

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL
MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Danielly Joani Bullé

Tecnologias limpas na síntese e avaliação toxicológica de
1,2,4-oxadiazóis em *Aspergillus niger*

Santa Cruz do Sul, abril de 2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Danielly Joani Bullé

**Tecnologias limpas na síntese e avaliação toxicológica de
1,2,4-oxadiazóis em *Aspergillus niger***

Dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental
pela Universidade de Santa Cruz do Sul, para
obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Dornelles
Co- Orientador Prof. Dr. Valeriano Antônio
Corbellini

Santa Cruz do Sul, abril de 2009

Danielly Joani Bullé

TECNOLOGIAS LIMPAS NA SÍNTESE E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE 1,2,4-
OXADIAZOIS EM *Aspergillus niger*

Esta dissertação foi submetida ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Dr. Luciano Dornelles
Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC
Orientador

Dr. Valeriano Antonio Corbelini
Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC
Co-Orientador

Dra. Miriam Anders Apel
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Dra. Rosana de Cassia de Souza Schneider
Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

AGRADECIMENTOS

Não quero ser formal em meus agradecimentos, pois posso cometer injustiças esquecendo pessoas que me ajudaram do que fazer jus a todas que merecem, pois bem sei que agradecer é muito difícil, e desta maneira quero agradecer a todas as pessoas que se fizeram presentes que se preocuparam, que foram solidárias e que torceram por mim.

Apesar de dever muito a todas estas pessoas, intelectualmente e emocionalmente, sei que um trabalho de pesquisa não se realiza sozinho, pois o resultado de nossos estudos foi possível pelo esforço e colaboração de outros antes de nós.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Valeriano Antônio Corbellini pela orientação e em especial ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Dornelles pela dedicação, tempo e empenho para que tudo ficasse perfeito no final. Suas sugestões nunca soaram com arrogância, mas foram sempre úteis e bem vindas e acabaram por constituir-se neste trabalho que com certeza não é só mérito meu, muito obrigada.

Aos colegas do laboratório de ensino de química pela ajuda, em especial a colega Ivana pelas horas de apoio que dedicamos uma a outra nesta caminhada.

Em especial a minha amiga Prof. Ms. Jane Renner, que nunca deixaria de mencionar aqui pois foi ela a maior incentivadora para que eu iniciasse este curso.

Por fim, minha família.

Merecem poucas palavras, mas aquelas que são mais caras.

Obrigada por vocês existirem, por depositarem em mim confiança para todas as horas. Sei que se orgulham por eu ter atingido uma etapa que nenhum outro de nós atingiu, mas este orgulho que sentem por mim se torna uma obrigação de cada dia ser mais digno disto.

A minha Mãe, Leodenes, obrigada por tudo que me proporcionou, sem você com certeza não teria chegado até aqui, dedico a você esta minha conquista, pois foi a pessoa mais importante nesta etapa tanto me incentivando quanto me ajudando financeiramente, e sabes que se fiz este mestrado foi for seu total incentivo pois sei a importância que tem pra você esta minha conquista.

Meus irmãos Luciane e Gustavo e meu pai Dirceu, obrigada pela torcida mesmo estando longe que sempre acreditaram em mim.

Ao meu noivo Gustavo, que por várias vezes deve ter detestado a mim e a este trabalho, pois sacrificar vários momentos em que poderíamos ter ficado juntos. Foi quem conviveu comigo todo dia até a conclusão desta dissertação, viveu todo estresse e nervosismo, sempre apoiando e incentivando para que eu não desistisse, sabendo que esta era uma etapa importante da minha vida, o meu mais sincero agradecimento e obrigada pela compreensão.

RESUMO

Neste trabalho realizou-se a síntese de 1,2,4-oxadiazóis, que constituem um grupo de compostos conhecidos por apresentarem diversas atividades biológicas. Procedeu-se à síntese a partir de reações entre arilamidoximas e L-aminoácidos com seu grupamento amino protegido, utilizando irradiação de microondas sem a utilização de solvente, comparando com a síntese realizada em presença de solvente. As arilamidoximas utilizadas foram a benzamidoxima, 4-clorobenzamidoxima, 4-toluilamidoxima, 4-metoxibenzamidoxima, 4-nitrobenzamidoxima, e os aminoácidos associados foram L-alanina, L-fenilalanina e L-metionina. Tais compostos foram analisados por espectrometria no IV, RMN¹H e RMN¹³C, onde se confirmou a obtenção dos compostos de interesse. Os rendimentos obtidos foram considerados bons (52% a 72%), sendo que alguns compostos tiveram rendimentos menores quando comparados com os rendimentos dos compostos sintetizados com uso de solvente. A toxicidade foi avaliada pela técnica de crescimento micelial radial utilizando o fungo *Aspergillus niger* comumente encontrado no meio ambiente utilizado frequentemente como bioindicador e altamente resistente a compostos tóxicos. Para a interpretação dos resultados foram utilizados espectroscopia de infravermelho, análise multivariada e quimiometria. Utilizando a Matriz de Leopold foi possível prever as ações impactantes provocadas no ambiente com a realização da síntese bem como desenvolver ações corretivas. As curvas de crescimento micelial radial apresentaram o comportamento trifásico. O composto 4-clorobenzamidoxima combinado com a L-alanina apresentou maior efeito fungistático na concentração de $2,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, já com os derivados da L-fenilalanina e da 4-toluilamidoxima o maior efeito fungistático foi na concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e com a L-metionina e a 4-clorobenzamidoxima ocorreu o maior efeito fungistático na concentração de $4,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Na realização da busca sistemática, pode-se prever que nos compostos sintetizados utilizando a condensação entre arilamidoximas substituídas e a L-alanina ocorre predomínio dos parâmetros eletrônicos e estéricos, enquanto que com a L-fenilalanina e L-metionina ocorre uma interação entre parâmetros hidrofóbicos, estéricos e eletrônicos. Na tentativa de obter um bom modelo utilizando a quimiometria, foram relacionados pequenos fragmentos da molécula.

Palavras chaves: 1,2,4-oxadiazóis, micro-ondas, química verde, quimiometria.

ABSTRACT

This work was carried out the synthesis of 1,2,4-oxadiazoles, which are a group of compounds known to have various biological activities. This was the synthesis from reactions between arylamidoximes and L-amino acids with their amino group protected, using the microwave irradiation without the use of solvent, compared with synthesis performed in presence of solvent. The arylamidoximes were used to benzamidoxime, 4-chlorobenzamidoxime, 4-tolylamidoxima, 4-methoxybenzomidoxime e 4-nitrobenzamidoxime, and the associated amino acids were L-alanine, L-phenylalanine and L-methionine. These compounds were analyzed by spectrometry at IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR, which was confirmed to obtain the compounds of interest. The yields obtained were considered good (52% to 72%), with some compounds had lower incomes compared to the yields of the compounds synthesized with the use of solvent, but one should take into account the time taken for completion of the reaction and no generation of waste. The toxicity was evaluated by the technique of radial mycelial growth using the fungus *Aspergillus niger* commonly found in the environment often used as bioindicators and highly resistant to toxic compounds. For the interpretation of results were used for infrared spectroscopy, multivariate analysis and chemometrics. Using the Leopold Matrix was possible to predict the actions impacting the environment due to the implementation of the synthesis and to develop corrective actions. The curves of growth radial mycelial were presented the three-phase behavior. The compound 4-chlorobenzamidoxime combined with L-alanine presented larger fungistatic effect on the concentration of $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, with the derivatives of L-phenylalanine and of the tolylamidoxime the greater fungistatic effect went in to concentration of $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, and with the L-methionine and the 4-chlorobenzamidoxime it happened was greater fungistatic effect in the concentration of $4.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. In the conduct of systematic search, can be expected that the compounds synthesized using the condensation between arilamidoximes replaced and L-alanine is predominantly the electronic and steric parameters, whereas with L-phenylalanine and L-methionine is a hydrophobic interaction between parameters, steric and electronics. In an attempt to obtain a good model using chemometrics, they were related to small fragments of the molecule.

Keywords: 1,2,4-oxadiazoles, microwave, green chemistry, chemometrics.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC – American Type Culture Collection

ATR - reflexão total atenuada

B₁ - parâmetro estérico de STERIMOL do substituinte

B₅ - parâmetro estérico de STERIMOL do substituinte

CMR – crescimento micelial radial

¹³C-RMN – ressonância magnética nuclear de carbono

DMSO - dimetilsulfóxido

DRIFTS – diffuse reflectance of infrared Fourier Transform spectroscopy-espectroscopia de reflexão difusa no infravermelho por Transformada de Fourier.

σ - parâmetro eletrônico de Swain e Lupton do substituinte

H¹-RMN – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

IV - infravermelho

IVM – infravermelho médio

KSF - montmorillonita

L - parâmetro estérico de STERIMOL de substituinte

MIC – minimal inhibitory concentration - concentração inibitória mínima

MM – meio mínimo

PCA - análise por componentes principais

PCR - regressão por componentes principais

π - parâmetro hidrofóbico de substituinte

PLS – mínimos quadrados parciais

PRESS - resíduos ou soma do quadrado da diferença entre valores calculados e valores previstos

POPA – Ácido 3-[3-(fenil)- 1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico

QSAR - relação quantitativa entre estrutura e atividade

\Re - parâmetro de campo de Swain e Lupton do substituinte

rCal – coeficiente de correlação de calibração

Rf - razão de eluição

RM - refratividade molar

RM_s - refratividade molar do substituinte

r₂Val - coeficiente de correlação de validação

SAR - relação estrutura atividade

RMSECV - erro padrão de calibração e validação

σ_p - parâmetro eletrônico de Hansch para substituinte em posição *para*

USP- Universidade de São Paulo

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Solventes e reagentes empregados na síntese de 1,2,4-oxadiazóis.....	43
TABELA 2 - Dados físicos referentes aos 1,2,4-oxadiazóis obtidos através da reação entre arilamidoximas e os L-aminoácidos, sob irradiação de micro-ondas comparando com utilização de solvente.....	55
TABELA 3 - Dados espectrais dos 1,2,4-oxadiazóis.....	56
TABELA 4 – Matriz de identificação qualitativa de impactos ambientais na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis com solvente.....	62
TABELA 5 – Matriz de identificação qualitativa de impactos ambientais na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis sem solvente (micro-ondas).....	63
TABELA 6 – Ações impactantes e medidas ambientais propostas para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis com solvente e sem solvente.....	66
TABELA 7 - Diâmetro de halos de colônias de ATCC 898, obtidos com diferentes concentrações de 1,2,4 oxadiazóis <i>Aspergillus niger</i>	68
TABELA 8: Parâmetros hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos dos substituintes H, Cl, CH ₃ , OCH ₃ e NO ₂ de arilamidoximas substituídas utilizadas para obtenção de 1,2,4-oxadiazóis por condensação com L-aminoácidos.....	74
TABELA 9: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de <i>A. niger</i> USP 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação	

entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH ₃ , OCH ₃ e NO ₂) e L-alanina com uma variável independente.....	75
TABELA 10: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de <i>A.niger</i> USP 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH ₃ , OCH ₃ e NO ₂) e L-fenilalanina com uma variável independente.....	76
TABELA 11: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de <i>A.niger</i> USP 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH ₃ , OCH ₃ e NO ₂) e L-metionina com uma variável independente.....	77
TABELA 12: Faixas espectrais utilizadas para a tentativa de encontrar o melhor modelo matemático.....	78
TABELA 13: Bandas e faixas espectrais escolhidas para cada região da estrutura da família de 1,2,4-oxadiazóis investigados.....	81

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis utilizando irradiação de micro-ondas.....	18
FIGURA 2 - Demonstração do espectroelétrico.....	22
FIGURA 3 - Comparação entre micro-ondas e aquecimento convencional.....	24
FIGURA 4 - Reação tipo Wittig em forno de micro-ondas de cozinha.....	25
FIGURA 5 - Estrutura química do ácido 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico(POPA).....	26
FIGURA 6 - Estrutura química de pesticidas 3-arilalquenil-1,2,4-oxadiazóis.....	26
FIGURA 7 - Estrutura química de agentes antivirais, [4-(isoxazolilalcóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazóis 20 e 21.....	27
FIGURA 8 - Preparação dos 1,2,4-oxadiazóis 24 sob o Método A.....	27
FIGURA 9 - Preparação dos 1,2,4 oxadiazóis 26 método B.....	28
FIGURA 10 - Síntese 1,2,4 oxadiazol com radical metiltienil no C-5.....	28
FIGURA 11 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis 33 derivados da ftalimida 31.....	29
FIGURA 12 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis a partir de benzamidoximas e isobutiraldeído.....	30
FIGURA 13 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis 41 a partir de arilamidoximas 3 e L-isoleucina 39.....	30
FIGURA 14 - Síntese da oxadiazolona 43.....	31
FIGURA 15 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis 47 derivados de arilamidoximas 44 com	

ácido palmítico 45.....	31
FIGURA 16 - Curvas de erro padrão de previsão – RMSECV , resíduos - PRESS, coeficiente de correlação de validação - RVal ² e variância relativa acumulada.....	36
FIGURA 17 - Fluxograma da Metodologia.....	41
FIGURA 18 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis.....	44
FIGURA 19 - Preparação das arilamidoximas.....	45
FIGURA 20 - Proteção do grupo amino dos L-aminoácidos.....	46
FIGURA 21 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis 3a-c com solvente sob refluxo.....	47
FIGURA 22 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis 3a-c sem solvente (micro-ondas).....	48
FIGURA 23 - Cromatograma da amostra padrão sintetizada 3aa.....	58
FIGURA 24 - Cromatograma da amostra sintetizada sem purificação 3aa.....	58
FIGURA 25 - Espectro de Infravermelho do composto 3aa.....	59
FIGURA 26 - Espectro de RMN ¹ H do 1,2-4-oxadiazol 3aa.....	60
FIGURA 27 – Avaliação qualitativa de impactos ambientais, seguindo o critério de ordem, espaço, tempo, dinâmica e plasticidade.....	63
FIGURA 28 - Padrões de curvas de atividade fungistática. A: monofásica; B: bifásica C:trifásica.....	68
FIGURA 29 - Crescimento micelial radial de <i>Aspergillus niger</i> USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas p- substituídas e L-alanina.....	69
FIGURA 30 - Crescimento micelial radial de <i>Aspergillus niger</i> USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas p- substituídas e L-fenilalanina.....	69

FIGURA 31- Crescimento micelial radial de <i>Aspergillus niger</i> USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas p- substituídas e L-metionina.....	70
FIGURA 32 – Exemplo de halos de crescimento micelial radial de <i>Aspergillus niger</i> frente a diferentes concentrações de 1,2,4-oxadiazóis.....	71
FIGURA 33 - Comparação entre crescimento micelial radial e triplicatas de espectros infravermelho de 1,2,4-oxadiazol na cocentração de 1×10^{-4} molL.....	73
FIGURA 34 - Espectro de infravermelho de todos os 1,2,4-oxadiazóis.....	83
FIGURA 35 - Espectro de infravermelho de fragmentos de bandas dos 1,2,4-oxadiazóis caracterizada como melhor modelo.....	83

SUMÁRIO

1	
INTRODUÇÃO.....	17
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
2.1 Química verde.....	19
2.1.1 Tecnologias limpas.....	20
2.1.2. Avaliações qualitativas e quantitativas de impactos ambientais utilizando o método “Matriz de Leopold”.....	21
2.1.2.1. Matriz de Leopold.....	21
2.2 Micro-ondas.....	22
2.3 1,2,4 Oxadiazóis.....	26
2.4 Análise multivariada em QSAR.....	32
2.5 Aplicações de espectroscopia no infravermelho.....	38
2.6 <i>Aspergillus niger</i>	40
3.0 METODOLOGIA.....	41
3.1 Equipamentos.....	42
2.7 Solventes e Reagentes comerciais.....	43
2.8 Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis.....	44
2.8.1 Preparação das Arilamidoximas (1a-e).....	44
2.8.2 Proteção do Grupo Amino dos Aminoácidos.....	46
3.3.3 Reação das Arilamidoximas com os <i>L</i> -aminoácidos Protegidos, para formação dos 1,2,4-oxadiazóis.....	47
3.3.3.1 Método A: Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis com solvente.....	47
3.3.3.2 Método B: Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis sem solvente (micro-ondas).....	48
2.9 Análises Espectroscópicas na Região do Infravermelho (IV).....	49
3.5 Análises Espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear.....	49
3.6 Condições Cromatográficas utilizadas.....	50

3.7 Matriz de Leopold.....	50
3.8 Atividade antifúngica.....	51
3.9 Análise exploratória multivariada.....	52
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1 Obtenção e Análises dos Materiais de Partida.....	54
4.2 Obtenção e Análises por CG-DIC, IV e RMN ¹ H dos 1,2,4-oxadiazóis.....	54
4.3 Avaliação dos impactos ambientais.....	61
4.4 Ensaios de atividade antifúngica.....	66
4.5 Estudos de correlação quantitativa entre estrutura e atividade biológica utilizando <i>Aspergillus niger</i> ATCC 898	73
4.5.1 Busca sistemática.....	73
4.6 Quimiometria.....	78
5 .0 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
6.0 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
ANEXOS.....	92

1 INTRODUÇÃO

Sintetizar compostos utilizando tecnologias limpas é importante, pois cada vez mais há uma maior preocupação em relação à redução ou eliminação do uso ou geração de produtos, sub-produtos, solventes, reagentes, que são nocivos à saúde humana ou ao ambiente. A utilização do forno de micro-ondas possibilita desenvolver reações livres de solventes, sendo esta tecnologia já relativamente explorada em aplicações industriais. Tais aplicações estão, gradativamente, sendo incorporadas ao meio acadêmico, no ensino e na pesquisa^{1,2}

Os derivados dos 1,2,4-oxadiazóis constituem um grupo de compostos de grande relevância, sendo bastante explorada a sua síntese e a aplicação de determinadas funções biológicas. Isto se deve ao fato de muitos destes compostos, já conhecidos e testados, possuírem atividades, tais como: analgésica³, anti-inflamatória⁴, antimicrobiana⁵, antiviral⁶, pesticida e inseticida^{7,8}, bloqueadoras de atividade β -adrenoreceptora, entre outras.

A preparação dos compostos 1,2,4-oxadiazóis derivados de aminoácidos e arilamidoximas é de grande importância pois, além dos mesmos poderem vir a ter atividades biológicas, podem ser preparados em poucas etapas sintéticas, com matérias-primas abundantes e de baixo custo e implementação de tecnologia de produção limpa como a tabela de impacto de Leopold para podermos quantificar o impacto ambiental causado com este projeto.

Um dos objetivos deste trabalho foi sintetizar 1,2,4 oxadiazóis, substituídos na posição 5, partindo de arilamidoximas com L-aminoácidos com seu grupamento amino protegido utilizando forno de micro-ondas, ou seja, sem a utilização de solvente orgânico comparando com o método tradicional que utiliza solvente na síntese implantando um dos princípios da química verde como mostrado na Figura 1 e identificar as ações impactantes causadas por esses dois métodos utilizando a Matriz de Leopold.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Química verde

A química tem uma grande participação nos dias atuais com inúmeros produtos fundamentais à humanidade, dentre os princípios da necessidade tem-se como regra de que a química deve manter a qualidade de vida. O grande desafio é a continuidade do desenvolvimento, diminuindo os danos causados ao meio ambiente.^{1,2}

A química verde tem a preocupação do desenvolvimento de tecnologias que pode ser definida como o desenho, desenvolvimento e implementação de produtos e processos para reduzir ou eliminar o uso ou a geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao ambiente¹⁰.

A emergência da química verde na educação e na pesquisa está sendo suportada por sociedades científicas, governos e indústrias¹¹.

Basicamente há doze tópicos a serem seguidos quando se quer implementar a química verde em uma instituição de ensino, pesquisa ou indústria¹²:

- Evitar a produção de resíduo é melhor do que tratá-lo após a sua geração;
- Desenhar metodologias sintéticas que possam maximizar a incorporação de todos os materiais de partida no produto final;
- A síntese de um produto químico deve utilizar e gerar substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade a saúde humana e ao ambiente;
- Os produtos químicos devem ser desenvolvidos para a função desejada, apresentando a menor toxicidade possível;
- A utilização de substâncias auxiliares, como solventes, deve ser evitada quando possível;
- A energia utilizada precisa ser reconhecida pelos seus impactos ambientais e econômicos e deve ser minimizada. Se possível os processos devem ser conduzidos a temperatura e pressão ambiente;
- A utilização de matérias-primas renováveis deve ser escolhida em detrimento de fonte não renováveis;

- A derivatização, ou seja, uso de reagentes bloqueadores, de proteção ou modificadores temporários, deve ser evitada, pois requerem reagentes adicionais e podem gerar produtos indesejáveis;
- Reagentes catalíticos são melhores que estequiométricos
- Os produtos químicos precisam ser desenhados de tal modo que no fim de sua função não persistam no meio ambiente e sejam inócuos;
- É necessário o desenvolvimento de metodologias analíticas que viabilizem um monitoramento e controle do processo, em tempo real, antes da formação de substâncias tóxicas;
- As substâncias utilizadas devem ser escolhidas a fim de minimizar o potencial para acidentes químicos tais como explosões e incêndios¹³

Os produtos ou processos da química verde podem ser divididos em três grandes grupos: o uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima; aumento da eficiência de energia, ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto; evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas¹⁴.

Esta idéia ética e politicamente poderosa, representa a suposição de que processos químicos que geram problemas ambientais possam ser substituídos por alternativas menos poluentes ou não poluentes.

Assim, a adoção da química verde é só mais uma das iniciativas para a prevenção poluição desenfreada. Este novo pensamento incentiva tal combinação para a implementação da química verde nos currículos e na prática científica, bem como em escala comercial e industrial¹⁵.

2.1.1 Tecnologias limpas

A utilização de técnicas químicas e metodologias que reduzem ou eliminem o uso ou geração de reservas (estoques de produtos tóxicos), produtos, sub-produtos, solventes, reagentes, que são nocivos à saúde humana ou ao ambiente constitui uma definição do *Green Chemistry* (Química Verde ou Química Sustentável). Este conceito, que pode ser atribuído à tecnologia limpa já é relativamente comum em aplicações industriais, especialmente em países com indústria química bastante desenvolvida e

que apresentem controle rigoroso na emissão de poluentes e vem, gradativamente, sendo incorporado ao meio acadêmico no ensino e na pesquisa¹⁶.

Via de regra, tecnologias limpas são atividades desenvolvidas com o objetivo de reduzir a poluição, o lixo, o consumo de energia, o abuso de água e a agressão à natureza. A grande vantagem das tecnologias “limpas” está na possibilidade de reverter custo em benefício, ou seja, o que seria antes tratado como um problema (gastos adicionais para evitar emissões ou para pagar compensações, caso a redução de emissões não seja técnica ou economicamente viável) passa a ser uma vantagem (ganhos de rendimento ou produtividade). As circunstâncias que levam à adoção das tecnologias limpas e otimização de processos estão normalmente associadas a indústrias de processo contínuo, onde a redução de efluentes pode representar uma economia considerável de custos¹⁶.

Tecnologia limpa, prevenção primária, redução na fonte, química ambientalmente benigna foram termos que surgiram para definir esta importante idéia, associado ao desenvolvimento na química com o objetivo cada vez mais buscado pelo homem moderno: o desenvolvimento auto-sustentável¹⁶.

2.1.2. Avaliações qualitativas e quantitativas de impactos ambientais utilizando o método “Matriz de Leopold”

2.1.2.1. Matriz de Leopold

A Matriz de Impactos, ou Matriz de Correlação Causa x Efeito, foi inicialmente proposta por Leopold e colaboradores em 1971¹⁷, e vem sendo alterada e aperfeiçoada, com o intuito de melhor adequá-la aos objetivos do Estudo de Impacto Ambiental.

A Matriz de Leopold, com diversas variantes, tem sido utilizada em Estudos de Impactos Ambientais, procurando associar os impactos de uma determinada ação de um empreendimento com as diversas características ambientais de sua área de influência.

Conforme Tommasi¹⁸, o método da matriz de Leopold permite uma rápida identificação, ainda que preliminar, dos problemas ambientais envolvidos num dado projeto. É bastante abrangente, pois envolve aspectos físicos, biológicos e sócio-econômicos. Apresenta, porém, desvantagens, como por exemplo, não permite avaliar

a freqüência das interações nem fazer projeções no tempo e apresenta grande subjetividade, sem identificar impactos indiretos nem de segunda ordem.

2.10 Micro-ondas

As micro-ondas são radiações eletromagnéticas não ionizante, que possuem uma freqüência que vai de 300 a 300.000 MHz e que corresponde a comprimentos de onda de 1 mm a 1 m. A região de micro-ondas situa-se entre a região do infravermelho e ondas de rádio no espectro eletromagnético¹⁹ conforme mostrado na Figura 2.

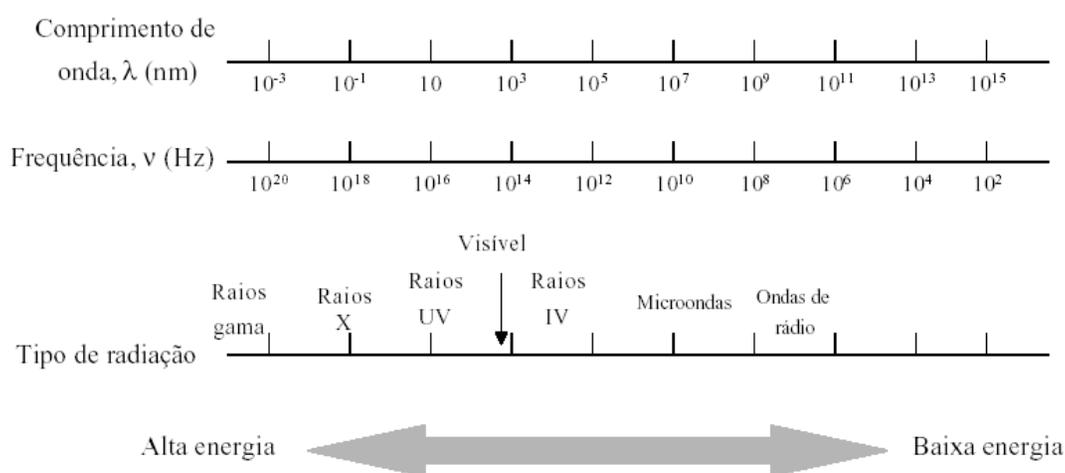


Figura 2 – Demonstração do espectroelétrico

A utilização do forno de micro-ondas em química analítica já é conhecido desde os anos 70, sendo que entre as suas aplicações mais importantes encontram-se: digestão de amostras para análise elementar, a extração de diversas substâncias e a dessorção térmica de vários compostos. Na síntese orgânica os primeiros relatos da utilização do forno de micro-ondas foi em 1986²⁰.

Recentemente a utilização da irradiação de micro-ondas em síntese orgânica, tem expandido o número de artigos científico relatados na literatura envolvendo a síntese de heterociclicos. A técnica tem sido aplicada a diversas reações orgânicas, entre elas podem-se citar, oxidação, redução, esterificação, proteção e desproteção, cicloadição, condensação, alquilação, substituição nucleofílica e muitas outras²¹.

Recentes avanços nas sínteses orgânicas catalisadas por sólidos ácidos e básicos com a irradiação micro-ondas permitem que muitas reações sejam feitas na ausência de quaisquer solventes orgânicos ²².

O aquecimento por micro-ondas é completamente diferente daquele que ocorre em um forno de cozinha convencional, onde o aquecimento ocorre por condução, irradiação e convecção. O aquecimento por micro-ondas é também chamado de aquecimento dielétrico, e existem dois mecanismos principais para a transformação de energia em calor ²³.

O primeiro deles é chamado rotação dipolo, e relaciona-se com o alinhamento das moléculas (que tem dipolos permanentes ou induzidos) com o campo elétrico aplicado. Quando o campo é removido as moléculas voltam a um estado desordenado, e a energia que foi absorvida para esta orientação está nos dipolos é dissipada na forma de calor ²³.

O segundo mecanismo é chamado de condução iônica, e o calor é gerado através de perdas por fricção, que acontecem através da migração de íons dissolvidos quando sob ação de um campo eletromagnético. Estas perdas dependem do tamanho, carga, condutividade dos íons dissolvidos e interação destes últimos com o solvente ²³.

O fator de perda dielétrica mede a eficiência da conversão de energia em calor. A constante dielétrica da substância é uma medida que indica sua polaridade, que significa a habilidade de uma amostra converter radiação eletromagnética em calor, ou seja, quanto maior a constante dielétrica mais a substância é aquecida por micro-ondas ²⁴.

Em geral, substâncias polares absorvem bem micro-ondas (como água, acetonitrila, etanol), enquanto que substâncias menos polares (hidrocarbonetos alifáticos ou aromáticos) ou substâncias com momento de dipolo nulo absorvem micro-ondas fracamente ²⁴.

Os primeiros relatos de reações orgânicas conduzidas em forno de micro-ondas surgiram em 1986 em dois trabalhos independentes de Gedye ²⁵ e Guigere ²⁶.

As reações foram conduzidas em um frasco selado com uma comparação com aquecimento convencional como mostra a Figura 3. Uma notável redução no tempo de reação foi observada, embora não tenha havido um controle de pressão²⁶.

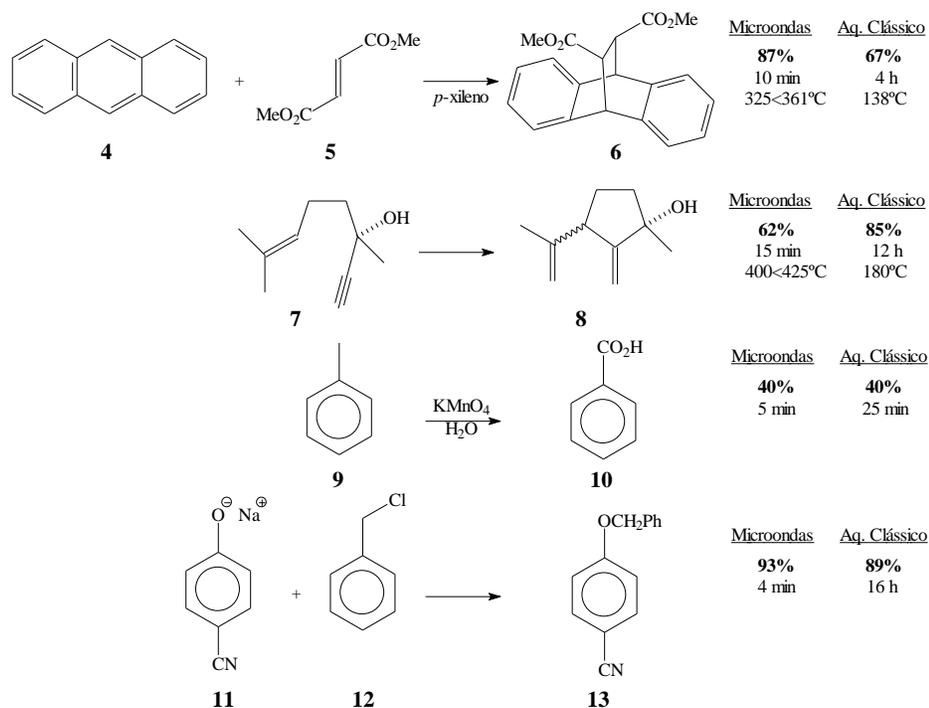


Figura 3 - Comparação entre micro-ondas e aquecimento convencional.

O uso do micro-ondas tem sido apontado como um procedimento de química verde, já que não é utilizado um solvente na reação, o que elimina a necessidade de reciclar, descartar e manipular um solvente orgânico. Também tem-se mostrado grande vantagem em termos de rendimento, tempo e menor formação de subprodutos.²⁷

As principais vantagens da utilização de energia de micro-ondas sobre o aquecimento convencional para uma reação química seriam:

- As taxas de aquecimento em uma reação onde alguma substância presente absorva bem micro-ondas são muito maiores que no aquecimento convencional;
- O reator ou recipiente da reação pode ser transparente as micro-ondas, a energia é absorvida somente pelos reagentes ou solventes;

- A energia é transferida diretamente para a amostra, não havendo contato físico com a fonte de aquecimento;
- A possibilidade de maiores rendimentos, maior seletividade e menor decomposição térmica, vantagens bem documentadas na literatura para várias reações orgânicas em sistemas homogêneos e heterogêneos²⁷.

Um exemplo de reação conduzida em micro-ondas é a da reação de síntese do ácido alfa-iodo-acético, segundo Trainor e colaboradores²⁸, comparações entre forno micro-ondas e convencional foram relatadas por Loupy e colaboradores²⁹, em uma revisão sobre o uso de micro-ondas sem o uso de solventes, outro exemplo interessante foi a saponificação de ésteres, conduzida em ausência de solvente com catálise por transferência de fase.

Algumas reações tipo Wittig (Wittig-Horner)²³ já foram conduzidas em forno de micro-ondas de cozinha em um frasco aberto, na ausência de solvente e sem preocupação com umidade conforme descrito na Figura 4.

As reações de deslocamento direto também foram conduzidas com sucesso com aquecimento por micro-ondas em ausência de solvente orgânico, o aquecimento convencional levou ao mesmo rendimento, porém levou dez horas.

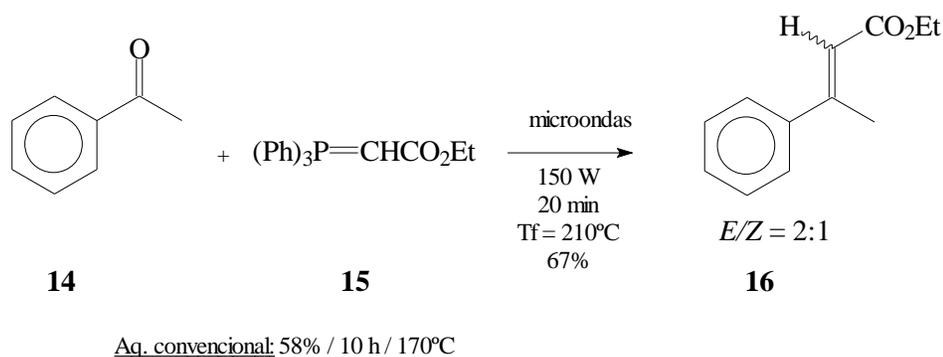


Figura 4 – Reação tipo Wittig em forno de micro-ondas de cozinha.

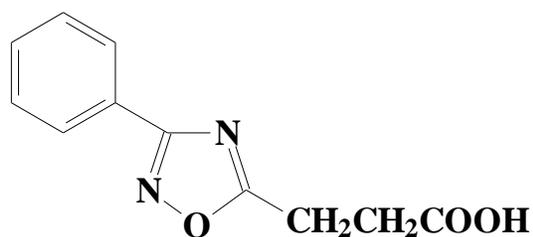
Aquecimento por micro-ondas é uma forma atraente de conduzir reações orgânicas pela grande redução nos tempos de reação e bons rendimentos.

A técnica é promissora do ponto de vista industrial, já existindo vários reatores em uma escala de laboratórios.

2.11 1,2,4 Oxadiazóis

Foi dada ênfase para a síntese de Oxadiazóis com grupos funcionais ligados nos carbonos C-3 ou C-5 do anel 1,2,4-oxadiazol, que constituem uma importante classe de compostos pelo fato de muitos deles possuírem atividades biológicas tais como antimicrobiano³, antiviral⁴, pesticida, inseticida^{6,7}, bloqueadora da atividade beta adrenoreceptora entre outras.

Alguns dos compostos mais existentes como analgésico e antiinflamatório são ácidos propiônicos derivados de 1,2,4-Oxadiazóis, como o Ibuprofeno e Naproxeno³⁰. Um destes ácidos, o ácido 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico (POPA), apresenta uma significativa atividade analgésica e anti-inflamatória observada após administração oral³¹. A estrutura química do ácido 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico (POPA), pode ser observada na Figura 5.



17

Figura 5 – Estrutura química do ácido 3-[3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônico (POPA).

Alguns oxadiazóis são utilizados como pesticidas, especialmente como inseticidas e acaricidas^{32,33}, conforme as estruturas dos compostos **18** e **19** apresentados na Figura 6.

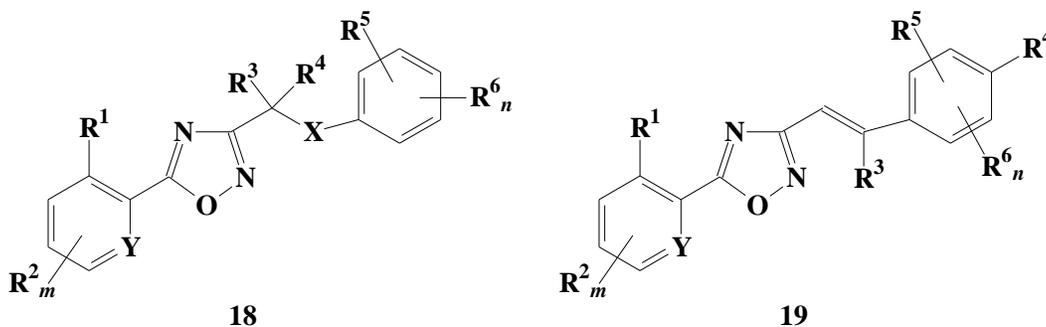


Figura 6 - Estrutura química de pesticidas 3-arylalquenil-1,2,4-oxadiazóis.

Os oxadiazóis podem ser utilizados como agentes antivirais^{4,33} como mostra-se nos compostos 20 e 21 da Figura 7.

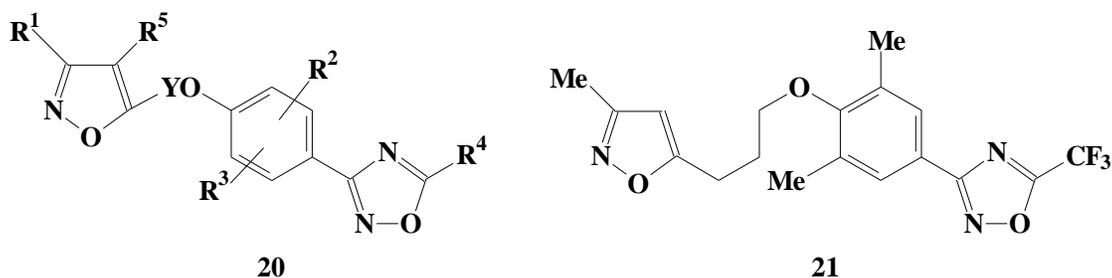


Figura 7 - Estrutura química de agentes antivirais, [4-(isoxazolilalcóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazóis 20 e 21

Vários métodos de obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis são descritos na literatura. Sokolov e colaboradores³⁴ prepararam 1,2,4-oxadiazóis através da reação da lactona 1,4-benzodioxin-2(3H)-ona com amidoximas em um solvente polar aprótico tal como DMSO(dimetilsulfóxido) ou dioxano a 90-140°C. Uma síntese geral e eficiente de 1,2,4-oxadiazóis também foi descrita por Buscemi e colaboradores³⁵. A síntese e reação de oxadiazóis litiados foi revisada por Grimmet e Iddon³⁶. Outras sínteses de oxadiazóis sob condições de irradiação de micro-ondas também foi estudada por Oussaid e colaboradores³⁷ e Srivastava e colaboradores^{38,39}. Oussaid e colaboradores³⁷ descreveram a preparação de 1,2,4 oxadiazóis **24** e **26** através de dois métodos: A) a oxima **22** reage com acetato de isopropenila **23** na presença de KSF sob irradiação de micro-ondas (2-9 minutos) (Figura 8); B) a amidoxima O-acilada **25** absorvida em alumina foi irradiada em um forno comercial por 5-10 minutos (Figura 9).

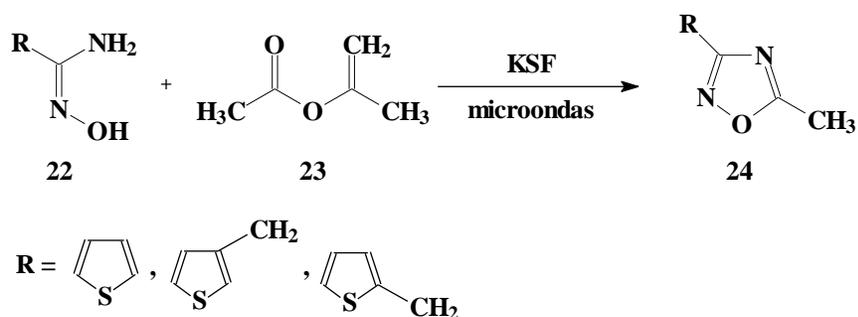


Figura 8 - Preparação dos 1,2,4-oxadiazóis **24** sob o Método A.

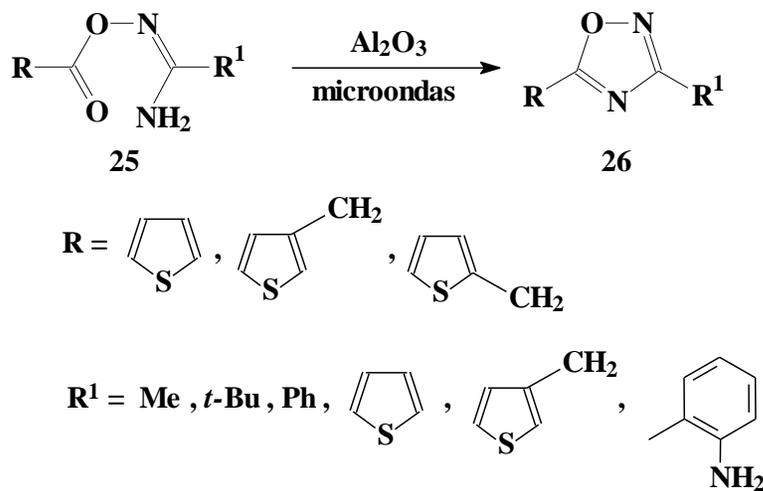
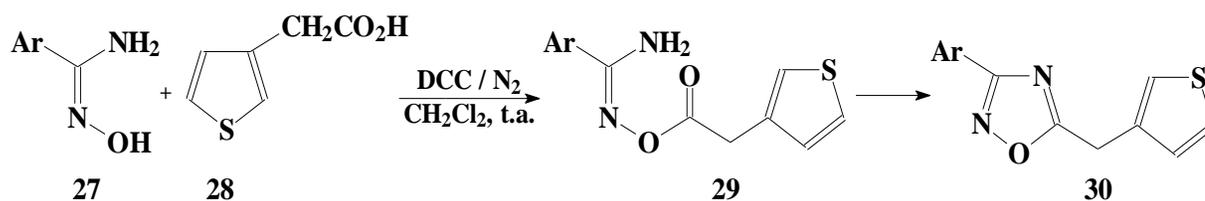


Figura 9 - Preparação dos 1,2,4 oxadiazóis **26** método B.

Oliveira e colaboradores⁴⁰. propuseram sintetizar oito novos compostos, 3-aryl-5-[(tien-3-il)]-1,2,4-oxadiazóis **30** a partir de arilamidoximas **27**, para obtenção, por aquecimento, dos 1,2,4 oxadiazóis conforme relacionados na Figura 10.

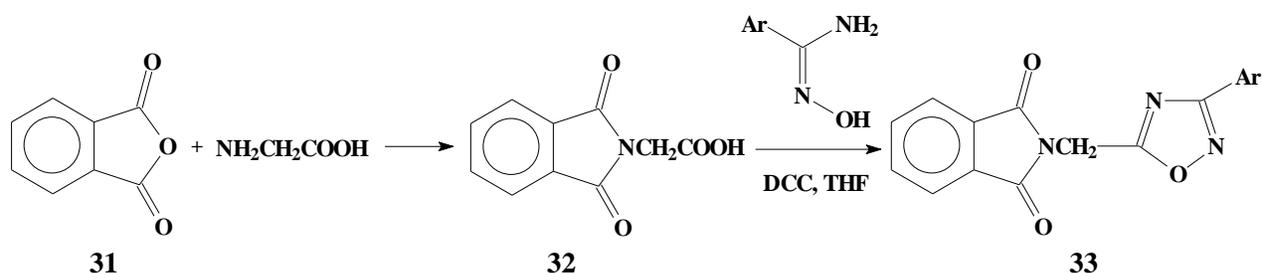


Ar = Ph; 2-CH₃Ph; 3-CH₃Ph; 4-CH₃Ph; 4-ClPh; 4-BrPh; 4-CH₃OPh; 4-NO₂Ph

Figura 10 - Síntese 1,2,4 oxadiazol com radical metiltienil no C-5.

A idéia que motivou o trabalho surgiu, segundo Oliveira e colaboradores⁴⁰, devido ao fato de a literatura citar que radicais tienila proporcionam atividades farmacológicas, não sendo, no entanto, comum a junção desses radicais aos 1,2,4 oxadiazóis. Os autores obtiveram rendimentos médios de 80%, não tendo porém, investigado as atividades biológicas dos compostos obtidos.

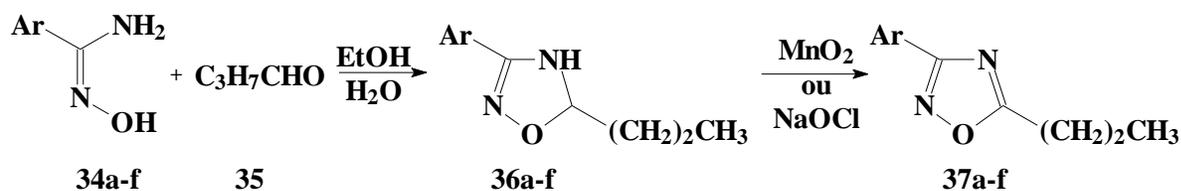
Derivados de ftalimidas já mostraram ter atividades antitumoral, hipolipidêmica e anticonvulsivante, entre outras. Devido à importância comprovada destes derivados e dos 1,2,4 oxadiazóis, Antunes e colaboradores⁴¹. decidiram sintetizar 1,2,4 oxadiazóis ligados a derivados da ftalimida, conforme Figura 11, com a finalidade de melhorar suas respectivas atividades. Segundo os autores, resultados preliminares indicavam que alguns destes compostos apresentavam boa atividade analgésica conforme o modelo no composto **33** da Figura 11.



Ar = 2-CH₃Ph; 4-CH₃Ph; 4-ClPh; 4-BrPh; 4-CH₃OPh; 4-NO₂Ph

Figura 11 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis **33** derivados da ftalimida **31**.

Srivastava e colaboradores⁴² descreveram a síntese de seis 3-aryl-5-(propil)-4,5 dihidro-1,2,4-oxadiazóis **35a-f** a partir de arilamidoximas **34a-f** e butiraldeído **35** com rendimentos de 59 a 89%, conforme esquema demonstrado na Figura 12. A oxidação dos compostos **36a-f** com MnO₂ em CH₂Cl₂ ou com NaOCl em THF/H₂O, formaram os 1,2,4-oxadiazóis **37a-f** com bons rendimentos (74 a 95%). Testes de atividade anti-inflamatória foram realizados com os compostos **37a-f**, com exceção do composto **37e**, todos os outros compostos possuíram atividade anti-inflamatória. Os cinco compostos possuem propriedades anti-inflamatórias inferiores a aspirina, mas os resultados são comparáveis com as 3-aryl-5-isopropil-1,2,4-oxadiazóis descritos anteriormente pelo mesmo autor e seus colaboradores⁴³.

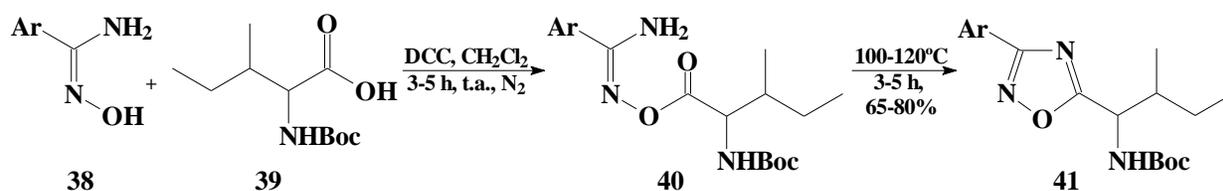


Ar = a) Ph; b) 2-CH₃Ph; c) 3-CH₃Ph; d) 4-CH₃Ph; e) 4- ClPh; f) 4-CH₃OPh

Figura 12- Síntese de 1,2,4-oxadiazóis a partir de benzamidoximas e isobutiraldeído.

Recentes pesquisas relataram atividade inibitória da monoamino oxidase com consequente ação antidepressiva e ansiolítica. Por outro lado, é comprovado, na literatura que a melhoria das propriedades farmacológicas de certos fármacos é obtida por latenciação. Estes são acoplados a aminoácidos que parecem ter facilidade em penetrar nas células, sem contudo serem tóxicos. Estas constatações motivaram Leite e colaboradores⁴⁴. a elaborarem uma coleção de derivados oxadiazóis contendo uma porção aminoácida. O derivado 3-] 3-(fenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico foi condensado aos aminoácido L-fenilalanina, valina e isoleucina em meio básico, usando DMF(dimetilformamida) como solvente.

Melo e colaboradores⁴⁵propuseram uma síntese fácil e eficiente de 3-aril-5[(1s)-t-butiloxicarbonil-1-amino-(2s)-metil-1butil]1,2,4 oxadiazóis (4a-f) e 3-fenil-5-(1s)-t-butiloxicarbonil-1- etil]-1,2,4 oxadiazol partindo de arilamidoximas, L-isoleucinas, L-alanina de acordo com o esquema mostrado na Figura 13. As estruturas dos intermediários e compostos finais foram determinadas a partir de dados espectroscópicos.



Ar = C₆H₅; 3-CH₃C₆H₄; 4-CH₃C₆H₄; 4-CH₃OC₆H₄; 4-ClC₆H₄; 4-NO₂C₆H₄

Figura 13 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis **41** a partir de arilamidoximas **38** e L-isoleucina **39**.

Billi e colaboradores ⁴⁶ descreveram a síntese do composto 8-(4-clorofenil)-8-hidroxi-5-metil-8H-[1,4]tiazino[3,4-c] [1,2,4]oxadiazol-3-ona, com rendimento de 70%, partindo do 6-(4-clorofenil)-3-metil-5-nitroimidazol [2,1-b][1,3] tiazol, por reação com ácido clorídrico e etanol sob refluxo, conforme Figura 14. Devido à obtenção de uma estrutura nova, a mesma foi submetida a testes *in vitro* de atividades antivirais e antitumorais. Apesar de o composto ter se mostrado inativo contra o HIV(Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), inibiu o crescimento de células tumorais, numa concentração de 10^{-4} molar.

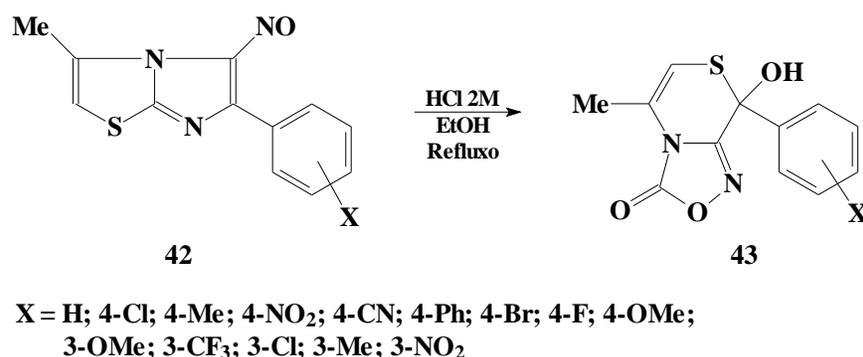


Figura 14 - Síntese da oxadiazolona **43**

Segundo Srivastava e colaboradores⁴⁷ a síntese de 1,2,4 oxadiazóis utilizando arilimidoximas substituídos na posição C-5 e ácido palmítico em presença de DCC (diciclo-hexilcarbodiimida), tem relevante importância pois estes compostos possuem atividades anti-inflamatória e antitumoral. A obtenção de 1,2,4 oxadiazóis, preparados a partir de arilamidoximas com ácido palmítico em presença de DCC (diciclo-hexilcarbodiimida), pode ser observada na Figura 15 .

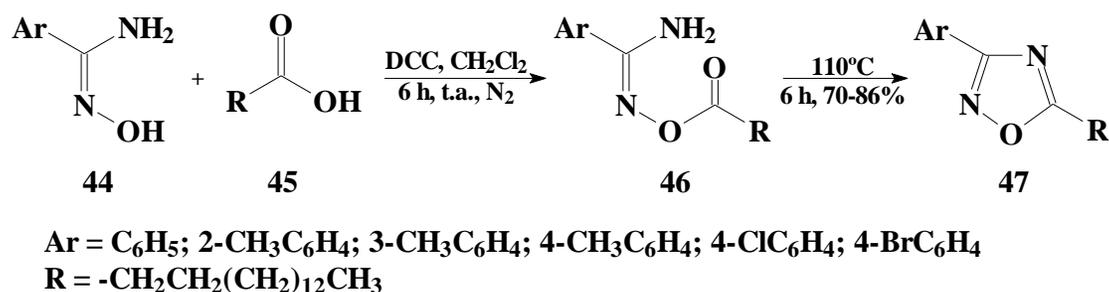


Figura 15 - Síntese de 1,2,4-oxadiazóis **47** derivados de arilamidoximas **44** com ácido palmítico **45**.

2.12 Análise multivariada em QSAR

Os termos Relações entre Estrutura e Atividade Biológica ou SAR (do inglês “structure activity relationships”) e Relações Quantitativas entre Estrutura e Atividade Biológica ou QSAR (do inglês “quantitative structure activity relationships”) designam ramos de conhecimentos da Farmacologia e da Química Medicinal que buscam, de uma maneira geral, estabelecer relações qualitativas (no caso de SAR) ou quantitativas (no caso de QSAR) entre propriedades (descriptor) físico-químicas, estruturais e conformacionais de um grupo de compostos ou drogas estruturalmente relacionados e uma propriedade biológica em questão⁴⁸. Estas relações são úteis para a compreensão dos mecanismos que regem a ação destas drogas com atividade biológica desejada.

Correlacionam entre séries congêneres de compostos, afinidades de ligantes a seus sítios de ligação, seja proteína ou receptor de membrana, constantes de velocidade e outras atividades biológicas; com certas características estruturais ou com propriedades, moleculares, de grupo ou atômicas, tais como lipofilicidade, polarizabilidade, propriedades eletrônicas e estéricas⁴⁹.

Equações de QSAR vêm sendo usadas para descrever sobretudo atividades biológicas entre diferentes séries de fármacos e candidatos a fármacos. Especialmente dados de inibição de enzimas tem sido correlacionadas com propriedades químico físicas com sucesso.

Entre as propriedades físico-químicas mais importantes para o estabelecimento da atividade biológica de fármacos citam-se a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a estereoquímica da molécula. Cada uma destas propriedades contribui com maior ou menor intensidade para o estabelecimento da resposta biológica.

Vários modelos matemáticos têm sido propostos para obtenção de um modelo de QSAR sendo o mais conhecido o modelo de Hans-Fujita^{49,50}. Este modelo estabelece que a atividade biológica observada é o resultado da contribuição de diversos fatores independentes que controlam o transporte e as interações do fármaco com o sítio receptor. Estes fatores são classificados como hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos

relacionados à natureza e à posição do substituinte sendo que a atividade biológica pode ser relacionada com a lipofilicidade através de um modelo linear multidimensional do tipo

$$\text{Log}(1/C) = a \log P + b \sigma + c E_S + d$$

ou através de um modelo parabólico ou quadrático do tipo

$$\text{Log}(1/C) = -a (\log P)^2 + b \log P + c \sigma + d E_S + e$$

Nas equações P é o coeficiente de partição octanol/água, σ é a constante eletrônica de Hammett, E_S é a constante estérica de Taft e C é a concentração molar do composto relacionada com uma resposta biológica determinada como, por exemplo, IC_{50} , a dose necessária para inibir 50 % da resposta avaliada. As constantes a, b, c, d e e são os coeficientes das variáveis independentes, log P, σ e E_S obtidos pela análise de regressão linear múltipla.

O modelo linear correlaciona-se melhor com atividades biológicas avaliadas *in vitro* ou em peças anatômica simples ao passo que o modelo parabólico explica melhor ensaios *in vivo* ou com peças anatômicas complexas⁵⁰.

Para elaboração de um bom modelo matemático é necessário um conjunto de variáveis que realmente tenham correlação com uma determinada atividade biológica. Estas variáveis podem ser classificadas como:

- Hidrofóbicos: coeficiente de partição (log P), constante hidrofóbica (π), constante fragmental hidrofóbica (f , f'), coeficiente de distribuição (log D), coeficiente de partição aparente (log P'), fator de capacidade em HPLC (log k, log k_w), parâmetro de solubilidade (δ);
- Eletrônicos: constante de Hammett (σ , σ^- , σ^+), constante indutiva de Taft (σ^* , σ_f), parâmetro de campo de Swain e Lupton (\mathfrak{S}), parâmetro de ressonância de Swain e Lupton (\mathfrak{R}), constante de ionização (pKa, ΔpKa), deslocamentos químicos (^{13}C e 1H), carga líquida atômica (q^o , q^n), superdeslocalizabilidade (S^N , S^E , S^R), energia do orbital molecular ocupado de maior energia (E_{HOMO}), energia do orbital molecular desocupado de menor energia (E_{LUMO}), potenciais eletrostáticos (Vr);

- a) Estéricos: parâmetro estérico de Taft (E_S , E^C), volume molar (MV), peso molecular (MW), raio de van der Waals (r), volume de van der Waals (V_W), refratividade molar (MR), paracor (Pr), parâmetros STERIMOL (L, B₁, B₅). Polares: momento dipolar (μ)

A seleção de variáveis em QSAR pode ser realizada por vários métodos, mas neste trabalho vamos nos deter nos métodos quimiométricos em virtude de serem estes selecionados para a aplicação do conjunto de compostos a serem sintetizados neste estudo.

Este emprega métodos matemáticos e estatísticos para analisar, planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para extrair o máximo de informações químicas com a análise dos dados obtidos. Estes métodos tem possibilitado modelar propriedades químicas e físicas de sistemas simples ou complexos a partir de seus dados espectroscópicos.

Algumas exigências devem ser obedecidas na seleção e variáveis para estudos de QSAR. Primeiro que devem ser evitadas regressões que contenham variáveis correlacionadas⁵⁶. A não obediência deste critério pode levar a modelos com dificuldades na interpretação das implicações farmacológicas e bioquímicas relacionadas com o próprio e perda da precisão na inversão matricial por MMQ (média dos mínimos quadrados) por apresentar a matriz de dados duas colunas correlacionadas (determinante próximo de zero).

Uma outra exigência é de que a razão entre o número de descritores e o número de compostos é limitada à proporção de, no mínimo, 5:1 para que não ocorra ajuste forçado do modelo (“overfitting”) em função da ocorrência de correlação por coincidência⁵⁶. Excepcionalmente para casos em que o modelo de QSAR exige duas variáveis é possível estabelecer a correlação com quatro compostos por descritor.

Para derivados não homólogos foram desenvolvidos modelos estatísticos mais elaborados incluindo métodos quimiométricos que combinam análise multivariada. Estes podem ser classificados em Regressão por Componentes Principais (PCR, do inglês “principal components regression”), que consiste na construção de um modelo de regressão utilizando unicamente as respostas instrumentais sem levar em consideração informações provenientes das concentrações ou Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês “partial least squares”)⁵⁷, que consiste na utilização de

informações das concentrações e informações espectrais na obtenção do modelo de regressão.⁵⁸

A abordagem de construção de modelos de QSAR, que utilizam métodos quimiométricos, baseia-se na Análise por Componentes Principais (PCA, do inglês “principal components analysis”) que consiste na manipulação conjunto de dados, expresso na forma de uma matriz, com o objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um menor número de componentes principais (também denominados de fatores, variáveis latentes ou autovetores)^{59,60}. Estes fatores representam um novo sistema de eixos que representam as variáveis originais num espaço com dimensões contraídas em relação ao espaço original sendo que cada fator agrupa aquelas variáveis que estão altamente correlacionadas e a variação presente em cada fator é complementar aos demais fatores (são vetores ortogonais).

A construção de modelos de calibração passa então por uma etapa de seleção de variáveis que irão servir de matriz de dados para a geração dos diversos fatores a partir dos quais são criados modelos de calibração que relacionam estes fatores com a resposta biológica em questão⁶¹.

Tanto o método PCR quanto o método PLS podem ser utilizados para a modelagem por componentes principais. Seus parâmetros praticamente não se alteram com a inclusão de novas amostras (compostos) no conjunto de calibração⁶².

O método PLS utilizado neste trabalho usa as informações das respostas biológicas (no caso de calibração em QSAR/SAR). Neste caso o primeiro fator é denominado de variável latente e descreve a direção de máxima variância que também se correlaciona com a resposta biológica. Um fator agravante da qualidade do modelo de PLS gerado é o de que se alguma das respostas biológicas não apresentar determinação confiável o modelo fica calibrado de maneira errada⁶².

Sobre o método de validação do modelo de calibração cabe um comentário à parte. Em condições ideais seria interessante dispor de um conjunto de compostos não utilizados na elaboração do modelo de calibração para testar o modelo proposto. Em QSAR este processo é caro além de demorado. Neste caso uma alternativa prática é utilizar o método de validação cruzada⁶². Esta metodologia baseia-se na remoção de uma ou mais amostras do conjunto de calibração, construção do novo modelo de

calibração e utilização do novo modelo para prever a resposta biológica dos dados removidos. Em seguida calcula-se o erro de previsão dado pela diferença entre a resposta biológica prevista e a obtida experimentalmente. Por fim calcula-se a soma dos quadrados dos erros de previsão (PRESS) ou a sua raiz quadrada (RMSECV). O processo é repetido para todas as variáveis e por fim com diferentes PCs.

A decisão final sobre o número de fatores a serem considerados no modelo de calibração será dada em função do menor valor de PRESS ou de RMSECV⁶². Neste sentido, um gráfico de RMSECV em função do número de fatores deve decrescer rapidamente com a introdução de cada nova PC até que praticamente não se altere com a inclusão de maior número de PCs (F1 na Figura 16 A).

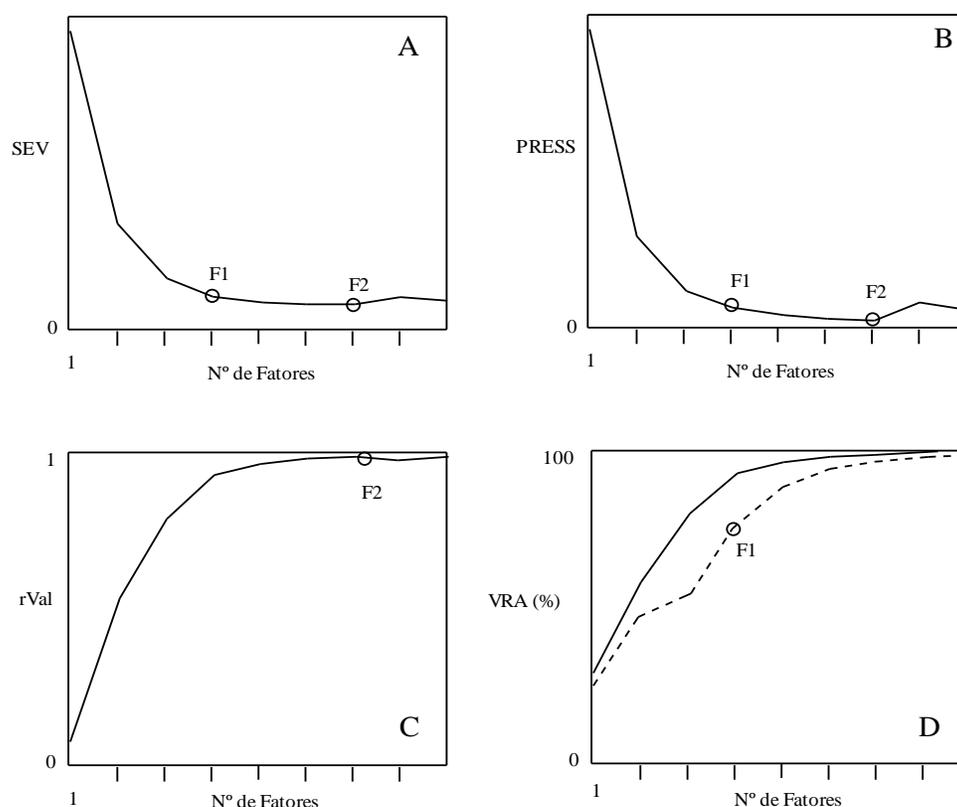


Figura 16 - Curvas de erro padrão de previsão – RMSECV (A), resíduos - PRESS (B), coeficiente de correlação de validação – R_2 val (C) e variância relativa acumulada – VRA (D) em função do número de fatores incluídos no modelo de validação. F1(A, B): número mínimo de fatores a partir do qual os valores de RMSECV e PRESS pouco variam; F1(D): fator com maior variância que o fator anterior; F2 (A, B, C): número ótimo de fatores.

Este comportamento ocorre em virtude de que maior número de fatores produz pouca alteração na variância relativa acumulada⁶². Uma inclusão excessiva de fatores pode armazenar informação desnecessária ou não correlacionada com a propriedade medida levando à perda na qualidade do modelo. Neste caso, o número máximo de fatores que pode ser incluído para melhorar a qualidade do modelo de validação é determinado como o menor valor de RMSECV obtido.

As curvas de PRESS para um modelo de validação são semelhantes às de RMSECV uma vez que os valores de PRESS e de RMSECV estão relacionados pelas expressões

$$\text{PRESS} = \sum (Y - \hat{Y})^2$$

(4)

$$\text{RMSECV} = \frac{(\text{PRESS})^{1/2}}{n - k - 1}$$

(5)

$$n - k - 1$$

$$R_{2\text{val}} = 1 - \frac{\text{PRESS}}{\sum (Y - Y_M)^2}$$

(6)

$$\sum (Y - Y_M)^2$$

onde

Y = valor determinado experimentalmente para um determinado composto

\hat{Y} = valor previsto para um determinado composto

Y_M = média de valores medidos experimentalmente para o conjunto de compostos testados

n = número de compostos

k = número de fatores

Curvas de Coeficiente de Correlação de Validação $R_{2\text{val}}$ devem se aproximar de 1 com a inclusão de novos fatores até o ponto (F2) em que um maior número de fatores leve a uma queda na qualidade do modelo. Valores de $R_{2\text{val}}$ são sempre menores que valores de Coeficiente de Correlação de Calibração (R_{cal}) o mesmo acontecendo com o erro padrão de calibração (SEC), uma vez que perde-se informação com a exclusão de um composto no processo de validação cruzada. Logo, bons modelos de validação são sempre bons modelos de calibração fazendo com que os parâmetros estatísticos

(RMSECV, PRESS e R^2_{val}) dos modelos de validação sejam mais confiáveis para escolha do melhor candidato a modelo⁶².

Um outro parâmetro que se costuma utilizar para acompanhar o nível de informação fornecido pelos fatores é a Variância Relativa Acumulada (VRA) que mede, em porcentagem, a quantidade de variância incluída em cada fator criado pelo método de PLS. Normalmente a maior variância é apresentada pelo primeiro fator com decréscimo rápido da variância nos fatores subseqüentes.

Uma vez validado o modelo, determinado o número ótimo de fatores pode se determinar o vetor de regressão que pode ser então aplicado na previsão da resposta biológica de novos compostos.

2.5 Aplicações de espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia do infravermelho (IV) é um tipo de espectroscopia de absorção a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético⁵¹. Como as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra.

A espectroscopia no infravermelho se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem freqüências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de *níveis vibracionais*). Tais freqüências dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico⁵¹.

Se a molécula receber luz com 'exatamente' a mesma energia de uma dessas vibrações, então a luz será absorvida desde que sejam atendidos a determinadas condições. Não obstante, as freqüências de ressonância podem ser em uma primeira aproximação relacionadas ao comprimento da ligação e às massas dos átomos em cada ponta dela⁵¹.

A radiação infrvermelha corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível e das micro-ondas. A porção de maior utilidade esta situada entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} .

Embora o espectro de IV seja característico da molécula com um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características de grupos que permite através do exame do espectro e consulta a tabelas, de informações estruturais úteis, para fazer a identificação das estruturas.⁵³

As vantagens de IV como ferramenta para caracterização e diferenciação de espécimes clínicos baseia-se na simplicidade da metodologia e baixo custo da análise em relação a outras metodologias e técnicas moleculares, além da natureza limpa do processo, sem gerar resíduo e sem destruir a amostra necessitando de alguns poucos miligramas para ensaio por reflectância difusa (amostra sólida) ou até a região de microgramas para amostras de proteínas em solução aquosa pela técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR, do inglês “attenuated total reflectance”)⁶².

Em bioquímica a espectroscopia de IV tem encontrado aplicação para caracterização de relações estrutura atividade de fármacos e seus receptores, tais como prostaglandinas⁶². Ensaios desta natureza buscam observar conformações moleculares no sítio ativo dos receptores através da análise de ligante receptor em soluções de solvente específico (tetracloreto de carbono, água), buscando salientar interações do tipo ligações de hidrogênio entre o substrato e determinados grupamentos do sítio ativo.

Em QSAR, a espectroscopia de IV tem fornecido elementos de natureza eletrônica para suporte de modelos que busquem prever esta atividade em função de determinadas bandas do espectro ou, mais precisamente, em função da variação da intensidade ou do deslocamento de bandas para diferentes substituintes em uma classe congênere. Assim, tem sido observado com a absorção de vibrações em frequências características de nitrilas em benzonitrilas onde o máximo de absorção do grupo CN tem apresentado relação linear com o parâmetro de Hamett ⁶².

2.6 *Aspergillus niger*

A aspergilose é uma micose sistêmica oportunística provocada por uma das espécies pertencentes a um dos grupos do gênero *Aspergillus*⁶³ acredita-se na existência de 600 espécies de *Aspergillus* isoladas do solo, detritos vegetais, ar atmosférico, alimentos, e de lesões humanas e de animais. Agentes oportunistas por excelência, eles podem provocar colonização em cavidades preexistentes, infecção propriamente dita, processos alérgicos e intoxicações. O potencial fungistático e fungicida de diversas classes de compostos já têm sido investigados contra o *Aspergillus niger*, incluindo fenóis halogenados, sais de ácidos carboxílicos, derivados do álcool benzílico, entre outros.

Como biodegradadores naturais, os fungos encontram substâncias necessárias para o seu desenvolvimento na natureza. Eles absorvem nutrientes através da membrana plasmática, como composto de baixo peso molecular dissolvidos em água⁶⁴.

Aspergillus niger é um fungo caracterizado por conídios escuros geralmente negros e conidióforos hialinos a marrons, com cabeças globosas. O conidióforo apresenta cabeça conidial radiada, com métulas e fiálides ou somente fiálides. Conídios escuros unicelulares, globosos, medindo 4-5 micra de diâmetro.

Aspergillus niger é um Ascomicete de distribuição cosmopolita, que é isolado com frequência em cereais, frutos secos e frescos e encontrado frequentemente no solo, é uma das poucas espécies de fungos que receberam o estatus de GRAS (generally regarded as safe) conferido pela Food and Drug Administration (FDA) devido a sua baixa toxicidade⁶⁴.

Esta espécie de fungo é utilizado na biotransformação hepática e como bioindicador podendo ser amplamente empregado no monitoramento ambiental, pois são excelentes removedores de substâncias de ambientes, podendo-se citar a possibilidade de empregar com fixadores de substâncias radioativas⁶⁴.

A escolha pela utilização do *Aspergillus niger* neste trabalho é devido aos estudos existentes sobre biodegradação e biotransformação em que exerce esta função, já que este fungo é extremamente resistente ao meio ambiente e capaz de degradar compostos muito tóxicos.

3 METODOLOGIA

A metodologia utilizada nas reações de síntese de 1,2,4-oxadiazóis pode ser visualizada pelo fluxograma abaixo. Foram preparados os materiais de partida e a proteção do grupamento amino dos aminoácidos para após realizar a síntese. Primeiramente a reação foi realizada pelo método de irradiação por micro-ondas sem a utilização de solvente e posteriormente com solvente obtendo-se assim os 15 compostos caracterizados por 1,2,4-oxadiazóis sendo derivados de arilamidoximas substituídos na posição para e L-aminoácidos, logo após foram desenvolvidos testes de atividade antifúngica, análise de Infravermelho, RMN ^1H e RMN ^{13}C , estudos das ações impactantes destas duas metodologias e ainda utilização de quimiometria, conforme demonstrado na Figura 17.

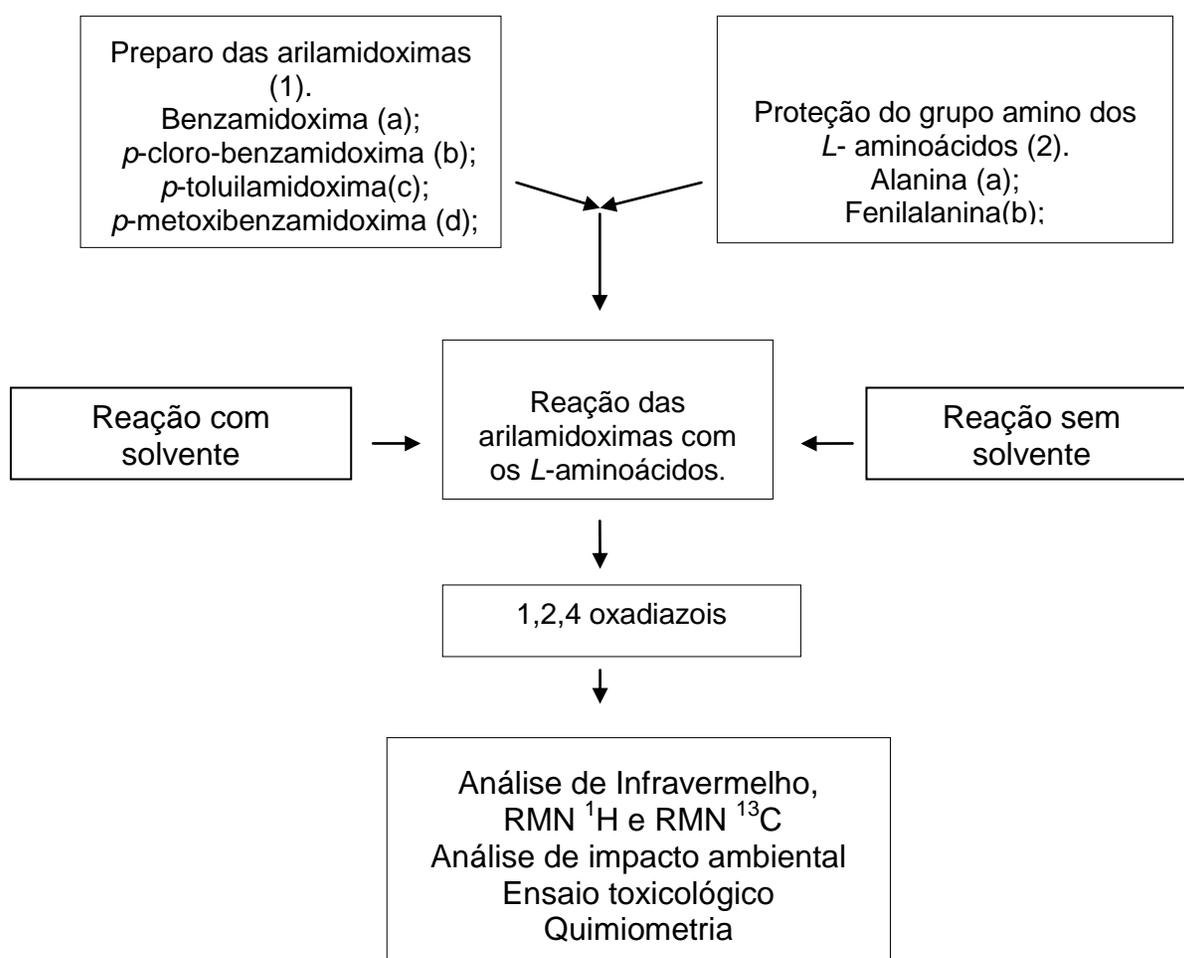


Figura 17 - Fluxograma da Metodologia.

3.1 Equipamentos

Na realização das sínteses dos 1,2,4-oxadiazóis foram utilizados os equipamentos relacionados a seguir:

- ✓ Balança analítica Gibertini, modelo E42S-B;
- ✓ Balança Quimis, modelo SA210;
- ✓ Bomba de vácuo, marca Tecnal, modelo Te.058, série 0176;
- ✓ Chapa de aquecimento com agitador magnético Velp Scientifica;
- ✓ Espectrômetro de Infravermelho FT - IR Nicolet, modelo Magma 550;
- ✓ Espectrômetro de ressonância magnética nuclear, modelo DPX - 200, marca Bruker;
- ✓ Cromatógrafo a Gás Varian 3300, detector por captura de elétrons, isótopo ^{63}Ni ; sistema de aquisição de dados através do Workstation Star 4.5 (Varian, EUA);
- ✓ Evaporador rotatório Fisaton, modelo 802, série 26158;
- ✓ Forno de Micro-ondas Panasonic, modelo NNS60BK;
- ✓ Máquina de gelo Everest, modelo EGE 160;
- ✓ Refrigerador Eletrolux R340;
- ✓ Lâmpada UVA (365 nm);
- ✓ Coluna capilar DB-5 (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) de sílica fundida, 30 m de comprimento, 0,25 mm d.i. e 0,25 μm de espessura do filme;(J & W Scientific, EUA).

3.2 Solventes e Reagentes comerciais

Os solventes e reagentes empregados neste trabalho foram utilizados conforme adquiridos pelas empresas Aldrich, Vetec, Nuclear, Dinâmica, Merck e Quimex, estando eles listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Solventes e reagentes empregados na síntese de 1,2,4-oxadiazóis.

REAGENTES	MARCA
1,4-Dioxano	Vetec
Benzonitrila	Merck
4-Toluilnitrila	Merck
4-Clorobenzonitrila	Merck
4-Metoxibenzonitrila	Aldrich
4-Nitrobenzonitrila	Aldrich
Acetato de etila P.A	Vetec
Acetona	Vetec
Ácido clorídrico P.A.	Vetec
Bicarbonato de sódio	Vetec
Carbonato de Sódio Anidro	Vetec
Cloridrato de L- L-alanina	Vetec
Cloridrato de L- L-fenilL-alanina	Vetec
Cloridrato de L- L-metionina	Vetec
Cloridrato de hidroxilamina	Vetec
Clorofórmio P.A.	Vetec
Diclorometano P.A	Vetec
Diclorometano Grau Cromatográfico	Merck
Dimetilsulfóxido P.A.	Nuclear
Dioxano P.A.	Vetec
Etanol P.A.	Vetec
Gás Nitrogênio	White Martins, Brasil
Hexano	Quimex
Hidróxido de sódio P.A.	Vetec
N,N'-diciclo-hexilcarbodiimida 99%	Merck
Silicagel 60 (0,040-0,063 mm)	Vetec
Sulfato de Magnésio Anidro P.A	Dinâmica
Tetrahidrofurano (THF)	Nuclear

3.3 Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis

Nos métodos de síntese desenvolvidos envolvem reações entre os *L*-aminoácidos (**2a-c**) e as arilamidoximas (**1a-e**) com a formação dos 1,2,4-oxadiazóis (**3a-c**), conforme pode ser observado na rota sintética mostrada na Figura 18.

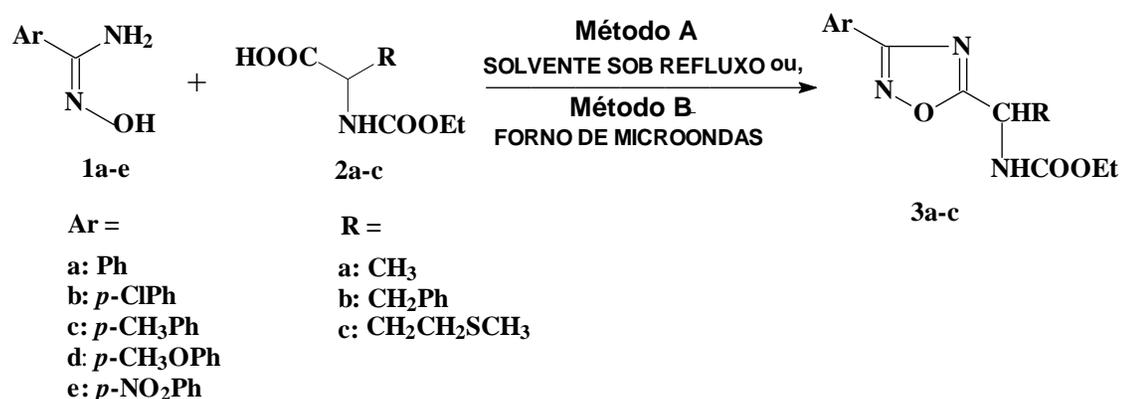


Figura 18 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis (**3a-c**).

3.3.1 Preparação das Arilamidoximas (**1a-e**)

Em um balão de fundo redondo de 100 ml, adicionaram-se 75 mmol (5,21 g) de cloridrato de hidroxilamina; 37,5 mmol (7,95 g) de carbonato de sódio anidro e, posteriormente, 20 ml de água deionizada. Em seguida, agitou-se manualmente o conteúdo do balão até que a efervescência cessasse completamente. Adicionou-se, então, ao balão, 20 ml de etanol e 100 mmol de arilnitrila (benzonitrila, para a formação da benzamidoxima **1a**; *p*-clorobenzonitrila, para a obtenção da *p*-clorobenzamidoxima **1b**; *p*-toluilnitrila para a obtenção da *p*-toluilamidoxima **1c**; *p*-metóxi benzonitrila para a formação da *p*-metóxi benzamidoxima **1d** e *p*-nitrobenzonitrila para a formação da *p*-nitrobenzamidoxima **1e**). Logo após, refluxou-se a mistura até se observar a formação de cristais esbranquiçados no condensador, o que ocorre em cerca de meia hora. Continuou-se o refluxo por mais dez minutos, confirmando-se, após este período, a

formação da arilamidoxima através de cromatografia em camada delgada (n-hexano/clorofórmio, 1:1).

Removeu-se, em seguida, o solvente da mistura no evaporador rotatório, obtendo-se um material pastoso, ao qual se adicionaram 15 mL de água deionizada. A mistura, então, repousou durante uma noite em refrigerador, observando-se formação de duas fases, uma aquosa e outra solidificada no fundo do balão. A camada aquosa remove a maior parte do cloreto de sódio e hidroxilamina residuais. Posteriormente, filtrou-se o conteúdo do balão. A fase sólida obtida foi dissolvida em água deionizada e a mistura foi, então, levada ao refrigerador novamente, onde repousou por mais uma noite, período no qual ocorre a cristalização da arilamidoxima. Filtraram-se os cristais obtidos, deixando-os em dessecador para remoção da água residual.

As arilamidoximas **1a-e** foram, portanto, preparadas pela reação de arilnitrila com cloridrato de hidroxilamina em presença de carbonato de sódio, conforme Figura 19.

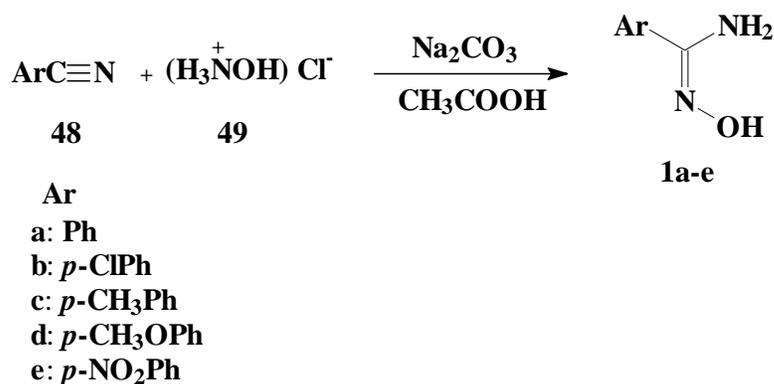


Figura 19 - Preparação das arilamidoximas (**1a-e**).

3.3.2 Proteção do Grupo Amino dos Aminoácidos

Em um béquer de 250 ml contendo 30 mL de uma solução de hidróxido de sódio 1N a 0°C, dissolveram-se 30 mmol do aminoácido a ter seu grupo amino protegido (*L-L*-alanina; *L-L*-fenil-*L*-alanina; *L-L*-metionina). Seqüencialmente, adicionaram-se 37,5 mmol (3,6 mL) de cloroformiato de etila pelo período de 90 minutos, mantendo-se o pH da mistura entre 10 e 11 através da adição de solução de hidróxido de sódio 1N. Transcorrido este período, retirou-se o béquer do banho de gelo, deixando-se o sistema reagindo à temperatura ambiente por mais 90 minutos, também mantendo-se o pH entre 10 e 11.

Em seguida, lavou-se a mistura com diclorometano (3 alíquotas de 25 ml), posteriormente, acidificou-se a fase aquosa até pH 1 com uma solução de ácido clorídrico 6N, extraíndo-se, então, o aminoácido protegido com diclorometano (5 alíquotas de 30 ml). Tomou-se a fase orgânica e secou-se a mesma com 4 g de sulfato de magnésio anidro, filtrando-a logo após. O diclorometano foi, então, evaporado no evaporador rotatório, restando no balão uma fase oleosa que consistia no aminoácido com seu grupo amino protegido.

A proteção do grupo amino dos aminoácidos foi feita, pois, através de método utilizando cloroformiato de etila em meio básico, formando os aminoácidos protegidos conforme mostrado na Figura 20.

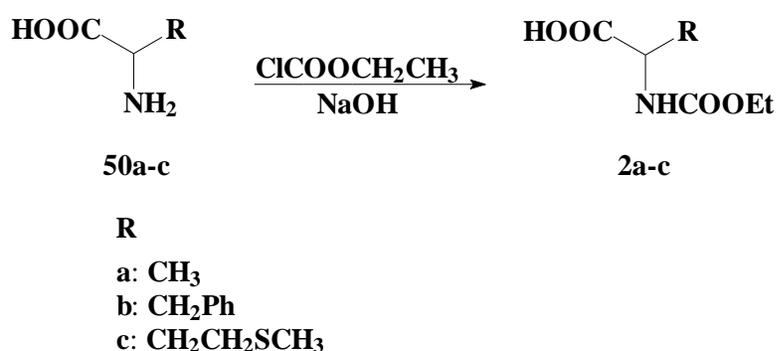


Figura 20 - Proteção do grupo amino dos L-aminoácidos.

3.3.3.2 Método B: Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis sem solvente (micro-ondas)

Para os testes de preparação dos 1,2,4-oxadiazóis utilizando o micro-ondas doméstico, foi adotado o seguinte procedimento: adicionou-se em um tubo de ensaio com tampa de rosca 0,5 mmol dos *L*-aminoácidos (0,080 g de *L*-alanina **2a**; 0,118 g de *L*-fenilalanina **2b**; 0,110 g de *L*-metionina **2c**) e 0,5mmol da arilamidoxima **1a-e** (0,0680 g de benzamidoxima **1a**; 0,085 g de *p*-clorobenzamidoxima **1b**; 0,074 g de *p*-toluilamidoxima **1c**; 0,083 g de *p*-metoxibenzamidoxima **1d**; 0,107 g de *p*-nitrobenzamidoxima **1e**). Após a homogeneização do aminoácido com a arilamidoxima adicionou-se 0,8 mmol de DCC (diciclo-hexilcarbodiimida 0,124g) e misturou-se novamente os reagentes.

O tubo de ensaio contendo os reagentes foi levado ao micro-ondas com a tampa semi-fechada por tempos que variaram entre 3 a 9 minutos, utilizando potência média-alta, conforme Figura 22.

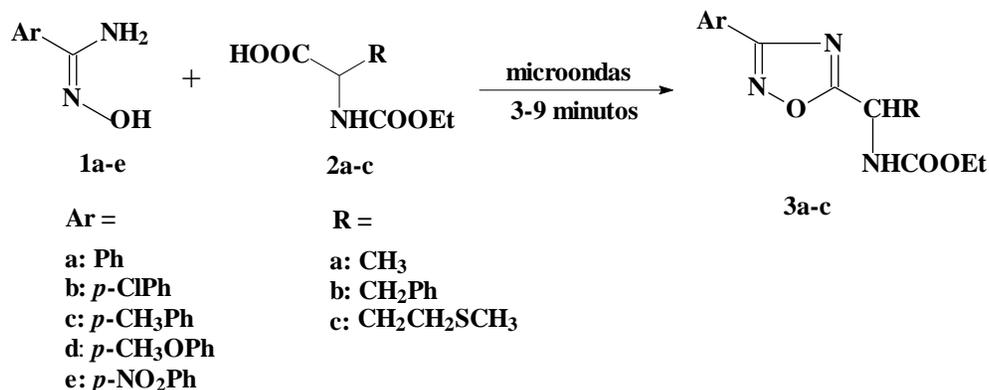


Figura 22 - Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis **3a-c** sem solvente (micro-ondas).

3.4 Análises Espectroscópicas na Região do Infravermelho (IV)

Nas análises de absorção na região do infravermelho, seguiu-se o procedimento padrão para todas as amostras, num ambiente aclimatado a 20°C e com a umidade relativa do ar inferior a 60%, utilizando-se Espectrômetro Nicollet, Magna 550, de janela espectral de 4000 a 600 cm^{-1} (departamento de Química e Física – UNISC). Os espectros de absorção no infravermelho foram registrados na forma de filme líquido e pastilha de KBr, com filme de poliestireno de 0,05 mm de espessura na absorção de 1601 cm^{-1} .

Para as amostras sólidas secas, realizaram-se as análises através do Método de Reflectância Difusa (DRIFTS), no qual a amostra é macerada com KBr e colocada num acessório do equipamento, juntamente com o branco, que consiste em KBr puro. Procedeu-se à análise do branco e, seqüencialmente, à da amostra. O resultado provém dos espectros da amostra, excluindo-se o branco.

As amostras líquidas e sólidas não completamente secas (pastosas) foram analisadas através do Método de Reflectância Total Atenuada Horizontal (ATR), no qual a amostra é colocada sobre um prisma e analisada utilizando-se como branco a varredura na superfície limpa do prisma. O resultado provém dos espectros da amostra, excluindo-se o branco.

3.5 Análises Espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear

Nas análises por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono treze (RMN ^{13}C) os espectros foram obtidos através de um Espectrômetro Bruker DPX, o qual opera numa frequência de 200 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS) utilizando como padrão interno para os espectros de RMN ^1H , CDCl_3 (7,26 ppm) como solvente; colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, t = tripleto, m = multipletos), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.

3.6 Condições Cromatográficas utilizadas

As amostras padrões dos compostos sintetizados foram injetadas em um cromatógrafo a gás Varian 3300 (departamento de Química e Física – UNISC), detector por captura de elétrons, isótopo ^{62}Ni ; sistema de aquisição de dados através do Workstation Star 4.5 (Varian, EUA); e serviram de base para identificação, para os cálculos de quantificação dos produtos obtidos na síntese por irradiação de micro-ondas.

O carregamento da seringa consistiu na aspiração de 0,5 μL da solução a ser analisada e 0,4 μL de ar. O injetor foi mantido à temperatura de 260 $^{\circ}\text{C}$, o gás de arraste utilizado foi o Nitrogênio 4.5 de pureza.

Utilizou-se uma coluna capilar de fase polarizável DB-5 (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) de sílica fundida, 30 m de comprimento, 0,25 mm d.i. e 0,25 μm de espessura do filme (J & W Scientific, EUA), com rampas de aquecimento da coluna de 60 $^{\circ}\text{C}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$, aumentando 10 $^{\circ}\text{C}$ por minuto. Primeiramente injetou-se a amostra padrão de 1,2,4-oxadiazol (sintetizado através do método tradicional com solvente e posteriormente purificado) no cromatógrafo e analisou-se o cromatograma obtido. Inicialmente dissolveu-se os compostos sintetizados em CH_2Cl_2 e filtrou-se as amostras em uma minicoluna (Pipeta de Pasteur) contendo silicagel. Posteriormente injetou-se a amostra obtida através da reação de obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis via micro-ondas, efetuando-se a análise do cromatograma em comparação ao padrão.

3.7 Matriz de Leopold

Os prováveis impactos ao meio físico, biótico e antrópico decorrentes das atividades ou ações consideradas e representadas na matriz de interação, foram listados em consonância a cada elemento do meio e em relação as etapas de síntese (com e sem solvente) dos 1,2,4-oxadiazóis. A identificação dos impactos se deu a partir da relação entre a ação prevista (linha) e o fator ambiental considerado (coluna) e sua caracterização qualitativa.

A qualificação dos impactos seguiu os seguintes critérios, conforme apresentado por Silva⁶⁵:

Características de Valor:

- a) *Impacto positivo*: quanto uma ação causa melhoria da qualidade de um parâmetro;
- b) *Impacto negativo*: quando uma ação causa dano à qualidade de um parâmetro.

Características de Ordem:

- a) *Impacto direto*: quando resulta de uma simples relação de causa e efeito;
- b) *Impacto indireto*: quando é uma reação secundária em relação à ação.

Características de Espaciais:

- a) *Impacto local*: quando a ação circunscreve-se ao próprio sítio e suas imediações;
- b) *Impacto regional*: quando um efeito se propaga por uma área além das imediações;
- c) *Impacto estratégico*: o componente é afetado coletivo, nacional ou internacional.

Características Temporais:

- a) *Impacto em curto prazo*: quando o efeito surge no curto prazo (a ser definido);
- b) *Impacto em médio prazo*: quando o efeito se manifesta no médio prazo (a ser definido);
- c) *Impacto em longo prazo*: quando o efeito se manifesta no longo prazo (a ser definido).

Características Dinâmicas:

- a) *Impacto temporário*: quando o efeito permanece por um tempo determinado;
- b) *Impacto cíclico*: quando o efeito se faz sentir em determinados períodos (ciclos);
- c) *Impacto permanente*: executada a ação, os efeitos não cessam de se manifestar num horizonte temporal conhecido.

Características Plásticas:

- a) *Impacto reversível*: a ação cessada, o fator ambiental retorna às condições originais;
- b) *Impacto irreversível*: quando cessada a ação, o fator ambiental não retorna às suas condições originais, pelo menos num horizonte de tempo aceitável pelo homem.

3.8 Atividade antifúngica

Para os experimentos foi utilizada a amostra de *Aspergillus niger* cepa ATCC 898 isolada do pulmão de um paciente da Universidade de São Paulo-USP, mantida

em ágar Sabouread na coleção de microorganismos de Microbiologia Industrial da UNISC.

O inóculo de *Aspergillus niger* foi preparado através da adição de repiques de uma cultura de 15 dias da amostra selecionada a tubos de ensaio contendo 10 mL de meio Sabouread estéril inclinado, com o auxílio de alça de platina. Posteriormente, quando o fungo já se mostrava desenvolvido, adicionou-se água estéril e agitou-se manualmente, para geração de suspensão de esporos. Após, a suspensão foi deixada em ligeiro repouso para permitir que o material decantasse. Em seguida, adicionou-se cerca de 1mL dessa suspensão à superfície de placas de Petri contendo meio Sabouread solidificado e outras contendo este mesmo meio. Estas placas foram, então, incubadas por cerca de 36 horas a 30 °C em estufa.

Soluções de 1,2,4-oxadiazóis foram preparadas em Dimetilsulfoxido nas concentrações de $5,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $8,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$.

Discos de cultura de 5 mm de diâmetro foram recolhidos com *punch biopsy* nº 5 e depositados invertidos em triplicata em placas contendo 9,9 mL de Agar Sabouread e 0,1 mL de solução antifúngica previamente diluída. Junto foi incubada placa contendo somente dimetilsulfoxido denominada de controle negativo ou branco. As placas foram incubadas em estufa a 30 °C por cerca de 48 horas e submetidas à determinação das curvas de crescimento.

Após o período de incubação em estufa a 30 °C, mediram-se 2 diâmetros ortogonais dos halos das colônias, com paquímetro digital, com precisão de 0,1 mm. Tendo estes dois valores aplicou-se a equação 1 para o tamanho médio dos halos a fim de se verificar o crescimento do fungo e, assim, a eficiência de cada solução.

$$DM = (d_1 \times d_2)^{1/2} \quad (1)$$

A média dos diâmetros das triplicatas foi obtida pela equação 2:

$$\frac{DF = dm_1 + dm_2 + dm_3}{3} \quad (2)$$

3.9 Análise exploratória multivariada

Estudos de correlação quantitativa estrutura atividade antifúngica (QSAR) foram realizados empregando busca sistemática e métodos quimiométricos baseados em análise de componentes principais (PCA) modelados por PLS.

As variáveis utilizadas para estudos de SAR compreenderam parâmetros teóricos e experimentais. Parâmetros teóricos foram estimados a partir de cálculos utilizando o menu QSAR do programa Hyperchem versão 6.0 e incluíram parâmetros hidrofóbicos, estéricos e eletrônicos. Variáveis experimentais consistiram de conjunto de espectros DRIFTS de 1,2,4-oxadiazóis em brometo de potássio coletados na região de 4000-400 cm^{-1} e selecionados para processamento na faixa de 3800-400 cm^{-1} .

Parâmetros teóricos foram utilizados na busca sistemática visando determinar o coeficiente de correlação linear entre dois parâmetros utilizando software Microsoft Excel 08. Modelos quimiométricos de correlação entre diâmetros de colônia e frequências de IV foram obtidos utilizando o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) utilizando o software Pirouette 2.7. Os modelos obtidos foram validados por validação cruzada com exclusão de uma amostra por vez.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção e Análises dos Materiais de Partida

Na preparação das arilamidoximas, obteve-se a benzamidoxima na forma de cristais esbranquiçados, a *p*-clorobenzamidoxima na forma de cristais amarelados, a *p*-toluilamidoxima na forma de cristais esbranquiçados, a *p*-metoxibenzamidoxima na forma de cristais brancos e a *p*-nitrobenzamidoxima forma de cristais amarelados. Obteve-se a benzamidoxima com rendimentos de 70%, 85% para a *p*-clorobenzamidoxima, 95% para a *p*-toluilamidoxima, 90% para a *p*-metóxibenzamidoxima e 70% para a *p*-nitrobenzamidoxima.

Nas reações de proteção do grupo amino dos *L*-aminoácidos *L*-alanina, *L*-fenil-*L*-alanina e *L*-metionina, utilizando cloroformiato de etila, obteve-se a *L*-fenil-*L*-alanina na forma de cristais brancos e os outros compostos nas formas oleosa (óleo incolor). Os compostos foram obtidos com rendimentos de: 60% (**2a**); 88% (**2b**) e 70% (**2c**).

4.2 Obtenção e Análises por CG-DIC, IV e RMN ¹H dos 1,2,4-oxadiazóis

As diversas reações envolvendo as arilamidoximas e os *L*-aminoácidos, objetivando a formação dos 1,2,4-oxadiazóis, foram realizadas em micro-ondas, com um tempo variando entre 3 a 9 minutos e a uma potência média alta, obtendo-se então os 1,2,4-oxadiazóis em bons rendimentos. Outras condições reacionais foram testadas utilizando o micro-ondas, onde variou-se o tempo reacional sendo que, os melhores resultados obtidos na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis estão descritos na Tabela 2, que podem ser comparados com os resultados obtidos por Dornelles e colaboradores⁶⁶. (reações utilizando dioxano como solvente, sob refluxo com tempo reacional de 8 a 12h).

Tabela 2 - Dados físicos referentes aos 1,2,4-oxadiazóis obtidos através da reação entre arilamidoximas e os *L*-aminoácidos, sob irradiação de micro-ondas comparando com utilização de solvente.

Composto	Tempo reacional (minutos/micro-ondas)	Reação	Reação	Tempo reacional (horas/com solvente)
		sem solvente / micro-ondas Rendimentos (%),	com solvente Rendimentos (%) ⁶⁶	
3aa	4	54	73	8
3ab	6	61	75	9
3ac	6	53	60	8
3ba	5	55	65	8
3bb	5	57	82	9
3bc	3	60	79	10
3ca	5	52	70	8
3cb	3	72	70	8
3cc	9	55	73	8
3da	6	52	60	8
3db	4	52	70	10
3dc	4	51	70	10
3ea	4	72	71	8
3eb	4	68	65	8
3ec	3	51	68	8

Os produtos finais obtidos após purificação por coluna cromatográfica ou placa preparativa, foram analisados por IV, RMN ¹H e RMN ¹³C. Obtendo-se os seguintes

dados espectrais das análises dos 1,2,4-oxadiazóis que estão representados na Tabela 3 .

Tabela 3 - Dados espectrais dos 1,2,4-oxadiazóis.

Produto	IV ν (cm ⁻¹)	RMN ¹ H (CDCl ₃ / TMS); δ (ppm)	RMN ¹³ C (CDCl ₃ /TMS); δ (ppm)
3aa	3304 (N-H); 2936(C-H); 1699 (- NHCOO); 1681 (C=N)	8.05 (d, 2H); 7.4-7.5 (m,3H); 6.43 (d, 1H); 5.1-5.3 (m, 1H); 4.12 (q, 2H); 1.63 (d, 3H); 1.19 (t, 3H)	179.7; 167.7; 155.6; 130.8; 128.3; 126.9; 126.1; 60.9; 44.2; 18.9; 14.0
3ab	3313 (N-H); 2978 (C-H); 1694 (NHCOO); 1679 (C=N)	8.05 (d, 2H); 7.4-7.5 (m, 3H); 7.2-7.3 (m, 3H); 7.13 (d, 2H); 5.78 (d, 1H); 5.4-5.5 (m, 1H); 4.10 (q, 2H); 3.31 (d, 2H); 1.19 (t, 3H)	178.5; 168.0; 155.6; 134.9; 131.1; 129.3; 129.1; 128.6; 127.3; 126.3; 61.3; 49.6; 39.5; 14.2
3ac	3304 (N-H); 2929 (C-H); 1682 (NHCOO); 1651 (C=N)	8.06 (d, 2H); 7.4-7.5 (m, 3H); 5.75 (d, 1H); 5.2-5.4 (m, 1H); 4.17 (q, 2H); 2.62 (t, 2H); 2.2-2.4 (m, 2H); 2.12 (s, 3H); 1.26 (t, 3H)	178.7; 168.1; 155.8; 131.2; 128.4; 127.3; 126.3; 61.4; 47.8; 33.0; 31.3; 29.6; 15.3; 14.3
3ba	3305 (N-H); 2983 (C-H); 1685 (NHCOO); 1675 (C=N)	7.91 (d, 2H); 7.35 (d, 2H); 6.25 (d, 1H); 5.1-5.2 (m, 1H); 4.10 (q, 2H); 1.60 (d, 3H); 1.18 (t, 3H)	179.9; 167.0; 155.5; 136.9; 128.7; 128.3; 124.7; 61.0; 53.2; 19.0; 14.1
3bb	3318 (N-H); 2986 (C-H); 1694 (NHCOO); 1641 (C=N)	7.98 (d, 2H); 7.44 (d, 2H); 7.2-7.3 (m, 3H); 7.09 (d, 2H); 5.43 (d, 1H); 5.2-5.3 (m, 1H); 4.13 (q, 2H); 3.31 (d, 2H); 1.23 (t, 3H)	178.7; 167.0; 155.6; 136.0; 135.0; 128.8; 128.7; 128.3; 128.2; 126.8; 124.6; 61.0; 49.5; 34.5; 14.1
3bc	3304 (N-H); 2928 (C-H); 1694 (NHCOO); 1651 (C=N)	8.00 (d, 2H); 7.43 (d, 2H); 6.39 (d, 1H); 5.2-5.3 (m, 1H); 4.17 (q, 2H); 2.62 (t, 2H); 2.2-2.4 (m, 2H); 2.12 (s, 3H); 1.26 (t, 3H)	178.9; 167.0; 155.8; 137.0; 128.7; 128.3; 124.6; 61.2; 47.5; 32.4; 29.5; 15.0; 14.1
3ca	3290 (N-H); 2930 (C-H); 1715 (NHCOO); 1656 (C=N)	7.93 (d, 2H); 7.24 (d, 2H); 6.37 (d, 1H); 5.1-5.3 (m, 1H); 4.11 (q, 2H); 2.37 (s, 3H); 1.63 (d, 3H); 1.17 (t, 3H)	179.5; 167.8; 155.6; 141.1; 129.1; 127.0; 123.4; 60.9; 44.2; 21.0; 19.1; 14.1
3cb	3306 (N-H); 2980 (C-H); 1690 (NHCOO); 1659 (C=N)	7.93 (d, 2H); 7.22 (d, 2H); 7.1-7.2 (m, 5H); 6.04 (d, 1H); 5.3-5.5 (m, 1H); 4.05 (q, 2H); 3.28 (d, 2H); 2.35 (s, 3H); 1.17 (t, 3H)	178.3; 167.9; 155.6; 141.2; 135.0; 129.1; 128.9; 128.2; 127.1; 126.9; 123.4; 61.1; 49.6; 39.3; 21.2; 14.1

3cc	3305 (N-H);	7.93 (d, 2H); 7.24 (d, 2H); 6.39 (d,	178.5; 167.8; 155.8; 141.2;
	2925 (C-H); 1702	1H); 5.2-5.3 (m, 1H); 4.15 (q, 2H);	129.1; 127.0; 123.2; 66.5;
3da	(NHCOO); 1669 (C=N)	2.62 (t, 2H); 2.38 (s, 3H); 2.1-2.3 (m,	51.0; 29.4; 21.1; 14.9; 14.1
		2H); 2.09 (s, 3H); 1.24 (t, 3H)	
3db	3302 (N-H);	7.90 (d, 2H); 6.87 (d, 2H); 5.80 (d,	179.4; 167.7; 161.8; 155.6;
	2985 (C-H); 1731	1H); 5.0-5.2 (m, 1H); 4.06 (q, 2H);	128.9; 118.8; 114.0; 61.2;
3dc	(NHCOO); 1691 (C=N)	3.75 (s, 3H); 1.56 (d, 3H); 1.16 (t,	55.1; 44.4; 19.6; 14.3
		3H)	
3ea	3308 (N-H);	7.84 (d, 2H); 7.09 (d, 2H); 6.9-7.0 (m,	178.1; 167.6; 161.7; 155.6;
	2970 (C-H); 1686	3H); 6.80 (d, 2H); 5.76 (d, 1H); 5.2-	135.0; 129.0; 128.9; 128.3;
3eb	(NHCOO); 1659 (C=N)	5.3 (m, 1H); 3.96 (q, 2H); 3.64 (s,	126.9; 118.7; 113.9; 61.1;
		3H); 3.16 (d, 2H); 1.04 (t, 3H)	55.0; 49.6; 39.3; 14.2
3ec	3296 (N-H);	8.00 (d, 2H); 6.97 (d, 2H); 6.21 (d,	178.3; 167.6; 161.6; 155.7;
	2932 (C-H); 1736	1H); 5.2-5.3 (m, 1H); 4.16 (q, 2H);	128.7; 118.6; 113.9; 61.1;
3ea	(NHCOO); 1679 (C=N)	3.84 (s, 3H); 2.63 (t, 2H); 2.2-2.4 (m,	55.0; 47.6; 32.7; 29.5; 15.0;
		2H); 2.10 (s, 3H); 1.25 (t, 3H)	14.2
3eb	3283 (N-H);	8.0-8.2 (m, 4H); 6.06 (d, 1H); 5.1-5.2	180.7; 166.4; 155.6; 149.2;
	2930 (C-H); 1726	(m, 1H); 4.08 (q, 2H); 1.60 (d, 3H);	132.2; 128.1; 123.7; 61.2;
3ec	(NHCOO); 1675 (C=N)	1.16 (t, 3H)	50.1; 19.2; 14.2
3eb	3305 (N-H);	8.1-8.3 (m, 4H); 7.1-7.3 (m, 5H);	179.5; 166.3; 155.5; 149.0;
	2920 (C-H); 1695	6.33 (d, 1H); 5.4-5.5 (m, 1H); 4.10 (q,	135.0; 131.9; 128.7; 128.2;
3ec	(NHCOO); 1659 (C=N)	2H); 3.35 (d, 2H); 1.15 (t, 3H)	127.9; 126.8; 123.5; 61.0;
			53.2; 38.8; 14.0
3ec	3305 (N-H);	8.2-8.4 (m, 4H); 6.42 (d, 1H); 5.2-5.4	179.7; 166.3; 155.8; 149.0;
	2925 (C-H); 1683	(m, 1H); 4.17 (q, 2H); 2.69 (t, 2H);	132.0; 127.0; 123.7; 61.2;
3ec	(NHCOO); 1649 (C=N)	2.2-2.4 (m, 2H); 2.15 (s, 3H); 1.27 (t,	47.6; 32.3; 29.5; 24.7; 14.1
		3H)	

As amostras padrões dos compostos sintetizados foram injetadas em um cromatógrafo a gás e serviram de base para identificação, para os cálculos de quantificação dos produtos obtidos na síntese por irradiação de micro-ondas. As Figuras 23 e 24 mostram os cromatogramas obtidos da amostra padrão **3aa** e amostra sintetizada por irradiação de micro-ondas **3aa**, respectivamente. Através desta análise,

foi possível identificar a presença do 1,2,4-oxadiazol (**3aa**) com um tempo de retenção de 22,246 minutos (área de 218746) quando comparado com o padrão (tempo de retenção de 22,334 minutos e área de 432217). Também observou-se a presença de sub-produtos com alguns picos significativos com tempo de retenção de 20,203 e 28,090 minutos, com áreas de 121394 e 57027, respectivamente.

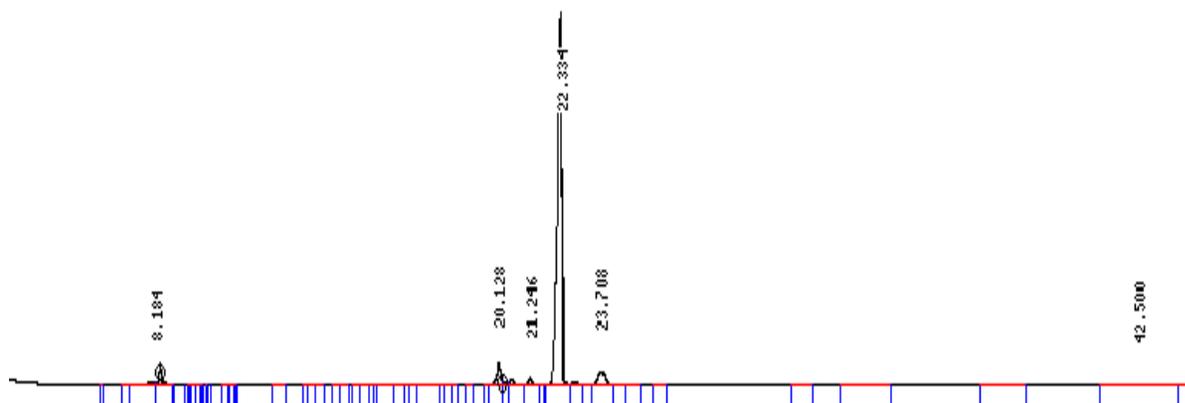


Figura 23 - Cromatograma da amostra padrão purificada **3aa**.

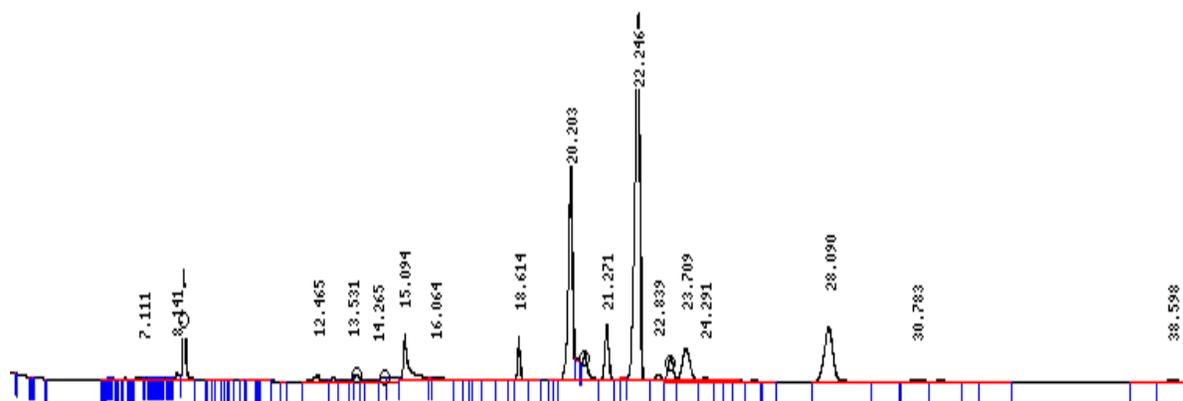


Figura 24 - Cromatograma da amostra sintetizada sem purificação **3aa**.

A título de exemplificação, será apresentada as bandas características do composto **3aa**, Figura 25: em 3304 cm^{-1} (N-H); 2936 cm^{-1} (C-H); 1699 cm^{-1} (NHCOO); 1681 cm^{-1} (N=C). Com relação ao espectro de RMN ^1H para este mesmo composto,

pode-se observar na Figura 26 sinais característicos em 8,05 ppm (d, 2H aromáticos na posição orto); em 7,40-7,50 ppm (m, 3H aromáticos na posição meta e para); em 6,43 ppm (d, 1H, NH); entre 5,1-5,3 ppm (m, 1H, CH); em 4,12 ppm (q, 2H, OCH₂); em 1,63 ppm (d, 3H, CH₃) e em 1,19 ppm (t, 3H, CH₃).

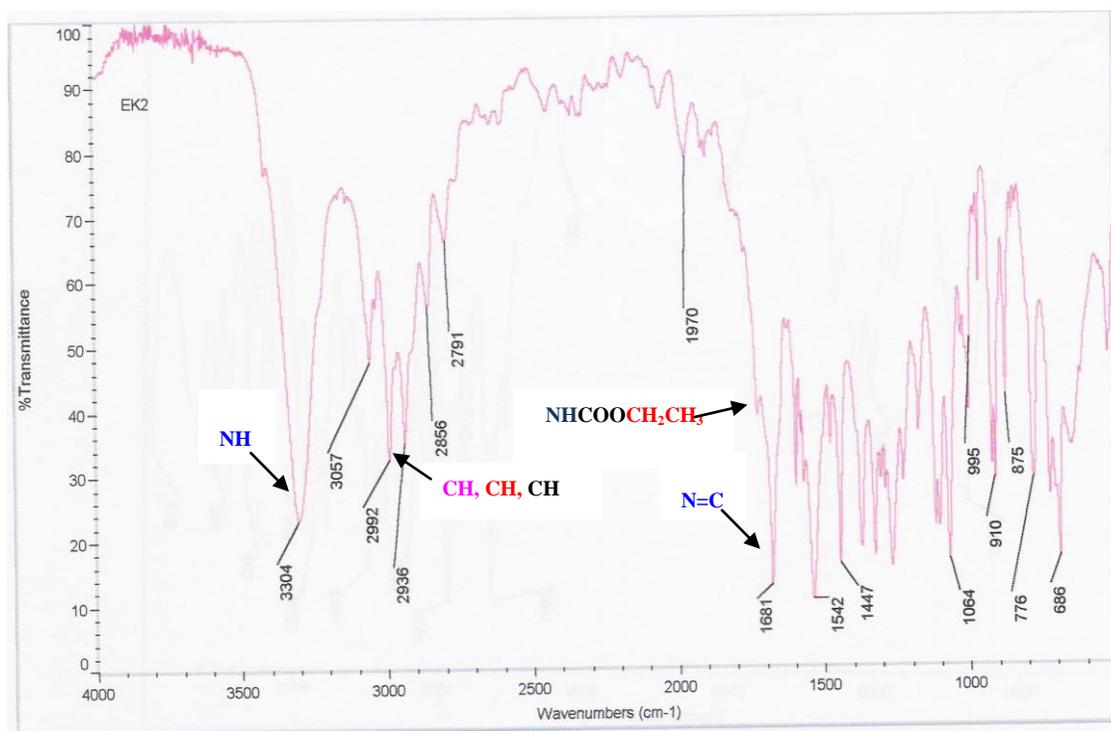


Figura 25 - Espectro de Infravermelho do composto **3aa**.

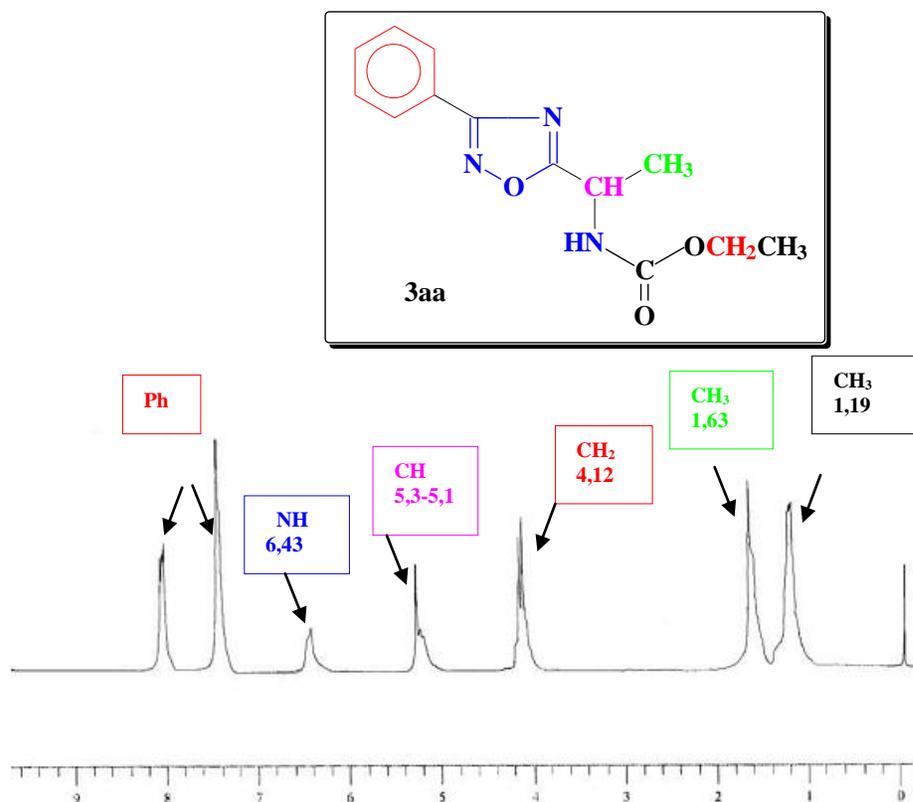


Figura 26 - Espectro de RMN ^1H do 1,2-4-oxadiazol **3aa**

Com relação a síntese dos 1,2,4-oxadiazóis utilizando a irradiação de micro-ondas, os rendimentos obtidos através destas reações foram moderados quando comparados com as realizadas na presença de solvente e aquecimento, conforme relatado por Dornelles et al⁶⁶.

Observando o tempo reacional utilizado para a preparação dos 1,2,4 oxadiazóis, a não utilização de solvente orgânico, a diminuição de gasto de energia pode-se concluir que os rendimentos podem ter sido menores quando comparados com as reações utilizando solvente, mas o benefício que traz ao meio ambiente é imensurável, quando neste experimento conseguimos evitar a produção de resíduos, sintetizar e gerar substâncias mais seguras causando pouca toxicidade ao ambiente sem a utilização de solventes e ainda diminuição do gasto de energia com a redução do tempo gasto para realizar a síntese aplicando assim as leis da química verde com sucesso.

Conforme descrito na referida literatura, a reação que foi desenvolvida na presença de solvente e aquecimento (produto **3aa**), o rendimento foi de 73%; e na reação realizada neste trabalho, utilizando o micro-ondas, o rendimento foi de 54%.

Uma diminuição no rendimento não deve ser considerado muito relevante nesta pesquisa, já que o tempo reacional é de 5 minutos enquanto que utilizando solvente está entre 8-12 horas.

4.3 Avaliação dos impactos ambientais

Tendo como base a matriz de Leopold, nas Tabela 4 e 5 pode ser observada a matriz de identificação qualitativa dos impactos ambientais no processo de síntese dos materiais de partida e da síntese dos 1,2,4-oxazadiázóis em presença de solvente e por irradiação de micro-ondas. Nestas tabelas podem ser observadas no eixo horizontal as características ambientais relativas ao meio Físico, Biótico e Antrópico enquanto que no eixo vertical podem ser percebidas as etapas do processo e as respectivas atividades impactantes.

Assim como nas Tabelas 4 e 5 a Figura 27 permite reconhecer a avaliação qualitativa de impactos ambientais, seguindo o critério de Valor, ordem, espaço, tempo, plasticidade e dinâmica.

Os impactos da síntese dos materiais de partida, possuem a mesma ação impactante no ambiente, pois foram sintetizados da mesma maneira, já a síntese dos 1,2,4-oxadiázóis, como foram utilizados dois métodos, possui ações impactantes diferenciadas como apresentado na Tabela 6. Uma vez identificadas as ações impactantes ao meio ambiente e elencado as medidas consideradas necessárias para melhorar o processo, ou seja, que possibilitem minimizar os impactos negativos e maximizar os positivos, além de atribuir responsabilidade de execução.

Tabela 4 – Matriz de identificação qualitativa de impactos ambientais na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis com solvente.

CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS RELEVANTES											
Etapas	Atividades Impactantes	Meio Físico				Meio Biótico	Meio Antrópico				
		Ar		Recurso Hídrico	Recurso Edáfico	Flora/Fauna	Economia Local	Tecnologia	Qualidade de Vida	Saúde	Qualidade do Produto Final
		Partícula Sólidas	Gases e Vapores	Contaminação	Contaminação do Solo	Diminuição da Diversidade					
Síntese dos Reagentes	Pesagem dos materiais de partida	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	-	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Reação de síntese	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	PILOTV	PIRMTV	PDECAV	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Consumo de energia elétrica	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIECAV	-	-	-
	Consumo de água para arrefecimento	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIEMYS	-	-	-
	Purificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	NDECTV	NDLMAS	NDLMAS	PDECTV
	Caracterização/Identificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	PDECTV	PDLCTS	NDLCTS	PDECTV
Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis	Pesagem dos materiais de partida	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	-	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Reação de síntese	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	PDECAR	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Consumo de energia elétrica	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIECAS	-	-	-
	Consumo de água para arrefecimento	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIEMYS	-	-	-
	Purificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	NDECTV	NDLMAS	NDLMAS	PDECTV
	Caracterização/Identificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	PDECTV	PDLCTS	NDLCTS	PDECTV

LEGENDA: P – positivo; N – negativo; D – direto; I – indireto; L – local; R – regional; E – estratégico; C – curto prazo; M – médio prazo; O – longo prazo; T – temporário; Y – cíclico; A – permanente; V – reversível; S – irreversível.

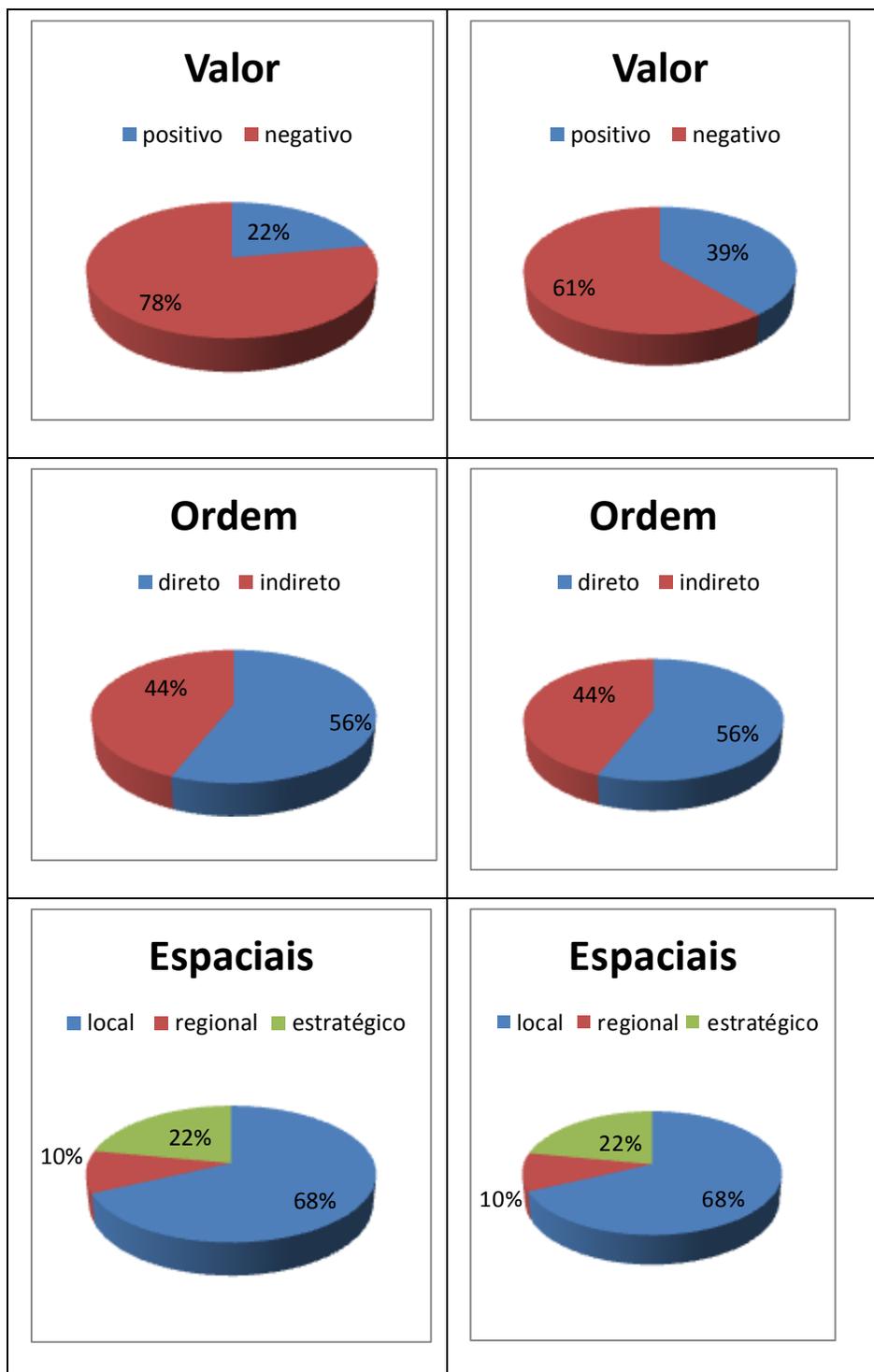
Tabela 5 – Matriz de identificação qualitativa de impactos ambientais na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis sem solvente (micro-ondas).

CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS RELEVANTES											
Etapas	Atividades Impactantes	Meio Físico				Meio Biótico	Meio Antrópico				
		Ar		Recurso Hídrico	Recurso Edáfico	Flora/Fauna	Economia Local	Tecnologia	Qualidade de Vida	Saúde	Qualidade do Produto Final
		Partícula Sólidas	Gases e Vapores	Contaminação	Contaminação do Solo	Diminuição da Diversidade					
Síntese dos Reagentes	Pesagem dos materiais de partida	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	-	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Reação de síntese	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	PDEMCR	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Consumo de energia elétrica	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIEMCS	-	-	-
	Consumo de água para arrefecimento	-	-	-	-	-	NIRCYS	NIEMYS	-	-	-
	Purificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	PILOTV	PILOTV	-	NDECTV	NDLMAS	NDLMAS	PDECTV
	Caracterização/Identificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	PDECTV	PDLCTS	NDLCTS	PDECTV
Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis	Pesagem dos materiais de partida	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	PIRMTV	-	NDLMAS	NDLCAS	PDECTV
	Reação de síntese	PDLCTV	PDLCTV	PILMTV	PILOTV	PILOTV	PIRMTV	PDEMCR	PDLMAS	PDLCAS	PDECTV
	Consumo de energia elétrica	-	-	-	-	-	PIRCYS	PIEMCS	-	-	-
	Consumo de água para arrefecimento	-	-	-	-	-	PIRCYS	PIEMYS	-	-	-
	Purificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	NDECTV	NDLMAS	NDLMAS	PDECTV
	Caracterização/Identificação	NDLCTV	NDLCTV	NILMTV	NILOTV	NILOTV	-	PDECTV	PDLCTS	NDLCTS	PDECTV

LEGENDA: P – positivo; N – negativo; D – direto; I – indireto; L – local; R – regional; E – estratégico; C – curto prazo; M – médio prazo; O – longo prazo; T – temporário; Y – cíclico; A – permanente; V – reversível; S – irreversível

Reação de síntese com solvente

Reação de síntese sem solvente



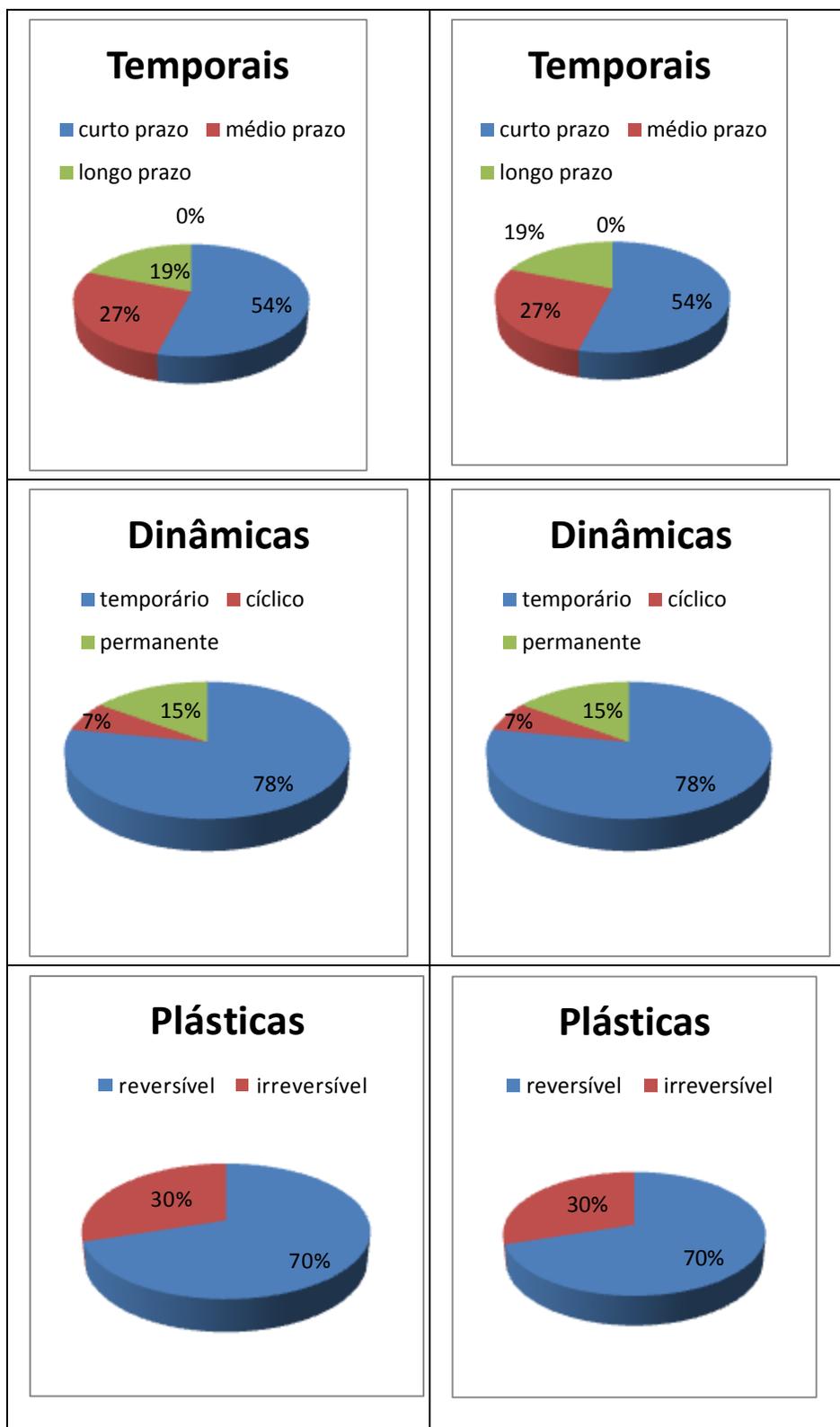


Figura 27 – Avaliação qualitativa de impactos ambientais, seguindo o critério da Valor, ordem, espaço, tempo, dinâmica e plasticidade.

Tabela 6 – Ações impactantes e medidas ambientais propostas para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis com solvente e sem solvente.

Etapas	Ações impactantes	Medidas
Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis com solvente	<ul style="list-style-type: none"> - Manuseio de materiais tóxicos. - Possibilidade de contaminações. - Possibilidade de intoxicações. - Consumo de energia elétrica. - Consumo de água de arrefecimento. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adotar procedimentos adequados no manuseio dos compostos. - Exigir o uso contínuo de EPI's. - Desenvolver metodologias alternativas de síntese, com redução de energia. - Adotar um sistema de recirculação de água para o arrefecimento.
Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis sem solvente (micro-ondas)	<ul style="list-style-type: none"> - Manuseio de materiais tóxicos. - Possibilidade de contaminações. - Possibilidade de intoxicações. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adotar procedimentos adequados no manuseio dos compostos. - Exigir o uso contínuo de EPI's.

4.4 Ensaios de atividade antifúngica

O ensaio de atividade fungistática utilizado baseou-se na inibição do crescimento micelial radial. Este ensaio é realizado utilizando discos de culturas previamente preparados por inoculação de placas com ágar Sabouraud-extrato de levedura (YEPD) que após incubação a 30 °C, ficam completamente cobertas com a colônia do fungo. Desta superfície são, então, recortados discos de cultura com auxílio de um coletor de biópsia de pele com diâmetro específico (“punch biopsy”), sendo posteriormente transferidos para placas contendo ágar teste com a solução da droga previamente diluída.

Esta metodologia visando determinação da MIC de isolados clínicos de dermatófitos foi inicialmente proposta (com algumas modificações) por Butty e colaboradores⁶⁷, demonstrando ser mais rápida e com eficiência comparada ao do método de macrodiluição evitando, neste caso, a necessidade de padronização de suspensão de células. Neste caso a atividade antifúngica é definida pelo diâmetro do halo da colônia e não pela concentração inibitória mínima (MIC) sendo que quanto menor o halo de crescimento maior a atividade antifúngica.

Este método serve para avaliar o potencial inibitório de diferentes compostos frente a uma cepa fúngica bioindicadora. No caso, foi selecionada uma amostra de

Aspergillus niger, um fungo de crescimento rápido, muito resistente a compostos tóxicos, ubíquo no meio ambiente e com potencial patogênico humano em situações de imunossupressão, como é o caso da cepa aqui selecionada, a qual foi isolado do pulmão de um paciente da USP.

Devido a sua alta resistência a xenobióticos, a cepa em questão foi selecionada para avaliar, num primeiro momento, a toxicidade de 1,2,4-oxadiazóis frente a um microrganismo heterotrófico bioindicador do meio ambiente, dentro de um objetivo maior de evitar a produção de compostos antifúngicos com ação tóxica ambiental.

Analisando inicialmente as curvas de crescimento fúngico pode-se verificar que nas cinco concentrações testadas os compostos apresentaram o mesmo comportamento. Existem três padrões de curvas de atividade antifúngica⁶⁴ sendo caracterizados como: monofásicas, caracterizadas pela inibição do crescimento com aumento da concentração do composto em estudo; bifásicas, onde atinge um ponto máximo de inibição e após a atividade fungistática decresce ou estaciona e trifásica que ocorre um aumento da atividade fungistática, até um ponto máximo de inibição do crescimento seguido por perda momentânea da atividade fungistática até o ponto de mínima atividade, logo após ocorre a recuperação da atividade com o aumento da concentração do composto em estudo, sendo este o padrão observado. Pode-se observar o comportamento dos padrões de curvas na Figura 28.

Essas situações ocorrem, possivelmente, devido a uma adaptação fisiológica por indução de enzimas relacionadas com a assimilação ou a biodegradação de substratos que podem fornecer carbono e nitrogênio como nutrientes ou ainda alterações morfológicas na estrutura das hifas vegetativas tornando-as mais delgadas e alongadas como tentativa de escapar à ação do xenobiótico.

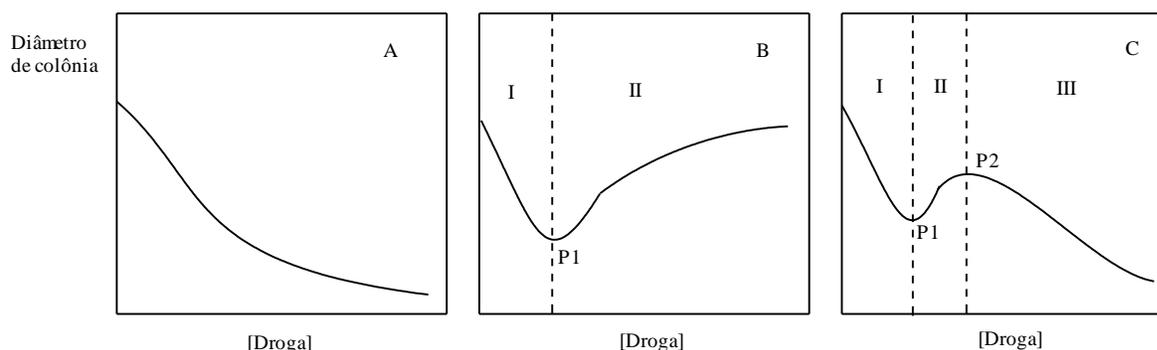


Figura 28 - Padrões de curvas de atividade fungistática. A: monofásica; B: bifásica; C: trifásica.

Na Tabela 7 encontram-se as respectivas médias dos diâmetros de colônias de *Aspergillus niger* cepa 898 com seus desvios padrões para cada composto nas cinco concentrações testadas. A representação destes valores pode ser visualizada nas Figuras 29,30 e 31.

Tabela 7 - Diâmetro de halos de colônias de ATCC 898, obtidos com diferentes concentrações de 1,2,4 oxadiazóis *Aspergillus niger*

Composto	$0,5 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$8,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$
3aa	11,3 ± 0,1	12,6 ± 0,2	17,6 ± 0,4	14,2 ± 0,6	11,5 ± 0,2
3ba	12,4 ± 0,07	12,1 ± 0,5	9,6 ± 0,3	10,5 ± 0,6	10,2 ± 0,7
3ca	9,2 ± 0,5	9,6 ± 0,3	9,6 ± 0,5	9,1 ± 0,7	8,2 ± 0,3
3da	7,6 ± 0,3	8,2 ± 0,5	8,2 ± 0,2	7,8 ± 0,3	7,0 ± 0,5
3ea	8,8 ± 0,5	9,5 ± 0,3	9,3 ± 0,2	8,4 ± 0,6	7,6 ± 0,5
3ab	9,7 ± 0,6	10,6 ± 0,3	10,8 ± 0,2	11,1 ± 0,3	12,0 ± 0,6
3bb	9,7 ± 0,3	9,7 ± 0,8	10,9 ± 0,1	10,3 ± 0,2	10,3 ± 0,5
3cb	9,4 ± 0,1	10,2 ± 0,3	9,6 ± 0,4	9,3 ± 0,6	8,2 ± 0,2
3db	8,4 ± 0,5	7,7 ± 0,3	6,8 ± 0,2	6,5 ± 0,3	6,2 ± 0,2
3eb	9,8 ± 0,4	10,7 ± 0,8	11,2 ± 0,5	10,4 ± 0,2	9,5 ± 0,5
3ac	8,1 ± 0,1	7,9 ± 0,2	8,2 ± 0,5	7,7 ± 0,2	6,3 ± 0,5
3bc	8,4 ± 0,0	9,3 ± 0,3	9,1 ± 0,8	8,6 ± 0,9	6,5 ± 0,4
3cc	8,9 ± 0,3	9,7 ± 0,1	9,3 ± 0,5	10,1 ± 0,7	10,5 ± 0,5
3dc	10,7 ± 0,8	11,2 ± 0,2	8,7 ± 0,4	8,5 ± 0,8	8,0 ± 0,1
3ec	7,4 ± 0,7	7,6 ± 0,3	8,3 ± 0,6	9,1 ± 0,7	6,6 ± 1,1

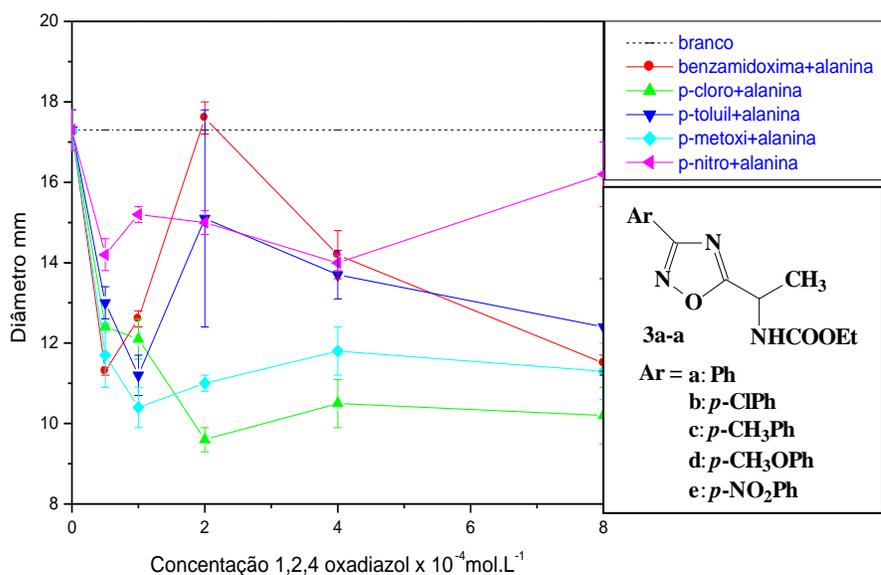


Figura 29 - Crescimento micelial radial de *Aspergillus niger* USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas *p*- substituídas e L-alanina.

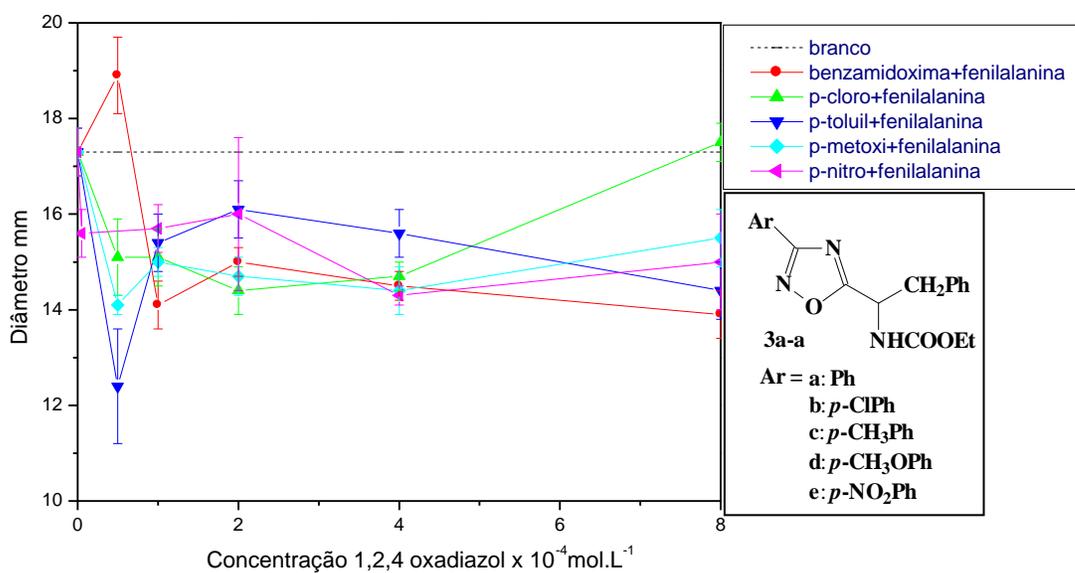


Figura 30 - Crescimento micelial radial de *Aspergillus niger* USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas *p*- substituídas e L-fenilalanina.

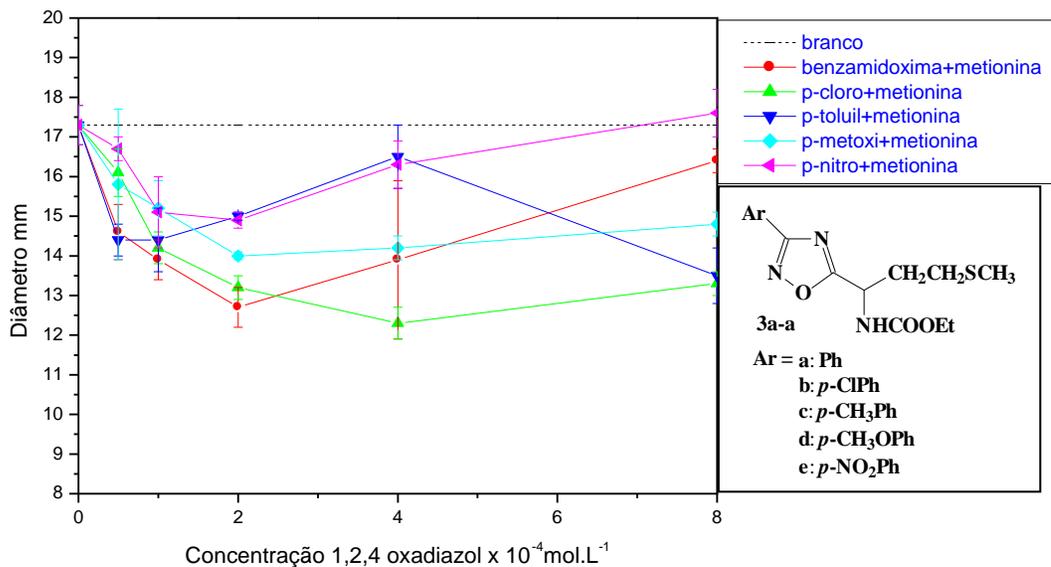


Figura 31 - Crescimento micelial radial de *Aspergillus niger* USP 898 frente a 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas *p*-substituídas e L-metionina.

Na Figura 32 é demonstrado as culturas de *Aspergillus niger* frente a 1,2,4-oxadiazóis sintetizados a partir de *p*-clorobenzamidoxima e L-alanina (composto 3ba) e 1,2,4-oxadiazóis sintetizados a partir de benzamidoxima e L-fenilalanina diluídas nas concentrações de $5,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, $1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, $8,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ respectivamente.

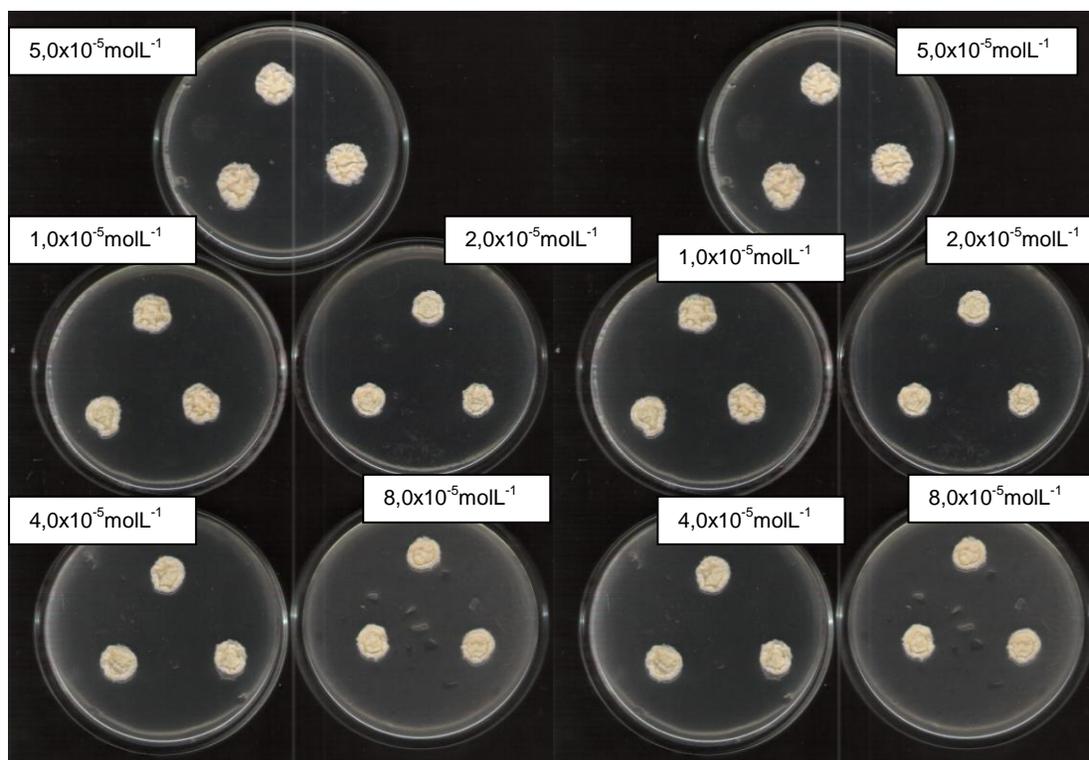


Figura 32 – Exemplo de halos de crescimento micelial radial de *Aspergillus niger* frente a diferentes concentrações de 1,2,4-oxadiazóis.

Observando-se as Figuras 29, 30,32 pode-se ver que praticamente todas as concentrações apresentaram uma diminuição do crescimento micelar radial em relação ao controle.

O composto *p*-clorobenzamidoxima combinado com L-alanina teve o maior efeito fungistático em concentração de $2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ levando a uma redução em torno de 45%, sendo este o único derivado que chegou próximo do MIC₅₀ demonstrado na Figura 29. Entre os derivados com a L-fenilalanina, a *p*-toluilmidoxima obteve maior atividade fungistática, em $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ com cerca de 30% de redução do crescimento micelial radial conforme Figura 30. Já entre os derivados com a L-

metionina observou-se maior atividade fungistática com o *p*-clorobenzamidoxima em concentração de $4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ quando se observou uma redução em torno de 30% no crescimento micelial radial como pode-se observar na Figura 31.

Particularmente nos compostos derivados da L-metionina, observa-se que na maior concentração testada ($8 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) há uma perda acentuada da atividade fungistática sendo que no caso do composto derivado da *p*-nitrobenzamidoxima ocorre um estímulo do crescimento.

Os derivados da *p*-nitrobenzamidozima foram os que apresentaram menor atividade fungistática na faixa de concentração testada, enquanto os que apresentaram maior atividade fungistática foram os derivados da *p*-cloro benzamidoxima e *p*-toluil.

Os compostos com maior efeito fungistático foram os derivados da L-alanina sugerindo que o efeito antifúngico é dependente de parâmetro estérico em relação ao grupo R do aminoácido e ao substituinte do anel aromático. Para uma melhor compreensão dos parâmetros dos substituintes do anel aromático foram aplicados métodos de regressão linear simples e através da busca sistemática. Para uma visão mais global da relação entre a estrutura da molécula e a atividade antifúngica observada foi aplicada a correlação quimiométrica entre os espectros de infravermelho dos compostos e os diâmetros de crescimento micelial radial utilizando a regressão multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS).

A título de exemplificação consta na Figura 33 a comparação entre o modelo de correlação entre o crescimento micelial radial e as triplicatas dos espectros de infravermelho da região espectral de 1,2,4-oxadiazóis na concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

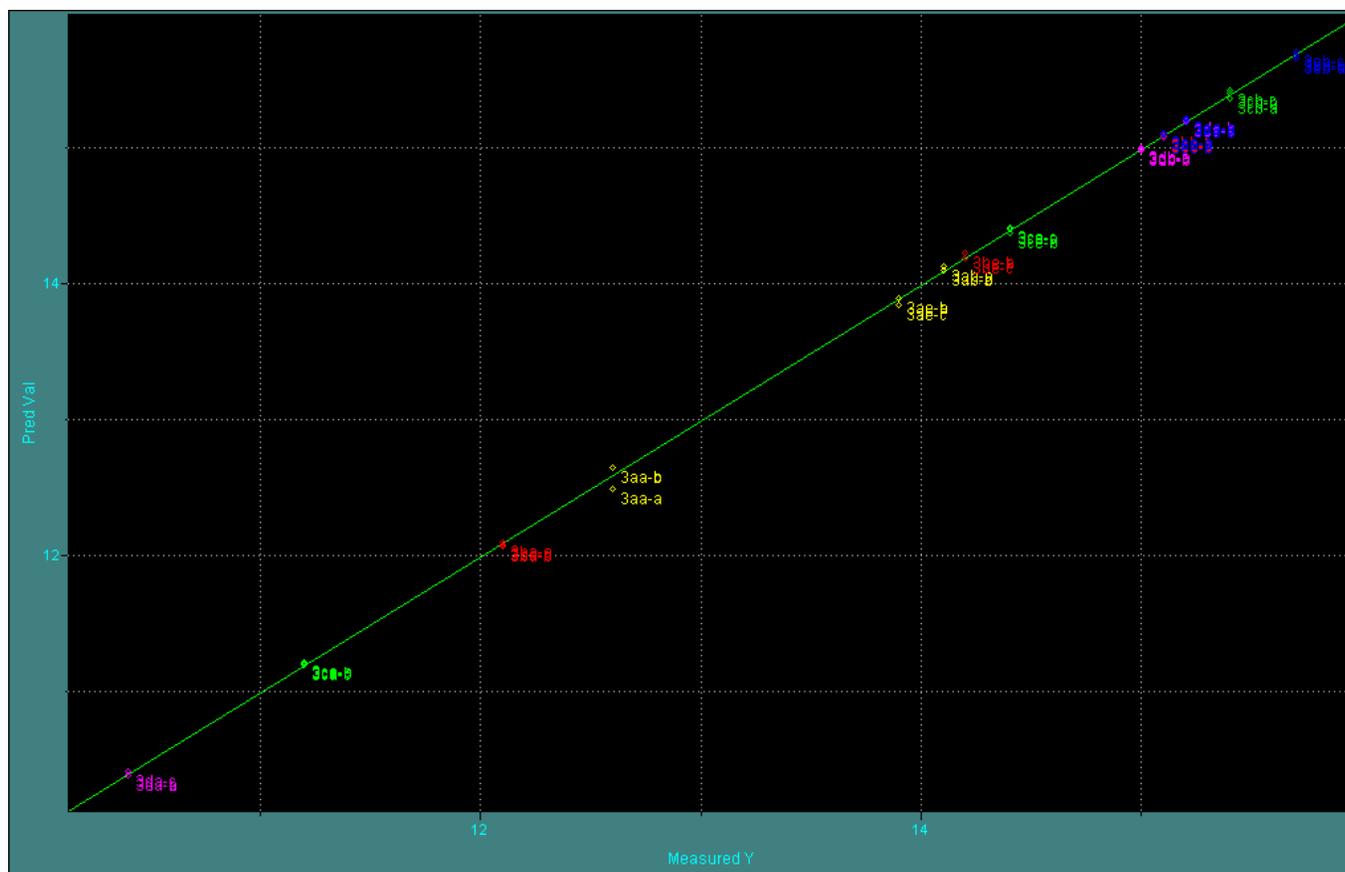


Figura 33 – comparação entre crescimento micelial radial e triplicatas de espectros de infravermelho de 1,2,4-oxadiazol na concentração de 1×10^{-4} mol/L

4.5 Estudos de correlação quantitativa entre estrutura e atividade biológica dos 1,2,4 oxadiazóis utilizando *Aspergillus niger* ATCC 898

Para os estudos de correlação foram utilizados a busca sistemática e o método quimiométrico, ambas ferramentas estatísticas. Inicialmente serão apresentados e discutidos a análise sistemática e posteriormente os dados quimiométricos.

4.5.1 Busca sistemática

A busca sistemática foi realizada utilizando a correlação entre a média do diâmetro do CRM e algumas propriedades moleculares normalmente utilizadas para avaliação de estudos de SAR e QSAR⁶⁴.

Os parâmetros físico-químicos dos substituintes selecionados para este estudo foram constituídos pelo parâmetro hidrofóbico(π), pelos parâmetros eletrônicos σ_p , \mathfrak{S} e \mathfrak{R} e pelos parâmetros estéricos MRs, L, B₁ e B₅.

A escolha da busca sistemática para avaliar modelos de correlação estrutura atividade fungistática com estes parâmetros foi devido ao reduzido número de variáveis para serem explorados por quimiometria. Esta opção levou a resultados contraditórios de difícil interpretação, principalmente, decorrente da baixa correlação entre complexidade estrutural e atividade biológica, ocorrendo comportamentos semelhantes entre 1,2,4-oxadiazóis oriundos de arilamidoximas e L-aminoácidos e comportamentos diferentes dentro de 1,2,4-oxadiazóis de mesma arilamidoxima ou de mesmo aminoácido.

Na tabela 8 observamos os parâmetros hidrofóbicos eletrônicos e estéricos dos substituintes de arilamidoximas para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis.

Tabela 8: Parâmetros hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos dos substituintes H, Cl, CH₃, OCH₃ e NO₂ de arilamidoximas substituídas utilizadas para obtenção de 1,2,4-oxadiazóis por condensação com L-aminoácidos.

	π^a	σ_p^b	\mathfrak{S}^c	\mathfrak{R}^d	MRs ^e	L ^f	B ₁ ^f	B _{F5}
H	0,0	0,0	0,0	0,0	1,03	2,06	1,0	1,0
Cl	0,71	0,23	0,41	-0,15	6,03	3,52	1,80	1,80
CH ₃	0,56	-0,17	-0,04	-0,13	5,65	2,87	1,52	2,04
OCH ₃	-0,02	-0,27	0,26	-0,51	7,87	3,98	1,35	3,07
NO ₂	-0,28	0,78	0,67	0,16	7,36	3,44	1,70	2,44

^a π : constante lipofílica de Hansch-Fujita; ^b σ_p : constante eletrônica de Hammett para substituinte em posição *para*; ^c \mathfrak{S} : efeito de campo de Swain & Lupton; ^d \mathfrak{R} : efeito de ressonância de Swain & Lupton; ^e MRs: refratividade molar; ^f L, B₁, B₅: Parâmetros STERIMOL.

Na tabela 9,10 e 11 encontram-se os valores de coeficiente de regressão obtidos para correlação entre a atividade antifúngica e uma variável independente dos 1,2,4 oxadiazóis onde os valores em negrito representam a melhor correlação.

Tabela 9: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de *A. niger* USP ATCC 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH₃, OCH₃ e NO₂) e L-alanina com uma variável independente.

Classe	5,0x10 ⁻⁵ molL ⁻¹	1,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	2,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	4,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	8,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹
π	-0,141	-0,498	-0,434	-0,544	-0,651
σ_p	0,744	0,955	0,107	0,185	0,727
MRs	0,536	-0,036	-0,658	-0,427	0,294
ζ	0,625	0,654	-0,392	-0,255	0,537
\Re	0,567	0,886	0,613	0,594	0,634
L	0,284	-0,154	-0,830	-0,652	0,054
B ₁	0,721	0,274	-0,602	-0,477	0,242
B ₅	0,321	-0,189	-0,529	-0,294	-0,263

^a Valores em negrito representam a melhor correlação para a concentração de 1,2,4-oxadiazol utilizada.

Analisando a tabela 9 pode-se observar que nas concentrações (5x10⁻⁵ molL⁻¹ e 1,0x10⁻⁴ molL⁻¹ e 8x10⁻⁴ molL⁻¹) a melhor correlação ocorre com o parâmetro σ_p . Este valor absoluto reflete a grandeza dos efeitos indutivos e de ressonância exercidos pelo grupo substituinte no centro da reação ou na propriedade biológica avaliada (CMR). O valor positivo indica que substituintes que possuem a capacidade de atrair elétrons induzem maior halo de colônia e, conseqüentemente, menor atividade antifúngica.

Nas concentrações de (2,0x10⁻⁴ molL⁻¹ e 4,0x10⁻⁴ molL⁻¹) a melhor correlação ocorreu no parâmetro estérico L sendo que o valor negativo indica o aumento do volume do substituinte na posição *para*, e não da molécula como um todo, induz menor diâmetro da colônia e conseqüentemente maior atividade antifúngica, levando a supor que a inibição do crescimento deve estar sendo controlada por interação do composto com um sítio receptor com elevado espaço e que o aumento do volume do substituinte deve estar favorecendo a melhor ocupação deste espaço.

Na tabela 10 encontra-se o mesmo estudo para os 1,2,4-oxadiazóis obtidos com derivados de arilamidoximas substituídos e a L-fenilalanina.

Tabela 10: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de *A.niger* USP ATCC 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH₃, OCH₃ e NO₂) e L-fenilalanina com uma variável independente.

Classe	5,0x10 ⁻⁵ molL ⁻¹	1,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	2,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	4,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	8,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹
π	-0,434	0,040	-0,244	0,704	0,502
σ_p	0,263	0,464	0,310	-0,438	0,169
ζ	0,009	0,585	-0,011	-0,617	0,512
\Re	0,428	0,138	0,538	-0,054	-0,281
MRs	-0,728	0,829	0,107	-0,075	0,480
L	-0,579	0,620	-0,228	-0,258	0,653
B ₁	-0,558	0,835	0,121	0,125	0,709
B ₅	-0,653	0,639	0,084	-0,162	0,239

^a Valores em negrito representam a melhor correlação para a concentração de 1,2,4-oxadiazol utilizada.

Na análise dos compostos derivados da L-fenilalanina observa-se que ocorre uma dependência da atividade fungistática que depende de uma combinação de parâmetros hidrofóbicos (π), eletrônicos (\Re) onde se destacam e estéricos (MRs, B₁). Possivelmente, o sinal negativo de hidrofobicidade pode indicar que há necessidade de um grupo polar ou polarizável para interagir com o sítio ativo. O aumento do tamanho do substituinte diminui a atividade, ao contrário do observado com a L-alanina, pode estar ocorrendo interação entre os sítios (ver a molécula como um todo), conforme os valores em negrito mostrado na Tabela10.

Na tabela 11 estão os dados de correlação com os 1,2,4-oxadiazóis derivados de arilamidoximas substituídas e L-metionina.

Tabela 11: Valores de R para modelos de regressão de diâmetros de colônia de *A.niger* USP ATCC 898 versus concentração de 1,2,4-oxadiazóis derivados da condensação entre arilamidoximas substituídas (R = H, Cl, CH₃, OCH₃ e NO₂) e L-metionina com uma variável independente.

Classe	5,0x10 ⁻⁵ molL ⁻¹	1,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	2,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	4,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹	8,0x10 ⁻⁴ molL ⁻¹
π	-0,331	-0,532	-0,129	-0,362	-0,922
σ_p	0,707	0,203	0,218	0,189	0,604
ζ	0,982	0,577	0,239	-0,017	0,409
\mathfrak{R}	0,107	-0,293	0,108	0,343	0,566
MRs	0,664	0,854	0,657	-0,230	-0,153
L	0,722	0,787	0,369	-0,089	-0,212
B ₁	0,644	0,321	0,471	0,046	-0,287
B ₅	0,520	0,944	0,612	0,285	-0,040

Valores em negrito representam a melhor correlação para a concentração de 1,2,4-oxadiazol utilizada.

Nos derivados da L-metionina também ocorre uma combinação de fatores que refletem a correlação deste composto indicando os seus diversos mecanismos de ação.

Na tabela 9, 10 e 11 encontram-se os valores de coeficiente de regressão obtidos para correlação entre a atividade antifúngica e uma variável independente dos 1,2,4 oxadiazóis onde os valores em negrito representam a melhor correlação

A execução da busca sistemática ao conjunto de dados das tabelas 9, 10 e 11 para os 1,2,4 oxadiazóis gerou equações de regressão. Na construção das tabelas não foi imposta qualquer restrição quanto ao grau de correlação entre as variáveis independentes foi escolhida a melhor correlação (em negrito) para cada concentração de 1,2, 4-oxadiazol utilizado.

4.6 Quimiometria

A utilização de métodos quimiométricos baseou-se na aplicação de seleção de freqüências dos espectros de DRIFT, utilizando em seguida o processamento PLS para sua modelagem. A seleção de freqüências seguiu o critério baseado nas classes de movimentos moleculares passíveis de serem encontrados ao longo do espectro de IV em função da estrutura dos compostos utilizados, partindo-se da utilização do espectro total (4000-600 cm^{-1}).

Primeiramente, as faixas espectrais foram divididas em intervalos fixos de 300 cm^{-1} e deslocadas ao longo da região de 600 a 4000 cm^{-1} , com acréscimos seriados de 100 em 100 cm^{-1} . Numa segunda abordagem, as regiões espectrais foram subdivididas com base em movimentos vibracionais específicos presentes naquela região, a fim de otimizar o modelo. Na tabela 12, encontram-se todas as tentativas feitas para que se chegasse ao modelo escolhido.

A qualidade dos modelos de validação foi avaliada comparando-se, inicialmente, o valor do coeficiente de correlação (R^2 val), o erro padrão de validação (RMSECV), e o número de fatores (Componentes Principais) associados a estes valores. O coeficiente de correlação foi considerado o critério inicial para aceitação ou rejeição de modelo sendo aceitos apenas modelos de PLS com (R^2 val $\geq 0,99$). O segundo critério de seleção foi o valor do RMSECV sendo selecionados modelos com menor valor de RMSECV e posteriormente com o menor número de fatores.

Tabela 12: Faixas espectrais utilizadas para a tentativa de encontrar o melhor modelo matemático.

Espectro cm^{-1}	parâmetros	$5 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$	$1,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$2,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$4,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$	$8,0 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$
900-600	RMSECV	0,29	0,18	0,12	0,18	0,21
	R^2 val	0,098	0,997	0,997	0,996	0,996
	F	9	5	8	6	8
1000-700	RMSECV	0,18	0,12	0,21	0,11	0,22
	R^2 val	0,999	0,997	0,997	0,998	0,981
	F	7	6	8	7	9
1100-800	RMSECV	0,11	0,27	0,27	0,18	0,22
	R^2 val	0,996	0,998	0,998	0,998	0,998
	F	7	5	5	8	8

1200-900	RMSECV	0,19	0,06	0,07	0,14	0,10
	R ² val	0,997	0,997	0,998	0,997	0,998
	F	9	5	5	9	9
1300-1000	RMSECV	0,23	0,19	0,26	0,20	0,25
	R ² val	0,991	0,991	0,995	0,995	0,995
	F	8	5	7	8	9
1400-1100	RMSECV	0,20	0,21	0,18	0,17	0,29
	R ² val	0,995	0,995	0,994	0,992	0,998
	F	9	8	9	9	8
1500-1200	RMSECV	0,24	0,14	0,17	0,20	0,37
	R ² val	0,996	0,996	0,998	0,998	0,981
	F	9	8	8	9	8
1600-1300	RMSECV	0,79	0,40	0,53	0,50	0,74
	R ² val	0,911	0,965	0,964	0,944	0,942
	F	9	9	9	9	9
1700-1400	RMSECV	0,24	0,13	0,19	0,19	0,36
	R ² val	0,996	0,997	0,998	0,997	R 0,987
	F	7	9	9	7	F 9
1800-1500	RMSECV	0,13	0,19	0,21	0,27	0,28
	R ² val	0,998	0,998	0,998	0,998	0,998
	F	8	6	8	8	9
1900-1600	RMSECV	0,3	0,18	0,25	0,21	0,62
	R ² val	0,995	0,995	0,995	0,997	0,997
	F	8	6	9	7	9
2000-1700	RMSECV	0,28	0,17	0,40	0,35	0,33
	R ² val	0,988	0,998	0,978	0,978	0,988
	F	9	7	9	9	9
2100-1800	RMSECV	0,27	0,19	0,30	0,21	0,24
	R ² val	0,998	0,998	0,988	0,998	0,998
	F	8	8	9	9	9
2200-1900	RMSECV	0,26	0,16	0,22	0,19	0,36
	R ² val	0,991	0,996	0,996	0,996	0,988
	F	8	8	8	8	9
2400-2100	RMSECV	0,72	0,28	0,35	0,42	0,79
	R ² val	0,938	0,989	0,989	0,969	0,939
	F	9	9	9	9	9
2500-2200	RMSECV	1,1	0,68	0,60	0,60	1,20
	R ² val	0,842	0,902	0,954	0,924	0,811
	F	9	9	9	9	9
2600-2300	RMSECV	1,08	0,55	0,65	0,75	1,20
	R ² val	0,845	0,939	0,949	0,879	0,839
	F	9	9	9	9	9
2700-2400	RMSECV	0,54	0,21	0,24	0,32	0,73
	R ² val	0,969	0,997	0,998	0,979	0,949
	F	9	9	9	9	9

2800-2500	RMSECV	0,34	0,19	0,27	0,25	0,65
	R ² val	0,989	0,999	0,998	0,988	0,958
	F	9	8	6	9	9
2900-2600	RMSECV	0,22	0,24	0,28	0,21	0,49
	R ² val	0,988	0,989	0,989	0,991	0,975
	F	9	9	9	9	9
3000-2700	RMSECV	0,43	0,20	0,37	0,37	0,36
	R ² val	0,975	0,959	0,985	0,985	0,985
	F	9	9	9	9	9
3100-2800	RMSECV	0,25	0,28	0,31	0,36	0,32
	R ² val	0,989	0,989	0,989	0,979	0,989
	F	9	9	9	9	9
3300-3000	RMSECV	0,20	0,31	0,28	0,19	0,21
	R ² val	0,998	0,998	0,998	0,998	0,998
	F	8	9	9	9	9
3400-3100	RMSECV	0,96	0,35	0,50	0,31	0,57
	R ² val	0,879	0,979	0,969	0,979	0,969
	F	9	9	9	9	9
820-770	RMSECV	0,78	0,43	1,03	1,09	1,52
	R ² val	0,919	0,969	0,849	0,739	0,739
	F	9	9	9	9	9
1050-950	RMSECV	0,38	0,16	0,34	0,31	0,69
	R ² val	0,989	0,999	0,989	0,979	0,949
	F	9	9	9	9	9
1250-1150	RMSECV	0,34	0,33	0,20	0,63	0,96
	R ² val	0,989	0,979	0,999	0,919	0,899
	F	9	9	8	9	F 9
1300-1200	RMSECV	0,79	0,40	0,50	0,50	0,74
	R ² val	0,919	0,969	0,969	0,949	0,949
	F	9	9	9	9	9
1350-1250	RMSECV	0,64	0,73	0,63	0,84	1,25
	R ² val	0,959	0,899	0,949	0,849	0,829
	F	9	9	9	9	9
2900-2800	RMSECV	0,66	0,69	0,53	0,53	0,62
	R ² val	0,949	0,909	0,969	0,939	0,959
	F	9	9	9	9	9
3300-3000+	RMSECV	0,24	0,12	0,17	0,14	0,31
1600-1500	R ² val	0,998	0,999	0,998	0,998	0,988
	F	9	7	8	9	9
3000-3100+	RMSECV	0,24	0,12	0,17	0,14	0,31
1100-950+	R ² val	0,999	0,998	0,999	0,999	0,989
800-700	F	9	7	8	9	9
900-860+	RMSECV	0,19	0,10	0,11	0,13	0,13
820-770+	R² val	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
1125-1100+	F	7	5	7	7	7
3100-3000						

Legenda: RMSECV- erro padrão de validação. R^2_{val} - coeficiente de correlação de validação. F- número de fatores.

Analisando os resultados da Tabela 12, pode-se observar que bons modelos foram obtidos com uma faixa espectral mínima da ordem de 300 cm^{-1} , utilizando as triplicatas dos espectros referentes aos quinze compostos sintetizados. Mesmo assim, nem todos os intervalos anteriormente definidos com esta faixa de frequências mostraram-se adequados para a obtenção de modelos de previsão, indicando que diferentes regiões espectrais específicas para determinados movimentos vibracionais deveriam ser melhores associadas para uma melhor qualidade dos modelos de previsão. Neste sentido as regiões espectrais foram selecionadas com base em três grandes porções da estrutura: o radical fenila, o anel 1,2,4-oxadiazólico e o radical aminoacil protegido conforme pode ser visualizado na tabela 13.

Tabela 13: Bandas e faixas espectrais escolhidas para cada região da estrutura da família de 1,2,4-oxadiazóis investigados.

Fragmento	Região espectral (cm^{-1})	Movimento associado
Radical fenila	900-675	Deformação angular C-H fora do plano de anel aromático
	1300-1100	Deformação angular no plano da ligação
	1600-1581 1500-1400	Deformação axial de ligação C-C
	2000-1650	Harmônicas ou de combinação
Núcleo 1,2,4-oxadiazol	1600-1570	C=N
	1250-1200	Deformação axial C-O
	3100-3000	Deformação axial de C-H
	850-750	Deformação axial de N-O

Fonte: SILVERSTEIN, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 5ª Ed.

Analisando cada um dos intervalos pode-se perceber que na região de $900-600\text{ cm}^{-1}$ possuem um bom valor preditivo, com pequenas variações das Figuras de mérito nas diferentes concentrações avaliadas. Esta região espectral é caracterizada predominantemente pela deformação angular fora do plano de C-H, a qual pode ser correlacionada com o número de átomos de hidrogênio adjacentes nos diferentes

anéis.⁵² Entre $1000-700\text{ cm}^{-1}$, região onde se consegue concentrar um maior número de informações da molécula, pois estão concentradas as três regiões da família de derivados, mostra que existem informações que não são importantes e outras que deveriam estar nesta região, pois o modelo necessitou de até nove fatores como mostra na Tabela 12.

Pode-se verificar que de 3000 a 2000 cm^{-1} os resultados obtidos com todas as tentativas feitas utilizando intervalos de 300 cm^{-1} foram os que apresentaram pior qualidade preditiva, indicando que esta região mostra-se pobre de informações características dos compostos estudados.

Comparando os resultados com as diferentes concentrações, foi observado que os modelos de menor qualidade preditiva foram obtidos nas concentrações $5 \times 10^{-5}\text{ molL}^{-1}$ e $8 \times 10^{-4}\text{ molL}^{-1}$, enquanto que a concentração de $1 \times 10^{-1}\text{ molL}^{-1}$ foi a que apresentou melhores modelos de predição do CMR, RMSECV e R^2_{Val} .

Na tentativa de encontrar o melhor modelo começamos a relacionar pequenos fragmentos da molécula em busca de otimizar o processo. Utilizamos o critério de utilizar faixas espectrais pequenas mas que seus grupamentos estivessem presentes nos compostos testados, a fim de estudar o seu comportamento até chegarmos ao modelo ideal que está localizado na última linha da Tabela 12. Podemos perceber que se agrupássemos poucos fragmentos, com intervalos menores de 300, mesmo que aleatoriamente não alcançaríamos o nosso objetivo, pois como já mencionado, é necessário um número mínimo de informações moleculares.

Agrupamos diferentes faixas com grupamentos moleculares pertencentes a todos os compostos utilizados na síntese, como pode-se ver os intervalos espectrais e suas respectivas posições e movimentos associados como mostrado na Figura 34.

A Figura 35 demonstra os espectros de infravermelho das bandas caracterizadas como o melhor modelo demonstrando as bandas de todos os compostos a fim de identificar características semelhantes entre eles.

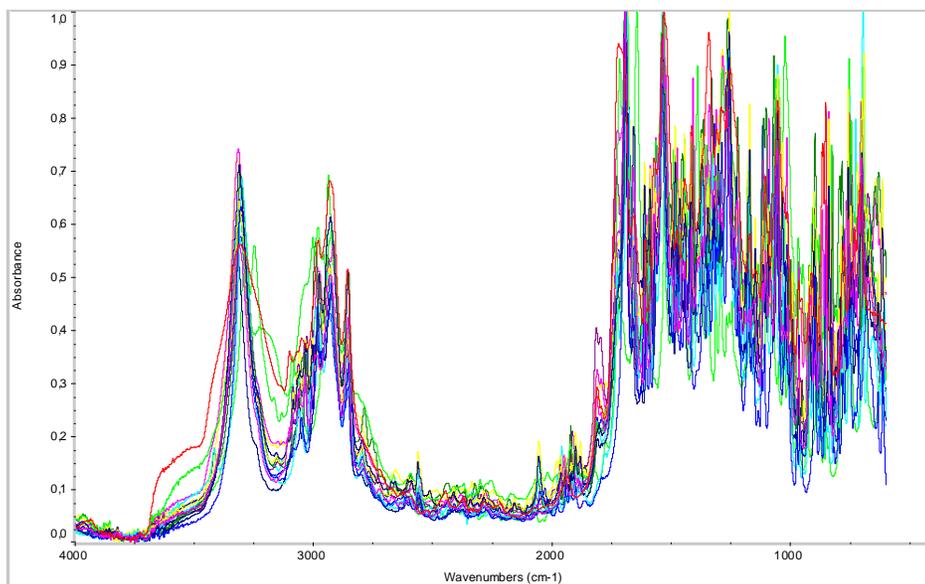


Figura 34 – Espectro de infravermelho de todos os 1,2,4-oxadiazóis

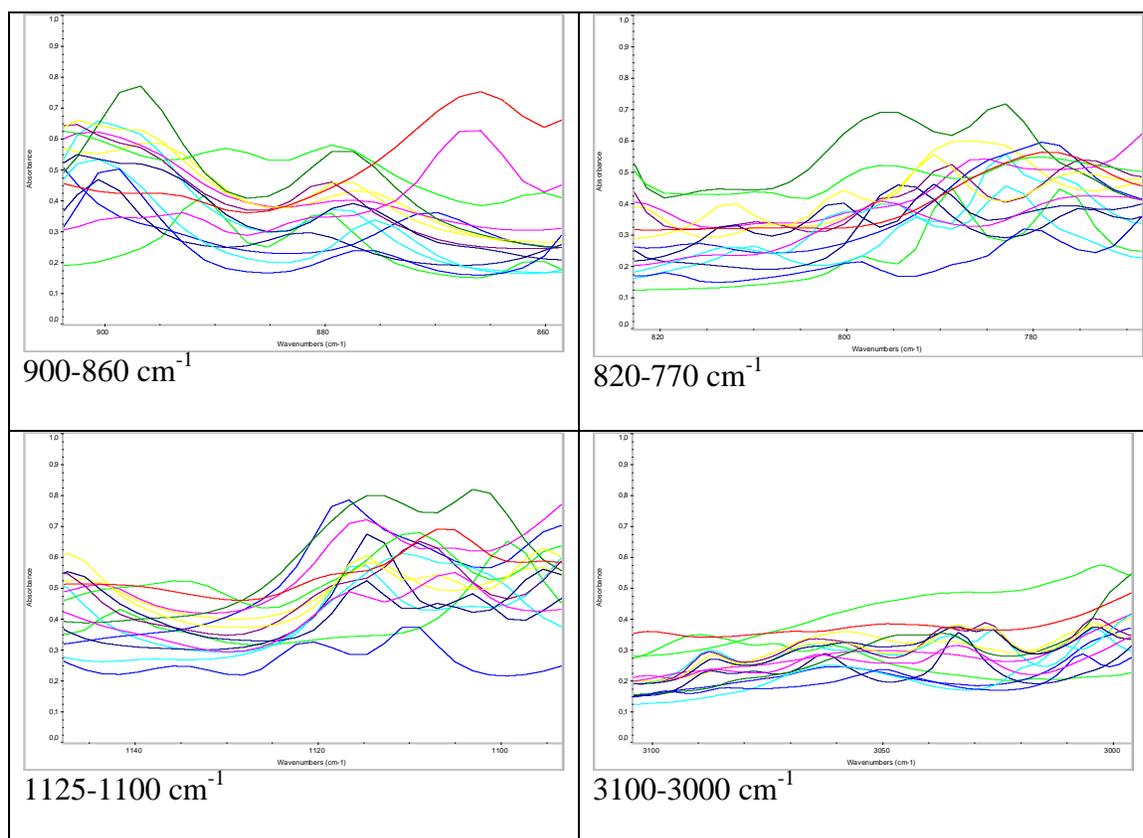


Figura 35: Espectro de infravermelho de fragmentos de bandas dos 1,2,4-oxadiazóis caracterizada como melhor modelo.

Entre $900\text{-}860\text{ cm}^{-1}$ e $820\text{-}770\text{ cm}^{-1}$ as vibrações de deformação axial de C-H fora do plano são geralmente intensas, pois são correspondentes ao número de átomos de hidrogênio no anel. Analisando os intervalos entre $1125\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ a absorção mais característica do espectro é uma banda intensa que ocorre entre 1150 e 1085 cm^{-1} e é devida à deformação axial assimétrica de C-O-C. Essa banda aparece usualmente em torno de 1125 cm^{-1} . A banda de deformação axial simétrica é geralmente fraca no infravermelho e mais facilmente observada no espectro Raman. Já em $3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ as vibrações de deformação axial de metileno dos hidrocarbonetos cíclicos sem tensão no anel são praticamente as mesmas observadas no caso dos alcanos acíclicos. O aumento da tensão do anel move as bandas de deformação axial de C-H progressivamente para frequências mais altas. Os grupos CH_2 e CH do anel absorvem aproximadamente na região de 3100 cm^{-1} . A absorção correspondente a deformação axial de C-H ocorre na região de 3000 cm^{-1} , as posições de deformação axial está entre a que menos varia no espectro.

Neste caso pode-se constatar que o melhor modelo utilizou regiões/faixas espectrais diferentes, mostrando que para se obter um bom modelo é necessário informações de diversas partes da molécula, onde todas as estruturas utilizadas para a formação dos compostos em estudo são importantes para a sua atividade.

As iniciativas da química verde englobam todas as áreas da ciência, sempre considerando o princípio da sustentabilidade, o uso de reagentes alternativos e renováveis, com o objetivo de diminuir os reagentes tóxicos e não biodegradáveis no ambiente, no desenvolvimento de produtos seguros, ou seja, não tóxicos, para se evitar perdas indesejáveis na síntese, maior rendimento e menor geração de subprodutos e por final na minimização do consumo de energia. Utilizando o infravermelho (DRIFT) pode-se prever a atividade biológica (CMR) e a determinação da toxicidade dos compostos sintetizados utilizando todos esses princípios da química verde.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as condições reacionais em que foram realizados os experimentos, pode-se concluir que:

- Os rendimentos das reações, de obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis, realizadas por irradiação de micro-ondas foram moderados quando comparados com as realizadas na presença de solvente e aquecimento. Para obtenção de melhores rendimentos, as condições reacionais devem ser otimizadas, variando-se o tempo reacional, a quantidade dos materiais de partida e do reagente de acoplamento (DCC) ou ainda, utilizando-se outros reagentes de acoplamento.

- Os produtos obtidos através da irradiação de micro-ondas e purificados por coluna cromatográfica de silicagel ou placa preparativa, apresentaram um maior rendimento quando comparados com a análise dos cromatogramas utilizando a cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas. Acredita-se que as amostras injetadas no cromatógrafo a gás foram parcialmente decompostas, visto que os valores calculados em relação ao rendimento, baseados nas áreas e nos tempos de retenção (cromatogramas), são inferiores aos dos compostos purificados e analisados por RMN ^1H .

- As técnicas de identificação e elucidação estrutural utilizando a espectroscopia de IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C se mostraram mais eficientes quando comparados com a cromatografia gasosa.

- O uso da irradiação de micro-ondas em ausência de solvente, foi de grande importância, por ser um procedimento coerente com a filosofia da Química Verde, esta técnica possibilitou reduzirmos em muito o tempo de reação reduzindo o gasto de energia, podendo assim identificar mais rapidamente as condições adequadas para cada reação.

Pode-se prever a atividade antifúngica dos compostos sintetizados (CMR), bem como sua toxicidade, utilizando tecnologias limpas e mostrando a importância do infravermelho no desenvolvimento deste trabalho.

A criação de um modelo onde utiliza-se partes diferentes do composto sintetizado para prever sua atividade e toxicidade é um avanço, pois conseguimos mostrar que podemos excluir várias etapas utilizadas em outras metodologias utilizadas até agora.

Com este trabalho podemos minimizar o impacto ambiental causado em varias etapas do processo.

Na síntese dos produtos orgânicos foi possível a geração de resíduos, pois a partir do momento em que se investe em tecnologia limpa, neste caso o micro-ondas, não há necessidade de investimentos pesados em tratamento de resíduos.

No tempo gasto para a geração de produtos, numa síntese orgânica utilizando solvente orgânico o tempo varia de 10 a 12 horas enquanto que com micro-ondas o tempo se situa na faixa de alguns segundos, sem contar na quantidade de material utilizado, que é mínimo.

Sintetizar produtos mais seguros, ou seja, menor toxicidade possível ao meio ambiente, podendo prever esta atividade também com segurança, neste caso utilizando esta nova metodologia utilizada no desenvolvimento deste trabalho, o infravermelho, não gera resíduos, não utiliza solventes perigosos, utiliza pouco material, evitando assim o potencial para acidentes.

Foi possível, através da Matriz de Leopold, identificar as ações impactantes no ambiente através da realização da síntese com solvente e com irradiação de micro-ondas bem como demonstrar que a reação livre de solvente apresenta pontos positivos maiores quando comparados com a que utiliza solvente.

Embora já se note uma mobilização por parte de todos para salvar o planeta é preciso que se discuta a criação de linhas de investimentos para o desenvolvimento de tecnologias limpas de políticas de redução na fonte lembrando a quantidade de resíduos passivos existentes em todo país.

Aplicar os princípios da química verde pode parecer difícil num primeiro momento, entretanto procurou-se mostrar aqui algumas alternativas viáveis, novas metodologias que podem ser utilizadas em instituições de ensino em todo país, eliminado o estigma de que a química esta ligada a poluição e a degradação ambiental, mostrando que pode sim contribuir para a melhoria da qualidade de vida humana e do próprio planeta.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MELO, S.J. et al. *Synthesis of Some 3-Aryl-1,2,4-oxadiazoles Carrying a Protected L-Alanine Side Chain*. J. Braz. Chem. Soc., 1998, 9, 465.
2. ANASTAS, P. T.; WILLIAMSON, T. C. *Green Chemistry: Designing Chemistry for the Environment*. ACS Symposium Series 626, American Chemical Society, Washington, 1996.
3. CANN, M.C.J. *Designing Chemistry Chem. Educ.*, n. 76, 1999.
4. AFIATPOUR, P. et al. *Analgesic and anti-inflammatory effects of 3-[3-(phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] propionic acid*. Brazilian J. Med. Biol. Res., 1994, 27, 1403.
5. DIANA, G. D.; NITZ, T. J. U.S. Pat 5,464,848 (C1.514-364; C07D413/12),7 Nov.1995, US Appl. 869,287, 15 Apr. 1992, 34pp; *Chem. Abstr.*, 1996, 24, 176114h.
6. JESCHKE, P. et al. *Ger.Offen.DE.* 4;401,107 (Cl.C07D271/06), 20 Jul 1995, Appl. 17 Jan 1994,40pp; *Chem.Abstr.*, 1995, 123, 340135t.
7. SZILÁGYI, G. et al. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 1970, 66, 439
8. SOKOLOV, S. D. et al. *Method of obtaining 5-(2-hydroxyphenoxymethyl)-1,2,4-oxadiazoles*. *Khim-Farm.Zh.*,1995,29,36; *Chem. Abstr.*, 1996, 124, 76195s.
9. CLAPP, L. B. et al. *In Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Pergamon Press, 1984; 6, 365.
10. ANASTAS, P. T.; WILLIAMSON, T. C. *Green Chemistry: Designing Chemistry for the Environment*. ACS Symposium Series 626, American Chemical Society, Washington, 1996.
11. PRADO, Alexandre G.A. S.; *Green chemistry, the chemical challenges of the new millennium*. *Quim. nova*, vol. 26, 5, 738-744, 2003.

12. ANATAS, P. T.; Kirchoff, M. m.; *Acc. Chem.res.*2002, 35,686.
13. HJERESSEN, D. L.; Schutt, D. I.; Boese, J. M.; *J. Chem. Educ.* 2000, 77, 1543.
14. WINTERTON, N.; *Green Chem.* 2001, 3, G73.
15. TROST, B. M.; *Angew. Chem., Int. Ed.* 1995, 34,259.
16. LENARDÃO, J. E. et al, *Green chemistry The 12 principles of green chemistry and it insertion in the teach and research activities.* Quim. Nova, vol 26, 1, 123-129, 2003.
17. LEOPOLD, L. B. et al. *A procedure for evaluating environmental impact.* U. S. Geol. Surv. Circ., 645, Washington D. C., 1971
18. TOMMASI, L. R. *Estudo de Impacto Ambiental.* São Paulo: CETESB / Terragraph Artes e Informática, 1993.
19. ZURER, P.; *Chem. Eng. News* 2000, 78, 26.
20. ABRAMOVICH, R.; *A. Org. Prep. Proced. Int.* 1991, 23, 683.
21. CADDICK, S.; *Tetrahedron* 1995, 51, 10403.
22. VARMA, R. S.; *Green Chem.* 1999, 1, 43.
23. SANSEVERINO, M. A.; *microwaves in organic synthesis.* Quim. Nova, vol 25, 4, 660-667, 2002.
24. RAM, S.; Ehrenkauf, R. E.; *Synthesis* 1988, 91
25. GEDYE, R; et al: *Tetrahedron Lett*,1986,27,279.
26. GUIGUERE, R. J.; et al; *Tetrahedron Lett.* 1986, 27, 279
27. KINGSTON, H. M.; Jassie, L. B.; ed.; *Introducion to microwave sample preparation,* ACS Professional reference book: Washington D.C. 1988.
28. TRAINOR et al,*J. Org. Chem.* 1995,60,5746
29. LOUPY, A; et al *Synthesis* 1998,1213
30. VOET, Donald. et al. *Fundamentos de Bioquímica.* Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. 931 p.

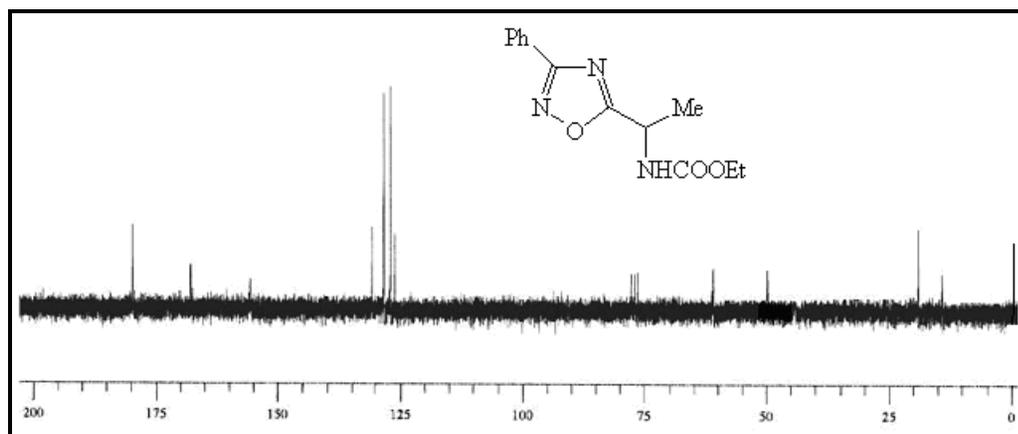
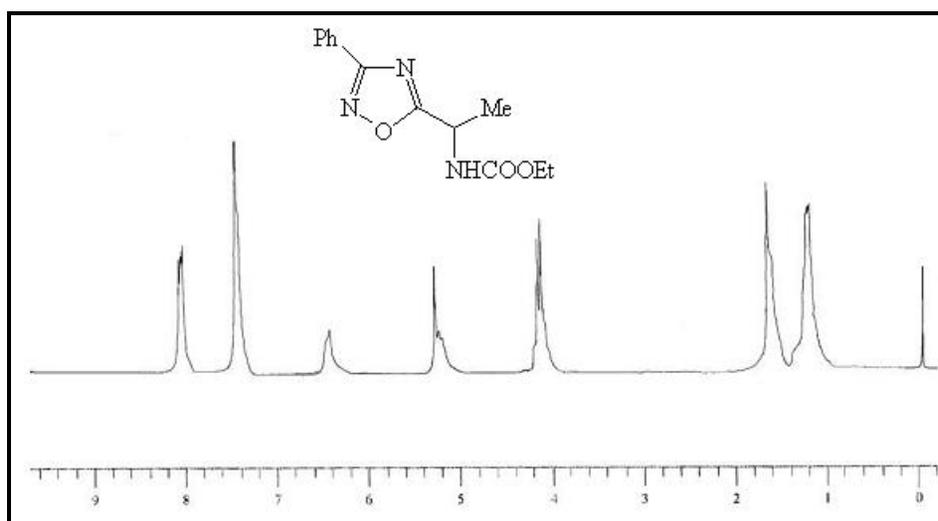
31. AFIATPOUR, P. et al. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1994, 27, 1403.
32. JESCHKE, P. et al. *Ger. Offen. DE.* 4;401,107 (CI.C07D271/06), 20 Jul 1995, Appl. 17 Jan 1994, 40pp; *Chem. Abstr.*, 1995, 123, 340135t.
33. _____: *Ger. Offen. DE.* 4;401,108 (CI.C07D271/06) 20 Jul 1995, Appl. 17 Jan 1994, 35pp; *Chem. Abstr.*, 1995, 123, 340136u.
34. SOKOLOV, S. D.; Vinogradova, s. m.; Azarevich, o. g. u.s.s.r. su 1,139, 129 (CI.C07D271/06) 10 May 1995, Appl. 3,656,147,28 Oct. 1983; *Chem. Abstr.*, 1996, 124, 176108j.
35. BUSCEMI, S. et al. *Synthesis*, 1995, 917, *Chem. Abstr.*, 1995, 123, 339934w.
36. GRIMMETT, M. R.; IDDON, B. *Heterocycles*, 1995, 41, 525.
37. OUSSAID, B. et al. *Synth. Commun.*, 1995, 25, 1451
38. SRIVASTAVA, R. M. et al. *J. Braz. Chem. Soc.*, 1993, 4, 84.
39. SRIVASTAVA, R. M.; SEABRA, G. M. *J. Braz. Chem. Soc.*, 1997, 8, 397.
40. OLIVEIRA, F. J. S. et al *Síntese e verificação de atividades farmacológicas de 1,2, 4 oxadiazóis com radical metiltienil no C-5.* Maio de 2001.
41. BATISTA, H. C. N. et al. *Síntese e relação estrutura-atividade das novas N-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-(II)] alquil ftalimidas.* Maio 2001.
42. SRIVASTAVA, R. M. et al. *Antiinflammatory Property of 3-Aryl-5-(n-propyl)- 1,2,4-oxadiazoles and Antimicrobial Property of 3-Aryl-5- (n-propyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles: Their Syntheses and Spectroscopic Studies.* *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, 11, 1821.
43. SRIVASTAVA, R. M. et al. *Synthesis and antiinflammatory activity of 3-Aryl-5-isopropyl-1,2,4-oxadiazoles.* *Heterocycl. Commun.*, 2000, 6, 41.
44. LEITE, A. C. L. et al. *Síntese de 1,2,4-oxadiazóis contendo uma porção aminoácida.* Acessado em junho de 2008.
45. MELO, S. J. de et al. *Synthesis of Some 3-Aryl-1,2,4-oxadiazoles carrying a protected L-Alanine Side Chain.* *J. Braz. Chem. Soc.*, 1998, 9, 465.

46. BILLI, R. et al. *A Novel Class of Potential Antitumor Agents*. Tetrahedron 1999, 55, 5433-5440.
47. SRIVASTAVA, R. *Preparação de benzamidoximes: estrutural, conformational and spectroscopic studies*. J. Mol. Struct., 1997, 406, 156.
48. COLLINS, C, H.; BRAGA, G, L.; BONATO, P, S. *Introdução a métodos cromatográficos*. 5. ed. São Paulo: Editora UNICAMP, 1993.
49. NETO, Cláudio Costa. *Análise Orgânica: Métodos e Procedimentos para a Caracterização de Organoquímicos*. Rio de Janeiro: Editora UFRJ, 2004.
50. SILVERSTEIN, R.M.; Bassler, G.C.; Morrill, T.C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 5ª Ed. **1994**, 387p.
51. KROGSGAARD-LANRSEN, P.; Liljefors, T.; Madsen, U. *A textbook of drug design and development*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 2ª Ed, **1996**, 543p.
52. GAUDIO, A.C., *Quím. Nova* **1996**, 19, 278.
53. C.; Jen, E. *J. Med. Chem.* **1971**, 14, 653.
54. HANSCH, C.; Yoshimoto, M. *J. Med. Chem.* **1974**, 17, 1160.
55. CONLEY, R.T. *Espectroscopia infrarroja*. Madri: Alhambra, **1979**, 346p.
56. PRETSCH, E.; Clerc, T.; Eibl, J.; Simon, W. *Tablas para la elucidacion estructural de compuestos organicos por metodos espectroscopicos*. Madri: Alhambra, **1991**, 300p.
57. FERREIRA, M.M.C.; Montanari, C.A.; Gaudio, A.C. *Quím. Nova* **2002**, 25, 439.
58. GAUDIO, A.C.; Zandonade, E. *Quim. Nova* **2001**, 24, 658. Ferreira, M.M.C. *J. Braz. Chem. Soc.* **2002**, 13, 742.
59. FERREIRA, M.M.C.; Antunes, A.M.; Melgo, M.S.; Volpe, P.L.O. *Quim. Nova* **1999**, 22, 724
60. BRERETON, R.G. *Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 1ª Ed. **2003**, 489p.

61. NAUMANN, D. *Infrared Spectroscopy in Microbiology*. In: *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Meyers, R.A (Ed.) Chichester: John Wiley & Sons Ltd, **2000**, 102-131.
62. CORBELLINI, A. V., *Síntese e avaliação de propriedades fotofísicas e biológicas de 2-(2' hidroxifenil) benzoxalonas e cumarinas em fungos de interesse clínico*. Tese de Doutorado, UFRGS 2004.
63. SIDRIM, J.J.C.; MOREIRA, J.L.B. *Fundamentos clínicos e laboratoriais da clínica médica*. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara-Koogan, 1999, 287p.
64. CORBELLINI, A.V; *Correlação quantitativa entre estrutura e atividade antifúngica de fenóis sobre Aspergillus niger CMMI 111*. *Tecnologia*, v. 9, n.2, p.69-85, 2005.
65. SILVA, Elias. Apostila do Curso de Engenharia Florestal 685- Análise e Avaliação de Impactos Ambientais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa- MG, 1996. 68p.
66. DORNELLES, L. et al. One-Pot Synthesis of Chiral N-Protected α -Amino Acid-Derived 1,2,4-Oxadiazoles. *Synthesis*. 2004, 10, 1589.

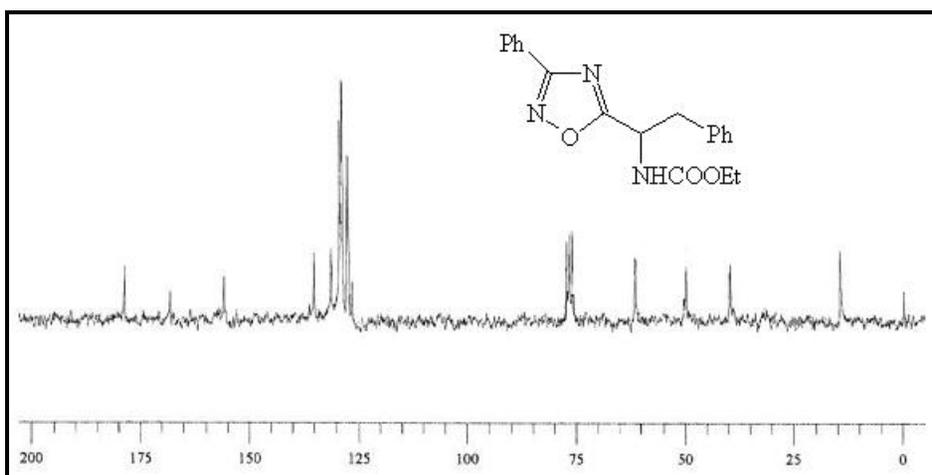
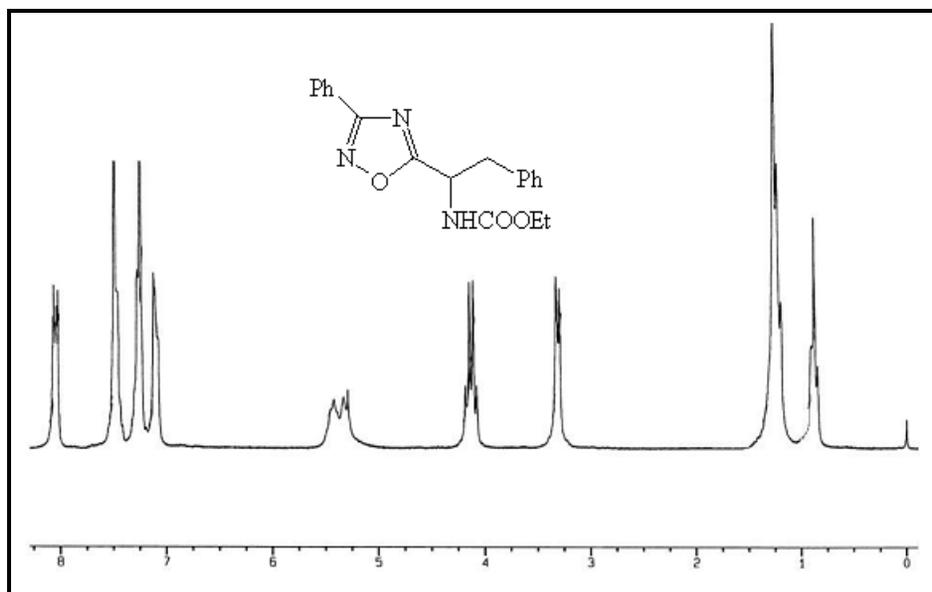
ANEXOS

ANEXO A: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3aa**

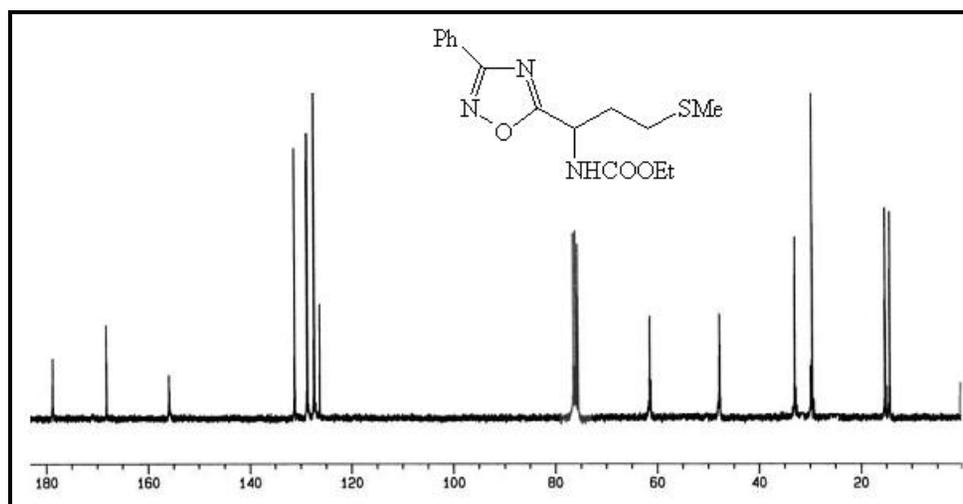
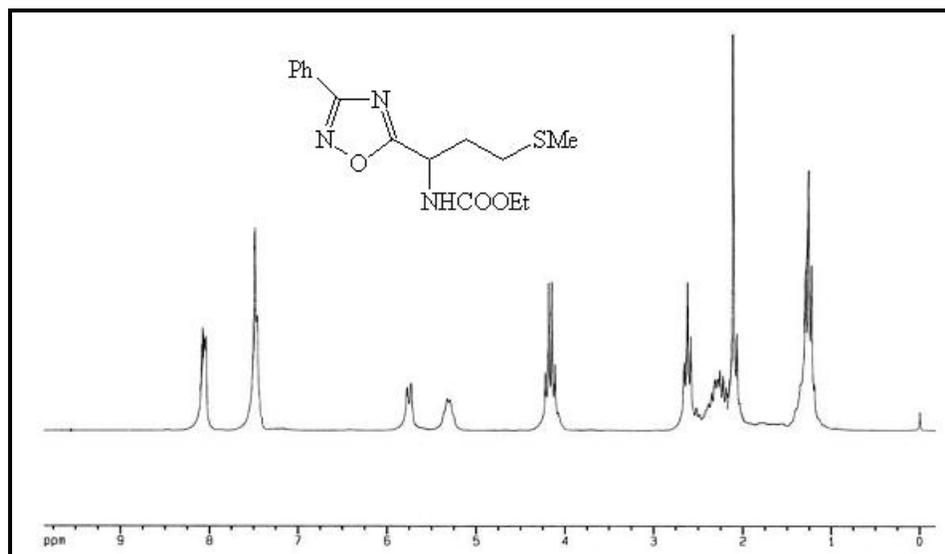


ANEXO B: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a

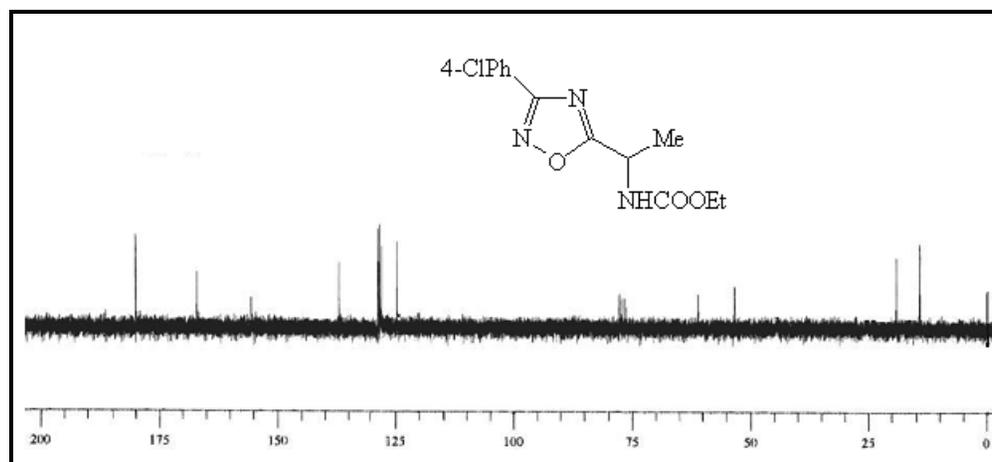
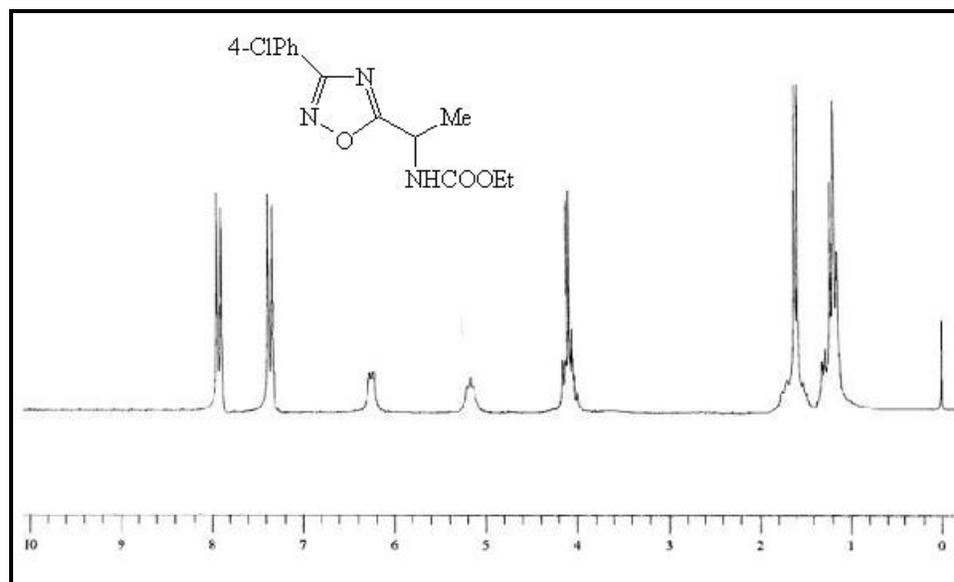
50 MHz) do composto **3ab**.



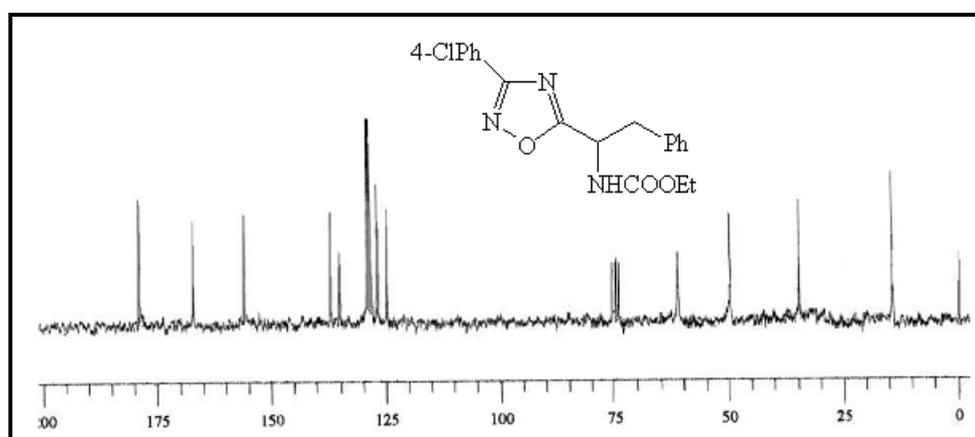
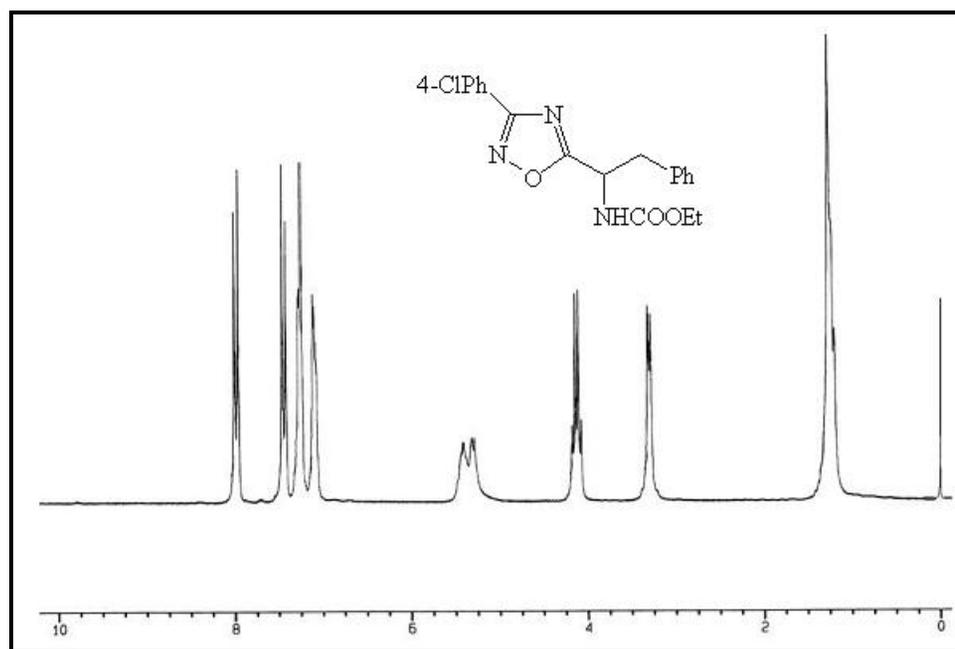
ANEXO C: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3ac**.



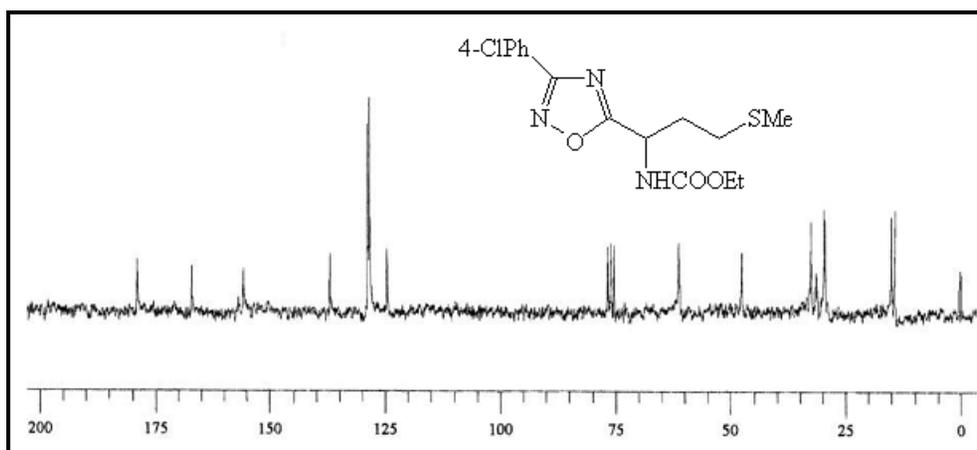
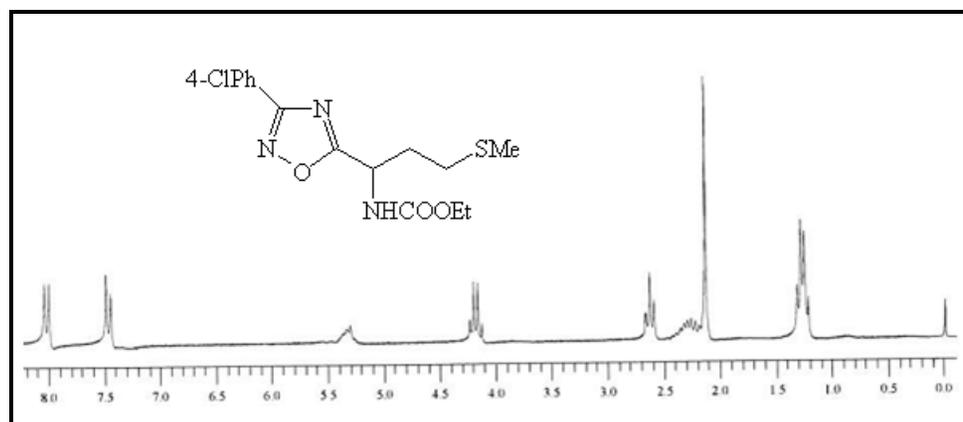
ANEXO D: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3ba**.



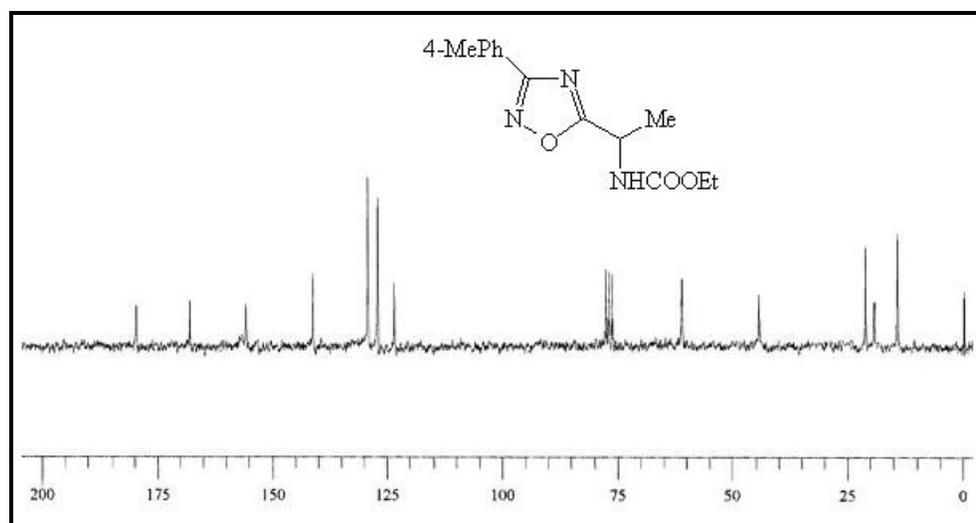
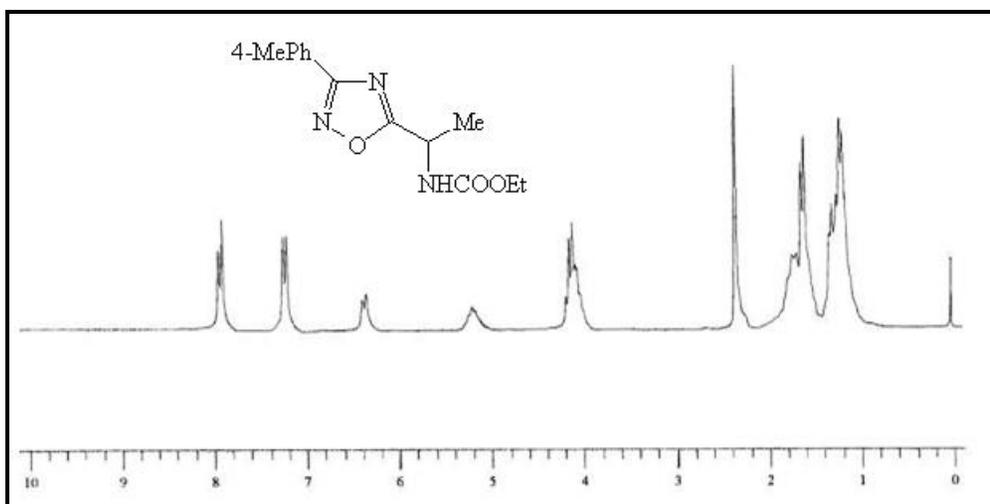
ANEXO E: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3bb**.



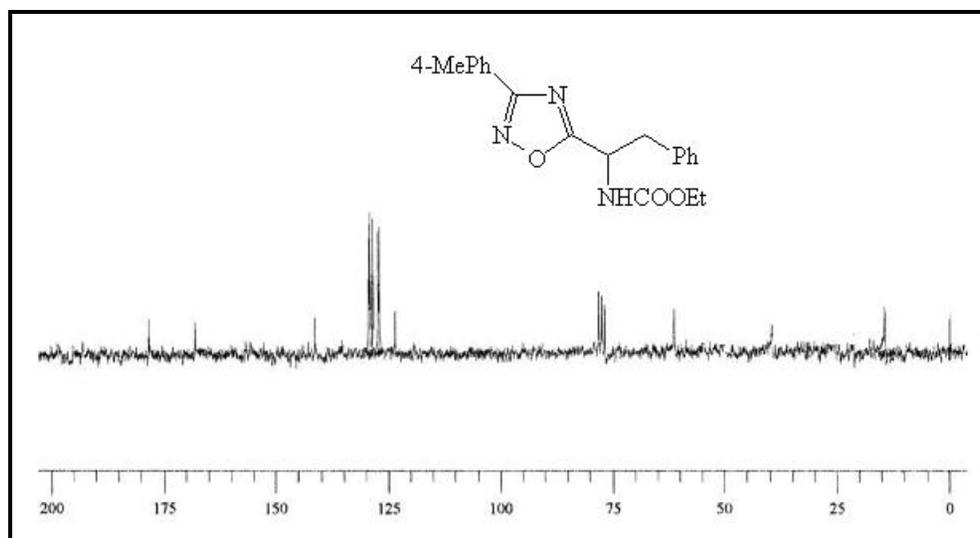
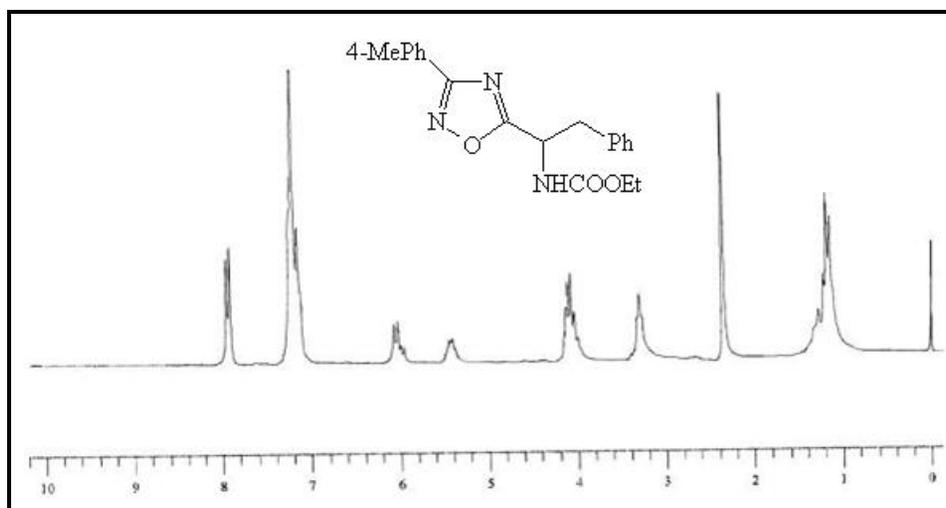
ANEXO F: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3bc**.



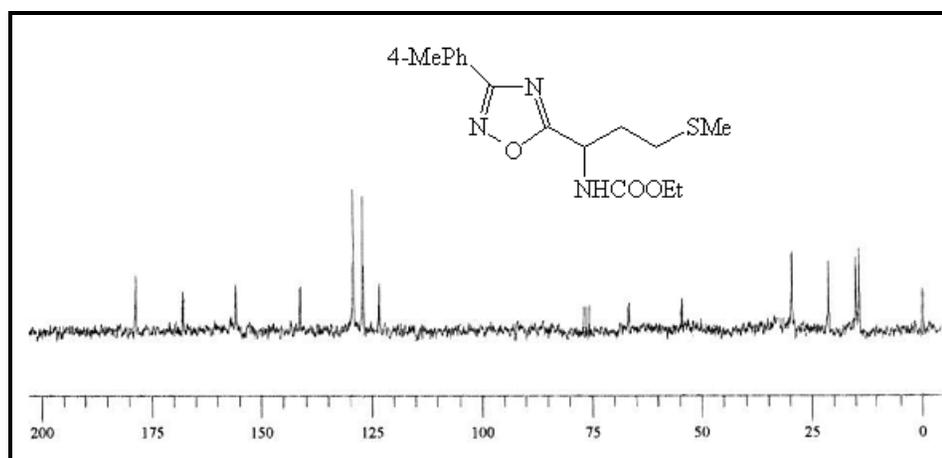
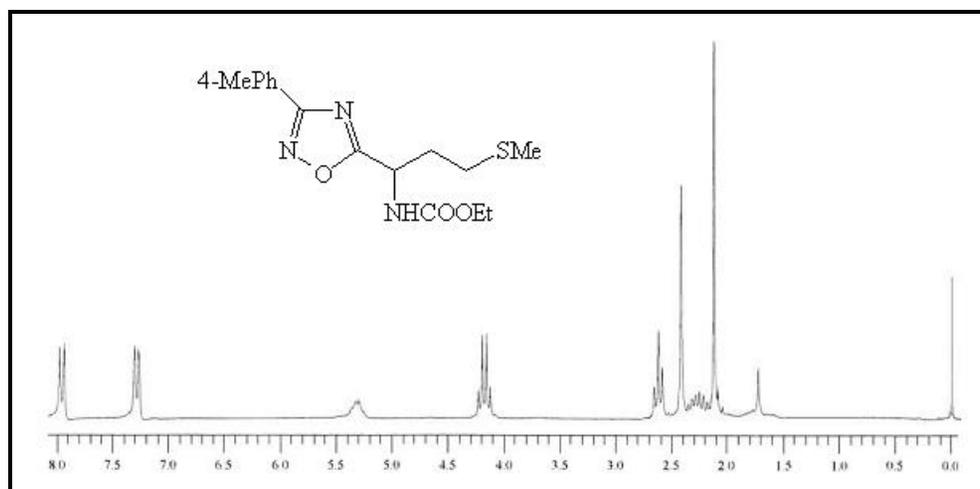
ANEXO G: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3ca**.



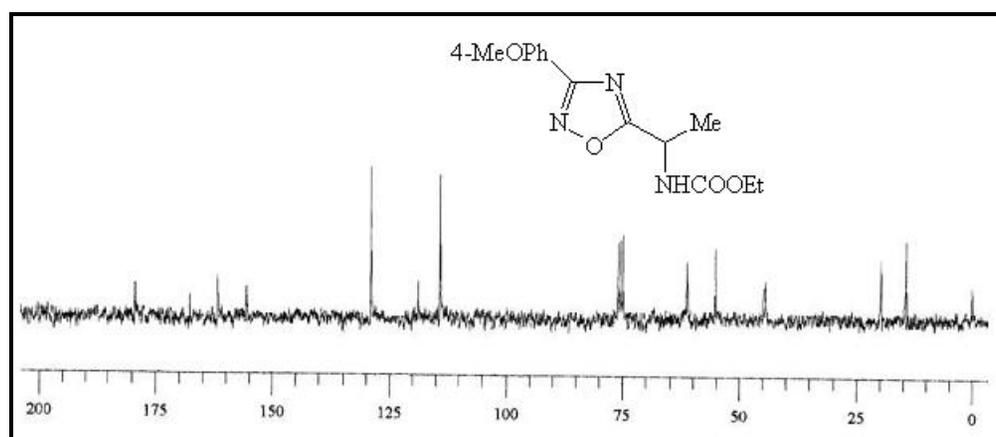
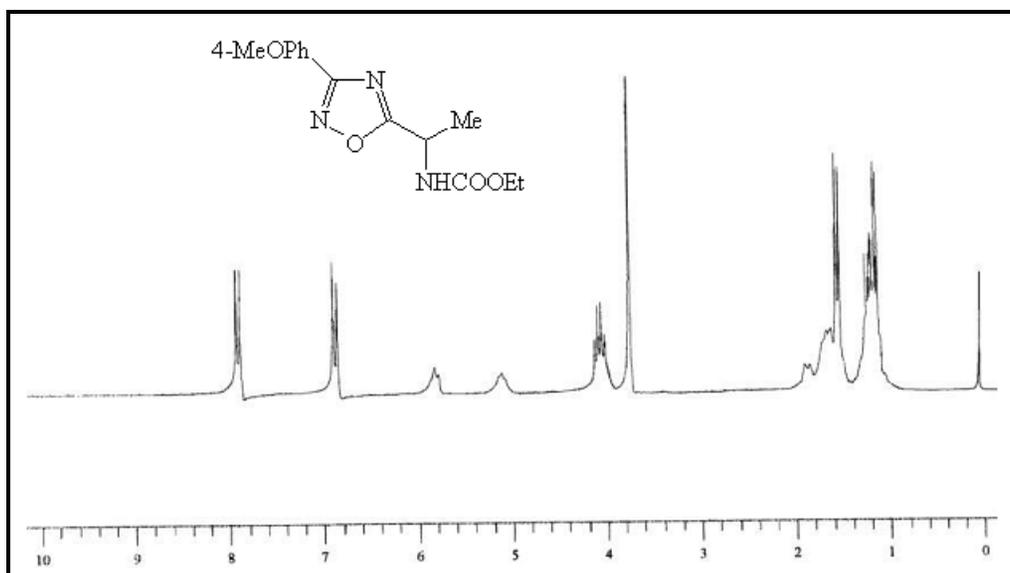
ANEXO H: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3cb**.



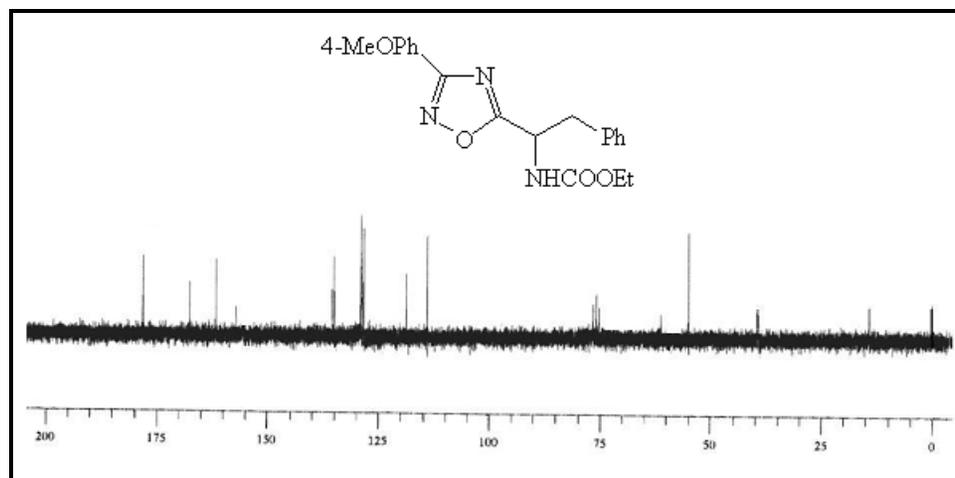
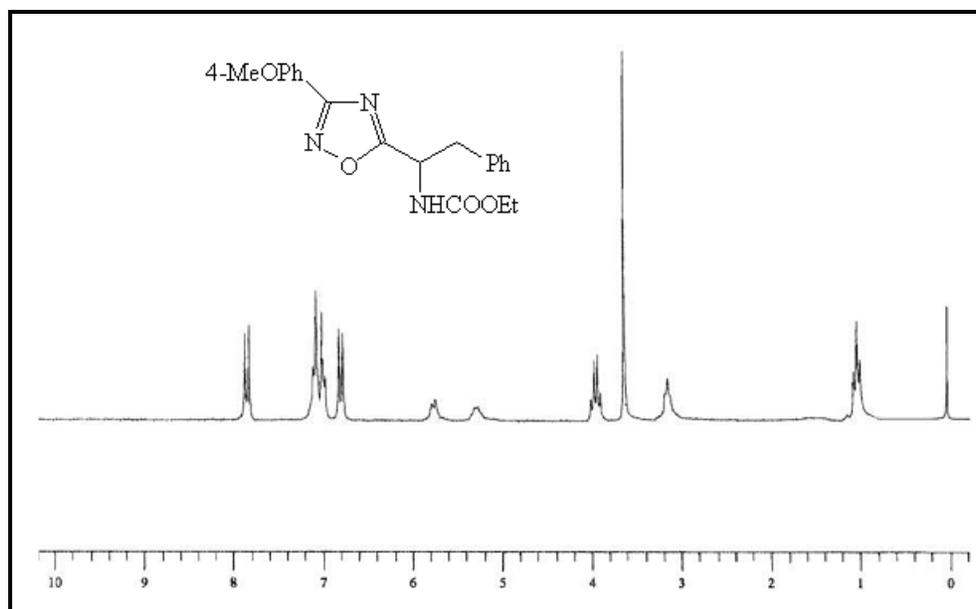
ANEXO I: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3cc**.



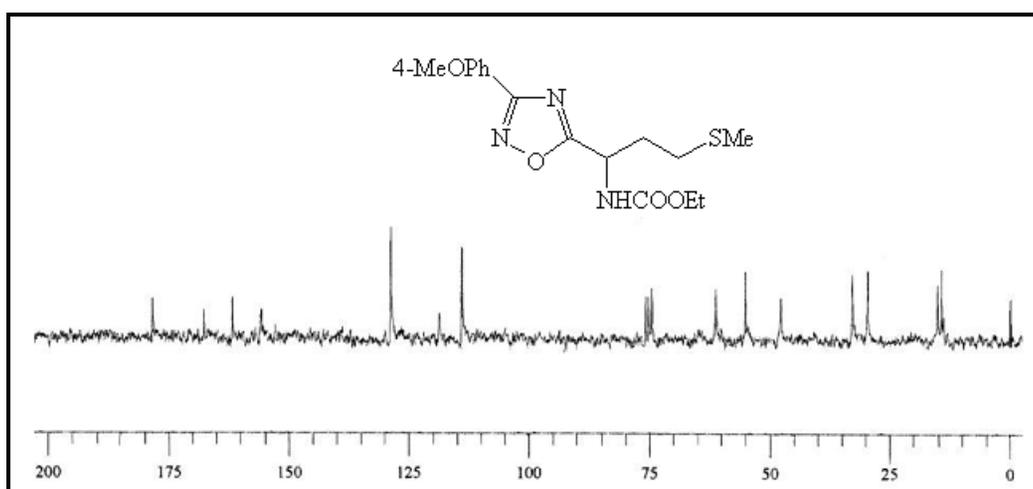
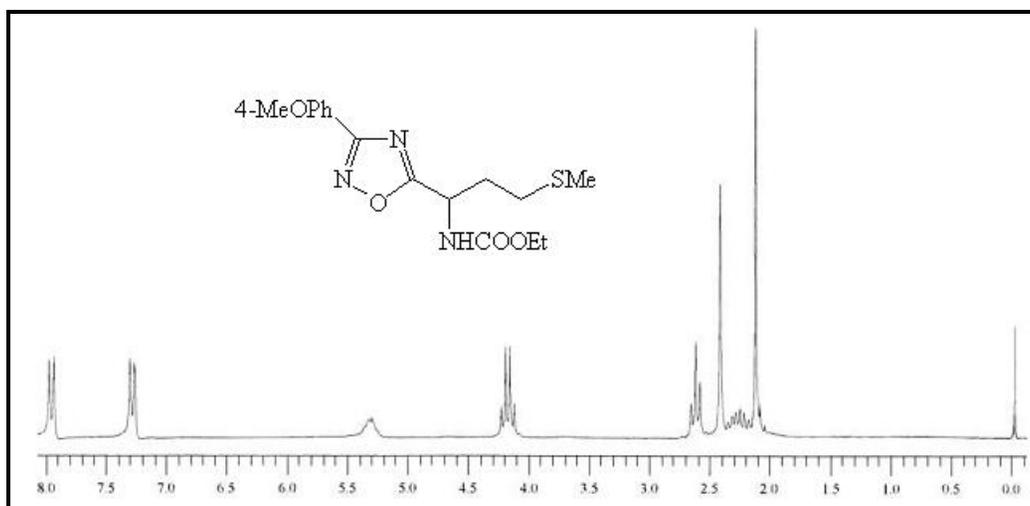
ANEXO J: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3da**.



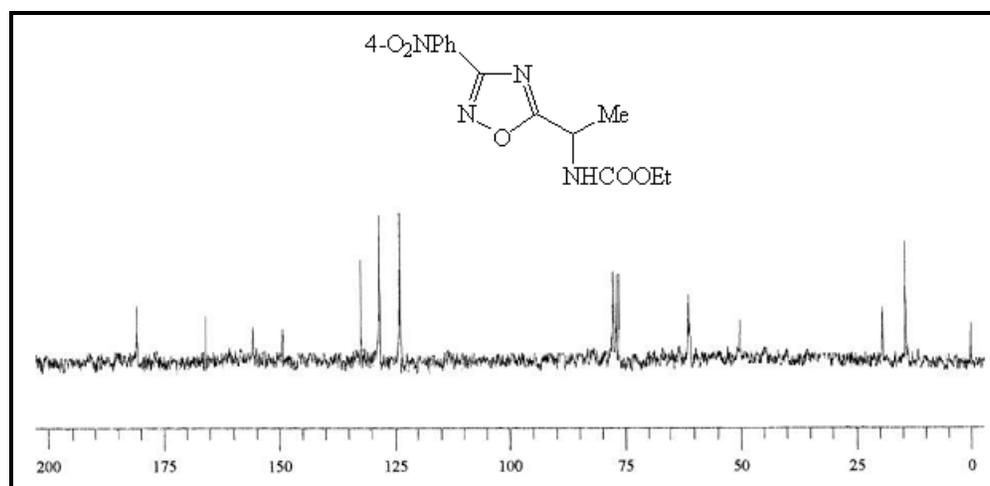
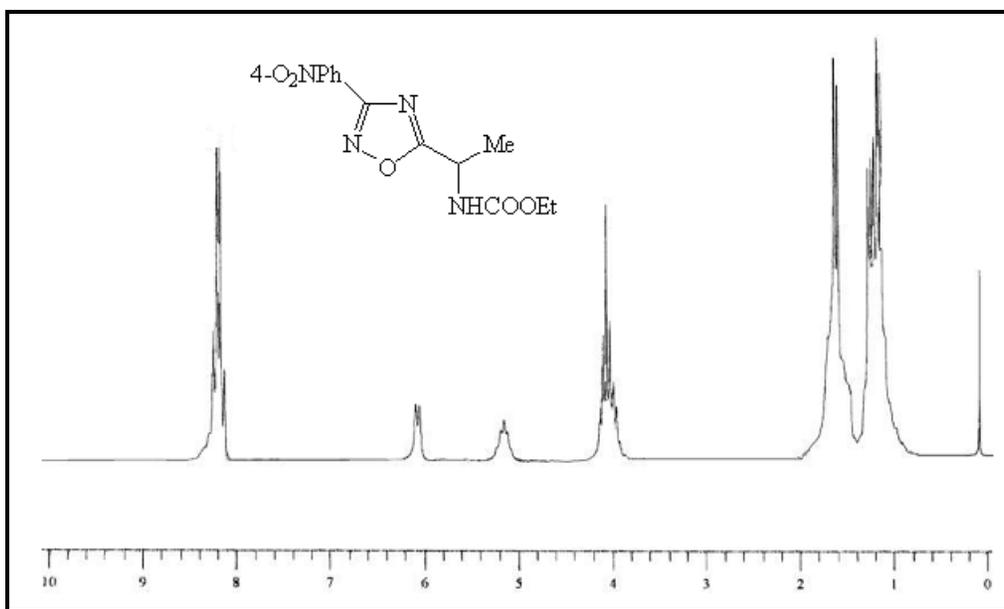
ANEXO K: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3db**.



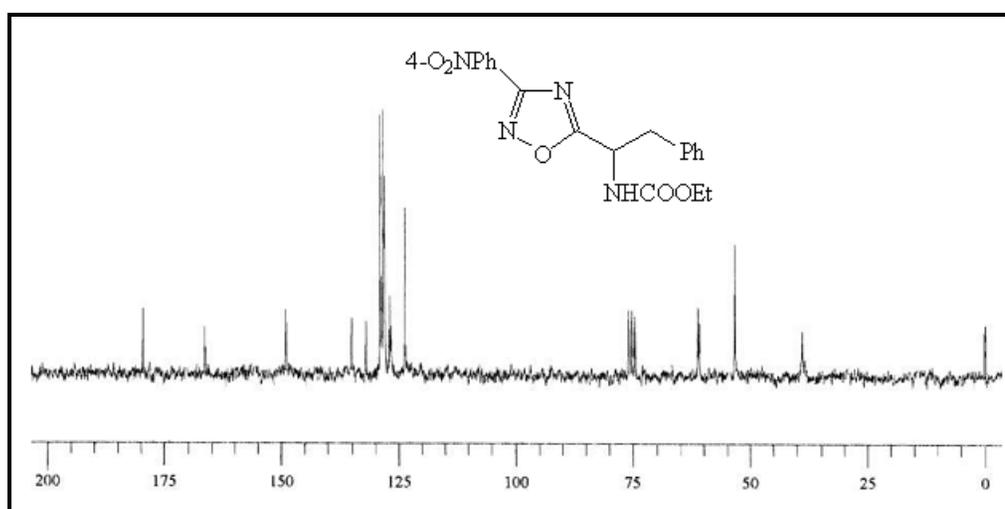
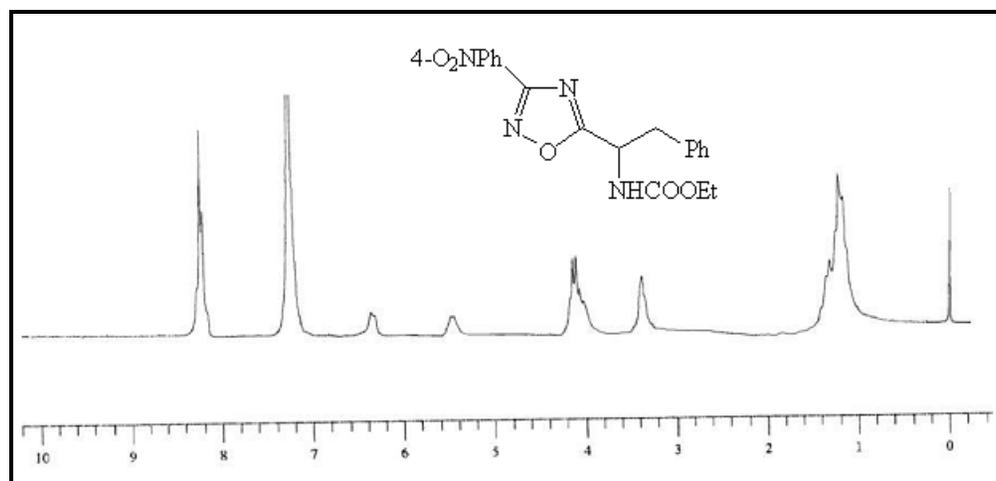
ANEXO L: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3dc**.



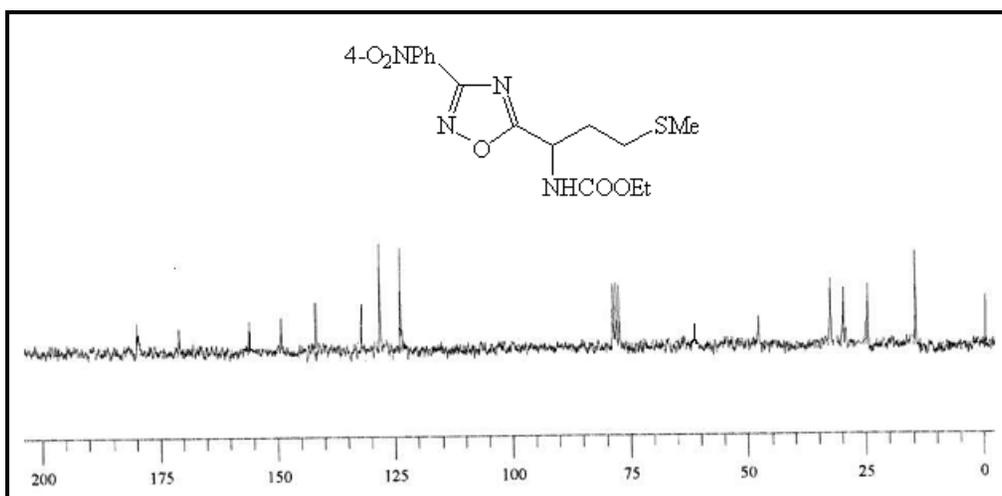
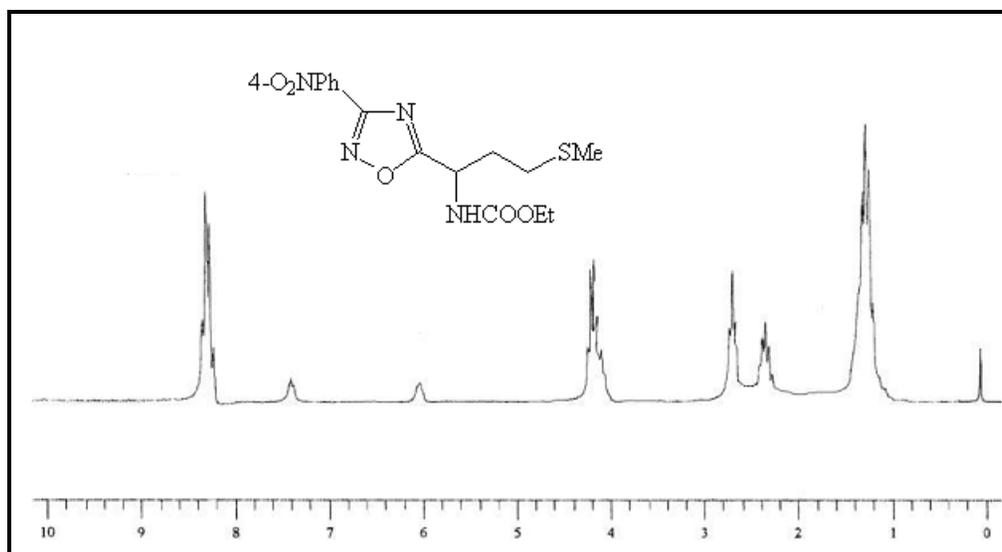
ANEXO M: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3ea**.



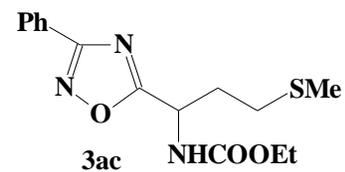
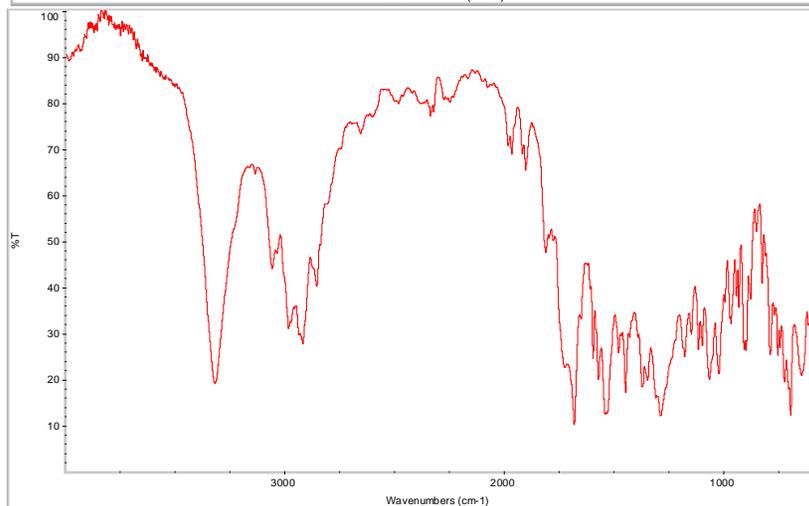
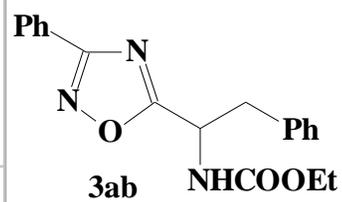
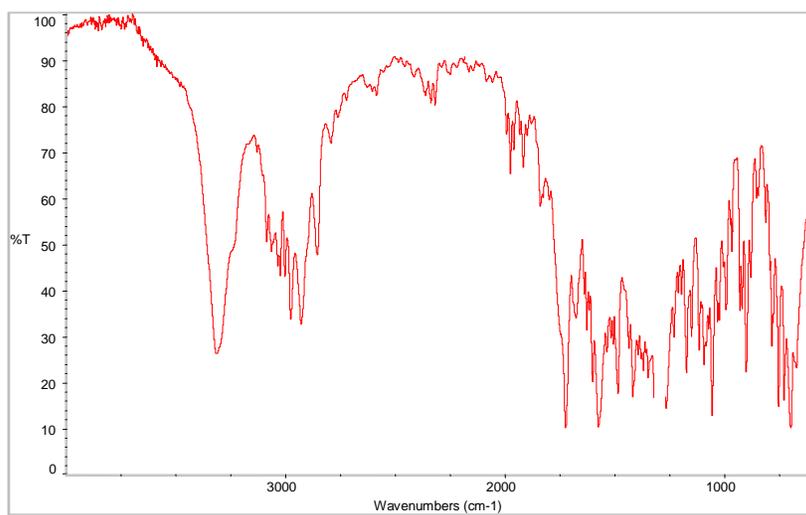
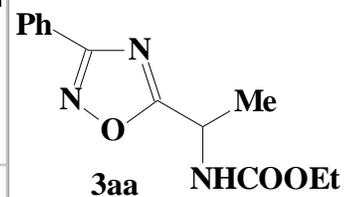
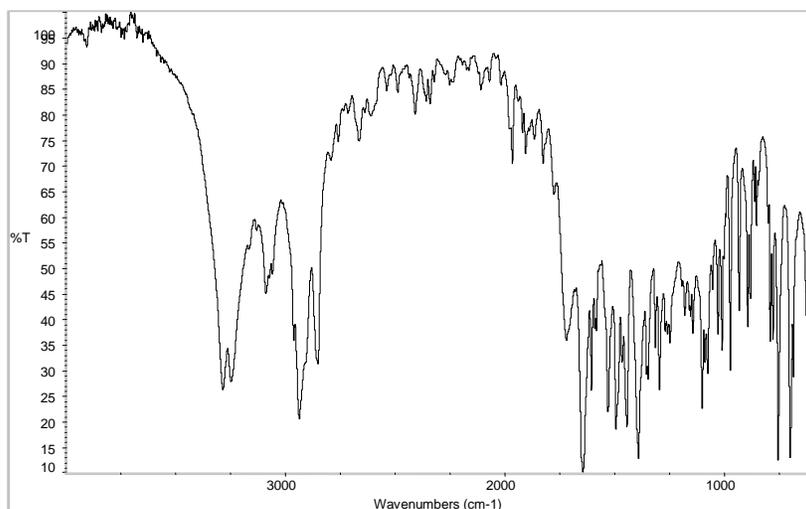
ANEXO N: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3eb**.

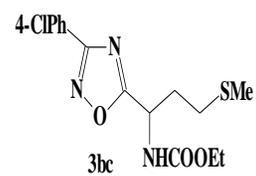
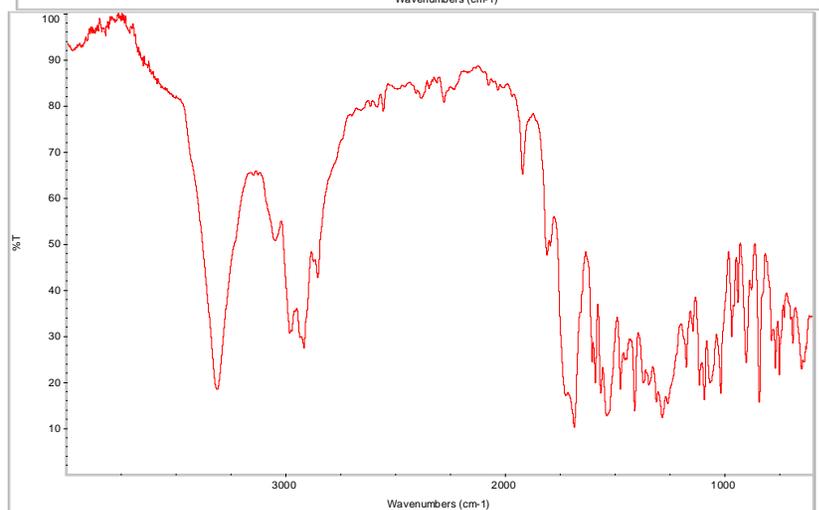
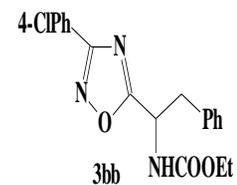
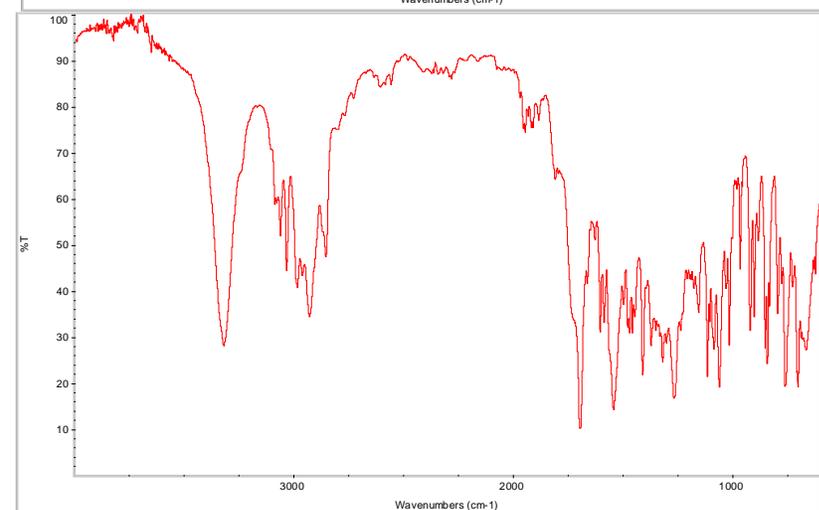
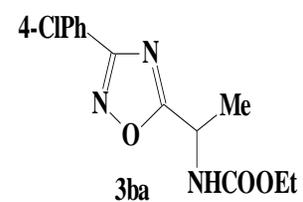
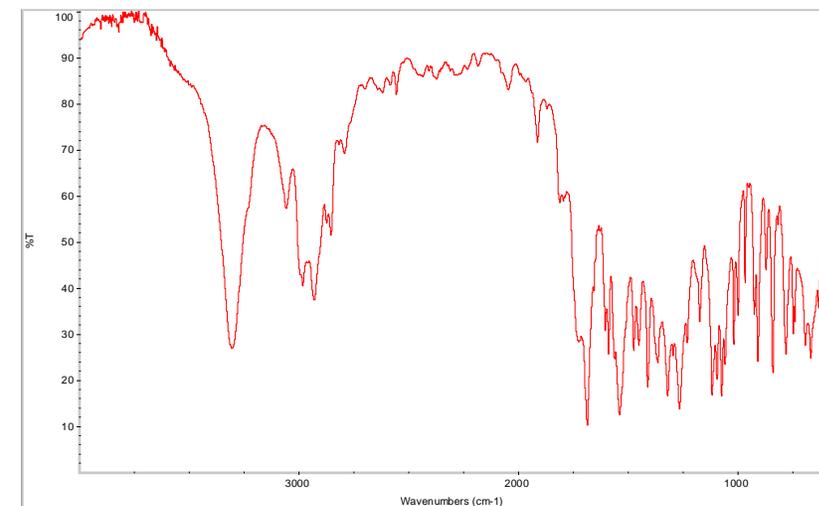


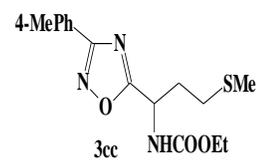
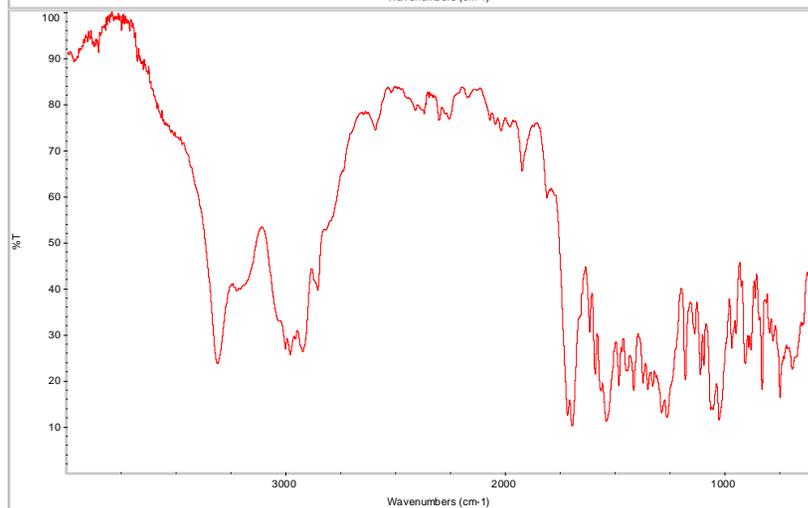
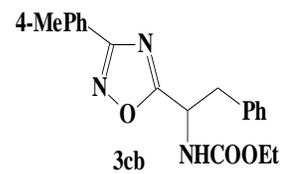
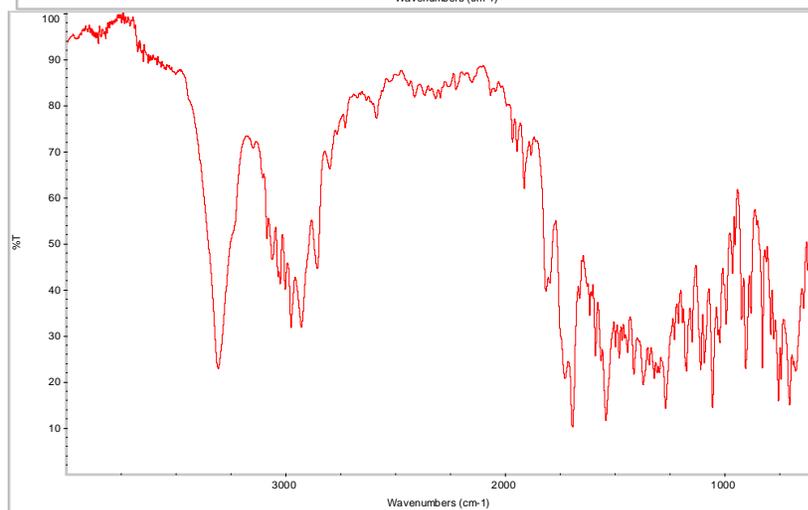
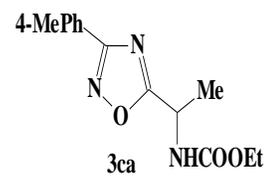
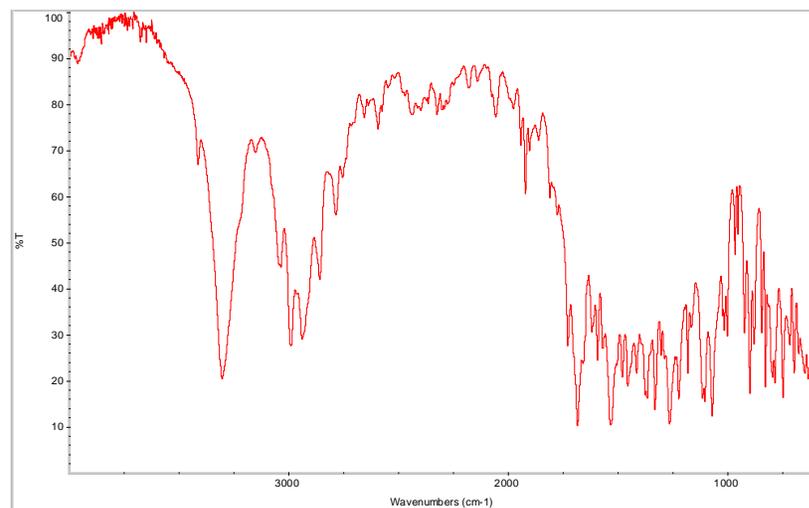
ANEXO O: Espectros de RMN ^1H (em CDCl_3 a 200 MHz) e RMN ^{13}C (em CDCl_3 a 50 MHz) do composto **3c**.

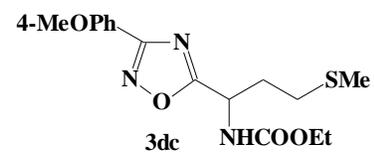
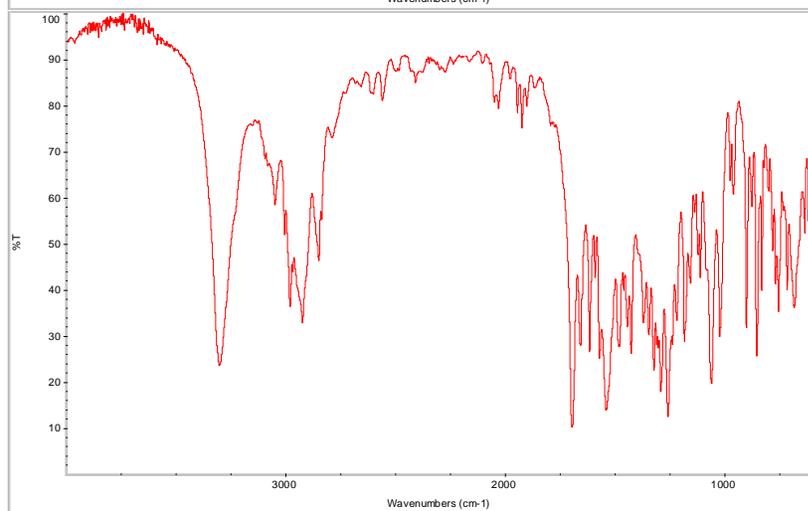
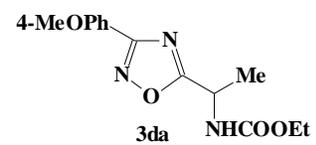
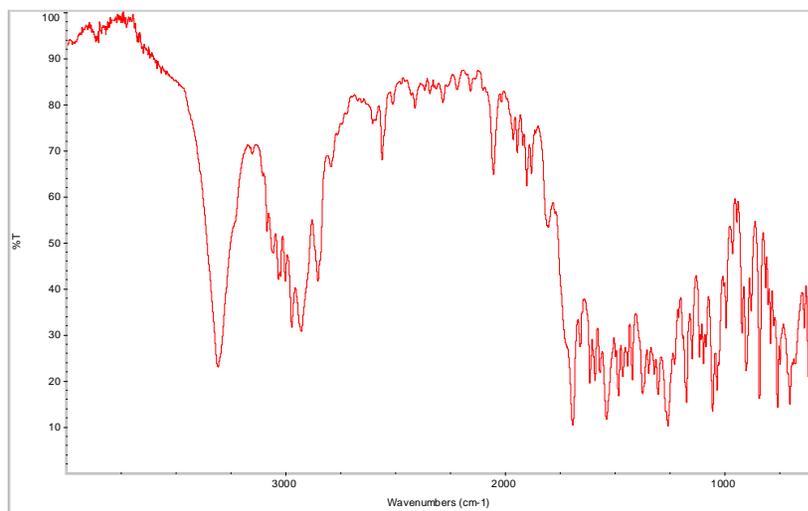


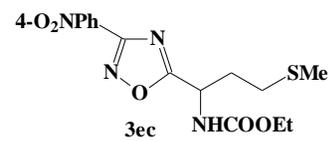
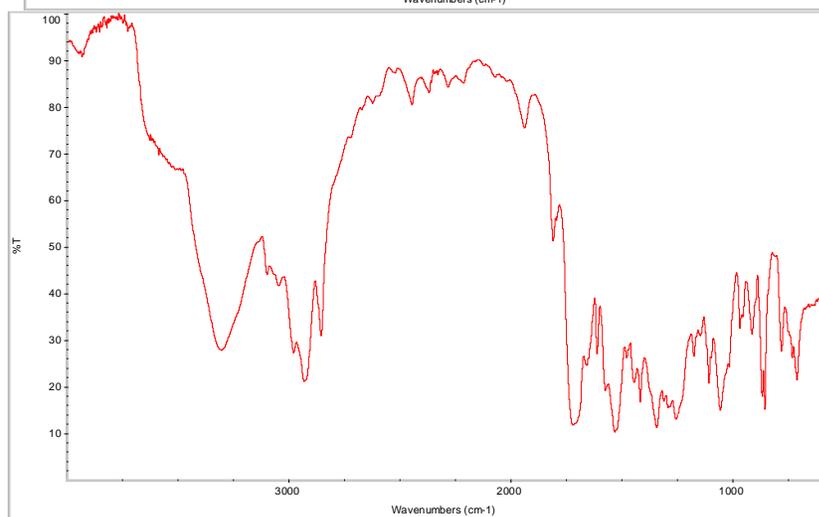
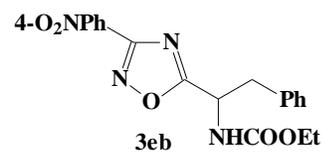
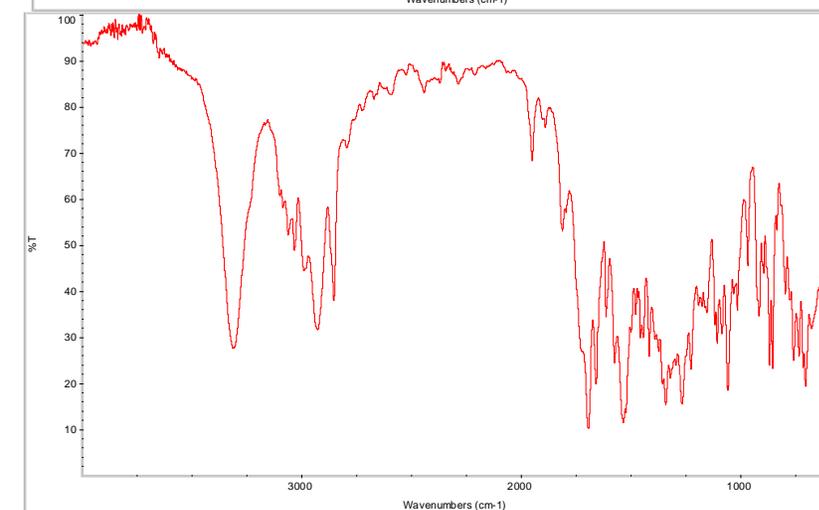
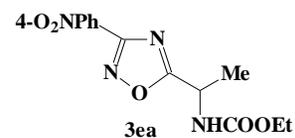
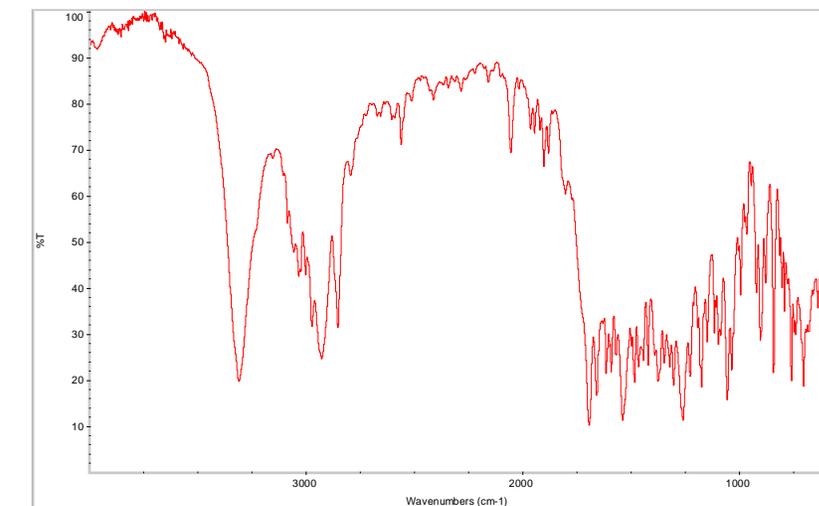
ANEXO P: Espectros de infravermelho dos 1,2,4-oxadiazóis.











Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)