

Serviço Público Federal Ministério da Educação Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



EDUARDO AQUINO SANTOS

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE HIDRAZONAS E 1,3,4-OXADIAZÓIS

CAMPO GRANDE, MS

2024





EDUARDO AQUINO SANTOS

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE HIDRAZONAS E 1,3,4-OXADIAZÓIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Mestrado – da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Química (área de concentração: Química).

Orientadora: Profa. Dra. Ana Camila Micheletti

CAMPO GRANDE, MS 2024



Serviço Público Federal Ministério da Educação Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA MESTRADO

Aos vinte e oito dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e cinco, às oito horas, na reunião pelo Google Meet, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniuse a Banca Examinadora composta pelos membros: Ana Camila Micheletti (UFMS), Adilson Beatriz (UFMS) e Luciana Marçal Ravaglia (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho do aluno: EDUARDO AQUINO SANTOS, CPF ***.133.812-**, do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "Síntese e Avaliação de Atividade Antimicrobiana de Hidrazonas e 1,3,4-oxadiazóis" e orientação de Ana Camila Micheletti. A presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra ao aluno que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADORES	AVALIAÇÃO
Dra. Ana Camila Micheletti (Interno)	aprovado
Adilson Beatriz (Interno)	aprovado
Dra. Glaucia Braz Alcantara (Interno) (Suplente)	
Dra. Luciana Marçal Ravaglia (Externo) (Suplente)	aprovado
Dra. Suely Copini (Externo)	

RESULTADO FINAL:

Aprovação	х
Aprovação com revisão	
Reprovação	

OBSERVAÇÕES: O aluno se compromete a corrigir o texto de acordo com as sugestões da banca examinadora.

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas: Presidente da banca examinadora, membros da banca e aluno.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Camila Micheletti**, **Professora do Magistério Superior**, em 28/02/2025, às 16:23, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Adilson Beatriz**, **Professor do Magisterio Superior**, em 28/02/2025, às 21:20, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do <u>Decreto nº 10.543, de 13</u> <u>de novembro de 2020</u>.



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Aquino Santos, Usuário Externo**, em 05/03/2025, às 15:13, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do <u>Decreto nº 10.543, de 13</u> <u>de novembro de 2020</u>.



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Marcal Ravaglia, Quimico**, em 05/03/2025, às 15:39, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do <u>Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de</u> <u>2020</u>.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <u>https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?</u> <u>acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0</u>, informando o código verificador **5412355** e o código CRC **32EEFA57**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.027687/2024-43

SEI nº 5412355

Aos meus pais, amigo e professores, dedico este trabalho. Sem eles, nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo,

Aos meus pais, Jonas Vitorino dos Santos e Marcia F. de Aquino Santos, ao meu irmão Igor Aquino Santos, por serem a minha base. Sobretudo, por terem me apoiado incondicionalmente, confiando em minhas decisões e acreditado no meu potencial.

À minha orientadora, Profa. Dr^a. Ana Camila Micheletti pela orientação, pelas conversas e conselhos. Por juntamente comigo ter enfrentado os desafios que se levantaram, por ser paciente ao longo de todo esse processo.

À técnica Dr^a. Luciana Marçal Ravaglia pela aquisição dos experimentos de RMN.

A Thaysla Pastro de Lourenço Izidoro, por sua leveza e alegria, por seu apoio, pelo carinho e conselhos, que em muitas horas, aliviaram o fardo que eu carregava.

A Patrick da Silva Mirowski, pelo apoio, motivação e direcionamento nos estudos, que em muito contribuiu para o término deste trabalho. A Victor da Silva Lima, meu amigo de vida, pela enorme paciência que demonstrou comigo ao longo de todos esses anos, pelo carinho e pelas inúmeras conversas da madrugada que tivemos.

Aos amigos e companheiros do Instituto de Química, Maria Vitória, Getúlio Passos, Pedro Becker, Guilherme Moraes, Tainara Andrade, pela paciência, pela ajuda e pelos momentos de descontração.

Aos professores do PPGQ, por contribuírem com a minha formação acadêmica e profissional.

Aos órgãos de fomento, por possibilitarem a execução deste trabalho.

"Tudo o que você vê de bom em mim é Cristo. Tudo de mal, sou eu mesmo" Autoria Incerta.

RESUMO

Ao longo dos anos, as bactérias desenvolveram mecanismos cada vez mais sofisticados a fim de contornar os efeitos dos antimicrobianos e por conta disso, cepas resistentes continuam a surgir, superando os antibióticos mais modernos. Os indicadores de saúde global apontam que as doenças infecciosas figuram entre as dez maiores ameaças à saúde pública no mundo e tem atraído a atenção de organizações em todo o mundo, como a Organização Mundial da Saúde (OMS), a União Europeia, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Conselho Nacional de Saúde (CNS) e dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Como resposta, a OMS, por meio do Global Action Plan on Antimicrobial Resistance, estabeleceu que o desenvolvimento de novas drogas e estratégias antibacterianas é uma prioridade a nível mundial para o enfrentamento da resistência aos antimicrobianos. Estimativas apontam que em 2019 houve cerca de 1,27 milhões de óbitos globais em decorrência de infecções por micróbios resistentes. Entretanto, há projeções de que o número de mortes pode chegar a 10 milhões até 2050, se nenhuma ação significativa for tomada a fim de combater a resistência aos antimicrobianos. No contexto da descoberta de novos medicamentos, as hidrazonas e seus derivados podem desempenhar um papel importante, especialmente ao considerar-se suas propriedades. As características químicas e a atividade biológica desses compostos têm sido objeto de interesse entre a comunidade científica. Essas moléculas não apenas desempenham o papel de intermediários cruciais nas sínteses de uma variedade de compostos heterocíclicos como também se destacam devido às suas notáveis atividades biológicas. Neste estudo buscouse utilizar aldeídos comerciais como recurso na síntese de N-acilidrazonas e 1,3,4-oxadiazóis a fim de avaliar a atividade antimicrobiana dos compostos obtidos, ampliando o entendimento sobre suas propriedades e aplicações potenciais. A rota de síntese para obtenção dos oxadiazóis envolve duas etapas. A partir da reação dos aldeídos 3-hidroxibenzaldeído e salicilaldeído, e das hidrazidas 4-fluorfenil, 4-clorofenil, 4-bromofenil, utilizando álcool etílico em refluxo, foram sintetizadas 6 N-acilidrazonas, todas com rendimentos quantitativos. As N-acilidrazonas foram utilizadas como material de partida para a síntese dos oxadiazóis, por uma reação de ciclização intramolecular com anidrido acético a 100°C. Obteve-se ao todo, 6 oxadiazóis inéditos com rendimentos entre 16-50%. As estruturas de todas as substâncias foram confirmadas por técnicas Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os compostos foram submetidos a testes de atividade antimicrobiana, por meio do ensaio de microdiluição em caldo. Todas as N-acilidrazonas sintetizadas exibiram baixa atividade antibiótica contra Staphylococcus aureus e Escherichia coli. Entre os oxadiazóis, apenas o composto 6A demonstrou atividade moderada contra S. aureus, enquanto os outros oxadiazóis apresentaram atividade fraca tanto contra S. aureus quanto contra E. coli.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana, produtos bioativos, heterocíclicos nitrogenados

ABSTRACT

Over the years, bacteria have developed increasingly sophisticated mechanisms to circumvent the effects of antimicrobial agents, leading to the continuous emergence of resistant strains that surpass even the most advanced antibiotics. Global health indicators highlight infectious diseases as one of the top ten threats to public health worldwide, drawing the attention of organizations such as the World Health Organization (WHO), the European Union, the National Health Surveillance Agency (ANVISA), the National Health Council (CNS), and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). In response, the WHO, through the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance, has established the development of new drugs and antibacterial strategies as a global priority to combat antimicrobial resistance. Estimates indicate that, in 2019, approximately 1.27 million deaths worldwide were attributed to infections caused by resistant microorganisms. Moreover, projections suggest that this number could rise to 10 million by 2050 if no significant actions are taken to mitigate antimicrobial resistance. In the context of drug discovery, hydrazones and their derivatives have gained considerable attention due to their chemical properties and biological activities. These compounds not only serve as crucial intermediates in the synthesis of various heterocyclic systems but also exhibit noteworthy biological activities. In this study, commercially available aldehydes were utilized as precursors for the synthesis of N-acylhydrazones and 1,3,4oxadiazoles to evaluate the antimicrobial activity of the obtained compounds, thereby expanding the understanding of their properties and potential applications. The synthetic route for oxadiazole production involved two steps. Initially, six N-acylhydrazones were synthesized through the reaction of 3-hydroxybenzaldehyde and salicylaldehyde with 4-fluorophenyl, 4chlorophenyl, and 4-bromophenyl hydrazides under reflux in ethanol, yielding quantitative products. These N-acylhydrazones were then subjected to an intramolecular cyclization reaction with acetic anhydride at 100°C to afford six novel oxadiazoles, with yields ranging from 16% to 50%. The structures of all substances were confirmed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy techniques. The antimicrobial activity of the synthesized compounds was assessed using the broth microdilution assay. All N-acylydrazones exhibited weak antibiotic activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Among the oxadiazoles, only compound 6A demonstrated moderate activity against S. aureus, whereas the remaining oxadiazoles showed weak activity against both S. aureus and E. coli.

Keywords: Antibacterial Activity, Bioactive Products, Nitrogen Heterocycles

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de compostos bioativos derivados das N-acilidrazonas e substâncias
relacionadas
Figura 2. Isômeros dos oxadiazóis
Figura 3. Estrutura da fidianidina-A, fidianidina-B e do ácido quisquálico
Figura 4. Fármacos contendo a porção 1,3,4-oxadiazol
Figura 5. Estrutura química do 4-bromo-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1A)25
Figura 6. Estrutura química do 4-cloro-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2A)26
Figura 7. Estrutura química do 4-flúor-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3A)26
Figura 8. Estrutura química do 4-bromo-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1B)26
Figura 9. Estrutura química do 4-cloro-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2B)27
Figura 10. Estrutura química do 4-flúor-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3B)27
Figura 11. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (4A)
Figura 12. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (5A)
Figura 13. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (6A)
Figura 14. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (4B)
Figura 15. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (5B)
Figura 16. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (6B)
Figura 17. Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz; DMSO-d ₆) para a N-acilidrazona (2B), com
ampliação nas regiões de 6,75-8,45 ppm, corresponde aos hidrogênios aromáticos35
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz; CDCl ₃) para o oxadiazol (5B), com expansões
nas regiões de 7,00 a 7,90 ppm
Figura 19. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz; CDCl ₃) para o oxadiazol (5B)40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Deslocamentos químicos (\delta em ppm) de RMN de 1H (300 MHz; DMSO-d ₆) para as
<i>N</i> -acilidrazonas (1-3A)
Tabela 2. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹ H (300 MHz; DMSO-d ₆) para as
<i>N</i> -acilidrazonas (1-3B)
Tabela 3. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de 1H (500 MHz; CDCl3) para os
1,3,4-oxadiazóis (4-6A)
Tabela 4. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de 1H (500 MHz; CDCl3) para os
1,3,4-oxadiazóis (4-6B)
Tabela 5. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹³ C (125 MHz; CDCl ₃) para os
1,3,4-oxadiazóis (4-6A)
Tabela 6. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹³ C (125 MHz; CDCl ₃) para os
1,3,4-oxadiazóis (4-6B)
Tabela 7. Valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI, em µg.mL-1) para as substâncias
sintetizadas45

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Rota sintética proposta para a síntese das N-acilidrazonas e 1,3,4-Oxadiazóis.	20
Esquema 2. Representação esquemática da síntese das N-acilidrazonas 1-3A e 1-3B a p	artir
dos aldeídos A e B e as hidrazidas 1-3.	32
Esquema 3. Mecanismo provável para síntese das N-acilidrazonas a partir de aldeídos	33
Esquema 4. Representação esquemática da síntese de 1,3,4-oxadiazóis 4-6A e 4-6B a p	artir
das <i>N</i> -acilidrazonas 1-3A e 1-3B	38
Esquema 5. Mecanismo provável para síntese dos oxadiazóis a partir de N-acilidrazonas	45

LISTA DE ANEXOS

A 1. Espectro de RMN de ¹ H do 4-bromo-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1A) em
DMSO-d ₆
A 2. Espectro de RMN de ¹ H do 4-cloro-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2A) em
DMSO-d ₆
A 3. Espectro de RMN de ¹ H do 4-flúor-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3A) em
$DMSO-d_6$
A 4. Espectro de RMN de ¹ H do 4-bromo- N' -(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1B) em DMSO-d ₆
A 5. Espectro de RMN de ¹ H do 4-cloro-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2B) em
DMSO-d ₆
A 6. Espectro de RMN de ¹ H do 4-flúor-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3B) em
DMSO-d ₆
A 7. Espectro de RMN de ¹ H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (4A) em CDCl ₃ 61
A 8. Espectro de RMN de ¹³ C do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (4A) em CDCl ₃ 61
A 9. Espectro de RMN de ¹ H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (5A) em CDCl ₃ 62
A 10. Espectro de RMN de ¹³ C do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (5A) em CDCl ₃ 62
A 11. Espectro de RMN de ¹ H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (6A) em CDCl ₃ 63
A 12. Espectro de RMN de ¹³ C acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazol-2-il)fenila (6A) em CDCl ₃
A 13. Espectro de RMN de ¹ H do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-bromotenil)-2,3-diidro-1,3,4-
(4B) em CDCl ₃
A 14. Espectro de RMN de 15 C acetato de 3 -(3-acetil-5-(4-bromotenil)-2,3-diidro-1,3,4-
0xadiazol-2-1i)fenila (4B) em CDCl ₃
A 15. Espectro de RMN de ¹ H do acetato de $3-(3-acetil-5-(4-clorotenil)-2,3-diidro-1,3,4-$
0xadiazol-2-11)fenila (5B) em CDCl ₃
A 16. Espectro de RMN de 13 C acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorotenil)-2,3-diidro-1,3,4-
0 oxadiazoi-2-ii)Ienila (5B) em CDCl ₃
A 17. Espectro de KMN de 'H do acetato de $3-(3-acetil-5-(4-tluortenil)-2,3-diidro-1,3,4-$
$0xadiazoi-2-1i jienila (0B) em UDCl_3$
A 18. Espectro de KMIN de $^{-1}$ C acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-
oxadiazoi-2-ii)ieniia (bB) em UDCl366

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CMI	Concentração mínima inibitória
δ	Deslocamento químico
d	Dupleto
dl	Dupleto largo
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
ddl	Duplo dupleto largo
EtOH	Etanol
HMBC	Heteronuclear mutiple bond correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
J	Constante de acoplamento
MeOH	Metanol
m	multipleto
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H
S	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
tl	Tripleto largo

SUMÁRIO

C	,	•
Sum	a 1	10
~ •••••		

1. INTRODUÇÃO1	4
1.1. ANTIBIÓTICOS1	.4
1.2. HIDRAZONAS E N-ACILIDRAZONAS1	.5
1.3. OXADIAZÓIS1	.8
2. OBJETIVOS2	2
2.1. OBJETIVO GERAL2	2
3. PARTE EXPERIMENTAL2	4
3.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS2	:4
3.2. SÍNTESE DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS2	25
3.3. SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS2	27
3.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA3	0
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO3	2
4.1. SÍNTESE DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS3	:2
4.2. SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS3	8
4.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA4	5
5. CONCLUSÕES	8
REFERÊNCIAS5	0
ANEXOS	8

INTRODUÇÃO

13 | Página

1. INTRODUÇÃO

1.1. ANTIBIÓTICOS

Medicamentos antimicrobianos são substâncias de origem natural ou sintética com a capacidade de inibir o crescimento ou causar a morte de microrganismos. A introdução destes fármacos no tratamento de infecções bacterianas, contribuiu para a redução significativa da mortalidade e morbidade humana (OGAWARA, 2019; ZHU *et al.* 2020). O primeiro antibiótico natural foi descrito por Bartolomeo Gosio em meados de 1893 a partir dos estudos do fungo *Penicillium brevicompactum*. O composto obtido demostrava atividade antibiótica contra a bactéria *Bacillus anthracis* (agente patogênico causador do antraz), e em 1912 os pesquisadores Carl Alsberg e Otis Fisher sintetizaram a substância e a nomearam como ácido micofenólico. Dois anos antes, em 1910, o composto arsfenamina, comercialmente conhecido como Salvarsan, foi desenvolvido para tratar *Treponema pallidum* (patógeno causador da sífilis). Entretanto, o marco histórico na luta contra as doenças infecciosas ocorreu em 1928, com a descoberta da penicilina e seu subsequente isolamento em 1939 (LIGON, 2004; MOHR, 2016; HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

Aproximadamente 20 anos após o descobrimento da penicilina, em 1947, foi registrado o primeiro caso de uma cepa bacteriana resistente a este antibiótico. Dois anos após seu uso clínico ser amplamente disponibilizado, foram isoladas quatro cepas de *Staphylococcus* resistentes à penicilina. Em resposta, à meticilina foi desenvolvida em 1959 e introduzida no mercado em 1960 com o objetivo de contornar a resistência à penicilina causada pela atividade da penicilinase, enzima capaz de alterar a estrutura da penicilina. Essa inovação permitiu que as penicilinas continuassem a ser um tratamento eficaz, apesar da emergência de cepas resistentes. Ainda assim, cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina foram detectadas em 1961, o que demonstra a capacidade das bactérias de evoluir rapidamente e adquirir resistência aos antibióticos (MONSERRAT-MARTINEZ; GAMBIN; SIERECKI, 2019)

Ao longo dos anos, as bactérias desenvolveram mecanismos cada vez mais sofisticados a fim de contornar os efeitos dos antimicrobianos e por conta disso, cepas resistentes continuam a surgir, superando os antibióticos mais modernos. Os indicadores de saúde global, apontam que as doenças infecciosas figuram entre as dez maiores ameaças à saúde pública no mundo. Além disso, os patógenos *Acinetobacter baumannii, Escherichia coli, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, estão entre as principais responsáveis por mortes em infecções relacionadas à resistência aos antimicrobianos (RAM). Como resposta, a Organização Mundial da Saúde (OMS), por meio do Global Action Plan on Antimicrobial Resistance, estabeleceu que o desenvolvimento de novas drogas e estratégias antibacterianas é uma prioridade a nível mundial para o enfrentamento da resistência aos antimicrobianos (WHO, 2017; SEUKEP *et al.* 2022; STOITSOVA, 2022)

A RAM é reconhecida como uma das mais proeminentes questões de saúde pública e tem atraído a atenção de organizações em todo o mundo, como a OMS, a União Europeia, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Conselho Nacional de Saúde (CNS) e dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Estimativas apontam que em 2019 houve cerca de 1,27 milhões de óbitos globais em decorrência de infecções por micróbios resistentes. Entretanto, há projeções de que o número de mortes pode chegar a 10 milhões até 2050, se nenhuma ação significativa for tomada a fim de combater a resistência aos antimicrobianos (SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2009; CASTRO *et al.* 2020; WASAN *et al.* 2023).

A RAM é resultado da pressão seletiva causada pelo uso excessivo e inadequado de medicamentos antimicrobianos em diferentes setores, incluindo a terapêutica médica, a produção de animais e a agricultura. Além disso, a falta de investimento em novos fármacos, bem como o descarte inadequado de medicamentos existentes também são fatores importantes. É preciso destacar que essa é uma questão complexa, de diversos fatores, e requer ações abrangentes e integradas para ser combatida eficazmente (GEBEYEHU; BANTIE; AZAGE, 2015).

A velocidade com que surgem manifestações de resistências está suplantando a capacidade de desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. A quantidade de novos antibióticos aprovados pelo FDA reduziu-se consideravelmente, de 29 agentes terapêuticos na década de 1980 para 8 novos antibióticos na última década. As consequências destes problemas para a saúde pública são conhecidas por agentes reguladores, políticos e pelas empresas. Entretanto, apesar das implicações negativas, os investimentos em programas de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos antibióticos vem sofrendo cortes gradativamente (PRASAD *et al.* 2019; ÅRDAL *et al.* 2020; BOYD *et al.* 2021; MAGLANGIT *et al.* 2021).

1.2. HIDRAZONAS E N-ACILIDRAZONAS

A busca por substâncias terapêuticas tem guiado a pesquisa científica há bastante tempo. Nos últimos anos, no entanto, houve um crescente interesse em estudos voltados para o desenvolvimento e a síntese de novas substâncias com propriedades biológicas, como atividades antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, entre outras (KUMAR *et al.* 2020; ABDEL-AZIZ *et al.* 2015). Pesquisadores em todo o mundo e em diversas áreas, estão envolvidos na síntese de novas moléculas e/ou na análise de suas atividades biológicas. Com o objetivo de identificar substâncias com potencial para serem candidatas a medicamentos (KOUROUNAKIS *et al.* 2020; ARORA *et al.*2020). Para atingir esse objetivo, diversos estudos têm sido conduzidos nesse campo, utilizando uma ampla variedade de moléculas de diferentes classes de compostos orgânicos (LIN *et al.* 2020; SUBRAMANIAN *et al.* 2020).

As hidrazonas (Figura 1) estão entre os compostos orgânicos que frequentemente são estudados devido às suas atividades biológicas (SHARMA, 2020; KHODJA, 2020). Em virtude disso, são reconhecidas como uma das classes mais importantes de substâncias com potencial terapêuticos, amplamente utilizadas no desenvolvimento e na descoberta de agentes bioativos em química medicinal, devido à sua variedade de propriedades biológicas (SHARMA, 2020), muitas hidrazonas ou compostos derivados destas, possuem atividade antimicrobiana (NASSAR *et al.* 2020), antioxidante (AFRIANA *et al.* 2020), anti-inflamatória (ALSAIF *et al.* 2020), antituberculosas (THORAT *et al.* 2020), etc.

Muito utilizadas na síntese de compostos heterocíclicos, as hidrazonas destacam-se por sua facilidade de síntese, elevada estabilidade, propriedades químicas e estruturais únicas. Essas características são frequentemente atribuídas à presença do grupo azometina (C=N), que atua como elemento fundamental em diversas reações (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.* 2023), são compostos com fórmula: R-C=N-NH-R', obtidos geralmente por meio da reação de condensação entre hidrazinas e cetonas ou aldeídos (ARRUDA *et al.* 2020).

Nos últimos anos, os compostos derivados de hidrazonas têm ganhado destaque na química medicinal devido às suas propriedades biológicas. Sua ampla aplicação em estudos voltados à síntese e à descoberta de novas moléculas com potencial biológico tem sido um fator crucial para o aumento de sua relevância na área (ÇAKMAK *et al.* 2022). Nesse sentido, as *N*-acilidrazonas, também chamadas de bases de Schiff são derivados moleculares hidrazônicos, que se destacam por exibirem uma ampla gama de propriedades biológicas (FERNÁNDEZ-PALACIOS *et al.* 2023), incluindo atividades citotóxicas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitário, anti-inflamatório, anticonvulsivante e anti-hipertensivo (SOCEA *et al.* 2022).

As *N*-acilidrazonas são oriundas da reação de condensação entre hidrazidas com moléculas que contêm grupos carbonílicos (aldeídos ou cetonas), e possuem estrutura geral: $R_1R_2C=N-NH-(C=O)-R_3$. A reação normalmente ocorre em solvente prótico, podendo ser catalisada por ácido (pH 4-6), os produtos da síntese envolvendo os derivados hidrazônicos

normalmente possuem relativa facilidade de síntese, estabilidade à hidrólise e propriedades químicas/biológicas heterogêneas (ARRUDA *et al.* 2020).

Diversos compostos contendo a fração acilidrazona desempenham papéis terapêuticos, como a nitrofurazona (utilizada como antimicrobiano), o carbazocromo (empregado como agente anti-hemorrágico), a nifuroxazida (antibacteriano para infecções intestinais), o dantroleno (relaxante muscular), a nitrofurantoína (com ação antibacteriana), o nifuratel (com propriedades antitricomonais e antifúngicas), a nifurzida (indicada para infecções intestinais), o nifurtoinol (para infecções urinárias), a naftazona (estabilizador de capilares), a azimilida (medicamento antiarrítmico) e a zorubicina (antibiótico com atividade citotóxica) (SOCEA *et al.* 2022; ROLLAS, KÜÇÜKGÜZEL, 2007). A estrutura das hidrazonas, *N*-acilidrazonas, bem como a de alguns dos compostos contendo a fração acilidrazona é ilustrada na **figura 1**.



Figura 1. Exemplos de compostos bioativos derivados das N-acilidrazonas e substâncias relacionadas

Neste contexto, outro estudo realizado por Kumar e colaboradores (2009) reforça o potencial das acilidrazonas ao sintetizar uma série desses compostos com diferentes substituintes (Cl, Br, NO₂, entre outros) e avaliar sua atividade antimicrobiana *in vitro*. Os derivados mostraram-se eficazes contra *S. aureus*, *E. coli*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, apresentando concentrações inibitórias mínimas inferiores a 3 µg/mL. Adicionalmente, outro estudo sintetizou acilidrazonas derivadas de benzo[b]tiofeno e avaliou seu potencial contra cepas bacterianas, alguns dos compostos obtidos demonstraram concentração mínima inibitória de 4 µg/mL para três cepas de *S. aureus*, sendo uma referência (ATCC29213) e duas isoladas clinicamente e resistentes à meticilina (SF8300) e à daptomicina (ST20171643) (BARBIER *et al.* 2022).

No âmbito da síntese de compostos contendo nitrogênio, as *N*-acilidrazonas destacamse como uma classe de intermediários altamente versátil, amplamente empregada na concepção de protótipos com potencial farmacológico. Além disso, apresentam grande relevância na síntese de compostos heterocíclicos, como os oxadiazóis. A conversão de *N*-acilidrazonas em oxadiazóis é facilitada por sua estrutura rica em nitrogênio, que favorece reações de ciclização específicas, ressaltando sua importância como blocos de construção na síntese de novos compostos heterocíclicos.

1.3. OXADIAZÓIS

Os oxadiazóis (também conhecidos como furadiazóis) são compostos heterocíclicos que possuem em sua estrutura um átomo de oxigênio e dois nitrogênios, e a depender da localização dos átomos de nitrogênio há quatro isômeros possíveis (Figura 2), sendo eles: 1,2,3-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,2,5-oxadiazol e 1,3,4-oxadiazol (BIERNACKI, 2020).





Embora a maioria dos compostos com o núcleo oxadiazol seja predominantemente de origem sintética, alguns possuem ocorrência natural. Exemplos disso são os alcaloides indólicos fidianidina-A e fidianidina-B (figura 3), isolados do molusco opistobrânquio *Phidiana militaris*, que apresentam em sua estrutura, o grupo 1,2,4-oxadiazol. Em testes *in vitro* a fidianidina-B demonstrou atividade citotóxica, sendo eficaz contra várias linhagens de células mamíferas, tanto tumorais quanto não tumorais (CARBONE *et al.* 2011). De forma semelhante,

o ácido quisquálico (figura 3), um composto natural contendo o grupo 1,2,4-oxadiazol, é extraído das sementes de *Quisqualis indica*, uma planta da família Combretaceae. Este composto apresenta propriedades biológicas relacionadas ao sistema nervoso, sendo utilizado no tratamento de diversas condições, como derrames, epilepsia e distúrbios neurodegenerativos, o que ressalta seu potencial terapêutico na área neurológica (VARDAN *et al.* 1983; KOZIKOWSKI *et al.* 1998; HERMIT *et al.* 2004).



Figura 3. Estrutura da fidianidina-A, fidianidina-B e do ácido quisquálico

Dentre os isômeros do oxadiazóis, o 1,3,4-oxadiazol é um dos mais explorados, devido às suas diversas aplicações, seja na indústria farmacêutica, de materiais cintilantes e de corantes (BIERNACKI, 2020). O núcleo 1,3,4-oxadiazol, tem sido amplamente investigado ao longo dos anos devido à sua capacidade de originar compostos com variadas atividades biológicas. Essas moléculas têm demonstrado propriedades relevantes, incluindo efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, antidepressivos, anticancerígenos e antidiabéticos. Além disso, várias pesquisas destacam a notável atividade antimicrobiana associada a compostos que possuem o anel 1,3,4-oxadiazol em sua estrutura, abrangendo atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral (GLOMB, ŚWIĄTEK, 2021). Fármacos como Raltegravir® e Zibotentan® (Figura 4), utilizados clinicamente como antirretroviral e anticancerígeno, respectivamente, são exemplos de compostos contendo a porção 1,3,4-oxadiazol (POLOTHI *et al.* 2018)





Os aldeídos são grupos funcionais que podem sofrer reações de adição nucleofilica, de acordo com a literatura (MCMURRY, 2016) diversos compostos nitrogenados podem ser sintetizados utilizados aldeídos como precursores. Diante do exposto, propôs-se a síntese de 2 séries de *N*-acilidrazonas (6 compostos), a partir da reação entre aldeídos aromáticos e

hidrazidas, que foram utilizadas como materiais de partida para a síntese de 2 séries de 1,3,4oxadiazóis (6 compostos), como ilustrado no **esquema 1**. Posteriormente, os compostos obtidos serão submetidos a avaliação da atividade antimicrobiana, a fim de ampliar o entendimento sobre suas propriedades e aplicações potenciais.



Esquema 1. Rota sintética proposta para a síntese das N-acilidrazonas e 1,3,4-Oxadiazóis

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo a utilização de aldeídos comerciais como recurso na síntese de *N*-acilidrazonas e 1,3,4-oxadiazóis. Paralelamente, foi realizada a avaliação da atividade antimicrobiana destes compostos, com o intuito de ampliar o entendimento sobre suas propriedades e aplicações potenciais.

23 | Página

PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Os solventes utilizados foram de grau P.A, das marcas Dinâmica e Merck. Os reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A sílica gel e cromatofolhas de alumínio utilizadas foram das marcas Merck e Macherey-Nagel, respectivamente. Os meios de cultura e reagentes para os ensaios de atividade antibacteriana foram adquiridos da Sigma-Aldrich e as cepas bacterianas utilizadas foram comercializadas pela NEWPROV.

As massas de todos os reagentes e produtos foram aferidas em Balança Analítica Bel Engineering M214A. Os pontos de fusão foram medidos em equipamento Uniscence do Brasil, modelo 498.

Para a cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP), utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 GF₂₅₄, tamanho de placa 20x20cm. Como fase móvel, aplicou-se mistura binária dos solventes hexano e acetato de etila, na proporção de 2:1. Para a separação por cromatografia em coluna, foi utilizado sílica gel, 230-400 mesh como fase estacionária, coluna com diâmetro de 6 cm, altura de 15 cm. Como fase móvel, utilizou-se hexano e acetato de etila, em gradiente crescente de polaridade.

Para monitoramento das reações, utilizou-se cromatografia em camada delgada (CCD), em folhas cromatográficas de sílica gel 60 GF₂₆₄. Para relevação química, as cromatoplacas foram nebulizadas com solução de *p*-anisaldeído/ H₂SO₄, com posterior aquecimento, e/ou com solução de metanol/H₂SO₄ (10%), seguida de aquecimento.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram adquiridos em equipamentos com diferentes configurações. Espectrômetro de RMN Bruker, modelo DPX-300, operando a 300 MHz (7,05 teslas) para a frequência de ¹H, equipado com sonda dual direta dedicada a ¹H e ¹³C (75 MHz) para tubos de 5mm. Espectrômetro de RMN Bruker, modelo Avance Neo 500, operando a 500 MHz (11,75 teslas), para a frequência do ¹H, equipado com sonda multinuclear smart probe dedicada a ¹H e ¹³C (125 MHz) para tubos de 5mm e gradiente de campo do eixo z.

Os espectros foram adquiridos a partir de amostras purificas, solubilizadas em solventes deuterados (DMSO-d₆ e CDCl₃) e acondicionadas propriamente em tubos de RMN de 5mm. Foram obtidos espectros de RMN de ¹H e ¹³C com parâmetros de aquisição pré-definidos para amostras de triagem do laboratório de RMN (UFMS). Esses parâmetros podem ser observados no lado direito ou esquerdo em todos os espectros anexados neste trabalho.

Os espectros adquiridos foram processados no *Software* TopSpin, versão 4.4.1. A fase e a linha de base foram corrigidas automaticamente. A calibração dos espectros foi realizada

utilizando o sinal do hidrogênio residual do solvente deuterado como referência interna para ¹H e o sinal de carbono do solvente ou do tetrametilsilano (TMS) como padrão para ¹³C.

3.2. SÍNTESE DAS N-ACILIDRAZONAS

Para sintetizar-se as *N*-acilidrazonas, adicionou-se em um tubo selado 50mg dos aldeídos comerciais 2-hidroxibenzaldeído (**A**) ou 3-hidroxibenzaldeído (**B**), juntamente com 1,05 equivalente molar de uma das hidrazidas: 4-bromobenzóica (**1**), 4-clorobenzóica (**2**) ou 4-fluorobenzóica (**3**), seguindo a metodologia descrita por Kuçukguzel *et al.* (2015). A reação foi conduzida em 1mL etanol P.A como solvente, com aquecimento (75°C) e agitação. As reações foram acompanhadas por cromatografía de camada delgada (CCD) até observar-se o consumo total do aldeído. Após o término das reações, os produtos obtidos passaram por uma etapa de extração líquido-líquido utilizando como solvente extrator uma mistura de H₂O: Acetato de etila 1:1 (30mL), sendo realizadas 5 extrações. Em seguida, as amostras foram secas a atmosfera em temperatura ambiente, pesadas e devidamente armazenadas. As *N*-acilidrazonas obtidas foram submetidas a análise por técnicas Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H (RMN de ¹H).

4-bromo-*N***'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1A)**: sólido branco; P.F.: 225-227°C. RMN de **RMN de ¹H** (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,93** (m, 2H), **7,30** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,0 Hz), **7,55** (dl, 1H, *J*_{H,H}= 7,0 Hz), **7,76** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,0 Hz), **7,89** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,0 Hz), **8,64** (s, 1H, N=CH), **11,19** (s, 1H, OH), **12,11** (s, 1H, NH).



Figura 5. Estrutura química do 4-bromo-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1A)

4-cloro-*N***'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2A)**: sólido amarelo; P.F.: 218-220°C. **RMN de ¹H** (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,93** (m, 2H), **7,30** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz), **7,56** (dl, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz), **7,63** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,2 Hz), **7,96** (dl, 2H, *J*_{H,H} = 8,2 Hz), **8,64** (s, 1H, N=CH), **11,21** (s, 1H, OH), **12,16** (s, 1H, NH).



Figura 6. Estrutura química do 4-cloro-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2A)

4-flúor-*N*'-(**2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida** (**3A**): sólido amarelo; P.F.: 195-197°C. **RMN de** ¹**H** (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,93** (m, 2H), **7,30** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,2 Hz), **7,57** (m, 2H), **8,72** (m, 2H), **9,08** (s, 1H, N=CH), **11,13** (s, 1H, OH), **12,20** (s, 1H, NH).



Figura 7. Estrutura química do 4-flúor-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3A)

4-bromo-*N***'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1B)**: sólido branco; fusão com decomposição; P.F.: 245-250°C. RMN de ¹H (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,84** (dd, 1H, *J*_{H,H}= 1,4 Hz, *J*_{H,H}= 8,2 Hz), **7,11** (d, 1H, *J*_{H,H}= 7,5 Hz), **7,21** (sl, 1H), **7,26** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz), **7,75** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 7,5 Hz), **7,87** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 7,5 Hz), **8,36** (s, 1H, N=CH), **9,65** (s, 1H, OH), **11,87** (s, 1H, NH).



Figura 8. Estrutura química do 4-bromo-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1B)

4-cloro-*N*'-(**3-hidroxibenzilideno**)**benzoidrazida** (**2B**): sólido amarelo; fusão com decomposição; P.F.: 215-217°C. **RMN de** ¹**H** (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,84** (dl, 1H, *J*_{H,H}= 8,1 Hz), **7,10** (d, 1H, *J*_{H,H}= 7,5 Hz), **7,20** (sl, 1H), **7,26** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz), **7,61** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,4 Hz), **7,94** (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,4 Hz), **8,36** (s, 1H, N=CH), **9,65** (s, 1H, OH), **11,87** (s, 1H, NH).



Figura 9. Estrutura química do 4-cloro-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2B)

4-flúor-*N*'-(**3-hidroxibenzilideno**)**benzoidrazida** (**3B**): sólido amarelo; P.F.: 222-225°C. **RMN de** ¹**H** (δ em ppm, 300 MHz, DMSO-d₆): δ **6,84** (dl, 1H, $J_{H,H}$ = 8,1 Hz), **7,10** (d, 1H, $J_{H,H}$ = 7,4 Hz), **7,20** (sl, 1H), **7,26** (tl, 1H, $J_{H,H}$ = 7,8 Hz), **7,37** (tl, 2H, $J_{H,H}$ = 8,7 Hz, $J_{H,F}$ = 8,6 Hz), **7,99** (tl, 2H, $J_{H,H}$ = 8,6 Hz, $J_{H,F}$ = 5,9 Hz), **8,35** (s, 1H, N=CH), **9,66** (s, 1H, OH), **11,82** (s, 1H, NH).



Figura 10. Estrutura química do 4-flúor-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3B)

3.3. SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS

Os oxadiazóis foram obtidos a partir das *N*-acilidrazonas (100 mg) correspondentes, com a adição de 1mL de anidrido acético, conforme procedimento descrito por Oliveira *et al.* (2013). A mistura foi mantida a 100°C, em tubo selado, sob agitação por até 6 horas e monitorada por cromatografia de camada delgada (CCD). Posteriormente, a mistura reacional foi elaborada adicionando-se vagarosamente a mistura em um becker contendo 25 mL de água destilada gelada sob constante agitação, durante 30 minutos, para remoção do excesso de anidrido acético. Após filtração, o produto foi purificado por cromatografia em coluna ou em camada delgada preparativa, utilizando eluentes adequados a cada caso e analisados por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C.

acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4A): sólido branco; P.F.: 125-128°C. **RMN de ¹H** (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ **2,19** (s, 3H), **2,32** (s, 3H), **7,15** (m, 2H), **7,28** (dl, 1H, *J*_{H,H}= 7,6 Hz), **7,44** (m, 2H), **7,57** (dl, 2H, *J*_{H,H}=8,6 Hz), **7,71** (dl, 2H, *J*_{H,H}=8,6 Hz). **RMN de ¹³C** (δ em ppm, 125 MHz, CDCl₃): 20,97; 21,25; 90,37; 123,69; 126,19; 128,36; 129,07; 131,17; 132,13; 149,07; 155,05; 167,72; 168,95.



Figura 11. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4A)

acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5A): sólido amarelo; P.F.: 142-144°C. **RMN de** ¹H (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ 2,19 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 7,15 (m, 2H), 7,28 (dl, 1H, *J*_{H,H}= 7,6 Hz), 7,44 (m, 2H), 7,41 (dl, 2H, *J*_{H,H}=8,6 Hz), 7,78 (dl, 2H, *J*_{H,H}=8,6 Hz). **RMN de** ¹³C (δ em ppm, 125 MHz, CDCl₃): 20,97; 21,25; 90,24; 123,65; 126,18; 128,21; 129,16; 131,16; 137,91; 149,04; 154,82; 167,68; 168,90.



Figura 12. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5A)

acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6A): sólido amarelo; P.F.: 163-165°C. **RMN de ¹H** (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ **2,20** (s, 3H), **2,33** (s, 3H), **7,12** (m, 2H), **7,16** (m, 1H), **7,28** (m, 1H), **7,44** (m, 2H), **7,85** (dd, 2H, *J*_{H,H}=8,9 Hz, *J*_{H,F}=5,3 Hz). **RMN de ¹³C** (δ em ppm, 125 MHz, CDCl₃): 20,96; 21,25; 90,08; 116,02; 116,19; 123,67; 126,19; 128,98; 129,18; 129,26; 131,11; 149,01; 154,98; 167,67; 168,95.



Figura 13. Estrutura química do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6A)

acetato de 3-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4B): sólido branco; P.F.: 167-169°C. **RMN de** ¹H (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ **2,36** (s, 3H), **6,84** (ddl, 1H, *J*_{H,H}= 8,0 Hz, *J*_{H,H}= 2,0 Hz), **6,95** (tl, 1H, *J*_{H,H}= 8,0 Hz, *J*_{H,H}= 2,0 Hz), **7,00** (dt, 1H, *J*_{H,H}= 8,0 Hz), **7,03** (s, 1H,), **7,24** (tl, 1H, $J_{H,H}$ = 8,0 Hz), **7,58** (dl, 2H, $J_{H,H}$ = 8,6 Hz), **7,75** (dl, 2H, $J_{H,H}$ = 8,6 Hz). **RMN de** ¹³**C** (δ em ppm, 75 MHz, CDCl₃): 21,45; 92,21; 113,66; 117,23; 118,39; 128,49; 130,20; 132,07; 156,26; 168,09



Figura 14. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4B)

acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5B): όleo amarelo. RMN de ¹H (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ 2,28 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 7,08 (s, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,20 (tl, 1H, *J*_{H,H}= 2,0 Hz), 7,35 (dt, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz, *J*_{H,H}= 2,0 Hz), 7,40 (tl, 1H, *J*_{H,H}= 7,8 Hz,), 7,43 (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,5 Hz), 7,82 (dl, 2H, *J*_{H,H}= 8,5 Hz). RMN de ¹³C (δ em ppm, 75 MHz, CDCl₃): 21,12; 21,45; 91,71; 119,82; 122,88; 123,33; 123,94; 128,34; 129,13; 129,84; 137,88; 137,96; 150,89; 155,09; 168,09; 169,24



Figura 15. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5B)

acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6B): óleo amarelo. RMN de ¹H (δ em ppm, 500 MHz, CDCl₃): δ 2,30 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 7,10 (s, 1H), 7,14 (m, 3H), 7,23 (tl, 1H, $J_{H,H}$ = 1,5 Hz), 7,38 (dt, 1H; $J_{H,H}$ = 8,0 Hz, $J_{H,H}$ = 1,5 Hz), 7,42 (tl, 1H, $J_{H,H}$ = 8,0 Hz), 7,91 (m, 2H). RMN de ¹³C (δ em ppm, 75 MHz, CDCl₃): 21,12; 21,43; 91,61; 115,92; 116,22; 119,76; 123,27; 123,94; 129,30; 129,37; 129,82; 137,96; 150, 89; 155,04; 168,09; 168,24



Figura 16. Estrutura química do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6B)

3.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo ensaio de microdiluição em caldo, segundo a metodologia descrita por Jesus et al. (2020). Placas de 96 poços foram preparadas colocando-se 100 µL de caldo Mueller-Hinton em cada poço. 100 µL de uma solução preparada inicialmente na concentração de 2 mg/mL foi adicionada ao primeiro poço. Então, 100 µL deste poço foram transferidos para o segundo e sucessivas diluições 1:2 foram realizadas para atingir concentrações finais no intervalo entre 1000 µg/mL até 7,8 µg/mL, com volume final de 100 µL em cada poço. Para gentamicina a concentração inicial nos poços foi de 60 µg/mL. O inóculo bacteriano se constituiu de uma cultura de 24 horas de cada espécie bacteriana (Staphylococcus aureus NEWP0023 e Escherichia coli NEWP0022) em ágar Mueller-Hinton diluída em solução salina estéril (0,9%) a uma concentração de 108 UFC/mL, diluída 1/10 em solução salina estéril, sendo 5 µL adicionados em cada poço. Todos os testes foram realizados em triplicata e as placas foram incubadas a 36°C por 18 horas. Após este período 10 µL de uma solução aquosa (0,5 %) de cloreto de trifeniltetrazolio (CTT) foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas novamente a 36°C por 1 hora. Nos poços onde o crescimento bacteriano ocorreu, houve uma mudança de coloração, de incolor para vermelho. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração de cada substância onde não ocorreu mudança de coloração da solução.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

31 | Página

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. SÍNTESE DAS N-ACILIDRAZONAS

A síntese das *N*-acilidrazonas foi realizada por meio da reação de condensação dos aldeídos comerciais **A** ou **B**, com as hidrazidas **1-3**, que diferem unicamente nas porções aromáticas, 4-bromofenil (1), 4-clorofenil (2), 4-fluorfenil (3), seguindo a metodologia descrita por Kuçukguzel *et al.* (2015), conforme demonstrado no **Esquema 2.**



Esquema 2. Representação esquemática da síntese das *N*-acilidrazonas **1-3A** e **1-3B** a partir dos aldeídos **A** e **B** e as hidrazidas **1-3**.

O monitoramento da síntese das *N*-acilidrazonas por cromatografia em camada delgada (CCD) evidenciou que o consumo completo do material de partida (aldeído) não era alcançado nas condições iniciais. Quando a reação foi conduzida utilizando a estequiometria de 1:1 (aldeído:hidrazida), observou-se a presença residual do material de partida (aldeído) mesmo após tempos de reação superiores a 24 horas. Para contornar essa limitação, determinou-se que a utilização de um pequeno excesso molar de hidrazida, equivalente a 5%, era suficiente para garantir o consumo total dos aldeídos, promovendo maior eficiência na síntese.

Uma explicação para isso é que provavelmente o equilíbrio químico não favorece totalmente a formação das *N*-acilidrazonas. Ao adicionar um excesso de hidrazida desloca-se o equilíbrio para a formação do produto de interesse.

Outro fator que influencia o progresso da reação é o pH, e isso pode ser explicado com base no mecanismo da reação, que é descrito no **Esquema 3**. Nessa faixa de pH, a carbonila provavelmente estará protonada, o que favorece a reação. O ataque nucleofílico inicia-se com o par de elétrons não ligante do nitrogênio presente na hidrazida (a) atacando a carbonila do aldeído, em seguida o par de elétrons da ligação C=O vai e direção ao oxigênio (b). Posteriormente, o par de elétrons da hidroxila é direcionado para capturar um próton presente

no meio, convertendo o grupo hidroxila em água (H₂O), que passa a atuar como um excelente grupo de saída (c). Em seguida, o par de elétrons do nitrogênio migra em direção à ligação carbono-nitrogênio, formando uma dupla ligação (C=N) e resultando na eliminação de uma molécula de água (d). Na etapa final, uma base, possivelmente uma molécula de água, abstrai o próton da ligação N-H, restabelecendo a eletroneutralidade do nitrogênio (e) e conduzindo à formação da *N*-acilidrazona (f).



Esquema 3. Mecanismo provável para síntese das N-acilidrazonas a partir de aldeídos

Sendo assim, em um meio levemente ácido, correspondente a um pH entre 4-5, a carbonila do aldeído pode ser protonada, o que aumenta sua eletrofilicidade e converte o (OH) em um grupo de saída melhor (H₂O), ou seja, se não houver ácido suficiente no meio (pH altos) a reação será lenta. Por outro lado, se o meio estiver excessivamente ácido (pH baixo), a amina (nucleofílica) será protonada, e a etapa inicial de adição nucleofílica não ocorrerá. Portanto, controlar a faixa de pH entre 4-5 é particularmente favorável, pois garante a completa conversão dos reagentes em produtos, otimizando o rendimento (MCMURRY, 2016).

Diante disso, o tempo médio de reação foi de 6 horas, com controle do pH entre 4-5 (solução de HCl) e excesso molar de 5% de hidrazida. O tempo máximo de reação foi de aproximadamente 20 horas (sem controle de pH e sem excesso molar de hidrazida). Como resultado, obteve-se 6 compostos (1-3A e 1-3B) com rendimentos quantitativos. A caracterização dos compostos foi realizada por meio de RMN de ¹H (Espectros disponíveis nas páginas 58-66). Considerando que as estruturas químicas e sinais característicos evidenciados por RMN de ¹H são semelhantes para todas *N*-acilidrazonas obtidas, optou-se por discutir o assinalamento químico e a confirmação estrutural unicamente para a *N*-acilidrazona (2B). Entende-se que por haver grande similaridade estrutural entre todas as substâncias da série A e **B**, os dados discutidos para uma das substâncias, permitem a compreender os fundamentos

utilizados para a confirmação da estrutura de todos os compostos sintetizados para estas respectivas séries.

No espectro da substância 2B (Figura 17), não foram observados sinais na região de 9,00-10,00 ppm, característicos dos hidrogênios aldeídicos. A ausência destes é um forte indicativo de que o material de partida (aldeído) foi totalmente consumido e o produto de interesse foi possivelmente formado. Corroborando com isto, o espectro de RMN de 1H do composto (2B), apresenta um simpleto (1H) com deslocamento químico em 8,36 ppm, correspondente à região característica do hidrogênio imínico (N=CH). Esse sinal confirma a formação do grupo imina, típica de reações de condensação entre aldeídos e hidrazidas. Além disso, o espectro evidencia a presença de um simpleto (1H) em 11,86 ppm, que pode ser atribuído ao grupo amida (CONH). Ambos os sinais possuem deslocamentos químicos e multiplicidade consistente com o esperado para as N-acilidrazonas. A literatura descreve que as N-acilidrazonas apresentam deslocamento químicos característicos em aproximadamente 8,32-8,82 ppm para hidrogênios do grupo funcional imina, e para amida (CONH) entre cerca de 10,60-12,60 ppm (SILVA et al. 2010). O espectro do composto (2B) apresentou ainda um simpleto (1H) com deslocamento químico entre 9,65 ppm que pode ser atribuído à hidroxila fenólica (OH). É relevante mencionar que o hidrogênio da hidroxila apresenta caráter lábil, sendo suscetível a trocas rápidas com prótons do solvente ou do meio. Contudo, a aquisição do espectro em DMSO-d₆, minimiza essas trocas, uma vez que o DMSO é um solvente aprótico, permitindo a observação clara dos sinais característicos atribuídos ao hidrogênio da hidroxila no espectro de RMN. De acordo com os dados espectrais, o composto (2B) apresentou múltiplos sinais na região aromática (6,58–7,94 ppm), atribuídos aos prótons dos anéis aromáticos.



Figura 17. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz; DMSO-d₆) para a *N*-acilidrazona (**2B**), com ampliação nas regiões de 6,75-8,45 ppm, corresponde aos hidrogênios aromáticos.

Os dados de RMN de ¹H para os compostos **1-3A** e **1-3B**, tais como as constantes de acoplamento (J), os deslocamentos químicos (ppm) e multiplicidade dos sinais, são apresentados nas **Tabelas 1** e **2**. Os intervalos de deslocamentos químicos comuns a todos os compostos desta série estão representados na estrutura, já os deslocamentos químicos específicos estão relatados na tabela.

Tabela 1. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹H (300 MHz; DMSO-d₆) para as *N*-acilidrazonas (1-3A).

7,55-7,58 (dl; J_{H,H}= 7,0-7,8 Hz)

8,64-8,65 (s) 12,11-12,20 (s)

н

| _N_

н

$\begin{array}{c} 6,93-6,94 \text{ (m)} \\ 7,30-7,32 \text{ (tl; } J_{H,H}=7,0-7,8 \text{ Hz}) \end{array} \\ \begin{array}{c} O \\ O \\ O \end{array}$							
			6,93-6,94 (m) 11	,13-11,21	(s)		
Composto	D`		δ (ppm) de I	RMN d	le ¹ H (300 MH	z)	
Composio	K ·	2	3	4	5	6	
1A	5 4 3 Br Br 2	7,76 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,0 Hz)	7,89 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,0 Hz)	-	7,89 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,0 Hz)	7,76 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,0 Hz)	
2A		7,63 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,2 Hz)	7,96 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,2 Hz)	-	7,96 (dl, 2H, $J_{\rm H,H} = 8,2$ Hz)	7,63 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,2 Hz)	
3A	5 4 3 4 3 C C C C C C C C C C C C C	-	8,72* (m, 2H)	-	8,72 * (m, 2H)	-	

*Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao acoplamento H-F

Não foi possível atribuir inequivocamente os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos do composto **3A** no espectro de RMN de ¹H, pois os sinais estavam excessivamente largos, além de que os dados espectrais revelaram a presença de impurezas, resquícios do material de partida (aldeído). No entanto, foi observado um sinal em 8,36 ppm (N=CH), sugerindo a formação do derivado desejado. Além disso, após a purificação da amostra para remover o reagente (aldeído), essa mesma amostra foi utilizada na síntese do oxadiazol correspondente (**6A**), cuja estrutura foi confirmada por espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C.

Tabela 2. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹H (300 MHz; DMSO-d₆) para as *N*-acilidrazonas (**1-3B**).



Composto	B,	δ (ppm) de RMN de ¹ H (300 MHz)				
Composio	Ν	2	3	4	5	6
1B	5 5 4 3 Br 2 C C C C C	7,75 (dl, 2H, J _{H,H} = 7,5 Hz)	7,87 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 7,5 Hz)	-	7,87 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 7,5 Hz)	7,75 (dl, 2H, J _{H,H} = 7,5 Hz)
2B	6 / CI	7,61	7,94		7,94	7,61
	5	(dl, 2H,	(dl, 2H,		(dl, 2H,	(dl, 2H,
	γ 4 3 2	$J_{\rm H,H} = 8,4$	$J_{\rm H,H}=8,4$	-	<i>J</i> _{H,H} = 8,4	$J_{\mathrm{H,H}}=$ 8,4
	S	Hz)	Hz)		Hz)	Hz)
3B	6 F	7,37	7,99		7,99	7,37
	5	(tl, 2H,	(tl, 2H,		(tl, 2H,	(tl, 2H,
	S 4 3	$J_{\rm H,H} = 8,5$	$J_{{ m H},{ m H}}=8,5$	-	$J_{\rm H,H}=8,5$	$J_{\mathrm{H,H}}=$ 8,5
	22	$\mathrm{Hz}, J_{\mathrm{H,F}} =$	Hz, $J_{\mathrm{H,F}}=$		Hz, $J_{\rm H,F}=$	Hz, $J_{\rm H,F}$ =
		8,7 Hz)	5,5 Hz)		5,5 Hz)	8,7 Hz)

Adicionalmente, a multiplicidade dos sinais observada no anel 4-fluorfenil, presente nos compostos **3B**, sugerem o acoplamento dos hidrogênios com o flúor. Este fenômeno pode ocorrer já que o átomo de flúor possui um número quântico de spin (*l*) nuclear de 1/2, o que permite seu acoplamento com átomos de hidrogênio e carbono vizinhos. Para sistemas aromáticos-*orto* e aromáticos-*meta*, a literatura descreve valores de constantes de acoplamento $J_{\text{H-F}}$ na ordem de 8-10 Hz e 4-6 Hz respectivamente (BRANCO, *et al.* 2015).

4.2. SÍNTESE DOS OXADIAZÓIS

Os 1,3,4-oxadiazóis foram obtidos por meio da reação de fechamento da cadeia acíclica das *N*-acilidrazonas (1-3A e 1-3B) por ciclização oxidativa, com anidrido acético, segundo metodologia descrita por Oliveira *et al.* (2013), como demonstrado no Esquema 4.



Esquema 4. Representação esquemática da síntese de 1,3,4-oxadiazóis **4-6A** e **4-6B** a partir das *N*-acilidrazonas **1-3A** e **1-3B**.

Por meio do monitoramento da reação para síntese dos 1,3,4-oxadiazóis por cromatografia em camada delgada (CCD), constatou-se que tempos de reações superiores a 6 horas ou temperaturas superiores a 100°C conduziam à formação de subprodutos ou contribuíram para a degradação dos compostos de interesse, de modo que se estabeleceu como condições reacionais: 6 horas a 100°C.

Como resultado, obteve-se 6 compostos inéditos na literatura (4-6A e 4-6B) com rendimentos entre 16-50%. A caracterização dos compostos foi realizada por meio de RMN de ¹H e ¹³C (Espectros disponíveis nas páginas 58-66). Em virtude das estruturas químicas e sinais característicos evidenciados por RMN ¹H e ¹³C serem semelhantes em todos os oxadiazóis sintetizados, optou-se por discutir o assinalamento químico e a confirmação estrutural unicamente do oxadiazol (5B).

Não foram observados no espectro de RMN de ¹H da substância **(5B) (Figura 18),** os sinais característicos do material de partida (*N*-acilidrazona), tais como; simpletos (1H) na região entre 8,01-9,08 ppm referente ao grupo imina (N=CH) e simpletos (1H) entre 11,50-12,20 ppm atribuídos aos grupos amida (CONH). É possível observar no espectro de RMN de ¹H para a substância **5B** a presença de um simpleto (1H) com deslocamento químico em 7,08

ppm, atribuído a um próton metínico, sinal característico do núcleo oxadiazol. Esses dois dados, em conjunto, indicam que o material de partida foi consumido, resultando no fechamento do anel oxadiazólico e confirmando a síntese do composto esperado. Neste espectro foram observados dois simpletos (3H), o primeiro em 2,28 ppm (mais blindado) e o segundo em 2,35 ppm (menos blindado), relacionados a metilas de grupos acetil, sugerindo ter ocorrido a acetilação no nitrogênio (imínico) e na hidroxila fenólica, respectivamente.

De acordo com a literatura, os oxadiazóis possuem sinais de deslocamentos químicos bastante específicos no espectro de RMN de ¹H. Entre esses sinais, destacam-se dois característicos: um relacionado aos prótons metílicos do grupo acetil ligado ao nitrogênio (quando este encontra-se acetilado), com deslocamento químico na região alifática entre 2,27 e 2,30 ppm, e outro correspondente aos prótons metínicos, observado na região aromática entre 7,17 e 7,63 ppm (OLIVEIRA *et al.* 2013).

O espectro do composto (5B) exibiu ainda diversos sinais na região aromática (6,84– 7,75 ppm), correspondentes aos prótons dos anéis aromáticos.



Figura 18. Espectro de RMN de ¹H (500 MHz; CDCl₃) para o oxadiazol (5B), com expansões nas regiões de 7,00 a 7,90 ppm.

Os dados espectrais de RMN de ¹³C da substância **5B (Figura 19)**, evidenciam a presença de um sinal em 91,7 ppm, característico para a ligação O-C-N, confirmando a formação do núcleo 1,3,4-oxadiazol. Além disso, há dois sinais na faixa de 21 ppm, referentes a metilas e dois em δ 168,09 e δ 169,24, que podem ser atribuídos a carbonilas, corroborando a

hipótese da acetilação da hidroxila fenólica e de um dos nitrogênios do anel oxadiazólico. Além desses sinais, observou-se ainda os demais, correspondentes a carbonos aromáticos, entre 120 e 155 ppm, aproximadamente.



As informações de RMN de ¹H correspondentes aos compostos **4-6A** e **4-6B**, abrangendo constantes de acoplamento (J), deslocamentos químicos (δ , em ppm) e padrões de multiplicidade dos sinais, estão descritas nas **Tabelas 3** e **4**. Já as informações de RMN de ¹³C estão descritas nas **Tabelas 5** e **6**. Os intervalos de deslocamentos químicos compartilhados por todos os compostos desta série estão ilustrados na estrutura geral, enquanto os deslocamentos químicos específicos estão discriminados nas tabelas.





Composto	D	δ (ppm) de RMN de ¹ H (500 MHz)				
Composto	K	2	3	4	5	6
4 A	5 4 3 Br 2 Sr 4 3	7,57 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)	7,71 (dl, 2H, J _{H,H} =8,6 Hz)	-	7,71 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)	7,57 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)
5A	5 6 CI 5 4 2 2 2	7,41 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)	7,78 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)	_	7,78 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)	7,41 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} =8,6 Hz)
6A	5 5 4 3 2 2	7,12* (m, 2H)	7,85 * (dd, 2H, J _{H,H} =8,9 Hz, J _{H,F} =5,3 Hz		7,85 (dd, 2H J _{H,H} =8,9 Hz, J _{H,F} =5,3 Hz	7,12 * (m, 2H)

*Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao acoplamento H-F



Tabela 4. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹H (500 MHz; CDCl₃) para os 1,3,4-oxadiazóis (**4-6B**).

Composto	R	δ (ppm) de RMN de ¹ H (500 MHz)					
		2	3	4	5	6	
4B	5 4 3 8 Br 2 2 2	7,58 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,6 Hz)	7,75 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,6 Hz	-	7,75 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,6 Hz	7,58 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,6 Hz)	
5B	5 4 3 CI 2 2	7,43 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,5 Hz)	7,82 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,5 Hz)	-	7,82 (dl, 2H, <i>J</i> _{H,H} = 8,5 Hz)	7,43 (dl, 2H, J _{H,H} = 8,5 Hz)	
6B	5 6 F 5 4 3 2	7,16* (m, 2H)	7,91* (m, 2H)	-	7,91* (m, 2H)	7,16* (m, 2H)	

*Não foi possível identificar os sinais correspondentes ao acoplamento H-F

Não foi possível observar e atribuir as multiplicidades correspondentes ao acoplamento H-F para os hidrogênios das substâncias **6A e 6B**, devido os sinais estarem muito largos e com sobreposição, no espectro de RMN de ¹H.

Tabela 5. Deslocamentos químicos (δ em ppm) de RMN de ¹³C (125 MHz; CDCl₃) para os 1,3,4-oxadiazóis (4-6A).











Ao todo, foram sintetizados seis oxadiazóis (4-6A e 4-6B) com rendimentos entre 16-50%. O mecanismo provável da reação é descrito no **esquema 5**. O par de elétrons do nitrogênio ataca o carbono da carbonila do anidrido acético, em seguida o par de elétrons da dupla ligação vai em direção ao oxigênio. Na próxima etapa a carbonila é regenerada e ocorre a saída do grupo abandonador. Para então ocorrer o fechamento do anel oxadiazólico, com o par de elétrons do nitrogênio atacando o carbono imino e o par de elétrons da dupla deslocando-se em direção ao nitrogênio restabelecendo sua eletroneutralidade e fechando o anel. O hidrogênio do nitrogênio é retirado por uma base presente no meio, e o par de elétrons vai em direção ao oxigênio, fazendo a ligação C=N, e empurrando o par de elétrons em direção ao oxigênio restaurando sua eletroneutralidade. Uma segunda acetilação é possível, na hidroxila livre e segue o mesmo mecanismo aqui descrito.



Esquema 5. Mecanismo provável para síntese dos oxadiazóis a partir de N-acilidrazonas

4.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As substâncias sintetizadas foram testadas para determinar sua atividade antibiótica contra cepas bacterianas padrão, incluindo a Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (NEWP0023) e a Gram-negativa *Escherichia coli* (NEWP0022), utilizando o método de microdiluição em caldo. Os valores de concentração mínima inibitória (CMI), expressos em μ g·mL⁻¹, estão apresentados na **Tabela 7**.

Tabela 7. Valores de Concentração Mínima Inibitória (CMI, em µg.mL⁻¹) para as substâncias sintetizadas.

Sub stân sie	Concentração Mínima Inibitória CMI (μg. mL ⁻¹)				
Sudstancia	<i>S. aureus</i> NEWP0023	<i>E.coli</i> NEWP0022			
1A	250	>250			
2A	250	>250			
3A	125	>250			
1 B	250	>250			
2B	>500	>250			
3B	>500	>250			
4A	125	>250			
5A	>500	>250			
6A	62,5	>250			
4B	125	>250			
5B	>500	>250			
6B	>500	>250			
Gentamicina	≤0,5	≤0,5			

Todas as *N*-acilidrazonas obtidas apresentaram baixa atividade frente *S. aureus* e *E. coli.* Entretanto, foi possível observar que para os derivados fluorados houve uma grande diferença de valor de CMI entre os compostos **3A** (com a hidroxila fenólica orto ao grupo imina) e **3B** (hidroxila em meta). Para os oxadiazóis, apenas o composto **6A** apresentou atividade moderada contra *S. aureus*, contudo também foi possível observar que a posição da hidroxila fenólica acetilada e o tipo de halogênio influenciaram a atividade. Os compostos bromados (**4A** e **4B**) e os compostos clorados (**5A** e **5B**) não sofreram influência da posição da hidroxila, entretanto os derivados contendo Br foram mais ativos que os contendo Cl. Já para os oxadiazóis contendo flúor, a posição da hidroxila acetilada foi determinante, já que para o composto **6A**, derivado do salicilaldeído, a CMI foi de 62,5 μ g·mL⁻¹, enquanto que para o **6B**, derivado do 3-hidroxibenzaldeído, foi >500 μ g·mL⁻¹, uma diferença considerável.

CONCLUSÕES

47 | Página

5. CONCLUSÕES

Neste estudo, seis *N*-acilidrazonas (1-3A e 1-3B) foram sintetizadas através da reação de condensação entre aldeídos (3-hidroxibenzaldeído ou salicilaldeído), e benzoidrazidas (4-fluorbenzóica, 4-clorobenzóica, 4-bromobenzóica), com rendimentos quantitativos. A partir das *N*-acilidrazonas, foram sintetizados seis 1,3,4-oxadiazóis inéditos (4-6A e 4-6B) por meio de uma reação de ciclização oxidativa com anidrido acético, com rendimentos variando de 16% a 50%. A caracterização estrutural desses compostos foi realizada por RMN de ¹H e ¹³C.

A síntese dos oxadiazóis (4-6A e 4-6B) apresentou desafios significativos. A reação de ciclização oxidativa necessária para a formação da estrutura heterocíclica, envolveu o uso de anidrido acético, o que exigiu condições controladas para evitar a formação de subprodutos indesejáveis e garantir a eficiência da reação. Além disso, a baixa solubilidade de alguns intermediários se mostrou um empecilho durante a síntese. Esses desafios exigiram otimizações no procedimento experimental, como controle rigoroso da temperatura e do tempo de reação, além de uma análise cuidadosa das condições de purificação.

Outro obstáculo relevante foi a degradação dos oxadiazóis logo após a síntese, com muitos dos compostos mostrando instabilidade notável durante a separação cromatográfica. Em vários casos, a degradação ocorreu após a síntese, durante a cromatografia, dificultando ainda mais a obtenção dos compostos puros e exigindo ajustes cuidadosos nos métodos de purificação para minimizar perdas.

A atividade antibiótica das substâncias foi testada contra as cepas bacterianas padrão *Staphylococcus aureus* (NEWP0023) e *Escherichia coli* (NEWP0022), utilizando o método de microdiluição em caldo. Os resultados mostraram que entre os 12 compostos sintetizados, apenas o oxadiazol **6A**, derivado do salicilaldeído e da hidrazida 4-fluorbenzóica, apresentou atividade moderada frente a *S. aureus*, com MIC de 62,5 µg·mL⁻¹. Foi possível verificar que, para os oxadiazóis, a posição da hidroxila fenólica (acetilada no produto final) e o tipo de halogênio interferiu na atividade biológica, o que foi interessante, mesmo sendo um conjunto pequeno de compostos.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDEL-AZIZ, Alaa AM et al. Investigation of arenesulfonyl-2-imidazolidinones as potent carbonic anhydrase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 30, n. 1, p. 81-84, 2015.

AFONSO, Robson José. Antibiotic consumption in developing countries defies global commitments: an overview on Brazilian growth in consumption. **Environmental Science and Pollution Research**, *[S. l.]*, v. 27, n. 17, p. 21013–21020, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-08574-x. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11356-020-08574-x.

AFRIANA, N. et al. Microwave-assisted synthesis, antioxidant and toxicological evaluation of a hydrazone, 1-(4-chlorobenzylidene)-2-phenylhydrazine. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2020. p. 012036.

ALSAIF, Nawaf A. et al. Synthesis of Novel Diclofenac Hydrazones: Molecular Docking, Anti-Inflammatory, Analgesic, and Ulcerogenic Activity. **Journal of Chemistry**, v. 2020, n. 1, p. 4916726, 2020.

ARDAL, Christine; BALASEGARAM, Manica; LAXMINARAYAN, Ramanan; MCADAMS, David; OUTTERSON, Kevin; REX, John H.; SUMPRADIT, Nithima. Antibiotic development - economic, regulatory and societal challenges. **Nature Reviews Microbiology**, *[S. l.]*, v. 18, n. 5, p. 267–274, 2020. DOI: 10.1038/s41579-019-0293-3.

ARORA, Nidhi et al. Recent advances in synthesis and medicinal chemistry of benzodiazepines. **Bioorganic Chemistry**, v. 97, p. 103668, 2020.

ARRUDA, Isabella Elias; MACEDO, Brendo Vinícius Santos; MACEDO, Joseane da Conceição; CAMPOS, Wesley Randson Alcantara; ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo; GONSALVES, Arlan de Assis. Preparação de hidrazona e *N*-acilidrazona usando fármacos comerciais como reagentes: Aulas práticas de síntese de compostos bioativos. **Química Nova**, *[S. l.]*, v. 43, n. 5, p. 642–648, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170497.

BARBIER, Thibaut et al. Synthesis and biological evaluation of benzo [b] thiophene acylhydrazones as antimicrobial agents against multidrug-resistant staphylococcus aureus. **Biomolecules**, v. 12, n. 1, p. 131, 2022.

BIERNACKI, Karol; DAŚKO, Mateusz; CIUPAK, Olga; KUBIŃSKI, Konrad; RACHON, Janusz; DEMKOWICZ, Sebastian. Novel 1,2,4-oxadiazole derivatives in drug discovery. **Pharmaceuticals**, *[S. l.]*, v. 13, n. 6, 2020. DOI: 10.3390/ph13060111.

BOYD, Natalie K.; TENG, Chengwen; FREI, Christopher R. Brief Overview of Approaches and Challenges in New Antibiotic Development : A Focus On Drug Repurposing. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, *[S. l.]*, v. 11, n. May, p. 1–12, 2021. DOI: 10.3389/fcimb.2021.684515.

BRANCO, Frederico Silva Castelo et al. Ressonância magnética nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. Química Nova, v. 38, p. 1237-1246, 2015. (manual)

ÇAKMAK, Reşit et al. Synthesis, spectral characterization, chemical reactivity and anticancer behaviors of some novel hydrazone derivatives: Experimental and theoretical insights. **Journal of Molecular Structure**, v. 1253, p. 132224, 2022.

CARBONE, Marianna et al. Structure and cytotoxicity of phidianidines A and B: first finding of 1, 2, 4-oxadiazole system in a marine natural product. **Organic letters**, v. 13, n. 10, p. 2516-2519, 2011.

CASTRO, Paulo Bernardo Neves e; DA SILVA RODRIGUES, Daniel Aparecido; ROESER, Hubert Mathias Peter; DA FONSECA SANTIAGO, Aníbal; DE CÁSSIA FRANCO AFONSO, Robson José. Antibiotic consumption in developing countries defies global commitments: an overview on Brazilian growth in consumption. **Environmental Science and Pollution Research**, *[S. l.]*, v. 27, n. 17, p. 21013–21020, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-08574-x. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11356-020-08574-x.

FERNÁNDEZ-PALACIOS, Sara; MATAMOROS, Esther; MORATO, Isabel Rojas; NAVARRETE, Juan T. Lopes.; DELGADO, M. Carmen Ruiz; VIDA, Yolanda; PEREZ-INESTROSA, Ezequiel. New Insights into Acylhydrazones E/Z Isomerization: An Experimental and Theoretical Approach. **International Journal of Molecular Sciences**, *[S. l.]*, v. 24, n. 19, 2023. DOI: 10.3390/ijms241914739. GIBIN, Eloísa; LACERDA, Leonora; PIETROWSKI, Vanessa; LARISSA, Amanda; LEME, Dias; YUJI, Danillo. Isoniazid- N -acylhydrazones as promising compounds for the anti-tuberculosis treatment. **Tuberculosis**, *[S. l.]*, v. 141, n. March, 2023.

GLOMB, Teresa; ŚWIĄTEK, Piotr. Antimicrobial activity of 1, 3, 4-oxadiazole derivatives. International journal of molecular sciences, v. 22, n. 13, p. 6979, 2021.

GEBEYEHU, Endalew; BANTIE, Laychiluh; AZAGE, Muluken. Inappropriate use of antibiotics and its associated factors among urban and rural communities of Bahir Dar city administration, northwest Ethiopia. **PLOS ONE**, *[S. l.]*, v. 10, n. 9, p. 1–14, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138179.

HERMIT, Mette B.; GREENWOOD, Jeremy R.; BRÄUNER-OSBORNE, Hans. Mutationinduced quisqualic acid and ibotenic acid affinity at the metabotropic glutamate receptor subtype 4: ligand selectivity results from a synergy of several amino acid residues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 33, p. 34811-34817, 2004.

HOERR, Verena; DUGGAN, Gavin E.; ZBYTNUIK, Lori; POON, Karen K. H.; GROSSE, Christina; NEUGEBAUER, Ute; METHLING, Karen; LÖFFLER, Bettina; VOGEL, Hans J. Characterization and prediction of the mechanism of action of antibiotics through NMR metabolomics. **BMC Microbiology**, *[S. l.]*, v. 16, n. 1, p. 1–14, 2016. DOI: 10.1186/s12866-016-0696-5. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/s12866-016-0696-5.

HUTCHINGS, Matthew; TRUMAN, Andrew; WILKINSON, Barrie. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, *[S. l.]*, v. 51, n. Figure 1, p. 72–80, 2019. DOI: 10.1016/j.mib.2019.10.008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008.

JORDÃO, Alessandro K. et al. Synthesis, antitubercular activity, and SAR study of Nsubstituted- phenylamino-5-methyl-1H-1,2,3-triazole-4-carbohydrazides. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, *[S. l.]*, v. 19, n. 18, p. 5605–5611, 2011. DOI: 10.1016/j.bmc.2011.07.035.

KUMAR, Pradeep; NARASIMHAN, Balasubramanian; SHARMA, Deepika; JUDGE, Vikramjeet; NARANG, Rakesh. Hansch analysis of substituted benzoic acid benzylidene/furan-2-yl-methylene hydrazides as antimicrobial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, *[S. l.]*, v. 44, n. 5, p. 1853–1863, 2009. DOI:

10.1016/j.ejmech.2008.10.034. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.10.034.

KUÇUKGUZEL, S. G.; KOÇ, D.; QKLA-SUZGUN, P.; OZSAVCI, D.; BINGOLOZAKPMAR,; MEGA-TIBER, P.; ORUN, O.; ERZINCAN, P.; SAG-ERDEM, S.; SAHIN, F. Synthesis of Tolmetin Hydrazide-Hydrazones and Discovery of a Potent Apptosis Inducer in Colon Cancer Cells. **Archiv der Pharmazie: Chemistry in Life Sciences**, v.348, p. 730- 742, 2015.

KUMAR, Veena S. et al. Synthesis, spectral properties, chemical descriptors and light harvesting studies of a new bioactive azo imidazole compound. **Journal of Molecular Structure**, v. 1199, p. 127035, 2020.

KOUROUNAKIS, Angeliki P.; XANTHOPOULOS, Dimitrios; TZARA, Ariadni. Morpholine as a privileged structure: A review on the medicinal chemistry and pharmacological activity of morpholine containing bioactive molecules. **Medicinal Research Reviews**, v. 40, n. 2, p. 709-752, 2020.

KHODJA, Imene Amine; BENSOUICI, Chawki; BOULEBD, Houssem. Combined experimental and theoretical studies of the structure-antiradical activity relationship of heterocyclic hydrazone compounds. **Journal of Molecular Structure**, v. 1221, p. 128858, 2020.

KOZIKOWSKI, Alan P. et al. α-substituted quisqualic acid analogs: New metabotropic glutamate receptor group II selective antagonists. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 8, n. 5, p. 447-452, 1998.

LIGON, B. Lee. Sir Howard Walter Florey - The Force Behind the Development of Penicillin. Seminars in Pediatric Infectious Diseases, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 109–114, 2004. DOI: 10.1053/j.spid.2004.04.001.

LIN, Xiaoqian; LI, Xiu; LIN, Xubo. A review on applications of computational methods in drug screening and design. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1375, 2020.

MAGLANGIT, Fleurdeliz; YU, Yi; DENG, Hai. Natural Product Reports Bacterial pathogens: threat or treat (a review on bioactive natural products from. **Natural Product Reports**, *[S. l.]*, p. 782–821, 2021. DOI: 10.1039/d0np00061b.

MOHR, Kathrin I. History of Antibiotics Research. Current Topics in Microbiology and Immunology, [S. l.], v. 398, 2016. DOI: DOI 10.1007/82_2016_499. Disponível em: https://doi.org/10.1007/82_2016_499%0A%0A.

MONSERRAT-MARTINEZ, Ana; GAMBIN, Yann; SIERECKI, Emma. Thinking Outside the Bug: Molecular Targets and Strategies to Overcome Antibiotic Resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, *[S. l.]*, 2019. DOI: 10.3390/ijms20061255. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3390/ijms20061255.

MCMURRY, John; MATOS, Robson Mendes. **Química orgânica: combo**. Cengage Learning Edições Ltda. 2016.

NASSAR, Ibrahim F. et al. Synthesis of new uracil derivatives and their sugar hydrazones with potent antimicrobial, antioxidant and anticancer activities. **Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids**, v. 39, n. 7, p. 991-1010, 2020.

OGAWARA, Hiroshi. Comparison of Antibiotic Resistance Mechanisms in Antibiotic-Producing and Pathogenic Bacteria. **Molecules**, *[S. l.]*, p. 1–55, 2019. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules24193430. Disponível em: <u>https://www.mdpi.com/1420-</u> 3049/24/19/3430.

OLIVEIRA, Cledualdo S. de et al. Synthesis and testing of 3-acetyl-2, 5-disubstituted-2, 3dihydro-1, 3, 4-oxadiazole derivatives for antifungal activity against selected Candida Species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 115-120, 2013.

OLIVEIRA, C. S.; LIRA, B. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; LORENZO, J. G. F.; MENEZES, C. P.; SANTOS, J. M. C. G.; LIMA, E. O.; ATHAYDE-FILHO, P. F. Synthesis and Testing of 3-Acetyl-2,5-Disubstituted-2,3-Dihydro-1,3,4-oxadiazol Derivatives for Antifungal Activity Against Selected Candida Species. J. Braz. Chem. Soc.24, 115-120, 2013.

PRASAD, Malini *et al.* Leveraging phytochemicals: the plant phylogeny predicts sources of novel antibacterial compounds. **Future Science OA**, *[S. l.]*, v. 5, 2019. DOI: 10.2144/fsoa-2018-0124.

POLOTHI, Ravikumar; RAOLJI, Gajendra Sinh B.; KUCHIBHOTLA, Venkata Sastry; SHEELAM, Kalidasu; TUNIKI, Balaaraju; THODUPUNURI, Prashanth. Synthesis and biological evaluation of 1,2,4-oxadiazole linked 1,3,4-oxadiazole derivatives as tubulin

binding agents. **Synthetic Communications**, *[S. l.]*, v. 49, n. 13, p. 1603–1612, 2019. DOI: 10.1080/00397911.2018.1535076. Disponível em: https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1535076.

ROLLAS, Sevim; GÜNIZ KÜÇÜKGÜZEL, Ş. Biological activities of hydrazone derivatives. **Molecules**, v. 12, n. 8, p. 1910-1939, 2007.

SHARMA, P. C. et al. Hydrazone comprising compounds as promising anti-infective agents: Chemistry and structure-property relationship. **Materials Today Chemistry**, v. 18, p. 100349, 2020.

SAMPIRON, Eloísa Gibin; CALSAVARA, Leonora Lacerda; BALDIN, Vanessa Pietrowski; MONTAHOLI, Débora Cássia; LEME, Amanda Larissa Dias; NAMBA, Danillo Yuji, OLHER, Vanessa Guimarães Alves; CALEFFI-FERRACIOLLI, Katiany Rizzieri; CARDOSO, Rosilene Fressatti; SIQUEIRA, Vera Lucia Dias; VANDRESEN, Fábio; SCODRO, Regiane Bertin de Lima. Isoniazid-*N*-acylhydrazones as promising compounds for the anti-tuberculosis treatment. **Tuberculosis**, v. 141, p. 102363, 2023.

SAVJANI, J.; GAJJAR, A.; SAVJANI, K. Mechanisms of Resistance: Useful Tool to Design Antibacterial Agents for Drug - Resistant Bacteria. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, *[S. l.]*, v. 9, n. 2, p. 194–205, 2009. DOI: 10.2174/138955709787316038.

SILVA, Y. K. C.; AUGUSTO, C. V.; BARBOSA, M.L.C.; MELO, G.M.A.; QUEIROZ, A. C.; DIAS, T. L. M. F.; JÚNIOR, W.B.; BARREIRO, E. J.; LIMA, L.M.; MOREIRA, M.S.A.; Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazine *N*-acylhydrazone derivatives designed as novel analgesic and anti-inflammatory drug candidates, *Bioorg. Med. Chem.* 18, 5007–5015, 2010.

SI, Hongbin; HU, Jinqiang; LIU, Zhichang; ZENG, Zhen Ling. Antibacterial effect of oregano essential oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, *[S. l.]*, v. 53, n. 2, p. 190–194, 2008. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2008.00414.x.

SOCEA, Laura-Ileana; BARBUCEANU, Stefania-Felicia; PAHONTU, Elena Mihaela; DUMITRU, Alexandru-Claudiu; NITULESCU, George Mihai; SFETEA, Roxana Corina; APOSTOL, Theodora-Venera. Acylhydrazones and their biological activity: a review. **Molecules**, v. 27, n. 24, p. 8719, 2022.

SUBRAMANIAN, Murugan Sesha et al. Prevailing knowledge on the bioavailability and biological activities of sulphur compounds from Alliums: A potential drug candidate. **Molecules**, v. 25, n. 18, p. 4111, 2020.

SUNDAR, Saranya; RENGAN, Ramesh; PENNAMUTHIRIYAN, Anandaraj; SÉMERIL, David. Arene Ru (II)-catalyzed facile synthesis of N-acylhydrazones via acceptorless dehydrogenative coupling strategy. **Applied Organometallic Chemistry**, *[S. l.]*, v. 36, n. 10, p. 1–9, 2022. DOI: 10.1002/aoc.6857.

THORAT, Bapu R. et al. Synthesis, spectroscopic, in-vitro and computational analysis of hydrazones as potential antituberculosis agents:(part-I). **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 23, n. 5, p. 392-401, 2020.

VARDAN, Suman et al. Effects of tiodazosin, a new antihypertensive, hemodynamics and clinical variables. Clinical Pharmacology & Therapeutics, v. 34, n. 3, p. 290-296, 1983.

WASAN, Himika; SINGH, Devendra; REETA, K. H.; GUPTA, Yogendra Kumar. Landscape of Push Funding in Antibiotic Research: Current Status and Way Forward. **Biology**, *[S. l.]*, p. 1–20, 2023. DOI: 10.3390/biology12010101. Disponível em: https://doi.org/10.3390/biology12010101.

WHO. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. 2017. Disponível em: https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed.

ZHU, Jia-Wei; ZHANG, Si-Jia; WANG, Wen-Guang; JIANG, Hui. Strategies for Discovering New Antibiotics from Bacteria in the Post - Genomic Era. **Current Microbiology**, *[S. l.]*, v. 77, n. 11, p. 3213–3223, 2020. DOI: 10.1007/s00284-020-02197-8. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00284-020-02197-8.



57 | Página



A 1. Espectro de RMN de ¹H do 4-bromo-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1A) em DMSO-d₆



A 2. Espectro de RMN de ¹H do 4-cloro-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2A) em DMSO-d₆



A 3. Espectro de RMN de ¹H do 4-flúor-N'-(2-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3A) em DMSO-d₆



A 4. Espectro de RMN de ¹H do 4-bromo-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (1B) em DMSO-d₆



A 5. Espectro de RMN de ¹H do 4-cloro-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (2B) em DMSO-d₆



A 6. Espectro de RMN de ¹H do 4-flúor-N'-(3-hidroxibenzilideno)benzoidrazida (3B) em DMSO-d₆



A 7. Espectro de RMN de ¹H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2il)fenila (4A) em CDCl₃.

A 8. Espectro de RMN de ¹³C do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4A) em $CDCl_3$.

A 9. Espectro de RMN de ¹H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5A) em CDCl₃.

210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm

A 10. Espectro de RMN de ¹³C do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2il)fenila (5A) em CDCl₃.

A 11. Espectro de RMN de ¹H do acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2il)fenila (6A) em CDCl₃.

A 12. Espectro de RMN de ¹³C acetato de 2-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6A) em CDCl₃.

Current Data Parameters NAME VEDU-01 OXA-30H-4BR EXPNO 30 PROCNO 1		<156.19	137.62 132.06 132.06 132.09 132.09 128.46 112.33 112.33 113.64	92.21	$\stackrel{77.27}{\leftarrow}^{77.27}_{77.02}$	21.45	00.00
$\begin{array}{cccc} F2 & - \mbox{ Acquisition Parameters} \\ Date_ 2020802 \\ Time 11.40 \ h \\ INSTRUM Avance V20802 \\ FROBHD 2119470_0334 (F300000000000000000000000000000000000$							
r2 - Processing parameters SI 32768 SF 125.7577885 MHz WDW EM SSB 0 LB 1.00 Hz GB 0 PC 1.49	mulman						

210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 ppm A 14. Espectro de RMN de ¹³C acetato de 3-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (4B) em CDCl₃.

A 15. Espectro de RMN de ¹H do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2il)fenila (5B) em CDCl₃.

A 16. Espectro de RMN de ¹³C acetato de 3-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (5B) em CDCl₃.

A 17. Espectro de RMN de ¹H do acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2il)fenila (6B) em CDCl₃.

A 18. Espectro de RMN de ¹³C acetato de 3-(3-acetil-5-(4-fluorfenil)-2,3-diidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)fenila (6B) em CDCl₃.