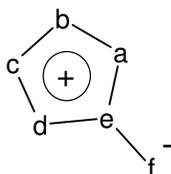


Figura 5: Estrutura genérica de um mesoiônico.

1.3 Classificação dos compostos mesoiônicos

A análise dos possíveis sistemas mesoiônicos possibilitou a observação de que estes compostos apresentavam distintas propriedades químicas dependendo da natureza e posição dos heteroátomos no anel, ou seja, da origem dos oito elétrons π que podem ser distribuídos entre o anel mesoiônico (carga positiva) e o átomo ou grupo de átomos exocíclicos (carga negativa). Desta forma, estes compostos foram separados em duas classes distintas: compostos mesoiônicos do tipo A (7) e B (8). Na **Figura 6** estão demonstradas as estruturas genéricas e

exemplos de compostos do tipo A e B, onde os números sobrescritos indicam a origem dos oito elétrons π (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

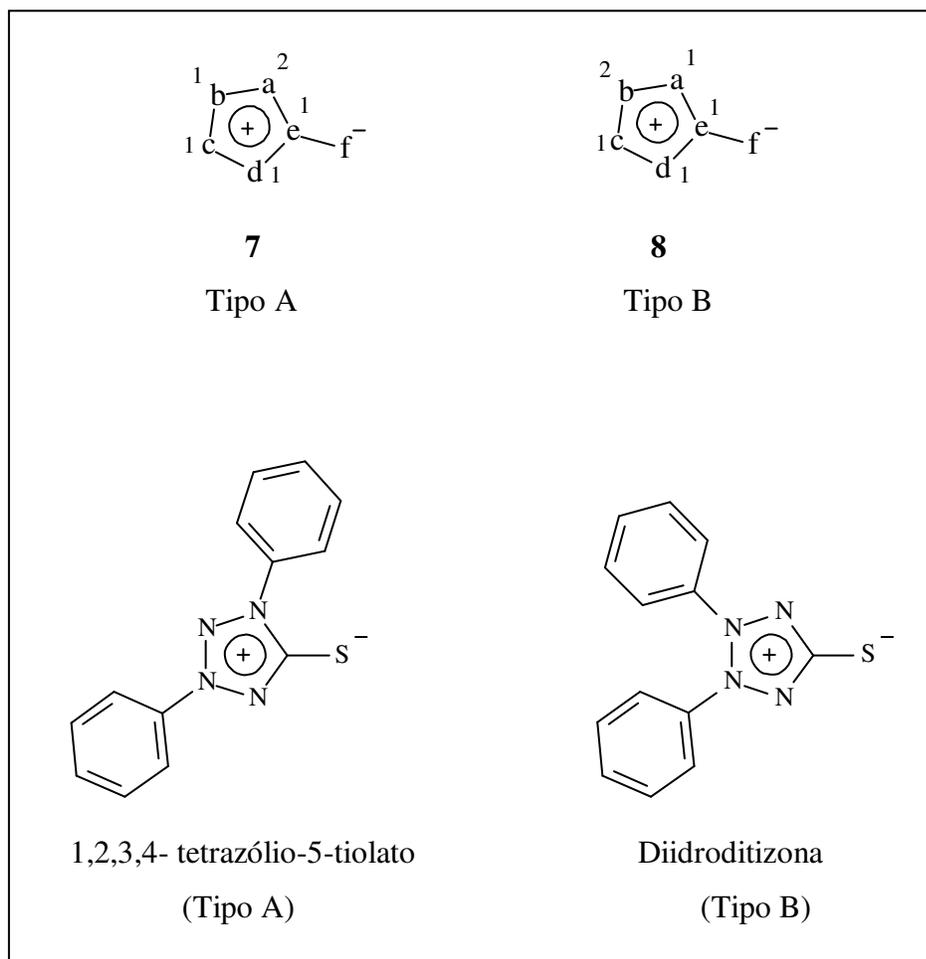
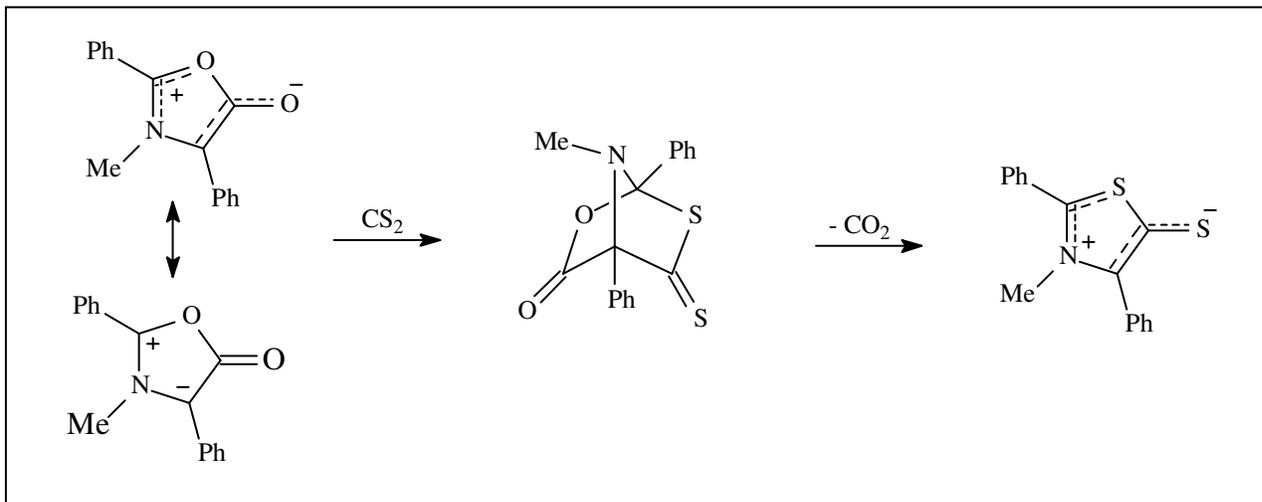


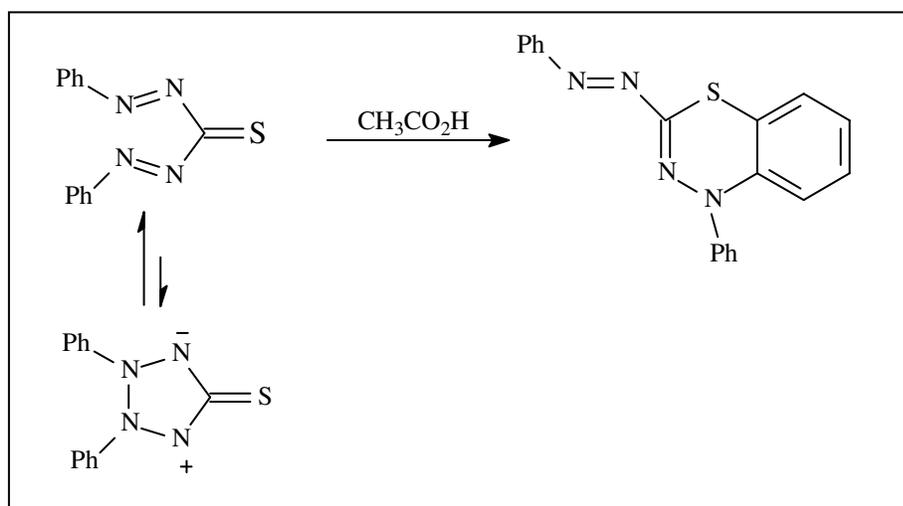
Figura 6: Representação e exemplos dos compostos mesoiônicos dos tipos A e B.

Os dois tipos gerais de compostos mesoiônicos apresentam propriedades químicas distintas. Compostos mesoiônicos do tipo A caracterizam-se por participarem de reações de cicloadição 1,3-dipolar e cicloneversão, conforme o **Esquema 2**.



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

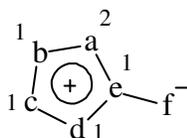
Os compostos mesoiônicos do tipo B apresentam como propriedade principal o fato de sofrerem abertura no anel, fornecendo os tautômeros acíclicos correspondentes, conforme apresentado no **Esquema 3**.



Esquema 3: Reação de abertura de anel da desidroditizona (NEWTON & RAMSDEN, 1982).

Fazendo-se a substituição de **a**, **b**, **c**, **d**, **e** e **f** nas estruturas **7** e **8** por átomos de carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre, podemos obter uma gama de estruturas mesoiônicas diferentes possíveis tanto para o tipo A quanto para o tipo B. Nas tabelas 1 e 2 alguns dos principais sistemas mesoiônicos dos tipos A e B são mostrados, respectivamente.

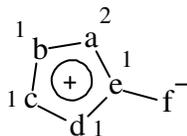
Tabela 1: Heterocíclicos mesoiônicos do tipo A.



Sistemas	Átomos ou Grupos					
	a	b	c	d	e	f
Oxazóis						
1,3- Oxazol-5-olatos	O	CR	NR	CR	C	O
Dioxóis						
1,3-Dioxol-4-olatos	O	CR	O	CR	C	O
Diazóis						
1,3-Diazol-4-tiolatos	NR	CR	NR	CR	C	S
Tiazóis						
1,3-tiazol-5-aminidas	S	CR	NR	CR	C	NR
Ditióis						
1,3-ditiol-4-olatos	S	CR	S	CR	C	O
Oxadiazóis						
1,2,3-Oxadiazol-5-olatos (sidnonas)	O	N	NR	CR	C	O
Oxatiazóis						
1,3,2-Oxatiazol-5-olatos	O	N	S	CR	C	O
Triazóis						
1,2,3-Triazol-4-tiolatos	NR	N	NR	CR	C	S

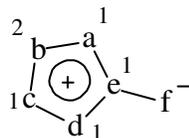
Continua

Tabela 1: Heterocíclicos mesoiônicos do tipo A



Sistemas	Átomos ou Grupos					
	a	b	c	d	e	f
Tiadiazóis						
1,3,4-tiadiazol-2-olatos	S	CR	NR	N	C	O
Oxatriazóis						
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
Tiatrizóis						
1,2,3,4-tiatrizol-5-olatos	S	N	NR	N	C	O
Oxatióis						
1,3-oxatiol-4-olatos	S	CR	O	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

Tabela 2: Heterocíclicos mesoiônicos do tipo B



Sistemas	Átomos ou Grupos					
	a	b	c	d	e	f
Oxazóis						
1,2-oxazol-4-aminidas	CR	O	NR	CR	C	NR
Diazóis						
1,2-diazol-4-aminidas	CR	NR	NR	CR	C	NR
Tiazóis						
1,3-tiazol-4-olatos	CR	S	NR	CR	C	O
Ditióis						
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

1.4 Representação das estruturas mesoiônicas

A representação de um composto heterocíclico com estrutura mesoiônica não é muito trivial, desde a proposição de Baker, diversas formas de representar compostos desta natureza foram propostas. As mais utilizadas estão representadas na **Figura 7**, onde a estrutura **9.a** e **9.c** serão a adotadas neste trabalho de dissertação (SILVA, 1997).

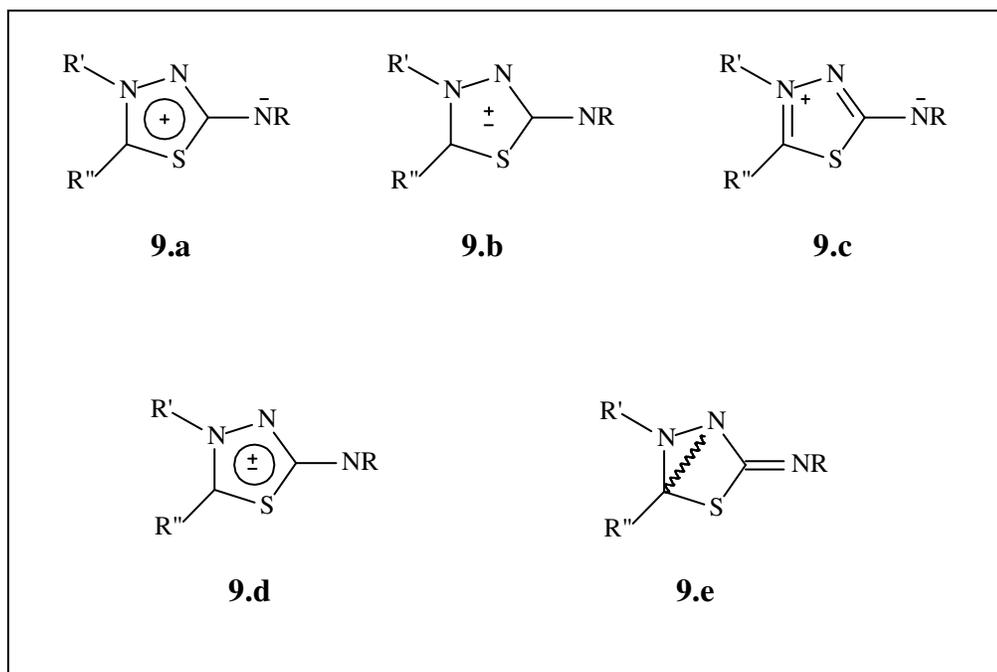


Figura 7: Representações mais utilizadas para os compostos mesoiônicos (SILVA, 1997).

1.5 Nomenclatura dos compostos mesoiônicos

O sistema mesoiônico pode ser nomeado da seguinte forma:

- A palavra mesoiônico vem escrita antes do nome do composto;
- Numera-se o anel a partir do heteroátomo que possui um par de elétrons e contribui para formar o sistema π e a uma carga π positiva;
- Quando há dois ou mais heteroátomos diferentes, para a numeração dos átomos que compõem o anel mesoiônico, adota-se a seqüência normalmente empregada para compostos heterocíclicos, ou seja, obedece-se à seguinte seqüência em ordem de prioridade: oxigênio, enxofre e nitrogênio.
- O sistema que apresenta átomos de oxigênio recebe o prefixo “oxa”, com átomos de nitrogênio “azo”, com átomos de enxofre “tia”, com selênio “selen”; o anel recebe o sufixo “lio” e o átomo exocíclico o sufixo “ato”.

A nomenclatura tanto dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e seus isômeros, quanto a dos compostos 1,2,3-oxadiazol-5-olato, não oferece qualquer dúvida, quanto à sua numeração, uma vez que se obedece a seqüência de prioridade utilizada em compostos heterocíclicos: oxigênio, enxofre e nitrogênio (SILVA, 1997). A **Figura 8** mostra a numeração correta para estas classes de compostos. Para os mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato a numeração é análoga à dos seus isômeros.

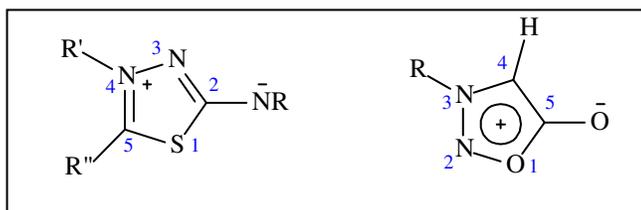


Figura 8: Seqüência de numeração para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e os da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato, respectivamente.

Nesta dissertação os mesoiônicos estudados foram os da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (**10.a**, na forma de cloridrato; **10.b**, base livre, **Figura 10**), e seus respectivos isômeros da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato (**11**, **Figura 9**), além dos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato (sidnonas **12**).

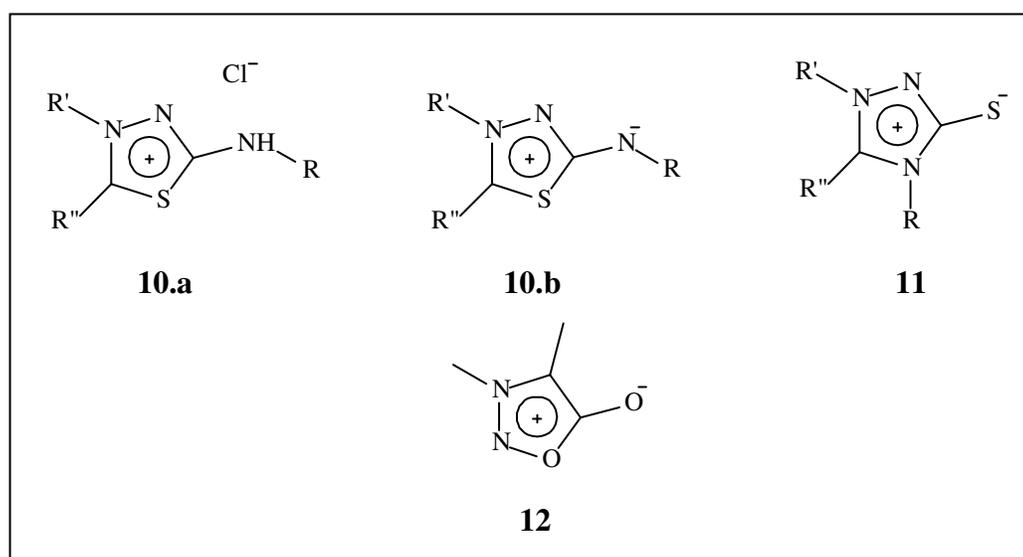


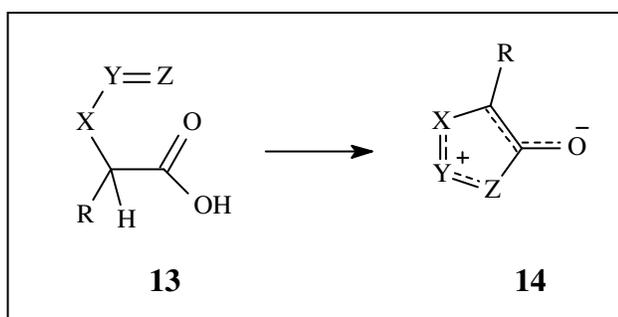
Figura 9: Representação estrutural das classes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, 1,3,4-triazólio-2-tiolato e 1,2,3-oxadiazol-5-olato.

1.6 Síntese dos mesoiônicos

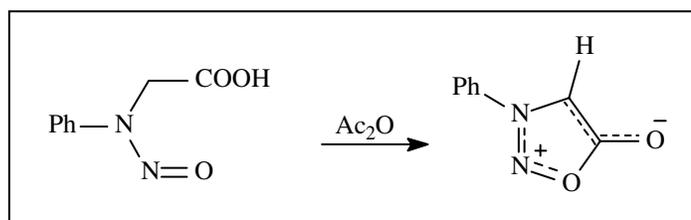
Existem diversas metodologias descritas na literatura para a síntese de compostos mesoiônicos. Sendo assim, somente algumas das principais rotas de síntese para compostos desta classe serão descritas a seguir.

1.6.1. Síntese via ciclodesidratação

Compostos como ácidos carboxílicos substituídos, tais como aminoácidos do tipo geral **13** apresentando pelo menos um átomo de hidrogênio ligado ao átomo de carbono na posição α a carbonila, e que possuam ou formem no meio reacional um grupo com caráter nucleofugitivo participam da síntese de diversos sistemas mesoiônicos do tipo geral **14** (HAYES *et al.*, 1955).



Neste tipo de reação podem ser utilizados agentes desidratantes tais como: anidrido acético ou trifluoracético, cloreto de tionila e DCC, dependendo da estrutura do composto mesoiônico a ser formado. No **Esquema 4** a síntese de um mesoiônico, 1,4,5-oxadiazólio-2-olato, exemplifica este tipo de processo (FRIDMAN *et al.*, 1979).



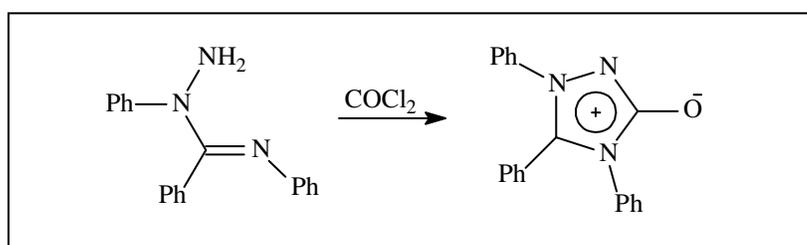
Esquema 4: Síntese por ciclodesidratação do mesoiônico 1,4,5-oxadiazólio-2-olato.

(FRIDMAN *et al.*, 1979)

1.6.2 Ciclização de compostos hidrazínicos N,N-dissubstituídos

Este tipo de ciclização é utilizado quando se deseja obter sistemas mesoiônicos com grupo diazo ou triazo no anel heterocíclico a partir de derivados hidrazínicos N,N-dissubstituídos. Os reagentes mais comuns neste tipo de reação, além dos derivados hidrazínicos, são o foscênio e o tiofoscênio.

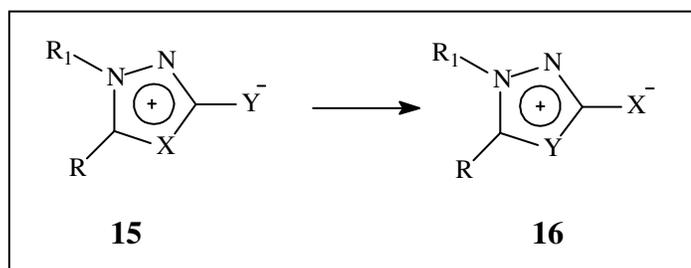
No **Esquema 5** é apresentado um exemplo deste tipo de ciclização na síntese do derivado mesoiônico 1,3,4-triazólio-2-olato (MASUDA *et al.*, 1979).



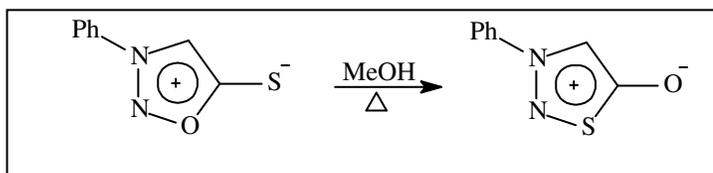
Esquema 5: Síntese do mesoiônico 1,3,4-triazólio-2-olato (MASUDA *et al.*, 1979).

1.6.3 Interconversão de sistemas mesoiônicos

Há compostos mesoiônicos capazes de sofrer interconversão com o objetivo de formar isômeros mais estáveis. Tais compostos apresentam estruturas genéricas do tipo **15** e **16**.



No **Esquema 6** um exemplo do fenômeno da interconversão por simples aquecimento em metanol fornecendo outro sistema mesoiônico mais estável como produto (produto termodinâmico) (KIWAN & KASSIM, 1978).

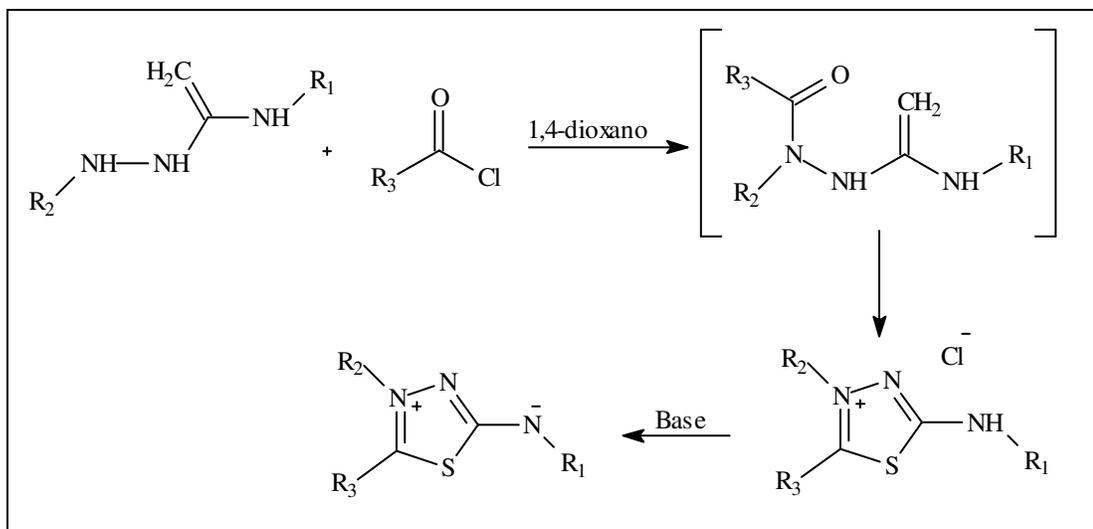


Esquema 6: Interconversão do mesoiônico 1,2,3- oxadiazol-5-tiolato em 1,2,3-tiadiazol-4-olato (KIWAN & KASSIM 1978).

Como já foi mencionado anteriormente, nesta dissertação os mesoiônicos estudados foram os da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, seus respectivos isômeros da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato, e também os da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato. Logo, a seguir são apresentados os métodos mais utilizados para a obtenção desses mesoiônicos.

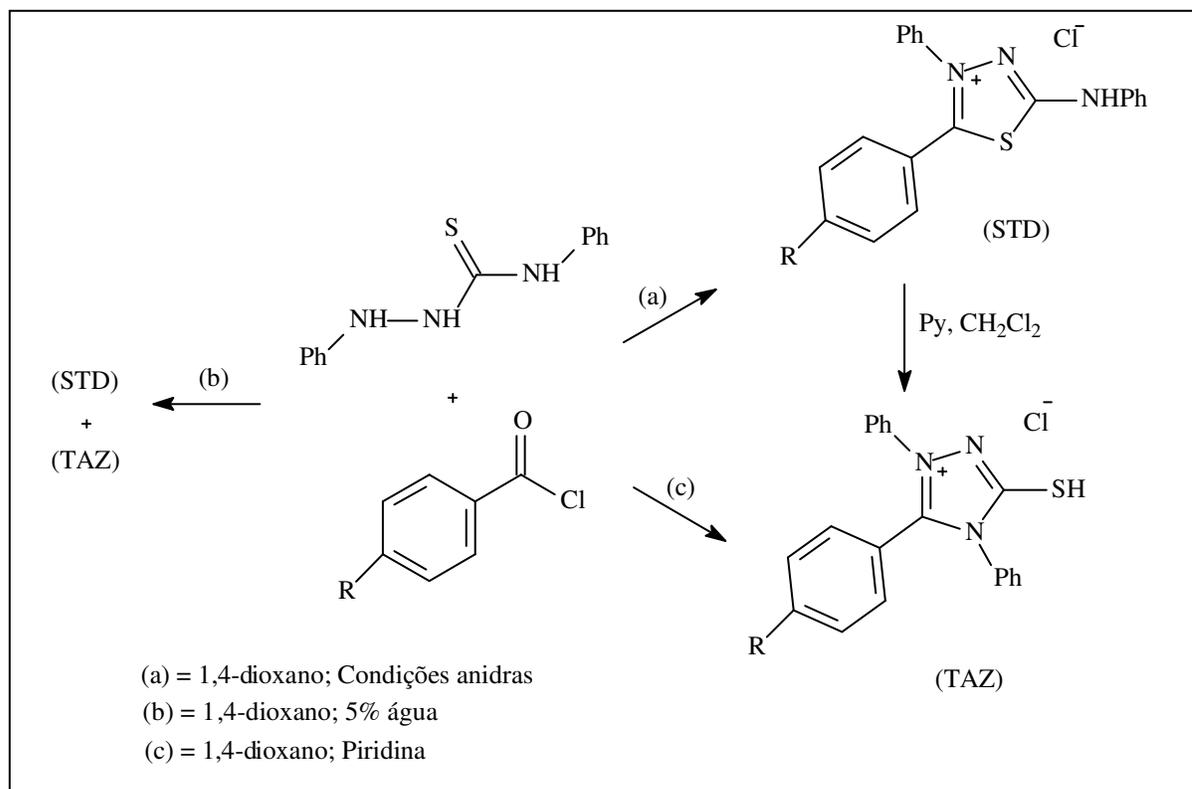
1.6.4 Síntese de compostos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolato

O método para a obtenção dos mesoiônicos deste trabalho foi o da reação de desacilação anidra (ciclodesidratação) dos intermediários acil-tiossemicarbazidas, obtidos a partir da reação dos correspondentes cloretos de ácido e tiossemicarbazidas substituídas (**Esquema 7**) (NEWTON *et al*, 1982).



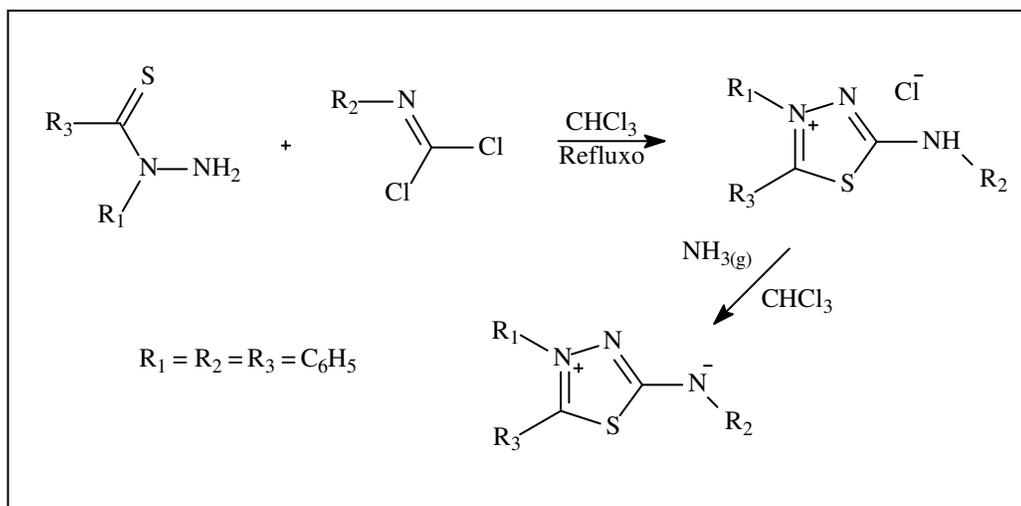
Esquema 7: Esquema de reações para a formação de mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (NEWTON *et al*, 1982).

Esta reação pode sofrer influência do meio reacional podendo levar ao isômero 1,3,4-triazólio-2-tiolato como mostra o **Esquema 8** (ECHEVARRIA *et al.*, 1995; MACIEL *et al.*, 1998).



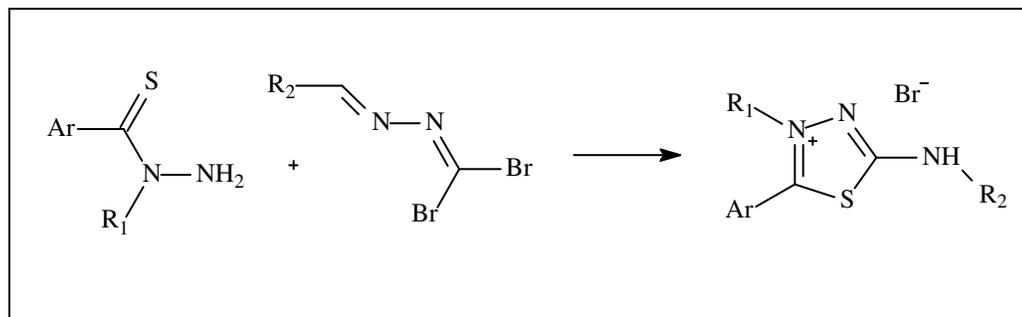
Esquema 8: Influência do meio reacional na reação de formação de mesoiônicos das classes 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e 1,3,4-triazólio-2-tiolatos (ECHEVARRIA *et al.*, 1995; MACIEL *et al.*, 1998).

Outra metodologia para a obtenção desses compostos consiste na reação de *N*-tioacilhidrazinas e dicloreto de isocianetos de arila que produzem os ácidos conjugados intermediários, a partir dos quais as bases livres são obtidas por tratamento das soluções em clorofórmio com amônia gasosa. A reação está representada no **Esquema 9** (OLLIS & RAMSDEN, 1971). Esta foi a metodologia utilizada para a preparação dos primeiros derivados, descritos na literatura, da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas.



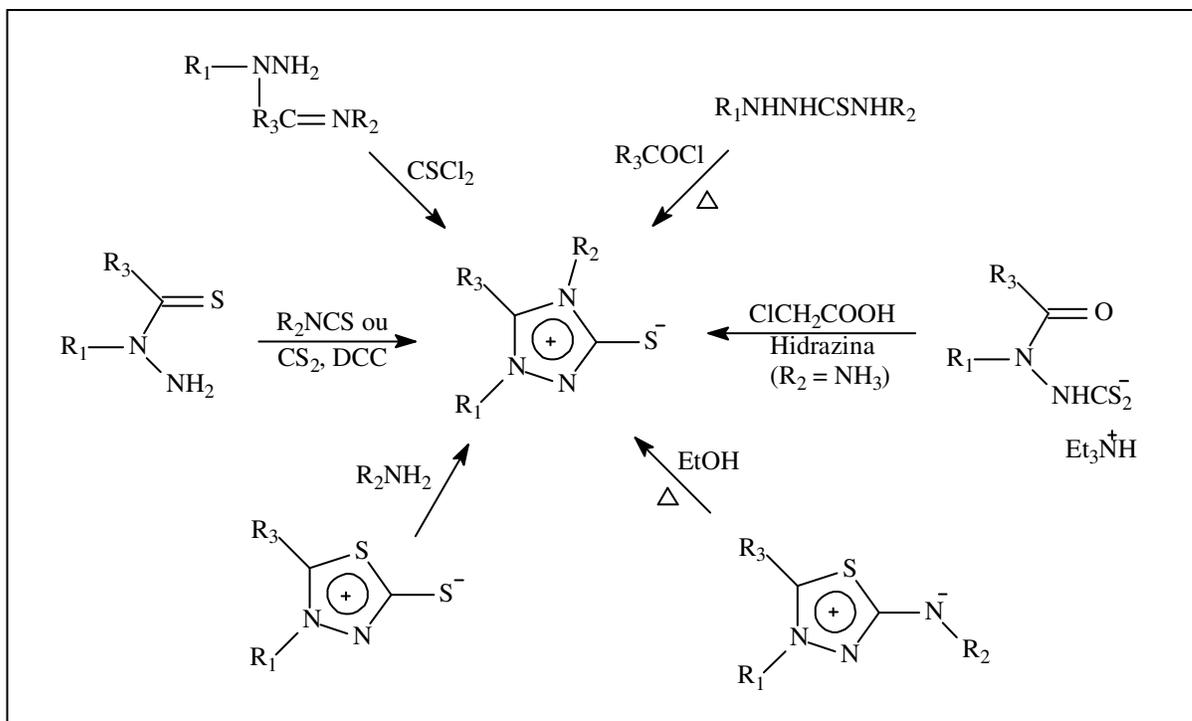
Esquema 9: Rota sintética utilizada para a preparação dos derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas (OLLIS & RAMSDEN, 1971).

Uma outra metodologia para a síntese de mesoiônicos da classe dos tiadiazólio-aminidas envolve a reação de dibromodiazabutadienos substituídos e N-tiobenzoil-hidrazinas, também substituídas (NEWTON *et al.*, 1982). O **Esquema 10** mostra a reação envolvida nesta rota de síntese.



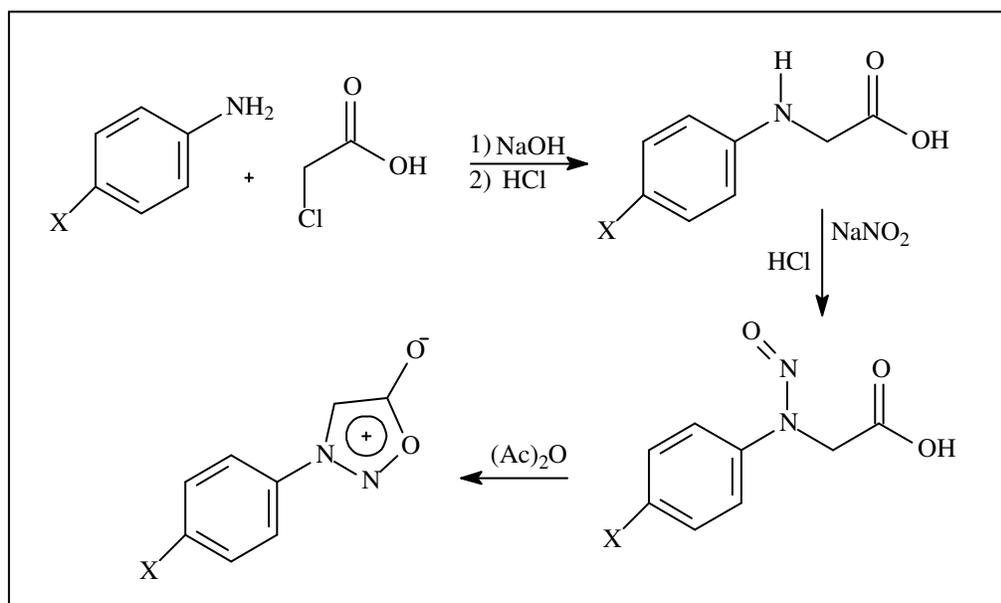
Esquema 10: Reação entre dibromodiazabutadienos substituídos e N-tiobenzoil-hidrazinas, também substituídas, originando compostos mesoiônicos (NEWTON *et al.*, 1982).

A síntese de mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato, também pode ser realizada através de diversas metodologias e, algumas rotas estão apresentadas no **Esquema 11** (MONTANARI, 1991).



Esquema 11: Rotas sintéticas utilizadas na preparação do sistema 1,3,4-triazólio-2-tiolato.
(MONTANARI, 1991)

Há também vários métodos descritos na literatura para sintetizar os mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato, sendo que o mais utilizado envolve a ciclização pela desidratação de uma nitroso-glicina conforme o **Esquema 12** (BRAZ, 1992).



Esquema 12: Rotas sintética mais utilizada na preparação do sistema 1,2,3-oxadiazólio-5-olato (BRAZ, 1992).

1.7 Mesoiônicos e suas propriedades

Devido às suas características únicas os mesoiônicos, atualmente, são alvos de uma gama de estudos nas mais diversas áreas de pesquisa, destacando-se as áreas de cristais líquidos (SATO, 1996), materiais com propriedades óticas não-lineares (MOURA *et al.*, 1994), na síntese de corantes (EDWARD & SHEFFLER, 1979), e principalmente, na área da química medicinal que será mais detalhada a seguir.

1.7.1 Atividade biológica dos compostos mesoiônicos

Devido a apresentarem grande potencial de atividade biológica os compostos mesoiônicos têm despertado um considerável interesse nos pesquisadores desta área. O potencial destas substâncias tem sido relacionado, até o momento, a diversos fatores tais como: o caráter aromático planar do anel heterocíclico; ao seu tamanho relativamente pequeno; caráter final neutro, apesar da presença de cargas formais e à variação da densidade eletrônica em torno do anel (DA SILVA *et al.*, 2002). Além disso, por apresentarem fortes interações com diversas biomoléculas devido à semelhança de suas estruturas com aminoácidos, possibilitando interações eletrostáticas e, também por serem solúveis em solventes apróticos, o que possibilita sua passagem através das barreiras lipídicas.

Derivados da classe 1,3,4-triazólio-5-tiolato (**Esquema 8**) foram testados contra diversos organismos, demonstrando atividade para algumas estruturas, como mostra o trabalho de Kier e Stewart em que mesoiônicos da série 4-fenil-1,3,4-tiadiazólio-2-tiolato 5-substituídos (**17**, **Figura 10**) foram ativos frente a *Staphilococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae* e *Escherichia coli* (STEWART & KIER, 1965).

Devido aos resultados apresentados pelo trabalho de Kier e Stewart outros mesoiônicos foram testados contra células tumorais. Nosso próprio grupo de pesquisa demonstrou uma significativa ação anti-tumoral do cloreto de 1,3-difenil-2-[4'-cloro-3'-nitrofenil]-1,3,4-triazólio-5-tiol (**18**, **Figura 10**), contra os tumores de Ehrlich, Sarcoma 180 e B10MCII (SHINZATO *et al.*, 1989), bem como a ação antitumoral *in vivo* e *in vitro* para sais heterocíclicos derivados da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas-*para*-cinamoil-substituídos (**19**, **Figura 10**) (GRYNBERG *et al.*, 1997).

Outro trabalho envolvendo a atividade biológica dos mesoiônicos foi realizado por Silva e colaboradores que relataram a ação antiparasitária significativa de derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida frente ao parasita causador da leishmaniose, especificamente a *Leishmania amazonensis*. Os compostos testados mostraram-se eficazes na inibição do crescimento destes microrganismos, tanto nas formas promastigotas quanto amastigotas (DA SILVA *et al.*, 2002).

Senff-Ribeiro e colaboradores também apresentaram estudos que evidenciaram que o cloreto mesoiônico 4-fenil-5-(4'-nitrocinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-felinamina (**20**, **Figura 10**)

possui uma importante atividade antitumoral contra o melanoma murino B16-F10. *In vitro*, o composto foi citotóxico, diminuindo a proliferação e viabilidade celular e, *in vivo*, ele foi capaz de inibir o crescimento tumoral em 85 %, além de apresentar atividade significativa frente a linhagens celulares de melanomas humanos (MEL-85, SK-MEL, A2058 e MEWO) (SENF-FRIBEIRO *et al.* 2003 e 2004).

Esse mesmo cloridrato de mesoiônico (**20**, **Figura 10**) também inibiu a peroxidação lipídica em mitocôndrias de fígado de ratos, demonstrando assim um poder seqüestrante podendo agir como antioxidante (MENDEZ-SANCHEZ *et al.*, 2008).

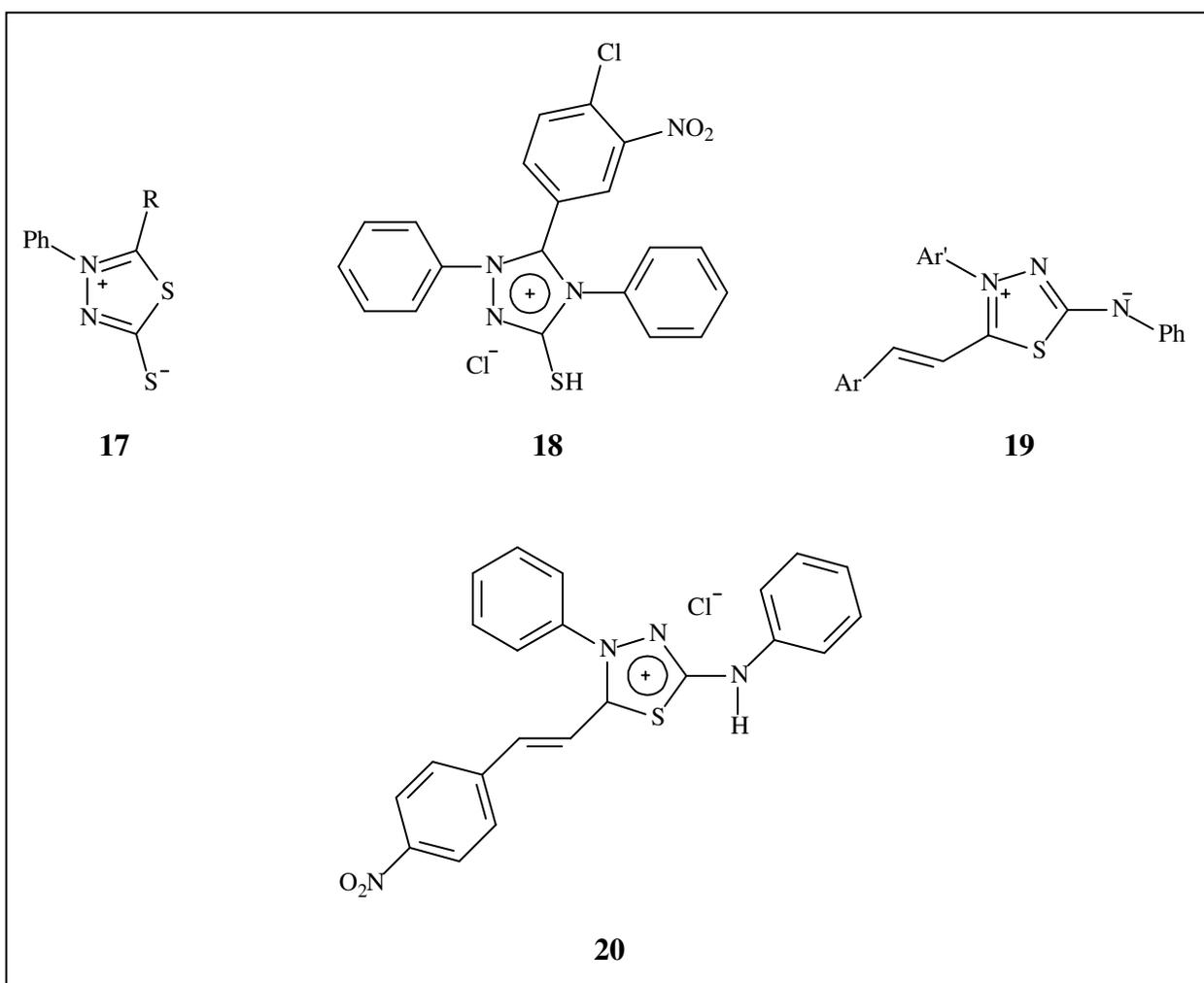


Figura 10: Estruturas dos compostos mesoiônicos que mostraram alguma atividade biológica (STEWART & KIER, 1965; SHINZATO *et al.*, 1988; GRYNBERG *et al.*, 1997; DA SILVA *et al.*, 2002; MENDEZ-SANCHEZ *et al.*, 2008).

FERREIRA *et al.* sintetizou novos mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminida que possuem parte da estrutura do produto natural piperina, da classe dos alcalóides, incorporada ao seu esqueleto (**21**, **Figura 11**), e estudou suas atividades *in vitro* contra as três formas evolutivas do *Trypanosoma cruzi* e sua citotoxicidade em macrófagos murinos. A **Tabela 3** apresenta os resultados obtidos pelo grupo de pesquisa (FERREIRA *et al.*, 2008).

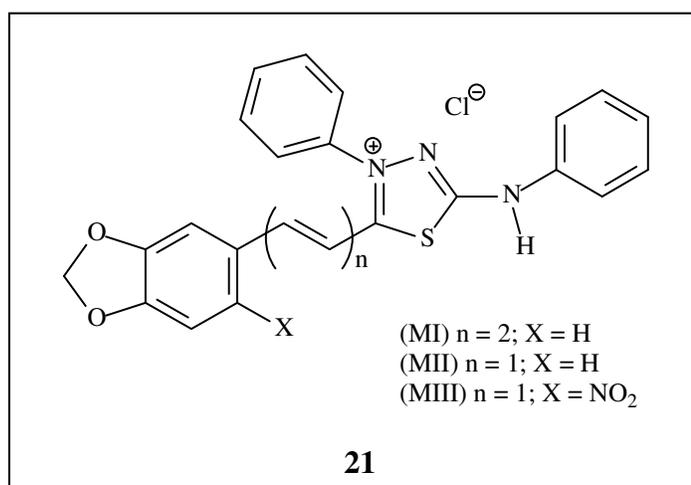


Figura 11: Estrutura genérica de alguns dos novos mesoiônicos sintetizados por FERREIRA (FERREIRA *et al.*,2008).

Tabela 3: Resultados da atividade de compostos mesoiônicos contra as três formas evolutivas do *T. cruzi* e suas citotoxicidades contra macrófagos murinos (FERREIRA *et al.*,2008).

Composto	IC ₅₀ (μM)			Citotoxicidade (μM)
	epimastigota	tripomastigota	amastigota	
MI	10,83 ± 2,2	6,70 ± 1,7	1,35 ± 0,95	38,56 ± 4,6
MII	4,13 ± 1,2	>[] _{max} ^a	NT ^b	1,95 ± 0,5
MIII	0,64 ± 0,14	>[] _{max}	NT	1,08 ± 0,23

^a Valores de IC₅₀ maiores que a máxima concentração ensaiada.

^b Não testado.

As sidnonas (**12**, **Figura 9**), primeira classe de compostos mesoiônicos sintetizada, também são as mais estudada até a atualidade (EARL & MACKNEY, 1935). A sua atividade biológica é comprovada por vasta literatura. O primeiro relato de atividade biológica data de 1959 quando, DAVIS *et al.*, demonstraram que a 3-fenilsidnona (**22**, **Figura 12**) foi capaz de inibir, *in vivo*, o estabelecimento infeccioso da *Puccinia rubigo-vera* e *Uromyces phaseoli* causadores da ferrugem do trigo e feijão, respectivamente. Este composto, quando testado *in vitro*, mostrou-se pouco ativo contra o fungo causador da doença, desta forma, os autores sugeriram que a 3-fenilsidnona aumentava a resistência da planta à doença pela alteração do metabolismo do hospedeiro impedindo a proliferação do fungo.

As sidnonas também apresentaram atividades antiinflamatória e analgésica, relatada para duas séries de derivados da 3-fenil-sidnona: série I 4-[1-oxo-3-(aril)-2 propenil]-3-fenilsidnonas e série II 3-[4-[3-(aril)-1-oxo-2-propenil]fenil]sidnonas (**23** e **24** respectivamente, **Figura 12**) (SATYANARAYANA & RAO, 1995). Os compostos da série I foram mais eficazes, tanto em sua atividade antiinflamatória quanto em sua ação analgésica, demonstrado pela diminuição do número de contorções induzidas por ácido acético (dose utilizada 100 mg/kg).

Mais recentemente, DUNKEY & THOMAN (2003) sintetizaram e demonstraram a atividade biológica de várias sidnonas *para*-fenil-substituídas (**25**, **Figura 12**). Os compostos foram testados contra três linhagens celulares cancerígenas: MCF7 (mama), NCI-H460 (pulmão) e SF-268 (sistema nervoso central). Os resultados indicaram que grupos retiradores de elétrons como substituintes exerciam uma importante ação antitumoral (cloro ou flúor apresentavam aproximadamente 32% de ação antitumoral).

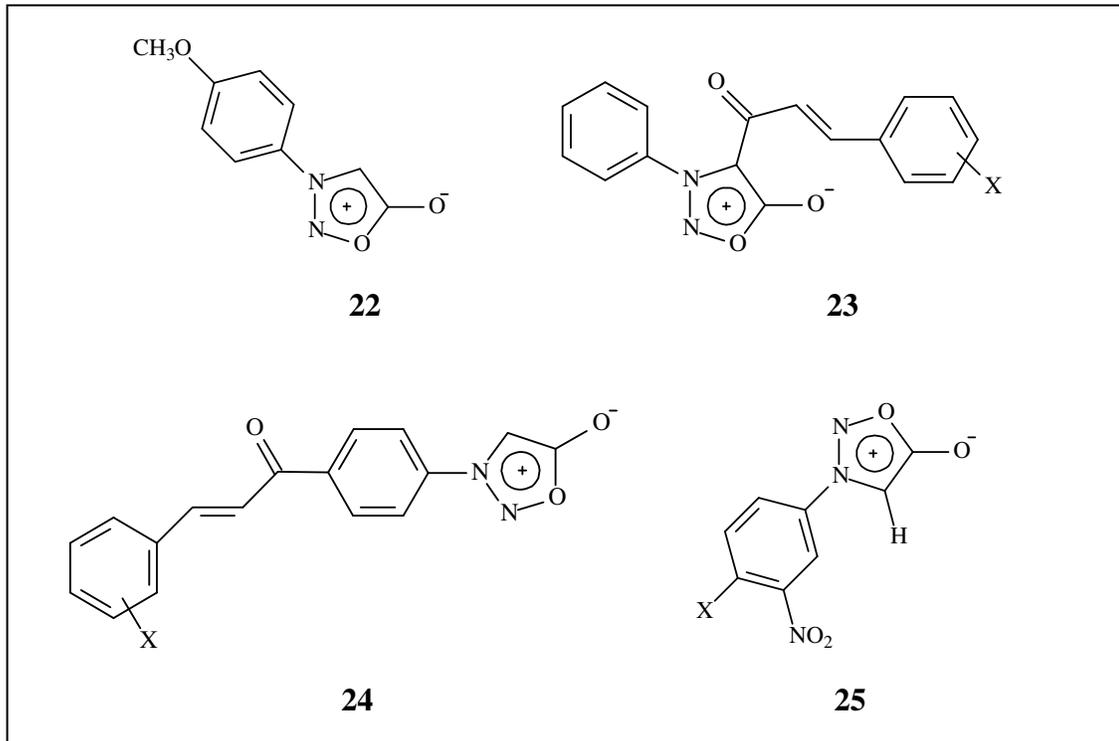


Figura 12: Estruturas de sidnonas que mostraram atividade fungicida, antiinflamatória, analgésica e antitumoral (DAVIS *et al.*, 1959; SATYANARAYANA & RAO, 1995; DUNKEY & THOMAN, 2003).

HALILA (2005) estudou o composto mesoiônico 3-[4'-cloro-3'-nitrofenil]-1,2,3-oxadiazólio-5-olato, (**23**) com substituinte *p*-Cl (**Figura 12**) com o objetivo de determinar os efeitos sobre o metabolismo energético mitocondrial visando contribuir para o esclarecimento do mecanismo de ação envolvido na atividade antitumoral deste composto. Os resultados desses estudos indicaram a ação de **23** na inibição do transporte de elétrons na cadeia respiratória, inibição da enzima glutamato desidrogenase, na redução da eficiência da fosforilação oxidativa levando aos possíveis efeitos na interação com a membrana mitocondrial interna.

1.8 Novas Metodologias para a Síntese Orgânica

Atualmente, questões ambientais vem se destacando na mídia nacional e internacional e, praticamente em todas as reuniões entre Chefes de Estado há na sua pauta temas envolvendo a redução de emissões de gases tóxicos ou o controle da degradação de reservas ambientais ou o desenvolvimento auto-sustentável (DS). DS pode ser definido como o progresso industrial que atende às necessidades do presente sem comprometer a capacidade das futuras gerações satisfazerem às suas próprias necessidades (LENARDÃO *et al.*, 2003).

Apesar das pressões internacionais em defesa do meio ambiente, agentes poluentes, emissões de gases e resíduos industriais ainda são depositados diariamente na atmosfera. Entretanto, já é possível observar que pesquisadores e industriais vêm tentando remediar os impactos ambientais causados, adotando processos químicos que utilizem produtos e condições menos poluidoras.

A iniciativa mais recente e inovadora, nessa conjuntura, é o investimento na denominada “Química Verde” ou “Química Limpa”, uma química sustentável, desenvolvida como alternativa à prática do “poluir-e-então-limpar”, empregada pela maioria das indústrias e dos laboratórios. Ela propõe uma busca por fontes renováveis que gerem energia ao mesmo tempo em que são usadas como matéria-prima industrial.

A Química Verde (green chemistry ou química sustentável) foi introduzida há cerca de dez anos nos EUA pela EPA (Environmental Protection Agency), a agência de proteção ambiental deste país, em colaboração com a American Chemical Society (ACS) e o Green Chemistry Institute.

A Química Verde pode ser definida como a utilização de técnicas químicas e metodologias que reduzem ou eliminam o uso de solventes e reagentes ou geração de produtos e sub-produtos tóxicos, que são nocivos à saúde humana ou ao ambiente.

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.

Alguns exemplos de pesquisa em Química Verde são:

- desenvolvimento de catalisadores;
- eliminação ou substituição de solventes;
- uso de matérias-primas renováveis;
- substituição de produtos tóxicos por outros ambientalmente aceitáveis;
- monitoramento, controle e a intensificação de processos;
- uso eficiente de energia;
- melhoria nos processos de separação;
- reagentes e reações intrinsecamente mais seguras

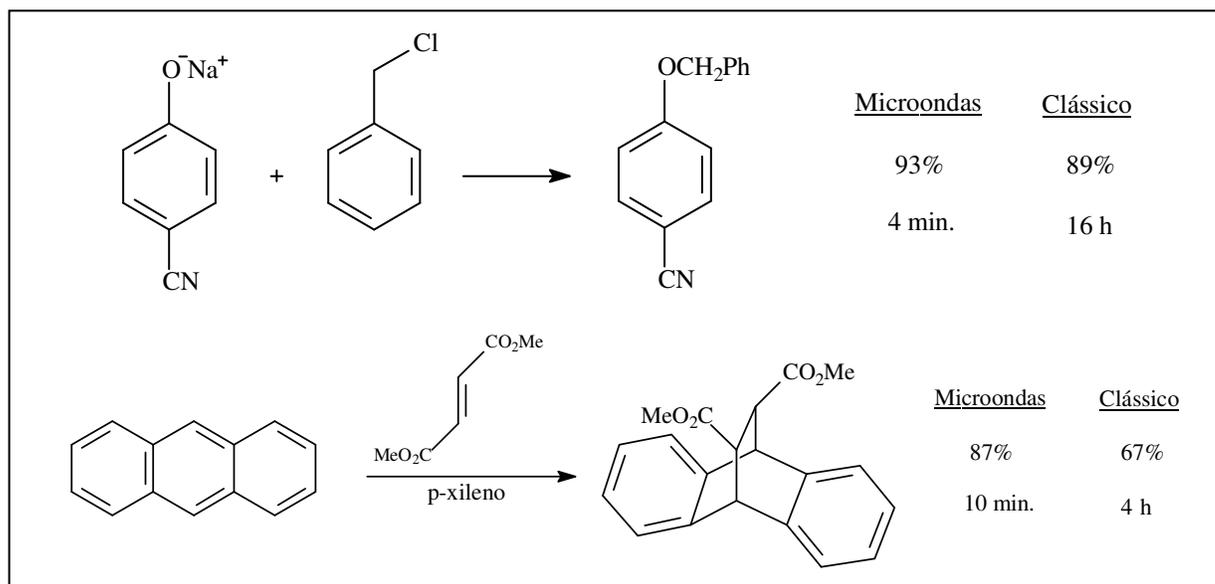
O nosso grupo vem desenvolvendo metodologias sintéticas limpas, alternativas aos métodos tradicionais, que envolvem o uso de VOCs (compostos orgânicos voláteis) e alto consumo de energia. Mais especificamente, a utilização de ultra-som, de suportes sólidos recicláveis e a irradiação de microondas em meio livre de solvente têm se constituído em alternativas mais benignas ao ambiente.

Neste trabalho de dissertação foi utilizada como metodologia alternativa de síntese dos compostos mesoiônicos a irradiação de microondas, sendo assim, esta técnica será mais detalhada a seguir.

1.8.1 Uso de microondas em síntese orgânica

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).

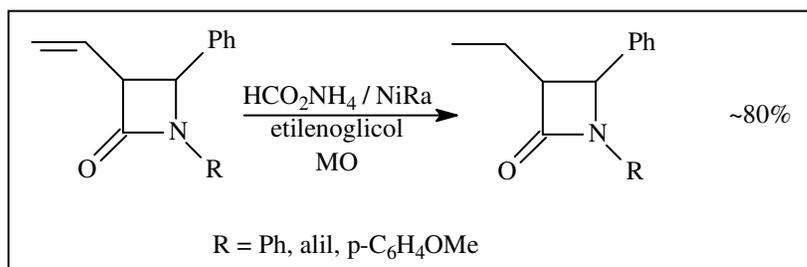
Os primeiros relatos de reações orgânicas conduzidas em forno de microondas doméstico surgiram em 1986 em dois trabalhos independentes de Gedye e Guigere, **Esquema 13**. Uma notável redução no tempo de reação foi observada, embora não tenha havido o controle da pressão (GEDYE *et al.*, 1986; GIGUERE *et al.*, 1986).



Esquema 13: Primeiras reações orgânicas conduzidas em forno de microondas (GEDYE *et al.* 1986; GIGUERE *et al.* 1986).

Inúmeros trabalhos se seguiram após estes relatos iniciais. A simbologia usada nas reações é: $\mu\nu$, MO (microondas) e IMO (irradiação por microondas), também sendo comum indicar a potência na equação química no lugar destes símbolos.

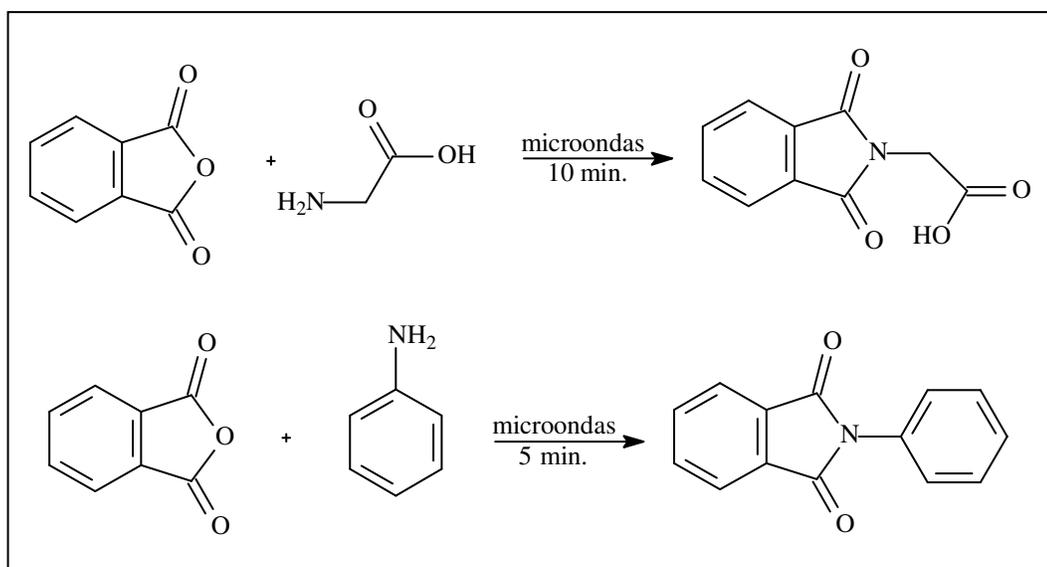
Reações com solventes também já foram realizadas com sucesso em forno de microondas doméstico não modificado, inúmeras vezes, Bose e colaboradores foram os principais responsáveis pelo desenvolvimento dessas técnicas, **Esquema 14** (BOSE *et al.* 1993).



Esquema 14: Reação de hidrogenação utilizando solvente e irradiação de microondas (BOSE *et al.* 1993).

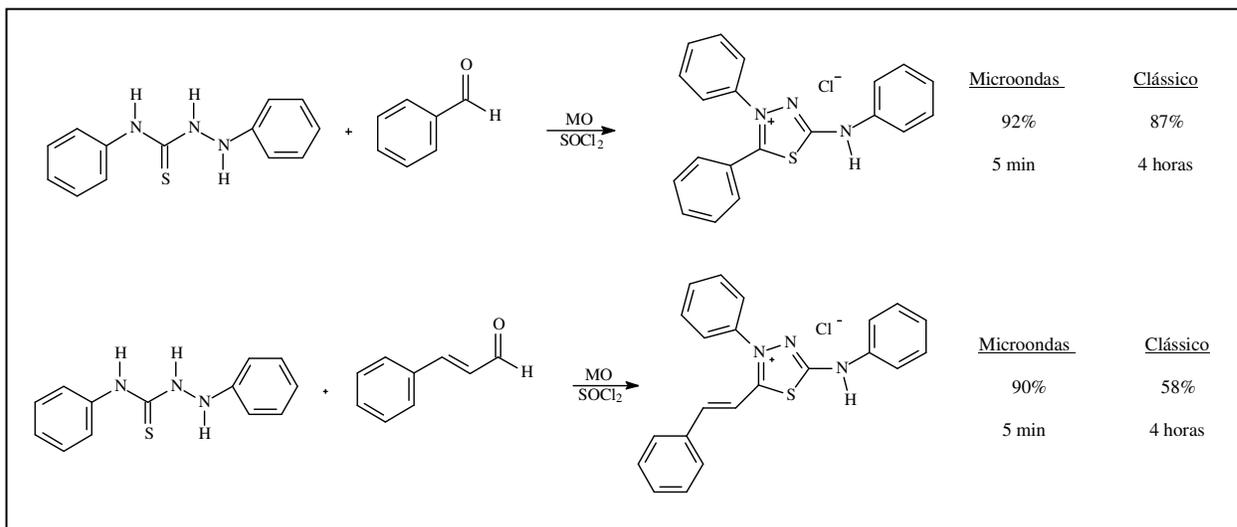
Tem sido relatado que compostos ftalimídicos podem ser obtidos com maior rendimento e menor tempo reacional utilizando a metodologia de síntese em microondas, através da condensação do anidrido ftálico com aminas funcionalizadas (LÁCOVÁ *et al.*, 1996; VIDAL *et al.*, 2000).

Os derivados ftalimídicos são substâncias que apresentam considerável importância sintética, principalmente na área farmacêutica, sendo esses derivados úteis ao tratamento de doenças negligenciadas, como por exemplo, anemia falciforme, hanseníase e tuberculose. Exemplos de síntese utilizando MO são apresentados no **Esquema 15**.



Esquema 15: Síntese de ftalimidas sob irradiação de microondas (SANTOS *et al.* 2006).

Recentemente, compostos mesoiônicos também tem sido sintetizados através de irradiação de microondas, com resultados muito interessantes quando comparados com os da metodologia clássica, pois foram obtidos em maior rendimento e em menor tempo de reação. Os compostos mesoiônicos obtidos através da irradiação de microondas foram da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida a partir da reação entre 1,4-difeniltiossemicarbazida e o aldeído apropriado na presença de um ácido de Lewis e 1,4-dioxano como solvente orgânico, **Esquema 16** (REIS, 2008).



Esquema 16: Síntese de mesoiônicos sob irradiação de microondas utilizando-se o cloreto de tionila (SOCl_2) como ácido de Lewis (REIS, 2008).

2 OBJETIVOS

Os principais objetivos desta Dissertação de Mestrado foram:

- 1) Sintetizar compostos mesoiônicos da classe 3-[4'-X-fenil]-1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e 3-[4'-X-estiril]-1,3,4-tiadiazólio-2-aminida para a obtenção dos correspondentes mesoiônicos isoméricos da classe dos 1,3,4-triazólio-2-tiolato, através de rearranjos moleculares utilizando:
 - a) refluxo em solvente nucleofílico;
 - b) ácido de Lewis e irradiação de microondas na ausência e presença de suporte sólido;
 - c) ácido de Lewis e banho de ultra-som.
- 2) Sintetizar compostos mesoiônicos da classe 3-N-[4'-X-fenil]-1,2,3-oxadiazólio-5-olato.
- 3) Caracterizar todos os compostos obtidos por ponto de fusão e técnicas espectroscópicas como Infravermelho, Ultravioleta, Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .
- 4) Avaliar a atividade antioxidante, utilizando o método do DPPH.
- 5) Avaliar a atividade inibitória frente à enzima tirosinase.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Equipamentos utilizados nas caracterizações espectroscópicas

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 1600/1605FTIR (PPGQ-UFRRJ), sendo calibrados com filme de poliestireno a 1600 cm^{-1} e as amostras analisadas em pastilhas de KBr.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H e ^{13}C) foram obtidos em espectrofotômetro de marca Bruker, modelo AVANCE-200-400 MHz (PPGQ-UFRRJ). Foi utilizada como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e os solventes: clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD) e dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) deuterados na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em unidade de parte por milhão (ppm).

Os espectros de ultravioleta (UV) foram obtidos através de um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo OMINI (PGQO-UFRRJ) e foi utilizada acetonitrila (CH_3CN , grau HPLC-UV) para a solubilização das amostras.

3.2 Outros equipamentos

Os pontos de fusão foram determinados utilizando-se um aparelho tipo Kofler (UFRRJ) e não foram corrigidos.

Foram utilizados evaporador rotatório da marca Fisaton, modelo 550, placas de aquecimento e agitação da marca Corning, balança analítica da marca SHIMADZU modelo BL 320H, e para as reações em microondas, um forno doméstico da marca C&S, modelo NN-545BH com potência 800 W e frequência de 2450 MHz.

3.3 Solventes para as sínteses

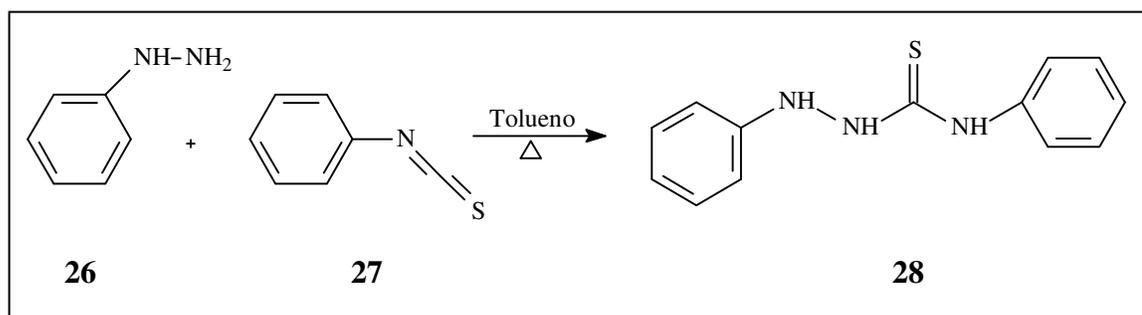
Os solventes utilizados neste trabalho foram os seguintes: metanol, etanol, éter etílico, diclorometano, 1,4-dioxano, tolueno e clorofórmio (todos grau P.A). Estes solventes foram procedentes do Grupo Química, Merck e Vetec. Os solventes foram purificados por destilação quando se fazia necessário.

3.4 Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados nas sínteses dos intermediários e compostos mesoiônicos foram das marcas Merck, Aldrich, Carlo Erba, Baker e Vetec sendo foram purificados quando necessário: ácido 4-nitro-benzóico, ácido 4-metóxi-benzóico, cloreto de tionila, cloreto de oxalila, benzaldeído, 4-nitro-benzaldeído, 4-metóxi-benzaldeído, isotiocianato de fenila, fenil hidrazina, cloreto de benzoíla, ácido malônico, anilina, 4-nitro-anilina, 4-metóxi-anilina, 4-metil-anilina, 4-cloro-3-nitro-anilina, cloreto de zinco, ácido sulfúrico concentrado e hidróxido de sódio.

3.5 Sínteses

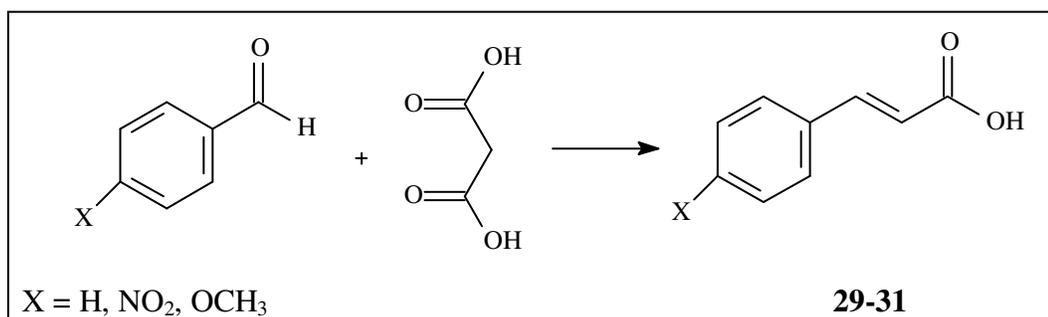
3.5.1 Síntese da 1,4-difeniltiosemicarbazida



Em um balão de 2 bocas de 250 mL, adicionou-se 45 mL de tolueno anidro sob refluxo e 53 mmols de fenil-hidrazina (**26**). Em seguida, aos poucos com um funil de adição, 53 mmols de isotiocianato de fenila (**27**) foram adicionados. A reação foi imediata, exotérmica e a cristalização do produto de interesse quase imediata. Posteriormente, o sólido foi filtrado e

lavado a frio com um o mínimo de tolueno e depois com éter etílico gelado. O ponto de fusão obtido foi de 177 °C (176 °C, SANTOS, 1993), e o rendimento foi 78 %.

3.5.2 Preparação dos ácidos cinâmicos



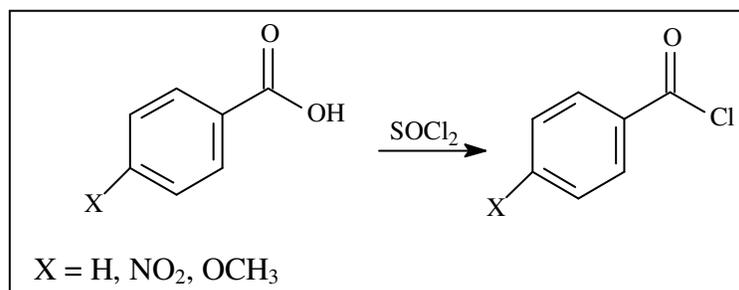
Em um balão de 50 mL foram adicionados 33,3 mmols do benzaldeído substituído, 70 mmols de ácido malônico, 15 mL de piridina e 200 µL de piperidina. A mistura foi aquecida em banho-maria por 3 horas e depois fez-se mais 10 minutos em refluxo. Após o término da reação foi adicionada, à mistura reacional, uma solução de HCl a 20% até que houvesse total precipitação do produto. O sólido obtido foi filtrado em Buchner, lavado com água e recristalizado em etanol. A **Tabela 4** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 4: Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos substituídos

	Ácidos cinâmicos (X)	PF (°C)	Rendimento (%)
29	H	128-129	90
30	4'-NO ₂	290-291	93
31	4'-OCH ₃	173	98

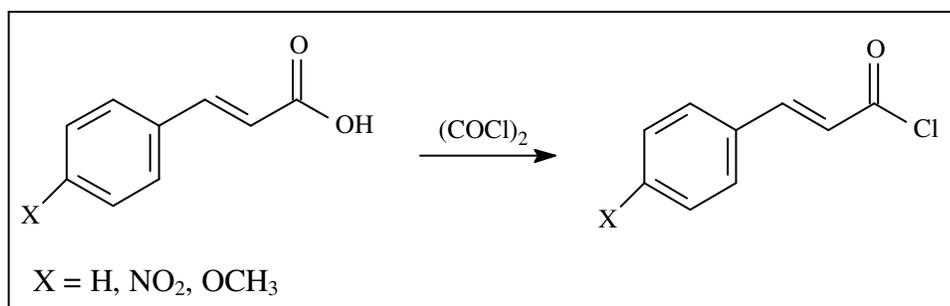
3.5.3 Preparação dos cloretos de ácido

3.5.3.a Preparação dos cloretos de ácido benzóico substituídos



Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 17 mmols do ácido benzóico substituído e 51 mmols (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 SOCl₂ foi removido em evaporador rotatório, restando apenas o cloreto de ácido que foi utilizado sem tratamento, devido à sua instabilidade em atmosfera úmida.

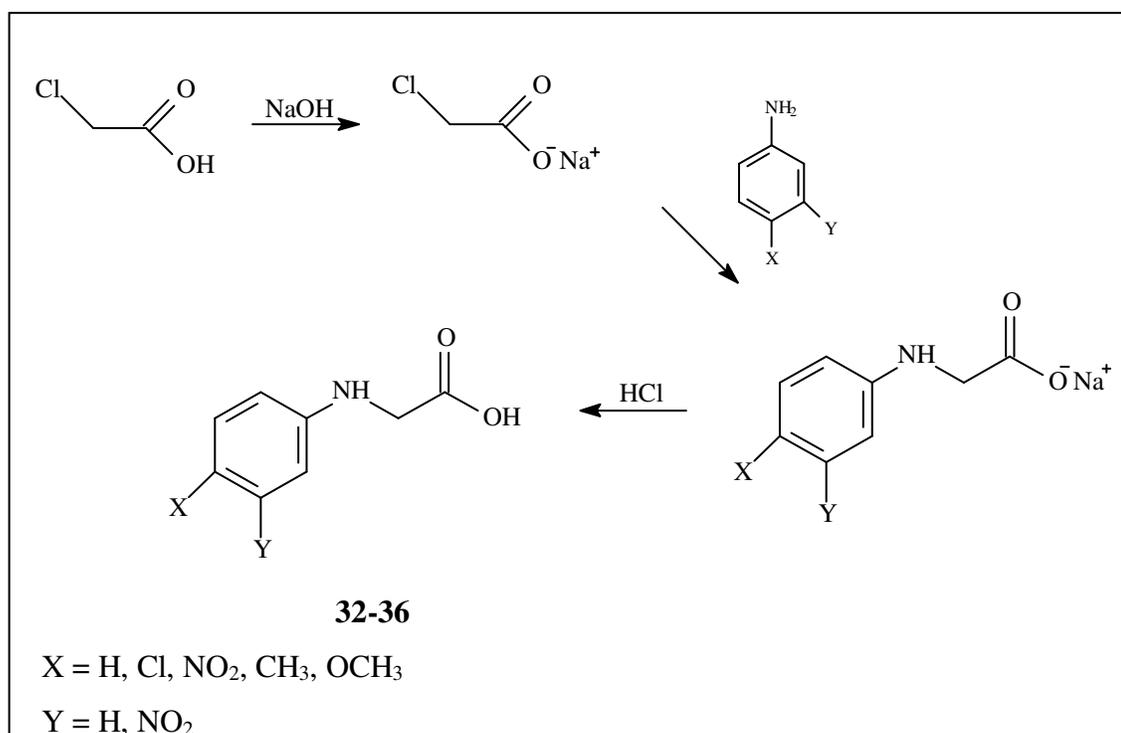
3.5.3.b Preparação dos cloretos de ácido cinâmico substituídos



Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 22 mmols do ácido cinâmico substituído, 24 mmols de cloreto de oxalila e 10 mL de diclorometano previamente seco. A reação foi mantida a uma temperatura de aproximadamente 0 °C durante 30 horas, após este período a

reação se completou à temperatura ambiente 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 $(\text{COCl})_2$ foi removido juntamente com o solvente em evaporador rotatório, restando apenas o cloreto de ácido que foi utilizado sem tratamento, devido à sua instabilidade em atmosfera úmida.

3.5.4 Preparação das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-glicinas



A um balão de fundo redondo de 125 mL adicionou-se 50 mmols de ácido 2-cloroacético e 10 mL de água. Adicionou-se lentamente, com agitação e resfriamento externo, pouco mais de 20 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio 10 % (p/v) à mistura até a neutralização. Adicionou-se 50 mmols da respectiva anilina substituída e adaptou-se um condensador para refluxo. A mistura reacional foi então aquecida até ebulição, por tempo que variou entre 20 minutos e 168 horas, dependendo dos substituintes da anilina.

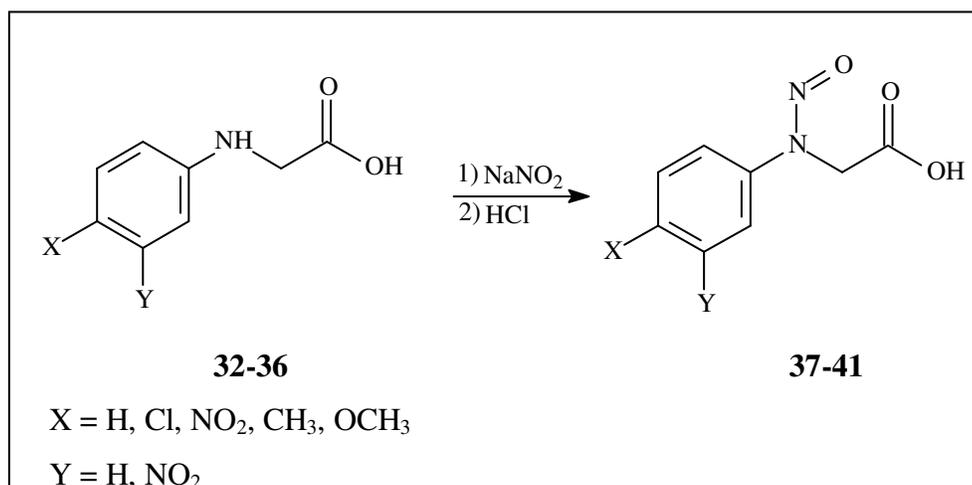
Após resfriamento adicionou-se 2,5 g de hidróxido de sódio, agitando em banho de gelo até que todo sólido estivesse dissolvido. Lavou-se em funil de separação com duas porções de

30 mL de diclorometano, desprezando a camada orgânica inferior, para remoção da anilina que não reagiu. A camada aquosa foi então acidificada, adicionando-se lentamente ácido clorídrico concentrado até pH entre 3-4, filtrou-se em Buchner e lavou-se o precipitado com água gelada. A **Tabela 5** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 5: Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-glicinas.

	N-fenil-glicinas		PF (°C)	Tempo de reação (h)	Rendimento (%)
	X	Y			
32	H	H	162	0,33	56
33	Cl	NO ₂	171	168	79
34	NO ₂	H	220-221	72	40
35	Me	H	60	3	36
36	OMe	H	45-48	2	70

3.5.5 Preparação das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-N-nitroso-glicinas



Em um Erlenmeyer de 125 mL, adicionou-se 16 mmols da respectiva glicina substituída finamente pulverizada e 25 mL de água. Resfriou-se em banho de gelo e sal, com agitação, até a temperatura de 0 °C.

Paralelamente, resfriou-se, em becher, 10 mL de água até 0 °C e em seguida adicionou-se 16 mmols de nitrito de sódio. Esta solução foi adicionada lentamente e com agitação

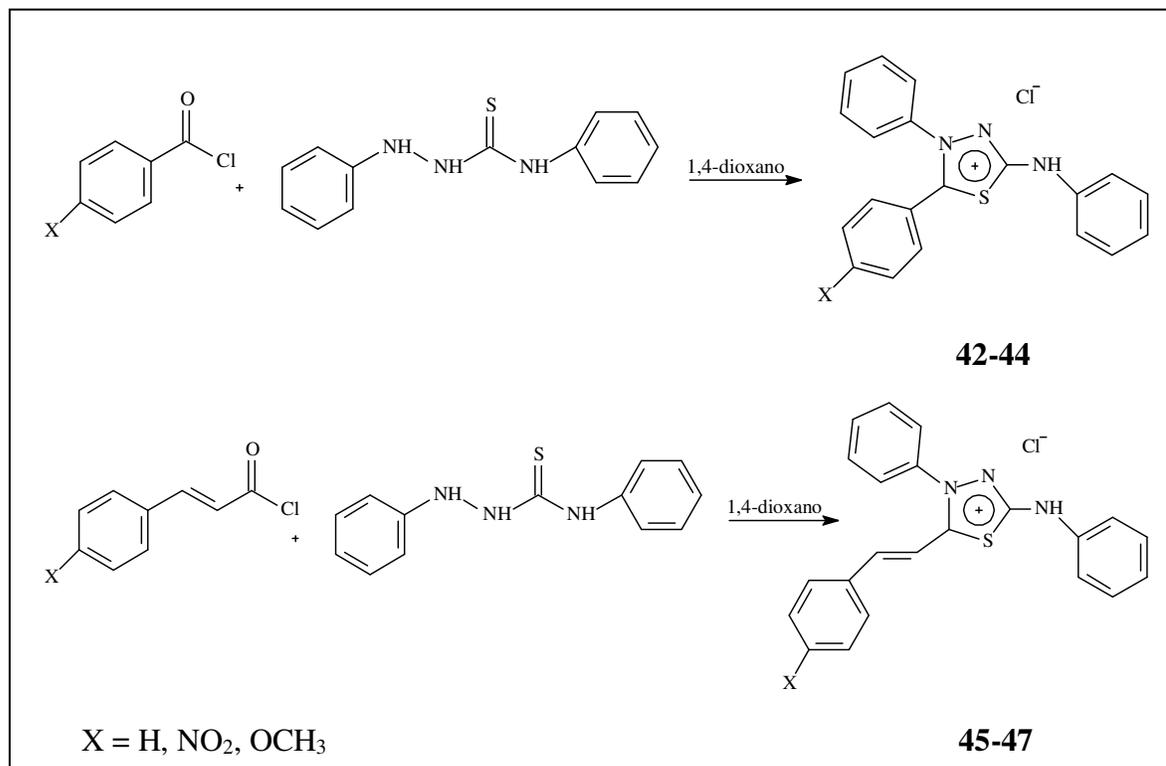
constante ao Erlenmeyer. Agitou-se o mesmo durante uns 10 minutos. Filtrou-se em funil e desprezou-se o precipitado. Ao filtrado adicionou-se cerca de 2,3 mL de ácido clorídrico concentrado com agitação vigorosa por alguns minutos até que os cristais se formassem. Filtraram-se os cristais, lavou-se com água gelada, e secou-se ao ar. A **Tabela 6** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 6: Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das N-(3'-Y-4'-X-fenil)-N-nitroso-glicinas.

	N-nitroso-glicinas		PF (°C)	Rendimento (%)
	X	Y		
37	H	H	102-104	80
38	Cl	NO ₂	125-126	79
39	NO ₂	H	148-149	41
40	Me	H	90-91	44
41	OMe	H	116-117	58

3.5.6 Síntese dos compostos mesoiônicos

3.5.6.1 Preparação dos cloridratos mesoiônicos



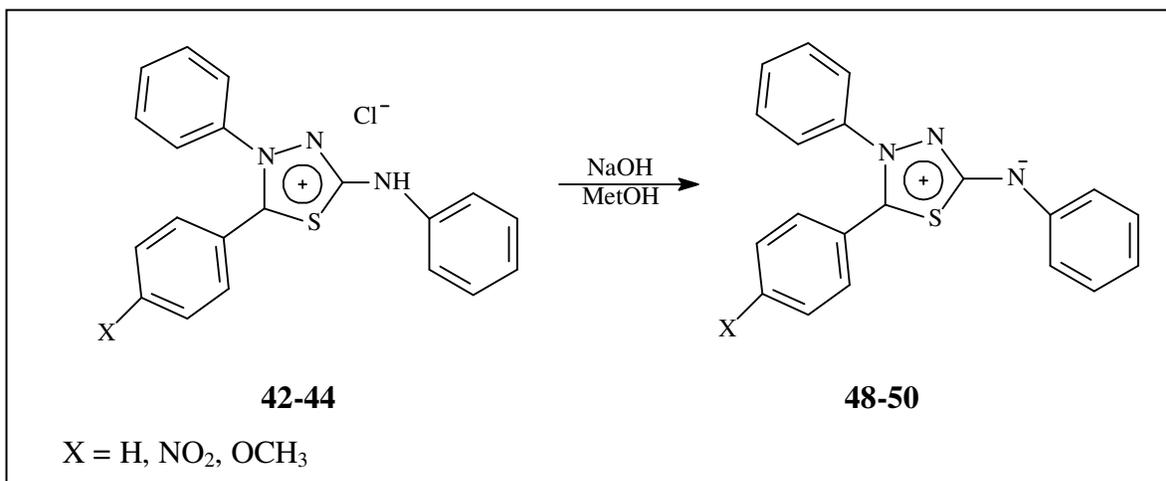
Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se uma suspensão de 17 mmols de 1,4-difeniltiossemicarbazida em 15 mL de 1,4-dioxano, e uma solução de 17 mmols de cloreto de benzoíla substituído em 4 mL de 1,4-dioxano. Esta última solução foi adicionada lentamente já com agitação. A agitação foi interrompida após 4 horas de reação. Deixou-se em repouso por 24 horas. O precipitado de cor vívida, que variou de amarelo pálido à laranja, foi filtrado em funil de Buchner, e lavado com 1,4-dioxano e éter etílico gelados. O sal foi recristalizado em metanol. A **Tabela 7** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

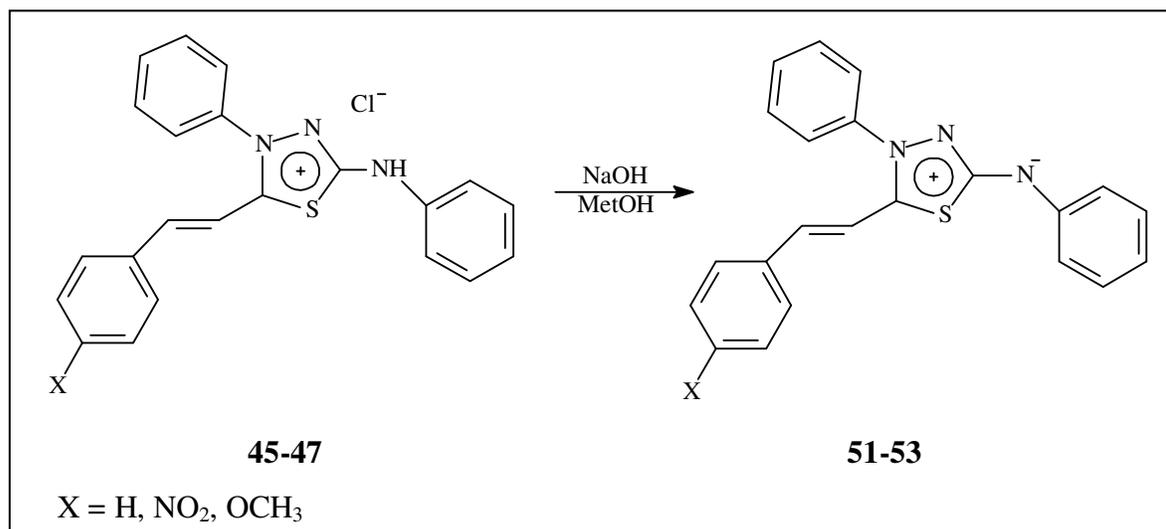
Tabela 7: Rendimentos e pontos de fusão dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina e dos cloretos de 4-fenil-5-(4'-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.

	Sais Meso-iônicos (X)	PF (°C)	Rendimento (%)
42	H	238-240	78
43	4'-NO ₂	238 – 239	73
44	4'-OCH ₃	242-243	58
45	H estiril	264 – 265	78
46	4'-NO ₂ -estiril	274 – 276	55
47	4'-OCH ₃ -estiril	235 – 237	58

3.5.6.2 Preparação dos compostos meso-iônicos

3.5.6.2.a Obtenção dos compostos meso-iônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminada



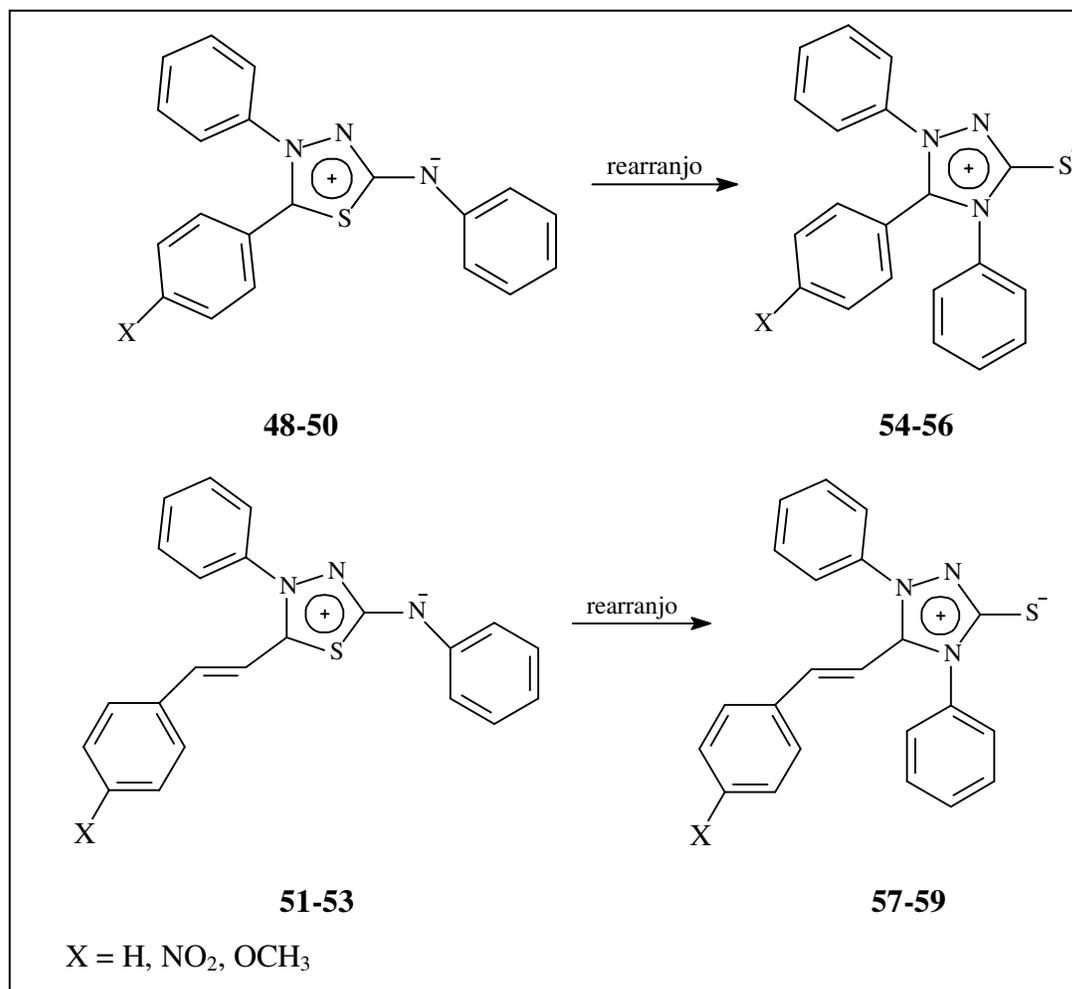


Adicionou-se 0,6 mmols do respectivo cloreto de 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina em um Erlemmayer e acrescentou-se metanol suficiente para que todo o sal se dissolvesse, com agitação magnética constante. Fez-se a adição de 0,6 mmols de NaOH através de uma solução de concentração de 0,5 mol/L por intermédio de uma bureta. Após 24 horas em repouso o produto obtido foi filtrado e lavado com éter etílico e depois foi seco à temperatura ambiente, obtendo-se um sólido amorfo de coloração que variou de laranja a roxo. A **Tabela 8** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 8: Rendimentos dos mesoiônicos da classe 4-fenil-5-(4'-X-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida e dos 4-fenil-5-(4'-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida.

	Tiadiazólio-aminidas	Rendimento
	(X)	(%)
48	H	73
49	4'-NO ₂	93
50	4'-OCH ₃	84
51	H estiril	88
52	4'-NO ₂ -estiril	74
53	4'-OCH ₃ -estiril	59

3.5.6.2.b Síntese dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato



Metodologia A

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 1,4 mmols do respectivo mesoiônico 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida em 10 mL de metanol e a solução foi mantida sob refluxo por 8 horas. Após um período de 24 horas observou-se a formação de cristais que foram filtrados em funil de Buchner e lavados com éter etílico. O rendimento foi quantitativo.

Metodologia B

Em uma placa de Petri foi colocada uma mistura, de 0,2 mmols do respectivo composto mesoiônico 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida com 0,07 mmols de cloreto de zinco, suportados em gel

de sílica. Essa mistura foi levada ao forno de microondas à potencia máxima por 3 minutos, após esse tempo observou-se uma mudança de coloração da mistura. A mistura foi resfriada e lavada várias vezes com diclorometano e a solução foi evaporada em rota-vapor restando apenas cristais. O rendimento foi quantitativo. A **Tabela 9** indica os pontos de fusão e rendimentos dos produtos obtidos.

Metodologia C

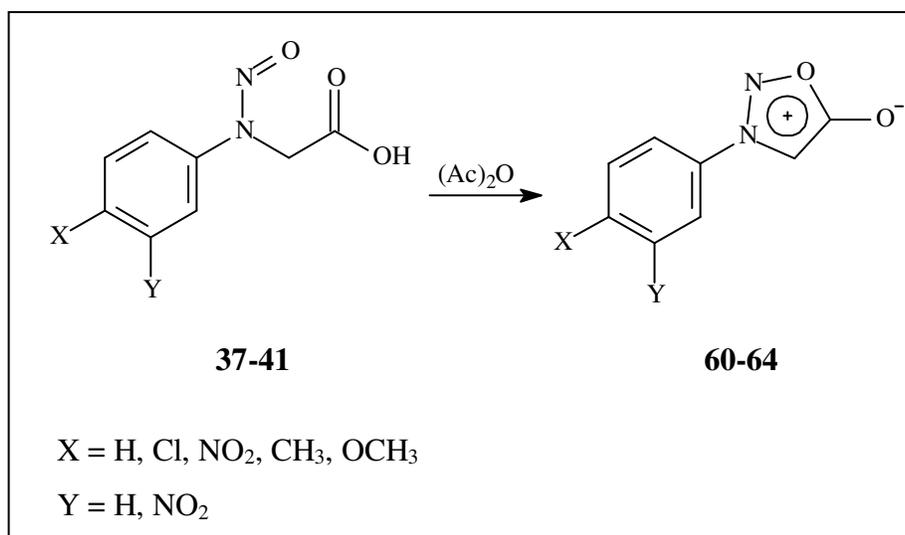
Em um Becher de 50 mL, adicionou-se 1,4 mmols do respectivo mesoiônico 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida em 10 mL de diclorometano seco com 0,07 mmols de cloreto de zinco e a solução foi mantida sob banho de ultra-som por 1 hora à temperatura ambiente na presença e na ausência de gel de sílica.

Tabela 9: Rendimentos e pontos de fusão dos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato preparados via metodologias A e B.

	Triazólio-tiolatos (X)	PF (°C)	Rendimento (%)	
			Metodologia A	Metodologia B
54	H	328-330	~100	~100
55	4'-NO ₂	312-313	~100	~100
56	4'-OCH ₃	283-284	~100	~100
57	H-estiril	282-285	~100	~100
58	4'-NO ₂ -estiril	164-168	~100	~100
59	4'-OCH ₃ -estiril	245-246	~100	~100

Obs: Na metodologia C não houve a ocorrência do rearranjo.

3.5.6.2.c Síntese dos compostos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazólio-5-olato



Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 1,97 mmols da respectiva nitroso-glicina e 4 mL de anidrido acético. No caso da nitroso-glicina que possuía os grupos 4'-cloro-3'-nitro o anidrido utilizado foi o trifluoracético. Ao balão foi acoplado um condensador de refluxo equipado com tubo de secagem e a mistura reacional foi aquecida até a ebulição, durante um tempo que variou de 1 a 6 horas.

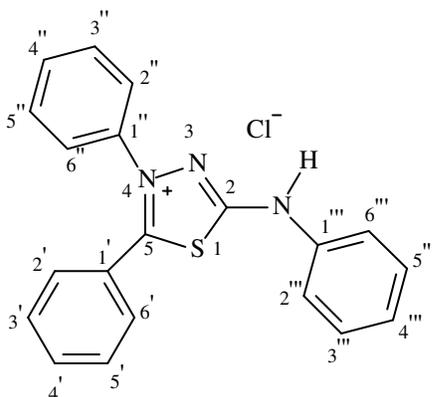
Após resfriamento, a mistura reacional foi vertida em 15 mL de água e agitou-se para hidrolizar o excesso de anidrido. Filtrou-se em funil de Buchner, lavando-se os cristais com água gelada e secou-se ao ar. A **Tabela 10** indica os pontos de fusão, o tempo de reação e rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 10: Rendimentos, o tempo reacional e os pontos de fusão dos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazólio-5-olato (sidnonas).

	Sidnonas		Tempo (h)	PF (°C)	Rendimento (%)
	X	Y			
60	H	H	1	132-134	70
61	Cl	NO ₂	0,1	176-178	75
62	NO ₂	H	6	143-144	88
63	Me	H	4	141-143	80
64	OMe	H	3	118	60

3.6 Dados espectrométricos para os compostos mesoiônicos sintetizados

i) Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 42)



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_{Ar} C-H no plano - 5H viz).

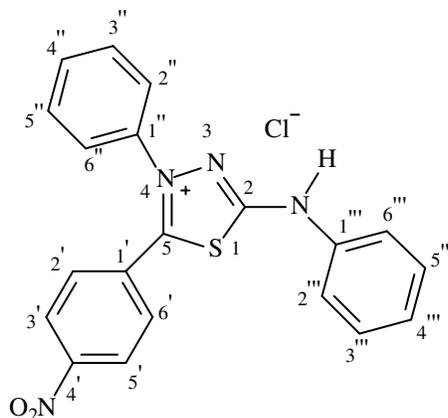
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

12,92 (s, 1 H, H-N) e 7,71 - 7,07 (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'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 43)



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3432 (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 _{Ar}C-H no plano – 2H viz); 746 e 694 (δ C-H aromático no plano – 5H viz).

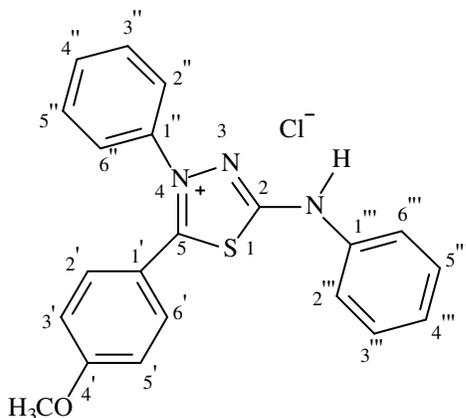
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

12,80 (s, 1 H, H-N) e 8,12 – 6,98 (m, 14 H, H-C aromáticos).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

161,74 (C-5), 149,97 (C-2), 138,82 (C-4') e 137,82 - 118,87 (17 C aromáticos).

iii) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 44)



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).

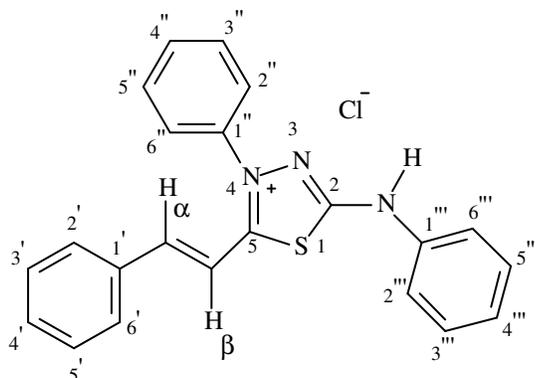
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

12,90 (s, 1H, N-H), 7,66 – 6,82 (m, 14 H, H-C aromáticos) e 3,84 (s, 3H, OC-H).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

163,54 (C-5), 160,51 (C-2), 139,33 - 115,93 (17 C aromáticos) e 56,10 (OCH₃).

iv) Cloreto de 4-fenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 45)



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).

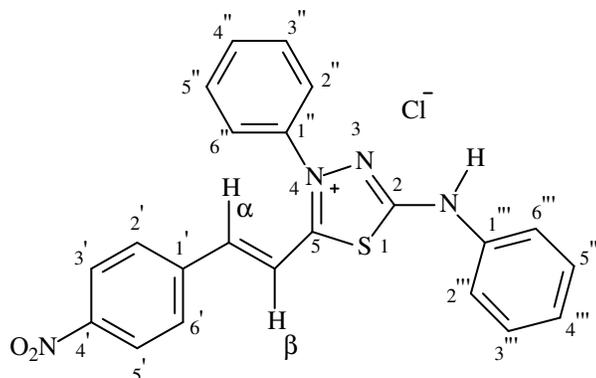
RMN ¹H (CD₃OD, δ)

12,32 (s, 1 H, H-N), 7,87 - 7,85 (d, H α , H-C vinílico), 7,78 – 7,31 (m, 15 H, H-C aromáticos) e 7,19 - 7,18 (d, H β , H-C vinílico).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

167,33 (C-5), 148,66 (C-2), 139,44 (C- α), 135,19 - 119,12 (18 C aromáticos) e 111,57 (C- β).

v) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 46)



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 _{Ar}C-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

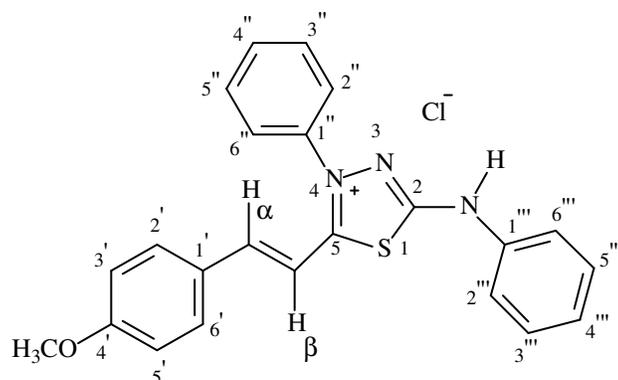
RMN ¹H (CD₃OD, δ)

8,04 - 7,96 (d, H α , H-C vinílico), 7,80 - 7,39 (m, 14 H, H-C aromáticos) e 7,39 - 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).

vi) Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 47)



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).

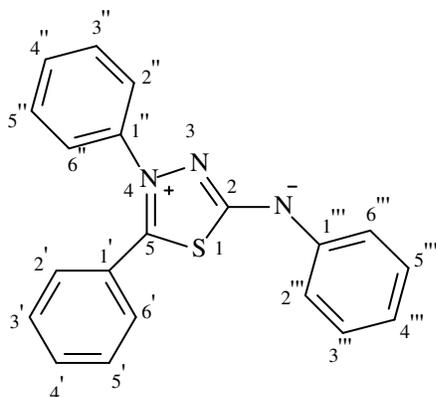
RMN ¹H (CD₃OD, δ)

7,89 - 7,81 (d, H α , H-C vinílico), 7,76 - 7,01 (m, 14 H, H-C aromáticos), 6,97- 6,89 (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).

vii) **4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida** (composto 48)



Infravermelho (KBr; ν 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).

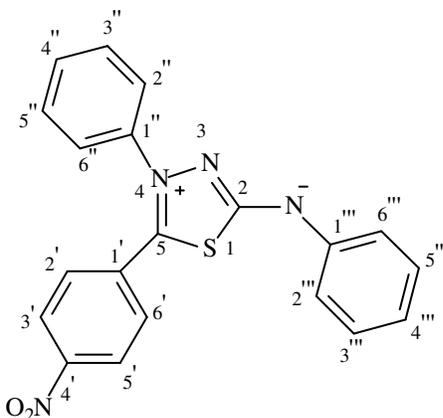
RMN ^1H (CDCl_3 , δ)

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

RMN ^{13}C (DMSO-d_6 , δ)

170,29 (C-5), 148,62 (C-2), 136,42 - 126,99 (18 C aromáticos).

viii) *4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida* (composto 49)



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 ($\delta_{\text{Ar}}\text{C-H}$ no plano - 2H viz); 742 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

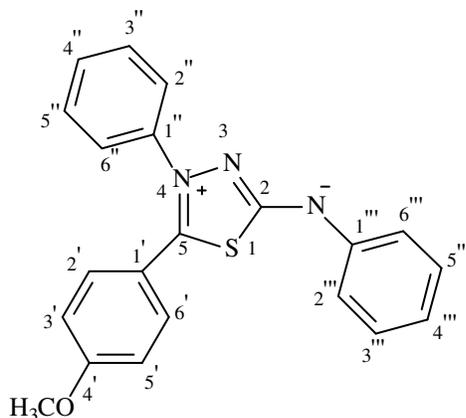
RMN ¹H (CDCl₃, δ)

8,14 – 8,10 (d, 2H, H_{3'-5'}), 7,87 – 7,83 (d, 2H, H_{2'-6'}) e 7,47 - 7,03 (m, 10 H, H-C aromáticos).

RMN ¹³C (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ)

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

ix) 4-Fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (composto 50)



Infravermelho (KBr; ν 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-CH₃); 1025 (confirmação Ar-O-R); 842 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

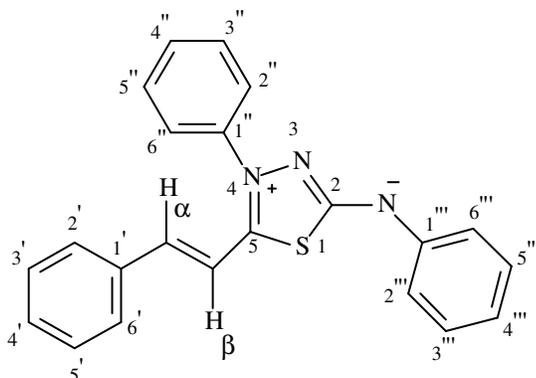
RMN ¹H (CDCl₃, δ)

7,46 - 7,22 (m, 10 H, H-C aromáticos), 6,98 - 6,94 (d, 2H, H_{2',6'}), 6,78 - 6,74 (d, 2H, H_{3',5'}) e 3,76 (s, 3H, OC-H).

RMN ¹³C (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ)

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

x) **4-Fenil-5-estiril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 51)**



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3056 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 1596 (ν C=C vinílico); 1564 (ν C=N); 1540, 1498 e 1444 (ν C=C aromático); 1348 (ν C-S); 954 (δ =C-H vinílico); 759 e 690 (δ ArC-H no plano – 5H viz).

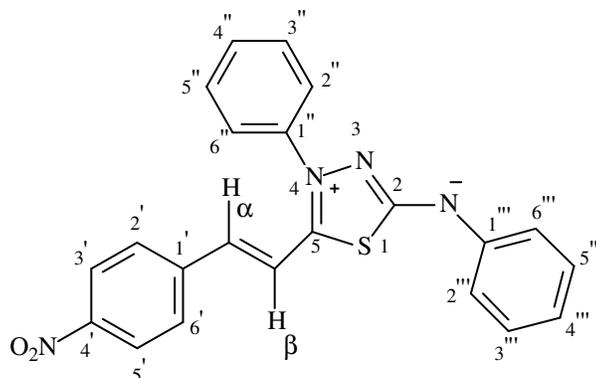
RMN ^1H (DMSO- d_6 , δ)

6,74 – 6,69 (d, $\text{H}\alpha$, $J_{\text{H}\alpha-\beta} = 20$ Hz), 7,75 – 6,94 (m, 15 H, H-C aromáticos), 6,49 – 6,44 (d, $\text{H}\beta$, $J_{\text{H}\alpha-\beta} = 20$ Hz)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , δ)

171,79 (C-5), 159,69 (C-1'''), 144,60 (C-2), 142,40 (C- α), 137,69 (C-1'), 134,38 (C-1''), 133,44 (C-2' e 6'), 131,18 (C-4''), 130,50 (C-2' e 5'), 129,43 (C-4'''), 129,09 (C-3'' e 5''), 128,40 (C-2'' e 6''), 127,61 (C-3''' e 5'''), 125,71 (C-2''' e 6'''), 120,71 (C-4') e 106,09 (C- β).

xi) 4-Fenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 52)



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3056 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 1631 (ν C=C vinílico); 1594 (ν C=N); 1517 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1461 (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); 759 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

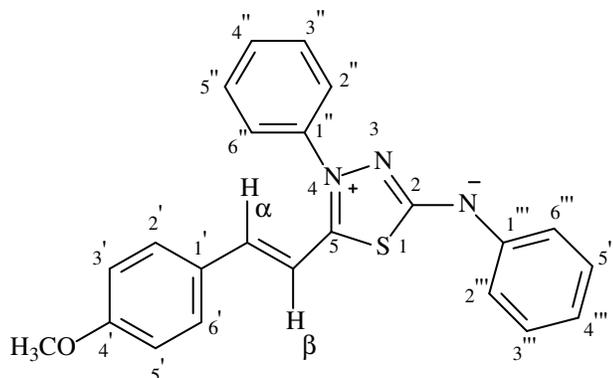
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

6,93 – 6,89 (d, H α , J_{H α - β} = 16 Hz), 7,76 – 7,54 (m, 10 H, H-C aromáticos), 6,58 – 6,53 (d, H β , J_{H α - β} = 16 Hz), 7,49 – 7,47 (d, 2H, J_{H 2'-6'} = 8 Hz) e 8,14 – 8,12 (d, 2H, J_{H 3'-5'} = 8 Hz).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

171,52 (C-5), 147,95 (C-1'''), 147,44 (C-2), 147,15 (C- 4'), 145,44 (C- α), 139,71(C-1'), 136,41(C-2' e 6'), 135,05 (C-1''), 130,42 (C- 4''), 130,16 (C-3'' e 5''), 129,02(C-3' e 5'), 127,50 (C-2'' e 6''), 125,96 (3''' e 5'''), 124,64(C-4'''), 124,37(C-2''' e 6''') e 112,26 (C- β).

xii) 4-Fenil-5-(4'-metóxi-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 53)



Infravermelho (KBr; ν cm⁻¹)

3025 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2933 (ν C-H alifático); 1627 (ν C=C vinílico); 1602, 1513 e 1452 (ν C=C aromático); 1567 (ν C=N); 1340 (ν C-S); 1253 (ν ArC-O); 1116 (ν O-CH₃); 1029 (confirmação Ar-O-R); 966 (δ =C-H vinílico); 819 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 752 e 692 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

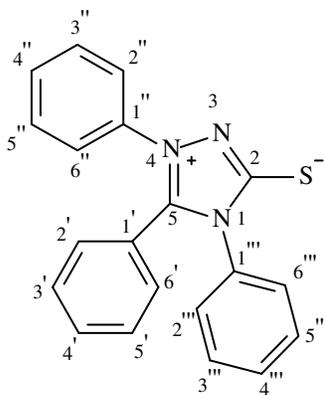
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

6,54 – 6,49 (d, H α , J_{H α - β} = 20 Hz), 7,74 – 7,33 (m, 10 H, H-C aromáticos), 6,41 – 6,36 (d, H β , J_{H α - β} = 20 Hz), 3,76 (s, 3H, OC-H), 7,13 – 7,11 (d, 2H, J_{H 2'-6'} = 8 Hz) e 6,87 – 6,85 (d, 2H, J_{H 3'-5'} = 8 Hz).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

170,92 (C-5), 162,00 (C-4'), 146,07 (C-2), 142,31 (C- α), 138,59 (C-1''), 136,89 (C-1'''), 135,62 (C-1'), 130,26 (C-2' e 6'), 129,97 (C-2'' e 6''), 129,74 (C-3'' e 5''), 129,22 (C-3''' e 5'''), 128,15 (C-4''), 126,16 (C-2''' e 6'''), 121,87 (C-4'''), 115,18 (C-3' e 5'), 105,89 (C- β) e 56,10 (OCH₃).

xiii) 1,4,5-Trifenil-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 54)



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3058 (ν C-H aromático); 1510 (ν C=N); 1592, 1473 e 1442 (ν C=C aromático); 1348 (ν C-S);
763 e 690 ($\delta_{\text{Ar}}\text{C-H}$ no plano – 5H viz).

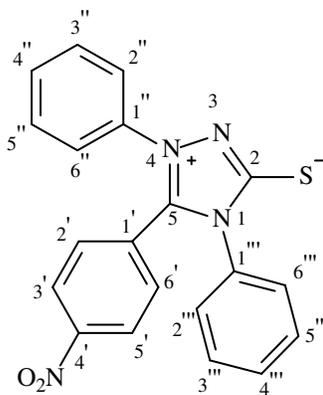
RMN ^1H (DMSO- d_6 , δ)

7,60 - 7,27 (m, 15 H, H-C aromáticos).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , δ)

170,30 (C-5), 148,62 (C-2), 136,43 - 122,72 (18 C aromáticos).

xiv) *1,4-Difenil-5-(4'-nitro)-1,3,4-triazólio-2-tiolato* (composto 55)



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3066 (ν C-H aromático); 1594 (ν C=N); 1525 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1594 (ν C=C aromático); 1344 (ν simétrico N=O); 1353 (ν C-S); 856 (δ _{Ar}C-H no plano – 2H viz); 742 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

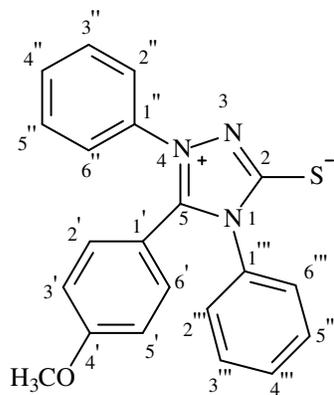
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

7,40 - 7,27 (m, 10 H, H-C aromáticos), 7,86 (d, 2H, H_{2'-6'}) e 8,08 (d, 2H, H_{3'-5'}).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

170,76 (C-5), 149,39 (C-4'), 146,79 (C-2) e 136,05 - 124,08 (17 C aromáticos).

xv) **1,4-Difenil-5-(4'-metóxi)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 56)**



Infravermelho (KBr; ν 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-CH₃); 1025 (confirmação Ar-O-R); 842 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 688 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

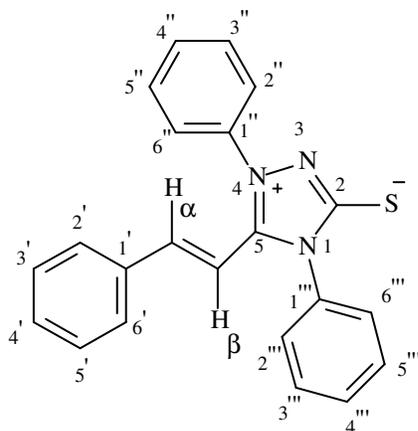
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

7,48 - 7,42 (m, 10 H, H-C aromáticos), 7,31 (d, 2H, H_{2'-6'}), 6,84 (d, 2H, H_{3'-5'}) e 3,68 (s, 3H, OC-H).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

169,98 (C-5), 161,64 (C-4'), 148,59 (C-2), 137,05 - 114,81 (17 C aromáticos) e 56,01 (OCH₃).

xvi) *1,4-Difenil-5-estiril-1,3,4-triazólio-2-tiolato* (composto 57)



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3058 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 1591 (ν C=C vinílico); 1564 (ν C=N); 1442 (ν C=C aromático); 1348 (ν C-S); 962 (δ =C-H vinílico); 761 e 690 (δ ArC-H no plano – 5H viz).

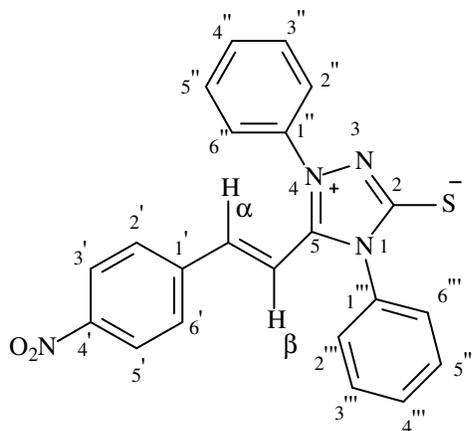
RMN ^1H (DMSO- d_6 , δ)

7,75 – 7,18 (m, 15 H, H-C aromáticos), 6,70 – 6,65 (d, $\text{H}\alpha$, $J_{\text{H}\alpha-\beta} = 20$ Hz) e 6,48 – 6,43 (d, $\text{H}\beta$, $J_{\text{H}\alpha-\beta} = 20$ Hz).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , δ)

170,86 (C-5), 148,17 (C-2), 142,61 (C- α), 136,38 (C-1'''), 135,49 (C-1'), 134,15 (C-1''), 131,05 (C-4''), 130,70 (C-4'), 130,27 (C-3'' e 5''), 129,97 (C-2' e 6'), 129,58 (C-3' e 5'), 129,17 (C-3'' e 5''), 128,68 (C-4'''), 127,88 (C-2''' e 6'''), 126,12 (C-2'' e 6'') e 108,12 (C- β).

xvii) *1,4-Difenil-5-(4'-nitro-estiril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 58)*



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3052 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 1641 (ν C=C vinílico); 1591 (ν C=N); 1502 (ν C-NO₂ e/ou ν C=C aromático); 1461 (ν C=C aromático); 1348 (ν simétrico N=O e ν C-S); 962 (δ =C-H vinílico); 761 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

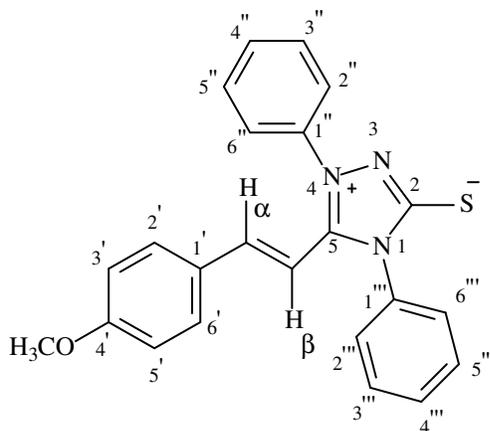
RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

7,94 – 7,36 (m, 14 H, H-C aromáticos), 7,55 – 7,51 (d, H α , J_{H α - β} = 16 Hz) e 6,66 – 6,62 (d, H β , J_{H α - β} = 16 Hz).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

173,83 (C-5), 149,46 (C-4'), 145,82 (C- α), 142,53 (C-2), 140,23 (C-1'), 139,72 (C-1''), 135,93 (C-3''' e 5'''), 134,50 (C-2' e 6'), 133,12 (C-1'''), 130,78 (C-4''), 129,46 (C-3'' e 5''), 128,08 (C-3' e 5'), 126,23 (C-2'' e 6''), 124,20 (C-4'''), 119,46 (C-2''' e 6''') e 114,42 (C- β).

xviii) *1,4-Difenil-5-(4'-metóxi-estiril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 59)*



Infravermelho (KBr; ν cm^{-1})

3060 (ν C-H aromático e/ou vinílico); 2925 (ν C-H alifático); 1629 (ν C=C vinílico); 1594, 1511 e 1421 (ν C=C aromático); 1560 (ν C=N); 1342 (ν C-S); 1251 (ν ArC-O); 1093 (ν O-CH₃); 1027 (confirmação Ar-O-R); 966 (δ =C-H vinílico); 819 (δ ArC-H no plano - 2H viz); 746 e 690 (δ C-H aromático no plano - 5H viz).

RMN ¹H (DMSO-d₆, δ)

7,72 – 7,11 (m, 10 H, H-C aromáticos), 7,55 – 7,52 (d, 2H, $J_{\text{H } 2'-6'} = 10$ Hz), 6,80 – 6,78 (d, 2H, $J_{\text{H } 3'-5'} = 8$ Hz), 6,51 – 6,47 (d, H α , $J_{\text{H } \alpha-\beta} = 16$ Hz) e 6,40 – 6,37 (d, H β , $J_{\text{H } \alpha-\beta} = 16$ Hz),

RMN ¹³C (DMSO-d₆, δ)

170,17 (C-5), 161,63 (C-4'), 148,32 (C- α), 142,31 (C-2), 136,04 (C-1'''), 134,65 (C-1''), 130,13 (C-2' e 6'), 129,75 (C-3''' e 5'''), 129,33 (C-3'' e 5''), 128,68 (C-4'''), 128,35 (C-2''' e 6'''), 126,16 (C-1'), 125,58 (C-2''' e 6'''), 125,45 (C-3' e 5'), 125,18 (C-4''), 115,55 (C- β) e 56,47 (OCH₃).

3.7 Ensaios Químio-biológicos

Os ensaios para avaliação das atividades antioxidante, utilizando o método do DPPH, e inibitória frente à enzima tirosinase foram realizados em placas de 96 poços, em triplicata na presença ou na ausência dos compostos mesoiônicos em diferentes concentrações (6,25 a 50 μM). A densidade óptica foi medida em um leitor tipo ELISA (Thermo Max - Molecular Devices/BioRad), em comprimento de onda igual a 490 nm. Foram realizados, no mínimo, três ensaios independentes, sendo cada concentração em triplicata. Foi utilizado o teste t-Student para a avaliação estatística.

3.7.1 Avaliação da atividade antioxidante

Foram adicionados a cada poço 71 μL de etanol (controle) ou da amostra em concentração variada (6,25 a 50 μM), com exceção dos compostos **46**, **47** e **52** que devido à alta atividade tiveram uma diluição diferenciada (1,56 a 17,5 μM), e 29 μL de DPPH na concentração 300 μM , nesta ordem. Após a adição do DPPH houve um período de espera de 30 minutos na ausência de luz, e após esse período a placa foi levada ao ELISA e a densidade óptica foi medida em um comprimento de onda de 490 nm.

A **Tabela 11** mostra os valores de absorvâncias e concentrações para o derivado **55** como exemplo da metodologia de cálculo utilizada para avaliação da atividade antioxidante.

Tabela 11: Valores de absorvâncias e concentrações para o composto **55** como demonstrativo de cálculo utilizado para a avaliação da atividade antioxidante.

Concentração do composto 55 (μM)	Absorvâncias obtidas em um dos ensaios			Média
	1°	2°	3°	
	Amostra + DPPH			
50	0,213	0,212	0,221	0,21533
25	0,281	0,283	0,285	0,283
12,5	0,306	0,315	0,31	0,31033
6,25	0,36	0,353	0,323	0,34533
Amostra (branco)				
50	0,052	0,055	0,053	0,0533
25	0,06	0,056	0,052	0,056
12,5	0,043	0,049	0,051	0,04767
6,25	0,059	0,06	0,048	0,05567
Controle (DPPH)				
	0,34	0,355	0,39	0,36167

A equação a seguir foi utilizada para o cálculo da porcentagem de inibição:

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

Onde:

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

A_b = Absorbância da média da amostra pura

A_c = Absorbância da média do controle (DPPH)

Como exemplo, a seguir o procedimento para o cálculo do percentual de inibição para o composto **55** na concentração de 50 μM , sendo que as absorvâncias obtidas neste ensaio estão ilustradas na **Tabela 11**.

$$\%AA = 100 - \frac{(0,21533 - 0,0533) \times 100}{0,36167} = 55,2535 \%$$

A partir da porcentagem de inibição calculada para no mínimo três concentrações diferentes foi possível confeccionar os gráficos (concentração x porcentagem de inibição), e utilizando o modelo matemático de regressão linear foram calculados os valores de EC_{50} (concentração efetiva que seqüestra 50 % da concentração de DPPH) conforme ilustrado na **Figura 13** para o derivado **55**.

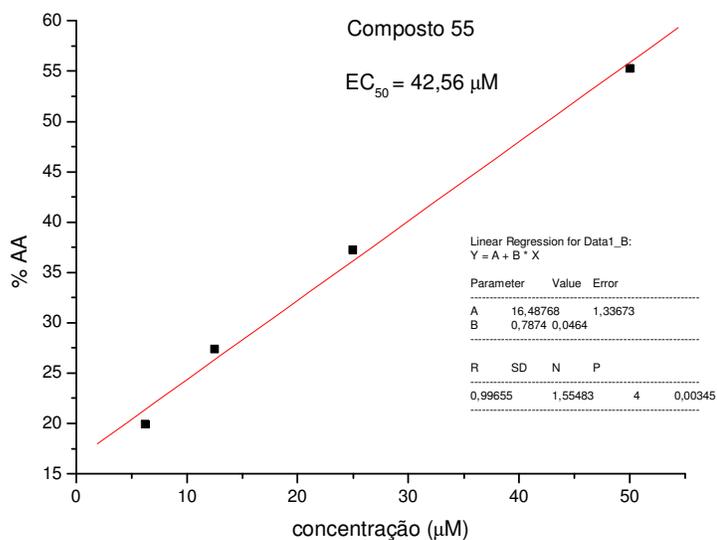


Figura 13: Exemplo de cálculo do valor de EC_{50} (μM) para o derivado **55**.

3.7.2 Avaliação da inibição da atividade da tirosinase

Foram adicionados aos poços 175 μL do substrato da tirosinase (L-dopa) a uma concentração de 2 mM, 20 μL de DMSO (controle) ou da amostra com concentração que variou entre 6,25 a 50 μM e 5 μL da enzima (2 mM, tirosinase) nesta ordem. O ácido Kójico, na concentração de 100 μM , foi utilizado como controle positivo. Após a adição da enzima houve um período de espera de 30 minutos na ausência de luz, e posteriormente, a placa foi levada ao ELISA e a densidade óptica foi medida em um comprimento de onda de 490 nm.

Os dados de absorvância obtidos por esse método tiveram os mesmos tratamentos realizados no teste de antioxidante descrito acima, como exemplo a **tabela 12** ilustra as absorvâncias obtidas em um dos ensaios para o composto **61**.

Tabela 12: Valores de absorvâncias e concentrações para o composto **61** como demonstrativo de cálculo utilizado para a avaliação da atividade antitirosinase.

Concentração do composto 61 (μM)	Absorvâncias obtidas em um dos ensaios			Média
	1°	2°	3°	
Amostra + Enzima				
50	0,429	0,386	0,129	0,314667
25	0,489	0,555	0,366	0,47
12,5	0,36	0,502	0,485	0,449
6,25	0,649	0,496	0,561	0,568667
Amostra (branco)				
50	0,081	0,08	0,07	0,077
25	0,089	0,118	0,092	0,099667
12,5	0,071	0,071	0,068	0,07
6,25	0,107	0,073	0,089	0,089667
Controle (enzima)				
	0,565	0,592	0,666	0,607667

A equação usada no ensaio para avaliação da atividade antioxidante foi utilizada para o cálculo da porcentagem de inibição da tirosinase para cada concentração ensaiada. Abaixo, um exemplo para o cálculo do percentual de inibição para o composto **61** na concentração de 50 μM , sendo que as absorvâncias obtidas neste ensaio estão ilustradas na **Tabela 12**.

$$\%AA = 100 - \frac{(0,314667 - 0,077) \times 100}{0,607667} = 60,888 \%$$

Assim como no ensaio anterior foi possível confeccionar os gráficos (concentração x porcentagem de inibição) a partir da porcentagem de inibição calculada para no mínimo três concentrações diferentes obtendo-se os valores de IC_{50} (concentração efetiva que inibi 50 % da atividade da enzima) por regressão linear, conforme ilustrado na **Figura 14** para o derivado **61**.

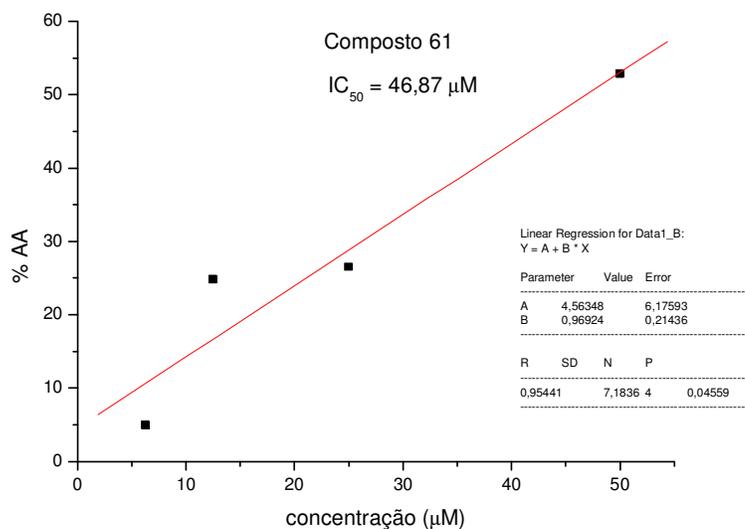


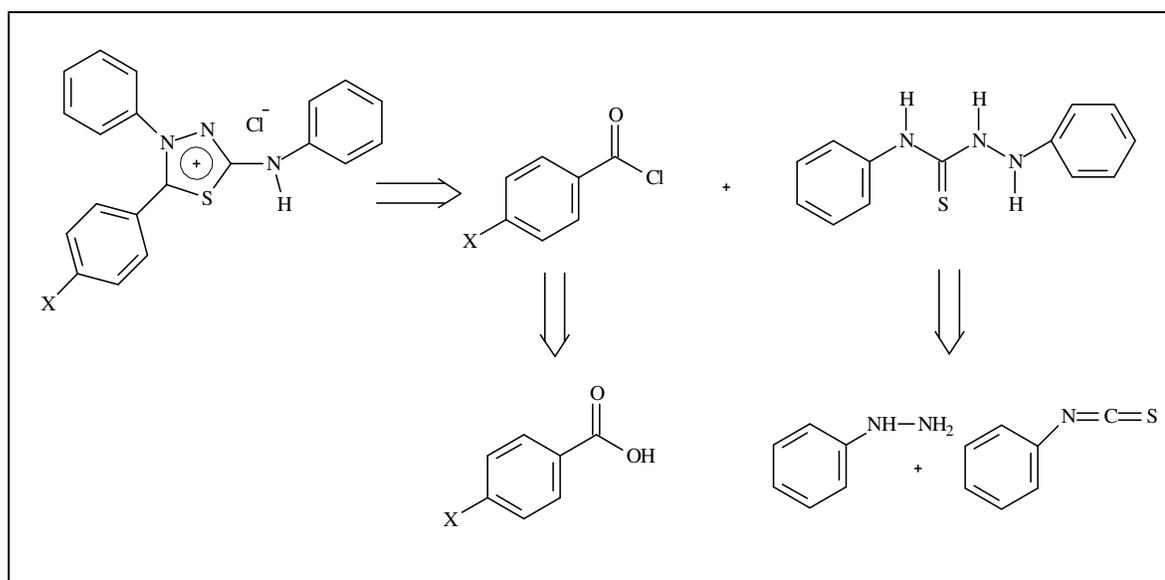
Figura 14: Exemplo de cálculo do valor de IC_{50} (μM) para o derivado **61**.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

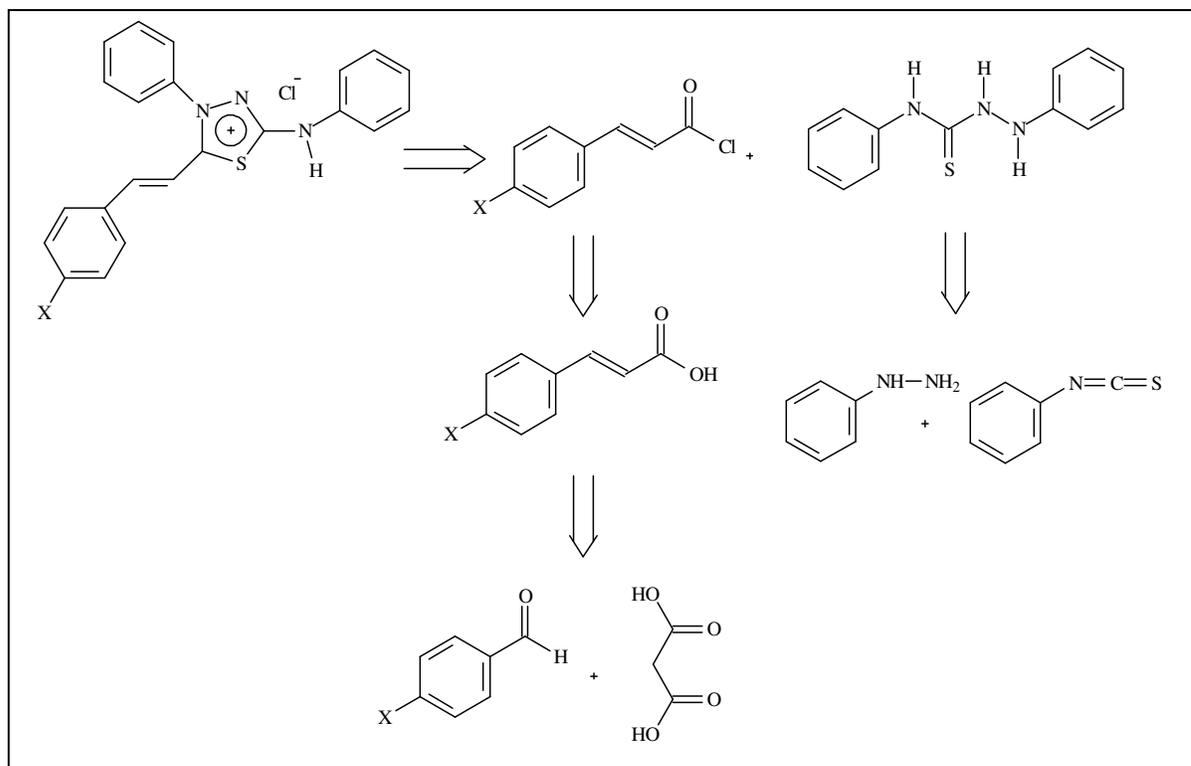
4.1 Síntese

4.1.1 Compostos mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminidas

A estratégia utilizada para a síntese dos compostos mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminida e seus isômeros estudados neste trabalho seguiu um padrão de convergência onde primeiramente foi sintetizada a tiossemicarbazida em paralelo com a preparação dos cloretos dos ácidos substituídos. Em seguida, foi realizada a reação de anidroacilação entre a tiossemicarbazida e os respectivos cloretos de ácido dando origem aos cloretos derivados dos compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (MACIEL *et al.*, 1998) conforme mostrado nos **Esquemas 17 e 18**. Posteriormente, estes sais foram neutralizados por uma base dando origem aos correspondentes mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, que por fim, foram os precursores para o estudo do rearranjo molecular que levou aos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato.



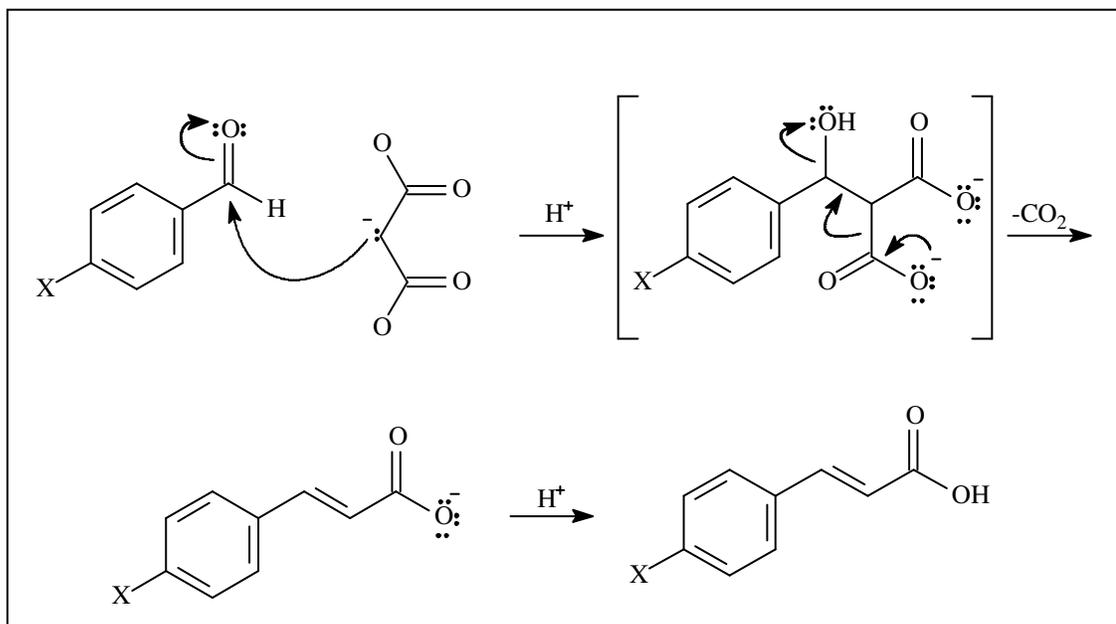
Esquemas 17: Retrossíntese para a obtenção dos cloretos mesoiônicos preparados a partir do ácido benzóico substituído.



Esquemas 18: Retrossíntese para a obtenção dos cloridratos mesoiônicos preparados a partir do ácido cinâmico substituído.

A 1,4-difeniltiossemicarbazida foi sintetizada pela reação entre o isotiocianato de fenila e a fenil-hidrazina em tolueno anidro, se apresentando como um sólido branco com textura similar ao do isopor. O produto da reação apresentou um alto rendimento (78 %) e alto grau de pureza sem ter a necessidade de passar por nenhum método de purificação (SANTOS, 1993).

A preparação dos ácidos cinâmicos foi feita através da reação de condensação de Knoevenagel-Dobner a partir do benzaldeído, adequadamente substituído, com ácido malônico na presença de piperidina e piridina como catalisadores, o **Esquema 19** mostra o mecanismo sugerido para esta reação. Os ácidos cinâmicos foram obtidos com rendimentos na faixa de 90 – 98 % e purificados por recristalização em etanol (SANTOS & ECHEVARRIA, 2001).

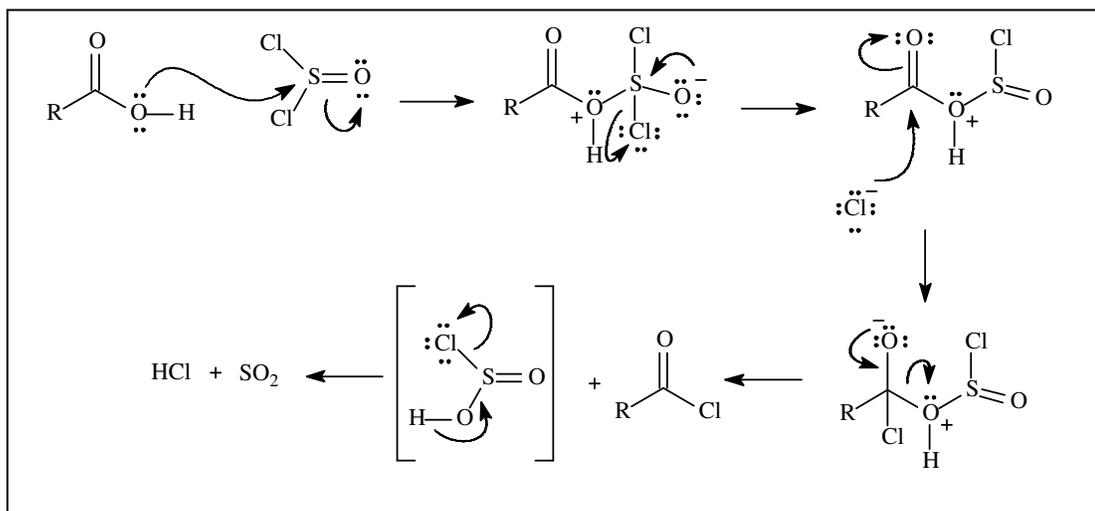


Esquema 19: Mecanismo de reação sugerido para a reação de obtenção dos ácidos cinâmicos substituídos (SANTOS & ECHEVARRIA, 2001).

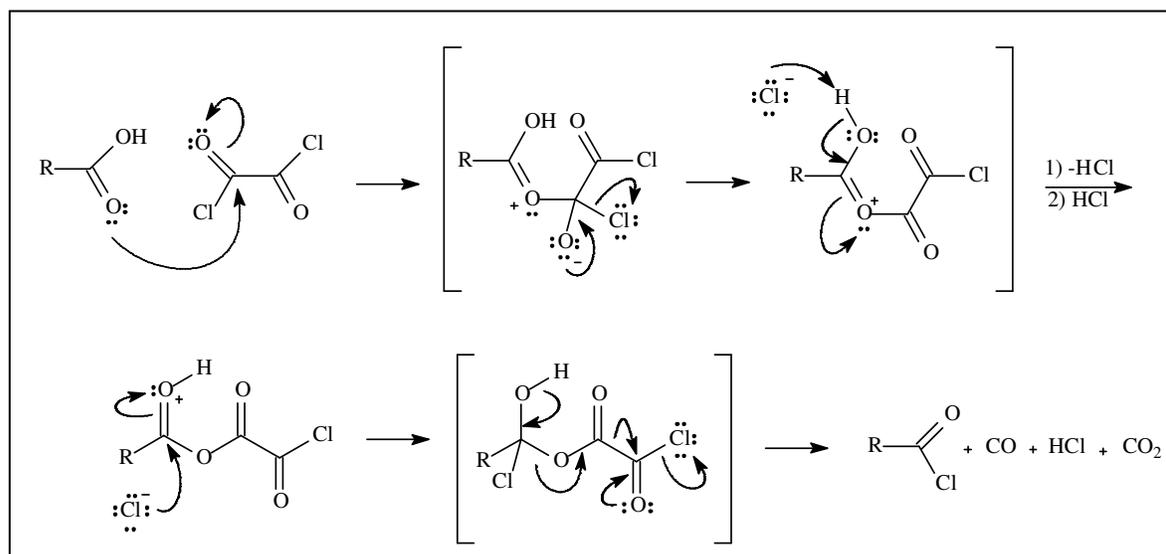
Os cloretos de ácido substituídos foram preparados a partir da reação clássica entre os ácidos carboxílicos correspondentes e o cloreto de tionila (VOGEL, 1989) no caso dos derivados fenílicos, pois para os derivados dos ácidos cinâmicos foi utilizado cloreto de oxalila (SHIMADA *et al.*, 2006) uma vez que este reagente apresenta maior facilidade técnica para a obtenção dos produtos do que o cloreto de tionila. O cloreto de oxalila foi unicamente utilizado para a obtenção dos cloretos dos ácidos cinâmicos, devido à sua disponibilidade no laboratório somente após a preparação dos mesoiônicos fenílicos. Nestas reações, os ácidos carboxílicos e o cloreto de tionila foram misturados e postos em refluxo por no mínimo 4 horas, sendo que logo após a mistura reacional foi destilada para a retirada do excesso do agente halogenante, sendo necessário em algumas vezes, o uso de vácuo. Por apresentarem alta reatividade os cloretos de ácido sintetizados não foram purificados por nenhuma técnica, sendo todos considerados puros pelo acompanhamento por CCF (através da formação instantânea do éster metílico, pela reação com metanol utilizado como eleuente), e usados logo em seguida, após remoção do excesso de cloreto de tionila.

No caso do uso do cloreto de oxalila, este foi misturado em pequeno excesso molar com o ácido carboxílico, à temperatura ambiente, podendo ou não a se adicionar algumas gotas de DMF para catalisar a reação e um solvente anidro para homogenizar a mistura. A reação foi rápida e, em torno de 2 horas o produto desejado foi obtido, sendo em seguida o excesso de

cloreto de oxalila facilmente removido em evaporador rotatório. Nos **Esquemas 20** e **21** são mostrados os mecanismos de reação propostos para a formação dos cloretos de ácido pelos dois métodos utilizados, respectivamente.

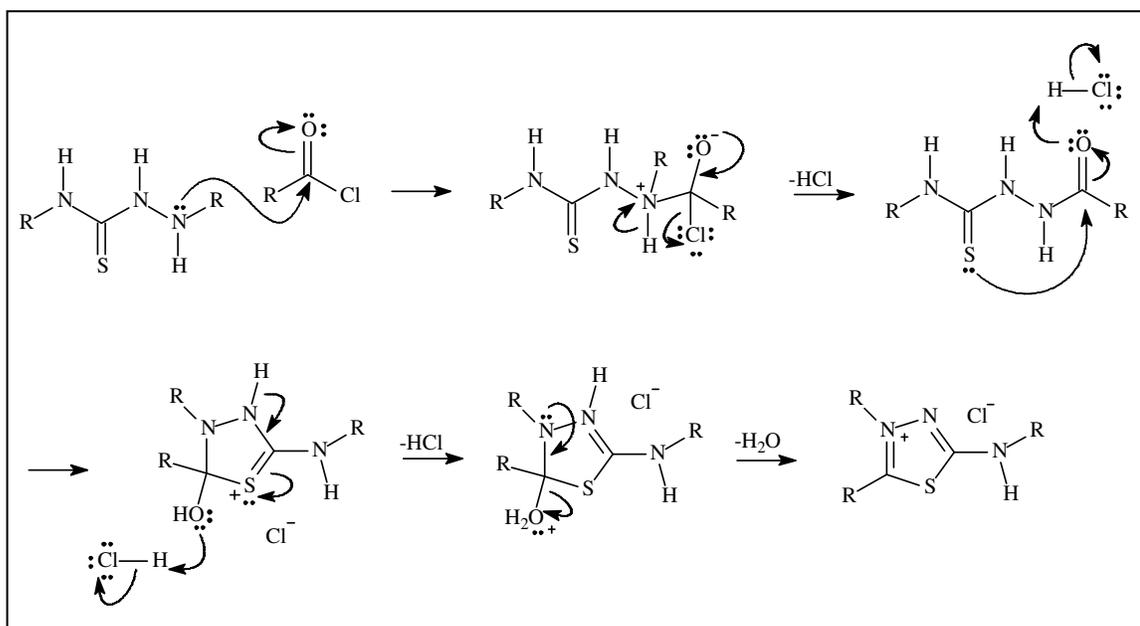


Esquema 20: Mecanismo de reação proposto para a obtenção dos cloretos de ácidos utilizando cloreto de tionila (MARCH, 1985).



Esquema 21: Mecanismo de reação proposto para a obtenção dos cloretos de ácidos utilizando cloreto de oxalila (MARCH, 1985).

Os cloretos de mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminida foram relativamente rápidos de serem preparados, pois as reações simplesmente ocorrem com a mistura de uma solução de 1,4-difeniltiossemicarbazida com outra solução do cloreto de ácido desejado sempre com agitação constante em meio anidro. Os produtos obtidos foram sólidos de coloração que variou de amarelo a laranja-avermelhado, os rendimentos desta etapa foram relativamente bons variando entre 55 a 78 %, e os pontos de fusão obtidos foram comparados com a literatura (DA SILVA, 2007). O **Esquema 22** demonstra o mecanismo sugerido para a formação dos compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na forma de cloridratos onde há 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 **Tabela 13** mostra os pontos de fusão e rendimentos obtidos para cada composto mesoiônico.

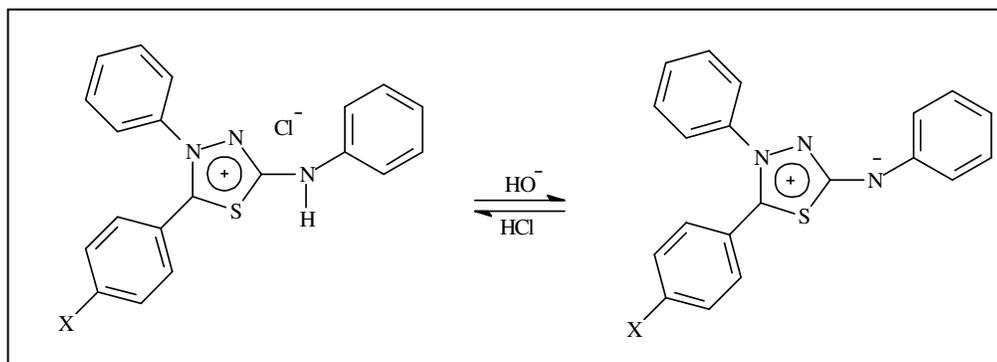


Esquema 22: Mecanismo da reação sugerido para a formação dos compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na forma de cloridratos.

Tabela 13: Rendimentos obtidos para os sais dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

Compostos	Sais Mesoiônicos (X)	Rendimento (%)
42	H	78
43	4'-NO ₂	73
44	4'-OCH ₃	58
45	H-estiril	78
46	4'-NO ₂ -estiril	55
47	4'-OCH ₃ -estiril	58

Os compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida ou bases livres também foram rapidamente obtidos pela neutralização de seus respectivos sais com base, tal como o hidróxido de sódio ou o bicarbonato de potássio, não havendo diferença em função da base utilizada no processo. Outro fato interessante sobre a preparação das bases livres foi a questão de não haver necessidade de purificação, uma vez que os sais precursores estejam puros já que eles são totalmente neutralizados, mas para isso foi necessário que o número de moles do sal fosse igual ao da base. Além disso, se o número de moles da base for maior poderá haver o rearranjo da base livre para seu correspondente isômero tiolato. Os produtos obtidos nesta etapa foram todos sólidos de coloração principalmente violeta com exceção dos derivados com substituintes metóxi que possuem uma coloração avermelhada, os rendimentos variam de bons a excelentes (59 a 93%). Uma observação importante a ser apresentada é que os pontos de fusão dos derivados da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (bases livres) não foram determinados, pois o aquecimento os transforma em seus correspondentes 1,3,4-triazólio-2-tiolatos, obtendo-se assim os pontos de fusão destes seus respectivos isômeros termodinamicamente mais estáveis. O **Esquema 23** mostra a reação de equilíbrio entre o cloridrato e sua forma livre dos compostos mesoiônicos derivados da classe tiadiazólio-aminida, e a **Tabela 14** apresenta os rendimentos obtidos para esses produtos.



Esquema 23: Reação de equilíbrio entre o cloridrato e sua forma livre dos mesoionicos derivados da classe tiadiazólio-aminida.

Tabela 14: Rendimento dos derivados obtidos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida.

Compostos	Tiadiazólio-aminidas	Rendimento
	(X)	(%)
48	H	73
49	4'-NO ₂	93
50	4'-OCH ₃	84
51	H-estiril	88
52	4'-NO ₂ -estiril	74
53	4'-OCH ₃ -estiril	59

4.1.2 Compostos mesoiônicos da classe triazólio-tiolatos

Os compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato (na forma de bases livres) foram sintetizados através de dois métodos. O primeiro consistiu em promover o seu rearranjo molecular (1,3,4-tiadiazólio-2-aminida) aos seus correspondentes tiolatos pelo método já descrito na literatura, ou seja com a ajuda de um solvente nucleofílico e calor (refluxo), sendo que no caso deste trabalho foram utilizadas soluções dos compostos mesoiônicos em metanol (MAIA & ECHEVARRIA, 2005).

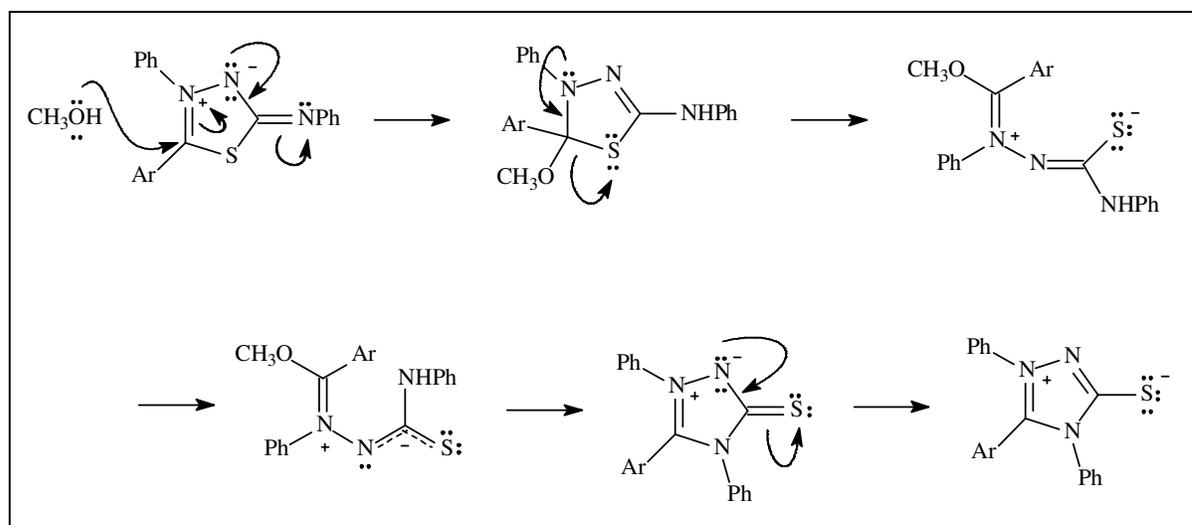
O segundo método consistiu em promover o rearranjo molecular utilizando as bases livres (derivados 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida) sob a irradiação de microondas com o uso de

cloreto de zinco como catalisador, um ácido de Lewis, e ainda na presença de gel de sílica como suporte sólido para que houvesse uma maior interação entre os reagentes.

As duas metodologias acima descritas levaram à obtenção dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato em rendimentos quantitativos. Essas duas metodologias foram também utilizadas com os sais dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. No entanto, o primeiro método levou aos produtos do rearranjo molecular em baixo rendimento, em torno de 3 %, e considerando o segundo método observou-se uma forte interação dos sais com o gel de sílica, não sendo possível a extração dos produtos, supostamente formados devido à visível mudança característica da coloração.

Ademais, foram também realizadas reações utilizando o método do rearranjo molecular sob a irradiação de microondas sem a presença do suporte sólido, mas os produtos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato foram obtidos com rendimentos muito inferiores, indicando a menor interação entre o catalisador e o precursor do tiolato seja o sal ou a base livre.

Houve ainda o estudo do rearranjo molecular em banho de ultra-som em solvente nucleofílico com e sem a presença do cloreto de zinco, mas não foi evidenciado nenhum produto do rearranjo utilizando esta metodologia. O **Esquema 24** mostra o mecanismo de isomerização proposto para o rearranjo dos compostos mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminida para a dos triazólio-tiolatos utilizando-se o refluxo em metanol.

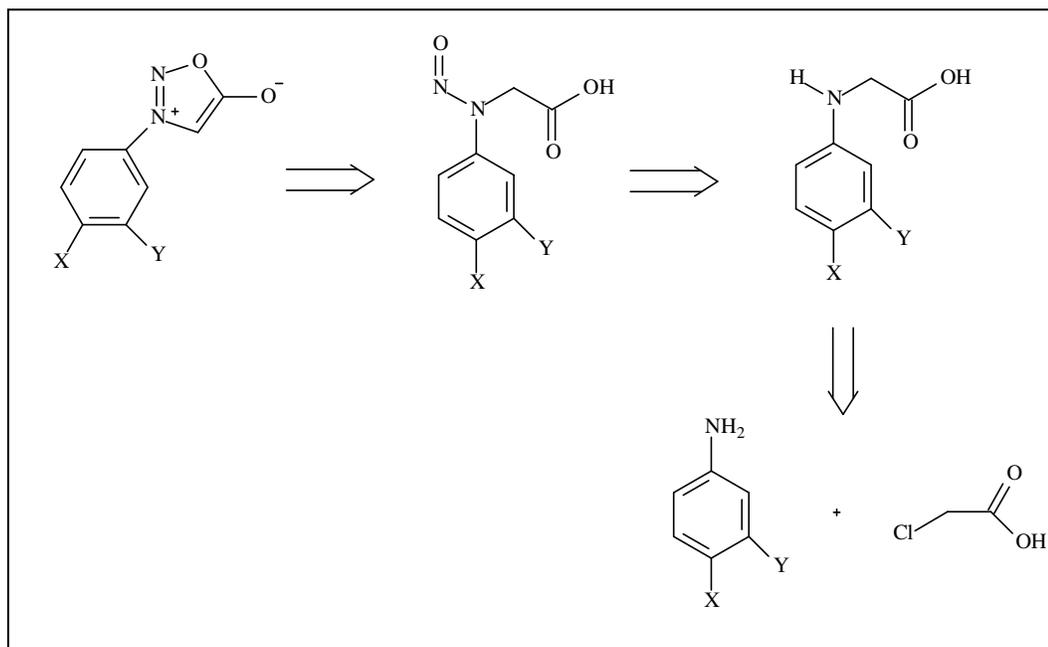


Esquema 24: Isomerização do composto mesoiônico da classe tiadiazólio-aminida para a classe triazólio-tiolato na presença de solvente nucleofílico (MONTANARI, 1991; MACIEL, 1991).

A obtenção dos derivados da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolatos através do rearranjo molecular envolvendo os correspondentes derivados 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas empregando, na última etapa de síntese, a irradiação sob microondas foi extremamente eficiente. Esta metodologia levou à obtenção dos produtos desejados em apenas 3 minutos comparando-se com o método tradicional que envolveu, na última etapa, refluxo por 8 horas. Esta metodologia está sendo descrita pela primeira vez neste trabalho de dissertação de mestrado.

4.1.3 Compostos mesoiônicos da classe oxadiazólio-olatos

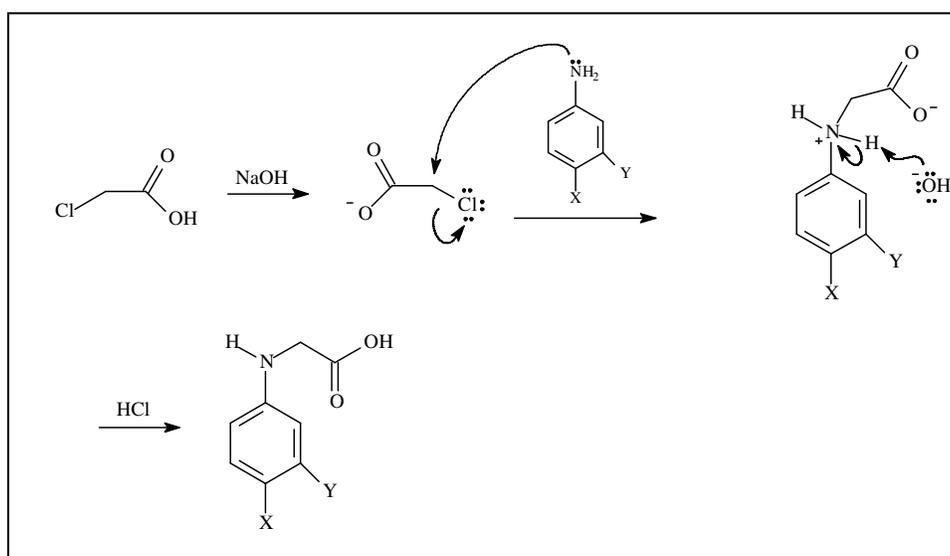
Para os derivados mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato, ou seja as sidnonas, a rota sintética escolhida foi a clássica desidratação de nitroso-glicinas (OGATA *et al.*, 1974). O **Esquema 25** mostra o esquema de síntese utilizado.



Esquema 25: Retrossíntese para a obtenção dos mesoiônicos oxadiazólio-olatos preparados a partir do ácido monocloroacético e uma amina aromática devidamente substituída.

A primeira etapa dessa rota consistiu na reação entre uma amina aromática e o ácido monocloroacético originando a glicina correspondente. A reação ocorreu com maior ou menor

facilidade dependendo da natureza da amina, sendo que no caso de aminas aromáticas em geral grupos doadores de elétrons facilitaram a reação e retiradores a dificultaram levando assim, à necessidade de um tempo de reação diferenciado dependendo do substituinte. Todos os produtos desta primeira etapa foram obtidos como sólidos de coloração variada entre o amarelo e vermelho, e o rendimento ficou compreendido entre 36 – 79 %. O **Esquema 26** mostra o mecanismo proposto de reação para obtenção das glicinas substituídas pela metodologia indicada, e a **Tabela 15** apresenta os rendimentos obtidos para as glicinas substituídas preparadas neste trabalho.

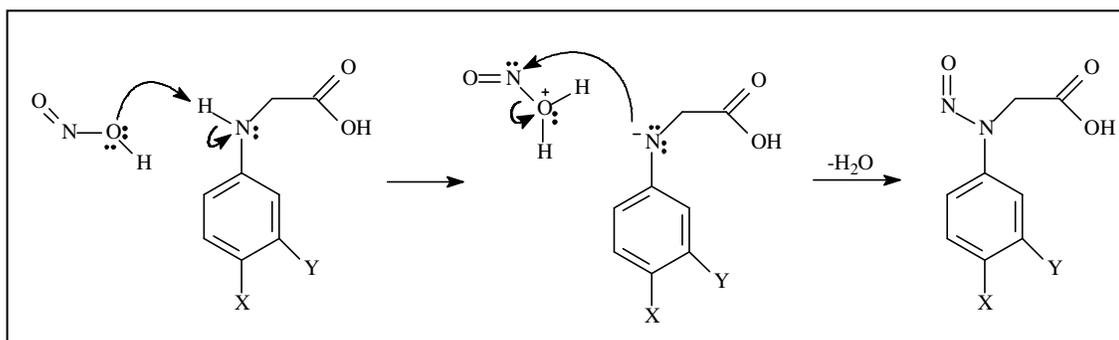


Esquema 26: Mecanismo de reação proposto para a formação das glicinas substituídas.

Tabela 15: Rendimentos obtidos na preparação das glicinas substituídas.

Compostos	N-fenil-glicina		Rendimentos (%)
	X	Y	
32	H	H	56
33	Cl	NO ₂	79
34	NO ₂	H	40
35	Me	H	36
36	OMe	H	70

A segunda etapa, conforme apresentado na **Figura 36**, consistiu na nitroação da glicina. Nessa etapa foi importante que a glicina estivesse finamente pulverizada, de preferência totalmente solubilizada, e que tanto a solução da glicina quanto a solução de nitrito estivessem a uma temperatura no mínimo próxima de 0 °C para evitar a perda do ácido nitroso formado. A reação ocorreu rapidamente e os produtos obtidos apresentaram rendimentos que variaram entre 41 – 80 %. As nitroso-glicinas, também se apresentaram na forma sólida de coloração semelhante às das glicinas. O **Esquema 27** mostra o mecanismo de reação para a preparação das nitroso-glicinas substituídas e a **Tabela 16** indica os rendimentos obtidos para estes produtos.

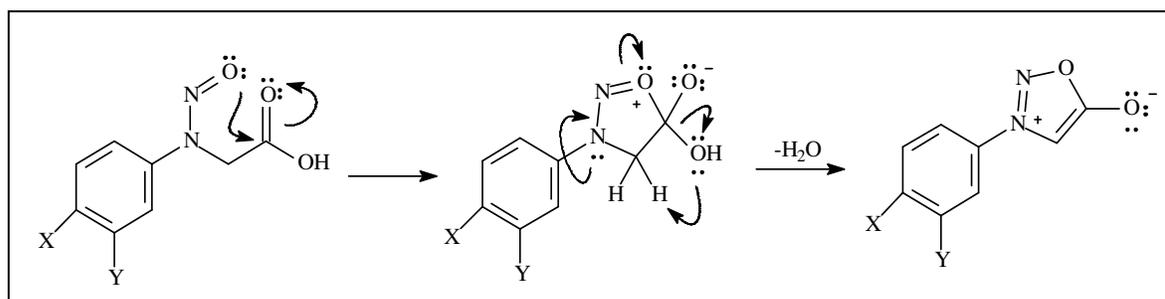


Esquema 27: Mecanismo de reação proposto para a formação das nitroso-glicinas substituídas.

Tabela 16: Rendimentos obtidos na preparação das nitroso-glicinas substituídas.

Compostos	N-nitroso-glicinas		Rendimento (%)
	X	Y	
37	H	H	80
38	Cl	NO ₂	79
39	NO ₂	H	41
40	Me	H	44
41	OMe	H	58

A última etapa da síntese dos compostos mesoiônicos 1,2,3-oxadiazólio-5-olatos foi a desidratação das correspondentes nitroso-glicinas, e para esse fim foi utilizado o anidrido acético, com exceção do composto **19** onde houve a necessidade do uso do anidrido trifluoroacético devido à baixa reatividade do intermediário frente ao anidrido acético. Após a reação ter sido finalizada foi necessário a adição de água para decompor o anidrido em excesso obtendo-se dessa maneira os compostos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazólio-5-olato ou sidnonas. Os rendimentos foram relativamente bons, na faixa de 60 - 88 %. O **Esquema 28** mostra o mecanismo de reação sugerido para obtenção das sidnonas substituídas por desidratação da nitroso-glicina e a **Tabela 17** apresenta os rendimentos obtidos.



Esquema 28: Mecanismo de reação proposto para a formação das sidnonas substituídas.

Tabela 17: Rendimentos obtidos na preparação das sidnonas substituídas.

Compostos	Sidnonas		Rendimento (%)
	X	Y	
60	H	H	70
61	Cl	NO ₂	75
62	NO ₂	H	88
63	Me	H	80
64	OMe	H	60

4.2 Caracterização dos compostos mesoiônicos

Neste trabalho foram sintetizados 23 (vinte e três) compostos mesoiônicos, sendo 6 na forma de sais e 17 como bases livres, caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, ultravioleta e RMN de ^1H e ^{13}C , com exceção das sidnonas (**60** - **64**) que sendo já conhecidas foram identificadas por ponto de fusão. Quanto aos compostos intermediários pelo fato de serem já bem conhecidos foram caracterizados por ponto de fusão em comparação com a literatura.

Os sais sintetizados neste trabalho pertencentes à classe 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas (**42** - **47**), bem como as bases livres dos derivados fenil-substituídos (**48** - **50**) e os seus isômeros tiolatos (**54** - **56**) tiveram suas estruturas já estudadas anteriormente e descritas na literatura sendo então apenas destacados os deslocamentos químicos de hidrogênio e carbono-13 mais característicos (MACIEL *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; DA SILVA, 2007; REIS, 2008).

Os produtos mesoiônicos da série 4-fenil-5-(4'-X-estiril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida, onde X = H, NO_2 e OMe (**51** - **53**) e os correspondentes triazólio-2-tiolatos (**57** - **59**), que estão sendo descritos pela primeira vez neste trabalho, foram caracterizados com maior detalhamento, incluindo todos os valores de deslocamentos químicos, principalmente de RMN ^{13}C , sendo que suas atribuições foram realizadas por comparação com os outros compostos mesoiônicos já conhecidos.

Além disso, a utilização da espectroscopia na região do ultravioleta (UV) e os pontos de fusão são importantes para a confirmação da ocorrência do rearranjo, uma vez que seus precursores, tanto os sais quanto as bases livres apresentam diferenças características.

4.2.1 Infravermelho

Os espectros de infravermelho dos compostos sintetizados indicaram, para os produtos mesoiônicos, absorções características nas faixas correspondentes aos grupos N-H, no caso dos cloridratos, em 3400 cm^{-1} , $\text{C}=\text{NH}^+$ em 2600 cm^{-1} e $\text{C}=\text{N}$ em 1560 cm^{-1} . No caso dos derivados tiolatos a absorção característica foi observada em 1350 cm^{-1} devido ao grupo exocíclico $\text{C}-\text{S}^-$.

Considerando-se os derivados contendo o grupo estiril foram observadas, também, absorções características para os grupamentos $\text{C}=\text{C}$ vinílico em 1600 cm^{-1} , além das bandas

típicas referentes às ligações C-H e C=C aromáticas indicando o perfil de substituição, mas praticamente os espectros de infravermelho não se mostraram muito diferentes entre si, devido à semelhança estrutural dos compostos estudados.

4.2.2 Ultravioleta

Os espectros de UV foram obtidos em acetonitrila (CH_3CN) grau espectroscópico em soluções de concentração da ordem de 10^{-4} mol/L. Os compostos mesoiônicos sintetizados apresentaram cores características fazendo com que fossem facilmente distinguíveis em sua forma de cloridrato, base livre ou tiolato apenas pela visualização. Por exemplo, os compostos **24**, **30** e **36** que são respectivamente o sal, a base livre e o tiolato, apresentaram cores bem diferentes: amarelo, roxo e laranja, respectivamente, indicando diferentes níveis de conjugação eletrônica para cada uma das formas, gerando assim espectros de UV distintos. Logo a metodologia utilizada para o estudo do rearranjo molecular possibilitou o acompanhamento da reação de isomerização do sistema tiadiazólio-aminida (base livre) para o correspondente triazólio-tiolato, uma vez que suas absorções máximas são diferentes o suficiente para permitir tal análise.

A **Figura 15** mostra os espectros de UV para os derivados **43**, **49** e **55**, como exemplo dos perfis observados para cada composto.

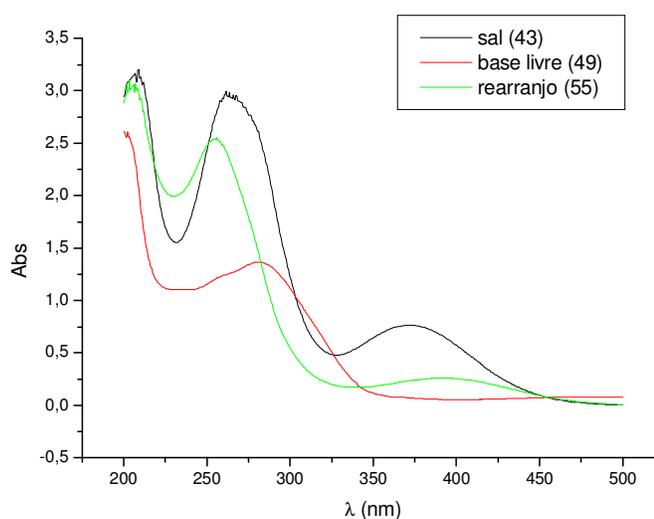


Figura 15. Espectros de UV dos derivados **43**, **49** e **55** sobrepostos indicando a diferença nos perfis observados.

A **Tabela 18** indica os comprimentos de onda correspondentes aos máximos de absorção e os valores de ϵ_{\max} para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato.

Tabela 18: Comprimentos de onda máximos de absorção e os valores de ϵ_{\max} para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato.

Composto	X	λ_{\max}	ϵ_{\max}
Sais mesoiônicos			
42	H	353	9508
		258	31141
43	NO ₂	373	7623
		264	29360
44	OCH ₃	365	15142
		260	21641
45	H-estiril	395	11583
		275	22152
46	NO ₂ -estiril	404	7261
		328	13018
		257	10498
47	OCH ₃ -estiril	413	3324
		310	19655
		227	20529

continua

Tabela 18: Comprimentos de onda máximos de absorção e os valores de ϵ_{\max} para os mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato.

Composto	X	λ_{\max}	ϵ_{\max}
Tiadiazólio-aminidas			
48	H	333	2042
		233	14926
49	NO ₂	282	13563
50	OCH ₃	430	3781
		236	27584
51	H-estiril	403	2524
		279	9342
52	NO ₂ -estiril	509	4423
		314	13094
		263	18948
53	OCH ₃ -estiril	392	7205
		325	13826
		233	15607
Triazólio-tiolatos			
54	H	334	2855
		232	21853
55	NO ₂	395	2595
		254	25330
56	OCH ₃	329	4956
		255	28531
57	H-estiril	396	3043
		268	11509
58	NO ₂ -estiril	312	4050
59	OCH ₃ -estiril	261	8230
		236	13160

4.2.3 RMN de ^1H e de ^{13}C

Os espectros de RMN de ^1H pouco informaram sobre as estruturas dos compostos mesoiônicos devido à presença de três anéis aromáticos, sendo dois deles com hidrogênios com deslocamentos químicos muito próximos por possuírem ambientes químicos similares envolvendo o átomo de nitrogênio, com exceção do sal que apresenta um hidrogênio amínico. Mas ainda assim, pôde ser observado uma pequena diferença, para os deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida (δ 7,76 a 6,94), quando comparados com os dos sais correspondentes (δ 8,12 a 6,82).

No caso dos derivados da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato, os deslocamentos químicos dos hidrogênios aromáticos foram bem diferentes possibilitando a distinção entre os dois isômeros, ou seja, δ 7,76 a 6,94 para os tiadiazólios e δ 7,75 a 7,11 para os triazólios. A absorção dos hidrogênios aromáticos em campo mais baixo, no caso dos sais, foi mais significativa para os hidrogênios do anel aromático ligados ao C-5 do heterocíclico, devido à redução da densidade eletrônica. Além disso, também puderam ser ainda identificados os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos anéis aromáticos que possuem substituintes na posição *para*.

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.

Os carbonos C- α e C- β , para os produtos mesoiônicos que apresentam o grupo estiril (**45-47**, **51-53**, **57-59**), tiveram deslocamentos químicos refletindo o efeito retirador de elétrons do anel heterocíclico, ou seja, o C- α mostrou-se sempre mais desprotegido, enquanto que o C- β mais protegido.

Os deslocamentos químicos para os carbonos em posição *ipso* ao grupo substituinte também foram observados. Para os compostos mesoiônicos substituídos com grupos doadores de elétrons (**44**, **47**, **50**, **53**, **56**, **59**) as absorções apresentaram-se em campo mais baixo comparando-se com os derivados substituídos com grupos retiradores de elétrons (**43**, **46**, **49**, **52**, **55**, **58**) conforme esperado.

A **Tabela 19** mostra os deslocamentos químicos de C-13 para os derivados estiril-susbtituídos.

Tabela 19: Deslocamentos químicos (δ) dos sinais característicos de RMN ^{13}C para os derivados mesoiônicos estiril-susbtituídos inéditos.

	MESOIÔNICOS (X)	δ C-5	δ C-2	δ C- <i>ipso</i>	δ C- α	δ C- β
51	H-estiril	171,79	144,60	-	142,40	106,09
52	4'-NO ₂ -estiril	171,52	147,44	147,15	145,44	112,26
53	4'-OCH ₃ -estiril	170,92	146,07	162,00	142,31	105,89
57	H-estiril	170,86	148,17	-	142,61	108,12
58	4'-NO ₂ -estiril	173,83	142,53	149,46	145,46	114,42
59	4'-OCH ₃ -estiril	170,17	142,31	161,63	148,32	115,55

4.3 Avaliação da atividade antioxidante

Vários processos metabólicos do corpo humano podem produzir radicais livres ou outras espécies reativas como subproduto. A superprodução de tais radicais livres pode causar dano oxidativo a biomoléculas, como por exemplo, a lipídeos, proteínas e DNA, eventualmente levando a muitas doenças crônicas, tais como câncer, diabetes, e outras de natureza degenerativa em humanos (CAI *et al.*, 2003).

Os radicais livres também causam o processo de deterioração em produtos alimentícios, o que significa que mudanças podem ocorrer no sabor, cor e textura do produto, e além de poder levar a perda do valor nutritivo ou completa deterioração (MILIAUSKAS *et al.*, 2004).

Na natureza uma gama de moléculas com poder seqüestrante de radicais livres pode ser encontrada em diversas plantas (frutas, vegetais, ervas medicinais, etc), tais como compostos fenólicos (i.e flavonóides, cumarinas, quinonas), compostos nitrogenados (alcalóides, aminas), vitaminas e terpenóides, tais moléculas podem ser consideradas possuidoras de alta atividade antioxidante (CAI *et al.*, 2003).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que esses compostos antioxidantes possuem atividades antiinflamatória, anti-carcinogênica, bactericida, anti-tumor, anti-mutagênica ou anti-

viral com um maior ou menor grau (HALLIWELL, 1994; MITSCHER *et al.*, 1996; OWEN *et al.*, 2000; SALA *et al.*, 2002).

Estes fatos estimularam a pesquisa sobre a possível ação antioxidante para os compostos mesoiônicos obtidos neste trabalho de dissertação. Para tal fim foi importante a escolha e o emprego de um método estável e rápido para análise da atividade antioxidante. Muitos métodos foram desenvolvidos para analisar a capacidade seqüestrante de radicais livres, sendo que um dos mais utilizados e seguros envolve a determinação do desaparecimento dos radicais livres usando um espectrofotômetro, tal como o radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) (MILLER *et al.*, 1993).

Como já foi mencionado, no tópico de Material e Métodos, os ensaios para avaliação da atividade antioxidante, utilizando o método do DPPH foram realizados em placas de 96 poços em triplicata em diferentes concentrações compreendidas entre 6,25 a 50 μM , com exceção dos compostos **46**, **47** e **52**. Após a adição do DPPH e o período de espera foi realizada a leitura das densidades ópticas em espectrofotômetro do tipo Elisa. Com os dados de absorbância foram calculados os percentuais de inibição e a partir destes calculados os EC_{50} . Os valores de EC_{50} (μM) obtidos como resultados estão apresentados na **Tabela 20**.

Tabela 20: Valores de EC₅₀ e seus respectivos desvios padrões para os compostos avaliados quanto à atividade antioxidante.

Composto	X	EC₅₀ ± dp*
Sais mesoiônicos		
42	H	29,69 ± 0,85
43	NO ₂	14,40 ± 2,30
44	OCH ₃	28,07 ± 0,94
45	H-estiril	18,83 ± 2,49
46	NO ₂ -estiril	2,45 ± 0,17
47	OCH ₃ -estiril	5,52 ± 0,91
Tiadiazólio-aminidas		
48	H	36,31 ± 3,05
49	NO ₂	37,68 ± 2,48
50	OCH ₃	42,90 ± 2,88
51	H-estiril	30,00 ± 6,93
52	NO ₂ -estiril	9,29 ± 0,97
53	OCH ₃ -estiril	55,23 ± 4,29
Triazólio-tiolatos		
54	H	49,01 ± 1,23
55	NO ₂	41,36 ± 2,54
56	OCH ₃	43,72 ± 2,75
57	H-estiril	40,24 ± 0,38
58	NO ₂ -estiril	34,43 ± 1,55
59	OCH ₃ -estiril	47,53 ± 2,92

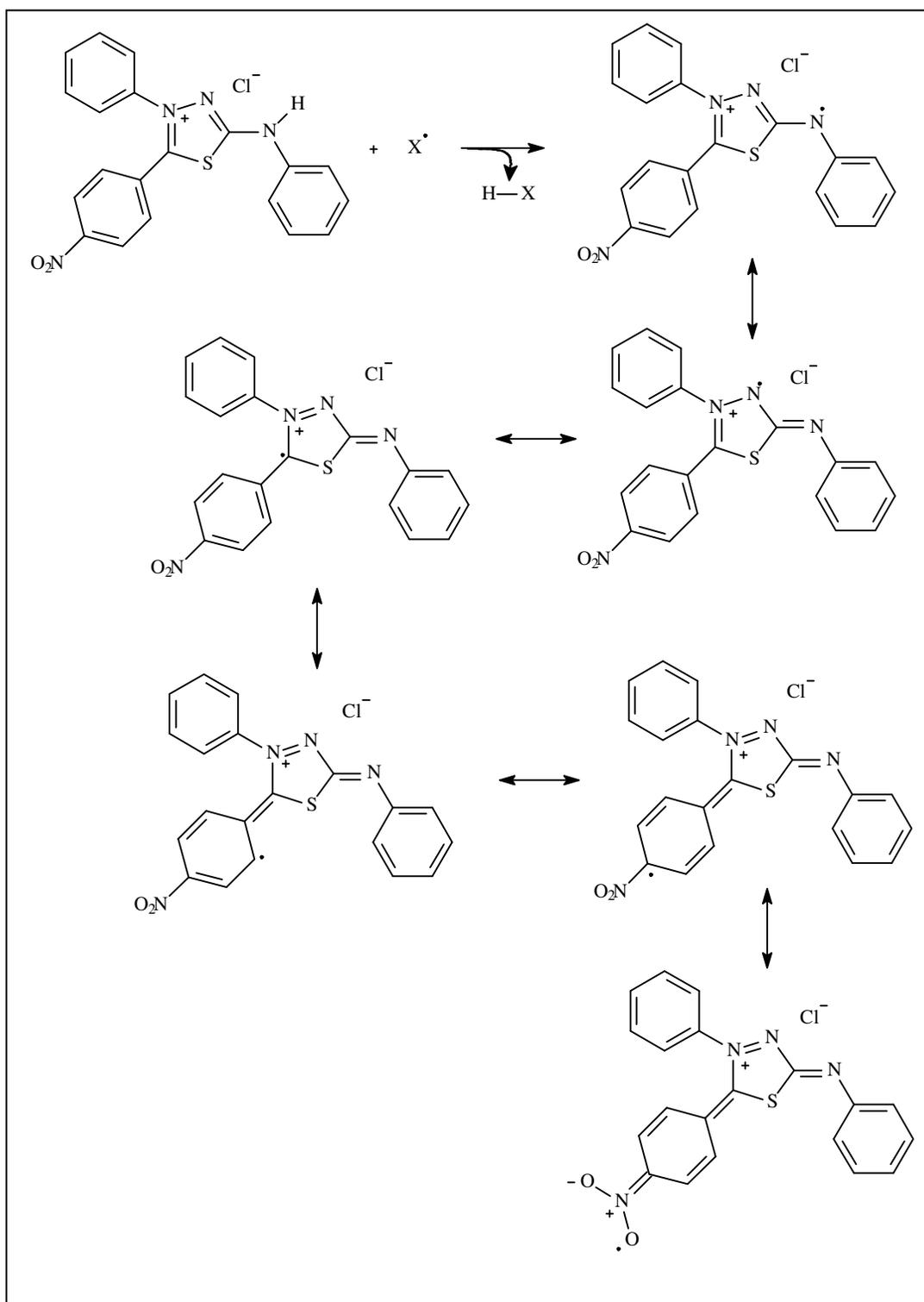
*dp: desvio padrão

Os resultados indicaram maior atividade antioxidante para os derivados das séries estiril-substituídas, indicando a importância da maior extensão de ligações do tipo π aumentando, assim, a estabilização do radical livre formado após a captura do DPPH. Além disso, os sais dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas indicaram maior atividade antioxidante com valores de EC₅₀ de

2,45 a 29,69 μM , sendo que os derivados nitro-substituídos os mais ativos, pois apresentaram os menores valores para as três séries de compostos ensaiados.

As sidnonas também foram testadas, mas não apresentaram atividade antioxidante significativa mesmo na maior concentração utilizada. O composto mais ativo das sidnonas foi o **64** que apresentou um percentual de captura do radical livre DPPH entre 24-28% na dose de 50 μM .

Os resultados, mostrados na **Tabela 20** indicam que os cloretos de mesoiônicos foram mais ativos, frente ao DPPH, do que suas respectivas bases livres, e essas foram mais ativas que seus isômeros tiolatos. Provavelmente, os cloridratos dos mesoiônicos apresentaram maior atividade devido à presença do hidrogênio amínico, e estes foram facilmente capturados pelos radicais livres DPPH, já para as bases livres não há hidrogênio que possa ser doado logo a estabilização do DPPH é devido à doação de um elétron do grupo da cadeia lateral da molécula do mesoiônico (carga negativa exocíclica) assim como no caso de seus isômeros tiolatos, mas devido à diferença energética dos subníveis entre o carbono-nitrogênio e carbono-enxofre a estabilização por ressonância do radical livre formado resulta dificultada no caso dos compostos tiolatos o que leva a uma menor atividade antioxidante quando comparados às respectivas bases livres. Além disso, observou-se que as moléculas com grupamento estiril são mais ativas quando comparadas com seus análogos que não possuem essa dupla ligação (como exemplo **43** e **46**). Quanto à natureza do substituinte pôde ser observado que esta afeta de forma considerável a atividade dessas moléculas, sendo o grupo retirador de elétrons o responsável pela maior atividade (compostos nitro-susbtituídos) e o grupo doador pela menor. Esses resultados se devem primeiramente a extensão de conjugação no caso das moléculas com grupamento estiril fazendo com que estas sejam mais estabilizadas ao doarem um elétron ou um radical hidrogênio à molécula de DPPH aumentando assim a sua atividade antioxidante. Em relação ao substituinte grupo retirador de elétrons estabilizará melhor o radical mesoiônico gerado após a perda de um elétron ou um radical hidrogênio quando comparado ao grupo doador. O **Esquema 29** mostra um exemplo de estabilização dos radicais mesoiônicos gerados após a captura pelo DPPH.



X^\bullet : Radical do DPPH.

Esquema 29: Exemplo de estabilização dos radicais mesoiônicos (**43**) gerados após a captura pelo DPPH.

4.4 Avaliação da atividade de inibição da tirosinase

A tirosinase é conhecida como uma enzima chave na biossíntese da melanina, e seus inibidores tem tido grande importância na descoberta por produtos relacionados à hiperpigmentação (MAEDA *et al.*, 1991), tendo em vista a gama de uso e potencialidades dos agentes inibidores e indutores desta enzima para as indústrias farmacêutica, cosmética e de alimentos. Esta enzima é altamente disseminada entre animais, insetos, vegetais e fungos, onde ocorre em várias isoformas (YOKOCHI *et al.*, 2003 e JAENICKE & DECKER; 2003), ela desencadeia a melanogênese, iniciando uma série de reações que convertem a tirosina ao biopolímero melanina. (SILVEIRA, 2007)

Na epiderme humana, vários mecanismos enzimáticos e não-enzimáticos estão presentes para controlar o excesso de espécies reativas de oxigênio, sendo a tirosinase um dos mais importantes sistemas para a eliminação destas espécies, já que esta enzima é capaz de utilizar superóxido para produzir melanina (PERLUIGI *et al.*, 2003; FRIEDMANN & GILCHREST; 1987). Desta forma, os compostos antioxidantes, capazes de inibir a produção de espécies reativas de oxigênio podem reduzir a hiperpigmentação ou prevenir a melanogênese.

Assim sendo, o desenvolvimento de agentes clareadores da pele no tratamento de hiperpigmentação induzida pela luz ultravioleta ou no tratamento de tumores do tipo melanomas tem sido considerado de grande importância (CHOI *et al.*, 2005).

Muitos cosméticos clareadores incluem inibidores da tirosinase, tais como o arbutin ($IC_{50} = 17 \text{ mM}$) (BERNARD & BERTHON, 2000) ou a hidroquinona ($IC_{50} = 4,5 \text{ mM}$) (MAEDA *et al.*, 1991), para reduzir a produção de melanina. Conforme citado na introdução deste trabalho de dissertação, os compostos mesoiônicos têm apresentado atividade anti-melanoma murino e em linhagens humanas (SENFF-RIBEIRO *et al.*, 2003, 2004) o que poderia, também, estar relacionado com a atividade da tirosinase, motivando os ensaios frente à referida enzima.

Os ensaios para a avaliação da atividade de inibição da tirosinase foram realizados de maneira similar aos da determinação da ação antioxidante frente ao DPPH, ou seja, em placas de 96 poços em triplicata em diferentes concentrações compreendidas entre 6,25 a 50 μM . Após a adição da enzima e o período de espera a placa foi levada ao ELISA e a densidade óptica foi medida em um comprimento de onda de 490 nm. As absorvâncias obtidas foram utilizadas para

o cálculo da porcentagem de inibição, igualmente utilizadas no ensaio antioxidante. Assim, foram confeccionados os gráficos (concentração x porcentagem de inibição) e calculados os valores de IC₅₀ (μM), com os respectivos desvios padrões.

A **Tabela 21** mostra os resultados obtidos para os ensaios com as sidnonas **60** – **64** que apresentaram atividade de inibição de 50 %, na concentração ensaiada da enzima, na faixa de 45 a 58 μM, sem diferenças significativas em função da natureza dos substituintes.

Tabela 21: Valores de IC₅₀ e seus respectivos desvios padrões para os compostos avaliados quanto à atividade da inibição da tirosinase.

Composto	Sidnonas		IC ₅₀ ± dp* (μM)
	X	Y	
60	H	H	56,84 ± 8,17
61	Cl	NO ₂	48,48 ± 1,98
62	NO ₂	H	44,89 ± 0,48
63	Me	H	49,55 ± 7,00
64	OMe	H	57,89 ± 4,05

*dp: desvio padrão

Os compostos mesoiônicos da classe tiadiazólio-aminida e seus isômeros também foram avaliados quanto à atividade antitirosinase, mas não apresentaram atividade significativa mesmo na maior concentração utilizada. O composto mais ativo destas classes foi o **51** que apresentou uma inibição entre 23-29% na dose de 50 μM.

Estes resultados sugerem que a atividade antitirosinase está relacionada diretamente com o anel oxadiazólio-olato, sem que a natureza eletrônica do substituinte afete de forma considerável esta atividade.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que:

1) A metodologia alternativa utilizando irradiação de microondas para a síntese dos compostos mesoiônicos da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato a partir de seus isômeros 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, na presença de catalisador e suporte sólido mostrou-se eficiente originando os produtos em rendimentos quantitativos e em menos tempo quando comparado a metodologia clássica.

2) O estudo da atividade antioxidante dos mesoiônicos da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida e da classe 1,3,4-triazólio-2-tiolato contra o DPPH revelou que todos os compostos testados apresentaram alguma atividade antioxidante, em especial os da classe 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida na forma de cloridratos. Também foi revelado que a extensão de conjugação e a presença de grupos retiradores de elétrons aumentam o poder antioxidante dessas moléculas.

3) Com relação à atividade frente a tirosinase, os compostos mesoiônicos da classe 1,2,3-oxadiazol-5-olato mostraram-se mais ativos sem que o substituinte interferisse de forma considerável nesta atividade. Estes resultados podem ser considerados promissores uma vez que essa classe de compostos apresenta-se como potencial fonte de novos agentes anti-melanomas ou como agentes utilizados no tratamento de hiperpigmentação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, W. M. A.; OLLIS, W. D. e POOLE, V. D. *J. Chem. Soc.*, 307 (1949)

BAKER, W. M. A. e OLLIS, W. D. *Quart. Rev.*, 11,15 (1957).

BOSE, A. K.; BANIK, B. K.; BARAKAT, K. J. e MANHAS, M. S. *Synlett*, (1993).

BRAZ, V. R.; Síntese, estrutura e cinética das reações de SnAr de aril sidnonas, dissertação de mestrado, PPGQO, UFRRJ, (1992).

CAI, Y.; LUO, O.; SUN, M. e CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, 74, 2157–2184 (2003).

CHEUNG, K. K.; GALEMBECK, S. E.; MILLER, J.; OLIVEIRA, M. B.; PESSOA, A. B. e SIMAS, A. M. Mesoionic Compounds Part I: Crystal Structure Of 5-Methyl-2-Piperidi- Nyl-1,3-Dithiolium-4-Thiolate. *Acta Cryst.*, 2630 (1991).

CHOI, H; AHN, S.; LEE, B. G.; CHANG, I. e HWANG, J. S. Inhibition of skin pigmentation by an extract of *Lepidium apetalum* and its possible implication in IL-6 mediated signaling. *Pigment Cell Res*, 18(6): 439-46 (2005).

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, *Eur. J. Med. Chem.*, 37, 979-984 (2002).

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

DAVIS, D; BECHER, H.J; ROGERS, E.F. The chemotherapy of wheat and bean rust diseases with sydnones. *Phytopathology*, v. 49, p. 821-823 (1959).

DUNKLEY, C. S.; THOMAN, C. J. Synthesis and biological evaluation of a novel phenyl substituted sydnone series as potencial antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 13, p. 2899-2901 (2003).

EARL, J. C.; MACKNEY, A. W. *J. Chem. Soc.*, 899 (1935).

ECHEVARRIA, A.; GALEMBECH, S.; MACIEL, M. A. M. e MILLER, J. Reactions of aroylchlorides with 1,4-difhenylthiosemicarbazide: formation of both 1,3,4-thiadiazolium-2-aminides and 1,3,4-triazolium-2-thiolate, *Heterocy. Comm.*, 129-136, (1995).

EDWARD, J. T. e SHEFFLER, R. H. Mesoionic dipyrido [1, 2, A, 1', 2', E] Imidazolium compounds from the Binz-Mark reation. *J. Am. Chem. Soc.*, 168 (1979).

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, *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 2984-2991 (2008).

FRIDMAN, A. L.; YUFAREVA, E. G. e KOLOBOV, N. A. *Chem. Abstr.* 91, 123648 (1979).

FRIEDMANN, P. S. e GILCHREST, B. A. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J. Cell Physiol.*, 133:88-94 (1987).

GEDYE, R.; SMITH, F.; WESTAWAY, K.; ALI, H.; BALDISERA, L.; LABERGE, L. e ROUSELL, *J. Tetrahedron Lett.*, 27, 279 (1986).

GIGUERE, R. J.; BRAY, T. L.; DUNCAN, S. M. e MAJETICH, G. *Tetrahedron Lett.*, 27, 4945 (1986).

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).

HALILA, G. C. Efeitos dos compostos mesoiônicos, representadis pela sidnona syd-1, sobre o metabolismo energético mitocondrial, Dissertação de mestrado, Curitiba (2005).

HALLIWELL, B., Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 344 (8924), 721–724 (1994).

HAYES, F. N.; ROGERS, B.S.; OTT, D.J. *J. Am Chem. Soc.*, 77, 1850-1852 (1955).

JAENICKE, E. e DECKER, H. Tyrosinases from crustaceans form hexamers. *Biochem J.*, 515-23 (2003).

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

KIWAN, A. M. e KASSIM, A. Y. *J. Heterocyclic Chem.*, 15, 133 (1978).

LÁCOVÁ, M.; CHOVANCOVÁ, J.; VEVERKOVÁ, E. e TOMA, S. Microwaves assisted Gabriel Synthesis of phthalimides. *Tetrahedron*, 52(47) 14995-15006 (1996).

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 *Quím. Nova*, 6 (1), 123-129 (2003).

MAEDA, K. e FUKUDA, M. J. In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *Soc. Cosmet. Chem.*, 42, 361-368 (1991).

MACIEL, M. A. M., Estudo da Formação de Compostos Mesoiónicos Pertencentes aos Sistemas 1,3,4-Tiadiazólio-2-Fenilamina e 1,3,4-Triazólio-2-Tiol, dissertação de mestrado, PPGQO, UFRRJ (1991).

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

MAIA FILHO, D. C. e ECHEVARRIA, A., Interconversão de 1,3,4- tiadiazólio-2-aminida em 1,3,4- triazólio-2-tiolato induzida por irradiação de luz e microondas, *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de química*, (2005).

MASUDA, K.; ADACHI, J.; SHIBATA, T. e NOMURA, K. *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 1638 (1979).

MARCH, J. *Advanced Organic Chemistry-Reactions, Mecanism and Struture*. John Willey & Sons, 3^oed.: 388, 437, 438, 1095, 1099, 1100 e 1101 (1985).

MENDEZ-SANCHEZ, S. C.; MARTINEZ, G. R.; ROMÃO, S.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F.; ROCHA, M. E. M.; NOLETO, G. R.; CARNIERI, E. G. S.; CADENA, S. M. S. C. e OLIVEIRA, M. B. M. The inhibition of lipoperoxidation by mesoionic compound MI-D: A relationship with its uncoupling effect and scavenging activity, *Chemico-Biological Interact.*, (2008).

MILIAUSKAS, G.; VAN BEEK, T. A.; WAARD, P.; VENSKUTONIS, R. P. e SUDHOLTER, E. J. R. *J. Nat. Prod.*, (2004).

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V. e MILNER, A., A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Sci.* 84 (4),407–412 (1993).

MITSCHER, L.A.; TELIKEPALLI, H.; MCGHEE, E. e SHANKEL, D.M., Natural antimutagenic agents. *Mutation Res.* 350 (1), 142–143 (1996).

MONTANARI, C. A.; *Propriedades espectroscópicas e atividade biológica de algumas betaínas heterocíclicas*, tese de doutorado Universidade de São Paulo (1991).

MOURA, G. L. C.; SIMAS, A. e MILLER, J. Mesoionic Rings as efficient Bridges for the Design of Compounds with Large Optical Nonlinearities. *2nd Conference on Molecular Modeling*, Rio de Janeiro (RJ), 26-28, (1994).

NEWTON, C. G. e RAMSDEN, C. A. *Tetrahedron*, 38 (20), 2965 (1982).

OGATA, Y.; KAWASAKI, A. e KOJOH, H. *J. Org. Chem.*, 39 (25), 3676-3679 (1974).

OLLIS, W. D. e RAMSDEN, C. A. *Adv. Heterocyclic Chem.*, 19,1 (1976).

OLLIS, W. D. e RAMSDEN, C. A. Synthesis of mesoionic anhydro-2-arylamino-1.3.4-oxadiazolium hidroxides, *J. Chem. Soc., D-Chem. Commun.*, 19: 1222-1223, (1971).

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

OWEN, R.W.; GIACOSA, A.; HULL, W.E.; HAUBNER, R.; SPIEGELHALDER, B. e BARTSCH, H., The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur. J. Cancer* 36 (10), 1235–1247 (2000).

PERLUIGI, M.; DE MARCO, F.; FOPPOLI, C.; COCCIA, R.; BLARZINO, C.; MARCANTE, M. L. e CINI, C. Tyrosinase protects human melanocytes from ROS-generating compounds. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 305:250-256, (2003).

REIS, C. M. SÍNTESE, UTILIZANDO METODOLOGIAS ALTERNATIVAS, E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE COMPOSTOS MESOIÔNICOS DA CLASSE 1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-AMINIDA, dissertações de mestrado, PPGQ, UFRRJ, (2008).

SALA, A.; RECIO, M. D.; GINER, R.M.; MANEZ, S.; TOURNIER, H.; SCHINELLA, G. e RIOS, J. L., Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Helichrysum italicum*. *J. Pharm. and Pharmacol.* 54 (3), 365–371 (2002).

SANTOS, A. C. S. e ECHEVARRIA, A. Electronic effects on ¹³C NMR chemical shifts of substituted 1,3,4-thiadiazolium salts, *Magn. Res. Chem.*, 39, 182-186 (2001)

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

SANTOS, J. L.; LIMA, L. M. e CHUNG, M. C. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 27, n.2, 163-167, (2006).

SATO, M. e UJIIE, S. *Chemistry Citation Index*, jan-dec, (1996).

SATYANARAYANA, K. e RAO, M. N. A. Synthesis and antiinflammatory, analgesic and antipyretic testing of 4-[1-oxo-(3-substituted aryl) - 2 - propenyl] - 3 phenylsydnones and 3 - [4 - (3 - (substituted aryl) - 1 - oxo - 2 - propenyl) phenyl]sydnones. *J. Pharm. Sci.*, v 84, n. 2, p 263-266, (1995).

SENFF-RIBEIRO, A.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F.; SANCHES, V. S. e OLIVEIRA, M. B. Effect of new 1,3,4-thiadiazolium mesoionic compound (MI-D) on B16-F10 murine melanoma. *Melanoma Res.* 13 (5): 465-471, (2003).

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).

SHIMADA, Y.; TANIGUCHI, N.; MATSUHISA, A.; AKANE, H.; KAWANO, N.; SUZUKI, T.; TOBE, T.; KAKEFUDA, A.; YATSU, T.; TAHARA, A.; TOMURA, Y.; KUSAYAMA, T.; WADA, K.; TSUKADA, J.; ORITA, M.; TSUNODA, T. e TANAKA, A. Synthesis and biological activity of novel 4,4-difluorobenzazepine derivatives as non-peptide antagonists of the arginine vasopressin V1A receptor *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 1827-1837 (2006).

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 Sci. Res.*, 17, 865-866 (1989).

SILVEIRA, J. E. P. S. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS IN VITRO DE ESPÉCIES VEGETAIS COMO POTENCIAIS ATIVOS DESPIGMENTANTES, Dissertação BOTUCATU – SP (2007).

STEWART, T. G. e KIER, L. B. Synthesis of several mesoionic 1,3,4-thiadiazoles. *J. Pharm. Sci.*, 54 (5): 731-734, (1965).

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

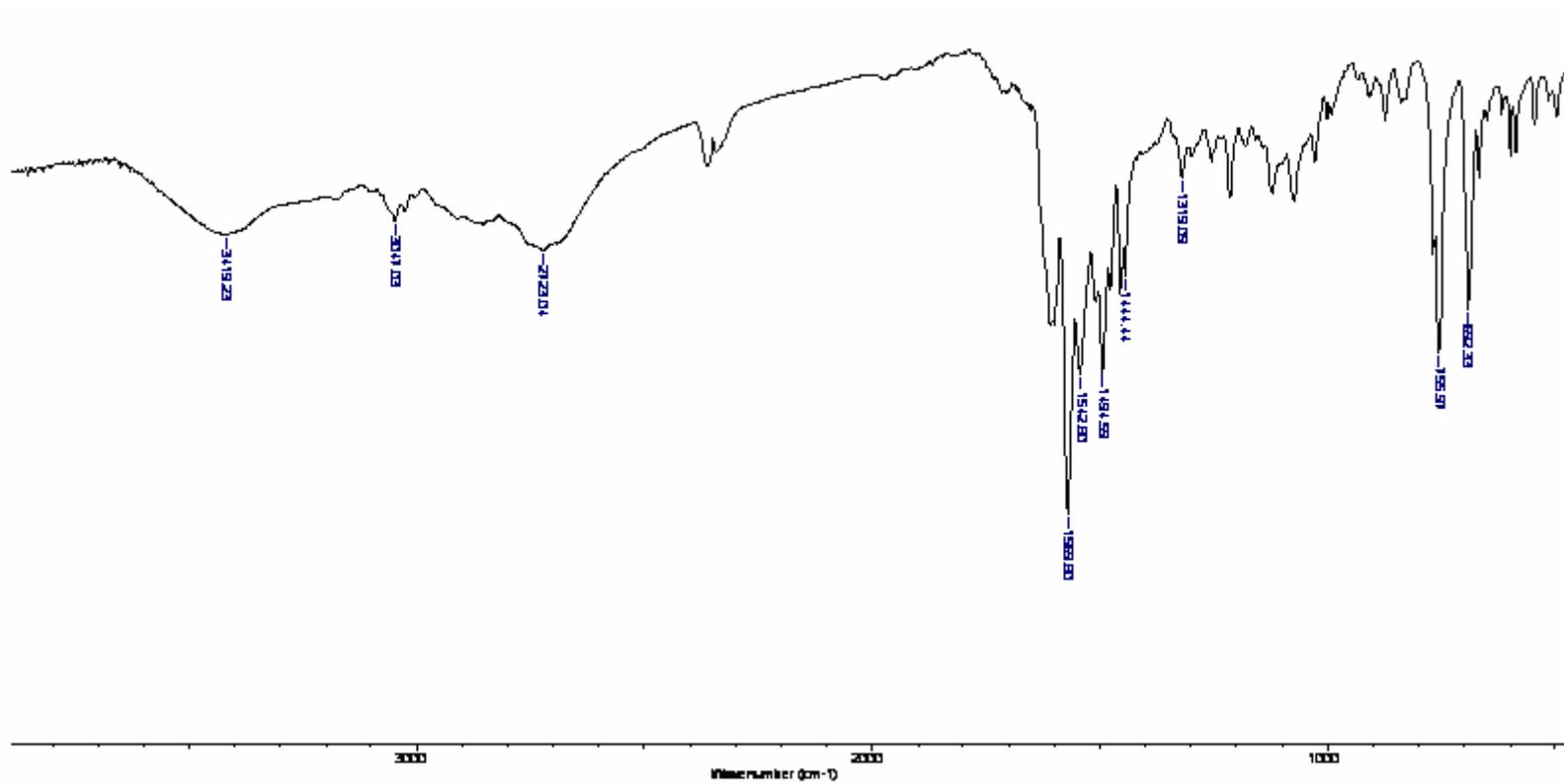
VIDAL, T.; PETIT, A.; LOUPY, A. e GEDYE, R. N. *Tetrahedron*, 56(30):5473-8 (2000).

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

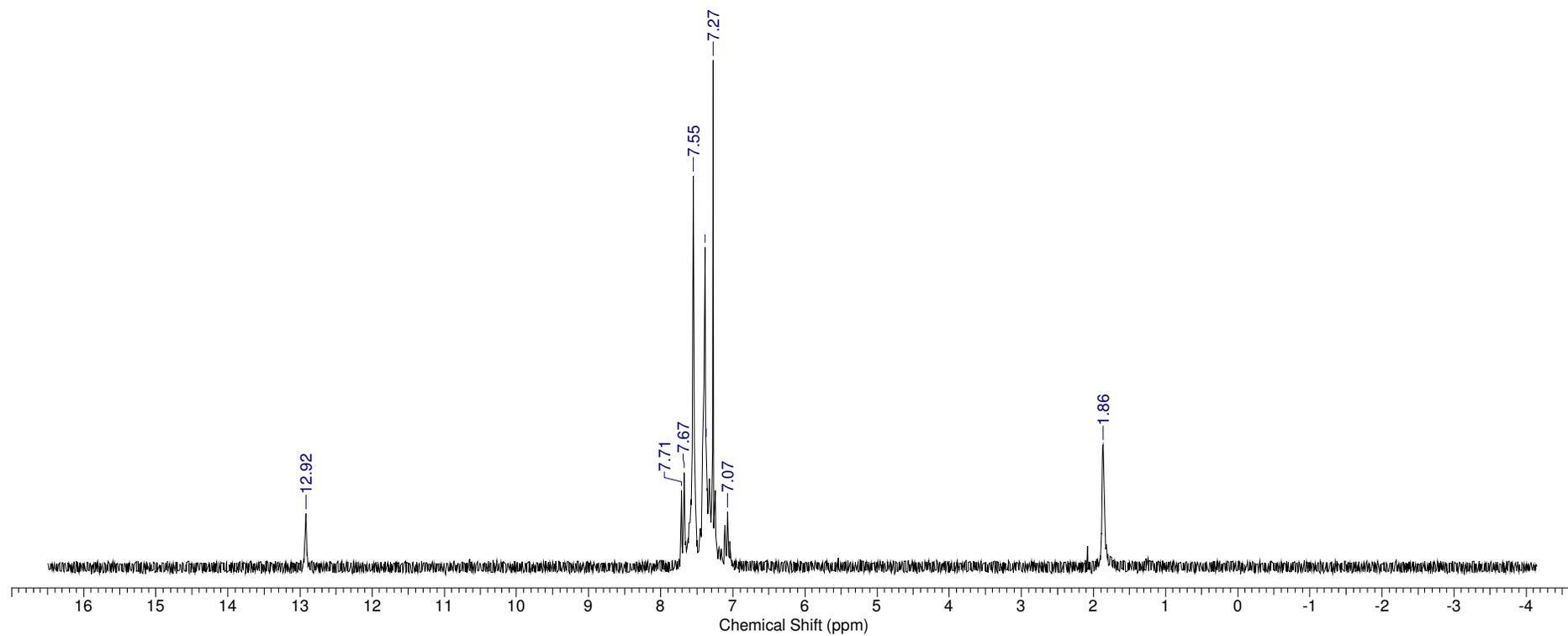
YOKOCHI, N.; MORITA, T. e YAGI, T. Inhibition of diphenolase activity of tyrosinase by vitamin B6 compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 51:2733-2736, (2003).

7 ANEXOS

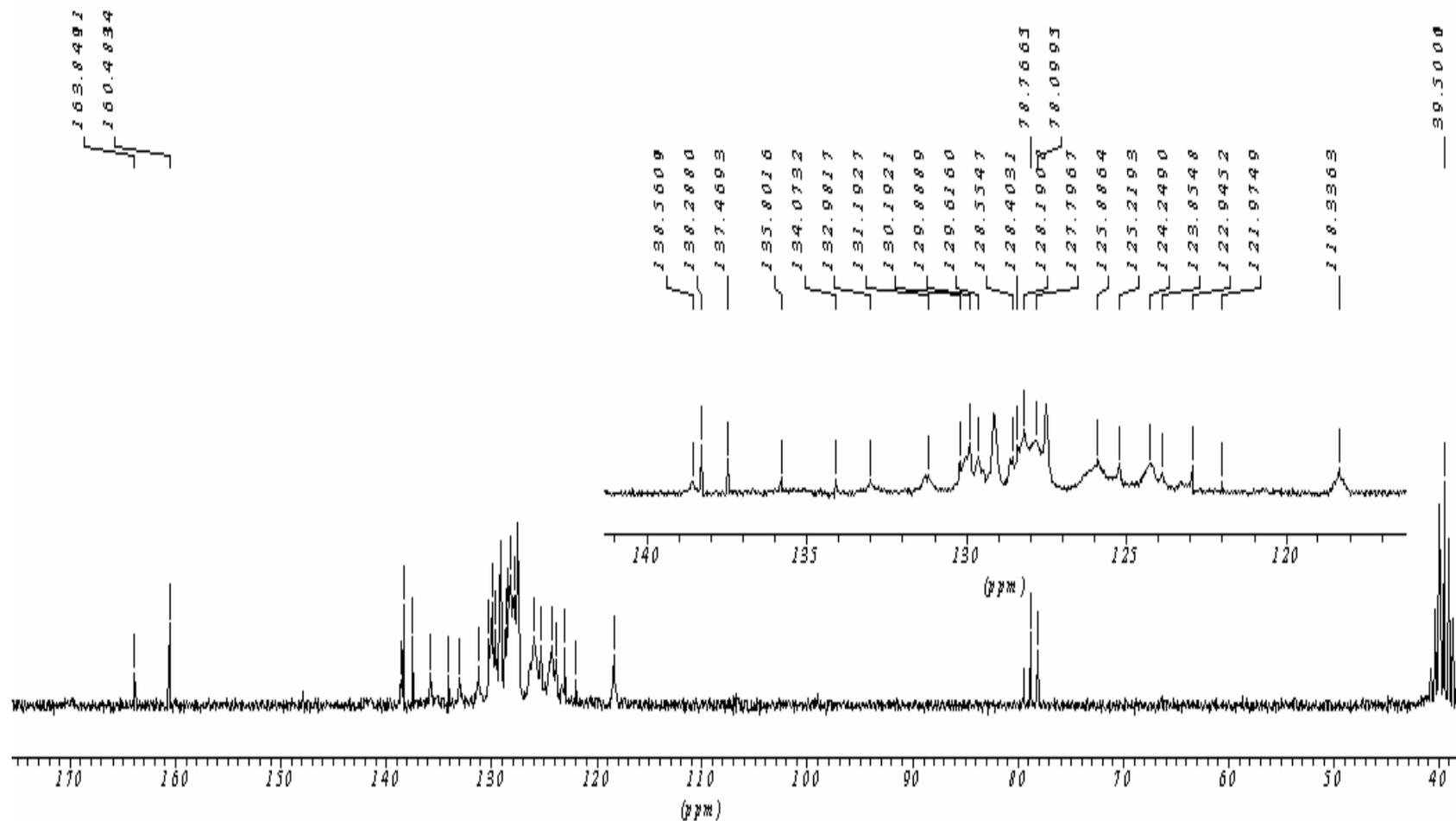
Espectro de IV do Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 42)



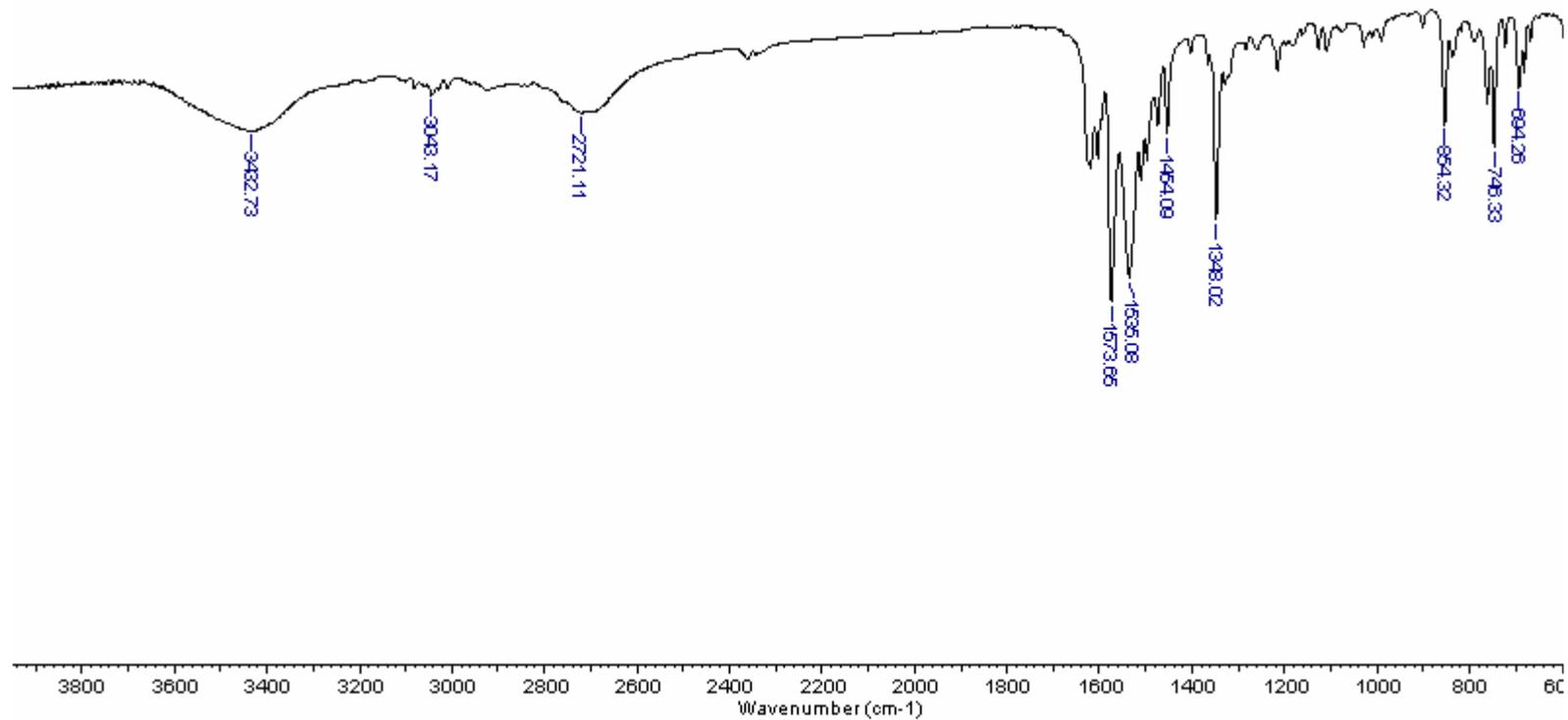
Espectro de RMN ^1H do Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 200 MHz) (composto 42)



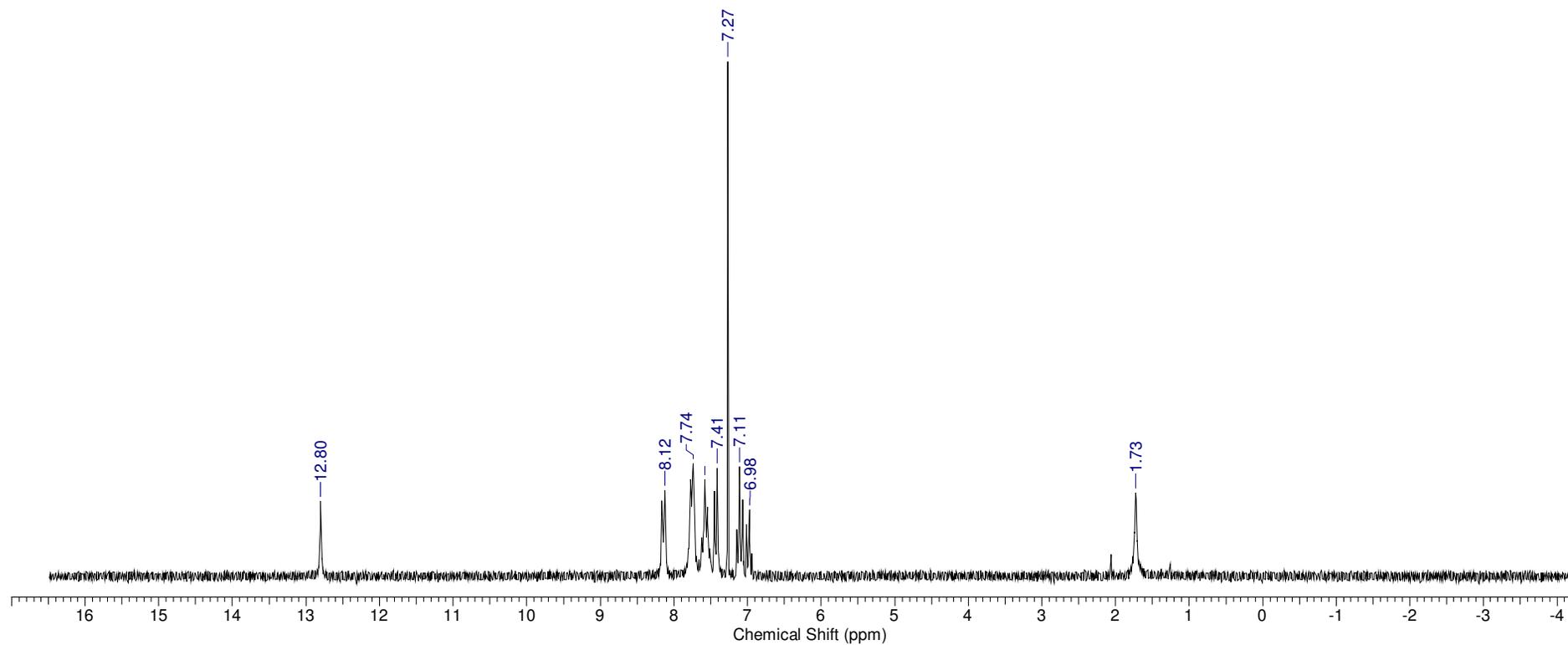
Espectro de RMN 13C do Cloreto de 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (CDCl₃ e DMSO-d₆, δ, 50 MHz) (composto 42)



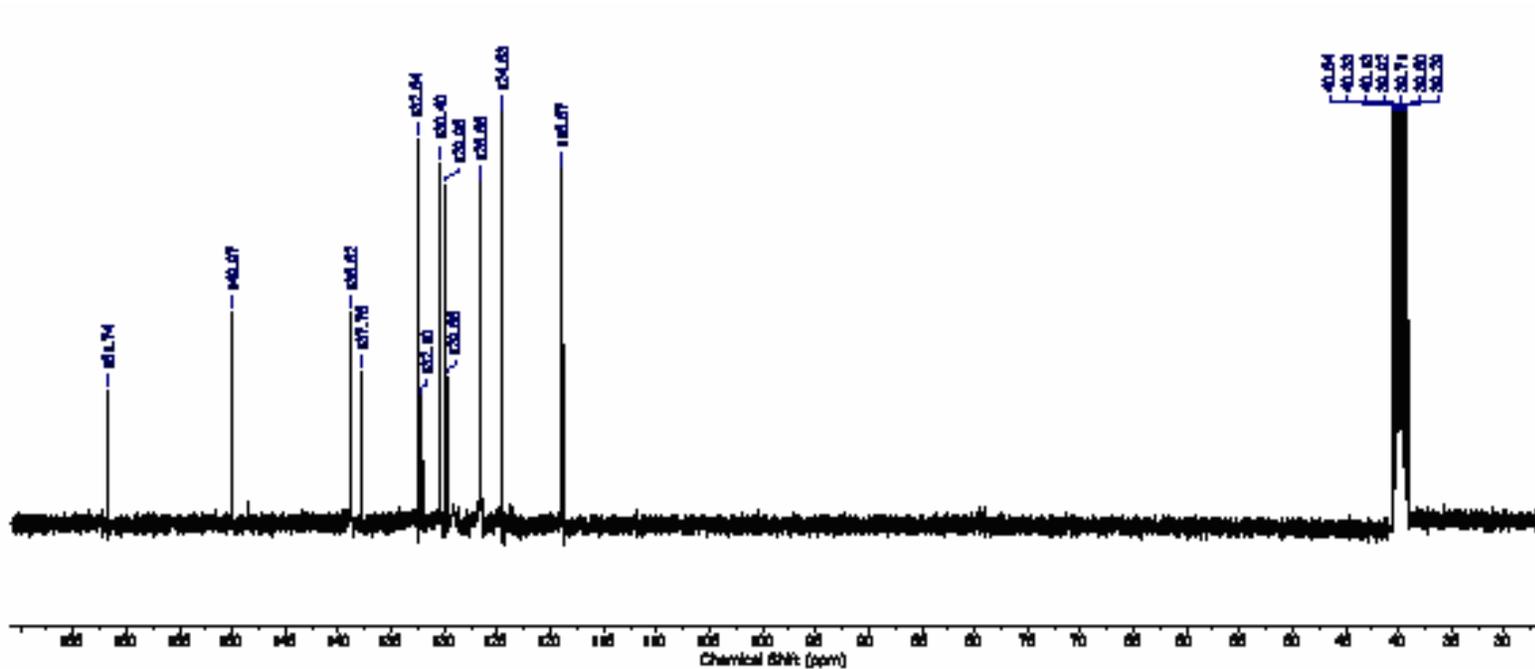
Espectro de IV do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 43)



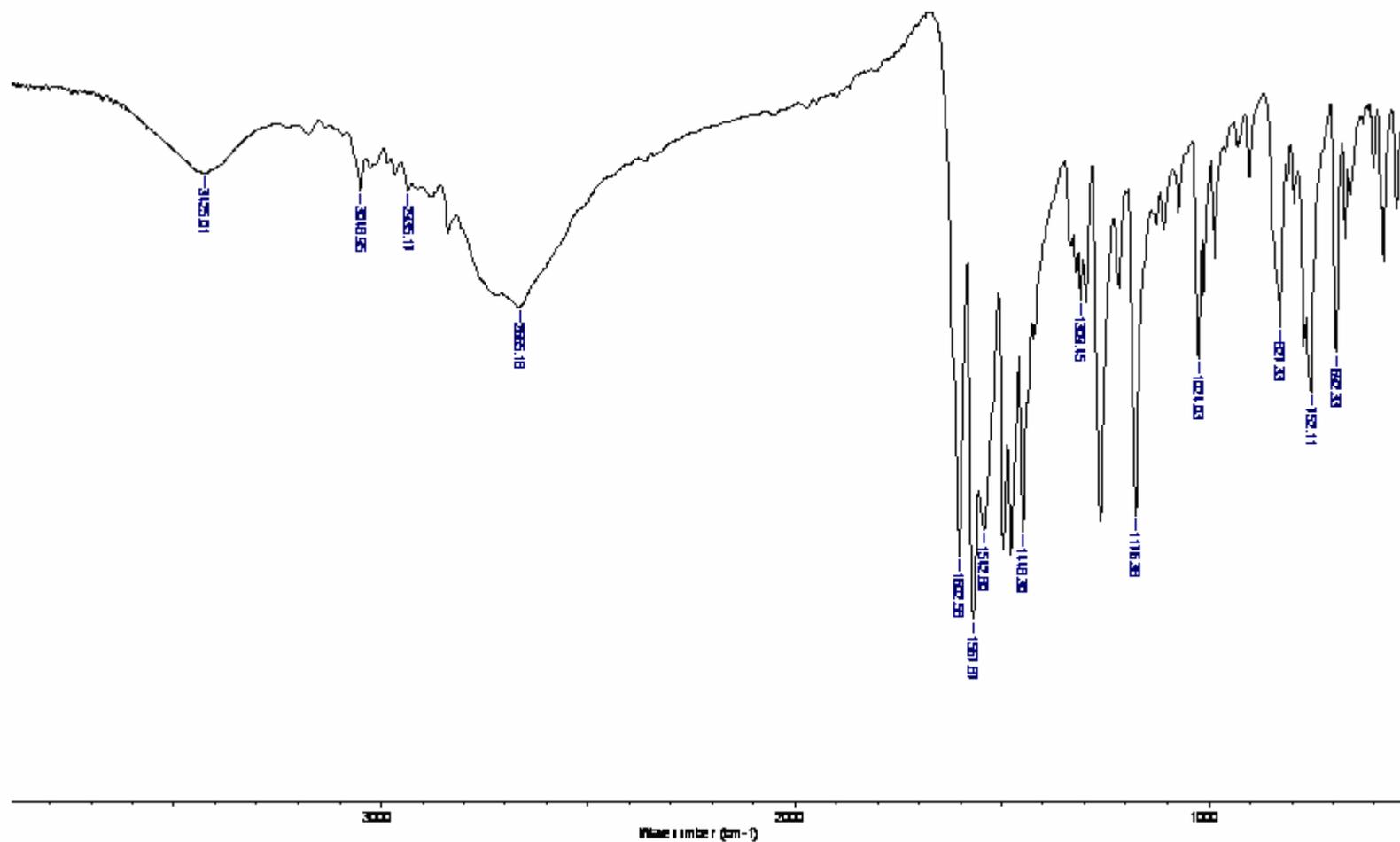
Espectro de RMN ^1H do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 200 MHz) (composto 43)



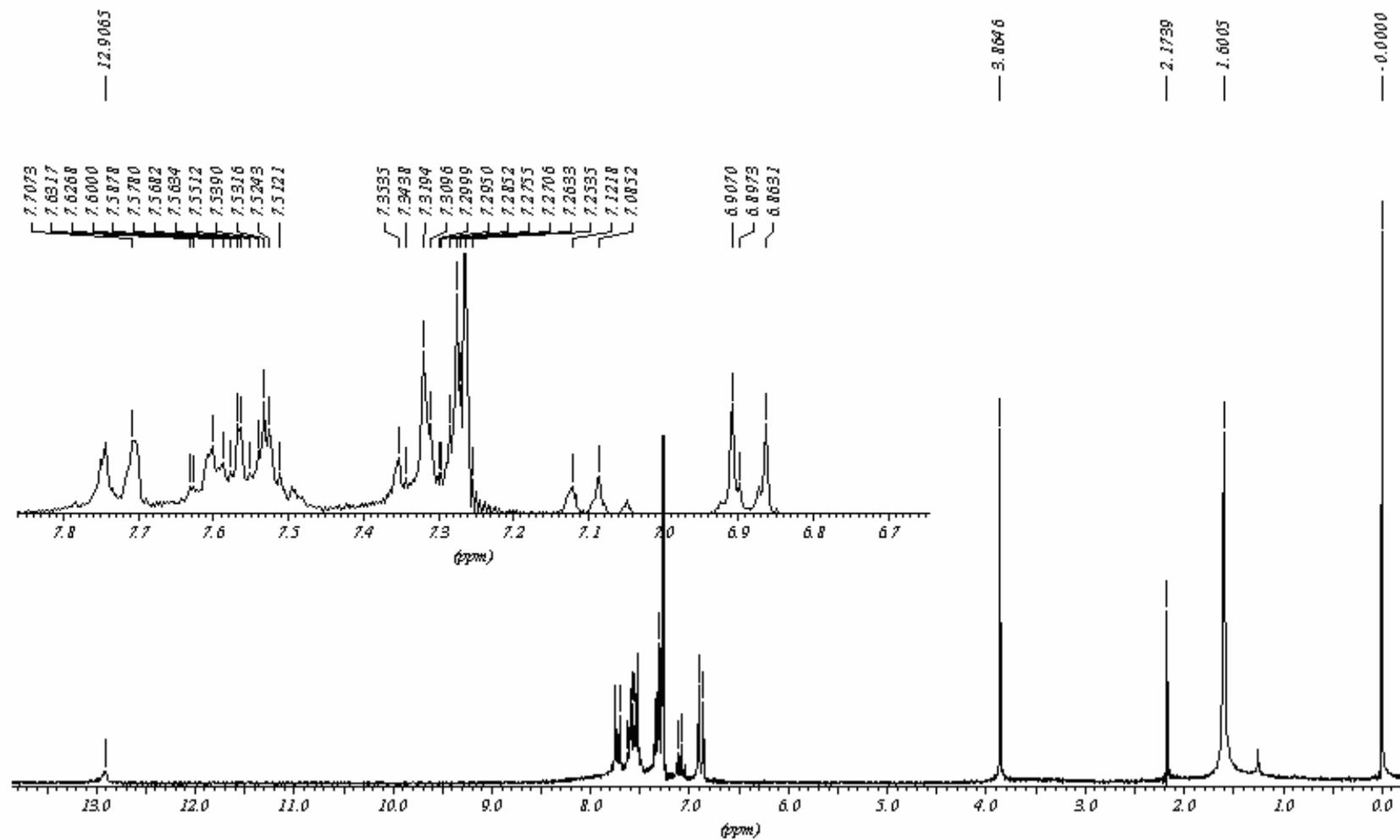
Espectro de RMN ^{13}C do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 43)



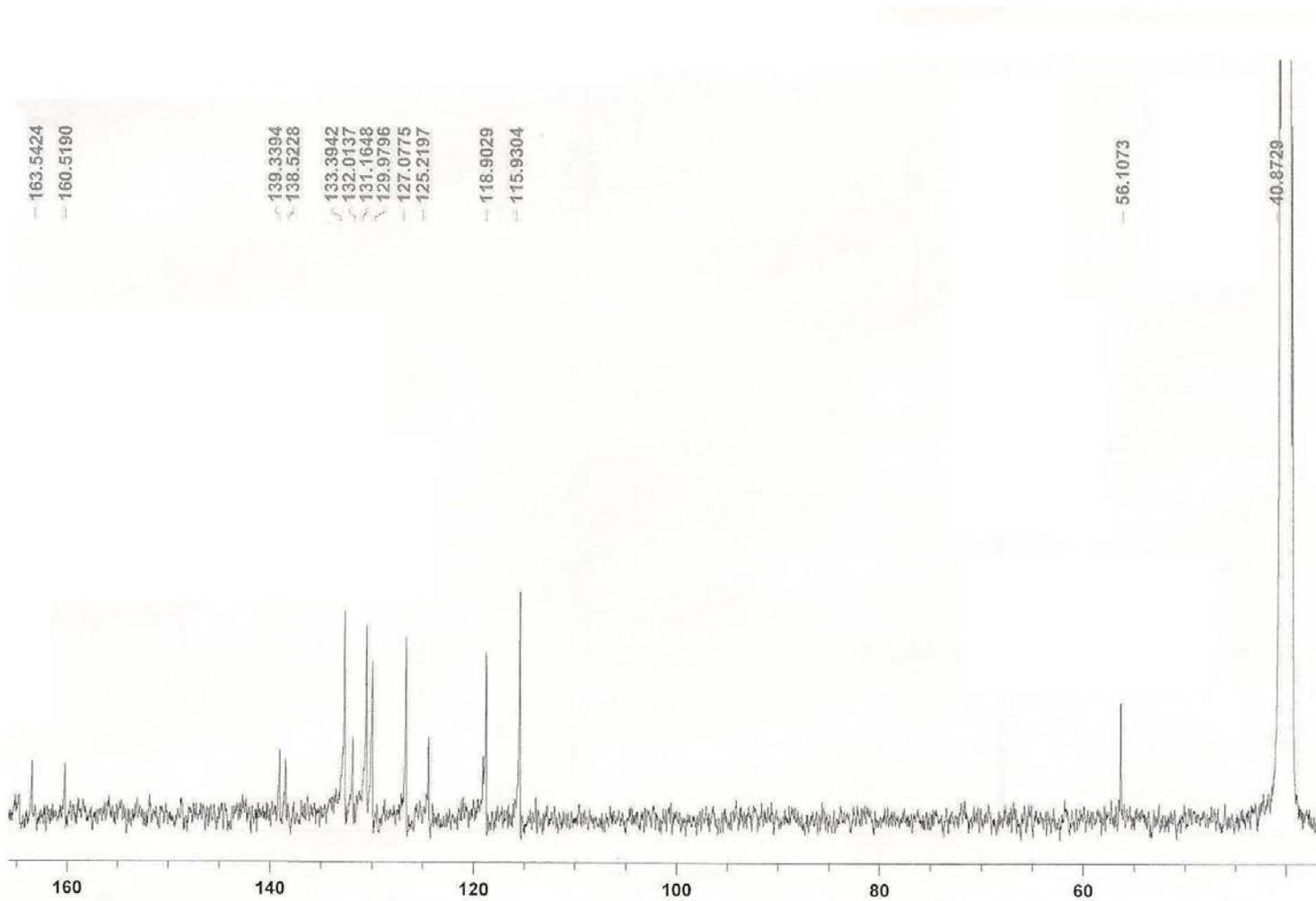
Espectro de IV do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 44)



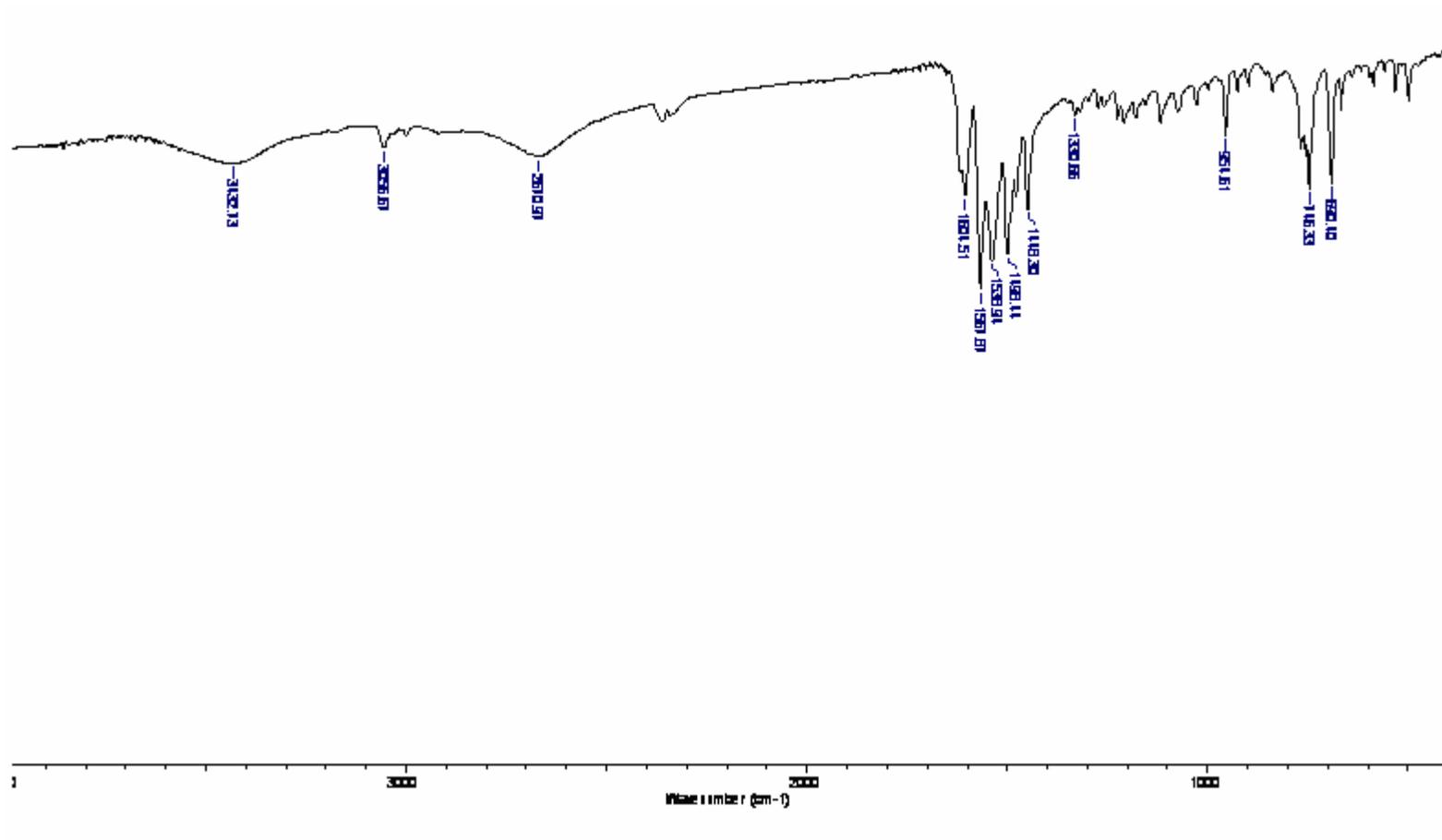
Espectro de RMN ^1H do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 200 MHz) (composto 44)



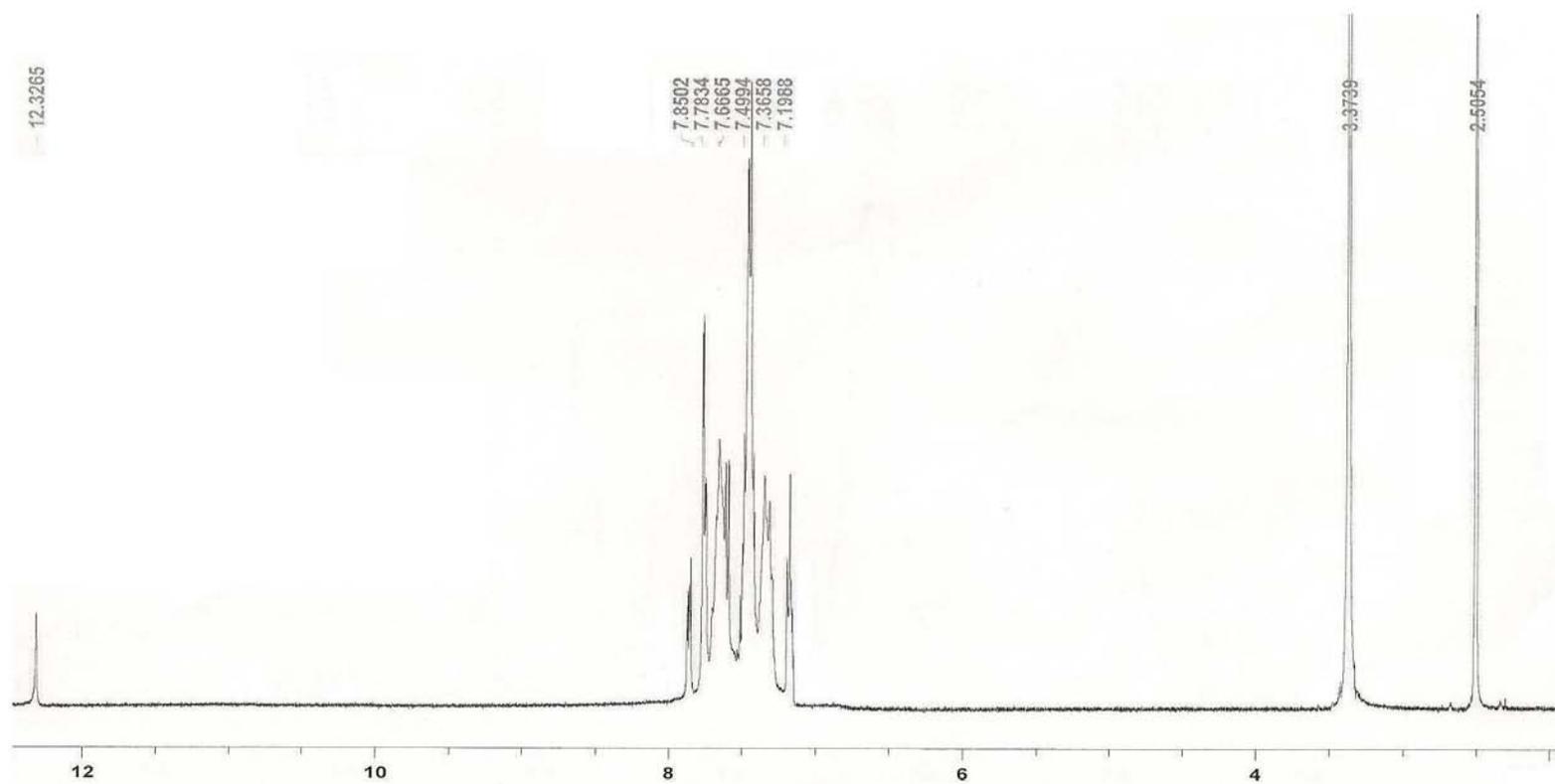
Espectro de RMN ^{13}C do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metoxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2- fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 44)

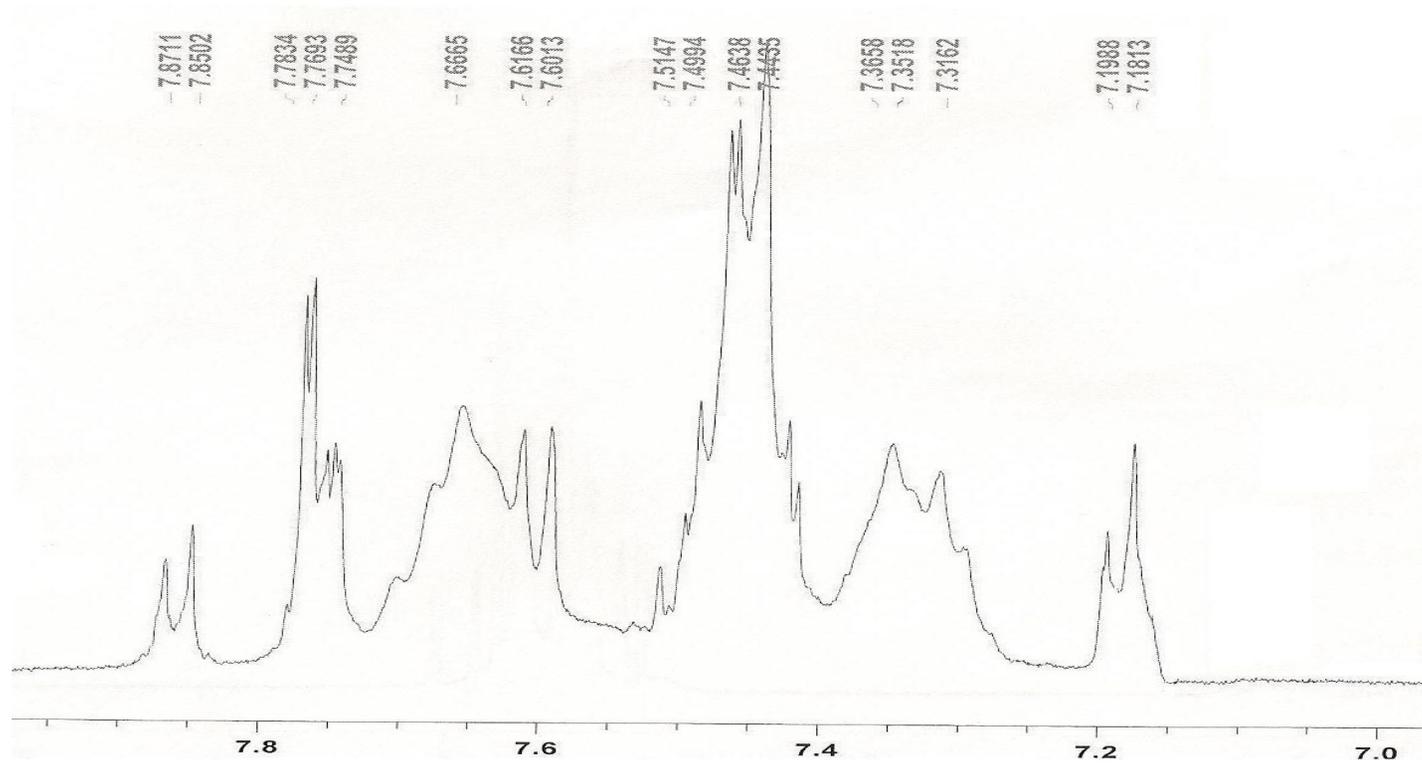


Espectro de IV do Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 45)

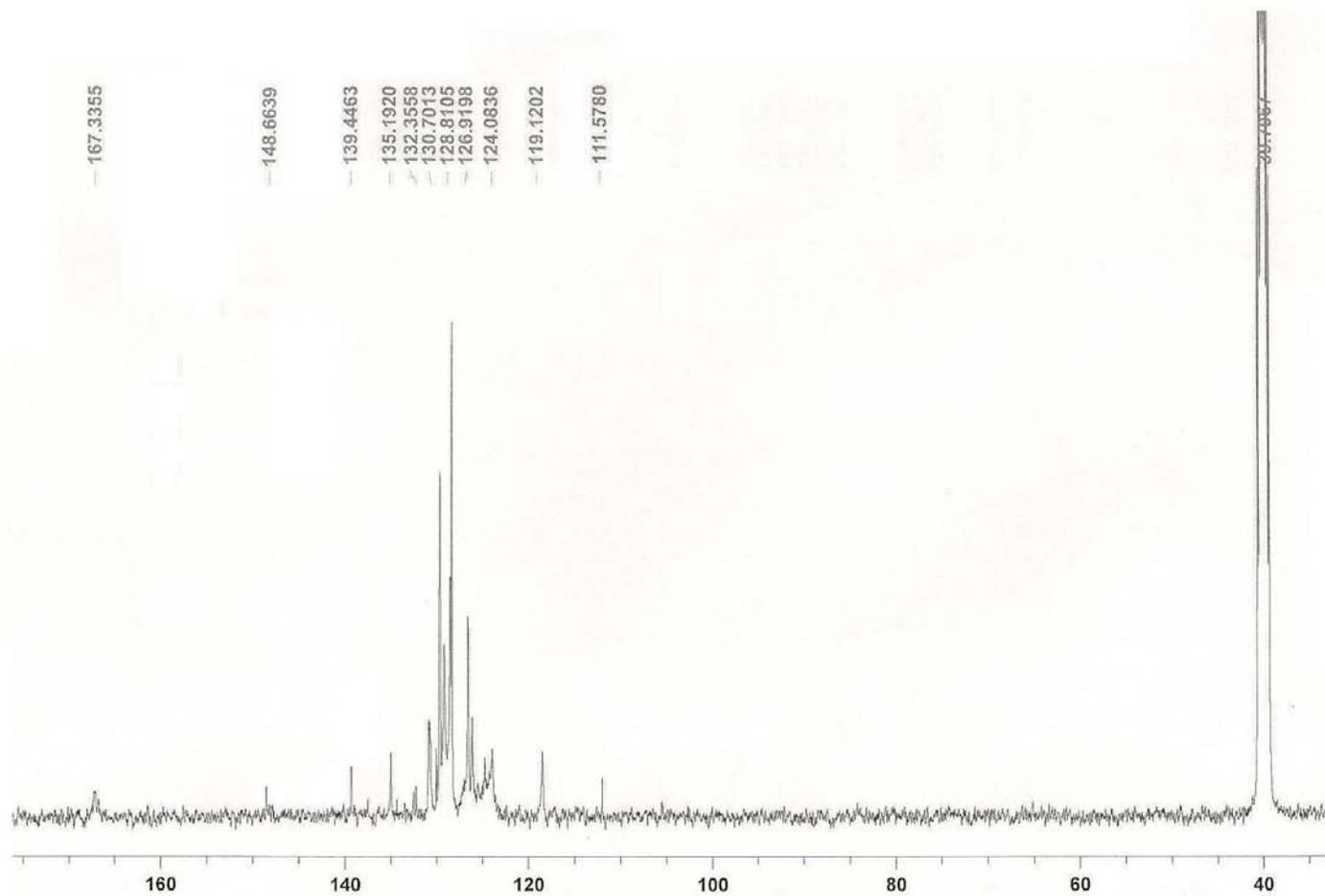


Espectro de RMN ^1H do Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (CD_3OD , δ , 400 MHz) (composto 45)

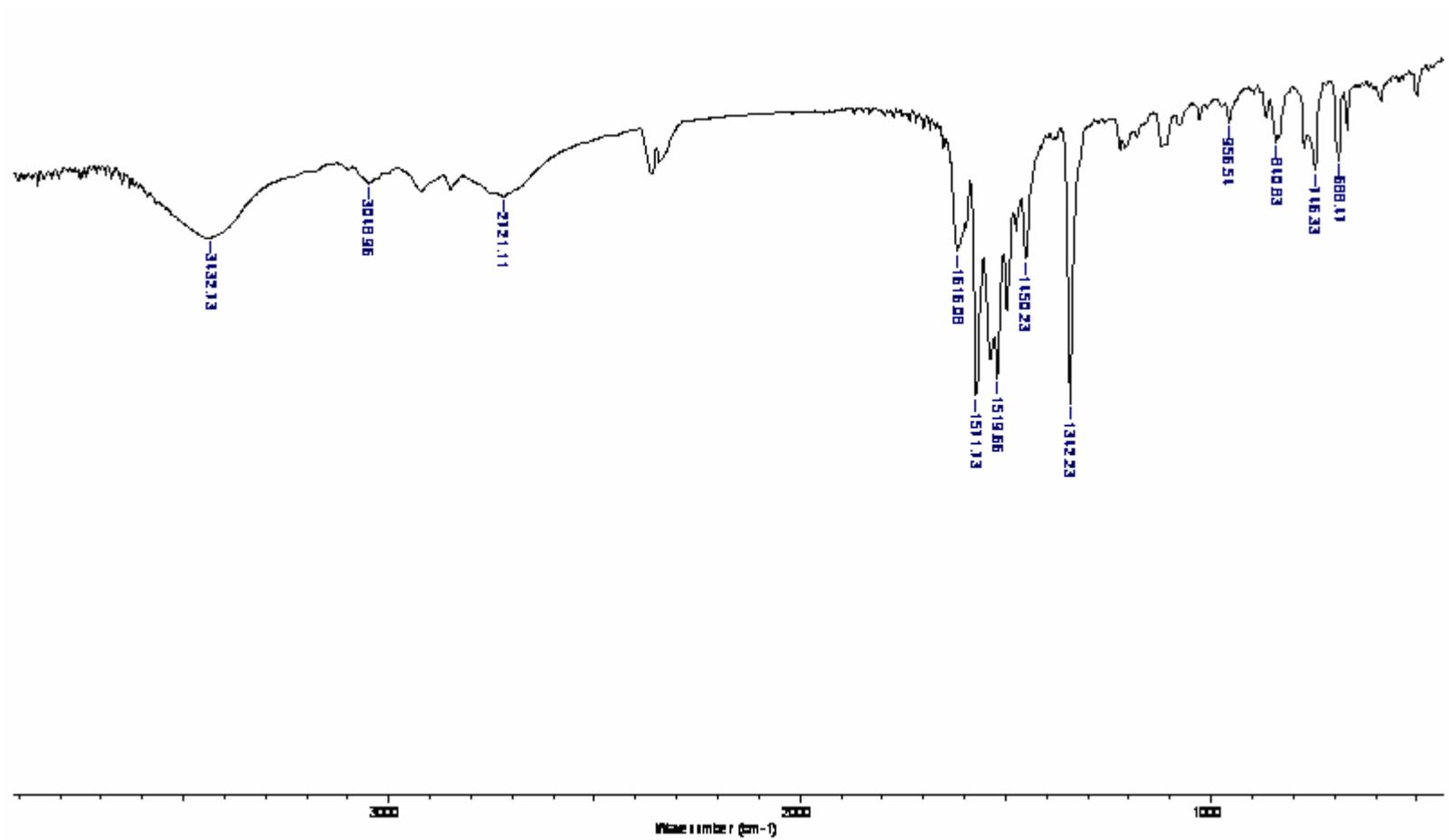




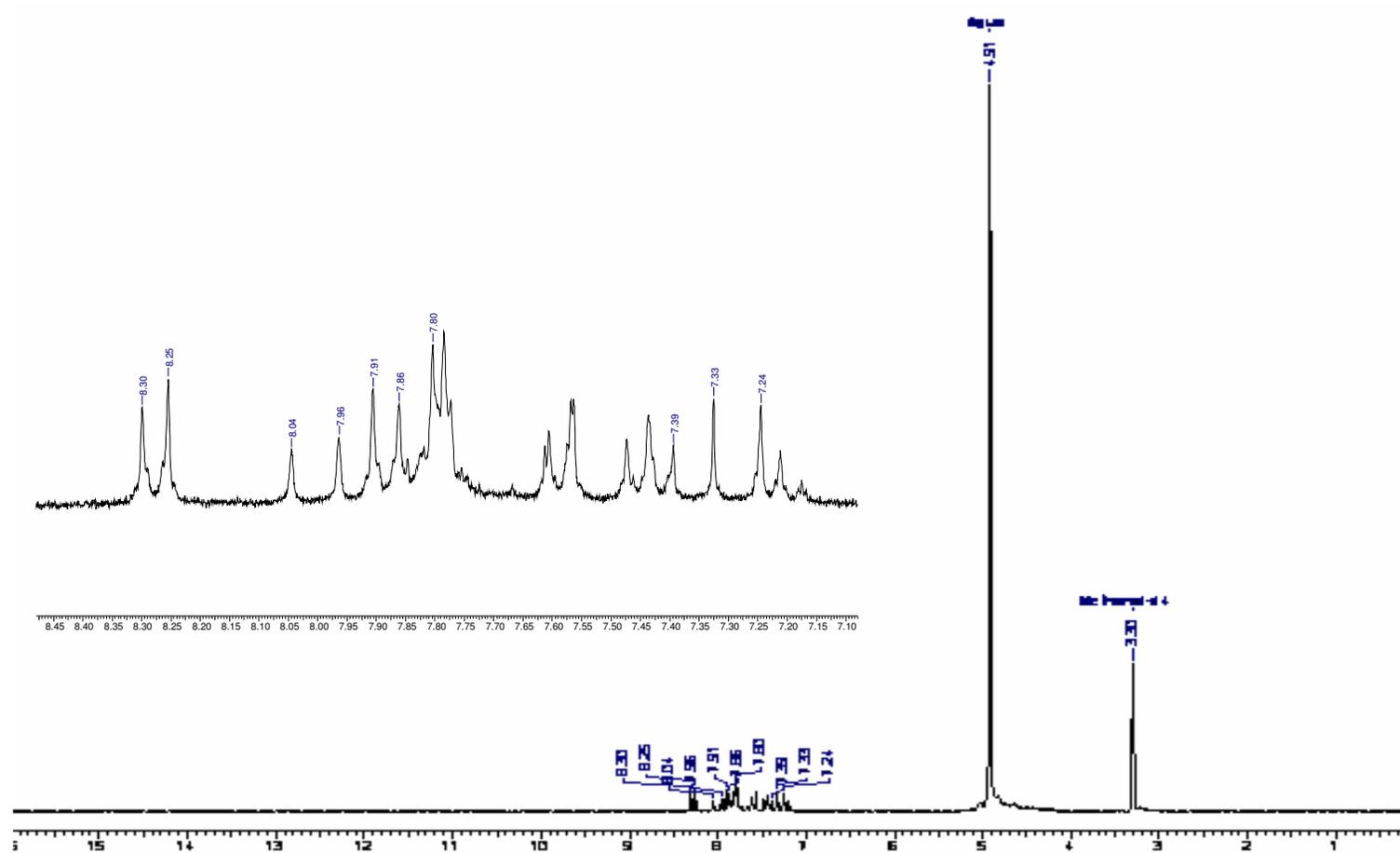
Espectro de RMN ^{13}C do Cloreto de 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 45)



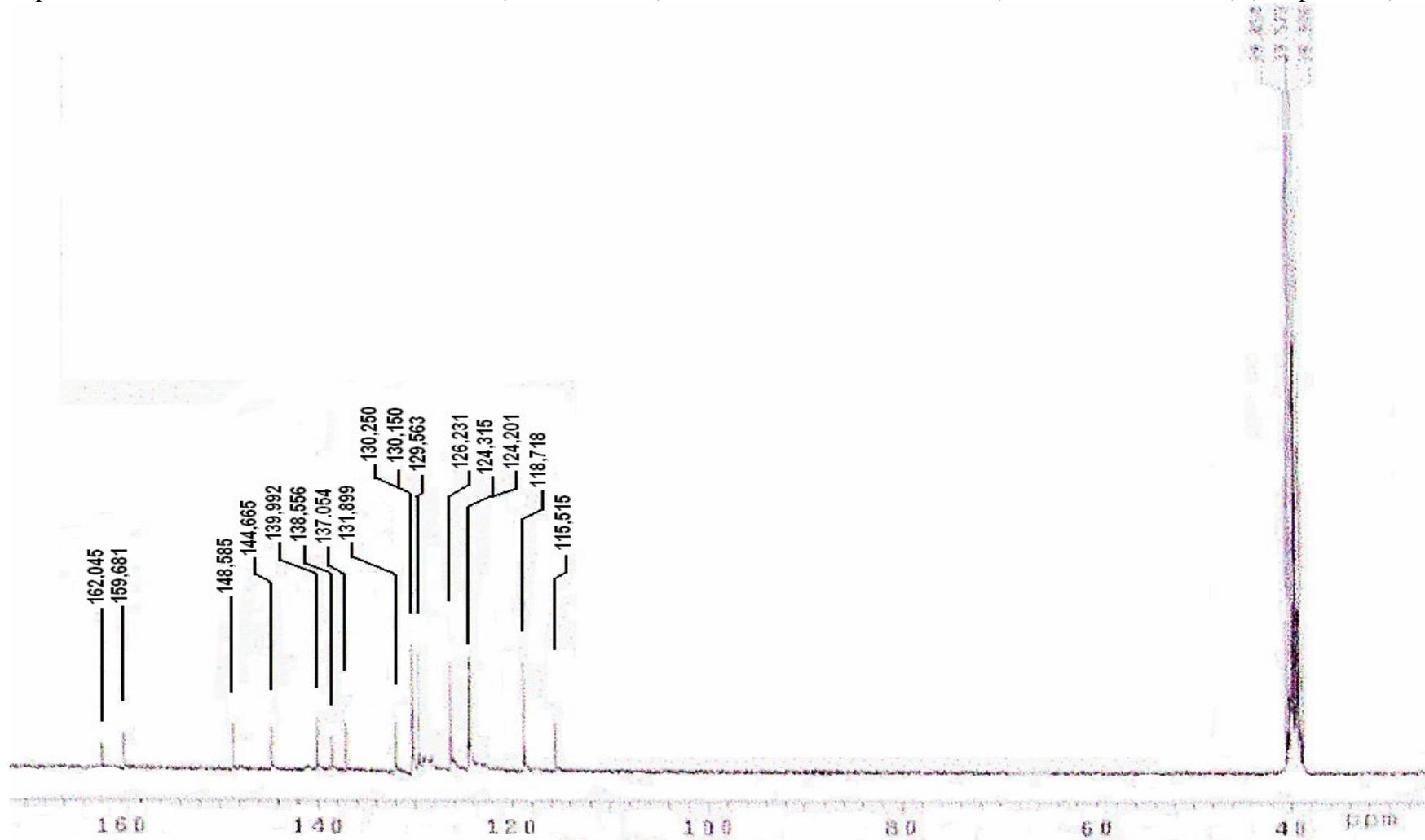
Espectro de IV do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 46)



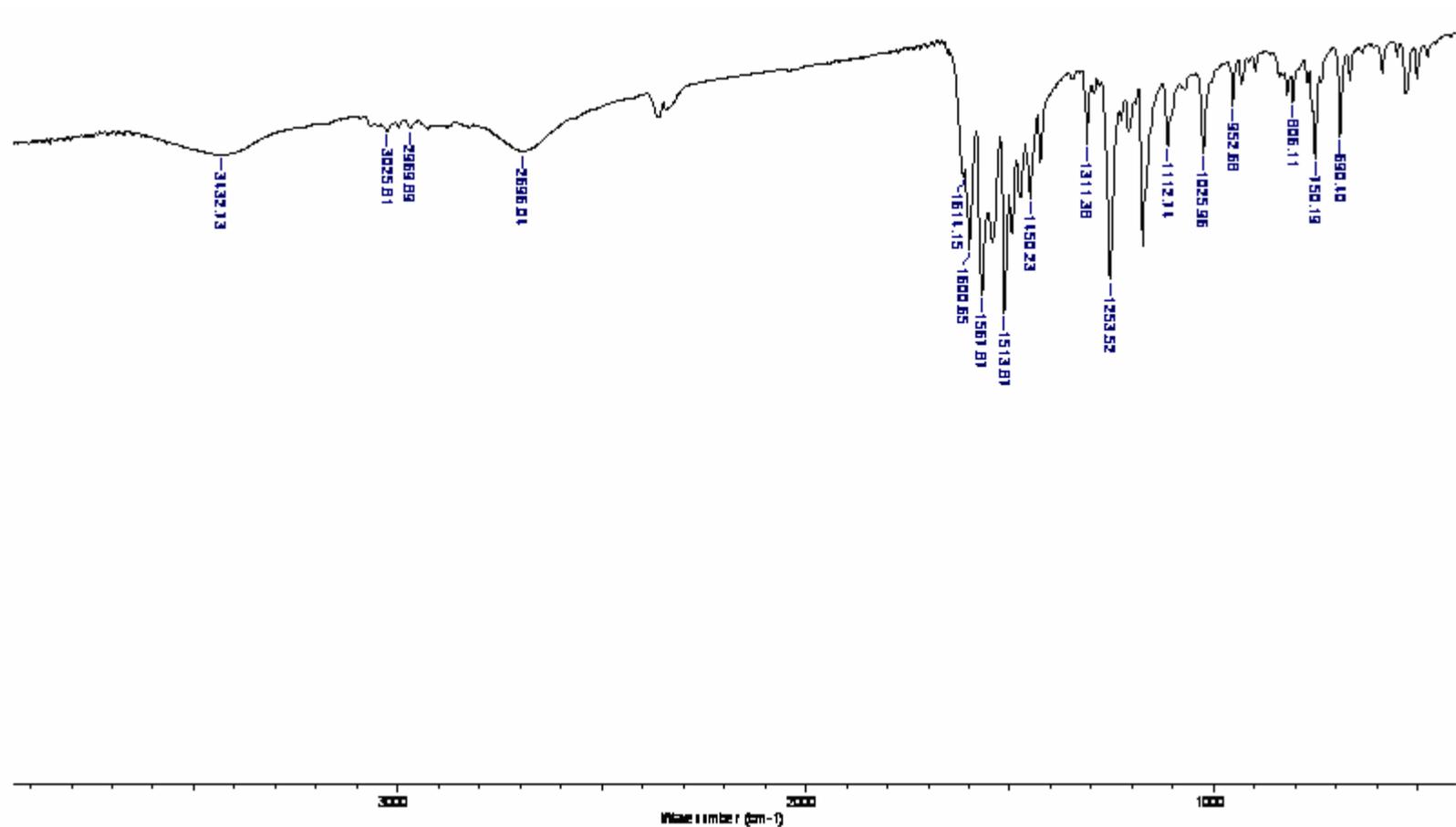
Espectro de RMN ^1H do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (CD_3OD , δ , 200 MHz) (composto 46)



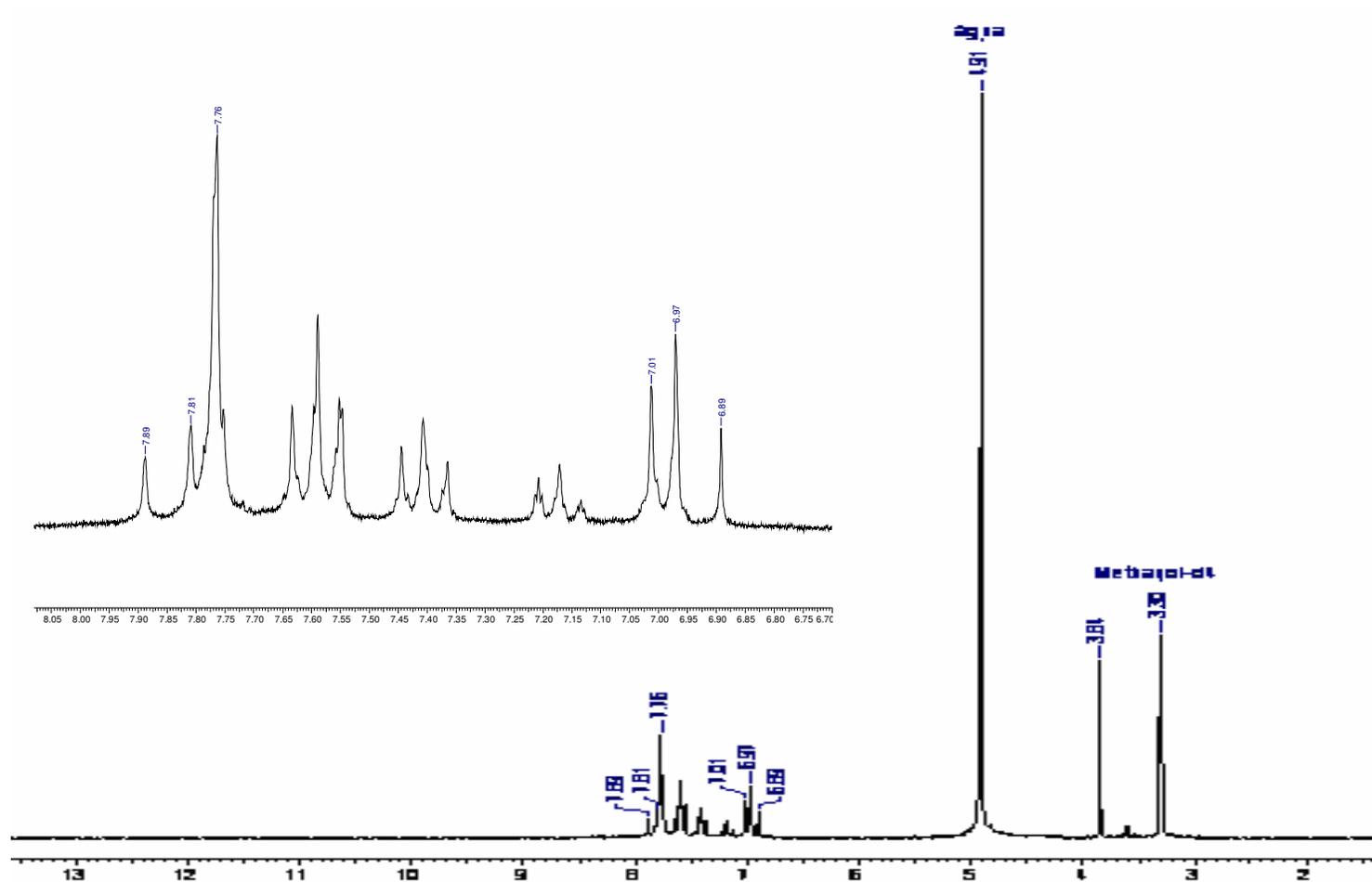
Espectro de RMN ^{13}C do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 46)



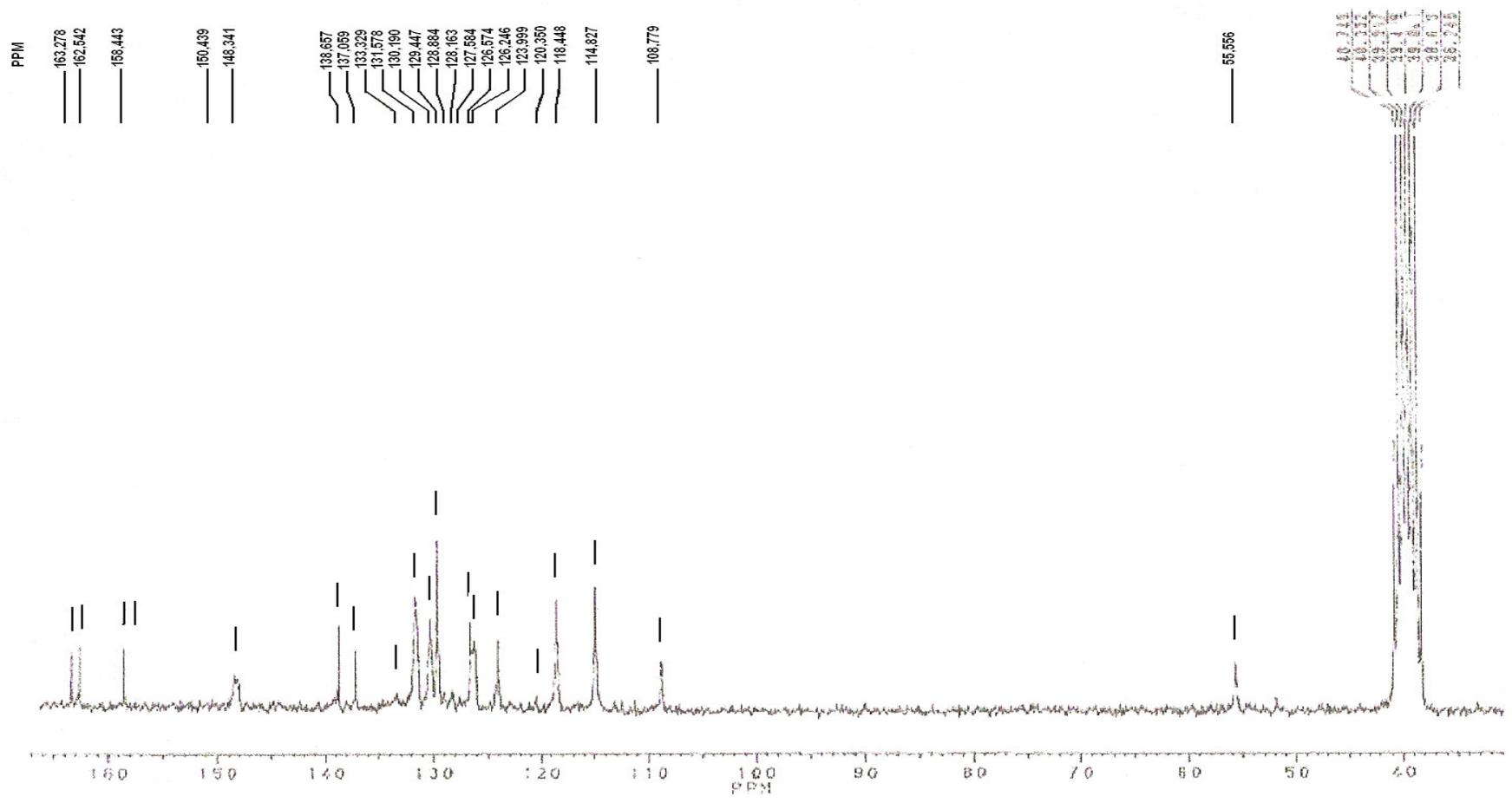
Espectro de IV do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 47)



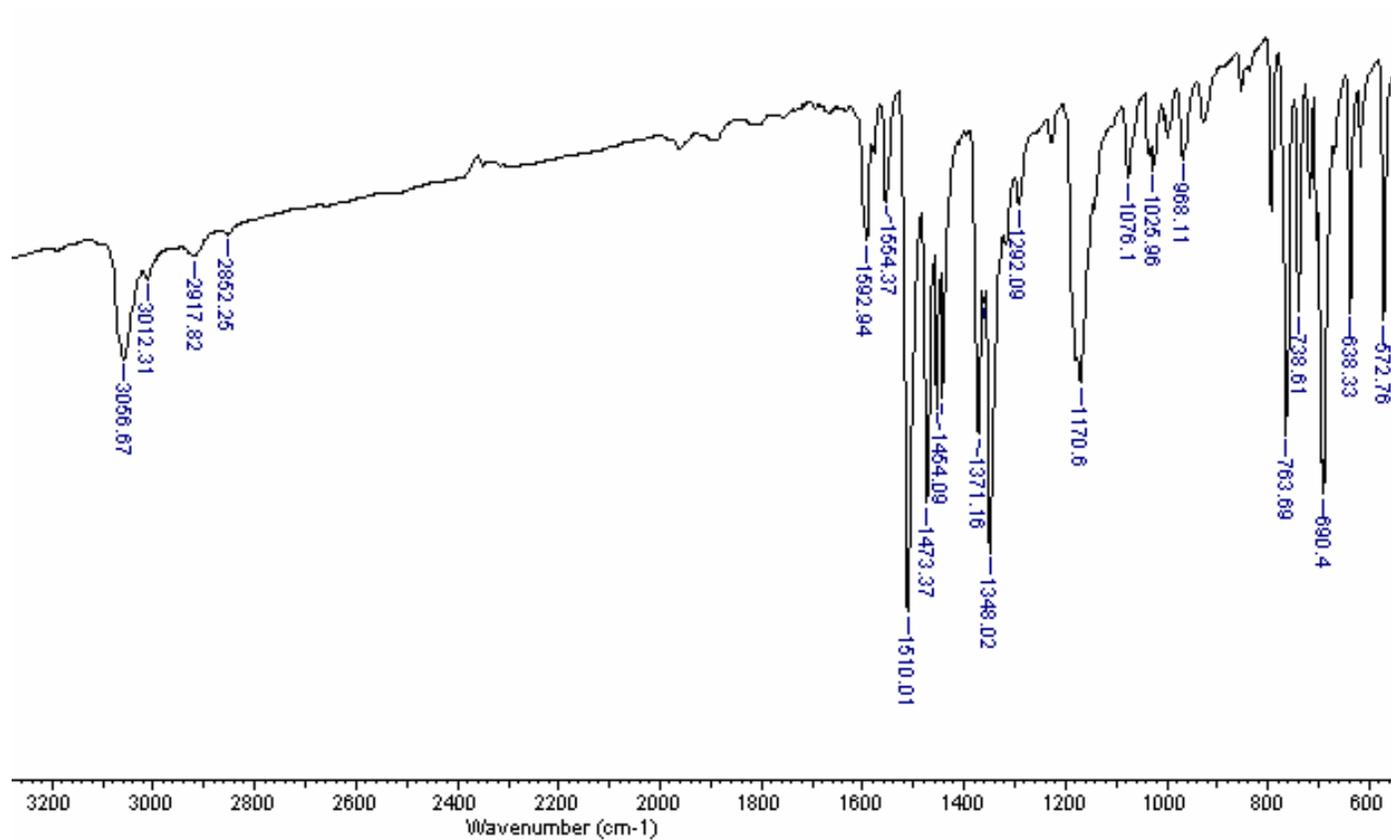
Espectro de RMN ¹H do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (CD₃OD, δ, 200 MHz) (composto 47)



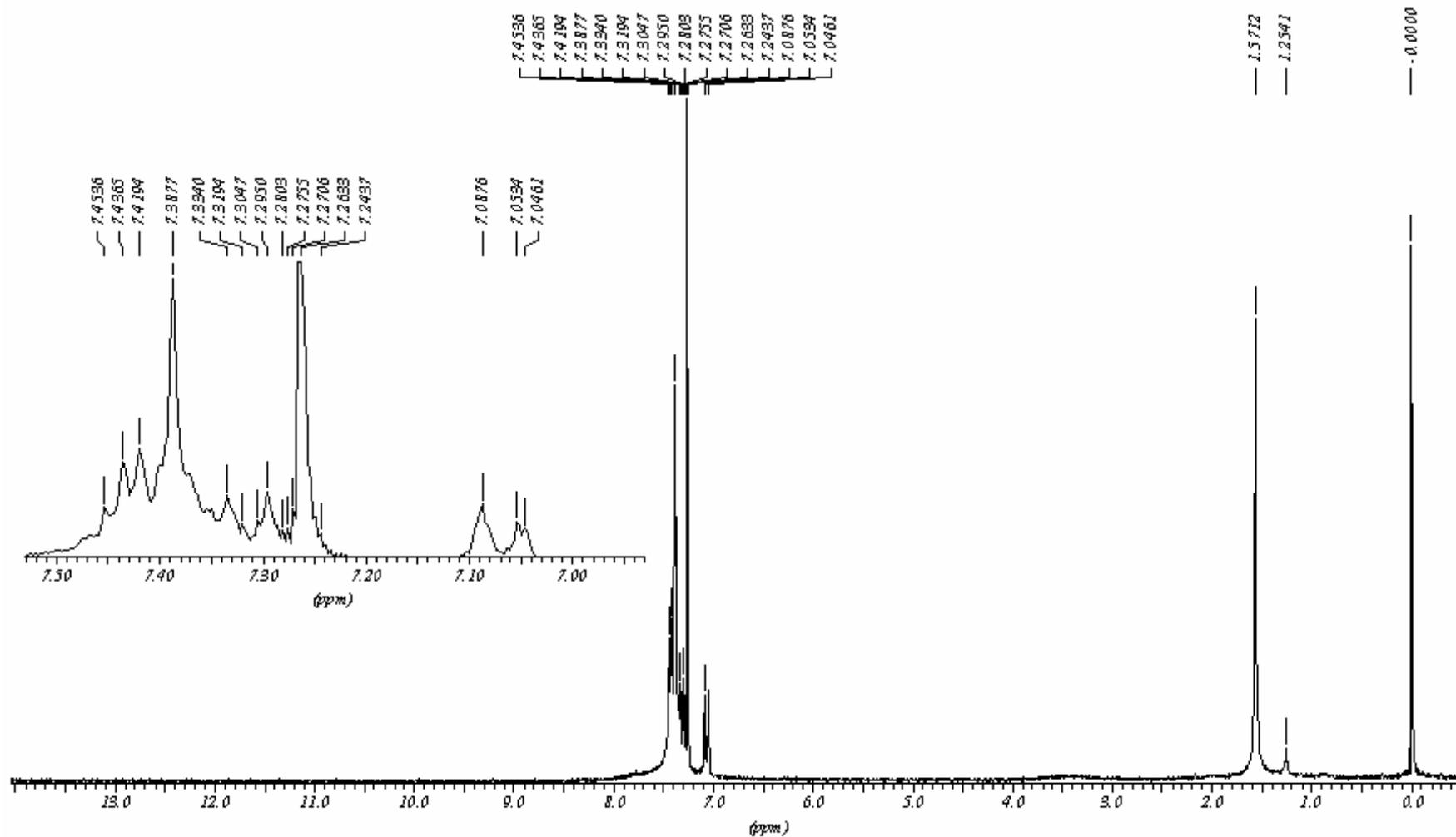
Espectro de RMN ^{13}C do Cloreto de 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 47)



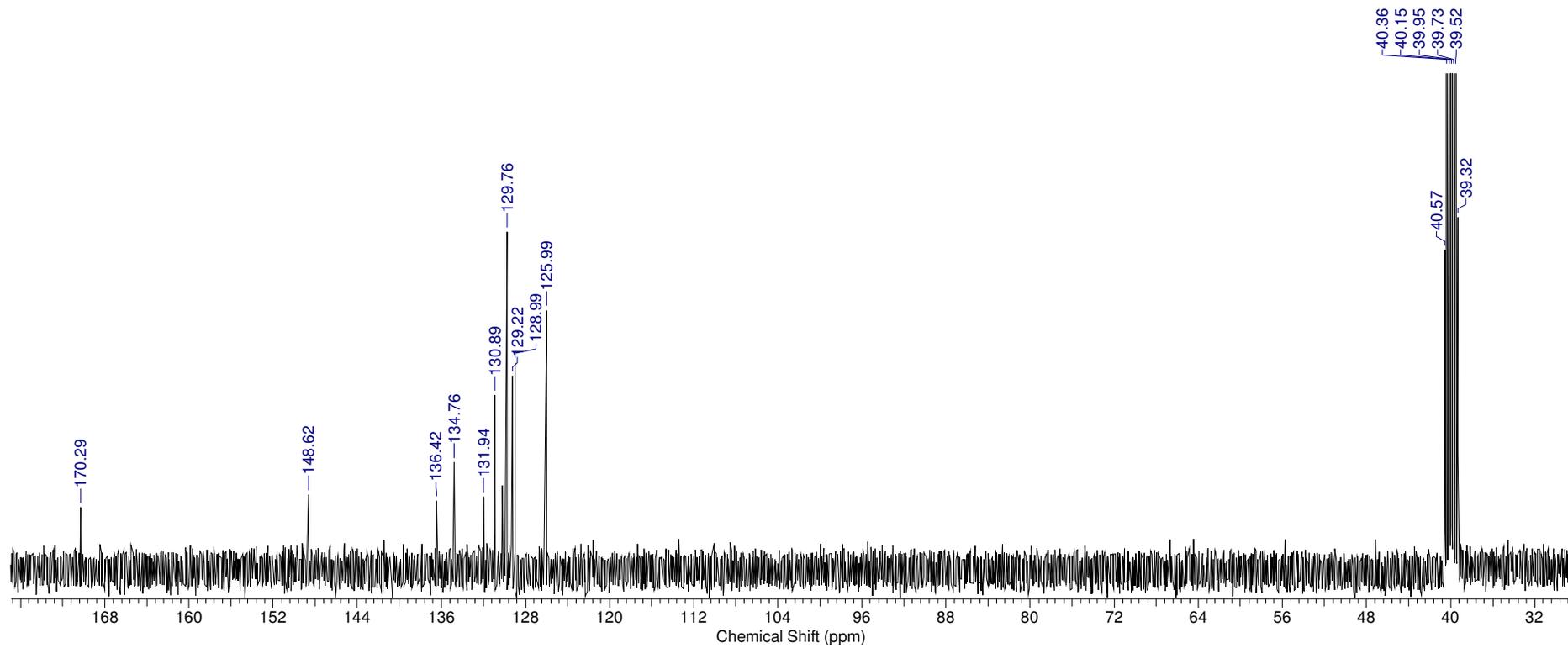
Espectro de IV do 4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (composto 48)



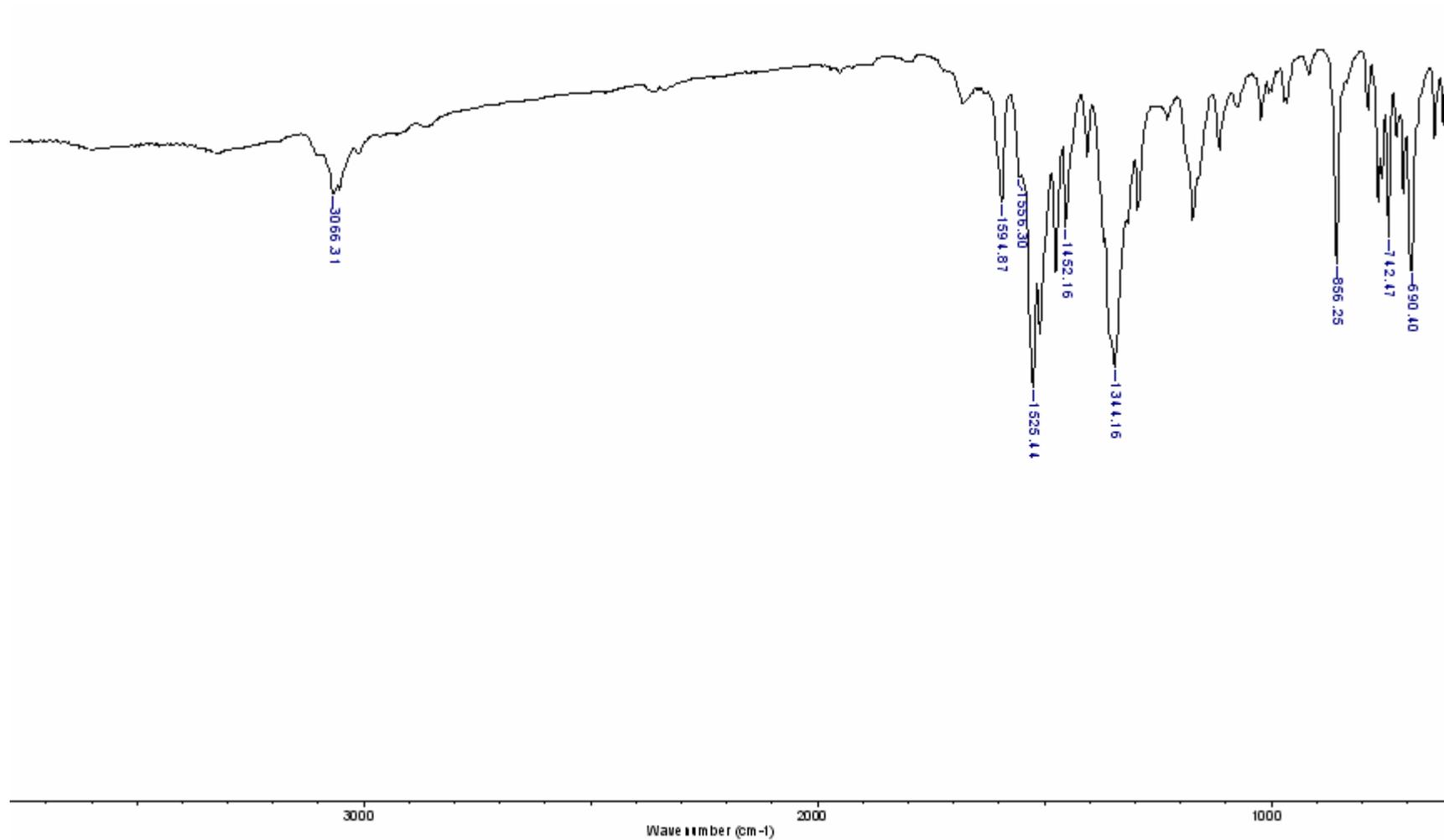
Espectro de RMN ¹H do 4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (CDCl₃, δ, 200 MHz) (composto 48)



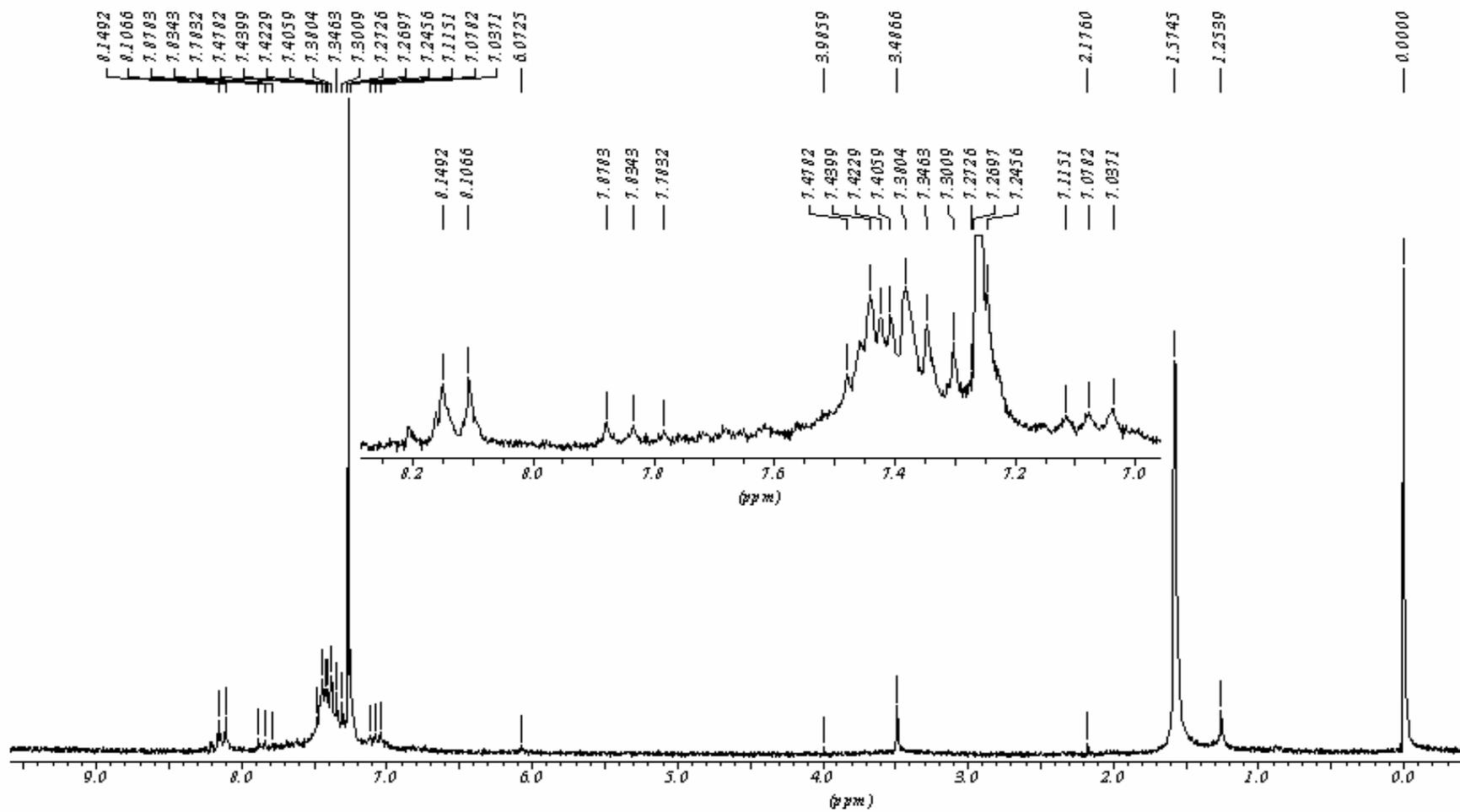
Espectro de RMN ^{13}C do 4,5-Difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 48)



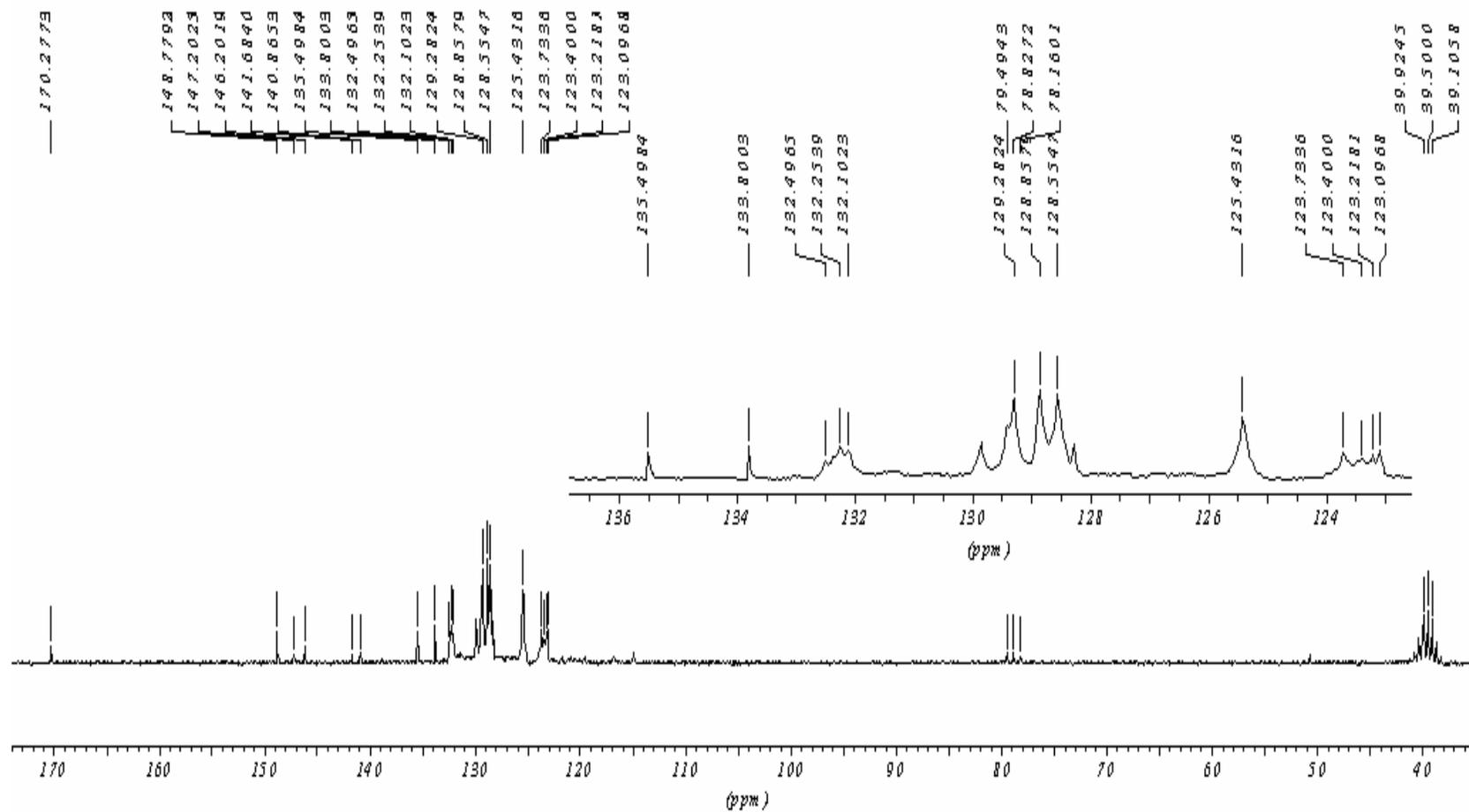
Espectro de IV do 4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (composto 49)



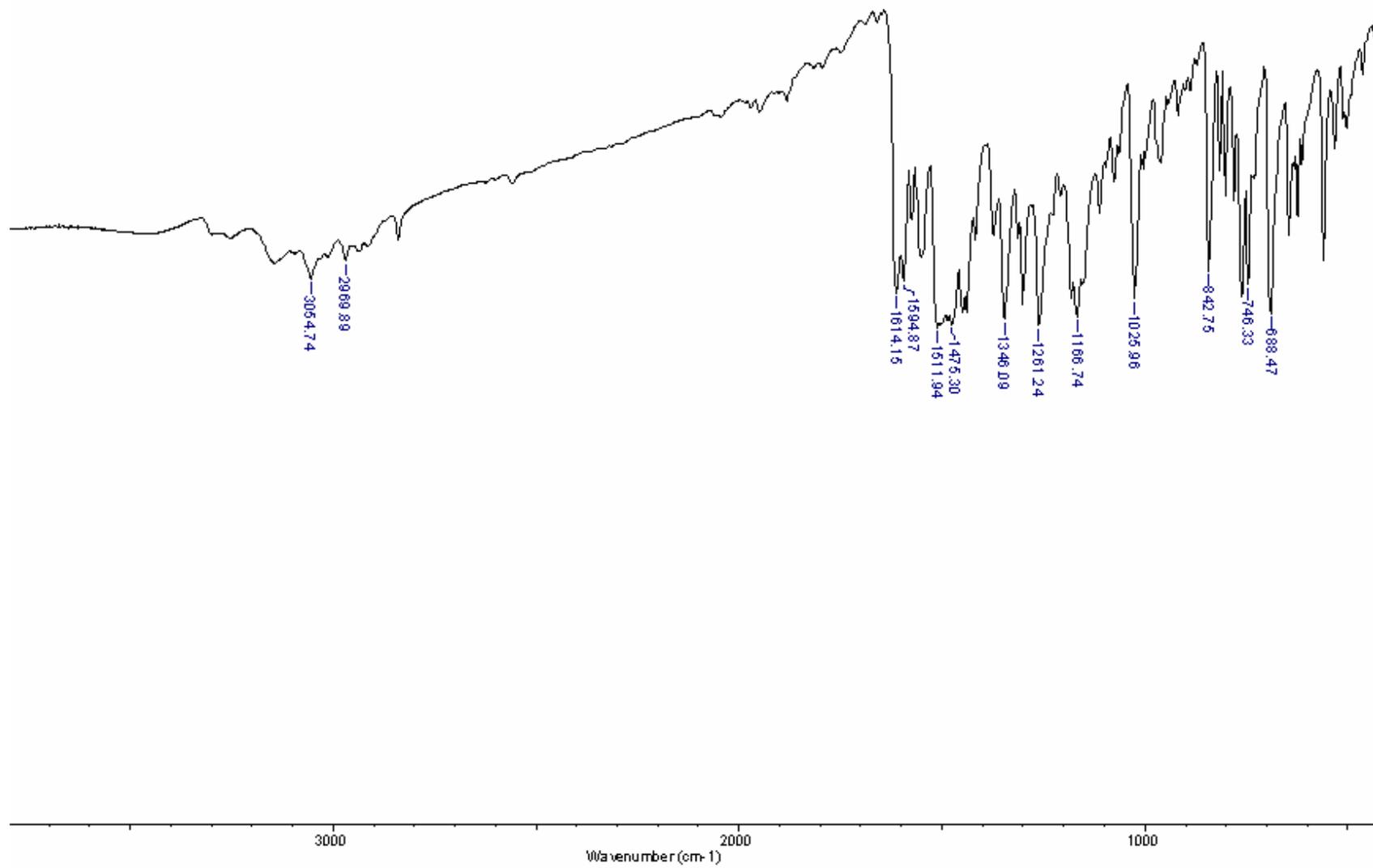
Espectro de RMN ^1H do 4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (CDCl_3 , δ , 200 MHz) (composto 49)



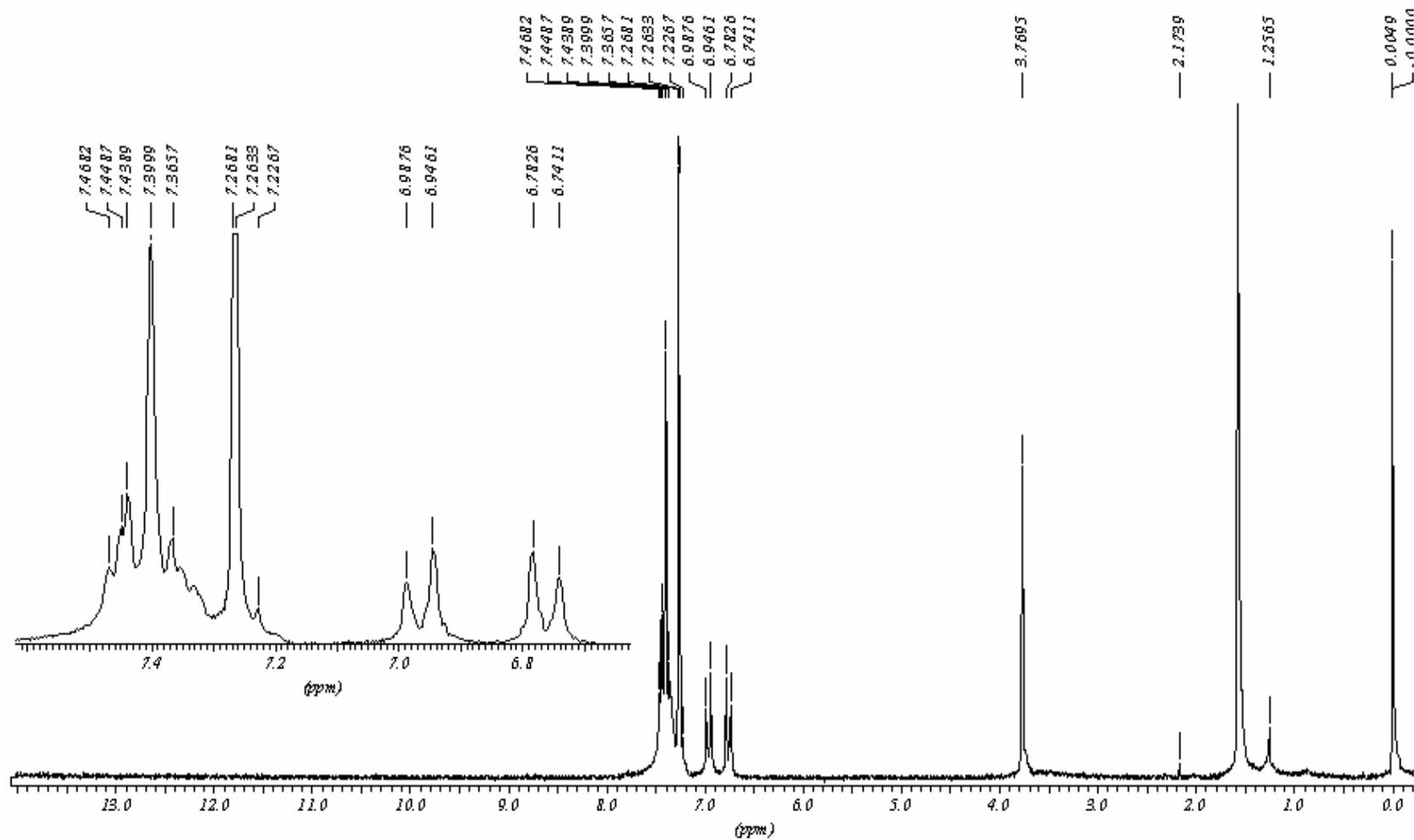
Espectro de RMN ^{13}C do 4-Fenil-5-(4'-nitro-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (CDCl_3 e DMSO-d_6 , δ , 50 MHz) (composto 49)



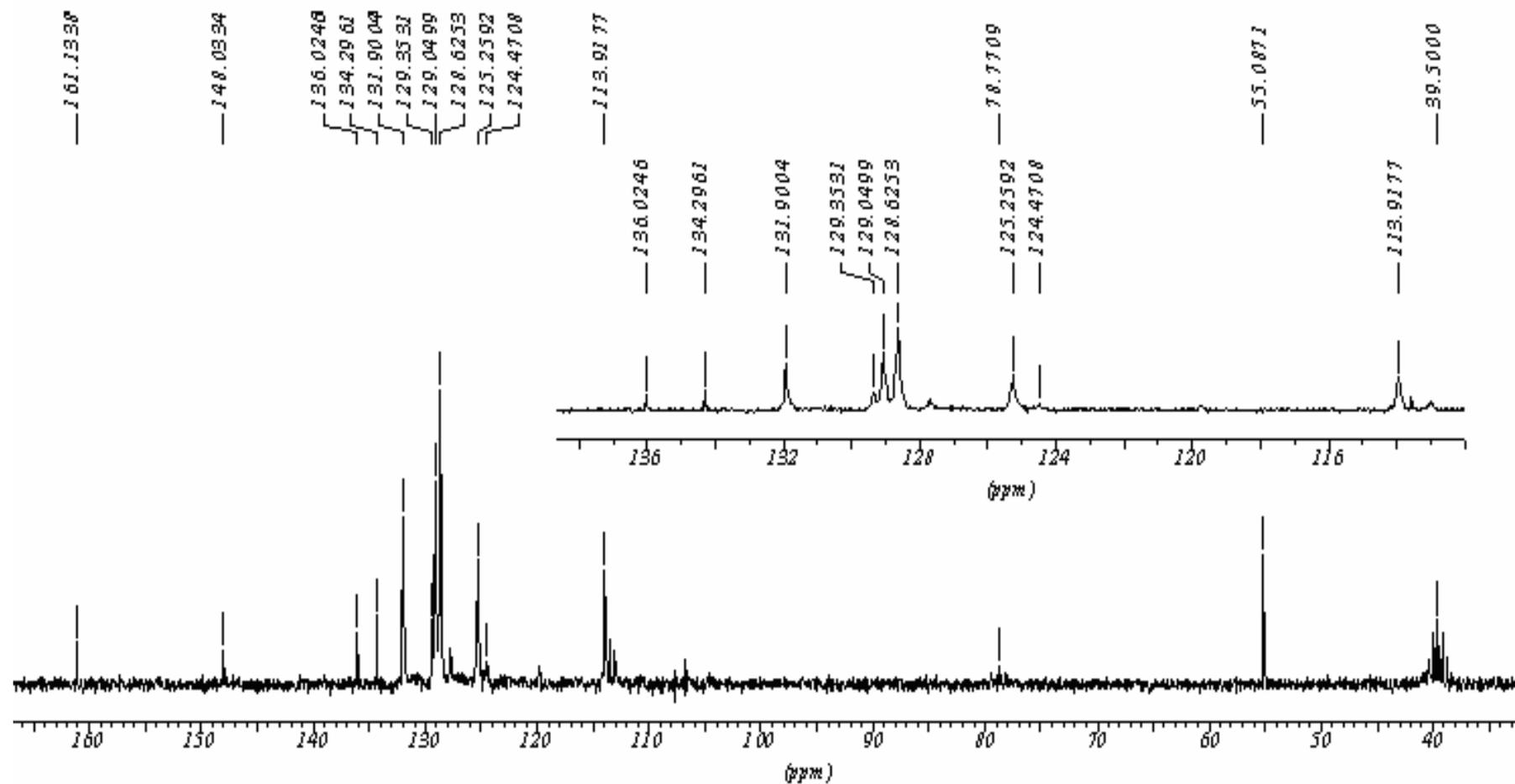
Espectro de IV do 4-Fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (composto 50)



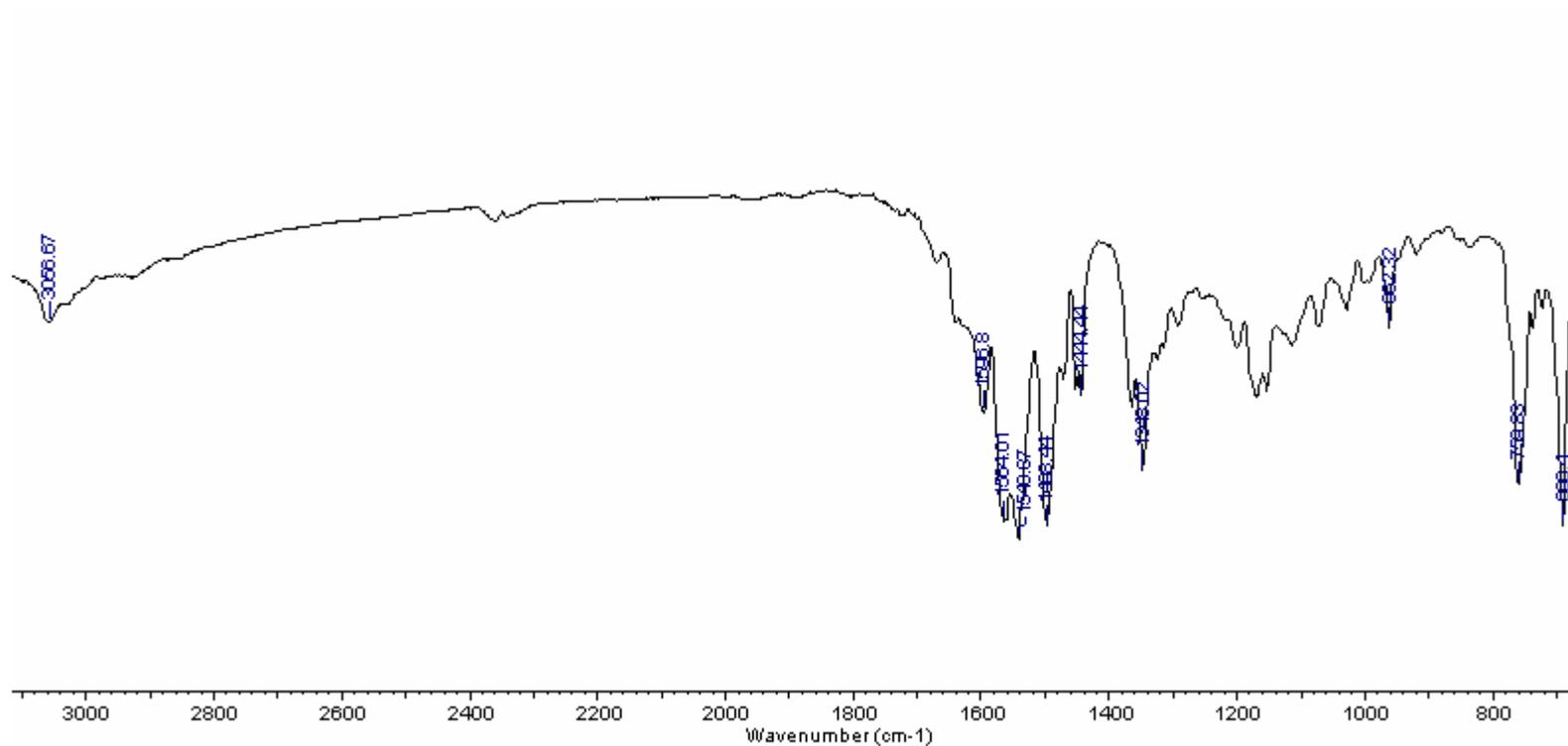
Espectro de RMN ^1H do 4-Fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (CDCl_3 , δ , 200 MHz) (composto 50)



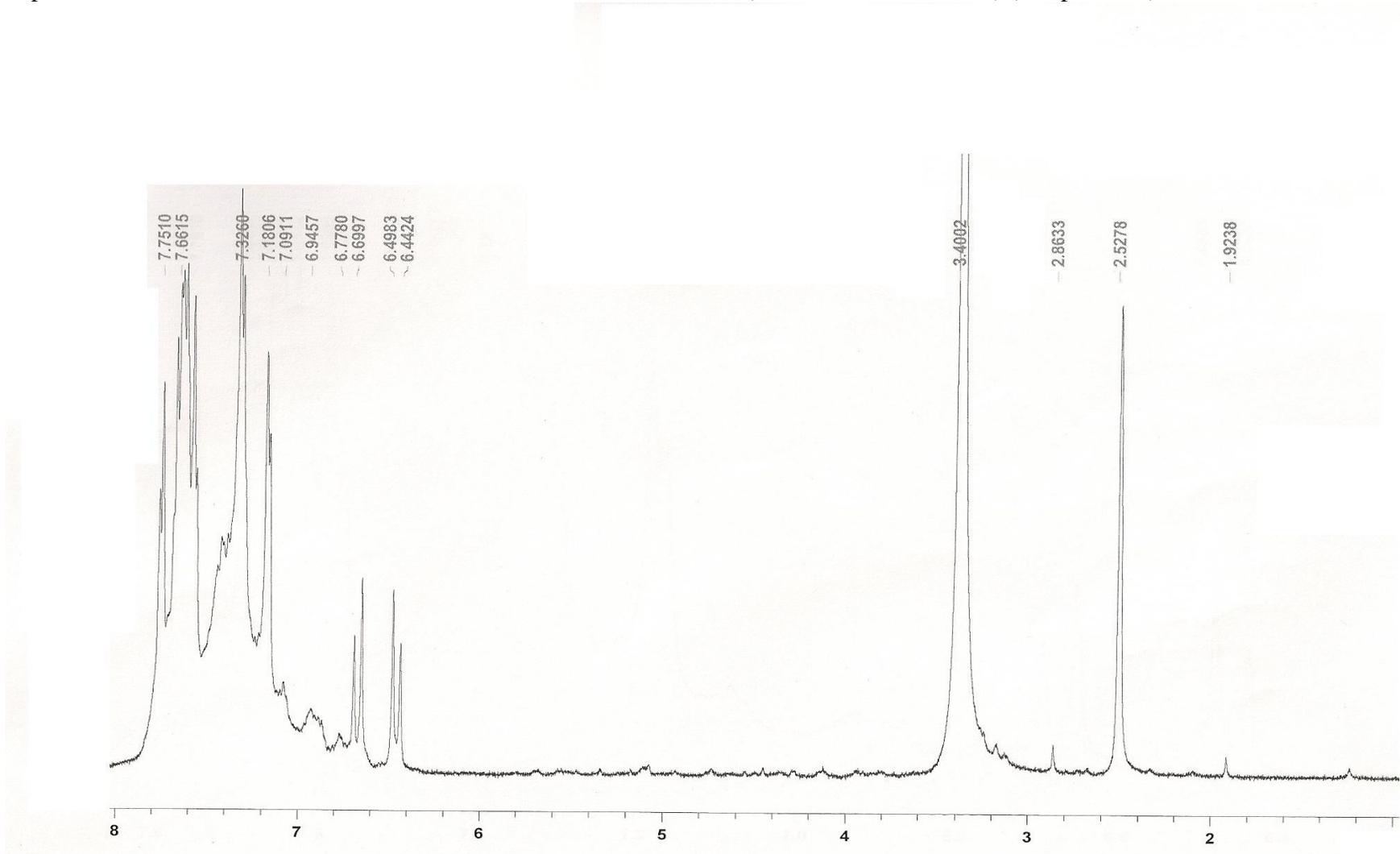
Espectro de RMN ^{13}C do 4-Fenil-5-(4'-metóxi-fenil)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminida (CDCl_3 e DMSO-d_6 , δ , 50 MHz) (composto 50)

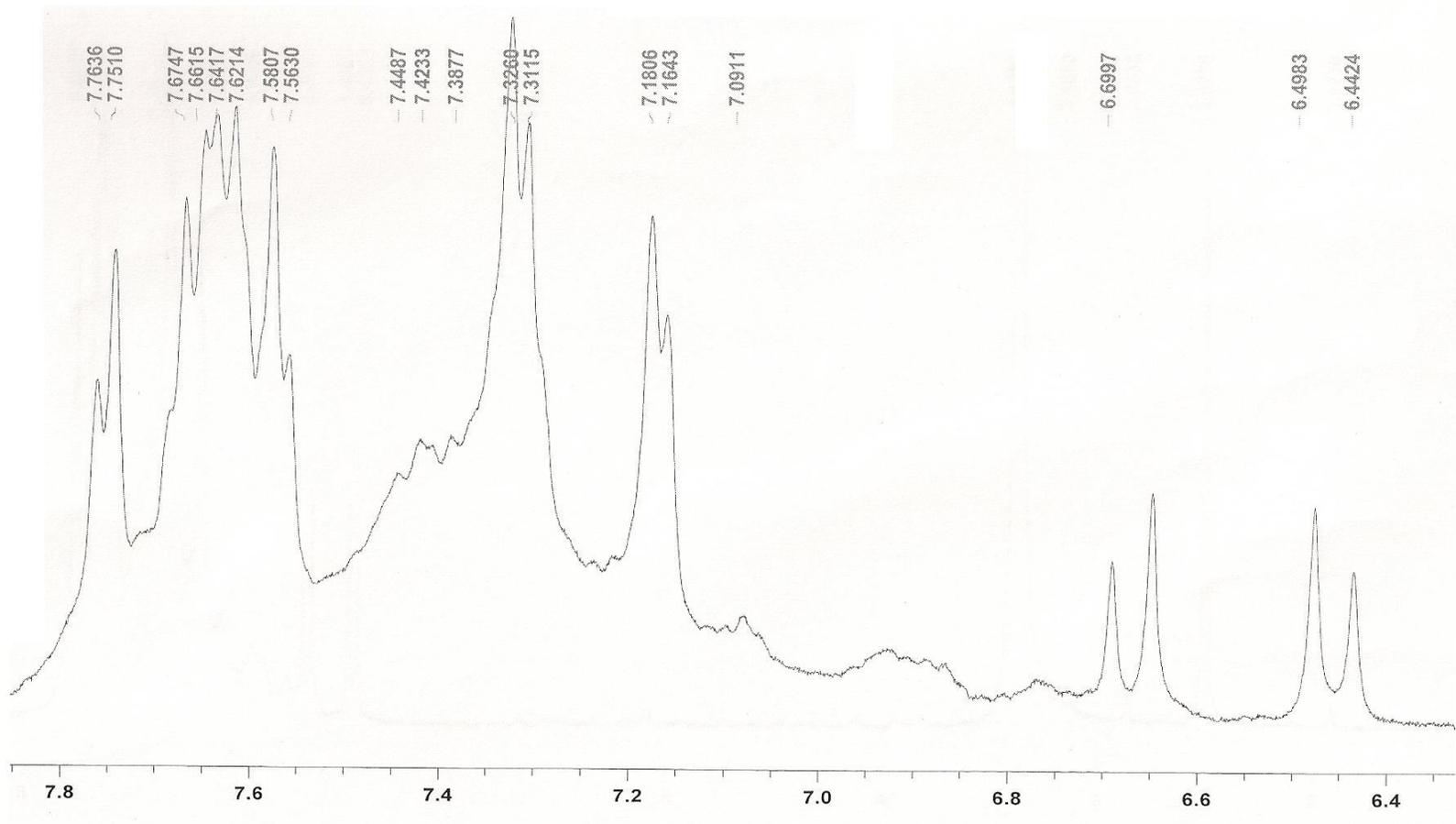


Espectro de IV do 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 51)

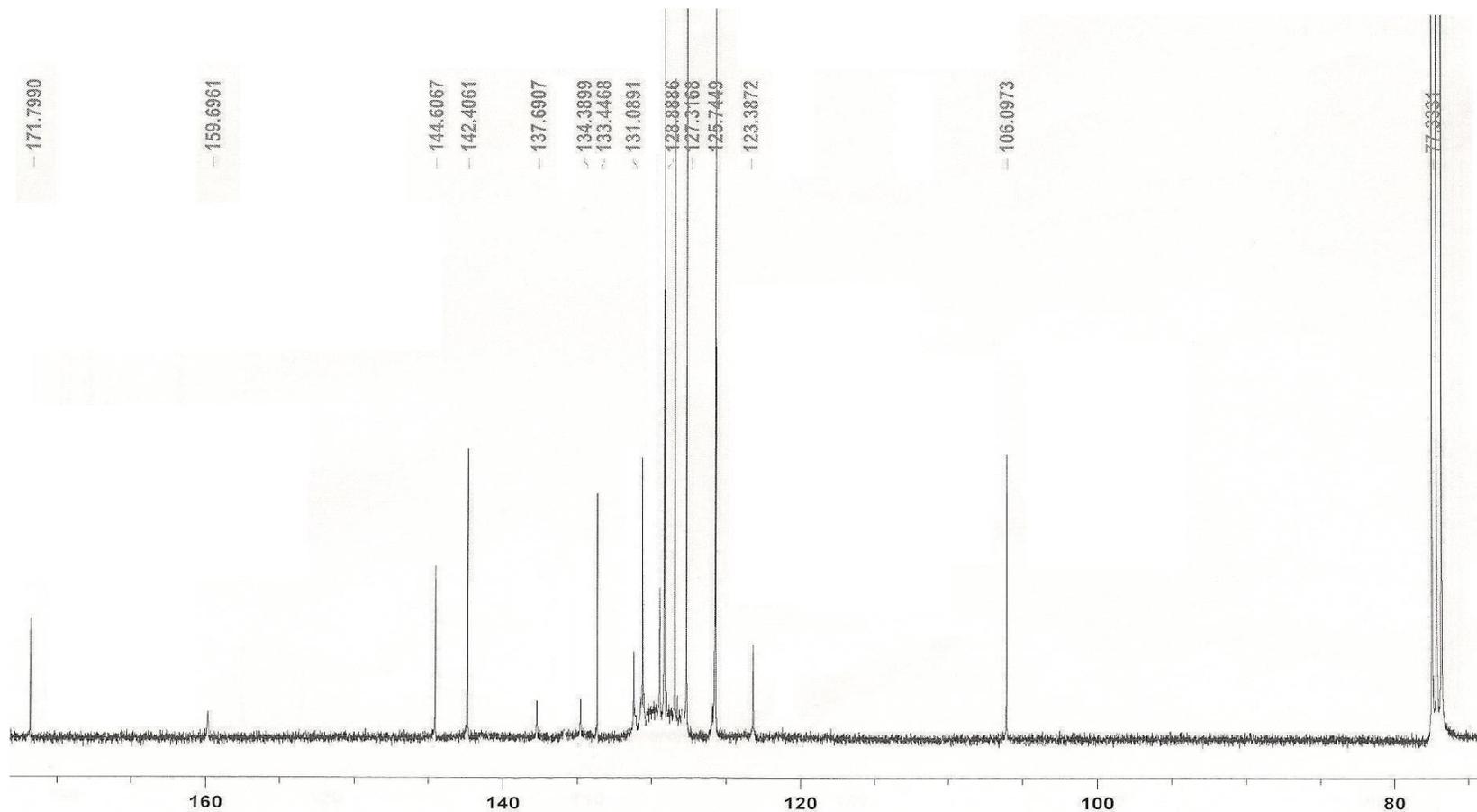


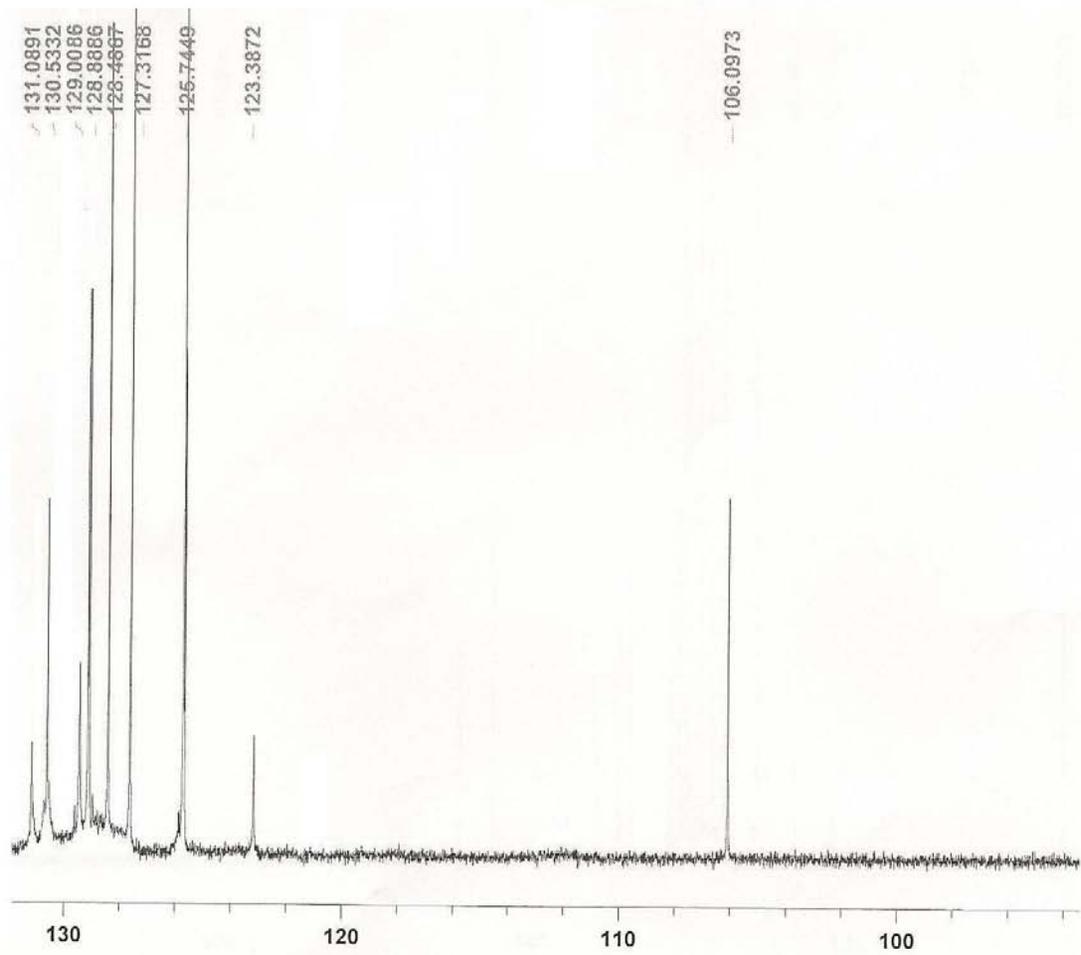
Espectro de RMN ^1H do 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 51)



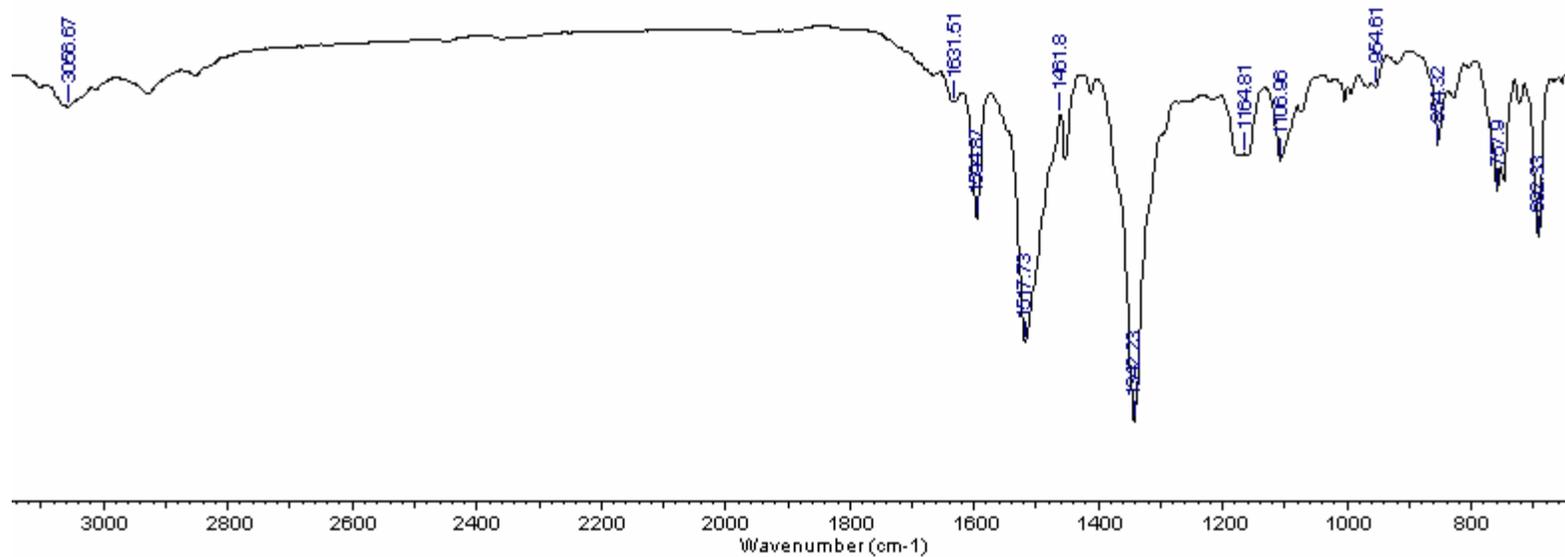


Espectro de RMN ^{13}C do 4-fenil-5-esteril-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (CDCl_3 , δ , 100 MHz) (composto 51)

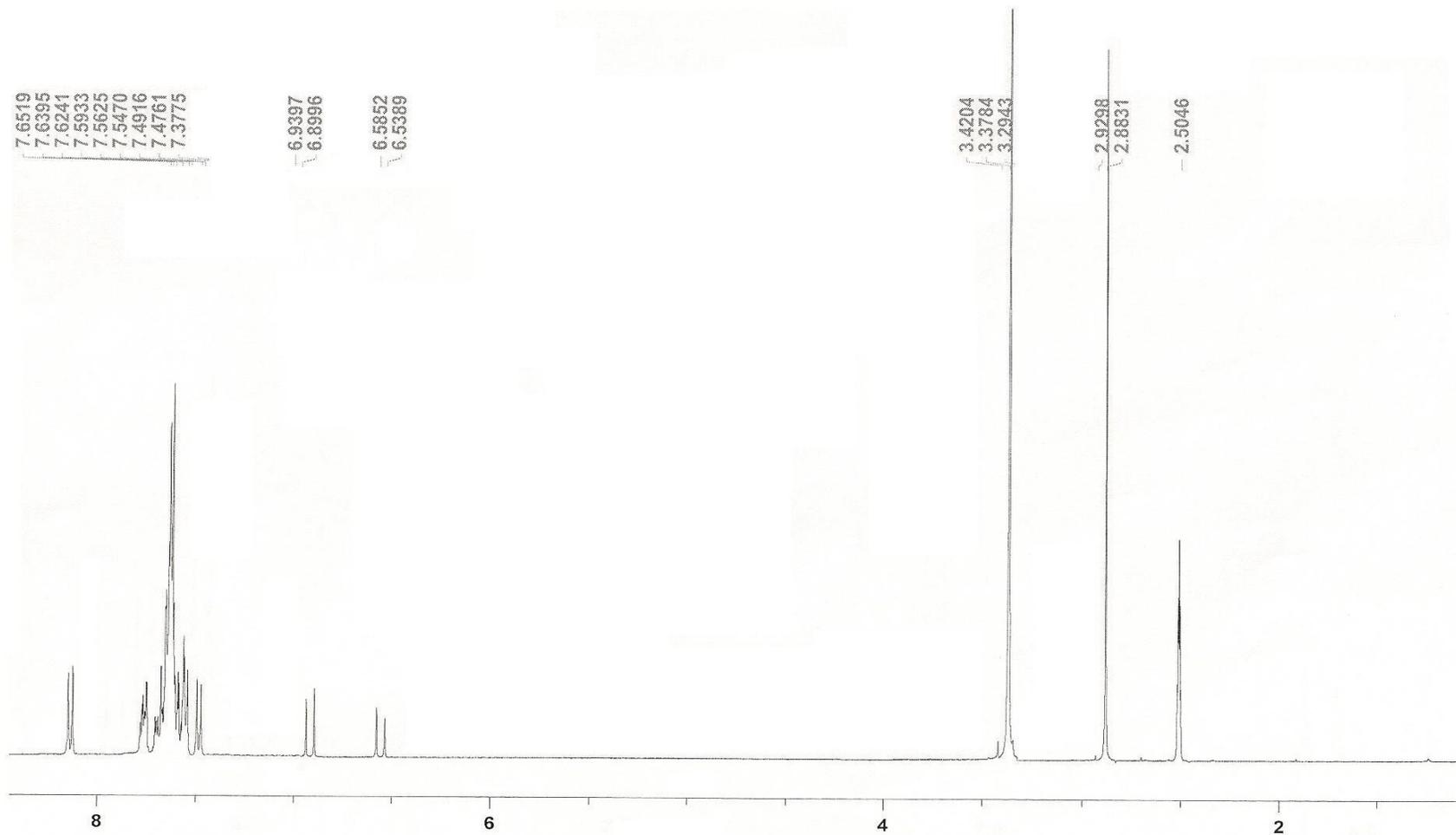


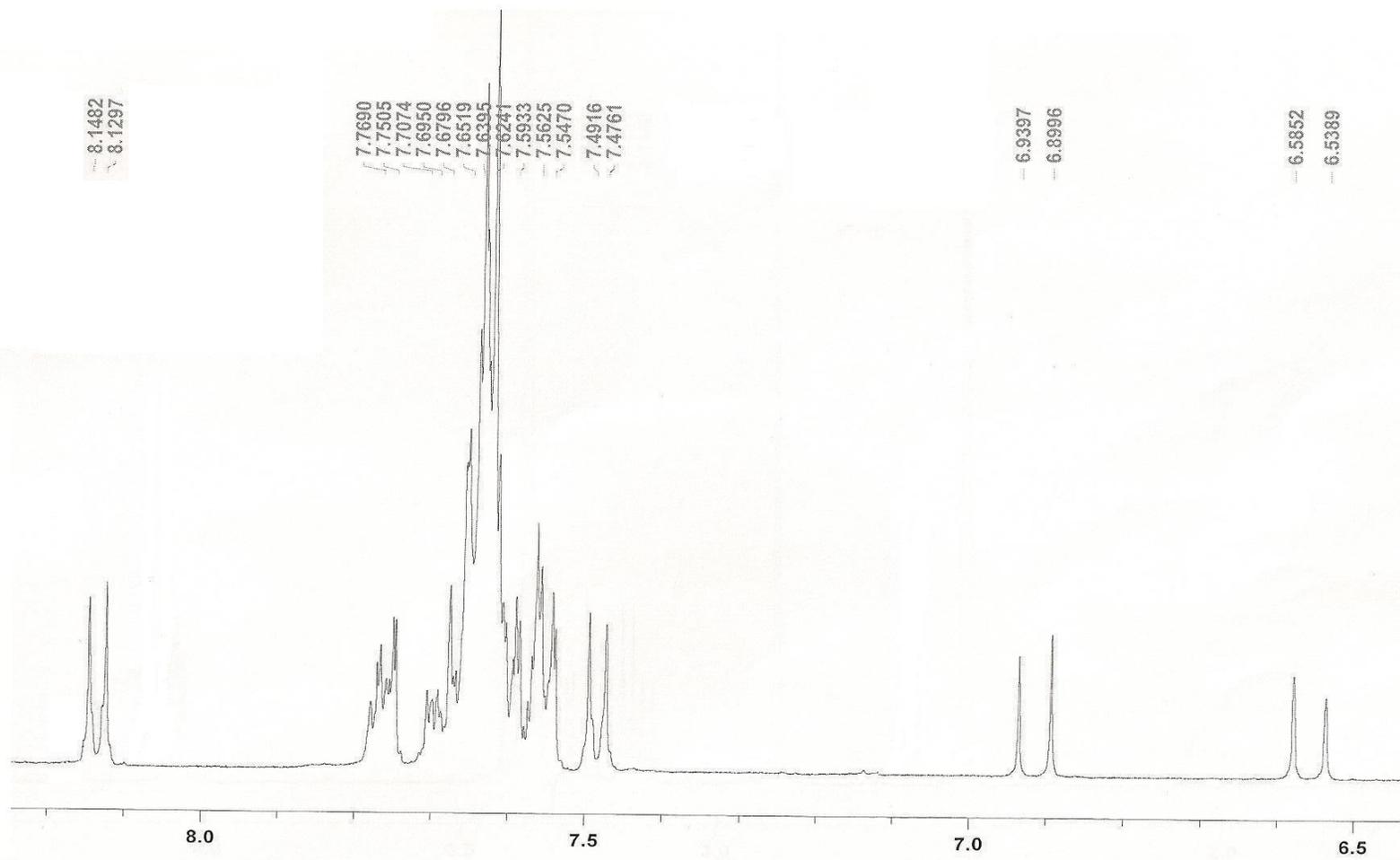


Espetro de IV do 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 52)

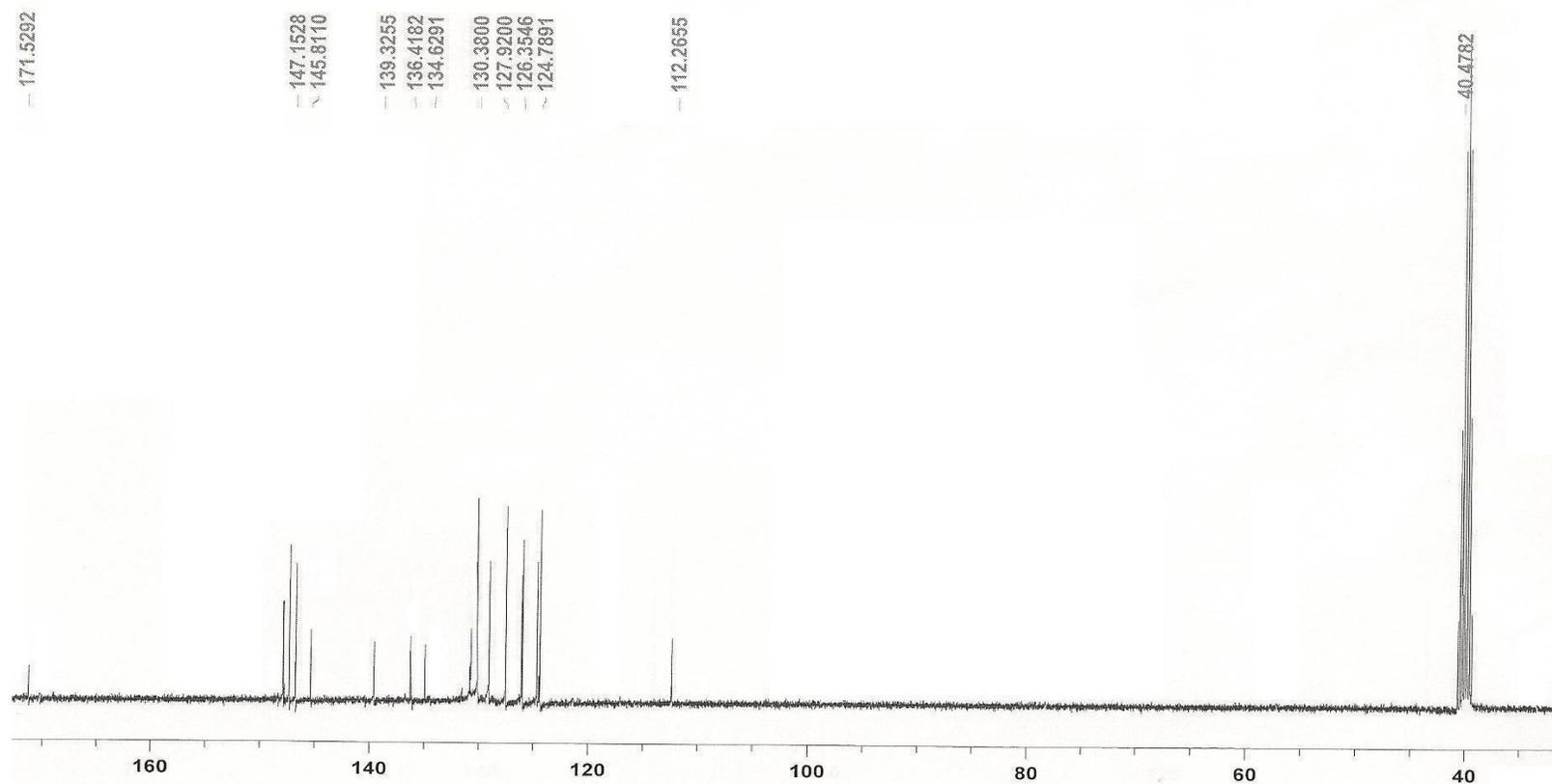


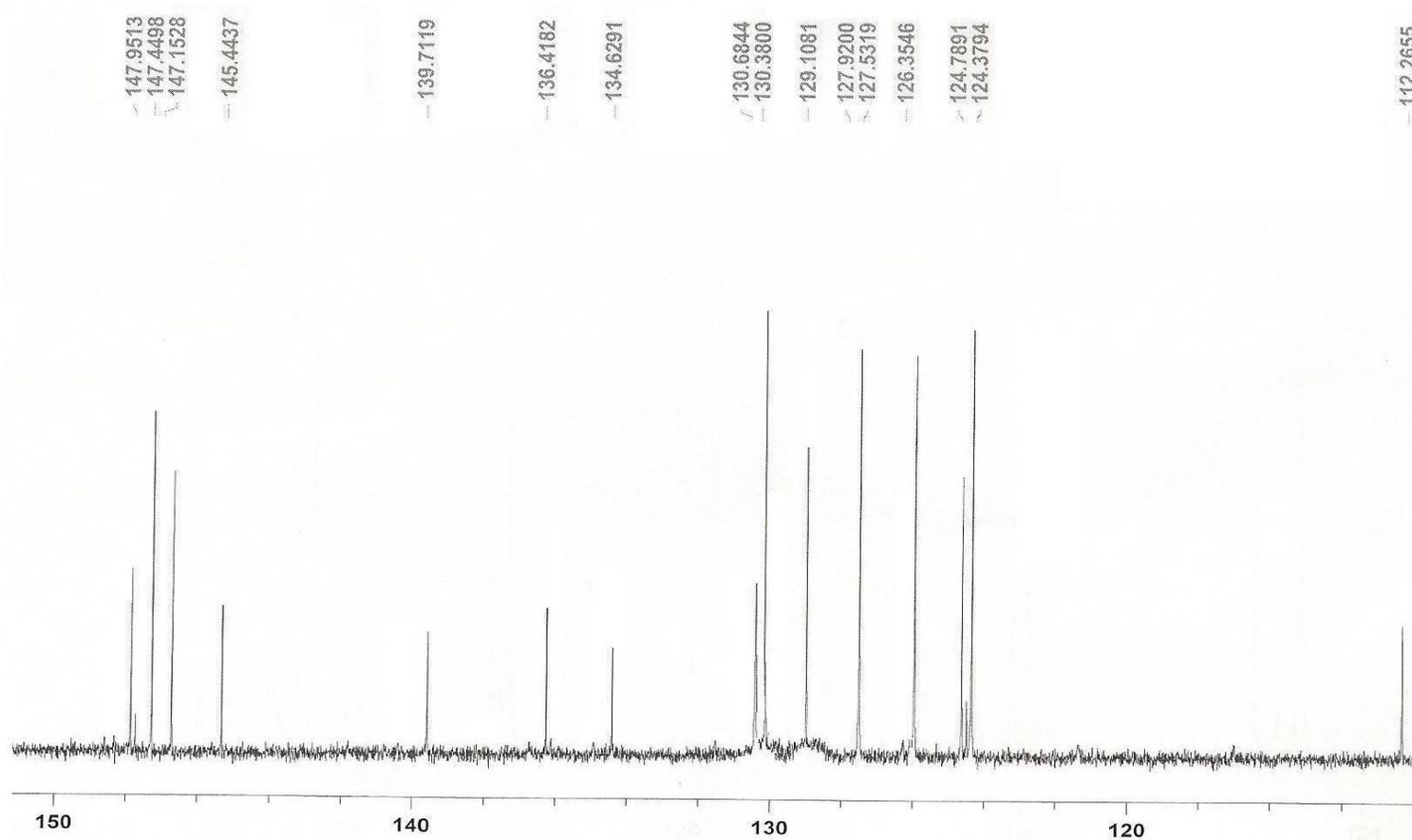
Espetro de RMN ^1H do 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 52)



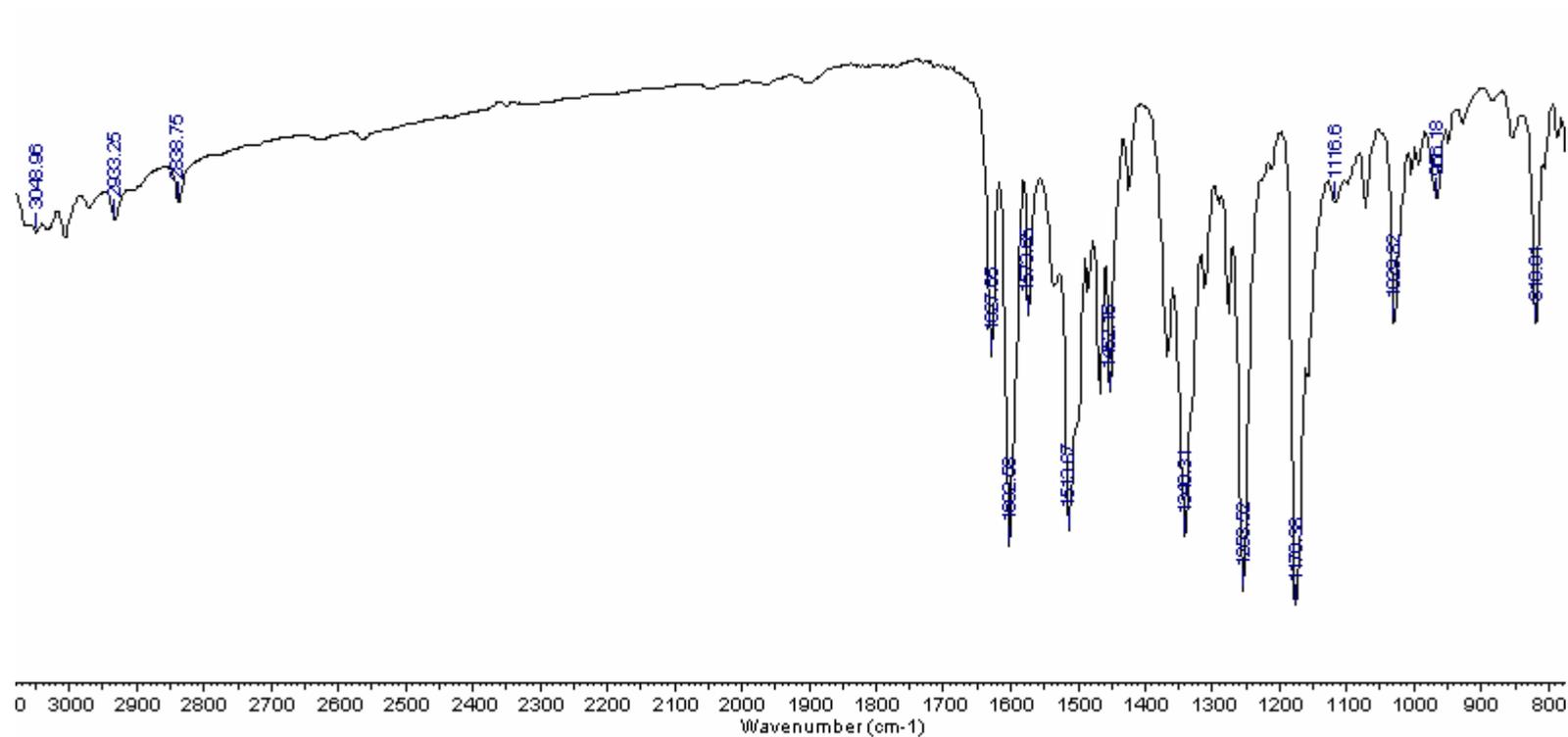


Espetro de RMN ^{13}C do 4-fenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 52)

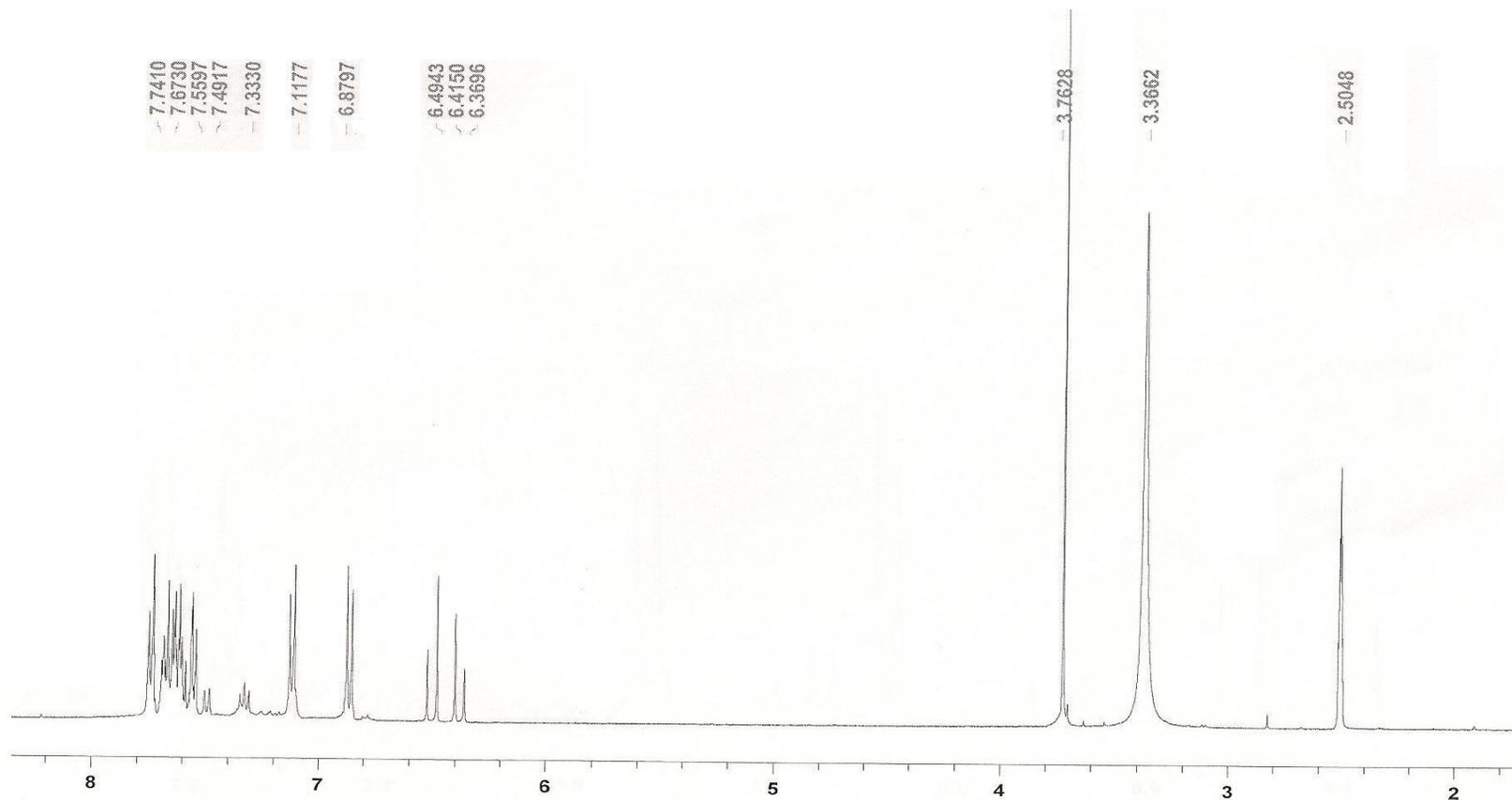




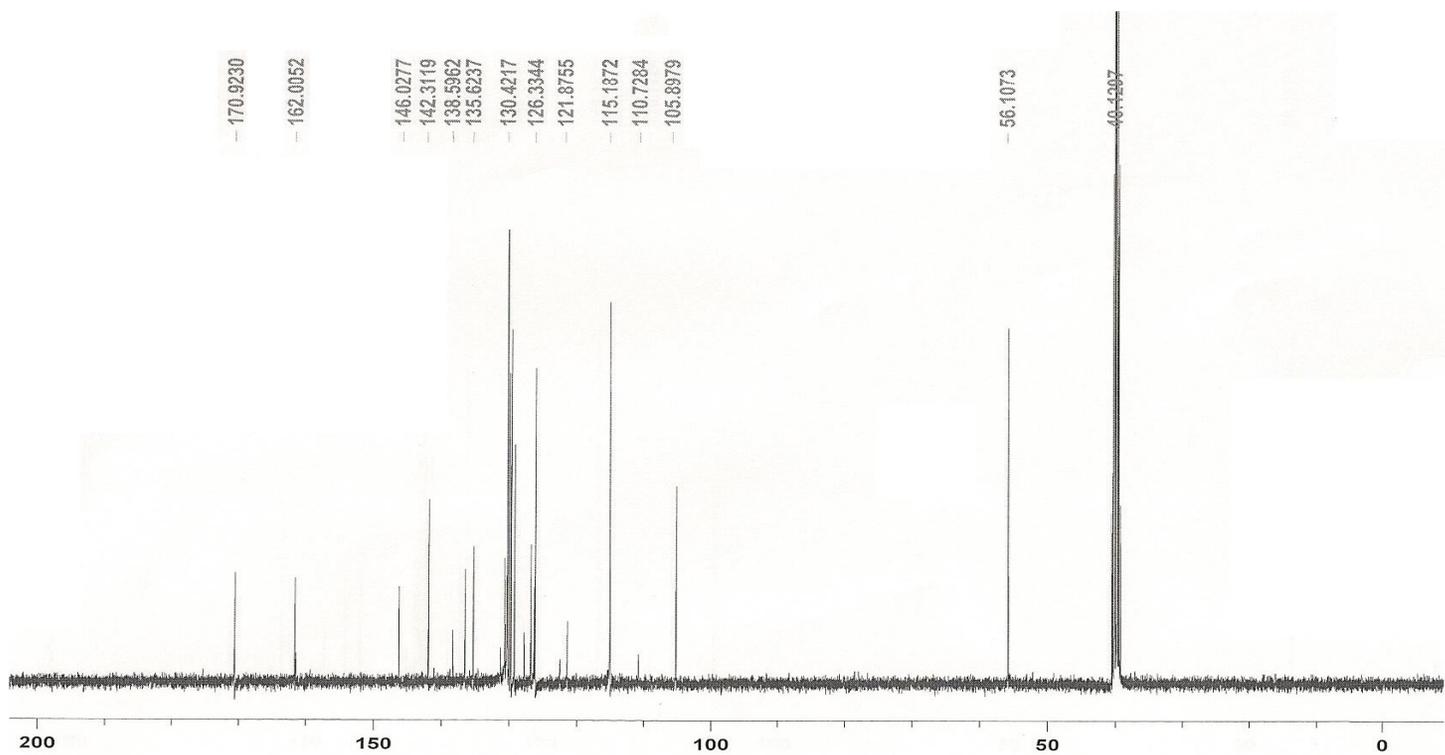
Espectro de IV do 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (composto 53)



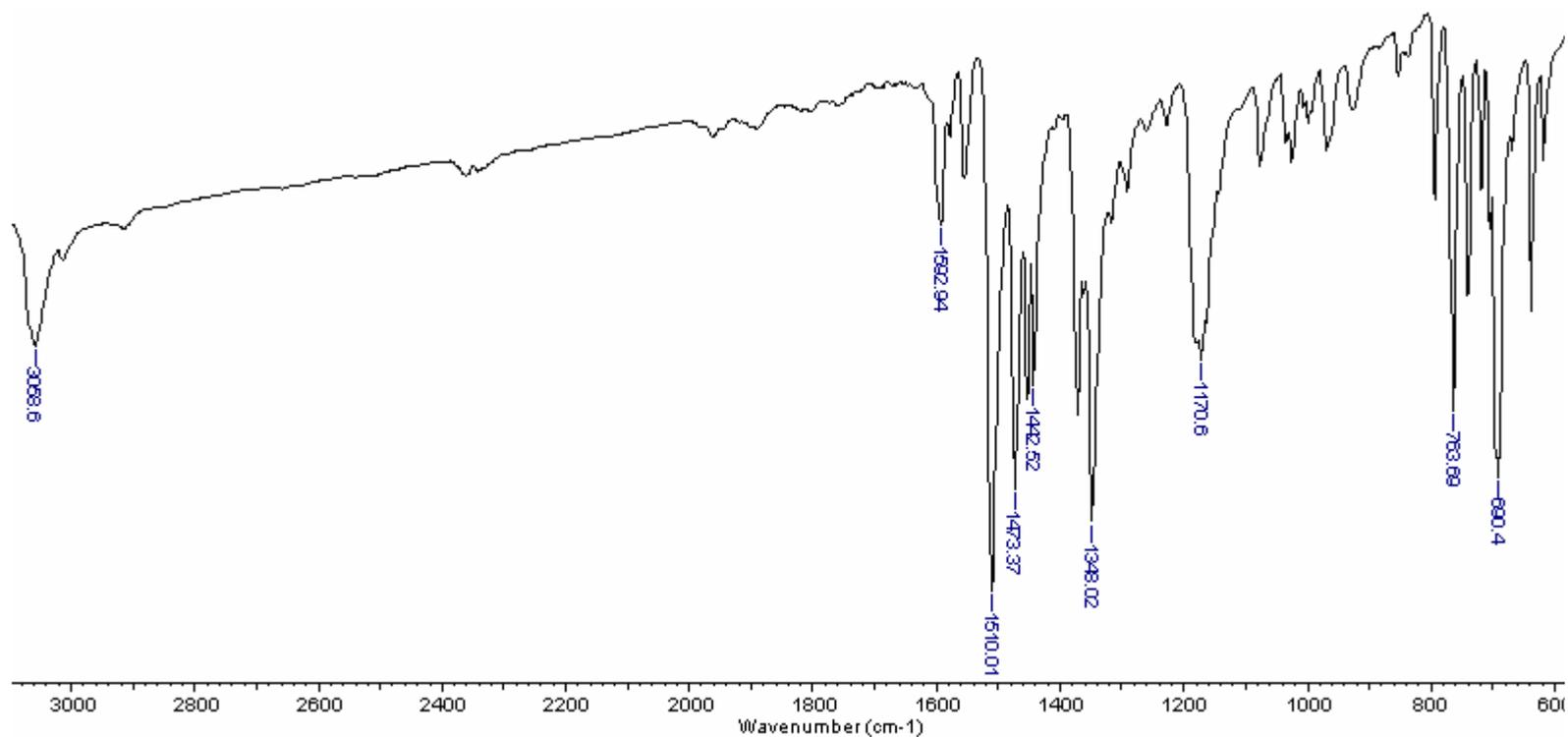
Espectro de RMN ^1H do 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 53)



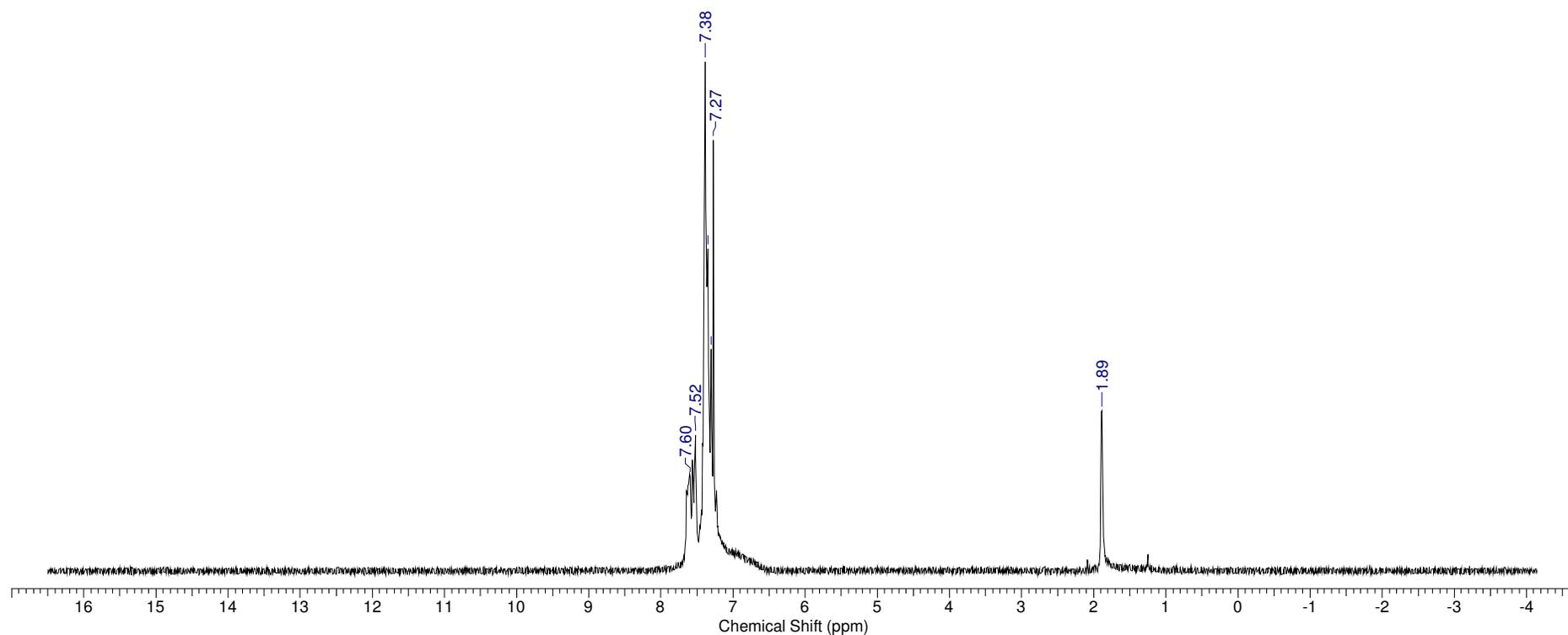
Espectro de RMN ^{13}C do 4-fenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 53)



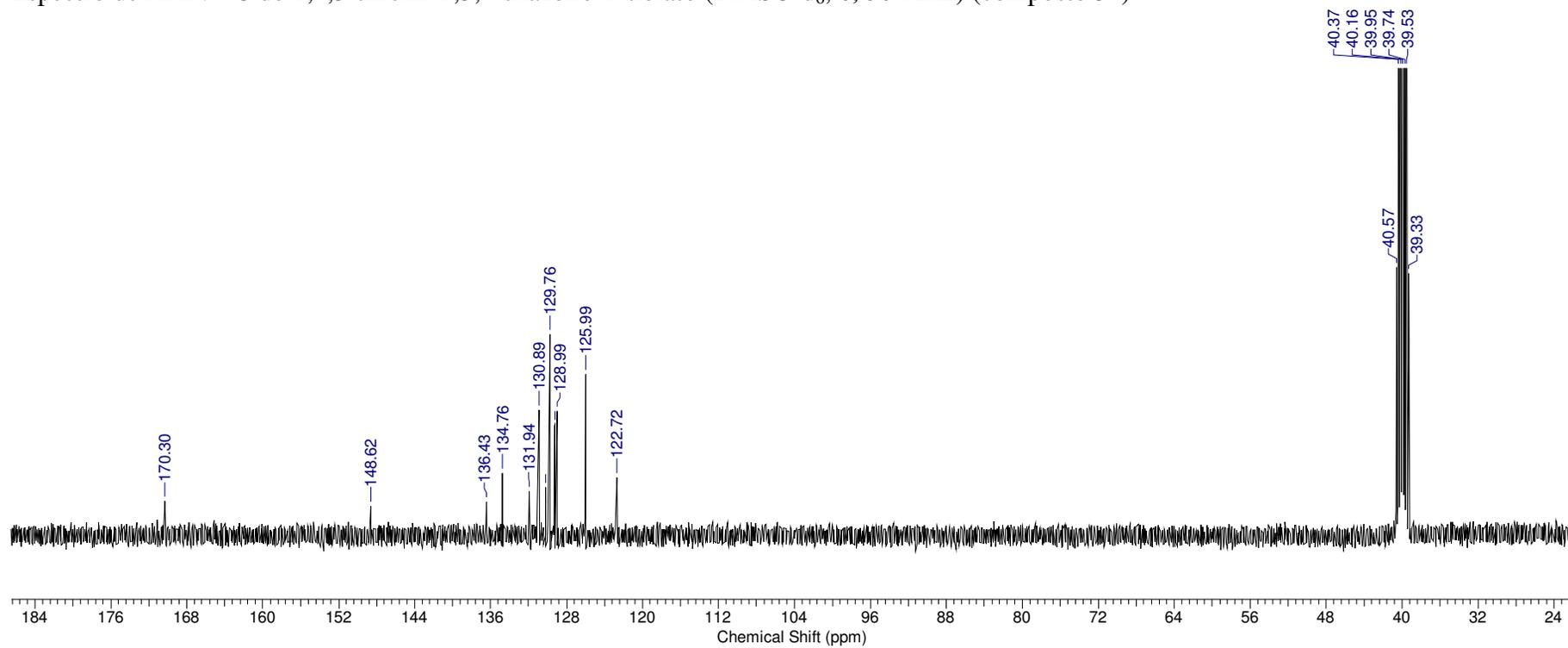
Espectro de IV do 1,4,5-trifenil-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 54)



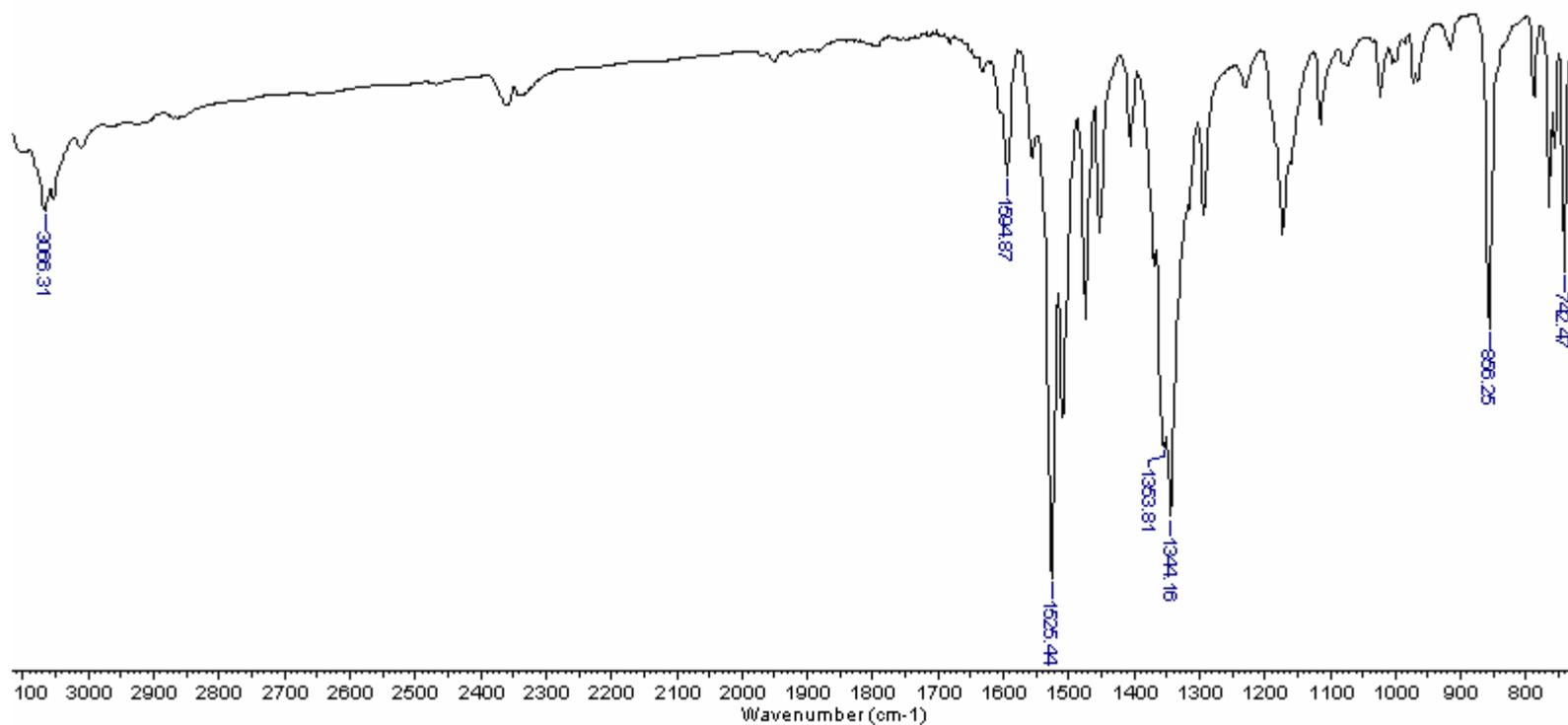
Espectro de RMN ^1H do 1,4,5-trifenil-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 200 MHz) (composto 54)



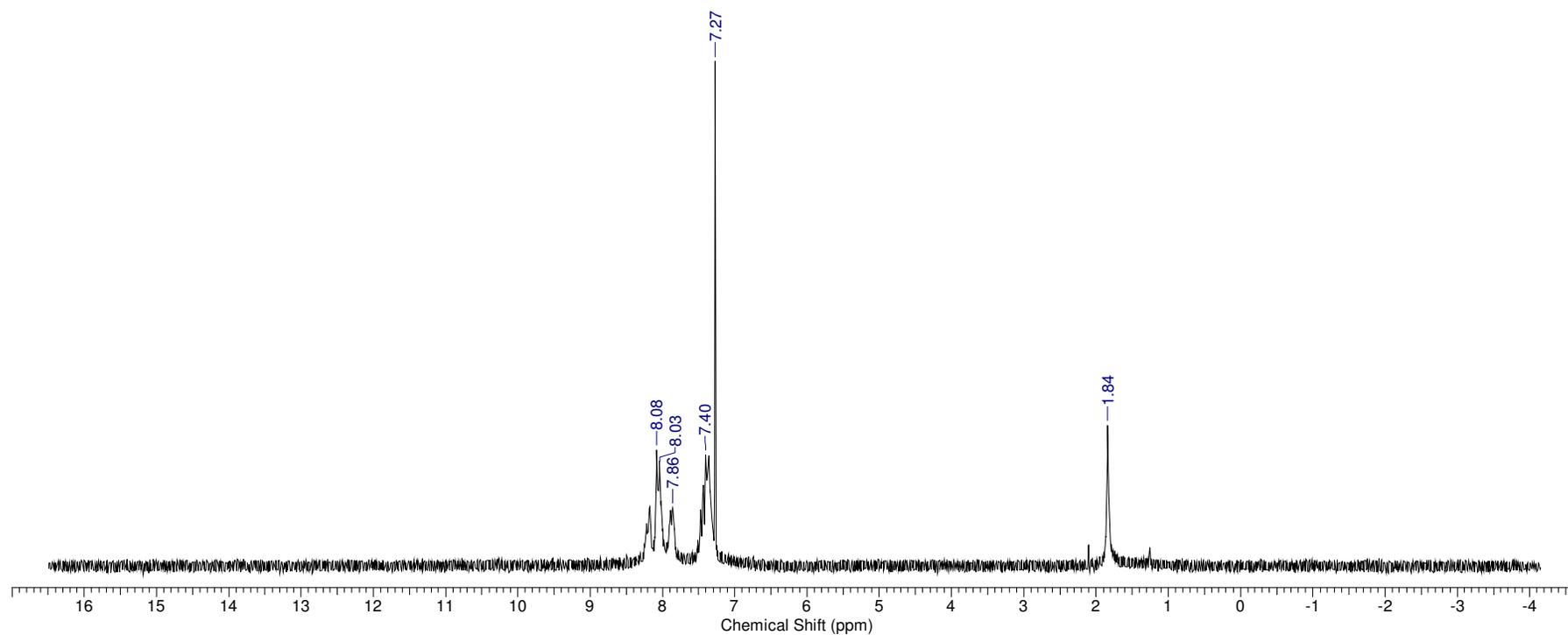
Espectro de RMN ^{13}C do 1,4,5-trifenil-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 54)



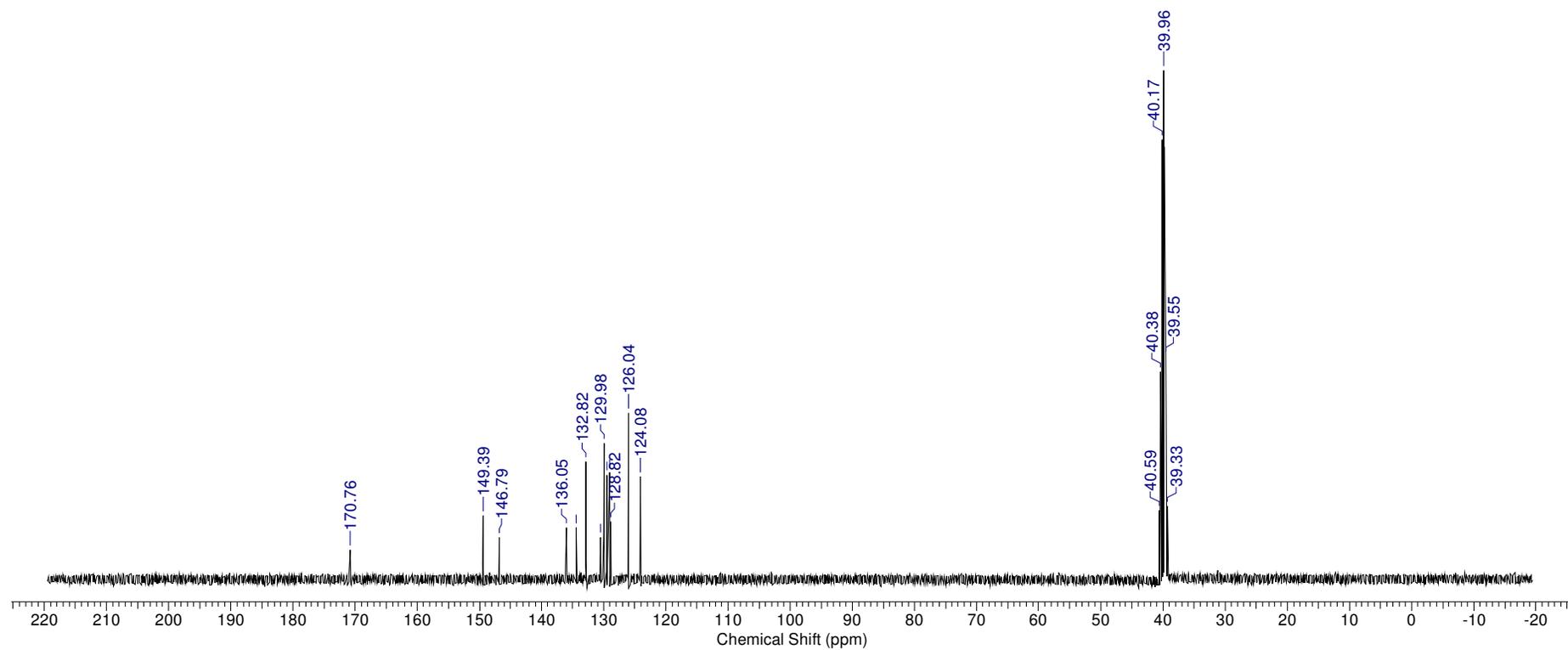
Espectro de IV do 1,4-difenil-5-(4'-nitro)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 55)



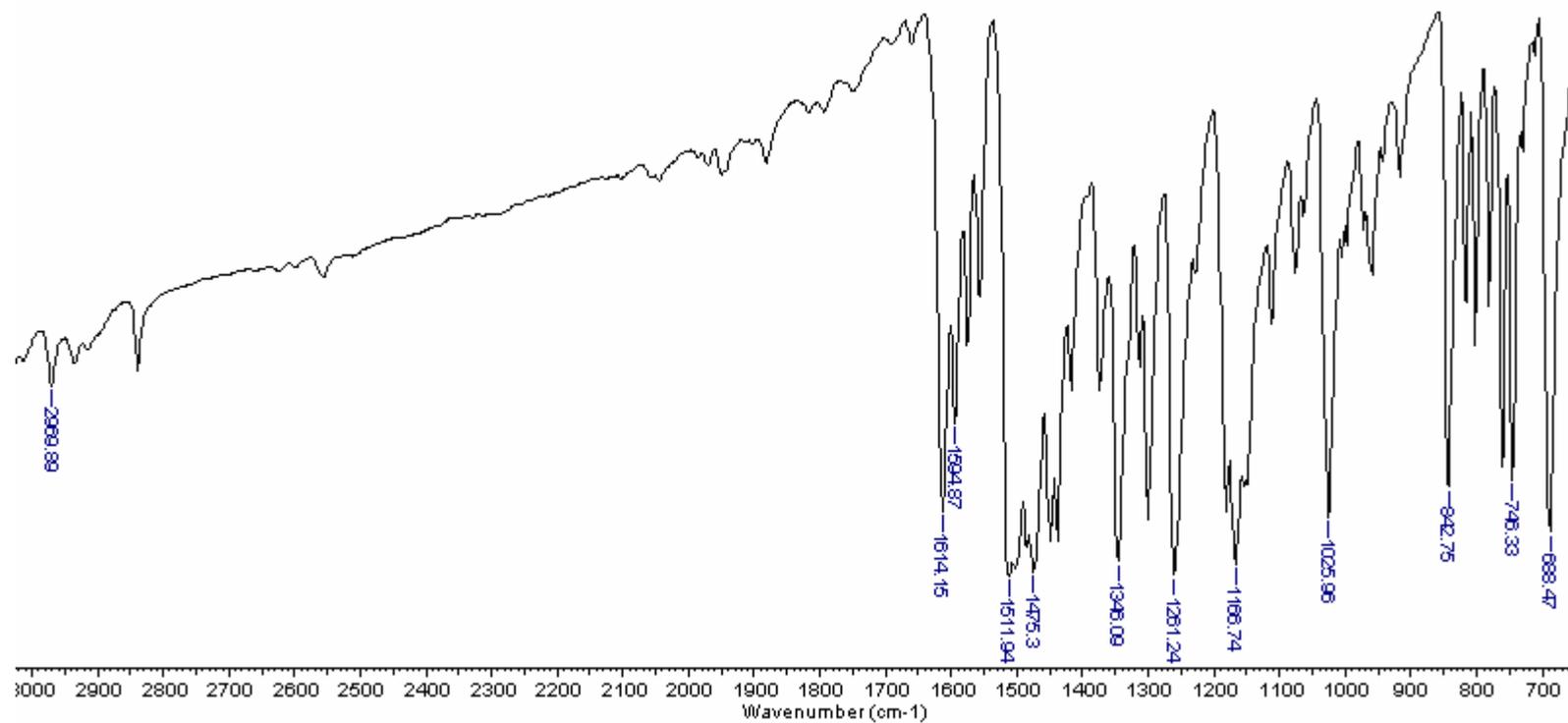
Espectro de RMN ^1H do 1,4-difenil-5-(4'-nitro)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 200 MHz) (composto 55)



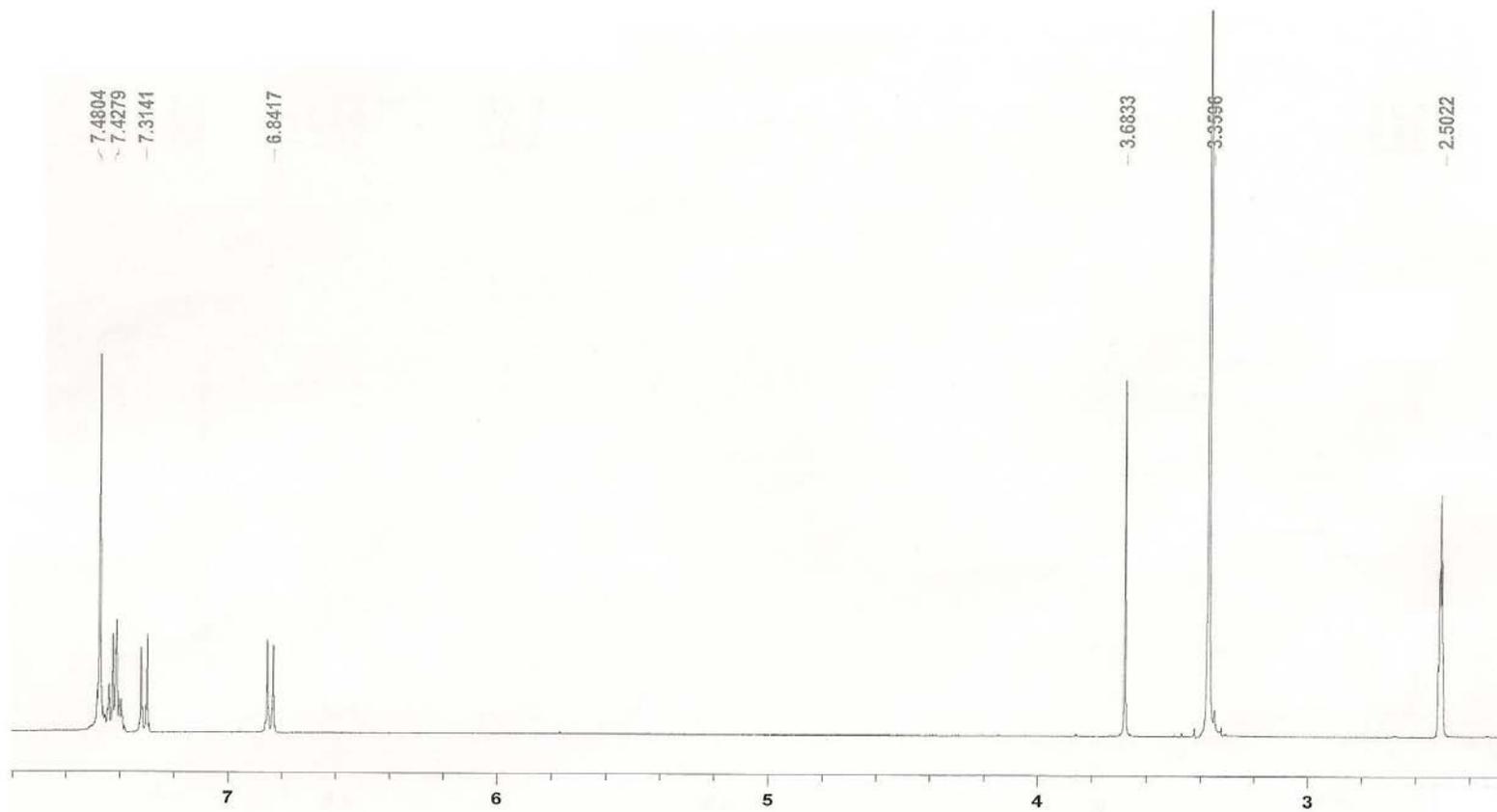
Espectro de RMN ^{13}C do 1,4-difenil-5-(4'-nitro)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 50 MHz) (composto 55)

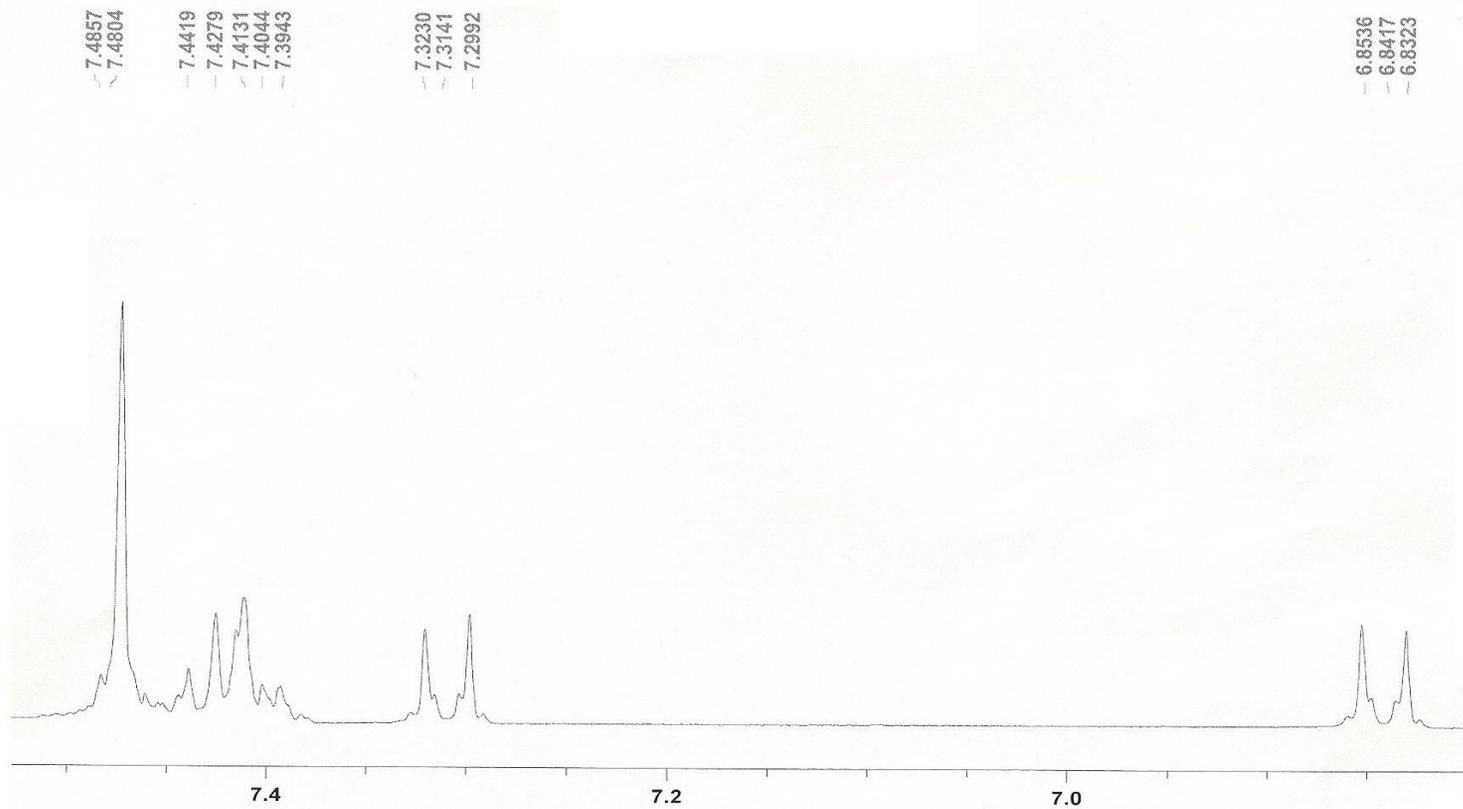


Espectro de IV do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 56)

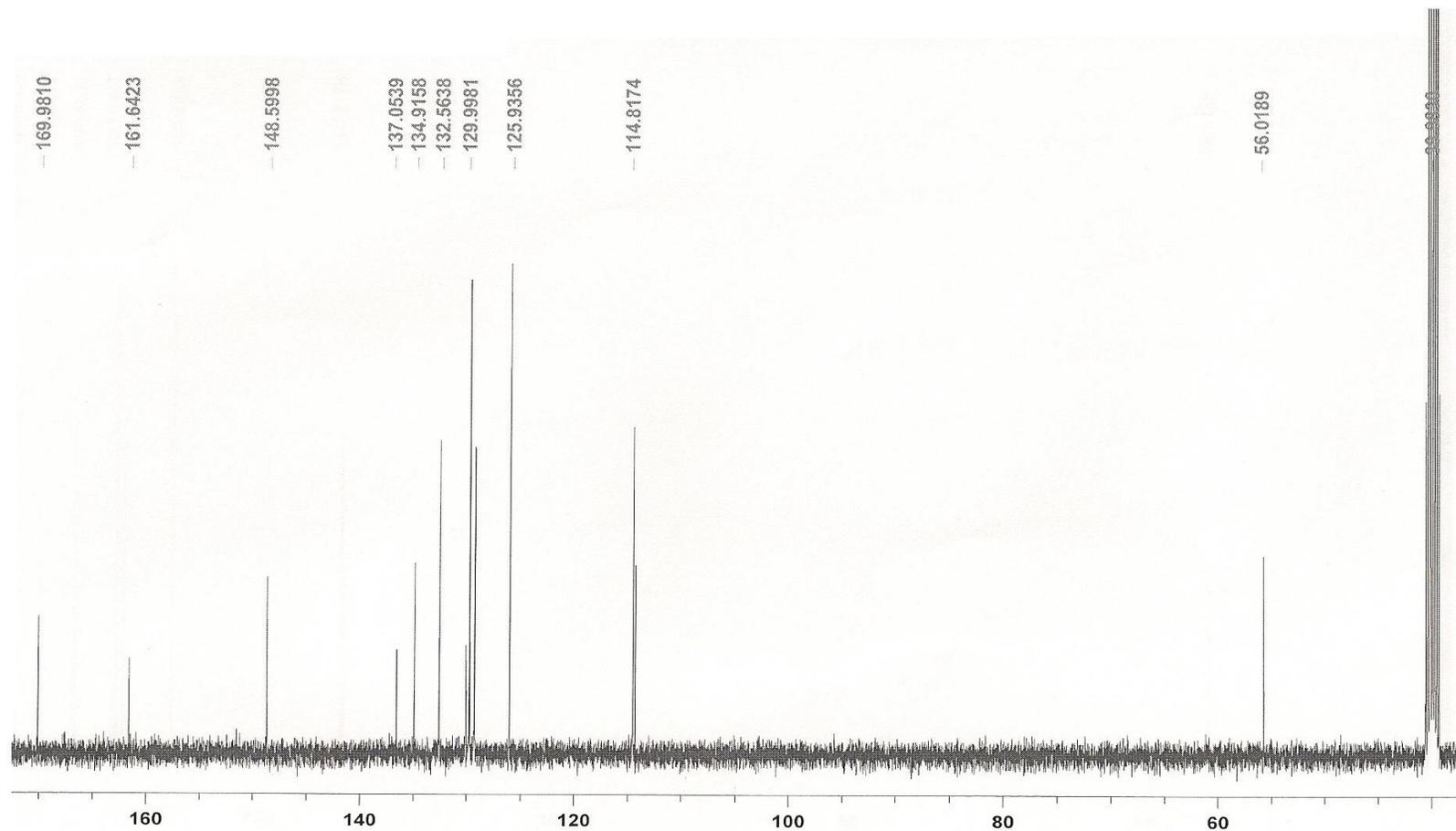


Espectro de RMN ^1H do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 56)

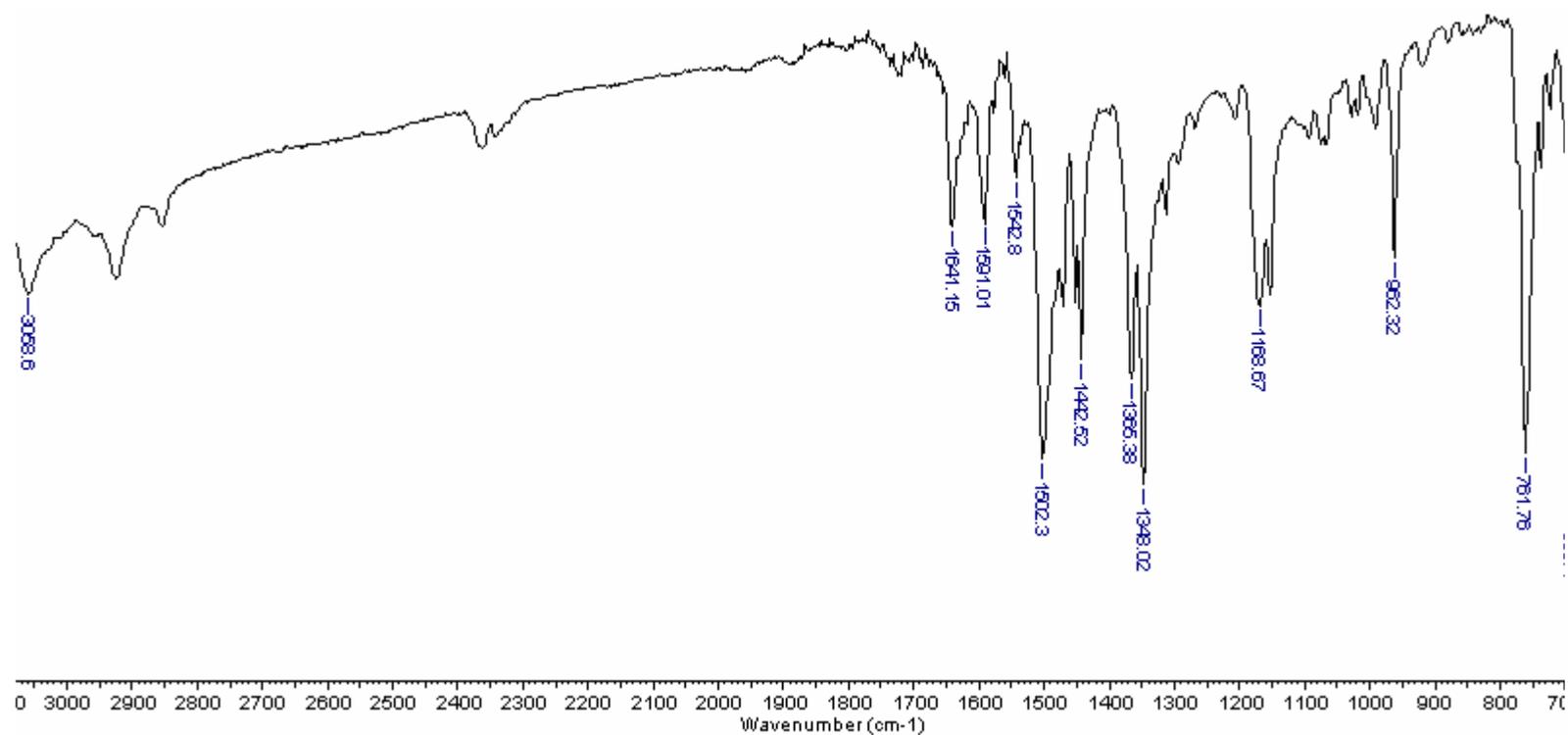




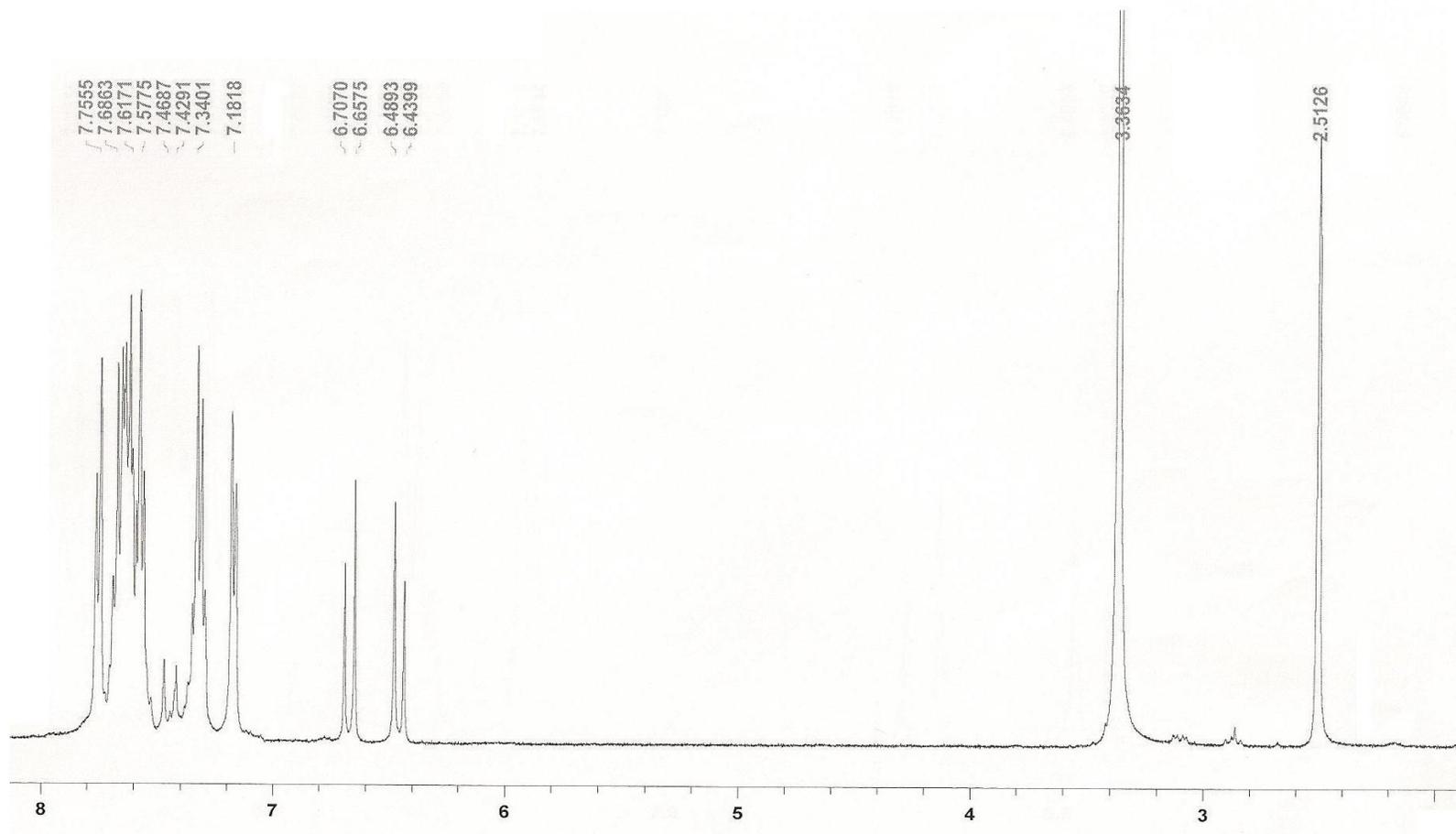
Espectro de RMN ^{13}C do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 56)



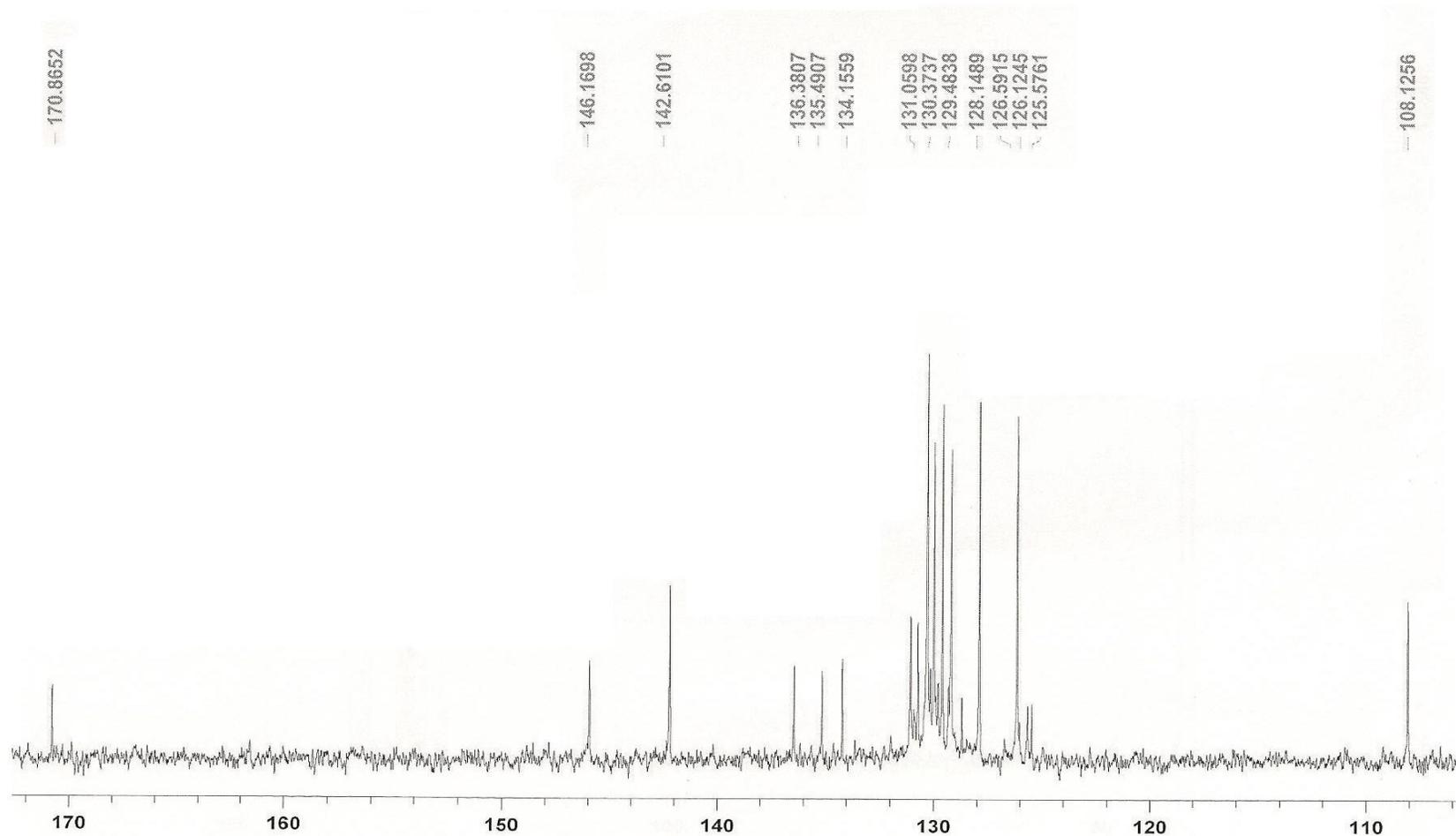
Espectro de IV do 1,4,-difenil-5-esteril-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 57)



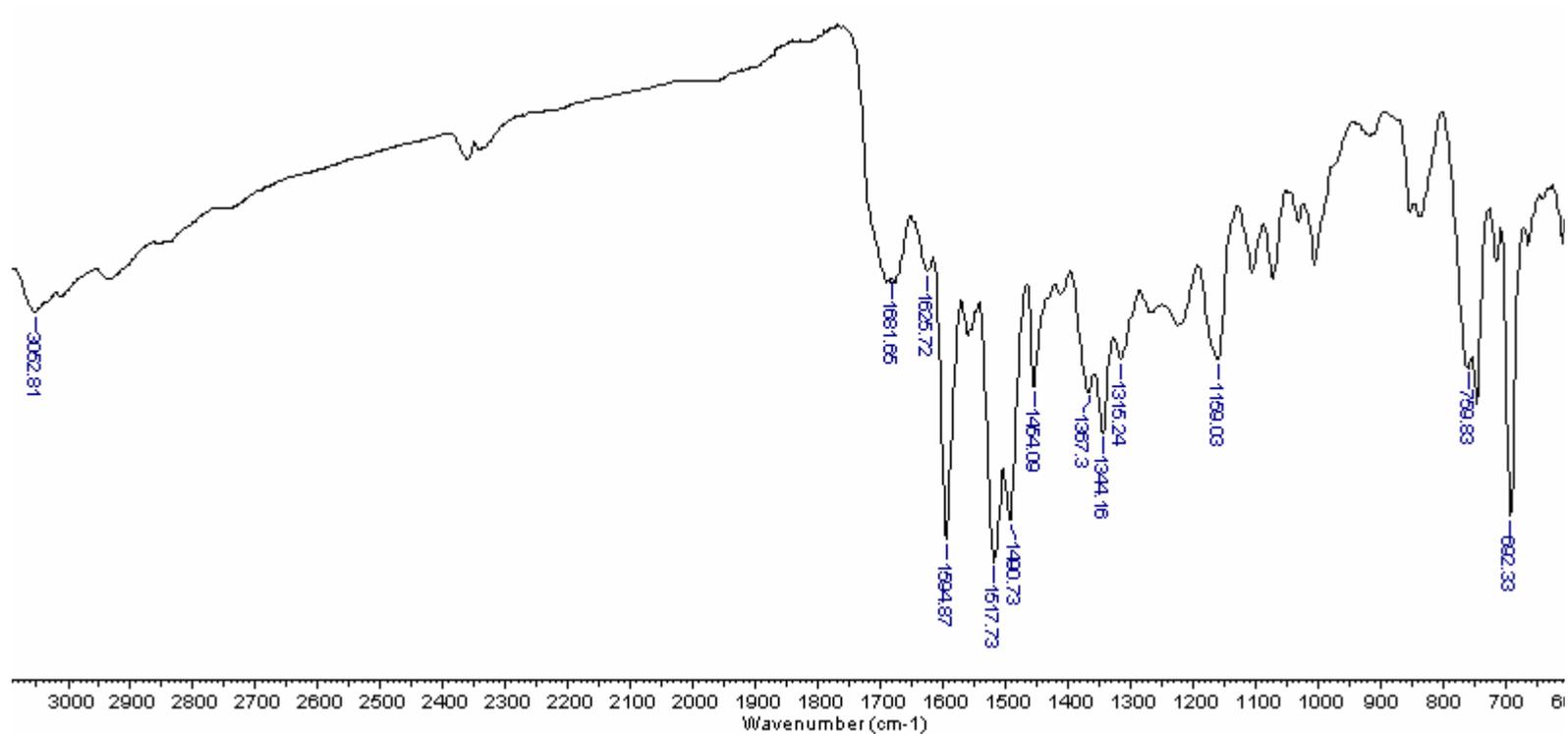
Espectro de RMN ^1H do 1,4,-difenil-5-esteril-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 57)



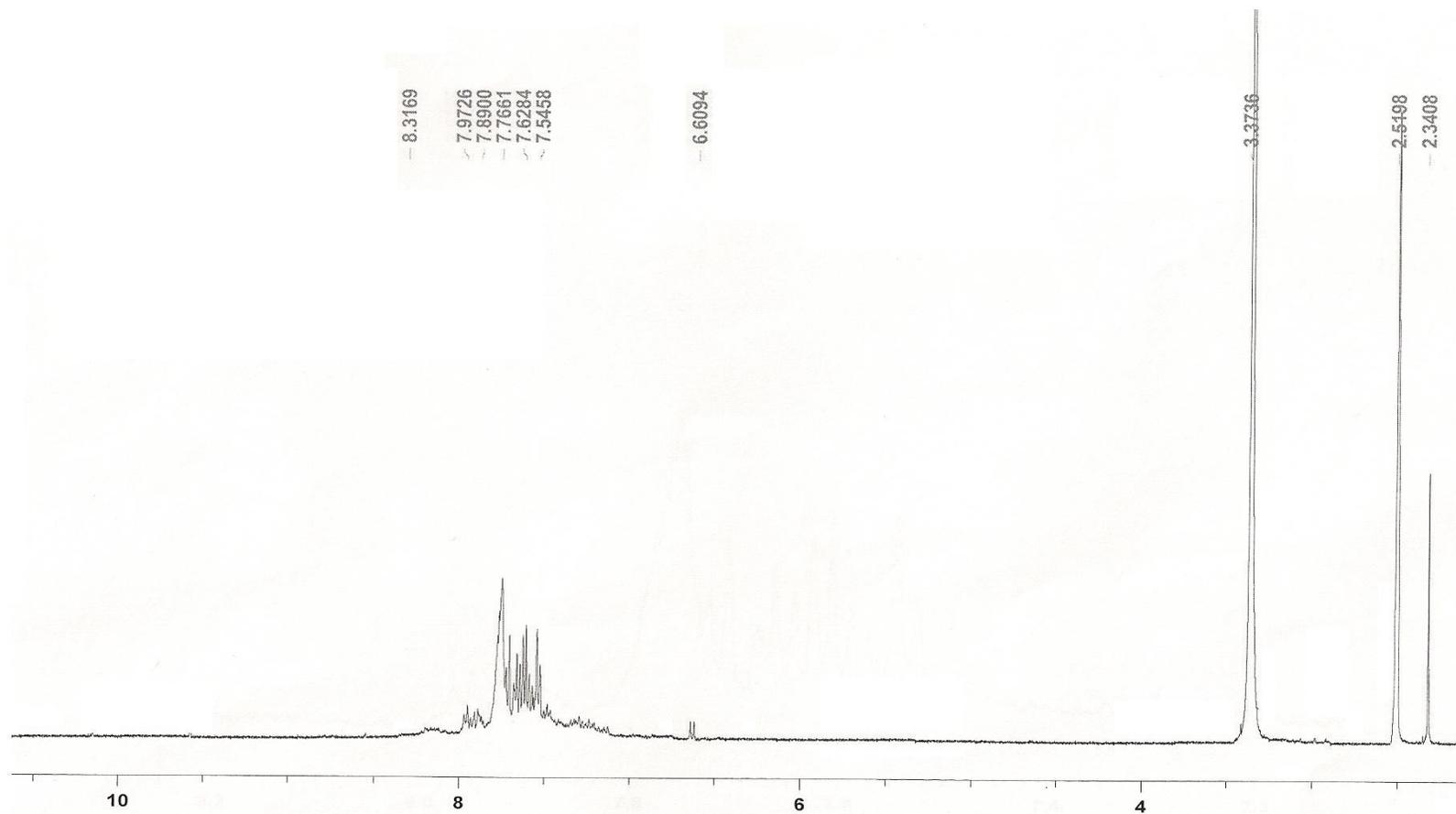
Espectro de RMN ^{13}C do 1,4,-difenil-5-esteril-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 57)



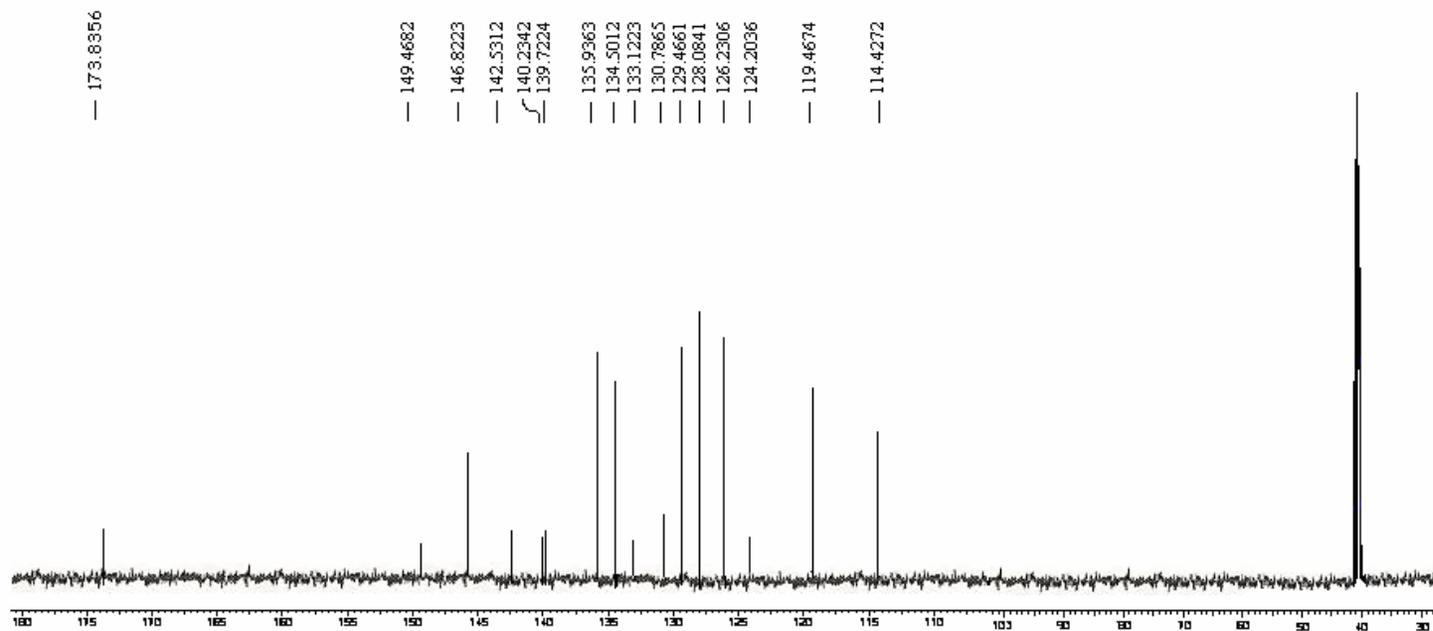
Espectro de IV do 1,4-difenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 58)



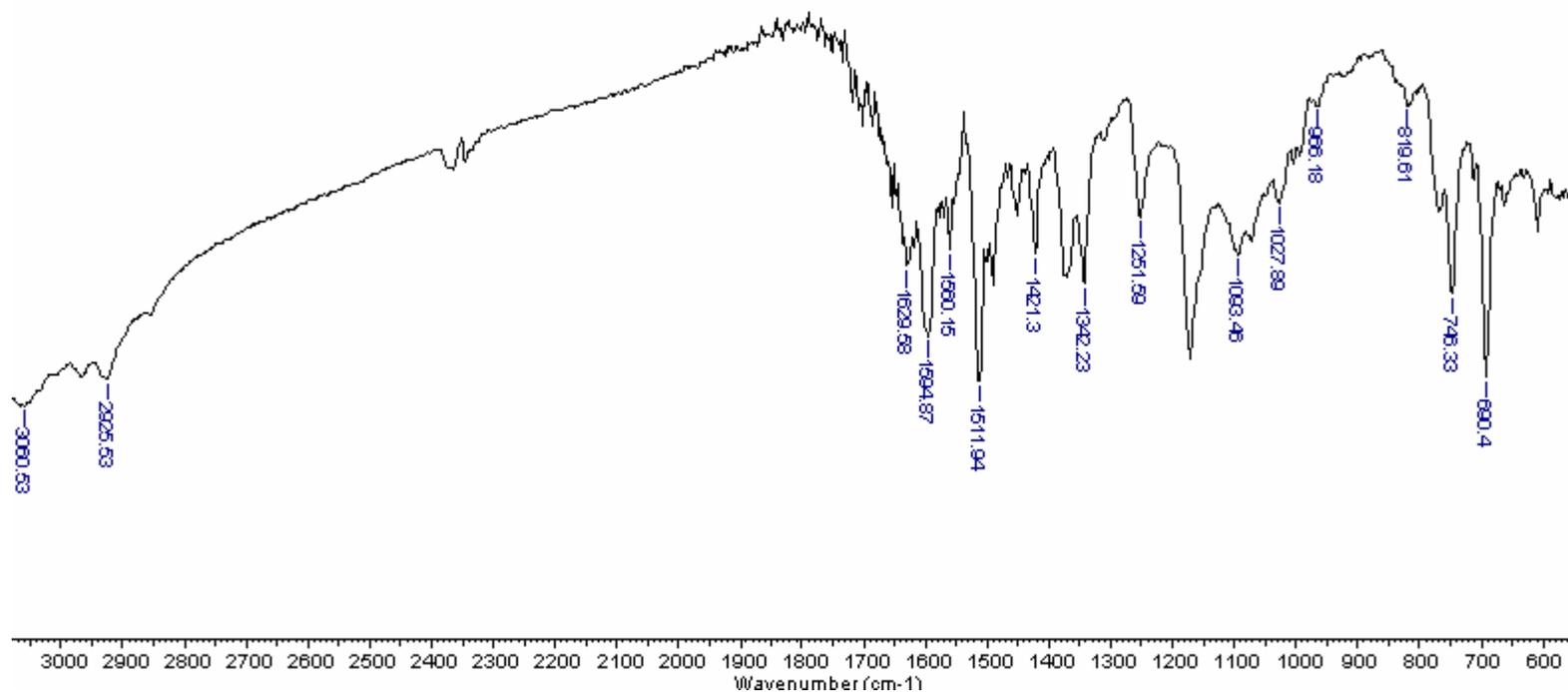
Espectro de RMN ^1H do 1,4-difenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 58)



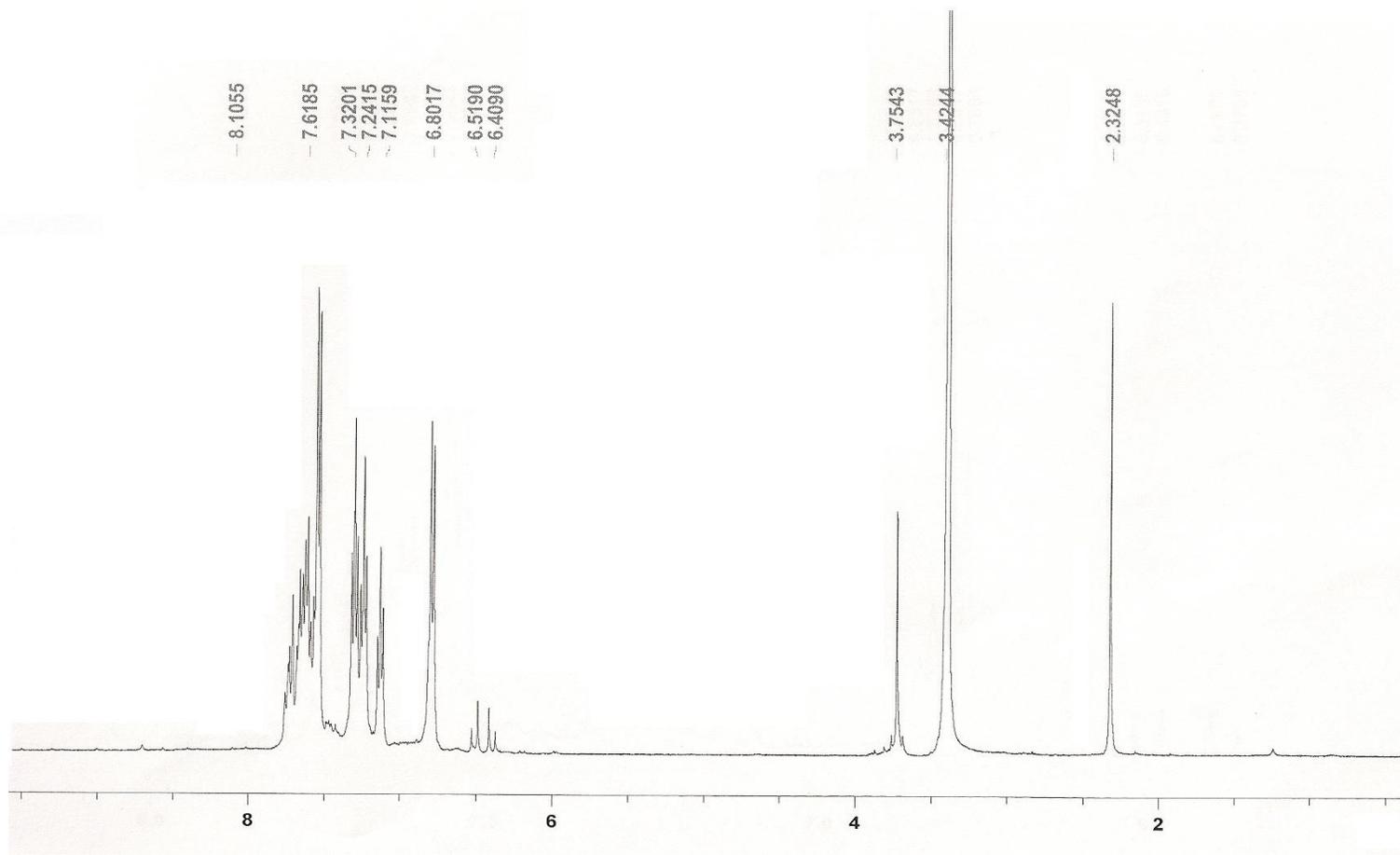
Espectro de RMN ^{13}C do 1,4-difenil-5-(4'-nitro-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 58)

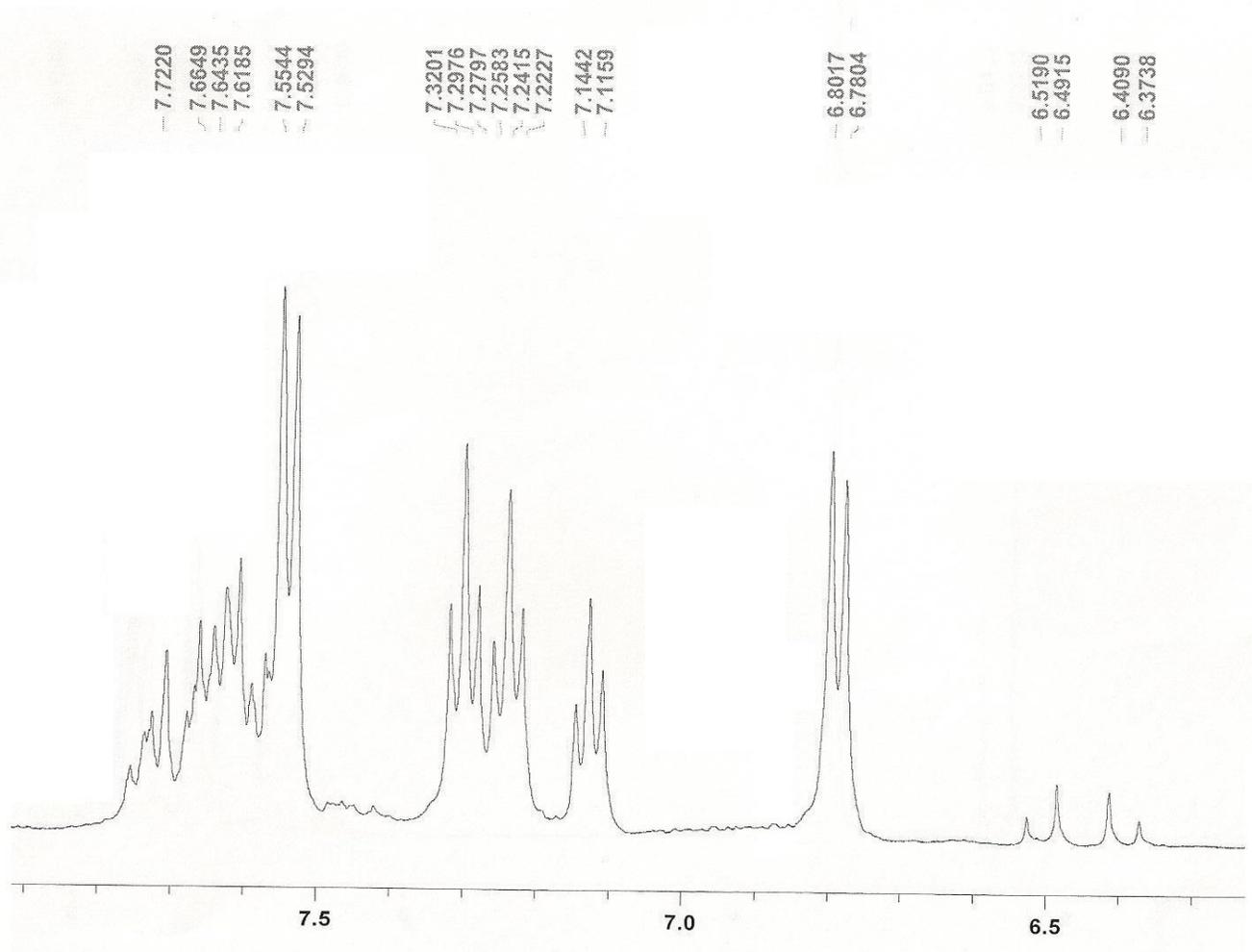


Espectro de IV do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (composto 59)



Espectro de RMN ^1H do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 400 MHz) (composto 59)





Espectro de RMN ^{13}C do 1,4-difenil-5-(4'-metóxi-esteril)-1,3,4-triazólio-2-tiolato (DMSO- d_6 , δ , 100 MHz) (composto 59)

