



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
LABORATÓRIO DE SÍNTESE ORGÂNICA APLICADA À FARMACOS
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FELIPE NEVES COUTINHO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CITOTÓXICA E ANTI-
INFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS OXADIAZOLÍNICOS,
POTENCIAIS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE 2**

RECIFE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
LABORATÓRIO DE SÍNTESE ORGÂNICA APLICADA À FARMACOS

FELIPE NEVES COUTINHO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CITOTÓXICA E ANTI-
INFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS OXADIAZOLÍNICOS,
POTENCIAIS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE 2**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Prof^ª. Dra. TERESINHA GONÇALVES DA SILVA
Orientadora

Prof. Dr. ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA
Co-Orientador

RECIFE

2018

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

- C871s Coutinho, Felipe Neves.
Síntese e avaliação das atividades citotóxica e antiinflamatória de novos derivados híbridos oxadiazolínicos, potenciais inibidores da ciclooxigenase 2 / Felipe Neves Coutinho. – 2018.
158 f.: il.; tab.; 30 cm.
- Orientadora: Teresinha Gonçalves da Silva.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2018.
- Inclui referências e apêndices.
1. Reação de Cicloadição. 2. Anti-Inflamatórios. 3. Inibidores de ciclooxigenase 2. 4. 1,2,4-oxadizolinas. I. Silva, Teresinha Gonçalves da (Orientadora). II. Título.
- 615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2018-221)

FELIPE NEVES COUTINHO

**Síntese e Avaliação das Atividades Citotóxica e Anti-inflamatória de
Novos Derivados Híbridos Oxadiazolínicos, Potenciais Inibidores da
Ciclooxigenase 2**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 28/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Teresinha Gonçalves da Silva (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Dalci José Brondani (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

“ Ó profundidade das riquezas, tanto da sabedoria como do conhecimento de Deus! Quão insondáveis são os teus juízos, quão inescrutáveis os seus caminhos! Quem compreendeu a mente do Senhor? Ou quem foi o seu conselheiro? Ou quem primeiro deu a Ele para ser restituído? Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas. Glórias, pois a Ele eternamente. Amém! ”

Paulo de Tarso (Romanos 11:33-36)

AGRADECIMENTOS

Na conclusão de mais esta etapa em minha vida, sou grato primeiramente a **Deus**, que me ajuda nas grandes e pequenas decisões, me ensina em dificuldades e me satisfaz com Sua presença em minha vida. Vejo o Seu zelo para comigo e com minha família, obrigado Senhor!

À minha mãe **Nadja**, por me instruir no caminho dos estudos, me incentivar com palavras e com a própria vida a jamais parar de desejar o conhecimento, o bem que ninguém pode tirar do homem. Com seu apoio não teria feito este trabalho. Te amo mãe!

Ao meu pai **Cloves**, por me acompanhar em cada fase da minha vida. Ao meu irmão **João**, pelo incentivo na faculdade e fora dela. À minha namorada **Osiane**, por estar comigo me apoiando em cada decisão e por desejar sempre o melhor para mim. À cada amigo e irmão da igreja, vocês são verdadeiros irmãos e companheiros de fé.

Ao professor **Antônio Rodolfo de Faria**, por confiar a mim este a execução deste trabalho e me acompanhar em cada fase. Agradeço também pela orientação nas Monitorias de Química Geral e nas pesquisas em outros trabalhos. Por ser exemplo de empenho, dedicação ao trabalho e caráter acima de tudo.

À Prof.^a **Teresinha Gonçalves da Silva** do Laboratório Bioensaio para a Pesquisa de Fármacos (LBPF), do Departamento de Antibióticos-UPFE pela orientação e execução dos ensaios biológicos.

À professora **Nelly Caetano**, por ter me aceitado em seu laboratório me abrindo como aluno de Iniciação Científica. Obrigado professora por me incentivar ao mestrado e por tanto me ensinar. Ao doutor **Marcos Saraiva** por me ensinar todas as técnicas microbiológicas e pelos trabalhos científicos.

Às amigas de pós-graduação do LASOF **Eduarda, Jéssica e Marlene** que muito me ajudaram na pesquisa e que tornam este laboratório um ambiente agradável de se trabalhar, assim como os alunos de Iniciação Científica **Agamenon, Clara, Dênis e Lucas** que juntos fazem deste laboratório uma grande família.

Ao **CNPq** e a **PROPESQ** pela concessão da bolsa e pelo financiamento dos materiais de pesquisa.

Às técnicas da Central Analítica do DQF **Abner** e **Eliete**.

Ao professor **Pedro Rolim** e a mestranda **Laysa** do Laboratório de Tecnologia em Medicamentos – LTM, pelas análises (IV-FT).

A todos os funcionários e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e outros programas. Às secretárias **Dani** e **Fátima** do DCFar.

RESUMO

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são utilizados na promoção da analgesia, antipirese e no combate a inflamação. Porém, devido a uma não seletividade à enzima COX-2, os AINEs têm gerado desordens gastrointestinais. Como uma maneira de anular estes efeitos indesejados, os inibidores seletivos da COX-2 (coxibes) surgiram, mas nos anos seguintes, foram relatados efeitos cardiovasculares negativos, sendo necessária sua retirada do mercado e uma pesquisa por novos compostos com atividades farmacológicas adequadas e isentos de efeitos adversos significativos. Há relatos na literatura, onde oxadiazolinas, apresentam excelentes atividades biológicas, dentre estas antimicrobiana, anticancerígena, anti-inflamatória e hipotensora e de igual modo vem se destacando o espaçador hidrazona. Sendo assim, este trabalho visa a síntese, elucidação e avaliação das atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas de novos derivados híbridos oxadiazolina/hidrazona análogos de coxibe. A cicloadição 1,3 dipolar entre óxidos de nitrila (dipolo) com iminas (dipolarófilo) é o método mais empregado para a obtenção de 1,2,4-oxadiazolinas com excelentes rendimentos. No presente trabalho, iminas di-ariladas **73**, sintetizadas previamente, foram submetidas a uma reação de cicloadição 1,3 dipolar com *N*-óxido de nitrila **81**, gerado *in situ*, para obtenção de ésteres oxadiazolínicos di-arilados **74a-e**. Os cicloadutos ésteres **74a-e** formados, foram e reduzidos a álcoois **75a-e**, via NaBH₄ e submetidos, em seguida, à oxidação branda de Swern para obtenção de aldeídos oxadiazolínicos **76a-f**, os quais seriam condensados com fenil hidrazidas substituídas para a formação do híbrido oxadiazolína/hidrazona **77**. As iminas di-ariladas **73a-f** formadas, apresentaram rendimento superior a 70%, já os cicloadutos ésteres **74a-f**, apresentaram rendimento médio de 30%. Os cicloadutos com função álcool **75a,c** apresentaram rendimentos acima de 90%. A formação de um grupo metino **78a** foi detectada no lugar dos aldeídos oxadiazolínicos **76**, impossibilitando a obtenção do híbrido **77**. Ao final deste trabalho foram sintetizados oito produtos finais, análogos estruturais coxibes oxadiazolínicos, identificados por métodos espectrométricos (RMN 1H e 13C). Os cicloadutos ésteres **74** testados, apresentaram uma baixa atividade citotóxica. A avaliação da atividade anti-inflamatória dos análogos coxibes oxadiazolínicos está em via de execução.

Palavras-chave: Reação de Cicloadição. Anti-Inflamatórios. Inibidores de ciclo-oxigenase 2. 1,2,4-oxadiazolinas.

ABSTRACT

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are used in the promotion of analgesia, antipyretic and in the fight against inflammation. However, because of non-selectivity to the COX-2 enzyme, NSAIDs have generated gastrointestinal disorders. As a way to cancel out these unwanted effects, COX-2 selective inhibitors (coxibs) have arisen, but in subsequent years, negative cardiovascular effects have been reported, requiring their withdrawal from the market and a search for new compounds with adequate and exempt pharmacological activities of significant adverse effects. There are reports in the literature, where oxadiazolines, present excellent biological activities, among them antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory and hypotensive, and the hydrazone spacer has also been highlighted. Thus, this study aims at the synthesis, elucidation and evaluation of the anti-inflammatory and anticancer activities of new hybrid oxadiazoline / hydrazone derivatives analogous to coxib. The 1,3 dipolar cycloaddition between nitrile (dipole) and imine (dipolarophile) oxides is the most used method to obtain 1,2,4-oxadiazolines with excellent yields. In the present work, pre-synthesized imines **73** were submitted to a 1,3-dipolar cycloaddition reaction with nitrile N-oxide **81**, generated in situ, to obtain diarylated oxadiazolinic esters **74a-e**. The esters **74a-e** formed were reduced to alcohols **75a-e**, via NaBH₄ and then subjected to mild Swern oxidation to obtain oxadiazoline aldehydes **76a-f**, which would be condensed with substituted phenylhydrazides for the formation of the oxadiazoline / hydrazone **77** hybrid. The di-aryl imines **73a-f** formed yielded greater than 70%, while the cycloadduced esters **74a-f** had an average yield of 30%. The alcohol-functional cycloadducts **75a, c** showed yields above 90%. The formation of a methine group **78a** was detected in place of the oxadiazolinic aldehydes **76**, making it impossible to obtain hybrid **77**. At the end of this work eight end products, oxadiazolinic coxib structural analogues, identified by spectrophotometric methods (¹H and ¹³C NMR) were synthesized. The cycloadduced esters **74** tested had low cytotoxic activity. The evaluation of the anti-inflammatory activity of coxibs oxadiazolinic analogues is in progress.

Keywords: Cycloaddition Reaction. Anti-inflammatory Agents. Cyclooxygenase 2 inhibitors. 1,2,4-oxadiazolines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Núcleo 1,2,4-oxadiazolína	20
Figura 2	- Núcleo hidrazona	20
Figura 3	- Via biossintética representativa da biossíntese de prostaglandina (PG) a partir de ácido araquidônico (AA) catalisada pelas isoformas COX-1 e COX-2	21
Figura 4	- AINEs não seletivos: aspirina 5 , paracetamol 6 , ibuprofeno 7 e Indometacina 8 . Coxibes: Celecoxibe 9 e Rofecoxibe 10	22
Figura 5	- Oxadiazol (11, 14), Oxadiazolína (12a-b, 15a-b) e Oxadiazolidina (13)	24
Figura 6	- Fármacos contendo o núcleo oxadiazol	25
Figura 7	- Derivados oxadiazólicos dissubstituídos com grupamento uréia 20 , amida 21 ou sulfonamida 22 e 23 na porção aromática	26
Figura 8	- Derivados oxadiazólicos 24 e 25 testados para atividade citotóxica <i>in vitro</i>	27
Figura 9	- Núcleo naftaleno 26 contendo oxadiazolína 27 e tiazol 28 com atividades antimicrobiana e citotóxica	27
Figura 10	- Híbridos benzimidazol/oxadiazol 29 e 30 seletivos a COX-2	28
Figura 11	- Oxadiazóis 31 e oxadiazóis/oximas 32 inibidores não seletivos da COX	28
Figura 12	- Derivados oxadiazóis 33 , 34 e oxadiazolínicos 35 , inibidores da COX e da LOX	29
Figura 13	- Inédito heterobícclo, a pirrolidina[1,2- <i>d</i>]1,2,4-oxadiazolína 37 e hidrazona oxadiazolinica 36	29
Figura 14	- Hidrazonas oxadiazolinicas com atividades antinociceptiva 38 e tripanomicida 39	30
Figura 15	- Geometria do 1,3-dipolo	30
Figura 16	- Exemplos de espécies reativas 1,3-dipolos	31
Figura 17	- 1,4-dihidropiridina hidrazona 56 com atividade antimalária e antimicrobiana.....	35
Figura 18	- <i>N</i> -acilhidrazonas ligadas à <i>N</i> -fenil sulfonamida 57 e 58 com atividades anti-inflamatória e antioxidante	35
Figura 19	- Derivados <i>p</i> -tolueno sulfonil-hidrazona 59 com atividade antitumoral	36

Figura 20 -	Híbridos de hidrazona e triazina 60 com atividade anticonvulsivante	36
Figura 21 -	Estrutura geral das iminas di-ariladas	43
Figura 22 -	Placa de CCD com padrões benzaldeídos e anilina e a reação imina ao centro Sistema eluente: acetato de etila/hexano (1:9)	44
Figura 23 -	Hidrólise de uma base de Schiff (CDCl ₃ , 300MHz) após 8 e 16 dias	45
Figura 24 -	Provável hidrólise da imina 73e (CDCl ₃ , 300MHz)	46
Figura 25 -	Espectro de RMN de ¹ H – 300MHz da imina <i>p</i> -nitro/ <i>p</i> -isopropil 73b . Solvente CDCl ₃	47
Figura 26 -	Espectro de RMN de ¹³ C – 75 MHz da imina <i>p</i> -nitro/ <i>p</i> -isopropil 73b . Solvente CDCl ₃	47
Figura 27 -	Dímero <i>N</i> -óxido de nitrila 82	51
Figura 28 -	Estrutura geral dos cicloadutos 74	51
Figura 29 -	Espectro de RMN de ¹ H – 400MHz do cicloaduto 74a . Solvente CDCl ₃ ...	53
Figura 30 -	Espectro de RMN de ¹³ C – 100MHz do cicloaduto 74a . Solvente CDCl ₃ ...	54
Figura 31 -	Espectro de IV-TF do cicloaduto 74a	54
Figura 32 -	Espectro de RMN de ¹ H – 400MHz do álcool 75a . Solvente CDCl ₃	56
Figura 33 -	Espectro de RMN de ¹³ C – 100MHz do álcool 75a . Solvente CDCl ₃	57
Figura 34 -	Espectro de RMN de ¹ H – 400MHz da oxadiazolina com metino em C3 82a . Solvente CDCl ₃	58
Figura 35 -	Espectro de RMN de ¹³ C – 100MHz da oxadiazolina com metino em C3 82a . Solvente CDCl ₃	58
Figura 36 -	Oxadiazolinas di-ariladas com baixa atividade citotóxica	77
Figura 37 -	Formas enantioméricas oriundas da síntese assimétrica de oxadiazolinas di-ariladas	77
Figura 38 -	3-aryl-1,2,4-oxadiazolína bicíclica 83 e fármaco doxorrubicina 84	78

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Síntese de oxadiazolínicas di-ariladas com pirazol 44	32
Esquema 2 - Síntese de oxadiazolína com <i>N</i> -hidroxiaminas	33
Esquema 3 - Síntese de oxadiazolína por condensação com cetonas	34
Esquema 4 - Síntese de hidrazonas a partir de aldeídos ou cetonas	37
Esquema 5 - Síntese de hidrazonas a partir de aldeídos pirazólicos	37
Esquema 6 - Síntese de hidrazonas em anel 1,2,4-triazina	38
Esquema 7 - Obtenção das oxadiazolinas di-ariladas 74 e híbridos oxadiazolína/ hidrazona 77 (a: síntese imina; b: síntese cicloaduto éster; c: formação aldeído em C3; d: condensação com fenil-hidrazidas	40
Esquema 8 - Obtenção de iminas di-ariladas 73	42
Esquema 9 - Mecanismo de síntese das iminas di-ariladas	43
Esquema 10 - Mecanismo de hidrólise de uma imina	45
Esquema 11 - Síntese do cloridrato de glicina esterificada 79	48
Esquema 12 - Mecanismo da síntese do cloridrato de glicina esterificada 79	49
Esquema 13 - Síntese do clorooximidoacetato de etila 80 , precursor do <i>N</i> -Óxido de Nitrila – CEFNO 81	49
Esquema 14 - Ciclocadição 1,3-dipolar	50
Esquema 15 - Mecanismo de ciclocadição 1,3-dipolar proposto, entre iminas 73 com o <i>N</i> -óxido de nitrila 81	52
Esquema 16 - Síntese do álcool oxadiazolínicos 75	55
Esquema 17 - Síntese do aldeído isoxazolínico 76	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Rendimentos das iminas sintetizadas	43
Tabela 2 -	Rendimentos dos cicloadutos oxadiazolínicos sintetizados	51
Tabela 3 -	Rendimentos dos cicloadutos oxadiazolínicos função álcool	55
Tabela 4 -	Percentual inibitório das amostras testadas frente as linhagens celulares K-562 (leucemia mielocítica crônica) e NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão)	76
Tabela 5 -	Medida dos halos inibitórios em mm dos compostos testados	80

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINES	Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais
IASP	Associação Internacional para Estudos da Dor
CEFNO	Óxido de Carboetoxiformonitrila
COX	Ciclo-Oxigenase
CWP	Dor crônica generalizada
FMO	Orbitais Moleculares de Fronteira
HOMO	Orbital ocupado de mais alta energia
IDH	Índice de desenvolvimento humano
IV-TF	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Furrier
LUMO	Orbital desocupados de menor energia
PG	Prostaglandina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TEA	Trietilamina
THF	Tetraidrofurano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	Enzima Ciclooxigenase	21
2.2	Coxibes	22
2.3	COX e o Câncer	23
2.4	Oxadiazolinas	24
2.4.1	Atividades Biológicas e Aplicações Terapêuticas	25
2.4.2	Métodos de Obtenção e Oxadiazolinas	30
2.5	Hidrazonas	34
2.5.1	Atividades Biológicas e Aplicações Terapêuticas	34
2.5.2	Métodos de Obtenção de Hidrazonas	36
3	OBJETIVOS	39
3.1	Objetivo Geral	39
3.2	Objetivos Específicos	39
4	ESTRATÉGIA SINTÉTICA	40
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	42
5.1	Obtenção de iminas di-ariladas <u>73</u>	42
5.2	Síntese do cloridrato de glicina esterificada <u>79</u>	48
5.3	Síntese do cloroximidoacetato de etila <u>80</u>, precursor do <i>N</i>-Óxido de Nitrila – CEFNO <u>81</u>	49
5.4	Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as iminas di-ariladas com óxidos de carboetoxiformonitrila	50
5.5	Síntese do álcool oxadiazolínico <u>75</u>	55
5.6	Síntese do aldeído oxadiazolínico <u>76</u>	57
6	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	60
6.1	Materias e Métodos	60
6.2	Síntese das iminas di-ariladas <u>73</u>	61
6.2.1	Síntese da imina (<i>E</i>)- <i>n</i> -(4-metilbenzilideno)anilina. <u>73a</u>	61
6.2.2	Síntese da imina (<i>E</i>)-4-isopropil- <i>n</i> -(4-nitrobenzilideno)anilina <u>73b</u>	62

6.2.3	Síntese da imina (<i>E</i>)-4-fluoro- <i>n</i> -(4-nitrobenzilideno)anilina. <u>73c</u>	63
6.2.4	Síntese da imina (<i>E</i>)-4-bromo- <i>n</i> -(4-nitrobenzilideno)anilina. <u>73d</u>	64
6.2.5	Síntese da imina (<i>E</i>)-3-cloro- <i>N</i> -(4-nitrobenzilideno)anilina. <u>73e</u>	64
6.3	Síntese do cloridrato da glicina especificada <u>79</u>	65
6.4	Síntese do cloroximidoacetato de etila <u>80</u>, precursor do n-óxido de nitrila – CEFNO <u>81</u>	66
6.5	Síntese cicloadutos <u>74</u>	67
6.5.1	4-(fenil)-5-(<i>p</i> -toluil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila. <u>74a</u>	67
6.5.2	4-(4-isopropilfenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila <u>74b</u>	68
6.5.3	4-(fluorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila <u>74c</u>	69
6.5.4	4-(bromofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila <u>74d</u>	70
6.5.5	3-(clorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila <u>74e</u>	71
6.6	Síntese álcoois <u>75</u>	72
6.6.1	(4-fenil-5-(<i>p</i> -toluil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-il) metanol <u>75a</u>	72
6.6.2	(4-(4-fluorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-il) metanol <u>76c</u>	73
6.7	Síntese do cicloaduto metino <u>82</u>	74
6.7.1	4-phenyl-5-(<i>p</i> -toluil)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazole <u>82a</u>	74
7	ATIVIDADE CITOTÓXICA	75
7.1	Metodologia Atividade Citotóxica.....	75
7.1.1	Citotoxicidade <i>in vitro</i> em células tumorais	75
7.1.2	Método de Análise dos Resultados	76
7.2	Resultados da Atividade Citotóxica	76
8	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	78
8.1	Metodologia	78
8.1.1	Linhagens microbianas	78
8.1.2	Preparo dos inóculos	79
8.1.3	Preparação das soluções e dos discos	79

8.1.4	Determinação do Halo de Inibição	79
8.2	Resultados da atividade antimicrobiana	79
9	CONCLUSÕES	81
9.1	Perspectivas	83
	REFERÊNCIAS	85
	APÊNDICE A – Imina <u>73a</u> - RMN ¹H 300 MHz	93
	APÊNDICE B – Imina <u>73a</u> - RMN ¹³C 75 MHz	94
	APÊNDICE C – Imina <u>73a</u> - DEPT	95
	APÊNDICE D – Imina <u>73b</u> - RMN ¹H 300 MHz	96
	APÊNDICE E – Imina <u>73b</u> - RMN ¹³C 75 MHz	97
	APÊNDICE F – Imina <u>73b</u> - DEPT	98
	APÊNDICE G – Imina <u>73c</u> - RMN ¹H 300 MHz	99
	APÊNDICE H – Imina <u>73c</u> - RMN ¹³C 75 MHz	100
	APÊNDICE I – Imina <u>73c</u> - DEPT	101
	APÊNDICE J – Imina <u>73c</u> - COSY	102
	APÊNDICE L – Imina <u>73c</u> - HSQC	103
	APÊNDICE M – Imina <u>73d</u> - RMN ¹H 300 MHz	104
	APÊNDICE N – Imina <u>73d</u> - RMN ¹³C 75 MHz	105
	APÊNDICE O – Imina <u>73d</u> - DEPT	106
	APÊNDICE P – Imina <u>73d</u> - COSY	107
	APÊNDICE Q – Imina <u>73d</u> - HSQC	108
	APÊNDICE R – Imina <u>73e</u> - RMN ¹H 300 MHz	109
	APÊNDICE S – Imina <u>73e</u> - RMN ¹³C 75 MHz	110
	APÊNDICE T – Imina <u>73e</u> - DEPT	111
	APÊNDICE U – Imina <u>73e</u> - COSY	112
	APÊNDICE V – Imina <u>73e</u> - HSQC	113
	APÊNDICE X – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - RMN ¹H 400 MHz....	114
	APÊNDICE Z – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - RMN ¹³C 100 MHz...	115
	APÊNDICE AA – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - DEPT	116
	APÊNDICE AB – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - COSY	117
	APÊNDICE AC – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - HSQC	118

APÊNDICE AD – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74a</u> - HSQC	119
APÊNDICE AE – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - ¹ H RMN 300 MHz	120
APÊNDICE AF – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - ¹³ C RMN 75 MHz	121
APÊNDICE AG – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - DEPT	122
APÊNDICE AH – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - COSY	123
APÊNDICE AI – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - HMQC	124
APÊNDICE AJ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74b</u> - HMBC.....	125
APÊNDICE AL – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - RMN ¹ H 400MHz	126
APÊNDICE AM – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - RMN ¹³ C 100MHz	127
APÊNDICE AN – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - DEPT	128
APÊNDICE AO – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - COSY	129
APÊNDICE AP – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - HSQC	130
APÊNDICE AQ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74c</u> - HMBC	131
APÊNDICE AR – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - RMN ¹ H 300MHz	132
APÊNDICE AS – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - RMN ¹³ C 75MHz	133
APÊNDICE AT – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - DEPT	134
APÊNDICE AU – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - COSY	135
APÊNDICE AV – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - HSQC	136
APÊNDICE AX – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74d</u> - HMBC	137
APÊNDICE AZ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - RMN ¹ H 400MHz	138
APÊNDICE BA – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - RMN ¹³ C 100MHz	139
APÊNDICE BB – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - DEPT.....	140
APÊNDICE BC – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - COSY	141
APÊNDICE BD – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - HSQC.....	142
APÊNDICE BE – Cicloaduto Oxadiazolina Éster <u>74e</u> - HMBC.....	143
APÊNDICE BF – Álcool Oxadiazolínico <u>75a</u> - RMN ¹ H 400MHz.....	144

APÊNDICE BG – Álcool Oxadiazolínico <u>75a</u> - RMN ¹³ C 100MHz.....	145
APÊNDICE BH – Álcool Oxadiazolínico <u>75a</u> - DEPT	146
APÊNDICE BI – Álcool Oxadiazolínico <u>75a</u> - COSY	147
APÊNDICE BJ – Álcool Oxadiazolínico <u>75a</u> - HMQC.....	148
APÊNDICE BL – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - RMN ¹ H 300MHz.....	149
APÊNDICE BM – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - RMN ¹³ C 75MHz	150
APÊNDICE BN – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - DEPT	151
APÊNDICE BO – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - COSY	152
APÊNDICE BP – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - HSQC	153
APÊNDICE BQ – Álcool Oxadiazolínico <u>75c</u> - HMBC	154
APÊNDICE BR – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 <u>82a</u> - RMN ¹ H 400MHz	155
APÊNDICE BS – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 <u>82a</u> - RMN ¹ H 400MHz	156
APÊNDICE BT – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 <u>82a</u> - RMN ¹³ C 100MHz	157
APÊNDICE BU – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 <u>78a</u> - DEPT	158

1 – INTRODUÇÃO

A dor crônica generalizada (CWP) é estabelecida como uma questão de saúde pública a nível global e é importante que o acesso ao tratamento da dor crônica seja melhorado. ¹ A Associação Internacional para Estudos da Dor (IASP) identifica o alívio da dor como um direito humano. ²

A dor crônica generalizada (CWP) afeta uma em cada dez pessoas no mundo. Andrews P. et al. (2012) demonstrou que as mulheres apresentaram maior prevalência de CWP do que os homens, e os que residem em países com um índice de desenvolvimento humano (IDH) mais baixo tendem a ser mais propensos a experimentar CWP do que aqueles em um país de alto IDH. ³⁻⁴

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) tem sido utilizados na prática clínica como analgésicos, antiinflamatórios e antipiréticos, assim como no tratamento da dor crônica como em artralguas e fibromialgias, sem gerar imunossupressão como é o caso dos corticóides. Os AINEs ligam-se às enzimas ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2) não seletivamente, o que têm gerado fenômenos gastrintestinais indesejáveis. ⁵

Para contornar esse problema, surgiram os Coxibes, capazes de se ligarem seletivamente a COX-2, impedindo o processo inflamatório e evitando a ocorrência dos fenômenos gastro-intestinais indesejáveis. ⁶

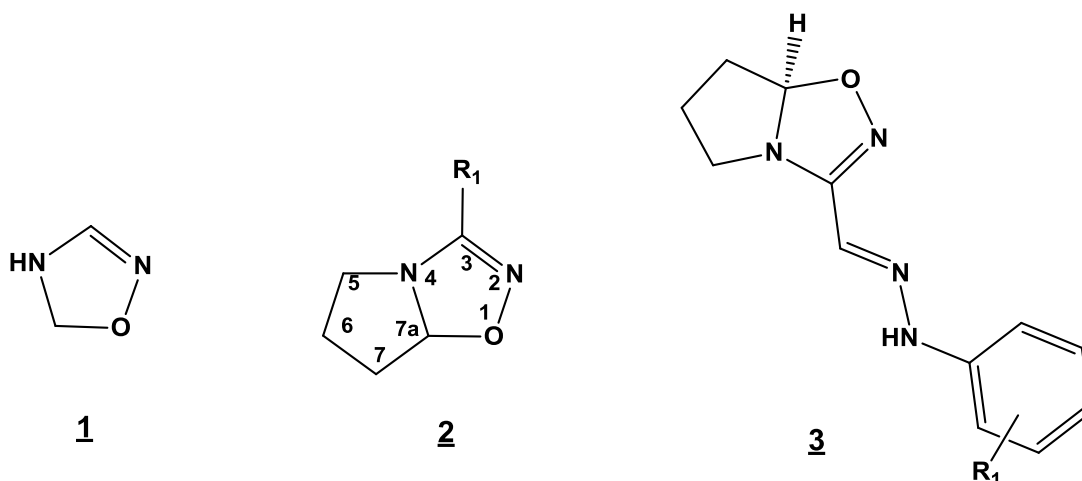
Também há relatos na literatura sobre a participação da enzima COX no crescimento de células tumorais e uma atividade antiproliferativa de fármacos inibidores dessa enzima, apresentando outra resposta farmacológica pela inibição da COX. ⁷

A hibridização molecular, método de desenvolvimento da química medicinal, visa a união de diferentes grupos farmacofóricos, com distintas propriedades farmacológicas, a fim de obter novas moléculas híbridas. ⁸

Neste enfoque, o núcleo oxadiazolína **1** é um heterociclo de cinco membros, contendo um átomo de oxigênio e dois de nitrogênio, além de uma insaturação no anel. Em diversos trabalhos na literatura apontam atividades anti-inflamatória, antifúngica, antimicrobiana, antihipertensiva e anticancerígena. ⁹⁻¹⁴

Recentemente em nosso laboratório, em uma dissertação de mestrado, iniciamos um trabalho que envolve a obtenção de hidrazonas oxadiazolínicas **3** (figura 1), no qual obtivemos o inédito heterobícclo, a pirrolidina[1,2-*d*]1,2,4-oxadiazolína **2**, contendo a função hidrazona, que apresentou pronunciada atividade antinociceptiva, assim como antimicrobiana. ¹⁵

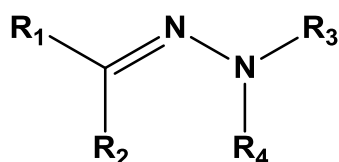
Figura 1 – Núcleo 1,2,4-oxadiazolína.



De igual modo a função hidrazona, **4** tem atuado como espaçador entre grupamentos, como apresentado nas hidrazonas oxadiazolínicas **3** em trabalhos anteriores, oferecendo a possibilidade de adotar uma mudança conformacional que seja adequada para interação com o sítio ativo alvo para a resposta farmacológica.¹⁶

Para esta função, a literatura tem atribuído diversas atividades biológicas, dentre estas podemos citar: anticancerígena, antimicrobiana, antimalária, antioxidante, antifúngica e antidepressiva¹⁶⁻¹⁸

Figura 2 – Núcleo hidrazona.

**4**

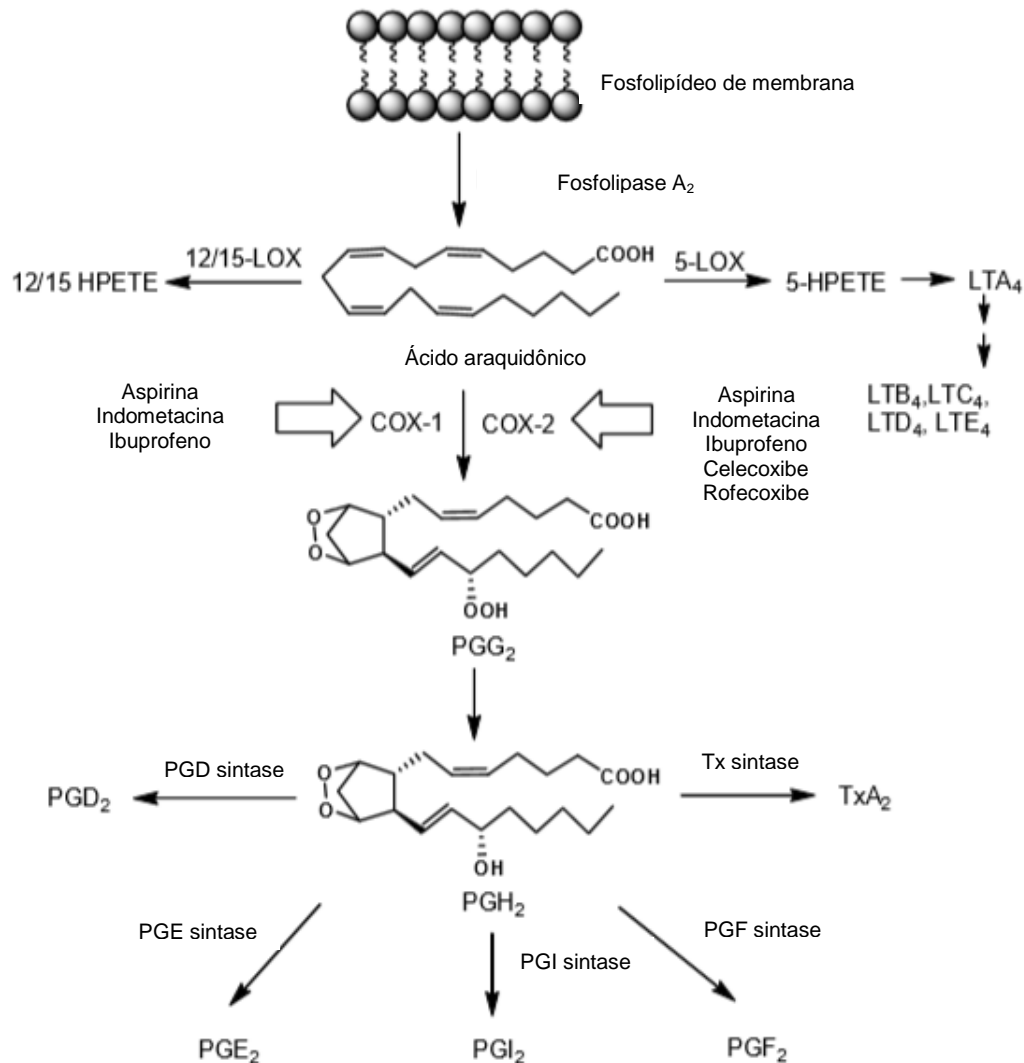
Dado o conhecimento prévio em química medicinal dos heterocíclis e a estratégia da hibridação molecular para obtenção de compostos com maior potencial terapêutico e menor toxicidade, o objetivo deste trabalho é a síntese de análogos coxibes contendo oxadiazolina di-ariladas com função hidrazona, além de sua posterior avaliação do efeito anti-inflamatório e citotóxico.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Ciclooxygenase

As enzimas ciclooxygenases (COX), também conhecidas como prostaglandinas endoperóxido sintase (PGHS), são enzimas que catalisam a conversão de ácido araquidônico em prostaglandinas pró-inflamatórias. Na cascata do ácido araquidônico, a prostaglandina H₂ (PGH₂) sintetizada, é convertida por sintases específicas para os principais subgrupos de prostaglandina: PGD₂, PGE₂, PGF₂ α , PGI₂ e tromboxano A₂ (TxA₂) como ilustrado na Figura 3.¹⁹⁻²⁰

Figura 3 – Via biossintética representativa da biossíntese de prostaglandina (PG) a partir de ácido araquidônico (AA) catalisada pelas isoformas COX-1 e COX-2.



Fonte: Rao & Knaus. 2008, adaptado.

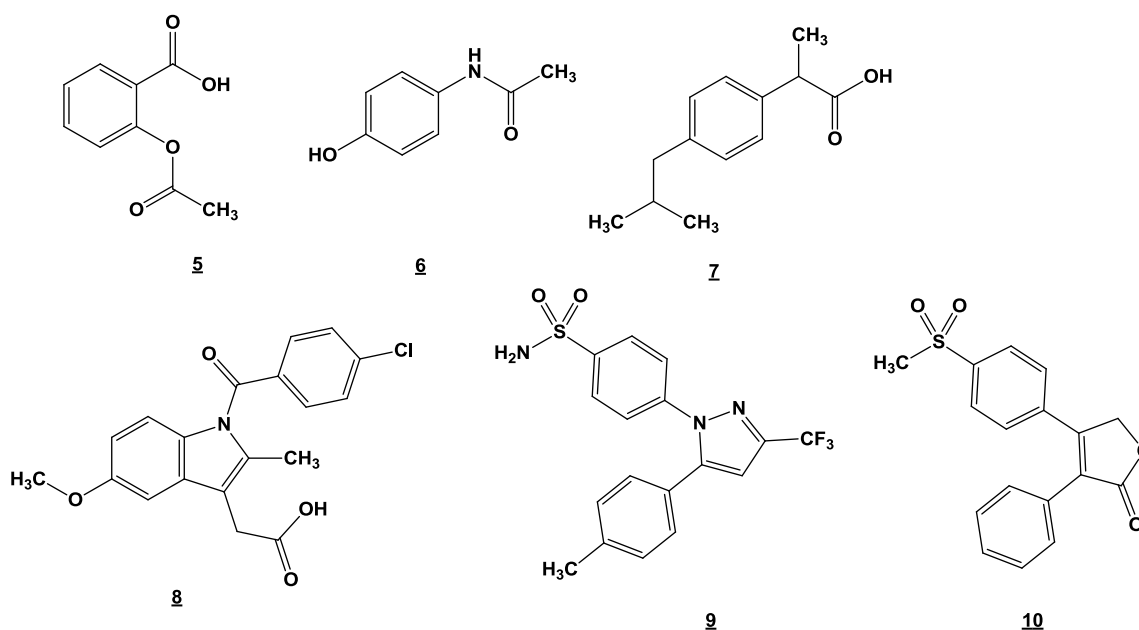
2.2 – Coxibes

No início dos anos 90 os grupos Needleman, Simmons e Herschman relataram a presença de uma isoforma indutiva da enzima COX mais tarde identificada como COX-2.²¹⁻²³ Atualmente, a enzima COX é classificada em duas isoformas distintas: a COX-1 é uma forma constitutiva e a COX-2 é uma forma indutiva, onde a continuação da função fisiológica é realizada pela COX-1 constitutiva, como a proteção da mucosa gástrica e a agregação plaquetária, enquanto que a COX-2 é induzida diante estímulos mitogênicos e proinflamatórios.¹⁹

Os AINEs não seletivos como aspirina **5**, paracetamol **6**, ibuprofeno **7** e indometacina **8** inibem as ambas as isoformas da COX (COX-1 e COX-2), resultando em efeitos colaterais adversos, em particular irritação gastrointestinal, ulcerogenicidade e toxicidade renal creditada à inibição da isoenzima citoprotetora COX-1.¹⁹

Em 1999, as indústrias farmacêuticas G.D. Searle e Pfizer (agora Pfizer Inc.) lançaram o primeiro inibidor seletivo de COX-2 celecoxibe **9** (Celebrex®). Este, seguido pelo rofecoxibe **10** (Vioox®), inibidor seletivo de COX-2, da farmacêutica Merck. Em um curto período de tempo, o celecoxibe **9** e o rofecoxibe **10** (coxibes) atingiram o status de *blockbuster* alcançando vendas superiores a um bilhão de dólares dentro de 15 meses após o lançamento.^{6,24}

Figura 4 – AINEs não seletivos: aspirina **5**, paracetamol **6**, ibuprofeno **7** e indometacina **8**. Coxibes: Celecoxibe **9** e Rofecoxibe **10**



Entretanto, estudos posteriores demonstraram de forma conclusiva que os inibidores seletivos de COX-2 podem inclinar o equilíbrio natural entre o tromboxano A₂ (TxA₂) protrombótico e a prostaciclina (PGI₂) antitrombótica, aumentando potencialmente a possibilidade de um evento cardiovascular trombótico,²⁵⁻²⁸ sendo estes mesmo retirados do mercado ou com sua embalagem modificada, indicando os problemas cardiovasculares relacionados ao uso dessa classe terapêutica.²⁹⁻³⁰

Em 1972, foi postulada a existência de uma terceira variante da COX, a COX-3 (PGSH-1b). Esta foi encontrada no cérebro do cão e sensível à inibição com paracetamol **10**, sendo caracterizada e clonada por Simmons et al. (2002), sendo determinada como uma variante da COX-1, também encontrada, posteriormente, em humanos.^{31,32}

Outra enzima importante, participante do processo inflamatório, é conhecida como 5-Lipooxigenase (5-LO) e por meio de sua catálise formam-se leucotrienos B₄, os quais contribuem para a hiperalgesia durante a inflamação, por diminuir os limiares mecânicos e térmicos das Fibras C.³³

2.3 – COX e o Câncer

As prostaglandinas (PGs) apresentam um papel importante na carcinogênese, pois são fonte necessária para que ocorra mutagênese direta, proliferação de células tumorais, invasão de tecidos, metástase e imunossupressão.³⁴⁻³⁶ Em sua pesquisa, Kakoglu et al. (1998) também evidenciou essa afirmativa encontrando níveis elevados de ácido araquidônico e PGE₂ nos tecidos tumorais do cérebro.³⁷

A inibição da COX pelos AINEs impede a síntese de PGs, e por este motivo, AINEs como a indometacina **8** e o paracetamol **6** apresentam efeitos antiproliferativos de células tumorais. A indometacina atua suprimindo a proliferação celular em diferentes estágios do ciclo celular, inibindo cinases extracelulares,⁷ além de suprimir as células cancerosas e a invasão através do caminho dependente do fator crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGFs-1).³⁸ O paracetamol ativa a via de morte celular relacionada à proteína quinase *N*-terminal, causando morte celular³⁹ e tem um papel na prevenção da proliferação celular por apoptose, evitando que os ribonucleotídeos se transforme em desoxi-ribonucleotídeo, o que contribui para a inibição da síntese do DNA em várias células.⁴⁰

A expressão da COX-2 está implicada em várias formas de câncer humano, como de pulmão, mama, pâncreas, e glioblastomas. Pesquisas indicaram que a redução da regulação do RNAm da COX-2 diminui a proliferação do tecido tumoral e a angiogênese seguidas do

aumento da apoptose, o que, em última instância, retarda o crescimento do tumor⁴¹ e a existência de uma associação direta entre os níveis de expressão da COX-2 com o grau de malignidade.⁴²

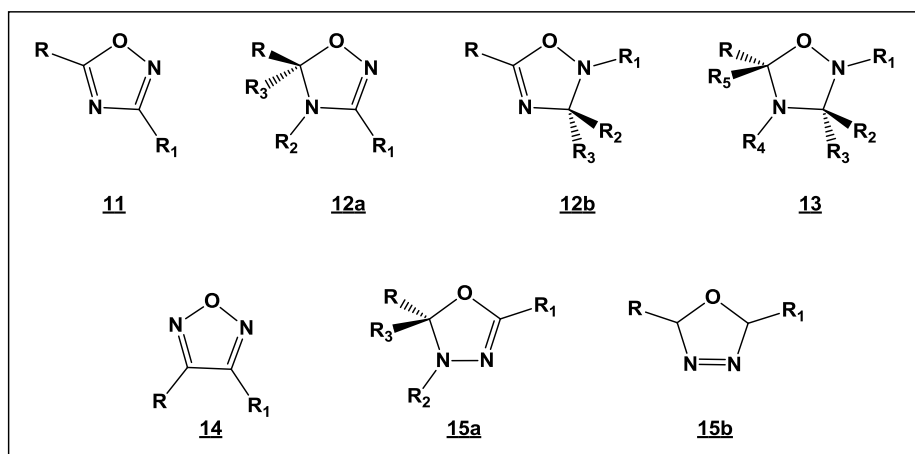
Em recentes estudos, tem sido relatado que níveis elevados da enzima COX-2 em um tumor podem mudar de adenoma (neoplasia benigna de origem glandular) para adenocarcinoma (neoplasia maligna de origem glandular) em qualquer estágio do câncer.⁴³⁻⁴⁴ Outros estudos têm apresentado uma funcionalidade dos coxibes perante células tumorais, verificando redução da proliferação celular⁴⁵ e aumentou a apoptose pela parada do ciclo celular G0-G1,⁴⁶ assim como uma indução à apoptose independente de inibição da COX-2.⁴⁷

No trabalho de Oksuz E. et al. (2015), a COX-3 também apresentou modulação no crescimento tumoral em glioblastomas de rato. Neste trabalho, o crescimento do glioblastoma é relacionado a expressão do RNAm da COX-3 e o paracetamol foi capaz de reduzir tamanho do tumor em 74% e a indometacina em 43%, levantando a hipótese de que a inibição da enzima COX-3 pode ser responsável pela diminuição do tamanho do tumor, o mecanismo pelo qual o paracetamol e a indometacina diminuíram o crescimento do glioblastoma em ratos.⁴⁸

2.4 – Oxadiazolinas

Oxadiazóis e oxadiazolinas são compostos heterocíclicos podendo ser aromáticos ou não, contendo um átomo de oxigênio e dois átomos de nitrogênio no anel de cinco membros e com a fórmula molecular $C_2H_2N_2O$. Estes são classificados de acordo com o grau de oxidação do heterociclo, posição da ligação π e posição dos heteroátomos, no anel de cinco membros.⁹⁻¹⁰ (Figura 5)

Figura 5 – Oxadiazol (11, 14), Oxadiazolina (12a-b, 15a-b) e Oxadiazolidina (13)



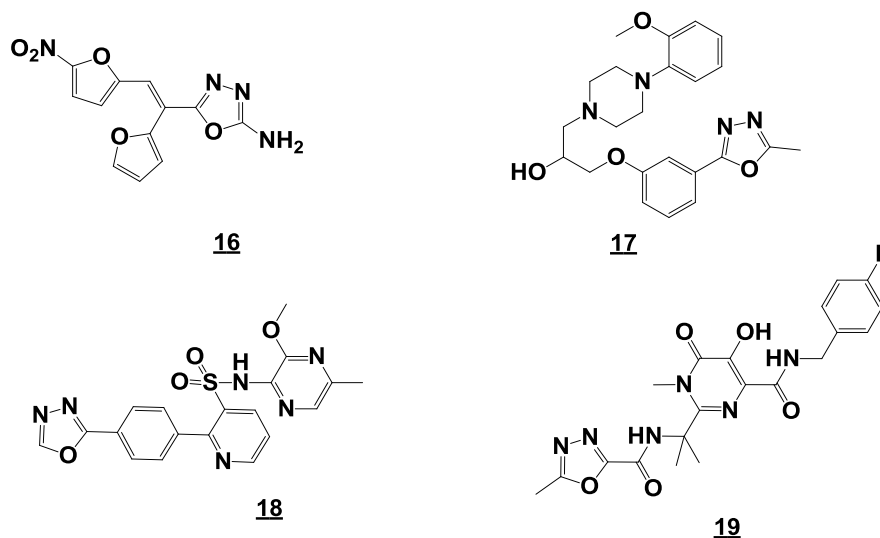
O grau de oxidação no heterobociclo gera modificações nas propriedades químicas, como por exemplo, a reatividade.⁹ Os oxadiazóis, **11** (1,2,4 oxadiazol) e **14** (1,2,5 oxadiazol), são totalmente oxidados e aromáticos; as oxadiazolidinas, **13**, são totalmente reduzidas; já as oxadiazolinas, **12a** (Δ^2 -1,2,4-oxadiazolina), **12b** (Δ^4 -1,2,4-oxadiazolina), **15a** (Δ^2 -1,3,4-oxadiazolina) e **15b** (Δ^3 -1,3,4-oxadiazolina) são parcialmente oxidadas.

O núcleo-alvo deste trabalho foi a Δ^2 -1,2,4-oxadiazolina, **12a**. Os compostos contendo o este núcleo têm apresentado diversas atividades biológicas na literatura, sendo alvo de estudos na síntese orgânica.¹⁰

2.4.1 – Atividades Biológicas e Aplicações Terapêuticas

O núcleo oxadiazolina têm apresentado na literatura diversas atividades terapêuticas, dentre elas antimicrobiana, anticancerígena, anti-inflamatória, antidiabética e tripanomicida. O núcleo oxadiazol está presente em fármacos como Furamizol (antibiótico) **16**, Nesapidil (antihipertensivo) **17**, Zibotentan **18** (antineoplásico) e Raltegravir (antiretro viral) **19**.¹¹

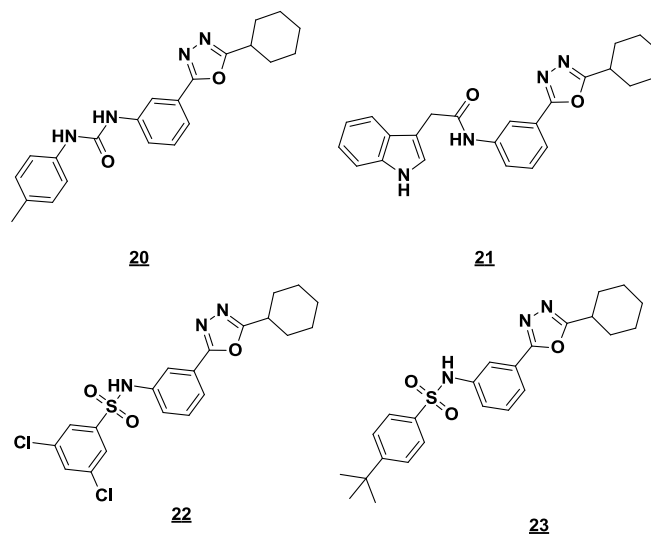
Figura 6 – Fármacos contendo o núcleo oxadiazol.



Em recente estudo, Selvaraj et al. apresentou novos derivados oxadiazólicos dissustituídos com inserção de uréias **20**, amidas **21** ou sulfonamidas **22** e **23** substituídas na porção aromática da molécula. No ensaio anticâncer, o composto **20** demonstrou-se um efetivo agente anticancerígeno chegando a uma $IC_{50} = 23,5\mu M$ para linhagem câncer de mama, tendo cisplatina ($IC_{50} = 3,5\mu M$) como anti-neoplásico padrão. Os compostos **21** e **22** apresentaram

pronunciada atividade antidiabética, além de uma importante atividade anti-inflamatório do composto **23**.¹¹

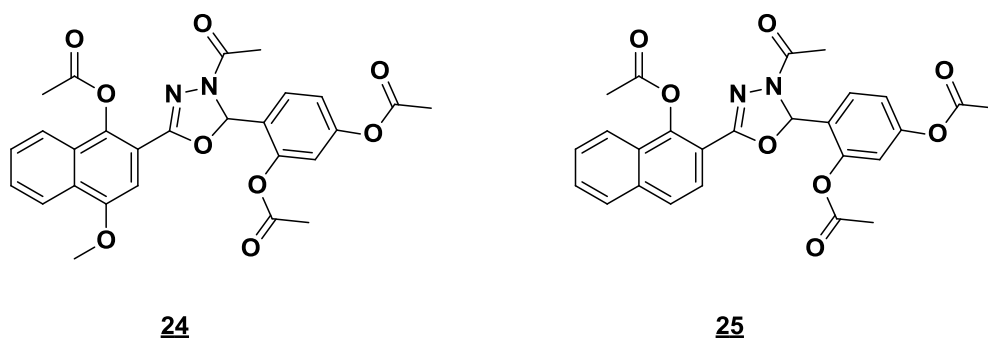
Figura 7 – Derivados oxadiazólicos dissustituídos com grupamento uréia **20**, amida **21** ou sulfonamida **22** e **23** na porção aromática.



Através de um estudo de relação estrutura-atividade (SAR), Selvaraj et. al. (2017) pôde concluir em seu estudo que a inserção de uma porção amida, nos derivados oxadiazóis, gera um aumento da atividade antidiabética. Estes autores também verificaram que a inserção de uma porção sulfonamida é capaz de potencializar as atividades anti-inflamatórias e antidiabéticas, enquanto a porção ureia, as atividades anticancerígenas e anti-inflamatórias.¹¹

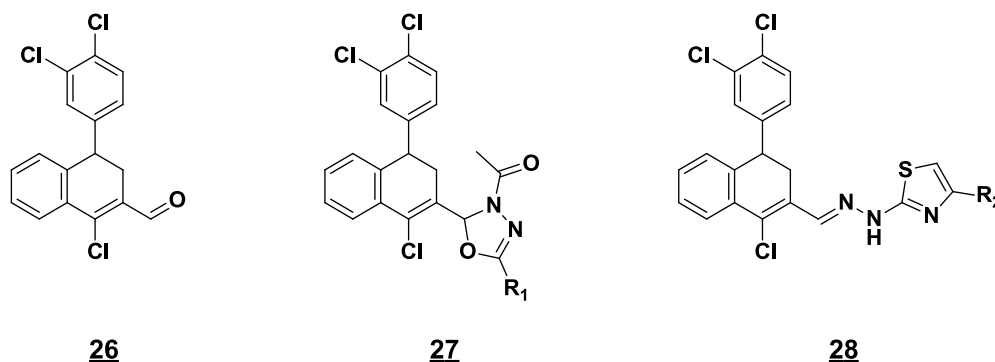
Em uma análise mais aprofundada do efeito citotóxico do núcleo oxadiazolínico, Chaaban et al. (2014) utilizou em seu estudo, sessenta células, de nove linhagens cancerígenas distintas, para a avaliação dos compostos **24** e **25**, os quais apresentaram excelentes resultados nos testes *in vitro*. Na inserção do núcleo oxadiazolínico no composto contendo naftaleno, Chaaban verificou que o composto **24** possui boa atividade citotóxica para as nove linhagens testadas e baixa toxicidade para células saudáveis. O composto **25** também apresentou boa segurança, demonstrando uma moderada atividade para células de leucemia e melanoma.¹²

Figura 8 – Derivados oxadiazólicos **24** e **25** testados para atividade citotóxica *in vitro*.



Em outro estudo, Chidananda et al. (2014) fez uma análise comparativa da atividade citotóxica, onde o composto contendo o núcleo naftaleno **26** apresentou atividade citotóxica inferior, comparado a este mesmo composto adicionado com os grupamentos oxadiazolína **27** ou grupamentos tiazol **28**. Neste estudo, Chidananda concluiu, também, que os derivados contendo os grupamentos oxadiazolína **26** possuíam maior poder citotóxico do que aqueles com grupamento tiazol **27**. Também foi realizado o estudo antimicrobiano, dos compostos **27** e **28**, os quais apresentaram excelentes resultados.¹³

Figura 9 – Núcleo naftaleno **26** contendo oxadiazolina **27** e tiazol **28** com atividades antimicrobiana e citotóxica.

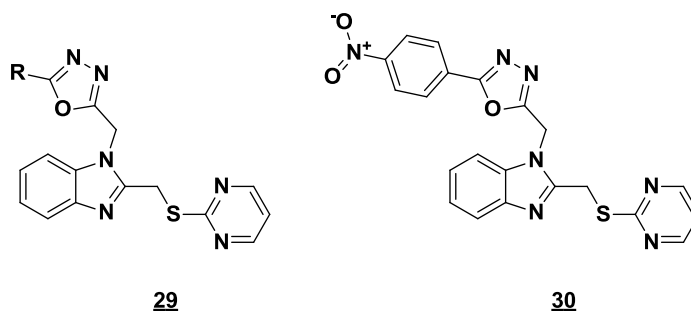


Como visto anteriormente, os coxibes são excelentes anti-inflamatórios e trazem segurança gastrointestinal, devido sua seletividade a COX-2. Esta enzima também é protagonista no crescimento tumoral e a sua inibição gera efeitos deletérios sobre as células cancerígenas.⁴¹⁻⁴⁷

Diante destes conhecimentos, Rathore et al. (2014), propôs a síntese de híbridos benzimidazol/oxadizol **29** na busca por potenciais compostos seletivos a COX-2. Nos resultados de sua pesquisa, a maior parte dos compostos sintetizados apresentaram maior seletividade a COX-2 do que a COX-1, sendo o composto **30** o mais seletivo com $IC_{50} = 8,2$

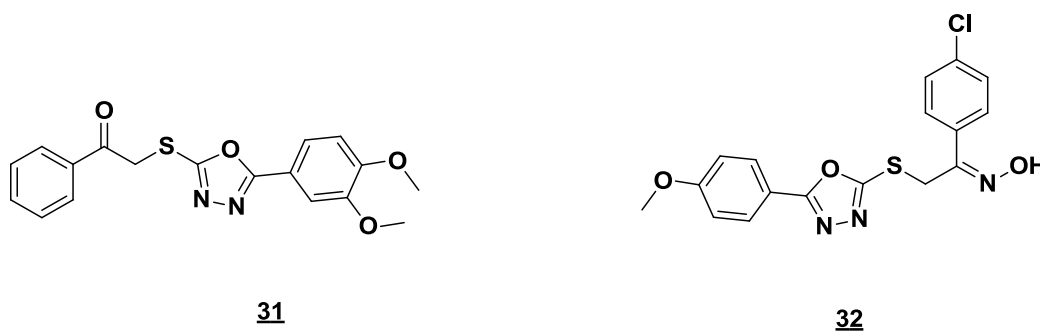
μM próxima ao padrão indometacina ($\text{IC}_{50} = 6,2 \mu\text{M}$), além de uma desprezada gastrotoxicidade. Nas atividades citotóxicas e anti-inflamatórias o composto **30**, assim como outros derivados da série, acompanharam um ótimo desempenho nos ensaios biológicos.¹⁴

Figura 10 – Híbridos benzimidazol/oxadiazol **29** e **30** seletivos a COX-2.



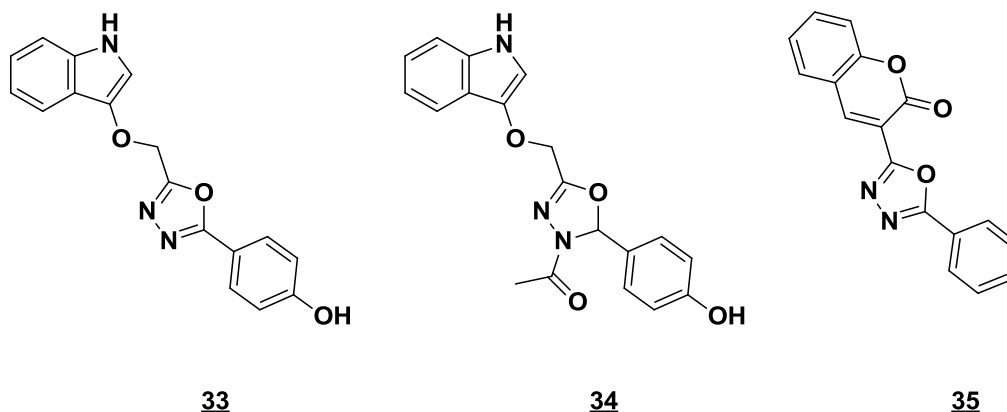
Abd-Ellah et al. (2017), também demonstraram que oxadiazóis **31** e oxadiazóis/oximas **32** apresentaram inibição a enzima COX, porém não seletivamente, para avaliação do efeito anti-inflamatório. Estes também se demonstraram seguros a nível gástrico.⁴⁹

Figura 11 – Oxadiazóis **31** e oxadiazóis/oximas **32** inibidores não seletivos da COX.



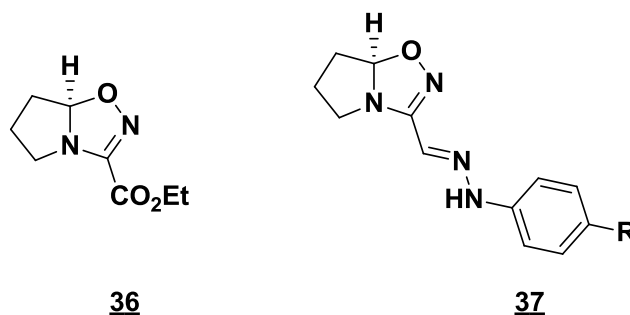
A inibição da isoenzima lipooxigenase-5 (LOX-5), para promoção do efeito anti-inflamatório e diminuição dos incômodos gástricos, é outra alternativa na terapia anti-inflamatória, além da inibição a enzima COX. Nessa estratégia terapêutica, os estudos de Rajak et al. (2010) e Akhter et al. (2011) sintetizaram derivados oxadiazóis **33**, **34** e oxadiazolínicos **35**, os quais apresentaram inibição de ambas enzimas: COX e LOX. Também apresentaram baixos valores de peroxidação lipídica, demonstrando baixo dano a mucosa gástrica.^{50, 51}

Figura 12 – Derivados oxadiazóis **33**, **34** e oxadiazolínicos **35**, inibidores da COX e da LOX.



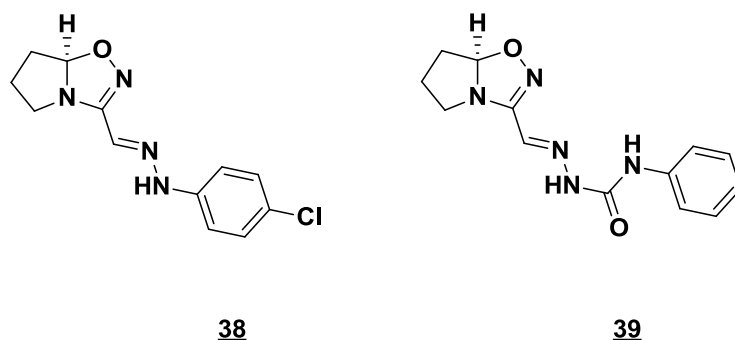
Em trabalhos anteriores, iniciamos um trabalho que envolve a obtenção de hidrazonas oxadiazolínicas **37**, no qual obtivemos o inédito heterobíciclo, a pirrolidina[1,2-*d*]1,2,4-oxadiazolina **36**, por cicloadição 1,3 dipolar.¹⁵

Figura 13 – Inédito heterobíciclo, a pirrolidina[1,2-*d*]1,2,4-oxadiazolina **37** e hidrazona oxadiazolínica **36**,



Neste trabalho, o composto **38** apresentou expressiva atividade antinociceptiva tanto no teste com ácido acético quanto no teste com formalina (63% de proteção em 200 μ mol/kg). O composto **39** apresentou excelente atividade no ensaio tripanomicida ($IC_{50} = 27,42$), apresentando baixíssima toxicidade, característica distinta dos fármacos padrão, o Benznidazol e o Nirfutimox.¹⁵

Figura 14 – Hidrazonas oxadiazolinas com atividades antinociceptiva **38** e tripanomicida **39**.



2.4.2 – Métodos de Obtenção de Oxadiazolinas

Uma rota sintética, para obtenção de oxadiazolinas, são as reações de cicloadição 1,3-dipolar, análogas à reação de Diels-Alder [4 + 2], onde um dipolarófilo interage com um dipolo, gerando um composto cíclico.^{52,53}

Desde a década de 60, com os resultados de Rolf Huisgen, essa reação tornou-se o método mais empregado para a obtenção de compostos heterocíclicos de cinco membros.⁵⁴⁻⁵⁶ Nesse tipo de reação temos a adição de 1,3-dipolo a um sistema insaturado (alqueno, iminas), obtendo-se o anel de cinco membros.

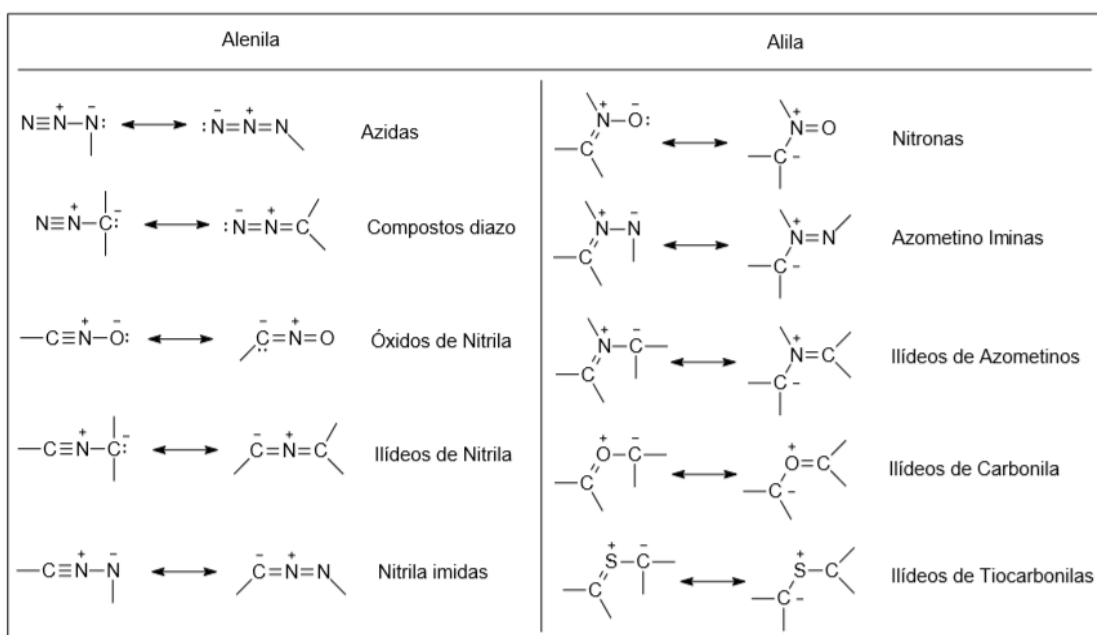
O 1,3-dipolo é uma espécie representada por uma estrutura em íon dipolar, um *zwitterion*, que apresenta um sistema de quatro elétrons π deslocalizados em três átomos, sendo o átomo central hibridizado em sp ou sp^2 .⁵⁶ Desta forma, dependendo da hibridização do átomo central do 1,3-dipolo, podemos classificá-lo em: dipolo ânion alila e dipolo ânion alenila (Figura 15).

Figura 15 – Geometria do 1,3-dipolo

1,3 -Dipolo	Geometria do dipolo	Hibridização do átomo central
Alenila $a \equiv b^+ - c^-$ \longleftrightarrow $: \bar{a} - b^+ \equiv c$ (Linear)		sp
Alila $a = b - c^-$ \longleftrightarrow $: \bar{a} = b = c$ (Angular)		sp^2

De acordo com a interação dos orbitais moleculares entre os átomos do dipolo com o dipolarófilo, pode-se estabelecer a nomenclatura 1,3-dipolar, sem associação com as cargas formais existentes. Na figura 4 observamos os exemplos dos 1,3-dipolos alenila e alila que são aplicados nas reações de cicloadição 1,3dipolar (Figura 16).

Figura 16 – Exemplos de espécies reativas 1,3-dipolos



Huisgen (1963) observou em seus trabalhos que a reação de cicloadição 1,3-dipolar envolvendo alquenos ocorre através do mecanismo concertado, onde há a existência de apenas uma etapa para a formação do cicloaduto.^{55,56} Atualmente, a melhor teoria que explica esse mecanismo, bem como a régio e estereosseletividade da cicloadição 1,3-dipolar é a dos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMO).⁵²

Nesse modelo os orbitais moleculares ocupados de mais alta energia (HOMO) e os orbitais moleculares não ocupados de menor energia (LUMO) do 1,3 dipolo e do dipolarófilo são calculados com os coeficientes orbitales dos átomos que irão participar da ciclização.⁵²

Dependendo das energias relativas dos orbitais moleculares de fronteira do dipolo e do dipolarófilo, as reações dipolares podem ser classificadas em:

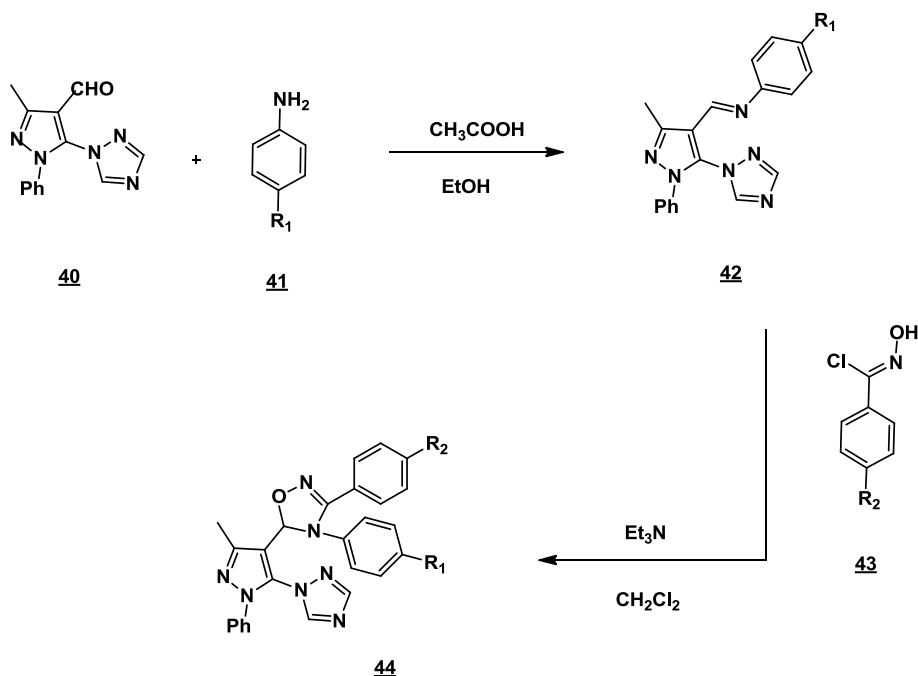
- Reações controladas pelos Orbitais HOMO do dipolo/ LUMO do dipolarófilo
- Reações controladas pelos Orbitais LUMO do dipolo/ HOMO do dipolarófilo
- Reações controladas pelos Orbitais HOMO e LUMO tanto do dipolo quanto do dipolarófilo.

No caso específico da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre a imina (dipolarófilo) e *N*-óxido de nitrila (dipolo), a demanda eletrônica deve ser regida, provavelmente, pelo HOMO da imina, rica em elétrons e o LUMO do dipolarófilo, com alta assimetria, ou mesmo não concertada, porém cálculos devem ser feitos para averiguar o mecanismo.⁵⁸

Diversos trabalhos têm apresentado a reação da cicloadição 1,3-dipolar como ferramenta para a obtenção de 1,2,4-oxadiazolinas, assim como outros métodos reacionais, os quais serão apresentados a seguir.

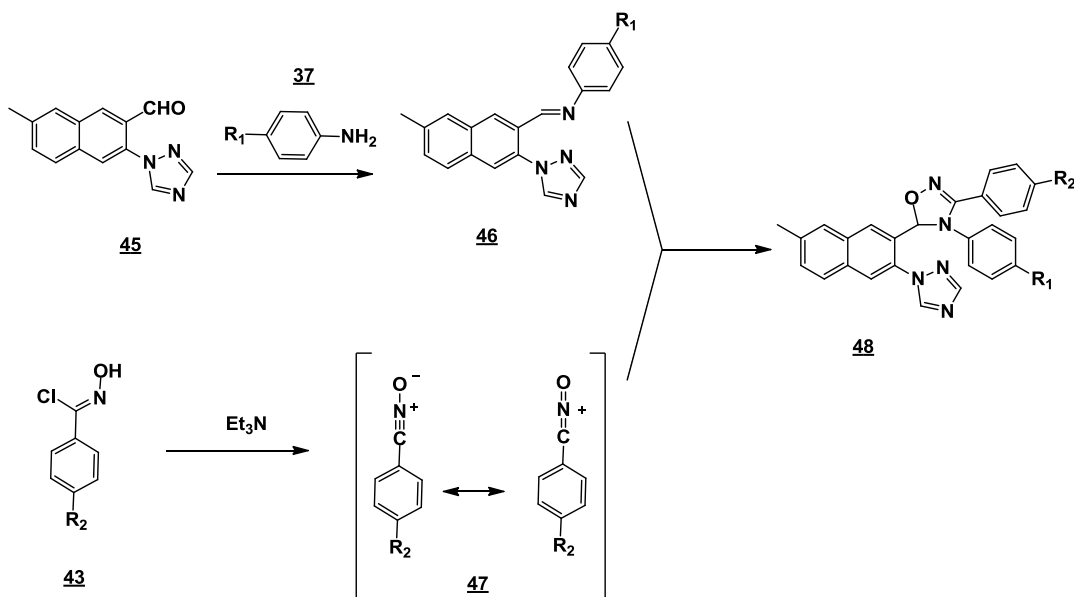
A cicloadição 1,3-dipolar também foi utilizada por Fei et al. (2016), para obtenção de novos derivados híbridos contendo núcleos pirazol e oxadiazolína.⁵⁹

Nesta síntese, obteve-se uma série de iminas a partir da condensação de aldeídos pirazólicos **40** com anilinas substituídas **41**, em meio etanólico com ácido acético para catalisar a reação. Estas iminas **42**, dipolarófilos, foram então submetidas à reação de cicloadição 1,3-dipolar utilizando diversos cloretos de benzohidroximinoilas **43**, precursores dos *N*-óxidos de nitrila, os quais, após desprotonação pela base trietilamina, formam o dipolo, conforme esquema 1. O núcleo 1,2,4-oxadiazolina foi então formado obtendo-se nove derivados híbridos, caracterizados por espectroscopia RMN, massa e por cristalografia de raio-X.⁶⁰



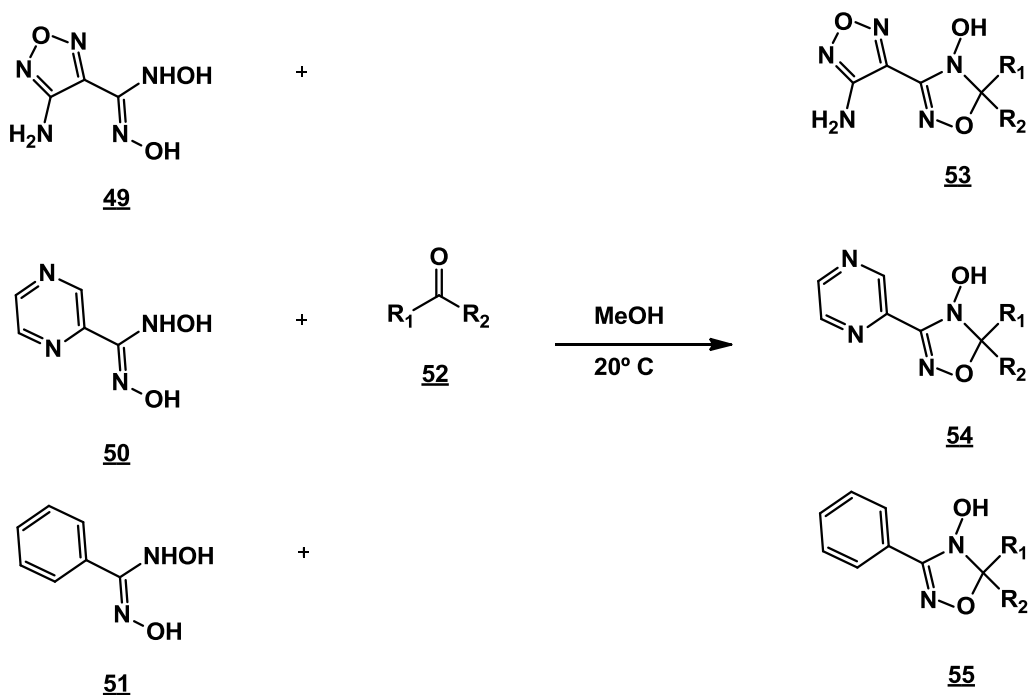
Esquema 1 – Síntese de oxadiazolínicas di-ariladas com pirazol **44**

Em outro trabalho Huang et al. (2014), buscou a síntese de novas quinolonas contendo uma porção 1,2,4-oxadiazolina em sua estrutura, usando também uma base de Schiff (imina) **48** como um dipolarófilo e cloretos de benzohidroximinoilas **43** substituídas, demonstrando uma habilidade na síntese de oxadiazolinas via reação de cicloadição 1,3-dipolar (esquema 2). As quinolonas foram relatadas com propriedades antimalária, antifúngica, antitumoral e até inibidor da COX-2, logo, a síntese realizada pelo grupo de pesquisa supracitado, garantiu uma série de compostos potencialmente ativos para diversas atividades biológicas.⁶⁰



Esquema 2 – Síntese de oxadiazolína com *N*-hidroxiaminas.

Liu et al. (2015) em seu trabalho, desenvolveu o método de obtenção de 4*H*, 5*H*-1,2,4-Oxadiazóis, a partir da condensação de *N*-hidroxiamidoximas com cetonas ou aldeídos **48** (esquema 3). Neste trabalho, Liu utilizou *N*-hidroxiamidoximas (**49** – **51**) comerciais formando uma série de amino-furazan-carboximidamidas **53**, piraza-2-carboximidamida **54** e benzenocarboximidamida **55**, obtendo rendimentos superiores a 70%.⁶¹



Esquema 3 – Síntese de oxadiazolína por condensação com cetonas.

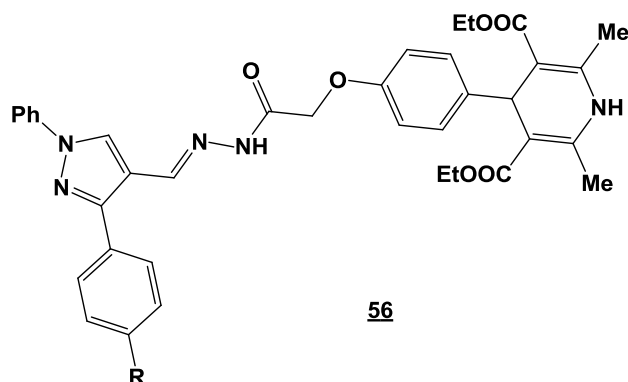
2.5 – Hidrazonas

As hidrazonas são compostos orgânicos que contém o grupo azometino (-NH-N=CH-) ligado ao grupo carboimida e são responsáveis por diversas atividades biológicas, atraindo a atenção dos pesquisadores ao redor do mundo no desenvolvimento de novos fármacos^{65, 66}. Podem atuar como ligantes para complexos metálicos, organocatálise e também na síntese de compostos heterocíclicos.⁶⁷

2.5.1 – Atividades Biológicas e Aplicações Terapêuticas

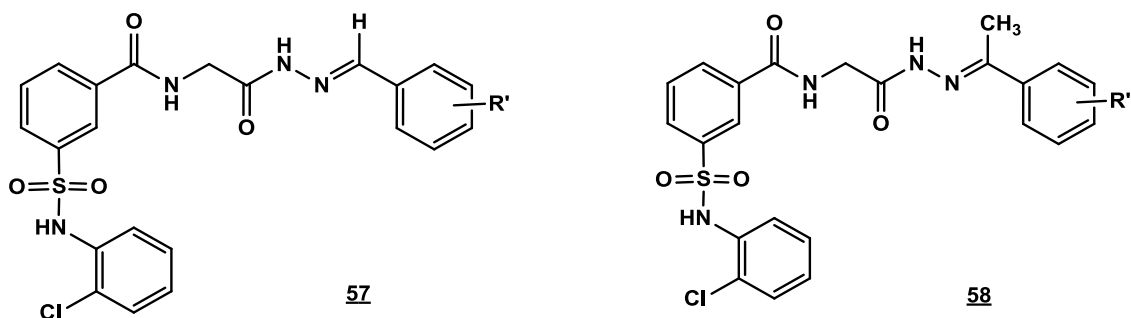
Kumar et al. (2017) descreveram a atividade de novos híbridos moleculares baseados em hidrazona de 1,4-dihidropiridina e pirazol **56**, contra o parasita da malária sensível à cloroquina *Plasmodium falciparum* e atividade antimicrobiana contra uma estirpe de bactérias Gram positivas (*Bacillus cereus*), uma de bactérias Gram negativas (*Escherichia coli*) e atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*. Todos os compostos sintetizados foram mais potentes que a cloroquina e o clotrimazol, os fármacos padrão, no teste antiplasmodial *in vitro* e vários compostos apresentaram mais de 90% de inibição no teste antimicrobiano.¹⁷

Figura 17 – 1,4-dihidropiridina hidrazona **56** com atividade antimalária e antimicrobiana.



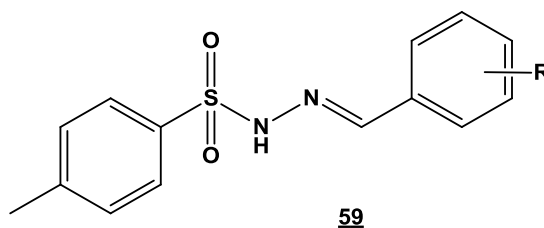
Atividades anti-inflamatória e anti-oxidante também foram descritas, por Gorantla et al. (2017), para duas séries de híbridos de *N*-acilhidrazonas ligadas à *N*-fenil sulfonamida. Em ensaios *in vitro* usando as enzimas COX-1 e COX-2, foram realizados e sintetizados dez compostos ativos, seletivos a COX-2. Outros oito compostos exibiram inibição dual da enzima COX. No teste de atividade antioxidante dois compostos com IC₅₀ de 28,62 μM **57** e 25,34 μM **58** foram revelados antioxidantes potentes.¹⁸

Figura 18 – *N*-acilhidrazonas ligadas à *N*-fenil sulfonamida **57** e **58** com atividades anti-inflamatória e antioxidante.



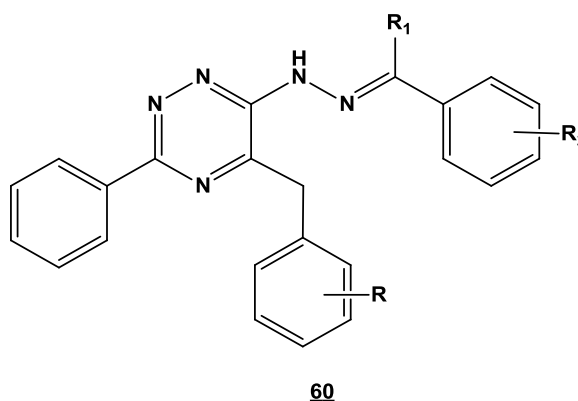
Em outro estudo, Queen et al. (2018) relataram atividade antitumoral para derivados de *p*-tolueno sulfonil-hidrazona **59**, os quais inibiram significativamente a proliferação de células cancerosas hipóxicas e induziram apoptose nas células cancerígenas hipóxicas de diferentes linhagens. Essa atividade estaria relacionada a alta afinidade dessas moléculas pela enzima anidrase carbônica IX, o que resultaria em sua inibição. Os compostos sintetizados não foram tóxicos nas linhas celulares normais (HEK-293).⁷⁰

Figura 19 – Derivados *p*-tolueno sulfonil-hidrazona **59** com atividade antitumoral.



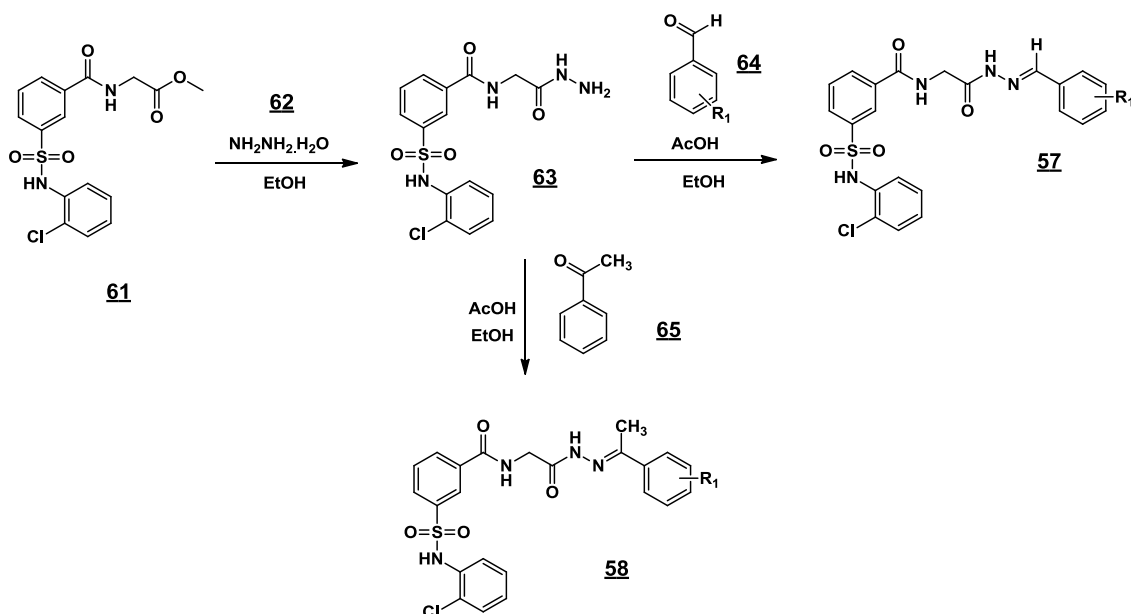
Híbridos de hidrazona e triazina **60** foram sintetizados por Amir et al. (2014) e foram avaliados quanto a sua atividade anticonvulsivante. A maioria dos compostos mostraram proteção geral na convulsão máxima por eletrochoque bem como na tela subcutânea de convulsão induzida por pentileno-tetrazol. Neste processo dois compostos com resultados equivalentes e superiores aos fármacos de referência, fenitoína e carbamazepina, em doses menores de 30 mg/kg.⁷¹

Figura 20 – Híbridos de hidrazona e triazina **60** com atividade anticonvulsivante.



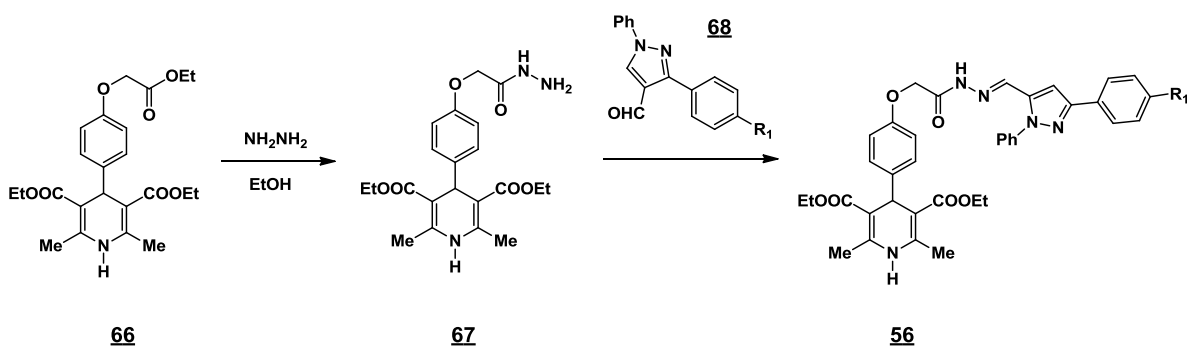
2.5.2 – Métodos de Obtenção de Hidrazonas

A síntese proposta por Gorntla et al. (2017), é descrita no esquema 4. A partir do éster de um derivado benzossulfônico **61**, foi obtida a função hidrazida **63** deste mesmo derivado, utilizando hidrazina **62** em meio etanólico. O derivado *N*-fenil sulfônicos com função hidrazida **62**, foi posteriormente condensado com benzaldeídos **64** ou acetofenonas **65** substituídos, gerando 38 novos derivados *N*-acilhidrazônicos **57** e **58**, os quais apresentaram rendimentos entre 70-90%, além de bons resultados quanto às atividades antioxidantes e anti-inflamatórias como supracitados.¹⁸



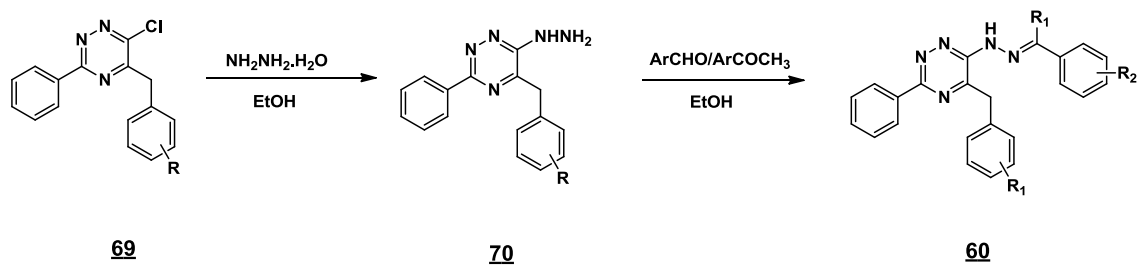
Esquema 4 – Síntese de hidrazonas a partir de aldeídos ou cetonas.

Kumar et al. (2017) apresentou proposta semelhante para a obtenção de derivados hidrazônicos, onde, a partir de um derivado éster **66**, adicionada hidrazina em meio etanólico, foi gerado o composto com função hidrazida **67**. A este último, foram adicionados aldeídos pirazólicos substituídos **68**, obtendo assim sete derivados hidrazônicos **56** com rendimentos superiores a 90% (esquema 5).¹⁷



Esquema 5 – Síntese de hidrazonas a partir de aldeídos pirazólicos.

Amir et al. (2014) realizou a síntese dos derivados hidrazônicos por uma substituição nucleofílica aromática no anel 1,2,4-triazina **69** na adição da hidrazina, formando um composto contendo hidrazina **70** em sua estrutura, conforme esquema 6. Após condensações com benzaldeídos ou acetofenonas Amir obteve 21 novos derivados hidrazônicos **60**, porém com rendimentos médios de 65%.⁷¹



Esquema 6 – Síntese de hidrazonas em anel 1,2,4-triazina.

3 – OBJETIVO

3.1 – Objetivo Geral

Planejar e sintetizar novas 1,2,4-oxadiazolinas di-ariladas 74, análogas estruturais de coxibes e averiguar as atividades citotóxica e anti-inflamatória e início do estudo para a obtenção de híbridos 1,2,4-oxadiazol-di-arilados/hidrazona 77.

3.2 – Objetivos específicos

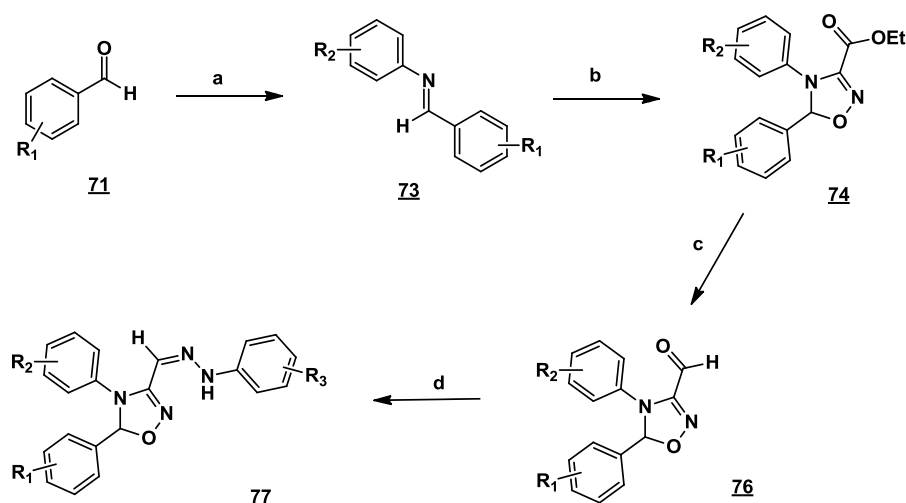
- a- Sintetizar iminas di-ariladas 73, a partir de benzaldeídos comerciais substituídos.
- b- Obter ésteres de 1,2,4-oxadiazolinas di-ariladas 74 a partir da reação de ciclodição 1,3-dipolar das iminas 73 com óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) 80.
- c- Otimizar novas reações, purificar e determinar algumas propriedades físico-químicas dos novos análogos coxibes oxadiazolínicos 74.
- d- Elucidar a estrutura dos novos análogos coxibes 74 através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (^1H e ^{13}C), no infra-vermelho (IV-TF) e de Massas.
- e- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* de células tumorais e Concentrações inibitórias, assim como da atividade anti-inflamatória (peritonite induzida por carragenina) dos análogos coxibes oxadiazolínicos de 74.
- f- Iniciar o estudo para a obtenção dos híbridos oxadiazolinas di-ariladas/hidrazonas 77: - síntese dos respectivos álcoois e aldeídos no carbono C3 do núcleo 1,2,4-oxadiazolínicos de 74.
- g- Purificar e elucidar estrutural (RMN, IV-TF e Massas) dos intermediários álcoois 75 e aldeídos 76.

4 – ESTRATÉGIA SINTÉTICA

Conforme esquema 7, primeiramente serão sintetizadas iminas di-ariladas **73**, obtidas a partir de reações de condensação entre benzaldeídos **71** e anilinas **72** substituídos ou não (etapa a). Essa primeira etapa reacional visa a formação da amina di-arilada, que se comportará como dipolarófilo, necessário para obtenção do heterociclo oxadiazolínico. Os Coxibes possuem em sua uma porção di-arilada ligada diretamente a um heterociclo de 5 membros, por isso a ênfase nestas porções comentadas anteriormente. A formação do heterociclo se dará por reações de cicloadição 1,3-dipolar entre as iminas **73** e o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO), o dipolo. Este óxido de nitrila é gerado *in situ* a partir de seu respectivo precursor (Clorooxiimidoacetato de etila – obtido a partir da glicina esterificada). Após as reações de cicloadição, obter-se-ão os cicloadutos 1,2,4-oxadiazolinas di-ariladas **74** com porção éster no carbono C3, gerando assim os análogos Coxibes oxadiazolínicos (etapa b).

Para obtenção dos híbridos oxadiazolinas di-ariladas/hidrazona **77** será necessária a formação de aldeídos em C3, para condensação com diversas fenil-hidrazinas. Subsequente redução do éster com NaBH₄ levou à formação do respectivo álcool, que ao ser submetido à oxidação de Swern, levará à formação dos aldeídos oxadiazolínicos **76** (etapa c¹ – redução, etapa c² – oxidação de Swern)⁷².

Os aldeídos oxadiazolínicos **76** serão submetidos posteriormente à condensação com diversas fenil-hidrazinas, formando assim as oxadiazolinas/hidrazonas híbridas **77** (etapa d).



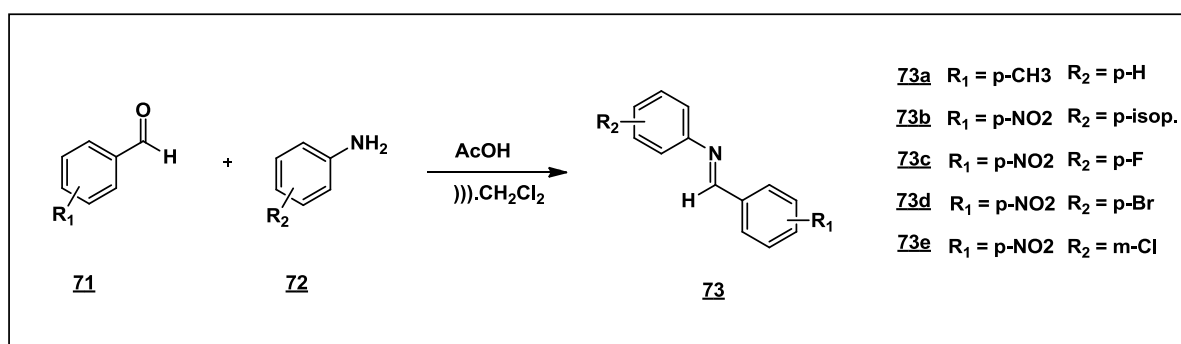
Esquema 7 – obtenção das oxadiazolinas di-ariladas **74** e híbridos oxadiazolína/hidrazona **77**. (a: síntese imina; b: síntese cicloaduto éster; c: formação aldeído em C3; d: condensação com fenil-hidrazidas.

Variando os grupamentos R^1 e R^2 na porção oxadiazolína e R^3 na porção hidrazona, pretendemos obter vários derivados análogos coxibes oxadiazolínicos **74** e híbridos **77** utilizando grupamentos elétron atratores, elétron doadores e volumosos, para estudarmos os efeitos estereoeletrônicos na atividade antichagásica, propiciando assim um estudo de relação estrutura química/atividade biológica.

5 – RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 – Obtenção de iminas di-ariladas 73

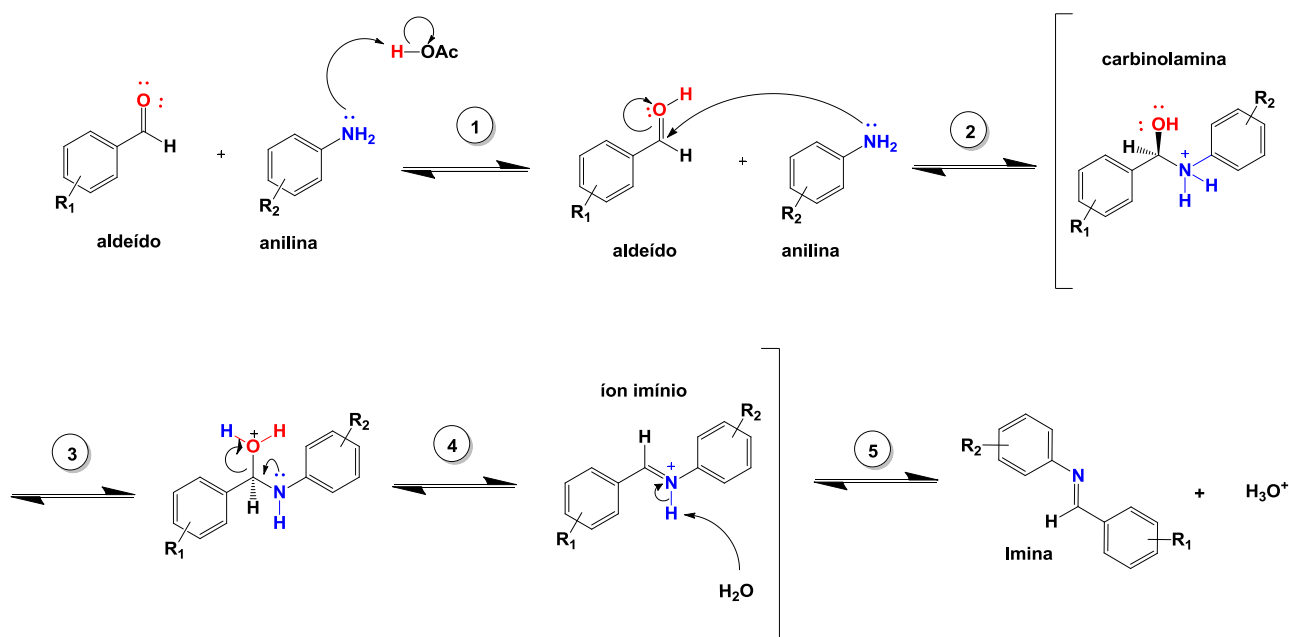
As iminas di-ariladas foram sintetizadas utilizando anilinas 71 substituídas com benzaldeídos 72 também substituídos, em proporções equimolares, catalizador ácido e diclorometano como solvente, como demonstrado no esquema 8.



Esquema 8 – Obtenção de iminas di-ariladas 73.

Ácido acético foi utilizado como catalisador reacional, as reações ocorreram em sonicação e monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD).

Conforme esquema 9, podemos propor o mecanismo de síntese das iminas di-ariladas, baseado no mecanismo geral da formação das iminas, em catálise ácida e de modo reversível.⁷³ É apresentado em cinco etapas, onde na etapa **1** a ocorre a captura do próton do ácido acético pelo nitrogênio da anilina. Na etapa **2**, ocorre transferência do próton da anilina para o benzaldeído e posterior ataque nucleofílico da amina primária sobre a carbonila deste, transferindo os elétrons π da ligação para o oxigênio, formando assim um intermediário tetraédrico, uma *carbinolamina* polar. Na etapa **3** um próton é transferido do nitrogênio para o oxigênio, formando uma molécula de água protonada (H_2O^+), excelente grupo de saída. A etapa **4** prossegue via eliminação de segunda ordem (E2) e obtenção do *ion imínio*. Na etapa **5** ocorre a regeneração do par de elétrons livres do nitrogênio pela abstração do próton pela água e por fim formação do produto, a *Imina*, além de hidrônio (H_3O^+) como sub-produto.



Esquema 9 – Mecanismo de síntese das iminas di-ariladas

Como verificado na etapa **3**, é necessário um meio ácido para formação de um bom grupo de saída e obtenção do *ion imínio*. Verificando cada etapa do mecanismo apresentado no esquema 9, é possível explicar uma relação de dependência da velocidade reacional com o pH ideal para formação das iminas entre 4 a 5. A ausência deste pH levemente ácido implica em lentidão na formação do produto, por não gerar um bom grupo de saída. Em contrapartida, uma acidez mais elevada (pH < 4) gera a protonação da amina e perda do seu poder de nucleófilo.⁷³

Como a reação é reversível, a água é removida do meio pela presença da peneira molecular 3Å, agente dessecante, favorecendo o deslocamento do equilíbrio para a formação da imina.

Neste trabalho foram obtidas cinco iminas di-ariladas a partir de anilinas e benzaldeídos comerciais utilizando equipamento de ultrassom. Os rendimentos das iminas, estão na tabela 1, abaixo.

Tabela 1 – Rendimentos das iminas sintetizadas.

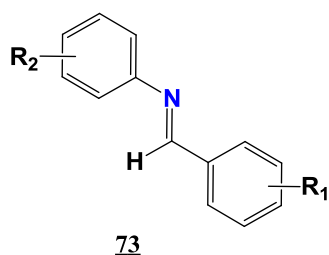


Figura 21 – Estrutura geral das iminas di-ariladas.

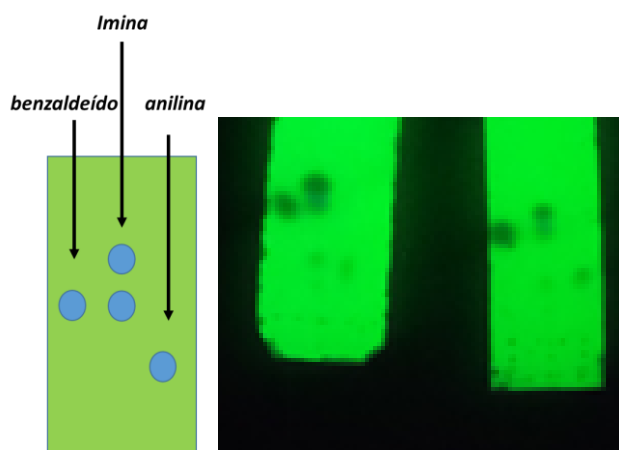
Compostos	R1	R2	Rendimento(%)
73a	<i>p</i> -CH ₃	<i>p</i> - H	51%
73b	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -isop.	79%
73c	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -F	95%
73d	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -Br	90%
73e	<i>p</i> -NO ₂	<i>m</i> -Cl	70%

As iminas **73b-73e** foram sintetizadas por sonicação utilizando diclorometano como solvente. Já a imina **73a** foi sintetizada sem solvente e com a presença de peneira molecular 3 Å (PM 3Å) como agente dessecante, afim de deslocar o equilíbrio para a formação da imina, uma vez que nesta síntese não se processava o consumo dos reagentes de partida, o que ocorreu após a inserção da PM 3Å. Todas as reações foram monitoradas por CCD.

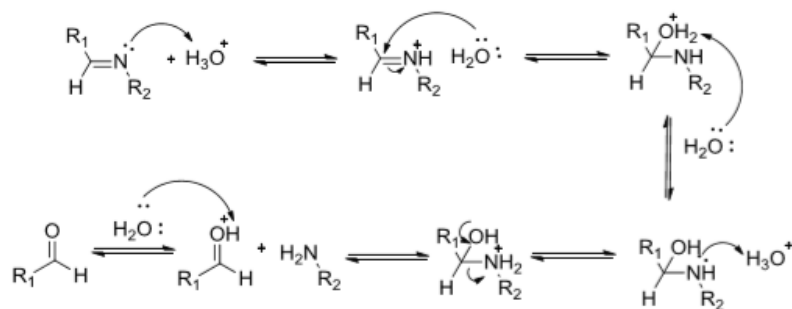
Uma dificuldade encontrada inicialmente na síntese da iminas di-ariladas, foi o não desaparecimento do ponto relacionado ao Rf do benzaldeído na placa de CCD, como apresentado na Figura 22. Sendo assim, foram realizadas reações com excesso de anilina, ao invés de proporção equimolar, porém não houve desaparecimento, nem diminuição do ponto com mesmo Rf do benzaldeídos em 4h de refluxo ou 3h de ultrassom.

A literatura pesquisada não apresentou este fato, nem mesmo aquelas que relataram compostos idênticos. Diante deste problema, o qual impedia acompanhar o fim da reação, foi levantada a hipótese da formação dos diastereoisômeros *Z* e *E* na formação das iminas, não sendo o ponto inferior o aldeído, mas sim um dos isômeros. Entretanto, os espectros de RMN ¹H das iminas **73a-73e**, não apresentaram tais isômeros, mas apenas um dos diastereoisômeros, o que fez descartar tal hipótese.

Figura 22 – Placa de CCD com padrões benzaldeídos e anilina e a reação imina ao centro. Sistema eluente: acetato de etila/hexano (1:9)



A formação do grupo imina ocorre sob controle termodinâmico, podendo seguir o caminho inverso em presença de ácido e água. O esquema abaixo ilustra a reação inversa de hidrólise do grupo imina levando a seu respectivo aldeído e anilina.



Esquema 10 – Mecanismo de hidrólise de uma imina.

Em sua dissertação de mestrado, Fritsch (2015) observou a hidrólise de seu produto final, base de Schiff, quando em solução. Fritsch procedeu um estudo de hidrólise, onde deixou o composto final, anteriormente seco em linha de vácuo por 4h, dissolvido em tubo de RMN com clorofórmio deuterado. Os espectros foram realizados nos 1º, 8º e 16º dias, observando-se o aumento do sinal característico do hidrogênio do aldeído no oitavo e no décimo sexto dia, próximos a 10,0 ppm, além dos sinais característicos de anilina entre 7 e 8 ppm. (Figura 23). Comportamento semelhante foi observado neste trabalho, onde as iminas foram secas em linha de vácuo por 4h e submetidas à análise de ^1H RMN (Figura 24).⁷⁴

Figura 23 – Hidrólise de uma base de Schiff (CDCl_3 , 300MHz) após 8 e 16 dias.

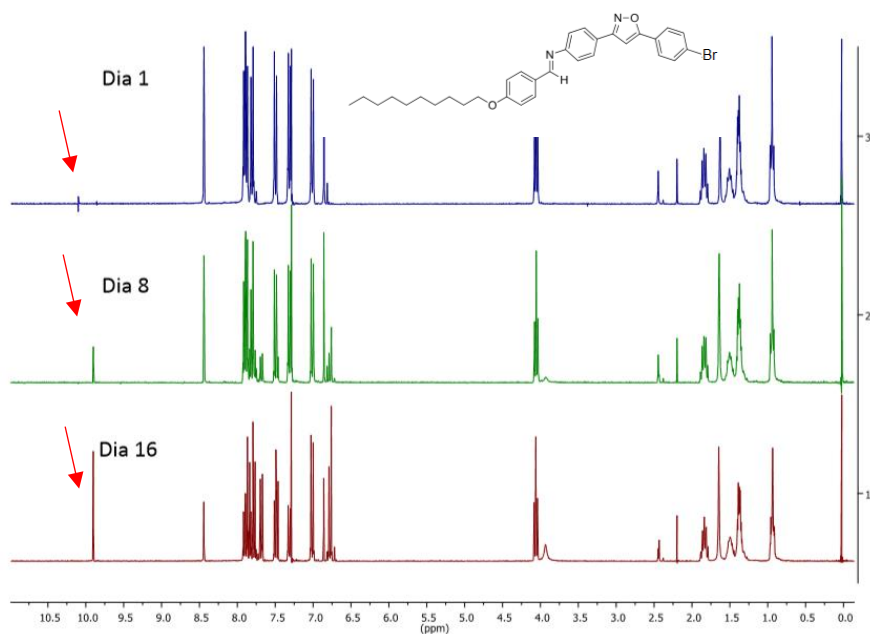
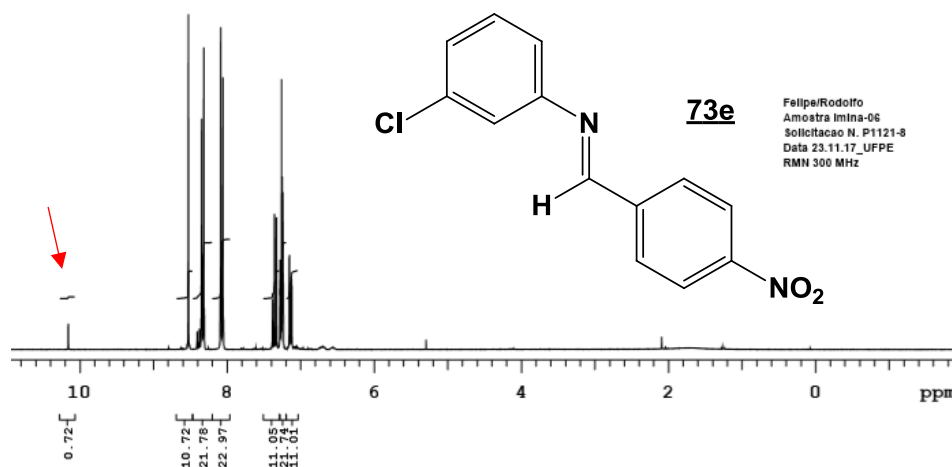
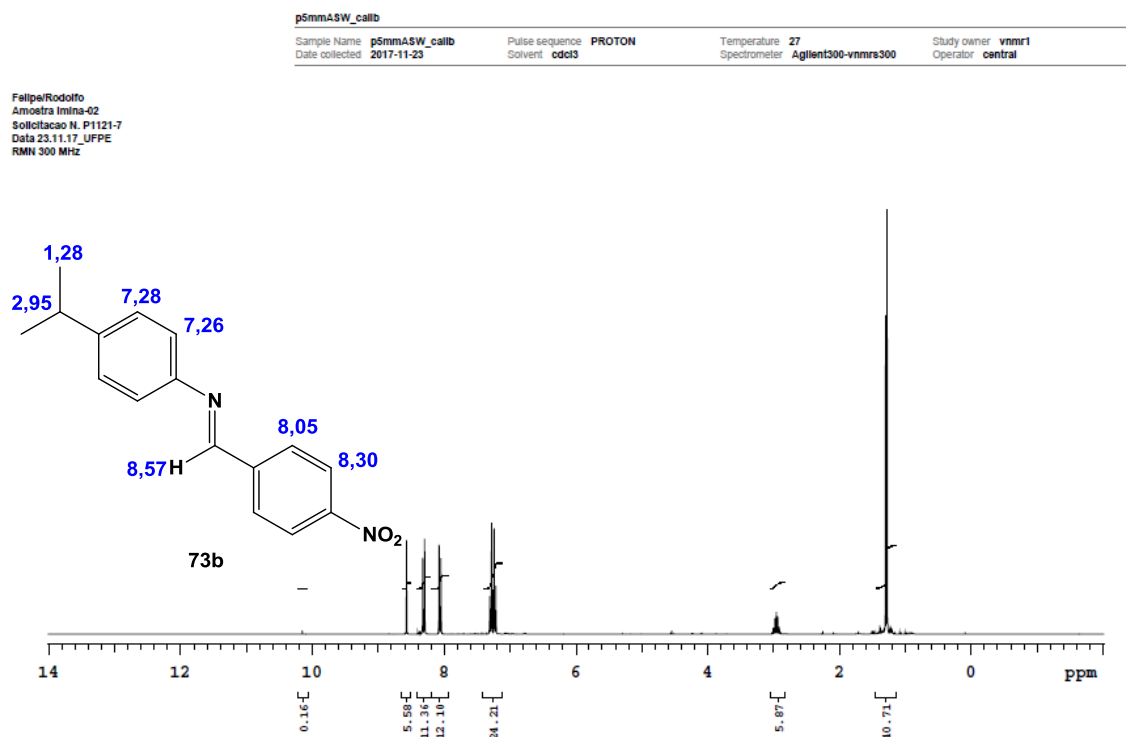
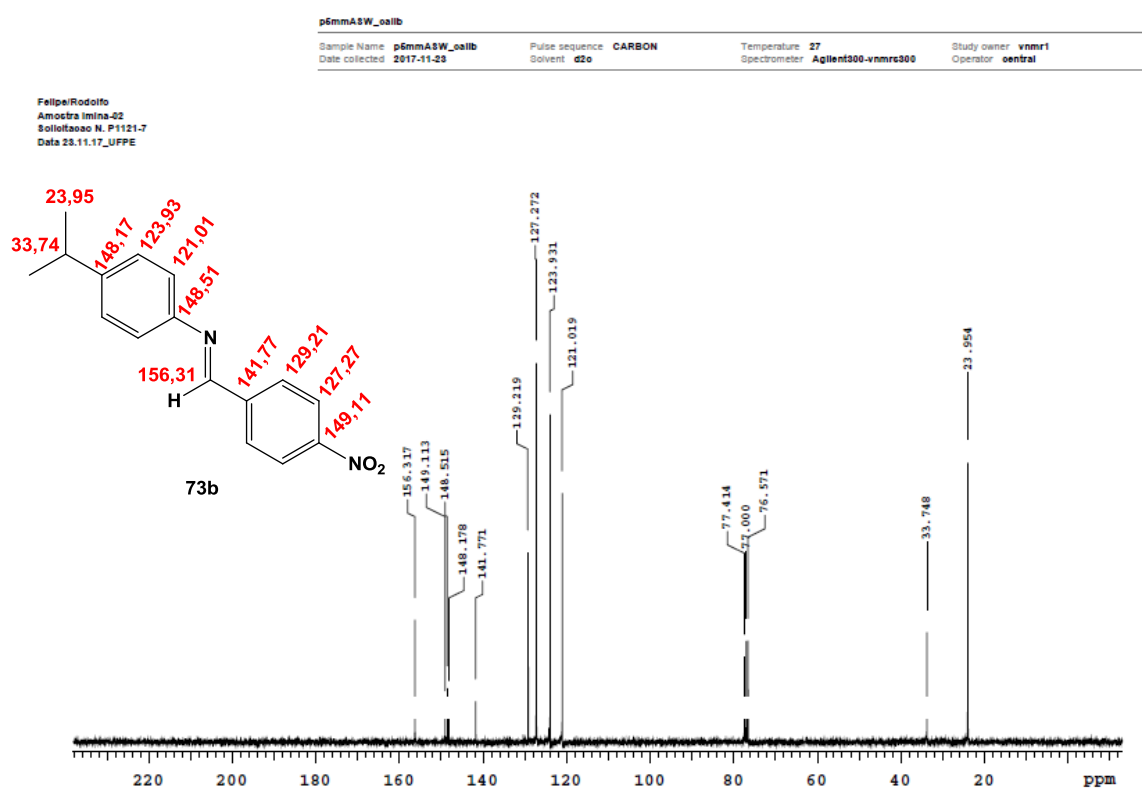


Figura 24 – Provável hidrólise da imina **73e** (CDCl₃, 300MHz).



Logo, uma possível explicação para os dois pontos na formação das Iminas di-ariladas, seria a hidrólise da imina e formação de seu respectivo benzaldeído e anilina, sendo ainda necessário estudos posteriores para a confirmação de tal hipótese.

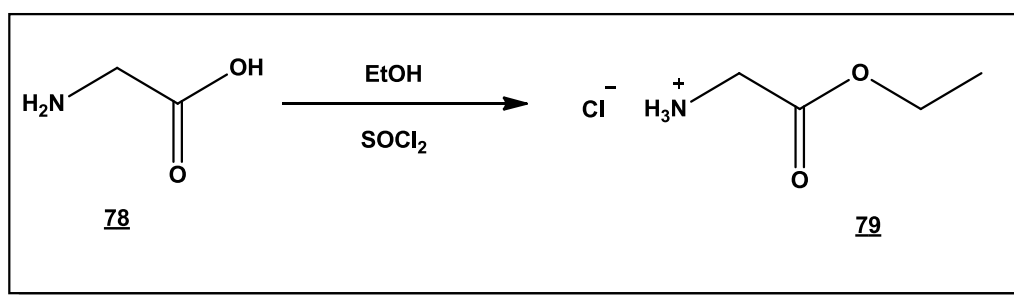
Adotando a imina **73b** com $R^1 = p\text{-NO}_2$ e $R^2 = p\text{-isopropil}$ como referência para as iminas sintetizadas, é possível destacar o sinal no RMN ^1H , simpleto em 8,57 ppm e o RMN ^{13}C em 156,31 ppm, característicos da formação desta função. O fato de ambos os sinais serem os de maior deslocamento químico nos espectros, pode ser explicado pelo efeito diamagnético local do nitrogênio ligado ao carbono somado ao efeito anisotrópico, pela presença dos elétrons π na ligação $\text{N}=\text{CH}$. Os espectros de RMN H^1 e C^{13} , estão apresentadas nas figuras 25 e 26.

Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H – 300MHz da imina *p*-nitro/*p*-isopropil **73b**. Solvente CDCl_3 .Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C – 75 MHz da imina *p*-nitro/*p*-isopropil **73b**. Solvente CDCl_3 .

Em seu trabalho, Yuye (2007) demonstrou que a síntese de iminas di-ariladas por irradiação ultrassônica promove bons rendimentos em menor tempo reacional (10-20 min.).⁷⁵

A energia da irradiação ultrassônica gera o fenômeno da cavitação, o qual acelera a condensação dos aldeídos com anilinas. Neste fenômeno, são geradas microbolhas no líquido, quando uma elevada pressão negativa é aplicada sobre ele. Uma grande quantidade de energia é produzida quando as microbolhas são desfeitas (colapsadas). Estima que a temperatura de 5000K e a pressão de milhares de atmosferas são geradas no colapso das microbolhas, o que ocasiona maior velocidade reacional.⁷⁶

5.2 – Síntese do cloridrato de glicina esterificada 79

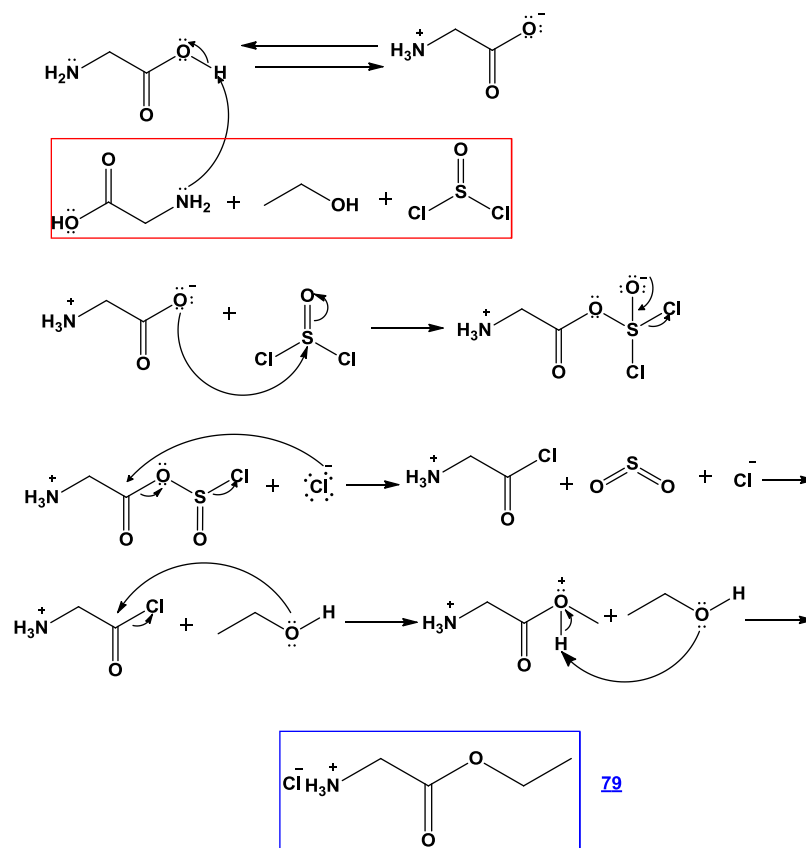


Esquema 11 – Síntese do cloridrato de glicina esterificada 79

O aminoácido glicina 78 é solubilizado em meio etanólico, sob agitação e aquecimento, e convertido em sua forma *zwitterion*, devido a abstração do hidrogênio da carboxila pela amina primária do íon dipolar (esquema 12). Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do carboxilato do íon dipolar sobre o enxofre eletrofílico do cloreto de tionila (SOCl₂), formando um intermediário, que em seu rearranjo elimina o íon cloreto.

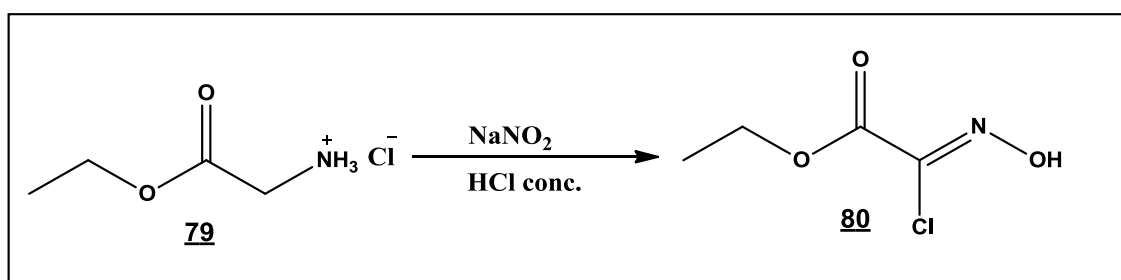
A carbonila do intermediário formado sofre o ataque nucleofílico do ânion cloreto, formando o cloreto de acila, o gás dióxido de enxofre e liberando outro íon cloreto no meio reacional.

O cloreto de acila gerado sofre o ataque nucleofílico do etanol sobre sua carbonila, formando assim o sal cloreto de glicina esterificada 79.



Esquema 12 – Mecanismo da síntese do cloridrato de glicina esterificada **79**.

5.3 – Síntese do clorooximidoacetato de etila **80**, precursor do *N*-Óxido de Nitrila – CEFNO **81**.

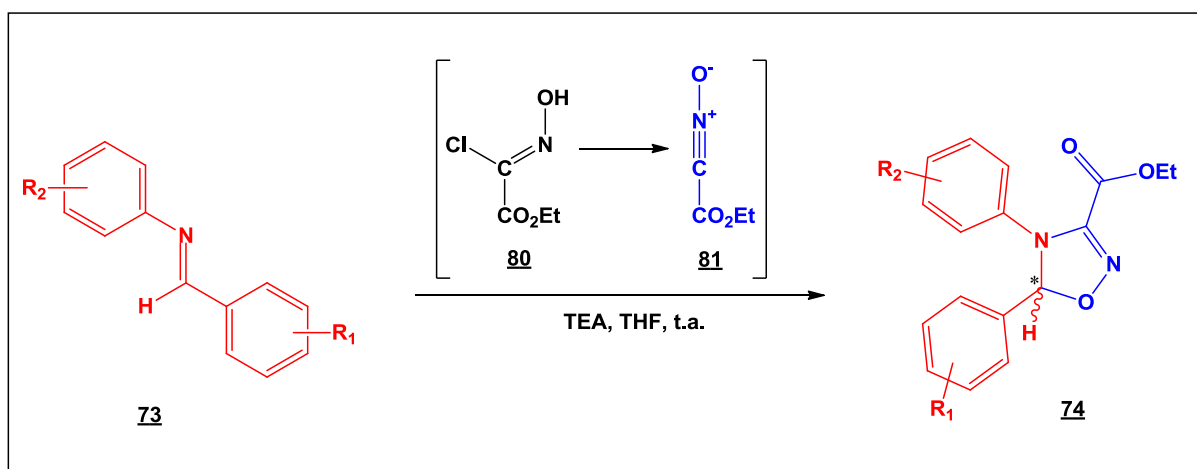


Esquema 13 – Síntese do clorooximidoacetato de etila **80**, precursor do *N*-Óxido de Nitrila – CEFNO **81**.

O clorooximidoacetato de etila **80** é o precursor do CEFNO **81**, obtido *in situ* na reação de cicloadição 1,3-dipolar. A sua síntese se deu por meio da oxidação do cloridrato de glicina esterificada **79**, tendo como agente oxidante o nitrito de sódio (NaNO_2), em meio ácido (HCl).

O precursor do *N*-óxido de nitrila possui uma boa estabilidade, por esse motivo ele foi sintetizado em multi-gramas e armazenado por um longo período. Sua purificação foi realizada por meio da recristalização em hexano resfriado. O rendimento desta reação foi de 69%, foi verificado a faixa de fusão (69 – 71 °C) para confirmação da formação do produto.

5.4 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as iminas di-ariladas com óxidos de carboetoxiformonitrila.



Esquema 14 – Cicloadição 1,3-dipolar.

Para a síntese dos inéditos análogos coxibe, foi realizada a cicloadição 1,3 dipolar entre iminas di-ariladas **73** e *N*-óxido de nitrila (CEFNO) **81**, gerado *in situ*, a partir do clorooximidoacetato de etila **80** e trietilamina (TEA). Na literatura atual, não foram encontrados estes análogos de coxibe com o núcleo oxadiazolína, sendo este trabalho pioneiro na obtenção de tais compostos.

Esta cicloadição, utilizando clorooximidoacetato de etila como precursor, é corriqueiramente utilizada em nosso grupo de pesquisa, onde enamidas e enecarbamatos atuam como dipolarófilo e interagem com o dipolo *N*-óxido de nitrila gerando o núcleo 2-isoxazolina aza-biciclo. Então metodologia similar foi utilizada com as iminas.

A reação de cicloadição neste trabalho, é etapa primordial para a formação do inédito cicloaduto análogo coxibe, obtendo o grupo farmacofórico oxadiazolína, reportado com diversas atividades biológicas. Na reação de cicloadição 1,3-dipolar, a TEA atua como uma base, desprotonando o precursor para formação do *N*-óxido de nitrila **81**, *in situ*, atuando este último como dipolo e as iminas **73** dipolarófilos. A adição lenta do precursor e a temperatura

ambiente são condições que favorecem a formação do cicloaduto, por diminuírem a formação do dímero **77** de carboetoxiformonitrila **81** (*N*-óxido de nitrila) (figura 27)

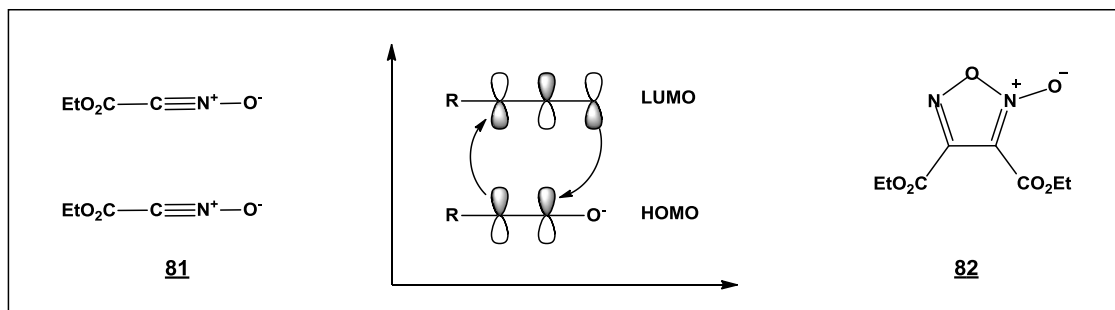
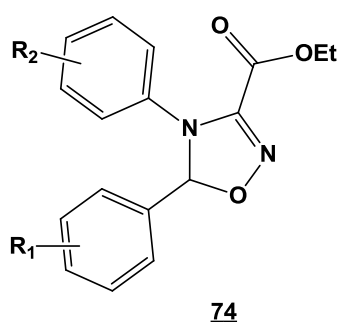


Figura 27 – Dímero *N*-óxido de nitrila **82**.

A reação foi monitorada por CCD, observando a formação dos ésteres oxadiazolínicos **73** e do dímero **82**, assim como o consumo do reagente de partida, a imina **71**. Durante a reação, não houve o completo consumo do reagente de partida, mesmo após a adição de mais um equivalente de TEA e de precursor, o que refletiu nos baixos rendimentos obtidos nesta síntese. Após purificação por cromatografia em coluna, os cicloadutos **74a-e** foram obtidos e as iminas que não reagiram **73a-e** recuperadas.

Tabela 2 – Rendimentos dos cicloadutos oxadiazolínicos sintetizados.



Compostos	R1	R2	Rendimento(%)
74a	<i>p</i> -CH ₃	<i>p</i> - H	41%
74b	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -isop.	29%
74c	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -F	28%
74d	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -Br	23%
74e	<i>p</i> -NO ₂	<i>m</i> -Cl	27%

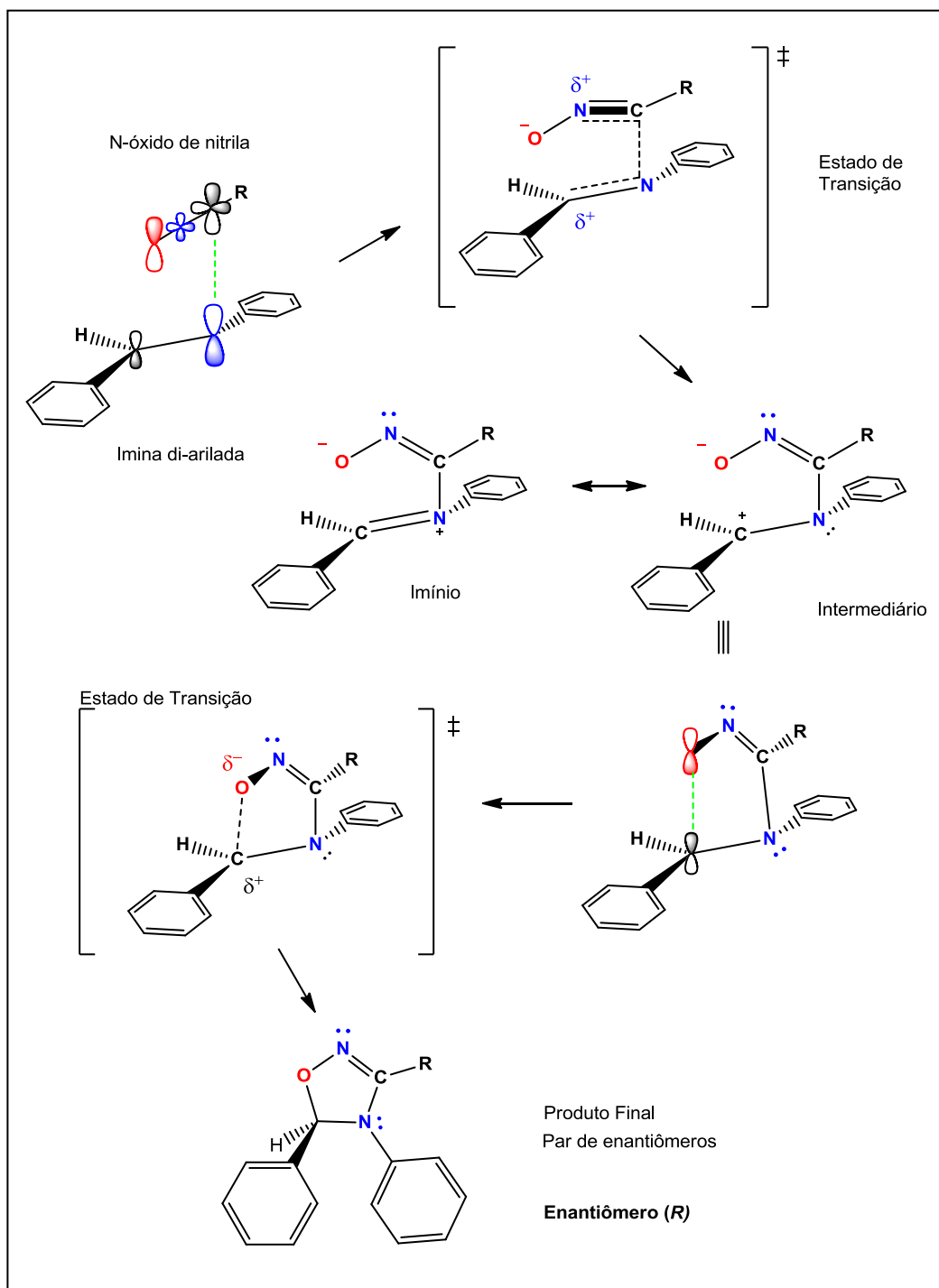
Figura 28 – Estrutura geral dos cicloadutos **74**.

Devido às características eletrônicas do dipolo (*N*-óxido de nitrila) e o dipolarófilo (imina), o mecanismo provavelmente seja não concertado, de acordo com relatos análogos na literatura.⁵⁸

Devido à linearidade, pela hibridização *sp* no átomo de carbono do *N*-óxido de nitrila (dipolo) e a alta polarização da ligação dupla da imina (dipolarófilo), provavelmente deve ocorrer a formação de uma das ligações sigma (não concertada), formando o intermediário

imínio/carbocátion. Com a mudança da hibridização (de sp para sp^2), há a possibilidade de aproximação do oxigênio ao carbono do imínio (deficiente de elétrons), formando-se assim a segunda ligação sigma, levando à formação da oxadiazolína.

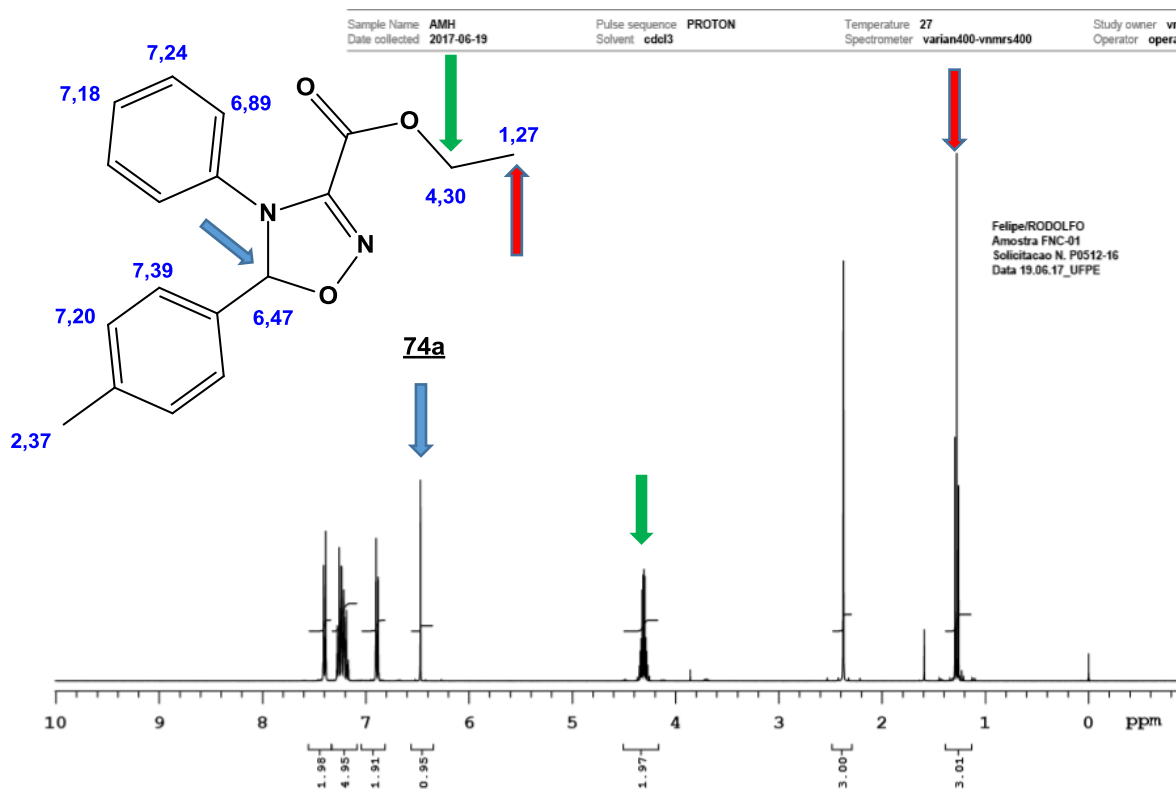
Há a possibilidade de cálculos e estudos cinéticos para a confirmação do mecanismo, mas caso seja concertado, deve ser não sincronizado, devido às características mencionadas acima.



Esquema 15 – Mecanismo de cicloadição 1,3-dipolar proposto, entre iminas **73** com o *N*-óxido de nitrila **81**.

No espectro de ressonância magnética de hidrogênio (^1H RMN), o sinal característico da formação dos cicloadutos oxadiazolínicos corresponde ao simpleto na região de 6,4 ppm (figura 29). O fato deste hidrogênio ter um deslocamento químico superior a 5 ppm, mesmo ligado a carbono sp^3 , deve-se ao fato que é um metino ligado simultaneamente à átomos de oxigênio e nitrogênio, altamente eletronegativos e também por ser um hidrogênio benzílico. Os sinais dos hidrogênios aromáticos, com suas multiplicidades e integrações, ocorrem de acordo com o padrão de substituição na faixa de 7-8,5 ppm, na molécula **74a**, o substituinte metila apresenta um simpleto em 2,3 ppm. O grupamento éster, oriundo do precursor, é caracterizado na região de 1,2 ppm na forma de tripleto para o grupamento CH_3 e 4,3 ppm na forma de multipletto para o CH_2 .

Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H – 400MHz do cicloaduto **74a**. Solvente CDCl_3



De forma análoga, no ^{13}C RMN, o sinal do carbono assimétrico é característico, tendo deslocamento químico próximo à 101,7 ppm. O deslocamento químico em 157,2 ppm também pode ser citado para evidenciar a função éster. (Figura 30)

Todos os outros sinais apresentam deslocamentos coerentes, de acordo com os efeitos eletrônicos. (Figura 30).

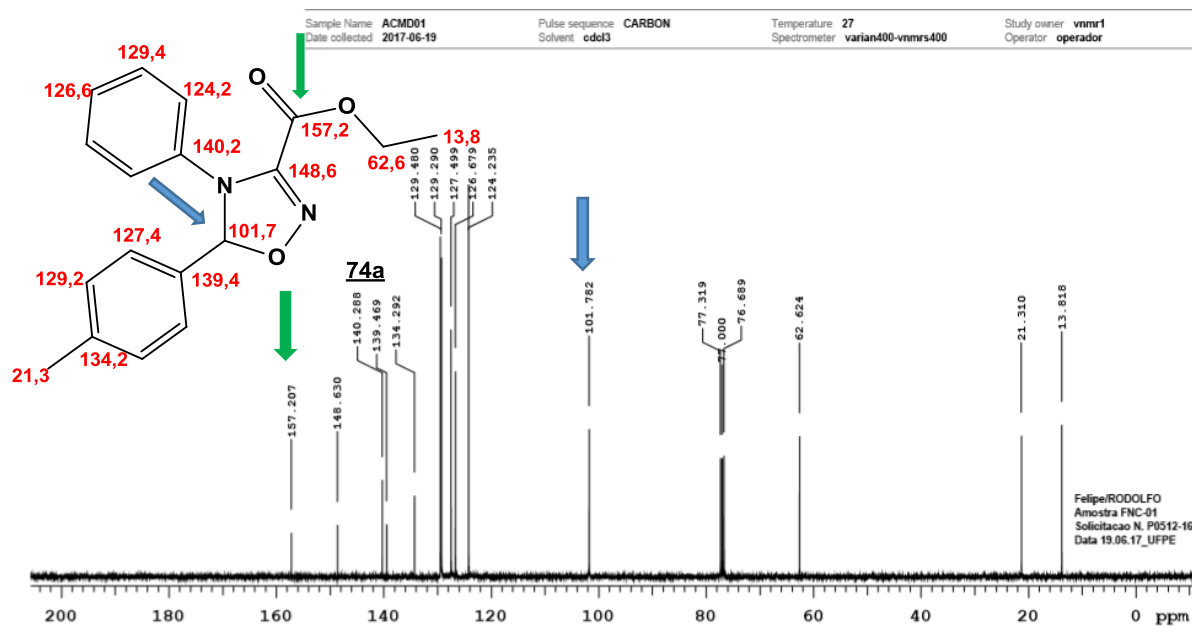
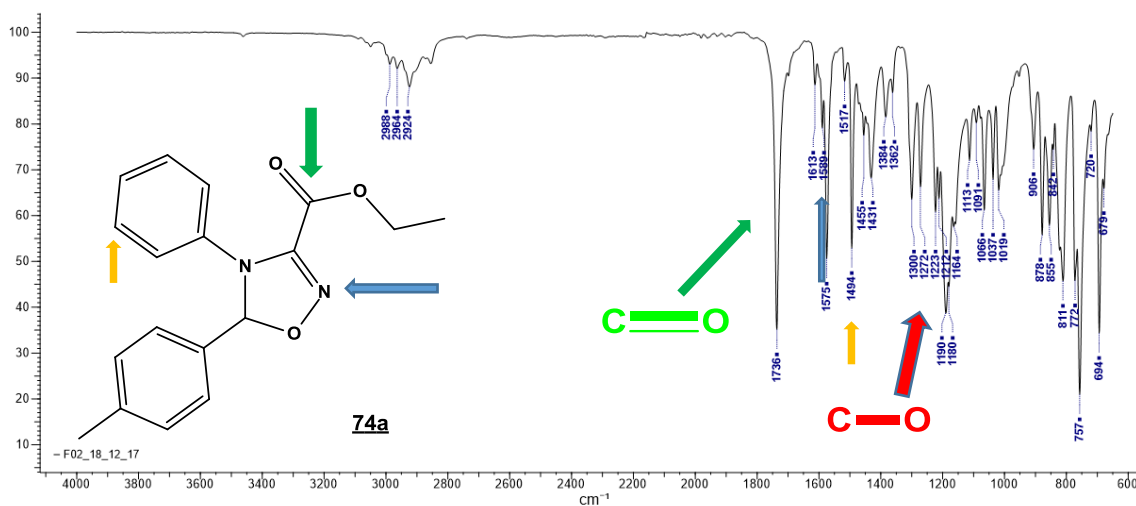


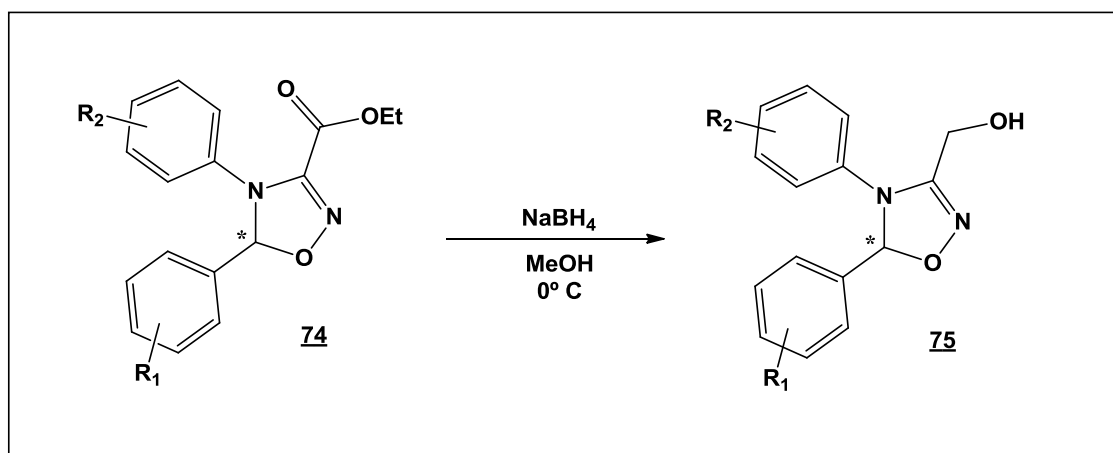
Figura 30 – Espectro de RMN de ^{13}C – 100MHz do cicloaduto **74a**. Solvente CDCl_3

A espectroscopia na região do infravermelho também foi utilizada para a elucidação estrutural dos novos derivados oxadiazolínicos, onde pode ser confirmada a presença de bandas de estiramentos $\text{C}=\text{N}$ em 1589 cm^{-1} , assim como ligação $\text{C}=\text{O}$ em 1736 cm^{-1} , $\text{C}-\text{O}$ éter em 1190 cm^{-1} , $\text{C}=\text{C}$ de aromáticos em 1575 e 1494 cm^{-1} e $\text{C}-\text{H}$ sp^2 e sp^3 entre $2988 - 2924\text{ cm}^{-1}$, como indicado na figura 31.

Figura 31 – Espectro de **IV-TF** do cicloaduto **74a**.



5.5 – Síntese do álcool oxadiazolínico **75**



Esquema 16 – Síntese do álcool oxadiazolínico **75**.

A cicloaduto oxadiazolínico formado, possui uma função éster etílico em C3, a qual foi reduzida a álcool **75** com NaBH₄.

Para a formação do híbrido com função hidrazona, promoveríamos uma redução direta da função éster em C3 à aldeído **76**, gerando uma carbonila susceptível ao ataque nucleofílico. Entretanto, os reagentes comumente utilizados nesta redução, como DIBAL-H e superhidreto [(Et₃AlH)Li], não promoveram a redução direta esperada, permanecendo intactos os ésteres oxadiazolínico **74**. Para resolver tal problema, foi realizada a redução deste éster ao seu respectivo álcool, utilizando o redutor NaBH₄, para uma posterior oxidação branda ao aldeído **76**, conforme metodologia análoga desenvolvida para isoxazolinás⁷⁷ possibilitando sequência na via sintética para obtenção do híbrido oxadiazolina/hidrazona **77**.

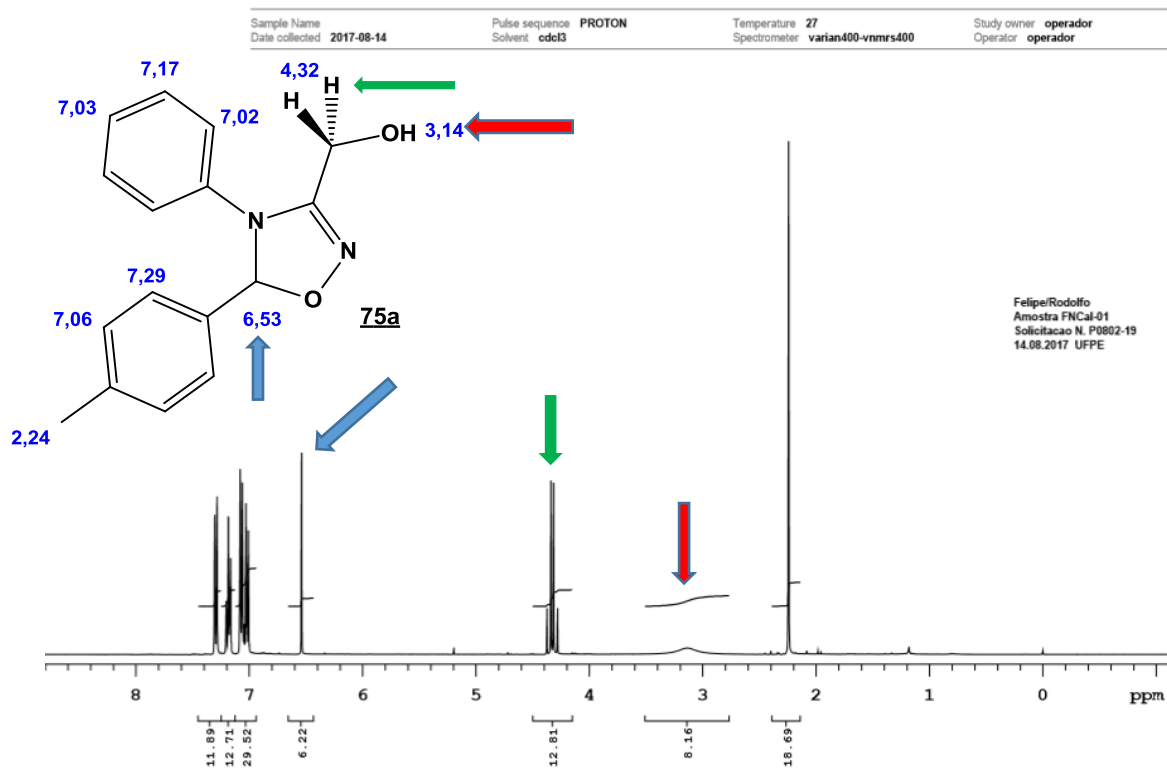
Tabela 3 – Rendimentos dos cicloadutos oxadiazolínico função álcool.

Compostos	R1	R2	Rendimento(%)
75a	<i>p</i> -CH ₃	<i>p</i> -H	96%
75c	<i>p</i> -NO ₂	<i>p</i> -F	95%

A redução do éster em C3 ao respectivo álcool pode ser facilmente confirmada no espectro de ¹H RMN. Os sinais dos hidrogênios do metileno e da metila da porção éster desaparecem, além de aparecer dois dupletos próximos de 4,3 ppm, com acoplamento ³J(14Hz) do grupamento hidroximetila em C3. Também é observado um sinal alaranjado, típico de

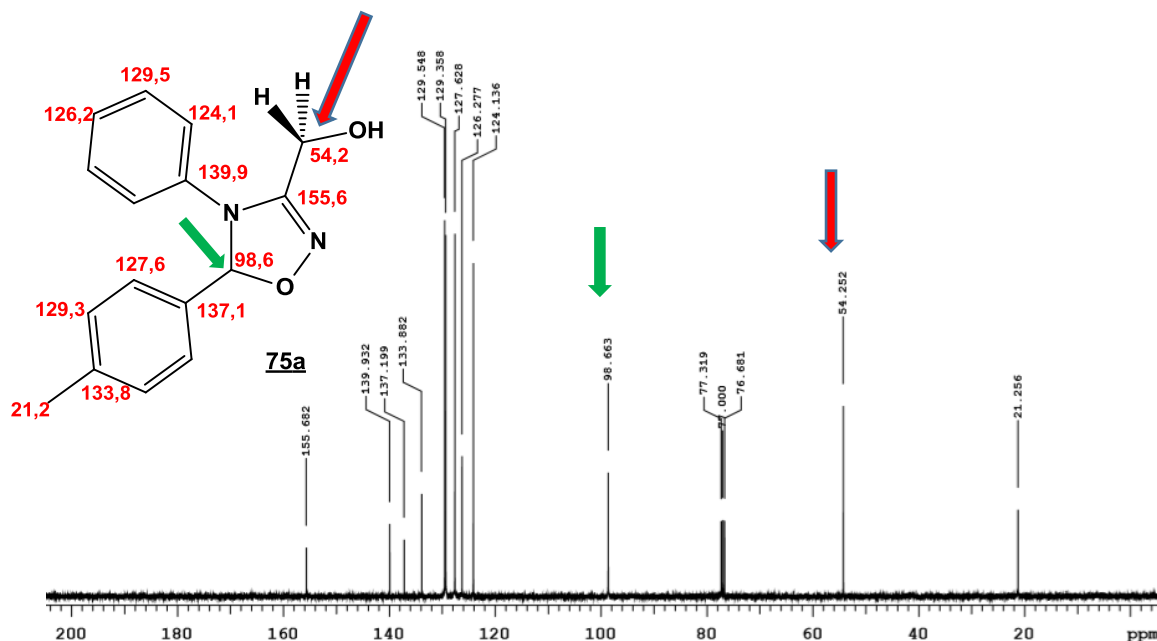
hidrogênio lábil de hidroxila, próximo de 3ppm. Os outros sinais das porções aril-oxadiazolinas permanecem.

Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H – 400MHz do álcool **75a**. Solvente CDCl_3 .

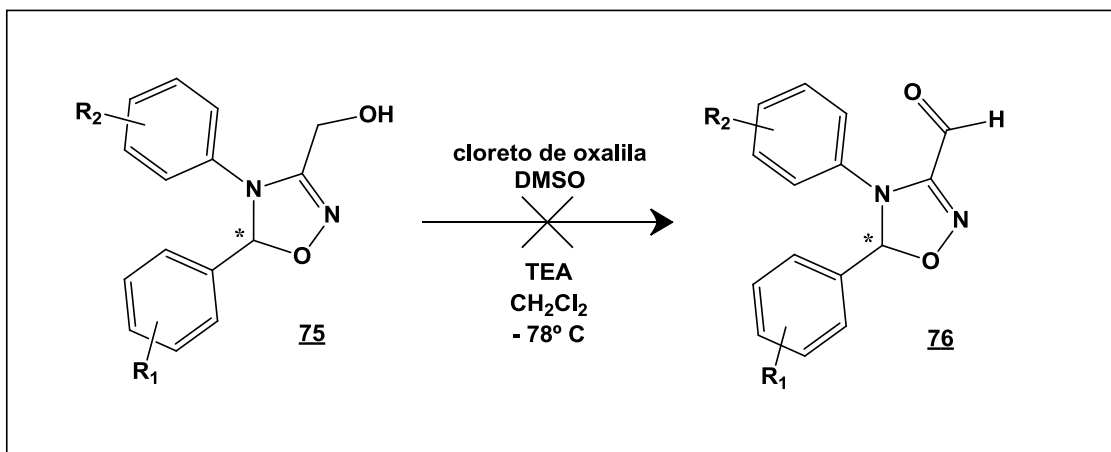


Com relação ao espectro de ^{13}C RMN, não é verificado mais o sinal do carbono da carbonila do éster em C3 à 157 ppm, assim como desaparecem os sinais do CH_2 em 62 ppm e do CH_3 em 13 ppm, enquanto que um sinal em 54 ppm, característico de CH_2 carbinólico (DEPT) aparece. Os outros sinais das porções aril-oxadiazolina, como 156 ppm em C3 e 98 ppm no carbono assimétrico, são confirmados.

Figura 33 – Espectro de RMN de ^{13}C – 100MHz do álcool **75a**. Solvente CDCl_3 .



5.6 – Síntese do aldeído oxadiazolínico **76**.



Esquema 17 – Síntese do aldeído isoxazolínico **76**.

A reação de Swern deveria promover a oxidação do álcool primário ao respectivo aldeído em C3. Analisando os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN, não foi constatado a presença do singlete em 10 ppm, característico da formação da função aldeído. No entanto, não houve degradação das porções aril-oxadiazolina, permanecendo seus sinais característicos nos espectros, mas os fortes indícios indicam uma improvável desidroximetilação na posição C3, que pode ser confirmada pelo desaparecimento dos dois dupletos em torno de 4,3 ppm do

metileno (CH₂) e do sinal largo em 3,2 ppm no espectro de ¹H RMN, assim como o desaparecimento do sinal de CH₂ no espectro de ¹³C RMN/DEPT.

A surpresa foi o aparecimento de um sinal em 7,57 ppm, integrando para um hidrogênio no espectro de ¹H RMN, assim como o aparecimento de um sinal de CH no espectro de ¹³C RMN/DEPT em 147 ppm, indicando fortemente a presença de um metino (CH) e não a função aldeído (~ 10 ppm) na posição C3, apresentado nas figuras 34 e 35.

Figura 34 – Espectro de RMN de ¹H – 400MHz da oxadiazolina com metino em C3 **82a**. Solvente CDCl₃.

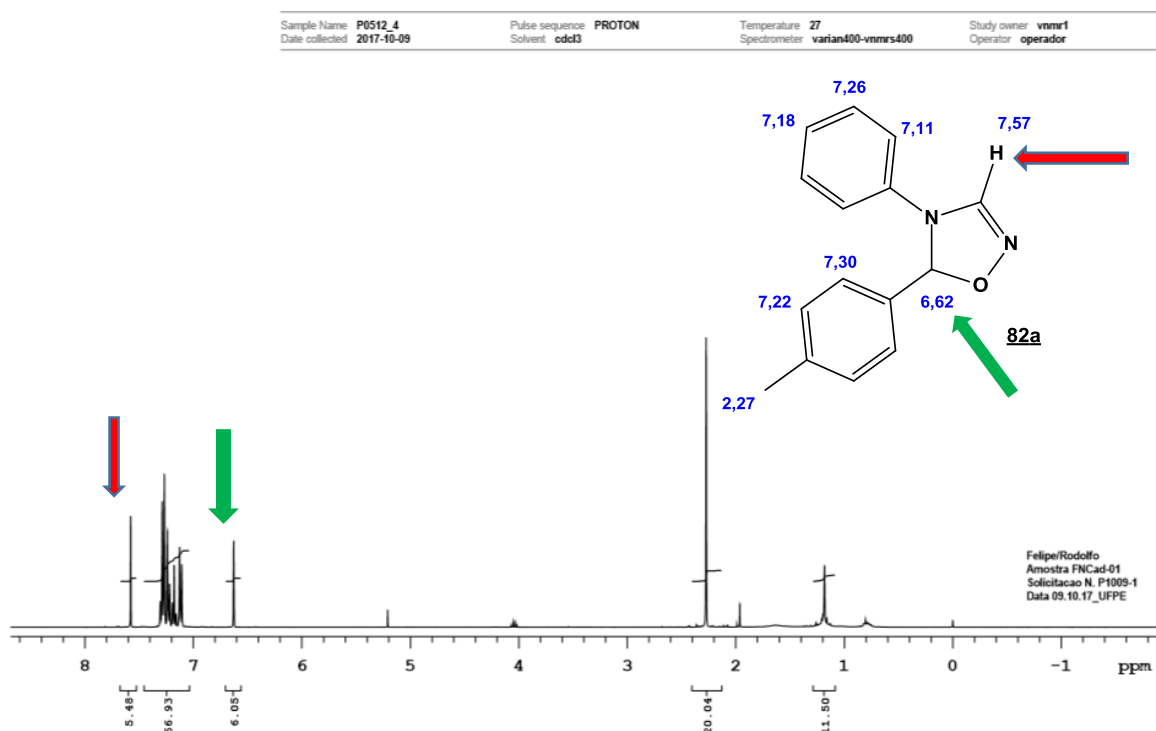
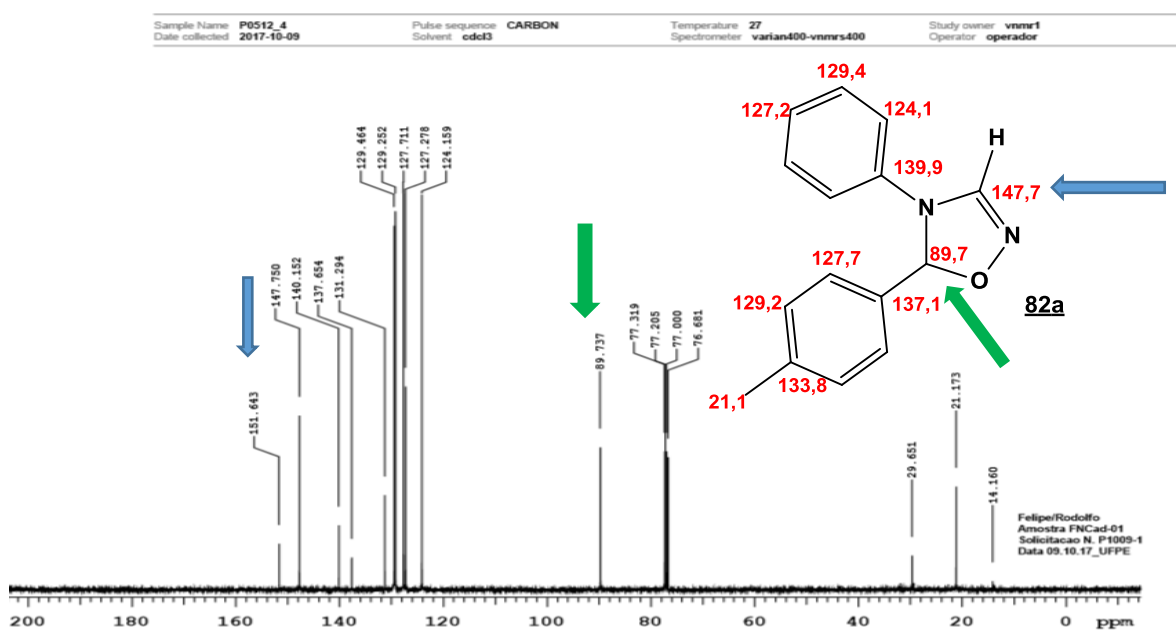


Figura 35 – Espectro de RMN de ¹³C – 100MHz da oxadiazolina com metino em C3 **82a**. Solvente CDCl₃.



Essa desoximetilação em C3, de forma improvável, deve ter formado os compostos oxadiazolínicos **82a**, conforme os espectros das figuras 34 e 35 na análise descrita acima. Essa surpreendente reação deverá ser investigada a posteriori para concluirmos sua reprodutividade neste sistema e posterior divulgação.

Vale salientar que em outros trabalhos realizados (ainda não publicados), oxadiazolinas bicíclicas, que possuem função éster em C3, tiveram comportamento esperado na redução de Swern, formando o respectivo aldeído, o que nos deixa mais surpresos ainda com os resultados deste trabalho, merecendo investigação futura.¹⁵

6 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.1 – Materias e Métodos

Algumas reações por apresentarem sensibilidade à umidade precisaram ser realizadas sob atmosfera de Argônio, a saber, as reações de cicloadição 1,3-dipolar, as de formação dos álcoois a as de formação de aldeídos. Além disto, todas as vidrarias permaneceram por cerca 4h à temperatura de 120 °C na estufa. Da mesma forma, para estas reações, os seus respectivos solventes foram devidamente secos e destilados (THF – sódio/benzofenona; Et₃N – CaH₂; CHCl₃ – CaCl₂; MeOH – I₂/ Mg⁰).

Os procedimentos de purificação das moléculas foram realizados através de colunas cromatográficas *flash* utilizando sílica gel 60 (230-400 mesh) como fase estacionária e acetato de etila e hexano, em suas devidas proporções, como fase móvel, estando estes previamente destilados. Também foram utilizados os procedimentos de recristalização, cristalização e filtração em algumas reações, utilizando metanol, isopropanol e hexano como solventes.

Todas as reações foram acompanhadas durante a execução e após seu final por cromatografia em camada delgada utilizando lâminas cromatográficas de alumínio de 0,2 mm de espessura, contendo sílica gel 60 aderidas em uma de suas superfícies. Após aplicação da amostra na lâmina cromatográfica e eluição da mesma, estas foram analisadas através de luz ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm. A visualização das manchas foi efetuada com lâmpada de U.V. ENF – 2400 C/F.

Nas reações em sonicação, foram utilizados o aparelho de ultrassom UNIQUE® USC 1400-A, apresentando frequência de 40 KHz.

As faixas de fusão dos produtos sólidos foram mensuradas pelo do equipamento FISATON® 431D, à seco com leitura digital.

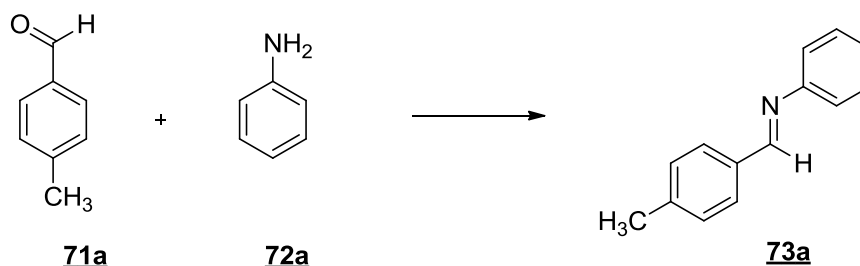
Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer® (Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de Seleneto de Zinco. As frequências dessa absorção expressas em cm⁻¹.

Os espectros RMN de ¹H, RMN de ¹³C foram obtidos em equipamento Varian Unity® 300 e 400 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano (TMS) para RMN ¹H e o solvente da análise (CDCl₃) para RMN de ¹³C. Os sinais dos espectros de RMN ¹H foram designados da seguinte forma: deslocamento químico (δ), multiplicidade (s = simpleto, d = duplete, dl = duplete largo, t = tripleto, tl = tripleto largo, q = quarteto, dd = duplo duplete, dt = duplo tripleto, ddl =duplo duplete largo, m =

multiplete, ml = multiplete largo, sl = sinal largo), constante de acoplamento (Hz) e número de hidrogênios.

6.2 – Síntese das iminas di-ariladas **73**

6.2.1 – Síntese da imina (*E*)-*N*-(4-metilbenzilideno)anilina. **73a**



Em um balão, à temperatura ambiente, foram adicionados tolualdeído **71** (1,3 mL; 10,84 mmol), anilina **72** (1 mL; 10,84 mmol), 5 mL de diclorometano (CH₂Cl₂) e 3 gotas de ácido acético P.A., ajustando o pH a 4,5. Em seguida, peneira molecular 3 Å foi adicionada ao meio, que foi deixado em banho de ultrassom.

Após de sonicação por 2 minutos, foi verificado o total consumo da anilina por CCD e formação da imina. Em seguida, a peneira molecular foi removida por filtração, assim como o diclorometano por evaporação. O resíduo foi dissolvido em hexano, que após cristalização em “freezer” (-18° C) por 3 dias, 1,09 g de imina **73a** foram obtidos após filtração, correspondendo ao rendimento de 51%.

Propriedades físicas do composto **73a**

- Sólido branco cristalino;
- R_f = 0,57 (AcOEt/hexano 1:19);
- Faixa de Fusão = 42 – 44 °C (lit.⁷⁸ 38-41)

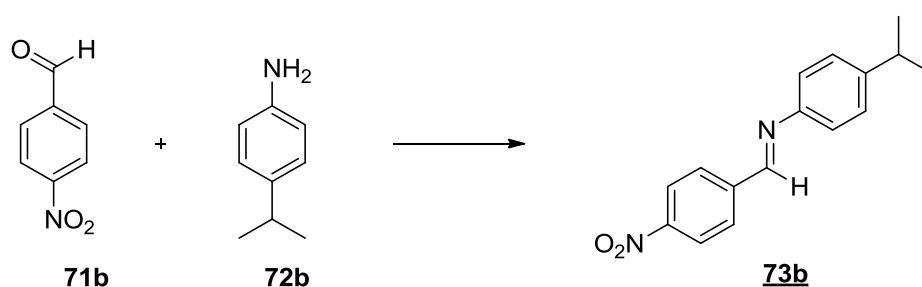
Dados Espectrométricos **73a**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).

2,43 (s, 3H); 7,23 (m, 5H); 7,40 (m; 2H); 7,80 (d; *J* = 7,8 Hz; 2H); 8,43 (s; 1H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

21,6 (CH₃); 120,85 (CH); 125,83 (CH); 128,82 (CH); 129,09 (CH); 129,49 (CH); 133,63 (C); 141,87 (C); 152,2 (C); 160,34 (CH).

6.2.2 – Síntese da imina (*E*)-4-isopropil-*N*-(4-nitrobenzilideno)anilina. **73b**

Em um balão, à temperatura ambiente, 4-nitrobenzaldeído **71b** (0,44 g; 2,86 mmol), 4-isopropilanilina **72b** (0,2 mL; 1,43 mmol) e 5 mL de diclorometano e 3 gotas de ácido acético P.A., ajustando o pH para 4,5.

Após sonicação por 1 minuto, verificou-se total consumo da anilina por CCD e formação da imina. O diclorometano foi evaporado completamente e a reação bruta foi lavada com hexano (3x 5 mL), precipitando o 4-nitrobenzaldeído **71b**. O resíduo foi cristalizado no “freezer” por cerca de 3 dias, 0,31 g imina **72b** foi obtido após filtração, correspondendo o rendimento de 79%.

Propriedades físicas do composto **73b**

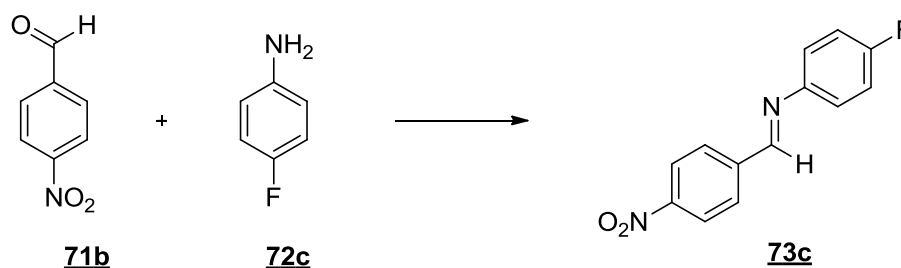
- Sólido laranja cristalino;
- $R_f = 0,44$ (AcOEt/hexano 1:9);
- Faixa de Fusão = 76 – 79 °C

Dados Espectrométricos **73b****¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).**

1,28 (d; $J = 6,9$ Hz; 6H); 2,95 (m, 1H); 7,27(m; 4H); 8,05 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,30 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,57 (s, 1H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

23,95 (CH₃); 33,74 (CH), 121,01(CH), 123,93(CH), 127,27 (CH); 129,21 (CH); 141,77 (C), 148,17 (C); 148,51 (C); 149,11 (C); 156,31 (CH).

6.2.3 – Síntese da imina (*E*)-4-fluoro-*N*-(4-nitrobenzilideno)anilina. **73c**

Em um balão à temperatura ambiente, foram adicionados 4-nitrobenzaldeído **71b** (0,92 g; 6,14 mmol), 4-fluoroanilina **72c** (0,6 mL; 6,14 mmol), 5 mL de diclorometano e 3 gotas de ácido acético P.A. ajustando o pH para 4,5. Em seguida, peneira molecular PM 3Å foi adicionada ao meio, que foi deixado em banho de ultrassom.

Após sonicação por 15 minutos, foi realizada CCD, verificado o total consumo da anilina por CCD e formação da imina. Em seguida, a peneira molecular foi removida por filtração, assim como o diclorometano por evaporação, obtendo assim 1,48 g de imina **73c**, correspondendo 98% rendimento.

Propriedades físicas do composto **73c**

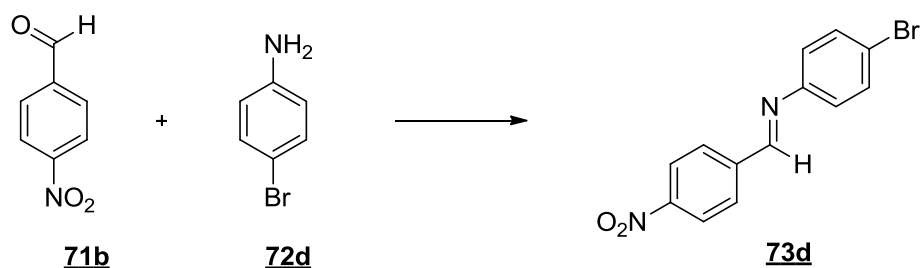
- Sólido amorfo laranja;
- $R_f = 0,54$ (AcOEt/hexano 1:9);
- Faixa de Fusão = 102 – 104° C (lit.⁷⁹ 109-110 °C)

Dados Espectrométricos **73c****¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).**

7,03 (t; $J = 12$ Hz; 2H); 7,2 (m, 1H); 7,98 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,24 (d; $J = 9$ Hz; 2H); 8,5 (s; 1H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

116,1 (d; $J = 23,0$ Hz; CH); 122,5 (CH); 123,9 (CH); 124,0 (CH); 129,3 (CH); 130,4 (CH); 141,4 (C); 149,2 (C); 156,9 (CH); 161,8 (d; $J = 244,8$ Hz; C-F).

6.2.4 – Síntese da imina (*E*)-4-bromo-*N*-(4-nitrobenzilideno)anilina. **73d**

Em refluxo a 45° C, 4-nitrobenzaldeído **71b** (0,6 g; 3,85 mmol) e 4-bromoanilina **72d** (0,5 g; 2,81 mmol) foram dissolvidos em 5 mL de diclorometano. A seguir foram adicionadas 3 gotas de ácido acético P.A. ajustando o pH para 4,5.

Após 1 hora, foi realizada CCD, verificando a formação da imina **73d** e consumo parcial do reagente 4-bromoanilina **72d**. O diclorometano foi evaporado, obtendo assim 0,77 g de imina bruta.

Propriedades físicas do composto **73d**

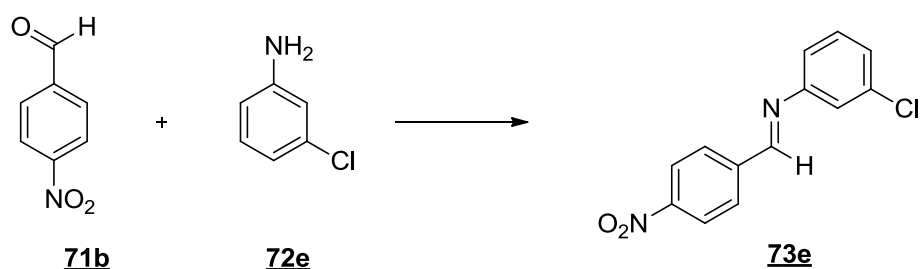
- Sólido cristalino amarelo;
- R_f = 0,58 (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 144 – 146° C

Dados Espectrométricos **73d****¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).**

7,11 (d; J = 9 Hz; 2H); 7,56 (d; J = 9 Hz; 2H); 8,27 (m; 4H);

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

110,3 (CH); 122,5 (C); 124,2 (CH); 129,2 (CH); 132,6 (C); 137,3 (C); 138,4 (C); 146,8 (C); 150,2 (C).

6.2.5 – Síntese da imina (*E*)-3-cloro-*N*-(4-nitrobenzilideno)anilina. **73e**

Em um balão à temperatura ambiente, foram adicionados 4-nitrobenzaldeído **71b** (0,73 g; 4,67 mmol), 3-cloroanilina **72e** (0,5 mL; 4,67 mmol), 5 mL de diclorometano e 3 gotas de ácido acético P.A. ajustando o pH para 4,5. Em seguida, peneira molecular PM 3Å foi adicionada ao meio, que foi deixado em banho de ultrassom.

Após sonicação por 2 h, foi realizada CCD, verificado o consumo parcial da anilina por CCD e formação da imina. Em seguida, o diclorometano foi retirado por evaporação, obtendo assim 1,32 g de imina **73e**, correspondendo 70% de rendimento.

Propriedades físicas do composto 73e

- Pó levemente amarelo;
- R_f = 0,45 (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 109 – 111° C (lit.⁸⁰ 108-109 °C)

Dados Espectrométricos 73e

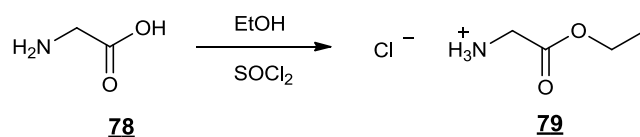
1H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).

7,13 (d, J = 9 Hz; 1H); 7,25 (m, 2H); 7,33 (d; J = 9 Hz; 2H); 7,38 (s; 1H); 8,06 (d; J = 9 Hz; 2H); 8,32 (d; J = 9Hz; 2H); 8,52 (s; 1H).

13C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a).

119,4 (CH), 120,9 (CH); 124,0 (CH); 126,8 (CH), 129,5 (CH); 130,3 (CH); 134,9 (C); 141,0 (C); 149,4 (C); 152,1 (C); 158,3 (CH).

6.3 – Síntese do cloridrato da glicina esferificada **79**



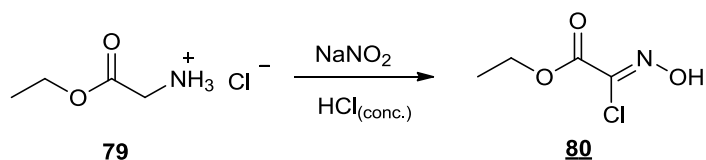
Em um balão de fundo redondo de 500 mL, foram adicionados 200 mL de etanol P.A., arrefecido em banho de gelo e equipado com agitação magnética. Com auxílio de uma pipeta graduada foi adicionado lentamente ao meio reacional o cloreto de tionila [SOCl₂] (9,65 mL; 133 mmol), seguida da glicina **78** (10 g; 133 mmol) foi adicionada, após término da adição o banho de gelo foi retirado e a mistura submetida à refluxo por 4 h, sendo importante destacar que a faixa de temperatura para completa solubilização da glicina está entre 74° C e 78° C. Após transcorrido o tempo, o etanol foi removido e a glicina esterificada **79** lavada consecutivas vezes com éter etílico, por meio da filtração em funil de vidro sinterizado, afim de se retirar

todas as impurezas oriundas da obtenção da glicina esterificada. O produto obtido foi 18,2 g do com rendimento de 98%.

Propriedades Físico-químicas da glicina esterificada

- Sólido branco amorfo
- Faixa de fusão: 145 °C a 146 °C, conforme literatura.

6.4 – Síntese do clorooximidoacetato de etila **80**, precursor do n-óxido de nitrila – CEFNO **81**.



Em um balão de fundo redondo de 250mL foi pesada a glicina esterificada **79** (18,29g; 131,03mmol) que foi solubilizada em 30mL de água destilada. Em seguida, foram adicionados à 0°C, HCl conc. (11,33mL; 369,79mmol) e uma solução aquosa de NaNO₂ (9,145 g; 132,54 mmol / H₂O = 15,3 mL). Após o término da adição, nas mesmas condições descritas anteriormente, foi adicionado mais um equivalente de HCl conc. e de NaNO₂.

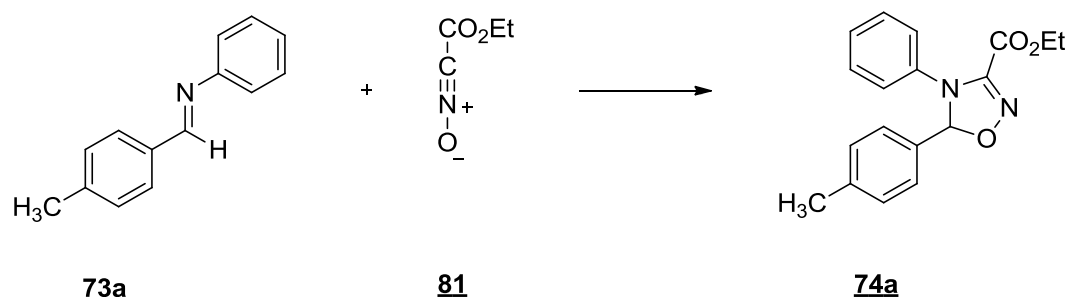
Com o término da adição do segundo equivalente de NaNO₂, a mistura reacional permaneceu em agitação durante 20 min. Após esse período, foi realizada a extração com diclorometano (6 x 35mL), a solução diclorometânica foi seca com Na₂SO₄ anidro. Após total evaporação do solvente, foi adicionado hexano gelado, onde foi observado a precipitação do produto, que foi filtrado em funil de vidro sinterizado e armazenado em frasco de vidro âmbar. O resultado obtido foi 11,94 g do precursor cujo rendimento foi de 65%.

Propriedades Físico-químicas do precursor

- Sólido branco cristalino
- Faixa de fusão: 75 °C a 80 °C, conforme literatura.

6.5 – Síntese Cicloadutos **74**

6.5.1 – 4-(fenil)-5-(*p*-toluil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila. **74a**



Em um balão de duas bocas de 100 mL, equipado com funil de adição com equalização de pressão e condensador de refluxo, foi adicionada a imina **73a** (2,18 g – 11,16 mmol), THF seco (36 mL) e a trietilamina (1,9 mL; mmol). A esta solução sob refluxo, foi adicionada, lentamente, com funil de adição, a solução de clorooximidoacetato de etila **80** (1,04g; 6,91 mmol/ 6mL de THF). Finalizada a adição, mais um equivalente de trietilamina e de precursor **80** foram adicionados nas mesmas condições descritas anteriormente. Ao término da adição, a reação permaneceu por mais 2 h sob refluxo, quando a CCD confirmou a formação do produto. O sal formado (cloreto de trietilamônio) foi filtrado e o solvente removido por meio do evaporador rotatório. O produto foi submetido a uma prévia recristalização em metanol e posterior cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica acetato/hexano1:9) obtendo 1,42 g de um cristal branco, o cicloaduto **74a**, correspondendo ao rendimento de 41%.

Propriedades físicas do composto **74a**

- Sólido cristalino branco;
- $R_f = 0,30$ (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 110 – 112 °C

Dados Espectrométricos **74a**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a).

1,27 (t, $J = 12$ Hz; 3H); 2,37 (s, 3H); 4,30 (q; 2H); 6,47 (s; 1H); 6,89 (d; $J = 8$ Hz; 2H); 7,23 (m; 5H); 7,39 (d; $J = 8$ Hz; 2H).

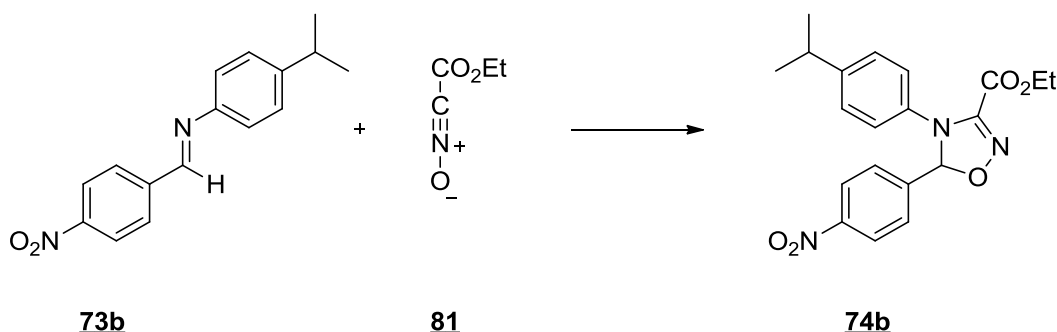
¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 100MHz, t.a).

13,8 (CH₃); 21,3 (CH₃); 62,6 (CH₂); 101,7 (CH); 124,2 (CH); 126,6 (CH); 127,4 (CH); 129,2 (CH); 129,4 (CH); 134,2 (C); 139,4 (C); 140,2 (C); 148,6 (C); 157,2 (C).

IV TF (ATR, cm-1), principais sinais.

3110; 2988; 2924; 1736; 1575; 1494; 1431; 1190; 1164; 1113; 757.

6.5.2 – 4-(4-isopropilfenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila **74b**.



Procedimento experimental idêntico ao item 6.5.1

Imina *p*-NO₂/*p*-isop. **73b** (0,2 g; 0,74 mmol), THF (4 mL) e a trietilamina (0,2 mL; 1,8 mmol) e precursor **80** (0,12 g; 0,82 mmol/ 0,4 mL de THF).

O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:9) obtendo-se um 0,083 g de um líquido amarelo, o cicloaduto *p*-NO₂/*p*-isop. **74b**, correspondendo a um rendimento de 29%.

Propriedades físicas do composto **74b**

- Líquido amarelo oleoso;
- R_f = 0,36 (AcOEt/hexano 1:4);

Dados Espectrométricos **74b**

1H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).

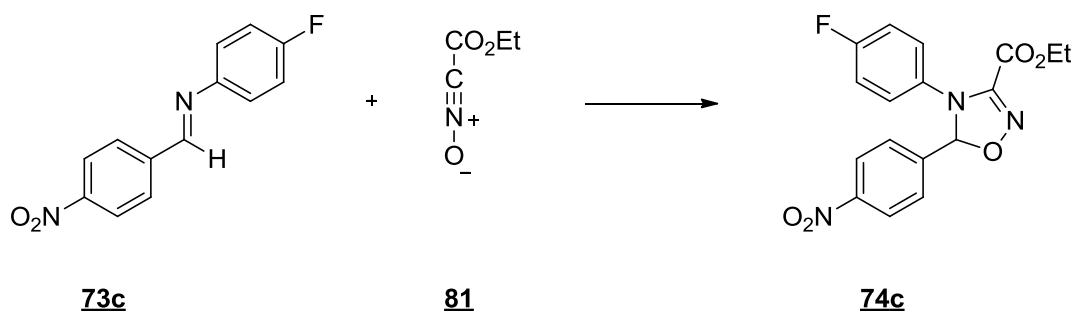
1,13 (d; *J* = 6 Hz; 6H); 1,18 (t; *J* = 9 Hz; 3H); 2,79 (m; 1H); 4,22 (m; 2H); 6,49 (s; 1H); 6,77 (d; *J* = 9Hz; 2H); 7,07 (d; *J* = 9Hz; 2H); 7,62 (d; *J* = 9Hz; 2H); 8,20 (d; *J* = 9Hz; 2H)

13C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a).

13,7 (CH₃); 23,7 (CH₃); 33,6 (CH); 62,8 (CH₂); 100,3 (CH); 124,5 (CH); 124,7 (CH); 127,6 (CH); 128,4 (CH); 136,5 (C); 144,0 (C); 148,4 (C); 148,9 (C); 149,0 (C); 156,7 (C).

I.V. TF (ATR, cm-1), principais sinais.

3080; 2983; 2869; 1926; 1736; 1528; 1351; 1191; 1171; 1035; 852; 771.

6.5.3 – 4-(fluorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila. 74c

Procedimento experimental idêntico ao item 6.5.1

Imina *p*-NO₂/*p*-F **73c** (1,69 g; 6,95 mmol), THF (22 mL) e a trietilamina (1,2 mL; 8,57 mmol) e precursor **80** (1,16 g; 7,64 mmol/ 3,5 mL de THF).

O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:9) obtendo 0,4385 g de um cristal amarelo o cicloaduto **74c**, correspondendo ao rendimento de 27%.

Propriedades físicas do composto **74c**

- Sólido cristalino amarelo;
- R_f = 0,19 (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 85 – 88 °C

Dados Espectrométricos **74c**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a).

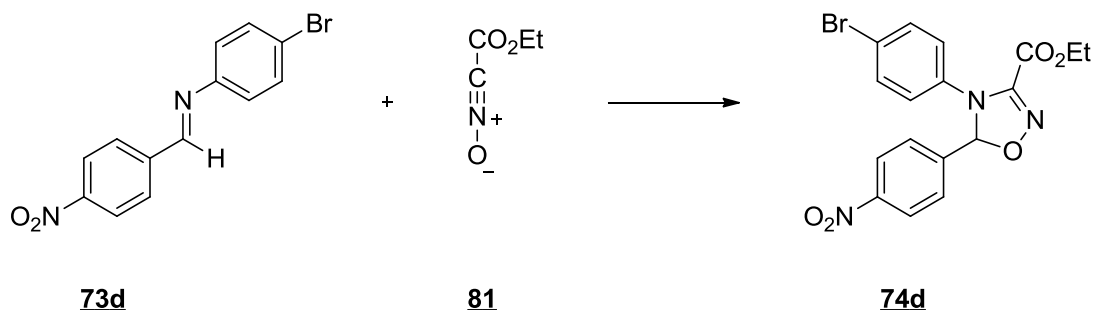
1,27 (t; *J* = 7 Hz; 3H); 4,29 (m; 2H); 6,54 (s; 1H); 6,96 (m; 4H); 7,67 (d; *J* = 8 Hz; 2H); 8,28 (d; *J* = 8 Hz; 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 100MHz, t.a).

13,7 (CH₃); 62,9 (CH₂); 100,5 (CH); 116,7 (d; *J* = 22,8 Hz; CH); 124,1 (CH); 127,3 (d; *J* = 7Hz; CH); 128,4 (CH); 134,7 (C); 143,4 (C); 148,7 (C); 149,1 (C); 156,4 (C); 161,6 (d; *J* = 248,2 Hz; C-F).

I.V. TF (ATR, cm-1), principais sinais.

3113; 3082; 2978; 2930; 2875; 1926; 1746; 1583; 1538; 1505; 1433; 1391; 1348; 1209; 1164; 1118; 1209; 900; 844; 815; 750.

6.5.4 – 4-(bromofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila. **74d**

Procedimento experimental idêntico ao item 6.5.1

Imina *p*-NO₂/*p*-Br **74d** (0,72 g; 2,35 mmol), THF (7 mL) e a trietilamina (0,4 mL; 2,91 mmol) e precursor **80** (0,39 g; 2,59 mmol/ 1,1 mL de THF).

O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:9) obtendo 0,227 g de um cristal laranja o cicloaduto *p*-NO₂/*p*-Br **74d**, correspondendo ao rendimento de 23%.

Propriedades físicas do composto **74d**

- Sólido cristalino amarelo;
- R_f = 0,23 (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 106 – 107 °C

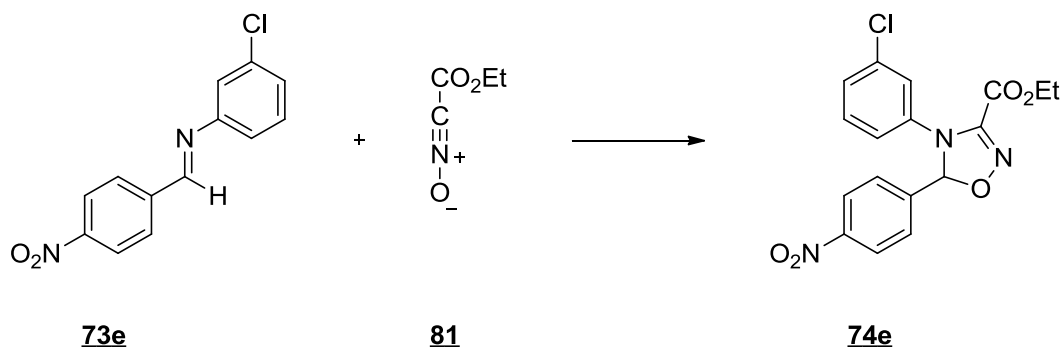
Dados Espectrométricos **74d**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).

1,31 (t; J = 7 Hz; 3H); 4,32 (q; J = 7 Hz; 2H); 6,57 (s; 1H); 6,80 (d; J = 9Hz; 2H); 7,42 (d; J = 9Hz; 2H); 7,67 (d; J = 9Hz; 2H); 8,28 (d; J = 9Hz; 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a).

13,8 (CH₃); 63,1 (CH₂); 100,1 (CH); 121,1 (C); 124,1 (CH); 126,3 (CH); 128,3 (CH); 132,8 (CH); 137,9 (C); 143,3 (C); 148,2 (C); 149,1 (C); 156,4 (C).

6.5.5 – 3-(clorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-carboxilato de etila. **74e**

Procedimento experimental idêntico ao item 6.5.1

Imina *p*-CH₃/*p*-Br **74e** (0,66 g; 1,75 mmol), THF (8 mL) e a trietilamina (0,4 mL; 2,91 mmol) e precursor **80** (0,42 g; 2,77 mmol/ 1,5 mL de THF).

O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:9) obtendo 0,26 g de um cristal branco o cicloaduto **74e**, correspondendo ao rendimento de 27%.

Propriedades físicas do composto **74e**

- Sólido cristalino branco;
- R_f = 0,21 (AcOEt/hexano 1:4);
- Faixa de Fusão = 102 – 104 °C

Dados Espectrométricos **74e**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a).

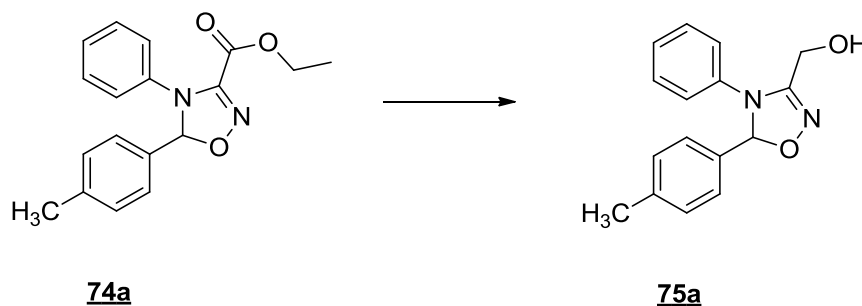
1,31 (t; *J* = 7 Hz; 3H); 4,34 (m; 2H); 6,61 (s; 1H); 6,80 (d; *J* = 9Hz; 1H); 6,9 (d; *J* = 9Hz)7,42 (d; *J* = 9Hz; 2H); 7,67 (d; *J* = 9Hz; 2H); 8,28 (d; *J* = 9Hz; 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 100MHz, t.a).

13,8 (CH₃); 63,1 (CH₂); 100,0 (CH); 122,4 (CH); 124,2 (CH); 124,5 (CH); 127,5 (CH); 128,3 (CH); 130,6 (CH); 135,2 (C); 140,2 (C); 143,2 (C); 148,1 (C); 149,1 (C); 156,4 (C)

6.6 – Síntese Álcoois 75

6.6.1 – (4-fenil-5-(*p*-toluil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-il) metanol 75a.



A uma solução do éster **74a** (0,37 g; 1,19 mmol) em metanol seco (17 mL), a 0°C e agitação, foram adicionados NaBH₄ (0,13 g; 3,57 mmol; 3 equivalentes-mol em relação ao éster oxadiazolínico) em três porções de um equivalente. Após a total adição do agente redutor, a agitação foi mantida por cerca de meia hora à 0° C e meia hora adicional à t.a. Transcorrido esse tempo, detectou-se total consumo do éster, onde a formação do álcool foi percebida desde o início da adição do NaBH₄.

Após completo consumo do éster **74a**, remoção do metanol e solubilização do produto em 5,0 mL de acetato de etila, adicionou-se 3,0 mL de solução de saturada de NaCl, e seguiu-se a extração, utilizando-se acetato de etila (3 x 3,0 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas sob Na₂SO₄ anidro, e após filtração e remoção do solvente, o produto final foi submetida à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano a 1:4), obtendo 0,32 g do respectivo álcool puro **75a**, correspondendo a um rendimento de 96%.

Propriedades físicas do composto 75a

- Sólido amorfo branco;
- R_f = 0,36 (AcOEt/hexano 1:1);

Dados Espectrométricos 75a

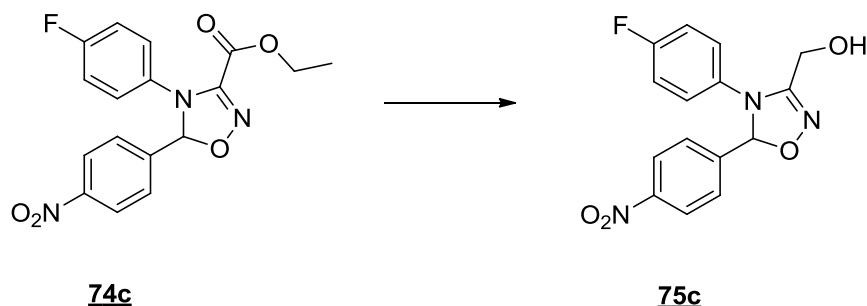
¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a).

2,24 (s; 3H); 3,14 (sl; 1H); 4,29 (d; *J* = 14Hz; 1H); 4,35 (d; *J* = 14Hz; 1H); 6,53 (s; 1H); 7,04 (m; 5H); 7,18 (m; 2H); 7,29 (d; *J* = 7,6Hz; 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 100MHz, t.a).

21,2 (CH₃); 54,2 (CH₂); 98,6 (CH); 124,13 (CH); 126,2 (CH); 127,6 (CH); 129,3 (CH); 129,5 (CH); 133,8 (C); 137,1 (C); 139,9 (C); 155,6 (C).

6.6.2 – (4-(4-fluorofenil)-5-(4-nitrofenil)-4,5-diidro-1,2,4-oxadiazol-3-il) metanol. 75c



Procedimento experimental idêntico ao item 6.6.1

Éster oxadiazolínico 74c (0,15 g; 0,41 mmol), MeOH (6 mL) e o NaBH₄ (0,04 g; 0,41 mmol). Extração realizada com o dobro do volume necessário: 4,0 mL de acetato de etila, 2,0 mL de solução de saturada de NaCl e acetato de etila (3 x 2,0 mL),

O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:4) obtendo 0,126 g de um sólido amarelo o álcool oxadiazolínico 75c, correspondendo ao rendimento de 95%.

Propriedades físicas do composto 75c

- Sólido amorfo branco;
- R_f = 0,27 (AcOEt/hexano 1:1);

Dados Espectrométricos 75c

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a).

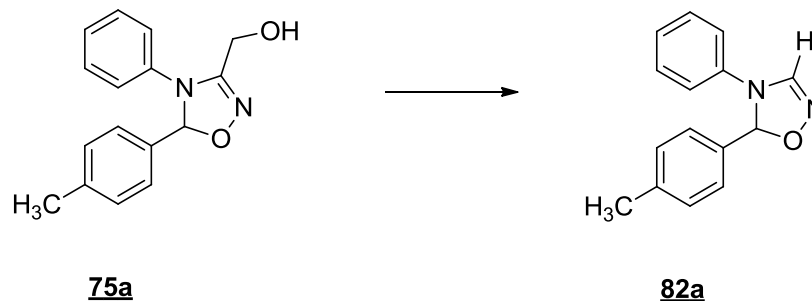
2,96 (sl; 1H); 4,29 (d; *J* = 14,1Hz; 1H); 4,37 (d; *J* = 14,1Hz; 1H); 6,63 (s; 1H); 7,04 (m; 5H); 7,62 (d; *J* = 9Hz; 2H); 8,19 (d; *J* = 9Hz; 2H).

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a).

53,8 (CH₂); 97,8 (CH); 116,9 (d; *J* = 22,9 Hz; 1CH); 123,9 (CH); 127,5 (d; *J* = 9,2Hz; 1CH); 128,4 (CH); 132,3 (C); 143,5 (C); 148,9 (C); 155,6 (C); 161,4 (d; *J* = 247,3Hz; C-F).

6.7 – Síntese do cicloaduto metino **82**

6.7.1 – 4-phenyl-5-(*p*-toluyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazole **82a**



Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,06 mL de cloreto de oxalila (0,7 mmol) e 1,3 mL de CH₂Cl₂ seco e deixado sob agitação à temperatura de -72 °C, sob atmosfera de argônio. Concomitantemente, foram elaboradas mais outras duas soluções a t.a.; a primeira (solução 1) contendo 0,1 mL de DMSO seco (1,4 mmol) em 0,3 mL de CH₂Cl₂ e a segunda (solução 2) contendo o álcool 71a (0,15g; 0,56 mmol) em 0,35 mL de CH₂Cl₂. Estabilizaram-se a agitação e a temperatura, a -72 °C, e adicionou-se a solução 1, ao balão reacional, deixou-os em agitação por 2 minutos. Em seguida, a solução 2 foi aplicada lentamente durante 5 minutos, deixando-se em agitação por mais 15 minutos.

Por fim, foi adicionado a trietilamina (0,4 mL; 2,87 mmol), deixando a reação em agitação por 5 minutos. Através de CCD foi verificado que todo o álcool havia sido consumido. Em seguida, foi promovida uma extração com diclorometano P.A. (3 x 5,0 mL), retirando a água com sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente, o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/Hexano 1:4), permitindo a obtenção de 0,051 g do cicloaduto metino **82a** puro, correspondendo ao rendimento de 63%.

Propriedades físicas do composto **82a**

- Líquido oleoso amarelado;
- R_f = 0,38 (AcOEt/hexano 1:4);

Dados Espectrométricos **82a**

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a).

2,27 (s; 3H); 6,62 (s; 1H); 7,21 (m; 9H); 7,57 (s; 1H); 7,57

¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 100MHz, t.a).

21,1 (CH₃); 89,7 (CH); 124,1 (CH); 127,2 (CH); 127,7 (CH); 129,2 (CH); 129,4 (CH); 131,2 (C); 140,1 (C); 147,7 (C); 151,6 (CH)

7 – ATIVIDADE CITOTÓXICA

7.1 – Metodologia Atividade Citotóxica

7.1.1 – Citotoxicidade *in vitro* em células tumorais

A atividade citotóxica foi obtida através do método do MTT que consiste em uma dosagem colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo tetrazólio (MTT) de cor amarela a formazan insolúvel, de cor púrpura, que precipita devido à ação da enzima succinil-desidrogenase presente somente nas mitocôndrias de células metabolicamente ativas.⁸¹⁻⁸²

A triagem inicial das amostras foi realizado segundo o método do MTT⁸³. As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram: K-562 (leucemia mielocítica crônica) e NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão) obtidas da seção de culturas celulares do Banco de Células do Rio de Janeiro e mantidas de acordo com o protocolo estabelecido pelo Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Antibióticos da UFPE.

As células foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico (penicilina e estreptomicina) e L-glutamina, cultivadas em placas de cultura com 96 poços na concentração de 2×10^5 células/poço (K-562 e NCI-H292), incubadas a 37 °C, em atmosfera úmida (5% de CO₂) durante 24 h. Em seguida, os compostos foram dissolvidos em DMSO na concentração estoque de 10 mg/mL foram adicionadas aos poços em concentração única (25 µg/mL) e a doxorubicina (5 µg/mL) utilizada como controle positivo. Após 72 horas de reincubação das placas foi adicionado em cada poço 25 µL do MTT (5 mg/mL). Após 3 h de incubação, o meio de cultura com MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO adicionado a cada poço para a dissolução dos cristais de formazan. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 540 nm.

A porcentagem de inibição x log da concentração foi registrada e calculada a partir da regressão não linear no programa *GraphPad Prism 5.0*. Cada amostra foi testada em triplicata em dois experimentos independentes.

7.1.2 – Método de Análise dos Resultados.

Para triagem inicial dos compostos, o percentual de inibição do crescimento celular (IC%) foi determinado considerando a média do controle negativo como 100 % de proliferação. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade, com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 1 a 50 %), com moderada atividade (inibição de crescimento celular variando de 50 a 75 %) e com alta atividade (inibição de crescimento variando de 75 a 100 %).⁸⁴

7.2 – Resultados da Atividade Citotóxica

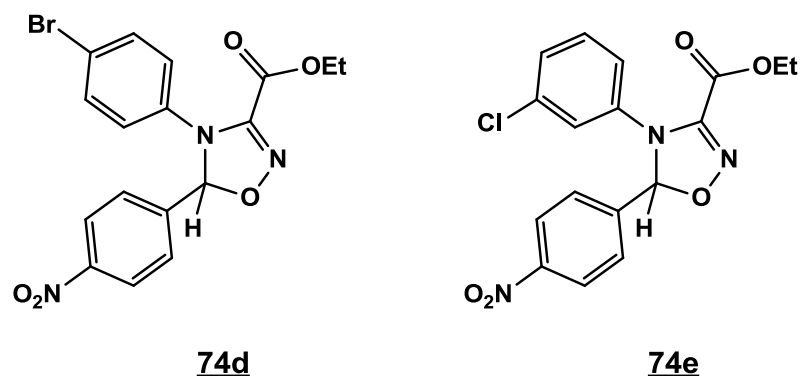
Foram testados quatro cicloadutos oxadiazolínicos com a função éster, em concentração única de 25 µ/mL em duas linhagens celulares, K-562 (leucemia mielocítica crônica) e NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão).

Tabela 4: Percentual inibitório das amostras testadas frente as linhagens celulares K-562 (leucemia mielocítica crônica) e NCI-H292 (carcinoma mucoepidermóide de pulmão).

Amostras	Linhagens Celulares (IC%)	
	K-562	NCI-H292
74a	0,0 ± 0,0	2,60 ± 0,9
74c	15,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
74d	27,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0
74e	42,9 ± 0,7	3,86 ± 0,9
Doxorrubicina	79,0 ± 0,1	94,2 ± 1,9

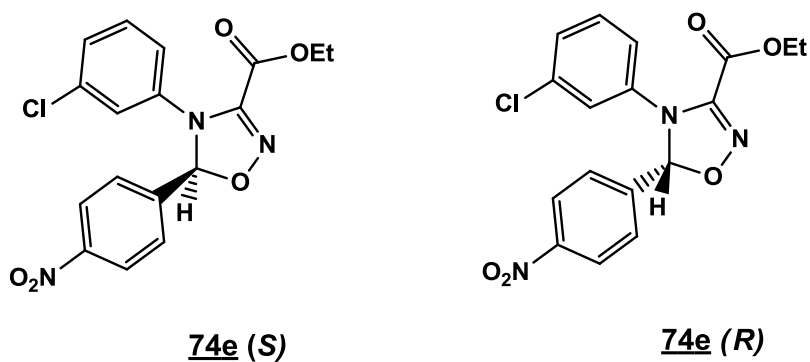
A escala de intensidade reportada anteriormente foi observada, verificando uma baixa atividade citotóxica dos compostos **74d** e **74e** frente a linhagem leucêmica K-562, enquanto **74a** e **74c** demonstraram inatividade. Os quatro compostos testado foram inativos para as células de linhagem de carcinoma mucoepidermóide pulmonar.

Figura 36 – Oxadiazolinas di-aridaldas com baixa atividade citotóxica.



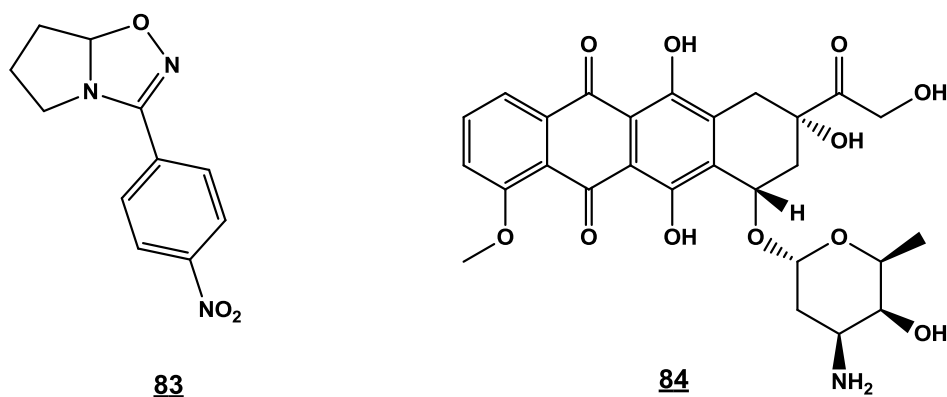
Para o composto **74e**, é importante ressaltar que este, assim como os demais submetidos a atividade citotóxica, é um provável par enantiomérico, logo, pode-se sugerir que apenas uma das formas enantioméricas (*R* ou *S*) seja responsável por um efeito citotóxico. Estudos posteriores, com maior número de linhagens testadas, assim como a separação das formas enantioméricas, poderão demonstrar de maneira mais eficaz o potencial citotóxico do composto **74e**.

Figura 37 – Formas enantioméricas oriundas da síntese assimétrica de oxadiazolinas di-aridaldas.



Em um trabalho, de Iniciação Científica, em nosso grupo de pesquisa, Souza E. K. sintetizou inéditas oxadiazolinas bicíclicas, das quais, o composto **83** com substituição *p*-NO₂, apresentou percentuais inibitório de 90,0 % frente de linhagens de Leucemia Promielocítica Aguda (HL-60), na concentração de 25 µg/mL. Para esta linhagem celular o padrão positivo, Doxorrubicina **84** apresentou percentual inibitório de 92,9 %. ⁸⁵

Figura 38 – 3-aryl-1,2,4-oxadiazolína bicíclica **83** e fármaco doxorubicina **84**.



8 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Como visto citado na literatura, o núcleo oxadiazolína tem apresentado atividade antimicrobiana, além de estar presente em fármacos comerciais, como o caso do Furamizol.¹¹ Sendo assim, foi realizada a avaliação do potencial antimicrobiano do núcleo 1,2,4-oxadiazolína nos análogos coxibes sintetizados, trabalho este realizado no Laboratório de Análises Microbiológicas do departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE.

Neste trabalho, a metodologia utilizada para a avaliação da atividade antimicrobiana foi a disco-difusão em Agar, conhecida como técnica de Kirby-Bauer, frente a cepas bacterianas Gram positivas e Gram negativas.⁸⁶

8.1 – Metodologia

8.1.1 – Linhagens microbianas

Os microrganismos utilizados nos ensaios pertencem a coleção do Laboratório de Análises Microbiológicas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - Brasil (código: AM). Foram eles:

- *Staphylococcus aureus*: MSSA (AM - 1243) e Padrão (AM 103-ATCC 6538);
- *Staphylococcus coagulase negativo* (AM 1242);
- *Enterococcus faecalis* (1058);
- *Escherichia coli* (AM1050 - ATCC 35218);
- *Klebsiella pneumoniae* (AM411);
- *Salmonella choleraesuis* (AM 1280);

ATCC – American Type Culture Collection.

AM – Código da coleção de cepas do Laboratório de Análises Microbiológicas.

MSSA – Meticilin Sensitive *Staphylococcus aureus*

8.1.2 – Preparo dos inóculos

Os inóculos foram preparados a partir de culturas de 24 h em agar Mueller-Hinton (Himedia), e suspensas em soro fisiológico estéril, ajustando a turvação dos inóculos a da escala 0,5 McFarland (10^8 UFC/ml) (CLSI, 2008).

8.1.3 – Preparação das soluções e dos discos.

Os cinco compostos sintetizados foram diluídos em diclorometano para uma concentração de 10 mg/mL enquanto que o antibiótico gentamicina (Sigma) foi diluído em água estéril, obtendo-se uma solução de 1 mg/mL. Os discos de papel estéreis, foram embebidos com 10 μ L das soluções previamente preparadas e deixados por 15 min, em placa de petri, na estufa bacteriológica a 37 ± 1 °C para evaporação dos solventes. (CLSI,2008).

8.1.4 – Determinação do Halo de Inibição

Os inóculos foram semeados, com auxílio de swab, em placas de agar Mueller-Hinton. Em seguida, os discos foram inseridos no meio e deixados em pré-difusão por 30 min. antes de serem levados a estufa bacteriológica a 37 ± 1 °C, por um período de 18 h. As concentrações dos compostos nos discos foi de 100 μ g/disco, enquanto que a concentração final da gentamicina foi de 10 μ g/disco.

Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e verificada a formação de halos inibitórios ao redor dos discos.

8.2 – Resultados da atividade antimicrobiana

Nenhum dos compostos testados apresentou formação de halos inibitórios. Os controles negativos não apresentaram formação de halos, como esperado e nenhuma das cepas utilizadas apresentou perfil de resistência ao antibiótico gentamicina, tendo este apresentado halos inibitórios em todas as placas, como apresentado na tabela 5.

Tabela 5: Medida dos halos inibitórios em mm dos compostos testados.

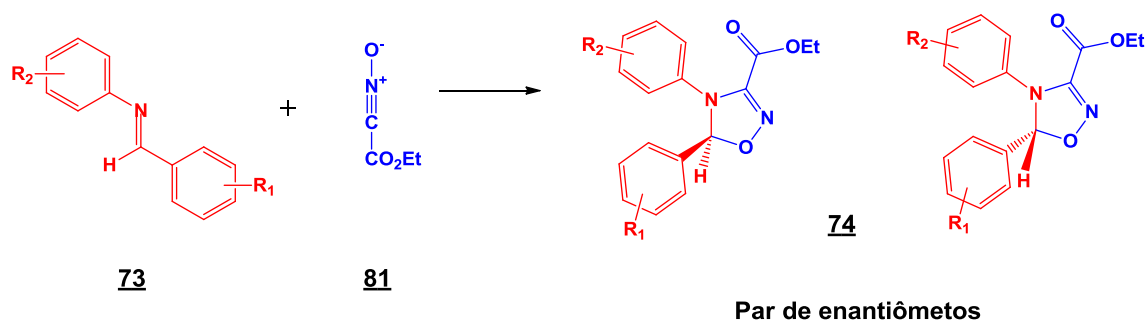
CEPAS	MOLÉCULAS TESTADAS					GEN
	74a	74b	74c	74d	74e	
<i>S. aureus</i> AM 103	-	-	-	-	-	18 mm
<i>S. aureus</i> AM 1243	-	-	-	-	-	32 mm
<i>S. coag. negativo</i> AM 1242	-	-	-	-	-	14 mm
<i>E. faecalis</i> AM 1058	-	-	-	-	-	22 mm
<i>E. coli</i> AM 1050	-	-	-	-	-	32 mm
<i>S. cholerasius</i> AM 1280	-	-	-	-	-	24 mm
<i>K. pneumoniae</i> AM 411	-	-	-	-	-	25 mm

(-): não houve formação de halo inibitório.

Posterior estudo em meio líquido, poderá ser realizado afim de confirmar uma possível inatividade antimicrobiana, definido também, se há uma dificuldade de difusão das moléculas no meio de cultura.

9 – CONCLUSÕES

Neste trabalho, cinco inéditas 1,2,4-oxadiazolíneas di-ariladas **74**, análogos coxibe, foram obtidas, demonstrando a eficácia sintética na obtenção destes novos compostos, por meio das reações de cicloadição 1,3-dipolar entre, o óxido de carboetóxi-formonitrila **81**, e iminas di-ariladas **73** substituída. A proposta sintética do trabalho, como prevista na teoria dos orbitais moleculares de fronteira, para sistema dipolo/dipolarófilos utilizados, se mostrou viável, chegando aos novos derivados coxibes oxadiazolínicos.



Os inéditos cicloadutos oxadiazolínicos di-arilados **73** com função éster em C3, obtidos com rendimento médio de 30%, foram devidamente caracterizados e determinadas suas características físico-químicas. Não obstante, visando a obtenção do composto híbrido oxadiazolínica/hidrazona **77**, a função éster deste cicloaduto **74**, foi reduzida a álcool **75**, via NaBH₄ e posteriormente oxidada para obtenção do respectivo aldeído **76**, pela ativação do DMSO, conhecida reação de Swern.

O álcool oxadiazolínico foi obtido e elucidado com sucesso, apresentando rendimento médio de 95 %. A tentativa de obtenção dos aldeídos oxadiazolínicos não foi exitosa, pois uma improvável desidroximetilação ocorreu na posição C3, resultado este, surpreendente, de acordo com o verificado na literatura para a oxidação de Swern. Estudos posteriores deverão ser realizados para a averiguação deste comportamento químico incomum e racionalização dos mesmos.

Com relação à principal atividade biológica para qual os novos derivados foram planejados, principalmente, a avaliação da atividade anti-inflamatória ainda não foi realizada devido à uma contaminação dos animais, o que impediu a realização em tempo hábil.

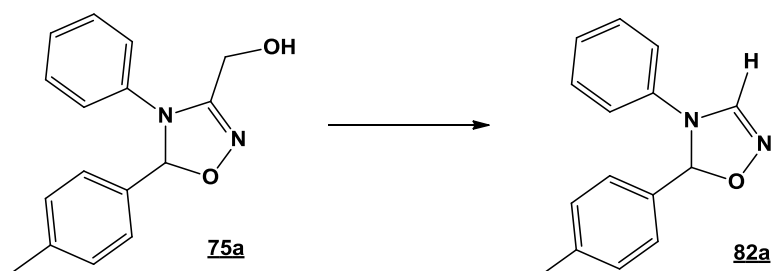
Na atividade citotóxica frente a células cancerígenas humanas, foram utilizadas duas linhagens celulares, onde os compostos **74d** e **74e** apresentaram baixa atividade citotóxica frente a linhagem leucêmica.

Nenhum dos compostos sintetizados apresentou atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados pelo método de difusão em disco.

9.1 – Perspectivas

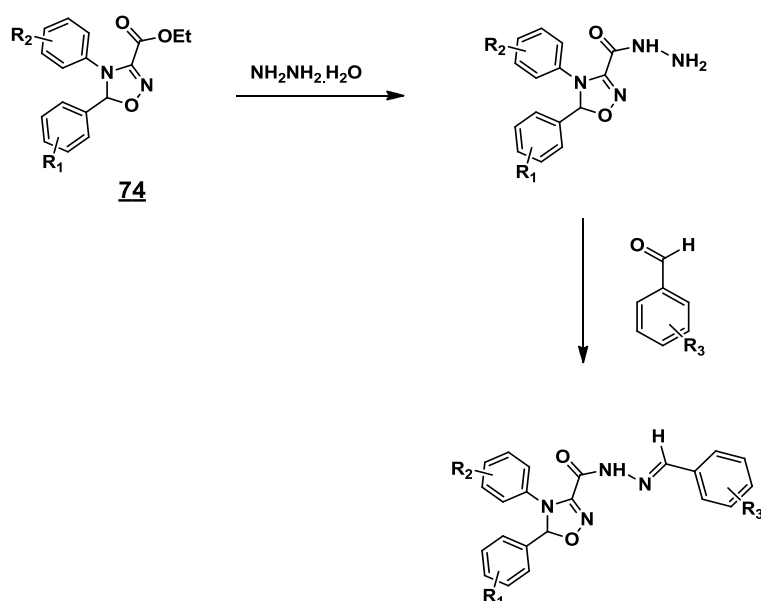
A metodologia sintética das reações de cicloadição será aperfeiçoada, afim de obter-se melhores rendimentos a obtenção dos derivados oxadiazolínicos **74**.

Uma série de álcoois oxadiazolínicos **75** com distintas substituições serão submetidos a reações de Swern, isolados e elucidados, afim de verificar a ocorrência de uma desidroximetilação em C3, como ocorrido no álcool **75a**, formando o composto **82a**.



A possibilidade de oxidação dos álcoois oxadiazolínicos será averiguada com outros reagentes (como MnO_2 ativado), caso confirme a reatividade inesperada do Swern com esse sistema.

Outra rota sintética será implementada pra a obtenção do híbrido oxadiazolína/hidrazona. Nesta rota, hidrazonas serão obtidas a partir da condensação de hidrazinas sobre a função éster em C3 dos cicloadutos oxadiazolínicos **74** formados, produzindo hidrazidas. Uma segunda condensação ocorrerá das hidrazidas formadas com benzaldeídos comerciais, gerando assim o híbrido.



Os cicloadutos oxadiazolínicos **74** - **76** serão submetidos a avaliação da atividade anti-inflamatória pelo método de peritonite induzida por carragenina. Neste método, 0,25 mL de carragenina (1% em salina), que atuará como agente flogístico, será administrada por via intraperitoneal, 1h após a administração das substâncias testes por via oral. Após 4 horas, os animais serão sacrificados por dose excessiva de anestésico, sendo injetado na cavidade peritoneal 2 mL de PBS heparinizado (10 UI/mL). A contagem de leucócitos totais será realizada em câmara de Neubauer com amostras do PBS recuperadas. A contagem de PMNL será analisada estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95 %, utilizando o software Origin.

Os compostos da série serão submetidos a avaliação da atividade citotóxica com novas linhagens cancerígenas, assim como células saudáveis, para a ampliação da triagem.

REFERÊNCIAS

- 1 – Louise Frenkel & Leslie Swartz. Chronic pain as a human rights issue: setting an agenda for preventative action. **Global Health Action**. v. 10. 2017
- 2 – International Association for the Study of Pain (IASP). Declaration of Montréal. 2015 [citado 17 de Maio de 2017]. Available from: <https://www.iasp-pain.org/DeclarationofMontreal?navitemNumber=582>
- 3 – P. Andrews, M. Steultjens, J. Riskowski. Chronic widespread pain prevalence in the general population: A systematic review. **European Journal Pain**. v. 22, 5–18, 2012.
- 4 – Elzahaf, R.A., Tashani, O.A., Unsworth, B.A., Johnson, M.I. The prevalence of chronic pain with an analysis of countries with a Human Development Index less than 0.9: A systematic review without meta-analysis. **Curr Med Res Opin** v. 28, 1221–1229, 2012.
- 5 – P. C. Isakson. Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1Hpyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). **J Med Chem**, 40:1347-1365, 1997.
- 6 – P. Prasit, Z. Wang, C. Brideau, C. C. Chan, S. Charleson, W. Cromlish, D. Ethier, J. F. Evans, A. W. Ford-Hutchinson, J. Y. Gauthier, R. Gordon, J. Guay, M. Gresser, S. Kargman, B. Kennedy, Y. Leblanc, S. Leger, J. Mancini, G. P. O'Neill, M. Ouellet, M. D. Percival, H. Perrier, D. Riendeau, I. Rodger, R. Zamboni, S. Boyce, N. Rupniak, M. Forrest, D. Visco and D. Patrick. The discovery of rofecoxib, [MK 966, VIOXX, 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2(5H)[furanone], an orally active cyclooxygenase-2 inhibitor. **Bioorg Med Chem Lett**, 9:1773-1778, 1999.
- 7 – Bernardi A, Jacques-Silva MC, Delgado-Canedo A, Lenz G, Battastini M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit the growth of C6 and U138-MG glioma cell lines. **Eur J Pharmacol** 532(3):214–222. 2006
- 8 – Viegas-Junior, C.; Danuello, A.; Da Silva Bolzani, V.; Barreiro, E.J.; Fraga, C.A. Molecular Hybridization. **Curr. Med. Chem**. 14, 1829-1852. 2007
- 9 – Gilchrist, T. L. Heterocyclic Chemistry, 4^a ed., **Longman Scientific & Technical**, New York, USA, 2000
- 10 – Kinjal D. Patel , Shraddha M. Prajapati , Shyamali N. Panchal & Hitesh D. Patel. Review of Synthesis of 1,3,4-Oxadiazole Derivatives, Synthetic Communications: An **International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry**, 44:13, 1859-1875. 2014.

11 – Kavitha Selvaraj, Kannan Kulanthai, Gnanavel Sadhasivam. Synthesis, characterization and biological evaluation of novel 2,5 substituted-1,3,4 oxadiazole derivatives. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, 3, p. 337-345, 2017

12 – Ibrahim Chaaban, El Sayeda M. El Khawass, Heba A. Abd El Razik, Nehad S. El Salamouni, Mariano Redondo-Horcajo, Isabel Barasoain, J. Fernando Díaz, Jari Yli-Kauhaluoma, Vania M. Moreira. Synthesis and biological evaluation of new oxadiazoline-substituted naphthalenyl acetates as anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 87, p. 805-813, 2014.

13 – N. Chidananda, Boja Poojary, V. Sumangala, N. Suchetha Kumari, Unnikrishnan. Hantzsch and Schiff's reaction: synthesis, in vitro cytotoxic and antimicrobial activity of [1,3,4]oxadiazoline and [1,3]thiazole derivatives. **Medicinal Chemistry Research**. v. 23, ed. 9, p. 3979-3997, 2014.

14 – Ankita Rathore, Mujeeb Ur Rahman, Anees Ahamad Siddiqui, Abuzer Ali and Mohammad Shaharyar. Design and Synthesis of Benzimidazole Analogs Endowed with Oxadiazole as Selective COX-2 Inhibitor. **Arch. Pharm. Chem. Life Sci.** 347, 923–935. 2014

15 – Charles Christophe Du Barriere Mendes, **Dissertação de Mestrado** em Ciências Farmacêuticas. Síntese E Avaliação Das Atividades Analgésica E Antichagásica De Hidrazonas E Semicarbazona Derivadas Do Novo Heterociclo Pirrolidina[1,2-d][1,2,4]-2-Oxadiazolina – UFPE, 2010

16 - Vidhya Thomas, D. Giles*, Guru P.M. Basavarajaswamy, Amit Kumar Das and Avani Patel, Coumarin Derivatives as Anti-inflammatory and Anticancer Agents Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, , 17, 415-423, 2017

17 – Kumar, P.; Kadyan, K.; Duhan, M.; Sindhu, J.; Singh, V.; Saharan, B. S. Design, synthesis, conformational and molecular docking study of some novel acyl hydrazone based molecular hybrids as antimalarial and antimicrobial agents. **Chemistry Central Journal**, v. 11, p. 115, 2017.

18 – Gorantla, V.; Gundlac, R.; Jadavc, S. S.; Anugub, S. R.; Chimakurthyd, J.; Rao Ns, K.; Korupolua, R. Molecular Hybrid Design, Synthesis and Biological Evaluation of *N*-Phenyl Sulfonamide Linked *N*-Acyl Hydrazone Derivatives Functioning as COX-2 Inhibitors: New Anti-Inflammatory, Anti-Oxidant and AntiBacterial Agents. **New Journal Chemistry**, v. 41, p. 13516-13532, 2017.

19 – Jane A. Mitchell, Pravit Akarasereenont, Christoph Thiemermann, Roderick J. Flower, John R. Vane. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. Vol. 90, pp. 11693-11697, 1994

- 20 – P. N. Praveen Rao and Edward E. Knaus. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. **J Pharm Pharmaceut Sci** v. 11 (2): 81s-110s, 2008.
- 21 – J. L. Masferrer, B. S. Zweifel, K. Seibert and P. Needleman. Selective regulation of cellular cyclooxygenase by dexamethasone and endotoxin in mice. **J Clin Invest**, 86:1375-1379, 1990.
- 22 – W. L. Xie, J. G. Chipman, D. L. Robertson, R. L. Erikson and D. L. Simmons. Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. **Proc Natl Acad Sci USA**, 88:2692-2696, 1991.
- 23 – D. A. Kujubu, and H. R. Herschman. Dexamethasone inhibits mitogen induction of the TIS10 prostaglandin synthase/cyclooxygenase gene. **J Biol Chem**, 267:7991-7994, 1992.
- 24 – G. A. Fitzgerald. COX-2 and beyond: Approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nat Rev Drug Dis**, 2:879-890, 2003.
- 25 – D. Mukherjee, S. E. Nissen and E. J. Topol. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. **JAMA**, 286:954-959, 2001.
- 26 – R. S. Bresalier, R. S. Sandler, H. Quan, J. A. Bolognese, B. Oxenius, K. Horgan, C. Lines, R. Riddell, D. Morton, A. Lanos, M. A. Konstam and J. A. Baron. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. **N Engl J Med**, 352:1092-1102, 2005.
- 27 – S. D. Solomon, J. J. McMurray, M. A. Pfeffer, J. Wittes, R. Fowler, P. Finn, W. F. Anderson, A. Zauber, E. Hawk and M. Bertagnolli. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention. **N Engl J Med**, 352:1071-1080, 2005.
- 28 – Daniel H. Solomon, Robert J. Glynn, Kenneth J. Rothman, Sebastian Schneeweiss, Soko Setoguchi, Helen Mogun, Jerry Avorn and Til Sturmer. Subgroup Analyses to Determine Cardiovascular Risk Associated With Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Coxibs in Specific Patient Groups. **Arthritis & Rheumatism**, Vol. 59, No. 8, pp 1097–1104, 2008.
- 29 – <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm106201.pdf>. Acesso: 23/01/2018.
- 30 – J.-M. Dogné, C. T. Supuran and D. Pratico. Adverse cardiovascular effects of the coxibs. **J Med Chem**, 48:2251-2257, 2005.

- 31 – Chandrasekharan, N.V., Dai, H., Roos, K.L., Evanson, N.K., Tomsik, J., Elton, T.S., Simmons, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 99, 13926–13931. 2002.
- 32 – Regina M. Botting. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). *Journal of Thermal Biology*. v. 31, p. 208–219. 2006
- 33 – Lima, P. C.; Lima, L. M.; Da Silva, K. C. M.; Léda, P. H. O.; De Miranda, A. L. P.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Synthesis and analgesic activity of novel N-ylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole **Eur. J. Med. Chem.**, 35, 187. 2000.
- 34 – Schreinemachers DM, Everson RB. Aspirin use and lung, colon and breast cancer incidence in a prospective study. **Epidemiology** 5:138–146 36. 1994
- 35 – Muscat JE, Stellman SD, Wynder EL. Analgesic use and colorectal cancer. **Prev Med** 24:110–112 37. 1995
- 36 – Lupulescu A. Prostaglandins, their inhibitors and cancer. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids** 54:83–94. 1996
- 37 – Kokoglu E, Tuter Y, Yazici Z, Sandikci KS, Sonmez H, Ulakoglu EZ, Ozyurt E. Profiles of the fatty acids in the plasma membrane of human brain tumors. **Cancer Biochem Biophys** 16(4):301–312. 1998
- 38 – Yasumaru M, Tsuji S, Tsujii M, Irie T, Komori M, Kimura A, Nishida T, Kakiuchi Y, Kawai N, Murata H, Horimoto M, Sasaki Y, Hayashi N, Kawano S, Hori M. Inhibition of angiotensin II activity enhanced the antitumor effect of cyclooxygenase-2 inhibitors via insulin-like growth factor I receptor pathway. **Cancer Res** 63:6726–6734. 2003
- 39 – Bae MA, Pie JE, Song BJ. Acetaminophen induces apoptosis of C6 glioma cells by activating the c-Jun NH(2)-terminal protein kinase-related cell death pathway. **Mol Pharmacol** 60(4):847–856. 2001
- 40 – Lister CF, McLean AE. Inhibition of DNA synthesis by paracetamol in different tissues of the rat in vivo. **Toxicology** 116(1–3):49–57. 1997
- 41 – Al-Salihi MA, Terrece Pearman A, Doan T, Reichert EC, Rosenberg DW, Prescott SM, Stafforini DM, Topham MK. Transgenic expression of cyclooxygenase-2 in mouse intestine epithelium is insufficient to initiate tumorigenesis but promotes tumor progression. **Cancer Lett** 273:225–232. 2009

42 – Yoshimoto A, Kasahara K, Kawashima A, Fujimura M, Nakao S. Characterization of the prostaglandine biosynthetic pathway in non-small cell lung cancer: a comparison with small cell lung cancer and correlation with angiogenesis, angiogenic factors and metastases. **Oncol Rep** 13:1049–1057. 2005

43 – Carvalho B, Sillars-Hardebol AH, Postma C, Mongera S, Droste JT, Obulkasim A, van de Wiel M, van Criekinge W, Ylstra B, Fijneman RJ, Meijer GA. Colorectal adenoma to carcinoma progression is accompanied by changes in gene expression associated with ageing, chromosomal instability, and fatty acid metabolism. **Cell Oncol** 35:53–63. 2012

44 – Roelofs HMJ, Morsche RHM, van Heumen BWH, Nagengast FM, Peters WHM. Over-expression of COX-2 mRNA in colorectal cancer. **BMC Gastroenterol** 14(1):1–6. 2014

45 – Liang J, Slingerland JM. Multiple roles of the PI3 K/PKB (Akt) pathway in cell cycle progression. **Cell Cycle** 2(4):339–345 47, 2003

46 – Kang KB, Zhu C, Yong SK, Gao Q, Wong MC. Enhanced sensitivity of celecoxib in human glioblastoma cells: induction of DNA damage leading to p53-dependent G1 cell cycle arrest and autophagy. **Mol Cancer** 8:66–82. 2009

47 – Totzke G, Schulze-Osthoff K, Janicke RU. Cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors sensitize tumor cells specifically to death receptor-induced apoptosis independently of COX-2 inhibition. **Oncogene** 22(39):8021–8030 48, 2003.

48 – Ersoy Oksuz, Fatmahan Atalar, Gamze Tanırverdi, Ayahan Bilir, Andleeb Shahzadi, Zeliha Yazı. Therapeutic potential of cyclooxygenase-3 inhibitors in the management of glioblastoma. **Journal of Neuro-oncology**. vol 126, 2, pp 271–278. 2015

49 – Heba S. Abd-Ellah, Mohamed Abdel-Aziz, Mai E. Shoman, Eman A.M. Beshr, Tamer S. Kaoud, Al-Shaimaa F.F. Ahmed. New 1,3,4-oxadiazole/oxime hybrids: Design, synthesis, anti-inflammatory, COX inhibitory activities and ulcerogenic liability. **Bioorganic Chemistry**. 74, 15–29, 2017.

50 – Harish Rajak, Ravichandran Veerasamy, Murlidhar Kharya, and Pradeep Mishra. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of novel oxadiazole and oxadiazoline analogs as anti-inflammatory agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 25(4): 492–501. 2010

51 – Mymoona Akhter, Nayeema Akhter, M. M. Alam, M. S. Zaman, Rikta Saha and A. Kumar. Synthesis and biological evaluation of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazole derivatives with both COX and LOX inhibitory activity. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 26(6): 767–776. 2011

52 – Fleming, I. Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions, **Wiley**, 1976.

- 53 – M. L. Kuznetsov, L. V. Kozlova, and A. I. Dement'ev. Theoretical Study of 1,3-Dipolar Cycloaddition of Nitrones to Doubly Activated Nitriles, **Russian Journal of Inorganic Chemistry**, Vol. 51, No. 10, pp. 1602–1612. 2006,
- 54 – Calvo-Flores, F. G.; Isac-Garca, J.; Hernández-Mateo, F.; Pérez-Balderas, F.; Calvo-Asín, J. A.; Sánchez-Vaquero, E.; Santoyogonzález, F. 1,3-Dipolar Cycloadditions as a Tool for the Preparation of Multivalent Structures. **Organic letters**, v. 2, p. 2499-2502, 2000
- 55 – HUISGEN, R.; Kinetics and Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n.11,p. 633–645, 1963.
- 56 – HUISGEN, R. "1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future". **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n.10, p. 565–598,1963.
- 57 – Gothelf, K.V.; Jorgensem, K. A. Transition-Metal Catalyzed Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions between Alkenes and Nitrones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 54, p. 5687-5691, 1994.
- 58 – DOS SANTOS, R. J. Reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 5 membros com N-óxidos de nitrila. Síntese e avaliação das atividades anti-inflamatória de derivados isoxazolínicos bicíclicos pirrolidínico e antimicrobiana de enamidas endocíclicas de 5 membros. Universidade Federal de Pernambuco. (Dissertação).137f. 2003
- 59 – Ting-Hong Fei, Ying-Lei Zhou, Le Huang, and Fang-Ming Liu. Synthesis and Characterization of Novel 1,2,4-oxadiazoline Derivatives Containing Pyrazole Moiety by 1,3-Dipolar Cycloaddition. **J. Heterocyclic Chem.**, vol.53, ed. 5, p. 1640-1645. 2016.
- 60 – Le Huang, Ting-Hong Fei, Kun Hu, and Fang-Ming Liu. Synthesis of Novel 1,2,4-oxadiazoline Derivatives Containing Quinoline Moiety by 1,3-Dipolar Cycloaddition. **J. Heterocyclic Chem.**, v. 52, ed. 3, p. 902-906, 2014.
- 61 – Ning Liu, Lian-Jie Zhai, Peng Lian, Hui Li, and Bo-Zhou Wang. Synthesis of 3,5,5-Trisubstituted 4-Hydroxy-4H,5H-1,2,4-oxadiazoles through the Condensation of N-Hydroxyamidoximes and Ketones or Aldehydes. **European Journal Of Organic Chemistry**. ed. 13, p. 2965-2971, 2015.
- 65 – Rollas, S.; Güniz Küçükgülzel, E. S. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. **Molecules**, v. 12, p. 1910-1939, 2007.
- 66 – Ajani, O. O.; Obafemi, C. A.; Nwinyi O. C.; Akinpelu D. A. Microwave assisted synthesis and antimicrobial activity of 2-quinoxalinone-3-hydrazone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 214–221, 2010.

- 67 – Kumar, P.; Rai, A.; Singh, M.; Kumar, D.; Sahdev, A. K.; Raj, V. Review on the Pharmacological Activities of Hydrazones derivatives. **E C Pharmaceutical Science**, v. 2.3, p. 278-306, 2016
- 70 – Queen, A.; Khan, P.; Idrees, D.; Azam, A.; Hassan, M. I. Biological evaluation of p-toluene sulphonylhydrazone as carbonic anhydrase IX inhibitors: an approach to fight hypoxia-induced tumors. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 840 – 850, 2018.
- 71 – Amir, M.; Ali, I.; Hassan, M. Z.; Mulakayala, N. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Hydrazone Incorporated 1,2,4-Triazines as Anticonvulsant Agents. **Archiv Der Pharmazie**, v. 347, p. 958-968, 2014.
- 72 – Mancuso, A. J.; Swern, D. Activated Dimethylsulfoxide - Useful Reagents For Synthesis. **Synthesis**, 165, 1981.
- 73 – McMURRY, J. **Química Orgânica**. 7 ed. Cengage Learning, 2011. p. 669.
- 74 – Luma Fritsch. Síntese de Novos cristais líquidos derivados de base de Schiff com núcleo isoxazolina/isoxazol. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul. **Dissertação**. 2015.
- 75 – Yu Yuye. Synthesis of Schiff Bases under Ultrasound-Irradiation. **Asian Journal of Chemistry**. v. 19, no. 3, 2476-2478, 2007
- 76 – Li, J. T.; Li, X.L.; Li, T. S. Synthesis of oximes under ultrasound irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, p. 200-202, 2006.
- 77 – REIS, S. L. G. B. Síntese e Avaliação preliminar da atividade antimoceptiva e toxicidade de novas isoxazolil-aril-hidrazonas. Universidade Federal de Pernambuco. **(Dissertação)**. 2008
- 78 – Ghafuri H., Roshani M. Aqueous formic acid: an efficient, inexpensive and environmentally friendly organocatalyst for threecomponent Strecker synthesis of α -aminonitriles and imines with excellent yields. **RSC Advances**. vol. 4, ed. 102, p. 58280-58286. 2014
- 79 – Chemical shifts of N-benzylideneanilines. Evidence for substituent– substituent interactions and their implications of conformational changes with substituents. **Bull. Chem. Soc. Jpn**, 58, 1186–1195. 1985
- 80 – Asano, T.; Furata, H.; Hofmann, H.J.; Cimiraglia, R.; Tsuno, Y.; Fujio, M. Mechanism of thermal Z/E isomerization of substituted N-benzylideneanilines. Nature of the activated complex with an sp-hybridized nitrogen atom. **J. Org. Chem.** 58 (16), 4418–4423. 1993.

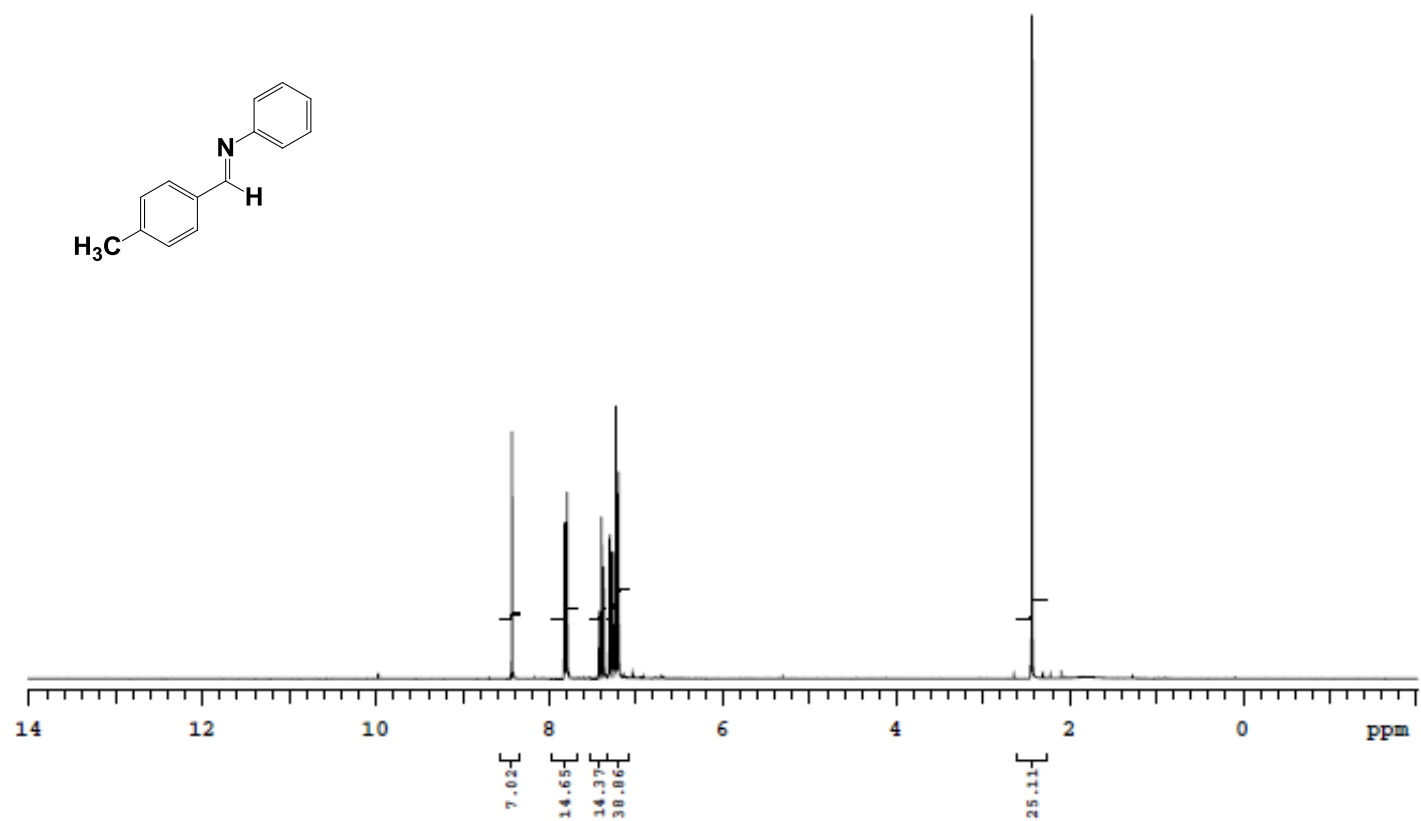
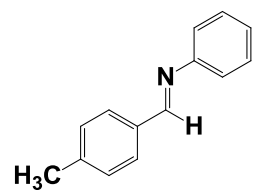
- 81 – Alley, M. C. et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. **Cancer Research**, v. 48, p. 589- 601, 1988.
- 82 – Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55–63, 1983.
- 83 – Berridge, M.V.; Tan, A.S.; Mccoy, K.D.; Kansara, M.; Rudert, F.. **J. Immunol.**; 1;156(11):4092. 1996
- 84 – Fouche G, Cragg Gm, Pillay P, Kolesnikova N, Maharaj Vj, Senabe J. In vitro anticancer screening of South African plants. **J Ethnopharmacol**. 2008. 119(3):455-61. doi: 10.1016/j.jep.2008.07.005
- 85 – Eduarda Karynne Souza, Projeto de Iniciação Científica – **PIBIC/UFPE**. Síntese e Avaliação da Atividade Citotóxica de Novos 3-Aril-1,2,4-Oxadiazolinas Bicíclicas. 2015.
- 86 – Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turck, M.; Antibiotic Susceptibility Testing By A Standardized Single Disk Method **Am. J. Clin. Pathol**. 45, 493-496. 1966.

APÊNDICE A – Imina 73a - RMN ¹H 300 MHz

p5mmASW_calib

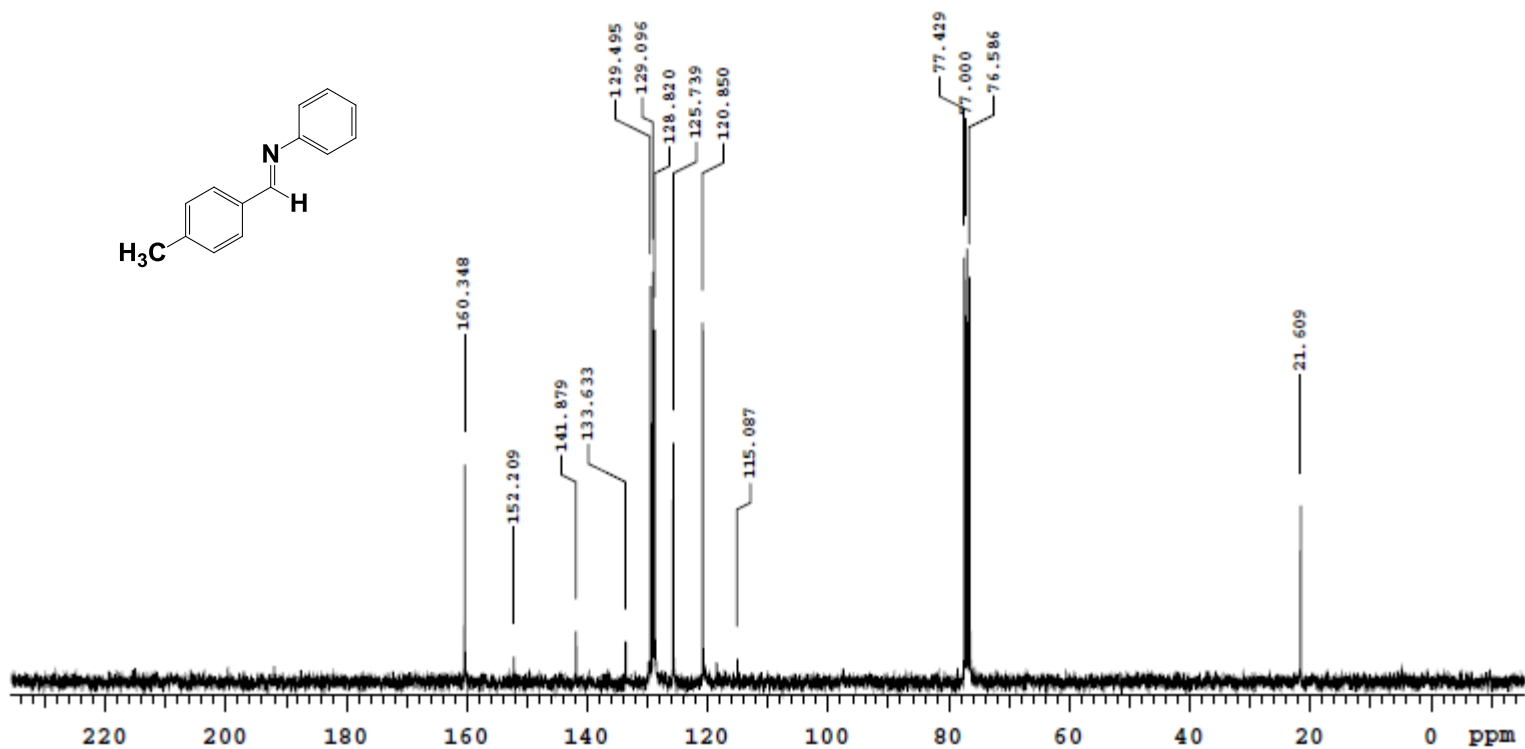
Sample Name	p5mmASW_calib	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vmm1
Date collected	2017-12-05	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300-nmrs300	Operator	central

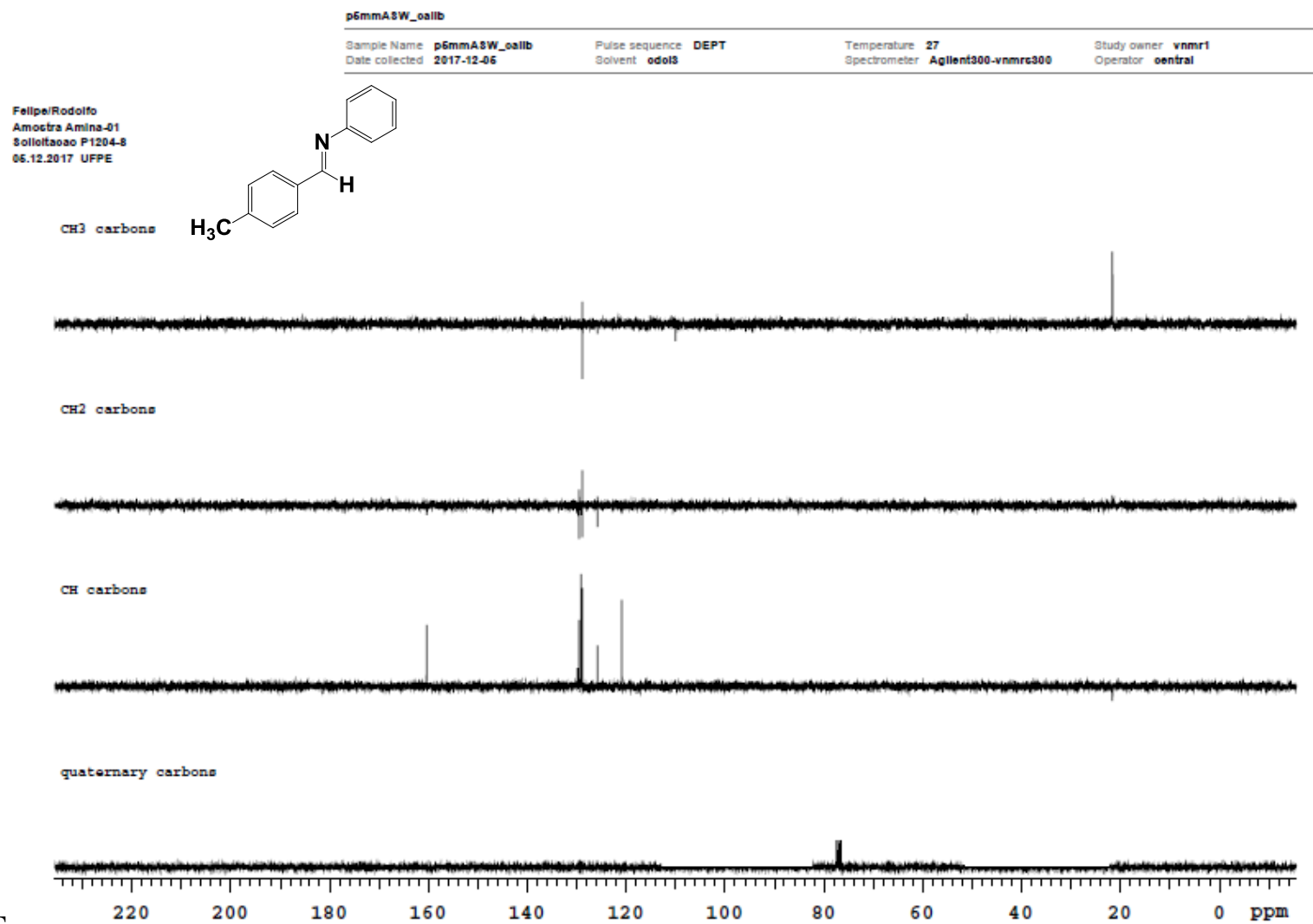
Felipe Rodolfo
Amostra Amina-01
Solicitacao P1204-8
05.12.2017 UFPE



APÊNDICE B – Imina 73a - RMN ¹³C 75 MHz

p6mmA&W_calib

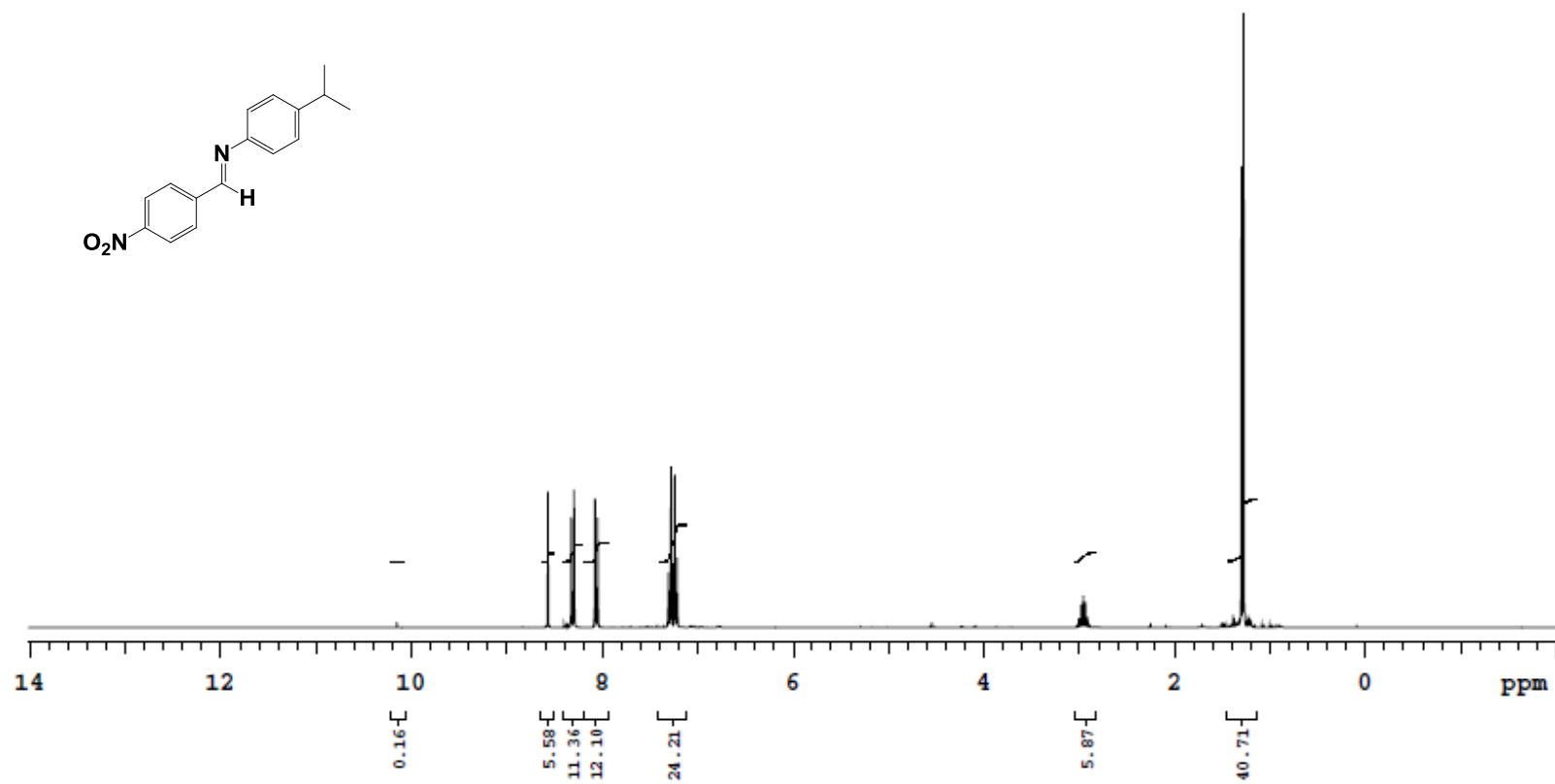
Sample Name p6mmA&W_calib
Date collected 2017-12-06Pulse sequence CARBON
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrc300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipeRodolfo
Amostra Amina-01
Soluçao P1204-8
06.12.2017 UFPE

APÊNDICE C – Imina 73a – DEPT

T

APÊNDICE D – Imina **73b** - RMN ^1H 300 MHz

p5mmASW_calib

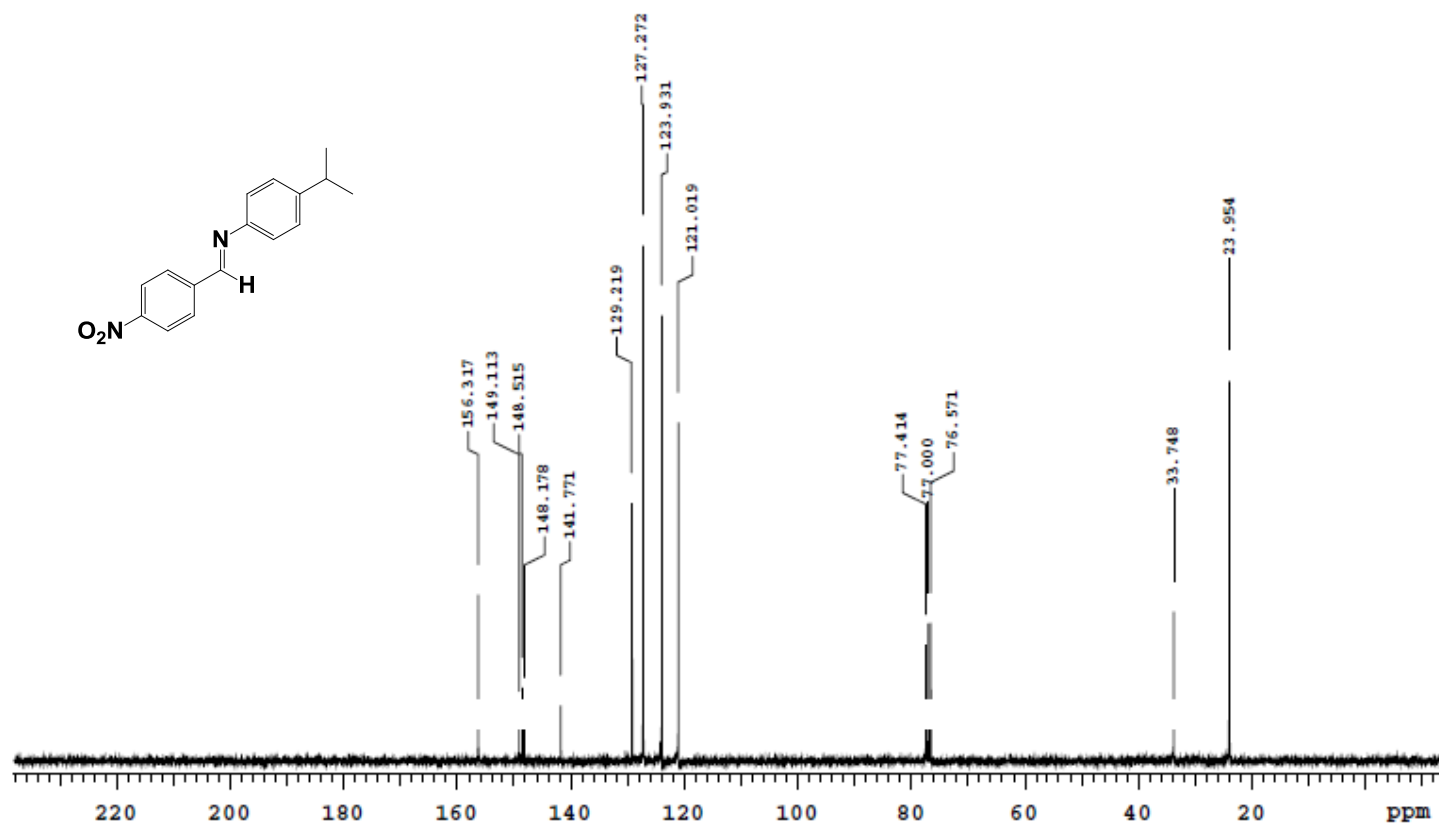
Sample Name p5mmASW_calib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence PROTON
Solvent cdcl3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrs300Study owner vnmr1
Operator centralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-02
Solicitacao N. P1121-7
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

APÊNDICE E – Imina **73b** - RMN ^{13}C 75 MHz

p6mmASW_oalib

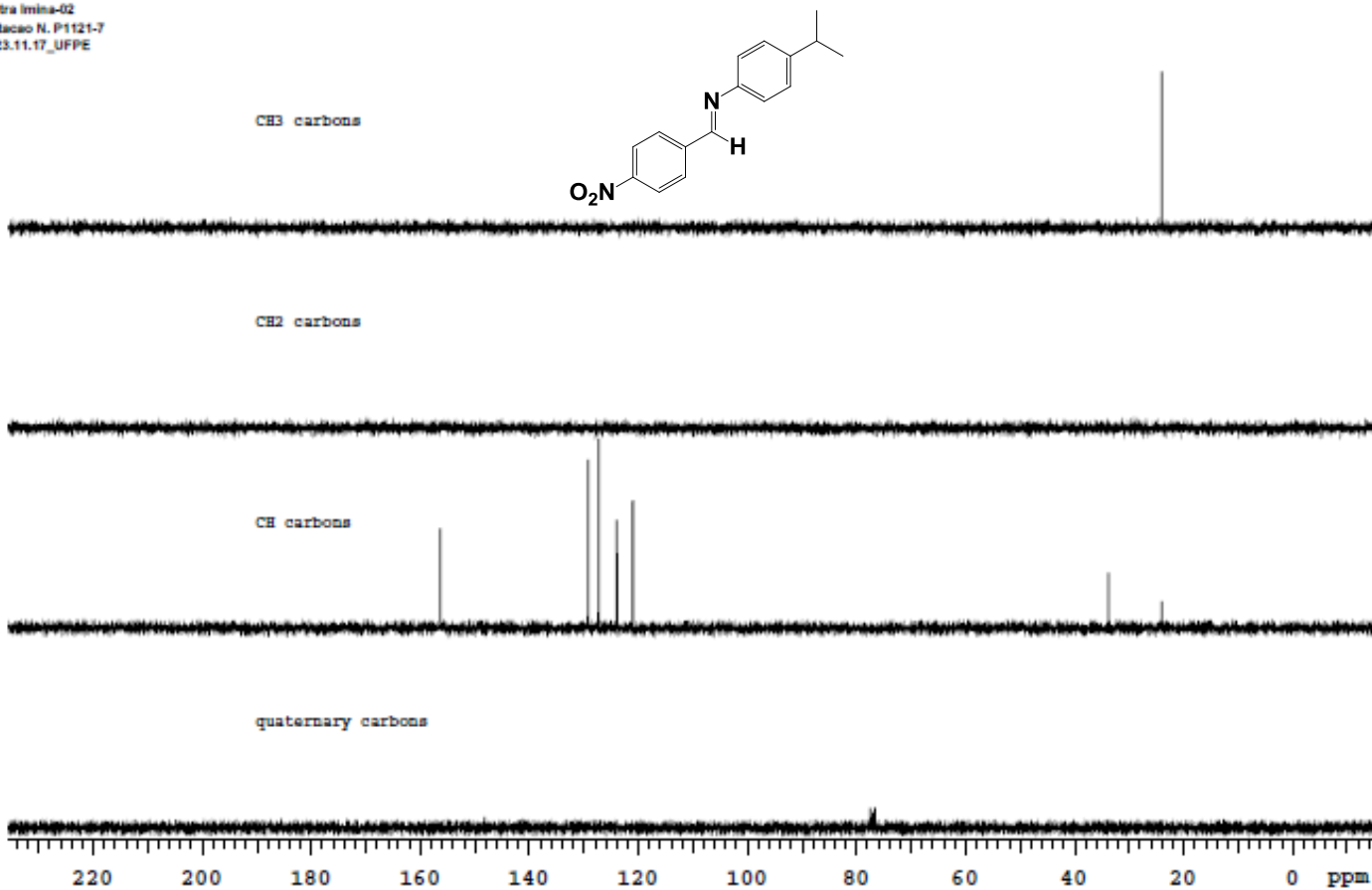
Sample Name	p6mmASW_oalib	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-11-23	Solvent	d2o	Spectrometer	Agilent300-nmrc300	Operator	oentral

FelipeRodolfo
Amostra Imina-02
Solitoacao N. P1121-7
Data 23.11.17_UFPE



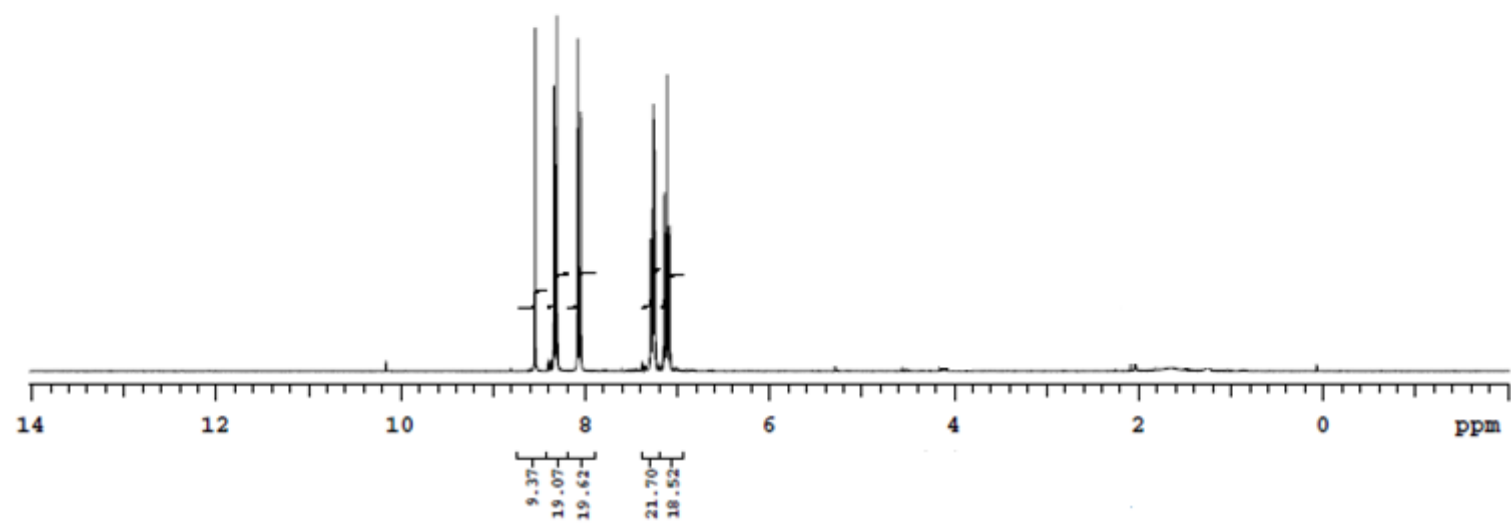
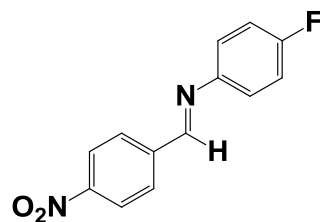
APÊNDICE F – Imina 73b – DEPT

p5mmASW_calib

Sample Name p5mmASW_calib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence DEPT
Solvent odcl3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrs300Study owner vsmr1
Operator centralFelipeRodolfo
Amostra Imina-02
Solicitacao N. P1121-7
Data 23.11.17_UFPE

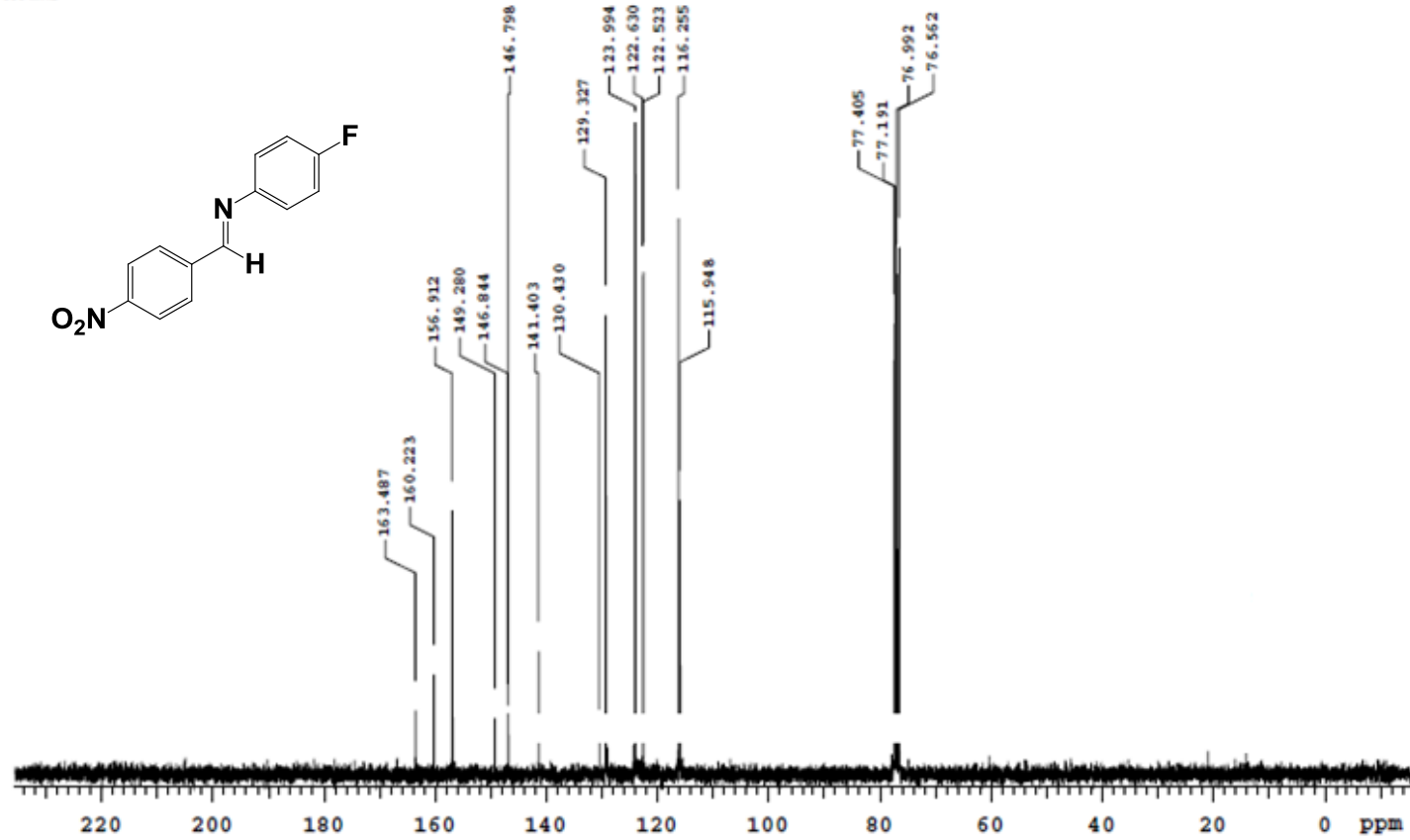
APÊNDICE G – Imina **73c** - RMN ^1H 300 MHz

p6mmASW_oalib

Sample Name p6mmASW_oalib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence PROTON
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrs300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-03
Solucao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

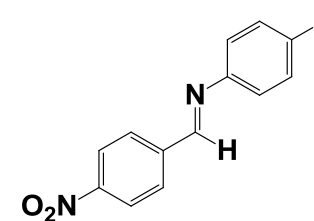
APÊNDICE H – Imina 73c - RMN ¹³C 75 MHz

p6mmASW_calib

Sample Name: p6mmASW_calib
Date collected: 2017-11-23Pulse sequence: CARBON
Solvent: odol3Temperature: 27
Spectrometer: Agilent300-vnmrc300Study owner: vnmr1
Operator: centralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-08
Soluçao N. P1121-8
Data 20.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

APÊNDICE I – Imina 73c - DEPT

p6mmASW_calib

Sample Name p6mmASW_calib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence DEPT
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrc300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-63
Soluçao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

CH3 carbons



CH2 carbons



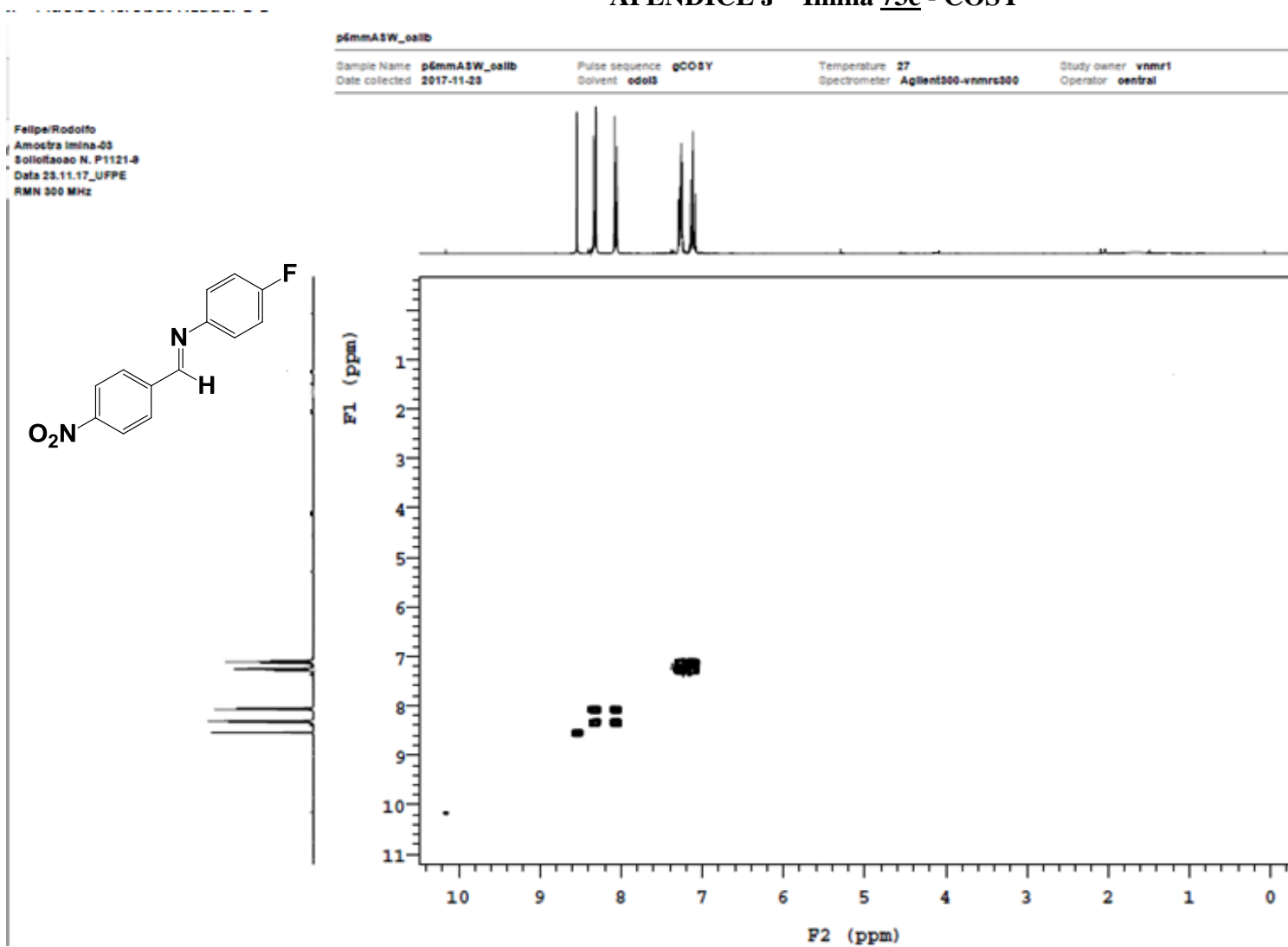
CH carbons



quaternary carbons



220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 ppm

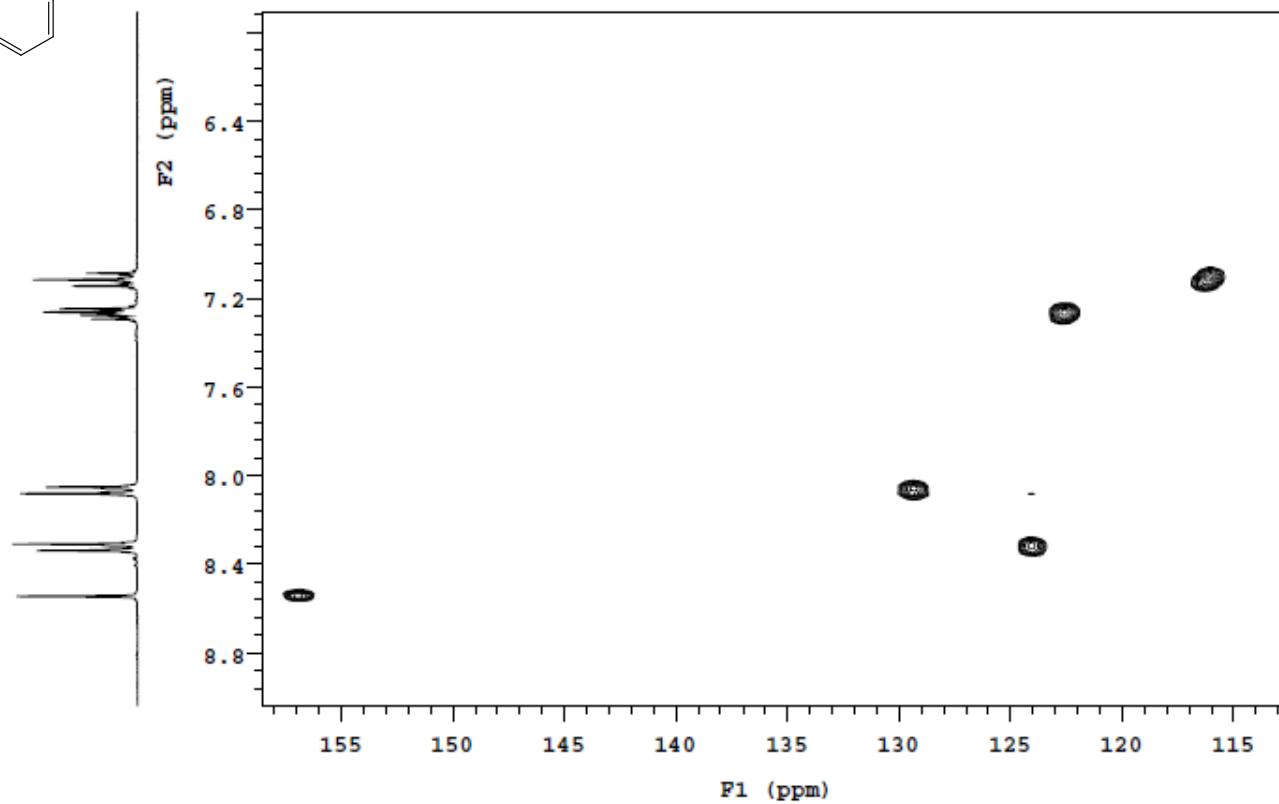
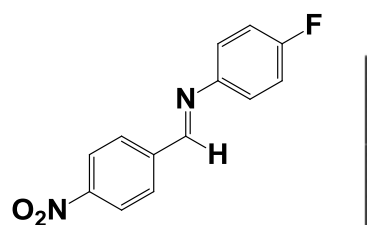
APÊNDICE J – Imina 73c - COSY

APÊNDICE L – Imina **73c** - HSQC

p6mmA8W_calib

Sample Name	p6mmA8W_calib	Pulse sequence	gH3QC	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-11-23	Solvent	odolS	Spectrometer	Agilent300-vnmr300	Operator	oentral

Felipe/Rodolfo
Amostra Imina-83
Soluçao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

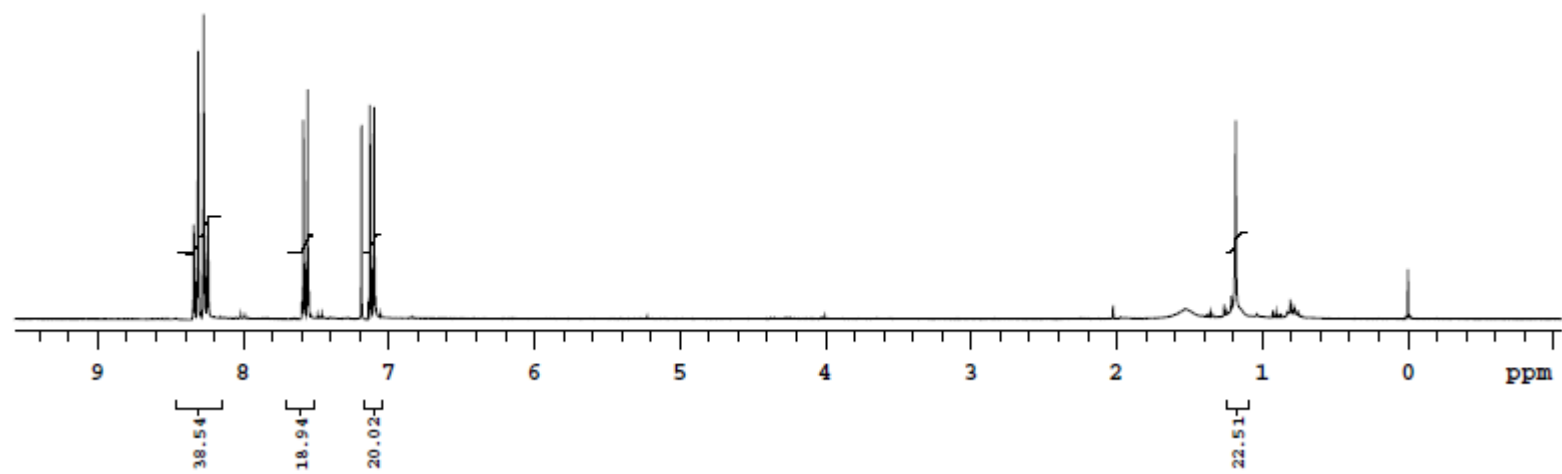
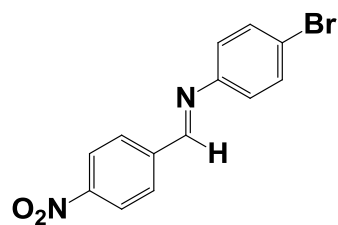


APÊNDICE M – Imina 73d - RMN ¹H 300 MHz

p6mmA8W_oalib

Sample Name	p6mmA8W_oalib	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-11-27	Solvent	odol8	Spectrometer	Agilent300-vnmr300	Operator	oentral

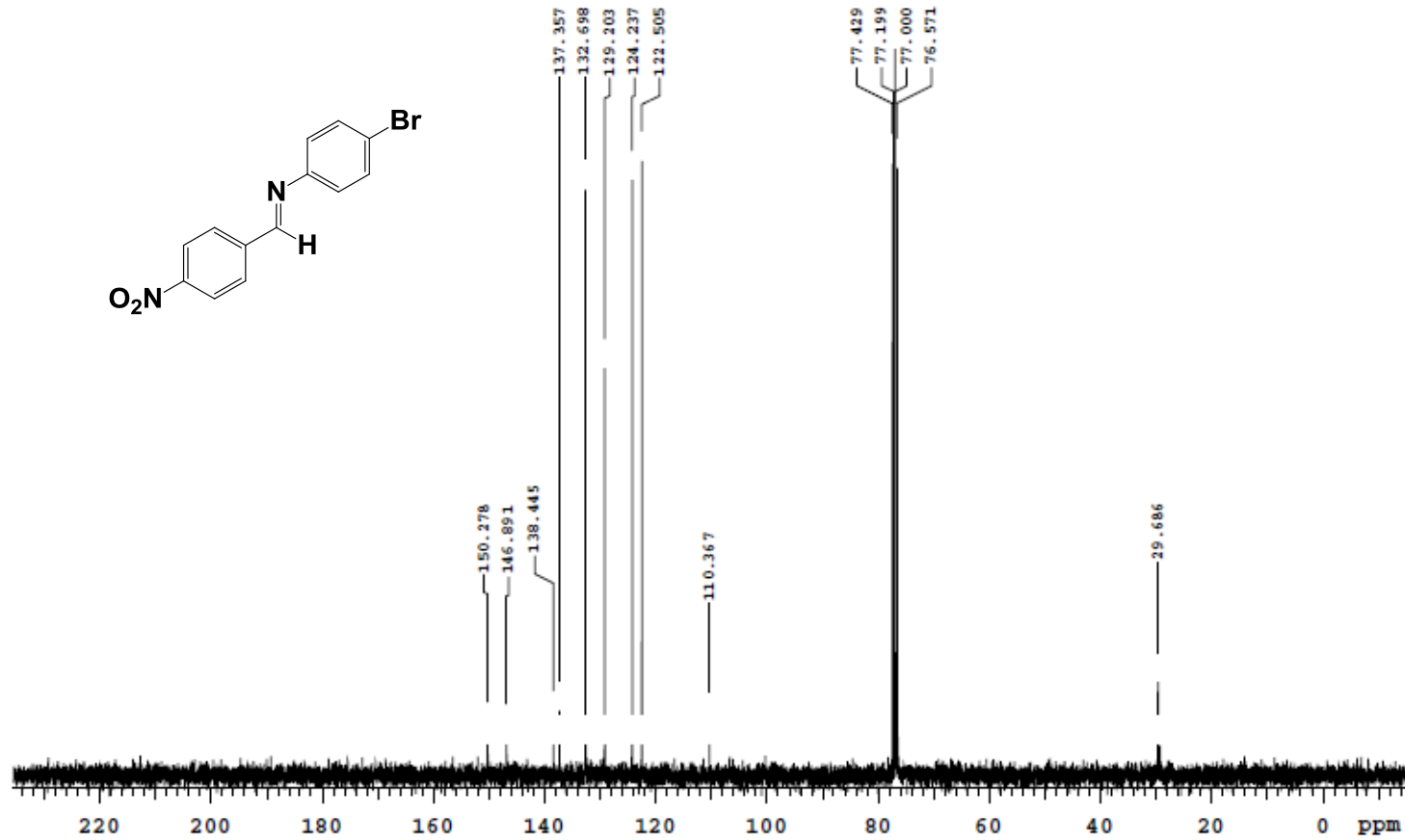
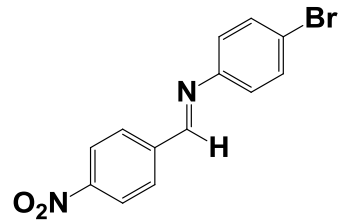
Felipe/RODOLFO
Amostra Imina-06
Solucao N. P1123-8
Data 27.11.17_UFPE



APÊNDICE N – Imina 73d - RMN ¹³C 75 MHz

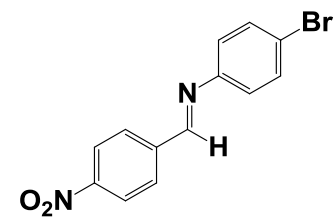
Sample Name	Pulse sequence	CARBON	Temperature	27	Study owner	central	
Date collected	2017-11-27	Solvent	odol3	Spectrometer	Agilent300-nmrc300	Operator	central

Felipe/RODOLFO
Amostra Imina-06
Solucao N. P1123-8
Data 27.11.17_UFPE



APÊNDICE O – Imina 73d - DEPT

p6mmASW_oalib

Sample Name p6mmASW_oalib
Date collected 2017-11-27Pulse sequence DEPT
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrc300Study owner vnmr1
Operator centralFelipe RODOLFO
Amostra Imina-06
Sollotaoao N. P1123-8
Data 27.11.17_UFPE

CH3 carbons



CH2 carbons



CH carbons



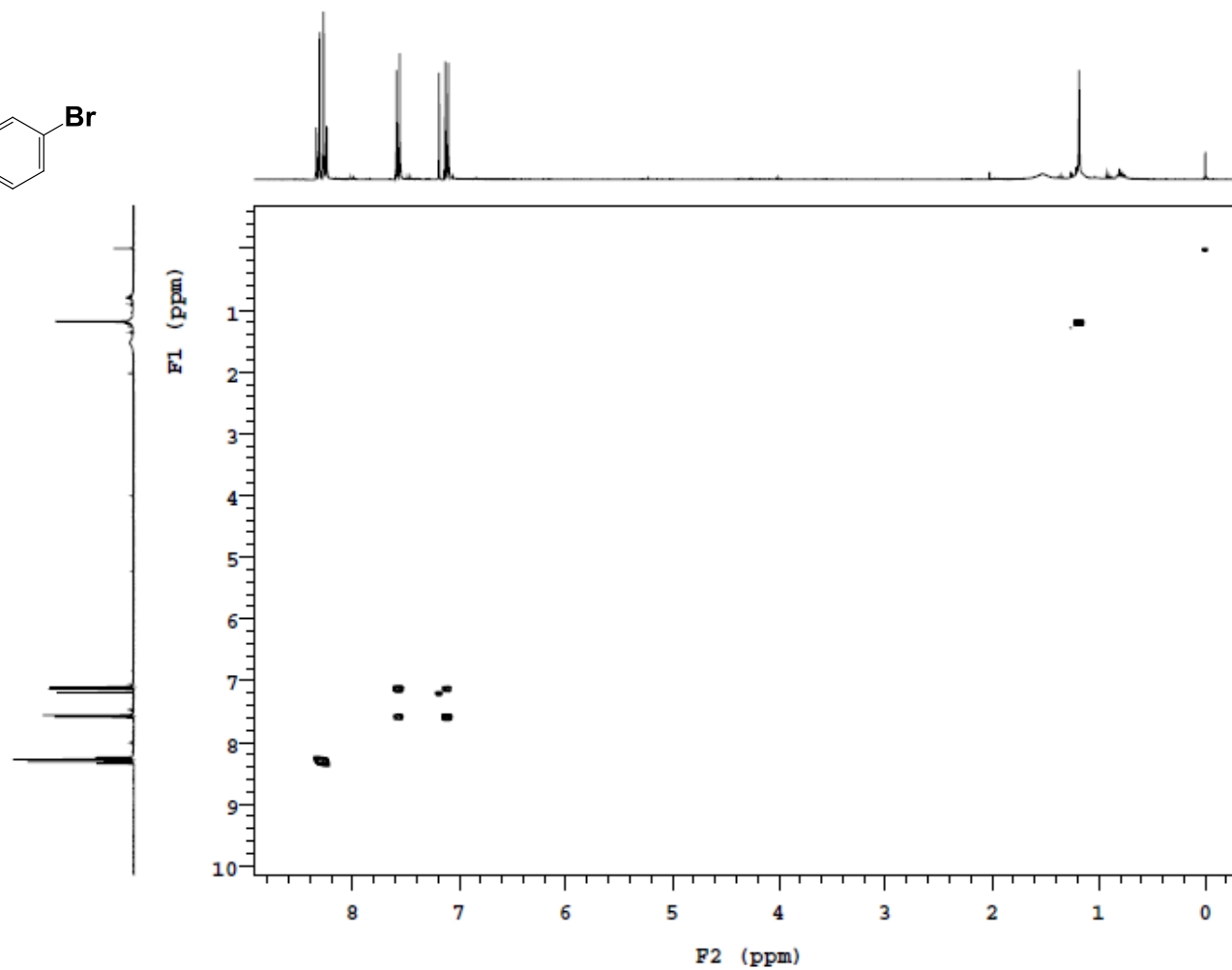
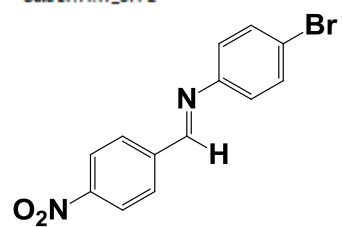
quaternary carbons

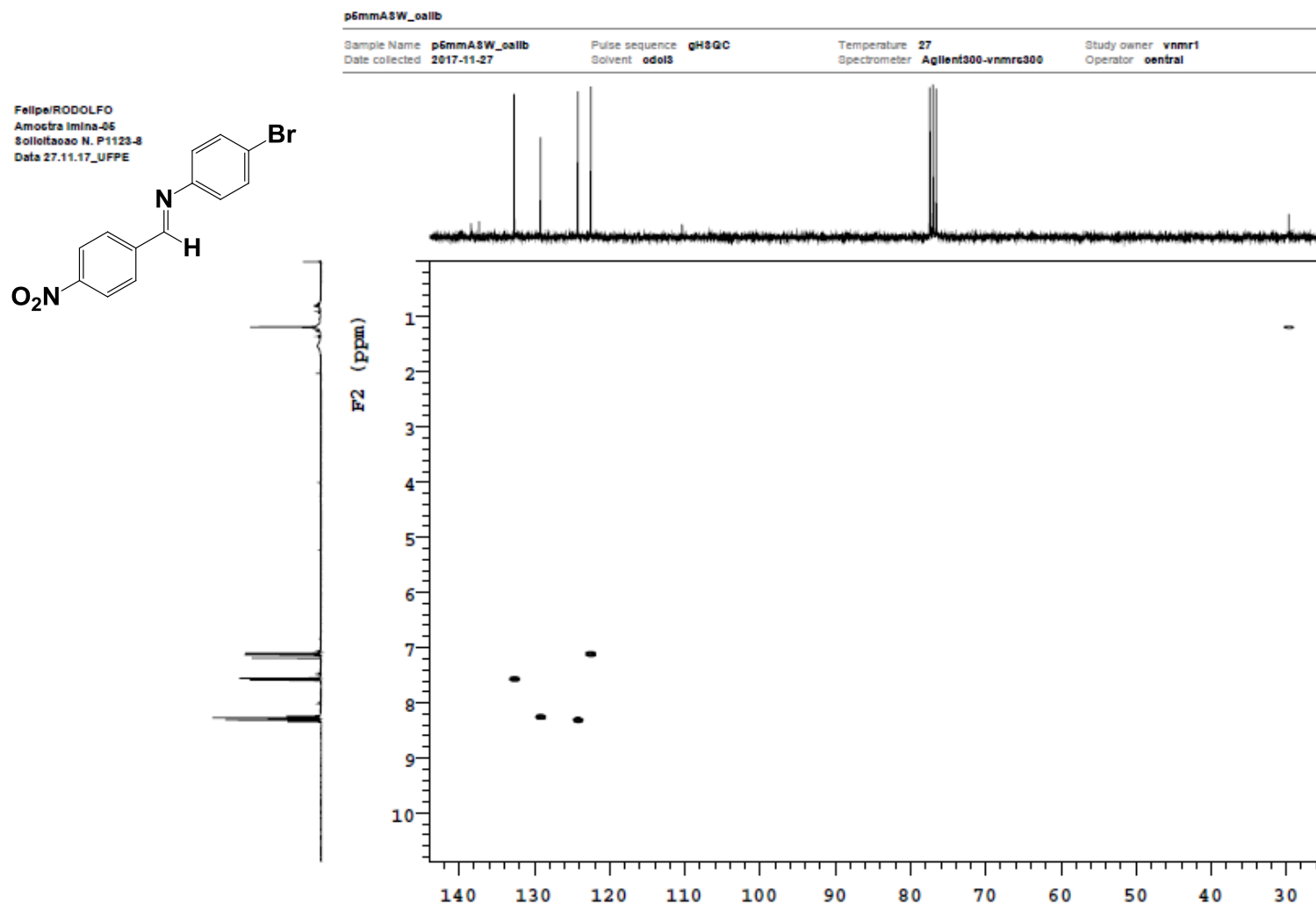


220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 ppm

APÊNDICE P – Imina 73d - COSY

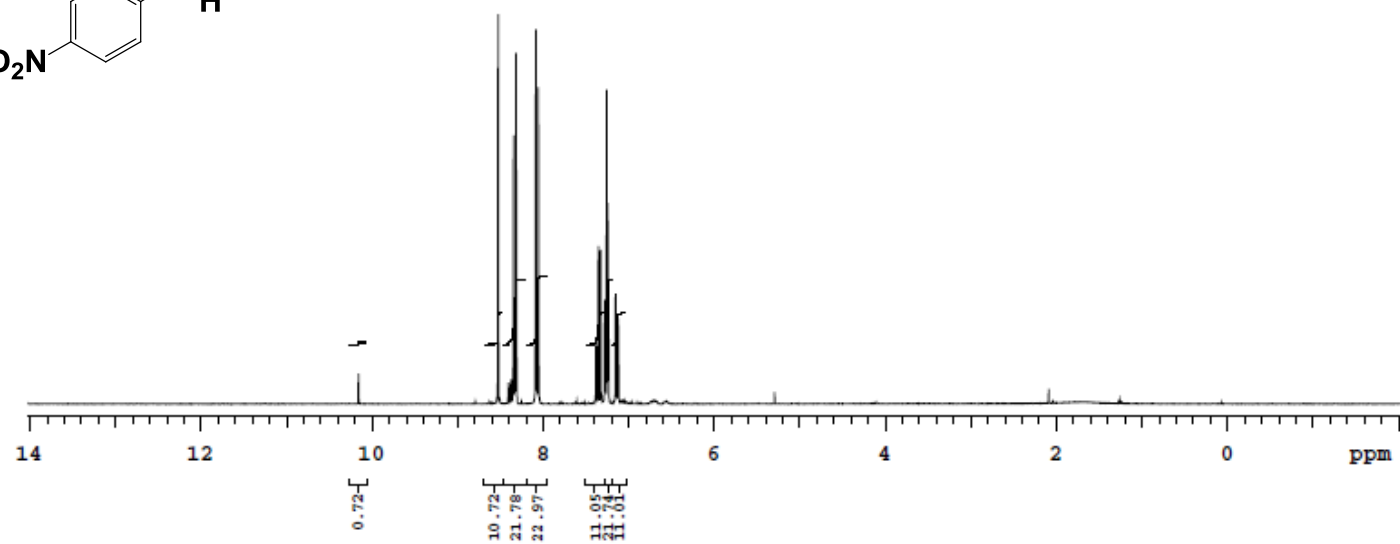
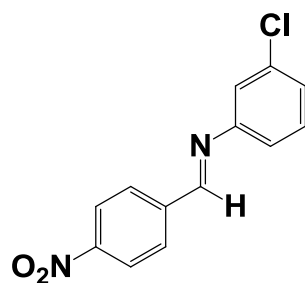
p5mmASW_oalib

Sample Name p5mmASW_oalib
Date collected 2017-11-27Pulse sequence gCOSY
Solvent odolSTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipe/RODOLFO
Amostra Imina-05
Solito/taoao N. P1123-3
Data 27.11.17_UFPE

APÊNDICE Q – Imina 73d - HSQC

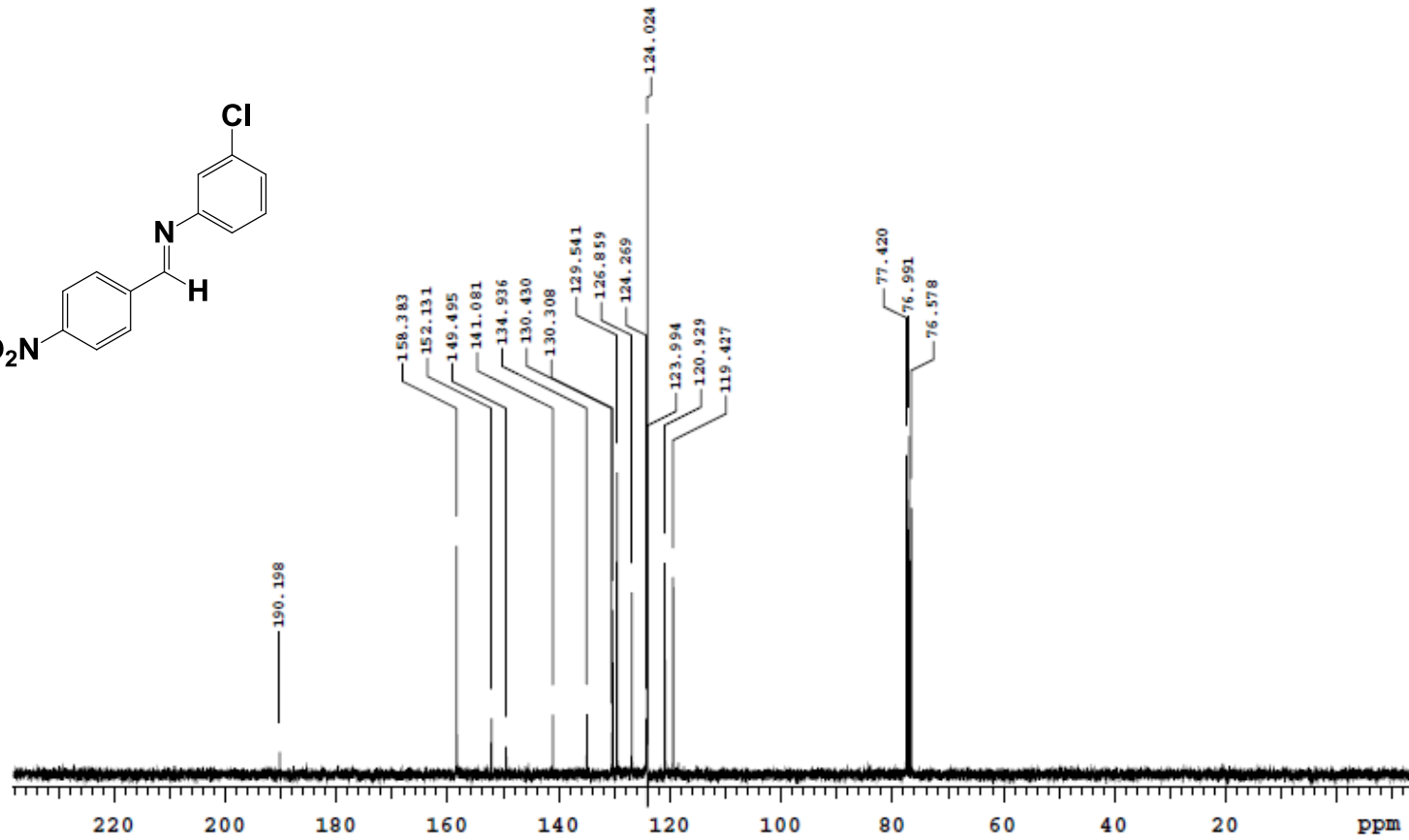
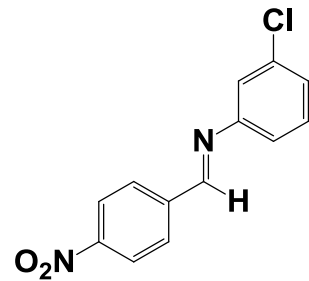
APÊNDICE R – Imina 73e - RMN ¹H 300 MHz

p6mmA8W_oalib

Sample Name p6mmA8W_oalib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence PROTON
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrc300Study owner vnmr1
Operator centralFelipe Rodolfo
Amostra Imina-08
Soluçao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

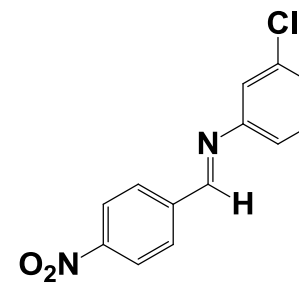
APÊNDICE S – Imina 73e - RMN ¹³C 75 MHz

p6mmA8W_oslib

Sample Name p6mmA8W_oslib
Date collected 2017-11-23Pulse sequence CARBON
Solvent d2oTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipe Rodolfo
Amoetra Imina-08
Soluçao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE

APÊNDICE T – Imina 73e - DEPT

Felipe Rodolfo
Amostra Imina.
Solvente: N. P1121-7
Data: 23.11.17_UFPE



CH3 carbons



CH2 carbons



CH carbons



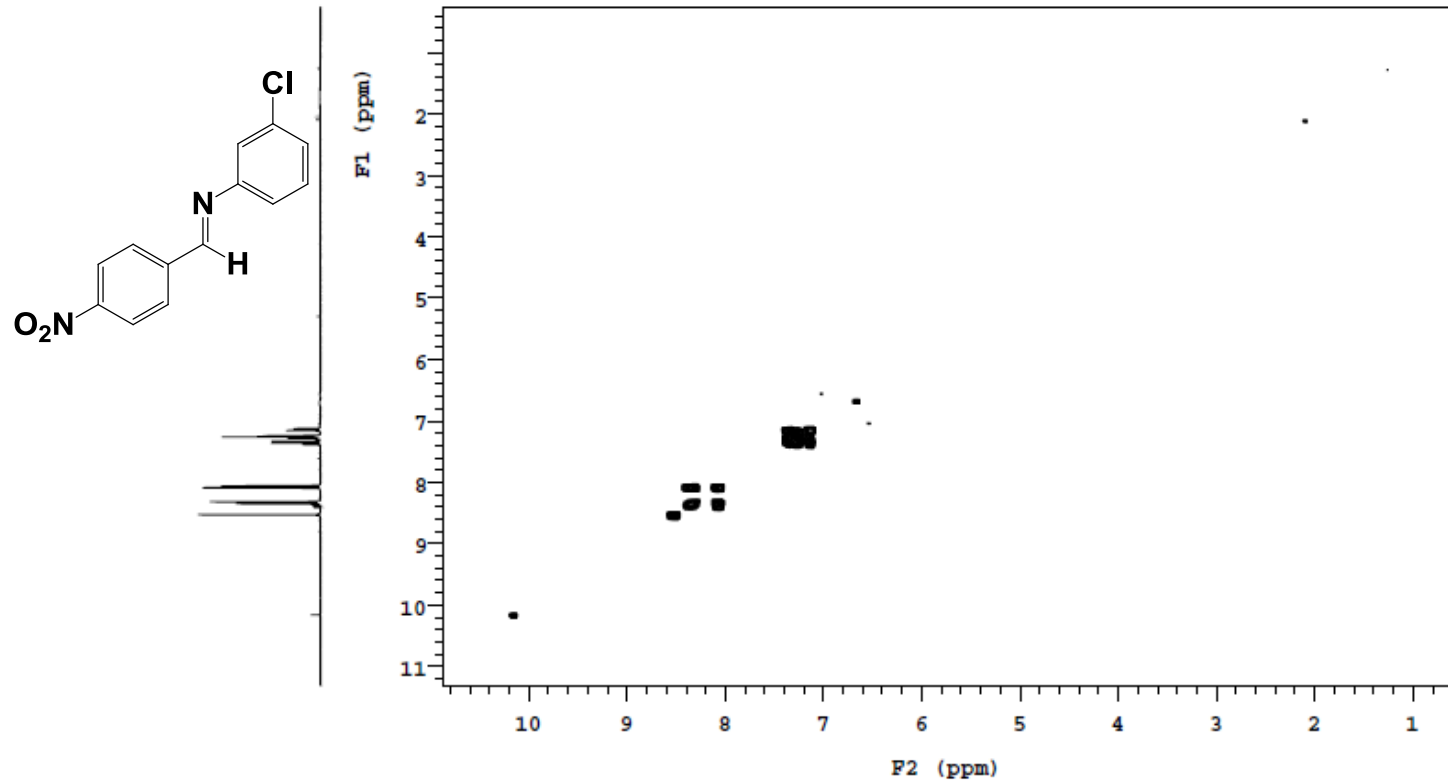
quaternary carbons



220 200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0 ppm

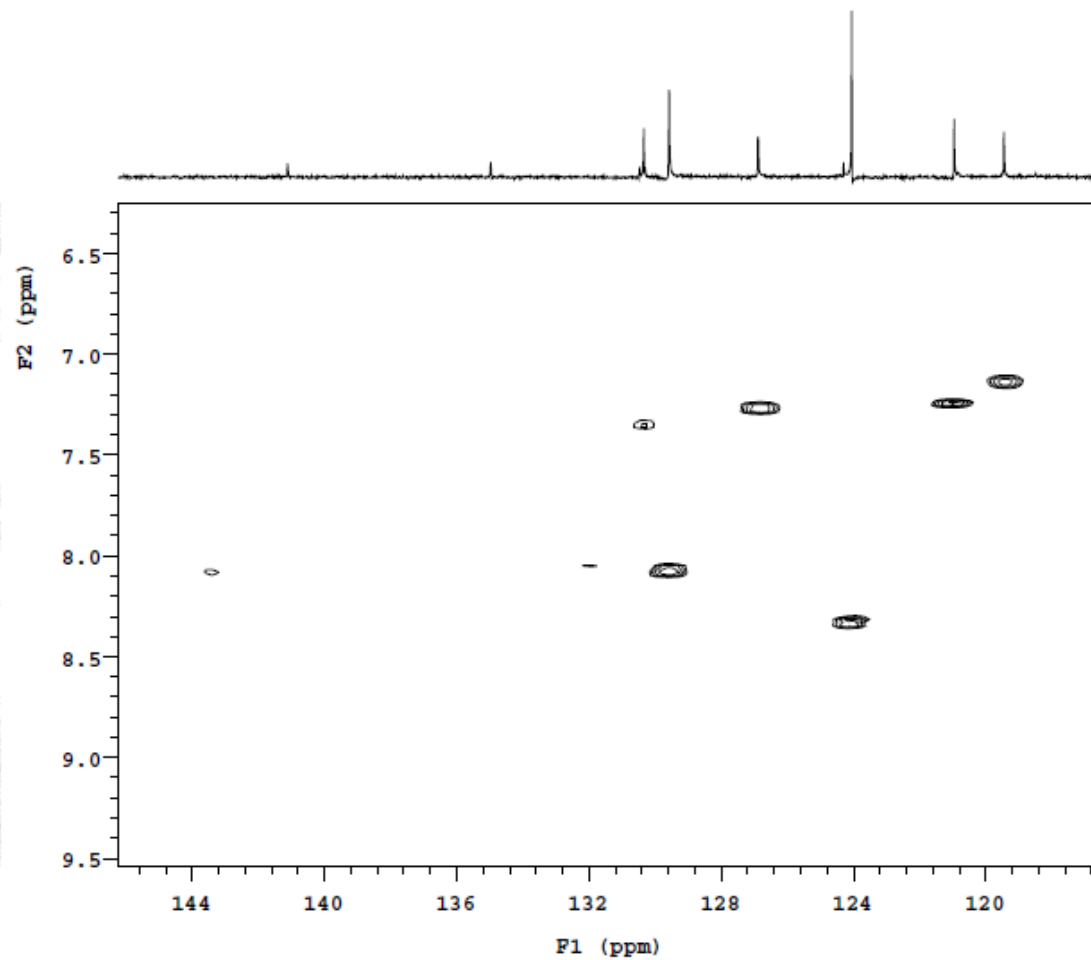
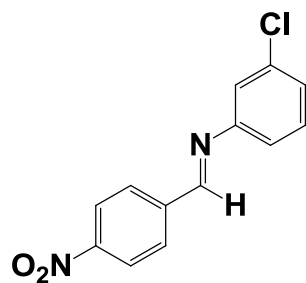
APÊNDICE U – Imina **73e** - COSY

p5mmASW_calib

Sample Name: p5mmASW_calib
Date collected: 2017-11-23Pulse sequence: gCOSY
Solvent: odolsTemperature: 27
Spectrometer: Agilent300-vnmrc300Study owner: vnmr1
Operator: oentralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-08
Solucao N. P1121-8
Data 23.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

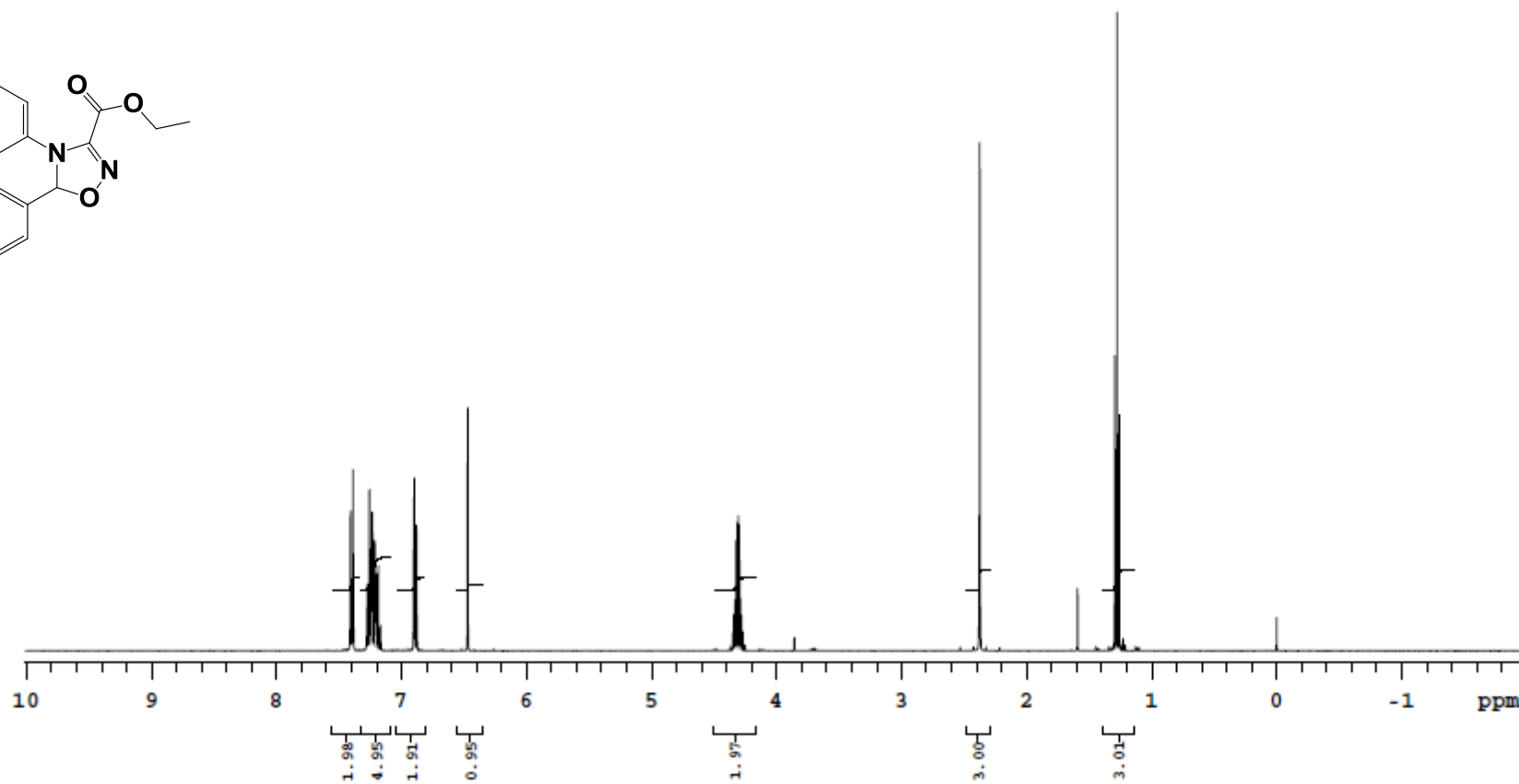
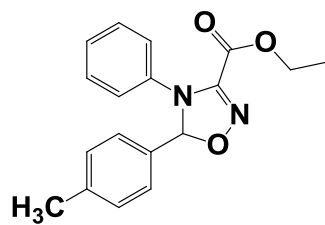
APÊNDICE V – Imina 73e - HSQC

p6mmA8W_oalib

Sample Name: p6mmA8W_oalib
Date collected: 2017-11-23Pulse sequence: gHSGC
Solvent: odolSTemperature: 27
Spectrometer: Agilent300-vnmr300Study owner: vnmr1
Operator: oentralFelipe/Rodolfo
Amostra Imina-08
Soluçao N. P1121-8
Data 28.11.17_UFPE
RMN 300 MHz

APÊNDICE X – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - RMN ^1H 400 MHz

AMH

Sample Name **AMH**
Date collected **2017-08-18**Pulse sequence **PROTON**
Solvent **cdcl3**Temperature **27**
Spectrometer **varian400-vnmr400**Study owner **vnmr1**
Operator **operador**Felipe/RODOLFO
Amostra FNC-01
Soluto/ao N. P0512-18
Data 18.08.17_UFPE

APÊNDICE Z – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - RMN ¹³C 100 MHz

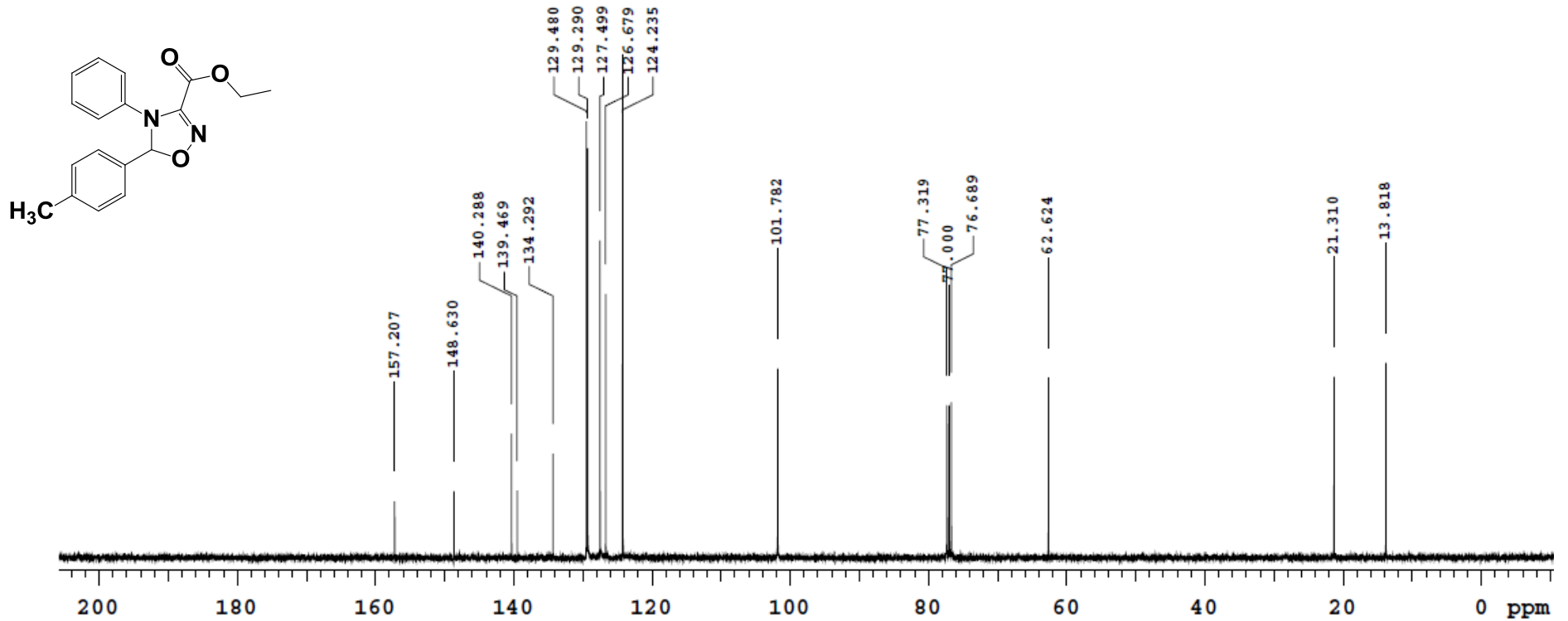
Sample Name **ACMD01**
Date collected **2017-06-19**

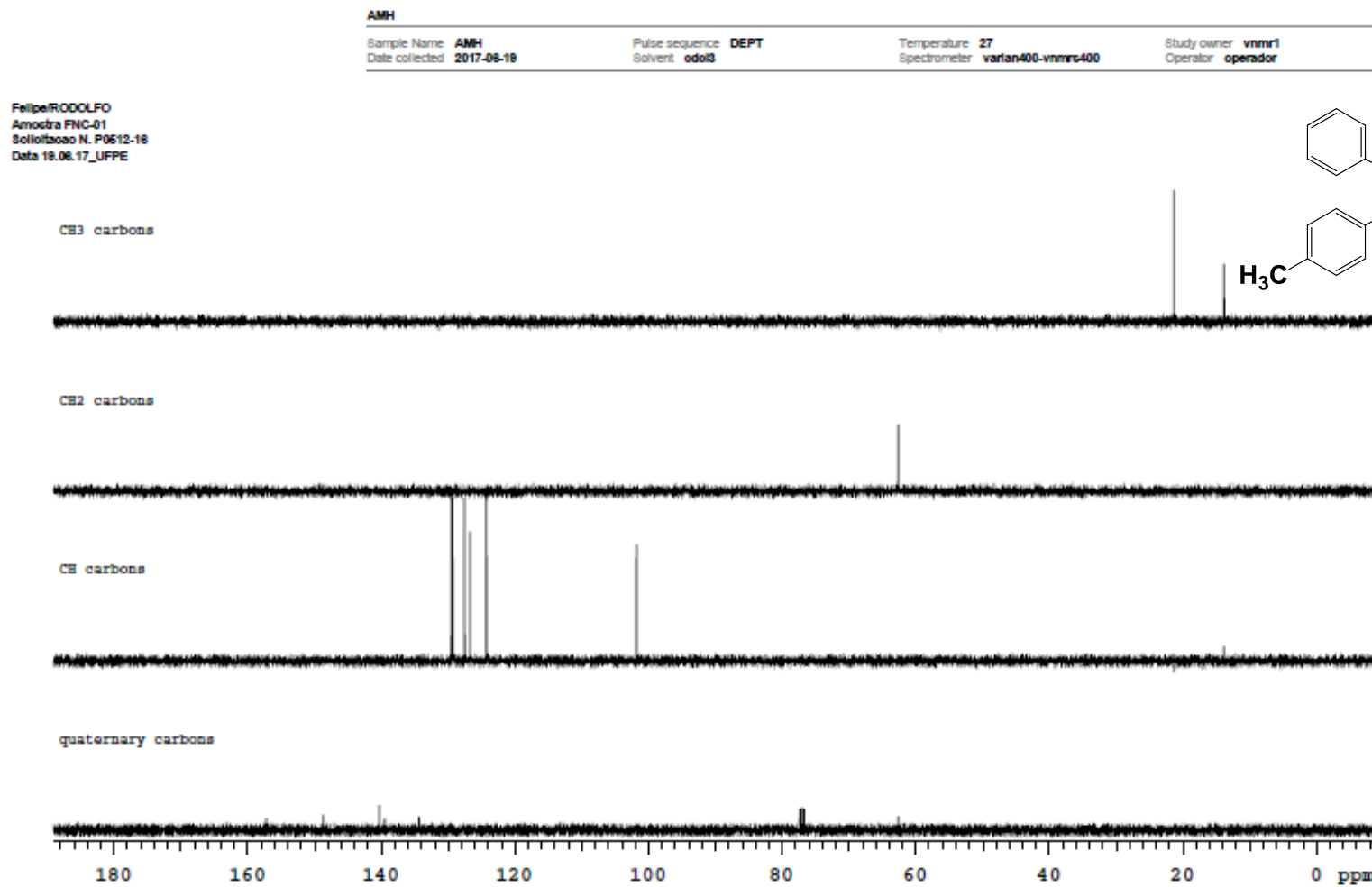
Pulse sequence **CARBON**
Solvent **cdcl3**

Temperature **27**
Spectrometer **varian400-vnmrs400**

Study owner **vnmr1**
Operator **operador**

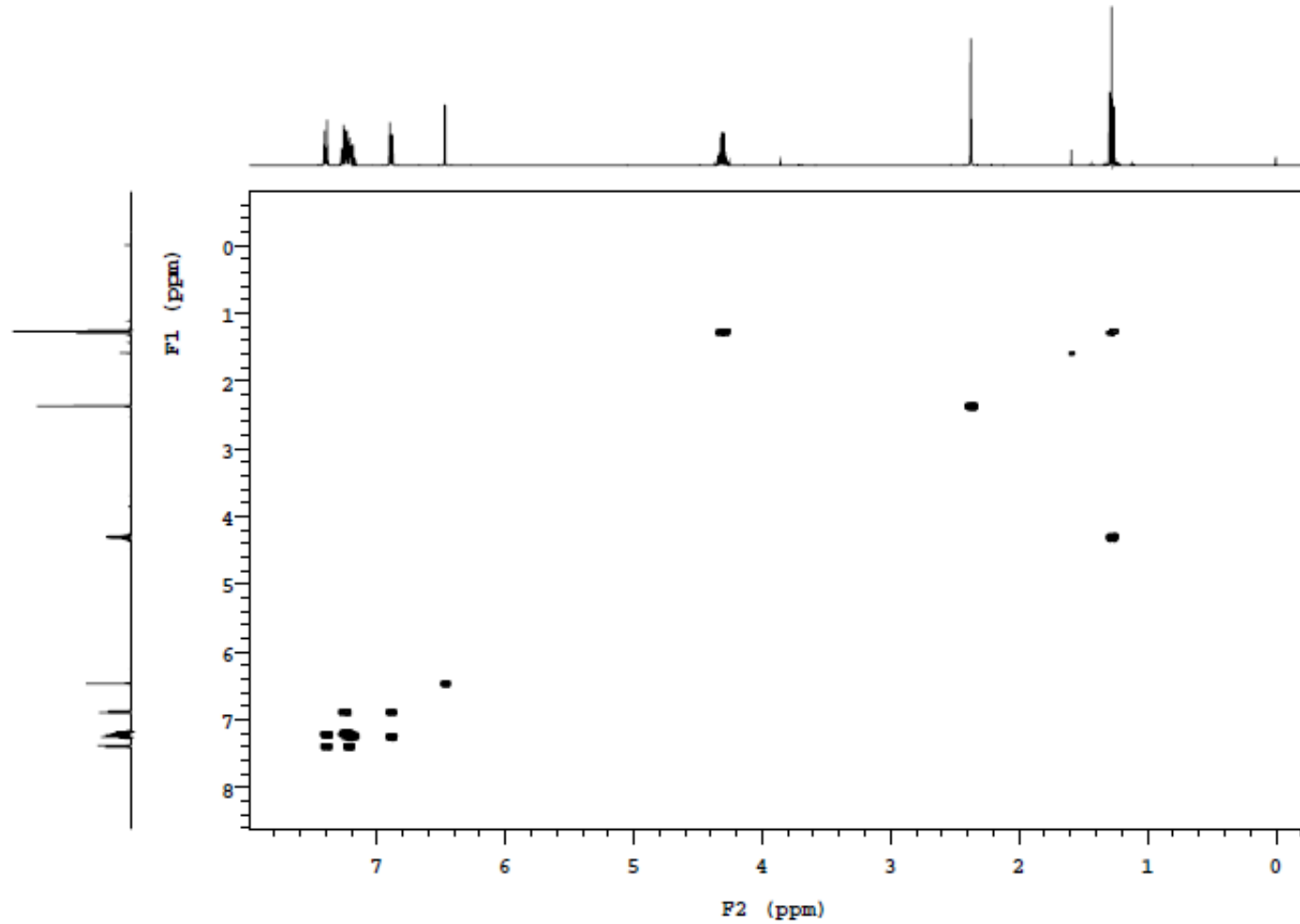
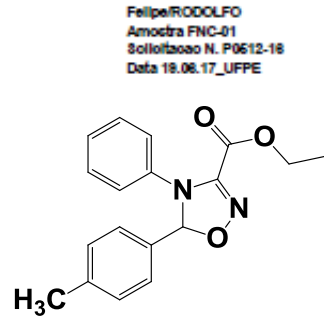
Felipe/RODOLFO
Amostra FNC-01
Solicitacao N. P0512-16
Data 19.06.17_UFPE



APÊNDICE AA – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - DEPT

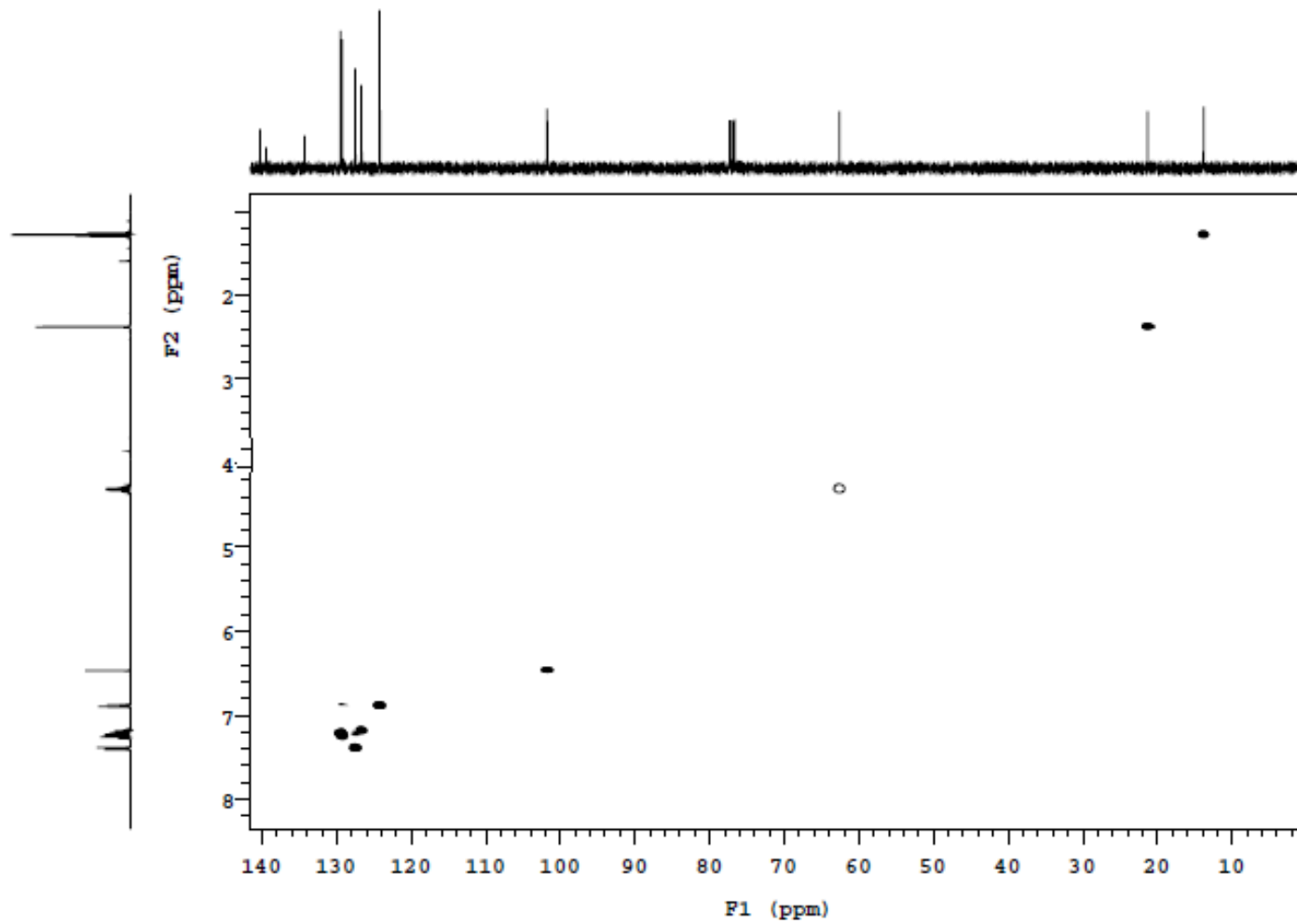
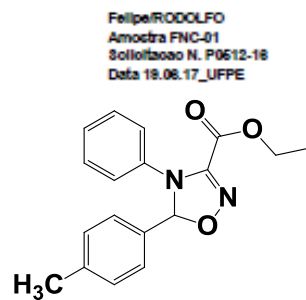
APÊNDICE AB – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - COSY

AMH

Sample Name: AMH
Date collected: 2017-08-18Pulse sequence: gCOSY
Solvent: dd03Temperature: 27
Spectrometer: varian400-vnmr-400Study owner: vnmr1
Operator: operador

APÊNDICE AC – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - HSQC

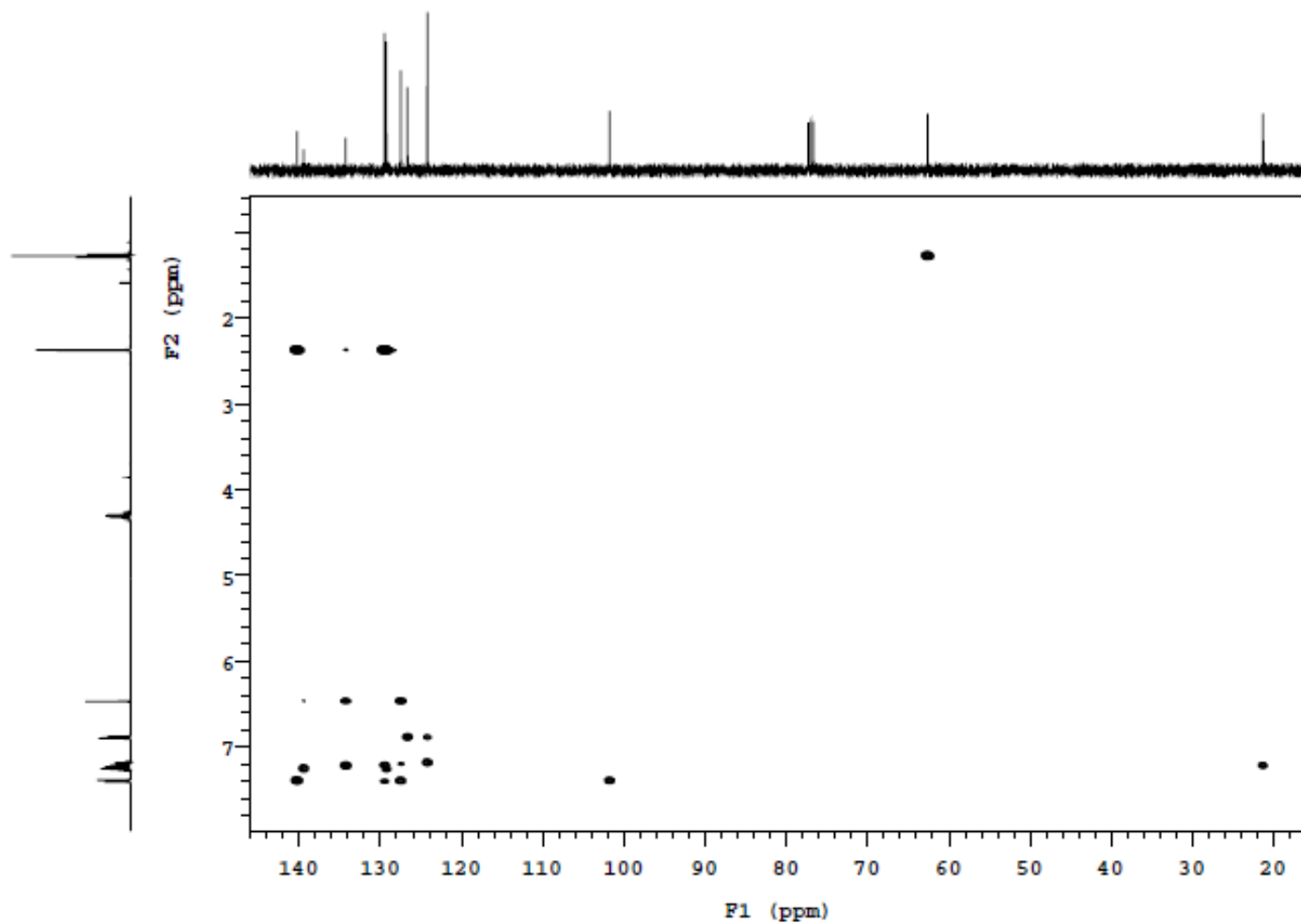
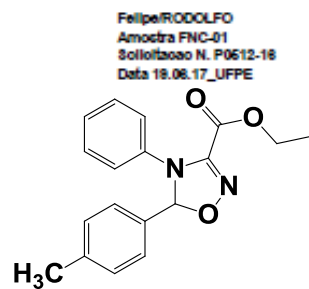
AMH

Sample Name: AMH
Date collected: 2017-08-18Pulse sequence: gHSQC
Solvent: odol8Temperature: 27
Spectrometer: varian400-vnmrs400Study owner: vnmr1
Operator: operador

APÊNDICE AD – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74a - HSQC

AMH

Sample Name	AMH	Pulse sequence	gHMBC	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-18	Solvent	odol3	Spectrometer	varian400-vnmr3-400	Operator	operador

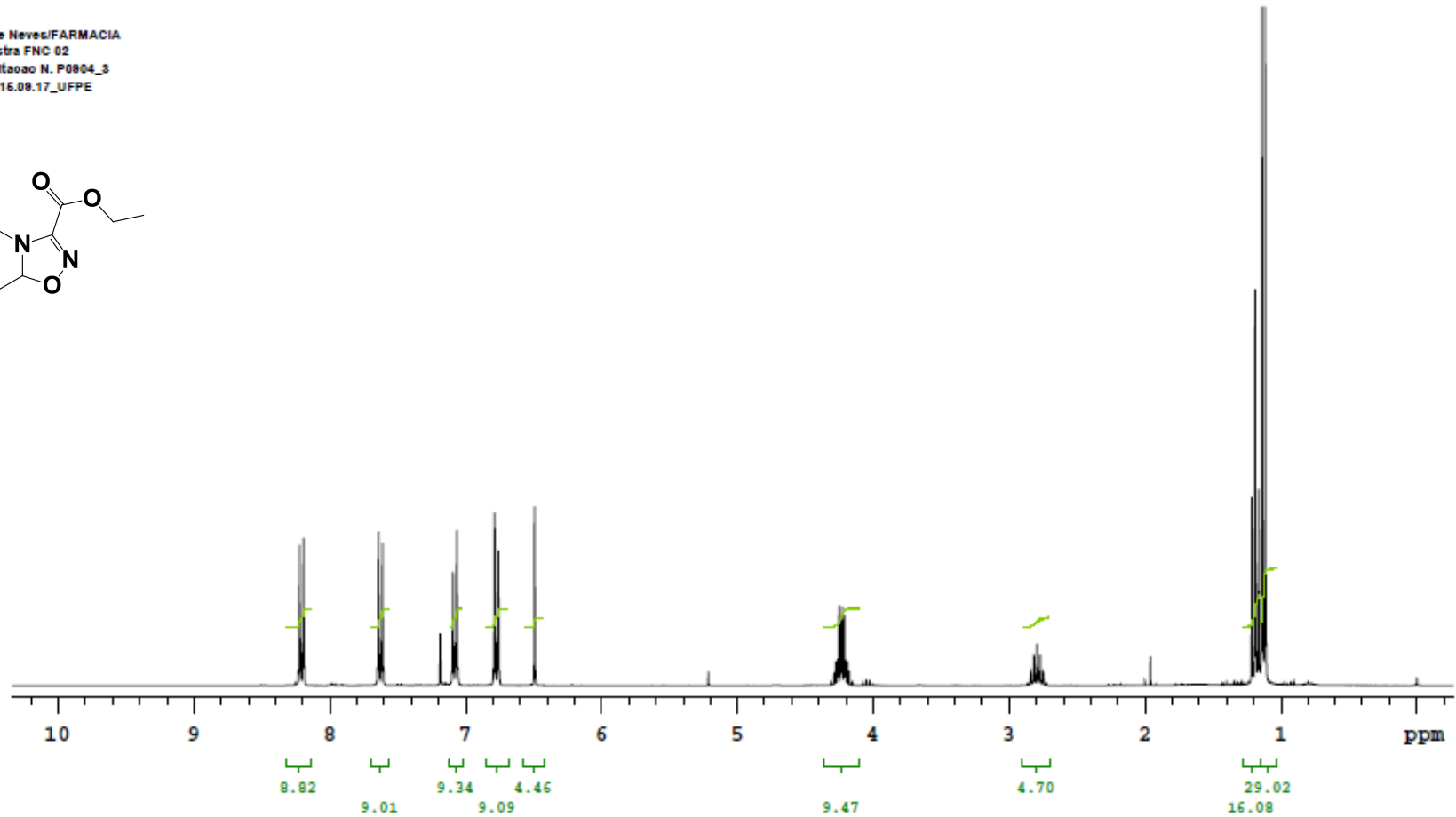
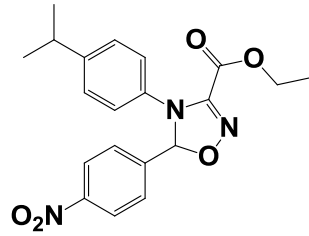


APÊNDICE AE – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74b - ^1H RMN 300 MHz

P0804_3

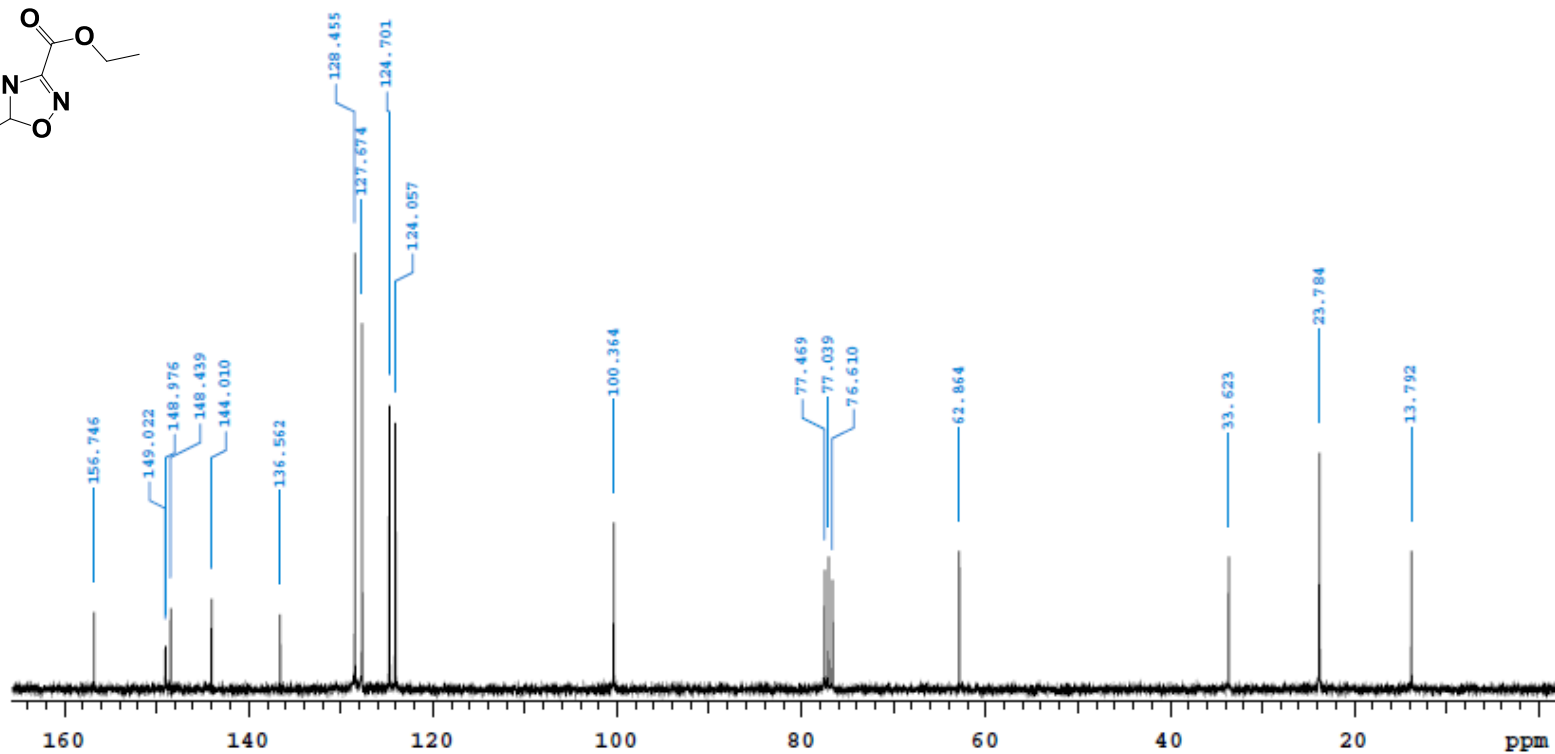
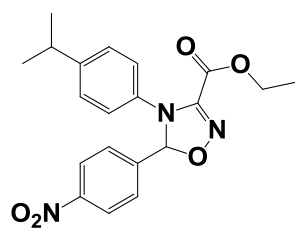
Sample Name	P0804_3	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-15	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300-vnmrs300	Operator	central

Felipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solicitação N. P0804_3
Data 16.08.17_UFPE



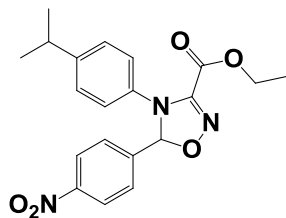
APÊNDICE AF – Cicloaduto Oxadiazolina Éster **74b** - ^{13}C RMN 75 MHz

P0804_3

Sample Name P0804_3
Date collected 2017-08-16Pulse sequence CARBON
Solvent cdcl3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrc300Study owner vnmr1
Operator ocentralFelipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solicitação N. P0804_3
Data 16.08.17_UFPE

APÊNDICE AG – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74b - DEPT

Felipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solicitação N. P0904_3
Data 16.08.17_UFPE



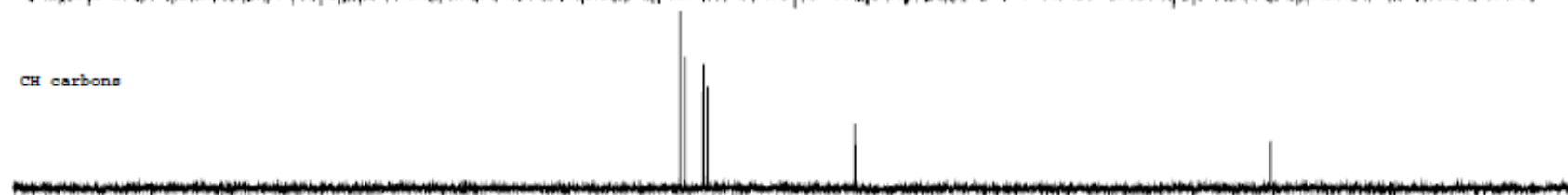
CH3 carbons



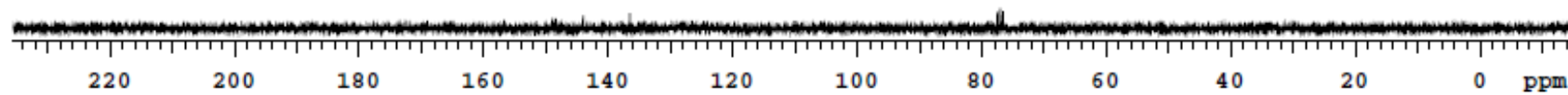
CH2 carbons



CH carbons

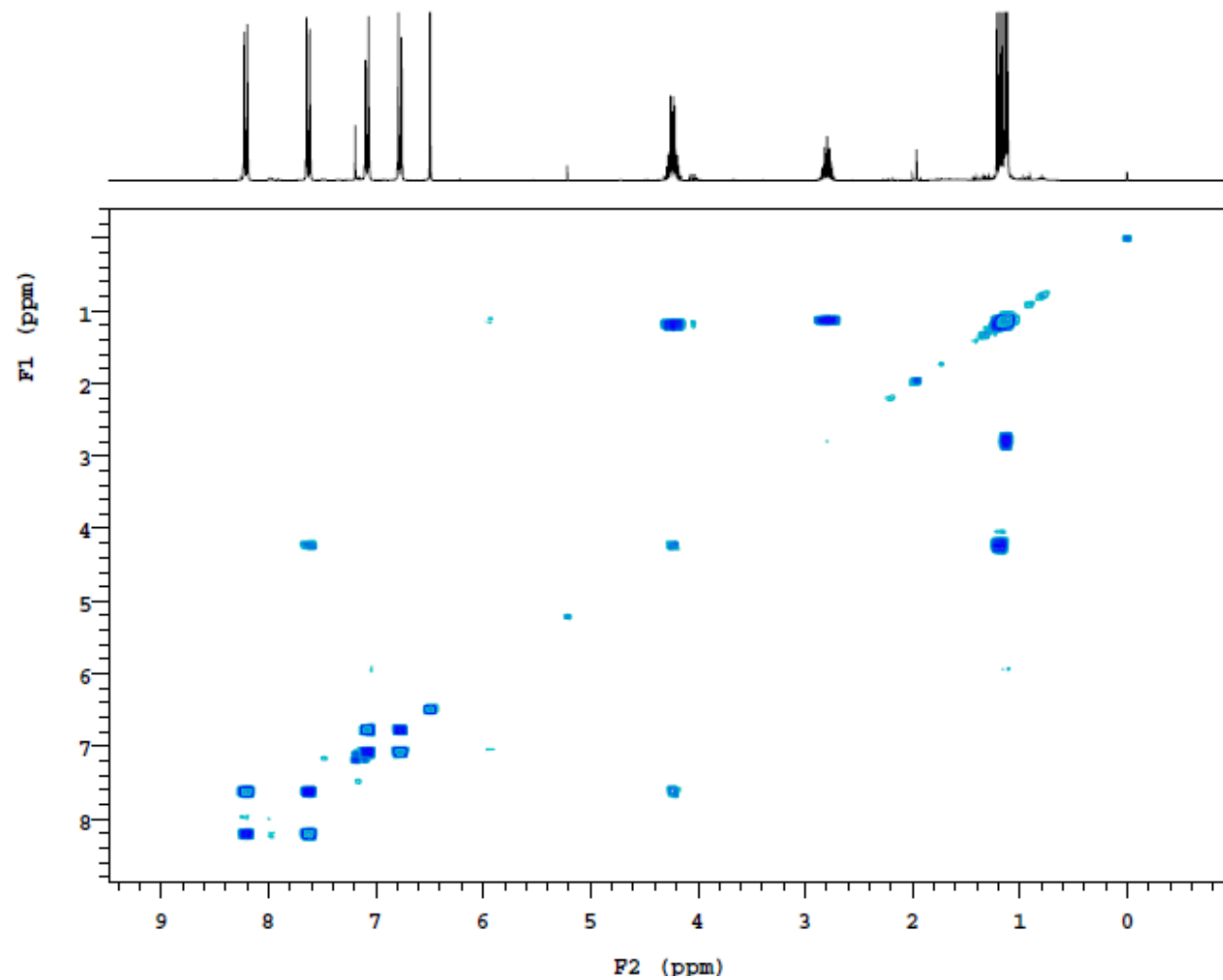
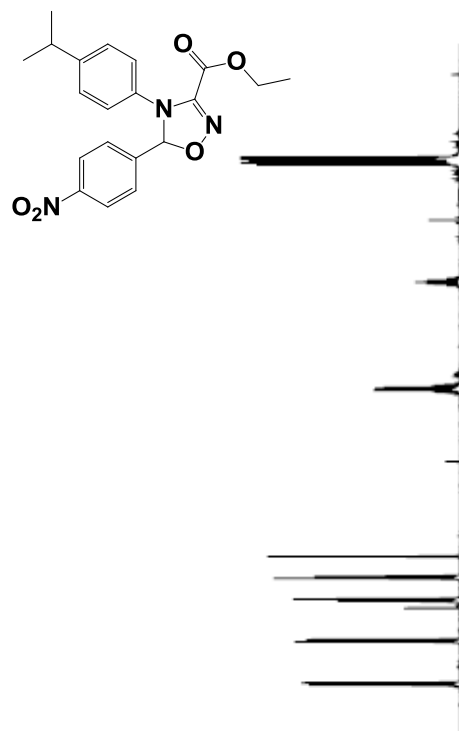


quaternary carbons



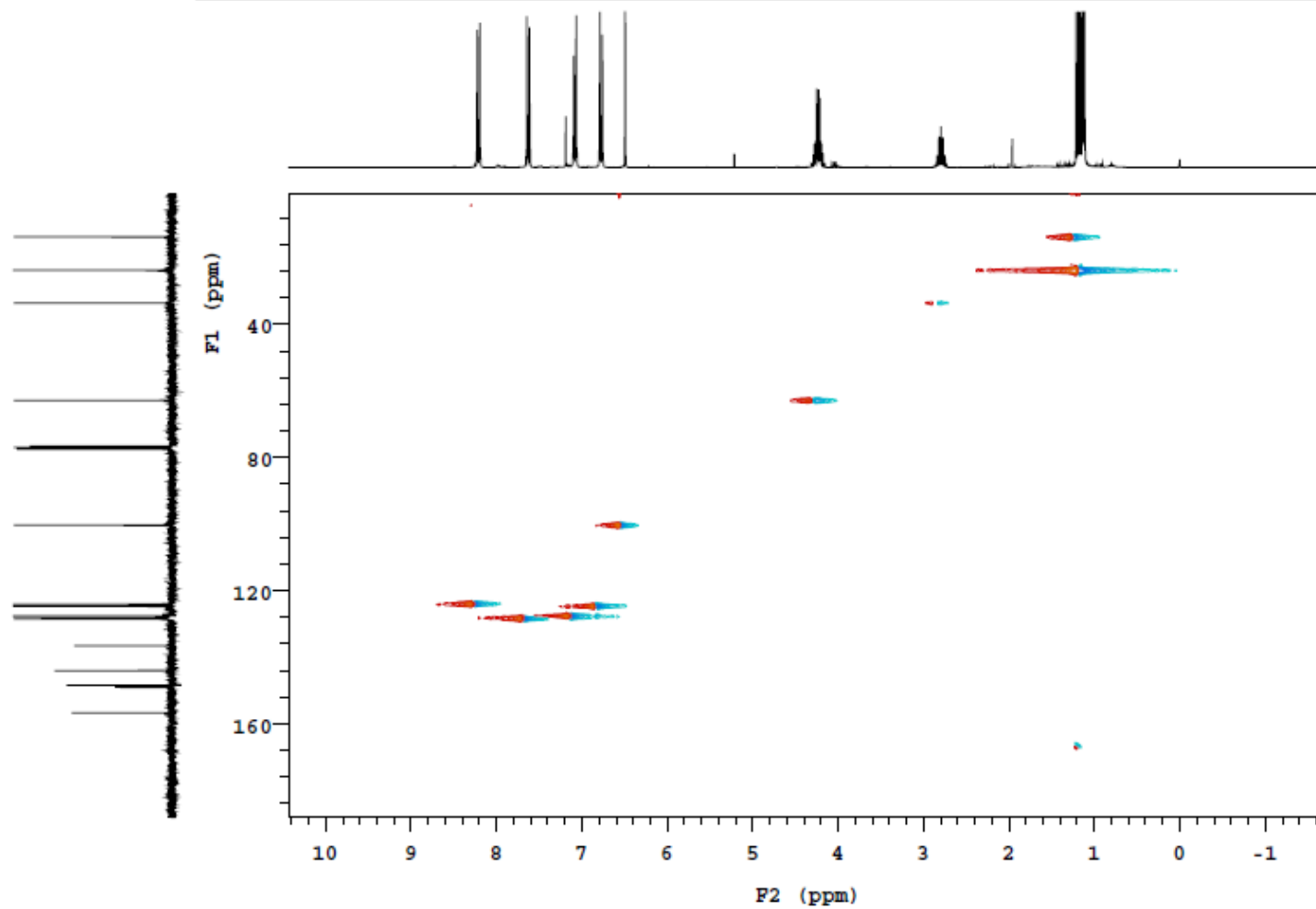
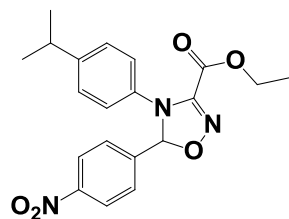
APÊNDICE AH – Cicloaduto Oxadiazolina Éster **74b** - COSY

P0804_3

Sample Name: P0804_3
Date collected: 2017-08-15Pulse sequence: gCOSY
Solvent: odol3Temperature: 27
Spectrometer: Agilent300-vnmr300Study owner: vnmr1
Operator: centralFelipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solitoação N. P0804_3
Data 15.08.17_UFPE

APÊNDICE AI – Cicloaduto Oxadiazolina Éster **74b** - HMQC

P0804_3

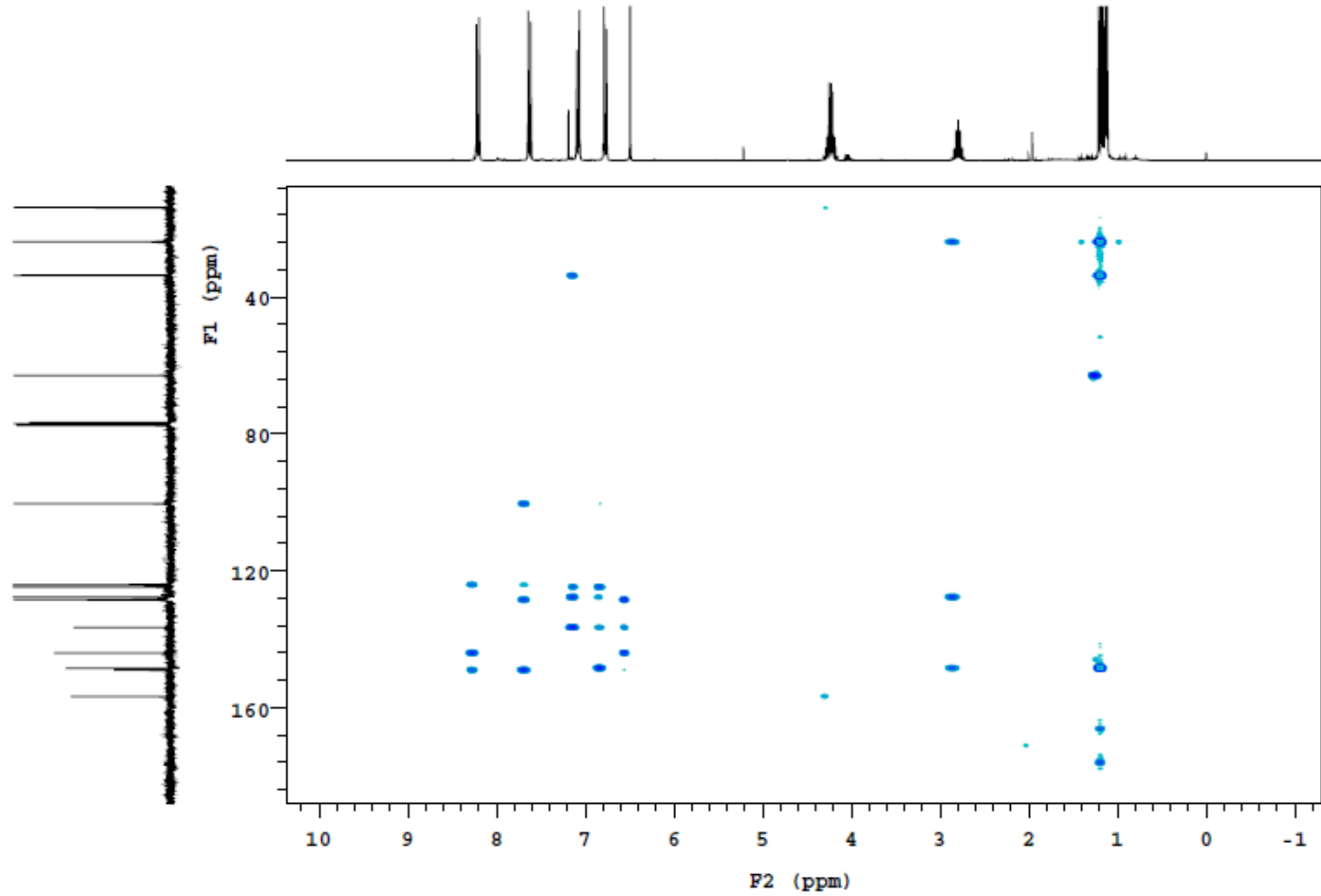
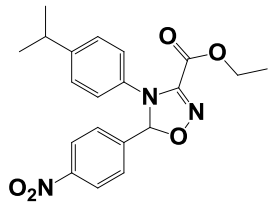
Sample Name **P0804_3**
Date collected **2017-08-16**Pulse sequence **gHMGC**
Solvent **cdcl3**Temperature **27**
Spectrometer **Agilent300-vnmrc300**Study owner **vnmr1**
Operator **oentral**Felipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solicitacao N. P0804_3
Data 16.08.17_UFPE

APÊNDICE AJ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74b - HMBC

P0804_3

Sample Name	P0804_3	Pulse sequence	gHMBC	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-16	Solvent	cdcl3	Spectrometer	Agilent300-nmrs300	Operator	central

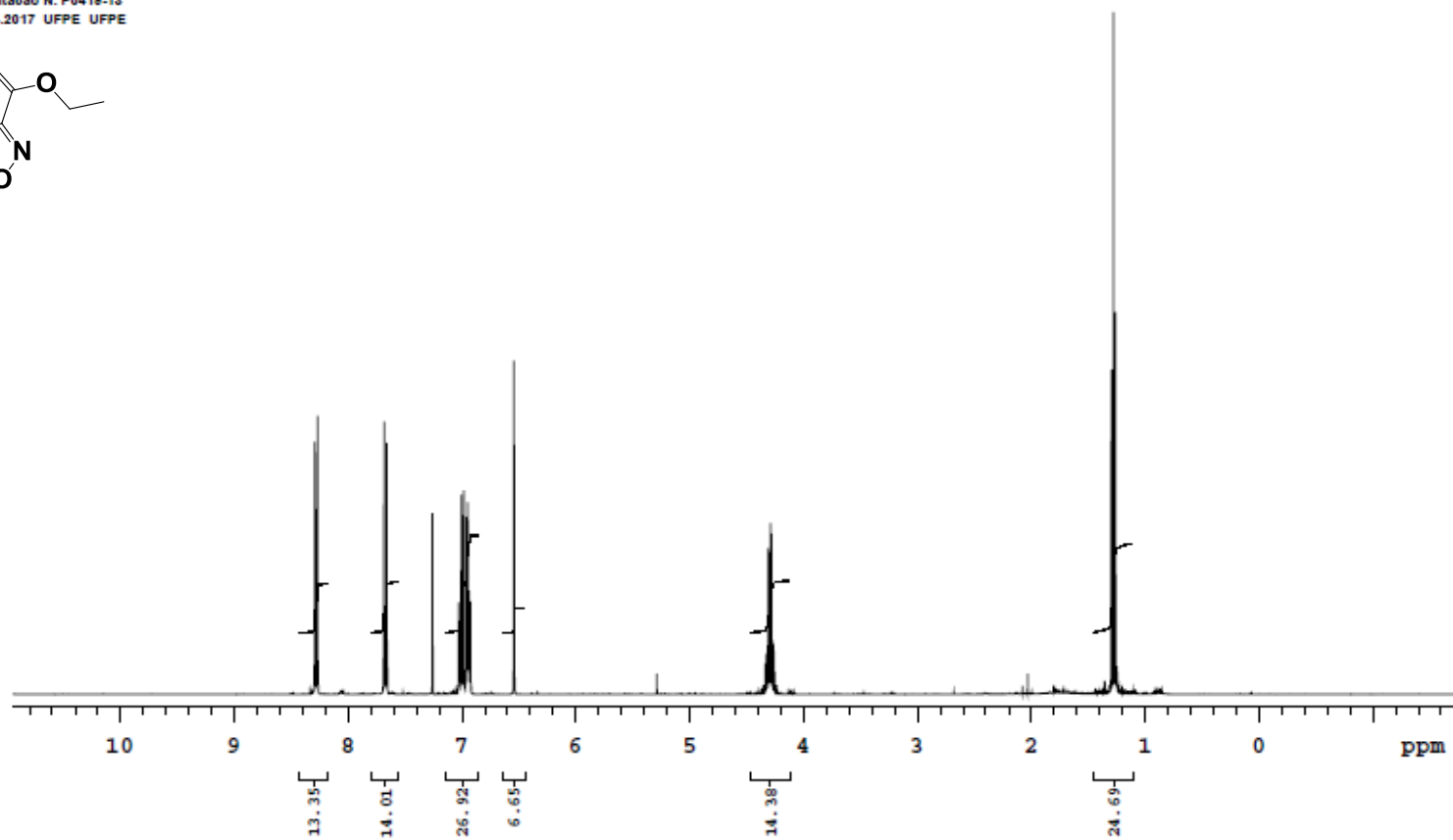
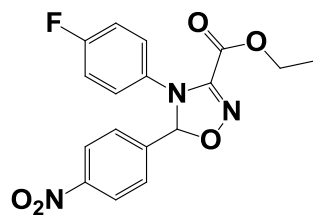
Felipe Neves/FARMACIA
Amostra FNC 02
Solucao N. P0804_3
Data 16.08.17_UFPE



APÊNDICE AL – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - RMN ^1H 400MHz

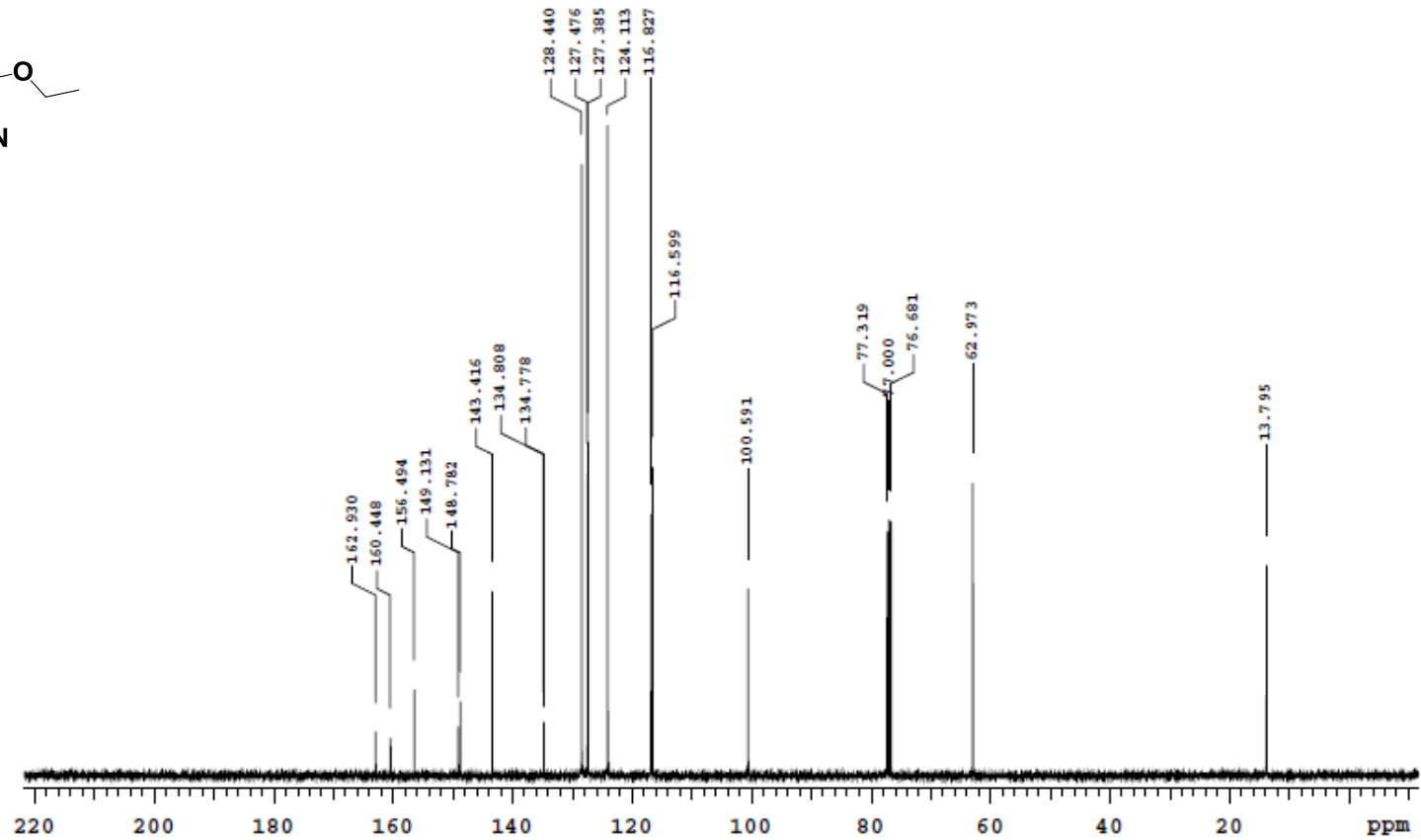
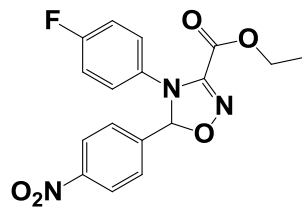
Sample Name	Pulse sequence	PROTON	Temperature	27	Study owner	ricardo	
Date collected	2017-04-26	Solvent	cdcl3	Spectrometer	varian400-vnmr400	Operator	operador

Felipe/Antonio Rodolfo
Amostra FNC03
Solucao N. P0418-13
26.04.2017 UFPE UFPE



APÊNDICE AM – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - RMN ¹³C 100MHz

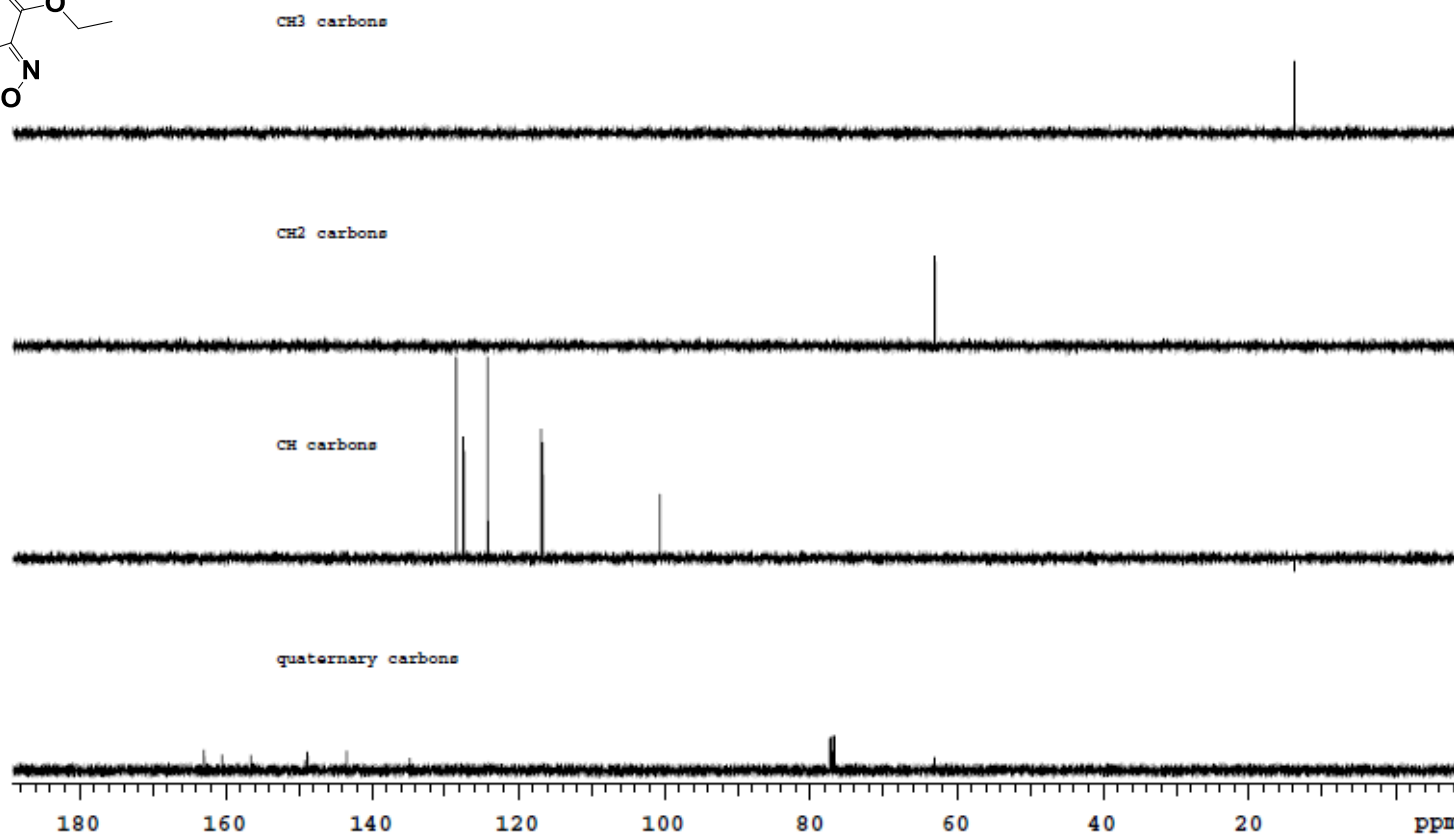
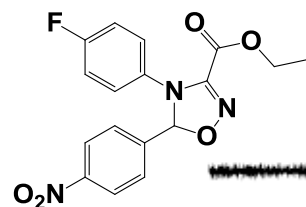
N842_2

Sample Name N842_2
Date collected 2017-04-25Pulse sequence CARBON
Solvent d2oTemperature 27
Spectrometer varian400-vnmrc400Study owner ricardo
Operator operadorFelipe/Antonio Rodolfo
Amostra FNC03
Solicitacao N. P0418-13
25.04.2017 UFPE UFPE

APÊNDICE AN – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - DEPT

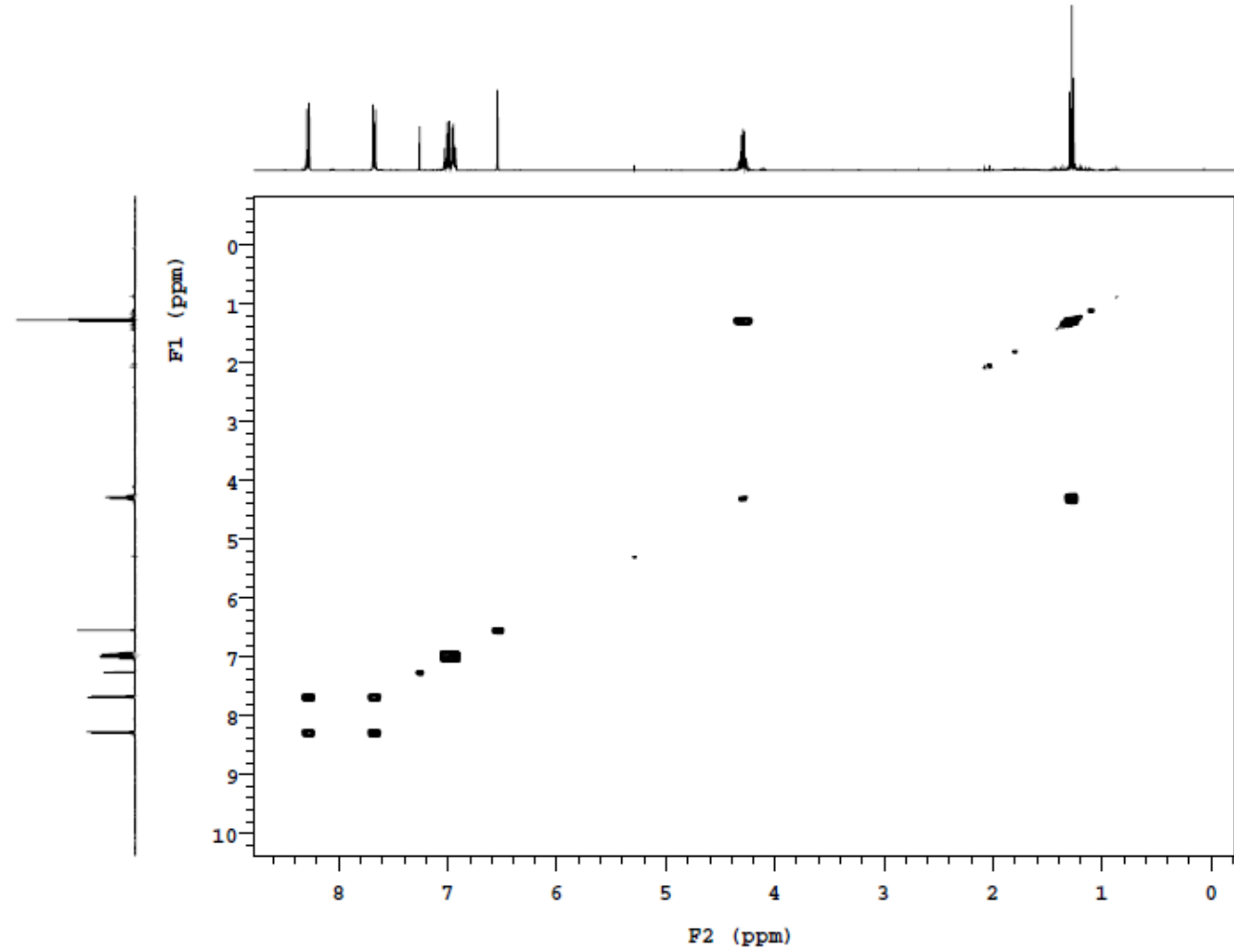
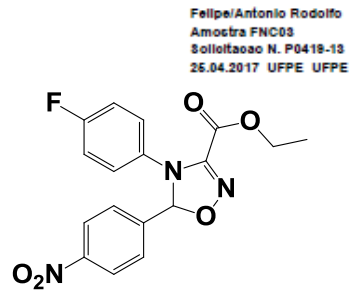
Sample Name	Pulse sequence DEPT	Temperature 27	Study owner riardo
Date collected 2017-04-26	Solvent odol8	Spectrometer varian400-vnmr6400	Operator operador

Felipe/Antonio Rodolfo
Amostra FNC03
Solicitação N. P0418-13
26.04.2017 UFPE UFPE



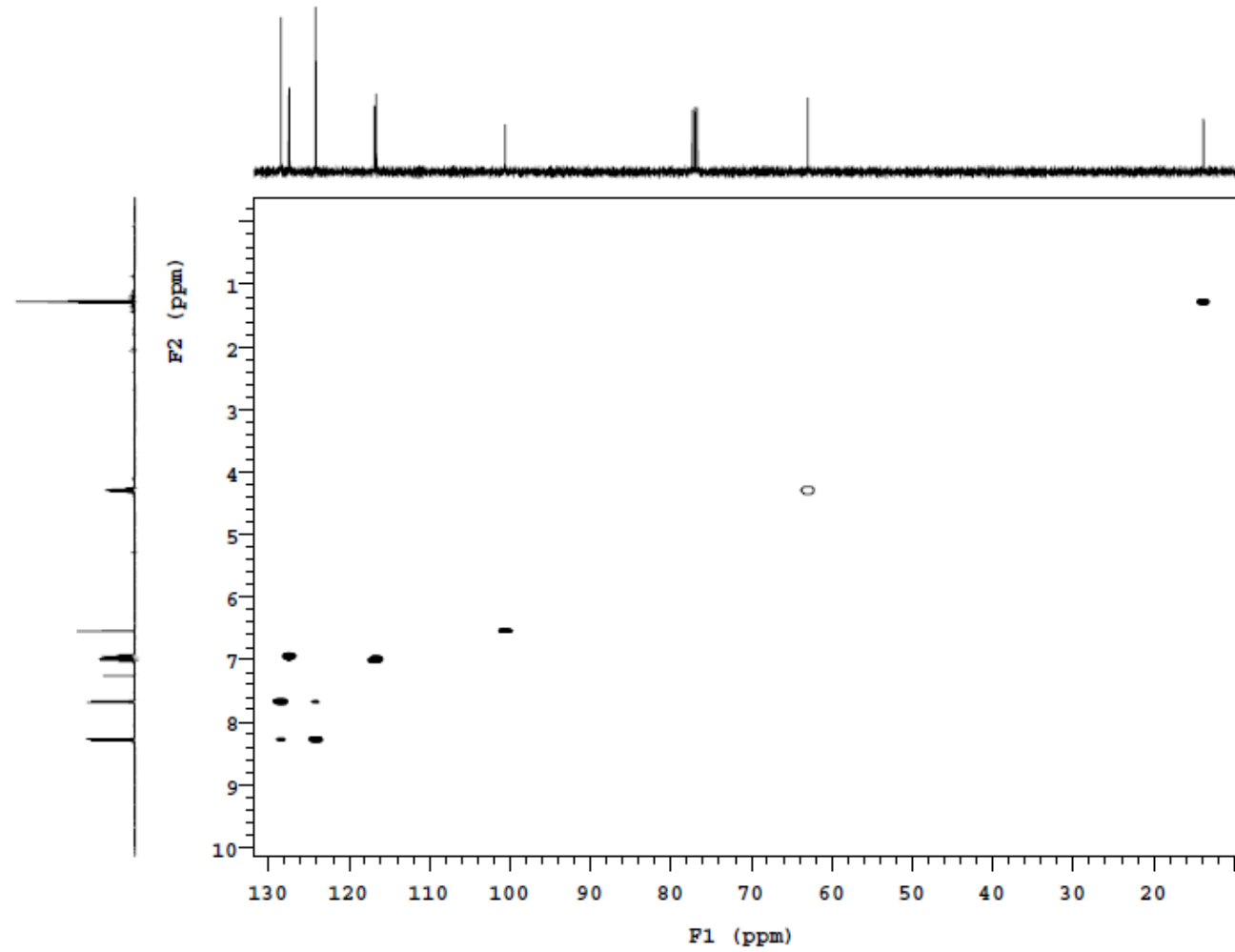
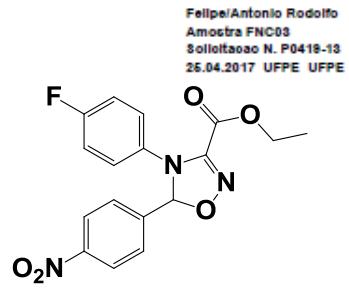
APÊNDICE AO – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - COSY

Sample Name	Pulse sequence gCOSY	Temperature 27	Study owner ricardo
Date collected 2017-04-26	Solvent odol3	Spectrometer varian400-vnmr400	Operator operador



APÊNDICE AP – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - HSQC

Sample Name	Pulse sequence gHMQC	Temperature 27	Study owner ricardo
Date collected 2017-04-26	Solvent cdcl3	Spectrometer varian400-vnmr400	Operator operador



APÊNDICE AQ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74c - HMBC

Sample Name	Pulse sequence	Temperature	Study owner
Date collected	Solvent	Spectrometer	Operator

2017-04-28

gHMBC

27

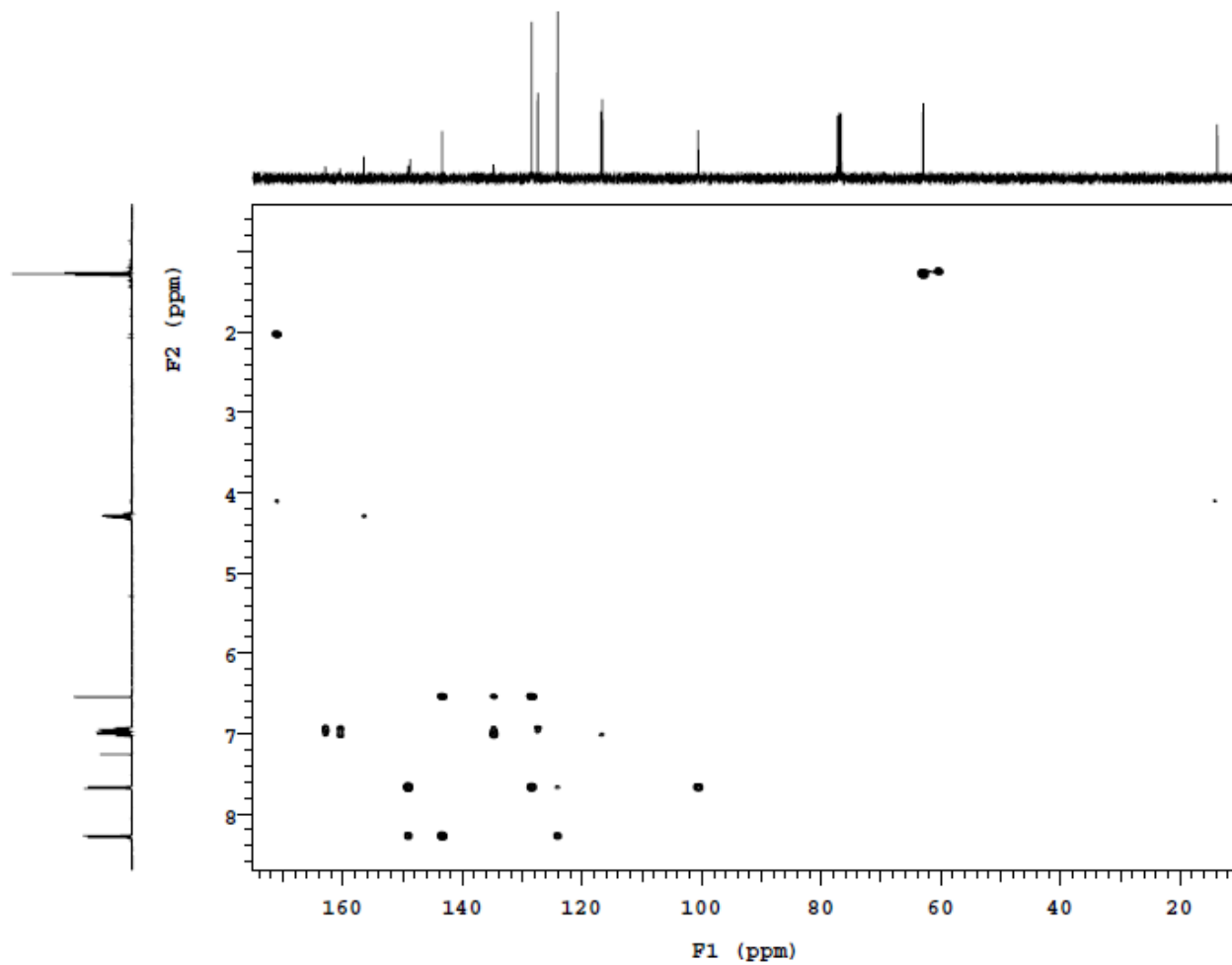
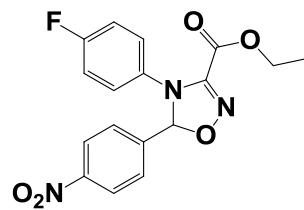
riardo

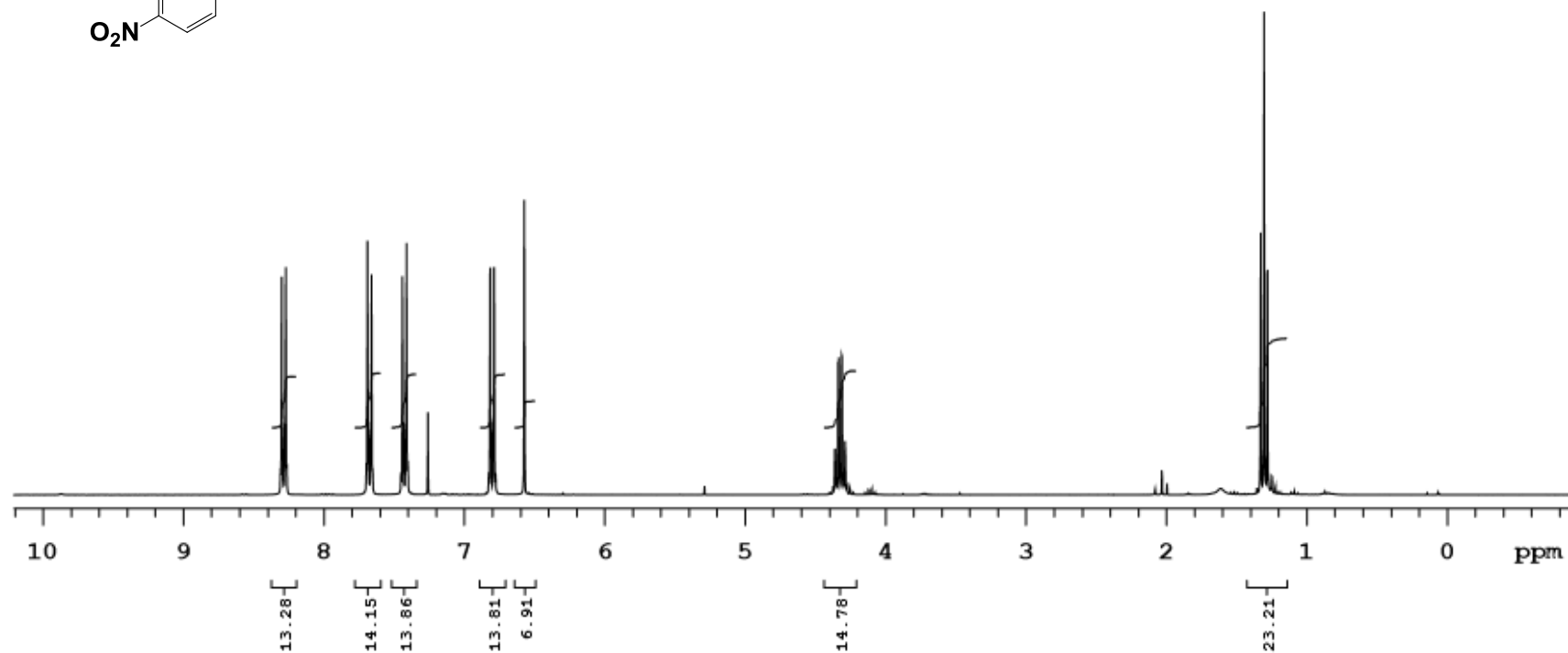
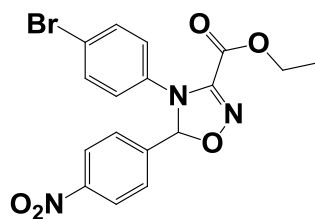
odol3

varian400-nmrs400

operator

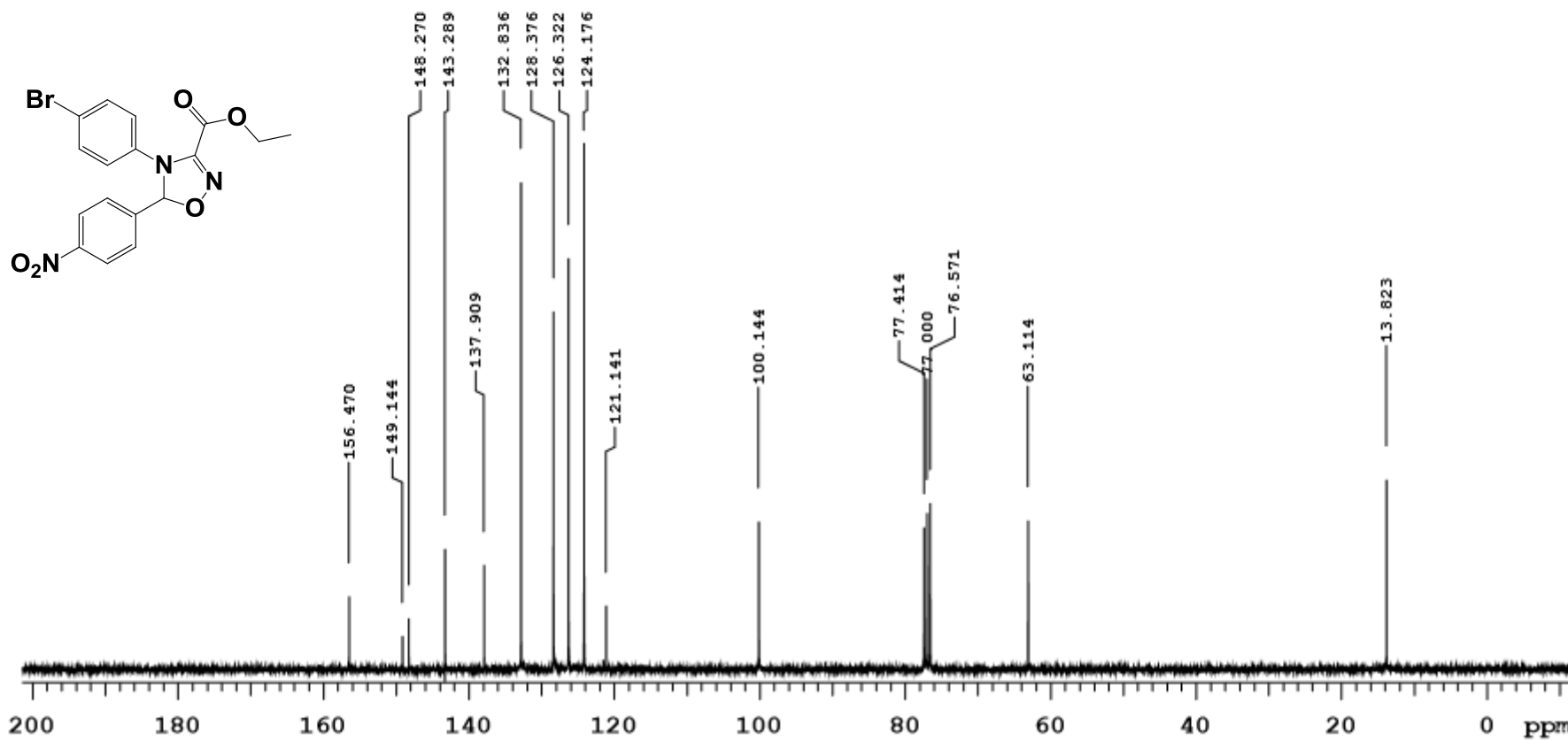
Felipe/Antonio Rodolfo
Amostra FNC68
Solucao N. P0419-13
25.04.2017 UFPE UFPE



APÊNDICE AR – Cicloaduto Oxadiazolina Éster **74d** - RMN ^1H 300MHzSample Name **P1218_9**
Date collected **2018-01-04**Pulse sequence **PROTON**
Solvent **cdcl3**Temperature **27**
Spectrometer **Agilent300-nmrs300**Study owner **central**
Operator **central**Felipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE

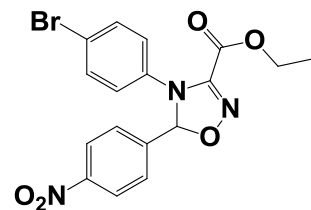
APÊNDICE AS – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74d - RMN ¹³C 75MHz

P1221_2

Sample Name P1221_2
Date collected 2018-01-04Pulse sequence CARBON
Solvent cdcl3Temperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmrs300Study owner central
Operator centralFelipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE

APÊNDICE AT – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74d - DEPT

Felipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE

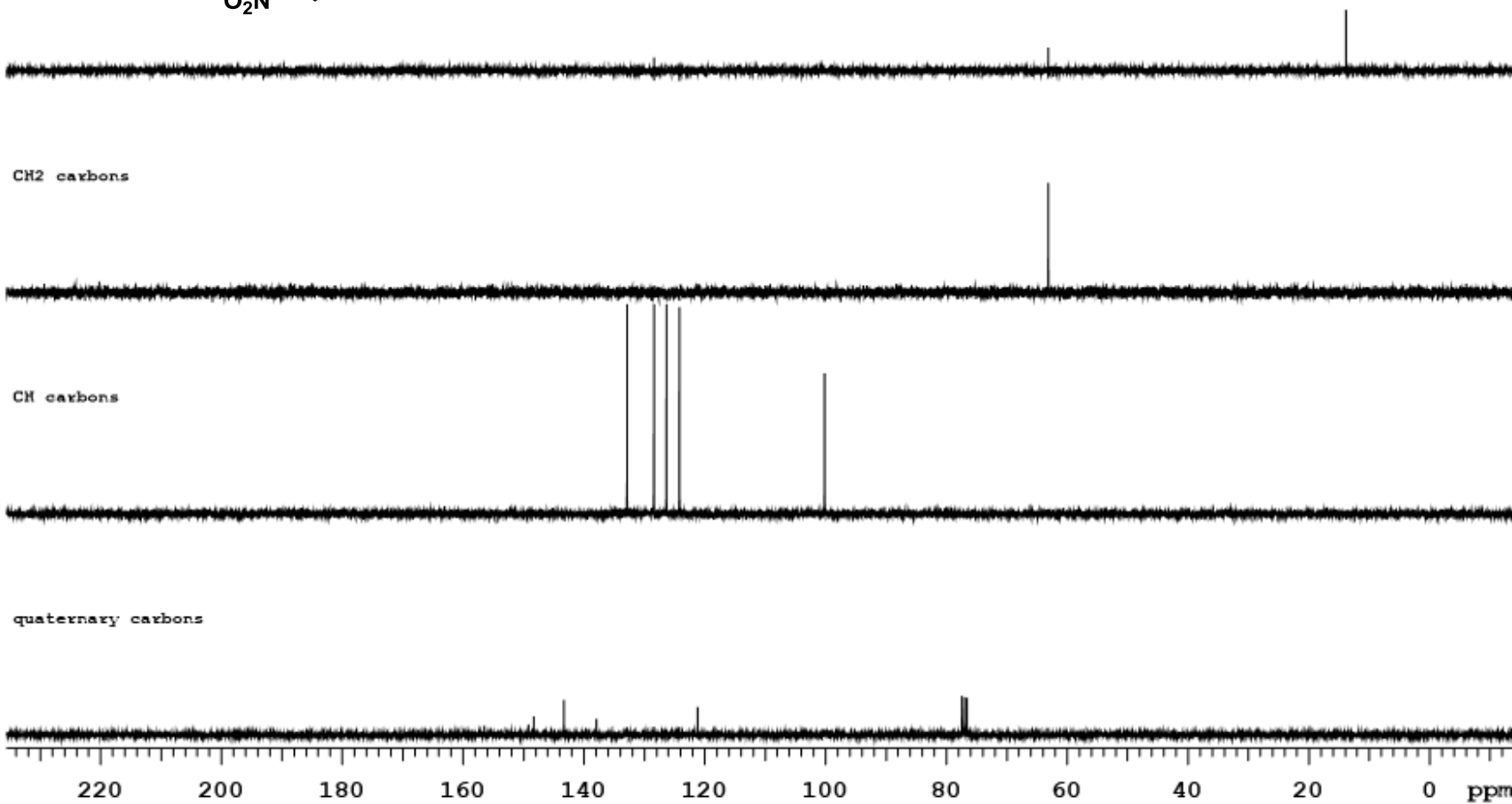


CH3 carbons

CH2 carbons

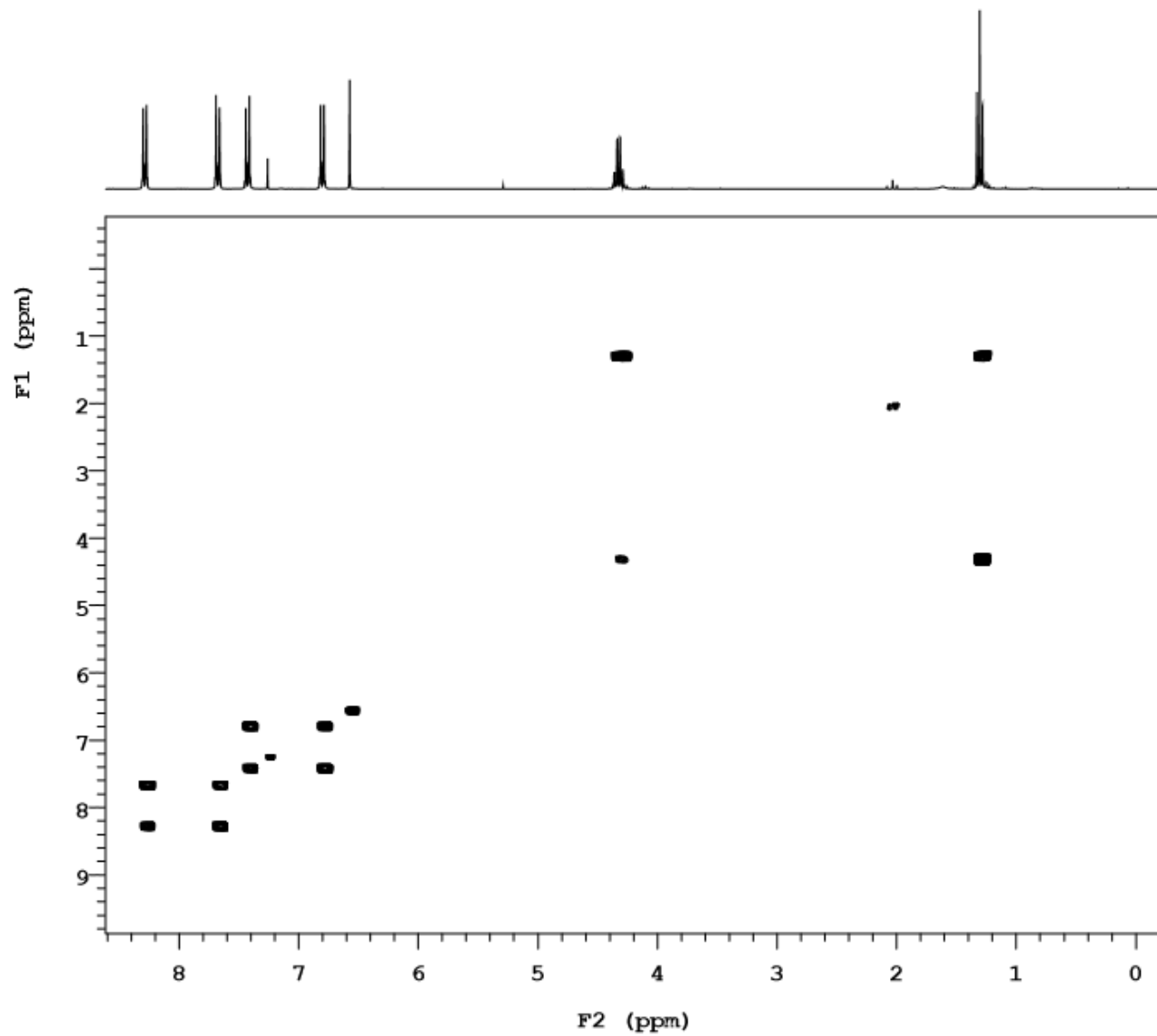
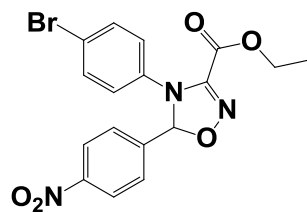
CH carbons

quaternary carbons



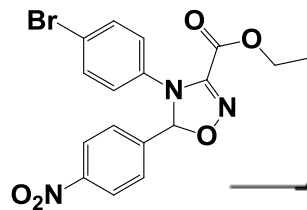
APÊNDICE AU – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74d - COSY

Felipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE

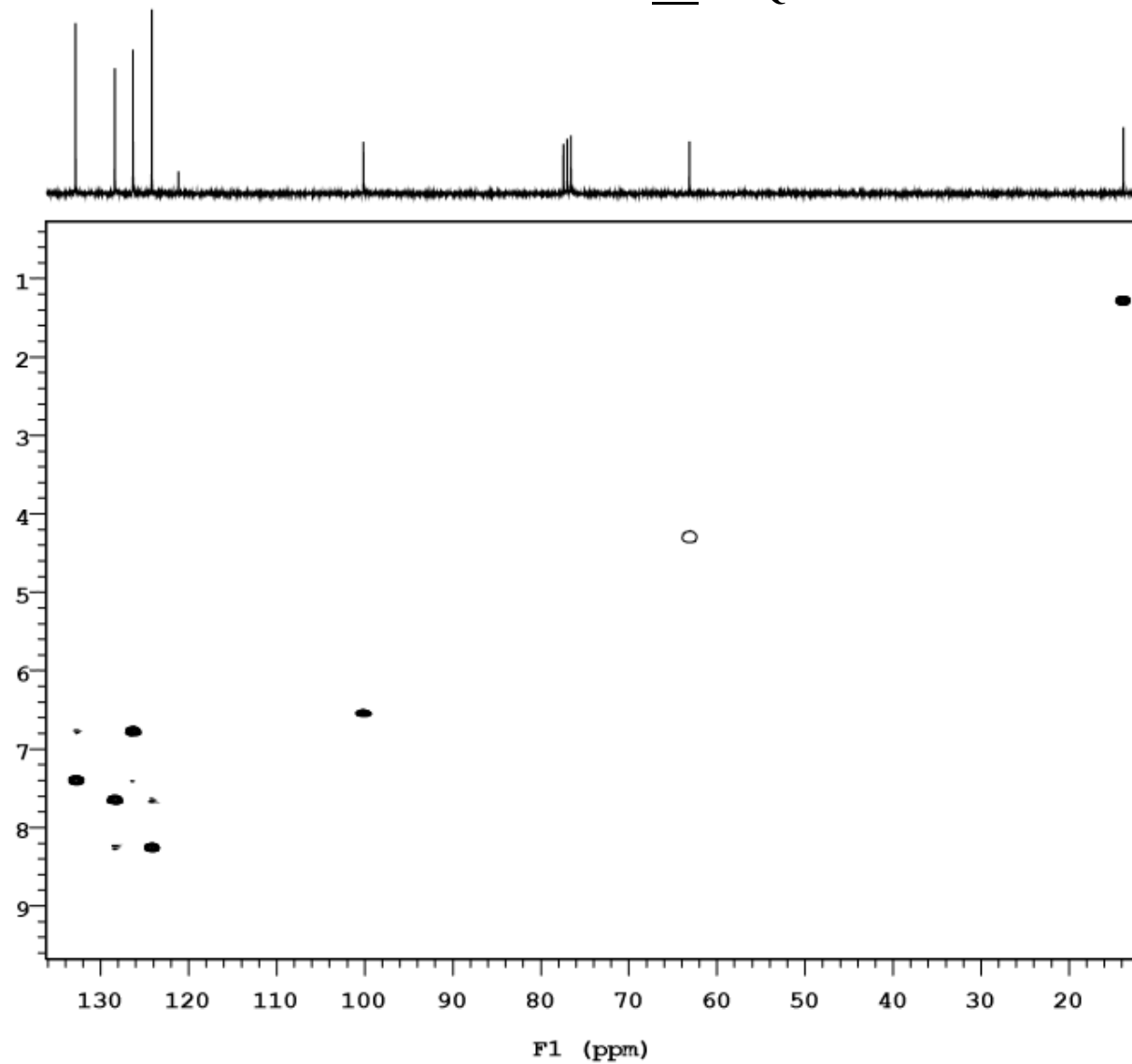


APÊNDICE AV – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74d - HSQC

Felipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE

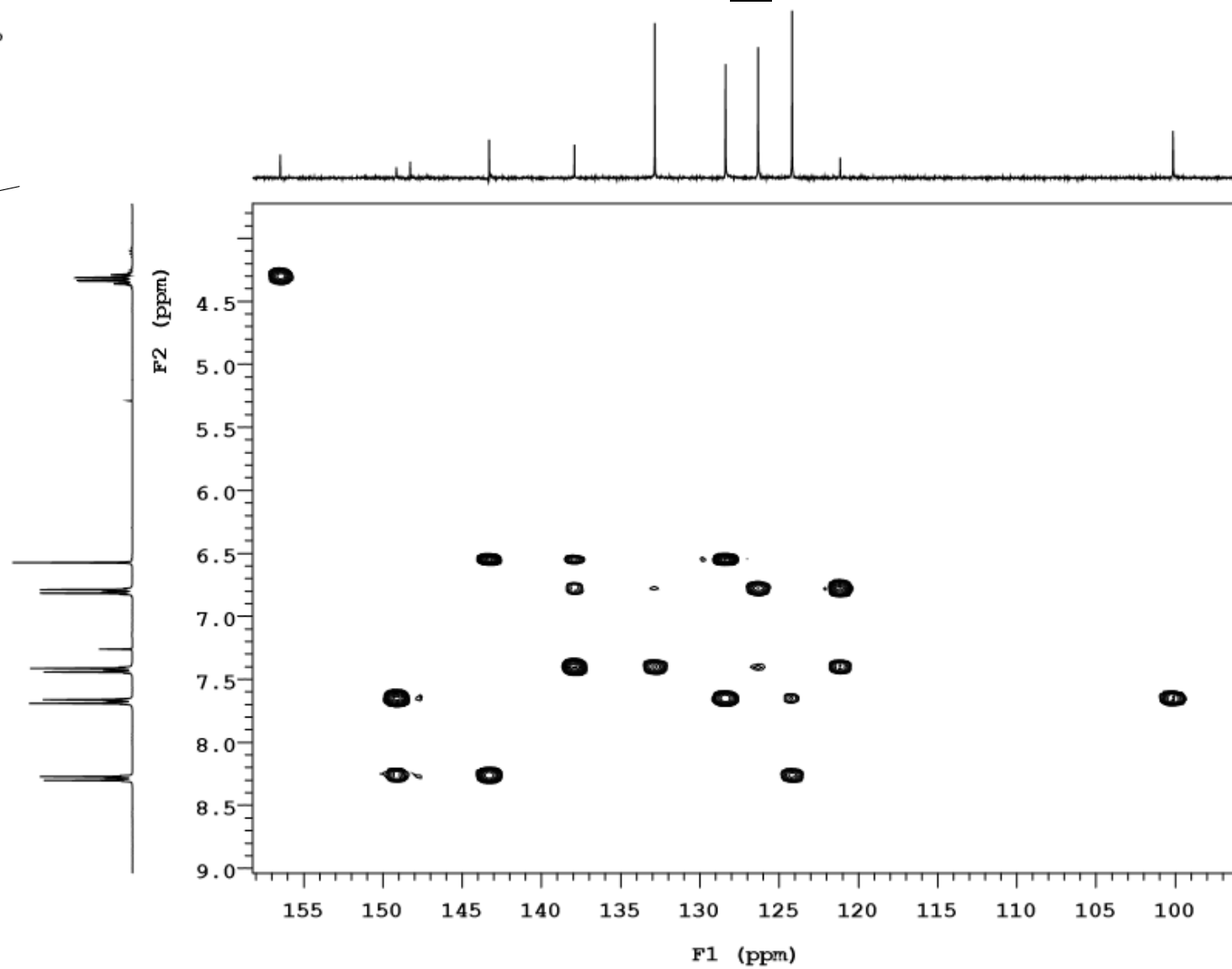
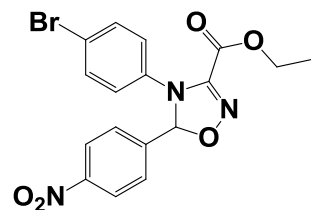


F2 (ppm)



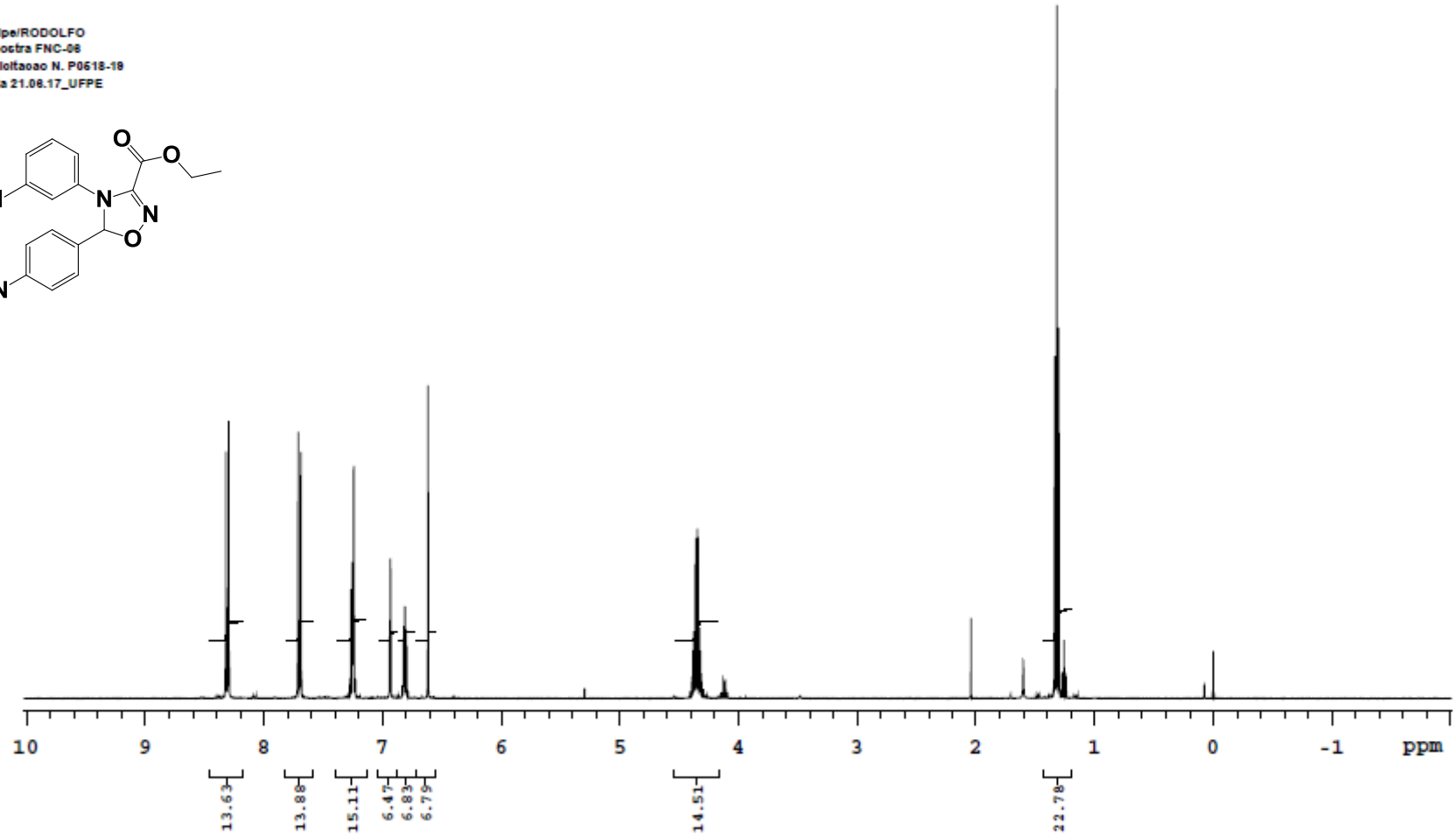
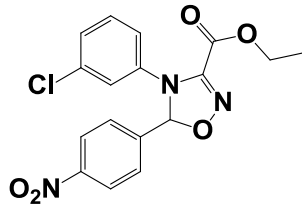
APÊNDICE AX – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74d - HMBC

Felipe Coutinho/Antonio Rodolfo
Amostra FNC-05
Solicitacao N. P1221-3
Data 04.01.18_UFPE



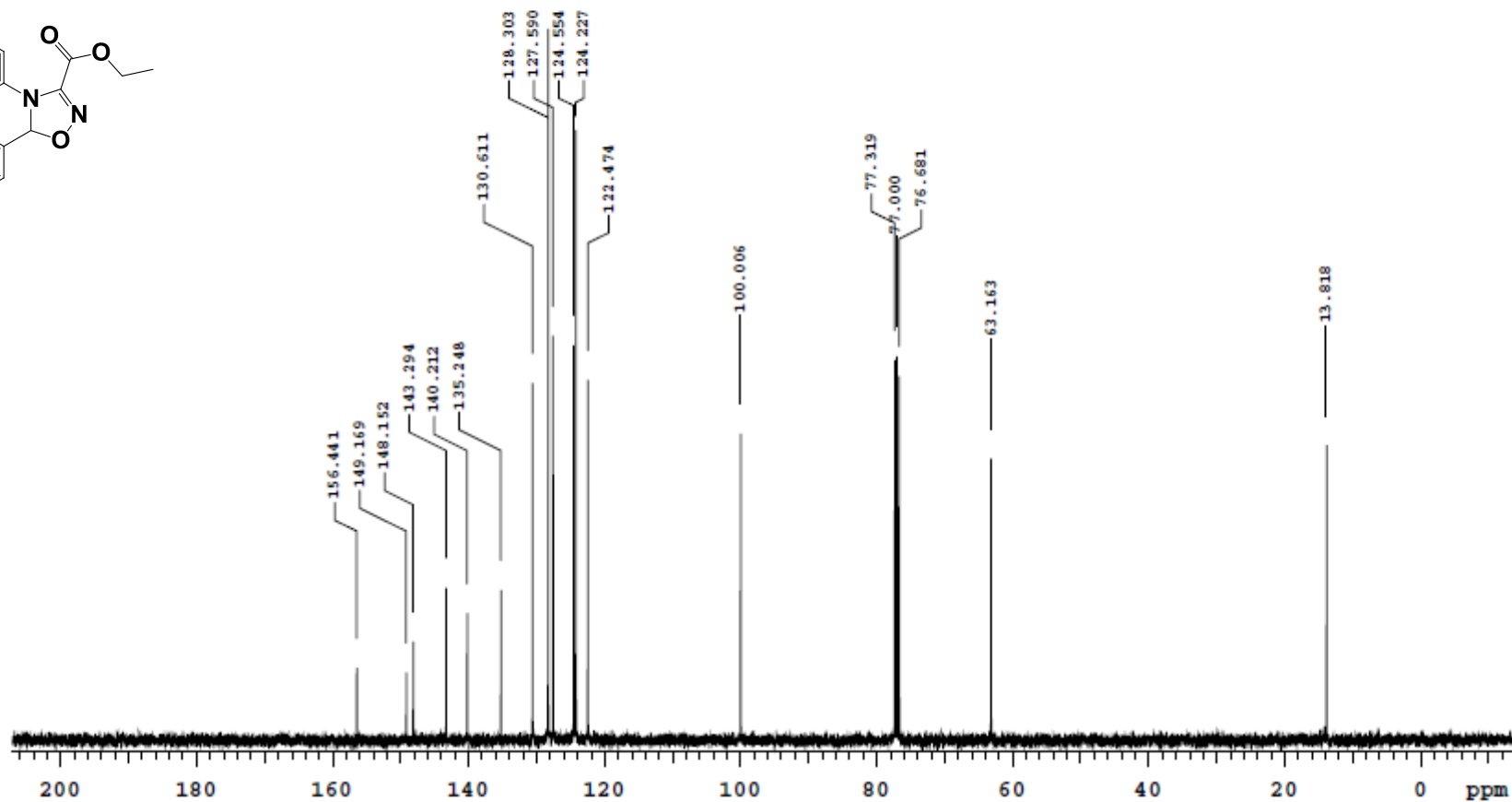
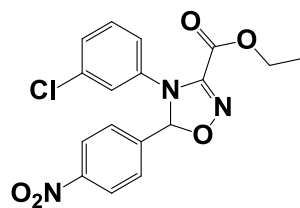
APÊNDICE AZ – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - RMN ¹H 400MHz

AMH

Sample Name **AMH**
Date collected **2017-08-21**Pulse sequence **PROTON**
Solvent **cdcl3**Temperature **27**
Spectrometer **varian400-vnmrc400**Study owner **vnmr1**
Operator **operador**Felipe RODOLFO
Amostra FNC-08
Soliloquio N. P0618-18
Data 21.08.17_UFPE

APÊNDICE BA – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - RMN ¹³C 100MHz

ACMD01

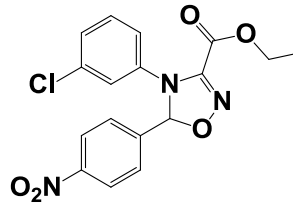
Sample Name: ACMD01
Date collected: 2017-08-21Pulse sequence: CARBON
Solvent: cdcl3Temperature: 27
Spectrometer: varian400-nmrs400Study owner: vnmr1
Operator: operadorFelipe/RODOLFO
Amostra FNC-08
Soluto/tao N. P0618-18
Data 21.08.17_UFPE

APÊNDICE BB – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - DEPT

AMH

Sample Name	AMH	Pulse sequence	DEPT	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-21	Solvent	odol3	Spectrometer	varian400-vnmr400	Operator	operador

Felipe/RODOLFO
Amostra FNC-08
Solucaoao N. P0618-18
Data 21.08.17_UFPE

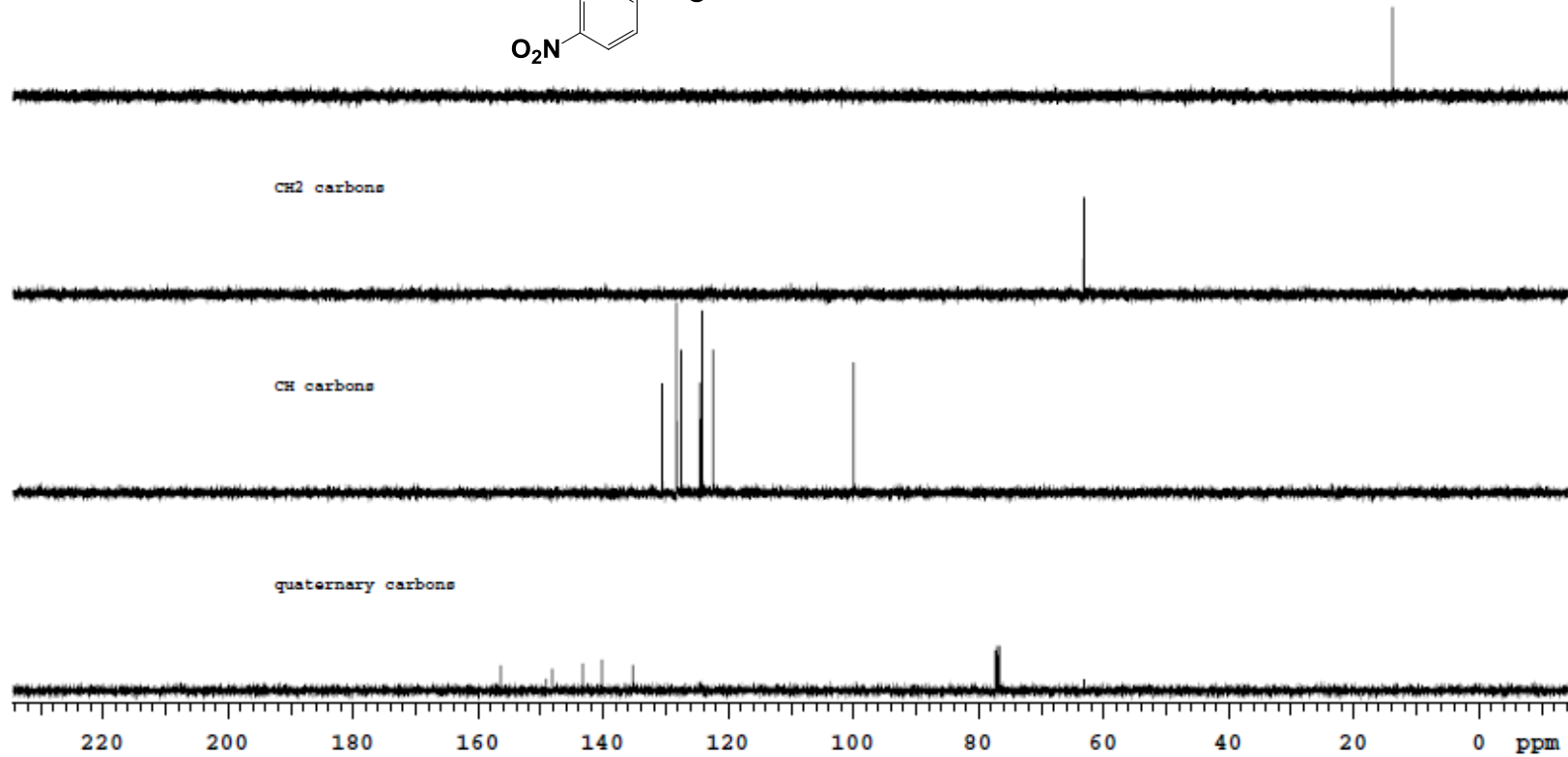


CH3 carbons

CH2 carbons

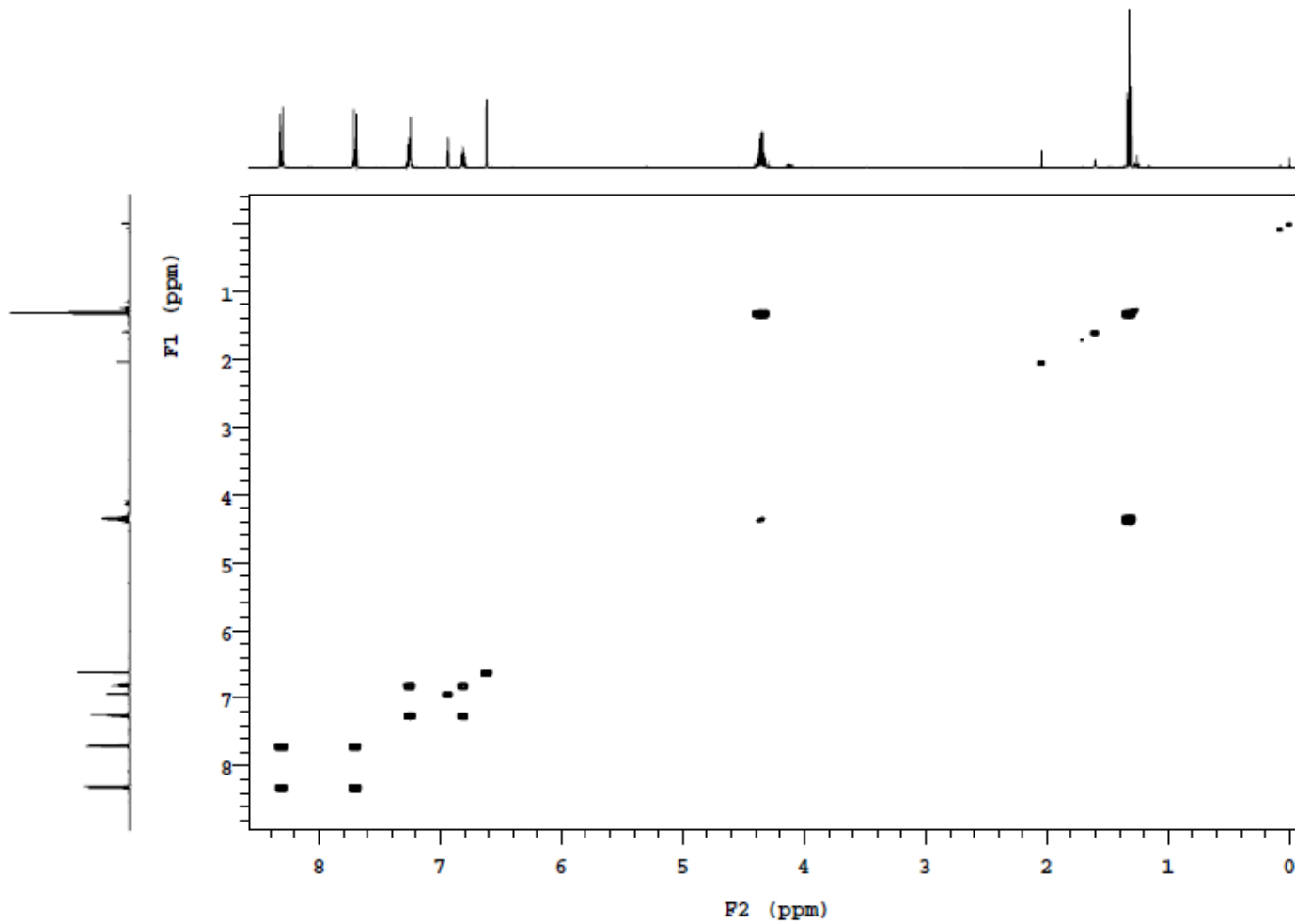
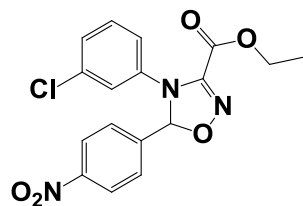
CH carbons

quaternary carbons



APÊNDICE BC – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - COSY

AMH

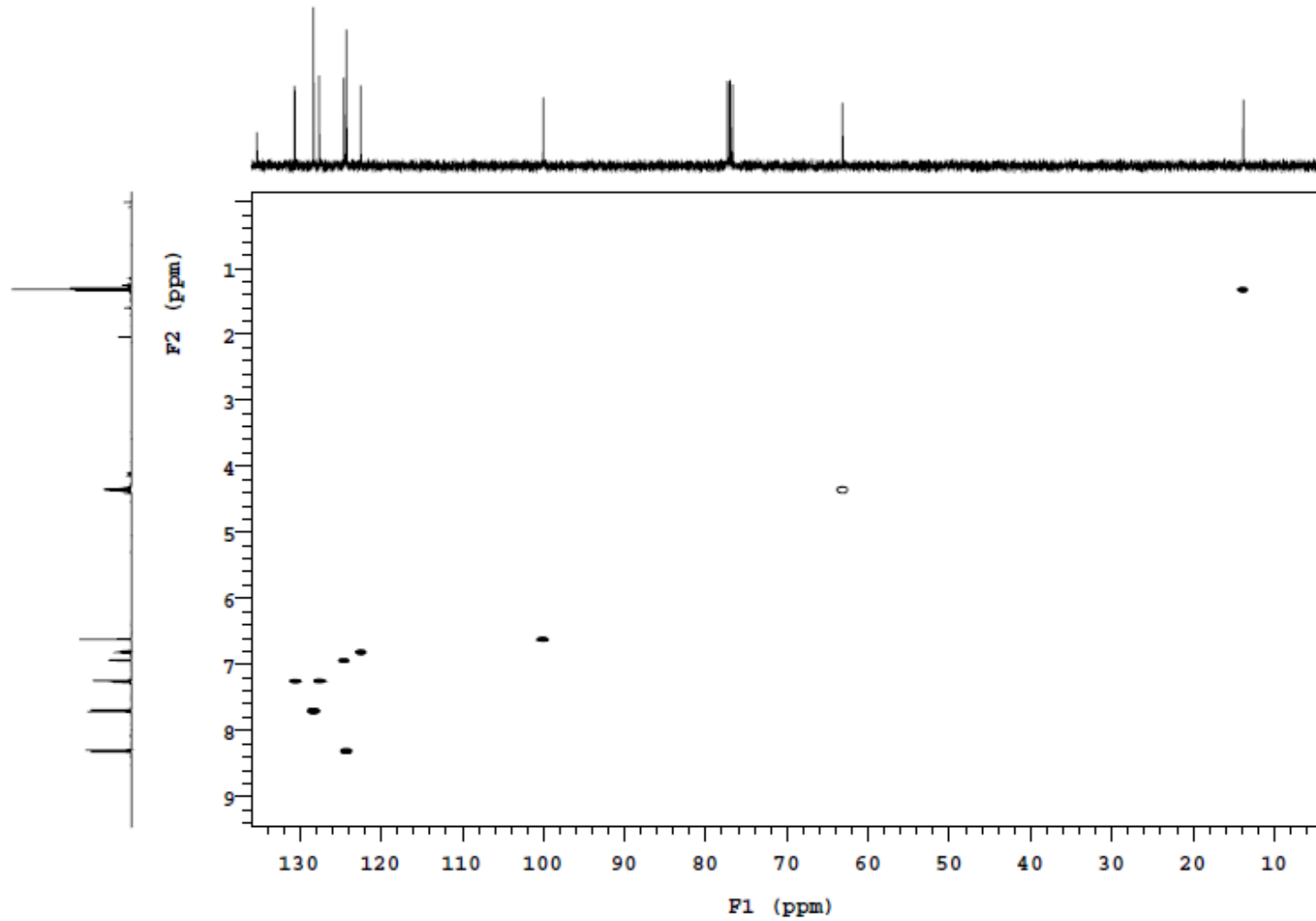
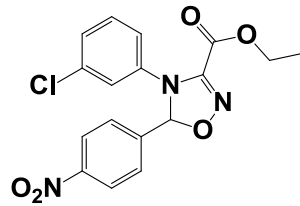
Sample Name: AMH
Date collected: 2017-08-21Pulse sequence: gCOSY
Solvent: odol3Temperature: 27
Spectrometer: varian400-vnmr400Study owner: vnmr1
Operator: operadorFelipe/RODOLFO
Amostra FNC-08
Solucao N. P0618-18
Data 21.08.17_UFPE

APÊNDICE BD – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - HSQC

AMH

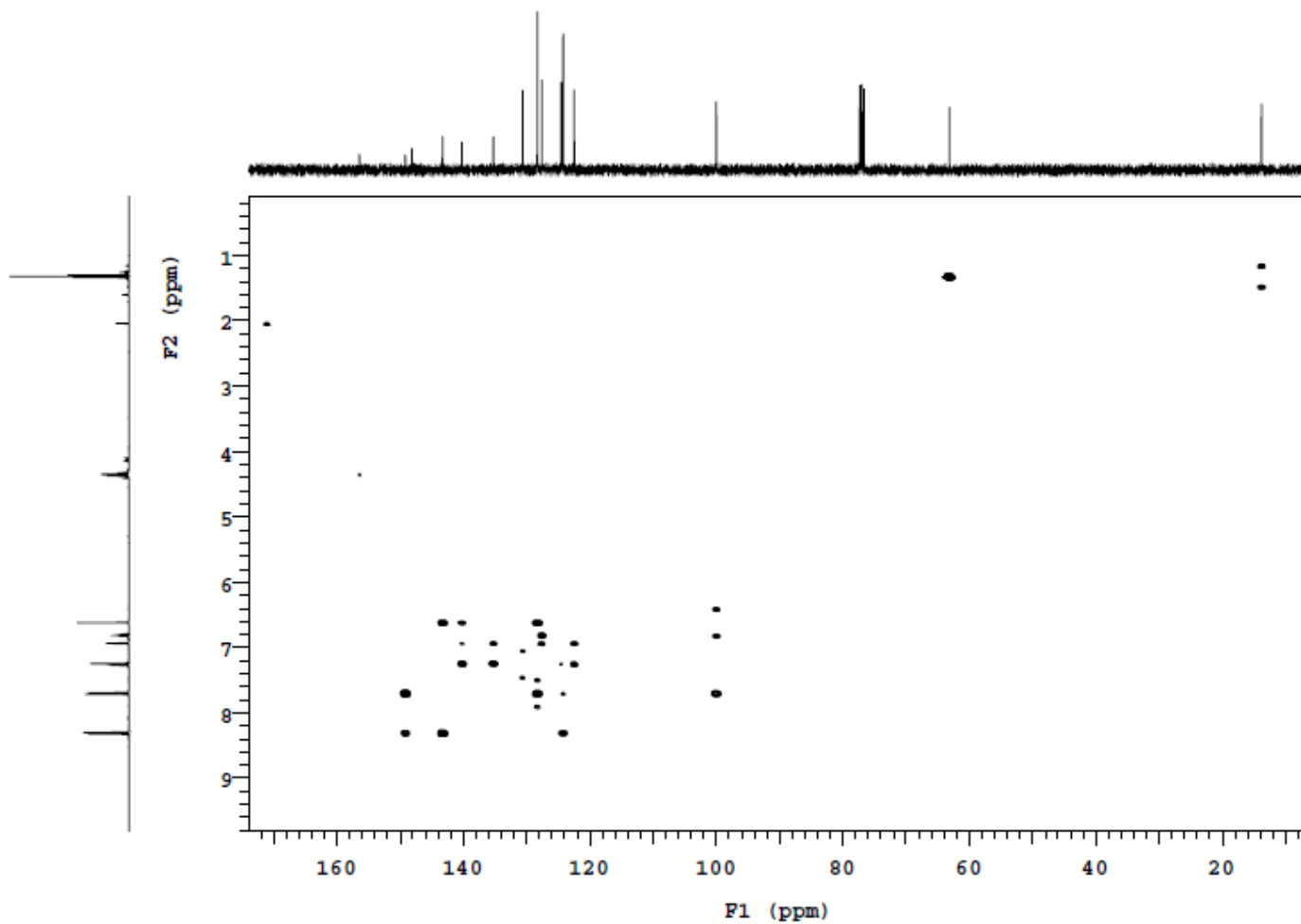
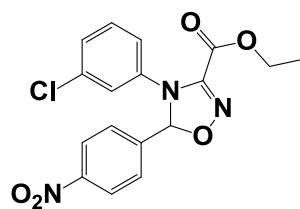
Sample Name	AMH	Pulse sequence	gHSQC	Temperature	27	Study owner	vnmr1
Date collected	2017-08-21	Solvent	cdcl3	Spectrometer	varian400-vnmrs400	Operator	operador

Felipe/RODOLFO
 Amostra FNC-08
 Solucao N. P0618-18
 Data 21.08.17_UFPE



APÊNDICE BE – Cicloaduto Oxadiazolina Éster 74e - HMBC

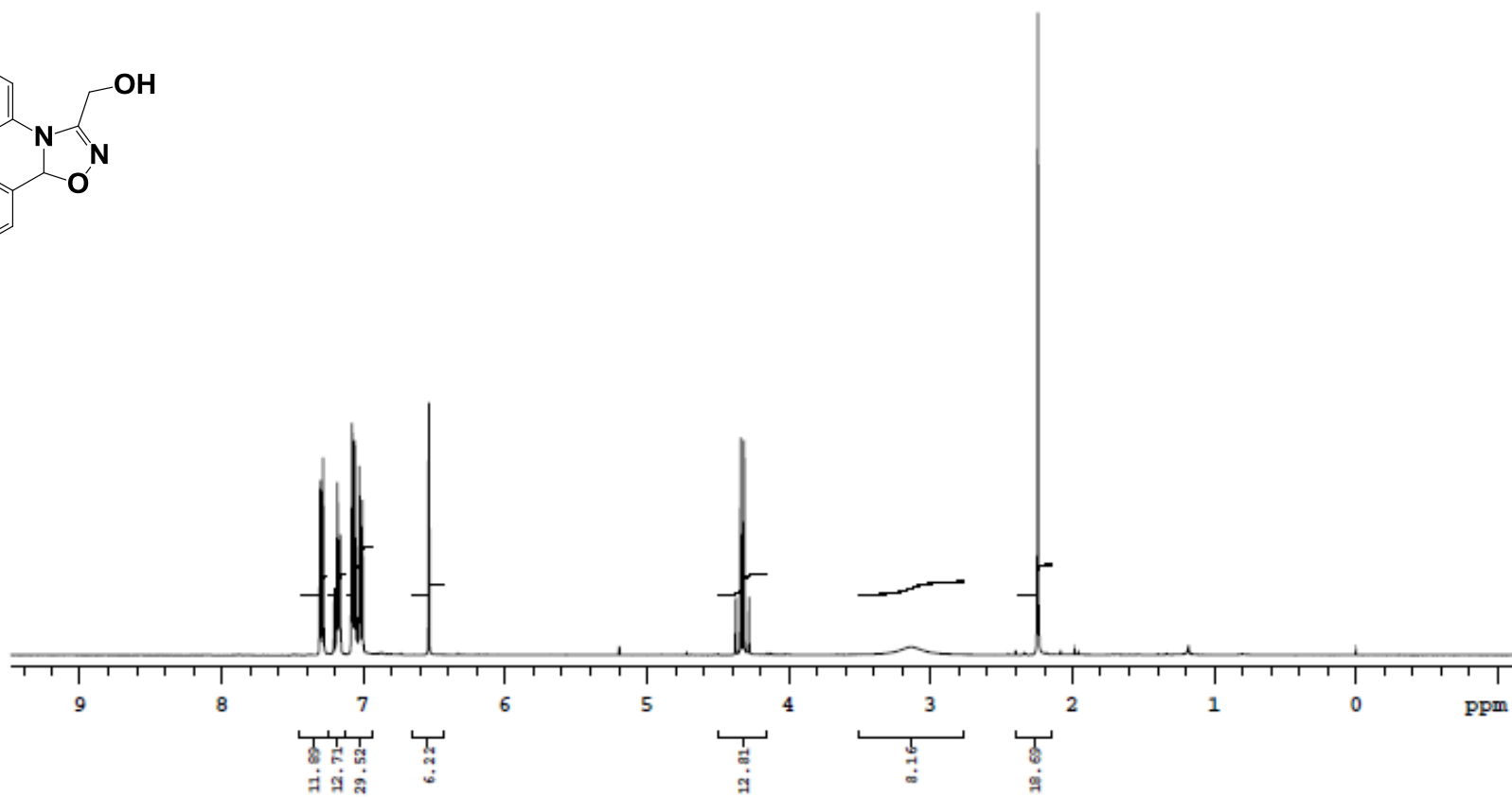
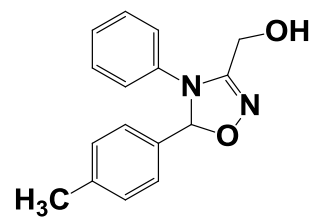
AMH

Sample Name **AMH**
Date collected **2017-08-21**Pulse sequence **gHMBC**
Solvent **cdcl3**Temperature **27**
Spectrometer **varian400-nmrs400**Study owner **vmr1**
Operator **operador**Felipe/RODOLFO
Amostra FNC-08
Soluçao N. P0518-19
Data 21.08.17_UFPE

APÊNDICE BF – Álcool Oxadiazolínico 75a - RMN ^1H 400MHz

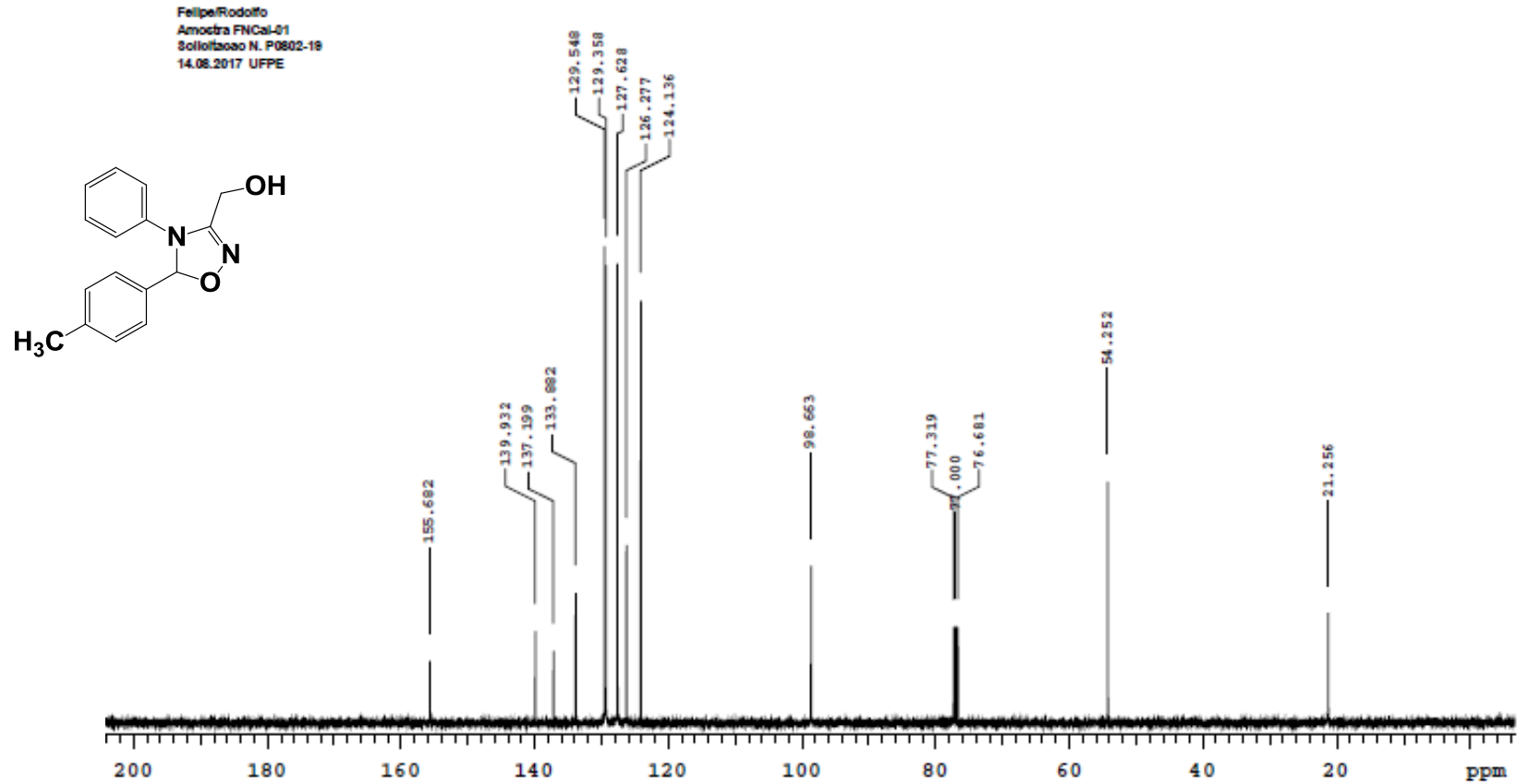
Sample Name	Pulse sequence	Temperature	Study owner
Date collected	Solvent	Spectrometer	Operator
2017-08-14	PROTON odol3	27 varian400-vnmrc400	operator operator

FelipeRodolfo
Amostra FNCal-01
Solicitação N. P0802-19
14.08.2017 UFPE



APÊNDICE BG – Álcool Oxadiazolínico **75a** - RMN ¹³C 100MHz

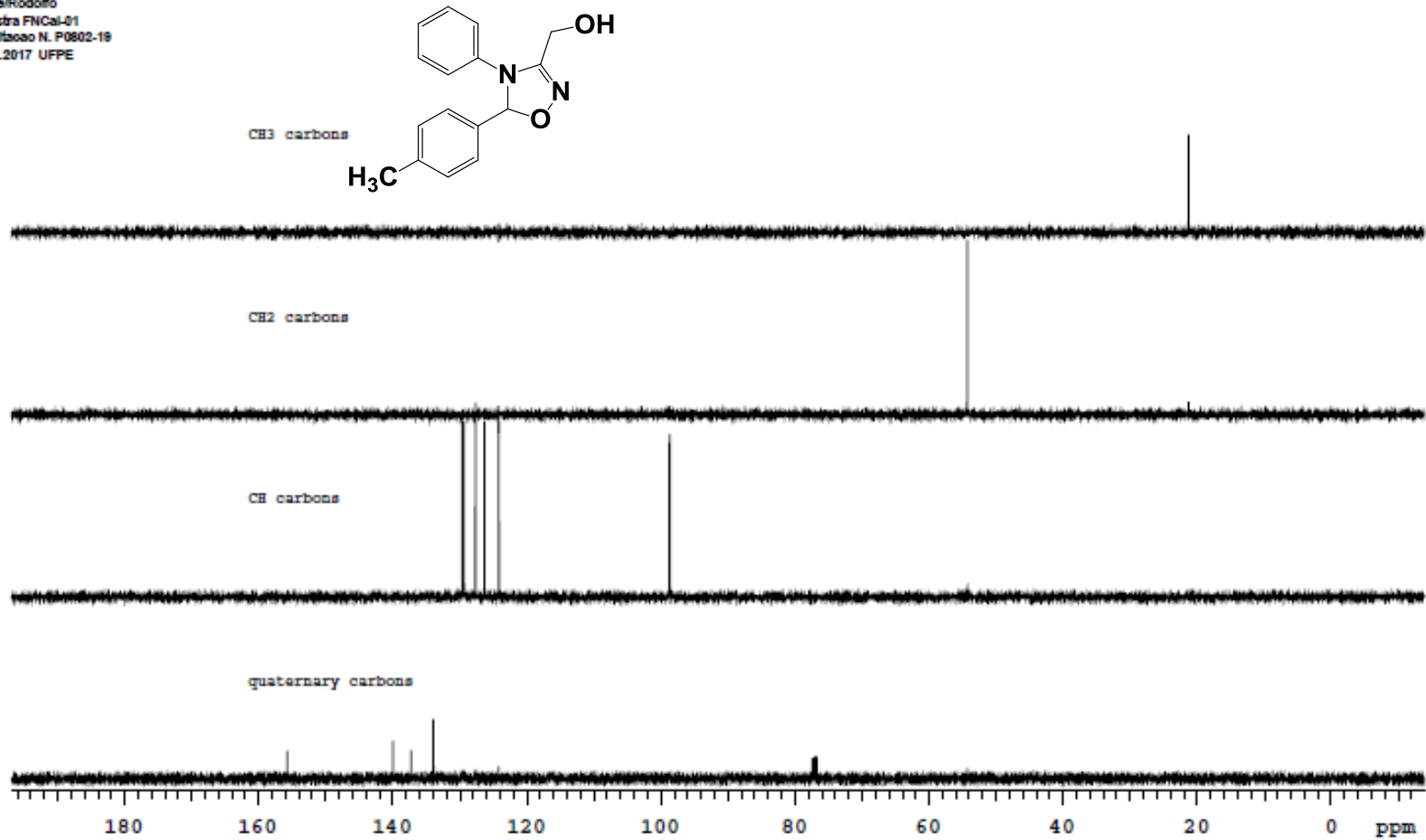
P0712_11

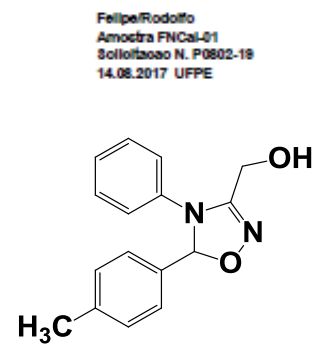
Sample Name P0712_11
Date collected 2017-08-14Pulse sequence CARBON
Solvent odol3Temperature 27
Spectrometer varian400-vnmrc400Study owner vnmr1
Operator operador

APÊNDICE BH – Álcool Oxadiazolínico 75a - DEPT

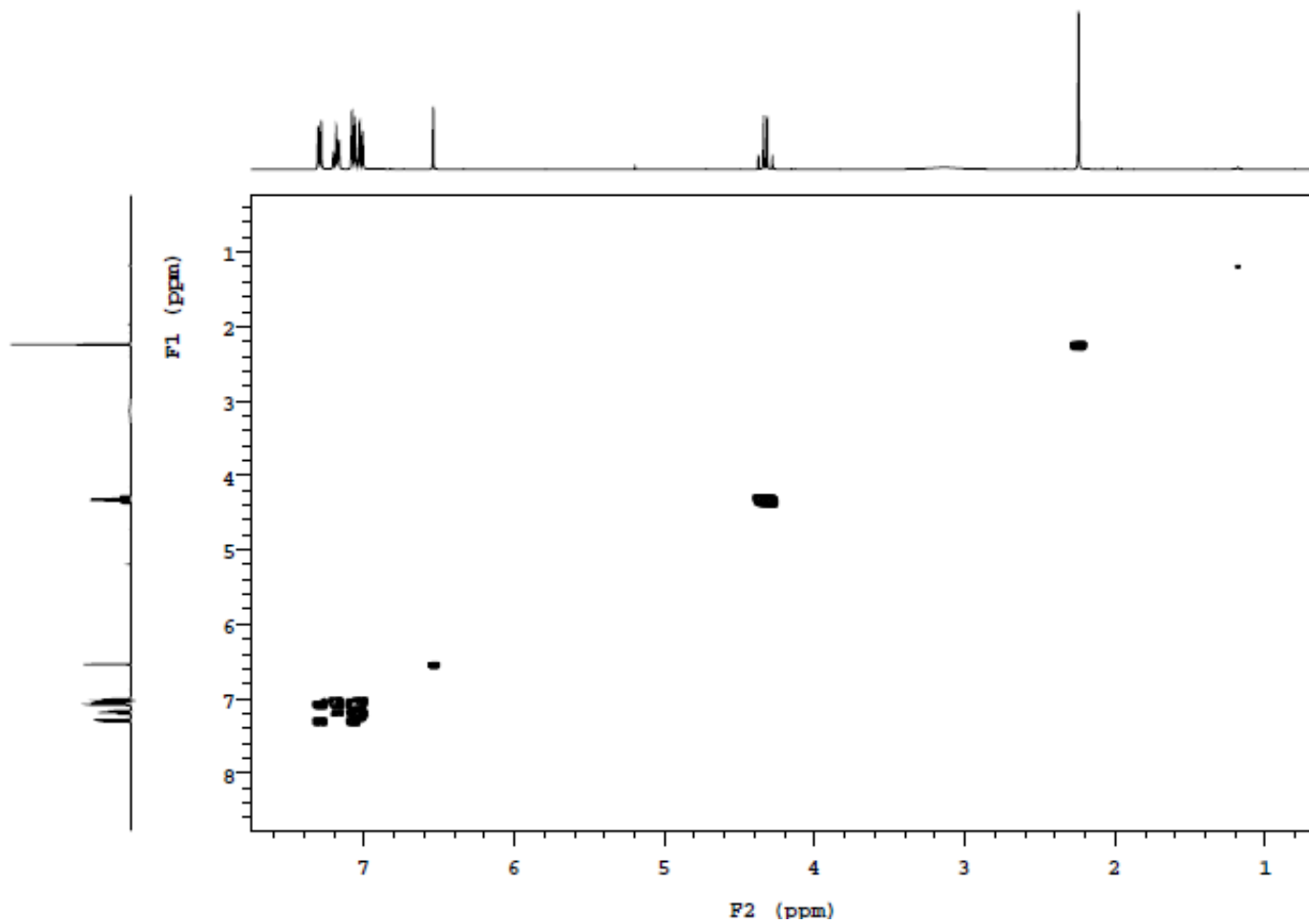
Sample Name	Pulse sequence	Temperature	Study owner
Date collected	Solvent	Spectrometer	Operator
2017-08-14	odolB	27 varian400-vnmr400	operador operador

FelipeRodolfo
Amostra FNCaL-01
Solicitação N. P0602-18
14.08.2017 UFPE



APÊNDICE BI – Álcool Oxadiazolínico 75a - COSY

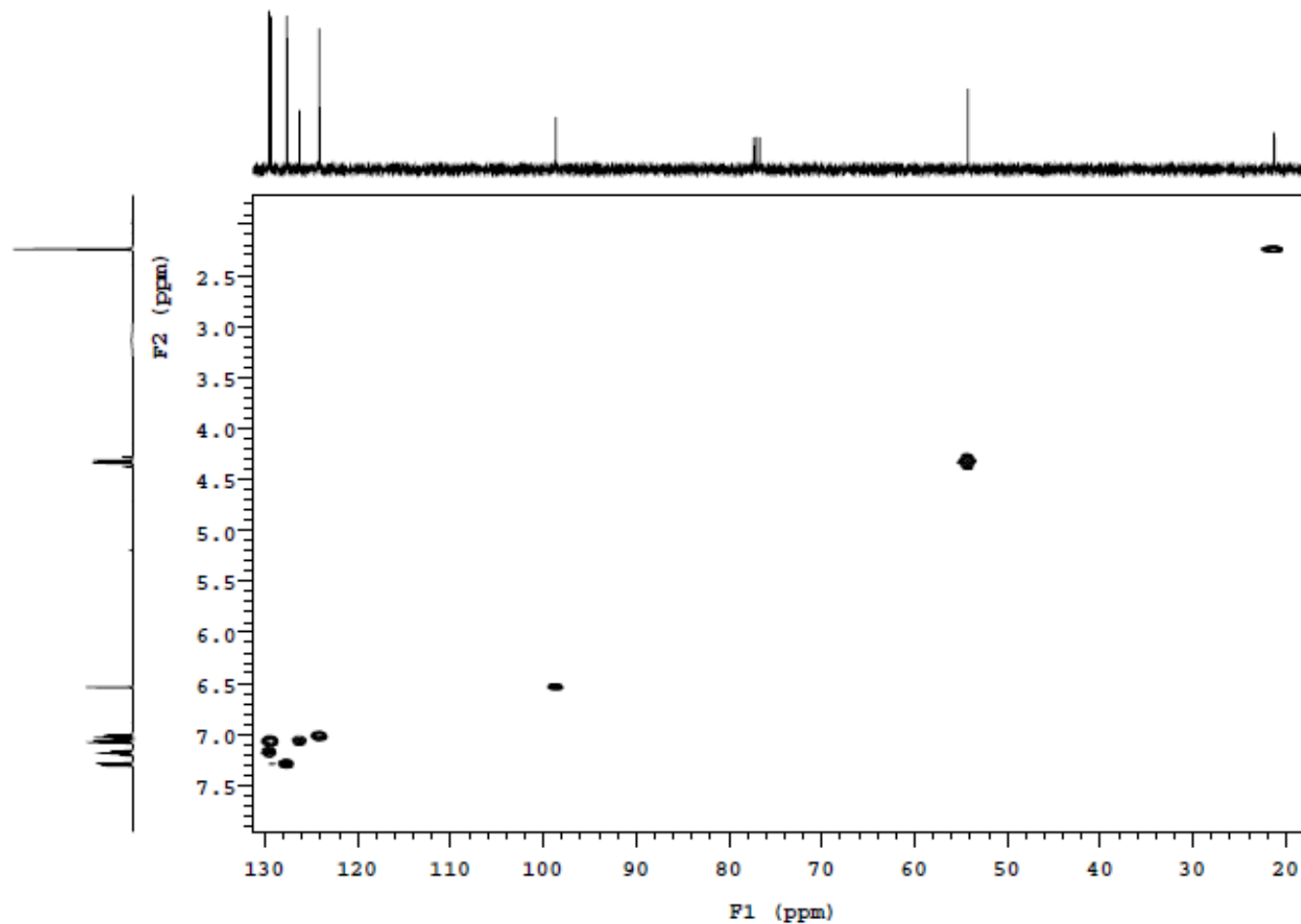
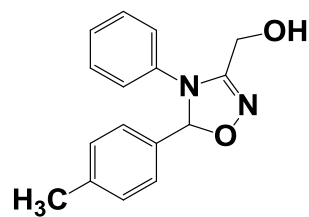
Sample Name: **gCOSY** Pulse sequence: **gCOSY** Temperature: **27** Study owner: **operator**
Date collected: **2017-08-14** Solvent: **odol3** Spectrometer: **varian400-vnmr-400** Operator: **operator**



APÊNDICE BJ – Álcool Oxadiazolínico 75a - HMQC

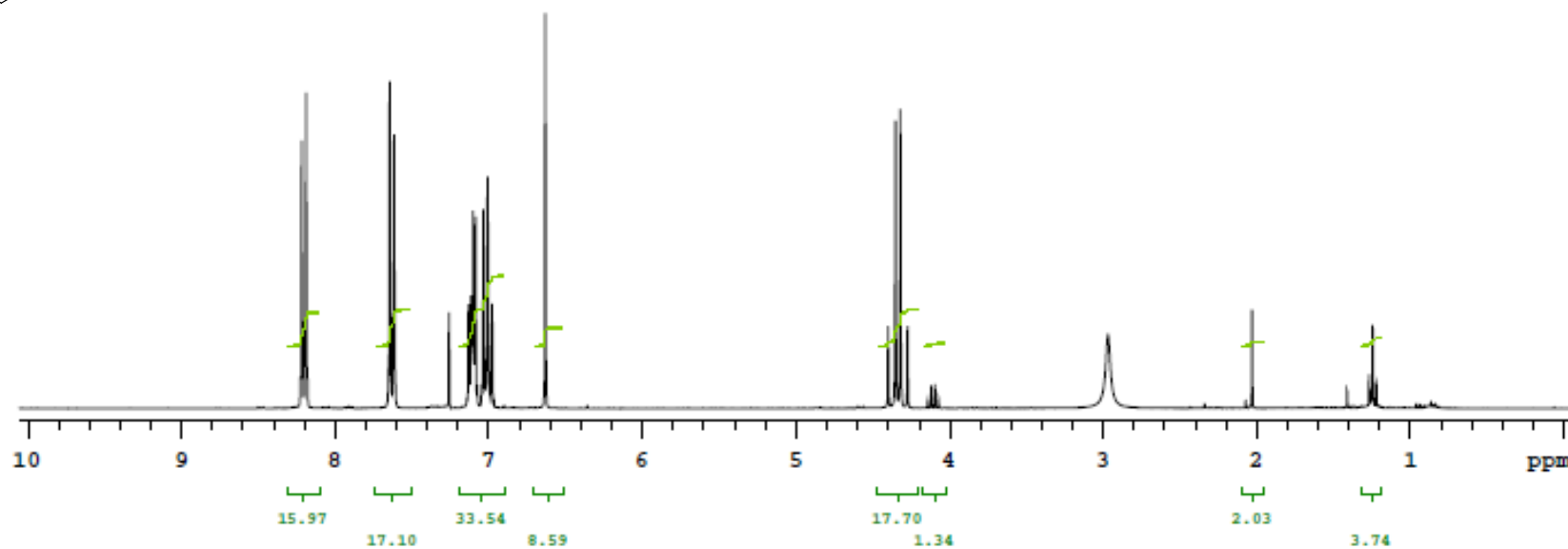
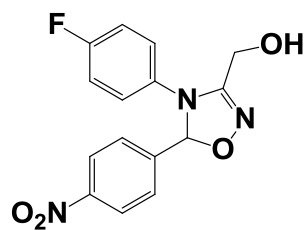
Sample Name:
 Date collected: 2017-08-14
 Pulse sequence: gHMGC
 Solvent: odol3
 Temperature: 27
 Spectrometer: varian400-vnmrs400
 Study owner: operador
 Operator: operador

Felipe Rodolfo
 Amostra FNCal-01
 Solucao N. P0802-18
 14.08.2017 UFPE



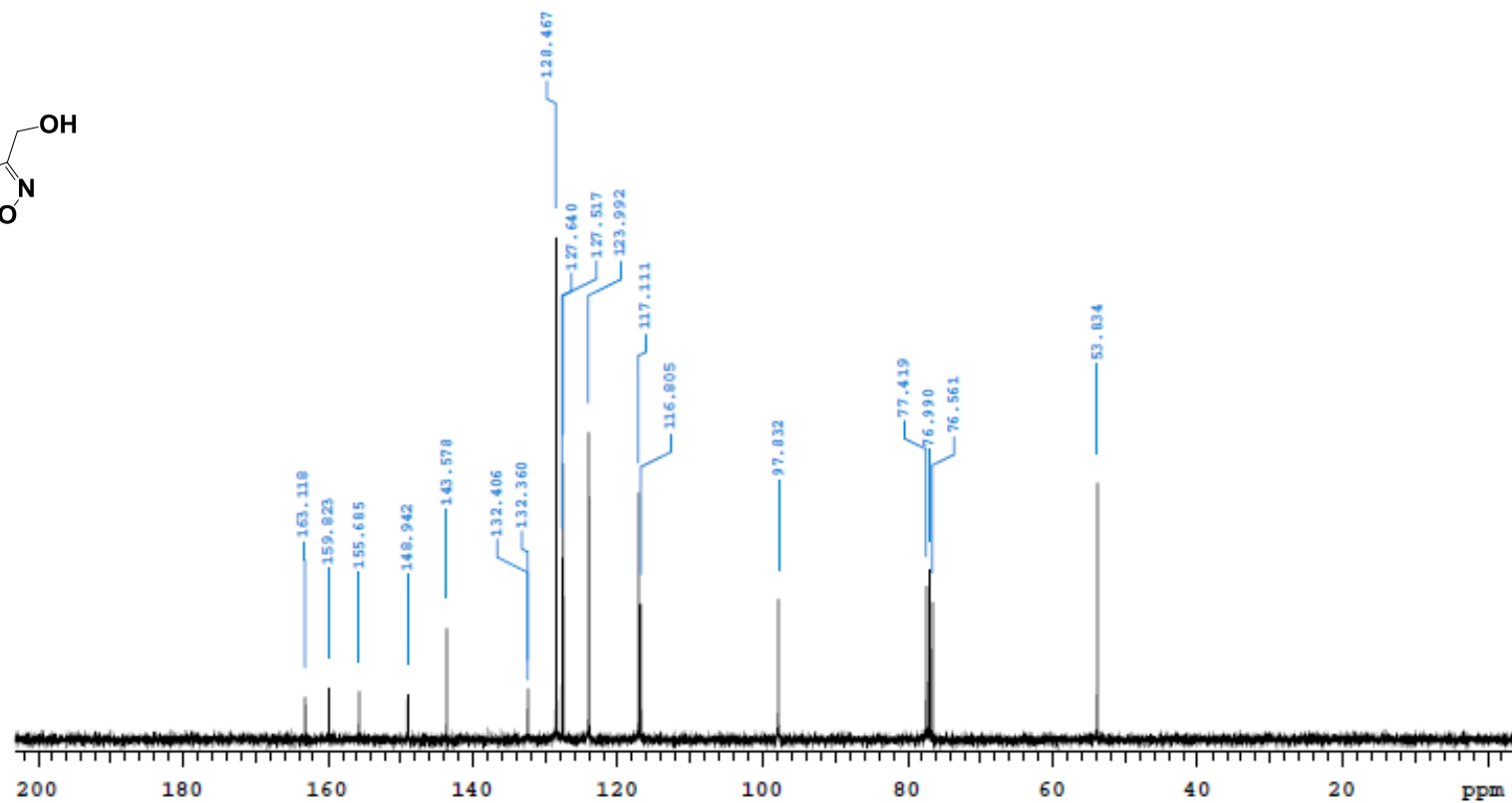
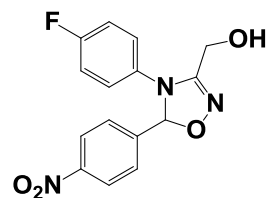
APÊNDICE BL – Álcool Oxadiazolínico 75c - RMN ¹H 300MHz

P0816_1

Sample Name P0816_1
Date collected 2017-08-15Pulse sequence PROTON
Solvent odol8Temperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator centralFelipe Neves/FARMACIA
Amostra FNCal-03
Soluto/boao N. P0816_1
Data 15.08.17_UFPE

APÊNDICE BM – Álcool Oxadiazolínico 75c - RMN ^{13}C 75MHz

P0816_1

Sample Name: P0816_1
Date collected: 2017-08-16Pulse sequence: CARBON
Solvent: odol3Temperature: 27
Spectrometer: Agilent300-nmr300Study owner: vnmr1
Operator: centralFelipe Neves/FARMACIA
Amostra FNCal-03
Soliloquio N. P0816_1
Data 16.08.17_UFPE

APÊNDICE BN – Álcool Oxadiazolínico 75c - DEPT

P0816_1

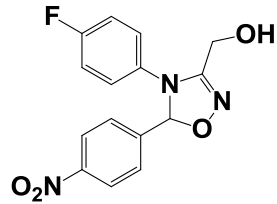
Sample Name: P0816_1
Date collected: 2017-08-16

Pulse sequence: DEPT
Solvent: odc_3

Temperature: 27
Spectrometer: Agilent300-nmrc300

Study owner: vnmr1
Operator: central

Felipe Neves/FARMACIA
Amostra FNCal-03
Bottle/boxo N. P0816_1
Data 16.08.17_UFPE

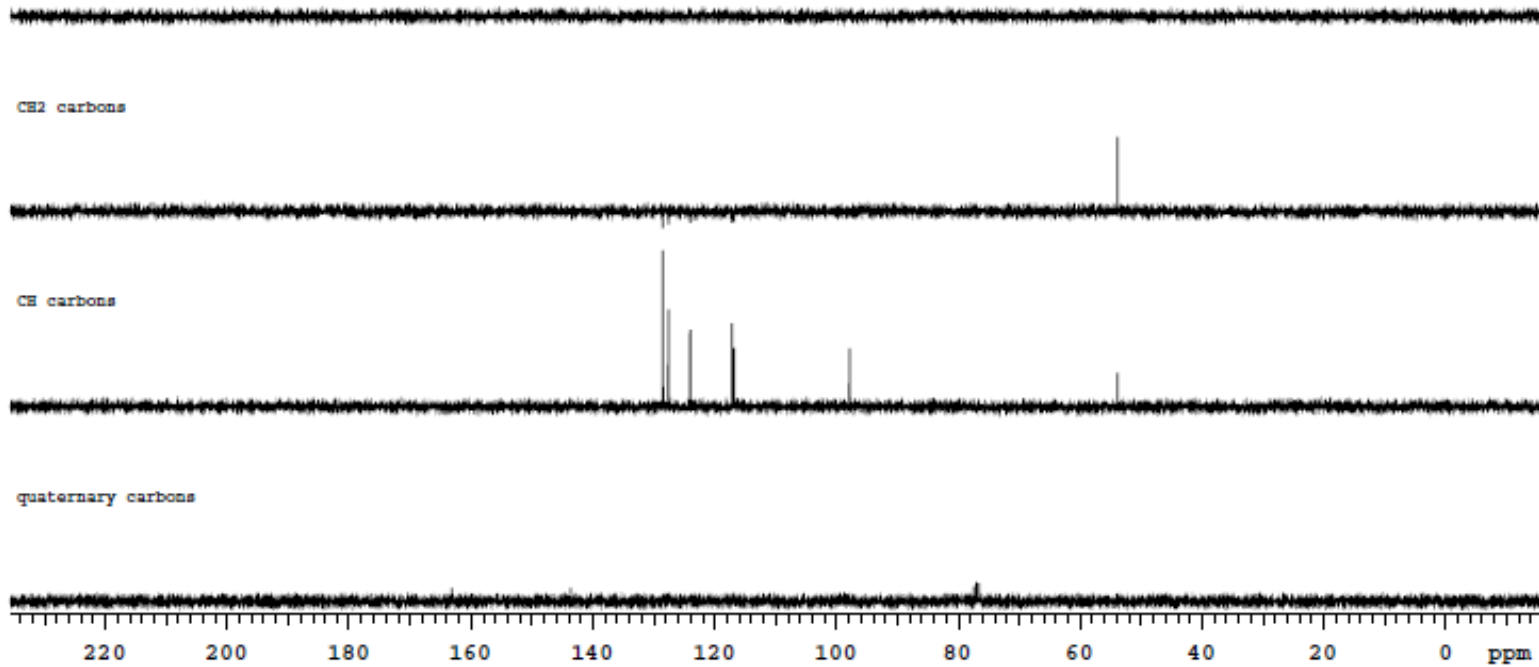


CE3 carbons

CE2 carbons

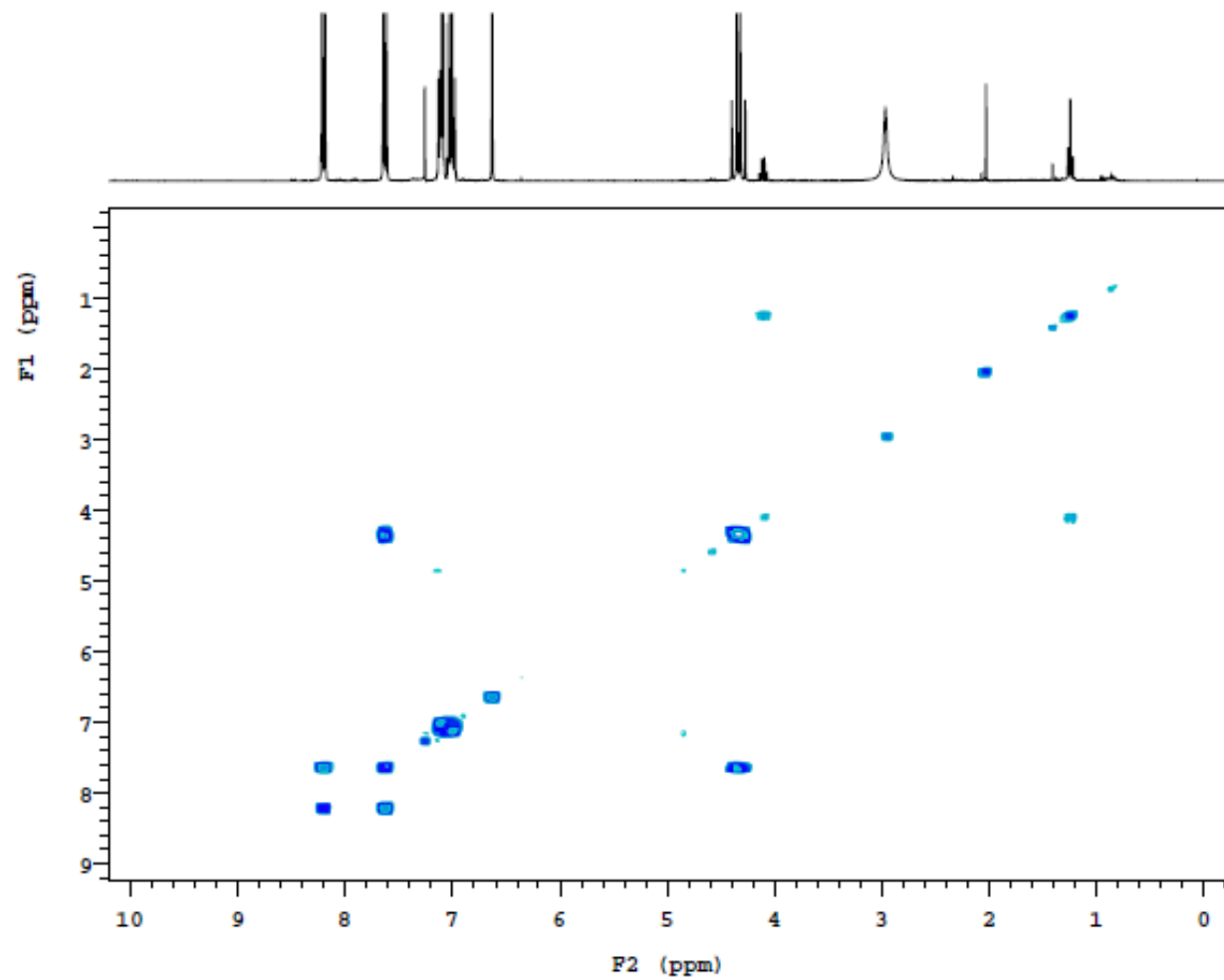
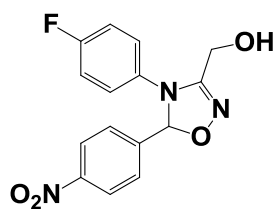
CE carbons

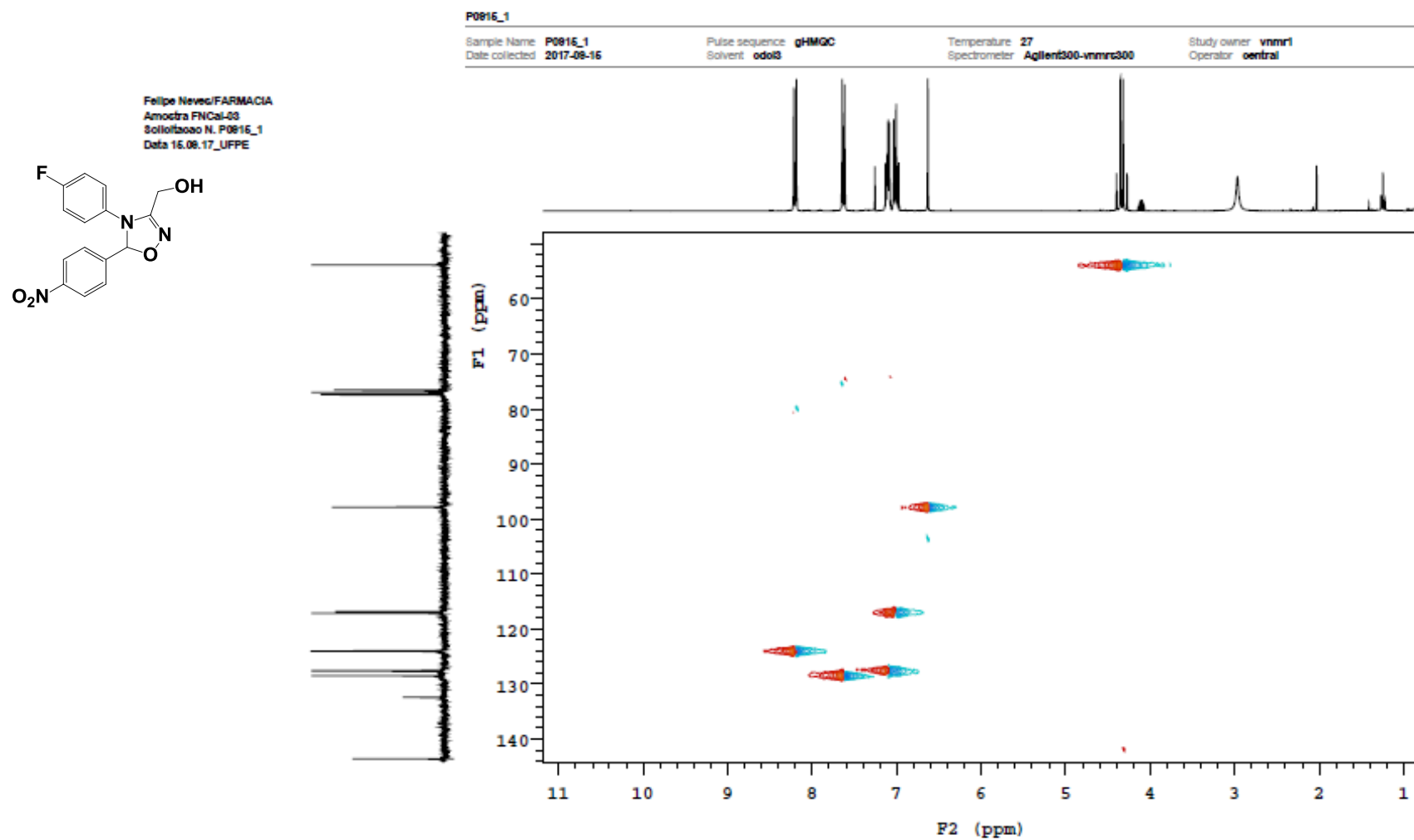
quaternary carbons

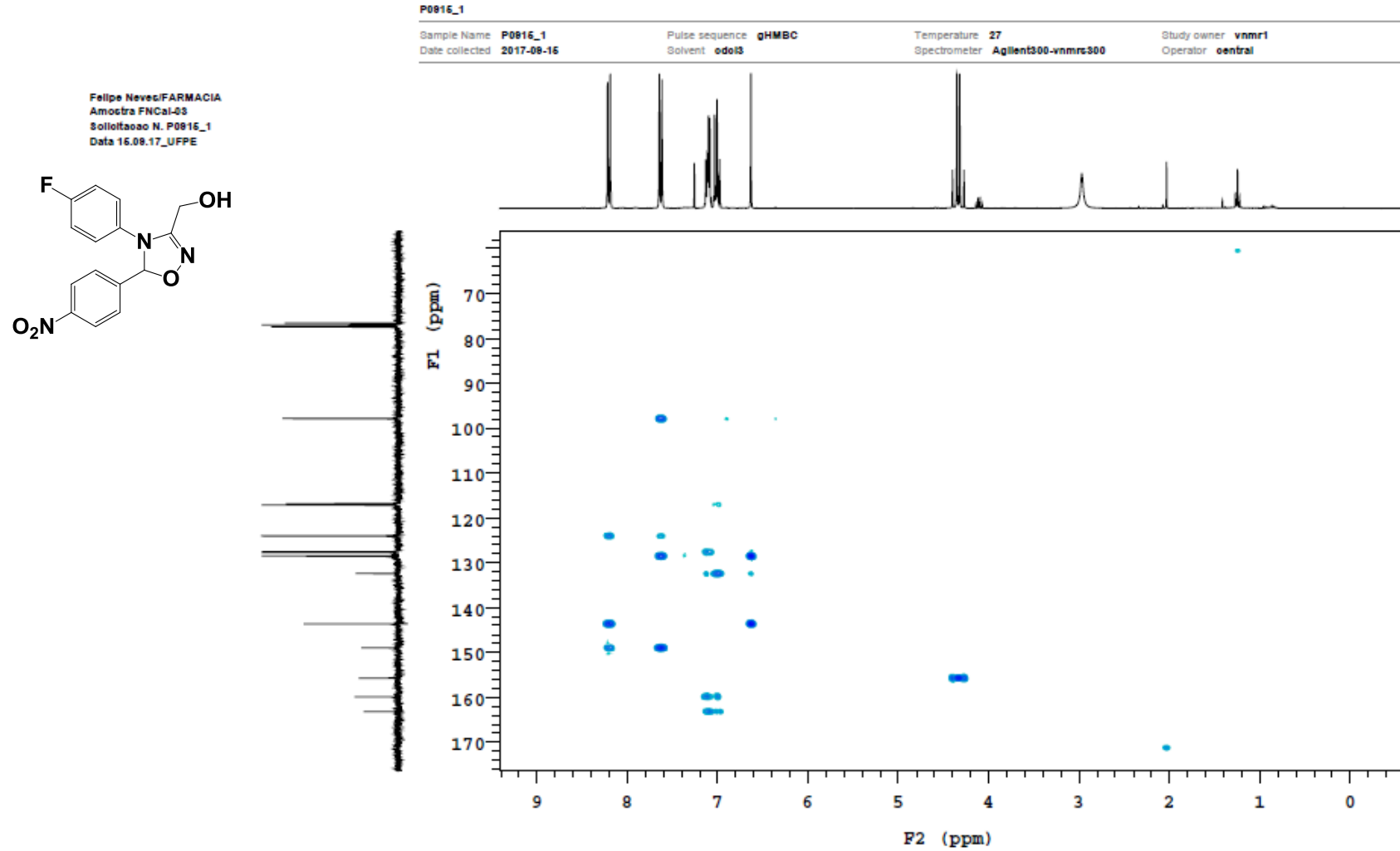


APÊNDICE BO – Álcool Oxadiazolínico 75c - COSY

P0816_1

Sample Name P0816_1
Date collected 2017-08-16Pulse sequence gCOSY
Solvent odol8Temperature 27
Spectrometer Agilent300-nmr300Study owner vnmr1
Operator oentralFelipe Neves/FARMACIA
Amostra FNCal-03
Soluto/soo N. P0816_1
Data 16.08.17_UFPE

APÊNDICE BP – Álcool Oxadiazolínico 75c - HSQC

APÊNDICE BQ – Álcool Oxadiazolínico **75c** - HMBC

APÊNDICE BR – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 82a - RMN ¹H 400MHz

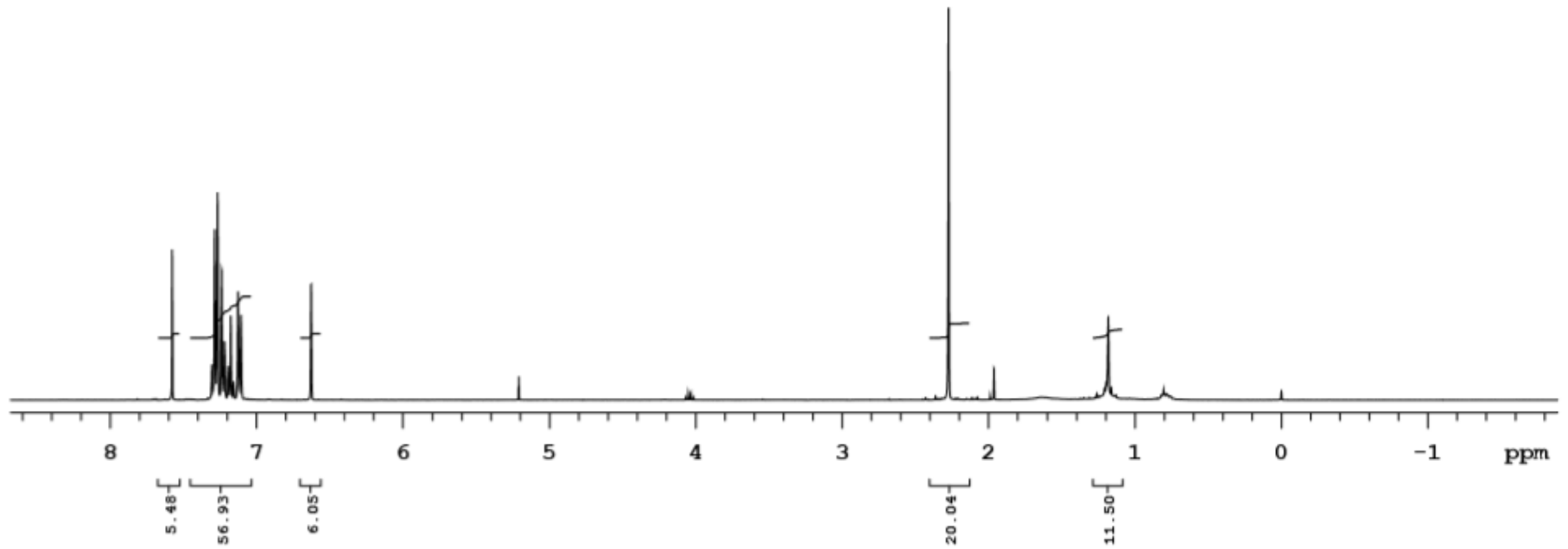
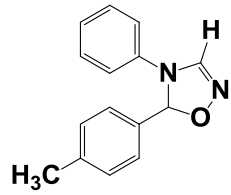
Sample Name P0512_4
Date collected 2017-10-09

Pulse sequence PROTON
Solvent cdcl3

Temperature 27
Spectrometer varian400-vnmrs400

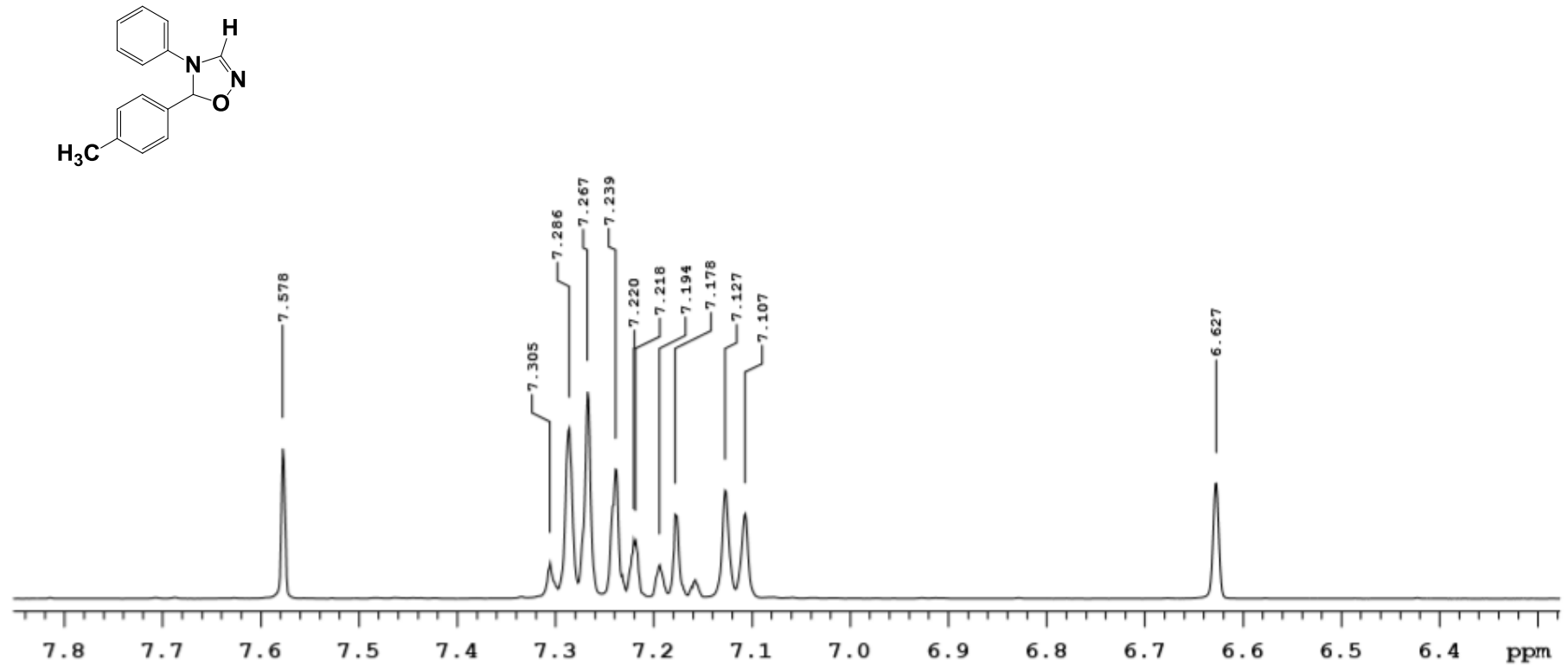
Study owner vnmr1
Operator operador

Felipe/Rodolfo
Amostra FNCad-01
Solicitacao N. P1009-1
Data 09.10.17_UFPE



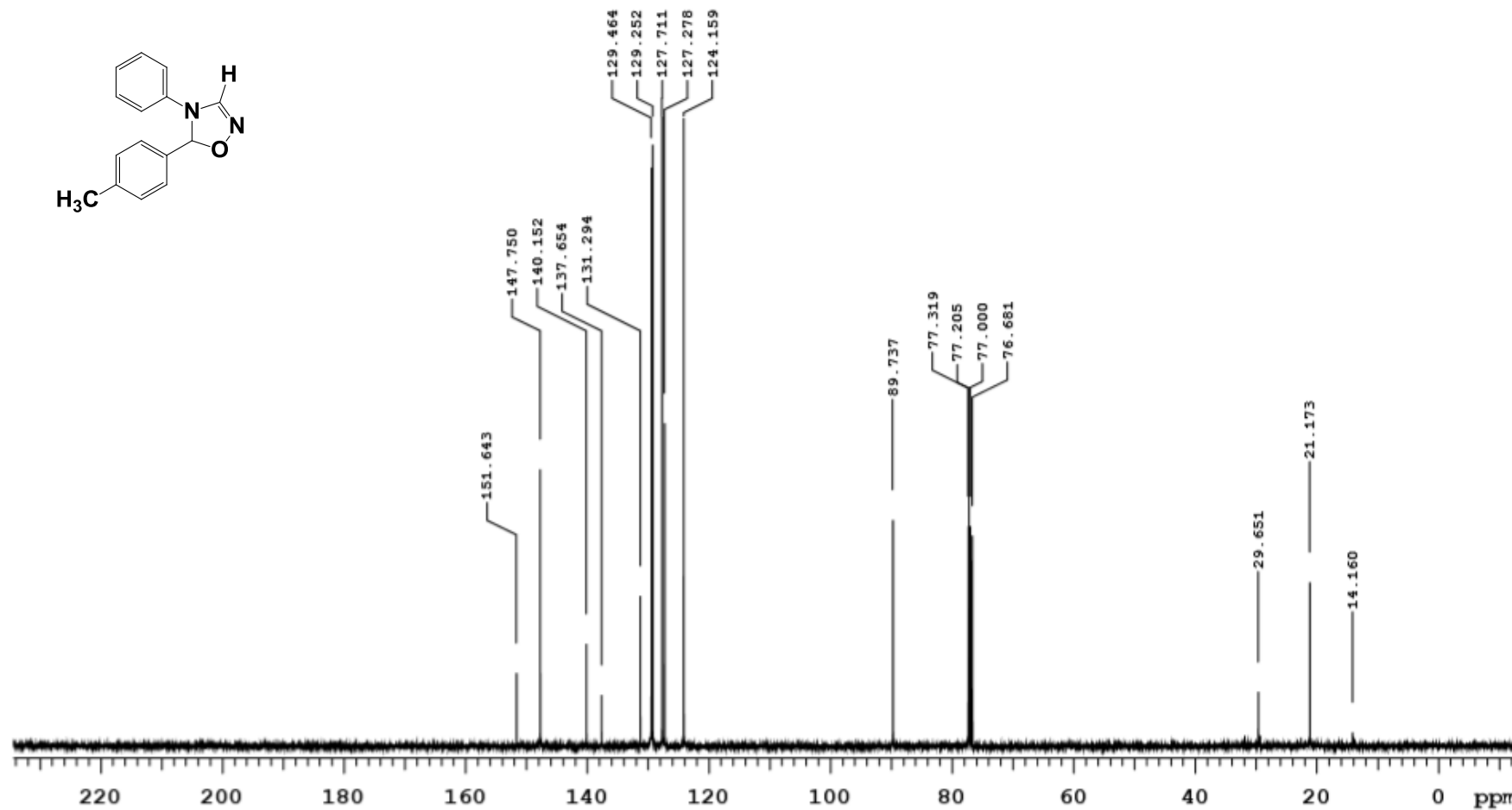
APÊNDICE BS – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 82a - RMN ^1H 400MHz

P0512_4

Sample Name P0512_4
Date collected 2017-10-09Pulse sequence PROTON
Solvent cdcl3Temperature 27
Spectrometer varian400-vnmrs400Study owner vnmr1
Operator operadorFelipe/Rodolfo
Amostra FNCad-01
Solicitacao N. P1009-1
Data 09.10.17_UFPE

APÊNDICE BT – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 82a - RMN ^{13}C 100MHz

Felipe/Rodolfo
Amostra FNCad-01
Solicitacao N. P1009-1
Data 09.10.17_UFPE



APÊNDICE BU – Oxadiazolina com hidrogênio em C3 78a - DEPT

Felipe/Rodolfo
Amostra FNCad-01
Solicitacao N. P1009-1
Data 09.10.17_UFPE

