



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AGROINDUSTRIAL

DISSERTAÇÃO

MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
COMPOSTOS DERIVADOS DE LINALOL E EUGENOL

Débora Martins Martinez

Pelotas, 2011.

Débora Martins Martinez

Bacharel em Química de Alimentos

Modificação estrutural e atividade antioxidante de compostos derivados de linalol e eugenol

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Orientador: Prof. Dr. Eder João Lenardão

Pelotas

Rio Grande do Sul – Brasil

Fevereiro de 2011

**Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)**

M385m Martinez, Débora Martins

Modificação estrutural e atividade antioxidante de compostos derivados de linalol e eugenol / Débora Martins Martinez ; orientador Eder João Lenardão - Pelotas, 2011. - 79f. ; il. - Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1. Atividade antioxidante 2. Linalol 3. Eugenol 4. Derivados
5. Neutralização de radicais I Lenardão, Eder João (orientador)
II. Título.

CDD 547

Banca Examinadora

Prof. Dr. Eder João Lenardão – ORIENTADOR (IQG/UFPel)

Profa. Dr^a Fabiana Cristina Missau – EXAMINADORA (CCA/UNIPAMPA Itaqui)

Profa. Dr^a Lucielli Savegnago – EXAMINADORA (CDTec/UFPel)

Profa. Dr^a Raquel Guimarães Jacob – EXAMINADORA (IQG/UFPel)

Dedico este trabalho à minha família, pelo apoio constante, em especial à minha mãe, pelo amor e dedicação em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida, por todas as oportunidades e momentos que me fazem crescer.

Ao meu orientador Professor Eder João Lenardão, pelos ensinamentos, apoio, amizade e por acreditar na minha capacidade de trabalho.

À Professora Lucielli Savegnago pelos valiosos ensinamentos, contribuições, motivação, apoio e amizade.

Ao Professor Jorge Adolfo Silva pelo incentivo e apoio em momentos de dúvida.

Ao Professor Diego Alves, Professora Raquel Jacob e Professor Gelson Perin pela atenção, disponibilidade e contribuições.

Aos colegas do Laboratório de Síntese Orgânica Limpa pela compreensão, ensinamentos e momentos de descontração, em especial à Josiane Feijó, Vanessa Ricordi, Lóren Gonçalves e Francine Victoria pelo companheirismo e amizade.

Aos colegas do Laboratório de Aproveitamento de Recursos Renováveis e Síntese Orgânica Limpa pela disponibilidade, em especial à Cátia Radatz e Maraísa Sachini.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pelo conhecimento transmitido, e em especial a todos que buscam o aprimoramento dos alunos e do PPGCTA.

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade para meu desenvolvimento acadêmico.

Aos grandes amigos que ao longo da minha vida estiveram presentes, pelos momentos alegres e compreensão.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de Mestrado.

À CAPES, FAPERGS, FINEP e PROAP pelo suporte financeiro.

E a todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

"Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar a vida dos seres humanos. (...) E quando tudo mais faltasse, um segredo: o de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída".

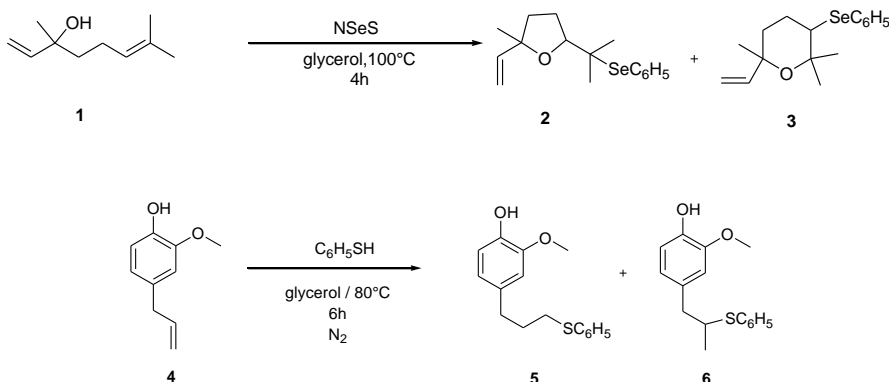
Mahatma Gandhi

RESUMO

MARTINEZ, DÉBORA MARTINS. **Modificação estrutural e atividade antioxidante de compostos derivados de linalol e eugenol**. 2011. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo desse trabalho foi sintetizar compostos organocalcogênicos derivados do linalol (**1**) e do eugenol (**4**) através de métodos sintéticos alternativos e avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos compostos em estudo. A capacidade de neutralização dos radicais livres 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) e 2,2-azinobis-3- etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico (ABTS), e de inibição da oxidação lipídica *in vitro* pela análise de TBARS dos compostos foi testada. Foi possível sintetizar compostos orgânicos de selênio derivados do linalol e compostos orgânicos de enxofre derivados do eugenol utilizando glicerol como solvente. Os compostos orgânicos de enxofre derivados (**5** e **6**) do eugenol exibiram melhor atividade antioxidante de neutralização de radicais em relação a todos os compostos em estudo. Por outro lado, o tetraidrofurano (**2**) e a mistura com tetraidropirano (**3**) de selênio derivados do linalol não exibiram atividade antioxidante nos testes realizados.

Palavras-chave: atividade antioxidante, neutralização de radicais, linalol, eugenol, organocalcogênicos.

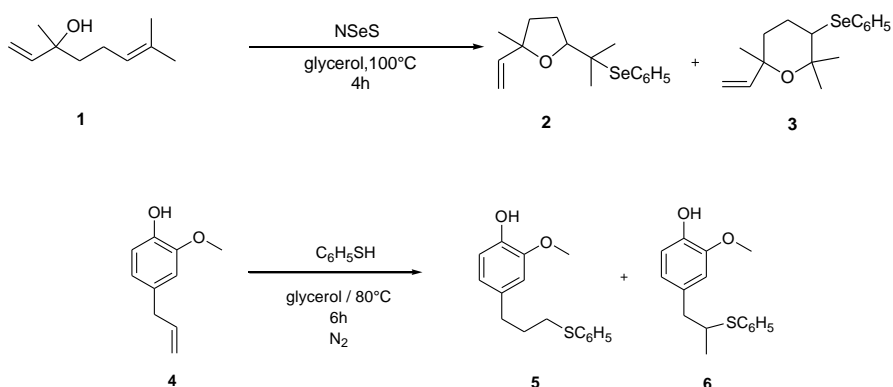


ABSTRACT

MARTINEZ, DÉBORA MARTINS. Structural modification and antioxidant activity of compounds derivatives of linalool and eugenol. 2011. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The aim of this work was to synthesize organochalcogens derivatives of linalool (1) and eugenol (4) through alternative methods and to evaluate the antioxidant activity *in vitro* of compounds. The capacity of neutralization of the free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), and the inhibition of lipid oxidation *in vitro* for the TBARS analysis of compounds was tested. It was possible to synthesize organoselenium compounds derivatives of linalool and organosulfur derivatives of eugenol using glicerol as solvent. The organic sulphur compounds (5 e 6) eugenol derivatives had better show antioxidant activity of neutralization of free radicals in relation to all compounds in study. On the other hand, tetrahydrofuran (2) and mixture with tetrahydropyran (3) compounds linalool derivatives had not shown antioxidant activity in the carried through tests.

Key words: antioxidant activity, radical scavenging, eugenol, linalool, organochalcogens.



SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	xi
Lista de Tabelas.....	xii
Lista de Esquemas.....	xiii
Lista de Abreviaturas.....	xiv
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1. Alterações oxidativas – aspectos relevantes.....	17
2.2. Antioxidantes naturais.....	21
2.3. Compostos orgânicos de Selênio.....	26
2.4. Compostos orgânicos de Enxofre.....	29
2.5. Modificação química de compostos antioxidantes.....	31
2.6. Métodos alternativos em síntese orgânica.....	37
3. ARTIGO I - Synthesis and evaluation of organochalcogen derivatives of linalool and eugenol as antioxidants.....	39
Abstract.....	40
1. Introduction.....	41
2. Experimental.....	43
2.1. Solvents and Chemicals.....	43
2.2. Synthesis of compounds.....	43
2.2.1. Organochalcogens derivatives of linalool.....	43
2.2.2. Organochalcogen derivative of eugenol.....	44
2.3. Antioxidant activity.....	44
2.3.1. Radical scavenging activity.....	44
2.3.1.1. ABTS radical scavenging activity.....	44
2.3.1.2. DPPH free radical scavenging activity.....	45
2.3.2. Lipid peroxidation assay.....	46
2.4. Statistical analysis.....	46
3. Results and discussion.....	47
3.1. Synthesis of organochalcogens derivatives of linalool and eugenol.....	47
3.2. Antioxidant activity.....	50

3.2.1. Radical scavenging activity.....	50
3.2.1.1. ABTS radical cation scavenging activity.....	50
3.2.1.2. Scavenging of DPPH radicals.....	50
3.2.2. Lipid peroxidation assay.....	55
4. Conclusions.....	57
References.....	58
4. ANEXO I – Artigo II: Base-Free oxidation of thiols to disulfides using selenium ionic liquid.....	62
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	72
6. REFERÊNCIAS.....	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação geral da oxidação do ácido oléico	18
Figura 2 – Enzimas antioxidantes.....	20
Figura 3 - Estrutura química do eugenol e intermediários em reações como antioxidante	23
Figura 4 – Estruturas do linalol e de diferentes produtos da autoxidação.....	25
Figura 5 – Hidroperóxidos formados na oxidação do linalol.....	25
Figura 6 – Ciclo catalítico da atividade antioxidante da glutathione peroxidase....	27
Figura 7 - Estruturas químicas de ésteres ácidos polifenólicos contendo selênio.....	28
Figura 8 - Estruturas químicas de alguns compostos orgânicos de enxofre bioativos.....	29
Figura 9 - Estrutura química do 2-fenilselênio citronelal (a) e do 2-fenilselênio citronelol (b).....	32
Figura 10 - Estrutura química de análogos do α -tocoferol contendo enxofre e selênio.....	33
Figura 11 - Compostos organocalcogênicos derivados do BHA.....	33

LISTA DE TABELAS

Table 1 (Artigo I) – Conditions tested for optimization of synthesis of linalool derivatives 2 and 3	48
Table 2 (Artigo I) – Conditions tested for optimization of synthesis of thioeugenol 5 and 6	49
Table 3 (Artigo I) - Antioxidant activity of compounds in this study, values of IC ₅₀	51
Table 4 (Artigo I) – Scavenging ABTS capacity of eugenol and mixture of thioeugenol 5 and 6	52
Table 5 (Artigo I) – Scavenging ABTS capacity of linalool.....	53
Table 6 (Artigo I) – Scavenging DPPH capacity of linalool.....	54
Table 7 (Artigo I) - Scavenging DPPH capacity and of eugenol and mixture of thioeugenol 5 and 6	54
Tabela 8 (Artigo I) - Percentage of Inhibition TBARS of linalool.....	55
Tabela 9 (Artigo I) - Percentage of Inhibition TBARS of eugenol and mixture of thioeugenol 5 and 6	56

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Síntese de di-idroxisselenetos derivados do linalol.....	34
Esquema 2 – Esquema geral da síntese de tetraidrofurano e tetraidropirano na selenoeterificação do linalol.....	35
Esquema 3 - Efeito do substituinte hidroximetila na estrutura do eugenol na atividade antioxidante de neutralização de radicais DPPH.....	36
Esquema 4 – Síntese de compostos orgânicos de enxofre derivados do isoeugenol.....	37
Scheme 1 (Artigo I) – Synthesis of linalool derivatives 2 and 3	49
Scheme 2 (Artigo I) - Synthesis of thioeugenol 5 and 6	49

LISTA DE ABREVIATURAS

rt – room temperature

MW – microwave

NADPH – Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato

NSeS – *N*-fenilselenosuccinimida

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

As alterações oxidativas em alimentos são algumas das principais causas da perda de qualidade dos produtos. A geração de compostos potencialmente tóxicos em sistemas alimentares devido à oxidação, promove a exposição da saúde do consumidor. Além disso as alterações de cor, odor, aroma e sabor decorrentes da oxidação são efeitos que comprometem a aceitação sensorial de produtos e promove muitas perdas econômicas (ARAÚJO, 2008).

A adição de antioxidantes é um meio eficaz para a prevenção dessas desordens, porém estudos envolvendo à investigação da segurança de antioxidante sintéticos apontam para alguns efeitos tóxicos e mutagênicos em determinadas concentrações e condições de exposição a esses compostos (ITO, 1986; WILLIAMS, 1999).

Nesse contexto, muitas pesquisas convergem para a identificação de compostos naturais ou novas moléculas com propriedades antioxidantes, como exemplo os óleos essenciais e seus constituintes. As estruturas como o linalol e o eugenol, um monoterpene e um composto fenólico, respectivamente, são moléculas encontradas em óleos essenciais de diversas espécies, sendo que as fontes mais conhecidas e exploradas comercialmente são o óleo essencial de *Ocimum basilicum* (manjeriçã) e de *Eugenia Caryophyllata* (cravo-da-índia). Diversas propriedades biológicas são associadas ao linalol e ao eugenol, incluindo a significativa atividade antioxidante.

Por outro lado, a aplicação direta em alimentos de óleos essenciais ou compostos constituintes tem uma série de limitações, variando entre estabilidade, interação com ingredientes e outros aditivos e o impacto sobre as características sensoriais dos produtos (BURT, 2004).

Devido à influência econômica da deterioração de alimentos, o desenvolvimento de novos agentes conservadores, como os antioxidantes, o estudo relacionado a compostos semi-sintéticos continua sendo de interesse em muitas pesquisas. Mais especificamente, a modificação química de compostos naturais, como constituintes de óleos essenciais através da funcionalização com

grupos organocalcogênios (enxofre e selênio), pode ser uma alternativa aos aditivos sintéticos atualmente utilizados.

A síntese de novas moléculas com o objetivo de modificar características químicas ou obter novos compostos de interesse biológico são evidentes em pesquisas, como é o caso dos estudos que demonstram os efeitos antioxidantes de compostos organocalcogênios (ATMACA, 2004; NOGUEIRA, ZENI & ROCHA, 2004; TALAS, 2009).

Os compostos orgânicos contendo selênio e enxofre, de modo geral, podem exibir propriedades antioxidantes em diferentes modelos experimentais, sendo estas atribuídas possivelmente à habilidade desses compostos em estabilizar radicais livres (ENGMAN et al., 2001b).

O presente trabalho teve como objetivos:

Objetivos gerais:

- Sintetizar compostos organocalcogênios derivados de linalol e eugenol, constituintes de óleos essenciais, utilizando métodos sintéticos alternativos.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos compostos em estudo.

Objetivos específicos:

- Sintetizar compostos orgânicos de selênio derivados do linalol e compostos orgânicos de enxofre derivados do eugenol utilizando métodos sintéticos alternativos.
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos compostos em estudo através da capacidade de neutralização de radicais livres DPPH e ABTS
- Avaliar a atividade antioxidante dos compostos em estudo relacionada à inibição da oxidação lipídica em substrato lipídico pela análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Alterações oxidativas – aspectos relevantes

A deterioração de alimentos é inevitável em razão de sua natureza biológica e de diferentes tipos de interações relacionados a fatores intrínsecos e extrínsecos. Durante todas as etapas de processamento, distribuição e armazenamento podem ocorrer diferentes tipos de reações químicas e alterações microbiológicas. As reações químicas são representadas especialmente pela oxidação enzimática e não-enzimática de lipídios e outros constituintes dos alimentos. A oxidação lipídica é considerada, assim como as alterações microbiológicas, uma das principais reações que comprometem severamente a qualidade geral e limita o tempo de conservação dos alimentos (SILVA, 1999; CHOE e MIN, 2005).

As reações oxidativas em alimentos ocorrem em função de diversos fatores, como a composição de ácidos graxos, concentração de oxigênio, umidade, presença de metais, enzimas e o tipo de processamento envolvido na produção e durante armazenamento dos produtos. A formação de radicais livres consiste na primeira etapa de uma série extremamente complexa de reações químicas na autooxidação lipídica, que envolve ácidos graxos insaturados na presença de oxigênio. As reações de decomposição ocorrem simultaneamente, ocorrendo ao final a formação de compostos como aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos (Figura 1) (ARAÚJO, 2008).

As mudanças mais acentuadas causadas pela oxidação incluem a alteração de cor, sabor e textura, o desenvolvimento de aromas indesejáveis, a diminuição do valor nutricional pela degradação de vitaminas, pigmentos e ácidos graxos essenciais, e a produção de compostos tóxicos prejudiciais à saúde (SILVA, 1999; SOARES, 2002).

A oxidação lipídica em sistemas alimentares é iniciada por mecanismos envolvendo a formação de radicais livres e conseqüentemente uma série de reações auto-catalíticas.

Ocorre simultaneamente a formação de compostos derivados que

dependem da composição do alimento e de fatores envolvidos na cadeia produtiva. Os compostos gerados podem ser absorvidos pelo organismo e causar danos oxidativos e mudanças deletérias no metabolismo de alguns grupos de compostos no organismo (KUBOW, 1992).

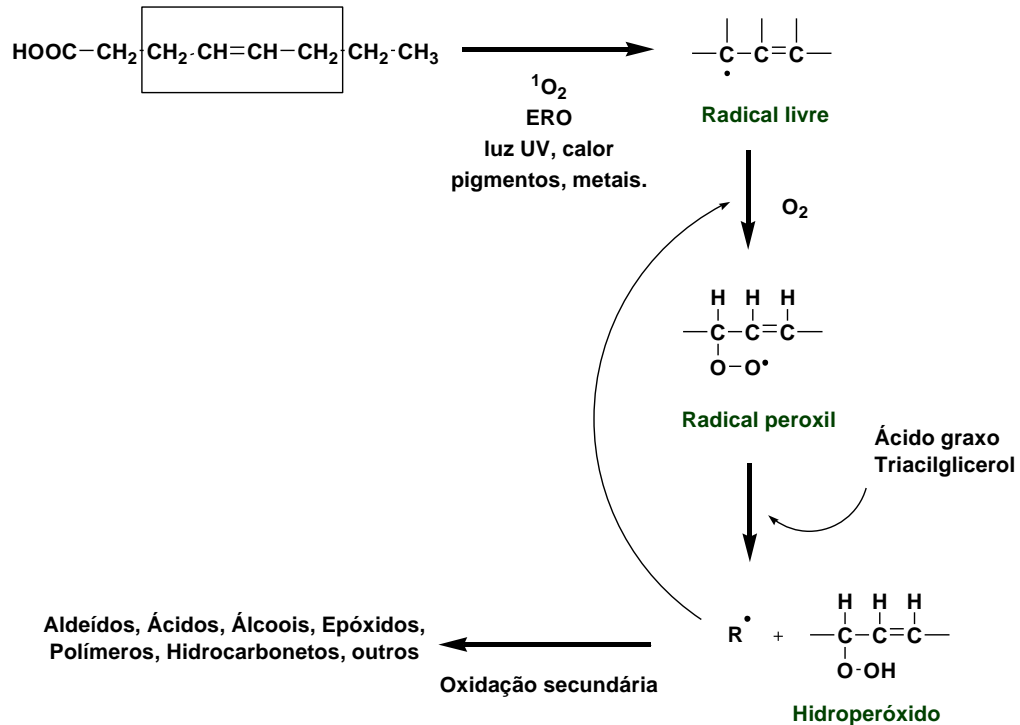


Figura 1 – Representação geral da oxidação do ácido oléico (Adaptado de ARAÚJO,2008).

Os aspectos envolvidos na ingestão de óleos e gorduras alterados são representados pelos riscos à saúde associados à presença de compostos como hidroperóxidos derivados de ácidos graxos, malondialdeídos e dímeros de triglicerídeos. Os efeitos nocivos são atribuídos à atividade aterogênica, carcinogênica, mutagênica e citotóxica causadas por exemplo por oxisteróis (GUARDIOLA et al, 1996). Os compostos como aldeídos insaturados, os malondialdeídos, são compostos secundários da oxidação lipídica associados a efeitos degenerativos, pela capacidade de se ligarem ao DNA, peptídeos e proteínas, alterando o funcionamento dessas moléculas (HALLIWELL e CHIRICO, 1993).

Além disso, os produtos da degradação de lipídios podem ser absorvidos pelo fígado e, mesmo não havendo absorção, representam risco à mucosa intestinal.

Ainda em relação aos danos à saúde, os peróxidos afetam a atividade enzimática, das lipoproteínas como proteínas de baixa densidade (LDL), agindo dessa forma como promotores de carcinogênese. Além desses fatos, a interação de peróxidos com as LDL pode ser a principal causa de doenças cardiovasculares (ARAÚJO, 2008).

O aumento da estabilidade oxidativa de alimentos e consequente inibição da formação de compostos tóxicos, são alcançados com o uso de substâncias antioxidantes, as quais promovem num contexto amplo, a proteção à saúde e prevenção de perdas econômicas (YANISHLIEVA et al., 1999).

Além das alterações decorrentes de processos oxidativos em alimentos, a exposição excessiva a radicais livres em sistemas biológicos, devido a fatores exógenos e ao desequilíbrio entre a proteção antioxidante do organismo, contribuem para a ocorrência de danos celulares e o desenvolvimento de alguns tipos de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (TALAS, 2009).

Os principais agentes promotores da oxidação em sistemas biológicos são as espécies reativas de oxigênio (ERO), como os radicais: ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxil (OH^{\cdot}), peroxil (ROO^{\cdot}), alcoxil (RO^{\cdot}) e hidroperoxil (HOO^{\cdot}). Espécies não-radicaais são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ozônio (O_3) e o oxigênio singlete (1O_2). As ERO são as principais promotoras da iniciação das reações oxidativas e são formados durante o metabolismo normal no corpo humano, como subprodutos da respiração celular e da síntese de estruturas mais complexas. Essas espécies em determinadas condições podem causar a oxidação de lipídios, ácidos nucleicos e proteínas, sendo correlacionadas com o desenvolvimento de carcinogênese, doenças neurodegenerativas e inflamatórias (VALKO et al., 2006; DE FLORA et al., 2007).

Os radicais livres, são moléculas que possuem elétrons não-pareados no orbital externo, são muito instáveis e reativas sendo as principais causadoras de danos oxidativos.

Embora sejam associados muitos efeitos desfavoráveis causados por radicais livres, essas moléculas são requeridas em muitos processos bioquímicos normais, como no caso de ataque a microrganismos patógenos, na sinalização e controle do crescimento celular, na detoxicação de substâncias estranhas e tóxicas presentes em alimentos e na oxidação do etanol (ARAÚJO 2008).

O sistema antioxidante natural do organismo reage contra esses desequilíbrios através da ação de uma série de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutaciona peroxidase (GPx), glutaciona redutase (GSH-R), de moléculas como glutaciona (GSH) e cisteína (CIS) e de suplementos exógenos como o ácido ascórbico e tocoferol (YOSHIHARA et al., 2010).

As enzimas antioxidantes e as respectivas reações envolvidas em suas atividades em defesa antioxidante estão representadas na Tabela 1.

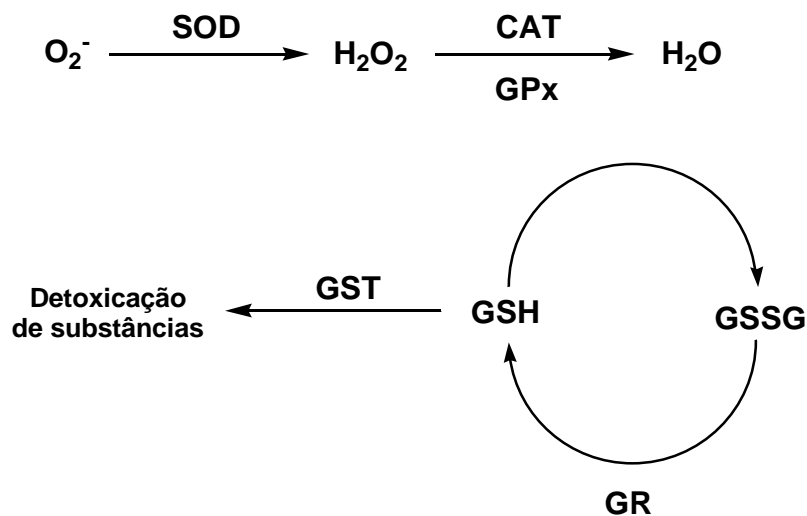


Figura 2 – Enzimas antioxidantes. (SOD: Superóxido dismutase; CAT: Catalase; GPx: Glutaciona peroxidase; GST: glutaciona S-transferase; GSH: Glutaciona reduzida; GSSG: Glutaciona oxidada; GR: Glutaciona redutase). (Adaptado de ARAÚJO, 2008).

2.2. Antioxidantes naturais

Os antioxidantes são substâncias ou compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pela ação de radicais livres e compostos oxidantes. A importância no setor alimentício é associada à qualidade geral de alimentos susceptíveis à oxidação (ARAÚJO, 2008).

Os estudos envolvendo compostos com propriedades antioxidantes apontam que alguns antioxidantes sintéticos podem apresentar efeitos tóxicos e mutagênicos em determinadas concentrações e fatores de exposição (ITO, 1986; WILLIAMS, 1999). Nesse sentido, algumas pesquisas indicam que antioxidantes comumente utilizados industrialmente como butilhidroxitolueno (BHT) e butilhidroxianisol (BHA) apresentam efeitos carcinogênicos em alguns experimentos *in vivo* (LINDENSCHMIDT et al., 1986).

Sob a perspectiva da investigação de fontes naturais de compostos e de novas moléculas com propriedades antioxidantes, muitas pesquisas são direcionadas na busca por alternativas à substituição de antioxidantes sintéticos comumente utilizados, ou na tentativa de fazer associações entre eles objetivando a diminuição em suas aplicações industriais (FEJES et al., 1998; NÚÑES et al., 2001; SAYADI, 2005).

Os efeitos desejados de compostos antioxidantes são a inativação de radicais livres, a complexação com íons metálicos e/ou a redução de hidroperóxidos a compostos estáveis que não produzam radicais livres ou formem compostos de decomposição tóxicos. Os critérios como estabilidade são levados em consideração na escolha e incorporação de compostos antioxidantes em alimentos, assim como o conhecimento das interações com ingredientes e outros aditivos, o desenvolvimento de atributos sensoriais e sua eficiência considerando as diversas etapas que envolvem o processamento de alimento (BECKER, NISSEN e SKIBSTED, 2004).

Muitos compostos de ocorrência natural são conhecidos por exibirem largo espectro de atividade biológica, destacando-se as propriedades antioxidantes. Os óleos essenciais são produtos naturais constituídos de diversas moléculas de interesse devido aos efeitos antioxidantes. Sua importância

comercial e em pesquisas científicas está associada à sua viabilidade de usos e aplicações como compostos naturais biologicamente ativos (MIGUEL, 2010).

Óleos essenciais são definidos como uma mistura complexa de diversas substâncias voláteis e lipofílicas, extraídas de diferentes partes de plantas. Dentre os compostos orgânicos constituintes encontram-se hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos entre outros, os quais apresentam como principal característica a volatilidade, o que os difere dos lipídeos (SIMÕES & SPITZER, 1999).

Os interesses da utilização de muitos óleos essenciais são associados às diversas potencialidades biológicas como atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante. Além disso, aspectos sensoriais como aroma e odor são interessantes para a utilização desses produtos como aromatizantes na indústria farmacêutica e de alimentos (TEISSEGRE e WATERHOUSE, 2000).

A atividade antioxidante de óleos essenciais e outras propriedades biológicas despertam interesse devido à possibilidade de serem usados como conservantes em alimentos e inibir efeitos tóxicos relacionados à degradação oxidativa dos substratos.

Da mesma maneira, a atividade antioxidante de óleos essenciais e seus constituintes pode ter papel importante na prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo e danos celulares causados por radicais livres (MIGUEL, 2010).

Entre as classes de substâncias químicas encontradas em óleos essenciais, os monoterpenos, assim como os compostos fenólicos são considerados os principais responsáveis pela atividade biológica de fontes naturais (GRASSMANN, 2005). O potencial antioxidante dessas moléculas depende da estrutura química, sendo o mecanismo de atividade antioxidante mais comum de compostos fenólicos, por exemplo, relaciona-se diretamente à habilidade de transferência de um átomo de hidrogênio da hidroxila fenólica aos radicais livres da reação em cadeia de oxidação. Desta maneira esses compostos inibem ou retardam a propagação da oxidação preservando o substrato oxidável (INGOLD, BURTON e WAYNER, 1986; KITAGAWA et al., 1992).

Dentre os constituintes de óleos essenciais mais estudados, destaca-se o eugenol (4-alil-2-metoxifenol), um *o*-metóxifenol, é encontrado em diversos óleos essenciais sendo o composto majoritário (80-95%) do óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) de grande importância comercial (SZABADICS e ERDELYI, 2000; CHAIEB et al, 2007). A atividade antioxidante desse óleo essencial, assim como de óleos que contenham alto teor de eugenol na composição, é atribuída em maior parte à eficiência dessa molécula em neutralizar radicais livres (TAIRA et al., 1992; OGATA et al., 2000; LEE, 2001; SHAN et al., 2005; LEE, 2005a; CHAIEB et al., 2007). Outras funções biológicas são associadas ao eugenol, como anestésica, antisséptica, antifúngica, anticarcinogênica e antimutagênica (COSTA, 2000; LEE et al., 2005b).

Por outro lado, alguns estudos indicam que *o*-metoxifenóis podem apresentar efeitos pró-oxidantes dependendo de fatores como pH e solubilidade, potencial redutor de metais e atividade quelante. Efeitos citotóxicos desse grupo de compostos podem ser dependentes da atividade biológica e estabilidade do radical fenoxil (**2**), um intermediário na estabilização da carga gerada pela doação do radical H[•] da hidroxila fenólica do eugenol (Figura 3) (ATSUMI et al., 2000, 2001).

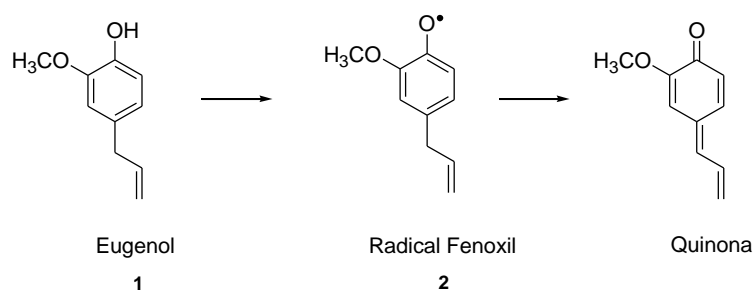


Figura 3 – Estrutura química do eugenol e intermediários em reações como antioxidante. Fonte: ATSUMI et al, 2000.

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* (manjeriçã) também exibe atividade antioxidante e é fonte de linalol (57-70%), um monoterpene funcionalizado de importância biológica e industrial (ANWAR, 2008; GAIO, 2008; DUMAN et al., 2010; BASSOLÉ, 2010).

Outros compostos como estragol, eugenol e 1,8-cineol, também são encontrados no óleo essencial em quantidades expressivas (HASEGAWA et al., 1997; LEE et al., 2005c).

O linalol tem grande importância comercial, sendo o manjeriço uma fonte sustentável para sua extração. Os processos envolvidos para a extração do produto desta planta são economicamente viáveis sendo possível a preservação da espécie *Aniba rosaeodora*, uma árvore nativa da Amazônia que está em extinção devido à exploração para a produção de linalol (DOS SANTOS, 2005c).

O linalol (3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol) é encontrado em fontes naturais em duas formas de isômeros, o S-(+)-linalol e R-(-)-linalol. Os estereoisômeros tem a mesma estabilidade, porém tem odores diferentes e contribuem para o aroma de diversas plantas. A forma R-(-)-linalol é a majoritária no óleo essencial da espécie *Ocimum basilicum* (BACKTORP et al., 2006). A importância biológica do linalol é representada pela capacidade antioxidante associada ao mecanismo de neutralização de radicais livres (SAWAMURA et al., 2000; ANWAR et al., 2008) e também pelos efeitos antibacterianos e antifúngicos (DUMAN et al., 2010). Além disso, o linalol exibe diversas atividades biológicas em sistemas *in vivo*, como atividade antiproliferativa de células tumorais (LOIZZO et al., 2008) e anti-inflamatória (PEANA et al., 2002).

Tanyildizi et al. (2009) evidenciaram o efeito antioxidante *in vivo* do linalol associado à diminuição da formação de malondialdeídos (MDA) na peroxidação lipídica induzida. Em outro estudo, Celik e Oskaya (2002) demonstraram que o efeito inibitório da peroxidação lipídica *in vivo* atribuído ao linalol é comparável a do α -tocoferol e do ácido lipóico, podendo dessa forma proteger ácidos graxos insaturados, com perspectiva de uso em terapias complementares aos danos causados pelo estresse oxidativo.

A auto-oxidação do linalol pode ser o mecanismo de ação antioxidante do composto, onde os radicais gerados são formados devido à abstração de um átomo de H da molécula na presença de O₂. Na molécula do linalol, os sítios de ligação dos carbonos C5, C8 e C10 são alílicos, C6 é vinílico e C4 é alquílico, sendo que em todos os sítios existe a possibilidade de ocorrer a abstração de um

átomo de H. Os radicais hidroperóxido mais comuns formados nesta reação estão representados na Figura 4.

O tipo de radical hidroperóxido formado depende da estabilidade e energia de formação (BACKTORP et al., 2006).

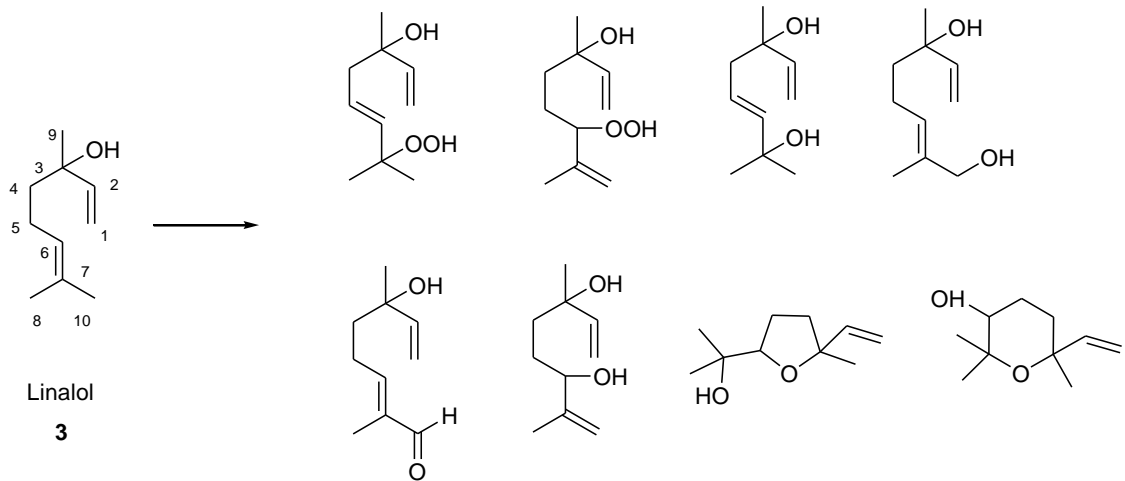


Figura 4 - Estruturas do linalol e de diferentes produtos da autoxidação.

Fonte: BACKTORP et al., 2006.

Segundo Backtorp et al. (2006) os hidroperóxidos formados mais facilmente são os representados na Figura 5.

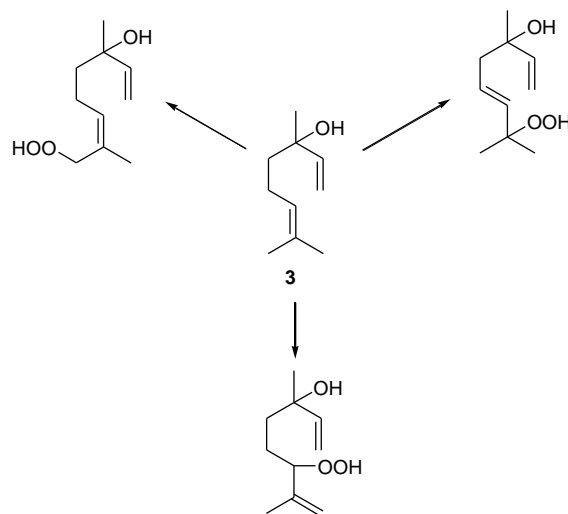


Figura 5 - Hidroperóxidos formados na oxidação do linalol. Fonte: BACKTORP et al., 2006.

A eficiência antioxidante de óleos essenciais e seus constituintes variam de acordo com a composição e pureza dos compostos, sendo que a composição depende de fatores ambientais, de processamento e conservação. As características como volatilidade, odor e os aspectos referentes à estabilidade dos compostos e interações com outros compostos, quando aplicados em diferentes sistemas, são fatores relevantes para o estudo de suas aplicações industrial. Outros fatores como o impacto sensorial, conferência de odor e aroma por exemplo, limitam as aplicações diretas desses compostos em alimentos (BURT, 2004).

2.3. Compostos orgânicos de selênio

Conforme mencionou-se, o sistema antioxidante do organismo é constituído de enzimas antioxidantes como a glutathione peroxidase (GPx) e de moléculas como a glutathione (GSH) e a cisteína (YOSHIHARA et al., 2010).

O selênio é um importante elemento traço na dieta humana. Tem importância fundamental no funcionamento normal de organismos por fazer parte da estrutura de selenoproteínas e selenoenzimas das defesas antioxidantes endógenas. Além disso é um catalisador na produção de hormônio ativo da tireóide (RAYMAN, 2000).

Mais especificamente, o elemento faz parte do sítio ativo da GPx sendo constituinte da estrutura da selenocisteína. A GPx atua catalisando a redução de peróxidos através da GSH, em mecanismos de proteção de membranas celulares aos danos oxidativos (SINGH et al., 2005). No sítio catalítico da GPx no resíduo de selenocisteína de sua estrutura ocorre a formação do selenol (GPx-SeH) com função ativa na redução de hidroperóxidos e peróxidos. O GPx-SeH é oxidado a ácido selênico (GPx-SeOH), que reage com a glutathione reduzida (GSH) formando o composto sulfeto de selenila (GPx-SeSG). Outra molécula de GSH regenera o sítio ativo da enzima pela reação com o sulfeto para formar a glutathione oxidada (GSSG) conforme a Figura 6 (SINGH et al., 2005).

Com a compreensão do mecanismo envolvido, estudos demonstram que compostos orgânicos de selênio, podem mimetizar a ação enzimática da GPx *in vitro*, como o ebselen (2-fenil-1,2-benzoissoselenazol-3-(2*H*)-ona), seus análogos, selenamida, derivados relacionados e enzimas semi-sintéticas selenossustituídas (SIES, 1993).

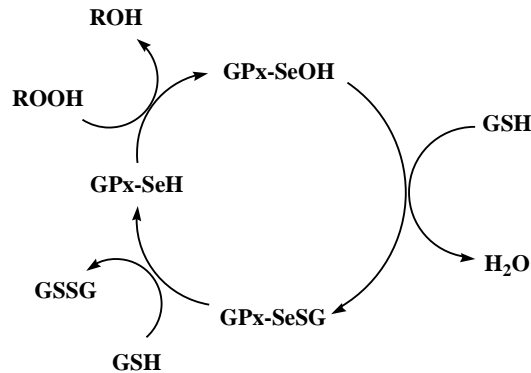


Figura 6 – Ciclo catalítico da atividade antioxidante da glutatona peroxidase. Fonte: SINGH et al., 2005.

Em vários estudos compostos orgânicos de selênio apresentam importante atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, relacionada ao potencial redox do elemento. Essas atribuições incentivam pesquisas por compostos antioxidantes apropriados para atuar como neutralizadores de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROSSATO et al., 2002).

Outro aspecto que contribui para o potencial antioxidante de compostos orgânicos de selênio baseia-se no fato de que o elemento tem menor caráter eletronegativo contribuindo para a ocorrência de transferência de elétrons a radicais peróxila e alcóxila em processos oxidativos (ENGMAN et al., 2001b). Um mecanismo viável na ação antioxidante desses compostos é a redução de hidróperóxidos orgânicos aos álcoois correspondentes, assim como a capacidade quelante de metais que alguns compostos exibem como mecanismo complementar ao potencial de neutralização de espécies reativas de oxigênio (BATTIN e BRUMAGHIM, 2009).

Por outro lado, Lin et al. (2005) ao avaliarem o potencial antioxidante *in vitro* de ésteres polifenólicos derivados do éster do ácido cafeico, compostos **a** e

b funcionalizados com selênio e outros análogos (Figura 7), observaram que a adição do calcogênio não promoveu aumento da atividade antioxidante em relação aos compostos de origem, sem modificação química. Os autores associam este comportamento ao fato de que, embora o selênio possua potencial de neutralização de radicais livres e de decomposição de peróxidos, alguns métodos possuem limitações para avaliar a atividade antioxidante de determinados compostos. Portanto faz-se necessário para a determinação da relação estrutura-atividade de diferentes classes de compostos orgânicos de selênio o uso de métodos adequados na investigação científica (BATTIN e BRUMAGHI, 2009).

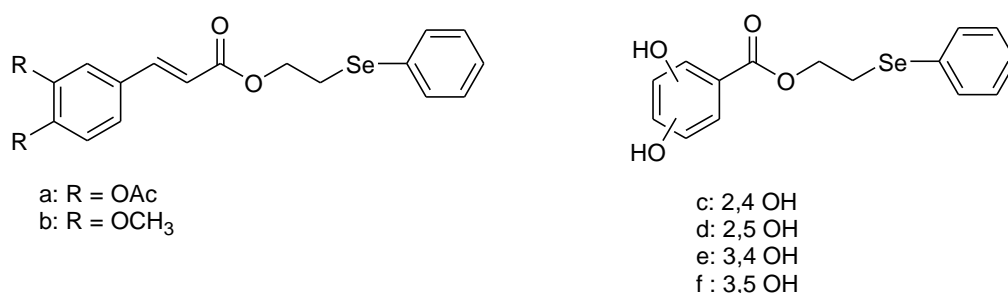


Figura 7 – Estruturas químicas de ésteres ácidos polifenólicos contendo selênio.
Fonte : LIN et al, 2005.

Contribuindo para a investigação dos potenciais biológicos dos compostos orgânicos de selênio, muitos pesquisadores avaliaram seus efeitos em sistema diferenciados, o que amplia as perspectivas de estudo e utilização dos mesmos. O disseleneto de difenila, por exemplo, exibe efeito antinociceptivo e antiinflamatório (SAVEGNAGO et al., 2007a,b), antiúlcera (SAVEGNAGO et al., 2006), hepatoprotetor (BORGES et al., 2005), anti-hiperglicemiante (BARBOSA et al., 2006) e pode retardar o desenvolvimento de câncer (BARBOSA et al., 2008) segundo alguns estudos. Efeitos hipocolesterolêmico e antioxidante *in vivo* também já foram relatados (DE BEM et al., 2009).

Além dessas propriedades, alguns compostos orgânicos de selênio promovem inibição do desenvolvimento de algumas bactérias patogênicas, fungos e vírus (MLOCHOWSKI, 2008). Portanto, seguem crescentes as

pesquisas por novos compostos dessa classe, desenvolvidas em diferentes áreas e sob novas perspectivas de investigação científica.

2.4. Compostos orgânicos de enxofre

O enxofre é um elemento essencial em funções fisiológicas normais e está presente em aminoácidos, proteínas, enzimas e micronutrientes. O suprimento das necessidades nutricionais do elemento na dieta humana é dado pelo consumo de alimentos como vegetais, frutas e laticínios (ATMACA, 2004)

Alguns compostos biologicamente ativos contendo enxofre são a cisteína (CIS), metionina, taurina, glutathiona (GSH), *N*-acetilcisteína (NAC) e outros que apresentam várias evidências referentes às propriedades antioxidantes.

Os tióis são representados por moléculas como a cisteína (CIS) e glutathiona (GSH), enquanto que os dissulfetos são representados pela cistina e ácido lipóico (Figura 8). Alguns desses compostos são encontrados naturalmente em alimentos, como a glutathiona e a cisteína em concentrações variáveis em vegetais e frutas (ERCAL et al., 2004; DEMIRKOL et al., 2004).

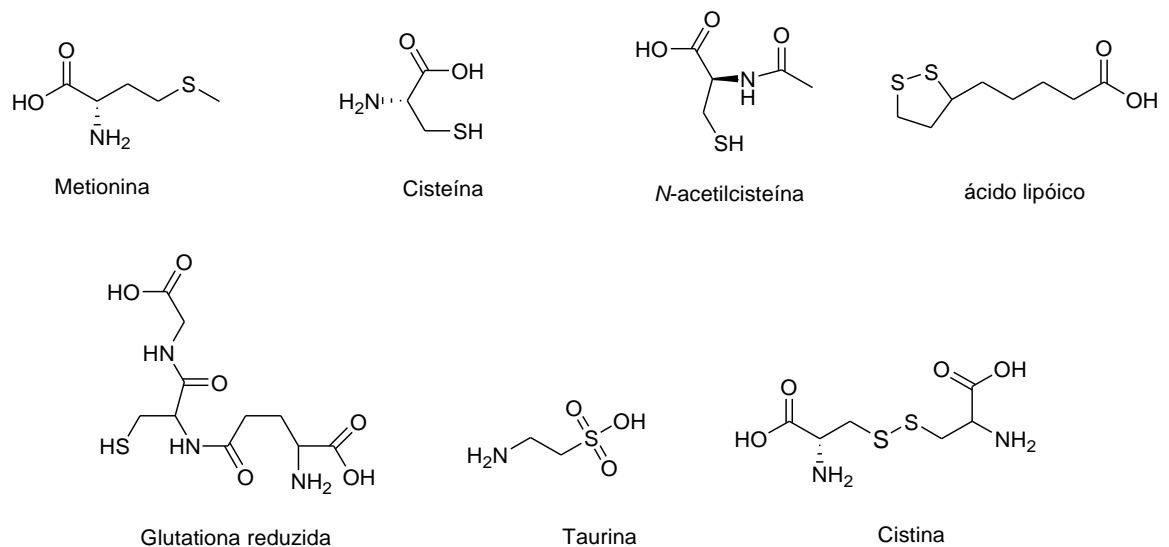


Figura 8 – Estruturas químicas de alguns compostos orgânicos de enxofre bioativos.

A NAC tem potencial de neutralização de radicais livres, resultante de reações nucleofílicas com ERO e pode interagir diretamente com os resíduos de cisteína nas proteínas mantendo o estado reduzido dessa molécula, o qual é fundamental para a preservação de sua atividade (ARUOMA et al., 1989).

O ácido lipóico, na forma oxidada, um dissulfeto, pode atuar como neutralizador do radicais hidroxil e do oxigênio singlete, além de apresentar efeito quelante de metais de transição (DENEKE, 2000).

A glutathiona reduzida e a cisteína (Figura 7) são importantes antioxidantes que protegem as células de alguns danos causados pelo estresse oxidativo, sendo o mecanismo atribuído à regulação biológica do estado redox tiol/dissulfeto. Neste sentido, torna-se importante o entendimento dos processos de oxi-redução em sistemas complexos na presença de compostos bioativos como outros compostos orgânicos de enxofre (DENEKE, 2000).

Assim como os compostos orgânicos de selênio, os compostos contendo enxofre apresentam múltiplos e complexos mecanismos de atividade antioxidante, dentre eles a capacidade de neutralizar ERO e capacidade quelante de metais (BATTIN & BRUMAGHIM, 2009).

Devido às atribuições de funcionalidades desses compostos, há um forte interesse em sua aplicação como conservantes de sistemas complexos, como de alimentos. A adição de compostos orgânicos de enxofre lipofílicos, como dialil sulfeto (DAS) e dialil dissulfeto (DADS) e hidrofílico, como *N*-acetilcisteína (Figura 7) em carne demonstra o potencial antioxidante desses compostos em baixas concentrações no que se refere à diminuição da formação de metamioglobina e diminuição da oxidação lipídica. Segundo Yin e Cheng (2003), estas espécies tem efeitos superiores ao α -tocoferol na inibição da oxidação lipídica.

A capacidade de DADS e de outros compostos de neutralizar radicais superóxido foi evidenciada por Kim et al (2006). Além disso, DAS e DADS exibem efeito antimicrobiano sobre o crescimento de algumas bactérias patogênicas e de bactérias aeróbias (YIN e CHENG, 2003).

Por outro lado, existem algumas evidências de que compostos orgânicos de enxofre promovam efeitos adversos e tóxicos à saúde devido a

comportamentos pró-oxidantes (SAHU; WLODEK, 2002). Muitos desses efeitos são atribuídos à formação de radicais RS^{\cdot} originados na autooxidação de tióis catalisada por metais. Além disso pode ocorrer a formação de tiolperóxidos, os quais podem promover dano celular. A diminuição da toxicidade desses radicais pode ocorrer com a formação de dissulfetos (DENEK, 2000).

A formação de ligações dissulfeto é importante na síntese de proteínas em sistemas biológicos e na síntese orgânica de moléculas poliméricas (TAM et al., 1991). O mecanismo de formação desse tipo de ligação envolve uma série de trocas tiol/dissulfeto que pode ser mediada por enzimas ou por reagentes oxidantes como cistina, glutatona oxidada, oxigênio, iodo, dimetilsulfóxido e outros (TAM et al., 1991). Nesse sentido, novos métodos vem sendo estudados a fim de promover o acoplamento oxidativo de tióis para dissulfetos de interesse no ponto de vista sintético e biológico.

2.5. Modificação química de compostos antioxidantes

O interesse na síntese de compostos de ocorrência natural e análogos é crescente aliado ao aprimoramento e desenvolvimento de novos métodos e estratégias sintéticas (DAVIES, 2009). Nessa linha de pesquisa, a modificação química de algumas moléculas de fontes naturais tem como objetivos modificar algumas características como estabilidade química, oxidativa e térmica, assim como de solubilidade visando ampliar seus usos e aplicações. A síntese de compostos semi-sintéticos ligada a esses interesses incentiva a busca por novas moléculas bioativas com possível aplicação industrial. A síntese de compostos derivados de produtos naturais pode ter impacto não somente na produção de agentes conservadores, como os antioxidantes, mas também de compostos funcionais de alimentos (PLOU et al., 2008).

Na perspectiva de modificar quimicamente e potencializar funções biológicas de moléculas orgânicas de origem natural em muitos estudos relata-se a síntese de vários compostos organocalcogênios (ROBILLARD e INGOLD et al., 1986; ENGMAN et al., 2001a; SHANKS et al., 2005).

A modificação química de compostos de ocorrência natural pode ser exemplificada pela α -selenação do (*R*)-citronelal, um terpeno quiral constituinte majoritário do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon nardus* (L) Rendle), originando os compostos 2-fenilseleno citronelal **a** e 2-fenilseleno citronelol **b** (Figura 9) (LENARDÃO et al., 2009). Segundo o mesmo estudo, os compostos sintetizados exibiram atividade antimicrobiana superior ao (*R*)-citronelal frente à bactérias patogênicas como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enteridis*.

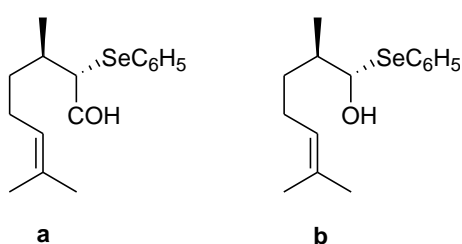


Figura 9 – Estrutura química do 2-fenilseleno citronelal (a) e do 2-fenilseleno citronelol (b).

Fonte: LERNARDÃO et al. 2009.

Considerando o potencial antioxidante de muitos produtos naturais como os compostos fenólicos, estudos correlacionam sua eficiência através da avaliação da taxa de transferência de hidrogênio aos radicais peroxil pela entalpia de dissociação da ligação O-H, e com isso aumentando a eficiência antioxidante. Grupos elétron doadores substituintes em posições *orto* e *para* em compostos fenólicos, em geral diminuem a entalpia de dissociação da ligação O-H (BRIGATI et al, 2002).

Diversos autores pesquisaram a influência de organocalcogênios na atividade antioxidante de compostos orgânicos. Como exemplo tem-se a síntese de derivados (Figura 9) do α -tocoferol **4**, os quais diferem do composto de partida pela substituição do átomo de oxigênio da molécula por um átomo de selênio **4a** (SCHIESSER et al, 2001) ou de enxofre **4b** (ROBILLARD e INGOLD et al, 1986) (Figura 10), sendo necessárias diversas etapas reacionais para sua síntese.

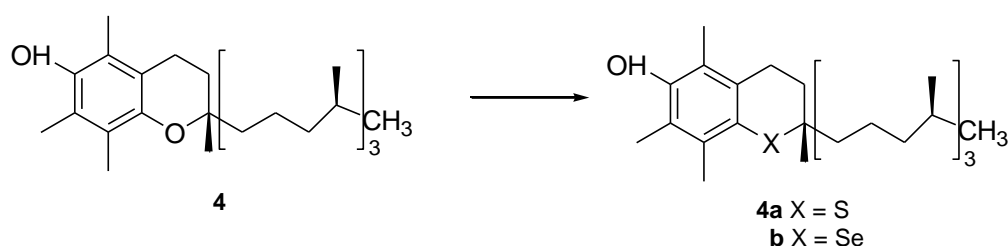


Figura 10 – Estrutura química de análogos do α -tocoferol contendo enxofre e selênio. (Adaptado de SCHIESSER et al, 2001; e ROBILLARD e INGOLD et al, 1986).

Nesses estudos, o composto **4a** derivado do tocoferol mostrou-se menos eficiente que o tocoferol (SCHIESSER et al, 2001) e o análogo **4b** não apresentou diferença significativa na atividade antioxidante comparativamente ao composto de partida **4** (SHANKS et al, 2005).

A funcionalização do butilidroxianisol BHA **5**, um antioxidante sintético empregado industrialmente em diversos produtos, com a substituição do oxigênio do grupo metoxila (Figura 11) por organocalcogênios S, Se e Te foi estudada por Shanks et al. (2005) em relação à entalpia de dissociação da ligação O-H.

Os compostos *ortho*-substituídos com enxofre e selênio (**6** e **7**) ricos em elétrons, apresentaram leve decréscimo na energia de dissociação da ligação O-H, diferente do efeito da substituição com telúrio **8** o qual proporcionou significativo decréscimo nesse parâmetro em relação ao BHA **5**.

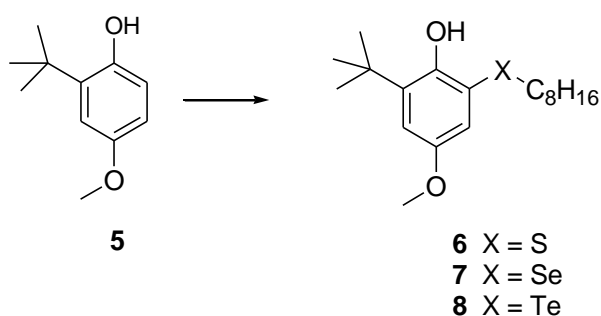
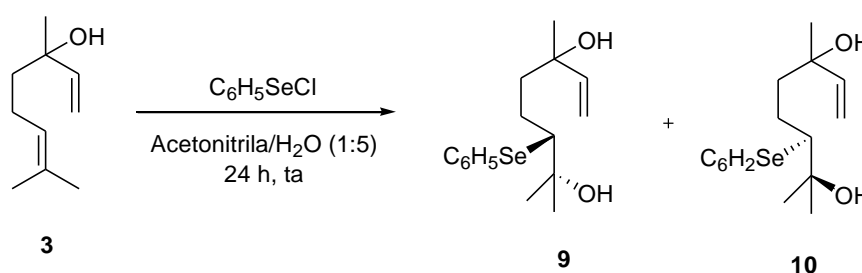


Figura 11 – Compostos organocalcogênios derivados do BHA. Fonte: SHANKS et al., 2005.

De modo geral, considera-se que o enxofre seja mais eficiente que o oxigênio em estabilizar espécies radiculares (LUEDTKE e TIMBERLAKE, 1985).

Grupos substituintes que contenham o elemento, na posição *para* de compostos fenólicos podem aumentar a atividade antioxidante dos compostos devido a diferentes efeitos (SHANKS et al., 2006). Esses efeitos são relatados na literatura para fenóis contendo grupos contendo enxofre como substituintes, devido a possibilidade de atuarem como antioxidantes pela neutralização de radicais peróxidos através da transferência de um átomo de H do grupo OH e pela decomposição de hidropéroxidos aos álcoois correspondentes, por uma reação que envolve o ataque nucleofílico do enxofre ao oxigênio (SHANKS et al., 2006).

A síntese de compostos orgânicos de selênio derivados do linalol (**3**) é relatada na literatura, porém os efeitos da adição de grupos contendo Se à molécula, em relação a atividade antioxidante, não foram investigados (WARD e COOPER, 1995, 2004; URONES et al, 1995). Como exemplo, tem-se a obtenção de di-idroxisselenetos à partir de álcoois alílicos, incluindo o linalol, foi estudada por Ward e Cooper (2004). Nesse estudo a modificação química do linalol foi realizada utilizando como espécie eletrofílica de selênio, o C₆H₅SeCl, acetonitrila e água como solventes e temperatura ambiente por um tempo relativamente longo (24 h), dando origem a uma mistura de enantiômeros (**9** e **10**) (Esquema 1).



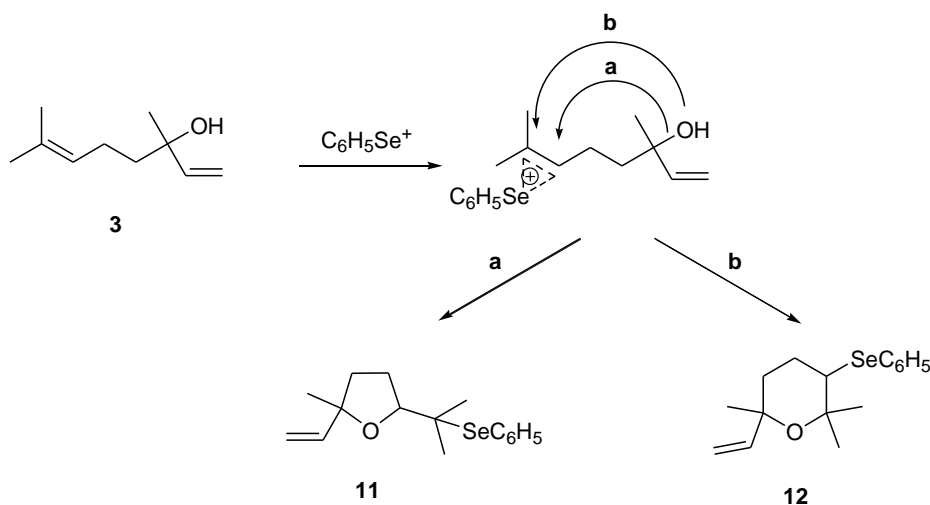
Esquema 1 – Síntese de di-idroxisselenetos derivados do linalol. Fonte: WARD e COOPER, 2004.

Outro tipo de reação envolvendo a funcionalização de álcoois insaturados é a fenilselenoeterificação, um tipo de reação relativamente simples para a obtenção de tetraidrofuranos, diidrofuranos e tetraidropiranos contendo selênio (PETRAGNANI, STEFANI e VALDUGA, 2001). Tetraidrofuranos e tetraidropiranos substituídos são interessantes por serem moléculas de

ocorrência natural, e em síntese orgânica terem importante função na síntese de alguns compostos orgânicos bioativos (PAQUETE et al., 1995).

O mecanismo reacional da fenilselenoeterificação de álcoois alílicos envolve o ataque da ligação dupla (C=C) mais substituída do álcool à espécie eletrofílica de selênio, levando a formação do íon selenônio como intermediário. Em seguida o grupo OH reage intramolecularmente levando a formação do heterociclo (GRUTTADAURIA et al. 2001).

A fenilselenoeterificação de alguns álcoois terciários, como o linalol **3**, foi estudada por Mojsilovic e Bugarcic (2001). Os autores verificaram que o uso de piridina, facilita a formação do composto tetraidrofurano **11** em relação ao tetraidropirano **12** derivados do linalol (Esquema 2). Adicionalmente, os rendimentos e seletividade obtidos com o uso de espécies eletrofílicas de selênio como C_6H_5SeBr e C_6H_5SeCl na presença de piridina não foram significativamente diferentes (MOJSILOVIC & BUGARCIC, 2001).

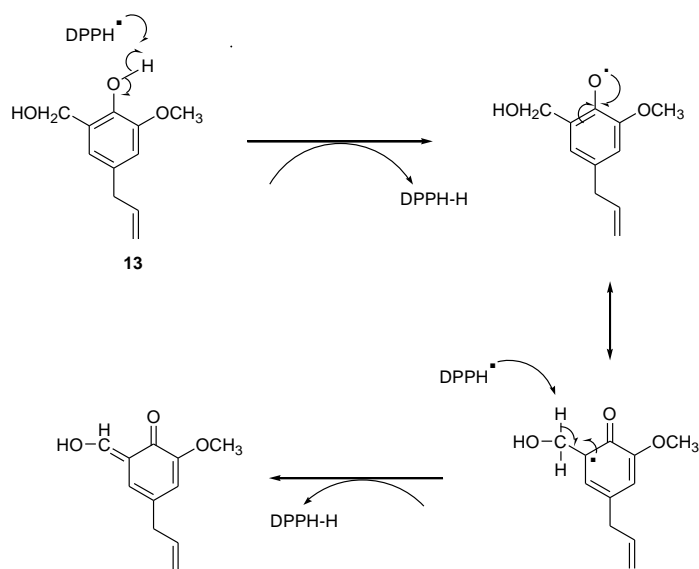


Esquema 2 – Esquema geral da síntese de tetraidrofurano e tetraidropirano na selenoeterificação do linalol. (Adaptado de MOJSILOVIC e BUGARCIC, 2001).

Em álcoois terciários com ligação dupla terminal dissustituídos, embora a regra de Markovnikov indique que o grupo $C_6H_5Se^+$ seja adicionado ao carbono menos substituído formando o carbocátion mais estável, a reação ocorre preferencialmente envolvendo o ataque do oxigênio ao carbono menos substituído em função de efeitos estereoeletrônicos, produzindo como derivados

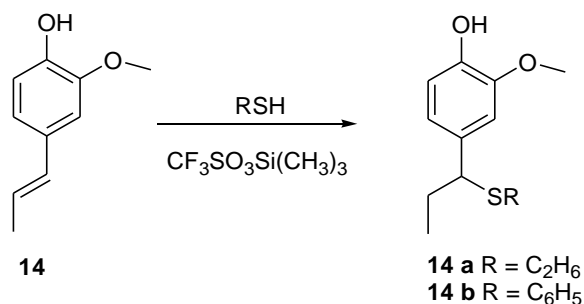
principalmente o tetraidrofurano **11** (Esquema 2) (MOJSILOVIC e BUGARCIC, 2001).

Outros tipos de modificações químicas em compostos naturais, como a introdução de um grupo polar hidroximetila (CH_2OH) ao anel benzênico de compostos fenólicos, como carvacrol, timol e eugenol foram estudadas por Mastelic et al (2008). O composto derivado **13** com grupo substituinte apresentou neste estudo melhor atividade antioxidante de neutralização de radicais DPPH que o composto de partida. A contribuição do grupo CH_2OH na transferência de um átomo de H ao radical livre (DPPH) é demonstrada no Esquema 3.



Esquema 3 – Efeito do substituinte hidroximetila na estrutura do eugenol na atividade antioxidante de neutralização de radicais DPPH. Fonte: MASTELIC et al., 2008.

Fujisawa et al. (2007) sintetizaram compostos orgânicos de enxofre derivados do isoeugenol **14**, conforme o Esquema 4. Os compostos **14a** e **14b** exibiram alguns efeitos antioxidantes superiores aos do isoeugenol.



Esquema 4 – Síntese de compostos orgânicos de enxofre derivados do isoeugenol. Fonte: FUJISAWA et al, 2007.

Em diversos estudos nota-se que a síntese de compostos orgânicos de enxofre e de selênio e a perspectiva de avaliação das propriedades químicas e biológicas conduz à novas investigações para a ampliação de seus usos e possíveis aplicações industriais.

2.6 Métodos alternativos em síntese orgânica

O desenvolvimento de métodos para a síntese e modificação química de compostos bioativos, assim como em diferentes processos químicos de investigação em escala laboratorial e industrial têm aumentado no sentido de se obter processos sustentáveis e que promovam a redução do impacto ambiental. Este tipo de pesquisa está em franco crescimento incluindo novos métodos sintéticos adotando os princípios da Química Verde (LENARDÃO et al., 2003).

O conceito de Química Verde é relacionado à tecnologia limpa pelo desenvolvimento e implementação de produtos químicos e processos que reduzam ou eliminem o uso ou geração de substâncias nocivas à saúde e ao ambiente. Essas medidas podem ser classificadas em categorias que consistem no uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria prima, no aumento da eficiência de energia e na abstração do uso de substâncias tóxicas e biocumulativas em processos químicos (LENARDÃO et al., 2003).

Os métodos mais limpos em síntese orgânica são desenvolvidos especificamente a partir de alguns parâmetros como a substituição de solventes orgânicos voláteis e o uso de fontes alternativas de energia. Os requisitos para que um solvente seja alternativo ou verde são a disponibilidade, baixa toxicidade

e apresentar condições de ser reciclável. O glicerol, obtido como co-produto no processamento de obtenção do biodiesel, é obtido de fonte renovável e apresenta estas características. O uso do glicerol como solvente é relatado na literatura em diferentes reações, como na tioacetilação de grupos carbonílicos, publicado recentemente por Perin et al. (2010). O glicerol também é empregado como solvente e doador de hidrogênio a vários compostos orgânicos insaturados em reações catalíticas apresentadas por Wolfon et. al. 2009. Além disso, sua utilização como solvente permite facilmente a reciclagem de catalisadores e a separação de produtos (WOLFON et al., 2009).

Assim como o glicerol, os líquidos iônicos apresentam estas características e vantagens na utilização como solventes em métodos mais limpos, como a baixa pressão de vapor e alto ponto de ebulição (NARAYANAPERUMAL et al., 2009, 2010; GU e JÉRÔME, 2010). Por definição os líquidos iônicos são sais fundidos à temperatura ambiente com diversas combinações possíveis de cátions orgânicos e ânions inorgânicos. Seus usos como solvente podem ser exemplificados na síntese de compostos orgânicos de enxofre, apresentada por Lanza et al. (2009) com alta eficiência na adição de tióis em alcenos e alcinos. Os autores apresentam também a possibilidade de reciclagem do meio reacional mantendo a eficiência do método alternativo.

O uso de fontes alternativas de energia, como a irradiação de micro-ondas, torna-se eficiente na síntese de compostos orgânicos de selênio e telúrio (PERIN et al., 2006). A utilização de meios livres de solvente apresenta-se como método apropriados para a adição de tióis em alcenos com uso de CeCl_3 como é demonstrado no estudo realizado por Silveira et al. (2010). Em outro estudo, Das et al. (2010) também apresentam um método sintético alternativo na obtenção de β -hidroxissulfetos em meios livres de solvente.

No presente trabalho, foram contemplados vários princípios da Química Verde, especificamente o uso de fontes renováveis de matéria-prima, com o uso de óleos essenciais e constituintes isolados das plantas das espécies *Ocimum basilicum* (manjeriçã) e *Eugenia caryophyllata* (cravo-da-índia). Outros princípios adotados foram o uso de solvente inócuo como o glicerol e a busca pela eficiência de energia sob diferentes condições reacionais.

3. ARTIGO I

Synthesis and evaluation of organochalcogen derivatives of linalool and eugenol as antioxidants

A ser submetido ao periódico *Food Control*.

ISSN: 0956-7135

Synthesis and evaluation of organochalcogen derivatives of linalool and eugenol as antioxidants

Débora Martins Martinez ^a; Eder João Lenardão^a; Lucielli Savegnago ^b; Jorge Adolfo Silva^a; Gelson Perin^c; Raquel Jacob^c; Diego Alves^c

^a Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

^b Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

^c Instituto de Química e Geociência, Universidade Federal de Pelotas, Brasil

Abstract

The aim of this work was to synthesize organochalcogens derivatives of linalool (1) and eugenol (4) through alternative methods and to evaluate the antioxidant activity *in vitro* of compounds through the methods of neutralization of the free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), and through the inhibition of the lipid oxidation *in vitro* for the TBARS analysis. It was possible to synthesize organoselenium compounds derivatives of linalool and organosulfur derivatives of eugenol using glicerol as solvent. The organic sulphur composites (5 e 6) eugenol derivatives had better shown antioxidant activity of neutralization of free radicals in relation to all the compounds in study. On the other hand, tetrahedron (2) and mixture with tetrahydropyran (3) compounds linalool derivatives had not shown antioxidant activity in the carried through tests.

Key words: *antioxidant activity, radical scavenging, eugenol, linalool, organochalcogens.*

1. Introduction

Lipid oxidation, which is the main cause of quality deterioration in many food systems, may lead to a significant loss of a food's nutritional quality and cause off-flavors and the formation of toxic compounds. Then the application of proper agents with both antioxidants activities may be useful to maintain safety, extend shelf-life of products and prevent economic loss. Due to undesirable influences of oxidized lipids on the human organisms, it is essential to decrease lipid peroxidation products in food (Hur, Park & Joo, 2007; Tawata et al, 2008;). In fact, autoxidation of lipids has long been recognizes as major deterioration process affecting both sensory and nutritional qualities of foods. The high oxidation stability of lipids can be ensured by addition of antioxidants (Mastelic et al., 2008). The most common natural antioxidants are vitamin E (α -tocopherol), vitamin C (ascorbic acid) and various phenol compounds. Phenols are able to donate H atoms of phenol hydroxyl groups in reaction with peroxy radicals that can produce stabilized phenoxyl radicals, thus terminating lipid peroxidation chain reactions.

In this context, many phenols (i.e thymol, carvacrol, eugenol and others) belong to the most active natural antioxidants found in the essential oils (Ruberto & Baratta, 2000; Sokmen et al., 2004; Singh et al., 2007; Sharififar et al. 2007). In fact, essential oils and their components are know to posses potential as natural agents for food preservation associated with antioxidant potential and effectiveness against many microorganisms (Baratta et al., 1998; Burt et al., 2004; Ebrahimabadi et al., 2010). Besides this activity many essential oil have been qualified as natural antioxidants and proposed as potential substitutes of synthetic antioxidants in specific sectors of food preservation (Ruberto & Baratta, 2000; Tawata et al., 2008; Zeng et al., 2011; Kossah, Zhang & Chen et al, 2011).

Although many essential oils present recognized biological properties, many factors influence the effectiveness activity and use as variation of their

constituent, characteristics as volatility and instability involving oxidation, light, temperature limit at storage influencing their stability. Moreover, sensorial characteristics as odor and flavor and using compounds isolated, limit its applicability in foods, depending on the used concentration (Burt, 2004).

The possibility to modify constituents essential oil molecules to promote changes in many aspects, we have been interested in the attainment organochalcogens derivatives based in the antioxidant potential of these compounds. Several studies have demonstrated the antioxidant effects of organochalcogens compounds (Atmaca, 2004; Nogueira, Zeni & Rocha, 2004; Talas, 2009). Selenium- and Sulfur-containing compounds show promising antioxidative properties in different models and can also function as chain-breaking donating antioxidants (Engman et al., 2001b).

As example of synthesis of organoselenium compounds, the cyclization reactions of unsaturated alcohols and monoterpenes using of selenoorganic compounds have been employed (Gruttadauria et al., 2001; & Rafiński, Ścianowski & Wojtczak, 2008). This reactions was well documented in the literature in the synthesis of natural products and related compounds (Petragnani, Stefani & Valduga, 2001). Selenoetherification of monoterpene, as linalool is possible and documented by different authors but the effect on the antioxidant activity of the products had not been investigated (Urones et al., 1995; Mojsilovic & Bugarcic, 2001).

The chemical modification of phenolic compounds and the synthesis of organochalcogen compounds derivatives is showed by different studies and their influence on antioxidant capacity was research (Shanks et al, 2005; Valgimigli et al., 2010)

Our group comes working with synthesis of organochalcogens following principles of green chemistry, using alternative methods as conditions solvent-free, and use of solvents no flammability, high availability, obtaining from renewable sources, and biodegradability as glycerol (Lenardão et al., 2009; Perin et al, 2010a, 2010b).

Some of the compounds in this study are natural compounds and others have been chemically synthesized. We report on the synthesis of

organochalcogens derivatives of linalool and eugenol. Chemical modifications, such as selenofunctionalization of linalool and thiofunctionalization of eugenol, can change antioxidant activity in comparison with the starting compounds. Their efficiency as radical scavengers was evaluated by their activity towards a stable free radical, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS). In addition, their potency as antioxidants in food was evaluated in egg yolk at species reactive thiobarbituric (TBARS) assay.

2. Experimental

2.1 Solvents and Chemicals

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2- carboxylic acid) were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Linalool and eugenol was isolated by chromatography colun of essential oil of *Ocimum basilicum* (LINAX, Brazil) and *Caryophyllus aromaticus* (DELAWARE, Brazil) respectively. All other chemicals used were of analytical grade.

2.2 Synthesis of compounds

2.2.1 Organochalcogens derivatives of linalool

To a magnetically stirred solution of linalool (1 mmol) in glycerol (2 mL) was added *N*-phenilselenosuccinimide (NSeS) (1 mmol). The mixture was allowed to stir for 4 hours at 100°C and was then extracted with etil acetate. The extract was dried (MgSO₄) and the solvent was evaporated.). The compounds was purification by column chromatography over silica gel (hexane/ethyl acetate 98:2).

The products were characterized and identified on the basis of their spectral data. The cyclic ether products were known compounds, and their

spectral data had been given previously (Konstantinovic et al., 1992; Liotta & Zima, 1984).

2.2.2. Organochalcogen derivative of eugenol

To a solution of eugenol (1 mmol) in glycerol (2 mL) was added thiophenol (2mmol). The mixture was allowed to stir for 6 hours at 80°C and was then extracted with etil acetate, the combined dried with (MgSO₄) and the solvent evaporated. The product was purification by column chromatography over silica gel (hexane/ethyl acetate 98:2). The products were characterized and identified on the basis of their spectral data.

Antioxidant Activity

In vitro antioxidant tests are designed to mimic oxidation-reduction popularly occurring in the live biological systems and are used to estimate the antioxidant potentials of various chemical and biological samples. In this research, three most widely used such assays namely 2,2-azinobis-3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and thiobarbituric acid reactive species (TBARS) in egg yolk were applied to evaluate the antioxidant capacities of compounds.

2.3.1. Radical scavenging activity

2.3.1.1. ABTS radical cation scavenging activity

Radical cation scavenging capacity of compounds was examined against ABTS^{•+} generated by chemical methods (Erel, 2004) that involves the generation of radical ABTS^{•+} chromophore by the oxidation of ABTS with potassium

persulfate. The ABTS radical cation was generated by reacting 7 mM stock solution of ABTS with 2.45 mM potassium persulfate (final concentration) and the mixture to stand in the dark for at least 12 h at room temperature before use. Followed this, the sample of 10 μL (from 0.1 – 500 μM of eugenol and mixture of thioeugenol 5 and 6 (in the ratio 92:8), 1-500 μM of linalool and 10-500 μM of linalool derivative 2 and of the mixture of compounds 2 and 3 in the ratio 90-10) were mixed with ABTS radical cation and absorbance was measured 30 min after the initial mixing. Synthetic antioxidant (Trolox) was used as a reference standard. The ABTS⁺ scavenging capacity was calculated according the equation:

$$\% \text{ ABTS}^{\cdot+} \text{ Scavenging Capacity} = [(A_c - A_s / A_s) \times 100],$$

where A_c is the absorbance of the control and A_s is the absorbance of the sample in the presence of compounds.

2.3.1.2. DPPH free radical scavenging activity

The scavenging effect of DPPH radicals was performed to determine the possible mechanism by which compounds exhibit antioxidant property. The DPPH assay was performed as described by Sharma and Bhat (2009). Briefly, 50 μM DPPH was added to a medium containing eugenol and eugenol derivative, linalool and linalool derivatives at different concentrations (0.1- 500 μM). The absorbance of the resulting solutions and the blank were recorded after 30 min at 37 °C. The disappearance of DPPH was read spectrophotometrically at 517 nm. Trolox, a hydrophilic analog of vitamin E, (0.1 μM – 500 μM) was used as a positive control to determine the maximal decrease in DPPH absorbance. The values are expressed in percentage of inhibition of DPPH absorbance in relation to the control values without compounds, calculated from the following equation:

$$I (\%) = [(A_c - A_s / A_c) \times 100]$$

where I= DPPH inhibition%; A_c is the absorbance of the control reaction mixture excluding the test compounds and A_s is the absorbance of the test compounds in different concentrations.

2.3.2. Lipid peroxidation assay

A modified thiobarbituric acid reactive species (TBARS) assay ((Wong, Hashimoto & Shibamoto, 1995) was used to measure the lipid peroxide formed using egg yolk homogenates as lipid-rich media (Ruberto, Baratta, Deans, & Dorman, 2000). Briefly, 40 μL of compounds of different concentrations was added to mixture that contained 200 μL of solution 1% (w/v) of egg yolk emulsified with distilled water. Next, 20 μL of solution FeSO_4 (positive control for lipid peroxidation, 0.07M) (prepared immediately before use) was added and the mixture was incubated at 37 °C of 60 min. After was added 600 μL of 30% acetic acid (pH 3.5) and 600 μL of 0.8 % (w/v) thiobarbituric acid (TBA) in 1.1% (w/v) sodium dodecyl sulphate (SDS) solution and the resulting mixture was vortexed, and then heated at 95 °C for 60 min. After cooling in ice, 2 ml of butan-1-ol was added to each tube and centrifuged at 2000 g for 20 min to remove the precipitated protein. The absorbance of the organic upper layer was measured using a spectrophotometer, set at 532 nm.

The percentage antioxidant index (AI%) calculated using the equation:

$$\text{AI\%} = [(1 - (A_s/A_c)) \times 100]$$

where A_c is the absorbance value of the fully oxidized control and A_s is the absorbance of the test sample.

2.4 Statistical analysis

The results as means \pm standard deviation (SD) for in vitro experiments the data were performed using one-way analysis of variance followed by Newman–Keuls' test when appropriated. All tests were performed at least three times in duplicate. The IC_{50} values (concentration of sample required to scavenge 50% free radical or to prevent lipid peroxidation by 50%) were calculated from the graph of scavenging effect percentage against compounds

concentration. The p values less than 0.05 ($p < 0.05$) were considered as indicative of significance.

3. Results and discussion

3.1 Synthesis of organochalcogen derivatives of linalool and eugenol

Initially, we chose to perform the optimization of conditions for synthesis of linalool derivatives according Table 1. We examined the time, temperature, solvent and organoselenium compounds with electrophilic specie of selenium (C_6H_5SeBr and *N*-phenilselenosuccinimide - *NSeS*).

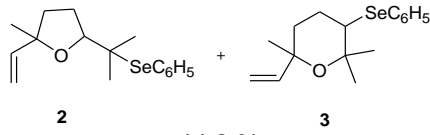
Using the alternative method was obtained a mixture of tetrahydrofuran **2** and tetrahydropyran **3** derivatives of selenocyclization of linalool. In Table 1 showed conditions tested for optimization the synthesis of **2** and **3**. According Scheme 1, the better condition for synthesis this compounds was using glycerol as solvent, temperature of 100°C and time of 4 h with 67.4% yield.

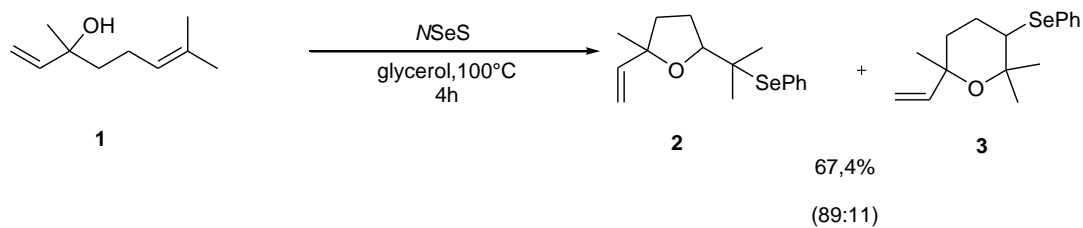
It was possible to isolate compound **2** in chromatography column to carry through the tests of antioxidant activity, but the isolate of compound **3** did not possible, then the mixture in the ratio of 90:10 of products also was tested.

For synthesis of eugenol derivatives, we chose to perform the optimization of conditions for synthesis of organosulfur compounds according Table 2. According Entry 3 (Table 2) and Scheme 2, the better condition for synthesis of eugenol derivatives **5** and **6** was using glycerol as solvent, temperature of 80°C during 6h. The yield was 51%. An inseparable mixture of thioeugenol **5** and **6** in the ratio 90:10 was obtained in this condition.

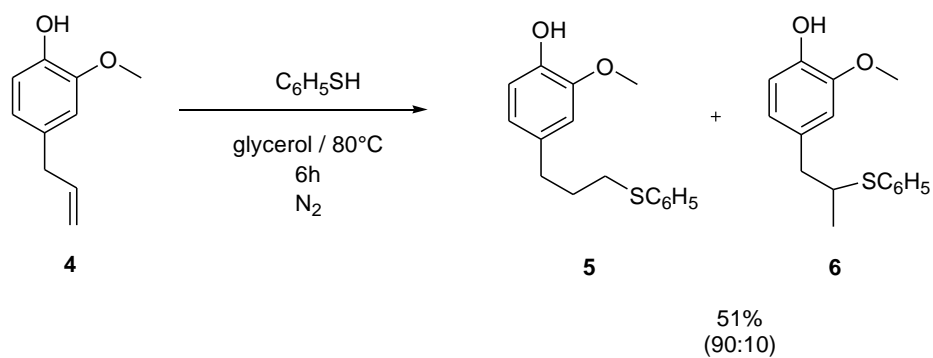
For evaluation of antioxidant activity we considered the mixture of compounds in the ratio of 92:8.

Table 1 – Conditions tested for optimization of synthesis of linalool derivatives **2** and **3**.

Entry	C ₆ H ₅ Se ⁺	Solvent	Time (h)	Temperature	Products Yield
1	C ₆ H ₅ SeBr	CH ₂ Cl ₂ /Pyridine	0.25	rt	 2 + 3 44,8 % (89:11)
2	C ₆ H ₅ SeBr	Glycerol	0.25	rt	33 % (82:18)
3	C ₆ H ₅ SeBr	Glycerol	24	rt	39.3 % (98:2)
4	NSeS	Glycerol	0.25	rt	45.5 % (99:1)
5	NSeS	Glycerol	4	100°C	67.4 % (89:11)
6	NSeS	Glycerol	4	60°C	53 % (89:11)
7	NSeS	Glycerol	1.66	100°C	52 % (86:14)
8	NSeS	Glycerol	0.25	MW 100°C	20.3 % (99:1)
9	NSeS	Glycerol	0.5	MW 100°C	29.3 % (90:10)
10	NSeS	Glycerol/Pyridine	24	rt	26 % (88:12)
11	NSeS	Glycerol/Pyridine	5	100°C	56 % (87:13)



Scheme 1 – Synthesis of linalool derivatives **2** and **3**.



Scheme 2 – Synthesis of thioeugenol **5** and **6**.

Table 2 - Conditions tested for optimization of synthesis of thioeugenol **5** and **6**.

Entry	C_6H_5SH	Solvent	Time (h)	Temperature ($^{\circ}C$)	Product Yield
1	1 mmol	Glycerol	20	rt	25 % (87:12)
2	1 mmol	Glycerol	18	60	28 % (92:8)
3	2 mmol	Glycerol	6	80	51% (90:10)

3.2. Antioxidant activity

3.2.1 Radical scavenging activity

Radical scavengers may directly react with and quench peroxide radicals to terminate the peroxidation chain reaction and improve the quality and stability of food products (Soares et al., 2007). Assays based on the use of DPPH and ABTS^{•+} radicals are among the most popular spectrophotometric methods for the determination of the antioxidant capacity of food, beverages and vegetable extracts (Bendini et al., 2006). Both the chromogen radical compounds can directly react with antioxidants.

Moreover, DPPH and ABTS^{•+} scavenging methods have been used to evaluate the antioxidant activity of compounds due to their simple, rapid, sensitive and reproducible procedure (Ozcelik et al., 2003). However, Awika et al., (2003) have recently reported the superiority of ABTS^{•+} assay over DPPH, as ABTS^{•+} assay is operable over a wide range of pH, is inexpensive, and more rapid than DPPH assay.

ABTS^{•+} radicals are more reactive than DPPH radicals and unlike the reactions with DPPH radical which involve H atom transfer, the reactions with ABTS^{•+} radicals involve electron transfer process (Kaviarasan et al., 2007). Generation of the ABTS radical cation forms the basis of one of the spectrophotometric methods that have been applied to the measurement of total antioxidant activity of substances (Miller et al., 1996).

3.2.1.1 ABTS radical cation scavenging activity

The ABTS radicals are commonly used to evaluate the *in vitro* antioxidant activity of different substrates. In this study, total antioxidant capacity was determined by the assay based on the preformed radical monocation ABTS^{•+}.

As show in the Table 3, eugenol and mixture of thioeugenol **5** and **6** tested in this study exhibited more potent radical scavenging activities than trolox. In fact, IC₅₀ values were: 2.7, 5.1 and 10.2 µM for eugenol, mixtures of thioeugenol **5** and **6**, and, trolox, respectively. According Table 4, the mixture of eugenol derivatives **5** and **6** show better antioxidant activity that parent compound.

Our findings also demonstrating that linalool presented significant ABTS radical cation scavenging activity with IC₅₀ of 50.1 µM, and this capacity is better from 100 µM as show in Table 4.

Table 3 – Antioxidant activity of compounds in this study, values of IC₅₀.

Compounds	DPPH IC₅₀ (µM)	ABTS IC₅₀ (µM)	TBARS IC₅₀ (µM)
Trolox	20.0	10.2	34.0
Linalool	106.0	50.1	308.0
Eugenol	10.2	5.1	158.0
Thioeugenol 5 and 6	16.1	2.7	*

* Thioeugenol 5 and 6 showed activity in TBARS assay but less 50% of inhibition formation of TBARS in egg yolk.

Table 4 – Scavenging ABTS capacity of eugenol and mixture of thioeugenol **5** and **6**.

Concentration (μM)	% scavenging ABTS	
	Eugenol	Thioeugenol 5 and 6
0.1	2.39 \pm 0.8	3.8 \pm 1.3
0.5	5.81 \pm 3.3 *	7.06 \pm 2.3
1	14.73 \pm 1.3 ***	19.78 \pm 2.8 **
2.5	23.10 \pm 5.0 ***	48.03 \pm 16.3 ***
5.0	56.07 \pm 3.4 ***	86.27 \pm 12.3 ***
10	95.98 \pm 3.8 ***	97.76 \pm 2.3 ***
50	100 \pm 0.0 ***	100 \pm 0.0 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of ABTS absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (*) Denote $p < 0.05$; (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

Furthermore, the IC_{50} values of the compounds decrease in the order: thioeugenol **5** > eugenol > and linalool. The thioeugenol **5** showed better antioxidant activity in comparison with all compounds, including trolox (IC_{50} 10.2 μM). The better potential antioxidant in this assay of mixture of eugenol derivatives **5** and **6** in comparison with eugenol, is associated to the fact the thioeugenol compounds possess groups electron donate $\text{S-C}_6\text{H}_5$ as substituent, considerable organochalcogen as element electron rich. The behavior of this compound was observed in this assay, because neutralization ABTS^+ radicals involves electron transfer process (Kaviarasan et al., 2007).

Although the selenium group substituent also can present the ability to electron transfer (Engman et al., 2001; Rossato et al., 2002), compound **2** and the mixture of linalool derivatives (**2** and **3**) did not showed scavenger activity ABTS radical. On the other hand, linalool showed antioxidant activity in this assay according Table 5.

Table 5 – Scavenging ABTS capacity of linalool.

Concentration (μM)	% scavenging ABTS
25	17.07 \pm 0.9
50	49.93 \pm 33.5 **
100	98.46 \pm 0.6 ***
250	95.16 \pm 8.3 ***
500	97.21 \pm 4.8 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of ABTS absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (**) Denote $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

3.2.1.2 Scavenging of DPPH radicals

The stable radical, DPPH, has been used as a convenient method for the antioxidant assay of biological materials, such as cysteine, glutathione, ascorbic acid, tocopherol, and polyhydroxy aromatic compounds (Nishizawa et al. 2005). DPPH has been investigated as a reactive hydrogen acceptor (Braude et al. 1954), and the mechanism of DPPH-scavenging activity involves reductive hydrogen transference between donors and DPPH. Antioxidants, on interaction with DPPH, either transfer an electron or hydrogen atom to DPPH, thus neutralizing its free radical character (Naik et al., 2003). The colour changes from purple to yellow and its absorbance at wavelength 517 decreases.

In this study, free radical-scavenging activity caused by compounds measured by DPPH assay is show in tables 5 and 6. Our results demonstrating that linalool, eugenol and mixture of eugenol derivatives **5** and **6** showed a significant DPPH radical scavenging activity at concentrations equal or greater than 50, 2.5, and 2.5 μM , respectively (Table 3).

Table 6 - Scavenging DPPH capacity of linalool

Concentration (μM)	% scavenging DPPH
25	9.98 \pm 6.8
50	22.15 \pm 8.3 ***
100	37.03 \pm 6.8 ***
250	65.32 \pm 5.1 ***
500	80.56 \pm 3.0 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of DPPH absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (***) Denote $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

Table 7 - Scavenging DPPH capacity and of eugenol and mixture of thioeugenol **5** and **6**.

Concentration (μM)	% scavenging DPPH	
	Eugenol	Thioeugenol 5 and 6
1	5.95 \pm 2.5	5.70 \pm 3.9
2.5	11.41 \pm 4.9 *	12.90 \pm 4.4 ***
5.0	24.79 \pm 5.3 ***	29.61 \pm 6.7 ***
10	49.15 \pm 7.8 ***	40.17 \pm 6.7 ***
25	68.78 \pm 10.2 ***	75.62 \pm 0.86 ***
50	79.11 \pm 2.2 ***	82.81 \pm 4.2 ***
100	83.74 \pm 3.8 ***	86.87 \pm 3.1 ***
500	87.74 \pm 2.2 ***	90.97 \pm 2.0 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of DPPH absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (*) Denote $p < 0.05$ and (***) $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

The IC_{50} values were 10.2, 16.1 and 106 μM , for eugenol, eugenol derivative and linalool respectively (Table 3). Thus, the DPPH radical scavenging activity caused by eugenol, thioeugenol **5** and linalool appeared as superior, similar and lower than that of trolox (IC_{50} value= 20 μM). In addition, the thioeugenol **5** shown to be more potent than all compounds tested in the DPPH radical scavenging activity.

On the other hand, linalool derivatives **2** and **3** did not showed effect in the DPPH radical scavenging activity (data not shown). This result can be related to the fact the linalool derivatives **2** and **3** not to possess the site for hydrogen atom abstraction in the vicinity of the C6-C7 double bond where generally the oxidation of linalool (Backtorp et al., 2006).

3.2.2. Lipid peroxidation assay

The assay was carried out to determine the ability of the compounds to inhibit peroxidation of phospholipids present in egg yolk and thus to assess the potential of the compounds as a source of food system. Egg yolk lipids undergo rapid non-enzymatic peroxidation when incubated in the presence of ferrous sulphate. Lipid peroxides are likely involved in numerous pathological events, including inflammation, metabolic disorders and cellular aging (Ames et al., 1993; Wiseman et al., 1996).

As it is known that lipid peroxidation is the net result of any free radical attack on membrane and other lipid constituents present in the system, the lipid peroxidation may be enzymatic (Fe/NADPH) or non-enzymatic (Fe/ascorbic acid). Here we have used egg yolk as a substrate for mediated lipid peroxidation, which is a non-enzymatic method.

In our study, the effects of compounds on non-enzymatic peroxidation are shown in Tables 8 and 9. IC₅₀ values for the inhibition of lipid peroxidation induced by ferrous sulfate in egg yolk homogenates were 308 and 158 µM, for linalool and eugenol, respectively (Table 3). Although in the tested concentrations the compound **5** did not inhibition 50% of TBARS but this compound showed inhibition of TBARS according results of Table 9.

In this assay, the compounds tested showed lower potential of inhibition TBARS that Trolox. This behavior can be related by the variation of mechanisms involved in lipid peroxidation and the stability of compounds in action as antioxidants.

Table 8 – Percentage of Inhibition TBARS of linalool.

Concentration (μM)	% I
100	11.85 \pm 6.4
250	33.07 \pm 24.6 *
500	68.61 \pm 14.98 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of TBARS absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (*) Denote $p < 0.05$ and (***) $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

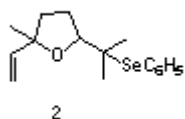
Table 9 – Percentage of Inhibition TBARS of eugenol and mixture of thioeugenol **5** and **6**.

Concentration (μM)	% I	
	Eugenol	Thioeugenol 5 and 6
10	10.05 \pm 7.2 *	2.54 \pm 0.42
50	17.06 \pm 5.4 **	7.41 \pm 0.9 *
100	34.08 \pm 3.8 ***	16.29 \pm 0.7 ***
250	62.72 \pm 4.7 ***	29.63 \pm 4.3 ***
500	75.08 \pm 6.6 ***	38.53 \pm 5.5 ***

The values are expressed in percentage of inhibition of TBARS absorbance in relation to the control value (100%). The control is a tube without compounds tested. (*) Denote $p < 0.05$ and (***) $p < 0.001$ as compared to the respective control samples (one way ANOVA/Neuman-Keuls).

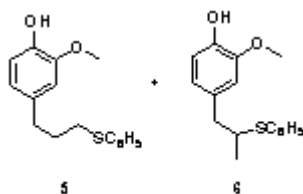
Spectral data

Linalool derivative 2



RMN ^1H , CDCl_3 , 200 MHz, δ (ppm): 7.69-7.64 (m, 2 H); 7.36-7.26 (m, 3 H); 5.86 (dd, $J = 10.6$ e 17.3 Hz, 1 H); 5.17 (dd, $J = 1.6$ e 17.3 Hz, 1 H); 4.88 (dd, $J = 1.5$ e 10.6 Hz, 1 H); 3.94 (t, $J = 7.0$ Hz, 1 H); 2.01-1.65 (m, 4 H); 1.36 (s, 3 H); 1.33 (s, 3 H); 1.31 (s, 3 H).

Thioeugenol 5 + Thioeugenol 6



RMN ^1H , CDCl_3 , 200 MHz, δ (ppm): 7.33 – 7.14 (m, 5 H); 6.84 – 6.80 (m, 1 H); 6.68 – 6.63 (m, 2 H); 5.26 (s l, 1 H); 3.84 (s, 0.3 H); 3.82 (s, 2.7 H); 2.92 (sext., $J = 6.7$ Hz, 0.1 H); 2.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 1.8 H); 2.68 (t, $J = 7.4$ Hz, 1.8 H); 2.73 – 2.51 (m, 0.2 H); 1.92 (quint., $J = 7.4$ Hz, 1.8 H); 1.22 (d, $J = 6.7$ Hz, 0.3 H).

4. Conclusions

Alternative methods it was develop to synthetize organochalcogens compounds derivatives of eugenol and linalool using glycerol as solvent. The insertion of $\text{C}_6\text{H}_5\text{S}$ group into eugenol molecule increase antioxidant activity significantly in free radical models. The compounds derivatives of linalool tetrahydrofuran and tetrahedronpyran did not showed antioxidant activity in the assays, but will be studied antioxidant activity in others models to investigate biological activity and toxicity of this compounds. In conclusion was synthetize novel antioxidants compounds with hability of neutralization free radicals derivatives of chemical modification of eugenol.

References

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. (1993) Oxidants, Antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915-7922.
- Anwar, F., Hussain, A. I., Przybylski, R., & Sherazi, S. T. H. (2008) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108, 968-995.
- Atmaca, G. (2004). Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. *Yonsei Medical Journal*, 45, 776-788.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23, 6657-6662.
- Backtorp, C.; Tobias, J. R.; Wass, J.; Panas, I.; Skold, M.; Borje, A.; Nyman, G. (2006). Theoretical Investigation of Linalool Oxidation. *The Journal of Physical Chemistry*, 10, 12204-12212.
- Baratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and anti-oxidant properties of some commercial oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, 235-244.
- Bendini, A, Carrasco-Pancorbo, A, Cerretani, L, Segura-Carretero, A., Del Carlo, M. Gallina-Toschi, T. Lercker, G., Compagnone, D., Fernandez-Gutierrez, N. G. (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Foods Chemistry*, 53, 8918-8925.
- Burt, S. (2004) Essential oils their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Ebrahimabadi, A., Djafari-Bidgoli, Z., Mazoochi, A., Kashi, F. J., & Batooli, H. (2010) Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the leaves and flowers of *Chaerophyllum macropodium* Boiss. *Food Control*, 21, 1173-1178.
- Engman, L.; Al-Maharik; Malmstro, J.; Carl, H. J.; & Shiesser, C. H. (2001) Intramolecular Homolytic Substitution at Selenium: Synthesis of Novel Selenium-Containing Vitamin E Analogues. *Organic Chemistry*, 66, 6286-6290.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 37, 277-285.

Gruttadauria, M., Aprile, C., Riela, S., Noto, R. (2001). Synthesis of 2,4,6-trisubstituted tetrahydropyrans via 6-exo selenoetherification of unsaturated alcohols. *Tetrahedron Letters*, 42, 2213-2215.

Hur, S. J.; Park, G. B.; & Joo, S. T. (2007) Formation of cholesterol oxidation products (COPS) in animal products. *Food Control*, 18, 939-947.

Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabhagirathi, R., Anuradha, C.V., Priyadarsini, K.I. (2007). In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chemistry*, 103, 31-37.

Konstantinovic, S.; Bugarcic, Z.; Milosavljevic, S.; Schroth, G.; Mihailovic, M. Lj. (1992). Regioselectivity in cyclofunctionalization of olefinic alcohols with benzeneselenenyl halides at different temperatures. *Liebigs Annalen Chemie*. 3, 261-268.

Kossah, R., Zhang, H., Chen, W. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruit extract. *Food Control*, 22, 128-132.

Lenardão, E. J., Victoria, F. N., Radatz, C. S., Sachini, M., Jacob, R. G., Perin, G., Da Silva, W. P. (2009) KF/Al₂O₃ and PEG-400 as a recyclable medium for the selective α -selenation of aldehydes and ketones. Preparation of potential antimicrobial agents. *Tetrahedron Letters*. 59, 6761-6763.

Mastelic, J., & Blazevic, I. (2008) Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 3989-3996.

Miller, N. J., Castelluccio, C, Tijburg, L. Rice-Evans, C. (1996) The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters - radical scavengers or metal chelators? *FEBS Letters*, 392, 40-43.

Mojsilovic, B. M., Bugarcic, Z. M. (2001) Pyridine-Facilitated Phenylselenoetherification of Some Tertiary Alkenols *Heteroatom Chemistry*, 12, 475-479.

Naik, G. H., Priyadarsini, K. I., Satav, J. G. (2003). Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochemistry*, 63, 97-104.

Nishizawa, M; Kohno, M; Nishimura, M, Kitagawa, A, Niwano, Y. (2005). Non-reductive scavenging of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) by peroxyradical: A useful method for quantitative analysis of peroxyradical. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 53, 714-716.

Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, B. T. (2004). Organoselenium and Organotellurium Compounds: Toxicology and Pharmacology. *Chemistry Review*, 104, 6255-6285.

Núñez, M. J., Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.

Ozcelik, B., Min, D. B., Lee, J. H. (2003). Electron donation mechanisms of beta-carotene as a free radical scavenger. *Journal of Food Science*, 68, 861-865.

Perin, G., Lara, R. G., Borges, E. L., Lenardão E. J., Alves, D., Jacob R. G. (2010a) Addition of Thiols to Phenylselenoalkynes using KF/Alumina under Solvent-Free Conditions. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21, 2125-2129.

Perin, G., Mello, L. G., Radatz, C., Savegnago, L., Alves, D., Jacob, R. G., & Lenardao, E. J. (2010b) Green, catalyst-free thioacetalization of carbonyl compounds using glycerol as recyclable solvent. *Tetrahedron letters*, 51, 4354-4356.

Perry, A.K. Raina, A. N., Wataya, T., Sayre, L.M., & Smith, M.A. (2000) How important is oxidative damage? Lessons from Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 28, 831-834.

Petragnani, N., Stefani, H.A., Valduga, C.J. (2001) Recent advances in selenocyclofunctionalization reactions. *Tetrahedron*, 57, 1411-1448.

Rafiński, Z., Ścianowski, J., Wojtczak, A. (2008). Asymmetric selenocyclization with the use of dialkyl monoterpene diselenides. *Tetrahedron Asymmetry*, 19, 223-230.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933-956.

Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174.

Shanks, D., Amorati, R., Fumo, M. G., Pedulli, G. F., Valgimigli, L., Engman, L. (2006). Synthesis and Antioxidant Profile of all-rac- α -Selenotocopherol. *Journal of Organic Chemistry*, 71, 1033-1038.

Sharififar, F., Moshafi, M. H., Mansouri, S. H., Khodashenas, & M., Khoshnoodi, M. (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18, 800-805.

Sharma, O. P.; Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113, 1202-1205.

Scherer, R., & Godoy, H.T. (2009) Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112, 654-658.

Singh, H. B.; Tripathi, S. K.; Patel, U.; Roy, D., Sunoi, R. B.; Wolmershauser, G.; Butchers, R. (2005) *o*-Hydroxymethylphenylchalcogens: Synthesis, Intramolecular Nonbonded Chalcogen...OH Interactions, and Glutathione Peroxidase-like Activity. *Journal of Organic Chemistry*, 70, 9237–9247.

Sokmen, A., Medine Gulluce, H. Askin Akpulat, Dimitra Daferera, Bektas Tepe, Moschos Polissiou, Münevver Sokmen, Fikretin Sahin. (2004). *Food Control*, 15, 627-634.

Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., & Cliver, D.O.(2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199–1218.

Talas, Z. S. (2009). Antioxidative effects of novel synthetic organoselenium compound in rat lung and kidney. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 916–921.

Tawata, S., Deba, F., Xuan, T. D., & Yasuda, M.(2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*, 19, 346–352

Urones, J. G., Dfez, D., Marcos, I. S., Basabe, P., Lithgow, A. M., Moro, R. F., Garrido, N. M., Escarcena R. (1995) The Use of Acyclic Monoterpenes in the Preparation of 3-pyrone: Synthesis of the Right-hand Fragment of Usneidone E. *Tetrahedron*, 51, 3691-3704.

Valgimigli, L., Amorati, R., Pedulli, G. F., Johansson, H., Engman, L. (2010). Organochalcogen Substituents in Phenolic Antioxidants. *Organic Letters*, 12, 2326–2329.

Zeng, L. B., Zhang, Z. R., Luo, Z. H., Luo, Z., Zhu, J. (2011) Antioxidant activity and chemical constituents of essential oil and extracts of *Rhizoma Homalomenae*. *Food Chemistry*, 125, 456-463.

Wiseman, H. (1996) Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7, 2-15.

Wong, J. W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995). Antioxidant activity of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707-2712.

4. ANEXO I

ARTIGO II

Base-free Oxidation of Thiols to Disulfides Using Selenium Ionic Liquid

Tetrahedron Letters, 2011, v. 52, p.640-643

DOI: [10.1016/j.tetlet.2010.11.158](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.11.158)

ISSN:0040-4039



Pergamon

Base-free Oxidation of Thiols to Disulfides Using Selenium Ionic Liquid

Samuel Thurow, Vanda A. Pereira, Débora M. Martinez, Diego Alves, Gelson Perin, Raquel G. Jacob and Eder J. Lenardão*

Instituto de Química e Geociências - LASOL - Universidade Federal de Pelotas – UFPel - P.O. Box 354 - 96010-900, Pelotas-RS - Brazil.

Abstract— We present here the results on the use of 1-*n*-butyl-3-methylimidazolium methylselenite, [bmim][SeO₂(OCH₃)], in the synthesis of symmetrical disulfides starting from thiols. This efficient and improved method is general for aromatic, aliphatic and functionalized thiols, affording the disulfides in good to excellent yields after easy work up. The use of microwave accelerates the reaction and the [bmim][SeO₂(OCH₃)] was reused for further oxidation reactions.

© 2011 Elsevier Science. All rights reserved

¹ Thiols and disulfides are important in both, biological¹ and chemical process.² Disulfides are useful reagents in organic synthesis² and essential moieties of biologically active compounds for peptide and protein stabilization.¹ As disulfides are relatively more stable toward organic reactions such as oxidation, alkylation and acylation, compared to the corresponding free thiols, the thiol group can conveniently be protected as a disulfide. Besides,

there are a large number of commercially available thiols and the interconversion between thiols and disulfides is easy.³ These aspects are responsible for the continuous interest in development of new, selective and efficient protocols for the preparation of disulfides.^{2,4,5} Recently reported procedures to obtain symmetrical disulfides involve the use of anhydrous potassium phosphate,^{4a} potassium permanganate,^{4b} molecular bromine supported on silica gel,^{4c} *N*-phenyltriazolinedione,^{4d} VO(acac)₂,^{4e}

Keywords: Selenium ionic liquid, disulfides, oxidation.

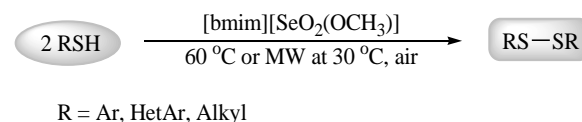
*Corresponding author. Tel./fax: +55 5332757533,

E-mail: lenardao@ufpel.edu.br.

trichloroisocyanuric acid,^{4f} nitric acid,^{4g} 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin,^{4h} basic alumina,⁴ⁱ CsF-Celite^{4j} and montmorillonite K10.^{4k} Additionally, cleaner protocols under solvent-free conditions were described.^{4d,6} These methods use *N*-phenyltriazolinedione,^{4d} pyridinium chlorochromate,^{6a} 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin,^{6b} SO₂Cl₂,^{6c} trichloronitromethane,^{6d} KMnO₄/MnO₂,^{6e} KMnO₄ supported on montmorillonite K10,^{6f} catalytic amount of iodine and CeCl₃·7H₂O in graphite,^{6g} and KF/Al₂O₃^{6h} as catalysts. Thus, there is still an attention in developing green methods that would produce the desirable disulfides in high yields.

In this way, ionic liquids (ILs) constitute an interesting alternative for this reaction. Because product isolation or catalyst recycling is very easy in ILs and, in some cases, rate accelerations and/or selectivity improvements are also observed, they are regarded as environmentally friendly green solvents.⁷ In this context, the use of [bmim][BF₄] as solvent for the oxidation of thiols in the presence of a base was described.⁸ Recently, we have reported the use of the new cationic selenium-based acidic ionic liquid phenyl butyl ethyl selenonium tetrafluoroborate,

[pbeSe][BF₄], as an efficient catalyst in several acid-catalyzed reactions.⁹ Besides, the application of the ionic liquid containing anionic selenium-based [bmim][SeO₂(OCH₃)] in the oxidative carbonylation of aniline was also described.¹⁰ The selenium-containing ionic-liquids shown superior catalytic performance and were reused without losing their initial activity.¹⁰ Due to our interest in new applications for selenium-based ionic liquids,⁹ we decide to study the use of [bmim][SeO₂(OCH₃)]¹⁰ as solvent in the oxidation of thiols to symmetrical disulfides (Scheme 1).



Scheme 1. General Scheme of Reaction.

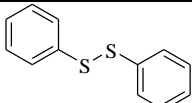
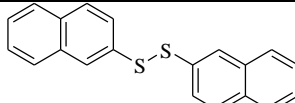
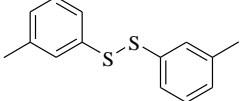
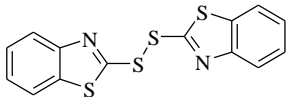
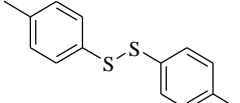
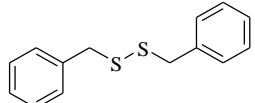
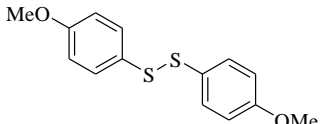
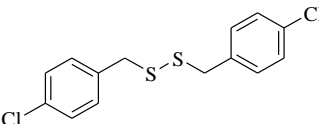
Initially, we chose benzenethiol as a substrate to establish the best condition for the air oxidation reaction in the presence of 1.0 mL of [bmim][SeO₂(OCH₃)]. Thus, a mixture of benzenethiol (1.0 mmol) and [bmim][SeO₂(OCH₃)] was stirred for 12 h at room temperature furnishing diphenyl disulfide **1a** in 45% yield. This unexpected, new result showing the ionic liquid acting both, as solvent and

catalyst, encouraged us to investigate the effect of the temperature in this base-free oxidation. To our satisfaction, at a gently heating (60 °C), the reaction proceeded slowly furnishing the desired diphenyl disulfide **1a** in 98% isolated yield after 12 hours. In order to obtain an efficient protocol in terms of energy economy, we make a study to establish the minimum time associated with a good reaction rate under the optimized conditions, and the results are summarized in Figure 1.

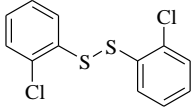
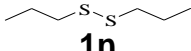
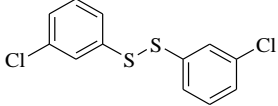
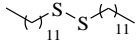
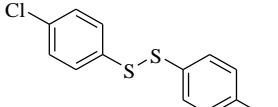
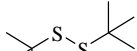
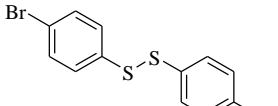
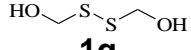
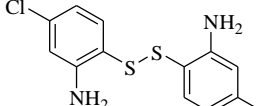
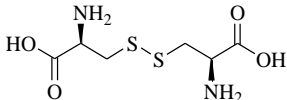
Analyzing the Figure 1, total conversion of benzenethiol was observed after 3 hours of reaction. A further decreasing in the reaction time was followed by a considerable reduction in the conversion rate of benzenethiol.

Under the optimized conditions (Method A),¹¹ a variety of organothiols were oxidized smoothly to produce disulfides **1a-r** in good to excellent yields (Table 1). Diphenyl disulfide **1a** was obtained in 98% isolated yield after 3 hours at 60 °C (Table 1, entry 1).

Table 1. Synthesis of disulfides **1a-r** using [bmim]SeO₂(OCH₃) according method A.^a

Entry	Time (h)	Product Yield [Lit.]	Entry	Time (h)	Product Yield [Lit.]
1	3	 1a 98% ^[12]	10	5	 1j 88% ^[20]
2	2	 1b 99% ^[13]	11 ^[b]	2	 1k 99% ^[21]
3	4	 1c 99% ^[14]	12	4	 1l 98% ^[14]
4	3	 1d 99% ^[15]	13	4	 1m 87% ^[22]

Next page

5	4		14	3	
		1e 98% ^[14]			1n 99% ^[23]
6	4		15	4	
		1f 93% ^[16]			1o 84% ^[24]
7 ^[b]	3		16	4	
		1g 99% ^[17]			1p 80% ^[18]
8 ^[b]	3		17	18	
		1h 99% ^[18]			1q 85% ^[25]
9	14		18	8	
		1i 78% ^[19]			1r 87% ^[20]

^a Yields are given for pure isolated products. ^b Reaction was performed at 100 °C.

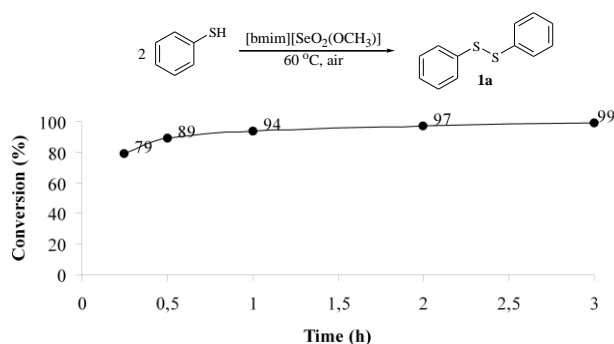


Figure 1. Plot of conversion vs. time for the oxidation of benzenethiol (determined by GC).

Diaryl disulfides containing electron donating (Table 1, entries 2-4) and electron withdrawing groups (Table 1, entries 5-8), could be obtained in high yields. Good yields of oxidation were

obtained using 2-amino-4-chlorobenzenethiol and 2-naphthalenethiol (Table 1, entries 9 and 10). Excellent yield of disulfide was obtained with 2-mercaptobenzothiazole, but this reaction was performed at 100 °C (Table 1, entry 11). Satisfactory results were achieved using benzylic or alkylic thiols yielding the corresponding disulfides **1l-q** in a range of 80-99% (Table 1, entries 12-17). Additionally, the amino acid *L*-cysteine, which is involved in a large number of biological

processes, is converted into cystine **1r** with 87% yield (Table 1, entry 18).

In order to obtain an efficient protocol in terms of energy economy, we performed these reactions under microwave irradiation. Thus, the mixture of benzenethiol (1.0 mmol) and [bmim][SeO₂(OCH₃)] was irradiated under stirring and fortunately, after 15 minutes at 30 °C, diphenyl disulfide **1a** was obtained in 98% (Method B).¹¹ To extend the scope of Method B, other organothiols were irradiated with microwaves and the corresponding disulfides showed in Table 2 were obtained in excellent yields.

Finally, a study regarding the recovering and reusing of the ionic liquid was also performed using the Method B. After the total oxidation of benzenethiol, the product was extracted with petroleum ether (3 × 5 mL). The upper phase was dried and the solvent evaporated. The inferior, ionic liquid phase was dried under vacuum and reused. The selenium ionic liquid maintained its good level of oxidation activity even after being recycled four times as shown in Figure 2. The product **1a** was obtained in 98%, 98%, 96%, 96%, and 94% yields after successive cycles.

In conclusion, [bmim][SeO₂(OCH₃)] has proved to be an efficient medium for the oxidation of aromatic, aliphatic and functionalized thiols. The Se-ionic liquid acts both, as solvent and catalyst, and is easily recovered and utilized for further oxidation reactions. The reactions are accelerated by microwaves and the desired disulfides were obtained in good to excellent yields.

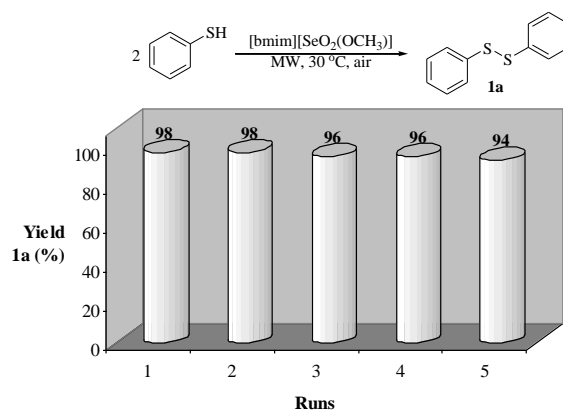
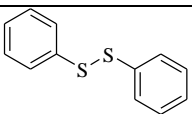
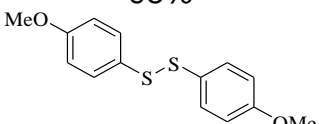
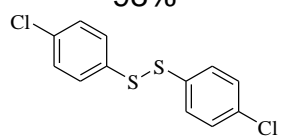
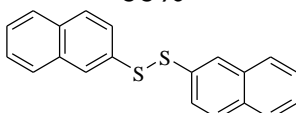
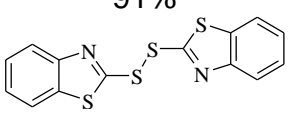
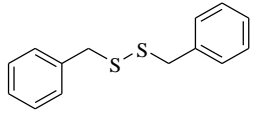


Figure 2. Reuse of [bmim][SeO₂(OCH₃)] under microwave irradiation.

Table 2. Synthesis of disulfides according Method B.^a

Entry	Time (min.)	Product Yield
1	15	 1a 98%
2	20	 1d 98%
3	15	 1g 99%
4	30	 1j 91%
5	20	 1i 97%
6	15	 1m 95%

^a Yields are given for pure isolated products.

Acknowledgments

We are grateful to FAPERGS (FAPERGS/PRONEX 10/0005-1 and 10/0027-4), CAPES, FINEP and CNPq for the financial support.

References

1. (a) Bodanszky, M. In *Principles of Peptide Synthesis*, 1984, 307. (b)

Jocelyn, P. C. In *Biochemistry of the Thiol Group*, American Press, New York, 1992. (c) Kanda, Y.; Fukuyama, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8451. (d) Palmer, B. D.; Newcastle, G. W.; Thompson, A. M.; Boyd, M.; Showalter, H. D. H.; Sercel, A. D.; Fry, D. W.; Kraker, A. J.; Dennyrosine, W. A. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 58. (e) Schmidt, B.; Lindman, S.; Tong, W.; Lindeberg, G.; Gogoll, A.; Lai, Z.; Thornwall, M.; Synnergren, B.; Nilson, A.; Welch, C. J.; Sohtell, M.; Westerlund, C.; Nyberg, F.; Karlen, A.; Hallberg, A. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 903. (f) Lyukmanova, E. N.; Shulepko, M. A.; Tikhonov, R. V.; Shenkarev, Z. O.; Paramonov, A. S.; Wulfson, A. N.; Kasheverov, I. E.; Ustich, T. L.; Utkin, Y. N.; Arseniev, A. S.; Tsetlin, V. I.; Dolgikh, D. A.; Kirpichnikov, M. P. *Biochem. (Moscow)* **2009**, *74*, 1142.

2. (a) Uemura, S. In *Comprehensive Organic Synthesis*; Trost, B. M.; Fleming, I. Eds.; Pergamon: Oxford, 1991, 757. (b) Oae, S. In *Organic Sulfur Chemistry: Structure and Mechanism*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1991. (c) Cremlyn, R. J. In *An Introduction to Organosulfur*

- Chemistry*; Wiley & Sons: New York, 1996.
3. Maiti, S. N.; Spevak, P.; Singh, M. P.; Micetich, R. G. *Synth. Commun.* **1988**, *18*, 575.
 4. (a) Joshi, A. V.; Bhusare, S.; Baidossi, M.; Qafisheh, N.; Sasson, Y. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3583. (b) Shaabani, A.; Tavasoli-Rad, F.; Lee, D. G. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 571. (c) Ali, M. H.; McDermott, M. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 6271. (d) Christoforou, A.; Nicolaou, G.; Elemes, Y. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 9211. (e) Raghavan, S.; Rajender, A.; Joseph, S. C.; Rasheed, M. A. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 1477. (f) Zhong, P.; Guo, M. P. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 1825. (g) Misra, A. K.; Agnihotri, G. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1079. (h) Alam, A.; Takaguchi, Y.; Tsuboi, S. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1329. (i) Liu, K. T.; Tong, Y. C. *Synthesis* **1978**, 669. (j) Shah, S. T. A.; Khan, K. M.; Fecker, M.; Voelter, W. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6789. (k) Hirano, M.; Yakabe, S.; Fukami, M.; Morimoto, T. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 2783.
 5. (a) Demkowicz, S.; Rachon, J.; Witt, D. *Synthesis* **2008**, 2033. (b) Vlahov, I. R.; Santhapuram, H. K. R.; Wang, Y.; Kleindl, P. J.; You, F.; Howard, S. J.; Westrick, E.; Reddy, J. A.; Leamon, C. P. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5968. (c) Hunter, R.; Caira, M.; Stellenboom, N. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8268.
 6. (a) Salehi, P.; Farrokhi, A.; Gholizadeh, M. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 2777. (b) Khazaei, A.; Zolfigol, M. A.; Rostami, A. *Synthesis* **2004**, 2959. (c) Leino, R.; Lönnqvist, J. E. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8489. (d) Demir, A. S.; Igdir, A. C.; Mahasneh, A. S. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 12399. (e) Shaabani, A.; Mirzaei, P.; Lee, D. G. *Catal. Lett.* **2004**, *97*, 119. (f) Shaabani, A.; Bazgir, A.; Lee, D. G. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 3595. (g) Silveira, C. C.; Mendes, S. R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7469. (h) Lenardão, E. J.; Lara, R. G.; Silva, M. S.; Jacob, R. G.; Perin, G. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 7668.
 7. (a) Welton, T. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2071. (b) Dupont, J.; Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3667. (c) Wasserscheid, P.; Welton, P. In *Ionic Liquids in Synthesis*, ed. Wiley-VCH, Weinheim, 2003. (d) Rantwijk, F.; Sheldon, R. A. *Chem. Rev.* **2007**,

- 107, 2757. (e) Martins, M. A. P.; Frizzo, C. P.; Moreira, D. N.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2015.
8. Singh, D.; Galetto, F. Z.; Soares, L. C.; Rodrigues, O. E. D.; Braga, A. L. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2661.
9. (a) Lenardão, E. J.; Feijó, J. O.; Thurow, S.; Perin, G.; Jacob, R. G.; Silveira, C. C. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5215. (b) Lenardão, E. J.; Borges, E. L.; Mendes, S. R.; Perin, G.; Jacob, R. G. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1919. (c) Lenardão, E. J.; Mendes, S. R.; Ferreira, P. C.; Perin, G.; Silveira, C. C.; Jacob, R. G. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7439.
10. For the synthesis of [bmim][SeO₂(OCH₃)] see: Kim, H. S.; Kim, Y. J.; Lee, H.; Park, K. Y.; Lee, C.; Chin, C. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4300.
11. **General procedure for the oxidation of thiols with [bmim][SeO₂(OCH₃)]:** *Method A:* In a Schlenk tube under open atmosphere and at room temperature, the corresponding thiol (1.0 mmol) was added to [bmim][SeO₂(OCH₃)]¹⁰ (1.0 mL). The reaction mixture was allowed to stir at 60 °C for the time indicated in

Table 1. The progress of the reaction was monitored by TLC. *Method B:* In a 10 mL glass vial equipped with a small magnetic stirring bar, containing 1.0 mL of [bmim][SeO₂(OCH₃)] was added the thiol (1.0 mmol). The vial was tightly sealed with an aluminum/Teflon crimp top. The mixture was then irradiated in a microwave reactor (CEM Explorer) for the time indicated in Table 2 at 30 °C (temperature was measured with an IR sensor on the outer surface of the reaction vial), using an irradiation power of 100 W and pressure of 150 psi. After the reaction was complete, the product was extracted by successive washings with petroleum ether (3× 5 mL), dried over MgSO₄, and concentrated under vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel using ethyl acetate/hexanes as the eluent.

Recycle of the ionic liquid: The aforementioned Method B was used with benzenethiol (0.110g, 1.0 mmol) and the inferior, ionic liquid phase, was separated and dried under vacuum. The recovered [bmim][SeO₂(OCH₃)] was used directly in the next cycle.

12. Megnerian, G.; Clapp, L. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 486.
13. Tajbakhsh, M.; Habibzadeh, S. *J. Chem. Res (S)* **2007**, 486.
14. Hajipour, A. J.; Mallakpour, S. E. *J. Chem. Res. (S)* **2000**, 32.
15. Iranpoor, N.; Zeynizadeh, B. *Synthesis* **1999**, 49.
16. McKillop, A.; Koyuncu, D.; Krief, A.; Dumont, W.; Renier, P.; Trabelsi, M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 5007.
17. Field, L.; Lawson, J. E; *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 838.
18. Banfield, S. C.; Omori, A. T.; Leisch, H.; Hudlicky, T. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 4989.
19. Collings, A. J.; Morgan, K. J. *Tetrahedron* **1964**, 20, 2167.
20. Ruano, J. L. G.; Parra, A.; Alemán, J. *Green Chem.* **2008**, 10, 706.
21. Wang, X.; Chen, X.; Wu, X.; Tao, J.; Cheng, L. *Synth. Commun.* **2009**, 39, 3453.
22. Xiao, H.; Chen, J.; Liu, M.; Wu, H.; Ding, J. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2009**, 184, 2553.
23. Meshram, H. M. *Org. Prep. Proced. Int.* **1993**, 25, 232.
24. Badri, R.; Mostoufi, A. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2006**, 181, 1513.
25. Rai, S. K.; Sharma, M.; Tiwari, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 7302.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foram atingidos os objetivos propostos para a síntese de compostos organocalcogênios derivados de linalol e eugenol utilizando métodos sintéticos alternativos com o uso de glicerol como solvente. Os compostos orgânicos de enxofre derivados do eugenol (tioeugenol **5** e **6**) apresentaram alta capacidade antioxidante de neutralização de radicais ABTS e DPPH em relação a todos os compostos estudados. Os compostos orgânicos de selênio derivados do linalol não exibiram atividade antioxidante nos testes realizados. Pretende-se investigar a atividade antioxidante em outros modelos experimentais, assim como avaliar a toxicidade dos novos compostos antioxidantes sintetizados neste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- ANWAR, F.; HUSSAIN, A. I.; SHERAZI, S. T. H., PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**. v. 108, p. 986-995, 2008.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos : Teoria e Prática**. ed. 4^o. Ed UFV, 596 p. 2008.
- ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; HOEY, B. M.; BUTLER, J. The antioxidant action of n-acetylcysteine - its reaction with hydrogen-peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 6, p. 593-597, 1989.
- ATMACA, G. Antioxidant effects of sulfur-containing amino acids. **Yonsei Medical Journal**, n. 45, p. 776-788, 2004.
- ATSUMI, T.; FUJISAWA, S.; SATOH, K.; SAKAGAMI, H.; IWAKURA, I.; UEHA, T.; SUGITA, Y.; YOKOE, I. Cytotoxicity and radical intensity of eugenol, isoeugenol or related dimmers. **Anticancer Research**, n. 20, p. 2519-2524, 2000.
- ATSUMI, T.; IWAKURA, I., FUJISAWA, S. Reactive oxygen species generation and photo-cytotoxicity of eugenol in solutions of various pH. **Biomaterials**, v. 22, p. 1459-1466, 2001.
- BACKTORP, C.; TOBIAS, J. R.; WASS, J.; PANAS, I.; SKOLD, M. BORJE, A.; NYMAN, G. Theoretical Investigation of Linalool Oxidation. **The Journal of Physical Chemistry**. n. 110, p. 12204-12212, 2006.
- BARBOSA, N. B. V.; NOGUEIRA, C. W.; GUECHEVA, T. N.; LOURDES, B. M.; ROCHA, J. B. T. Diphenyl diselenide supplementation delays the development of N-nitroso-N-methylurea-induced mammary tumors. **Archives of Toxicology**. v. 82, p. 655-663, 2008.
- BASSOLÉ, I. H. N.; LAMIEN-MEDA, A.; BAYALA, B.; TIROGO, S.; FRANZ, C., NOVAK, J.; NEBIÉ, C.; DICKO, M. H. Composition and Antimicrobial Activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. Essential Oils and Their Major Monoterpene Alcohols Alone and in Combination. **Molecules**, n. 15, p.7825-7839. 2010.
- BATTIN, E. E.; BRUMAGHIM, J. L. Antioxidant Activity of Sulfur and Selenium: A Review of Reactive Oxygen Species Scavenging, Glutathione Peroxidase, and Metal-Binding Antioxidant Mechanisms. **Cell Biochemistry and Biophysics**. v. 55, p. 1-23, 2009.
- BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**. v. 219, ed. 6, p. 561-571, 2004.

BORGES, L. P.; BORGES, V. C.; MORO, A. V.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B.T.; ZENI, G. Protective effect of diphenyl diselenide on acute liver damage induced by 2-nitropropane in rats. **Toxicology**. v.210, p.1-8, 2005

BRIGATI, G.; LUCARINI, M.; MUGNAINI, V.; PEDULLI, G. Determination of the substituent effect on the O-H bond dissociation enthalpies of phenolic antioxidants by the EPR radical equilibration technique. **Journal of Organic Chemistry**. v. 67, p. 4828-4832, 2002.

BURT, S. Essential oils their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, 94, 223-253, 2004.

CELIK, S.; OZKAYA, A. Effects of intraperitoneally administered lipoic acid, vitamin E, and linalool on the level of total lipid and fatty acids in guinea pig brain with oxidative stress induced by H₂O₂. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**. v. 35, p. 547-552. 2002.

CHAIEB, K.; ZMANTAR, T.; KSOURI, R.; HAJLAOUI, H.; MAHDOUANI, K.; ABDELLY, C.; BAKHROUF, A. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. **Mycoses**, v. 50, ed. 5, p. 403-406, 2007.

CHOI, H.; SONG, H. S.; UKEDA, H.; SAMURA, M. Radical-Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components : Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 48 v. 9, p. 4156–4161, 2000.

COSTA, P. R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova** . v.23, n.3, p. 357-369, 2000.

CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry and reactions os reactive oxygen species in food. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 143-159, 2005.

DE BEM, A. F.; PORTELLA, R. L.; COLPO, E.; DUARTE, M. M. F.; FREDIANE, A.; TAUBE, P. S.; NOGUEIRA, C. W.; FARINA, M.; DA SILVA, E. L. ROCHA, J. B. T. Diphenyl Diselenide Decreases Serum Levels of Total Cholesterol and Tissue Oxidative Stress in Cholesterol-fed Rabbits. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**. v. 105, p. 17–23, 2009.

DENEKE, S. M. Thiol-Based Antioxidant. **Current Topics in Cellular Regulation**. V. 36, p. 151-180. 2000.

DAVIES, H. M. L. Synthetic lessons from nature. **Nature**, n. 459, p. 786-787, 2009.

DE FLORA, S.; IZZOTTI, A. Mutagenesis and cardiovascular disease: Molecular mechanisms, risk factors, and protective factors. **Mutation Research**, n. 621, p. 5-17, 2007.

DEMIRKOL, O.; ADAMS, C.; ERCAL, N.. Biologically Important Thiols in Various Vegetables and Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 52, p. 8151-8154, 2004.

DOS SANTOS, E. C. Boletim Técnico: Estudo de Viabilidade Técnica: Implantação da Cultura do Manjeriço para Exportação. Disponível em: <http://www.upis.br/pesquisas/pdf/agronomia/projeto_empresarial/boletim/implantacao_manjericao.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2010. 2005.

DUMAN, A. D.; TELCI, I.; DAYISOYLU, K. S. Evaluation of Bioactivity of Linalool-rich Essential Oils from *Ocimum basilicum* and *Coriandrum sativum* Varieties. **NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS**. v. 5, p. 969-974, 2010.

ENGMAN, L.; AL-MAHARIK, N.; MALMSTRO, J.; CARL, H. J. Intramolecular Homolytic Substitution at Selenium: Synthesis of Novel Selenium-Containing Vitamin E Analogues. **Organic Chemistry**. n. 66, p. 6286-6290, 2001a.

ENGMAN, L.; MALMSTROM, J.; JONSSON, M.; COTGREAVE, I. A.; HAMMARSTRÖM, L.; SJÖDIN, M. The antioxidant profile of 2,3-dihydrobenzo[b]furan-5-ol and its 1-thio, 1-seleno, and 1-telluro analogues. **Journal of The American Chemical Society**. v. 123, p. 3434-3440. 2001b

ERCAL, N.; DEMIRKOL, O.; ADAMS, C. Biologically Important Thiols in Various Vegetables and Fruits, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n.52, p. 8151-8154, 2004.

FEJES, S.; KERY, A.; BLAZOVCS, A.; LUGASI, A.; LEMBERKOVICS, E.; PETRI, G.; SZOKE, E. Investigation of the in vitro antioxidant effect of *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex. A. W. Hill. **Acta Pharm Hung**. n. 68, v. 3, p.150-156, 1998.

FUJISAWA, S.; KADOMA, Y.; KUMADA, W.; ASAI, Y.; SUGITA, Y.; YOKOE, I. Radical-scavenging Activity of the Reaction Products of Isoeugenol with Thiol, Thiophenol, Mercaptothiazoline or Mercaptomethylimidazole Using the Induction Period Method. **Molecules**, v. 12, p. 1836-1844, 2007.

GRASSMANN, J. Terpenoids as plant antioxidants. **Vitam Horm**, n. 72, p.505–35, 2005.

GRUTTADAURIA, M.; APRILE, C.; RIELA, S.; NOTO, R. Synthesis of 2,4,6-trisubstituted tetrahydropyrans via 6-exo selenoetherification of unsaturated alcohols. **Tetrahedron Letters**, n. 42, p. 2213–2215, 2001.

GU, Y. L.; JÉRÔME, F. Glycerol as a sustainable solvent for green chemistry. **Green Chemistry**. v. 12, p. 1127-1138, 2010.

HALLIWELL, B, CHIRICO, S. Lipid peroxidation? It's mechanism, measurement, and significance. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 57. p. 715S-724S., 1993.

INGOLD, K. U.; BURTON, G. W.; WAYNER, D. D. M. The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration-dependent. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**. v. 884, p. 119-123, 1986.

ITO, N.; HIROSE, M.; FUKUSHIMA, S.; TSUDA, H.; SHIRAI, T.; TATEMATSU, M. Studies on antioxidants: their carcinogenic and modifying effects on chem 73 carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**. n.24. p. 1099–1102. 1986.

KIM, J. M.; CHANG, H. J.; KIM, W. K.; CHANG, N.; CHUN, H. S. Structure–activity relationship of neuroprotective and reactive oxygen species scavenging activities for allium organosulfur compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.54, p. 6547–6553, 2006.

KITAGAWA, S.; FUJISAWA, H.; SAKURAI H. Scavenging effects of dihydric and polyhydric phenols on superoxide anion radicals, studied by electron-spin-resonance spectrometry. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, p. 304-307. 1992.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 12, ed. 1, p. 63-81, 1992.

LEE, K; et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry** . n. 91. p. 131–137, 2005a.

LEE, K.; et al. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. **Cancer Letters**. v.225. p. 41–52. 2005b

LEE S.J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO T, LEE K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, ed. 1, p. 131-137, 2005.

LEE, K.. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry. **Food Chemistry** v. 74. p. 443–448. 2001.

LENARDÃO, E. J. “Green Chemistry” – Os 12 Princípios da Química Verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**. v. 26, p. 123-129, 2003.

LENARDÃO, E. J., VICTORIA, F. N., RADATZ, C. S., SACHINI, M., JACOB, R. G., PERIN, G., DA SILVA, W. P. KF/Al₂O₃ and PEG-400 as a recyclable medium for the selective α -selenation of aldehydes and ketones. Preparation of potential antimicrobial agentes. **Tetrahedron Letters**. v.. 59, p. 6761-6763, 2009.

LIN, C. F.; CHANG, T. C.; CHIANG, C. C.; TSAI, H. J.; HSU, L. Y. Synthesis of selenium-containing polyphenolic acid esters and evaluation of their effects on antioxidation and 5-lipoxygenase inhibition. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 53, 1402–1407, 2005.

LINDENSCHMIDT, R. C.; TRIKA, A. F., GUARD, M. E.; WITSCHI, H. P. The effect of butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. **Toxicology**. n. 38, p. 151-160, 1986.

LOIZZO, M.R.; TUNDIS, R.; MENICHINI, F.; SAAB, A.M., STATTI, G.A. Antiproliferative effects of essential oils and their major constituents in human renal adenocarcinoma and amelanotic melanoma cells. **Cell Proliferation**. n. 41, p. 1074-1012, 2008.

LUEDTKE, A. E.; TIMBERLAKE, J. W. Effect of Oxidized States of Heteroatoms and of Orthogonal Systems on Radical Stabilities. **Journal of Organic Chemistry**, n. 50, p. 268, 1985.

MASTELIC, J.; BLAZEVIC, I. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 56, p. 3989-3996, 2008.

MŁOCHOWSKI, J.; PIETKA-OTTLIK, M.; WÓJTOWICZ-MŁOCHOWSKA, H.; KOŁODZIEJCZYK, K.; PIASECKI, E.. New Organoselenium Compounds Active against Pathogenic Bacteria, Fungi and Viruses. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. n. 56, p. 1423-1427. 2008.

MIGUEL, M.G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. **Molecules**, v.15, p. 9252-9287, 2010.

MOJSILOVIC, B. M.; BUGARCIC, Z. M. Pyridine-Facilitated Phenylselenoetherification of Some Tertiary Alkenols. *Heteroatom Chemistry*, v. 12, p. 475-479, 2001.

NARAYANAPERUMAL, S.; ALBERTO, E. E.; DE ANDRADE, F. M.; LENARDÃO, E. J.; TAUBE, P. S.; BRAGA, A. L.. Ionic liquid: an efficient and recyclable medium for synthesis of unsymmetrical diorganyl selenides promoted by InI. **Organic & Biomolecular Chemistry**. 7. p. 4647-4650. 2009.

NOGUEIRA C.W.; ZENI, G., ROCHA, J.B T. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology, **Chemical Review**, n. 104, p. 6255-6285. 2004.

NÚÑES, M. J., MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., PARAJÓ, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**. n.72, p. 145-171. 2001.

OGATA, M., HOSHI M.; URANO S.; ENDO T. Antioxidant activity of eugenol and related monomeric and dimeric compounds. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** v. 48, p. 1467-1469, 2000.

PAQUETE, L. A., LORD, M. D., NEGRI J. T. Oxonium Ion-Initiated Pinacolic Ring Expansion Reactions. Application to the Enantioselective Synthesis of the Spirocyclic Sesquiterpene Ethers Dactyloxene-B and -C. **Journal of Organic Chemistry**, n. 60, p.191-195, 1995.

PEANA, A. T.; DÀQUILA, P. S.; PANIN, F. SERRA, G.; PIPPIA, P., MORETTI, M. D. L. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. **Phytomedicine**, n. 9, p. 721-726, 2002.

PERIN, G.; JACOB, R. G.; DUTRA, L. G.; DE AZAMBUJA, F.; DOS SANTOS, G.; LENARDÃO, E. J. Addition of chalcogenolate anions to terminal alkynes under microwave and solvent-free conditions: easy access to bis-organochalcogen alkenes. **Tetrahedron Letters**. v. 47, n. 6, p. 935-938, 2006.

PERIN, G.; MELLO, L. G.; RADATZ, C.; SAVEGNAGO, L.; ALVES, D.; JACOB, R. G.; LENARDÃO, E. J. Green, catalyst-free thioacetalization of carbonyl compounds using glycerol as recyclable solvent. **Tetrahedron letters**, 51, 4354-4356, 2010.

PETRAGNANI, N.; STEFANI, H. A.; VALDUGA, C. J. Recent advances in selenocyclofunctionalization reactions. **Tetrahedron**, 57, 1411-1448, 2001.

PLOU, F.; TORRES, P.; KUNAMNENI, A. B. Enzymatic Modification for Ascorbic Acid and Alpha-Tocopherol to Enhance their Stability in Food and Nutritional Applications. **The Open Food Science Journal**. n. 2, p. 1-9. 2008.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, n. 356, p. 233-241, 2000.

ROBILLARD, B.; INGOLD, K. U. Total synthesis of 1-thio-alpha-tocopherol - a sulfur-containing analog of vitamin-E. **Tetrahedron Letters**. v. 27, p. 2817-2820, 1986

ROSSATO, J. I.; ROSSATO, L. A.; KETZER, F. B.; CENTURIAO, S. J.; N. SILVA, N.; LÜDTKE, D. S.; ZENI, G.; BRAGA, A. L.; RUBIN M. A.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant Properties of New Chalcogenides Against Lipid Peroxidation in Rat Brain. **Neurochemical Research**, v. 27, n. 4, p. 297-303. 2002.

SAHU, S. C. Dual role of organosulfur compounds in foods: a review. **Journal of environmental science and health** (part c-environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews), v. 20, ed.1, p. 61-76. 2002.

SAVEGNAGO, L.; TREVISAN, M.; ALVES, D.; ROCHA, J.; NOGUEIRA, C.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Antisecretory and antiulcer effects of diphenyl diselenide. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, p. 86-92, 2006

SAVEGNAGO, L.; JESSE, C. R.; PINTO, L. G.; ROCHA, J. B.; NOGUEIRA, C. W. Diphenyl diselenide attenuates acute thermal hyperalgesia and persistent inflammatory and neuropathic pain behavior in mice. **Brain Research**. v. 1175, p. 54-59, 2007a.

SAVEGNAGO, L.; PINTO L. G.; JESSE, C. R.; ALVES, D.; ROCHA, J. B. T.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G. Antinociceptive properties of diphenyl diselenide: Evidences for the mechanism of action. **European Journal Pharmacology**. v. 555, p. 129-138, 2007b.

SAWAMURA, M; UKEDA, H.; DONG, H. S.; SHOY, H. Radical-Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48, p 4156–4161, 2000.

SAYADI, S.; FKI, I.; ALLOUCHE, N..The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4-dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. **Food Chemistry**. n.93. p.197–204. 2005. 76

SHAN, B.; CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant capacity of 26 extracts and characterization of their constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7749–59, 2005.

SHANKS, D., AMORATI, R., FUMO, M. G., PEDULLI, G. F., VALGIMIGLI, L., ENGMAN, L. Synthesis and Antioxidant Profile of all-rac- α -Selenotocopherol. **Journal of Organic Chemistry**, 71, 1033–1038, 2006

SIES, H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 14, p. 313-323, 1993.

SILVA, F. A. M; BORGES, M. F.; FERREIRA, M. A.. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n.1, p. 94-102, 1999.

SINGH, H. B.; TRIPATHI, S. K.; PATEL, U.; ROY, D., SUNOI, R. B.; WOLMERSHÄUSER, G.; BUTCHERS, R. *o*-Hydroxylmethylphenylchalcogens: Synthesis, Intramolecular Nonbonded Chalcogen...OH Interactions, and Glutathione Peroxidase-like Activity. **Journal of Organic Chemistry**, n.70, v. 23, p. 9237–9247, 2005.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: Simões, C.M.O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed UFRGS/ Ed UFSC, p. 387-416, 1999.

SOARES, S.. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15 n.1. Campinas. 2002.

SZABADICS J.; ERDELYI L. Pre- and post synaptic effects of eugenol and related compounds on *Helix pomatia* L. **Acta Biologica Hungarica**, v. 51, p. 265–73, 2000.

TAIRA, J.; IKEMOTO, T.; YONEYA, T.; HAGI, A.; MURAKAMI, A.; MAKINO, K. Essential oil phenyl propanoids. Useful as OH scavengers? **Free Radical Research Communication**. v. 16, p. 197–204, 1992.

TALAS, Z. S.. Antioxidative effects of novel synthetic organoselenium compound in rat lung and kidney. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. n. 72, p. 916–921, 2009.

TAM, J. P.; WU, C. R.; LIU, W. e ZHANG, J. W. Disulfide bond formation in peptides by dimethyl sulfoxide. Scope and applications. **Journal of the American Chemical Society**, v.113, n.17, p.6657-6662, 1991.

TANYILDIZI, S; SERVI, K; CIFTCI, U. Protective effects of d-limonene and linalool on female rats intoxicated with 7,12 dimethylbenz(a)anthracene (DMBA). **Revue de Medecine Veterinaire**, v. 160, ed. 5, p. 221-225, 2009.

TEISSEDRE, P. L.; WATERHOUSE, A. L. Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, m., 2000, 48 (9), pp 3801–3 77 2000.

URONES, J. G., DFEZ, D., MARCOS, I. S., BASABE, P., LITHGOW, A. M., MORO, R. F., GARRIDO, N. M., ESCARCENA R. The Use of Acyclic Monoterpenes in the Preparation of [3-pyrones: Synthesis of the Right-hand Fragment of Usneidone E. **Tetrahedron**, 51, 3691-3704, 1995.

VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**, n.160, p. 1-40, 2006.

WARD, D.; COOPER, M. A. Hydroxyselenation of Allylic Alcohols. **Tetrahedron Letters**, v. 36, n.13, p. 2327-2330, 1995.

WARD , A. D.; COOPER, M. A. Formation of dihydroxyselenides from allylic alcohols and their conversion to beta-hydroxy epoxides via substitution of a phenylselenonyl group. **Tetrahedron**. v. 60, p. 7963-7972, 2004.

WOLFSON, A.; DLUGY, C.; SHOTLAND, Y.; TAVOR, D. Glycerol as solvent and hydrogen donor in transfer hydrogenation–dehydrogenation reactions. **Tetrahedron Letters** v. 50, p. 5951–5953, 2009.

WILLIAMS, G. M.; IATROPOULOS, M. J.; WHYSNER, J.. Safety Assessment of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene as Antioxidant Food Additives. **Food and Chemical Toxicology**. n.37. p. 1027-1038. 1999.

WLODEK, P. J. Beneficial and harmful effects of thiols. **Pharmacology**. n.54, p.215–223, 2002.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M.; GORDON, M. H.; RANEVA, V. G. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. **Food Control**, v. 64, p. 59-66, 1999.

YIN M. C.; CHENG, W. S. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. **Meat Science**. v. 63, p. 23-28, 2003.

YOSHIHARA, D.; FUJIWARA, N.; SUZUKI, K.. Antioxidants: Benefits and risks for long-term health. **Maturitas**. n. 67, p.103-107, 2010.