

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE PRODUTOS BIOATIVOS

PLANEJAMENTO BIOISOSTÉRICO, SÍNTESE E
AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS ANÁLOGOS
1,2,4-OXADIAZÓLICOS

JOSÉ MAURÍCIO DOS SANTOS FILHO

Recife, 2002

José Maurício dos Santos Filho

**PLANEJAMENTO BIOISOSTÉRICO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO
FARMACOLÓGICA DE NOVOS ANÁLOGOS 1,2,4-
OXADIAZÓLICOS**

**DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE
PRODUTOS BIOATIVOS PARA A OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE.**

Área de concentração: Planejamento e Síntese de Fármacos

Orientadores: Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Profa. Dra. Lúcia Fernanda C. da Costa Leite

Recife, 2002

**Em memória de meu cão Princeton-
Gilliat, cujo nobre e amigo coração
deixou em minha vida marcas
indelévels.**

Este trabalho é dedicado...

...a todos os anos em que a crença de sua realização foi alimentada pela luta constante, ao empenho da inteligência sobre as dificuldades e ao apoio daqueles que nele acreditaram incondicionalmente.

...ao grande amigo e companheiro Luís Gustavo Andrade, alguém que acompanhou todos os passos dados até aqui, que desde seu início não poupou esforços para ajudar em sua conclusão e cuja fé e perseverança próprias inspiraram meu desejo de concluir esta caminhada.

...à professora Lúcia Fernanda, minha orientadora desde os primeiros momentos da graduação, cujos ensinamentos na área da Química perdem em importância apenas para os ensinamentos na prática da amizade e da humanidade.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Ivan da Rocha Pitta, pela oportunidade de trabalho e pela confiança em sua conclusão.

À professora Lúcia Fernanda C. da Costa Leite, pela inspiração, paciência, conselhos sempre essenciais, enfim, por ter sido a bússola nos momentos de dúvida e o equilíbrio quando a balança da vida parecia pender sem prumo.

À professora Yêda Medeiros, do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade, confiança, por abrir seu laboratório à execução desse trabalho e pelas muitas vezes em que contribuiu inclusive com financiamentos.

À professora Suely Lins Galdino, por todas as sugestões e orientações preciosas.

À professora Eulália Ximenes, exemplo raro de dedicação e desprendimento, por todas as vezes em que se desdobrou para dar atenção às necessidades deste trabalho.

Ao professor Florival Rodrigues do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, pelo apoio, amizade e financiamento de alguns dos solventes usados na execução deste trabalho.

Ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, onde está plantada parte de minha vida e de onde alço vôo para novas conquistas.

Às funcionárias da biblioteca do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, Glória Alencastro e Sílvia Letícia Ferreira pela dedicação e presteza com que realizaram o trabalho de recolhimento bibliográfico.

A todos os funcionários do Departamento de Antibióticos pela atenção e amizade.

Aos membros do grupo de Planejamento e Síntese de Fármacos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco pela amizade.

Aos amigos Ricardo Oliveira, Eliete Barros e Érida Pequeno, técnicos da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, pela colaboração inestimável na tomada dos espectros de IV, RMN¹H e massa e pela amizade sempre valiosa.

Ao professor Paulo Menezes, chefe da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, pela atenção e apoio.

Ao amigo João Roberto, cujo trabalho realizado na avaliação microbiológica foi fundamental.

A Nara Maria de Farias, funcionária do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade e por disponibilizar seu computador para a execução deste trabalho.

Ao Dr. Mitchel Avery e Patrícia Cerqueira Lima, do Departamento de Química Medicinal da Universidade de Mississippi pela realização dos ensaios antimaláricos.

Ao professor João Bosco Paraíso da Silva, pela realização dos cálculos computacionais e pela amizade.

A Maria do Socorro Gomes e Voleide Barros, funcionárias do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, pela amizade e apoio.

À professora Glícia Calazans, coordenadora da pós-graduação, por sua dedicação e por estar sempre pronta a contribuir com os mestrandos do Departamento de Antibióticos.

A Sueli Cavalcanti, secretária do curso de pós-graduação do Departamento de Antibióticos, pelo profissionalismo e pela amizade.

RESUMO

O reconhecimento de que determinados grupos de átomos, dentro de estruturas moleculares, como responsáveis pelas respostas biológicas das drogas conduziu ao conceito de farmacóforo, o qual foi utilizado nesse trabalho para planejar uma série de novas substâncias. Sua principal característica é a incorporação de substituições bioisostéricas, levando à combinação de dois farmacóforos diferentes em uma única molécula.

Nesse sentido, sintetizamos os derivados 3-[3-(4-ARIL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL] ACIL-HIDRAZONA e 4-[3-(4-ARIL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-IL] ACIL-TIOSSEMICARBAZIDA, em que as porções 1,2,4-oxadiazol, acil-hidrazona e acil-tiossemicarbazida são os farmacóforos de interesse, sendo relatados como portadores de um largo espectro de atividades biológicas. As sínteses requereram quatro etapas, a partir de aril-nitrilas simples, até a obtenção de produtos estruturalmente complexos, os quais foram obtidos com rendimentos excelentes e caracterizados por técnicas espectroscópicas.

Os compostos puros foram avaliados como antimicrobianos frente a diferentes tipos de bactérias e leveduras, no intuito de verificar se a modificação estrutural conduzida fora capaz de potencializar a ação já bem conhecida dos farmacóforos isolados. Os derivados tiveram sua atividade antimalárica testada, numa abordagem nova de suas características farmacológicas.

Técnicas de modelagem molecular foram empregadas no estudo estrutural dos derivados 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona e 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona, a fim de verificar a existência da relação isostérica entre o grupo acil-hidrazona e o heterociclo 1,3,4-oxadiazol, um outro farmacóforo importante, bem como dar suporte teórico aos resultados de ressonância magnética nuclear, relativos aos diastereômeros (E) e (Z) possíveis para essas substâncias.

ABSTRACT

The recognition that some groups of atoms, inside of molecular structures, as responsible for the biological answers of drugs has conducted to the pharmacophore concept, which has been used in this work to plan a new series of substances whose the main characteristic is the incorporation of bioisosteric substitutions, giving new compounds with two different pharmacophores in the molecule.

In this approach, we synthesized the derivatives 3-[3-(4-ARYL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-YL] ACYL-HYDRAZONE and 4-[3-(4-ARYL)-1,2,4-OXADIAZOL-5-YL] ACYL-THIOSEMICARBAZIDE, in which the 1,2,4-oxadiazole, acyl-hydrazone and acyl-thiosemicarbazide moieties are the pharmacophores of interesting, been associated to a broad spectrum of biological activities. The synthesis was done in four steps, starting from simple aryl-nitriles, until the obtainment of structurally complex products, which were available with excellent yields and characterized by spectroscopic methods.

Pure compounds were evaluated for their antimicrobial activity against different kinds of bacteria and yeasts to verify the action of the conducted structural modification on the activity, waiting for its increasing as consequence of the combination of two well known active pharmacophore. The antimalarial screening was included in this work as an attempt to introduce a new series of prototype compounds acting against this sickness.

Molecular modeling techniques were employed in the structural studies of derivatives 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acyl-3,4-methylenedioxy-phenyl-hydrazone and 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acyl-4-fluoro-phenyl-hydrazone, looking for an isosteric relationship between the acyl-hydrazone group and the heterocycle 1,3,4-oxadiazole, another important pharmacophore, as well as to explain the RMN¹H data results for the (E) and (Z) diastereisomeric ratio in the isolated products.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract	8
Sumário	9
Lista de Tabelas	11
Lista de Figuras	12
Lista de Esquemas	13
Lista de Quadros	14
Lista de Espectros	14
Lista de Siglas	17
1. INTRODUÇÃO	20
1.1. Bioisosterismo e Planejamento de Fármacos	20
1.2. Heterociclos e Bioatividade	27
1.3. Oxadiazóis como Grupos Farmacofóricos	33
1.4. Cadeias Acíclicas como Farmacóforos	37
2. OBJETIVOS	41
3. METODOLOGIA SINTÉTICA	44
3.1. Equipamentos	45
3.2. Reagentes e Solventes	46
3.3. Síntese de Intermediários	47
3.4. Síntese de Derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona	49
3.5. Síntese de Derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona	53
3.6. Síntese de Derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida	55
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59

5. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA	80
5.1. Atividade Antimicrobiana	81
5.1.1. Equipamentos e Vidraria	81
5.1.2. Meios de Cultura e Drogas	82
5.1.3. Preparação dos Meios de Cultura	82
5.1.4. Metodologia do Teste Antimicrobiano	83
5.1.5. Resultados e Discussão	86
5.2. Atividade Antimalárica	87
5.2.1. Metodologia do Teste Antimalárico	87
5.2.2. Resultados e Discussão	89
6. ESTUDO COMPUTACIONAL	94
6.1. Metodologia Computacional	94
6.2. Resultados e Discussão	94
7. CONCLUSÕES	103
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
ANEXOS	119

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Agentes quimioterápicos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol	35
TABELA 2 – Características dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona	52
TABELA 3 – Características dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona	54
TABELA 4 – Características dos derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida	57
TABELA 5 – Principais absorções dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona na espectroscopia de IV	60
TABELA 6 – Principais absorções de derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona na espectroscopia de IV	61
TABELA 7 – Principais absorções dos derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida na espectroscopia de IV	62
TABELA 8 – Dados de RMN ¹ H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 e H-9 responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z)	65
TABELA 9 – Dados de RMN ¹ H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 e H-9, em ppm, responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z) e suas respectivas percentagens na mistura	66
TABELA 10 – Dados de RMN ¹ H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z)	67
TABELA 11 – Dados de RMN ¹ H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5, em ppm, responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z) e suas respectivas percentagens na mistura	68
TABELA 12 – Dados de RMN ¹ H (300MHz) dos derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida	69
TABELA 13 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona relacionados às	

quebras propostas na Figura 7	72
TABELA 14 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona relacionados às quebras propostas na Figura 8	75
TABELA 15 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida relacionados às quebras propostas na Figura 9	78
TABELA 16 - Resultados da atividade antimalárica para os derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona, 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona e 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida	91
TABELA 17 - Valores da energia total e variação de energia relativa (ΔE) para os conformêros do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-yl) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2).	97
TABELA 18 - Valores da energia total e variação de energia relativa (ΔE) para os conformêros do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-yl) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)	100

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Tautômeros da histamina	31
FIGURA 2 – Equilíbrio tautomérico na histamina modificada	32
FIGURA 3 – Isômeros do heterociclo oxadiazol	33
FIGURA 4 – Relação isostérica entre o anel pirazólico e a porção hidrazônica	38
FIGURA 5 – Séries de derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida planejados bioisostericamente	41
FIGURA 6 – Provável relação isostérica não-clássica entre o anel 1,3,4-oxadiazol e o grupo acil-hidrazona	42
FIGURA 7 - Fragmentação do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-yl) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)	71
FIGURA 8 - Fragmentação do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-yl) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)	74

FIGURA 9 - Fragmentação do composto 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)	77
FIGURA 10 – Geometrias otimizadas pelo método <i>ab initio</i> RHF/3-21G** para os isômeros (E) e (Z) do derivado 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona	96
FIGURA 11 – Geometrias otimizadas pelo método <i>ab initio</i> RHF/3-21G** para os isômeros (E) e (Z) do derivado 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona	99

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 – Etapas de síntese dos derivados 1,2,4-oxadiazol acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol tiossemicarbazida	44
ESQUEMA 2 – Equação de obtenção de aril-amidoximas (52-59) a partir das aril-nitrilas (42-49) correspondentes	47
ESQUEMA 3 – Equação de obtenção de derivados 1,2,4-oxadiazólicos (61-68) a partir das aril-amidoximas correspondentes (52-59)	48
ESQUEMA 4 – Equação de obtenção dos derivados 1,2,4-oxadiazol-hidrazida (70-77) a partir dos ésteres oxadiazólicos (61-68)	49
ESQUEMA 5 – Equação de obtenção de acil-hidrazonas por reação com piperonal (78)	49
ESQUEMA 6 – Mecanismo geral de condensação entre aldeídos e hidrazidas em meio aquoso ácido	51
ESQUEMA 7 – Equação de obtenção de acil-hidrazonas por reação com 4-fluoro-benzaldeído (79)	53
ESQUEMA 8 – Equação de obtenção de acil-tiossemicarbazidas por reação com isotiocianato de fenila (80)	55
ESQUEMA 9– Mecanismo de adição entre derivados 1,2,4-oxadiazol-hidrazidas (70-77) e isotiocianato de fenila (80)	56
ESQUEMA 10 – Reação de redução enzimática do nitro-tetrazólio azul de formazan	88
ESQUEMA 11 – Esquematização do teste antinálárico	89

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Grupos de Isósteros de Langmuir	21
QUADRO 2 - Lei de Deslocamento do Hidreto de Grimm	22
QUADRO 3 – Isósteros Baseados no Número de Elétrons Periféricos	22
QUADRO 4 - Relação de microorganismos submetidos ao ensaio de Bauer e colaboradores (1966) e condições de crescimento	84
QUADRO 5 - Nomenclatura dos confôrmeros 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2) e 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3), segundo o ângulo de torção φ	95

LISTA DE ESPECTROS

ESPECTRO 1 - I.V. do composto (M1C2)	120
ESPECTRO 2 - I.V. do composto (M2C2)	120
ESPECTRO 3 - I.V. do composto (M5C2)	121
ESPECTRO 4 - I.V. do composto (M7C2)	121
ESPECTRO 5 - I.V. do composto (M6C2)	122
ESPECTRO 6 - I.V. do composto (M3C2)	122
ESPECTRO 7 - I.V. do composto (M4C2)	123
ESPECTRO 8 - I.V. do composto (M29C3)	123
ESPECTRO 9 - I.V. do composto (M15C3)	124
ESPECTRO 10 - I.V. do composto (M16C3)	124
ESPECTRO 11 - I.V. do composto (M19C3)	125
ESPECTRO 12 - I.V. do composto (M21C3)	125
ESPECTRO 13 - I.V. do composto (M20C3)	126
ESPECTRO 14 - I.V. do composto (M17C3)	126
ESPECTRO 15 - I.V. do composto (M18C3)	127
ESPECTRO 16 - I.V. do composto (M32C3)	127
ESPECTRO 17 - I.V. do composto (FTSCF)	128
ESPECTRO 18 - I.V. do composto (TTSCF)	128
ESPECTRO 19 - I.V. do composto (BTSCF)	129

ESPECTRO 20 - I.V. do composto (MTSCF)	129
ESPECTRO 21 - I.V. do composto (NTSCF)	130
ESPECTRO 22 - RMN ¹ H do composto (M1C2)	131
ESPECTRO 23 - RMN ¹ H do composto (M2C2)	135
ESPECTRO 24 - RMN ¹ H do composto (M5C2)	138
ESPECTRO 25 - RMN ¹ H do composto (M7C2)	141
ESPECTRO 26 - RMN ¹ H do composto (M6C2)	144
ESPECTRO 27 - RMN ¹ H do composto (M3C2)	146
ESPECTRO 28 - RMN ¹ H do composto (M4C2)	148
ESPECTRO 29 - RMN ¹ H do composto (M29C3)	152
ESPECTRO 30 - RMN ¹ H do composto (M15C3)	155
ESPECTRO 31 - RMN ¹ H do composto (M16C3)	157
ESPECTRO 32 - RMN ¹ H do composto (M19C3)	160
ESPECTRO 33 - RMN ¹ H do composto (M21C3)	162
ESPECTRO 34 - RMN ¹ H do composto (M20C3)	165
ESPECTRO 35 - RMN ¹ H do composto (M17C3)	168
ESPECTRO 36 - RMN ¹ H do composto (M18C3)	170
ESPECTRO 37 - RMN ¹ H do composto (M32C3)	173
ESPECTRO 38 - RMN ¹ H do composto (FTSCF)	175
ESPECTRO 39 - RMN ¹ H do composto (TTSCF)	177
ESPECTRO 40 - RMN ¹ H do composto (BTSCF)	179
ESPECTRO 41 - RMN ¹ H do composto (MTSCF)	181
ESPECTRO 42 - RMN ¹ H do composto (NTSCF)	183
ESPECTRO 43 - Espectro de massa. do composto (M1C2)	185
ESPECTRO 44 - Espectro de massa. do composto (M2C2)	185
ESPECTRO 45 - Espectro de massa. do composto (M5C2)	186
ESPECTRO 46 - Espectro de massa. do composto (M7C2)	186
ESPECTRO 47 - Espectro de massa. do composto (M6C2)	187
ESPECTRO 48 - Espectro de massa. do composto (M3C2)	187
ESPECTRO 49 - Espectro de massa. do composto (M4C2)	188
ESPECTRO 50 - Espectro de massa. do composto (M29C3)	188
ESPECTRO 51 - Espectro de massa. do composto (M15C3)	189
ESPECTRO 52 - Espectro de massa. do composto (M16C3)	189

ESPECTRO 53 - Espectro de massa. do composto (M19C3)	190
ESPECTRO 54 - Espectro de massa. do composto (M21C3)	190
ESPECTRO 55 - Espectro de massa. do composto (M20C3)	191
ESPECTRO 56 - Espectro de massa. do composto (M17C3)	191
ESPECTRO 57 - Espectro de massa. do composto (M18C3)	192
ESPECTRO 58 - Espectro de massa. do composto (M32C3)	192
ESPECTRO 59 - Espectro de massa. do composto (FTSCF)	193
ESPECTRO 60 - Espectro de massa. do composto (TTSCF)	193
ESPECTRO 61 - Espectro de massa. do composto (BTSCF)	194
ESPECTRO 62 - Espectro de massa. do composto (MTSCF)	194
ESPECTRO 63 - Espectro de massa. do composto (NTSCF)	195

LISTA DE SIGLAS

GABA – ácido γ -aminobutanóico (do inglês: γ -aminobutanoic acid)

5-HT – 5-hidróxi-triptamina

DNA – ácido desoxirribonucleico (do inglês: deoxyribonucleic acid)

RNA – ácido ribonucleico (do inglês: ribonucleic acid)

SNC – sistema nervoso central

5-LO – 5-lipoxigenase

CO – ciclooxigenase

NSAID – drogas antiinflamatórias não-esteroidais (do inglês: non steroidal antiinflammatory drugs)

EtOH – etanol

THF – tetra-hidro-furano

CCF – cromatografia em camada fina

mm – milímetro

UV – ultravioleta

IV – infravermelho

EM – espectrometria de massa

m/z – relação carga/massa

RMN¹H – ressonância magnética nuclear de próton

TMS – tetrametil-silano

DMSO – dimetil-sulfóxido

DMSO-d₆ – dimetil-sulfóxido deuterado

ppm – partes por milhão

J – constante de acoplamento

Hz – hertz

MHz – megahertz

s –singleto

d – dubleto

t – tripleto

m – multiplete

dd – duplo dubleto

δ - deslocamento químico

M-1 – pico do íon molecular menos um próton

MH – meio líquido de Mueller-Hinton

MHA – meio sólido Mueller-Hinton

g – grama

µg/mL – micrograma por mililitro

ng/mL – nanograma por mililitro

µL – microlitro

mg – miligrama

cm – centímetro

mg/cm² – miligrama por centímetro quadrado

nm – nanômetro

UFC/mL – unidades formadoras de colônias por mililitro

SAB – meios líquido e sólido de Sabouraud

pLDH – lactato desidrogenase do parasita

P.F. – ponto de fusão

IC₅₀ – concentração da droga que inibe o crescimento de 50% do protozoário em estudo

ΔE – variação de energia

kcal/mol – quilocaloria por mol

MAOM – metileno-aminóxi-metil

GABA_A – receptor do tipo A do ácido γ-aminobutanóico

GABA_B – receptor do tipo B do ácido γ-aminobutanóico

GABA_C – receptor do tipo C do ácido γ-aminobutanóico

H-1 – receptor do tipo 1 da histamina

H-2 – receptor do tipo 2 da histamina

5-HT₃ – receptor do tipo 3 da serotonina

5-HT₄ – receptor do tipo 4 da serotonina

IC – isolado clínico

ATCC – American Type Culture Collection

BOD – biochemical oxygen demand

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

DQF – Departamento de Química Fundamental

NPPN – Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. BIOISOSTERISMO E PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

O desenvolvimento da Química e da Farmacologia durante os últimos 100 anos permitiu o acúmulo de conhecimentos sobre um grande número de compostos, muitos dos quais com aplicação clínica na cura ou tratamento de diversas doenças. Substâncias portadoras de uma determinada atividade farmacológica podem apresentar efeitos colaterais indesejados, características físico-químicas que dificultem sua biodisponibilidade ou mesmo possuir uma estrutura que leve a efeitos adversos durante seu metabolismo, o que, muitas vezes, limita sua utilização como drogas de uso terapêutico, tornando-as desinteressantes do ponto de vista farmacológico e econômico. No entanto, reconhecer que tais drogas possuem a habilidade de interagir com os sistemas vivos pode servir de base para estudos de modificação estrutural, o que confere a estas moléculas a condição de protótipos. A busca por novos agentes bioativos pode se projetar a partir desses compostos protótipos, empregando como ferramenta principal o conceito de bioisosterismo, de ampla exploração no campo da Química Medicinal, a fim de realizar modificações moleculares racionais dos compostos protótipos e melhorar sua atuação como fármaco. Recentemente, Patani e LaVoie (1996) descreveram os principais sucessos obtidos a partir dessa visão das relações entre estrutura e atividade das drogas, evidenciando que as bases da modificação bioisostérica são bem mais intuitivas e qualitativas dos que aquelas usadas em estudos de QSAR (Martin, 1981).

Embora, atualmente, o conceito de bioisosterismo seja complexo, ele surgiu ainda nos primórdios do século XX com Langmuir (1919), que observou "as similaridades de várias propriedades físico-químicas" de grupos de átomos, radicais e moléculas. Langmuir comparou as propriedades físicas de uma série de moléculas como N_2 e CO , N_2O e CO_2 e N_3^- e NCO^- e encontrou certas relações qualitativas entre elas. Após identificar 21 grupos de compostos com o mesmo tipo de similaridades físico-químicas, ele cunhou o termo "isóteros". Com a Teoria do

Octeto, Langmuir demonstrou que o número e o arranjo dos elétrons nos átomos ou moléculas por ele estudados eram o mesmo. Portanto, isósteros foram inicialmente definidos como compostos ou grupos de átomos que possuem o mesmo número e arranjo de elétrons, além de volumes moleculares e formas semelhantes. Os estudos de Langmuir forneceram os grupos de isósteros vistos no Quadro 1.

Quadro 1 - Grupos de Isósteros de Langmuir (1919)

GRUPO	TOTAL DE ELÉTRONS	ISÓSTEROS
1	2	H ⁻ , He, Li ⁺
2	10	O ²⁻ , F ⁻ , Ne, Na ⁺ , Mg ²⁺ , Al ³⁺
3	18	S ²⁻ , Cl ⁻ , Ar, K ⁺ , Ca ²⁺
4	28	Cu ⁺ , Zn ²⁺
↓	↓	↓
8	14	N ₂ , CO, CN ⁻
9	10	CH ₄ , NH ₄ ⁺
10	22	CO ₂ , N ₂ O, N ₃ ⁻ , CNO ⁻
↓	↓	↓
20	58	MnO ₄ ⁻ , CrO ₄ ²⁻
21	68	SeO ₄ ²⁻ , AsO ₄ ³⁻

Em 1925, Grimm ampliou o conceito de isósteros com a Lei de Deslocamento do Hidreto de Grimm, na qual átomos colocados até quatro posições antes de um gás inerte na Tabela Periódica mudam suas propriedades pela união com um a quatro átomos de hidrogênio, de tal modo que se tornam pseudo-átomos, similares aos elementos dos grupos colocados uma a quatro posições a sua direita (Grimm, 1925). Esta constatação veio a ter aplicação prática na modificação de várias moléculas. No Quadro 2, encontram-se os grupos de isósteros, segundo Grimm, os quais ocupam cada uma das colunas verticais.

Quadro 2 - Lei de Deslocamento do Hidreto de Grimm (Grimm, 1925)

C	N	O	F	Ne	Na ⁺	
	CH	NH	OH	FH	—	
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺	
			CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺	
				CH ₄	NH ₄ ⁺	
6	7	8	9	10	10	Total de Elétrons

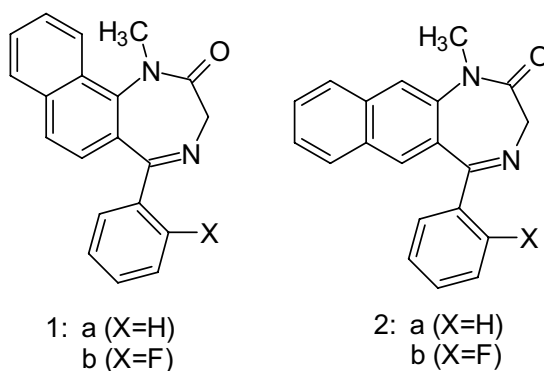
Erlenmeyer (1932) estendeu o conceito da classificação de Grimm e redefiniu isósteros como átomos, íons e moléculas nas quais as camadas eletrônicas periféricas podem ser consideradas idênticas. Os isósteros de Erlenmeyer são mostrados no Quadro 3. As observações de Langmuir conduziram Seifriz (1948) a verificar uma similaridade biológica entre as moléculas CO₂ e N₂O, ambas atuantes como inibidoras do crescimento do fungo *Physarum polycephalum*.

Quadro 3 – Isósteros Baseados no Número de Elétrons Periféricos (Erlenmeyer, 1932)

N ⁺	P	S	Cl	ClH
P ⁺	As	Se	Br	BrH
S ²⁺	Sb	Te	I	IH
As ⁺	—	PH	SH	SH ₂
Sb ⁺	—	—	PH ₂	PH ₃
4	5	6	7	8
Total de Elétrons				

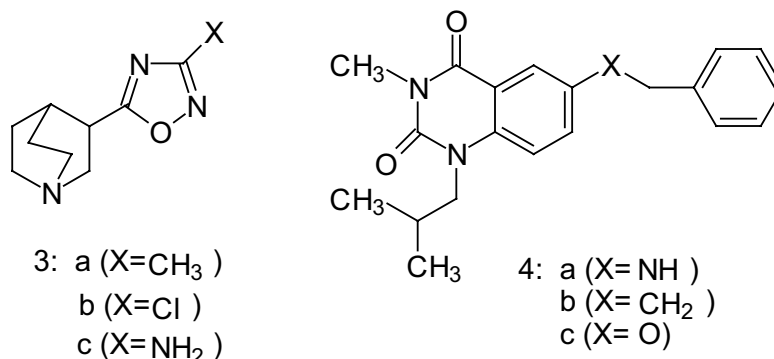
O conceito de isósteros começou a ser aplicado na modificação molecular de diversos compostos e os ensaios biológicos mostraram que as respostas sofriam alterações de acordo com o tipo de alteração introduzida na molécula protótipo, levando Friedman (1951) a definir o termo bioisótero: "Átomos e moléculas que preenchem a mais ampla definição de isósteros e possuem um tipo similar de atividade biológica, inclusive como antagonistas."

Logicamente, este conceito de bioisótero já estava suportado no conhecimento de que as drogas atuavam principalmente por interação com biomacromoléculas. Posteriormente, Alfred Burger ampliou o conceito de bioisósteros como "compostos ou grupos de átomos que possuem praticamente iguais volumes e formas moleculares, distribuição eletrônica aproximadamente igual e que exibem propriedades físicas similares" (Burger, 1991). O bioisosterismo evoluiu e conduziu a diversas possibilidades de modificação molecular. Tanto que, em 1970, Burger havia classificado os bioisósteros em clássicos e não-clássicos (Burger, 1970), comportando uma série de possibilidades para a modificação de uma droga protótipo. As modificações bioisostéricas clássicas incorporam os conceitos da Lei de Deslocamento do Hidreto de Grimm (1925), os de Langmuir (1919), e os de Erlenmeyer (1932) e implicam diferenças relativamente simples entre o protótipo e os seus análogos. Um dos processos mais comuns de aplicação deste tipo de bioisosterismo é o intercâmbio entre grupos monovalentes, com base na similaridade de volume e características eletrônicas dos grupos substituintes. As substituições de hidrogênio por flúor têm sido largamente aplicadas em diversos compostos e os resultados têm-se mostrado positivos. Zhang e colaboradores (1994) sintetizaram duas séries de possíveis receptores benzodiazepínicos, (1) e (2), e estudaram o efeito da substituição bioisostérica de H por F. Compostos com X = H apresentaram potência maior que aqueles com X = F.



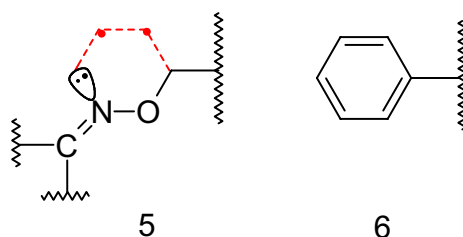
A aplicação da Lei do Deslocamento do Hidreto de Grimm conduziu à obtenção de um grande número de bioisósteros de interesse clínico. Alguns trabalhos buscaram planejar uma série de agentes colinérgicos capazes de penetrar a barreira hematocefálica e atuar com alta eficiência

nos receptores muscarínicos do córtex, o que levou à constatação de que análogos do 1,2,4-oxadiazol-5-yl-t-amina (3) são agonistas potentes dos sistemas de receptores neurológicos. Modificações moleculares monovalentes na posição 3 do grupo oxadiazólico mostraram que o substituinte $X = \text{NH}_2$ (3c), o grupo mais lipofílico entre os estudados, fornece o composto mais eficaz (Saunders & Freedman, 1989). No entanto, substituições monovalentes são relativamente limitadas, uma vez que envolvem principalmente a alteração de propriedades lipofílicas. A exploração de substituições divalentes é muito comum e alguns análogos obtidos são fármacos de alto potencial terapêutico. Michne e colaboradores (1995) estudaram bioisómeros das quinazolidonas (4), ativos sobre o processo de resposta imune-inflamatória conduzida pelas células T do sistema imunológico, aplicando diferentes substituições de grupos isostéricos divalentes clássicos com resultados promissores para a atividade.

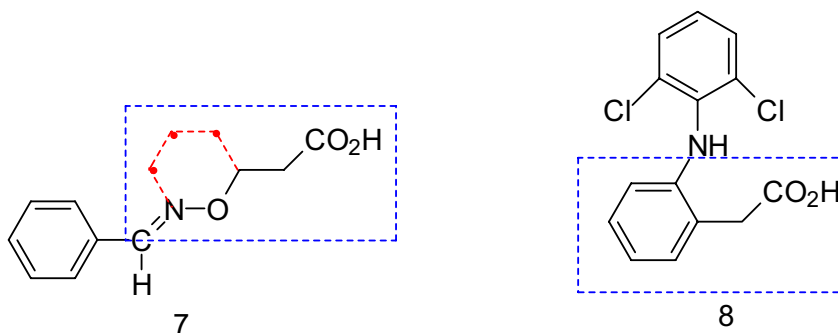


Substituições tri- e tetravalentes também são de interesse bioisostérico e têm gerado diversas pesquisas, contudo, é no campo das modificações bioisostéricas não-clássicas que a Química Medicinal tem tido seus maiores sucessos. Os bioisómeros obtidos por esse meio são capazes de reter ou melhorar a atividade biológica pela imitação de um arranjo estérico específico, pela alteração da intensidade de propriedades eletrônicas ou por meio da mudança de qualquer outra propriedade físico-química da molécula ou grupo funcional reconhecidamente importante para a manifestação da atividade.

Em princípio, temos o exemplo da relação bioisotérica entre grupos cíclicos e não-cíclicos, como ocorre com o grupo metileno-aminóxi-metil (MAOM) (5), bioisótero do grupo fenil (6) e de outros grupos aromáticos, quando assume uma determinada conformação.

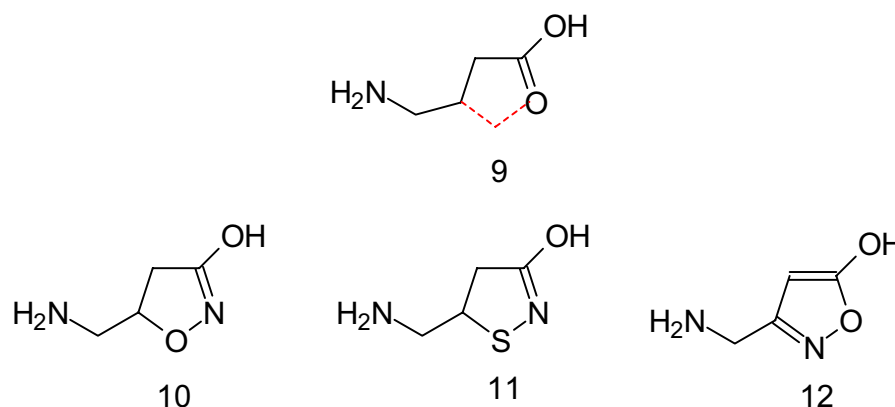


A relação bioisotérica baseia-se na distribuição de densidade eletrônica, essencial para a interação com o sítio ativo do receptor envolvido, levando Macchia e colaboradores (1990) a obterem o ácido (E)-3-[(benzilideno-amino)oxi]propiónico (7), um bioisótero do diclofenaco (8), com atividade antiinflamatória e potência idênticas às do protótipo. Estudos conformacionais confirmaram que o bioisosterismo existe devido à stereoquímica desse ácido.



Exemplos envolvendo bioisóteros não-clássicos se multiplicaram na literatura e muitos compostos de origem natural passaram a servir de protótipos para a obtenção de fármacos ativos por mimetizar seus efeitos. Entre eles, um dos mais importantes é o ácido γ -aminobutanóico (GABA) (9), um importante neurotransmissor. O GABA atua nos receptores GABA_A, GABA_B e, provavelmente, no GABA_C (Bonano & Raiteri, 1993; Macdonald & Olsen, 1994; Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1994) e serviu de modelo para a obtenção de bioisóteros ativos como agonistas do receptor GABA_A.

Krogsgaard-Larsen e colaboradores (1975) estudaram compostos análogos ao GABA, de conformação rígida, e encontrou o muscinol (10), um composto de origem natural, como um poderoso agonista do receptor GABA_A. Em trabalhos subseqüentes, este autor planejou e sintetizou os bioisósteros tiomuscinol (11) e isomuscinol (12) (Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1979), ambos ativos como agonistas, inaugurando um novo campo de pesquisas de bioisósteros neurotransmissores.



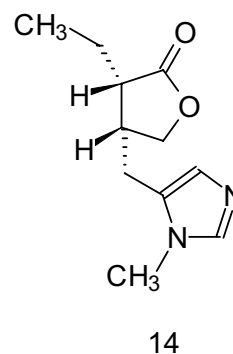
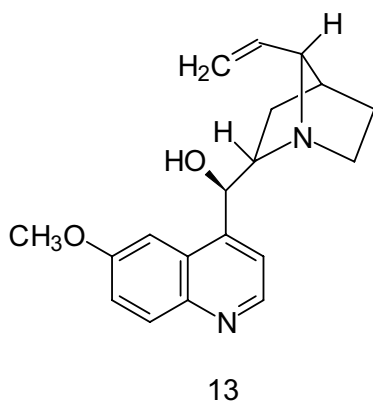
Casos menos elaborados de planejamento bioisostérico, porém, não menos importantes, envolvem substituições entre grupos funcionais, a fim de alterar os processos metabólicos dos protótipos (Larsen *et al.*, 1967; Anand, 1979) ou melhorar as interações com os sítios ativos (Clark *et al.*, 1987; Subasinghe *et al.*, 1993). Atualmente, o planejamento de substâncias protótipos tem encontrado nos métodos computacionais um grande aliado, sobretudo devido ao conhecimento do mecanismo de ação farmacológico desejado. Esta é a abordagem fisiológica, baseada no conhecimento real ou hipotético dos receptores e enzimas envolvidos no processo biológico de interesse. Moléculas podem ser planejadas e sintetizadas para serem capazes de agir sobre um determinado sítio ativo, entretanto, graças à complexidade dos fenômenos que se dão *in vivo*, aquela substância que teoricamente seria bem sucedida como agonista ou antagonista pode resultar inativa. É neste momento que o bioisosterismo volta a exercer seu papel, possibilitando o aumento da disponibilidade química e a descoberta de um análogo com atividade satisfatória (Barreiro & Fraga, 2001). Apesar de o Estado da Arte dos estudos teóricos em Modelagem

Molecular de biomacromoléculas ser extremamente elegante e sofisticado, o bioisosterismo ainda se mantém como ferramenta fundamental na busca por novas drogas.

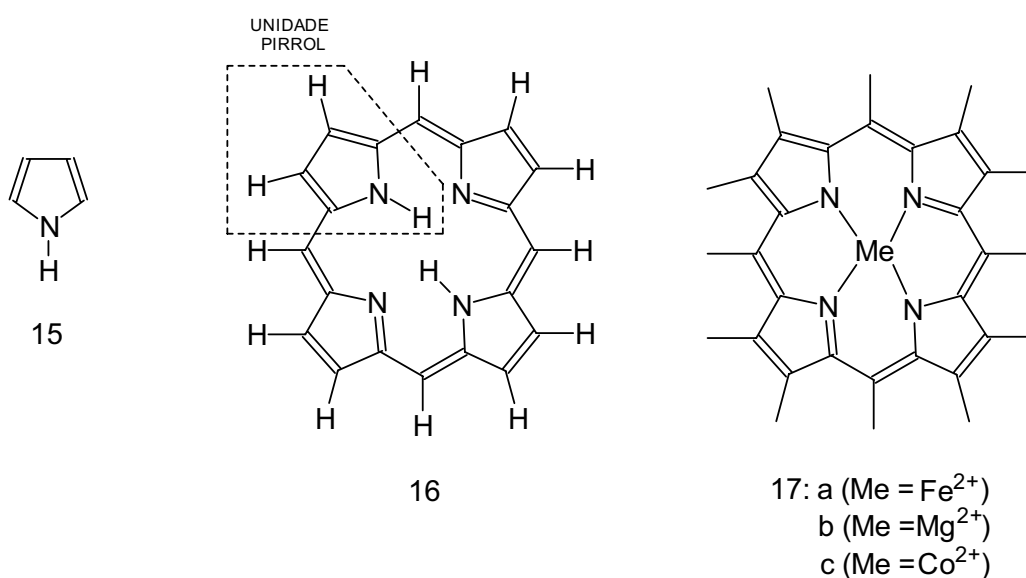
1.2. HETEROCICLOS E BIOATIVIDADE

As primeiras drogas conhecidas pelo homem foram de origem natural, encontradas principalmente em plantas e usadas dentro das sociedades antigas como parte de seu arcabouço sócio-religioso. Por volta de 1830, o surgimento da Química Orgânica como ciência tornou imperiosa a elucidação das composições químicas dos diversos extratos usados na medicina corrente (Brock, 1993). O esforço e a dedicação de químicos e físicos foram lentamente revelando um mundo complexo de estruturas químicas e abrindo as portas para uma ampliação gigantesca do mesmo. Entretanto, um fato em especial atraiu a atenção dos cientistas: um grande número de substâncias reconhecidamente bioativas em variadas situações ou mesmo essenciais para o bom funcionamento dos organismos vivos possuía em sua estrutura anéis heterocíclicos.

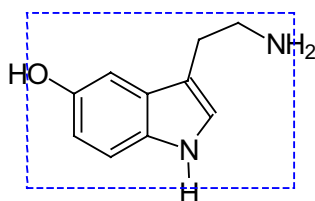
Os alcalóides, de grande interesse comercial e que foram intensamente estudados, são um dos exemplos mais representativos. Compostos como a quinina (13) e a pilocarpina (14) representam bem este complexo conjunto de drogas, no qual os heterociclos nitrogenados predominam (Mann, 1992).



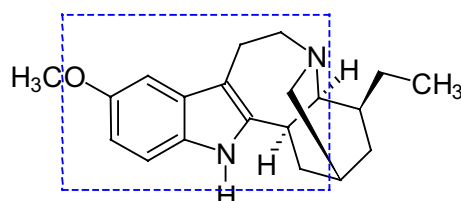
Os mais diversos tipos de heterociclos foram encontrados nas estruturas de produtos naturais, quer de origem vegetal, quer de origem animal e o estudo progressivo dos mecanismos de interação entre estes compostos e as biomacromoléculas revelaram seu papel central na manifestação da atividade. O pirrol (15), um dos mais simples anéis heterocíclicos existentes, é base da biossíntese do sistema da porfirina (16), a qual, por sua vez, conduz a importantes quelatos com metais (17), presentes na estrutura da hemoglobina (17a, Fe^{2+}), da clorofila (17b, Mg^{2+}) e da vitamina B_{12} (17c, Co^{2+}) (Gilchrist, 1992).



A serotonina ou 5-hidróxi-triptamina (5-HT) (18) também carrega em sua estrutura o anel do pirrol e é um importante neuroregulador endógeno. A importância do grupo triptamina para a atividade sobre os receptores serotoninérgicos centrais é tão grande que alguns alcalóides agonistas daquele neurotransmissor guardam com ele uma relação bioisostérica não-clássica, como ocorre com a ibogaína (19), extraída da planta africana *Tabernanthe iboga* (Barreiro & Fraga, 2001).

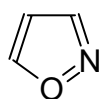


18

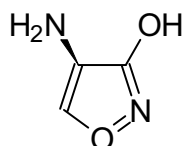


19

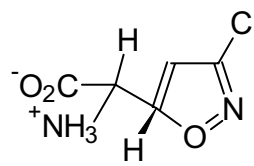
Produtos naturais de origem não-vegetal têm tido grande importância para a Farmacologia e a grande maioria deles tem sua atividade intrinsecamente ligada à presença de um anel heterocíclico. Anteriormente relatamos o caso do muscinol (10), um bioisótero não-clássico natural do GABA (9), cujo heterociclo é o anel isoxazólico (20). O muscinol é obtido do cogumelo *Amanita muscaria* e teve sua atividade neurotransmissora intensamente estudada por Krogsgaard-Larsen e colaboradores (1981) através de métodos computacionais de simulação, sendo considerado atualmente um modelo farmaco-químico para síntese de novos agonistas e antagonistas de receptores GABA. O mesmo anel isoxazólico foi observado em dois antibióticos de origem natural, a cicloserina (21) e a isoxazolina (22), obtidos a partir de microorganismos (Martin *et al.*, 1973).



20



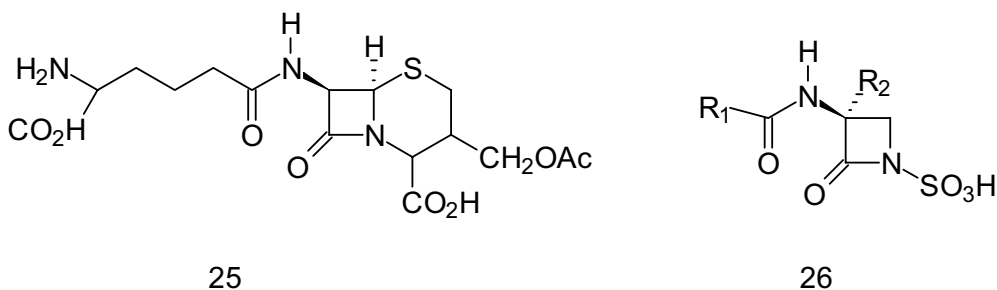
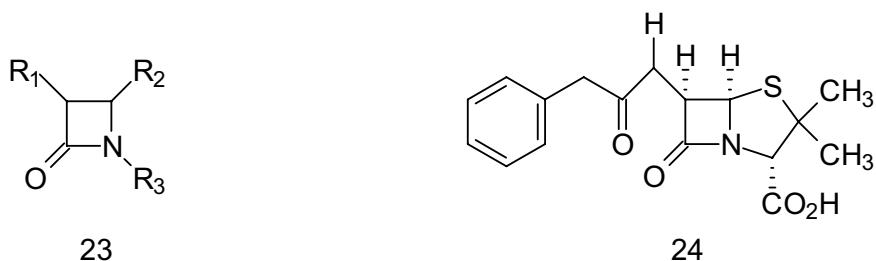
21



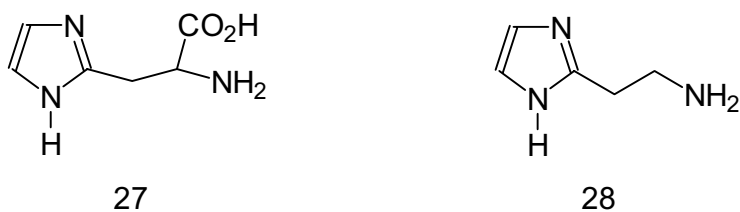
22

Todavia, o heterociclo de maior destaque e cuja estrutura é mais determinante para a atividade é o anel da β -lactama ou azetidinona (23), presente nas penicilinas. A primeira penicilina foi descoberta por Sir Alexander Fleming (1929), a partir de suas observações com o fungo *Penicillium notatum*. Isolada, recebeu o nome de penicilina G (24), mas sua estrutura química só foi elucidada em 1943. Logo, com o conhecimento de outras penicilinas e de suas estruturas, os estudos dos mecanismos de ação e de resistência bacteriana a esses antibióticos mostraram que a β -lactama é a responsável pela resposta biológica observada. Outros antibióticos β -lactâmicos foram isolados, como a cefalosporina C (25), primeira representante da série, e as

monobactamas (26), servindo de compostos protótipos para inúmeras modificações bioisotéricas bem sucedidas, tendo como princípio a manutenção do heterociclo farmacofórico (23) (Hou & Poole, 1971).

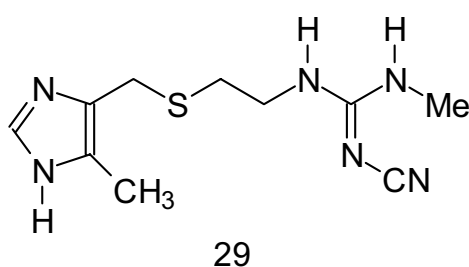


A profusão de heterociclos em produtos naturais bioativos inclui o aminoácido histidina (27) e seu produto de descarboxilação enzimática, a histamina (28), ambas portadoras do anel imidazólico e essenciais para o bom funcionamento do organismo dos mamíferos.



Numerosos outros exemplos confirmam o papel fundamental dos heterociclos em drogas naturais ou reguladores metabólicos. O DNA e o RNA devem suas propriedades estruturais e físico-químicas basicamente às feições estruturais das bases pirimidínicas e purínicas. Os açúcares cumprem seu papel energético e estrutural no organismo apenas sob a forma de heterociclos oxigenados, quando assumem as configurações e conformações ideais para interagir com as enzimas que os processam. Portanto, nada seria mais lógico do que empregar esses anéis

como base para modificações bioisostéricas, no intuito de produzir novas drogas, cada vez mais eficientes. Esta abordagem tem sido bem sucedida em um número relativamente restrito de casos, comparativamente à grande quantidade de pesquisas conduzidas, mas isso não constitui um fator de desestímulo. Contrariamente, os insucessos só alimentam mais pesquisas no mundo inteiro. O planejamento racional de fármacos, usando conceitos de bioisosterismo, foi responsável pela síntese da cimetidina (29), um fármaco de uso terapêutico, agonista seletivo de receptores da histamina (28), a qual funcionou como protótipo, e útil no tratamento e na prevenção da úlcera gástrica (Brimblecombe *et al.*, 1975).



Brimblecombe e colaboradores sabiam que a histamina atua sobre dois tipos de receptores, chamados de H-1 e H-2, e que este último regula a ação do autacóide sobre o trato gástrico. O requerimento para a ação seletiva da histamina sobre um ou outro receptor é a forma tautomérica assumida por ela (Figura 1). O tautômero A possui configuração espacial e disposição eletrônica tais que o tornam agonista do receptor H-1, enquanto as feições estruturais e eletrônicas do tautômero B o tornam ativo sobre o receptor H-2 (Black *et al.*, 1972).

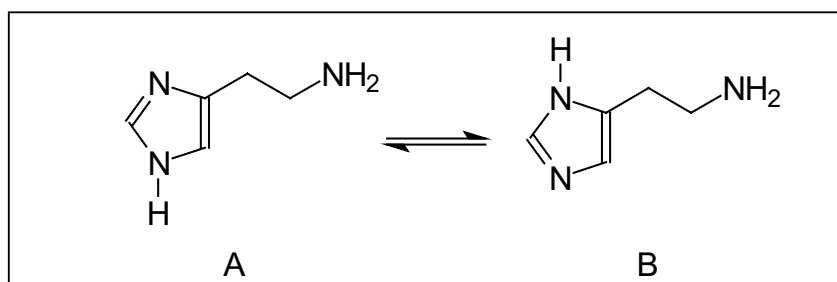


Figura 1 – Tautômeros da histamina

Brimblecombe e colaboradores observaram que a forma tautomérica A é favorecida pela presença de um grupo metil no anel imidazólico (Figura 2).

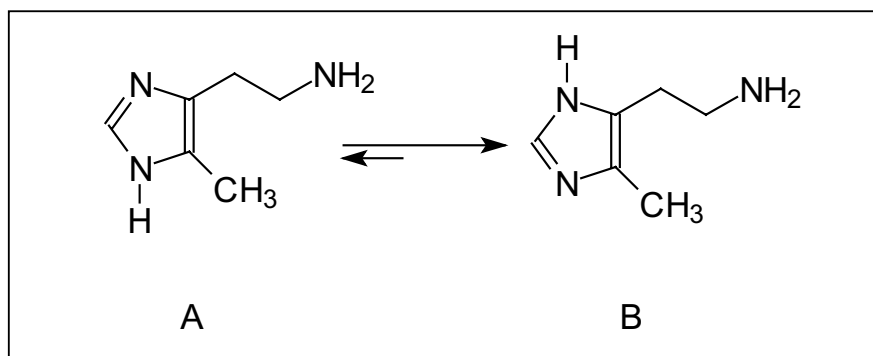


Figura 2 – Equilíbrio tautomérico na histamina modificada

A partir daí, tendo como base o anel do imidazol, Brimblecombe e colaboradores (1975) sintetizaram a cimetidina (29), contendo o grupo metil em C-5 do anel, para favorecer a forma tautomérica desejada, um grupo tio-éter bioisótero do grupo amino e também influente sobre o equilíbrio e uma cadeia lateral de ciano-guanidina que forneceu as propriedades de solubilidade adequadas à droga. A partir da cimetidina outros bioisósteros foram planejados e sintetizados, introduzindo modificações estruturais sobre o farmacóforo heterocíclico (King & Sanger, 1988).

Devido ao grande número de fatores que influenciam o comportamento de uma molécula ao interagir com um organismo vivo, por mais simples que seja, casos como o da cimetidina e de seus derivados não são uma constante, porém, são uma reafirmação da importância dos heterociclos e das relações bioisotéricas que eles guardam entre si, inspirando o planejamento de novos compostos e sua avaliação diante das mais diversas possibilidades de atividade biológica possível.

1.3. OXADIAZÓIS COMO GRUPOS FARMACOFÓRICOS

Conforme visto anteriormente, os anéis heterocíclicos são farmacóforos por excelência e sua incorporação a um sem-número de estruturas químicas tem levado a bons resultados no campo da Química Medicinal. O núcleo oxadiazólico despertou o interesse de diversos pesquisadores, especialmente após a década de 60, por possuir largo espectro de atividade farmacológica. Estudos envolvendo oxadiazóis foram conduzidos por Palazzo e colaboradores (1961), Jones e colaboradores (1965), Singh & Yadav (1977), Suman & Bahel (1979) e Ramalingam e colaboradores (1981), entre outros, demonstrando a versatilidade dos derivados oxadiazólicos como antimicrobianos, antiespasmódicos, antitussivos, analgésicos, antiinflamatórios, anestésicos locais e agentes ativos sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). Embora existam quatro isômeros dos oxadiazóis (Figura 3), os anéis do 1,3,4- e 1,2,4-oxadiazol têm sido mais intensamente explorados, pois são os responsáveis pelos melhores resultados farmacológicos e por possuírem maior número de bioisósteros eficientes (Gilchrist, 1992).

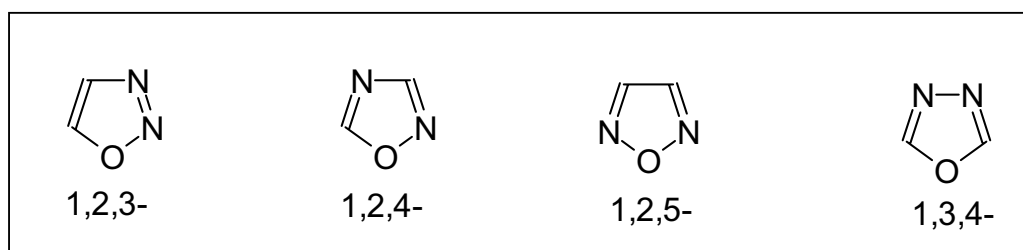
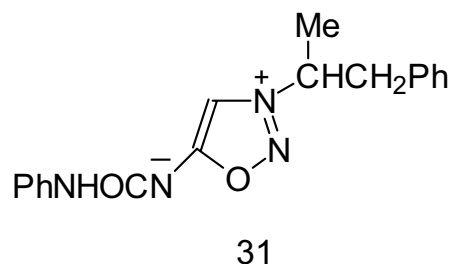
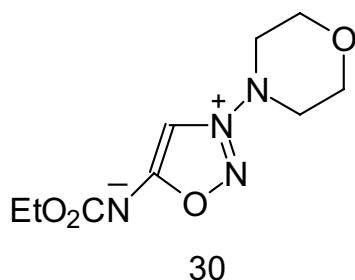


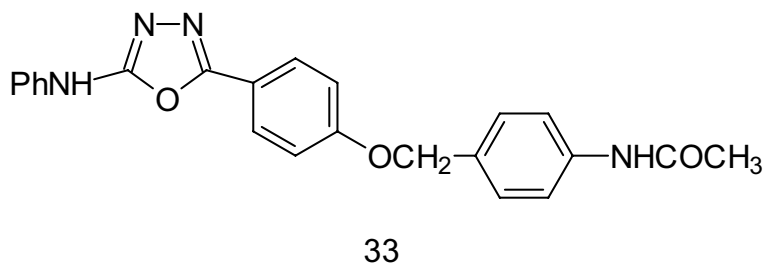
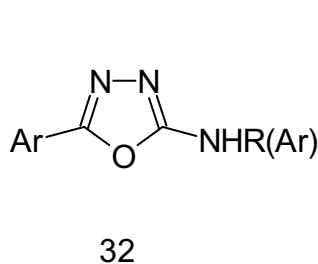
Figura 3 – Isômeros do heterociclo oxadiazol

Dois compostos contendo o anel mesoiônico do 1,2,3-oxadiazol receberam atenção especial nos EUA e na antiga URSS durante a década de 70 devido a seu valor terapêutico: a malsidomina (30), sintetizada em 1967 pela Takeda Chemical Industries do Japão e usada no tratamento de doenças degenerativas do coração, e o sidnocarb (31), um psicoestimulante do SNC, foram comercialmente usados por alguns anos até serem substituídos por outras drogas mais eficientes (Clapp, 1984). Por outro lado, o anel 1,2,5-oxadiazólico nunca deu origem a um fármaco eficiente e de uso prático, embora tenha sofrido diversas substituições, resultando em

derivados com discreta atividade bactericida, fungicida, anti-helmíntica, reguladora do crescimento de plantas, pesticida, vasodilatadora e neuroestimulante (Paton, 1984).

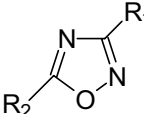





Em contrapartida, as pesquisas envolvendo os isômeros 1,3,4- e 1,2,4-oxadiazólicos prosseguem intensas, pois suas potencialidades são reconhecidas pelos inúmeros sucessos obtidos no planejamento e síntese de moléculas que resultaram em fármacos úteis. O núcleo do 1,3,4-oxadiazol tem fornecido derivados com atividade contra microorganismos resistentes às drogas já em uso. Hiremath e colaboradores (1984), Ladva e colaboradores (1996), Saad (1996), Patil & Biradar (1999) e Holla e colaboradores (2000) propõem uma série de modificações estruturais clássicas e não-clássicas, tendo o 1,3,4-oxadiazol como grupo farmacofórico fundamental, com vistas à obtenção de novos agentes antimicrobianos e têm relatado alguns resultados animadores. Além disso, estudos sobre a atividade antiinflamatória mostram derivados 2-amino-alkil/aril-5-aril-1,3,4-oxadiazólicos (32) (Omar *et al*, 1996) e 5-*p*-acetamidofenil-oximetil-3-fenilamino-1,3,4-oxadiazol (33) (Nargund *et al*, 1994) como exemplos de compostos planejados bioisostericamente e cuja atividade os torna candidatos a testes clínicos avançados.



Somando-se a esses derivados encontramos aqueles obtidos a partir do grupo 1,2,4-oxadiazólico como unidade fundamental para a manifestação da resposta biológica. Compostos contendo esse anel têm sido relatados como portadores de uma diversificada gama de atividade farmacológica. A Tabela 1 traz os mais efetivos e estudados desses derivados cuja importância maior está em alimentar o interesse por esse isômero oxadiazólico como farmacóforo potencial.

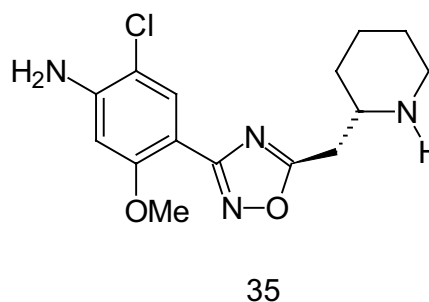
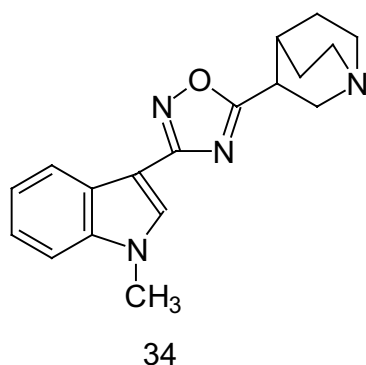
Tabela 1 - Agentes quimioterápicos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol (Clapp, 1984)



R ₁	R ₂	NOME COMERCIAL	ATIVIDADE*
Ph	(CH ₂) ₂ NEt ₂	Oxalamina	d,e
Ph	NH(CH ₂) ₂ NEt ₂	Irrigor	a,f
CH ₂ CHPh ₂	(CH ₂) ₂ —N 	Libexin	d
Ph	CH ₂ NEt ₂		a,b
Ph	(CH ₂) ₃ —N 		a,e
o-C ₆ H ₄ OH	(CH ₂) ₂ NEt ₂		b,c,e
p-C ₆ H ₄ Cl	(CH ₂) ₃ —N 		c
p-C ₆ H ₄ Cl	H		g
Ph	(CH ₂) ₂ N(C ₄ H ₉) ₂		a,c,e
NHSO ₂ Ph	CH ₃		h
Ph	CH ₂ OOCNR' ₂		b,c,e
CH ₂ NHNHCH ₃	p-C ₆ H ₄ CH ₂ NHNHCH ₃		i

*a, anestésico; b, analgésico; c, antiespasmódico; d, antitussivo; e, antiinflamatório; f, vasodilatador; g, anti-helmíntico; h, antimicrobiano; i, antitumoral

Mais recentemente, o 1,2,4-oxadiazol passou a integrar o grupo de bioisósteros do GABA (9), tendo o 3-amino-5-azabicyclo-octil-1,2,4-oxadiazol (3c) (Saunders & Freedman, 1989) surgido como protótipo para a síntese de novas séries de agonistas de receptores do córtex cerebral. Street e colaboradores (1990) desenvolveram um grupo de bioisósteros do composto (3c), substituindo o grupo azabicyclo-octil por outros N-biciclos ou N-heterociclos, mantendo a porção oxadiazólica, todos com alta eficiência e potentes como agonistas dos receptores muscarínicos. Compostos análogos foram explorados por Showell e colaboradores (1991) e Dunbar e colaboradores (1993). A partir de 1991 o anel 1,2,4-oxadiazólico foi associado ao grupo indólico como possível antagonista do receptor 5-HT₃, um dos responsáveis pela resposta neurotransmissora da serotonina (5-HT) (18), a qual também possui no anel do indol seu grupo farmacofórico. Os derivados 3-indoil-5-substituído-1,2,4-oxadiazol foram bem sucedidos e têm perspectivas de aplicação no tratamento do câncer, especialmente aquele em que a posição 5 é ocupada pelo radical azabicyclo-octoil (34) (Swain *et al*, 1991). Como consequência, novas pesquisas foram iniciadas utilizando este tipo de substituição bioisostérica e, oito anos após os trabalhos de Swain e colaboradores (1991), Suzuki e colaboradores (1999) anunciaram um novo bioisótero agonista seletivo do receptor 5-HT₄, a (+)-(S)-2-cloro-5-metóxi-4-[5-(2-piperidil-metil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]anilina (35), no qual o grupo indólico não está presente, confirmando a importância do anel oxadiazólico para a atividade observada.



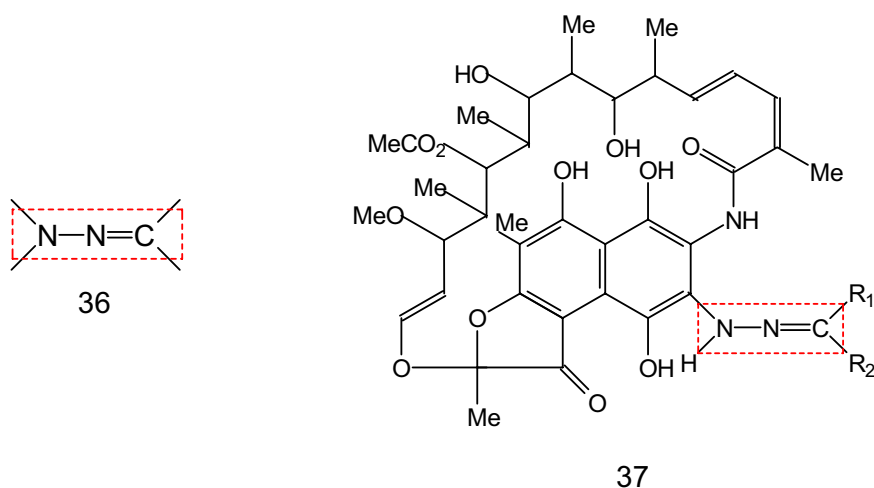
Ao mesmo tempo, a relação bioisostérica do 1,2,4-oxadiazol com o radical éster presente em muitos agonistas e antagonistas de receptores benzodiazepínicos e muscarínicos suscitou o

planejamento, a síntese e a avaliação de diversos derivados, cuja afinidade por esses receptores se mostrou muito forte, colocando-os no rol de possíveis drogas para o tratamento do mal de Alzheimer (Orlek *et al.*, 1991; Andersen *et al.*, 1994; Suzuki *et al.*, 1999).

Graças a essa versatilidade de ações biológicas, o anel do 1,2,4-oxadiazol foi introduzido como possível inibidor dual das enzimas 5-lipoxigenase (5-LO) e cicloxigenase (CO), explorando seu potencial bioisotérico com relação ao anel 1,3,4-tiadiazólico presente em muitos produtos que exibem tal atividade (Unangst *et al.*, 1992). Em tese, derivados 1,2,4-oxadiazólicos podem ser empregados como substâncias biologicamente ativas diante de uma vasta gama de situações, o que torna sua síntese matéria de interesse de químicos medicinais do mundo inteiro.

1.4. CADEIAS ACÍCLICAS COMO FARMACÓFOROS

Cricchio e colaboradores (1975) constataram que o grupo hidrazona (36), incorporado à posição 3 da rifamicina SV (37), um antibiótico conhecido, contribuiu de forma positiva para a atividade antimicrobiana do composto de partida. Assim, eles sugeriram que o substituinte hidrazônico estaria associado a algum tipo de interação capaz de afetar a resposta biológica apresentada pela rifamicina SV.



A porção hidrazonônica é reconhecida como bioisóstero não-clássico do anel pirazólico (Figura 4), um grupo farmacofórico de importância relevante. Em conseqüências dessas observações, a hidrazona tem sido incorporada em um grande número de derivados com vistas a obter novos análogos.

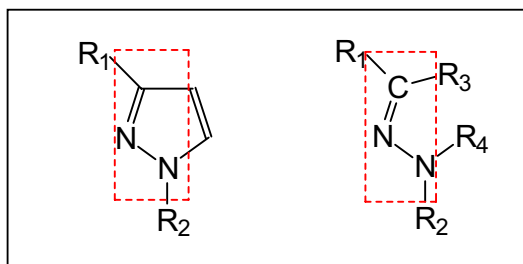
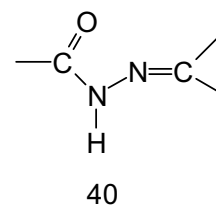
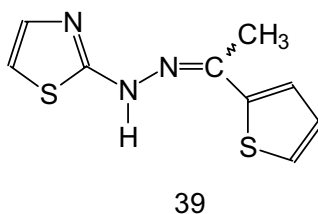
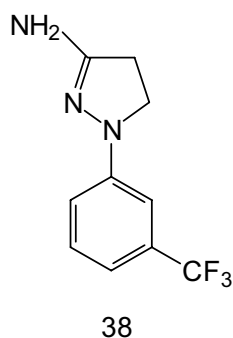


Figura 4 – Relação isostérica entre o anel pirazólico e a porção hidrazônica

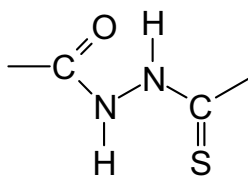
Recentemente, estudos direcionados para a obtenção de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (NSAID) apontaram dois importantes derivados candidatos a protótipos. O BW-755c (38), composto contendo o anel pirazólico parcialmente reduzido, mostrou não provocar as complicações gástricas associadas às NSAID e serviu de base para o planejamento e síntese do CBS-1108 (39), um bioisóstero não-clássico do BW-755c (38), também ativo sobre a 5-LO e a CO (Sincholle *et al.*, 1985).

Silveira e colaboradores (1991), Mahy e colaboradores (1993), Todeschini e colaboradores (1996) e Barja-Fidalgo e colaboradores (1999) exploraram os derivados bioisostéricos contendo o grupo hidrazona na busca de novos produtos de interesse terapêutico. Associações com o grupo acila (40) têm sido reportadas na obtenção de substâncias hipoglicemiantes (Husain *et al.*, 1983) e antimicrobianas (Sharma *et al.*, 1984).



O perfil antinociceptivo e o antiinflamatório dos derivados acil-hidrazônicos foram estudados por Leite e colaboradores (1999) e Figueiredo e colaboradores (2000), numa nova abordagem de planejamento bioisotérico, através da combinação com outros farmacóforos, a fim de avaliar os efeitos dessas associações sobre as respostas biológicas dos compostos finais.

O crescente interesse por drogas antimicrobianas e os poucos resultados positivos obtidos a partir de derivados hidrazônicos suscitaram o planejamento e síntese de derivados contendo o grupo acil-tiossemicarbazida (41), um grupo que possui relação estrutural com a porção acil-hidrazônica (40). Estudos conduzidos por Srivastava e colaboradores (1981), Srivastava e colaboradores (1989), Rollas e colaboradores (1996), Pandeya e colaboradores (1999) e Varvaresou e colaboradores (2000) confirmaram as potencialidades dos derivados acil-tiossemicarbazida como fungicidas e bactericidas em diferentes situações de substituição com cadeias alquílicas e/ou fenílicas. Em consequência, muitos análogos contendo o grupo acil-hidrazona têm sido modificados para conter a acil-tiossemicarbazida e assim verificar os seus efeitos sobre microorganismos.



41

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Partindo dos resultados obtidos por Leite e colaboradores (1999) na síntese e avaliação biológica de novos derivados contendo os grupos 1,2,4-oxadiazol e acil-hidrazona, resolveu-se sintetizar duas novas séries análogas e uma terceira série contendo a associação das porções 1,2,4-oxadiazol e acil-tiossemicarbazida (Figura 5).

Os novos compostos a serem obtidos serão submetidos à avaliação de sua possível ação antimicrobiana, uma vez que os grupos acil-hidrazona e acil-tiossemicarbazida têm sido reportados como responsáveis por respostas positivas em outras moléculas que os contém. A atividade antimalárica será explorada pela primeira vez nesses tipos de substâncias, a fim de verificar sua possível introdução como protótipos na busca de novas drogas ativas contra o *Plamodium falciparum*.

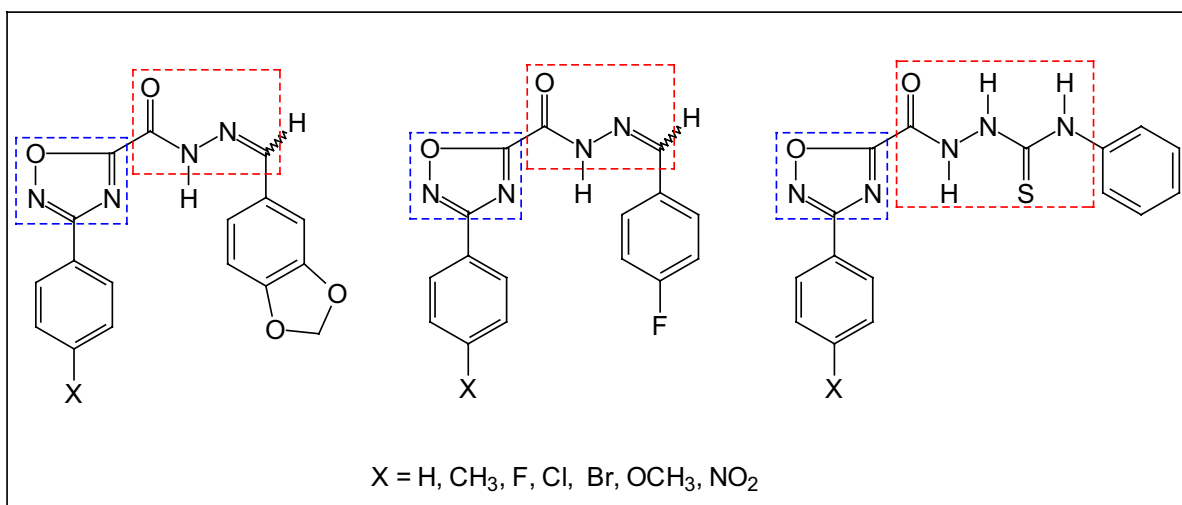


Figura 5 – Séries de derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida planejados biosiostericamente

Estudos de modelagem molecular serão realizados para determinar as características estruturais dos derivados acil-hidrazônicos e, desse modo, verificar a existência de uma relação

isotérica não-clássica entre esse farmacóforo acíclico e o anel 1,3,4-oxadiazólico, conforme proposto na Figura 6, com base na conformação e na configuração de mais baixa energia da porção acil-hidrazona. A avaliação da energia total (H_t) dos isômeros (E) e (Z) possíveis para as séries das acil-hidrazonas será utilizada para auxiliar na compreensão teórica dos seus espectros de RMN¹H.

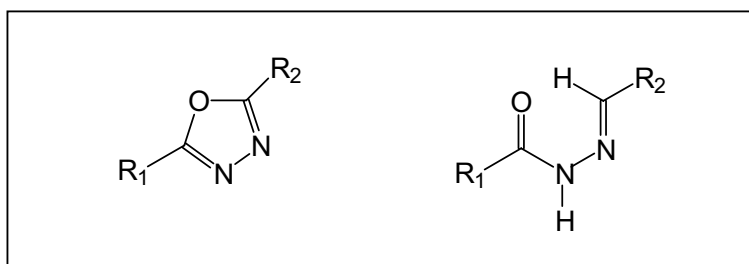


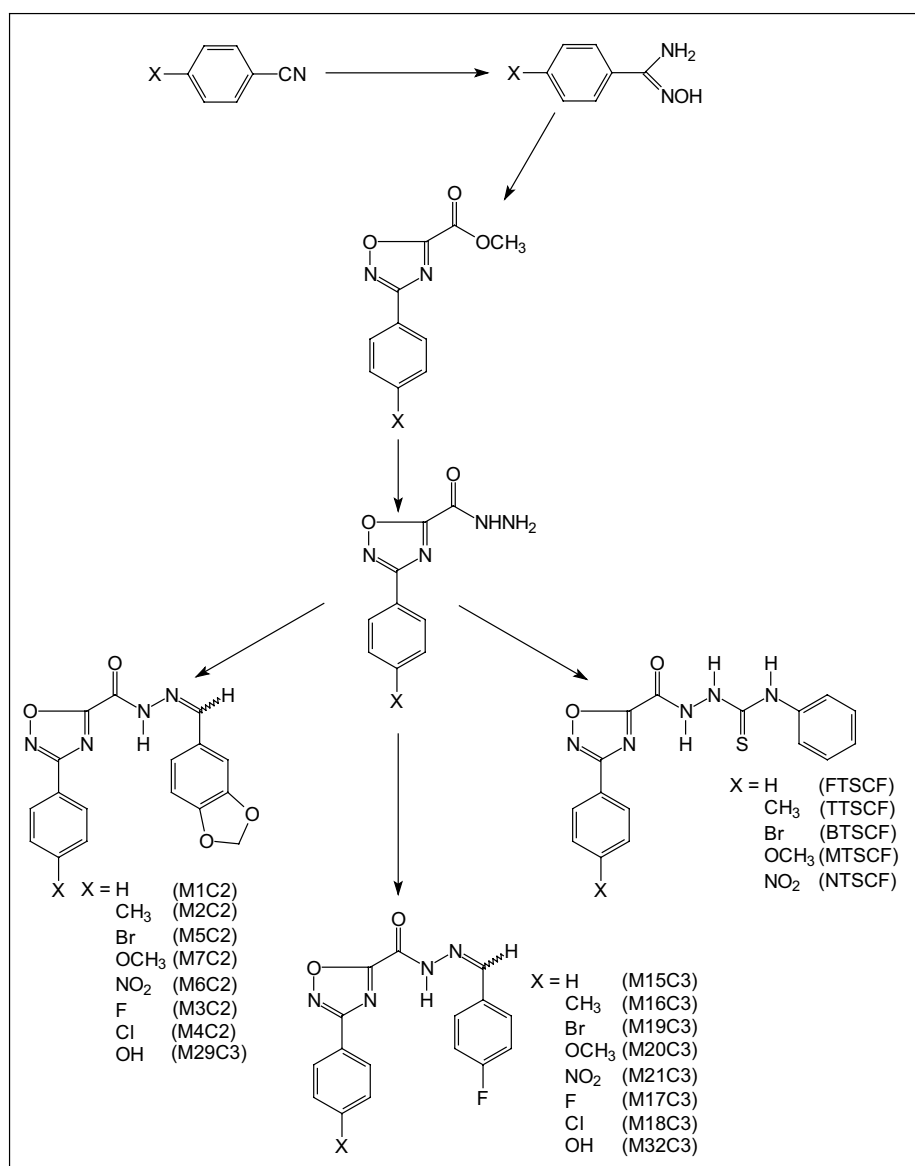
Figura 6 – Provável relação isotérica não-clássica entre o anel 1,3,4-oxadiazol e o grupo acil-hidrazona

METODOLOGIA SINTÉTICA

3. METODOLOGIA SINTÉTICA

A síntese dos derivados planejados demandou 4 etapas, de acordo com o Esquema 1, baseando-se no trabalho de Leite e colaboradores (1999).

Esquema 1 – Etapas de síntese dos derivados 1,2,4-oxadiazol acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol tiossemicarbazida



3.1. EQUIPAMENTOS

A remoção de solventes foi realizada em evaporador rotatório a pressão reduzida.

Para a cromatografia em camada fina (CCF) foram empregadas lâminas de vidro de 2,5x7,5 cm cobertas com sílica gel 60 PF₂₅₄, contendo gesso, da marca Merck.

As separações por cromatografia em coluna foram efetuadas em coluna de vidro adaptada para o método flash e foi utilizada sílica gel 60 de tamanho de partícula de 0,04-0,063 mm da marca Vetec.

A visualização de cromatogramas em CCF foi feita utilizando câmara de revelação com luz ultravioleta (UV).

A determinação dos pontos de fusão empregou aparelho digital Quimis.

A espectroscopia de infravermelho (IV) foi conduzida em espectrofotômetro Bruker de feixe duplo, modelo IFS66, série FTIR, utilizando-se pastilhas de KBr (Departamento de Química Fundamental – Universidade Federal de Pernambuco, DQF-UFPE).

Os espectros de massa (EM) foram obtidos em aparelho do tipo Finnigan GCQ Mat quadripole Ion-Trap (DQF-UFPE) e AutoSpec Q EI Magnet (Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais - Universidade Federal do Rio de Janeiro, NPPN-UFRJ), operando a 70eV, e as amostras foram introduzidas por inserção direta. Os fragmentos foram descritos como relação entre as unidades de massa atômica e carga (m/z) e a abundância relativa foi dada em percentagem (%).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN¹H) foram obtidos através de instrumento Varian Unit Plus 300MHz (DQF-UFPE), utilizando-se o tetrametil-silano (TMS) como referência interna e dimetil-sulfóxido deuterado (DMSO-d₆) como solvente para as amostras. Os valores de deslocamento químico são referidos em parte por milhão (ppm), em relação ao TMS. As constantes de acoplamento (J) são reportadas em hertz (Hz). As áreas dos picos foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como singlete (s), dubleto (d), tripleto (t), multipletto (m) e duplo dubleto (dd).

3.2. REAGENTES E SOLVENTES

Todos os reagentes utilizados foram da marca Aldrich, ao passo que os solventes tiveram origens variadas, geralmente das marcas Vetec e Quimex.

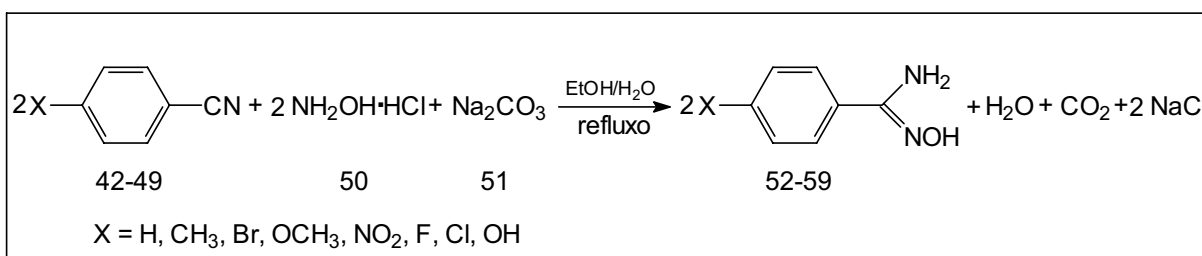
- Benzonitrila
- 4-Toluil-nitrila
- 4-Bromo-benzonitrila
- 4-Metóxi-benzonitrila
- 4-Nitro-benzonitrila
- 4-Fluoro-benzonitrila
- 4-Cloro-benzonitrila
- 4-Hidróxi-benzonitrila
- Carbonato de sódio
- Cloridrato de hidroxilamina
- Cloreto de metil-oxalila
- Hidrazina hidratado 55%
- Piperonal
- 4-Fuoro-benzaldeído
- Isotiocianato de fenila
- Etanol absoluto
- Tetra-hidro-furano (THF)
- Clorofórmio
- Hexano
- Dioxano
- Dimetil-sulfóxido (DMSO)
- Carvão ativo
- Nitrogênio seco

- Pentóxido de fósforo
- Xileno
- Dicloro-metano
- Sílica gel para dessecador

3.3. SÍNTESE DE INTERMEDIÁRIOS

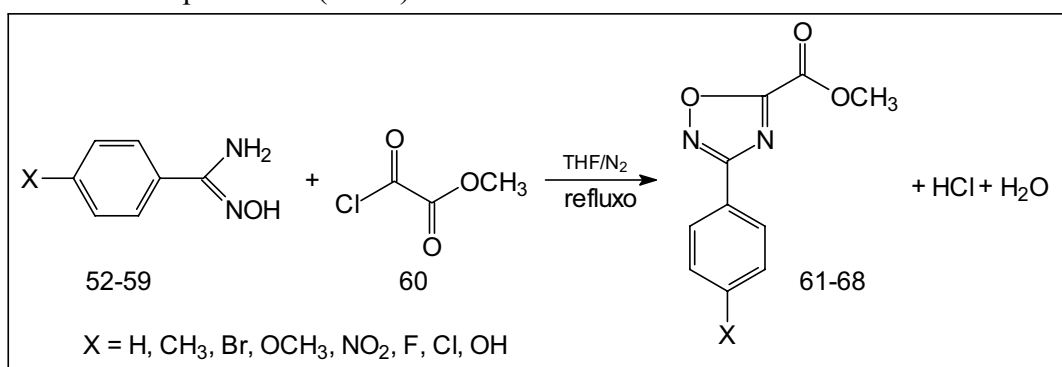
Na primeira etapa de síntese, 4-aryl-nitrilas (42-49) foram postas a reagir com cloridrato de hidroxilamina (50) em presença de carbonato de sódio (51), em solução de etanol e água 4:1, sob refluxo por 4 horas (Srivastava, 1995), fornecendo os intermediários 4-aryl-amidoximas (52-59), conforme o Esquema 2. A aril-amidoxima com X=OH foi sintetizada em condições diferentes, devido à sensibilidade da hidroxila ao meio aquoso e à temperatura. Foi usada como solvente a mistura EtOH/H₂O/THF 4:3:3, temperatura mais branda e refluxo de 2 horas, além de atmosfera inerte, o que permitiu conduzir a síntese sem necessidade habitual de proteger o grupo hidroxila da 4-hidróxi-benzonitrila empregada. Os derivados 52-59 foram isolados puros por recristalização em clorofórmio e n-hexano com rendimentos médios de 70% e, após serem avaliados por cromatografia em camada fina, tiveram seus pontos de fusão medidos e comparados com aqueles listados na literatura (Eloy & Lenaers, 1962; Leite *et al.*, 1999).

Esquema 2 – Equação de obtenção de aril-amidoximas (52-59) a partir das aril-nitrilas (42-49) correspondentes



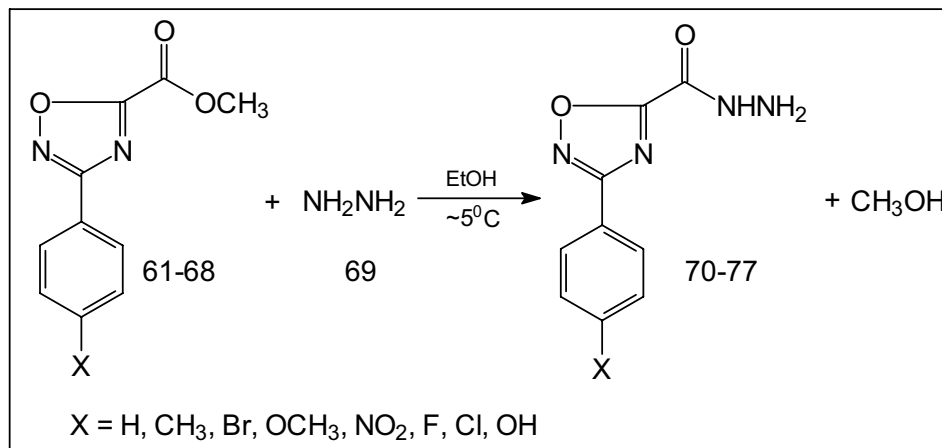
Na sequência reacional, as aril-amidoximas (52-59) foram dissolvidas em THF seco e postas a reagir com cloreto de metil-oxalila (60), sob refluxo e atmosfera inerte por 4,5 horas, conforme metodologia de Leite e colaboradores (1999), modificada a partir de Santilli & Morris (1979), fornecendo os intermediários [3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] carboxilato de metila (61-68), segundo o Esquema 3. Após remoção total do solvente em rota-evaporador, os produtos foram recristalizados em etanol, dando os intermediários heterocíclicos de interesse com rendimento médio de 60%. Os produtos obtidos foram avaliados por cromatografia em camada fina e tiveram seus pontos de fusão determinados, a fim de compará-los com os dados descritos na literatura, mostrando-se perfeitamente compatíveis com o esperado (Eloy & Lenaers, 1964; Leite e colaboradores, 1999).

Esquema 3 – Equação de obtenção de derivados 1,2,4-oxadiazólicos (61-68) a partir das aril-amidoximas correspondentes (52-59)



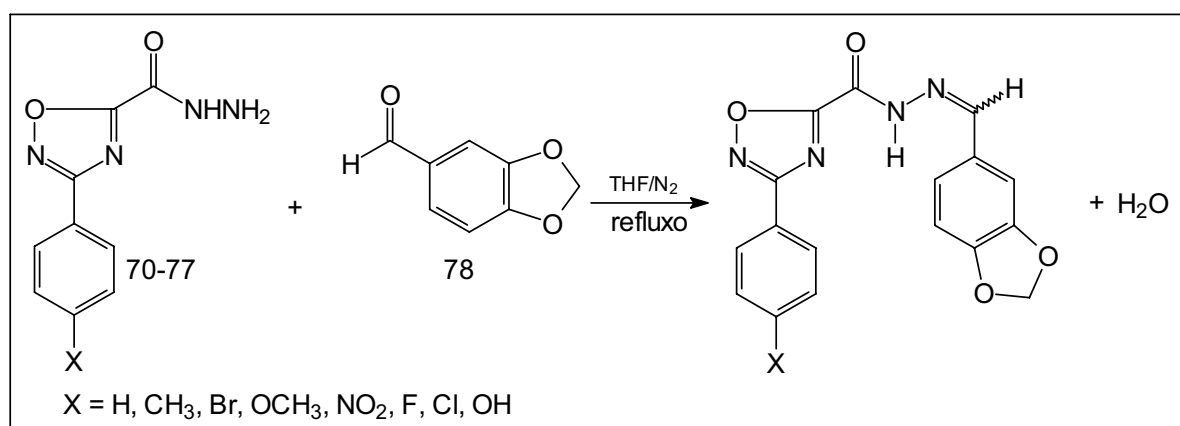
A reação dos ésteres oxadiazólicos (61-68) com hidrato de hidrazina (69), em solução de etanol e sob resfriamento em banho de gelo por 2 horas, conduziu aos intermediários-chave [3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] hidrazida (70-77), fundamentais para a obtenção dos derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida planejados. O Esquema 4 mostra a equação da reação envolvida, sendo os compostos (70-77) purificados por recristalização em etanol e água e seus rendimentos médios de 90%. Após submetidos à cromatografia em camada fina, foram determinados seus pontos de fusão e comparados com valores da literatura (Eloy & Lenaers, 1964; Leite e colaboradores, 1999).

Esquema 4 – Equação de obtenção dos derivados 1,2,4-oxadiazol-hidrazida (70-77) a partir dos ésteres oxadiazólicos (61-68)



3.4. SÍNTESE DE DERIVADOS 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona

Esquema 5 – Equação de obtenção de acil-hidrazonas por reação com piperonal (78)

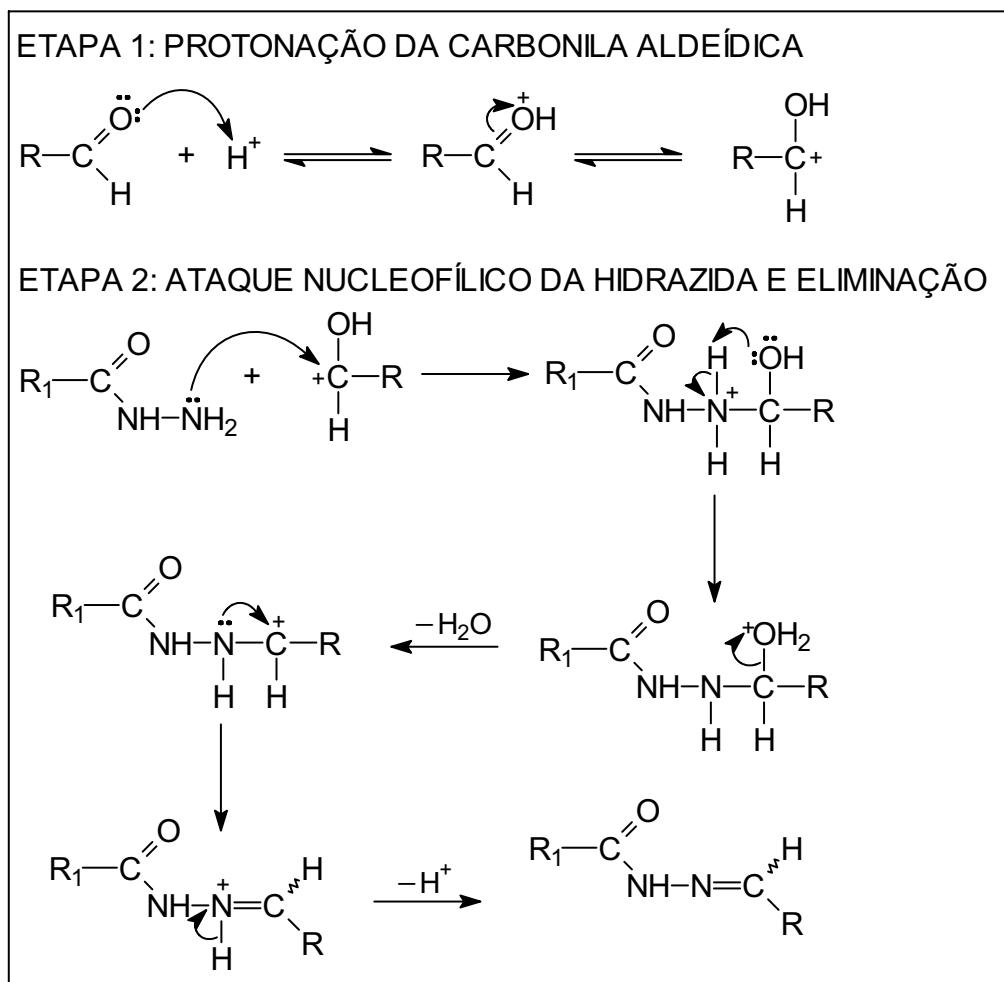


A metodologia de obtenção das acil-hidrazonas foi planejada levando em consideração a reação de condensação catalisada por ácido comumente empregada (Leite *et al.*, 1999). Nessas

condições, as etapas mecanísticas da reação geral (Esquema 6) envolvem uma série de protonações e ataques nucleofílicos em meio aquoso. Os rendimentos médios das reações giram em torno de 70-75%. Considerando que o meio é extremamente rico em água, após a formação do íon carbônio na carbonila aldeídica, o ataque nucleofílico da hidrazida é dificultado pela hidratação do núcleo positivo. Essa hidratação faz o rendimento cair. Além disso, a protonação ácida pode ocorrer também sobre o par de elétrons da hidrazida que vai realizar o ataque nucleofílico ou mesmo sobre a carbonila da hidrazida, contribuindo para uma menor eficiência da reação. Também é fato conhecido que alguns aldeídos são especialmente susceptíveis à oxidação em condições ácidas, levando à formação de subprodutos durante o refluxo.

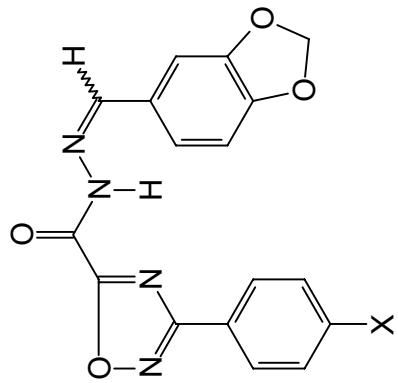
Com o intuito de contornar esses problemas, resolveu-se conduzir a síntese em meio predominantemente aprótico de THF, esperando tornar o ataque do grupo amino da hidrazida à carbonila do aldeído mais efetivo, o que, teoricamente, deveria aumentar o rendimento da reação. Introduziu-se também atmosfera inerte ao meio reacional para evitar a oxidação dos aldeídos por reação com oxigênio do ar. Inicialmente, a única variável que foi controlada foi o tempo de reação, o qual passou de 2,5 horas para 4 horas. Contudo, o rendimento médio obtido foi de 90%, o que motivou a adoção dessa metodologia sem realizar outros experimentos envolvendo o emprego de catálise ácida. O mecanismo da reação nas condições usadas se mantém o mesmo, pois o THF usado contém água de hidratação, a qual libera prótons suficientes para iniciar o processo, mas não para provocar hidratação extensiva dos íons carbônio formados.

Esquema 6 – Mecanismo geral de condensação entre aldeídos e hidrazidas em meio aquoso ácido



Foi empregado 0,0024 mol de cada hidrazida (70-77), dissolvida em 10 mL de THF, para reagir com 0,0024 mol de piperonal (78). O sistema foi fechado e a atmosfera interna foi substituída por nitrogênio seco. A solução reacional foi refluxada por 4 horas e, após este tempo, a mistura foi resfriada e o solvente foi totalmente removido em rota-evaporador. O sólido obtido foi purificado em coluna cromatográfica do tipo flash e recristalizado em dioxano e água. As propriedades dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona são dadas na Tabela 2.

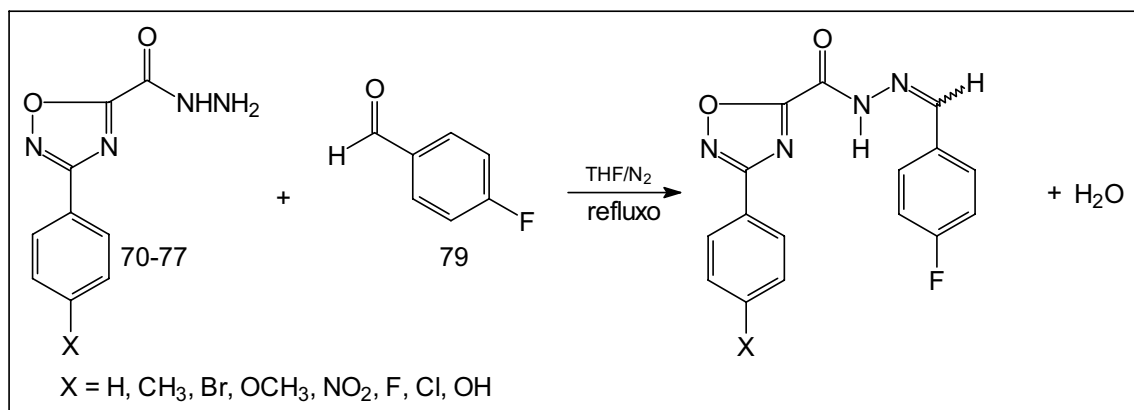
Tabela 2 – Características dos derivados 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona



Composto	X	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Rendimento (%)	P. F. (°C)	Nome Oficial (Alencastro & Mano, 1987)
M1C2	H	C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₄	336	98	183-185	3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M2C2	CH ₃	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O ₄	350	91	218-220	3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M5C2	Br	C ₁₇ H ₁₁ N ₄ BrO ₄	415	81	241-243	3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M7C2	OCH ₃	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O ₅	366	98	184-186	3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M6C2	NO ₂	C ₁₇ H ₁₁ N ₅ O ₆	381	94	258-260	3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M3C2	F	C ₁₇ H ₁₁ N ₄ FO ₄	354	94	195-197	3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M4C2	Cl	C ₁₇ H ₁₁ N ₄ ClO ₄	370,5	86	232-234	3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
M29C3	OH	C ₁₇ H ₁₂ N ₄ O ₅	352	93	231-233	3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona

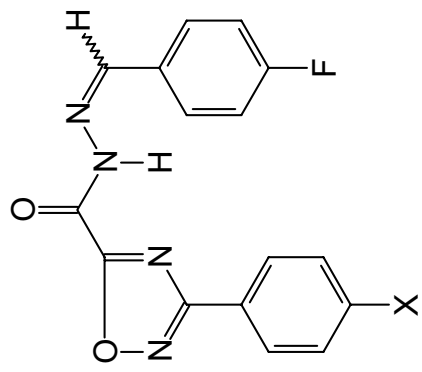
3.5. SÍNTESE DE DERIVADOS 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona

Esquema 7 – Equação de obtenção de acil-hidrazonas por reação com 4-fluoro-benzaldeído (79)



A metodologia empregada foi a mesma definida para os derivados obtidos a partir da síntese com piperonal, utilizando-se 0,0024 mol de cada hidrazida (70-77) para reagir com 0,0024 mol de 4-fluoro-benzaldeído (0,26mL). Após 4 horas de refluxo sob atmosfera inerte, a solução reacional foi resfriada e o solvente foi completamente evaporado em rota-evaporador. O sólido obtido foi purificado em coluna cromatográfica do tipo flash e o produto foi recristalizado em dioxano e água, fornecendo os derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona como sólidos amorfos, cujas características são dadas na Tabela 3.

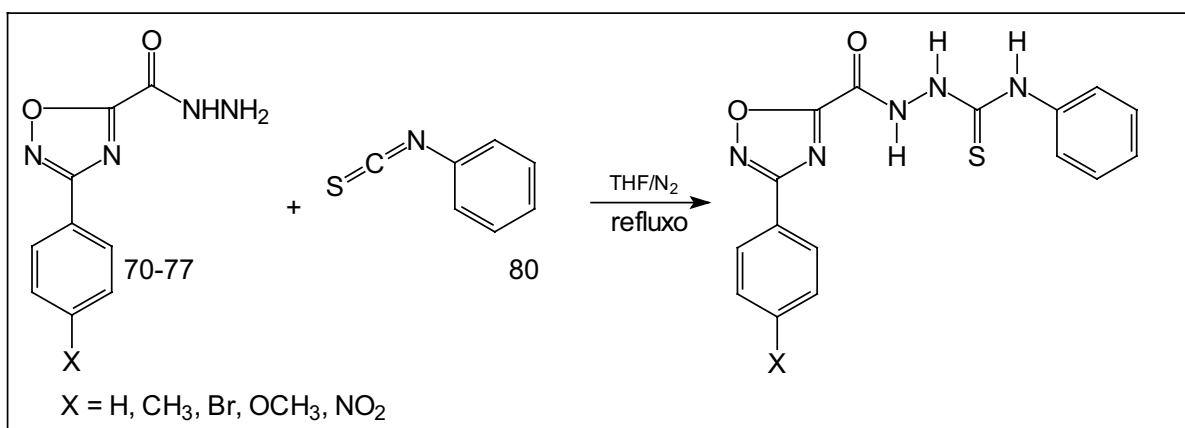
Tabela 3 – Características dos derivados 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona



Composto	X	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Rendimento (%)	P. F. (°C)	Nome Oficial (Alencastro & Mano, 1987)
M15C3	H	C ₁₆ H ₁₁ N ₄ FO ₂	310	86	157-159	3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M16C3	CH ₃	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ FO ₂	324	92	186-188	3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M19C3	Br	C ₁₆ H ₁₀ N ₄ FBrO ₂	389	92	207-209	3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M20C3	OCH ₃	C ₁₇ H ₁₃ N ₄ FO ₃	340	89	186-188	3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M21C3	NO ₂	C ₁₆ H ₁₀ N ₅ FO ₄	355	98	237-239	3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M17C3	F	C ₁₆ H ₁₀ N ₄ F ₂ O ₂	328	91	170-172	3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M18C3	Cl	C ₁₆ H ₁₀ N ₄ FCIO ₂	344.5	90	200-202	3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
M32C3	OH	C ₁₆ H ₁₁ N ₄ FO ₃	326	85	266-268	3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona

3.6. SÍNTESE DE DERIVADOS 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida

Esquema 8 – Equação de obtenção de acil-tiossemicarbazidas por reação com isotiocianato de fenila (80)



Os derivados acil-tiossemicarbazida foram sintetizados a partir do método descrito por Albar e colaboradores (1996), modificado para oferecer melhores resultados de síntese, uma vez que as condições descritas levavam à obtenção de diversos produtos observáveis por cromatografia em camada fina (CCF). Na metodologia original, a síntese foi conduzida sob refluxo e atmosfera comum, usando etanol como solvente. Os resultados de Albar e colaboradores (1996) para o rendimento giraram em torno de 70% para os compostos sintetizados. Durante a reprodução da metodologia aplicada à série planejada nesse trabalho, observou-se a formação de uma grande quantidade de subprodutos e rendimento relativamente baixo do produto principal. Após um estudo das características do reagente isotiocianato de fenila, constatou-se sua instabilidade frente à umidade, ao oxigênio e à temperatura, o que sugeriu uma explicação para a formação de tantos subprodutos observados. Assim, decidiu-se realizar a síntese sob atmosfera de nitrogênio seco, THF também seco e temperatura ambiente. O produto final foi obtido em melhor rendimento, mas, em contrapartida, o tempo de reação foi aumentado.

Foi dissolvido em THF seco 0,0024 mol dos derivados-chave (70-77) e, em seguida, foi adicionado 0,0024mol (0,30 mL) de isotiocianato de fenila (80) à solução. O sistema foi agitado durante 10 horas sob atmosfera inerte e temperatura ambiente. Após o término da reação, o excesso de solvente foi evaporado e o sólido obtido foi purificado por cromatografia em coluna do tipo flash e recristalizado a partir de THF e hexano. Os produtos foram isolados como sólidos cristalinos e têm suas características mostradas na Tabela 4. O mecanismo da reação é simples e pode ser visto no Esquema 9. Nele, o átomo de nitrogênio da hidrazida que apresenta característica nucleofílica mais pronunciada é o terminal, pois não está ligado diretamente à carbonila e não tem seu par de elétrons envolvido no mecanismo de ressonância, podendo, assim, atacar mais efetivamente o carbono eletrofílico que se forma no isotiocianato de fenila.

Esquema 9– Mecanismo de adição entre derivados 1,2,4-oxadiazol-hidrazidas (70-77) e isotiocianato de fenila (80)

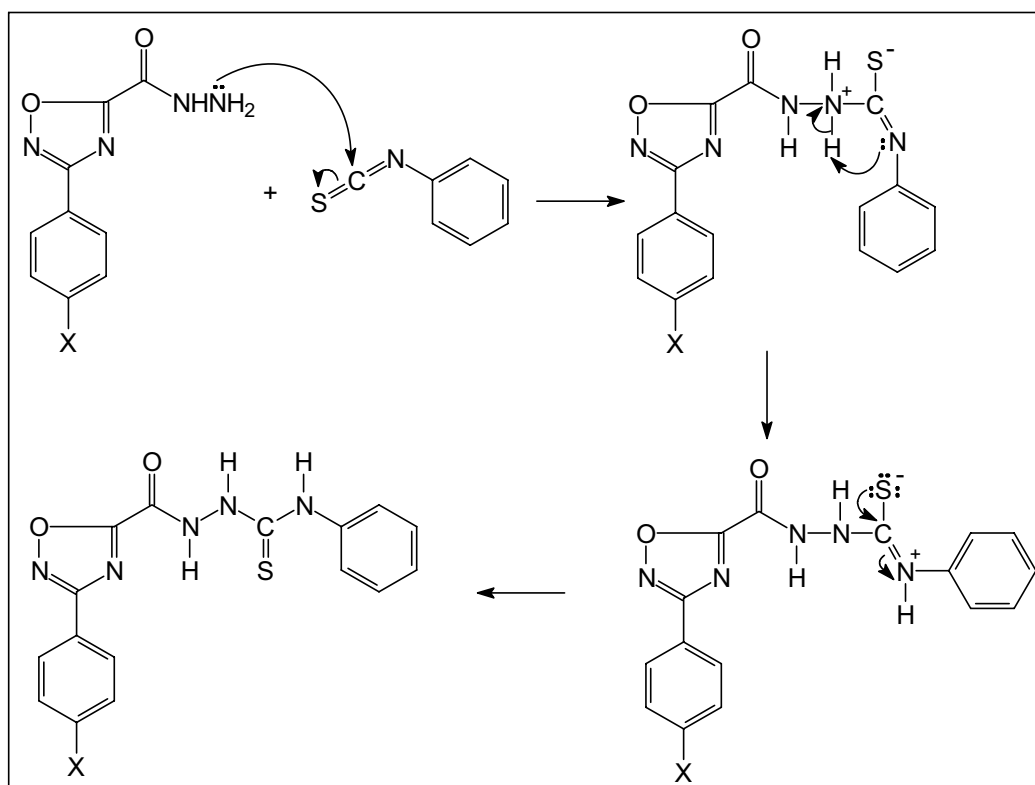
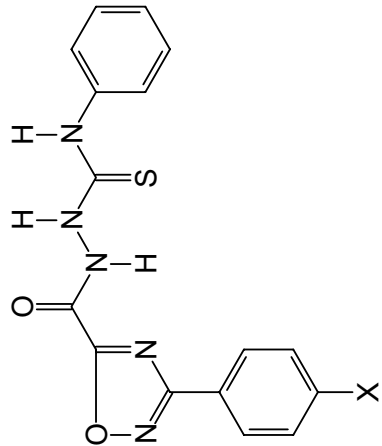


Tabela 4 – Características dos derivados 4-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida



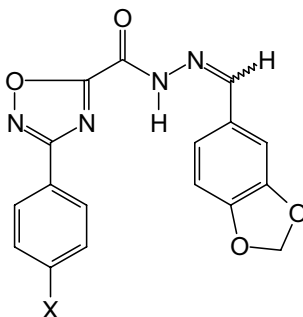
Composto	X	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Rendimento (%)	P. F. (°C)	Nome Oficial (Alencastro & Mano, 1987)
FTSCF	H	C ₁₆ H ₁₃ N ₅ SO ₂	339	92	187-188	4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida
TTSCF	CH ₃	C ₁₇ H ₁₅ N ₅ SO ₂	353	72	185-187	4-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida
BTSCF	Br	C ₁₆ H ₁₂ N ₅ BrSO ₂	418	86	198-200	4-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida
MTSCF	OCH ₃	C ₁₇ H ₁₅ N ₅ SO ₃	369	97	178-180	4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida
NTSCF	NO ₂	C ₁₆ H ₁₂ N ₆ SO ₄	384	88	209-210	4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos espectros de IV da série das 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas forneceu bandas de absorção características para os diferentes grupos funcionais presentes nas estruturas desses compostos. Os Espectros 1 a 8, vistos em Anexo, apresentaram bandas na região de 3300 cm^{-1} , relacionadas com as deformações axiais simétrica e assimétrica do grupo N–H, à exceção do composto M29C3 no qual aparece um pico na região de 3260 cm^{-1} , aproximadamente, mais largo e mais intenso, caracterizando a sobreposição das bandas do grupo O–H e do grupo N–H. Por volta de 1700 cm^{-1} são observadas absorções intensas devidas à deformação axial do grupo C=O da carbonila, enquanto que o grupo C=N, presente tanto no anel oxadiazólico como na hidrazona, apresenta absorção na região de $1597\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$, sendo, portanto, passível de sobreposição ou formação de dois sinais muito próximos. Bandas fracas nas regiões de $2880\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ indicam a presença de vibrações C–H em éter alifático ou em carbono olefínico, as quais se somam com os dados da Tabela 5 para caracterizar os derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas (Clapp, 1984; Crews *et al.*, 1998).

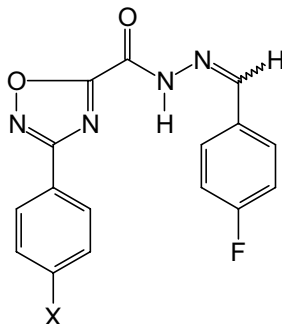
Tabela 5 – Principais absorções dos derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona na espectroscopia de IV



Composto	Substituinte	Principais absorções (cm ⁻¹)						
	X	N-H	C-H ^a	C-H ^b	C=O	C=N	C-O ^c	N-O
M1C2	H	3311	3068	2880	1706	1593	1257	882
M2C2	CH ₃	3313	3045	2911	1705	1591	1257	881
M5C2	Br	3318	3023	2898	1708	1596	1261	883
M7C2	OCH ₃	3312	3009	2906	1708	1592	1256	881
M6C2	NO ₂	3304	3095	2920	1712	1591	1260	883
M3C2	F	3306	3045	2909	1704	1592	1261	882
M4C2	Cl	3307	3023	2909	1709	1596	1264	884
M29C3	OH	3260	3068	2902	1679	1598	1258	888

^aC-H (N=C-H); ^bC-H (éter alifático); ^cEm anel de 1,2,4-oxadiazol e N=C-H

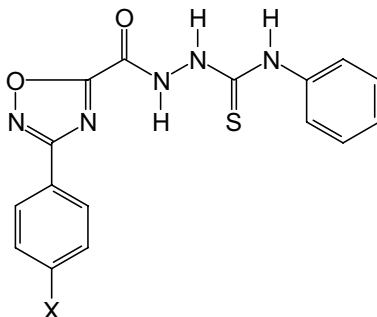
A série 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona apresenta espectros de IV semelhantes aos análogos anteriores, com exceção das bandas relacionadas ao grupamento éter, ausentes nesse caso. Na Tabela 6, verificam-se os valores característicos para cada grupo funcional, tomados a partir dos Espectros 9-16. O composto M32C3 sofre um alargamento da banda na região do grupo N-H devido à presença do grupo OH, o qual gera um pico em torno de 3239cm⁻¹.

Tabela 6 – Principais absorções de derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluorofenil-hidrazona na espectroscopia de IV

Composto	Substituinte	Principais absorções (cm ⁻¹)					
	X	N–H	C–H ^a	C=O	C=N ^b	C–O	N–O
M15C3	H	3321	3011	1700	1601	1234	845
M16C3	CH ₃	3310	3011	1701	1604	1237	832
M19C3	Br	3314	3007	1703	1603	1242	833
M21C3	OCH ₃	3318	3013	1700	1610	1234	840
M20C3	NO ₂	3312	3013	1710	1609	1240	849
M17C3	F	3320	3013	1699	1606	1243	833
M18C3	Cl	3308	3039	1707	1605	1239	834
M32C3	OH	3316	3068	1694	1604	1234	840

^aC–H (N=C–H); ^bEm anel de 1,2,4-oxadiazol e N=C–H

Os derivados 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida apresentam como absorções características aquelas provenientes das deformações axiais simétrica e assimétrica de seus grupos N–H, as quais produzem três bandas intensas na região de 3100-3300 cm⁻¹. Os demais grupos aparecem com absorções dentro das faixas esperadas, enquanto que o grupo C=S se evidencia com absorções por volta de 1550 cm⁻¹, devidas à presença do grupo tioamida (Crews *et al.*, 1998). Na Tabela 7, encontram-se os valores obtidos a partir dos Espectros 17-21.

Tabela 7 – Principais absorções dos derivados 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-feniltiossemicarbazida na espectroscopia de IV

Composto	Substituinte	Principais absorções (cm ⁻¹)					
	X	N-H	C=O	C=N	C=S	C-O	N-O
FTSCF	H	3302-3205	1683	1595	1549	1255	916
TTSCF	CH ₃	3328-3155	1689	1620	1558	1261	913
BTSCF	Br	3319-3187	1688	1620	1555	1247	905
MTSCF	OCH ₃	3300-3163	1686	1622	1558	1252	909
NTSCF	NO ₂	3329-3157	1690	1619	1559	1261	915

O passo seguinte consistiu em analisar os espectros de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN¹H) dos compostos obtidos. Os derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas apresentam espectros característicos, com o próton ligado ao nitrogênio da hidrazona, H-4, colocado em campo baixo, $\delta_H \sim 12,60$ ppm, e pico levemente alargado, devido à influência do momento de quadripolo do átomo de nitrogênio (Moussebois & Oth, 1964). A vizinhança do anel 1,2,4-oxadiazol afeta o comportamento dos prótons do anel fenílico a ele ligado, levando-os para regiões de menor blindagem do que o normal. Com base no Espectro 22 de RMN¹H do composto M1C2, observa-se que os prótons em *orto* (H-3) relativamente ao heterociclo sofrem o maior deslocamento, com $\delta_H \sim 8,10$ ppm. Analisando este fator juntamente com a influência dos *p*-substituintes, pudemos diferenciar os prótons aromáticos próximos ao 1,2,4-oxadiazol daqueles presentes na fenila ligada ao grupo hidrazona. Os grupos CH₃, F, Cl, Br e NO₂ produzem espectros basicamente idênticos ao Espectro 22, enquanto que os grupos OCH₃ e OH deslocam os prótons em *meta* (H-2) com relação ao 1,2,4-oxadiazol para regiões de campo mais alto no espectro (Silverstein *et al.*, 1994). Os prótons H-5 e H-9 são fundamentais para a caracterização dos dois isômeros possíveis para cada membro da série. A

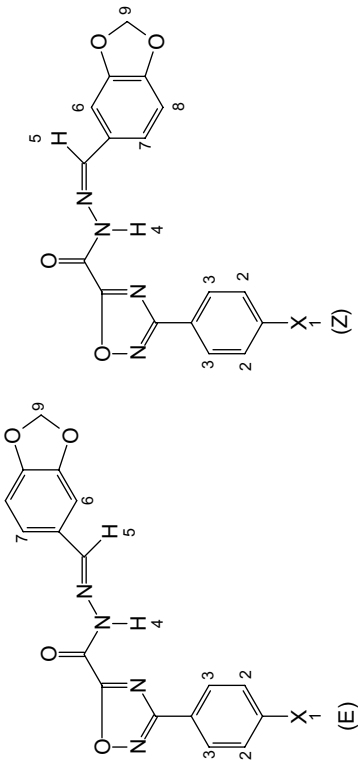
partir dos trabalhos de Karabatsos & Taller (1963), o próton H-5 pode ser utilizado como parâmetro no RMN¹H para identificar os isômeros (E) e (Z). Presume-se que o sinal do diastereômero (E) ressona em campo mais baixo e com maior intensidade do que o do diastereômero (Z), o qual tem deslocamento químico e intensidade menores. Esse desdobramento do sinal do próton H-9 se deve à mudança do ambiente químico produzida pela mudança estrutural de cada isômero e é facilmente identificado nos espectros de RMN¹H de compostos contendo o grupo hidrazona. O próton H-9 gera dois sinais de características idênticas aos do próton H-5, confirmando a presença da mistura isomérica na amostra. Constatou-se também que os prótons do anel fenílico (H-6, -7, -8) ligado à porção hidrazônica dessas substâncias geram sinais fracos na região de $\delta_H \sim 7,00$ ppm, fato este não observado em compostos análogos anteriormente estudados (Leite *et al.*, 1999).

O fenômeno de duplicação de prótons pela presença de isômeros (E) e (Z) em hidrazonas restringe-se apenas àqueles átomos de hidrogênio ligados direta ou indiretamente ao carbono da ligação N=C, favorecido pelo envolvimento da dupla ligação com o fenômeno de ressonância do anel benzênico. No entanto, até o momento, apenas a duplicação do próton H-5 havia sido observada nos trabalhos conduzidos com hidrazonas e acil-hidrazonas. Como a mudança de ambiente químico entre os isômeros (E) e (Z) não representa uma alteração muito intensa, o emprego de campos de até 200 MHz não se mostrou capaz de resolver o efeito da configuração para os demais prótons afetados por ele. Ao se aplicar um campo de 300 MHz, foi possível, pela primeira vez, confirmar o que já se esperava teoricamente, gerando um conjunto de sinais duplicados que, juntos, confirmam a estrutura proposta. A partir do próton H-4 da ligação N-H, não se verifica qualquer efeito da configuração sobre os sinais dos demais prótons no RMN¹H. Karabatsos & Osborne (1966) reforçaram estas observações por meio do estudo de hidrazonas contendo o grupo CH₃ no lugar do H na ligação N-H, confirmando que os prótons não são afetados quer esteja presente o isômero (E), quer o isômero (Z).

A Tabela 8 mostra os sinais de deslocamento referentes aos distereômeros (E) e (Z) nessa série. O isômero (E) representa a configuração mais estável e é aquela com maior participação na mistura, enquanto que a Tabela 9 enfatiza a percentagem de cada isômero, calculada a partir da integração dos picos gerados. Apenas os prótons H-5 e H-9 são usados para diferenciá-los, enquanto todos os valores para os prótons H-6, H-7 e H-8 são referentes ao composto em maior

proporção. Os Espectros 23, 24, 25 e 28 apresentam pico com $\delta_H = 3,50$ ppm referente ao dioxano, solvente usado na recristalização das amostras e não totalmente removido nesses casos.

Tabela 8 – Dados de RMN¹H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 e H-9 responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z)



δ (ppm)												
Composto	X	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5		H-6	H-7	H-8	H-9	
						(E)	(Z)				(E)	(Z)
M1C2	H	7,66-7,62 (m)	7,66-7,62 (m)	8,10 (dd)	12,62 (s)	8,54 (s)	<i>a</i>	7,32(d) J=1,5Hz	7,23(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,01(d) J=8,1Hz	6,11 (s)	6,02 (s)
M2C2	CH ₃	2,41 (s)	7,42(d) J=8,1Hz	7,99(d) J=8,4Hz	12,60 (s)	8,53 (s)	8,09 (s)	7,31(d) J=1,5Hz	7,22(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,01(d) J=8,1Hz	6,10 (s)	6,02 (s)
M5C2	Br	—	7,84(d) J=8,4Hz	8,03(d) J=8,4Hz	12,64 (s)	8,53 (s)	8,09 (s)	7,32(d) J=1,5Hz	7,22(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,01(d) J=8,1Hz	6,11 (s)	6,02 (s)
M7C2	OCH ₃	3,86 (s)	7,15(d) J=9,0Hz	8,04(d) J=9,0Hz	12,59 (s)	8,53 (s)	8,08 (s)	7,32(d) J=1,5Hz	7,22(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,01(d) J=7,8	6,11 (s)	6,02 (s)
M6C2	NO ₂	—	8,36(d) J=9,0Hz	8,46(d) J=9,0Hz	12,60 (s)	8,55 (s)	8,08 (s)	7,31(d) J=1,2Hz	7,24(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,01(d) J=8,1Hz	6,11 (s)	6,02 (s)
M3C2	F	—	7,46 (t)	8,17 (t)	12,63 (s)	8,53 (s)	8,10 (s)	7,32(d) J=1,5Hz	7,23(dd) J=1,5; J=8,1	7,02(d) J=7,8Hz	6,11 (s)	6,03 (s)
M4C2	Cl	—	7,70(d) J=8,7Hz	8,11(d) J=8,7Hz	12,64 (s)	8,53 (s)	<i>a</i>	7,32(d) J=1,5Hz	7,23(dd) J=1,5Hz; J=8,1Hz	7,02(d) J=7,8Hz	6,11 (s)	6,03 (s)
M29C3	OH	10,25 (s)	6,96(d) J=8,7Hz	7,93(d) J=8,4Hz	12,65 (s)	8,51 (s)	8,07 (s)	7,32(d) J=1,5Hz	7,22(dd) J=1,5Hz; J=8,0Hz	7,01(d) J=8,1Hz	6,10 (s)	6,02 (s)

^a Valores mascarados pelos prótons aromáticos

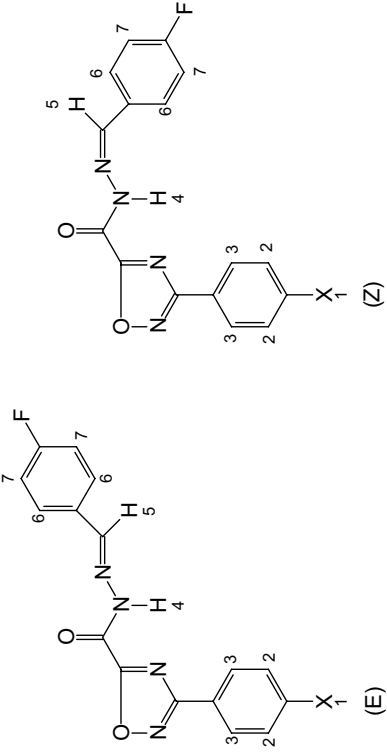
Tabela 9 – Dados de RMN¹H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 e H-9, em ppm, responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z) e suas respectivas percentagens na mistura

Composto	X	E			Z		
		H-5(ppm)	H-9(ppm)	% ^a	H-5(ppm)	H-9(ppm)	% ^a
M1C2	H	8,54	6,11	86,0	<i>b</i>	6,02	14,0
M2C2	CH ₃	8,53	6,10	88,0	8,09	6,02	12,0
M5C2	Br	8,53	6,11	87,0	8,09	6,02	13,0
M7C2	OCH ₃	8,53	6,11	85,0	8,08	6,02	15,0
M6C2	NO ₂	8,55	6,11	90,0	8,08	6,02	10,0
M3C2	F	8,53	6,11	86,0	8,10	6,03	14,0
M4C2	Cl	8,53	6,11	88,00	<i>b</i>	6,03	12,0
M29C3	OH	8,51	6,10	91,00	8,07	6,02	9,0

^a Valores médios obtidos a partir das integrações dos sinais de H-5 e H-9, quando disponíveis; ^b Valores mascarados pelos prótons aromáticos

Os espectros da série 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona mostraram-se similares aos dos análogos obtidos a partir de reação com piperonal, inclusive com o próton H-5 gerando dois sinais devido à presença de isômeros na mesma região anteriormente citada. O isômero (E), responsável pelo pico mais intenso, aparece em campo mais baixo, enquanto o seu diastereômero produz um sinal fraco em região de campo mais alto, em consonância com dados experimentais já relatados (Karabatsos & Oth, 1963; Karabatsos & Osborne, 1966; Leite *et al.*, 1999). O átomo de flúor ligado ao anel benzênico nessas substâncias provoca desdobramento maior dos sinais dos prótons do anel, uma vez que ele acopla com esses prótons na frequência de trabalho. Os sinais dos prótons fenílicos, nessa situação, sofrem uma duplicação com picos de pouca intensidade, indicando que, a exemplo do H-5, eles são afetados pelas duas configurações isoméricas. A Tabela 10 fornece os valores dos deslocamentos químicos dos compostos dessa série, com o H-5 identificando os isômeros (E) e (Z), enquanto a Tabela 11 estabelece a percentagem de cada constituinte na mistura, a partir das integrações obtidas nos Espectros 30-37.

Tabela 10 – Dados de RMN¹H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5 responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z)



Composto	X	δ (ppm)							
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5		H-6	H-7
						(E)	(Z)		
M15C3	H	7,65-7,63 (m)	7,65-7,63 (m)	8,11 (dd)	12,82 (s)	8,64 (s)	8,20 (s)	7,84 (dd)	7,33 (t)
M16C3	CH ₃	2,40 (s)	7,43(d) J=8,4Hz	7,98(d) J=8,4Hz	12,78 (s)	8,62 (s)	8,18 (s)	7,83 (dd)	7,32 (t)
M19C3	Br	—	7,86-7,81 (m)	8,04(d) J=8,4Hz	12,82 (s)	8,63 (s)	8,19 (s)	7,86-7,81 (m)	7,33 (t)
M21C3	OCH ₃	3,86 (s)	7,17(d) J=9,0Hz	8,04(d) J=9,0Hz	12,78 (s)	8,63 (s)	8,19 (s)	7,83 (dd)	7,33 (t)
M20C3	NO ₂	—	8,36(d) J=8,7Hz	8,47(dd) J=8,7Hz	12,89 (s)	8,64 (s)	8,20 (s)	7,84 (dd)	7,33 (t)
M17C3	F	—	7,48 (t)	8,16 (dd)	12,82 (s)	8,63 (s)	<i>a</i>	7,84 (dd)	7,33(t)
M18C3	Cl	—	7,71(d) J=8,7Hz	8,11(d) J=8,7Hz	12,83 (s)	8,63 (s)	8,20 (s)	7,83 (dd)	7,33 (t)
M32C3	OH	10,21 (s)	6,97(d) J=8,7Hz	7,94(d) J=8,4Hz	12,76 (s)	8,63 (s)	8,20 (s)	7,83 (dd)	7,33 (t)

^a Valores mascarados pelos prótons aromáticos

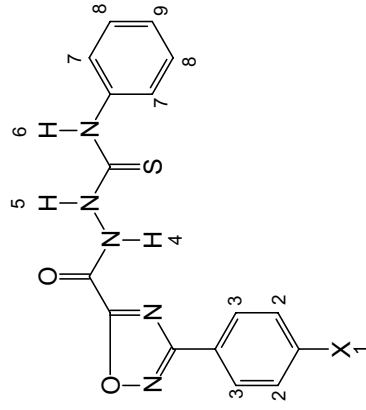
Tabela 11 – Dados de RMN¹H (300MHz) dos derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazonas, mostrando os valores dos sinais de H-5, em ppm, responsáveis pela identificação dos isômeros (E) e (Z) e suas respectivas percentagens na mistura

Composto	X	E		Z	
		H-5	%	H-5	%
M15C3	H	8,64	89,0	8,20	11,0
M16C3	CH ₃	8,62	89,0	8,18	11,0
M19C3	Br	8,63	91,0	8,19	9,0
M21C3	OCH ₃	8,63	91,0	8,19	9,0
M20C3	NO ₂	8,64	87,0	8,20	13,0
M17C3	F	8,63	—	<i>a</i>	—
M18C3	Cl	8,63	91,0	8,20	9,0
M32C3	OH	8,63	87,0	8,20	13,0

^a Valores mascarados pelos prótons aromáticos

Os espectros de RMN¹H dos derivados 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-feniltiossemicarbazida possuem três sinais gerados por prótons em ligação N–H que os caracterizam de forma definitiva. A partir da análise dos trabalhos de Albar e colaboradores (1996) e Omar e colaboradores (1996) foi possível identificar cada um desses três prótons e confirmar as estruturas dos compostos planejados. Na Tabela 12 encontram-se os valores obtidos a partir dos Espectros 38-42.

Tabela 12 – Dados de RMN¹H (300MHz) dos derivados 4-[3-(4-ari)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida



Composto	X	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9
FTSCF	H	7,65-7,63 (m)	7,65-7,63 (m)	8,09 (dd)	11,58 (s)	9,87 (s)	10,07 (s)	7,43-7,32 (m)	7,43-7,32 (m)	7,19(t) J=7,2Hz; J=7,2Hz
TTSCF	CH ₃	2,41 (s)	7,43(d) J=8,1Hz	7,98(d) J=8,1Hz	11,51 (s)	9,84 (s)	10,00 (s)	7,37-7,32 (m)	7,37-7,32 (m)	7,18(t) J=8,4Hz; J=7,2Hz
BTSCF	Br	—	7,85(d) J=8,4Hz	8,02(d) J=8,7Hz	11,54 (s)	9,83 (s)	10,01 (s)	7,44-7,32 (m)	7,44-7,32 (m)	7,18(t) J=7,5Hz; J=7,2Hz
MTSCF	OCH ₃	3,86 (s)	7,17(d) J=9,0Hz	8,03(d) J=9,0Hz	11,49 (s)	9,84 (s)	9,99 (s)	7,45-7,32 (m)	7,45-7,32 (m)	7,18 (t)
NTSCF	NO ₂	—	8,35(d) J=9,0Hz	8,48(d) J=9,0Hz	11,67 (s)	9,85 (s)	10,10 (s)	7,43-7,32 (m)	7,43-7,32 (m)	7,19(t) J=7,2Hz; J=7,2Hz

A caracterização das três séries sintetizadas foi concluída com a análise de seus espectrogramas de massa. Os picos do íon molecular para cada um dos derivados foram observados com maior ou menor intensidades, confirmando as estruturas propostas.

A fragmentação dos compostos 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona e 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona mostrou picos em concordância com os trabalhos de Selva e colaboradores (1972, 1974), os quais estudaram os mecanismos de quebra das estruturas de 1,2,4-oxadiazóis dissustituídos sob impacto eletrônico e constataram que o mecanismo envolve 1,3-retroadição do heterociclo. As rupturas desse heterociclo propostas pelos autores foram observadas nas duas séries sintetizadas, com clivagens características e compatíveis, além da presença de fragmentos contendo o grupo nitrila e óxido de nitrila observados por Dürüst & Dürüst (1992). Quebras envolvendo as ligações CO–N e N–N com rearranjos simultâneos de hidrogênio produzem picos fundamentais nos espectrogramas desses análogos (Kingston & Tannembaum, 1970).

Os espectrogramas da série 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona possuem como picos mais intensos aqueles oriundos de clivagens em torno das ligações dos grupos CO–N e N–N. Os fragmentos m/z 147 e m/z 134 são normalmente os mais intensos e rupturas em torno do anel 1,2,4-oxadiazol geram picos de intensidade baixa. Na Figura 7 encontram-se as fragmentações propostas para o composto M1C2, estando toda a série submetida ao mesmo tipo de modelo. A Tabela 13 traz os valores dos principais fragmentos gerados para cada composto com suas respectivas intensidades, relacionando-os com o tipo de quebra observada na Figura 7, a partir dos Espectros 43-50.

Figura 7 - Fragmentação do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)

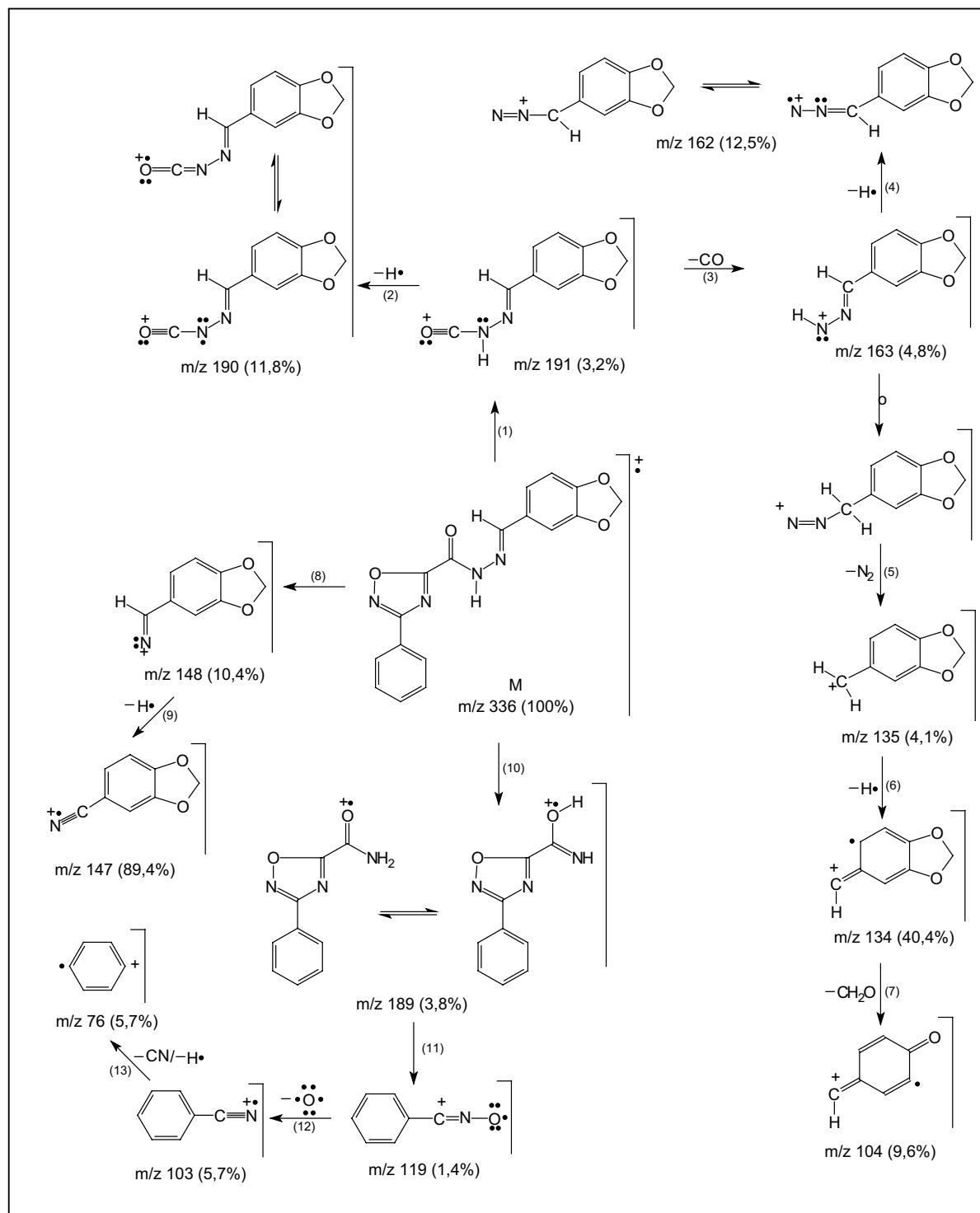
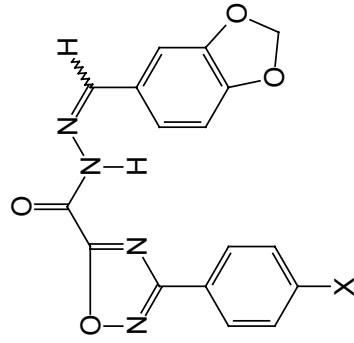


Tabela 13 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-*il*] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona relacionados às quebras propostas na Figura 7



Íons m/z (%)															
Fragmentações															
Composto	X	M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
M1C2	H	336 (100)	191 (3,2)	190 (11,7)	163 (4,8)	162 (12,5)	135 (4,1)	134 (40,4)	104 (9,6)	148 (10,4)	147 (89,4)	189 (3,8)	119 (1,4)	103 (5,7)	76 (5,7)
M2C2	CH ₃	350 (100)	191 (4,0)	190 (8,7)	163 (4,6)	162 (11,2)	135 (3,9)	134 (32,1)	104 (6,5)	148 (7,7)	147 (67,6)	203 (12,0)	133 (4,9)	117 (4,9)	76 (4,4)
M5C2	Br	415 (23,8)	191 (4,0)	190 (16,8)	163 (4,7)	162 (13,7)	135 (4,2)	134 (38,9)	104 (7,1)	148 (11,8)	147 (100)	267 (4,4)	197 (3,0)	181 (2,3)	76 (6,4)
M7C2	OCH ₃	366 (100)	191 (7,0)	190 (9,1)	163 (4,0)	162 (12,2)	135 (4,1)	134 (33,2)	104 (7,0)	148 (38,8)	147 (54,4)	219 (8,0)	149 (8,0)	133 (22,4)	76 (4,4)
M6C2	NO ₂	381 (73,5)	191 (7,4)	190 (21,6)	163 (3,8)	162 (12,1)	135 (3,9)	134 (38,4)	104 (6,7)	148 (12,7)	147 (100)	—	164 (1,2)	148 (12,7)	76 (6,2)
M3C2	F	354 (100)	191 (3,7)	190 (11,6)	163 (8,8)	162 (16,7)	135 (7,4)	134 (37,5)	104 (5,6)	148 (10,6)	147 (94,6)	207 (2,7)	137 (3,0)	121 (5,9)	76 (6,2)
M4C2	Cl	370 (89,5)	191 (4,0)	190 (13,8)	163 (5,3)	162 (13,8)	135 (5,3)	134 (38,4)	104 (6,7)	148 (12,2)	147 (100)	223 (4,2)	153 (2,2)	137 (5,8)	76 (5,6)
M29C3 ^a	OH	352 (7,26)	191 (9,5)	190 (6,9)	163 (6,6)	162 (13,8)	135 (11,4)	134 (79,0)	104 (15,5)	148 (11,0)	147 (56,7)	205 (30,9)	135 (11,4)	—	76 (14,4)

^a O pico base ocorre em m/z=351, por perda de um próton, num mecanismo específico

Os derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona apresentaram um padrão de fragmentação na espectrometria de massa idêntico à série análoga anterior, porém, com duas particularidades: primeiro, o pico do íon molecular é pouco intenso, sendo observado o íon M-1, às vezes mais intenso, resultante da perda de um átomo de hidrogênio pelo nitrogênio ligado à carbonila; segundo, os picos mais intensos, desta feita, normalmente envolvem fragmentações do anel 1,2,4-oxadiazol, ao contrário do que aconteceu nos derivados acil-hidrazona do piperonal. O pico base de todos os compostos, à exceção de M15C3, é resultante de um rearranjo de McLafferty envolvendo a porção acil-hidrazona. O mecanismo das fragmentações nesse caso (Figura 8) é basicamente o mesmo observado na Figura 7 e foi desenvolvido para o derivado M15C3. Todos os picos seguem um mesmo padrão nos Espectrogramas 51-58 e estão compilados na Tabela 14, seguindo a sequência de quebras propostas.

Figura 8 - Fragmentação do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)

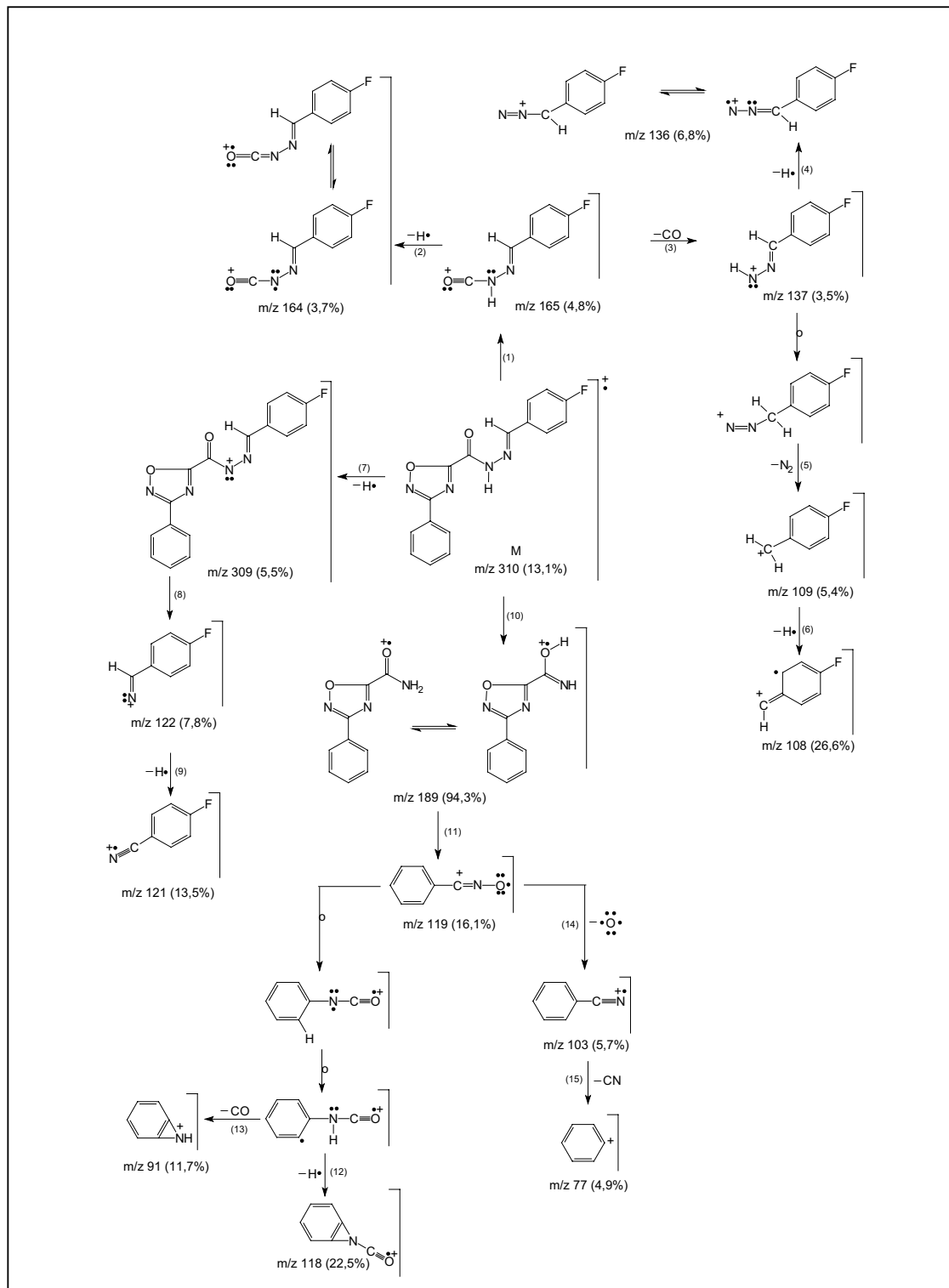
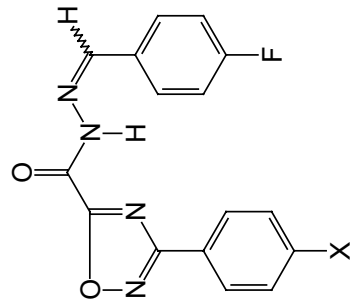


Tabela 14 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona relacionados às quebras propostas na Figura 8



		Íons m/z (%)															
		Fragmentações															
Composto	X	M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M15C3	H	310 (13,1)	165 (4,8)	164 (3,7)	137 (3,5)	136 (6,8)	109 (5,4)	108 (26,6)	309 (5,5)	122 (7,8)	121 (13,5)	189 (94,3)	119 (16,1)	118 (22,5)	91 (11,7)	103 (100)	77 (4,9)
M16C3	CH ₃	324 (1,9)	165 (1,7)	—	—	136 (1,6)	109 (2,1)	108 (8,7)	323 (11,8)	122 (1,5)	121 (1,7)	203 (100)	133 (11,0)	132 (27,5)	105 (1,6)	117 (11,1)	91 (8,7)
M19C3	Br	388 (6,4)	165 (1,80)	—	137 (1,2)	136 (1,7)	109 (1,9)	108 (9,4)	387 (6,9)	122 (2,5)	121 (3,6)	267 (100)	197 (11,4)	196 (10,6)	—	181 (9,6)	—
M21C3	OCH ₃	—	165 (3,0)	—	—	136 (1,4)	109 (1,9)	108 (7,0)	339 (22,4)	122 (1,8)	121 (1,8)	219 (100)	149 (11,6)	148 (72,3)	121 (1,8)	133 (36,4)	107 (6,1)
M20C3	NO ₂	355 (6,0)	165 (4,4)	164 (4,2)	137 (6,0)	136 (18,7)	109 (6,5)	108 (36,7)	354 (30,5)	122 (46,4)	121 (71,1)	234 (100)	164 (4,2)	163 (5,9)	136 (18,7)	148 (12,9)	122 (46,4)
M17C3	F	328 (7,0)	165 (4,6)	164 (8,9)	137 (29,8)	136 (29,1)	109 (14,5)	108 (23,6)	327 (4,1)	122 (28,5)	121 (83,0)	207 (100)	137 (29,8)	136 (29,1)	109 (14,5)	121 (83,0)	95 (2,7)
M18C3	Cl	344 (3,8)	165 (1,2)	—	137 (18,0)	136 (1,8)	109 (1,5)	108 (8,4)	343 (8,7)	122 (2,1)	121 (3,0)	223 (100)	153 (14,5)	152 (12,6)	125 (3,0)	137 (18,0)	—
M32C3	OH	326 (13,5)	165 (6,5)	—	137 (2,1)	136 (4,0)	109 (5,5)	108 (25,3)	325 (3,0)	122 (6,1)	121 (8,2)	205 (100)	135 (14,6)	134 (59,4)	107 (23,0)	119 (22,4)	93 (1,9)

Por fim, analisaram-se os espectrogramas de massa dos derivados 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida, fornecendo fragmentações tanto do anel 1,2,4-oxadiazol como da porção tiossemicarbazida, todas produzindo picos importantes para a identificação estrutural dessas substâncias. Quebras envolvendo o anel heterocíclico ocorrem por dois mecanismos distintos, ambos envolvendo 1,3-retroadição (Selva *et al.*, 1972, 1974; Dürüst & Dürüst, 1992). Fragmentos de composição $\text{ArN}=\text{C}=\text{N}-\text{H}$, resultantes de um rearranjo após a clivagem do heterociclo, podem ser observadas também por meio da ruptura de ligações N–N e rearranjos de hidrogênio. As rupturas de ligações CO–N, CH–N e N–N geram picos intensos a m/z 135 e m/z 93, característicos para fenil-tiossemicarbazida (Lynch & McClenaghan, 2000). Uma clivagem interessante ocorreu entre a ligação da carbonila com o heterociclo, gerando um pico a m/z 145 para o composto FTSCF, e picos correspondentes nos demais membros da série, em função do substituinte X. O esquema de fragmentações de FTSCF sob impacto eletrônico é visto na Figura 9 e serve de modelo para todos os demais derivados. Na Tabela 15 foram descritos os valores de cada fragmento com base na Figura 9 e no tipo de substituinte X presente, de acordo com os Espectrogramas 59-63.

Figura 9 - Fragmentação do composto 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-feniltiossemicarbazida (FTSCF)

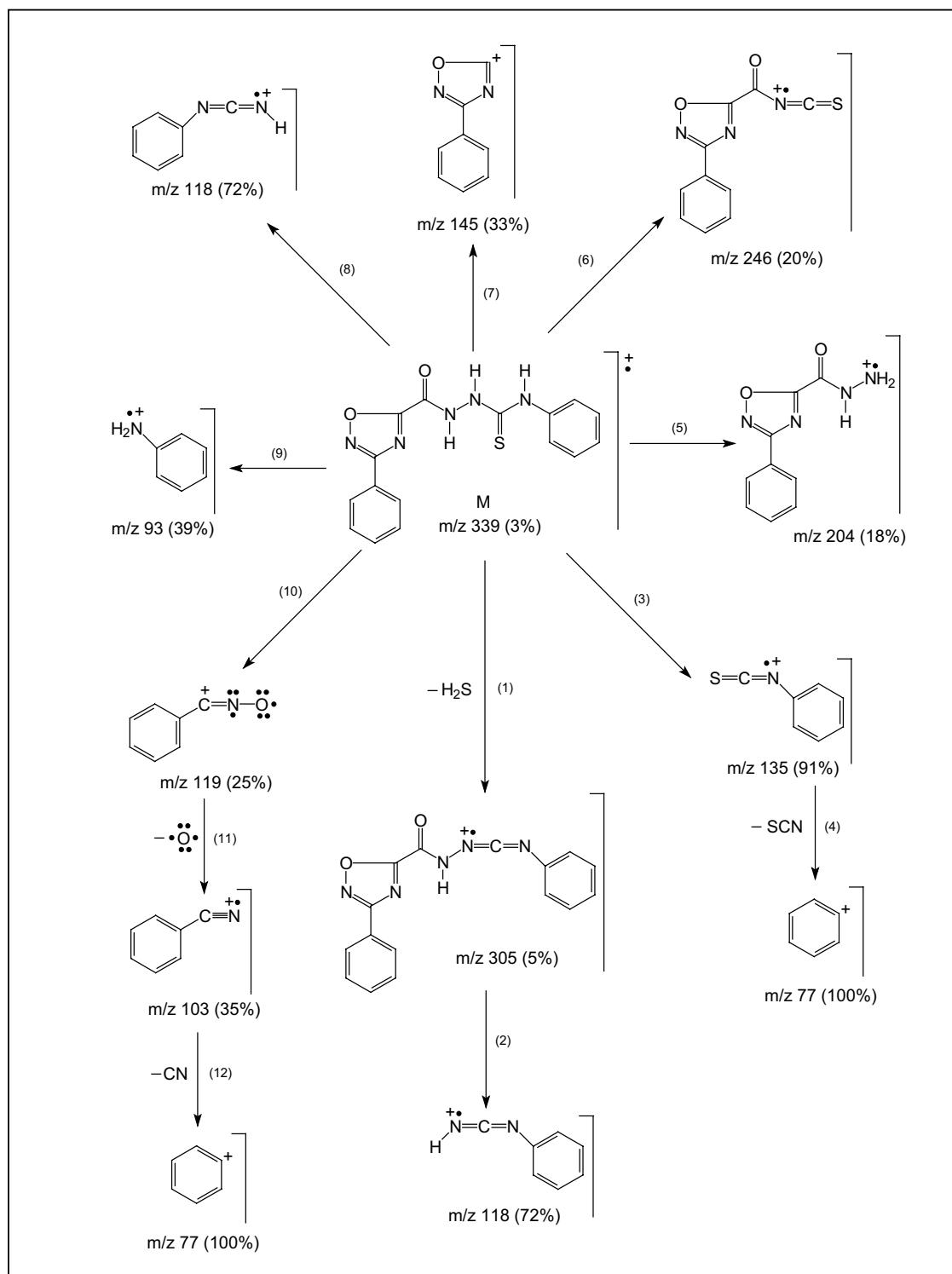
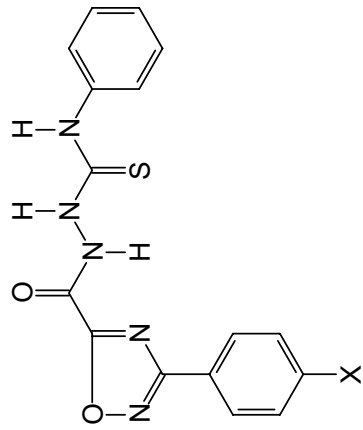


Tabela 15 - Abundância relativa dos fragmentos dos derivados 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida relacionados às quebras propostas na Figura 9



		Íon m/z (%)												
		Fragmentações												
Composto	X	M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
FTSCF	H	339 (11,0)	305 (5,0)	118 (72,0)	135 (91,0)	77 (100)	204 (18,0)	246 (20,0)	145 (33,0)	118 (72,0)	93 (39,0)	119 (25,0)	103 (35,0)	77 (100)
TTSCF	CH ₃	353 (3,0)	319 (8,0)	118 (15,0)	135 (100)	77 (72,0)	218 (15,0)	260 (5,0)	159 (21,0)	132 (93,0)	93 (17,0)	133 (21,0)	117 (24,0)	91 (37,0)
BTSCF	Br	417 (3,0)	383 (6,0)	118 (6,0)	135 (100)	77 (74,0)	282 (7,0)	324 (2,0)	223 (7,0)	196 (36,0)	93 (23,0)	197 (11,0)	181 (11,0)	155 (6,0)
MTSCF	OCH ₃	369 (1,0)	335 (4,0)	118 (5,0)	135 (82,0)	77 (57,0)	234 (12,0)	276 (3,0)	175 (6,0)	148 (100)	93 (12,0)	149 (16,0)	133 (43,0)	107 (2,0)
NTSCF	NO ₂	384 (1,0)	350 (5,0)	118 (13,0)	135 (100)	77 (62,0)	249 (21,0)	291 (6,0)	190 (14,0)	163 (20,0)	93 (15,0)	164 (20,0)	148 (3,0)	—

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

5. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

O esforço mundial na busca de novas drogas capazes de agir sobre os sistemas biológicos e reduzir a incidência das mais diversas enfermidades sobre a humanidade encontra nesse trabalho mais uma contribuição para o avanço da Química Medicinal. A combinação do grupo 1,2,4-oxadiazol com as porções acil-hidrazona e acil-tiossemicarbazida estabeleceu as relações bioisotéricas que nortearam o planejamento e a síntese dos 21 novos derivados estudados. Dessa forma, foi possível ampliar o espectro de substâncias disponíveis para o estudo da atividade antimicrobiana, tendo em mente que os três grupos têm sido relatados como farmacóforos responsáveis por esse tipo de resposta biológica exibida em outros compostos nos quais eles são constituintes estruturais. Ampliando o caráter inovador dessa pesquisa, foi introduzida uma nova frente de estudo, a avaliação da atividade antimalárica dos derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona, 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona e 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida.

O foco central dos ensaios antimicrobianos consistiu em avaliar o resultado que adviria da combinação do grupo 1,2,4-oxadiazol com a acil-hidrazona e com a acil-tiossemicarbazida, os quais, conforme visto anteriormente, estão associados à resposta antimicrobiana de substâncias que os contêm em sua estrutura. O planejamento bioisotérico das três séries estudadas nesse trabalho baseou-se na perspectiva de que esses compostos, por possuírem simultaneamente em sua molécula dois farmacóforos ativos contra microorganismos, conduziram a substâncias antimicrobianas especialmente potentes. Esse é um conceito recente dentro do bioisoterismo e tem guiado o esforço despendido em diversos trabalhos, na expectativa de que possa dar origem a novos protótipos aplicáveis no combate de uma série de doenças.

Por outro lado, a introdução dos derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida como substâncias antimaláricas resultou de uma parceria com o Laboratório de Química Medicinal da Universidade do Mississippi, Estados Unidos, cuja equipe vem buscando encontrar novas substâncias-protótipo no combate ao *P. falciparum*. Nesse sentido, deseja-se avaliar o efeito de moléculas que não possuam os clássicos grupos

farmacofóricos ativos contra o protozoário, cujas incontáveis modificações estruturais já dão sinal de esgotamento no efetivo controle da doença.

5.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.1.1 EQUIPAMENTOS E VIDRARIA

- Balança analítica E. Mettler
- Balança semi-analítica modelo P115, Kern
- Autoclave Fanem
- Estufa incubadora para BOD modelo 347F, Fanem
- Potenciômetro B395, Micronal
- Câmera de fluxo laminar vertical modelo PA 410, Pachane
- Forno microondas modelo Giropratic, Panasonic
- Estufa de cultura modelo 002 CB, Fanem
- Micropipeta automática P 100, Gilson Medical Electronics
- Pipetas graduadas de 10 e 25 mL
- Parotítone
- Tubos de ensaio rosqueados
- Placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro
- Erlenmeyers de 125, 250 e 500 mL
- Balões de fundo chato de 250 e 500 mL
- Balões volumétricos de 10 mL
- Provetas de 100 e 1000 mL

5.1.2. MEIOS DE CULTURA E DROGAS

- Meio de cultura Mueller-Hinton
- Ágar-ágar
- Meio de cultura peptona de carne
- D(+)-glicose
- Solução de HCl 1N
- Tetra-hidro-furano (THF)
- Ciprofloxacina Bayer-Pharma
- Ciclo-heximida Sigma
- Derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona
- Derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona
- Derivados 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida

5.1.3. PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

O meio de Mueller-Hinton-ágar (MHA) foi preparado segundo as especificações do fabricante, transcritas abaixo:

Meio Mueller-Hinton.....21g/1000mL de água

Ágar-ágar.....15g/1000mL de água

O meio líquido Mueller-Hinton (MH) segue a mesma proporção, retirando-se o ágar. Após dissolverem-se os sólidos em água destilada estéril, as suspensões foram levadas à fervura em microondas, sob potência média baixa, para promover sua homogeneização completa. Em

seguida, os meios foram transferidos para erlenmeyers tamponados e esterilizados em autoclave sob pressão de 1 atmosfera e temperatura de 121°C por 15 minutos.

O meio sólido de Sabouraud (SAB) foi preparado também de acordo com as recomendações do fabricante:

Peptona de carne.....	10g/1000mL de água
D(+)-glicose.....	20g/1000mL de água
Ágar-ágar.....	17g/1000mL de água

O meio SAB líquido foi obtido com a exclusão do ágar na formulação. Antes de promover a homogeneização e esterilização do meio SAB, seu pH foi ajustado a 6,5 com HCl 1N, valor ideal para favorecer o crescimento das leveduras. A esterilização seguiu os mesmos parâmetros usados para o meio MH.

5.1.4 METODOLOGIA DO TESTE ANTIMICROBIANO

O ensaio de susceptibilidade antimicrobiana foi realizado pelo método clássico de Bauer e colaboradores (1966), no qual discos de papel de filtro, impregnados com solução de concentração conhecida das drogas a serem avaliadas, são depositados sobre a superfície úmida de um meio de cultura apropriado, onde foi previamente semeado o microorganismo de interesse. A base do método consiste na difusão da substância que se encontra no disco pela superfície do ágar, radialmente, e o resultado da atividade é observado como uma região circular na qual não ocorreu crescimento do microorganismo devido à ação da droga sobre ele. A medida do diâmetro do chamado halo de inibição do crescimento indica o poder antimicrobiano da droga.

Inicialmente, o ensaio foi conduzido com bactérias e foi observado seu comportamento ante os derivados 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona, 3-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona e 4-[3-(4-aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] acil-1-fenil-tiossemicarbazida. Algumas das cepas usadas foram isoladas de pacientes da clínica

médica e outras estão presentes na coleção do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Nesta metodologia foram incluídas também duas leveduras comumente associadas a processos infecciosos. O Quadro 4 relaciona todos os microorganismos submetidos ao teste, incluindo as condições de tempo e temperatura para o crescimento dos mesmos.

Quadro 4 - Relação de microorganismos submetidos ao ensaio de Bauer e colaboradores (1966) e condições de crescimento

Microorganismo	Código	Tipo	Temperatura de crescimento (°C)	Tempo de crescimento (h)
<i>Staphylococcus aureus</i>	IC ^a 155	Bactérias	37	24
<i>Bacillus cereus</i>	DAUFPE ^b 11	Gram-positivas		
<i>Mycobacterium phlei</i>	ATCC ^c 11758	Bacilos Álcool-ácido	37	72
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	IC 11			
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	IC 05	Resistentes		
<i>Escherichia coli</i>	DAUFPE 224	Bactérias	37	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DAUFPE 39	Gram-negativas		
<i>Candida albicans</i>	DAUFPE 1007	Leveduras	30	24
<i>Candida krusei</i>	DAUFPE 1002			

^aIsolado clínico; ^bColeção de culturas do Deptº. de Antibióticos da UFPE; ^cAmerican Type Culture Collection

O primeiro passo consistiu em inocular cada bactéria em meio líquido de Mueller-Hinton (MH) estéril, para promover o crescimento de uma cultura adequada ao trabalho. Os meios foram incubados nas condições especificadas no Quadro 4.

A preparação das soluções dos derivados 1,2,4-oxadiazol acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol acil-tiossemicarbazida foi feita utilizando tetra-hidro-furano (THF) como solvente. A concentração final das soluções foi de 2560 µg/mL. A partir delas, foram retiradas alíquotas de

20 µL de cada, com o auxílio de uma micropipeta, as quais foram depositadas em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro e peso $30 \text{ mg} \pm 4 \text{ mg/cm}^2$, de forma que cada disco contivesse 51,2 µg do composto a ser testado. O padrão antibiótico usado para bactérias foi uma solução de ciprofloxacina a 1280 µg/mL, da qual também foram tomadas alíquotas de 20 µL para impregnar os discos necessários para a realização do teste. Discos contendo apenas THF foram usados como padrão de controle. Todos os discos de papel foram secos em estufa a 30°C por 24 horas e guardados em placas de Petri, a fim de garantir a remoção total dos solventes.

A preparação das placas de Petri contendo o meio sólido de Mueller-Hinton (MHA) foi realizada previamente. Para cada microorganismo foram necessárias três placas de 9,0 cm de diâmetro, sendo depositados 18 mL do meio fundido em cada uma. Durante a solidificação do meio, as placas foram mantidas sob luz UV por 15 minutos e incubadas em estufa BOD por 24 horas para detectar qualquer contaminação. Em seguida, foram armazenadas em refrigerador, onde permaneceram por, no máximo, uma semana.

Após o desenvolvimento das culturas das bactérias nos tubos de ensaio, foi preparada uma suspensão padrão de cada uma delas, transferindo pequenas alíquotas de cultura para tubos de ensaio contendo água destilada estéril, até que se observasse uma turbidez da suspensão bacteriana semelhante à turbidez padrão do tubo 0,5 da escala de McFarland. Nessas condições, a população microbiana foi padronizada em cerca de 10^8 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL). Todos esses processos foram conduzidos em capela de fluxo laminar, próximo à chama do bico de Bunsen. A técnica asséptica é fundamental para o sucesso do teste.

Por fim, com o auxílio de um swab umedecido com a suspensão padronizada do microorganismo, foi realizado um semeio uniforme sobre a superfície do meio sólido MHA. Em cada placa foram depositados quatro discos contendo compostos diferentes. As placas foram incubadas e os resultados foram lidos pela formação de halo de inibição de crescimento em torno do disco. Cada teste foi realizado em tréplica a fim de garantir a exatidão do resultado.

A mesma técnica foi seguida no teste para leveduras, permutando apenas os meios usados. O crescimento das leveduras foi realizado em meio líquido de Sabouraud (SAB) e as placas foram preparadas com o meio sólido Sabouraud. O crescimento das leveduras exigiu, nesse caso, que o pH dos meios de cultura fossem ajustados para 6,5 com solução de HCl 1N. O padrão antibiótico usado no ensaio para leveduras foi uma solução de ciclo-heximida a 1280 µg/mL,

com a qual foram preparados discos contendo 20 µL dessa solução. Cada ensaio foi repetido três vezes.

5.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os derivados 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona, 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona e 4-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida mostraram-se inativos frente a todos os microorganismos utilizados neste experimento.

Esse resultado sugere que, nas condições do ensaio, a associação entre os grupos 1,2,4-oxadiazol/acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol/acil-tiossemicarbazida conduziu a moléculas incapazes de interagir com as biomacromoléculas presentes nas membranas celulares e/ou no interior das células microbianas, levando a um efeito inverso daquele esperado quando do planejamento dessa nova estratégia de modificação bioisostérica. Não se pode generalizar que o tipo de associação bioisostérica proposta é ineficaz, pois o teste é apenas preliminar. Além disso, a influência dos grupos disponíveis para substituição nas porções hidrazona e tiossemicarbazida necessita ser estudada de forma mais completa, uma vez que a inclusão de anéis heterocíclicos ou de cadeias acíclicas não foi avaliada, até o momento, o que pode conduzir a mais estudos de modificação molecular capazes de surtir o efeito desejado contra microorganismos. Os ensaios antimicrobianos foram conduzidos nas dependências do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Microorganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, sob a orientação da professora doutora Eulália de Azevedo Ximenes.

A metodologia de Bauer e colaboradores, embora útil, não fornece subsídios para uma análise mais criteriosa e seria ideal realizar testes de atividade *in vitro* por métodos enzimáticos, os quais podem indicar em que etapa do desenvolvimento dos microorganismos as substâncias podem atuar. O problema da baixa solubilidade em água dos derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida também necessita ser avaliado, uma vez que

interfere diretamente na resposta biológica. Para tanto, seria necessário realizar modificações isostéricas com a inclusão de grupos capazes de aumentar a solubilidade dos compostos.

5.2. ATIVIDADE ANTIMALÁRICA

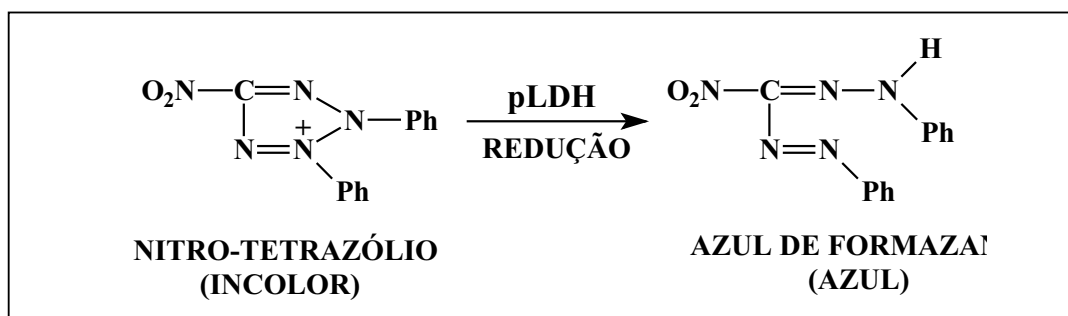
5.2.1. METODOLOGIA DO TESTE ANTIMALÁRICO

O ensaio antimalárico *in vitro* foi conduzido segundo a metodologia de análise da enzima lactato desidrogenase do parasita (pLDH), desenvolvida por Makler e colaboradores (1993) e realizado no Laboratório de Química Medicinal da Universidade do Mississippi, Estados Unidos, sob a orientação do professor doutor Mitchel Avery. Nesse teste foram avaliadas as concentrações inibitórias dos compostos sobre duas linhagens de *Plasmodium falciparum* geneticamente modificados: as cepas cloroquina-sensíveis D6-Serra Leoa e as cepas cloroquina-resistentes W2-Indochina. As culturas dos parasitas foram mantidas em suspensão de eritrócitos dos tipos A, AB ou O e soro, segundo a metodologia de Trager e Jenson (1976).

A primeira etapa do teste consistiu em preparar uma suspensão de 1-2% de hemácias humanas do tipo A normal (2% de hematócritos) com soro humano do tipo A. As suspensões foram disponibilizadas em triplicata e distribuídas em 96 cavidades de microplacas, contendo 0,2 mL por cavidade. A atividade antimalárica dos compostos foi testada em três diferentes concentrações padronizadas pelo método usado: 4760, 1587 e 528,8 ng/mL. Os meios de cultura foram inoculados com as cepas de *P. falciparum* e as substâncias sob investigação foram adicionadas ao meio e incubados a 37°C por 48 horas em atmosfera contendo 3% de O₂, 6% de CO₂ e 91% de N₂.

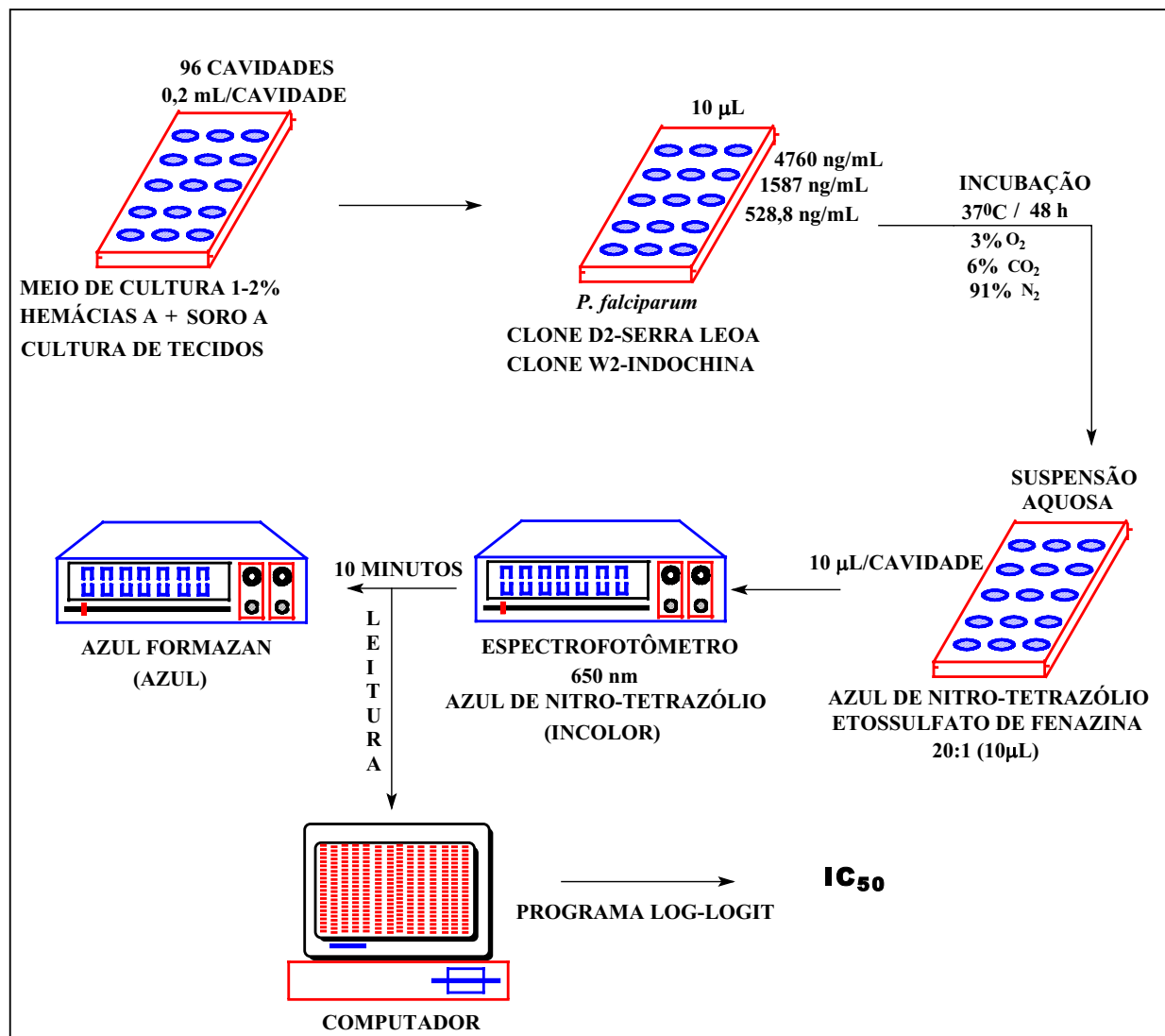
Após a incubação, as culturas foram cuidadosamente postas em suspensão aquosa e alíquotas de 10 µL foram retiradas para o teste de atividade da pLDH, sendo transferidas para outra microplaca contendo 96 cavidades. A cada cavidade foram adicionados 20 µL de uma mistura 20:1 de azul de nitro-tetrazólio e etossulfato de fenazina (1mg/mL e 0,05 mg/mL,

respectivamente). A redução do nitro-tetrazólio ao sal de azul formazan pela enzima (Esquema 10) foi acompanhada durante 10 minutos em espectrofotômetro a 650 nm.



Esquema 10 – Reação de redução enzimática do nitro-tetrazólio a azul de formazan

A variação de coloração durante a leitura depende da quantidade de pLDH produzida pelo protozoário na incubação. Assim, caso a substância avaliada seja ativa, a quantidade de pLDH produzida pelos clones deverá ser reduzida, provocando mudança na intensidade da coloração observada. Os resultados da análise espectrofotométrica foram analisados pelo método Log-Logit, usando o software Softmax™ (Molecular Devices), o qual converte diretamente os dados para valores da concentração inibitória de crescimento de 50% dos protozoários (IC₅₀), mostrando em que concentração a droga apresenta atividade biológica. O Esquema 11 mostra o fluxograma do teste antimalárico.



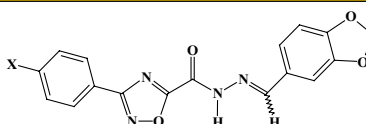
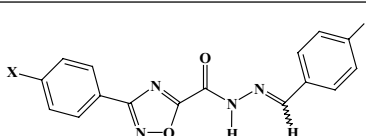
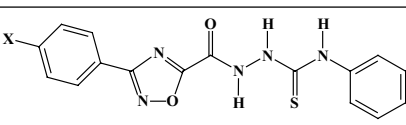
Esquema 11 – Esquematização do teste antimalárico

5.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O parâmetro de atividade antimalárica para o teste estabelece o valor da concentração da droga em 4760 ng/mL como o limite máximo permitido para considerá-la ativa contra as duas linhagens de *P. falciparum* usadas. O teste é estatístico e mede a IC₅₀, levando em consideração

também o fato de que a droga só poderá ser usada nos pacientes em doses limitadas. Como os protozoários são organismos eucariontes, seus processos metabólicos celulares são semelhantes aos das células do hospedeiro, portanto, as drogas usadas no tratamento da malária têm efeitos adversos também para os pacientes e devem ter suas concentrações restritas no organismo. Valores de concentração que oscilem ligeiramente em torno desse limite são aceitos como indicativos de que a droga está no limiar da atividade/inatividade e indicam compostos para os quais modificações estruturais podem ter sucesso na melhoria de sua resposta biológica. As drogas usadas como padrão antimalarial foram a cloroquina e a artemisinina, antimaláricos clássicos. Para os 21 derivados testados, os resultados estão compilados na Tabela 16.

Tabela 16 - Atividade antimalárica para os derivados 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona, 3-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona e 4-[3-(4-*aril*)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida

		Concentração Inibitória a 50% (ng/mL)	
			
Composto	X	<i>P. falciparum</i> (D6-Serra Leoa)	<i>P. falciparum</i> (W2-Indochina)
M1C2	H	Inativo	Inativo
M2C2	CH ₃	Inativo	Inativo
M3C2	F	Inativo	Inativo
M4C2	Cl	Inativo	Inativo
M5C2	Br	Inativo	Inativo
M6C2	NO ₂	Inativo	Inativo
M7C2	OCH ₃	Inativo	Inativo
M29C3	OH	Inativo	Inativo
			
Composto	X	<i>P. falciparum</i> (D6-Serra Leoa)	<i>P. falciparum</i> (W2-Indochina)
M15C3	H	Inativo	Inativo
M16C3	CH ₃	± 4760	± 4760
M17C3	F	Inativo	Inativo
M18C3	Cl	Inativo	Inativo
M19C3	Br	Inativo	± 4760
M20C3	NO ₂	Inativo	Inativo
M21C3	OCH ₃	Inativo	Inativo
M32C3	OH	Inativo	Inativo
			
Composto	X	<i>P. falciparum</i> (D6-Serra Leoa)	<i>P. falciparum</i> (W2-Indochina)
FTSCF	H	Inativo	Inativo
TTSCF	CH ₃	Inativo	Inativo
BTSCF	Br	Inativo	Inativo
NTSCF	NO ₂	Inativo	Inativo
MTSCF	OCH ₃	Inativo	Inativo
Composto		<i>P. falciparum</i> (D6-Serra Leoa)	<i>P. falciparum</i> (W2-Indochina)
Cloroquina		17	135
Artemisinina		17	7

Apenas os derivados 3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3) e 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3) apresentaram resposta biológica contra o protozoário, situando-se no limiar da atividade/inatividade. Embora esse resultado represente baixa atividade, ele aponta no sentido de que novas modificações moleculares baseadas nesses derivados possivelmente podem conduzir a respostas biológicas melhores. A manutenção da associação dos grupos 1,2,4-oxadiazol e acil-hidrazona no planejamento e síntese de novos derivados pode ser estudada mais amplamente, a fim de verificar seu papel nas pesquisas de novos agentes antimaláricos. As substituições envolvendo os ligantes X podem ser conduzidas especialmente para alterar a solubilidade dos derivados, quer através do emprego de novos grupos mais hidrofílicos, quer pela mudança de suas posições no anel. O átomo de flúor presente em toda a série também pode ser substituído por outros grupos isósteros e os resultados dessas substituições podem ser estudados para compreender o mecanismo pelo qual os derivados (M16C3) e (M19C3) forneceram os resultados observados.

ESTUDO COMPUTACIONAL

6. ESTUDO COMPUTACIONAL

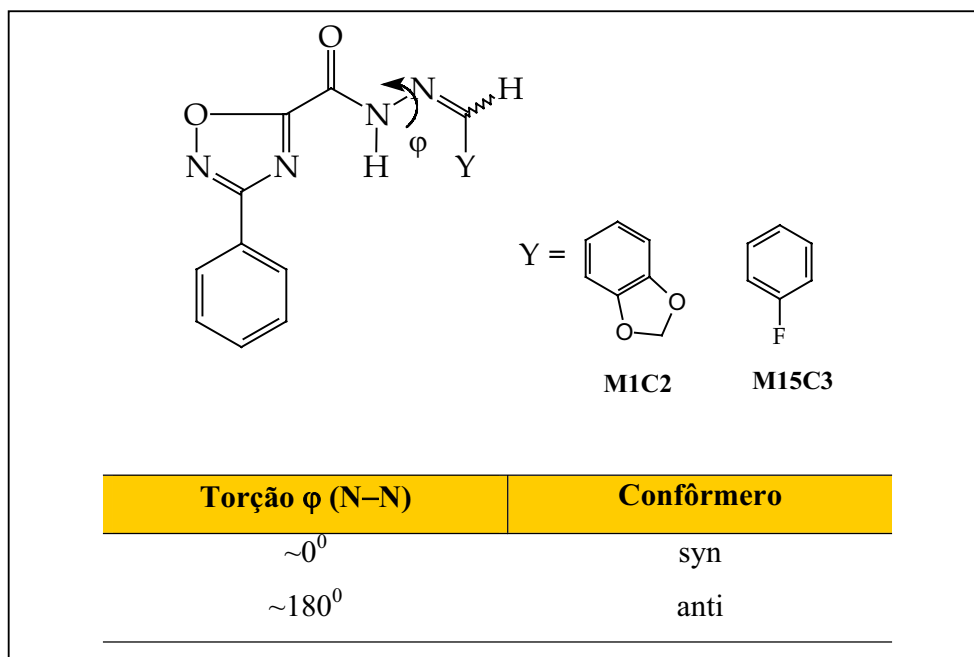
6.1. METODOLOGIA COMPUTACIONAL

Em vistas a avaliar a estabilidade relativa entre os isômeros configuracionais (E) e (Z), além dos isômeros conformacionais obtidos pela rotação em torno da ligação N–N (Figuras 10 e 11) para os compostos 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2) e 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3) (Quadro 5), cálculos de orbitais moleculares *ab initio* a nível Hartree-Fock (Levine, 1991), utilizando o conjunto de funções de base 3-21G** (Dobbs & Hehre, 1987), foram realizados com o programa Gaussian 94 (Frisch *et al.*, 1995) para obter a geometria otimizada dos derivados. Esta etapa foi realizada pelo colaborador externo deste trabalho, o professor João Bosco Paraíso da Silva do Departamento de Química Fundamental da UFPE.

6.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A otimização da geometria conduziu a quatro estruturas de mínimo de energia para cada um dos compostos (M1C2) e (M15C3). Inicialmente, determinou-se a configuração mais estável, em termos dos isômeros (E) e (Z), sendo, em seguida, avaliado o comportamento dos confôrmeros obtidos pela torção em torno da ligação N–N do grupo acil-hidrazona. Dessa forma, os isômeros conformacionais obtidos foram nomeados como syn ou anti, em função do ângulo de torção φ , sendo a conformação syn atribuída a $\varphi \cong 0^\circ$ e a conformação anti, relacionada com $\varphi \cong 180^\circ$, conforme observado no Quadro 5.

Quadro 5 - Nomenclatura dos confôrmeros 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2) e 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3), segundo o ângulo de torção ϕ



Os isômeros do composto (M1C2) são mostrados na Figura 10, evidenciando sua perspectiva espacial, a fim de tornar mais claras as razões estéricas e eletrônicas que concorrem para definir suas estruturas e a estabilidade relativa das mesmas.

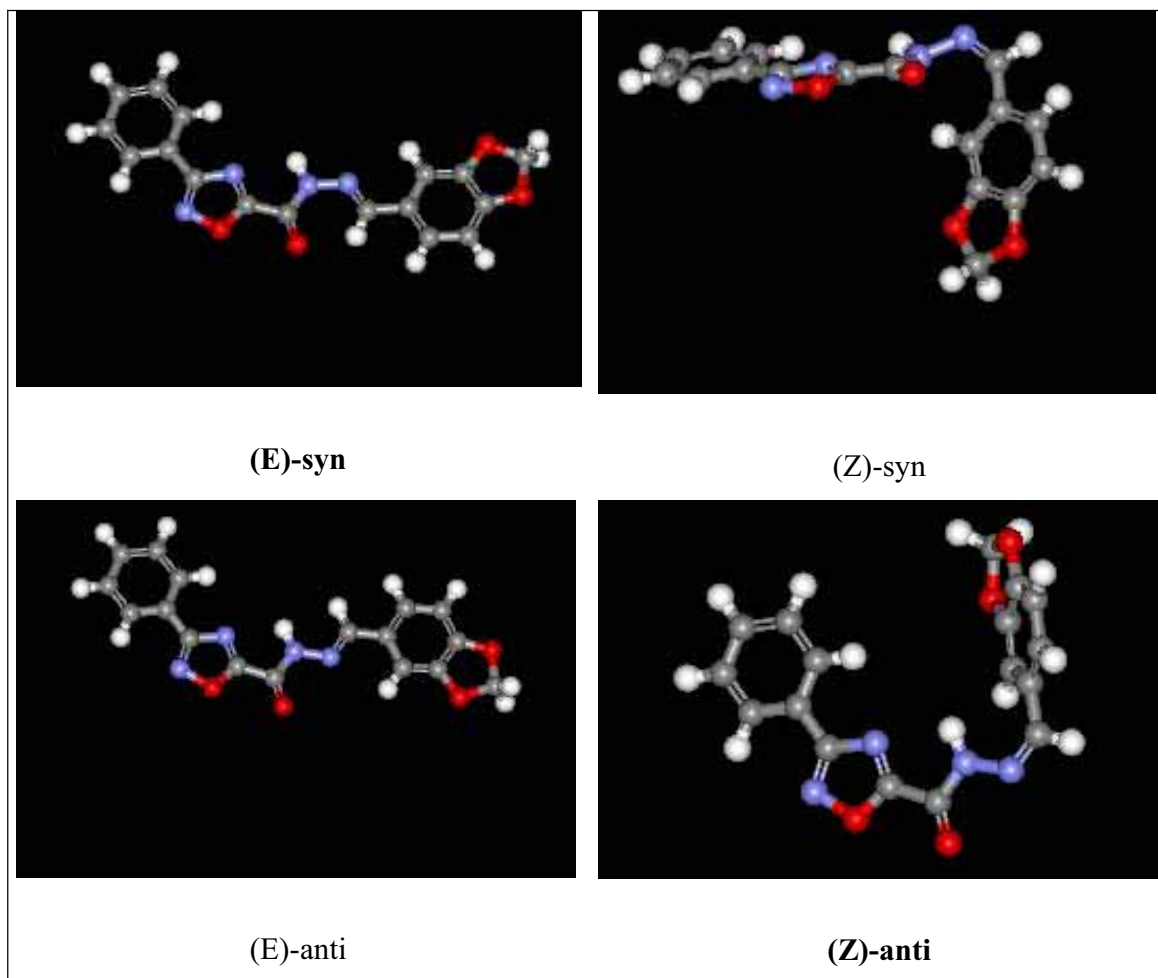


Figura 10 – Geometrias otimizadas pelo método *ab initio* RHF/3-21G** para os isômeros (E) e (Z) do derivado 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona

Os resultados dos cálculos obtidos para os diastereômeros de (M1C2) são dados na Tabela 17 e auxiliam na compreensão da relação isomérica (E)/(Z) observada nos espectros de RMN¹H dos compostos dessa série, relatados na Tabela 9.

Tabela 17 - Valores da energia total e variação de energia relativa (ΔE) para os confôrmeros do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)

Confôrmero	Energia Total (Hartree)	ΔE (kcal/mol) ^a
(E)-syn	-1161,4312544	0
(E)-anti	-1161,4268815	2,74
(Z)-syn	-1161,4146573	10,41
(Z)-anti	-1161,4205517	6,72

^a Valor relativo, tomando o confôrmero (E)-syn como referencial (1 Hartree = 627,51 kcal/mol)

Os cálculos para a energia total definem os confôrmeros (E)-syn e (E)-anti como os mais estáveis energeticamente, pois possuem os valores mais baixos de energia. Os dois confôrmeros (E) são planos, favorecendo a ressonância na estrutura como um todo, ao passo que os dois confôrmeros (Z) possuem estruturas não-planares, limitando a extensão da ressonância na molécula. Também se torna evidente que as estruturas planares reduzem as interações estéricas entre os grupos de átomos, enquanto os confôrmeros (Z) possuem geometrias que aproximam grupos volumosos entre si, sobretudo no caso de (Z)-syn, aumentando a energia total. Desse modo, pode-se tomar a energia associada à geometria de (E)-syn como referência, i. e., atribuir a ela valor zero de energia relativamente às demais estruturas e, assim, realizar uma comparação mais objetiva de suas estabilidades relativas. Constatou-se que os dois confôrmeros (Z) estão em valores energéticos bem maiores, logo, são menos estáveis que os isômeros (E). Isso pode justificar parcialmente os espectros de RMN¹H da série, nos quais as percentagens do isômero (Z) chegam a, no máximo, 14,5% da mistura isomérica.

Em termos de isômeros conformacionais, pode-se notar na Tabela 17 que os confôrmeros (E)-syn e (E)-anti diferem em cerca de 2,74 kcal/mol, favorecendo a forma (E)-syn, que possui interações eletrônicas responsáveis pela redução de sua energia total. A mais importante delas provém de uma ligação de hidrogênio intramolecular prevista entre o átomo de oxigênio da carbonila, C=O, e o hidrogênio da ligação N=C-H, os quais estão à distância calculada de 2,130 Å, valor típico para a interação de hidrogênio. Contrariamente, o confôrmero (E)-anti possui os

átomos de hidrogênio das ligações H–N–N e N=C–H orientados para o mesmo lado e situados a uma distância tal que conduz à expectativa de haver entre eles uma repulsão mútua. Uma importante evidência experimental de que a ligação de hidrogênio do isômero (E)-syn ocorre foi observada nos espectros de RMN¹H. Ao ser analisado o comportamento dos prótons H-5 e H-9 na série das 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazonas, constatou-se que os dois prótons produzem um par de sinais referentes a cada um dos isômeros. Porém, os sinais produzidos pelo próton H-5 são separados entre si por um valor médio de deslocamento de $\delta = 0,44$ ppm, enquanto o próton H-9 gera dois sinais separados por um valor médio de $\delta = 0,08$ ppm. Essa diferença de comportamento pode ser relacionada à formação da ligação de hidrogênio no isômero (E)-syn, o que promoveria uma maior desblindagem do próton H-5 nessa espécie em relação ao mesmo próton no isômero (Z). Como o fenômeno não se repete no próton H-9, a separação de seus dois sinais fica dependendo basicamente das diferenças de ambiente químico experimentadas por ele.

Após a otimização da geometria do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3), constatou-se, conforme esperado, que seus quatro isômeros mais estáveis apresentam a mesma distribuição espacial observada para (M1C2). A Figura 11 fornece as geometrias dos dois diastereômeros (E) e (Z) e seus dois confôrmeros mais estáveis.

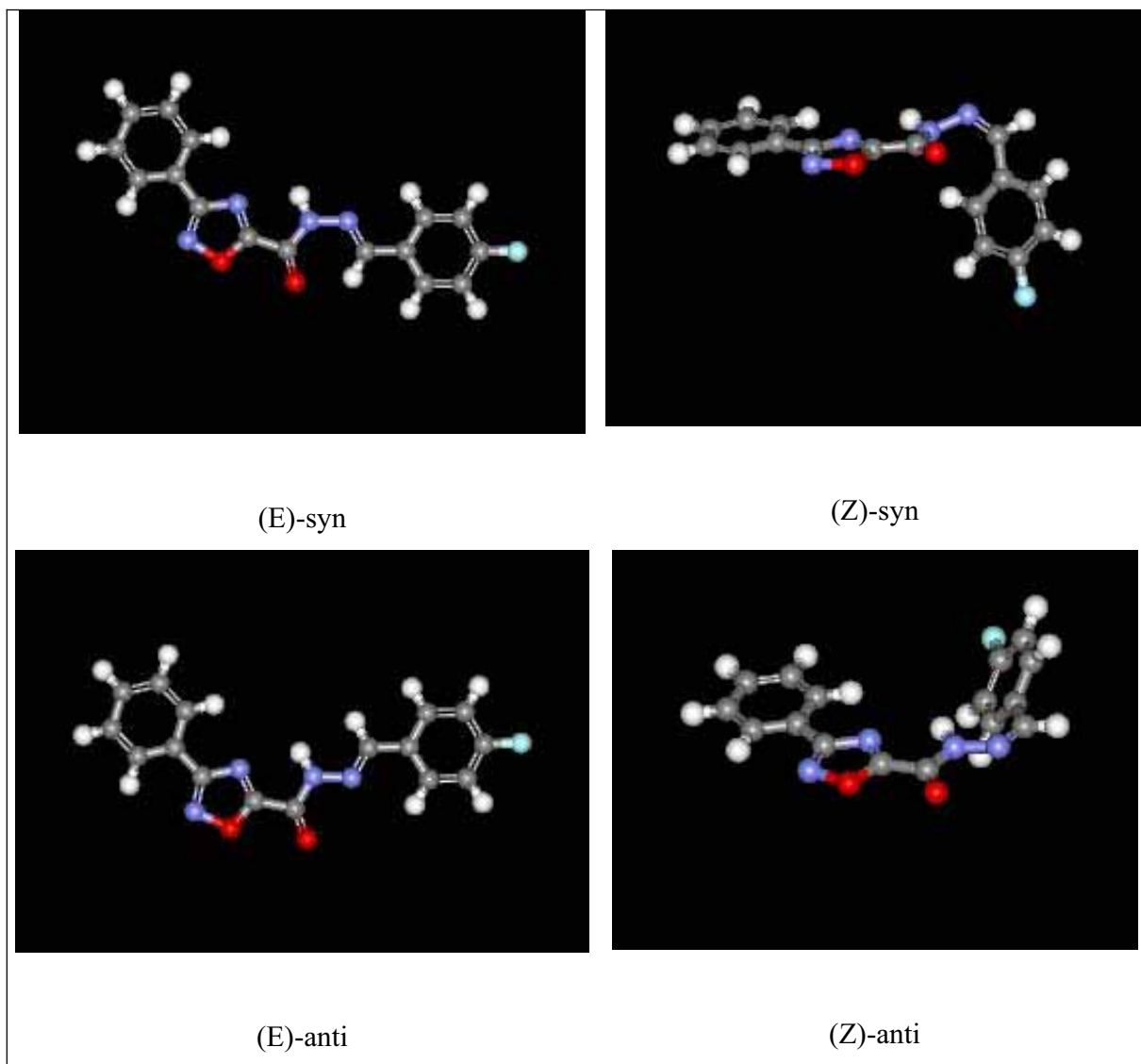


Figura 11 – Geometrias otimizadas pelo método *ab initio* RHF/3-21G** para os isômeros (E) e (Z) do derivado 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona

Os dados obtidos a partir dos cálculos realizados para (M15C3) (Tabela 18) fornecem um padrão de comportamento semelhante ao observado para (M1C2). Portanto, esses resultados de otimização das estruturas sugerem que o esqueleto carbônico, i. e., a forma espacial dos átomos pesados nas séries 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona e 3-[3-(4-aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona é essencialmente a mesma,

independente do substituinte Y usado (Quadro 5). Ainda, baseando-se nas observações de Leite e colaboradores (1996), que destacou ser o substituinte X (i. e., X = H, CH₃, Br, OCH₃, NO₂, F, Cl, OH) de pouca influência sobre as características estruturais na série das acil-arilaldeído hidrazonas (Figura 5), podemos inferir que as geometrias de todas as acil-hidrazonas obtidas nesse trabalho seguem um padrão configuracional e conformacional semelhante ao de (M1C2) e (M15C3), independente de X.

Tabela 18 - Valores da energia total e variação de energia relativa (ΔE) para os conformêros do composto 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)

Confômero	Energia Total (Hartree)	ΔE (kcal/mol) ^a
(E)-syn	-1073,2208160	0
(E)-anti	-1073,2166914	2,59
(Z)-syn	-1073,2041507	10,46
(Z)-anti	-1073,2104888	6,48

^a Valor relativo, tomando o conformêro (E)-syn como referencial (1 Hartree = 627,51 kcal/mol)

A geometria mais estável obtida a partir desses cálculos mostra o grupo acil-hidrazona assumindo uma configuração espacial tal que o relaciona estruturalmente com o anel 1,3,4-oxadiazol, conforme foi proposto no tópico 2 (Figura 6), contribuindo, assim, para reforçar a hipótese de esses dois grupos guardarem entre si uma possível relação bioisotérica. Anteriormente, foi exposto que tanto a porção acil-hidrazona quanto o heterociclo 1,3,4-oxadiazol apresentam respostas biológicas comuns em alguns casos, porém, o resultado teórico não se faz suficiente para impor uma afirmação definitiva nesse sentido, uma vez que o comportamento real sofre uma série de influências que não são consideradas no tratamento teórico. Apenas cabe aqui ressaltar que, sendo a forma (E)-syn energeticamente mais provável, é possível que a porção acil-hidrazona (assumindo configuração espacial semelhante à encontrada nos derivados estudados nesse trabalho) também seja biologicamente preferida para interagir com

as biomacromoléculas. É provável, também, que alguns dos sítios ativos onde esse grupo acíclico atua sejam os mesmos que têm afinidade pelo anel 1,3,4-oxadiazólico. Baseando-se nisso, uma série de modificações bioisotéricas podem ser planejadas e os compostos obtidos podem apresentar respostas biológicas para diferentes finalidades.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

A metodologia de síntese empregada na obtenção dos derivados 1,2,4-oxadiazol-acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol-acil-tiossemicarbazida, modificada a partir de metodologias citadas na literatura, mostrou-se eficiente, fornecendo produtos com rendimentos superiores à média comumente relatada nesse tipo de reação para a obtenção dos análogos de interesse, além de reduzir o número de subprodutos finais, o que simplificou a purificação das substâncias.

A caracterização dos derivados acil-hidrazona por espectroscopia de RMN¹H mostrou que as duas séries são obtidas como uma mistura dos isômeros (E) e (Z), mesmo após a purificação dos compostos por cromatografia em coluna flash. Ao mesmo tempo, evidenciou a importância do trabalho a 300 MHz, pois forneceu dados que, pela primeira vez, comprovaram o efeito das diferenças de ambiente químico sobre outros prótons da estrutura, além do próton do grupo N=C-H hidrazônico, o qual tem sido classicamente relatado. Os espectrogramas de massa forneceram subsídios para a proposta de novos mecanismos de fragmentação, além de tornar claro o comportamento regular dos compostos dentro de cada série.

O estudo biológico conduzido para as três séries de substâncias mostrou que, ao contrário do esperado, a associação dos grupos 1,2,4-oxadiazol/acil-hidrazona e 1,2,4-oxadiazol/tiossemicarbazida, associados à atividade antimicrobiana, levou à ausência de atividade inibitória nos 21 compostos estudados. Esse resultado, entretanto, é preliminar e seria adequado estender as pesquisas com o uso de outras técnicas, a fim de se obter dados mais conclusivos. Também a investigação do potencial antimalárico das três séries revelou serem elas ineficazes contra o protozoário *P. falciparum*. No entanto, os derivados M16C3 e M19C3 exibiram uma resposta biológica que, embora pouco expressiva, sugere a possibilidade de que modificações estruturais mais específicas podem dar origem a substâncias eficazes contra a malária.

Os derivados acil-hidrazônicos têm sido intensamente estudados na busca de novos compostos protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e antitrombóticos (Barreiro *et al.*, 2002), tornando os compostos obtidos nesse trabalho candidatos a estudos farmacológicos futuros.

O estudo teórico das geometrias dos derivados acil-hidrazona mostrou-se em concordância com as proporções isoméricas de (E) e (Z) obtidos a partir dos espectros de RMN¹H, indicando o isômero (E) como predominante na mistura, exatamente como foi constatado nas Tabelas 9 e 11. A determinação dos confôrmeros (E)-syn como mais estáveis reforçou a possibilidade de haver uma relação isotérica entre a porção acil-hidrazona e o anel do 1,3,4-oxadiazol, o que pode ser explorado em futuros planejamentos bioisotéricos.

As características estruturais das três séries permitem que elas sejam empregadas como ponto de partida para novos estudos, sobretudo no âmbito de sua atividade, pois incorporam conceitos modernos de modificação estrutural, orientados para a busca de novas drogas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBAR, H.A.; MAKKI, M.S.I.; FAIDALLAH, H. Synthesis of Heterocyclic Compounds from δ -Unsaturated 1,3-Diketo-Esters *Indian J. Chem.*, v. 35B, p. 23-29, 1996.
- ALENCASTRO, R. B.; MANO, E. B. *Nomenclatura de Compostos Orgânicos*. Editora Guanabara: Rio de Janeiro, pp. 272, 1987.
- ANAND, N. In: *Burger's Medicinal Chemistry*, 4th ed.; Wolff, M.E., Ed.; Wiley-Interscience: New York, Part II, Chapter 13, 1979.
- ANDERSEN, K.E.; JØRGENSEN, A.S.; BRÆSTRUP, C. Oxadiazoles as Bioisosteric Transformations of carboxylic Functionalities. Part I. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 29, p. 393-399, 1994.
- BARJA-FIDALGO, C.; FIERRO, I.M.; LIMA, A.C.B.; DA SILVA, E.T.; CÂMARA, C.A.; BARREIRO, E.J. Antiinflammatory Profile of N-Phenylpyrazole Arylhydrazone Derivatives in Rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 51, p. 703-707, 1999.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*. Artmed Ed.: Porto Alegre, Capítulo 3, 2001.
- Ibid.*, p. 53-55, 2001.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. A Química Medicinal de N-Acildrazonas: Novos Compostos-protótipos de Fármacos Analgésicos, Antiinflamatórios e Anti-trombóticos. *Quím. Nova*, v. 25, p. 129-148, 2002.

- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v. 45, p. 493-496, 1966.
- BLACK, J.W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, J.C.; GANELLIN, C.R.; PARSONS, M.E. Definition and Antagonism of Histamine H₂-Receptors. *Nature*, v. 236, p. 385-390, 1972.
- BONANNO, G.; RAITERI, M. Multiple GABA_A Receptors. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 14, p. 259-261, 1993.
- BRIMBLECOMBE, R. W.; DUNCAN, W. A. M.; DURANT, G. J.; EMMET, J. C.; GANELLIN, C. R.; PARSONS, M. E. Cimetidine:Non-Thiourea H₂-Receptor Antagonist. *J. Intern. Med. Res.*, v. 3, p. 86-92, 1975.
- BRIMBLECOMBE, R. W.; DUNCAN, W. A. M.; DURANT, G. J.; GANELLIN, C. R.; PARSONS, M. E.; BLACK, J. W. Pharmacology of Cimetidine, a New H₂-Receptor Antagonist. *Brit. J. Pharmacol.*, v. 53, p. P435-P436, 1975.
- BROCK, W. H. *The Norton History of Chemistry*. W.W. Norton & Company, Inc.: New York, Chapter 5, 1993.
- BURGER, A. In: *Medicinal Chemistry*, 3rd ed.; Burger, A., Ed.; Wiley-Interscience: New York, p. 64-80, 1970.
- BURGER, A. Isosterism and Bioisosterism in Drug Design. *Prog. Drug Res.*, v. 37, p. 287-371, 1991.
- CLAPP, L.B. 1,2,3- and 1,2,4-Oxadiazoles. In: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Katritzky, A.R.; Rees, C.W., Eds., Pergamo Press: Bristol, UK, part 4B, p. 365-392, 1984.

- CLARK, R.D.; CAROON, J.M.; ISAAC, N.E.; MCCLELLAND, D.L.; MICHEL, A.D.; PETTY, T.A.; ROSENKRANZ, R.P.; WATERBURY, L.D. Synthesis and Pharmacological Evaluation of N,N-di-n-Propyldopamine Congeners Containing Phenolic Bioisosteres. *J. Pharm. Sci.*, v. 76, p. 411-415, 1987.
- CREWS, P.; RODRÍGUEZ, J.; JASPARS, M. *Organic Structure Analysis*. Oxford University Press: New York, p. 317-348, 1998.
- CRICCHIO, R.; CARNITI, G.; CIETTO, G.; TAMBORINI, G.; ARIOLI, V. Hydrazones of 3-Formylrifamycin SV. 3. N(Mono and Di)Substituted Hydrazone Derivatives - Synthesis, Antibacterial Activity and Other Biological Properties. *Il Farmaco*, v. 30, p. 704-720, 1975.
- DOBBS, K.D.; HEHRE, W.J. Molecular Orbital Theory of the Properties of Inorganic and Organometallic Compounds. 6. Extended Basis Sets for 2nd-Row Transition Metals. *J. Comp. Chem.*, v. 8, p. 880-893, 1987.
- DUNBAR, P.G.; DURANT, G.J.; FANG, Z.; ABUH, Y.F.; EL-ASSADI, A.A.; NGUR, D.O.; PERIYASAMY, S.; HOSS, W.P.; MESSER, JR, W.S. Design, Synthesis and Neurochemical Evaluation of 5-(3-Alkyl-1,2,4-Oxadiazol-5-yl)-1,4,5,6-Tetrahydropyrimidines as M₁ Muscarinic Receptor Agonists. *J. Med. Chem.*, v. 36, p. 842-847, 1993.
- DÜRÜST, Y.; DÜRÜST, N. Electron Impact Mass Spectra of Some 1,2,4-Oxadiazole and Oxadiazine Derivatives. *Org. Mass Spec.*, v. 27, p. 833-834, 1992.
- ELOY, F.; LENAERS, R. The Chemistry of Amidoximes and Related Compounds. *Chem. Reviews*, v. 62, p. 155-183, 1962.
- ELOY F.; LENAERS, R. A Review of the Chemistry of 1,2,4-Oxadiazoles. *Fortsch. Chem. Forsch.*, v. 4, p. 807-876, 1964.

ERLENMEYER, H.; LEO, M. On Pseudoatoms. *Helv. Chim. Acta*, v. 15, p. 1171-1186, 1932.

FIGUEIREDO, J.M.; CÂMARA, C.A.; AMARANTE, E.G.; MIRANDA, A.L.P.; SANTOS, F.M.; RODRIGUES, C.R.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Design and Synthesis of Novel Potent Antinociceptive Agents: Methyl-Imidazolyl A-Acylhydrazone Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 8, p. 2243-2248, 2000.

FLEMING, A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium* with Special Reference to Their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Brit. J. Exp. Path.*, v. 10, p.226-232, 1929.

FRIEDMAN, H.L. Influence of Isosteric Replacements upon Biological Activity. *NASNRS*, v. 206, p. 295-358, 1951.

FRISCH, M.J; TRUCKS, G.W; SCHLEGEL, H.B; GILL, P.M.W. *et al.* Gaussian 94, Revision E.3, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 1995.

GANELLIN, C.R. Cimetidine. In: *Chronicles of Drug Discovery*. Brinda, J.S.; Lednicer, D., Eds., Wiley: New York, p. 1-38, 1982.

GILCHRIST, T.L. *Heterocyclic Chemistry*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: New York, p. 126-142, 1992.

Ibid., p. 223-238, 1992.

GRIMM, H.G. Structure and Size of the Non-metallic Hydrides. *Z. Electrochem.*, v. 31, p. 474-480, 1925.

HIREMATH, S.P.; BIRADAR, J.S.; KUDARI, S.M. Synthesis of Substituted Oxadiazoles, Thiadiazoles and Triazoles and Evaluation of Their Biological activity. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 61, p. 74-76, 1984.

- HOLLA, B.S.; GONSALVES, R.; SHENOY, S. Synthesis and Antibacterial Studies of a New series of 1,2-Bis(1,3,4-Oxadiazol-2-yl) Ethanes and 1,2-Bis(4-Amino-1,2,4-Triazol-3-yl) Ethanes. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 35, p. 267-271, 2000.
- HOU, J.P.; POOLE, J.W. β -Lactam Antibiotics: Their Physicochemical Properties and Biological Activities in Relation to Structure. *J. Pharmacol. Sci.*, v. 60, p. 503-532, 1971.
- HUSAIN, M.I.; SRIVASTAVA, V.P.; SRIVASTAVA, G.C. Synthesis and Hypoglycemic Activity of Some New N-p-(Hydrazonocarbonyl)Phenyl-4-Substituted Benzene Sulphonamides. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 60, p. 578-579, 1983.
- JONES, D.H.; SLACK, R.; SQUIRES, S.; WOOLDRIDGE, K.R.H. Antiviral Chemotherapy. I. Activity of Pyridine and Quinoline Derivatives Against Neurovaccinia in Mice. *J. Med. Chem.*, v. 8, p. 676-680, 1965.
- KARABATSOS, G.J.; TALLER, R.A. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance. V. Phenylhydrazones. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 85, p. 3624-3629, 1963.
- KARABATSOS, G.J.; OSBORNE, C.E. Structural Studies by Nuclear Magnetic Resonance. XVI. Conformations and Configurations of Hydrazones. *Tetrahedron*, v. 24, p. 3361-3368, 1968.
- KING, F.D.; SANGER, G.J. Gastrointestinal Motility Enhancing Agents. *Ann. Rep. Med. Chem.*, v.23, p. 201-210, 1988.
- KINGSTON, D.G.I.; TANNENBAUM, H.P. Mass Spectrometry of Organic Compounds. Part V. Mass Spectra of Substituted Aroylhydrazones. *J. Chem. Soc. C-Org.*, v. 18, p. 2574-2577, 1970.

- KROGSGAARD-LARSEN, P.; JOHNSTON, G.A.R.; CURTIS, D.R.; GAME, C.J.A.; MCCULLOCH, R.M. Structure and Biological Activity of a Series of Conformationally Restricted Analogues of GABA. *J. Neurochem.*, v. 25, p. 803-809, 1975.
- KROGSGAARD-LARSEN, P.; HJEDS, H.; CURTIS, D.R.; LODGE, D.; JOHNSTON, G.A.R. Dihydromusciniol, Thiomusciniol and related Heterocyclic Compounds as GABA Analogues. *J. Neurochem.*, v. 32, p. 1717-1724, 1979.
- KROGSGAARD-LARSEN, P.; BREHM L.; SCHAUMBURG, K. Musciniol, a Psychoactive Constituent of *Amanita muscaria*, as a medicinal Chemical-Model Structure. *Acta Chem. Scand. Series B-Org. Chem. And Biochem.*, v. 35, p. 311-324, 1981.
- KROGSGAARD-LARSEN, P.; FRØLUND, B.; JØRGENSEN, F.S.; SCHOUSBOE, A. GABA_A Receptor Agonists, Partial Agonists and Antagonists. Design and Therapeutic Prospects. *J. Med. Chem.*, v. 37, p. 2489-2505, 1994.
- LADVA, K.; PATEL, P.; UPADHYAY, P.; PAREKH, H. Oxadiazoles: Part XV-Synthesis and Biological Activities of Substituted 1,3,4-Oxadiazole Derivatives. *Indian J. Chem.*, v. 35B, p. 1062-1066, 1996.
- LANGMUIR, I. Isomorphism, Isosterism and Covalence. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 41, p.1543-1559, 1919.
- LARSEN, A.A.; GOULD, W.A.; ROTH, H.R.; COMER, W.T.; ULOTH, R.H.; DUNGAN, K.W.; LISH, P.M. Sulfonanilides. II. Analogs of Catecholamines. *J. Med. Chem.*, v. 10, p. 462-472, 1967.
- LEITE, L.F.C.C. Síntese, Modelagem Molecular e Avaliação Farmacológica de Novos Derivados 3-[3-(4-Aril)-1,2,4-Oxadiazol-5-il] Acil Arilaldeído Hidrazona. Rio de Janeiro: Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais da UFRJ, 1996. 187 p. Tese de Doutorado.

- LEITE, L.F.C.C.; RAMOS, M.N.; DA SILVA, J.B.; MIRANDA, A.L.P.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Synthesis and Analgesic Profile of Novel N-Containing Heterocycle Derivatives: Arylidene 3-Phenyl-1,2,4-Oxadiazole-5-Carbohydrazide. *II Farmaco*, v. 54, p. 747-757, 1999.
- LEVINE, I.N. *Quantum Chemistry*. 4th ed, Prentice Hall: New Jersey, 1991.
- LYNCH, D.E.; MCCLENAGHAN, I. Redetermination of 4-(Phenyl)Thiosemicarbazide. *Acta Cristal. Section C - Crystal Struc. Commun.*, v. 56, p. E587-E590, 2000.
- MACCHIA, B.; BALSAMO, A.; LAPUCCI, A.; MACCHIA, F.; MARTINELLI, A.; NENCETTI, S.; ORLANDINI, E.; BALDACCI, M.; MENGOZZI, G.; SOLDANI, G.; DOMIANO, P. Molecular Design, Synthesis, and Antiinflammatory Activity of a Series of β -Aminoxypionic Acids. *J. Med. Chem.*, v. 33, p. 1423-1430, 1990.
- MAHY, J.P.; GASPARD, S.; MANSUY, D. Phenylhydrazones as New Good Substrates for the Dioxygenase and peroxylase Reactions of Prostaglandin Synthase: Formation of Iron(III)- σ -Phenyl Complexes. *Biochem.*, v. 32, p. 4014-4021, 1993.
- MAKLER, M.T; RIES, J.M.; WILLIAMS, J.A.; BANCROFT, J.E.; PIPER, R.C.; GIBBINS, B.L.; HINRICHS, D.J. Parasite Dehydrogenase as an Assay for *Plasmodium falciparum* Drug Sensitivity. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 48, p. 739-741, 1993.
- MANN, J. *Murder, Magic, and Medicine*. Oxford University Press: England, p. 1-16, 1992.
- MARTIN, D.G.; DUCHAMP, D.J.; CHIDESTE, C.G. Isolation, Structure, and Absolute Configuration of U-42,126. A Novel Antitumor Antibiotic. *Tetrahedron Letters*, v. 27, p. 2549-2552, 1973.

- MARTIN, Y.C. A Practitioner's Perspective of the Role of Quantitative Structure-Activity Analysis in Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.*, v. 24, p. 229-237, 1981.
- MCDONALD, R.L.; OLSEN, R. GABA_A Receptor Channels. *Annu. Rev. Neurosci.*, v. 17, p. 569-602, 1994.
- MICHNE, W.F.; SCHROEDER, J.D.; GUILLES, J.W.; TREASURYWALA, A.M.; WEIGELT, C.A.; STANSBERRY, M.F.; MCAVOY, E.; SHAH, C.R.; BAINE, Y.; SAWUTZ, D.G.; MILLER, P.B.; STANKUNAS, B.M.; REID, J.; BUMP, E.; SCHLEGEL, D. Novel Inhibitors of the Nuclear Factor of Activated T Cells (NFAT)-Mediated Transcription of β -Galactosidase: Potential Immunosuppressive and Antiinflammatory Agents. *J. Med. Chem.*, v. 38, p. 2557-2569, 1995.
- MOUSSEBOIS, C.; OTH, J.F.M. Étude Spéctroscopique d'Oxadiazoles-1,2,4 en Relation avec Leur Degré d'Aromaticité. *Helv. Chim. Acta*, v. 47, p. 942-945, 1964.
- NARGUND, L.V.G.; REDDY, G.R.N.; HARIPRASAD, V. Antiinflammatory Activity of Substituted 1,3,4-Oxadiazoles. *J. Pharmac. Sci.*, v. 83, p. 246-248, 1994.
- OMAR, F.A.; MAHFOUZ, N.M.; RAHMAN, M.A. Design, Synthesis and Antiinflammatory Activity of Some 1,3,4-Oxadiazole Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 31, p. 819-925, 1996.
- ORLEK, B.S.; BLANEY, F.E.; BROWN, F.; CLARK, M.S.G.; HADLEY, M.S.; HATCHER, J.; RILEY, G.J.; ROSENBERG, H.E.; WADSWORTH, H.J.; WYMAN, P. Comparison of Azabicyclic Esteres and Oxadiazoles as Ligands for the Muscarinic Receptor. *J. Med. Chem.*, v. 34, p. 2726-2735, 1991.

- PALAZZO, G.; TAVELLA, M.; STRANI, G.; SILVESTRINI, B. 1,2,4-Oxadiazoles. IV. Synthesis and Pharmacological Properties of Substituted Aminoalkyl-1,2,4-Oxadiazoles. *J. Med. Pharm Chem.*, v. 4, p. 351-367, 1961.
- PANDEYA, S.N.; SRIRAM, D.; NATH, G.; DECLERCQ, E. Synthesis, Antibacterial, Antifungal and anti-HIV Activities of Schiff and Mannich Bases Derived from Isatin Derivatives and N-[4-(4'-Chlorophenyl)Thiazol-2-yl] Thiosemicarbazide. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v. 9, p. 25-31, 1999.
- PATANI, G.A.; LAVOIE, E.J. Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design. *Chem. Rev.*, v. 96, p. 3147-3176, 1996.
- PATIL, R.; BIRADAR, J.S. Synthesis and Biological Activities of new 3,5-Disubstituted-2-(Ethyl-5'-Thioxo-1',3',4'-Oxadiazol-4'-Ethylacetate-2'-yl) Indoles, -2-(5'-Thioxo-1',3',4'-Oxadiazol-4'-Methylcarboxyhydrazide-2'-yl) Indoles and -2-(5'-Thioxo-1',3',4'-Oxadiazol-4'-Alkyl-2'-yl) Indoles. *Indian J. Chem.*, v. 38B, p. 76-82, 1999.
- PATON, R.M. 1,2,5-Oxadiazoles and Their Benzoderivatives. In: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Katritzky, A.R.; Rees, C.W., Eds., Pergamo Press: Bristol, UK, part 4B, p. 393-426, 1984.
- RAMALINGAM, T.; DESHMUKH, A.A.; SATTUR, P.B. Synthesis and Pharmacology of 2,5-Disubstituted 1,3,4-Oxadiazoles. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 58, p. 269-271, 1981.
- ROLLAS, S.; KARAKUS, S.; DURGUN, B.B. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some 1,4-Disubstituted Thiosemicarbazide and 2,5-Disubstituted 1,3,4-Thiadiazole Derivatives. *Il Farmaco*, v. 51, p. 811-814, 1996.
- SAAD, H. Synthesis of Some Pyridyloxymethyl-Oxadiazoles, Thiadiazoles and Triazoles of Expected Pharmacological Activity. *Indian J. Chem.*, v. 35B, p. 980-984, 1996.

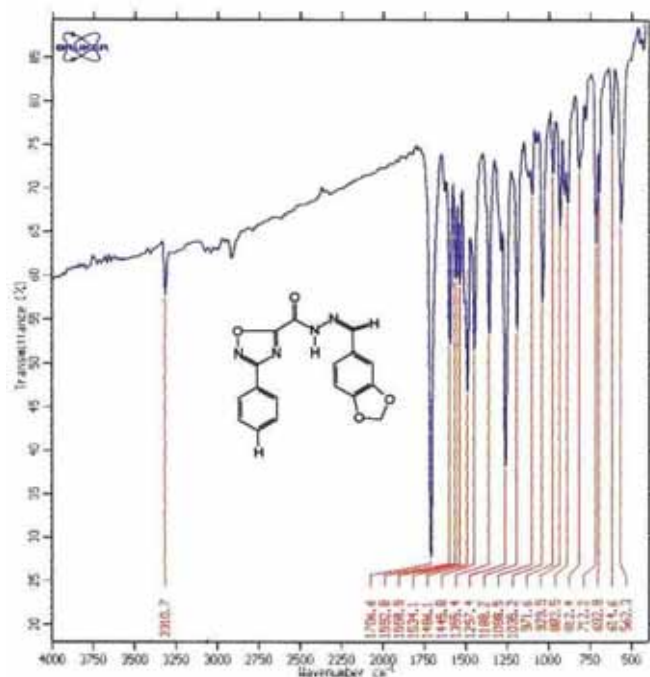
- SANTILLI, A.A.; MORRIS, R.L. Synthesis of 3-Arylsulfonylmethyl-1,2,4-Oxadiazole-5-Carboxylic Acid Derivatives. *J. Heterocyclic Chem.*, v. 16, p. 1197-1200, 1979.
- SAUNDERS, J.; FREEDMAN, S.B. The Design of Full Agonists for the Cortical Muscarinic Receptor. *Trends Pharmacol. Sci., (Suppl.)*, p. 70-75, 1989.
- SEIFRIZ, W. Pathogenicity and Isosterism. *Science*, v. 107, p. 15-16, 1948.
- SELVA, A.; ZERILLI, L.F.; CAVALLERI, B.; GALLO, G.G. Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds. II. Electron Impact Induced Fragmentation of 3,5-Diphenyl-1,2,4-Oxadiazole. *Org. Mass Spec.*, v. 6, p. 1347-1351, 1972.
- Ibid.* Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds. V. Substituent Effects on the Fragmentation Pathways of 3,5-Diphenyl-1,2,4-Oxadiazole Derivatives. *Org. Mass Spec.*, v. 9, p. 558-566, 1974.
- SHARMA, R.S.; PATHAK, R.B.; BAHTEL, S.C. Synthesis and Antifungal Activity of Aryloxyacetyl Hydrazones of Fluoro Arylalkyl/Diaryl Ketones. *J. Indian. Chem. Soc.*, v. 61, p. 644-646, 1984.
- SHOWELL, G.A.; GIBBONS, T.L.; KNEEN, C.O.; MCLEOD, A.M.; MERCHANT, K.; SAUNDERS, J.; FREEDMAN, S.B.; PATEL, S.; BAKER, R. Tetrahydropyridyloxadiazoles: Semirigid Muscarinic Ligands. *J. Med. Chem.*, v. 34, p. 1086-1094, 1991.
- SILVEIRA, I.A.F.B.; PAULO, L.G.; MIRANDA, A.L.P.; ROCHA, S.O.; FREITAS, A.C.C.; BARREIRO, E.J. Substituted Pyrazolyldiazones: A New Class of Platelet Aggregation Inhibitors. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 24, p. 947-951, 1991.

- SILVERSTEIN, R.M.; BASSELER, G.C.; MORRIL, T.C. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, cap. 4, 1994
- SINCHOLLE, D.; BERTEZ, C.; LEGRAND, A.; CONDUZORGUES, J.P.; BONNE, C. Antiinflammatory Activity of a Dual Inhibitor of Cyclooxygenase and Lipoxygenase Pathways, CBS-1108 (2-Acetylthiophene-2-thiazolyldiazone). *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 35, p. 1260-1263, 1985.
- SINGH, H.; YADAV, L.D.S. Studies in Oxadiazole. 5. Synthesis of Some Amido (or Imido) Methyl-Derivatives of 2-Amino-Mercapto-5-Aryl-1,3,4-Oxadiazoles as Potential Fungicides. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 54, p. 1143-1147, 1977.
- SRIVASTAVA, R.M. Preparation of Benzamidoxim and 5-Ethyl-3-Phenyl-4,5-Dihydro-1,2,4-Oxadiazole. *Quím. Nova*, v. 18, p. 303-304, 1995.
- SRIVASTAVA, S.K.; PATHAK, R.B.; BAHTEL, S.C. Synthesis of Thiosemicarbazides and Related Compounds as Potencial Fungicides. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 66, p. 210-212, 1989.
- SRIVASTAVA, U.; PATHAK, R.B.; BAHTEL, S.C. Synthesis of Some Aryloxypropionyl Thiosemicarbazides and Related Compounds as Possible Fungicides. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 58, p. 822-823, 1981.
- STREET, L.J.; BAKER, R.; BOOK, T.; KNEEN, C.O.; MCLEOD, A.M; MERCHANT, K.J.; SHOWELL, G.A.; SAUNDERS, J.; HERBERT, R.H.; FREEDMAN, S.B.; HARLEY, E.A. Synthesis and Biological Activity of 1,2,4-Oxadiazole Derivatives: Highly Potent and Efficacious Agonists for cortical Muscarinic Receptors. *J. Med. Chem.*, v. 33, p. 2690-2697, 1990.

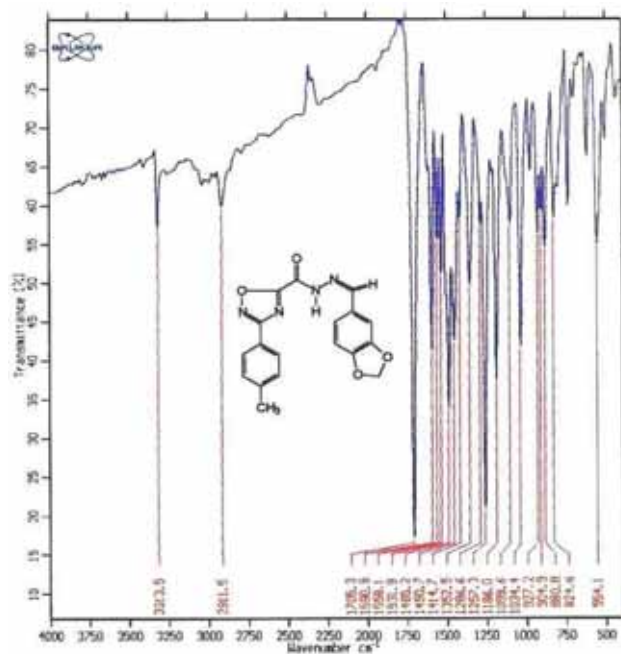
- SUBASINGHE, N.L.; BONTEMS, R.J.; MCINTEE, E.; MISHRA, R.K.; JOHNSON, R.L. Bicyclic Thiazolidine Lactam Peptidomimetics of the Dopamine Receptor Modulating Peptide Pro-Leu-Gly-NH₂. *J. Med. Chem.*, v. 36, p. 2356-2361, 1993.
- SUMAN, S.P.; BAHTEL, S.C. 5-Substituted-1,3,4-Oxadiazoles and related Compounds as Possible Fungicides. *J. Indian Chem. Soc.*, v. 56, p. 712-715, 1979.
- SUZUKI, T.; IWAOKA, K.; IMANISHI, N.; NAGAKURA, Y.; MIYATA, K.; NAKAHARA, H.; OHTA, M.; MASE, T. Synthesis of the Selective 5-Hydroxytryptamine 4 (5-HT₄) Receptor Agonist (+)-(S)-2-Chloro-5-Methoxy-4-[5-(2-Piperidylmethyl)-1,2,4-Oxadiazol-3-yl] Aniline. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 47, p. 120-122, 1999.
- SUZUKI, T.; UESAKA, H.; HAMAJIMA, H.; IKAMI, T. Synthesis of (1-Azabicyclo[3.3.0]Octanyl)methyl-Substituted Aromatic Heterocycles and Their Muscarinic Activity. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 47, p. 876-879, 1999.
- SWAIN, C.J.; BAKER, R.; KNEEN, C.; MOSELEY, J.; SAUNDERS, J.; SEWARD, E.M.; STEVENSON, G.; BEER, M.; STANTON, J.; WATLING, K. Novel 5-HT₃ Antagonists. Indole oxadiazoles. *J. Med. Chem.*, v. 34, p. 140-151, 1991.
- TODESCHINI, A.R.; MIRANDA, A.L.P.; BACHA, C.M.; BARREIRO, E.J. 2-Pyridylarylhydrazone Derivatives, a New Class of Platelet Aggregation Inhibitors. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 29, p. 389-393, 1996.
- TRAGER, W.; JENSON, J.B. Human Malaria Parasites in Continuous Culture. *Science*, v. 193, p. 673-675, 1976.
- UNANGST, P.C.; SHRUM, G.P.; CONNOR, D.T.; DYER, R.D.; SCHRIER, D.J. Novel 1,2,4-Oxadiazoles and 1,2,4-Tiadiazoles as Dual 5-Lipoxygenase and Cyclooxygenase Inhibitors. *J. Med. Chem.*, V. 35, P. 3691-3698, 1992.

- VARVARESOU, A.; TSANTILI-KAKOULIDOU, A.; SIATRA-PAPASTAIKOUDI, T.; TILIGADA, E. Synthesis and Biological Evaluation of Índole Containing Derivatives of Thiosemicarbazide and Their Cyclic 1,2,4-Triazole and 1,3,4-Thiadiazole Analogs. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, v. 50, p. 48-54, 2000.
- ZHANG, W.; KOEHLER, K.F.; HARRIS, B.; SKOLNICK, P.; COOK, J.M. Synthesis of Benzo-fused Benzodiazepines Employed as Probes of the Agonist Pharmacophore of Benzodiazepine Receptors. *J. Med. Chem.*, v. 34, p. 745-757, 1994.

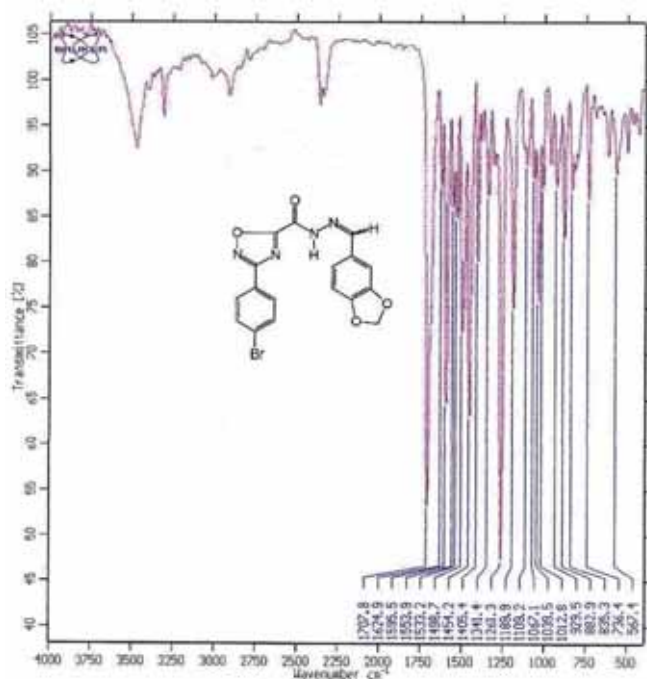
ANEXOS



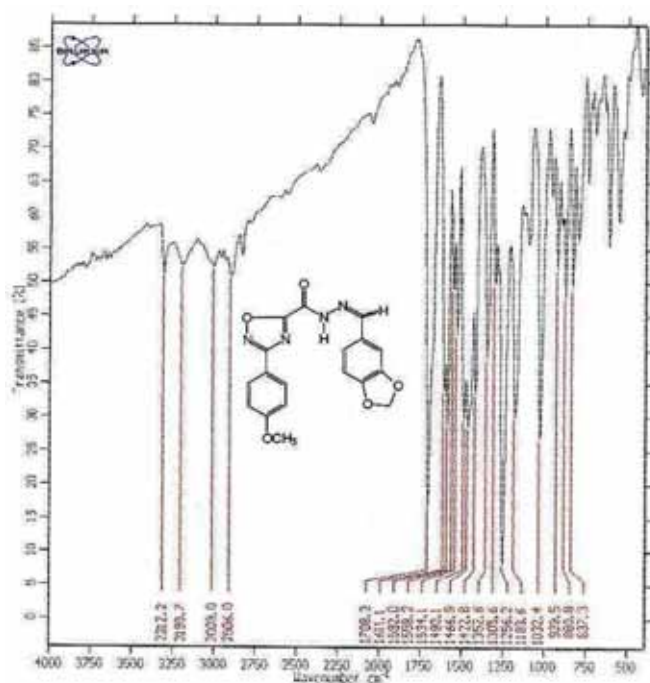
Espectro 1 - I.V. da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



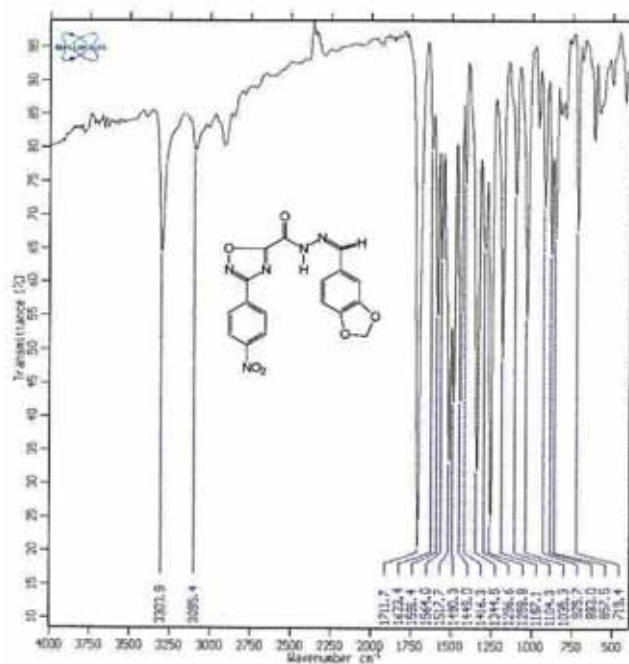
Espectro 2 - I.V. da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



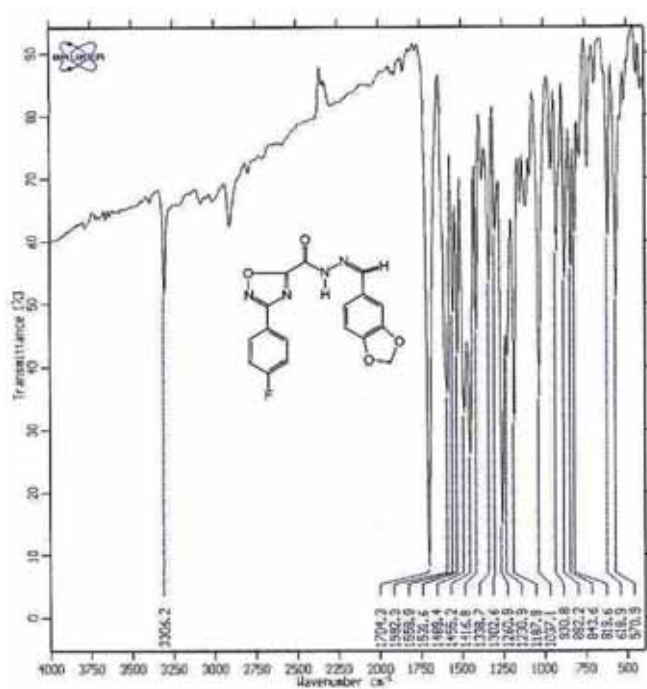
Espectro 3 - I.V. da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



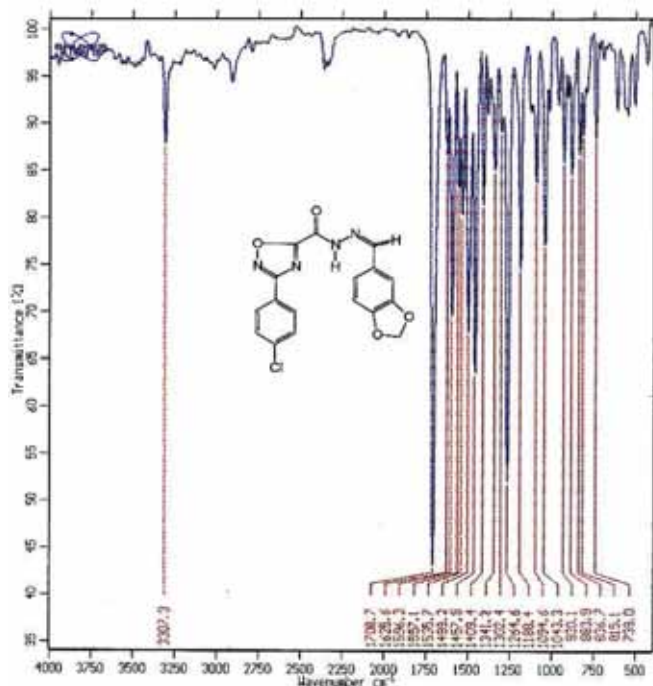
Espectro 4 - I.V. da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



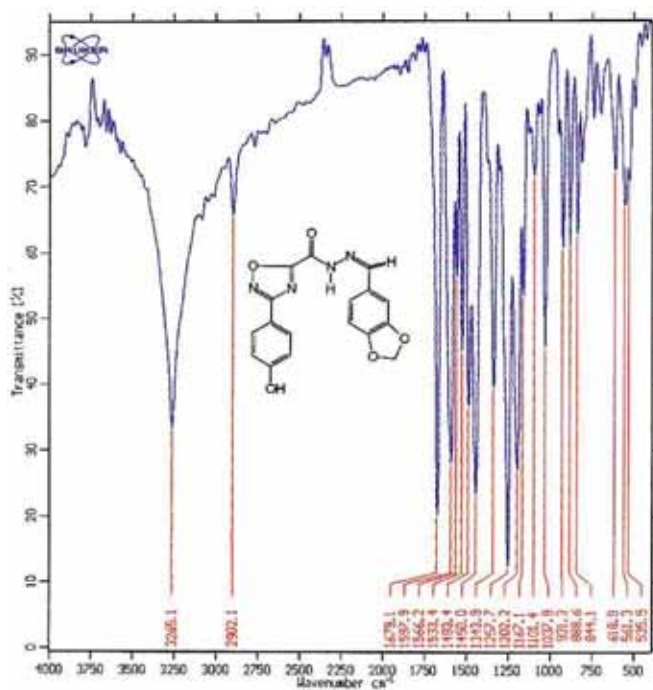
Espectro 5 - I.V. da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



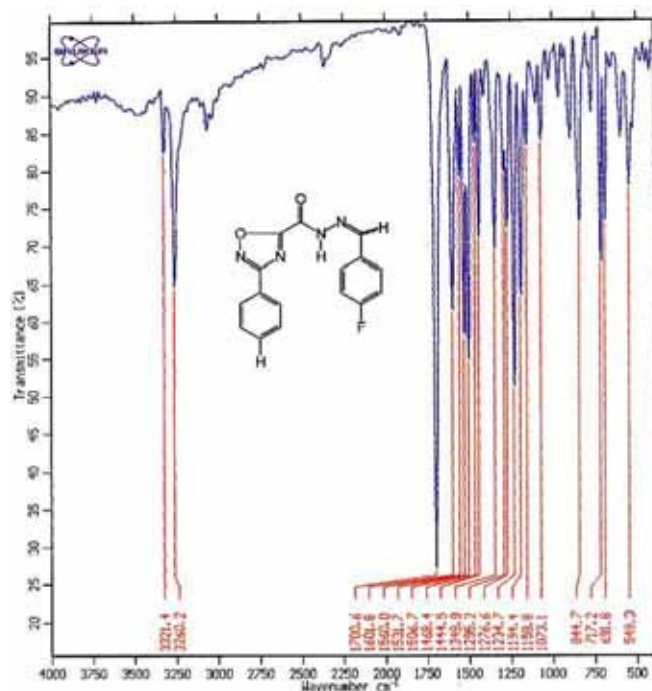
Espectro 6 - I.V. da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



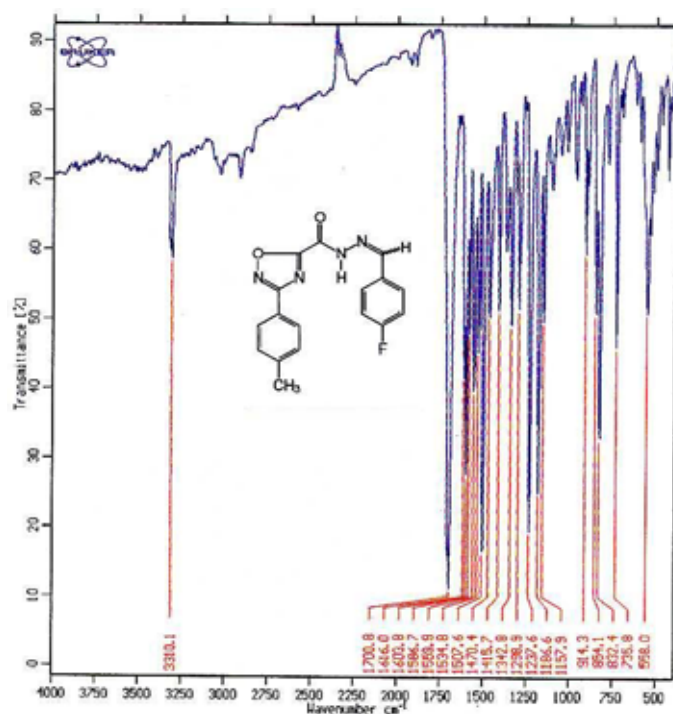
Espectro 7 - I.V. da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



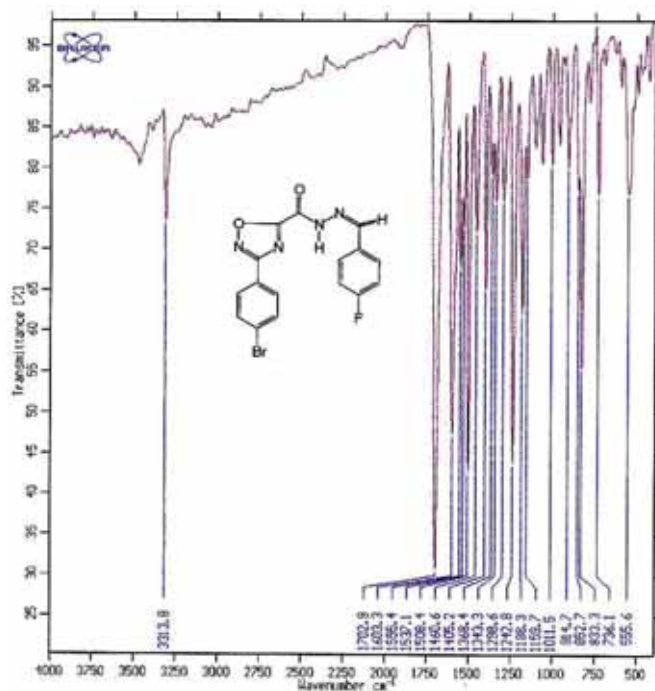
Espectro 8 - I.V. da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



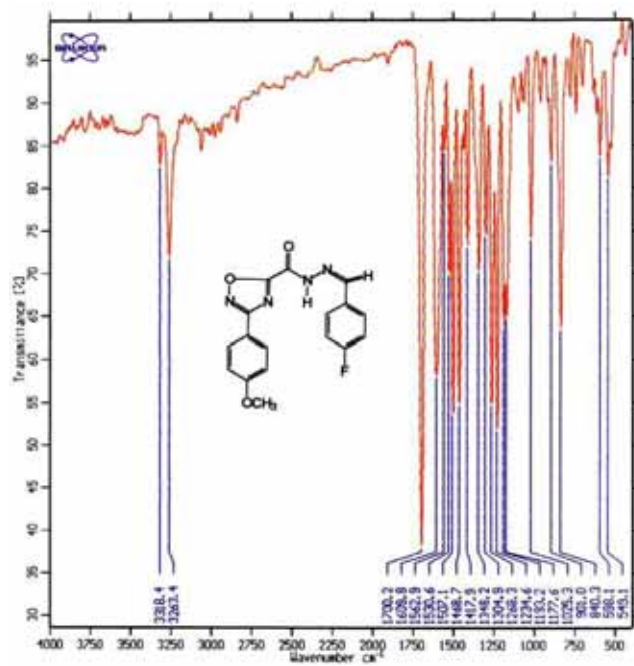
Espectro 9 - I.V. da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)



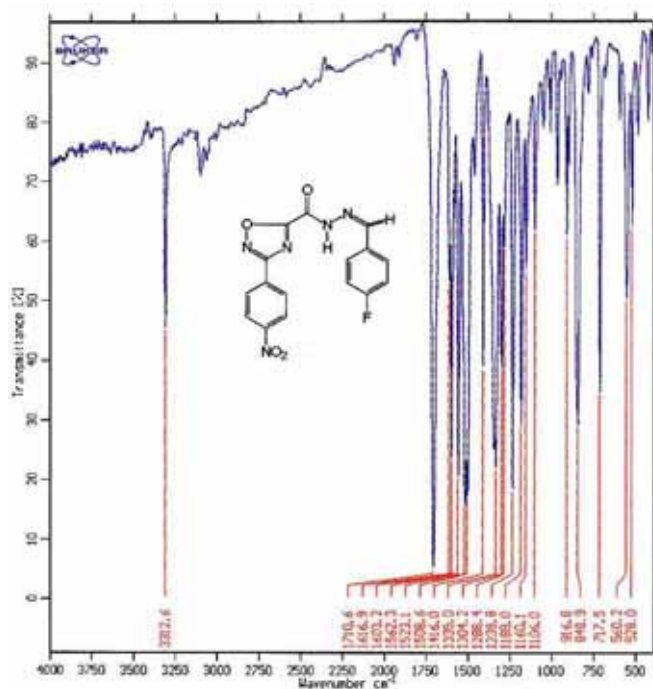
Espectro 10 - I.V. da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



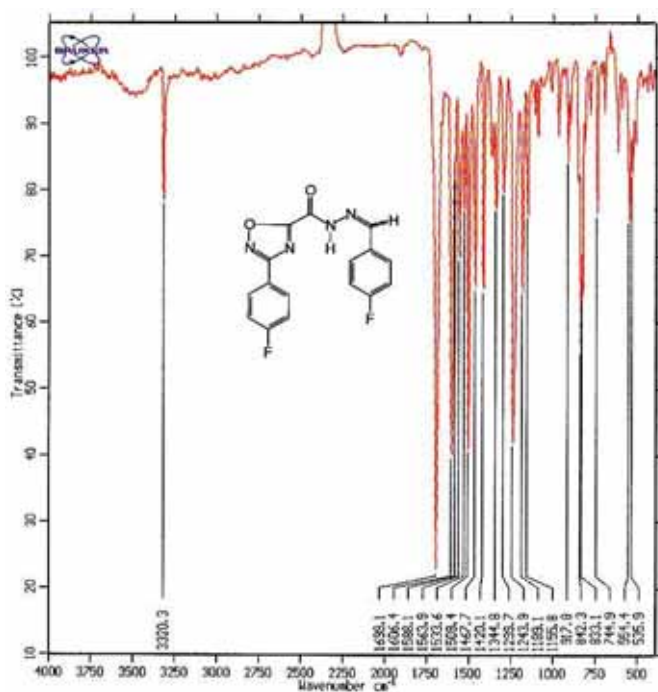
Espectro 11 - I.V. da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



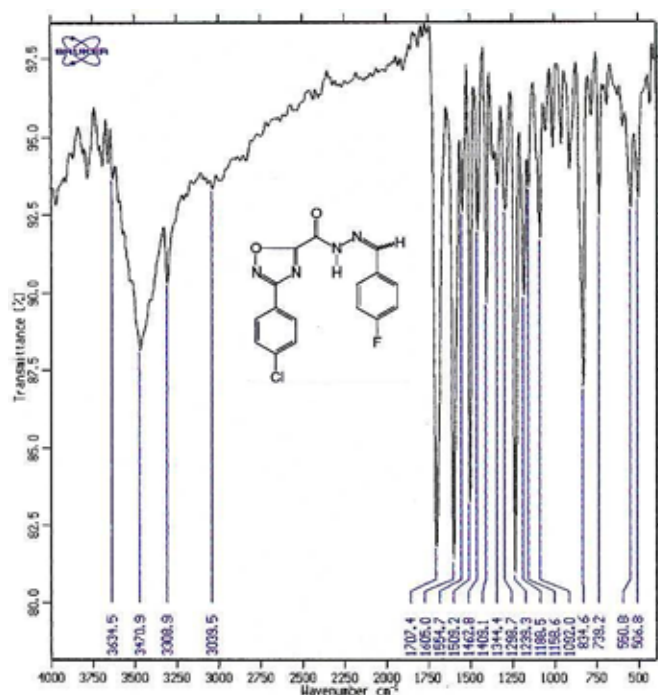
Espectro 12 - I.V. da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



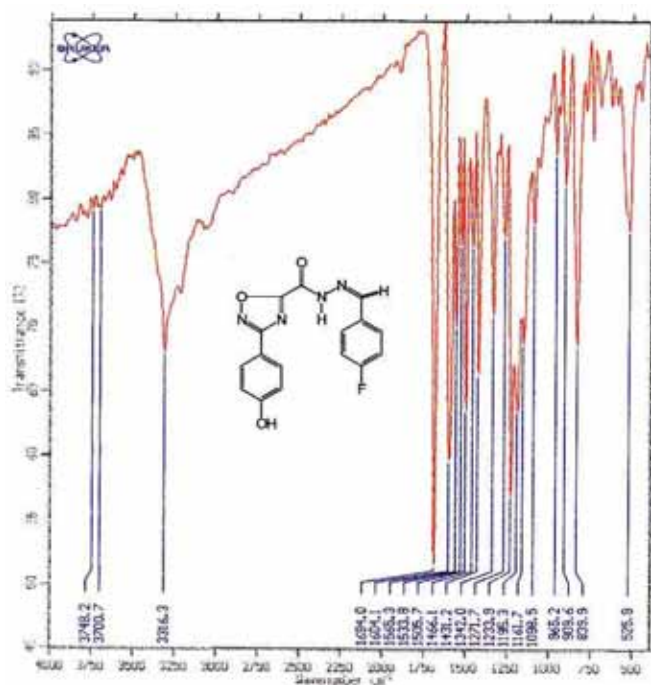
Espectro 13 - I.V. da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M20C3)



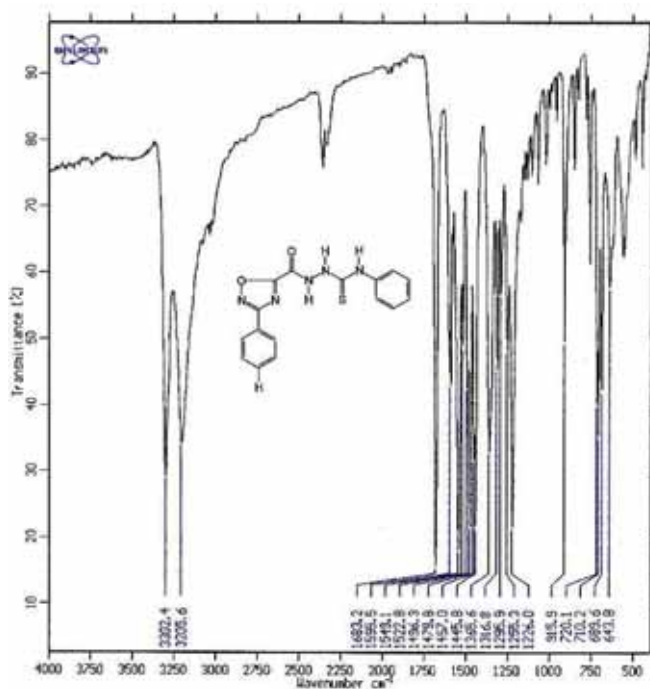
Espectro 14 - I.V. da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M17C3)



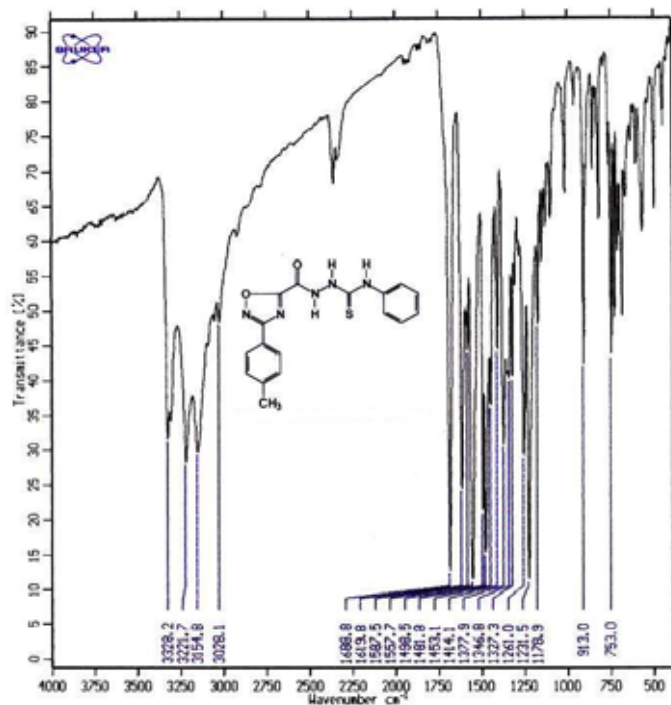
Espectro 15 - I.V. da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



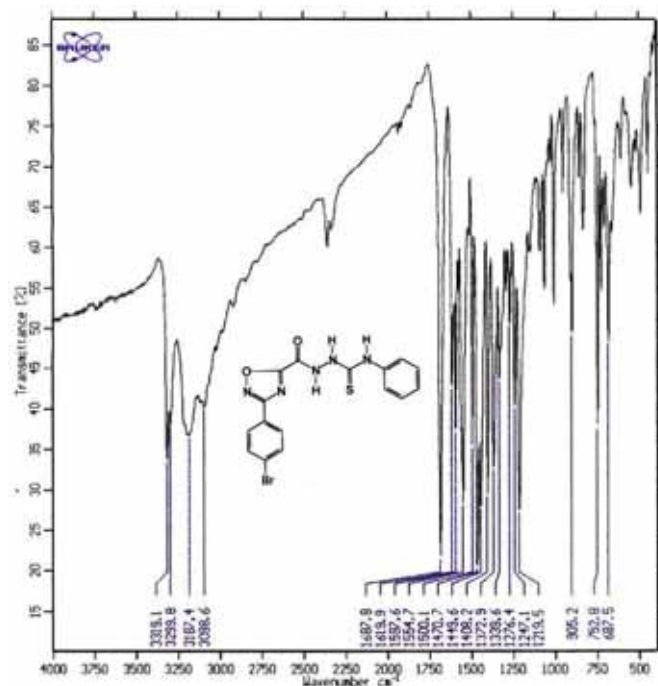
Espectro 16 - I.V. da 3-[3-(4-hidroxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)



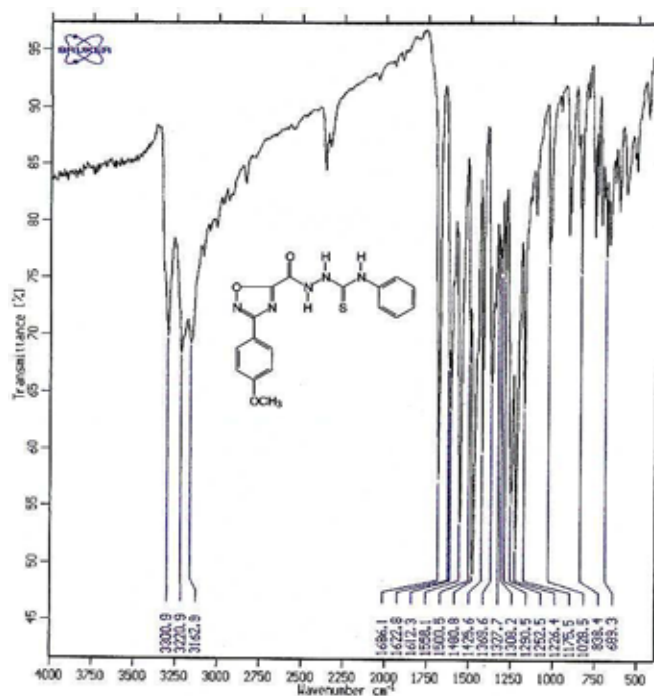
Espectro 17 - I.V. da 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)



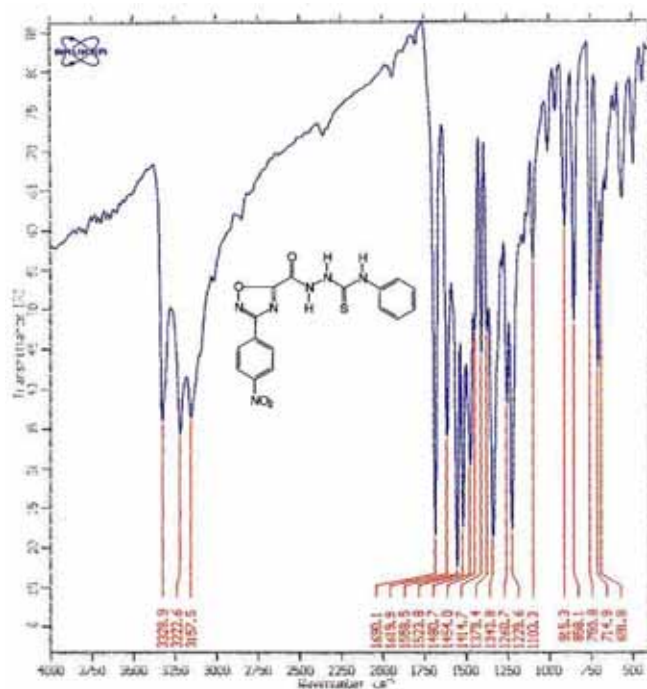
Espectro 18 - I.V. da 4-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)



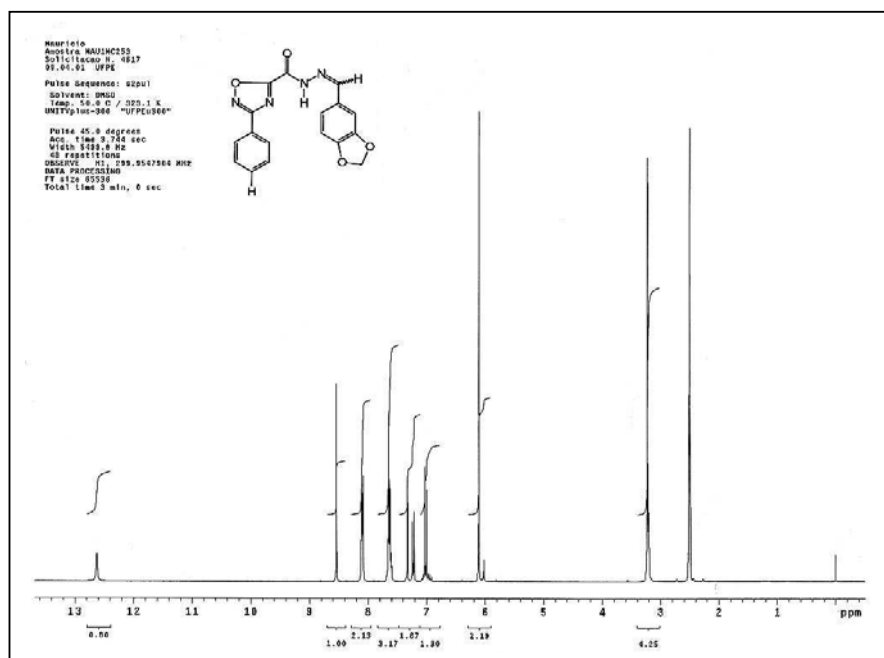
Espectro 19 - I.V. da 4-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (BTSCF)



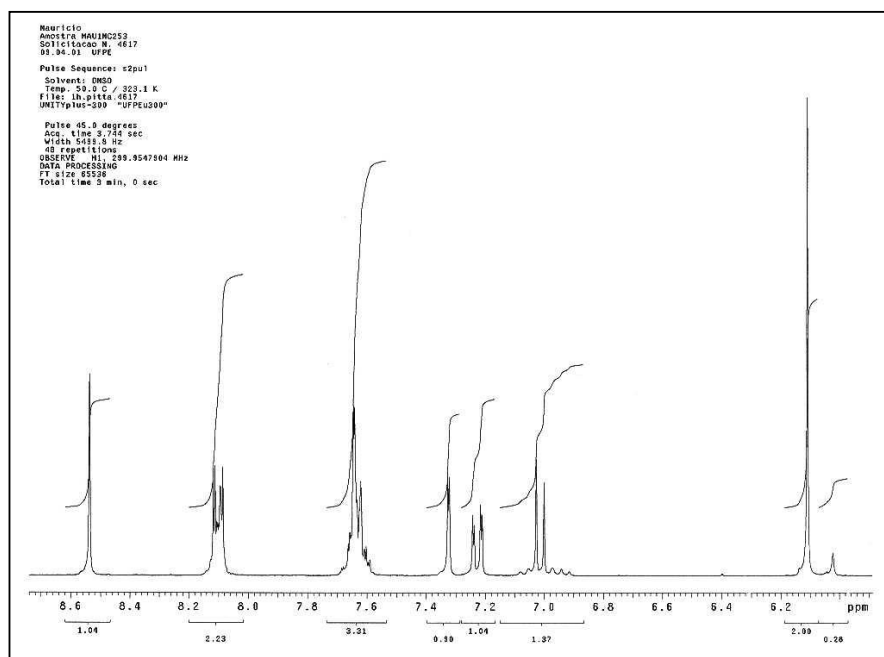
Espectro 20 - I.V. da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (MTSCF)



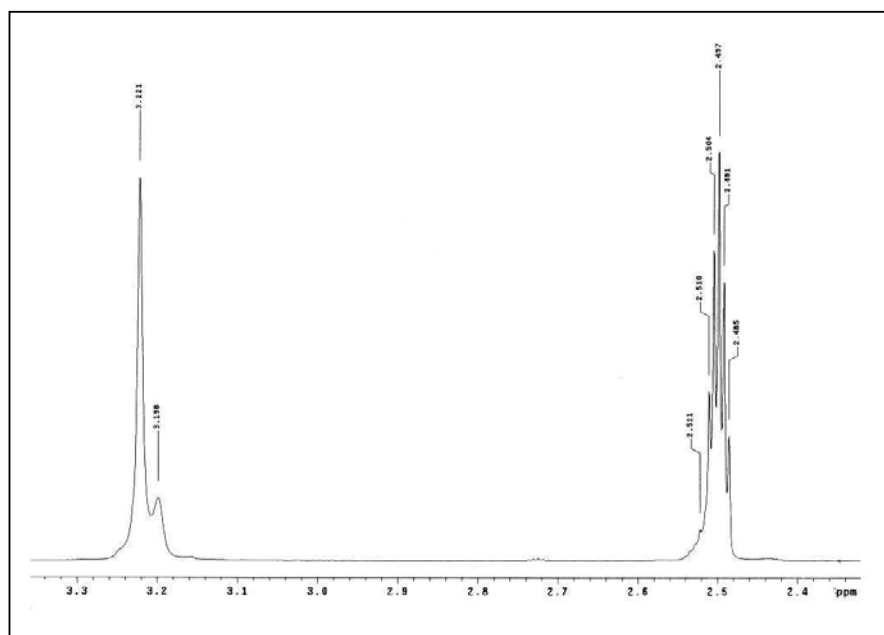
Espectro 21 - I.V. da 4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (NTSCF)



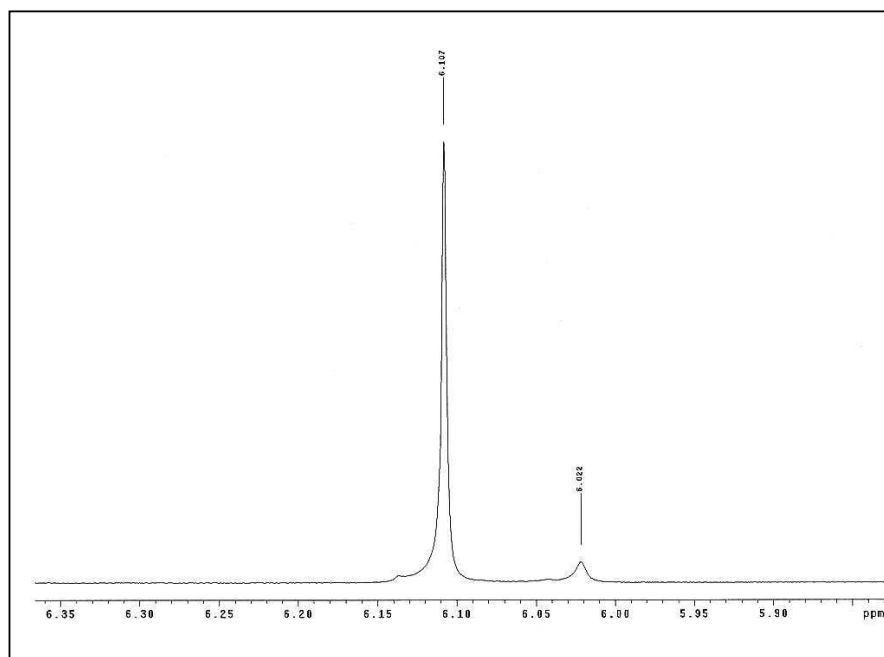
Espectro 22 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



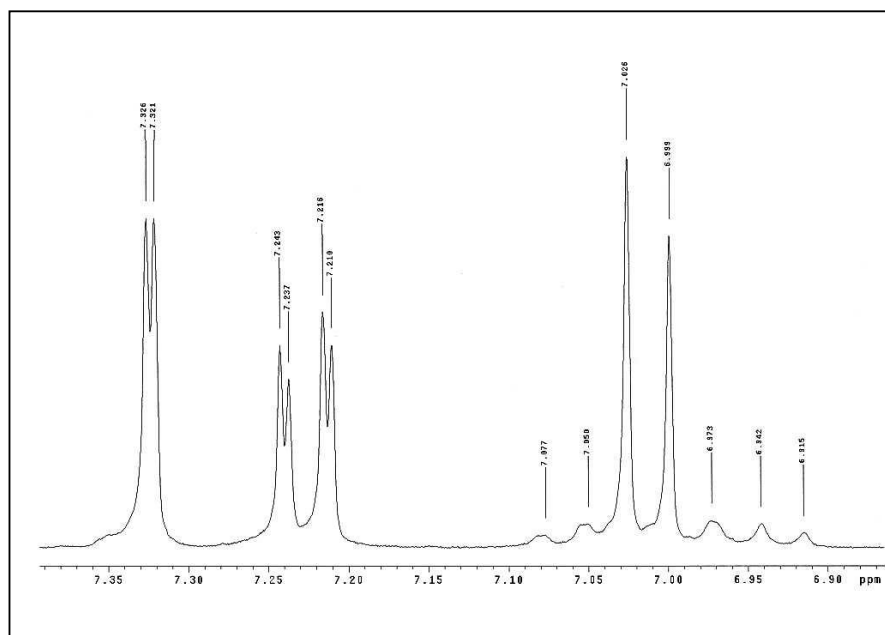
Espectro 22 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



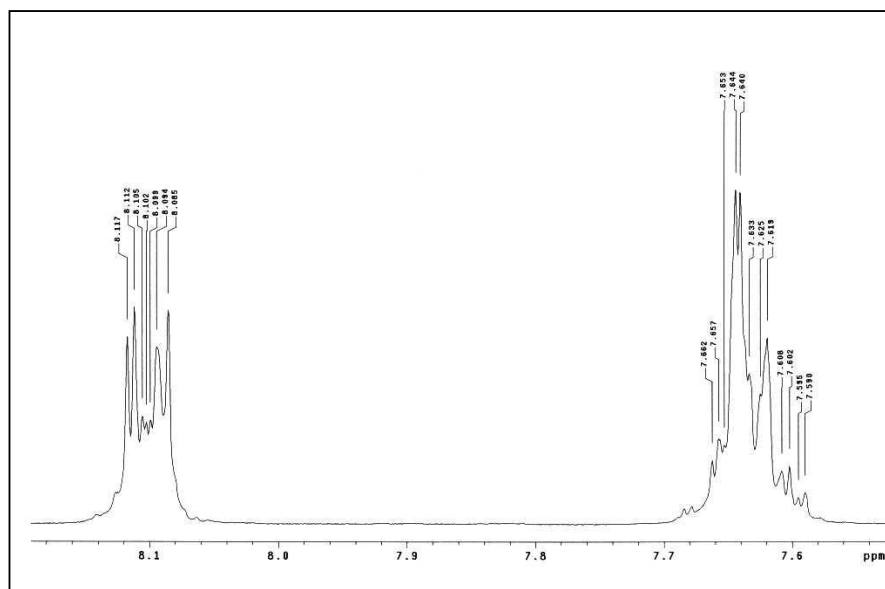
Espectro 22 - RMN^1H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



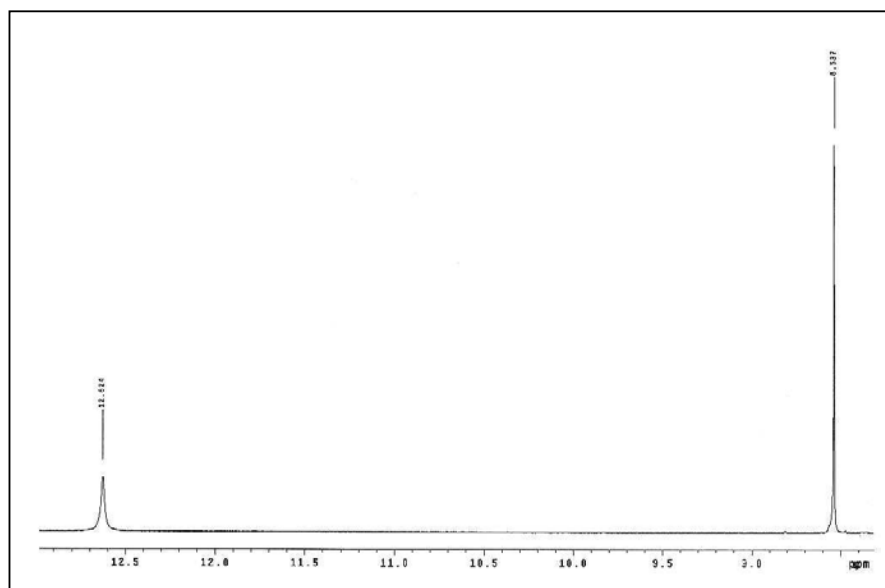
Espectro 22 - RMN^1H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



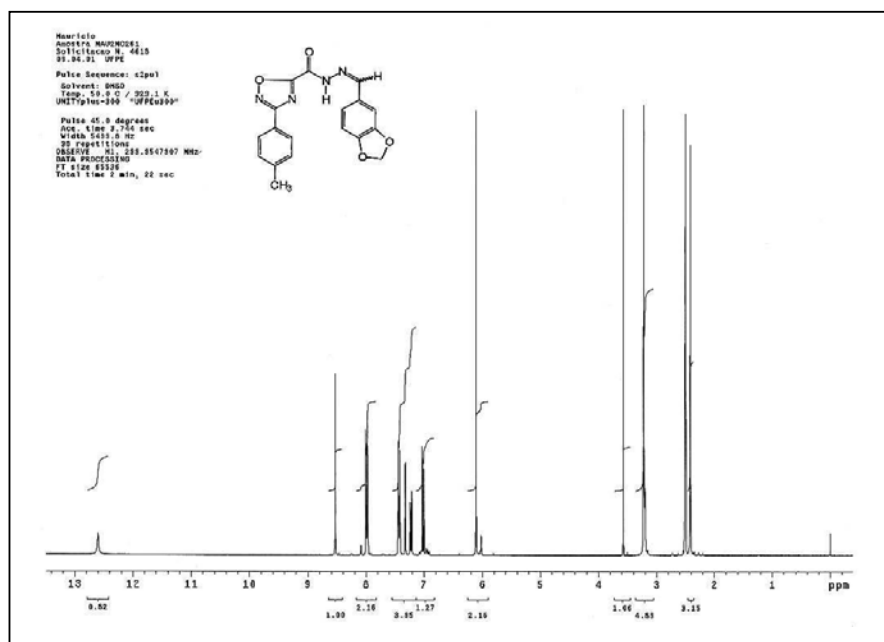
Espectro 22 - RMN^1H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



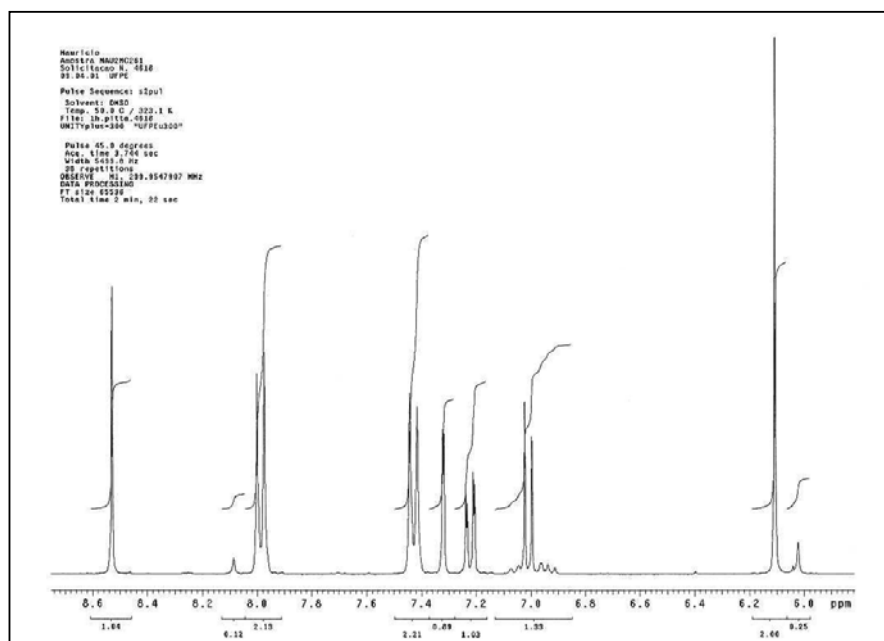
Espectro 22 - RMN^1H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



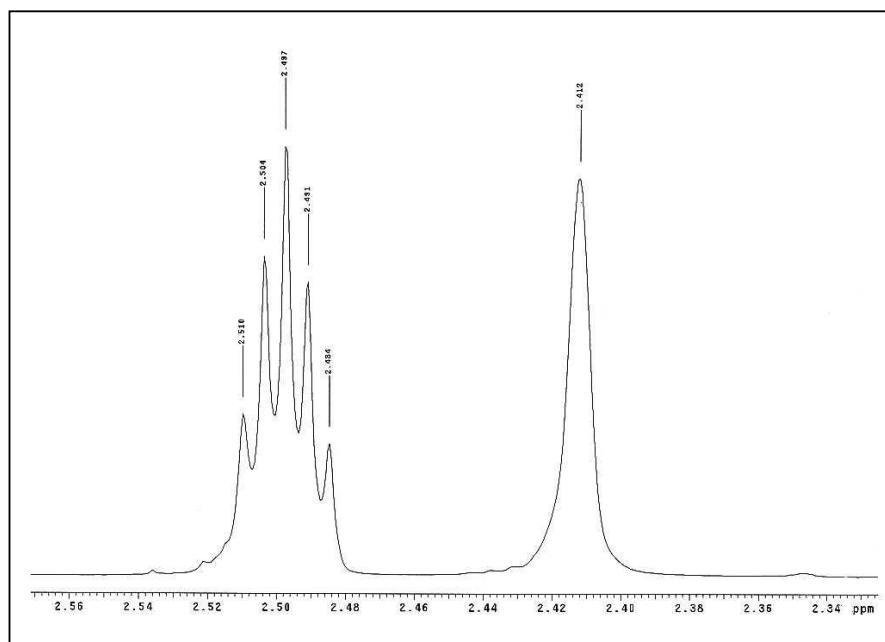
Espectro 22 - RMN^1H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



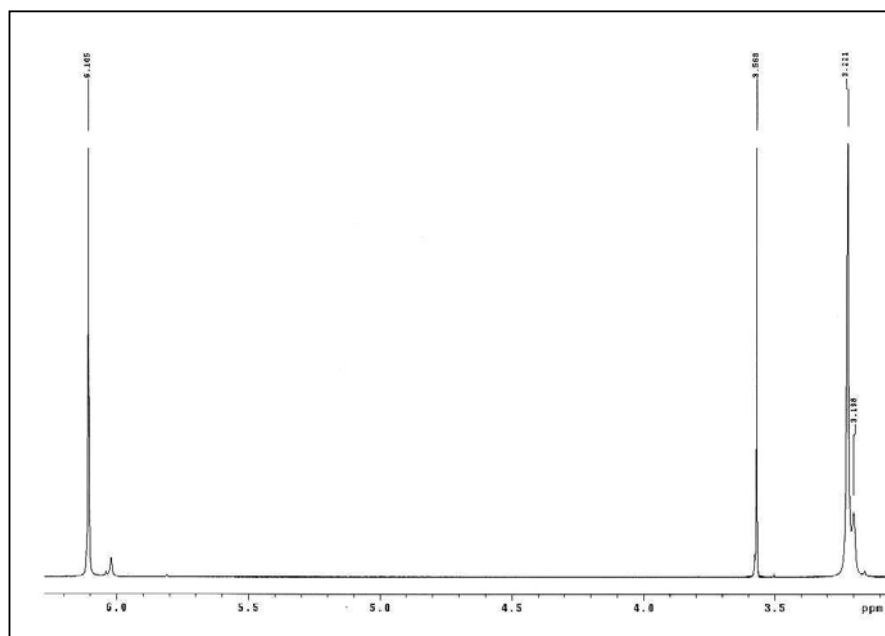
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



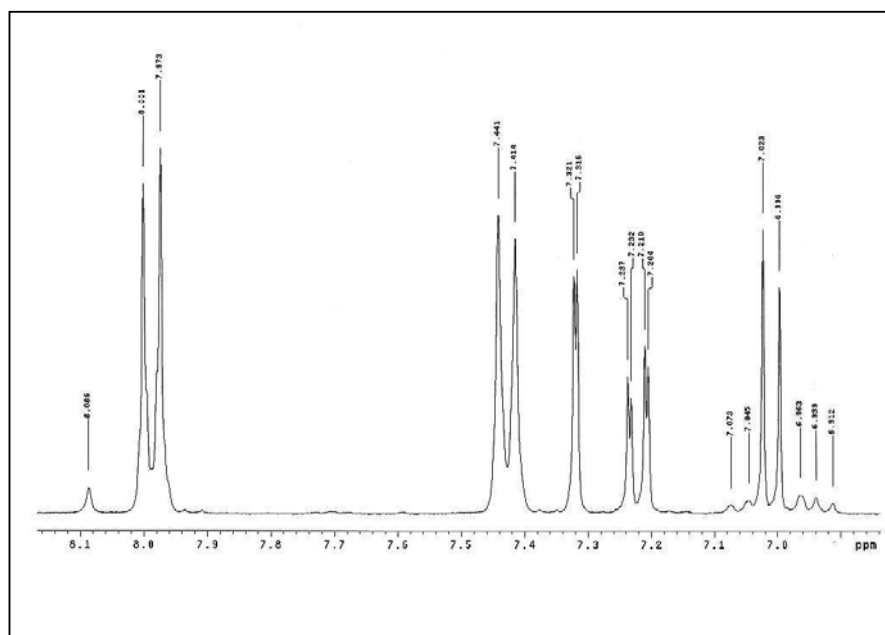
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



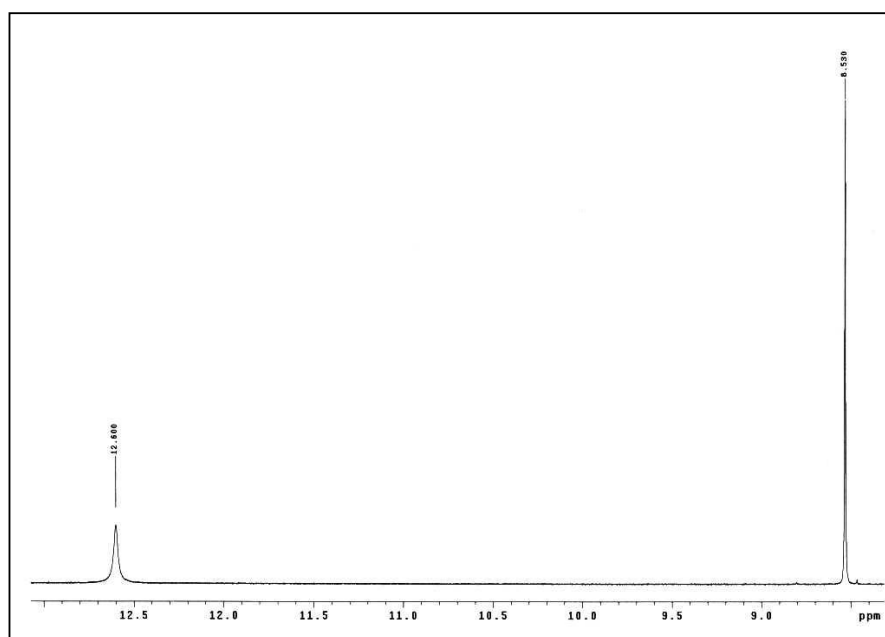
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



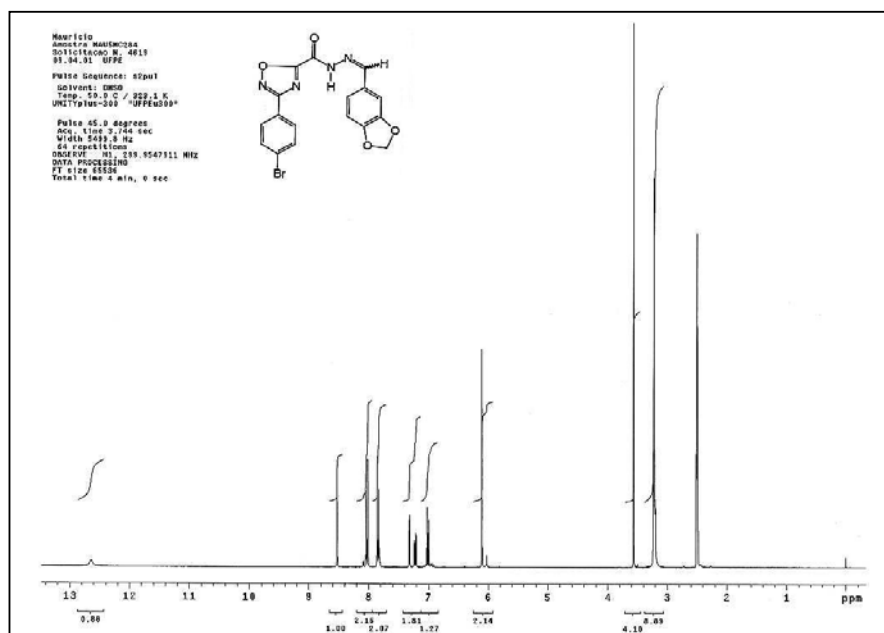
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



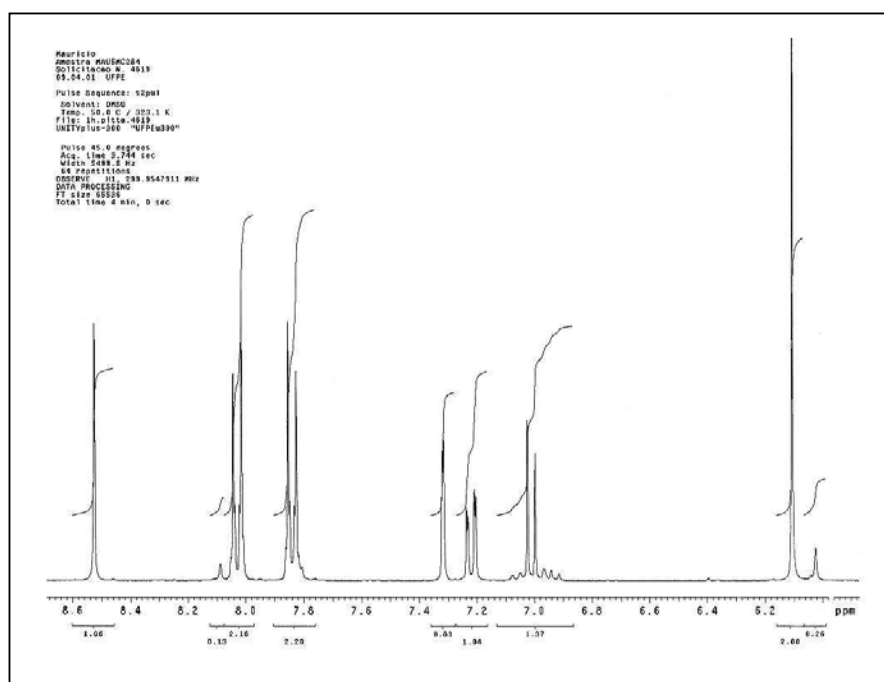
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



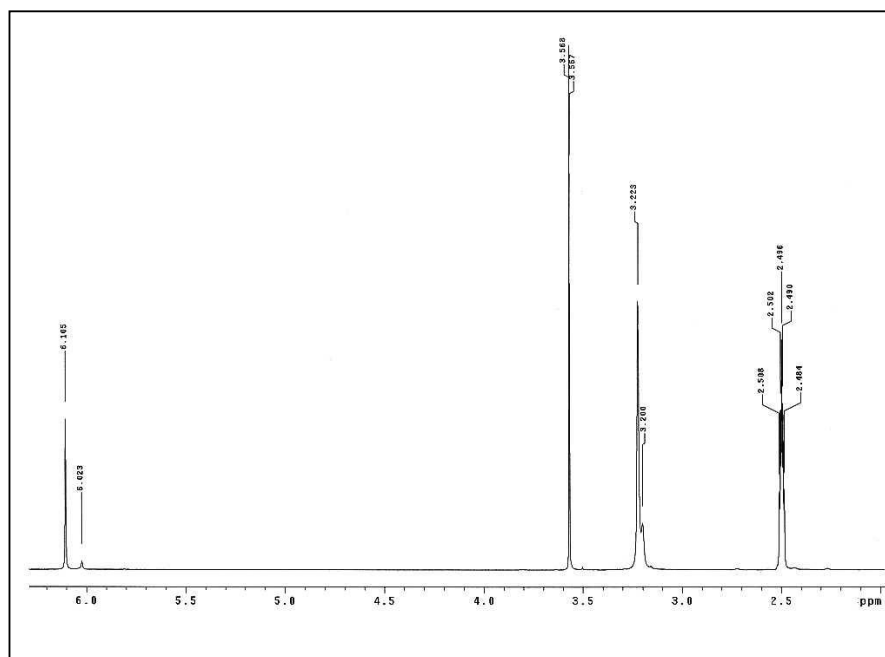
Espectro 23 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



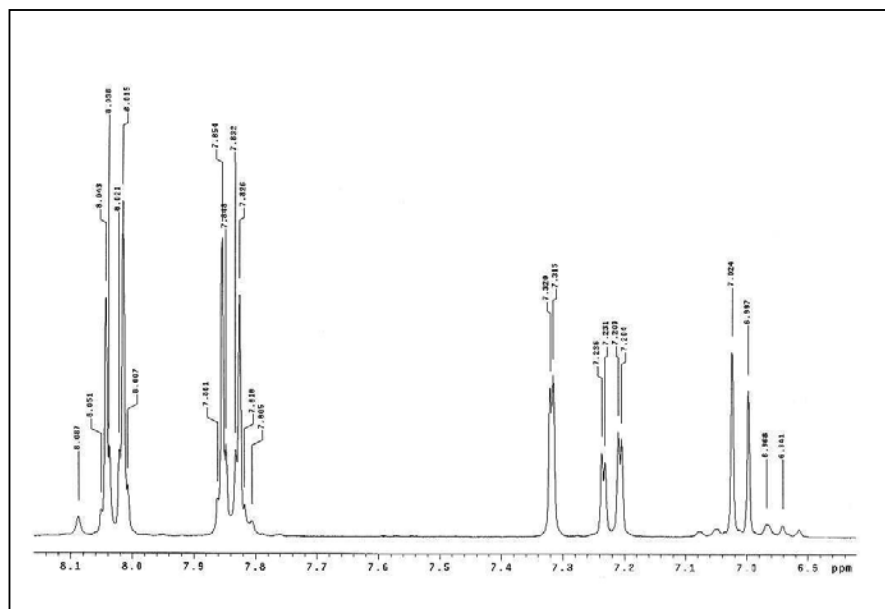
Espectro 24 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



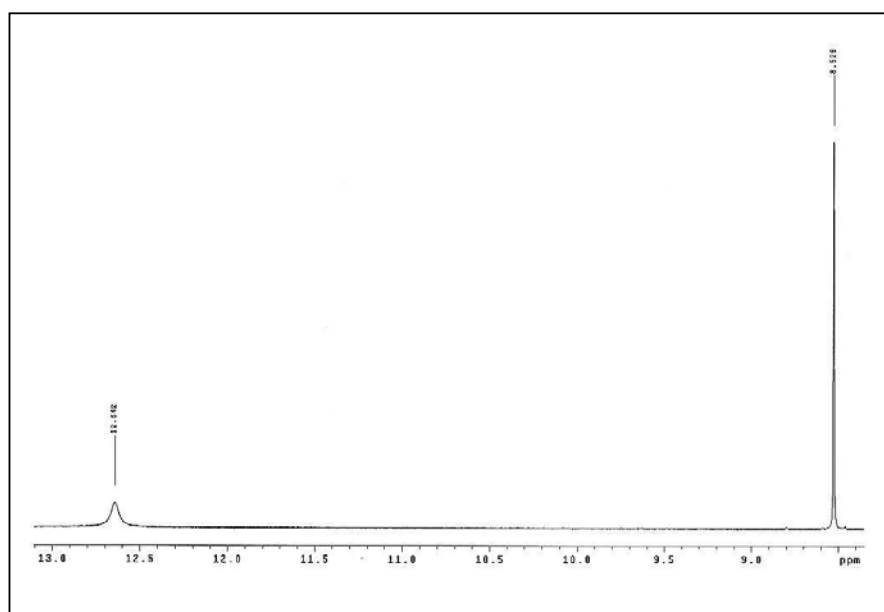
Espectro 24 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



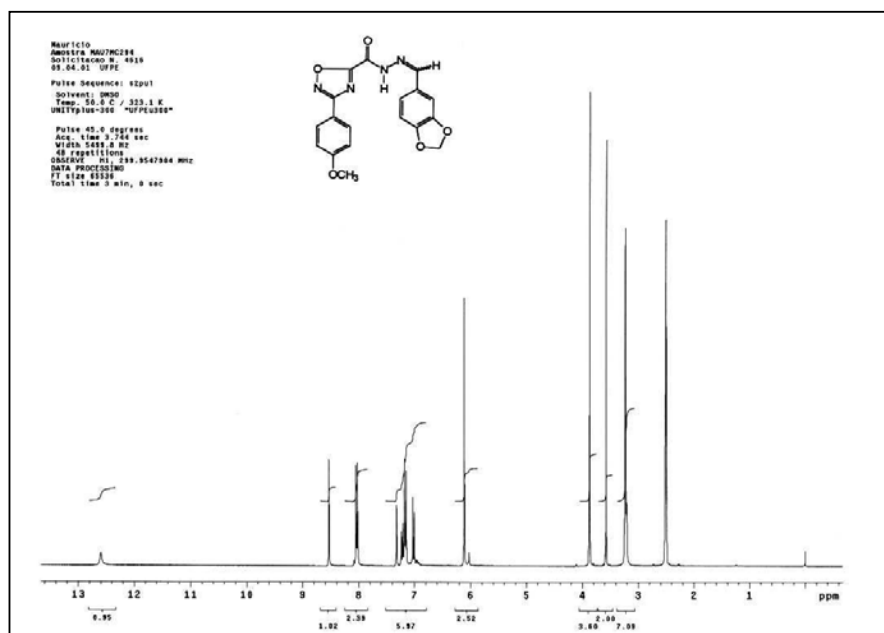
Espectro 24 - RMN^1H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



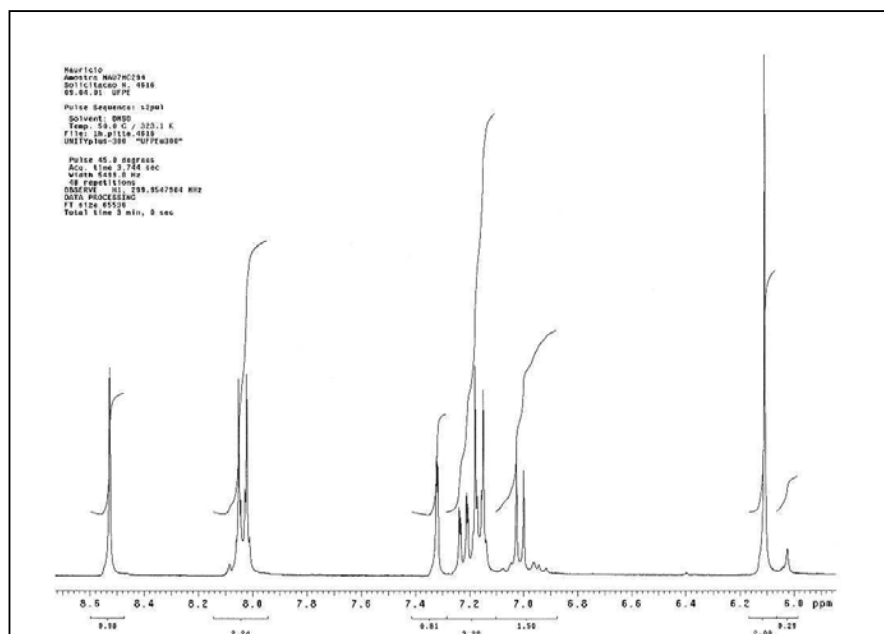
Espectro 24 - RMN^1H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



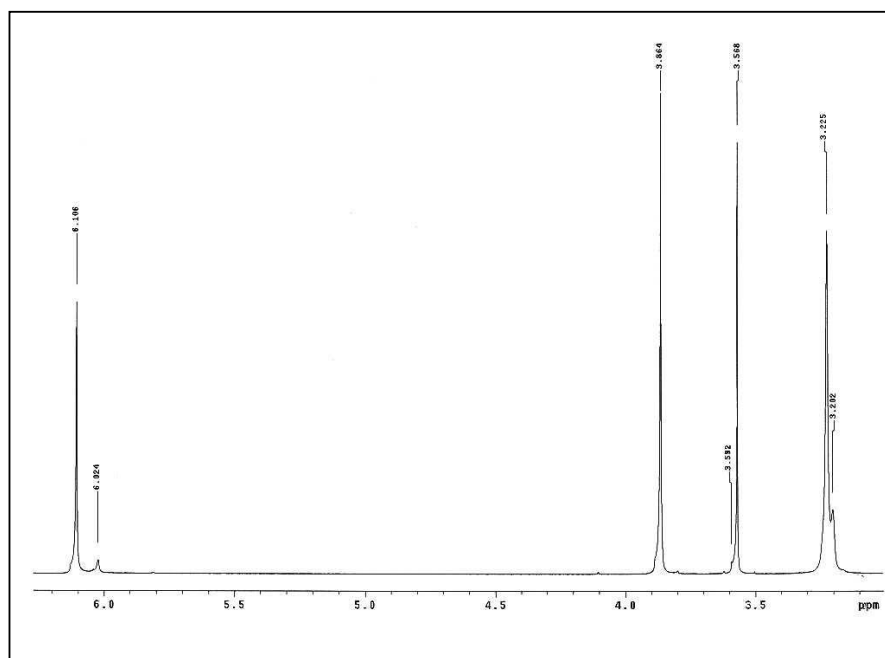
Espectro 24 - RMN^1H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



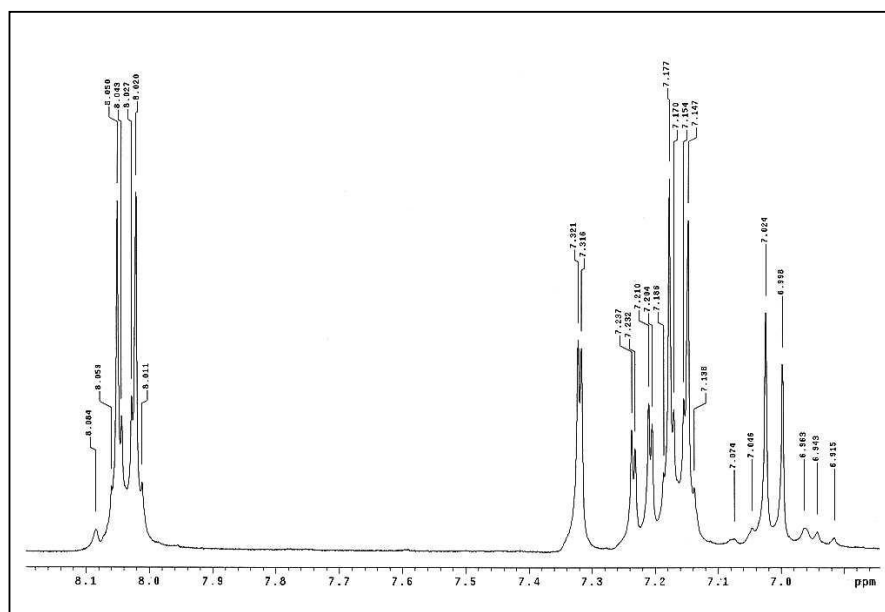
Espectro 25 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



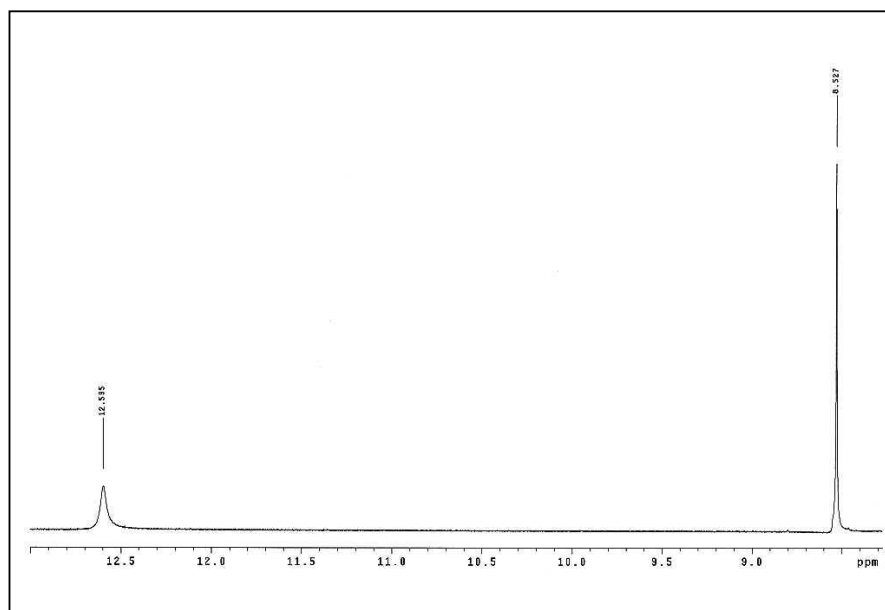
Espectro 25 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



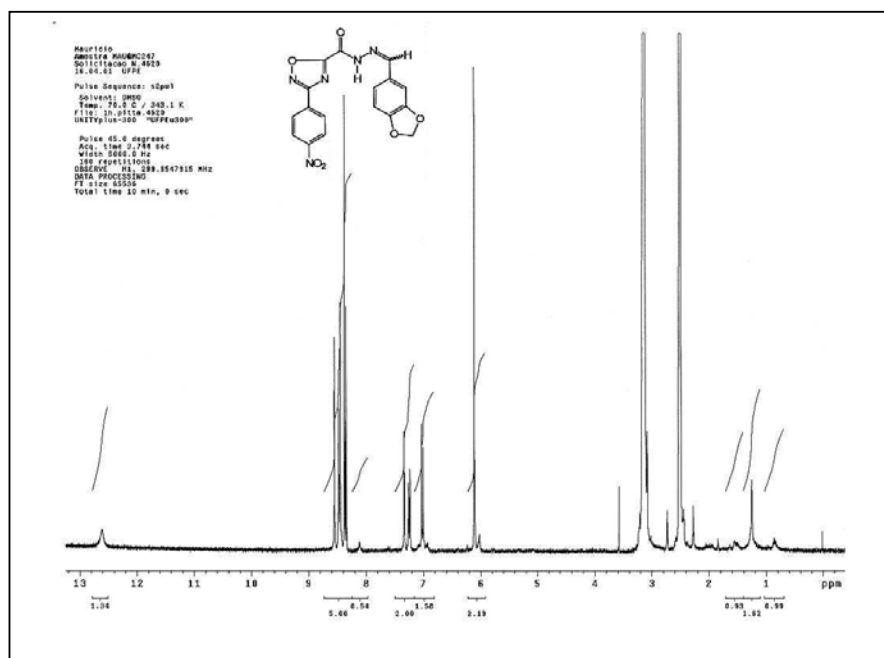
Espectro 25 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



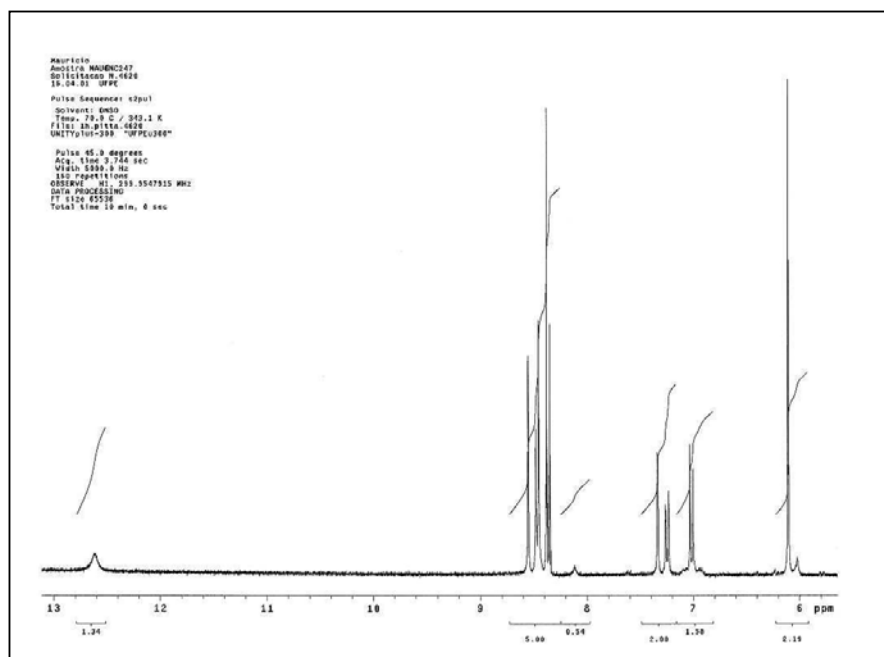
Espectro 25 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



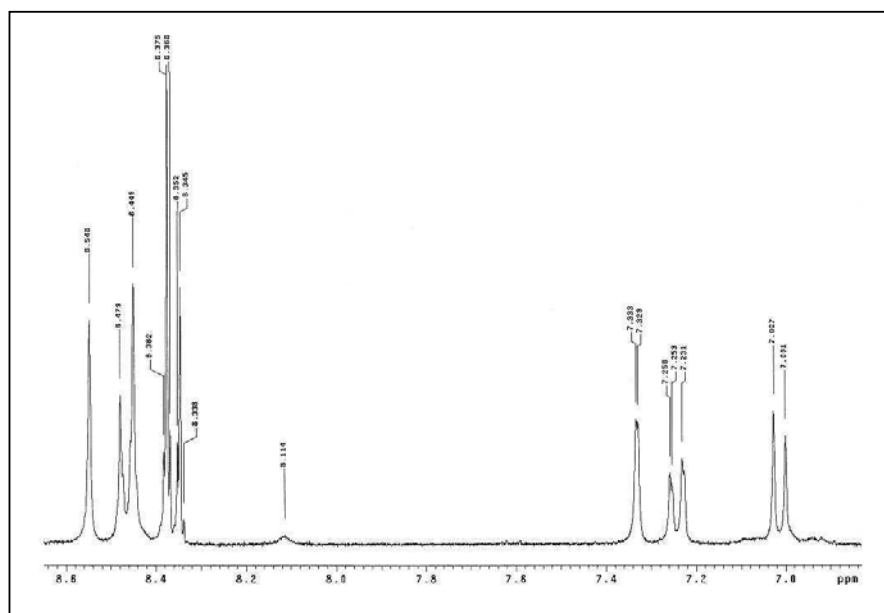
Espectro 25 - RMN^1H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



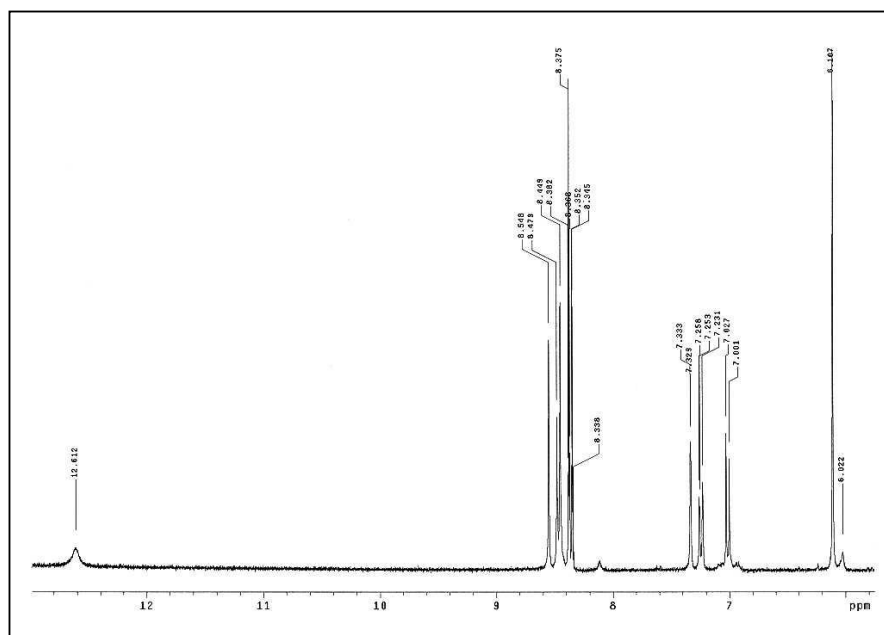
Espectro 26 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



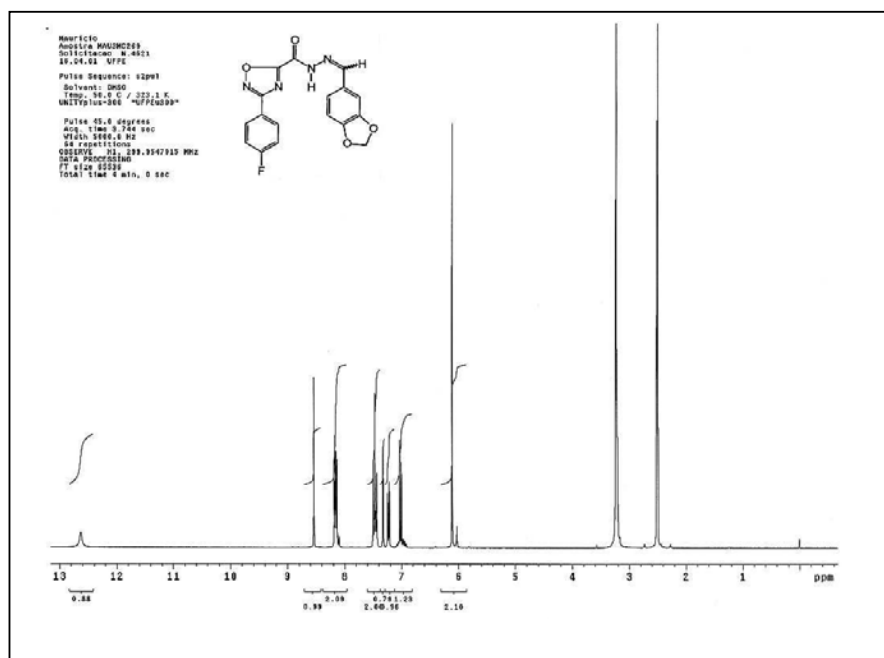
Espectro 26 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



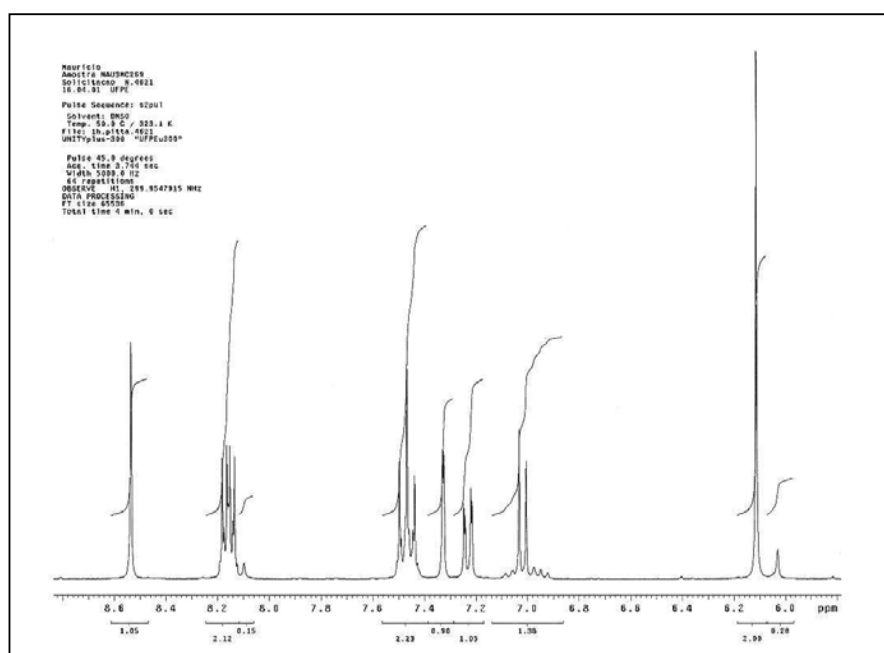
Espectro 26 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



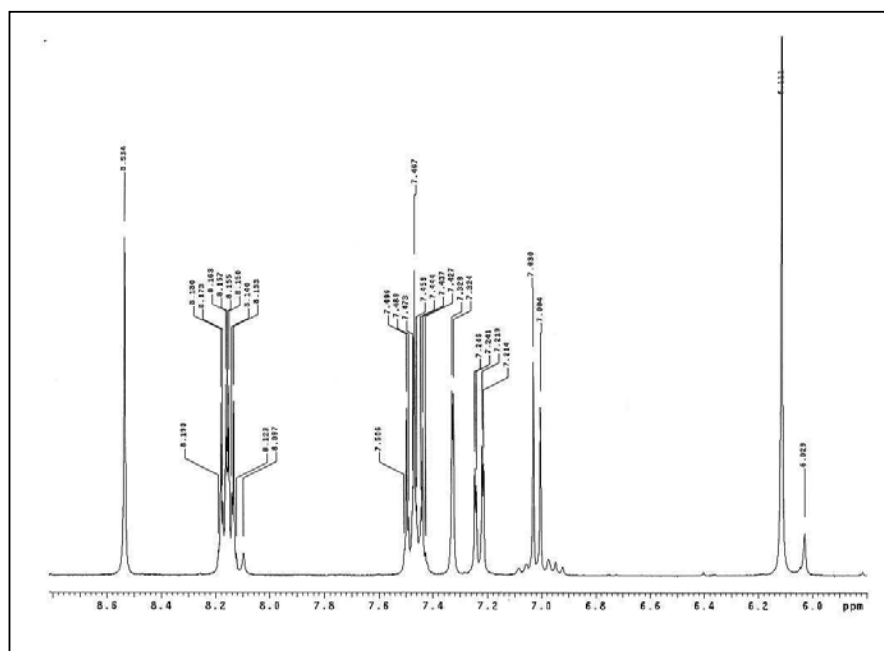
Espectro 26 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



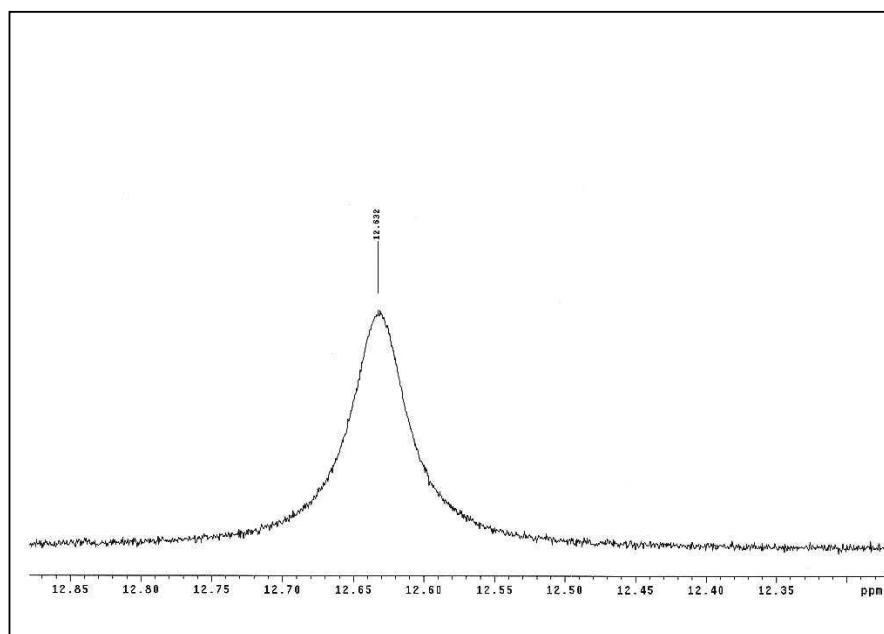
Espectro 27 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



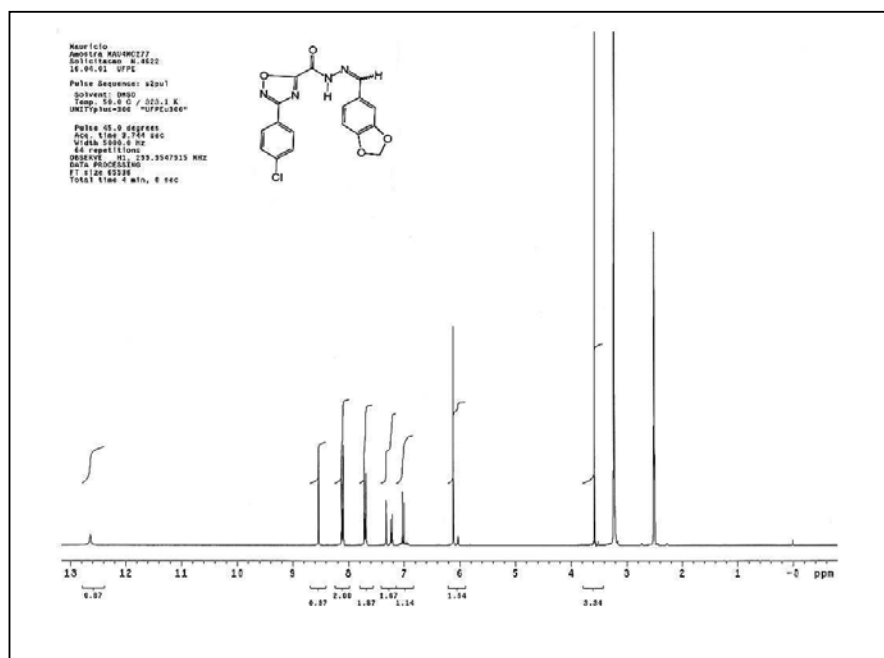
Espectro 27 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



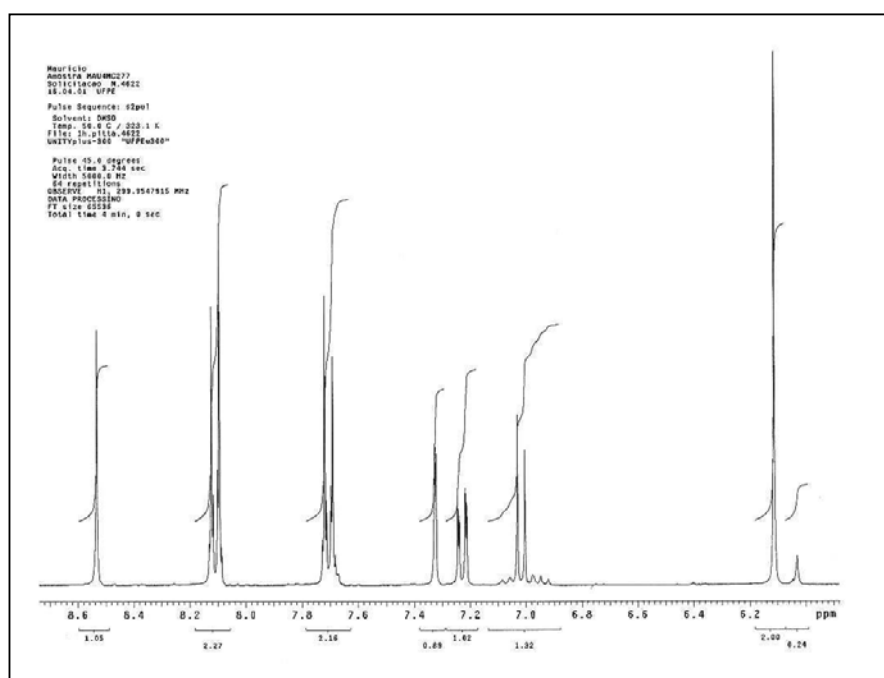
Espectro 27 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



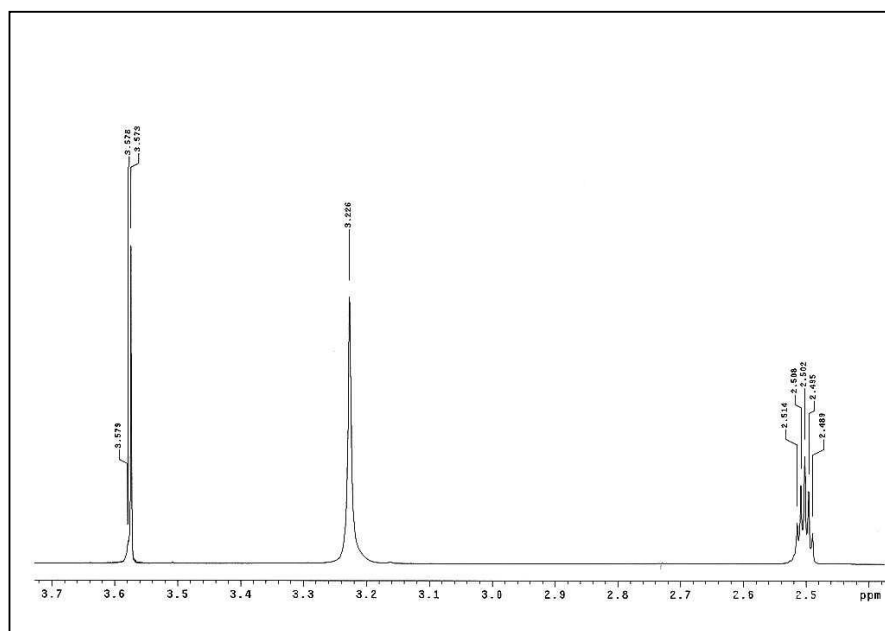
Espectro 27 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



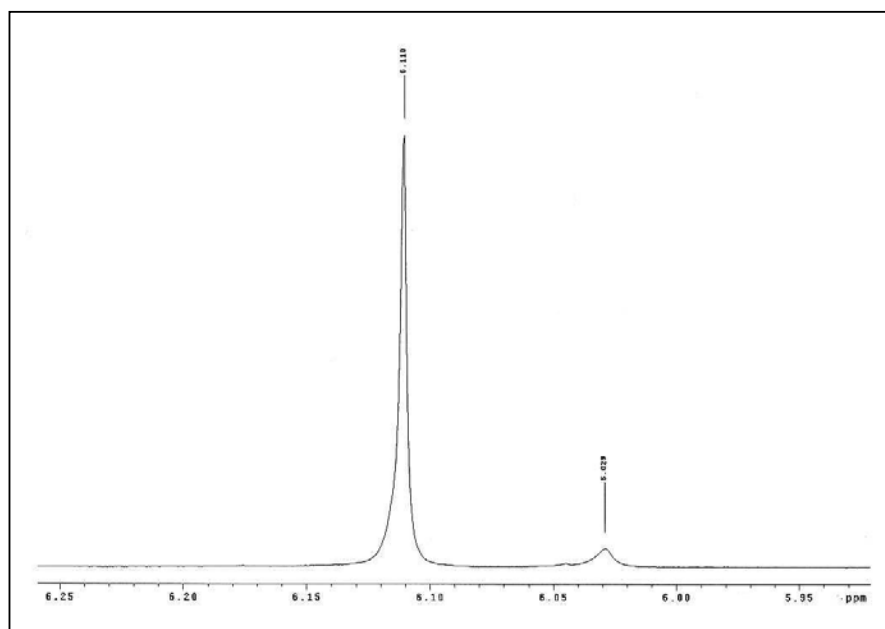
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



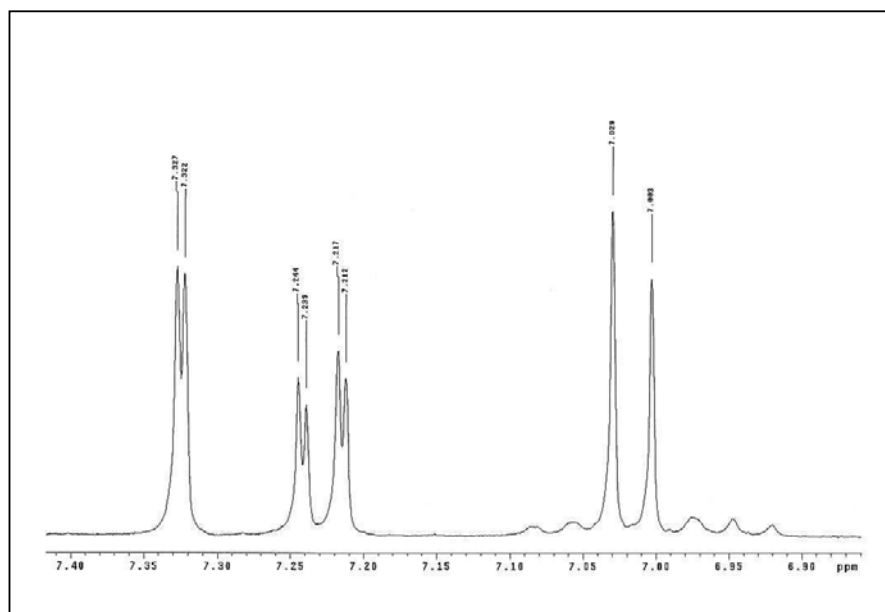
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



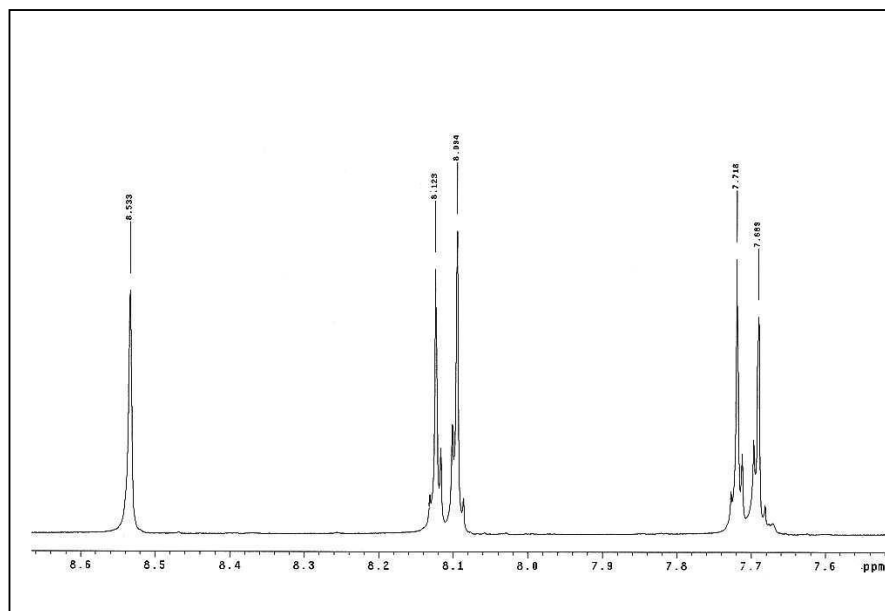
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



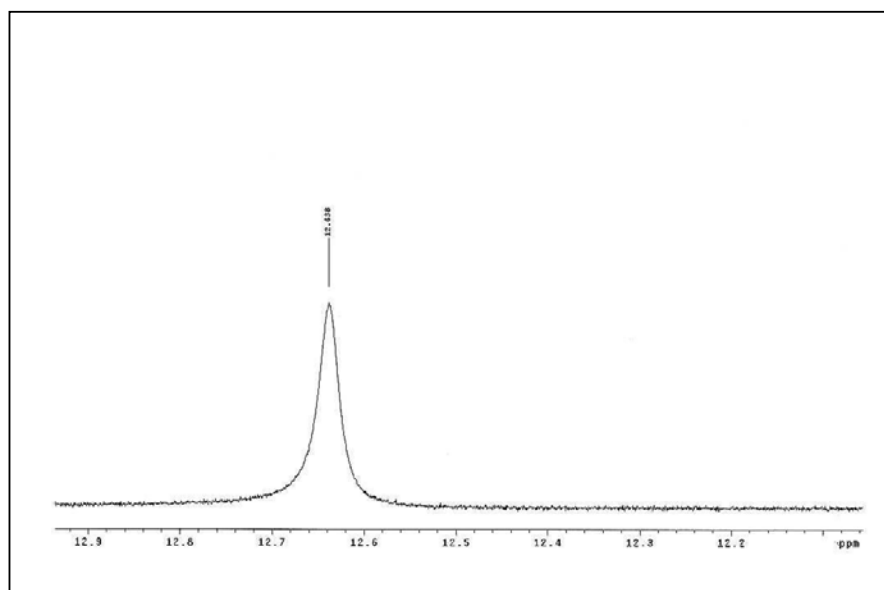
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



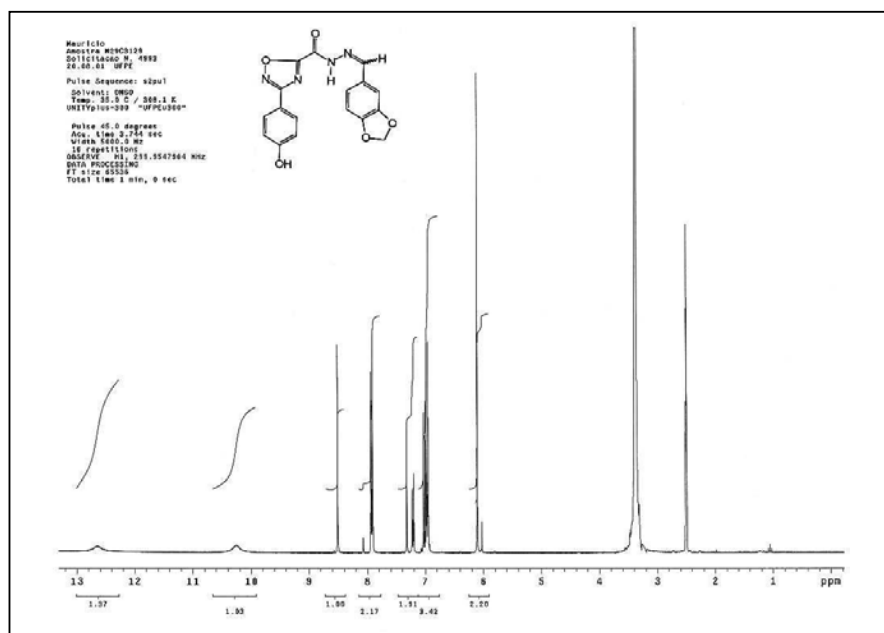
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



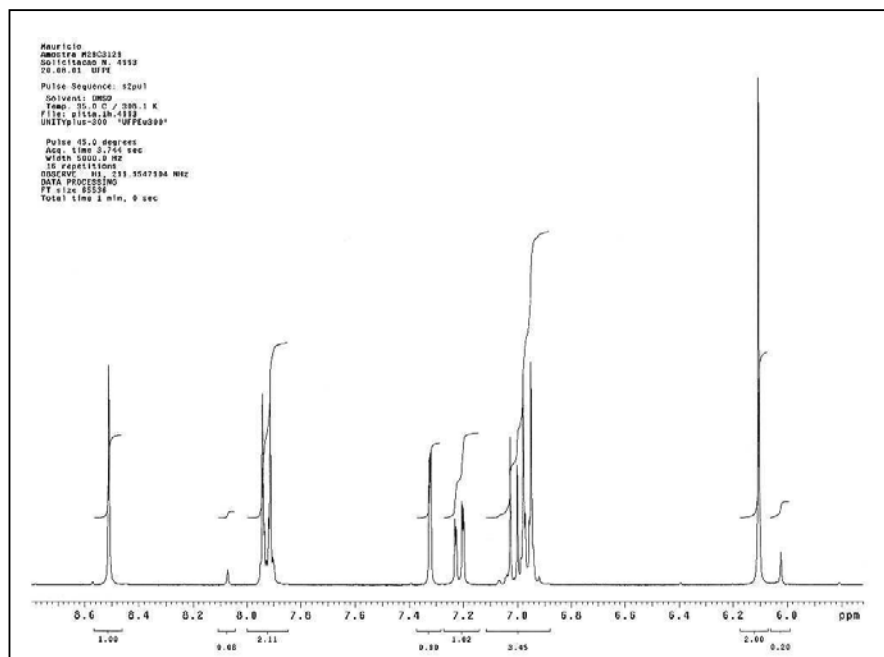
Espectro 28 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



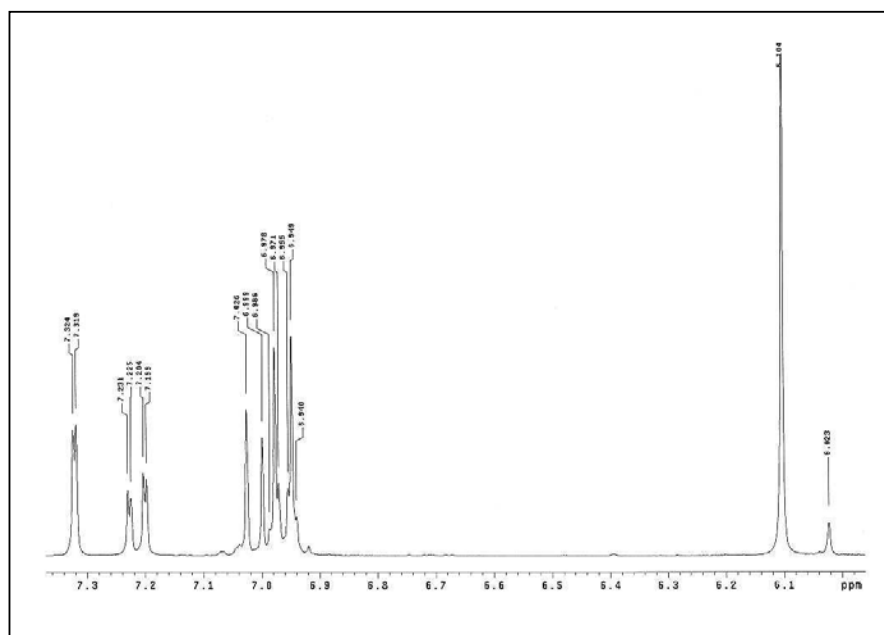
Espectro 28 - RMN^1H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



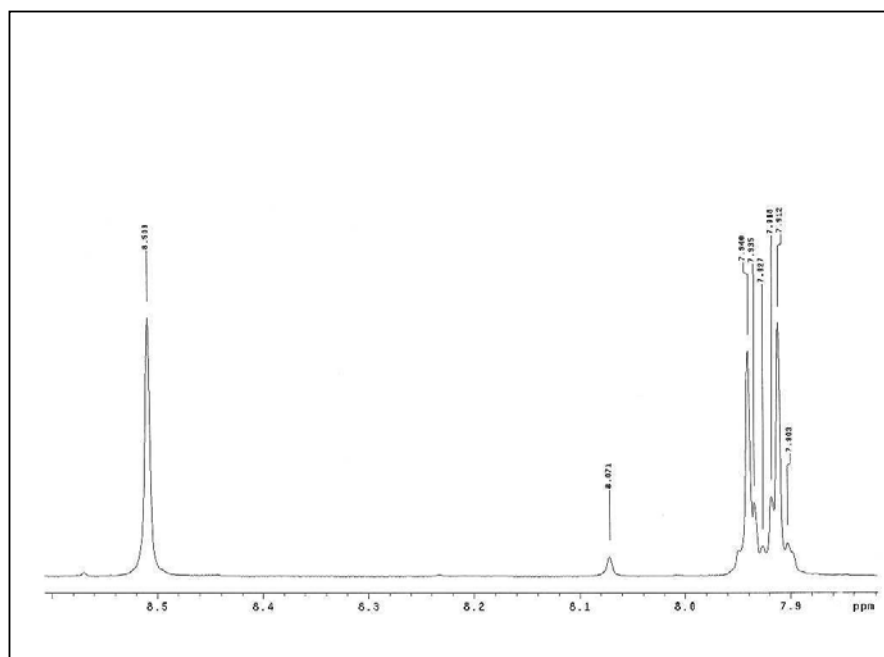
Espectro 29 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



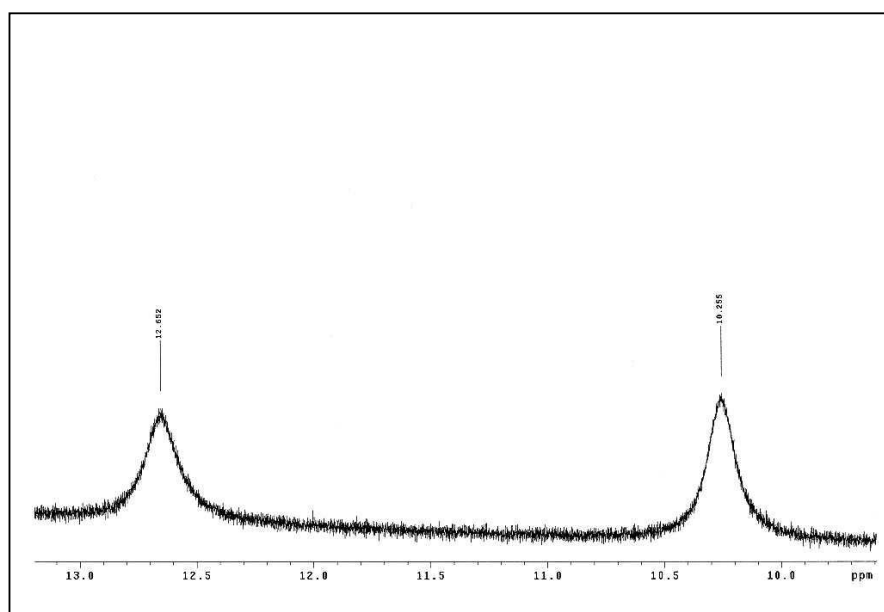
Espectro 29 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



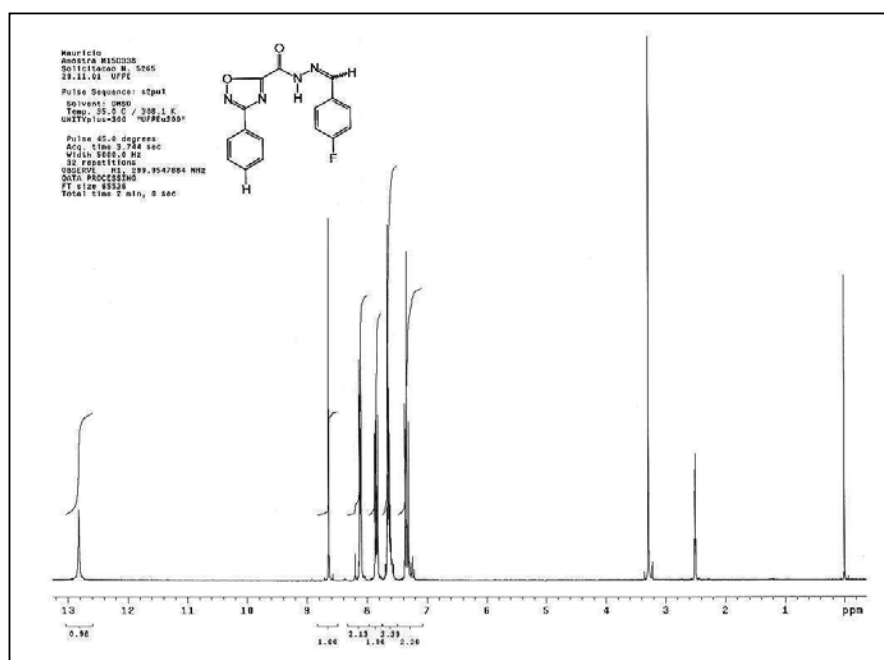
Espectro 29 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



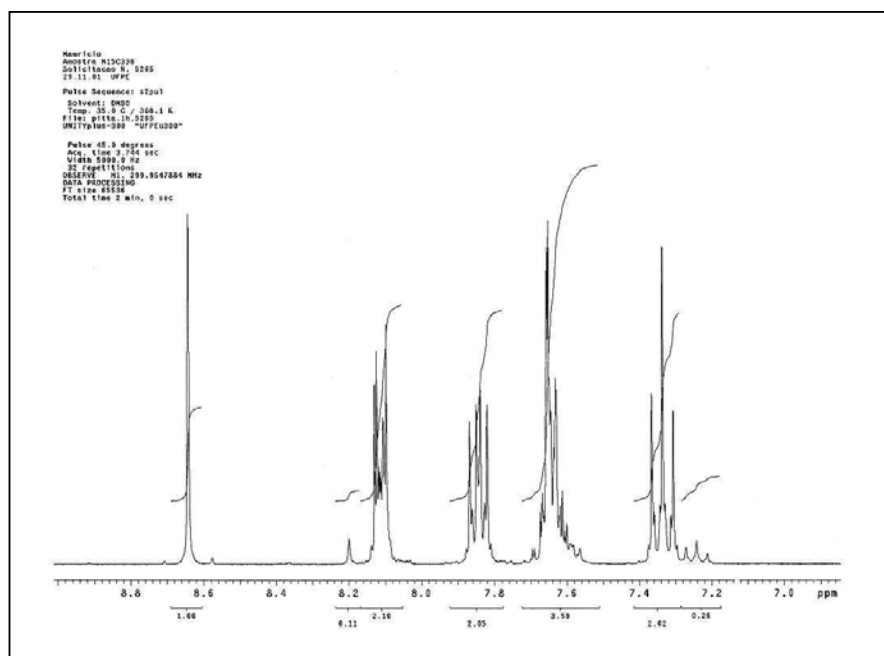
Espectro 29 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



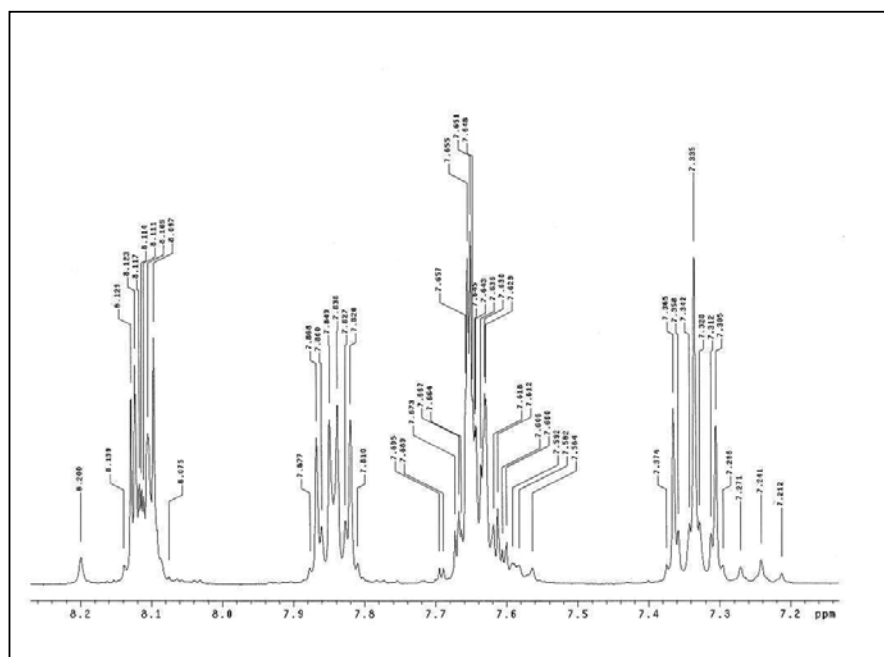
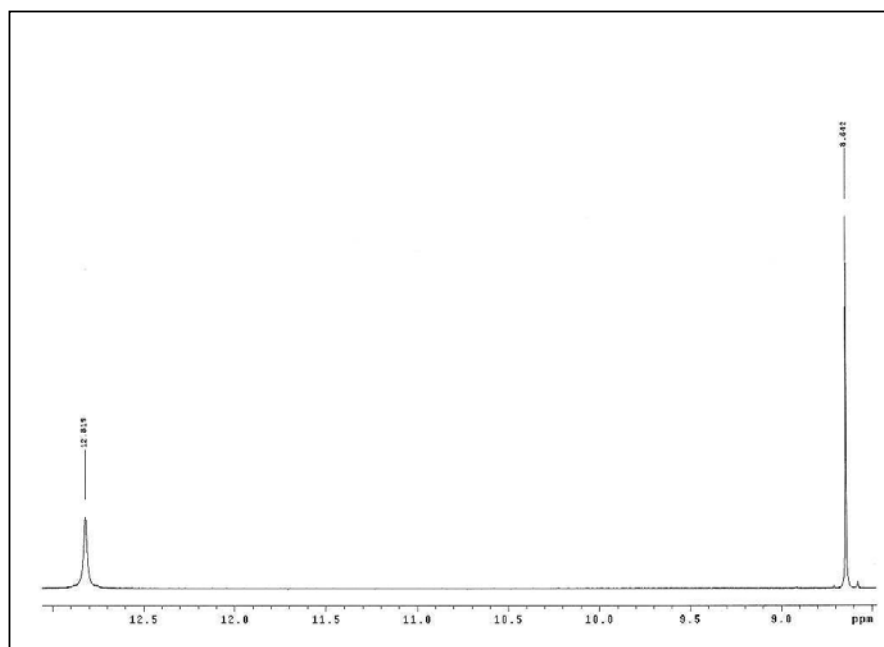
Espectro 29 - RMN^1H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)

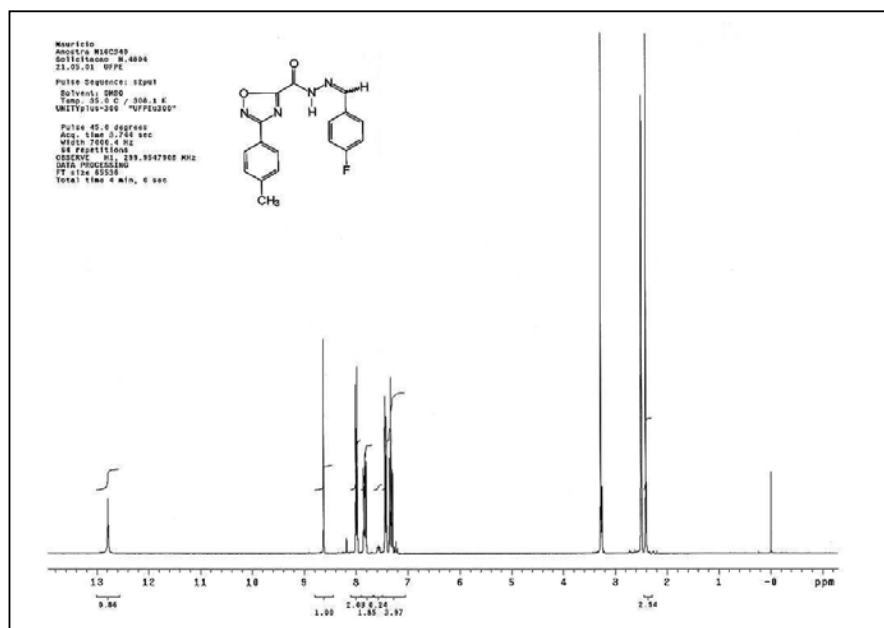


Espectro 30 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)

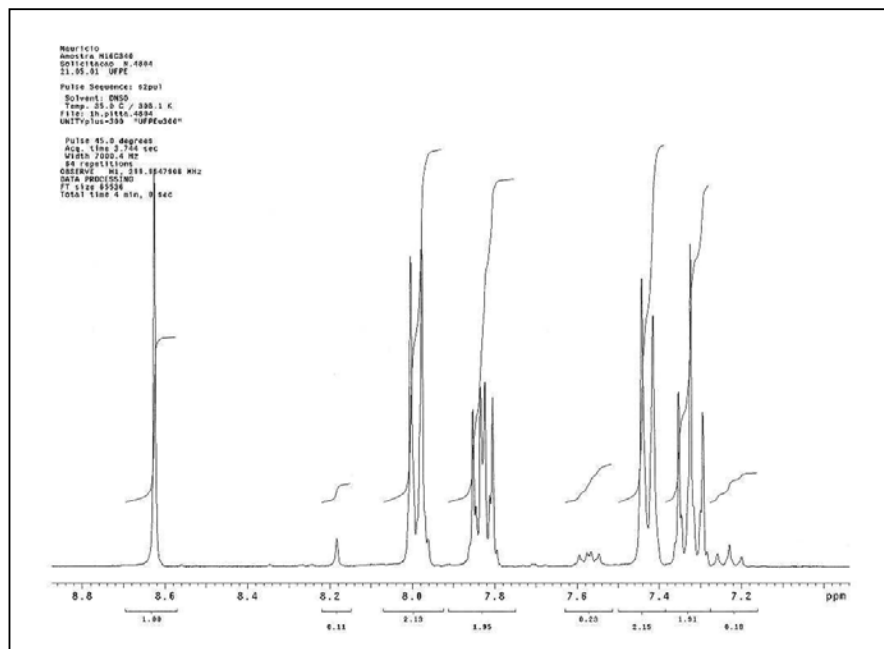


Espectro 30 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)

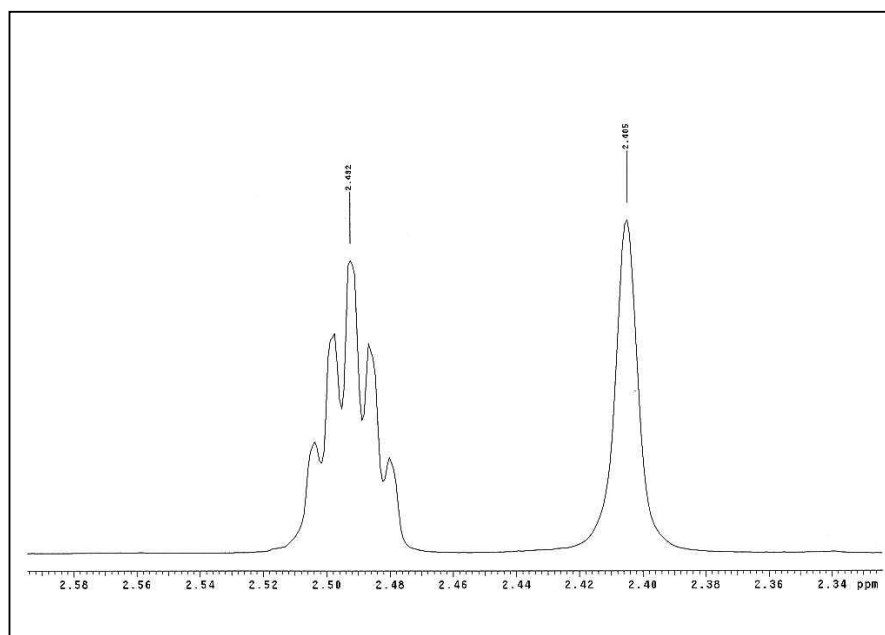
Espectro 30 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)Espectro 30 - RMN¹H da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)



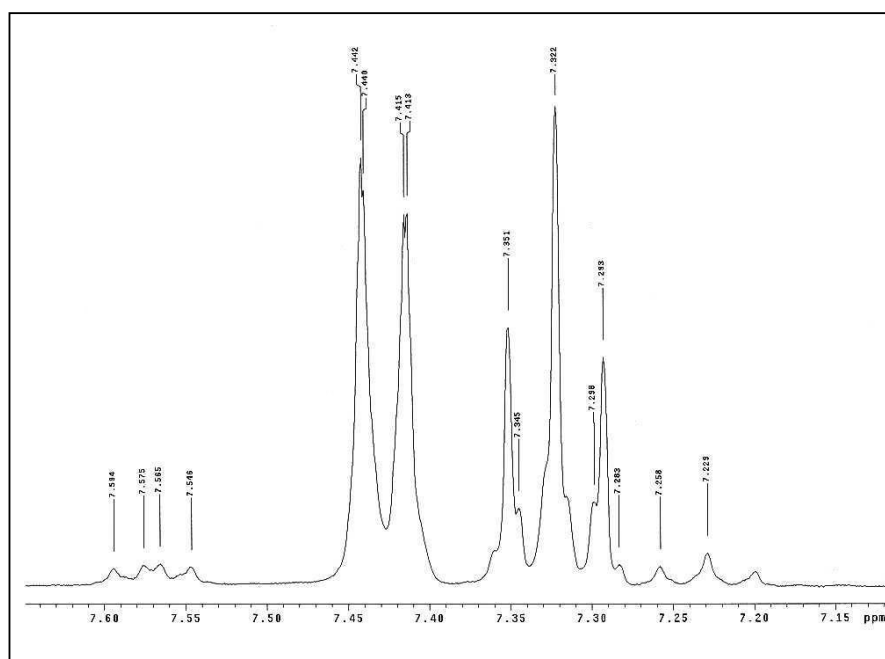
Espectro 31 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



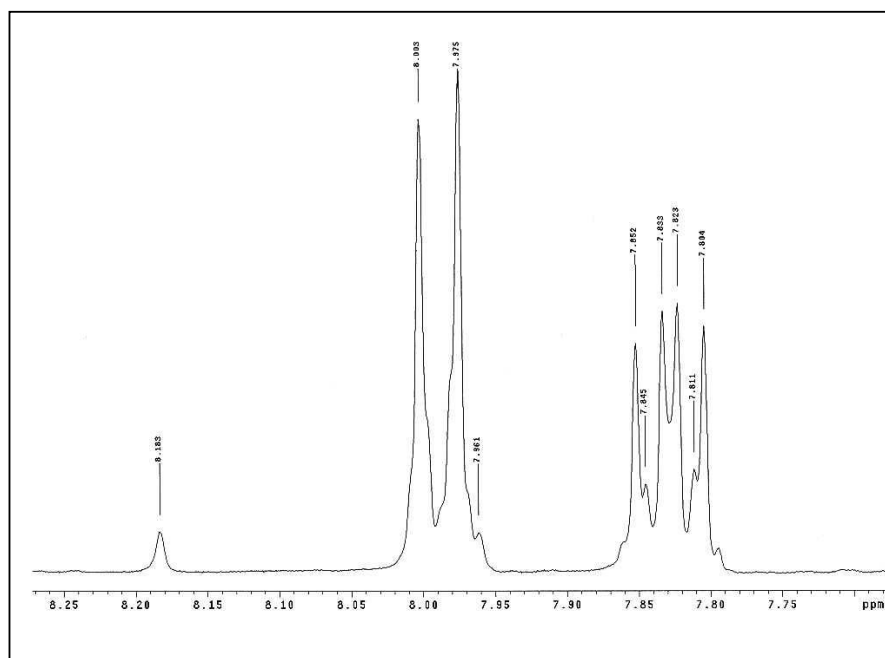
Espectro 31 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



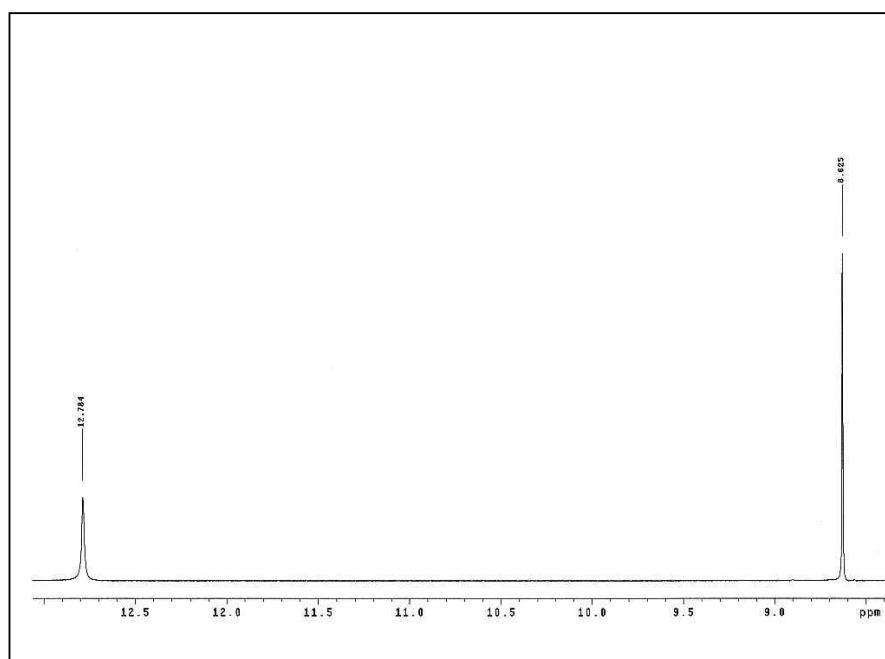
Espectro 31 - RMN^1H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



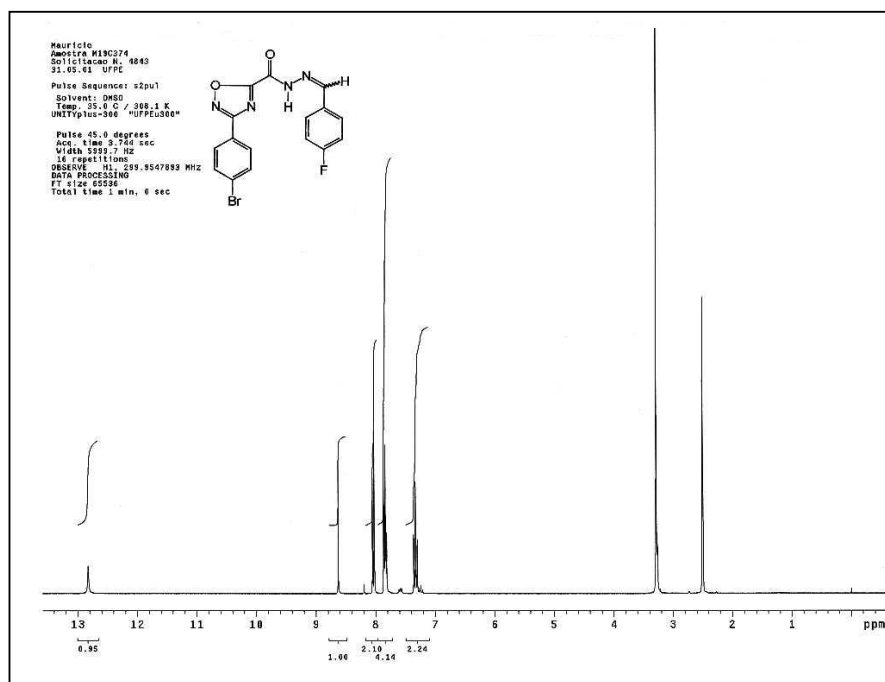
Espectro 31 - RMN^1H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



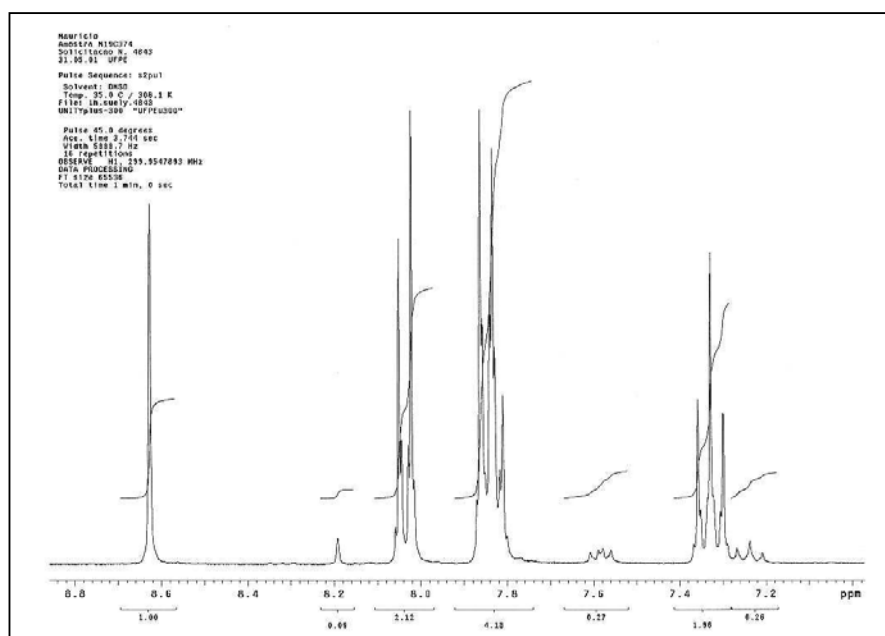
Espectro 31 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



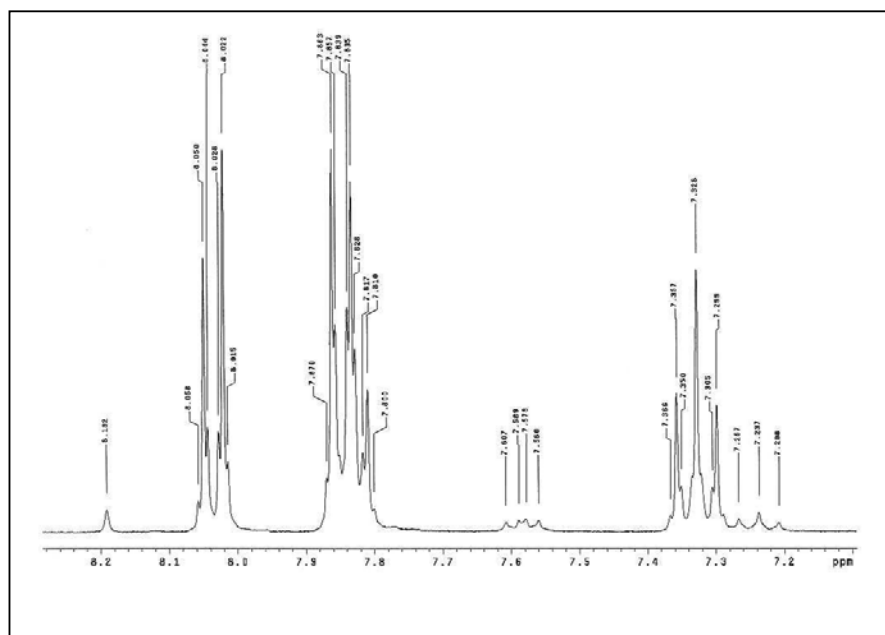
Espectro 31 - RMN¹H da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



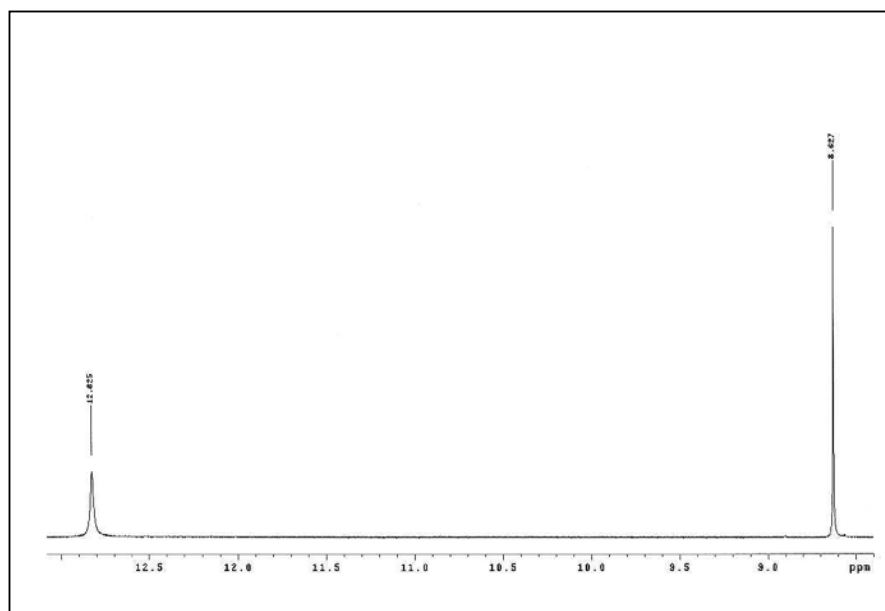
Espectro 32 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



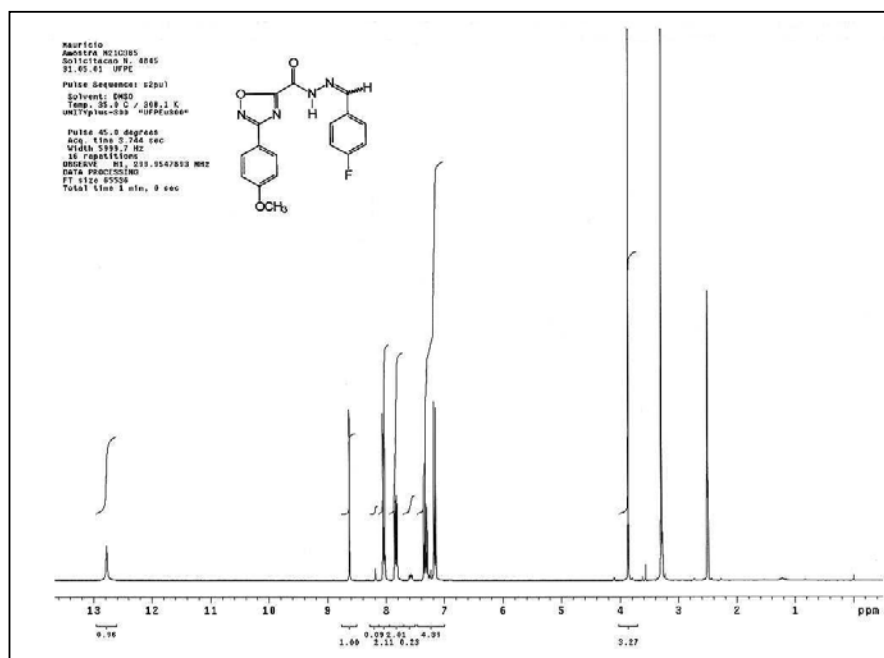
Espectro 32 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



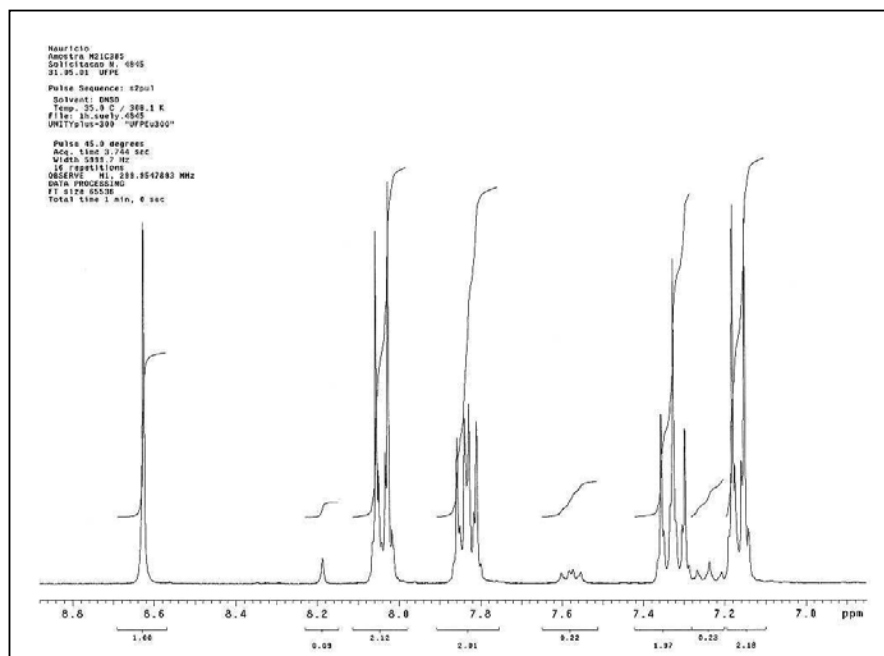
Espectro 32 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



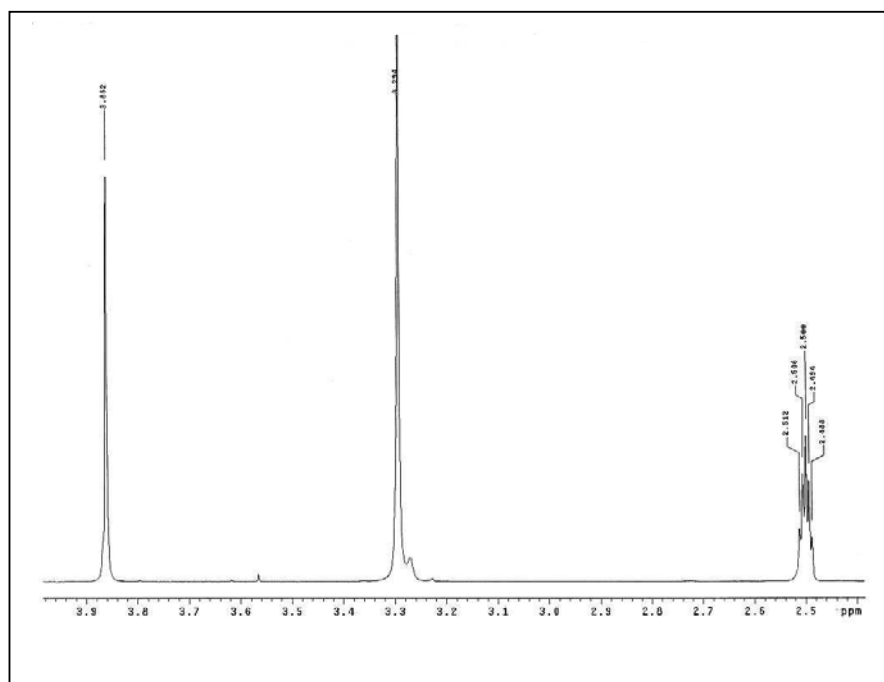
Espectro 32 - RMN¹H da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



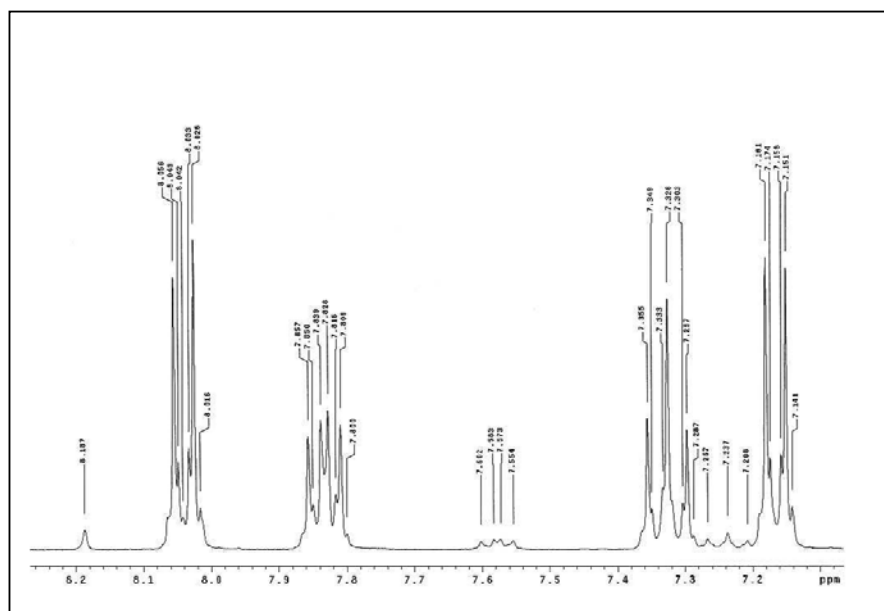
Espectro 33 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



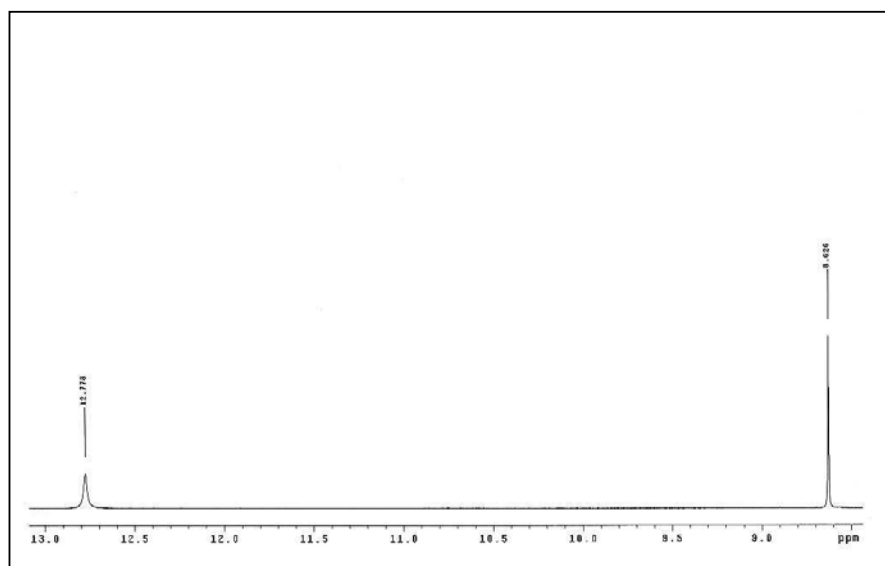
Espectro 33 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



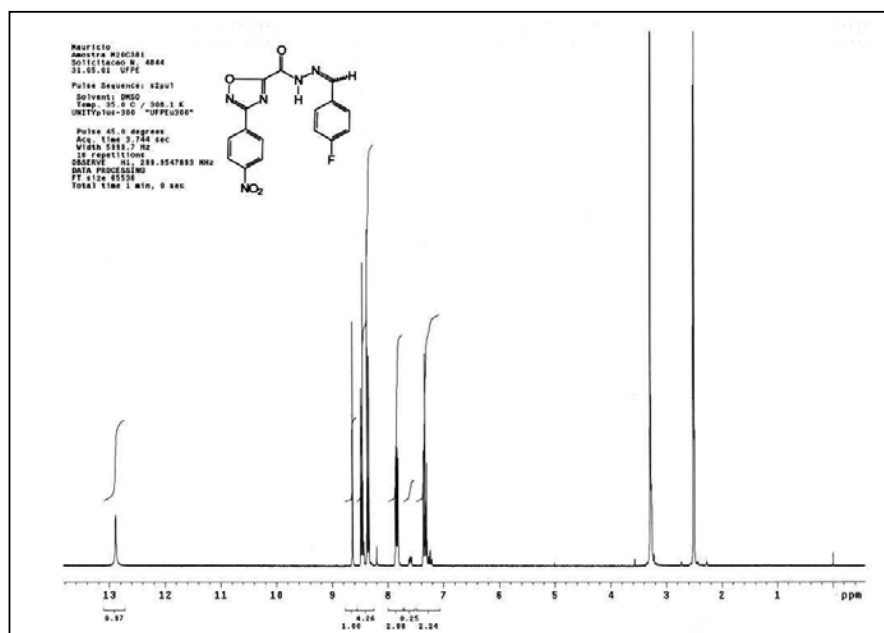
Espectro 33 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



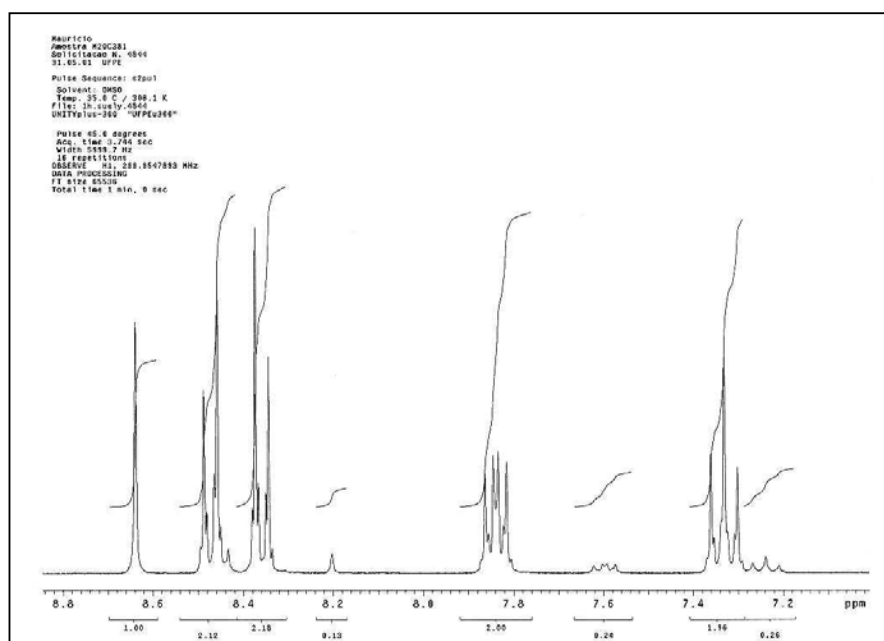
Espectro 33 - RMN¹H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



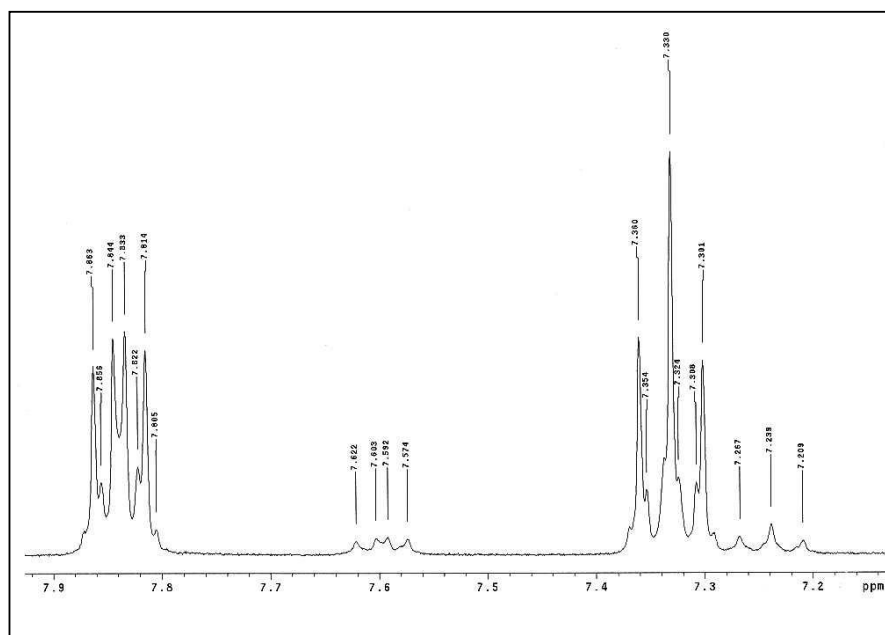
Espectro 33 - RMN^1H da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



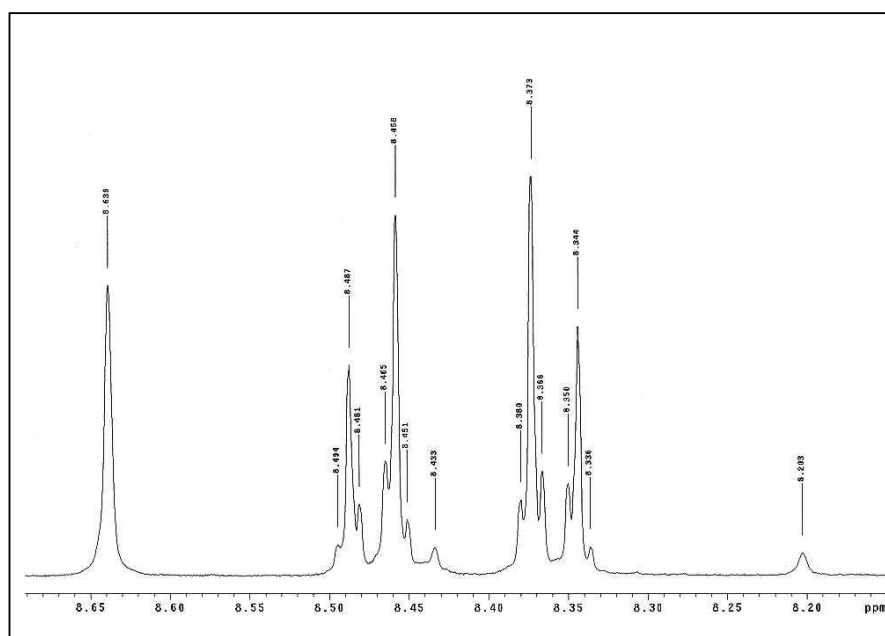
Espectro 34 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-phenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-phenil-hidrazona (M20C3)



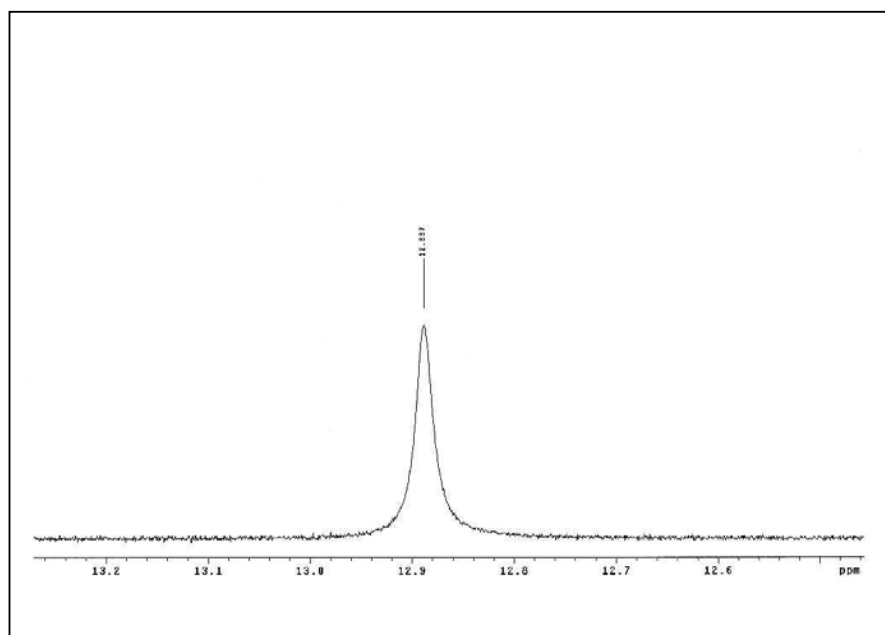
Espectro 34 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-phenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-phenil-hidrazona (M20C3)



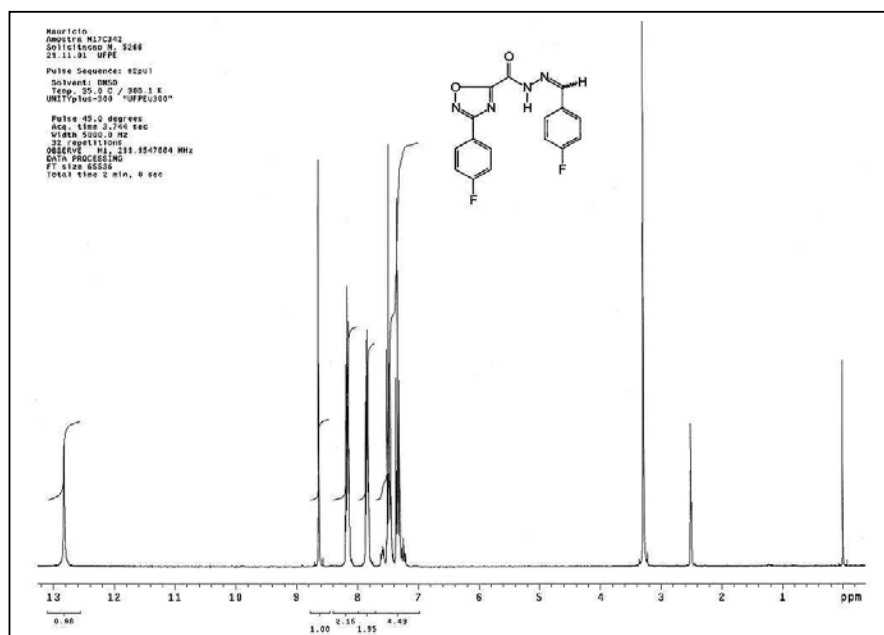
Espectro 34 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M20C3)



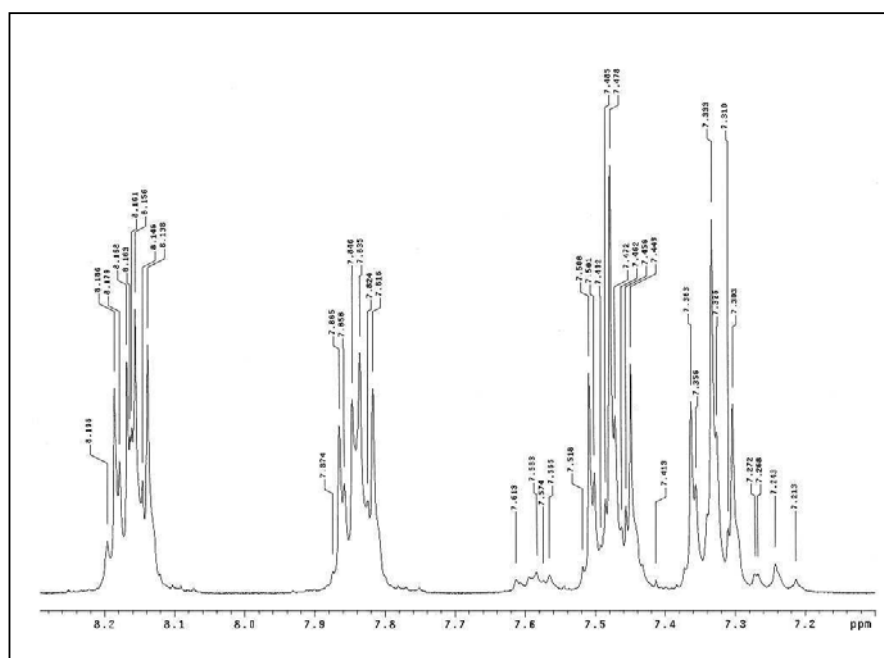
Espectro 34 - RMN¹H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M20C3)



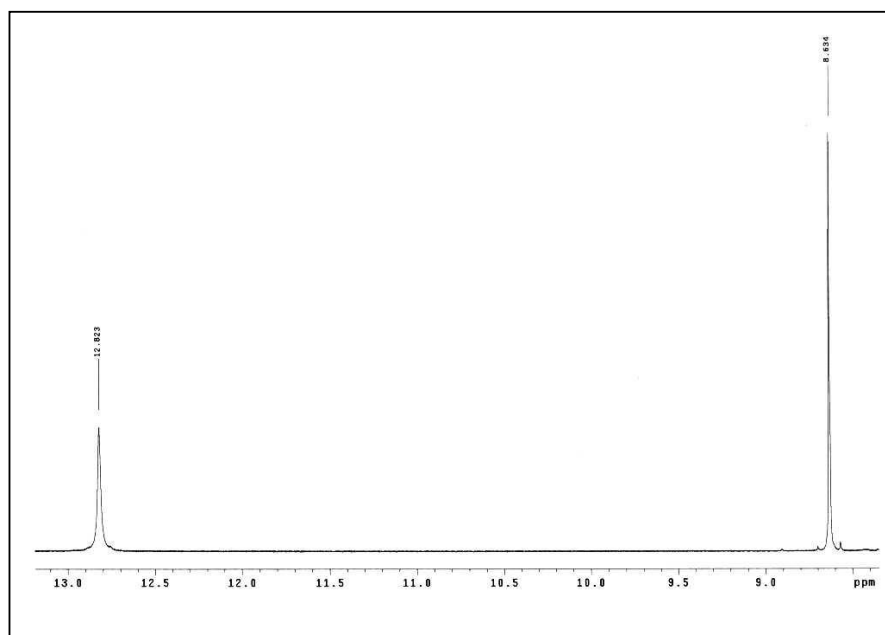
Espectro 34 - RMN^1H da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M20C3)



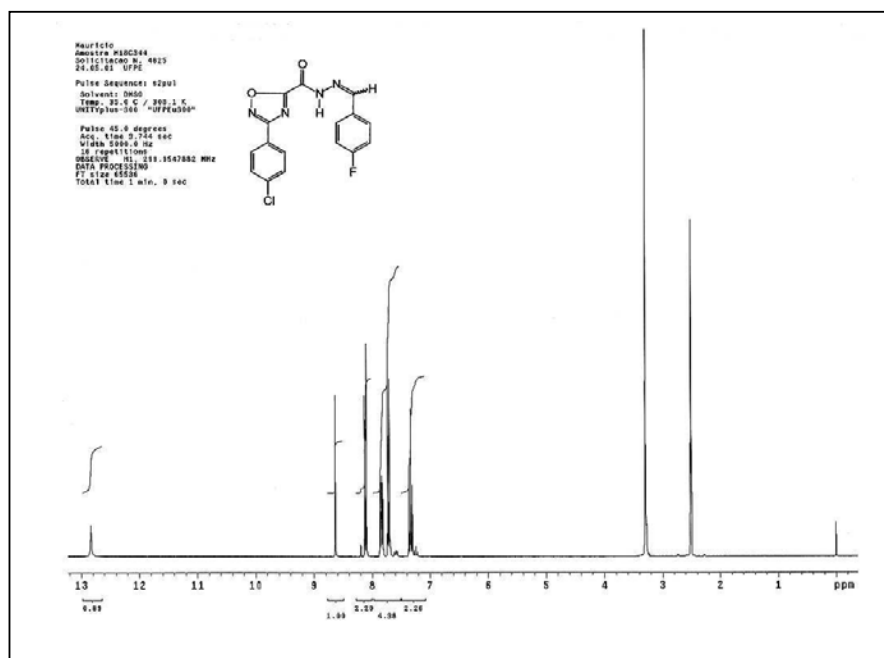
Espectro 35 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M17C3)



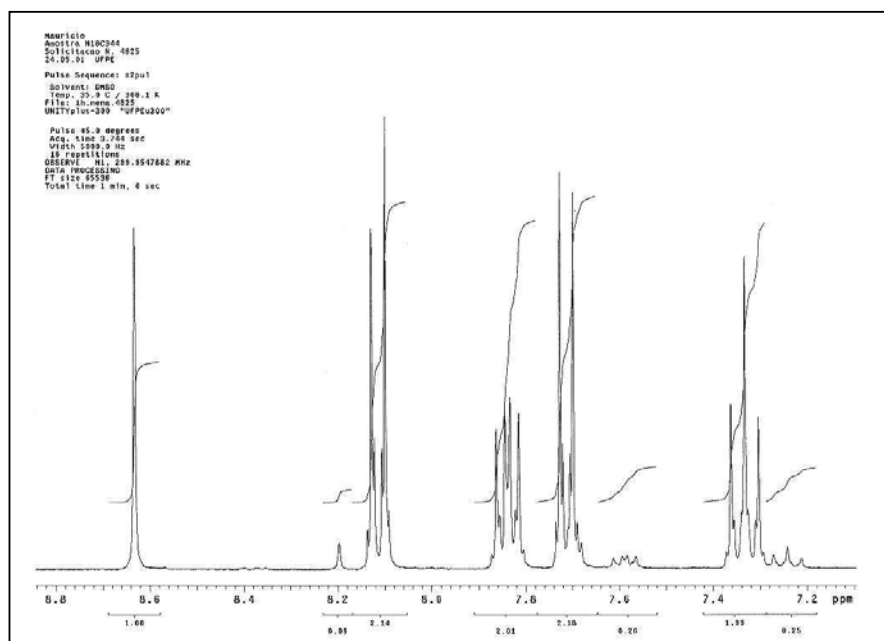
Espectro 35 - RMN¹H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M17C3)



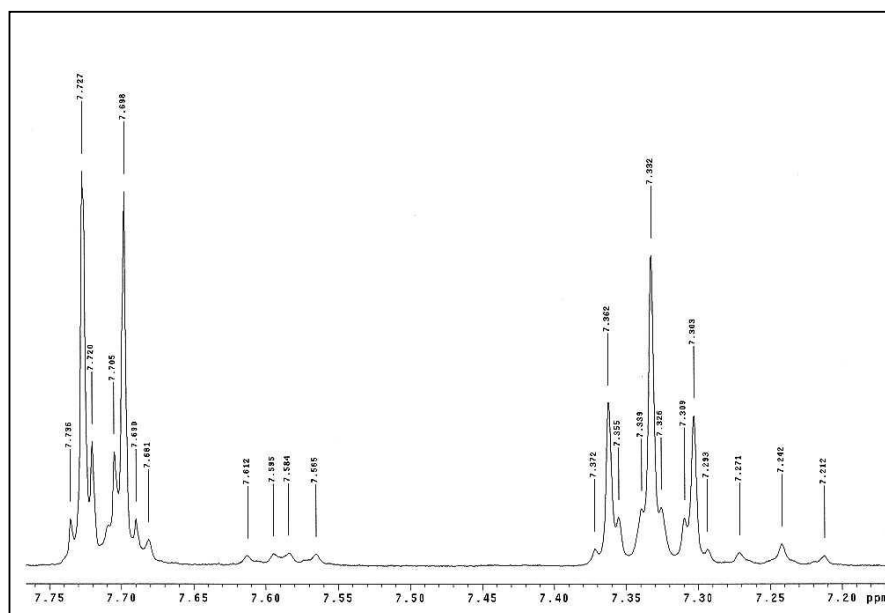
Espectro 35 - RMN^1H da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M17C3)



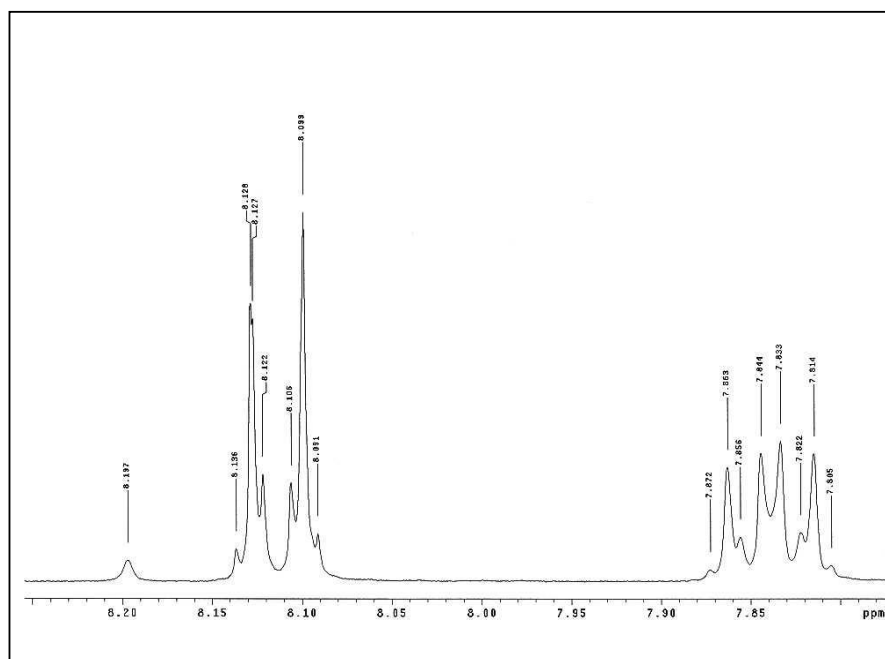
Espectro 36 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



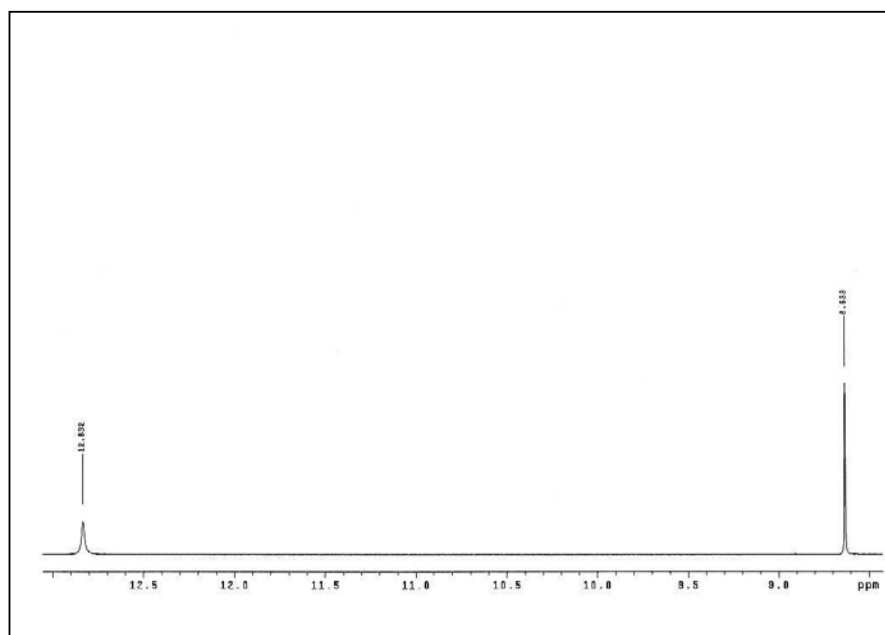
Espectro 36 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



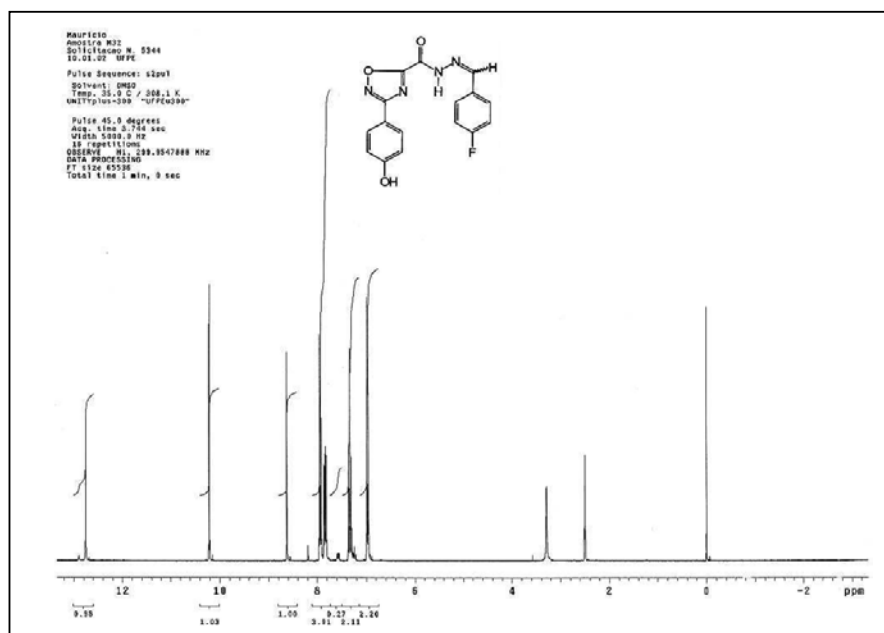
Espectro 36 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



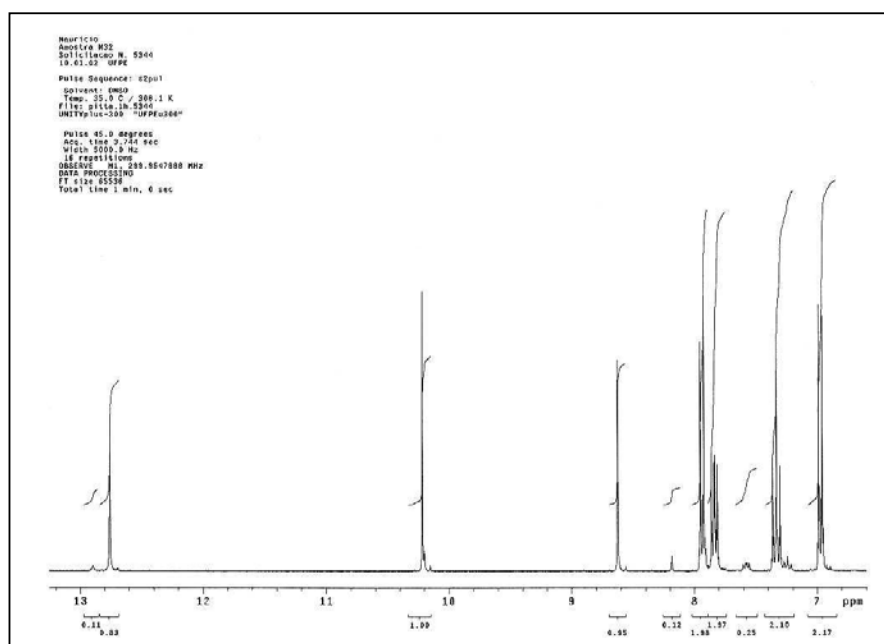
Espectro 36 - RMN¹H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



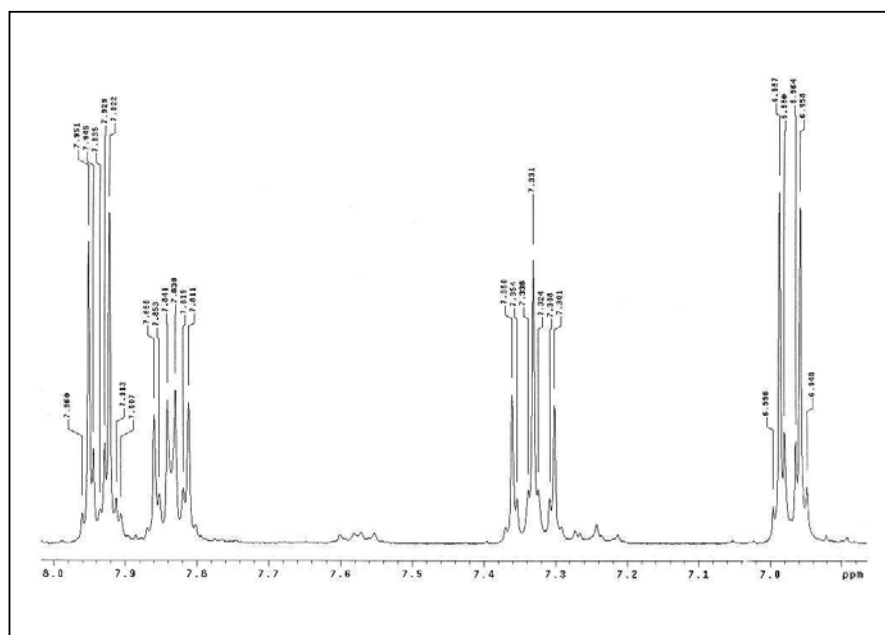
Espectro 36 - RMN^1H da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



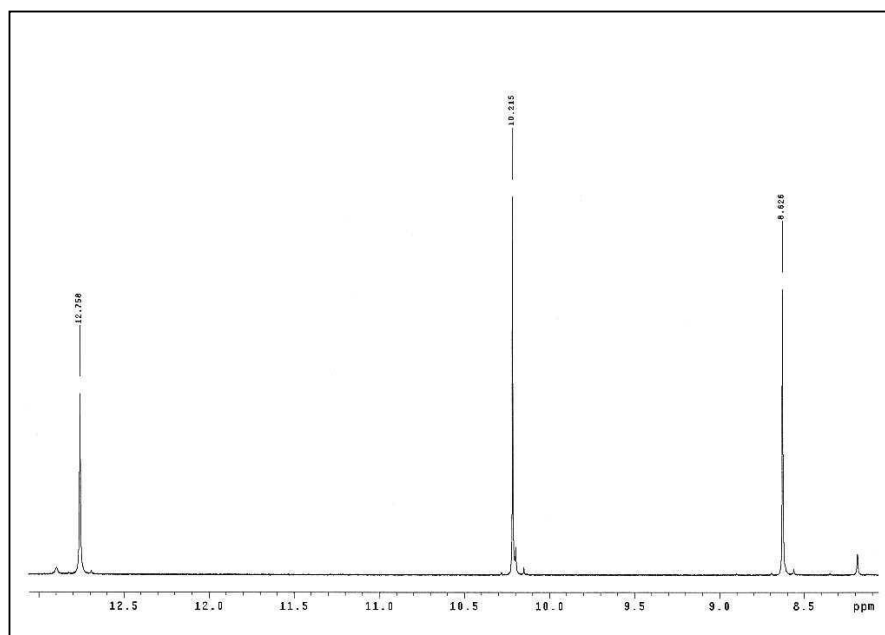
Espectro 37 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)



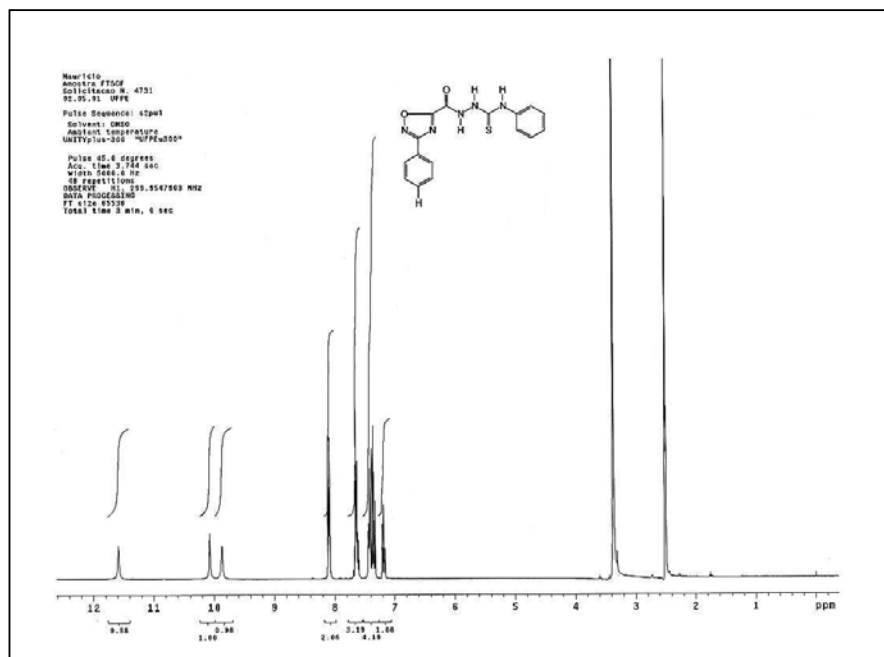
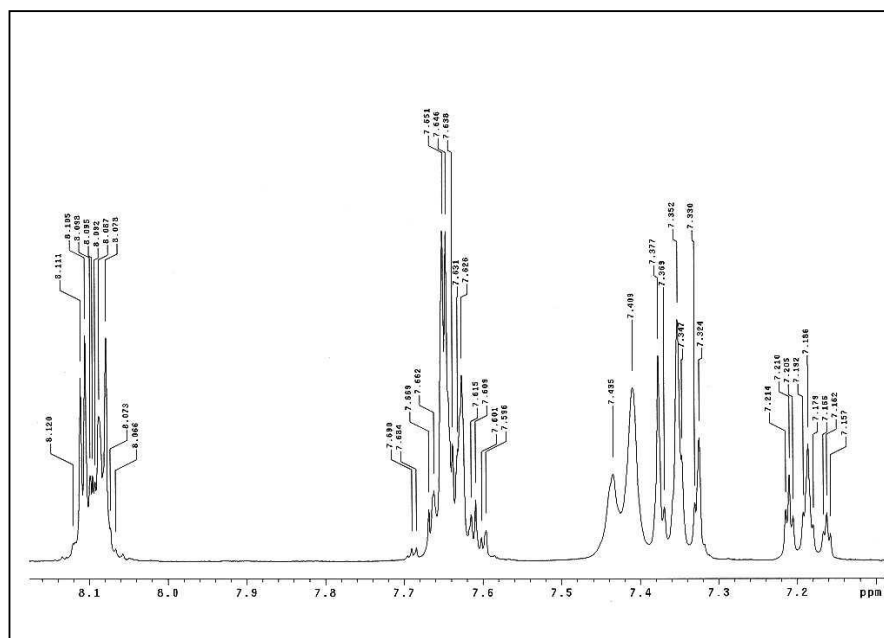
Espectro 37 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)

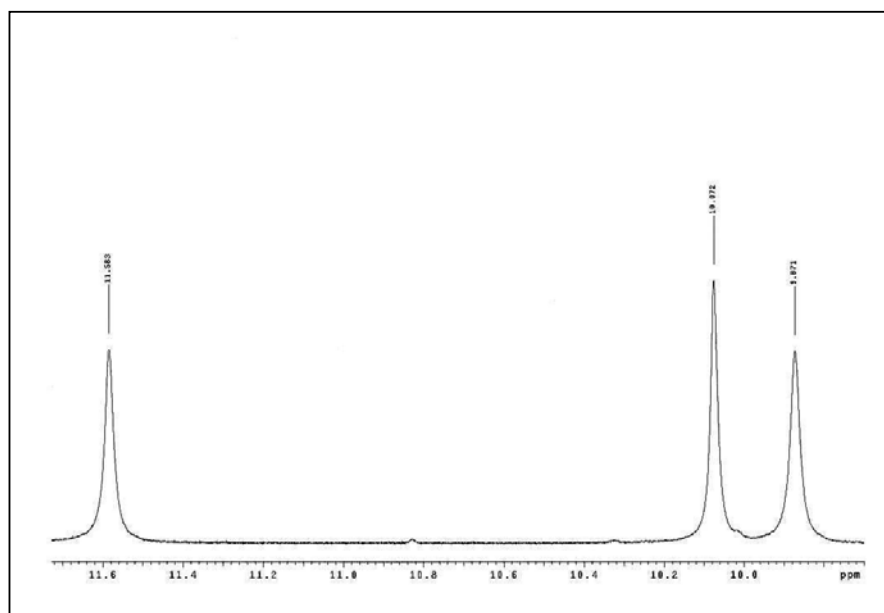


Espectro 37 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)

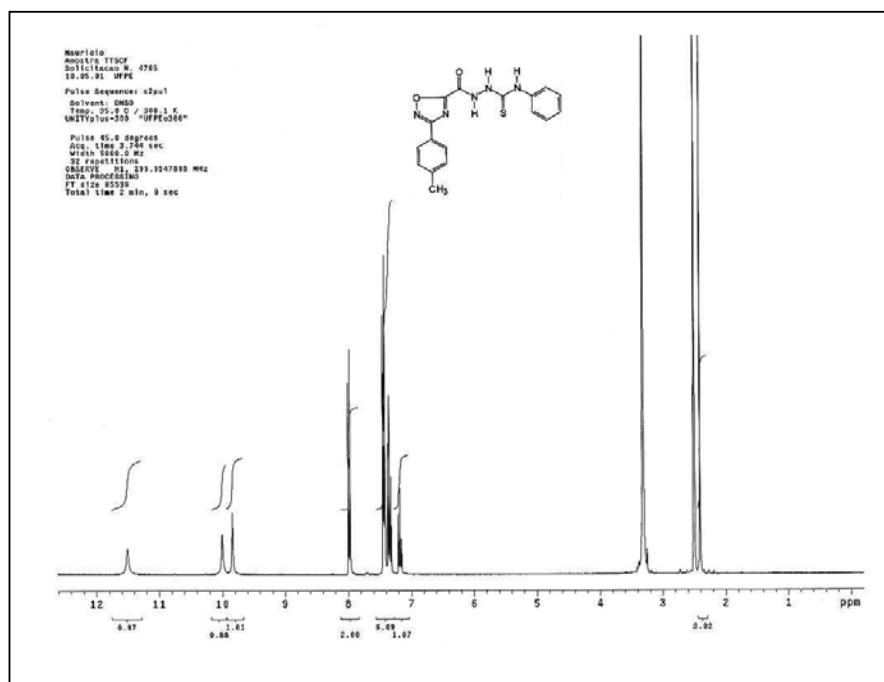


Espectro 37 - RMN¹H da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)

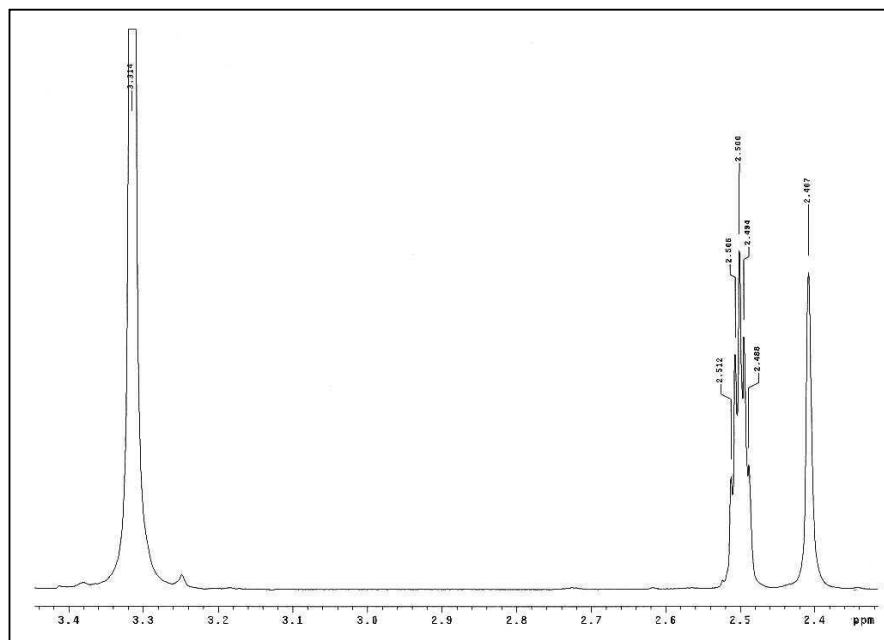
Espectro 38 - RMN¹H da 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)Espectro 38 - RMN¹H da 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)



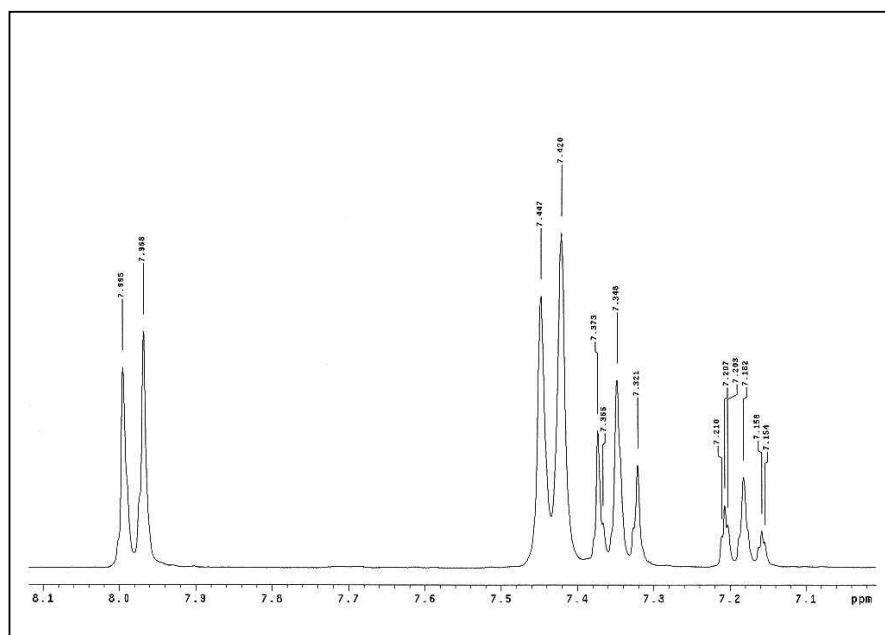
Espectro 38 - RMN ^1H da 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)



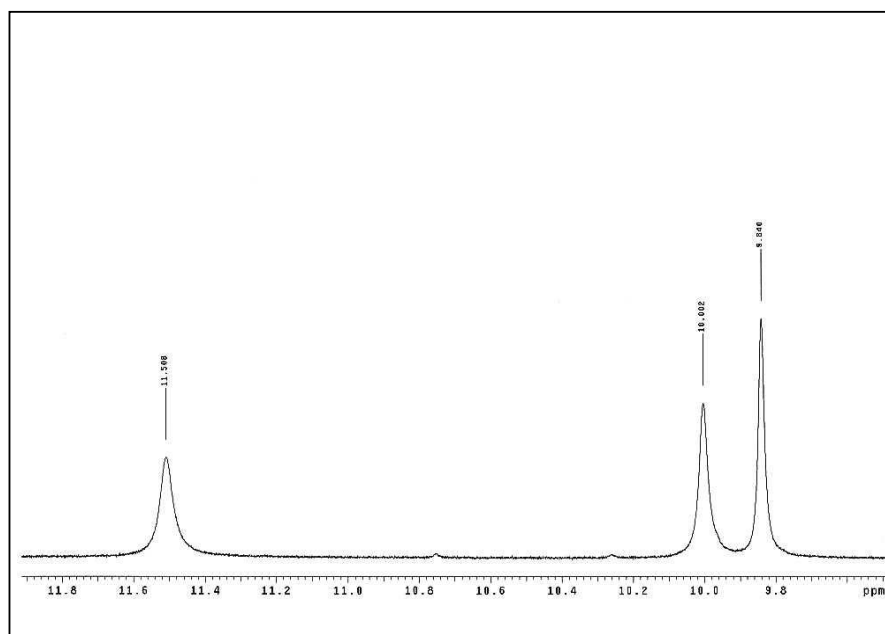
Espectro 39 - RMN¹H da 4-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)



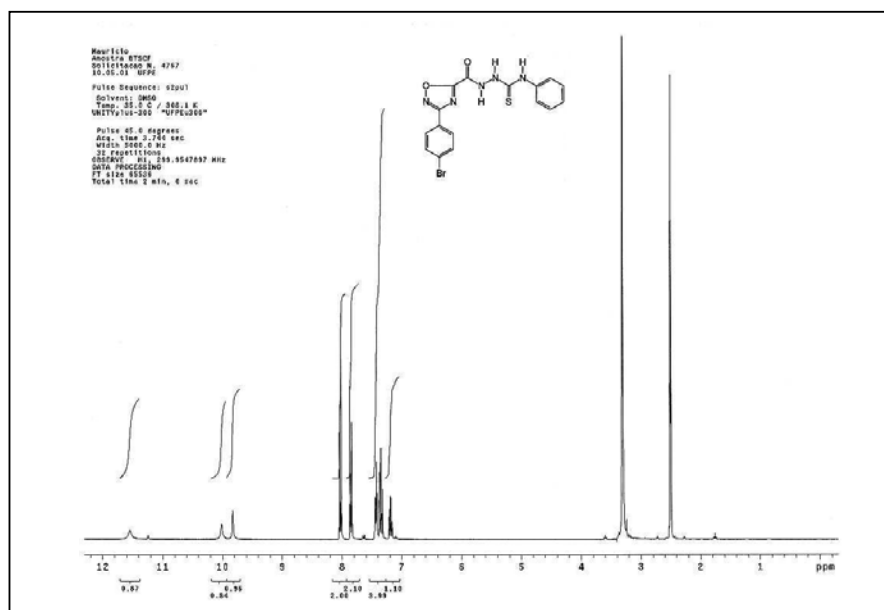
Espectro 39 - RMN¹H da 4-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)



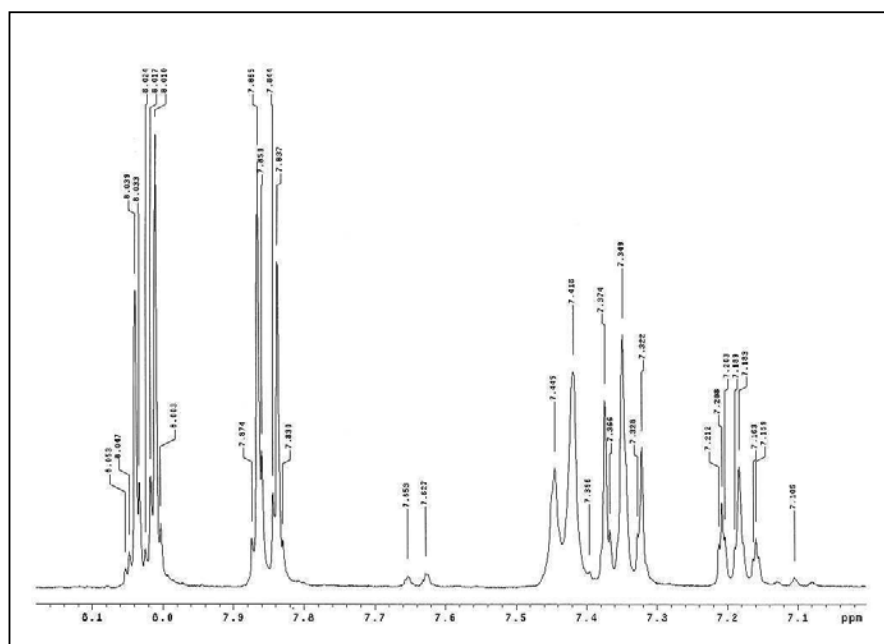
Espectro 39 - RMN^1H da 4-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)

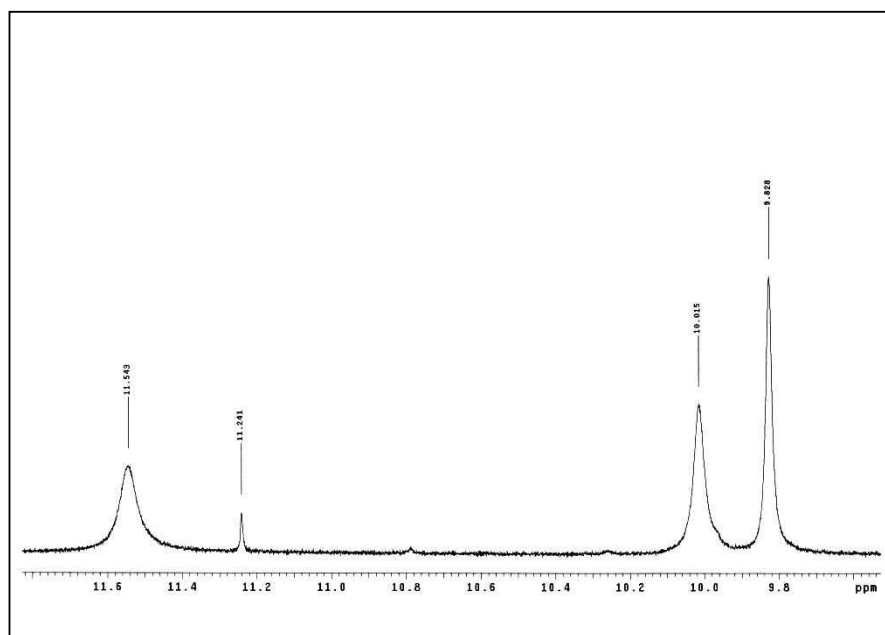


Espectro 39 - RMN^1H da 4-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)

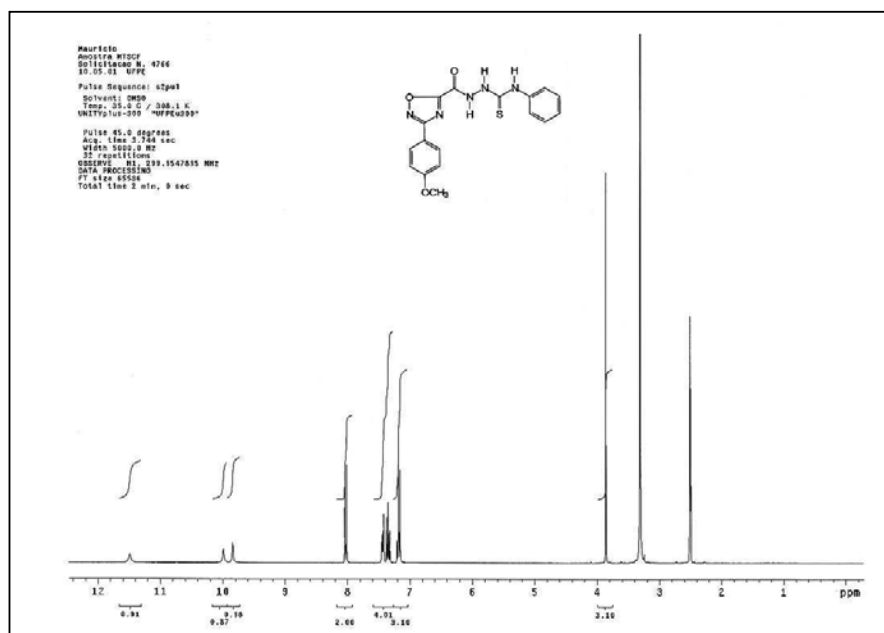


Espectro 40 - RMN¹H da 4-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (BTSCF)

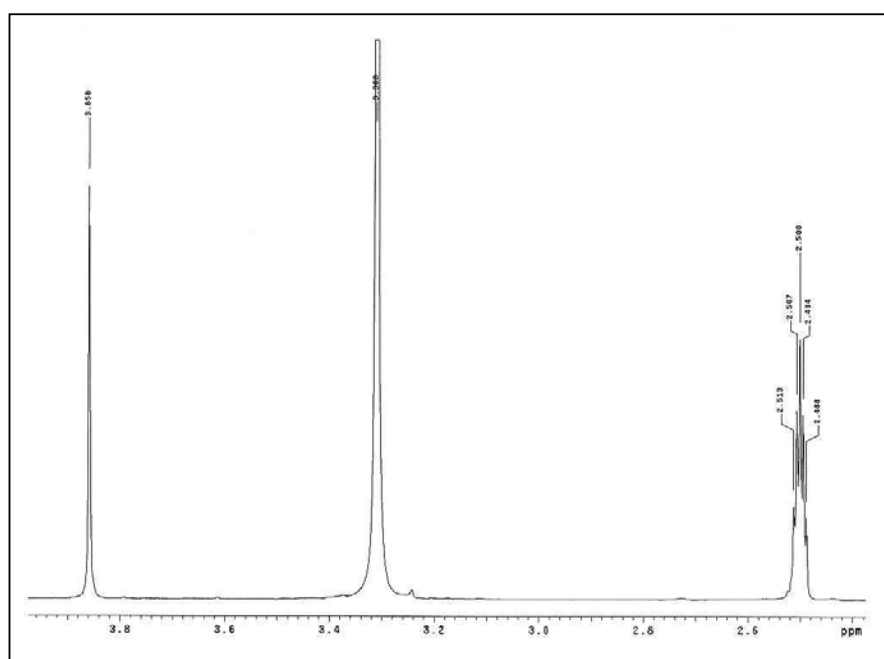




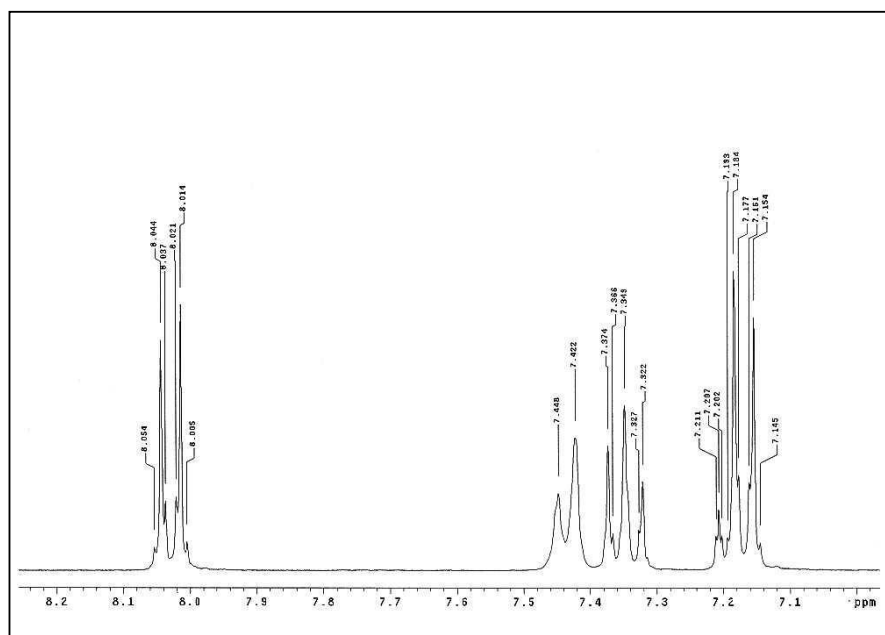
Espectro 40 - RMN^1H da 4-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (BTSCF)



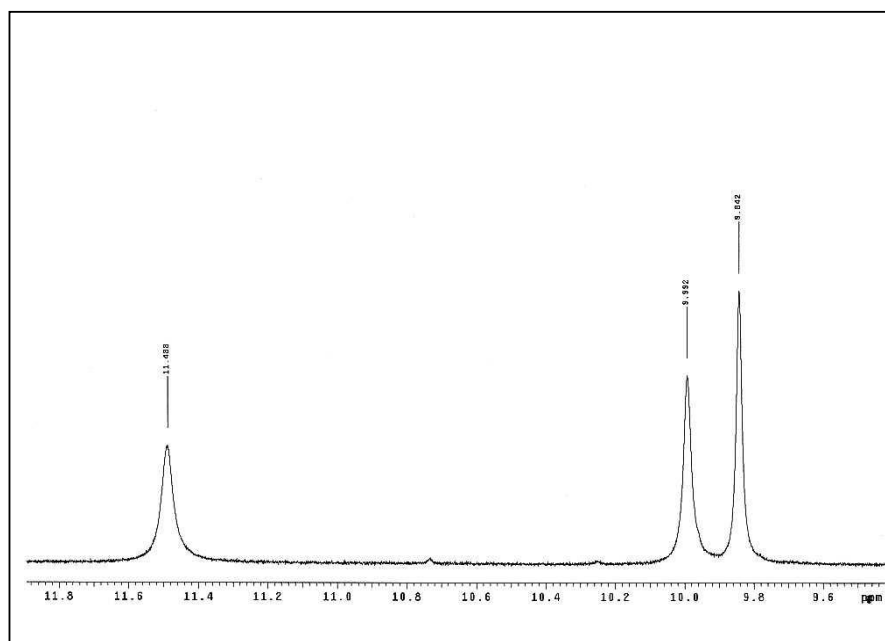
Espectro 41 - RMN¹H da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (MTSCF)



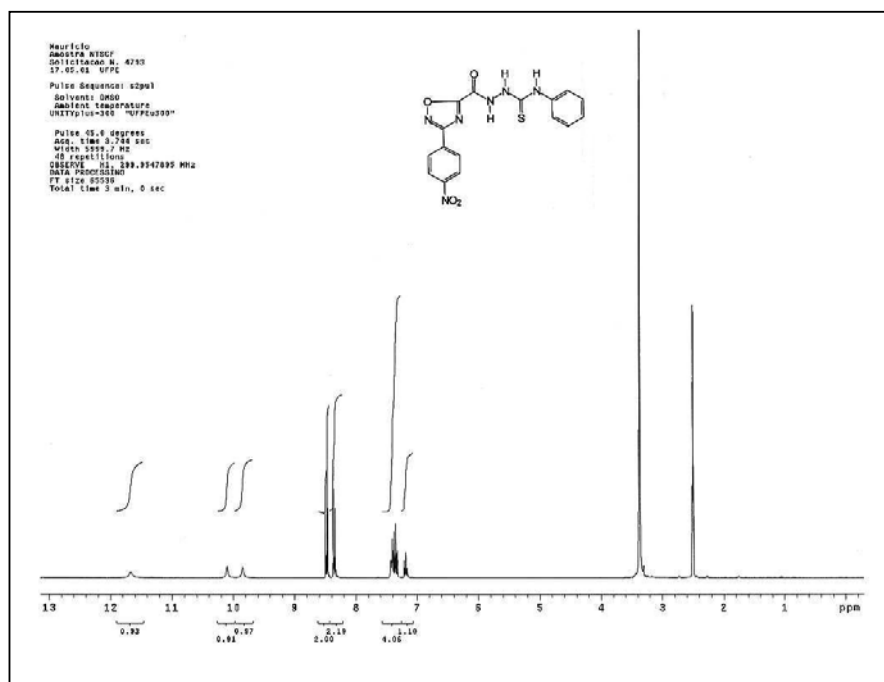
Espectro 41 - RMN¹H da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (MTSCF)



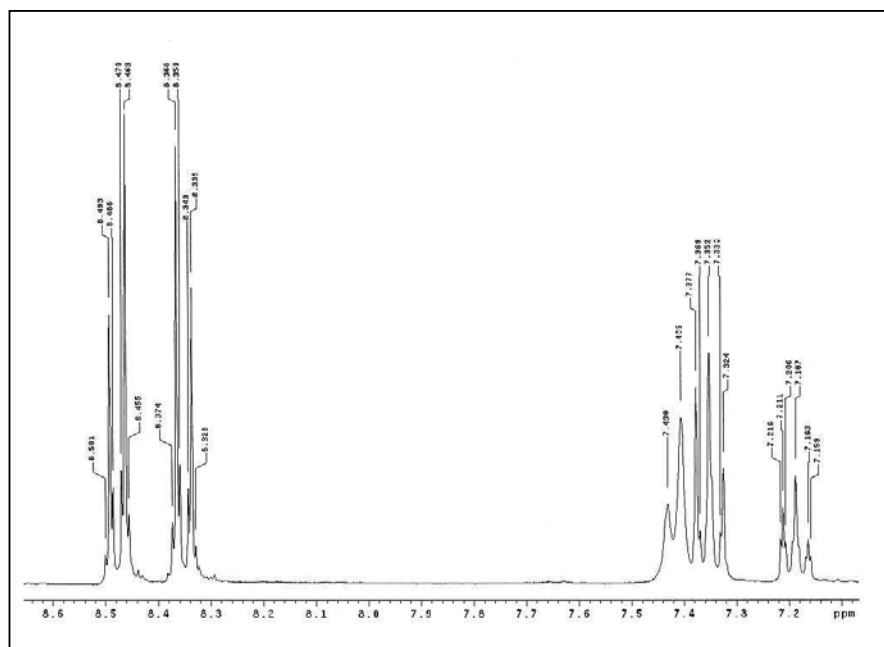
Espectro 41 - RMN¹H da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (MTSCF)



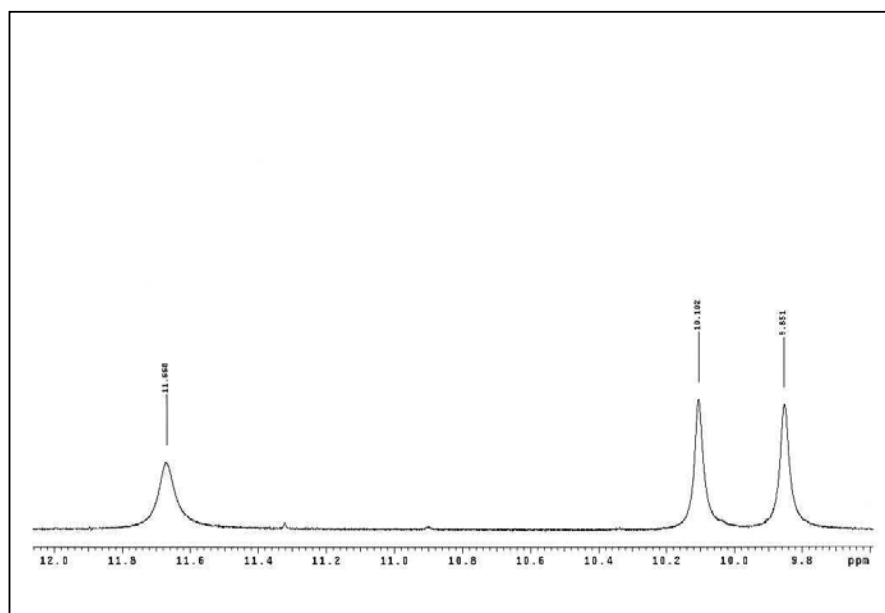
Espectro 41 - RMN¹H da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (MTSCF)



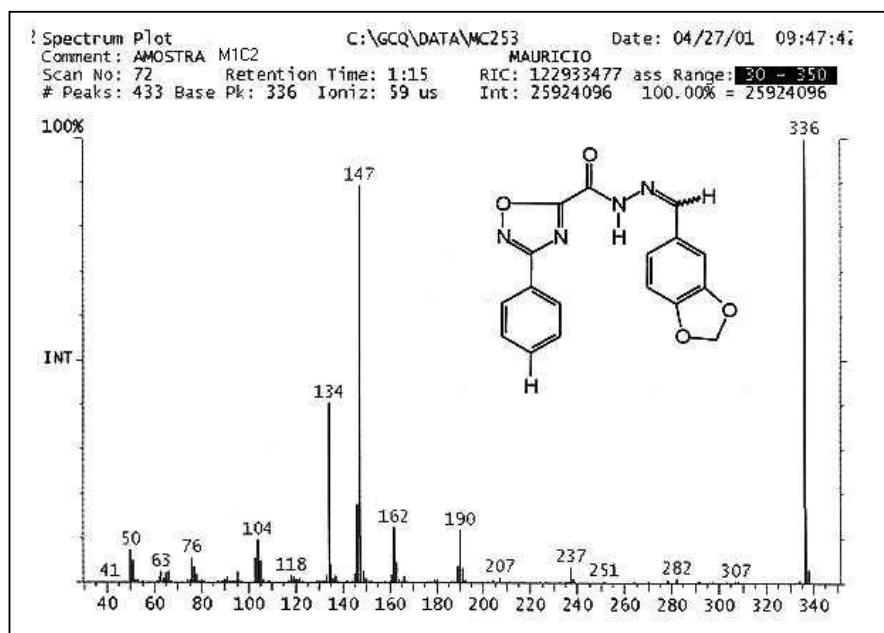
Espectro 42 - RMN¹H da 4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (NTSCF)



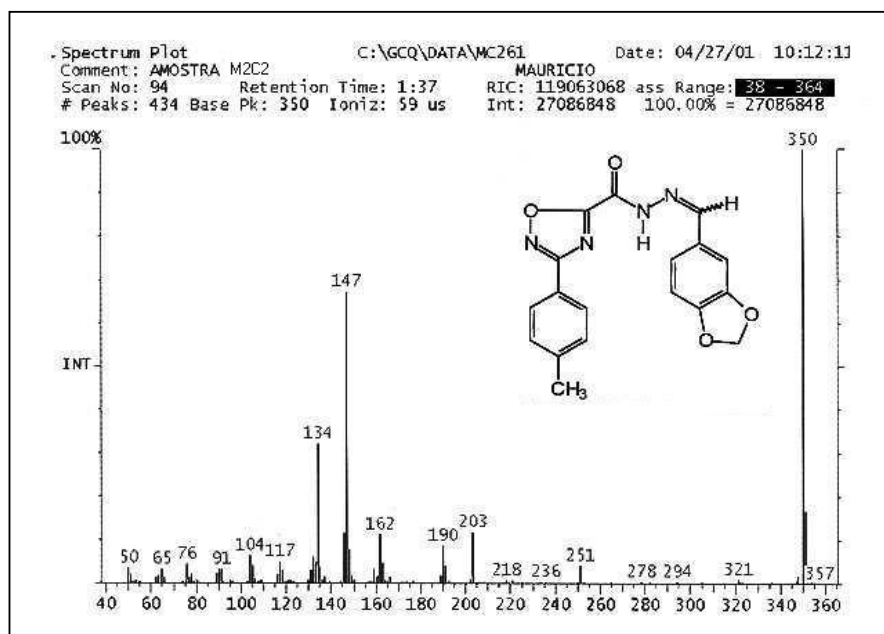
Espectro 42 - RMN¹H da 4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (NTSCF)



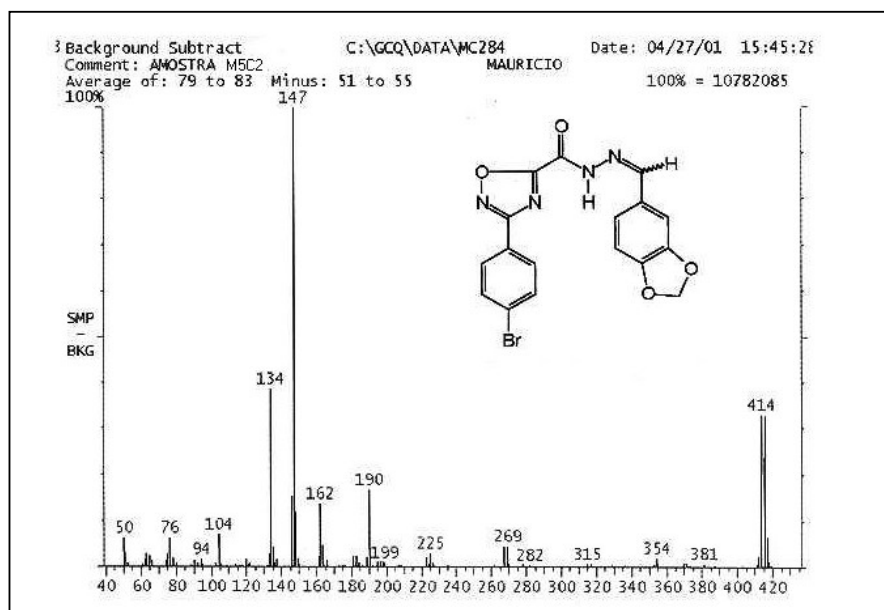
Espectro 42 - RMN^1H da 4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (NTSCF)



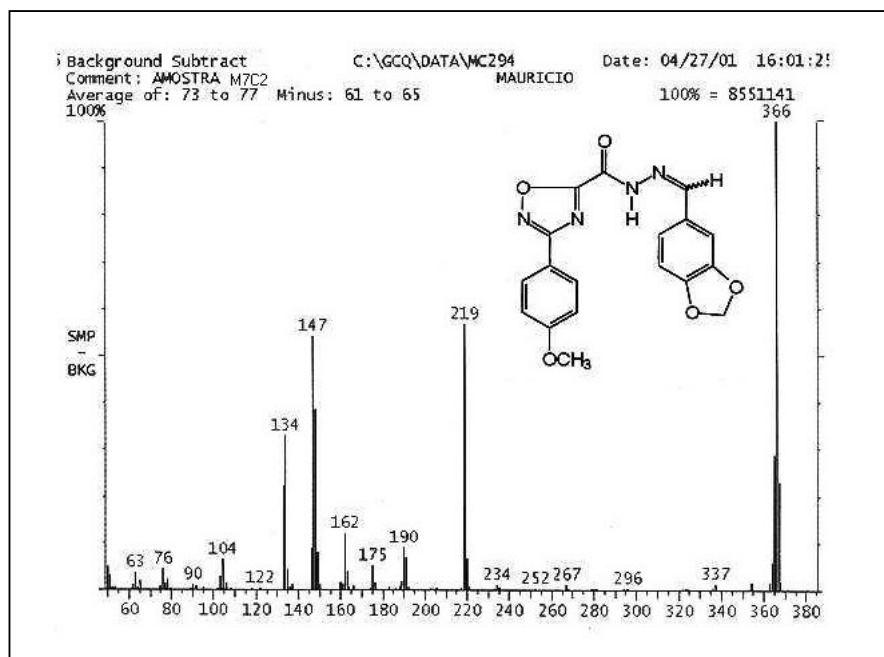
Espectro 43 - Espectro de massa. da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M1C2)



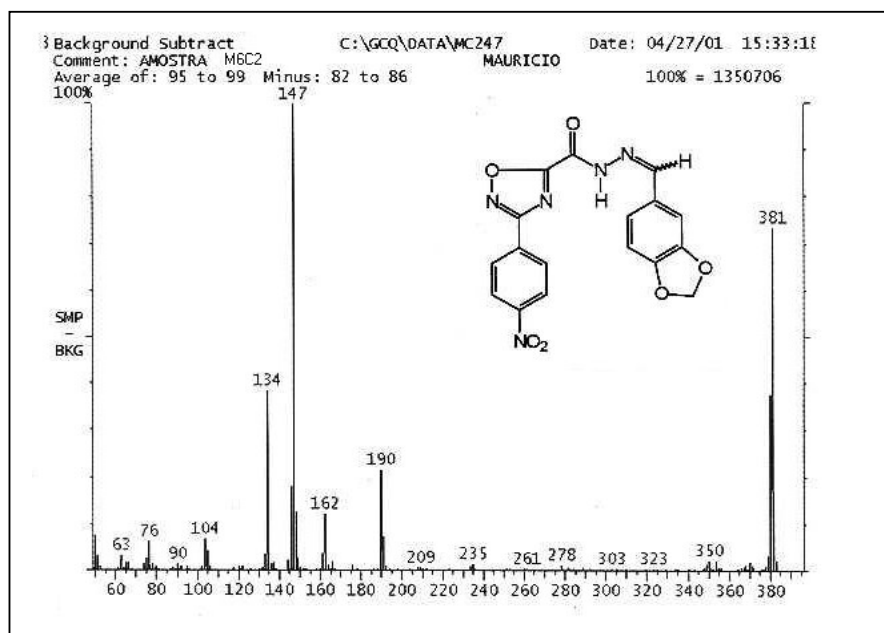
Espectro 44 - Espectro de massa da 3-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M2C2)



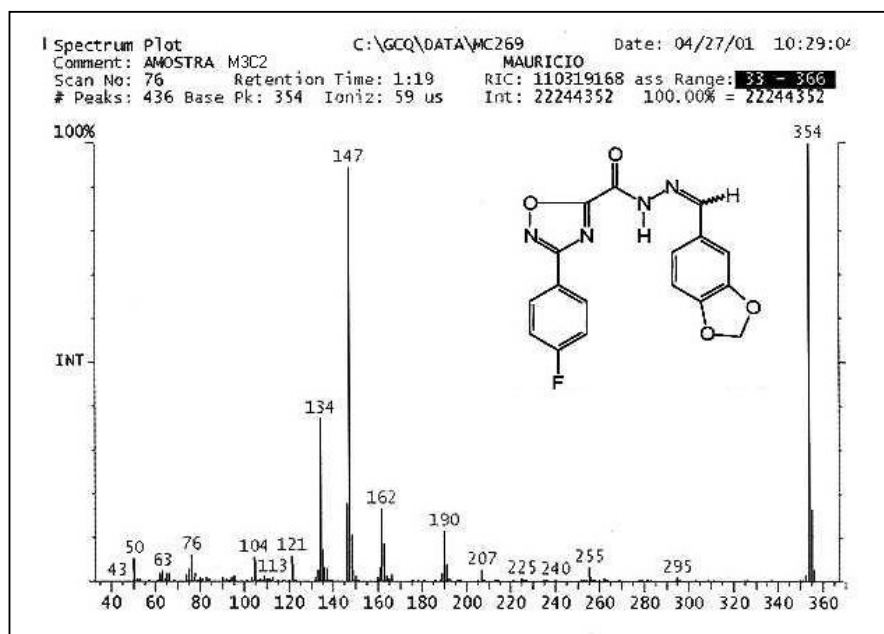
Espectro 45 - Espectro de massa da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M5C2)



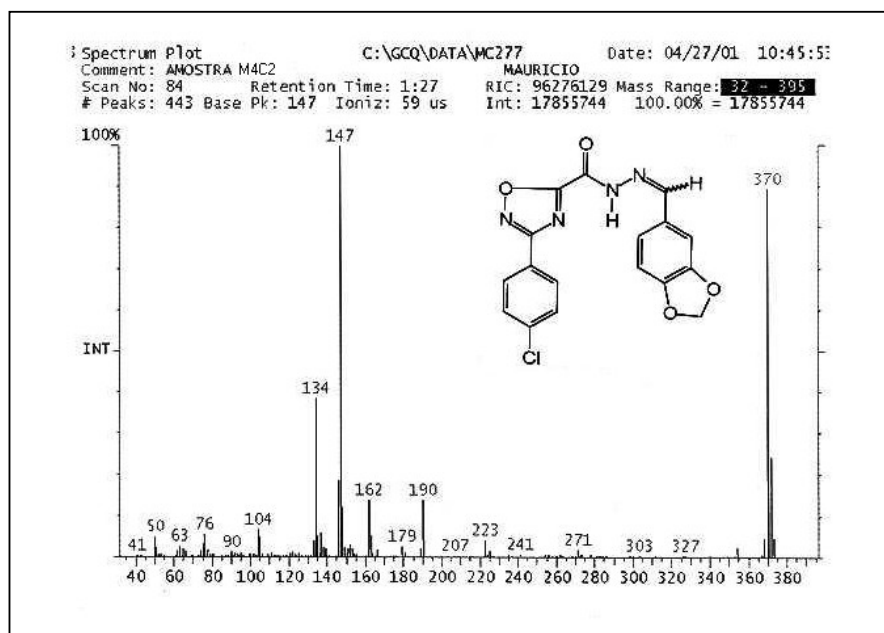
Espectro 46 - Espectro de massa da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M7C2)



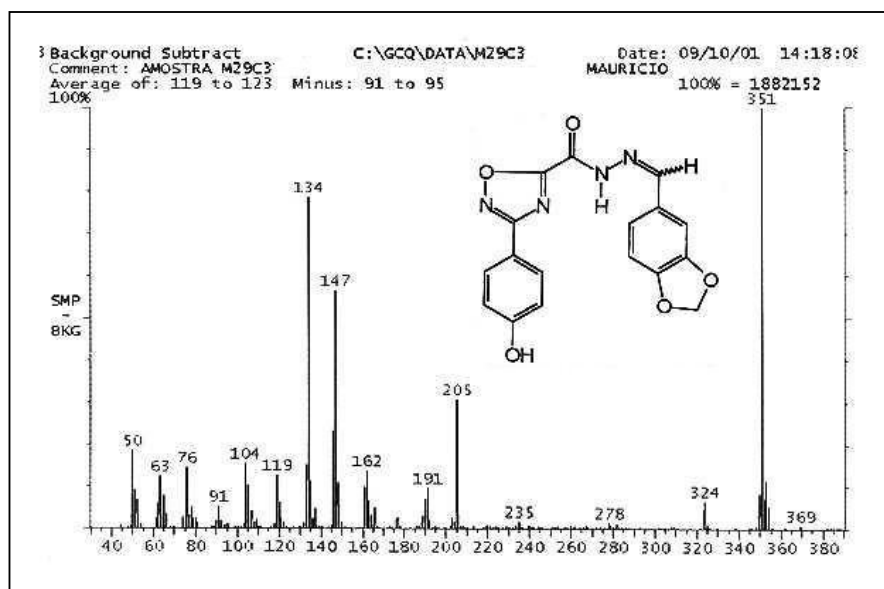
Espectro 47 - Espectro de massa da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M6C2)



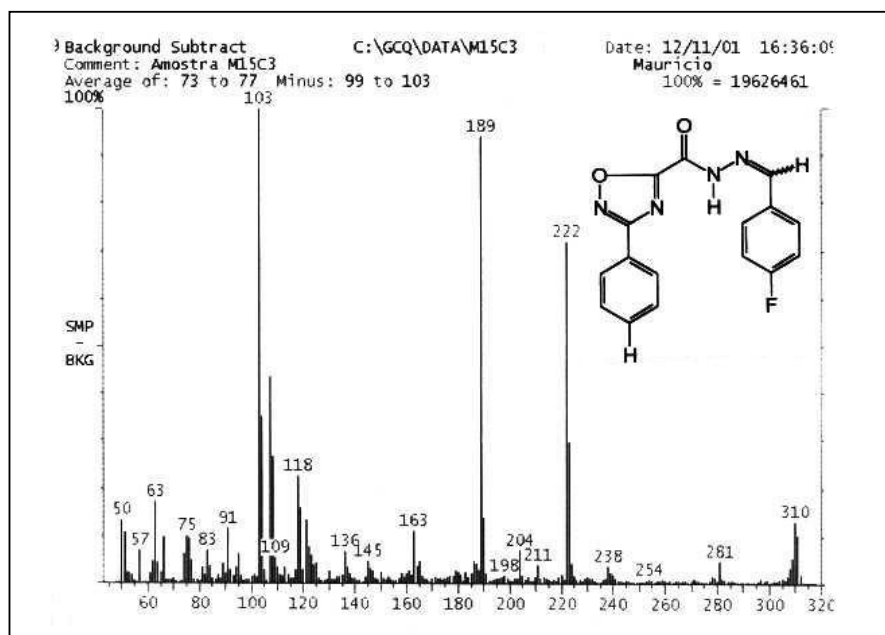
Espectro 48 - Espectro de massa da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M3C2)



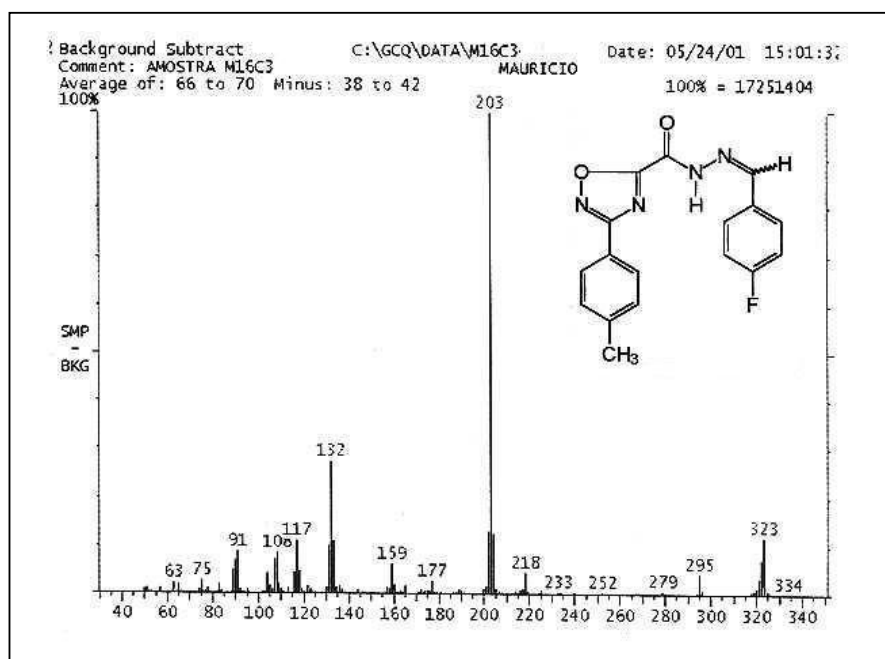
Espectro 49 - Espectro de massa da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M4C2)



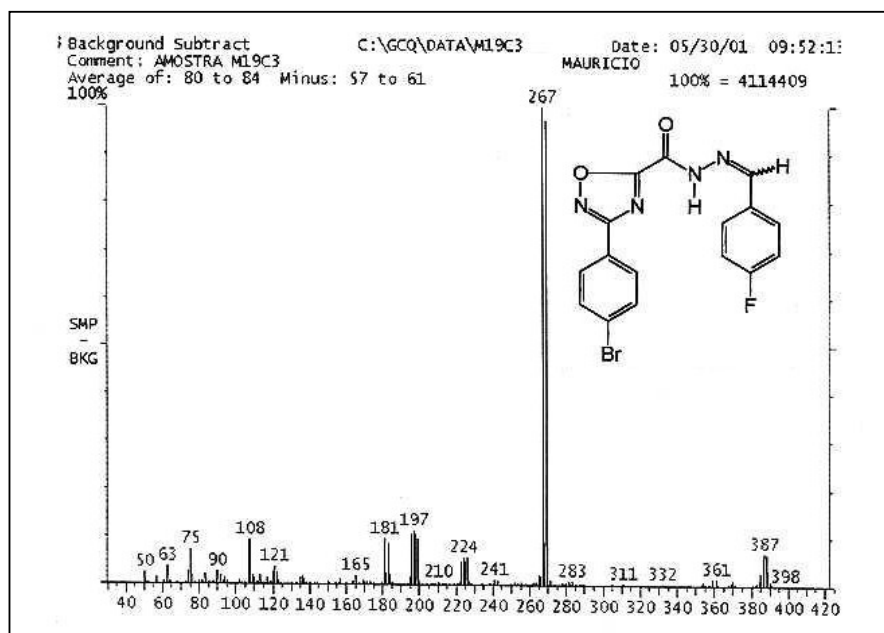
Espectro 50 - Espectro de massa da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-3,4-metilenodióxi-fenil-hidrazona (M29C3)



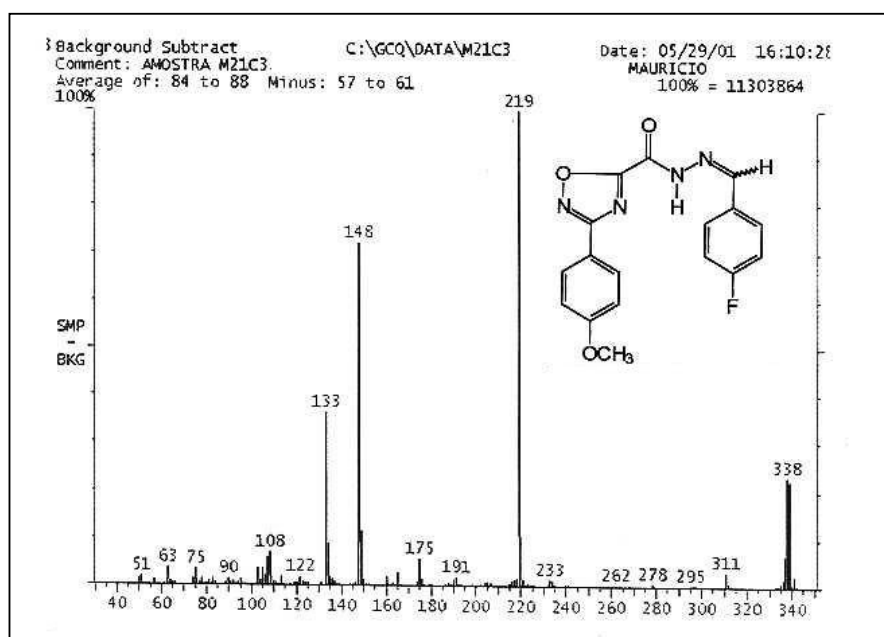
Espectro 51 - Espectro de massa da 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M15C3)



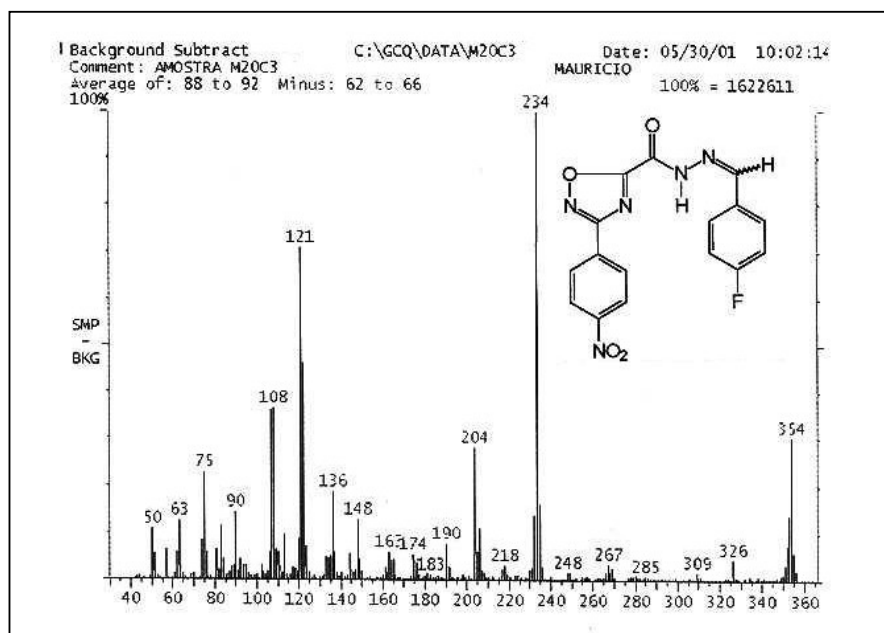
Espectro 52 - Espectro de massa da 3-[3-(4-toluid)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M16C3)



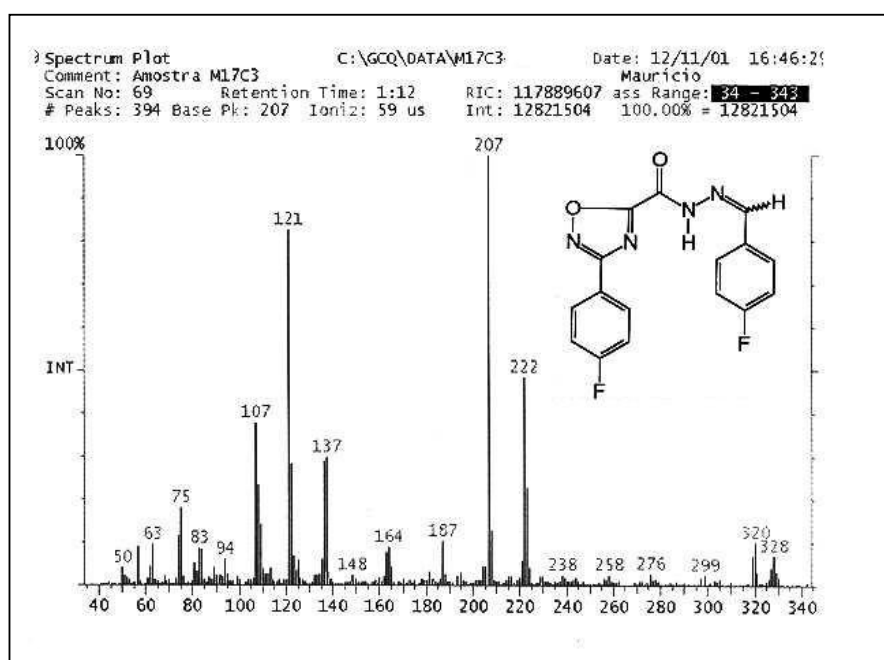
Espectro 53 - Espectro de massa da 3-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M19C3)



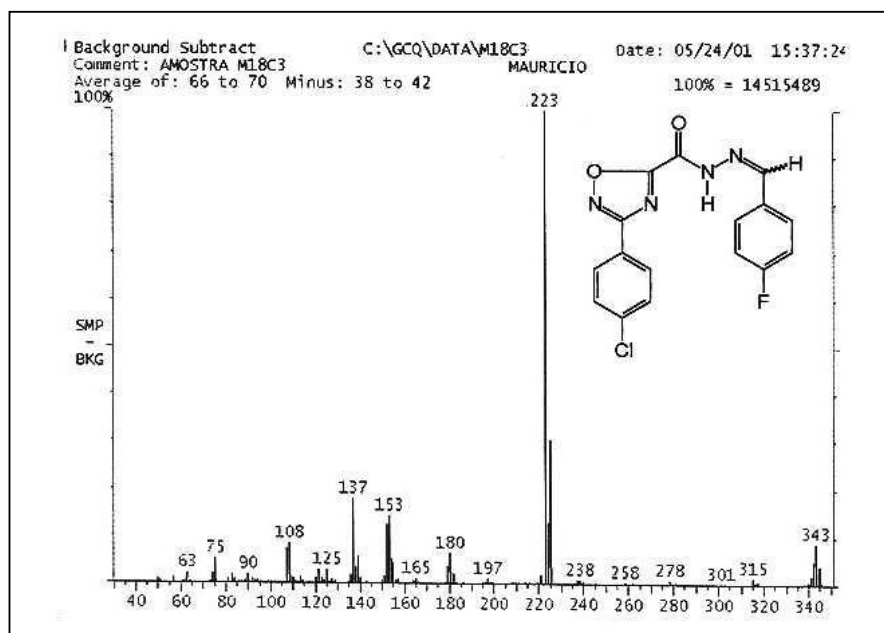
Espectro 54 - Espectro de massa da 3-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M21C3)



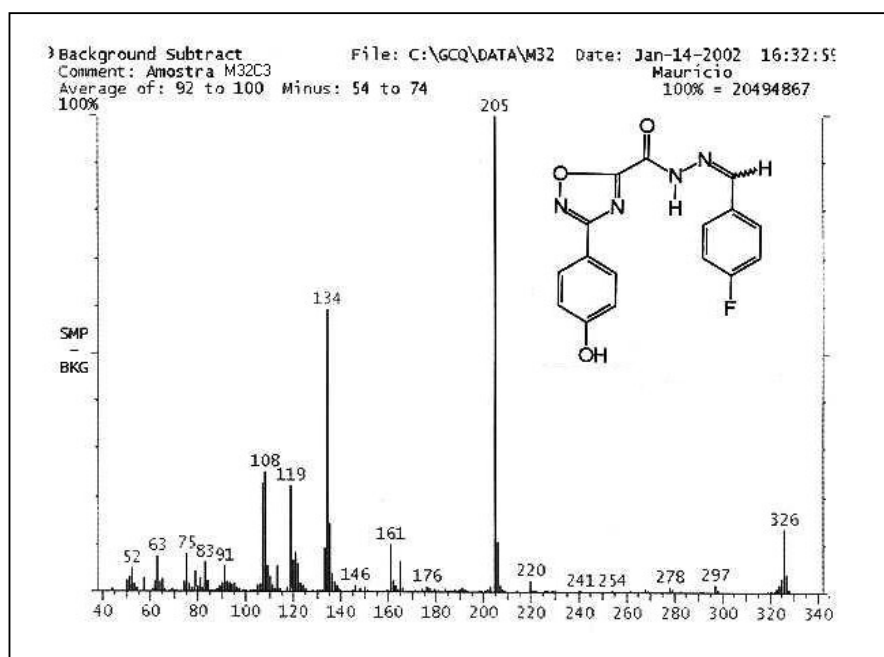
Espectro 55 - Espectro de massa da 3-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M20C3)



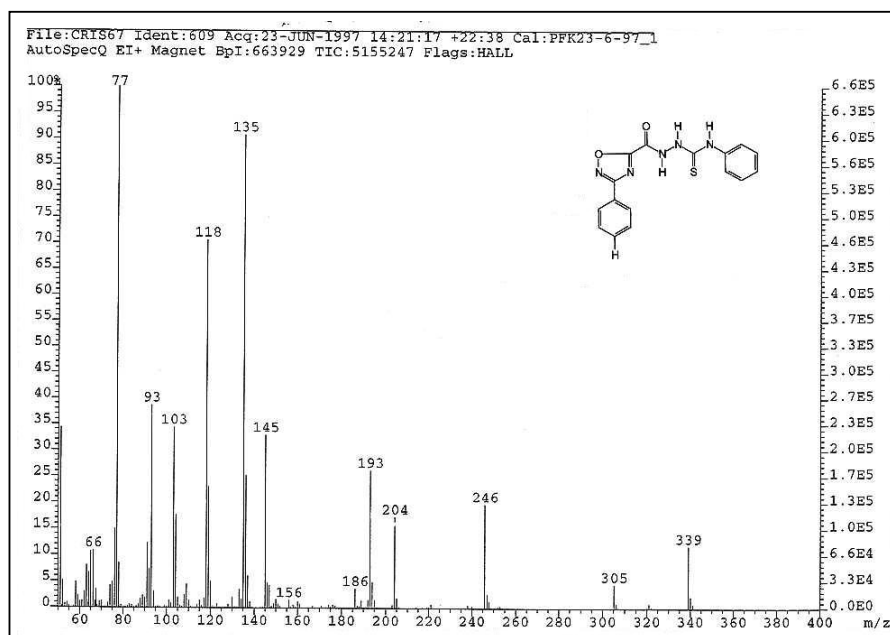
Espectro 56 - Espectro de massa da 3-[3-(4-fluoro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M17C3)



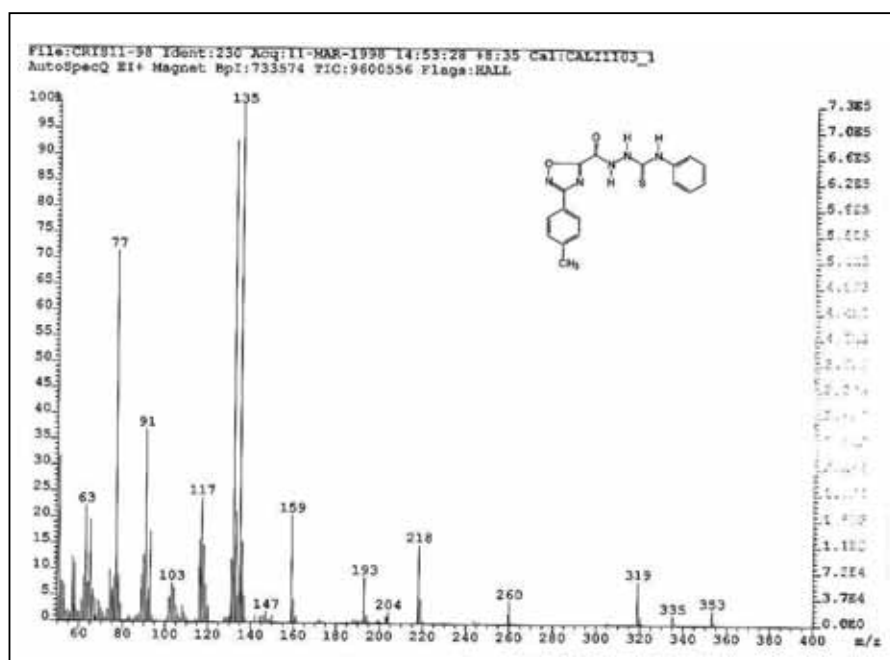
Espectro 57 - Espectro de massa da 3-[3-(4-cloro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M18C3)



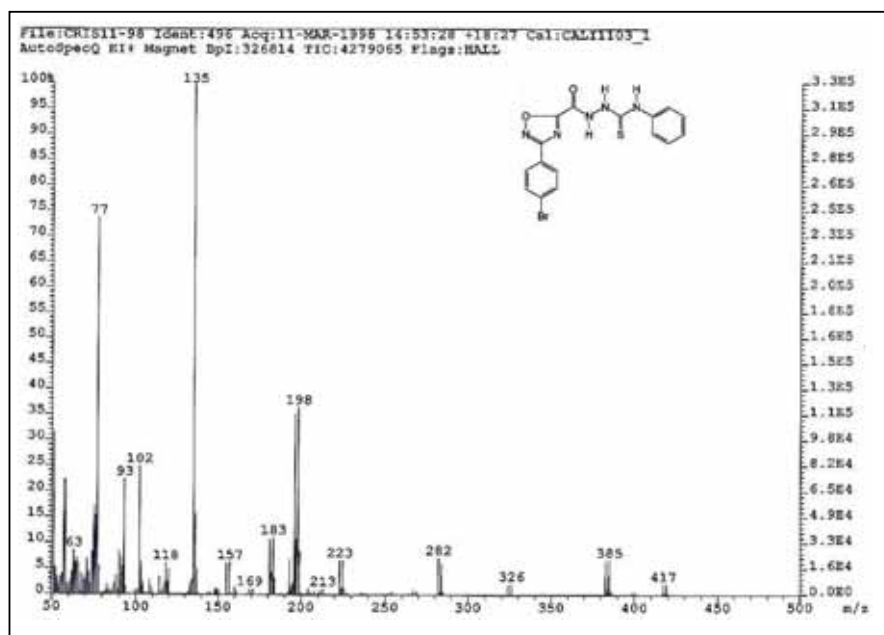
Espectro 58 - Espectro de massa da 3-[3-(4-hidróxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-4-fluoro-fenil-hidrazona (M32C3)



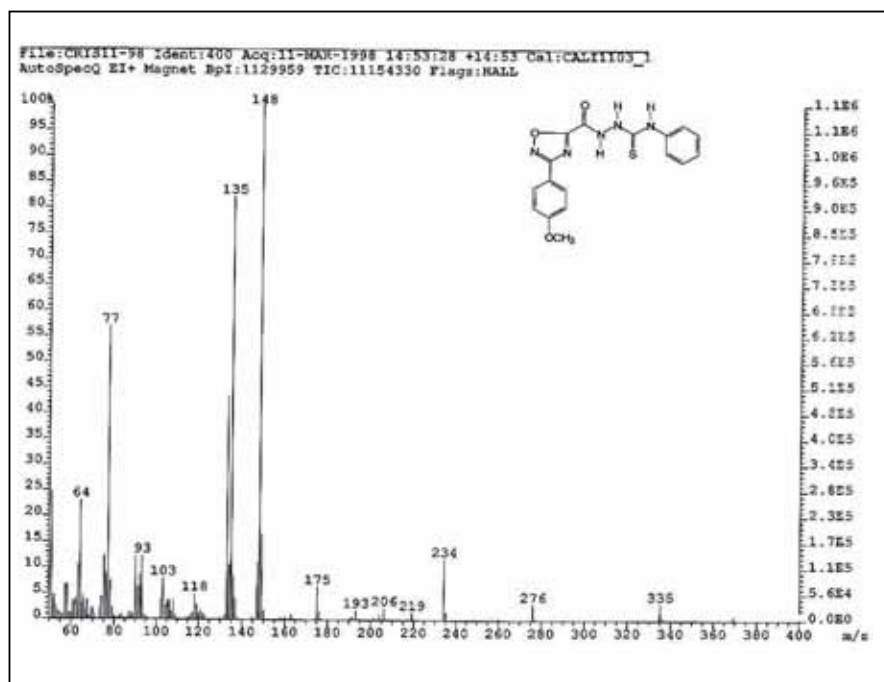
Espectro 59 - Espectro de massa da 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) acil-1-fenil-tiossemicarbazida (FTSCF)



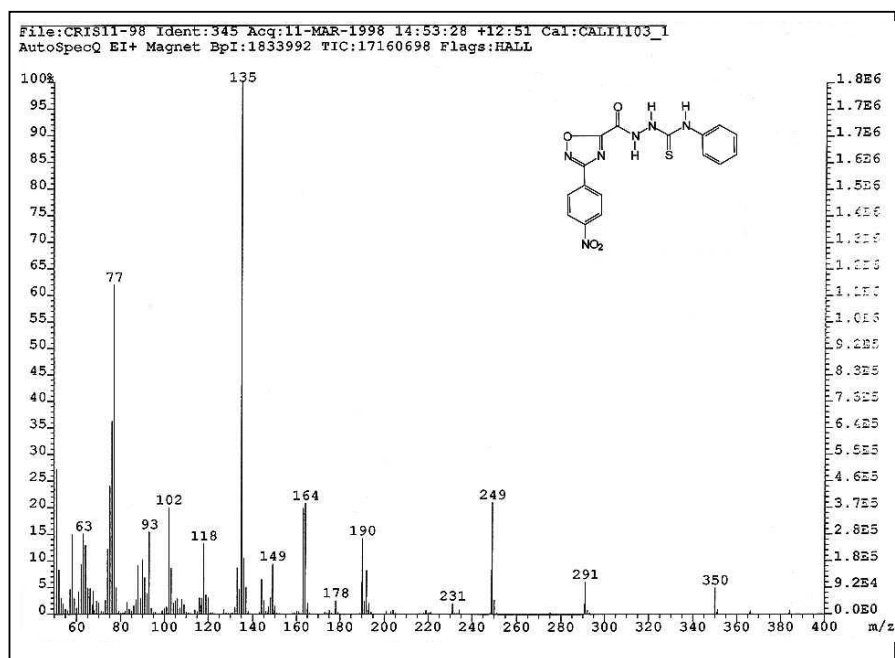
Espectro 60 - Espectro de massa da 4-[3-(4-toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (TTSCF)



Espectro 61 - Espectro de massa da 4-[3-(4-bromo-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-feniltiossemicarbazida (BTSCF)



Espectro 62 - Espectro de massa da 4-[3-(4-metóxi-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-feniltiossemicarbazida (MTSCF)



Espectro 63 - Espectro de massa da 4-[3-(4-nitro-fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] acil-1-fenil-tiossemicarbazida (NTSCF)