

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOPROSPECÇÃO



Síntese de 2-aryl-3-(pyridin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-thiones using Lawesson reagent and bioisosterism in studies of antioxidant action in reagents and products.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MARISANI BERHALS PERLEBERG

Pelotas, RS, Brasil

2014

Síntese de 2-aryl-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas usando reagente de Lawesson e bioisosterismo em estudos de ação antioxidante em reagentes e produtos.

por

Marisani Bierhals Perleberg

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas (RS) como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**

Orientador: Prof. Dr. Geonir Machado Siqueira

Pelotas, RS, Brasil

2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P426s Perleberg, Marisani Bierhals

Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas usando reagente de lawesson e bioisosterismo em estudos de ação antioxidante em reagentes e produtos. / Marisani Bierhals Perleberg ; Geonir Machado Siqueira, orientador. — Pelotas, 2014.

70 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Bioisosterismo. 2. 1,3-tiazolidin-4-tionas. 3. Ação antioxidante. I. Siqueira, Geonir Machado, orient. II. Título.

CDD : 574.192

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOPROSPECÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação de Mestrado

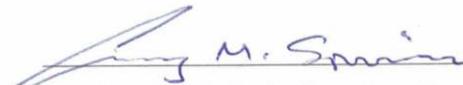
Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas usando reagente de Lawesson
e bioisosterismo em estudos de ação antioxidante em reagentes e produtos.

elaborada por

Marisani Bierhals Perleberg

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências

COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Geonir Machado Siqueira - Presidente/ Orientador – UFPel



Prof. Dr. Rogério Antônio Freitag – avaliador – UFPel



Prof. Dr. Alex Fabiani Claro Flores – avaliador – FURG

Pelotas, junho de 2014.

Universidade Federal de Pelotas
CENTRO DE CIÊNCIAS QUÍMICAS FARMACÊUTICAS E DE ALIMENTOS

RESUMO

Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas usando reagente de Lawesson e bioisosterismo em estudos de ação antioxidante em reagentes e produtos.

Autora: Marisani Bierhals Perleberg

Orientador: Prof. Dr. Geonir Machado Siqueira

Palavras chave: bioisosterismo; 1,3-tiazolidin-4-tionas; ação antioxidante.

Compostos heterocíclicos obtidos por metodologias convencionais e alternativas como micro-ondas e ultrassom, tem apresentado uma diversidade de ação farmacológica. Assim, o presente trabalho apresenta em primeiro momento a síntese de doze compostos inéditos 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas através da reação de tionação, utilizando metodologia convencional de transferência de energia (manta com chapa de aquecimento) usando reagente 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas com substituintes aril (2-Cl; 2-F; 2-OMe; 2-NO₂; 3-Cl; 3-F; 3-OMe; 3-NO₂; 4-Cl; 4-F; 4-OMe; 4-NO₂) e reagente de Lawesson em refluxo de tolueno por 12h, resultando em bons rendimentos do produto isolado (71-96%). Todos os compostos foram identificados por cromatografia gasosa (CG) e caracterizados por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM). A seguir, foi avaliada a capacidade antioxidante destes compostos (tiazolidin-4-tionas) bem como de seus precursores (tiazolidin-4-onas) através da metodologia de capturado radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Os resultados mostraram que a proposta de bioisosterismo na troca de um grupo carbonila (C=O) por um grupo tiocarbonila (C=S) foi satisfatória na maioria dos compostos, visto que, os compostos tiocarbonilados apresentaram valores de EC₅₀ menores quando comparados aos seus respectivos bioisósteres carbonilados. Além disso, os compostos tiocarbonilados com os substituintes aril 3-F (IC₅₀ 57,5µM), 3-OMe (IC₅₀ 57,3µM), 4-Cl (IC₅₀ 62,6µM), 4-F (IC₅₀ 56,6µM) apresentaram valores de IC₅₀ menores do que o padrão eugenol (IC₅₀ 72,0µM).

ABSTRACT

Synthesis of 2-aryl-3-(pyridin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-thiones using Lawesson's reactant and the studies of bioisosterism in the antioxidant activity of reactants and products.

Author: Marisani Bierhals Perleberg

Academic Advisor: Prof. Dr. Geonir Machado Siqueira

Key words: bioisosterism; 1,3-thiazolidin-4-thiones; antioxidant action

Heterocyclic compounds could be obtained by conventional heating and alternative methodologies such as microwaves and ultrasound, have shown large pharmacological properties. Thus, this work report the synthesis of twelve novel 2-aryl-3-(pyridin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-thiones (aryl: 2-ClPh, 2-FPh, 2-OMePh, 2-NO₂Ph, 3-ClPh, 3-FPh, 3-OMePh, 3-NO₂Ph, 4-ClPh, 4-FPh, 4-OMePh, 4-NO₂Ph) by conventional methodology transfer energy (heating plate) from the reaction of 2-aryl-3-(pyridin-2-yl)-1,3-thiazolidin-4-ones and the Lawesson's reactant refluxing toluene for 12 hours. The products were obtained in good yields (71-96%). All compounds were identified by gas chromatography (GC) and characterized by mass spectroscopy (GC-MS). Next, we study the antioxidant ability of the products (thiazolidin-4-thiones) as well as the precursors (thiazolidin-4-ones) in the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. The results show that the proposed bioisosterism exchange, carbonyl C=O to thiocarbonyl C=S group, was satisfactory for some compounds, since the thiazolidin-4-thiones showed lower EC₅₀ values than their respective carbonyl bioisosters. Furthermore, compounds with R = 3-F (IC₅₀ 57.5 μM), 3-OMe (IC₅₀ 57.3 μM), 4-Cl (IC₅₀ 62.6 μM), 4-F (IC₅₀ 56.6 μM) had IC₅₀ values lower than standard eugenol (IC₅₀ 72.0 μM).

FEDERAL UNIVERSITY OF PELOTAS
POST-GRADUATE PROGRAM IN BIOCHEMISTRY AND BIOPROSPECTING
MASTER DISSERTATION IN BIOCHEMISTRY AND BIOPROSPECTING
PELOTAS, JUNE 2014.

Dedicatória

A Deus, que na sua infinita bondade e misericórdia me deu forças para superar as barreiras da vida e conquistar meus objetivos.

Às minhas filhas Ana Júlia e Alice pelo amor, carinho e compreensão pela minha ausência durante minha caminhada acadêmica.

Ao meu marido Tatiano, que tenho todo meu amor e respeito, que além de ser um excelente marido e ótimo pai das minhas “pequenas” foi e é também uma “mãe” na minha ausência. Esse trabalho também é dele.

E por fim aos meus pais Leoni e Breno (*in memoriam*) e meus sogros Darci e Vera por sempre estarem torcendo por mim.

AGRADECIMENTOS

- ✚ A minha mãe Leoni, sogra Vera e tia Iolanda pela dedicação, carinho, amor, paciência com as minhas filhas, que de certa forma adotaram as “pequenas” como se fosse suas filhas e com certeza dedicaram-se muito mais do que eu poderia dedicar. Mais uma vez agradeço a elas, pois sem essa ajuda seria impossível a concretização deste trabalho.
- ✚ Ao meu sogro Darci e padraсто Paulo que disponibilizaram seu tempo no compromisso de buscar e levar as “pequenas” a escola.
- ✚ Mais uma vez ao meu marido Tatiano, pela paciência que muitas vezes chegava em casa estressada, emotiva, cansada devido aos meus estudos e também ao meu trabalho e foi sempre compreensível, calmo e acima de tudo amigo.
- ✚ Ao pesquisador e orientador Dr. Geonir Machado Siqueira, pela amizade, apoio, orientação, confiança e paciência durante essa jornada.
- ✚ Ao professor Dr. Wilson Cunico pelos excelentes ensinamentos tanto como professor em sala de aula como orientador no nosso laboratório de pesquisa.
- ✚ Ao meu colega de bancada de laboratório e de profissão do magistério Mrs. José Coan (Zé Campos) pela paciência, ensinamentos, amizade, na ausência do meu orientador.
- ✚ Às minhas alunas de Iniciação Científica Camila e Liane pela disponibilidade de ajuda, quando eu mais precisava estavam sempre a disposição tanto nas suas férias de verão quanto durante suas aulas.
- ✚ A todos os restantes colegas do LaQuiABio: Bruna, Hellen (pela amizade dentro e fora do laboratório) Daniela, Juliano, Adriana, Gabriele (pela ajuda e carinho que teve comigo durante esse processo) e aos demais colegas Caroline, Roberta, Andressa e Cezar.
- ✚ A Prof^a Francieli Moro Stefanello e Patize do Laboratório Biomarcadores/CCQFA/UFPel que disponibilizaram local, equipamentos e a ensinar-me a utilização do método DPPH para estudos de propriedades antioxidantes.
- ✚ Ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Bioprospecção da UFPel pela oportunidade de realização do curso de mestrado.
- ✚ A banca examinadora: Prof. Dr. Alex e Prof. Dr. Rogério por ter aceitado o convite para avaliar minha dissertação.
- ✚ À (Capes) pelo apoio financeiro.
- ✚ Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Pg.
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMENTOS.....	vii
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiii
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. COMPOSTOS HETEROCÍCLICOS.....	15
2.2.1. TIAZOLIDIN-4-ONAS.....	15
2.2.2. REAÇÃO DE TIONAÇÃO E TIAZOLIDIN-4-TIONAS.....	26
2.3. BIOISÓSTEROS.....	30
2.4. RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.....	33
2.4.1. MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES.....	35
2.4.1.1. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR CAPTURA DO DPPH [•]	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
3.1. Síntese dos compostos 2-aril-3-piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-(ti)onas 3a-1 e 4a-1	38
3.1.1. Reagente e solventes utilizados.....	38
3.1.2. Aparelhos utilizados.....	39
3.1.2.1. Espectrômetro de Cromatografia Gasosa e Espectrômetro de fase gasosa Acoplado a Espectrômetro de Massas.....	39
3.1.2.2. Aparelho de Ponto de Fusão.....	39
3.2. Realização dos testes de propriedades antioxidantes dos compostos 3a-1 e 4a-1	39
3.2.1. Reagentes e Solventes Utilizados.....	40
3.2.2. Aparelho utilizado para determinação de propriedades antioxidantes.....	40
4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	41
4.1. Numeração e Nomenclatura dos Compostos.....	41
4.2. Metodologia adotada para síntese dos compostos 3,4a-1	42
4.2.1. Procedimento Experimental.....	42
4.2.1.1. Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas 3a-1	43

4.2.1.2.	Síntese de 2-aryl-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas 4a-l	43
4.2.1.3.	Mecanismos propostos para a síntese dos precursores 3a-l e produtos 4a-l	46
	Atividade <i>scavenger</i> do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	48
4.2.2.1.	Preparo de Solução de DPPH 60 μ M.....	48
4.2.2.2.	Preparo da Solução da Curva de DPPH.....	48
4.2.2.3.	Preparação dos compostos.....	49
5.	CONCLUSÕES.....	51
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
	ANEXO 1. Espectros de CG-EM dos Compostos 3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4- tonas 4a-l	58

LISTA DE TABELAS

	Pg.
Tabela 1. Nomenclatura das substâncias reagentes 2-(aril)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas 3,4a-l	41
Tabela 2. Tabela de rendimentos, propriedades físicas e dados de CG/EM dos compostos precursores 3a-l e produtos 4a-l	44
Tabela 3. Valores de solução de DPPH e etanol para o preparo da curva de DPPH.....	48
Tabela 4. Valores de concentrações e soluções para o teste de atividade antioxidante	49
Tabela 5. Propriedades antioxidantes apresentadas pelos reagentes 3a-l e produtos 4a-l	49

LISTA DE FIGURAS

	Pg.
Figura 1. Estrutura geral de Ia: Piridina; IIb: Tiazolidin-4-ona; IIIc: Tiazolidin-4-tiona..	15
Figura 2. Fármaco antidiabético Pioglitazona.....	15
Figura 3. Fármacos consumidos mundialmente contendo núcleo heterocíclicos na sua estrutura química.....	19
Figura 4. Estrutura geral da Tiazolidin-4-onas.....	19
Figura 5. Reagente de Lawesson.....	28
Figura 6. Isosterismo desenvolvido por Langmuir.....	32
Figura 7. Regra do hidreto de Grimm.....	32
Figura 8. Exemplos de bioisosterismo encontrados na natureza.....	33
Figura 9. Visão geral da geração de espécies reativas de oxigênio e os danos causados	35
Figura 10. Forma radicalar (I) e não radicalar (II) do DPPH.....	37
Figura 11. 2-aryl-3-fenil-1,3-Tiazolidin-4-onas testadas pelo método DPPH.....	38
Figura 12. Espectro de massas do composto 2-(2-metoxifenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona.....	46
Figura 13. Fragmentação do composto 2-(2-metóxifenil)-3-(piridin-2-il)1,3-tiazolidin-4-tiona.....	46
Figura 14. Espectro de massas do composto 2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4a).....	60
Figura 15. Espectro de massas do composto 2-(2-flúorfenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4b).....	61
Figura 16. Espectro de massas do composto 2-(2-metoxifenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4c).....	62
Figura 17. Espectro de massas do composto 2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4d).....	63
Figura 18. Espectro de massas do composto 2-(3-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4e).....	64
Figura 19. Espectro de massas do composto 2-(3-flúorfenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4f).....	65
Figura 20. Espectro de massas do composto 2-(3-metoxifenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4g).....	66
Figura 21. Espectro de massas do composto 2-(3-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4h).....	67

Figura 22. Espectro de massas do composto 2-(4-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4i).....	68
Figura 23. Espectro de massas do composto 2-(4-flúorfenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4j).....	69
Figura 24. Espectro de massas do composto 2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(4l).....	70

LISTA DE ABREVIATURAS

DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ZnCl ₂	Cloreto de zinco
DCC	1,3- dicitlohexilcarbodiimida
BMin.PF ₆	1-butil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato
BF ₃	Trifluoreto de boro
P ₄ S ₁₀	Pentassulfureto de fósforo
MABA	Microplacas Alamar Ensaio Azul
GABA	Ácido gama aminobutírico
AMPA	Ácido -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazol propiônico
SOD	Superóxido dismutase
CAT	Catalase
GPx	Glutathiona peroxidase
RL	Radicais Livres
PL	Peroxidação Lipídica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
TAH	Transferência de átomo de hidrogênio
TE	Transferência de um elétron
pH	Potencial de hidrogênio
ORAC	Capacidade de absorção oxigênio radicalar
TRAP	Poder antioxidante redutor férrico
FRAP	Poder antioxidante redutor férrico
CUPRAC	Capacidade do oxidante em reduzir o íon cúprico
ABTS	2,2-azinobis-3-tilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
AH	Antioxidante
R•	Éspecie radicalar
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Mmol	milimol
CCD	Cromatografia de camada delgada

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS:

Na química orgânica existem várias classes de compostos bioativos como, por exemplo, derivados da piridina (Figura Ia) que estão entre as mais prevalentes classes com alvos farmacêutico e agroquímico, que tem como exemplos de atividades biológicas antissépticos, bactericidas, anti-histamínicos, analgésicos, antioxidantes, aditivos, antituberculostático e outras aplicações tecnológicas (Bull, *et al.*, 2012). Outra classe de composto bioativo bastante conhecido são as tiazolidin-4-onas (Figura Ib) que tem uma vasta gama de propriedades biológicas, tais como, anticonvulsivante (Dilesh *et al.*, 2013), antiviral (Senthilraja *et al.*, 2012), anticâncer (Nitsche *et al.*, 2013), anti-inflamatória (Isloor *et al.*, 2013), antidiabético (Apostolidis, *et al.*, 2013), antituberculostático (Lupascu *et al.*, 2013), antimicrobiana (Buvana *et al.*, 2013), antiparasitário (Patel *et al.*, 2012), antioxidante (Campos *et al.*, 2013), dentre outras. Além de fármacos já disponibilizados comercialmente, como por exemplo, o fármaco antidiabético Pioglitazona, apresenta em sua estrutura o anel tiazolidínico e o anel piridínico (Figura 2) (Senthilraja *et al.*, 2012). Entretanto, para as classes de compostos 1,3-tiazolidin-4-tionas (Figura Ic) há apenas um relatado de atividades biológicas antibacteriana, antifúngica e antituberculostática (Altaf *et al.*, 2013), presumindo assim, que os compostos inéditos desta dissertação possam vir a apresentar um potencial biológico interessante.

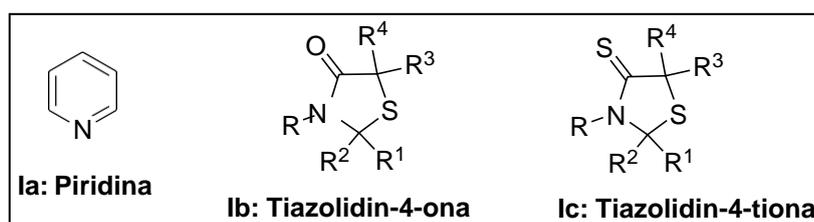


Figura 1: Estrutura geral de Ia: Piridina; Ib: Tiazolidin-4-ona; Ic: Tiazolidin-4-tiona

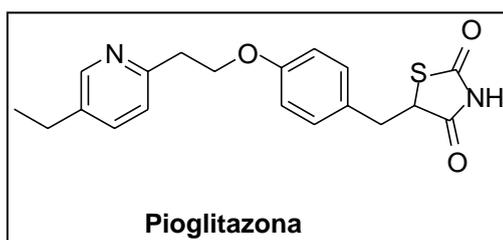


Figura 2: Fármaco antidiabético Pioglitazona (Senthilraja *et al.*, 2012)

Para a realização da síntese das 2-aryl-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas existem na literatura diversas metodologias, dentre elas, é a de obtenção a partir da reação de ciclocondensação entre aldeído ou cetona, uma amina ou hidrazina e ácido mercaptoacético

(Gouvea *et al.*, 2012, Kunzler *et al.*, 2013). Por sua vez, para realização da síntese das 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas, através de reação de tionação em sítios contendo oxigênio, usa-se principalmente o Reagente de Lawesson, que provoca a transformação de um grupo funcional carbonílico (C=O) em um grupo tiocarbonílico (C=S) (Ozturk *et al.*, 2007).

Dentre as atividades biológicas citadas anteriormente, destaca-se a atividade antioxidantes em compostos correlatos. O organismo possui defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas para evitar o dano celular que pode ser causado pela presença de radicais livres, envolvidos na patogenicidade de várias doenças, muitas delas crônicas e relacionadas com a idade (Valko *et al.*, 2007).

Com base nisso, nosso grupo de pesquisa LaQuiABio/UFPel, tem concentrado esforços no estudo de precursores de compostos heterocíclicos de 5-7 membros, contendo principalmente como heteroátomos nitrogênio e enxofre em sua estrutura principal. De modo mais específico, o interesse está na obtenção de compostos contendo enxofre em sua estrutura ou como substituinte funcionalizável, com potencial aplicação em química medicinal. Atualmente, o foco principal do nosso grupo de pesquisa é na obtenção de heterocíclicos utilizando metodologias convencionais e modernas como ultrassom e micro-ondas, para formação de derivados de heterocíclicos, entre elas tiazolidinonas, para estudos de atividades biológicas, como por exemplo, antifúngica ((Duval *et al.*, 2011; kunzler *et al.*, 2013; Marques *et al.*, 2013), e antioxidante (Campos *et al.*, 20113). Portanto, dando continuidade a estudos envolvendo compostos heterocíclicos de interesse, buscou-se reações de síntese e derivatizações na estrutura de precursores, principalmente envolvendo reações de tionação.

Assim, este trabalho tem como objetivos específicos:

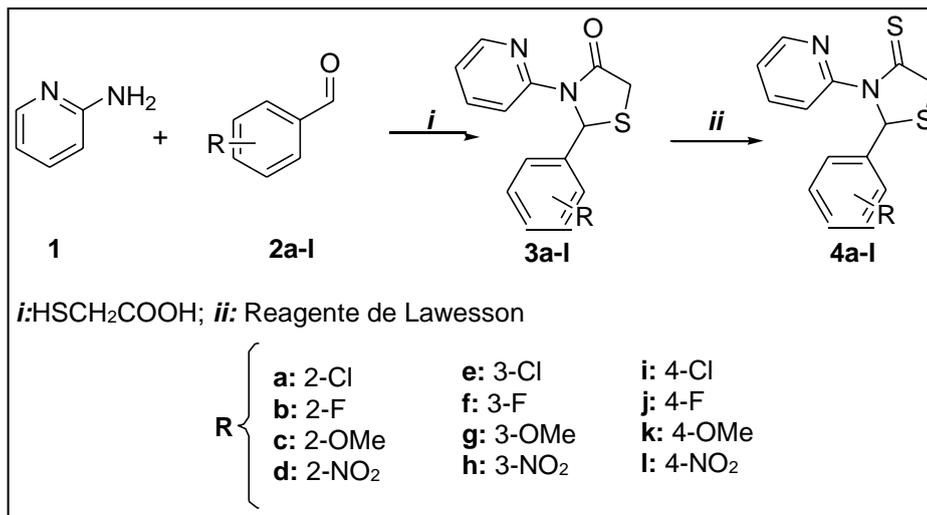
(a) Estudo das condições reacionais, por metodologia convencional, para obtenção de uma série sistemática de 24 compostos, dentre elas, doze compostos inéditos 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas **4a-1** através da reação de tionação usando reagente de Lawesson em precursores 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas **3a-1**, (Esquema geral), conforme a pagina 3.

(b) Purificação, identificação e caracterização dos heterociclos propostos, através da interpretação dos dados de cromatografia de camada delgada, Cromatografia Gasosa acoplado a Espectrometria de Massas e dados de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

(c) Avaliação da propriedade antioxidante, pela capacidade de captura de radicais livres *in vitro*, dos compostos precursores **3a-1** e dos produtos **4a-1**, usando a metodologia de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH \cdot).

(d) Estudo de estrutura/atividade decorrente do bioisosterismo existente nas moléculas sintetizadas.

Esquema 1. Etapas da síntese de 2-aryl-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas **4a-l**.



2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

Neste trabalho serão abordados somente aquelas referências que estejam diretamente relacionadas ao objetivo proposto nesta dissertação. Foi utilizado como ferramenta de busca principalmente o “*SciFinder^R*” usando palavras chaves de interesse. Assim, serão abordados dados envolvendo heterociclos, principalmente tiazolidin-4-onas e tiazolidin-4-tionas

COMPOSTOS HETEROCÍCLICOS.

É sabido da importância dos compostos heterocíclicos, principalmente na síntese orgânica de fármaco, pelo fato de que a maioria dos fármacos tem pelo menos um núcleo heterocíclico na sua estrutura molecular. Uma pesquisa no *SciFinder^R* com a palavra-chave “*heterocycle*” mostrou que existe uma imensa lista de citações nos últimos 10 anos. Grande parte desses compostos heterocíclicos são fármacos mundialmente consumidos que apresentam atividades farmacológicas diversificadas, tais como: anti-hipertensiva (*losartan*); antiviral (*ribavirina*); antitumoral (*carbonato de fluorouracila*); antifúngico (*fluconazol*); anti-inflamatória e analgésica (*dipirona*); antiprotozoária (*metronidazol*); inibidora da β -lactamase (*tazobactama sódica*) e antimicrobiana (*benzilpenicilina*) (Figura 3) (Melo, 2006).

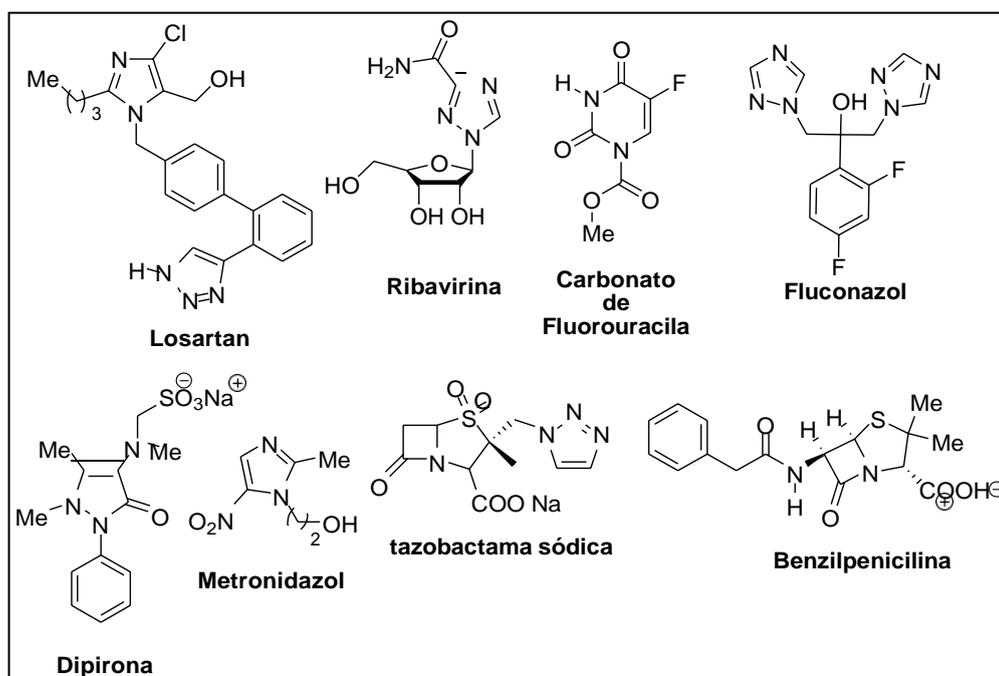


Figura 3: Fármacos consumidos mundialmente contendo núcleo heterocíclicos na sua estrutura química.

THIAZOLIDIN-4-ONAS.

As tiazolidin-4-onas são heterociclos de cinco membros que apresentam em sua estrutura um átomo de enxofre na posição 1, um átomo de nitrogênio na posição 3 e uma carbonila na posição 4 (Figura 4).

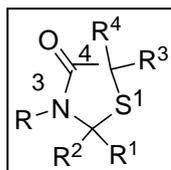
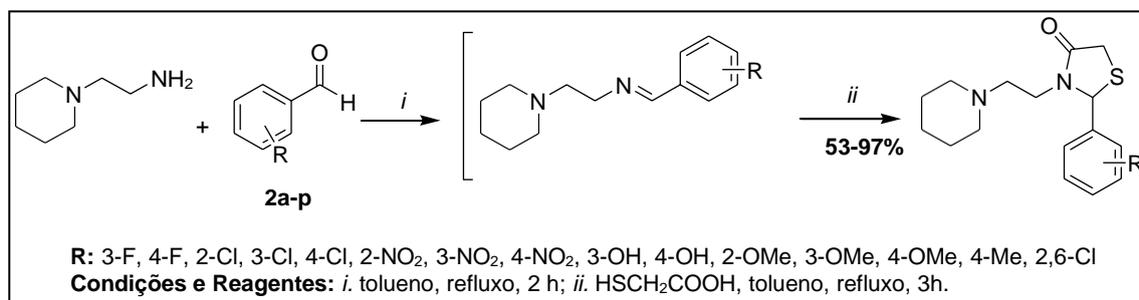


Figura 4: Estrutura geral da Tiazolidin-4-onas.

Na literatura existem diversas metodologias para a obtenção de moléculas tiazolidin-4-onas, onde metodologia mais empregada é através da reação dita “*one pot*”, que ocorre em uma única etapa, com a adição dos reagentes, amina ou hidrazina, aldeído ou cetona e ácido mercaptoacético, no início da reação. Esses heterocíclicos também podem ser obtidos através de uma reação em duas etapas, onde ocorre primeiramente a formação do intermediário imina, com posterior ataque nucleofílico do enxofre para ciclização intramolecular com o ácido mercaptoacético. Duas moléculas de água são geradas na reação e normalmente é utilizado um aparelho *Dean Stark* para a remoção das mesmas (Gouvea *et al.*, 2012).

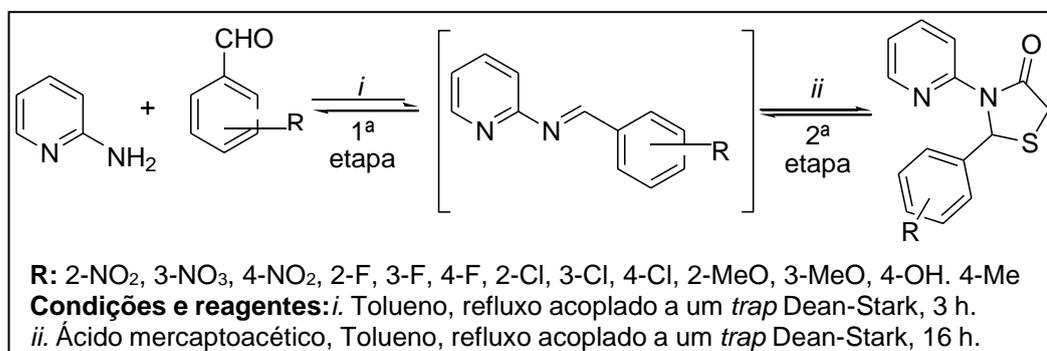
Seguindo essa metodologia, Kunsler e colaboradores sintetizam as tiazolidin-4-onas, através da reação 2-aminoetilpiperidina com benzoaldeídos substituídos em tolueno como solvente num sistema *Dean Stark* durante 2 horas. Após este tempo foi adicionado ácido mercaptoacético e a mistura aquecida até completar a reação de ciclocondensação num tempo de 3h (Esquema 1) (Kunsler *et al.*, 2013).

Esquema 1.



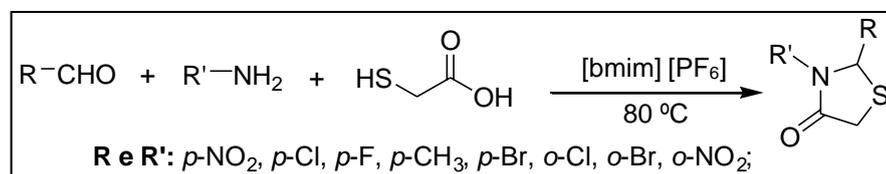
Outro trabalho descrevendo a formação de imina e posteriormente ciclização intramolecular para formação do anel tiazolidinona, foi realizado por Gouvea e colaboradores. Assim, as reações de síntese de tiazolidin-4-onas substituídas nas posições-2,3 foram sintetizadas em duas etapas. A série sistemática envolveu o emprego de 2-aminopiridina e variação de substituinte presente na posição-2 pelo uso de 15 benzaldeídos substituídos usando *Dean-Stark* para remoção de água formada por destilação azeotrópica (Esquema 2) (Gouvea *et al.*, 2012).

Esquema 2.



Além do uso do uso de *Dean Stark* durante o processo de síntese para remoção das moléculas de água geradas, também podem ser utilizados agentes de desidratação como ZnCl₂, peneiras moleculares, 1,3- dicitlohexilcarbodiimida (DCC), líquido iônico como BMinPF₆, dentre outros. Derivados de tiazolidin-4-onas foram sintetizadas com líquido iônico 1-butil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato (BMin.PF₆) em condição livre de solvente a 80 °C, usando três componentes de aldeído, amina e ácido mercaptoacético (Esquema 3) (Zhang *et al.*, 2009).

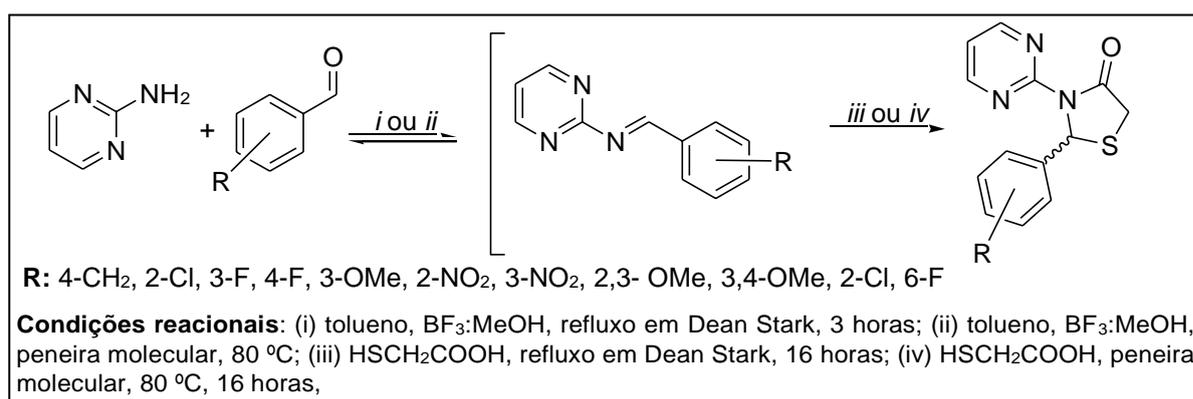
Esquema 3.



Campos e colaboradores utilizaram duas metodologias para formação de derivados de 3-(pirimidin-2-il)-tiazolidinonas. A primeira metodologia foi pelo método convencional com auxílio de *Dean Stark* em refluxo e a segunda metodologia foi a utilização da peneira

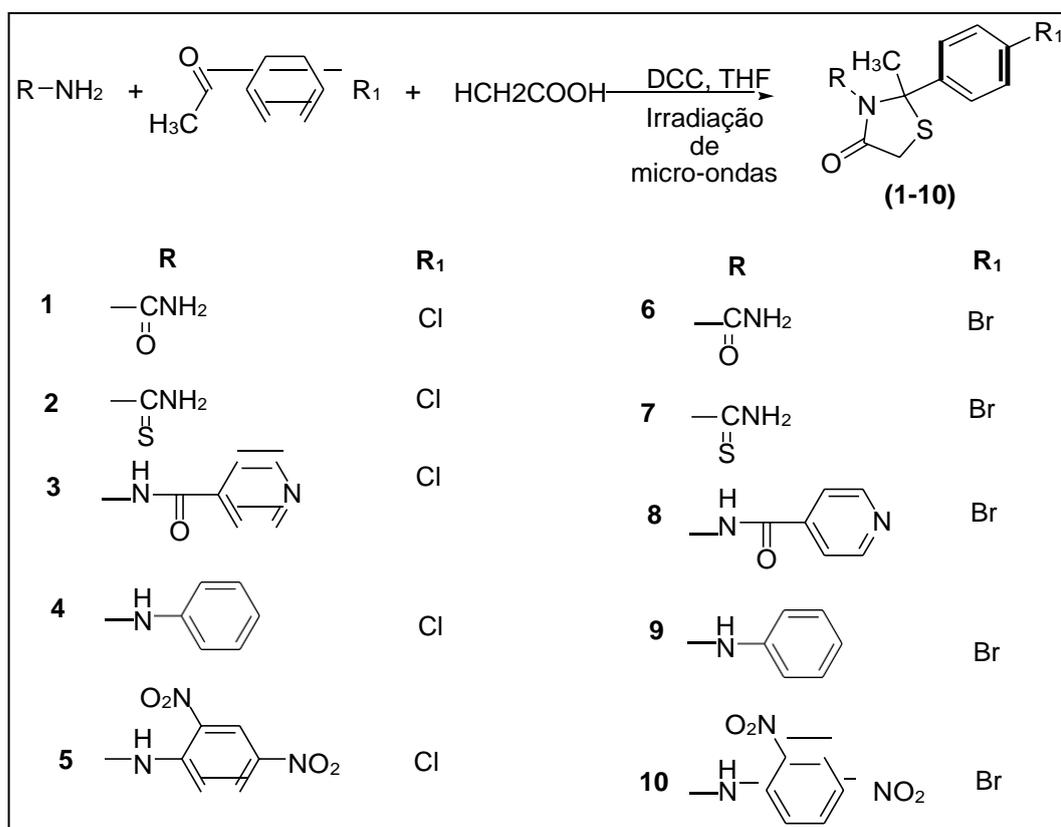
molecular a 80°C, utilizando para ambas metodologias o solvente tolueno. Para a realização das duas metodologias as condições reacionais para obtenção de derivados de tiazolidin-4-onas foi entre uma amina primária (2-aminopirimidina) e benzaldeídos substituídos na presença de catalizador BF₃:Metanol, durante 3 horas para formação da imina, após adicionou-se ácido mercaptoacético para a ciclização intramolecular num tempo de reação de 16 horas. Os resultados mostraram que a metodologia com uso de peneira molecular mostrou-se eficiente e assim precisou-se menos temperatura para a realização da síntese em comparação a metodologia de refluxo e obteve-se bons rendimentos. (Esquema 4) (Campos *et al.*, 2013).

Esquema 4.



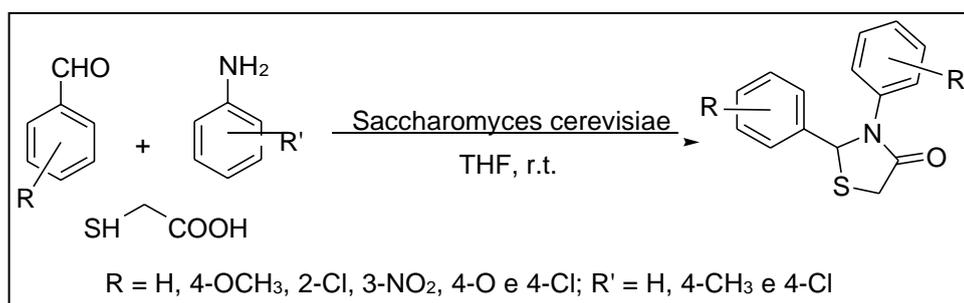
Senthilraja e colaboradores (Senthilraja *et al.*, 2012), sintetizaram tiazolidin-4-onas-2,3-disubstituídas a partir de uma amina primária, acetofenonas substituídas e ácido mercaptoacético na presença de DCC em THF sob a metodologia de irradiação de microondas na temperatura de 80°C durante 5 minutos, obtendo-se ótimos rendimentos (88- 97 %) e pureza dos compostos. (Esquema 5)

Esquema 5.



Na literatura também são relatados trabalhos com o uso de biocatalizadores como, por exemplo, fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*). Esses biocatalizadores estão ganhando espaço na química orgânica sintética como uma alternativa de acelerar as transformações orgânicas, e na obtenção regioespecífica de alvo de interesse. Entretanto, reações de ciclocondensações utilizando biocatalizadores não tem sido muito exploradas. Alguns exemplos relatados são lipases e fermento de padeiro tem a capacidade de catalisar as ciclocondensações para formação de heterocíclicos bioativos tais como benzimidazóis, dihidropiridinas, dihidropirimidinas, quinaxolina e tiazolidin-4-onas, dentre outros. Pratap e colaboradores (Pratap et al., 2011) foram os primeiros a sintetizar compostos bioativos através do biocatalizador *Saccharomyces cerevisiae* realizando reações *one-pot* de ciclocondensação entre aldeídos aromáticos, aminas e ácido mercaptoacético, levando a formação de 2,3-diaril-tiazolidin-4-onas. Segundo os autores dessa síntese, acredita-se que a enzima lipase disponível em levedura de fermento de padeiro pode ser responsável por acelerar a formação de iminas, bem como de reações de ciclocondensação para a formação de tiazolidin-4-onas, (Esquema 6).

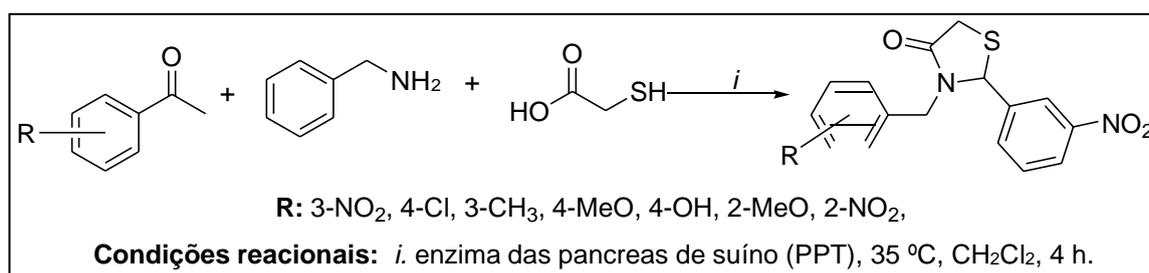
Esquema 6.



Outro biocatalizador utilizado para síntese de tiazolidin-4-onas é relato por Zheng e colaboradores (Zheng et al, 2013) que utilizaram enzima encontrada em pâncreas de suíno, chamada de PPT. Para chegar na enzima mais adequada como biocatalizador fez-se testes com diversas enzimas, mas a que teve um papel importante na reação enzimática foi a enzima PPT. Também foram testados solventes para verificar aquele mais adequado para a síntese, mostrando que solvente diclorometano levou a melhores rendimentos.

Isso deve-se ao fato de que os solventes não polares são melhores do que polares, uma vez que, os solventes polares têm uma tendência para retirar as moléculas de água constitutivos da estrutura interna da enzima com redução da atividade catalítica. Foi usado 3-nitrobenzaldeído, benzilamina e ácido mercaptoacético, em reação de duas etapas (formação da imina e ciclocondensação) em meio biocatalizador PPT, levando a bons rendimentos (55-98%). Segundo os autores, acredita-se que o biocatalizador promove a formação da tiazolidin-4-ona pela ação de uma enzima lipase que acelerou a taxa de formação de imina e de ciclocondensação. (Esquema 7).

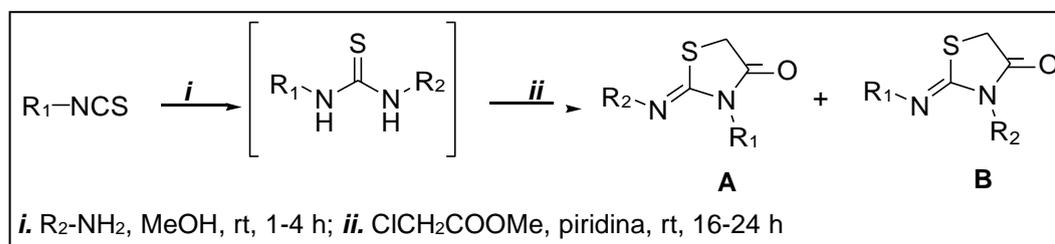
Esquema 7.



As tiazolidin-4-onas também podem ser obtidas através de outras condições reacionais, como por exemplo, reação entre o isotiocianato de arila ou alquila com uma amina primária, para a formação de tiouréias substituídas (Bolli *et al.*, 2010). Posteriormente as mesmas

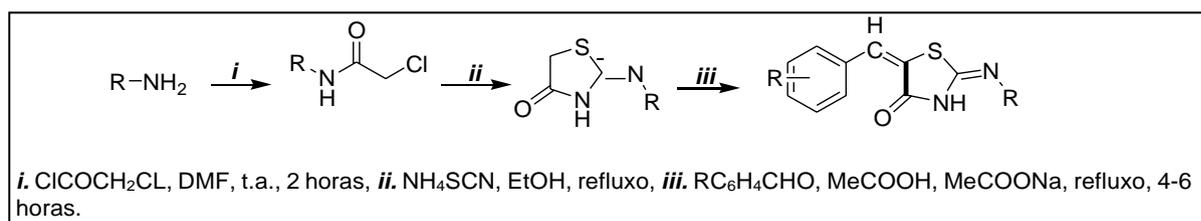
reagem com ácido acético, através da reação de ciclização resultando na formação da 2-imino-tiazolidin-4-onas (Jain *et al.*, 2012). Bolli e colaboradores sintetizam 2-imino-tiazolidin-4-onas com rendimentos de moderados a bons (35-85%), conforme citado por Jain e colaboradores, onde se formou uma mistura de dois isômeros. Essa regioseletividade da ciclização não foi influenciada apenas pelas condições reacionais (solvente, temperatura, presença ou não da base), mas sim pela natureza dos substituintes de R₁ e R₂ do intermediário tiouréia. (Esquema 8).

Esquema 8.



Vicini e colaboradores (Vicini, 2007) realizaram a síntese de tiazolidin-4-onas, com excelentes rendimentos e grau de pureza dos compostos, através de uma amina primária juntamente com cloreto de cloroacetila em solvente DMF a temperatura ambiente durante 2 horas. O intermediário amida formado foi isolado e posteriormente foi adicionado tiocianato de amônia em etanol sob refluxo para ciclização intramolecular. Após a formação do anel tiazolidínico, adicionou-se ácido acético e benzaldeídos substituídos em refluxo durante um intervalo de 4-6 horas, para funcionalização da posição-4 do heterocíclo. (Esquema 9).

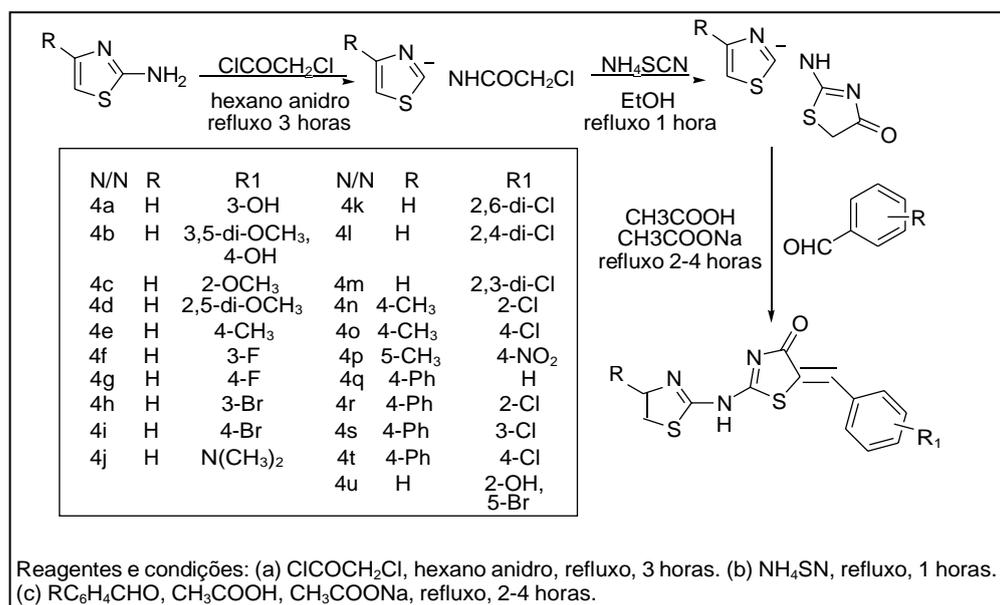
Esquema 9.



Apostolidis e colaboradores (Apostolidis *et al.*, 2013) realizaram trabalho nessa mesma linha de pesquisa, através de reação multicomponente, utilizando aminas primárias com o acilante cloreto de cloroacetila, em benzeno anidro em refluxo de 3 horas, para formação da amida intermediária. Após foi adicionado tiocianato de amônio em etanol com refluxo de 1

hora para formação de derivados de tiazolidin-4-onas através da ciclização intramolecular. Estas foram isoladas, e posteriormente reagiram com benzaldeídos substituídos, em acetato de sódio e ácido acético, com refluxo de 2-4 horas. Foi obtido 5-arylideno-2-(4-substituído/substituído-1,3-tiazol-2-il-imino)-1,3-tiazolidin-4-onas com rendimento de baixos a bons (17-83%) (Esquema 10).

Esquema 10.

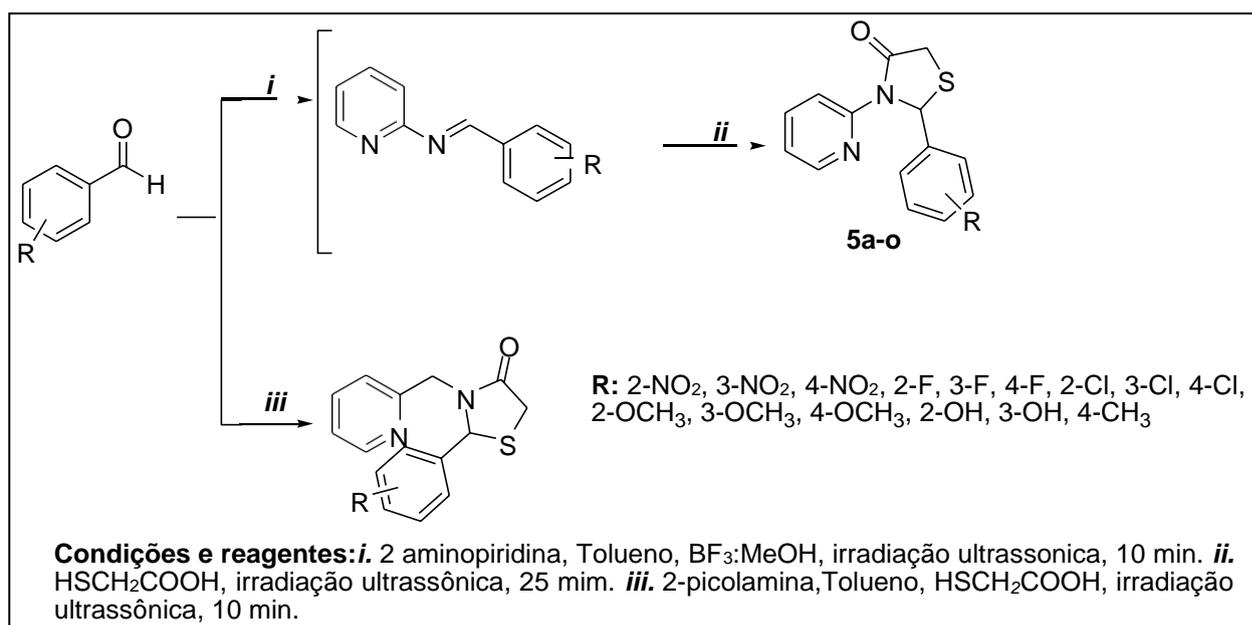


Além das metodologias convencionais existem outras metodologias, como por exemplo, o uso de fonte de energia sonoquímica e o emprego de micro-ondas, que geralmente mostram-se mais eficiente e com rendimentos superiores aqueles obtidos pelo uso de metodologias convencionais. Essas metodologias são uma alternativa para amenizar os danos ambientais, pela diminuição de resíduos e redução de tempo de reação.

Gouvea e colaboradores (Gouvea *et al.*, 2012) sintetizaram derivados de tiazolidin-4-onas a partir das aminas 2-aminopiridina e 2-picolilamina através da metodologia de irradiação ultrassônica e convencional com o uso de um *trap Dean-Stark*. Na metodologia de irradiação ultrassônica com 2-aminopiridina realizou-se a síntese em duas etapas, onde 1 mmol de aldeído, 1 mmol de amina (2-aminopiridina) e o equivalente a 0,7 mL de BF₃:metanol (50%) foram levados a reagir por 10 minutos para a formação da imina e 25 minutos após a adição do ácido mercaptoacético para ocorrer a ciclização intramolecular. Os rendimentos obtidos foram moderados a bons (29 a 74%).

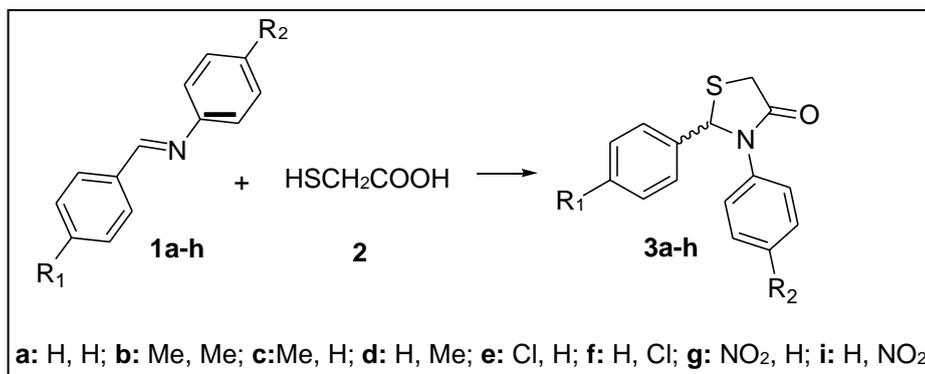
Embora em alguns casos, a metodologia convencional tenha apresentado rendimentos superiores aquele obtido pela utilização da irradiação ultrassônica, esta última proporcionou considerável redução do tempo reacional que passou de 19 horas para apenas 35 minutos. Por sua vez, para a 2-picolilamina realizou-se a metodologia convencional através de *on-pot*, onde 1 mmol de aldeído, 1 mmol de amina (2-picolamina) e 3 mmol ácido mercaptoacético em refluxo de tolueno durante 16 horas, enquanto que pela metodologia por irradiação ultrassônica a síntese foi realizada em 10 minutos. Os rendimentos obtidos foram considerados de moderados a ótimos tanto na metodologia convencional (43-98%), quanto pelo uso de irradiação ultrassônica (54-95) (Esquema 11)

Esquema 11.



Também foi usado micro-ondas em sínteses de derivados de derivados 2,3-diaril-1,3-tiazolidin-4-onas através de reação *on-pot* em refluxo de tolueno com auxílio do *trap Dean-Stark* de 1 mmol de amina, 1 mmol de benzaldeído, e gotejamento lento de 1 mmol de ácido mercaptoacético (Bolognese *et al*, 2004) Obteve-se bons rendimentos (65-90%) em irradiação de micro-ondas em comparação com método convencional (25-69%) (Esquema 12).

Esquema 12.



2.2.2. REAÇÃO DE TIONAÇÃO E TIAZOLIDIN-4-TIONAS.

Reações de tionação de compostos contendo grupos carbonílicos, tais como cetonas, flavonas, lactonas, amidas e ésteres, para obtenção de produtos tiocarbonílicos tem recebido considerável atenção devido à grande importância biológica e comercial destas moléculas e a sua utilidade como precursores para a síntese de muitos compostos orgânicos (Polshettiwar *et al.*, 2006).

Procedimentos comuns para troca de átomo de Oxigênio por átomo de Enxofre nos compostos carbonílicos requerem o uso de solventes hidrocarbonetos aromáticos secos, tais como tolueno, xileno ou benzeno, longos tempos de reação e, geralmente, um excesso do reagente de tionação, devido às contribuições significativas de reações colaterais. A maioria destes processos térmicos é demorada e levam apenas a rendimentos moderados dos produtos desejados (Cava *et al.*, 1985). Entretanto, também neste tipo de reação, metodologias alternativas como metodologias de irradiação ultrassônica e micro-ondas com redução do tempo de reações e processos mais eficientes com minimização de subprodutos, tem sido descrita.

Um exemplo de reação de tionação, usando reagente de Lawesson (1,3-ditio-2,4-difosfatano-2,4 dissulfeto-2,4-bis-4-metóxilfenil; (Figura 5) foi na obtenção da 4-tioxotiazolidin-2-ona a partir de 2,4-tiazolidinadiona, em dioxano anidro, com rendimento de 53% (Esquema 14) (Liesen *et al.*, 2008). A conversão é atribuída ao íldeos de ditiofosfina ($p\text{-CH}_3\text{O-C}_6\text{H}_4\text{-PS}_2$), formados a partir da quebra do anel de quatro membros, contendo átomos de fósforo e enxofre alternados, existente do Reagente de Lawesson (Esquema 13).

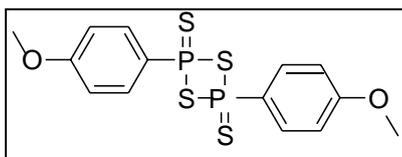
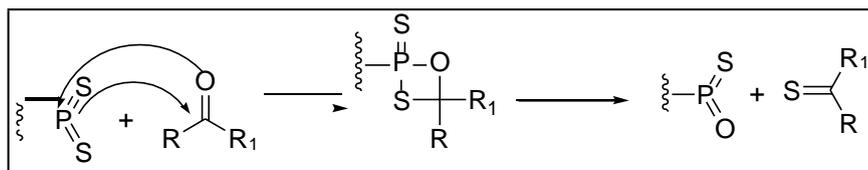
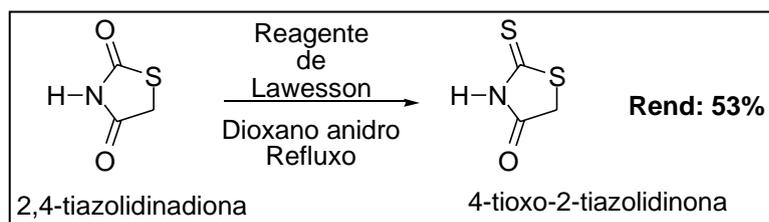


Figura 5: Reagente de Lawesson

Esquema 13.



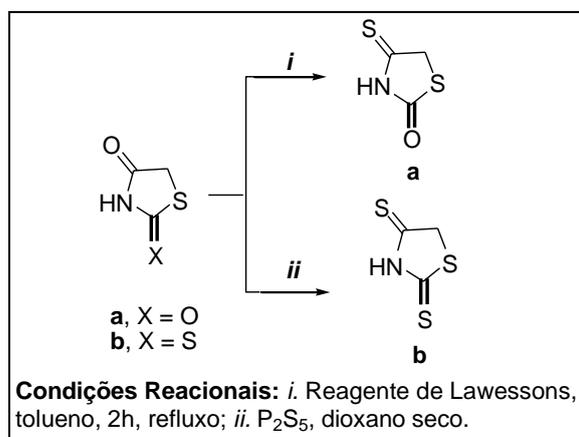
Esquema 14.



De acordo com Cava e colaboradores, a velocidade da tionação é dependente da densidade eletrônica existente na carbonila, sendo que em compostos contendo duas ou mais carbonilas, sofrerá primeiramente tionação aquela que for mais rica em elétrons (Cava *et al.*, 1985).

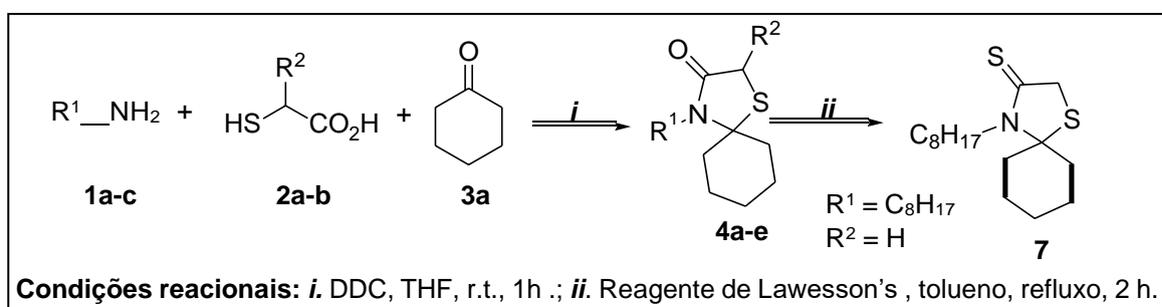
Outro trabalho envolvendo reação de tionação com pentassulfureto de fósforo (P_4S_{10}) em dioxano seco levou a formação de tiazolidin-2,4-ditiona e também reagente de Lawesson em refluxo de tolueno para formar tiazolidin-4-tionas foi realizado por Metwally (Metwally, 2007) (Esquema 15)

Esquema 15.



Srivastava e colaboradores sintetizaram uma série de reações para obtenção de compostos testes frente a atividade antitumoral. A reação de tionação usou reagente de Lawesson em tolueno em refluxo durante duas horas, onde as tiazolidin-4-onas foram convertidas nos correspondentes produtos com rendimentos de moderados a bons (67 - 89%). Após a síntese, as moléculas foram testadas contra o *M. tuberculosis* utilizando microplacas Alamar Ensaio Azul (MABA) e resultou numa perda substancial da atividade biológica. Portanto, estes centros não foram modificados nos estudos subsequentes (Esquema 16) (Srivastava *et al.*,2005).

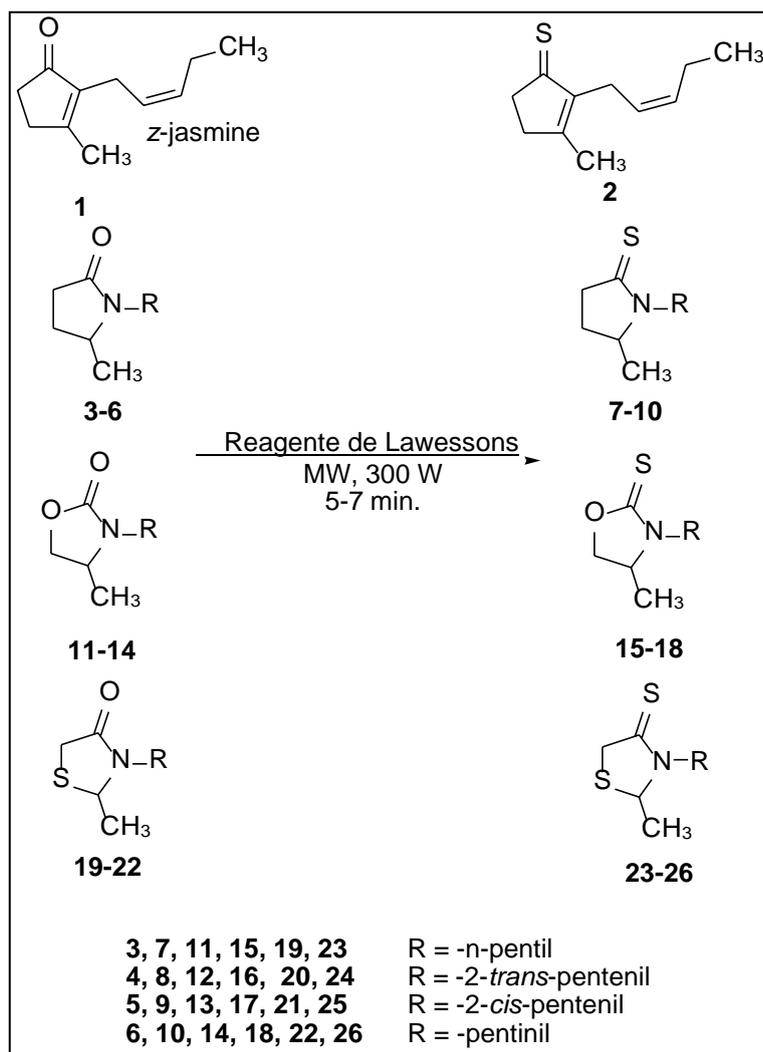
Esquema 16.



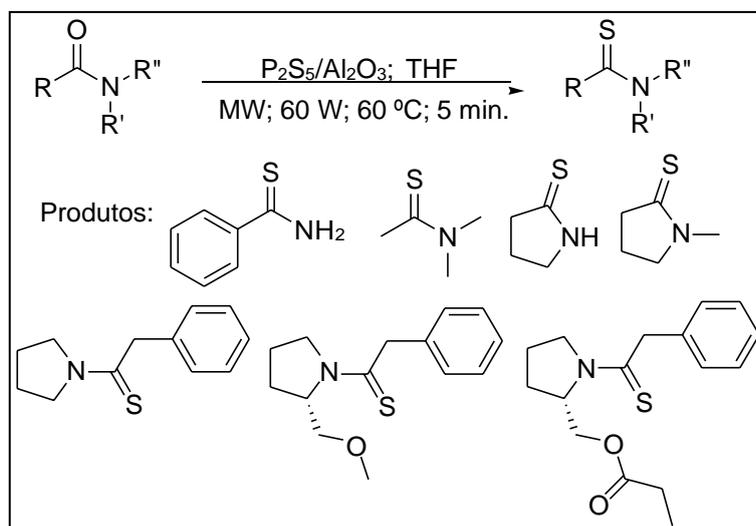
Pawelczyk e colaboradores realizaram uma série de reações de tionação através da metodologia de irradiação de micro-ondas num intervalo 5-7 minutos para realização da síntese de vários compostos com rendimento em média de 80%, usando metodologia considerada simples, rápida, eficiente e versátil. Foram obtidos derivados de ciclopenteno-1-tionas (substância natural chamada de jasmine, que tem característica de inibidor de odores),

derivados de pirrolidinas, derivados de oxazolidinonas, derivados de tiazolidin-4-
 tionas. (Esquema 17) (Pawelczyk *et al.*, 2011)

Esquema 17.



Usando o reagente P₄S₁₀ em óxido de alumina, Lagiakos e colaboradores sintetizaram compostos tionílicos através da metodologia de irradiação de micro-ondas, onde desenvolveram um método melhorado para a reação de tionação de amidas primárias, secundárias e terciárias em bons a excelentes rendimentos (77 - 98 %). O uso de micro-ondas permitiu uso de tempos de reações menores, procedimento de trabalho mais eficiente e rendimentos mais elevados quando comparados com dados anteriores obtidos por metodologia convencional. (Esquema 18) (Lagiakos *et al.*, 2011).

Esquema 18.**BIOISÓSTEROS.**

Na química medicinal os bioisósteros tem um papel muito importante, pois com sua aplicação é possível converter um composto que apresenta atividade biológica, mas que porém também apresenta características indesejáveis que limitam a sua biodisponibilidade ou características estruturais que influenciam negativamente no seu metabolismo e excreção do corpo. Assim, uma modificação racional de determinado composto pode levar a um agente mais seguro e clinicamente eficaz. Um bioisótero pode ser considerado como um composto resultante da troca de um átomo ou grupo de átomos com outro, muito semelhante (Patani e LaVoie, 1996).

O bioisosterismo resultou da aplicação do princípio do isosterismo, desenvolvido por Langmuir, em moléculas de substâncias bioativas. Em 1919, esse pesquisador estudou o comportamento químico e a reatividade de determinadas substâncias que possuíam átomos ou grupos com o mesmo número de elétrons de valência, portanto, isoeletrônicos (Jacs, 1919).

Grupos	Isósteros
1	H ⁻ , He, Li ⁺
2	O ²⁻ , F ⁻ , Ne, Na ⁺ , Mg ²⁺ , Al ³⁺
3	S ²⁻ , Cl ⁻ , Ar, K ⁺ , Ca ²⁺
4	Cu ²⁻ , Zn ²⁺
8	N ₂ , CO, CN ⁻
9	CH ⁴ , NH ⁴⁺
10	CO ₂ , N ₂ O, N ³⁻ , CNO ⁻
20	MnO ⁴⁺ , CrO ₄ ²⁻
21	SeO ₄ ²⁻ , AsO ₄ ³⁻

Figura 6. Isosterismo desenvolvido por Langmuir (PATANI *et al.*, 1996).

Essa metodologia em suas primeiras aplicações como estratégica de modificação molecular de um protótipo, beneficiou-se enormemente da *regra de hidreto*, uma regra empírica formulada por Grim, em 1925, que estabelecia que a adição de um átomo de hidrogênio com um par de elétrons (i.e. hidreto) a um átomo fornece um pseudo-átomo apresentando as mesmas propriedades físicas daqueles presentes na coluna imediatamente posterior da Tabela Periódica do átomo inicial (Figura 7) (Barreiro e Fraga, 2008).

C	N	O	F	Ne	NeH ⁺
	CH	NH	OH	FH	FH ₂ ⁺
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	OH ₃ ⁺
			CH ₃	NH ₃	NH ₄ ⁺
				CH ₄	

Figura 7. Regra do hidreto de Grimm.

Em 1970, o pesquisador Alfred Burger classificou e subdividiu o bioisosterismo em duas categorias: clássica e não clássica. Os *Bioisósteros clássicos* são aqueles que têm efeitos estéricos e eletrônicos semelhantes, tem o mesmo número de átomos como radical substituinte para os quais são utilizados como um substituto (Burger, 1991). Por exemplo, a substituição de um átomo de hidrogênio ou grupo hidroxila por um átomo de flúor é uma das substituições biosostéricas clássicas mais utilizadas. A incorporação de flúor em um fármaco de modulação permite na interferência de lipofilicidade e efeito estérico, os quais podem influenciar tanto nas propriedades farmacodinâmicas quanto nas farmacocinéticas de fármacos. Por sua vez, os *bioisósteros não clássicos* são capazes de manter a atividade biológica semelhante, imitando o arranjo espacial, propriedades eletrônicas, propriedades físico-química da molécula ou grupo funcional que é crítica para a retenção da atividade biológica. Pois há muitos grupos funcionais que contem requisitos eletrônicos e estéricos

necessários para as propriedades biológicas (Burger, 1991). No entanto, esses grupos funcionais podem ter efeitos secundários e indesejáveis, tais como insuficiência a estabilidade metabólica ou toxicidade. Assim essa classe representa uma metodologia útil para melhorar as propriedades farmacológicas no alvo da molécula original (Smart, 2001).

Exemplos de isosterismos podem ser encontrados na natureza (Figura 8), dentre os quais se destaca a relação bioisostérica clássica existente entre aminoácidos essenciais serina e cisteína; tirosina e histidina. Para a classe bioisostérica não clássica podemos citar como exemplo de compostos encontrados na natureza, tais como as relações bioisostéricas existentes entre GABA e o muscimol; entre os neurotransmissores glutamato e o AMPA.

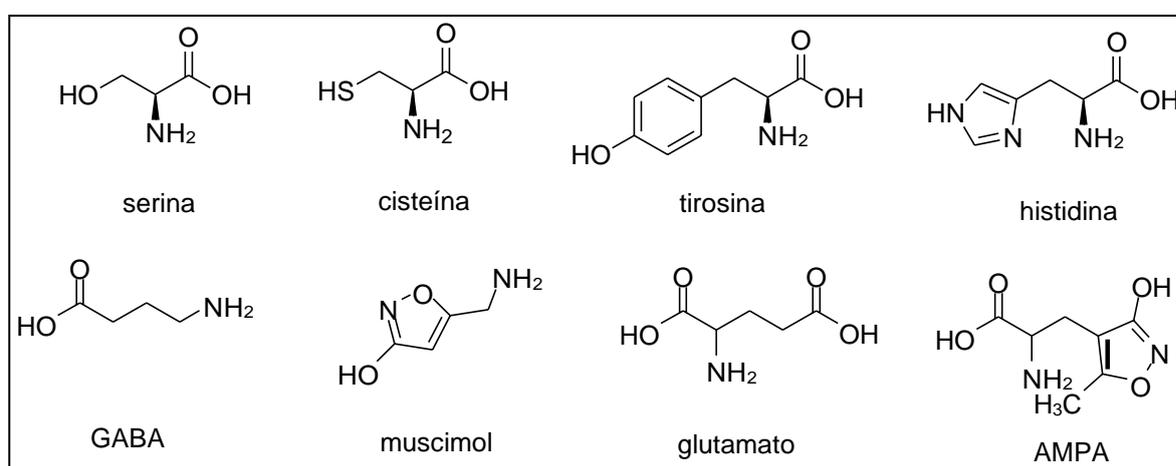
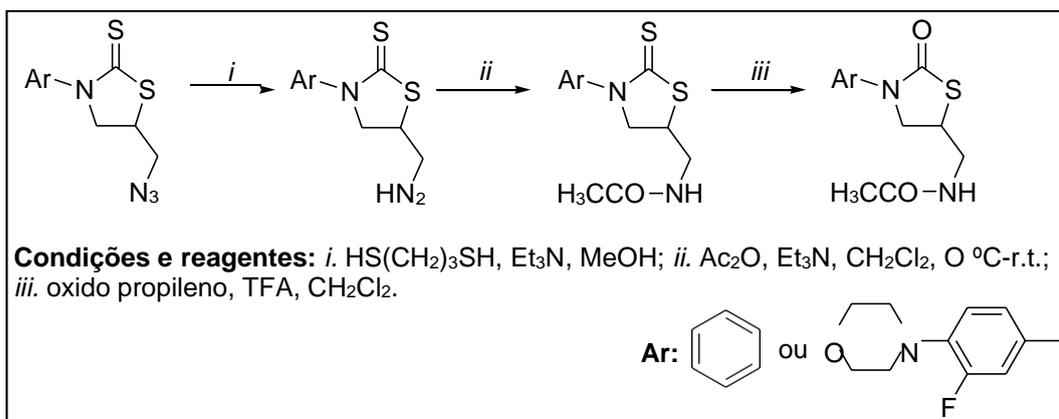


Figura 8. Exemplos de bioisosterismo encontrados na natureza.

Já para obtenção de compostos bioisósteros sintéticos, Sattigeri e colaboradores sintetizaram análogos do antibacteriano *Linezolida*, sintetizando compostos 5-(azidometil)-3-feniltiazolidin-2-tiona e/ou 5-(azidometil)-3-(3-fluor-4-morfolinofenil)-tiazolidin-2-tiona em 5-(acetimidametil)-3-feniltiazolidin-2-ona e/ou 5-(acetamidametil)-3-(3-fluor-4-morfolinofenil)-tiazolidin-2-ona ocorrendo a troca bioisóstera de tionila em carbonila e flúor em acetamida. Testes biológicos posteriores contra bactérias (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*) e fungos (*Candida albicans*, *C. krusei*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*) mostraram que as atividades foram consideradas moderados quando comparados com o padrão *Linezolida* (Esquema 19) (Sattigeri *et al*, 2005)

Esquema 19.**RADICAIS LIVRES E ANTIOXIDANTES.**

A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena (defesas antioxidantes enzimáticas), tais como, superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Ou podem ser provenientes da dieta alimentar (defesas antioxidantes não-enzimáticas), por exemplo, tocoferóis (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis e carotenoides (Gil Del Valle, 2011; Guo et al., 2011).

Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (Sousa, *et al.*, 2007). Logo, antioxidantes que possam neutralizar esses radicais livres podem ter importância central na prevenção de doenças, como o câncer e doenças degenerativas cardíacas, vasculares e neurológicas (Halliwell e Gutteridge, 2007).

Radicais livres (RL) podem ser definidos como moléculas ou átomos capazes de possuir um ou mais elétrons não pareados em seu orbital. São altamente instáveis, com meia-vida curta e quimicamente muito reativos, Os radicais livres são conhecidos por induzir a peroxidação lipídica (PL) (Halliwell e Gutteridge, 2007). Podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA).

Provindo de RL, existem espécies reativas de oxigênio (ERO) são formadas como subprodutos do metabolismo celular, tanto produzidas acidentalmente quanto de forma proposital. As principais ER geradas nos sistemas biológicos são as espécies reativas de oxigênio (ERO), que incluem o radical superóxido, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete.

Essas ERO podem ser geradas por diversos fatores internos e externos. Podem ser produzidas por fontes endógenas: respiração aeróbia, inflamação e enzimas do citocromo P450; ou por fontes exógenas: ozônio, radiações gama e ultravioleta, medicamentos, produtos da dieta e cigarro. As ERO podem causar danos oxidativos a lipídios, proteínas e ácidos nucléicos em células vivas (Figura 9) (Devasagayam *et al.*, 2004; Halliwell e Gutteridge, 2007).

Contudo, os danos oxidativos aos sistemas biológicos ocorrem apenas quando os níveis de ER superaram os sistemas de defesa antioxidantes protetores das células.

Deve-se enfatizar que as espécies reativas de oxigênio são produzidas para ajudar na manutenção da homeostase celular ou regulação de redução e oxidação (redox) em tecidos saudáveis (Devasagayam *et al.*, 2004).

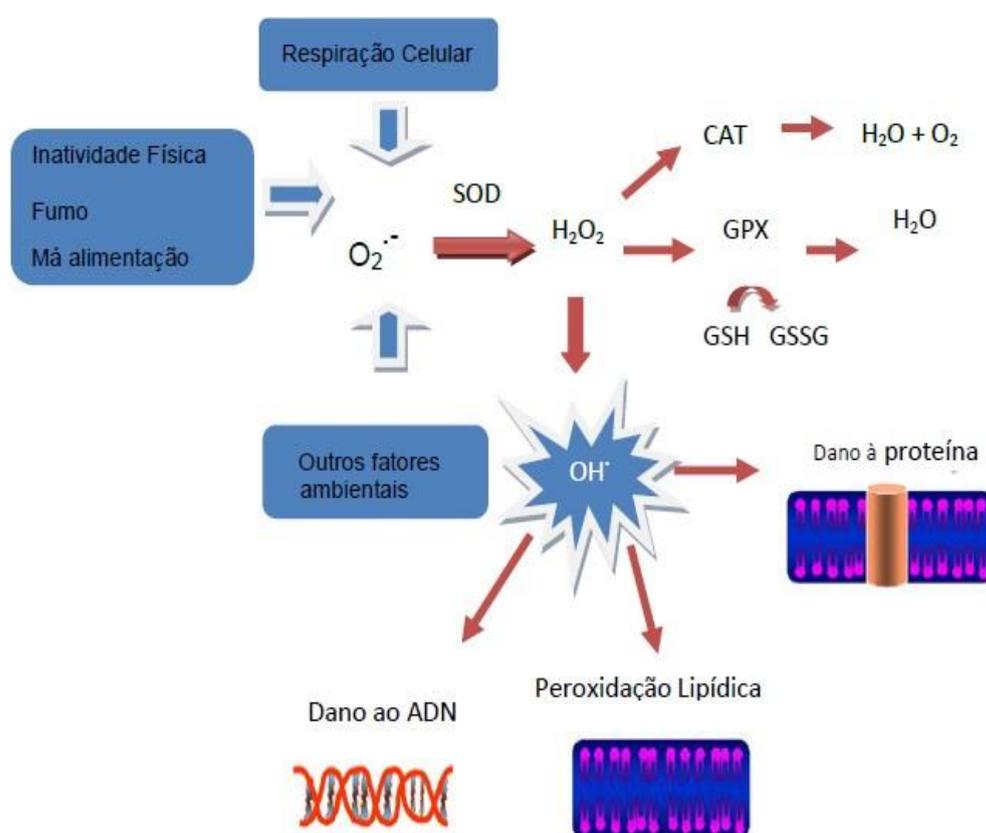


Figura 9. Visão geral da geração de espécies reativas de oxigênio e os danos causados (adaptado de Farias, 2013)

$O_2^{\cdot-}$ - Ânion Superóxido; SOD – Superóxido dismutase; H_2O_2 - Peróxido de Hidrogênio; CAT – Catalase; GPX - Glutaciona Peroxidase; GSH – Glutaciona reduzida; GSSG - Glutaciona oxidada; OH^{\cdot} - Radical Hidroxila.

MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES.

Existe uma grande diversidade de métodos analíticos (químicos, físicos e /ou físico-químicos) propostos na literatura para avaliar o grau de oxidação lipídica e a atividade antioxidante, colocando, na prática, algumas dificuldades de seleção (Silva *et al.*, 1999).

Crescentes do papel de compostos naturais, semi-sintéticos e sintéticos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (Pérez-Jiménez; Sauracalixto, 2006).

O método ideal para determinação de propriedades antioxidantes deve avaliar os efeitos de um composto protótipo a antioxidante em condições reacionais que minimizem os efeitos desses quando o estresse oxidativo é induzido *in vivo* por ER. Atualmente, os métodos mais utilizados na tentativa de simular essas condições são divididos de acordo com o mecanismo reacional, ou seja, podem ser do tipo: método de transferência de átomo de hidrogênio (TAH) ou transferência de um elétron (TE) Em ambos casos o resultado final é o mesmo, independente do mecanismo, porém a cinética e o potencial de formar reações paralelas são diferentes (Magalhães *et al.*, 2009).

O Método baseado em TAH é a capacidade de um antioxidante de neutralizar os radicais livres pela doação de hidrogênio. Reações TAH são independentes em relação ao tipo de solventes e do valor de pH e geralmente ocorrem muito rápido, tipicamente concluída em segundos a minutos. A presença de agentes de redução, incluindo os metais, é uma complicação em ensaios e podem levar a erroneamente alta reatividade (Prior *et al.*, 2005).

Os Métodos baseados em TE é a capacidade de detectar um potencial antioxidante em transferir um elétron para reduzir qualquer composto, incluindo metais, carbonílicos e radicais. Mecanismos criados quase sempre ocorrem juntos em toda amostra, com o equilíbrio determinado pela estrutura antioxidante e pH. Reatividade relativa em métodos TE baseia-se principalmente pela desprotonação do grupo funcional reativo. Assim os valores de potencial de ionização pode diminuir com o aumento do pH (Prior *et al.*, 2005).

Estes métodos podem ser baseados na captura do radical peroxila ORAC (Capacidade de absorção oxigênio radicalar), TRAP (Poder antioxidante redutor férrico); poder de redução do metal FRAP (Poder antioxidante redutor férrico), CUPRAC (Capacidade do oxidante em reduzir o íon cúprico); captura do radical hidroxila (método de desoxirribose); captura do radical orgânico ABTS (2,2-azinobis-3-tilbenzotiazolona-6-ácidosulfônico, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil); quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios TBARS (Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), oxidação do LDL, co-oxidação do β -

caroteno) (Frankel; Meyer, 2000; Sánchez-Moreno, 2002; Aoma, 2003). Dentre estes métodos, ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são alguns dos mais usados atualmente (Pérez-Jiménez; Sauracalixto, 2006).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR CAPTURA DO DPPH•

O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico que pode ser etanol ou metanol, sendo este um dos testes mais usados e realizando um monitoramento da diminuição da absorbância. O progresso da reação é monitorado por um espectrofotômetro UV-Vísível (Brand-Willian *et al.*, 1995). Consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve a 517 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenil-1-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância, (Figura10).

A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional (Brand-Williams *et al.*, 1995; Sousa *et al.*, 2007).

As vantagens do método DPPH são: a) avaliar uma grande quantidade de amostras em um período curto de tempo e rapidamente; b) um método sensível que detecta pequenas concentrações do ativo testado; c) permite avaliar antioxidantes lipofílicos, já que o solvente do processo é metanol ou etanol (Di Mambro *et al.*, 2005).

Esse método apresenta em contrapartida, o pH do meio reacional, que é em torno de 5,5, é diferente do pH fisiológico, o que se constitui numa desvantagem pela dificuldade de transferir os resultados para as condições *in vivo* (Di Mambro *et al.*, 2005).

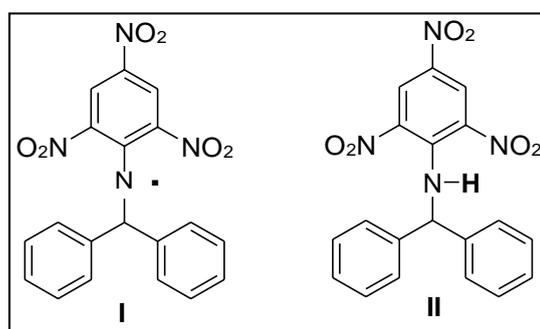


Figura 10. Forma radicalar (I) e não radicalar (II) do DPPH

Na literatura é possível encontrar trabalhos envolvendo método de DPPH para avaliar a atividade antioxidante tanto de compostos naturais quanto de compostos sintéticos. Exemplo disso, Campos e colaboradores sintetizam uma série de derivados de tiazolidin-4-onas e testaram frente a atividade antioxidante os resultados mostraram que os compostos com os substituintes 4-CH₃, 3-F, 4-F, 2-NO₂, 3-NO₂, 2,4-Cl (Figura 11) apresentaram eficiência antioxidante boa a moderada em comparação com o padrão *Eugenol*. Essa atividade foi explicada pelo fato do anel da tiazolidinonas ter um hidrogênio ácido na posição-2 disponível para a captura do radical de DPPH (Campos *et al.*, 2013).

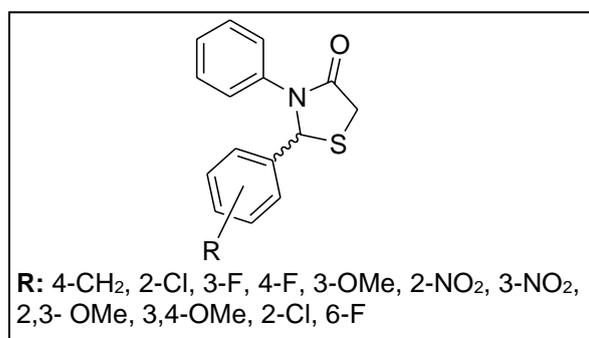


Figura 11. 2-aryl-3-fenil-1,3-Tiazolidin-4-onas testadas pelo método DPPH.

3. MATERIAIS E MÉTODOS.

Serão apresentados os reagentes e solventes utilizados para síntese dos compostos, bem como aqueles utilizados para testar as propriedades antioxidantes dos compostos.

Síntese dos compostos 2-*aril*-3-piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-(ti)onas 3a-l e 4a-l.

Reagente e solventes utilizados.

- 2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3a**)
- 2-(2-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3b**) •
- 2-(2-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3c**) •
- 2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**) •
- 2-(3-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**) •
- 2-(3-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**) • 2-
- (3-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3g**) •
- 2-(3-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3h**) •
- 2-(4-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3i**) •
- 2-(4-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3j**)
- 2-(4-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3k**)
- 2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona (**3l**)
- Reagente de Lawesson Acros Organics.
- Tolueno p.a. marca Synth.
- Hexano p.a. marca Synth
- Acetato de etila p.a. marca Synth
- Sílicagel 60A° sigma-aldrich

Aparelhos utilizados.

Espectrômetro de Cromatografia Gasosa e Espectrômetro de fase gasosa Acoplado a Espectrômetro de Massas.

Os cromatogramas foram obtidos em um cromatógrafo a gás da marca Shimadzu CG-2010. Os espectros de massas foram obtidos em um aparelho de CG2010-plus. As análises de

massas foram obtidas em Espectrômetro de massas Hewlett Packard, modelo 6890/MSD5973, com um injetor split-splitless e equipado com uma coluna HP-Innowax capilar (30m x 250 µm) e o gás He foi usado como gás de transporte (56Kpa).

Ponto de Fusão

Os pontos de fusão mensurados neste trabalho foram determinados em um aparelho Fisatom, com três tubos capilares, modelo 430, 220 V, 60 HZ, 50 w. O termômetro utilizado media até 300°C.

Aparelho de Ultrassom

Para realizar a síntese das tiazolidinonas **5a-o**, foi utilizada o aparelho de ultrassom da marca Sonics Vibra-cell, modelo VC 500, serial N° 480357, 500 Watts, frequência 20Hz, 220 Voltz com o uso de um probe com microtip cônico de 3mm (1/8 polegada, volume de 1-10 mL, intensidade ultra alta, amplitude máxima de 40%, comprimento de 159 mm).

Realização dos testes de propriedades antioxidantes dos compostos 3a-l e 4a-l

Reagentes e Solventes Utilizados.

- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
- Etanol p.a. marca Synth.
- 2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(2-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(2-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(3-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(3-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(3-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(3-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona •
- 2-(4-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
- 2-(4-fluorfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona

- 2-(4-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
- 2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona

Aparelho utilizado para determinação de propriedades antioxidantes.

Espectrofotômetro SP 220, biospectro, com faixa de comprimento de onda de 200-1000nm.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÕES DE RESULTADOS.

Neste capítulo será apresentada a nomenclatura dos compostos reagentes **3a-l** e produtos **4a-l** sintetizados nesta dissertação (Esquema 1). Posteriormente serão mostrados os resultados e discutidas as condições de reação para a síntese dos compostos, os mecanismos das reações e a estrutura dos produtos através da análise de Espectroscopia de Massas e de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Os resultados serão apresentados em forma de Tabelas e Esquemas.

Numeração e Nomenclatura dos Compostos.

Para numeração dos compostos foi adotado o número arábico **3** para os reagentes e **4** para os produtos, onde a variação alfabética de **a** até **l** refere-se a posição do substituinte do composto aril presente na posição-2 dos heterociclos. Assim, as nomenclaturas dos compostos sintetizados neste trabalho, de acordo com as regras da IUPAC, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Nomenclatura das substâncias reagentes 2-(aril)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas **3,4a-l**.

	Nomenclatura
3^a	2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4^a	2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3^b	2-(2-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4^b	2-(2-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3^c	2-(2-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)1,3-tiazolidin-4-ona
4^c	2-(2-metóxfenil)-3-(piridin-2-il)1,3-tiazolidin-4-tiona
3^d	2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4^d	2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3^e	2-(3-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4^e	2-(3-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3^f	2-(3-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4^f	2-(3-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3^g	2-(3-metóxfenil)-3-(piridin-2-il-1,3-)tiazolidin-4-ona

4g	2-(3-metóxifenil)-3-(piridin-2-il-1,3-)tiazolidin-4-tiona
3h	2-(3-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4h	2-(3-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3i	2-(4-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4i	2-(4-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3j	2-(4-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4j	2-(4-fluorfenil)-3-(piridin-2- il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3k	2-(4-metóxifenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4k	2-(4-metóxifenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona
3l	2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona
4l	2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tiona

Metodologia adotada para síntese dos compostos 4a-l.

A metodologia adotada foi a transferência de calor por metodologia convencional (como posso substituir) (aquecimento em chapas com agitação magnética). Foram testadas condições reacionais para obtenção destes compostos baseados em estudos existentes na literatura para compostos correlatos e aquelas aplicadas e desenvolvidas no laboratório de pesquisa. A síntese dos compostos foi feita utilizando equipamentos e infraestrutura disponíveis no Laboratório de Química Aplicada a Bioativos (LaQuiABio).

A pureza e identificação dos compostos obtidos nestas reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada e gasosa. Suas estruturas químicas foram determinadas através de espectrometria de massas e técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C .

Procedimento Experimental.

Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas 3a-l.

Os compostos precursores **3a-l** foram obtidos utilizando metodologia de irradiação ultrassônica de acordo com as condições reacionais relatado a seguir e sintetizados por Gouvea e colaboradores (Gouvea *et al*, 2012).

Foi adicionado num frasco, 1 mmol da 2-aminopiridina , 1 mmol do benzaldeído substituído, 10 gotas de BF_3 (50% em metanol) e 10 mL de tolueno. A solução foi sonicada

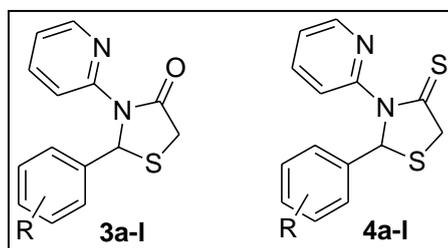
por 10 minutos, 1 mmol de ácido mercaptoacético foi adicionado e a mistura foi sonicada por mais 25 minutos. Lavou-se a mistura reacional com solução saturada de NaHCO₃ (3 x 10 mL), recolhendo-se a fase orgânica, a qual foi seca com MgSO₄ e o solvente removido em um evaporador rotativo.

Síntese de 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas **4a-l**.

Em um balão reacional de 50 mL foram adicionados 1 mmol de tiazolidin-4-ona (**3a-l**) e 0,8 mmol de Reagente de Lawesson em 50 mL de tolueno. A mistura foi colocada em refluxo durante 12 horas. Após este tempo o solvente foi removido em evaporador rotativo. A seguir, o produto bruto foi purificado em uma coluna de sílica como fase estacionária (quantidade de sílica 50 vezes maior do que massa de composto) usando como eluente uma mistura de solventes hexano/acetato de etila na proporção de 3:1.

Como este procedimento de síntese leva a obtenção de compostos inéditos **4a-l** pela reação de tionação de precursores 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-onas **3a-l**, foi usado como referencial teórico para o desenvolvimento da síntese estudos relatados na literatura para compostos semelhantes. Assim, para definição das melhores condições reacionais foi escolhido o reagente **3a** (2-(2-clorofenil)-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-ona) como padrão. De acordo com a literatura foi usado o tolueno como solvente, tanto pela propriedade de solubilizar os reagentes, quanto fornecer uma temperatura adequada a reação pelo refluxo (110°C). Para definição de quantidade de reagente de Lawesson a ser usada foi testada condições relatadas na literatura (proporção molar 1:0,5 entre reagente **3a** e RL), o que levou a uma reação parcial do composto **4a** com sobra de material de partida (identificados por CG/EM). Assim, esta proporção foi aumentada para uma relação molar de 1:0,8 entre reagente **3a** e RL, que levou a um melhor rendimento de reação. O tempo reacional de 16h foi determinado pelo acompanhamento da reação utilizando cromatografia em camada delgada (CCD) para verificar a total conversão do reagente em produto **4a**. Após este tempo de reação, a purificação foi feita em cromatografia em coluna usando como fase estacionária silicagel 60 A^o e como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (na proporção de 3:1 respectivamente). Com isso, estas condições foram aplicadas aos demais compostos da série para obtenção dos produtos, Os rendimentos obtidos, as propriedades físicas dos reagentes e produtos, dados cromatográficos e de espectrometria de massas são mostrados na Tabela 2 (pág. 44).

Tabela 2. Tabela de rendimentos, propriedades físicas e dados de CG/EM dos compostos precursores **3a-l** e produtos **4a-l**.



Composto	R	F.M.	P.M. (g/mol)	Rend. ¹ (%)	CG/EM	P.F. (°C)
3a	2-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ OS	290,7	88 ²	290 [M ⁺] (13)	108-111
4a	2-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ S ₂	306	92	306 [M ⁺] (6)	óleo
3b	2-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ OS	274,3	75 ²	274 [M ⁺] (16)	78-80
4b	2-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ S ₂	290	82	290 [M ⁺] (4)	óleo
3c	2-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	286,3	64 ²	286 [M ⁺] (13)	112-115
4c	2-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ OS ₂	302	94	302 [M ⁺] (4)	óleo
3d	2-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	301,3	81 ²	255 [M ⁺ -46] (13)	162-164
4d	2-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₂ S ₂	317	87	317 [M ⁺] (6)	óleo
3e	3-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ OS	290,7	83 ²	290 [M ⁺] (18)	162-164
4e	3-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ S ₂	306	91	306 [M ⁺] (2)	óleo
3f	3-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ OS	274,3	50 ²	274 [M ⁺] (19)	Óleo
4f	3-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ S ₂	290	88	290 [M ⁺]	óleo
3g	3-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	286,3	72 ²	286 [M ⁺] (37)	129-131
4g	3-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ OS ₂	302	96	302 [M ⁺] (5)	óleo
3h	3-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	301,3	74 ²	301 [M ⁺] (14)	153-155
4h	3-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₂ S ₂	317	85	317 [M ⁺] (4)	óleo
3i	4-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ OS	290,7	87 ²	290[M ⁺] (18)	óleo
4i	4-Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ S ₂	306	82	281 [M ⁺ -25](22)	óleo
3j	4-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ OS	274,3	62 ²	274[M ⁺] (9)	79-82
4j	4-F	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ S ₂	290	71	290[M ⁺] (7)	óleo
3k	4-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	286,3	64 ²	286[M ⁺] (27)	102-105
4k	4-OMe	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ OS ₂	302	78	302[M ⁺] (15)	óleo
3l	4-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	301,3	89 ²	301[M ⁺] (55)	152-154
4l	4-NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₂ S ₂	317	76	301[M ⁺ -16] (65)	Óleo

¹ rendimento do produto isolado obtido por metodologia convencional; ² Rendimento conforme sintetizado e descrito por Gouvea e colabores (Gouvea *et al*, 2012).

Os rendimentos obtidos dos compostos precursores isolados (**3a-l**) foram similares aqueles relatados na literatura e mostrados na Tabela 3.

As tiazolidin-4-tionas foram identificadas por espectrometria de massas conforme exemplificado para a substância **4c** na Figura 12.

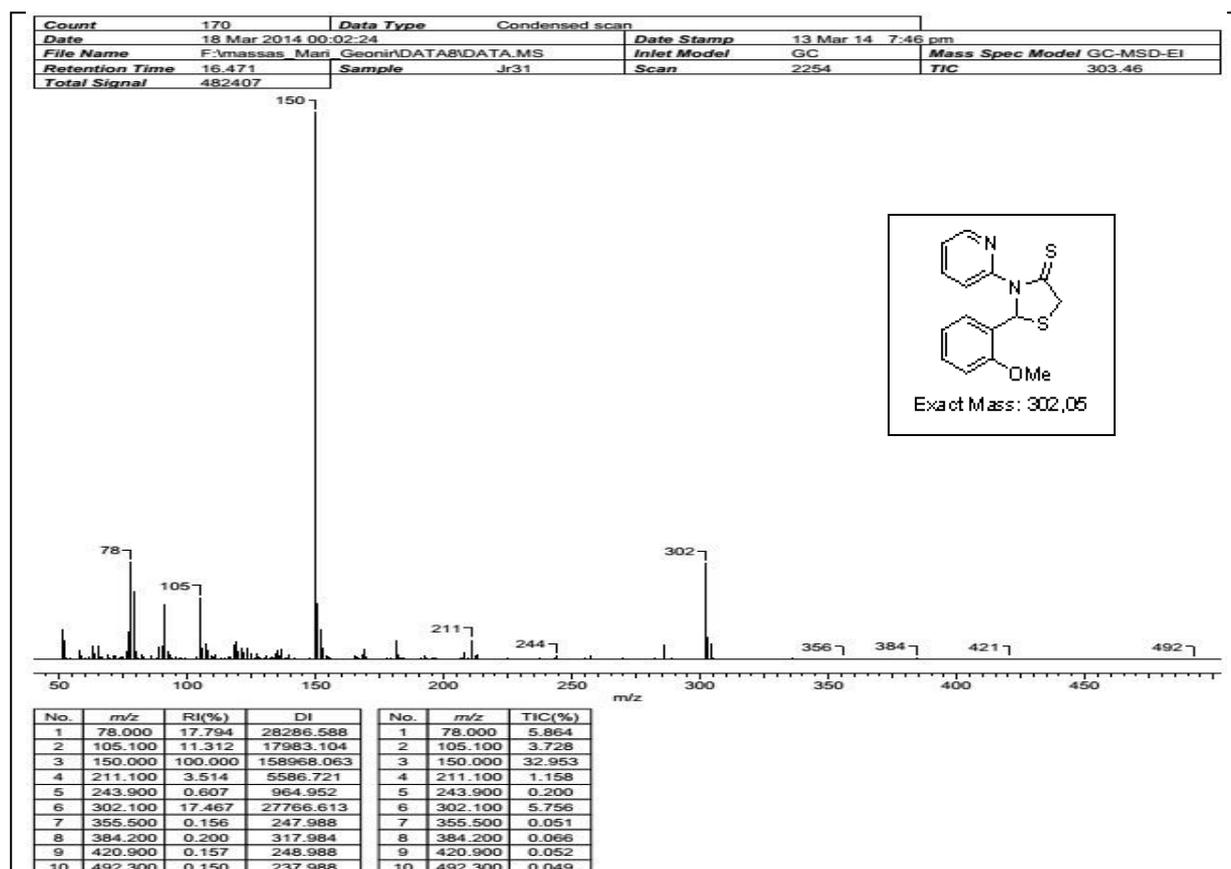


Figura 12. Espectro de massas do composto 2-(2-metoxifenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona

Na análise de CG/EM da substância **4c** observa-se a quebra padrão das tiazolidin-4-tionas derivadas da 2-aminopiridina (Figura 13). Primeiramente ocorre a quebra da tiazolidina-4-tiona resultando na formação do pico base da massa 150, com posterior quebra do grupo tioacetil da molécula resultando na formação de massa 105, após ocorre a quebra da ligação do nitrogênio oriundo do anel da tiazolidina-4-tiona, formação do anel piridínico de massa 78. Por fim ocorre a quebra do anel piridínico com formação de massa 51. Este padrão de fragmentação também é observado para os demais compostos 1,3-tiazolidina-4-tionas levando em conta as massas dos substituintes característico de cada composto.

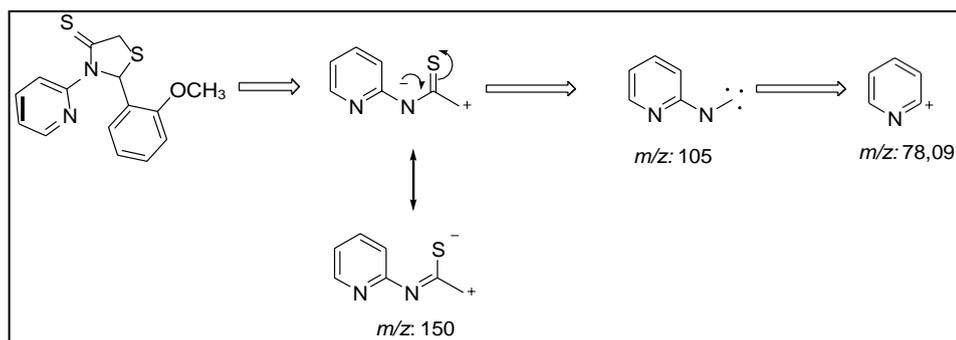
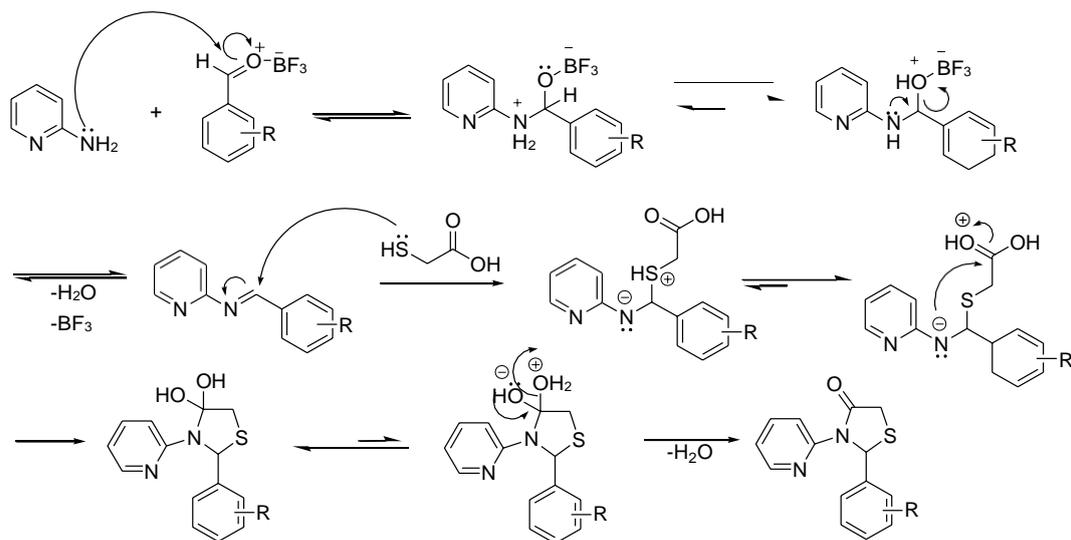


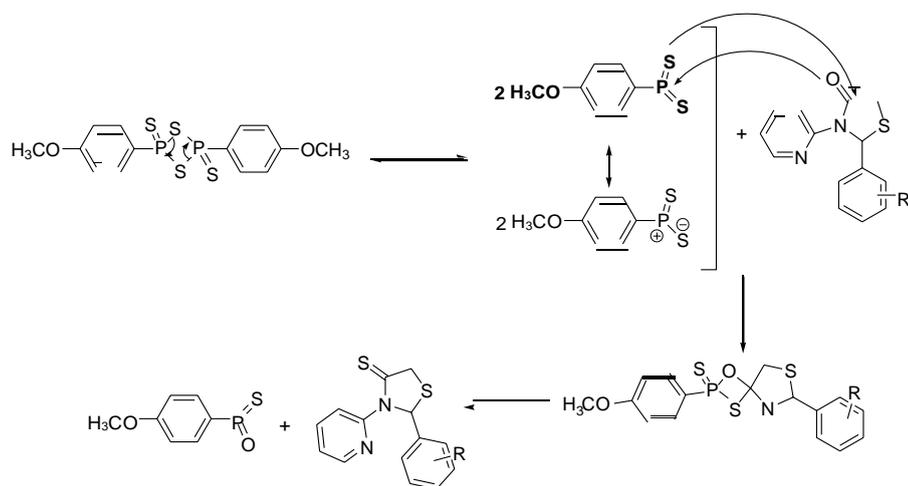
Figura13. Fragmentação do composto 2-(2-metóxilifenil)-3-(piridin-2-il)1,3-tiazolidin-4-tiona 4c.

Mecanismos propostos para a síntese dos precursores 3a-l e produtos 4a-l.

Segundo proposta de Gouvêa e colaboradores, (Gouvêa *et al.*, 2012) o mecanismo de formação do anel da tiazolidin-4-onas que está representada no Esquema 20. Primeiramente, ocorre o ataque do par de elétrons do oxigênio da carbonila do aldeído ao boro do catalisador, formando a ligação do oxigênio com o BF_3 , tornando a carbonila mais parcialmente positiva, sendo assim mais suscetível ao ataque do nitrogênio nucleofílico da 2-aminopiridina. Propiciando a formação do intermediário imina e liberando uma molécula de água. Posteriormente a imina reage com o ácido mercaptoacético, onde o par de elétrons do enxofre nucleofílico ataca o carbono parcialmente positivo da imina e os elétrons da ligação C-N, migram para o nitrogênio formando o intermediário tetraédrico. Em seguida o par de elétrons do nitrogênio ataca a carbonila do ácido mercaptoacético ocorrendo reação de ciclocondensação formando o anel tiazolidinônico com a liberação de mais uma molécula de água (Esquema 20).

Esquema 20.

Neste trabalho foi proposto uma troca bioisómera no anel tiazolidin-4-ona utilizando o Reagente de Lawesson através da reação de tionação, essa reação ocorre a troca do oxigênio da carbonila por um átomo de enxofre (Ozturk *et al*, 2007) A reação necessita de um solvente apolar para que ocorra primeiramente a quebra do anel na formação de um dímero (sendo duas partes iguais), posteriormente ocorre uma reação combinada, onde o par de elétrons do enxofre nucleofílico do dímero ataca a carbonila do anel da tiazolidin-4-ona e por sua vez o par de elétrons do oxigênio da carbonila ataca o fósforo do dímero formando a tiazolidin-4-tiona mais subproduto (Esquema 21).

Esquema 21.

Atividade *scavenger* do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH):

O ensaio de captura do radical livre DPPH foi realizado em conformidade com o procedimento relatado por Brand-Williams e colaboradores com algumas modificações. A diminuição na absorbância a 515 nm foi determinada a 0, 5, 15 e 30 min. A atividade anti-radicalar foi definida como a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% (EC₅₀). Os antioxidantes Trolox e Eugenol foram usados como padrão. (Brand-Williams et al., 1995). Esse ensaio foi realizado utilizando equipamentos e infraestrutura disponíveis no Laboratório de Biomarcadores, sala 314, prédio da Bioquímica, localizado na Centro de Ciências Químicas e de Farmacêuticas – UFPel, sob a orientação e supervisão da Profa. Francieli Moro Stefanello, colaboradora do projeto.

Preparo de Solução de DPPH 60 µM

Em um balão volumétrico de 100 mL encoberto por papel alumínio, foi pesado 0,024g de DPPH em pó e dissolvido com etanol até completar o volume indicado pelo menisco. A seguir a solução foi homogeneizada em agitador magnético.

Preparo da Solução da Curva de DPPH.

Para o preparo da solução da curva de DPPH foi usado dois balões volumétricos de 25 mL encobertos com papel alumínio e pipetado as seguintes quantidades de reagentes:

Tabela 3: Valores de solução de DPPH e etanol para o preparo da curva de DPPH

Concentração	Solução de DPPH	Etanol
60 µM	-	-
30 µM	12,5 mL	12,5 mL
10 µM	4,25 mL	20,75 mL

Preparação dos compostos

Em tubos de ensaio preparou 400 μM de solução etanol/produto **4a-l**. Após homogeneizou-se e pipetou-se cada solução em tubos de vidro em duplicatas, conforme a tabela abaixo.

Tabela 4: Valores de concentrações e soluções para o teste de atividade antioxidante.

Concentração	Solução 400 μM	Etanol
200 μM	2000 μL	-
100 μM	1000 μL	1900 μL
50 μM	500 μM	1950 μL
25 μM	250 μM	1975 μL
Controle	-	Etanol

Após se realizou a leitura no escuro no comprimento de 515 nm, em seguida fez-se a leitura da curva padrão do DPPH.

Nas diferentes diluições dos compostos, se adicionou 2 mL de DPPH (60 μM). Leu-se a leitura em 0 minuto (inicial) e 30 minutos (final).

Os valores de propriedades antioxidantes apresentadas pelos compostos são mostrados na Tabela 6. A proposta de bioisosterismo na troca de uma carbonila por uma tiocarbonila com base nos resultados foi satisfatória na maioria dos compostos, visto que os compostos tiocarbonilados apresentaram valores de EC_{50} menores comparados aos seus respectivos bioisósteres carbonilados.

Tabela 5. Propriedades antioxidantes apresentadas pelos reagentes **3a-l** e produtos **4a-l**.

Substituinte	R	DPPH· (EC ₅₀ μM) ^a	
		Número do composto	
		3	4
a	2-Cl	457,3	102,6
b	2-F	11147,5	832,7
c	2-OMe	1284,5	851,5
d	2-NO ₂	144,05	226,3
e	3-Cl	33,45	133,3
f	3-F	660,83	57,5
g	3-OMe	512,83	57,3
h	3-NO ₂	712,77	421,1
i	4-Cl	170,75	62,6
j	4-F	1377,5	56,6
k	4-OMe	25,6	99,5
l	4-NO ₂	183,75	168,6
Trolox			8,4
Eugenol			72

^a – concentração necessária para reduzir em 50 % a concentração inicial do radical DPPH·.

Os valores determinados para o EC₅₀ significa a quantidade ou capacidade necessária de substrato para reduzir o radical DPPH· em 50%. Conforme os dados apresentados na Tabela 6, os compostos **3a-l** podem ser comparados quanto a sua propriedade antioxidante apenas aos padrões utilizados para a avaliação (Trolox: IC₅₀ 8,4 μM; Eugenol IC₅₀ 72,0 μM). Assim, os valores de EC₅₀ para esta classe de compostos carbonilados se mostraram superiores aqueles dos padrões, com exceção do composto **3k** (substituinte 4-OMe) que teve um resultado para o EC₅₀ inferior ao padrão Eugenol (EC₅₀ 25,6 μM).

Por sua vez, os valores determinados de IC₅₀ para a série sistemática de compostos **4a-l** podem ser comparadas tanto a série precursora **3a-l**, quanto aos padrões de referência. Assim, quando comparado a série precursora, o resultado da troca bioisómera de oxigênio por enxofre, foi significativa, pois levou a menores valores de IC₅₀ na maioria dos compostos (com exceção do composto **3e** (3-Cl) e **3k** (4-OMe)). Já em relação ao antioxidante padrão (Eugenol), obteve-se resultados mais significativos, pois foi constatado que os compostos **4f**, **4g**, **4i**, **4j**, tiveram resultados de IC₅₀ inferiores, mostrando o alto potencial destes compostos quanto a propriedade antioxidante.

5. CONCLUSÕES.

Baseado nos objetivos propostos neste trabalho, pode-se concluir que:

- a) O uso de metodologia convencional foi eficiente para a síntese sistemática de doze compostos inéditos 2-aril-3-(piridin-2-il)-1,3-tiazolidin-4-tionas **4a-l** em bons rendimentos (superior a 70%) a partir de seus precursores carbonilados **3a-l**, usando refluxo de tolueno pelo tempo de reação de 12 horas e proporção de 1:08 mmol de reagente e Reagente de Lawesson, respectivamente;
- b) O uso de cromatografia em coluna foi necessário para purificação dos compostos **4a-l** para separação de subproduto proveniente da captura de oxigênio carbonílico pelo Reagente de Lawesson, usando como eluente uma mistura de solventes hexano/acetato de etila (proporção de 3:1);
- c) Os compostos tiveram suas estruturas confirmadas principalmente pelo uso de cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas, pela identificação do íon molecular e padrão de fragmentação;
- d) A avaliação da propriedade antioxidante, pela capacidade de captura de radicais livres *in vitro*, dos compostos precursores **3a-l** e dos produtos **4a-l**, usando a metodologia de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH \cdot) mostrou que a proposta de bioisosterismo na troca de uma carbonila por uma tiocarbonila foi satisfatória na maioria dos compostos, visto que os compostos tiocarbonilados apresentaram valores de EC50 menores comparados aos seus respectivos bioisósteres carbonilados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APOSTOLIDIS, I.; LIARAS, K.; GERONIKAKI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; GAVALAS, A.; SOKOVIC, M.; GLAMOCLJIA, J.; CIRIC, A. Synthesis and biological evaluation of some 5-arylidene-2-(1,3-thiazol-2-ylimino)-1,3-thiazolidin-4-ones as dual anti-inflammatory/antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 532-539, 2013.

ALTAF, M.; STOECKLI-EVANS, H.; CUIN, A.; SATO, D. N.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; AHMAD, F.; BOUAKKA, M.; MIMOUNI, M.; HADDA, T.B. Synthesis, crystal structures, antimicrobial, antifungal and antituberculosis activities of mixed ligand silver(I) complexes. **Polyhedron**, v. 62, p. 138-147, 2013.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. **Ed. Artmed – Porto Alegre**, 2 ed., p. 271-342, 2008.

BOLLI, M. H.; ABELE, S.; BINKERT, C.; BRAVO, R.; BUCHMANN, S.; BUR, D.; GATFIELD, J.; HESS, P.; KOHL, C.; MANGOLD, C.; MATHYS, B.; MENYHART, K.; MÜLLER, C.; NAYLER, O.; SCHERZ, M.; SCHMIDT, G.; SIPPEL, V.; STEINER, B.; STRASSER, D.; TREIBER, A.; WELLER, T. 2-Imino-thiazolidin-4-one derivatives as potent, orally active S1P₁ receptor agonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 4198-4211, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BULL, J. A.; MOUSSEAU, J. J.; PELLETIER, G.; CHARETTE, A. B. Synthesis of pyridine and dihydropyridine derivatives by regio- and stereoselective addition to n-activated pyridines. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 2642-2713, 2012.

BUVANA, C.; SUKUMAR, M.; KRAVI, T. K.; RAJAN, N. Synthesis, characterization and study of antifungal and antioxidant activities of some thiazolidinone derivatives. **International Journal of PharmTech Research**, v. 5, p. 171-176, 2013.

CAMPOS JÚNIOR, J. C.; GOUVÊA, D. P.; RIBEIRO, C. S.; DUTRA, F. S. P.; STEFANELLO, F. M.; PEREIRA, C. M. P.; CUNICO, W.; SIQUEIRA, G. M. Efficient synthesis and antioxidant evaluation of 2-aryl-3-(pyrimidin-2-yl)-thiazolidinones. **Journal Biochem Molecular toxicology**, v. 27, p. 445-450, 2013.

CARVALHO, C. S.; MELO, E. J. T.; TENÓRIO, R. P.; GÓES, A. J. S. Anti-parasitic action and elimination of intracellular *Toxoplasma gondii* in the presence of novel thiosemicarbazone and its 4-thiazolidinone derivatives. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 43(2), p. 139-149, 2010.

CAVA, M. P.; LEVINSON, M. I. Thionation reactions of Lawesson's reagents. **Tetrahedron**, v. 41, p. 5061-5087, 1985.

CHANDRA, J. N. N. S.; MALVIYA, M.; SADASHIVA, C. T.; SUBHASH, M. N.; RANGAPPA, K. S. Effect of novel arecoline thiazolidinones as muscarinic receptor 1 agonist in Alzheimer's dementia models. **Neurochemistry Internacional**, v. 52, p. 376-383, 2008.

CURPHEY, T. J. Thionation with the reagent combination of phosphorus pentasulfide and hexamethyldisiloxane. **Journal Organic Chemistry**, v. 67, p. 6461-6473, 2002.

DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; GLASKADBI, S. S. Free radical and antioxidant in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, p. 2004.

DILESH, I.; CHOURASIA, O.P.; LIMAYE, S.N. Preparation of 2-substituted phenyl-3-bis-2,4-(methylphenyl,4-amino)-s-triazine-6-ylaminobenzoylamino-5-H-4-thiazolidinone computational studies of PC model. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 3, p. 24-30, 2013.

DI MAMBRO, V. M.; MARQUELE, F. D.; FONSECA, M. J. V. Avaliação *in vitro* da ação antioxidante em formulações antienvhecimento. **Cosmetics & Toiletries** (edição em português), v. 17, n. 4, p. 74-78, 2005.

DUVAL, A. R.; CARVALHO, P. H.; SOARES, M. C.; GOUVÊA, D. P.; SIQUEIRA, G. M.; LUND, R. G.; CUNICO, W. 7-chloroquinolin-4-yl arylhydrazone derivatives: Synthesis and antifungal activity. **The Scientific World Journal**, v. 11, p. 1489-1495, 2011.

GIL DEL VALLE, L. Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2011.

GOUVÊA, D. P.; BAREÑO, V. D. O.; BOSENBECKER, J.; DRAWANZ, B. B.; NEUENFELDT, P. D.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W. Ultrasonics promoted synthesis of thiazolidinones from 2-aminopyridine and 2-picolilamine. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 1127-1131, 2012.

GUO, T. Antioxidant activities of extract and fractions from *Tuber indicum* Cooke & Masee. **Food Chemistry**, V. 127, n.4, p. 1634-1640, 2011.

FARIAS, M. D. **Avaliação da atividade antioxidante de derivados semi-sintéticos do eugenol**. 60f, 2013, Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problem of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1925-1941, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Free Radicals in Biology and Medicine. **Nova York: Oxford University Press**, v.1, p. 851, 2007.

ISLOOR, A. M.; SUNIL, D.; SHETTY, P.; MALLADI, S.; PAI, K. S. R.; MALIYAKKL, N. Synthesis, characterization, anticancer, and antioxidant activity of some new thiazolidin-4-ones in MCF-7 cells. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, p. 758-767, 2013.

JAIN, A. K.; VAIDYA, A.; RAVICHANDRAN, V.; KASHAW, S. K.; AGRAWAL, R. K. Recent developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 3378-3395, 2012.

KUNZLER, A.; NEUENFELDT, P. D.; NEVES, A. M.; PEREIRA, C. M. P.; MARQUES, G. H.; NASCENTE, P. S.; FERNANDES, M. H. V.; HÜBNER, S. O.; CUNICO, W. Synthesis, antifungal and cytotoxic activities of 2-aryl-3-((piperidin-1-yl)ethyl)thiazolidinones. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 74-80, 2013.

LIESEN, A. P.; AQUINO, T. M.; GÓES, A. J. S. Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica de 4-tiazolidina-4-onas. **Química Nova**, v.31, p. 369-376, 2008.

LUPASCU, F. G.; DRAGOSTIN, O. M.; FOIA, L.; LUPASCU, D.; PROFIRE, L. The synthesis and the biological evaluation of new thiazolidin-4-one derivatives containing a xanthine moiety. **Molecules**, v. 18, p. 9684-9703, 2013.

MARQUES, G. H.; KUNZLER, A.; BAREÑO, V. D. O.; DRAWANZ, B. B.; MASTELLOTO, H. G.; LEITE, F. R. M.; NASCIMENTO, G. G.; NASCENTE, P. S.; SIQUEIRA, G. M.; CUNICO, W. Antifungal activity of 3-(heteroaryl-2-ylmethyl)thiazolidinone derivatives. **Medicinal Chemistry**. DOI: 10.2174/15734064113099990030

MELO, J. O. F.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G. CUNHA, A.C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: Histórico, Método de preparação, Aplicações e Atividades Farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, p. 569-579, 2006.

NEUENFELDT, P. D.; DRAWANZ, B. B.; AGUIAR, A. C. C.; FIGUEIREDO JR., F.; KRETTLI, A. U.; CUNICO, W. Multicomponent synthesis of new primaquine thiazolidinone derivatives. **Synthesis**, v. 23, p. 3866-3870, 2011.

NITSCHKE, C.; SCHREIER, V. N.; BEHNAM, M. A. M.; KUMAR, A.; BARTENSCHLAGER, R.; KLEIN, C. D. Thiazolidinone-peptide hybrids as dengue virus protease inhibitors with antiviral activity in cell culture. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, p. 8389-8403, 2013.

OZTURK, T.; ERTAS, E.; MERT, O. Use of Lawesson's reagent in organic synthesis. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 5210-5278, 2007.

PATANI, G. A.; LAVOIE, E. J. Bioisosterism: A rational approach in drug design. **Chemical Reviews**, v. 96, p. 3147-3176, 1996.

PATEL, D.; KUMARI, P.; PATEL, N. Synthesis and biological evaluation of some thiazolidinones as antimicrobial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, p. 354-362, 2012.

PAWETCZYK, A.; ZAPRUTKO, L. Synthesis of fragrant heterocyclic thioketo analogues of jasmone under microwave conditions. **Flavour and Fragrance Journal**. v. 26, p. 101-106, 2011.

POLSHETTIWAR, V.; KAUSHIK, M. P. Sulfur. *Chem* 2006, 27, 353

PRATAP, U. R.; JAWALE, D. V.; BHOSLE, M. R.; MANE, R. A. *Saccharomyces cerevisiae* catalyzed one-pot three component synthesis of 2,3-diaryl-4-thiazolidinones. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 1689-1691, 2011.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**. v.39, p.791-800, 2006.

SATTIGERI, V. J.; SONI, A.; SINGHAL, S.; KHAN, S.; PANDYA, M.; BHATEJA, P.; MATHUR, T.; RATTAN, A.; KHANNA, J. M.; MEHTA, A. Synthesis and antimicrobial activity of novel thiazolidinones. **ARKIVOC**, v. ii, p. 46-59, 2005.

SENTHILRAJA, M.; ALAGARSAMY, V.; SOLOMON, V. R. 2,3-disubstituted thiazolidin-4-ones: Novel class of anticonvulsant agents. **Letters in Drug Desing & Discovery**, v. 9, p. 731-735, 2012.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SMART, B. E.; Fluorine substituent effects (on bioactivity). **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 109, p. 3-11, 2001.

SRIVASTAVA, T.; GAIKWAD, A. K.; HAQ, W.; SINHA, S.; KATTI, S. Synthesis and biological evaluation of 4-thiazolidinone derivatives as potential antimycobacterial agents. **ARKIVOC**, v. 2, p. 120-130, 2005.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H R.; VIEIRA JUNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. da.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. E. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

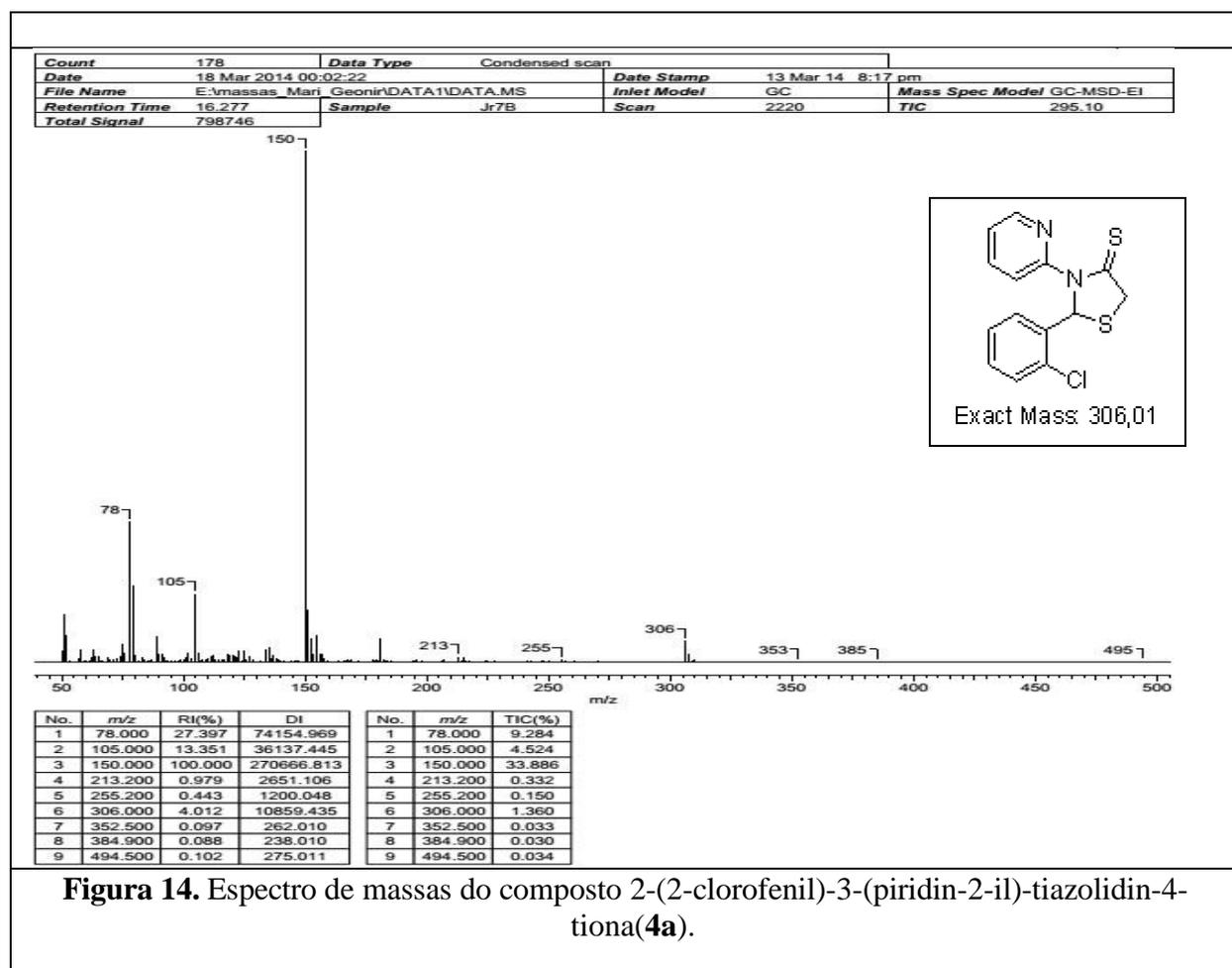
TRIPATHI, A. C.; GUPTA, S. J.; FATIMA, G. N.; SONAR, P. K.; VERMA, A.; SARAF, S. K.; 4-thiazolidinones: The advances continue... **European Journal of Medicinal Chemistry**.

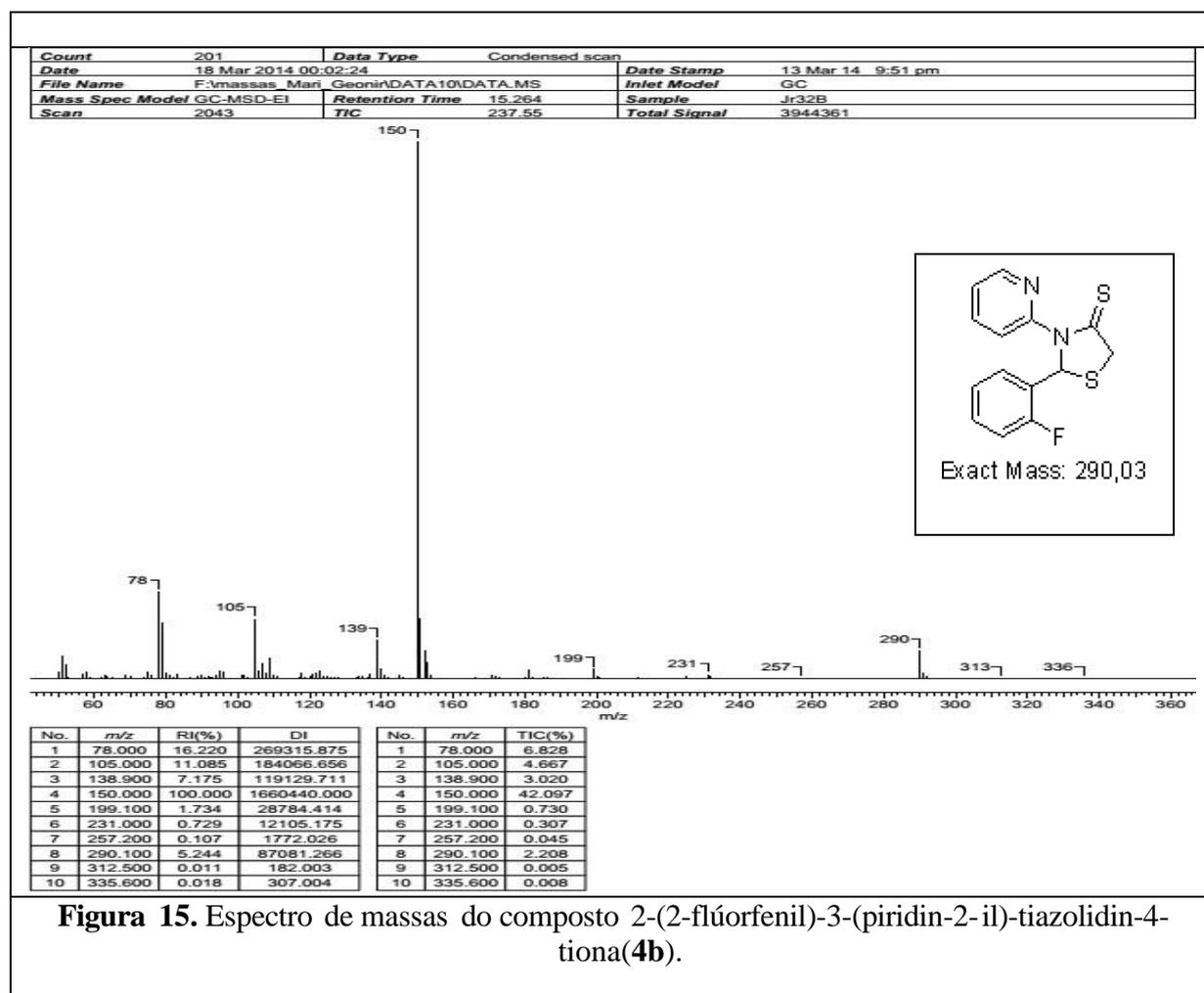
DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.11.017

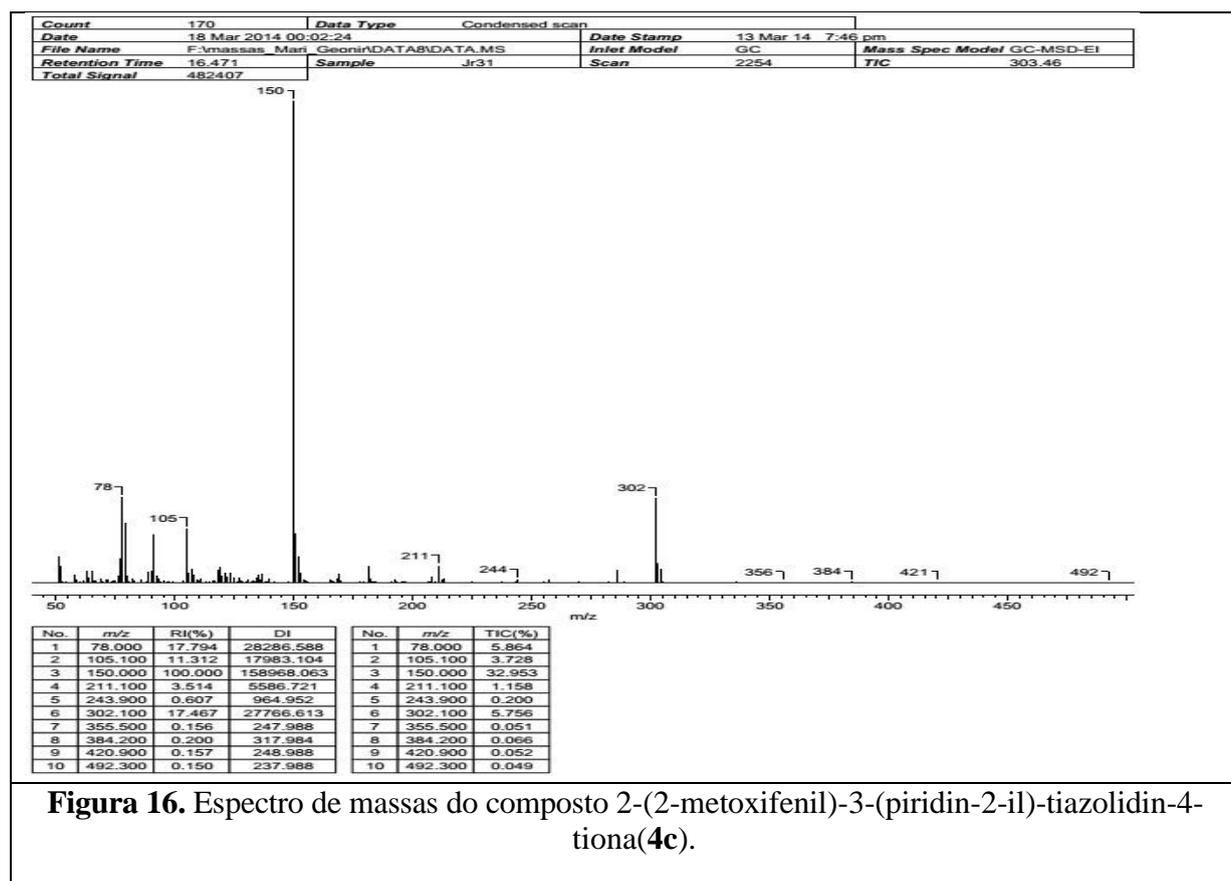
VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VICINI, P.; GERONIKAKI, A.; ANASTASIA, K.; INCERTI, M.; ZANI, F. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 3859-3864, 2006.

ANEXO I: Espectros de CG-EM dos Compostos 3-(piridin-2-il)-
1,3-tiazolidin-4-tionas **4a-l**.







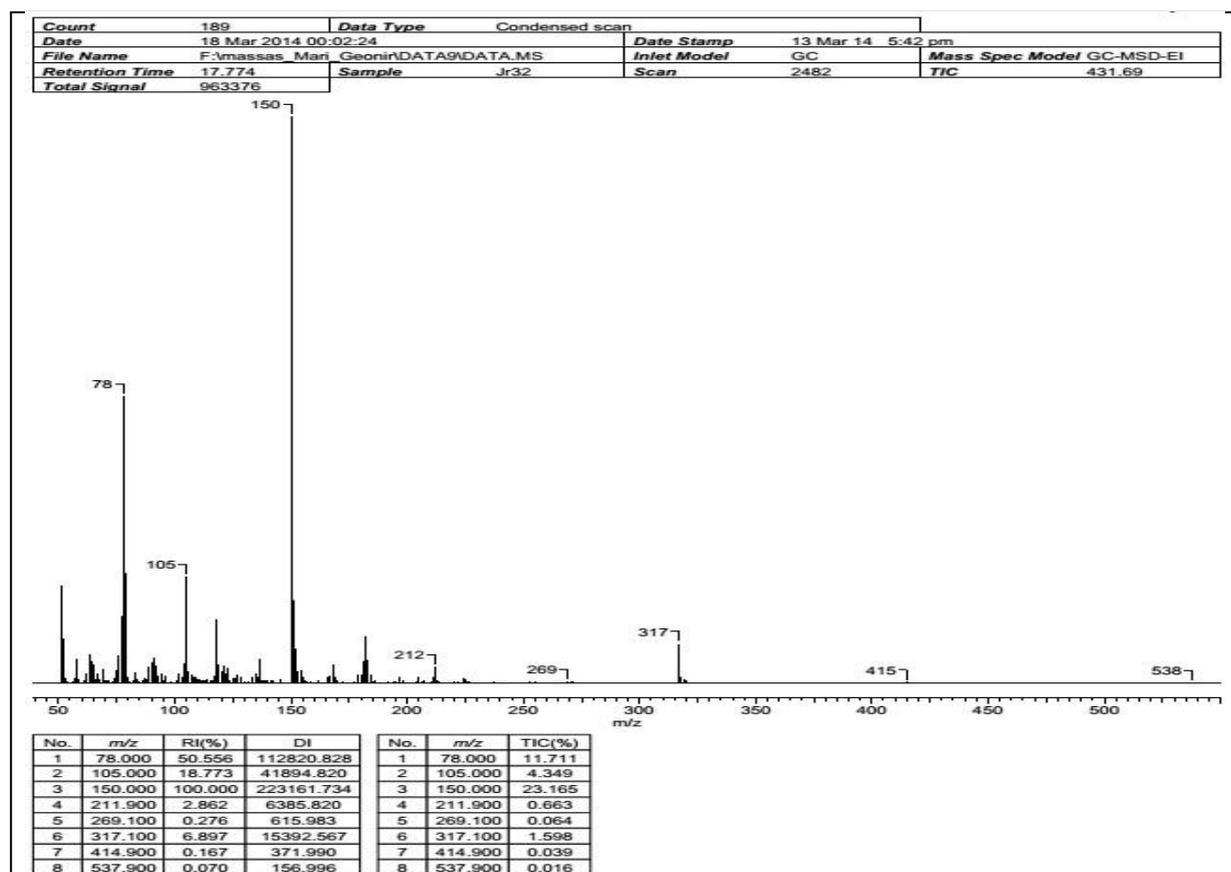
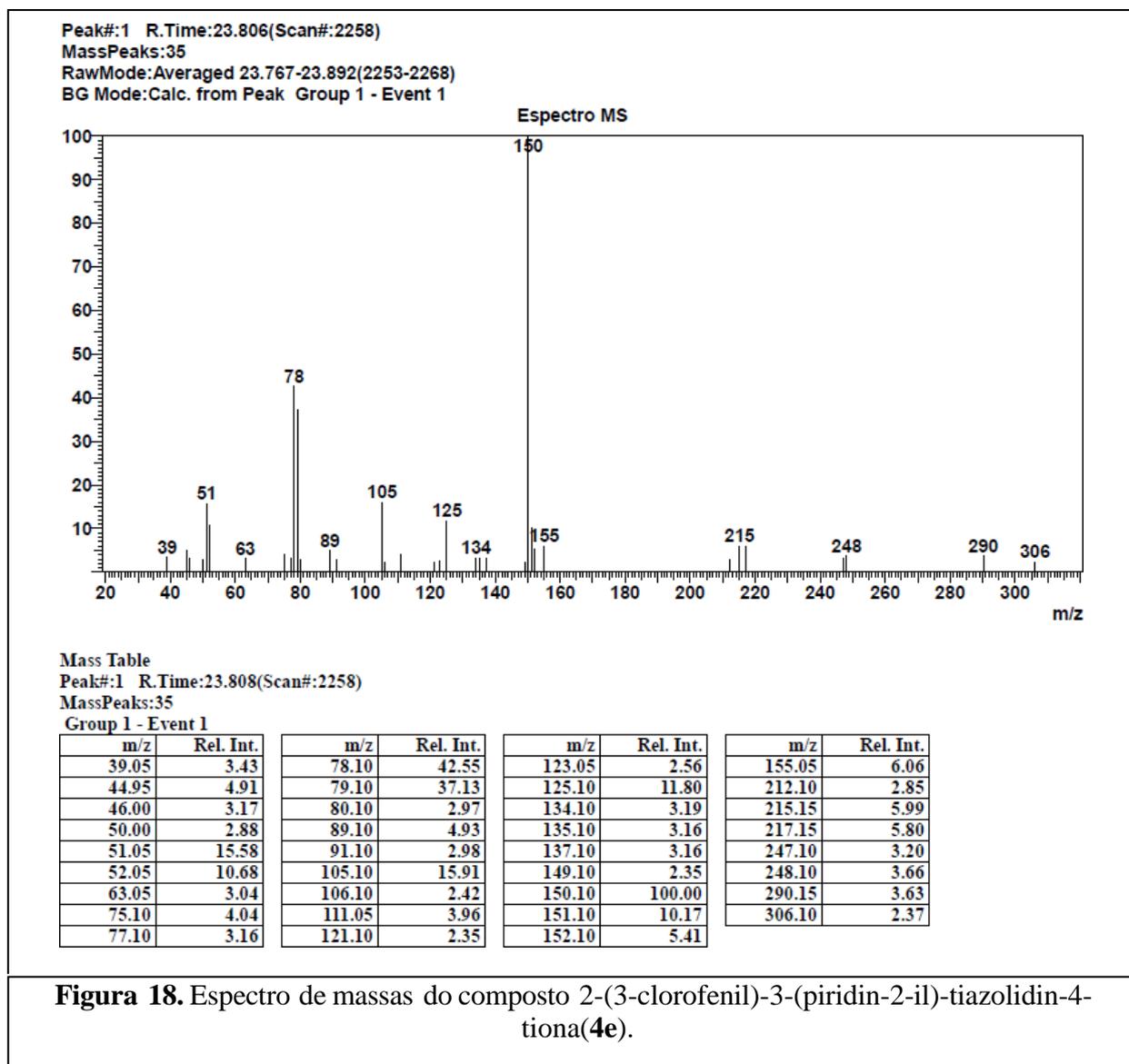
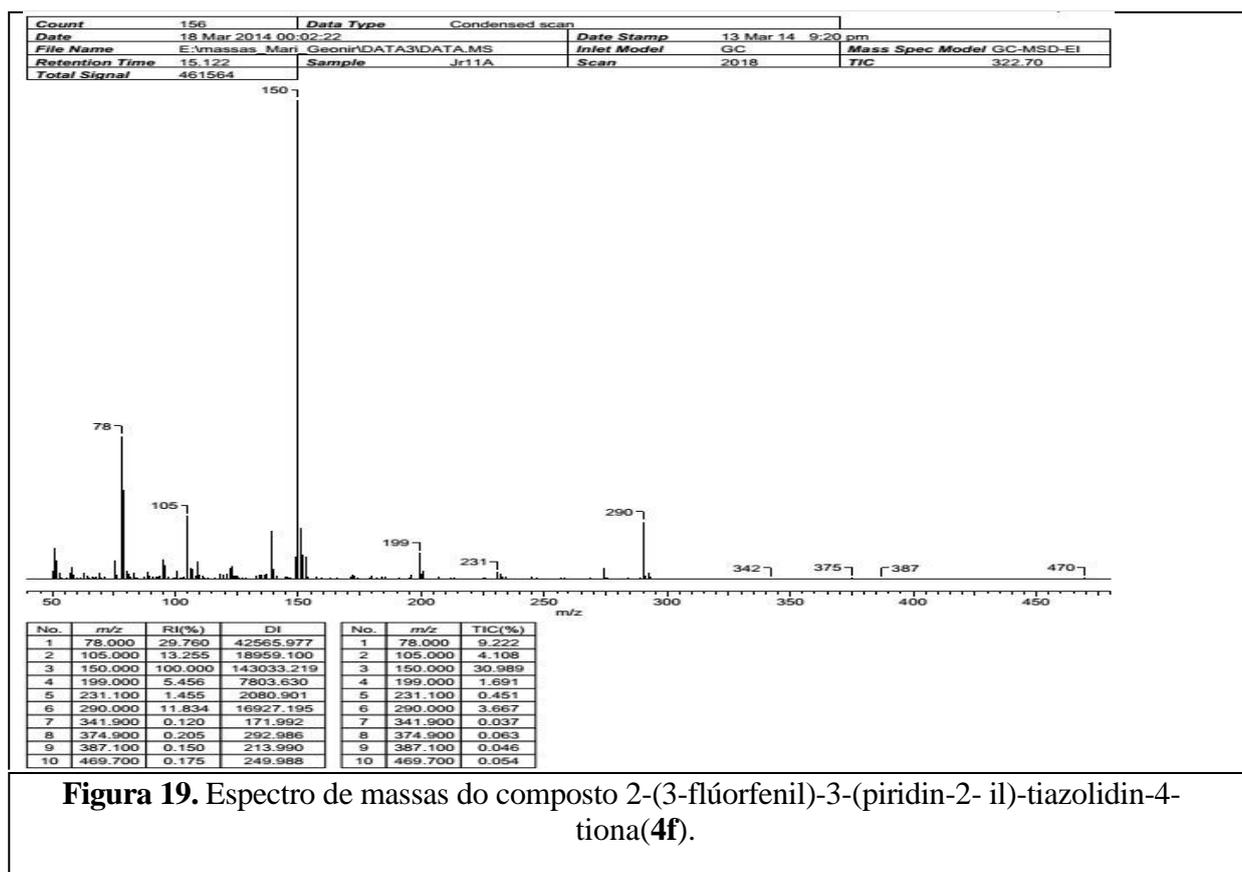
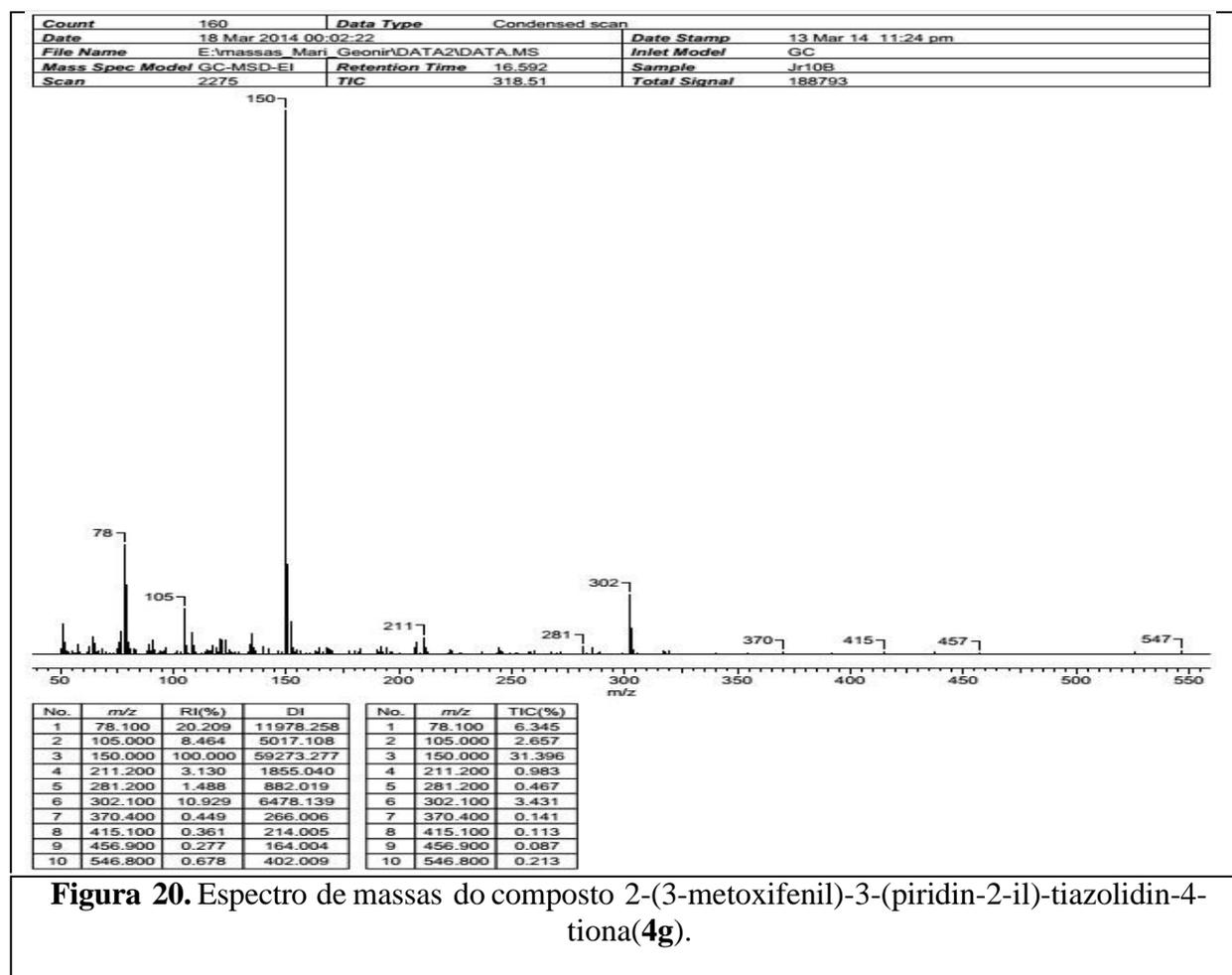
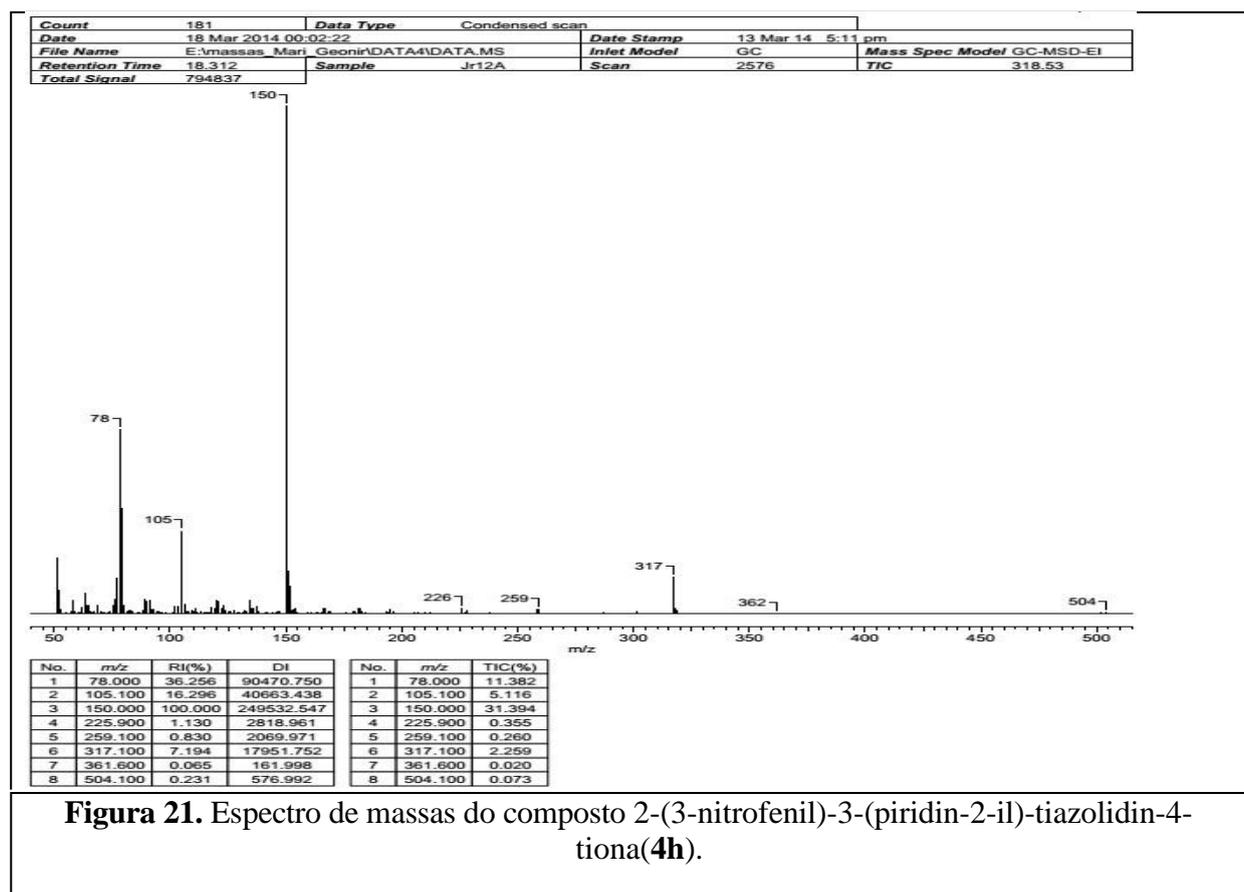


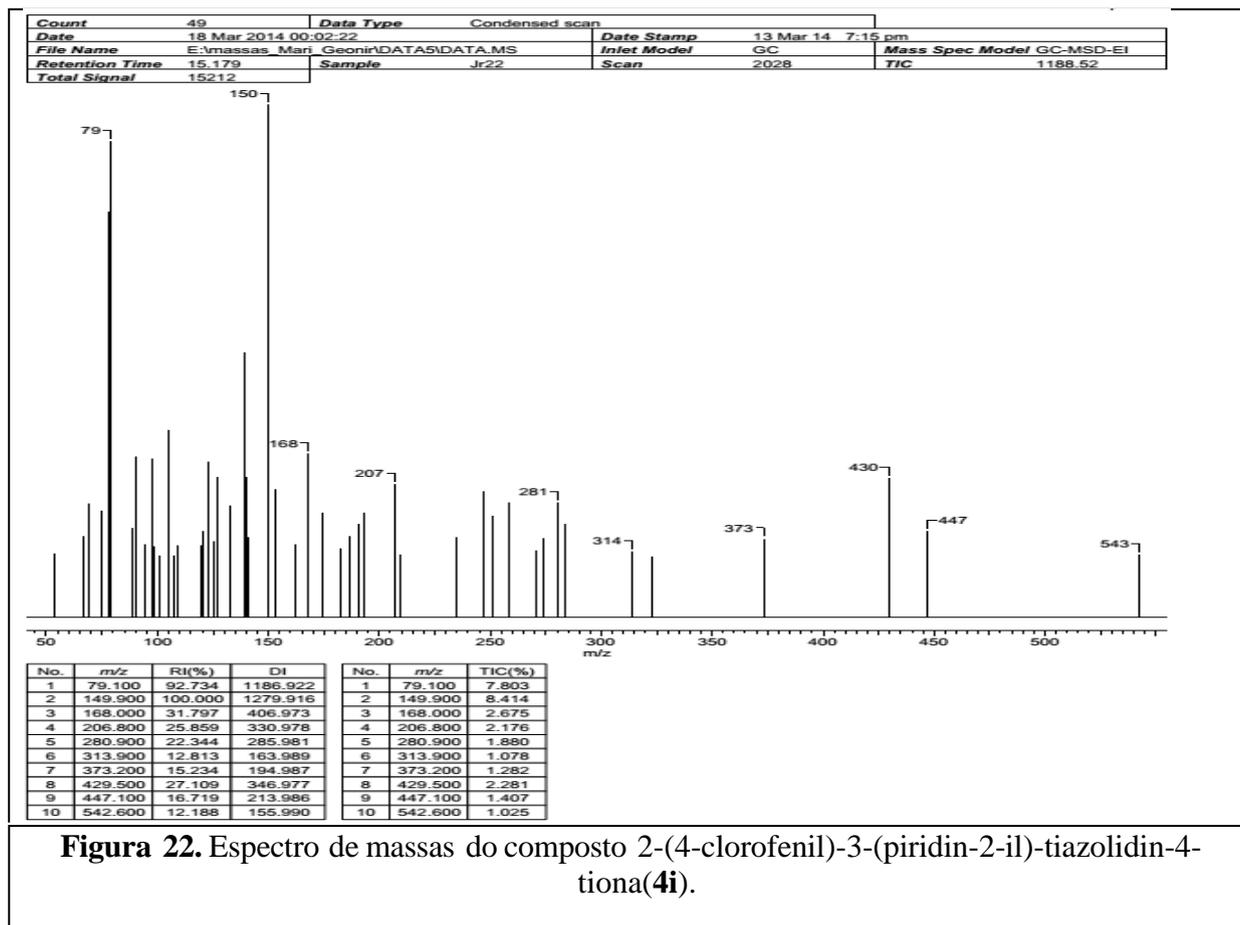
Figura 17. Espectro de massas do composto 2-(2-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(**4d**).

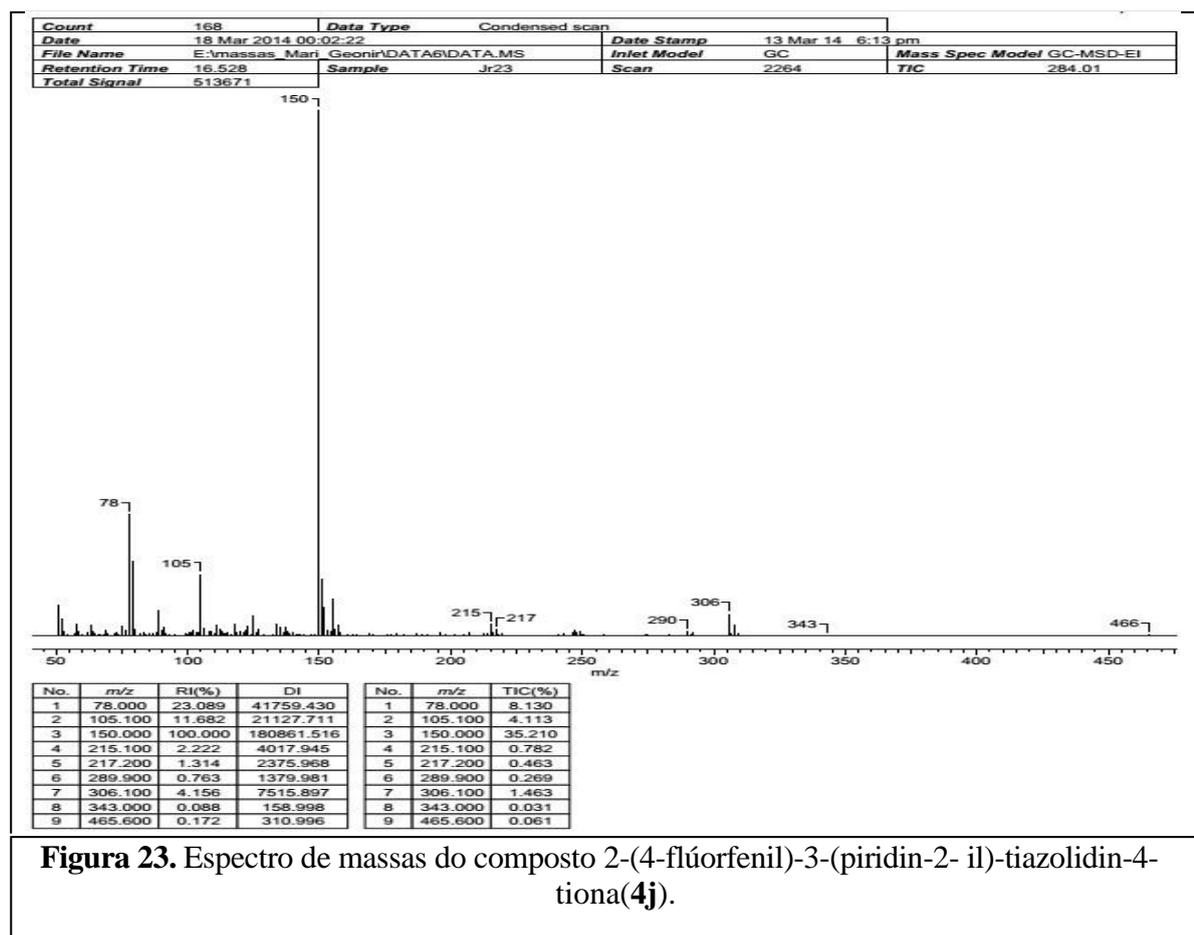












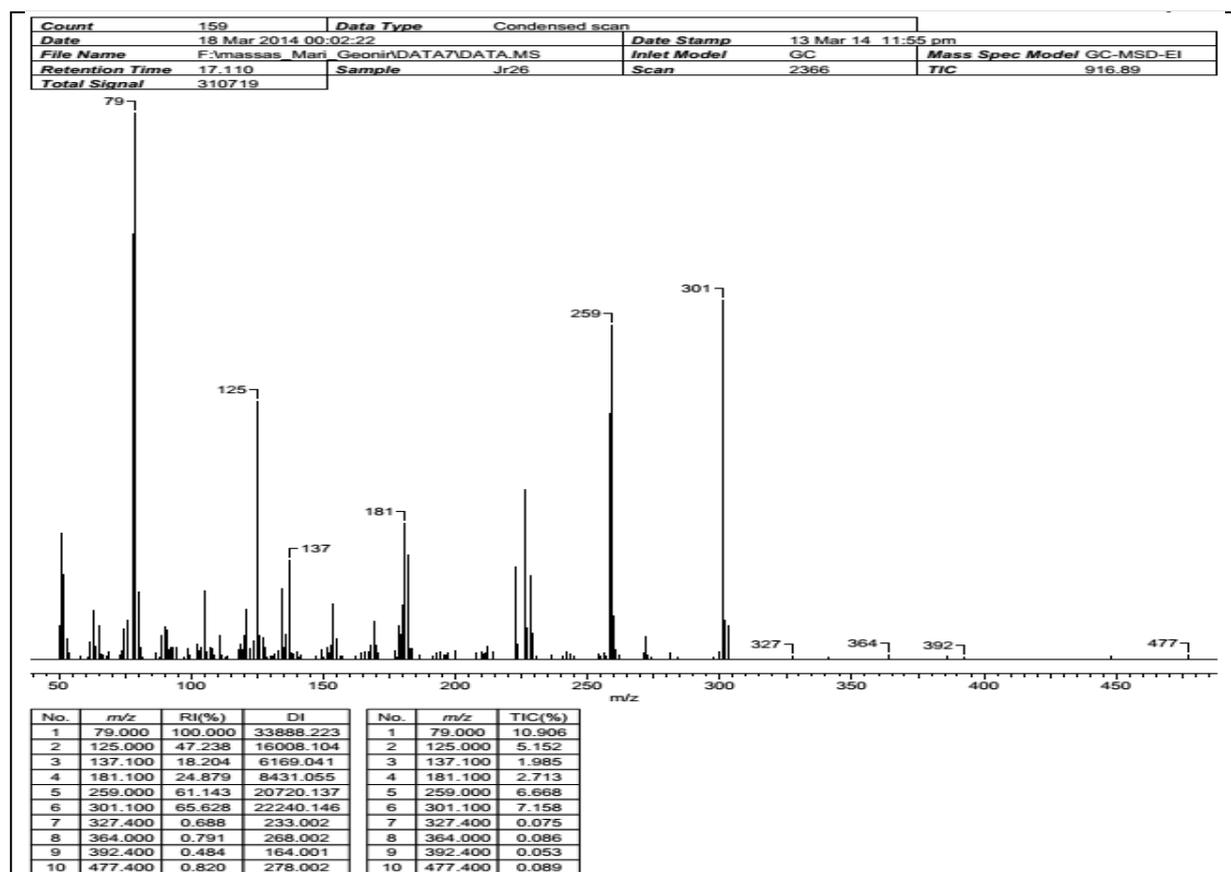


Figura 24. Espectro de massas do composto 2-(4-nitrofenil)-3-(piridin-2-il)-tiazolidin-4-tiona(**41**).