

Sínteses de novas tioureias e tiossemicarbazidas derivadas de R-(+)-limoneno e α -aminoácidos

Vinícius Sampaio Morandin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Prof. Dra. Silvana Maria de Oliveira (Orientador). E-mail: smoliveira@uem.br
Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas – Departamento de Química, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Química Orgânica / Síntese Orgânica

Palavras-chave: Limoneno, tioureias, tiossemicarbazidas.

RESUMO

Tiossemicarbazidas e tioureias são compostos sintéticos nitrogenados que apresentam inúmeras propriedades biológicas. As atividades antimicrobiana, antiviral, antifúngica e antimalárica tem despertado o interesse da indústria farmacêutica, mas a atividade mais estudada atualmente tem sido a antitumoral. Este trabalho aborda a síntese de novas tioureias e tiossemicarbazidas provindas do monoterpene *R*-(+)-limoneno e dos aminoácidos fenilalanina e tirosina. Primeiramente foram realizadas as preparações dos amino-ésteres butílicos e metílicos da fenilalanina e da tirosina. As reações foram realizadas via esterificação de Fischer, visando uma metodologia verde, e pela metodologia via cloreto de acila. A preparação dos derivados *N*-*p*-toluenossulfonatos dos aminoácidos, precursores para as sínteses das aciltiossemicarbazidas, levou aos produtos da tirosina e da fenilalanina com 89% e 79%, respectivamente. A síntese do isotiocianoterpene do *R*-(+)-limoneno (66%), outro precursor da síntese de tioureias, foi realizada a partir de uma reação de adição à dupla exocíclica do monoterpene com ácido tiocianico. Os precursores foram obtidos com bons rendimentos e identificados através de análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear.

INTRODUÇÃO

Nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo uma série de novas tioureias, tiossemicarbazidas e tiossemicarbazonas, utilizando terpenos como matéria prima de origem natural, o limoneno, o canfeno e o bisabolol. O interesse pela utilização desses terpenos deve-se ao fato de possuírem diversas propriedades farmacológicas, bem como a presença de um centro estereogênico, comum em muitos fármacos, além de serem obtidos com um baixo custo. Semelhantes a estes terpenos naturais há os aminoácidos, uma classe de substâncias amplamente utilizadas na química medicinal. Seu interesse vem de sua utilização como precursores da biossíntese de vários antibióticos, além de desempenharem um papel importante como grupos selecionadores e transportadores de fármacos.

Em trabalho anterior de nosso grupo de pesquisa (Galuch, 2014) foram realizadas as sínteses de uma série de tioureias e aciltiossemicarbazidas derivadas do isotiocianato do *S*-(-)-limoneno, com a incorporação de α -aminoácidos *L*-alanina, *L*-leucina, *L*-isoleucina, *L*-tirosina, *L*-valina. Estas novas moléculas foram avaliadas em ensaios de atividade antiproliferativa contra linhagens de células tumorais e atividade antimicrobiana e mostraram bons resultados e ainda baixa toxicidade para

as células normais humanas. Na continuidade destes estudos, neste trabalho realizamos as sínteses dos precursores necessários à síntese de tioureias e tiossemicarbazidas derivadas do enantiômero *R* do limoneno com a intenção de comparar as atividades farmacológicas bem como a seletividade desses compostos com seus análogos já sintetizados. As tioureias sintetizadas estão em fase de identificação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esterificação de Fischer da L-fenilalanina e L-tirosina com metanol ou butanol: Foram adicionados 0,100 g (6 mmol) de L-fenilalanina ou L-tirosina em um balão de 100 mL e em seguida adicionados 12 mL (29,5 mmol) de metanol ou butanol seco e 2 mL (18 mmol) de HCl e colocados em refluxo em manta por 1 a 4 horas à 90°C. As reações foram acompanhadas por cromatografia de camada delgada eluída em clorofórmio/metanol CHCl₃/MeOH 1:1 com gotas hidróxido de amônio (NH₄OH). Por fim, foram retirados do aquecimento, neutralizados com uma solução de 5% de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). e extraídos em funil de separação com acetato de etila (AcOEt).

Esterificação da L-fenilalanina e L-tirosina com metanol ou butanol e cloreto de tionila (SOCl₂): Em um balão de 100 mL, foram adicionados 0,100 g (6 mmol) de L-fenilalanina ou L-tirosina, 10 mL de metanol ou butanol secos e 1 mL (0,237 mmol) de SOCl₂. O último, adicionado lentamente em banho de gelo, sendo a reação mantida em refluxo de 1 a 3 horas à 80 °C. As reações foram acompanhadas com cromatografia em camada delgada (CCD), eluída em Hex:AcOEt - 2:8 com gotas de NH₄OH.

Síntese do isotiocianoterpeno do R-(+)-limoneno: De acordo com Silva (1993) e Oliveira (2001), 21,4 g de tiocianato de potássio (KSCN - 0,220 mol) e 30,0 g de bissulfato de potássio (KHSO₄ - 0,220 mol) foram triturados por 5 minutos com auxílio de almofariz e pistilo. Foram adicionadas porções de CHCl₃ (50 mL) durante a maceração e as suspensões filtradas sobre algodão e recolhidas em balão contendo 6,00 g (0,044 mol) de R-(+)-limoneno. A reação foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente na ausência de luz, por um período de 24-48 h e acompanhada por CCD eluída com hexano. O meio reacional tratado com solução 5% de NaHCO₃. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), evaporada e purificada por CC eluída com hexano para a purificação dos isotiocianoterpenos.

Síntese dos N-p-toluenossulfonatos de L-fenilalanina ou L-tirosina: Foram adicionados em um balão de fundo chato de 250 mL, 0,200 g (12 mmol) de L-fenilalanina ou L-tirosina e adicionados 100 mL de água destilada, adicionados 2,736 g (14,4 mmol) de cloreto de tosila (TsCl) e 0,48 g (12 mmol) de NaOH. O sistema foi mantido em refluxo por 6 h à 60 °C, sendo neutralizado com HCl até o pH 1, após o processamento da reação. O meio reacional foi resfriado em banho de gelo que houvesse a precipitação e depois foi filtrado à vácuo.

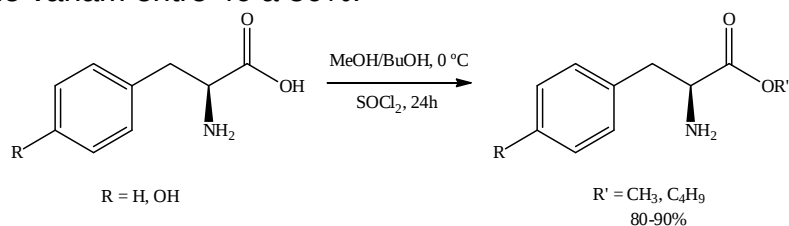
Síntese de tioureias a partir do isotiocianoterpeno do R-(+)-limoneno e de amino-ésteres: Para a preparação das tioureias foi empregada a metodologia desenvolvida por Galuch (2014), onde 6 mmol de isotiocianoterpeno (0,195 g) e 6 mmol de amino-éster foram solubilizados com dimetilsulfóxido (DMSO) em balão reacional. A reação foi realizada sob agitação à 70 °C e acompanhada por CCD, por aproximadamente 4h ou até se verificar sinais de decomposição. Após a reação, suspendeu-se a reação em H₂O/CHCl₃ e a fase orgânica foi separada e evaporada. A tioureia obtida foi purificada através de coluna cromatográfica em gel de sílica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na preparação do isotiocianoterpeno, observa-se que a dupla exocíclica do limoneno reage como nucleófilo em uma adição eletrofílica atacando o próton do ácido tiociânico. Como a reação é conduzida em solvente clorofórmico (pouco polar e aprótico), a reação ocorre via par iônico íntimo (Silva, 1993), gerando o tiocianato (produto cinético) após ataque do grupo tiocianato ao carbocátion terciário formado. Após a formação desse do tiocianato terciário, este sofre isomerização para isotiocianato devido ao meio reacional – presença de um ácido de Lewis e à temperatura ambiente, via par iônico íntimo. Com isso, foi obtido o isotiocianoterpeno como produto majoritário (66%) e o tiocianoterpeno em menor quantidade (34%) (esquema 1).

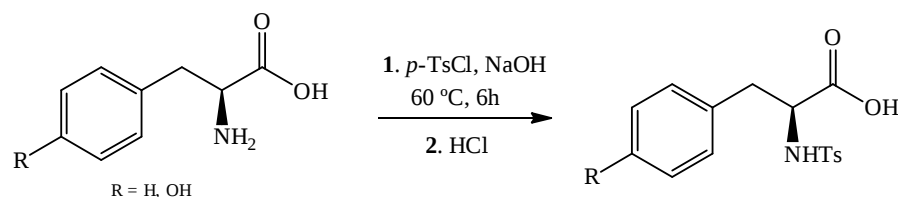
Esquema 01 – Adição de isotiocianato ao R-(+)-limoneno

A obtenção de ésteres de aminoácidos é sinteticamente viável como protetor do grupo carboxila na reação na produção das tioureias. Além disso, busca-se uma diminuição na polaridade desses compostos, facilitando assim suas solubilidades nos solventes utilizados nas reações com o isotiocianoterpeno. Com esta finalidade foram preparados os ésteres metílicos e butílicos dos aminoácidos fenilalanina e tirosina. As reações de esterificação foram testadas pela metodologia de Fisher, buscando a simplicidade e redução de resíduos poluentes, e pela ativação como SOCl₂. Porém a segunda metodologia foi mais efetiva com melhores rendimentos. Nesta reação, o SOCl₂ é usado para ativação da carboxila. Após a formação do cloreto de acila intermediário, o álcool age como nucleófilo, adicionando à carboxila. Os rendimentos dessas reações variam entre 80 e 90%, ao contrário das anteriores, via Fischer, que variam entre 40 a 50%.



Esquema 02 – Esterificação da fenilalanina e tirosina via cloreto de acila.

Para a síntese das aciltiossemicarbazidas é necessário a proteção do grupo amina dos aminoácidos, sendo assim foi realizada a preparação do *N-p*-toluenossulfonatos dos mesmos (Esquema 03). Esses precursores foram preparados a partir de cloreto de tosila (TsCl) em meio básico. Os produtos da tirosina e da fenilalanina, foram obtidos com 89% e 79%, respectivamente.



Esquema 03 – *p*-toluenossulfonação da fenilalanina e tirosina com cloreto de tosila.

As reações dos precursores derivados dos aminoácidos e de preparo do isotiocianoterpeno ocorreram conforme previsto. Por outro lado, as tioureias preparadas estão em fase de purificação. Esta reação ocorre via adição nucleofílica do grupo -NH₂ do amino-éster ao carbono do grupo isotiocianato. Através de CCD foi possível observar a presença de produto, porém, até o momento, este não foi obtido puro para posterior caracterização. Muitos fatores podem estar interferindo nessa etapa de síntese levando a um baixo rendimento, a complexação da tioureia com a sílica da coluna cromatográfica ou a degradação dos reagentes antes ou durante a reação (mesmo acondicionando-os corretamente). Cada uma dessas possibilidades tem sido analisadas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a fundação Araucária pelo apoio no projeto, a professora Silvana pela oportunidade, ao Matheus e minha família pelo apoio.

REFERÊNCIAS

GALUCH, J. E. **Síntese e atividades antitumoral e antimicrobiana de novas tioureias e aciltiossemicarbazidas derivadas do S-(-)-limoneno e alfa-aminoácidos**. 2014. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá.

OLIVEIRA, C. M.; SILVA, C. C.; COLLINS, C. H.; MARSAIOLI, A. J.; Controlling Factors Determining the Selective HSCN Addition to Double Bonds and Their Application to the Synthesis of 7-Isothiocyano-7,8--Dihydro-Bisabolene. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 12, No. 5, 661-666, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000500009>. Acesso em 28 Agosto 2023

SILVA, C.C.; ALMAGRO, V.; MARSAIOLI, A. J.; A direct route to terpene isothiocyanates. **Tetrahedron Letters**, v. 34, n. 42, p. 6717-6720, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61683-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61683-0). Acesso em 23 agosto de 2023