

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO 4,5-DIFENIL-1,3,4-TIADIAZÓLIO-2-FENILAMINA E SEUS INTERMEDIÁRIOS

André Pinheiro da Silva, Ana Carla Almeida Gonçalves, Marcelo Moreira Britto.

Instituto de Ciência e Tecnologia – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – 39100-00 – Diamantina - MG

Os compostos mesoiônicos do tipo 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida, que são descritos como agentes antitumorais, podem ser obtidos a partir de uma rota utiliza como reagente de partida arilhidrazinas e possui como intermediário uma aciltiossemicarbazida, que passa por uma ciclodesidratação, gerando o composto de interesse. O objetivo deste trabalho foi a preparação, purificação e caracterização do composto mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólico-2-fenilamina (MESO-1). Na rota utilizada, partiu-se de fenilhidrazina e isotiocianato de fenila, obtendo uma mistura de 1,4-difenil-tiossemicarbazida e de 1,3-difenil-tiossemicarbazida, que ao serem acilados com cloreto de benzoíla resultaram em 1,4-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida (ACIL-TIO-1) e em 1,3-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida. No entanto, na presença de HCl somente ACIL-TIO-1 sofreu reação de ciclodesidratação, produzindo MESO-1. As análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e de FTIR indicaram que é necessário maior controle nas condições da reação, de forma a minimizar a ocorrência de reações paralelas não desejadas. No entanto, ficou evidente que é possível obter o produto desejado sem a contaminação de outros produtos derivados da 1,3-difenil-tiossemicarbazida.

Palavras-chave: Aciltiossemicarbazidas. Compostos Mesoiônicos. 1,3,4-tiadiazólio-2-aminida. 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólico-2-fenilamina.

INTRODUÇÃO

Compostos mesoiônicos são betaínas heterocíclicas iônicas de cinco membros que apresentam características estruturais incomuns, não podendo “ser representados satisfatoriamente por qualquer estrutura covalente ou dipolar, mas apenas como híbridos de estruturas polares e que possuem um sexteto de elétrons” [1]. Segundo Oliveira (1996) [2] os elétrons dos compostos mesoiônicos estão deslocalizados sobre duas regiões do anel separadas apenas por ligações simples. Percebe-se então que os compostos

mesoiônicos não obedecem aos critérios de aromaticidade para sistemas cíclicos planares conjugados. Esses critérios exigem que todos os átomos do anel tenham hibridização sp^2 com um orbital p disponível para sobreposição lateral e que o sistema obedeça à lei de Huckel, tendo assim $(4n + 2)$ elétrons π deslocalizados no anel [1]. Portanto, os mesoiônicos não podem ser classificados como aromáticos, apesar de serem estabilizados pela deslocalização de elétrons.

Devido sua estrutura apresentar regiões polares bem definidas e possuir um sistema poliheteroatômico, os compostos mesoiônicos são

capazes de interagirem com biomoléculas, tais como DNA e proteínas [3]. Apesar de internamente os compostos serem carregados, no global eles são neutros eletricamente, o que lhes confere a capacidade de serem lipossolúveis e solúveis em solventes apolares, permitindo a sua passagem por membranas lipídicas de organismos vivos. Além disso, os anéis dos compostos são relativamente pequenos, cerca de 17 Å, e planares, o que elimina problemas conformacionais e aumenta a aproximação dos átomos do anel à superfície dos receptores [4].

Os compostos mesoiônicos da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas veem sendo estudados e têm demonstrado bons resultados como agentes terapêuticos, inclusive no tratamento da leishmaniose [5] e da doença de Chagas [6]. Estudos também tem revelado resultados positivos para alguns derivados 1,3,4-tiadiazólio-2-aminidas como agentes antibacterianos frente ao *Bacillus cereus*, ao *Staphylococcus aureus* e ao *Staphylococcus epidermidis* [7]. Porém, o maior destaque certamente é para o uso dos compostos dessa classe como agente antitumoral, como tem mostrado os estudos de Grinberg (1997) [8] e de Senf-Ribeiro (2004) [9], que revelaram que esses derivados têm significativa atividade tumoral contra carcinoma de Ehrlich, Sarcoma 180 e melanoma.

DETALHES EXPERIMENTAIS

A rota de síntese empregada nos experimentos é apresentada na figura 1, e explicita cada etapa utilizada para síntese do composto mesoiônico de interesse.

Síntese da 1,4-difeniltiossemicarbazida (TIO-1): Foram adicionados lentamente 2,2 mL de isotiocianato de fenila a uma solução de 1,8 mL de fenilhidrazina e 30 mL de etanol à temperatura ambiente, mantendo o sistema sob agitação até a formação do sólido. Em seguida foram adicionados mais 10 mL de etanol para diluição,

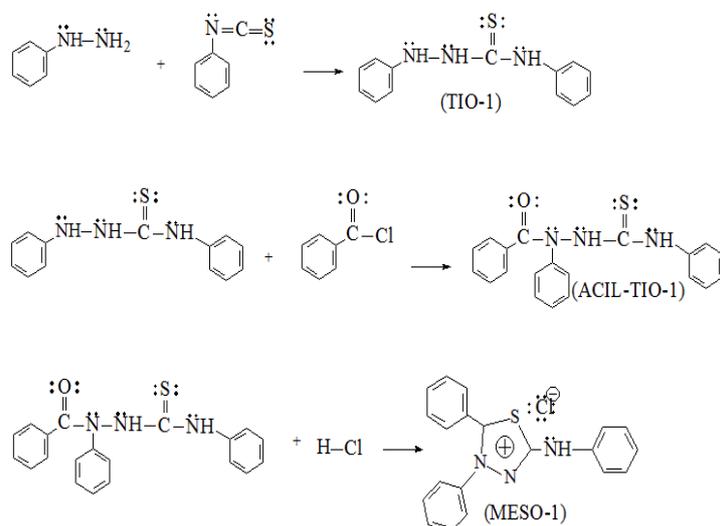


Figura 1: Rota de síntese do 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina.

devido à grande quantidade de sólido precipitado. O sólido foi filtrado e lavado com etanol, para então ser recristalizado. Na recristalização, foram utilizados 30 mL de álcool. Por fim, os cristais formados foram filtrados e lavados com álcool etílico gelado e secos na estufa a 60°C. Após secagem, obteve-se 1,517 gramas, rendimento de 33,78%, de um sólido cristalino branco acinzentado, do qual uma amostra foi submetida à análise de IR e RMN de ^1H e ^{13}C .

Síntese do cloreto de benzoíla: Para síntese do cloreto de benzoíla foram adicionados 15 mL de cloreto de tionila a 8,8 gramas de ácido benzóico em um sistema com refluxo e agitação, deixando reagir por uma hora e trinta minutos. Nos quinze primeiros minutos a reação foi submetida a aquecimento para que houvesse total dissolução do ácido benzóico. Ao final, com o intuito de se retirar o excesso de cloreto de tionila (ponto de ebulição 70°C) foi feita uma destilação simples do líquido obtido (PE: 186°C). Obteve-se ao final 4,9 mL de cloreto de tionila (rendimento de 60,94%).

Obtenção da 1,4-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida (ACIL-TIO-1): Foram preparadas duas soluções, uma contendo 1g da tiossemicarbazida em 20 mL de 1,4-dioxano, e a outra contendo 0,6g do cloreto de benzoíla em 20 mL de 1,4-dioxano. As duas soluções foram misturadas, mantidas sob agitação por uma hora e

posteriormente deixada sob repouso. A precipitação do sólido esperado somente ocorreu uma semana após a realização do experimento. Por fim, foi feita a filtração do sólido amarelo obtido e a solução vermelha escura resultante foi armazenada.

Obtenção da 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MESO-1): Um funil de separação contendo ácido sulfúrico concentrado foi acoplado a um balão de fundo chato contendo NaCl comercial. O ácido sulfúrico foi adicionado lentamente e o HCl liberado da reação foi borbulhado na solução restante do experimento 2, até o fim da reação do ácido com o sal. A solução foi deixada em repouso para que houvesse precipitação.

Espectros das amostras: O espectro de infravermelho foi feito com amostra na forma de pastilha misturadas com KBr. Para as análises de Ressonância Magnética Nuclear usou-se como solvente clorofórmio deuterado, temperatura de 300 K e como padrão de referência interna o tetrametil-silano (TMS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na reação entre o isotiocianato de fenila e a fenilhidrazina, esperava-se a formação apenas da 1,4-difenil-tiossemicarbazida, uma vez que os átomos de nitrogênio na estrutura da fenilhidrazina possuem um caráter nucleofílico diferenciado. O nitrogênio não substituído apresenta um caráter nucleofílico mais acentuado, já o nitrogênio substituído é menos nucleofílico, devido ao par de elétrons não ligante do mesmo estar comprometido com anel fenílico através do efeito de ressonância. A reação foi conduzida à temperatura ambiente e a formação de um precipitado ocorreu quase que instantaneamente, 35 segundos após a adição do isotiocianato de fenila sobre a fenilhidrazina. Entretanto, dois produtos se formaram devido ao ataque

indiscriminado de ambos os nitrogênios nucleofílicos ao carbono eletrofílico do isotiocianato de fenila. Houve formação de tanto de 1,4-difeniltiossemicarbazida (TIO-1) (figura 2), resultado do ataque do nitrogênio mais nucleofílico, quanto de 1,3-difeniltiossemicarbazida (TIO-2) (figura 3), resultado do ataque do nitrogênio menos nucleofílico. Este resultado pôde ser confirmado pelos espectros de RMN de ^{13}C de ^{13}C - DEPT135, nos quais uma maior quantidade de sinais foi registrada, o dobro dos sinais de ressonância esperados. Desta forma, o controle da temperatura do processo se faz necessário para a obtenção do composto desejado, no caso a 1,4-difeniltiossemicarbazida.

Quando a reação foi executada à temperatura próxima de zero graus a velocidade da reação sofreu uma redução, completando-se 58 segundos após a adição dos reagentes. Mesmo com essa alteração no procedimento foi obtida uma mistura de tiossemicarbazidas. Isto sugere que uma maior redução da temperatura se faz necessária para a obtenção de apenas da 1,4-difenil-tiossemicarbazida (TIO-1). A medida do ponto de fusão da amostra também pôde ser usada como um indicativo da formação de dois compostos, uma vez que dois intervalos de fusão foram observados: 118-126°C e 166-174°C. A mistura de compostos TIO-1 e TIO-2 obtida no experimento torna difícil a atribuição dos sinais relativos a cada um dos carbonos (tabela 1), visto que não estão disponibilizados espectros de RMN em que se utilizam técnicas mais apuradas para a atribuição dos sinais.

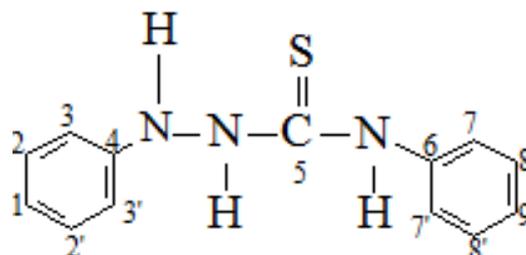


Figura 2: Estrutura da 1,4-difenil-tiossemicarbazida (TIO-1) com atribuições.

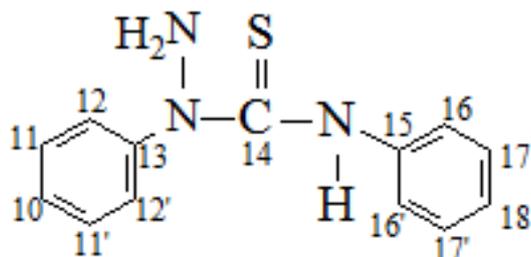


Figura 3: Estrutura da 1,3-difenil-tiossemicarbazida (TIO-2) com atribuições.

O espectro de RMN de ^1H para a mistura TIO-1 (figura 4) e TIO-2 (figura 5) torna ainda mais complicada a atribuição dos sinais (tabela 2). Uma vez que os compostos TIO-1 e TIO-2 obtidos foram formados em quantidades diferentes e não se sabe qual proporção relativa destes compostos na amostra, é difícil fazer a integração destes sinais. É claro no espectro o aparecimento dos sinais relativos aos hidrogênios aromáticos, bem como dos hidrogênios de NH e NH_2 , mas os valores da integração dos mesmos não são coerentes com o número de hidrogênios presentes na estrutura dos compostos.

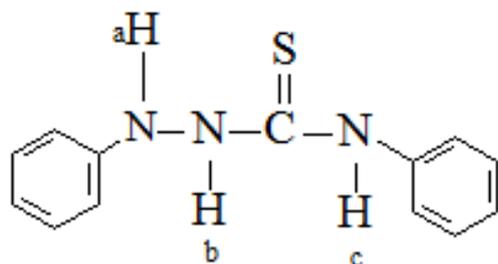


Figura 4: Estrutura da TIO-1 com atribuição nos hidrogênios.

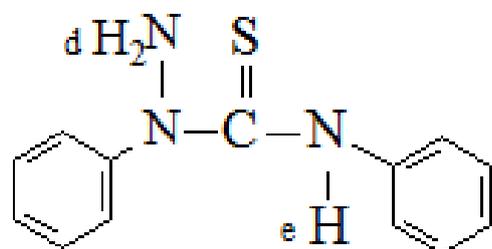


Figura 5 - Estrutura da TIO-2 com atribuições nos hidrogênios.

Para o espectro de infravermelho da mistura TIO-1 e TIO-2 observa-se duas bandas de deformação axial de média absorção características de tio-carbonilas. Uma delas em 1208 cm^{-1} , supostamente devida à 1,4-difenil-tiossemicarbazida, e em 1272 cm^{-1} , supostamente devida à 1,3-difenil-tiossemicarbazida. Observam-se bandas de absorção de média intensidade devido à deformação axial de ligação carbono-carbono de anel aromático em 1444, 1496 e 1596 cm^{-1} . Há presença também de bandas de média intensidade devido à deformação axial de ligação NH em 3284, 3214 e 3184 cm^{-1} .

Observa-se que a reação envolvendo a mistura de compostos TIO-1 e TIO-2, quando submetida a uma acilação, uma mistura de aciltiossemicarbazidas, 1,4-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida (ACIL-TIO-1) e 1,3-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida (ACIL-TIO-2), pode ter sido obtida. Contudo apenas uma delas, a (ACIL-TIO-1), pode ter sofrido ciclodesidratação (figura 6), gerando o composto mesoiônico tiadiazólico de interesse. Esta hipótese pode ser sustentada pelos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C que mostram a formação de apenas um único produto, certamente o composto MESO-1.

Provavelmente a ciclodesidratação de 1,3-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida (ACIL-TIO-2) não ocorreu devido à redução significativa do caráter nucleofílico do enxofre da tio-carbonila, resultando em um ataque pouco efetivo do mesmo à carbonila (figura 7). A redução do caráter nucleofílico do enxofre deve-se à presença do anel fenílico ligado ao nitrogênio 3 que compromete o par de elétrons do nitrogênio com a ressonância do anel aromático reduzindo como consequência o poder nucleofílico do enxofre.

As atribuições de hidrogênio (figura 8) para o composto mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MESO-1) apresenta-se coerente com a estrutura proposta, tendo o hidrogênio do grupo fenilamina bastante desblindado em $12,802\ \delta$ e os hidrogênios aromáticos dos três grupos fenila entre $6,943\text{-}7,760\ \delta$ (tabela 3).

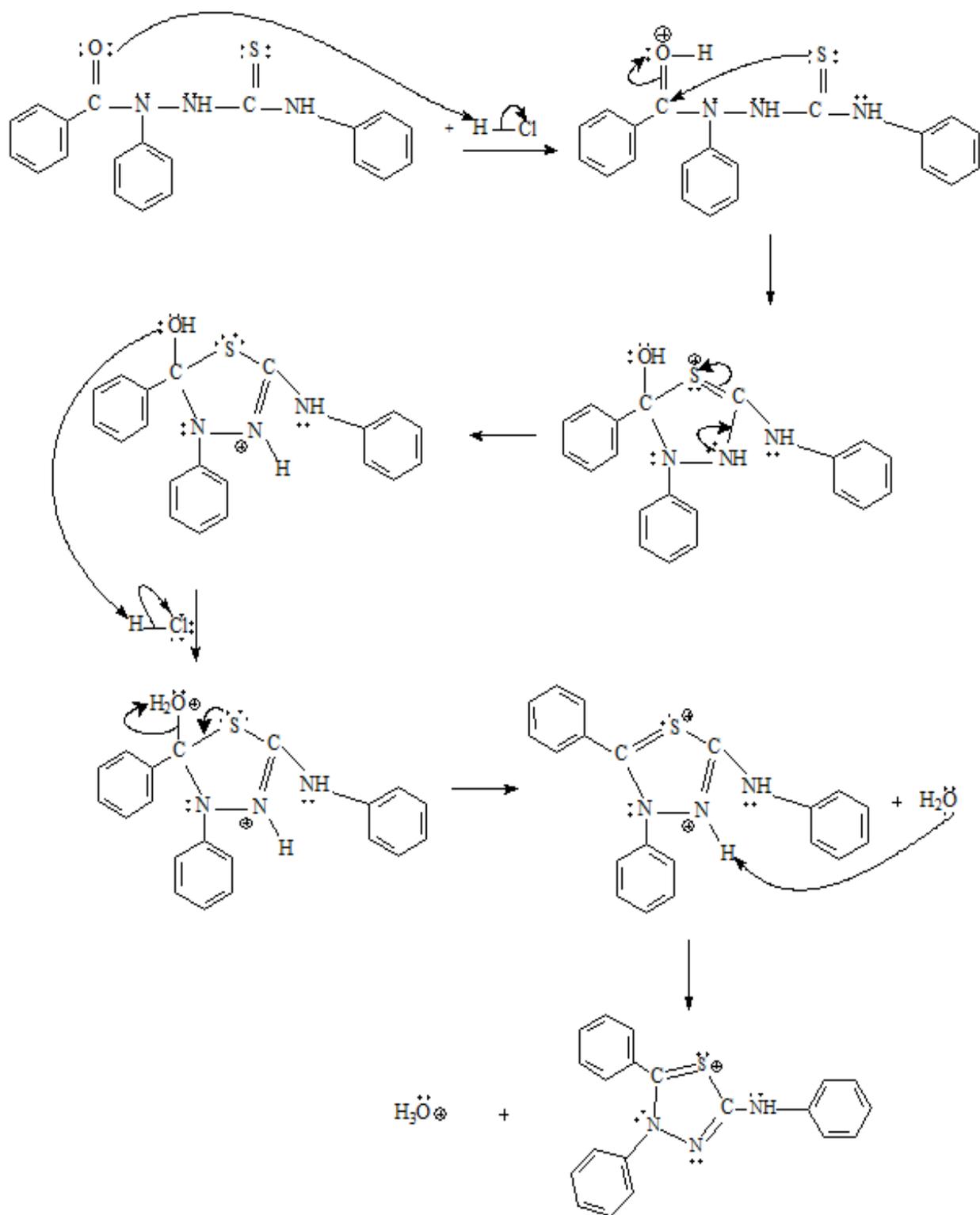


Figura 6: Mecanismo da ciclodesidratação da ACIL-TIO-1

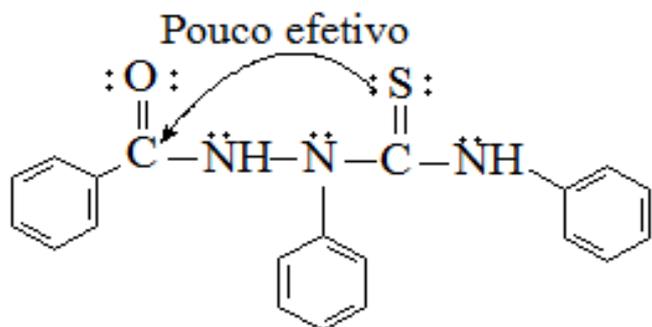


Figura 7: Redução do poder nucleofílico do enxofre de 1,3-difenil-4-benzoil-tiossemicarbazida.

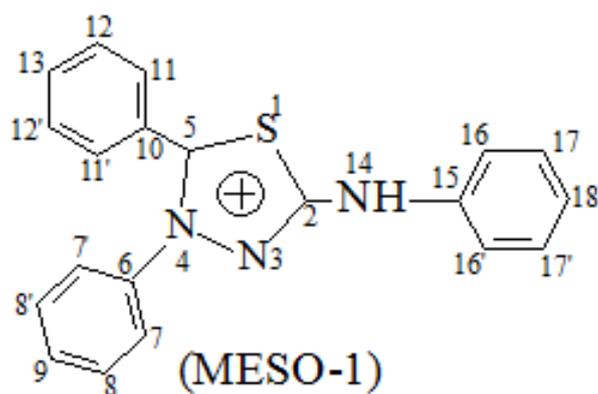


Figura 9: Estrutura do MESO-1 com atribuições de carbono.

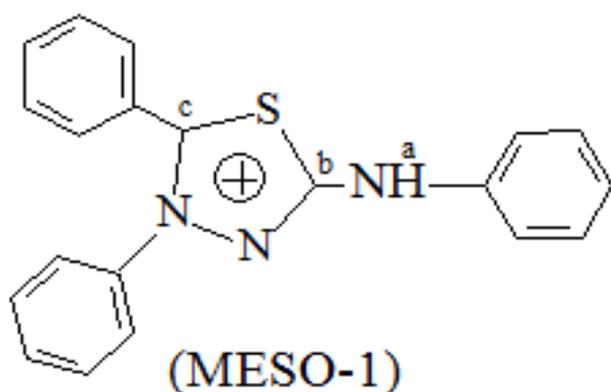


Figura 8: Estrutura do composto mesoiônico MESO-1 com atribuições de hidrogênio.

As atribuições (tabela 4) de carbono para o composto 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (MESO-1) (figura 9) apresentam-se em perfeita concordância com a estrutura proposta. Foram obtidos 14 sinais para os carbonos da amostra, sendo dois devidos aos carbonos pertencentes ao anel mesoiônico tiadiazólico, sendo os sinais em 160,408 e 162,565 δ relativos aos carbonos 2 e 5 respectivamente. Os demais sinais são relativos aos carbonos dos anéis fenílicos. Sendo: 122,980 δ 137,521 δ e 138,156 δ relativos aos carbonos 10, 15 e 6 respectivamente.

Tabela 1 – Atribuições em RMN ^{13}C para os compostos TIO-1 e TIO-2.

Atribuição	δ
C – 1	
C – 2, 2'	
C – 3, 3'	
C – 4	144,27
C – 5	180,42
C – 6	137,29
C – 7, 7'	
C – 8, 8'	
C – 9	
C – 10	
C – 11, 11'	
C – 12, 12'	
C – 13	
C – 14	181,06
C – 15	138,41
C – 16, 16'	
C – 17, 17'	
C – 18	

Tabela 2 – Atribuições em RMN de ^1H para os compostos TIO-1 e TIO-2.

Atribuição	δ
H – a	9,221
H – b	8,943
H – d	4,258
H – Ar	6,845-7,841

Tabela 3- Atribuições em RMN de ^1H para composto mesoiônico MESO-1.

Atribuição	δ
H – a	12,802
H – b	7,739
H – c	7,760
H – Ar	6,943 – 7,636

Tabela 4 – Atribuições em RMN ^{13}C para o composto mesoiônico MESO-1.

Atribuição	δ
C – 2	160,408
C – 5	162,565
C – 6	138,156
C – 10	122,980
C – 15	137,521

CONCLUSÕES

Seguindo a rota descrita, o composto mesoiônico 4,5-difenil-1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina é obtido sem a contaminação de outros produtos derivados da 1,3-difenil-tiossemicarbazida, que se forma juntamente com a 1,4-difeniltiossemicarbazida. Contudo, a formação da 1,3-difeniltiossemicarbazida conduz a um menor rendimento no composto desejado, de modo que um ajuste nas condições da reação se faz necessário de modo a minimizar a formação do composto indesejado. Um dos fatores que podem minimizar a formação da 1,3-difeniltiossemicarbazida seria uma redução significativa da temperatura abaixo de zero graus, uma vez que mesmo a zero graus uma mistura dos isômeros da tiossemicarbazida ainda é obtida.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Química da UFMG pelas análises espectrométricas realizadas e ao Departamento de Química da UFVJM pelo apoio oferecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] BADAMI, B. V. Mesoionic Compounds – An Unconventional Class of Aromatic Heterocycles. *Resonance*, p. 40-48, (2006).

[2] OLIVEIRA, M. B.; MILLER, J.; PEREIRA, A. B.; GALEMBECK, S. E.; MOURA, G. L. C.; SIMAS, A. M. Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements, n. **108**, p. 75, (1996).

[3] CARDOSO, J. C.; CADENA, S. M. S. C.; ZAMPRONIO, A.; ARRUDA, A. M. S.; CARNIERI, E. G. S.; ECHEVARRIA, A.; CONSTANTIN, J.; BRACHT, A.; OLIVEIRA, M. B. M. Effects of a New 1,3,4-Thiadiazolium Mesoionic Compound, MI-D, on the Acute Inflammatory Response. Wiley-Liss, Inc, (2004). Disponível em: <

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ddr.10354/full> >. Acesso em: 12 set. 2011.

[4] DUARTE, H. C. Síntese de novos composto mesoiônicos com atividade biológica potencial. Campinas: UNICAMP, 1979. 152 p. Dissertação de mestrado – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, (1979).

[5] FERREIRA, W. S.; DE LIMA, L. F.; SARAIVA, V. B.; SILVA, F. A.; PREVIATO, L. M.; PREVIATO, J. O.; ECHEVARRIA, A.; DE LIMA, M. E. F. Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: chemical and biological studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 16, p. 2984-2991, 2008.

[6] RODRIGUES, R. F.; DA SILVA, E. F.; ECHEVARRIA, A.; BONIN, R. F.; AMARAL, V. F.; LEON, L. L.; CAVALHEIRO, M. M. C. A comparative study of mesoionic compounds in *Leishmania sp.* And toxicity evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 42, p. 1039-1043, (2007).

[7] MONTANARI, C. A.; DO AMARAL, A. T.; GIESBRECHT, A. M. Synthesis and Antibacterial Activity of Some New 1,3,4-Thiadiazolium-2-aminide Derivatives. *Pharmacy and Pharmacology Communications*, v. 3, p. 565–568, (1997).

[8] GRINBERG, N.; SANTOS, A. C.; ECHEVARRIA, A. Synthesis and *in vivo* antitumor activity of new heterocyclic derivates of the 1,3,4-thiadiazolium-2-aminide class. *Anti-Cancer Drugs*, v. 8, n. 1, p. 88-91, (1997).

[9] SENFF-RIBEIRO, A.; ECHEVARRIA, A.; SILVA, E. F.; FRANCO, C. R. C.; VEIGA, S. S.; OLIVEIRA, M. B. M. Cytotoxic effect of a new 1,3,4-thiadiazolium mesoionic compound (MI-D) on cell lines of human melanoma. *British Journal of Cancer*, v. 91, p. 297-304, (2004).