UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

cederal.

DERIVADOS DE 2*H*-CROMEN-2-ONAS ACOPLADOS A *L*-AMINOÁCIDOS VIA REAÇÃO DE ULLMANN EMPREGADOS NA SÍNTESE DE 1,3,4-OXADIAZÓIS 2,5-DISSUBSTITUÍDOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

1960

Renata Avena Maia

Santa Maria, RS, Brasil 2014



DERIVADOS DE 2*H*-CROMEN-2-ONAS ACOPLADOS A *L*-AMINOÁCIDOS VIA REAÇÃO DE ULLMANN EMPREGADOS NA SÍNTESE DE 1,3,4-OXADIAZÓIS 2,5-DISSUBSTITUÍDOS

Por

RENATA AVENA MAIA

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Orgânica, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para a obtenção de grau de **Mestre em Química**.

PPGQ

Santa Maria, RS, Brasil 2014 Universidade Federal de Santa Maria Centro de Ciências Naturais e Exatas Departamento de Química Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

DERIVADOS DE 2H-CROMEN-2-ONAS ACOPLADOS A L-AMINOÁCIDOS VIA REAÇÃO DE ULLMANN EMPREGADOS NA SÍNTESE DE 1,3,4-OXADIAZÓIS 2,5-DISSUBSTITUÍDOS

Elaborada por

Renata Avena Maia

Como requisito inicial para obtenção de grau de Mestre em Química

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Luciano Dornelles - (Presidente/Orientador) - UFSM

Prof. Dra. Ionara Irion Dalcol – UFSM

Prof. Dr. Ricardo Samuel Schwab – UFSCar

Santa Maria, 28 de Fevereiro de 2014.

Aos meus pais, Patricia e Jaime, que sempre me proporcionaram uma educação de qualidade, carinho e amor incondicional; minhas conquistas são fruto do apoio e trabalho duro de vocês. Obrigada por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos e a nunca desistir deles.

Aos meus queridos irmãos Juliana, Marina e Alexandre, muito obrigada pelo apoio, carinho, companheirismo e amizade de vocês.

Se outrora construíamos um castelo de lençóis, hoje nos unimos para defendê-lo.

Ao Douglas, meu namorado e melhor amigo. Obrigada pelo suporte e incentivo em todas as horas, mesmo estando à distância sempre consegui sentir teu amor e carinho. Tuas palavras sempre me fazem querer ser a melhor pessoa que posso ser, obrigada pela paciência, apoio e amor.

Ao Professor Dr. Luciano, agradeço imensamente pela orientação, confiança e pela amizade que se forjou. A aprendizagem que obtive sob tua orientação é imensurável e agradeço de coração pela oportunidade que me concedeu.

"A principal meta da educação é criar homens que sejam capazes de fazer coisas novas, não simplesmente repetir o que outras gerações já fizeram. Homens que sejam criadores, inventores, descobridores. A segunda meta da educação é formar mentes que estejam em condições de criticar, verificar e não aceitar tudo que a elas se propõe." (Jean Piaget)

AGRADECIMENTOS

A minha família, principalmente aos meus avós Itagira e Armindo e minha tia Cris, os quais sempre me incentivaram e acreditaram no meu potencial. Obrigada pelos almoços na casa da vó e pelos mimos da tia, vocês me dão força para continuar a cada dia.

Aos meus amigos e colegas que guardo no coração: Gabrieli (Gabi), Francieli (Fran), Everton, Luis, Suelem (Su), Isabelle (Isa), Missiani e Harriett. A amizade de vocês é essencial e extremamente importante. Obrigada por todo apoio e pela amizade de muitos anos.

Ao Prof. Dr. Oscar, pelos ensinamentos, compreensão e amizade. Por agregar muito ao meu trabalho através da leitura e correção deste durante a qualificação. Pela indicação para escolha de meu orientador, nunca me esquecerei da oportunidade que me concedeu.

À Prof. Dra. Ionara Dalcol, agradeço por fazer parte da minha banca de Defesa e por fazer correções e sugestões fundamentais para a conclusão deste trabalho. Obrigada pela atenção que me concedeu e pelas contribuições a esta Dissertação.

Ao Prof. Dr. Ricardo Schwab, agradeço por aceitar fazer parte da minha banca de Defesa e pela amizade que se iniciou quando eu estava no 2º semestre da graduação. Obrigada pelos momentos de descontração e pelos ensinamentos de química ao longo dos meus anos de IC.

Ao Prof. Dr. Gilson e à Prof. Dra. Cristina, pela amizade e encontros amistosos nos corredores, sempre dispostos a ajudar e a transmitir conhecimento.

Ao meu primeiro Prof. de Química Orgânica, Hugo Braibante, por conseguir transmitir em suas aulas um conhecimento fascinante, que me direcionou totalmente e indubitavelmente para área de Química Orgânica.

Ao Prof. Dr. Braga, por ser meu primeiro professor orientador na Iniciação Científica, obrigada por me acolher em seu grupo de pesquisa. A todos os alunos que participaram deste grupo de pesquisa, obrigada pela amizade e pelos valiosos ensinamentos. Dentre todos, destaco os que tenho como grandes amigos: Dr. Eduardo Alberto (Edu) e Dr. Marcelo Godoi (Cabelo). A todo o grupo de pesquisa Labselen-Nanobio, agradeço pelas trocas de conhecimento, compreensão, confiança, pelas risadas na salinha dos computadores, pelos empréstimos de materiais (peixinhos, espátulas, MP's, tubos de ressonância), janta nas gurias, *happy hour* no Pinus, pela parceria em trabalhar nos finais de semana e por tantos outros motivos, todos que se resumem em apenas uma palavra: amizade. Obrigada por se manterem ao meu lado durante estes dois anos de mestrado. Aos antigos: Prof. Dra. Cristiane (Cris), Augusto, Fernanda (Nandiu), Carol, Mariane, Camila, Wilian, Bruna e Marlos. Aos atuais: Vinicius, Greice, Nathan, Taiana, Raquel (Rachelzinha), Patricia Foletto (Pati), Bruno, Joelma, Prof. Letiére (Leti), Prof. Josimar (Josi), Andrielli, Elisiane (Eli), Patrícia Bohn (Pati B.), Lucas, João, Natália (Nati), Rafael, Diego, André, Julliano (Djuli), Mariele (Mariel), Thaynoara (Thay) e Marina.

Ao Marlos, um agradecimento especial por ser meu primeiro e único IC, pela dedicação, trabalho e confiança que compartilhamos. Esta conquista, sem dúvida, também é sua.

Ao Vinicius, pela enorme fonte de conhecimento que coloca à disposição dos colegas de laboratório, obrigada pela paciência e amizade.

À Elisiane e Greice, obrigada por me auxiliarem de todas as maneiras para a conclusão deste trabalho, pelo apoio que damos umas às outras nos momentos difíceis, e acima de tudo, pela amizade que compartilhamos.

À Pati e Taiana, pelas risadas, ciladas e pingadas que passamos ao longo desses anos.

À Rachelzinha, pela amizade consolidada nas noites repletas de *sushi*, nas quais sempre nos despedimos sobrando assunto.

À Mariel, Andri e Bruno, pelas intensas gargalhadas e pela presente disposição de ajudar ao próximo.

Ao Leti e Josimar, pela amizade de anos, brincadeiras, risadas e pelos ensinamentos de química.

Aos guris Lucas, André, Julliano, Rafael e Diego, pelas risadas e momentos de descontração que vivemos ao longo desses anos.

Aos IC's Nati, Nathan, Joelma, Pati B., João, Thay e Marina, pela amizade, confiança e coleguismo que compartilhamos.

Aos amigos do laboratório do Prof. Dr. Gilson e do Prof. Dr. Cláudio, pela amizade e ajuda prestada durante este trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcos Villetti e suas alunas Franciele e Thiane, que com disposição e bom-humor me auxiliaram nas análises de fluorescência em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. Roberto Christ e seus alunos da UNIFRA, muito obrigada por realizarem os testes de atividade biológica.

Aos integrantes do laboratório LAQIA, que com eficiência realizaram as análises de rotação óptica e massas de alta resolução.

Ao serviço de RMN pelas análises, competência e agilidade no seu trabalho.

Aos funcionários Ademir e Valéria, pelo competente trabalho frente à Coordenação do PPGQ. À funcionária Tia Teresa, pelo bom-humor e entusiasmo com que sempre nos tratou e aguentou nossas brincadeiras.

Às agências financiadoras CNPq, CAPES, FAPERGS e à empresa Souza Cruz, pelas bolsas e auxílios concedidos.

À Deus, por iluminar o meu caminho e por me dar o dom da vida.

"O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são."

Aristóteles

RESUMO

Título: Derivados de 2*H*-cromen-2-onas acoplados a *L*-aminoácidos via reação de Ullmann empregados na síntese de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos.

Autora: Renata Avena Maia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Dornelles.

presente trabalho, uma série inédita de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-No dissubstituídos 3 foi sintetizada, a partir da obtenção de derivados de 2H-cromen-2onas acoplados a *L*-aminoácidos **1**, com o objetivo de unir os centros farmacofóricos da 2H-cromen-2-ona, de um L-aminoácido e do 1,3,4-oxadiazol. A síntese dos derivados de 2*H*-cromen-2-ona acoplados a *L*-aminoácidos **1a-d** foi realizada a partir da reação de acoplamento de Ullmann entre a 6-halogeno-2*H*-cromen-2-ona e um *L*aminoácido, fornecendo os produtos inéditos em rendimentos de 44-78 %. Os aminoácidos empregados foram L-valina, L-isoleucina, L-fenilalanina e L-metionina, que levaram aos produtos 1a, 1b, 1c e 1d, respectivamente, onde o composto 1a apresentou atividade antifúngica. Os 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos 3 foram obtidos a partir da reação entre os derivados de 2H-cromen-2-ona acoplados a Laminoácidos **1a-d** e benzoil-hidrazidas **2a-d** (**a** = benzidrazida, **b** = 4-toluil-hidrazida, \mathbf{c} = 4-metóxi-benzidrazida e \mathbf{d} = 4-bromo-benzidrazida), com rendimentos de 16-72 %. Todos os 1,3,4-oxadiazóis obtidos apresentaram fluorescência e os compostos **3aa**, **3ab** e **3ac** apresentaram atividade antibacteriana.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA Dissertação de Mestrado

ABSTRACT

Title: Synthesis of 2*H*-chromen-2-ones-*L*-amino acids derivatives by Ullmann coupling employed for the preparation of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles.

Author: Renata Avena Maia.

Academic Advisor: Prof. Dr. Luciano Dornelles.

In the following work, an unprecedented series of 2,5- disubstituted 1,3,4oxadiazole **3** was synthesized from 2*H*-chromen-2-ones-*L*-amino acids derivatives **1**, targeting the union of 2*H*-chromen-2-one, *L*-amino acid and 1,3,4-oxadiazole pharmacophoric centers. The synthesis of 2*H*-chromen-2-ones-*L*-amino acids derivatives **1a-d** was performed by Ullmann coupling reaction between 6-halogen-2*H*-chromen-2-one and an *L*-amino acid, providing a novel of products in yields of 44-78%. The amino acids used in this synthesis were *L*-valine, *L*-isoleucine, *L*phenylalanine and *L*-methionine, leading to products **1a**, **1b**, **1c** and **1d**, respectively, where compound **1a** showed antifungal activity. The 2,5-disubstituted 1,3,4oxadiazole **3** were obtained from the reaction between 2*H*-chromen-2-ones-*L*-amino acids derivatives **1a-d** and benzoyl hydrazides **2a-d** (**a** = benzohydrazide, **b** = 4tolyl-hydrazide, **c** = 4-methoxy- benzohydrazide, **d** = 4-bromo-benzohydrazide), with yields of 16-72 %. All 1,3,4-oxadiazoles showed fluorescence activity and compounds **3aa**, **3ab** and **3ac** showed antibacterial activity.

FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA CHEMISTRY POST-GRADUATE PROGRAM Master Dissertation

SUMÁRIO

Agradecimentos	viii
Resumo	xii
Abstract	xiii
Introdução e Objetivos	21

26
26
31
33 34
36 38 39

2	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	.44
	2.1 Análise Retrossintética	.44
	2.2 Síntese de derivados do ácido 2-(2-oxo-2H-cromen-2-6-ilamino) carboxílico d	1a- .45
	2.3 Síntese de 1,3,4-Oxadiazóis	.51
	2.4 Fluorescência	.62
	2.5 Atividade Antimicrobiana	.68

3 PARTE EXPERIMENTAL	74
3.1 Materiais e Métodos	74
3.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	74
3.1.2 Espectroscopia de Fluorescência	74
3.1.3 Espectrometria de Massas de Alta Resolução	75
3.1.4 Ponto de Fusão	75
3.1.5 Polarímetro	75

3.1.6 Solventes e Reagentes	75
3.1.7 Atividade Biológica	76
3.1.7.1 Disco Difusão	76
3.1.7.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC)	77
3.2 Procedimentos Experimentais	77
3.2.1 Preparação da 6-nitro-2H-cromen-2-ona (II)	77
3.2.2 Preparação da 6-amino-2H-cromen-2-ona (III)	78
3.2.3 Preparação dos 6-halogeno-2H-cromen-2-ona (IV)	79
3.2.4 Síntese dos derivados de ácido 2-(2-oxo-2H-cromen-2-6	-ilamino)
carboxílico 1a-d	80
3.2.5 Síntese dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos 3	82

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
----------------------------	--

4 ESPECTROS SELECIONADOS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de luminescência
Tabela 2 – Reação de redução da 6-nitro-2H-cromen-2-ona46
Tabela 3 – Acoplamento de 6-halogeno-2H-cromen-2-ona com L-aminoácidos
catalisado por Cul via acoplamento de Ullmann49
Tabela 4 - Resultados obtidos utilizando diferentes temperaturas para a obtenção de
1,3,4 oxadiazóis
Tabela 5 - Resultados obtidos utilizando diferentes solventes no meio reacional para
síntese de 1,3,4-oxadiazóis53
Tabela 6 - Diferentes agentes de acoplamento testados na síntese de 1,3,4-
oxadiazóis54
Tabela 7 - Estruturas e rendimentos obtidos dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-
dissubstituídos
Tabela 8 - Resultado da análise de Espectroscopia de Fluorescência63
Tabela 9 – Resultados dos ensaios de atividades biológicas68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura da 2H-cromen-2-ona26	3
Figura 2 - Família das benzopironas27	7
Figura 3 - Principais subtipos de 2 <i>H</i> -cromen-2-onas27	7
Figura 4 - Diferentes isômeros dos oxadiazóis	3
Figura 5 - Estruturas de compostos contendo o núcleo oxadiazol em estágio de	Э
estudo clínico	7
Figura 6 - Medicamentos comercialmente disponíveis que contém o núcleo)
oxadiazol38	3
Figura 7 – Estrutura do agente de acoplamento TBTU.	1
Figura 8 - Espectro de RMN ¹ H do composto 3aa em CDCI ₃ a 400 MHz60)
Figura 9 - Espectro de RMN ¹³ C do composto 3aa em CDCI ₃ a 100 MHz61	1
Figura 10 – Experimento HSQC do composto 3aa em CDCI ₃ a 400 MHz62	2
Figura 11 - Composto 3aa em uma câmara escura sob incidência de luz UV (365	5
nm)63	3
Figura 12 - Região espectral visível (Adaptado de Valeur, B. Molecular Fluorescence	е
Principles and Applications. 2001. Wiley-VCH.)65	5
Figura 13 - Espectro 3D de fluorescência do composto 3aa 66	3
Figura 14 - Espectro de RMN ¹ H para composto 1a em CDCI ₃ a 400 MHz100)
Figura 15 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 1a em CDCI ₃ a 100 MHz100)
Figura 16 - Espectro de RMN ¹ H para composto 1b em CDCl ₃ a 400 MHz10 ²	1
Figura 17 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 1b em CDCI ₃ a 100 MHz10 ⁴	1
Figura 18 - Espectro de RMN ¹ H para composto 1c em CDCI ₃ a 400 MHz102	2
Figura 19 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 1c em CDCI ₃ a 100 MHz102	2
Figura 20 - Espectro de RMN ¹ H para composto 1d em CDCl ₃ a 400 MHz103	3
Figura 21 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 1d em CDCI ₃ a 100 MHz103	3
Figura 22 - Espectro de RMN ¹ H para composto 3aa em CDCl ₃ a 400 MHz 104	4
Figura 23 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 3aa em CDCI ₃ a 100 MHz104	4
Figura 24 - Espectro de RMN ¹ H para composto 3ab em CDCI ₃ a 400 MHz105	5
Figura 25 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 3ab em CDCl ₃ a 100 MHz105	5
Figura 26 - Espectro de RMN ¹ H para composto 3ac em CDCl ₃ a 400 MHz106	3
Figura 27 - Espectro de RMN ¹³ C para composto 3ac em CDCI ₃ a 100 MHz106	3
Figura 28 - Espectro de RMN ¹ H para composto 3ad em CDCI ₃ a 400 MHz107	7
XVİ	ii -

Figura 29 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3ad** em CDCl₃ a 100 MHz......107 Figura 31 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3ba** em CDCl₃ a 100 MHz......108 Figura 32 - Espectro de RMN ¹H para composto **3bb** em CDCl₃ a 400 MHz.............109 Figura 33 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3bb** em CDCI₃ a 100 MHz......109 Figura 35 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3bc** em CDCl₃ a 100 MHz......110 Figura 36 - Espectro de RMN ¹H para composto **3bd** em CDCl₃ a 400 MHz......111 Figura 37 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3bd** em CDCl₃ a 100 MHz......111 Figura 39 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3ca** em CDCI₃ a 100 MHz......112 Figura 41 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3cb** em CDCl₃ a 100 MHz......113 Figura 43 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3cc** em CDCl₃ a 100 MHz......114 Figura 44 - Espectro de RMN ¹H para composto **3cd** em CDCl₃ a 400 MHz.115 Figura 45 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3cd** em CDCI₃ a 100 MHz......115 Figura 46 - Espectro de RMN ¹H para composto **3da** em CDCI₃ a 400 MHz.116 Figura 47 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3da** em CDCl₃ a 100 MHz......116 Figura 48 – Espectro de RMN ¹H para composto **3db** em CDCI₃ a 400 MHz......117 Figura 49 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3db** em CDCl₃ a 100 MHz......117 Figura 51 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3dc** em CDCl₃ a 100 MHz......118 Figura 53 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3dd** em CDCl₃ a 100 MHz......119

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC	American Type Culture Collection (do inglês)
CI	Conversão Interna
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DCC	Dicicloexilcarbodiimida
DIC	N,N'-diisopropilcarbodiimida
DIPEA	N, N-diisopropiletilamina
DMA	Dimetilacetamida
DMF	Dimetilformamida
EFSA	European Food Safety Authority (do inglês)
ESI	Electro Spray Ionization (do inglês)
FDA	Food and Drug Administration (do inglês)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence (do inglês)
J	Constante de acoplamento
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MRSA	Staphylococcus aureus resistente à meticilina
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Sn	Estado excitado singlete
t.a.	Temperatura ambiente
TBTU	o-(benzotriazol-1-il)-N, N, N', N'-tetrametilurônio tetrafluorborato
THF	Tetraidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
α	Alfa
β	Beta
δ	Deslocamento químico
λ	Comprimento de onda
Ý	Gama

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A síntese de compostos que possuem o anel 1,3,4-oxadiazol em sua estrutura é conhecida por apresentar uma série de atividades biológicas, dependendo do substituinte presente na molécula. Muitos destes compostos sintetizados nos últimos anos demonstraram atividades biológicas, tais como: anti-inflamatória,¹ analgésica,¹ antibacteriana,² antifúngica,² antimicrobiana,³ antitumoral,⁴ entre outras. Rauf e colaboradores⁵ relataram significante atividade inibitória do crescimento de *Staphylococcus aureus, Klebisiella pneumoniae, Pseudonomas aeruginosa, Candida albicans* e *Penicillium sp* – micro-organismos relacionados com doenças tais como: endocardite, pneumonia, infecção no aparelho urinário, candidíase e peniciliose, respectivamente - a partir de compostos que apresentam em sua estrutura 1,3,4oxadiazóis 2,5-dissubstituídos.

Adicionalmente, a síntese de compostos derivados de *L*-aminoácidos desperta grande interesse devido ao fato destes compostos apresentarem amplas aplicações biológicas, como atividade antiviral e antibacteriana. Além disso, são precursores de importantes enzimas, tais como glutationa peroxidase e tioredoxina redutase.⁶

As rotas sintéticas clássicas para a síntese dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5dissubstituídos envolvem reações de ciclização. Os métodos mais comumente usados são ciclodesidratação de 1,2-diacil-hidrazinas com vários agentes de acoplamento, como: oxicloreto de fósforo,⁷ ácido sulfúrico,⁸ cloreto de tionila,⁹

¹ Jayashankar, B.; Rai, K. M. L.; Baskaran, N.; Sathish, H. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3898-3902.

² Rai, N. P.; Narayanaswamy, V. K.; Shashikanth, S.; Arunachalam, P. N. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4522-4527.

³ Gupta, V.; Kashaw, S. K.; Jatav, V. *Med. Chem. Res.* **2008**, *17*, 205-211.

⁴ Mansour, A. K.; Eid, M. M.; Khalil, N. S. A. M. *Molecules*. **2003**, *8*, 744-755.

⁵ Rauf, A.; Sharma, S.; Gangal, S. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19*, 5-8.

⁶ Andreadou, I.; Menge, W. M. P. B.; Commandeur, J. N. M.; Worthington, E. A.; Vermeulen, N. P. M. J. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2040-2046.

⁷ Padmavhati, V.; Reddy, G.; Padmaja, A.; Kondaiah, P.; Ali-Shazia. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2106-2112.

⁸ Sharma, S.; Srivastava, V. K.; Kumar, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 689-697.

⁹ Borg, S.; Vollinga, R. C.; Labarre, M.; Payza, K.; Luthman, L.; Terenius, K. *J. Med. Chem.* **1999**, *4*2, 4331-4342.

pentóxido de fósforo,¹⁰ trifenilfosfina;¹¹ oxidação de *N*-acilidrazonas com diferentes agentes oxidantes, e reação direta de cloridratos de acila ou ácidos carboxílicos com hidrazidas ou hidrazidas ácidas.¹²

A 2*H*-cromen-2-ona e seus derivados são uma classe promissora de produtos naturais dotados de potentes atividades anti-inflamatórias,¹³ antibacterianas,¹⁴ antifúngicas,¹⁴ anti-HIV,¹⁵ antioxidantes,¹⁶ anticoagulantes¹⁷ e antitumoral;¹⁸ também demonstram baixa toxicidade para humanos^{19,20} e alguns de seus derivados apresentam fluorescência.^{21,22,23} Essa variedade de atividades biológicas, fisiológicas e luminescentes pode ser atribuída ao fato de que os derivados de 2*H*-cromen-2-onas possuem muitas estruturas diferentes devido a presença de diferentes substituintes na molécula. Isto está relacionado com a possibilidade de diversos tipos de substituição que podem ocorrer em seu núcleo, influenciando no tipo de atividade encontrada.¹⁸

O desenvolvimento de moléculas híbridas através da combinação de diferentes sítios farmacofóricos pode levar a compostos com interessantes perfis biológicos. O acoplamento da 2*H*-cromen-2-ona com diferentes moléculas bioativas

¹⁰ Liras, S.;Allen, M. P.; Segelstein, B. E. Synthetic Commun. **2000**, *30*, 437-443.

¹¹ Wolkenberg, S. E.; Boger, D. L.; *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7361-7364.

¹² Zarudnitskii, E. V.; Pervak, I. I.; Merkulov, A. S.; Yurchenko, A. A.; Tolmachev, A. A.; *Tetrahedron*. **2008**, *64*, 10431-10442.

¹³ Kontogiorgis, C. A.; Hadjipavlou-Litina, D. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 611-614.

¹⁴ Sardari, S.; Mori, Y.; Horita, K.; Micetich, R. G.; Nishibe, S.; Daneshtalab, M. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 1933-1940.

¹⁵ Yu, D.; Suzuki, M.; Xie, L.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K. H. *Med. Res. Ver.* **2003**, 23, 322-345.

¹⁶ Lin, H. C.; Tsai, S. H.; Chen, C. S.; Chang, Y. C.; Lee, C. M.; Lai, Z. Y.; Lin, C. M. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, 785, 1416-1425.

¹⁷ Arora, R. B.; Mathur, C. N. *Brit. J. Pharmacol.* **1963**, *20*, 29-35.

¹⁸ Wu, L.; Wang, X.; Xu, W.; Farzaneh, F.; Xu, R. *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 4236-4260.

¹⁹ Lake, B. G. *Food. Chem. Toxicol.* **1999**, 37, 423-453.

²⁰ Felter, S. P.; Vassallo, J. D.; Carlton, B. D.; Daston, G. P. *Food. Chem. Toxicol.* **2006**, *44*, 462-475.

²¹ Xie, L.; Chen, Y.; Wu, W.; Guo, H.; Zhao, J.; Yu, W. *Dyes Pigments*. **2012**, *9*2, 1361-1369.

²² Hirano, T.; Kubo, H.; Shiraishi, T.; Hiromoto, K.; Fujiwara, T.; Kagechika, H. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5916-5919.

 ²³ Bryantseva, N. G.; Sokolova, I. V.; Tsyrenzhapova, A. B.; Selivanov, N. I.; Khilya, V. P.; Garazd, Y. L. *J. Appl. Spectrosc.* **2008**, *75*, 700-705.

apresentam atividades anti-hiperlipidêmicas,²⁴ antiplaquetares,²⁵ vasorelaxantes¹³ além de serem empregadas como marcadores de anticorpos e proteínas.²⁶

Um processo de desenvolvimento de uma nova droga pode ser alcançado através da síntese de um híbrido de sítios farmacofóricos, que é considerado "o modelo de pesquisa de medicamentos que tem o potencial de gerar substâncias que atuam em mais de um alvo biológico". A síntese deste híbrido depende do uso de dois ou mais sítios farmacofóricos, cada qual com seu potencial biológico que pode ser combinado em apenas uma molécula, visando que a hibridização possa produzir compostos com melhores perfis farmacológicos.²⁷

Tendo em vista a possibilidade de unir três centros famacofóricos que possuem suas atividades biológicas extensamente relatadas na literatura, o objetivo deste trabalho abrange (Esquema 1):

1. A síntese de uma série de moléculas híbridas inéditas que englobem em sua estrutura os núcleos do 1,3,4-oxadiazol, da 2H-cromen-2-ona (I) e de L-aminoácidos; partindo de L-aminoácidos acoplados à 2H-cromen-2-ona (1a-d) e de benzoilhidrazidas (2a-d);

2. Explorar as propriedades biológicas e/ou fluorescentes das moléculas-alvo (3xy).



Esquema 1 - Esquema geral da síntese de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstiuídos derivados da 2Hcromen-2-ona acoplados a L-aminoácidos.

²⁴ Sashidara, K. V.; Kumar, A.; Kumar, M.; Srivastava, A.; Puri, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 6504-6507.

²⁵ Vilar, S.; Quezada, E.; Santana, L.; Uriarte, E.; Yanez, M.; Fraiz, N.; Alcalde, C.; Cano, E.; Orallo, F. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006, 16, 257-261.

Song, H.; Ngai, M. H.; Song, Z. Y.; MacAry, P. A.; Hobley, J.; Lear, M. J. Org. Biomol. Chem. 2009, 7, 3400-3406.²⁷ Botros, S.; Khalil, N. A.; Naguib, B. H.; El-Dash, Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 57-63.

Para uma melhor compreensão, esta dissertação está dividida em quatro capítulos. No primeiro capítulo realizou-se a revisão da literatura, que contém as características dos compostos citados nesse trabalho, bem como sua aplicação em diversos campos da química. No segundo capítulo foram descritos e discutidos os resultados obtidos. No terceiro capítulo encontram-se os equipamentos e procedimentos experimentais adotados, e no quarto capítulo constam os espectros selecionados dos compostos obtidos neste trabalho.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

1 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção será apresentada uma revisão da literatura abordando os temas referentes a este trabalho. Primeiramente, será discutida a importância da inclusão da molécula bioativa 2*H*-cromen-2-ona em estruturas orgânicas, em seguida, serão abordados alguns aspectos básicos relacionados à fluorescência. Posteriormente, será apresentada a relevância da síntese orgânica envolvendo *L*-aminoácidos, seguida de abordagens sintéticas descritas para a obtenção de 1,3,4-oxadiazóis.

1.1 2H-cromen-2-ona

A 2*H*-cromen-2-ona, 1,2-benzopirona, α -benzopirona, ou cumarina (**figura 1**) foi primeiramente isolada no ano de 1820 a partir da árvore leguminosa cumaru, a qual deu origem ao seu nome usual.²⁸



Figura 1 – Estrutura da 2H-cromen-2-ona.

A 2*H*-cromen-2-ona (**I**) é classificada como um membro da família das benzopironas (**Figura 2**), as quais consistem em um anel benzênico condensado ao anel de um dos isômeros da pirona. As benzopironas podem ser subdivididas em duas categorias: as α -benzopironas (**I**), categoria na qual a 2*H*-cromen-2-ona se encaixa; e as Y-benzopironas **4**, que possui como principais membros os flavonoides.²⁸

²⁸ Lacy, A.; O'Kennedy, R.. Curr. Pharm. Des. **2004**, *10*, 3797-3811.



Figura 2 - Família das benzopironas.

As 2*H*-cromen-2-onas podem ser classificadas em quatro principais categorias: as 2*H*-cromen-2-onas simples **5**, as furano-2*H*-cromen-2-onas **6**, as pirano-2*H*-cromen-2-onas **7** e as 2*H*-cromen-2-ona pirona-substituídas **8** (

Figura 3).²⁸



Figura 3 - Principais subtipos de 2H-cromen-2-onas.

A 2*H*-cromen-2-ona é uma molécula que ocorre naturalmente em uma grande variedade de plantas. Além de ser encontrada no cumaru, este composto é encontrado em altos níveis em óleos essenciais derivados da casca de canela, da folha de *Cassia*, e da lavanda. Também pode-se encontrá-la em algumas frutas (mirtilo e amora), no chá verde e na chicória. Muitos derivados da 2*H*-cromen-2-ona também tem sido identificados em plantas, tanto em seu estado livre como na forma de glicosídeos. Além dos derivados da 2*H*-cromen-2-ona terem um vasto espectro de atividades biológicas, eles também são utilizados como aditivos em produtos perfumados.¹⁹

O uso da 2*H*-cromen-2-ona como aditivo em alimentos foi suspenso nos Estados Unidos em 1954 pelo FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) devido à evidências de hepatotoxicidade em ratos. Entretanto, pesquisas significativas mostraram que essa toxicidade não é relevante para humanos, uma vez que a 2Hcromen-2-ona possui uma rota de metabolização diferente em ratos, criando metabólitos que levam à hepatotoxicidade somente nesta espécie. Esses estudos confirmaram que a exposição dos humanos à 2H-cromen-2-ona é totalmente segura.²⁰ Em 2004, a EFSA (do inglês, *European Food Safety Authority*) atualizou os valores de ingestão diária tolerável e emitiu um comunicado indicando que a 2Hcromen-2-ona não apresenta genotoxicidade.²⁹

A 2H-cromen-2-ona tem sido usada para o tratamento clínico do câncer,¹⁶ linfedema,²⁸ insuficiência venosa,¹⁸ vitiligo³⁰ e infecções crônicas.³¹ Entretanto, a 2*H*cromen-2-ona tem um tempo de meia-vida curto em humanos, devido ao metabolismo hepático que a transforma principalmente em 7-hidroxi-2H-cromen-2ona 5 e em seu glicuronídeo. Dessa forma, a 2H-cromen-2-ona é considerada uma pró-droga e a 7-hidroxi-2*H*-cromen-2-ona a molécula bioativa.³¹

A 7-hidroxi-2H-cromen-2-ona 5, além de ser um metabólito da 2H-cromen-2ona em humanos, também pode ser encontrada na natureza. Também conhecida como umbeliferona, esta molécula ocorre em plantas e frutas, como: marmeleiro-da-Índia, laranja-azeda, cenoura, coentro, Angelica archangelica e Hieracium pilosella.^{32,33} Esse derivado da 2H-cromen-2-ona dispõe de uma enorme variedade de bioatividades. Estudos realizados com derivados dessa molécula relatam anti-inflamatória,³⁴ antioxidante,³⁵ antitumoral,³⁵ anti-helmíntico,³⁶ atividades antidiabético,37 antibacteriana,38 entre outras.

²⁹ Anton, R.; Barlow, S.; Boskou, D.; Castle, L.; Crebelli, R.; Dekant, W.; Engel, K.; Forsythe, S.; Grunow, W.; Heinonen, M.; Larson, J. C.; Leclercq, C.; Mennes, W.; Milana, M. R.; Pratt, I.; Rietjens, I.; Svensson, K.; Tobback, P.; Toldrá, F. *The EFSA Journal.* **2004**, *104*, 1-36. ³⁰ Silva, V. B.; Kawano, D. F.; Carvalho, I.; Conceição, E. C.; Freitas, O.; Silva, C. H. T. P. J.

Pharmaceut. Sci. 2009, 12, 378-387.

³¹ Kabeya, L. M.; Fuzissaki, C. N.; Taleb-Contini, S. H.; Ferreira, A. M. C.; Naal, Z.; Santos, E. O. L.; Figueiredo-Rinhel, A. S. G.; Azzolini, A. E. C. S.; Vermelho, R. B.; Malvezzi, A.; Amaral, A. T.; Lopes, J. L. C; Lucisano-Valim, Y. M. *Chem-Biol. Interact.* **2013**, *206*, 63-75. ³² Vasconcelos, J. F.; Teixeira, M. M.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; Nunes, X. P.; Giulietti, A. M.;

Ribeiro-dos-Santos, R.; Soares, M. B. P. Eur. J. Pharmacol. 2009, 609, 126-131.

Ramesh, B.; Pugalendi, K. V. Life Sci. 2006, 79, 306-310.

³⁴ Timonen, J. M.; Nieminen, R. M.; Sareila, O.; Goulas, A.; Moilanen, L. J.; Haukka, M.; Vainiotalo, P.; Moilanen, E.; Aulaskari, P. H. Eur. J. Med. Chem. 2011, 46, 3845-3850.

³⁵ Molaverdi, F.; Khoobi, M.; Emani, S.; Alipour, M.; Firuzi, O.; Foroumadi, A.; Dehghan, G.; Miri, R.; Shaki, F.; Jafarpour, F.; Shafiee, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *6*8, 103-110. ³⁶ Liu, G. L.; Hao, B.; Liu, S. P.; Wang, G. X. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *5*4, 582-590.

³⁷ Ramesh, B.; Pugalendi, K. V. *Toxicol. Mech. Methods.* **2006**, *17*, 153-159.

Recentemente, a 2*H*-cromen-2-ona tem sido o alvo de grandes atenções devido à sua utilidade como bloco sintético para a preparação de moléculas biologicamente ativas. Nesse contexto, Renuka e Kumar sintetizaram uma série de compostos híbridos **14a-e** derivados da 2*H*-cromen-2-ona e formil-pirazóis, que apresentaram atividades antibacteriana e antifúngica frente a diversos micro-organismos testados (**Esquema 2**).³⁸



Esquema 2 - Compostos híbridos derivados da 2H-cromen-2-ona e formil-pirazóis.

Amin e colaboradores sintetizaram derivados de pirimidinil-2*H*-cromen-2-onas **16a-c** por diferentes rotas sintéticas, onde estes apresentaram excelentes atividades vasorrelaxantes. Esses compostos foram obtidos a partir do intermediário-chave 4-guanidino-2*H*-cromen-2-ona **15** (**Esquema 3**).³⁹

³⁸ Renuka, N.; Kumar, A. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23, 6406-6409.

³⁹ Amin,K. M.; Awadalla, F. M.; Eissa, A. A. M.; Abou-Seri, S. M.; Hassan, G. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6087-6097.



Esquema 3 - Síntese do intermediário-chave 4-guanidino-2H-cromen-2-ona na síntese de derivados de pirimidil-2*H*-cromen-2-ona.

Uma série de compostos de quinolinas-2H-cromen-2-onas 20a-e contendo enxofre como heteroátomo (Esquema **4**) foi sintetizada por Nidhin е Muthusubramanian.40 Os obtidos compostos demonstraram atividades antimicrobianas, além de não apresentarem efeitos tóxicos no organismo.

⁴⁰ Nidhin, P.; Muthusubramanian, S. *Med. Chem. Res.* **2014**, 23, 1612-1621.



Esquema 4 - Série de compostos de quinolinas-2H-cromen-2-onas.

1.2 Fluorescência

A fluorescência é um caso particular de luminescência. O modo de excitação é a absorção de um fóton, que leva a espécie absorvente para um estado eletronicamente excitado. A regressão para o estado fundamental dessa espécie acompanhada da emissão de fótons é chamada de fluorescência. Os vários tipos de luminescência são classificados de acordo com o tipo de excitação (**Tabela 1**).⁴¹

Tabela 1 - Tipos de luminescência.

Fenômeno	Tipo de Excitação	
Fotoluminescência	Absorção de luz (fótons)	
(fluorescência e fosforescência)		
Radioluminescência	Radiação de ionização (Raios-x, α , β , Y)	
Catodoluminescência	Raios catódicos (feixe de elétrons)	

⁴¹ Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*.1^a Ed. Wiley-VCH, Weinheim. **2001**.

Fenômeno	Tipo de Excitação
Eletroluminescência	Campo Elétrico
Termoluminescência	Aquecimento após o armazenamento prévio
	de energia (irradiação radioativa)
Quimiluminescência	Processos químicos
Bioluminescência	Processos bioquímicos
Triboluminescência	Forças de atrito e eletrostática
Sonoluminescência	Ultrassom

Primeiramente, a molécula é irradiada por um feixe de luz, com comprimento de onda característico, para ser promovida a um S_n (estado excitado singlete). Em seguida, ocorre a CI (conversão interna): independente do estado excitado singlete $(S_2, S_3,...)$ que tenha sido atingido, existe uma transferência de energia rápida ao estado excitado singlete de mais baixa energia (S_1) . Todas essas transições podem ser observadas no diagrama de Jablonski (**Esquema 5**).⁴¹

A relaxação do estado excitado S_1 para o estado fundamental S_0 , acompanhada da emissão de fótons, é chamada fluorescência, e o grupo funcional da molécula responsável pela fluorescência é chamado de fluoróforo.⁴¹



Esquema 5 - Diagrama de Jablonski (Adaptado de Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*.1^a Ed. Wiley-VCH, Weinheim. **2001**).

Além de se tornarem alvos sintéticos devido ao seu potencial farmacológico, os derivados da 2*H*-cromen-2-ona também se destacam pelas suas propriedades fluorescentes, apesar de o núcleo da 2*H*-cromen-2-ona não apresentar fluorescência quando está livre de substituintes.²¹

Os derivados da 2*H*-cromen-2-ona são utilizados como marcadores fluorescentes, onde estes se ligam covalentemente a uma molécula, por exemplo, uma proteína, podendo atuar como sensor fluorescente. Esses sensores destacamse pela análise da variação de alguma característica da molécula através da variação da fluorescência, que pode ser observada devido à inserção do marcador fluorescente. Nesse contexto, Hirano e colaboradores²² desenvolveram uma série de derivados da 2*H*-cromen-2-ona que apresentaram potencial para serem aplicados como sensores fluorescentes devido a exibirem diferentes perfis de fluorescência conforme a variação dos substituintes.

Adicionalmente, esses derivados também são empregados como fotossensibilizadores fluorescentes, onde são utilizados para o tratamento de diversas doenças. Particularmente, as furano-2*H*-cromen-2-onas **6** são utilizadas em terapia fotoquímica para tratamento de várias doenças de pele, como: psoríase, dermatite atópica e vitiligo.²³

A fluorescência dos derivados da 2*H*-cromen-2-ona é uma área de constante interesse devido à sua aplicação como marcadores, sensores e fotossensibilizadores fluorescentes e diversos outros tipos de aplicações que a fluorescência destes compostos abrange.⁴²

1.3 Aminoácidos

Os aminoácidos são importantes resíduos em proteínas e sítios ativos de enzimas, desempenhando funções em processos bioquímicos, principalmente

⁴² (a) Yu, T.; Zhao, M.; Li, A.; Zhao, Y.; Zhang, H.; Fan, D. *Res. Chem. Intermed.* **2013**, *39*, 2259-2266. (b) Li. J.; Zhang, C.; Ming, Z.; Hao, G.; Yang, W.; Yang, G. *Tetrahedron.* **2013**, *69*, 4743-4748. (c) Baride, A.; Engebretson, D.; Berry, M. T.; May, P. S. *J. Lumin.* **2013**, *141*, 99-105. (d) Zhang, J.; Nosaka, Y. *J. Phys. Chem.* **2013**, *117*, 1383-1391. (e) Qiu, S.; Miao, M.; Wang, T.; Lin, Z.; Guo, L.; Qiu, B.; Chen, G. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *42*, 332-336.

aqueles sistemas relacionados aos processos redox.⁴³ Portanto, não é surpresa que muitos compostos orgânicos contendo aminoácidos se tornaram alvos sintéticos devido a sua importância como blocos sintéticos e como sua potencial aplicação biológica.

Os aminoácidos constituem as unidades fundamentais das proteínas. Elas estão ligadas covalentemente entre si através de uma ligação peptídica. O que diferencia uma proteína da outra é a sequência com as quais estão dispostos os aminoácidos.

Todos os aminoácidos, exceto a glicina, contêm quatro substituintes diferentes em seu carbono quiral. Este carbono assimétrico confere aos aminoácidos a propriedade de atividade óptica, ou seja, em solução desvia a luz polarizada para a esquerda ou para a direita. Se o desvio da luz polarizada se dá para a direita, este composto se denomina dextrógiro, sendo um *D*-aminoácido. Se o desvio se dá para a esquerda, este composto se denomina levógiro, sendo um *L*-aminoácido. Os aminoácidos podem existir em suas duas formas enantioméricas, porém, todos os aminoácidos proteicos são *L*-aminoácidos.⁴⁴

A química de compostos organocalcogênios vem sendo amplamente estudada, em particular, a síntese de derivados de aminoácidos naturais.⁴⁴ Essa grande atenção voltada aos aminoácidos se deve ao considerável potencial farmacológico apresentado por eles, podendo-se destacar a atividade antioxidante, antitumoral e antibacteriana.⁴⁵

1.3.1 Acoplamento de Ullmann

Pode-se incorporar a estrutura de um aminoácido ao benzeno através de reações de acoplamento. Particularmente, a reação de acoplamento de Ullmann

⁴³ Alberto, E. E.; Nascimento, V.; Braga, A. L. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 2032-2041.

⁴⁴ Fiori, S.; Rudolph, B. S.; Cramer, J.; Moroder, L. *Biopolymers*. **2000**, *5*3, 550-564.

⁴⁵ (a) Back, T. G.; Moussa, Z. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 13455-13460. (b) Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T. Chem. Rev. 2004, 104, 6255-6285. (c) Braga, A. L.; Lüdtke, D. S.; Paixão, M. W.; Alberto, E. E.; Stefani, H. A.; Juliano, L. Eur. J. Org. Chem. 2005, 20, 4260-4264.

promove a formação de uma ligação carbono-nitrogênio, através do acoplamento entre haletos de arila e aminas.

Dessa maneira, Ma e colaboradores⁴⁶ relataram o acoplamento de *L*aminoácidos com haletos de arila para produzir *N*-aril-*L*-aminoácidos enantiomericamente puros **23a-e** com retenção de configuração através da catálise promovida por iodeto de cobre (**Esquema 6**).



Esquema 6 - Acoplamento de L-aminoácidos com haletos de arila catalisados por Cul.

Cai e colaboradores⁴⁷ demonstraram que o acoplamento de Ullmann pode ser adaptado para outros substratos na formação de ligações C-O. Os autores relatam o efeito do substituinte na posição *orto* nas reações tipo-Ullmann: a carbonila do grupamento amida coordena com o cobre para levar ao intermediário mais estável **26** na etapa de adição oxidativa (**Esquema 7**).

⁴⁶ Ma, D.; Zhang, Y.; Yao, J.; Wu, S.; Tao, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12459-12467.

⁴⁷ Cai, Q.; Zhang, H.; Zou, B.; Xie, X.; Zhu, W.; He, G.; Wang, J.; Pan, X.; Chen, Y.; Yuan, Q.; Liu, F.; Lu, B.; Ma, D. *Pure Appl. Chem.* **2009**, *81*, 227-234.


Esquema 7 - Efeito do substituinte na posição orto em reação de acoplamento tipo-Ullman.

1.4 Oxadiazóis

Compostos contendo heterociclos em sua estrutura são de grande importância devido às suas atividades biológicas. Anéis de cinco membros que contém em sua estrutura dois heteroátomos de nitrogênio, dois átomos de carbono e um heteroátomo de oxigênio são conhecidos como oxadiazóis.⁴⁸

Os oxadiazóis podem existir na forma de diferentes isômeros: 1,2,4oxadiazóis, 1,3,4-oxadiazóis, além de 1,2,5 e 1,2,3-oxadiazóis (**Figura 4**). O que os difere é a posição dos substituintes R^1 e R^2 e a conectividade entre os átomos do anel.⁴⁸



Figura 4 - Diferentes isômeros dos oxadiazóis.

Os derivados de oxadiazóis são conhecidos por suas atividades biológicas, que estão relacionadas com os substituintes presentes na estrutura da molécula. Isto está atrelado ao fato de muitos destes compostos, já conhecidos e testados,

⁴⁸ Boström, J.; Hogner, A.; Linàs, A.; Wellner, E.; Plowright, T. A. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1817-1830.

possuírem atividades, tais como: antitumoral,⁴⁹ antioxidante,⁵⁰ antimicrobiana,⁵¹ anticonvulsivante,²⁷ antifúngica,⁵² anti-inflamatória,⁵³ entre outras.

Com o desenvolvimento e a descoberta de novos fármacos, compostos contendo o heterociclo oxadiazólico estão atualmente em estágio avançado de testes clínicos. Alguns exemplos são o Zibotentan 28,54 agente antitumoral e o Ataluren **29**,⁵⁵ o qual atua no tratamento de fibrose cística (**Figura 5**).



Figura 5 - Estruturas de compostos contendo o núcleo oxadiazol em estágio de estudo clínico.

Devido à ampliação dos espectros de atividades biológicas dessa classe de compostos, encontram-se disponíveis comercialmente opções de medicamentos derivados de oxadiazóis para o tratamento de doenças, tais como: Raltegravir **30**,⁵⁶ utilizado no tratamento da AIDS: Butalamina **31**.⁵⁷ um vasodilatador e o Fasiplon **32**,⁵⁸ utilizado para diminuir a ansiedade e a tensão (**Figura 6**).

Chem. Lett. **2013**, *23*, 2876-2879. ⁵⁰ Ma, L.; Xiao, Y.; Li, C.; Xie, Z. L.; Li, D. D.; Wang, Y. T.; Ma, H. T.; Zhu, H. L.; Wang, M. H.; Ye, Y. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6763-6770.

Madilla, S.; Jonnalagadda, S. B. Pharm. Chem. J., 2013, 46, 661-666.

⁵² Cui, Z. N.; Shi, Y. X.; Zhang, Li.; Ling, Y.; Li, B. J.; Nishida, Y.; Yang, X. L. J. Agric. Food Chem. **2012**, *60*, 11649-11656. ⁵³ Rapolu, S.; Alla, M.; Bommena, V. R.; Murthy, R.; Jain, N.; Bommareddy, V. R.; Bommineni, M. R.

Eur. J. Med. Chem. 2013, 66, 91-100.

⁵⁴Haque, S.; Dashwood, M. R.; Heetun, M.; Shiwen, X.; Farooqui, N.; Ramesh, B.; Welch, H.; Savage, F. J.; Ogunbiyi, O.; Abraham, D. J.; Loizidou, M. Mol. Cancer Ther. 2013, 12, 1556-1567.

⁵⁵ Peltz, S. W.; Morsy, M.; Welch, E. M.; Jacobson, A. Ann. Rev. Med. **2013**, 64, 407-425.

⁵⁶ Nutall, J.; Meyers, T.; Eley, B. *Pediatr. Health Med. Ther.* **2013**, *4*, 75-87.

⁵⁷ Dong, X.; Liu, Y.; Yan, J.; Jiang, C.; Chen, J.; Liu, T.; Hu, Y. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 8151-8160.

⁵⁸ Tully, W. R.; Gardner, C. R.; Gillespie, R. J.; Westwood, R. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2060-2067.



Figura 6 - Medicamentos comercialmente disponíveis que contém o núcleo oxadiazol.

1.4.1 1,3,4-Oxadiazóis

Os 1,3,4-oxadiazóis são heterociclos biologicamente ativos e sinteticamente importantes, além disso, a investigação de seu comportamento químico e biológico tem se destacado nas décadas mais recentes.^{59,60} Devido ao seu perfil metabólico, melhoria na farmacocinética e seus resultados em performances *in* vivo, os 1,3,4-oxadiazóis são reconhecidos como importantes centros farmacofóricos.⁶¹ Por esse motivo, esses compostos se tornaram alvos sintéticos almejados devido à sua grande importância no desenvolvimento de novas drogas.⁶²

Os heterociclos de 1,3,4-oxadiazóis são excelentes bioisósteros de amidas e ésteres,⁶³ contribuindo substancialmente no aumento de atividades farmacológicas através da interação de ligações de hidrogênio com certos receptores.⁶⁴ A potente atividade biológica dessa classe de compostos pode ser atribuída à presença da ligação toxicofórica –N=C-O-, a qual pode reagir com células microbianas.⁶⁵ Desta maneira, o amplo uso do núcleo oxazolidínico na química medicinal levou-o a ser introduzido na classe de estruturas privilegiadas. Além do mais, seus derivados

⁵⁹ Vodela, S.; Mekala, R. V. R.; Danda, R. R.; Kodhati, V. *Chinese Chem. Lett.* **2013**, *24*, 625-628.

⁶⁰ Oliveira, C. S.; Lira, B. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Lorenzo, J. G. F.; Athayde-Filho, P. F. *Molecules*. **2012**, *17*, 10192-10231.

 ⁶¹ Singh, S.; Sharma, L. K.; Saraswat, A.; Siddiqui, I. R.; Kehri, H. K.; Singh, R. K. P. *RSC Adv.* 2013, 3, 4237-4245.
 ⁶² Khan, K. M.; Rani, M.; Ambreen, N.; Ali, M.; Hussain, S.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. *Med. Chem.*

⁶² Khan, K. M.; Rani, M.; Ambreen, N.; Ali, M.; Hussain, S.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. *Med. Chem.* Res. 2013, 22, 6022-6028.

⁶³ Desai, N. C.; Bhatt, N.; Somani, H.; Trivedi, A. *Eur. J. Med. Chem.***2013**, 67, 54-59.

⁶⁴ Guimarães, C. R. W.; Boger, D. L.; Jorgensen, W. L. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 17377-17384.

⁶⁵ Rigo, B.; Couturier, D. J. Heteroclyc. Chem. **1985**, 22, 287-288.

apresentam diversas atividades biológicas,⁶³ tais como: antibacteriana,⁶⁶ antifúngica,⁶⁷ antituberculose,⁶⁸ vasodilatadora,¹ hipolipidêmica,¹ entre outras.

1.4.2 Síntese de 1,3,4-Oxadiazóis

As rotas sintéticas clássicas na síntese dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5dissubstituídos envolvem reações de ciclização. Os métodos mais comumente usados são ciclodesidratação de 1,2-diacil-hidrazinas com vários agentes de acoplamento, como: oxicloreto de fósforo,⁷ ácido sulfúrico,⁸ cloreto de tionila,⁹ pentóxido de fósforo,¹⁰ e trifenilfosfina;¹¹ oxidação de *N*-acilidrazonas com diferentes agentes oxidantes, e reação direta de cloridratos de acila ou ácidos carboxílicos com hidrazidas ou hidrazidas ácidas.¹²

Kumar e colaboradores sintetizaram 1,3,4-oxadiazóis **36a-e** reagindo 5-cloro-2-metóxi-benzidrazida **35** com diferentes ácidos carboxílicos aromáticos (**Esquema 8**). As benzoil-hidrazidas **35** foram sintetizadas a partir da esterificação do ácido *o*metóxi-*m*-cloro-benzóico **33** e sua subsequente reação com hidrazina monoidratada. Os autores notaram que a presença de substituintes doadores de elétrons nos diferentes ácidos carboxílicos aromáticos conferiu aos 1,3,4-oxadiazóis atividades antimicrobianas.⁶⁹

⁶⁶ Barbuceanu, S. F.; Bancescu, G.; Cretu, O. D.; Draghici, C.; Bancescu, A.; Popescu, M. *Rev. Chem.* **2010**, *61*, 140-145.

⁶⁷ Prakash, O.; Kumar, M.; Kumar, R.; Sharma, C.; Aneja, K. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4252-4257.

⁶⁸ Kumar, G. V. S.; Rajendraprasad, Y.; Mallikarjuna, B. P.; Chandrashekar, S. M.; Kistayya, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2063-2074.

⁶⁹ Kumar, B. N. P.; Mohana, K. N.; Mallesha, L.; Harish, K. P. *Int. J. Med. Chem.* **2013**. 2013, Article ID 725673, doi:10.1155/2013/725673.



Esquema 8 – Síntese de 1,3,4-oxadiazóis a partir de benzoil-hidrazidas e ácidos carboxílicos aromáticos.

Borg e colaboradores⁹ sintetizaram 1,3,4-oxadiazóis (**Esquema 9**) através da desidratação de 1,2-diacil-hidrazina **38** derivada de *L*-Boc-fenilalanina-hidrazida **37**. A 1,2-diacilidrazida foi tratada com cloreto de tionila e piridina sob aquecimento para fornecer os 1,3,4-oxadiazóis **39a-b**.





O Uso de agentes desidratantes como POCl₃ e SOCl₂ é extensamente utilizado na literatura para promover a síntese de 1,3,4-oxadiazóis. Por esse motivo,

o uso de novos reagentes de acoplamento está sendo cada vez mais utilizado com o intuito de introduzir metodologias mais brandas e inéditas.

Nesse contexto, Boström e colaboradores sintetizaram 1,3,4-oxadiazóis 2,5dissubstituídos **42a-d** pela ciclodesidratação de diacil-hidrazinas **41** utilizando óxido de trifenilfosfina e anidrido tríflico (**Esquema 10**). O óxido de fósforo é utilizado como iniciador do processo de desidratação devido à oxofilicidade do átomo de fósforo.⁴⁸



Esquema 10 - Síntese de 1,3,4-oxadiazóis através da ciclodesidratação de 1,2-diacilidrazidas mediada por óxido de trifenilfosfina.

As *N*-acilidrazonas **44** são utilizadas como substrato para a síntese de derivados 1,3,4-oxadiazóis, onde passam por uma ciclização oxidativa. Kumar e colaboradores relatam essa síntese utilizando anidrido acético como agente oxidante em condições de refluxo. Os compostos resultantes **45a-d** apresentaram atividades antibacteriana e antifúngica (**Esquema 11**).⁶⁸



Esquema 11 – Síntese de 1,3,4-oxadiazóis através de ciclização oxidativa.

Novas tendências sintéticas vão ao encontro de reagentes menos tóxicos e com maior facilidade de manuseio. Maghari e colaboradores utilizam TBTU (*o*-(benzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N'*,*N'*-tetrametilurônio tetrafluorborato) como agente de acoplamento na ciclização de tiosemicarbazidas na presença de DIPEA (*N*,*N*-diisopropiletilamina) como base na síntese de 1,3,4-oxadiazóis **49a-d** (**Esquema 12**). Esse sal de urônio é altamente eficiente e é comumente usado na química de peptídeos.⁷⁰



Esquema 12 - Síntese de 1,3,4-oxadiazóis através da ciclização de tiosemicarbazidas mediada por TBTU.

⁷⁰ Maghari, S.; Ramezanpour, S.; Darvish, F.; Balalaie, S.; Rominger, F.; Bijanzadeh, H. R. *Tetrahedron.* **2013**, *69*, 2075-2080.

APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

CAPÍTULO 2

2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos durante a realização do presente trabalho. Inicialmente será apresentada a síntese dos derivados do ácido 2-(2-oxo-2*H*-cromen-2-6-ilamino) carboxílico **1a-d**, após, serão discutidos os resultados referentes à obtenção de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos **3**, derivados da reação dos ácidos carboxílicos **1a-d** com benzoil-hidrazidas **2a-d** (**a** = benzidrazida, **b** = 4-toluil-hidrazida, **c** = 4-metóxi-benzidrazida e **c** = 4-bromo-benzidrazida). Para finalizar, serão discutidas as reações dos compostos obtidos, suas propriedades fluorescentes e/ou biológicas.

2.1 Análise Retrossintética

Para a síntese dos 1,3,4-oxadiazóis **3** foi utilizada a reação de ciclização entre uma benzoil-hidrazida **2** e um *L*-aminoácido acoplado à 2*H*-cromen-2-ona **1**. Através da retrossíntese pode-se observar os equivalentes sintéticos precursores do produto final desejado **3** (**Esquema 13**).



Esquema 13 – Equivalentes sintéticos precursores dos 1,3,4-oxadiazóis derivados de *L*-aminoácidos acoplados a 2*H*-cromen-2-ona.

O 1,3,4-oxadiazol **3** é produto de ciclização entre a benzoil-hidrazida **2**, disponível comercialmente, e o *L*-aminoácido acoplado a 2*H*-cromen-2-ona **1**. Para a síntese de **1**, é necessária a reação de acoplamento entre um *L*-aminoácido e um haleto de arila (**IV**). Este por sua vez, pode ser obtido através da reação de diazotação da 6-amino-2*H*-cromen-2-ona (**III**). O composto **III** é produto da reação de redução da 6-nitro-2*H*-cromen-2-ona (**III**), a qual advém da nitração da 2*H*-cromen-2-ona (**I**).

2.2 Síntese dos derivados do ácido 2-(2-oxo-2*H*-cromen-2-6-ilamino) carboxílico 1a-d

Para obtenção do produto desejado, partiu-se da 2*H*-cromen-2-ona (**I**) comercial, na qual foi realizada uma reação de nitração na posição 6 do anel aromático deste heterociclo. A 6-nitro-2*H*-cromen-2ona (**II**) foi obtida com rendimento de 90% (**Esquema 14**) a partir do procedimento adaptado de Datta e colaboradores.⁷¹



Esquema 14 – Reação de nitração da 2H-cromen-2-ona.

Após, foi realizada uma redução do grupamento nitro, transformando-o no grupo funcional amina, gerando o produto **III**. Apesar de a 6-amino-2*H*-cromen-2-ona estar disponível comercialmente, optou-se por realizar a síntese deste composto no laboratório devido ao seu custo elevado.

⁷¹ Datta, P.; Mukhopadhyay, A. P.; Manna, P.; Tiekink, E. R. T.; Sil, P. C.; Sinha, C. *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 577-588.

Foram realizados procedimentos para a redução da 6-nitro-2H-cromen-2-ona (II) (Tabela 2). Porém, após muitas tentativas, não se conseguiu reproduzir os rendimentos relatados na literatura. Iniciou-se, então, um estudo das condições reacionais.

O procedimento adotado, dentre os demais testados, consiste em adicionar todos reagentes, NH₄CI, Zn⁰ em pó e THF (tetraidrofurano), em um balão reacional e refluxar o sistema por 24 horas. Para aumentar sua superfície de contato, o zinco foi macerado finamente em graal, sendo o produto obtido com 77% de rendimento (Reação 6). Observou-se ainda que, que quando cada um dos reagentes sólidos foi individualmente macerado em graal e, em seguida, adicionados em balão reacional para refluxo por 24 horas, o rendimento aumenta de 77% para 88%, levando à condição 7.

			0
	н	ш	
Reação	Solvente	Metal	Rendimento (%)
1	DMF/H ₂ O ⁷²	FeCl ₃ /Zn ⁰	a

Condição

H_aN

Fe⁰

Zn⁰

Sn⁰

Fe⁰

Zn⁰

Zn⁰

Tabela 2 - Reação de redução da 6-nitro-2H-cromen-2-ona.

O-N

2

3

4

5

6

7

^a Não foi observada formação do produto. ^b Reagentes sólidos macerados em graal.

 H_2O^{71}

HCI/EtOH⁷³

H₂O/HCl⁷²

H₂O/HCl⁷⁴

THF⁷⁵

THF⁷⁵

_a

30

40

50

77

88^b

⁷² Desai, D. G.; Swami, S. S.; Hapasse, S. B. Synthetic Comm. **1999**, 29, 1033-1036.

⁷³ Liu, Y.; Lu, Y.; Prashad, M.; Repic, O.; Blacklock, T. J. Adv. Synth. Catal. 2005, 347, 217-219.

⁷⁴ Morgan, G. T.; Micklethwait, F. M. G. *J. Chem. Soc.* **1906**, *89*, 863-872.

⁷⁵ Sellmann, D.; Engl, K.; Gottshalk-Gaudig, T.; Heinemann, F. W. Eur. J. Inorg. Chem. 1999, 2, 333-339.

Através do composto **III** foi possível a introdução de um halogênio (X = I, Br) na 2*H*-cromen-2-ona através de uma reação de diazotação (**Esquema 15**).^{76,77}



Esquema 15 – Reação de diazotação da 6-amino-2*H*-cromen-2-ona.

A reação subsequente é a etapa-chave para a formação do precursor do 1,3,4-oxadiazol. Através de uma reação de acoplamento de Ullmann⁴⁶ foi possível introduzir, através da formação de uma ligação nitrogênio-carbono, um *L*-aminoácido na estrutura da 2*H*-cromen-2-ona.

O acoplamento de Ullmann faz-se singular pelo fato de o catalisador ser apenas o iodeto de cobre (I), diferente de outras reações de acoplamento que necessitam da presença de paládio, um catalisador que possui alto custo. As reações catalisadas por paládio necessitam de uma temperatura menor (até 100°C) para ocorrem, tornando-as vantajosas quando comparadas a outras reações que necessitam de uma temperatura mais alta (a partir de 150°C) para ocorrerem. Porém, a metodologia do acoplamento de Ullmann utilizada por Ma e colaboradores conseguiu unir uma temperatura relativamente mais baixa (90°C) e o uso de iodeto de cobre (I) como catalisador.⁴⁶

O mecanismo proposto pelos autores, e que foi adaptado para a estrutura dos compostos presentes neste trabalho, pode ser observado no **Esquema 16**.

⁷⁶ Pokhodylo, N. T.; Obushak, N. D. *Russ. J. Org. Chem.* **2010**, *4*6, 1748-1749.

⁷⁷ Doyle, M. P.; Siegfried, B.; Dellaria, J. F. J. Org. Chem. **1977**, 42, 2426-2431.



Esquema 16 – Mecanismo da reação de acoplamento de Ullmann.

Primeiramente, o cobre reage com o *L*-aminoácido desprotonado **51**, formando um quelato com o aminoácido através dos grupamentos amino e carboxilato **52**. Este quelato se coordena com o haleto de arila formando o complexo π **53**. Em seguida, ocorre uma substituição nucleofílica intramolecular no anel aromático **54**, sendo HX removido com a ajuda do carbonato de potássio dando origem a outro complexo π **55**, o qual se decompõe para formar o produto de acoplamento e regenerar o íon Cu⁺ na reação.⁴⁶

De acordo com a Tabela 3, seguem os aminoácidos testados nesta síntese.

	×	Aminoácido, K ₂ Aquecim 48 h DMf	$\begin{array}{c} CO_{3}, Cul \\ \hline nento \\ \hline \\ \hline \\ \end{array} \qquad	
Beeeñe	Aminoácido	-D	na-u Duoduto	Dand (0/) ^a
Reaçao	Aminoacido	R	Produto	Rend. (%)
1	Val	CH(CH ₃) ₂		78, X = I ^b 75, X = Br ^c 67, X = Br ^b
2	lle	CH(CH ₃ CH ₂)(CH ₃)		75, X = I ^b 73, X = Br ^c 65, X = Br ^b
3	Fen	CH ₂ (C ₆ H ₅)		68, X = I ^b 67, X = Br ^c 55, X = Br ^b
4	Met	CH ₂ CH ₂ SCH ₃		44, $X = I^{b}$ 41, $X = Br^{c}$ 32, $X = Br^{b}$
5	Cis	$CH_2SCH_2(C_6H_5)$	HO S S O O O	*d
6	Gli	Н	HO H H	*d
7	Ala	CH ₃	HO N N O O	traços, X = I ^b ou Br ^c ou Br ^b

Tabela 3 – Acoplamento de 6-halogeno-2*H*-cromen-2-ona com *L*-aminoácidos catalisado por Cul via acoplamento de Ullmann.

^a Rendimentos calculados após o produto ser isolado e purificado. ^b Aquecimento a 90ºC. ^c Aquecimento a 100-110ºC. ^d Não foi observada formação do produto.

Foram testados diversos aminoácidos: *L*-valina, *L*-isoleucina, *L*-fenilalanina, *L*-metionina, *L*-cisteína benzilada, glicina e *L*-alanina. Nas reações de 1 a 4, foram

obtidos os produtos de acoplamento **1a-d** com rendimentos na faixa de 44 – 78%. Para as reações 5 e 6 não foi observada a formação dos respectivos produtos. Para a reação 7, foi observada a formação do produto, porém, após realizada a purificação, constatou-se que obteve-se apenas traços do produto.

Segundo Ma e colaboradores,⁴⁶ o rendimento desta reação é altamente influenciado pelo tipo de aminoácido empregado: aqueles com grupamentos hidrofóbicos maiores fornecem rendimentos mais altos, enquanto aqueles com grupamentos hidrofóbicos menores ou ausentes fornecem rendimentos mais baixos. Este argumento baseia-se nas diferentes solubilidades dos aminoácidos e seus respectivos intermediários no solvente reacional.

Esse pressuposto dos autores pode explicar os rendimentos das reações 1, 2, 3 e 4, onde os aminoácidos empregados possuem grupamentos hidrofóbicos relativamente maiores. Segue o mesmo para as reações 6 e 7: onde os grupamentos hidrofóbicos são pequenos ou ausentes constatou-se a formação de traços do produto ou a ausência do mesmo, respectivamente. Na reação 5, onde utilizou-se a *L*-cisteína protegida, não foi observada a formação do produto.

Foram testados diferentes solventes, como: acetonitrila, acetato de etila, 1,4dioxano e THF. Porém, em nenhum destes outros solventes foi observada a formação do produto.

Também foi utilizado, além da 6-iodo-2*H*-cromen-2-ona, a 6-bromo-2*H*cromen-2-ona como material de partida para estas reações. Apesar de a reatividade desses dois substituintes ser diferente (I > Br), conseguiu-se obter rendimentos similares utilizando a 6-bromo-2*H*-cromen-2-ona na temperatura de 100-110°C.

É válido ressaltar que todos os compostos **1a-d** são inéditos, e que a partir destes resultados, foram escolhidos os produtos das reações de 1 – 4 para serem os materiais de partida precursores de uma nova classe de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos.

2.3 Síntese de 1,3,4-Oxadiazóis

Devido ao interesse em moléculas contendo o núcleo oxazolidínico, em virtude de suas atividades biológicas e de seus usos como blocos sintéticos, faz-se necessária a busca de novos precursores na síntese desses compostos. Com o interesse de aumentar e/ou modificar o espectro de atividades biológicas já previamente conhecido e associado aos 1,3,4-oxadiazóis, aliado às novas tendências sintéticas híbridas atuais,²⁷ idealizou-se a síntese de uma série de moléculas híbridas inéditas **3** que englobem em sua estrutura os núcleos do 1,3,4-oxadiazol, da 2*H*-cromen-2-ona e de *L*-aminoácidos; partindo de *L*-aminoácidos acoplados à 2*H*-cromen-2-ona **1a-d** e de benzoil-hidrazidas **2a-d**.

Durante o curso deste trabalho, foram testadas diversas metodologias para a síntese de 1,3,4-oxadiazóis, tais como: reacões de L-aminoácidos acoplados à 2Hcromen-2-ona 1a-d com benzoil-hidrazidas 2a-d mediadas por DCC (dicicloexilcarbodiimida), DIC (N,N'-diisopropilcarbodiimida), DCI (N, N)carbonildiimidazol)⁷⁸, POCl₃,⁷⁹ H₂SO₄⁸ e SOCl₂⁹

Dentre as diversas metodologias testadas, destacou-se a rota *one pot* de Stabile e colaboradores,⁸⁰ a qual foi escolhida para síntese dos produtos sintetizados neste trabalho. Essa proposta sintética da reação de um ácido carboxílico com uma benzoil-hidrazida emprega acetonitrila como solvente, DIPEA como base, TBTU e cloreto de tosila como agentes de acoplamento à temperatura ambiente.

Visando a determinação da melhor condição reacional para a síntese dos 1,3,4-oxadiazóis **3**, foram realizadas reações de otimização utilizando o ácido (S)-3metil-2-(2-oxo-2*H*-cromen-6-ilamino) butanóico **1a**, com o intuito de que a mudança de componentes reacionais, como temperatura, solvente e agente de acoplamento, levasse ao aumento do rendimento do produto desejado.

⁷⁸ Gadegoni, H.; Manda, S. *Chinese Chem. Lett.* **2013**, *24*, 127-130.

⁷⁹ Kotaiah, Y.; Harikrishna, N.; Nagaraju, K.; Rao C. V. *Eur. J. Med. Chem* **2012**, *58*, 340-345.

⁸⁰ Stabile, P.; Lamonica, A.; Ribecai, A.; Castoldi, D.; Guercio, G.; Curcuruto, O. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4801-4805.

Primeiramente, determinou-se a temperatura ideal reacional, onde foram testadas temperaturas variadas: temperatura ambiente (25°C), temperatura intermediária (50°C) e a temperatura de refluxo do solvente utilizado (81°C) descritas na **tabela 4.**



Tabela 4 - Resultados obtidos utilizando diferentes temperaturas para a obtenção de 1,3,4



Reação	Temperatura (ºC)	Rendimento (%) ^a
1	25	47
2	50	50
3	81	60

^a Rendimentos calculados após o produto ser isolado e purificado.

Conforme apresentado na **Tabela 4**, a reação 3 foi a que apresentou maior rendimento. A reação 1, com temperatura de 25°C forneceu 47% de rendimento e a reação 2, com temperatura de 50°C, forneceu 60 % de rendimento. Evidenciou-se então, que a temperatura de refluxo (81°C) é temperatura que confere maior rendimento para a reação, dentre as temperaturas testadas.

Identificada a melhor temperatura de trabalho, o próximo passo foi variar o solvente da reação (**tabela 5**). Foram utilizados os solventes: acetonitrila, acetona, clorofórmio, 1,4-dioxano, tolueno, xileno, THF e DMF.

$ \begin{array}{cccc} 0 & & 1) D \\ \downarrow & H & & 2) D \\ \downarrow & N & \uparrow & \uparrow \end{array} $	IPEA, TBTU, benzidrazida 2a IPEA, TsCl	N-N H
HO	► 24h, refluxo	
1a		388

Tabela 5 - Resultados obtidos utilizando diferentes solventes no meio reacional para síntese de 1,3,4oxadiazóis.

Reação	Solvente	T. de Refluxo (⁰C)	Rendimento (%) ^a
1	Acetonitrila	81	60
2	Acetona	56	34
3	Clorofórmio	61	33
4	Tolueno	110	22
5	1,4-Dioxano	101	17
6	DMF	153	10
7	THF	66	8
8	Xileno	140	*b

^a Rendimentos calculados após o produto ser isolado e purificado. ^b Não foi observada formação do produto.

Na **tabela 5**, pode-se constatar que dentre os solventes testados, o melhor foi a acetonitrila, que apresentou rendimento de 60%. Quando a acetona e clorofórmio foram utilizados como solvente nas reações 2 e 3, o rendimento apresentou-se na faixa de 34-33%. Nas reações 4 e 5, com tolueno e 1,4-dioxano, nota-se uma queda no rendimento, e este se apresenta na faixa de 20%. Já quando DMF, THF e xileno são utilizados, reações 6, 7 e 8, respectivamente, os rendimentos se apresentam menores, onde para o DMF o rendimento é de 10%, 8% para THF e quando o xileno é utilizado não foi observada a formação do produto.

Após escolhido o solvente de trabalho, foram testados outros agentes de acoplamento, conforme **Tabela 6**.

	1) DIPEA, benzidrazida 2a 2) DIPEA, TsCI MeCN refluxo 24h	N-N N 3aa
Reação	Agente de Acoplamento	Rendimento (%) ^a
1	TBTU	60
2	DCC	traços
3	CDI	*b
4	DIC	*b

Tabela 6 - Diferentes agentes de acoplamento testados na síntese de 1,3,4-oxadiazóis.

1) DIPEA, benzidrazida 2a

^a Rendimentos calculados após o produto ser isolado e purificado. ^b Não foi observada formação do produto.

Na reação 1, com o TBTU 57 como agente de acoplamento (Figura 7), obteve-se o melhor resultado dentre todos os agentes de acoplamento testados. Quando foi utilizado o DCC, obteve-se apenas traços do produto desejado. Nas reações 3 e 4, onde foram utilizados CDI e DIC, não a formação do produto não foi observada. Foi também testado o uso dos agentes de acoplamento sem a adição de cloreto de tosila, porém, em todos os casos não foi observada a formação do produto.



Figura 7 – Estrutura do agente de acoplamento TBTU.

Acredita-se que devido ao TBTU apresentar um centro deficiente de elétrons em sua estrutura, isso aumenta a eletrofilicidade deste agente de acoplamento em relação aos outros. Esse aumento da eletrofilicidade torna o TBTU um centro mais reativo, o que leva a um acoplamento eletronicamente favorável, essa hipótese pode ser comprovada pela elucidação do mecanismo proposto neste trabalho.

Ao longo das otimizações realizadas para a metodologia empregada, foi estudado e proposto o mecanismo da reação⁸¹ de obtenção dos 1,3,4-oxadiazóis.

Conforme o mecanismo proposto no **Esquema 18** partiu-se do ácido (S)-3metil-2-(2-oxo-2*H*-cromen-6-ilamino) butanóico **1**, que reagindo com a base DIPEA gera o ânion carboxilato. Em seguida, esse ânion ataca a imina presente na estrutura do TBTU **57**, primeiro agente de acoplamento utilizado, estabilizando a carga positiva presente na imina e gerando o intermediário tetraédrico **58**. Pela decomposição desse intermediário, há a eliminação do 1*H*-1,2,3-benzotriazolato **59** para formar o intermediário **60**, Esse intermediário **60** reage imediatamente com o 1*H*-1,2,3-benzotriazolato **59**, levando ao composto **61**. A 1,1,3,3-tetrametiluréia **62** é eliminada e o derivado do benzotriolato **63** reage com a benzoil-hidrazida **2a-d**. A restituição da carbonila de **64**, elimina o fragmento benzotriazolato e gera o intermediário não cíclico **65** diacilidrazina.

Há então, a ação do segundo agente de acoplamento, cloreto de tosila, utilizado para promover a ciclização do 1,3,4-oxadiazol. O cloreto de tosila ativa a carbonila do intermediário **65** através da tosilação do átomo de oxigênio e tornandoo um bom grupo abandonador. Através da deslocalização de elétrons de **66** ocorre a ciclização interna. Finalmente, para a formação do oxadiazol, um próton é removido pela base DIPEA, e através dessa reação de eliminação, o benzosulfonato é eliminado e há a formação do 1,3,4-oxadiazol-2,5-dissubstituído **3**.

⁸¹ (a) Balalaie, S.; Mahdidoust, M.; Eshaghi-Najafabadi, R. *Chinese J. Chem.* **2008**, *26*, 1141-1144. (b) Twibanire, J. K.; Grindley, B. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2988-2991. (c) Pouliot, M.; Angers, L.; Hamel, J.; Paquin, J. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 988-993.



Esquema 17 - Mecanismo proposto para a formação de 1,3,4-oxadiazóis.

Com base nas condições descritas anteriormente, foi estabelecida a acetonitrila como solvente, temperatura de refluxo (81°C), e o TBTU como agente de acoplamento. Na **Tabela 7** encontra-se as estruturas dos produtos obtidos, bem como seus respectivos rendimentos para as condições previamente otimizadas.



	Estruturas e rendimentos obtidos dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos					
Reação	R ¹	R²	Produto	Rend. (%) ^a	[α] _D ²⁰	
1	CH(CH ₃) ₂	Н		60	-3,4	
2	CH(CH ₃) ₂	OMe	MeO MeO	72	-2,9	
3	CH(CH ₃) ₂	Ме	Me N-N H O N-N H O O O O 3ac	68	-4,5	
4	CH(CH ₃) ₂	Br	Br N H O N H O O O 3ad	50	-2,2	
5	CH(CH ₃ CH ₂)(CH ₃)	н	N-N H N-N H	46	-1,4	
6	CH(CH ₃ CH ₂)(CH ₃)	OMe	MeO- 3bb	44	-0,9	

Tabela 7 - Estruturas e rendimentos obtidos dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos.

Estruturas e rendimentos obtidos dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos (Continuação)					;ão)
Reação	R¹	R²	Produto	Rend. (%) ^a	[α] _D ²⁰
7	CH(CH ₃ CH ₂)(CH ₃)	Me	Me Me	43	-1,3
8	CH(CH ₃ CH ₂)(CH ₃)	Br	Br	50	-1,2
9	CH ₂ (C ₆ H ₅)	н		42	-1,5
10	CH ₂ (C ₆ H ₅)	OMe	MeO-	40	-1,1
11	$CH_2(C_6H_5)$	Ме		38	-1,1
12	$CH_2(C_6H_5)$	Br	Br	35	-1,5
13	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	Н	MeS 3da	20	-2,4
14	$CH_2CH_2SCH_3$	OMe	MeO MeS 3db	16	-2,3
15	CH ₂ CH ₂ SCH ₃	Me	Me MeS 3dc	26	-3,5
16	$CH_2CH_2SCH_3$	Br	Br	19	-3,3

^a Rendimentos calculados após o produto ser isolado e purificado.

Os rendimentos obtidos para os produtos **3** podem ser observados na **Tabela 7**. Os produtos **3a-(a-d)** derivados da *L*-valina obtiveram os maiores rendimentos, na faixa de 50-72%. Os derivados da *L*-isoleucina **3b-(a-d)** obtiveram rendimentos na faixa de 43-50%., já os derivados da *L*-fenilalanina **3c-(a-d)** obtiveram rendimentos na faixa de 35-42% e os derivados da *L*-metionina **3d-(a-d)** obtiveram rendimentos na faixa de 16-26%. Em relação aos substituintes, tanto grupamentos doadores como retiradores de elétrons do grupamento R² presente no anel aromático da benzoil-hidrazida não demonstraram influência no rendimento da reação. Já o grupamento R¹ demonstra grande importância quanto ao rendimento. Essa queda do rendimento pode ser atribuída ao fator estérico presente na diferença entre os grupamentos R¹ dos *L*-aminoácidos.

Apesar dos derivados da *L*-fenilalanina possuírem um anel aromático no grupamento R¹, os produtos **3c-(a-d)** não apresentam rendimento tão baixo como os derivados da *L*-metionina **3d-(a-d)**. Acredita-se que isso se deve ao fato de o anel aromático dos derivados da *L*-fenilalanina ser plano, pois dependendo da sua conformação no espaço, o impedimento estérico pode ser amenizado. Já para os derivados da *L*-metionina, o átomo de enxofre fornece grande impedimento estérico devido ao seu volume, o qual pode ser acomodado dependendo de sua conformação, porém, o impedimento estérico não pode ser amenizado como ocorre no caso dos derivados da *L*-fenilalanina.

A título de exemplo será discutida a atribuição de sinais nos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C para o composto **3aa** como representante desta classe de compostos. A numeração adotada usa o anel 2*H*-cromen-2-ona como núcleo principal, seguido de numeração arbitrária para os demais átomos. A descrição dos sinais parte do campo baixo, menor blindagem, no sentido a campo alto, maior blindagem em relação ao TMS.

No espectro de RMN ¹H (**Figura 8**) na região de 7,99 ppm observa-se um duplo dubleto ($J^1 = 8,18$ Hz, $J^2 = 1,17$ Hz) referente aos hidrogênios 19 e 23, que estão mais desblindados que os demais hidrogênios do anel aromático devido ao efeito de anisotropia magnética, tanto do benzeno como do anel oxadiazólico. Na região de 7,57 ppm encontra-se um dubleto (J = 9,65 Hz) referente ao hidrogênio 4,

desblindado devido à ressonância eletrônica com a carbonila. Na região compreendida entre 7,53 e 7,44 ppm observa-se um multipleto referente aos 3 hidrogênios aromáticos 20, 21 e 22.

Em 7,11 ppm observa-se o dubleto referente ao acoplamento orto (J = 8,77 Hz) do hidrogênio 8 com o hidrogênio 7. Na região de 6,95 ppm encontra-se um duplo dubleto (dd, 1H, $J^1 = 8,77$ Hz, $J^2 = 2,92$ Hz) referente ao acoplamento orto do hidrogênio 7 com o hidrogênio 8 ($J^1 = 8,77$ Hz) e do acoplamento meta do hidrogênio 7 com o 5 ($J^2 = 2,92$ Hz). Em 6,77 ppm encontra-se o dubleto referente ao acoplamento meta do hidrogênio 5 com o hidrogênio 7 (J = 2,92 Hz).

Em 6,34 ppm observa-se o dubleto referente ao hidrogênio 3 com o hidrogênio 4 (J = 9,65 Hz). Na região de 4,61 ppm encontra-se um dubleto (J = 7,02 Hz) referente ao hidrogênio 12 do carbono quiral. Em 4,31 ppm observa-se um singleto largo referente ao hidrogênio 11 da amina. O multipleto localizado entre 2,41 e 2,34 ppm é referente ao hidrogênio 13, e os dubletos (J = 6,72 Hz) localizados em 1,19 e 1,06 ppm são referentes aos hidrogênios 14 e 15.



Figura 8 - Espectro de RMN ¹H do composto 3aa em CDCl₃ a 400 MHz.

Do mesmo modo, no espectro de RMN de ¹³C do composto **3aa** (**Figura 9**) foi possível identificar os sinais característicos do anel oxadiazólico dos carbonos 16 e 17 em 166,35 ppm e 164,95 ppm. Em 161,09 ppm localiza-se o carbono 2 referente

à carbonila da lactona. Em 147,32 ppm, 143,33 ppm localizam-se respectivamente os carbonos 9 e 6, desblindados devido a estarem ligados diretamente a um heteroátomo, e em 143,23 ppm o carbono 4, desblindado devido ao efeito de ressonância eletrônica com a carbonila. Em 131,81 encontra-se o carbono do anel aromático 21. Os sinais mais intensos em 128,96 ppm e 126,78 ppm são referentes aos carbonos 20 e 22; e 19 e 23, respectivamente. Em 123,47 ppm encontra-se o carbono quaternário 10. Em 119,31 ppm encontra-se o carbono 7 e em 118,91 o carbono quaternário 18. Na região de 117,54 e 116,72, estão localizados os carbonos 8 e 3, respectivamente. Em 109,70 está localizado o carbono 5. Em 56,74 ppm localiza-se o carbono quiral 12. Na região de 32,46 ppm encontra-se o carbono 13, e nas regiões em 18,99 e 18,93 localizam-se os carbonos 14 e 15.



Figura 9 - Espectro de RMN ¹³C do composto 3aa em CDCl₃ a 100 MHz.

Considerando corretas as atribuições feitas no espectro de RMN ¹H e com o espectro de RMN ¹³C em mãos, foi realizado o RMN-2D Heteronuclear HSQC (do inglês, *Heteronuclear Single Quantum Coherence*) ¹³C-¹H, que apresenta as

correlações carbono-hidrogênio distantes de uma ligação, a fim de confirmar as atribuições feitas no espectro de RMN ¹³C (**Figura 10**).



Figura 10 - Experimento HSQC do composto 3aa em CDCI₃ a 400 MHz.

2.4 Fluorescência

As análises de fluorescência para os compostos **3** obtidos foram realizadas em espectrofotômetro de fluorescência localizado no Laboratório de Espectroscopia de Polímeros (LEPOL) na Universidade Federal de Santa Maria.

Na Espectroscopia de Fluorescência obteve-se o valor do λ (comprimento de onda) máximo dos compostos **3** para qual a amostra é fluorescente.

Para exemplificar a fluorescência dos compostos obtidos, pode-se constatar a fluorescência do composto **3aa** através da **Figura 11**, onde o mesmo está em uma câmara escura sob incidência de luz UV (ultravioleta) (365 nm).



Figura 11 – Composto 1aa em uma câmara escura sob incidência de luz UV (365 nm).

Na **Tabela 8** pode ser observado o resultado das análises de fluorescência para os 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos **3**.

Deseão	Drodute	Fluorescência	
Reaçau	Produto	λ _{máx} (nm) ^{a,b}	
1	N-N H G H Jaa	504	
2	MeO 3ab	506	
3	Me	501	
4	Br N-N H 3ad	504	
5	N-N H Jba	503	

Tabela 8 - Resultado da análise de Espectroscopia de Fluorescência.

Deseão	Draduća	Fluorescência	
Reaçao	Produto	λ _{máx} (nm) ^{a,b}	
6		502	
7		502	
8	Br N-N H O H 3bd	501	
9		506	
10	MeO	503	
11		504	
12	Br N-N H Scd	500	
13	MeS 3da	500	
14	MeO MeS 3db	501	



^aExcitação a 381 nm. ^b concentração = 1x10⁻⁶ M em 1-octanol.

De acordo com os dados obtidos na **Tabela 8**, observa-se que o λ máximo de emissão encontra-se em torno de 500 nm. Esse resultado comprova que as transições eletrônicas que conferem a fluorescência para todos os compostos emitem radiação no comprimento de onda da região espectral visível da cor verde (**Figura 12**).



Figura 12 - Região espectral visível (Adaptado de Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*. 2001. Wiley-VCH.).

Após análise de fluorescência dos espectros de todos os compostos, notou-se que todos possuíam o mesmo perfil de fluorescência. Pode-se observar o perfil de fluorescência do composto **3aa** no espectro 3D de fluorescência na **Figura 13**, que pode ser tomado como base para os demais compostos.



Figura 13 - Espectro 3D de fluorescência do composto 3aa.

Tendo esse fato em conhecimento, realizou-se o espectro de fluorescência do material de partida, do ácido (S)-3-metil-2-(2-oxo-2*H*-cromen-6-ilamino) butanóico **1a**, e obteve-se um espectro de fluorescência novamente sobreponível aos demais.

Sabendo que a 6-amino-2*H*-cromen-2-ona (III) também é fluorescente⁸² e também possui um átomo de nitrogênio ligado à posição 6 do anel da 2*H*-cromen-2-ona, realizou-se novamente o espectro de fluorescência com suspeita de que o nitrogênio possa ter influência na fluorescência dos compostos obtidos, já que o núcleo livre da 2*H*-cromen-2-ona não apresenta fluorescência. Após análise do espectro de fluorescência, constatou-se que novamente o mesmo perfil de fluorescência foi encontrado.

Como o 1-octanol foi o solvente escolhido na análise de fluorescência, atentase ao fato de que este solvente prótico pode estar auxiliando na emissão da fluorescência. Segundo Kobayashi e colaboradores,⁸³ um solvente prótico pode intensificar o efeito da fluorescência através de ligações de hidrogênio entre a

⁸² Krystkowiak, E.; Dobec, K.; Maciejewski, A. Photochem. Photobiol. 2013, 12, 446-455.

⁸³ Kobayashi, A.; Takehira, K.; Yoshihara, T.; Uchiyama, S.; Tobita, S. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 1368-1376.

molécula fluorescente e o solvente. A intensidade da fluorescência está atrelada à natureza do solvente, onde para um solvente polar há uma interação dipolo-dipolo mais pronunciada.⁸⁴

Especula-se que a transição eletrônica responsável pela fluorescência seja dependente apenas das interações eletrônicas do átomo de nitrogênio acoplado ao anel da 2*H*-cromen-2-ona. Cálculos teóricos estão sendo realizados pelo grupo de pesquisa LEEMAT (Laboratório de Estrutura Eletrônica dos Materiais) coordenado pelo prof. Paulo Piquini para confirmar essa hipótese.

⁸⁴ Evale, B. G.; Hanagodimath, S. M.; Kulkarni, M. V. J. Luminescence **2010**, *130*, 1325-1329.

2.5 Atividade Antimicrobiana

Os Ensaios de atividade biológica foram realizados pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Roberto Christ Vianna Santos na Universidade Franciscana (UNIFRA) em Santa Maria.

Todos os compostos inéditos sintetizados neste trabalho foram testados para avaliar sua atividade biológica. Os compostos que apresentaram atividade podem ser observados na **Tabela 9**.

Produto	Espécie (Registro ATCC)	Halo	MIC (µg/mL)
	C. tropicalis (ATCC 66029)	8 mm	4
	C. geochares (ATCC 36852)	10 mm	4
	C. albicans (ATCC 14053)	8 mm	8
0	C. kefyr (ATCC 66028)	10 mm	1
Ŭ .N \Leftrightarrow	C. parapsilosis (ATCC 22019)	12 mm	2
HO	C. guilliermondii (ATCC 6260)	10 mm	1
	C. dublinienesis (CBS 7987)	10 mm	2
1a	C. glabrata (IC)	8 mm	4
	C. membranafaciens (ATCC	10 mm	2
	201377)		
	C. glabrata (ATCC 66032)	10 mm	4
	C. krusei (ATCC 6265)	16 mm	4
	Klebsiella pneumoniae (KP+(USP))	14 mm	4
MeO 3ab	MRSA (PNCQ)	12 mm	12
	MRSA (PNCQ)	10 mm	15,75

Tabela 9 – Resultados dos ensaios de atividades biológicas.

O composto **1a**, material de partida para a síntese dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5dissubstituídos **3**, destacou-se pela sua atividade antifúngica frente ao gênero *Candida*. Já os 1,3,4-oxadiazóis derivados da *L*-valina apresentaram atividades bactericidas. O composto **3aa** apresentou atividade frente a *Klebsiella pneumoniae,* bactéria que causa pneumonia, e os compostos **3ab** e **3ac** apresentaram atividade frente a *MRSA* (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), superbactéria que causa infecções na pele.

Comparando os resultados obtidos com dados da literatura, Sardari e colaboradores,¹⁴ sintetizaram derivados da 2*H*-cromen-2-ona que apresentaram atividade antifúngica contra *Candida Albicans*, onde a grande parte destes compostos apresentou MIC de > 500 μ g/mL. Os resultados do MIC obtidos neste trabalho para o composto **1a** se encontram na faixa de 1 a 8 μ g/mL, uma concentração inibitória mínima bem menor do que a encontrada na literatura, isso mostra que o composto **1a** possui um excelente potencial antifúngico, não somente relacionado com o baixo valor de MIC, mas também com o vasto espectro de atuação contra o gênero *Candida*.

Rehman e colaboradores⁸⁵ sintetizaram uma série de complexos de metais e 2*H*-cromen-2-onas que apresentaram atividade contra *Klebsiella pneumoniae* com MIC na faixa de 12 a 30 µg/mL. O valor de MIC encontrado para o composto **3aa** é de apenas 4 µg/mL, um valor bem menor, indicando que o composto **3aa** tem maior sensibilidade para inibir o crescimento desta bactéria do que o composto apresentado por Rehman.

O composto **3ab** e **3ac** apresentaram atividade contra *MRSA* com MIC de 12 e 15,75 μ g/mL, respectivamente. Shi e Zhou⁸⁶ sintetizaram derivados de triazóis-2*H*-cromen-2-onas que apresentaram atividade bactericida contra *MRSA* onde a maioria destes compostos apresentou MIC > 64 μ g/mL. Os compostos **3ab** e **3ac** se destacam pelo baixo MIC para inibição de crescimento desta bactéria.

Como resultado todos os micro-organismos foram sensíveis para seus respectivos controles. Contudo, testes de toxicidade são fundamentais para garantir a segurança de sua utilização.

⁸⁵ Rehman, S. U.; Chohan, Z. H.; Gulnaz, F.; Supuran, C. T. *J. Enzym. Inhib. Med. Ch.* **2005**, *20*, 333-340.

⁸⁶ Shi, Y.; Zhou, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 956-960.

CONSIDERAÇÕES FINAIS, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

CONSIDERAÇÕES FINAIS, CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e tendo em vista os resultados obtidos, algumas considerações podem ser feitas frente ao estudo realizado.

Uma série de moléculas híbridas inéditas foi preparada, utilizando uma rota sintética eficiente, que combinou com sucesso três centros farmacofóricos em uma única estrutura: o núcleo 1,3,4-oxadiazol, *L*-aminoácido e 2*H*-cromen-2-ona.

Realizou-se a união do núcleo do *L*-aminoácido à 2*H*-cromen-2-ona através da reação de acoplamento de Ullmann, onde se dispensa o uso de paládio como catalisador e utiliza-se apenas o iodeto de cobre (I) para esta função, onde são empregadas condições reacionais igualmente brandas, o que torna essa alternativa vantajosa em questão de seu baixo custo.

Para a introdução do núcleo oxazolidínico, utilizou-se uma metodologia *one pot*. Essa síntese promoveu a obtenção de compostos inéditos, que tiveram suas atividades biológicas e/ou fluorescentes exploradas durante o curso deste trabalho.

Os 1,3,4-oxadiazóis derivados de *L*-aminoácidos acoplados à 2*H*-cromen-2ona **3** foram testados frente a micro-organismos e os compostos **3aa**, **3ab**, e **3ac** destacaram-se devido à sua atividade bactericida. Além disso, o material de partida **1a** apresentou atividade antifúngica frente a diversos fungos testados.

Todos os 1,3,4-oxadiazóis **3** obtidos apresentaram fluorescência, que pode ser comprovada a partir de análises realizadas por espectroscopia de fluorescência. Cálculos teóricos estão sendo realizados para identificar qual a parte da estrutura desta classe de compostos é responsável pelas transições eletrônicas que desencadeiam essa propriedade.

Por fim, os resultados obtidos nesta dissertação resultaram na síntese de uma série de híbridos de sítios farmacofóricos, onde as propostas de explorar suas propriedades biológicas e fluorescentes foram realizadas com sucesso.

71
Como perspectivas deste trabalho destacam-se estudar a toxicidade do composto **1a** para o avanço de pesquisas em relação à candidíase *in vivo* (em ratos); e o emprego dos aminoácidos acoplados à 2*H*-cromen-2-ona **1a-d** na síntese de uma nova classe de 1,2,4-oxadiazóis.

CAPÍTULO 3

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e Métodos

Este capítulo trata dos procedimentos experimentais para a síntese dos compostos apresentados neste trabalho.

3.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C foram obtidos em espectrômetros Brucker DPX, que operam na frequência de 200 MHz e 400 MHz para hidrogênio e 50 MHz e 100 MHz para carbono (Departamento de Química – UFSM). Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno para os espectros de RMN ¹H e CDCl₃ para os espectros de RMN ¹³C. Entre parênteses consta a multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, dd, = dubleto de dubletos, t = tripleto, m = multipleto, sl = singleto largo), o número de hidrogênios deduzido da integral relativa e a constante de acoplamento (*J*) é expressa em Hertz (Hz).

3.1.2 Espectroscopia de Fluorescência

As análises de fluorescência para os compostos **3** obtidos foram realizadas em espectrofotômetro de fluorescência Varian Cary Eclipse dotado de lâmpada de xenônio localizado no Laboratório de Espectroscopia de Polímeros (LEPOL) na Universidade Federal de Santa Maria. Foi utilizada uma cubeta de quartzo de 1,0 dm de comprimento, 1-octanol como solvente e as concentrações são expressas em mg/100 mL.

3.1.3 Espectrometria de Massas de Alta Resolução

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos a partir de um aparelho XEVO G2-Q-TOF (Waters) operando em modo ESI (do inglês, *Electro Spray Ionization*) no Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) na Universidade Federal de Santa Maria.

3.1.4 Ponto de Fusão

Os valores de ponto de fusão dos compostos sólidos foram determinados em aparelho MQAPF-301 no prédio 18 do Departamento de Química.

3.1.5 Polarímetro

As análises de rotação óptica para os compostos quirais foram realizadas com concentração de mg/100mL em polarímetro Perkin Elmer 343, com lâmpada de sódio e cubeta de 1,0 dm de comprimento utilizando acetato de etila como solvente. Os experimentos foram realizados pelo Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) na Universidade Federal de Santa Maria.

3.1.6 Solventes e Reagentes

Os solventes foram purificados e secos antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais.⁸⁷ Os demais reagentes empregados foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

⁸⁷ Perrin, D.; Armarego, W. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4^a ed. Pergamon Press, New York, **1996**.

As placas de cromatografia em camada delgada foram obtidas de fontes comerciais; sílica G/UV₂₅₄ (0,20 nm). Utilizou-se como método de revelação cuba de iodo, luz ultravioleta e solução ácida de vanilina.

Para os produtos purificados utilizando cromatografia em coluna, o material usado foi uma coluna de vidro, sílica-gel (230 – 240 mesh – Silicycle) e, como eluente, uma mistura apropriada de solventes.

3.1.7 Atividade Biológica

3.1.7.1 Disco Difusão

Para a técnica de disco difusão foram preparadas suspensões dos microrganismos (listados na **Tabela 9**) em solução de NaCl 0,9% e comparado a turbidez de 0,5 na escala Mcfarland (equivalente a aproximadamente 1,5 x 10⁸ Unidades formadoras de colônia/mL). Com o auxílio de *swabs* estéreis as suspensões bacterianas foram semeada na superfície das placas de Petri contendo cerca de 15 mL do meio Mueller-Hinton ágar, com uma espessura de aproximadamente 4 mm.

Discos de papel-filtro de seis milímetros de diâmetro e esterilizados contendo 10 µL dos distintos compostos foram colocados na superfície das placas em contado com o inóculo do micro-organismo. As placas foram incubadas por 24h a 37°C (para bactérias) e 48h a 25°C (para fungos) em estufa. Passado o tempo de incubação foi realizada a análise da formação de halos. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mm pela média aritmética do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos. Como controle de inibição foram utilizados Cetoconazol 50 µg (Biorad) para fungos, Polimixina 300 unidades (Biorad) para Gram negativos e Vancomicina 30 µg para Gram positivos.

3.1.7.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC)

A MIC foi realizado através da técnica de microdiluição em placas de 96 poços, utilizando o meio de cultura caldo Mueller Hinton (Difco) (CLSI, 2010). O teste foi realizado em triplicata. Como controle positivo de crescimento foi utilizado o meio de cultura mais o inóculo microbiano. As placas foram incubadas por 24h a 37°C e após o tempo de incubação foi aplicada uma substancia indicadora de crescimento microbiano (2,3,5-trifeniltetrazolio).

3.2 Procedimentos Experimentais

3.2.1 Preparação da 6-nitro-2H-cromen-2-ona (II)⁷¹



Em um balão de uma boca de 100 mL adicionou-se 136,8 mmol (20,265 g) de 2*H*-cromen-2-ona em 25 mL de ácido acético glacial. A mistura foi aquecida para a total

solubilização da 2*H*-cromen-2-ona e resfriada à temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se, sob agitação e em banho de gelo, gota a gota uma mistura de 11,2 mL de ácido nítrico 65% e 8 mL de ácido acético glacial. Após, foi adicionado, por gotejamento lento, 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após a adição, retirou-se o banho de gelo e o sistema foi aquecido a 30-35°C *overnight*. Então, adicionou-se 100 mL de água gelada para realizar a cristalização, seguido de filtração à vácuo. O precipitado foi lavado com 500 mL de água gelada e o precipitado foi seco em dessecador. Em seguida, purificou-se o produto por recristalização com ácido acético glacial e água gelada.

Rendimento: 90%.

Características físicas: Sólido amarelo claro.

Ponto de fusão: 185-187ºC

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 8,44 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 8,40 (dd, 1H, dd, $J^{1} = 9,05$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz); 7,81 (d, 1H, J = 9,78 Hz); 7,47 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,60 (d, 1H, J = 9,78 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 158,74; 157,57; 142,14; 132,62; 126,57; 123,71; 118,83; 118,16; 118,05.

3.2.2 Preparação da 6-amino-2H-cromen-2-ona (III)⁷⁵



Em um balão de uma boca de 500 mL, munido de um condensador de refluxo, adicionou-se 50 mmols de 6-nitro-2*H*-cromen-2-ona (9,555 g), 750 mmols de zinco em pó (15

equivalentes, 49,057g), 500 mmols de cloreto de amônio (10 equivalentes, 26,750 g) e 300 mL de THF, todos os reagentes sólidos foram macerados em *graal*. A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por um período de 24 horas e, ao final desse tempo, a reação tornou-se amarela. A reação foi resfriada à temperatura ambiente, filtrada à vácuo e o resíduo sólido lavado com diclorometano. A solução amarela filtrada foi evaporada em evaporador rotatório obtendo-se um sólido amarelo. A purificação foi realizada por coluna em sílica-gel utilizando acetato de etila e hexano (50:50) para fornecer o produto desejado.

Rendimento: 88%.

Características físicas: Sólido amarelo.

Ponto de fusão: 163-165ºC

RMN ¹**H (CDCl₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,55 (d, 1H, J = 9,65 Hz); 7,14 (d, 1H, J = 8,77 Hz); 6,86 (dd, 1H, $J^1 = 8,77$, $J^2 = 2,63$); 6,70 (d, 1H, J = 2,63 Hz); 6,36 (d, 1H, 9,65), 3,7 (s.l. 2H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 160,51; 144,73; 141,63; 134,65; 124,53; 118,86; 117,06; 116,69; 116,13.

3.2.3 Preparação dos 6-halogeno-2H-cromen-2-ona IV

6-iodo-2*H*-cromen-2-ona (IVa)⁷⁶



Em um balão de uma boca de 100 mL adicionou-se 10 mmols (1,611 g) de 6-amino-2*H*-cromen-2-ona e uma solução de 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado em 7 mL de água. Resfriou-

se a reação a 0°C, sob agitação. Após, gotejou-se lentamente uma solução de 10 mmols (0,690 g) de nitrito de sódio em 10 mL de água, mantendo-se a temperatura a 0°C. Adicionou-se uma solução de 12 mmols (1,992 g) de iodeto de potássio em 5 mL de água gota a gota. Agitou-se durante 1 hora à temperatura de 0°C. Após, levou-se o sistema à temperatura ambiente e agitou-se por mais 1 hora. A mistura foi extraída com acetato de etila, e a fase orgânica foi lavada com tiossulfato de sódio. Após, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido por evaporador rotatório. O sólido marrom resultante foi purificado por coluna cromatográfica em sílica-gel utilizando hexano e acetato de etila (95: 5).

Rendimento: 50%.

Características físicas: Sólido branco.

Ponto de fusão: 127-129ºC.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,83-7,82 (m, 1H); 7,80 (dd, 2H, J^{1} = 8,55 Hz, J^{2} = 1,96 Hz); 7,64 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,10 (d, 1H, J = 8,55 Hz); 6,46 (d, 1H, J = 9,54 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 159,90; 153,52; 141,99; 140,26; 136,18; 120,75; 118,81. 117,60; 87,19.

6-bromo-2*H*-cromen-2-ona (IVb)⁷⁷



Em um balão de uma boca de 100 mL dissolveu-se 10 mmols (1,611 g) de 6-amino-2*H*-cromen-2-ona em 15 mL de ácido bromídrico 45% e resfriou-se a reação a 0°C, sob agitação.

Após, adicionou-se lentamente uma solução de 10 mmols (0,690 g) de nitrito de

sódio em 10 mL de água, mantendo-se a temperatura a 0°C. Adicionou-se o sal de diazônio formado em uma solução de 14 mmols (2,002 g) de brometo de cobre (I) em 12 mL de ácido bromídrico 45% mantida à 0°C. Agitou-se por 1 hora à 0°C e após o sistema foi refluxado por 5 horas. Após, a reação foi levada à temperatura ambiente e foi extraída com acetato de etila e a fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido por evaporador rotatório. O sólido marrom resultante foi purificado por coluna cromatográfica em sílica-gel utilizando hexano e acetato de etila (95:5).

Rendimento: 73%. Características físicas: Sólido branco. Ponto de fusão: 159-161ºC.

RMN ¹H (CDCI₃, 400 MHz), δ (ppm): 7,62 (m, 3H); 7,22 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,46 (d, 1H, J = 9,54).
RMN ¹³C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm): 159,81; 152,92; 142,99; 134,52; 130,13; 120,30; 118,58; 117,83; 116,92.

3.2.4 Síntese dos derivados de ácido 2-(2-oxo-2H-cromen-2-6-ilamino) carboxílico 1a-d⁴⁶

Em um tubo de Schlenk, sob argônio, adicionou-se 3,5 mmols de 6-halogeno-2*H*-cromen-2-ona, 3,5 mmol de *L*-aminoácido (valina ou isoleucina ou fenilalanina ou metionina), 5,25 mmol (1,5 equivalentes, 0,725 g) de carbonato de potássio, 0,35 mmols (10%, 0,069 g) de iodeto de cobre e 7 mL de DMF. Aqueceu-se a reação a 90°C para 6-iodo-2*H*-cromen-2-ona e 100-110°C para 6-bromo-2*H*-cromen-2-ona. Reagiu-se por 48 horas. Após, levou-se a reação à temperatura ambiente, o pH foi ajustado para 3 utilizando solução de ácido clorídrico 0,1 M e a mistura foi extraída com acetato de etila. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio e o solvente removido por evaporador rotatório. A purificação foi realizada por coluna cromatográfica em sílica-gel utilizando como eluentes hexano e acetato de etila (70:30, 70:30, 60:40, 50:50, respectivamente para cada aminoácido).

Ácido (S)-3-metil-2-(2-oxo-2H-cromen-6-ilamino) butanóico 1a



RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,56 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,13 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,87 (dd, 1H, $J^1 = 9,05$ Hz, $J^2 = 2,69$ Hz); 6,63 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,36 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 6,03 (s.l., 1H); 3,86 (d, 1H, J = 5,63 Hz); 2,20 (m, 1H); 1,09 (d, 3H, J = 2,20 Hz); 1,07 (d, 3H, J = 2,20 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 176,95; 161,41; 147,32; 144,17; 143,38; 119,44; 119,00; 117,66; 116,85; 109,74; 62,90; 31,31; 19,09; 18,36.

Ácido (2S)-3-metil-2-(2-oxo-2H-cromen-6-ilamino) pentanóico



Rendimento: 75%.

Características físicas: óleo amarelo.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,59 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,15 (d, 1H, J = 8,93 Hz); 6,87 (dd, 1H, $J^1 = 8,93$ Hz, $J^2 = 2,69$ Hz); 6,63 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,37 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 3,92 (d, 1H, J = 5,75 Hz); 2,01 – 1,89 (m, 1H); 1,73-1,63 (m, 1H); 1,57-1,46 (m, 1H); 0,99 – 0,91 (m, 6H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 175,84; 161,45; 147,03; 144,21; 143,55; 119,34; 118,93; 117,49; 116,65; 109,33; 61,57; 31,64; 25,42; 15,32; 11,56.

Ácido (S)-2-(2-oxo-2H-cromen-6-ilamino)-3-fenilpropanóico 1c



Rendimento: 68%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: 112 – 114ºC. **RMN** ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,52 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,15 (m, 5H); 7,10 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,78 (dd, 1H, $J^1 = 8,80$ Hz, $J^2 = 2,69$ Hz); 6,54 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 5,83 (s.l., 1H); 4,32 (t, 1H, J = 5,38 Hz); 3,27 (dd, 1H, $J^1 = 13,93$ Hz, $J^2 = 5,14$ Hz); 3,11 (dd, 1H, $J^1 = 13,93$ Hz, $J^2 = 6,85$ Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 175,35; 161,31; 147,31; 143,47; 143,34; 136,19; 129,28; 128,62; 127,14; 119,40; 118,97; 117,60; 116,81; 109,75; 58,15; 38,45.

Ácido (R)-3-(metiltio)-2-(2-oxo-2*H*-cromen-6-ilamino) propanóico 1d



RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,58 (d, 1H, J = 9,78 Hz); 7,16 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,89 (dd, 1H, $J^{1} = 9,05$ Hz, $J^{2} = 2,93$ Hz); 6,68 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,38 (d, 1H, 9,78 Hz); 4,31 – 4,28 (m, 1H); 2,71 – 2,66 (m, 2H); 2,12 – 2,05 (m, 5H). **RMN** ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), \delta (ppm):** 177,31; 161,40; 147,45; 143,58; 143,39; 119,44; 119,10; 117,75; 116,91; 109,81; 55,83; 31,92; 15,41.

3.2.5 Síntese dos 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos 3⁸⁰

Em um balão de duas bocas de 50 mL, munido de condensador de refluxo e sob argônio, adicionou-se 0,5 mmol do derivado ácido 2-(2-oxo-2H-cromen-2-6ilamino) carboxílico (**1a** ou **1b** ou **1c** ou **1d**), 6 mL de acetonitrila e 1,5 mmol de DIPEA (1,5 equivalente, 0,26 mL) sob agitação. Após cinco minutos foi adicionado 0,55 mmol de TBTU (1,1 equivalente, 0,177 g), a reação adquire uma coloração vermelha. Em seguida, adicionou-se 0,5 mmol de benzoil-hidrazida (benzidrazida, 4-toluilbenzidrazida, 4-metoxibenzidrazida e 4-bromobenzidrazida) reagiu-se por 12 horas sob refluxo. Após, adicionou-se 1,0 mmol de DIPEA (2,0 equivalentes, 0,17 mL) e 1,5 mmol de cloreto de tosila (3,0 equivalentes, 0,286 g). Reagiu-se por 24 horas sob refluxo. Após o término da reação, adicionou-se uma solução saturada de cloreto de amônio e deixou-se agitando por cerca de 30 minutos. Após, extraiu-se a fase orgânica com acetato de etila e a mesma foi lavada com uma solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob vácuo. A purificação foi realizada por coluna cromatográfica em sílica-gel utilizando como eluentes hexano e acetato de etila (80:20, 80:20, 75:25) e diclorometano e éter etílico (95:5) respectivamente para cada derivado ácido 2-(2-oxo-2H-cromen-2-6-ilamino) carboxílico.

(S)-6-(2-metil-1-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)propilamino)-2H-cromen-2-ona 3aa



Rendimento: 60%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: 80 – 82°C. $[\alpha]_D^{20}$: -3,4 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₁H₁₉N₃O₃ + Na⁺ 384,1324; encontrado 384,1351.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,99 (dd, 2H, $J^{1} = 8,18$ Hz, $J^{2} = 1,17$ Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,65 Hz); 7,53 - 7,44 (m, 3H); 7,11 (d, 1H, J = 8,77 Hz); 6,95 (dd, 1H, $J^{1} = 8,77$ Hz, $J^{2} = 2,92$ Hz); 6,77 (d, 1H, J = 2,92 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,65 Hz); 4,61 (d, 1H, J = 7,02 Hz); 4,31 (s.l., 1H); 2,41 - 2,34 (m, 1H); 1,19 (d, 3H, J = 6,72 Hz); 1,06 (d, 3H, J = 6,72 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,35; 164,95; 161,09; 147,32; 143,33; 143,23; 131,81; 128,96; 126,78; 123,47; 119,31; 118,91; 117,54; 116,72; 109,70; 56,74; 32,46; 18,99; 18,93.

(S)-6-(1-(5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-metilpropilamino)-2*H*-cromen-2ona 3ab



Rendimento: 72%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: 92 – 94°C. $[\alpha]_D^{20}$: -2,9 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₂H₂₁N₃O₄ + Na⁺ 414,1430; encontrado 414,1450.

RMN ¹**H (CDCl₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,92 (d, 2H, J = 8,8 Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,13 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,99 – 6,93 (m, 3H); 6,78 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,35 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 5,37 (s.l., 1H); 4,58 (d, 1H, J = 6,85 Hz); 3,86 (s, 3H); 2,40 – 2,32 (m, 1H); 1,19 (d, 3H, J = 6,60 Hz); 1,06 (d, 3H, J = 6,60 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 165,69; 164,97; 162,45; 161,04; 147,52; 143,27; 143,15; 128,63; 119,40; 119,05; 117,67; 116,90; 116,05; 114,50; 109,95; 56,91; 55,43; 32,52; 19,03; 18,99.

(S)-6-(2-metil-1-(5-p-toluil-1,3,4-oxadiazol-2-il)propilamino)-2*H*-cromen-2-ona 3ac



Rendimento: 68%.

Características físicas: sólido amarelo.

Ponto de fusão: 87 - 89ºC.

 $[\alpha]_D^{20}$: -4,56 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₂H₂₁N₃O₃ + Na⁺ 398,1481; encontrado 398,1520.

RMN ¹**H (CDCl₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,87 (d, 2H, J = 8,19 Hz); 7,57 (d, 1H, 9,35 Hz); 7,28 (d, 2H, J = 8,19 Hz); 7,14 (d, 1H, J = 9,06 Hz); 6,95 (dd, 1H, $J^{1} = 9,06$ Hz, $J^{2} = 2,63$ Hz); 6,76 (d, 1H, J = 2,63 Hz); 6,35 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 4,32 (d, 1H, J = 8,77 Hz); 2,40 – 2,31 (m, 4H); 1,19 (d, 3H, 6,72 Hz); 1,06 (d, 3H, J = 6,72 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 165,95; 165,13; 161,03; 147,43; 143,26; 142,42; 129,70; 129,67; 126,79; 120,84; 119,37; 118,95; 117,66; 116,89; 109,73; 56,78; 32,54; 21,55; 19,03; 19,00.

(S)-6-(1-(5-(4-bromofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-metilpropilamino)-2*H*-cromen-2ona 3ad



Rendimento: 50%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: $88 - 90^{\circ}$ C. $[\alpha]_{D}^{20}$: -2,2 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₁H₁₈BrN₃O₃ + Na⁺ 462,0429; encontrado 464,0442 (M+2).

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,86 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,62 – 7,56 (m, 3H); 7,12 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,95 (dd, 1H, $J^{1} = 8,80$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz), 6,77 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 4,61 (d, 1H, J = 6,85 Hz); 2,41 – 2,33 (m, 1H); 1,19 (d, 1H, J = 6,60 Hz); 1,07 (d, 1H, J = 6,60 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,55; 164,22; 161,00; 147,29; 143,26; 143,24; 132,29; 128,16; 126,46; 122,43; 119,30; 118,83; 117,54; 116,75; 109,62; 56,68; 32,44; 18,96.

6-((1S)-2-metil-1-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)butilamino)-2H-cromen-2-ona 3ba



HRMS m/z calculado para C₂₂H₂₁N₃O₃ + Na⁺ 398,1481; encontrado 398,1645.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,99 (dd, 2H, $J^1 = 6,72$ Hz, $J^2 = 1,46$ Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 7,52 – 7,45 (m, 3H); 7,13 (d, 1H, J = 8,77 Hz); 6,96 (dd, 1H, $J^1 = 8,77$ Hz, $J^2 = 2,63$ Hz); 6,79 (d, 1H, J = 2,63 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 4,70 (d, 1H, J = 6,72 Hz); 4,05 (sl, 1H); 2,19 – 2,12 (m, 1H); 1,81 – 1,71 (m, 1H); 1,46 – 1,35 (m, 1H); 1,03 – 1,00 (m, 6H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,10; 164,98; 160,97; 147,53; 143,23; 142,87; 131,80; 128,99; 126,81; 123,56; 119,35; 119,06; 117,62; 116,85; 109,72; 55,50; 38,71; 25,73; 15,41; 11,03.

6-((1S)-1-(5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-metilbutilamino)-2*H*-cromen-2ona 3bb



Rendimento: 44%. Características físicas: óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20}$: -0,9 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₃H₂₃N₃O₄ + Na⁺ 428,1586; encontrado 428,1832.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,93 (d, 2H, J = 8,48 Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,65 Hz); 7,13 (d, 1H, J = 8,77 Hz); 7,03 – 6,95 (m, 4H); 6,85 (s, 1H); 6,34 (d, 1H, J = 9,65 Hz); 4,69 (d, 1H, J = 6,72 Hz); 4,40 (sl, 1H); 3,86 (s, 3H); 2,22 – 2,12 (m, 1H); 1,81 – 1,68 (m, 1H); 1,45 – 1,34 (m, 1H); 1,03 – 1,00 (m, 6H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 164,96; 162,47; 160,87; 147,90; 143,12; 142,14; 128,65; 128,62; 119,56; 119,36; 117,67; 116,93; 115,94; 114,48; 110,82; 56,00; 55,41; 38,56; 25,78; 15,36; 11,05.

6-((1S)-2-metil-1-(5-p-toluil-1,3,4-oxadiazol-2-il)butilamino)-2*H*-cromen-2-ona 3bc



Rendimento: 42%. Características físicas: óleo amarelo.

 $[\alpha]_D^{20}$: -1,3 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₃H₂₃N₃O₃ + Na⁺ 389,1739; encontrado 390,2268.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,87 (d, 2H, J = 8,31 Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,26 (d, 2H, J = 8,31 Hz); 7,11 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,96 (dd, 1H, $J^{1} = 8,80$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz); 6,77 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,33 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 4,79 (d, 1H, J = 7,09 Hz); 4,05 (sl, 1H); 2,19 – 2,09 (m, 1H); 1,82 – 1,71 (m, 1H); 1,46 – 1,34 (m, 1H); 1,02 – 0,98 (m, 6H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 165,88; 165,03; 160,98; 147,27; 143,27; 143,18; 142,32; 129,60; 126,69; 120,75; 119,28; 118,85; 117,49; 116,68; 109,61; 55,24; 38,50; 25,65; 21,44; 15,37; 10,97.

6-((1S)-1-(5-(4-bromofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-metilbutilamino)-2*H*-cromen-2ona 3bd



Rendimento: 55%. Características físicas: óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20}$: -1,2 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₀H₂₀BrN₃O₃ + Na⁺ 476,0586; encontrado 478,1134 (M+2).

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,85 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,61 – 7,56 (m, 3H); 7,11 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,95 (dd, 1H, $J^{1} = 8,80$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz); 6,77 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 4,70 (d, 1H, J = 6,85 Hz); 2,18 – 2,11 (m, 1H); 1,82 – 1,71 (m, 1H); 1,46 – 1,34 (m, 1H); 1,02 – 0,99 (m, 6H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,41; 164,21; 160,95; 147,33; 143,23; 143,06; 132,27; 128,16; 126,45; 122,45; 119,31; 118,83; 117,55; 116,77; 109,63; 55,28; 38,68; 25,65; 15,41; 10,98.

(S)-6-(2-fenil-1-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)etilamino)-2H-cromen-2-ona 3ca



Rendimento: 42%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: 143 – 145°C. $[\alpha]_D^{20}$: -1.5 (C = 0.02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₅H₁₉N₃O₃ + Na⁺ 432,1324; encontrado 432,1436.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,95 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,56 – 7,45 (m, 5H); 7,31 – 7,24 (m, 4H); 7,13 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,93 (dd, 1H, $J^{1} = 8,80$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz); 6,79 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 9,54); 5,12 (t, 1H, J = 6,85 Hz); 4,17 (sl, 1H); 3,43 (d, 2H, J = 6,85 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 165,91; 165,10; 160,98; 147,83; 143,21; 141,89; 135,13; 131,95; 129,05; 129,03; 128,86; 127,47; 126,84; 123,32; 119,43; 119,32; 117,72; 116,97; 110,58; 52,38; 39,91.

(S)-6-(1-(5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-feniletilamino)-2*H*-cromen-2ona 3cb



Rendimento: 40%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: $145 - 147^{\circ}C$. $[\alpha]_{D}^{20}$: -1,1 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₆H₂₁N₃O₄ + Na⁺ 462,1430; encontrado 462,1568.

RMN ¹**H** (**CDCI**₃, **400 MHz**), **δ** (**ppm**): 7,89 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,56 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,31 – 7,23 (m, 5H); 7,13 (d, 1H, J = 8,56 Hz); 6,97 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 6,94 (dd, 1H, $J^1 = 8,80$ Hz, $J^2 = 1,95$ Hz); 6,79 (d, 1H, J = 1,95 Hz); 6,35 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 5,10 (t, 1H, J = 6,85 Hz); 4,76 (sl, 1H); 3,86 (s, 3H); 3,41 (d, 2H, J = 6,85 Hz). **RMN** ¹³**C** (**CDCI**₃, **100 MHz**), **δ** (**ppm**): 165,42; 165,05; 162,43; 161,01; 147,76; 143,25; 142,00; 135,22; 129,06; 128,83; 128,64; 127,43; 119,38; 119,30; 117,68; 116,91; 115,74; 114,43; 110,52; 55,43; 52,33; 39,92.

(S)-6-(2-fenil-1-(5-p-toluil-1,3,4-oxadiazol-2-il)etilamino)-2H-cromen-2-ona 3cc



Rendimento: 38%. Características físicas: sólido amarelo. Ponto de fusão: $145 - 147^{\circ}C$. [α]_D²⁰: -1,1 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₆H₂₁N₃O₃ + Na⁺ 446,1481; encontrado 446,1595.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,83 (d, 2H, J = 8,19 Hz); 7,54 (d, 1H, 9,65 Hz); 7,31 – 7,24 (m, 5H), 7,18 (d, 2H, 8,19 Hz); 7,12 (d, 1H, J = 9,06 Hz); 6,87 (dd, 1H, $J^{1} = 9,06$ Hz, $J^{2} = 2,63$ Hz); 6,72 (d, 1H, J = 2,63 Hz); 6,33 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 5,09 (d, 1H, J = 6,43 Hz); 4,39 (d, 1H, J = 6,43 Hz); 3,39 (d, 1H, 2,92 Hz); 3,38 (d, 1H, J = 2,92 Hz); 2,40 (s, 3H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,02; 165,20; 160,98; 147,58; 143,19; 142,75; 142,50; 135,42; 129,72; 129,10; 128,84; 127,42; 126,82; 120,75; 119,36; 119,04; 117,67; 116,94; 110,02; 52,09; 40,20; 21,54.

(S)-6-(1-(5-(4-bromofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-feniletilamino)-2*H*-cromen-2ona 3cd



Rendimento: 35%.

Características físicas: sólido amarelo.

Ponto de fusão: 146 – 148ºC.

 $[\alpha]_D^{20}$: -1,5 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₅H₁₈BrN₃O₃ + Na⁺ 510,0429; encontrado 512,0569 (M+2).

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,80 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,61 (d, 2H, J = 8,56 Hz); 7,53 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,31 – 7,23 (m, 3H); 7,18 (d, 2H, J = 7,09 Hz); 7,12 (d, 1H, J = 9,05 Hz); 6,87 (dd, 1H, $J^{1} = 9,05$ Hz, $J^{2} = 2,69$ Hz); 6,72 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,34 (d, 1H, J = 6,85 Hz); 5,11 (sl, 1H); 3,39 (d, 2H, J = 6,85 Hz).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,54; 164,34; 160,92; 147,67; 143,11; 142,63; 135,26; 132,41; 129,07; 128,90; 128,26; 127,52; 127,03; 126,66; 119,40; 119,00; 117,75; 117,06; 110,05; 52,13; 40,23.

(S)-6-(3-(metiltio)-1-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)propilamino)-2*H*-cromen-2-ona 3da



Rendimento: 20%. Características físicas: óleo amarelo. $[\alpha]_{D}^{20}$: -2.4 (C = 0.02: AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₁H₁₉N₃O₃S + Na⁺ 416,1045; encontrado 416,1167.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,98 (dd, 2H, $J^1 = 8,48$ Hz, $J^2 = 1,46$ Hz); 7,57 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 7,53 – 7,44 (m, 3H); 7,15 (d, 1H, J = 9,06 Hz); 7,01 (dd, 1H, $J^1 = 89$

9,06 Hz, $J^2 = 2,63$ Hz); 6,86 (d, 1H, J = 2,63 Hz); 6,35 (d, 1H, J = 9,35 Hz); 5,09 (t, 1H, J = 6,72 Hz); 4,65 (s.l., 1H); 2,73 (t, 2H, J = 6,72 Hz); 2,44 – 2,36 (m, 2H); 2,13 (s, 3H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,28; 165,18; 160,87; 147,88; 143,15; 142,37; 132,00; 129,03; 127,37; 126,87; 123,48; 119,41; 117,72; 117,00; 110,66; 49,94; 32,98; 30,25; 15,51.

(S)-6-(1-(5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-3-(metiltio)propilamino)-2*H*cromen-2-ona 3db



Rendimento: 16%. Características Físicas: óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20}$: -2,3 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₂H₂₁N₃O₄S + Na⁺ 446,1150; encontrado 446,1288.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,86 (d, 2H, J = 8,19 Hz); 7,78 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,58 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 7,23 – 7,21 (m, 2H); 7,15 (d, 1H, J = 8,93 Hz); 6,97 (dd, 1H, $J^1 = 8,93$ Hz, $J^2 = 2,69$ Hz); 6,82 (d, 1H, J = 2,69 Hz); 6,35 (d, 1H, J = 9,54 Hz); 5,11 – 5,06 (m, 1H); 4,61 (d, 1H, J = 9,17 Hz); 3,14 (3H); 2,74 (t, 2H, J = 6,87 Hz); 2,41 – 2,33 (m, 2H); 2,13 (s, 3H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,30; 165,33; 161,16; 143,40; 143,02; 142,59; 129,78; 126,85; 125,63; 120,72; 119,43; 119,14; 117,72; 116,91; 109,99; 49,50; 38,13; 33,11; 30,31; 15,58.

(S)-6-(3-(metiltio)-1-(5-p-toluil-1,3,4-oxadiazol-2-il)propilamino)-2*H*-cromen-2ona 3dc



Rendimento:26%. Características físicas: óleo amarelo. $[\alpha]_D^{20}$: -3,5 (C = 0,02; AcOEt). **HRMS** m/z calculado para C₂₂H₂₁N₃O₃S + Na⁺ 430,1201; encontrado 430,1373.

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), \delta (ppm):** 7,91 (d, 2H, J = 8,65 Hz); 7,59 (d, 1H, J = 9,52 Hz); 7,15 (d, 1H, J = 8,80 Hz); 7,02 – 6,89 (m, 2H); 6,82 (s, 1H); 6,36 (d, 1H, 9,52 Hz); 5,08 (t, 1H, J = 6,34 Hz); 3,86 (s, 3H); 2,73 (t, 2H, J = 6,34 Hz); 2,42 – 2,29 (m, 2H); 2,13 (s, 3H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 165,95; 165,03; 161,06; 147,44; 143,31; 142,92; 128,58; 127,35; 119,32; 119,03; 117,61; 116,81; 115,84; 114,42; 109,89; 55,38; 49,38; 33,02; 30,21; 15,49.

(S)-6-(1-(5-(4-bromofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-3-(metiltio)propilamino)-2*H*cromen-2-ona 3dd



Rendimento: 19%.

Característica física: óleo amarelo.

 $[\alpha]_D^{20}$: -3,3 (C = 0,02; AcOEt).

HRMS m/z calculado para C₂₁H₁₈BrN₃O₃S + Na⁺ 494,0150; encontrado 496,0306 (M+2).

RMN ¹**H (CDCI₃, 400 MHz), δ (ppm):** 7,84 (d, 2H, *J* = 8,25 Hz); 7,75 (d, 1H, *J* = 9,45 Hz); 7,62 – 7,60 (m, 2H); 7,15 (d, 1H, *J* = 8,65 Hz); 6,98 (d, 1H, *J* = 8,65 Hz); 6,82 (s, 1H); 6,35 (d, 1H, *J* = 9,45 Hz); 5,10 (t, 1H, *J* = 6,98 Hz); 2,74 (t, 2H, *J* = 6,98 Hz); 2,40 -2,32 (m, 2H); 2,14 (s, 3H).

RMN ¹³**C (CDCI₃, 100 MHz), δ (ppm):** 166,82; 164,47; 161,10; 147,54; 143,39; 142,96; 132,43; 128,30; 124,81; 123,38; 119,42; 119,10; 117,73; 116,93; 109,95; 49,45; 38,64; 30,31; 15,60.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jayashankar, B.; Rai, K. M. L.; Baskaran, N.; Sathish, H. S. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 3898-3902.
- Rai, N. P.; Narayanaswamy, V. K.; Shashikanth, S.; Arunachalam, P. N. *Eur. J.* Med. Chem. 2009, 44, 4522-4527.
- 3. Gupta, V.; Kashaw, S. K.; Jatav, V. Med. Chem. Res. 2008, 17, 205-211.
- 4. Mansour, A. K.; Eid, M. M.; Khalil, N. S. A. M. *Molecules*. **2003**, *8*, 744-755.
- 5. Rauf, A.; Sharma, S.; Gangal, S. Chin. Chem. Lett. 2008, 19, 5-8.
- Andreadou, I.; Menge, W. M. P. B.; Commandeur, J. N. M.; Worthington, E. A.; Vermeulen, N. P. M. J. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2040-2046.
- Padmavhati, V.; Reddy, G.; Padmaja, A.; Kondaiah, P.; Ali-Shazia. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 2106-2112.
- Sharma, S.; Srivastava, V. K.; Kumar, A. *Eur. J. Med. Chem.* 2002, 37, 689-697.
- Borg, S.; Vollinga, R. C.; Labarre, M.; Payza, K.; Luthman, L.; Terenius, K. J. Med. Chem. 1999, 42, 4331-4342.
- 10. Liras, S.; Allen, M. P.; Segelstein, B. E. Synthetic Commun. 2000, 30, 437-443.
- 11. Wolkenberg, S. E.; Boger, D. L.; J. Org. Chem. 2002, 67, 7361-7364.
- Zarudnitskii, E. V.; Pervak, I. I.; Merkulov, A. S.; Yurchenko, A. A.; Tolmachev,
 A. A.; *Tetrahedron*. **2008**, *64*, 10431-10442.
- Kontogiorgis, C. A.; Hadjipavlou-Litina, D. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 611-614.
- 14. Sardari, S.; Mori, Y.; Horita, K.; Micetich, R. G.; Nishibe, S.; Daneshtalab, M. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1933-1940.
- Yu, D.; Suzuki, M.; Xie, L.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K. H. Med. Res. Ver. 2003, 23, 322-345.
- Lin, H. C.; Tsai, S. H.; Chen, C. S.; Chang, Y. C.; Lee, C. M.; Lai, Z. Y.; Lin, C. M. Biochem. Pharmacol. 2008, 785, 1416-1425.
- 17. Arora, R. B.; Mathur, C. N. Brit. J. Pharmacol. 1963, 20, 29-35.
- Wu, L.; Wang, X.; Xu, W.; Farzaneh, F.; Xu, R. Curr. Med. Chem. 2009, 16, 4236-4260.
- 19. Lake, B. G. Food. Chem. Toxicol. 1999, 37, 423-453.

- Felter, S. P.; Vassallo, J. D.; Carlton, B. D.; Daston, G. P. Food. Chem. Toxicol.
 2006, 44, 462-475.
- 21. Xie, L.; Chen, Y.; Wu, W.; Guo, H.; Zhao, J.; Yu, W. *Dyes Pigments*. **2012**, *92*, 1361-1369.
- 22. Hirano, T.; Kubo, H.; Shiraishi, T.; Hiromoto, K.; Fujiwara, T.; Kagechika, H. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 5916-5919.
- Bryantseva, N. G.; Sokolova, I. V.; Tsyrenzhapova, A. B.; Selivanov, N. I.; Khilya, V. P.; Garazd, Y. L. J. Appl. Spectrosc. 2008, 75, 700-705.
- 24. Sashidara, K. V.; Kumar, A.; Kumar, M.; Srivastava, A.; Puri, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6504-6507.
- Vilar, S.; Quezada, E.; Santana, L.; Uriarte, E.; Yanez, M.; Fraiz, N.; Alcalde, C.;
 Cano, E.; Orallo, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 257-261.
- Song, H.; Ngai, M. H.; Song, Z. Y.; MacAry, P. A.; Hobley, J.; Lear, M. J. Org. Biomol. Chem. 2009, 7, 3400-3406.
- Botros, S.; Khalil, N. A.; Naguib, B. H.; El-Dash, Y. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 60, 57-63.
- 28. Lacy, A.; O'Kennedy, R.. Curr. Pharm. Des. 2004, 10, 3797-3811.
- Anton, R.; Barlow, S.; Boskou, D.; Castle, L.; Crebelli, R.; Dekant, W.; Engel, K.; Forsythe, S.; Grunow, W.; Heinonen, M.; Larson, J. C.; Leclercq, C.; Mennes, W.; Milana, M. R.; Pratt, I.; Rietjens, I.; Svensson, K.; Tobback, P.; Toldrá, F. *The EFSA Journal.* 2004, *104*, 1-36.
- Silva, V. B.; Kawano, D. F.; Carvalho, I.; Conceição, E. C.; Freitas, O.; Silva, C.
 H. T. P. *J. Pharmaceut. Sci.* **2009**, *12*, 378-387.
- Kabeya, L. M.; Fuzissaki, C. N.; Taleb-Contini, S. H.; Ferreira, A. M. C.; Naal, Z.; Santos, E. O. L.; Figueiredo-Rinhel, A. S. G.; Azzolini, A. E. C. S.; Vermelho, R. B.; Malvezzi, A.; Amaral, A. T.; Lopes, J. L. C; Lucisano-Valim, Y. M. *Chem-Biol. Interact.* **2013**, *206*, 63-75.
- Vasconcelos, J. F.; Teixeira, M. M.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; Nunes, X. P.; Giulietti, A. M.; Ribeiro-dos-Santos, R.; Soares, M. B. P. *Eur. J. Pharmacol.* 2009, *609*, 126-131.
- 33. Ramesh, B.; Pugalendi, K. V. Life Sci. 2006, 79, 306-310.
- Timonen, J. M.; Nieminen, R. M.; Sareila, O.; Goulas, A.; Moilanen, L. J.; Haukka, M.; Vainiotalo, P.; Moilanen, E.; Aulaskari, P. H. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, *46*, 3845-3850.

- Molaverdi, F.; Khoobi, M.; Emani, S.; Alipour, M.; Firuzi, O.; Foroumadi, A.; Dehghan, G.; Miri, R.; Shaki, F.; Jafarpour, F.; Shafiee, A. *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 68, 103-110.
- Liu, G. L.; Hao, B.; Liu, S. P.; Wang, G. X. *Eur. J. Med. Chem.* 2012, *54*, 582-590.
- 37. Ramesh, B.; Pugalendi, K. V. Toxicol. Mech. Methods. 2006, 17, 153-159.
- 38. Renuka, N.; Kumar, A. K. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 6406-6409.
- Amin,K. M.; Awadalla, F. M.; Eissa, A. A. M.; Abou-Seri, S. M.; Hassan, G. S. Bioorg. Med. Chem. 2011, 19, 6087-6097.
- 40. Nidhin, P.; Muthusubramanian, S. Med. Chem. Res. 2014, 23, 1612-1621.
- 41. Valeur, B. *Molecular Fluorescence Principles and Applications*.1^a Ed. Wiley-VCH, Weinheim. **2001**.
- 42. (a) Yu, T.; Zhao, M.; Li, A.; Zhao, Y.; Zhang, H.; Fan, D. *Res. Chem. Intermed.* **2013**, *39*, 2259-2266. (b) Li. J.; Zhang, C.; Ming, Z.; Hao, G.; Yang, W.; Yang, G. *Tetrahedron.* **2013**, *69*, 4743-4748. (c) Baride, A.; Engebretson, D.; Berry, M. T.; May, P. S. J. Lumin. **2013**, *141*, 99-105. (d) Zhang, J.; Nosaka, Y. *J. Phys. Chem.* **2013**, *117*, 1383-1391. (e) Qiu, S.; Miao, M.; Wang, T.; Lin, Z.; Guo, L.; Qiu, B.; Chen, G. *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *42*, 332-336.
- 43. Alberto, E. E.; Nascimento, V.; Braga, A. L. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 2032-2041.
- 44. Fiori, S.; Rudolph, B. S.; Cramer, J.; Moroder, L. *Biopolymers*. **2000**, *5*3, 550-564.
- 45. (a) Back, T. G.; Moussa, Z. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 13455-13460. (b) Nogueira, C. W.; Zeni, G.; Rocha, J. B. T. Chem. Rev. 2004, 104, 6255-6285.
 (c) Braga, A. L.; Lüdtke, D. S.; Paixão, M. W.; Alberto, E. E.; Stefani, H. A.; Juliano, L. Eur. J. Org. Chem. 2005, 20, 4260-4264.
- 46. Ma, D.; Zhang, Y.; Yao, J.; Wu, S.; Tao, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12459-12467.
- 47. Cai, Q.; Zhang, H.; Zou, B.; Xie, X.; Zhu, W.; He, G.; Wang, J.; Pan, X.; Chen,
 Y.; Yuan, Q.; Liu, F.; Lu, B.; Ma, D. *Pure Appl. Chem.* **2009**, *81*, 227-234.
- 48. Boström, J.; Hogner, A.; Linàs, A.; Wellner, E.; Plowright, T. A. J. Med. Chem.
 2012, 55, 1817-1830.
- 49. Sun, J.; Li, M. H.; Qian, S.; Guo, F. J.; Dang, X. F.; Wang, X. M.; Xue, Y. R.; Zhu, H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2876-2879.

- 50. Ma, L.; Xiao, Y.; Li, C.; Xie, Z. L.; Li, D. D.; Wang, Y. T.; Ma, H. T.; Zhu, H. L.; Wang, M. H.; Ye, Y. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 6763-6770.
- 51. Madilla, S.; Jonnalagadda, S. B. Pharm. Chem. J., 2013, 46, 661-666.
- 52. Cui, Z. N.; Shi, Y. X.; Zhang, Li.; Ling, Y.; Li, B. J.; Nishida, Y.; Yang, X. L. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 11649-11656.
- 53. Rapolu, S.; Alla, M.; Bommena, V. R.; Murthy, R.; Jain, N.; Bommareddy, V. R.; Bommineni, M. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *66*, 91-100.
- Haque, S.; Dashwood, M. R.; Heetun, M.; Shiwen, X.; Farooqui, N.; Ramesh,
 B.; Welch, H.; Savage, F. J.; Ogunbiyi, O.; Abraham, D. J.; Loizidou, M. Mol.
 Cancer Ther. 2013, 12, 1556-1567.
- 55. Peltz, S. W.; Morsy, M.; Welch, E. M.; Jacobson, A. *Ann. Rev. Med.* **2013**, *64*, 407-425.
- 56. Nutall, J.; Meyers, T.; Eley, B. Pediatr. Health Med. Ther. 2013, 4, 75-87.
- 57. Dong, X.; Liu, Y.; Yan, J.; Jiang, C.; Chen, J.; Liu, T.; Hu, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8151-8160.
- Tully, W. R.; Gardner, C. R.; Gillespie, R. J.; Westwood, R. J. Med. Chem. 1991, 34, 2060-2067.
- 59. Vodela, S.; Mekala, R. V. R.; Danda, R. R.; Kodhati, V. *Chinese Chem. Lett.* **2013**, *24*, 625-628.
- Oliveira, C. S.; Lira, B. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Lorenzo, J. G. F.; Athayde-Filho, P. F. *Molecules*. **2012**, *17*, 10192-10231.
- Singh, S.; Sharma, L. K.; Saraswat, A.; Siddiqui, I. R.; Kehri, H. K.; Singh, R. K.
 P. RSC Adv. 2013, 3, 4237-4245.
- Khan, K. M.; Rani, M.; Ambreen, N.; Ali, M.; Hussain, S.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. *Med. Chem. Res.* 2013, 22, 6022-6028.
- Desai, N. C.; Bhatt, N.; Somani, H.; Trivedi, A. *Eur. J. Med. Chem.***2013**, *67*, 54-59.
- Guimarães, C. R. W.; Boger, D. L.; Jorgensen, W. L. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 17377-17384.
- 65. Rigo, B.; Couturier, D. J. Heteroclyc. Chem. 1985, 22, 287-288.
- Barbuceanu, S. F.; Bancescu, G.; Cretu, O. D.; Draghici, C.; Bancescu, A.;
 Popescu, M. *Rev. Chem.* 2010, *61*, 140-145.
- 67. Prakash, O.; Kumar, M.; Kumar, R.; Sharma, C.; Aneja, K. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4252-4257.

- Kumar, G. V. S.; Rajendraprasad, Y.; Mallikarjuna, B. P.; Chandrashekar, S. M.;
 Kistayya, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2063-2074.
- Kumar, B. N. P.; Mohana, K. N.; Mallesha, L.; Harish, K. P. Int. J. Med. Chem.
 2013. 2013, Article ID 725673, doi:10.1155/2013/725673.
- Maghari, S.; Ramezanpour, S.; Darvish, F.; Balalaie, S.; Rominger, F.;
 Bijanzadeh, H. R. *Tetrahedron.* 2013, 69, 2075-2080.
- Datta, P.; Mukhopadhyay, A. P.; Manna, P.; Tiekink, E. R. T.; Sil, P. C.; Sinha,
 C. J. Inorg. Biochem. 2011, 105, 577-588.
- Desai, D. G.; Swami, S. S.; Hapasse, S. B. Synthetic Comm. 1999, 29, 1033-1036.
- Liu, Y.; Lu, Y.; Prashad, M.; Repic, O.; Blacklock, T. J. Adv. Synth. Catal. 2005, 347, 217-219.
- 74. Morgan, G. T.; Micklethwait, F. M. G. J. Chem. Soc. 1906, 89, 863-872.
- 75. Sellmann, D.; Engl, K.; Gottshalk-Gaudig, T.; Heinemann, F. W. *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, *2*, 333-339.
- 76. Pokhodylo, N. T.; Obushak, N. D. Russ. J. Org. Chem. 2010, 46, 1748-1749.
- 77. Doyle, M. P.; Siegfried, B.; Dellaria, J. F. J. Org. Chem. 1977, 42, 2426-2431.
- 78. Gadegoni, H.; Manda, S. Chinese Chem. Lett. 2013, 24, 127-130.
- Kotaiah, Y.; Harikrishna, N.; Nagaraju, K.; Rao C. V. *Eur. J. Med. Chem* **2012**, 58, 340-345.
- Stabile, P.; Lamonica, A.; Ribecai, A.; Castoldi, D.; Guercio, G.; Curcuruto, O. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4801-4805.
- (a) Balalaie, S.; Mahdidoust, M.; Eshaghi-Najafabadi, R. *Chinese J. Chem.* **2008**, 26, 1141-1144. (b) Twibanire, J. K.; Grindley, B. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2988-2991. (c) Pouliot, M.; Angers, L.; Hamel, J.; Paquin, J. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 988-993.
- Krystkowiak, E.; Dobec, K.; Maciejewski, A. Photochem. Photobiol. 2013, 12, 446-455.
- 83. Kobayashi, A.; Takehira, K.; Yoshihara, T.; Uchiyama, S.; Tobita, S. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 1368-1376.
- Evale, B. G.; Hanagodimath, S. M.; Kulkarni, M. V. J. Luminescence 2010, 130, 1325-1329.
- Rehman, S. U.; Chohan, Z. H.; Gulnaz, F.; Supuran, C. T. J. Enzym. Inhib. Med. Ch. 2005, 20, 333-340.

- 86. Shi, Y.; Zhou, C. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2011, 21, 956-960.
- 87. Perrin, D.; Armarego, W. *Purification of Laboratory Chemicals*, 4^a ed. Pergamon Press, New York, **1996**.

ESPECTROS SELECIONADOS

CAPÍTULO 4



Figura 14 - Espectro de RMN ¹H para composto 1a em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 15 - Espectro de RMN ¹³C para composto 1a em CDCl₃ a 100 MHz.





Figura 16 - Espectro de RMN ¹H para composto **1b** em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 17 - Espectro de RMN ¹³C para composto 1b em CDCl₃ a 100 MHz.





Figura 18 - Espectro de RMN ¹H para composto 1c em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 19 - Espectro de RMN ¹³C para composto **1c** em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 20 - Espectro de RMN ¹H para composto 1d em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 21 - Espectro de RMN 13 C para composto 1d em CDCI₃ a 100 MHz.



Figura 22 - Espectro de RMN ¹H para composto 3aa em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 23 - Espectro de RMN 13 C para composto 3aa em CDCI₃ a 100 MHz.



Figura 25 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3ab em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 26 - Espectro de RMN ¹H para composto 3ac em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 27 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3ac** em CDCl₃ a 100 MHz.





Figura 28 - Espectro de RMN ¹H para composto 3ad em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 29 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3ad em CDCl₃ a 100 MHz.


Figura 30 - Espectro de RMN ¹H para composto 3ba em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 31 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3ba em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 33 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3bb em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 34 - Espectro de RMN ¹H para composto 3bc em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 35 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3bc** em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 36 - Espectro de RMN ¹H para composto 3bd em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 37 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3bd em CDCl₃ a 100 MHz.





Figura 38 - Espectro de RMN ¹H para composto 3ca em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 39 - Espectro de RMN 13 C para composto 3ca em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 40 - Espectro de RMN ¹H para composto 3cb em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 41 - Espectro de RMN ¹³C para composto **3cb** em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 42 - Espectro de RMN ¹H para composto **3cc** em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 43 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3cc em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 44 - Espectro de RMN ¹H para composto **3cd** em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 45 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3cd em CDCl₃ a 100 MHz.





Figura 48 – Espectro de RMN ¹H para composto 3db em CDCl₃ a 400 MHz.



Figura 49 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3db em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 50 - Espectro de RMN ¹H para composto 3dc em CDCI₃ a 400 MHz.



Figura 51 - Espectro de RMN ¹³C para composto 3dc em CDCl₃ a 100 MHz.



Figura 52 – Espectro de RMN ¹H para composto 3dd em $CDCI_3$ a 400 MHz.



Figura 53 - Espectro de RMN 13 C para composto 3dd em CDCl₃ a 100 MHz.