

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído como precursor para a síntese de novas
1,3-tiazolidin-4-onas e potencial antioxidante via captura de radicais livres**

Melinda Gomes Victor

Pelotas, 2020

Melinda Gomes Victor

**3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído como precursor para a síntese de novas
1,3-tiazolidin-4-onas e potencial antioxidante via captura de radicais livres**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Bioprospecção

Orientador: Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Francieli Moro Stefanello

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

V6423 Victor, Melinda Gomes

3,5-Di-terc-butil-4-hidroxibenzaldeído como precursor para a síntese de novas 1,3-tiazolidin-4-onas e potencial antioxidante via captura de radicais livres / Melinda Gomes Victor ; Wilson João Cunico Filho, orientador ; Francieli Moro Stefanello, coorientadora. — Pelotas, 2020.

73 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Química orgânica. 2. Bioquímica. 3. 3,5-di-terc-butil-4-hidroxibenzaldeído. 4. 1,3-tiazolidin-4-ona. 5. Capturador de radicais livres. I. Cunico Filho, Wilson João, orient. II. Stefanello, Francieli Moro, coorient. III. Título.

CDD : 574.192

Melinda Gomes Victor

3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído como precursor para a síntese de novas 1,3-tiazolidin-4-onas e potencial antioxidante via captura de radicais livres

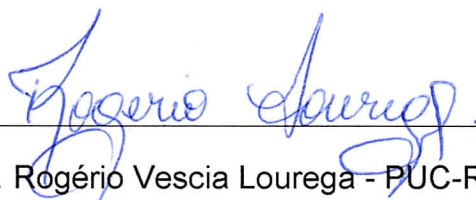
Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica e Bioprospecção, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 05/03/2020

Banca examinadora:



Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho (Orientador) - UFPel
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria



Prof. Dr. Rogério Vescia Lourega - PUC-RS
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria



Prof. Dr. César Augusto Bruning - UFPel
Doutor em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria

Dedico este trabalho ao meu orientador Prof. Dr. Wilson Cunico pela oportunidade e auxílio, e a toda minha família pelo contínuo apoio à vida acadêmica.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer principalmente ao meu orientador, Prof. Dr. Wilson Cunico, que ajudou diretamente e continuamente este trabalho, incentivando sempre a busca por conhecimento, exposição e aperfeiçoamento da dissertação.

Agradeço também aos meus pais, as quais apoiaram minha educação. Meu falecido pai, Paulo, por iniciar este processo e especialmente minha mãe, Marileida, que continuou incentivando o estudo e aprimoramento profissional independente de custos. Agradeço também aos meus irmãos, Rafael, Ezequiel, Mônica, Samuel, Daniel e Melissa, as quais sempre me apoiaram, assim como agradeço meu sobrinho Alan.

Um agradecimento também para meus colegas, do Laboratório de Química Aplicada a Bioativos (LaQuiABio), doutorando José Coan pelas brincadeiras e ideias surpreendentes que miraculosamente funcionavam. Às mestrandas, Bruna Moreira e Cinara, dispostas a inicialmente ensinar e posteriormente ajudar no trabalho, assim como pelas gargalhadas e encontros memoráveis. À graduanda Larissa, pela ajuda em afazeres e incentivo ininterrupto. Ao Prof. Geonir Siqueira, sempre disponível para resolução de enigmas e diversões. À doutora Adriana Neves, que desde o início se mostrou prestativa e disposta a instruir no curto período que tivemos juntas.

Agradeço aos meus amigos e colegas de mestrado, Jéssica e Lucas. Á Jéssica, pelo amparo e apoio contínuo, nas disciplinas e especialmente pelas comemorações, diversões e momentos memoráveis que levarei comigo pela vida. Ao Lucas, pelas zombarias e divertimentos neste período de vizinhos laboratoriais e colegas no mestrado.

Um grande agradecimento ao laboratório de Biomarcadores, em especial à coorientadora desse trabalho Prof^a. Dr^a. Francieli Moro Stefanello e as integrantes Dr^a. Mayara Soares e doutoranda Nathalia Bona, pela realização dos testes biológicos e disposição a ensinar.

Gostaria de agradecer também a Central Analítica UFPel, principalmente para a técnica Cátia pelas análises de CG-EM e RMN.

Agradeço finalmente à UFPel e ao PPGBBIO pela oportunidade, assim como CAPES, CNPQ e a FAPERGS pelos diversos auxílios.

Obrigada.

*“A fine thought in fine language is a most precious jewel, and
should not be hid away, but be exposed for use and ornament”*

Sir Arthur Conan Doyle

Resumo

VICTOR, Melinda Gomes. **3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído como precursor para a síntese de novas 1,3-tiazolidin-4-onas e potencial antioxidante via captura de radicais livres**. Orientador: Wilson João Cunico Filho. 2020. 73 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção) – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

A química medicinal possui grande enfoque na busca e obtenção de compostos bioativos, sobretudo os de estrutura química inédita. A hibridação molecular, uma estratégia sintética que utiliza de estruturas conhecidamente bioativas, é uma ferramenta útil para obtenção de substâncias com potencial terapêutico. Através dessa tática pode-se fazer uma junção de estruturas bioativas entre si, buscando aperfeiçoar e potencializar uma atividade biológica existente. Ainda, sabe-se que os heterociclos estão amplamente distribuídos nas estruturas dos fármacos, visto que grande parte dos fármacos possui no mínimo um núcleo heterocíclico. Aliás, vários heterociclos são conhecidamente bioativos, dentre eles as tiazolidin-4-onas são importantes e versáteis para a hibridação molecular. Estes núcleos são obtidos via reações '*one-pot*' de fácil aquisição dos materiais necessários para sua síntese. O composto 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído (BHT-CHO) pode ser utilizado para síntese de análogos ao antioxidante sintético 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol (BHT), visto sua semelhança estrutural. Com a união deste aos heterociclos pode-se esperar possível atividade antioxidante para os compostos. A atividade antioxidante é vital quando se trata da condição de estresse oxidativo, frequentemente ligado ao câncer e doenças neurodegenerativas. Nesse trabalho foi realizado a síntese de compostos 1,3-tiazolidin-4-onas análogos estruturais ao BHT e avaliação das estruturas obtidas na atividade capturadora de radicais livres, etapa inicial para atribuição de potencial atividade antioxidante. Para tal propósito, foram obtidos doze 1,3-tiazolidin-4-onas inéditas análogas ao BHT (**4a-l**) e uma pirazolo-[3,4-e] [1,4] tiazepin-7-ona (**5m**). Os compostos foram obtidos via reações '*one-pot*' multicomponente *tandem* ou sequenciais de 24 h, com o uso de 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído (**1**), diferentes aminas primárias (**2a-m**) e ácido mercaptoacético (**3**) com refluxo de tolueno. Após síntese, os compostos puros foram adequadamente identificados e caracterizados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (^1H e ^{13}C). Os compostos alvo (**4a-l**, **5m**) tiveram rendimentos altos à baixos (84-28%). O tempo de reação permaneceu o mesmo para compostos derivados de aminas alifáticas e aromáticas. Finalmente, as moléculas foram testadas por ensaios de captura de radicais *in vitro* com radicais DPPH $^{\bullet}$ e ABTS $^{+\bullet}$. Nesses ensaios, três compostos apresentaram capacidade de eliminação de radicais livres consideravelmente superior (**4d**, **4b** e **4a**) ao BHT e um composto (**4h**) levemente superior a esse. Concluindo, a síntese apresentada pode servir de base para obter várias 1,3-tiazolidin-4-onas portadoras da porção BHT e ser um ponto de partida para o desenvolvimento de novas estruturas sequestradores de radicais livres.

Palavras-chave: 1,3-Tiazolidin-4-ona. Hibridação molecular. 3,5-Di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído. 2,6-Di-*terc*-butil-4-metilfenol. Capturador de radicais livres.

Abstract

VICTOR, Melinda Gomes. **3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde as precursor for the synthesis of new 1,3-thiazolidin-4-ones and antioxidant potential via radical scavenging**. Advisor: Wilson João Cunico Filho. 2020. 73 p. Dissertation (Masters in Biochemistry and Bioprospecting) – Center of Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2020.

Medicinal chemistry has great focus on search and obtaining of bioactive compounds, mainly on undiscovered chemical structures. Molecular hybridization, a synthetic strategy utilizing known bioactive structures, is a useful tool for obtaining substances with therapeutic potential. Through molecular hybridization tactic, union of bioactive structures with each other is possible, searching to refine and potentialize existing biological activity. Also, heterocycles being vastly distributed in structures of pharmaceutical drugs is known, seeing as great part of these drugs has at least one heterocyclic core. In fact, several heterocycles are known to be bioactive, among them thiazolidin-4-ones are an important and versatile core for molecular hybridization. These nuclei are obtained via one-pot reactions of easy material acquisition necessary for their synthesis. Compound 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde (BHT-CHO) can be used for synthesis of analogues to synthetic antioxidant 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), given structural similarity between structures. With unification of 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde to heterocycles, potential antioxidant activity for compounds can be expected. Antioxidant activity is vital when dealing with condition of oxidative stress, frequently linked to cancer and neurodegenerative diseases. In this work, a synthesis of 1,3-thiazolidin-4-one compounds analogous to BHT was developed and structures obtained were evaluated in free radical scavenging activity, an initial stage for attributing potential antioxidant activity. For this purpose, twelve novel 1,3-thiazolidin-4-ones analogous to BHT (**4a-l**) and one pyrazolo- [3,4-*e*] [1,4] thiazepin-7-one (**5m**) were obtained. Compounds were attained through one-pot reactions multicomponent tandem or stepwise in 24h, with use of 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde (**1**), different primary amines (**2a-m**) and thioglycolic acid (**3**) with toluene reflux. After synthesis, pure compounds were properly identified and characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy (^1H and ^{13}C). Target compounds (**4a-l**, **5m**) were obtained with high to low yields (84-28%). Reaction time remained the same for compounds derived from aliphatic and aromatic amines. Finally, molecules were tested by *in vitro* radical scavenging assays with DPPH $^{\bullet}$ and ABTS $^{\bullet+}$ radicals. In these assays, three compounds showed noteworthy capacity to eliminate free radicals substantially superior (**4d**, **4b** and **4a**) to BHT and one compound slightly superior (**4h**) to BHT. In conclusion, synthesis presented may serve as basis to obtain 1,3-thiazolidin-4-ones carrying BHT moiety and be a starting point for development of new free radical scavenging structures.

Keywords: 1,3-Thiazolidin-4-one. Molecular Hybridization. 3,5-Di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde. 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol. Free radical scavenger.

Lista de Figuras

Esquema 1.	Reação geral de síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas com 3,5-di- <i>terc</i> -butil-4-hidroxibenzaldeído.....	4
Figura 1.	Reações de duas etapas e uma etapa (<i>Tandem</i> , Sequencial e Multicomponente <i>tandem</i>).....	5
Figura 2.	Estrutura do tiazol, 1,3-tiazolidina e compostos isômeros e isósteros à 1,3-tiazolidin-4-ona.....	6
Esquema 2.	Mecanismo geral de síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas ou pirazolo[3,4- <i>e</i>][1,4]tiazepin-7(6 <i>H</i>)-onas.....	8
Figura 3.	Atividades biológicas associadas ao núcleo 1,3-tiazolidin-4- ona.....	10
Figura 4.	Efeito de EROs no DNA levando a carcinogênese.....	12
Figura 5.	Redução progressiva de oxigênio molecular.....	14
Figura 6.	Reações de enzimas antioxidantes.....	15
Figura 7.	Vias de reação propostas para atividade antioxidante e pró- oxidantes do BHT.....	18

Lista de abreviaturas e siglas

ABTS	2,2'-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	<i>Terc</i> -butil-4-hidroxianisol
BHT	2,6-Di- <i>terc</i> -butil-4-metilfenol
BHT-CHO	3,5-Di- <i>terc</i> -butil-4-hidroxibenzaldeído
CAT	Catalase
CG	Cromatografia gasosa
COX	Ciclo-oxigenase
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucleico)
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilhidrazil
EM	Espectrometria de massas
EO	Estresse oxidativo
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutathione peroxidase
HAT	<i>Hydrogen Atom Transfer</i> (transferência de átomo de hidrogênio)
LOX	Lipo-oxigenase
PRX	Peroxirredoxinas
RMN	Ressonância magnética nuclear
SET	<i>Single Electron Transfer</i> (transferência de um único elétron)
SOD	Superóxido dismutase
TRX	Tioredoxina

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Objetivo.....	4
2.1. Objetivo geral	4
2.2. Objetivos específicos	4
3. Revisão de literatura	5
3.1. Heterociclo 1,3-tiazolidin-4-ona e anel condensado pirazolo-[3,4-e] [1,4] tiazepin-7-ona.	6
3.2. Atividade biológica de 1,3-tiazolidin-4-onas e pirazolo-[3,4-e] [1,4] tiazepin-7-onas.	8
3.3. Função de antioxidantes e o estresse oxidativo em doenças.	12
3.4. Formação de EROs e mecanismos de antioxidantes.....	14
3.5. Antioxidantes fenólicos: Estrutura x Atividade.....	17
4. Artigo	20
5. Considerações finais.....	48
Referências bibliográficas	49
Apêndices.....	57
Apêndice A – Fármacos e/ou moléculas bioativas contendo heterociclo de nitrogênio e enxofre.	58
Apêndice B – Molécula de referência para caracterização (4d).	59
Apêndice C – Molécula de referência para caracterização (4b).	62

1. Introdução

Os heterociclos são uma das mais importantes e exploradas áreas da química orgânica, principalmente da química medicinal. A presença de heteroátomos nas estruturas permite uma disponibilidade de pares de elétrons não compartilhados e diferença de eletronegatividade comparados aos hidrocarbonetos originais. Assim, exibem características físico-químicas e reatividade bastante diferentes destes. Nesse sentido, os núcleos heterocíclicos contendo enxofre e nitrogênio são de amplo interesse na pesquisa devido a suas inúmeras atividades biológicas e aplicações farmacêuticas (GARCÍA-VALVERDE e TORROBA, 2005; KUMAR e PATIL, 2017).

Os heterociclos contendo nitrogênio estão entre os componentes mais significantes de fármacos, com anéis de cinco e seis membros sendo os mais prevalentes. Ainda, aproximadamente quatro de dez heterociclos nitrogenados também contêm um átomo de enxofre. Sendo assim, os compostos sulfurados ganharam destaque no *design* de novos fármacos, onde alguns tiocompostos antineoplásicos são estudados para o tratamento do câncer, como bleomicina, tiazofurina e dasatinibe (RAMOS-INZA *et al.*, 2019). Os tiazóis são exemplos de anéis de cinco membros aromáticos com enxofre e nitrogênio, que se tornaram muito interessantes devido aos antibióticos β -lactâmicos. Isso ocorreu especialmente após a primeira estrutura com tiazol ser descoberta nas penicilinas (JAIN *et al.*, 2012; VITAKU; SMITH; NJARDARSON, 2014).

Um heterociclo saturado derivado de tiazol, a tiazolidinona, possui os heteroátomos enxofre na posição 1 e nitrogênio na posição 3, com uma carbonila na posição 2, 4 ou 5. Portanto, com carbonila na posição 4 se encontram as 1,3-tiazolidin-4-onas, que são formadas por ataque nucleofílico do enxofre a um carbono imínico, seguido de ciclização intramolecular com eliminação de água. Os substituintes nesse núcleo podem ser variados e estarem nas posições 2, 3 ou 5 do anel, permitindo uma gama de variações estruturais (JAIN *et al.*, 2012; KUMAR e PATIL, 2017).

Vários derivados sintéticos contendo o núcleo tiazolidinona são de interesse a pesquisa farmacêutica, sendo usados em fórmulas comerciais ou sob testes clínicos para o tratamento de doenças. Desta maneira, podem ser mencionados a etozolina (anti-hipertensivo), ralitolina (anticonvulsivante) e tiazolidomicina (anti-*streptomyces*). Assim como os medicamentos hipoglicêmicos derivados da tiazolidinediona

(glitazona): troglitazona, pioglitazona e rosiglitazona (JAIN *et al.*, 2012; SANTOS; JONES JR.; SILVA, 2018).

A síntese das 1,3-tiazolidin-4-onas ocorre por diversos métodos, mas geralmente para obtenção das 1,3-tiazolidin-4-onas dissubstituídas (posição 2 e 3) se utiliza de amina primária, aldeído ou cetona e ácido mercaptoacético em refluxo com solvente orgânico. Este processo se dá em uma ou duas etapas, no último caso com isolamento de composto intermediário estável. Esses heterociclos já demonstraram uma variedade de atividades biológicas, dentre algumas estão atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antiviral, anticonvulsivante e, mais especificamente para esse trabalho, antioxidantes (JAIN *et al.*, 2012; KUMAR e PATIL, 2017; MANJAL *et al.*, 2017).

Os antioxidantes são substâncias que retardam, previnem ou inibem o dano oxidativo as moléculas alvo, podendo ser de origem endógena ou exógena (nutriente ou suplemento). Esses compostos são clinicamente utilizados para combate do envelhecimento precoce, câncer, diabetes, neuroinflamação, hepatotoxicidade e prevenção de doenças cardíacas. Geralmente, os antioxidantes são capazes de atuar diretamente por capturar espécies reativas de oxigênio (EROs) ou agir indiretamente, por inibir a produção de EROs ou regular positivamente as defesas antioxidantes. Uma característica necessária do antioxidante é que seja suficientemente estável como radical para não perpetuar a cadeia oxidativa. Sendo assim, os antioxidantes possuem função de prevenção, por inibição de reações oxidativas formadoras de radicais livres, ou utilização em tratamento, por impedimento da propagação de cadeia auto-oxidativa (CAROCHO; FERREIRA, 2013; NEHA *et al.*, 2019).

Os EROs são compostos como o peróxido de hidrogênio e radicais livres, que são moléculas contendo um ou mais elétrons não emparelhados. Os EROs podem ser gerados pela exposição à radiação, presença de poluentes ambientais e como subprodutos de metabolização de drogas (CAROCHO; FERREIRA, 2013; NEHA *et al.*, 2019). Essas espécies radicalares também são deletérias às macromoléculas como: proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, levando ao aumento de distúrbios metabólicos e, conseqüentemente, ao estresse oxidativo (EO). A condição de EO é definido pelo desequilíbrio entre as defesas antioxidantes endógenas e as EROs, havendo um excesso das espécies oxidativas. O EO está presente no envelhecimento precoce, câncer e inflamação, assim como em doenças autoimunes, cardiovasculares e neurodegenerativas. Para o tratamento do EO, podem ser utilizados compostos

antioxidantes exógenos, sejam nutricionais (dieta) ou suplementados (sintéticos) para reestabelecimento do equilíbrio corporal (YEHYE *et al.*, 2015; ISLAM, 2016; GULTEKIN *et al.*, 2018).

Existem dois antioxidantes sintéticos fenólicos utilizados nas indústrias cosméticas e alimentícias para preservação e proteção de alimentos ou cosméticos, são eles o *terc*-butil-4-hidroxianisol (BHA) e o 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol (BHT). Em especial, o BHT é um dos antioxidantes aditivos mais usados atualmente, onde seus dois grupamentos *terc*-butil protegem o grupo hidroxila fenólico. Esse grupamento hidroxila pode reduzir um radical livre na oxidação lipídica via doação de hidrogênio formando um radical fenoxil estável (YEHYE *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2020). Ainda, de acordo com Yehye *et al.* (2015), os compostos aromáticos análogos ao BHT possuem potencial antioxidante promissor para estudos. Dentre alguns análogos estruturais estão os próprios metabólitos do BHT, como 2,6-di-*terc*-butil-4-(hidroximetil)fenol (BHT-OH), 2,6-di-*terc*-butil-1,4-benzoquinona (BHT-Q) e 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído (BHT-CHO) (WANG *et al.*, 2019).

Utilizando do BHT-CHO com 3-aminopropanol e ácido mercaptoacético, KATO *et al.* (2001) trabalharam com algumas 1,3-tiazolidin-4-onas análogas ao BHT e obtiveram compostos com perfil antioxidante. Em especial, o composto CP-060S mostrou ser um antagonista Ca^{2+} eficiente com atividade antioxidante, proposto para proteção cardiovascular. Infelizmente, o CP-060S foi descontinuado durante a fase clínica para testes em arritmia e isquemias cardíacas (ADISINSIGHT, 2020).

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

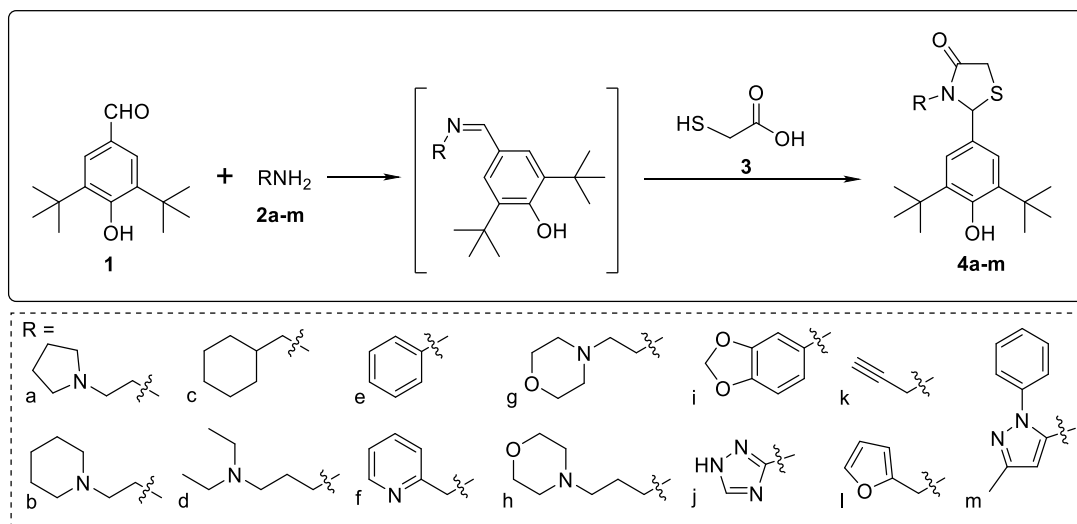
Realizar síntese de heterociclos com nitrogênio e enxofre análogos ao BHT via uso do 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído e verificar o potencial antioxidante destes, particularmente na atividade como capturador de radicais livres.

2.2. Objetivos específicos

Sintetizar as 1,3-tiazolidin-4-onas contendo grupamentos diversos provenientes das aminas na posição 3 do anel, como demonstrado no Esquema 1.

Caracterizar os compostos sintetizados e aferir a atividade destes como potenciais capturadores de radicais livres.

Realizar uma discussão de estrutura x atividade como capturadores de radicais livres.



Esquema 1 – Reação geral de síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas com 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzaldeído.

3. Revisão de literatura

A preparação de novos sistemas heterocíclicos por meios convencionais geralmente é árdua e implica em muitas etapas sintéticas e materiais de partida caros. Além disso, vários heterociclos previamente vistos como estáveis acabam por serem impossíveis de preparar, devido à ausência de um método sintético aplicável. Com essa finalidade surgiram novas abordagens para a obtenção de núcleos heterocíclicos usando compostos de partida simples e reagentes que geram intermediários reativos. Os intermediários instáveis gerados podem ser capturados por nucleófilos em reações sequenciais, resultando na formação do produto. Uma combinação adequada de reagentes e sequências de reação permite a preparação de heterociclos que previamente necessitariam de múltiplas etapas. As reações *tandem* e sequenciais permitem que múltiplas etapas de síntese sejam conduzidas no mesmo recipiente ('one-pot'), sem isolamento de intermediários. Em especial, são chamadas de multicomponente quando iniciam com mais de dois reagentes (GARCÍA-VALVERDE e TORROBA, 2005; JANGALE e DALAL, 2019). Na literatura, frequentemente há permutação entre os termos reação *tandem*, em cascata e/ou dominó. Ainda, reações com adições de reagentes (sequenciais) podem ou não serem consideradas multicomponentes, dependendo dos autores. Uma distinção entre termos está sendo realizada em trabalhos recentes, em especial, como se dá o mecanismo de cada reação (Figura 1) (JANGALE e DALAL, 2019; ZHANG, 2019).

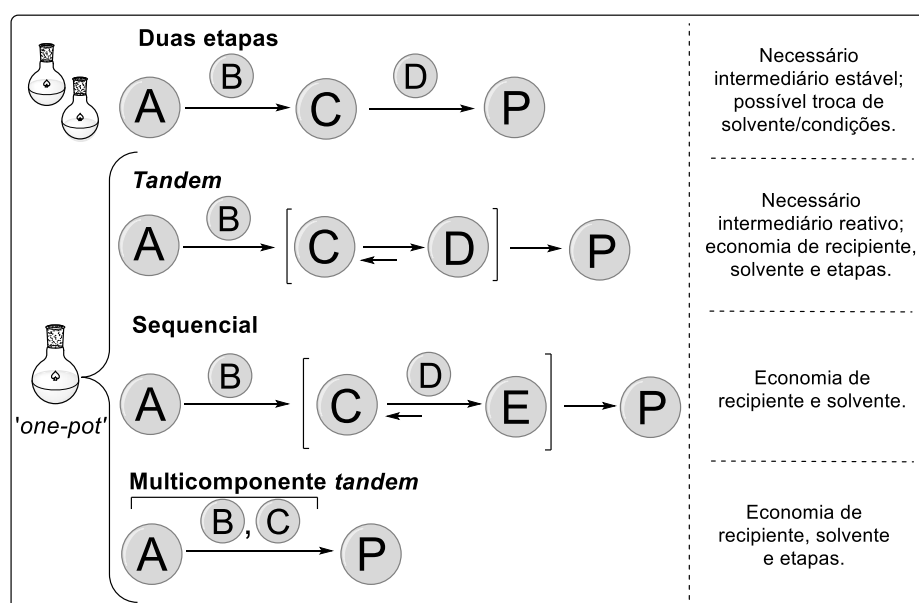


Figura 1 – Reações de duas etapas e uma etapa (*Tandem*, *Sequencial* e *Multicomponente tandem*).
Fonte: Adaptada de ZHANG, 2019.

As reações multicomponentes mencionadas constituem uma ferramenta sintética importante no desenvolvimento de novos processos heterocíclicos. A evolução de métodos rápidos a partir de materiais facilmente disponíveis e a ampla gama de produtos obtidos por tais processos oferecem vasto escopo para a síntese de novos heterociclos contendo enxofre e nitrogênio (GARCÍA-VALVERDE e TORROBA, 2005; JANGALE e DALAL, 2019).

3.1. Heterociclo 1,3-tiazolidin-4-ona e anel condensado pirazolo-[3,4-e] [1,4] tiazepin-7-ona.

Os núcleos tiazolidinonas compõem um grupo de três isômeros e alguns análogos funcionalizados, como os isósteres clássicos, a glitazona (1,3-tiazolidina-2,4-diona), rodanina (2-tioxo-1,3-tiazolidin-4-ona) e pseudotio-hidantoína (2-imino-1,3-tiazolidin-4-ona) (Figura 2). De acordo com a literatura, os substituintes nas posições 2, 3 e 5 do anel são os principais fatores que influenciam as diferentes atividades biológicas das 1,3-tiazolidin-4-onas, promovendo alterações nas propriedades físico-químicas e estruturais (MANJAL *et al.*, 2017; SANTOS; JONES JR.; SILVA, 2018; NIRWAN; CHAHAL; KAKKAR, 2019).

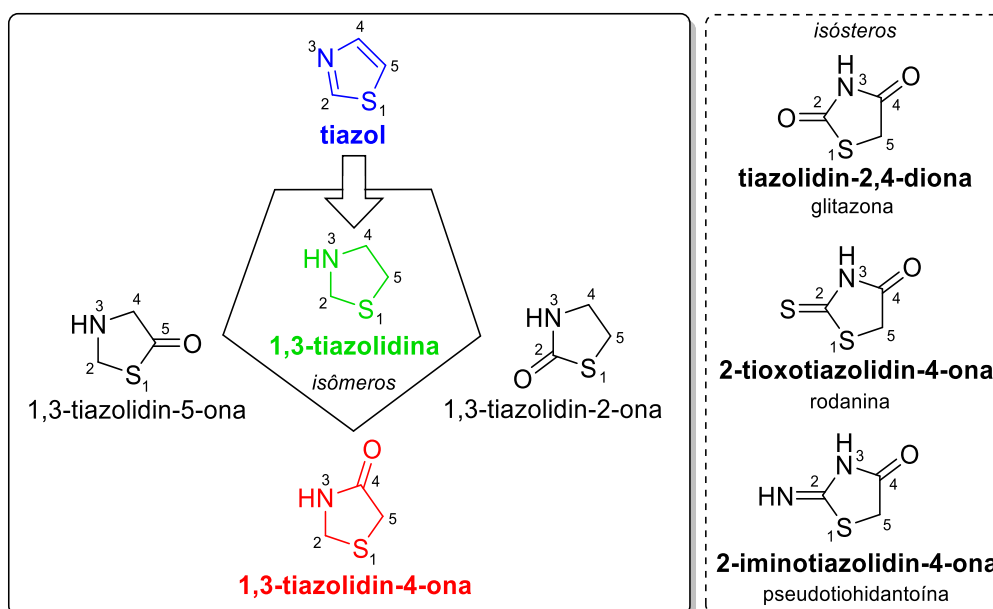


Figura 2 – Estrutura do tiazol, 1,3-tiazolidina e compostos isômeros e isósteros à 1,3-tiazolidin-4-ona. Fonte: Adaptada de SANTOS; JONES JR.; SILVA, 2018.

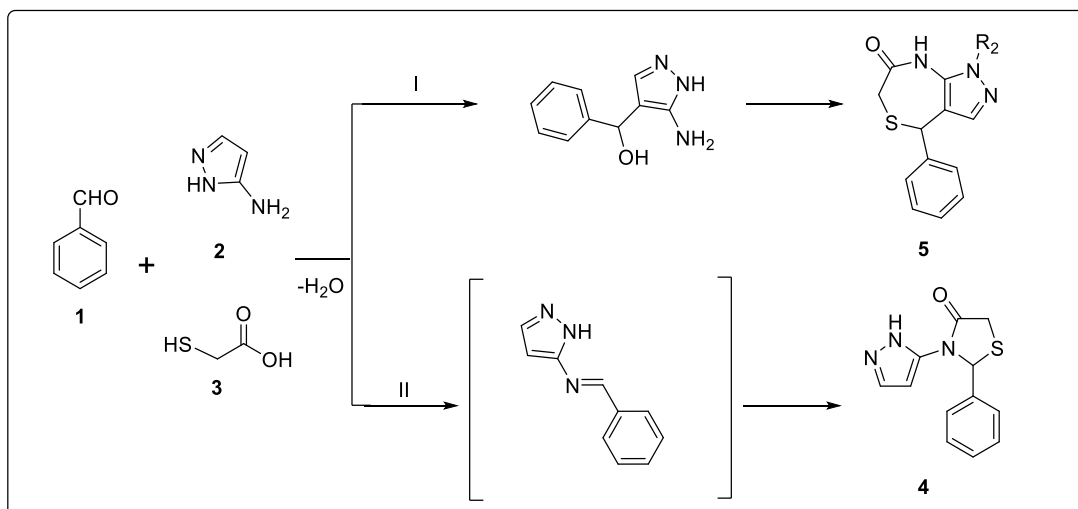
A síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas pode ocorrer por uma etapa – ‘one-pot’ sequencial ou multicomponente tandem – ou por duas etapas, onde é primeiro isolado

intermediário imínico estável, que depois é utilizado para síntese do núcleo. A forma mais usual de ciclização de compostos acíclicos utiliza três componentes: aldeído ou cetona, amina primária e ácido α -mercaptoacético. O mecanismo inicialmente começa com formação de uma imina *in situ*, da reação da amina com o derivado carbonílico, seguido da ciclocondensação intramolecular do heterociclo. Nesse processo, ocorre liberação de água, a qual é retirada via destilação azeotrópica com uso de solvente como tolueno ou peneiras moleculares (TRIPATHI *et al.*, 2014; MANJAL *et al.*, 2017; SANTOS; JONES JR.; SILVA, 2018).

Para a síntese dessa classe de tiocompostos, alguns meios de fornecimento de energia são aquecimento térmico convencional, micro-ondas (PANSARE *et al.*, 2014) e irradiação ultrassônica (NEVES *et al.*, 2015). Já para catálise de reação, o próprio ácido mercaptoacético em excesso pode ser utilizado como catalisador ou catalisadores alternativos, como compostos orgânicos ou *Saccharomyces cerevisiae* (JAIN *et al.*, 2012; MANJAL *et al.*, 2017). Após síntese, as 1,3-tiazolidin-4-onas precisam de caracterização. Sua caracterização pode se dar por métodos como espectroscopia no infravermelho (espectroscopia IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , espectrometria de massas (EM) e cristalografia de raios-X (TRIPATHI *et al.*, 2014).

Durante a síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas com aminas aromáticas, há a possibilidade de formação de anéis de sete membros, as tiazepinonas. Uma tiazepina é um heterociclo composto de cinco átomos de carbono, um átomo de nitrogênio e um átomo de enxofre. Havendo uma carbonila na posição 7, é uma tiazepin-7-ona. Geralmente as tiazepinonas obtidas são condensadas com outros anéis, alguns exemplos são benzo[e][1,4]tiazepinonas e pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin-7(6*H*)-onas. Os heterociclos de sete membros citados geralmente utilizam processo de síntese similar à 1,4-tiazolidin-4-ona, com diferencial de usar uma aminoarila ('benzo') ou aminas heteroaromáticas ('carbazolo', 'pirazolo' e 'isoxazolo') (SHI *et al.*, 2012; DANDIA *et al.*, 2015; ZHANG; LI; QI, 2016; SAINI; MALLADI; DHARAVATH, 2018). De acordo com literatura, o mecanismo de formação da pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin-7(6*H*)-onas envolve primeiro a adição nucleofílica de 5-amino-3-metil-pirazol no carbono da carbonila do aldeído, para adquirir um produto tipo Baylis–Hillman. Esse produto em seguida reage com ácido α -mercaptoacético para gerar um anel de sete membros, a pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepinona substituída. Para 1,3-tiazolidin-4-ona, seria necessário formação de base de Schiff (imina) por condensação do aldeído com 5-amino-3-metil-

pirazol, seguido de reação com o ácido mercaptoacético. Entretanto, para a amina mencionada, sua maior nucleofilicidade do C-4 em relação aos outros possíveis locais de reação da sua estrutura permitem formação rápida de produto tipo Baylis-Hillman, preferencialmente formando o anel de sete membros (DANDIA *et al.*, 2015).



Esquema 2 – Mecanismo geral de síntese de 1,3-tiazolidin-4-onas ou pirazolo[3,4-e][1,4]tiazepin-7(6H)-onas.

Fonte: Adaptada de DANDIA *et al.*, 2015.

3.2. Atividade biológica de 1,3-tiazolidin-4-onas e pirazolo-[3,4-e] [1,4] tiazepin-7-onas.

A atividade biológica da classe tiocompostos com nitrogênio é vasta e diversa, contudo, geralmente restrita ao estágio pré-clínico. Em contrapartida, existem alguns compostos que foram utilizados e até comercializados, antes de serem retirados de circulação. Observando as classes de heterociclos discutidas previamente, os tiazóis como tiazofurina e bleomicina são exemplos de compostos suspensos na etapa clínica. Entretanto, o tiazol dasatinibe ainda é comercialmente utilizado para tratamento de leucemia e está sendo estudado clinicamente para uso na doença de Parkinson e câncer de próstata. Já para tiazolidin-4-onas, a etozolina foi comercialmente usada na Europa como um diurético ‘de alça’, com intuito de diminuir hipertensão. Em contrapartida, a ralitolina foi descontinuada, onde previamente era utilizada para tratamento da epilepsia (ADISINSIGHT, 2020).

Algumas situações semelhantes são notadas para tiazolidinedionas antidiabéticas derivadas de glitazona. A tiazolidinediona Rosiglitazona (Avandia®) foi retirada em outros países e do mercado brasileiro em 2010 pela Agência Nacional de

Vigilância Sanitária (ANVISA). Todavia, a pioglitazona (Actos®) permanece no comércio de acordo com ANVISA, com somente indícios de causar câncer de bexiga em estudo (ANVISA, 2010a, 2010b, 2011). Semelhante as moléculas anteriores, a troglitazona foi comercializada, mas retirada do mercado por efeito hepatóxico em outros países. Entretanto, no Brasil está inserta na Lista C1 - Lista das outras substâncias sujeitas a controle especial, de acordo com Portaria 344/98 (BRASIL, 2019). Outra tiazolidinediona mas de atividade antibiótica, é a tiazolidomicina (também conhecida por acidomicina ou micobacidin). A tiazolidomicina é um derivado de produto natural (aminoácido), com atividade *in vitro* confirmada, como descrita por Bockman *et al.* (2019). Porém indicativos de testes clínicos e/ou comercialização não foram possíveis de serem encontrados. Logo, pode se observar que vários compostos bioativos derivados de tiazóis foram comercializados ou foram testados clinicamente.

Semelhante aos anéis de cinco membros, a tiazepinona também é descrita como biologicamente ativa, com esforços realizados para sintetizar moléculas condensadas com esse núcleo que sejam bioativas. O núcleo tiazepinona com sistemas aril e heteroaril foi descrito como uma categoria importante de compostos com potenciais propriedades farmacológicas. Algumas dessas são: antimicrobiana, anti-inflamatória e antitumoral, onde no último caso a ligação C-S presente na estrutura foi relatada como importante em sua atividade anticâncer (SHI *et al.*, 2012; SRIKANTH *et al.*, 2015). Como vários derivados de tiazepinona exibem capacidade de inibição da enzima conversora de angiotensina, foi desenvolvido o fármaco temocapril tiazepínico (DANDIA *et al.*, 2015). Em particular os compostos condensados benzotiazepínicos possuem atividades biológicas como antimicrobiana, antifúngica, antagonista de Ca^{2+} , depressor do sistema nervoso central, antiagregante plaquetário e anti-HIV. Alguns benzotiazepínicos conhecidos são fármacos como tiazesim (antidepressivo), diltiazem e o clentiazem (antagonistas de canais de Ca^{2+}) (SAHA; JAIN; SHARMA, 2015). Das benzotiazepinas, o diltiazem é comercializado para arritmia cardíaca e angina, e atualmente é estudado para outras atividades. Já o tiazesim foi aparentemente descontinuado, assim como clentiazem. A tiazepinona temocapril permanece comercialmente utilizada para hipertensão fora do Estados Unidos, onde foi descontinuado (ADISINSIGHT, 2020). Até o presente momento não se tem registros de compostos pirazolo-tiazepinona em testes clínicos ou vendidos comercialmente. Contudo, essa classe de compostos demonstrou possuir atividade inibidora da ciclooxygenase-2 (COX-2), semelhante ao anti-inflamatório pirazólico

Celecoxibe, um inibidor seletivo dessa enzima. O Celecoxibe é comercializado no Brasil, e está presente na Lista C1 (BRASIL, 2019), mas também é estudado clinicamente seu efeito analgésico, principalmente de enxaquecas e de pós-operatório (ADISINSIGHT, 2020). Outro derivado de pirazol, o Lonazolac (1,3-diarilpirazol, Irritren® na Alemanha) também é um anti-inflamatório (DANDIA *et al.*, 2015). O centro pirazol também é estrutura fundamental em compostos bioativos naturais e sintéticos, onde algumas propriedades biológicas foram encontradas ligadas a esse, como por exemplo ansiolítica, anti-inflamatória e antitumoral (ZHANG; LI; QI, 2016).

As atividades biológicas de derivados tiazólicos, sejam de cinco ou sete membros, são diversas na literatura. Mas a classe prevalente de interesse a pesquisa permanece as tiazolidin-4-onas, onde inclusive atividades biológicas mais específicas foram encontradas para esse núcleo. Exemplos são agonistas do hormônio folículo-estimulante, ligantes do receptor ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR) e inibidores do regulador da condutância transmembranar (CFTR) da fibrose cística. Outras atividades encontradas são antioxidantes, antivirais, antimicrobianos e antituberculose (NIRWAN; CHAHAL; KAKKAR, 2019). A Figura 3 demonstra no geral algumas atividades biológicas desse núcleo.

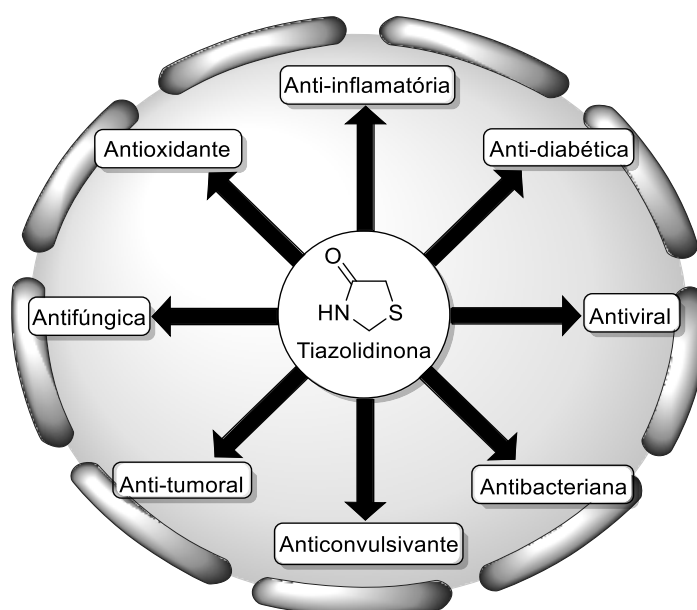


Figura 3 – Atividades biológicas associadas ao núcleo 1,3-tiazolidin-4-ona.
Fonte: Adaptada de MANJAL *et al.*, 2017 e NIRWAN; CHAHAL; KAKKAR, 2019.

No entanto, um enfoque especial será dado a capacidade antioxidante destes azaheterociclos com enxofre, que permanecem sendo estudados. Principalmente, os

relacionados ao desequilíbrio redox e influência de EROs no câncer, com potencial atividade anticâncer (AFIFI *et al.*, 2019; VERMA e SAUNDANE, 2019).

No trabalho de Afifi *et al.* (2019), foram sintetizados e testados derivados de tiazóis e iminotiazolidin-4-onas, onde as moléculas foram desenhadas para obter uma atividade sinérgica anticancerígena, antioxidante e inibitória de 15-Lipooxigenase (15-LOX), pois os metabólitos de lipo-oxigenases (LOX) e de ciclo-oxigenases, derivadas do metabolismo de ácido araquidônico, têm papel na geração de EROs em vários tipos de células, como por exemplo no desenvolvimento de células cancerígenas de próstata e mama (CHO; SEO; KIM 2011; AFIFI *et al.*, 2019). Logo pode-se observar como as três atividades biológicas estão interligadas, onde a geração de EROs está ligada a atividade das LOX, potencialmente agravando ou causando certos tipos de câncer.

Similarmente, Verma e Saundane (2019) também investigaram compostos para atividade antioxidante, anticâncer e antituberculose. Isso porque a tuberculose é uma das principais causas de morte entre as doenças infecciosas, mas principalmente os componentes da parede celular micobacteriana podem induzir a produção de óxido nítrico e EROs. As espécies reativas de nitrogênio (ERNs) como radical óxido nítrico e EROs são relatadas como relacionadas à carcinogênese. Os autores encontraram que, dentre as estruturas azetidin-2-onas, fenilazetidin-2-onas e as 1,3-tiazolidin-4-onas, as últimas obtiveram mais compostos com melhores resultados. Isto em capacidade de captura de radicais, atividade antibacteriana e anticâncer. Novamente se observa a relação entre a geração de espécies oxidativas, devido as bactérias causadoras da tuberculose, e ao conjunto de doenças cancerígenas.

Sendo assim, os tiocompostos podem ser antioxidantes diretos, por atividade capturadora de radicais livres como os exemplos anteriores. Mas também podem agir de forma indireta, atuando no aumento de expressão de enzimas antioxidantes ou regeneração dos aminoácidos dessas. Um exemplo é o *docking molecular* realizado por Hossan (2020), onde analisou diferentes tiazóis em enzima antioxidante Peroxirredoxina-5, da família de peroxirredoxinas (PRXs). As PRXs reduzem peróxido de hidrogênio, espécie reativa não radicalar endógena importante para vias bioquímicas de sinalização e modulação. No entanto, esse também está envolvido na formação de radicais hidroxila, mais nocivos ao organismo. A PRX necessita de redução pela tioredoxina (TRX), proteína redox com dois resíduos de cisteína (-SH), para restauração de seus aminoácidos e retorno a forma natural. Sendo assim, os

tiocompostos e demais antioxidantes poderiam atuar similarmente a TRX e ajudar a restaurar os grupos tíois de PRXs, agindo indiretamente como antioxidantes (NETTO e ANTUNES, 2016).

3.3. Função de antioxidantes e o estresse oxidativo em doenças.

Como foi observado os altos níveis de radicais livres presentes, característica do EO, são associados com a promoção e progressão do câncer. O EO surge da geração exacerbada de EROs/ERNs ou de decaimento nas habilidades protetoras endógenas antioxidantes. Os EROs atuam no câncer por causar proliferação descontrolada e resistência à apoptose celular via mudança no ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*) (Figura 4). Essas moléculas transformam o DNA por quebra de fita única ou dupla deste, degradando bases nitrogenadas e danificando o DNA. Isso resulta em envelhecimento, carcinogênese, neurodegeneração, doenças autoimunes e cardiovasculares assim como outras doenças. Sobretudo, os danos realizados mencionados pelos radicais livres são geralmente conhecidos como a principal causa de câncer. Portanto, impedir a formação de radicais livres e seu consequente dano oxidativo, que pode ser realizado por antioxidantes e/ou eliminadores de radicais livres, pode ser uma estratégia terapêutica essencial para o tratamento do câncer (PISOSCHI e POP, 2015; AFIFI *et al.*, 2019; NEHA *et al.*, 2019).

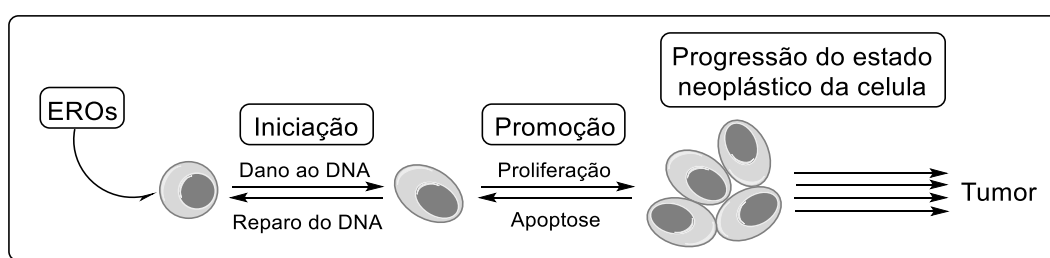


Figura 4 – Efeito de EROs no DNA levando a carcinogênese.
Fonte: Adaptado de FLORA, 2009.

Contudo o câncer não é o único associado com os danos induzidos por EO, pois relações desses com doenças neurodegenerativas já foram observadas na literatura, especialmente visto que neurônios são vulneráveis ao dano oxidativo. Alguns exemplos são doença de Alzheimer, Parkinson, Huntington, esclerose lateral amiotrófica e ataxia espinocerebelar. Além disso, as EROs também causam oxidação

de lipídeos, danificando membranas celulares e gerando aldeídos reativos como o malondialdeído. Da mesma forma, proteínas podem ser oxidadas por oxidação nas cadeias laterais, fragmentação no esqueleto, desdobramento da estrutura entre outras formas que acabam na perda de atividade. Para doença de Alzheimer, a depleção dos fosfolipídeos de membrana resultantes da lipoperoxidação é uma característica marcante da doença. Alguns marcadores de EO como malondialdeído e 4-hidroxinonenal foram observados na fisiopatologia da doença de Alzheimer. Ainda, se observou que proteínas beta-amilóides atuam na iniciação da peroxidação lipídica. A presença de peroxidação lipídica e atividade de enzimas antioxidantes foram comprovadas como ligadas a formação de placas senis. De mesmo modo, também há relação do EO com a doença de Parkinson, onde foi encontrada que a concentração de ácidos graxos livres na substância negra é mais baixa e há aumento de marcadores de lipoperoxidação já mencionados como malondialdeído. Considerando os papéis complexos do EO nos distúrbios neurodegenerativos, a regulação dos níveis celulares de EROs pode representar potencialmente um alívio da neurodegeneração e tratamento de sintomas associados. Algumas evidências clínicas suportam que as neurodegenerações podem ser melhoradas com a ingestão adequada de antioxidantes naturais ou suplementares. Por outro lado, a falta de antioxidantes importantes devido à desnutrição, implicada em várias doenças neurodegenerativas, pode agravar as condições neurológicas (PISOSCHI e POP, 2015; LIU *et al.*, 2018).

Aliás, diversas rotas metabólicas contínuas no corpo humano naturalmente produzem EROs, que especificadamente atacam gorduras, carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos. Alguns exemplos são processos mitocondriais, reações de xantina oxidase, beta oxidação peroxissomal, respostas inflamatórias, células fagocíticas ativadas e vias de ácido araquidônico. Fatores externos também são interferentes, como íons metálicos livres, tabagismo, solventes industriais, poluentes ambientais e irradiação ultravioleta. Dentre os metais, podemos citar: cádmio, ferro, cromo, mercúrio, arsênio e chumbo, conhecidos por possuírem a capacidade de produzir radicais livres. O arsênio é um dos elementos mais tóxicos e produz uma variedade de EROs (FLORA, 2009; PISOSCHI e POP, 2015; NEHA *et al.*, 2019).

As EROs são de natureza dupla: necessários, quando em concentrações baixas para modulação de vias, e danosos, quando em concentrações altas ao sistema biológico, que caracteriza o EO. Por exemplo, o peróxido de hidrogênio é uma

espécie reativa endógena importante para vias de sinalização e modulação, assim como diferenciação, migração e proliferação celular. Mas as alterações nessas vias foram observadas em várias patologias, incluindo obesidade, doenças cardiovasculares e câncer (NETTO e ANTUNES, 2016; NEHA *et al.*, 2019).

3.4. Formação de EROs e mecanismos de antioxidantes

No combate do ataque oxidativo às biomoléculas, principalmente na carência das proteções antioxidantes endógenas, é importante entender os processos que formam esses radicais livres e que eventualmente levam ao EO. As espécies reativas são derivadas de três elementos: nitrogênio (ERNs), oxigênio (EROs) e enxofre (espécies reativas de enxofre – EREs). As EROs incluem o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroperoxil ($HO_2^{\bullet}$), radical hidroxila ($\bullet OH$), oxigênio singlete (1O_2) e ERN como radical óxido nítrico ($NO^{\bullet}$) (NEHA *et al.*, 2019). O processo de respiração mitocondrial para produção de energia e calor demonstra como alguns EROs são produzidos, onde o oxigênio molecular é reduzido gradualmente a vários intermediários até finalmente uma molécula de água (Figura 5) (FLORA, 2009; PISOSCHI e POP, 2015).

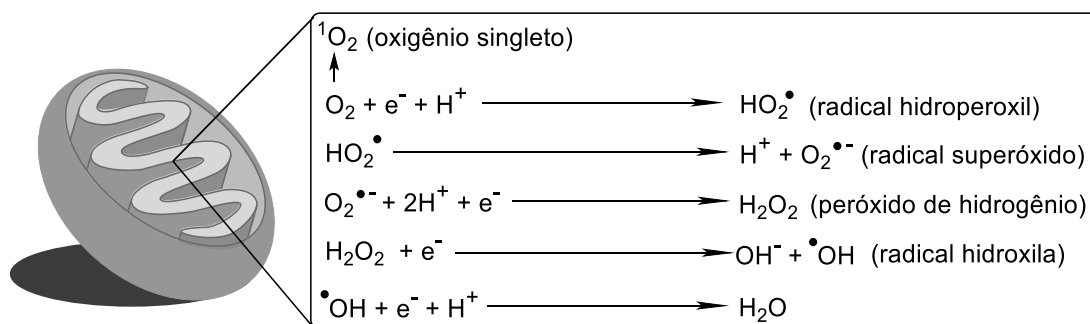


Figura 5 – Redução progressiva de oxigênio molecular.

Fonte: Adaptado de PISOSCHI e POP, 2015.

O radical ânion superóxido é conhecido como EROs principal, pois ao interagir com novas moléculas consegue formar EROs secundários, de forma direta ou predominantemente por catálises enzimáticas ou metálicas. O radical ânion superóxido é rapidamente transformado para peróxido de hidrogênio e oxigênio, por ação da superóxido dismutase (SOD) (Figura 6). Quantidades significativas e potencialmente nocivas de peróxido de hidrogênio são formadas na mitocôndria, onde por função de enzimas como glutathione peroxidase (GPx) ou catalase (CAT) são

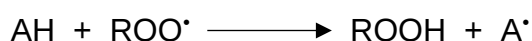
captura dos radicais para evadir a cadeia oxidativa (ácido ascórbico, tocoferol e carotenóides) e restauração do estrago realizado pelos radicais (lipases e proteases) (MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018; NEHA *et al.*, 2019).

Sendo assim os antioxidantes podem ser definidos como primários ou secundários. Antioxidantes primários, como tocoferóis e alguns compostos fenólicos, inibem a cadeia oxidativa, agindo como doadores de hidrogênio ou aceitadores de radicais livres, gerando radicais mais estáveis. Já os secundários impedem ou atrasam a oxidação via supressão dos promotores de oxidação, incluindo íons metálicos, oxigênio singleto, enzimas pró-oxidativas e outros oxidantes. Alguns antioxidantes secundários, como o ácido ascórbico, atuam na regeneração dos antioxidantes primários, via doação de átomo de hidrogênio, impedindo a depleção de antioxidantes primários essenciais (SHAHIDI e ZHONG, 2015; YEHYE *et al.*, 2015).

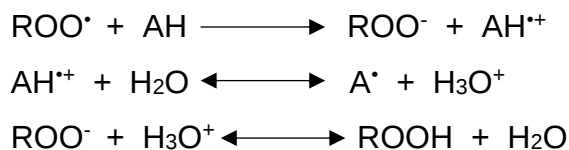
Os antioxidantes exógenos necessitam de quantificação, identificação e avaliação de suas atividades antioxidantes para poderem ser utilizados como auxílio ao organismo em condições de EO. Além disso, para mensurar a atividade antioxidante há diversos mecanismos, como por exemplo através do poder redutor e quelante de metais. Os principais se dividem em duas classes, a primeira categoria se define em determinar a habilidade de antioxidantes em inibir a oxidação em modelos de sistemas, por monitoração das mudanças associadas via meios físicos, químicos ou instrumentais. A outra classe avalia a atividade antioxidante via ensaios de captura de radicais livres, baseados em mecanismo de transferência de átomo de hidrogênio (HAT, do inglês *Hydrogen Atom Transfer*), em mecanismo de transferência de um único elétron (SET, do inglês *Single Electron Transfer*) ou habilidade quelante de metais de transição (SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015; SHAHIDI e ZHONG, 2015; GRANATO *et al.*, 2018).

Os métodos baseados em HAT medem a capacidade clássica de um antioxidante (AH) em extinguir radicais livres via doação de hidrogênio, enquanto que metodologias baseadas em SET detectam a capacidade de um potencial antioxidante de transferir um elétron para reduzir compostos, como radicais, metais pró-oxidantes e carbonilas (GRANATO *et al.*, 2018), demonstradas nas equações a seguir:

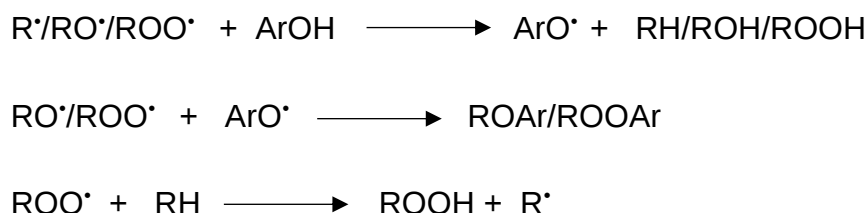
- Via HAT:



• Via SET:



Os antioxidantes fenólicos (ArOH), muito utilizados na conservação de alimentos, interferem no processo de oxidação como terminadores de radicais livres e, às vezes, também como quelantes de metais. Eles geralmente utilizam de vias HAT, podendo doar átomos de hidrogênio aos radicais e produzir derivados e radicais antioxidantes, que são mais estáveis e menos disponíveis para promover a auto-oxidação, as quais as reações podem ser observadas abaixo (SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015; YEHYE *et al.*, 2015).



Assim, à medida que a energia de ligação do hidrogênio em um capturador de radicais livres diminui, a transferência de hidrogênio para o radical livre é mais favorável em termos energéticos e, portanto, mais rápida (SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015).

3.5. Antioxidantes fenólicos: Estrutura x Atividade

Os antioxidantes fenólicos sintéticos foram inicialmente desenvolvidos para a proteção do petróleo, contudo, no final da década de 1940, começaram a ser utilizados na indústria de alimentos para retardar a oxidação lipídica afim de aumentar o prazo de validade dos alimentos. Esses antioxidantes fenólicos são classificados como antioxidantes primários, que são principalmente capturadores de radicais livres que atrasam ou inibem a etapa de iniciação ou interrompem a etapa de propagação da oxidação. Desta forma, atuam diminuindo a formação de produtos de decomposição tóxicos, tais como cetonas e aldeídos. O potencial antioxidante dos compostos fenólicos depende do número e disposição dos grupos hidroxila nas moléculas de interesse (NIEVA-ECHEVARRÍA *et al.*, 2015; SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015).

Como característica principal, os radicais de antioxidantes fenólicos são geralmente mais estáveis e menos prováveis de promover auto-oxidação. O radical fenoxil formado é estabilizado pela deslocação do elétron não emparelhado pelo anel aromático, ainda a estabilidade desse radical é aumentada com grupamentos espacialmente vantajosos, como os grupos *terc*-butil nas posições 2 e 6 do monofenol antioxidante BHT. Os grupamentos *terc*-butil impedem estericamente o radical formado, depois da perda do próton, de reagir em outras reações oxidativas. Embora o BHT seja reconhecido como sintético, foi evidenciado caso de geração endógena por fitoplâncton submetido a condições de EO. Também foi relatado que o BHT exerce efeitos pró-oxidantes por geração de espécies radicalares de água ($\text{H}_2\text{O}^\bullet$). Principalmente, sob condições específicas quando em altas concentrações, sendo até utilizado como meio de indução de EO em modelos animais (Figura 7) (NIEVA-ECHEVARRÍA *et al.*, 2015; SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015; YEHYE *et al.*, 2015).

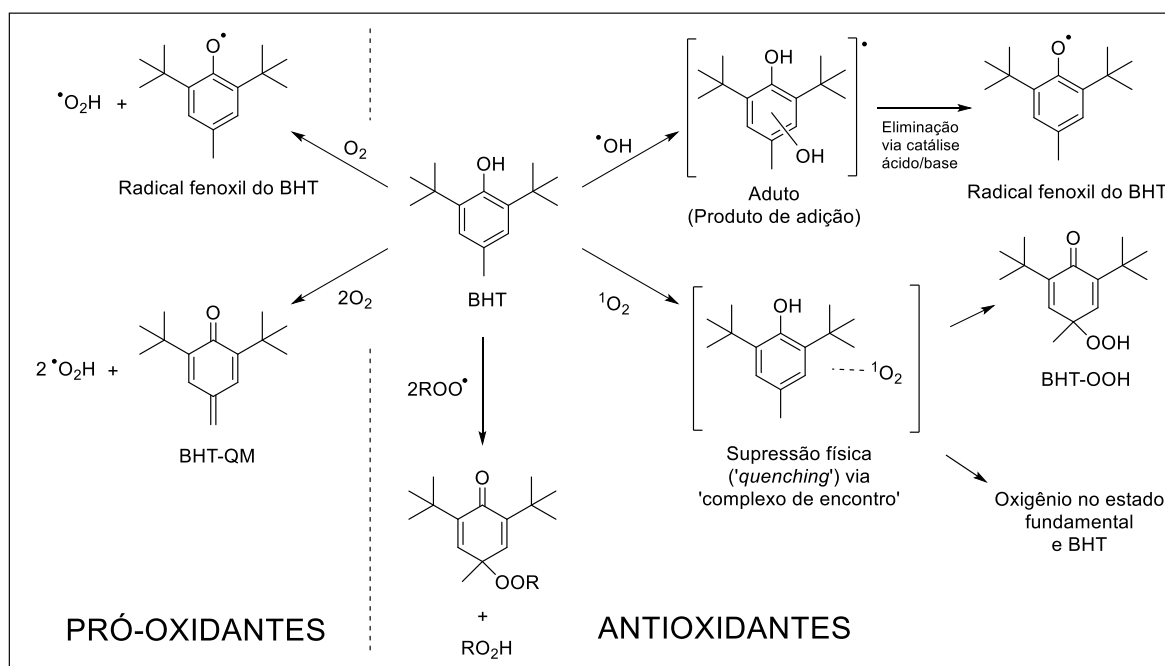


Figura 7 – Vias de reação propostas para atividade antioxidante e pró-oxidantes do BHT.
Fonte: Adaptado de NIEVA-ECHEVARRÍA *et al.*, 2015.

Devido a característica antioxidante, os derivados do BHT permanecem de interesse a outras indústrias além de alimentos, como de polímeros e farmacêutica, no último caso com enfoque em compostos antioxidantes no tratamento ou prevenção de doenças. Alguns estudos com antioxidantes fenólicos citam a capacidade de reduzir o risco de câncer, doenças cardíacas, diabetes, assim como inibição de agregação plaquetária plasmática, de atividade da COX e da liberação de histamina.

Existem trabalhos demonstrando atividades antibacterianas, antivirais, anti-inflamatórias e antialérgicas para derivados desses compostos (SHAHIDI e AMBIGAIPLAN, 2015; YEHYE *et al.*, 2015).

Especialmente quando se trata de moléculas inéditas antioxidantes, os derivados de BHT estiveram presentes em estruturas com tiazóis neuroprotetores (HARNETT *et al.*, 2004), tiazolidin-4-onas cardioprotetoras (KATO *et al.*, 2001) e tiazolidin-2,4-dionas e iminotiazolidin-4-onas anti-inflamatórias (UNANGST *et al.*, 1994). Portanto, há necessidade de pesquisas atuais com núcleos heterociclos de nitrogênio e enxofre com a estrutura bioativa BHT, visto a recente procura por antioxidantes e a falta de pesquisas de derivados tiazólicos com BHT, com avaliação de bioatividade.

Justificativa do trabalho:

Foi observado que reações '*one-pot*' constituem uma ferramenta sintética notável no desenvolvimento de novos heterocíclicos contendo enxofre e nitrogênio. Dentro do quadro examinado, podemos ver que heterociclos são necessários em fármacos e possivelmente são responsáveis pela atividade biológica desses. E como foi pesquisado, os análogos ao BHT possuem potencial antioxidante promissor, assim como recentemente há estudos de derivados de tiazóis, iminotiazolidin-4-onas e tiazolidin-4-onas antioxidantes (AFIFI *et al.*, 2019; VERMA e SAUNDANE, 2019).

Assim sendo, com utilização de seu aldeído análogo BHT-CHO e variação de aminas é possível sintetizar uma série de 1,3-tiazolidin-4-onas que retenham ou potencializem o efeito capturador de radicais livres presente no BHT.

Os resultados da síntese realizada junto a avaliação de atividade como capturadores de radicais livres em testes pré-clínicos serão apresentados na forma de um artigo científico, na revista *European Journal of Medicinal Chemistry*, de F.I. 4.816 e Qualis de A2 na área de Ciências Biológicas II.

4. Artigo

**Novel 1,3-thiazolidine-4-ones with 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl moiety:
synthesis and radical scavenger screening.**

Melinda G. Victor, Bruna C. Moreira, Cinara T. de Ávila, Natália P. Bona, Mayara S. P. Soares, Francieli M. Stefanello, Wilson Cunico.

*Manuscrito formatado nas normas da revista European Journal of Medicinal
Chemistry e submetido*

<https://www.elsevier.com/journals/european-journal-of-medicinal-chemistry/0223-5234/guide-for-authors>

Novel 1,3-thiazolidin-4-ones with 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl moiety: synthesis and radical scavenger screening.

Melinda G. Victor^a, Bruna C. Moreira^a, Cinara T. de Ávila^a, Natália P. Bona^b, Mayara S. P. Soares^b, Francieli M. Stefanello^b, Wilson Cunico^{a*}.

^aPrograma de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Química Aplicada à Bioativos, Centro Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Prédio 32, Laboratório 410, Campus Universitário S/N, Capão do Leão, RS, CEP 96160-000, Brazil.

^bPrograma de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Laboratório de Biomarcadores, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Prédio 29, Laboratório 314, Campus Universitário S/N, Capão do Leão, RS, CEP 96160-000, Brazil.

*Corresponding author:

Email: wjcunico@yahoo.com.br (W. Cunico)

Abstract

Oxidative stress (OS) is caused by imbalance of endogenous antioxidants and free radicals excess, such as reactive oxygen species (ROS). OS occurs in cancer, aging and neurological diseases. A noteworthy antioxidant compound is 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), and analogue 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde (BHT-CHO) is a valuable starting material in synthesis of large number of compounds. Substantial focus on synthetic heterocycles with biological activity is granted in medicinal chemistry. For instance, thiazolidin-4-ones combined with analogous BHT structure have been found efficient antioxidants. Therefore, present work describes synthesis of twelve novel 1,3-thiazolidin-4-ones analogous to BHT (**4a-l**) and one pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7-one (**5m**). Compounds were obtained through one-pot (multicomponent tandem or stepwise) reactions using aldehyde, different primary amines and thioglycolic acid with toluene reflux for 24 h. Target compounds (**4a-l**, **5m**) were obtained with high to low yields (84-28%). All pure compounds were properly identified and characterized by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and nuclear magnetic resonance (NMR)

spectroscopy (^1H and ^{13}C). Afterward, tested by *in vitro* radical scavenging assays from radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH $^{\bullet}$) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS $^{++}$). Antioxidant screening revealed that compound (**4d**) was the most potent in both tests with half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) equal to 7.3 μM (DPPH $^{\bullet}$) and 7.4 μM (ABTS $^{++}$). As compared to positive control BHT with no 50% inhibition until 200 μM (DPPH $^{\bullet}$) and IC_{50} =27.7 μM (ABTS $^{++}$). Two other compounds (**4b** and **4a**) showed high activity in ABTS $^{++}$ assay with IC_{50} =7.5 μM and 7.3 μM and high to moderate activity with IC_{50} =66.1 μM and 198.8 μM in DPPH $^{\bullet}$ assay, while one compound (**4h**) was be slightly more active and similar to BHT. Finally, this work provides basis for 1,3-thiazolidin-4-ones bearing BHT moiety and be a starting point for development of new structured free radical scavengers.

Keywords: thiazolidinone; 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde; 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol; aminopropyldiethylamine; free radical scavenger.

1. Introduction

Oxidative stress (OS) is a condition associated with cancer, aging, neurological and cardiovascular diseases, generally caused by imbalance of endogenous antioxidant defenses and an excess of oxidative substances as reactive oxygen species (ROS). These ROS can have deleterious effects on biomolecules, such as deoxyribonucleic acid (DNA), proteins and lipids. OS could be lessened through intake of exogenous antioxidants, where equilibrium can be reestablished [1-2]. In this context, new structured compounds with 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl group, a noteworthy moiety of synthetic antioxidant 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), can be used. A previous study showed potent antioxidant ability and *in vivo* neuroprotection in models of mitochondrial toxin administration, using synthesized BHT analogues with phenolic thiazoles [3].

Heterocycles with nitrogen and sulfur as thiazoles present great significance in medicinal chemistry, in particular because their frequency in wide class of bioactive substances, including therapeutic agents [4-5]. Thiazole is a class of heterocyclic compounds that have sulfur and nitrogen atoms at 1 and 3 positions, respectively. Thiazolidinones are a saturated form of thiazole containing carbonyl group at 4 position [6]. Examples of pharmaceutical drugs available with thiazolidinone moiety are ralitoline (anticonvulsant), etozoline (antihypertensive), pioglitazone (antidiabetic) and thiazolidomycin (antifungal) [7]. In

literature, some of biological activities found for these compounds are antidiabetic [8], anticancer [9], antibacterial [10-11], and antioxidant [10-11].

Thiazolidinones containing other heterocycles have demonstrated a variety of biological activities. Connection of two or more bioactive pharmacophores in a single structure can be done through molecular hybridization, consequently, this strategy makes planning more biologically active compounds possible [5] [12]. Through this method, synthesized compounds analogous to a Ca^{2+} overload inhibitor and 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl group presented scavenging ability similar to BHT, therefore activity could be attributed to addition of 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl group [13]. Currently, thiazolidin-4-ones have been found good antioxidants with 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl structure, analogous to BHT. A few of these have been found with secondary activity as anti-inflammatory through inhibition of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase [14] and calcium overload inhibition [15].

The present work describes synthesis of novel 1,3-thiazolidin-4-ones analogous to BHT via molecular hybridization method, with 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde (BHT-CHO) as precursor (**Figure 1**). In addition, compounds were evaluated for antioxidant potential with screening tests, mainly free scavenging radical assays as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH $^{\bullet}$) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS $^{++}$).

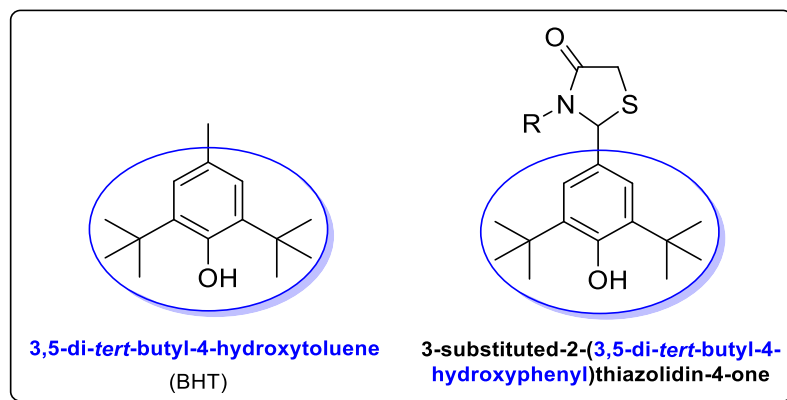


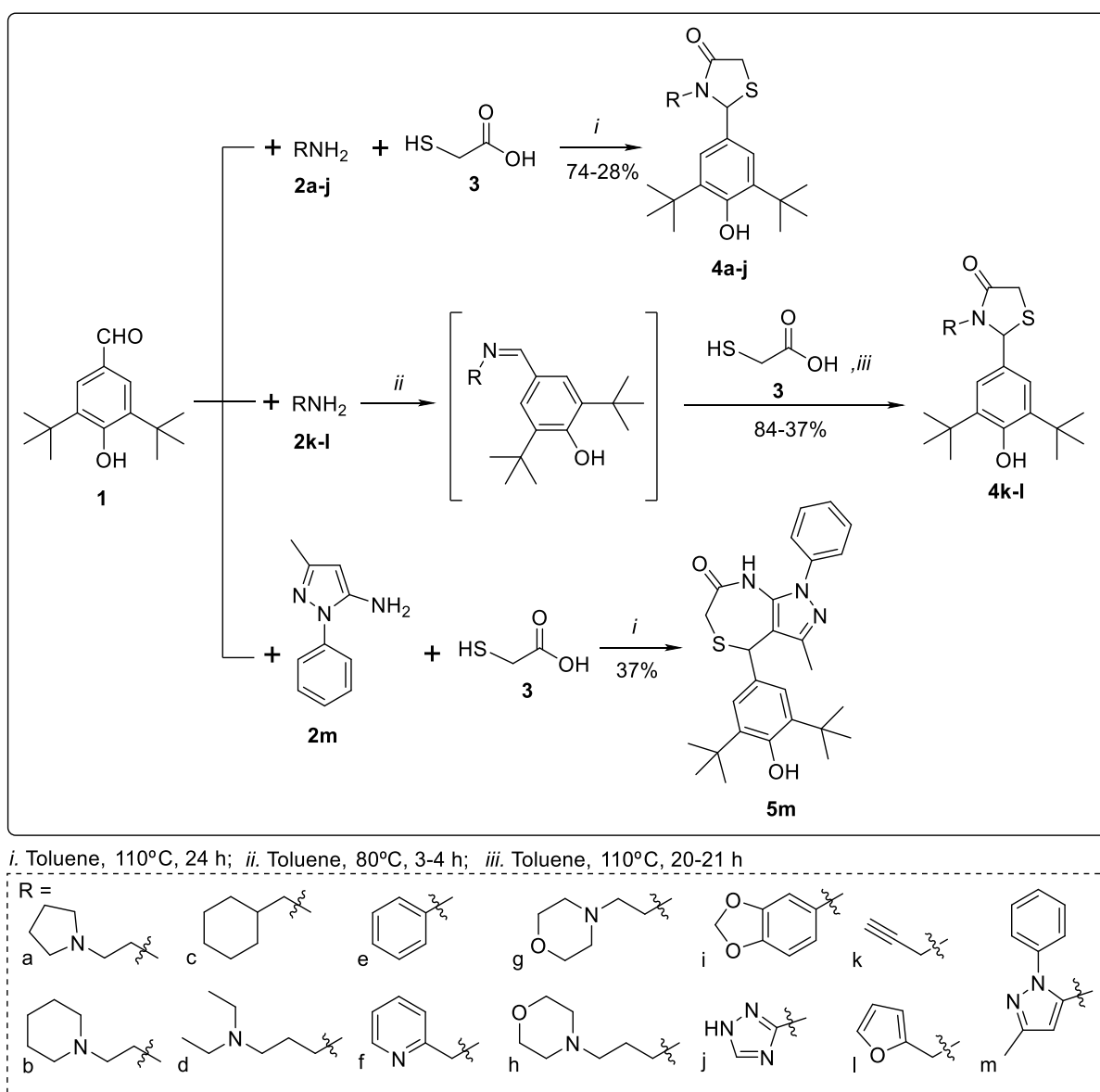
Figure 1. BHT and analog antioxidant 1,3-thiazolidin-4-ones structures.

2. Results

2.1. Chemistry

All 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-substituted-thiazolidin-4-ones (**4a-l**) were successfully obtained via one-pot (multicomponent tandem or stepwise) reactions. Via use of

BHT-CHO **1** and different structured primary amines **2a-m**, with addition of excess thioglycolic acid **3**, in rounded flask. Amines selected were aromatic and aliphatic. For amine **2m**, a pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)-one (**5m**) was surprisingly achieved, without formation of five membered ring in procedure (**Scheme 1**).



Scheme 1. Overall reaction of 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-substituted-thiazolidin-4-one synthesis.

Reaction happened with toluene reflux by standard thermal heating equipped with Dean-Stark apparatus for water removal through azeotropic distillation. After reaction, extraction and

purification, compounds were acquired with high to low yields (84-28%). Product purity ($\geq 98\%$) was confirmed by gas chromatography (GC) analysis and later characterized by mass spectrometry (EM) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy of ^1H and ^{13}C (see Experimental section for general synthesis and parameters).

2.2 *Biological Screening Assays*

Results of radical scavenging properties by DPPH $^{\bullet}$ and ABTS $^{+\bullet}$ assays can be observed in **Table 1**.

<<<**Table 1**>>>

Compound **4d** showed outstanding radical scavenger activity compared to control BHT, in both assays (**Figure 2**) with a half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) equal to 7.3 μM in DPPH $^{\bullet}$ and 7.4 μM in ABTS $^{+\bullet}$ (**Figure 3A, 3B**). Control BHT presented no 50% inhibition until 200 μM in DPPH $^{\bullet}$ and displayed $\text{IC}_{50}=27.7 \mu\text{M}$ in ABTS $^{+\bullet}$.

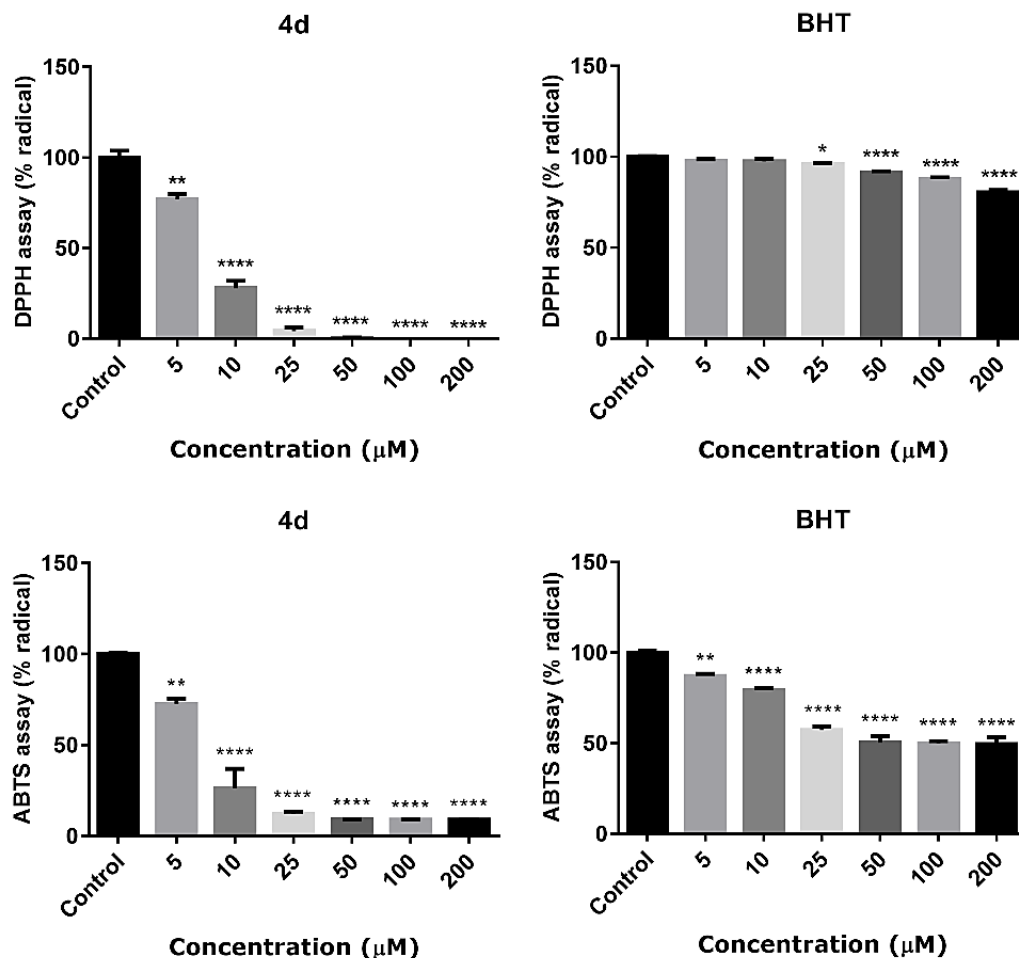


Figure 2. Radical scavenging of compound **4d** (left) in DPPH[•] and ABTS^{•+} assays and **BHT** (right) in DPPH[•] and ABTS^{•+} assays; Data was considered significant with $P < 0.05$, as * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and **** $P < 0.0001$. Via one-way ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test.

Two other compounds with good activity in both DPPH[•] and ABTS^{•+} assays were **4b**, with $IC_{50} = 66.1 \mu M$ (DPPH[•]) and $IC_{50} = 7.5 \mu M$ (ABTS^{•+}) and **4a** with $IC_{50} = 198.8 \mu M$ (DPPH[•]) and $IC_{50} = 7.3 \mu M$ (ABTS^{•+}). Thus, three compounds (**4a**, **4b** and **4d**) demonstrated to be more capable of radical scavenging than positive control BHT (Figure 3A, 3B, 3C).

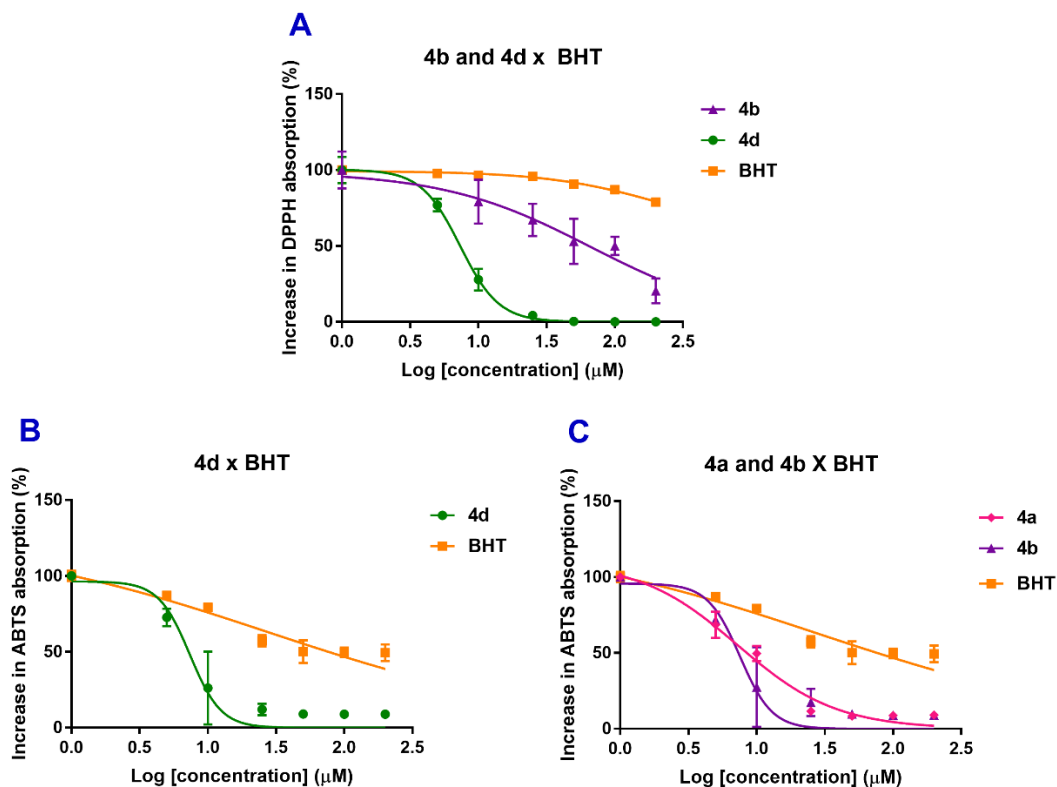


Figure 3. IC₅₀ curves of target compounds and **BHT**. A) Compounds **4b**, **4d** and **BHT** in DPPH[•] assay. B) Compound **4d** and **BHT** in ABTS^{•+} assay. C) Compounds **4a**, **4b** and **BHT** in ABTS^{•+} assay.

One compound (**4h**) demonstrated to be slightly more active and similar as BHT in both DPPH[•] and ABTS^{•+} assays (**Figure 4**) while three other compounds (**4g**, **4f** and **4c**) were similar (DPPH[•]) but moderately less active (ABTS^{•+}) than BHT (see supplementary data for all bar graphs of compounds).

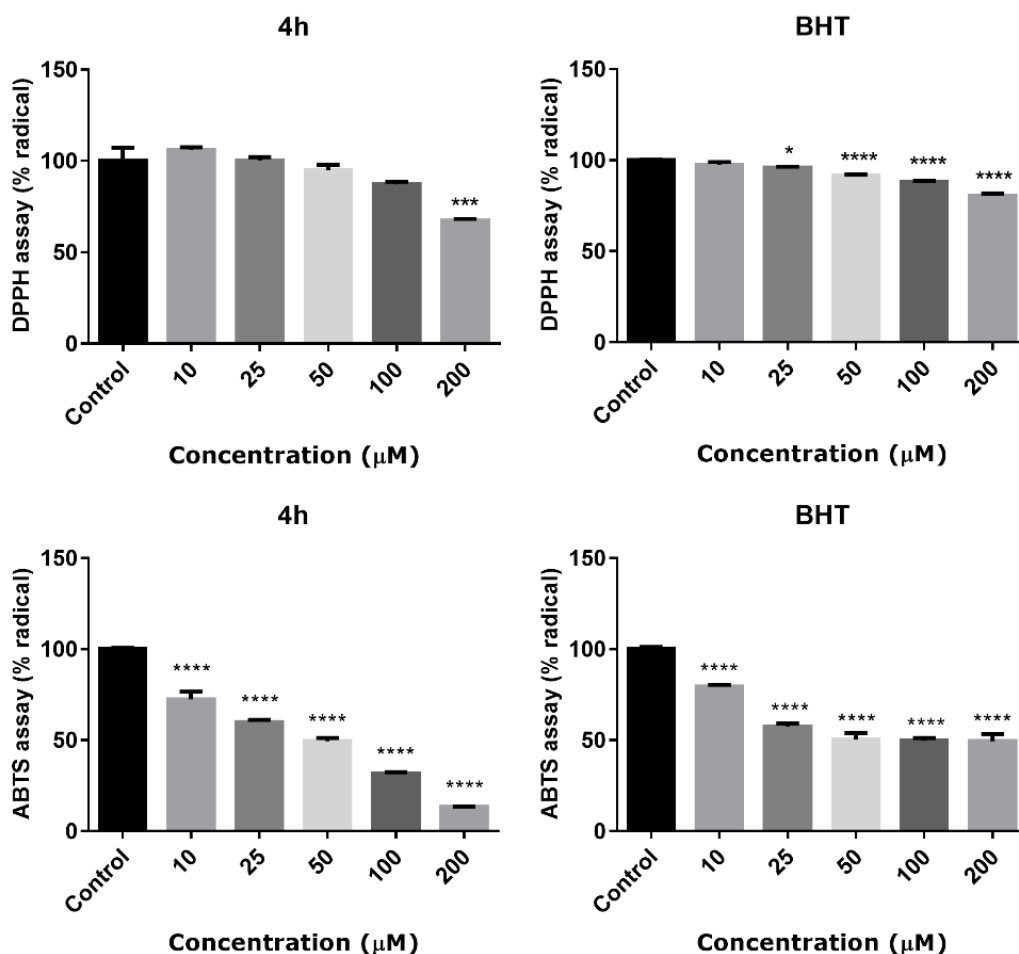


Figure 4. Radical scavenging of compound **4h** and **BHT** in DPPH[•] (left) and ABTS^{•+} (right) assays; Data was considered significant with $P < 0.05$, as * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ and **** $P < 0.0001$. Via one-way ANOVA followed by Tukey's *post hoc* test.

Aldehyde (ALD) BHT-CHO was also tested with synthesized compounds and demonstrated the lowest inhibition in ABTS^{•+} assay with 200 μM of all tested substances and second lowest activity (**4l** lowest) with 200 μM in DPPH[•] assay, as observed in **Table 1** and bar graph (see supplementary data).

3. Discussion

Thirteen compounds were efficiently synthesized by one-pot reactions with high to low yields (84-28%). Efficiency of heterocycle formation is important both to production costs and environmental impact associated with waste production [16]. One-pot reactions can afford multistep synthesis in one flask without isolation of intermediates, reducing number of manipulations and enabling use of some intermediates which may not be possible to isolate.

Also, these reactions are considered economic in reagents, solvents and time, providing a way to functionally achieve green chemistry and still develop biologically active heterocycles from starting materials [17]. In our synthesis, the isolation of imine intermediate was not attempted, so no two-step procedure was tried out [18].

Therefore, one-pot methods were conducted without isolation of intermediates. By definition multicomponent tandem reactions starts with three or more components in beginning and no addition of reactants, while one-pot stepwise reactions are comparable but with two reactants in the beginning and later addition of another reactant [16-17]. In our work we noticed multicomponent and stepwise one-pot generally afforded different results depending on primary amine structure. Particularly, compounds **4k-l** were only obtained successfully with one-pot stepwise method, whilst a time of 24 h in multicomponent conditions demonstrated little to none formation of these compounds. This circumstance for compound **4l** was found according to literature, where comparable conditions with less sterically hindered aldehydes were reported, specifically via one-pot stepwise reaction with 18 h total [19]. Whereas for propargylamine with thiazolidin-4-one moiety **4k**, no comparable synthesis could be found for reference. In our synthesis, one-pot stepwise reaction was efficient for compound **4k** when applied lower temperatures and removal of Dean Stark trap. This may be due **2k** low boiling point (around 83 °C) and volatility.

Optimization of reactional conditions to acquire 1,3-thiazolidin-4-ones is possible through solvent choice, time, heating method and one-pot method (stepwise or multicomponent tandem). A time of 24 h reported in our synthesis is acceptable, where is described in literature a total one-pot reaction time for 1,3-thiazolin-4-ones of aliphatic amines can vary between 4 to 20 h [20-21] and for aromatic amines of 20 to 22 h [21-22]. While time and yield can in some cases be affected by method (multicomponent tandem or stepwise reaction) and aromaticity of primary amine [21-22], in our work the time of reaction and aromaticity of amine apparently showed little effect.

On the other hand, a synthesis with same **2i** amine and using less sterically hindered aldehydes the compounds were obtained with 47-90% yields [22], whereas compound **4i** had the lowest yield (28%) in our work. Therefore, no possible relation for smaller yields in terms of nucleophilicity and aromaticity of amines was found, but as BHT-CHO is sterically hindered and also has a hydroxyl group in *para* position (an electron donating group (EDG) by mesomeric effect) it could possibly affect mechanism of reaction. Another reason for overall

lower yields could be losses in workup (extraction and equipment) which translate as substantial when dealing with small quantities (1 mmol).

In synthesis of 1,3-thiazolidin-4-ones with aromatic amines, some works describe reactions which may lead to formation of seven membered rings, benzo[*e*][1,4]thiazepinones or pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)-ones depending on amine structure [23-25]. Saini et al. [24] used catalytic *p*-toluene sulfonic acid (pTSA) to achieve benzo[*e*][1,4]thiazepinones with one-pot stepwise reaction. Authors discuss in presence of aldehyde with electron withdrawing group (EWG), mechanism results in tandem [3 + 2] cycloaddition reaction of imine affording five membered ring, but with aldehydes with EDG a Michael-type addition followed by [4 + 3] annulation occurs, giving seven membered ring [24]. Most importantly, therefore pTSA was essential to seven ring formation, where in absence of catalyst only five membered ring was formed. In our work, amines **4e** and **4i** could potentially have formed benzo[*e*][1,4]thiazepinones, but in absence of catalyst, besides thioglycolic acid, no seven ring formation was detected. An attempt was made with pTSA on a **4e** reaction, but only trace amounts could be detected, needing further research. Instead

Instead, a pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)-one (**5m**) was obtained without external catalyst, contrary to correlated synthesis found, where it was demonstrated the protonation ability of solvents and catalyst use can impact yield and reaction time, via multicomponent tandem, for these structures [25]. In the literature proposed mechanism of reaction for thiazepine-7-one, nucleophilic addition occurs in **1** because of **2m** sp² carbon, followed by a dehydration and another nucleophilic reaction involving thioglycolic acid occurs, generating last intermediate with is intramolecular dehydrated into the final product [25].

Regarding NMR analysis, methylene hydrogens (H6a,b) of compound **5m** were notably more shielded than those of five membered ring (H5a,b). Slight de-shielding effect was also noticed comparing newly added aliphatic structures to aromatic structures connected to 1,3-thiazolidin-4-one, where the aromatic derived structures had the hydrogen in asymmetric carbon (H2) shifted more downfield. Likewise, only compound **4d** had clearly a doublet for H2, while most compounds showed a broad singlet. Relative to structure derived from amines and BHT portion, all ¹H and ¹³C NMR spectra were in accordance to expectations.

Substituent group connected to thiazolidinone ring had influence in radical scavenger capacity in our work. Pyrrolidine and piperidine moieties for example are known to have antioxidant potential. Some BHT analogous quaternary ammonium salts with ethyl pyrrolidine and 2-

dimethylamine ethyl esters showed better antioxidant activity than BHT, which was attributed to their supposed superior ionization in tested pH, which can help the compounds react more efficiently with free radicals [26]. Our results also suggest that nucleophilicity is important to radical scavenging, once best results were attributed to compounds that have the most nucleophilic nitrogen (**4a**, **4b** and **4d**). Seeing as **4b** was more effective than **4a** in DPPH[•] assay, this possibly could be attributed to piperidine's slightly more basic nature than pyrrolidine. In counterpoint, molecule **4d** still has best activity in both assays because of longer propyl chain, instead of ethyl as **4a** and **4b**, also being with a highly nucleophilic nitrogen group (diethylamine). Morpholine moiety demonstrate parallel results, with **4g** with ethyl chain being slightly less active than **4h** with longer propyl chain, but their activity is moderate as their nucleophilicity is compromised by oxygen. Nevertheless, **4h** was demonstrated to be slightly more active and similar to BHT.

A work with Quantitative Structure–Activity Relationship (QSAR) analysis of thiazolidinone derivatives reported phenolic hydroxyl group of BHT is vital to antioxidant activity, where particularly *tert*-butyls in *ortho* position of hydroxyl group are essential. Theoretically, length of alkyl group connected to nitrogen on heterocycle should have no effect on hypothetical antioxidant activity [27]. In this work, amine structure affected the activity for radical scavenging and in some cases (**4d**, **4b** and **4a**) was increased when compared to BHT.

Radical scavenging assays as DPPH[•] and ABTS^{•+} are recognized to be largely based on assumption antioxidant activity is equal to electron donating capacity (or “reducing power”) [28-29]. By evaluation of free radical capture assays, there are two main mechanisms: based on hydrogen atom transfer (HAT) or single electron transfer (SET). Radical DPPH[•] assay works mostly via SET, while ABTS^{•+} tests can work both through SET and HAT ways, generally determined by antioxidant structure and pH of medium [28-29]. Considering the chemical structure of compounds described in the present study, these compounds should act through HAT-based methods with termination of free radicals via hydrogen donation, as is usual of phenolic compounds and BHT. Nevertheless, SET-based transfer of electron to reduction of a compound is still possible through amine derived portion [28-29]. In our report, this fact could potentially explain low activity of BHT in a mostly SET based assay and an increase in activity on a mixed method assay.

Worthy of observing BHT-CHO has an aldehyde carbonyl group opposite to hydroxyl, whereas BHT has a methyl group. As result, substituent on *para* position opposite to sterically hindered hydroxyl can affect activity depending on capacity of pushing electrons to aromatic ring, seeing

as -CH₃ is an EDG and -CHO is a strong EWG, were last could lessen radical scavenging ability [30]. This fact concurs with obtained data, seeing as BHT-CHO was also tested and is seemingly most ineffective as a radical scavenger.

In the future, we intend to carry out *in vitro* and *in vivo* studies of antioxidant evaluation in tissues with oxidative damage induction, using compounds that presented the best results in the screening tests (**4a**, **4b** and **4d**). We also pretend to continue synthetizing and studying more compounds derived from BHT with same methodology described, especially in the investigation of conditions for obtaining a 1,3-thiazolidin-4-one from amine **2m**.

4. Conclusion

In conclusion, thirteen novel compounds (**4a-l**, **5m**) were efficiently obtained with high to low yields (84-28%) via one-pot reactions (multicomponent tandem and stepwise). Reaction time of 24 h was satisfactorily used for both aliphatic and aromatic amines. Target compounds were adequately characterized by GC/MS and NMR ¹H and ¹³C spectra. As for antioxidant screening with DPPH[•] and ABTS^{•+} assays, three compounds showed superior free radical scavenging ability (**4d**, **4b** and **4a**) than BHT, while one compound (**4h**) demonstrated to be slightly more active and similar as BHT in both assays. A few other compounds showed high to moderate activity in DPPH[•] and ABTS^{•+} assays, nevertheless compound (**4d**) was the most potent in both tests with IC₅₀ equal to 7.3 μM (DPPH[•]) and 7.4 μM (ABTS^{•+}). This study shows promising results in terms of new radical scavengers and recommends compound **4d** for future antioxidant *in vitro* (cells) and *in vivo* (rodents) experiments with oxidative damage induction.

5. Experimental

4.1. Chemistry

4.1.1. General experimental information

All reagents and solvents were acquired from commercial suppliers without further purification. Corrected melting points were determined on a Fisatom apparatus with three capillary tubes, model 430, 230 V, 60 Hz, 50 W. Thermometer was up to 360°C. Chromatograms and mass spectra for compounds were obtained on a Shimadzu GCMS-QP2010-Plus equipment via direct infusion of sample in positive-ion mode with electrospray ionization. Chromatographic

separations were carried out on a DB-5 ms column (30 m X 0.25 mm X 0.25 μ m). Oven temperature program was as follows. Initial temperature was set at 50 °C (2 min), then raised from 50 to 280°C at 20°C/min, and final temperature was maintained for 20 min. Helium was carrier gas at 1,5 mL/min flow. NMR ^1H (400.13 MHz) and ^{13}C (100.62 MHz) spectra were recorded on a Bruker BioSpin instrument in CDCl_3 containing tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Via basic pulse zg sequence with pulse width of 9.2-10 μ sec and temperature of 24.95-25.15 °C. Acquisition time was 0.6291 to 4.0894 sec. 2D NMR spectra (Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation - HMQC - and Heteronuclear Multiple-Bond Correlation - HMBC) were obtained from equipment as well (see supplementary data), and all spectra were processed on MestReNova 12.0.1-20560 (Mestrelab Research S.L., Santiago de Compostela, Spain).

4.1.2. Experimental procedure for synthesis of 1,3-thiazolidin-4-ones (**4a-j**)

For general synthesis procedure, target compounds 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-substituted-thiazolidin-4-ones (**4a-j**) were obtained via use of BHT-CHO **1** as source for the BHT moiety. Initially, aldehyde **1** and diverse structured amines **2a-j** were added to a 50 mL round flask with 35 mL of toluene as solvent. By one-pot tandem procedure, thioglycolic acid was included in excess at beginning with other reactants (1:1:2 mmol). Mixture was left under agitation and in a standard thermal heating by silicone oil bath, until reflux temperature (110 °C). Reaction time was 24 h for all compounds utilizing a Dean Stark apparatus. Reaction progress was monitored by Thin Layer Chromatography (TLC) with mixture of hexane:ethyl acetate (7:3) as eluent. After reaction, solvent was removed under reduced pressure and crude product was washed with concentrated sodium hydrogen carbonate aqueous solution. Depending on precipitation, either of two processes were needed; 1) if precipitation occurred, solid product was vacuum filtrated and washed with water or 2) if an emulsion, a liquid-liquid extraction was applied with separation funnel and an organic solvent (ethyl acetate or methylene chloride). Organic layer was dried with magnesium sulfate and filtered, and organic solvent was removed under reduced pressure, providing a solid product. Target compounds purification process were unique to each compound, determined by one of three methods: 1)

recrystallization with hexane or hexane:ethyl acetate (9:1); 2) hot solution wash with hexane or hexane:ethyl acetate (9:1) mixture; or lastly 3) 'flash' column vacuum chromatography with silica and gradient mixtures of hexane:ethyl acetate (9:1 to 1:1) as eluent. Pure ($\geq 98\%$) compounds were identified and characterized by MS and NMR spectroscopy (^1H and ^{13}C), with agreed number assignments (**Figure 5**).

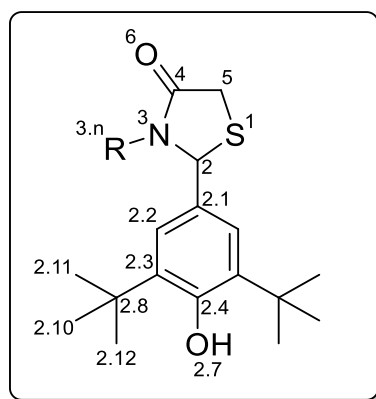


Figure 5. Numerical assignment for atoms of 1,3-thiazolidin-4-ones.

4.1.3. Characterization data for compounds **4a-j**

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)thiazolidin-4-one (4a).

M.W.: 404.25 g/mol, light orange solid, yield: 0.299 g (74%), m.p.: 152-154 °C. Purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.08 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.75 (s, 1H, H2); 5.32 (s, 1H, H2.7); 3.77 (dd, 1H, H5a, $^2J=15.45$, $^4J=1.95$); 3.72-3.62 (m, 2H, H5b, H3.1a); 2.88 (ddd, 1H, H3.1b, $^2J=13.78$, $^3J=7.09$, $^3J=6.95$); 2.68 (ddd, 1H, H3.2a, $^2J=11.95$, $^3J=7.85$, $^3J=6.70$); 2.46-2.35 (m, 4H, H3.5, H3.8); 2.31 (ddd, 1H, H3.2b, $^2J=11.86$, $^3J=7.46$, $^3J=5.53$); 1.77-1.67 (m, 4H, H3.6, H3.7); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.3 (C4); 154.6 (C2.4); 136.5 (2C, C2.3, C2.5); 129.4 (C2.1); 124.2 (2C, C2.2, C2.6); 65.1 (C2); 54.3 (2C, C3.4, C3.7); 53.5 (C3.2); 41.9 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.3 (C5); 30.4 (6C, C2.10-C2.15); 23.6 (2C, C3.5, C3.6). MS (70 eV): m/z (%) = 404 (M^+ , 1); 97 (13); 84 (100); 70 (12); 57(9); 42 (10).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)thiazolidin-4-one (4b)

M.W.: 418.26 g/mol, light orange solid, yield: 0.284 g (68%), m.p.: 139-142 °C. Purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm, J_{H-H} =Hz): 7.08 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.78 (s, 1H, H2); 5.32 (s, 1H, H2.7); 3.76 (dd, 1H, H5a, ² J =15.47, ⁴ J =1.77); 3.69 (dd, 1H, H5b, ² J =15.50, ⁴ J =0.63); 3.63 (ddd, 1H, H3.1a, ² J =13.87, ³ J =7.40, ³ J =5.40); 2.86 (ddd, 1H, H3.1b, ² J =13.87, ³ J =7.07, ³ J =6.93); 2.51 (ddd, 1H, H3.2a, ² J =12.68, ³ J =7.28, ³ J =5.40); 2.32-2.24 (m, 4H, H3.4, H3.8); 2.18 (ddd, 1H, H3.1b, ² J =12.59, ³ J =6.82, ³ J =5.29); 1.53 (p, 4H, H3.5, H3.7, ³ J =5.66); 1.43 (s, 20H, H2.10-H2.15, H3.6). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.3 (C4); 154.6 (C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 129.5 (C2.1); 124.2 (2C, C2.2, C2.6); 65.2 (C2); 56.4 (C3.2); 54.8 (2C, C3.4, C3.8); 40.1 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.3 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15); 26.2 (2C, C3.5, C3.7); 24.4 (C3.6). MS (70 eV): m/z (%) = 418 (M⁺, 1); 98 (100); 84 (14); 70 (5); 57 (10); 41 (9).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(cyclohexylmethyl)-thiazolidin-4-one (4c)

M.W.: 403.25 g/mol, light orange solid, yield: 0.198 g (49%), m.p.: 133-135 °C. Purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm, J_{H-H} =Hz): 7.07 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.56 (s, 1H, H2); 5.33 (s, 1H, H2.7); 3.79 (dd, 1H, H5a, ² J =15.48, ⁴ J =1.93); 3.69 (d, 1H, H5b, ² J =15.46); 3.42 (dd, 1H, H3.1a, ² J =13.72, ³ J =8.32); 2.55 (dd, 1H, H3.1b, ² J =13.72, ³ J =6.52); 1.73-1.52 (m, 6H, cyclohexyl); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15); 1.18-1.08 (m, 3H, cyclohexyl); 0.95-0.83 (m, 2H, cyclohexyl). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.5 (C4); 154.5 (C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 129.7 (C2.1); 124.0 (2C, C2.2, C2.6); 65.1 (C2); 49.2 (C3.1); 35.8 (cyclohexyl); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.1 (C5); 31.1 (cyclohexyl); 30.6 (cyclohexyl); 30.4 (6C, C2.10-C2.15); 26.4 (cyclohexyl); 26.0 (cyclohexyl); 25.8 (cyclohexyl). MS (70 eV): m/z (%) = 403 (M⁺, 17); 371

(11); 328 (17); 307 (9); 260 (52); 250 (13); 234 (9); 219 (9); 110 (16); 102 (10); 67 (11); 57 (100); 55 (69); 43 (12); 41 (57).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(3-(diethylamino)propyl)thiazolidin-4-one (4d)

M.W.: 420.28 g/mol, light red crystals, yield: 0.160 g (38%), m.p.: 86-88 °C. Purified by recrystallization with hot hexane.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm, J_{H-H}=Hz): 7.09 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.61 (d, 1H, H2, ⁴J=1.30); 5.32 (s, 1H, H2.7); 3.79 (dd, 1H, H5a, ²J=15.47; ⁴J=1.99); 3.68 (dd, 1H, H5b, ²J=15.47, ⁴J=0.87); 3.54 (ddd, 1H, H3.1a, ²J=13.71, ³J=9.30, ³J=6.40); 2.78 (ddd, 1H, H3.1b, ²J=14.05, ³J=9.05, ³J=5.36); 2.42 (q, 4H, H3.5, H3.7, ³J=7.17); 2.38-2.32 (m, 2H, H3.3a,b); 1.74-1.59 (m, 1H, H3.2a); 1.56-1.45 (m, 1H, H3.2b); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15); 0.94 (t, 6H, H3.6, H3.8, ³J=7.15). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.2 (C4); 154.6 (C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 129.5 (C2.1); 124.2 (2C, C2.2, C2.6); 64.7 (C2); 50.2 (C3.3); 46.7 (2C, C3.5, C3.7); 41.6 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.4 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15); 24.5 (C3.2); 11.7 (2C, C3.6, C3.8). MS (70 eV): m/z (%) = 420 (M⁺, 11); 112 (7); 100 (36); 98 (10); 86 (100); 72 (22); 57 (15); 41 (6).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-phenylthiazolidin-4-one (4e)

M.W.: 383.19 g/mol, light orange solid, yield: 0.218 g (57%), m.p.: 143-145 °C. Purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm, J_{H-H}=Hz): 7.29-7.24 (m, 2H, aryl); 7.18-7.13 (m, 1H, aryl); 7.11-7.06 (m, 2H, aryl); 7.04 (s, 2H, H2.2, H2.6); 6.05 (s, 1H, H2); 5.21 (s, 1H, H2.7); 3.95 (dd, 1H, H5a, ²J=15.77, ⁴J=1.58); 3.86 (dd, 1H, H5b, ²J=15.77, ⁴J=0.86); 1.35 (s, 18H, H2.10-H2.15). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.2 (C4); 154.3 (C2.4); 137.8 (aryl); 136.2 (2C, C2.3, C2.5); 129.2 (C2.1); 129.1 (2C, aryl); 127.2 (C3.4); 126.4 (2C, aryl); 124.2

(2C, C2.2, C2.6); 66.6 (C2); 34.4 (2C, C2.8, C2.9); 33.8 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 383 (M^+ , 17); 260 (51); 249 (8); 207 (26); 104 (42); 77 (37); 57 (100); 41 (23).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(pyridin-2-ylmethyl)thiazolidin-4-one (4f)

M.W.: 398.20 g/mol, light yellow crystals, yield: 0.219 g (55%), m.p.: 133-135 °C. Purified by 'flash' column vacuum chromatography with silica and gradient mixtures of hexane:ethyl acetate (9:1 to 1:1) as eluent.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 8.51 (ddd, 1H, pyridyl, $^3J=4.87$, $^5J=1.82$, $^5J=0.94$); 7.60 (td, 1H, pyridyl, $^3J=7.66$, $^4J=1.81$); 7.16 (ddd, 1H, pyridyl, $^3J=7.58$, $^3J=4.87$, $^4J=1.16$); 7.09 (d, 1H, pyridyl, $^3J=7.83$); 7.03 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.66 (s, 1H, H2); 5.30 (s, 1H, H2.7); 4.96 (d, 1H, H3.1a, $^2J=15.52$); 3.95 (d, 1H, H3.1b, $^2J=15.54$); 3.87 (dd, 1H, H5a, $^2J=15.62$, $^4J=1.93$); 3.80 (dd, 1H, H5b, $^2J=15.63$, $^4J=0.98$); 1.39 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.7 (C4); 155.9 (pyridyl); 154.6 (C2.4); 149.6 (pyridyl); 136.7 (2C, C2.3, C2.5); 136.4 (pyridyl); 128.6 (C2.1); 124.6 (2C, C2.2, C2.6); 122.5 (pyridyl); 122.3 (pyridyl); 64.6 (C2); 48.1 (C3.1); 34.4 (2C, C2.8, C2.9); 33.2 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 323 (M^+ - 75, 3); 306 (63); 93 (100); 65 (5); 57 (9); 41 (5).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(2-morpholinoethyl)thiazolidin-4-one (4g)

M.W.: 420.24 g/mol, light orange solid, yield: 0.143 g (34%), m.p.: 104-106 °C. Purified by 'flash' column vacuum chromatography with silica and gradient mixtures of hexane:ethyl acetate (9:1 to 1:1) as eluent.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.08 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.76 (s, 1H, H2); 5.35 (s, 1H, H2.7); 3.77 (dd, 1H, H5a, $^2J=15.50$, $^4J=1.46$); 3.73-3.63 (m, 6H, H5b, H3.5, H3.7, H3.1a); 2.86 (ddd, 1H, H3.1b, $^2J=14.23$, $^3J=7.25$, $^3J=6.50$); 2.50 (ddd, 1H, H3.2a, $^2J=12.56$, $^3J=7.10$, $^3J=6.65$); 2.41-2.31 (m, 4H, H3.4, H3.8); 2.25 (ddd, 1H, H3.2b, $^2J=12.71$, $^3J=6.95$, $^3J=6.21$); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.4 (C4); 154.6

(C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 129.2 (C2.1); 124.2 (2C, C2.2, C2.6); 65.1 (C2); 67.1 (2C, C3.5, C3.7); 56.0 (2C, C3.4, C3.8); 53.8 (C3.2); 39.6 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.3 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 420 (M^+ , 1); 306 (6); 113 (11); 100 (100); 86 (7); 70 (7); 57 (15); 41 (6).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(3-morpholinopropyl)thiazolidin-4-one (4h)

M.W.: 434.26 g/mol, light orange solid, yield: 0.143 g (33%), m.p.: 115-117 °C. Purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.08 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.60 (s, 1H, H2); 5.34 (s, 1H, H2.7); 3.78 (dd, 1H, H5a, 2J =15.51, 4J =1.95); 3.70-3.63 (m, 5H, H5b, H3.6, H3.8); 3.55 (ddd, 1H, H3.1a, 2J =13.73, 3J =8.95, 3J =6.28); 2.84 (ddd, 1H, H3.1b, 2J =14.03, 3J =8.75, 3J =5.63); 2.36-2.22 (m, 6H, H3.3a, H3.3b, H3.5, H3.9); 1.76-1.64 (m, 1H, H3.2a); 1.61-1.49 (m, 1H, H3.2b); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.4 (C4); 154.6 (C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 129.4 (C2.1); 124.1 (2C, C2.2, C2.6); 66.9 (2C, C3.6, C3.8); 64.8 (C2); 56.0 (C3.3); 53.5 (2C, C3.5, C3.9); 41.4 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.3 (C5); 30.4 (6C, C2.10-C2.15); 23.8 (C3.2). MS (70 eV): m/z (%) = 434 (M^+ , 2); 306 (3); 128 (12); 100 (100); 86 (7); 70 (7); 57 (17); 41 (8).

3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)thiazolidin-4-one (4i)

M.W.: 427.18 g/mol, dark red crystal, yield: 0.120 g (28%), m.p.: 140-142 °C. Purified by recrystallization with hexane:ethyl acetate (9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.04 (s, 2H, H2.2, H2.6); 6.68 (d, 1H, H3.6, 3J =8.14); 6.53 (d, 1H, H3.4, 5J =2.04); 6.50 (dd, 1H, H3.7, 3J =8.19, 5J =2.07); 5.91-5.89 (m, 2H, H2, H3.2); 5.25 (s, 1H, H2.7); 3.93 (dd, 1H, H5a, 2J =15.77, 5J =1.69); 3.84 (d, 1H, H5b, 2J =15.77); 1.37 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.4 (C4); 154.4 (aryl); 148.0 (aryl); 146.8 (aryl); 136.3 (2C, aryl); 131.5 (aryl); 129.1 (aryl); 124.3 (2C,

aryl); 120.4 (aryl); 108.3 (aryl); 108.2 (aryl); 101.6 (C3.2); 66.9 (C2); 34.4 (2C, C2.8, C2.9); 33.6 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 427 (M^+ , 24); 353 (6); 260 (100); 249 (8); 207 (10); 155 (6); 148 (11); 121 (4); 91 (3); 57 (38); 41 (7).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thiazolidin-4-one (4j)

M.W.: 374.18 g/mol, white solid, yield: 0.138 g (37%), m.p.: 228-230 °C. No purification required.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.77 (s, 1H, H3.3); 7.13 (s, 2H, H2.2, H2.6); 6.48 (s, 1H, H2); 5.27 (s, 1H, H2.7); 4.05 (d, 1H, H5a, $^2J=16.59$); 3.77 (d, 1H, H5b, $^2J=16.54$); 1.39 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.4 (C4); 154.3 (C2.4); 149.2 (triazolyl); 148.8 (triazolyl); 136.4 (2C, C2.3, C2.5); 130.0 (C2.1); 122.8 (2C, C2.2, C2.6); 63.0 (C2); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 32.9 (C5); 30.3 (6C, C2.10-C2.15).

4.1.4. Experimental procedure for synthesis of 1,3-thiazolidin-4-ones (4k-l)

Other 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-substituted-thiazolidin-4-ones (**4k-l**) were obtained also via use of 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde **1** as source for BHT moiety. Initially, aldehyde **1** and primary amines **2k-l** were added to a 50 mL round flask with 35 mL of toluene as solvent. By one-pot stepwise process, thioglycolic acid excess was added later in reaction (1:1:2 or 1:2:2 mmol), during heating (3-4 h). After addition, mixture was left under agitation and in a standard thermal heating by silicone oil bath for 20-21 h. Temperature was kept under reflux heating until time of acid addition (80-100 °C), later being raised for solvent reflux (110 °C). Reaction time in total was 24 h for **4k-l** compounds, utilizing a Dean Stark apparatus for **4l** reaction and without equipment in **4k** synthesis. Reaction progress was monitored by TLC with a mixture of hexane:ethyl acetate (7:3) as eluent. Solvent removal, extraction and purification of compounds was same as described previously for compounds **4a-**

j. Pure ($\geq 98\%$) compounds were also identified and characterized by MS and NMR spectroscopy (^1H and ^{13}C).

4.1.5. Characterization data for compounds **4k-l**

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(prop-2-yn-1-yl)thiazolidin-4-one (4k)

M.W.: 345.18 g/mol, light red crystals, yield: 0.290 g (84%), m.p.: 84-86 °C. Obtained with extra addition of 1 mmol (ratio of 1:2:2) and purified by hot solution wash with hexane:ethyl acetate (9:1).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}=\text{Hz}$): 7.17 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5.76 (s, 1H, H2); 5.36 (s, 1H, H2.7); 4.55 (dd, 1H, H3.1a, $^2J=17.30$, $^4J=2.36$); 3.80 (d, 1H, H5a, $^2J=15.77$); 3.73 (d, 1H, H5b, $^2J=15.67$); 3.26 (dd, 1H, H3.1b, $^2J=17.29$, $^4J=2.13$); 2.22 (t, 1H, H3.3, $^4J=2.23$); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 170.8 (C4); 154.8 (C2.4); 136.6 (2C, C2.3, C2.5); 127.8 (C2.1); 124.7 (2C, C2.2, C2.6); 77.2 (C3.2); 72.5 (C3.3); 63.7 (C2); 34.5 (2C, C2.8, C2.9); 33.3 (C5); 32.1 (C3.1); 30.3 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 345 (M^+ , 29); 330 (27); 288 (8); 270 (38); 260 (42); 244 (100); 229 (18); 214 (12); 158 (10); 140 (10); 115 (8); 91 (8); 66 (15); 57 (71); 41 (29).

2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(furan-2-ylmethyl)thiazolidin-4-one (4l)

M.W.: 387.19 g/mol, light orange solid, yield: 0.143 g (37%), m.p.: 114-116 °C. Purified by hot hexane wash.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}=\text{Hz}$): 7.34 (s, 1H, furyl); 7.10 (s, 2H, H2.2, H2.6); 6.28 (dd, 1H, furyl, $^3J=3.21$, $^3J=1.86$); 6.06 (d, 1H, furyl, $^3J=3.17$); 5.49 (s, 1H, H2); 5.35 (s, 1H, H2.7); 4.89 (d, 1H, H3.1a, $^2J=15.35$); 3.82 (dd, 1H, H5a, $^2J=15.63$, $^4J=1.97$); 3.77-3.65 (m, 2H, H5b, H3.1b); 1.43 (s, 18H, H2.10-H2.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171.1 (C4); 154.7 (C2.4); 149.5 (furyl); 142.7 (furyl); 136.5 (2C, C2.3, C2.5); 128.6 (C2.1); 124.7 (2C, C2.2, C2.6); 110.4 (furyl); 109.1 (furyl); 64.2 (C2); 39.1 (C3.1); 34.5 (2C, C2.8, C2.9);

33.3 (C5); 30.4 (6C, C2.10-C2.15). MS (70 eV): m/z (%) = 387 (M^+ , 62); 312 (68); 251 (42); 235 (13); 219 (13); 137 (74); 109 (14); 96 (11); 81 (100); 57 (35); 41 (14).

4.1.6. Experimental procedure for synthesis of pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7-one (**5m**)

Finally, to obtain 4-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3,1-disubstituted-4,8-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)-one (**5m**) was exactly as described previously for compounds **4a-j** but with primary aromatic amine **2m**. Pure ($\geq 98\%$) seven-membered compound was identified and characterized by MS and NMR spectroscopy (^1H and ^{13}C), with agreed number assignments according to condensed cyclic structure (**Figure 6**).

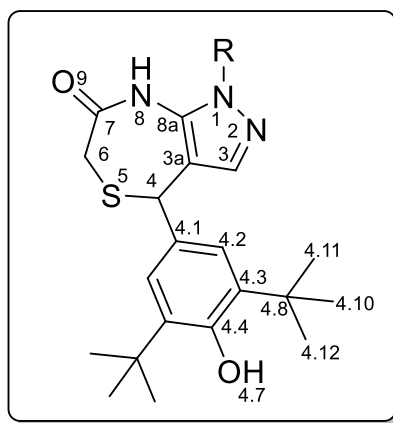


Figure 6. Numerical assignment for atoms of pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7-one.

4.1.6. Characterization data for compound **5m**

4-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-methyl-1-phenyl-4,8-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)-one (5m**)**

M.W.: 463.23 g/mol, vivid orange solid, yield: 0.171 g (37%), m.p.: 108-110°C. Purified by hot hexane wash.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}$ =Hz): 7.55-7.42 (m, 5H, aryl); 7.40 (s, 1H, H8); 7.04 (s, 2H, H4.2, H4.6); 5.24-5.21 (m, 2H, H4.7, H4); 3.38 (d, 1H, H6a, $^2J=14.87$); 3.23 (d, 1H, H6b, $^2J=14.90$); 1.91 (s, 3H, H3.1); 1.41 (s, 18H, H4.10-H4.15). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 170.8 (C7); 153.4 (aryl); 148.4 (8a); 137.3 (C3); 136.2 (2C, aryl); 134.5 (aryl); 131.1

(aryl); 130.1 (2C, aryl); 129.0 (aryl); 125.8 (2C, aryl); 124.9 (2C, aryl); 108.3 (3a); 43.7 (C4); 34.5 (2C, C4.8, C4.9); 32.4 (C6); 30.4 (6C, C4.10-C4.15); 13.0 (C3.1). MS (70 eV): m/z (%) = 463 (M^+ , 67); 416 (37); 362 (12); 258 (100); 226 (6); 191 (13); 184 (13); 119 (6); 91 (15); 77 (35); 57 (69); 41 (52).

4.2. Biological Screening Assays

4.1.1. *In vitro* assays – DPPH $^{\bullet}$ and ABTS $^{+\bullet}$

DPPH $^{\bullet}$ Radical scavenging assay

Stable free radical DPPH $^{\bullet}$ assay was employed from method of Brand-Williams et al. [31] with a few modifications. When DPPH $^{\bullet}$ reacts with a hydrogen donor species, it goes through reduction, generating a color change from deep purple to light yellow. This change can be evaluated by UV-Visible light spectrophotometer at 515 nm. Therefore, different concentrations of compounds were diluted in ethanol (2 mL) and added to a solution of diluted DPPH $^{\bullet}$ (2 mL with 60 μ M concentration in ethanol). Mixture was incubated in dark for 30 min at ambient temperature and measured. BHT was used as standard and replicated twice for IC₅₀ calculation. Radical scavenging activity was defined as amount of antioxidant necessary for decrease of initial DPPH $^{\bullet}$ concentration by 50% (IC₅₀).

ABTS $^{+\bullet}$ Radical scavenging assay

Unstable radical cation ABTS $^{+\bullet}$ was created in solution (7 mM in water) from 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt reacting with potassium persulfate (140 mM). As described by Re et al. [32], mixture is diluted with ethanol until set absorbance readings ($0.70 \text{ nm} \pm 0.05 \text{ nm}$) in a 734 nm wavelength on a UV-Visible light spectrophotometer. Lastly, diverse concentrations of compounds were diluted in ethanol and added to created solution of ABTS $^{+\bullet}$. Final mixture was incubated in dark for 6 minutes at ambient temperature and quantified. BHT was used as standard. Once ABTS $^{+\bullet}$ reacts with a hydrogen donor species it is reduced, generating a color change from dark blue-green to yellow to colorless. Potential radical scavenging ability was determined as amount of antioxidant necessary for decrease of initial ABTS $^{+\bullet}$ concentration by 50% (IC₅₀).

4.1.2. Statistical analysis

All biological results were analyzed in software Graphpad Prism 7. Bars graphs were designed with one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's *post hoc* test for multiple comparisons. All results were expressed as mean $\pm$ standard error (SEM) and differences between mean values were considered significant when $P < 0.05$. IC₅₀ calculations were made with same data with concentrations transformed into log [concentrations] and plotted in a nonlinear regression (see supplementary data).

Supporting Information.

All chemical analysis data such as GC/MS and NMR ¹H and ¹³C spectra of compounds present in this article can be found available online in supplementary data.

Acknowledgments

Authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FAPERGS/CNPq-PRONEX-Proc. Nº 16/2551-0000477-3) for their financial support of research. Authors also would like to acknowledge Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-Finance code 001).

Abbreviations used

OS, oxidative stress; ROS, reactive oxygen species; BHT, 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol; GC, gas chromatography; MS, mass spectrometry; NMR, nuclear magnetic resonance spectroscopy; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH; 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS; half-maximal inhibitory concentration, IC₅₀; electron donating group, EDG; *p*-toluene sulfonic acid, pTSA; electron withdrawing group, EWG; hydrogen atom transfer, HAT; single electron transfer, SET.

References:

- [1] M. Djukic, M. Fesatidou, I. Xenikakis, A. Geronikaki, V.T. Angelova, V. Savic, M. Pasic, B. Krilovic, D. Djukic, B. Gobeljic, M. Pavlica, A. Djuric, I. Stanojevic, D. Vojvodic, L. Saso, *In vitro* antioxidant activity of thiazolidinone derivatives of 1,3-thiazole and 1,3,4-thiadiazole, *Chem. Biol. Interact.* 286 (2018) 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.03.013>.
- [2] P. Chawla, S. Kalra, R. Kumar, R. Singh, S.K. Saraf, Novel 2-(substituted phenyl imino)-5-benzylidene-4-thiazolidinones as possible non-ulcerogenic tri-action drug candidates: Synthesis, characterization, biological evaluation and docking studies, *Med. Chem. Res.* 28 (2019) 340–359. <https://doi.org/10.1007/s00044-018-02288-z>.
- [3] J.J. Harnett, V. Roubert, C. Dolo, C. Charnet, B. Spinnewyn, S. Cornet, A. Rolland, J.-G. Marin, D. Bigg, P.-E. Chabrier, Phenolic thiazoles as novel orally-active neuroprotective agents, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 14 (2004) 157–160. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.09.077>.
- [4] A. Sunil Kumar, J. Kudva, B.R. Bharath, K. Ananda, R. Sadashiva, S. Madan Kumar, B.C. Revanasiddappa, V. Kumar, P.D. Rekha, D. Naral, Synthesis, structural, biological and *in silico* studies of new 5-arylidene-4-thiazolidinone derivatives as possible anticancer, antimicrobial and antitubercular agents, *New J. Chem.* 43 (2019) 1597–1610. <https://doi.org/10.1039/c8nj03671c>.
- [5] S. Makwane, S.D. Srivastava, R. Dua, S.K. Srivastava, Synthesis and antimicrobial activity of 4-oxo-thiazolidines and 5-arylidene derivatives of 2-amino-5-ethyl-1,3,4-thiadiazole, *J. Bangladesh Acad. Sci.* 42 (2018) 155–170. <https://doi.org/10.3329/jbas.v42i2.40042>.
- [6] A.A. Geronikaki, E.P. Pitta, K.S. Liaras, Thiazoles and thiazolidinones as antioxidants, *Curr. Med. Chem.* 20 (2013) 4460–4480. <https://doi.org/10.2174/09298673113209990143>.
- [7] J.S. Santos, J.J. Junior, F.M. da Silva, 1,3-Thiazolidin-4-ones: Biological potential, history, synthetic development and green methodologies, *Curr. Org. Synth.* 15 (2018) 1109–1123. <https://doi.org/10.2174/1570179415666180919125625>.
- [8] R. Bhutani, D.P. Pathak, G. Kapoor, A. Husain, M.A. Iqbal, Novel hybrids of benzothiazole-1,3,4-oxadiazole-4-thiazolidinone: Synthesis, in silico ADME study, molecular docking and *in vivo* anti-diabetic assessment, *Bioorg. Chem.* 83 (2019) 6–19. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.025>.
- [9] H.-A.S. Abbas, S.S.A. El-Karim, 2019. Design, synthesis and anticervical cancer activity of new benzofuran-pyrazol-hydrazono-thiazolidin-4-one hybrids as potential EGFR inhibitors and apoptosis inducing agents. *Bioorg. Chem.* 89, 103035. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103035>.
- [10] H. Brahmbhatt, M. Molnar, V. Pavić, V. Rastija, Synthesis, characterization, antibacterial and antioxidant potency of N-substituted-2-sulfanylidene-1,3-thiazolidin-4-one derivatives and QSAR study, *Med. Chem.* 15 (2019) 840–849. <https://doi.org/10.2174/1573406415666181205163052>.
- [11] A. Stana, D.C. Vodnar, G. Marc, D. Benedec, B. Tiperciuc, R. Tamaian, O. Oniga, Antioxidant activity and antibacterial evaluation of new thiazolidine-4-one derivatives as potential tryptophanyl-tRNA synthetase inhibitors, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 34 (2019) 898–908. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1596086>.
- [12] M.F. Ansari, D. Idrees, M.I. Hassan, K. Ahmad, F. Avecilla, A. Azam, Design, synthesis and biological evaluation of novel pyridine-thiazolidinone derivatives as anticancer agents:

Targeting human carbonic anhydrase IX, *Eur. J. Med. Chem.* 144 (2018) 544–556. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.12.049>.

[13] T. Kato, T. Ozaki, K. Tamura, Y. Suzuki, M. Akima, N. Ohi, Novel calcium antagonists with both calcium overload inhibition and antioxidant activity. 1. 2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-(aminopropyl)thiazolidinones, *J. Med. Chem.* 41 (1998) 4309–4316. <https://doi.org/10.1021/jm980335f>.

[14] P.C. Unangst, D.T. Connor, W.A. Cetenko, R.J. Sorenson, C.R. Kostlan, J.C. Sircar, C.D. Wright, D.J. Schrier, R.D. Dyer, Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazoles: Novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with antiinflammatory activity, *J. Med. Chem.* 37 (1994) 322–328. <https://doi.org/10.1021/jm00028a017>.

[15] T. Kato, T. Ozaki, K. Tamura, Y. Suzuki, M. Akima, N. Ohi, N. Novel calcium antagonists with both calcium overload inhibition and antioxidant activity. 2. Structure-activity relationships of thiazolidinone derivatives, *J. Med. Chem.* 42 (1999) 3134–3146. <https://doi.org/10.1021/jm9900927>.

[16] A. Padwa, S.K. Bur, The domino way to heterocycles, *Tetrahedron*. 63 (2007) 5341–5378. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.03.158>.

[17] K.C. Nicolaou, J.S. Chen, The art of total synthesis through cascade reactions, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 2993–3009. <https://doi.org/10.1039/b903290h>.

[18] M.A. Silin, V.I. Kelarev, V. Abu-Ammar, Synthesis of 2,3-disubstituted thiazolidin-4-ones containing the sterically hindered 4-hydroxy-3,5-di(*tert*-butyl)phenyl grouping, *Chem. Heterocycl. Compd.* 36 (2000) 214–218. <https://doi.org/10.1007/bf02283555>.

[19] G.H. Marques, A. Kunzler, V.D.O. Bareño, B.B. Drawanz, H. G. Mastelloto, F.R.M. Leite, G.G. Nascimento, P.S. Nascente, G. M. Siqueira, W. Cunico, Antifungal activity of 3-(heteroaryl-2-ylmethyl)thiazolidinone derivatives, *Med. Chem.* 10 (2014) 355–360. <https://doi.org/10.2174/15734064113099990030>.

[20] A.M. Neves, A.R. Duval, G.A. Berwaldt, D.P. Gouvêa, N.P. Flores, P.G. Da Silva, F.M. Stefanello, W. Cunico, Thiazolidin-4-ones from 3-(aminomethyl)pyridine, arenealdehydes and mercaptoacetic acid: synthesis and radical scavenger activity, *J. Braz. Chem. Soc.* 26 (2015) 381–388. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140291>.

[21] A.M. das Neves, J.C. Campos, D.P. Gouvêa, G.A. Berwaldt, T.B. Goulart, C.T. Ávila, P. Machado, G.C. Zimmer, W. Cunico, Synthesis of novel thiazolidin-4-ones and thiazinan-4-ones analogous to rosiglitazone, *J. Heterocycl. Chem.* 56 (2019) 251–259. <https://doi.org/10.1002/jhet.3402>.

[22] H.G. Masteloto, B.B. Drawanz, G.A. Berwaldt, P.D. Neuenfeldt, G.M. Siqueira, W. Cunico, 3,4-(Methylenedioxy)aniline as precursor to the synthesis of thiazolidin-4-ones, *Monatsh. Chem.* 146 (2014) 327–334. <https://doi.org/10.1007/s00706-014-1338-y>.

[23] F. Shi, X. Zeng, X. Cao, S. Zhang, B. Jiang, W. Zheng, S. Tu, Design and diversity-oriented synthesis of novel 1,4-thiazepan-3-ones fused with bioactive heterocyclic skeletons and evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22 (2012) 743–746. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.09.081>.

- [24] R. Saini, Malladi, S. R., Dharavath, N. Diversity-oriented one-pot synthesis of novel imidazo [4',5':4,5]benzo[e][1,4]thiazepinones and benzo[d]imidazolyl thiazolidinones through pTSA promoted cyclization and evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities, *J. Heterocycl. Chem.* 55 (2018) 1579-1588. <https://doi.org/10.1002/jhet.3191>.
- [25] F. Zhang, C. Li, C. Qi, 2016. Synthesis of 4,8-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepine-7(6*H*)-one derivatives by solid acid-catalyzed multi-component reaction in water. *RSC Adv.* 105, 102924-102930. <https://doi.org/10.1039/c6ra24310j>.
- [26] A. Krasowska, D. Rosiak, K. Szkapiak, M. Oświecimska, S. Witek, M. Lukaszewicz, The antioxidant activity of BHT and new phenolic compounds PYA and PPA measured by chemiluminescence, *Cell. Mol. Biol. Lett.* 6 (2001) 71–81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11544632>.
- [27] Y.-M. Sun, X.-L. Wang, H.-Y. Zhang, D.-Z. Chen, Theoretical elucidation of structure-antioxidant activity relationships for thiazolidinone derivatives. *Quant. Struct. Relationships.* 20 (2001) 139–142. [https://doi.org/10.1002/1521-3838\(200107\)20:2<139::AID-QSAR139>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1521-3838(200107)20:2<139::AID-QSAR139>3.0.CO;2-7).
- [28] F. Shahidi, Y. Zhong, Measurement of antioxidant activity, *J. Funct. Foods.* 18 (2015) 757-781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.
- [29] F. Shahidi, P. Ambigaipalan, Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review, *J. Funct. Foods.* 18 (2015) 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.
- [30] X. C. Weng, Y. Huang, 2014. Relationship structure-antioxidant activity of hindered phenolic compounds, *Grasas Aceites.* 65, e051. <https://doi.org/10.3989/gya.0225141>.
- [31] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT - Food Sci. Technol.* 28 (1995) 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [32] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26 (1999) 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3).

Table 1. Results of DPPH[•] and ABTS^{•+} assays: radical scavenging capacity (IC₅₀)

Compound	DPPH [•]	ABTS ^{•+}
	IC ₅₀ (μM) ^a	
4a	198.8	7.3
4b	66.1	7.5
4c	N.I.	82.1
4d	7.3	7.4
4e	N.I.	112.5
4f	N.I.	55.1
4g	N.I.	53.0
4h	N.I.	37.7
4i	167.9	101.2
4j	N.I.	173.6
4k	199.0	102.7
4l	N.I.	132.0
5m	198.1	152.8
ALD^b	N.I.	N.I.
BHT	N.I.	27.7

^a IC₅₀ values are mean calculated from n≥3 independent experiments.

^b BHT-CHO

N.I. No inhibition of 50% in tested concentrations.

5. Considerações finais

Durante o desenvolvimento desse trabalho, foi possível observar que o campo teórico nem sempre corresponde com o prático, evidenciando a necessidade de experimentos práticos e seus resultados para respostas e comprovação de hipóteses científicas. Através de experimentos que foi possível a obtenção de treze compostos (**4a-l**, **5m**) inéditos na literatura. Sendo feito de forma eficiente com tempo de reação de 24 horas e com rendimentos de altos à baixos (84-28%), por meio de reações 'one-pot' (multicomponente *tandem* e sequenciais).

De uma série sintética utilizando aminas alifáticas e aromáticas, obtiveram-se alguns compostos relevantes com a atividade desejada, como capturadores de radicais livres mais ativos (**4d**, **4b** e **4a**) ou ligeiramente mais ativos (**4h**) ao BHT. Alguns outros compostos também obtiveram atividades moderadas e similares ao BHT. Um destaque especial é dado ao composto 2-(3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxifenil)-3-(3-(dietilamino)propil)tiazolidin-4-ona (**4d**), que obteve IC₅₀ igual a 7.3 µM (DPPH[•]) e 7.4 µM (ABTS^{•+}) nos testes de triagem.

O próximo passo do projeto é a realização de estudos biológicos utilizando as melhores moléculas (**4d**, **4b** e **4a**), principalmente de citotoxicidade e testes *in vitro* com indução de dano oxidativo em tecido animal. Há também uma perspectiva futura de avaliação de atividade biológica com modelos animais *in vivo*.

Referências bibliográficas

ADISINSIGHT. **AdisInsight.Springer**. Perfis de fármacos e substâncias em testes clínicos. [s. l.], 2020. Base de Dados. Disponível em: <https://adisinsight.springer.com>. Acesso em: 13 jan. 2020.

AFIFI, Ola S. *et al.* Synthesis and biological evaluation of purine-pyrazole hybrids incorporating thiazole, thiazolidinone or rhodanine moiety as 15-LOX inhibitors endowed with anticancer and antioxidant potential. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 87, p. 821-837, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.03.076>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004520681930015X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 jan. 2020.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil)**. Actos® (pioglitazona): informações sobre a segurança do medicamento. [s. l.], 29 set. 2010b. Informe. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 13 jan. 2020.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil)**. Avandia® (rosiglitazona): cancelamento do registro devido ao risco cardiovascular do medicamento. [s. l.], 29 set. 2010a. Informe. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 13 jan. 2020.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil)**. Pioglitazona: Anvisa analisa possível associação do medicamento com o risco de câncer de bexiga. [s. l.], 27 jun. 2011. Informe. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 13 jan. 2020.

BOCKMAN, Matthew R. *et al.* Investigation of (S)-(-)-acidomycin: A selective antimycobacterial natural product that inhibits biotin synthase. **ACS Infectious Diseases**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 598–617, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00345>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsinfecdis.8b00345>. Acesso em: 16 jan. 2020.

CAROCHO, Márcio; FERREIRA, Isabel C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 51, p. 15-25, jan. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512006941?via%3Dihub>. Acesso em: 4 jan. 2020.

CHO, Kyung-Jin; SEO, Ji-Min; KIM, Jae-Hong. Bioactive lipoxygenase metabolites stimulation of NADPH oxidases and reactive oxygen species. **Molecules and Cells**,

[s. l.], v. 32, n. 1, p. 1–5, jul. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10059-011-1021-7>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10059-011-1021-7>. Acesso em: 20 jan. 2020.

DANDIA, Anshu *et al.* Green and chemoselective synthesis of pyrazolo[3,4-e][1,4]thiazepines and evaluation of their anti-infective activities. **Research on Chemical Intermediates**, [s. l.], v. 41, n. 7, p. 4213–4226, jul. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11164-013-1524-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11164-013-1524-2>. Acesso em: 12 jan. 2020.

FLORA, Swaran J. S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 191–206, out. 2009. DOI: <https://doi.org/10.4161/oxim.2.4.9112>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2009/873634/>. Acesso em: 26 jan. 2020.

GARCÍA-VALVERDE, Maria; TORROBA, Tomás. Sulfur-nitrogen heterocycles. **Molecules**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 318–320, fev. 2005. DOI: <https://doi.org/10.3390/10020318>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/10/2/318>. Acesso em: 4 jan. 2020.

GRANATO, Daniel *et al.* Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? **Food Chemistry**, [s. l.], v. 264, p. 471–475, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814618306265?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jan. 2020.

GULTEKIN, Ergun *et al.* A study on synthesis, biological activities and molecular modelling of some novel trisubstituted 1,2,4-triazole derivatives. **ChemistrySelect**, [s. l.], v. 3, n. 31, p. 8813–8818, ago. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.201801578>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/slct.201801578>. Acesso em: 7 jan. 2020.

HARNETT, Jeremiah J. *et al.* Phenolic thiazoles as novel orally-active neuroprotective agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 14, n. 1 p. 157–160, jan. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.09.077>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X03010692?via%3Dihub>. Acesso em: 5 fev. 2020.

HOSSAN, Aisha SM. Synthesis, modelling and molecular docking of new 5-arylozo-2-chloroacetamido thiazole derivatives as antioxidant agent. **Journal of Molecular Structure**, [s. l.], v. 1206, n.127712, abr. 2020. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127712>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286020300363?via%3Di>
 hub. Acesso em: 20 jan. 2020.

ISLAM, Md. Torequl. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. **Neurological Research**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 73–82, out. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1251711>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01616412.2016.1251711>. Acesso em: 7 jan. 2020.

JAIN, Abhishek Kumar *et al.* Recents developments and biological activities of thiazolidinone derivatives: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 3378-3395, jun. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.03.069>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089612002696?via%3Di>hub. Acesso em: 5 jan. 2020.

JANGALE, Asha D.; DALAL, Dipak S. Highly Efficient, combinatorial and catalyst-free approach for the synthesis of 2-benzylidenehydrazono-3-phenyl-4-thiazolidinone-5-acetates in ethanol. **ChemistrySelect**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 1323–1329, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/slct.201802366>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/slct.201802366>. Acesso em: 11 jan. 2020.

KATO, Tatsuya *et al.* Practical synthesis of novel cardioprotective drug, CP-060 S. **Organic Process Research & Development**, [s. l.], v. 5, Part 2, n. 2, p. 122-126, dez. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/op000096h>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/op000096h>. Acesso em: 9 jan. 2020.

KATO, Tatsuya *et al.* Practical synthesis of novel cardioprotective drug, CP-060 S. **Organic Process Research & Development**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 122-126, jan. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/op000096h>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/op000096h>. Acesso em: 5 fev. 2020.

KUMAR, Rakesh; PATIL, Shailendra. Biological prospective of 4-thiazolidinone: A review. **The Hygeia: journal for drugs and medicines**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 80-97, jul. 2017. DOI: <https://doi.org/10.15254/H.J.D.Med.9.2017.166>. Disponível em: <http://www.hygeiajournal.com/Journals.aspx?cid=27#>. Acesso em: 4 jan. 2020.

LIU, Zewen *et al.* Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 9, n. 477, maio 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00477>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.00477/full>. Acesso em: 26 jan. 2020.

LORENZO, Fernando J.; OCAMPO, Romina A.; MANDOLESI, Sandra D. Microwave assisted three component reaction conditions to obtain new thiazolidinones with different heterocyclic skeletons. **Proceedings**, [s. l.], v. 41, n. 1, 38, nov. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ecsoc-23-06474>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2504-3900/41/1/38>. Acesso em: 20 jan. 2020.

MANJAL, Sundeep Kaur *et al.* Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 75, p. 406-423, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.10.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045206817302195?via%3Di> hub. Acesso em: 4 jan. 2020.

MANJAL, Sundeep Kaur *et al.* Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 75, p. 406-423, dez. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.10.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045206817302195?via%3Di> hub. Acesso em: 12 jan. 2020.

MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, Iwona; WITKOWSKA, Anna Maria; ZUJKO, Małgorzata Elżbieta. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. **Advances in Medical Sciences**, [s. l.], v. 63, n.1, p. 68–78, mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1896112617300445?via%3Di> hub. Acesso em: 26 jan. 2020.

NEHA, Kumari *et al.* Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 169, p. 687-704, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523419305276>. Acesso em: 7 jan. 2020.

NETTO, Luis E. S.; ANTUNES, Fernando. The roles of peroxiredoxin and thioredoxin in hydrogen peroxide sensing and in signal transduction. **Molecules and Cells**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 65–71, jan. 2016. DOI: <https://doi.org/10.14348/molcells.2016.2349>. Disponível em: <http://www.molcells.org/journal/view.html?doi=10.14348/molcells.2016.2349>. Acesso em: 20 jan. 2020.

NEVES, Adriana M. *et al.* Thiazolidin-4-ones from 3-(aminomethyl)pyridine, arenealdehydes and mercaptoacetic acid: Synthesis and radical scavenger activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 381–388, fev. 2015. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140291>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532015000200381&lng=en&nrm=iso&tlng=en. Acesso em: 12 jan. 2020.

NIEVA-ECHEVARRÍA, Bárbara *et al.* 2,6-Di-*tert*-butyl-hydroxytoluene and its metabolites in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 67–80, jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12121>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12121>. Acesso em: 26 jan. 2020.

NIRWAN, Sonam; CHAHAL, Varun; KAKKAR, Rita. Thiazolidinones: Synthesis, reactivity, and their biological applications. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 1239–1253, abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.3514>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jhet.3514>. Acesso em: 12 jan. 2020.

PANSARE, Dattatraya N. *et al.* One pot three components microwave assisted and conventional synthesis of new 3-(4-chloro-2-hydroxyphenyl)-2-(substituted) thiazolidin-4-one as antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 24, n. 15, p. 3569–3573, ago. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.05.051>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X14005514?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jan. 2020.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 97, p. 55–74, jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415300039?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jan. 2020.

RAMOS-INZA, Sandra *et al.* Thiazole moiety : An interesting scaffold for developing new antitumoral compounds. [Online]: IntechOpen, 2019, p. 1-21. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82741>. Disponível em: <https://www.intechopen.com/online-first/thiazole-moiety-an-interesting-scaffold-for-developing-new-antitumoral-compounds>. Acesso em: 4 jan. 2020.

SAHA, Debasmita; JAIN, Garima; SHARMA, Anuj. Benzothiazepines: Chemistry of a privileged scaffold. **RSC Advances**, [s. l.], v. 5, n. 86, p. 70619–70639, ago. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/c5ra12422k>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/RA/C5RA12422K#!divAbstract>. Acesso em: 16 jan. 2020.

SAINI, Ramakrishna; MALLADI, Srinivas R.; DHARAVATH, Nagaraju. Diversity-oriented one-pot synthesis of novel imidazo [4',5':4,5]benzo[e][1,4]thiazepinones and benzo[d]imidazolyl thiazolidinones through pTSA promoted cyclization and evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory activities. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 7, p. 1579–1588, jul., 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/jhet.3191>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jhet.3191>. Acesso em: 12 jan. 2020.

SANTOS, Jonas da Silva, JONES JR., Joel; SILVA, Flavia M. da. 1,3-Thiazolidin-4-ones: Biological potential, history, synthetic development and green methodologies. **Current Organic Synthesis**, [s. l.], v. 15, n. 8, p. 1109-1123, set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570179415666180919125625>. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/165568/article>. Acesso em: 4 jan. 2020.

SHAHIDI, Fereidoon; AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 18, Part B, p. 820–897, out. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615003023?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jan. 2020.

SHAHIDI, Fereidoon; ZHONG, Ying. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 18, Part B, p. 757–781, out. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615000511?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jan. 2020.

SHI, Feng *et al.* Design and diversity-oriented synthesis of novel 1,4-thiazepan-3-ones fused with bioactive heterocyclic skeletons and evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 743–746, jan. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.09.081>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X11013254?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jan. 2020.

SRIKANTH, A. *et al.* An efficient l-proline catalyzed synthesis of pyrazolo[3,4-e][1,4]thiazepine derivatives and their in vitro cytotoxicity studies. **Medicinal Chemistry Research**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 553–562, fev. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1153-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00044-014-1153-3>. Acesso em: 12 jan. 2020.

TRIPATHI, Avinash C. *et al.* 4-Thiazolidinones: The advances continue... **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 72, p. 52–77, jan. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.11.017>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523413007599?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jan. 2020.

UNANGST, Paul C. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 5-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]oxazoles, -thiazoles, and -imidazoles: Novel dual 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors with antiinflammatory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 322-328, jan. 1994. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm00028a017>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm00028a017>. Acesso em: 26 jan. 2020.

VERMA, Vaijinath A.; SAUNDANE, Anand R. Synthesis of some novel 5-(8-substituted-11*H*-indolo[3,2-*c*]isoquinolin-5-ylthio)-1',3',4'-oxadiazol-2-amines bearing thiazolidinones and azetidinones as potential antimicrobial, antioxidant, antituberculosis, and anticancer agents. **Polycyclic Aromatic Compounds**, [s. l.], p. 1–26, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/10406638.2019.1628782>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10406638.2019.1628782>. Acesso em: 20 jan. 2020.

VITAKU, Edon; SMITH, David T.; NJARDARSON, Jon T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 57, n. 24, p. 10257-10274, set. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm501100b>. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jm501100b>. Acesso em: 4 jan. 2020.

WANG, Yan *et al.* Distribution, transformation and toxicity evaluation of 2,6-di-*tert*-butyl-hydroxytoluene in aquatic environment. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 255, Part 2, n. 113330, dez. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113330>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749119337406?via%3Dihub>. Acesso em: 9 jan. 2020.

YEHYE, Wageeh A. *et al.* Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 101, p. 295-312, ago. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.06.026>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S022352341530101X?via%3Dihub>. Acesso em: 7 jan. 2020.

YEHYE, Wageeh A. *et al.* Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 101, p. 295–312, ago. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.06.026>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S022352341530101X?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jan. 2020.

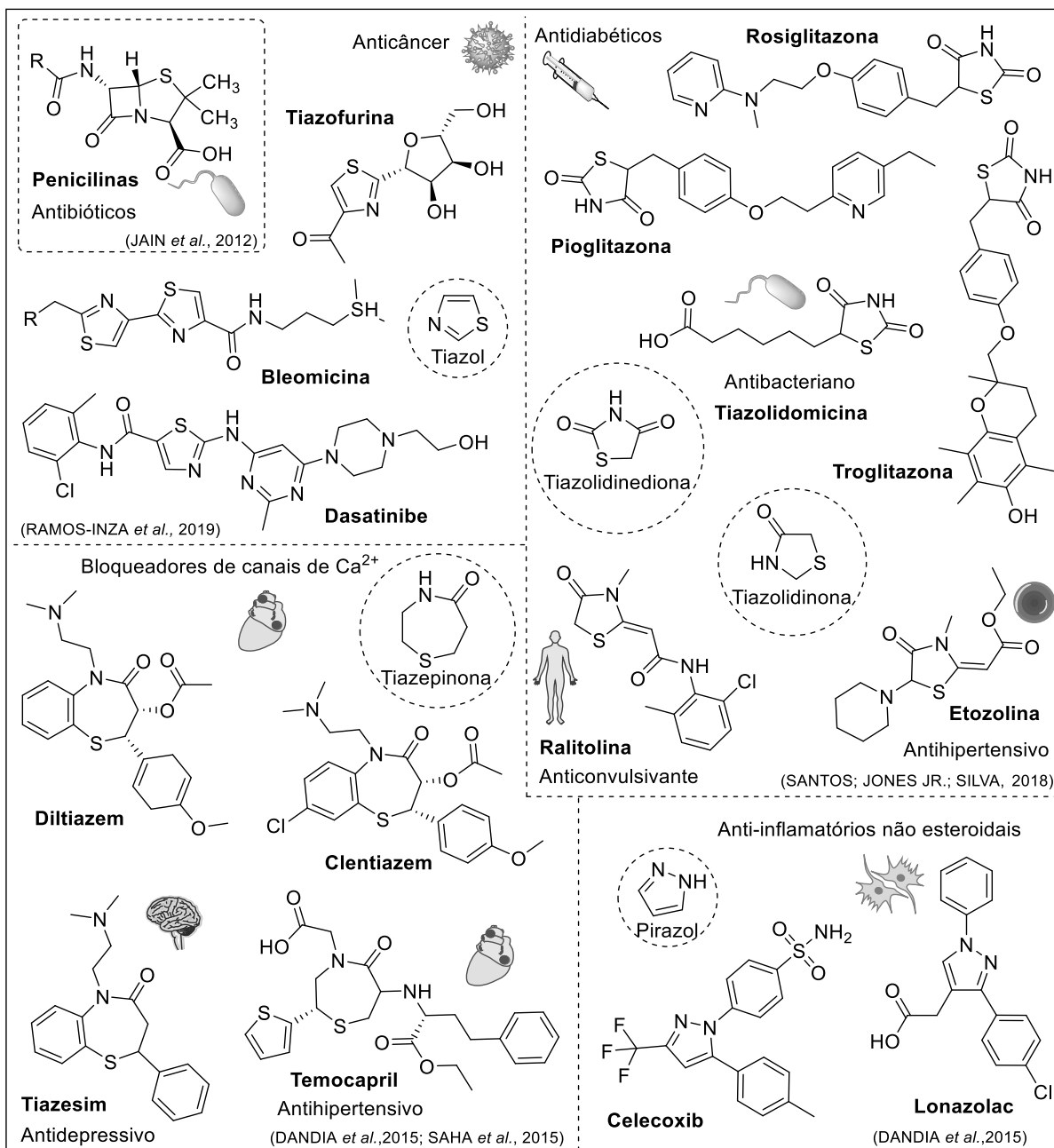
ZHANG, Furen; LI, Chunmei; QI, Chenze. Synthesis of 4,8-dihydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*e*][1,4]thiazepin-7(6*H*)- one derivatives by solid acid-catalyzed multi-component reaction in water. **RSC Advances**, [s. l.], v. 6, n. 105, p. 102924–102930, out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1039/c6ra24310j>. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/RA/C6RA24310J#!divAbstract>. Acesso em: 12 jan. 2020.

ZHANG, Wei. *One-pot Organic Reactions*. In: BALLINI, Roberto (ed.). **Green synthetic processes and procedures**. United Kingdom: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 20-38. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=PTChDwAAQBAJ>. Acesso em: 11 jan. 2020.

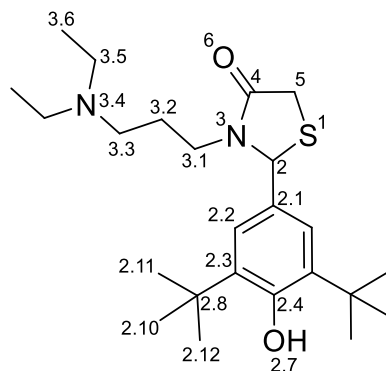
ZHAO, Fuqiang *et al.* Natural sources and bioactivities of 2,4-di-*tert*-butylphenol and its analogs. **Toxins**, [s. l.], v.12, n.1, E35, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12010035>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/1/35>. Acesso em: 9 jan. 2020.

Apêndices

Apêndice A – Fármacos e/ou moléculas bioativas contendo heterociclo de nitrogênio e enxofre.



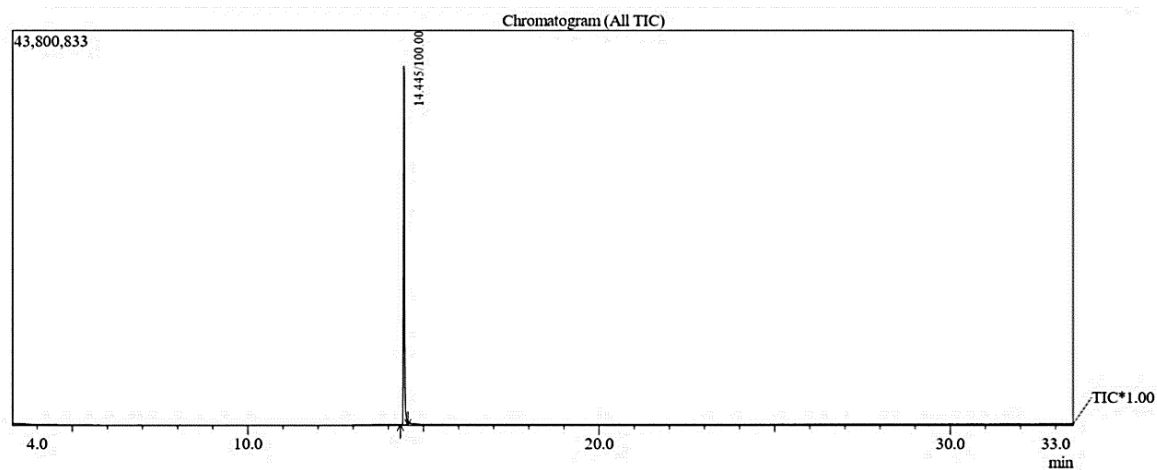
Apêndice B – Molécula de referência para caracterização (4d).



2-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxifenil)-3-(3-(dietilamino)propil)thiazolidin-4-ona (4d)

Massa Molecular: 420,28 g/mol, cristais vermelhos, rendimento: 0,160 (38%), ponto de fusão: 86-88 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}=\text{Hz}$): 7,09 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5,61 (d, 1H, H2, $^4J=1,30$); 5,32 (s, 1H, H2.7); 3,79 (dd, 1H, H5a, $^2J=15,47$; $^4J=1,99$); 3,68 (dd, 1H, H5b, $^2J=15,47$, $^4J=0,87$); 3,54 (ddd, 1H, H3.1a, $^2J=13,71$, $^3J=9,30$, $^3J=6,40$); 2,78 (ddd, 1H, H3.1b, $^2J=14,05$, $^3J=9,05$, $^3J=5,36$); 2,42 (q, 4H, H3.5, H3.7, $^3J=7,17$); 2,38-2,32 (m, 2H, H3.3a,b); 1,74-1,59 (m, 1H, H3.2a); 1,56-1,45 (m, 1H, H3.2b); 1,43 (s, 18H, H2.10-H2.15); 0,94 (t, 6H, H3.6, H3.8, $^3J=7,15$). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171,2 (C4); 154,6 (C2.4); 136,6 (2C, C2.3, C2.5); 129,5 (C2.1); 124,2 (2C, C2.2, C2.6); 64,7 (C2); 50,2 (C3.3); 46,7 (2C, C3.5, C3.7); 41,6 (C3.1); 34,5 (2C, C2.8, C2.9); 33,4 (C5); 30,3 (6C, C2.10-C2.15); 24,5 (C3.2); 11,7 (2C, C3.6, C3.8). EM (70 eV): m/z (%) = 420 (M^+ , 11); 112 (7); 100 (36); 98 (10); 86 (100); 72 (22); 57 (15); 41 (6).



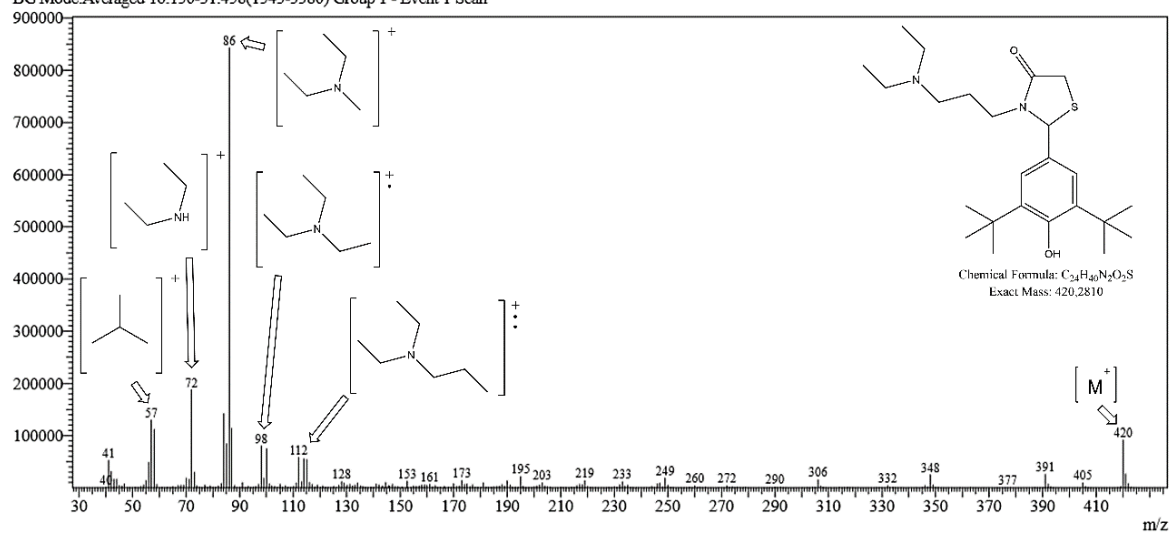
Cromatograma a gás do composto **4d**.

Line#:1 R.Time:14.442(Scan#:1338)

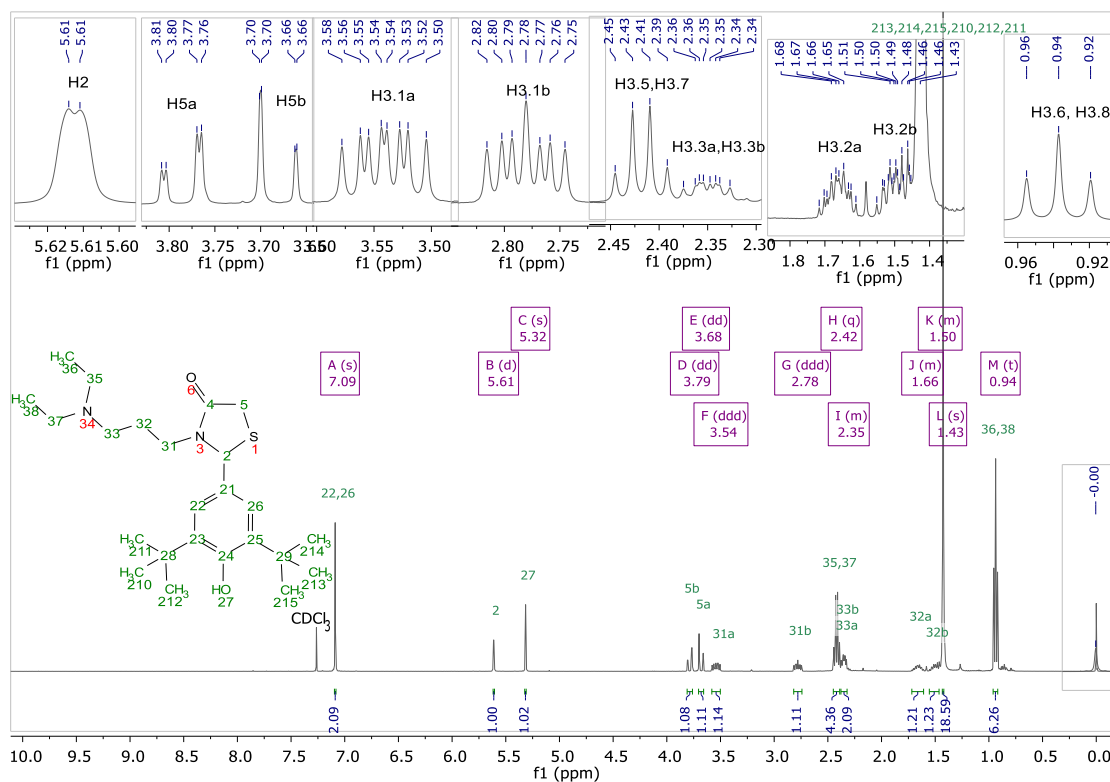
MassPeaks:310

RawMode:Averaged 14.317-14.767(1323-1377) BasePeak:86.10(843218)

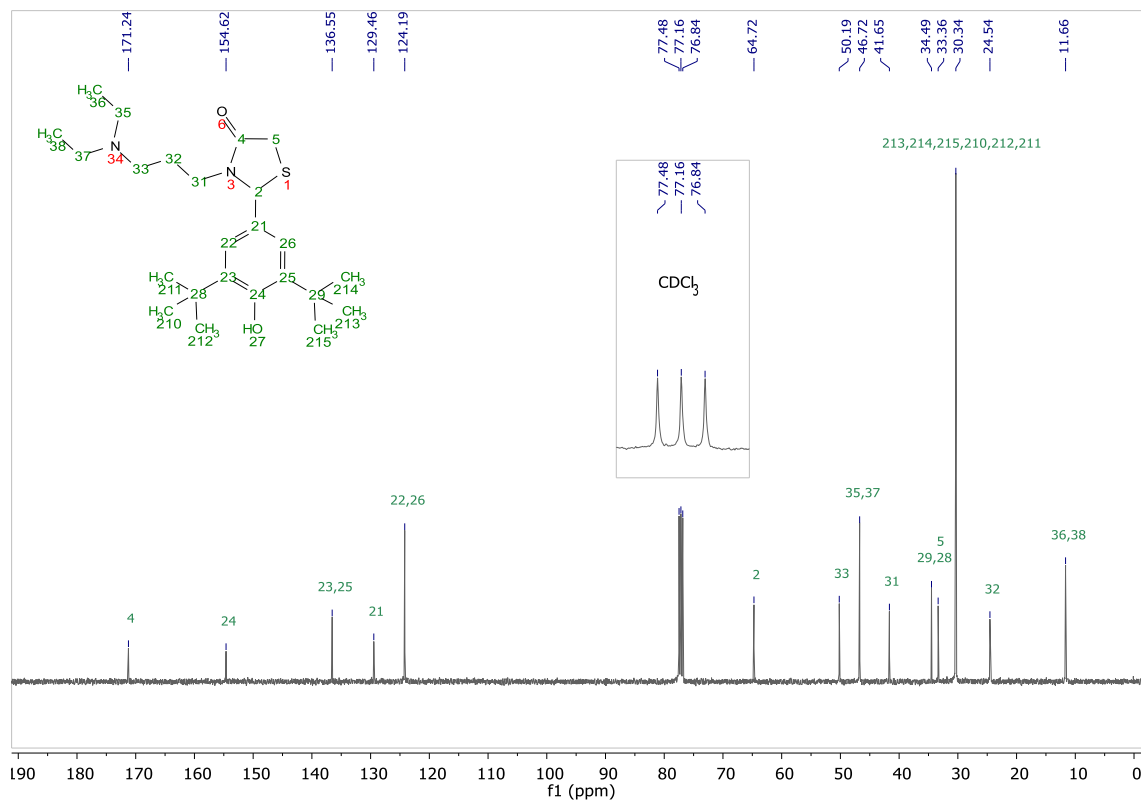
BG Mode:Averaged 16.150-31.458(1543-3380) Group 1 - Event 1 Scan



Espectro de massas do composto **4d**.

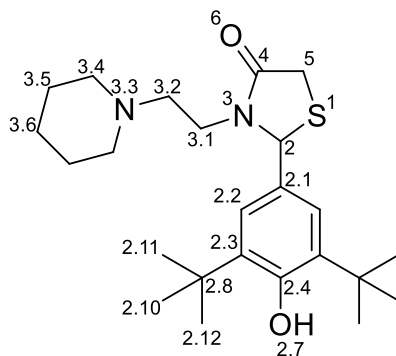


Análise do espectro de RMN de ^1H (400 MHz / CDCl_3) do composto **4d**.



Análise do espectro de RMN de ^{13}C (400 MHz / CDCl_3) do composto **4d**.

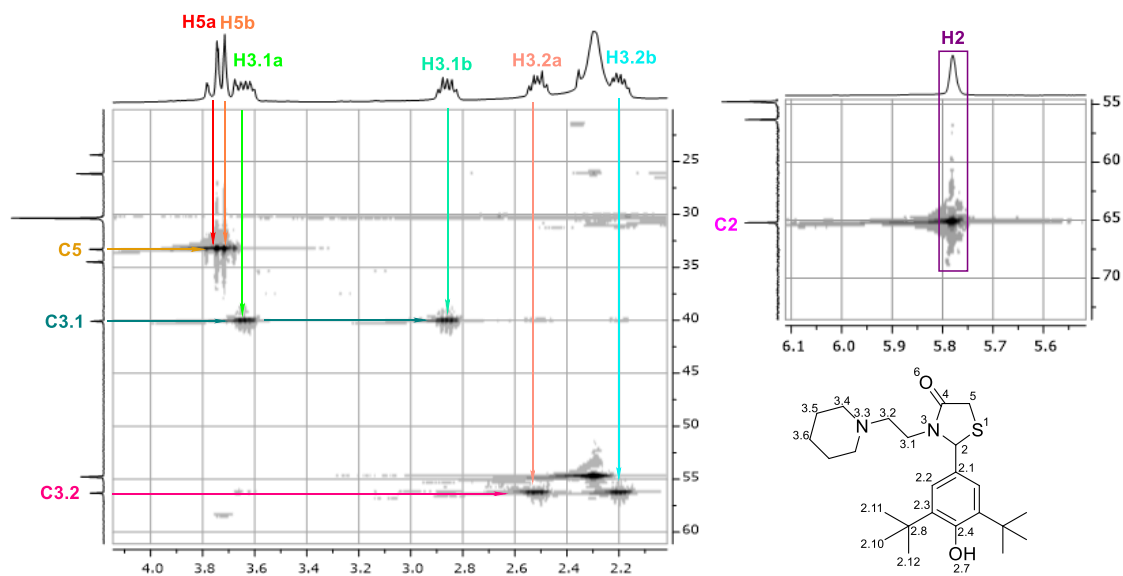
Apêndice C – Molécula de referência para caracterização (4b).



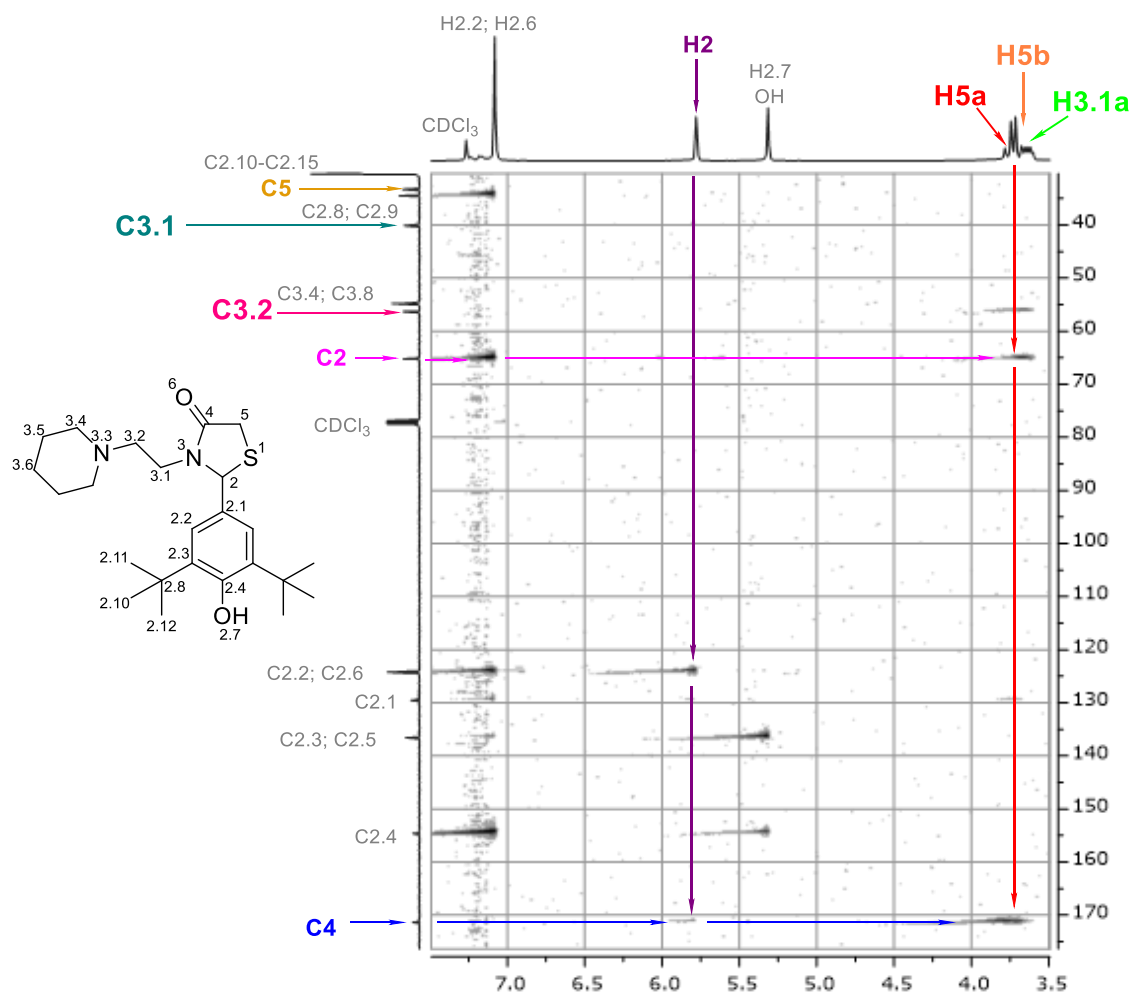
2-(3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxifenil)-3-(2-(piperidin-1-il)etil)thiazolidin-4-ona (4b)

Massa Molecular: 418,26 g/mol, sólido laranja, rendimento: 0,284g (68%), ponto de fusão: 139-142 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm, $J_{\text{H-H}}=\text{Hz}$): 7,08 (s, 2H, H2.2, H2.6); 5,78 (s, 1H, H2); 5,32 (s, 1H, H2.7); 3,76 (dd, 1H, H5a, $^2J=15,47$, $^4J=1,77$); 3,69 (dd, 1H, H5b, $^2J=15,50$, $^4J=0,63$); 3,63 (ddd, 1H, H3.1a, $^2J=13,87$, $^3J=7,40$, $^3J=5,40$); 2,86 (ddd, 1H, H3.1b, $^2J=13,87$, $^3J=7,07$, $^3J=6,93$); 2,51 (ddd, 1H, H3.2a, $^2J=12,68$, $^3J=7,28$, $^3J=5,40$); 2,32-2,24 (m, 4H, H3.4, H3.8); 2,18 (ddd, 1H, H3.1b, $^2J=12,59$, $^3J=6,82$, $^3J=5,29$); 1,53 (p, 4H, H3.5, H3.7, $^3J=5,66$); 1,43 (s, 20H, H2.10-H2.15, H3.6). ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 171,3 (C4); 154,6 (C2.4); 136,6 (2C, C2.3, C2.5); 129,5 (C2.1); 124,2 (2C, C2.2, C2.6); 65,2 (C2); 56,4 (C3.2); 54,8 (2C, C3.4, C3.8); 40,1 (C3.1); 34,5 (2C, C2.8, C2.9); 33,3 (C5); 30,3 (6C, C2.10-C2.15); 26,2 (2C, C3.5, C3.7); 24,4 (C3.6). EM (70 eV): m/z (%) = 418 (M^+ , 1); 98 (100); 84 (14); 70 (5); 57 (10); 41 (9).



Expansão espectral de HMQC do composto **4b**.



Expansão espectral de HMBC do composto **4b**.

Demais arquivos de CG-EM, RMN, DPPH[•] e ABTS^{•+} podem ser encontrados no CD anexado.