

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**



Dissertação de Mestrado

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANALGÉSICA E  
ANTICHAGÁSICA DE HIDRAZONAS E SEMICARBAZONA  
DERIVADAS DO NOVO HETEROCICLO  
PIRROLIDINA[1,2-*d*][1,2,4]-2-OXADIAZOLINA.

**CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES**

RECIFE - PE

FEVEREIRO DE 2010

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANALGÉSICA E  
ANTICHAGÁSICA DE HIDRAZONAS E SEMICARBAZONA  
DERIVADAS DO NOVO HETEROCICLO  
PIRROLIDINA[1,2-*d*][1,2,4]-2-OXADIAZOLINA.

CHARLES CHRISTOPHE DU BARRIÈRE MENDES

MESTRANDO

Dissertação de Mestrado, apresentada ao programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

PROF. Dr. ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA  
ORIENTADOR

PROF<sup>ª</sup>. Dra. TERESINHA GONÇALVES DA SILVA  
COORIENTADORA

Recife – PE  
Fevereiro de 2010

Mendes, Charles Christophe Du Barrière

Síntese e avaliação das atividades antinociceptiva e antichagásica de hidrazonas e semicarbazona derivadas do novo heterociclo pirrolidina[1,2-d][1,2,4]-2-oxadiazolina / Charles Christophe Du Barrière Mendes. – Recife: O Autor, 2010.

xx, 107 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2010.

Inclui bibliografia.

1.Oxadiazolina. 2. Cicloadição 1,3-dipolar. 3. Hidrazona. 4. Semicarbazona. 5. Atividades antinociceptiva e antichagásica. I. Título.

615.03  
615.19

CDU (2.ed.)  
CDD (20.ed.)

UFPE  
CCS2010-141

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**REITOR**

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

**VICE-REITOR**

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. José Tadeu Pinheiro

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

**CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Dalci José Brondanni

**VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof. Pedro Rolim Neto

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof.<sup>a</sup> Beate Saegesser Santos



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Recife, 26 de fevereiro de 2010.

Defesa de Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 26 de fevereiro de 2010 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE ORIENTADORA E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria**

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**EXAMINADOR INTERNO: Profª. Drª. Julianna Ferreira Cavalcanti de**

**Albuquerque**

(Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**EXAMINADOR EXTERNO: Profª. Drª. Ivani Malvestiti**

(Deptº de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho a meus pais, que nunca conseguiram ser melhores, pois já atingiram o ápice do que se compreende por amor e doação incondicionais, desde o dia da minha concepção.

## **AGRADECIMENTOS**

Muitos foram os que contribuíram para que esta dissertação chegasse a essa forma em que agora se encontra. Dentro dela, muitas palavras, fórmulas e números; fora, pessoas que impulsionaram sua conclusão.

Inicialmente, agradeço ao meu orientador Antônio Rodolfo de Faria pela visão, generosidade e caráter, guiando-me com bastante paciência e dedicação, até a finalização deste trabalho.

Sou bastante grato a minha coorientadora, Teresinha Gonçalves da Silva, que mesmo antes de me tornar um mestrando, já depositou em mim imensa confiança.

À professora Valéria Rego Alves Pereira, em nome da Fundação Oswaldo Cruz, pela realização dos testes antichagásicos.

Aos membros do laboratório de Farmacologia do Departamento de Antibióticos da UFPE, pela realização dos testes antinociceptivos.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, em especial a Eliete Barros, Abene Ribeiro e Ricardo Oliveira, a quem recorri um sem-número de vezes, majoritariamente em momentos tensos, que foram decisivos e indispensáveis para conclusão desse projeto.

Aos que tiveram contato direto com o conteúdo aqui relatado: Gleybson Correia, que não é somente um colega de laboratório, mas um grande amigo; Leilane Santana, que em vários momentos foi minha “socorrista”, não apenas no laboratório, mas também fora dele; aos colegas Marlene Saraiva, Nayara Leite, Adriano Santos e Lucas Silva que sempre mostraram interesse em ajudar e, sobretudo, são mais amigos que colegas.

Ao professor Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, a quem devo imensa gratidão por me guiar nos primeiros passos desse mundo extraordinário que é a Síntese Orgânica.

À Professora Julianna Ferreira Cavalcanti de Albuquerque pela simplicidade e alegria que sempre tratou seus estudantes, tanto durante suas aulas de Química Orgânica Avançada como em todos os momentos que nos encontramos.

À amiga Karinna Boaviagem, que além de ser uma pessoa iluminada, foi indubitavelmente impreterível, por sua imensa generosidade, no momento em que mais precisei; no início de tudo.

Ao amigo Ivanildo Manguiera pelo companheirismo e disposição a sempre trocar idéias sobre química e pelos momentos de descontração.

À Thalita Mendes, minha namorada, que foi testemunha do lado difícil de comprometer-se com tão árduo, porém gratificante, projeto. Dessa pessoa recebi sábios conselhos e gestos acalentadores.

A meus pais e meu irmão, que me alavancaram até onde cheguei, com seu amor inconspicável e sua doação infinita.

Este trabalho foi realizado com apoio pecuniário do CNPq.

Invention, it must be humbly admitted, does not consist in creating out of the void, but out of chaos; the materials must, in the first place, be afforded: it can give form to dark, shapeless substances, but cannot bring into being the substance itself.

Mary Wollstonecraft Shelley

## SUMÁRIO

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| ○ Resumo.....                | xii   |
| ○ Abstract.....              | xiii  |
| ○ Lista de figuras.....      | xiv   |
| ○ Lista de tabelas.....      | xvii  |
| ○ Lista de abreviaturas..... | xviii |

### **PARTE I**

#### **CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO**

|  |    |
|--|----|
| 1 – Introdução .....                                     | 1  |
| 2 – Revisão da Literatura.....                           | 4  |
| 2.1 – Oxadiazolinas.....                                 | 4  |
| 2.1.1 - Atividade Biológica e Aplicação Terapêutica..... | 5  |
| 2.1.2 - Métodos de obtenção de oxadiazolinas.....        | 10 |
| 2.2 – Derivado Hidrazônicos.....                         | 16 |
| 2.2.1 – Métodos de obtenção de hidrazonas.....           | 18 |
| 2.3 – Derivados semicarbazônicos.....                    | 23 |

#### **CAPÍTULO II - OBJETIVOS**

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 3 - Objetivos                    |    |
| 3.1 – Objetivos Gerais.....      | 27 |
| 3.2 – Objetivos Específicos..... | 28 |

### CAPÍTULO III - METODOLOGIA

|                      |    |
|----------------------|----|
| 4 – Metodologia..... | 31 |
|----------------------|----|

## PARTE II – ESTUDO QUÍMICO

### CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

|  |    |
|--|----|
| 5.1 – Síntese do trímero da 1-pirrolina.....                           | 36 |
| 5.2 – Síntese do cloroximidoacetato de etila.....                      | 36 |
| 5.3 – Síntese do éster oxadiazolínico – Cicloadição 1,3 - dipolar..... | 37 |
| 5.4 – Síntese do álcool oxadiazolínico.....                            | 47 |
| 5.5 – Síntese do aldeído oxadiazolínico.....                           | 51 |
| 5.6 – Síntese das oxadizolil-aril-hidrazonas.....                      | 56 |
| 5.7 – Síntese da oxadizolil-aril-semicarbazona.....                    | 61 |

### CAPÍTULO V – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

|   |    |
|---|----|
| 6.1 – Materiais e métodos.....  | 66 |
| 6.2 – Síntese do Trímero da $\Delta^1$ -pirrolina.....  | 68 |
| 6.3 – Síntese do Clorooxiimidoacetato de etila.....   | 69 |
| 6.4 - Síntese do Éster etílico do ácido 5,6,7,7a-tetraidro-pirrolo[1,2- <i>d</i> ]<br>[1,2,4]-oxadiazol-3-carboxílico.....                            | 70 |
| 6.5 - Síntese do (5,6,7,7a-tetraidro-pirrolo[1,2- <i>d</i> ][1,2,4]oxadiazol-3-il)-<br>metanol.....   | 71 |
| 6.6 - Síntese do 5,6,7,7a-tetraidro-pirrolo[1,2- <i>d</i> ][1,2,4]oxadiazol-3-<br>carbaldeído.....  | 72 |
| 6.7 - Síntese do <i>N</i> -(4-cloro-fenil)- <i>N'</i> -(5,6,7,7a-tetraidro-pirrolo[1,2- <i>d</i> ]<br>[1,2,4]-oxadiazol-3-il-metileno)-hidrazina..... | 74 |
| 6.8 - Síntese do <i>N</i> -(4-metoxi-fenil)- <i>N'</i> -(5,6,7,7a-tetraidro-pirrolo[1,2- <i>d</i> ]<br>[1,2,4]oxadiazol-3-ilmetileno)-hidrazina.....  | 76 |

|  |    |
|--|----|
| 6.9 - Síntese do <i>N</i> -(fenil)- <i>N</i> -(5,6,7,7a-tetraidro-pirrol[1,2- <i>d</i> ][1,2,4]oxadiazol-3-ilmetileno)hidrazina-carboxamida..... | 77 |
|--|----|

### PARTE III - ESTUDO BIOLÓGICO

#### CAPÍTULO VI – ESTUDO BIOLÓGICO

|   |    |
|---|----|
| 7.1 – Atividade antinociceptiva.....  | 80 |
| 7.1.1 – Nocicepção.....   | 80 |
| 7.1.2 – Farmacologia dos antinociceptivos.....  | 81 |
| 7.1.3 – Avaliação da atividade biológica.....   | 83 |
| 7.1.4 - Materiais.....  | 83 |
| 7.1.5 - Animais.....  | 83 |
| 7.1.6 – Modelos experimentais de Nocicepção.....  | 84 |
| 7.1.6.1 – Nocicepção induzida por ácido acético.....  | 84 |
| 7.1.6.2 – Nocicepção induzida pela formalina.....   | 84 |
| 7.1.6.3 – Resultados e discussão – Ácido acético.....   | 85 |
| 7.1.6.4 – Resultados e discussão – Formalina.....   | 87 |
| 7.2 – Atividade antichagásica.....  | 89 |
| 7.2.1 – Doença de Chagas.....   | 89 |
| 7.2.2 – Materiais e métodos.....  | 91 |
| 7.2.2.1 – Animais.....  | 91 |
| 7.2.2.2 – Obtenção de células esplênicas.....   | 91 |
| 7.2.2.3 - Avaliação da atividade tóxica dos compostos em células de camundongos isogênicos..... | 92 |
| 7.2.2.4 – Cultura de <i>Trypanosoma cruzi</i> .....   | 92 |
| 7.2.2.5 - Avaliação da atividade dos compostos contra o <i>Trypanosoma cruzi</i> .....          | 93 |

|   |            |
|---|------------|
| 7.2.3 – Resultados e Discussão.....             | 93         |
| <b>CAPÍTULO VII – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> |            |
| 8 – Conclusões.....                             | 96         |
| 9 – Perspectivas.....                           | 98         |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                         | <b>101</b> |

## RESUMO

A Química Medicinal, uma interseção da Química e da Farmacologia, envolve a identificação, síntese e desenvolvimento de novas entidades químicas destinadas ao uso terapêutico. A conjugação de características estruturais de duas ou mais classes distintas de compostos em uma nova molécula, estratégia da Química Medicinal chamada hibridização molecular, é a essência da secção química deste trabalho. Nele, objetivou-se a síntese de novos compostos contendo três farmacóforos relatados na literatura como responsáveis por diversas atividades biológicas. Oxadiazolinas, compostos heterocíclicos extensamente relatados como responsáveis por atividades anti-inflamatória, antineoplásica, dentre outras, compuseram o novo *scaffold* desenvolvido neste estudo. Hidrazonas, classe de moléculas que apresentam várias atividades relatadas, tais como analgésica, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antimicrobiana, entre outras. Semicarbazonas, que fazem parte de compostos com atividades antichagásica, anticonvulsivante e antinociceptiva, formam, junto das hidrazonas e oxadiazolinas, as partes que deram gênese aos híbridos almejados neste trabalho. Para tanto, foi planejada a obtenção de novos derivados oxadiazolil-aril-hidrazonas **83** e oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**, por meio, inicialmente, de uma cicloadição 1,3-dipolar, na qual se utilizou a 1-pirrolina **78** como dipolarófilo, e o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) **79** como dipolo do tipo alenila, sendo este formado *in situ*. Dessa cicloadição, originou-se um éster em C3 do novo biciclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina **80**, com rendimento de 75%, que, em seguida, foi submetido à redução por meio de um redutor brando, o boroidreto de sódio, NaBH<sub>4</sub>, obtendo o respectivo álcool **81**, com 95% de rendimento. A oxidação deste foi realizada por meio da oxidação de Swern, ou método do DMSO ativado, produzindo o aldeído **82** no mesmo sítio C3, com 72% de rendimento. Enfim, foram realizadas reações de condensação do aldeído oxadiazolínico **82** com fenil-hidrazinas *p*-substituídas e a fenil-semicarbazida, alcançando as desejadas oxadiazolil-aril-hidrazonas *p*-substituídas **83**, em uma faixa de rendimento de 47-54%, bem como a oxadiazolil-aril-semicarbazona **84** com rendimento de 55%. Estas foram submetidas a testes biológicos, nos quais apresentaram percentual de proteção em um intervalo de 44-72% para atividade antinociceptiva, em concentração de 200µmol/kg, utilizando o método de contorção abdominal induzida por ácido acético. No método da formalina, proteção de 64-74% foi observada na primeira fase e de 45-78% na segunda fase, na dose de 10mg/kg, todos os testes empregando camundongos. No teste antichagásico, a semicarbazona **84** apresentou IC<sub>50</sub> de 27,42 µg/mL, em testes na forma epimastigota do *Trypanosoma cruzi*, além de apresentar citotoxicidade muito inferior a dos fármacos de referência, o Benznidazol e o Nifurtimox.

Palavras-chave: Oxadiazolina, cicloadição 1,3- dipolar, hidrazona, semicarbazona, atividade antinociceptiva, atividade antichagásica.

## **ABSTRACT**

The Medicinal Chemistry, an intersection of Chemistry and Pharmacology, involves the identification, synthesis and development of new chemical entities intended to the therapeutical use. The conjugation of structural characteristics of two or more distinct classes of compounds in a novel molecule, a Medicine Chemistry strategy called molecular hybridization, is the essence of the chemical section of this work. Herein, it has been aimed the synthesis of new compounds bearing three pharmacophores, reported in literature as responsible for several biological activities. Oxadiazoline, heterocyclic compound extensively related as responsible for activities such as anti-inflammatory, antitumor, among others, was the building block of the new scaffold developed in this study. Hydrazones, class of compounds that present several reported activities, such as analgesic, anti-inflammatory, anticonvulsant, antimicrobial, among others. Semicarbazones, which make part of compounds with activities such as antichagasic, anticonvulsant and antinociceptive, together with oxadiazoline and hydrazone, are the building blocks of the new hybrids aimed in this work. Ad hoc, it was planned the obtention of derivatives oxadiazolyl-aryl-hydrazones **83** and oxadiazolyl-aryl-semicarbazone **84**, through, initially, a 1,3-dipolar cycloaddition, in which 1-pyrroline **78** was the dipolarophile, and the carboethoxyformonitrile oxide (CEFNO) **79** was the dipole, afforded *in situ*. From the cycloaddition, it was originated an ester in C3 of the new bicycle pyrrolidine [1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazoline **80**, with yield of 75%, that, afterwards, was submitted to reduction by a mild reducing agent, the sodium borohydride, producing the respective alcohol **81**, with yield of 95%. Oxidation of **81** was executed by Swern's oxidation, or DMSO "activated" method, bringing forth an aldehyde **82** in C3, with a yield of 72%. After all, condensation reactions of the aldehyde **82** with phenyl-hydrazines *p*-substituted and phenyl-semicarbazide were carried out, being achieved the desired oxadiazolyl-aryl-hydrazones *p*-substituted **83**, in an interval of yield of 47-54%, as well the oxadiazolyl-aryl-semicarbazone **84** with a yield of 55%. These molecules were submitted to biological evaluation, utilizing the method of abdominal contortion induced by acetic acid, in which presented percentage of protection in an interval of 44-72% to antinociceptive activity, at a concentration of 200  $\mu\text{mol/kg}$ . In the formalin test, protection of 64-74% has been observed in the first phase, and protection of 45-78% in the second phase, at a dosage of 10mg/kg, all the tests employing mice. In the antichagasic evaluation, the semicarbazone **84** presented  $\text{IC}_{50}$  of 27,42  $\mu\text{g/mL}$ , tested in the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi*, besides, presenting cytotoxicity much inferior than the one caused by the reference drugs, Benznidazole and Nifurtimox.

Keywords: Oxadiazoline, 1,3-dipolar cycloaddition, hydrazone, semicarbazone, antinociceptive activity, antichagasic activity.

**LISTA DE FIGURAS**

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> - Núcleos Oxadiazolínicos   | 2  |
| <b>Figura 2</b> - Função Hidrazona  | 2  |
| <b>Figura 3</b> - Função Semicarbazona  | 3  |
| <b>Figura 4</b> - Oxadiazóis, oxadiazolinas e oxadiazolidinas   | 4  |
| <b>Figura 5</b> - Geometria do 1,3-dipolo   | 10 |
| <b>Figura 6</b> - Dipolos do tipo alenila e do tipo alila   | 11 |
| <b>Figura 7</b> - Novas drogas contendo o novo heterobiciclo $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina.  | 31 |
| <b>Figura 8</b> - Reação dipolo/dipolarófilo para obtenção do cicloaduto  | 37 |
| <b>Figura 9</b> - Estados de energia dos orbitais de fronteira do dipolo ( <i>N</i> -óxido de nitrila) e do dipolarófilo ( $\Delta^1$ -pirrolina) | 40 |
| <b>Figura 10</b> - Pormenorização dos deslocamentos químicos do éster oxadiazolínico <b>80</b>  | 44 |
| <b>Figura 11</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN – 300MHz do éster oxadiazolínico <b>80</b> .<br>Solvente $\text{CDCl}_3$                          | 45 |
| <b>Figura 12</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN – 75MHz do éster oxadiazolínico <b>80</b> .<br>Solvente $\text{CDCl}_3$                        | 45 |
| <b>Figura 13</b> - Espectro no infravermelho (Janela de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) do éster oxadiazolínico <b>80</b> .                               | 46 |
| <b>Figura 14</b> - Pormenorização dos deslocamentos químicos do álcool oxadiazolínico <b>81</b> .   | 48 |
| <b>Figura 15</b> - Espectro de $^1\text{H}$ RMN – 300MHz do álcool oxadiazolínico <b>81</b> .<br>Solvente $\text{CDCl}_3$ .                       | 48 |
| <b>Figura 16</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN – 75MHz do álcool oxadiazolínico <b>81</b> .<br>Solvente $\text{CDCl}_3$ .                     | 49 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 17</b> - Espectro no infravermelho (Janela de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) do álcool oxadiazolínico <b>81</b> .                       | 49 |
| <b>Figura 18</b> - Pormenorização dos deslocamentos químicos do aldeído oxadiazolínico <b>82</b> .   | 52 |
| <b>Figura 19</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ – 300MHz do aldeído oxadiazolínico <b>82</b> . Solvente $\text{CD}_3\text{CN}$ .        | 53 |
| <b>Figura 20</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – 75MHz do aldeído oxadiazolínico <b>82</b> . Solvente $\text{CD}_3\text{CN}$ .      | 53 |
| <b>Figura 21</b> - Espectro no infravermelho (Janela de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) do aldeído oxadiazolínico <b>82</b> .                      | 54 |
| <b>Figura 22</b> - Aumento da desproteção do carbono 3 do anel oxadiazolínico  | 55 |
| <b>Figura 23</b> - Pormenorização dos deslocamentos químicos da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83a</b>                                      | 57 |
| <b>Figura 24</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ – 300MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83a</b> . Solvente $\text{CD}_3\text{CN}$ .   | 58 |
| <b>Figura 25</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – 75MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83a</b> . Solvente $\text{CD}_3\text{CN}$ . | 58 |
| <b>Figura 26</b> - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83a</b> .               | 59 |
| <b>Figura 27</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ – 300MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83b</b> . Solvente $\text{CDCl}_3$ .          | 59 |
| <b>Figura 28</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – 75MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83b</b> . Solvente $\text{CDCl}_3$ .        | 60 |
| <b>Figura 29</b> - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) da oxadiazolil-aril-hidrazona <b>83b</b> .               | 60 |
| <b>Figura 30</b> - Pormenorização dos deslocamentos químicos da oxadiazolil-aril-semicarbazona <b>84</b>                                   | 62 |
| <b>Figura 31</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ – 300MHz da oxadiazolil-aril-semicarbazona <b>84</b> . Solvente $\text{CDCl}_3$ .       | 63 |
| <b>Figura 32</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ – 75MHz da oxadiazolil-aril-semicarbazona <b>84</b> . Solvente $\text{CDCl}_3$ .     | 63 |
| <b>Figura 33</b> - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) da oxadiazolil-aril-semicarbazona <b>84</b> .            | 64 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 34</b> - Via de condução de estímulos dolorosos por nociceptores.   | 80 |
| <b>Figura 35</b> - Mecanismo da dor, caminhos dos estímulos nervosos por meio de nociceptores e farmacologia aplicada.  | 82 |
| <b>Figura 36</b> - Efeito das hidrazonas <b>83a</b> e <b>83b</b> e semicarbazona <b>84</b> sobre a nocicepção, induzida por ácido acético (1%), em camundongos. | 86 |
| <b>Figura 37</b> - Percentual de inibição das hidrazonas <b>83a</b> e <b>83b</b> no teste da Formalina ( <b>1ª fase</b> )                                       | 87 |
| <b>Figura 38</b> - Percentual de inibição das hidrazonas <b>83a</b> e <b>83b</b> no teste da Formalina ( <b>2ª fase</b> )                                       | 88 |

**LISTA DE TABELAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> - Substituintes e rendimentos das oxadiazolil-aril-hidrazonas  | 56 |
| <b>Tabela 2</b> - Efeito antinociceptivo das hidrazonas no modelo experimental de contorções abdominais induzidas por ácido acético 1% | 85 |
| <b>Tabela 3</b> - Percentual de proteção das hidrazonas no teste de indução de nocicepção pela Formalina                               | 87 |
| <b>Tabela 4</b> - Citotoxicidades e IC <sub>50</sub> da oxadiazolil-aril-semicarbazona <b>84</b> , Benznidazol e Nifurtimox            | 93 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADI – *Average Degree of Infection* – Grau médio de infecção

ADN – Ácido Desoxirribonucléico

BHI – *Brain Heart Infusion* - Infusão de Coração e de Cérebro

CCD – Cromatografia em camada delgada

CEFNO – Óxido de carboetoxiformonitrila

DEAD – Acetilenodicarboxilato de etila

DIBALH - Hidreto de diisobutilalumínio

DMSO – Dimetilsulfóxido

EI – *Electron Ionization* - Ionização por elétrons

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

GC – *Gas Chromatography* - Cromatografia Gasosa

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital* - Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia

HRMS – *High Resolution Mass Spectrometry* - Espectrometria de Massas de Alta Resolução

HTS – *High-Throughput Screening*

IC<sub>50</sub> - *Half maximal inhibitory concentration* – Concentração Inibitória Máxima a 50%

IT-TOF – *Ion Trap/Time of Flight* - Armadilha de Íons/Tempo de Voo

IVFT – Infravermelho / Transformada de Fourier

LC – *Liquid Chromatography* - Cromatografia Líquida

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* - Orbital Molecular Não-Ocupado de Menor Energia

MS – *Mass Spectrometry* - Espectrometria de Massas

NB2 – Nível de Biosegurança 2

OMS – Organização Mundial de Saúde

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RPMI - Roswell Park Memorial Institute

SFB – Soro Fetal Bovino

TEA – Trietilamina

TMEDA - Tetrametiletilenodiamina

# PARTE I

Capítulo I

*Introdução*

Capítulo II

*Objetivos*

Capítulo III

*Metodologia*

# Capítulo I

*Introdução*

## 1. INTRODUÇÃO

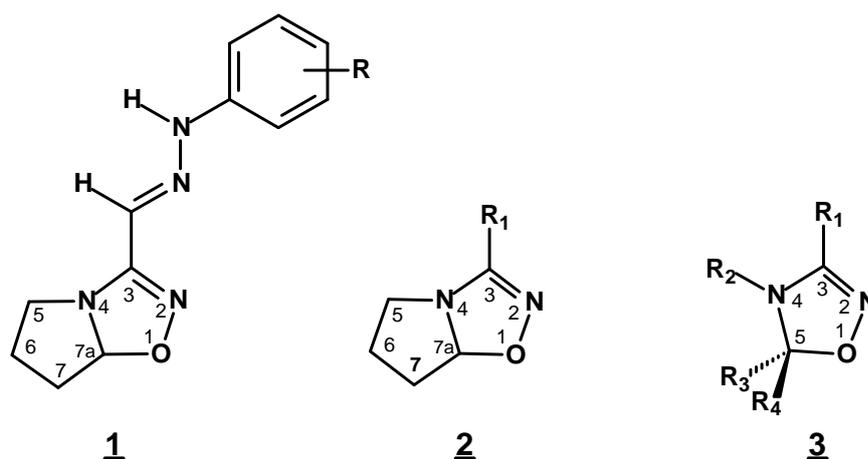
Os compostos heterocíclicos fazem parte de uma classe de substâncias de extrema importância na Química Medicinal, abrangendo mais da metade de todos os compostos orgânicos conhecidos<sup>(1)</sup>. Quase todos os compostos que conhecemos, tais como drogas psicoativas (benzodiazepínicos), anestésicos locais (articaína, bupivacaína, cinchocaína), alcalóides (cafeína, morfina, nicotina), a maioria das vitaminas (biotina, riboflavina, tiamina) e muitos outros produtos naturais são todos compostos heterocíclicos.

Visando este fato, parte do desenvolvimento da Química Medicinal tornou-se peremptoriamente insustentável sem que existam estudos que visem à obtenção de novas moléculas dessa natureza.

Por meio de modificações moleculares, tais como o bioisosterismo clássico e a hibridização molecular, é escopo deste trabalho o delineamento de um *scaffold* inédito que venha servir de base para a síntese de vários compostos com atividades biológicas semelhantes.

Lançando mão de tais estratégias, visa-se a otimização da atividade farmacológica de um composto-protótipo, derivado do *scaffold*, obtendo-se fármacos com elevada seletividade e toxicidade reduzida, condições desejadas para qualquer candidato a fármaco<sup>(2)</sup>. Para tanto, novas moléculas são planejadas de forma que possuam grupos farmacofóricos semelhantes, ou mesmo iguais, aos de moléculas com atividade comprovada e relatada na literatura. A comprovação de que temos um novo análogo com atividade semelhante e, desta maneira, candidato a fármaco, se dá por meio de protocolos farmacológicos *in vivo*<sup>(3)</sup>.

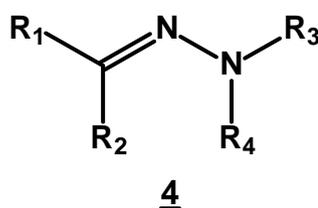
A conjugação de características estruturais definidas de dois compostos bioativos distintos em uma nova molécula representa a estratégia de hibridação molecular de um composto protótipo. Dessa forma, através da modificação molecular, é possível fazer uso do grupamento farmacofórico essencial e obter fármacos que apresentem propriedades mais desejáveis que o protótipo, em potência, especificidade, duração de ação, menor toxicidade e maior estabilidade. Assim, a estratégia da hibridização molecular entre os núcleos oxadiazolínicos (Fig. 1) e hidrazonas (Fig. 2), funcionalidades que apresentam inúmeras atividades biológicas relatadas, é um dos principais objetivos deste trabalho<sup>(4)</sup>.



**Figura 1 – Núcleos Oxadiazolínicos**

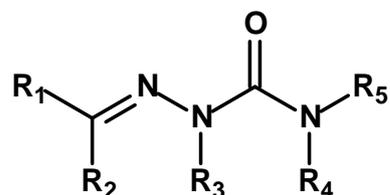
Artigos científicos relatando moléculas contendo o núcleo oxadiazolínico que apresentam atividade biológica são numerosos e consideráveis. Dentre tais atividades podemos citar antineoplásica<sup>(5)</sup>, anti-HIV<sup>(6)</sup>, antimicótica<sup>(7)</sup>, anti-inflamatória<sup>(8)</sup>, anticonvulsivante<sup>(9)</sup>, entre outras.

Fato semelhante acontece em os derivados hidrazônicos, já que a literatura relatando estes compostos com pronunciadas atividades biológicas é vasta. A atividade anti-inflamatória é também observada com derivados híbridos de hidrazonas com diversos heterociclos<sup>(10, 11)</sup>. Inúmeras outras atividades ainda são citadas, tais como anticonvulsivante<sup>(12)</sup>, sinérgica anti-inflamatória/antinociceptiva<sup>(13)</sup>, antiplaquetária<sup>(14)</sup>, antidepressiva<sup>(15)</sup>, analgésica<sup>(16)</sup>, antimalárica<sup>(17)</sup>, antileishmania<sup>(18)</sup>, e antimicrobiana<sup>(19)</sup>.



**Figura 2 – Função Hidrazona**

Neste trabalho também é almejada a síntese de um derivado semicarbazônico, farmacóforo amplamente relatado na literatura, apresentando atividades que englobam antineoplásica<sup>(48)</sup>, anticonvulsivante<sup>(49)</sup>, antibacteriana<sup>(50)</sup>, antichagásica<sup>(51, 56)</sup>, antinociceptiva<sup>(52)</sup>, entre outras (Fig. 3).



5

**Figura 3 – Função Semicarbazona**

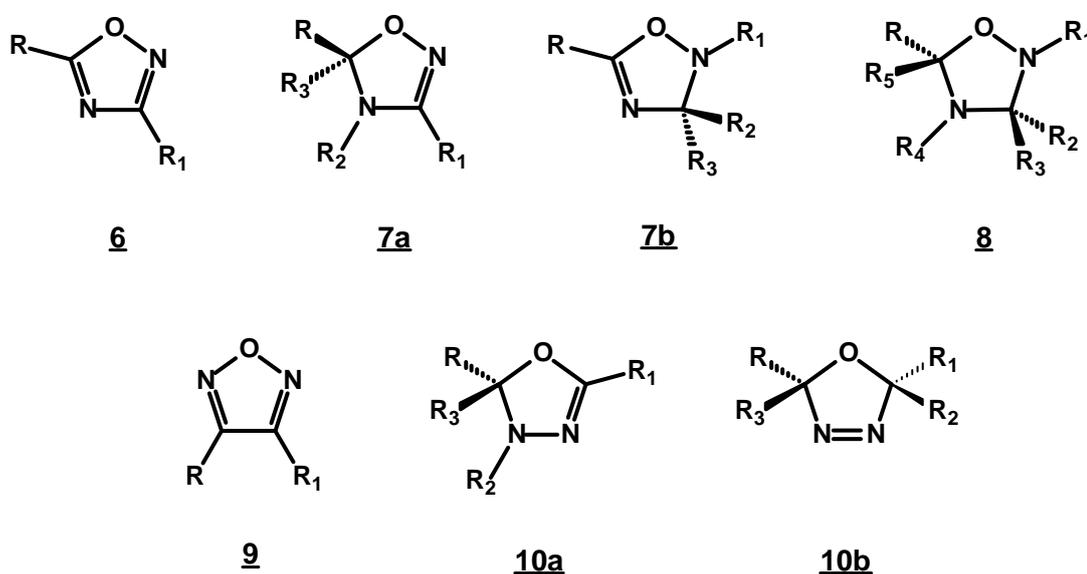
Com base no que foi supracitado, foi vislumbrada a oportunidade de, com a utilização do método da hibridização molecular, obter novas moléculas contendo o núcleo oxadiazolínico 3, a formação de um novo biciclo 2 e, conseqüentemente um novo *scaffold*. Partindo-se deste, foram executadas reações de condensação com hidrazidas e semicarbazida com o intuito de gerar novas moléculas contendo a função hidrazona 4 e a função semicarbazona 5.

Através da síntese das moléculas pretendidas, com modificações na posição 3 do novo biciclo 2, pretende-se observar em testes biológicos *in vivo*, atividades semelhantes, mais pronunciadas, e até mesmo discrepantes, que as de moléculas relatadas na literatura. Enfim, é almejado unir as atividades destes três grupos farmacofóricos que extensamente contribuem para o desenvolvimento da Química Medicinal.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 - OXADIAZOLINAS

Oxadiazóis e oxadiazolinas são compostos orgânicos heterocíclicos formados por um anel de cinco membros, sendo três deles heteroátomos, um oxigênio e dois nitrogênios. Embora as oxadiazolinas sejam conhecidas a mais de um século, seu número na literatura é bem limitado em relação aos bem conhecidos oxadiazóis. Eles são classificados de acordo com o grau de oxidação do heterociclo, posição da ligação  $\pi$ , bem como dos heteroátomos, no anel de cinco membros<sup>(1)</sup> (Fig. 4).



**Figura 4** – Oxadiazóis, oxadiazolinas e oxadiazolidinas

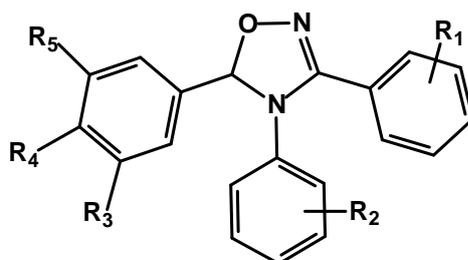
Por causa dessas três variáveis químicas, estas moléculas possuem peculiaridades que as diferenciam quanto as suas propriedades químicas, como por exemplo, a reatividade. Os oxadiazóis, 6 (1,2,4 oxadiazol) e 9 (1,2,5 oxadiazol), são totalmente oxidados e aromáticos; as oxadiazolidinas, 8, são totalmente reduzidas; já as oxadiazolinas, 7a ( $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina), 7b ( $\Delta^4$ -1,2,4-oxadiazolina, 10a ( $\Delta^2$ -1,3,4-oxadiazolina) e 10b ( $\Delta^3$ -1,3,4-oxadiazolina) são parcialmente oxidadas.

Neste trabalho, o núcleo-alvo foi a  $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina, 7a. Os compostos contendo o este núcleo despertam grande interesse em estratégias sintéticas que visam a obtenção de substâncias com potenciais atividades biológicas.

### 2.1.1 – ATIVIDADE BIOLÓGICA E APLICAÇÃO TERAPÊUTICA

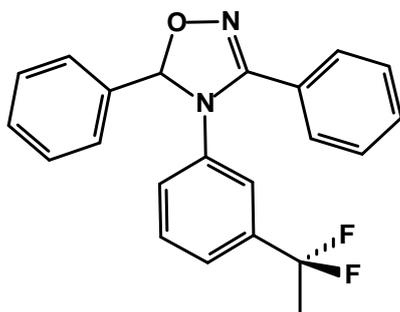
São relatados na literatura inúmeros exemplos de compostos contendo o núcleo oxadiazolínico que exibem atividades biológicas, podendo ser citadas desde atividade anti-inflamatória/analgésica, até estimulante do Sistema Nervoso Central, agindo como um analéptico respiratório<sup>(20)</sup>.

O núcleo oxadiazolínico **11** serviu de arcabouço para a síntese de vários compostos com diversas atividades biológicas, tais como broncodilatadora, anticolinérgica, hipertensiva, analgésica, sedativa, anti-inflamatória, diurética, antiulcerativa, vasodilatadora e analéptica respiratória. Na estrutura **11**, **R**<sub>1</sub> pode ser um grupo hidrogênio, fluoro ou nitro; **R**<sub>2</sub>, hidrogênio ou trifluorometila; **R**<sub>3</sub>, hidrogênio, fluoro, metoxila ou nitro; **R**<sub>4</sub>, hidrogênio, hidroxila, metoxila ou nitro; e **R**<sub>5</sub>, hidrogênio ou metoxila<sup>(20)</sup>.

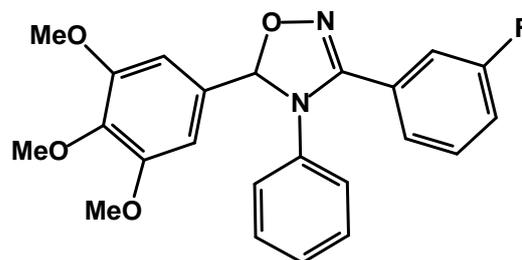


**11**

Dois compostos, **12** e **13**, em destaque, foram descritos como responsáveis por tais atividades.



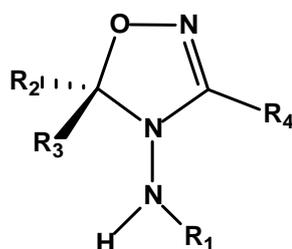
**12**



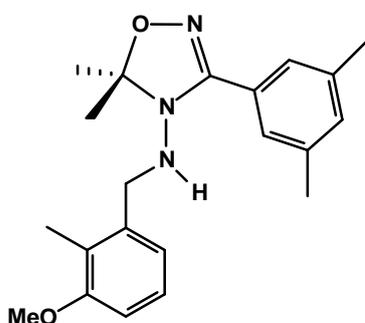
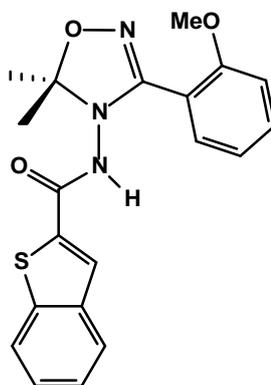
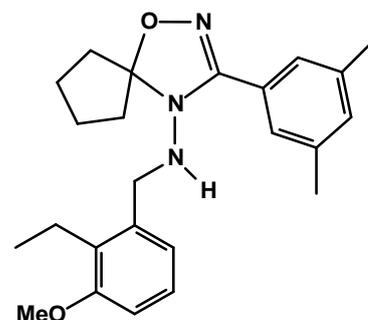
**13**

Hormann et al. relataram, em patente, a síntese de ligantes oxadiazolínicos responsáveis por modular a expressão de genes exógenos por meio de um complexo receptor

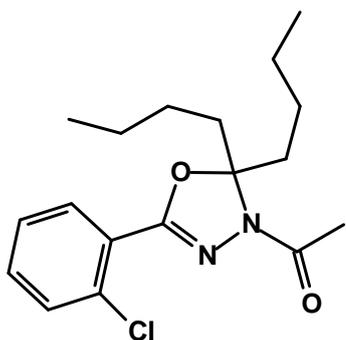
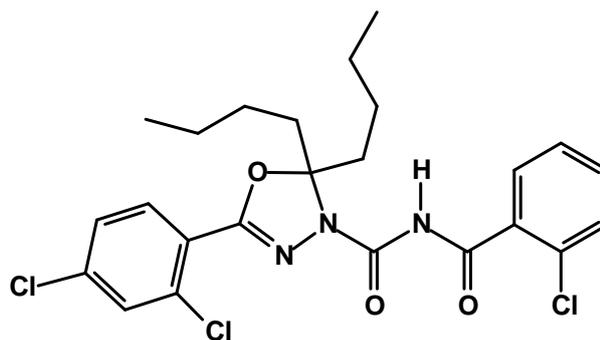
de ecdisona. Estes compostos são úteis em aplicações, tais como, terapia gênica, produção de proteínas e anticorpos em larga escala, ensaios de HTS baseados em células, proteômica, metabolômica e regulação de características em organismos transgênicos<sup>(21)</sup>. Para estes compostos foi esquematizado a fórmula geral **14**.

**14**

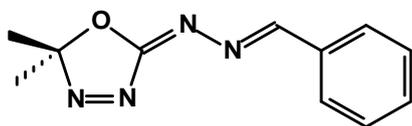
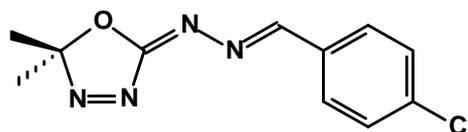
O termo “complexo receptor de ecdisona” se refere a um complexo protéico heterodimérico que consistem de dois membros da família de receptores esteróides: receptor de ecdisona (EcR) e *ultraspiracle* (USP). Este complexo pode ser ativado por um ecdiesteróide ativo ou um ligante não-esteroidal, ligado a uma das proteínas do complexo. Os ligantes não-esteroidais que mostraram resultados superiores em ensaios de expressão gênica na espécie *Choristoneura fumiferana* estão esquematizados em **15**, **16** e **17**.

**15****16****17**

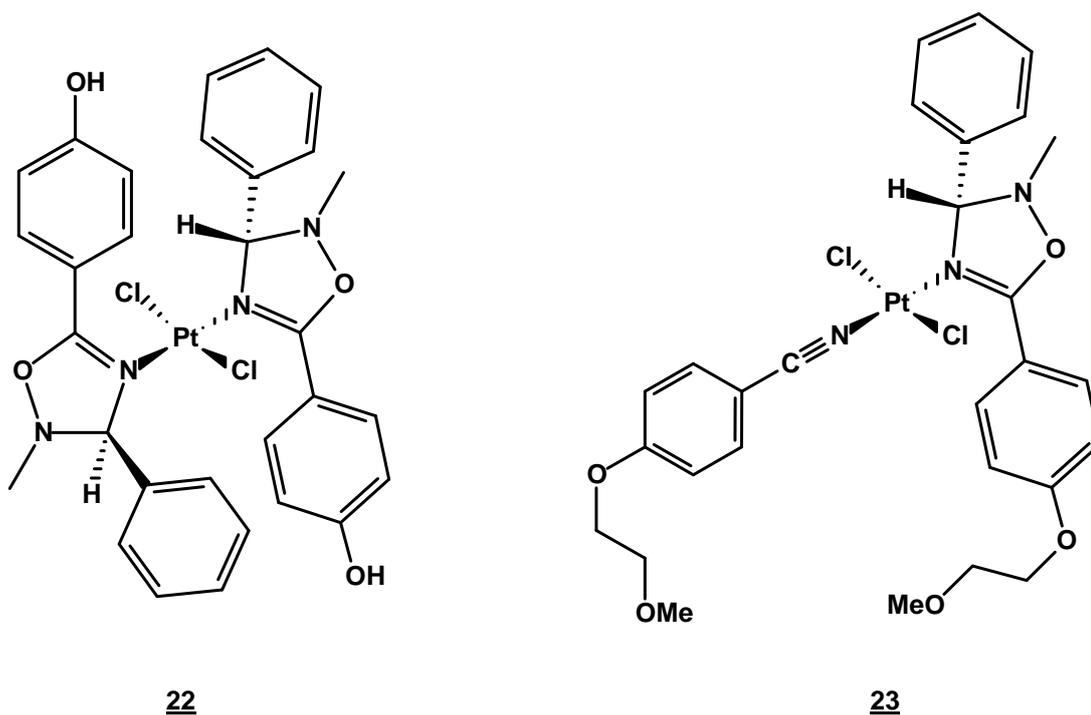
Derivados oxadiazolônicos foram sintetizados e avaliados, objetivando a atividade antifúngica, como potenciais inibidores da quitina sintase, enzima responsável pela biossíntese da quitina em fungos<sup>(22)</sup>. Estas moléculas suplantaram a inibição do controle positivo, o antifúngico já bem sucedido Nikkomicina Z. As substâncias **18** e **19** apresentaram uma porcentagem de inibição de 91 e 86% respectivamente.

1819

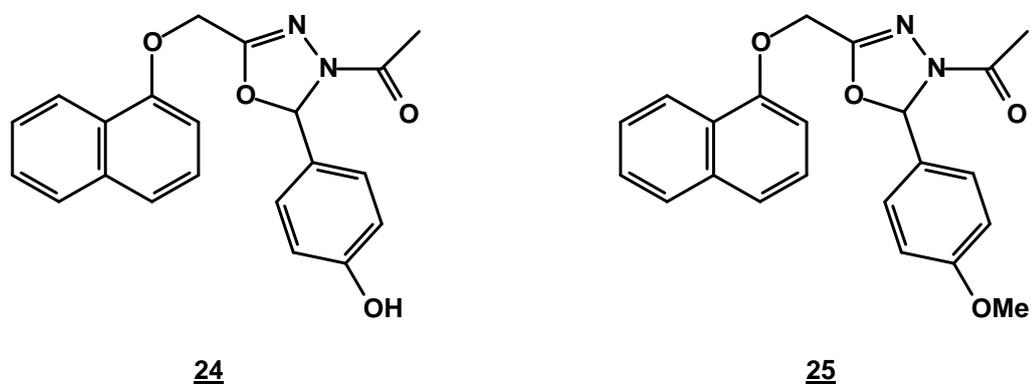
Oxadiazolinas foram também descritas como indutoras de analgesia e com atividade anti-inflamatória, sendo esta comparada à da aspirina, segundo patente de Warkentin et al.<sup>(23)</sup>. Aqui, o grupo de pesquisa sintetizou um conjunto de derivados oxadiazolínicos que possuíam contiguamente ao núcleo heterocíclico, um radical benzilidenohidrazono. Em testes de analgesia, alcançaram 82 e 80% de inibição, em concentrações não tóxicas, com os derivados 20 e 21, respectivamente.

2021

Coley et al. sintetizaram uma série de complexos de platina (II), contendo ligantes oxadiazolínicos, com atividade antitumoral. Os testes *in vitro* foram realizados com células cancerosas ovarianas, testiculares e colorretais. O tratamento para estes males é realizado predominantemente através de quimioterapia combinada com cisplatina e carboplatina, e, mais recentemente, oxaliplatina, no caso da neoplasia colorretal metastática. Nesse estudo, os compostos 22 e 23 mostraram atividade comparável a da cisplatina e carboplatina na linha de células ovarianas. Já no caso da linha de células colorretais, foi observada atividade bem superior das novas moléculas, principalmente 22, que se mostrou sete vezes mais potente que o padrão cisplatina<sup>(24)</sup>.



Atividade anti-inflamatória foi também constatada por Rajak et al. em um estudo de síntese de compostos contendo o núcleo oxadiazolínico substituído com radicais acila, arila e naftalen-1-iloila<sup>(25)</sup>. Nesse trabalho foi realizado um comparativo entre aldeídos aromáticos *para*-substituídos, reagentes da etapa anterior a da formação da oxadiazolina, que possuem grupos retiradores e doadores de elétrons. Foi constatado que estes últimos propiciaram maior índice de proteção, no método de edema de pata em ratos, que foi da ordem de 47% para o composto **24**, e 35% para o composto **25**.



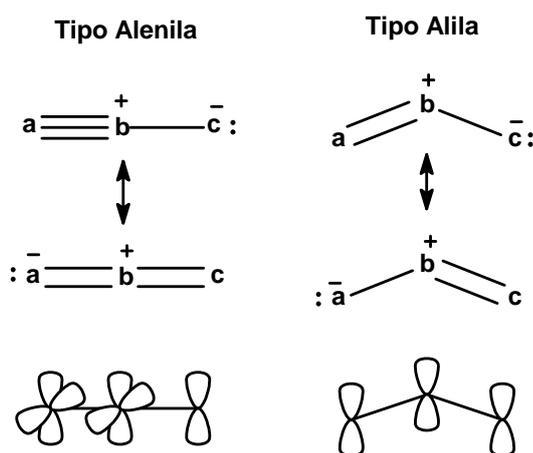
Ensaio utilizando oxadiazolinas como amebicidas foram realizados por Asato e Berkelhammer<sup>(34)</sup>, que, em patente, descreveram a síntese de novas  $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolinas



## 2.1.2 – MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE OXADIAZOLINAS

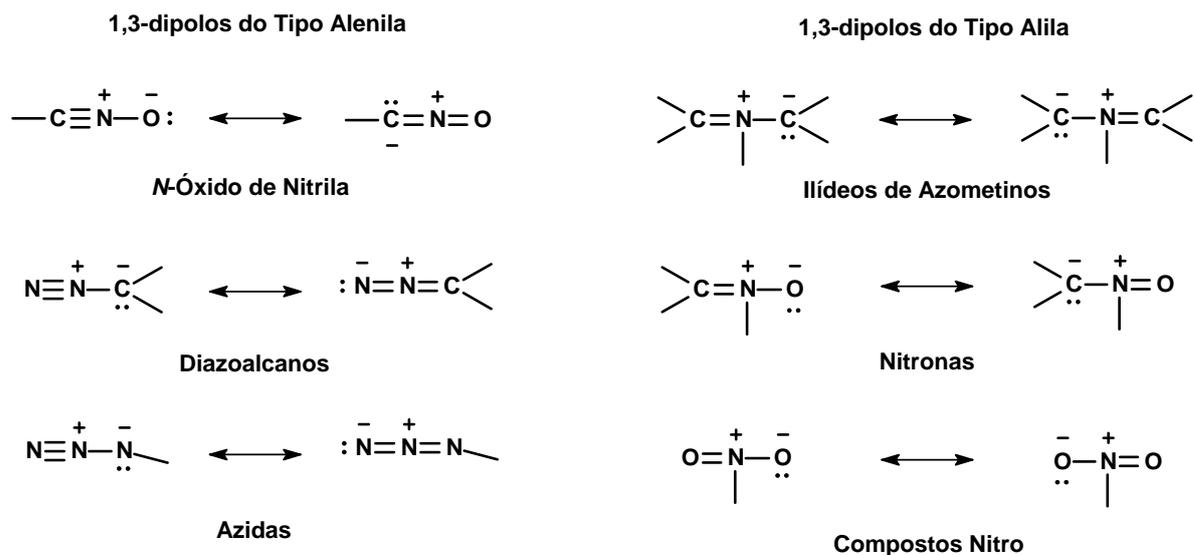
Oxadiazolinas são principalmente obtidas por reações de cicloadição 1,3-dipolar, análogas à reação de Diels-Alder [ $\pi 4_s + \pi 2_s$ ], que consiste na adição de um dipolarófilo a um dipolo<sup>(26, 27)</sup>, sendo estas reações o sustentáculo da maioria dos procedimentos preparativos de síntese de heterociclos de cinco membros.

O 1,3-dipolo é definido como uma espécie que é representada por uma estrutura zwitteriônica, que sofre cicloadições com um sistema dipolarófilo. Basicamente, o 1,3-dipolo pode ser classificado em dois diferentes tipos: tipo ânion alila e tipo ânion alenila. O 1,3-dipolo do tipo ânion alila é caracterizado pela presença de quatro elétrons em três orbitais  $p$ , paralelos e perpendiculares ao plano do 1,3 dipolo, que é angular. O 1,3-dipolo do tipo ânion alenila tem um orbital  $\pi$  extra, localizado no plano ortogonal, e é linear<sup>(26)</sup> (Fig. 5).



**Figura 5 – Geometria do 1,3-dipolo**

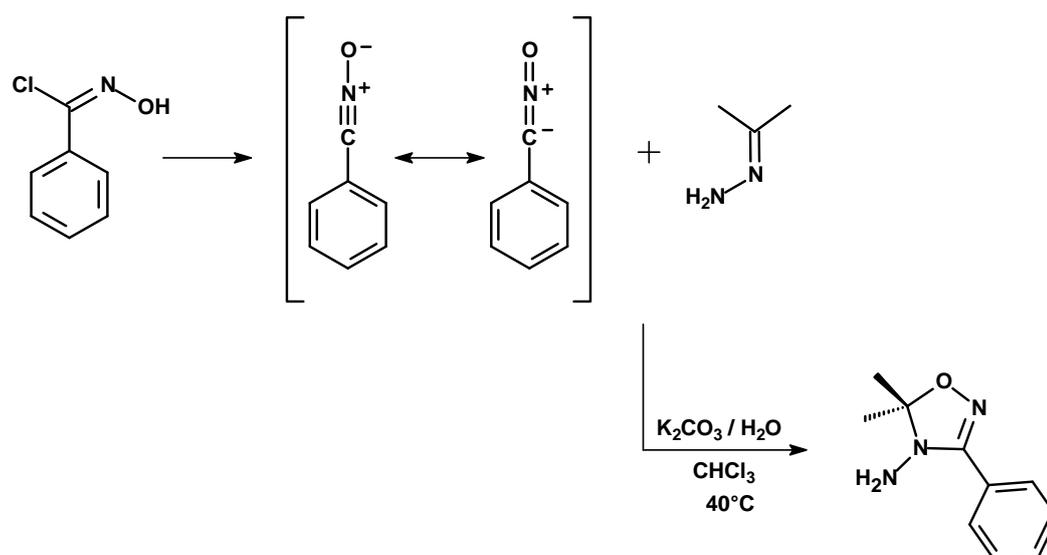
Existem diversos 1,3-dipolos do tipo alila e alenila que são utilizados em reações de cicloadição 1,3-dipolar. Alguns exemplos são apresentados na figura 6.



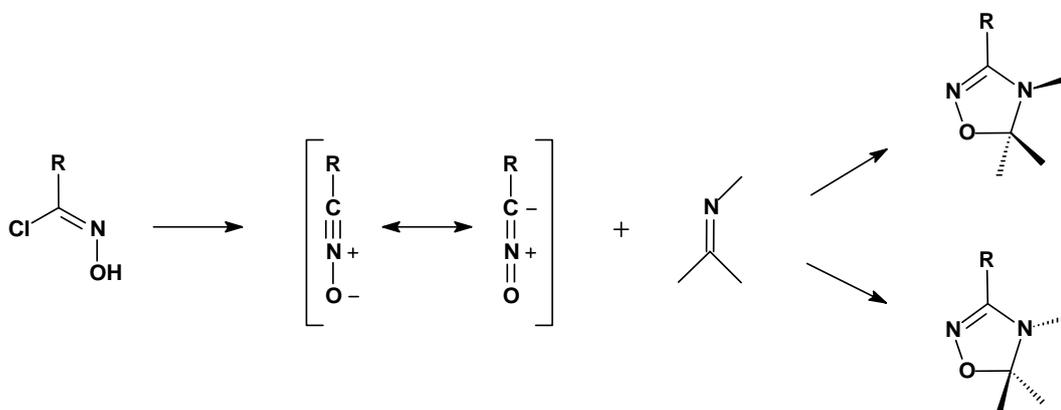
**Figura 6** - Dipolos do tipo alenila e do tipo alila

As reações de cicloadição 1,3-dipolar do dipolo com alquenos ou alquinos (dipolarófilos) envolvem quatro elétrons  $\pi$  do 1,3-dipolo e dois elétrons  $\pi$  do dipolarófilo. Estas reações são regidas pelos Orbitais Moleculares de Fronteira HOMO e LUMO do 1,3-dipolo e do dipolarófilo. A teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira é utilizada para explicar a regioselectividade desta cicloadição<sup>(26)</sup>.

A cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de nitrila (dipolos), derivados de cloretos de hidroxiiiminoila, com ilideno-hidrazinas (dipolarófilos)<sup>(21)</sup>, é uma das principais reações para a obtenção de  $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolinas (Esq. 1).



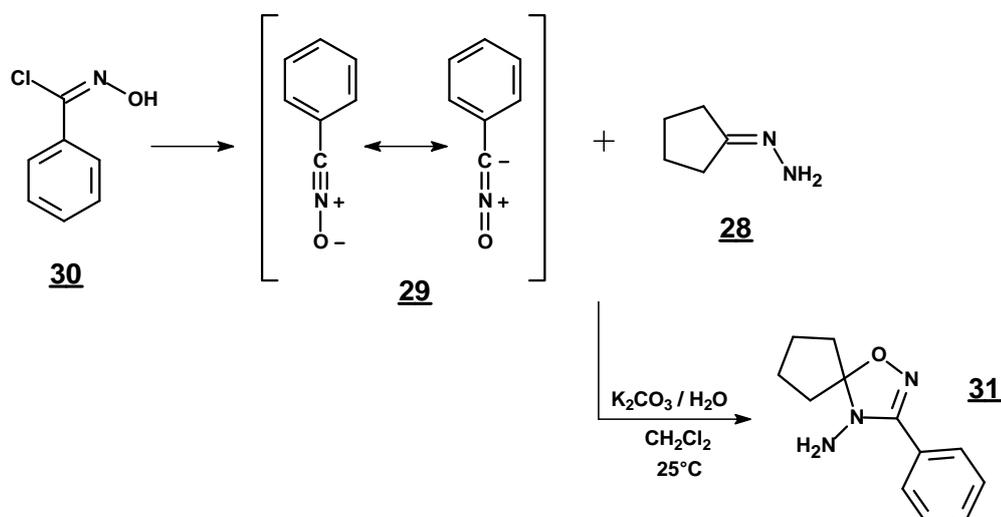
Se forem utilizadas iminas como dipolarófilos (Esq. 2), é possível observar uma reação semelhante, porém sem a presença do substituinte amino no nitrogênio da posição 4 do heterociclo, observado no esquema 1. Percebe-se nesta figura a formação da mistura racêmica.



Esquema 2

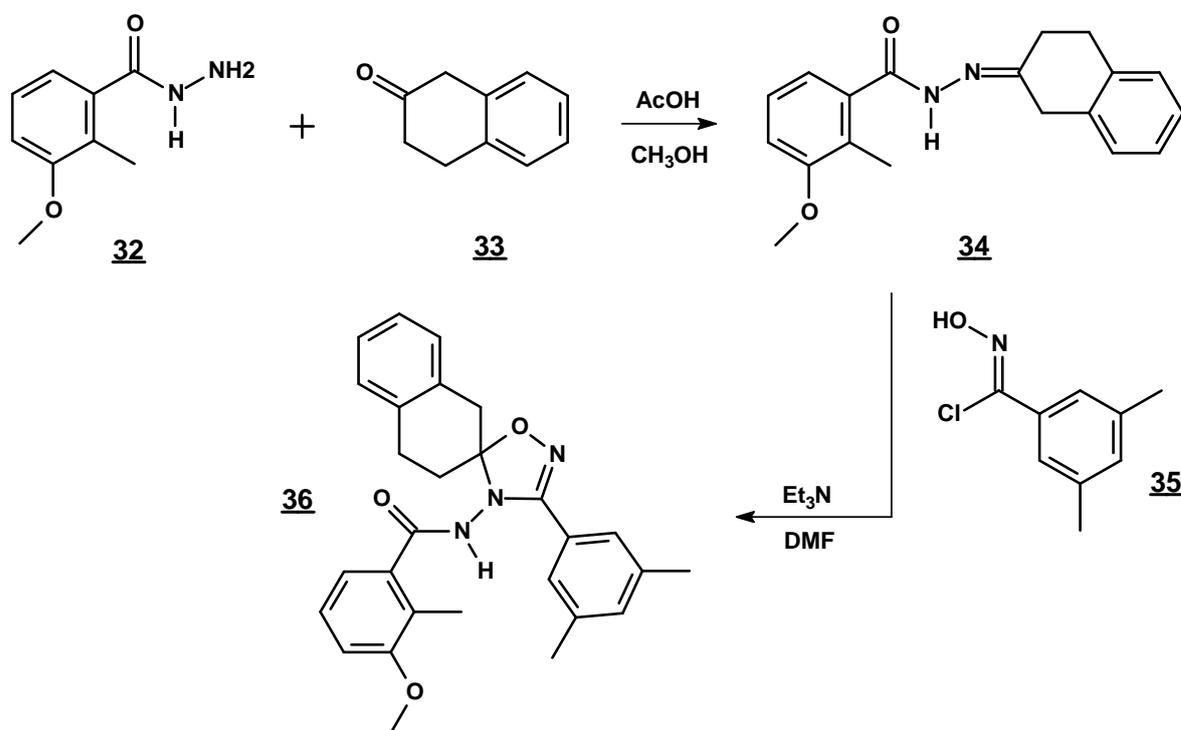
Na literatura, diversos métodos de obtenção de oxadiazolinas são descritos. Nos próximos parágrafos serão discorridos alguns dos principais.

Hormann et al. obtiveram uma série de derivados oxadiazolínicos por meio da cicloadição de ilideno-hidrazinas, com cloretos de hidroxilaminoila, que *in situ* geram o *N*-óxido de nitrila. Neste exemplo, o dipolarófilo é a ciclopentilideno-hidrazina, **28**, e o dipolo, o óxido de fenilformonitrila, **29**, derivado do cloreto de benzohidroxilaminoila, **30**, resultando no cicloaduto 3-fenil-1-oxa-2,4-diaza-espiro[4,4]non-2-en-4-ilamina **31**<sup>(21)</sup> (Esq. 3).



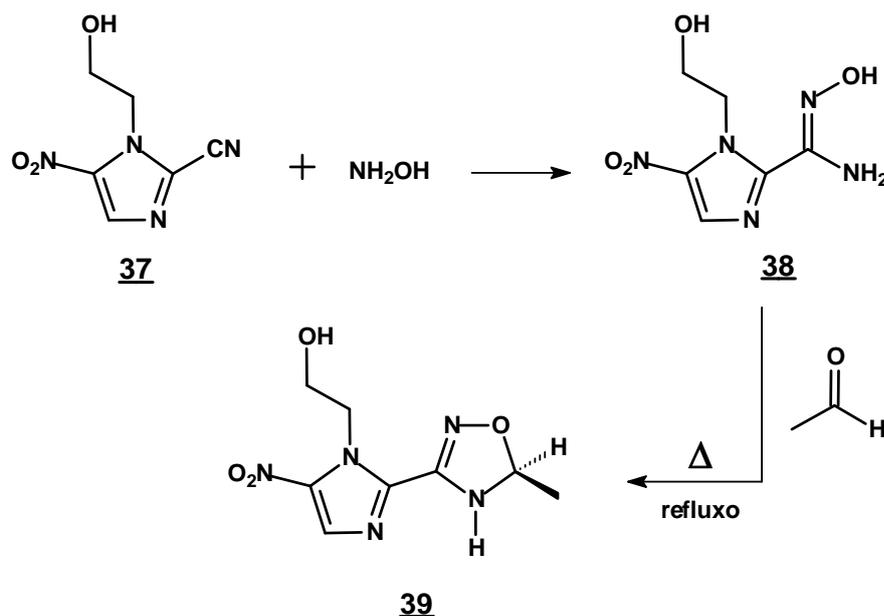
Esquema 3

Nesse mesmo trabalho, foi explorada a utilização de dipolarófilos obtidos a partir de hidrazidas, proporcionando a síntese de cicloadutos contendo diversos substituintes no carbono da posição 5, bem como, no nitrogênio da posição 4 do núcleo oxadiazolínico, que neste exemplo, será na própria porção hidrazida do dipolarófilo. O primeiro passo foi a reação da hidrazida aromática **32** com a 2-tetralona **33**, obtendo a hidrazida com o radical 3,4-diidro-1H-naftalen-2-ilideno **34**. Esta foi submetida à reação com o cloreto de hidroxiiminolila **35**, utilizando dimetilformamida (DMF) como solvente, obtendo, enfim, a  $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina **36** com substituintes nas posições supramencionadas<sup>(21)</sup> (Esq. 4).



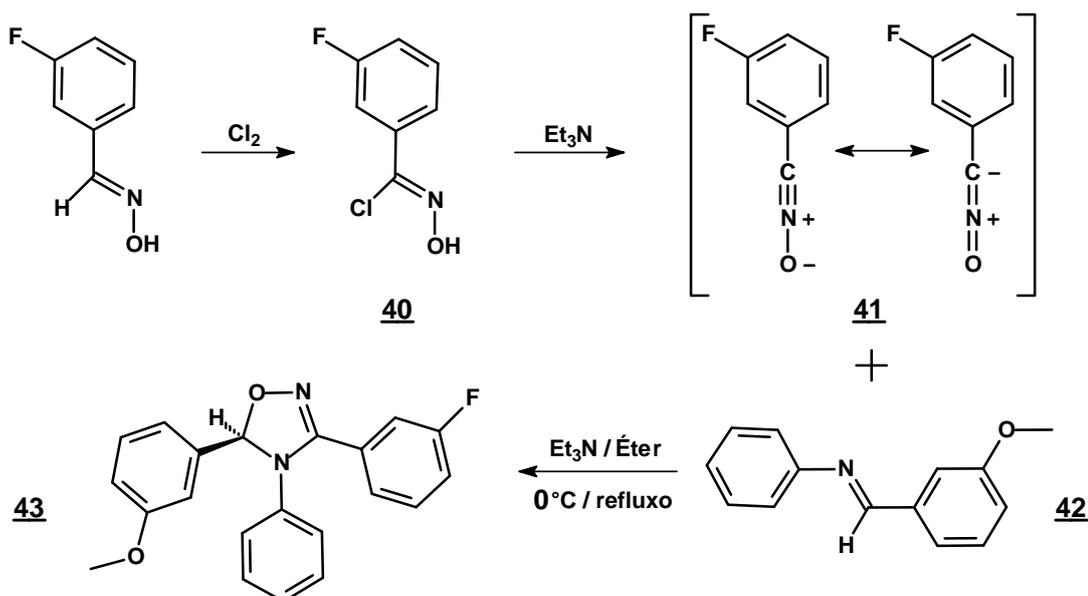
Esquema 4

Em outra patente, foi descrita a síntese de nitroimidazolil- $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolinas, na qual a hidroxilamina foi condensada com a nitrila substituinte do anel imidazólico **37**, para a formação da carboxamidoxima **38** (Esq. 5), que sob aquecimento em refluxo, foi reagida com aldeídos de cadeia curta, tais como acetaldeído e butiraldeído. O produto resultante dessa reação foi agitado com éter, no qual a oxadiazolina, contendo o radical 5-nitro-imidazoila **39** no carbono da posição 3, precipitou<sup>(34)</sup>.



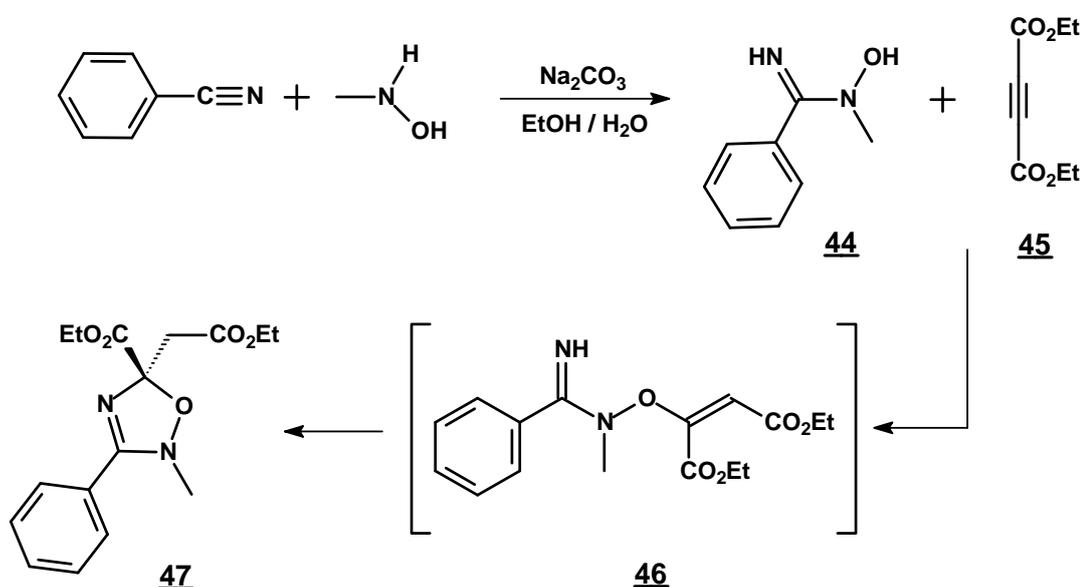
Esquema 5

A cicloadição [3+2] dipolar foi também a estratégia utilizada na síntese de uma série de moléculas que apresentaram diversas atividades biológicas, como foi descrito, em patente, por Delalande<sup>(20)</sup>. Neste trabalho, o autor utilizou o processo de cloração para obtenção da  $\alpha$ -cloro-benzaldoxima **40**, que, na presença de trietilamina, foi convertida no *N*-óxido de nitrila **41**. Este composto reagiu, então, com a bezilidenoanilina **42** solubilizada em éter, produzindo a 3-(3-fluorofenila)-4-fenila-5-(3-metoxifenila)- $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina **43** (Esq. 6).



Esquema 6

Naidu e Sorenson propuseram a síntese de 1,2,4-oxadiazolinas a partir de nitrilas em solução aquosa<sup>(35)</sup>. A metodologia utilizada consistiu no tratamento de alquil ou arilamidoximas com acetilenodicarboxilato de dietila (DEAD). Esse processo envolve uma dupla adição de Michael seqüencial de amidoximas com um alquino. Na primeira etapa, a adição do grupo hidroxila da amidoxima **44** à dietila acetilenodicarboxilato **45** gera um intermediário **46**, que em seguida sofre uma segunda adição de Michael, só que agora, intramolecular, no NH da amidoxima. Dessa dupla adição resultaram as 1,2,4-oxadiazolinas 2,3,5 substituídas **47** (Esq. 7).



## 2.2 - DERIVADOS HIDRAZÔNICOS

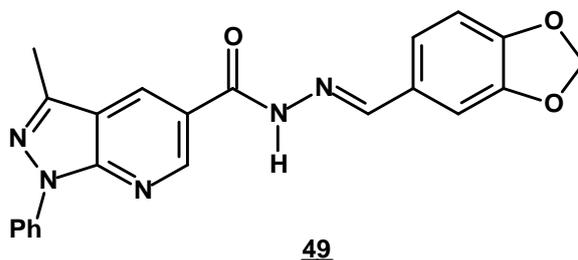
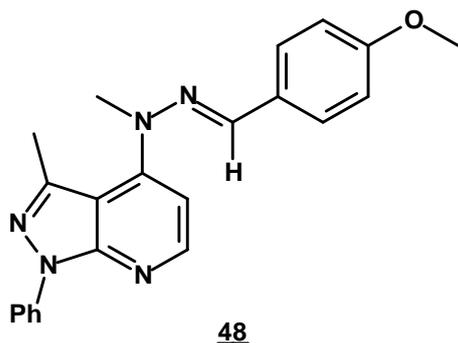
Como foi exordialmente citado neste trabalho, uma das mais poderosas e mais comumente utilizadas estratégias de síntese de novos compostos com atividade biológica é a hibridização molecular, em que se realiza a conjugação covalente de duas moléculas com atividades biológicas distintas. Lançando-se mão deste fato, é permitido ao pesquisador obter moléculas com atividades semelhantes, ou até mais pronunciadas que as moléculas originais, elucidar a relação estrutura-atividade do novo candidato a fármaco; bem como empregar os mesmos métodos de ensaios biológicos utilizados para as moléculas geradoras.

Dessa maneira, através desta estratégia de modificação molecular, existe a possibilidade da descoberta do grupamento farmacofórico desejável, da obtenção de fármacos que apresentem propriedades requeridas ao escopo pretendido e que sejam mais eficientes que o protótipo. Dentre tais propriedades, é analisada principalmente a potência do novo candidato, sua estabilidade, especificidade, lipofilicidade, duração de ação, bem como, custo de produção<sup>(28)</sup>.

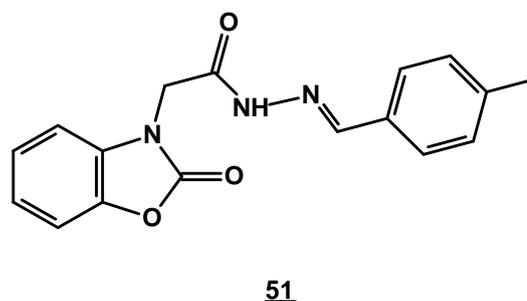
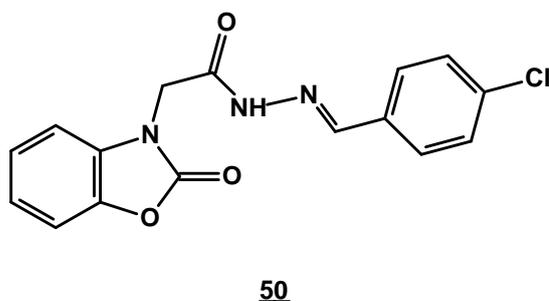
Diante destes fatos, foi delineada a síntese de oxadiazolinas bicíclicas pirrolidínicas com modificação molecular no radical éster do biciclo, derivado da cicloadição 1,3 dipolar, que, após conversão aos respectivos aldeídos, foi executada a inserção de funções hidrazidas, resultando no produto final, as hidrazonas.

Há considerável interesse no desenvolvimento de novos compostos com atividades anti-inflamatória, antitumoral, analgésica, antiviral, anticonvulsivante, dentre outras. Hidrazonas que possuem um próton azometínico constitui uma importantíssima classe de compostos para o desenvolvimento de novas drogas com as atividades supra-elencadas<sup>(29)</sup>.

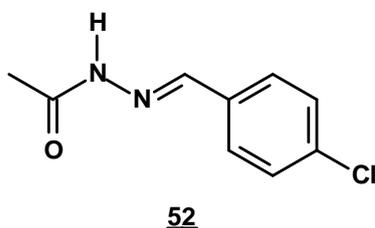
Barreiro et al. relataram a síntese de novas aril-hidrazonas<sup>(30)</sup> e acil-arilhidrazonas<sup>(13)</sup>, sendo observados excelentes resultados concernentes à atividade analgésica. A analgesia proporcionada pela aril-hidrazona **48** foi muito próxima da obtida com a dipirona, já a acil-aril-hidrazona **49** mostrou superioridade concernente a esta atividade, em comparação a este fármaco de referência.



Gökhan-Kelekçi et al. sintetizaram hidrazonas contendo 5-metil-benzoxazolina. Os efeitos analgésicos de **50** e **51** foram constatados como sendo superiores aos da morfina e aspirina<sup>(16)</sup>. Em certas dosagens, compostos deste estudo também mostraram atividade anti-inflamatória.

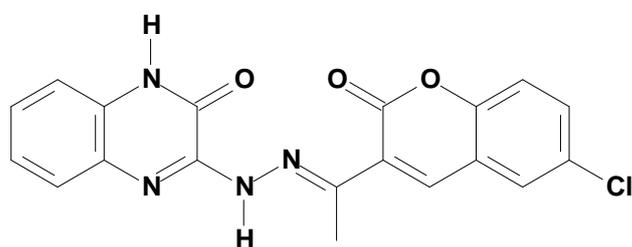
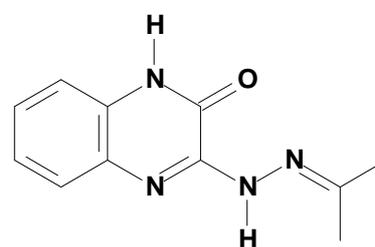


Propriedades anticonvulsivantes também têm sido relatadas para hidrazonas. Dimmock et al. sintetizaram várias *N*-acetilhidrazonas **52**, oxamoihidrazonas e semicarbazonas, como possíveis candidatas a agentes anticonvulsivantes. Os resultados obtidos revelaram que *N*-acetilhidrazonas são mais promissoras para atividade anticonvulsivante<sup>(12, 31, 32)</sup>.



Em um trabalho de síntese de derivados 2-quinoxalinona-3-hidrazona, utilizando técnica de irradiação por microondas, foram constatadas atividades antibacteriana e antifúngica dos mesmos<sup>(33)</sup>. Nos testes antimicrobianos, utilizando patógenos ordinários, tais como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, as novas moléculas foram comparadas com a estreptomicina, no caso do teste

antibacteriano, e com nistatina, para o teste antifúngico. As hidrazonas **53** e **54** mostraram-se mais pronunciadas, concernentes às atividades antibacteriana e antifúngica, respectivamente.

**53****54**

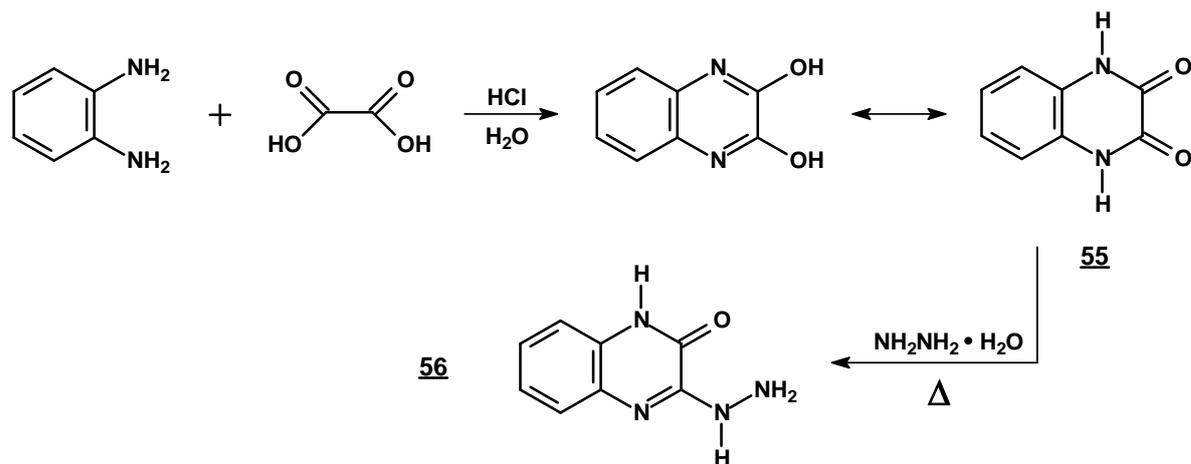
### 2.2.1 – MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE HIDRAZONAS

A química da ligação dupla carbono-nitrogênio das hidrazonas tem se tornado a espinha dorsal de reações de condensação de heterociclos que estão fundidos por heteroátomos, principalmente o nitrogênio. No que concerne à síntese de novas drogas, a principal classe de compostos contendo a função hidrazona é a que possui prótons azometínicos<sup>(29)</sup>.

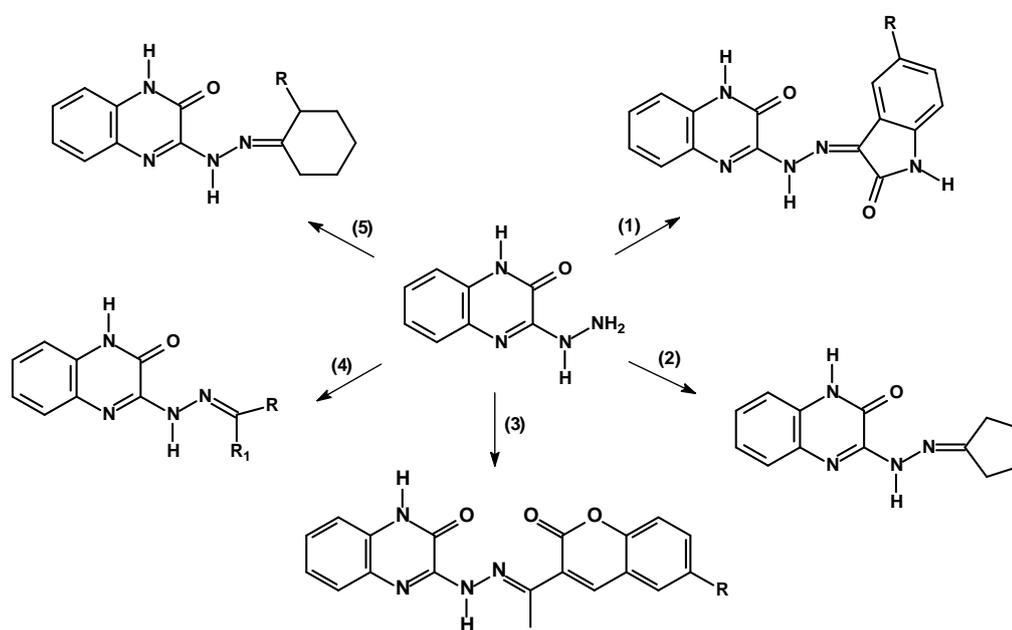
Reações de fenil-hidrazinas, o primeiro derivado de hidrazinas caracterizado por Emil Fischer, em 1875, com isatinas<sup>(36)</sup>, ácido mercaptoacético<sup>(37)</sup>, 2-bromobenzaldeído<sup>(38)</sup>, derivados 1,2-benzotiazol<sup>(39)</sup>, cumarina 3-carboxilato<sup>(40)</sup> e 4-azido-3-acil-2-quinolona,<sup>(41)</sup> foram relatadas por fornecerem as respectivas hidrazonas com rendimentos que vão de moderados a elevados. A síntese em uma etapa de tetrahydroquinolonas contendo um estereocentro quaternário foi também relatada como resultado de reações que utilizaram hidrazonas como precursores<sup>(42)</sup>.

A obtenção de hidrazonas é relativamente simples, consistindo basicamente na condensação de hidrazidas ou hidrazinas com aldeídos ou cetonas. Devido à importância biológica de hidrazonas, elas são extensivamente descritas na literatura.

Em um trabalho recente, procedendo modificação do método de Obafemi e Pfeiferer<sup>(43)</sup>, 1,2,3,4-tetrahydroquinoxalina-2,3-diona **55** foi reagida com hidrato de hidrazina, sendo obtido o principal precursor deste estudo, a 3-hidrazinoquinoxalin-2(1H)-ona **56**<sup>(33)</sup> (Esq. 8).

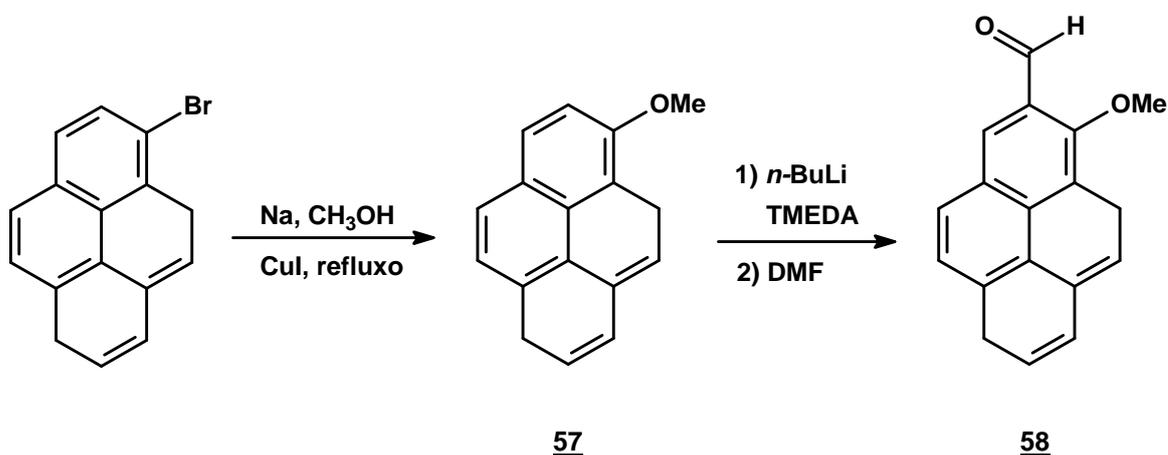
**Esquema 8**

Este foi tratado com diversos reagentes de modo a obter hidrazonas com variações na cadeia lateral. Partindo do precursor acima descrito, foram submetidas à irradiação de microondas cetonas acíclicas, ciclopentanona, 3-acetilcumarinas, isatinas e ciclohexanonas, sendo as três últimas substituídas nas posições seis, cinco e dois, respectivamente (Esq. 9).

**(1) Isatinas; (2) ciclopentanona; (3) 3-acetilcumarinas; (4) cetonas acíclicas; (5) ciclohexanonas****Esquema 9**

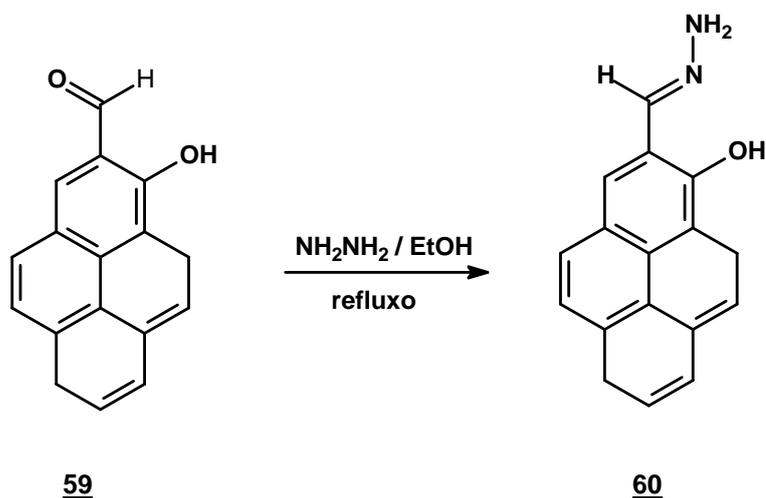
Derivados pireno-hidrazonas, aplicadas como sensores fluorescentes para detecção de íons  $Zn^{+2}$  intracelular, foram obtidos a partir do 1-bromopireno<sup>(44)</sup>. Este foi convertido no 1-metoxibenzopireno **57**, por meio de reação de acoplamento com metoxila em iodeto de cobre

(I), sendo este método usual em reações de acoplamento carbono-carbono e carbono-heteroátomo, tais como as reações clássicas de Heck, Stille, Suzuki e Ullman. Em seguida foi realizada uma adição de carbonila proveniente da dimetilformamida, por meio do reagente organometálico *n*-butillítio (*n*-BuLi), obtendo-se o derivado carbonilado **58** (Esq. 10a).



Esquema 10a

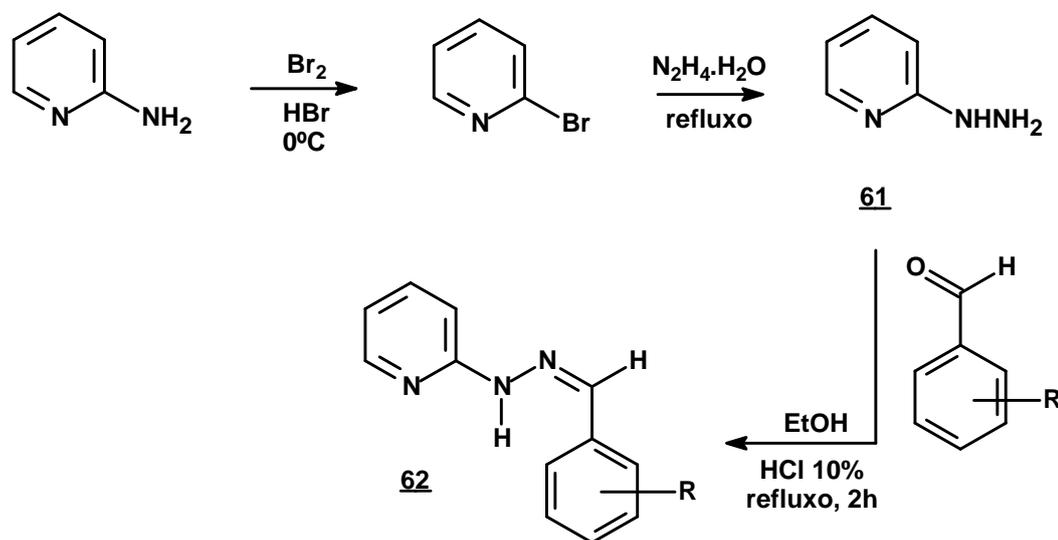
O derivado **58** foi reagido com um ácido de Lewis, obtendo-se o intermediário **59**, que foi logo convertido à hidrazona **60** pela reação com hidrazina, sob refluxo, utilizando etanol como solvente (Esq. 10b).



Esquema 10b

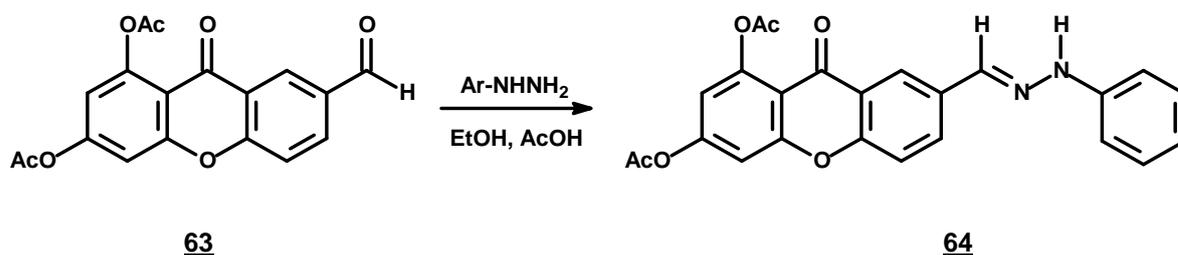
A aminopiridina foi utilizada como material de partida em síntese de aril-hidrazonas, executada em apenas 3 etapas. Por meio de uma halogenação, foi obtido o derivado 2-bromo piridínico correspondente, que em seguida foi tratado com hidrato de hidrazina, sob refluxo,

sendo obtida a 2-piridino-hidrazina **61**. Esta foi levada a reações de condensação com aldeídos aromáticos, em meio ácido, obtendo-se as respectivas hidrazonas **62**<sup>(11)</sup> (Esq. 11).



Esquema 11

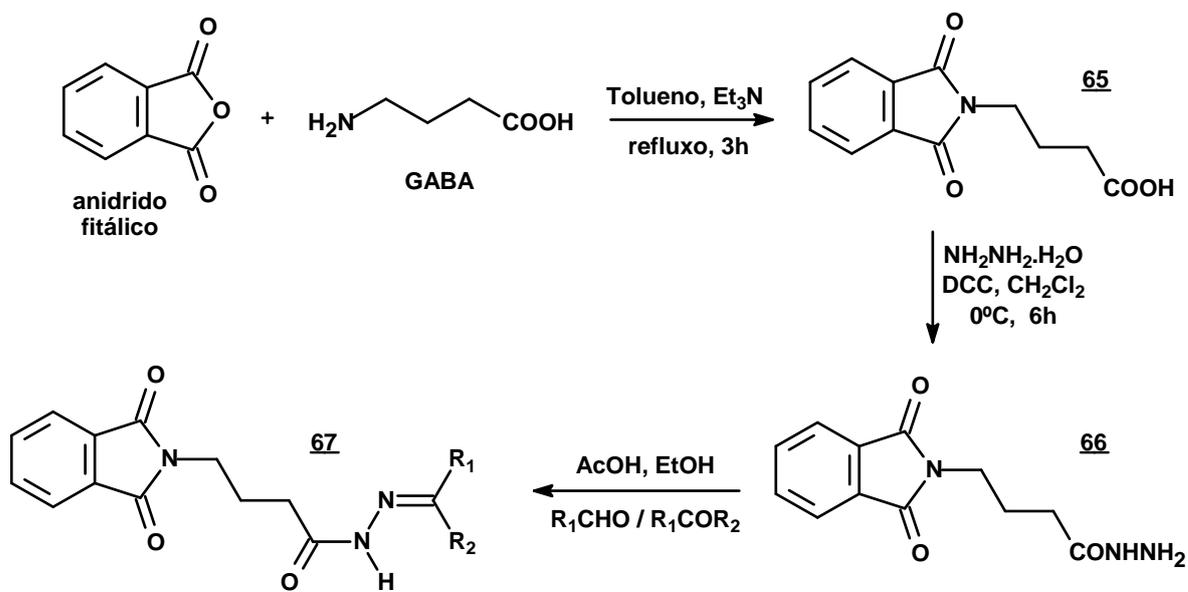
A porção aldeídica de um derivado da xantona (*9H*-xanten-9-ona) **63** foi utilizada como acceptor de uma substituição nucleofílica, por parte de uma hidrazina aromática, em meio ácido (Esq. 12). Estes foram agitados em etanol por cerca de quinze minutos até a adição do ácido acético, que age como catalisador, deixando sob refluxo por 2 horas até obtenção da aril-hidrazona **64**<sup>(45)</sup>.



Esquema 12

*N*-aryl/alquilideno-butanoilhidrazonas **67** foram obtidas através da reação de uma hidrazida **66**, derivada do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e conjugada com o anidrido ftálico, com vários aldeídos e cetonas substituídos apresentando rendimentos que variaram entre 32% e 38%<sup>(46)</sup> (Esq.13).

Esta hidrazida foi gerada a partir do conjugado GABA-anidrido ftálico **65**, por meio de uma reação com hidrato de hidrazina, na presença do agente ativante *N,N*'-diciclohexil carbodiimida (DCC). A porção amino do principal neurotransmissor do sistema nervoso central dos mamíferos, GABA, foi protegida por meio da reação deste com o anidrido ftálico, em meio básico, sob refluxo.



Esquema 13

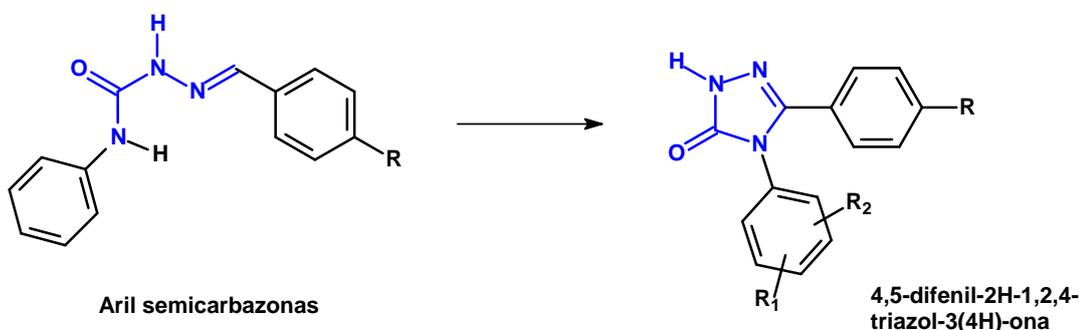
## 2.3 – DERIVADOS SEMICARBAZÔNICOS

Semicarbazonas estão incluídas em uma classe de moléculas que apresentam um extenso perfil farmacológico. Constituem uma importante classe de compostos cujas propriedades têm sido amplamente estudadas na Química Medicinal, no que concerne à manifestação de atividades específicas. Estes compostos agem como inibidores de enzimas, através da complexação de metais endógenos ou através de reações do tipo redox, como também por meio de interações com o ADN ou por inibição de sua síntese<sup>(47)</sup>.

A possibilidade de modular o caráter lipofílico dessas moléculas assim como suas interações com receptores biológicos, através da escolha dos substituintes da cadeia, é uma maneira tradicional de se alcançarem as diversas atividades biológicas apresentadas por essa versátil classe de compostos.

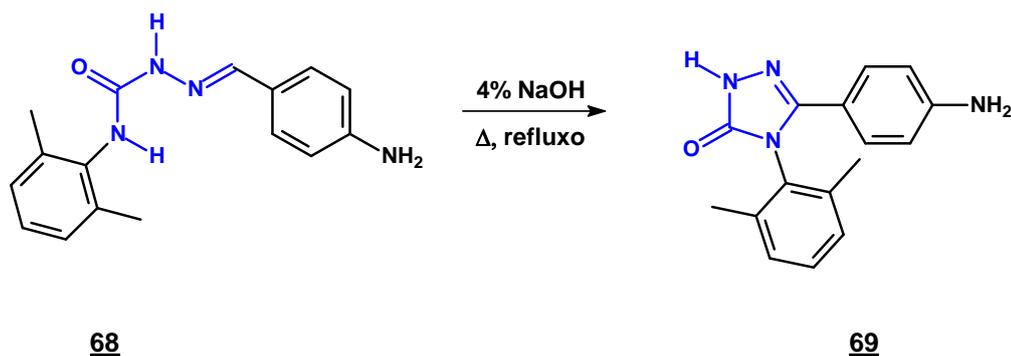
Das mais variadas aplicações terapêuticas das semicarbazonas, indubitavelmente, as mais proeminentes são as atividades anticonvulsivantes, antichagásica e antinociceptiva. Investigações recentes com aril-semicarbazonas mostraram seu potencial como agentes anticonvulsivantes, sem, entretanto, exibir atividade sedativo-hipnótica, e ainda possuindo neurotoxicidade inferior a de compostos que exibem esta última atividade<sup>(53)</sup>. A explicação para tal fato é que aril-semicarbazonas não possuem o grupo dicarboximida, encontrado em drogas convencionais, como barbituratos, hidantoínas e oxazolidinona, que pode estar associado à toxicidade e efeitos colaterais desses fármacos<sup>(54)</sup>.

Shalini et al. propuseram a ciclização de aril-semicarbazonas, que resultou na formação de 1,2,4-triazóis, para verificar os efeitos concernentes a sua atividade anticonvulsivante<sup>(49)</sup> (Esq. 14).



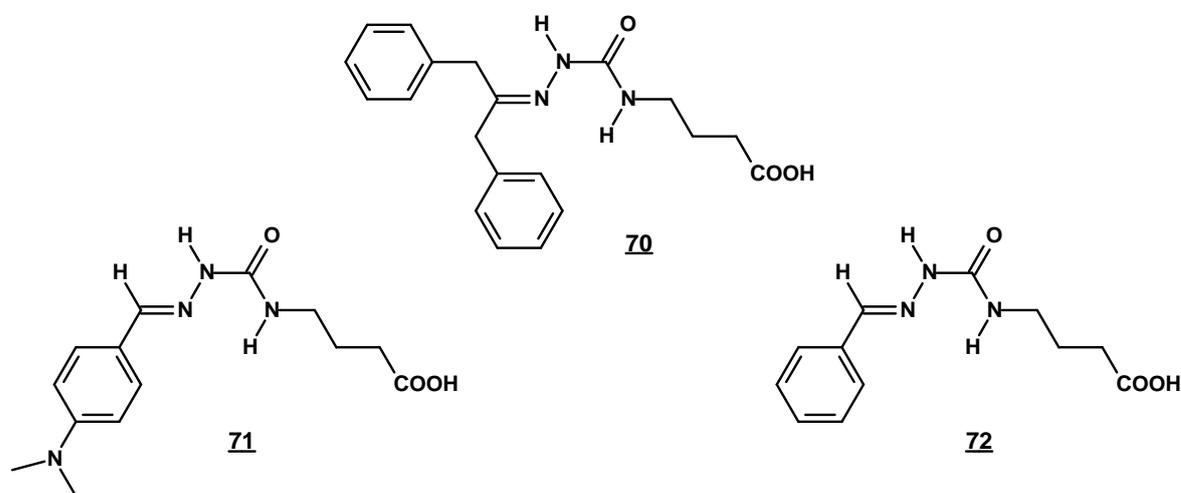
Esquema 14

As 2,6-dimetil-fenil semicarbazonas foram relatadas em outro trabalho<sup>(55)</sup> como sendo as mais eficientes dentre as aril-semicarbazonas dissustituídas. Nesse trabalho, a ciclização diminuiu a atividade de alguns compostos com essa configuração dissustituída, como por exemplo, os compostos **68** e **69**, que possuem um substituinte *p*-anilina na posição 3 do anel triazólico (Esq. 15). Dentre as várias moléculas originadas desse estudo, as subelencadas foram escolhidas por serem isentas de neurotoxicidade.

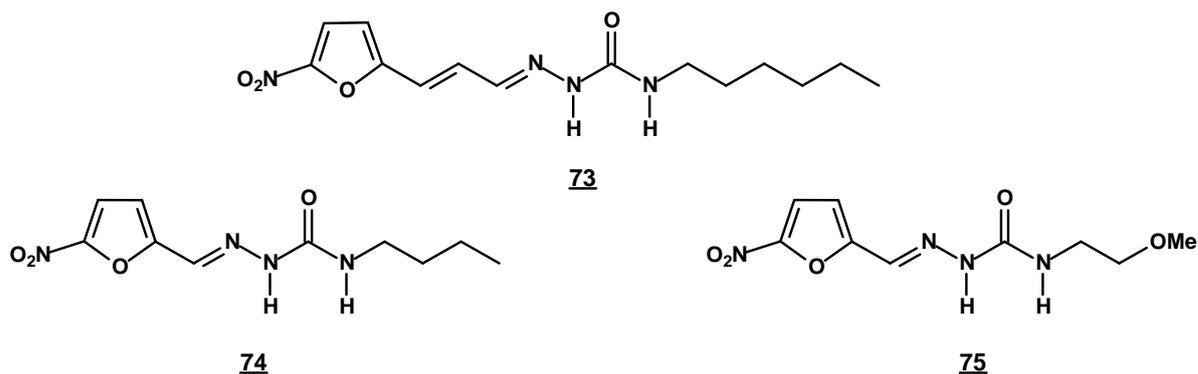


Esquema 15

Em outro estudo, Yogeeswari et al. planejaram a síntese de derivados do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), visando a combinação deste farmacóforo com aril-semicarbazonas, e assim, gerando substâncias multifuncionais utilizadas no tratamento de disfunções neurológicas, tais como epilepsia e dor neuropática<sup>(52)</sup>. Nesse trabalho, a aspirina foi utilizada como padrão, com 97% de inibição para contorções induzidas pelo ácido acético. Parte das novas semicarbazonas testadas apresentou inibição acima dos 90%, com ênfase para o derivado **70**, com 94%, e os derivados **71** e **72**, ambos apresentando 93% de inibição.



Estudos *in vivo* e *in vitro* foram realizados por Cabrera et al. concernentes à atividade de semicarbazonas contra formas amastigotas e tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Para a forma tripomastigota, semicarbazonas **73**, **74** e **75** testadas tiveram perfil semelhante ao Nifurtimox (Nfx), reduzindo e mantendo o nível dessa forma no sangue ao fim de cinco semanas de tratamento. No músculo liso, o derivado **73** apresentou maior eficiência que o Nifurtimox, porém no cardíaco, este se mostrou superior<sup>(56)</sup>.



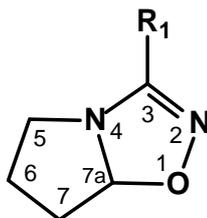
## Capítulo II

*Objetivos*

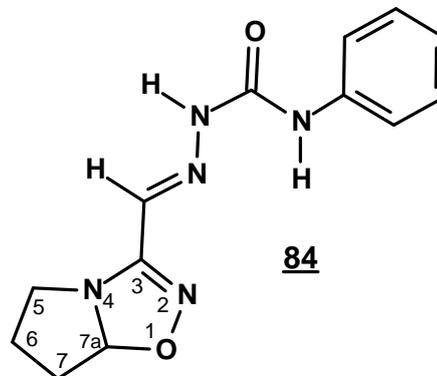
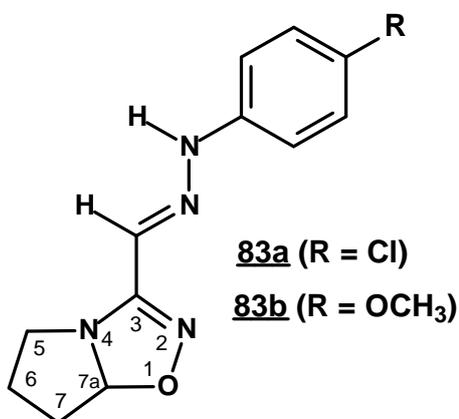
### 3 – OBJETIVOS

#### 3.1 – Objetivos Gerais

- Sintetizar e explorar quimicamente o novo heterociclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina;

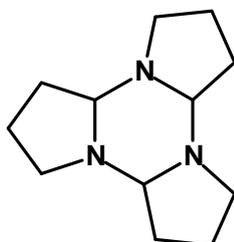
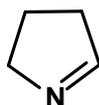
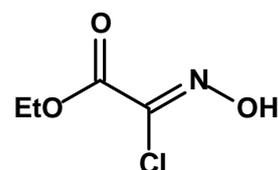


- Sintetizar e realizar testes biológicos com seus derivados, as oxadiazolil-aril-hidrazonas, **83a** e **83b**, e a oxadiazolil-aril-semicarbazona, **84**.

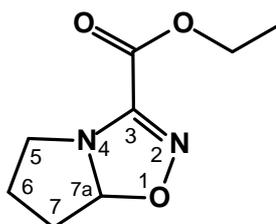


### 3.2 - Objetivos Específicos

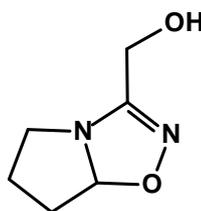
- Sintetizar os materiais de partida, o trímero **77** da  $\Delta^1$ -pirrolina **78** e o cloroxiimidoacetato de etila **86**;

**77****78****86**

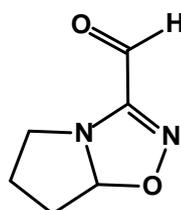
- Sintetizar o éster oxadiazolínico **80** através de reação de cicloadição 1,3-dipolar da  $\Delta^1$ -pirrolina com o óxido de carboetoxiformonitrila;

**80**

- Reduzir a função éster em C3 do éster oxadiazolínico **80** ao correspondente álcool oxadiazolínico **81**;

**81**

- Oxidar o álcool oxadiazolínico **81** ao respectivo aldeído oxadiazolínico **82**;

**82**

- Condensar o aldeído oxadiazolínico **82** com hidrazinas aromáticas *p*-substituídas com escopo de sintetizar as oxadiazolil-aril-hidrazonas **83a** e **83b**;
- Condensar o aldeído oxadiazolínico **82** com a fenil-semicarbazida **92** com o intuito de sintetizar a oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**;
- Purificar, determinar as propriedades físico-químicas (ponto de fusão e R<sub>f</sub>) e elucidar a estrutura dos compostos obtidos por análise de RMN de <sup>1</sup>H, RMN de <sup>13</sup>C, GC-MS, LCMS-IT-TOF e IV.
- Avaliar a atividade antinociceptiva dos novos híbridos oxadiazolil-aril-hidrazonas, **83a** e **83b**, e oxadiazolil-aril-semicarbazona, **84**, bem como a atividade antichagásica desta última.

## Capítulo III

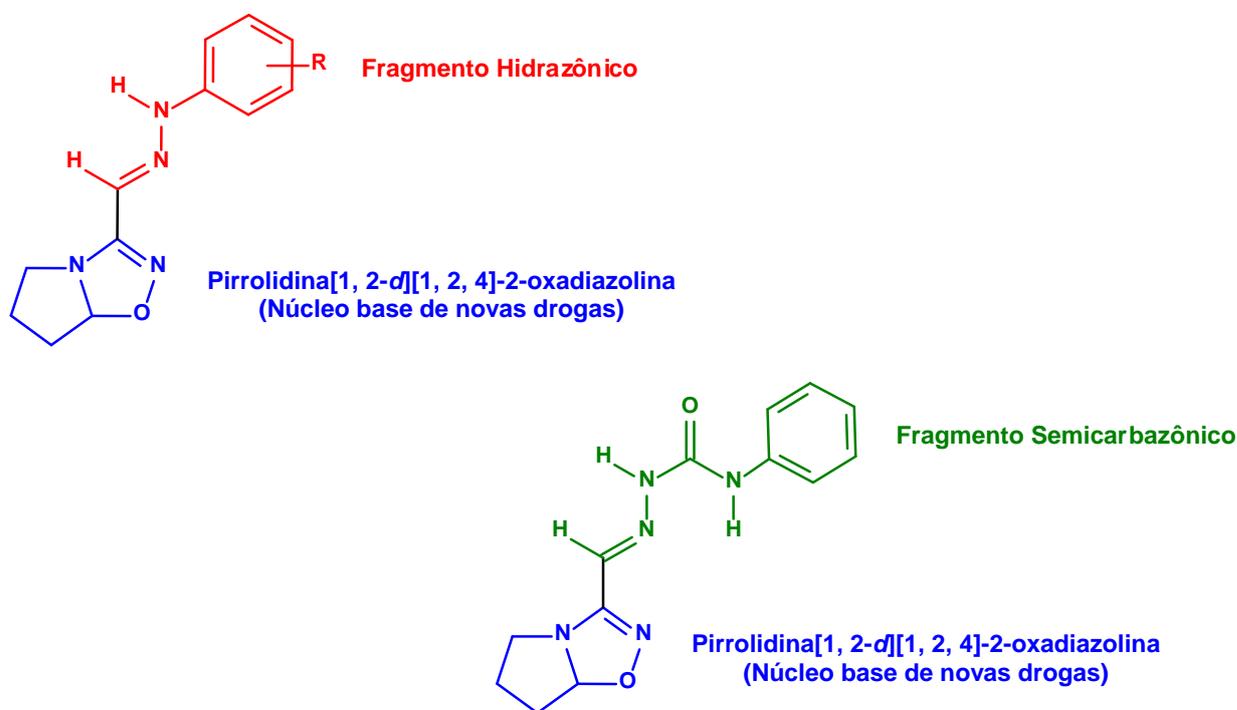
*Metodología*

## 4 – METODOLOGIA

O presente trabalho teve a finalidade de realizar a síntese de um biciclo inédito, derivado de materiais de partida ordinariamente manuseados pelo nosso grupo de pesquisa, a pirrolidina e o cloroóxidoacetato de etila. Para tanto, foi lançado mão de uma metodologia utilizada em sínteses de outros biciclos<sup>(92, 93)</sup>, que possuem como base as isoxazolininas, sendo obtido o novo heterociclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina.

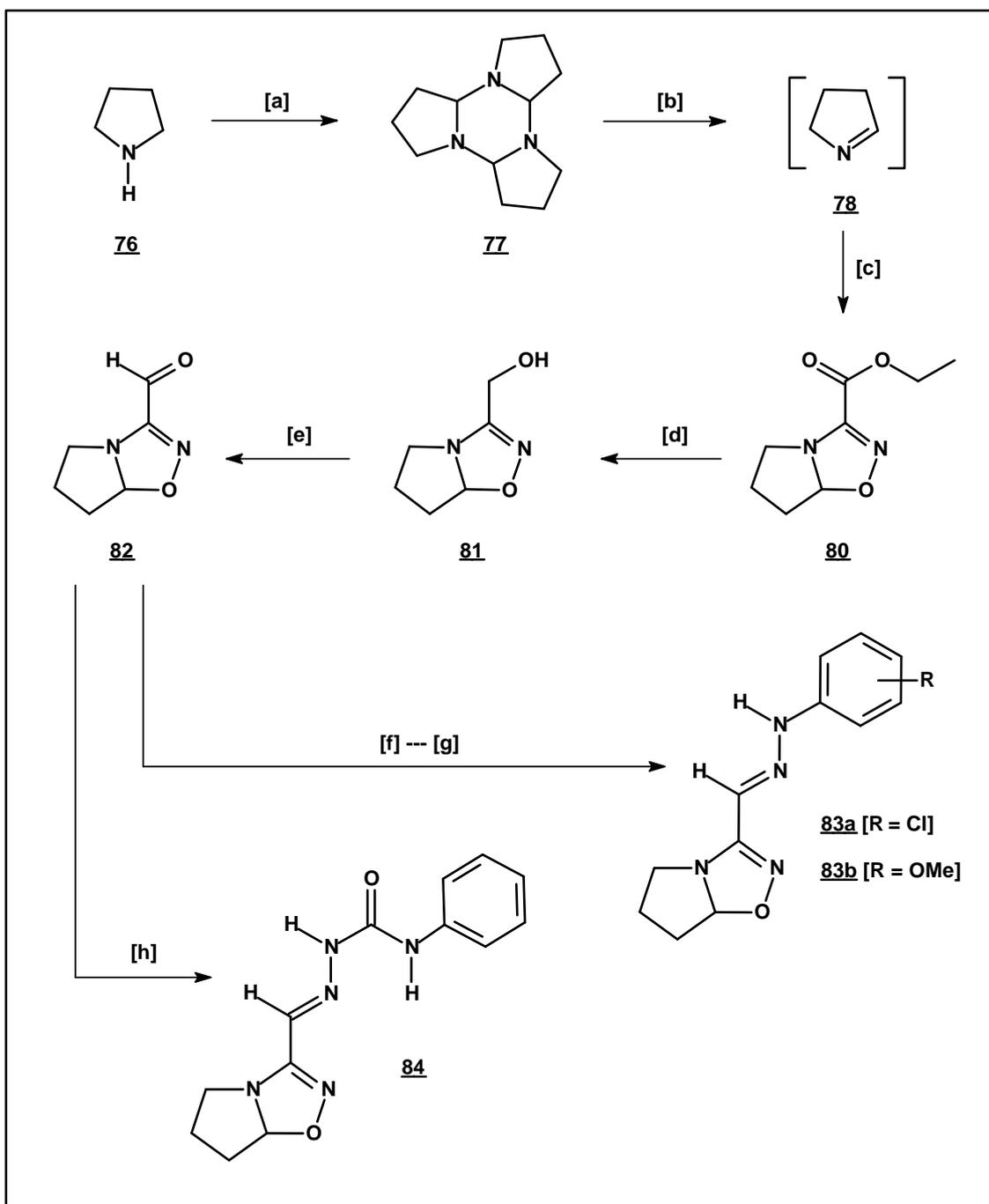
Partindo desse novo heterociclo, foi planejada a síntese de hidrazonas e semicarbazonas por meio de reações clássicas de redução e de oxidação e, enfim, para obtenção dos produtos finais, reações de condensação.

Como foi supracitado na literatura, oxadiazolininas, hidrazonas e semicarbazonas são funções-chave no que concerne a atividade biológica de inúmeras moléculas, ou seja, essas entidades químicas têm função de farmacóforos desses derivados. Por essa razão, o novo heterociclo foi utilizado como base para a síntese de novas moléculas contendo fragmentos hidrazônicos e semicarbazônicos em sua estrutura, com o propósito de posterior avaliação biológica para atividades antinociceptiva e antichagásica (Fig. 7).



**Figura 7** – Novas drogas contendo o novo heterobiciclo  $\Delta^2$ -1,2,4-oxadiazolina

Para a concepção das novas hidrazonas foram utilizadas hidrazinas *p*-substituídas, uma contendo um grupo ativante forte, e a outra contendo um desativante moderado. Para a síntese da semicarbazona, foi utilizada uma semicarbazida contendo um grupo ativante moderado (Esq. 16).



**Esquema 16** – Rota sintética de obtenção das novas hidrazonas e semicarbazona oxadiazolínicas

Este esquema representa uma visão geral das reações envolvidas nesse trabalho, visando a obtenção do novo heterociclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina, e dos derivados hidrazônicos e semicarbazônico.

O éster oxadiazolínico inédito (cicloaduto) **80** foi obtido partindo da  $\Delta^1$ -pirrolina **78**, que por sua vez, foi proveniente do seu respectivo trímero **77** derivado da pirrolidina **76** (etapas **a**, **b** e **c**). A gênese deste núcleo base deu-se por meio de cicloadição [3+2] entre a  $\Delta^1$ -pirrolina e o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) **79**, que é um derivado gerado *in situ*, quando se adiciona no meio reacional o cloroxiimidoacetato de etila **86** (etapa **c**), este sintetizado previamente, a partir do cloridrato da glicina esterificada **85**.

Uma vez que o éster oxadiazolínico **80** foi sintetizado, foi procedida sua redução, via borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), com o propósito da obtenção do respectivo álcool oxadiazolínico **81** (etapa **d**). O aldeído correspondente **82** foi sintetizado seguindo o método de oxidação de alcoóis por meio de DMSO “ativado”<sup>(60)</sup> (etapa **e**).

De posse deste composto, reações de condensação foram realizadas, utilizando hidrazinas aromáticas *p*-substituídas, com o escopo de obter as oxadiazolil-aryl-hidrazonas **83a** e **83b** (etapas **f** e **g**). Para a síntese da semicarbazona, foi utilizada a 4-fenilsemicarbazida, reagente essencial que levou a gênese da oxadiazolil-4-fenilsemicarbazona **84** (etapa **h**).

# PARTE II

## Estudo Químico

Capítulo IV

*Resultados e*

*Discussão*

Capítulo V

*Procedimentos*

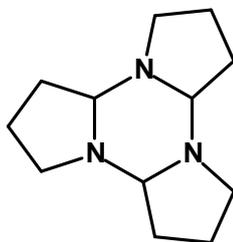
*experimentais*

## Capítulo IV

## *Resultados e Discussão*

## 5 – RESULTADOS E DICUSSÃO

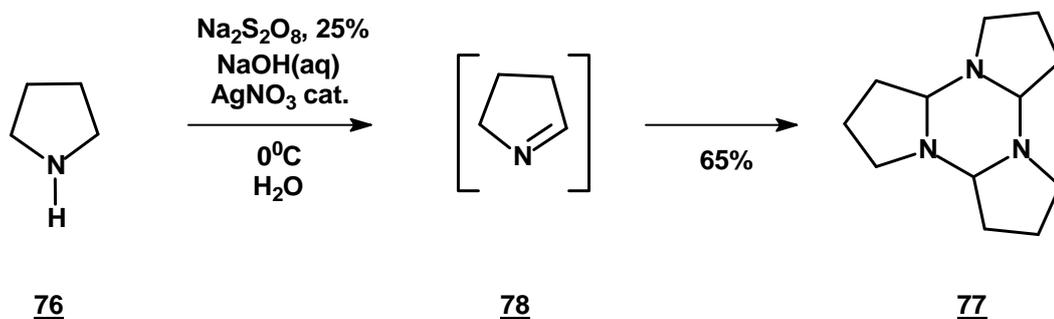
### 5.1 – PREPARAÇÃO DO TRÍMERO DA 1-PIRROLINA 77<sup>(57)</sup>



77

A  $\Delta^1$ -pirrolina 78, material de partida na síntese do novo heterobicyclo de cinco membros, foi obtida através da oxidação catalítica da pirrolidina 76 (adquirida comercialmente), pelo persulfato de sódio, em meio básico, utilizando nitrato de prata como catalisador (Esq. 17).

Devido à sua grande reatividade e instabilidade, o monômero 78 trimeriza no meio reacional, formando o respectivo trímico 77, que é isolado por extração com cloreto de metileno<sup>(58)</sup>.

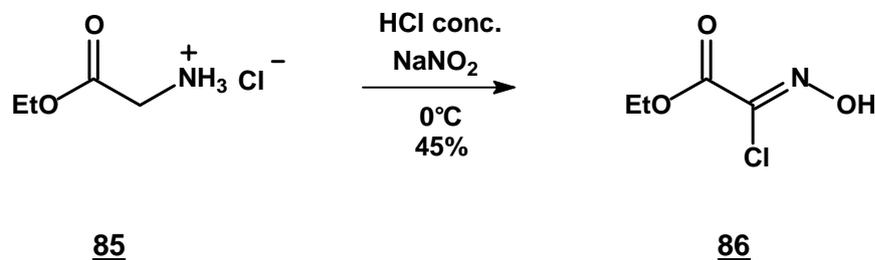


Esquema 17

### 5.2 – SÍNTESE DO CLOROOXIIMIDOACETATO DE ETILA<sup>(58)</sup>

O óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) 79, utilizado na reação de cicloadição 1,3-dipolar, foi gerado *in situ* através do seu precursor, o clorooxiimidoacetato de etila 86.

O precursor do *N*-óxido de nitrila, o clorooxiimidoacetato de etila, foi preparado através da oxidação da glicina esterificada, pelo nitrito de sódio, em meio ácido (HCl conc.) (Esq. 18).

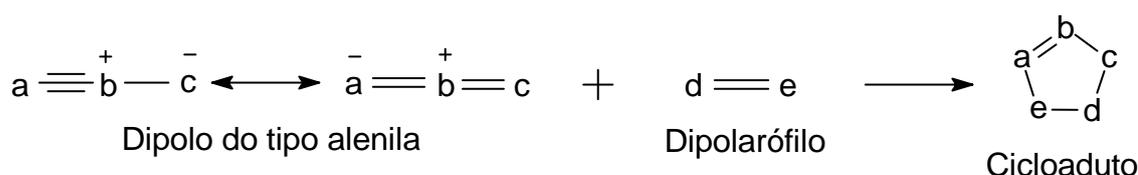


**Esquema 18**

Devido a sua grande estabilidade, ele pode ser armazenado em grandes quantidades por longo período e utilizado conforme necessidade. O precursor do dipolo foi obtido por cristalização em hexano, levando a um produto branco, com um rendimento de 45%.

### 5.3 – SÍNTESE DO ÉSTER OXADIAZOLÍNICO - CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR

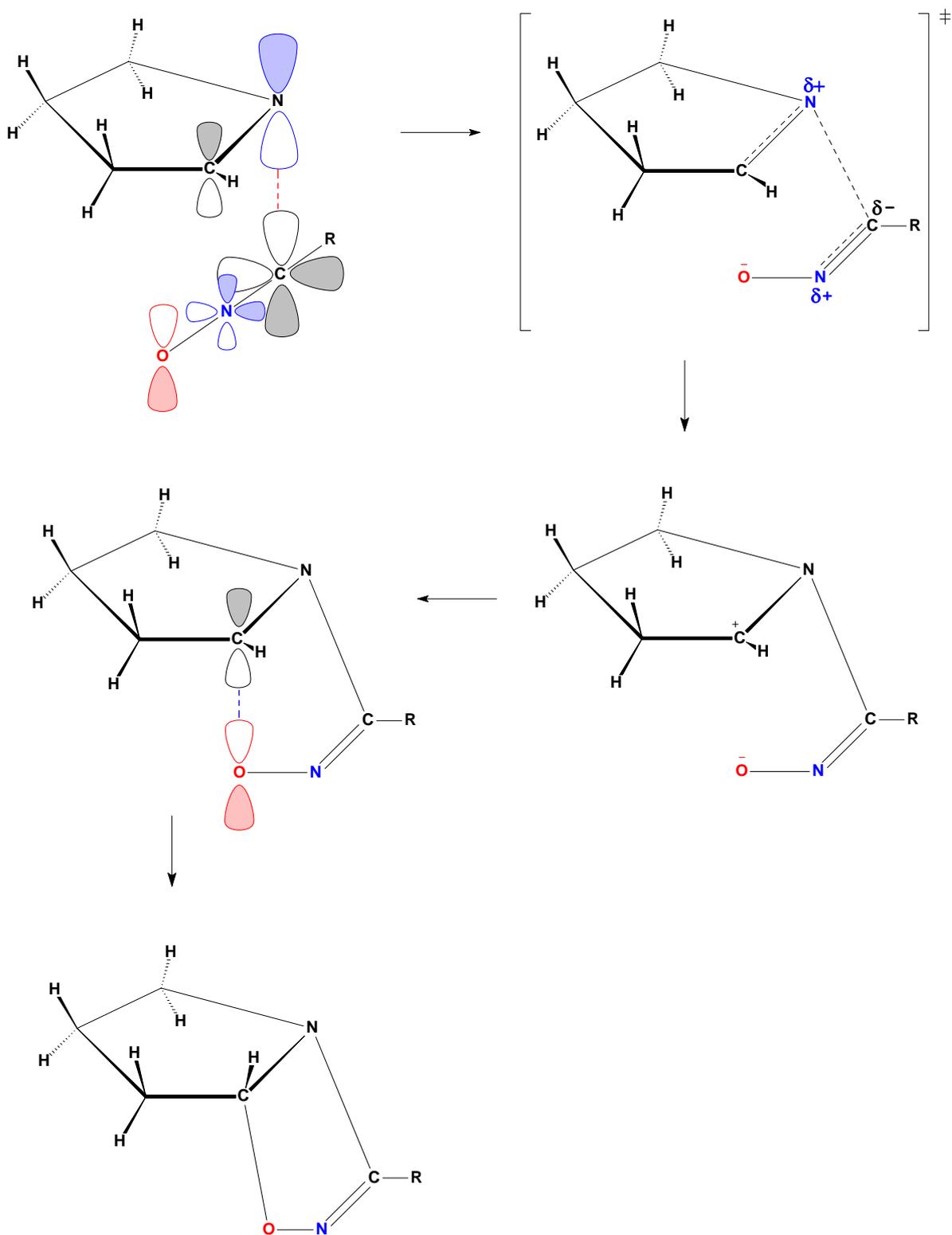
As reações de cicloadição 1,3-dipolar, ou [3+2], de um dipolo, neste trabalho o *N*-óxido de nitrila, com alquenos (dipolarófilos) envolvem quatro elétrons  $\pi$  do 1,3-dipolo, distribuídos por três átomos, e dois elétrons  $\pi$  do dipolarófilo (Fig. 8).



**Figura 8** – Reação dipolo/dipolarófilo para obtenção do cicloaduto

Estas reações são regidas pelos Orbitais Moleculares de Fronteira, HOMO e LUMO, do 1,3-dipolo e do dipolarófilo. A teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira é utilizada para explicar a regioseletividade desta cicloadição.

Uma proposta de mecanismo para as reações de cicloadição 1,3-dipolar, entre o dipolo, *N*-óxido de nitrila (óxido de carboetoxiformonitrila), e  $\Delta^1$ -pirrolina, como dipolarófilo, é apresentado no Esquema 19.



Esquema 19 – Mecanismo da reação de cicloadição 1,3-dipolar

Este modelo qualitativo reflete a via mecanicoquântica mais conveniente no tratamento dos orbitais moleculares; o *método da combinação linear de orbitais atômicos* (CLOA). Este método é definido como uma sobreposição quântica de orbitais atômicos, que consiste na adição de amplitudes de onda por interferência. Na mecânica quântica, as configurações eletrônicas dos átomos são descritas como funções de onda, que matematicamente são representadas pelos orbitais atômicos, estes sendo centrados nos átomos, como exemplo, os orbitais  $p$ , que é descrito como um par de funções centradas em dois lobos. Em reações químicas, as funções de onda são modificadas, ou seja, a forma da nuvem eletrônica é alterada, de acordo com os tipos de átomos participantes da ligação química a ser formada.

Vejamos a seguir uma descrição matemática de um modelo de orbital molecular.

$$\varphi_i = C_{1i}\chi_1 + C_{2i}\chi_2 + C_{3i}\chi_3 + \dots + C_{ni}\chi_n$$

ou

$$\varphi_i = \sum_r C_{ri}\chi_r$$

onde,  $\varphi_i$  é um orbital molecular representado como a soma de “n” orbitais atômicos  $\chi_r$ , cada um multiplicado pelo coeficiente correspondente  $C_{ri}$ . Os coeficientes são os pesos das contribuições dos “n” orbitais atômicos ao orbital molecular.

A combinação de orbitais atômicos somente será efetiva, ou seja, o orbital molecular será apreciavelmente mais estável que os orbitais atômicos, se os orbitais atômicos obedecerem a certas condições:

1. se sobrepuserem mutuamente numa considerável extensão;
2. se forem de energia comparável;
3. se tiverem a mesma simetria relativamente ao eixo de ligação.

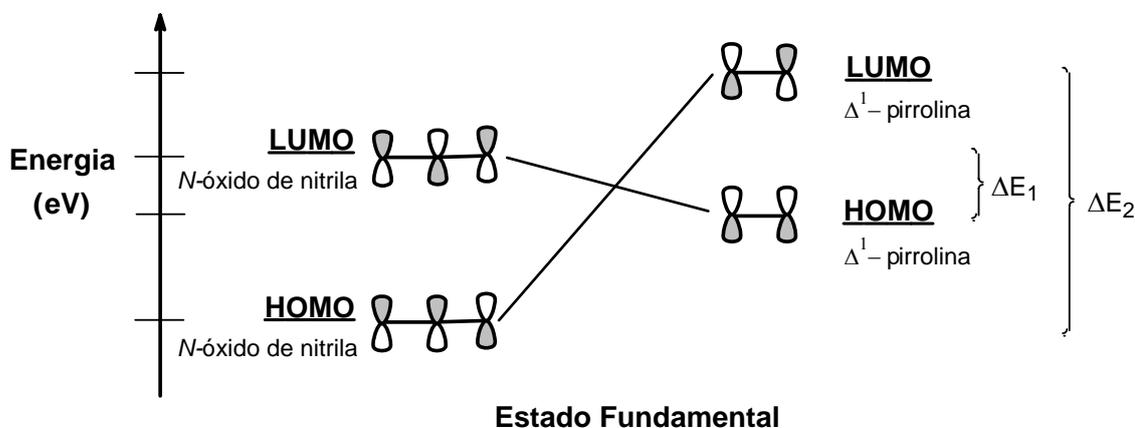
Em suma, se não houver sobreposição considerável, a energia do orbital molecular será semelhante à energia de um dos orbitais atômicos; se as energias dos orbitais atômicos forem muito diferentes, a energia do orbital molecular assemelhar-se-á ao do orbital atômico mais

estável. Em qualquer dos casos, não haverá estabilização significativa, e, portanto, a ligação química não se formará.

As reações de cicloadição dipolares são classificadas em 3 tipos, dependendo das energias relativas dos orbitais moleculares de fronteira do dipolo e do dipolarófilo: 1) Reações controladas pelos orbitais HOMO do dipolo/ LUMO do dipolarófilo, 2) Reações controladas pelos orbitais LUMO do dipolo/ HOMO do dipolarófilo e 3) Reações controladas pelos orbitais HOMO e LUMO de ambos. Portanto, uma análise dos coeficientes e dos níveis de energia dos orbitais HOMO e LUMO do dipolo e do dipolarófilo, nos indicará a possível reatividade e seletividade do sistema.

As iminas cíclicas, tais como a  $\Delta^1$ -pirrolina **78**, possuem ligação dupla rica em elétrons, e em razão disso, os respectivos orbitais HOMO são assimétricos e mais instáveis, possuindo maior energia. Em contrapartida, nos *N*-óxidos de nitrila, especialmente no óxido de carboetoxiformonitrila **79**, que possui grupamento elétron retirador (carbonila), o orbital LUMO está mais estabilizado, possuindo baixa energia relativa, fazendo com que a diferença de energia ( $\Delta E_1$ ) entre esses orbitais seja menor do que o que aconteceria no inverso (HOMO dipolo/ LUMO dipolarófilo) ( $\Delta E_2$ ). Dessa maneira, a demanda eletrônica normal provavelmente será HOMO (dipolarófilo) / LUMO (dipolo) (Fig. 9).

A análise das energias relativas de orbitais de fronteira indica que a reação de cicloadição 1,3-dipolar da  $\Delta^1$ -pirrolina com o *N*-óxido de nitrila será regida pelo HOMO da  $\Delta^1$ -pirrolina e LUMO do *N*-óxido de nitrila, levando assim a um estado de transição de menor energia.



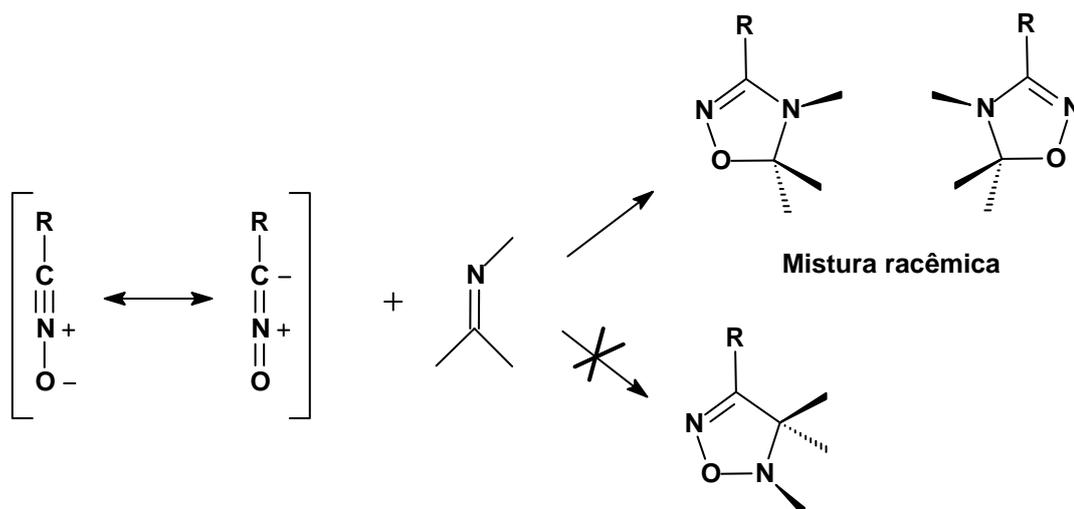
**Figura 9** – Estados de energia dos orbitais de fronteira do dipolo (*N*-óxido de nitrila) e do dipolarófilo ( $\Delta^1$ -pirrolina)

Na reação esquematizada acima (Esq. 19), é provável que ocorra inicialmente a interação frontal do orbital atômico do nitrogênio do dipolarófilo (HOMO) com o orbital atômico do carbono do dipolo (LUMO), obedecendo às três condições exigidas, formando a ligação sigma carbono-nitrogênio, após efêmera passagem pelo estado de transição. Na figura 6, nota-se principalmente a observância das condições 2 e 3, já que existe de fato a simetria relativa ao eixo de ligação, representada pela linha tracejada vermelha, como também se percebe a comparabilidade das energias dos orbitais, visto os coeficientes semelhantes dos orbitais dos participantes da ligação, que na aproximação, estão em simetria de função de onda.

Neste mecanismo, existem dois fatores que desfavorecem a formação simultânea das duas ligações sigma desta cicloadição 1,3-dipolar. A assimetria dos coeficientes orbitales tanto do dipolo como do dipolarófilo, priorizam a formação da ligação carbono-nitrogênio, que possuem coeficientes mais pronunciados, e assim, aproximação facilitada. A linearidade do dipolo é outro fator determinante, já que no posicionamento para a realização da primeira ligação, os orbitais atômicos dos participantes da segunda ligação ficam afastados, ou seja, a condição 3 não é atendida, já que seus participantes não possuem simetria em relação ao eixo da ligação a ser formada.

Após a formação da primeira ligação, e origem de um intermediário imínio dipolar, ocorre a mudança da hibridização do nitrogênio do dipolo, de  $sp$  para  $sp^2$ , o que vem a favorecer a aproximação do oxigênio do dipolo, rico em elétrons, com o carbono do dipolarófilo, deficiente em elétrons. Neste momento, a segunda ligação sigma do cicloaduto é formada, já que há novamente a observância das condições necessárias para a combinação do orbital atômico do carbono, que utilizará o LUMO, e do orbital atômico do oxigênio, que utilizará o HOMO, gerando um centro assimétrico no carbono da posição 5 do heterobicyclo oxadiazolínico.

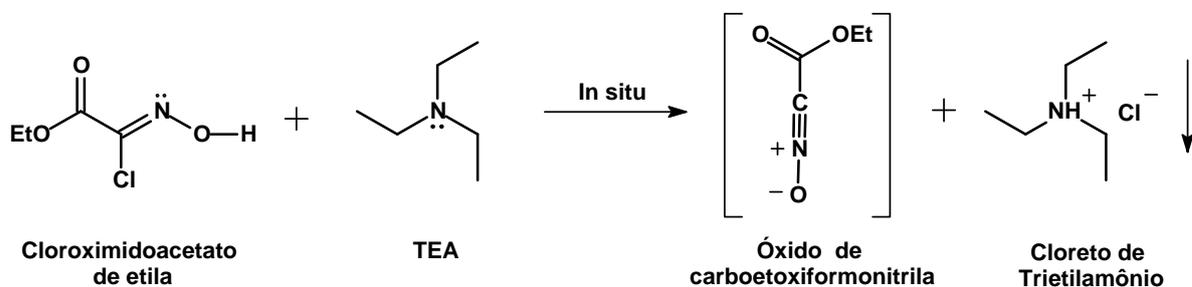
Estes fatos são determinantes para a existência da regioselectividade desta reação, já que, pelo que foi exposto, apenas dois isômeros (uma mistura racêmica) são formados, e não quatro como de fato não se esperaria, caso houvesse a formação de regioisômeros (Esq. 20).

**Esquema 20**

A reação de cicloadição 1,3-dipolar da  $\Delta^1$ -pirrolina com o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO) foi bem sucedida neste trabalho, devendo-se este fato provavelmente à grande reatividade e propriedades eletrônicas do dipolo *N*-óxido de nitrila, bem como à alta reatividade da ligação dupla da imina e da assimetria dos coeficientes orbitales dos átomos participantes da ligação  $\pi$ .

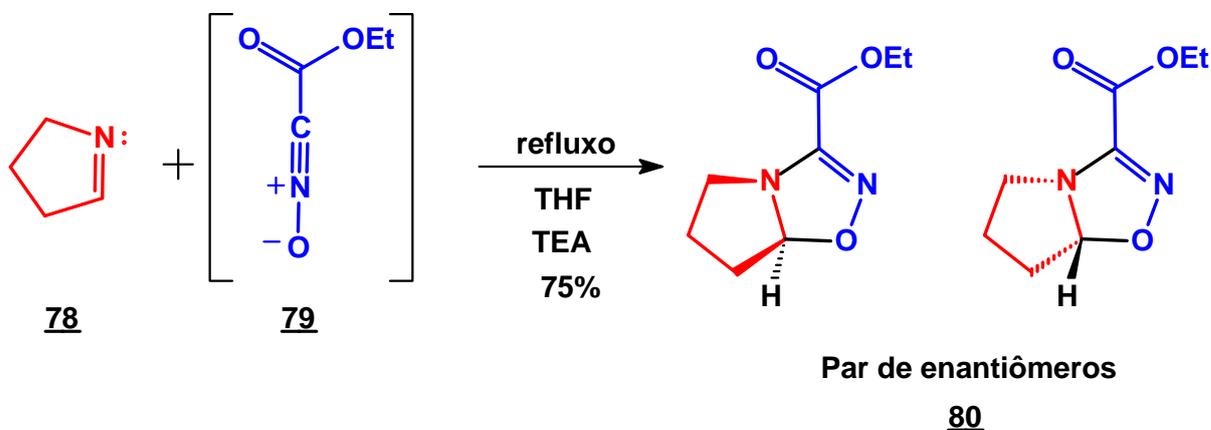
A inédita reação de cicloadição [3+2]-dipolar entre a  $\Delta^1$ -pirrolina e o óxido de carboetoxiformonitrila constitui a etapa chave do processo. Até o presente momento, não havia relatos na literatura de reações de cicloadição 1,3-dipolar envolvendo tais substâncias.

Em suma, a cicloadição desenvolvida neste estudo se processa da seguinte maneira:

**Esquema 21**

Este esquema mostra a reação, largamente utilizada, de formação do *N*-óxido de nitrila, *in situ*, partindo-se do ataque nucleófilo da trietilamina (TEA) ao cloroxiimidoacetato

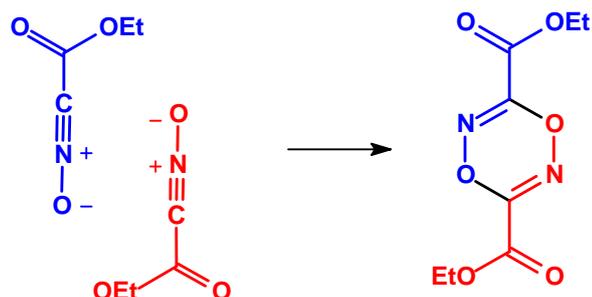
de eítla **86**, havendo, ao final, precipitação do sal cloridrato de trietilamônio no meio (Esq. 21).



À medida que o *N*-óxido de nitrila vai se formando no meio reacional, ocorre prontamente o ataque nucleofílico pela  $\Delta^1$ -pirrolina, de acordo com o modelo quantitativo descrito no esquema 19, havendo formação do novo heterociclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina racêmico, contendo a porção éster em C3 (Esq. 22).

O rendimento desta reação de cicloadição é drasticamente sensível ao tempo de adição do cloroacetimidato de etila. A adição da solução deste, em tetraidrofurano, sobre o meio reacional, é feita lentamente gota a gota. No balão reacional, o trímero da  $\Delta^1$ -pirrolina sofre destrimerização em temperatura de refluxo, produzindo-se 3 mol de monômero para cada mol de trímero. O dipolo *N*-óxido de nitrila é formado *in situ*, paulatinamente, assim que seu precursor, o cloroacetimidato de etila, entra em contato com a trietilamina (Esq. 21). A partir deste momento, inicia-se a cicloadição entre o dipolo e o dipolarófilo.

A adição do precursor deve ser lenta, pois à medida que o dipolo é formado, ocorre uma reação secundária de dimerização do *N*-óxido de nitrila (Esq. 23). A adição rápida do precursor leva à formação de uma grande quantidade do dímero, havendo perdas na concentração do dipolo no meio reacional, acarretando em uma diminuição no rendimento da reação. Para que este problema fosse amenizado, adicionamos ao meio reacional dois equivalentes do precursor, realizando-se as adições de cada equivalente em momentos diferentes do decorrer da reação.



Esquema 23

Utilizou-se o solvente aprótico tetraidrofurano (THF) para execução desta reação por este ser um solvente moderadamente polar e, portanto, apto a solubilizar uma grande variedade de substâncias orgânicas polares e não-polares, bem como por ser de fácil remoção do meio reacional após o término da reação, já que possui baixo ponto de ebulição ( $\approx 66^\circ\text{C}$ ).

Os resultados foram confirmados a partir da identificação do novo biciclo oxadiazolínico pirrolidínico pelos métodos espectrométricos de RMN de  $^{13}\text{C}$  e de  $^1\text{H}$ , IV e LC/MS-IT-TOF. Os sinais “diagnósticos”, bastante característicos do novo heterociclo, são respectivamente 5,88 ppm em RMN de  $^1\text{H}$  e 102,3 ppm em RMN de  $^{13}\text{C}$ , que determinam a formação do cicloaduto e a regioquímica da reação.

Na figura 10, é apresentado o éster oxadiazolínico **80** com os dados espectrométricos (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ ). Os deslocamentos químicos estão em ppm.

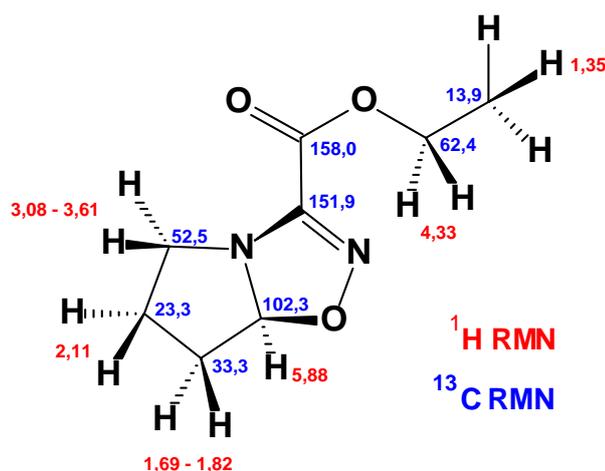


Figura 10 – Pormenorização dos deslocamentos químicos do éster oxadiazolínico **80**.

Nas figuras 11, 12 e 13 são mostrados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e IV-FT do éster oxadiazolínico **80**.

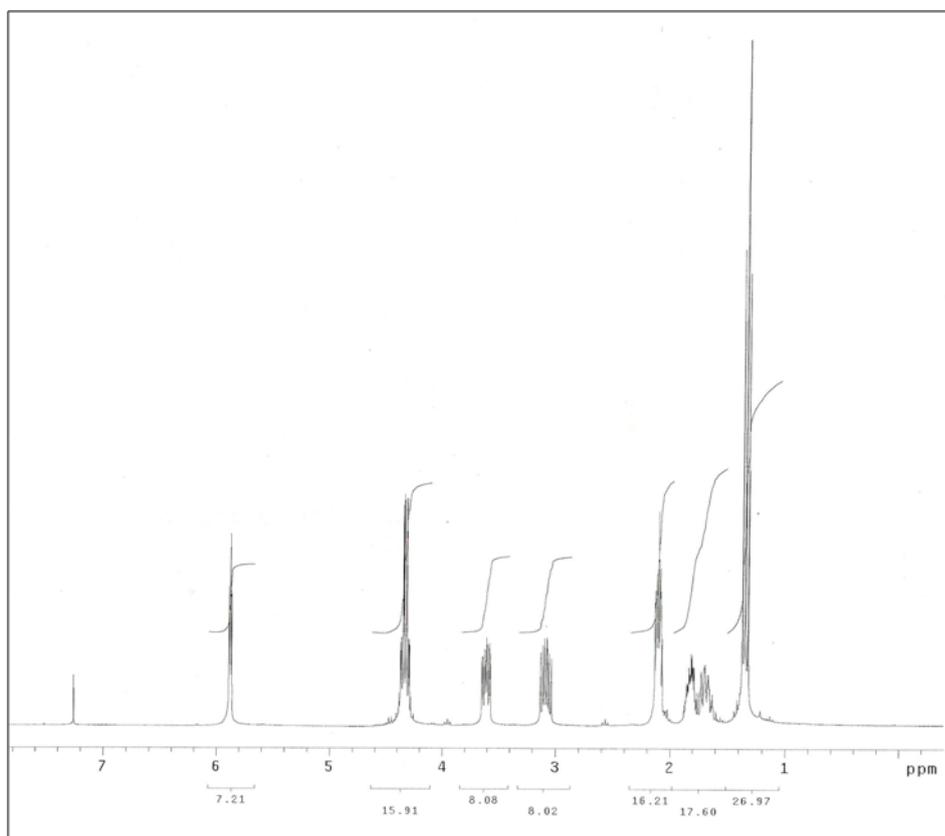


Figura 11 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz do éster oxadiazolínico **80**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

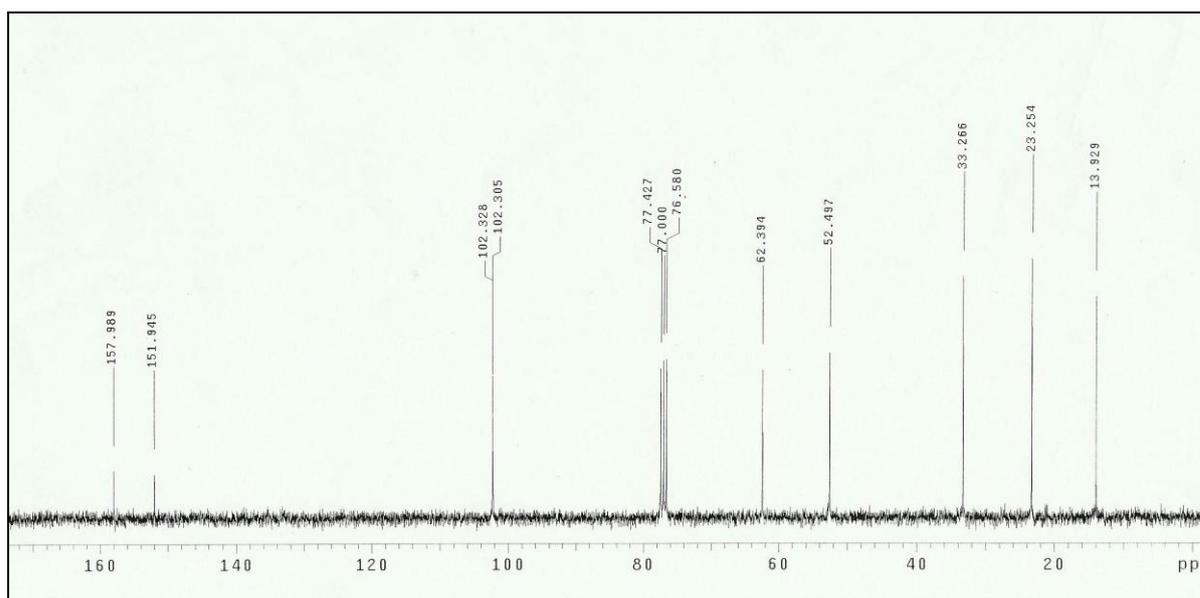
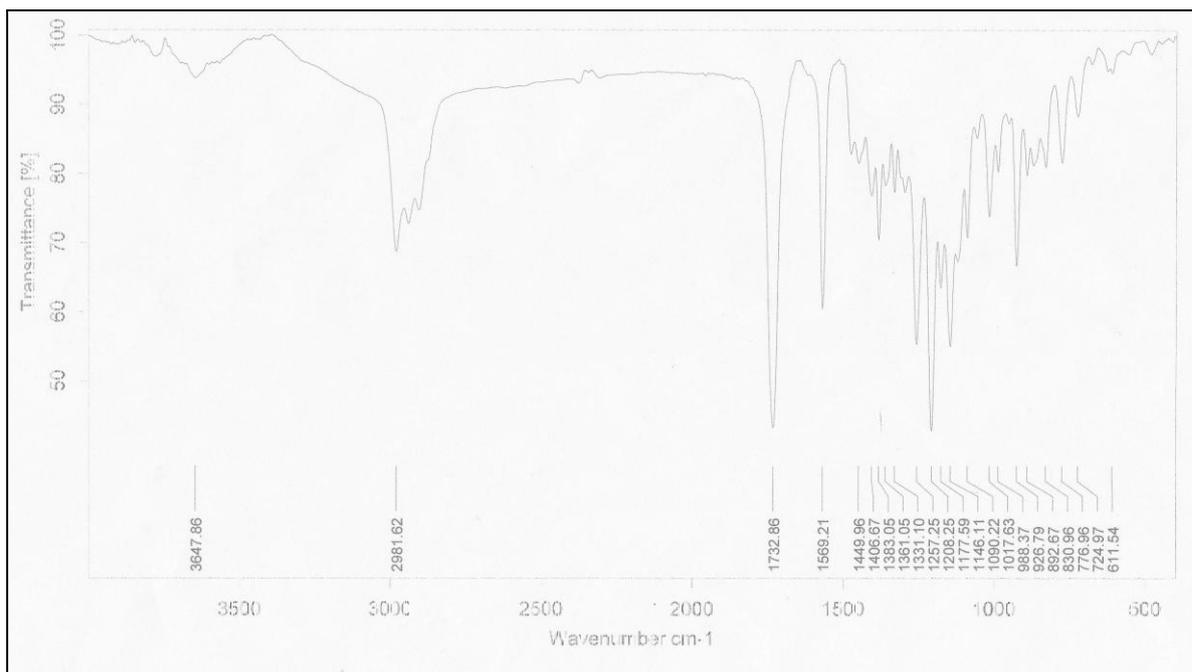


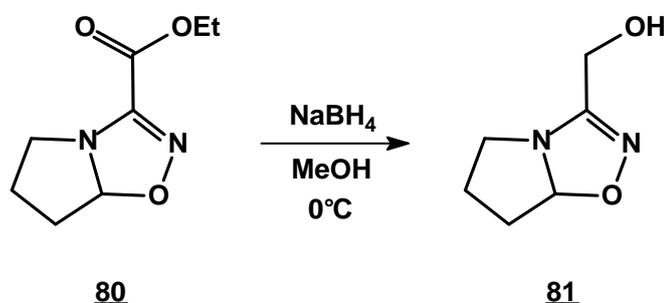
Figura 12 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz do éster oxadiazolínico **80**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .



**Figura 13** - Espectro no infravermelho (Janela de KBr, cm<sup>-1</sup>) do éster oxadiazolínico **80**.

Na análise espectrométrica de massas (GCMS–EI) foi evidenciado o pico base em  $m/z$  111, bem como o pico do íon-molecular em  $m/z$  184, corroborando a massa do novo éster oxadiazolínico.

Todos estes resultados primeiramente foram confirmados experimentalmente, através do acompanhamento das reações por CCF, onde se percebe a formação de apenas um produto. Isto confirma todo o estudo teórico da reação (Esq. 19), evidenciando a alta regioselectividade esperada.

5.4 - SÍNTESE DO ÁLCOOL OXADIAZOLÍNICO **81** <sup>(59)</sup>

Esquema 24

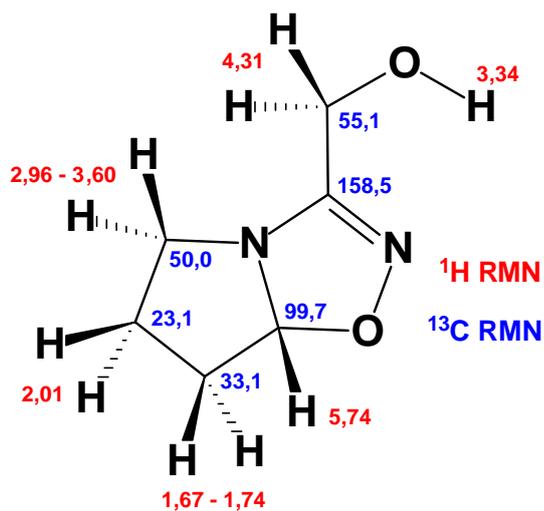
Em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa, tentou-se a redução direta do éster em C3 ao respectivo aldeído, porém não se logrou êxito<sup>(92)</sup>. Utilizando-se DIBAL-H ou superhidreto [(Et<sub>3</sub>AlH)Li], o éster permaneceu intacto no meio reacional. Uma possibilidade para contornar este problema, seria a redução do éster ao respectivo álcool em C3.

Para tanto, foi utilizado o borohidreto de sódio, NaBH<sub>4</sub>, com o qual foi obtido o álcool com ótimos rendimentos (Esq. 24). Inicialmente tentou-se a utilização do metanol sem que este sofresse secagem prévia, o que levou a obtenção de um rendimento moderado de 54%. Porém, após um processo de otimização desta reação, por utilização do solvente alcoólico seco em presença de magnésio e iodo, na proporção de 10:1 (m/m), alcançaram-se rendimentos que sofreram incremento a cada reação realizada.

A primeira reação executada utilizando metanol seco resultou num rendimento de 89%, ou seja, 1,6 vezes maior que o da reação onde não se processou secagem do solvente. Em reações subsequentes, buscando ainda aperfeiçoar o rendimento, foi alcançado 90%, e posteriormente, 95% de rendimento, com surpreendente incremento que se aproximou ao quantitativo.

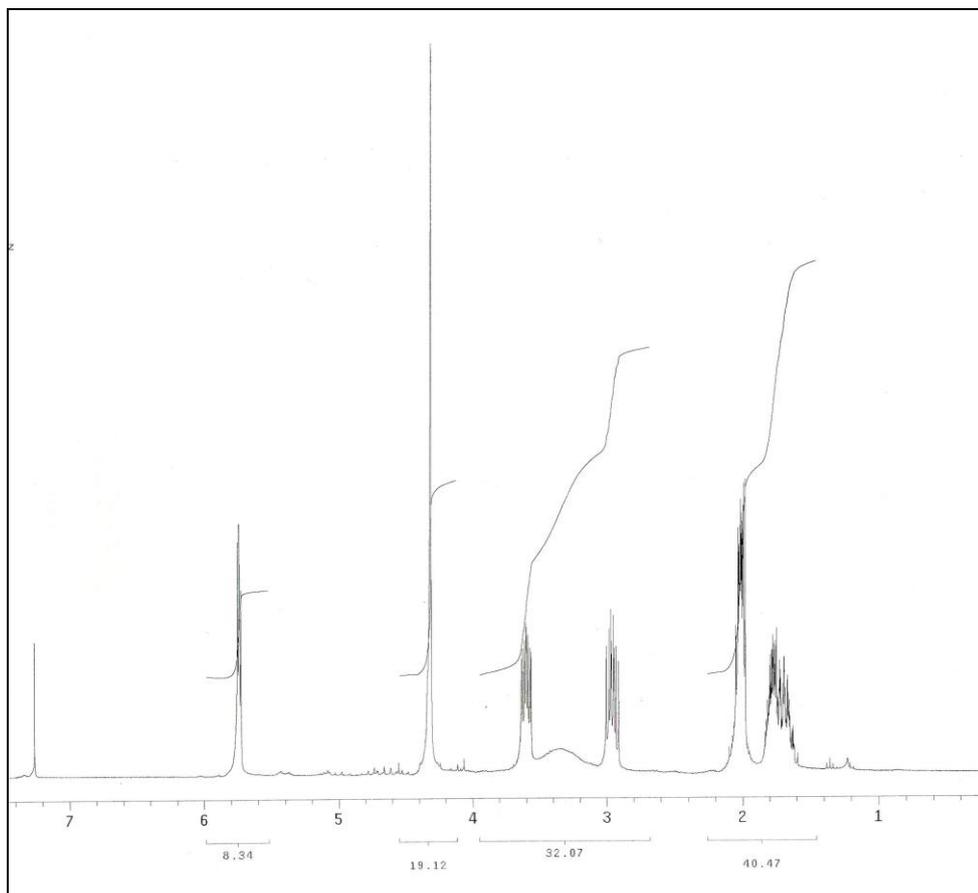
A temperatura foi outro parâmetro que também influenciou na melhoria do rendimento da reação, de modo que, a elevação de 0°C até a temperatura ambiente provocou o consumo mais rápido de todo o material de partida, necessitando de menor quantidade de tempo para finalizar esta reação.

Na figura 14, é apresentado o álcool oxadiazolínico **81** com os dados espectrométricos (RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C). Os deslocamentos químicos estão em ppm.



**Figura 14** – Pormenorização dos deslocamentos químicos do álcool oxadiazolínico **81**.

Nas figuras 15, 16 e 17 são mostrados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e IV-FT do álcool **81**.



**Figura 15** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz do álcool oxadiazolínico **81**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

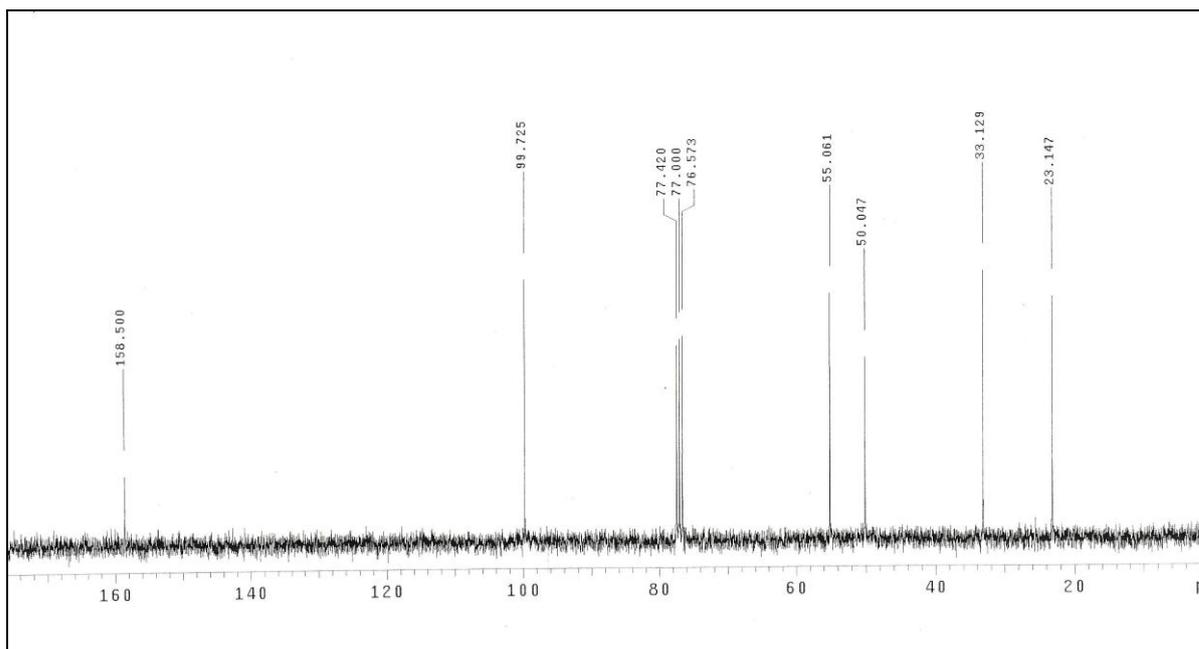


Figura 16 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz do álcool oxadiazolínico **81**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

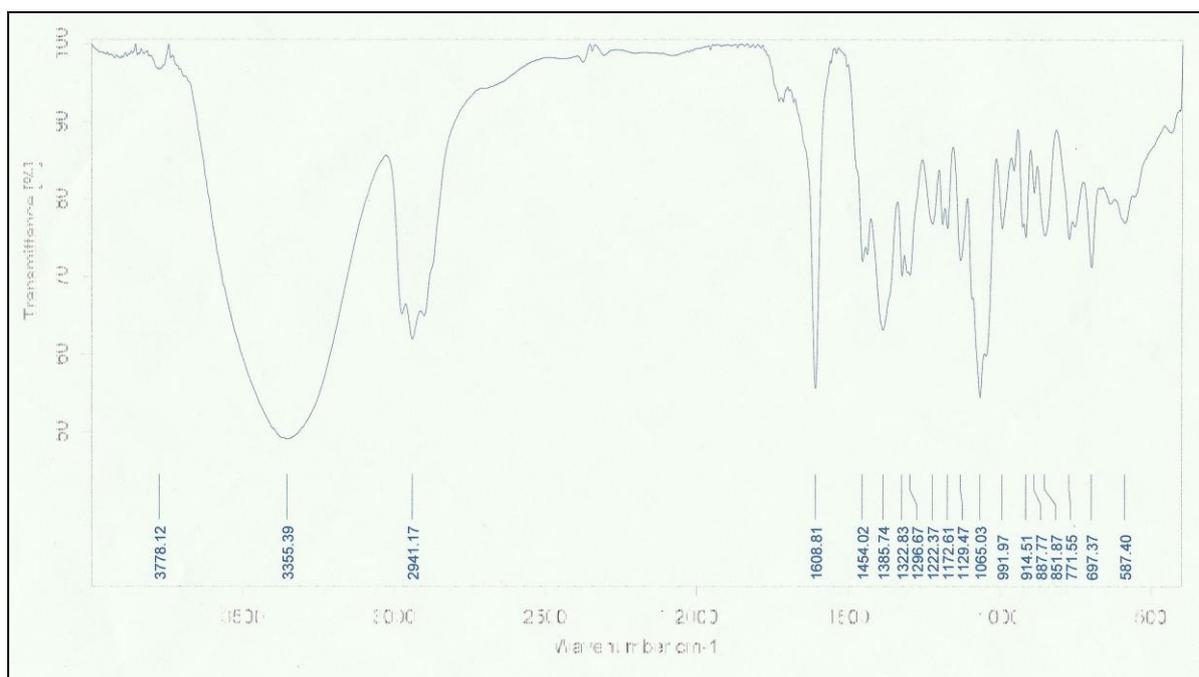
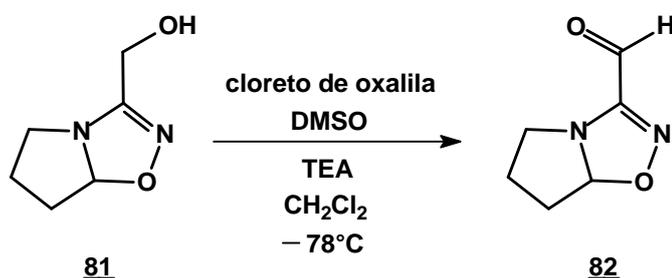


Figura 17 - Espectro no infravermelho (Janela de KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) do álcool oxadiazolínico **81**.

Os hidrogênios metilênicos do grupamento hidroximetila do álcool **81** foram evidenciados em um singlete no RMN de  $^1\text{H}$ , em 4,31 ppm, enquanto o hidrogênio da hidroxila mostrou-se como um singlete largo em 3,34 ppm. O álcool **81** também apresentou, no espectro de IV-FT, a banda característica em torno de 3355  $\text{cm}^{-1}$ , relativamente larga e

intensa, caracterizando o estiramento da ligação O-H do grupamento hidroximetila em C3. Outra região do IV também corrobora a conversão do éster **80** no álcool, com o desaparecimento da banda intensa em  $1732\text{ cm}^{-1}$ , referente à carbonila do éster em C3.

A massa do álcool foi confirmada por análise em GCMS-EI, onde nota-se o pico base em 58 m/z e o pico do íon-molecular em 142 m/z.

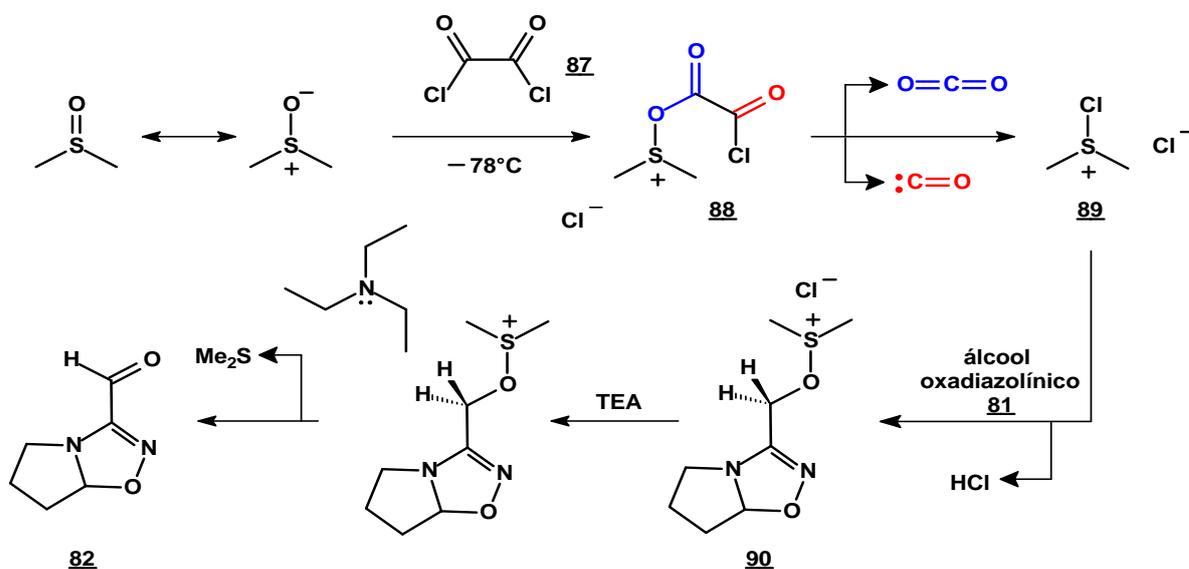
5.5 – SÍNTESE DO ALDEÍDO OXADIAZOLÍNICO **82**

Esquema 25

Para a execução da reação de oxidação do álcool oxadiazolínico **81** ao respectivo aldeído **82**, foi utilizado o método do DMSO “ativado”, ou, como é mais conhecido, oxidação de Swern (Esq. 25). Neste método, o DMSO é “ativado” pelo cloreto de oxalila **87** a baixas temperaturas, em cloreto de metileno, que reage rapidamente com álcoois para produzir sais alcoxissulfônio **90**, conversíveis a carbonilas (aldeídos) com rendimentos de moderados a elevados, sob a adição de trietilamina (Esq. 26).<sup>(60)</sup>

A oxidação de Swern é uma oxidação branda, que nos permitiu chegar ao aldeído oxadiazolínico **82** com ótimos rendimentos, sem que exista a possibilidade de se formar o correspondente ácido carboxílico, o que poderia acontecer se fosse utilizado outro tipo de oxidação, tal como a oxidação de Jones.<sup>(91)</sup>

A oxidação do álcool oxadiazolínico ao respectivo aldeído se processou segundo o mecanismo descrito no esquema 26.

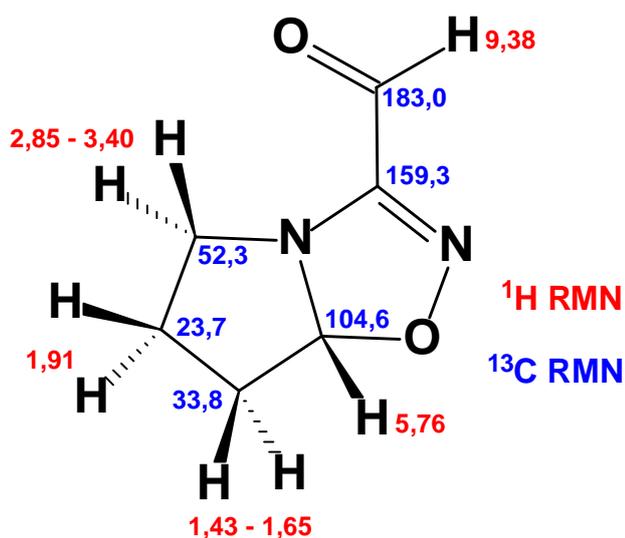


Esquema 26

A primeira etapa da oxidação de Swern é a reação do dimetilsulfóxido (DMSO) com o cloreto de oxalila **87**. O primeiro intermediário **88** rapidamente se decompõe liberando dióxido e monóxido de carbono, produzindo o cloreto de dimetilclorosulfônio **89**. Após a adição do álcool oxadiazolínico **81**, o cloreto reage com o álcool para formar o intermediário-chave, catiônico, alcoxisulfônio **90**. Com a adição de dois equivalentes de trietilamina, o intermediário será desprotonado, havendo liberação de dimetilsulfeto e resultando no aldeído desejado **82**, após passagem por um estado de transição cíclico de cinco membros, que se apresenta como um ílideo. Após esta última reação, ainda se forma no meio o cloreto de trietilamônio como produto secundário.

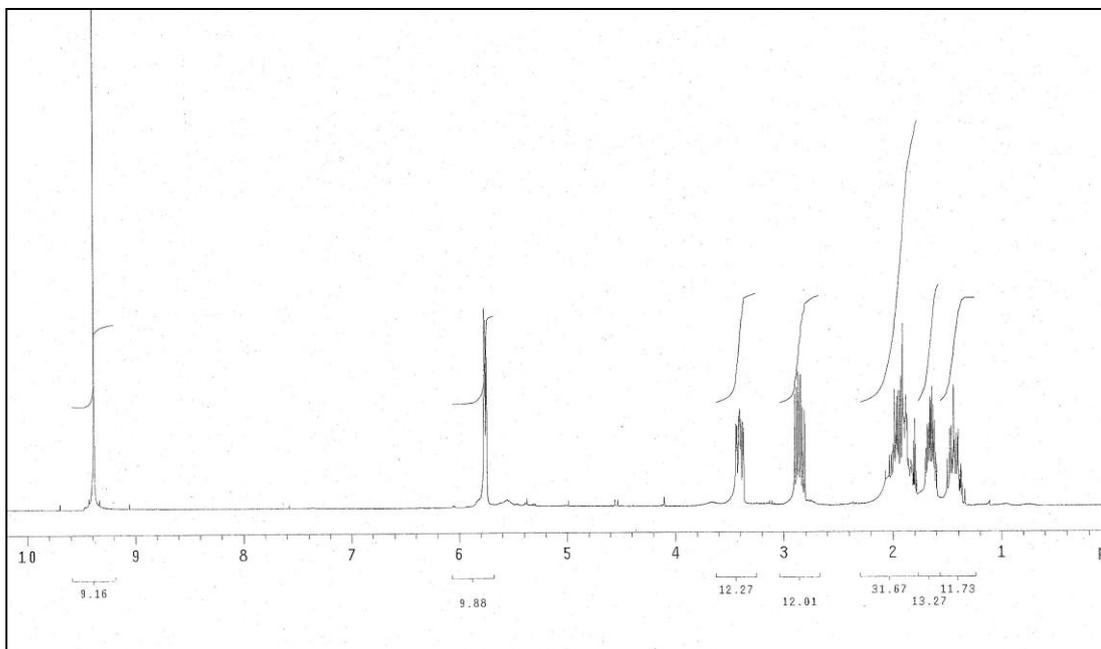
Como a reação de obtenção do álcool **81**, esta foi da mesma maneira, uma reação onde se aperfeiçoou o rendimento no decorrer de várias repetições. Na primeira tentativa, obteve-se um modesto rendimento de 54%. Com a mudança do tempo de adição da trietilamina, o rendimento foi elevado para 62%, e em outra tentativa, foi conseguido ainda um incremento para 76%.

Na figura 18, é apresentado o aldeído oxadiazolínico **82** com os dados espectrométricos (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ ). Os deslocamentos químicos estão em ppm.

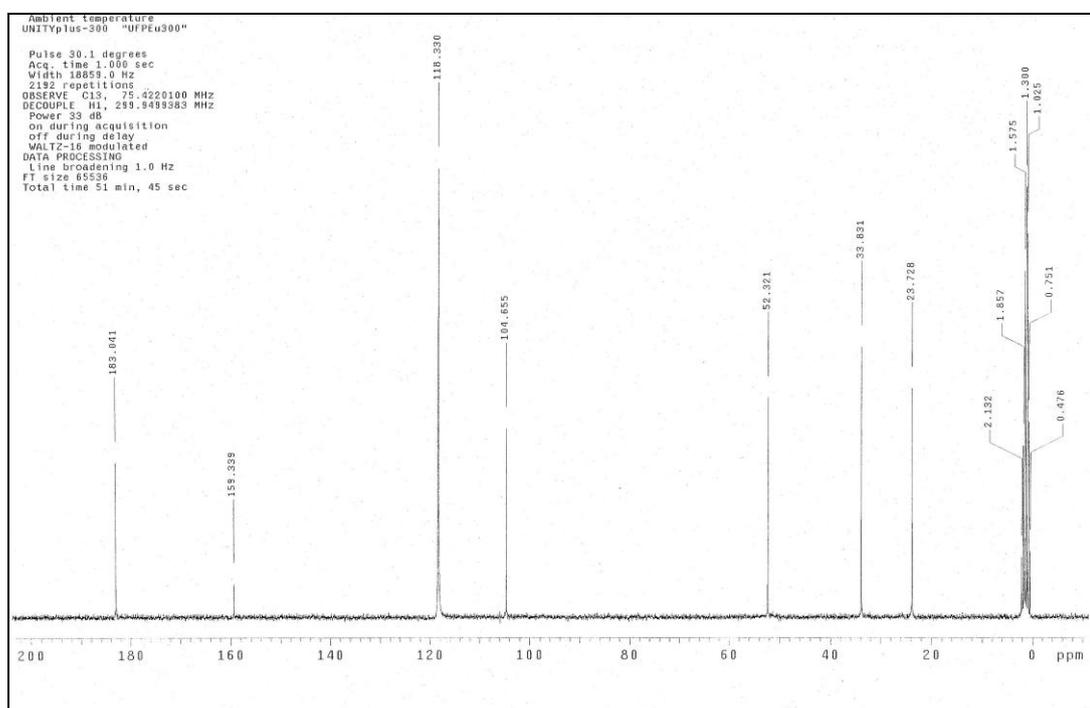


**Figura 18** – Pormenorização dos deslocamentos químicos do aldeído oxadiazolínico **82**.

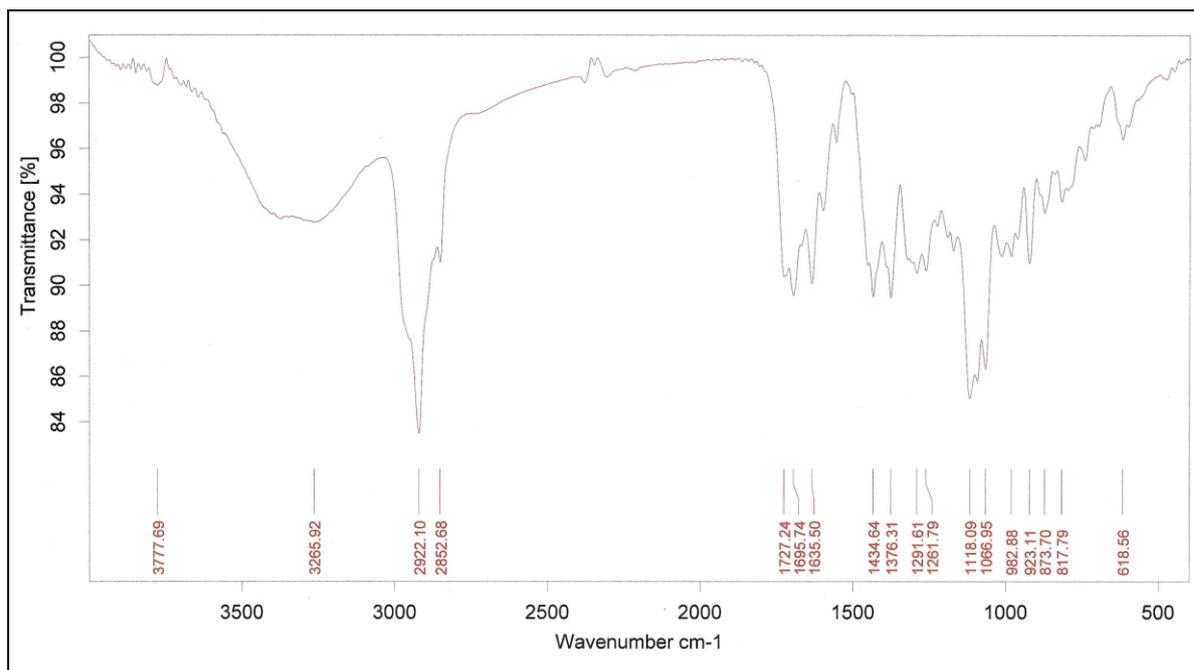
Nas figuras 19, 20 e 21 são mostrados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e IV-FT do aldeído **82**.



**Figura 19** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz do aldeído oxadiazolínico **82**. Solvente  $\text{CD}_3\text{CN}$ .



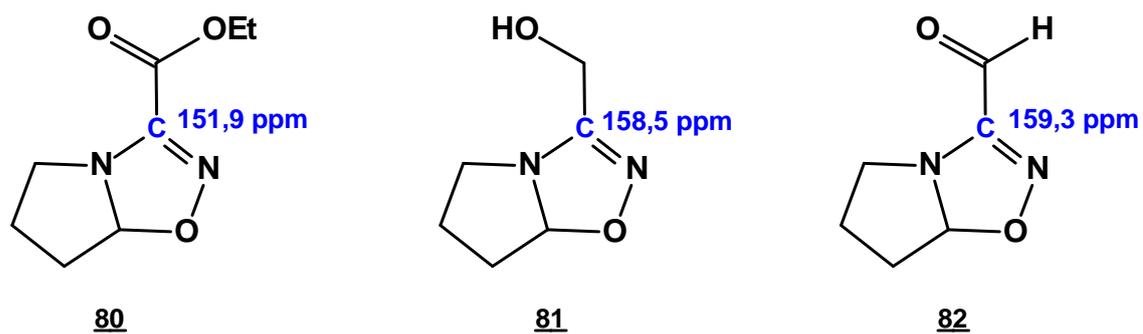
**Figura 20** - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz do aldeído oxadiazolínico **82**. Solvente  $\text{CD}_3\text{CN}$ .



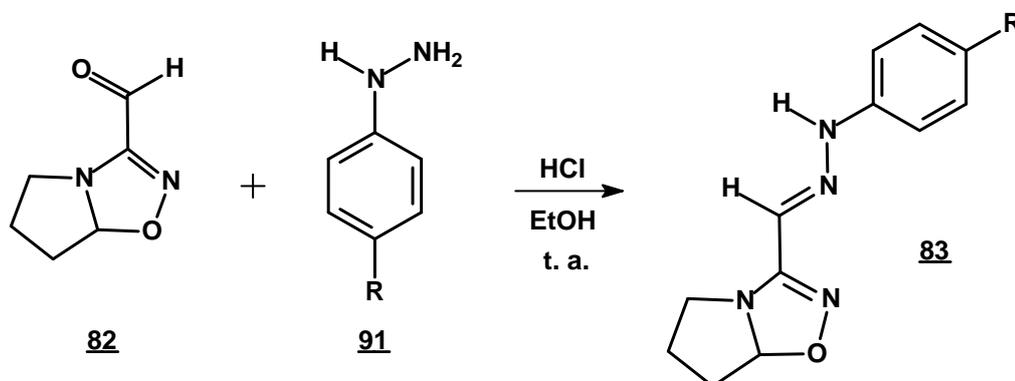
**Figura 21** - Espectro no infravermelho (Janela de KBr, cm<sup>-1</sup>) do aldeído oxadiazolínico **82**.

Nas análises espectroscópicas de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C, foram evidenciados os picos característicos em 9,38 ppm para o hidrogênio da carbonila e 183 ppm para o carbono da carbonila. No IV-FT, o aldeído apresentou uma banda intensa em 1727 cm<sup>-1</sup>, característica do estiramento da carbonila do aldeído, inexistente no IV-FT do álcool de partida. Diferentemente das duas substâncias anteriores, **80** e **81**, a espectrometria de massa do aldeído foi realizada em HRMS-IT-TOF, em que foi corroborada a sua massa com valor de M<sup>+</sup> + 1 de 141,0636, frente ao valor teórico calculado de 140,0586.

Um fato curioso que despertou atenção surgiu quando se comparou os espectros de RMN de <sup>13</sup>C das três moléculas iniciais, o éster **80**, o álcool **81** e o aldeído **82**. Quando analisamos o carbono da posição três do heterociclo oxadiazolínico, foi percebida a gradativa desproteção deste à medida que se alteram as funções orgânicas ligadas diretamente a ele (Fig. 22). Este fato se deve provavelmente a modificação da vizinhança eletrônica deste carbono, já que o grau de oxidação do carbono vizinho altera-se quando se comparam essas substâncias.



**Figura 22** – Aumento da desproteção do carbono 3 do anel oxadiazolínico

5.6 – SÍNTESE DAS OXADIAZOLIL-ARIL-HIDRAZONAS **83**

Esquema 27

Tabela 1 – Substituintes e rendimentos das oxadiazolil-aril-hidrazonas

| COMPOSTO   | SUBSTITUINTE | RENDIMENTO (%) |
|------------|--------------|----------------|
| <b>83a</b> | (R=Cl)       | 54             |
| <b>83b</b> | (R = OMe)    | 47             |

As oxadiazolil-aril-hidrazonas **83** foram obtidas a partir da condensação do aldeído oxadiazolínico **82** com fenil-hidrazinas *p*-substituídas **91**, adquiridas comercialmente (Esq. 27). A reação se processou rapidamente, ocorrendo precipitação da hidrazona no meio reacional em cerca de 1 hora. Após a filtração e lavagem do precipitado, as oxadiazolil-aril-hidrazonas **83** foram obtidas como sólidos (amarelo/castanho), que foram purificados e identificados por espectrometria de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN, IV-FT e HRMS-IT-TOF.

O rendimento da reação de condensação para a obtenção da hidrazona **83b** (Tab. 1) apresentou-se um pouco abaixo do intervalo relatado na literatura,<sup>(13, 30)</sup> que se mostra em torno de 50%-60%, para condensações similares com outros aldeídos. Este fato encontra sua explicação no processo de purificação das amostras, que envolveu sucessivas filtrações, extrações e realização de cromatografia em coluna, levando à extensa perda de produto.

Houve formação de um único produto de condensação, conforme CCD e análise dos espectros de RMN, levando a crer que apenas a hidrazona diastereoisomérica de configuração “E” tenha sido formada. Como ainda não existem relatos de 1,2,4-oxadiazolil-aril-hidrazonas bicíclicas na literatura, a análise comparativa de deslocamentos químicos dos hidrogênios azometínicos,  $\text{R}_1\text{N}=\text{CR}_2\text{H}$ , principal sinal que evidencia a síntese de hidrazonas, torna-se

inexequível. Fato importante é que, tais hidrogênios têm seus sinais geralmente coincidentes com os sinais dos hidrogênios aromáticos, no caso deste produto, perto de 7,33 ppm para o azometínico, sendo detectada a presença dos mesmos pela integração dos sinais.

A hidrazona oxadiazolínica **83a** apresentou um singlete próximo a 9 ppm na RMN de  $^1\text{H}$ , correspondendo ao hidrogênio NN–H da função hidrazona. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  da hidrazona **83b** apresentaram inconsistências em relação aos deslocamentos químicos do carbono da junção do anel, bem como do hidrogênio ligado a ele, utilizando  $\text{CDCl}_3$  como solvente, quando comparado ao espectro da hidrazona **83a**. No entanto, os sinais referentes aos outros hidrogênios e carbonos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de **83b** foram coerentes, assim como as análises no IV-FT e em HRMS-IT-TOF. Como a análise de RMN da hidrazona **83a** foi realizada em  $\text{CD}_3\text{CN}$ , planeja-se repetir as análises espectrométricas de **83b** com este solvente, visando dirimir dúvidas quanto à influência do solvente nos deslocamentos químicos. No IV-FT, uma banda pouco intensa em  $3380\text{ cm}^{-1}$  denotou estiramento N–H, já outra bastante intensa próximo de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , evidenciou o estiramento C–H alifático, sendo este o hidrogênio azometínico. A espectrometria de massas das hidrazonas, realizadas em HRMS-IT-TOF, corroboraram suas massas, com valores de  $M^+ + 1$  de 265,0840 para **83a** e de 261,1372 para **83b**, frente a valores teóricos calculados de 264,0778 para **83a** e 260,1273 para **83b**.

Na figura 23, é apresentada a oxadiazolil-aril-hidrazona **83a** com os dados espectrométricos (RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ ). Os deslocamentos químicos estão em ppm.

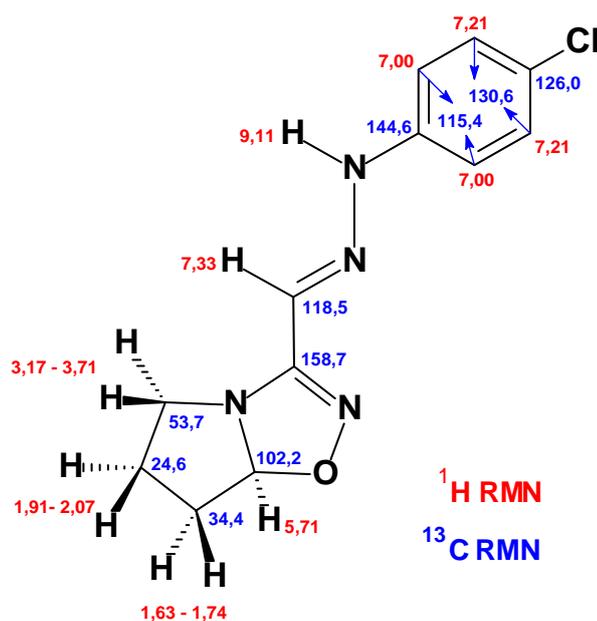


Figura 23 - Pormenorização dos deslocamentos químicos da oxadiazolil-aril-hidrazona **83a**.

Nas figuras 24, 25, 26, 27, 28 e 29 são mostrados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e IV-FT das oxadiazolil-aril-hidrazonas **83a** e **83b**.

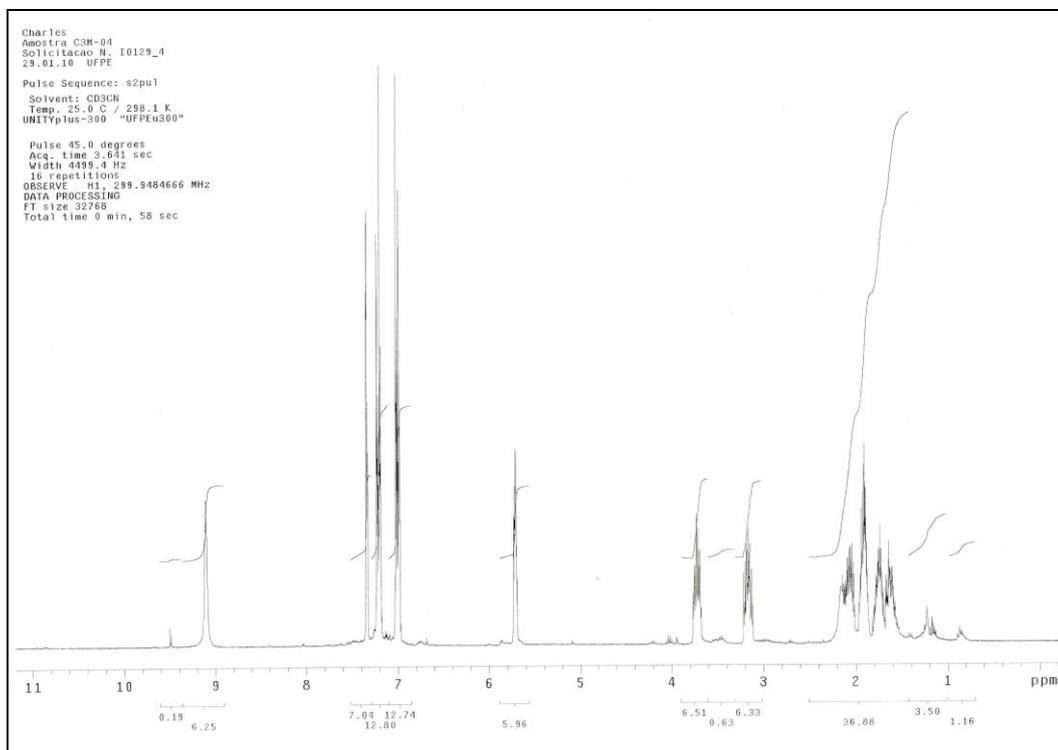


Figura 24 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona **83a**. Solvente  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

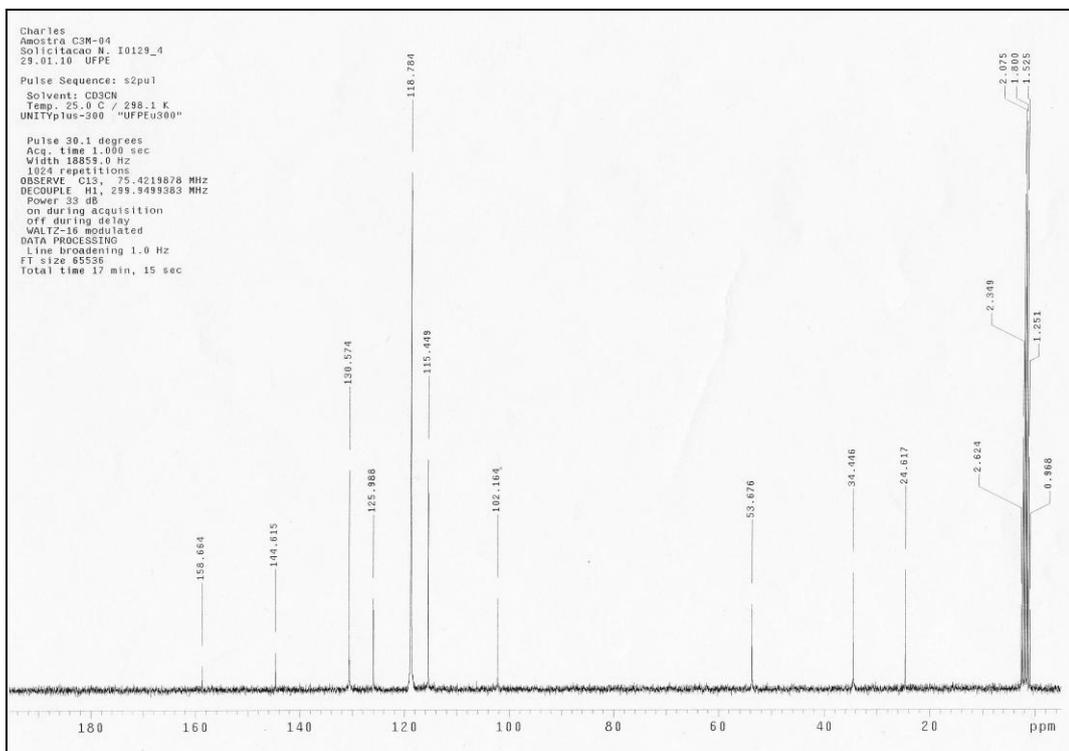


Figura 25 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona **83a**. Solvente  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

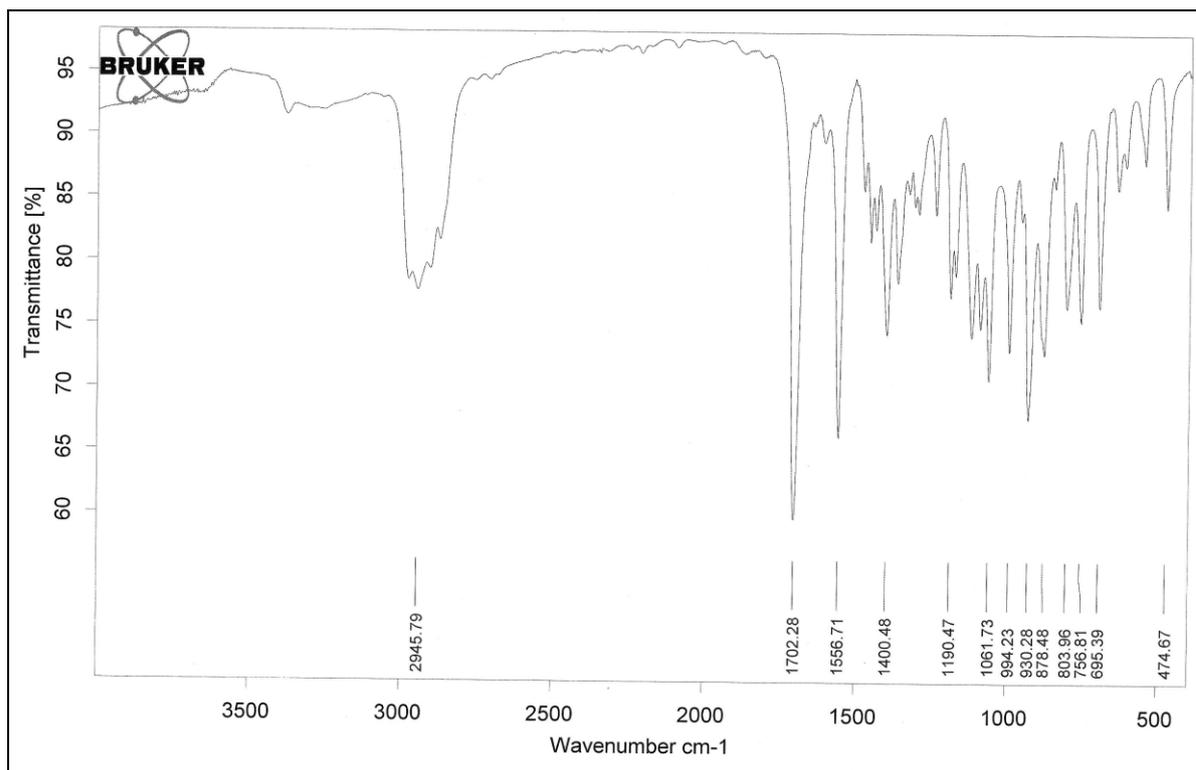


Figura 26 - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) da oxadiazolil-aril-hidrazona **83a**.

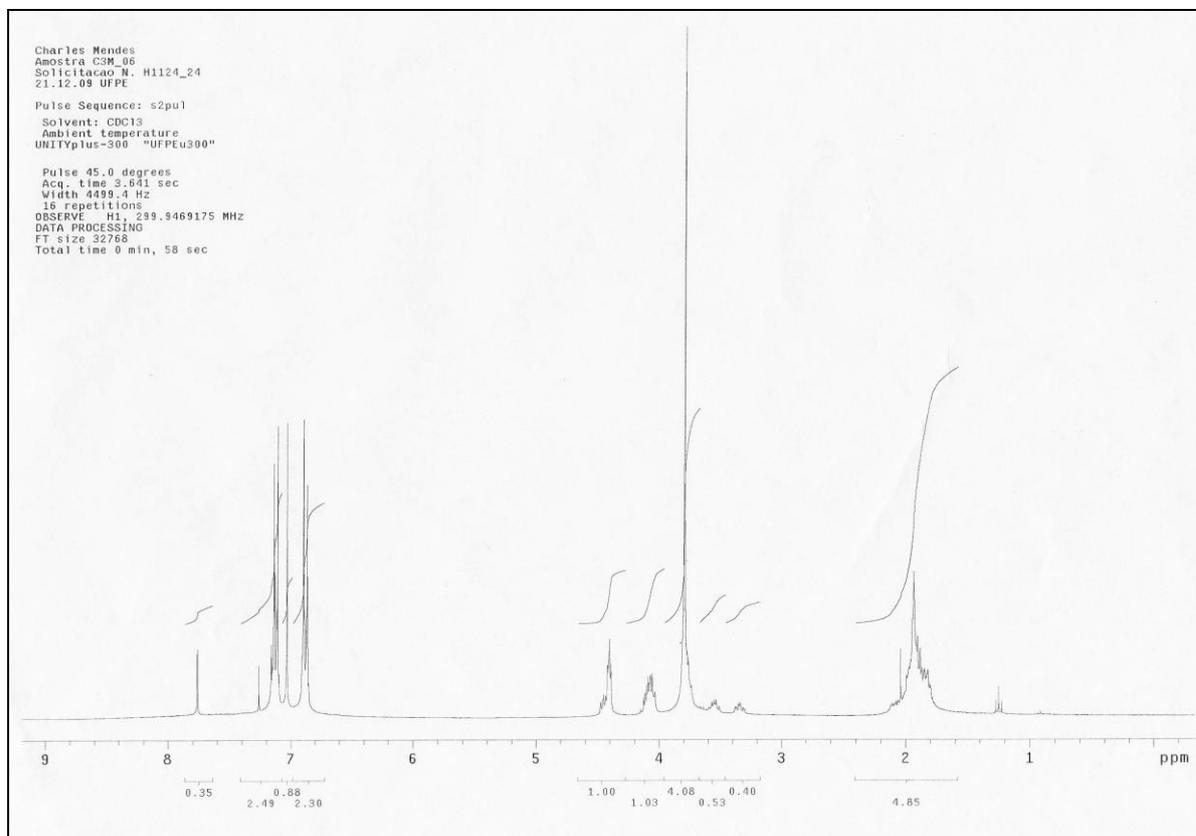


Figura 27 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz da oxadiazolil-aril-hidrazona **83b**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

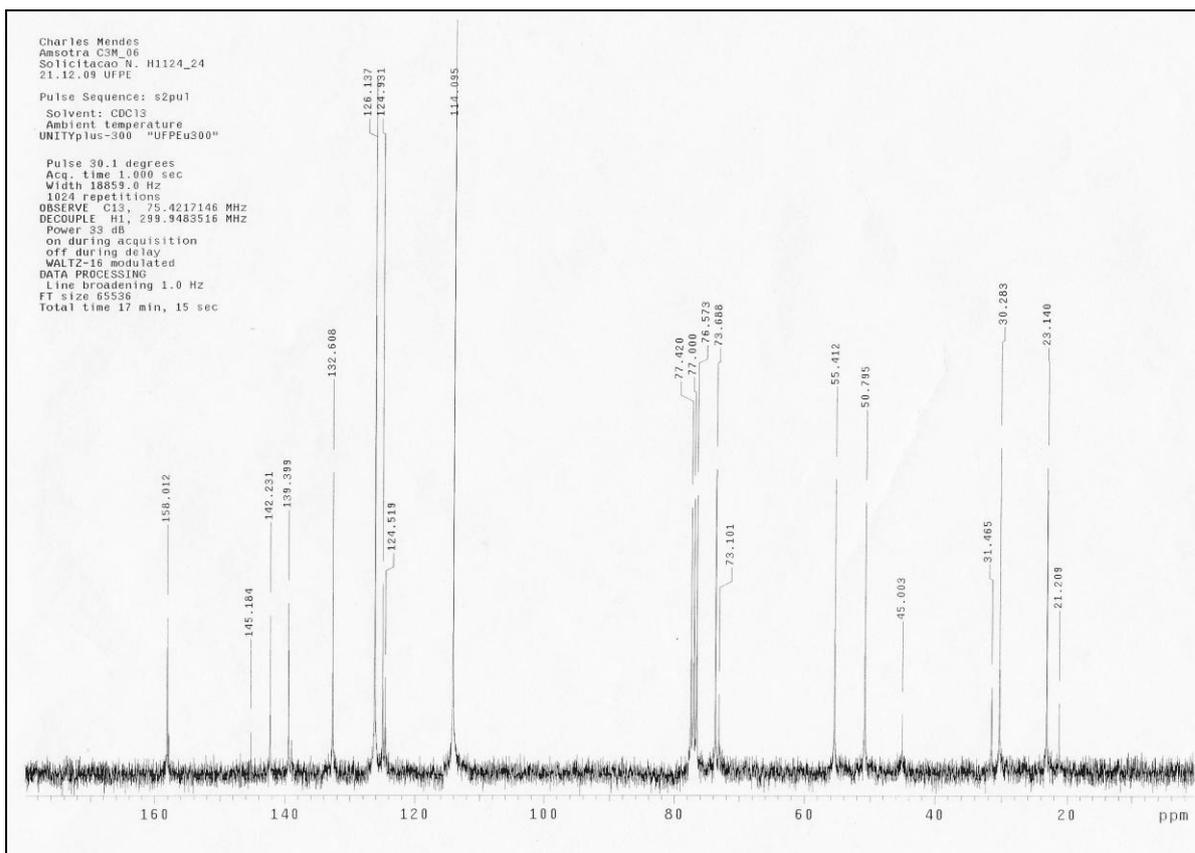


Figura 28 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz da oxadiazolil-aryl-hidrazona **83b**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

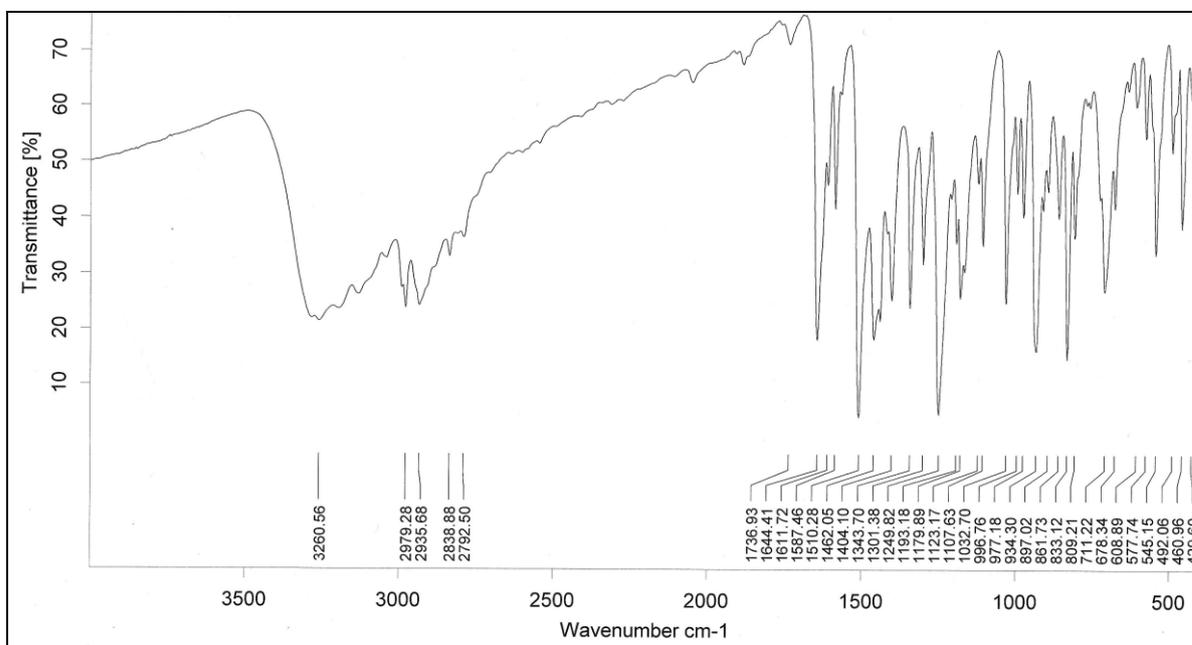
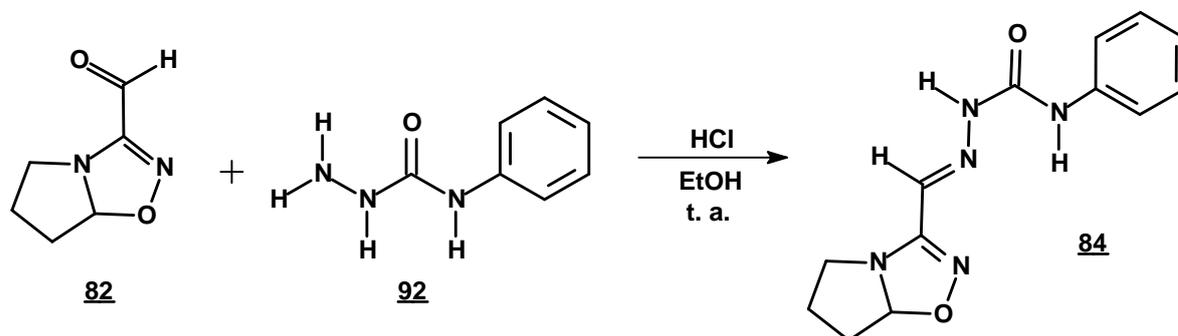


Figura 29 - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) da oxadiazolil-aryl-hidrazona **83b**.

### 5.7 – SÍNTESE DA OXADIZOLIL-ARIL-SEMICARBAZONA **84**



Esquema 28

A oxadiazolil-aril-semicarbazona **84** foi obtida pela condensação da 4-fenil-semicarbazida **92**, adquirida comercialmente, com o aldeído oxadiazolínico **82**, em reação que utilizou um equivalente de cada reagente (Esq. 28).

Lançando mão da metodologia preconizada por Gligorijevic et al.<sup>(61)</sup>, em um trabalho com selenossemicarbazonas, utilizando ácido clorídrico como catalisador e etanol como solvente, foi procedida a reação em 45 minutos, havendo formação de um precipitado amarelo intenso. A purificação deste se deu por meio de sucessivas lavagens e centrifugações, e, enfim, recristalização em etanol à temperatura ambiente, resultando em um sólido bege, com rendimento de 55%.

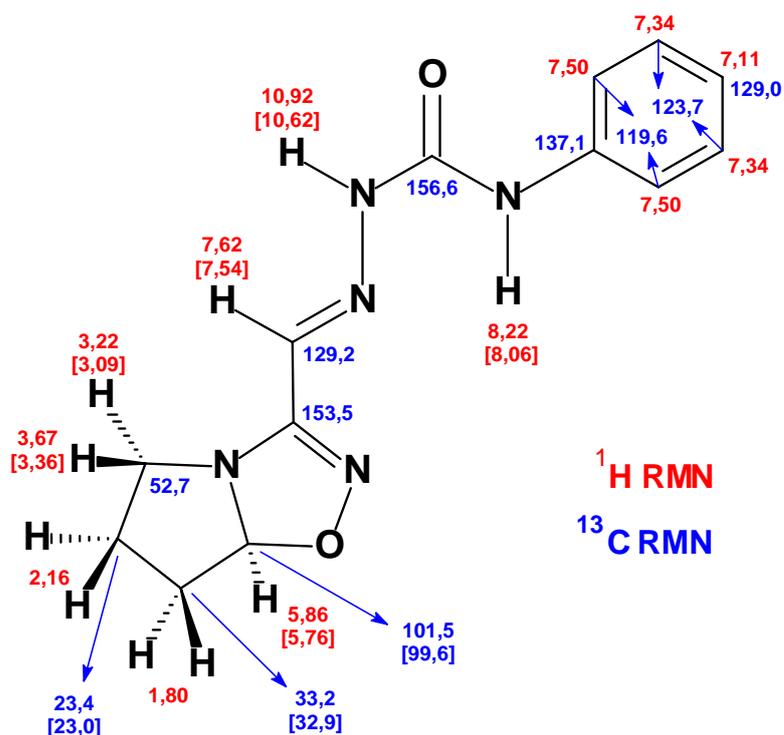
Esse resultado se mostrou muito abaixo do que o relatado na literatura<sup>(47, 62)</sup>, para reações de condensação análogas envolvendo semicarbazidas e aldeídos, onde se reportam rendimentos que se enquadram em um intervalo de 79%-89%.

O processo de purificação escolhido para esta substância foi a centrifugação e sucessivas lavagens, com posterior recristalização. Notou-se que este processo necessita ser aperfeiçoado, já que, ele influenciou sobremaneira a quantidade final de produto puro, e assim, o rendimento. Como no caso das hidrazonas, foram exigidas repetidas sessões de centrifugação, totalizando 35, para que a pureza desejada fosse alcançada, sendo esta evidenciada por sucessivas cromatografias em camada delgada.

Na análise espectrométrica de RMN de <sup>1</sup>H da semicarbazona **84**, o sinal diagnóstico do hidrogênio da fusão dos ciclos é notado em 5,86 ppm, e o carbono, na RMN de <sup>13</sup>C, é

exibido em 101,5 ppm. Para o hidrogênio da ligação N–H, e o hidrogênio azometínico,  $R_1N=CR_2H$ , temos os deslocamentos químicos em 10,92 ppm (rotâmero em 10,62 ppm) e 7,62 ppm (rotâmero em 7,54 ppm) respectivamente, denotando a obtenção da semicarbazona. Ainda analisando a RMN de  $^1H$ , em 8,06 ppm (rotâmero em 8,22 ppm), é observado o hidrogênio do nitrogênio ligado ao grupo arila, corroborando o fragmento derivado da semicarbazida de origem **92**. No IV-FT, a banda em  $3374\text{ cm}^{-1}$  indica presença do estiramento N–H, já outras no intervalo de  $3100\text{ a }3200\text{ cm}^{-1}$ , evidenciaram o estiramento C–H alifático, sendo este o hidrogênio azometínico. Em  $1694\text{ cm}^{-1}$ , uma banda característica mostra o estiramento C=O amídico, denotando presença da porção semicarbazida. A espectrometria de massas da semicarbazona foi realizada em HRMS-IT-TOF, em que foi confirmada sua massa com o valor de  $M^+ + 1$  de 274,1297, frente ao valor teórico calculado de 273,1226.

Na figura 30, é apresentada a molécula da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84** com os dados espectrométricos (RMN de  $^1H$  e de  $^{13}C$ ). Os deslocamentos químicos estão em ppm. Os números entre colchetes indicam picos de rotâmeros.



**Figura 30** - Pormenorização dos deslocamentos químicos da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**.

Nas figuras 31, 32 e 33 são mostrados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  e IV-FT da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**.

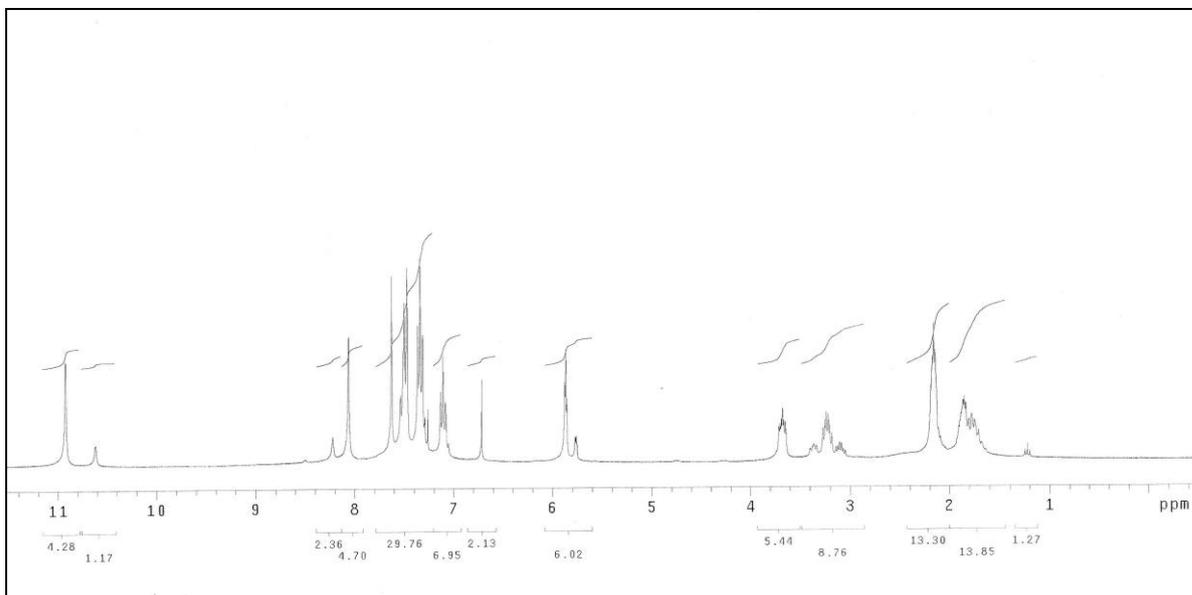


Figura 31 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  – 300MHz da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .

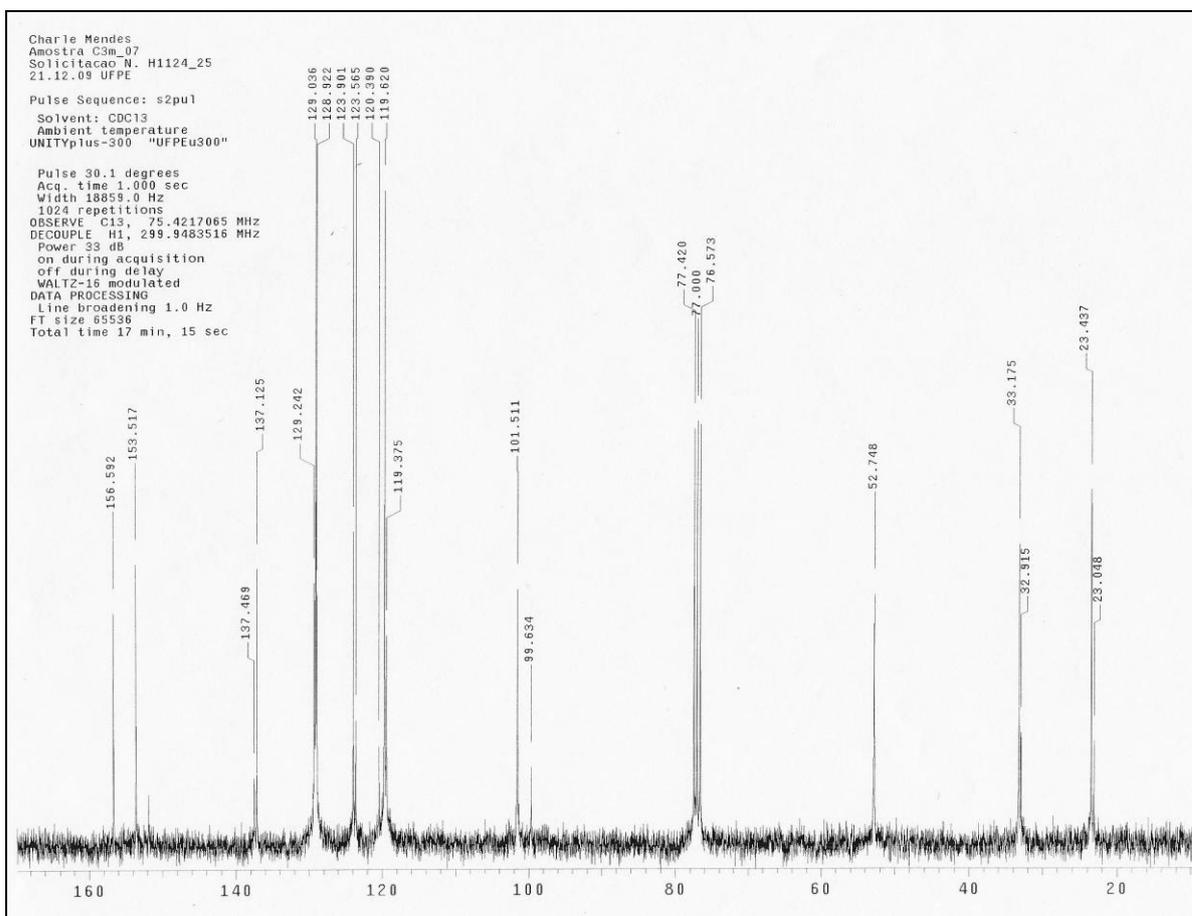
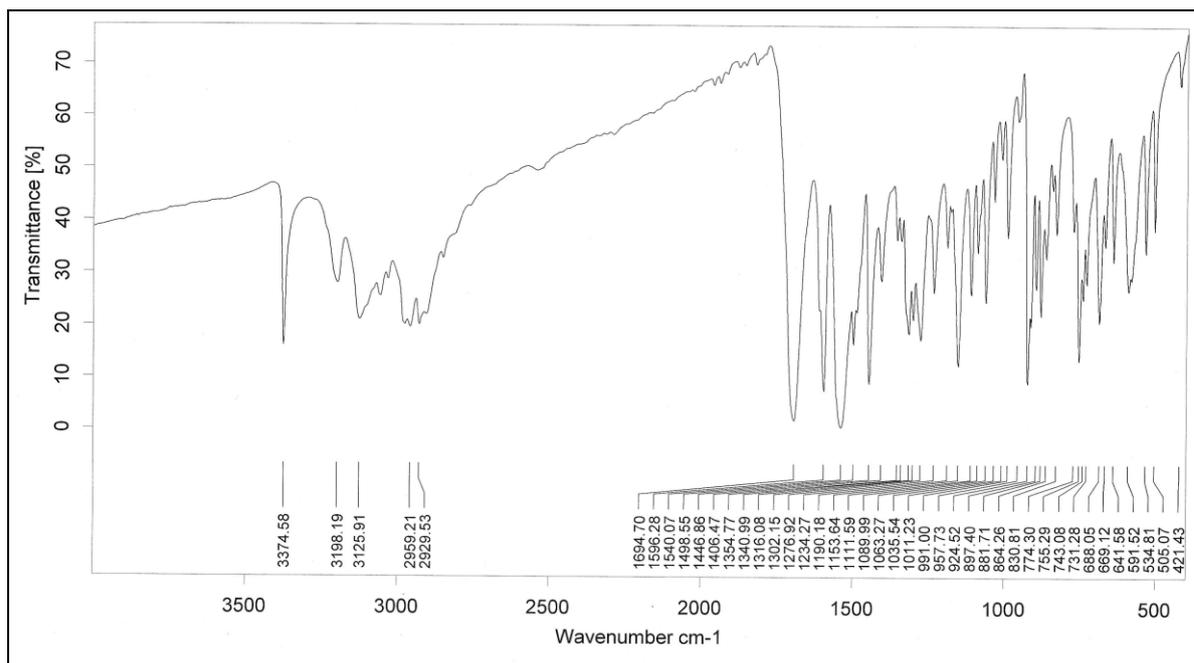


Figura 32 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  – 75MHz da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**. Solvente  $\text{CDCl}_3$ .



**Figura 33** - Espectro no infravermelho (Pastilha de KBr, cm<sup>-1</sup>) da oxadiazolil-aryl-semicarbazona **84**.

## Capítulo V

## *Procedimentos experimentais*

## 6 - PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 6.1 - MATERIAIS E MÉTODOS

As reações de cicloadição [3+2] dipolar, de síntese do álcool e obtenção do aldeído são extremamente sensíveis à umidade e foram realizadas sob atmosfera de argônio, em aparato previamente seco, em estufa, por 4h, a 110°C. Por outro lado, tais cautelas foram prescindíveis no momento que antecedeu as reações de condensação para obtenção das hidrazonas e da semicarbazona.

O solvente aprótico tetraidrofurano foi tratado com sódio/benzofenona, a trietilamina, bem como o diclorometano, com hidreto de cálcio e o metanol com  $Mg^0/I_2$  na proporção 10:1 (m/m), todos sendo destilados imediatamente antes do uso. O DMSO foi seco em peneira molecular, com poros de 4 angstrom, previamente seca em estufa por 24 h.

Nas reações de condensação do aldeído com as fenil-hidrazinas *p*-substituídas, bem como, com a fenil-semicarbazida, foi dispensada a pré-secagem do etanol absoluto utilizado como solvente.

O acetato de etila e o *n*-hexano, utilizados nas colunas cromatográficas como componentes do sistema eluente, foram bidestilados.

Quando não mencionado, reagentes e solventes foram utilizados sem prévio tratamento.

As análises realizadas por cromatografia em camada delgada (CCD) foram efetuadas em cromatofolhas de alumínio (gel de sílica 60), com espessura de 0,2 mm, contendo indicador para radiação ultravioleta, no comprimento de onda de 254 nm ( $UV_{254}$ ). A visualização das manchas foi efetuada com lâmpada de U.V. ENF – 2400 C/F, ácido fosfomolibdico 7% em etanol, seguido de aquecimento ou por absorção de vapor de iodo.

As colunas cromatográficas foram empacotadas com sílica gel 60 (230–400 mesh ASTM Macherey-Nagel) e eluídas sob pressão (Flash).

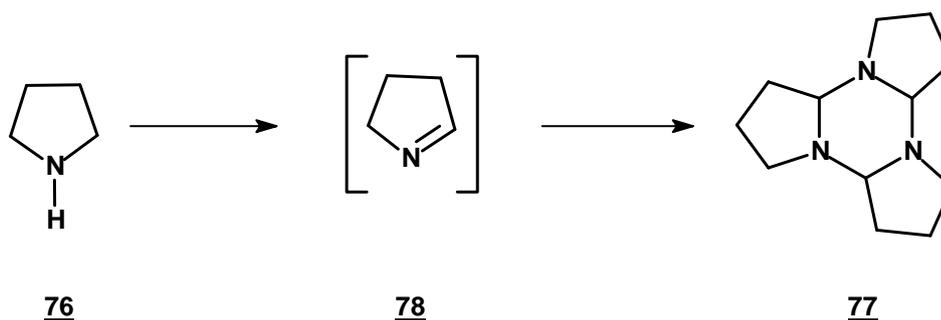
As centrifugações foram realizadas em um Centrifugador Excelsa 2, 205N de 7 rotações - Fanem LTDA. Os produtos sólidos tiveram seu ponto de fusão aferidos em aparelhos POLAX WRS – 1.

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em aparelho Shimadzu LCMS-IT-TOF, bomba LC 20AD, Injetor SIL-20 A, tendo como fonte de ionização *electrospray* (ESI).

Os espectros no infravermelho (IV-FT) foram obtidos em aparelhos Bruker IFS 66 (transformada de Fourier), com as frequências das bandas de absorção sendo expressas em  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando pastilhas ou janelas de KBr.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em aparelhos Varian Unity 300 MHz, sendo os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano (TMS). Os solventes utilizados para as análises foram o clorofórmio deuterado,  $\text{CDCl}_3$  e a acetonitrila deuterada,  $\text{CD}_3\text{CN}$ . Os sinais dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  são descritos da seguinte forma: deslocamento químico (ppm), multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, dl = dubleto largo, t = tripleto, tl = tripleto largo, q = quarteto, dd = duplo dubleto, dt = duplo tripleto, ddl = duplo dubleto largo, m = multipletto, ml = multipletto largo, sl = sinal largo), constante de acoplamento (Hz) e integração dos sinais, indicando o número de hidrogênios por sinal.

## 6.2 – SÍNTESE DO TRÍMERO DA $\Delta^1$ -PIRROLINA **77**



Uma solução aquosa de persulfato de sódio 25% (33,82 g; 144 mmol; 90 mL água) foi adicionada lentamente sob vigorosa agitação, sobre uma solução de pirrolidina **76** (11,6 mL; 144 mmol), hidróxido de sódio (11,50 g; 288 mmol) e nitrato de prata (0,118 g; 0,65 mmol) em 90 mL de água a 0°C. Ao término da adição, a solução foi deixada em agitação por mais 1 hora a 0°C e, em seguida, por mais 3 horas à temperatura ambiente.

A solução escura resultante foi extraída com diclorometano (3 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e, após remoção do solvente, obteve-se 6,34 g de um líquido amarelado viscoso, correspondendo a um rendimento de 65% do trímico **77**.

O trímico **77** foi utilizado sem qualquer purificação adicional na reação de cicloadição [3+2] dipolar, o mais rápido possível, devido a sua instabilidade.

### Propriedades Físicas do composto **77**

- Óleo amarelo viscoso;
- Sensível a solventes próticos.

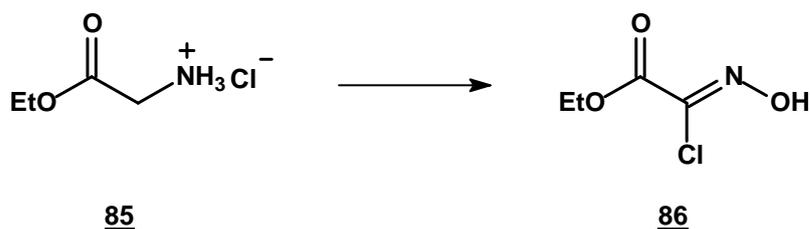
### Dados Espectrométricos do composto **77**

#### **RMN de $^1\text{H}$ [ $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm), 300 MHz, t.a.]**

(parte do monômero está presente devido ao equilíbrio).

1,75 (m); 2,28 (m); 2,50 (m); 2,99 (m); 3,82(m); 7,59 (s).

### 6.3 – SÍNTESE DO CLOROOXIIMIDOACETATO DE ETILA **86**



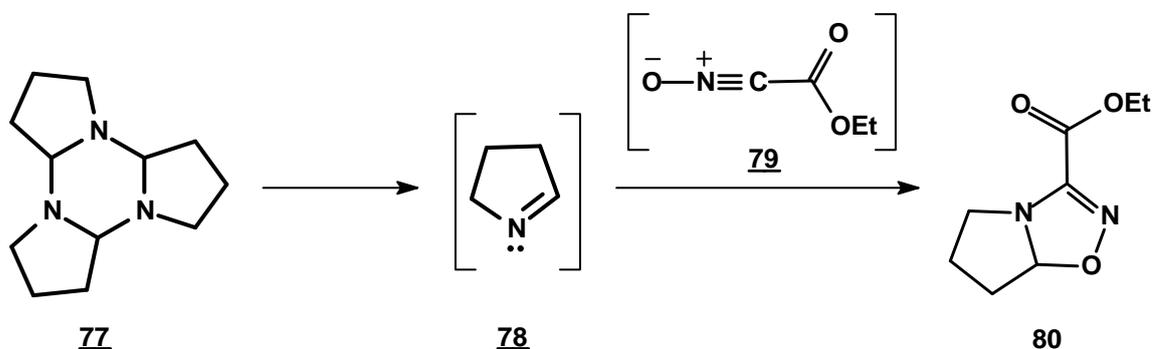
Em um balão de 250 mL foi adicionado o cloridrato do éster etílico da glicina **85** (10,2 g; 73 mmol), água estilada (15 mL) e ácido clorídrico concentrado (6,3 mL; 73 mmol). Em seguida, essa solução foi resfriada em banho de gelo/NH<sub>4</sub>Cl. Sob forte agitação e mantendo a temperatura do banho sempre abaixo de 0°C, foi adicionado lentamente, via funil de adição, a solução de nitrito de sódio (5,1 g; 73 mmol; 9 mL de água). Ao término desta adição, o processo foi repetido, sendo adicionado mais um equivalente de HCl e de nitrito de sódio. A solução resultante foi deixada em agitação por mais 15 minutos à mesma temperatura. Em seguida, o produto foi extraído com diclorometano (4 x 40 mL) e seco sob sulfato de sódio anidro.

Após remoção do solvente, seguido de adição de hexano, ocorreu a precipitação de cristais brancos, que foram lavados com hexano e secos sob vácuo. Ao término do processo foi obtido 5 g do produto identificado como **86**, correspondendo a um rendimento de 45%.

#### Propriedades Físicas do composto **86**

- Ponto de Fusão 80°C, conforme literatura<sup>(58)</sup>.

#### 6.4 – SÍNTESE DO ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO[1,2-d][1,2,4]OXADIAZOL-3-CARBOXÍLICO **80**



Aproximadamente 60 mL de THF foi adicionado ao balão de 250 mL contendo 1,62 g (7,826 mmol) do trímero **77** sob agitação magnética. Este balão foi então acoplado ao microdestilador e colocado em banho de silicone, à temperatura de aproximadamente 80°C, sendo dado início à codestilação, que se estendeu por 1,5 hora. Findo este período, o balão onde foi recolhido o destilado homogêneo, foi acoplado a um condensador, onde permaneceu, sob refluxo, por 30 minutos. Após este intervalo, foi adicionado a trietilamina (1,984 mL, 14,234 mmol), previamente destilada, e em seguida, a solução do cloroimidato de etila **86** (1,98 g, 13,095 mmol) em 5 mL de THF, de maneira lenta e periódica, por um intervalo de aproximadamente 20 minutos. Imediatamente, foi notada a formação de um precipitado branco, evidenciando a reação do cloroimidato de etila **86** com a trietilamina, produzindo cloreto de trietilamônio, insolúvel em THF.

Após o término da adição do precursor do CEFNO, o sistema foi deixado em refluxo e agitação por mais 90 minutos, quando então o aquecimento foi desligado, deixando apenas sob agitação por 24 horas. No dia seguinte, o conteúdo do balão foi filtrado com funil sinterizado para a remoção do sal inorgânico, e subsequentemente, o THF foi removido no evaporador rotatório, restando ao fim um líquido bege viscoso.

O produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (sílica gel, AcOEt/Hexano 15%), de onde foi obtido 3,08 g do cicloaduto **80** puro, correspondendo a um rendimento de 75%.

Todas as etapas foram executadas em atmosfera de argônio.

Propriedades Físicas do éster **80**

- Líquido bege claro
- R<sub>f</sub> = 0,41 (AcOEt/hexano 3:7)

Dados Espectrométricos do éster **80****RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; δ (ppm); J (Hz); t.a.]**

1,35 (t; J=7,0; 3H); 1,69 (m, 1H); 1,82 (m, 1H); 2,11 (m, 2H); 3,08 (m, 1H);  
3,61 (m, 1H); 4,33 (q; J=7,0; 2H); 5,88 (t; J=3,6; 1H)

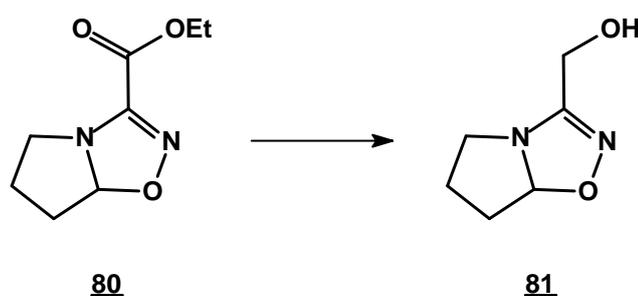
**RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz; CDCl<sub>3</sub>; δ (ppm); t.a.]**

13,9 (CH<sub>3</sub>); 23,3 (CH<sub>2</sub>); 33,3 (CH<sub>2</sub>); 52,5 (CH<sub>2</sub>); 62,4 (CH<sub>2</sub>); 102,3 (CH);  
151,9 (C=N); 158,0 (C=O)

**IVFT (Janela de KBr; cm<sup>-1</sup>, principais sinais)**

2981, 1732, 1569, 1383, 1257, 1146, 926

GCMS – EI (m/z) M<sup>+</sup> 184; pico base: M<sup>+</sup> 111 **Massa calculada:** 184,0848

**6.5 – SÍNTESE DO (5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO[1,2-d][1,2,4]OXADIAZOL-3-IL) METANOL **81****

A uma solução do éster **80** (2,6 g; 14,1 mmol) em metanol (180 mL), foi adicionado NaBH<sub>4</sub> (1,6 g; 42,3 mmol) em pequenas porções, estando o sistema a 0°C e sob vigorosa agitação por cerca de 1 hora, depois mais 40 minutos à temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCD, onde foi visualizado o início da formação do álcool cerca de 15 minutos após a adição do NaBH<sub>4</sub>. Após completo consumo do éster **80**, remoção do metanol e solubilização do produto em 45 mL de acetato de etila, foi adicionado 30 mL de solução saturada de NaCl. A extração foi procedida utilizando acetato de etila (3 x 40 mL).

As fases orgânicas foram reunidas e secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Após filtração e remoção do solvente, foi obtido um óleo incolor e bastante viscoso, do qual, após cromatografia em coluna “flash” (sílica gel, AcOEt/Hexano 1:1), resultou 2,6 g do álcool **81**, com um rendimento de 95 %.

#### Propriedades Físicas do álcool 81

- Óleo incolor viscoso
- Rf = 0,15 (AcOEt/hexano 1:1)

#### Dados Espectrométricos do álcool 81

##### **RMN de $^1\text{H}$ [300 MHz; $\text{CDCl}_3$ ; $\delta$ (ppm); J(Hz); t.a.]**

5,74 (dd, J = 4,5; J = 3,3; 1H); 4,31 (s, 1H); 3,60 (m, 1H); 3,34 (sl, 1H);  
2,96 (m, 1H); 2,01 (m, 2H); 1,74 (m, 1H); 1,67 (m, 1H)

##### **RMN de $^{13}\text{C}$ [75 MHz; $\text{CDCl}_3$ , $\delta$ (ppm), t.a.]**

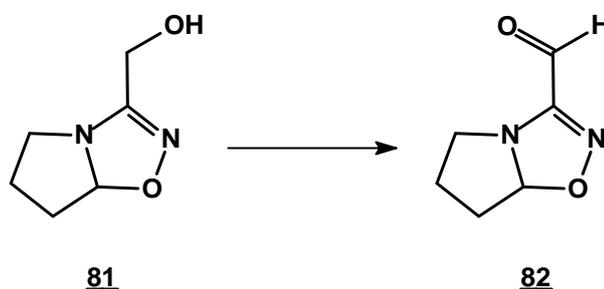
158,5 (C); 99,7 (CH); 55,1 ( $\text{CH}_2$ ); 50,0 ( $\text{CH}_2$ ); 33,1 ( $\text{CH}_2$ ); 23,1 ( $\text{CH}_2$ )

##### **IVFT (Janela de KBr; $\text{cm}^{-1}$ , principais sinais)**

3355, 2941, 1608, 1454, 1385, 1065

**GCMS – EI (m/z)  $\text{M}^+$  142; pico base:  $\text{M}^+$  58 Massa calculada: 142,0742**

### **6.6 – SÍNTESE DO 5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO[1,2-d][1,2,4]OXADIAZOL-3-CARBALDEÍDO **82****



Em um balão, foi adicionado 1,98 mL de cloreto de oxalila (23,448 mmol) e 42,9 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco, sistema que foi deixado sob agitação, temperatura de  $-78^\circ\text{C}$  e atmosfera de argônio. Paralelamente, foram preparadas duas soluções; a primeira (solução 1) contendo 3,31

mL de DMSO seco (46,64 mmol) em 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a segunda (solução 2) contendo o álcool **81** (2,67 g; 18,78 mmol) em 11,6 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

A solução 1 foi adicionada ao balão reacional e deixada sob agitação por 2 minutos. Em seguida, a solução 2 foi adicionada lentamente durante 5 minutos, e deixada sob agitação magnética por 15 minutos adicionais. Logo após, a trietilamina (13,27 mL; 95,24 mmol) foi adicionada, deixando o sistema em agitação por mais 5 minutos. Através de CCD verificou-se que todo o álcool foi consumido e foi evidenciada a formação do aldeído **82**.

Após remoção do solvente, o produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (sílica gel, AcOEt/Hexano 1:4), da qual foi obtida 2,01 g do aldeído **82**, correspondendo ao rendimento de 76%.

#### Propriedades Físicas do aldeído 82

- Óleo amarelo claro
- R<sub>f</sub> = 0,54 (AcOEt/hexano 1:1)

#### Dados Espectrométricos do aldeído 82

##### **RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz; CD<sub>3</sub>CN; δ (ppm); J(Hz); t.a.]**

1,43 (m, 1H); 1,65 (m, 1H); 1,91 (m, 2H); 2,85 (m, 1H); 3,40 (m, 1H);  
5,76 (dd, J = 5,1; J = 1,8; 1H); 9,38 (s, 1H)

##### **RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz; CD<sub>3</sub>CN, δ (ppm), t.a.]**

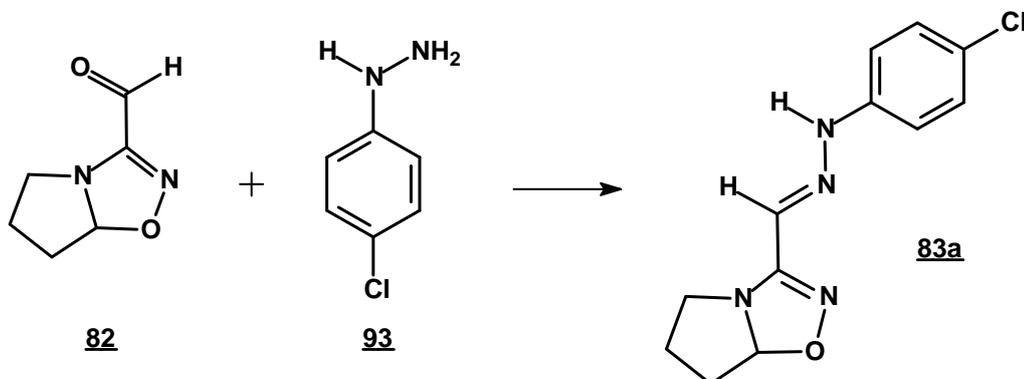
23,7 (CH<sub>2</sub>); 33,8 (CH<sub>2</sub>); 52,3 (CH<sub>2</sub>); 104,6 (CH); 159,3 (C = N); 183,0 (C = O)

##### **IVFT (Janela de KBr; cm<sup>-1</sup>, principais sinais)**

2922, 2852, 1727, 1695, 1635, 1434, 1376, 1118, 1066

**HRMS – IT – TOF (electrospray): M<sup>+</sup> + 1: 141,0636 Massa calculada: 140,0586**

### 6.7 – SÍNTESE DA *N*-(4-CLORO-FENIL)-*N'*-(5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO [1,2-*d*][1,2,4]OXADIAZOL-3-ILMETILENO)-HIDRAZINA **83a**



Em um balão de 50 mL, foi adicionado 155,23 mg (0,867 mmol) de 4-clorofenil-hidrazina **93**, solubilizada em 9,6 mL de etanol absoluto. Após completa solubilização, sob agitação e à temperatura ambiente, foram adicionadas duas gotas de HCl concentrado e, em seguida, 121,5 mg do aldeído **82** (0,867 mmol), solubilizado em 5 mL de etanol. A solução foi deixada sob agitação por cerca de 50 minutos, quando por meio de CCD, foi detectado total consumo do material de partida, e formação da hidrazona **83a**.

Ao balão reacional, foi adicionada água gelada almejando precipitação do produto, que, ao ser filtrado em funil sinterizado, se mostrou como um sólido castanho pastoso, produzindo um filtrado amarelo claro. O sólido foi, em seguida, lavado com acetato de etila aquecido a 60°C, o que levou a sua completa solubilização e produção de um filtrado castanho.

A extração do filtrado amarelo claro foi realizada com acetato de etila (3 x 30 mL). Em seguida, a fase orgânica foi submetida à CCD, quando foi notado que se poderia reunir esta fração, com a fração resultante da lavagem do sólido castanho, o que foi então realizado.

Após a remoção completa do acetato de etila da solução resultante, foi obtido um sólido castanho avermelhado que foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (sílica gel, AcOEt/Hexano 1:3), da qual foi obtida 123,7 mg da hidrazona **83a**, correspondendo a um rendimento de 54%.

Propriedades Físicas da hidrazona **83a**

- Sólido amarelo cristalino
- R<sub>f</sub> = 0,46 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão: 139 – 141 °C

Dados Espectrométricos da hidrazona **83a****RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz; CD<sub>3</sub>CN; δ (ppm); J(Hz); t.a.]**

1,63 (m, 1H); 1,74 (m, 1H); 1,91 (m, 1H); 2,07 (m, 1H); 3,17 (m, 1H); 3,71 (m, 1H);  
5,71 (m, 1H); 7,00 (m, 2H); 7,21 (m, 2H), 7,33 (s, 1H); 9,11 (s, 1H)

**RMN de <sup>13</sup>C [75 MHz; CD<sub>3</sub>CN, δ (ppm), t.a.]**

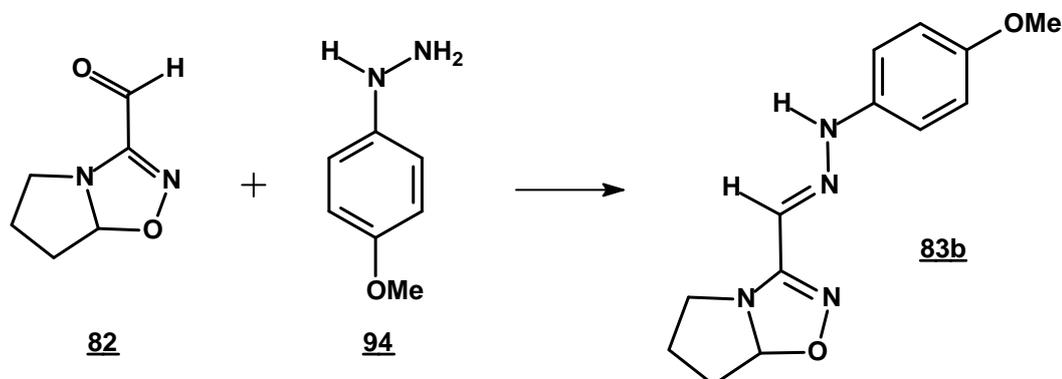
24,6 (CH<sub>2</sub>); 34,4 (CH<sub>2</sub>); 53,7 (CH<sub>2</sub>); 102,2 (CH); 115,4 (CH); 118,5 (N=CH);  
126,0 (C-Cl); 130,6 (CH); 144,6 (N-C); 158,7 (N-C=N)

**IVFT (Pastilha de KBr; cm<sup>-1</sup>, principais sinais)**

3380, 2945, 1702, 1556, 1400, 1190, 1061, 994, 930, 878

**HRMS – IT – TOF (*electrospray*): M<sup>+</sup> + 1: 265,0840 Massa calculada: 264,0778**

### 6.8 – SÍNTESE DA *N*-(4-METOXI-FENIL)-*N'*-(5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO [1,2-*d*][1,2,4]OXADIAZOL-3-ILMETILENO)-HIDRAZINA **83b**



Procedimento experimental idêntico ao do item 6.7.

4-metoxifenil-hidrazina **94** (366,7 mg; 2,1 mmol), 23 mL de etanol, aldeído **82** (294,3 mg; 2,1 mmol). O produto foi submetido a processo de purificação semelhante ao da reação anterior. Foi realizada cromatografia em coluna “flash” (sílica gel, AcOEt/Hexano 3:7), resultando em 256,7 mg da hidrazona **83b**, correspondendo a um rendimento de 47%.

#### Propriedades Físicas da hidrazona **83b**

- Sólido cristalino castanho
- R<sub>f</sub> = 0,24 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão: 131 – 133 °C

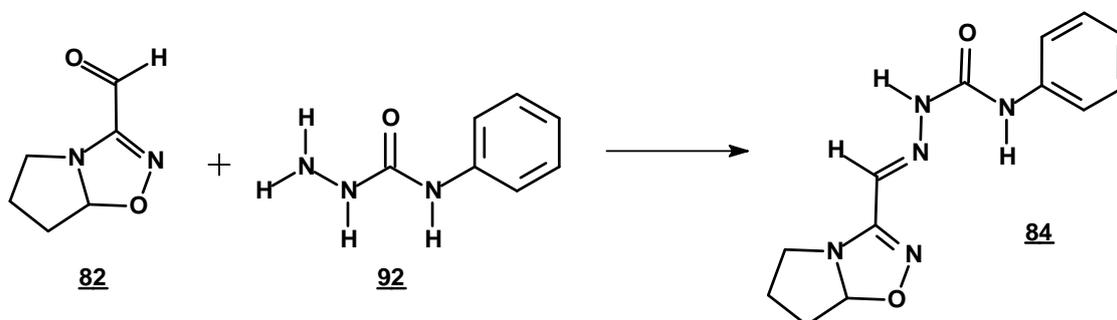
#### Dados Espectrométricos da hidrazona **83b**

##### **IVFT (Pastilha de KBr; cm<sup>-1</sup>, principais sinais)**

3260, 2935, 1736, 1644, 1510, 1462, 1404, 1249, 1193, 934, 833

**HRMS – IT – TOF (*electrospray*): M<sup>+</sup> + 1: 261,1372 Massa calculada: 260,1273**

### 6.9 – SÍNTESE DA *N*-(FENIL)-*N'*-(5,6,7,7a-TETRAIDRO-PIRROLO[1,2-*D*] [1,2,4]OXADIAZOL-3-ILMETILENO)HIDRAZINA-CARBOXAMIDA **84**



Em um balão de 50 mL, foi adicionado 262,13 mg (1,734 mmol) de 4-fenil-semicarbazida **92**, solubilizada em 10 mL de etanol absoluto. Após completa solubilização, sob agitação à temperatura ambiente, uma gota de HCl concentrado foi adicionada e, em seguida, 243 mg do aldeído **82** (1,734 mmol), solubilizado em 9,5 mL de etanol. A solução foi deixada em agitação por cerca de 45 minutos, quando por meio de CCD, foi detectado total consumo do material de partida, e formação da semicarbazona **84**.

Logo após o término da reação, o etanol foi removido, havendo formação de um precipitado amarelo intenso. Este foi purificado por meio de sucessivas lavagens com etanol utilizando o processo de centrifugação e recristalização, resultando ao final em 260,48 mg da semicarbazona **84**, correspondendo a 55% de rendimento.

#### Propriedades Físicas da semicarbazona **84**

- Sólido cristalino bege
- R<sub>f</sub> = 0,26 (AcOEt/hexano 1:1)
- Ponto de fusão: 176 – 177 °C

#### Dados Espectrométricos da semicarbazona **84**

##### **RMN de <sup>1</sup>H [300 MHz; CDCl<sub>3</sub>; δ (ppm); J(Hz); t.a.]**

1,80 (m, 2H); 2,16 (m, 2H); 3,22 (m, 1H, rotâmero 3,09); 3,67 (m, 1H, rotâmero 3,36); 5,86 (t; J = 3,2; 1H; rotâmero 5,76); 7,11 (t; J = 7,5; 1H); 7,34 (t; J = 7,5; 2H); 7,50 (d; J = 7,5; 2H); 7,62 (s, 1H; rotâmero 7,54); 8,06 (s, 1H; rotâmero 8,22); 10,92 (s, 1H; rotâmero 10,62)

**RMN de  $^{13}\text{C}$  [(75 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (ppm), t.a.)]**

23,4 ( $\text{CH}_2$ , rotâmero 23,0); 33,2 ( $\text{CH}_2$ ; rotâmero 32,9); 52,7 ( $\text{CH}_2$ );

101,5 ( $\text{CH}$ ; rotâmero 99,6); 119,6 ( $\text{CH}$ ); 123,7 ( $\text{CH}$ ); 129,0 ( $\text{CH}$ );

129,2 ( $\text{N}=\text{CH}$ ); 137,1 ( $\text{C}-\text{N}$ ); 153,5 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 156,6 ( $\text{C}=\text{O}$ )

**IVFT (Pastilha de KBr;  $\text{cm}^{-1}$ , principais sinais)**

3374, 3198, 3125, 2959, 1694, 1596, 1540, 1446, 1316, 1276, 1153, 924, 755

**HRMS – IT – TOF (*electrospray*):  $\text{M}^+ + 1$ : 274,1297 **Massa calculada:** 273, 1226**

# PARTE III

Estudo Biológico

Capítulo VI  
*Estudo biológico*

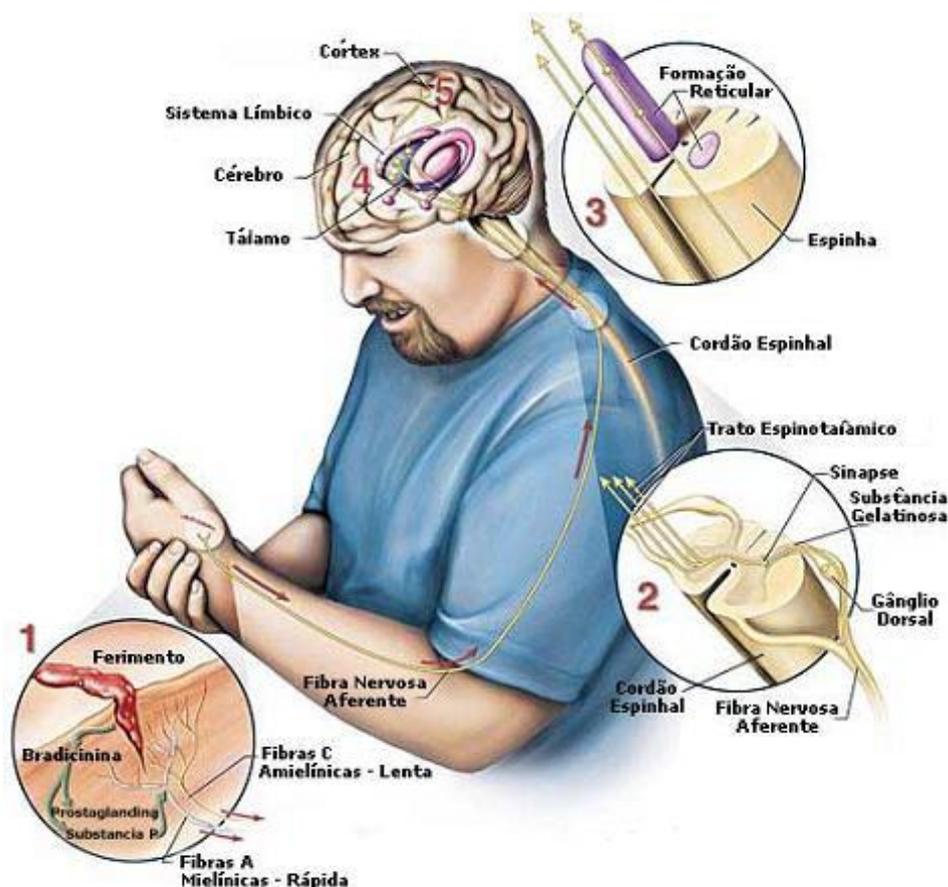
## 7. – ESTUDO BIOLÓGICO

### 7.1 – Atividade antinociceptiva

#### 7.1.1 – Nocicepção

A dor é uma designação para um espectro de sensações de caráter e intensidade altamente divergentes. Os estímulos e as condições que causam a dor podem variar e dependem em parte do tecido específico e da natureza, intensidade e duração do estímulo. Em geral, os estímulos que são percebidos como dolorosos têm o potencial de causar dano aos tecidos<sup>(63, 69)</sup>.

Estímulos dolorosos são detectados por receptores fisiológicos tais como os nociceptores, que conduzem impulsos por axônios amielinizados (fibras C), que respondem a estímulos químicos, como por bradicinina ou prostaglandina; bem como por axônios mielinizados (fibras A $\delta$ ), que respondem a estímulos de pressão intensa ou térmicos<sup>(70)</sup>. Essas fibras se inserem na raiz dorsal da medula espinhal, e então são conduzidas ao cérebro (Fig. 34).



**Figura 34** – Via de condução de estímulos dolorosos por nociceptores.

Fonte: <<http://www.medicinageriatrica.com.br/wp-content/uploads/2008/03/dor.JPG>>

Os nociceptores representam as terminações livres do axônio periférico do Neurônio Aferente Primário (NAP), e muitos deles são “silenciosos” em condições normais, sendo ativados apenas em condições patológicas (por exemplo, em processos inflamatórios). Estão localizados em todo o corpo (superfície cutânea e mucosa), exceto no cérebro, tecido ósseo, e fígado.

Eles podem ser inibidos por opióides e estimulados por prostaglandina E<sub>2</sub> ou bradicinina, liberada em resposta a um processo inflamatório. Opióides endógenos, como a endorfina, são inibidores da síntese de prostaglandina, que conseqüentemente causam o alívio da dor<sup>(64, 65, 66)</sup>.

Os terminais periféricos dos NAPs (nociceptores) são sensibilizados pela ação de substâncias químicas, denominadas algio gênicas, presentes no ambiente tecidual. Entre elas destacam-se a bradicinina (receptores tipo B<sub>2</sub>), prostaglandinas dos tipos I<sub>2</sub> (prostaciclina) e E<sub>2</sub>, opióides (receptores tipos  $\mu$  e  $\delta$ ), histamina, serotonina, noradrenalina (receptor tipo  $\beta_2$ ), tromboxano, substância P, interleucinas e acetilcolina, substâncias que podem ser liberadas em tecidos lesados durante a inflamação, o que acaba por facilitar a geração local de estímulos (fenômeno de hipersensibilização ou hiperalgesia periférica)<sup>(67)</sup>.

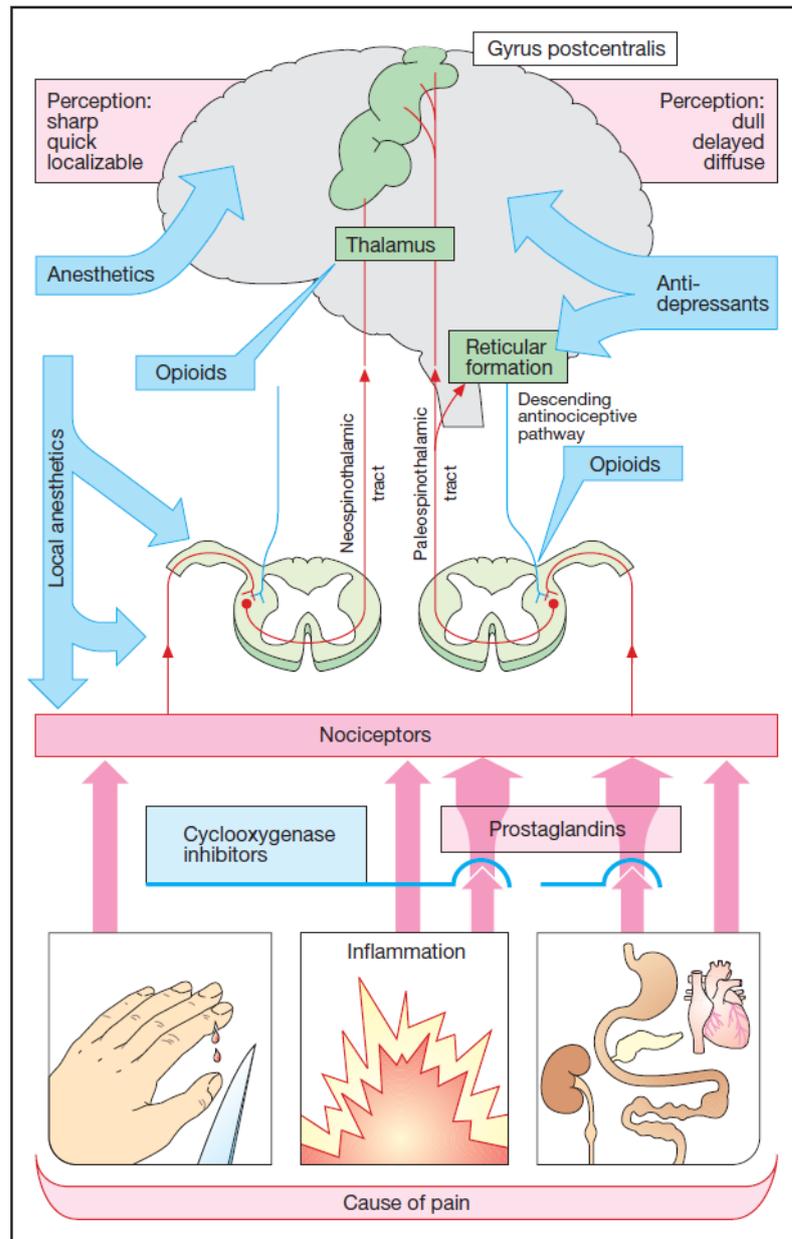
### 7.1.2 – Farmacologia dos antinociceptivos

O tratamento da dor aguda e da crônica é multimodal e envolve o uso de intervenções farmacológicas, psíquicas, físicas, a utilização de bloqueios anestésicos regionais e métodos neurocirúrgicos<sup>(68)</sup>.

A sensação de dor (nocicepção) pode ser afetada por inúmeros fatores, tais como:

- inibição da percepção da dor (pelo uso de opióides e anestésicos gerais);
- supressão da transmissão de impulsos pela medula espinhal (opióides);
- alteração da resposta emocional a dor (antidepressivos);
- interrupção da condução nociceptiva em nervos sensoriais (anestésicos locais);
- diminuição da sensibilidade de nociceptores (analgésicos antipiréticos).

A figura 35 mostra um apanhado geral dos mecanismos que levam a sensação dolorosa, e o local de ação de algumas classes de fármacos.



**Figura 35** – Mecanismo da dor, caminhos dos estímulos nervosos por meio de nociceptores e farmacologia aplicada.

Fonte: Lüllmann, H. et al.; Color Atlas of Pharmacology © 2000, Ed. Thieme

Nesta figura percebe-se que uma das principais classes de substâncias antinociceptivas, os opióides, é utilizada tanto em nível central (inibindo a percepção da dor), como em nível periférico (suprimindo a transmissão do impulso nervoso em nível medular).

Outra classe importantíssima de substâncias analgésicas, os inibidores da ciclooxigenase, é mostrada enfatizando sua ação sobre a produção de prostaglandinas, classe reconhecidamente indutora de sensibilidade das fibras nervosas, frente a estímulos dolorosos.

Fato digno de nota é que os nociceptores estão envolvidos em praticamente todos os caminhos que levam os estímulos nervosos do âmbito periférico ao central, tornando-os alvos de numerosos estudos concernentes à farmacologia que os envolve, característica precípua que impulsionou sobremaneira o desenvolvimento deste trabalho.

### 7.1.3 - Avaliação da atividade biológica

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos (LBPF) do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco, sob a responsabilidade da Professora Dra. Teresinha Gonçalves da Silva.

Os experimentos foram realizados de acordo com as normas aprovadas pela Comissão de Ética para Experimentação com animais, da Universidade Federal de Pernambuco (Processo nº 040743/2007-19).

### 7.1.4 - Materiais

Para determinação da atividade antinociceptiva das oxadiazolil-aril-hidrazonas **83a-b** e oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**, foram utilizados os seguintes materiais: balança analítica; seringas descartáveis tuberculina; solução salina a 0,9%; Tween 80 (MERCK); ácido acético (VETEC) e éter dietílico (VETEC).

### 7.1.5 - Animais

Foram utilizados Camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), machos, com aproximadamente 60 dias de vida, variando de  $25 \pm 30$  gramas, oriundos do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, registrado no COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) sob nº 18. Os animais foram divididos em grupos e mantidos em caixas plásticas à temperatura  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina) e água *ad libitum*. Todos os animais utilizados para determinação da atividade analgésica foram mantidos em jejum de 4 horas antes do experimento, com água *ad libitum*.

## 7.1.6 – Modelos experimentais de Nocicepção

### 7.1.6.1 - Nocicepção induzida por ácido acético<sup>(71)</sup>

A atividade antinociceptiva foi verificada através do teste de contorção abdominal induzida pelo ácido acético. Os animais foram arranjados aleatoriamente (n= 8 camundongos por grupo), pré-tratados por via intraperitoneal 60 minutos antes do teste com as oxadiazolil-aril-hidrazonas **83a-b** e oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**.

A doses utilizadas nos ensaios foram 100 e 200 µmol/kg, escolhidas de acordo com estudos prévios<sup>(93)</sup>. O grupo controle recebeu o veículo (solução salina 0,9% e Tween 80 2%). O ácido acético 1% foi injetado dentro da cavidade peritoneal dos animais, para induzir contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. Dez minutos após a injeção do ácido acético, os camundongos foram colocados individualmente em caixas transparentes, registrando-se o número de contorções abdominais durante 20 minutos.

Os percentuais de inibição foram calculados através da fórmula: Percentagem de inibição =  $(1-Vt/Vc) \times 100$ , onde Vt e Vc representam, respectivamente, a média das contorções dos grupos tratados e a do controle.

### 7.1.6.2 - Nocicepção induzida pela Formalina<sup>(72)</sup>

Este modelo consiste na injeção via oral de substâncias testes. No teste da Formalina há uma resposta nociceptiva denominada bifásica, onde a primeira fase, que ocorre durante os primeiros 5 minutos após a injeção de Formalina é denominada dor de origem neurogênica. Essa dor é causada pela estimulação química direta dos nociceptores das fibras sensoriais aferentes, principalmente fibras do tipo C. A segunda fase, que ocorre entre 15 a 30 minutos após a administração da Formalina, representa a resposta tônica à dor, acompanhada de uma resposta inflamatória. Ambas as fases estão relacionadas à liberação de mediadores<sup>(71,72)</sup>.

### 7.1.6.3 – Resultados e discussão – Ácido acético

A analgesia induzida por administração intraperitoneal de ácido acético em camundongos é um modelo de efeito periférico e não-específico, envolvendo a liberação de prostaglandinas, serotonina, bradicinina, substância P e mediadores do sistema simpático<sup>(73)</sup>. Os fármacos que produzem efeitos analgésicos podem atuar a nível periférico e central, seja modulando ou inibindo a síntese de substâncias mediadoras da inflamação<sup>(74)</sup>.

As oxadiazolil-aril-hidrazonas **83a-b** e oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**, administradas por via intraperitoneal, inibiram significativamente as contorções abdominais induzidas por ácido acético em relação ao controle, quando administradas na dose de 100 µmol/Kg. Na concentração, 200 µmol/Kg, observou-se um expressivo incremento da proteção exibida pelas substâncias **83a-b**. Fato semelhante não ocorreu com **84**, cujo grau de aumento de proteção foi moderado.

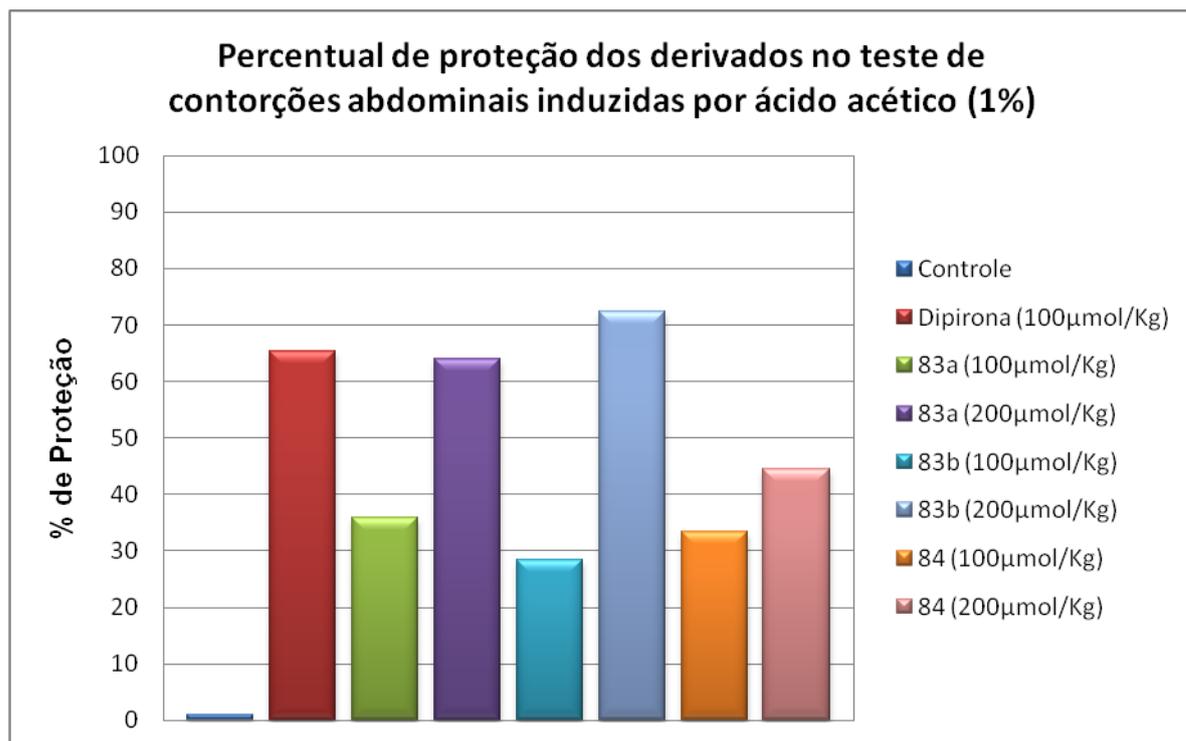
Os percentuais de proteção dos derivados testados estão sumarizados na Tabela 2 e representados graficamente na figura 36.

**Tabela 2:** Efeito antinociceptivo das hidrazonas no modelo experimental de contorções abdominais induzidas por ácido acético 1%

| Substância | Dose (µmol/kg) | Média** ± EPM | Proteção (%) |
|------------|----------------|---------------|--------------|
| Controle   | -              | 71,0 ± 2,63   | -            |
| Dipirona*  | 100            | 18,20 ± 1,95  | 65,40        |
| <b>83a</b> | 100            | 45,5 ± 4,13   | 35,92        |
| <b>83a</b> | 200            | 25,6 ± 4,06   | 63,94        |
| <b>83b</b> | 100            | 50,8 ± 3,32   | 28,45        |
| <b>83b</b> | 200            | 19,6 ± 2,69   | 72,39        |
| <b>84</b>  | 100            | 47,3 ± 3,04   | 33,45        |
| <b>84</b>  | 200            | 39,4 ± 1,62   | 44,51        |

\*Dado de Almeida, V. M. – Tese de Doutorado, 2008, p.142.

\*\*Média das contorções abdominais.



**Figura 36** - Efeito das hidrazonas **83a** e **83b** e semicarbazona **84** sobre a nocicepção, induzida por ácido acético (1%), em camundongos.

Cada grupo representa a média de 8 animais. Os dados representam a média das contorções abdominais  $\pm$  EPM (Erro Padrão Médio). Todos os resultados apresentaram significância estatística em relação ao grupo controle, ao nível de  $p < 0,05$  (ANOVA, Dunnett's test).

#### 7.1.6.4 - Resultados e discussão – Formalina

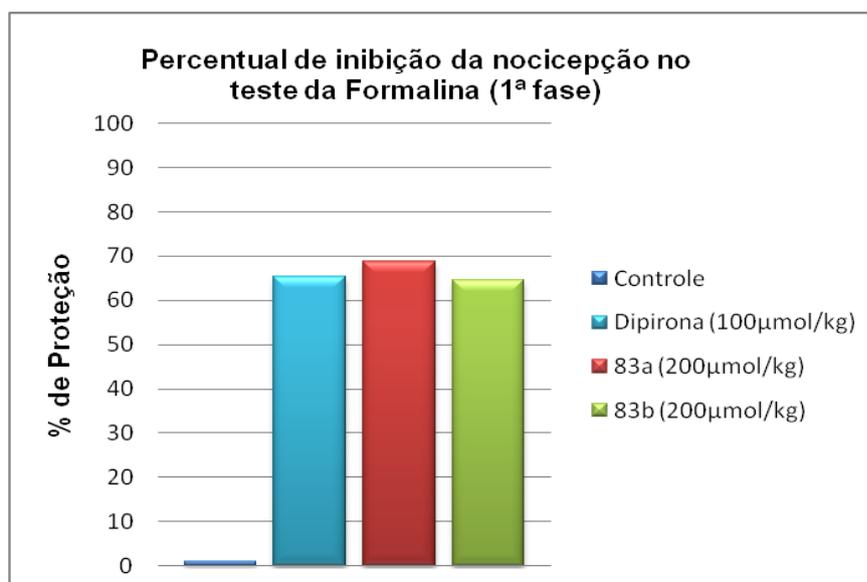
Os percentuais de inibição dos derivados hidrazônicos **83a** e **83b**, no teste da nocicepção provocada pela Formalina, estão sumarizados tabela 3 e graficamente nas figuras 37 e 38.

**Tabela 3** – Percentual de proteção das hidrazonas no teste de indução de nocicepção pela Formalina

| Substância | Dose ( $\mu\text{mol/kg}$ ) | Média** (1ª fase) | Média** (2ª fase) | Proteção (%) (1ª fase) | Proteção (%) (2ª fase) |
|------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|------------------------|
| Controle   | —                           | 0,90              | 0,57              | —                      | —                      |
| <b>83a</b> | 200                         | 0,25              | 0,12              | 68,88                  | 78,59                  |
| <b>83b</b> | 200                         | 0,29              | 0,31              | 64,55                  | 45,86                  |

\*\*As médias se referem ao tempo médio (em minutos) de lambidas da pata.

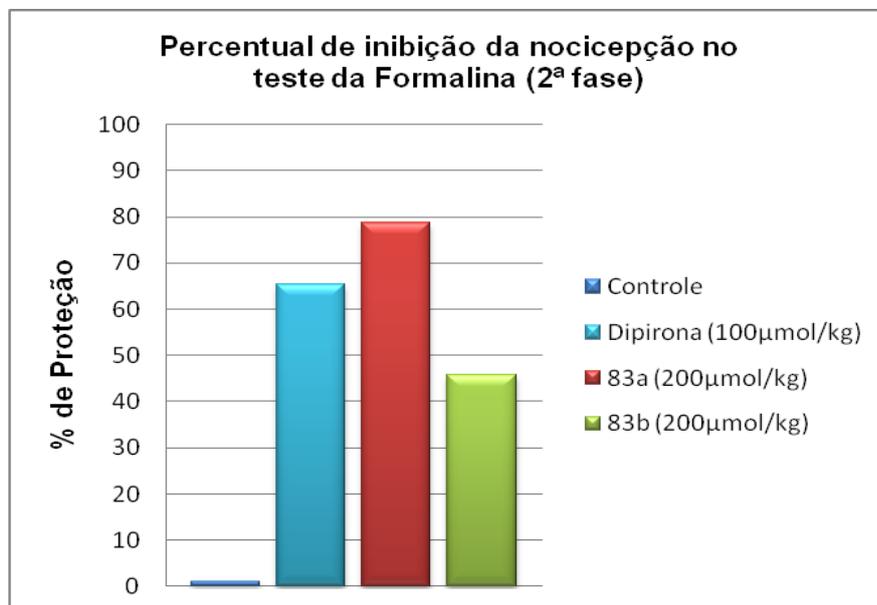
A hidrazona **83a**, apresentou um expressivo resultado em ambas as fases, sugerindo um mecanismo duplo, envolvendo ação central e periférica, entretanto, outros estudos devem ser realizados para corroborar esta hipótese.



**Figura 37** – Percentual de inibição das hidrazonas no teste da Formalina (1ª fase)

A fase neurogênica (1ª fase) é provavelmente um resultado direto da estimulação da dor e reflete a dor centralmente mediada com liberação de substância P, enquanto que a segunda fase é devido à liberação de histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas.

Este teste é um método bastante útil para não somente avaliar drogas com ação antinociceptivas, mas também auxiliar na elucidação do mecanismo da ação. Os fármacos que atuam principalmente no sistema nervoso central inibem ambas as fases<sup>(71)</sup>.



**Figura 38** – Percentual de inibição das hidrazonas no teste da Formalina (2ª fase)

## 7.2 - Atividade Antichagásica

### 7.2.1 – Doença de Chagas

Em 1909, Carlos Chagas, pesquisador assistente do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), descobriu uma nova doença humana, a tripanossomíase americana ou doença de Chagas, causada pelo o agente etiológico *Trypanosoma cruzi*, protozoário hemoflagelado (família *Trypanosomatidae*, da classe *Kinetoplastea*) transmitido normalmente pelo inseto-vetor *Triatoma infestans*, conhecido como “barbeiro”<sup>(75,76)</sup>.

O *T. cruzi* infecta uma gama de espécies da subfamília *Triatominae* (família *Reduviidae*, da ordem *Hemiptera*) e mamíferos, inclusive o homem<sup>(77,78)</sup>, e se distribui entre essas espécies de hospedeiros em toda Américas Central e Sul, chegando ao México e ao sul e sudeste dos Estados Unidos da América<sup>(77)</sup>. Todos os triatomíneos podem ser vetores do *T. cruzi*, mas os mais importantes são aqueles adaptados às habitações humanas e tem um curto intervalo entre a alimentação e a defecação<sup>(79)</sup>. No Brasil, são conhecidas acima de 65 espécies transmissoras da doença de Chagas.

O ciclo de vida do parasita envolve três fases morfológicas distintas, entre hospedeiros vertebrados e invertebrados: *epimastigota*, encontrado no vetor e em cultura axênica; *trypomastigota*, comum na circulação sanguínea e considerada a mais infectante; e *amastigota*, forma replicante intracelular<sup>(78)</sup>.

A transmissão para os humanos ocorre quando, logo após a refeição, o parasita, nas fezes do inseto contaminado e na membrana das mucosas da boca, nariz e conjuntiva, instala-se nas células macrocíticas e outras células do hospedeiro<sup>(78)</sup>. O parasita se multiplica intracelularmente comprimindo a célula do hospedeiro, lisando-as e se espalhando pela corrente sanguínea. Esses novos protozoários infectam as células adjacentes ou se propagam através de tecidos linfáticos e sanguíneos distantes. O ciclo é completo quando os triatomíneos ingerem sangue contaminado<sup>(80,78)</sup>.

Outras rotas de transmissão também são encontradas: transfusão sanguínea, transplantes, transmissão vertical e ingestão de alimentos contaminados<sup>(77)</sup>.

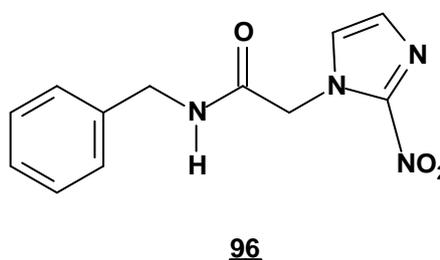
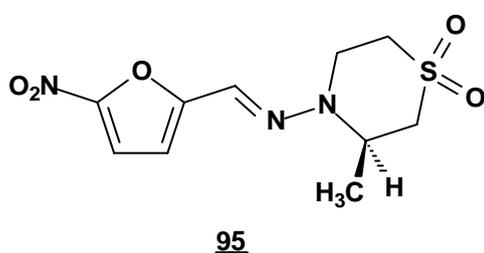
A síndrome pode acontecer de forma aguda, que é frequentemente não diagnosticada (66-99%); ou crônica, só percebida anos após, quando o doente se apresenta com megaesôfago (10%); megacólon e condições anormais do miocárdio (20-30%)<sup>(80)</sup>, provocando incapacidades no doente, sendo a principal causa de aposentadoria precoce em nosso meio<sup>(81)</sup>.

Endêmica na América Latina, esta doença acomete aproximadamente de 10-12 milhões de pessoas, calculando-se que 8,2% das 5.074.000 mortes ocorridas no Brasil, no período de 1977 a 1983, foram provocadas por essa enfermidade.

São propostas duas alternativas para erradicação desta doença: a primeira baseia-se na prevenção da doença por erradicação do inseto vetor e na esterilização do sangue de portadores usados para transfusão. A segunda consiste na quimioterapia de pacientes infectados com fármacos absolutamente eficientes, eliminado assim o reservatório humano do *Trypanosoma cruzi*, e ao mesmo tempo curando o paciente<sup>(82)</sup>.

Grandes avanços foram alcançados no controle da transmissão vetorial e transfusional da doença nas últimas décadas, principalmente na América do Sul. Porém, desde a descoberta desta doença há cem anos<sup>(83)</sup>, ainda não se encontrou uma vacina ou tratamento específico disponível para amplas intervenções de saúde pública<sup>(84)</sup>.

O tratamento etiológico atual está baseado na administração do Nifurtimox [*N*-(3-metil-1,1-dioxo-1,4-tiazinan-4-il)-1-(5-nitro-2-furil)metanimina] **95** e do Benznidazol [*N*-benzil-2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)acetamida] **96**, que são nitrofuranos com ação tripanossomicida<sup>(82)</sup> descobertos empiricamente<sup>(85)</sup>, e são os únicos com aplicabilidade clínica comprovada, apesar de sua relativa eficácia<sup>(82)</sup>.



Por outro lado, apesar de não haver surgido nenhuma nova droga de atividade expressiva para o tratamento específico da infecção chagásica nos últimos anos<sup>(76)</sup>, há um grande número de estudos a fim desenvolver drogas mais seguras e efetivas<sup>(86)</sup>, com um número significativo de publicações interessadas no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos contra o *T. cruzi*<sup>(87)</sup>.

Para alcançar esta meta, a OMS tem adotado em sua rede de pesquisas do programa TDR<sup>1</sup>, um protocolo experimental padrão baseado em uma única cepa do *T. cruzi*, o que tem permitido a produção de resultados de alta qualidade que podem ser comparados pelos

<sup>1</sup>TDR - *Tropical Disease Research* – Programa Especial de colaboração científica da OMS para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais, que ajuda a coordenar, apoiar e influenciar esforços globais para combater um portfólio das principais doenças dos países pobres e desfavorecidos.

diferentes laboratórios acadêmicos e industriais da rede. Este é um aspecto de grande relevância, especialmente na área de doença negligenciadas, onde existe uma necessidade premente de ações globais capazes de promover maiores avanços das pesquisas<sup>(88)</sup>.

## 7.2.2 - Materiais e Métodos

Os ensaios biológicos foram conduzidos como sugeridos pela organização Mundial de Saúde (OMS), sendo testes robustos e de elevada exatidão. Os laboratórios envolvidos apresentam condições de Biossegurança (contenções para NB2) adequadas para execução do trabalho proposto e para trabalho com animais experimentais.

### 7.2.2.1 - Animais

Foram utilizados camundongos *Mus musculus* das linhagens isogênicas BALB/c e C57Bl/6, machos, com 6 - 8 semanas de idade, pesando  $20 \pm 2$  g, provenientes do biotério da Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro. O protocolo de experimentação animal (processo nº 0266-05), utilizado neste trabalho, já foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FIOCRUZ com registro 0266/05.

### 7.2.2.2 - Obtenção de células esplênicas

Células esplênicas foram obtidas de acordo com Pereira et al.<sup>(89)</sup>. Após sacrifício do animal em cilindro de CO<sub>2</sub>, o baço de cada camundongo foi removido em condições assépticas e colocado em tubo Falcon contendo meio RPMI 1640<sup>2</sup> sem SFB (meio incompleto). No fluxo vertical, cada baço foi transferido para placa de Petri onde foram macerados. As suspensões celulares obtidas foram transferidas para tubos Falcon contendo aproximadamente 10 mL de meio incompleto por baço, centrifugadas a 4°C, 200 x g durante 5 minutos. Após descarte do sobrenadante, ao sedimento foi adicionada água destilada para promover lise das hemácias. O sobrenadante, sem conter os debris celulares, foi coletado e centrifugado a 4°C, 200 x g durante 5 minutos. O sedimento (contendo as células) foi ressuspendido em meio RPMI 1640 completo e uma alíquota de cada suspensão celular foi

---

<sup>2</sup>RPMI 1640 - É uma mistura de sais inorgânicos enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular. Destina-se à cultura de células humanas e de outros animais.

separada. Em seguida, foi diluída em azul de Trypan para ser quantificada em câmara de Neubauer, assim como verificar a viabilidade celular.

### 7.2.2.3 - Avaliação da atividade tóxica dos compostos em células de camundongos isogênicos

Para este estudo, células esplênicas ( $6 \times 10^5$  células/poço), obtidas de acordo com item anterior, foram cultivadas em placas de 96 poços de fundo plano, contendo meio de cultura completo. Para o ensaio de citotoxicidade, as células foram incubadas com os compostos em sete diferentes concentrações (100, 50, 25, 10, 5 e 1  $\mu\text{g/mL}$ ) e com timidina tritiada (1  $\mu\text{Ci/poço}$ ) durante 24 h, em estufa de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ . Para o controle foram utilizadas células tratadas com saponina (0,05%), células tratadas com DMSO (1%), e sem tratamento, todos com timidina tritiada (1  $\mu\text{Ci/poço}$ ), associada em paralelo. Cada droga foi testada em triplicata. Após 24 h de incubação, as células foram coletadas em papel de fibra de vidro e, posteriormente, a captação de timidina tritiada foi determinada através do contador beta de cintilação. O percentual de citotoxicidade foi determinado comparando-se a percentagem de incorporação de timidina tritiada nos poços com as drogas em relação aos poços não tratados.

### 7.2.2.4 - Cultura de *Trypanosoma cruzi*

Estima-se que existam catalogadas mais de 35 cepas do *T. cruzi*, as quais apresentam diferentes perfis de resistência e susceptibilidade aos fármacos padrões, **95** e **96**<sup>(88)</sup>. Para este trabalho, foi utilizada a cepa Y do *T. cruzi* por ser de fácil manuseio, oferecendo parasitas viáveis em 7-10 dias, além de ser utilizada por vários grupos de pesquisa, para o mesmo propósito<sup>(82, 85)</sup>.

As culturas de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) foram crescidas a  $28^\circ\text{C}$  em meio 3N e expandidas em meio BHI<sup>3</sup>. Para avaliar a inibição de crescimento dos parasitas, as formas epimastigotas de *Trypanosoma* foram coletadas da cultura no 7º dia. A avaliação da atividade tripanossomicida foi realizada, partindo de duas lavagens dos parasitas em solução salina tampão de fosfato, por centrifugação a  $1000 \times g$  e temperatura ambiente durante 10 minutos. A contagem dos parasitas foi realizada em câmara de Neubauer.

---

<sup>3</sup>BHI – *Brain Heart Infusion* – É um meio de cultura altamente nutritivo utilizado para crescimento de microorganismos que possuem requerimentos nutricionais complicados. Consiste da recuperação de nutrientes de coração e cérebro de gado cozidos, peptona e dextrose.

### 7.2.2.5 - Avaliação da atividade dos compostos contra o *Trypanosoma cruzi*

Para determinar o efeito antiproliferativo para *T. cruzi*, formas epimastigotas ( $10^6$ /mL) crescidas em culturas axênicas, na fase logarítmica de crescimento, foram colocadas em placas de 96 poços em um volume de 100  $\mu$ L, sob condições de cultura adequadas (26°C). Os testes foram conduzidos tendo como controle o Benznidazol e culturas de parasitos sem tratamento. A semicarbazona **84** foi avaliada quanto à concentração inibitória de 50% do crescimento dos parasitas ( $IC_{50}$ ), onde formas epimastigotas e tripomastigotas da cepa Y de *T. cruzi* foram cultivadas durante 11 dias e 24 horas, respectivamente, na presença de diferentes concentrações dos compostos, procedendo-se em seguida a contagem de parasitas viáveis. O cálculo da  $IC_{50}$  foi determinada por meio de uma regressão linear simples utilizando o software Prisma 4 Graphpad.

### 7.2.3 – Resultados e Discussão

O valor da  $IC_{50}$  apresentado pela nova oxadiazolil-aril-semicarbazona **84** é considerado alto em relação aos apresentados pelo Nifurtimox e Benznidazol (Tab. 4). Porém, como pode ser visto na tabela, a baixíssima citotoxicidade revelada pela semicarbazona **84**, sendo necessários mais de 100  $\mu$ g/mL de meio de cultura para provavelmente provocá-la, proporciona uma possibilidade de resolução para o principal problema dos medicamentos utilizados para o tratamento da doença de Chagas, a citotoxicidade, que é da ordem de 25  $\mu$ g/mL para o Benznidazol e de apenas 1  $\mu$ g/mL para Nifurtimox.

A toxicidade desses fármacos é evidenciada pelos efeitos colaterais que provocam, tais como anorexia, cólicas intestinais, excitabilidade psíquica e perda de peso para o Nifurtimox, e edema peri-orbital ou generalizado, linfadenopatia, neutropenia, agranulocitose, polineurite e parestesias para o Benznidazol.

**Tabela 4** – Citotoxicidades e  $IC_{50}$  da oxadiazolil-aril-semicarbazona **84**, Benznidazol e Nifurtimox

| Substâncias        | Citotoxicidade ( $\mu$ g/mL) <sup>a</sup> | $IC_{50}$ – epimastigotas – 11 dias ( $\mu$ g/mL) |
|--------------------|---|---|
| <b>84</b>          | >100                                      | <b>27,42</b>                                      |
| <b>Benznidazol</b> | 25  | <b>1,73</b>                                       |
| <b>Nifurtimox</b>  | 1   | <b>0,54</b>                                       |

<sup>a</sup> = maior concentração atóxica em células esplênicas de camundongos BALB/c

Os resultados mostrados na tabela são considerados promissores já que, como foi supramencionado, a terapêutica para o tratamento deste mal ainda se apresenta longe do considerado ideal, desde quando surgiram as drogas padrões no final da década de 1960 e início de 1970.

Para nos aproximarmos dessa idealidade, seria necessário o desenvolvimento de uma nova droga que não induzisse resistência parasitária, fosse eficaz em poucas doses e em custo prazo, e mais importante, produzisse cura parasitológica nos casos crônicos e agudos da doença.

Porém este processo tem sido lento devido à falta de incentivos econômicos, embora o *T. cruzi* ofereça vários alvos terapêuticos prováveis, tais como: a cisteína protease expressa por esse parasito, chamada cruzaina, que é a principal responsável pela atividade proteolítica em todas as fases do ciclo evolutivo do parasito; a tripanotiona redutase, responsável pela manutenção de níveis reduzidos de radicais livres no ambiente intracelular; enzimas responsáveis pela biossíntese do esterol sintetizado pelo *T. cruzi*, o ergosterol; além de outras enzimas responsáveis pelo metabolismo de nucleotídeos e carboidratos, necessários ao desenvolvimento deste protozoário, como a hypoxantina-guanina fosforibosiltransferase, dihidrofolato redutase e a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

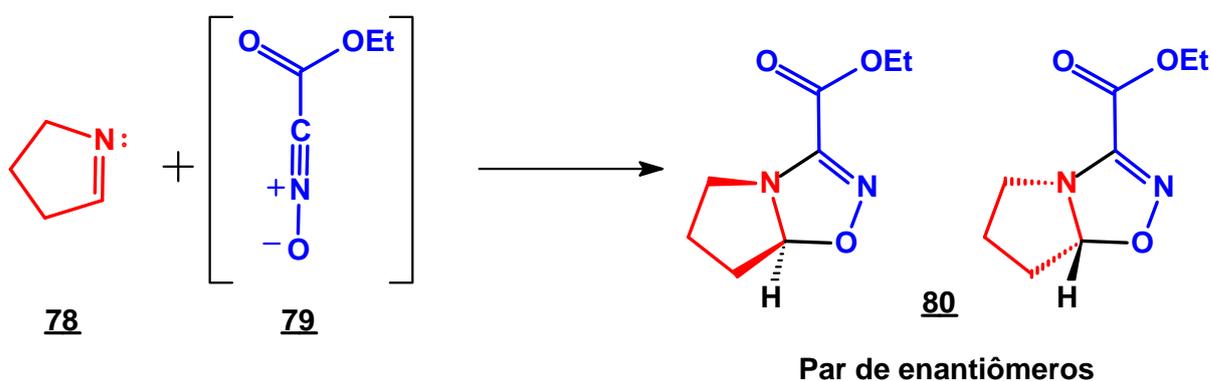
Ainda não se pode precisar por qual mecanismo de ação a oxadiazolil-aril-semicarbazona **84** possa agir. No entanto, há relatos da literatura que comprovam que as semicarbazonas, como agentes antichagásicos, possuem uma excelente capacidade de ligação ao DNA, um bom potencial na liberação de oxigênio, desencadeando oxidações agudas no parasita<sup>(90)</sup>, além de serem bons agentes quelantes, podendo coordenar-se a metais existentes nas estruturas de enzimas, inativando-as<sup>(47)</sup>. Entre os de melhor perfil farmacológico, podem ser mencionadas semicarbazonas análogas ao Nifurtimox e semicarbazonas derivadas de heterociclos que contêm a função *N*-óxido<sup>(94)</sup>.

## Capítulo VII

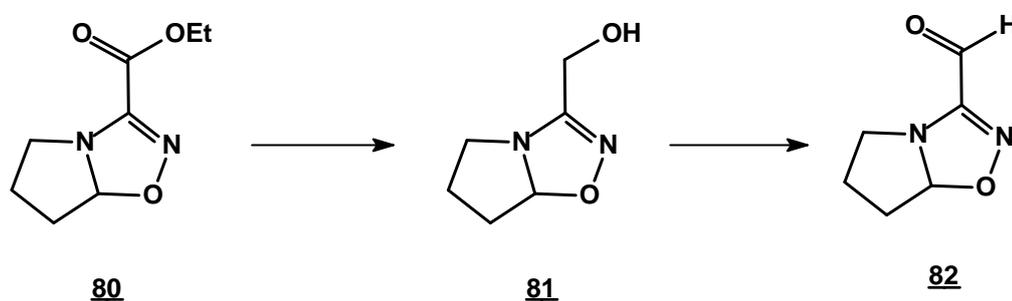
### *Conclusões e Perspectivas*

## 8 – CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi desenvolvido o novo heterobícclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina **80**, por meio da reação de cicloadição [3+2] dipolar entre um óxido de nitrila, o óxido de carboetoxiformonitrila **79**, e a  $\Delta^1$ -pirrolina **78**. Como foi pormenorizada no capítulo IV, a teoria dos orbitais moleculares de fronteira peremptoriamente previu o que supusemos, e, baseados nela, fomos em prática a gênese desse novo *scaffold*.

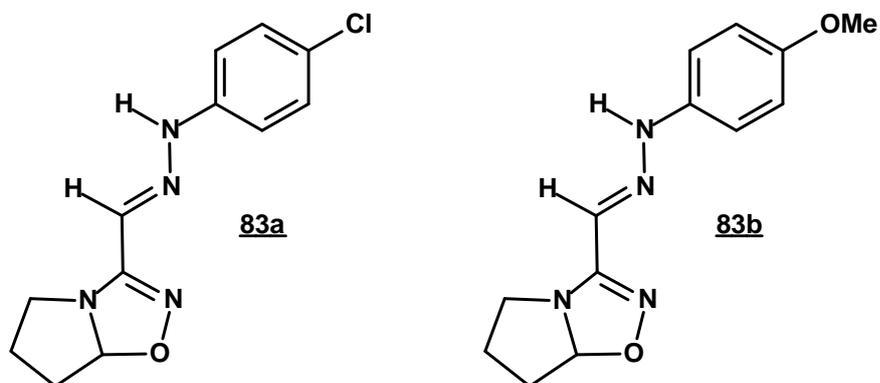


O éster etílico do biciclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina **80**, obtido com rendimento de 75%, foi devidamente caracterizado e de imediato utilizado como base para reações que foram fundadas em metodologias tradicionais. Dentre estas, temos a redução ao álcool **81** e posterior oxidação ao aldeído **82**, pelo método do DMSO ativado, ou como mais comumente é conhecida, oxidação de Swern, todas levadas a cabo com sucesso e com excelentes rendimentos, de 95% para o álcool e de 76% para o aldeído.

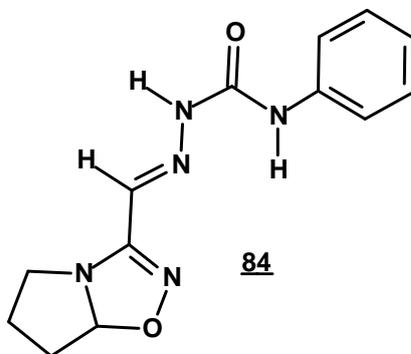


O aldeído **82**, produto chave na sequência de reações de condensação que culminaram nos produtos finais, mostrou-se um composto bastante versátil, já que, quando posto em reações com diferentes classes de reagentes, neste caso, uma semicarbazida e duas hidrazinas, reagiu com rapidez, em temperatura ambiente e sem necessidade de atmosfera inerte.

As oxadiazolil-aryl-hidrazonas, **83a** e **83b**, foram obtidas com rendimentos moderados, 54% e 47% respectivamente, porém, aproximando-se do que é preconizado na literatura. Em testes biológicos, estas hidrazonas exibiram atividade antinociceptiva nos ensaios utilizando metodologias em que a nocicepção é provocada por ácido acético e por formalina.



A oxadiazolil-aryl-semicarbazona, **84**, obtida com rendimento moderado de 55%, desempenhou excelente papel em ensaio como tripanossomicida, apresentado baixíssima toxicidade, característica não compartilhada com os fármacos padrão, o Benznidazol e o Nifurtimox.

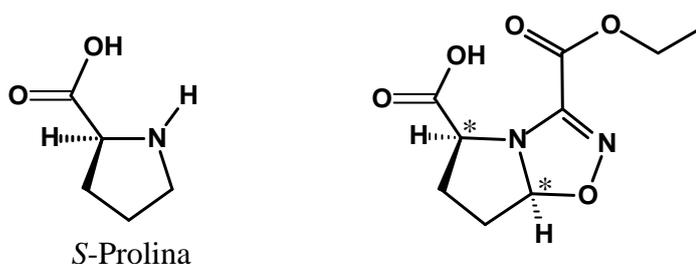


Diante do que foi exposto, a bem sucedida síntese do novo biciclo pirrolidina[1,2-*d*][1,2,4]-2-oxadiazolina servirá de alavanca para o desenvolvimento de uma série de metodologias, nas quais se poderá utilizar diversos 1,3-dipolos do tipo alenila, como os diazocompostos, ou do tipo alila, como as nitronas.

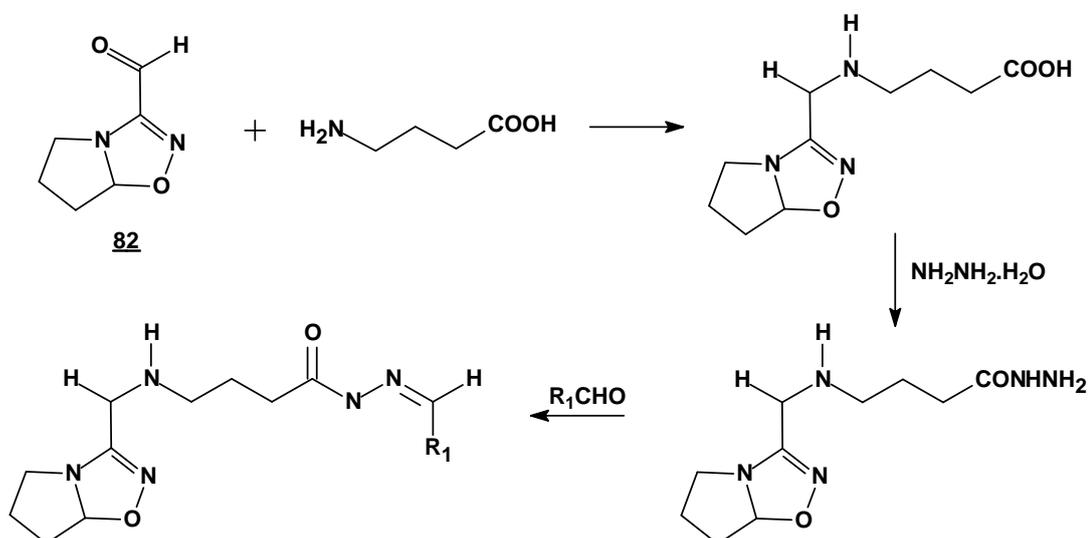
## 9 – PERSPECTIVAS

A obtenção de derivados hidrazônicos e semicarbazônicos, provenientes do novo heterociclo oxadiazolínico bicíclico pirrolidínico, obtido a partir da cicloadição 1,3-dipolar, traz consigo promissoras possibilidades de uma infinidade de modalidades sintéticas, visando obtenção de novas classes de moléculas.

A síntese de bicíclo que carregam em sua estrutura dois centros assimétricos, obtidos por síntese assimétrica, já é uma realidade em nosso grupo de pesquisa<sup>(93)</sup>. O novo bicíclo pode se enquadrar em planejamentos de novas moléculas contendo tais centros, levando, por exemplo, à formação de aminoácidos, importante classe de moléculas biologicamente ativas. Aqui vemos um possível derivado do novo bicíclo, apresentando inserido em sua estrutura o  $\alpha$ -aminoácido *S*-prolina, apresentando dois centros quirais.

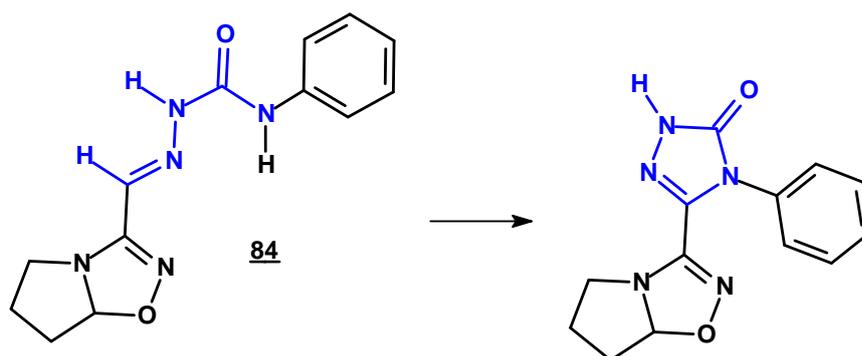


Hidrazonas fundidas com porções contendo o neurotransmissor inibitório por excelência, o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), já faz parte da delineação de novos derivados relacionados na literatura<sup>(46)</sup>. Diante dessa abordagem, podemos vislumbrar a síntese de novas moléculas contendo este neurotransmissor, visando aplicação destas em ensaios anticonvulsivantes, atividade principal deste  $\gamma$ -aminoácido.

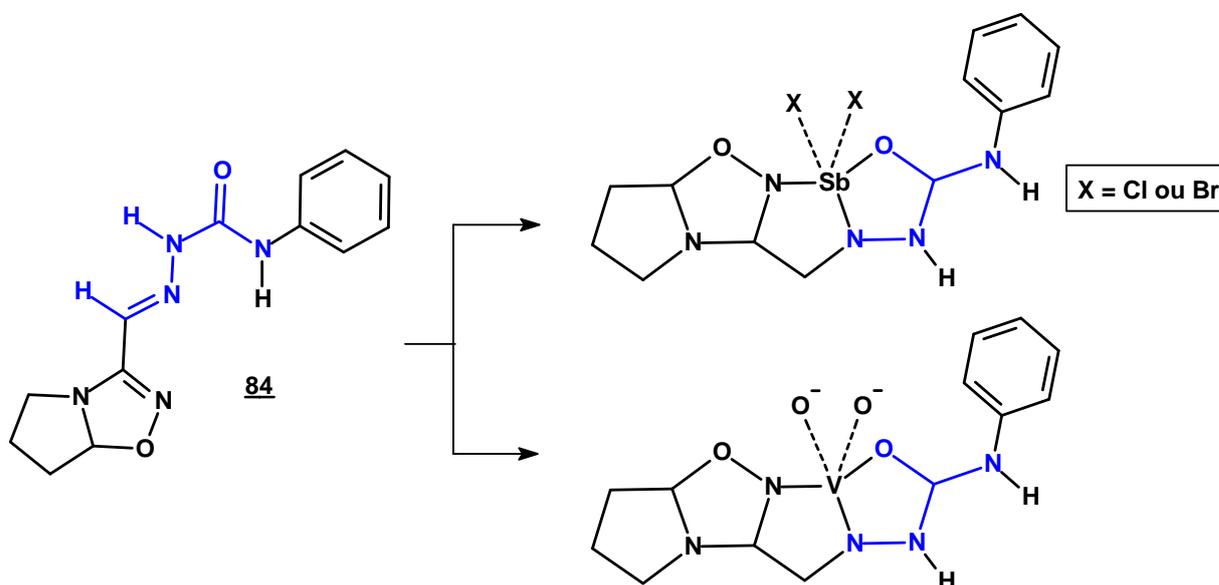


A ciclização<sup>(49)</sup>, bem como a complexação com metais de transição como o antimônio e o vanádio<sup>(48, 50)</sup>, de semicarbazonas e tiossemicarbazonas, já habita amiúde os artigos dos principais periódicos de Química Medicinal, Química Orgânica e Bioquímica, e, por essa razão, servem de base para o planejamento de tais reações com a semicarbazona relatada nesse estudo **84**.

### CICLIZAÇÃO



### COMPLEXAÇÃO



Enfim, dar-se-á continuidade a ensaios mais específicos concernentes à atividade antinociceptiva dos derivados hidrazônicos (**83a** e **83b**), semicarbazônico (**84**), e de outros que ainda estão por purificar. Ainda é pretendida a realização de testes mais robustos para a atividade antichagásica da semicarbazona **84** e de uma tiossemicarbazona que não foi relatada nesse estudo, devido à ausência de dados espectrométricos para confirmação da sua estrutura.

*Referências*

## REFERÊNCIAS

1. Gilchrist, T. L. *Heterocyclic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, New York, USA, **1992**.
2. Avendano, C. *Introducción a La Química Farmacêutica*, McGraw-Hill Interamericana, España, **2001**.
3. Ganellin, C. R.; In *Medicinal Chemistry - Principles and Practice*; King, F.D. Ed.; RSC, London, **1994**, 189.
4. Barreiro E. J.; Fraga C. A. M. *Química Medicinal – As Bases Farmacológicas da Ação dos Fármacos*. Ed. ArtMed, **2001**, 63.
5. Chimirri, A.; Grasso, S.; Montforte, A. M.; Rao, A.; Zappala, M. *Farmaco* **1996**, *51*, 125.
6. Chimirri, A.; Grasso, S.; Montforte, A. M.; Montforte, P.; Zappala, M.; Carotti, A. *Farmaco* **1994**, *49*, 509.
7. Singh, C. P.; Hasan, H. *Journal of Indian Council of Chemists* **2002**, *19*, 46.
8. Tinperciuc, B.; Parvu, A.; Palage, M.; Oniga, O.; Ghiran, D. *Farmacia (Bucharest)* **1999**, *47*, 77.
9. Dogan, H. N.; Duran, A.; Rollas, S.; Sener, G.; Armutak, Y.; Keyer-Uysal, M. *Journal of Medical Sciences Reserach* **1998**, *26*, 755.
10. Küçükgülzel, S. G.; Mazi, A.; Sahin, F.; Ozturk, S.; Stables, J. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 1005.
11. Todeschini, A. R.; Miranda, A. L.; Silva C. M.; Parrini, S. C.; Barreiro, E. J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 189.
12. Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Stables, J. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 241.
13. Lima, P. C., Lima, L. M.; Da Silva, K. C.; Leda, P. H.; Miranda, A. L. P.; Fraga, C. A. M; Barreiro, E. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 187.

14. Fraga, A. G. M.; Rodrigues, C. R.; Miranda, A. L. P.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *11*, 285.
15. Ergenç, N.; Günay, N. S. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 143.
16. Salgın-Gökşen, U.; Gökhan-Kelekçi, N.; Göktaş, Ö.; Köysal, Y.; Kılıç, E.; Işık, Ş.; Aktay, G.; Özalp, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5738.
17. Gemma, S.; Kukreja, G.; Fattorusso, C.; Persico, M.; Romano, M.; Altarelli, M.; Savini, L.; Campiani, G.; Fattorusso, E.; Basilico, N. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2006**, *16*, 5384.
18. Bernardino, A.; Gomes, A., Charret, K.; Freitas, A.; Machado, G.; Canto-Cavalheiro, M.; Leon, L.; Amaral, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 80.
19. Küçükgülzel, Ş. G.; Rollas S.; Erdeniz H.; Kiraz M. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 153.
20. Delalande, S. A. *Derwent World Patents Index*, Patent Number FR2262513-A, **1975**.
21. Hormann, R. E.; Chortyk O.; Le, D. P. *United States Patent*, Patent number US007304162B2, **2007**.
22. Qian, X.; Yang, Q.; Wang, N.; Liu, F.; Ke, S. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2009**, *19*, 332.
23. Warkentin, J.; Ramakrishnan, K.; Jain, R. C.; Wandelmaier, F. W. *United States Patent*, Patent number 4009276, **1977**.
24. Coley, H. M.; Sarju, J.; Wagner, G. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 135.
25. Rajak, H.; Kharya, M. D.; Mishra, P. *The Pharmaceutical Society of Japan* **2007**, *10*, 1757.
26. Fleming, I. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*, Wiley, **1976**.
27. Kuznetsov, M. L.; Nazarov, A. A.; Kozlova, L. V.; Kukushkin, V. Y. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4475.
28. Korolkovas, A. *Química Farmacêutica*; Ed. Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro-RJ, **1988**, 48.

29. Küçükgülzel, S. G.; Rollas, S. *Molecules* **2007**, *12*, 1910.
30. Gaston, M. A.; Dias, L. R. S.; Freitas, A. C. C.; Miranda, A. L. P.; Barreiro, E. J. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **1996**, *71*, 213.
31. Dimmock, J. R.; Brenner, J. M.; Philips, O. A. *Pharmazie* **1987**, *42*, 376.
32. Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Sables, J. P. *Pharmazie* **1995**, *50*, 823.
33. Ajani, O. O.; Obafemi, C. A.; Nwinyi, O. C.; Akinpelu, D. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 214.
34. Asato, G. ; Berkelhammer, G. *United States Patent*, Patent Number 3658832, **1972**.
35. Naidu, B. N.; Sorenson, M. E. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 1391.
36. Sridhar, S. K.; Saravanan, M.; Ramesh, A. *Eur. J. Med. Chem.*, **2001**, *36*, 61.
37. Abd El-hafez, O. M.; El-khrisy, E. D.; Badria, F.; Fathy, A. D. *Arch. Pharmacol. Res.* **2003**, *26*, 686.
38. Cho, C. S.; Lim, D. K.; Hoe, N. H.; Kim, T. J.; Shim, S. C. *Chem. Commun.* **2004**, *6*, 104.
39. Vicini, P.; Zani, F.; Cozzini, P.; Daytchinova, I. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 553.
40. Soliman, F. S. G.; Labouta, I. M.; Stadlbauer, W. *Arch. Pharm. Chem. Sci. Ed.* **1985**, *13*, 49.
41. Kappe, T.; Aigner, R.; Jobstel, M.; Hohengassner, P.; Stadlbauer, W. *Heterocycl. Commun.* **1995**, *1*, 341.
42. Sridharan, V.; Perumal, P. T.; Avendano, C.; Menendez, J. C. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1351.
43. Obafemi, C. A.; Pfeleiderer, W. *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1549.

44. Zhou, Y. ; Kim, H. N. ; Yoon, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 125.
45. Varache-Lembege, M.; Moreau, S.; Larouture, S.; Nuhrich, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, doi: 10.1016/j.ejmech2007.09003
46. Ragavendran, J. V.; Sriram, D.; Patel, S. K.; Reddy, I. V.; Bharathwajan N.; Stables, J.; Yogeeswari, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 146.
47. Beraldo, H. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 461.
48. Rivadeneira, J; Barrio, D. A.; Arrambide, G.; Gambino, D.; Bruzzone, L.; Etcheverry, S. B. *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103*, 633.
49. Shalini, M.; Yogeeswari, P.; Sriram, D.; Stables, J. P. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2009**, *63*, 187.
50. Kasuga, N. C.; Onodera, K.; Nakano, S.; Hayashi, K.; Nomiya, K. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 1176.
51. Chung, M.; Guido, R. V. C.; Martinelli, T. F.; Gonçalves, M. F.; Polli, M. C.; Botelho, K. C. A.; Varanda, E. A.; Colli, W.; Miranda, M. T. M.; Ferreira, E. I. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4779.
52. Yogeeswari, P; Ragavendran, J. V.; Sriram, D; Nageswari, Y.; Kavya, R.; Sreevatsan, N.; Vanitha, K.; Stables. J. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2459.
53. Pandeya, S. N.; Yogeeswari, P.; Stables, J. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 879.
54. Kadaba, P. K. *J. Pharm. Sci.* **1984**, *73*, 850.
55. Yogeeswari P; Ragavendran, J. V.; Thirumurugan, R; Induja, S.; Sriram, D.; Stables, J. P. *Med. Chem.* **2006**, *2*, 55.
56. Cabrera, E.; Murguiondo, M. G.; Arias, M. G.; Arredondo, C.; Pintos, C.; Aguirre, G.; Fernández, M.; Basmadján, Y.; Rosa, R.; Pacheco, J. P.; Raymondo, S.; Di Maio, R.; González, M.; Cerecetto, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3909.

57. Kraus, G. A.; Neuenschwander, K. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4791.
58. Kozikowski, A. P.; Adamczyk, M. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 366.
59. Fuhrhop, J.; Penzlin, G. *Organic Synthesis, Concepts, methods, starting materials.* **1994**, VCH Edition, Weinheim, Germany.
60. Mancuso, A. J.; Swern, D. *Synthesis*, **1981**, 165.
61. Gligorijevic, N.; Todorovic, T.; Radulovic, S.; Sladic, D.; Filipovic, N.; Godevac, D.; Jeremic, D.; Anelkovic, K. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1623.
62. Cunha, S.; Da Silva, T. L. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 2090.
63. Smith, C. M. Opioid analgesics – agonists and antagonists. In: Smith, C. M.; Reynard, A. M. *Textbook of pharmacology*. Philadelphia: W. B. Saunders Company, **1992a**, 226.
64. Prado, W. A. Neurofisiologia e neuroquímica da dor aguda e crônica. In: Andrade Filho, A. C. C. (editor). *Dor: diagnóstico e tratamento*. 1. ed. São Paulo: Roca, **2001**. p. 1.
65. Redburn, D. A.; Dahl, N. Sensory receptors of the somatosensory system. In: Johnson, L. R. (editor) *Essential medical physiology*. 2. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, **1998**. p. 685.
66. Teixeira, M. J. Anatomia e fisiologia das vias nociceptivas e supressoras da dor. In: Teixeira, M. J.; Figueiró, J. A. B. *Dor: epidemiologia, fisiopatologia, avaliação, síndromes dolorosas e tratamento*. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr., **2001b**, 14.
67. Walters, E. T. *Int. Ver. Neurobiol.* **1994**, *36*, 325.
68. Kraychete, D. *Antiinflamatórios não-hormonais*. In: Silva, P. *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **2002a**, 556.
69. Lullmann, H.; Mohr, K.; Ziegler, A.; Bieger, D. *Color Atlas of Pharmacology* 2. ed. Stuttgart: Thieme, **2003**, 194.

70. Despopoulos, A.; Silbernagl, S.; Color Atlas of Physiology 5. ed. Stuttgart: Thieme, **2000**, 318.
71. Young, H. Y.; Luo, Y. L.; Cheng, H. Y.; Hsieh, W. C.; Liao, J. C.; Peng, W. H. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, 96, 207.
72. Hunskaar, S., Hole, K. *Pain*, **1987**, 30, 103.
73. Duarte, J. D. G.; Negus, S. S.; Butelman, E. R., Costa, B. R.; Woods, J. H. *Psychopharmacology* **1998**, 115, 311.
74. Vane, J. R.; Botting, R. M. *The American Journal of Medicine* **1998**, 104, n. 3A, 2S-8S
75. Oliveira, D. A.; Pereira, D. G.; Fernandes, A. M. A. P.; De Castro, S. L.; Souza Brito, A. R. M.; De Souza, A. O.; Duran, N. *Parasitol. Res.* **2005**, 95, 161.
76. Coura, J. R.; De Abreu, L. L.; Willcox, H. P. F.; Petana, W. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **1997**, 30, 139.
77. Steindel, M.; Pacheco, L. K.; Scholl, D.; Soares, M.; De Moraes, M. H.; Eger, I.; Kosmann, C.; Sincero, T. C. M.; Stoco, P. H.; Murta, S. M. F.; De C.-Pinto, C. J.; Grisard, E. C. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **2008**, 60, 25.
78. Kollien, A. H.; Schaub, G. A. *Parasitology Today* **2000**, 16, 381.
79. Guzman-Bracho, C. *Trends in Parasitology* **2001**, 17, 372.
80. Kirchhoff, L. V. *Gastroenterology Clinics of North America* **1996**, 25, 517.
81. Ribeiro, A. L. P.; Da Costa Rocha, M. O. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **1998**, 31, 301.
82. Stoppani, A. O. M. *Medicina (Buenos Aires)* **1999**, 59, 147.
83. Dias, J. C. P.; Silveira, A. C.; Schofield, C. J. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2002**, 97, 603.

84. Schofield, C. J.; Jannin, J.; Salvatella, R. *Trends in Parasitology* **2006**, *22*, 583.
85. Murta, S. M. F.; Nogueira, F. B.; Dos Santos, P. F.; Campos, F. M. F.; Volpe, C.; Liarte, D. B.; Nirdé, P.; Probst, C. M.; Krieger, M. A.; Goldenberg, S.; Romanha, A. J. *Acta Tropica* **2008**, *107*, 59.
86. Cançado, J. R. *Ver. Inst. Med. Trop.*, **2002**, *44*, 29.
87. Serrano, S.; Le-Senne, A.; Portillo, C.; Nogal, J. J.; Ochoa, C.; Barrio, A.; *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2002**, *97*, 553.
88. Dias, L. C.; Dessoy, M. A.; Silva, J. J. N.; Thiemann, O. H.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. *Química Nova* **2009**, *32*, 2444.
89. Leite, A. C. L.; Moreira, D. R. M.; Cardoso, M. V. O.; Hernandez, M. Z.; Pereira, V. R. A.; Silva, R. O.; Kiperstok, A. C.; Lima, M. S.; Soares, M. B. P. *Med. Chem.* **2007**, *2*, 1339.
90. Aguirre, G.; Boiani, L.; Boiani, M.; Cerecetto, H.; Di Maio, R.; González, M.; Porcal, W.; Denicola, A.; Piro, O. E.; Castellano, E. E.; Sant'Anna, C. M. R.; Barreiro E. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6336.
91. Heilbron, I. M.; Jones, E. R. H.; Sondheimer, F. *J. Chem. Soc.* **1949**, 604.
92. Reis, S. L. G. B.; De Almeida, V. M., De Almeida, G. C.; Boaviagem, K. M.; Mendes, C. C. B.; Góes, A. J. S.; Magalhães, L. R.; Da Silva, T. G; De Faria, A. R. Síntese e avaliação preliminar da atividade antinociceptiva de novas isoxazolil-aril-hidrazonas *Química Nova* **2010**, *30*, in press.
93. Almeida, V. M. Síntese assimétrica de 3-carboxamidas enantiomericamente puras e de hidrazidas e aril-hidrazonas, derivadas do novo heterociclo 7-(benzoil)-2-isoxazolina(5,4-*b*)pirrolidina. Avaliação das atividades biológicas. Recife, **2008**. [Tese de Doutorado, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco].
94. Cerecetto, H.; Di Maio, R.; González, M.; Risso, M.; Sagraera, G.; Seoane, G.; Denicola, A.; Peluffo, G.; Quijano, C.; Basombrio, M. A.; Paulino, M.; Olea-Azar, C. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 343.

# 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](#)