

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Fillipe Caitano Calzavara**

**Síntese de 1,3,4-oxadiazóis acoplados a piperazina alquilada e avaliação da ação citotóxica em modelos *in vitro* de linhagens de tumores animais**

Juiz de Fora  
2022

**Fillipe Caitano Calzavara**

**Síntese de 1,3,4-oxadiazóis acoplados a piperazina alquilada e avaliação da ação citotóxica em modelos *in vitro* de linhagens de tumores animais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Mara Rubia Costa Couri

Juiz de Fora  
2022

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Caitano Calzavara, Fillipe.

Síntese de 1,3,4-oxadiazóis acoplados a piperazina alquilada e avaliação da ação citotóxica em modelos in vitro de linhagens de tumores animais. /Fillipe Caitano Calzavara. -- 2022.

93 p.

Orientadora: Mara Rubia Costa Couri

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Química, 2022.

1. 1,3,4-oxadiazóis. . 2. Câncer.. 3. Atividade antitumoral.. I. Rubia Costa Couri, Mara, orient. II. Título.

**Fillipe Caitano Calzavara**

**Síntese de 1,3,4-oxadiazóis acoplados a piperazina alquilada e avaliação da ação citotóxica em modelos in vitro de linhagens de tumores animais**

Dissertação  
apresentada ao  
Programa de Pós-  
Graduação em  
Química  
da Universidade  
Federal de Juiz de  
Fora como requisito  
parcial à obtenção do  
título de Mestre em  
Química. Área de  
concentração:  
Química Orgânica.

Aprovada em 25 de março de 2022.

**BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Dra. Mara Rubia Costa Couri** - Orientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora

**Profa. Dra. Fernanda Amaral de Siqueira**

Universidade Federal de São Paulo

**Prof. Dr. Adilson David da Silva**

Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 10/03/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Mara Rubia Costa Couri, Professor(a)**, em 25/03/2022, às 16:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **FERNANDA AMARAL DE SIQUEIRA, Usuário Externo**, em 25/03/2022, às 16:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Adilson David da Silva, Professor(a)**, em 29/03/2022, às 09:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **0706464** e o código CRC **7A88FA63**.

---

Dedico este trabalho aos meus pais, aos meus padrinhos, toda minha família e a todos que duvidaram um dia...

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus por ter me dado força e sabedoria para execução do projeto e não ter me deixado desistir.

Aos meus pais que sempre acreditaram e me apoiaram da melhor maneira possível, além de aguentarem meus dias de mau humor e estresses pelas dificuldades do trabalho. Com todas as dificuldades conseguiram me dar estrutura para que pudesse me dedicar exclusivamente aos meus estudos.

A minha família adotiva que desde o início me acolheram, sempre acreditaram no meu potencial, sempre me apoiando e jamais deixaram eu desistir.

Aos meus amigos Arthur, Mateus, Rodrigo, Maycom, Rafael (Perrel), Larissa e Luiza que sempre estão do meu lado me apoiando e me escutando nos momentos bons ou ruins. Cada resenha que tivemos foi sempre muito importante e necessário para ter meus momentos de paz.

Aos amigos de laboratório Camille, Karine e Rafa que foram como mães de laboratório para mim, sempre me ajudando durante todo o processo do trabalho, tirando dúvidas e me incentivando sempre, principalmente nos dias que eu estava desmotivado. E a todos outros que passaram pelo nosso querido laboratório NECSO.

A professora Mara Rubia, por todo aprendizado que ganhei durante todo tempo que me acolheu em seu laboratório, toda paciência que teve comigo desde o início, principalmente quando dava algo errado durante o projeto.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF.

As agências de fomento pela estrutura e apoio financeiro.

Obrigado a todos que de alguma forma me auxiliaram e apoiaram durante essa etapa da minha vida.

“Nada na vida deve ser temido, somente compreendido. Agora é hora de compreender mais para temer menos.” (MARIE CURIE).



## RESUMO

Em 2020 o câncer ainda continua sendo uma das maiores causas de mortes no mundo. Visto que os tratamentos e os medicamentos utilizados ainda possuem uma baixa seletividade e causam diversos efeitos colaterais nos pacientes, é importante a continuidade de estudos científicos para propor novos medicamentos quimioterapêuticos que sejam mais ativos e mais seletivos causando menos efeitos adversos. Com déficit de fármacos eficazes, este trabalho visou a síntese e caracterização de derivados 1,3,4-oxadiazólicos acoplados a piperazinas alquiladas e avaliação de suas atividades citotóxicas. Foram obtidos 8 compostos inéditos em uma síntese de 5 etapas partindo-se de dois diferentes ácidos carboxílicos, que após esterificação e hidrazinólise dos ésteres possibilitou a obtenção das hidrazidas, que após reação com brometo de bromoacetila formou os intermediários *N,N'*-diacil-hidrazina que foram ciclizados, para obtenção dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos. Esses derivados foram acoplados à piperazinas alquiladas de cadeias de 8, 10, 12 e 14 átomos de carbono. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e IV. Caracterizados os compostos foram avaliadas suas atividades antitumorais frente a linhagens de células tumorais animais através da citotoxicidade para determinação do  $\text{CI}_{50}$  e IS. Todos os compostos testados obtiveram citotoxicidade frente as linhagens de células 4T1 e CT26.WT, com valores de  $\text{IC}_{50}$  que variaram de 2,6  $\mu\text{M}$  à 72,2  $\mu\text{M}$  com IS de 0,4 à 4,0 para linhagem celular 4T1 e 2,6  $\mu\text{M}$  à 35,2  $\mu\text{M}$  com IS de 1,1 à 2,5 para linhagem celular CT26.WT. Destaque para os compostos (7) e (17) sintetizados no presente projeto que foram mais citotóxicos que o controle positivo utilizado, a cisplatina.

Palavras-chave: 1,3,4-oxadiazóis. Câncer. Atividade antitumoral.

## ABSTRACT

In 2020 cancer still remains one of the leading causes of death in the world. Since the treatments and drugs used still have a low selectivity and cause various side effects in patients, it is important to continue scientific studies to propose new chemotherapeutic drugs that are more active and more selective that cause fewer adverse effects. With a deficit of effective drugs, this work aimed at the synthesis and characterization of 1,3,4-oxadiazolic derivatives coupled to alkylated piperazines and the evaluation of their cytotoxic activities. Eight new compounds were obtained in a five-step synthesis starting from two different carboxylic acids, which after esterification and hydrazinolysis of the esters made it possible to obtain hydrazides, which after reaction with bromoacetyl bromide formed the *N,N'*-diacylhydrazine intermediates that were cyclized to obtain 1,3,4-oxadiazole derivatives. These derivatives were coupled with alkylated piperazines with chains of 8, 10, 12 and 14 carbon atoms. All synthesized compounds were characterized by <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and IR NMR spectra. Once the compounds were characterized, their antitumor activities against animal tumor cell lines were evaluated by cytotoxicity to determine IC<sub>50</sub> and IS. All the tested compounds obtained cytotoxicity against 4T1 and CT26.WT cell lines, where were obtained CI<sub>50</sub> values that varied from 2.6 μM to 72.2 μM with IS from 0.4 to 4.0 for cell line 4T1 and 2.6 μM to 35.2 μM with IS from 1.1 to 2.5 for cell line CT26.WT. Notably, the compounds (**7**) and (**17**) synthesized in the present project were more cytotoxic than cisplatin, the positive control used

Keywords: 1,3,4-oxadiazoles. Cancer. Antitumor activity.

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Metodologias sintéticas para obtenção de 1,3,4-oxadiazóis .....	19
Esquema 2 – Plano de síntese dos 1,3,4-oxadiazóis alquilados 14-21.....	25
Esquema 3 – Síntese do benzoato de etila e 4-metóxi benzoato de etila .....	26
Esquema 4 – Síntese da fenil-hidrazida (5) e da 4-metóxi-fenil-hidrazida (6) .....	28
Esquema 5 – Síntese dos oxadiazóis (7) e (8).....	31
Esquema 6 – Proposta de mecanismo para formação do oxadiazol 8.....	36
Esquema 7 – Síntese das piperazinas alquiladas 10-13.....	38
Esquema 8 – Síntese dos 1,3,4-oxadiazóis com a piperazina alquilada (14-21) .....	41
Esquema 9 – Proposta de mecanismo para formação dos compostos finais 14-21 .	42

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Número estimado de casos incidentes e morte em todo o mundo, ambos os sexos e em todas as faixas etárias em 2020 .....	16
Figura 2 –	Comparação das células normais com as células cancerígenas .....	17
Figura 3 –	Isômeros oxadiazólicos .....	18
Figura 4 –	Estrutura dos fármacos comerciais com núcleo oxadiazólico .....	20
Figura 5 –	Oxadiazóis sintetizados por Caneschi e colaboradores .....	23
Figura 6 –	1,3,4-Oxadiazóis propostos nesse trabalho <b>(14-21)</b> .....	24
Figura 7 –	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do benzoato de etila <b>(3)</b> ...	27
Figura 8 –	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do benzoato de etila <b>(3)</b> ..	28
Figura 9 –	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ; 500 MHz) da fenil-hidrazida <b>(5)</b> ...	29
Figura 10 –	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ; 125 MHz) da fenil-hidrazida <b>(5)</b> .	30
Figura 11 –	Espectro de IV (ATR; $\text{cm}^{-1}$ ) da fenil-hidrazida <b>(5)</b> .....	31
Figura 12 –	Seção expandida do espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ ; 500 MHz) do intermediário <i>N, N'</i> -diacil-hidrazina.....	32
Figura 13 –	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto <b>(7)</b> .....	37
Figura 14 –	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto <b>(7)</b> .....	37
Figura 15 –	Espectro de IV (ATR; $\text{cm}^{-1}$ ) do composto <b>(7)</b> .....	38
Figura 16 –	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto <b>(10)</b> .....	40
Figura 17 –	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto <b>(10)</b> .....	40
Figura 18 –	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto <b>(14)</b> .....	43
Figura 19 –	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto <b>(14)</b> .....	44
Figura 20 –	Espectro de IV (ATR; $\text{cm}^{-1}$ ) do composto <b>(14)</b> .....	45
Figura 21 –	Dados obtidos para o benzoato de etila .....	55
Figura 22 –	Dados obtidos para o 4-metoxibenzoato de etila .....	55
Figura 23 –	Dados obtidos para a fenil-hidrazida .....	56
Figura 24 –	Dados obtidos para a 4-metoxifenil-hidrazida .....	56

Figura 25 – Dados obtidos para o 2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol ( <b>7</b> ) .....	57
Figura 26 – Dados obtidos para o 2-(bromometil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol ( <b>8</b> ).....	58
Figura 27 – Dados obtidos para piperazina alquilada ( <b>10</b> ).....	59
Figura 28 – Dados obtidos para piperazina alquilada ( <b>11</b> ).....	59
Figura 29 – Dados obtidos para piperazina alquilada ( <b>12</b> ).....	60
Figura 30 – Dados obtidos para piperazina alquilada ( <b>13</b> ).....	60
Figura 31 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>14</b> ) .....	61
Figura 32 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>15</b> ) .....	62
Figura 33 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>16</b> ) .....	62
Figura 34 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>17</b> ) .....	63
Figura 35 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>18</b> ) .....	63
Figura 36 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>19</b> ) .....	64
Figura 37 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>20</b> ) .....	64
Figura 38 – Dados obtidos para o 1,3,4-Oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto ( <b>21</b> ) .....	65
Figura 39 – Compostos finais propostos e sintetizados no presente trabalho ( <b>14-21</b> ).....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Oxadiazóis com atividade citotóxica sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.....	21
Tabela 2 – Otimização da reação de ciclização <i>N,N'</i> -diacil-hidrazina para obtenção do 1,3,4-oxadiazol.....	35
Tabela 3 – Dados de citotoxicidade para os 1,3,4-oxadiazóis 7, 8, 14-21 .....	46
Tabela 4 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos ligados ao grupo fenil e 4-metoxifenil...	48
Tabela 5 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos ligados ao grupo fenil e 4-metoxifenil .....	49
Tabela 6 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,2,4-oxadiazólicos .....	50
Tabela 7 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,2,4-oxadiazólicos .....	51
Tabela 8 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,3,4-oxadiazólicos-2-tiona ligados ao 4-metoxifenil.....	52
Tabela 9 – Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,3,4-oxadiazólicos-2-tiona ligados ao 4-metoxifenil.....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4T1	Células de carcinoma de mama murino
BHK-21	Células normal de rim de hamster jovem
cat.	Catalizador
CCD	Cromatografia em camada delgada
CCS	Cromatografia em coluna de sílica
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória mediana
CT26-WT	Células de carcinoma do cólon murino
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
D	Dupleto
EtOH	Etanol
FBS	Soro Fetal Bovino
FF	Faixa de fusão
GLOBOCAN	The Global Cancer Observatory
HPO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Ácido fosforodiclорidrício
Hz	Hertz
IARC	Agência Internacional de Pesquisas do Câncer
INCA	Instituto nacional de câncer
IS	Índice de seletividade
IV	Infravermelho
IV (ATR)	Infravermelho (Reflexão Total Atenuada)
J	Constante de acoplamento
m	multipleto
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5difeniltetrazol
µg/mL	Microgramas por mililitro
µM	Micromolar
µL	Microlitro
MM	Massa molecular
nm	Nanômetro
ppm	Parte por milhão

q	Quarteto
RMN de $^1\text{H}$	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de $^{13}\text{C}$	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RPMI 1640	Meio de cultura celular (Roswell Park Memorial Institute)
s	Simpleto
SD	Standard Deviation
t	Tripleto
t.a.	Temperatura Ambiente
UV	Ultravioleta



## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Delta$	Aquecimento
$\delta$	Deslocamento químico
$\nu$	Estiramento da ligação

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>24</b>
2.1	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	24
<b>3</b>	<b>PLANO DE SÍNTESE.....</b>	<b>25</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
4.1	SÍNTESE DOS ÉSTERES BENZOATO DE ETILA E 4-METÓXI BENZOATO .....	26
4.2	SÍNTESE DA FENIL-HIDRAZIDA (5) E 4-METÓXI FENIL-HIDRAZIDA (6) E CARACTERIZAÇÃO DA FENIL-HIDRAZIDA.....	28
4.3	SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS OXADIAZÓLICOS 7 E 8 E CARACTERIZAÇÃO DO 2-(BROMOMETIL)-5-1,3,4-OXADIAZOL .....	31
4.4	SÍNTESE DAS PIPERAZINAS ALQUILADAS (10-13) E CARACTERIZAÇÃO DA PIPERAZINA 10 .....	38
4.5	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS OXADIAZÓIS ACOPLADOS A PIPERAZINA ALQUILADA (14-21) .....	41
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZÓLICOS .....	45
<b>5</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>53</b>
5.1	MATERIAIS E MÉTODOS .....	53
5.1.1	<b>Síntese e caracterização dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos e seus precursores .....</b>	<b>53</b>
5.1.2	<b>Avaliação da atividade antitumoral dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos sintetizados em linhagens de células animais.....</b>	<b>54</b>
5.2	PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DO BENZOATODE ETILA E 4-METÓXI BENZOATO DE ETILA .....	54
5.3	PROCEDIMENTO GERAL PARA OBTENÇÃO DA FENIL-HIDRAZIDA (5) E 4-METÓXI FENIL-HIDRAZIDA (6).....	55
5.4	PROCEDIMENTO PARA SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS 7 e 8 .....	57

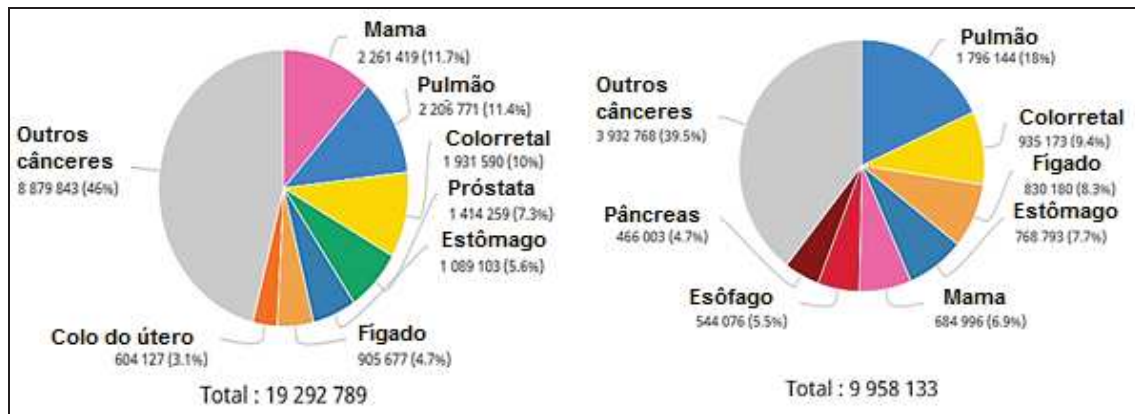
5.4.1	<b>Procedimento para obtenção do 2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol (7)</b> .....	57
5.4.2	<b>Procedimento para obtenção do 2-(bromometil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol (8)</b> .....	58
5.5	PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DAS PIPERAZINAS ALQUILADAS (10-13) .....	58
5.6	PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZÓLICOS ACOPLADOS A PIPERAZINA ALQUILADA (14-21) .....	60
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>66</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>68</b>
	<b>APÊNDICE A – Lista de compostos sintetizados no presente trabalho</b> .....	<b>72</b>
	<b>ANEXO A – Espectros de IV, RMN de <sup>1</sup>H, RMN de <sup>13</sup>C</b> .....	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das maiores causas de mortes no mundo e a tendência será de um aumento de casos, podendo chegar ao número de 34 milhões de casos por ano até 2070. De acordo com os cientistas da IARC (*International Agency for Research on Cancer*), o número de casos dessa anomalia poderá dobrar comparado aos números divulgados em 2020, sendo que este aumento poderá ocorrer em maior escala em países menos desenvolvidos (IARC, 2020).

Um estudo realizado pela GLOBOCAN (*The Global Cancer Observatory*) relata que aproximadamente 19,3 milhões de novos casos foram diagnosticados em 2020 e 10 milhões de óbitos foram registrados neste mesmo ano. A Figura 1 demonstra os números de casos incidentes e de mortalidade por tipo de câncer no ano de 2020 (IARC, 2020).

**Figura 1:** Número estimado de casos incidentes e morte em todo o mundo, de ambos os sexos e em todas as faixas etárias em 2020.



Fonte: Adaptado de (IARC, 2020).

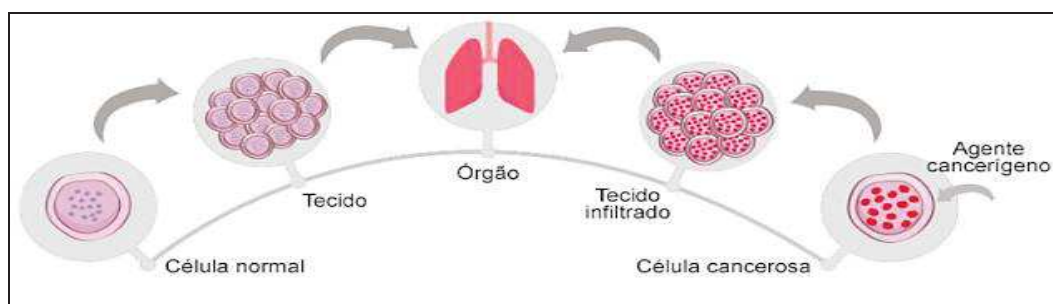
Câncer é o termo utilizado para abranger os mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas, na qual são em comum o crescimento desordenado de células, que por características podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos à distância. Estas células dividem-se rapidamente e geralmente de maneira muito agressiva e com crescimento incontrolável, determinando-se a formação dos tumores.

Esses podem começar em tecidos epiteliais, como pele ou mucosas, os denominados carcinomas. Já quando sua formação se dá em tecidos conjuntivos, como ossos, músculos ou cartilagens, estes são conhecidos como sarcomas. A

velocidade que essas células se multiplicam e criam a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes é a característica que diferenciam a variedade de tipos de câncer, sendo este processo de replicação denominado metástase (INCA, 2020).

A maior diferença entre as células normais e as células cancerosas, é que estas têm um crescimento desordenado e persistente mesmo na falta de fatores que influenciem seu crescimento, adquirindo a capacidade de se espalhar para outros tecidos, diferentemente de uma célula normal, como mostrado na Figura 2 (BELIZÁRIO, 2002).

**Figura 2:** Comparação das células normais com as células cancerígenas.



Fonte: Adaptado de (INCA 2020).

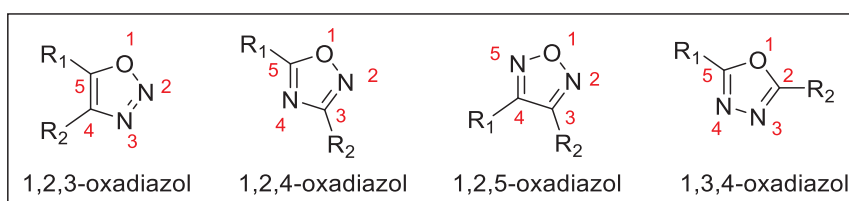
Para combater o crescimento desordenado de células causadoras de câncer, são utilizados como uma das formas de tratamento medicamentos quimioterapêuticos que agem sobre as células cancerígenas inibindo o seu crescimento. No entanto, esses medicamentos possuem uma baixa seletividade, isto é, interagem em maior proporção com as células normais do que com as células cancerosas causando diversos efeitos colaterais nos pacientes. Nesse sentido, torna-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos mais eficazes, seletivos e que causem menos efeitos adversos nos pacientes (NARELLA *et al.*, 2019).

Os heterociclos são compostos de grande importância para a Química Medicinal, e trata-se de estruturas cíclicas constituída de carbono e pelo menos um heteroátomo, sendo comumente o oxigênio, o nitrogênio, o enxofre e o fósforo, como os azóis, tiazóis, oxadiazóis, purinas, etc. Os heterociclos estão presentes em moléculas com diversas aplicações como em produtos farmacêuticos, agroquímicos, cosméticos, dentre outras aplicações (LAKSHMITHENDRAL *et al.*, 2019).

O grande interesse da indústria farmacêutica nos heterociclos é resultado das diversas atividades biológicas em diversos alvos terapêuticos apresentada por essa classe de compostos, como por exemplo ação antibacteriana, antitumoral, antiviral, antifúngica, antidiabética dentre outras (LAKSHMITHENDRAL *et al.*, 2019).

Dentro da classe dos heterociclos de cinco membros destacam-se os oxadiazóis que são compostos que contêm dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio em sua estrutura, formando um anel heteroaromático de cinco membros. Os átomos de nitrogênio podem se dispor em diferentes posições no anel em relação ao oxigênio originando quatro estruturas isoméricas (Figura 3) (KAPOOR *et al.*, 2021).

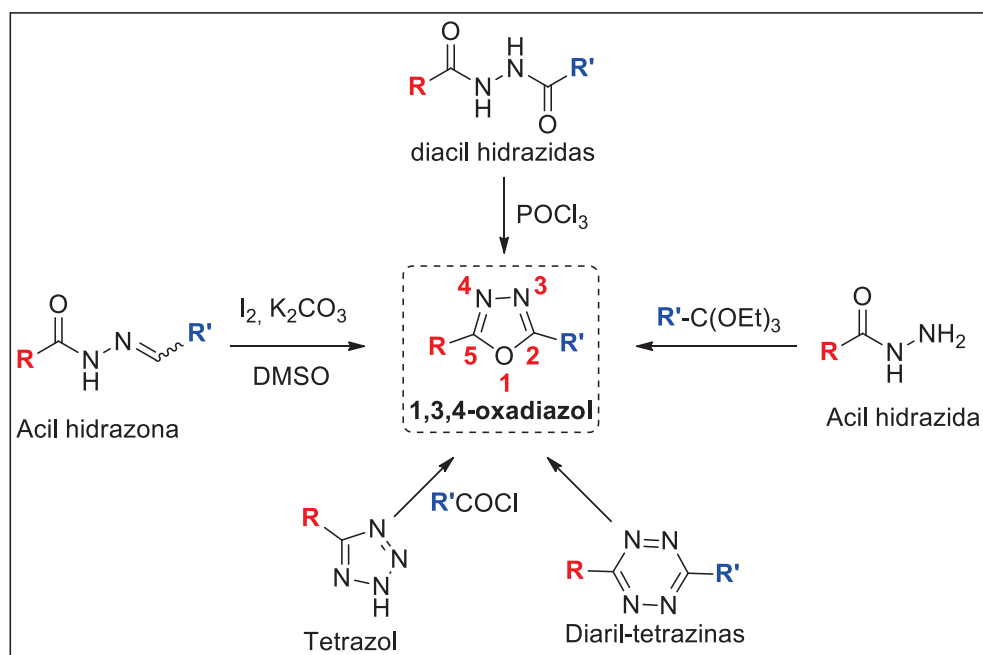
**Figura 3:** Isômeros oxadiazólicos



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Diferentes metodologias podem ser usadas para a preparação de 1,3,4-oxadiazóis como desidratação de diacil hidrazidas, oxidação de acil hidrazonas, reação entre acil hidrazidas e ortoésteres, rearranjo de diaril tetrazinas e reação entre tetrazol e cloreto de acila (reação de Huisgen) (**Esquema 1**) (VINDYA *et al.*, 2020; KASHID *et al.*, 2020; KUDELKO; ZIELIŃSKI, 2012; PARDESHI; PATIL; BOBADE, 2010; TOKUMARU; JOHNSTON, 2017; ARAÚJO *et al.*, 2018).

### Esquema 1: Metodologias sintéticas para obtenção de 1,3,4-oxadiazóis



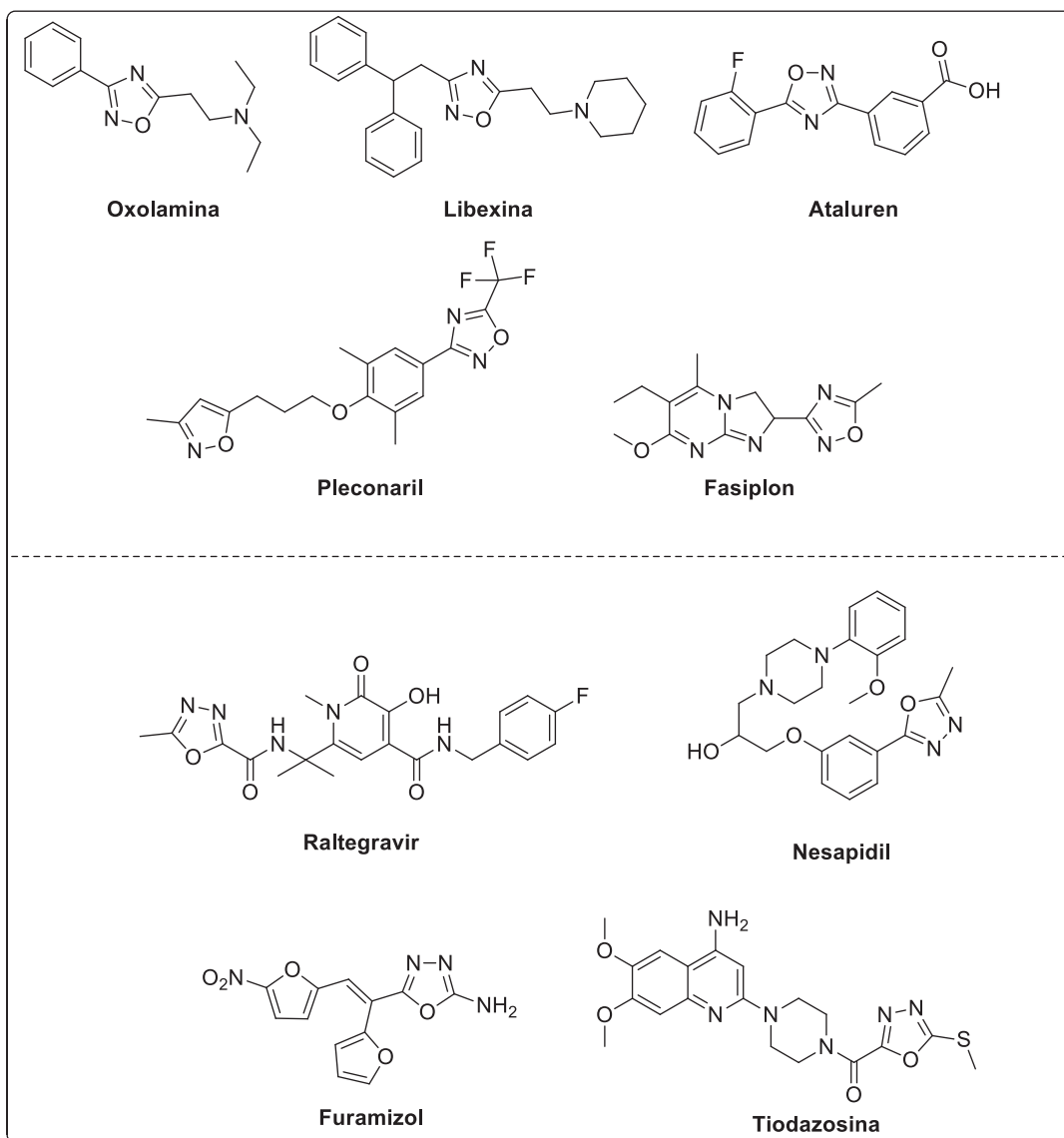
Fonte: Adaptado de ARAÚJO *et al.*, 2018.

Compostos contendo os núcleos 1,2,4 e 1,3,4-oxadiazólicos são os isômeros constitucionais mais comumente reportados na literatura, e têm seu potencial antitumoral descrito em vários trabalhos na literatura (BAJAJ, *et al.* 2015; ALTINTOP *et al.* 2018; LAKSHMITHENDRAL *et al.*, 2019; NARELLA *et al.*, 2019). Dentre as duas formas isoméricas destaca-se o regioisômero 1,3,4-oxadiazol, que exibe uma ação seletiva e potente inibição sobre atividade de várias linhagens de células cancerígenas (ALTINTOP, *et al.* 2018, LAKSHMITHENDRAL *et al.*, 2019; NARELLA *et al.*, 2019).

Dentre os medicamentos comercializados que contém o núcleo 1,2,4-oxadiazólico em suas estruturas podemos citar a oxolamina e libexina usados como antitussígenos, ataluren recomendado para o tratamento de distrofia muscular de Duchenne, o fasiplon, que possui ação sedativa e relaxante muscular e o pleconaril, usado no tratamento da asma (Figura 4) (SOMANI *et al.*, 2009) (FREIRE REGUEIRA; DE FREITAS; DE FREITAS FILHO, 2016). Já para o regioisômero 1,3,4-oxadiazol, podemos citar o raltegravir um antirretroviral utilizado no tratamento do HIV, o nesapidil, com ação antiarritmia cardíaca, o furamizol, com ação

antibacteriana e a tiodazosina, usada como anti-hipertensivo (Figura 4) (SOMANI *et al.*, 2009) (FREIRE REGUEIRA; DE FREITAS; DE FREITAS FILHO, 2016).

**Figura 4:** Estrutura dos fármacos comerciais com núcleo oxadiazólico.



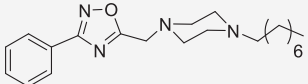
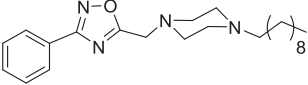
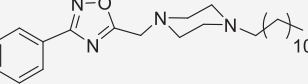
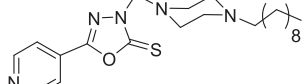
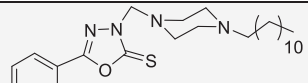
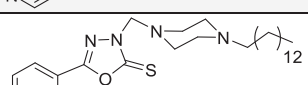
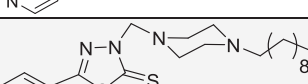
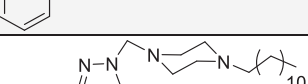
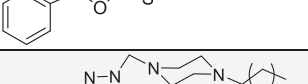
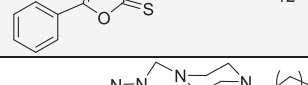
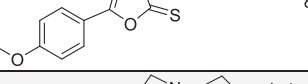
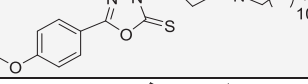
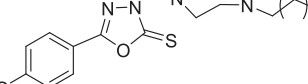
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

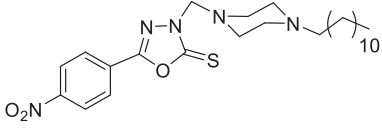
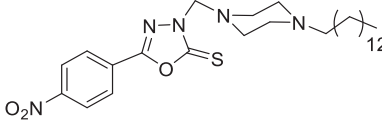
Nosso grupo de pesquisa tem investido na síntese de compostos derivados do núcleo oxadiazólico. Podemos citar o trabalho de Caneschi e colaboradores (2019), onde foram sintetizados uma série de novos derivados 1,2,4 e 1,3,4-oxadiazólicos possuindo em suas estruturas cadeias lipofílicas variando de 8 a 14 átomos de carbono. Esses compostos foram avaliados quanto a sua atividade citotóxica frente a duas linhagens de células tumorais de animais (4T1 e CT26.WT) e



uma linhagem de célula animal não-tumoral (BHK-21) (CANESCHI *et al*, 2019). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1:** Oxadiazóis com atividade citotóxica sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.

Entrada	Compostos	4T1		CT26.WT		BHK-21
		Cl <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ )	IS	Cl <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ )	IS	Cl <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ )
1		12 ± 4	4,7	70 ± 2	0,8	56 ± 2
2		3,6 ± 0,5	18,4	60 ± 1	1,1	66 ± 1
3		8 ± 2	8,8	78 ± 4	0,9	71 ± 2
4		3,6 ± 0,2	6,4	29 ± 2	0,8	23 ± 1
5		2,6 ± 0,1	6,4	22 ± 1	0,7	16 ± 3
6		3 ± 2	19,6	38,2 ± 0,8	1,6	63 ± 3
7		1,9 ± 0,1	16,7	15,4 ± 0,4	2,0	31,8 ± 0,2
8		1,6 ± 0,3	14,5	6,3 ± 0,1	3,7	23 ± 4
9		3,1 ± 0,4	4,3	7,7 ± 0,2	1,7	13 ± 8
10		35 ± 2	0,6	3,9 ± 0,1	5,6	22 ± 3
11		24 ± 2	0,9	1,6 ± 0,7	13,8	22,1 ± 0,2
12		22 ± 2	0,9	3,4 ± 0,2	6,2	21 ± 2
13		21,1 ± 0,4	1,1	25,1 ± 1,3	1,0	24 ± 2

14		$8,2 \pm 0,1$	0,7	$25 \pm 2$	0,2	$6,1 \pm 0,2$
15		$6,7 \pm 0,9$	0,1	$23 \pm 2$	0	$0,9 \pm 0,1$
<b>Daunorrubicina</b>		$0,30 \pm 0,01$	0.3	$0,42 \pm 0,04$	0,2	$0,09 \pm 0,01$

Fonte: Adaptado de (CANESCHI *et al.*, 2019).

Os resultados obtidos por Caneschi e colaboradores são promissores comparados ao fármaco de referência utilizado no teste, a daunorrubicina. Percebe-se que os compostos oxadiazólicos são menos ativos que a daunorrubicina, mas possuem um maior índice de seletividade (IS), chegando a ser cerca de 60% mais seletivos. Ou seja, os compostos descritos no trabalho foram mais citotóxicos para as células tumorais preservando assim em uma maior proporção as células normais, uma característica importante a ser considerada já que pode levar a um tratamento eficiente com menos efeitos colaterais aos pacientes.

Neste trabalho foi possível notar também que para os derivados 1,2,4-oxadiazólicos (entradas 1, 2 e 3, Tabela 1), o oxadiazol mais ativo foi aquele contendo a piperazina alquilada com 10 átomos de carbono (entrada 2, Tabela 1), destacando um  $CI_{50}$  de  $3,6 \pm 0,5 \mu M$  para a célula 4T1 com índice de seletividade de 18,4. Para a série 1,3,4 (entradas 4-15, Tabela 1) podemos notar um perfil diferente já que, em geral, os oxadiazóis mais ativos foram aqueles contendo a piperazina alquilada com 12 átomos de carbono.

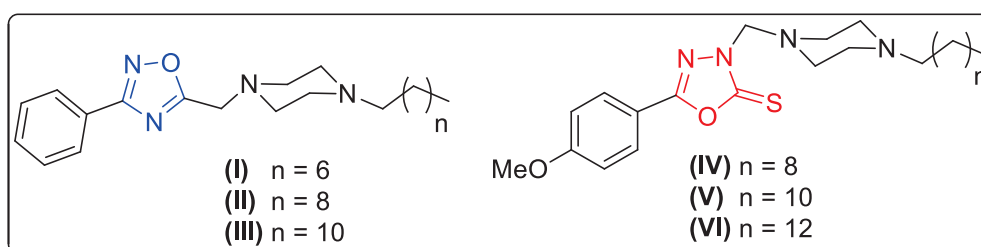
Foram estudados quatro padrões de substituição para a série 1,3,4 na posição 5 do anel oxadiazólico, a saber: piridil, fenil, 4-metoxifenil e 4-nitrofenil. Com exceção dos derivados do 4-metóxi (entradas 10-12, tabela 1) todos os demais 1,3,4-oxadiazóis foram mais ativos para a linhagem 4T1. Destaque para os oxadiazóis com os substituintes fenil e 4-metóxi alquilados com 12 átomos de carbono (entradas 8 e 11, respectivamente) que apresentaram  $CI_{50}$  de  $1,6 \mu M$  com índices de seletividade de 14,5 e 13,8, respectivamente. Além disso, esses

compostos mostraram-se capazes de induzir a morte celular por apoptose nas linhagens 4T1 e CT26, um processo celular crucial na quimioterapia do câncer.

Diante dos resultados expressivos e promissores que nosso grupo de pesquisa tem alcançado com os derivados 1,3,4-oxadiazólicos, este trabalho visa complementar pesquisas anteriores, a fim de esclarecer e ampliar o espectro da atividade citotóxica desses derivados. Com isso, faz-se importante a síntese e avaliação do potencial citotóxico de novos derivados 1,3,4-oxadiazólicos acoplados a piperazina alquilada com diferentes tamanhos de cadeias.

A escolha no planejamento das moléculas nesse trabalho foi baseada no resultado obtido no trabalho de Caneschi e colaboradores (2019). Segundo os resultados relatados nesse trabalho, os derivados 1,2,4-oxadiazólicos (I, II e III) e os derivados 1,3,4-oxadiazólicos (IV, V, VI) (**Figura 5**) mostraram efeitos citotóxicos relevantes com valores de IS expressivos. Objetiva-se então nesse trabalho obter 1,3,4-oxadiazóis com esse mesmo padrão de substituinte, variando o tamanho da cadeia alquil e avaliar o efeito da troca do heterociclo na citotoxicidade e consequentemente, na seletividade desses compostos.

**Figura 5:** Oxadiazóis sintetizados por Caneschi e colaboradores



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

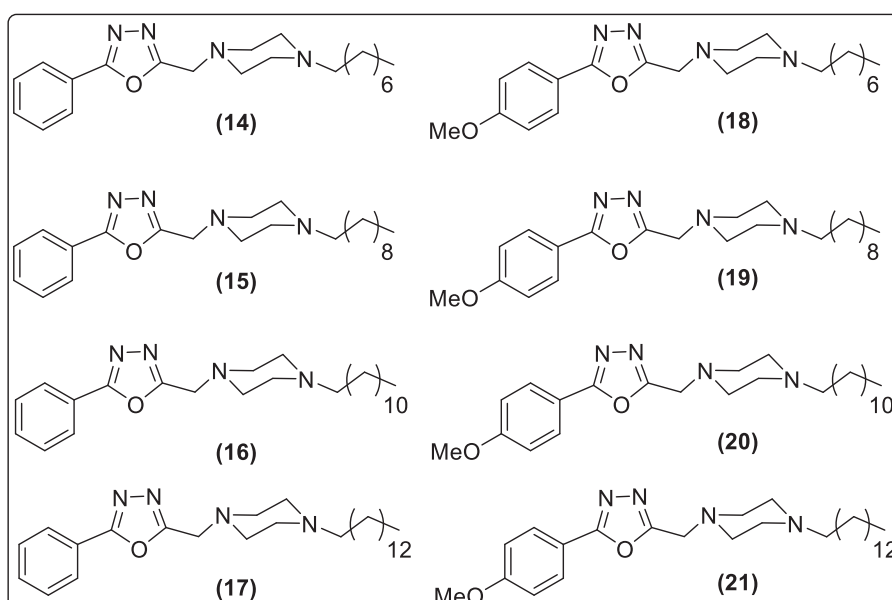
## 2 OBJETIVOS

Esse projeto tem como objetivo sintetizar e caracterizar oito novos derivados 1,3,4-oxadiazólicos alquilados e avaliar o potencial citotóxico desses heterociclos frente à diferentes linhagens de células tumorais animais.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) sintetizar, purificar e caracterizar os derivados inéditos 1,3,4-oxadiazólicos alquilados **14-21** (Figura 6):

**Figura 6:** 1,3,4-Oxadiazóis propostos nesse trabalho (**14-21**)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

- b) avaliar o potencial citotóxico dos derivados oxadiazólicos **14-21** por meio da determinação do  $CI_{50}$  em diferentes linhagens de células tumorais animais e uma linhagem animal não tumoral. Os testes de  $CI_{50}$  serão realizados no Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas (SibLab) em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Heveline Silva do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

### 3 PLANO DE SÍNTESE

Os derivados oxadiazólicos **14-21** serão obtidos em quatro etapas a partir do ácido benzóico (**1**) e do ácido 4-metoxibenzoico (**2**). Para a obtenção dos compostos, inicialmente serão sintetizados os ésteres (**3-4**) pela reação de esterificação com os respectivos ácidos comerciais, etanol, ácido sulfúrico e aquecimento (Esquema 2) (JUDGE *et al.*, 2012).

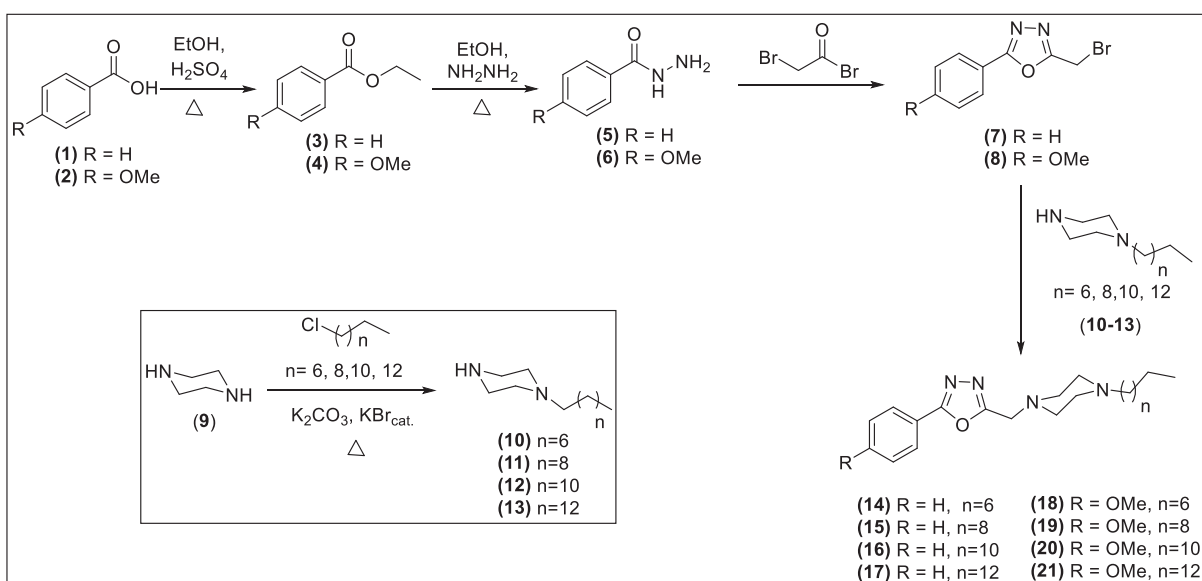
Os ésteres previamente obtidos serão submetidos à reação com hidrazina e etanol sob aquecimento para obtenção das respectivas hidrazidas (**5-6**) (Esquema 2) (RICCARDI & NICOLETTI, 2006).

Uma vez obtidas, as hidrazidas serão submetidas à reação com brometo de bromoacetila para formação dos intermediários *N,N'*-diacil-hidrazina, que serão ciclizados posteriormente com solvente adequado para a obtenção dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos (**7 e 8**) (Esquema 2) (COTTRELL *et al.*, 2004).

Em um outro momento, serão obtidas as piperazinas alquiladas (**10-13**) pela reação da piperazina **9** com haletos de alquila comerciais com cadeia de 8, 10, 12 e 14 átomos de carbono (Esquema 2) (ALABUGIN; ZEIDAN, 2002).

Por fim, uma vez obtidas as piperazinas alquiladas, os derivados 1,3,4-oxadiazólicos **7 e 8** serão submetidos, separadamente, à reação com as respectivas piperazinas, na presença de carbonato de potássio para obtenção dos compostos finais **14 à 21** (Esquema 2) (OZCAN *et al.*, 2013).

**Esquema 2:** Plano de síntese dos 1,3,4-oxadiazóis alquilados **14-21**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

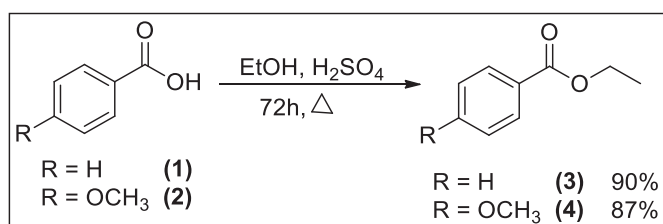
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as reações realizadas no projeto foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando a fase móvel e os reveladores adequados para cada etapa de síntese. Após o término das reações, os produtos foram tratados a partir de uma extração líquido-líquido com os solventes adequados para cada reação, e quando necessário foram purificados por cromatografia em camada de sílica (CCS). Todos os compostos foram caracterizados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

Devido às semelhanças estruturais entre os compostos, serão discutidos apenas os espectros de um dos derivados sintetizados em cada etapa.

### 4.1 SÍNTESE DOS ÉSTERES BENZOATO DE ETILA E 4-METÓXI BENZOATO DE ETILA E CARACTERIZAÇÃO DO BENZOATO DE ETILA

**Esquema 3:** Síntese do benzoato de etila e 4-metóxi benzoato de etila



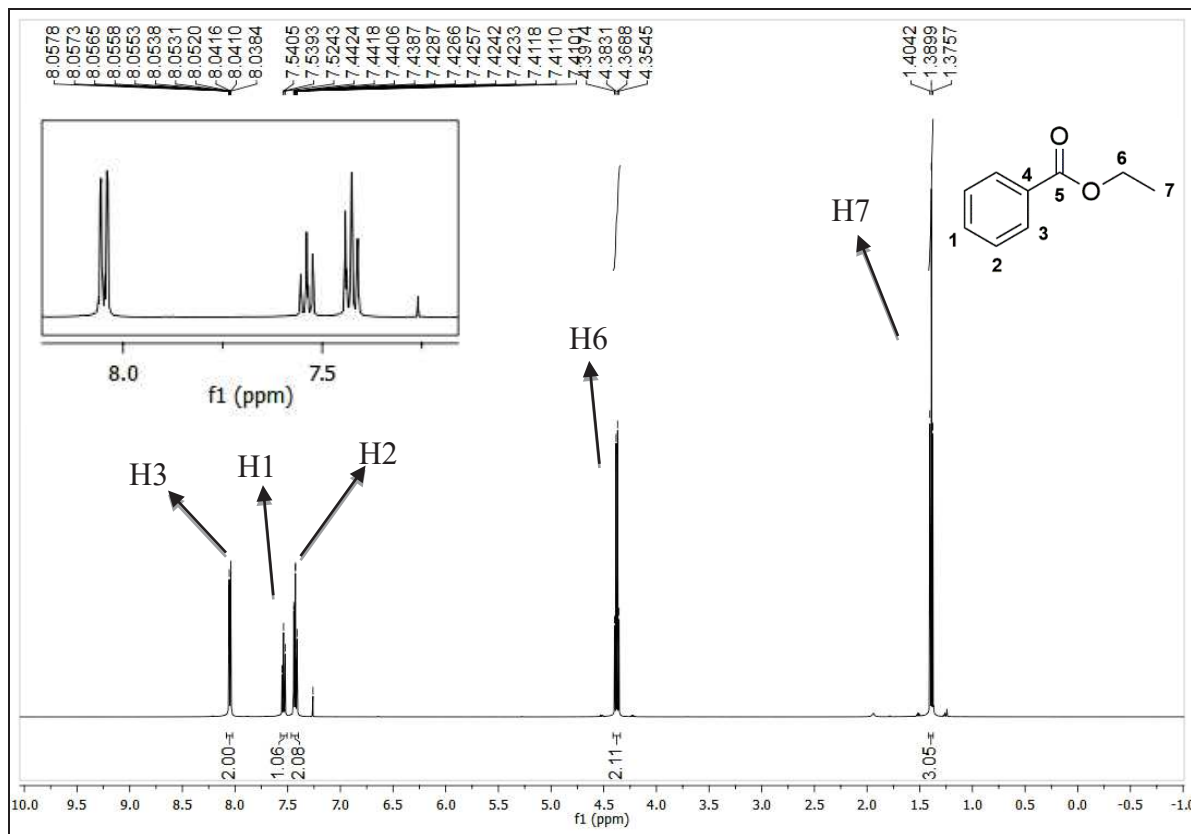
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Os ésteres **3** e **4** foram obtidos como descrito por JUDGE e colaboradores, em 2012. Foram utilizados, separadamente, os ácidos benzóico e 4-metóxi benzóico, em reação com ácido sulfúrico sob refluxo de etanol. O término da reação foi verificado após 72h com auxílio de CCD e a mistura reacional foi extraída com éter e H<sub>2</sub>O obtendo-se os ésteres **3** e **4** puros na forma de um óleo levemente amarelado, com rendimentos de 90 e 87%, respectivamente. A seguir serão discutidos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o benzoato de etila.

Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>; 500MHz) (Figura 7) observam-se na região de aromático multipletos centrados em  $\delta$ 7,54 referente ao hidrogênio H1, em  $\delta$ 7,42 referente ao hidrogênio H2, e em  $\delta$ 8,05 referente ao hidrogênio H3. Pode-se observar também em  $\delta$ 4,38 um quarteto referente aos hidrogênios H6 (2H;

$^3J=7,15$  Hz) e um tripleto em  $\delta 1,39$  referente aos hidrogênios metílicos H7 (3H;  $^3J=7,15$  Hz).

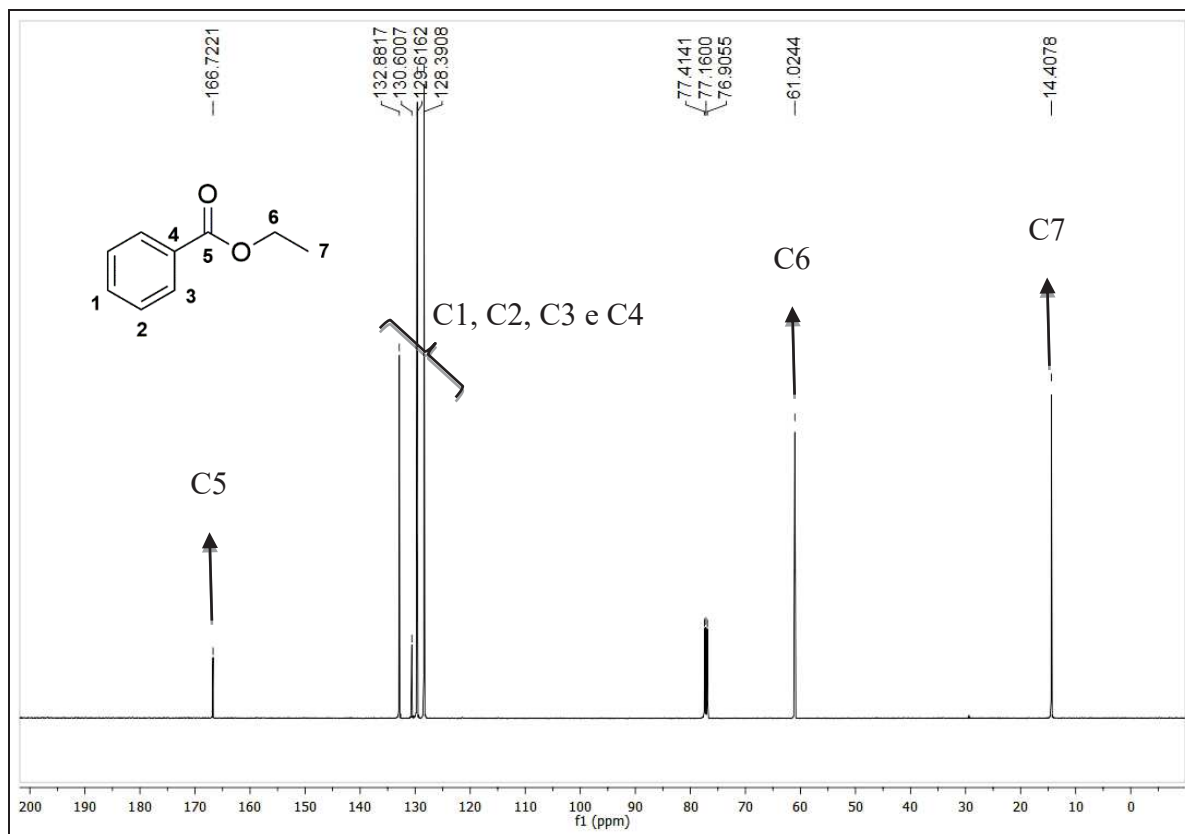
**Figura 7:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do benzoato de etila (**3**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) (Figura 8) observam-se sinais na região de aromáticos referente aos carbonos: C1 em  $\delta 132,9$ ; C2 em  $\delta 128,4$ ; C3 em  $\delta 129,6$  e carbono não hidrogenado C4 em  $\delta 130,6$ . Pode-se observar também em  $\delta 166,7$  o sinal para o carbono da carbonila (C5), em  $\delta 61,2$  o sinal referente a C6 e em  $\delta 14,4$  o sinal referente a C7.

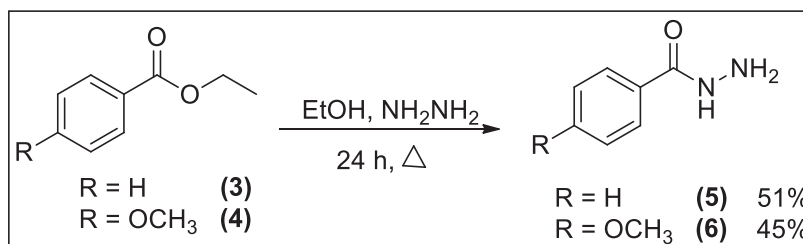
**Figura 8:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do benzoato de etila (**3**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.2 SÍNTESE DA FENIL-HIDRAZIDA (5) E 4-METÓXI FENIL-HIDRAZIDA (6) E CARACTERIZAÇÃO DA FENIL-HIDRAZIDA

##### Esquema 4: Síntese da fenil-hidrazida (**5**) e da 4-metóxi-fenil-hidrazida (**6**)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

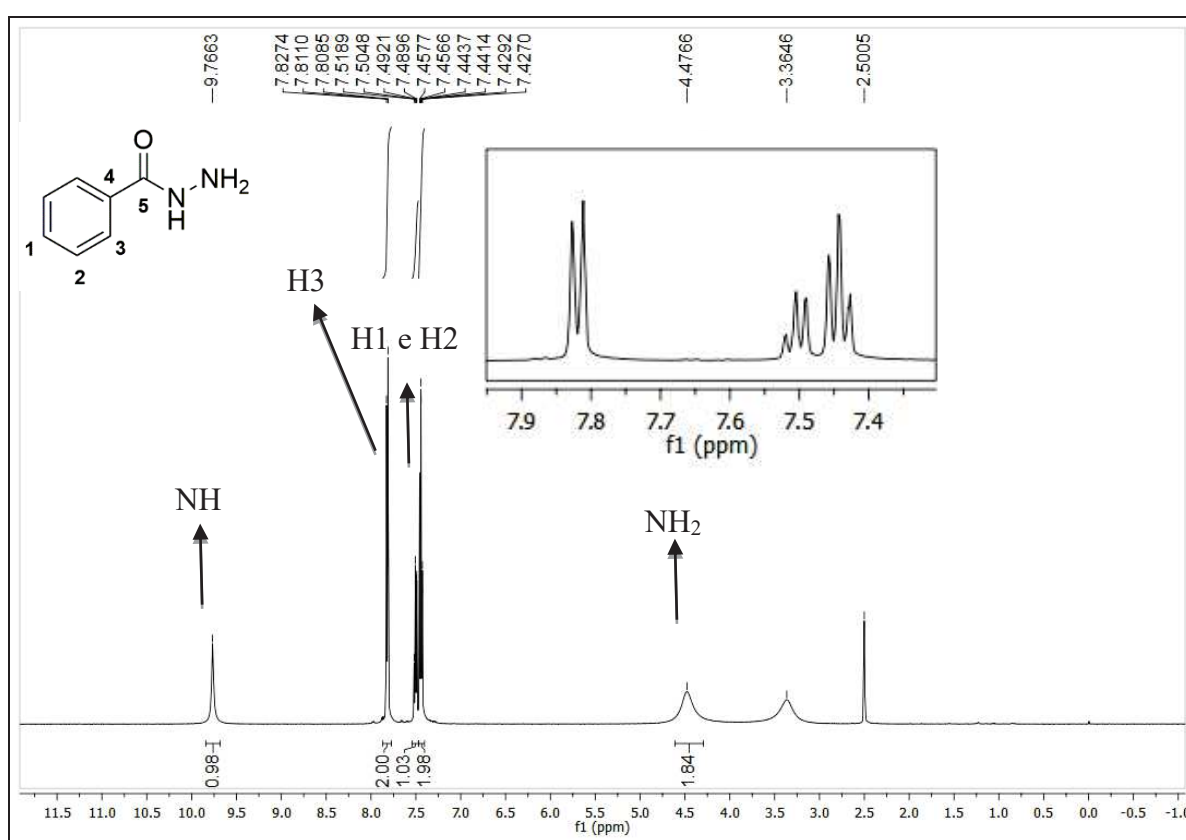
A fenil-hidrazida e 4-metóxi-fenil-hidrazida foram obtidas como descrito por RICCARDI e NICOLETTI (2006). Foi utilizado o éster correspondente **2** e **3**, em reação com a hidrazina (70% m/m) sob refluxo de etanol. O término da reação foi verificado após 24h com auxílio de CCD. As respectivas hidrazidas foram purificadas por recristalização em etanol, obtendo-se cristais brancos com um rendimento de 51



e 45%, respectivamente. A seguir serão discutidos os espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da fenil-hidrazida.

Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 500MHz) (Figura 9) observa-se um multipeto na região de aromático em  $\delta 7,50$  referente ao hidrogênio H1, um multipeto em  $\delta 7,44$  referente ao hidrogênio H2, um multipeto em  $\delta 7,81$  referente ao hidrogênio de H3. Pode-se observar também em  $\delta 9,77$  um simpleto referente ao hidrogênio do NH e um simpleto alargado em  $\delta 4,48$  referente aos hidrogênios do  $\text{NH}_2$ .

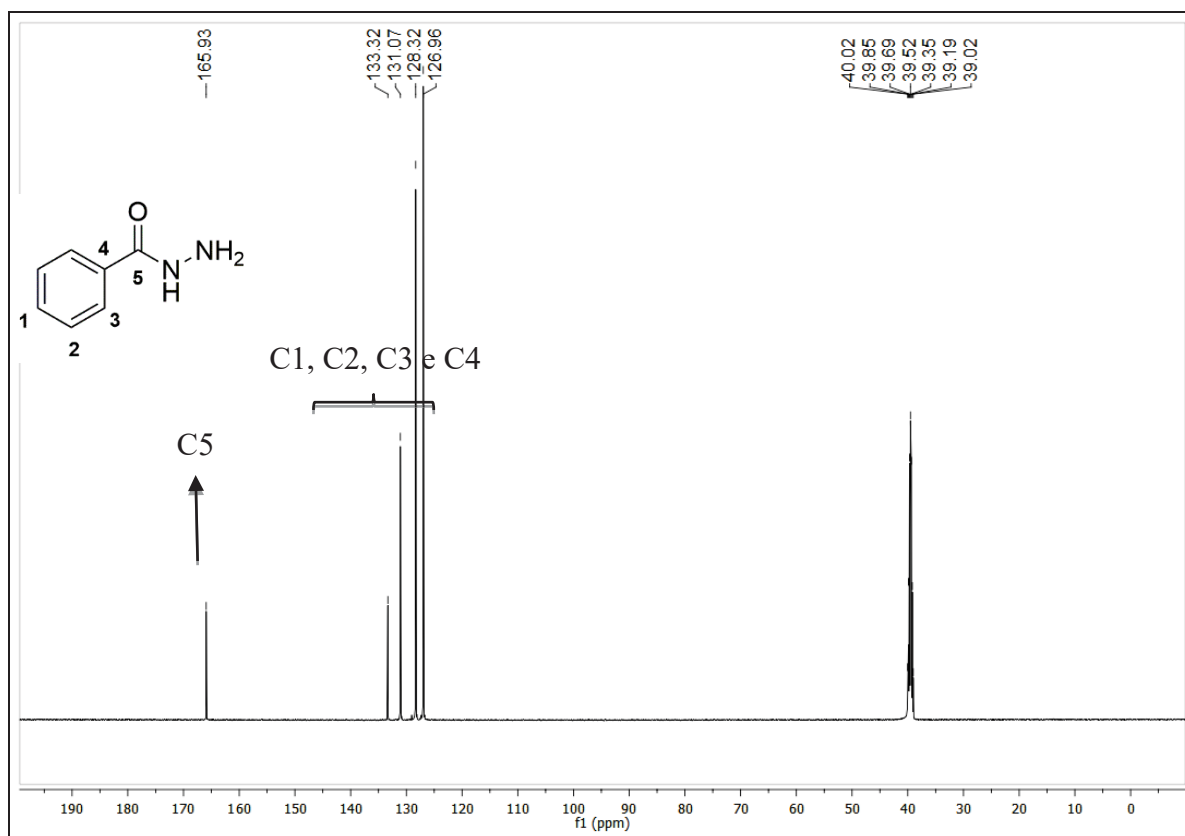
**Figura 9:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 500 MHz) da fenil-hidrazida (**5**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 125MHz) (Figura 10) observam-se os sinais em  $\delta 131,1$  referente a C1, em  $\delta 128,3$  referente a C2, em  $\delta 126,9$  referente a C3 e em  $\delta 133,3$  referente ao carbono não hidrogenado C4. Pode-se observar também em  $\delta 165,9$  o sinal para o carbono não hidrogenado da carbonila (C5).

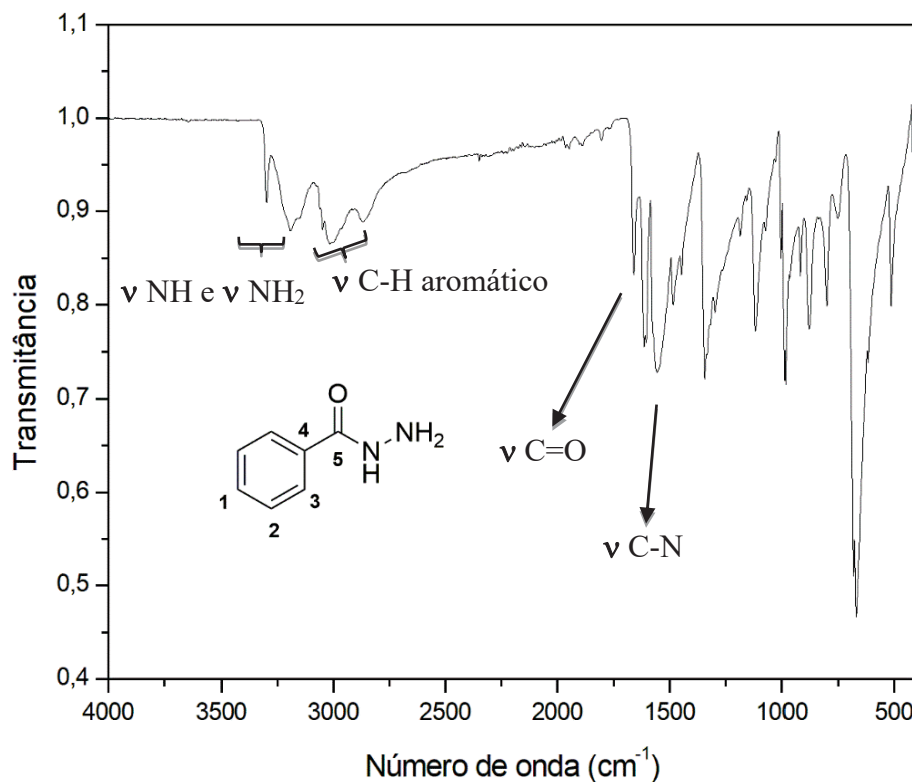
**Figura 10:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 125 MHz) da fenil-hidrazida (**5**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pelo espectro de IV (Figura 11) pode-se observar bandas de absorção em  $3390\text{ cm}^{-1}$  e  $3287\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos N-H e  $\text{NH}_2$ , em  $3118\text{ cm}^{-1}$  e  $2985\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento C-H de aromático, outra banda em  $1741\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C=O e em  $1535\text{ cm}^{-1}$  estiramento referente a ligação C-N.

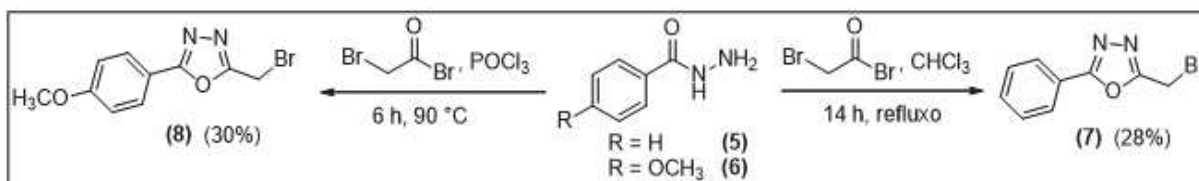
**Figura 11:** Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) da fenil-hidrazida (**5**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.3 SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS OXADIAZÓLICOS **7** E **8** E CARACTERIZAÇÃO DO 2-(BROMOMETIL)-5-FENIL-1,3,4-OXADIAZOL (**7**)

**Esquema 5:** Síntese dos oxadiazóis (**7**) e (**8**)

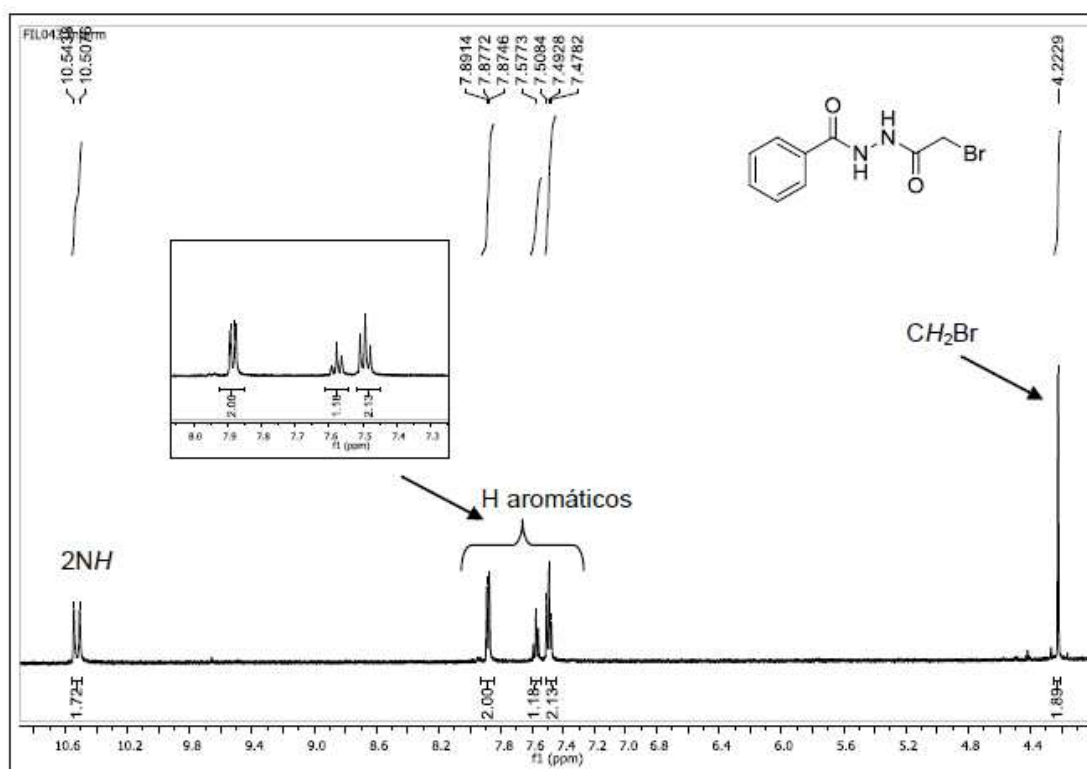


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

O oxadiazol **7** foi obtido com adaptações da metodologia de COTTRELL e colaboradores (2004). A fenil-hidrazida foi submetida à reação com brometo de bromoacetila sob refluxo de CHCl<sub>3</sub>. O término da reação foi verificado após 14h com auxílio de CCD, após observar o consumo total da fenil-hidrazida (**5**). O oxadiazol **7** foi isolado por CCS e obtido sob a forma de um sólido branco com 28% de rendimento. Isolou-se também por CCS um produto que apresentou por CCD um R<sub>f</sub>

(fator de retenção) intermediário ao material de partida (fenil-hidrazida) e o oxadiazol **7**. Esse produto foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 12**) e trata-se do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina, formado inicialmente pela reação da hidrazina com o brometo de bromo acetila. Pelo espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (**Figura 12**) é possível observar os sinais referentes aos dois hidrogênios de NH na região de  $\delta$  10,5ppm, bem como os sinais dos cinco hidrogênios aromáticos na região entre  $\delta$ 7,89-7,48ppm. Pôde-se observar também o sinal referente ao hidrogênio metilênico em  $\delta$ 4,22ppm como um simpleto.

**Figura 12:** Seção expandida do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 500 MHz) do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Foram realizadas diferentes tentativas de síntese do derivado 1,3,4-oxadiazólicos (**7**) no intuito de melhorar o rendimento, como mostrado na Tabela 2. A primeira etapa da reação envolve, em um primeiro momento, a formação do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina, pela reação da hidrazida com o brometo de bromoacetila. Para a etapa de ciclização foram testadas diferentes condições de

reação como descrito na Tabela 2 (LI *et al.*, 2021; EZZAT; RAHMAN, 2013; DE OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Ao todo foram realizadas dezesseis tentativas diferentes, variando o solvente, temperatura, tempo de reação, utilização de bases e reagentes adicionais. Percebe-se que apenas em cinco das tentativas foram possíveis isolar e caracterizar os produtos, com rendimentos que variaram de 7% a 30%.

As entradas 8, 9 e 10 da Tabela 2, mostram as condições de reação que levaram aos melhores rendimentos (7%, 28% e 18%, respectivamente), possibilitando a escolha das condições utilizadas no presente trabalho. Nas tentativas de otimização da reação foi possível observar que a temperatura e o tempo de reação, foram importantes na obtenção do oxadiazol almejado. Isso pode ser notado nas entradas 7 e 8 que mostram que a reação de ciclização em  $\text{CHCl}_3$  à temperatura ambiente (entrada 7) não levou à formação do oxadiazol após 24 horas de reação. Nessas condições observou-se por CCD somente a formação do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina. Já na entrada 8 pode-se notar que o aquecimento da reação à uma temperatura de 60 °C levou a formação do oxadiazol com um rendimento 7% de rendimento. Aumentando-se o tempo de reação para 14 horas levou-se à um aumento do rendimento da reação para 28% (entrada 9). Porém, observou-se que um período de tempo superior à 14 horas levou à um descréscimo no rendimento da reação (18%) como pode ser visto na entrada 10. Um aumento no tempo da reação levou a formação de subprodutos dificultando a purificação do produto almejado. Outros solventes como dimetilsulfóxido, etanol e tolueno também foram testados, sendo que somente com tolueno após 30 horas de reação foi possível obter o oxadiazol com 8% de rendimento (entradas 3 e 4). Nesse caso, observou-se por CCD uma mistura complexa de produtos de difícil separação.

Outras tentativas envolveram o uso de bases como hidróxido de potássio e carbonato de potássio a fim de realizar a remoção do próton facilitando assim a ciclização (entradas 1, 2 e 14). No entanto, em todas essas condições foram observadas por CCD misturas complexas de produtos de difícil purificação, impossibilitando o isolamento do oxadiazol.

Tentou-se também a utilização de iodeto de potássio no intuito de se promover a troca de brometo por iodeto, um melhor grupo abandonador, no reagente brometo de bromo acetila. Esperava-se que nesse caso teríamos uma maior formação do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina o que poderia então levar à um

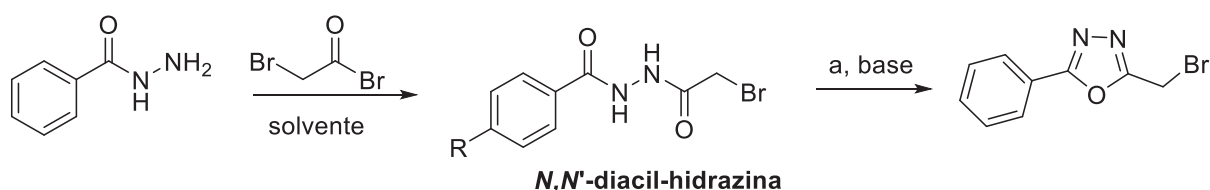
maior rendimento do produto ciclizado. Nesse caso, também foi observado por CCD uma mistura complexa de produtos não conseguindo dessa forma isolar o oxadiazol.

Realizou-se também a reação em meio ácido (entrada 15) no intuito de ativar a carbonila através da sua protonação. A reação foi mantida sob agitação magnética em  $\text{CHCl}_3$  à 60 °C e acompanhada por CCD durante 24 horas. Observou-se, por CCD, a formação do oxadiazol porém não foi possível isolar o mesmo de forma pura devido à formação de subprodutos com Rf próximos.

A literatura relata a obtenção de 1,3,4-oxadiazóis a partir da reação de agentes desidratantes com derivados *N,N'*-acilhidrazinas (LAKSHMITHENDRAL, K. et al., 2019, VINDYA *et al.*, 2020; KASHID *et al.*, 2020). Dessa forma, foram realizadas tentativas de síntese do oxadiazol **7** utilizando-se agentes desidratantes como o cloreto de tosila (TsCl) e cloreto de fosforila ( $\text{POCl}_3$ ) (entradas 5, 6 e 16). Quando foi usado cloreto de tosila como agente desidratante, observou-se por CCD a formação do oxadiazol com 3 horas de reação, porém o mesmo não foi isolado em quantidades suficientes para caracterização. Repetiu-se novamente a reação aumentando-se o tempo para 17 horas, porém percebeu-se a formação de uma mistura complexa de subprodutos sem que houvesse uma progressão na formação do oxadiazol almejado. Por fim, em outra condição de reação foi usado o cloreto de fosforila como agente desidratante, obtendo-se nesse caso o oxadiazol **7** após 6 horas de reação com 30% de rendimento. Destaca-se nessa metodologia como vantagens, em relação a condição descrita na entrada 9, a não utilização de solventes e o menor tempo de reação.

Todas as tentativas, principalmente com maiores temperaturas e maiores tempos reacionais, foram observadas por CCD misturas complexas de produtos de difícil purificação, impossibilitando o isolamento do oxadiazol de forma pura.

**Tabela 2:** Otimização da reação de ciclização *N,N'*-diacil-hidrazina para obtenção do 1,3,4-oxadiazol



Entrada	a	base	Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	-	KOH	Etanol	50	24	nd
2	-	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Etanol	50	10	nd
3	-	-	Tolueno	110	24	-
4	-	-	Tolueno	110	30	8
5	TsCl	-	TEA	t.a.	17	nd
6	TsCl	-	TEA	t.a.	3	nd
7	-	-	CHCl <sub>3</sub>	t.a.	24	-
8	-	-	CHCl <sub>3</sub>	60	7	7
9	-	-	CHCl <sub>3</sub>	60	14	28
10	-	-	CHCl <sub>3</sub>	60	24	18
11	KI	-	DMSO	120	24	nd
12	KI	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMSO	120	24	nd
13	KI	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub>	60	24	nd
14	-	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub>	60	20	nd
15	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	CHCl <sub>3</sub>	60	24	nd
16	POCl <sub>3</sub>	-	-	90	6	30

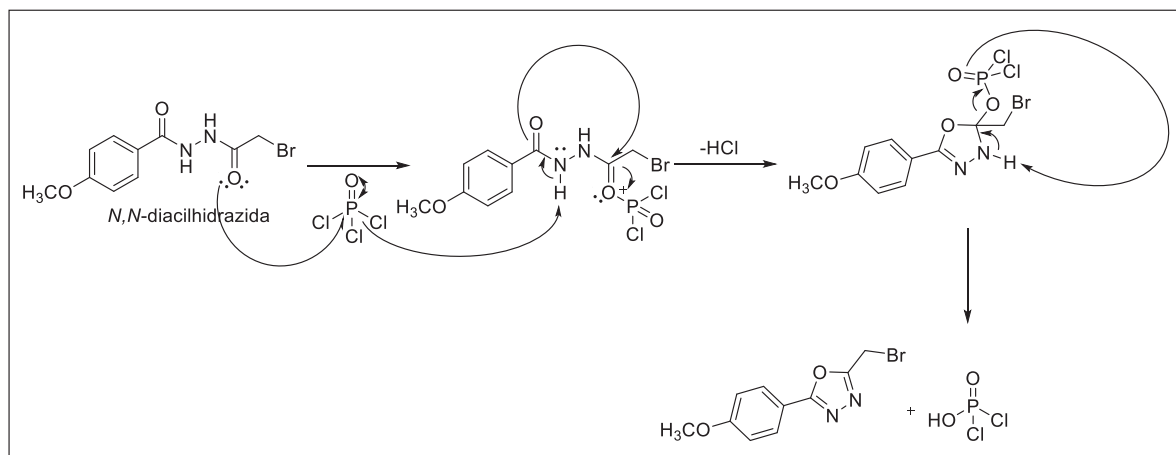
nd: não determinado.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Baseado nos resultados obtidos nas reações de otimização para a obtenção do oxadiazol **7** a condição de reação utilizada para a obtenção do derivado 2-(bromometil)-5-(4-metóxi-fenil)-1,3,4-oxadiazol (**8**) envolveu a reação da 4-metóxi-fenil-hidrazida (**6**) com brometo de bromoacetila e excesso de POCl<sub>3</sub>, sob aquecimento (VINDYA *et al.*, 2020; KASHID *et al.*, 2020). A reação foi acompanhada por CCD e observou-se o término da reação após 6 horas, sendo o oxadiazol desejado obtido com 30% de rendimento na forma de um sólido branco após purificação por CCS.

Uma proposta para a formação do oxadiazol envolveria inicialmente a ativação da carbonila do intermediário *N,N'*-diacil-hidrazina com POCl<sub>3</sub> seguido de ciclização e eliminação de PO(OH)Cl<sub>2</sub> para formar o oxadiazol (**Esquema 6**).

### Esquema 6: Proposta de mecanismo para formação do oxadiazol 8



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

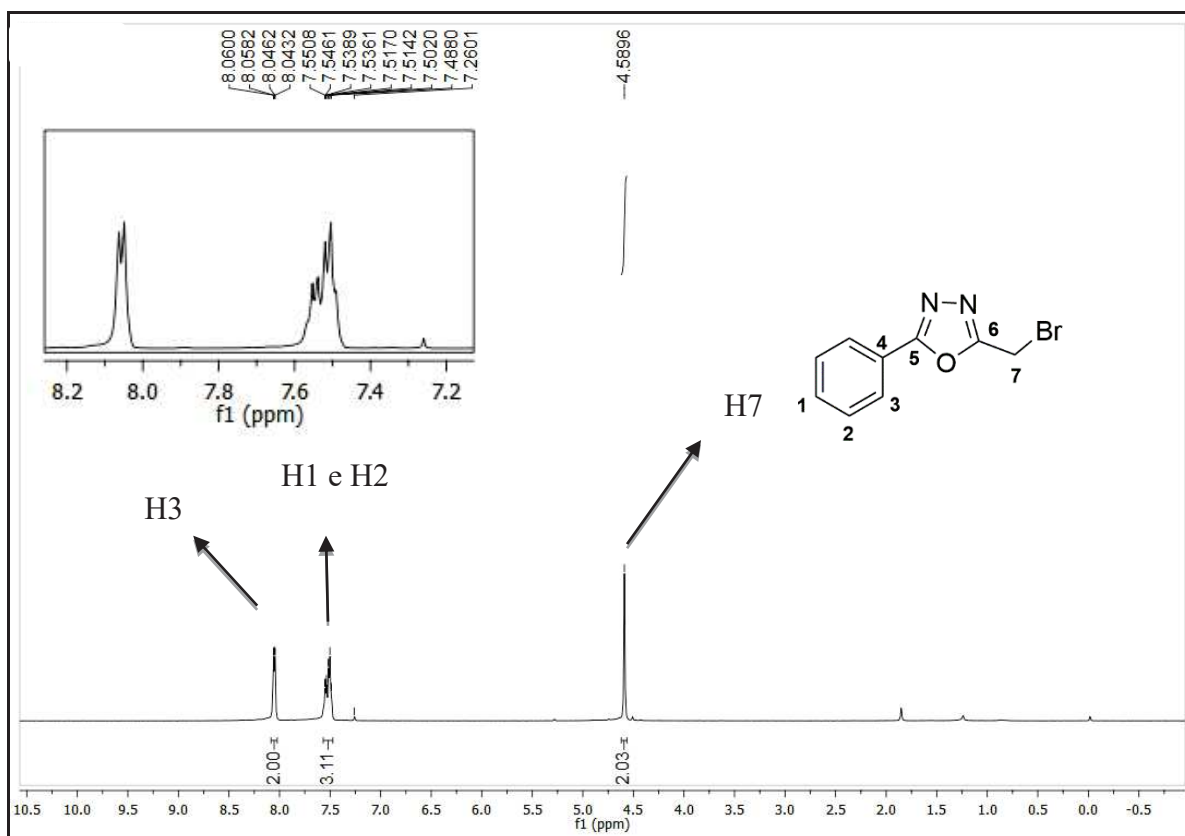
A seguir serão discutidos os espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol.

Pela análise do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500MHz) (Figura 13) observa-se um multipeto na região de aromático entre  $\delta 7,55$ - $7,49$  referente aos hidrogênios H1 e H2 e um multipeto entre  $\delta 8,06$ - $8,04$  referente ao hidrogênio H3. Pode-se observar também em  $\delta 4,59$  um simpleto referente aos hidrogênios metilênicos H7.

Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125MHz) (Figura 14) observam-se sinais na região de carbonos aromáticos em  $\delta 132,2$  referente a C1, em  $\delta 129,2$  referente a C2, em  $\delta 127,1$  referente a C3 e em  $\delta 123,3$  referente ao carbono não hidrogenado C4. Pode-se observar também sinais em  $\delta 165,9$  e  $\delta 162,4$  referentes aos carbonos não hidrogenados do ciclo 1,3,4-oxadizólico C5 e C6, respectivamente, além de um sinal em  $\delta 16,7$  referente ao carbono metilênico C7.

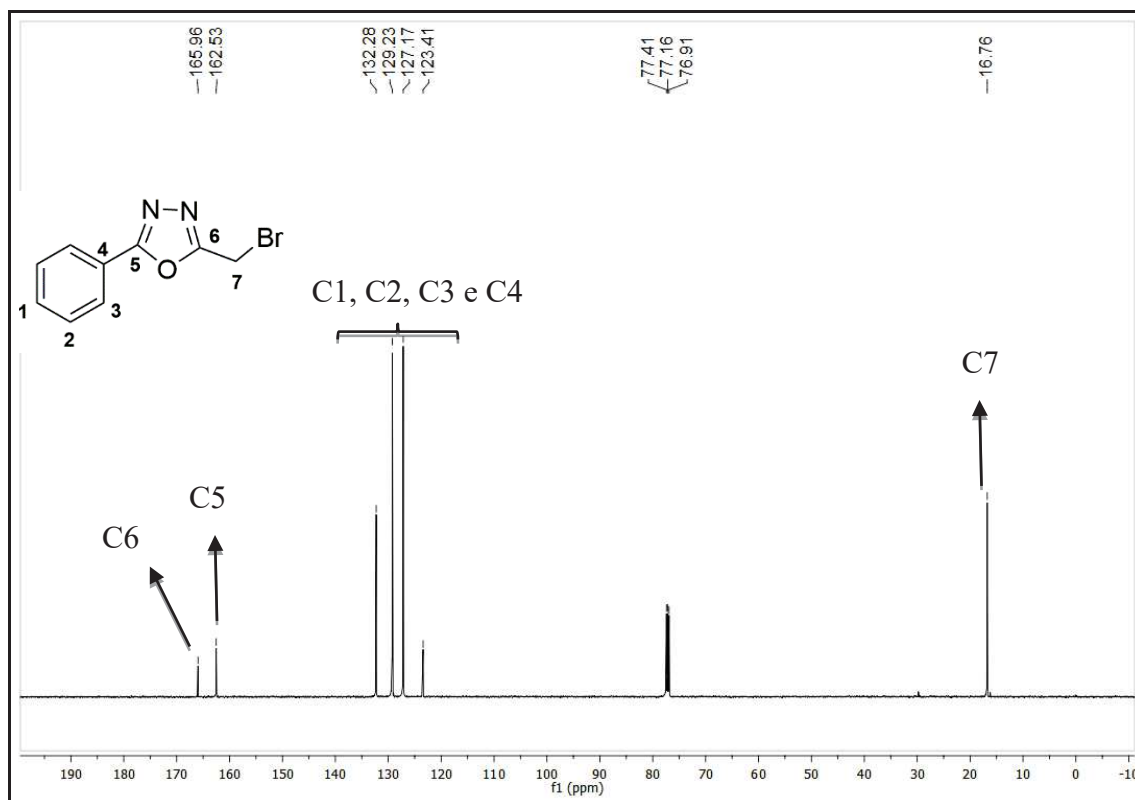


**Figura 13:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto (7).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

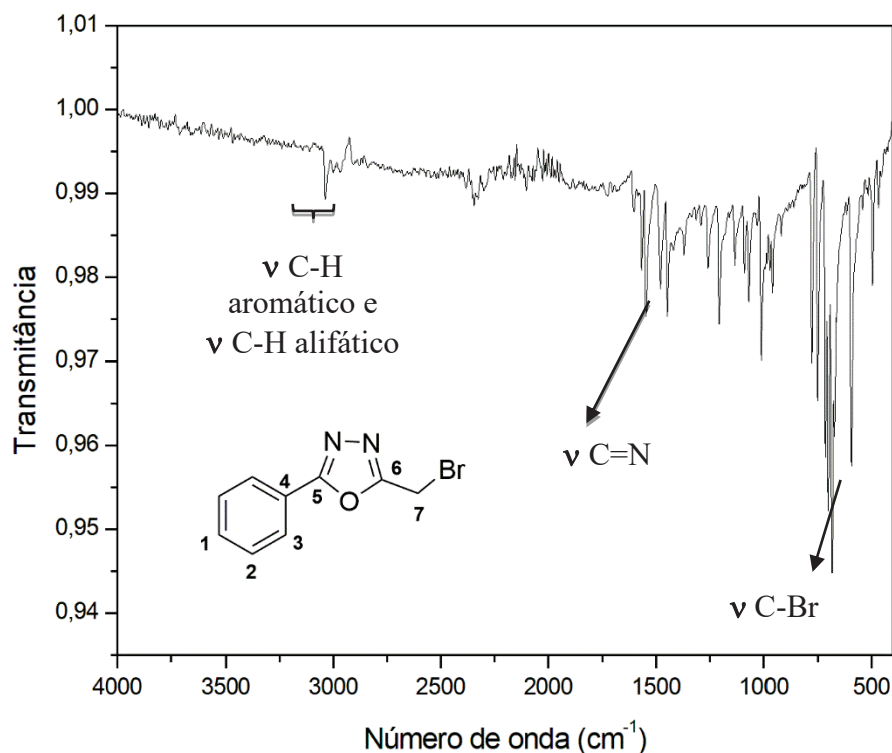
**Figura 14:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (7).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pelo espectro de IV (Figura 15) pode-se observar uma banda de absorção em  $3038\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C-H de aromático, outra banda em  $2968\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C-H alifático, em  $1550\text{ cm}^{-1}$  referente a ligação C=N e em  $593\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C-Br.

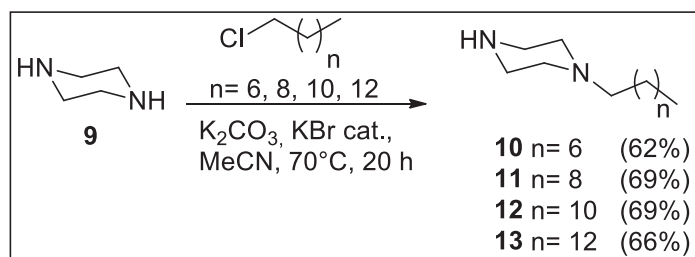
**Figura 15:** Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto (7).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.4 SÍNTESE DAS PIPERAZINAS ALQUILADAS (10-13) E CARACTERIZAÇÃO DA PIPERAZINA 10

**Esquema 7:** Síntese das piperazinas alquiladas **10-13**



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

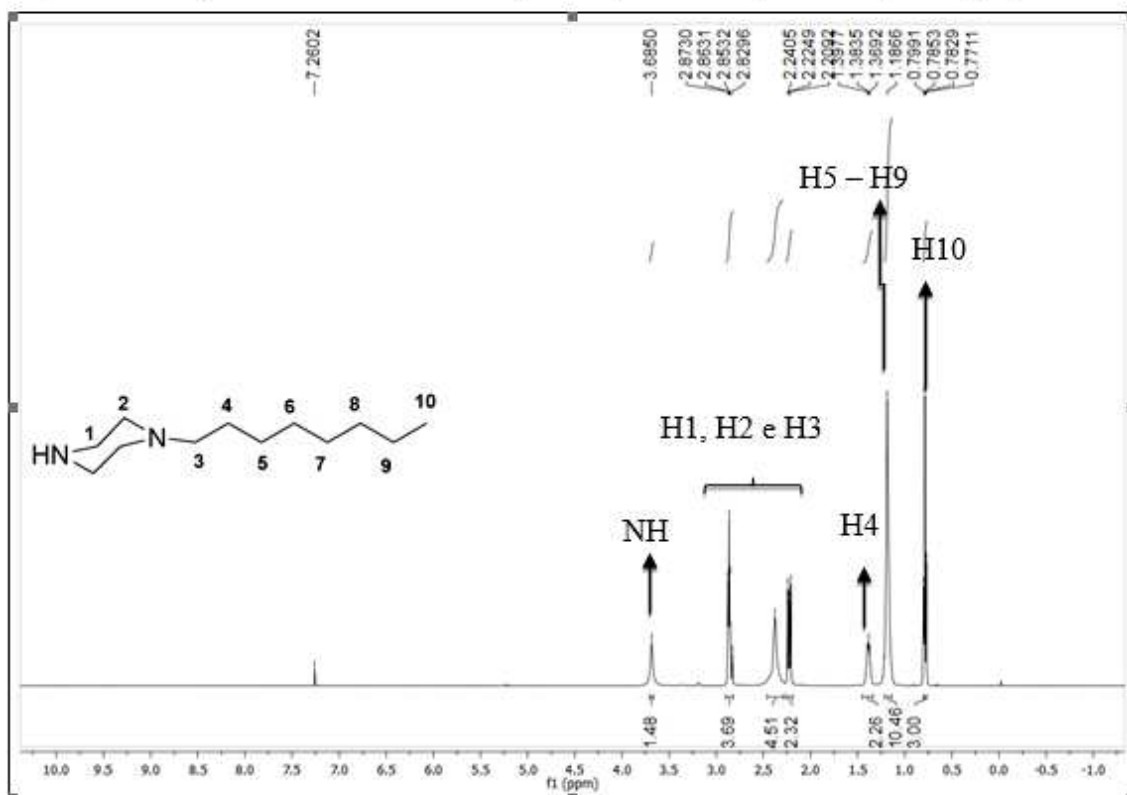
Em outro momento, foi realizada a síntese das diaminas alquiladas derivadas da piperazina (**9**) pela reação desta com haletos de alquila comerciais com cadeia de 8, 10, 12 e 14 átomos de carbono (ALABUGIN; ZEIDAN, 2002). Nesse caso, o haleto de alquila correspondente foi adicionado lentamente a uma solução de piperazina em acetonitrila, na presença de quantidades catalíticas de KBr como indicado no (**Esquema 7**). Após o término da reação, a mistura de reação foi concentrada, extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  sucessivas vezes para remoção do excesso de piperazina, e o resíduo obtido purificado por CCS fornecendo as piperazinas alquiladas **10** à **13** com rendimentos que variaram de 62 a 69%, na forma de sólidos brancos ou óleos incolores.

A seguir serão discutidos os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para piperazina alquilada **10**.

Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500MHz) (Figura 16) observa-se um simpleto largo em  $\delta 3,61$  referente ao hidrogênio do NH da piperazina, um multiplete em  $\delta 2,85$  referentes aos hidrogênios metilênicos H1, um simpleto largo em  $\delta 2,38$  referentes aos hidrogênios metilênicos H2. Pode-se observar também em  $\delta 2,22$  um multiplete referente aos hidrogênios metilênicos H3, um triplete ( $^3J=7,1$  Hz) em  $\delta 1,39$  referente aos hidrogênios H4, um simpleto largo em  $\delta 1,19$  referente aos hidrogênios H5 à H9 e em  $\delta 0,79$  um triplete ( $^3J=6,9$  Hz) referente aos hidrogênios metílicos H10.

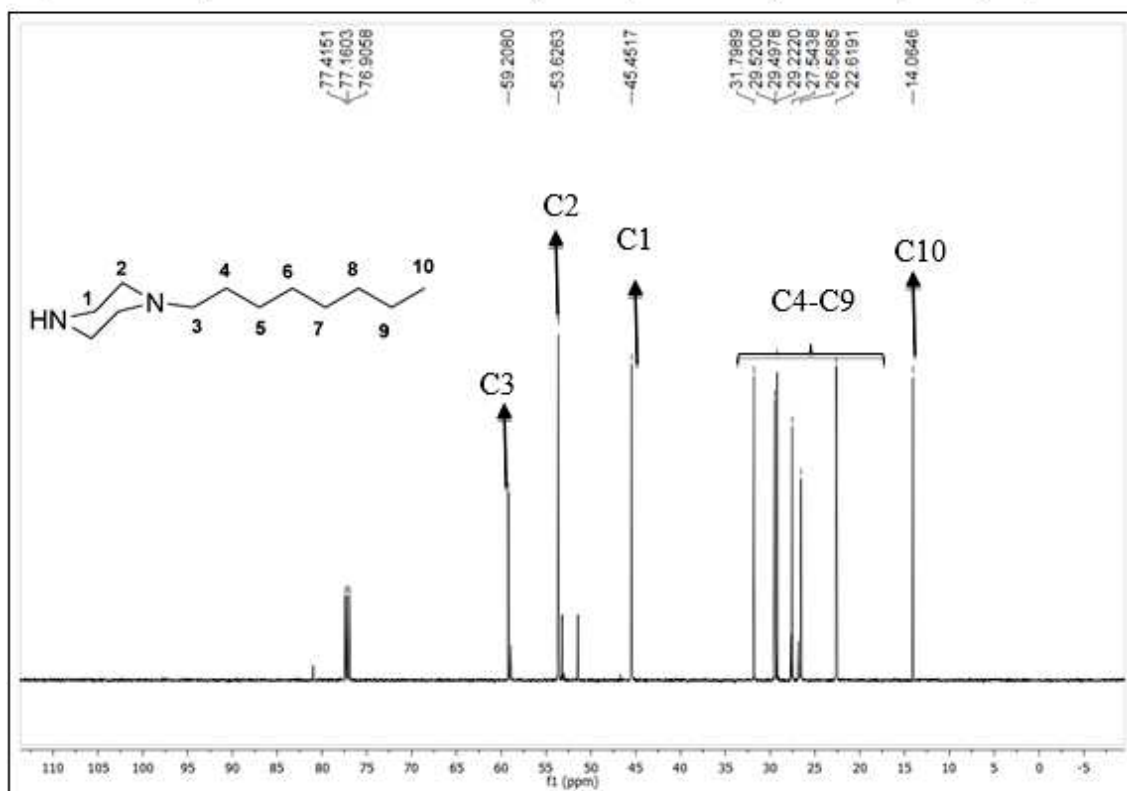
Pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125MHz) (Figura 17) observam-se sinais em:  $\delta 53,6$  referente a C2, em  $\delta 45,5$  referente a C1, em  $\delta 59,2$  referente a C3. Também é possível observar sinais em  $\delta 31,8$  à  $22,6$  referentes aos carbonos metilênicos C4 à C9 e um sinal em  $\delta 14,1$  referente ao carbono metílico C10.

**Figura 16:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(10)**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

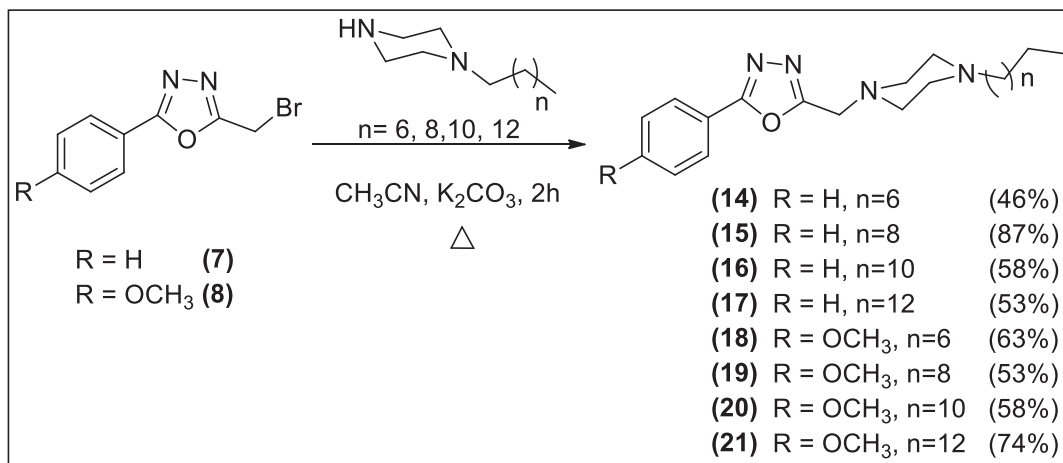
**Figura 17:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(10)**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.5 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS OXADIAZÓIS ACOPLADOS A PIPERAZINA ALQUILADA (14-21)

**Esquema 8:** Síntese dos 1,3,4-oxadiazóis com a piperazina alquilada (**14-21**).

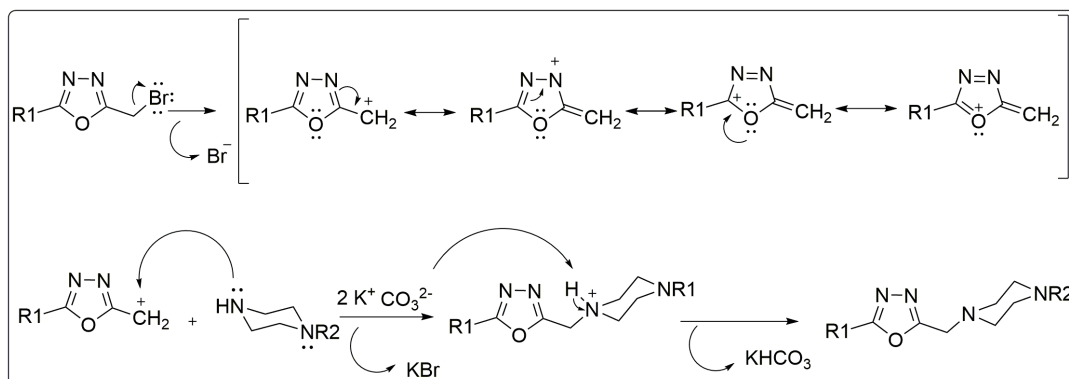


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Os oxadiazóis acoplados a piperazina alquilada foram previamente obtidos a partir da reação dos intermediários 1,3,4-oxadiazólicos (**7**) e (**8**) com as respectivas piperazinas alquiladas **10** à **13**, previamente preparadas, na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (**Esquema 8**). O término da reação foi verificado após 2h com auxílio de CCD e os produtos foram obtidos na forma de sólido após purificação por CCS com rendimentos que variaram de 46% a 87%.

Uma proposta para a formação dos compostos finais **14** à **21** seria por mecanismo do tipo S<sub>N</sub>1, com a formação de um carbocátion estabilizado por ressonância com o anel oxadiazólico, seguido pelo ataque do nucleófilo e posteriormente o composto formado neutralizado pelo carbonato de potássio (**Esquema 9**).

**Esquema 9:** Proposta de mecanismo para formação dos oxadiazóis **14** à **21**.

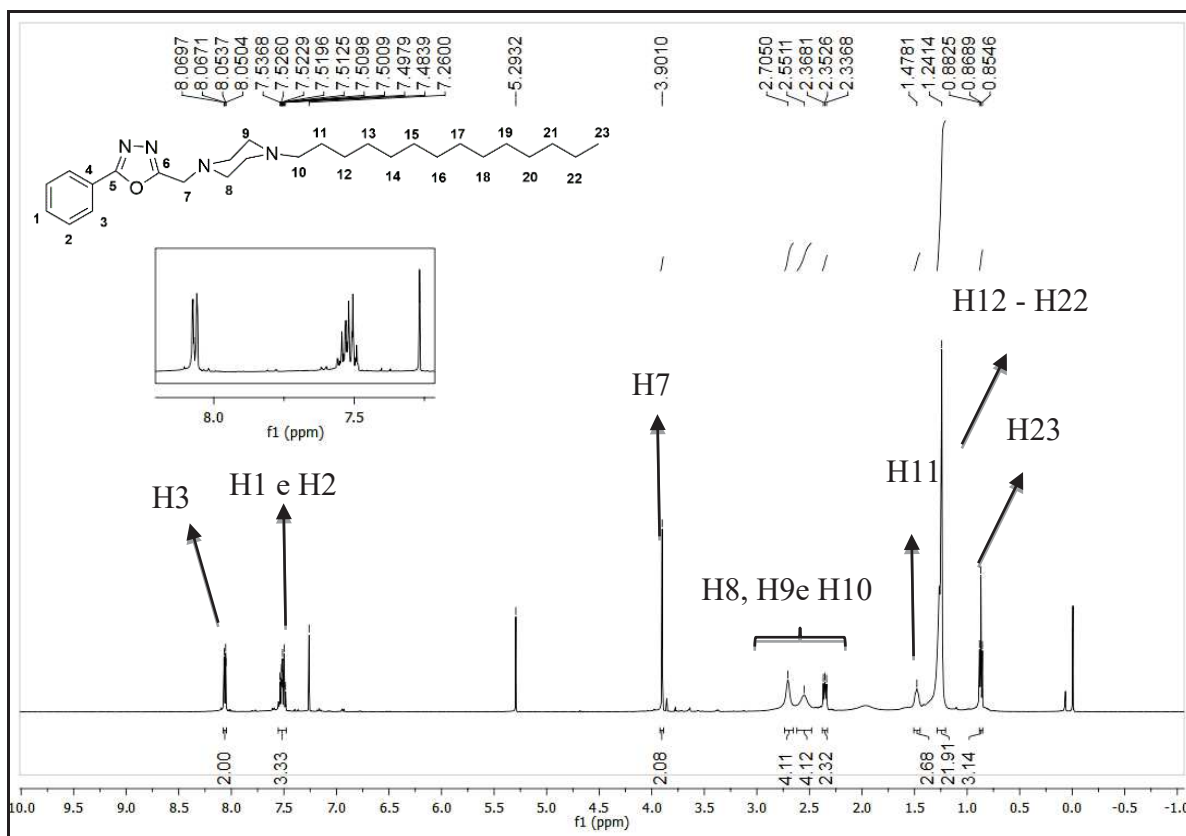


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

A seguir serão discutidos os espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 2-fenil-5-((4-tetradecilpiperazin-1-il)metil)-1,3,4-oxadiazol.

Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500MHz) (Figura 18) observam-se um multipletto na região de aromático entre  $\delta 7,54$ - $7,49$  referente aos hidrogênios H1 e H2, um dupletto em  $\delta 8,06$  referente ao hidrogênio H3. Pode-se observar também em  $\delta 3,91$  um simpleto referente aos hidrogênios metilênicos H7, dois simpletos largos em  $\delta 2,71$  (4H) e em  $\delta 2,56$  (4H) referentes aos hidrogênios metilênicos da piperazina H8 e H9, um triplete  $\delta 2,36$  (2H;  $^3J = 7,5$  Hz) referente aos hidrogênios H10, um simpleto largo em  $\delta 1,49$  (2H) e um multipletto em  $\delta 1,25$  (22H) referente aos hidrogênios da cadeia carbônica (H11-H22). Por último, um triplete em  $\delta 0,88$  (3H;  $^3J = 5,9$  Hz) referente aos hidrogênios metílicos H23 da extremidade da cadeia alquil.

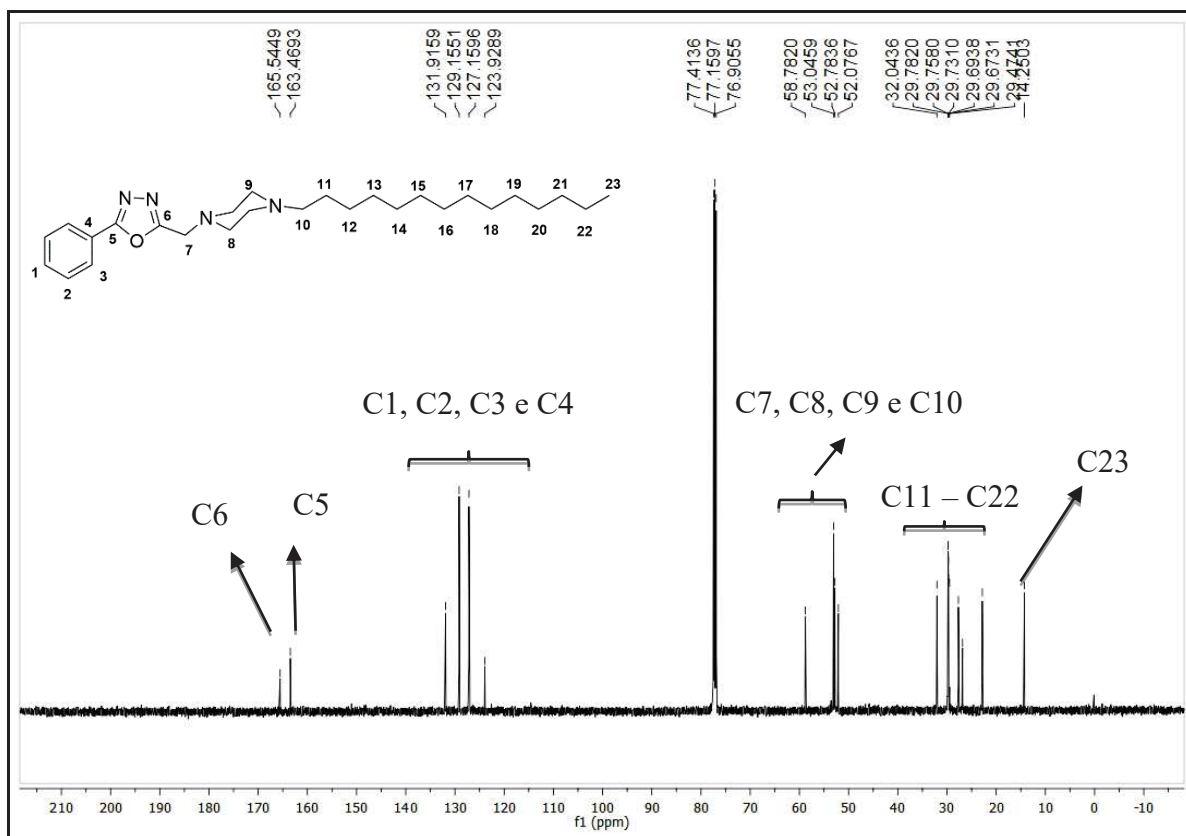
**Figura 18:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto (17).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125MHz) (Figura 19) observam-se os sinais da parte aromática do composto em  $\delta$ 131,9 referente a C1, em  $\delta$ 129,2 referente a C2, em  $\delta$ 127,2 referente a C3 e em  $\delta$ 123,9 referente ao carbono não hidrogenado C4. Pode-se observar também os sinais em  $\delta$ 165,5 e  $\delta$  163,5 referentes aos carbonos não hidrogenados C5 e C6 do ciclo 1,3,4-oxadiazólico, além de sinais em  $\delta$ 58,8 referente ao carbono metilênico, C7 e em  $\delta$ 53,0 e 52,8 referentes aos carbonos metilênicos C8 e C9 da piperazina. Na parte alquil da cadeia carbônica observam-se sinais em  $\delta$ 52,1 referente ao carbono C10, sendo os sinais na faixa de  $\delta$ 32,0 – 22,8 do espectro referentes aos carbonos C11-C22 e por último, em  $\delta$ 14,4 um sinal referente ao carbono C23.

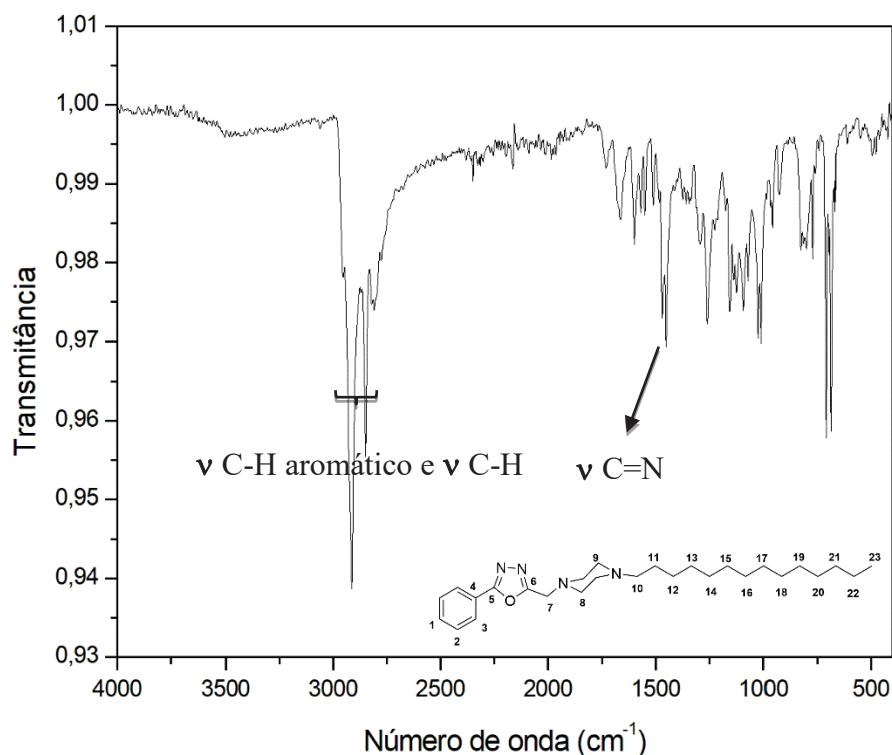
**Figura 19:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (17).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pelo espectro de IV (Figura 20) pode-se observar bandas de absorção em  $3059\text{ cm}^{-1}$  de C-H aromático e  $2993\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C-H alifático e uma banda em  $1521\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento C=N. Observa-se o desaparecimento do estiramento C-Br em  $593\text{ cm}^{-1}$  comparando o espectro de IV do composto (7).



**Figura 20:** Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto (17)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZÓLICOS.

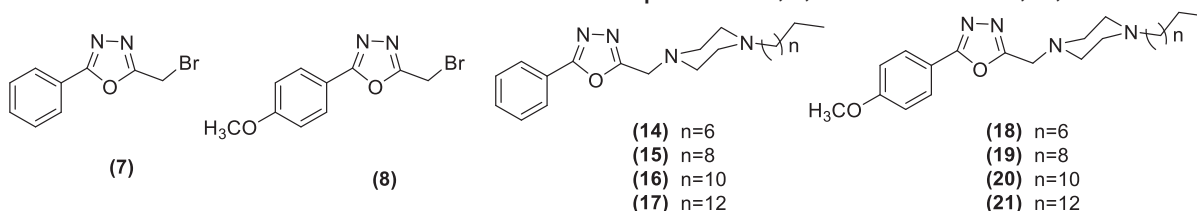
A avaliação da atividade citotóxica dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos foram avaliadas através da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular -  $\text{CI}_{50}$  como descrito na literatura por (HASSANZADEH *et al.*, 2021). Para determinação da viabilidade celular foi feita a distribuição das células em meio a cultura RPMI 1640, adicionado de soro fetal bovino (FBS) 10% v/v, em densidades de  $1 \times 10^3$  (BHK-21),  $1 \times 10^3$  (4T1) e  $1 \times 10^3$  (CT26.WT) células/poço/100 $\mu\text{L}$  em placas de 96 poços e foram devidamente incubadas a 37 °C em atmosfera úmida de  $\text{CO}_2$  por 24 horas para total aderência. Nos poços das placas contendo as células aderidas, foram distribuídos 100  $\mu\text{L}$  de concentrações decrescentes (100 a 1  $\mu\text{M}$ ) do composto a ser testado (DMSO/RPMI <1% v/v), em quadruplicata.

Para o controle negativo foi utilizado 100  $\mu\text{L}$  de meio de cultura suplementado com 10% de FBS. Após exposição por 72h aos compostos em questão, as células foram incubadas com MTT (5 $\mu\text{g}$ /10 $\mu\text{L}$ /poço) por 4 horas. Em seguida, o sobrenadante foi removido por aspiração e 100  $\mu\text{L}$  de DMSO/poço foram

adicionados. A viabilidade células é determinada pela medida da absorbância a 570 nm em espectrofotômetro de microplacas, sendo proporcional á concentração de sais de formazan – produto da redução mitocondrial do MTT nas células viáveis (MOSMANN, 1983).

Dessa forma, os derivados 1,3,4-oxadiazólicos (7, 8 e 14-21) foram analisados *in vitro* pelo método colorimétrico MTT quanto a sua atividade anticâncer contra duas linhagens de células tumorais 4T1 e CT26.WT e uma linha não tumoral BHK-21. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 3.

**Tabela 3:** Dados de citotoxicidade para os 1,3,4-oxadiazóis 7, 8, 14-21.



Compostos	Células tumorais <i>IC<sub>50</sub></i> (μMCS <sub>D</sub> )*			Célula normal <i>IC<sub>50</sub></i> (μM±SD)*	
	4T1	IS	CT26.WT	IS	BHK-21
7	<b>2,6 ± 0,2</b>	<b>1,4</b>	<b>2,6 ± 0,1</b>	<b>1,4</b>	<b>3,6 ± 0,5</b>
8	21,7 ± 1,8	1,1	9,9 ± 0,4	2,5	24,7 ± 0,3
14	22,8 ± 0,7	1,7	35,2 ± 2,7	1,1	37,6 ± 1,4
15	7,6 ± 0,3	3,2	14,7 ± 0,1	1,7	24,5 ± 1,6
16	7,8 ± 0,3	3,3	13,4 ± 0,1	1,9	25,7 ± 1,0
17	<b>5,7 ± 0,6</b>	<b>4,0</b>	17,6 ± 0,7	1,3	22,5 ± 2,2
18	72,2 ± 2,2	0,9	26,4 ± 1,4	2,5	67,0 ± 1,6
19	57,8 ± 2,2	0,4	17,1 ± 0,6	1,5	65,2 ± 0,1
20	15,0 ± 0,1	1,5	15,0 ± 0,6	1,5	23,2 ± 0,4
21	7,3 ± 0,3	3,0	20,4 ± 1,2	1,1	22,0 ± 0,4
<b>Cisplatina</b>	<b>6,2 ± 2,5</b>	<b>2,9</b>	<b>5,0 ± 1,7</b>	<b>3,6</b>	<b>18,1 ± 10,9</b>

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Observa-se pela Tabela 3 que todos os compostos oxadiazólicos sintetizados foram citotóxicos frente as células cancerígenas testadas 4T1 e CT26.WT, com valores de  $CI_{50}$  que variaram de 2,6  $\mu\text{M}$  à 72,2  $\mu\text{M}$  para linhagem celular 4T1 e 2,6  $\mu\text{M}$  à 35,2  $\mu\text{M}$ , índices de seletividades que variaram de 0,4 à 4,0. Como controle positivo foi utilizando a cisplatina, utilizando os dados de GARCIA e colaboradores (GARCIA *et al.*,2016).

Pelos resultados verifica-se que os oxadiazóis **7** e **17** foram mais citotóxicos que a cisplatina, sendo o composto **7** cerca de duas vezes mais citotóxico que o controle positivo com  $IC_{50}$  de 2,6  $\mu\text{M}$  para a célula 4T1 e o composto **17** que foi o mais seletivo com IS de 4,0. Já para célula CT26.WT o composto **7** também foi cerca de duas vezes mais citotóxico que a cisplatina apresentando um  $IC_{50}$  de 2,6  $\mu\text{M}$  porém foi menos seletivo que a mesma (Tabela 3).

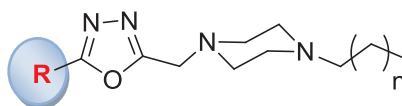
Os melhores resultados foram obtidos para a linhagem celular 4T1 destacando-se o oxadiazol **7** que apresentou  $CI_{50}$  de 2,6  $\mu\text{M}$  sendo o composto mais ativo. Observa-se que com a troca do grupo fenil presente no oxadiazol **7** pelo 4-metoxi fenil (composto **8**) ocorre uma perda significativa da citotoxicidade, sendo o composto **7** cerca de 10 vezes mais ativo que o composto **8** para a célula 4T1. Para a mesma linhagem celular a substituição do brometo nos compostos **7** e **8** pelas piperazinas alquiladas com as cadeias de 8, 10,12 e 14 átomos de carbono, vem acompanhada da perda da atividade citotóxica. O melhor resultado de  $CI_{50}$  é para o composto **17** (5,7  $\mu\text{M}$ ) que apresentou também o melhor IS (4,0). Observa-se que para a célula 4T1 existe uma tendência na atividade citotóxica com o aumento da cadeia carbônica, sendo os oxadiazóis **17** e **21** com a cadeia de 14 átomos de carbono os mais ativos e mais seletivos para essa linhagem celular (Tabela 4).

Para a célula CT26.WT observa-se que os oxadiazóis com 12 átomos de carbono são os mais ativos e que o aumento da cadeia para 14 átomos de carbono a citotoxicidade decresce. Para essa linhagem celular também destaca-se o composto **7** como composto mais ativo com  $CI_{50}$  de 2,6  $\mu\text{M}$  e índice de seletividade de 1,4 sendo o e observa-se o mesmo comportamento de perda de atividade com a substituição do brometo pelas piperazinas alquiladas. Para essa série, pode-se destacar o oxadiazol com cadeia de 12 átomos de carbono com o substituinte fenil composto (**16**) que apresentou  $CI_{50}$  de 13,4  $\mu\text{M}$  e IS de 1,9 sendo o mais seletivo de sua série para essa linhagem celular (Tabela 4). Mas o composto mais seletivo para

esta linhagem celular foi o composto (**18**) com o 4-metoxifenil e cadeia de 8 átomos de carbono que apresentou  $CI_{50}$  de 26,4  $\mu\text{M}$  e IS de 2,5.

Para os oxadiazóis alquilados com a piperazina (Tabela 4), percebe-se que para a linhagem celular 4T1 os melhores resultados foram para a série que possui o substituinte fenil que apresentaram valores de  $CI_{50}$  que variaram de 5,7  $\mu\text{M}$  à 22,8  $\mu\text{M}$  com IS de 1,7 à 4,0. Com destaque para o composto (**17**) contendo 14 átomos de carbono sendo mais citotóxico e mais seletivo.

**Tabela 4:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos ligados ao grupo fenil e 4-metoxifenil.



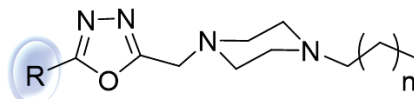
Grupo R	Tamanho da cadeia N-alkil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	$CI_{50}$ ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ ) *		$CI_{50}$ ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ ) *		$CI_{50}$ ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ ) *		$CI_{50}$ ( $\mu\text{M}\pm\text{SD}$ ) *	
	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>
	22,8 ± 0,7	1,7	7,6 ± 0,3	3,2	7,8 ± 0,3	3,3	5,7 ± 0,6	4,0
	72,2 ± 2,2	0,9	57,8 ± 2,2	0,4	15,0 ± 0,1	1,5	7,3 ± 0,3	3,0


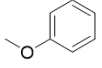
\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Na tabela 5 comparando os substituinte fenil e o 4-metoxifenil, para a linhagem celular CT26.WT os melhores resultados foram para a série que possui o substituinte fenil com 10, 12 e 14 átomos de carbono os compostos (**15**, **16** e **17**) onde obtiveram valores de  $CI_{50}$  que variaram de 13,4  $\mu\text{M}$  à 17,6  $\mu\text{M}$  com IS de 1,3 à 1,9 sendo o composto (**16**) o mais citotóxico. Comparando os compostos (**14** e **18**) com 8 átomos de carbono o mais citotóxico foi o composto (**18**) da série do 4-metoxifenil, além disso foi mais seletivo para as duas séries.

**Tabela 5:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos ligados ao grupo fenil e 4-metoxifenil.



Grupo R	Tamanho da cadeia N-alkil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *	
	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>
	35,2 ± 2,7	1,1	14,7 ± 0,1	1,7	13,4 ± 0,1	1,9	17,6 ± 0,7	1,3
	26,4 ± 1,4	2,5	17,1 ± 0,6	1,5	15,0 ± 0,6	1,5	20,4 ± 1,2	1,1

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Com os resultados obtidos pode-se fazer uma comparação com os dados obtidos por Caneschi (2019) para os derivados 1,2,4-oxadiazólicos acoplados a piperazinas alquiladas. Observa-se na tabela 6 que para a linhagem celular 4T1 os compostos 1,2,4-oxadiazólicos obtiveram melhores resultados, sendo mais citotóxico e mais seletivos.

**Tabela 6:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,2,4-oxadiazólicos.



Grupo R	Tamanho da cadeia <i>N</i> -alquil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	$CI_{50}(\mu M \pm SD)$ *		$CI_{50}(\mu M \pm SD)$ *		$CI_{50}(\mu M \pm SD)$ *		$CI_{50}(\mu M \pm SD)$ *	
	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>
	22,8 ± 0,7	1,7	7,6 ± 0,3	3,2	7,8 ± 0,3	3,3	5,7 ± 0,6	4,0
	12 ± 4	4,7	3,6 ± 0,5	18,4	8 ± 2	8,8	**	**

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

\*\*Derivado não sintetizado

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Já para linhagem de célula CT26.WT os derivados 1,3,4-oxadiazólicos obtiveram melhores resultados como demonstrado na tabela 7, sendo até 5 vezes mais citotóxicos e 2 vezes mais seletivos que os derivados 1,2,4-oxadiazólicos sintetizados por Caneschi (2019). Destaque para o composto (**16**) com cadeia de 12 átomos de carbono, que foi mais seletivo e mais citotóxico de toda a série.

**Tabela 7:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,2,4-oxadiazólicos.



Grupo R	Tamanho da cadeia <i>N</i> -alquil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *	
	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>
	35,2 ± 2,7	1,1	14,7 ± 0,1	1,7	13,4 ± 0,1	1,9	17,6 ± 0,7	1,3
	70 ± 2	0,8	60 ± 1	1,1	78 ± 4	0,9	**	**

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

\*\*Derivado não sintetizado

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Ainda fazendo uma comparação com os resultados obtidos por Caneschi e colaboradores (2019), na tabela 8, é possível observar a influência do tipo de anel 1,3,4-oxadiazólico quando comparando com o anel 1,3,4-oxadiazol-2-tiona. Para a linhagem celular 4T1 os compostos **20** e **21** contendo cadeias 12 e 14 átomos de carbono respectivamente, foram cerca de até 3 vezes mais citotóxicos e 3 vezes mais seletivos que os compostos descritos por Caneschi e colaboradores em 2019.

**Tabela 8:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular 4T1, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos (**18-21**) e 1,3,4-oxadiazólicos-2-tiona ligados ao 4-metoxifenil.



Grupo R	Tamanho da cadeia N-alkil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *	
	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>	4T1	IS <sub>BHK-21</sub>
	72,2 ± 2,2	0,9	57,8 ± 2,2	0,4	15,0 ± 0,1	1,5	7,3 ± 0,3	3,0
	**	**	35 ± 2	0,6	24 ± 2	0,9	22 ± 2	0,9

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

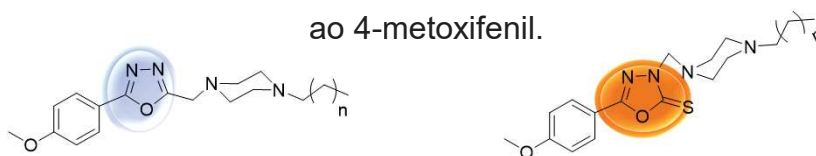
\*\*Derivado não sintetizado

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Já para a linhagem celular CT26.WT (Tabela 9) percebe-se que os derivados 1,3,4-oxadiazol-2-tiona são mais ativos e mais seletivos, destacando o composto com cadeia de 12 átomos de carbono com CI<sub>50</sub> de 1,6 μM e índice de seletividade de 13,8., apresentando o mesmo perfil para os derivados 1,3,4-oxadiazólicos, sendo os derivados contendo 12 átomos de carbono o mais ativo e mais seletivo da série.



**Tabela 9:** Comparação da atividade citotóxica, para a linhagem celular CT26.WT, entre derivados 1,3,4-oxadiazólicos e 1,3,4-oxadiazólicos-2-tiona ligados ao 4-metoxifenil.



Grupo R	Tamanho da cadeia N-alkil							
	8 carbonos		10 carbonos		12 carbonos		14 carbonos	
	CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *		CI <sub>50</sub> (μM±SD) *	
	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>	CT26.WT	IS <sub>BHK-21</sub>
	26,4 ± 1,4	2,5	17,1 ± 0,6	1,5	15,0 ± 0,6	1,5	20,4 ± 1,2	1,1
	**	**	3,9 ± 0,1	5,6	1,6 ± 0,7	13,8	3,4 ± 0,2	6,2

\*Desvio padrão da triplicata de dois experimentos independentes.

\*\*Derivado não sintetizado

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

Será descrito abaixo a parte experimental aplicada para realização neste projeto.

### 5.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção será explicitado todos os materiais e métodos utilizados neste projeto.

#### 5.1.1 Síntese e caracterização dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos e seus precursores.

Os reagentes e solventes utilizados durante o projeto para realização das sínteses e purificações dos compostos foram todas das marcas Merck, Vetec e Sigma Aldrich, sem pré-purificação.

O andamento das reações e a verificação da pureza dos compostos sintetizados foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada, utilizando para tal sílica em gel 60G (254 nm) em lâminas de vidro e para revelação foram utilizados luz ultravioleta e vapores de iodo.

Para a realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  os espectros foram obtidos em equipamento BRUKER AVANCE III 500 MHz, com frequência de 500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Como referência interna foi utilizado o TMS (tetrametilsilano).

Os espectros de infravermelho foram obtidos em um espectrômetro BRUKER ALPHAFT-IR MB 102, utilizando a técnica ATR (Attenuated Total Reflectance).

Todos os compostos sintetizados e análises realizadas durante o projeto foram realizadas no Departamento de Química da UFJF.

### **5.1.2 Avaliação da atividade antitumoral dos derivados 1,3,4-oxadiazólicos sintetizados em linhagens de células animais.**

Para a avaliação antitumoral foram utilizadas linhas de células tumorais 4T1 - célula de carcinoma de mama murinho, CT26.WT – célula de carcinoma do cólon murinho e BHK-21 -célula não tumoral de rim de hamster jovem. As diferentes linhagens de celulares utilizadas foram devidamente propagadas em meio de cultura RPMI 1640, pH 7,4, suplementando com soro fetal bovino (FBS- Fetal Bovine Serum) 10% v/v, Hepes (4,0 mmol/L),  $\text{NaHCO}_3$  (14,0 mmol/L), ampicilina (0,27 mmol/L) e estreptomicina (0,06 mmol/L) em atmosfera úmida e 5%(v/v) de  $\text{CO}_2$ .

A viabilidade células foi determinada pela medida da absorbância a 570 nm em espectrofotômetro de microplacas, e os dados foram tratados utilizando o software GraphPad Prism 6®.

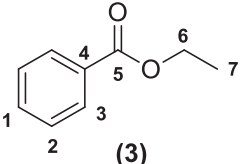
Todos os procedimentos para avaliação da atividade antitumoral foram realizados no Laboratório de Síntese e Interações Bioinorgânicas (Siblab) do Departamento de Química da UFMG, sob supervisão da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Heveline Silva.

## **5.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DO BENZOATO DE ETILA E 4-METÓXI BENZOATO DE ETILA**

Em um balão de fundo redondo foram adicionados, separadamente, 30 mmol dos ácidos benzóico ou 4-metóxi benzóico, 2 mL de ácido sulfúrico em 35 mL de etanol. A mistura reacional foi deixada sob aquecimento e agitação magnética por 72h. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; revelador: luz ultravioleta) e após o término da reação, o solvente foi rotaevaporado e em seguida

fez-se sucessivas extrações líquido-líquido utilizando éter etílico e água destilada. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente rotaevaporado. O benzoato de etila e o 4-metóxi-benzoato de etila foram obtidos na forma de um óleo amarelo com rendimentos de 90 e 87%, respectivamente. Os dados físico-químicos e espectroscópicos para os ésteres **3** e **4** estão descritos a seguir.

**Figura 21:** Dados obtidos para o benzoato de etila

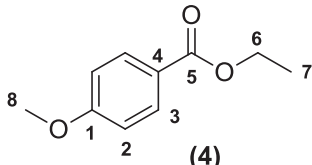
<p><b>benzoato de etila</b></p>  <p><b>(3)</b></p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>  <b>Massa molar:</b> 150 g mol<sup>-1</sup>  <b>Estado físico:</b> Oléo amarelo  <b>Faixa de fusão:</b> --  <b>Rendimento:</b> 90%</p>
---	--

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz) δ(ppm):** 7,54 (1H; m; H1); 7,42 (2H; m; H2); 8,05 (2H; m; H3); 4,38 (2H; q; <sup>3</sup>J=7,15 Hz; H6); 1,39 (3H; t; <sup>3</sup>J=7,15 Hz; H7).

**RMN de <sup>13</sup>C: (CDCl<sub>3</sub>; 125 MHz) δ(ppm):** 132,9 (C1); 128,4 (C2); 129,6 (C3); 130,6 (C4); 166,7 (C5); 61,2 (C6); 14,4 (C7).

**Figura 22:** Dados obtidos para o 4-metoxibenzoato de etila

<p><b>4-metoxibenzoato de etila</b></p>  <p><b>(4)</b></p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>  <b>Massa molar:</b> 180 g mol<sup>-1</sup>  <b>Estado físico:</b> Oléo amarelo  <b>Faixa de fusão:</b> --  <b>Rendimento:</b> 87%</p>
---	---

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

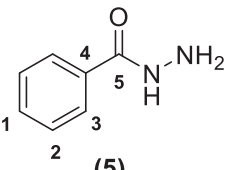
**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz) δ(ppm):** 6,82 (2H; m; H2); 7,92 (2H; m; H3); 4,26 (2H; q; <sup>3</sup>J=7,2 Hz; H6); 1,30 (3H; t; <sup>3</sup>J=7,2 Hz; H7); 3,73 (3H; s; H8).

**RMN de <sup>13</sup>C: (CDCl<sub>3</sub>; 125 MHz) δ(ppm):** 163,1 (C1); 113,4 (C2); 131,4 (C3); 122,7 (C4); 166,1 (C5); 60,4 (C6); 14,2 (C7); 55,1 (C8).

### 5.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A OBTENÇÃO DA FENIL-HIDRAZIDA (5) E 4-METÓXI FENIL-HIDRAZIDA (6)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados, separadamente, 1,0 equivalente de benzoato de etila (42 mmol) ou 1,0 equivalente de 4-metóxi-benzoato de etila (42 mmol), 2,0 equivalentes de hidrazina (70%*m/m*) (84 mmol) em 30 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e agitação magnética por 24 horas e a reação foi acompanhada por CCD (eluente:100% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; reveladores: luz ultravioleta e iodo). Após o término da reação o solvente foi rotaevaporado e o sólido resultante recristalizado em etanol. As hidrazidas **5** e **6** foram obtidas sob a forma de cristais branco, após filtração a vácuo e lavagem com etanol a frio, com rendimentos de 51 e 45%, respectivamente. Os dados físico-químicos e espectroscópicos para as hidrazidas estão descritos abaixo.

**Figura 23:** Dados obtidos para a fenil-hidrazida

Fenilhidrazida	
 <p>(5)</p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O</p> <p><b>Massa molar:</b> 136 g·mol<sup>-1</sup></p> <p><b>Estado físico:</b> Cristal branco</p> <p><b>Faixa de fusão:</b> 136°C - 138 °C</p> <p><b>Rendimento:</b> 51%</p>

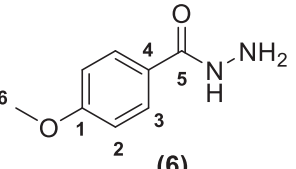
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>):** 3390 (N-H); 3287 (NH<sub>2</sub>); 3118 e 2985 (C-H de aromático); 1741 (C=O); 1535 (C-N).

**RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,50 (1H; m; H1); 7,44 (2H; m; H2); 7,81 (2H; m; H3); 9,77 (1H; s; NH); 4,48 (2H; s; NH<sub>2</sub>).

**RMN de <sup>13</sup>C: (DMSO-*d*<sub>6</sub>; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 131,1 (C1); 128,3 (C2); 126,9 (C3); 133,3 (C4); 165,9 (C5).

**Figura 24:** Dados obtidos para a 4-metoxifenil-hidrazida

4-metoxifenilhidrazida	
 <p>(6)</p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub></p> <p><b>Massa molar:</b> 166 g·mol<sup>-1</sup></p> <p><b>Estado físico:</b> Cristal branco</p> <p><b>Faixa de fusão:</b> 112°C - 114 °C</p> <p><b>Rendimento:</b> 45%</p>

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>):** 3323 (N-H); 3200 (NH<sub>2</sub>); 3051 e 2956 (C-H aromático); 2841 (C-H alifático); 1618 (C=O); 1496 (C-N); 1245 (C-O).

**RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,79 (2H; d;  $^3J=8,85$  Hz; H3); 6,98 (2H; d;  $^3J=8,75$  Hz; H2); 9,61 (1H; s; NH); 4,41 (2H; s; NH $_2$ ).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : (DMSO- $d_6$ ; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 161,5 (C1); 113,6 (C2); 128,7 (C3); 125,5 (C4); 165,6 (C5); 55,3 (C6).

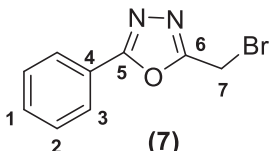
#### 5.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS 7 E 8

Será descrito abaixo procedimento geral para síntese dos oxadiazóis sintetizados neste projeto

##### 5.4.1 Procedimento para obtenção do 2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol (7).

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,0 equivalente da fenil-hidrazida (1,0 mmol) em 10 mL de clorofórmio. Em seguida adicionou-se lentamente 1,35 equivalentes de brometo de bromo acetila (1,35 mmol) solubilizado em 10 mL de clorofórmio. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e agitação magnética por 14h. A reação foi acompanhada por CCD (CCD (eluentes: 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e 90%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  com 10% MeOH; reveladores: luz ultravioleta e iodo). Após o término da reação, o solvente foi rotaevaporado e purificado através de uma CCS obtendo o produto em forma de um sólido branco após a purificação (eluyente: 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) com rendimento de 28%. Os dados físico-químicos e espectroscópicos do oxadiazol estão descritos a seguir.

**Figura 25:** Dados obtidos para o 2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol

<p><b>2-(bromometil)-5-fenil-1,3,4-oxadiazol</b></p>  <p>(7)</p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> <math>\text{C}_9\text{H}_7\text{BrN}_2\text{O}</math>  <b>Massa molar:</b> <math>239 \text{ g mol}^{-1}</math>  <b>Estado físico:</b> Sólido branco  <b>Faixa de fusão:</b> <math>114,7^\circ\text{C} - 116,6^\circ\text{C}</math>  <b>Rendimento:</b> 28%</p>
---	---

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 3059 (C-H de aromático); 2968 (C-H alifático); 1550 (C=N); 593 (C-Br).

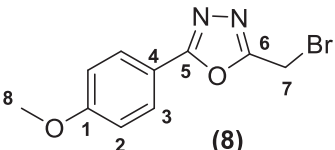
**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,51 (3H; m; H1 e H2); 8,06 (2H; m; H3); 4,59 (2H; s; H7).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 132,2 (C1); 129,2 (C2); 127,1 (C3); 123,3 (C4); 165,9 (C5); 162,4 (C6); 16,6 (C7).

#### 5.4.2 Procedimento para obtenção do 2-(bromometil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol (8).

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,0 equivalente da 4-metóxiifenil-hidrazida (0,3 mmol) em 1,5 mL de cloreto de fosforila ( $\text{POCl}_3$ ). Após solubilização da respectiva hidrazida, adicionou-se lentamente 1,0 equivalente de brometo de bromo acetila (0,3 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética e aquecimento ( $90\text{ }^\circ\text{C}$ ) por 6h e acompanhada por CCD (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 9,5:0,5; reveladores: luz ultravioleta e iodo). Após o término da reação, a mistura ficou em repouso na geladeira por 18 horas sendo em seguida neutralizada com  $\text{NaHCO}_3$  e o sólido removido por filtração à vácuo e lavado com água gelada. O sólido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (eluente: 100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e obtido com rendimento de 28%. Os dados físico-químicos e espectroscópicos do oxadiazol **8** estão descritos a seguir.

**Figura 26:** Dados obtidos para o 2-(bromometil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol (**8**)

<p><b>2-(bromometil)-5-(4-metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol</b></p>  <p>(8)</p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> <math>\text{C}_{10}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_2</math>  <b>Massa molar:</b> <math>269\text{ gmol}^{-1}</math>  <b>Estado físico:</b> Sólido branco  <b>Faixa de fusão:</b> <math>87,5^\circ\text{C} - 88,8^\circ\text{C}</math>  <b>Rendimento:</b> 30%</p>
---	--

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2927 (C-H de aromático); 2845 (C-H alifático);  $-(\text{C}=\text{N})$ ; 1256 (C-O); 658 (C-Br).

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,01 (2H; d;  $^3J=8,8\text{ Hz}$ ; H2); 8,00 (2H; d;  $^3J=8,7\text{ Hz}$  H3); 4,59 (2H; s; H7); 3,88 (3H; s; H8)

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 162,0 (C1); 114,7 (C2); 129,0 (C3); 115,9 (C4); 165,9 (C5); 162,8 (C6); 16,6 (C7); 55,61 (C8).

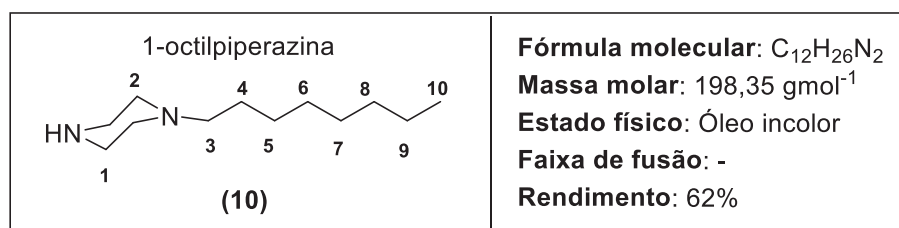
#### 5.5 Procedimento geral para a síntese das piperazina alquilada (10-13).

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 2,0 equivalentes da piperazina (10,0 mmol), 2,5 equivalentes de carbonato de potássio e brometo de

potássio de forma catalítica em 40 mL de acetonitrila. Em seguida o cloreto de alquila com cadeias que variaram de 8, 10,12 e 14 átomos de carbono foram solubilizados em 20 mL de acetonitrila e adicionados por gotejamento lentamente com auxílio de um funil de adição.

A mistura reacional foi deixada sob refluxo e agitação magnética por 2h. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 95%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com 5% MeOH; reveladores: ultravioleta e iodo) e após o término da reação, o solvente foi rotaevaporado, e em seguida fez-se sucessivas extrações líquido-líquido utilizando diclorometano e água destilada. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente rotaevaporado. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: gradiente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 95%/5% v/v), obtendo-se os produtos desejados 20 e 21 na forma de óleo incolor, 22 e 23 na forma de sólidos brancos com rendimentos que variaram de 62% a 69%. Os dados físico-químicos e espectroscópicos das piperazinas alquiladas **10-13** estão descritos a seguir:

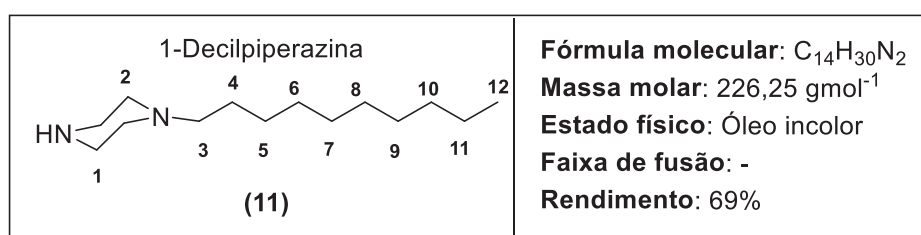
**Figura 27:** Dados obtidos para piperazina alquilada (**10**)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz) δ(ppm):** 3,61 (1H; sl; NH); 2,85 (4H; s; H1); 2,38 (4H; s; H2); 2,22 (2H; t; <sup>3</sup>J = 7,1 Hz; H3), 1,39 (2H; s; H4); 1,19 (10H, sl, H5 – H9 (CH<sub>2</sub>)); 0,79 (3H; t; <sup>3</sup>J = 7,0 Hz; H10).

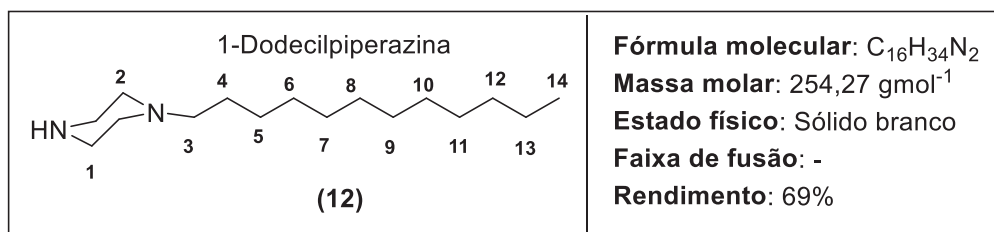
**Figura 28:** Dados obtidos para piperazina alquilada (**11**)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 5,54 (1H; sl; NH); 3,08 (4H; s; H1); 2,59 (4H; s; H2); 2,29 (2H; t;  $^3J = 7,1$  Hz; H3), 1,43 (2H; s; H4); 1,21 (14H, sl, H5 – H11 ( $\text{CH}_2$ )); 0,83 (3H; t;  $^3J = 7,0$  Hz; H12).

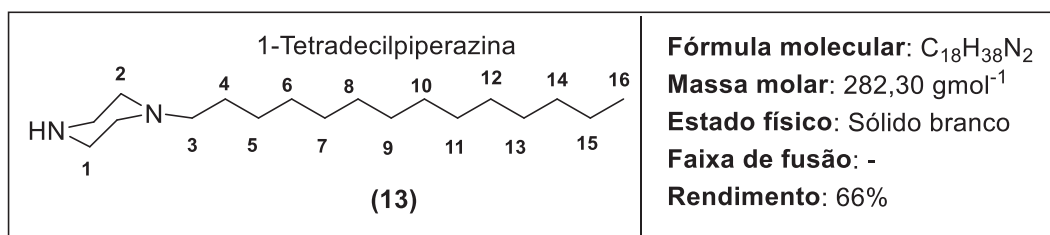
**Figura 29:** Dados obtidos para piperazina alquilada (12)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 5,67 (1H; sl; NH); 3,35 (4H; s; H1); 2,82 (4H; s; H2); 2,19 (2H; t;  $^3J = 6,9$  Hz; H3), 1,39 (2H; s; H4); 1,19 (18H, sl, H5 – H13 ( $\text{CH}_2$ )); 0,79 (3H; t;  $^3J = 7,0$  Hz; H14).

**Figura 30:** Dados obtidos para piperazina alquilada (13)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

5,73 (1H; sl; NH); 3,39 (4H; s; H1); 2,94 (4H; s; H2); 2,27 (2H; t;  $^3J = 7,0$  Hz; H3), 1,46 (2H; s; H4); 1,26 (22H, sl, H5 – H15 ( $\text{CH}_2$ )); 0,86 (3H; t;  $^3J = 7,0$  Hz; H16).

5.6 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZÓLICOS ACOPLADOS A PIPERAZINA ALQUILADA (14-21).



Em um balão de fundo redondo foram adicionados 1,0 equivalente do oxadiazol **7** ou **8** (1,0 mmol), 2,0 equivalentes da respectiva piperazina alquilada (2,0 mmol), 2,5 equivalentes de carbonato de potássio em 15 mL de acetonitrila. A mistura reacional foi deixada sob refluxo e agitação magnética por 2h. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 95%CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com 5% MeOH; reveladores: ultravioleta e iodo) e após o término da reação, o solvente foi rotaevaporado, e em seguida fez-se sucessivas extrações líquido-líquido utilizando diclorometano e água destilada. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente rotaevaporado. O resíduo foi purificado por CCS (eluente: gradiente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 95%/5% v/v), obtendo-se os produtos desejados na forma de sólidos com rendimentos que variaram de 46% a 87%. Os dados físico-químicos e espectroscópicos dos oxadiazóis acoplados a piperazina **14-21** estão descritos a seguir:

**Figura 31:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto (**14**)

<p style="text-align: center;"><b>2-fenil-5-((4-octilpiperazin-1-il) metil)-1,3,4-oxadiazol</b></p> <p style="text-align: center;"><b>(14)</b></p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O  <b>Massa molar:</b> 356,5 g mol<sup>-1</sup>  <b>Estado físico:</b> sólido amarelo  <b>Faixa de fusão:</b> 53,1°C - 55,1°C  <b>Rendimento:</b> 46%</p>
--	---

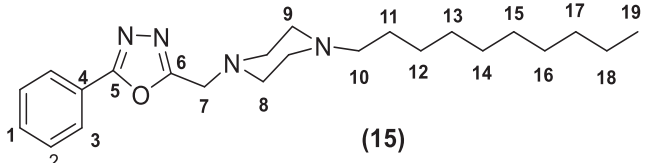
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>):** 2941 e 2845 (C-H alifático); 1447 (C=N).

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,52 (3H; m; H1 e H2); 8,07 (2H; m; H3); 3,91 (2H; s; H7); 2,69 (4H; s; H8); 2,53 (4H; s; H9); 2,34 (2H; t; <sup>3</sup>J = 7,75 Hz; H10), 1,47 (2H; s; H11); 1,27 (10H, m, H12 – H16 (CH<sub>2</sub>)); 0,87 (3H; t; <sup>3</sup>J = 6,75 Hz; H17).

**RMN de <sup>13</sup>C: (CDCl<sub>3</sub>; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 131,9 (C1); 129,2 (C2); 127,2 (C3); 123,9 (C4); 165,5 (C5); 163,5 (C6); 58,8 (C7); 53,0 (C8 e C9); 52,1 (C10), 32,0 – 22,8 (11-17); 14,2 (C17).

**Figura 32:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto **(15)**.

<p><b>2-fenil-5-((4-decilpiperazin-1-il) metil)-1,3,4-oxadiazol</b></p>  <p><b>(15)</b></p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O  <b>Massa molar:</b> 384,6 g mol<sup>-1</sup>  <b>Estado físico:</b> sólido amarelo  <b>Faixa de fusão:</b> 52,8°C - 54,8°C  <b>Rendimento:</b> 87%</p>
--	---

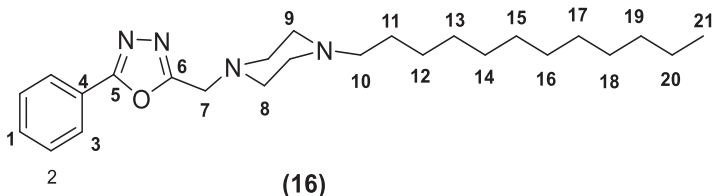
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR) v (cm<sup>-1</sup>):** 2919 e 2838 (C-H alifático); 1454 (C=N).

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz) δ(ppm):** 7,53 (3H; m; H1 e H2); 8,07 (2H; m; H3); 3,91 (2H; s; H7); 2,70 (4H; s; H8); 2,54 (4H; s; H9); 2,34 (2H; t; <sup>3</sup>J = 7,7 Hz; H10), 1,47 (2H; s; H11); 1,25 (14H, s, H12 – H18 (CH<sub>2</sub>)); 0,87 (3H; t; <sup>3</sup>J = 6,9 Hz; H119).

**RMN de <sup>13</sup>C: (CDCl<sub>3</sub>; 125 MHz) δ(ppm):** 131,9 (C1); 129,2 (C2); 127,2 (C3); 123,9 (C4); 165,5 (C5); 163,5 (C6); 58,8 (C7); 53,1 (C8); 52,9 (C9); 52,1 (C10), 32,0 – 22,8 (11-18); 14,3 (C19).

**Figura 33:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto **(16)**.

<p><b>2-fenil-5-((4-dodecilpiperazin-1-il) metil)-1,3,4-oxadiazol</b></p>  <p><b>(16)</b></p>	<p><b>Fórmula molecular:</b> C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O  <b>Massa molar:</b> 412,7 g mol<sup>-1</sup>  <b>Estado físico:</b> sólido amarelo  <b>Faixa de fusão:</b> 51,5°C - 52,9°C  <b>Rendimento:</b> 58%</p>
--	---

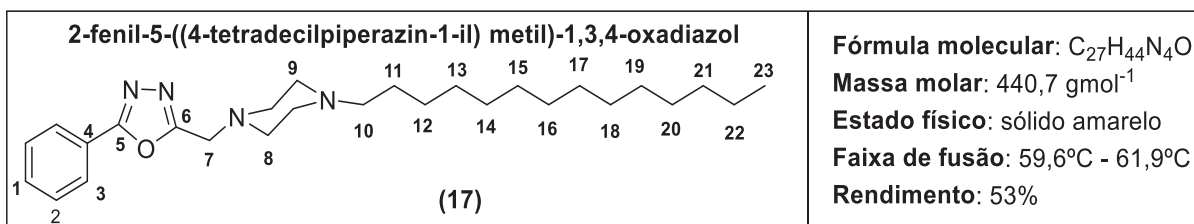
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR) v (cm<sup>-1</sup>):** 2927 e 2838 (C-H alifático); 1447 (C=N).

**RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>; 500 MHz) δ(ppm):** 7,51 (3H; m; H1 e H2); 8,06 (2H; m; H3); 3,91 (2H; s; H7); 2,70 (4H; s; H8); 2,54 (4H; s; H9); 2,35 (2H; t; <sup>3</sup>J = 7,75 Hz; H10), 1,48 (2H; s; H11); 1,25 (18H, m, H12 – H20 (CH<sub>2</sub>)); 0,88 (3H; t; <sup>3</sup>J = 6,6 Hz; H21).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 131,9 (C1); 129,2 (C2); 127,2 (C3); 123,9 (C4); 165,5 (C5); 163,5 (C6); 58,8 (C7); 53,0 (C8 e C9); 52,1 (C10), 32,0 – 22,8 (11-20); 14,4 (C21).

**Figura 34:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto (17).



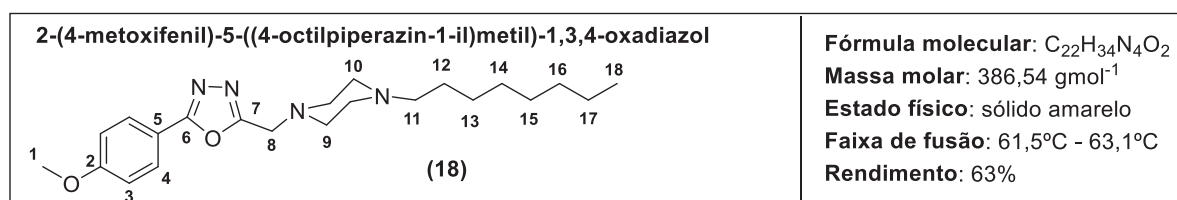
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2919 e 2853 (C-H alifático); 1455 (C=N).

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,52 (3H; m; H1 e H2); 8,06 (2H; m; H3); 3,91 (2H; s; H7); 2,71 (4H; s; H8); 2,56 (4H; s; H9); 2,36 (2H; t;  $^3J = 7,5 \text{ Hz}$ ; H10), 1,49 (2H; s; H11); 1,25 (22H, m, H12 – H22 ( $\text{CH}_2$ )); 0,88 (3H; t;  $^3J = 5,9 \text{ Hz}$ ; H20).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta$ (ppm):** 131,9 (C1); 129,2 (C2); 127,2 (C3); 123,9 (C4); 165,5 (C5); 163,5 (C6); 58,8 (C7); 53,0 (C8 e C9); 52,1 (C10), 32,0 – 22,8 (11-22); 14,4 (C23).

**Figura 35:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto (18).



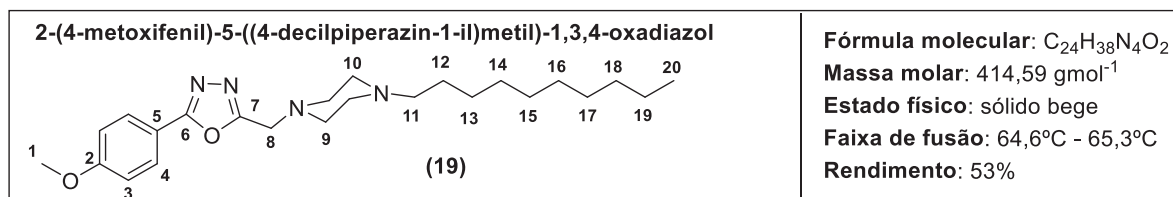
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2919 e 2845 (C-H alifático); 1616 (C-O); 1499 (C=N).

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta$ (ppm):** 7,00 (2H; m; H4 ); 8,00 (2H; m; H3 ); 3,87 (5H; m; H1 e H8); 2,69 (4H; m; H9); 2,52 (4H; s; H10); 2,33 (2H; t;  $^3J = 7,75 \text{ Hz}$ ; H11), 1,47 (2H; s; H12); 1,27 (10H, s, H13 – H17 ( $\text{CH}_2$ )); 0,87 (3H; t;  $^3J = 6,65 \text{ Hz}$ ; H18).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 58,8 (C1); 162,4 (C2); 128,8 (C3); 114,5 (C4); 116,4 (C5); 165,4 (C6); 162,9 (C7); 55,5 (C8); 52,9 (C9 e C10); 52,0 (C11); 22,7 – 31,9 (12-17); 14,2 (C18).

**Figura 36:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto **(19)**.



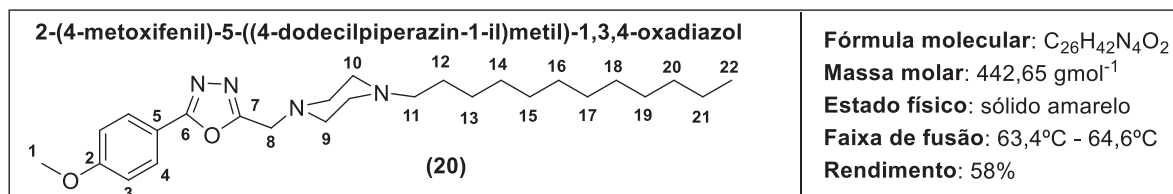
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2912 e 2845 (C-H alifático); 1609 (C-O); 1505 (C=N).

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 7,00 (2H; m; H4 ); 8,00 (2H; m; H3 ); 3,88 (5H; m; H1 e H8); 2,68 (4H; s; H9); 2,52 (4H; s; H10); 2,32 (2H; m; H11), 1,47 (2H; m; H12); 1,26 (12H, m, H13 – H19 ( $\text{CH}_2$ )); 0,87 (3H; t;  $^3J = 6,8 \text{ Hz}$ ; H20).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 58,8 (C1); 162,4 (C2); 128,9 (C3); 114,5 (C4); 116,4 (C5); 165,4 (C6); 162,9 (C7); 55,6 (C8); 53,0 (C9 e C10); 52,1 (C11); 22,8 – 32,0 (12-19); 14,2 (C20).

**Figura 37:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto **(20)**.



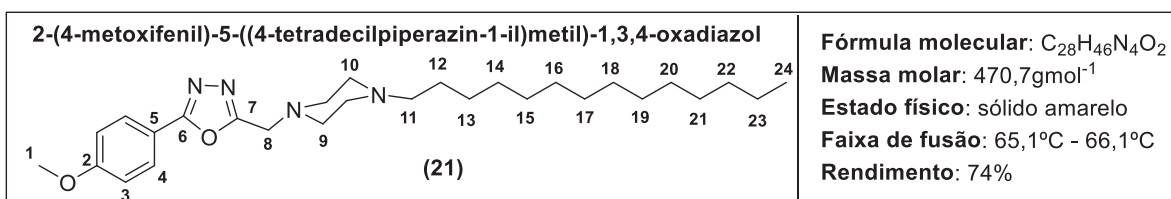
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2912 e 2845 (C-H alifático); 1616 (C-O); 1499 (C=N).

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 7,00 (2H; d;  $^3J = 8,9 \text{ Hz}$ ; H4 ); 8,00 (2H; d;  $^3J = 8,9 \text{ Hz}$ ; H3 ); 3,88 (5H; m; H1 e H8); 2,72 (4H; s; H9); 2,59 (4H; s; H10); 2,39 (2H; t;  $^3J = 7,75 \text{ Hz}$ ; H11), 1,50 (2H; s; H12); 1,26 (18H, m, H13 – H21 ( $\text{CH}_2$ )); 0,88 (3H; t;  $^3J = 6,75 \text{ Hz}$ ; H22).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 58,6 (C1); 162,5 (C2); 128,9 (C3); 114,6 (C4); 116,4 (C5); 165,5 (C6); 163,0 (C7); 55,6 (C8); 52,7 (C9 e C10); 52,0 (C11); 22,8 – 32,0 (12-21); 14,2 (C22).

**Figura 38:** Dados obtidos para o 1,3,4-oxadiazol acoplado a piperazina alquilada composto **(21)**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

**IV (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ):** 2912 e 2845 (C-H alifático); 1616 (C-O); 1505 (C=N).

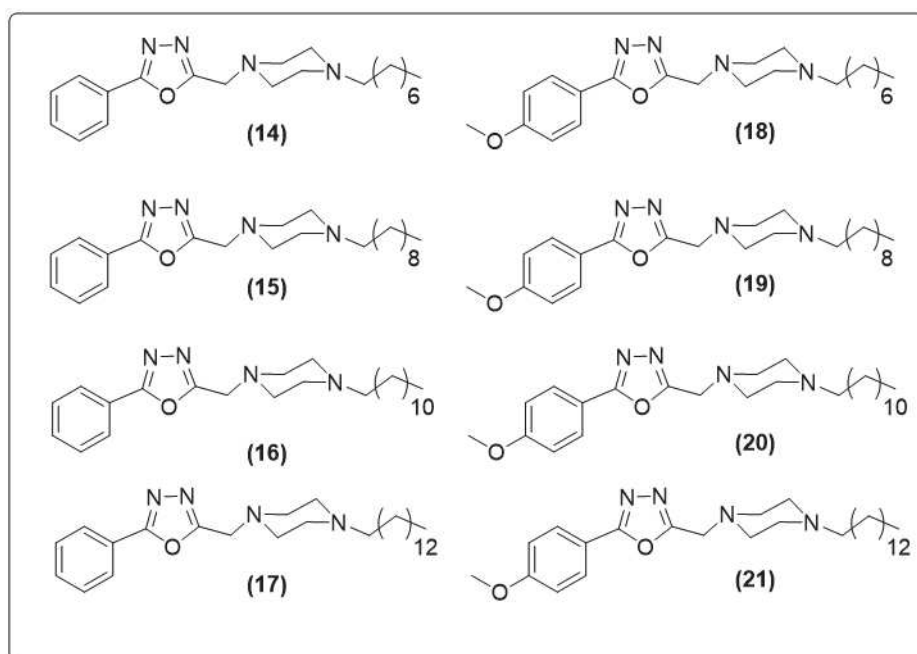
**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 7,00 (2H; d;  $^3J = 8,8$  Hz; H4 ); 8,00 (2H; d;  $^3J = 8,8$  Hz; H3 ); 3,88 (5H; s; H1 e H8); 2,68 (4H; s; H9); 2,52 (4H; s; H10); 2,32 (2H; t;  $^3J = 7,7$  Hz; H11), 1,47 (2H; s; H12); 1,26 (22H, m, H13 – H23 ( $\text{CH}_2$ )); 0,88 (3H; t;  $^3J = 6,75$  Hz; H24).

**RMN de  $^{13}\text{C}$ : ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz)  $\delta(\text{ppm})$ :** 58,8 (C1); 162,5 (C2); 128,9 (C3); 114,6 (C4); 116,5 (C5); 165,5 (C6); 163,0 (C7); 55,6 (C8); 53,0 (C9 e C10); 52,1 (C11); 22,8 – 32,0 (12-23); 14,2 (C24).

## 6 CONCLUSÃO

No presente projeto, foi possível sintetizar e caracterizar oito derivados 1,3,4-oxadiazólicos acoplados a piperazina alquilada com rendimentos que variaram de 46 a 87%, sendo todos os compostos finais sintetizados (**14-21**) (Figura 39), moléculas inéditas.

**Figura 39:** Compostos finais propostos e sintetizados no presente trabalho (**14-21**).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Durante boa parte da execução do projeto foram realizadas várias tentativas de otimização da condição inicial da rota sintética, buscando uma melhoria no rendimento de obtenção dos 1,3,4-oxadiazóis intermediários (**7**) e (**8**), sendo os melhores resultados alcançados de 28 e 30%, respectivamente.

Com todos os compostos sintetizados e caracterizados, foram avaliados os oxadiazóis **7**, **8**, **14** à **21** com relação a suas atividades antitumorais, através dos ensaios de citotoxicidade e determinação do  $CI_{50}$  e IS em linhagens de células animais. Teste estes realizados no Laboratório de Síntese e Interações

Bioinorgânicas (SibLab) em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Heveline Silva do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

Todos os compostos testados foram citotóxicos para todas linhagens de células testadas, destacando-se o intermediário 1,3,4-oxadiazólico (**7**) ligado ao fenil sendo o mais citotóxico possuindo um  $CI_{50}$  de 2,6  $\mu$ M para ambas as linhagens de células testadas sendo cerca de 4 vezes mais citotóxico que o composto (**8**) intermediário 1,3,4-oxadiazólico ligado ao 4-metoxifenil. Além disso, o intermediário 1,3,4-oxadiazólico (**7**) foi cerca de duas vezes mais citotóxico para as linhagens celulares 4T1 e CT26.WT do que a cisplatina composto utilizado como controle positivo nesse trabalho.

Para a série dos oxadiazóis *N*-alquilados com piperazinas de cadeia longa observou-se que para a linhagem 4T1 os derivados com cadeia de 14 átomos de carbono são os mais ativos, destacando-se o derivado com fenil **17** o composto mais ativo e mais seletivo da série. Já para a linhagem CT26.WT os derivados com cadeia de 12 átomos de carbono são os mais ativos, com destaque para o derivado fenila **16**.

Comparando as duas séries de compostos, a série fenila e 4-metoxifenila, foi possível observar que os compostos que tiveram maior citotoxicidade foram os da série fenila, sendo o composto (**17**) o mais seletivo com IS de 4,0 para linhagem celular 4T1 e o composto (**18**) o mais seletivo com IS de 2,5 para linhagem celular CT26.WT.

## REFERÊNCIAS

ALABUGIN, I. V.; ZEIDAN, T. A. Stereoelectronic effects and general trends in hyperconjugative acceptor ability of  $\sigma$  bonds. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 12, p. 3175–3185, 2002.

ALTINTOP, M. D.; SEVER, B.; AKALIN, C.G. Design, synthesis, in vitro and in silico evaluation of a new series of oxadiazole-based anticancer agents as potential Akt and FAK inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 905–924, 2018.

BAJAJ, S.; ASATI, V.; SINGH, J. 1,3,4-Oxadiazoles: An emerging scaffold to target growth factors, enzymes and kinases as anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.97, p.124-141, 2015.

BELIZÁRIO, O Próximo Desafio Reverter o Câncer. **Ciência hoje**, v. 31, n. 184, p. 50, 2002.

CANESCHI, W.; ENES, K.; CARVALHO, M. C. Synthesis and anticancer evaluation of new lipophilic 1,2,4 and 1,3,4-oxadiazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 165, p. 18–30, 2019.

COTTRELL, D. M.; CAPERS, J. SALEM, M. Antikinetoplastid activity of 3-aryl-5-thiocyanatomethyl-1,2,4-oxadiazoles. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 11, p. 2815–2824, 2004.

DE OLIVEIRA, C. S.; LIRA, B.; BARBOSA-FILHO, J. Synthetic approaches and pharmacological activity of 1,3,4-oxadiazoles: A review of the literature from 2000-2012. **Molecules**, v.17, p.10192-10231, 2012.

DOS ANJOS SANTOS, V. L.; DE ASSIS GONSALVES, A.; ARAÚJO, C. R. M. Didactic approach for the development of bioactive molecules: Lipinski's five-rule and



preparation of 1,3,4-oxadiazol heterocyclic in domestic microwave oven. **Quimica Nova**, v. 41, p. 110–115, 2018.

EZZAT, D.; RAHMAN, A. Synthesis, Quantitative Structure-Activity Relationship and Biological Evaluation of 1,3,4-Oxadiazole Derivatives Possessing Diphenylamine Moiety as Potential Anticancer Agents. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.62, n.2, p. 151-159, 2013.

FREIRE REGUEIRA, J. L. L.; DE FREITAS, J. J. R.; DE FREITAS FILHO, J. R. Preparação de 1,2,4-oxadiazol: Sequência didática aplicada em disciplina de síntese orgânica na graduação. **Quimica Nova**, v. 39, n. 8, p. 1019–1025, 2016.

GARCIA, A.; MACHADO, R.; GRAZUL, R. Novel antitumor adamantane-azole gold(I) complexes as potential inhibitors of thioredoxin reductase. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 275–292, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). O que é o câncer. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 06 de dezembro de 2021.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2020, worldwide, both sexes, all ages. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/>. Acesso em: 06 de dezembro de 2021.

HASSANZADEH, F.; JAFARI, E.; SHOJAEI, F. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of some new 1, 3, 4-oxadiazole, 1, 3, 4-thiadiazole and 1, 2, 4- triazole derivatives attached to phthalimide. **Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 16, n. 6, p. 634–642, 2021.

JUDGE, V.; NARASIMHAN, B.; AHUJA, M. Isonicotinic acid hydrazide derivatives: Synthesis, antimicrobial activity, and QSAR studies. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, n. 7, p. 1451–1470, 2012.

KAPOOR, G.; BHUTANI, R.; PATHAK, D. Current Advancement in the Oxadiazole-Based Scaffolds as Anticancer Agents. **Polycyclic Aromatic Compounds**, 2021.

KASHID, B.; SALUNKHE, P.; DONGARE, B. Synthesis of novel of 2, 5-disubstituted 1, 3, 4- oxadiazole derivatives and their in vitro anti-inflammatory, anti-oxidant evaluation, and molecular docking study. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, n. 12, 2020.

KUDELKO, A.; ZIELIŃSKI, W. Microwave-assisted synthesis of 2-styryl-1,3,4-oxadiazoles from cinnamic acid hydrazide and triethyl orthoesters. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 1, p. 76–77, 2012.

LAKSHMITHENDRAL, K.; SARAVANAN, K.; ELANCHERAN, R. Design, synthesis and biological evaluation of 2-(phenoxyethyl)-5-phenyl-1,3,4-oxadiazole derivatives as anti-breast cancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 168, p. 1–10, 2019.

LI, Y.; YAO, W.; LIN, J. Design, synthesis, and biological evaluation of phenyloxadiazole derivatives as potential antifungal agents against phytopathogenic fungi. **Monatshefte fur Chemie**, v. 152, n. 1, p. 121–135, 2021.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v.65, n.1, p.55-53, 1983.

NARELLA, S. G.; SHAIK, M.; MOHAMMED, A. Synthesis and biological evaluation of coumarin-1,3,4-oxadiazole hybrids as selective carbonic anhydrase IX and XII inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 87, p. 765–772, 2019.

OZCAN, S. KAZI, A.; MARSILIO, F. Oxadiazole-isopropylamides as potent and noncovalent proteasome inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 10, p. 3783–3805, 2013.

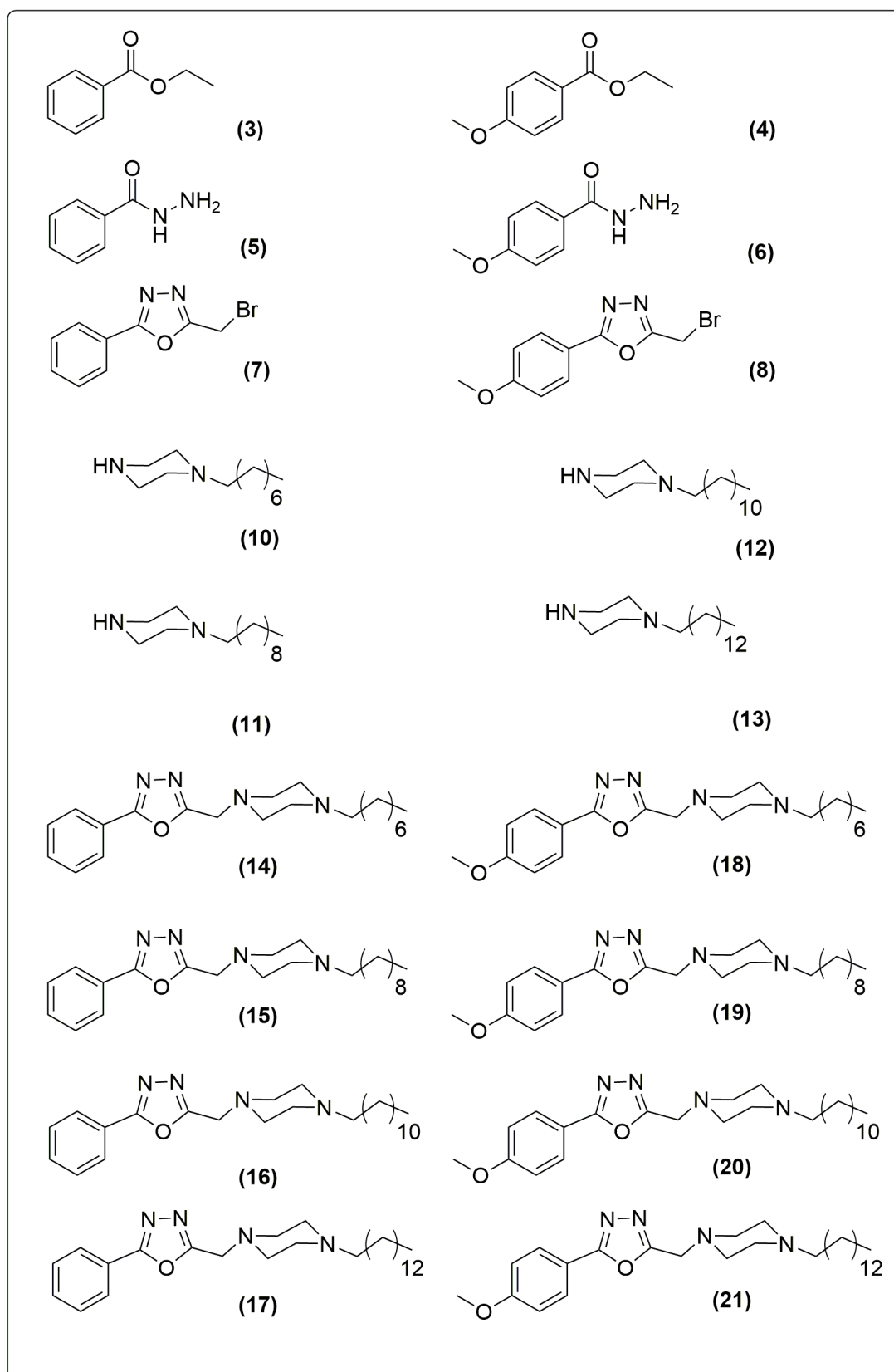
PARDESHI, S. P.; PATIL, S. S.; BOBADE, V. D. N-chlorosuccinimide/1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU)-mediated synthesis of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles. **Synthetic Communications**, v. 40, n. 11, p. 1601–1606, 2010.

RICCARDI, C.; NICOLETTI, I. Analysis of apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. **Nature Protocols**, v. 1, n. 3, p. 1458–1461, 2006.

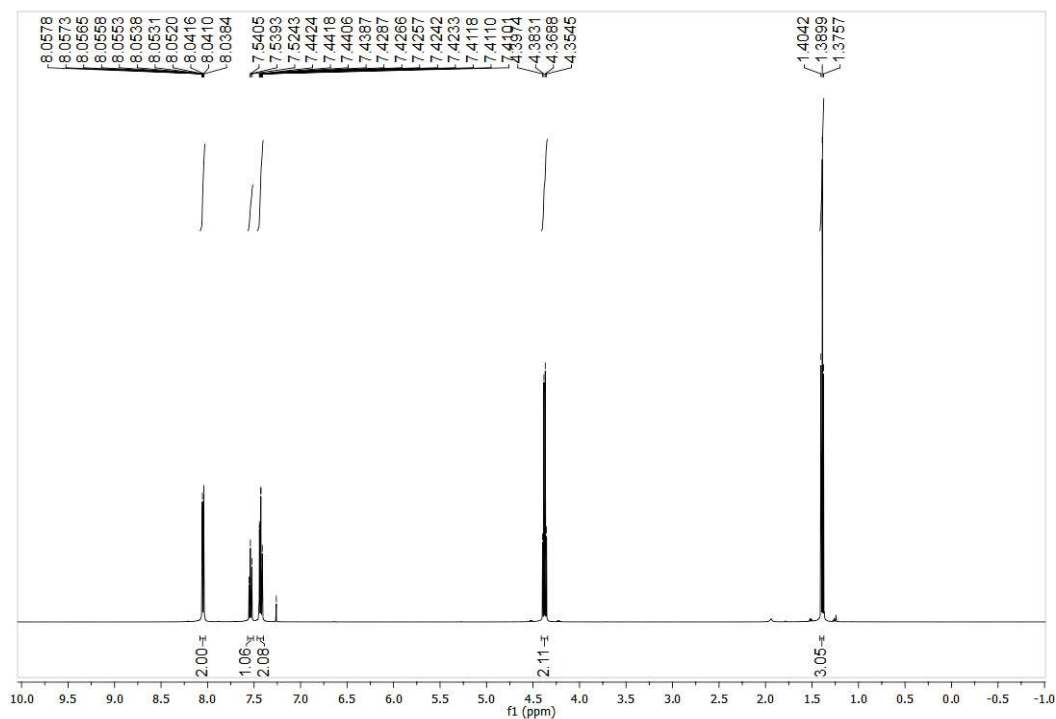
TOKUMARU, K.; JOHNSTON, J. N. A convergent synthesis of 1,3,4-oxadiazoles from acyl hydrazides under semiaqueous conditions. **Chemical Science**, v. 8, n. 4, p. 3187–3191, 2017.

VINDYA, K. G.; RAY, U.; MANTELINGU, K. Synthesis and Biological Evaluation of Theophylline Methyl 1,3,4-Oxadiazole as Anticancer Agents. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 837–844, 2020.

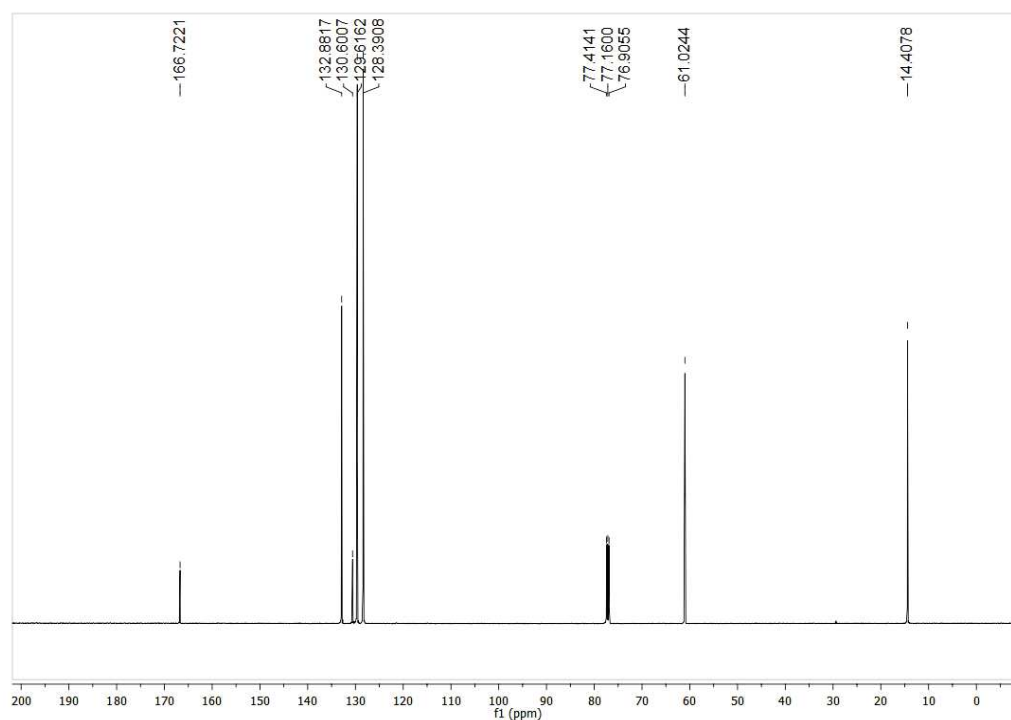
**APÊNDICE A – Lista de compostos sintetizados no presente trabalho.**



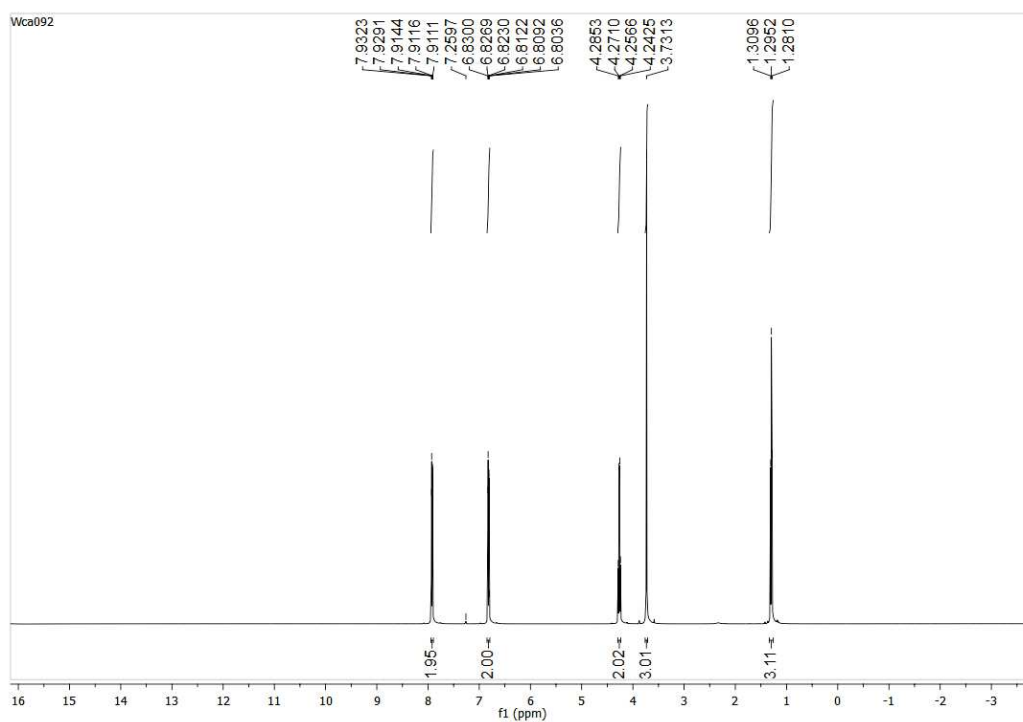
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

ANEXO A – Espectros de IV, RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(3)**.

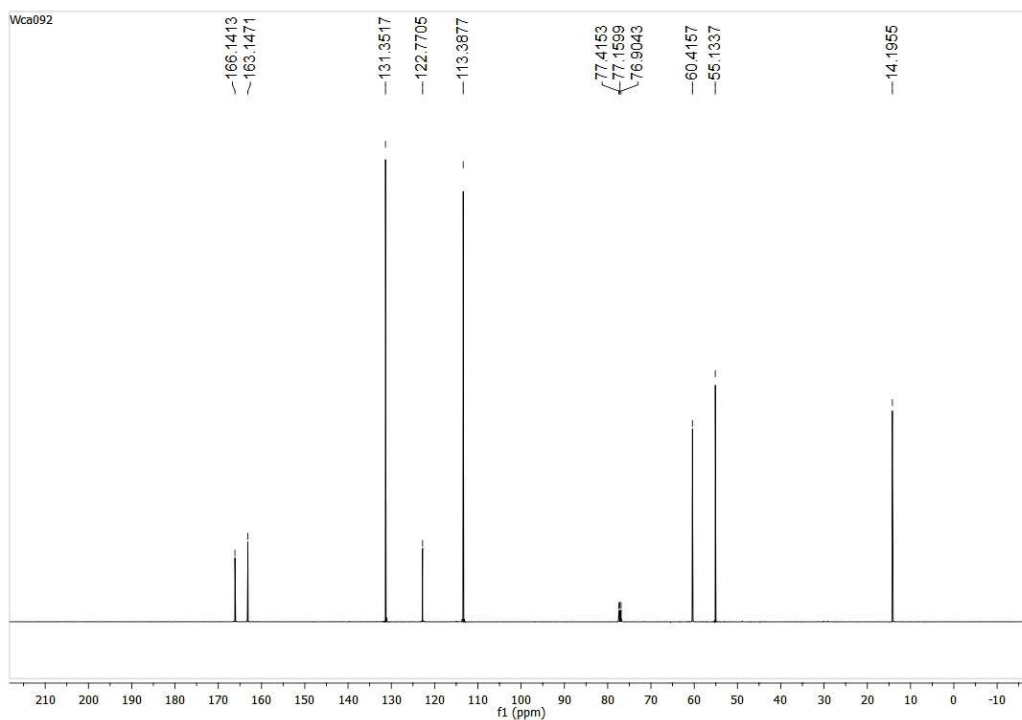
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(3)**.

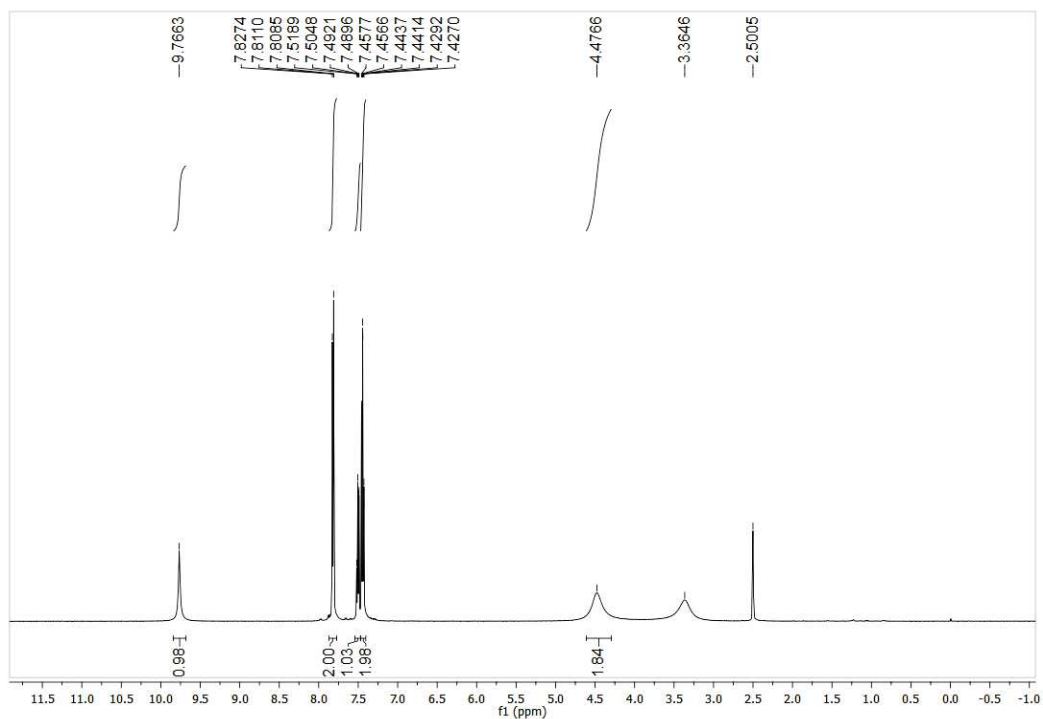
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(4)**.

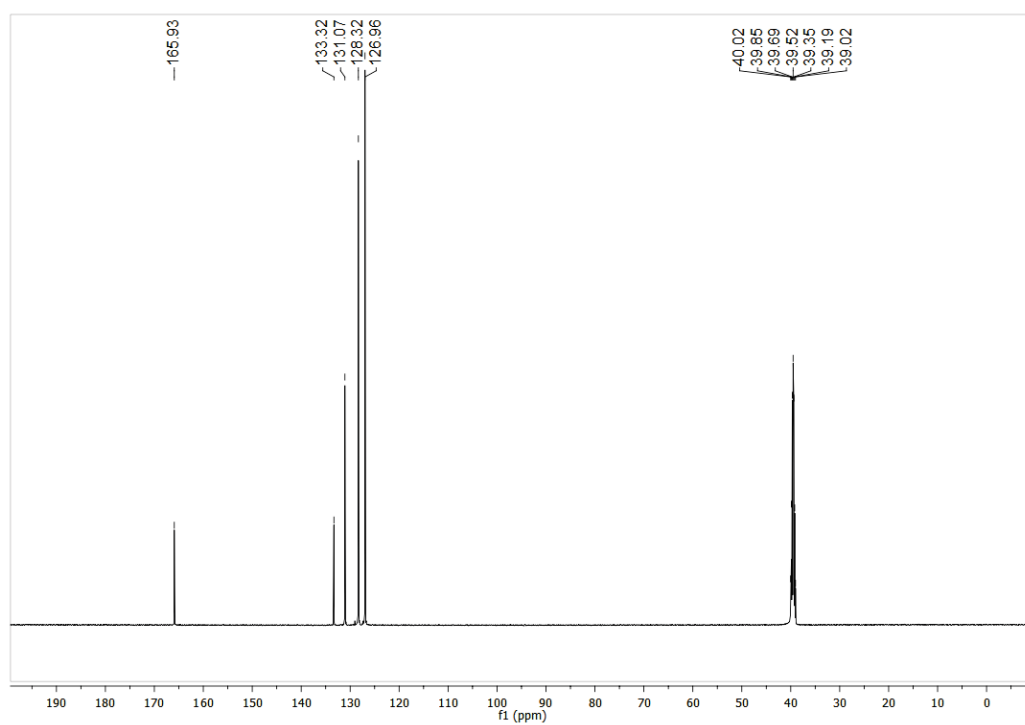
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(4)**.

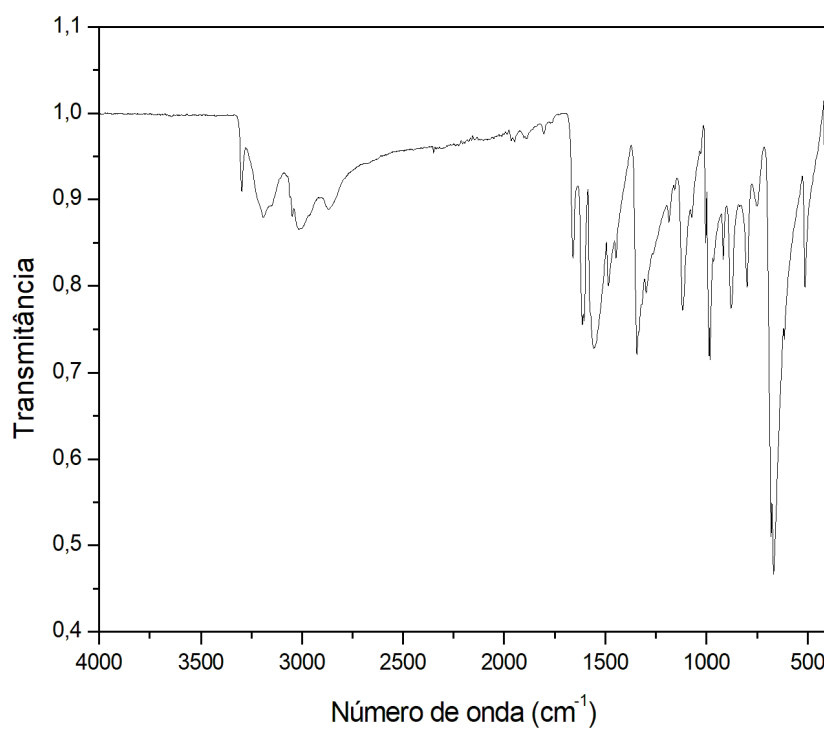
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ; 500 MHz) do composto **(5)**.

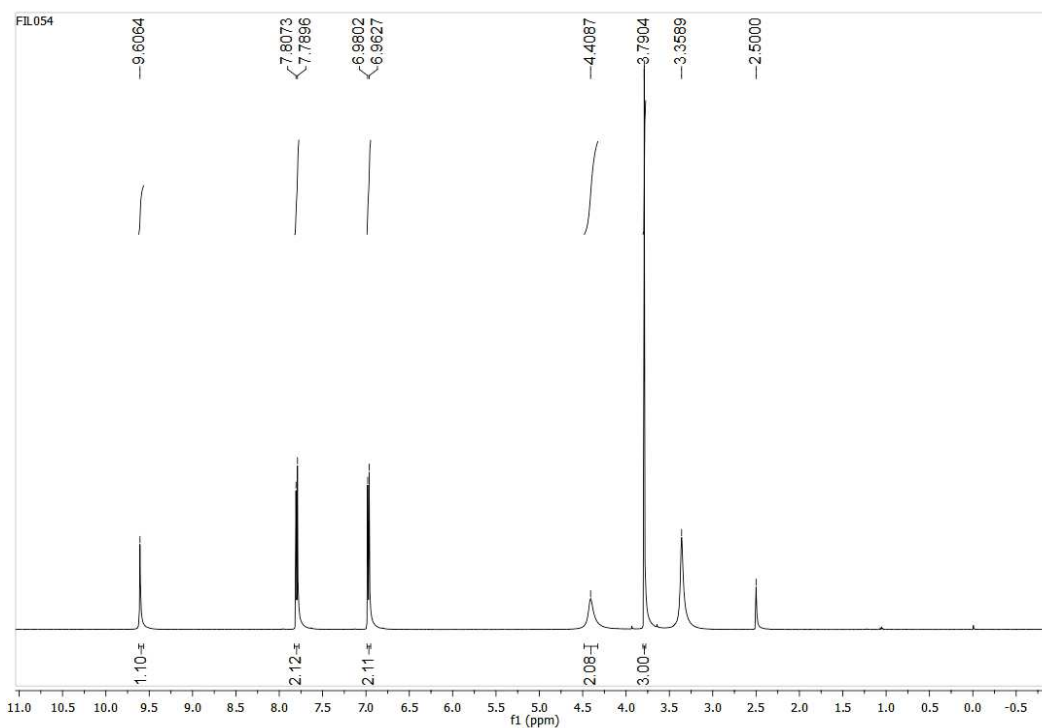
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 125 MHz) do composto **(5)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

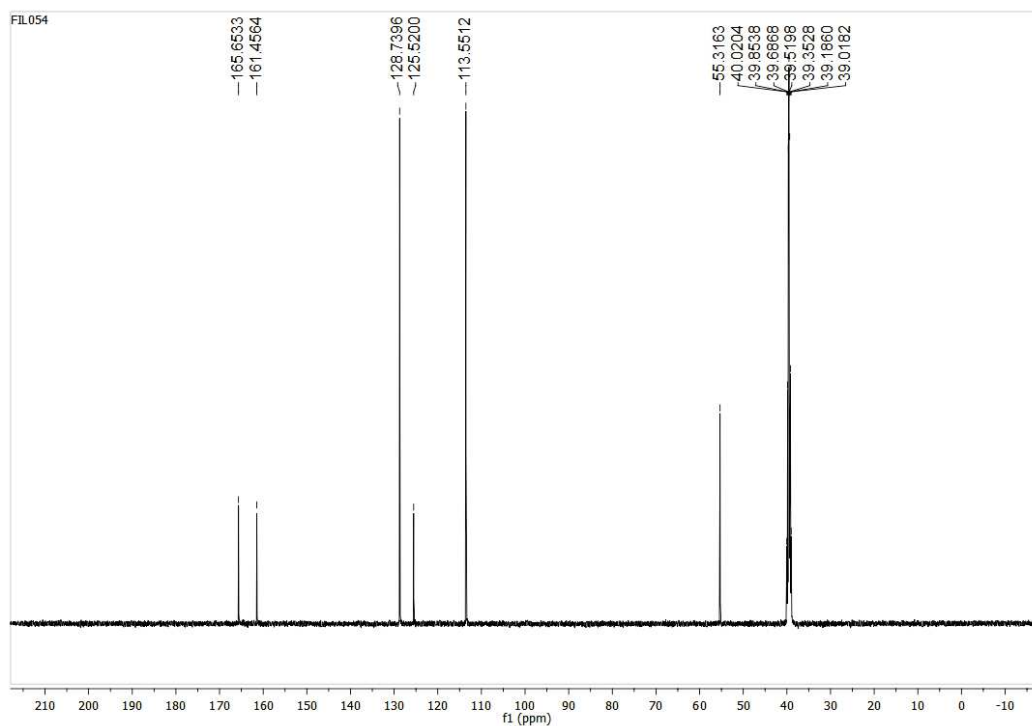
Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(5)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

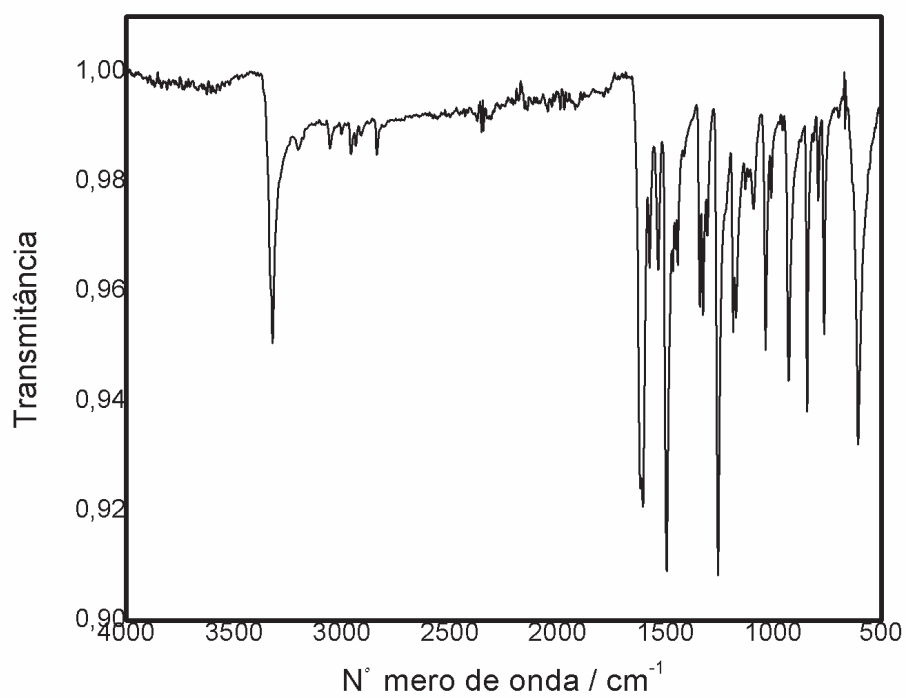
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ; 500 MHz) do composto **(6)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

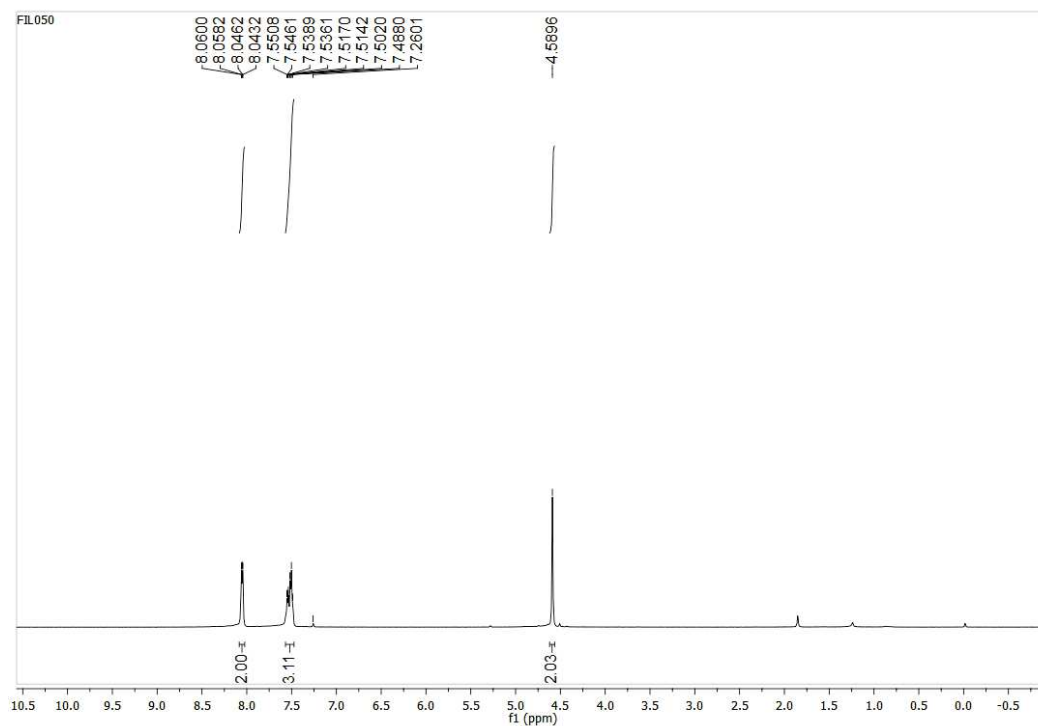


Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ; 125 MHz) do composto **(6)**.

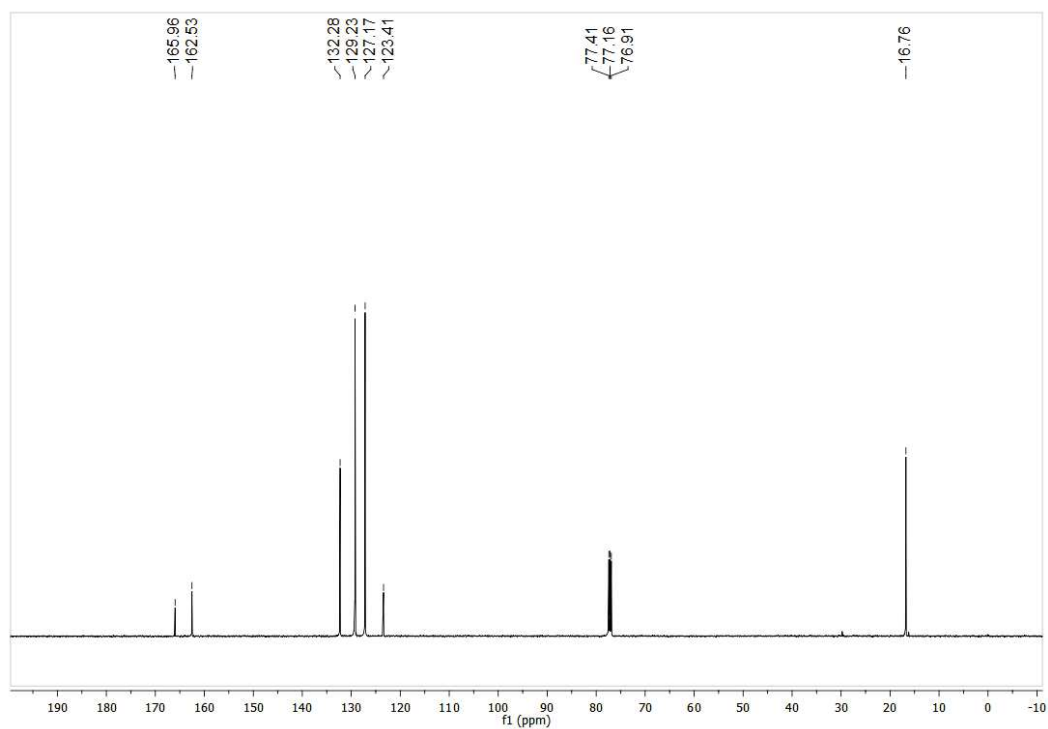
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(6)**.

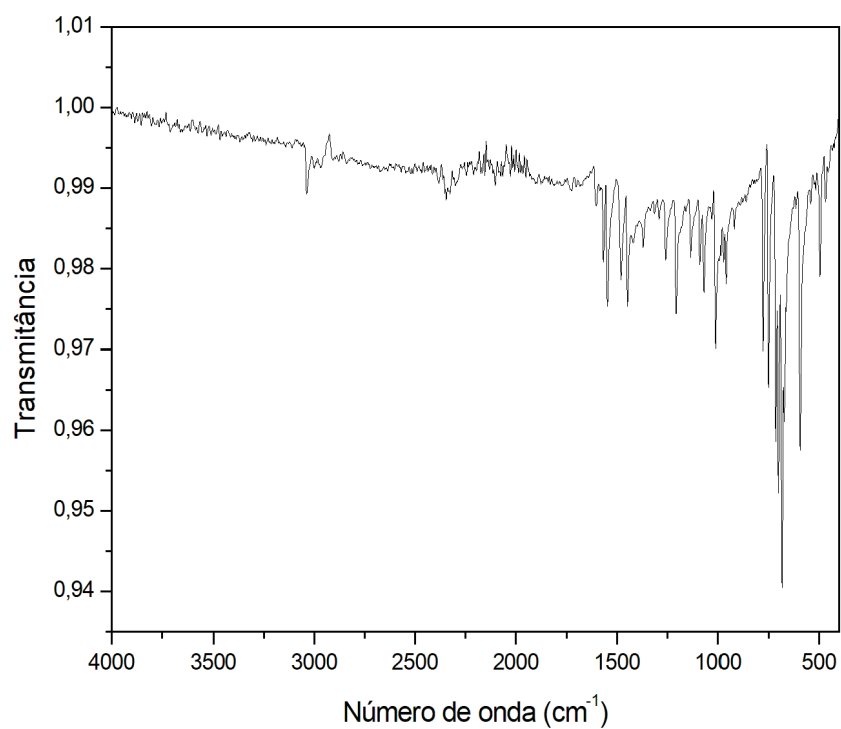
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto (7).

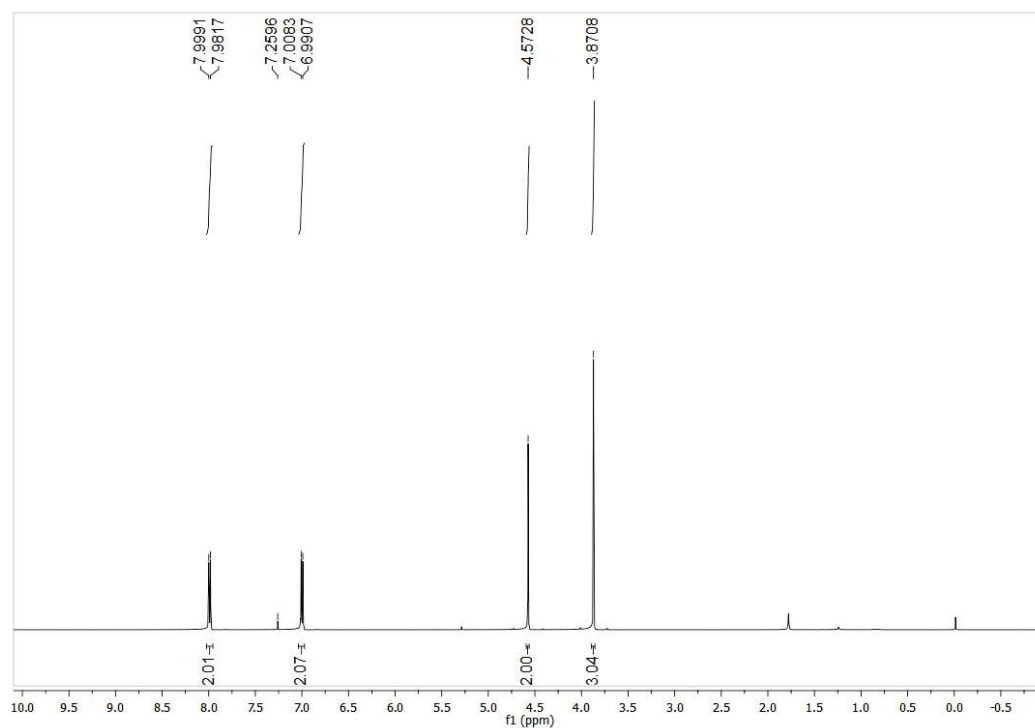
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (7).

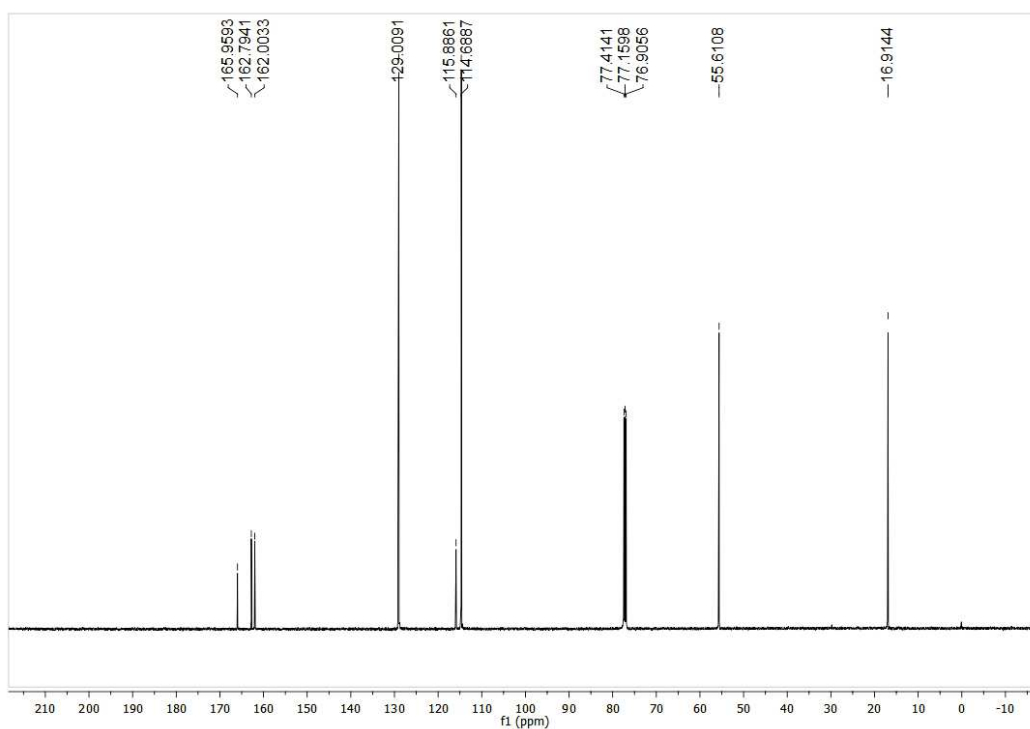
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(7)**.

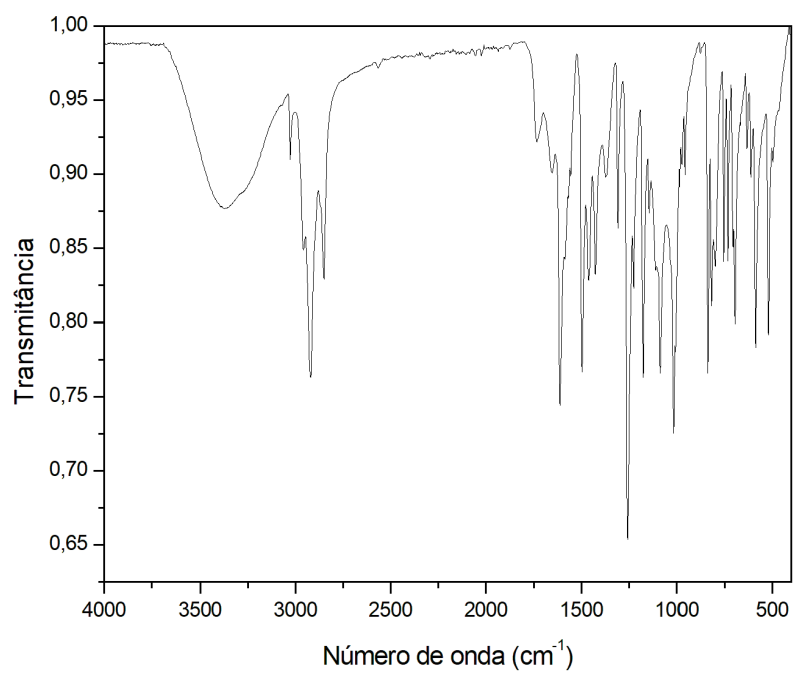
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(8)**.

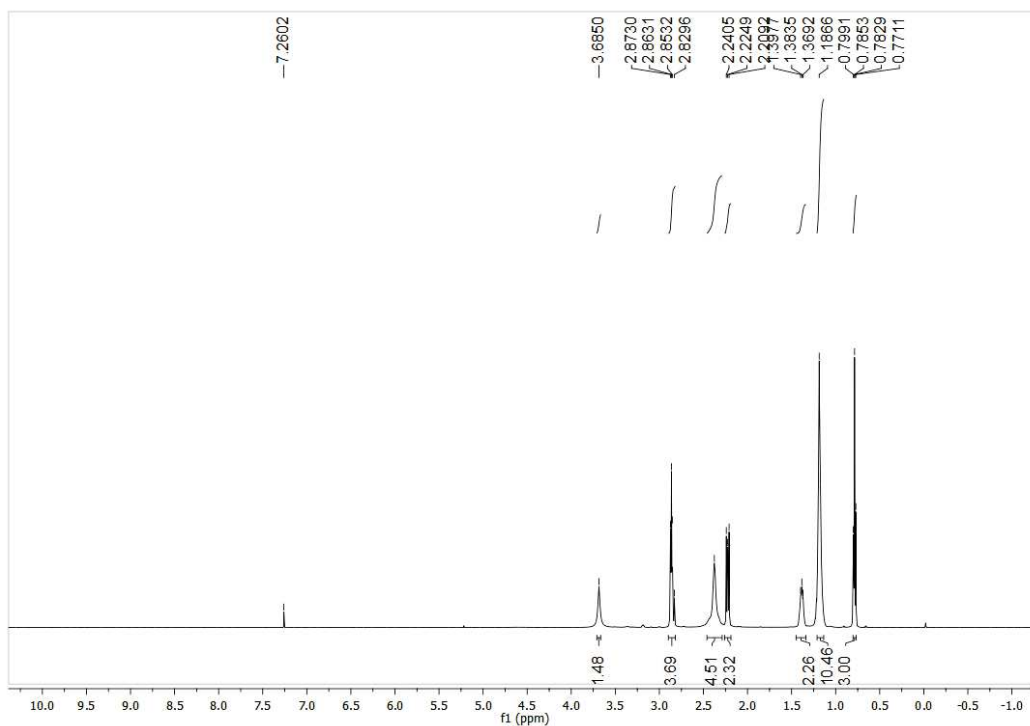
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(8)**.

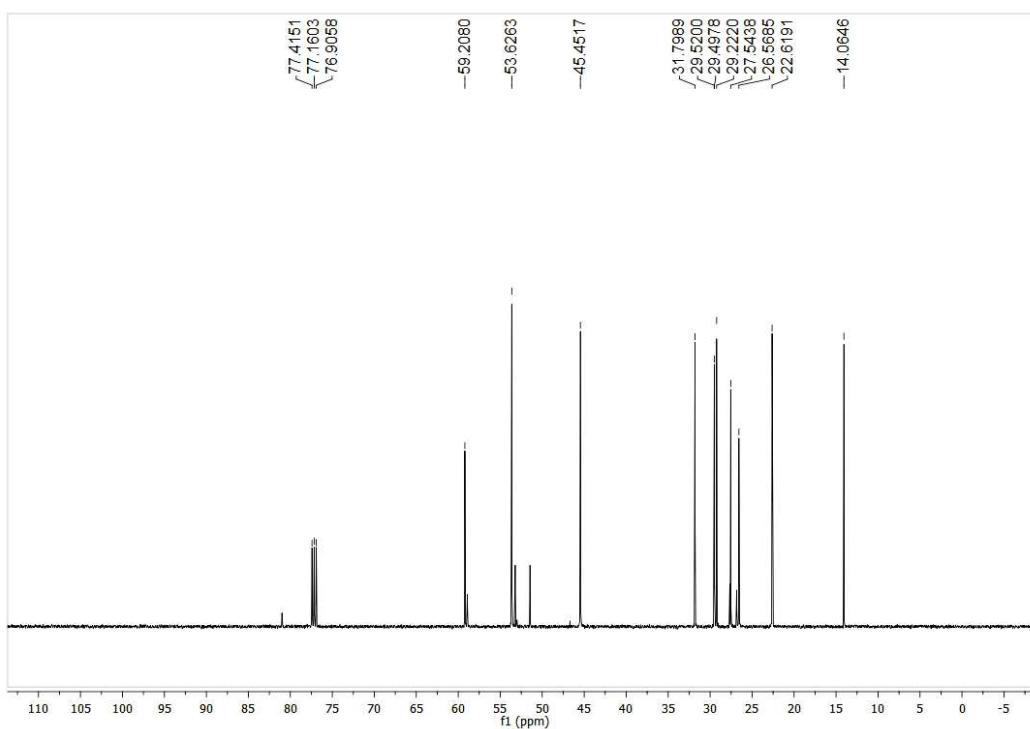
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(8)**.

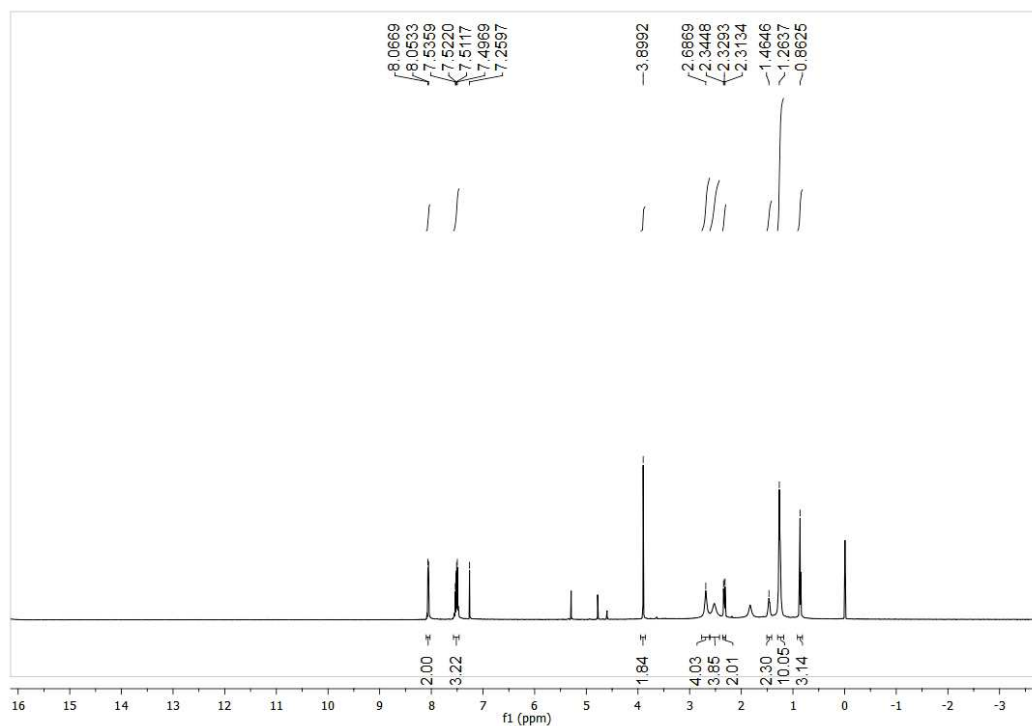
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(10)**.

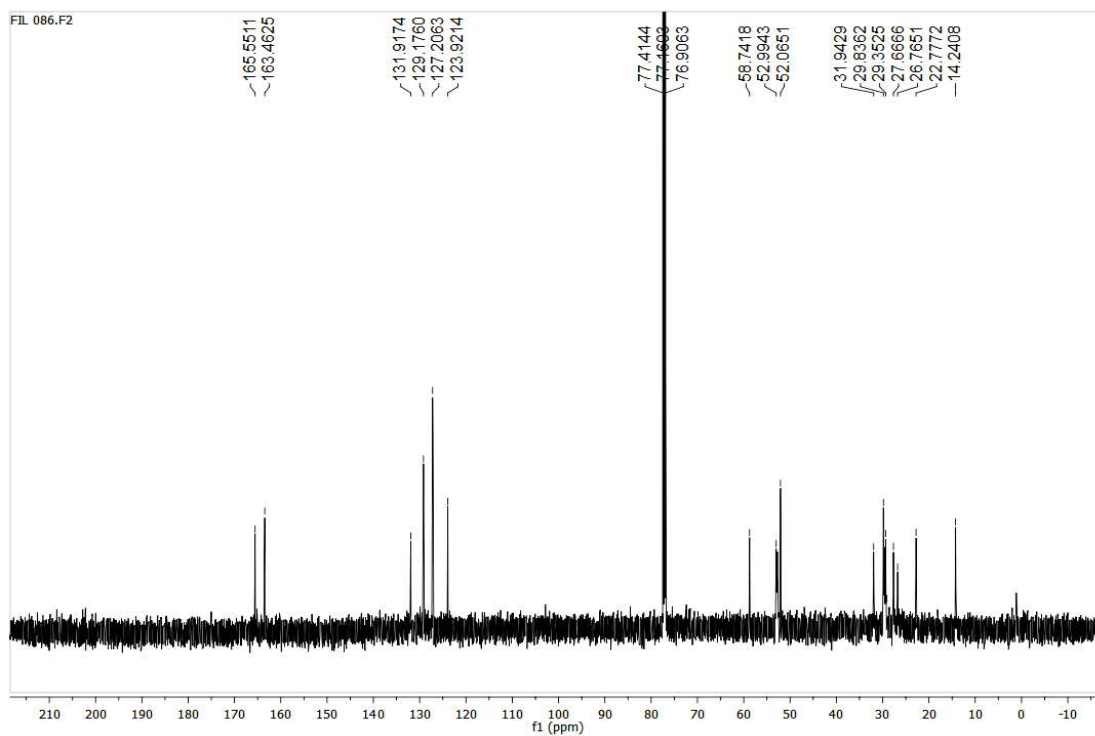
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(10)**.

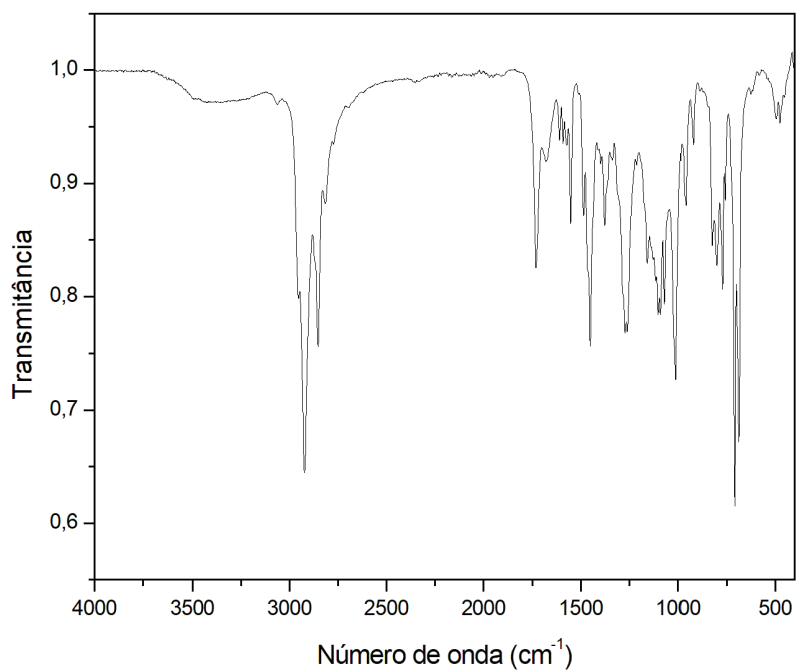
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto (14).

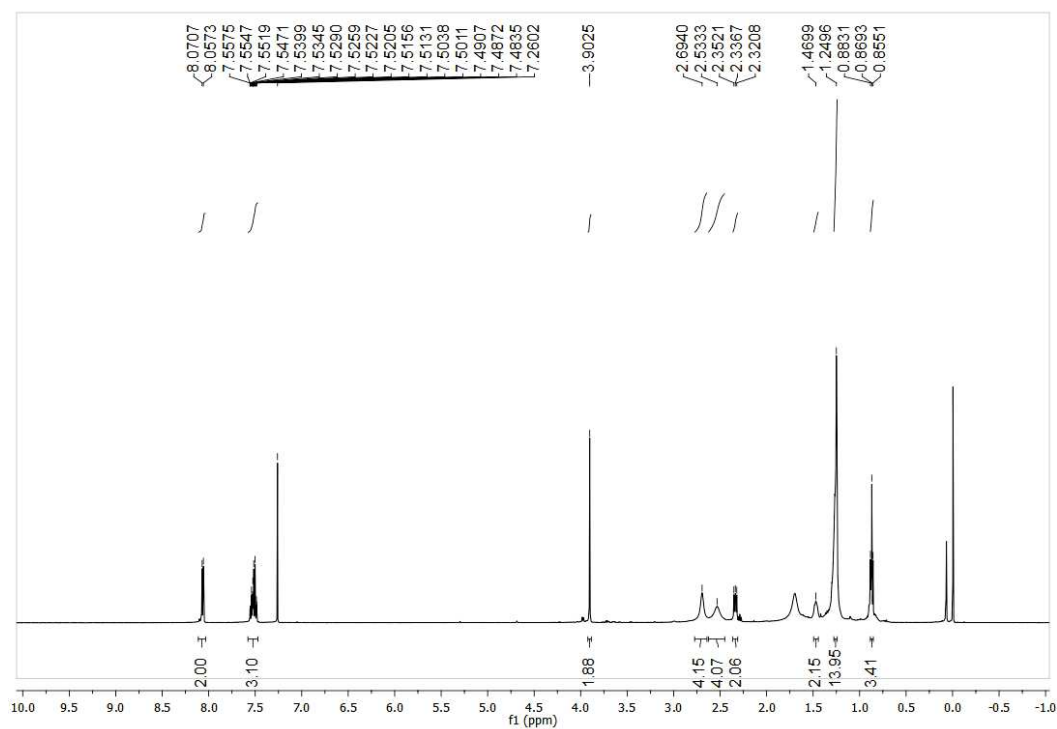
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (14).

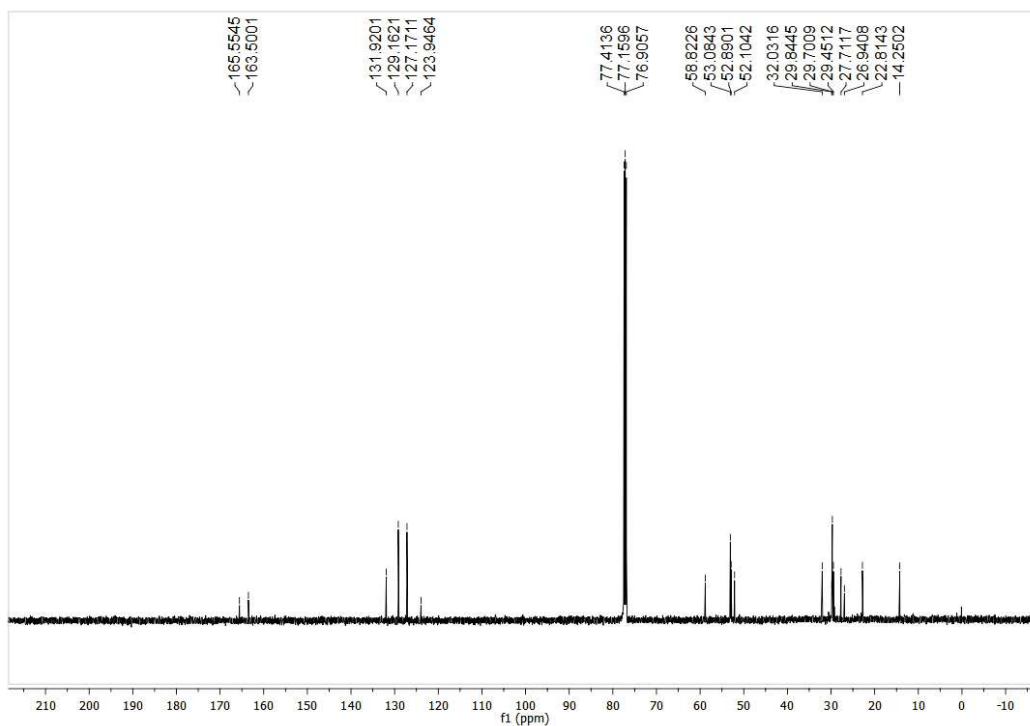
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(14)**

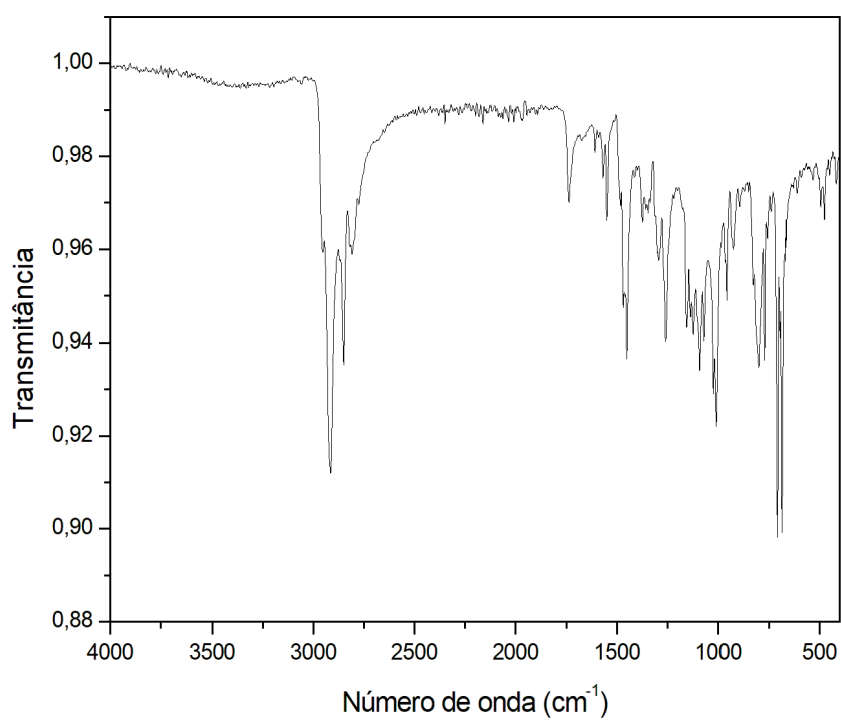
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(15)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

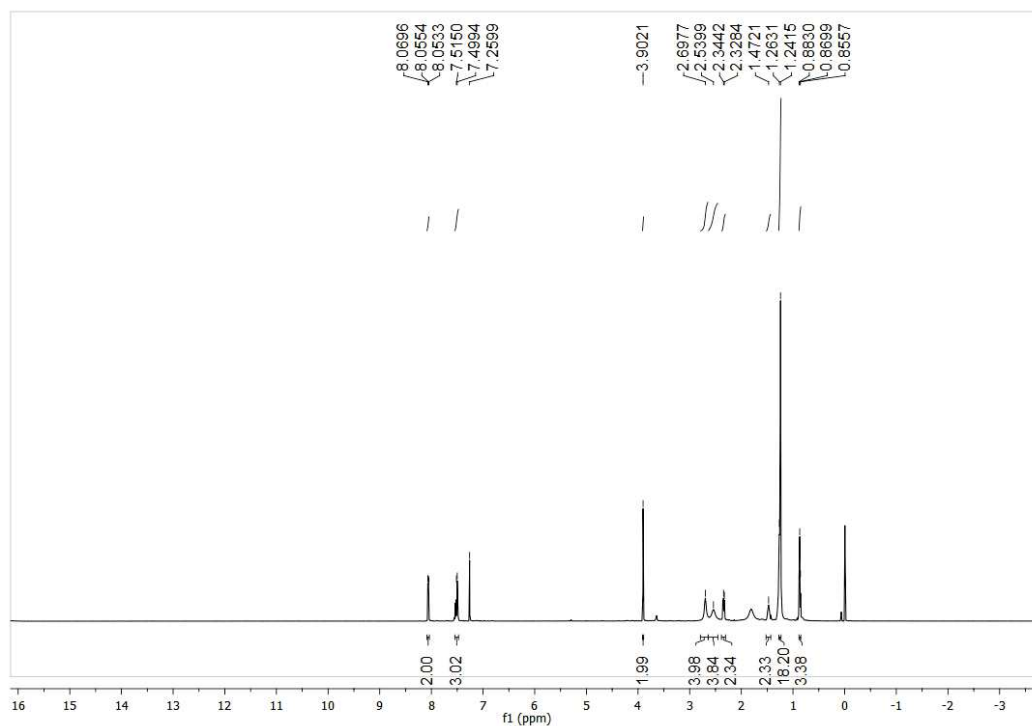
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (15).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

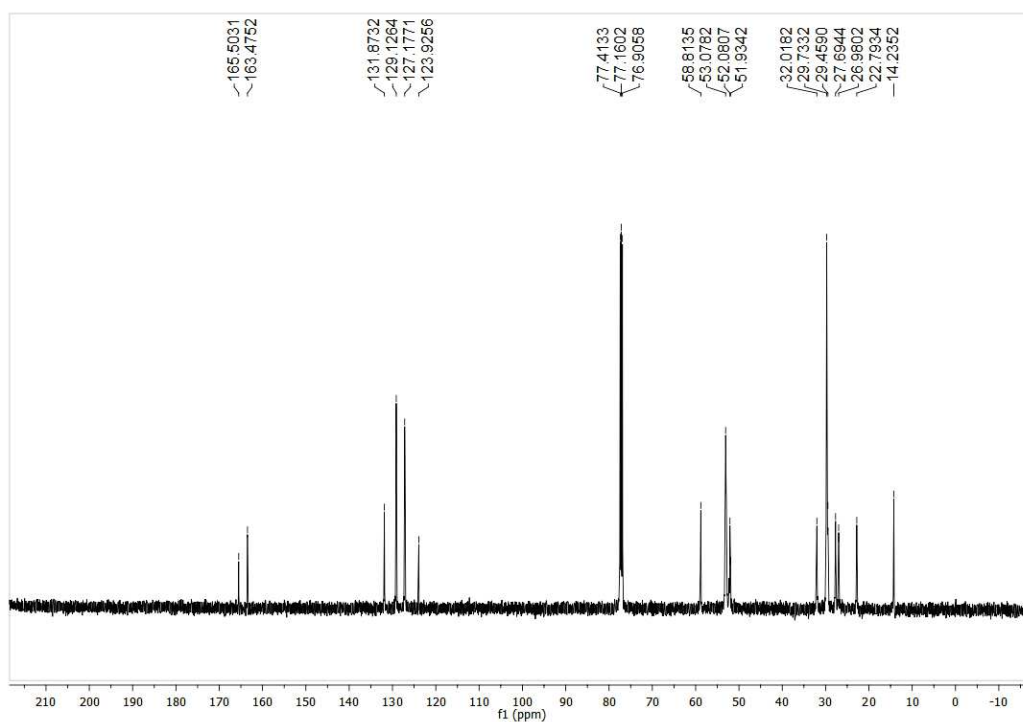
Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto (15)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

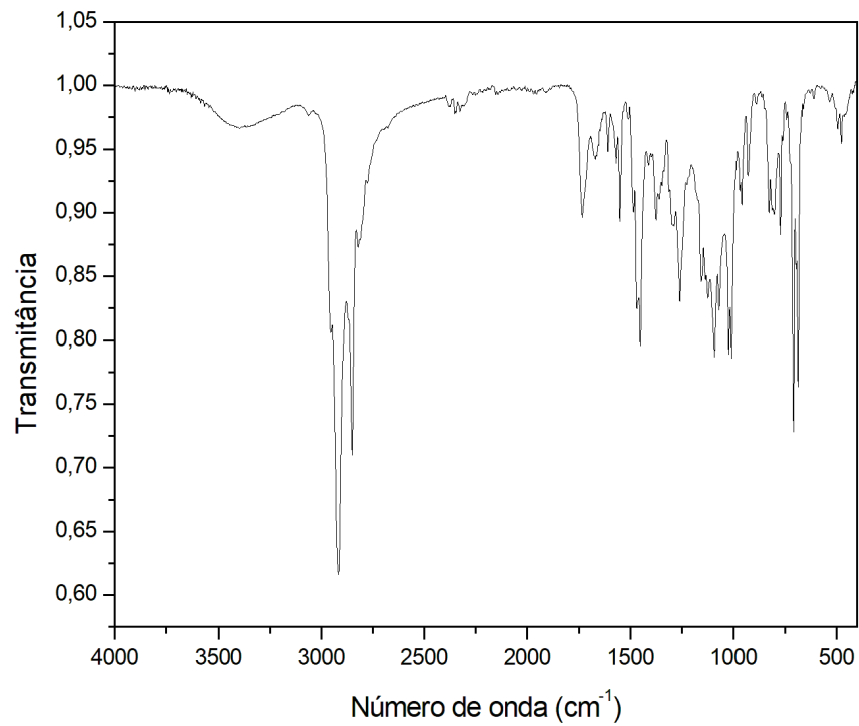


Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(16)**.

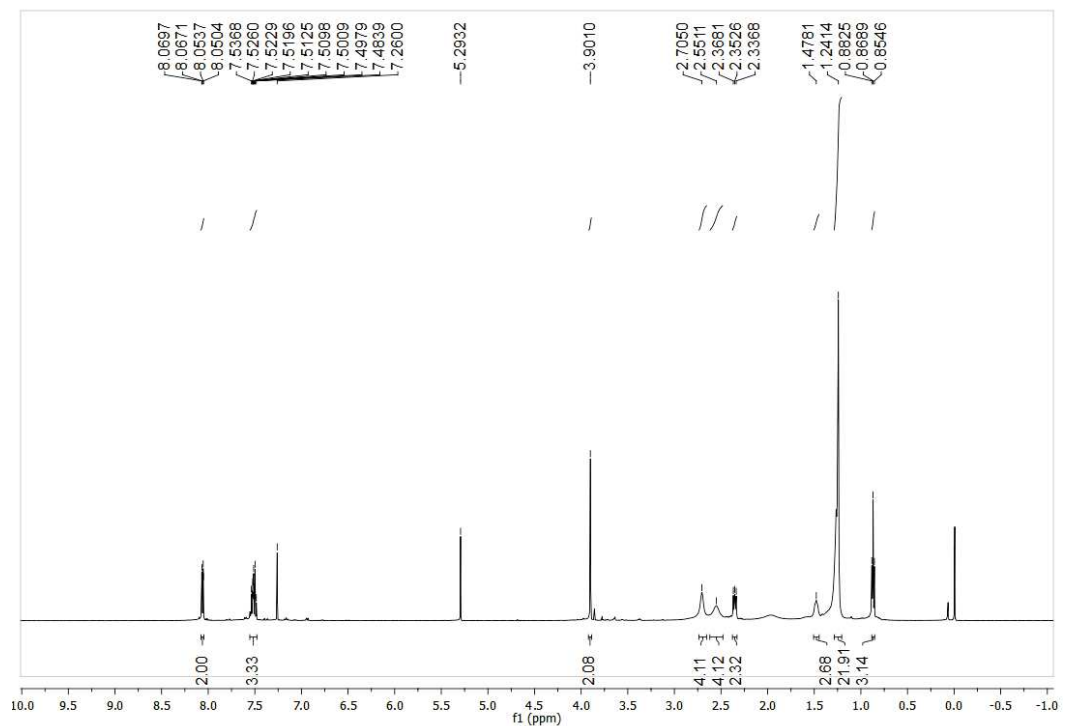
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(16)**.

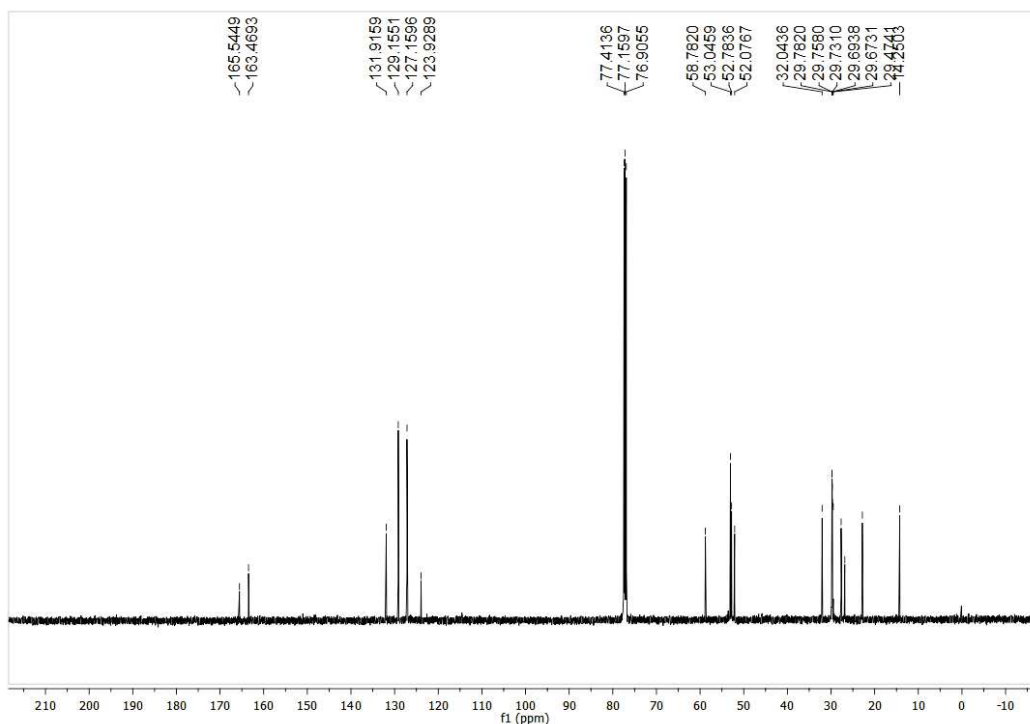
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(16)**

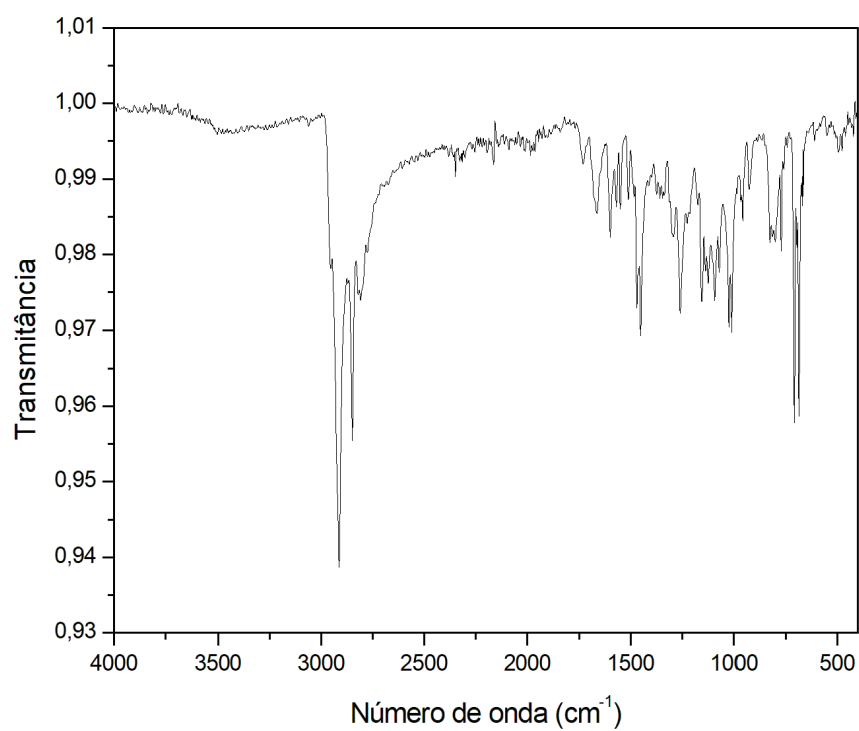
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(17)**.

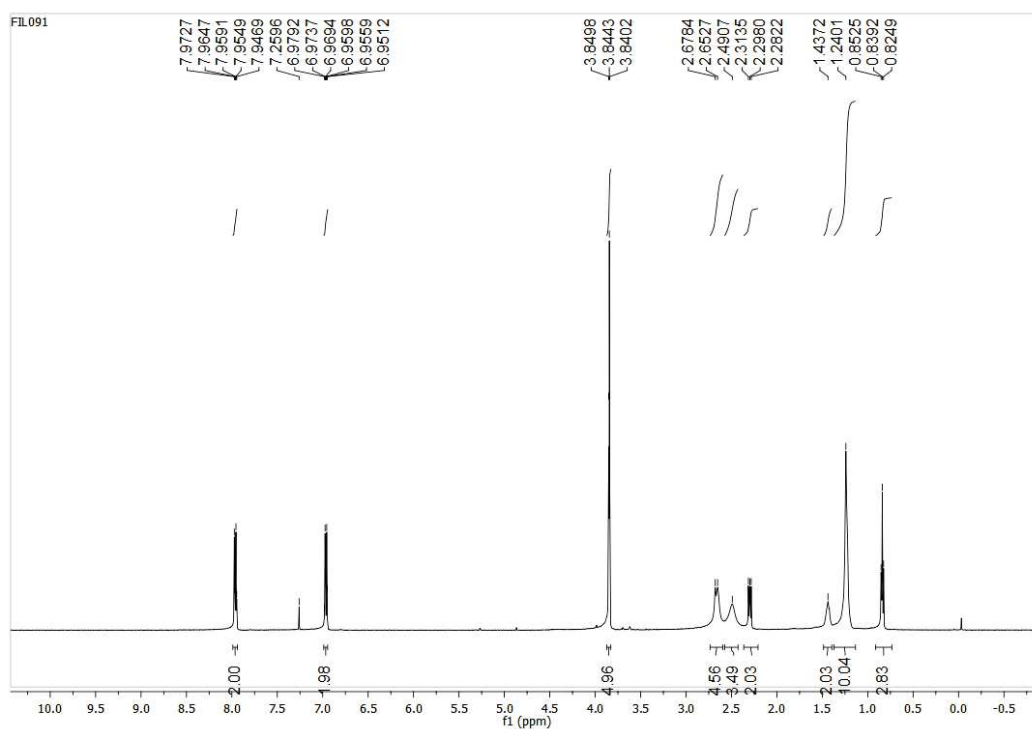
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (17).

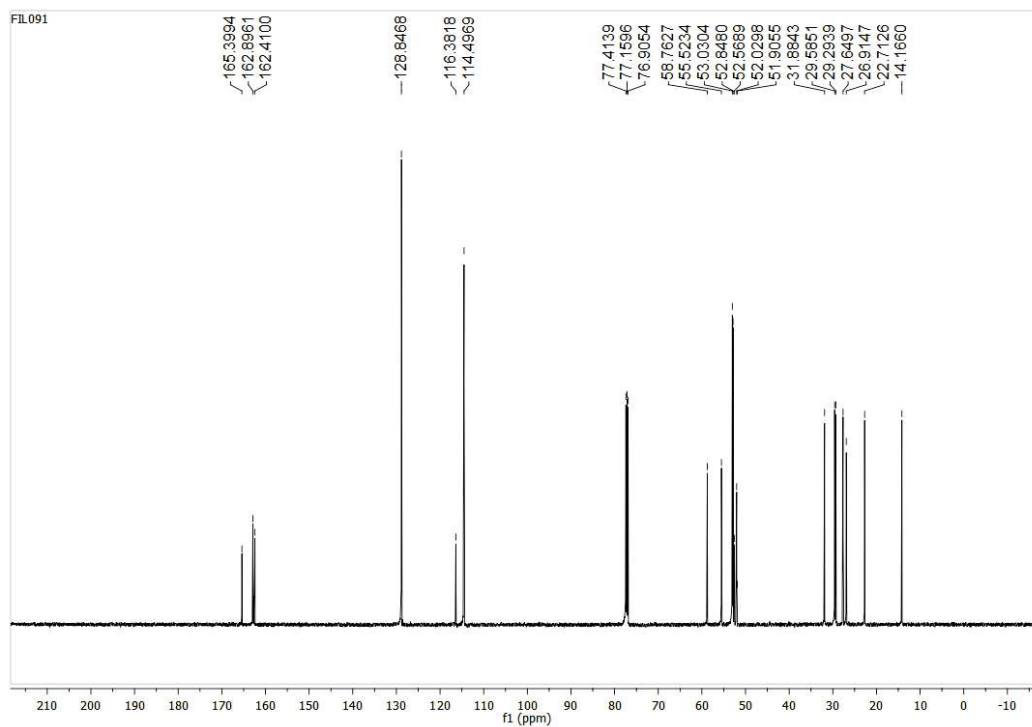
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto (17)

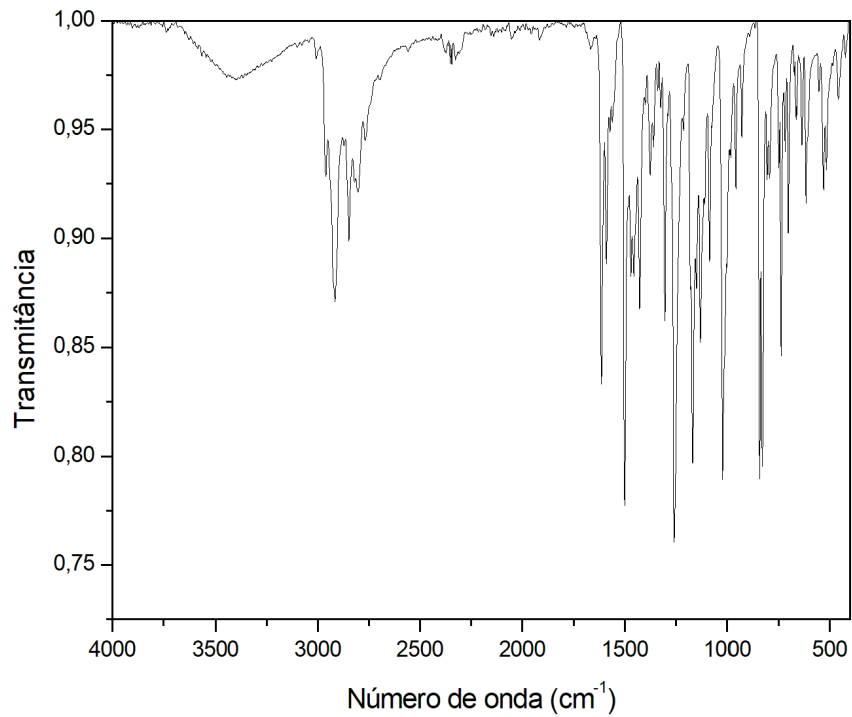
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(18)**.

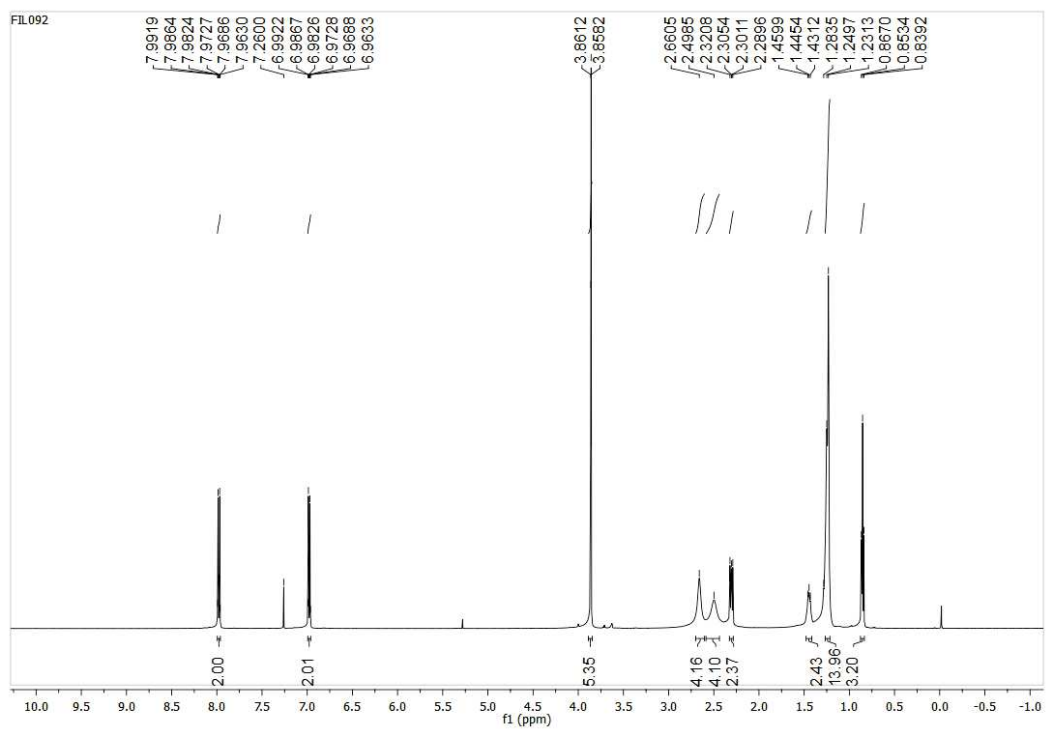
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(18)**.

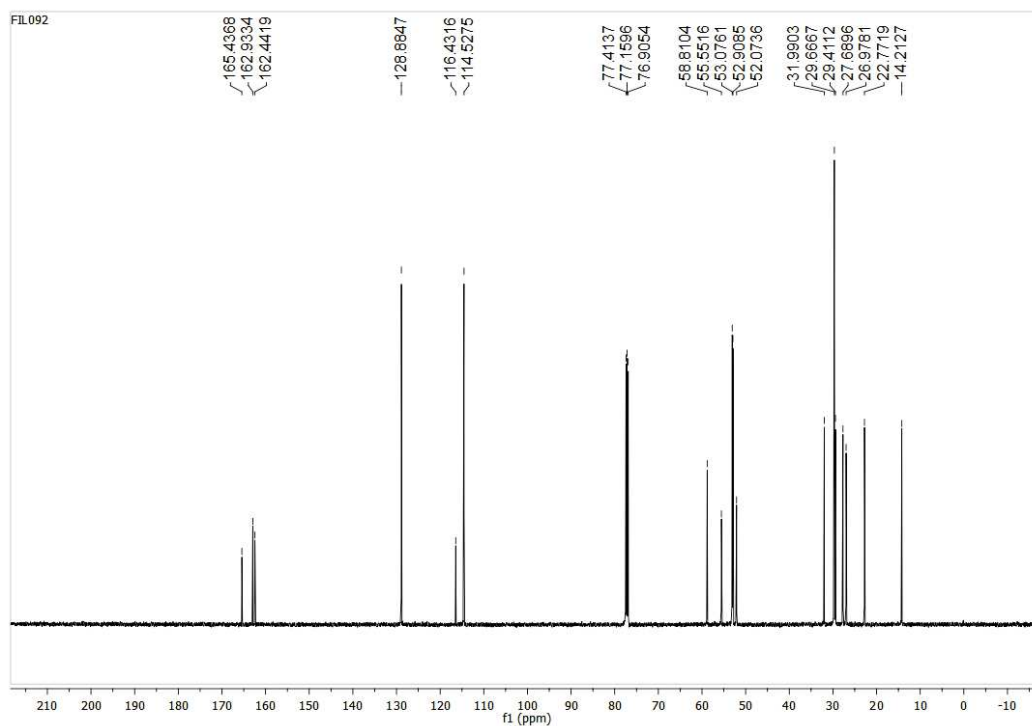
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(18)**

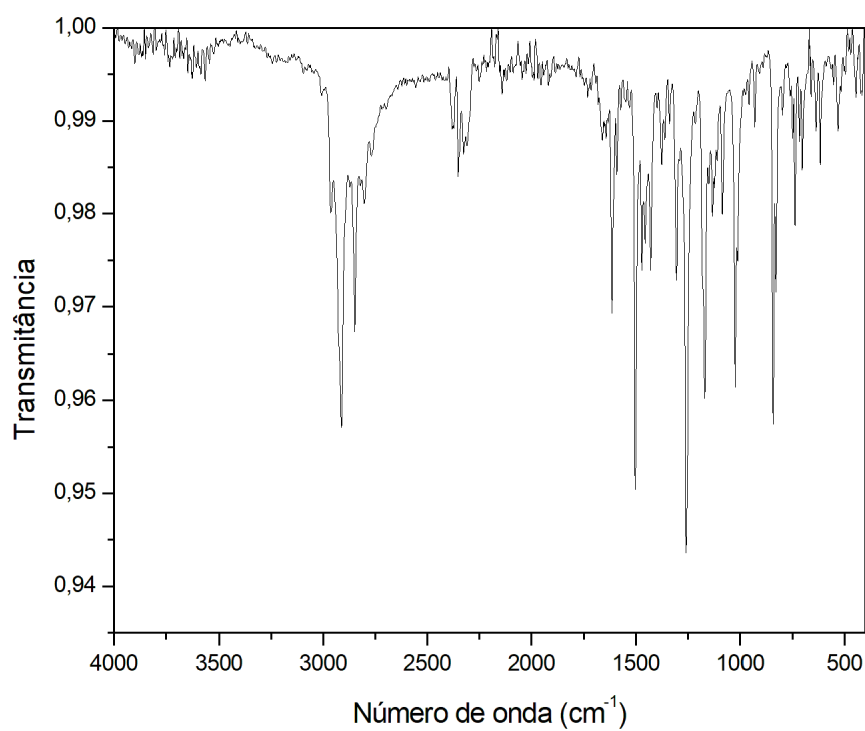
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(19)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

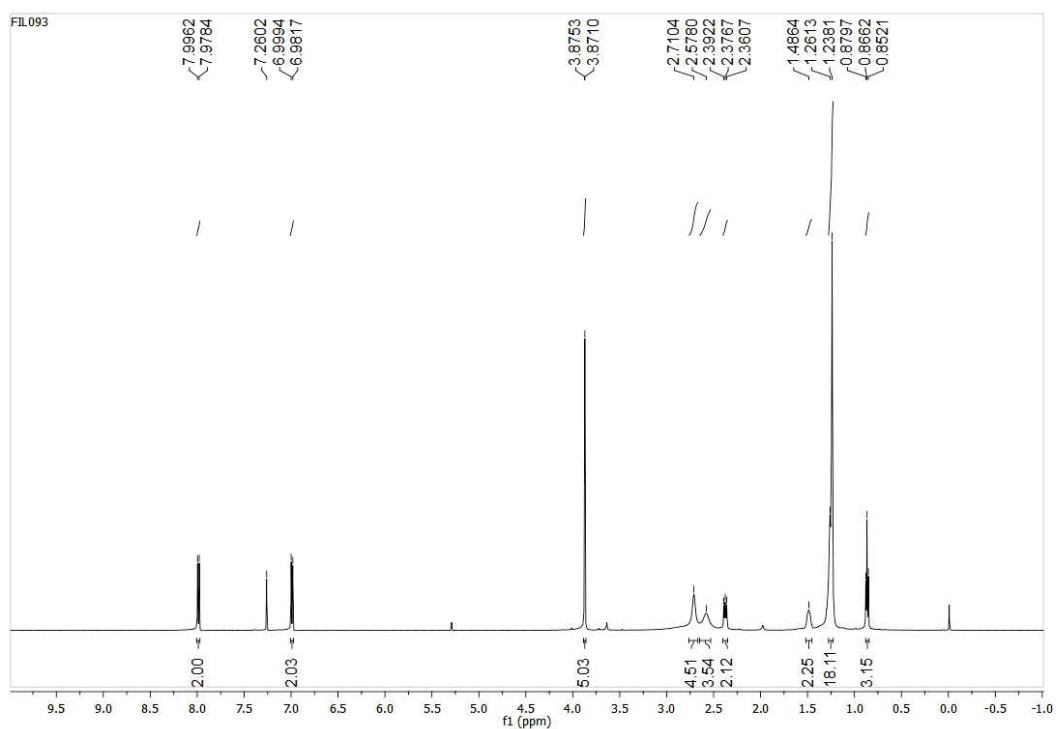
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(19)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(19)**

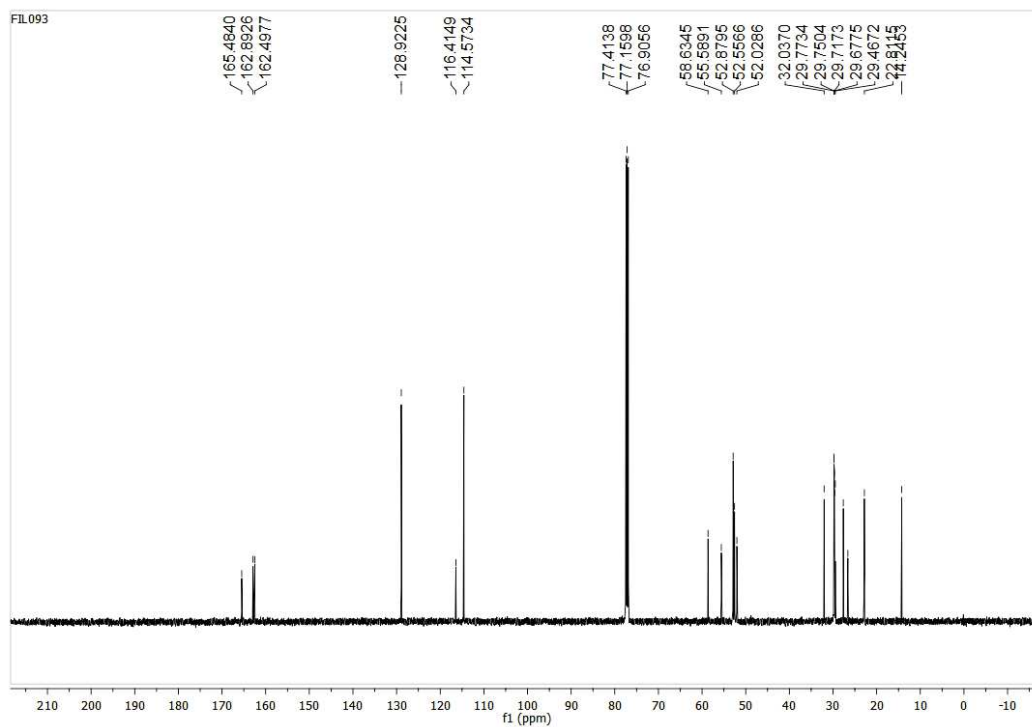
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(20)**.

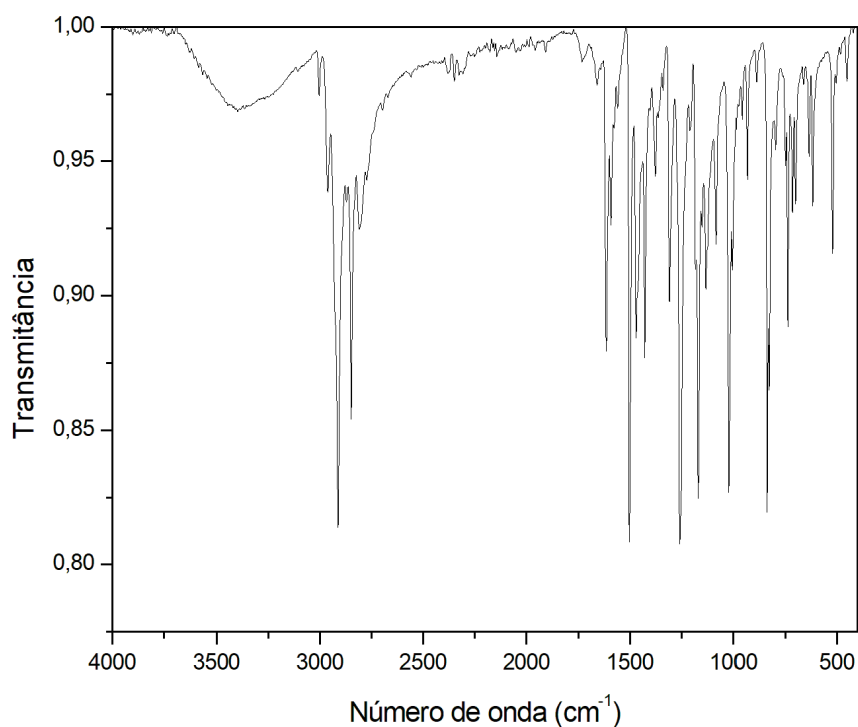


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

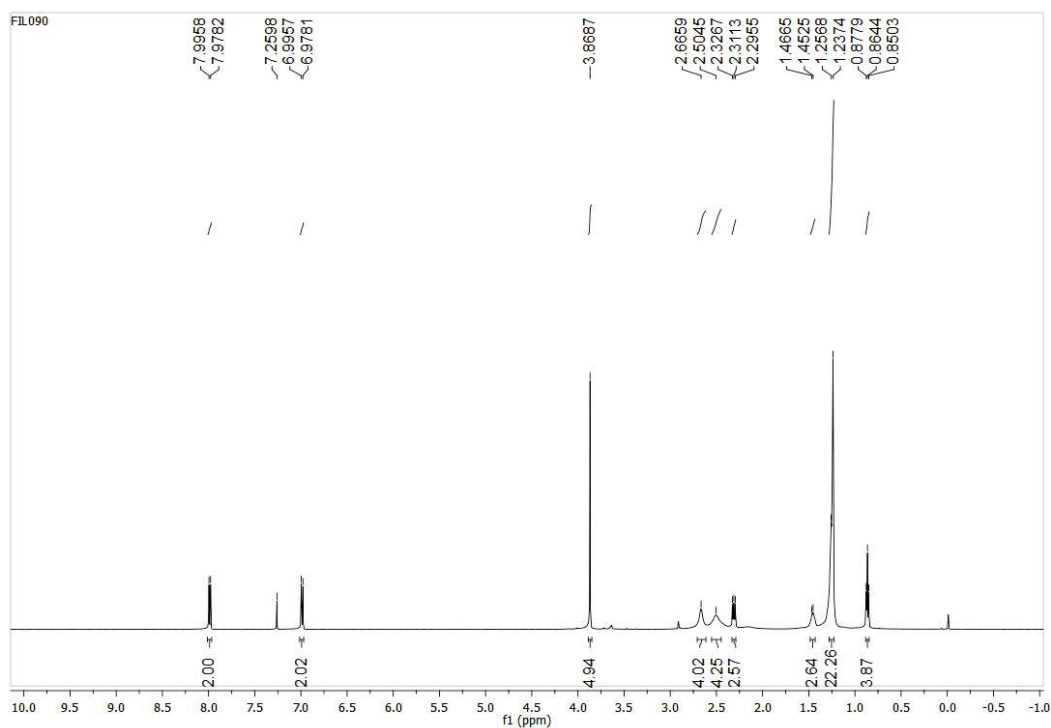
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto **(20)**.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

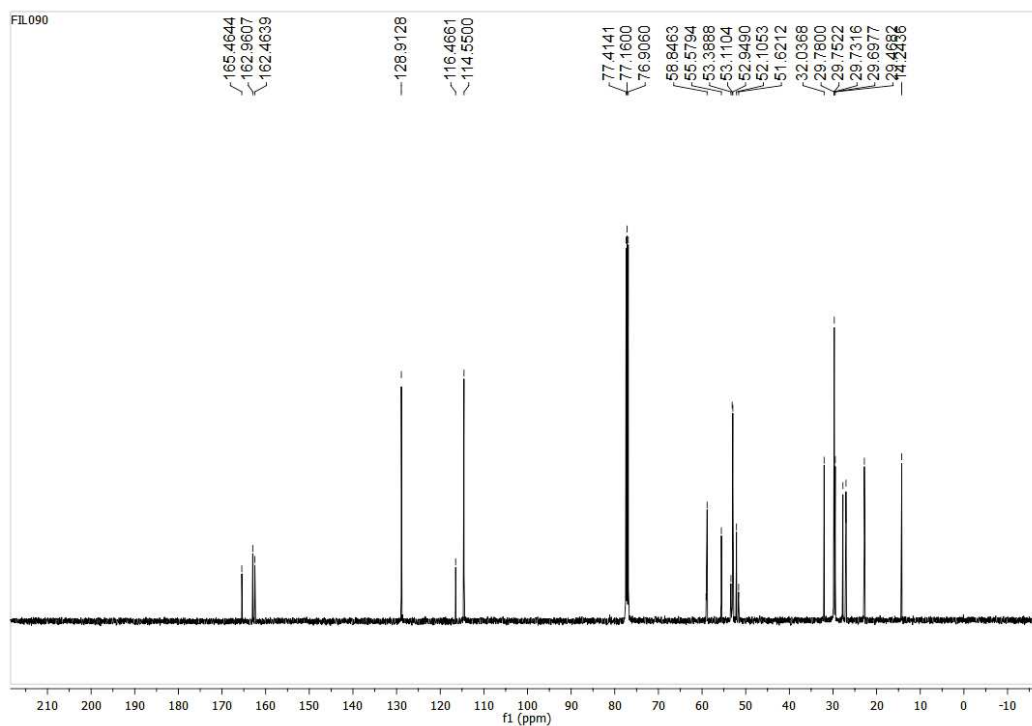
Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto **(20)**

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

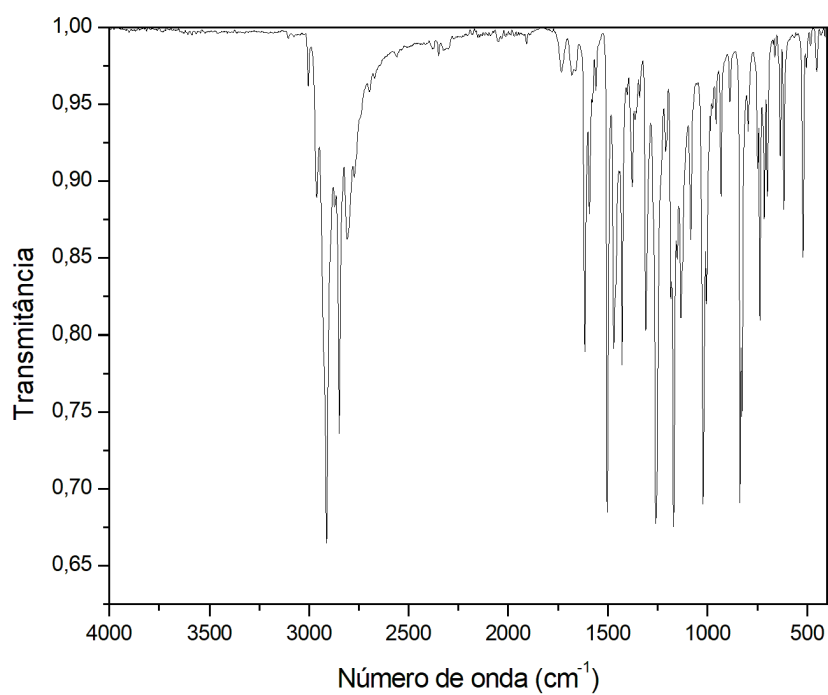
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 500 MHz) do composto **(21)**.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 125 MHz) do composto (21).

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Espectro de IV (ATR;  $\text{cm}^{-1}$ ) do composto (21)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.