



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**1,2,4-Oxadiazóis e O e S-Glicosídeos-2,3-Insaturados:
Síntese e Caracterização Estrutural**

MAURICÉLIA MARIA DE SOUSA MATA

Recife

Fevereiro/2017

MAURICÉLIA MARIA DE SOUSA MATA*

**1,2,4-Oxadiazóis e O e S-Glicosídeos-2,3-Insaturados:
Síntese e Caracterização Estrutural**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. João Rufino de Freitas Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Juliano Carlos Rufino de Freitas

***Bolsista CAPES**

Recife

Fevereiro/2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

M425u Mata, Mauricélia Maria de Sousa
1,2,4-oxadiazóis e O e S-glicosídeos-2,3-insaturados: síntese
e caracterização estrutural / Mauricélia Maria de Sousa Mata. –
2017.
91 f. : il.

Orientador: João Rufino de Freitas Filho.
Coorientador: Juliano Carlos Rufino de Freitas.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Química, Recife,
BR-PE, 2017.

Inclui referências e apêndice(s).

1. Arilamidoxima 2. 1,2,4-oxadiazol 3. Glicosídeo 2,3-
insaturados I. Freitas Filho, João Rufino de, orient. II. Freitas,
Juliano Carlos Rufino de, coorient. III. Título

CDD 540

MAURICÉLIA MARIA DE SOUSA MATA

**1,2,4-Oxadiazóis e O e S-Glicosídeos-2,3-Insaturados:
Síntese e Caracterização Estrutural**

BANCA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Prof.Dr. João Rufino de Freitas Filho (DQ-UFRPE)

Orientador

Prof. Dr. Juliano Carlos Rufino de Freitas (CES-UFCG)

Co-orientador

Prof.Dr. Clécio Souza Ramos (DQ-UFRPE)

1ºExaminador

Prof.Dr. Jucleiton José Rufino de Freitas (DCR-UAST)

2ºExaminador

Recife

Fevereiro/2017

Dedico este trabalho à minha família, por estar sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando. Em especial as minhas irmãs, Maria Aparecida, Micaella, Natali, e aos meus pais, Juraci Bernardo de Sousa Mata e Valdemir Antonio da Mata que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelas conquistas até o momento, mas peço a Ele para me dar sabedoria para conquistar muito mais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho e ao meu co-orientador Prof. Dr. Juliano Carlos Rufino de Freitas pela confiança, ensinamentos e orientação para realização deste trabalho.

O Rodrigo Avelino aluno de IC que contribuiu para o trabalho, muito obrigada pelo companheirismo e ajuda nas sínteses. Aos amigos de laboratório e de disciplinas aqui da UFRPE, Aldicéia, Andreza, Claudia, Cláudio, Giselle, Marcilio, Luiz Alberto, Leonardo, Cosme, John, Iago, Fábiana, Anabel, Jéssica, Drielly, Raphaela, Roberta, e outros que me fogem a memória. Muito obrigada por todo apoio e companheirismo constante, lembrarei para sempre de vocês.

Em especial agradeço ao aluno de doutorado Renato Luiz da Silva que nunca me deixou na mão quando precisei da sua ajuda desde a graduação, muito obrigada por toda ajuda, por sua amizade, pelos ensinamentos e companheirismo.

Aos professores que fazem parte da pós-graduação por todo conhecimento passado que contribuíram para a minha formação tanto acadêmica como profissional.

Ao Prof^o.Dr. Paulo Menezes da UFPE e a Prof^a.Dra. Mônica Belian da UFRPE por cederem seus laboratórios para que este trabalho fosse desenvolvido.

Gostaria de agradecer as Centrais Analíticas da UFRPE (CENAPESQ) e UFPE, que me ajudou me fornecendo os IV's e RMN ¹³C e ¹H dos meus compostos. E a CAPES, pela bolsa concedida.

Aos Professores Dr. Clécio Souza Ramos, Dr. Jucleiton José Rufino de Freitas e Dr. Wagner Eduardo da Silva por participarem da minha qualificação e/ou defesa, além de contribuírem para o meu trabalho e crescimento profissional.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

SUMÁRIO

Resumo	viii
Abstract	ix
Lista de Figuras	x
Lista de Esquema	xii
Lista de Tabela	Xiii
Lista de Abreviações	Xiv
1.0 INTRODUÇÃO	15
1.1 Caracterização do 1,2,4-oxadiazóis	16
1.2 Síntese de 1,2,4-oxadiazóis	17
1.3 Aplicação e bioatividade de 1,2,4-oxadiazóis	20
1.4 Carboidrato	26
1.5 Glicosídeos	27
1.6 Síntese de glicosídeos 2,3-insaturados	29
2.0 OBJETIVOS	33
2.1. Geral	33
2.2 Específicos	33
3.0 MATERIAS E MÉTODOS	34
3.1 Materiais empregados	34
3.2 Instrumentos utilizados	34
3.3 Síntese das arilamidoximas	35
3.4 Síntese do malato de dimetila	36
3.5 Síntese do 3-mercaptopropionato de isopropila	36
3.6 Síntese de 1,2,4-oxadiazóis sob aquecimento sem base e solvente	37
3.7 Síntese de 1,2,4-oxadiazóis sob irradiação de micro-ondas	40

3.8 Síntese do 3,4,6-Tri- <i>O</i> -Acetil- <i>D</i> - <i>Glicial</i>	42
3.9 Síntese dos <i>O</i> e <i>S</i> -glicosídeos	43
4.0 Atividade citotóxica	44
4.1 Procedimento de atividade antimicrobiana	44
4.2 Procedimento de atividade antitumoral	46
4.3 Caracterização estruturais dos compostos	48
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1. Síntese das arilamidoximas	49
5.2. Esterificação do ácido 3-mercaptopropiónico	51
5.3. Síntese dos monos 1,2,4-Oxadiazol	53
5.4. Esterificação do ácido málico	56
5.5. Síntese dos 3-aryl-5-hidroxi-alkyl-bis-1,2,4-oxadiazóis	57
5.6. Síntese do Salicilato de metila	61
5.7 Síntese de 1,2,4-oxadiazóis do salicilato de metila	63
5.8 Síntese do 3,4,6-Tri- <i>O</i> -acetil- <i>D</i> - <i>glicial</i>	67
5.9 Síntese dos <i>O</i> e <i>S</i> -glicosídeos 2,3-insaturado	70
6.0 Atividade citotóxica	73
6.1 Atividade antimicrobiana	74
6.2 Atividade antitumoral	75
7. CONCLUSÃO	76
8. PERSPECTIVAS	78
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
10. APÊNDICES	85

RESUMO

Neste trabalho, foi descrito a síntese e caracterização de novos mono e bis 1,2,4-oxadiazóis-3,5-dissubstituído, e novos O e S-glicosídeos 2,3-insaturados através do Rearranjo de Ferrier ligado ao 1,2,4-oxadiazol na parte aglicônica. Realizou inicialmente a síntese dos compostos de partidas: arilamidoximas (fenil, *o*-toluil, *m*-toluil, *p*-toluil, *p*-bromofenil, *p*-clorofenil, *p*-nitrofenil), 3-mercaptopropionato de isopropila, malato de dimetila e salicilato de metila, separadamente. A síntese das arilamidoximas **66a-g** foi realizada através do método descrito por *Srivastava*, a partir das arilnitrilas **64a-e** com cloridrato de hidroxalamina e carbonato de sódio. Os produtos **66a-g** foram obtidos com rendimentos moderados e bons (30% - 97%). O malato de dimetila, 3-mercaptopropionato de isopropila e salicilato de metila, foram obtidos através da reação de esterificação do ácido salicílico, ácido 3-mercaptopropiônico e ácido málico respectivamente, com os correspondentes alcoóis utilizando o ácido sulfúrico como catalisador, onde foram obtidos rendimentos satisfatórios de 60%, 79% e 78%, respectivamente. Os monos e bis-1,2,4-oxadiazóis **70a-d**, **73a-d**, **74a-d**, e **77a-e** foram sintetizados pela reação das arilamidoximas **66a-e** com o malato de dimetila, o 3-mercaptopropionato de isopropila e o salicilato de metila, separadamente, utilizando dois métodos diferentes: uso de irradiação de micro-ondas na presença de carbonato de potássio para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis e aquecimento na ausência de solvente e base para a síntese dos bis-1,2,4-oxadiazóis. Os heterocíclicos **70a-d**, **73a-d**, **74a-d** e **77a-e** foram obtidos com rendimentos moderados (20-91%). Os glicosídeos foram obtidos reagindo o tri-O-acetil-D-glicol (**79**) com os diferentes álcoois, em presença de montmorillonita como catalisador. Foram avaliadas as atividades antitumoral e antimicrobiana dos compostos sintetizados. As estruturas dos compostos obtidos foram elucidadas por métodos espectroscópicos de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e também por massa de alta resolução.

Palavras-chave: Arilamidoxima, 1,2,4-oxadiazol, Glicosídeo 2,3-insaturados.

ABSTRACT

In this work, described the synthesis and characterization of new derivatives 3,5-substituted mono and bis 1,2,4-oxadiazoles and 2,3-unsaturated O and S-glycosides through Ferrier Rearrangement linked to 1,2,4-oxadiazole in the aglycone part. Performed initially the synthesis of the agents initial reactants: arylamidoximes (Ar = phenyl, *o*-toluyl, *m*-toluyl, *p*-toluyl, *p*-bromophenyl, *p*-chlorophenyl, *p*-nitrophenyl) of isopropyl 3-mercaptopropionato, dimethyl malate and methyl salicylate, separately. The synthesis of the arylamidoximes **66a-g** was carried out by the method described by Srivastava, from arylNitriles **38a-g** with hydroxylamine hydrochloride and sodium carbonate. The products **64a-g** were obtained with moderate and high yields (30 - 97%). The isopropyl 3-mercaptopropionate, dimethyl malate and methyl salicylate were obtained through esterification reaction of salicylic acid, 3-mercaptopropionic acid and Malic acid respectively, with the corresponding alcohols using sulfuric acid as a catalyst, which they were obtained satisfactory yields of 60%, 79% and 78%, respectively. The mono and bis 1,2,4-oxadiazoles **70a-d**, **73a-d**, **74a-d**, e **77a-e** were synthesized by treatment of arylamidoximes **66a-g** with isopropyl 3-mercaptopropionate, dimethyl malate and methyl salicylate, using two different methods: use of microwave irradiation in the presence of potassium carbonate for the synthesis of mono-1,2,4-oxadiazoles and heating in the absence of solvent and base for the synthesis of bis-1,2,4 -oxadiazoles. The heterocyclic **70a-d**, **73a-d**, **74a-d** and **77a-d** were obtained in moderate yields (**20-91%**). The glycosides were obtained by reacting the tri-*O*-acetyl-*D*-glucal (**78**) with the different alcohols, in the presence of montmorillonit as a catalyst. The antitumor and antimicrobial activities of the synthesized compounds were evaluated. The structures of the compounds obtained were elucidated by spectroscopic methods Infrared and nuclear magnetic resonance ^1H and ^{13}C and also by high resolution mass.

Keywords: Arylamidoximes, 1,2,4-oxadiazoles, 2,3-unsaturated glycosides.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Isômeros constitucionais de oxadiazóis	16
FIGURA 2	Molusco <i>Phidiana militaris</i>	18
FIGURA 3	Estrutura das fidianidinas A e B	18
FIGURA 4	Estruturas químicas da oxalamina, libexina e irrigor	20
FIGURA 5	Estruturas de medicamentos e moléculas bioativas com a porção 1,2,4-oxadiazol	21
FIGURA 6	Estrutura dos compostos que apresentou atividade anticâncer	22
FIGURA 7	Estrutura de composto que apresentou atividade antimicrobiana e antifúngica	22
FIGURA 8	Estruturas gerais análogas da linezolid sintetizadas <i>Piccione</i> e colaboradores	23
FIGURA 9	Compostos que apresentaram atividades neuroprotetoras <i>in vitro</i>	23
FIGURA 10	Estruturas de 1,2,4-oxadiazóis como compostos bioativos	24
FIGURA 11	Estrutura do composto que apresentou atividade anticâncer frente células RXF393	25
FIGURA 12	Estruturas de 1,2,4-oxadiazóis com propriedades de cristais - líquidos, líquidos iônicos e fotoluminescentes	25
FIGURA 13	Estrutura de carboidratos com funções biológicas	26
FIGURA 14	Formas cíclica da <i>D</i> -glicose	27
FIGURA 15	Diferentes tipos de glicosídeos	27
FIGURA 16	Estrutura de O-glicosídeos de produtos naturais.	28
FIGURA 17	Glicosídeos com atividade anti-inflamatória	28
FIGURA 18	Glicosídeo cardíaco TXA9.	29
FIGURA 19	Planta da espécie <i>Streptocaulon juvenas</i> .	29

FIGURA 20	Imagem de multiplacas com 96 poços	45
FIGURA 21	Espectro de infravermelho em KBr do composto 66c .	51
FIGURA 22	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 69	52
FIGURA 23	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 69	53
FIGURA 24	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 70a	55
FIGURA 25	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 70a	56
FIGURA 26	Espectro de infravermelho do ester malato de dimetila em pastilha de KBr	57
FIGURA 27	Espectro de IV do <i>m</i> -toluil-5-hidroxi etil-bis-1,2,4-oxadiazóis	59
FIGURA 28	Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 do <i>m</i> -toluil-5-hidroxietil-bis-1,2,4-oxadiazol (73a)	60
FIGURA 29	Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 do <i>m</i> -toluil-5-hidroxi etil-1,2,4-oxadiazol (74a)	61
FIGURA 30	Espectro de infravermelho do composto 76 em pastilha de KBr	62
FIGURA 31	Espectro de IV em KBr do composto 77e	65
FIGURA 32	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do 2-(3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-fenol	66
FIGURA 33	Espectro de IV da <i>D</i> -glicose em pastilha de KBr.	67
FIGURA 34	Espectro de IV do composto 78 em pastilha de KBr.	68
FIGURA 35	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 78	69
FIGURA 36	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 78	70
FIGURA 37	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 79	72
FIGURA 38	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 79	73
FIGURA 39	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 70b	85

FIGURA 40	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 70b	85
FIGURA 41	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 70d	86
FIGURA 42	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 70d	86
FIGURA 43	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 70c	87
FIGURA 44	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 70c	87
FIGURA 45	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 73c	88
FIGURA 46	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 74c	88
FIGURA 47	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 73a	89
FIGURA 48	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 73a	89
FIGURA 49	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 77e	90
FIGURA 50	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto 77d	90
FIGURA 51	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto 77d	91

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1	Rotas gerais da obtenção de 1,2,4-oxadizóis	17
ESQUEMA 2	Síntese de 1,2,4-oxadiazóis utilizando micro-ondas	18
ESQUEMA 3	Síntese <i>one pot</i> de 1,2,4-oxadiazóis 3-substituídos	19
ESQUEMA 4	Ciclização de <i>O</i> -acilamidoxima para síntese de 1,2,4-oxadiazóis	19
ESQUEMA 5	Síntese <i>one pot</i> de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos mediada por base	20
ESQUEMA 6	Síntese de <i>O</i> -glicosídeos 2,3-insaturado por Ferrier e Prasad.	30
ESQUEMA 7	Otimização da metodologia Ferrier e Prasad.	30
ESQUEMA 8	Síntese de Glicosídeos-2,3-insaturados utilizando Montmorillonita K-10 como catalisador.	31
ESQUEMA 9	Rearranjo de ferrier promovido pelo Tm (OTf) ₃ .	31
ESQUEMA 10	<i>O</i> -glicosídeos 2,3 e 3,4-insaturado utilizando Pd (0) como catalisador.	32
ESQUEMA 11	Síntese de Glicosídeos-2,3-insaturados utilizando irradiação de ultrassom e TsOH como catalisador.	32
ESQUEMA 12	Síntese das arilamidoximas	49
ESQUEMA 13	Reação de esterificação do ácido 3-mercaptopropiónico	52
ESQUEMA 14	Esquema reacional para a síntese dos 1,2,4-oxadiazóis 70a-e	54
ESQUEMA 15	Reação de Esterificação do D-L Ácido Málico	57

ESQUEMA 16	Síntese dos bis e mono- 1,2,4-oxadiazóis 73a-d e 74a-d	58
ESQUEMA 17	Reação de esterificação do ácido salicílico	62
ESQUEMA 18	Síntese de 1,2,4 – oxadiazol mediada por irradiação de micro-ondas a partir do salicilato de metila	63
ESQUEMA 19	<i>Etapas reacionais da síntese do 3,4,6-tri-O-acetil-D-glicial</i>	66
ESQUEMA 20	Síntese de inéditos O-glicosídeos 2,3-insaturados contendo o anel 1,2,4- oxadiazol	71

LISTA DE TABELA

TABELA 1	Escala de citotóxicidade.	48
TABELA 2	Rendimentos e tempos das arilamidoximas	50
TABELA 3	Rendimentos reacionais e ponto de fusão dos produtos 70a-e	54
TABELA 4	Rendimentos reacionais dos produtos 73a-d e 74a-d.	58
TABELA 5	Rendimentos e pontos de fusão dos compostos 77a-e sintetizados	64
TABELA 6	Atividade antibacteriana dos 1,2,4-oxadiazóis 70a-c.	74
TABELA 7	Percentual de inibição em concentração única do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu intervalo de confiança.	75

LISTA DE ABREVIÇÕES

Δ	Deslocamento químico
D	Dupleto
M	Multiplete
S	Simpleto
T	Triplete
p.f	Ponto de fusão
AcOEt	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
Hex	Hexano
FTIR	Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier
MeOH	Metanol
MHz	Mega-hertz
Ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de prótons
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
t.a	Temperatura ambiente
DMF	Dimetilformamida
CCD	Cromatografia de camada delgada
DMSO	Dimetil sulfoxido
M.O	Microndas
TEA	Trietilamina
CMI	Concentração Mínima Inibitória
Pd ₂ dba ₃	Tris(dibenzilidencacetona)dipaládio(0)

1.0 INTRODUÇÃO

A química de compostos heterocíclicos tem recebido a atenção de inúmeros pesquisadores, pois a maioria desses compostos apresenta atividades biológicas diversas, sendo esses importantes na síntese de novos fármacos. Dentre os fármacos de origem sintética, cerca de 62% possuem o anel heterocíclicos em sua estrutura, destes, 95% contém átomo de nitrogênio e 18% de oxigênio.¹

Há diversos compostos heterocíclicos com atividades farmacológicas e entre esses, destacam-se os 1,2,4-oxadiazóis, heterocíclico de anel de cinco membros o qual tem atraído grande atenção dos químicos em busca de novos agentes terapêuticos. Em virtude desses compostos apresentarem diversas atividades biológicas, tais como: antimicrobiana², neuroprotetora³, anti-inflamatória⁴, antidiabética⁵ entre outras.

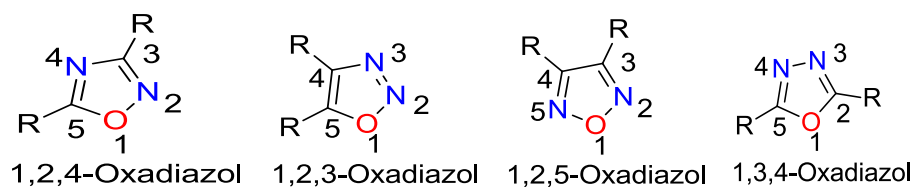
Outro importante heterocíclico são os carboidratos, compostos responsáveis por muitas funções biológicas tais como armazenamento e transporte de energia, estes também apresentam potenciais atividades anti-inflamatória⁶, antioxidante⁷, analgésica⁸, dentre outras. Neste contexto, os glicosídeos 2,3-insaturados destacam-se por serem importantes intermediários na síntese de vários produtos naturais e moléculas de interesses biológicos.

1.1 Caracterização do 1,2,4-oxadiazóis

Os 1,2,4-oxadiazóis são caracterizados por constituir em sua estrutura um anel de cinco membros, com dois átomos de nitrogênio e um de oxigênio como heteroátomos e duas ligações duplas. Os primeiros estudos científicos sobre a síntese e caracterização dos 1,2,4-oxadiazóis foram idealizados inicialmente por Tiemann e Krüger em 1884. Devido à tendência que esses compostos possuem de sofrer rearranjos moleculares e à descoberta de novas aplicações, tanto na química medicinal quanto na química de materiais, cresceu o interesse pela química dos 1,2,4-oxadiazóis.⁹

O 1,2,4-oxadiazol, o composto de interesse no presente trabalho, possui três isômeros constitucionais como mostrado abaixo (Figura 1). Convém destacar que a numeração para nomear os oxadiazóis é realizada dando ao átomo oxigênio do anel o menor número, seguido pelos nitrogênios e acrescentando a palavra oxadiazol para determinar o anel heterocíclico. Dentre esses quatro isômeros os mais relatados na literatura são: o 1,2,4-oxadiazol e o 1,3,4-oxadiazol.

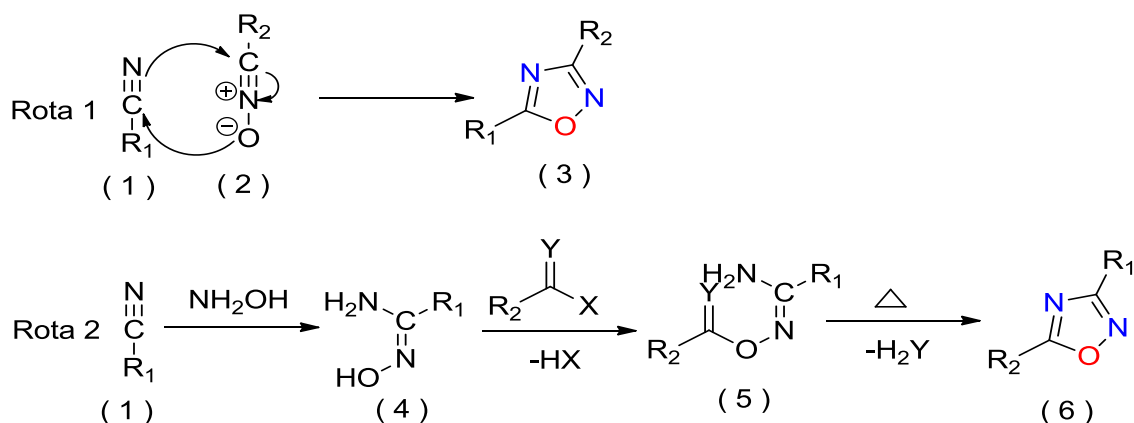
Figura 1: Isômeros constitucionais de oxadiazóis.



1.2 Síntese de 1,2,4-oxadiazóis

Os 1,2,4 – oxadiazóis 3,5-dissubstituídos podem ser obtidos através de duas rotas sintéticas: Rota-1) reação de cicloadição 1,3-dipolar de nitrilas e *N*-óxidos de nitrilas, e nesta não há formação de intermediários, enquanto; Rota-2) a mais utilizada e se baseia na aciliação da amidoxima, formando a *O*-acilamidoxima, e tendo como última etapa a ciclodesidratação das *O*-acilamidoximas, formando assim, os 1,2,4-oxadiazóis. É importante salientar que se podem usar ácidos carboxílicos e seus derivados como: anidridos, cloretos ácidos, ésteres e outros, como agentes de acilação desta rota¹⁰ (Esquema 1). As etapas que envolvem a formação do heterocíclico geralmente são de ciclização seguida por desidratação para fornecer os anéis desejados. As reações para formação dos anéis heterocíclicos 1,2,4 – oxadiazóis são realizadas em processos que envolvem altas temperaturas.¹

Esquema 1: Rotas gerais da obtenção de 1,2,4-oxadiazóis



Os anéis 1,2,4-oxadiazólicos também são obtidos em produtos naturais, em 2011 Carbone *et al.*,¹² isolaram do molusco *Phidiana militaris* (Figura 2), coletados ao longo da costa da ilha de Hainan (Sul do Mar da China), o primeiro 1,2,4-oxadiazol de origem natural (Figura 3), o qual apresentou alta citotoxicidade contra linhagens celulares tumorais e não tumorais de

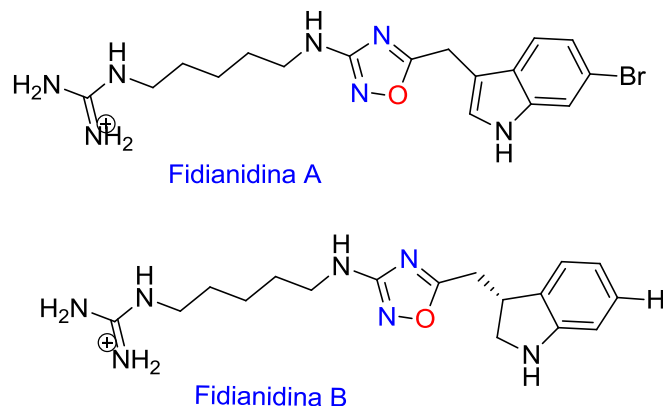
mamíferos em ensaios *in vitro*. Essa descoberta abriu novos caminhos para síntese total e modificação estrutural destas fidianidinas.

Figura 2: Molusco *Phidiana militaris*



Fonte: Alder & Hancock, 1864.

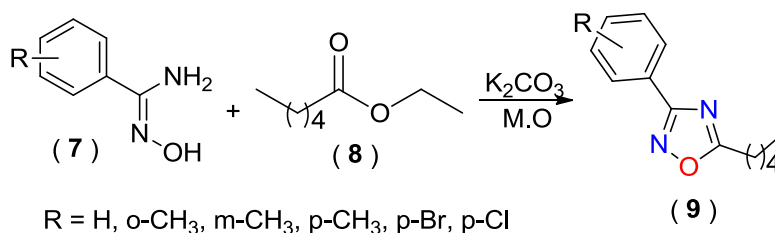
Figura 3: Estrutura das fidianidinas A e B.



Na literatura há vários relatos que descrevem diferentes métodos para obtenção de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos. A seguir apresentaremos alguns métodos sintéticos utilizados na síntese deste heterocíclico.

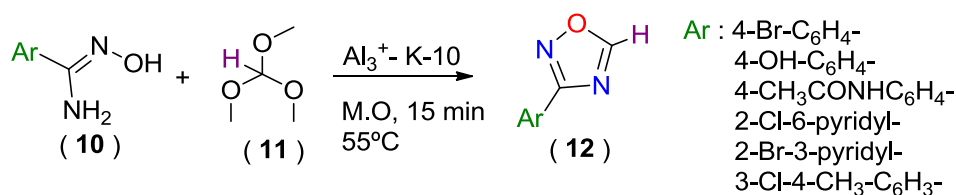
Em 2014, Barros e colaboradores mediante uma síntese *one pot* obtiveram uma serie de 1,2,4-oxadiazóis partindo-se de arilamidoximas e o éster (**8**) usando irradiação de micro-ondas, como mostra o esquema 2. Os autores testaram a atividade antitumoral *in vitro* dos compostos obtidos. Os testes biológicos contra linhagens tumorais foram moderados, já que três 1,2,4-oxadiazóis apresentaram atividades, pois bloquearam a proliferação das células tumorais.¹³

Esquema 2: Síntese de 1,2,4-oxadiazóis utilizando micro-ondas.



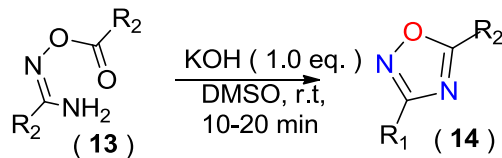
Um outro procedimento descrito na literatura que envolve uma reação “one pot” e irradiação de micro-ondas foi relatado por Pitchumani *et al.*¹⁴ A metodologia usada para síntese dos 1,2,4-oxadiazóis consistiu em reagir diferentes amidoximas e o ortoformiato de trimetila utilizando argila montmorillonita permutada com metal (Al^{3+} - K-10) como catalisador. Os produtos foram obtidos com excelentes rendimentos que variaram entre 91-94% e em curto tempo reacional de 15min como pode ser observado no esquema 3.

Esquema 3: Síntese *one pot* de 1,2,4-oxadiazóis 3-substituídos.



Recentemente, Baykov *et al.*,¹⁵ descreveram um eficiente e conveniente método para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos contendo diferentes grupos funcionais através da ciclodesidratação de O-acilamidoximas em sistema com bases forte utilizando DMSO e hidróxidos de metais alcalinos como base. Os produtos foram obtidos com excelentes rendimentos que variaram entre 82-96% e tempos reacionais curtos 10-20 minutos utilizando o KOH, como mostra o esquema 4.

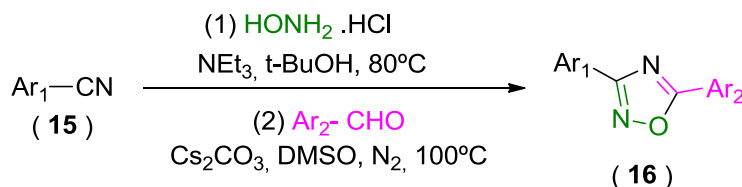
Esquema 4: Ciclização de O-acilamidoxima para síntese de 1,2,4-oxadiazóis.



Em 2016, Wang *et al.*¹⁶ relataram uma síntese *one pot* simples e eficiente mediada por base para obtenção de derivados 1,2,4-oxadiazóis a partir de nitrilas, aldeídos e cloridrato de hidroxilamina, na qual os aldeídos foram usados como

substrato e oxidante (Esquema 5). Os produtos foram obtidos com rendimentos bons entre 50-93%.

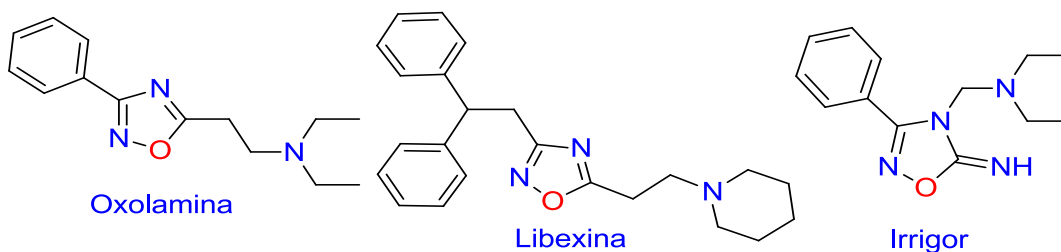
Esquema 5: Síntese one pot de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos mediada por base.



1.3 Aplicação e bioatividade de 1,2,4-oxadiazóis

Na literatura podemos encontrar diversas moléculas de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos com atividades biológicas. Derivados destes heterocíclicos têm sido alvos de estudos em aplicações na química medicinal e alguns compostos contendo este grupo farmacofórico já são utilizados na indústria farmacêutica. Na década de 60 os seguintes oxadiazóis: a oxolamina e a libexina, dois antitussígenos, e o irrigor, um vasodilatador coronariano e anestésico local (Figura 4) ficaram conhecidos comercialmente como fármacos.¹¹

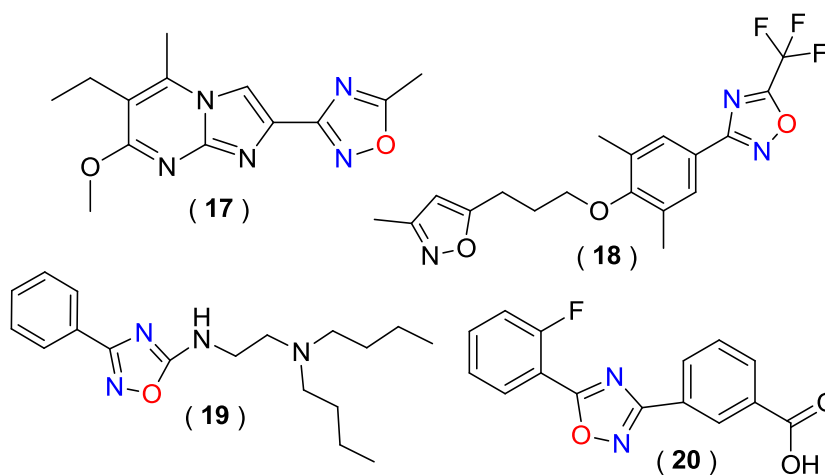
Figura 4: Estruturas químicas do oxolamina, libexina e irrigor.



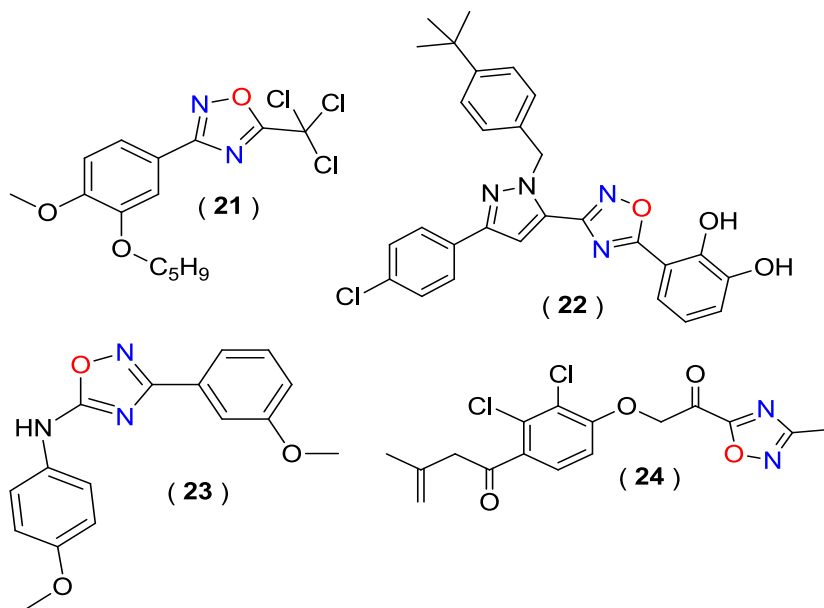
Atualmente podemos encontrar alguns medicamentos já disponíveis no mercado, ou moléculas bioativas em fase de avaliação (Figura 5) com resultados promissores contendo uma porção de 1,2,4-oxadiazóis em sua estrutura como: Butalamina, um vasodilatador (19),¹⁷ Fasiplon (17),¹⁷ Pleconaril (18),¹⁷ e o

atulurena ou PTC124 (**20**) é conhecido comercialmente na Europa como Translarna é um medicamento usado para o tratamento da fibrose cística e Distrofia Muscular de Duchenne, doença causada pela mutação genética específica denominada nonsense, a fase três de ensaios clínicos foi bem sucedida.¹⁵

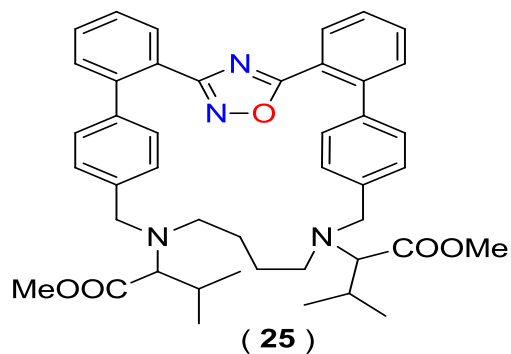
Figura 5: Estruturas de medicamentos e moléculas bioativas com a porça 1,2,4-oxadiazol.



Nos anos 2011, 2012 e 2013, foi relatado diversos estudos com compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituídos com potencial atividades anticancer, na figura 6 temos alguns exemplos de moléculas que apresentaram grande potencial antitumoral, frente ao câncer de próstata,¹⁸ de pulmão,¹⁹ leucemia²⁰ e inibidores de tubulina.²¹

Figura 6 : Estrutura dos compostos que apresentaram atividade anticâncer.

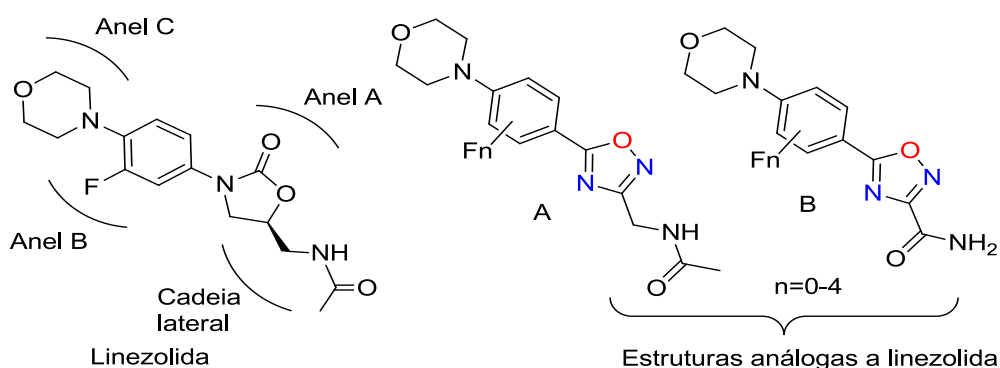
Em 2013, Dabholkar *et al.*,² reportaram a síntese de novos compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazólico, as moléculas sintetizadas apresentaram potenciais atividades antimicrobianas, os valores de inibição destas foram próximos dos valores testados para a ampicilina, um antibiótico utilizado em caso de infecção por bactérias *gram-positivas* ou *gram-negativas*. Abaixo temos a estrutura do composto **25**, o qual apresentou melhor potencial (Figura 7).

Figura 7: Estrutura de composto que apresentou atividade antimicrobiana.

Piccionello *et al.*,²² relatam a síntese de diferentes derivados 1,2,4-oxadiazóis análogos da linezolida, um antibiótico sintético da classe das

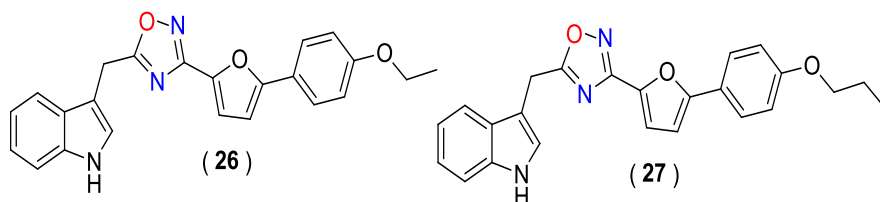
oxalidinonas. No presente trabalho os autores substituíram o anel da oxalidinona pelo 1,2,4-oxadiazol, variando o número e a posição dos átomos de flúor no anel B e modificando a cadeia lateral. Os valores de CMI das moléculas sintetizadas frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foram promissores para o derivado não-fluorado de A que apresentou atividade moderada contra *Streptococcus pyogenes* (CMI= 64 µg/mL) figura 8.²²

Figura 8: Estruturas gerais análogas da linezolida sintetizadas Piccionello e colaboradores.



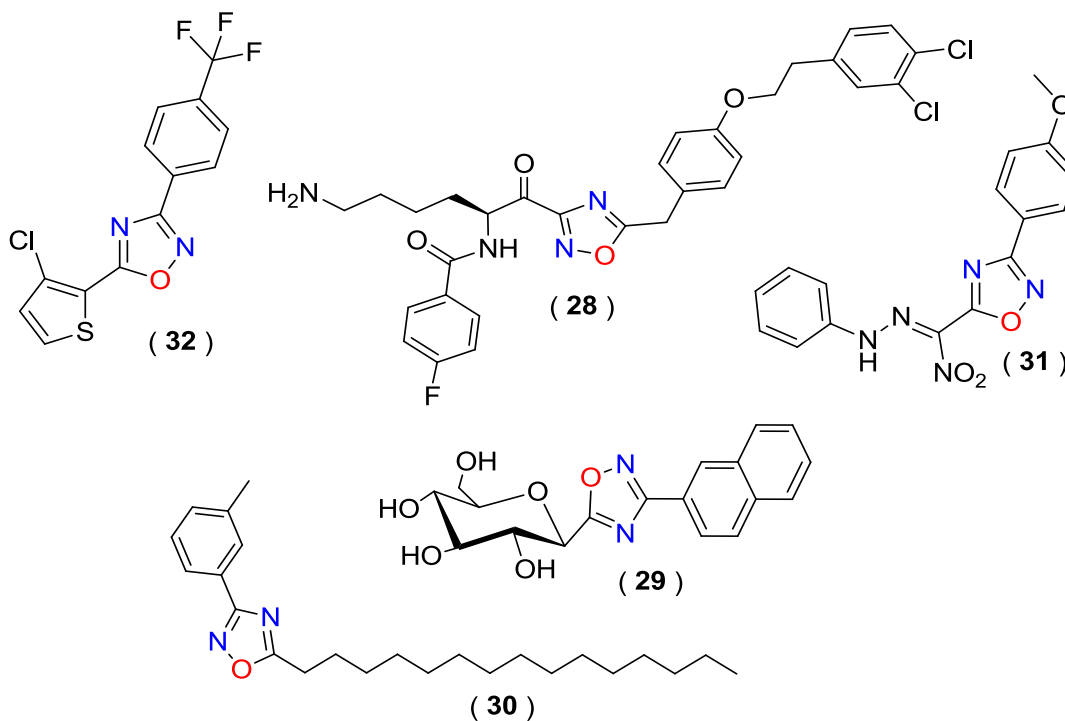
Recentemente, Jiang *et al.*,³ relataram compostos com boas atividades frente a doença de Alzheimer. No presente trabalho, os autores sintetizaram 24 análogos 1,2,4-oxadiazóis dos produtos naturais derivados do molusco marinho *Phidiana militaris* para avaliar as atividades neuroprotetivas destes. Os compostos **26** e **27** (Figura 9) foram os que apresentaram melhores atividades neuroprotetoras *in vitro* para todos os bioensaios.

Figura 9: Compostos que apresentaram atividades neuroprotetoras *in vitro*.

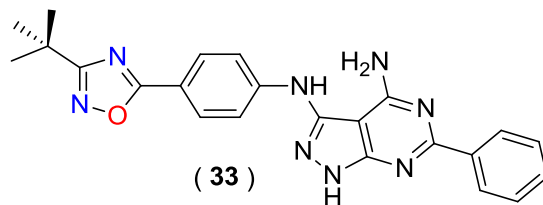


Em um artigo de revisão, Cunha *et al* (2015) destacaram as aplicações farmacológicas dos 1,2,4-oxadiazóis, os quais estão associados a diferentes ações terapêuticas, tais como: antiasmático (**28**), antidiabético (**29**), anti-inflamatório (**30**), antimicrobiano (**31**), anticâncer (**32**), entre outras (Figura 10).⁵

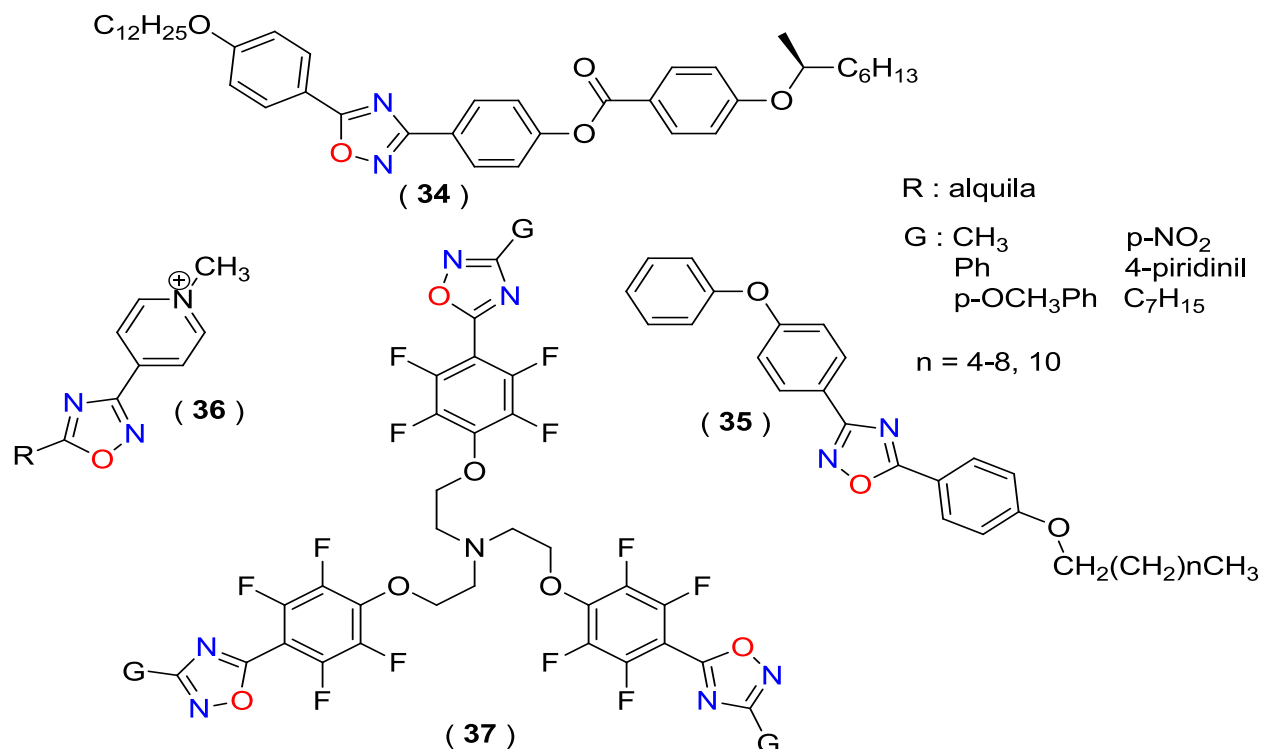
Figura 10: Estruturas de 1,2,4-oxadiazóis como compostos bioativos.



Mais recentemente, Catalin *et al*²³, relataram a síntese de novos derivados pirazolo [3,4-d] pirimidina contendo uma porção 1,2,4-oxadiazol e trifluorometilpiridina. Após síntese foram testada atividades antitumoral dos compostos em 11 linhagens celulares derivadas de tumores humanos através de ensaio de proliferação e sobrevivência em células de monocamada *in vitro*. O composto **33** (Figura 11), foi o que apresentou a melhor taxa de inibição frente as células de cancer renal RXF-393 ($CI_{50} = 1,143 \mu M$).

Figura11: Estrutura do composto que apresentou atividade anticâncer frente células RXF393.

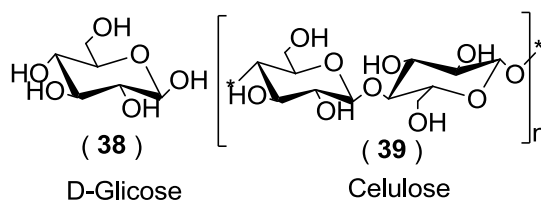
Esses heterocíclicos também são de interesse da química dos materiais para o progresso e elaboração de novos materiais, já que, os 1,2,4-Oxadiazóis-3,5-dissubstituídos podem ser usados como unidades mesogênicas para o desenvolvimento de cristais líquidos, onde fase líquido cristalina, polaridade, geometria, luminescência entre outras propriedades da molécula podem ser variadas através da introdução de heteroátomos.²⁴ Na figura 12 temos as estruturas de alguns 1,2,4-oxadiazóis com propriedades de cristais-líquidos (**34**, **35**), líquidos iônicos(**36**) e fotoluminescente (**37**) já relatadas na literatura.⁹

Figura 12: Estruturas de 1,2,4-oxadiazóis com propriedades de cristais -líquidos, líquidos iônicos e fotoluminescentes

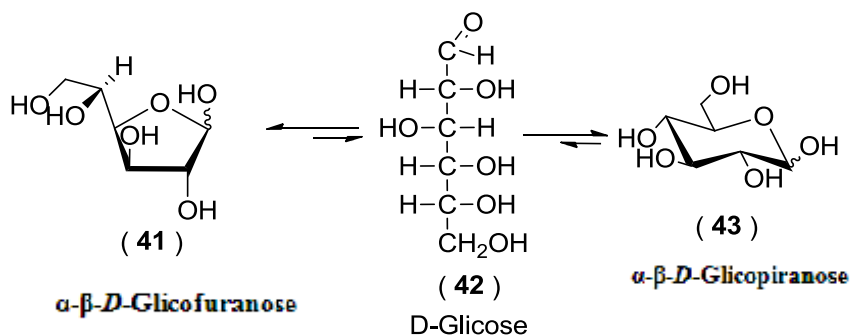
1.3 Carboidratos

Os carboidratos são as moléculas mais abundantes da natureza e apresentam várias funções biológicas nos organismos vivos. Por exemplo, a função energética em animais e a estrutural nos vegetais, realizadas pela glicose (38) e a celulose (39), carboidratos essenciais para os seres vivos¹¹ (Figura 13). Eles também podem ser encontrados em proteínas intra e extracelulares, lipídeos e na forma de polissacarídeos livres na superfície da célula e no espaço intercelular.²⁵

Figura 13: Estrutura de carboidratos com funções biológicas.



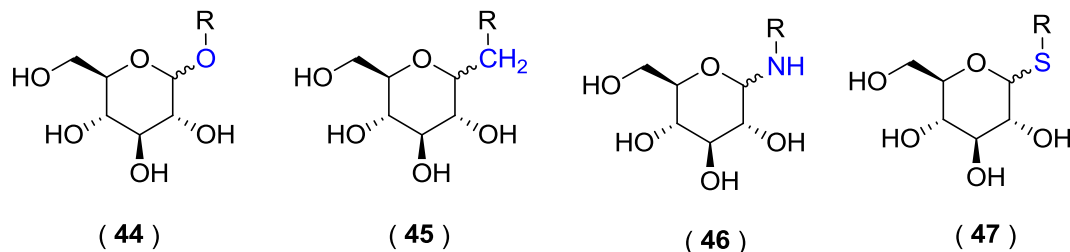
Os carboidratos são compostos naturais polifuncionais sendo constituído principalmente por átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, mas é importante salientar que alguns desses compostos possuem nitrogênio, fósforo ou enxofre em sua estrutura. São divididos em três grupos principais, sendo eles os monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos. Os dois primeiros são conhecidos como carboidratos simples, já os polissacarídeos são denominados carboidratos complexos. Em geral os carboidratos se rearranjam para sua estrutura mais estável, na forma de anéis hemiacetálicos de seis ou cinco membros quando este possui mais de cinco átomos de carbono. Estas estruturas cíclicas de seis membros são denominadas de piranose (nome derivado do éter cíclico de seis átomos, o pirano), e as estruturas cíclicas de cinco membros são denominadas de furanose (nome derivado do éter cíclico de cinco átomos, o furano) (Figura 14).²⁶

Figura 14: Formas cíclicas da *D*-Glicose.

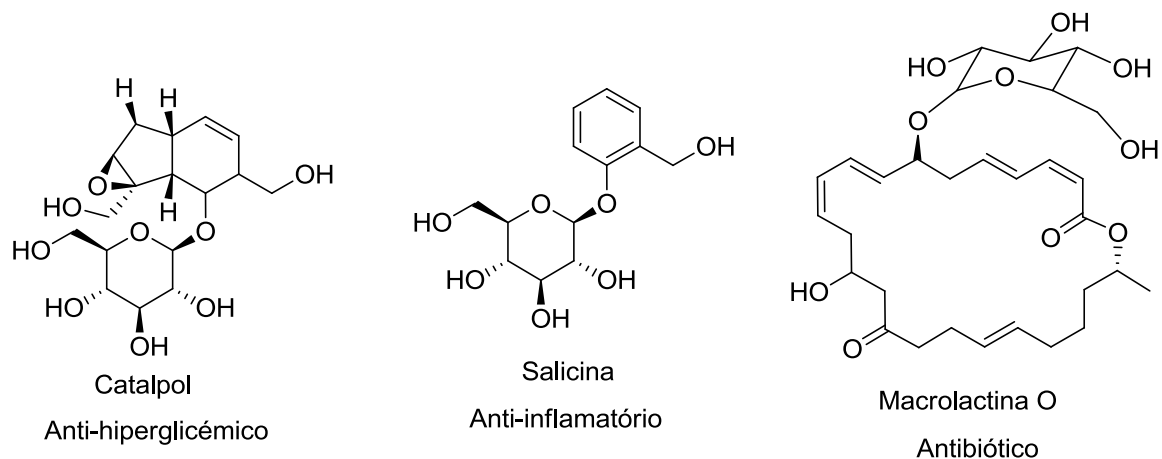
1.4 Glicosídeos

Derivado de carboidratos, os glicosídeos são constituídos basicamente por duas unidades, uma unidade de açúcar (carboidrato), que liga-se a outro açúcar ou outras moléculas através de seu carbono anomérico mediante uma ligação glicosídica. Esta porção ligada ao carbono anomérico é denominada de aglicona.

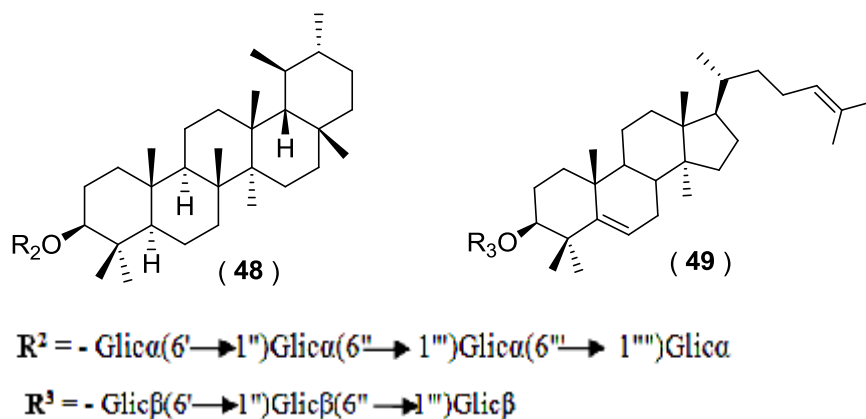
Os glicosídeos são classificados pelo tipo de ligação pela qual a parte aglicona liga-se no C-1 do carboidrato, podendo ser: *O*-, *C*-, *N*-, ou *S*- glicosídeo, isto irá depender do agente nucleofílico (Figura 15).

Figura 15: Diferentes tipos de glicosídeos.

Os glicosídeos estão presentes em vários produtos naturais como salicina (41),²⁵ catalpol (42),²⁵ e Macrolactina^O (43) (Figura. 16), os quais apresentam diferentes atividades biológicas.

Figura 16: Estrutura de O-glicosídeos de produtos naturais.

Chung *et al.*, em 2014, isolaram três triterpênicos glicosídeos (Figura 17) encontrados no ginseng vermelho. Estes compostos foram avaliados quanto às suas atividades anti-inflamatórias utilizando células da linhagem RAW 264.7 de macrófagos murínicos, sendo apresentada atividade anti-inflamatória nos compostos **48** e **49**.²⁷

Figura 17: Glicosídeos com atividade anti-inflamatória.

Em 2015, Xue *et al.*, relatam à atividade anti-tumoral frente à não-pequenas células tumorais de pulmão em testes *in vitro* e *in vivo* de um glicosídeo cardíaco, o TXA9 (Figura 18), que é um produto natural isolado das raízes de *Streptocaulon juvenus* (Figura 19). O câncer de pulmão de não pequenas células é diagnosticado em 75% dos casos de câncer de pulmão, sendo um tipo de câncer

que apesar do alto grau de resposta ao tratamento, apresenta baixo percentual de cura.²⁸

Figura 18: Glicosídeo cardíaco TXA9.

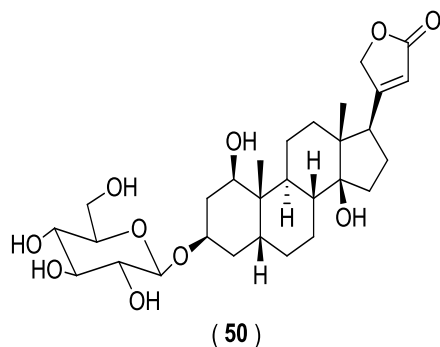


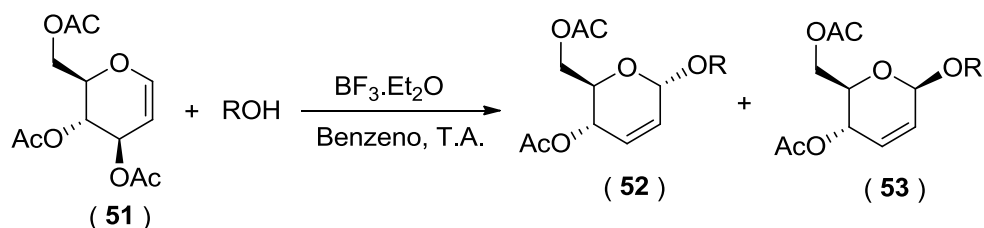
Figura 19: Planta da espécie *Streptocaulon juvenus*.



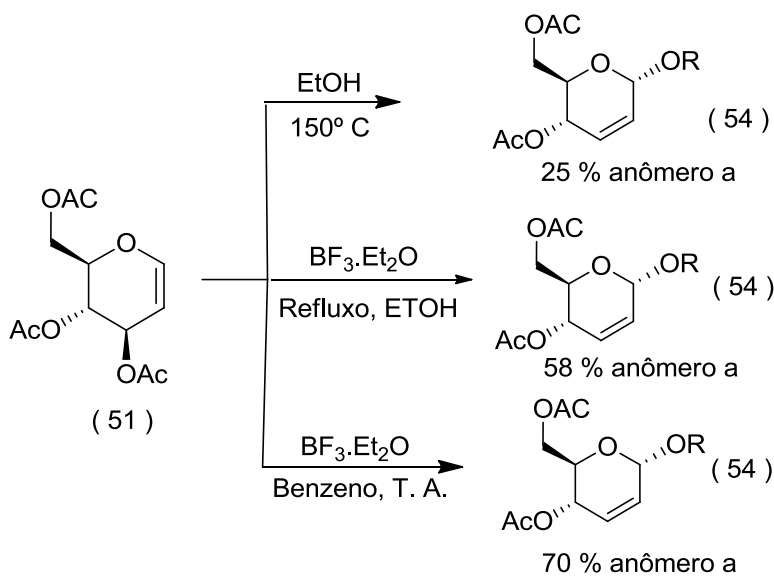
1.6 Síntese de glicosídeos 2,3-insaturados

Os glicosídeos 2,3-insaturados podem ser obtidos mediante a reação de glicais com diferentes nucleófilos (reação de glicosidação), através de um rearranjo alílico ou de Ferrier do glicial na presença de um álcool e um ácido de Lewis como catalisador.

A primeira síntese de glicosídeos 2,3-insaturado foi realizada em 1969 por Ferrier e Prasad, no referente trabalho eles conseguiram obter os glicosídeos 2,3-insaturados reagindo o tri-*O*-acetil-*D*-glicial com diversos alcoóis, na presença de trifluoreto de boro e éter dietílico ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) como ácido de Lewis. Obteve-se os glicosídeos **52** e **53** em bons rendimentos, sendo o anômero α o produto principal (**52**) (Esquema 6).²⁹

Esquema 6: Síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturado por Ferrier e Prasad.

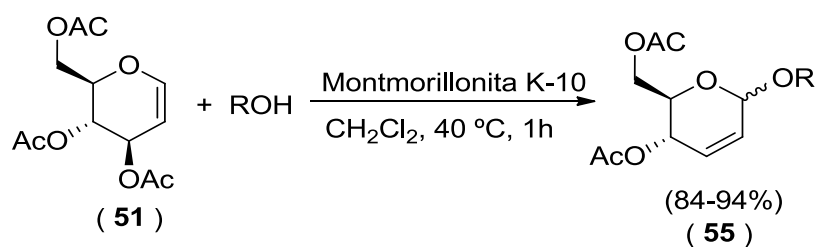
Durante seus estudos Ferrier percebeu que modificando as condições reacionais, como solvente, temperatura, catalisador, conseguia uma melhor estereosseletividade para a reação, pois as proporções dos conformeros α e β mudavam consideravelmente (Esquema 7).

Esquema 7: Otimização da metodologia de Ferrier e Prasad.

Desde então, vários grupos de pesquisa concentraram sua atenção ao estudo do Rearranjo de Ferrier com o propósito de obter glicosídeos 2,3-insaturados de forma rápida, com bons rendimentos e melhor estereosseletividade reacional. Na literatura há vários relatos que descrevem metodologias variando o catalisador e a forma de energia fornecida ao sistema para síntese de glicosídeos 2,3-insaturados. A seguir apresentaremos alguns métodos sintéticos utilizados na síntese deste heterocíclico.

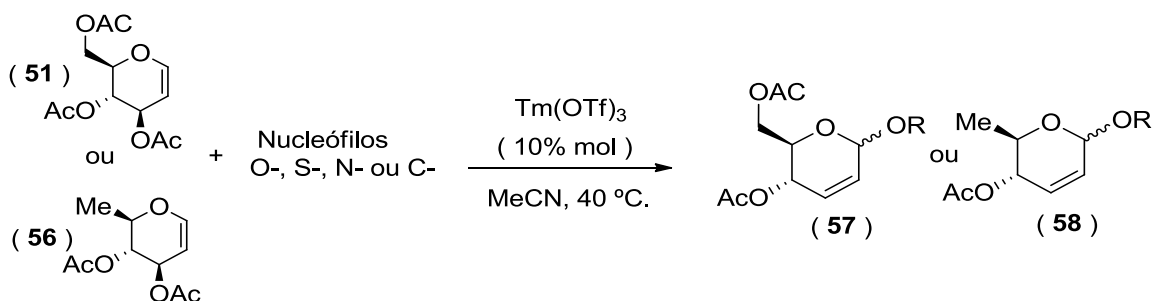
Toshima *et al.*, em 1995 propôs uma nova metodologia para a síntese de O-glicosídeos 2,3-insaturados, a partir do tri-O-acetil-D-glucal e diferentes alcoóis, tendo como catalisador a montmorillonita K-10 um ácido de Lewis de baixo custo e de fácil manuseio, o qual foi utilizado para promover o rearranjo Ferrier. Os produtos foram obtidos com bons rendimentos e boa seletividade do anômero α e em condição reacional branda (Esquema 8).³⁰

Esquema 8: Síntese de Glicosídeos-2,3-insaturados utilizando Montmorillonita K-10 como catalisador.



Em 2015, Chen *et al.*, sintetizaram uma série de O-, S-, N- e C-glicosídeos 2,3- insaturados, reagindo o 3,4,6-tri-O-acetil-D-glicol ou 3,4-di-O-acetil-L-rhamnol com vários nucleófilos, em acetonitrila e utilizando como catalisador o Tm(OTf)₃. Os produtos foram obtidos com moderados a bons rendimentos de 42-88% e elevada seletividade enantiomérica do anômero α (Esquema 9).³¹

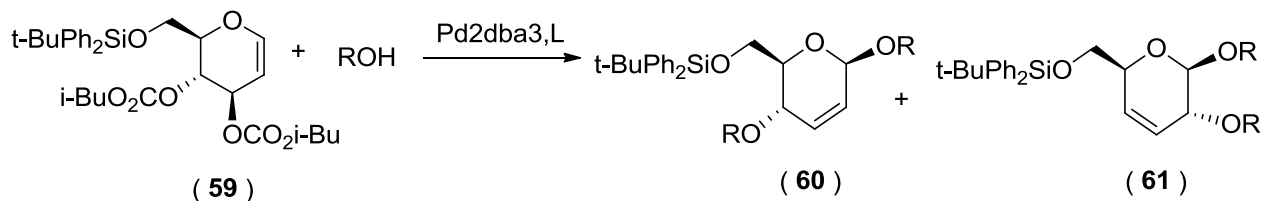
Esquema 9: Rearranjo de ferrier promovido pelo Tm (OTf)₃.



Nesse mesmo ano, Kubiak *et al.*, sintetizaram O-glicosídeos 3,4- e 2,3-insaturados a partir de 6-O-terc-butildifenilsilil-3,4-di-O-isobutiloxicarbonil-D-glicol (3) e vários fenóis e tendo como catalisador um

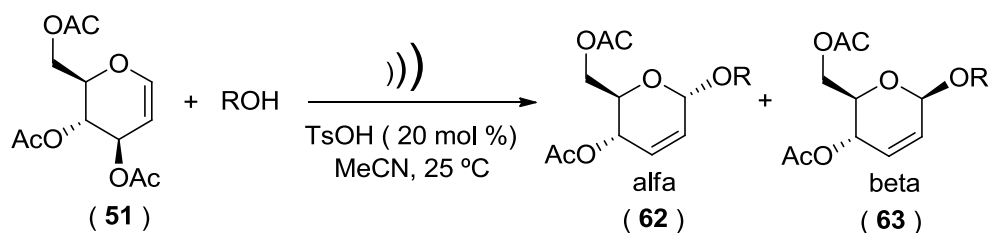
complexo de Pd (0). A reação foi estereoespecífica, em todos os casos, apenas o anômero β é formado (Esquema 10).³²

Esquema 10: O-glicosídeos 2,3 e 3,4-insaturado utilizando Pd (0) como catalisador.



Recentemente, Regueira *et al.*, propôs um nova metodologia para síntese de O-glicosídeos 2,3- insaturados utilizando como fonte de energia o ultrassom, utilizando como catalisador o ácido *p*- toluilsufônico (TsOH). Os produtos foram obtidos em baixos tempos reacionais de 3-25 minutos, com bons rendimentos 50-92% e excelente estereoseletividade do anômero α (Esquema 11).³³

Esquema 11: Síntese de Glicosídeos-2,3-insaturados utilizando irradiação de ultrassom e TsOH como catalisador.



Considerando as amplas atividades biológicas que dos glicosídeos e 1,2,4-oxadiazóis apresentam, esse trabalho descreve a síntese e caracterização de uma série de O e S-glicosídeos 2,3 – insaturados contendo como aglicona uma porção 1,2,4–oxadiazol, e avaliação de atividade biológicas destes compostos.

2.0 OBJETIVOS

2.1. Geral

- Sintetizar, caracterizar e avaliar as atividades biológicas antitumoral e antimicrobiana de 1,2,4-oxadiazóis, e O e S-glicosídeos 2,3-insaturados contendo 1,2,4-oxadiazóis como aglicona.

2.2 Específicos

- Sintetizar diferentes arilamidoximas a partir de diferentes nitrilas.
- Sintetizar os ésteres: 3-mercaptopropionato de isopropila, salicilato de metila e malato de dimetila;
- Sintetizar uma nova série de 1,2,4-oxadiazóis a partir das arilamidoximas e o 3-mercaptopropionato de isopropila ou salicilato de metila;
- Sintetizar uma nova série de 1,2,4-bis-oxadiazóis a partir da arilamidoximas e do malato de dimetila;
- Sintetizar novos O e S-glicosídeos 2,3-insaturados contendo como aglicona os 1,2,4-oxadiazóis;
- Avaliar a toxicidade para *Artemia salina* dos compostos;
- Avaliar a atividade antitumoral e antimicrobiana dos oxadiazóis e O-glicosídeos sintetizados.
- Elucidar as estruturas dos compostos sintetizados pelos métodos espectroscópicos usuais (IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C) e massa de alta resolução.

3.0 MATERIAS E MÉTODOS

3.1 Materiais empregados

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos comercialmente da Sigma Aldrich, Merck, Cinética, Dinâmica e Vetec. Os solventes como *n*-hexano e acetato de etila foram inicialmente destilados para processos de purificação em coluna. O diclorometano anidro foi usado o sulfato de cálcio anidro como agente secante. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), onde foi utilizada placa de sílica gel, contendo indicador de fluorescência F₂₅₄, da Maycherey/Nagel (Düren, Alemanha). Os reveladores para as placas foram a câmara de irradiação ultravioleta 254nm, ácido sulfúrico: etanol (5:95) e os vapores de iodo. Nas colunas cromatográficas foram utilizadas sílica gel 60 (Merck, 70-230 mesh).

3.2 Instrumentos utilizados

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um equipamento Varian modelo 640 FTIR. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram obtidos no equipamento Varian models Unitty Plus de 300 e 400 MHz para proton, e 75 e 100MHz para ¹³C, usando clorofórmio deuterado (CDCl₃) como solvente e trimetilsilano (TMS) como padrão interno. O equipamento de micro-ondas foi da marca Panasonic, modelo NN-ST341WRUK (850W e 220V).

3.3 Síntese das arilamidoximas

Para a síntese das arilamidoximas (fenil, *o*-toluil, *m*-toluil, *p*-toluil, *p*-Cloro, *p*-nitro e *p*-Bromo), reagiu diferentes derivados de nitrila ($R-C\equiv N$) com cloridrato de hidroxilamina ($NH_2OH.HCl$) e carbonato de sódio (Na_2CO_3). Inicialmente em um erlenmeyer pesou-se 6,07g (60,40 mmol) de cloridrato de hidroxilamina e 4,61g (30,19 mmol) de carbonato de sódio, dissolvendo-os em 40 mL de água destilada. Em outro erlenmeyer foram dissolvidas (se sólidas) ou diluídas (se líquida) em 40 mL de etanol 3g (20,13 mmol) da arilnitrila a ser utilizada. As duas soluções foram misturadas e em seguida deixou-se o sistema reacional sobre agitação constante por 24 horas a temperatura ambiente, exceto para *o*-toluilarilnitrila onde o tempo reacional foi de 48 horas. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), cujo sistema de eluição empregado foi uma mistura de clorofórmio/hexano (1:1), na ausência do reagente limitante, as nitrilas, indicava o término da reação.

Após comprovação do término da reação, transferiu-se a solução para um balão de fundo redondo e rotaevaporou-se o excesso de etanol presente na solução. Em seguida a solução foi mantida a banho de gelo, quando o produto era sólido procedia-se a filtração a vácuo da mesma, quando um óleo era obtido o produto era extraído com acetato de etila. Na extração da amidoxima para a fase orgânica (Acetato de etila), é adicionado sulfato de sódio anidro para eliminar os traço de água deixando a solução límpida. Realiza-se em seguida uma filtração simples e depois a eliminação do solvente sob baixa pressão. Esse procedimento foi realizado para todas as arilamidoximas sintetizadas.

3.4. Síntese do malato de dimetila

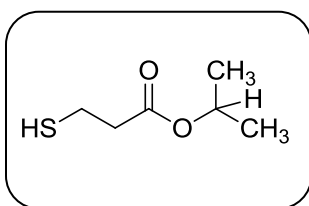
Pesou-se 13g (97,01mmol) do ácido málico em um balão de 250 mL e adicionou-se 180 mL de metanol. Posteriormente levou-se a mistura ao banho de gelo 0 °C e adicionou-se lentamente 1,2 mL de ácido sulfúrico sob agitação. Em seguida a mistura foi colocada em refluxo por 3 horas. Decorrido esse tempo, uma alíquota foi analisada por cromatografia em camada delgada (CCD), eluída em sistema 9:1(CH₂Cl₂:Hexano). Após verificação do consumo do material de partida e formação do produto, reduzimos o solvente à baixa pressão e em seguida neutralizou-se a reação com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, verificando o ponto de neutralização por papel indicador de pH. Após a neutralização, foi realizada a extração da fase orgânica com acetato de etila (3x 20mL), e em um funil de separação da fase orgânica da fase aquosa. Dando continuidade removeu-se o traço de água com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente a baixa pressão. O produto foi obtido como um líquido incolor com rendimento de 78%.

3.5. Síntese do 3-mercaptopropionato de isopropila

Pesou-se 5g (33,78 mmol) do ácido 3-mercaptopropiônico em um balão de 250 mL e adicionou-se 80 mL de isopropanol. Posteriormente levou-se a mistura a um banho de gelo e adicionou-se lentamente 2,0 mL de ácido sulfúrico sob agitação. Em seguida, a mistura foi colocada em refluxo por 4 horas. Decorrido esse tempo, uma alíquota foi analisada por cromatografia em camada delgada (CCD), eluída em sistema 8:2 (Hexano: AcOEt). Após verificação do consumo do material de partida e formação do produto, reduzimos o solvente à baixa pressão e neutralizou-se a reação com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, verificando o ponto de neutralização por papel indicador de pH. Após a

neutralização, foi realizada a extração da fase orgânica com acetato de etila (3x 20mL), e em um funil de separação a fase orgânica foi separada da fase aquosa. Dando continuidade secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou e evaporou-se o solvente a baixa pressão. O produto foi obtido um líquido incolor com rendimento de 75%.

Compostos **69**: 3-mercaptopropanoato de isopropila

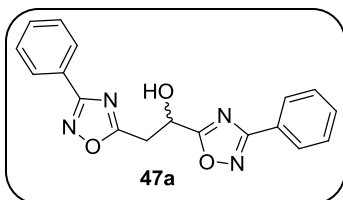


Óleo transparente, rendimento 79%; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 4.97 (1H, m), 2.87 (t, 2H, $J = 7,24\text{Hz}$), 2.64 (t, 2H, $J = 7,24\text{ Hz}$), 1.19 (d, 6H, $J = 6,26\text{ Hz}$); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 171.29, 68.35, 34.62, 33.55, 21.98.

3.6. Síntese de 1,2,4-oxadiazóis sob aquecimento sem base e solvente

Em um recipiente de vidro adicionou-se 0,203g (1,3 mmol) de amidoxima e 0,1g(0,61 mmol) do malato de dimetila. Após homogeneização da mistura colocou-se sob aquecimento à temperatura de aproximadamente 120-130°C durante 4 horas, sendo a reação monitorada por cromatografia em camada delgada (CCD). Após término da reação, os produtos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica gel, sistema de eluição hexano:acetato de etila (8:2) . Em seguida, filtrou-se e rotaevaporou-se o solvente foi removido no rotaevaporador e os compostos 73-74a-d foram obtidos.

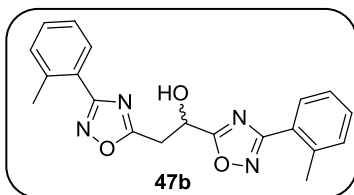
Compostos **73a**: (*R,S*)-1,2-bis-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanol



Semi-sólido, rendimento 55%; $R_f = 0.66$ (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3395, 1596, 1345, 1087, 726 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 8.06 (4H, m), 7.49 (6H, m), 5.64 (t, 1H, $J = 5.87\text{ Hz}$), 3.73 (d, 2H, $J = 5.87\text{ Hz}$); RMN

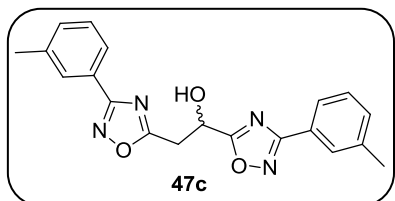
^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.80, 175.58, 168.41, 168.11, 131.48, 128.89, 127.51, 127.45, 64.20, 32.26.

Compostos 73b: (*R,S*)-1,2-bis-(3-*o*-toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanol



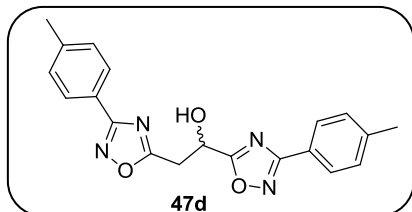
Semi-sólido, rendimento 51%; R_f = 0.72 (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3350, 1577, 1362, 1103, 721 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.94 (4H, m), 7.28 (4H, m), 5.61 (t, 1H, J = 6.0 Hz), 3.70 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 2.41 (s, 3H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.34, 175.12, 168.0, 167.80, 138.32, 131.81, 128.43, 127.63, 125.45, 124.27, 63.80, 31.85, 20.91.

Compostos 73c: (*R,S*)-1,2-bis-(3-*m*-toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanol

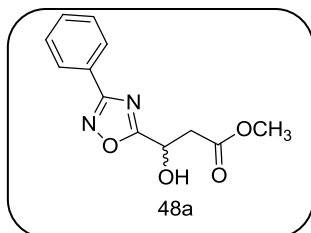


Semi-sólido, rendimento 65%; R_f = 0.71 (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3367, 1575, 1451, 1125, 763 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.86 (4H, m), 7.36 (4H, m), 5.63 (t, 1H, J = 6.0 Hz), 3.71 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 2.41 (s, 6H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.71, 175.49, 168.48, 168.21, 138.72, 132.25, 128.80, 127.89, 125.70, 124.65, 64.21, 32.28, 21.29.

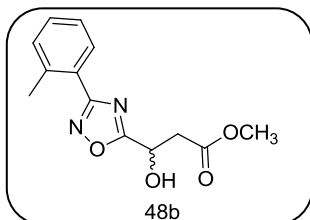
Compostos 73d: (*R,S*)-1,2-bis-(3-*p*-toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanol



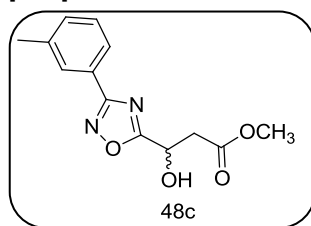
Semi-sólido, rendimento 68%; R_f = 0.76 (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3303, 1650, 1353, 1075, 738 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.94 (t, 4H, J = 7.63 Hz), 7.34 (d, 4H, J = 7.63 Hz), 5.62 (t, 1H, J = 5.87 Hz), 3.70 (d, 2H, J = 5.87 Hz), 2.41 (s, 6H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 178.0, 175.8, 168.8, 168.5, 142.3, 130.0, 127.8, 123.6, 64.6, 32.6, 22.0.

Compostos **74a:** **(R,S)-metil 3-hidroxi-3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propanoato**

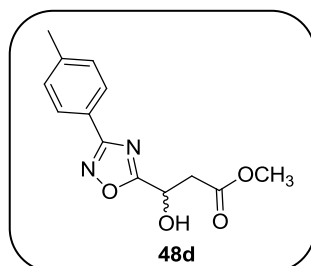
Óleo amarelado, rendimento 30%; $R_f = 0.45$ (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3395, 1752, 1597, 1344, 1089, 726 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 8.09 (2H, m), 7.49 (3H, m), 5.38 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.12 (m, 2H, $J = 6.3$ Hz), 1.58 (s, 1H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 180.1, 169.8, 167.2, 131.4, 129.1, 126.7, 125.8, 61.9, 51.4.

Compostos **74b:** **(R,S)-metil 3-hidroxi-3-(3-*o*-toluill-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propanoato**

Semi-sólido, rendimento 16%; $R_f = 0.50$ (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3406, 1738, 1595, 1476, 1337, 1048, 751 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.95 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.35 (2H, m, $J = 8.4$ Hz), 5.47 (t, 1H, $J = 5.1$ Hz), 3.84 (s, 3H), 3.18 (m, 2H, $J = 4.8$ Hz), 2.50 (s, 3H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 180.5, 170.3, 167.8, 139.0, 132.6, 129.5, 127.7, 126.2, 124.5, 62.5, 52.4, 38.6, 21.0.

Compostos **74c:** **(R,S)-metil 3-hidroxi-3-(3-*m*-toluill-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propanoato**

Sólido branco, rendimento 25%; $R_f = 0.51$ (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3242, 1734, 1570, 1450, 1340, 1037, 716 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.87 (2H, m), 7.35 (2H, m), 5.40 (t, 1H, $J = 6.0$ Hz), 3.75 (s, 3H), 3.12 (d, 2H, $J = 6.0$ Hz), 2.41 (s, 3H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 178.58, 170.15, 168.39, 138.67, 132.16; 128.76, 128.06, 124.62, 124.62, 63.65, 52.29, 38.97, 21.27.

Compostos **74d:** **(R,S)-metil 3-hidroxi-3-(3-*p*-toluill-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propanoato**

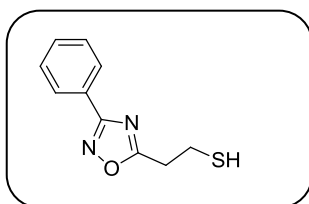
Óleo amarelado, rendimento 20%; $R_f = 0.50$ (CH_2Cl_2 :AcOEt, 9:1); IV ν_{max} (KBr): 3404, 1752, 1595, 1446, 1361, 1048, 758 cm^{-1} ; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ

7.89 (2H, m), 7.34 (3H, m), 5.39 (t, 1H, $J = 5.1$ Hz), 3.76 (s, 3H), 3.10 (m, 2H, $J=5.1$ Hz), 2.41 (s, 3H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.9, 170.8, 167.9, 141.3, 129.1, 127.0, 123.0, 63.3, 51.9, 38.4, 21.1.

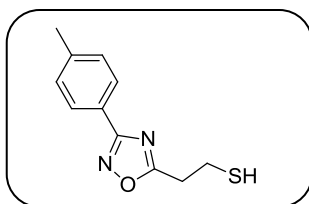
3.7. Síntese de 1,2,4-oxadiazóis sob irradiação de micro-ondas

Em um recipiente de vidro, adicionou-se a amidoxima, o éster 3-mercaptopropionato de isopropila ou o salicilato de metila, o carbonato de Potássio (K_2CO_3) e uma gota de DMF. Fez-se a homogeneização da mistura e a mesma foi submetida à irradiação de micro-ondas durante 10 minutos. É importante colocar dentro do forno de micro-ondas um erlenmeyer com água para evitar o superaquecimento da reação. O término da reação foi comprovado por cromatografia em camada delegada (CCD), usando como eluente hexano: acetato de etila (8:2). Após a comprovação do término da reação, realizou-se uma cromatografia em coluna de sílica gel (fase estacionária) usando como sistema de eluição inicial 98:2 (hexano: acetato de etila) e em seguida 94:6 (hexano: acetato de etila) para os 1,2,4-oxadiazóis obtidos a partir do 3-mercaptopropionato de isopropila. Para purificação dos 1,2,4-oxadiazóis obtidos a partir do salicilato de metila, o sistema de eluição usado inicialmente foi 95:5 (hexano: acetato de etila) e em seguida 85:15 (hexano: acetato de etila).

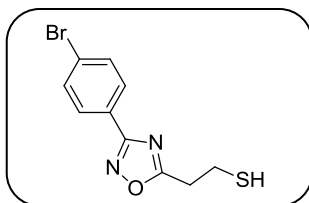
Compostos 70a: 2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol



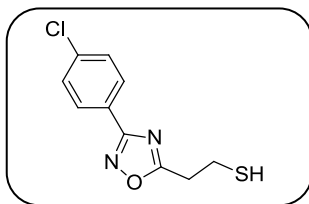
Sólido amarelado, rendimento 41%; p.f: 69-70 °C; $R_f = 0.50$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 8.06 (2H, dd $J = 7.34$ Hz), 7.47 (3H, m), 3.27 (t, 2H, $J = 7.04$ Hz), 3.11 (t, 2H, $J = 7.04$ Hz); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.64, 168.29, 131.14, 128.78, 127.36, 126.59, 28.49, 27.43.

Compostos 70b: 2-(3-(*p*-tolui)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol

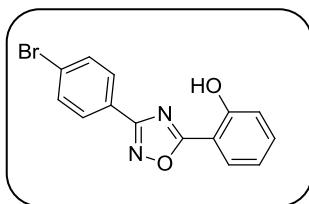
Sólido branco, rendimento 47%; p.f: 104-105 °C $R_f = 0.50$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.94 (2H, d $J = 7,43$ Hz), 7.26 (2H, d $J = 7,43$ Hz), 3.26 (t, 2H, $J = 7,24$ Hz), 3.11 (t, 2H, $J = 7,24$ Hz), 2.40 (s, 3H) RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.48, 168.32, 141.49, 129.52, 127.30, 123.79, 28.52, 27.46, 21.52.

**Compostos 70c: 2-(3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol**

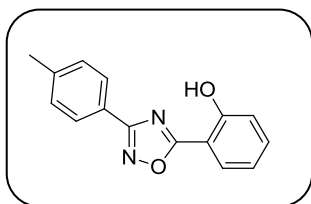
Sólido branco, rendimento 27%; p.f: 109-110 °C; $R_f = 0.50$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.92 (d, 2H, $J = 8,61$ Hz), 7.60 (d, 2H, $J = 8,61$ Hz), 3.27 (t, 2H, $J = 7,43$ Hz), 3.11 (t, 2H, $J = 7,43$ Hz), 2.40 (s, 3H) RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.88, 167.65, 132.13, 128.87, 125.78, 125.55, 28.50, 27.44.

Compostos 70d: 2-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol

Sólido amarelado, rendimento 30%; p.f: 106-107 °C; $R_f = 0.50$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 7.99 (d, 2H, $J = 8,22$ Hz), 7.44 (d, 2H, $J = 8,22$ Hz), 3.27 (t, 2H, $J = 7,24$ Hz), 3.11 (t, 2H, $J = 7,24$ Hz); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 177.9, 167.6, 141.3, 137.4, 129.2, 128.7, 125.1, 28.5, 27.4.

Compostos 70d: 2-(3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-fenol

Sólido branco, rendimento 30%; p.f: 106-107 °C; $R_f = 0.63$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 10.37 (s, 1H), 7.99 (d, 3H, $J = 8,80$ Hz), 7.67 (d, 2H, $J = 8,80$ Hz), 7.53 (m, 1H), 7.15 (d, 1H, $J = 8,22$ Hz), 7,04 (t, 1H $J = 7,34$); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 174.49, 166.38, 158.11, 135.39, 132.31, 128.96, 127.82, 126.32, 124.70, 120.19, 117.83, 107.96.

Compostos 70d: 2-(3-(p-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-fenol

Sólido branco, rendimento 30%; p.f: 106-107 °C; $R_f = 0.48$ (Hex:AcOEt, 8:2); RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 10.56 (s, 1H), 8.00 (m, 3H), 7.52 (d, 2H, $J = 8,22\text{Hz}$), 7.15 (d, 1H, $J = 8.22$ Hz), 7.04 (t, 1H $J=7,63$), 2.44 (s, 3H); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 174.08, 167.03, 158.10, 142.08, 135.11, 129.67, 127.43, 122.91, 120.04, 117.73, 108.18, 21.59.

3.8 Síntese do 3,4,6-Tri-O-acetil-D-glucal

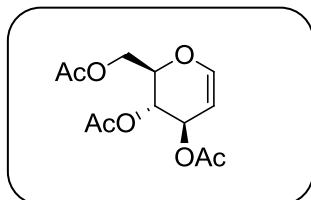
Em um balão de fundo redondo com capacidade para 500 mL preparou-se a suspensão de D-glicose (5,0 g; 27,8 mmol) em Ac_2O (18,06 g; 16,72 mL; 7,0 mmol equiv.) e foi adicionado H_2SO_4 (2,5 mL de HBr 48% em 10,0 mL de Ac_2O) sob irradiação de ultrassom a temperatura ambiente durante 15 minutos, a temperatura ambiente, para realizar a acetilação do carboidrato. Em seguida, uma outra solução 31% HBr/AcOH (15,0 mL de HBr 48% em 60,0 mL de Ac_2O) foi acrescentada a mistura reacional a qual foi mantida sob o banho de ultrassom por 45 minutos para que ocorresse a bromação do carbono anomérico do glicosídeo.

Depois desse processo é necessário neutralizar o excesso de HBr na solução, para isso foi adicionado NaOAc (10 g; 121,9 mmol) mantendo a mistura reacional no banho de ultrassom por 15 minutos. Após a neutralização, foi adicionado a essa mistura reacional, uma suspensão de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1,575 g; 6,31 mmol) e Zn em pó (50 g; 765 mmol) em H_2O (50,0 mL), NaOAc $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (47,25 g; 347,3 mmol) e AcOH (75,0 mL), sendo esta suspensão mantida sob irradiação de ultrassom a temperatura ambiente por 1h para realizar o processo de eliminação do bromo ligado ao carbono anomérico.

Posteriormente, a parte sólida contida no balão foi removida por filtração a vácuo, sendo lavada com AcOEt (200 mL) e H_2O (200 mL). A fase orgânica foi transferida para um funil de separação e lavada com soluções saturadas de

NaHCO₃ (150 mL), e NaCl (100 mL), sendo posteriormente seca com NaSO₄ anidro. O solvente filtrado foi rotaevapora e o produto final foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como sistema de solventes hexano/AcOEt (85:15). O produto puro apresentou-se como um sólido branco amorfo.

Compostos **78**: 3,4,6-tri-*O*-acetil-*D*-glucal

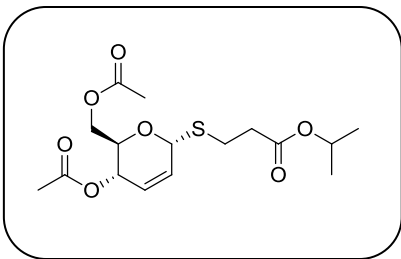


Sólido branco amorfo; rendimento 70%; p.f: 53-54 °C; ν_{\max} (KBr): 2961, 1741, 1650, 1375, 1217, 1040 cm⁻¹; RMN ¹H (300MHz, CDCl₃) δ 6,46 (*d*, 1H, H1, *J* = 6,0 Hz), 5,33 (*sl*, 1H, H2), 5,23 (*t*, 1H, H3, *J* = 5,7 Hz), 4,84-4,81 (*m*, 1H, H5), 4,26 (*dd*, 1H, H4, *J* = 12,0 e 5,7 Hz), 4,26-4,17 (*m*, 2H, H6 e H6'), 2,08 (*s*, 3H, OAc), 2,07 (*s*, 3H, OAc), 2,03 (*s*, 3H, OAc); RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.3, 169.5, 145.6, 98.9, 73.9, 67.4, 67.0, 61.3, 20.9, 20.8, 20.7.

3.9 Síntese dos *O* e *S*-Glicosídeos.

Em um erlenmeyer de 125mL foram adicionados 0,27mmol dos alcoóis e solubilizado em 30mL de diclorometano seco. Em seguida, foram adicionados 0,18mmol do tri-*O*-acetil-*D*-glucal no mesmo erlenmeyer que continha o álcool. Posteriormente foi adicionado sulfato de sódio anidro a mistura reacional. Procedeu-se a filtração da mesma e a 0°C adicionou vagorosamente a Montmorilonita K-10 (30%, m/m de **78**). A mistura reacional foi levada ao banho de óleo e deixou-se refluxar por 3 horas. A reação foi acompanhada por placa de CCD, em sistemas CH₂Cl₂:AcOEt (9:1). Após verificado o término da reação, a mistura reacional foi filtrada e o solvente removido a baixa pressão. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna com sílica gel, utilizando o sistema de eluição Hex:AcOEt (9:1).

Compostos 79: 1-[3-(proponato de isopropila)]tiol-4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosídeo



Óleo transparente; rendimento 65%; RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ 6,46 (*d*, 1H, H1, $J = 1,8$ Hz), 5,91 (*sl*, 1H, H2), 5,78 (*t*, 1H, H3, $J = 5,7$ Hz), 5,56 (*dd*, 1H, H4, $J = 10,4$ e $5,7$ Hz), 5,30 (*d*, 1H, H1, $J = 1,8$ Hz), 5,03-4,98 (*m*, 1H, H5), 4,30-4,18 (*m*, 3H, H11, H6 e H6'), 2,74(*t*, 2H, H9), 2,67 (*t*, 2H, H10) 2,08 (*s*, 3H, OAc), 2,06 (*s*, 3H, OAc), 1,21 (*d*, 6H, -CH₃, H-12); RMN ^{13}C (75MHz, CDCl_3) δ 171.2, 170.7, 170.1, 128.6, 127.0, 80.9, 68.0, 66.7, 62.9, 61.1, 35.6, 27.3, 21.3, 20.6.

4.0 Atividade citotóxica

Os ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodirem em solução de sal marinho, e iluminação artificial. Decorridas 24 horas de eclosão, 10 larvas foram adicionadas em tubos de ensaio contendo soluções dos 1,2,4- oxadiazóis de concentrações que variaram de 100 à 2,5 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO, todas estando em triplicatas. Para grupo controle uma triplicata de solução de sal marinho e DMSO foi preparada.

4.1 Procedimento de Atividade Antimicrobiana

O teste de CMI será realizado através da técnica de microdiluição, em multiplacas com 96 poços, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute–2010.³⁴ Cada multiplaca será padronizada conforme mostrado na figura 20.

Figura 20: Imagem de multiplicas com 96 poços.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	$\mu\text{g}/\mu\text{L}$
A	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	2500
B	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	1250
C	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	625
D	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	312.5
E	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	156.2
F	●	●	●	●	○	●	●	●	○	●	●	●	78.1
G													39.0
H													19.5
	M	S	MI	P		A1				A2			

M= Meio, S= Solvente+Meio, MI= Microrganismo+Meio, P= Padrão+Meio, Amostra 1, Amostra 2.

As multiplicas serão preparadas de acordo com o microrganismo a ser testado. Serão utilizados meios de cultura líquidos Saubouraud (Sab) para Fungos Filamentosos e Fungos Leveduriformes; e meio líquido Mueller Hinton (MH) para Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas. Nos poços da solução teste, (Linha A, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), serão distribuídos 175 μL de meio líquido e adicionado 25 μL da solução estoque (Amostra), totalizando nesta primeira linha 200 μL . Nas demais linhas (B, C, D, E, F, G e H, Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), coloca-se 100 μL de meio. Na coluna 2 - Solvente (S), além dos 75 μL de meio, será acrescentado 25 μL de solvente. Na coluna 3 - Microrganismo (MI) será distribuído 100 μL de meio e acrescentado 10 μL dos inóculos microbianos padronizados. Por final, na coluna 4 – Padrão (P) serão colocados 97,5 μL de meio e acrescentados 2,5 μL da solução Padrão.

Terminado a etapa anterior se iniciará o processo de microdiluição seriada, que serão retiradas com uma micropipeta 100µL da Linha A - Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12, e depositados na Linha B (Colunas 6, 7, 8 e 10, 11, 12), sendo misturados e retirados novamente 100µL, seguindo este processo sucessivamente até a Linha H, obtendo-se concentrações decrescentes que variam de 2500 até 19.5µg/µL. Após a diluição das amostras, se adicionará 10µL dos inóculos microbianos padronizados, exceto nos poços da Coluna 1 - Meio (M), Coluna 2 - Solvente (S) e Coluna 4 – Padrão (P). As microplacas serão cultivadas em estufas distintas: a 37°C por 18 a 24 hrs para as bactérias, e 30°C por 48 a 72 hrs para Fungos Filamentosos e Fungos Leveduriformes.

Leitura da Microplacas

Após o período de cultivo, as microplacas serão reveladas com uma solução indicadora de Resazurina sódica, em água destilada estéril, na concentração de 0,01% (p,V), do qual 10µL será adicionado em cada poço das microplacas nos testes antimicrobianos. No decorrer de 2 (duas) horas foram incubadas ao abrigo da luz para que ocorra a mudança de coloração nos poços. O teste de CMI define como a menor concentração de um produto testado é capaz de inibir o crescimento de microrganismos, evidenciado pela cor azul inalterada. Também será utilizado o método de turbidez para a determinação do crescimento ou inibição das linhagens fúngicas. Tais resultados são mostrados, quando apresenta turvação dos poços em decorrência ao crescimento dos fungos.

4.2 Procedimento de atividade antitumoral

O potencial citotóxico dos 1,2,4-oxadiazóis foi realizado pelo método do MTT (Microcultura de Tetrazolium) utilizando 3 linhagens celulares (HL-60, HCT 116 e MCF-7). O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na redução do sal amarelo 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2- H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, descrito por MOSMANN (1983), pela

atividade da enzima succinato desidrogenase presente na mitocôndria da célula viável, permitindo dessa maneira quantificar a porcentagem de células vivas. Esse método é utilizado no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN et al., 1990). O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1996), sendo um método rápido, sensível e barato.

Para determinação da atividade antitumoral, as células foram plaqueadas na concentração de 7×10^5 células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO (dimetilsulfóxido) foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100 μ L/poço). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Em seguida, foram adicionados 25 μ L da solução de MTT (microcultural de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3 horas. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa no comprimento de 595 nm. O teste foi realizado em duplicata para cada amostra.

Para concentração única, uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. De acordo com o percentual de inibição de crescimento celular, as amostras podem ser classificadas em amostras sem atividade, pouca atividade, atividade moderada e muita atividade numa escala de citotoxicidade mostrada na Tabela 1. Adicionalmente, os experimentos serão analisados segundo suas médias e respectivos desvios no programa *Graphpad Prism*, feitas também pelo laboratório de Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE. Cabe ressaltar que a avaliação de cada amostra foi testada em duplicata.

Tabela 1. Escala de citotoxicidade

Potencial citotóxico das amostras	Inibição celular (%)
Sem ou pouca atividade	1 – 50
Atividade moderada	50 – 70
Muita atividade	70 – 100

4.3 Caracterizações estruturais dos compostos

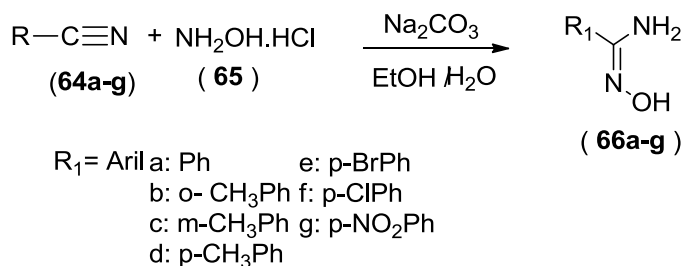
As estruturas dos compostos obtidos foram determinadas por métodos espectroscópicos de Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H e RMN ^{13}C).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Síntese das arilamidoximas

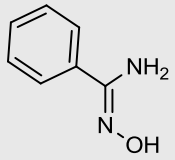
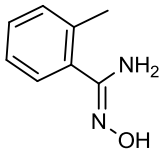
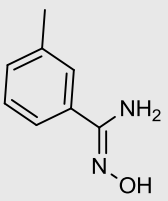
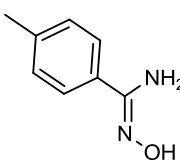
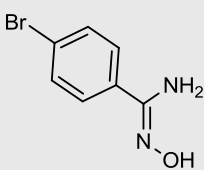
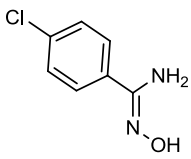
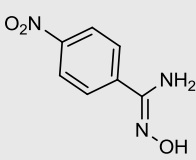
Inicialmente foram sintetizadas sete arilamidoximas. O método utilizado para obtenção das arilamidoximas foi o clássico, ou seja, agitação em temperatura ambiente por 24 ou 48 horas. As diferentes arilamidoximas **66a-g** foram sintetizadas a partir de arilnitrilas **64a-g** com o cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) e carbonato de sódio (Na_2CO_3), numa solução hidroalcoólica, utilizando o método descrito por Srivastava⁴ (Esquema 12).

Esquema 12: Síntese das arilamidoximas.



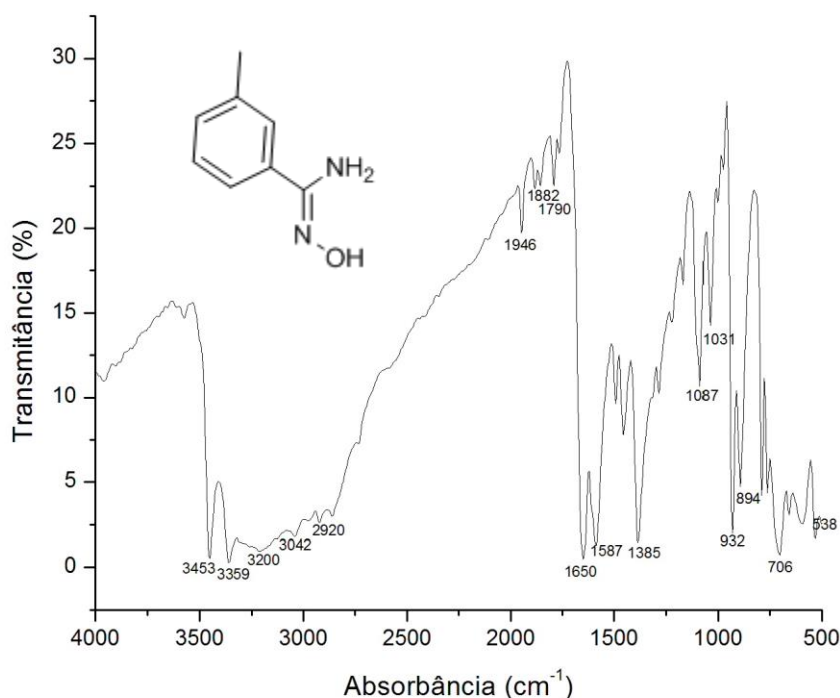
As arilamidoximas obtidas apresentaram moderados a bons rendimentos reacionais que variaram de 30 a 97%, exceto para *o*-toluilbenzonitrila. Isso devido ao impedimento estérico pela substituição do grupo metila na posição *orto* do anel aromático, o que dificulta o ataque do nucleófilo ao carbono nitrílico. Os rendimentos das reações encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Rendimentos e tempos das arilamidoximas.

Arilmidoximas	Tempo (h)	Rendimento (%)
 66a	24	68
 66b	48	30
 66c	24	65
 66d	24	91
 66e	24	97
 66f	24	85
 66g	24	95

Como as arilamidoximas são compostos conhecidos e bastante descritos na literatura, sua caracterização foi feita somente através do espectro de infravermelho. As análises dos espectros de infravermelho das arilamidoximas mostram a ausência da banda característica das nitrilas em 2240 cm^{-1} do estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ e o aparecimento de bandas nas regiões de $3359\text{--}3453\text{ cm}^{-1}$, 3200 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} referente ao estiramento simétrico e assimétrico dos grupos NH_2 , OH e $\text{C}=\text{N}$ respectivamente, o que indica a formação das arilamidoximas (como exemplo a estrutura do composto **66c** na figura 21).

Figura 21: Espectro de infravermelho em KBr do composto **66c**.

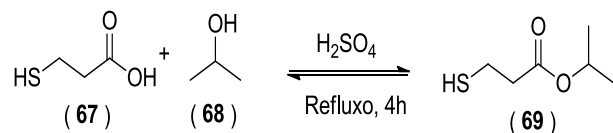


5.2. Esterificação do ácido 3-mercaptopropiônico

O 3-mercaptopropionato de isopropila **69** foi sintetizado a partir do ácido 3-mercaptopropiônico e do álcool isopropílico, usando como catalisador o H_2SO_4 em refluxo durante 4 horas (Esquema 13). O produto purificado foi obtido em coluna

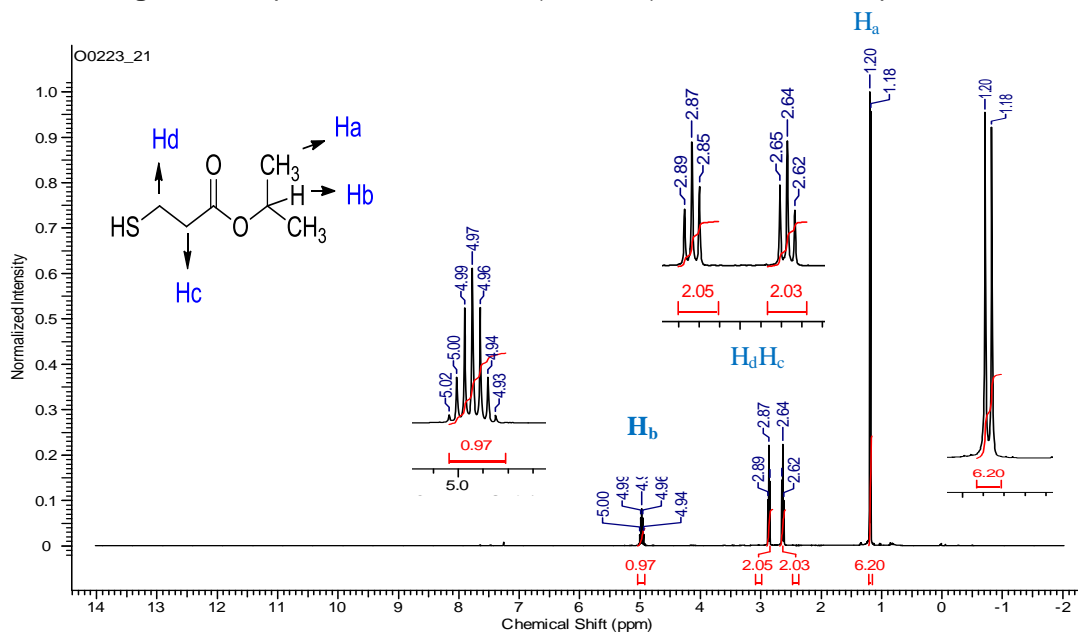
cromatográfica, com rendimento de 79%. A estrutura do composto **69** foi confirmada por técnicas espectroscópicas RMN (^1H , ^{13}C) e IV.

Esquema 13: Reação de esterificação do ácido 3-mercaptopropiônico.



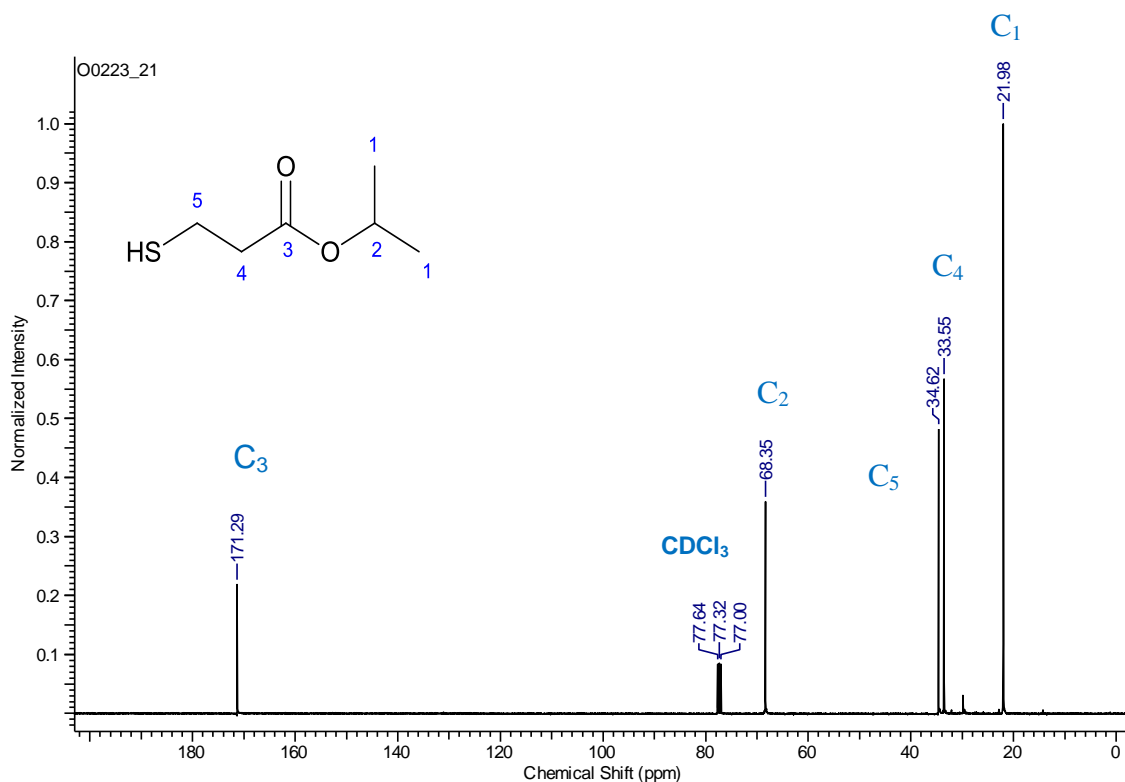
No espectro de RMN de ^1H do composto **69** pode-se observar dois tripletos com integral para 4H, na região entre 2,5 ppm e 3,0 ppm referente aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura, próximo ao grupo tiol e carbonílico da molécula, os hidrogênios têm constantes de acoplamento de 6 Hz. É observado na região de 1,19 ppm um duplete com integral para 6H, referente aos seis prótons metílicos quimicamente equivalentes presente na molécula. Enquanto na região entre 4,8 ppm e 5,0 ppm temos um septeto com integral para 1H, confirmando assim a estrutura do composto proposto. Não podemos observar o hidrogênio do tiol, tendo em vista que este é um próton de troca rápida e pode trocar com o deutério do solvente por isso não aparece, ou devido está fazendo ligação de hidrogênio intramolecular (Figura 22).

Figura 22: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **69**.



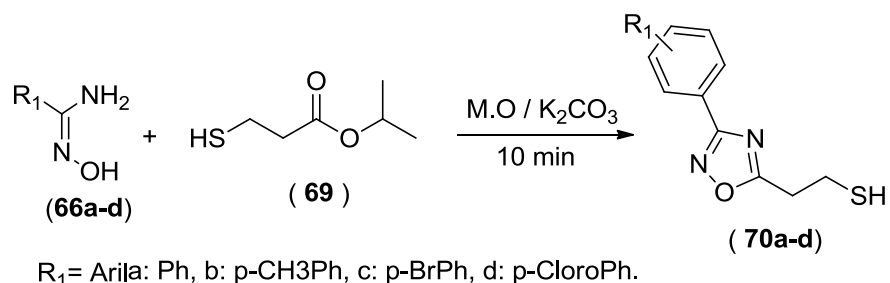
No espectro de RMN de ^{13}C para o composto **69** (Figura 23), é possível observar em δ 21,98 ppm o sinal referente aos carbonos das metilas (CH_3) equivalentes, em δ 34,62 e 33,55 ppm pode-se observar o sinal referente aos CH_2 metilênicos do composto **69**, em δ 68,35 ppm, o sinal referente ao carbono secundário que está ligado ao grupo carboxílico (C_2), na região de δ 171,29 ppm, tem-se sinal referente ao carbono da carbonila confirmando assim a estrutura do composto.

Figura 23: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **69**.



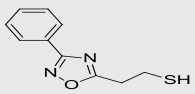
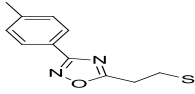
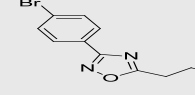
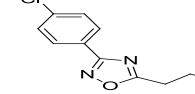
5.3. Síntese dos monos 1,2,4-Oxadiazol

Os 1,2,4-oxadiazóis **70a-e** foram sintetizados a partir das arilamidoximas **66a-e** e o 3-mercaptopropionato de isopropila **69** na presença da K_2CO_3 e uma gota de DMF e sob a irradiação de micro-ondas (Esquema 14).

Esquema 14: Esquema reacional para a síntese dos 1,2,4-oxadiazóis **70a-d**.

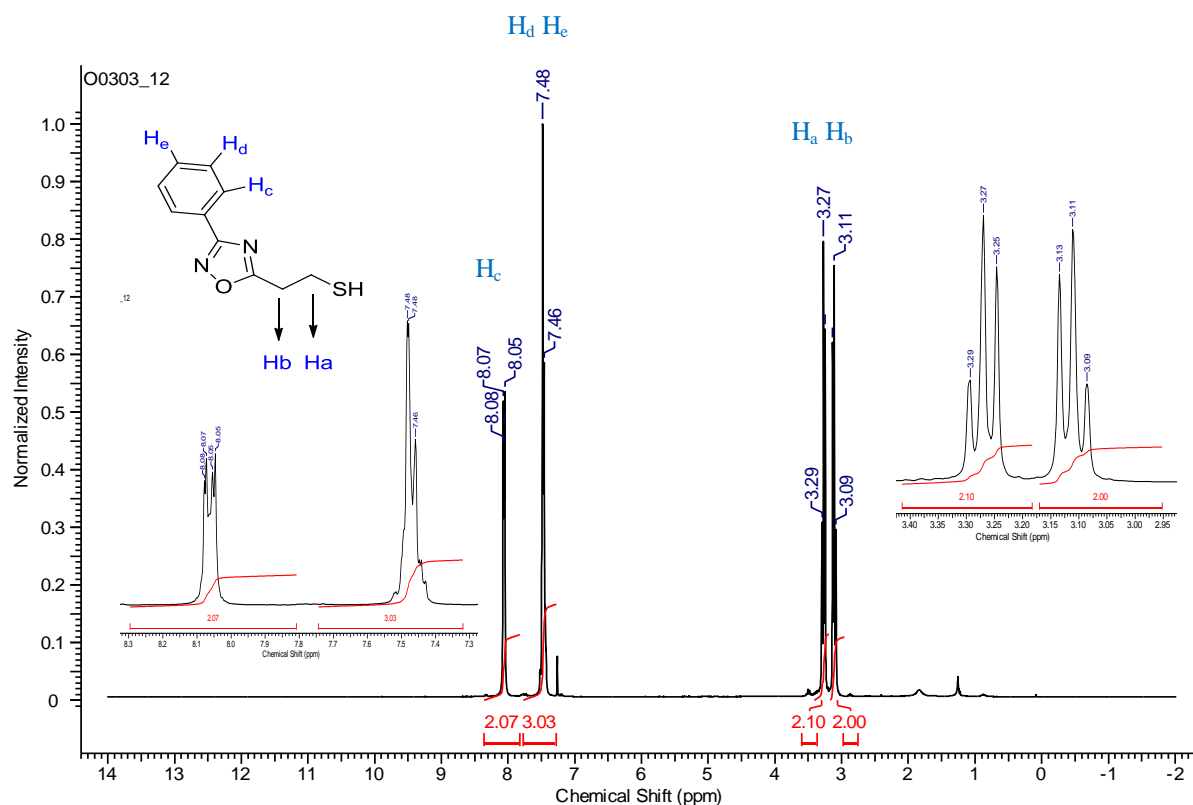
Os 1,2,4-oxadiazóis **70a-d** foram obtidos em curtos tempos reacionais (10 min) e com rendimentos moderados, como é mostrado na tabela 3. Também é importante resalta que grupos eletrodadores presente no anel aromático como é o caso metil favorecem a reação, tendo em vista que o composto **70b** foi o que teve o melhor rendimento, já grupos eletroretiradores desfavorecem a reação. As estruturas dos compostos sintetizados foram caracterizadas pelas técnicas espectroscópicas convencionais, RMN¹H e ¹³C. Também foram realizadas as medições dos pontos de fusão, os valores dos pontos de fusão estão na tabela 3.

Tabela 3: Rendimentos reacionais e ponto de fusão dos produtos **70a-d**.

Produtos	Rendimento (%)	Ponto de fusão (°C)
 70a	41	69-70
 70b	47	104-105
 70c	27	109-110
 70d	30	106-107

No espectro de RMN de ^1H do composto **70a** pode-se observar dois tripletos com integral para 4H, na região entre 3,09 ppm e 3,29 ppm referente aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura na cadeia lateral, próximo ao grupo tiol da molécula, os prótons têm constantes de acoplamento de 8,0Hz. Na região compreendida entre 7,48 ppm e 8,07 ppm característica para prótons aromáticos, pode-se observar os prótons aromáticos da molécula, com integral para 5H, confirmando assim a estrutura do composto proposto. Não podemos observar o hidrogênio do tiol, tendo em vista que este é um próton de troca rápida e pode trocar com o deutério do solvente por isso não aparece, ou devido está fazendo ligação de hidrogênio intramolecular (Figura 24).

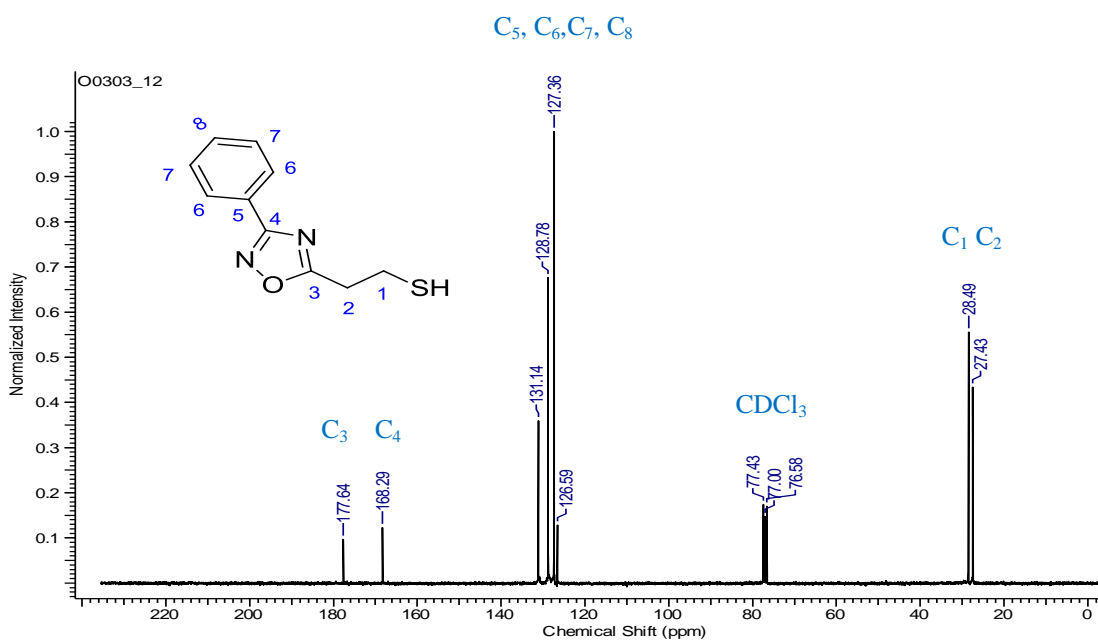
Figura 24: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **70a**.



No RMN de ^{13}C (Figura 25), pode-se observar dois picos em deslocamento 27,43 ppm e 28,49 ppm referentes aos carbonos metilênicos da molécula, onde o pico que se encontra mais deslocado é o carbono metilênico vizinho ao enxofre,

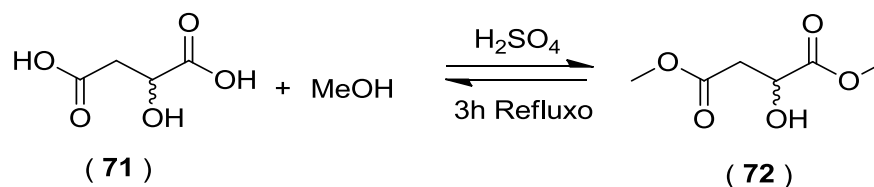
e o outro é o adjacente a ele, na região que compreende 126,59 ppm e 131,14 ppm observa-se os 4 carbonos aromáticos da molécula, numa região já característica para eles, podemos também observar os carbonos dos anel 1,2,4-oxadiazol na região já característica para o anel, em 168,29 ppm para o carbono entre os dois átomos de nitrogênio, e em 177,64 ppm podemos observar o outro carbono do anel, que está situado entre os átomos de oxigênio e nitrogênios.

Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **70a**.

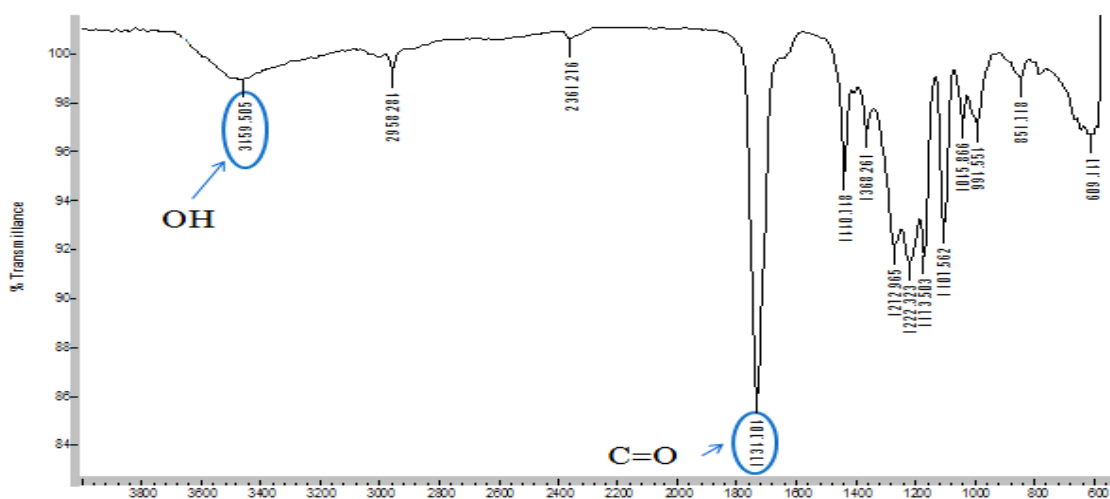


5.4. Esterificação do ácido málico

O malato de dimetila **72** foi obtido a partir do ácido (*D-L*) málico e do álcool metílico, utilizando o H_2SO_4 como catalisador em um sistema de refluxo durante 4 horas (Esquema 15). A formação do malato de dimetila foi confirmada por cromatografia em camada delgada (CCD) revelada numa cuba de iodo. Em seguida, o produto foi purificado em coluna cromatográfica, para fornecer o composto puro com rendimento de 78%.

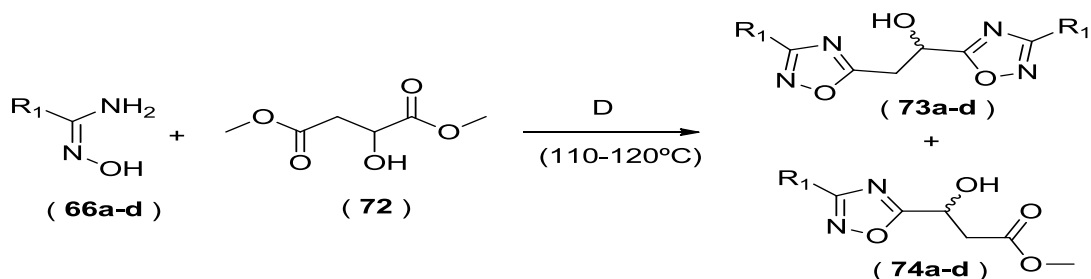
Esquema 15: Reação de Esterificação do Ácido *D-L* Málico.

O composto **72** foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho (Figura 26). No espectro percebe-se o estiramento da ligação O-H de ácidos carboxílicos geralmente apresenta uma banda muito larga em 3400-2400 cm^{-1} , enquanto que o estiramento da ligação C=O aparece como uma banda larga em 1730-1700 cm^{-1} . Porém, no espectro da figura 25 observa-se uma banda em 1734 cm^{-1} , característico de estiramento da ligação C=O de ésteres alifáticos.

Figura 26: Espectro de infravermelho do éster malato de dimetila em pastilha de KBr.

5.5. Síntese dos 3-aryl-5-hidroxiálquil-bis-1,2,4-oxadiazóis

Os bis-1,2,4-oxadiazóis foram sintetizados a partir das arilamidoximas **66a-f** e do malato de dimetila, na ausência de base e sem solvente com aquecimento durante 4 horas (Esquema 16). O término da reação foi confirmado por cromatografia em camada delgada CCD. De acordo com a CCD, verificou-se a formação de 2 produtos principais com R_{f_s} próximos os compostos (**73a-d**) e (**74a-d**).

Esquema 16: Síntese dos bis e mono- 1,2,4-oxadiazóis **73a-d** e **74a-d**.

R₁: Aril a: Ph, b: o-CH₃Ph, c: m-CH₃Ph d:p-CH₃Ph

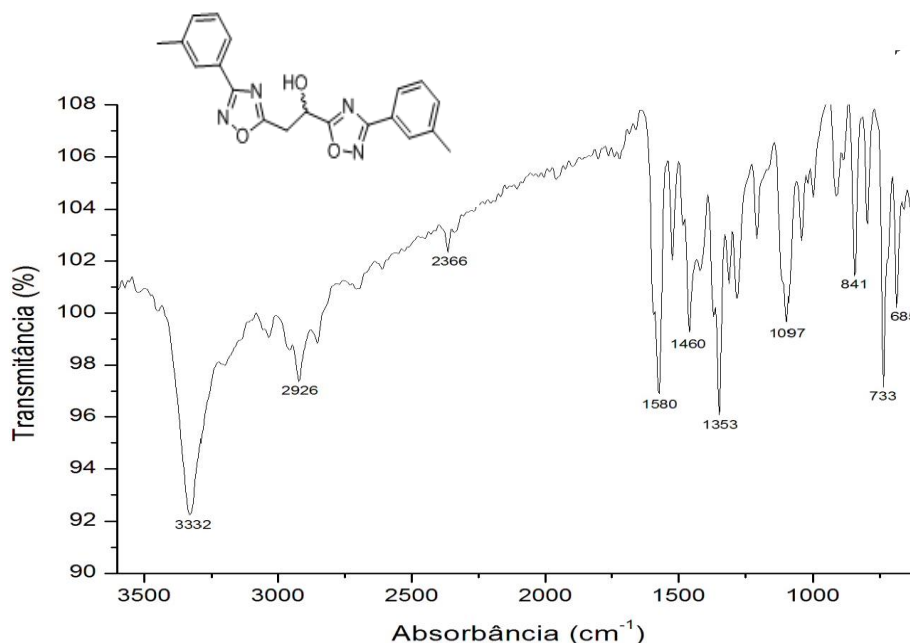
Os dois produtos principais formados são os 1,2,4-oxadiazóis monossustituídos e o bis-1,2,4-oxadiazóis que é o dissustituídos. Os produtos foram obtidos com rendimentos moderados, como é mostrado na tabela 4. É importante resaltar que grupos eletrodadores e menos impedidos favorecem a reação de formação dos 1,2,4-oxadiazóis.

Tabela 4: Rendimentos reacionais dos produtos **73a-d** e **74a-d**.

Produtos	Rendimento (%)	Produtos	Rendimento (%)
	55		30
	51		16
	65		25
	68		20

A estrutura dos compostos sintetizados foram caracterizadas pelas técnicas espectroscópicas convencionais, IV, RMN ^1H e ^{13}C . De acordo com espectro de IV dos compostos obtidos foram observadas as bandas características dos grupos funcionais presentes nos compostos sintetizados. Os estiramentos atribuídos à ligação C=N, característico do anel oxadiazólico, foram observadas na região compreendida em 1580 cm^{-1} . A banda referente ao grupo hidroxila foi observada em 3332 cm^{-1} . Na figura 27 pode ser observado o espectro de IV do composto **73a**.

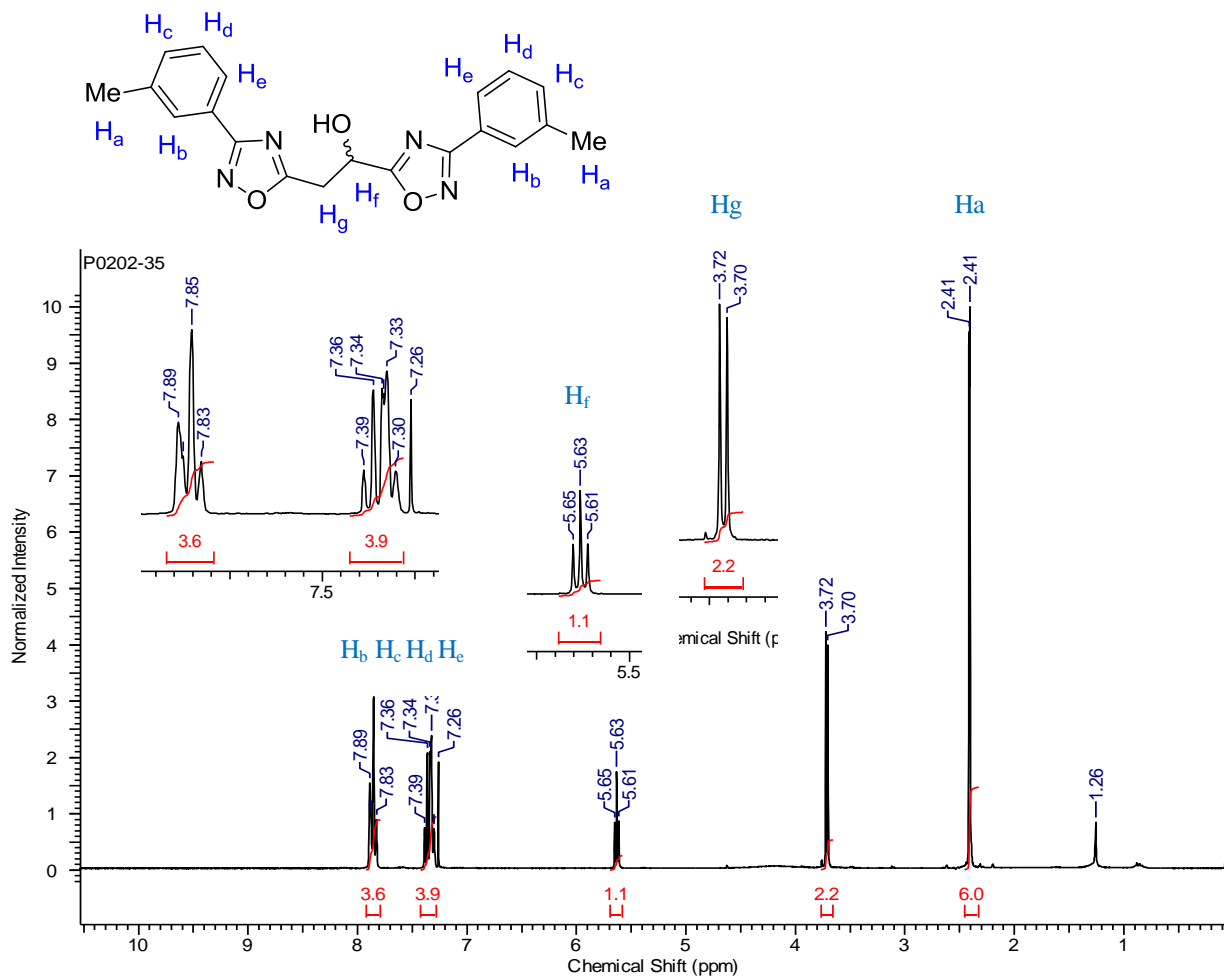
Figura 27: Espectro de IV do *m*-toluol-5-hidroxi etil-bis-1,2,4-oxadiazóis.



No espectro RMN ^1H (Figura 28) do composto **73c** foi observado os sinais característicos para os compostos. Na faixa de δ 5,63 ppm aparece um tripleto referente ao hidrogênio do grupo metina (CH-OH). Os hidrogênios do grupo metileno (-CH₂) apareceram na faixa de δ 3,71 ppm como um duplete devido o acoplamento com o grupo metina. Os sinais dos grupos metilas do anel aromático apareceu como simpleto em 2,41 ppm, com integral para 6H. Na faixa

compreendida entre δ 7,0-8,0 ppm temos os prótons do anel aromáticos. Os sinais característicos para NCO e NCN (anel oxadiazólico) em ^{13}C RMN apareceu na faixa em δ 178 e 168 ppm (Anexo 4).

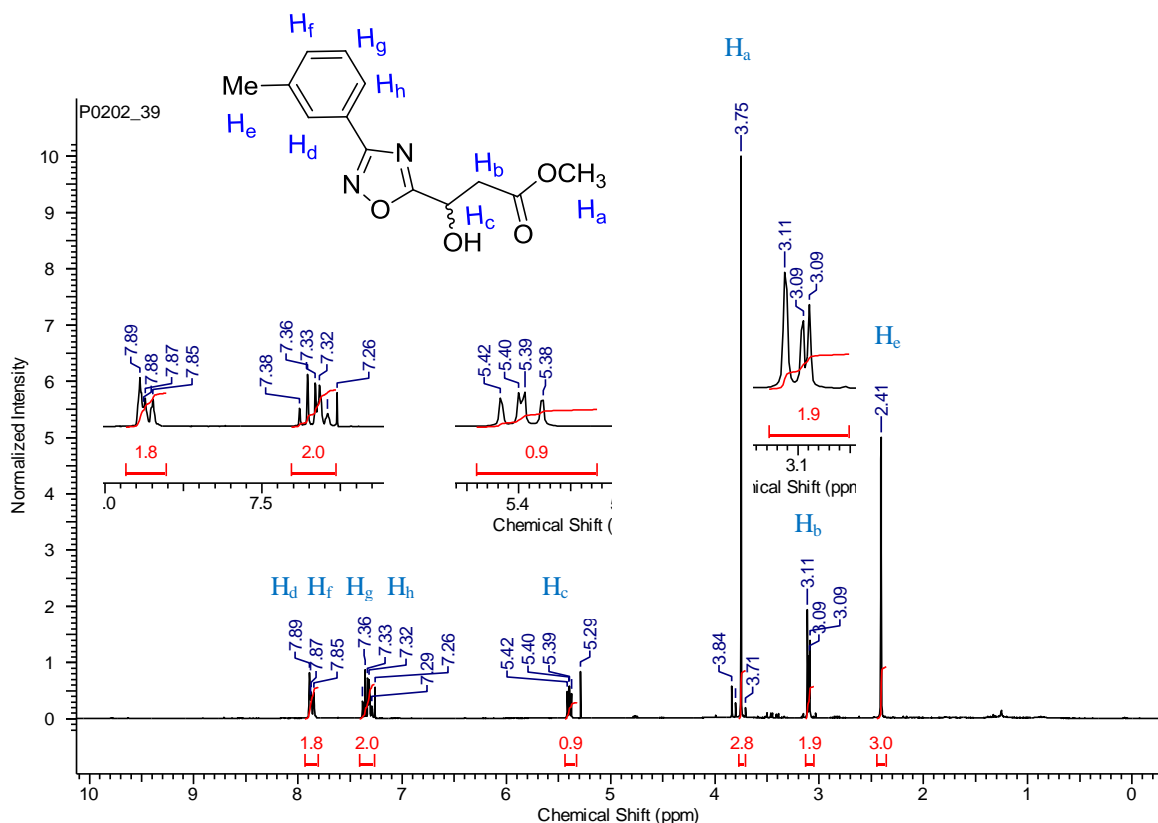
Figura 28: Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 do *m*-toluol-5-hidroxi-etil-bis-1,2,4-oxadiazol (**73a**).



No espectro de RMN de ^1H (Figura 29) do composto **74a** pode-se observar um simpleto mais blindado com integral para 3H, na faixa δ 2,41 ppm referente aos prótons do grupo metílico ligado ao anel aromático e na faixa de 3,75 ppm temos outro simpleto com integral 3H, referente ao grupo metílico ligado a porção éster. Na faixa de δ 5,39 ppm aparece um tripleto referente ao próton do grupo metina (CH-OH) e os prótons do grupo metileno ($-\text{CH}_2$) apareceram na faixa de δ 3,09

ppm como um duplete devido o acoplamento com o grupo metina. Na região compreendida entre 7,0-8,0 ppm temos os sinais característicos para dos prótons aromáticos do composto, com integral para 4H. Os sinais característicos para NCO e NCN (anel oxadiazólico) em ^{13}C RMN apareceu na faixa em δ 178 e 168 ppm (Anexo 5).

Figura 29: Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 do (*R,S*)-metil-3-hidroxi-3-*m*-toluil-1,2,4-oxadiazol-il) propanoato (**74a**).

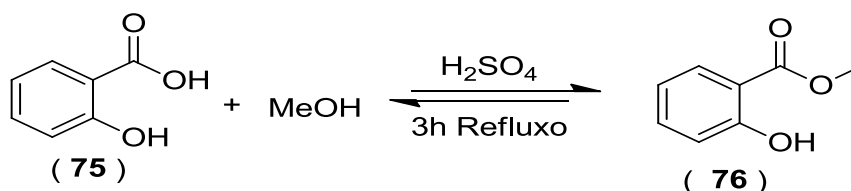


5.6. Síntese do Salicilato de metila

O salicilato de metila **76** foi sintetizado a partir do ácido salicílico e do metanol, usando como catalisador o H_2SO_4 em um sistema de refluxo durante 3 horas (Esquema 17). A formação do salicilato de metila foi confirmada por cromatografia em camada delgada (CCD), sistema de eluição 8:2 (hexano:

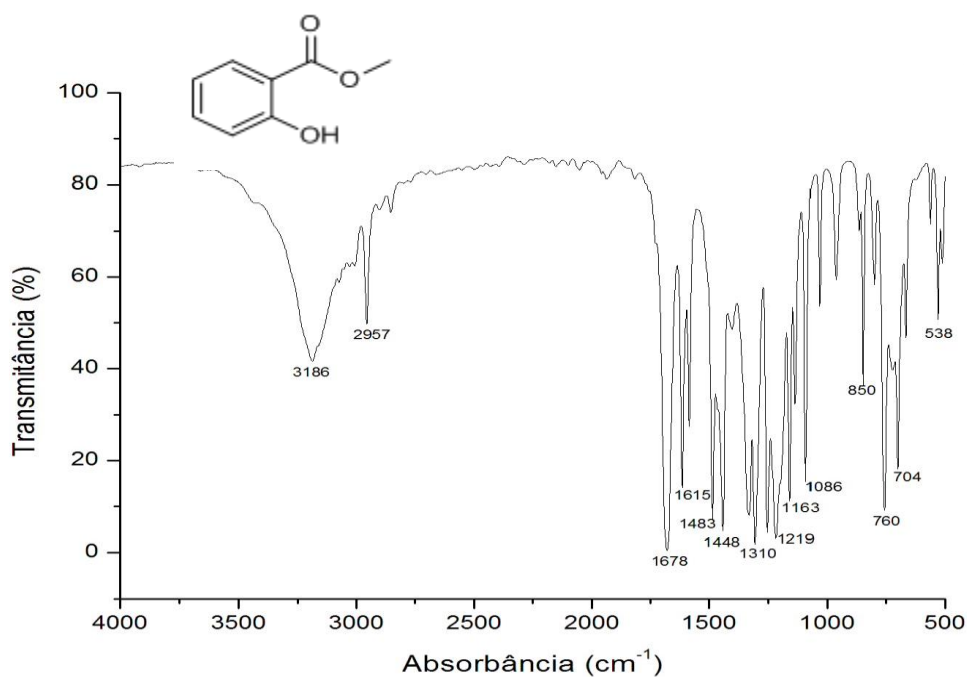
acetato de etila) e revelada numa cuba de iodo. O produto **76** foi purificado em coluna cromatográfica em rendimento de 60%.

Esquema 17: Reação de esterificação do ácido salicílico.



O composto **76** obtido foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho. No espectro da figura 30, percebe-se o estiramento da ligação O-H em 3186 cm^{-1} pertencente ao grupo hidroxila (OH) do anel aromático. A banda de absorção característica do grupo carbonila aparece em 1678 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O e em 2957 cm^{-1} observa-se o estiramento simétrico e assimétrico da ligação C-H de carbono com hibridização sp^3 referente ao grupo metila $-\text{CH}_3$.

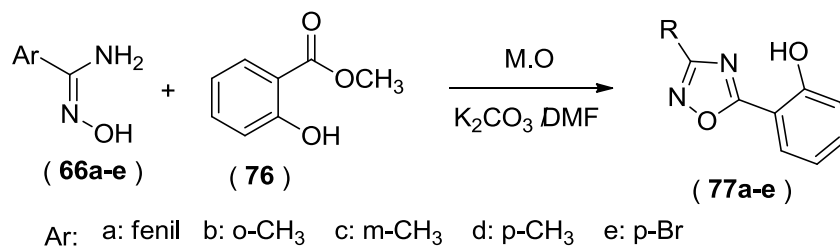
Figura 30: Espectro de infravermelho do composto **76** em pastilha de KBr.



5.7. Síntese de 1,2,4-oxadiazóis do salicilato de metila

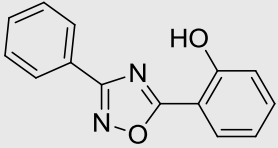
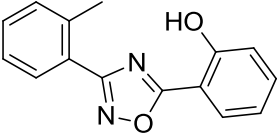
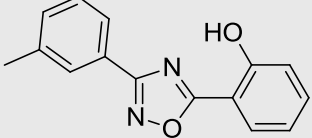
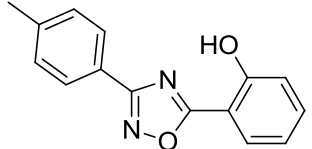
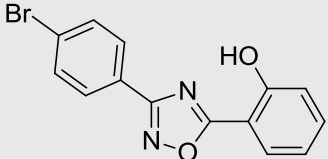
Os 1,2,4-oxadiazóis **77a-e** foram sintetizados a partir das arilamidoximas **66a-e** e o salicilato de metila (**76**) em K_2CO_3 na proporção 1,4:1:1,4 mediada por irradiação de micro-ondas com tempo reacional de 10min (Esquema 18). O término da reação foi comprovado por cromatografia de camada delgada (CCD) em sistema de eluição 8:2 (hexano : acetato de etila) e revelado em câmara de ultravioleta. Os compostos **77a-e** foram purificados por cromatografia em coluna de sílica gel (fase estacionária) inicialmente com sistema de eluição de 96:4 (hexano: acetato de etila) e em seguida por sistema de 85:15 (hexano: acetato de etila) para fornecer os compostos puros em bons rendimentos.

Esquema 18: Síntese de 1,2,4 – oxadiazol mediada por irradiação de micro-ondas a partir do salicilato de metila.



A síntese de 1,2,4-oxadiazol por irradiação não ionizante de micro-ondas mostrou ser uma síntese eficiente, simples e prática na obtenção dos compostos **77a-e**. Esses compostos foram caracterizados por ponto de fusão, espectroscopia de IV, RMN 1H e ^{13}C . Os produtos foram obtidos de moderados a bons rendimentos (45-91%) em tempo reacional de 10 minutos. Convém destacar que além de proporcionar um bom aquecimento interno dos reagentes favorecendo a formação dos produtos e sua purificação, o método por irradiação de micro-ondas produz baixos níveis de rejeitos, ou seja, minimiza a produção de resíduos, promovendo assim, a preservação do meio ambiente. Na tabela 5, a seguir estão demonstrados os rendimentos e os pontos de fusão dos 1,2,4-Oxadiazóis-3,5-dissubstituídos obtidos **77a-e**.

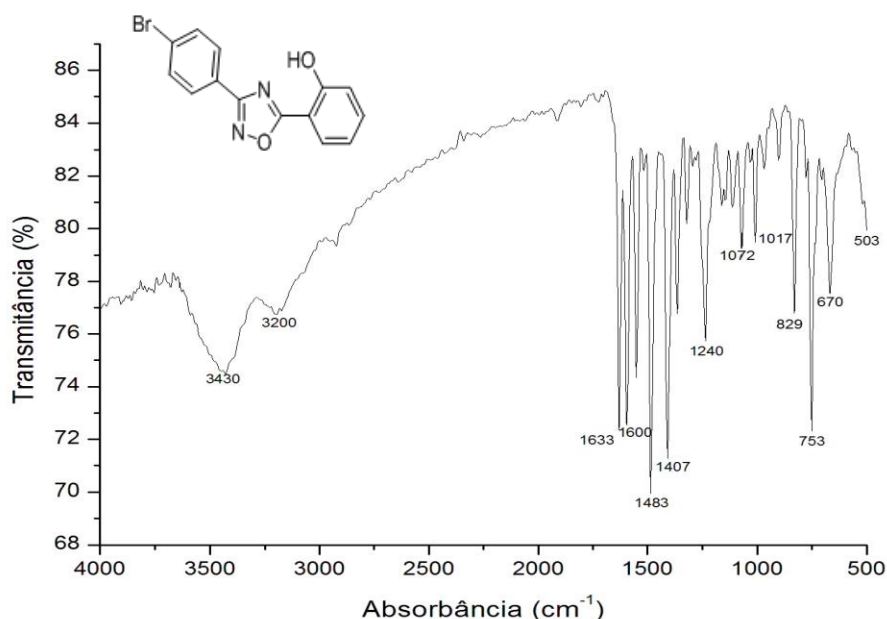
Tabela 5: Rendimentos e pontos de fusão dos compostos 77a-e sintetizados.

Compostos	Rendimentos (%)	p.f °C
 77a	45	109-111
 77b	77	128-131
 77c	80	140-141
 77d	91	154-156
 77e	47	160-161

No espectro de IV do composto **77e** obtidos foram observadas as bandas características dos grupos funcionais presentes nos compostos sintetizados. Os estiramentos atribuídos à ligação C=N, característico do anel oxadiazólico, foram observadas na região compreendida entre 1600-1633 cm^{-1} . A banda referente ao

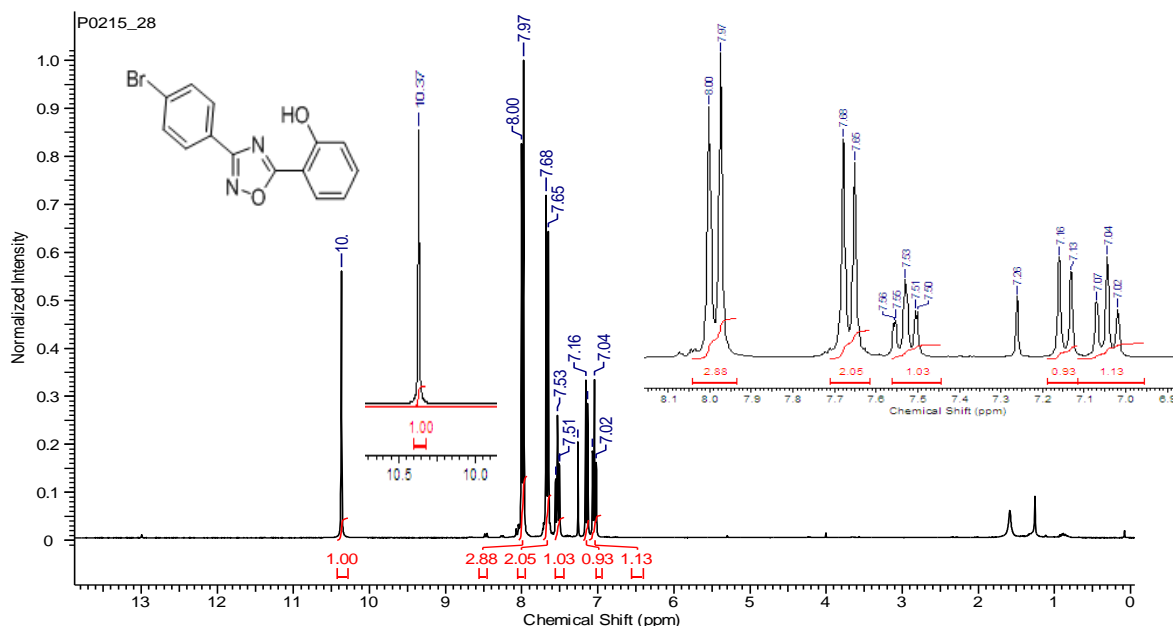
estiramento da ligação OH é observada em 3430 cm^{-1} e em 3200 cm^{-1} temos o estiramento da ligação C-H de aromáticos. Na figura 31 pode ser observado o espectro de IV do composto.

Figura 31: Espectro de IV em KBr do composto **77e**.



No espectro RMN^1H (Figura 32) do composto **77e** foi observado os sinais característicos para os compostos. Na faixa de δ 10,37 ppm aparece um simpleto referente ao hidrogênio do grupo fenol. Na faixa compreendida entres δ 7,0-8,0 ppm temos os oitos hidrogênios do anel aromáticos. Os sinais característicos para NCO e NCN (anel oxadiazólico) em ^{13}C RMN apareceu na faixa em δ 174,49, e 166,38 ppm (Anexo 7).

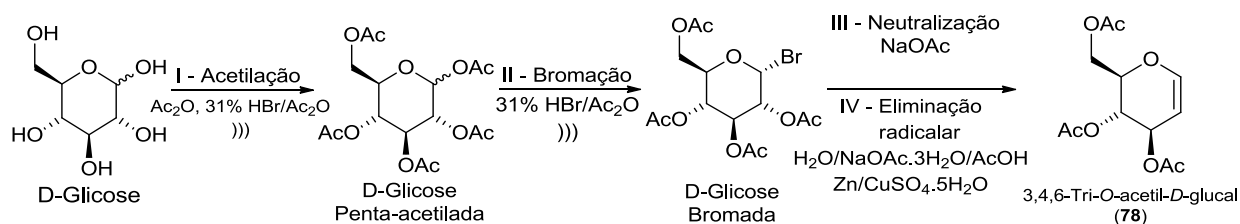
Figura 32: Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 2-(3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-fenol (**77e**).



5.8 Síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-*D*-glucal

Por se tratar de um reagente de custo elevado, decidiu-se obter o tri-*O*-acetil-*D*-glucal (**78**) a partir da *D*-glicose, seguindo o procedimento desenvolvido por nosso grupo de pesquisa. Neste procedimento a *D*-glicose é submetida a sucessivas reações do tipo “*one pot*” sob banho de irradiação de ultrassom: acetilação (I), bromação (II), neutralização (III) e eliminação (IV), para fornecer o composto **78** com rendimento de 70% (Esquema 19).

Esquema 19: Etapas reacionais da síntese do 3,4,6-tri-*O*-acetil-*D*-glucal.



A estrutura do composto **78** foi confirmada através dos espectros de infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C .

O espectro de infravermelho forneceu informações acerca dos grupos funcionais presentes na estrutura do composto **78** (Figura 33). Comparando os espectros de IV da D-glicose (Figura 34), e do tri-*O*-acetil-*D*-glucal, foi possível observar, no espectro de IV da D-glicose, uma deformação axial em 3332 cm^{-1} , sendo está uma região típica do grupo $-\text{OH}$, enquanto, no espectro do composto **78** foi observada a ausência da banda forte referente ao estiramento da ligação O-H na região de 3332 cm^{-1} e a presença da banda referente ao estiramento do grupo carbonila em 1741 cm^{-1} , concluindo-se que a D-glicose teve todos os seus grupos hidroxilas acetilados. Na região de 1650 cm^{-1} foi possível observar o estiramento axial da ligação $\text{C}=\text{C}$.

Figura 33: Espectro de IV da *D*-glicose em pastilha de KBr.

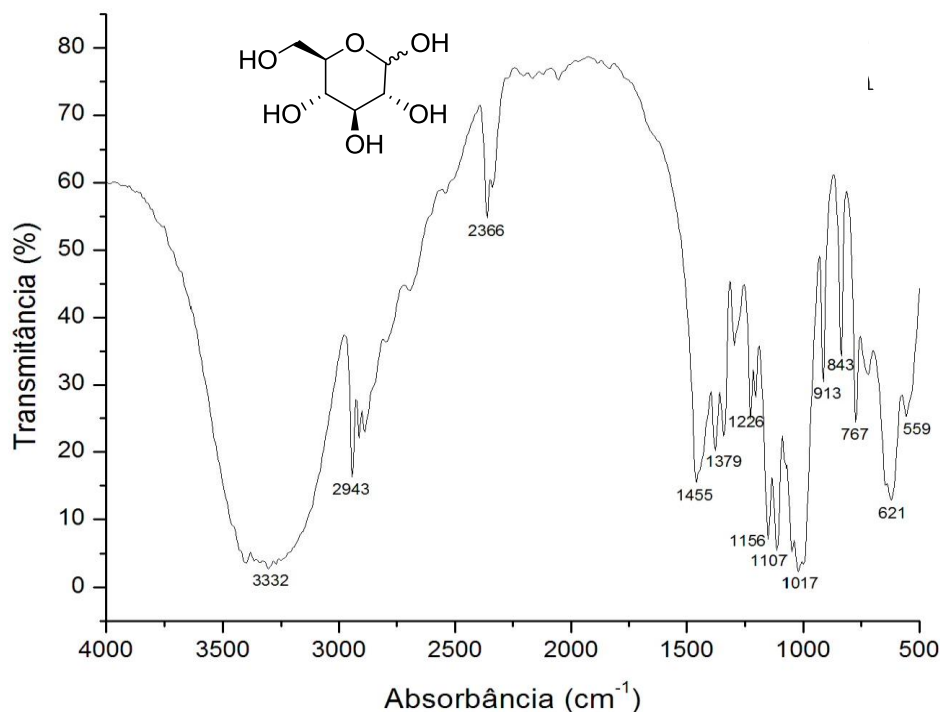
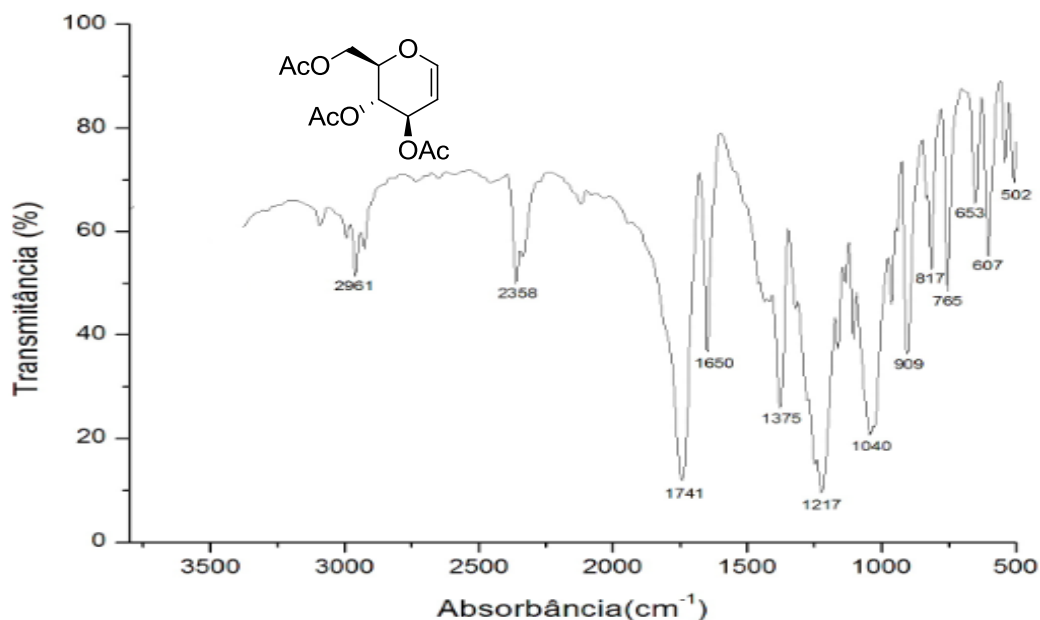
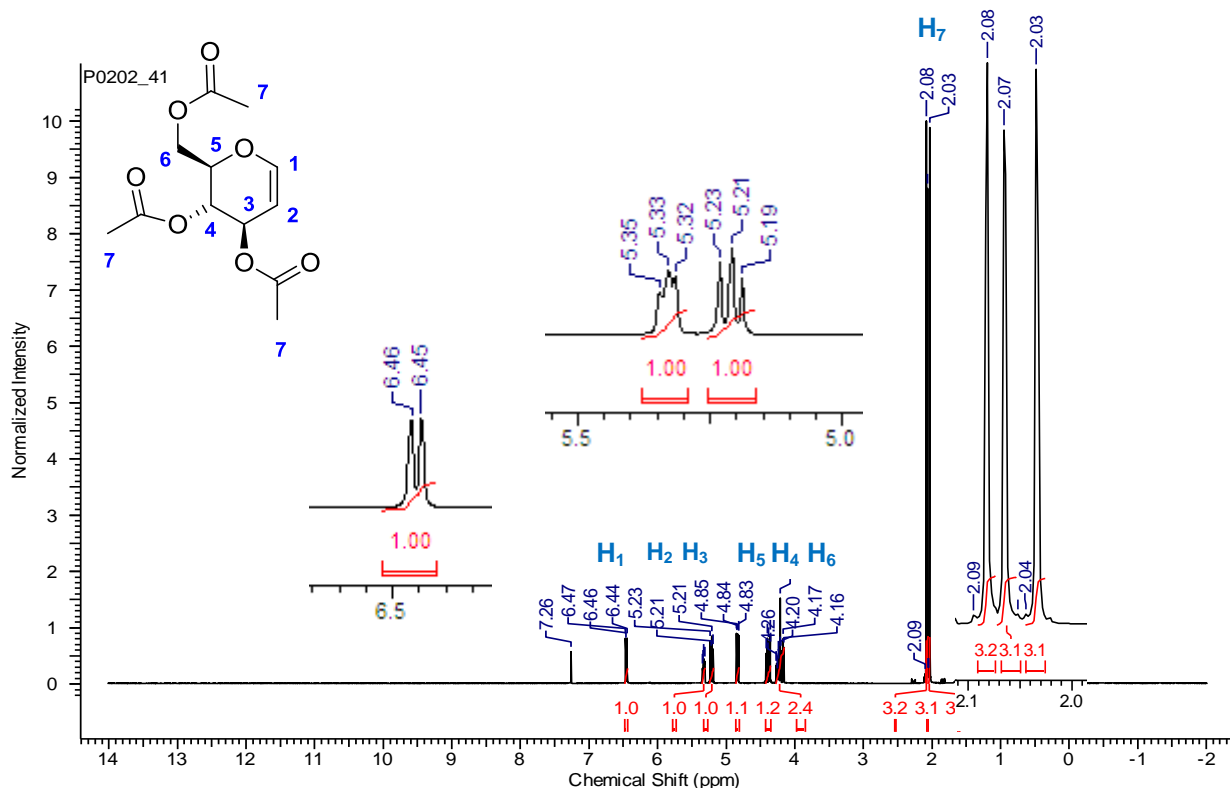
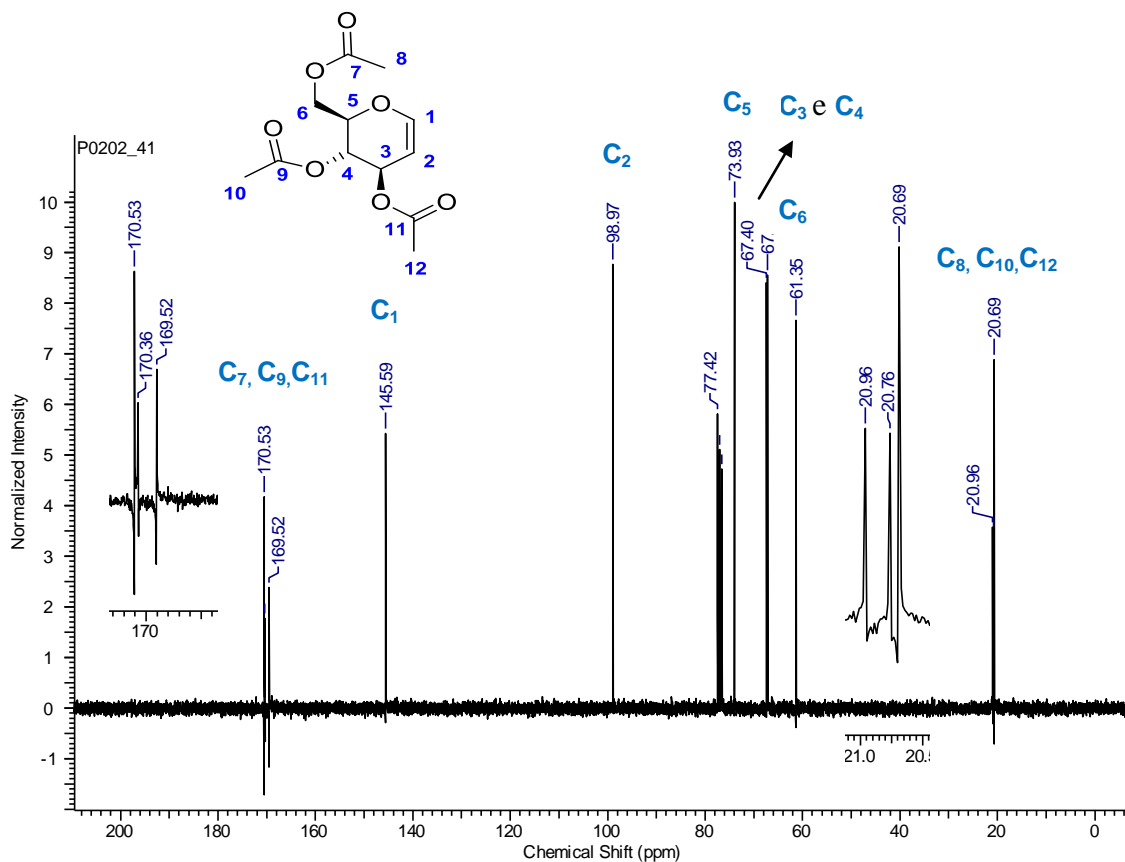


Figura 34: Espectro de IV do composto **78** em pastilha de KBr.

Analisando o espectro de RMN ^1H é possível destacar alguns sinais. Na região entre 2,07 ppm observa-se três simpletos com valor de integral relativo a nove hidrogênios, correspondente aos hidrogênio dos três grupos -OAc. O sinal em 6,45 ppm refere-se ao hidrogênio H-1 que é desdobrado pelo hidrogênio H-2 originando um duplete bem definido em campo baixo devido a desblindagem gerada pelo heteroátomo vizinho e por causa do efeito anisotrópico da dupla ligação. Em 5,32 ppm temos um duplete referente a H-2 em 5,20ppm o tripleto refere-se ao hidrogênio do H-3, que acopla com H-2 e H-4. Na figura 35, observa-se a atribuição dos demais hidrogênios do tri-*O*-acetil-*D*-glucal (**78**).

Figura 35: Espectro de RMN ^1H de 300 MHz em CDCl_3 do composto **78**.

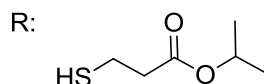
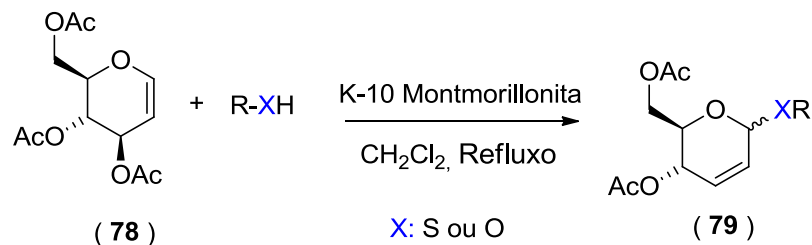
No espectro de RMN ^{13}C do composto **78**, observa-se na região de δ 170,53-169,52 ppm três sinais referentes aos carbonos carbonílicos, confirmando que houve a conversão dos grupos hidroxilas do composto de partida (*D*-glicose) ao acetato correspondente. Em δ 145,59 ppm e δ 98,97 ppm verifica-se a presença dos sinais referentes ao carbonos olefínicos, respectivamente, C-1 e C-2. Os sinais na região de δ 20,6-20,9 ppm são referentes aos carbonos das metilas ligadas a carbonila. Os demais carbonos e seus respectivos sinais podem ser observados na figura 36.

Figura 36: Espectro de RMN ^{13}C de 75 MHz em CDCl_3 do composto **78**.

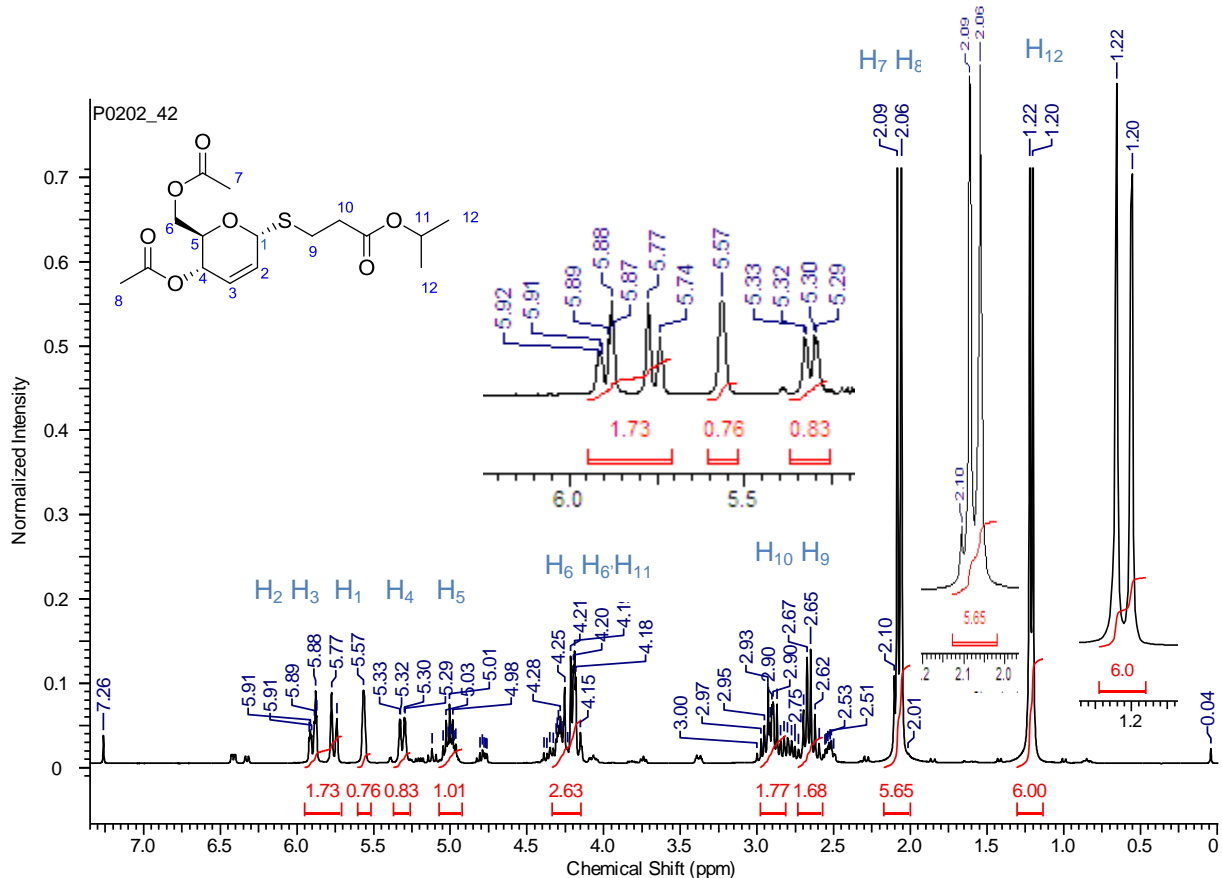
5.9 Síntese dos *O* e *S*-glicosídeos 2,3-insaturados

Tendo sintetizado o composto **78** e confirmada sua estrutura, a próxima etapa foi realizar a síntese dos inéditos *O*-glicosídeos 2,3-insaturados através do rearranjo de Ferrier. O método escolhido foi o descrito por Toshima e colaboradores (1995), devido sua eficiência, baixo custo, fácil manipulação dos reagentes e por ser realizada em condições brandas de temperatura com refluxo, CH_2Cl_2 como solvente e o K-10 como catalisador. Sendo assim, os compostos foram preparados a partir da reação de glicosidação do tri-*O*-acetil-*D*-glucal **78**, com diferentes alcoóis, (Esquema 20).

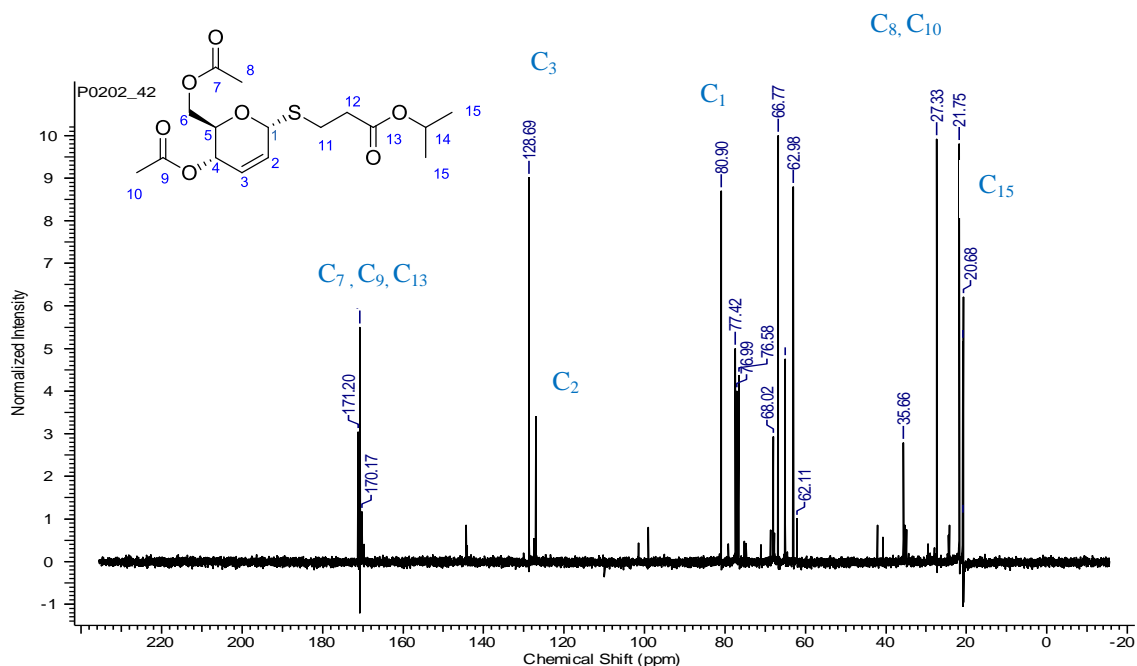
Esquema 20: Síntese de inéditos O-glicosídeos 2,3-insaturados contendo o anel 1,2,4-oxadiazol.



O composto **79** foi obtido com bom rendimento de 65% e em 2 horas. Adotando esse composto como referência analisou-se o espectro de RMN ^1H do mesmo. Nele é possível destacar dois simpletos na região de 2,06 e 2,08 ppm, com integral aproximadamente de 6, confirmando a presença das metilas dos grupos acetila, já em 1,21ppm temos um duplete com integral para 6H, referente aos seis prótons metílicos quimicamente equivalentes do grupo isopropila e em 2,70 e 2,60ppm observa-se os tripletos em referente ao prótons metilênicos da porção aglicona. Também podemos ressaltar os sinais referentes aos hidrogênios da porção glicídica H-3 (5,90 ppm) e H-2 (5,82 ppm) que acoplam com constante de $J_{3,2} = 10,4$ em campo baixo devido a desblindagem pelo efeito anisotrópico da dupla ligação. No mais, o somatório das integrais das áreas de cada sinal no espectro é igual a 24 para esse composto (Figura 37).

Figura 37: Espectro de RMN ^1H de 300 Mhz em CDCl_3 do composto **79**.

No espectro de RMN ^{13}C verifica-se a presença de 15 carbonos com deslocamentos diferentes, no qual se destacam os sinais dos carbonos acetilênicos em 75,2 e 79,4 ppm e do carbono anomérico (C-1) na região de 92,7 ppm. Na região de 127,01 e 128,69 ppm observa-se o sinal dos carbonos olefínicos C-2 e C-3 respectivamente, e em campo mais alto na região situada entre 170,20-171,17 ppm três sinais referentes ao carbono das carbonilas. Em campo alto vemos dois sinais na região de 20,1-21,75 referentes aos carbonos metilênicos presentes no grupo isopropila e em 27,33 temos o sinal dos metilênicos do grupo acetila. Os demais carbonos e seus respectivos sinais podem ser vistos na figura 38.

Figura 38: Espectro de RMN ^{13}C de 75 MHz em CDCl_3 composto **79**.

6.0 Atividade Citotóxica

A citotoxicidade dos 1,2,4-oxadiazóis (**70a-d**) sintetizados, foram avaliadas frente a *Artemia salina*. McLaughlin *et al.*,^{38a,b} relataram que a citotoxicidade dos compostos frente a *Artemia salina* tem relação com a atividade antitumoral, e que este bioensaio pode ser efetuado como um teste preliminar para posteriores teste de atividades antitumorais. O percentual de mortalidade dos compostos frente a *Artemia salina* foi calculado após 24 horas e verificou-se que após esse tempo o percentual de mortalidade foi 100% em todas as concentrações que variaram de 2,5-100 μmL .

Tendo em vista os resultados dos testes frente à *Artemia salina*, podemos observar que os compostos são bastante citotóxicos devido a porcentagem de microcrustáceos mortos para este teste, e isso nos levando a crer que os compostos podem vir a apresentar boas atividades biológicas em outros bioensaios.

6.1 Atividade Antimicrobiana

Dando continuidade ao estudo das atividades biológicas dos 1,2,4-oxadiazóis foi avaliado a atividade antimicrobiana dos compostos **70a-c**, foram avaliadas frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02 / ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 86), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), (Gram-positivas), e *Escherichia coli* (UFPEDA 224 / ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416 / ATCC 27853) (Gram-negativas) utilizando como meio líquido Mueller Hinton (MH) para Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas.

De uma maneira geral, com base nos dados da Tabela 6, o composto **70c** foi o mais ativos frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Gram-positivas), as bactérias *Bacillus subtilis* (86) e *Pseudomonas aeruginosa* (416) apresentaram resistência ou insensibilidade aos compostos testados. Todos os compostos demonstrou uma boa capacidade de inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* (Gram-negativa).

Tabela 6: Atividade antibacteriana dos 1,2,4-oxadiazóis **70a-c**.

Micro-organismos	Compostos		
	70a	70b	70c
Bactérias Gram-positivas	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	625
<i>Bacillus subtilis</i>	X	X	X
<i>Enterococcus faecalis</i>	X	X	156,2
Bactérias Gram-negativas	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	1250	1250	312,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X

OBS: *Concentrações maiores que 250 µg/mL não foram testadas.

X= não inibiu o crescimento do microrganismo.

6.2 Atividade Antitumoral

Uma vez sintetizados e caracterizados os 1,2,4-oxadiazóis, os compostos foram enviados para o Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), que funciona sob a supervisão da Prof.^aDr.^a Gardênia Carmen Gardelha Militão, com o intuito de avaliar a atividade antitumoral desses compostos **70a-d**, **73d** e **77a-e** frente a três linhagens de células tumorais humanas, sendo elas: MCF-7 (carcinoma de mama - humano), *HCT 116* (carcinoma de cólon - humano) e HL 60 (Leucemia Promielocítica) pelo Método MTT (Microcultura de Tetrazolium).

Dentre os compostos testados o **77a** foi o que apresentou maior percentual de inibição de crescimento celular frente a linhagem HL-60, enquanto os compostos **70c** e **77d** apresentaram atividade moderada com 57% e 68% de inibição de crescimento para as MCF-7 e HL-60, respectivamente. Os demais compostos tiveram pouco ou nenhuma atividade para as linhagens de células testas como mostra a tabela 7.

Tabela 7: Percentual de inibição em concentração única do crescimento celular das amostras em três linhagens tumorais e seu intervalo de confiança.

	Inibição HL60 (%)	± (SD)	Inibição HCT 119 (%) ± (SD)	± (SD)	Inibição MCF-7 (%) ± (SD)	± (SD)
DOX	98,66982	0,5429323	77,405	5,313567	81,53616	3,383627
77d	68,14516	1,38684	19,01969	8,650524	29,59368	2,329748
70^a	9,445507	0,6673633	44,72818	2,795093	35,40617	1,068518
70d	14,07932	10,22589	20,92957	1,282742	27,61682	2,104429
73d	14,09181	4,15702	33,35387	2,071397	2,738602	9,868561
77e	33,81054	9,720026	21,78715	5,162	40,81163	2,799578

70c	44,40761	0,2156003	11,48437	4,513551	57,09014	0,2297617
70b	30,85442	4,395864	21,50335	5,303646	25,02053	3,945166
77 ^a	83,41631	2,757113	38,18372	1,61822	8,969959	4,24789
77c	0,1937904	22,33895	16,58357	1,311793	18,79168	8,336757
77b	-11,13427	2,031621	-8,116817	0,6089808	19,11393	3,309788

7. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi realizada a síntese de sete (07) arilamidoximas, as quais são reagentes de partidas para a síntese de 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituídos. As arilamidoximas foram obtidas com rendimentos variando entre 23 – 97 %. O-toluilamidoxima foi obtida rendimento em torno de 23% devido ao impedimento estérico.

A reação de esterificação do ácido salicílico, ácido 3-mercaptopropionico e do ácido málico pela metodologia proposta por Fischer, forneceram os produtos **76**, **72** e **69** com rendimentos de 60%, 78% e 79% respectivamente.

Neste trabalho também foram sintetizados cinco (5) 1,2,4-oxadiazóis a partir do salicilato de metila e mediada por radiação de micro-ondas, com rendimentos variando entre 45 – 91% e tempo reacional de 10 min. Utilizando ainda a radiação micro-ondas foram obtidos quatro (04) novos 1,2,4 – oxadiazóis a partir do 3-mercaptopropionato de isopropila, com rendimentos moderados, que variaram de 27-47%.

Até o momento, foram sintetizados quatro (04) mono e bis-1,2,4-oxadiazóis a parti do malato de dimetila, com rendimentos moderados, que variaram de 20-67%. Para a síntese desses compostos foi utilizado o método por aquecimento sem refluxo e sem utilização de base.

Todos os compostos obtidos até o presente momento foram caracterizados pelas técnicas convencionais de IV, RMN ¹H e ¹³C.

Foram realizadas as atividades citotóxicas de 4 novos 1,2,4-oxadiazóis frente a *Artemia salina*, verificou-se que após 24 horas o percentual de mortalidade dos microcrustáceos foi 100% em todas as concentrações que variaram de 2,5-100 μ /mL, o que demonstra que os compostos apresentam potenciais para testes em outros bioensaios.

Também foram avaliadas as atividades antitumorais dos compostos **70a-d**, **73d** e **77a-e** frente a três linhagens de células tumorais humanas, sendo elas: MCF-7 (carcinoma de mama -humano), *HCT 116* (carcinoma de cólon - humano) e HL 60 (Leucemia Promielocítica) pelo Método MTT (Microcultura de Tetrazolium).

O composto **77a** foi o que apresentou maior percentual de inibição de crescimento celular frente a linhagem HL-60, enquanto os compostos **70c** e **77d** apresentaram atividade moderada com 57% e 68% de inibição de crescimento para as MCF-7 e HL-60, respectivamente.

Por fim, foram avaliadas as atividades antimicrobiana frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02 / ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 86), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), (Gram-positivas), e *Escherichia coli* (UFPEDA 224 / ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416 / ATCC 27853) (Gram-negativas). O composto **70c** foi o mais ativos frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Gram-positivas). Todos os compostos demonstrou uma boa capacidade de inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* (Gram-negativa).

8. PERSPECTIVAS

1. Sintetizar os *O* e *S*-glicosídeos 2,3-insaturados tendo como aglicona os 1,2,4-oxadizóis, através de rearranjo de Ferrier.
2. Caracterizar estruturalmente (em termos de configuração e conformação) os compostos obtidos.
3. Testar atividade biológica de cada um dos compostos obtidos.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Rosa, M. F.; Morcelli, A. C. T.; Lobo, V. S. 1,2,4-oxadiazole: a brief review from the literature about the synthesis and pharmacological applications. *Visão Acadêmica, Curitiba*, **2015**, vol.16, nº2. ISSN 1518-8361.
- [2] Dabholkar, V. V.; Shinde, N.; Karekar, A.; Naik, P.; Chemistry of novel biphenyl cyclic 3, 5-disubstituted 1, 2, 4-oxadiazoles derivatives- their synthesis and microbial evaluation. *Heterocyclic Letters*. **2013**. Vol. 3. Issue 4. 525-531.
- [3] Jiang, C. S.; Fu, Y.; Zhang, L.; Gong, J. X.; Whang, Z. Z.; Xiao, W.; Zhang, H. Y.; Guo, Y. W.; Synthesis and biological evaluation of novel marine-derived indole-based 1,2,4-oxadiazoles derivatives as multifunctional neuroprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2015**. 216-220.
- [4] Bezerra, N. M. M.; de Oliveira, S. P.; Srivastava, R. M.; da Silva, J. R. Synthesis of 3-aryl-5-decapentyl-1,2,4-oxadiazoles possessing antiinflammatory and antitumor properties. *Il Farmaco* **2005**, 60, 955.
- [5] Cunha, F. S.; de Aguiar, A. P. Síntese e Bioatividade de 1,2,4-Oxadiazóis. *Revista Virtual de Química.*, **2015**, vol.7, nº6, 2509-2530.
- [6] Meng, X. B.; Han, D.; Zhang, S. N.; Guo, W.; Cui, J. R.; Li, Z. J. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-phthalimidomethyl 2,3-dideoxy- and 2,3-unsaturated glycosides. *Carbohydrate Research*, **2007**, 342, 1169–1174
- [7] Cordeiro, K. C. F. A.; Rezende, K. R.; Vaz, B. G.; Romão, W.; Liao, L. M.; Gil, E. S.; de Oliveira, V. Biosynthesis and antioxidant activity of 4-NRC- β -glycoside. *Tetrahedron Letters*. **2014**. Vol. 54. Issue 48. 6656-6659.

[8] (a) De Freitas, J. C. R.; *Dissertação de Mestrado*, UFPE, **2010**. (b) Jung, J.-H.; Seo, D.-H.; Ha, S.-J.; Song, M.-C.; Cha, J.; Yoo, S.-H.; Kim, T.-J.; Baek, N.-I.; Baik, M.Y.; Park, C.-S. *Carbohydr. Res.* **2009**.

[9] Freitas, J. J. R.; Silva, E. E.; Regueira, J. L. L. F.; de Andrade, S. S.; Cavalcante, P. M. M.; Oliveira, R. N.; Freitas Filho, J. R. 1,2,4-oxadiazóis: síntese e aplicações. *Revista Virtual de Química* **2012**, 4, 670.

[10] PACE, A.; Pierro, P. The New era of 1,2,4-oxadiazóis. *Organic & Biomolecular Chemistry*. **2009**, v.7, p. 4337–4348.

[11] Silva R. L; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal Rural de Pernambuco, **2015**.

[12] Carbone, M.; Li, Y.; Irace, C.; Mollo, E.; Castelluccio, F.; di Pascale, A.; Cimino, G.; Santamaria, R.; Guo, Y.-W.; Gavagnin, M. Structure and Cytotoxicity of Phidianidines A and B: First Finding of 1,2,4-Oxadiazole System in a Marine Natural Product. *Organic. Letters.*, **2011**, vol.13, nº10, 2516, p. 2516-2519.

[13] Barros, C. J. P.; Souza, Z. C.; Freitas, J. J. R.; Da Silva, P. B. N.; Militão, G. C. G.; Silva, T. G.; Freitas, J. C. R.; Filho, J. R. F.; A convenient synthesis and cytotoxic activity of 3-aryl-5-pentyl-1,2,4-oxadiazoles from Carboxylic acid esters and arylamidoximes under solvent-free conditions. *J. Chil. Chem. Soc.*, **2014**, 59, nº 1, 2359-2362.

[14] Pitchumani, K.; Suresh, D.; Kanagaraj, K.; Microwave promoted one-pot synthesis of 2-aryl substituted 1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-oxadiazole derivatives using Al³⁺-K10 clay as a heterogeneous catalyst. *Tetrahedron Letters.*, **2014**, vol.55, p. 3678–3682

[15] Baykov, S.; Sharonova, T.; Osipyanyan, A.; Rozhkov, S.; Shetnev, A.; Smirnov, A.; A convenient and mild method for 1,2,4-oxadiazole preparation: cyclodehydration of O-acylamidoximes in the superbase system MOH/DMSO. *Tetrahedron Letters.*, **2016**, vol.57, p. 2898–2900.

[16] Wang, W.; Xu, H.; Xu, Y.; Ding, T.; Zhang, W.; Ren, Y.; Chang, H.; Base-mediated one-pot synthesis of 1,2,4-oxadiazoles from nitriles, aldehydes and hydroxylamine hydrochloride without addition of extra oxidant. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **2016**.

[17] (a) Zachariah, M. S.; Ramkumar, M.; George, N.; Mohammad Salam Ashif, M. S.; A Review on Oxadiazole. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **2015**, vol. 6, nº2, p. 205-219. ISSN: 0975-8585 (b) Tully WR, Gardner CR, Gillespie RJ, Westwood R .2-(oxadiazolyl) - and 2 (thiazolyl) imidazo[1,2-a] pyrimidines as agonists and inverse agonists at benzodiazepine receptors, *Journal of medicinal chemistry*; July **1991**; 34. (c) Florea N, Maglio D, Nicolau D, Pleconaril, a novel antipicornaviral agent, pharmacotherapy **2003**; 23 (3):339–48. (d) Effects of pleconaril nasal spray on common cold symptoms and asthma exacerbations following rhinovirus exposure. Clinical Trials.gov.U.S national institute of health.

[18] Kumar, D.; Patel, G.; Chavers, A. K.; Chang, K. H.; Shah, K. Synthesis of novel 1,2,4-oxadiazoles and analogues as potential anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 46, 3085.

[19] Vujasinovic, I.; Radicevic, A. P.; Marjeski, K. M.; Brajsa, K.; Bertosa, B.; Synthesis and biological validation of novel pyrazole derivatives with anticancer activity guided by 3D-QSAR analysis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **2012**. Vol. 20. Issue 6. 2101-2110.

- [20] Zhang, P.; Chen, J. H.; Dong, X.; Tang, M. T.; Gao, L. Y.; Zhao, G. S.; Yu, L. G.; Guo, X. L. 6r, a novel oxadiazole analogue of ethacrynic acid, exhibits antitumor activity both in vitro and in vivo by induction of cell apoptosis and S-phase arrest. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2013**, *67*, 58.
- [21] Gakh, A. A.; Sosnov, A. V.; Krasavin, M.; Nguyen, T. L.; Hamel, E. Identification of diaryl 5-amino-1,2,4-oxadiazoles as tubulin inhibitors: The special case of 3-(2-fluorophenyl)-5-(4-methoxyphenyl)amino-1,2,4-oxadiazole. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 1262.
- [22] Piccionello, A. P.; Musumeci, R.; Cocuzza, C.; Fortuna, C. G.; Guarcello, A.; Pierro, P.; Pace, A. Synthesis and preliminary antibacterial evaluation of Linezolid-like 1,2,4-oxadiazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2012**, *50*, 441.
- [23] Maftai, C. V.; Fodor, E.; Jones, P. G.; Daniliuc, C. G.; Franz, M. H.; Kelter, G.; Fiebig, H.; Tamm, M.; Neda, I.; Novel 1,2,4-oxadiazoles and trifluoromethylpyridines related to natural products: synthesis, structural analysis and investigation of their antitumor activity. *Tetrahedron Letters.*, **2016**, vol.72, p. 1185–1199.
- [24] CRISTIANO, R. *et al.* 1,4-Diaryl and Schiff's base [1,2,3]-triazole derivative liquid crystalline compounds. *Liq. Cryst.*, v. 33, n. 9, p.997, 2006.
- [25] Freitas J.C.R.; Couto T. R.; Paulino A.A.S.; Freitas Filho J.R.; Malvestiti I.; Oliveira R.A.; Menezes P.H. Stereoselective synthesis of pseudoglycosides catalyzed by TeCl₄ under mild conditions. *Tetrahedron Letters.*, **2012**, vol.68, p. 8645-8654.
- [26] Souza T. R. C. L; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, **2012**.

[27] Chung I.; Kim Y.; Ali M.; Kim S.; Park I.; Kim E.; Yang Y.; Park H.; Son E.; Ahmad A. Triterpene glycosides from red ginseng marc and their anti-inflammatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2014**, vol. 24, p.4203–4208.

[28] Xue R.; Han N.; Xia M.; Ye C.; Hao Z; Wang L.; Wang Y.; Yang J.; Saiki I.; Yin J. TXA9, a cardiac glycoside from *Streptocaulon juvenas*, exerts a potent anti-tumor activity against human non-small cell lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Steroids*, **2015**, vol. 94, p. 51-59.

[29] Ferrier, R. J.; Prasad, N. J. Synthesis of 2,3-dideoxy- α -D-erythro-hex-2-enopyranosides from tri-O-acetyl-D-glucal. *Journal of the Chemical Society C-Organic*. **1969**, 570-575.

[30] Toshima, K.; Ishizuka, T.; Matsuo, G.; Nakata, M. Practical Glycosidation Method of Glycals Using Montmorillonite K-10 as an Environmentally Acceptable and Inexpensive Industrial Catalyst. *Synlett.*, **1995**, vol.4, p.306-308.

[31] Chen P. Bi B. Preparation of 2,3-unsaturated pseudoglycosides with Ferrier Rearrangement promoted by Tm(OTf)₃ as a highly efficient catalyst. *Tetrahedron Letters.*, **2015**, vol.56, p. 4895–4899.

[32] Kubiak A.; Kotodziuk.; Ski S.P.; Zawisza A. Palladium(0)-catalysed synthesis of 2,3- and 3,4-unsaturated aryl β -O-glycosides. *Carbohydrate Research*, **2015**, vol. 417, p. 34-40.

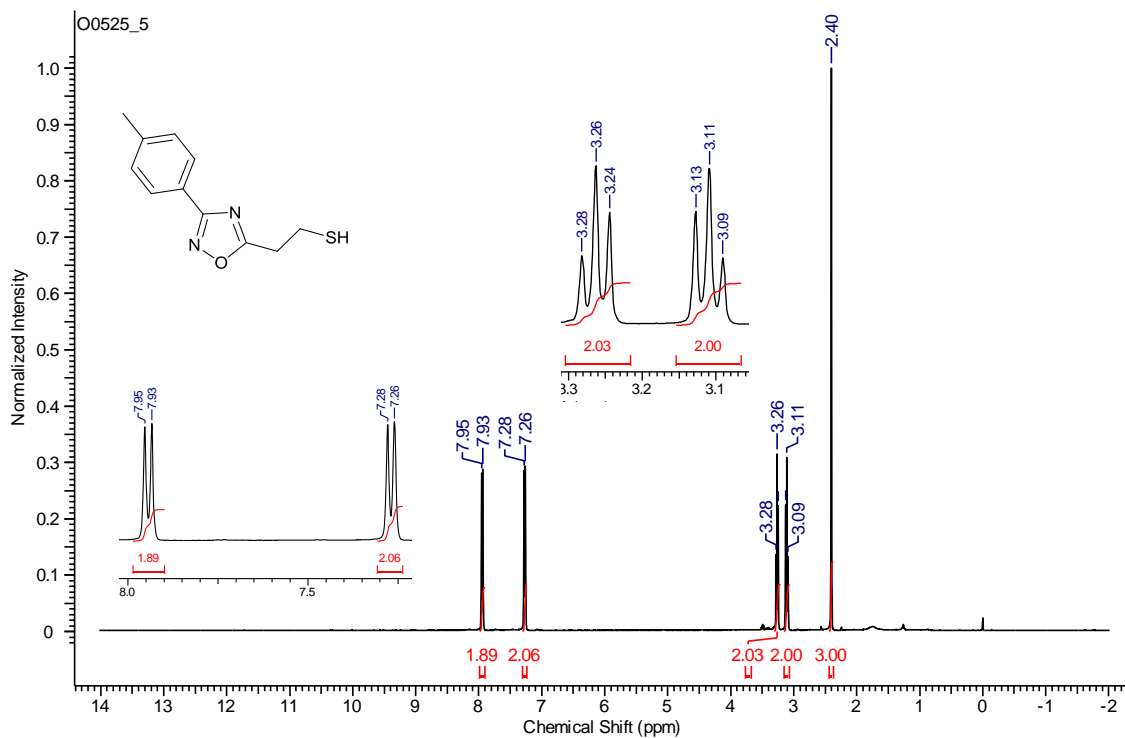
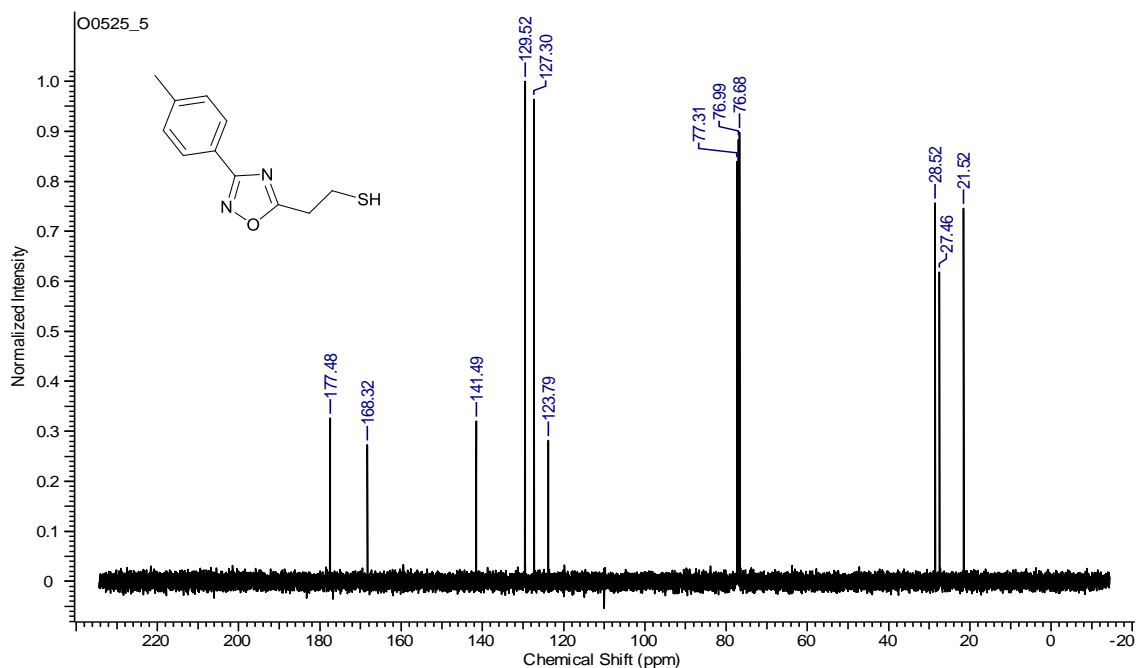
[33] Regueira, J. L. L. F.; Dantas, C. R.; Freitas, J. J. R.; Silva, A. J. F. S.; Freitas Filho, J. R.; Menezes, P. H.; Freitas, J. C. R. Stereoselective Synthesis of 2,3-Unsaturated Pseudoglycosides Promoted by Ultrasound. *Synthesis*, **2016**, v. 48, p. 1069-1078.

[34] NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, **2003**.

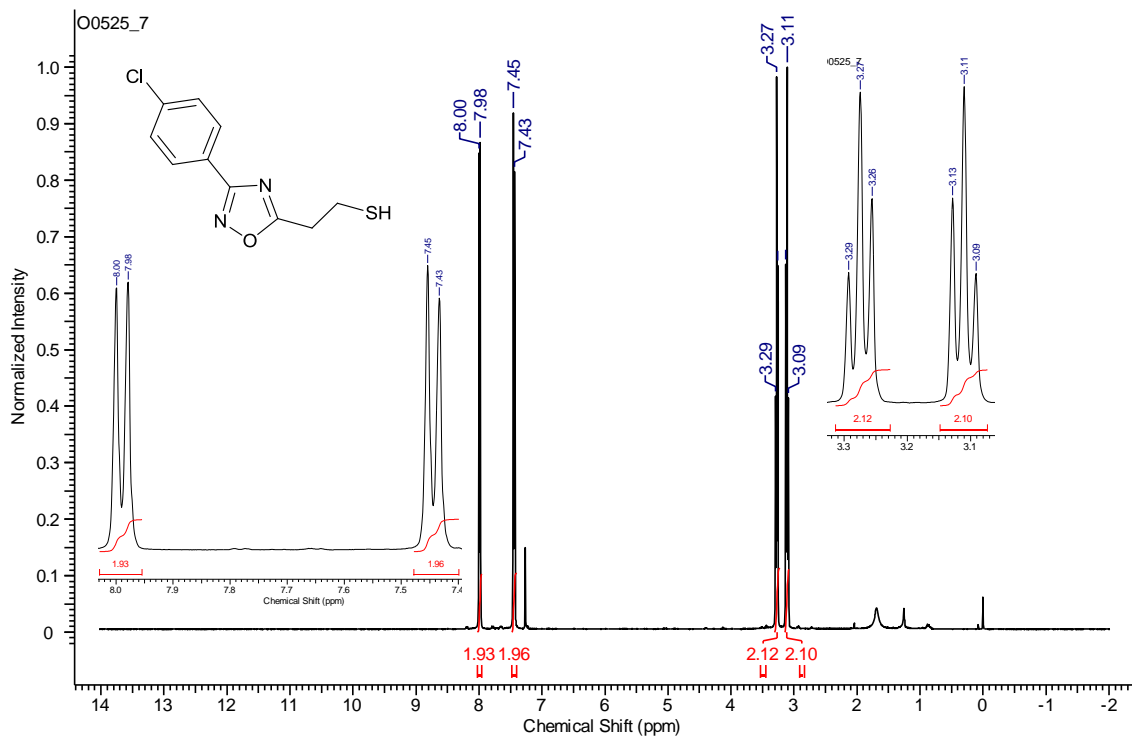
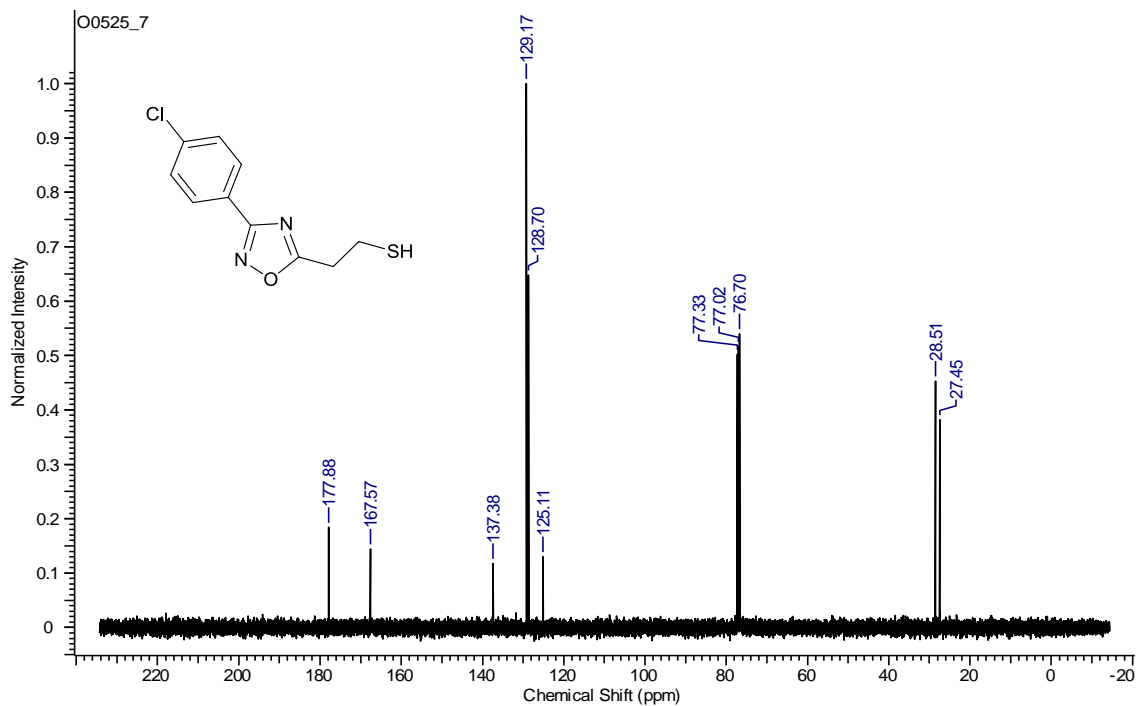
- [35] MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. v. 65, n. 1-2, p. 55-63, **1983**.
- [36] Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer I* 82: 1107-1118.
- [37] BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; McCOY, K. D.; WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. *Biochemica*, Berlin, v. 4, p. 14-19, 1996.
- [38] a) MCLAUGHLIN, J. L. *Methods in plant biochemistry*, v. 6. Londres: Academic Press, 1991. b) Freitas, L. A. B.; Estudo fitoquímico e atividade biológica das raízes, folhas, caules e frutos de *Piper caldense* C. DC. (PIPERACEAE). **2014**. 79f. Monografia – Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

10. APÊNDICES

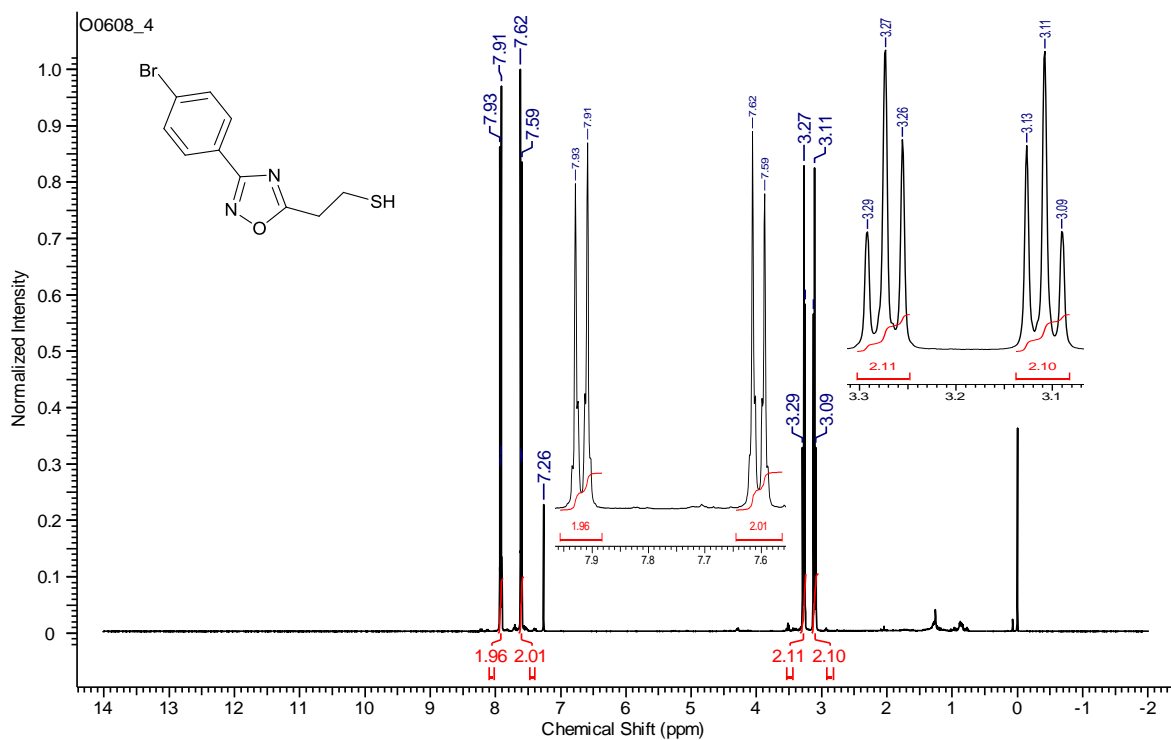
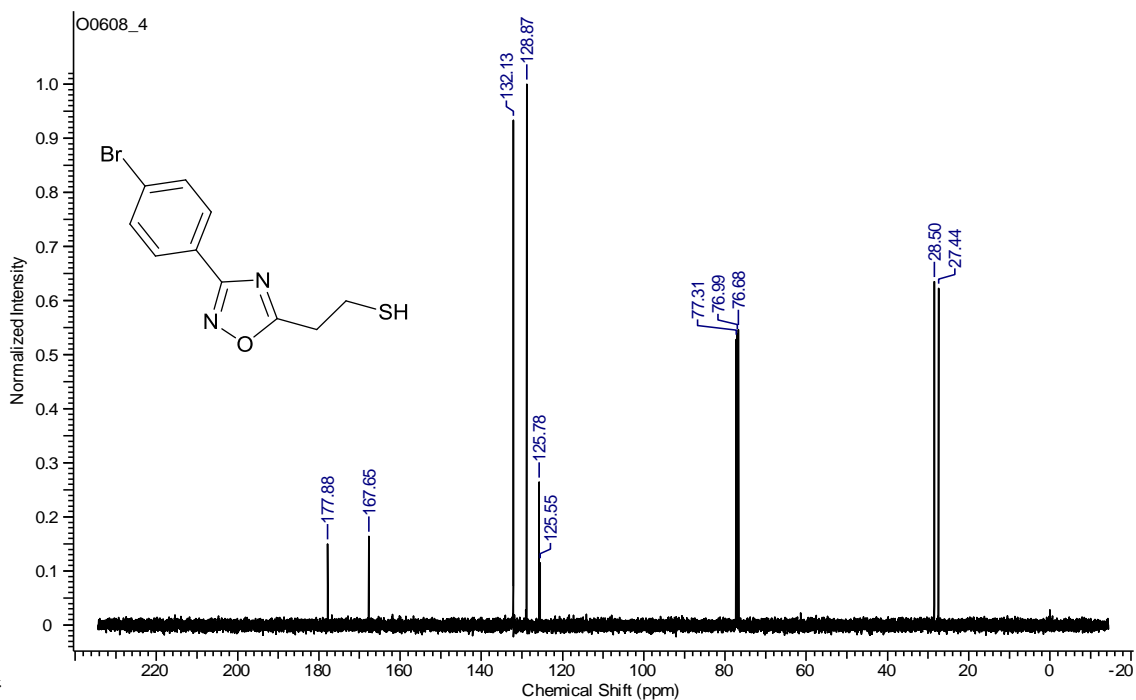
Anexo 1

Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **70b**.Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **70b**.

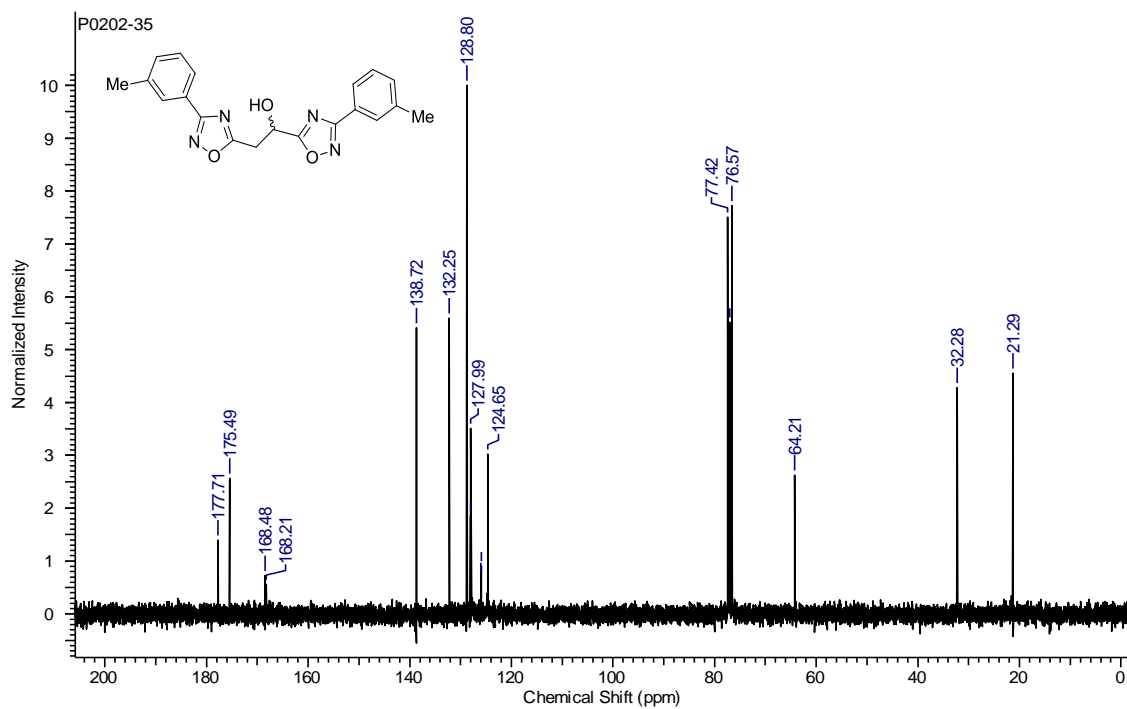
Anexo 2

Figura 41: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **70d**.**Figura 42:** Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **70d**.

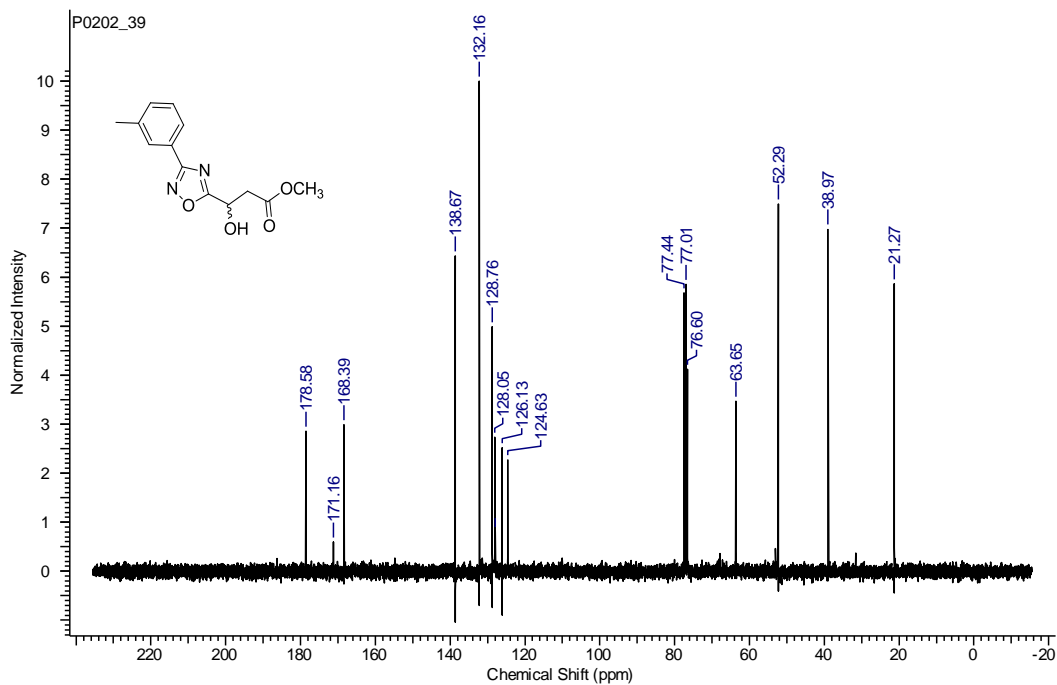
Anexo 3

Figura 43: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **70c**.Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **70c**.

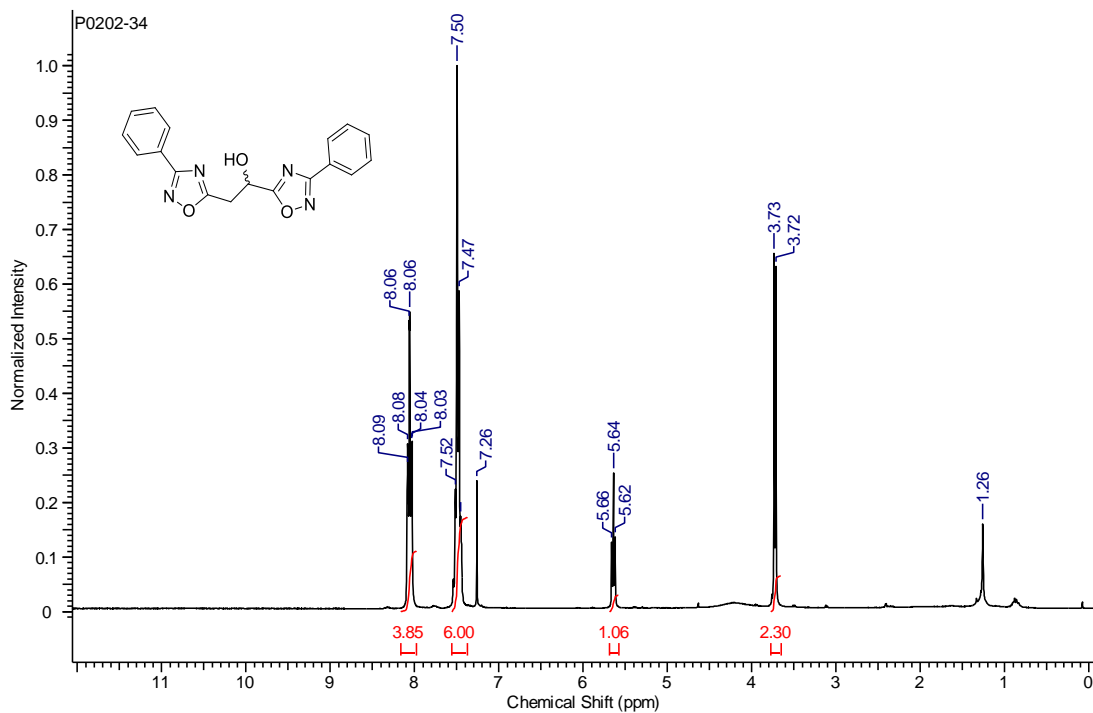
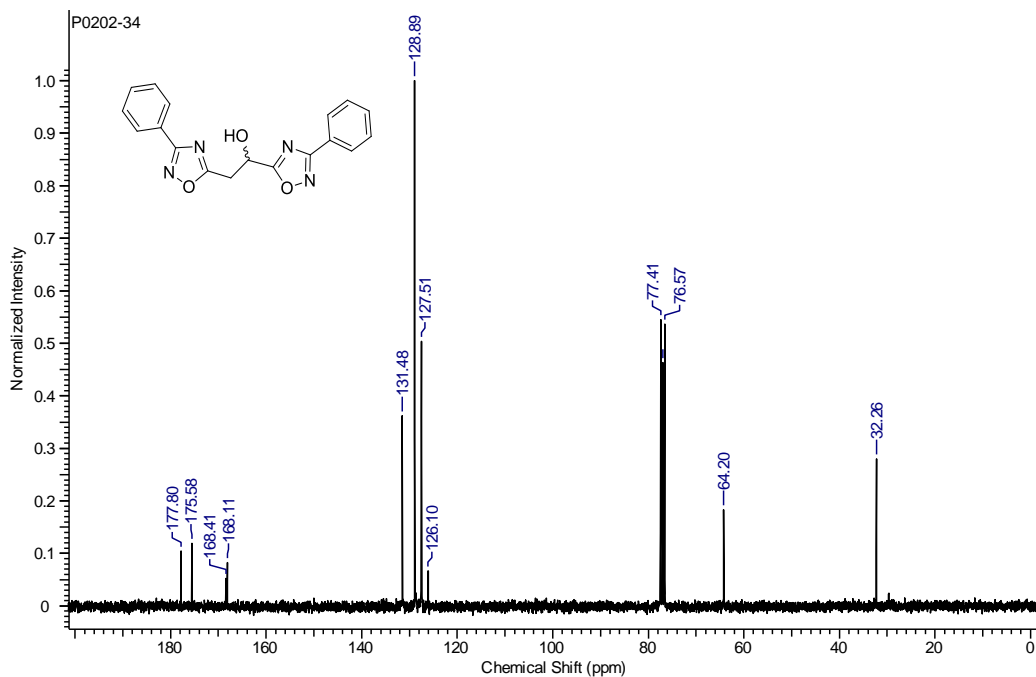
Anexo 4

Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **73c**.

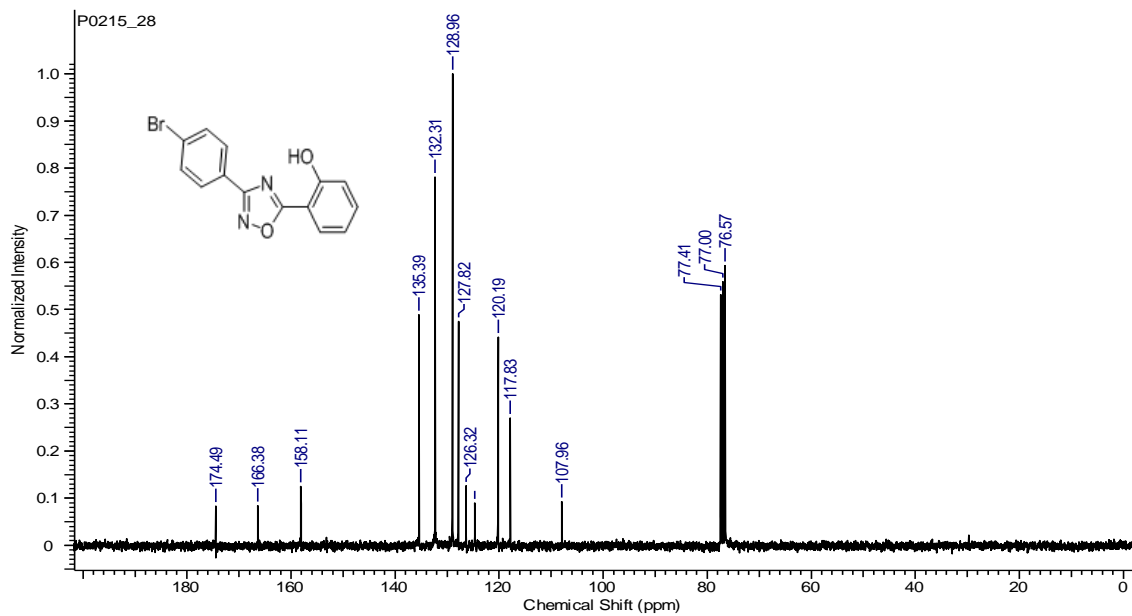
Anexo 5

Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **74c**.

Anexo 6

Figura 47: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **73a**.**Figura 48:** Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **73a**.

Anexo 7

Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **77e**.

Anexo 8

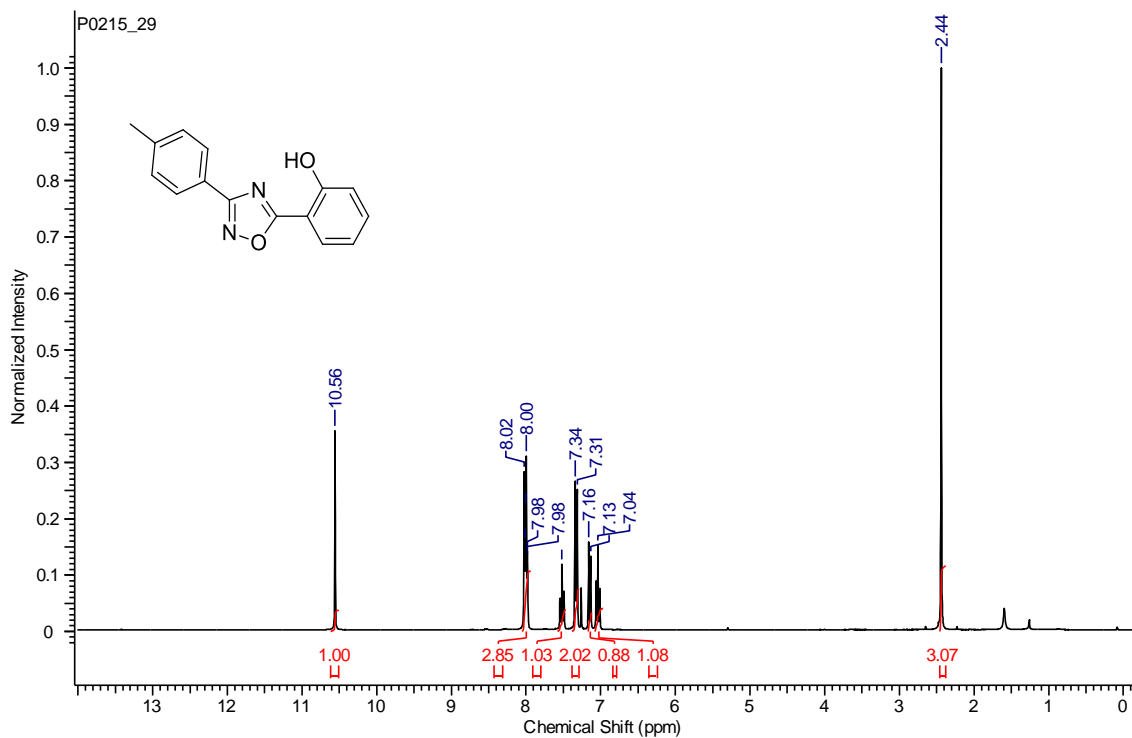
Figura 50: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) em CDCl_3 do composto **77d**.

Figura 51: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) em CDCl_3 do composto **77d**.