



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós-graduação – Mestrado em Química



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE HIDRAZONAS E 1,3,4 OXADIAZÓIS A PARTIR DE LIPÍDEOS FENÓLICOS

Nathália Rodrigues de Almeida

Orientador: Prof. Dr. Adilson Beatriz

Co-orientadora: Prof. Dra. Ana Camila Micheletti

Campo Grande – 2017

Unidade XI – INSTITUTO DE QUÍMICA – UFMS

Cidade Universitária, s/n *Caixa Postal 549 - Fone/Fax 067xx 3345-7009 Fone 067xx 3345-7010
79070-900 *Campo Grande (MS)

<http://www.ufms.br> e-mail: pgquimica.propp@ufms.br



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Centro de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós-graduação – Mestrado em Química



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE HIDRAZONAS E 1,3,4 OXADIAZÓIS A PARTIR DE LIPÍDEOS FENÓLICOS

Nathália Rodrigues de Almeida

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química – Nível de Doutorado - da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor em Química (área de concentração: Química).

Orientador: Prof. Dr. Adilson Beatriz

Co-orientadora: Prof. Dra. Ana Camila Micheletti

Campo Grande – 2017

Unidade XI – INSTITUTO DE QUÍMICA – UFMS

Cidade Universitária, s/n *Caixa Postal 549 - Fone/Fax 067xx 3345-7009 Fone 067xx 3345-7010
79070-900 *Campo Grande (MS)
<http://www.ufms.br> e-mail: pgquimica.propp@ufms.br



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



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – CURSOS DE MESTRADO E DOUTORADO

TERMO DE DEFESA

() – Dissertação (X) – Tese () – Qualificação

ALUNA
Nathália Rodrigues de Almeida

TÍTULO DO TRABALHO
SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE HIDRAZONAS E 1,3,4 OXADIAZÓIS A PARTIR DE LIPÍDEOS FENÓLICOS.

Defesa de Tese de Doutorado em Química/UFMS, submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Química – Cursos de Mestrado e Doutorado, do Instituto de Química da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (**Resolução nº 1/2017**), como parte dos requisitos necessários para titulação no curso.

COMISSÃO EXAMINADORA		
NOME	INSTITUIÇÃO DE ENSINO	ASSINATURA
Adilson Beatriz	UFMS	
Neli Kika Honda	UFMS	
Nídia Cristiane Yoshida	UFMS	
Felicia Megumi Ito	UFMS	
Dênis Pires de Lima	UFMS	

Campo Grande, 1º de fevereiro de 2017.

Instituto de Química – UFMS

Cidade Universitária, s/n - Caixa Postal 549 - Fone/Fax 067xx 3345-3552 - Fone 067xx 3345-3546
Av. Senador Filinto Müller nº 1555 - CEP: 79074-460 - Campo Grande (MS)
<http://www.ufms.br> – www.quimica.sites.ufms.br

“Whenever you go, whatever you do, may your Guardian Angel always be watching over you”

AGRADECIMENTOS

À Deus, por todas as bênçãos.

Ao meu filho Arthur, meu maior tesouro e à minha mãe Dora, por todo amor, companheirismo e dedicação durante todos esses anos, sem ela eu não teria chegado até aqui.

Aos meus familiares pelo carinho e ao Gutemberg por toda ajuda e atenção dedicada nos últimos meses.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Adilson Beatriz por todo o apoio durante esses anos de trabalho, por estar sempre disposto a me ajudar e pelos conhecimentos transmitidos, que foram fundamentais para minha formação profissional.

À minha co-orientadora Prof. Dra. Ana Camila Micheletti, pela sua colaboração e pelas suas idéias sempre tão práticas e objetivas para ajudar a solucionar as dificuldades encontradas durante o trabalho.

À todos os professores da UFMS que colaboraram para minha formação, principalmente ao prof. Dr. Dênis Pires de Lima por todo conhecimento transmitido durante as aulas de Química Orgânica Avançada e Síntese Orgânica.

Aos professores da banca examinadora, que gentilmente aceitaram o convite de contribuir com este trabalho.

Prof. Dr. Eduardo José de Arruda por ter me acompanhado desde a minha graduação e que mesmo de longe sempre se fez presente com as suas palavras de motivação por email e WhatsApp.

Aos pesquisadores do Sintmol Lp4, pelos que passaram e pelos que ainda estão trabalhando no laboratório pelo companheirismo, principalmente a Paola, que contribuiu com esse trabalho, na aquisição dos espectros de RMN.

Às professoras do LP2, Prof. Dra. Neli Kika Honda, Prof. Dra. Gláucia Braz Alcantara e pelos doutorandos Rafael, Deyse e Tatiana pela acolhida no laboratório durante o último ano.

Às amigas químicas, Tatiana, Suély e Ozildéia por todos os momentos que passamos juntas, por todas as histórias engraçadas, rizadas e pela parceria durante esses anos.

Ao casal de amigos Robbie e Mike Adams, que foram verdadeiros anjos de Deus durante os 3 últimos meses em Omaha, nos Estados Unidos. Pela acolhida carinhosa e pela ajuda.

Ao prof. Dr. Valter Aragão da FAMED – UFMS pela realização dos estudos de modelagem computacional.

À prof. Gláucia Braz Alcantara e o doutorando Rafael, pela aquisição dos espectros do composto **5d**.

Ao Prof. Fernando Pavan da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista pela realização dos testes antituberculose.

Aos Secretários e Coordenação da Pós Graduação em Química.

À PROPP – UFMS e a Capes pela bolsa concedida.

O meu muito Obrigado !!!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. <i>Aedes aegypti</i>: Dengue, Zika e Chikungunya	6
1.2. Infecções bacterianas	9
1.3. Hidrazonas	11
1.4. Oxadiázóis	13
2. OBJETIVOS	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.1. Obtenção do 8-(3-hidroxifenil)octanal a partir do cardanol	20
3.2. Síntese de <i>N</i>-acilidrazonas	22
3.2.1. Determinação da estereoquímica para as <i>N</i>-acilidrazonas	29
3.3. Estudos de Modelagem Molecular para o composto 5d 2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil) octilideno)benzohidrazida	36
3.3. Síntese de hidrazonas	46
3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana	53
3.5. Atividade Antituberculose	55
3.6. Atividade larvica contra <i>Aedes aegypti</i>	56
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	59
4.1. Materiais e Equipamentos utilizados	59
4.2. Procedimento para obtenção do aldeído 3 a partir do cardanol¹⁶	59
4.3. Procedimento para obtenção de <i>N</i>-acilidrazonas²⁶	60
4.4. Procedimento para obtenção das hidrazonas²⁶	62
4.5. Procedimento para obtenção de 1,3,4 oxadiazóis	62
4.7. Avaliação da atividade antibiótica	65
4.7. Avaliação da atividade antituberculose	66
4.8. Avaliação da atividade larvica	67
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
6. REFERÊNCIAS	69
ANEXOS	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Principais constituintes do Líquido da Casca da Castanha do Caju...	3
Figura 2: Principais sítios para modificação estrutural da molécula do cardanol.	3
Figura 3: Estruturas da Isoniazida e Nifuroxazida.	12
Figura 4: Estruturas dos derivados hidrazina isoniazida com bloqueio do grupo –NH ₂	13
Figura 5: Isômeros dos Oxadiazóis.	13
Figura 6: Compostos sintetizados por Oliveira e colaboradores ⁵²	15
Figura 7: Compostos sintetizados por Desai and Kotadiya ⁵⁸	16
Figura 8: Estrutura química do Raltegravir® e o Zibotentan®	16
Figura 9: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl ₃	21
Figura 10: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl ₃	22
Figura 11: Deslocamentos químicos de RMN de ¹³ C para o composto 3, 8-(3- hidroxifenil) octanal (3).	22
Figura 12: Espectro de RMN ¹ H do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3- hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em DMSO-d ₆	24
Figura 13: Mapa de correlações homonuclear ¹ H- ¹ H, gCOSY do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em DMSO-d ₆	27
Figura 14: Correlação observadas no gCOSY representadas para o composto 5c.	27
Figura 15: Espectro de RMN ¹³ C do composto (E)-4-bromo-N'-(8-(3- hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida (5c) em DMSO-d ₆	28
Figura 16: Isômeros e confôrmeros possíveis para as N-acilidrazonas.	30
Figura 17: Diastereoisômeros E e Z para o composto 5c, 4-bromo-N'-(8-(3- hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida. Estruturas obtidas através do software Avogadro.	31

Figura 18: Mapa de correlações espaciais, ^1H - ^1H Gnoesy para composto 5c (<i>E</i>)-4-bromo- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida.....	31
Figura 19: Correlação observada no gNOESY para o composto 5c, confirmando a estereoquímica <i>E</i>	32
Figura 20: Espectro de RMN ^1H do composto 5d, 2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em DMSO- d_6	32
Figura 21: Espectros de RMN ^1H para o composto 5d, 2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil) octilideno)benzohidrazida em DMSO- d_6 . a) sem aquecimento; b) aquisição imediata após aquecimento a 60°C.....	33
Figura 22: Deslocalização dos elétrons do nitrogênio no sistema C-O-N.	35
Figura 23: Estabilização dos estados de transição para os rotâmeros da ligação amida a) composto 5d, substituinte em orto dificulta a coplanarização dos elétrons π com a carbonila; b) composto 5b, estabilização do estado de transição pelos elétrons π aromático.....	35
Figura 24: Diagrama ilustrando os passos que devem ser realizados para a otimização uma molécula.....	38
Figura 25: Estrutura otimizada do composto 5d, (<i>E</i>)-2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida através do método HF, e funções de ondas 3-21G. Onde: C-Carbono (cinza); N-Nitrogênio (azul); Cl-Cloro (verde); O-Oxigênio (vermelho), H-Hidrogênio (branco).....	39
Figura 26: Variação de energia dos confôrmeros do composto 5d, (<i>E</i>)-2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em função do ângulo diedro N2-N4-C15-C1.	41
Figura 27: Confôrmeros Sin-Anti- para o composto 5d, (<i>E</i>)-2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida, com os valores de energia teorica.	41
Figura 28: Diagrama ilustrativo da formação dos orbitais moleculares σ e σ^* , a partir da interação dos orbitais atômicos 1s, da molécula H ₂	42
Figura 29: Orbitais moleculares do composto 5d, (<i>E</i>)-2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida obtida no vacuo LUMO (2.6 eV) e (3.2 eV).	44
Figura 30: Orbitais moleculares do composto 5d, (<i>E</i>)-2-cloro- <i>N'</i> -(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida obtida no vacuo Homo (-8.6 eV) e (-9.2 eV).....	44

Figura 31: Cargas atômicas (u.a) obtidas utilizando os métodos Eletrostaticos, Mullikem e Natural. A partir da simulação computacional do composto 5d, (E)-2-cloro-N'-(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida, utilizando o método HF e função bases 3,21-G.	45
Figura 32: Espectro de RMN ^1H do composto nitro em DMSO- d_6	47
Figura 33: Espectro de RMN ^1H do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4	49
Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados bioensaios larvicidas (CL_{50} - índice de mortalidade larval)	5
Tabela 2: Atividade antimicrobiana de derivados de hidrazonas descritas na literatura.	12
Tabela 3: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de 1H (300 MHz) das N-acilidrazonas 5 a-g em DMSO- d_6 .	25
Tabela 4: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^{13}C (75 MHz) das N-acilidrazonas 5 a-g em DMSO- d_6 .	28
Tabela 5: Comprimentos de ligações obtidas para o composto 5d (E)-2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida comparadas com resultados experimentais descritos na literatura.	40
Tabela 6: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de 1H (300 MHz) dos oxadiázóis 8 a-g em Metanol- d_4 .	50
Tabela 7: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^{13}C (75 MHz) dos oxadiázóis 8 a-g em Metanol- d_4 .	52
Tabela 8: Valores de Concentração Mínima Inibitória - CMI ($\mu g. mL^{-1}$) para os compostos sintetizados frente a 4 cepas bacterianas.	54
Tabela 9: Valores de CMI $_{90}$ ($\mu g. mL^{-1}$ L) para os compostos obtidos frente a 3 cepas bacterianas.	56
Tabela 10: Valores de Dose Letal (DL_{50} e DL_{90}) em $\mu g. mL^{-1}$ (ppm) para larvas no 4th instar após 24 horas de exposição.	57

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Estratégias para construção do núcleo oxadiazol.	14
Esquema 2: Mecanismo plausível para as reações de condensação e ciclização para formar 1,3,4-oxadiázóis.....	15
Esquema 3: Modificações estruturais na molécula do cardanol propostas nesse trabalho	18
Esquema 4: Obtenção do 8-(3-hidroxifenil)octanal 3 a partir do cardanol.....	20
Esquema 5: Reação de condensação para obtenção das N-acilidrazonas de 5 a-g.	23
Esquema 6: Reação de condensação para obtenção das hidrazonas de 7 a-e	46
Esquema 7: Reação para obtenção dos oxadiázóis de 8 a-g.	48

LISTA DE ESPECTROS - ANEXO

A 1: Espectro de RMN de ^1H do cardanol ozonizado 2 em CDCl_3	79
A 2: Espectro de RMN de ^{13}C do cardanol ozonizado 2 em CDCl_3	79
A 3: Espectro de RMN de ^1H do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3	80
A 4: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3	80
A 5: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135 do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3	81
A 6: Espectro de RMN de ^1H composto 5a, (E)-4-fluoro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	81
A 7: Espectro de RMN de ^{13}C composto 5a, (E)-4-fluoro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	82
A 8: Espectro: Espectro de RMN de ^1H do composto 5b, (E)-4-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	82
A 9: Espectro: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5b, (E)-4-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	83
A 10: Espectro de RMN de ^1H do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	83
A 11: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil) octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	84
A 12: Mapa de correlações homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$, gCOSY (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida.	84
A 13: Mapa de correlações espaciais, $^1\text{H}-^1\text{H}$ gNOESY para composto 5c (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida.	85
A 14: Espectro de RMN de ^1H do composto 5d, 2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	85
A 15: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5d, 2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$	86

A 16: Espectro de RMN de ^1H do composto 5d, 2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em DMSO- d_6 após aquecimento a 60°C	86
A 17: Espectro de RMN de ^1H do composto 5e, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno) nicotinahidrazida em DMSO- d_6	87
A 18: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5e, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno) nicotinahidrazida em DMSO- d_6	87
A 19: Espectro de RMN de ^1H do composto 5f, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)furano-2-carbohidrazida em DMSO- d_6	88
A 20: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5f, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)furano-2-carbohidrazida em DMSO- d_6	88
A 21: Espectro de RMN de ^1H do composto 5g, N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)tiofeno-2-carbohidrazida em DMSO- d_6	89
A 22: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5g, N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)tiofeno-2-carbohidrazida em DMSO- d_6	89
A 23: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7e, 3-(8-(2-(2-nitrofenil)hidrazona)octil)fenol em DMSO- d_6	90
A 24: Espectro de RMN de ^1H do composto 8a, 3-(7-(3-acetil-5-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	90
A 25: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8a, 3-(7-(3-acetil-5-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	91
A 26: Espectro de RMN de ^1H do composto 8b, 3-(7-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	91
A 27: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8b, 3-(7-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	92
A 28: Espectro de RMN de ^1H do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	92
A 29: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	93
A 30: Espectro de RMN de ^1H do composto 8d, 3-(7-(3-acetil-5-(2-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	93

A 31: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8d, 3-(7-(3-acetil-5-(2-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	94
A 32: Espectro de RMN de ^1H do composto 8e, 3-(7-(3-acetil-5-(piridin-3-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	94
A 33: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8e, 3-(7-(3-acetil-5-(piridin-3-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	95
A 34: Espectro de RMN de ^1H do composto 8f, 3-(7-(3-acetil-5-(furan-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	95
A 35: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8f, 3-(7-(3-acetil-5-(furan-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4	96
A 36: Espectro de RMN de ^1H do composto 8g, 3-(7-(3-acetil-5-(tiofen-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4	96
A 37: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8g, 3-(7-(3-acetil-5-(tiofen-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4	97

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Grau celsius
AchE	Acetilcolinesterase
ATCC	American Type Culture Collection
CFU	<i>Colony forming unit</i>
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CMI ₉₀	Concentração Mínima que Inibe 90% do crescimento bacteriano
DL ₅₀	Dose letal média
DMSO-d ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
MeOD-d ₄	Metanol deuterado
mg	Miligrama
µg	Micrograma
mL	Mililitros
Cloroamina T	<i>N</i> -cloro tosilamida
MHz	Megahertz
OMS	Organização Mundial de Saúde
PF	Ponto de fusão
PPA	Ácido polifosfórico
ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C
RNA	Ácido Ribonucleico
TMS	Tetrametilsilano

RESUMO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, os mosquitos estão entre os animais mais mortais do mundo. O *Aedes aegypti* é a principal espécie de mosquito vetor responsável por causar arboviroses conhecidas como dengue, zika e chikungunya, levando a altos índices de mortalidade. Outro grave problema de saúde pública têm sido a ocorrência de bactérias multirresistentes, incluindo o *Mycobacterium tuberculosis*. Os esforços nas pesquisas estão sendo direcionados ao desenvolvimento de agentes inseticidas mais eficazes e menos tóxicos e antimicrobianos com novos mecanismos de ação e altos níveis de eficácia. Os derivados de hidrazonas apresentam interessante atividade antimicrobiana, destacando a izoniazida, com alta atividade inibitória *in vivo* contra o *Mycobacterium tuberculosis*. Além de apresentarem atividade biológica, as *N*-acilidrazonas tem sido utilizadas na química medicinal para o *design* de outros derivados como o 1,3,4-oxadiazol. Os oxadiazóis tem demonstrado atividades biológicas como antimicrobiana, antiviral, antimalárica, anti-inflamatória e antitubercular. O presente estudo teve como objetivo a utilização do cardanol na síntese de novas hidrazonas e 1,3,4-oxadiázois e a avaliação da atividade biológica. A partir do aldeído 8-(3-hidroxifenil)octanal (obtido por ozonólise do cardanol) foram sintetizadas sete *N*-acil-hidrazonas (5 a-g) inéditas (4-fluorfenil, 4-clorofenil, 4-bromofenil, 2-clorofenil, nicotínica, tiofênica e furóica) com rendimentos quantitativos e sete oxadiazóis (8 a-g) inéditos, com rendimentos entre 44-69%, que foram preparados a partir das *N*-acil-hidrazonas correspondentes, utilizando como estratégia o fechamento da cadeia acíclica para formar o núcleo oxadiazol. Os novos compostos sintetizados foram submetidos a testes de atividade antimicrobiana contra cepas padrão mostrando-se moderadamente ativos para *S. aureus*. As *N*-acilidrazonas 5f e 5g foram ativas contra cepas de *Micobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294, com CMI₉₀ de 11,998 e 3,879 µg. mL⁻¹ respectivamente, sendo o composto 5g considerado promissor. Os compostos foram submetidos a ensaios de atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. Com base nos critérios estabelecidos na literatura, os biosensaio de atividade larvicida mostraram que o cardanol foi muito ativo com DL₅₀ de 20,22 µg. mL⁻¹. O cardanol ozonizado e o aldeído foram considerados ativos, com DL₅₀ de 57,94 e 56,93 µg. mL⁻¹. Dentre os 17 compostos avaliados, 10 foram considerados ativos por apresentarem DL₅₀ <750 µg. mL⁻¹.

Palavras chaves: cardanol, hidrazonas, 1,3,4-oxadiazóis, atividade antimicrobiana, antituberculose e larvicida.

ABSTRACT

According to the World Health Organization, mosquitoes are one of the deadliest animals in the world. *Aedes aegypti* is the main mosquito vector responsible for causing arboviruses known as dengue, zika and chikungunya, leading to high mortality rates. Another public health problem has been the occurrence of multiresistant bacteria, including *Mycobacterium tuberculosis*. Research efforts are being directed towards the development of insecticides more effective and less toxic and antimicrobial with new mechanisms of action and high levels of effectiveness. The hydrazone showed an interesting antimicrobial activity, especially izoniazide, with high inhibitory activity *in vivo* against *Mycobacterium tuberculosis*. In addition to presenting biological activity, *N*-acylhydrazones have been explored in medicinal chemistry for the design of other bioactives such as 1,3,4-oxadiazole. Oxadiazoles have demonstrated biological activities as antimicrobial, antiviral, antimalarial, anti-inflammatory and antitubercular. The present study aimed at using cardanol in the synthesis of new hydrazones and 1,3,4-oxadiazoles and evaluating biological activity. From the aldehyde 8- (3-hydroxyphenyl) octanal (obtained by ozonolysis of cardanol) seven novel *N*-acylhydrazones were synthesized (5 g) (4-fluorophenyl, 4-chlorophenyl, 4-bromophenyl, 2-chlorophenyl, nicotinic, tiophenic and furoic with quantitative yields besides seven oxadiazoles (8 g) in yields ranging from 44 to 69%, which were prepared from the corresponding *N*-acylhydrazones using as strategy the closure of the acyclic chain to form the oxadiazole moiety. The new synthesized compounds were tested for antimicrobial activity against standard strains showing moderately active against *S. aureus*. The *N*-acylhydrazones 5f and 5g were active against *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 strains, with CMI₉₀ of 11,998 and 3,879 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ and compound 5g was considered promising. The compounds were submitted to larvicidal activity against *Aedes aegypti*. Based on the criteria established in the literature, cardanol showed a strong activity in the larvicidal test, with LD₅₀ of 20.22 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Ozonized cardanol and aldehyde were considered active, with LD₅₀ of 57.94 and 56. $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Among the 17 evaluated compounds, 7 were considered inactive indicating that the structural modifications performed on the cardanol structure did not demonstrate a significant increase in larvicidal activity.

KeyWords: cardanol, hydrazones, 1,3,4-oxadiazoles, antimicrobial, antituberculosis and larvicidal activity.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo da história, produtos naturais e seus derivados têm se mostrado uma das fontes mais produtivas de pequenas moléculas para o tratamento de doenças humanas e para encontrar novos caminhos para a descoberta de fármacos. Os produtos naturais e seus derivados são moléculas únicas, altamente diversificadas e produzidas por organismos via metabolismo secundário, para desempenhar funções biológicas específicas.¹ Estas estruturas privilegiadas apresentam grande diversidade estrutural (mais de 12.000 alcaloides, mais de 8.000 compostos fenólicos e mais de 25.000 terpenoides conhecidos, apenas levando em consideração os compostos isolados de plantas)², permeabilidade celular e especificidade nas interações com seus alvos celulares, em função de séculos de pressão evolucionária em resposta às necessidades e desafios do meio ambiente.¹⁻⁴

Nesse contexto, a árvore *Anacardium occidentale* L, pertencente à família *Anacardiaceae* e conhecida popularmente como cajueiro, tem sido muito utilizada na medicina principalmente na região Nordeste, devido aos seus efeitos terapêuticos como: antiinflamatório para gengiva e garganta, bronquites, artrites, cólicas intestinais, icterícia, contra diabetes e asma.⁵ Na literatura encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como antiinflamatória⁶, antidiabética⁷ e inibidor da enzima acetilcolinesterase⁸. A castanha de caju ocupa uma posição central na dieta da população em todo o mundo, principalmente devido ao sabor agradável e por apresentar algumas propriedades como efeito cardioprotetor, antiobesidade, anticancerígeno e antioxidante.⁹

A cultura do caju é uma das principais atividades socioeconômicas do Nordeste do Brasil, e os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte participam com 99% do total da produção de castanha de caju.¹⁰ O Líquido da Casca da castanha do Caju (LCC) representa aproximadamente 25% do peso da castanha do caju, sendo obtido como um subproduto da indústria de caju.^{11,12} É um material barato, renovável e apresenta muitas aplicações biológicas e industriais, devido ao fato de reagir facilmente formando vários compostos derivados.

Muitos processos podem ser utilizados para a extração do LCC a partir das castanhas, e alguns procedimentos envolvem aquecimento, como a torrefação e outros são realizados por prensagem a frio ou à temperatura ambiente. Quando a

extração é realizada a frio o produto é denominado como LCC natural e quando extraído em altas temperaturas é chamado LCC técnico.¹³

O líquido extraído é constituído por uma mistura de compostos fenólicos com uma cadeia lateral de quinze átomos de carbono, podendo ser saturado ou conter uma, duas ou três instaurações (Figura 1). Estes compostos incluem o ácido anacárdico, cardol, cardanol, 2-metilcardol e materiais poliméricos.¹²

A composição final depende do método de extração utilizado. O LCC natural obtido por extração com solventes, apresenta de 46-65% de ácidos anacárdicos; 15-31 % de cardol; 10-22 % de cardanol e traços de 2-metilcardol. O LCC técnico pode apresentar pouca ou nenhuma percentagem de ácidos anacárdicos, devido a sua instabilidade térmica este composto sofre descarboxilação facilmente durante o processo de extração quente. Por conseguinte, a sua composição sofre variação de 60-95 % de cardanol, 4-19 % de cardol; 1-2 % de ácidos anacárdicos; 1,2-4,1 % de 2-metilcardol e 0,3 a 10 % de material polimérico. O LCC obtido com CO₂ super-crítico também apresenta cardanol como principal componente (75 a 88%).¹³

O cardanol pode ser separado dos outros componentes por destilação à vácuo (em 3-4 mm torr), sendo coletado como um líquido amarelo pálido, na fração com ponto de ebulição de $220 \pm 15^{\circ}\text{C}$. A mistura é composta por quatro fenóis diferem no grau de instauração na cadeia lateral: 2-5% de 3-(pentadecilo)-fenol (saturado), 34-49% de 3-(8Z-pentadecenilo)-fenol (monoeno), 17-23% de 3- (8Z, 11Z-pentadecadienil)-fenol (dieno) e 29-41% de 3-(8Z, 11Z, 14-pentadecatrienil)-fenol (trieno).¹⁴

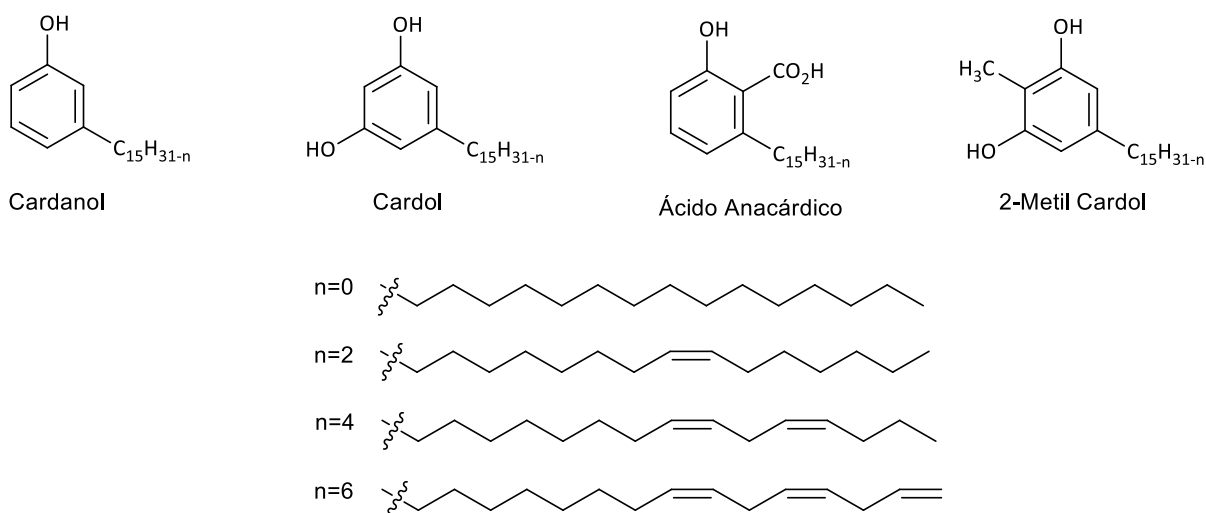


Figura 1: Principais constituintes do Líquido da Casca da Castanha do Caju.

O cardanol, principal constituinte do LCC técnico, apresenta peculiaridades em suas características químicas e físico-químicas que nos permite realizar inúmeras funcionalizações em diferentes sítios da molécula. A Figura 2 apresenta os sítios possíveis para funcionalização da molécula do cardanol monoeno, mas pode ser aplicado a todos os outros componentes. Além disso, a hidroxila fenólica e a cadeia alquílica longa na posição *meta* em relação a hidroxila, conferem a estrutura um caráter anfipático, tornando-o um material de partida promissor para a obtenção novos derivados, que pode levar a uma biblioteca de compostos anfipáticos.^{14,15}

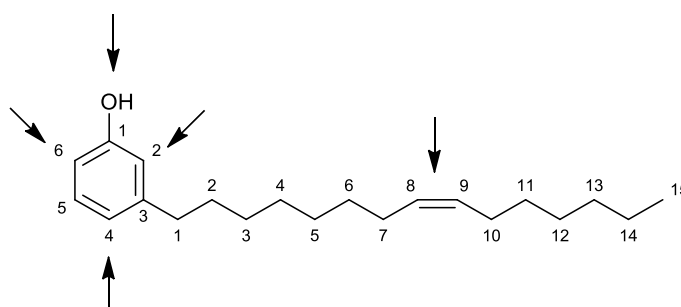


Figura 2: Principais sítios para modificação estrutural da molécula do cardanol.

Reações de oxidação na posição 8 da ligação dupla *cis* carbono-carbono podem levar à formação do ácido, aldeído e álcool correspondentes, que podem ser utilizados como material de partida na síntese de novos compostos.¹⁶ Um dos mais importantes métodos para a clivagem oxidativa de ligações duplas é a ozonólise de alcenos, que foi reportada pela primeira vez em 1840 e ainda permanece como

principal método utilizado até os dias de hoje.¹⁷ A reação leva a formação de ozonídeos, que podem ser reduzidos a aldeídos, utilizando zinco em pó e ácido acético ou hidrogenação catalítica (H₂/Pd-C).¹⁶

Os componentes do LCC, além de apresentarem propriedades químicas importantes, tem importantes atividades biológicas descritas na literatura, tais como antitumoral, antioxidante, gastroprotetora e antimicrobiana¹². Em estudos anteriores um de seus componentes, o ácido anacárdico, apresentou atividade antimicrobiana contra o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina¹⁸, antitumoral e anti-inflamatória.¹⁹

O cardol é um derivado do tipo resorcinol, que devido a sua semelhança estrutural com os tocoferóis, tem despertado grande interesse em áreas como a biotecnologia, biofarmacêutica e biomédica, como antimicrobiano, antitumoral, moluscidas e inibidor da enzima prostaglandina sintase, conhecida também como ciclooxigenase.²⁰

O cardanol também apresenta atividades biológicas de interesse, como antimicrobiana, antioxidante e antitumoral. Além disso, a literatura relata que os seus derivados semi-sintéticos estão entre os principais inibidores da acetilcolinesterase (AChE) recentemente descobertos.²¹ Os lipídeos fenólicos presentes no LCC apresentam características eletrônicas, estruturais e hidrofóbicas relevantes para o reconhecimento molecular da AChE e têm sido utilizados na busca de novos compostos úteis para o tratamento da doença de Alzheimer.²²

A inibição da AChE também é responsável pelo mecanismo de ação de muitos inseticidas disponíveis atualmente no mercado e tem sido descrita na literatura. Publicações revelam resultados sobre a atividade larvica desses compostos contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). A Tabela 1 apresenta a CL₅₀, índice de mortalidade larval, para os componentes do LCC apontando excelentes resultados. Observamos que os valores de CL₅₀ encontrados foram diferentes para um mesmo composto: conforme descrito por Lomonaco et al, 2008,¹⁸ o cardanol apresenta CL₅₀ de 32,89 ppm ± 0,25 e segundo Oliveira et al, 2011⁷ o CL₅₀ é de 8,20 ppm ± 0,15. Embora os protocolos utilizados sejam muito semelhantes, com variação apenas no número de larvas, nenhum dos autores menciona a linhagem de mosquito que foi avaliada, o que pode explicar valores tão distintos.

Tabela 1: Resultados bioensaios larvicidas (CL_{50} - índice de mortalidade larval)

Amostra	CL_{50} (ppm)	
	Lomonaco et al, 2008 ¹⁸	Oliveira et al, 2011 ⁷
LCC técnico	51,04 ± 0,62	- - -
Ácido anacárdico	- - -	12,40 ± 0,10
Cardanol	32,89 ± 0,25	8,20 ± 0,15
Cardol	14,20 ± 0,62	5,55 ± 0,07
Cardanol hidrogenado	68,18 ± 0,50	- - -
Cardol hidrogenado	> 500	- - -

A cadeia alquílica longa insaturada é importantes na estrutura do larvicida e responsável pela promoção da lipossolubilidade, facilitando sua passagem através da membrana celular. Os autores, sugerem que o cardol poderá vir a ser considerado como o mais recente “larvicida verde” no combate à dengue.^{12, 23}

Alguns estudos realizados em células de queratinócitos humanos HaCaT e células epiteliais de rim de macaco rhesus LLC-MK2 indicam que apesar das inúmeras atividades biológicas apresentadas pelo cardanol, a citotoxicidade deste tipo de composto limita a sua aplicação devido à falta de biocompatibilidade.^{20,24} Segundo a literatura, novos derivados de cardanol têm sido sintetizados a fim de diminuir a toxicidade e melhorar atividade biológica. O cardanol apresenta atividade citotóxica devido à sua cadeia lipídica insaturada, provocando o aumento da permeabilidade da membrana plasmática e resultando em vazamento de íons de potássio do interior da célula. A otimização das características físico-químicas como, carga, lipofilicidade, ligações de hidrogênio e tamanho da molécula ou modificação da estrutura é a estratégia geral para proporcionar uma aplicação segura.²⁵

Os produtos naturais muitas vezes exibem alta potência e seletividade, mas não sofreram seleção natural para servirem aos interesses terapêuticos humanos e, dessa forma, precisam muitas vezes ser modificados para atender às características desejadas em um fármaco. Os objetivos principais das modificações são potencializar as atividades, minimizar a toxicidade, melhorar outras propriedades farmacocinéticas, como características físico-químicas satisfatórias. Além de objetivar a descoberta de novos fármacos potenciais, muitos estudos de modificações estruturais também são realizados com o intuito de elucidar mecanismos de ação, além de prover dados para estudos de correlação estrutura-atividade biológica (SAR e QSAR).^{1,26,27} Assim, a

modificação estrutural de produtos naturais para a obtenção de novos compostos com potencial farmacológico é um campo extremamente promissor, com grandes desafios, que se mostra como ferramenta valiosa para a descoberta de novos candidatos a fármacos e outras substâncias bioativas.

1.1. *Aedes aegypti*: Dengue, Zika e Chikungunya

Segundo a OMS,²⁸ os mosquitos estão entre os animais mais mortais do mundo, que apresentam a capacidade de transportar e propagar doenças. *Aedes aegypti* é a principal espécie de mosquito vetor responsável por causar arboviroses conhecidas como dengue, febre amarela, zika e chikungunya. Essas doenças causam altos níveis de mortalidade e/ou morbidade, especialmente em países de regiões tropicais e subtropicais com consequente impacto social e econômico.

A espécie *Aedes aegypti* é originária da África e originalmente descrita no Egito, o que lhe conferiu seu nome específico. Foi sendo transportada passivamente pelo homem aos distintos continentes e atualmente apresenta distribuição mundial. É um mosquito adaptado ao ambiente urbano e utiliza preferencialmente depósitos artificiais de água limpa para colocar os seus ovos e os recipientes mais frequentes no domicílio ou peridomicílio são tanques de armazenamento de água e vasilhames temporários, dentro e fora das casas, como potes, barris, pneumáticos usados, latas, garrafas e vasos de plantas onde ocorre o desenvolvimento de sua fase larvária. É uma espécie de mosquito doméstico, antropofílico, com atividade hematofágica diurna, alimentando-se e depositando seus ovos, preferencialmente, ao amanhecer e no período vespertino próximo ao crepúsculo.^{29,30,31}

Os ovos apresentam alta capacidade de resistir à dessecação, mantendo-se viáveis na ausência de água por até 450 dias. O mosquito tem demonstrado uma grande capacidade de adaptação a diferentes situações ambientais consideradas desfavoráveis como altitudes elevadas e larvas em água poluída.³⁰

A dengue é hoje a arbovirose (vírus essencialmente transmitido por artrópodes) mais importante do mundo e a que tem se espalhado mais rapidamente. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas encontram-se sob risco de se infectarem, particularmente em países tropicais onde a temperatura e a umidade favorecem a proliferação do mosquito vetor.³⁰ Constitui um problema grave de saúde pública, afetando mais de 70 milhões de pessoas por ano.³²

A etiologia e seus mecanismos de transmissão são bem conhecidos, sendo transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*. Existem quatro sorotipos do vírus, chamados de DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4, eles pertencem ao gênero *Flavivírus*, composto por RNA, e à família Flaviviridae, a qual contém cerca de 70 vírus, incluindo o da febre amarela. A infecção com um sorotipo de dengue fornece imunidade vitalícia para esse vírus, mas não há nenhuma imunidade para os outros sorotipos. Dessa forma, pessoas que vivem numa área endêmica de dengue podem ser infectadas com três, ou, provavelmente, quatro sorotipos de dengue durante a sua vida.³³

Os sintomas variam de uma febre moderada até formas mais severas que podem levar à morte. O seu espectro clínico é muito amplo, variando de formas assintomáticas até formas mais graves e letais. As causas da ocorrência de formas graves ainda não estão plenamente estabelecidas, existindo algumas teorias explicativas relacionadas à maior virulência da cepa de vírus infectante, à sequência de infecções pelos diferentes sorotipos do agente etiológico, a fatores individuais do hospedeiro e a uma combinação de todas as explicações anteriores.³²

A maioria dos casos de dengue apresenta um quadro inespecífico de febre, mal-estar, fraqueza, intensa dor muscular e cefaléia retro-ocular, que podem ocorrer com ou sem *rash* cutâneo. A constipação é ocasionalmente relatada; diarreia e sintomas respiratórios não são frequentes, mas podem ocorrer devido a infecções simultâneas. Alterações laboratoriais como aumento de enzimas hepáticas, leucopenia e plaquetopenia são alterações compatíveis, mas não específicas da doença. As formas mais graves incluem a síndrome do choque por dengue e a dengue hemorrágica^{33,34}.

No Brasil em 2016, já foram registrados 1.399.480 casos prováveis de dengue até a Semana Epidemiológica (3/1/2016 a 09/07/2016). Nesse período, a região Sudeste registrou o maior número de casos prováveis (837.400 casos; 59,8%) em relação ao total do país, seguida das regiões Nordeste (295.036 casos; 21,1%), Centro-Oeste (154.359 casos; 11,0%), Sul (76.465 casos; 5,5%) e Norte (36.220 casos; 2,6%). Foram confirmados 639 casos de dengue grave, 6.253 casos de dengue com sinais de alarme e 419 óbitos. Neste ano, já foram processadas 9.513 amostras para isolamento do vírus da dengue, sendo 2.520 positivas, das quais 89,7% foram positivas para o sorotipo viral DENV-1.³⁵

Assim como o vírus dengue, o vírus zika é um arbovírus que pertence ao gênero *Flavivirus* e família *Flaviviridae*, transmitido por vetores do gênero *Aedes*. O vírus foi originalmente isolado de uma fêmea de macaco *Rhesus*, em 1947, na floresta Zika em Uganda e os primeiros casos em humanos de infecção por zika foram descritos em 1960, na África e depois na Ásia.³⁶ Desde então, o vírus emergiu para a Polinésia Francesa, Nova Caledônia, Ilha de Páscoa e Ilhas Cook e, mais recentemente, no nordeste do Brasil em 2015, onde foi o ponto de partida para uma pandemia nas Américas, com 26 países americanos relatando transmissão ativa.³⁷

O vírus da Zika causa sintomas leves de erupção cutânea, febre, mal-estar, cefaleia, artrite ou artralgia e conjuntivite. No entanto, tem sido relatado recentemente infecções mais graves associadas com alterações neurológicas ou auto-imunes e complicações como síndrome de Guillain-Barre e microcefalia, o que mostra que a doença é ainda muito pouco conhecida.³⁷

Até o momento, 40 países e territórios confirmaram a transmissão local vetorial do vírus zika na Região das Américas. Segundo, o Ministério da Saúde do Brasil, entre 22 de outubro 2015 e 25 de junho de 2016, foram confirmados um total de 1.638 casos de microcefalia e outras malformações do sistema nervoso central (SNC) em recém-nascidos associada à infecção pelo vírus zika.³⁸

Outro grande problema foi o retorno da Chikungunya às Américas depois de uma ausência de aproximadamente 200 anos. O retorno do vírus foi reconhecido em St. Martin, no Caribe, em dezembro de 2013 e, a partir de 9 de janeiro de 2015, os Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos relataram que a doença havia sido identificada em 42 países ou territórios no Caribe, América Central, América do Sul e América do Norte.³⁹

O vírus pertence à família *Togaviridae* e também pode ser transmitido por espécies de mosquitos como o *Aedes aegypti* e o *Ae. albopictus*. A infecção por Chikungunya é caracterizada por um início abrupto de febre, frequentemente acompanhada de dor nas articulações. Outros sinais e sintomas comuns incluem dor muscular, dor de cabeça, náusea, fadiga e erupção cutânea.³⁹

Em 2016, de 3/1/2016 a 10/12/2016, foram registrados 263.598 casos prováveis de febre de chikungunya no Brasil e os números mostram que a região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência: 405,2 casos/100 mil hab. Foram

confirmados 159 óbitos por febre de chikungunya e a mediana de idade dos óbitos foi de 62 anos, variando de 0 a 98 anos.⁴⁰

De acordo com a Organização Pan-americana da saúde, o controle da dengue e de outras doenças como a Zika e Chikungunya é caro e não se pode contar ainda com uma terapêutica etiológica e uma quimioprofilaxia efetiva. No momento, a melhor forma de combater o vírus é controlar o vetor. Uma vez que matar os mosquitos adultos reduz a população apenas temporariamente, a abordagem mais eficiente para este controle é atacar as larvas, em seus criadouros, utilizando larvicidas. O controle do mosquito *Ae. aegypti*, utilizando temephos, malathion e fenitrotion, constitui a principal estratégia adotadas nos programas de saúde pública. No entanto, no Brasil e em vários lugares do mundo a resistência a estes inseticidas convencionais foi encontrada, além da elevada toxicidade em seres humanos que esses produtos apresentam.^{12,32,41} Desta forma, novos compostos com atividade larvicida e que também sejam menos tóxicos, são necessários com urgência.

1.2. Infecções bacterianas

Outro grave problema de saúde pública é resistência microbiana, definida como a resistência de microrganismos a um agente antimicrobiano, ao qual eram originalmente sensíveis. Apesar de ser um fenômeno evolutivo natural, a resistência pode ser acelerada pelo mau uso dos antimicrobianos e pela falha no controle de infecções.⁴² A resistência microbiana tem sido uma ameaça para a eficácia das terapias comuns. No caso de pacientes em risco, pode provocar a extensão da doença ou mesmo morte.⁴³

Mesmo antes da introdução da penicilina no mercado, cepas bacterianas resistentes já tinham sido detectadas. A pressão de seleção causada pelo uso de milhões de toneladas de antibióticos durante os últimos 75 anos tornou quase todas as bactérias causadoras de doenças resistentes aos antibióticos comumente utilizados para o tratamento.⁴⁴

Os antibióticos são considerados os maiores avanços médicos na idade moderna. A observação de Alexander Fleming de uma zona de inibição em torno *Penicillium notatum* em uma cultura de estafilococos, em 1928, é considerado um dos marcos mais significativos da descoberta dos antibióticos. No entanto, outra observação foi que as concentrações não letais de penicilina podiam rapidamente

gerar bactérias resistentes ao fármaco, um processo de evolução que tem se mantido fiel a todos os agentes antimicrobianos usados em seres humanos até os dias de hoje.⁴⁵

A resistência mais alarmante ao tratamento convencional tem sido associada a espécies como a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella* e *Shigella ssp.* e *Neisseria gonorrhoeae*.⁴³

Estima-se que 25.000 pessoas morrem a cada ano na Europa de infecções bacterianas resistentes aos antibióticos. Nos Estados Unidos, em 2005, foram estimados 94.000 infecções invasivas por *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) e foram associadas com 19.000 mortes. Relatório recente do US Centers for Disease Control and Prevention estima que pelo menos 2 milhões de doenças e 23.000 mortes por ano nos EUA são causadas por bactérias resistentes aos antibióticos.⁴⁴ No Brasil, cerca de 70% dos isolados de *S. aureus* nos principais hospitais brasileiros são resistentes à metilicina.⁴⁶

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a tuberculose (TB) é uma doença tratável e curável, mas continua sendo um grave problema de saúde pública no mundo. Em 2015, foram estimados 10,4 milhões de casos novos de TB em todo o mundo, dos quais 5,9 milhões (56%) entre homens, 3,5 milhões (34%) entre mulheres e 1,0 milhão (10%) entre as crianças. Em pessoas portadoras do vírus HIV o número de casos atinge 1,2 milhões (11%) de todos os novos casos.⁴⁷

Atualmente, a tuberculose é considerada a doença infecciosa mais perigosa em todo o mundo e uma das principais infecções associadas a AIDS. A presença simultânea de infecção por HIV e a propagação de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multiresistentes complicam muitas vezes o tratamento da tuberculose.⁴⁸

A quimioterapia tem sido utilizada no tratamento da tuberculose desde a década de 1940. Desde então, alguns agentes foram descobertos incluindo isoniazida, pirazinamida, rifampicina e etambutol, fármacos de primeira linha para início de tratamento. Os fármacos de segunda linha (estreptomicina, etionamida, cicloserina, amicacina, tioacetazona e terizidona) são utilizados quando os fármacos de primeira linha são ineficazes. Os derivados de oxoquinolina, tais como ciprofloxacina, moxifloxacina e levofloxacina estão incluídos na estratégia de tratamento de tuberculose multirresistente. Os principais problemas no tratamento incluem não só a emergência de bacilos multirresistentes, mas também a duração do

tratamento e os efeitos adversos (náuseas, vômitos, icterícia, asma, deficiência visual, neuropatia, dor abdominal e até cegueira).⁴⁹

Apesar do notável progresso no tratamento de infecções causadas por micobactérias, o dramático aumento do número de casos de tuberculose extensivamente resistente aos fármacos requer o desenvolvimento de novos compostos com melhor eficácia e baixa toxicidade.

A resistência antimicrobiana tornou-se cada vez mais evidente a partir da década de 1970, embora este fenômeno tenha sido inicialmente acompanhado pelo desenvolvimento de compostos antimicrobianos que poderiam superar ou contornar esses mecanismos de resistência. No entanto desde a década de 1990, vivemos um “vazio” na descoberta ou no desenvolvimento de agentes antimicrobianos.⁴⁵

Mundialmente, os esforços estão sendo feitos para o controle do fenômeno da resistência microbiana, da sua propagação, efeitos, custos de tratamento, e também no sentido de encontrar novos protocolos terapêuticos.⁴³ Neste contexto, no qual o fenômeno de resistência microbiana cresce cada vez mais, a descoberta de novos compostos ativos é urgentemente necessária.

1.3. Hidrazonas

A porção hidrazona é um ligante estrutural altamente versátil explorado na química medicinal para o desenvolvimento de várias classes de compostos bioativos.⁵⁰

As *N*-acilidrazonas pertencem à classe de compostos chamada de azometina, consideradas por apresentar uma estrutura molecular privilegiada, com propriedades químicas que provaram ser importantes na concepção de protótipos farmacologicamente ativos, sendo utilizadas para o *design* de novos compostos.^{51,52}

A hidrazida do ácido isonicotínico, a isoniazida, apresenta elevada atividade inibidora *in vivo* contra o *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv e é um dos fármacos utilizados atualmente para o tratamento da tuberculose. Outro exemplo importante é a nifuroxazida, uma hidrazona utilizada na medicina como anti-séptico intestinal.⁵³ As estruturas químicas dos dois compostos são apresentadas na Figura 3.

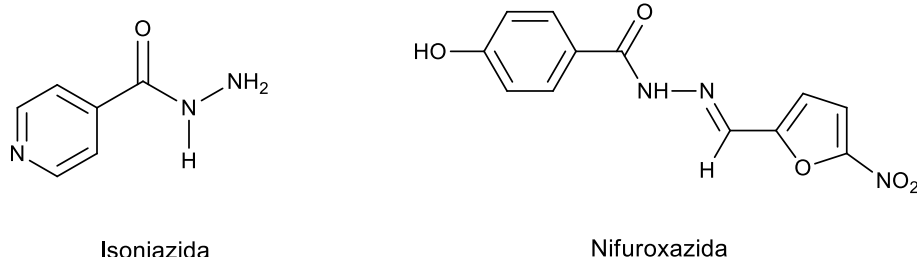
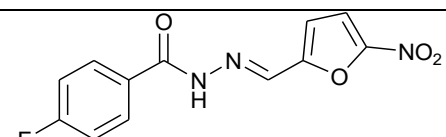
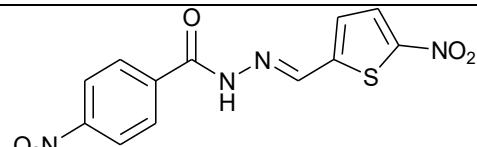
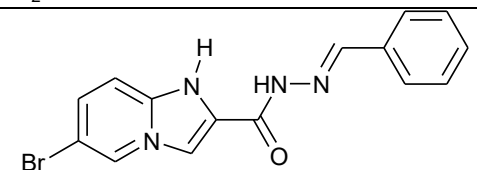
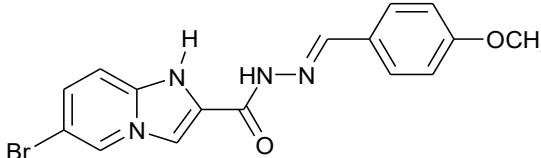


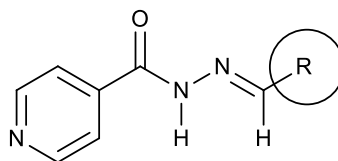
Figura 3: Estruturas da Isoniazida e Nifuroxazida.

Hidrazonas tem demonstrado atividade antimicrobiana (antibacteriana e antifúngica),⁵²⁻⁵³ anticonvulsivante,³⁵ antimalárica,³⁵ analgésica,⁵¹ antiinflamatória,⁵¹ antituberculose⁴⁸ e antitumoral.⁵³ A Tabela 2 mostra alguns compostos descritos na literatura que apresentaram excelente atividade antimicrobiana.

Tabela 2: Atividade antimicrobiana de derivados de hidrazonas descritas na literatura.

Referência	Estruturas	MIC ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)
Rollas et al. 2002 ⁵⁴		2 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ <i>Staphylococcus aureus</i>
Bedia et al. 2006 ⁴⁸		0,78 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Rollas et al. 2007 ⁵³		3,9 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Staphylococcus epidermis</i>
Rollas et al. 2007 ⁵³		3,9 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Staphylococcus epidermis</i>

Vários derivados foram sintetizados pela reação da hidrazina isoniazida com vários aldeídos e cetonas e demonstraram atividade inibidora em ratos infectados com cepas de *M. tuberculosis*. É descrito também que esses compostos apresentaram menor toxicidade, quando comparados à isoniazida devido ao bloqueio do grupo $-\text{NH}_2$, de acordo com a Figura 4.⁵³



Derivados da hidrazina
isoniazida

Figura 4: Estruturas dos derivados hidrazina isoniazida com bloqueio do grupo $-NH_2$.

1.4. Oxadiázóis

Os oxadiázóis são compostos heterocíclicos de 5 membros, sendo possível a formação de 4 isômeros constitucionais (Figura 5), o que depende dos materiais de partida e das condições reacionais.⁵⁵ Dentre eles, o 1,3,4-oxadiazol e 1,2,4-oxadiazol são os mais conhecidos, e mais amplamente estudados por pesquisadores devidos as propriedades químicas e biológicas apresentadas.³⁸

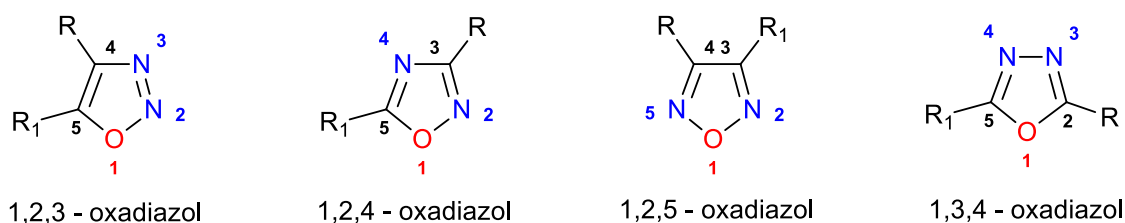
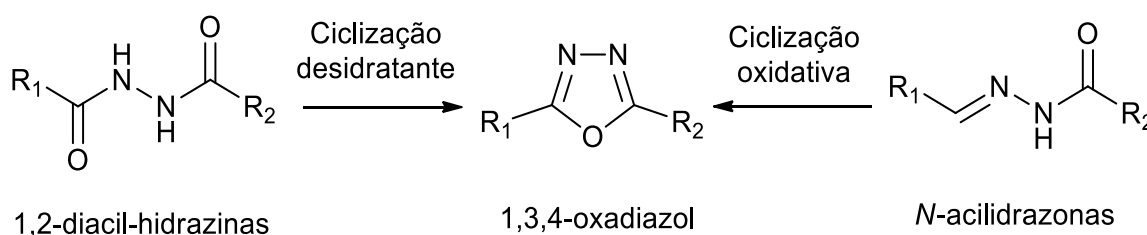


Figura 5: Isômeros dos Oxadiázóis.

O 1,3,4-oxadiazol constitui um importante heterociclo de cinco membros que pode ou não ser aromático, e que têm sido amplamente utilizados em muitos compostos com atividade biológica incluindo antimicrobiana, anti-inflamatória, anticonvulsivantes, antidiabético, analgésico, antiviral e antifúngica. Recentemente, os derivados de 1,3,4-oxadiázóis têm despertado interesse na síntese orgânica e na química medicinal para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.^{42,57}

Vários métodos têm sido desenvolvidos para a síntese de 1,3,4-oxadiázóis, que podem ser divididos em duas estratégias de acordo com o Esquema 1: (a) ciclização desidratante de 1,2-diacil-hidrazinas, utilizando reagentes como $SOCl_2$, PPA, $POCl_3$, H_2SO_4 ; ou (b) a ciclização oxidativa de *N*-acilidrazonas utilizando oxidantes como iodo, cloroamina T, $FeCl_3$, PbO_2 , Br_2 , $KMnO_4$, HgO / I_2 ou via

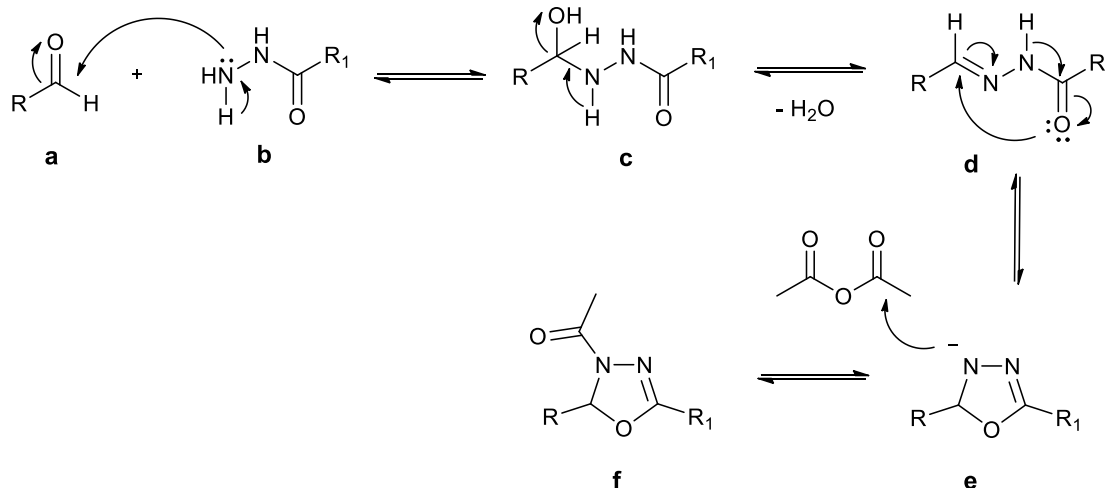
oxidação aeróbica catalisada por Cu (II). No entanto, existem limitações associadas a estes métodos, como a utilização de materiais perigosos e limitações no substrato.⁵⁷



Esquema 1: Estratégias para construção do núcleo oxadiazol.

As N-acilidrazonas mostram-se particularmente versáteis para a síntese de compostos contendo nitrogênio. Com isso em mente, planejamos a síntese dessa série de compostos utilizando a estratégia de fechamento da cadeia acíclica para formação do núcleo oxadiazol utilizando anidrido acético, conforme procedimento descrito por Oliveira, 2013.⁵² O mecanismo plausível para as reações é apresentado no Esquema 2.

O par de elétrons presente no átomo de nitrogênio da hidrazida **b** ataca o carbono da carbonila do aldeído **a**, que sofre reação de condensação, adição seguida de desidratação para formar base de Schiff **d**. Devido à tautomerização ceto-imina, o grupo ceto da base de Schiff **d** é convertido em um grupo hidroxila que ataca o carbono de azometina para produzir o derivado oxadiazol **e**, um dos átomos de nitrogênio do núcleo fica com uma carga negativa, que ataca a carbonila do anidrido acético para formar o produto acetilado **f**.⁵⁸



Esquema 2: Mecanismo plausível para as reações de condensação e ciclização para formar 1,3,4-oxadiázóis.

Oliveira *et al*, 2013⁵² realizou a síntese de novos derivados oxadiázóis e avaliou a atividade antifúngica contra algumas espécies de *Candida*. Os compostos com substituintes fenil e metoxifenil (Figura 7) apresentaram os melhores resultados contra a *Candida albicans* (ATCC 90028), enquanto os derivados 4-clorofenil e metoxifenil (Figura 6) mostraram-se ativos contra a *Candida krusei* (ATCC 6258), e *Candida tropicalis* (LM 14) com CMI de 64 µg. mL⁻¹, respectivamente. De acordo com os parâmetros estabelecidos, foram consideradas boas atividades valores de CMI entre 50 -100 µg. mL⁻¹. Os resultados indicaram que o grupo 5-nitrofurânil foi importante para a atividade dos compostos, sendo esses considerados promissores para um possível desenvolvimento de novos agentes antifúngicos.⁵²

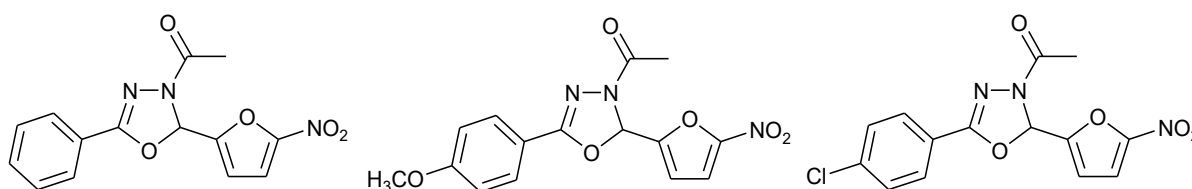


Figura 6: Compostos sintetizados por Oliveira e colaboradores⁵²

Desai & Kotadiya realizaram a síntese e a avaliação da atividade antimicrobiana de hidrazonas e oxadiázóis correspondentes. Todas as hidrazonas mostraram fraca atividade antimicrobiana, com CMI maior que 1.000 µg. mL⁻¹ contra *S. aureus* e *A. niger* e CMI igual a 1.000 µg. mL⁻¹ contra *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*,

C. albicans e *A. clavatus*). A ciclização das hidrazonas com anidrido acético para formação do núcleo oxadiazol e posterior condensação com 4 cloro-benzaldeído proporcionou um aumento significativo na atividade. Os compostos *m*-Cl, *p*-Cl, *p*-F, *m*-NO₂ e *p*-NO₂ (Figura 7) foram os compostos mais ativos contra todas as cepas bacterianas testadas com CMI de 6,25-100 µg. mL⁻¹. A presença do substituinte *p*-NO₂ produziu maior atividade com CMI de 12,5 µg. mL⁻¹ para o *S. aureus*. A introdução dos substituintes flúor e nitro na posição *para*, apresentaram melhor atividade com CMI de 25 µg. mL⁻¹ contra *S. pyogenes* e CMI de 12,5 e 6,25 µg. mL⁻¹ contra a *E. coli*, respectivamente. Os compostos *p*-F, *m*-NO₂ e *p*-NO₂ apresentaram CMI de 25 µg. mL⁻¹ contra *P. aeruginosa*.⁵⁸

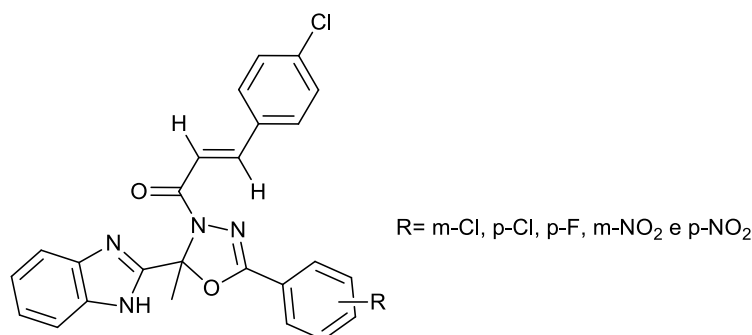


Figura 7: Compostos sintetizados por Desai and Kotadiya⁵⁸

O Raltegravir® e o Zibotentan® são outros dois exemplos importantes de compostos que contêm o núcleo 1,3,4-oxadiazol, sendo atualmente utilizados na medicina clínica como antiretroviral e anticâncer, respectivamente⁵⁶ (Figura 8).

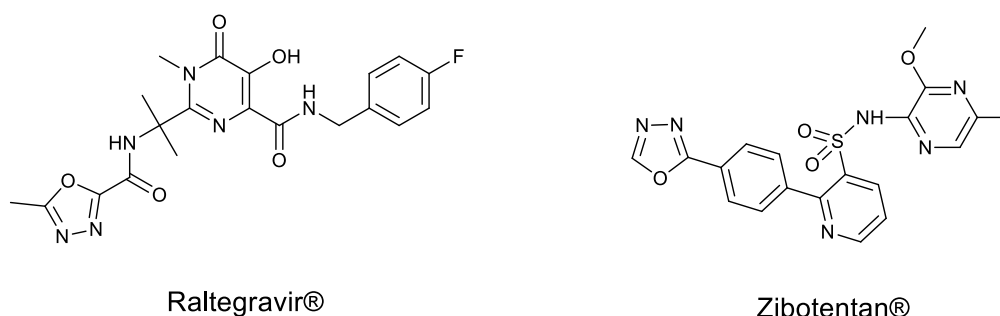
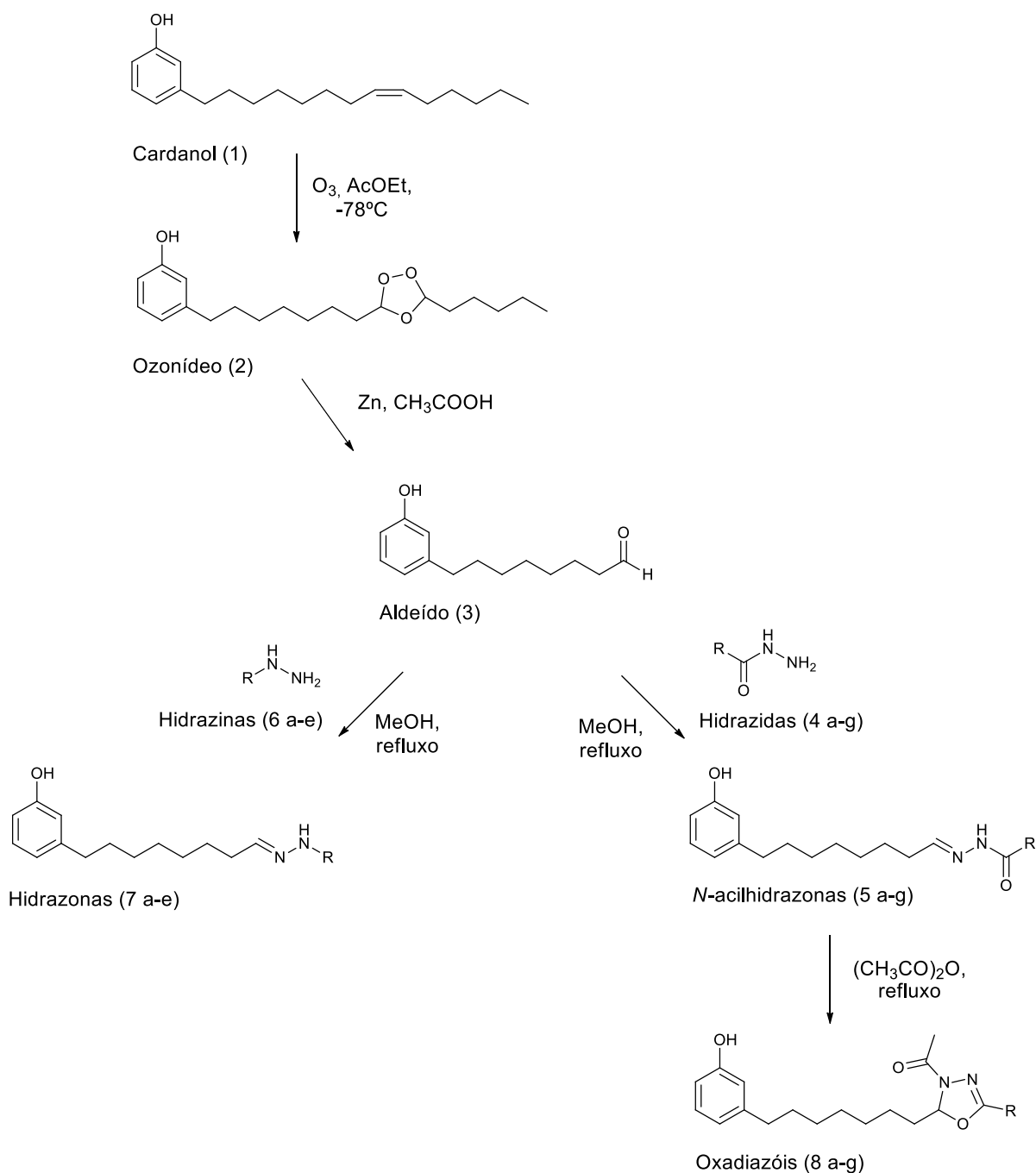


Figura 8: Estrutura química do Raltegravir® e o Zibotentan®

Considerando a urgência na busca de compostos bioativos por fontes renováveis e biodegradáveis e a quantidade de LCC técnico produzido no país, o alto

rendimento de cardanol obtido a partir das indústrias de processamento de castanha de caju representa uma oportunidade para aumentar o valor do subproduto. Inserido neste contexto, o cardanol torna-se um dos mais importantes e promissores componentes do LCC, podendo ser empregado no setor da química fina, onde os preços dos produtos finais são elevados, como aditivos, surfactantes, fármacos, pesticidas, larvicidas, dentre outros. Nesse contexto, planejamos a síntese de compostos, a partir de modificações estruturais no cardanol (Esquema 3), utilizando como reagentes hidrazinas e hidrazidas, que levam a formação de hidrazonas, compostos que além de apresentar atividades biológicas interessantes são úteis para o *design* de outros derivados bioativos, como os 1,3,4-oxadiazóis.



Esquema 3: Modificações estruturais na molécula do cardanol propostas nesse trabalho.

2. OBJETIVOS

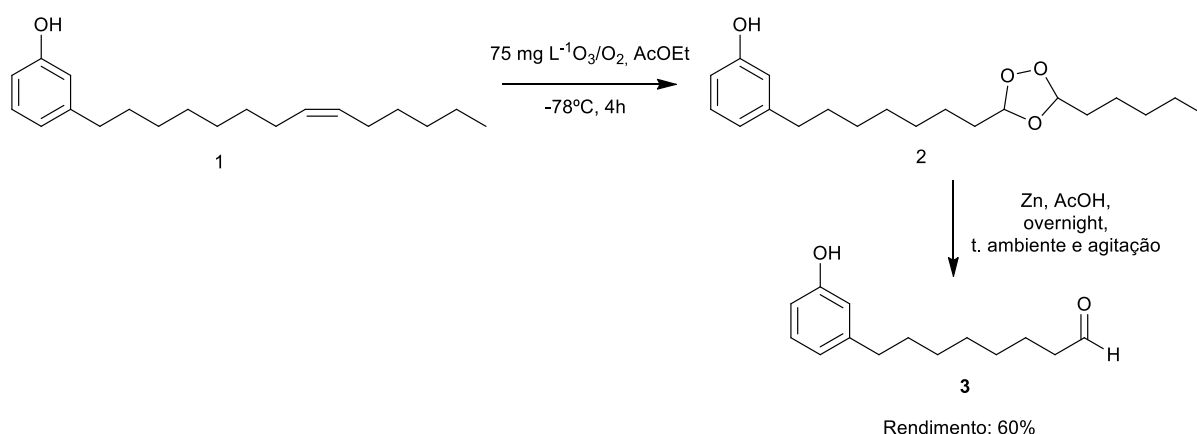
O presente trabalho teve como objetivo geral sintetizar hidrazonas, *N*-acilidrazonas e 1,3,4 - oxadiázóis a partir do cardanol e avaliar a atividade biológica dos compostos. Os objetivos específicos incluem a caracterização dos compostos sintetizados e a avaliação da atividade antimicrobiana, antituberculose e larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Obtenção do 8-(3-hidroxifenil)octanal a partir do cardanol

Para obtenção do aldeído de interesse, o cardanol **1** recém destilado foi submetido a reação de ozonólise, com uma concentração de 75 mg. L⁻¹ de O₃/O₂ e temperatura de -78°C por 4 horas, levando a formação do ozonídeo **2** (Esquema 4). Considerando os resultados de excelente atividade antimicrobiana contra cepas padrão e clínicas resistentes de ozonídeos obtidos a partir de óleos vegetais descritos em trabalho anterior,⁵⁹ uma amostra de cardanol ozonizado foi armazenada para a realização de ensaios de atividade biológica.

A formação do ozonídeo **2** foi confirmada através dos espectros de RMN, apresentando sinais característicos na região de 5,16 – 5,35 ppm para os espectros de RMN ¹H e sinal em 104,5 ppm para o espectro de RMN de ¹³C atribuídos aos hidrogênios e carbonos do anel ozonídeo (A1 e A2, página 78).



Esquema 4: Obtenção do 8-(3-hidroxifenil)octanal **3** a partir do cardanol.

De acordo com Esquema 4, a reação de ozonólise foi seguida por etapa de redução do ozonídeo **2**, realizada com zinco em pó, meio ácido e a temperatura ambiente para obtenção do aldeído **3** (A3 – A5, página 79 e 80), com rendimento de 60%.

O espectro de RMN de ¹H do composto **3** é apresentado na Figura 9. O tripleto em 9,71 ppm (³J_{H,H} = 1,71 Hz) corresponde ao hidrogênio aldeídico. As expansões mostram os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos, tripleto em 7,09 ppm (³J_{H,H} = 8,71 Hz) para o H-5', simpleto largo em 6,71 ppm para o H-2' e multiplete em

6,66 ppm ($^3J_{H,H} = 6,50$ Hz) para H-4' e H-6'. O multipeto correspondente a dois dupletes com acoplamento *orto* com o H5', que apresentam deslocamentos químicos semelhantes. Os hidrogênios 1 e 7 da cadeia alifática apresentam triplete em 2,51 ($^3J_{H,H} = 7,77$ Hz) e triplete de dubletos em 2,39 devido ao acoplamento com os hidrogênios H-6 ($^3J_{H,H} = 7,29$ Hz) e H-8 do aldeído ($^3J_{H,H} = 1,70$ Hz), respectivamente.

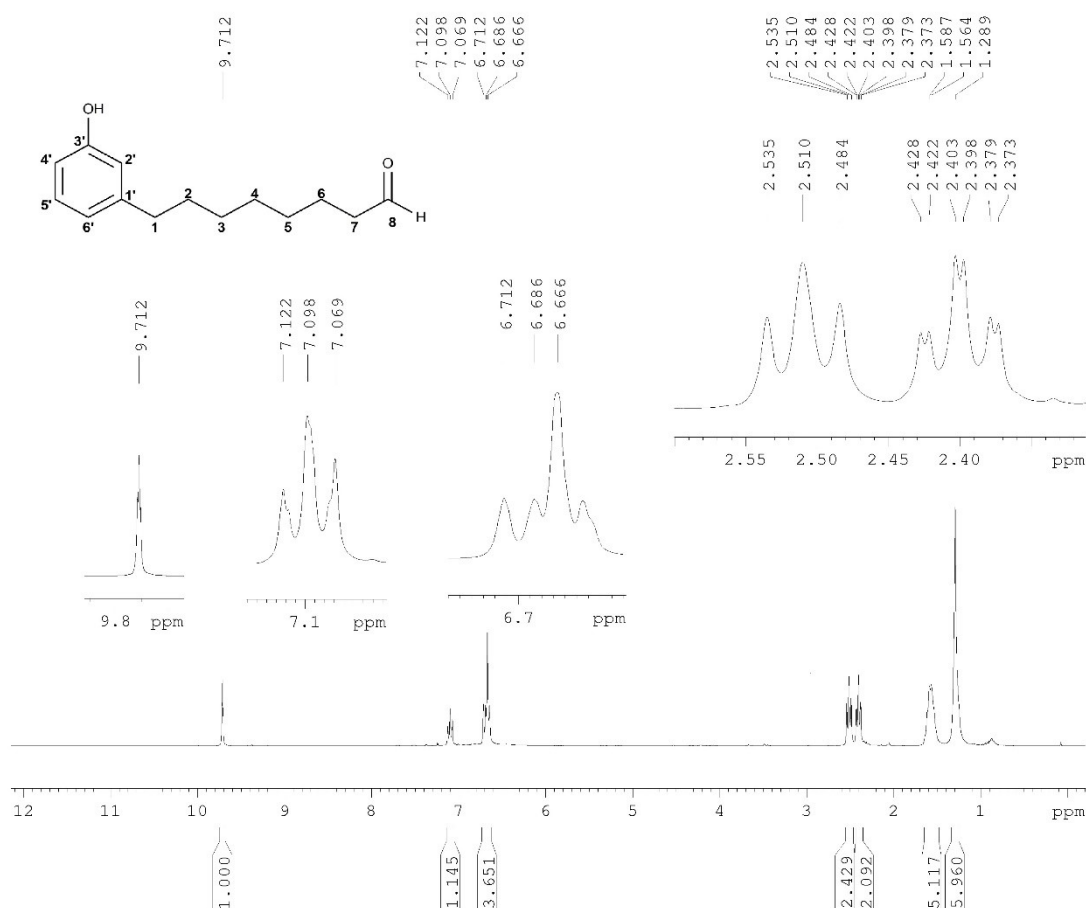


Figura 9: Espectro de RMN de ^1H do composto **3** 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3 .

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 10) apresenta sinal em 204,22 ppm correspondente ao carbono da carbonila do aldeído. Os demais deslocamentos químicos correspondentes aos hidrogênios aromáticos e alifáticos foram atribuídos e estão representados na Figura 11. Após confirmada a sua estrutura, o composto **3** foi então, utilizado como material de partida para a síntese das hidrazonas e oxadiázóis.

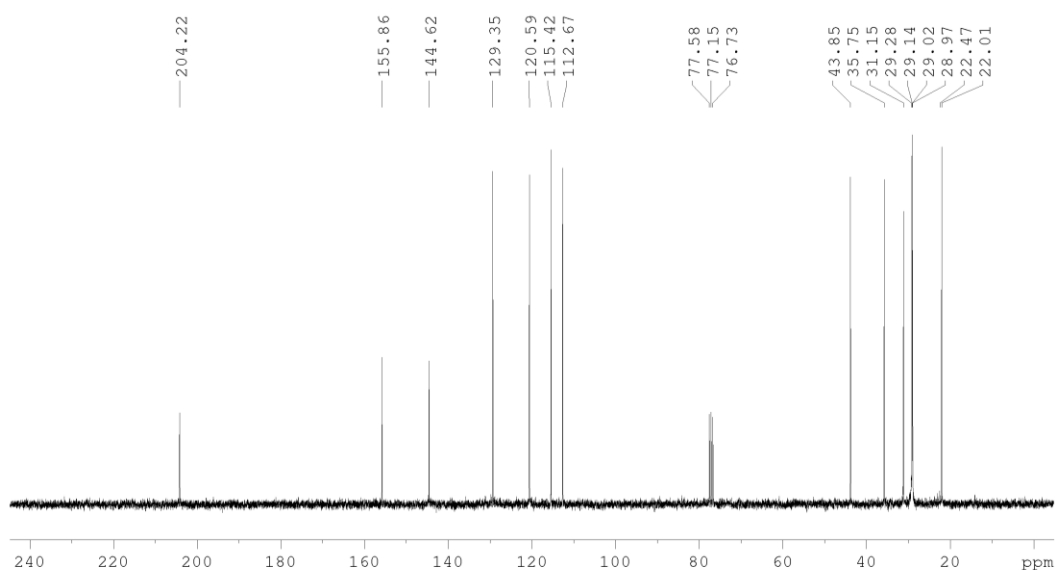


Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3 .

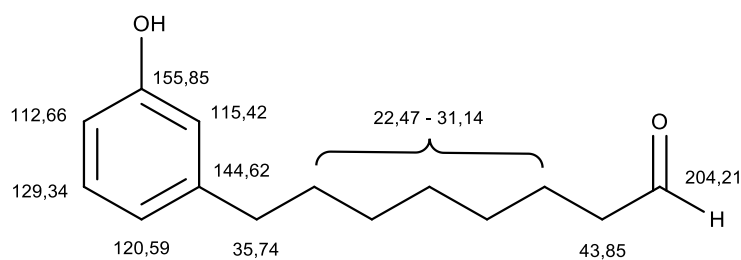
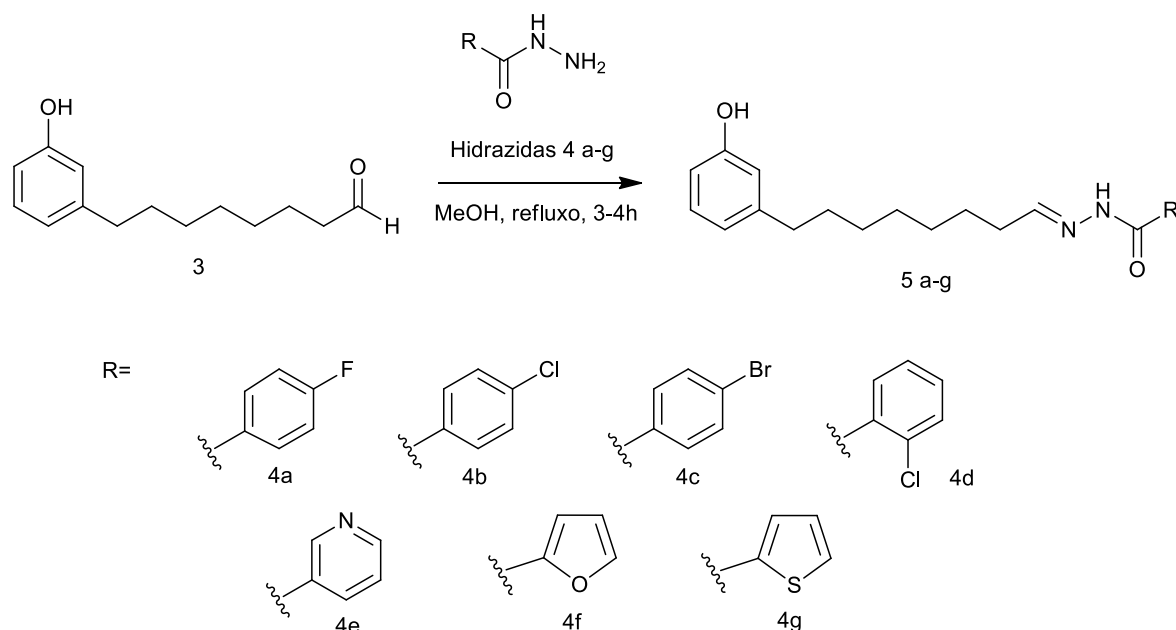


Figura 11: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C para o composto **3**, 8-(3-hidroxifenil) octanal (**3**).

3.2. Síntese de *N*-acilidrazonas

As *N*-acilidrazonas foram obtidas a partir da reação de condensação do composto **3**, o 8-(3-hidroxifenil)octanal com as hidrazidas **4 a-g** correspondentes, as quais diferem apenas na porção aromática (4-fluorfenil, 4-clorofenil, 4-bromofenil, 2-clorofenil, nicotínica, tiofênica e furanóica), conforme apresentado no Esquema 5. Foram obtidos 7 compostos inéditos **5 a-g**, com rendimentos quantitativos.



Esquema 5: Reação de condensação para obtenção das *N*-acilidrazonas de **5 a-g**.

Os compostos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C (A6 – A22, páginas 80-88).

De acordo com a literatura⁵¹, as hidrazonas apresentam sinais característicos com deslocamentos químicos (δ) entre 8,32-8,82 ppm para os hidrogênios imino ($\text{N}=\text{CH}$) e 10,67 – 12,60 ppm para o CONH (16). Em todos os espectros de RMN de ^1H dos compostos sintetizados **5 a-g** foi possível observar simpletos na região de 9,13-9,18 ppm e 11,37-11,51 ppm, que foram atribuídos aos hidrogênios da hidroxila (OH) fenólica e ao hidrogênio ligado ao nitrogênio (CONH). No entanto, para os hidrogênios imino, foram observados tripletos entre 7,66-7,68 ppm, com valores de deslocamento químico mais protegido do que os valores encontrados na literatura (8,32-8,82 ppm). Esses valores de deslocamento químico dos compostos sintetizados podem ser explicados devido à proximidade do grupo imino a uma cadeia alquílica e não à anéis aromáticos, como é geralmente relatado na literatura.

Além disso, a ausência do sinal característico para hidrogênios aldeídicos, entre 9 e 10 ppm evidencia a obtenção dos compostos **5 a-g**. A Figura 12 apresenta o espectro de RMN de ^1H para o composto **5c**, com ampliação da região entre 6,0 e 8,5 ppm, para facilitar a visualização do padrão de desdobramento dos sinais dos hidrogênios aromáticos.

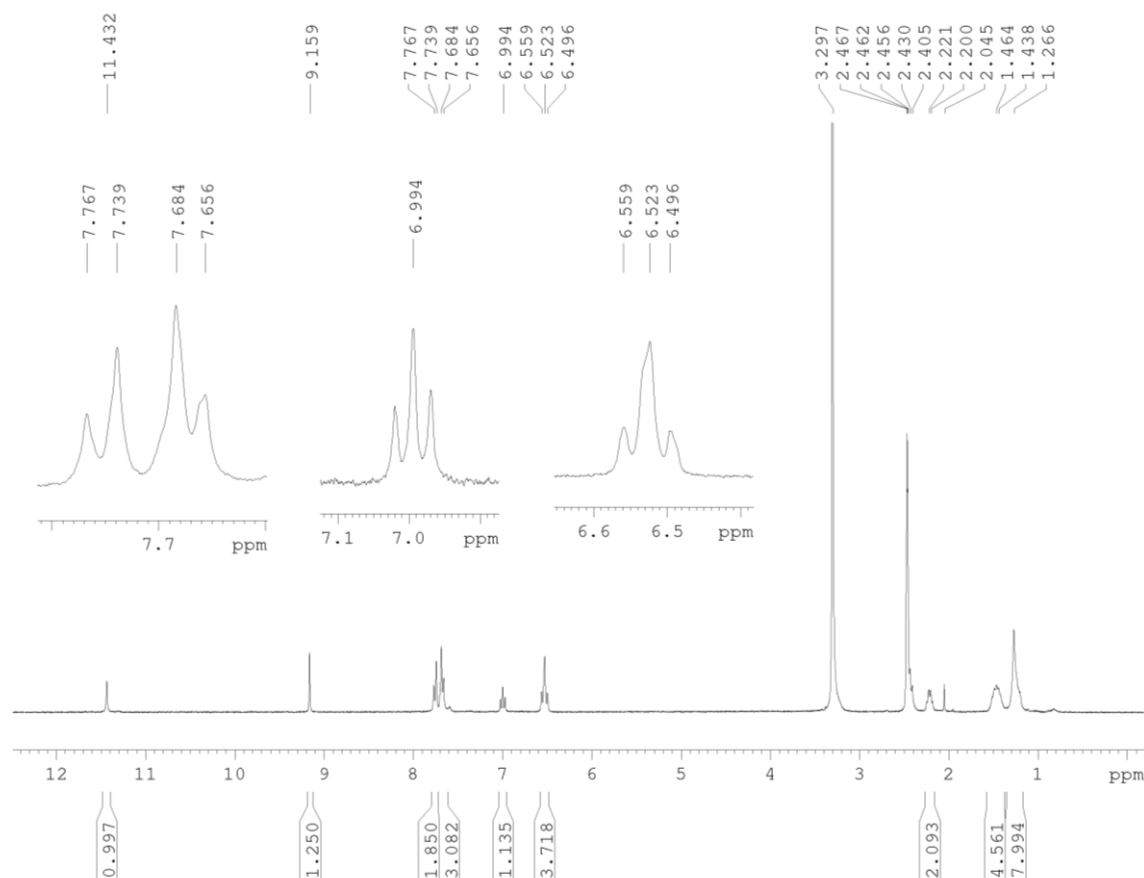
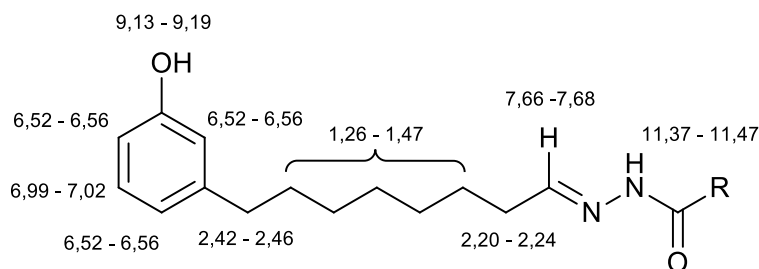


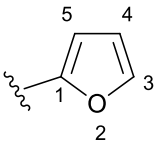
Figura 12: Espectro de RMN de ^1H do composto **5c** (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em DMSO-d_6 .

A atribuição dos sinais para os compostos sintetizados **5 a-f** são apresentados abaixo, os intervalos de deslocamento químico indicados na estrutura são correspondentes a parte comum da molécula para todos os derivados e as constantes de acoplamento e multiplicidades podem ser observados nos dados da parte experimental para cada substância, já os sinais correspondentes aos diferentes substituintes aromáticos são listados na Tabela 3 com suas respectivas multiplicidades e valores de constante de acoplamento em Hertz.

Tabela 3: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^1H (300 MHz) das N-acilidrazonas 5 a-g em DMSO- d_6 .



R	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ em ppm)				
	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
5a	7,87 (dd, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,46$ Hz, ${}_4J_{H,F} = 5,92$ Hz)	7,28 (t 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,46$ Hz, ${}_3J_{H,F} = 8,56$ Hz)	-----	7,28 (t 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,46$ Hz, ${}_3J_{H,F} = 8,56$ Hz)	7,87 (dd, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,46$ Hz, ${}_4J_{H,F} = 5,92$ Hz)
5b	7,82 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,2$ Hz)	7,52 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,2$ Hz)	-----	7,52 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,2$ Hz)	7,82 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,2$ Hz)
5c	7,74 (m, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,4$ Hz)	7,66 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 6,2$ Hz)	-----	7,66 (d, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 6,2$ Hz)	7,74 (m, 2 H, ${}_3J_{H,H} = 8,4$ Hz)
5d	-----	7,30 -7,57 (m, 4H)	7,30 -7,57 (m, 4H)	7,30 -7,57 (m, 4H)	7,30 -7,57 (m, 4H)
5e	8,95 (sl, 1 H)	-----	8,68 (dl, 1 H, ${}_3J_{H,H} = 4,75$ Hz)	7,48 (dd, 1 H, ${}_3J_{H,H} = 7,84$ Hz, ${}_3J_{H,H} = 5,10$ Hz)	8,13 (d, 1 H, ${}_3J_{H,H} = 7,84$ Hz)

R	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ em ppm)				
	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
 5f	-----	7,82 (sl, 1H)	6,61 (sl, 1H)	7,16 (sl, 1H)	-----

Não foi possível atribuir os sinais de dos hidrogênios correspondentes ao composto **5g**, pois o espectro de RMN ^1H apresentou sinais muitos largos, mas no espectro de RMN ^{13}C foi possível observar o sinal 152,96 ppm (N=CH), indicando a formação do derivado desejado. Além disso, a mesma amostra foi utilizada para a síntese do oxadiazol correspondente **8g** que teve a sua estrutura confirmada por espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C .

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3 para o composto **5a**, a multiplicidades dos sinais referentes ao anel 4-fluorfenil indicam acoplamento dos hidrogênios com o átomo de flúor, que foi observado também nos espectros de RMN de ^{13}C . O número quântico de spin (I) nuclear de flúor é 1/2, permitindo o seu acoplamento com prótons e carbonos vizinhos, com tempos de relaxação suficientemente longos para serem observados.⁶⁰ Os valores de constante de acoplamento $J_{\text{H,F}}$ encontrados na literatura para sistemas aromático-*orto* e aromático-*meta* são de 8-10 e 4-6 Hz, respectivamente, que estão de acordo com os valores encontrados para o composto **5a**.

No mapa de correlações homonuclear ^1H - ^1H (Figura 13) obtido a partir do experimento gCOSY do composto **5c**, foi possível observar correlações com o sinal em 2,20 ppm, do grupo metileno ligado ao grupo (HC=N) com o sinal em 7,66 ppm, confirmando que o sinal correspondente ao hidrogênio imino (N=CH) apresenta valores de deslocamento químico protegido, sendo observado com deslocamento químico semelhante aos hidrogênios H3 e H5, do anel 4-bromofenil, levando a um valor de integral correspondente a 3H, como observado na Figura 11. Foram observadas também correlações entre os sinais dos grupos metileno vizinhos à ligação dupla C=N e o anel aromático com o restante da cadeia alquímica (Figura 14).

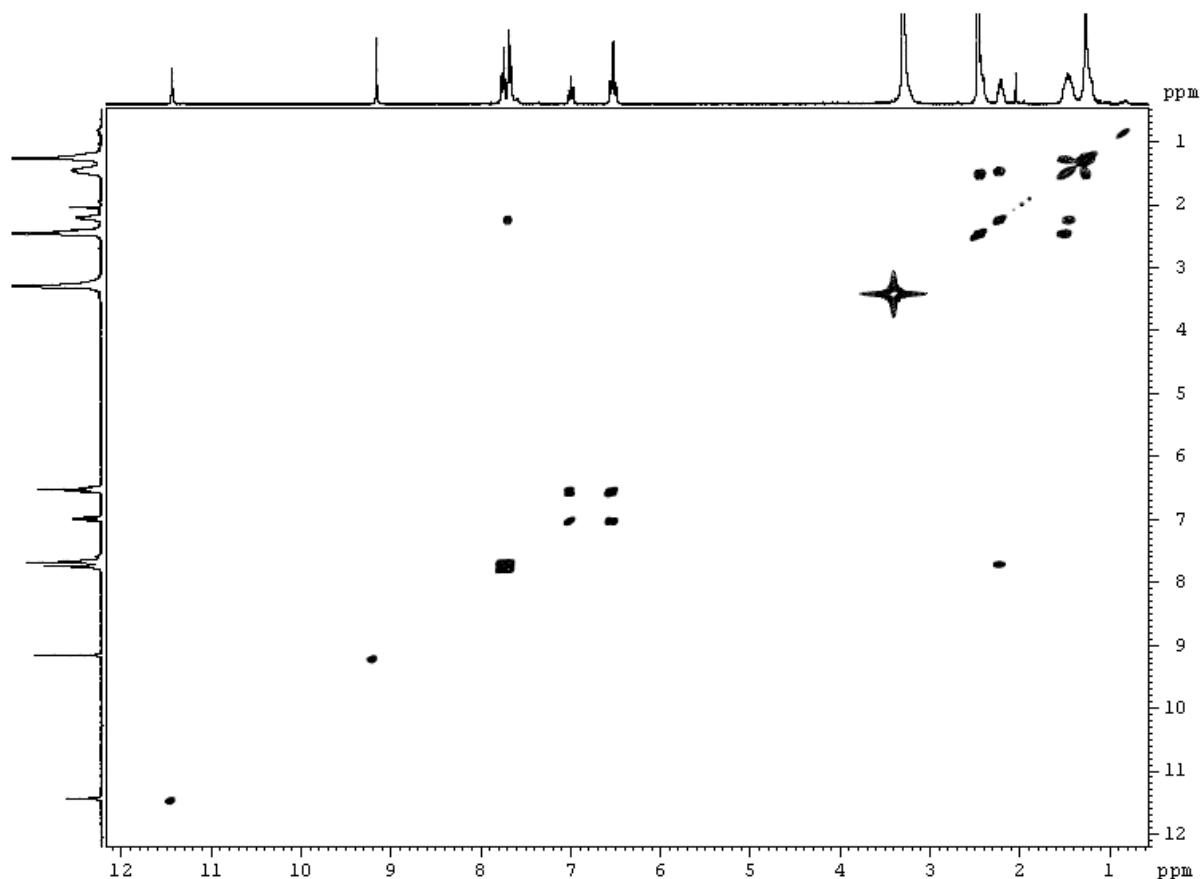


Figura 13: Mapa de correlações homonuclear ^1H - ^1H , gCOSY do composto 5c, (E)-4-bromo- N' -(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em DMSO-d_6 .

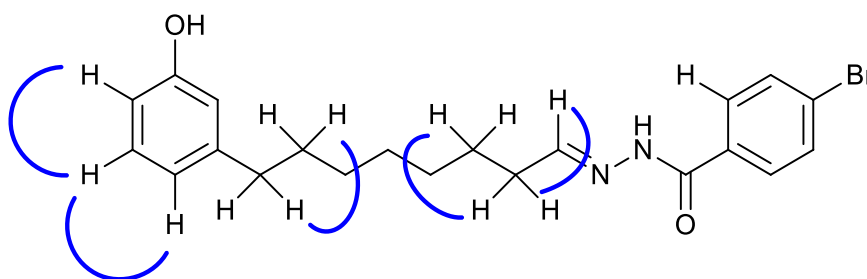


Figura 14: Correlação observadas no gCOSY representadas para o composto 5c.

As informações contidas nos espectros de RMN de ^{13}C corroboram as estruturas propostas para os derivados, destacando o sinal do carbono sp^2 ($\text{N}=\text{CH}$), com deslocamento químico na região de 152-153 ppm, e a ausência do sinal para o carbono aldeídico, por volta de 200 ppm, conforme pode ser observado no espectro

de RMN de ^{13}C do composto **5c** (Figura 15). A atribuição dos sinais para os compostos sintetizados **5 a-f** são apresentados na Tabela 4.

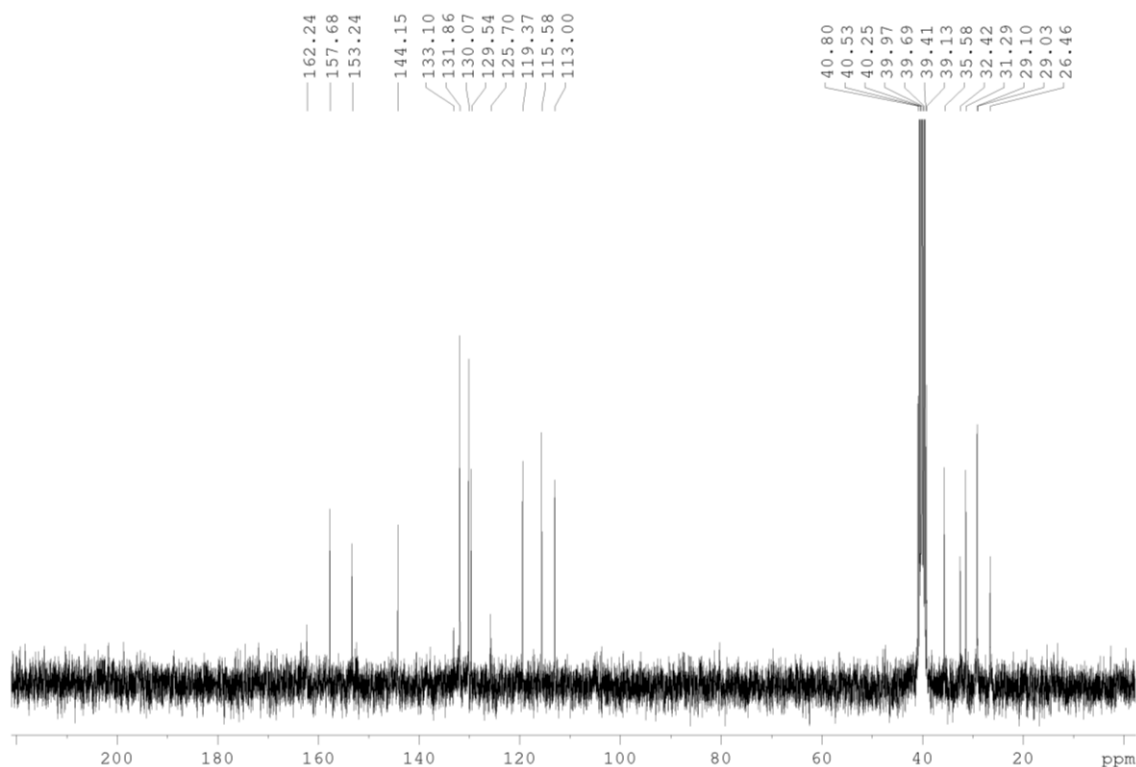
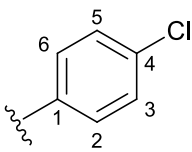
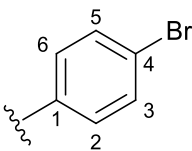
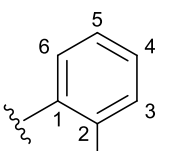
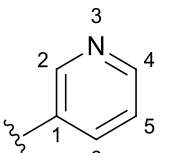
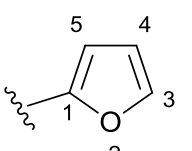


Figura 15: Espectro de RMN ^{13}C do composto (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida (**5c**) em DMSO-d_6 .

Tabela 4: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^{13}C (75 MHz) das N-acilidrazonas **5 a-g** em DMSO-d_6 .

157,20 - 157,68 113,00 - 113,27 129,52 - 129,79 119,36 - 119,37 115,57 - 115,84 143,00 - 144,15 22,20 - 32,94 35,10 - 35,85 149,37 - 153,26 31,27 - 31,94 162,21 - 162,52							
Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ em ppm)						
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	
5a	131,71	130,82	116,17	160,09	116,17	130,82	

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ em ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
 5b	132,80	128,91	129,87	144,14	129,87	128,91
 5c	132,62	120,06	131,38	125,22	131,38	130,06
 5d	135,91	136,79	130,36	131,87	129,89	127,90
 5e	129,78	148,90	-----	152,51	123,95	135,71
 5f	145,94	-----	147,26	114,88	112,34	-----

3.2.1. Determinação da estereoquímica para as *N*-acilidrazonas

As *N*-acilidrazonas possuem uma dupla ligação ($\text{N}=\text{CH}$), que pode levar a formação de diastereoisômero com configuração *E* ou *Z* (Figura 16). A barreira energética para isomerização *E* - *Z* é suficientemente baixa para as hidrazonas, sendo capazes de sofrer alterações reversíveis de configuração favorecida pela presença de um átomo de nitrogênio adicional, que diminui o caráter da ligação dupla do sistema π . O tautomerismo azo-hidrazona é o mecanismo mais provável para isomerização envolvendo sistemas com ligação de hidrogênio intramolecular⁶¹.

Além da possibilidade da formação de estereoisômeros, as *N*-acilidrazonas podem existir como conformeros *sin* ou *anti*-periplanar em torno da ligação amida CO-NH, conforme mostra a Figura 16.⁶²

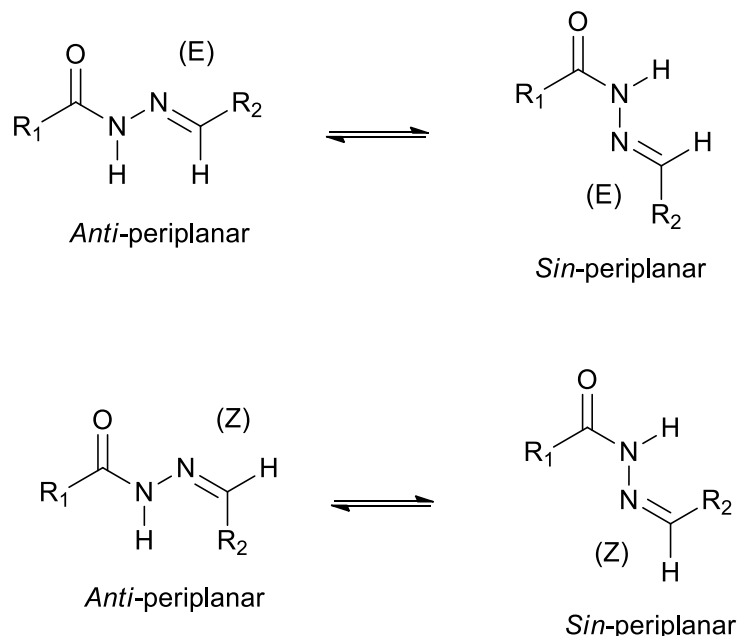


Figura 16: Isômeros e confôrmeros possíveis para as *N*-acilidrazonas.

Com exceção do composto **5d**, a análise dos espectros de RMN de ¹H dos compostos indicam a diastereoseletividade das reações de condensação devido a presença de apenas um sinal para o hidrogênio imino (N=CH) para cada derivado, os quais podem ser atribuídos como (*E*)-diastereoisômero, termodinamicamente mais estável.⁵¹ A configuração *E* é preferida pois apresenta menor energia e maior estabilidade devido à distância espacial entre os grupos e menor impedimento estérico quando comparado com a forma *Z*⁶², como pode ser observado na Figura 17.

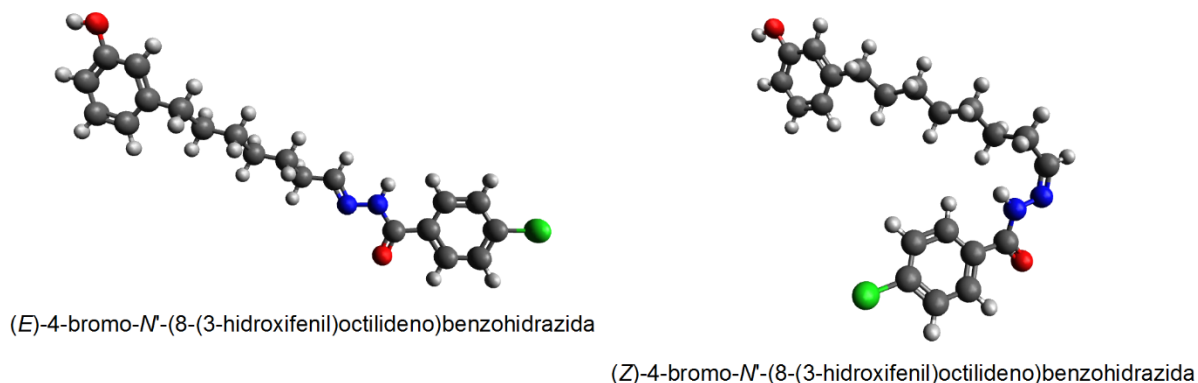


Figura 17: Diastereoisômeros *E* e *Z* para o composto 5c 4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida. Estruturas obtidas através do software Avogadro.

O mapa de correlações espaciais ^1H - ^1H obtido a partir do experimento gNOESY (Figura 18) apresenta duas correlações espaciais do NH em 11,43 ppm, com o hidrogênio N=CH e H6 do anel 4-bromofenil, indicando a formação do isômero *E* (Figura 19).

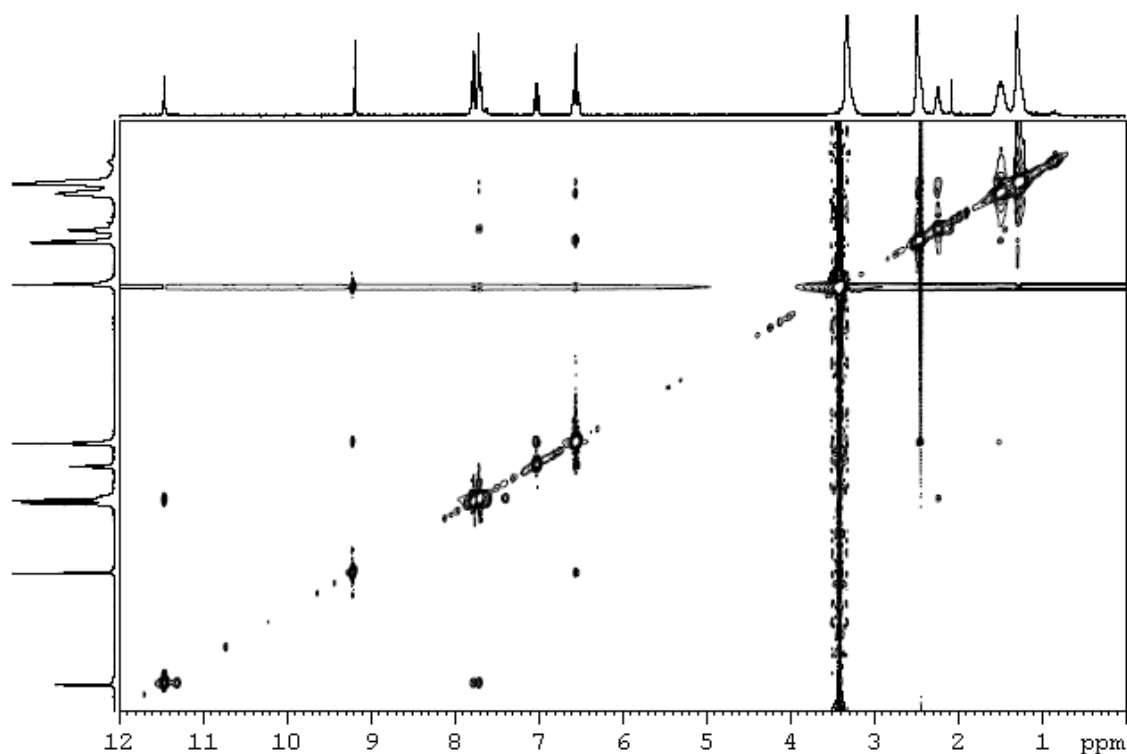


Figura 18: Mapa de correlações espaciais, ^1H - ^1H gNOESY para composto 5c (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida.

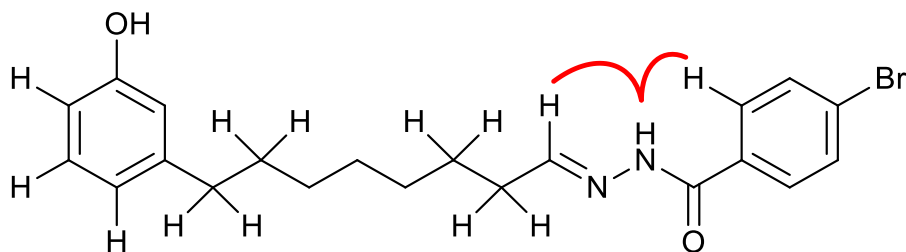


Figura 19: Correlação observada no gNOESY para o composto 5c, confirmando a estereoquímica *E*.

O espectro de RMN ^1H do composto 5d (2-clorofenil) (Figura 20) apresenta sinais duplicados correspondentes ao NH, com singletos em 11,41 /11,45 ppm, indicando a presença de uma mistura de diastereoisômeros *E/Z* ou de confôrmers *anti*- e *sin*-periplanar. A região do espectro entre 7,2 - 7,6 ppm apresenta padrão bem complexo sugerindo sinais duplicados.

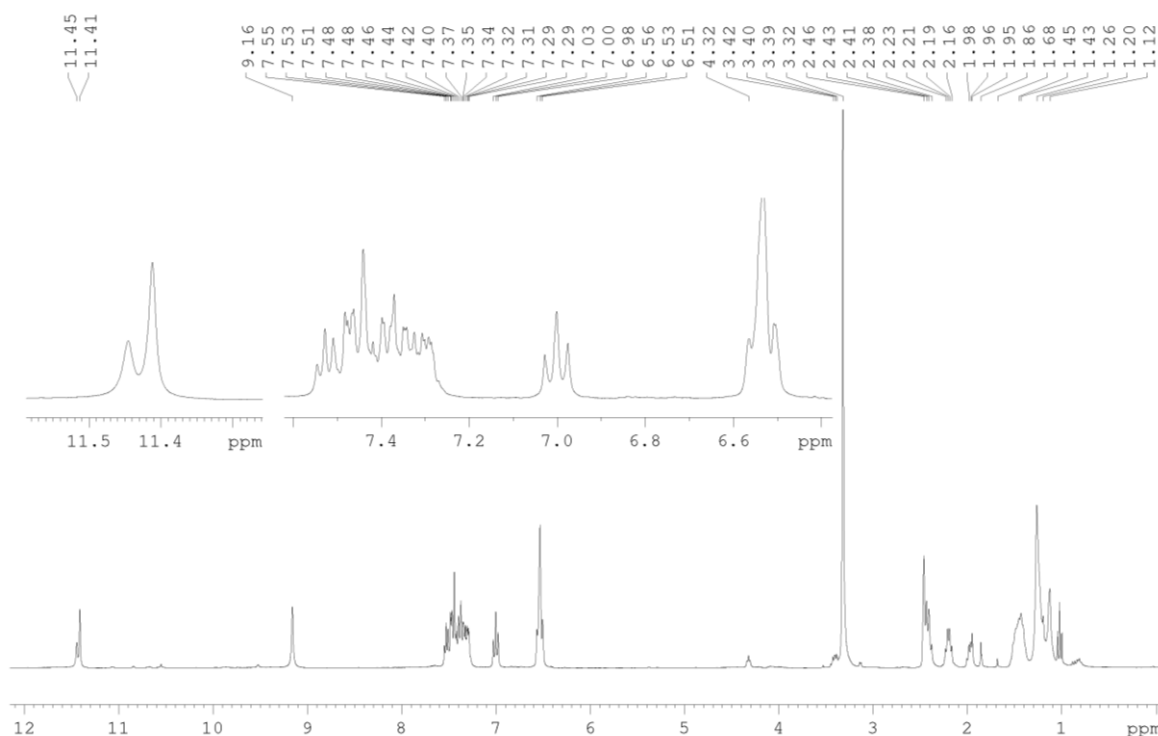


Figura 20: Espectro de RMN ^1H do composto 5d 2-cloro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil) octilideno)benzohidrazida em DMSO-d_6 .

Baseado em trabalhos publicados que descrevem confôrmers para as *N*-acilidrazonas,^{62,63} foi realizado um experimento de RMN de ^1H em DMSO-d_6 , imediatamente após aquecimento da amostra à 60 °C para determinar se os sinais

duplicados coalescem ou não. Observamos uma completa coalescência dos sinais duplicados (11,41 e 11,44 ppm) para o NH. Após o resfriamento da amostra outro experimento de RMN ^1H foi realizado demonstrando a reversibilidade dessas mudanças.

Esse fato corrobora com a hipótese da existência de conformeros *sin-anti* periplanar para o composto **5d** (2-cloro). A energia necessária para ultrapassar a barreira rotacional é alcançada após aquecimento da amostra, levando a rápida interconversão entre os confôrmeros e a detecção de apenas 1 sinal de hidrogênio para o NH em 11,30 ppm. Os espectros de RMN de ^1H antes (a) e após aquecimento (b) são mostrados na Figura 21.

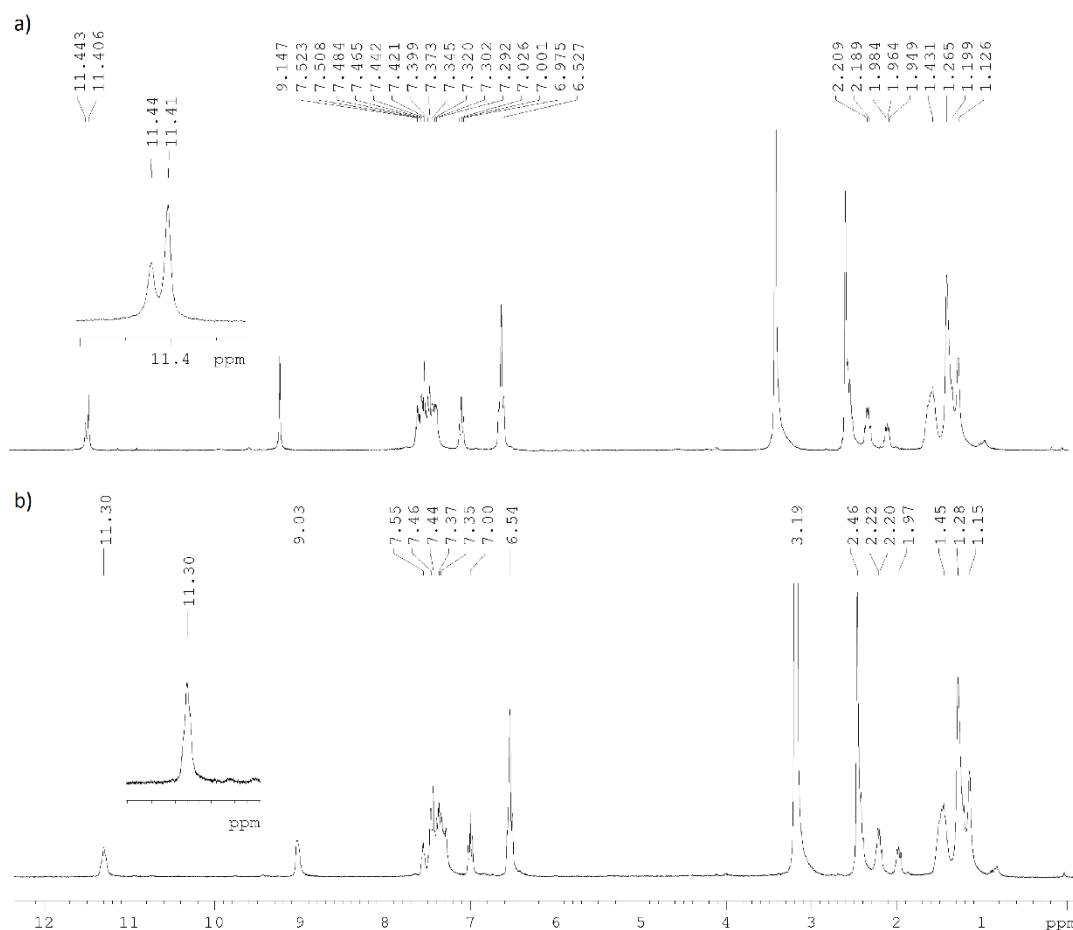


Figura 21: Espectros de RMN ^1H para o composto **5d** 2-cloro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil) octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$. a) sem aquecimento; b) aquisição imediata após aquecimento a 60°C.

Uma outra evidência que confirma essa hipótese foi descrita por Lopes *et al.* 2013,⁶² onde a substituição do hidrogênio por um grupo metila, *N*-metilação, causa uma restrição conformacional impedindo a rotação da ligação C-N e a ausência da formação de sinais duplicados nos espectros de RMN de ¹H. Ao contrário, a síntese de isopropilidrazonas, elimina a possibilidade de diastereoisômeros E/Z e leva a duplicação dos sinais nos espectros devido à presença de confômeros.

A definição dos termos configuração e conformação levanta um problema, pois não há nenhum limite bem definido entre eles. De maneira geral, as mudanças conformacionais são aquelas que podem ocorrer rapidamente à temperatura ambiente ou abaixo, tornando difícil a separação de diferentes confômeros. Já as alterações configuracionais possuem barreira energética alta o suficiente para tornar mais fácil a separação de isômeros configuracionais. No entanto, a barreira conformacional de energia pode se tornar maior daquelas que são alcançadas à temperatura ambiente, e a barreira configuracional, como por exemplo, a de dupla ligação, pode se tornar menor e facilmente alcançada⁶⁴.

O grupo funcional amida desempenha um papel biológico muito importante como um bloco de construção básico de proteínas e enzimas, e é caracterizado por algumas propriedades específicas como coplanaridade dos grupos ligados ao átomo de nitrogênio, barreira rotacional alta e estabilidade química contra o ataque nucleofílico ou hidrólise. Essas propriedades podem ser explicadas facilmente pela deslocalização do par de elétrons do nitrogênio pelo sistema C-O-N de forma a obter estabilidade (Figura 22). A ligação C-N apresenta menor comprimento neste caso, devido a ligação extra que é proporcionada pela sobreposição entre o par não ligante e a ligação π e o átomo de nitrogênio apresenta geometria trigonal^{64,65}.

Com esse sistema, planar e mais rígido, as amidas geralmente apresentam uma barreira rotacional sobre a ligação C-N de 80-90 kJ mol⁻¹ (19-21,5 kcal mol⁻¹). A Figura 22 apresenta a deslocalização dos elétrons para o grupo amida⁶⁴.

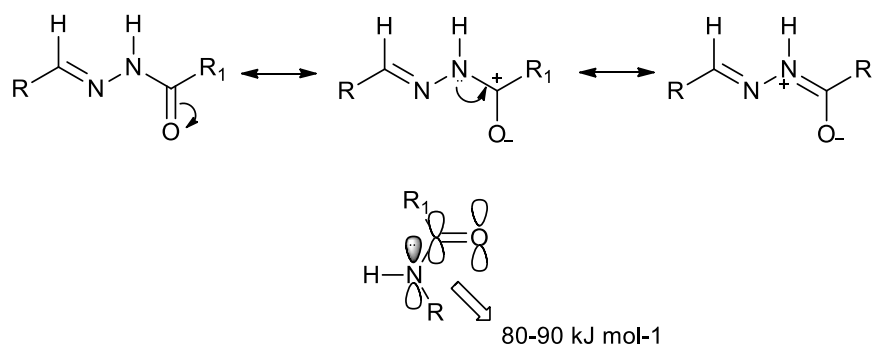


Figura 22: Deslocalização dos elétrons do nitrogênio no sistema C-O-N.

Rahman e colaboradores, 2005⁶⁶, investigaram a estereoquímica de acilidrazonas de cadeia longa. De acordo com os resultados, os compostos existem como conformeros *sin*-,*anti*-periplanar e a proporção entre eles varia com a mudança de solvente, indicando que as duas formas são estáveis, as quais estão em equilíbrio dependendo da polaridade do solvente.

A confirmação de que os sinais duplicados no espectro correspondem a conformeros *sin*-,*anti*-periplanar, nos levou a questionar o porquê esse fato foi observado apenas para o composto **5d** com o substituinte cloro na posição *orto* à cadeia lateral.

A literatura relata que o efeito estérico do substituinte em *orto* no anel aromático tem importância significativa na energia dos rotâmeros. De acordo com a Figura 23, o efeito do substituinte em *orto* dificulta a coplanarização dos elétrons do sistema π aromático com a carbonila, levando a uma menor estabilização e um aumento da energia do estado de transição e consequentemente uma alta barreira rotacional⁶².

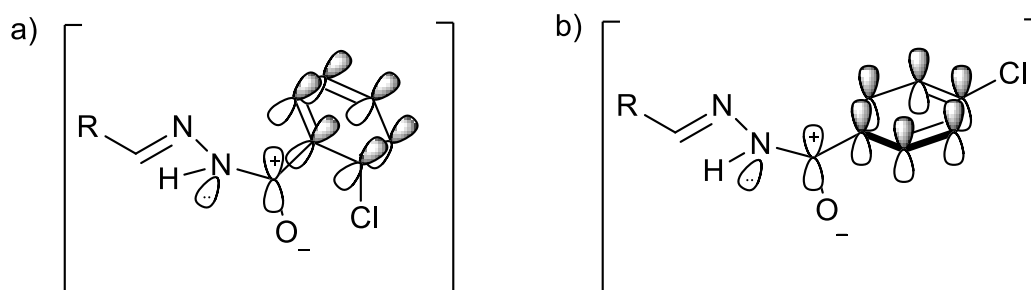


Figura 23: Estabilização dos estados de transição para os rotâmeros da ligação amida a) composto **5d**, substituinte em *orto* dificulta a coplanarização dos elétrons π com a carbonila; b) composto **5b**, estabilização do estado de transição pelos elétrons π aromático.

Utilizamos nesse trabalho os recursos da modelagem molecular para estudarmos as propriedades estruturais do composto **5d** a fim de obtermos dados sobre os confôrmeros, estabilidade, cálculos de orbitais de energia e cargas atômicas.

3.3. Estudos de Modelagem Molecular para o composto 5d 2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida

Nos cálculos de modelagem computacional para obtermos a estrutura de uma molécula, podemos utilizar a mecânica molecular, através das leis da física clássica (sistema massa-molar) para gerar estruturas e propriedades; ou os métodos baseados em leis da mecânica quântica, que fornecem as propriedades moleculares através da resolução da equação de Schroedinger. Utilizamos nesse trabalho os métodos quânticos, visto que estes possuem uma maior precisão em seus cálculos, quando comparados com os métodos clássicos.

A mecânica molecular quântica nos fornece, através de equações matemáticas, informações sobre o comportamento das moléculas, os núcleos dos átomos e a distribuição dos elétrons. Ou seja, os cálculos envolvem funções de onda associadas aos elétrons e aos núcleos atômicos. Algumas equações da mecânica quântica ainda carecem de soluções analíticas, não sendo resolvidas de uma forma exata. Por isso, o campo da modelagem computacional é baseado em métodos aproximados⁶⁷.

Podemos destacar um dos métodos que tem sido muito utilizado na mecânica quântica, o *ab initio*, cujo palavra deriva do latim “desde o início”. Esse método é usado para cálculos que envolvem diretamente os princípios teóricos, sem a inclusão de dados experimentais. O método *ab initio*, baseado na teoria de Hartree-Fock (HF), é utilizado para otimizar a geometria molecular, no qual a repulsão dos elétrons é levada em conta, o cálculo de HF é considerado variacional em decorrência das energias calculadas serem iguais ou maiores que o valor exato da energia⁶⁸.

O método Hartree-Fock resolve a equação de Schroedinger através de cálculos que consideram como base principal a forma com que os elétrons são tratados, ou seja, um elétron sente a presença do outro como sendo um potencial médio, desta forma as interações entre ambos são calculadas até que as energias de interação sejam constantes e estejam em equilíbrio, não ocorrendo variação. A equação de Schrodinger foi interpretada por Slater em 1951, com o método Hartree-Fock, no qual considerou a somatória dos vários potenciais médios das interações eletrônicas

somando-se a contribuição da interação elétron-núcleo e elétron-elétron, de forma que a função de onda é descrita como um produto antissimétrico de spin⁶⁸. Desta forma no cálculo Hartree-Fock, a função é utilizada para calcular uma energia e um conjunto de coeficientes orbitais.

No programa Spartan[®]14, o método Hartree-Fock, possui funções bases disponíveis como 3-21G, 6-31+G*, 6-31G* e STO-3G. De uma forma mais didática e sem perder a originalidade, podemos representar tais funções bases como X-YZ+G*, onde o primeiro termo representado por X indica o número de gaussianas primitivas, compreendendo cada função de base do núcleo, o segundo e terceiro termo, ou seja, Y e Z determinam os orbitais de valência e o último termo G, refere-se a base composta (Gaussian-type orbital) e as adições de funções difusas são representadas pela adição do sinal de + e/ou ++ (GTO, Gaussian-type orbital)^{69,70}. O asterisco (*) significa adição de função de polarização nos átomos.

Na primeira fase da modelagem molecular, utilizando recursos do *software* Spartan[®]14, construímos a estrutura da molécula alvo no estudo, o composto **5d** (2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida), conforme representado na Figura 24. A partir da construção da molécula (1º passo), selecionamos o método do cálculo, a fim de obtermos as informações relacionadas aos parâmetros físicos e químicos da mesma (2º passo). Para a realização dos cálculos, devemos escolher as funções bases adequadas que possua os parâmetros para o átomo selecionado. Nesse estudo foram utilizados o método de Hartree-Fock e função base 3-21G. Após a seleção foi realizada a otimização da molécula, na qual os cálculos foram realizados por um algoritmo até atingir convergência.

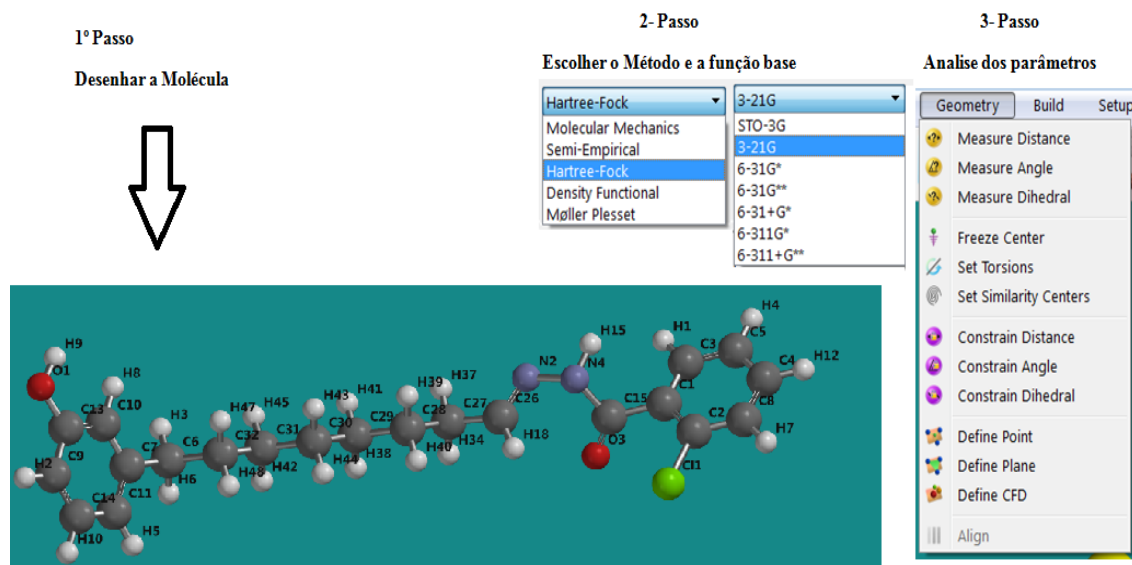


Figura 24: Diagrama ilustrando os passos que devem ser realizados para a otimização uma molécula.

A otimização da geometria molecular é uma técnica que visa a encontrar um conjunto de coordenadas no qual a energia potencial do sistema seja mínima. O procedimento básico consiste em encontrar essas coordenadas sobre a superfície de potencial no qual a energia decresce, de maneira que o sistema é conduzido à energia mínima local. Após a otimização, a configuração final de uma molécula difere muito da inicial. A partir desse ponto, passamos para o 3º passo, que consiste na análise de parâmetros, na qual procedemos para analisar os comprimentos de ligações, cargas atômicas, orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO, dentre outros.

Em decorrência do elevado número de graus de liberdade de algumas moléculas, uma exploração completa da superfície multidimensional da energia potencial é praticamente impossível. Uma maneira de explorar tal superfície seria pela minimização da energia potencial molecular, através de pesquisas conformacionais, que podem ser realizadas através de métodos clássicos ou quânticos disponíveis nos programas computacionais. Várias propriedades moleculares tais como as estruturas geométricas, cargas atômicas, barreiras de rotações internas, momentos dipolares, número de ondas vibracionais, amplitudes médias de vibrações, funções termodinâmicas e entalpias de formação, podem ser calculados depois de obtermos a otimização da molécula estudada⁷¹.

Todas as simulações foram obtidas utilizando o *software* Spartan'14, método de Hartree Fock e funções bases 3-21G. A energia de otimização ou energia potencial

mínima obtida após a convergência foi de $E_{op} = 1519.838$ a.u (*atomic units*). A Figura 25 mostra a estrutura otimizada para o composto **5d**.

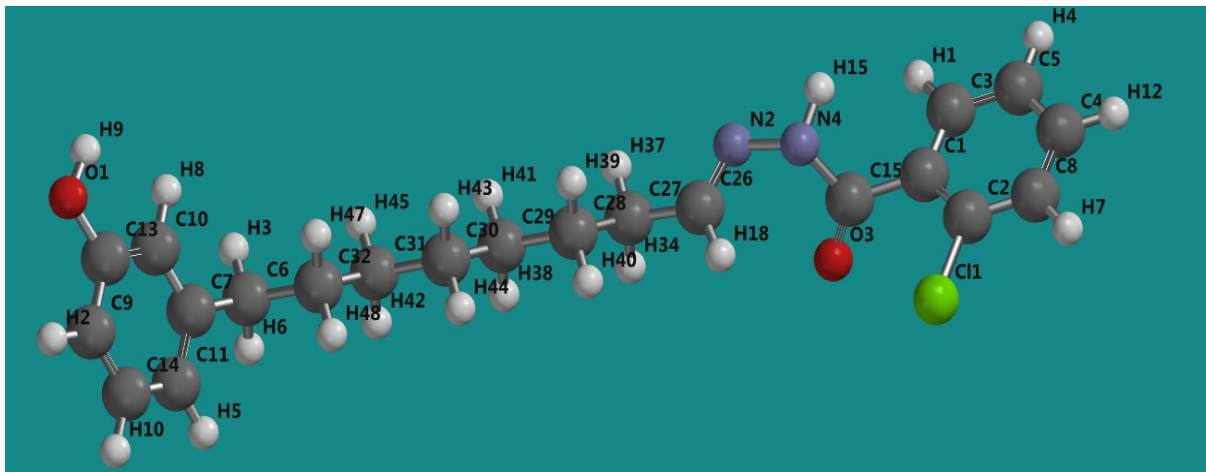


Figura 25: Estrutura otimizada do composto **5d**, (*E*)-2-cloro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida através do método HF, e funções de ondas 3-21G. Onde: C-Carbono (cinza); N-Nitrogênio (azul); Cl-Cloro (verde); O-Oxigênio (vermelho), H-Hidrogênio (branco)

Apesar da estrutura do composto **5d** estar otimizada, é prudente compararmos os nossos resultados computacionais obtidos, com os resultados experimentais descritos na literatura. A Tabela 5 mostra o comprimento de ligações da estrutura obtida comparada com os resultados experimentais da literatura obtidos através de técnicas de difração de raios-X e Nêutrons. Para o comprimento das ligações C-H os resultados computacionais do composto **5d** são próximos dos resultados experimentais. As distâncias entre os outros átomos, também estão próximas ou dentro dos intervalos experimentais. Desta forma, a nossa estrutura otimizada possui parâmetros próximos de resultados experimentais obtidos por difração de raios-X e Nêutrons.

Tabela 5: Comprimentos de ligações obtidas para o composto 5d (E)-2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida comparadas com resultados experimentais descritos na literatura.

Ligação	Comprimento das ligações (Å) para o composto 5d otimizado	Comprimento das ligações (Å) de acordo com a literatura ⁷²
C-H	1.072	1.077
C-C (anel)	1.381-1.389	--
C=C (anel)	1.381-1.382	--
C-C	1.504	1.506
C-O	1.377	1.384
O-H	0.964	0.9
C=O	1.217	1.279-1.316
C-Cl	1.744	1.734-1.739
C-N	1.359	1.336-1.353
N-N	1.416	1.414-1.454
C=N	1.265	1.279-1.316

A energia de um confôrmero varia em função do ângulo diedro, que compreende valores entre 0 a 180°C (Figura 26). Podemos variar o ângulo diedro e observar o comportamento da energia em função da variação de N-N-C-C, ou seja, independente do confôrmeros, todos possuem o mesmo mínimo de energia em comum. Para a molécula em estudo, observamos um mínimo de energia de -2,56 KJ mol⁻¹ ocorrendo para 160°, que provavelmente corresponde ao confôrmero anti (figura 27) e um máximo de energia de 30,22 KJ mol⁻¹ para um ângulo de 40° correspondente ao confôrmero sin, de acordo com o gráfico representado na Figura 26.

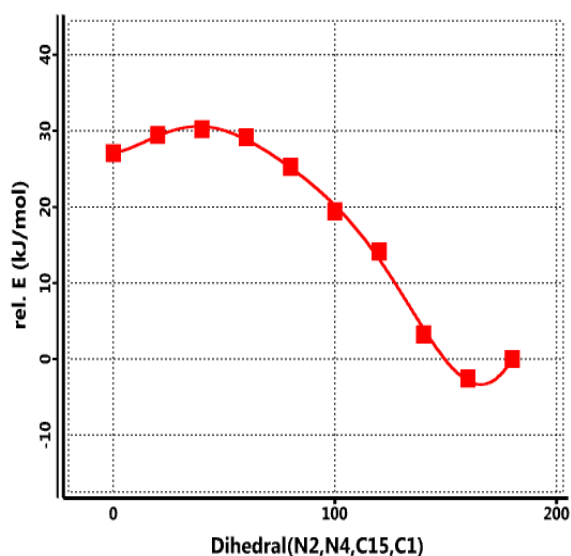


Figura 26: Variação de energia dos confôrmeros do composto **5d**, (*E*)-2-cloro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida em função do ângulo diedro N2-N4-C15-C1.

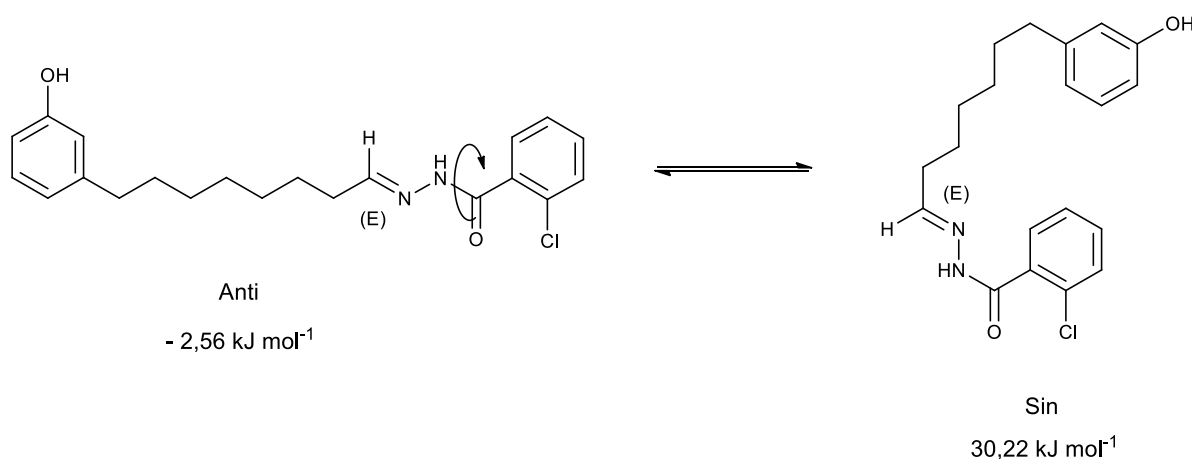


Figura 27: Confôrmeros Sin-Anti- para o composto **5d** (*E*)-2-cloro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida, com os valores de energia teórica.

Foram realizados cálculos de energia de otimização, ou energia mínima para o composto **5b** e **5d**, e os cálculos mostram que o composto **5d** apresenta maior energia com -1509.7888 au e, portanto, é menos estável quando comparado ao composto **5b** (-1509.7937 a.u.) com átomo de cloro na posição *para* a carbonila.

Além dos estudos de energia, a modelagem molecular nos permite realizar estudos sobre a estrutura eletrônica de uma molécula, através da utilização do modelo de combinação de orbitais moleculares, no qual os seus orbitais eletrônicos podem ser representados por combinações lineares dos orbitais atômicos de cada átomo da

respectiva molécula. Contribuições mais efetivas provêm dos orbitais atômicos similares, em decorrência que os mesmos possuem energias próximas⁷³. Podemos citar como exemplo, a sobreposição de dois orbitais atômicos 1s para a molécula H₂ (Figura 28), na qual resulta na formação de dois orbitais moleculares, o σ H-H ligante e o σ^* H-H antiligante. Os orbitais atômicos superpõem-se construtivamente, ou seja, na região entre eles ocorre um aumento de densidade da carga negativa, que acarreta na diminuição local da energia potencial, levando a formação do orbital molecular σ H-H ligante⁷³.

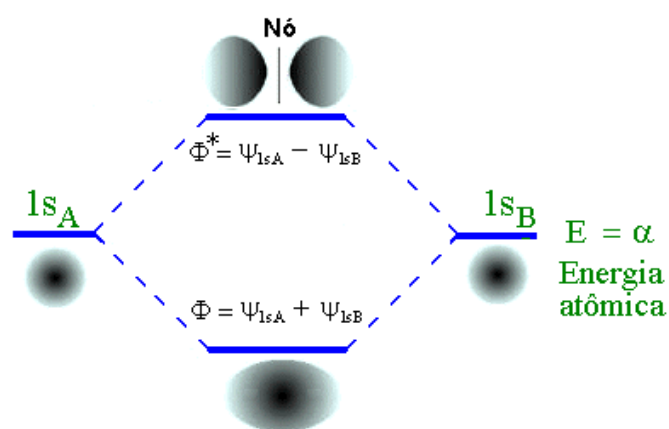


Figura 28: Diagrama ilustrativo da formação dos orbitais moleculares σ e σ^* , a partir da interação dos orbitais atômicos 1s, da molécula H₂.

Devido a essa interação, os elétrons de um orbital molecular σ H-H, envolvido na formação de uma ligação química, estão em uma região de energia potencial menor que aquela correspondente aos orbitais atômicos. Neste caso, para fazê-los retornar aos orbitais 1s dos átomos isolados, é necessário acrescentarmos energia^{73,74}.

Por outro lado, o segundo orbital molecular é resultante de uma sobreposição não construtiva, com um plano nodal. Se houvesse algum elétron neste orbital, a população reduzida de elétrons entre os núcleos levaria à repulsão entre eles, aumentando a energia potencial local⁶⁴. Esse orbital é chamado de orbital anti-ligante σ^* H-H, onde o $*$ simboliza o orbital anti-ligante.

Os orbitais mais importantes em relação à reatividade das moléculas são: o Orbital molecular ocupado de mais alta energia – HOMO, do inglês “*Highest Occupied Molecular Orbital*” e o Orbital molecular desocupado de menor energia – LUMO, do

inglês “*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*”. Estes são chamados orbitais de fronteira. Tais níveis de energia possuem grande papel na descrição das propriedades eletrônicas de moléculas. Assim, a formação dos estados de transição em reações se deve a interação entre os orbitais de fronteira HOMO e LUMO das espécies reagentes^{64,73}.

A energia de HOMO é uma grandeza que caracteriza a suscetibilidade da molécula reagir com eletrófilos. Já a energia do LUMO está relacionada a afinidade eletrônica, e caracteriza a suscetibilidade ao ataque por nucleófilos. Ou seja, os orbitais ocupados (especialmente os HOMOs) de uma molécula interagem com os orbitais desocupados (especialmente os LUMOs) de outra molécula, causando uma atração entre as moléculas⁶⁴. Desta forma, a lacuna entre HOMO e LUMO pode ser um indicador de estabilidade química. Uma vez que uma grande diferença entre o HOMO e LUMO significa que a molécula tem alta estabilidade, ou baixa reatividade em reações químicas.

Os gráficos representados nas figuras 29 e 30 correspondem ao HOMO e LUMO, orbitais moleculares de fronteira do composto **5d** (E)-2-cloro-N'-(8-(3 hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida. Podemos observar que a porção fenólica corresponde ao HOMO da molécula e o núcleo aromático da porção hidrazona corresponde ao LUMO.

Podemos obter através dos cálculos computacionais, o valor das cargas atômicas de cada átomo que compõem a molécula. Vamos abordar as propriedades moleculares como a análise de população de Mulliken, Natural e Eletrostático, que fornecem a carga de cada átomo, ou seja, a partir dos resultados desses métodos podemos saber quando os átomos que compõem uma molécula apresentam excesso ou deficiência de carga.

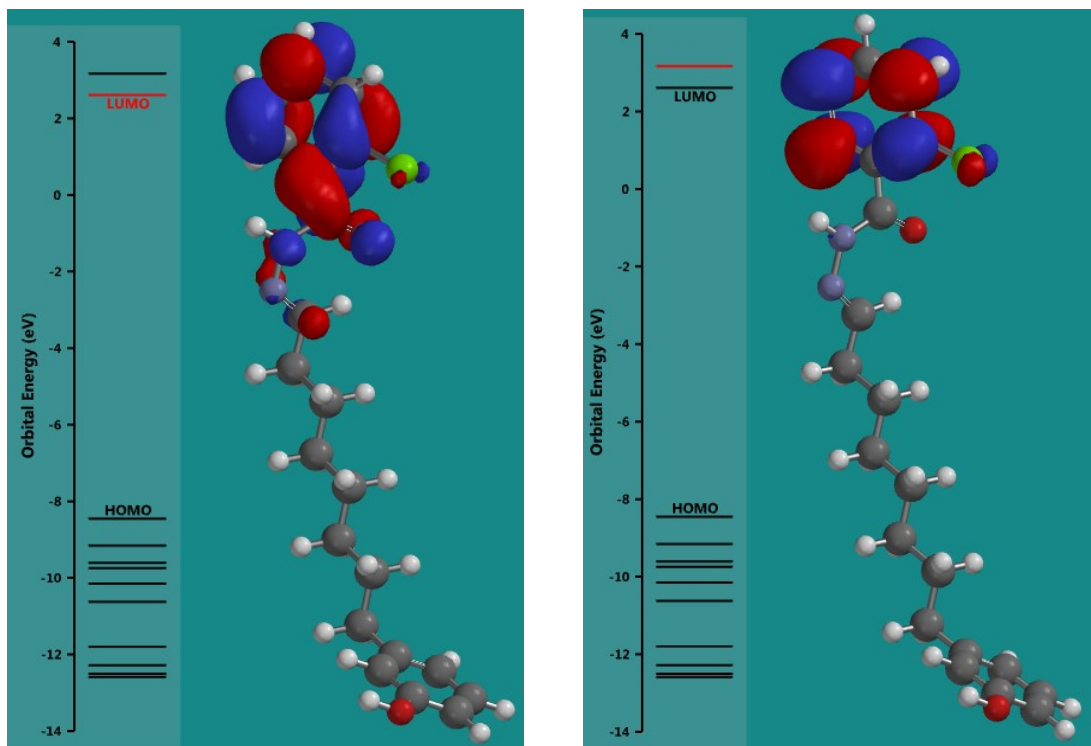


Figura 29: Orbitais moleculares do composto 5d, (E)-2-cloro-N'-(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida obtida no vácuo LUMO (2.6 eV) e (3.2 eV).

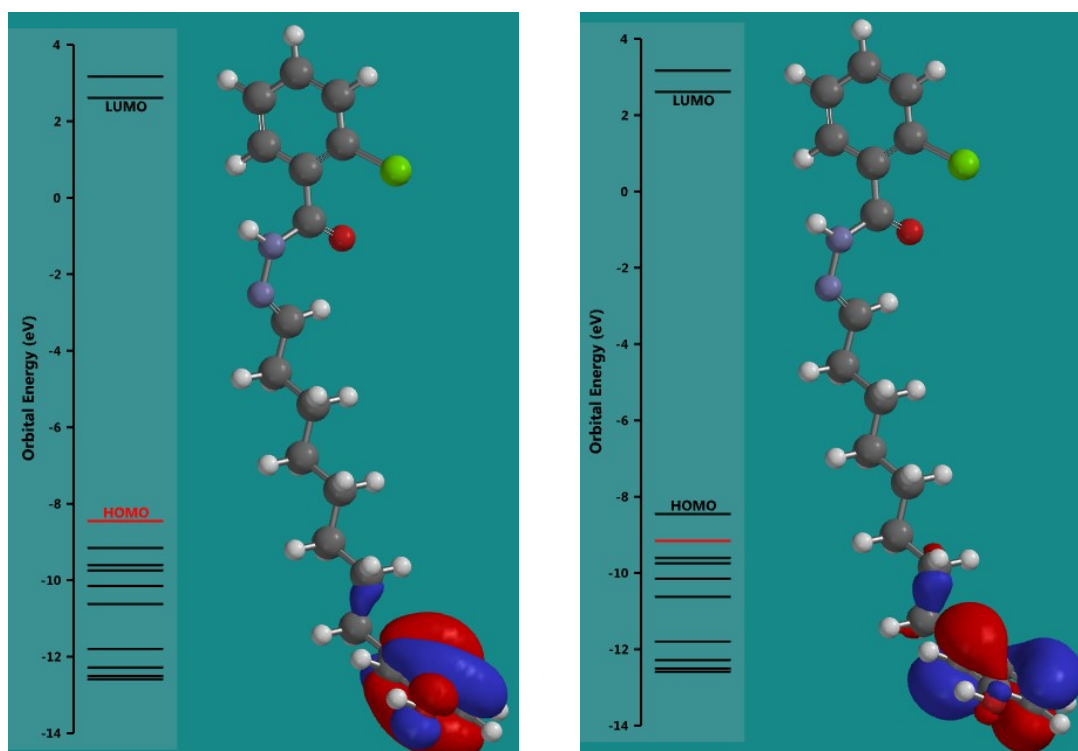


Figura 30: Orbitais moleculares do composto 5d, (E)-2-cloro-N'-(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida obtida no vácuo HOMO (-8.6 eV) e (-9.2 eV).

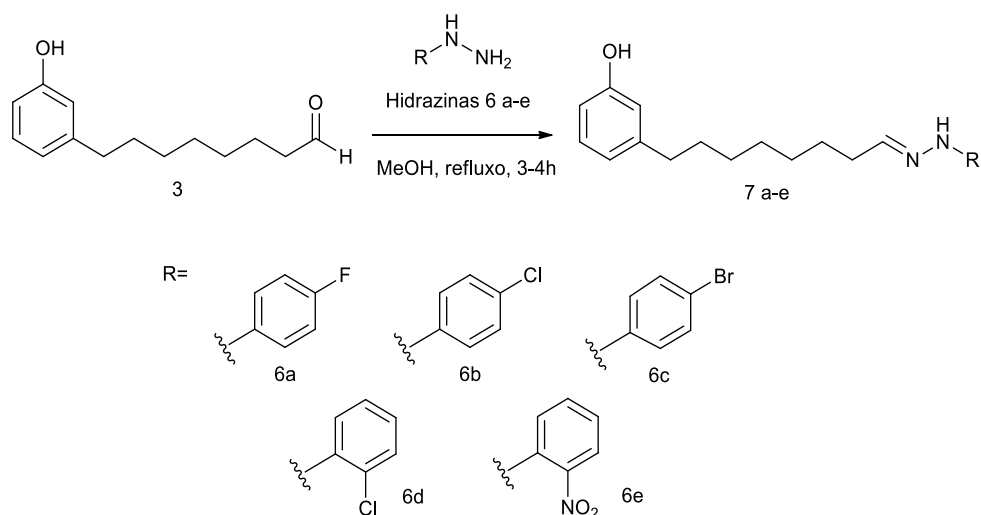
A Figura 31 apresenta os cálculos de cargas atômicas utilizando os três métodos. Estes cálculos, embora muitas vezes não haja coincidência de valores, são utilizados para interpretar vários resultados experimentais. As cargas positivas indicam deficiência de elétrons em um átomo, e as cargas negativas representam o excesso de elétrons e são dadas em unidades de elétrons. As cargas atômicas obtidas através dos cálculos teóricos correspondem ao esperado para a molécula.

Atomic Charges:				
		Electrostatic	Mulliken	Natural
1 N2	:	-0.477	-0.340	-0.284
2 C26	:	+0.423	+0.107	+0.099
3 C27	:	-0.610	-0.485	-0.507
4 H34	:	+0.172	+0.222	+0.239
5 H37	:	+0.187	+0.242	+0.249
6 C28	:	-0.012	-0.405	-0.449
7 H39	:	+0.077	+0.218	+0.234
8 H40	:	+0.061	+0.211	+0.229
9 C29	:	-0.020	-0.403	-0.449
10 H38	:	+0.065	+0.203	+0.225
11 H41	:	+0.067	+0.205	+0.226
12 C30	:	-0.428	-0.403	-0.448
13 H43	:	+0.124	+0.205	+0.226
14 H44	:	+0.128	+0.206	+0.227
15 C31	:	-0.090	-0.410	-0.451
16 H42	:	+0.077	+0.203	+0.225
17 H45	:	+0.074	+0.202	+0.224
18 C32	:	+0.063	-0.387	-0.441
19 H47	:	+0.062	+0.212	+0.230
20 H48	:	+0.060	+0.216	+0.232
21 C6	:	-0.653	-0.428	-0.455
22 H3	:	+0.193	+0.216	+0.235
23 H6	:	+0.186	+0.221	+0.238
24 C7	:	+0.491	-0.033	+0.000
25 C9	:	-0.496	-0.262	-0.316
26 C11	:	-0.464	-0.253	-0.282
27 C10	:	-0.717	-0.279	-0.342
28 C13	:	+0.707	+0.390	+0.369
29 C14	:	+0.005	-0.215	-0.196
30 H5	:	+0.209	+0.231	+0.237
31 H8	:	+0.251	+0.224	+0.231
32 H10	:	+0.150	+0.243	+0.242
33 H18	:	+0.100	+0.299	+0.239
34 C15	:	+0.613	+0.898	+0.782
35 O3	:	-0.553	-0.617	-0.630
36 N4	:	-0.205	-0.721	-0.588
37 H15	:	+0.269	+0.393	+0.440
38 C1	:	-0.142	-0.137	-0.172
39 C4	:	-0.081	-0.223	-0.211
40 C2	:	+0.118	-0.175	-0.034
41 C3	:	-0.069	-0.208	-0.209
42 C5	:	-0.235	-0.235	-0.239
43 C8	:	-0.208	-0.204	-0.240
44 H1	:	+0.132	+0.268	+0.255
45 H4	:	+0.180	+0.258	+0.250
46 H7	:	+0.175	+0.279	+0.263
47 H12	:	+0.159	+0.261	+0.251
48 H2	:	+0.234	+0.260	+0.255
49 O1	:	-0.742	-0.747	-0.704
50 H9	:	+0.479	+0.392	+0.470
51 C11	:	-0.088	+0.083	+0.027

Figura 31: Cargas atômicas (u.a.) obtidas utilizando os métodos Eletrostáticos, Mullikem e Natural. A partir da simulação computacional do composto 5d, (E)-2-cloro-N'-(8-(3 hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida, utilizando o método HF e função bases 3,21-G.

3.3. Síntese de hidrazonas

As hidrazonas foram obtidas com procedimento semelhante ao realizado para as *N*-acilidrazonas, a partir da reação de condensação com o composto **3** com as hidrazinas **6 a-e** correspondentes, as quais diferem apenas na porção aromática (4-fluorfenil, 4-clorofenil, 4-bromofenil, 2-clorofenil e 2-nitrofenil), conforme apresentado no Esquema 5.



Esquema 6: Reação de condensação para obtenção das hidrazonas de 7 a-e

No espectro de RMN ^1H do composto **7e** (Figura 23) (A23, páginas 89), observamos sinais duplicados correspondentes ao *NH*, com singletos em 10,57 e 10,76 ppm, respectivamente, indicando a formação de isômeros *E/Z*. De acordo com a literatura³³, podemos inferir que a configuração *E* foi obtida em maior proporção, aproximadamente 3:1, o que é mais comum por apresentar menor impedimento estérico. Foi possível observar que os sinais correspondentes aos hidrogênios H-3, H-4 e H-5 do substituinte 2-nitrofenil também se apresentam duplicados.

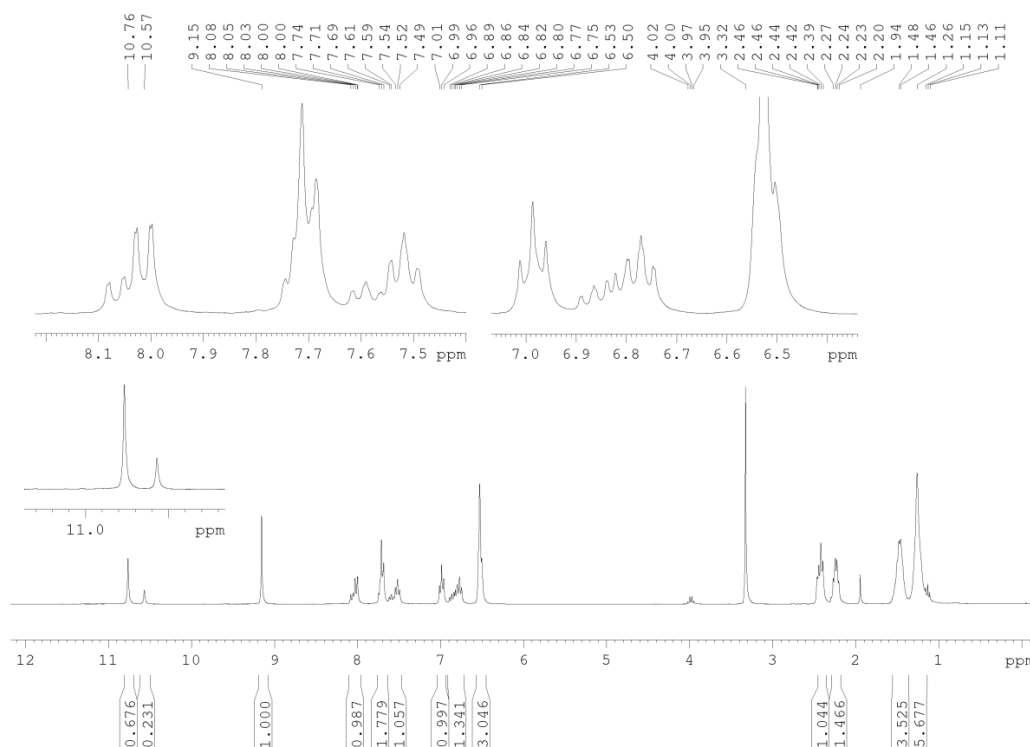
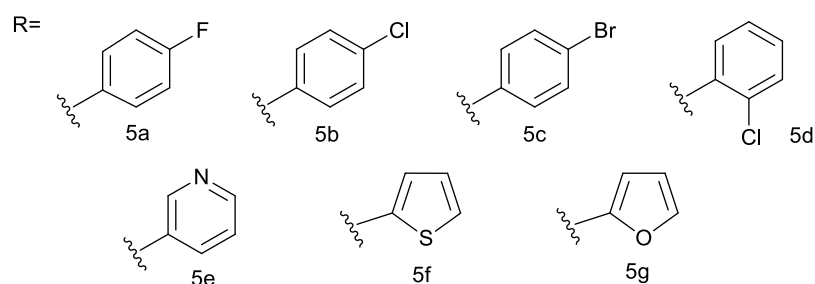
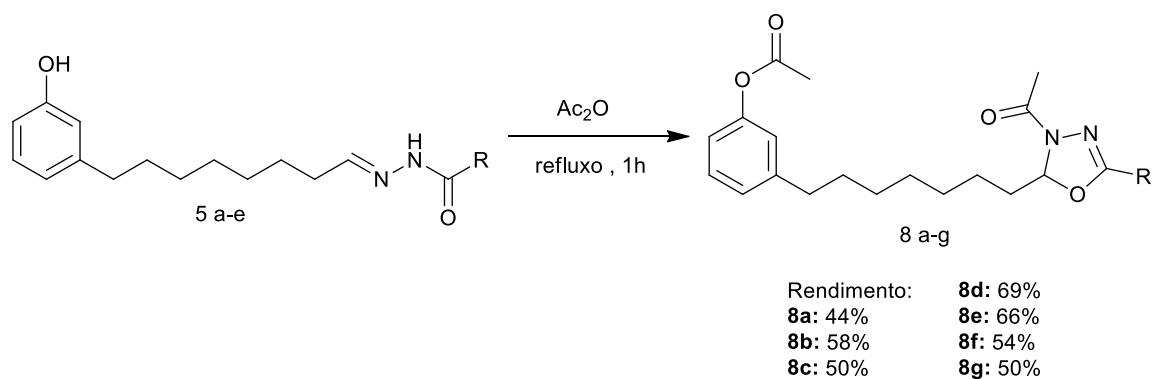


Figura 32: Espectro de RMN ^1H do composto nitro em DMSO-d_6 .

Foram encontradas dificuldades para obtenção desses derivados **7 a-e**, as reações apresentaram rendimentos baixos, misturas reacionais complexas, que após tentativa de purificação por cromatografia em coluna não foi possível obter os compostos desejados, foram degradados devido principalmente à baixa estabilidade dessas moléculas e a tendência de sofrer reações de hidrólise⁷⁵.

3.3. Síntese de 1,3,4-oxadiazóis

Para a síntese dos 1,3,4-oxadiazóis foi realizado o procedimento descrito por Oliveira e colaboradores (2013)⁵², através reação das *N*-acilidrazonas com anidrido acético e refluxo. Assim como esperado, ocorreu acetilação na hidroxila fenólica durante a reação (Esquema 7), sendo obtidos sete compostos **8 a-g** inéditos na literatura.



Esquema 7: Reação para obtenção dos oxadiázóis de **8 a-g**.

A pequena quantidade de massa obtida impossibilitou a realização de uma reação posterior para a desacetilação dos derivados. No entanto, outros procedimentos poderão ser testados, visando a obtenção de melhores rendimentos e também para impedir que ocorra a acetilação na hidroxila fenólica. Dentre eles, podemos destacar a obtenção de oxadiázóis segundo o procedimento desenvolvido por Yu e Colaboradores 2013⁵⁷, onde a ciclização oxidativa foi alcançada através da utilização de iodo molecular, na presença de carbonato de potássio em DMSO com rendimento de 96%.

Todos os espectros de RMN de ^1H dos compostos **8 a-g** apresentaram um padrão semelhante de sinais, variando apenas nos que correspondem a porção aromática dos derivados. Foram observados sinais característicos relacionados com a estrutura proposta, como os sinais na região 6,21 – 6,27 ppm atribuídos ao hidrogênio do núcleo oxadiazol, além dos simpletos correspondentes as metilas de ambos os grupos acetil na região de 2,21 – 2,27 ppm e o multiplete na região de 1,91 – 1,98 ppm para os hidrogênios diasterotópicos do grupo metileno ligado ao anel oxadiazol. A Figura 33 apresenta o espectro de RMN de ^1H para o composto **8c**, com a expansão das regiões de 6,0 – 8,0 ppm.

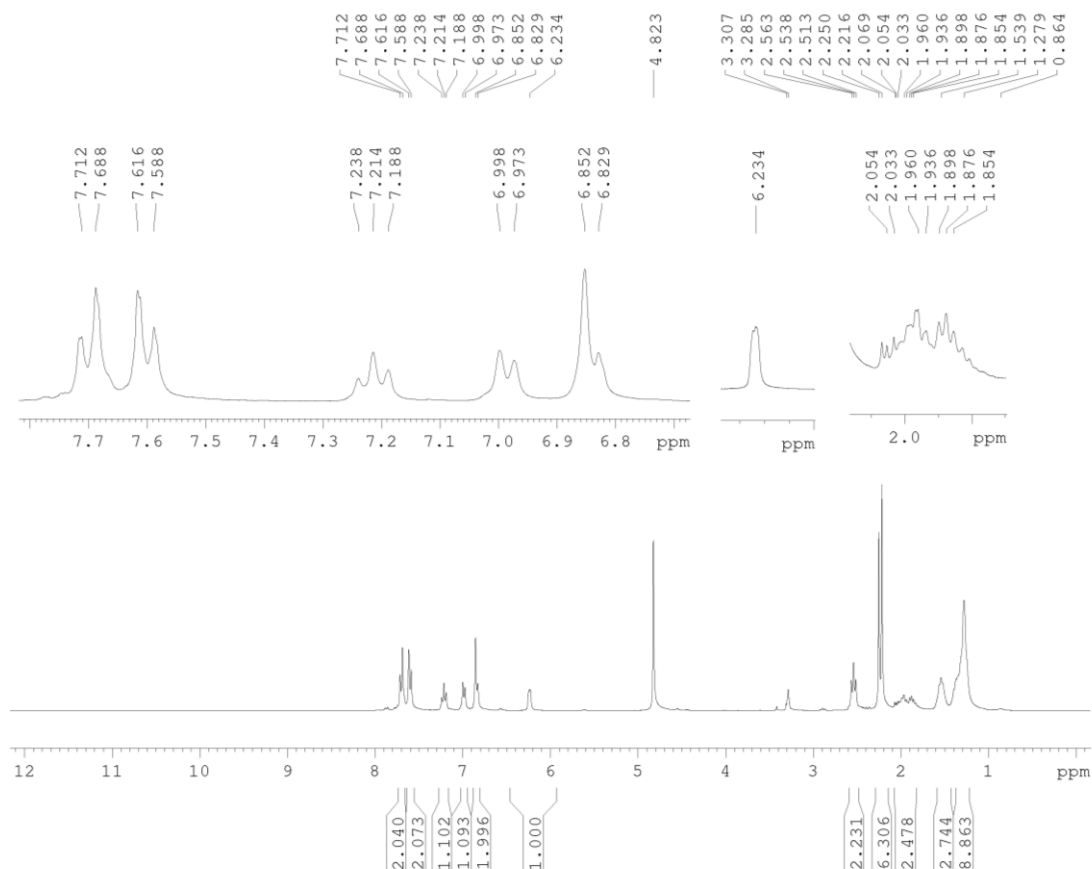
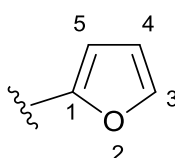
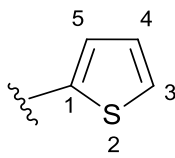


Figura 33: Espectro de RMN ^1H do composto 3'-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD-d_4 .

Não foram observados sinais em 11,37-11,51 ppm para o hidrogênio ligado ao nitrogênio (CONH) e em 7,66-7,68 ppm para os hidrogênios imino (N=CH), indicando a formação do núcleo oxadiazol. A atribuição dos sinais para os compostos sintetizados **8 a-g** são apresentados abaixo, os intervalos de deslocamentos indicados na estrutura são correspondentes a parte comum da molécula para todos os derivados e os sinais relativos aos diferentes substituintes aromáticos são listados na Tabela 6 com suas respectivas multiplicidades e valores de constante de acoplamento em Hertz.

Tabela 6: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^1H (300 MHz) dos oxadiázóis 8 a-g em Metanol- d_4 .

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ em ppm)				
	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
8a	7,86 (dd, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,95$ Hz, $^3J_{H,F} = 5,65$ Hz)	7,21 (m, 3 H)	-----	7,21 (m, 3 H)	7,86 (dd, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,95$ Hz, $^3J_{H,F} = 5,65$ Hz)
8b	7,77 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,73$ Hz)	7,44 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,73$ Hz)	-----	7,44 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,73$ Hz)	7,77 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 8,73$ Hz)
8c	7,69 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7,08$ Hz)	7,59 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7,08$ Hz)	-----	7,59 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7,08$ Hz)	7,69 (d, 2 H, $^3J_{H,H} = 7,08$ Hz)
8d	-----	7,45 (m, 1 H)	7,36 (t, 1 H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz)	7,49 (t, 1 H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz)	7,76 (d, 1 H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz)
8e	8,95 (sl, 1 H)	-----	8,65 (dl, 1 H, $^3J_{H,H} = 4,13$ Hz)	7,49 (dd, 1 H, $^3J_{H,H} = 7,57$ Hz, $^3J_{H,H} = 4,89$ Hz)	8,18 (d, 1 H, $^3J_{H,H} = 8,26$ Hz)

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ em ppm)				
	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
 8f	-----	7,71 (sl, 1H)	6,59 (sl, 1H)	7,01 (sl, 2H)	-----
 8g	-----	7,64 (dl, 1H) $^3J_{\alpha,\beta} = 4,60$ Hz, $^4J_{\alpha,\beta'} \approx 1-$ 1.5 Hz	7,12 (m, 1H)	7,58 (dl, 1H) $^3J_{\beta,\beta'} \approx 3-4.2$ Hz	-----

Os sinais observados nos espectros de RMN de ^{13}C corroboram as estruturas propostas para os derivados, destacando os sinais na região de 92,51 – 93,40 ppm e 150,85 -166,52 ppm atribuídos aos carbonos sp^3 e sp^2 do anel oxadiazol, respectivamente, conforme pode ser observado no espectro de RMN de ^{13}C do composto **8c** (Figura 34). A atribuição dos sinais para os compostos sintetizados de **8a-g** são apresentados na Tabela 7.

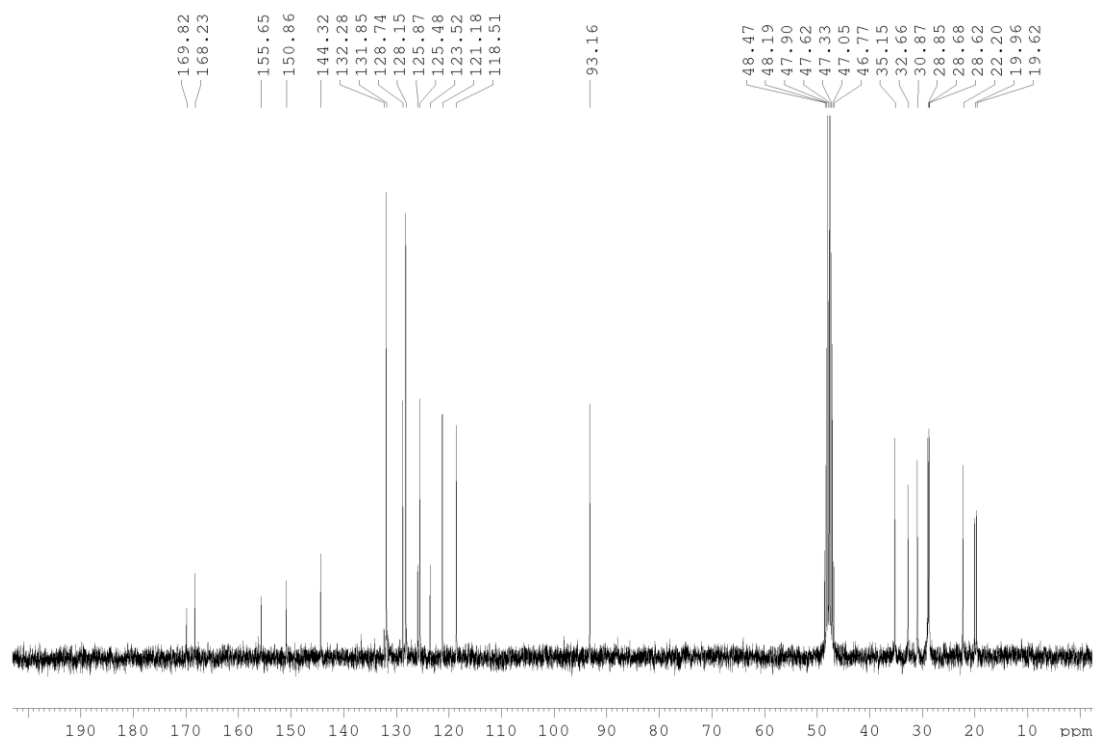
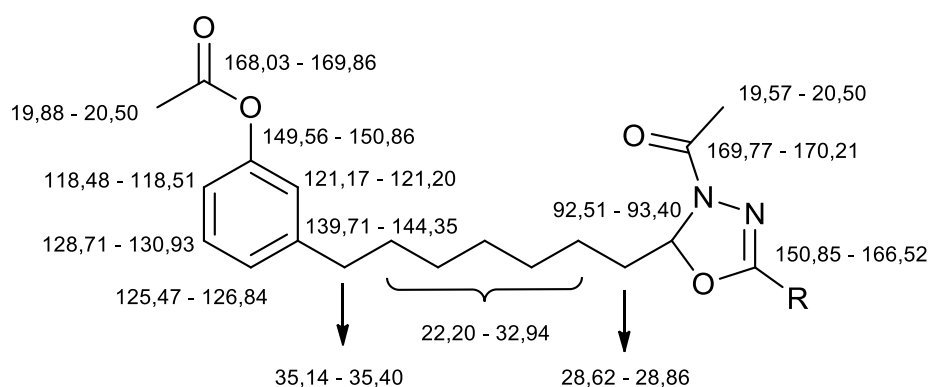
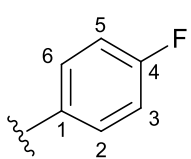
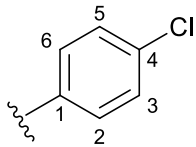
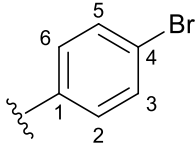
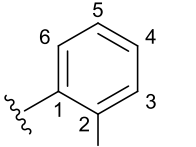
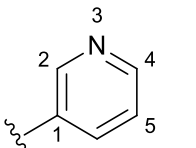
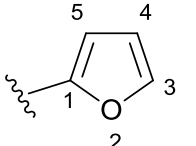
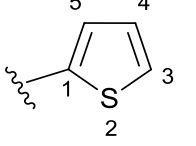


Figura 34: Espectro de RMN ^{13}C do composto 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD-d_4 .

Tabela 7: Deslocamentos químicos (em ppm) de RMN de ^{13}C (75 MHz) dos oxadiázóis 8 a-g em Metanol- d_4 .



Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ em ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
 8a	124,01	128,97	115,49	155,75	115,79	129,09

Derivado	Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ em ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
 8b	123,10	128,03	128,83	137,54	128,83	128,03
 8c	125,87	128,14	131,85	123,51	131,85	128,14
 8d	123,35	132,95	130,47	132,95	125,48	128,73
 8e	121,48	146,98	-----	151,53	124,00	134,56
 8f	144,36	-----	146,17	114,52	111,60	-----
 8g	125,70	-----	130,29	127,48	130,07	-----

3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana

Os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade antibiótica frente a quatro cepas bacterianas padrão, as Gram-positivas *Enterococcus faecalis* (NEWP0012) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e as Gram-negativas

Escherichia coli (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) pelo método de microdiluição em caldo⁷⁶. Os resultados de concentração mínima inibitória (CMI), em $\mu\text{g. mL}^{-1}$, e são apresentados na Tabela 8.

O cardanol **1** e ozonideo **2** apresentaram-se moderadamente ativos com CMI de $125 \mu\text{g. mL}^{-1}$ contra *S. aureus*. De acordo com a literatura, os ozonídeos obtidos a partir de óleos vegetais, apresentam atividade antimicrobiana contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas multirresistentes de *S. aureus* com CMI $\leq 3 \mu\text{g. mL}^{-1}$.

As *N*-acilidrazonas também se mostraram moderadamente ativas contra cepas padrão de *S. aureus*, com CMI de $125 \mu\text{g. mL}^{-1}$ para os compostos **5a-c** (4-fluorfenil, 4-clorofenil e 4-bromofenil e tiofênica). Não foi observado o aumento da atividade antimicrobiana relacionado ao núcleo oxadiazol, sendo moderadamente ativo apenas o derivado 4-clorofenil **8b** (Tabela 8).

Tabela 8: Valores de Concentração Mínima Inibitória - CMI ($\mu\text{g. mL}^{-1}$) para os compostos sintetizados frente a 4 cepas bacterianas.

Composto	Concentração Mínima Inibitória – CMI ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)			
	<i>E. faecalis</i> NEWP0012	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
1	>256	125	>256	>256
2	>256	125	>256	>256
3	>256	>256	>256	>256
5a	>256	125	>256	>256
5b	>256	125	>256	>256
5c	>256	125	>256	>256
5d	>256	>256	>256	>256
5e	>256	>256	>256	>256
5f	>256	>256	>256	>256
5g	>256	125	>256	>256
8a	>256	>256	>256	>256
8b	>256	125	>256	>256
8c	>256	>256	>256	>256
8d	>256	>256	>256	>256
8e	>256	>256	>256	>256
8f	>256	>256	125	>256
8g	>256	>256	125	>256
Gentamicina	125	3	62	62

Para microrganismos Gram-negativos, como a *E.coli*, apenas os oxadiázóis **8f-g** apresentaram CMI de 125 $\mu\text{g. mL}^{-1}$. Nenhum dos compostos sintetizados foram ativos contra cepas de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* nas concentrações testadas.

A classe de compostos hidrazonas e oxadiazóis tem sido amplamente avaliados por suas variadas e interessantes propriedades biológicas, o que mostra que as classes selecionadas para este estudo são de interesse farmacológico e devem continuar sendo investigadas para fins de atividade antibiótica. Nesse contexto os compostos sintetizados foram também avaliados para atividade antituberculose.

3.5. Atividade Antituberculose

As micobactérias são patógenos problemáticos principalmente porque apresentam resistência aos antibióticos e agentes quimioterapêuticos mais comuns. O *Micobacterium tuberculosis* é susceptível apenas a aminoglicósidos (por exemplo, estreptomicina), rifamicinas (por exemplo, rifampicina) e as fluoroquinolonas entre agentes quimioterapêuticos gerais. O *M. tuberculosis* contém uma camada externa rica em lipídios incomuns, entre bactérias Gram-positivas que contém ácido micólico. Esta camada única e rica em lipídios representa uma barreira para o acesso dos antibióticos⁷⁷.

Devido a alta lipofilicidade dos derivados sintetizados, a realização dos ensaios de atividade antituberculose se mostrava muito promissora. Como o envelope celular das células micobacterianas é formado por grande quantidade de lipídeos, compostos mais lipofílicos conseguem atravessar a parede celular com mais facilidade levando a eficácia antimicobacteriana⁷⁸.

Os ensaios de atividade antituberculose contra cepas de *Micobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 foram realizados em colaboração com o Prof. Dr. Fernando Pavan e a mestrande Débora Leite Campos no Laboratório de Micobacteriologia “Prof Hugo David” da Faculdade de Ciências Farmacêuticas na Universidade Estadual Paulista - UNESP – Araraquara/SP.

Os compostos **5f** e **5g** foram ativos contra as cepas micobacterianas quando comparados aos outros compostos testados, com CMI₉₀ de 11,998 e 3,879 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, respectivamente. O composto **5g** foi considerado promissor por apresentar atividade antimicrobiana com CMI₉₀ menor que $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (Tabela 9).

Tabela 9: Valores de CMI₉₀ ($\mu\text{g. mL}^{-1}$) para os compostos obtidos frente a 3 cepas bacterianas.

Composto	Concentração Mínima Inibitória 90 – CMI ₉₀ ($\mu\text{g/mL}$) <i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 27294
1 (cardanol)	>25
2 (Cardanol ozonizado)	>25
3 (Aldeído)	>25
5a (4-flúor)	>25
5b (4-cloro)	>25
5c (4-bromo)	>25
5d (2-cloro)	>25
5e (nicotínica)	>25
5f (furóica)	11,998 ($\pm$ 4,7)
5g (tiofênica)	3,879 ($\pm$ 1,2)
8a (4-flúor)	>25
8b (4-cloro)	>25
8c (4-bromo)	>25
8d (2-cloro)	>25
8e (nicotínica)	>25
8f (furóica)	>25
8g (tiofênica)	>25
Rifampicina	0,13

O composto **5g**, que apresentou excelente resultado de atividade antituberculose, contém na sua estrutura o núcleo tiofênico. O núcleo de tiofênico tem desempenhado um papel importante no desenvolvimento de novos fármacos, tais como antivirais, anticancerígenos, antibacterianos, antifúngicos e anti-inflamatórios. Um dos trabalhos publicados na literatura explorou o potencial de derivados de tiofeno como novos agentes antituberculose, apresentando compostos ativos com CMI 8,5 a 9,0 mM. contra *M. tuberculosis* H37Rv (ATTC27294) e, além disso, baixa toxicidade contra hepatócitos humanos HepG2, evidenciando o potencial dos derivados contendo núcleo tiofeno⁷⁹.

3.6. Atividade larvicida contra *Aedes aegypti*

Com base nos dados da literatura apontando um excelente potencial larvicida apresentado pelos componentes do LCC, foram realizados ensaios de atividade larvicida em larvas de *Aedes aegypti* com todos os compostos sintetizados. Os ensaios foram realizados nas concentrações de 200, 100, 50 e 25 ppm dos compostos, larvas no 4th instar, utilizando como padrão positivo a rotenona e DMSO

como controle, onde não foram encontrados indivíduos mortos. Os valores de DL_{50} e DL_{90} estão apresentados na Tabela 10.

A organização mundial de saúde não especifica critérios para classificação do potencial larvicida de novos agentes, no entanto autores consideram valores de dose letal que elimina 50% da população (DL_{50}) como critério para a atividade. Compostos que apresentam valores de $DL_{50} < 50 \text{ mg.L}^{-1}$ (ppm) são considerados muito ativos, $50 < DL_{50} < 100 \text{ mg.L}^{-1}$ (ppm) são considerados ativos, $100 < DL_{50} < 750 \text{ mg.L}^{-1}$ (ppm) moderadamente ativos e $DL_{50} > 750 \text{ mg.L}^{-1}$ (ppm) inativos⁸⁰.

Com base nos critérios estabelecidos na literatura, os bioensaios de atividade larvicida mostraram que o composto **1**, o cardanol foi muito ativo com DL_{50} de 20,22 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (ppm), conforme previamente relatado^{7,18}. Os compostos **2** e **3** foram considerados ativos, com DL_{50} de 57,94 e 56,93 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (ppm), respectivamente. E dentre os 17 compostos avaliados, 7 foram considerados inativos com $DL_{50} > 750 \mu\text{g. mL}^{-1}$ (ppm) (Tabela 10).

Tabela 10: Valores de Dose Letal (DL_{50} e DL_{90}) em $\mu\text{g. mL}^{-1}$ (ppm) para larvas no 4th instar após 24 horas de exposição.

Composto	DL_{50}	DL_{90}	Coefficiente de determinação R^2
1	20,22	43,97	0,85
2	57,94	162,04	0,82
3	56,93	203,01	0,81
5a	295,72	1578,71	0,85
5b	423,54	2908,60	0,57
5c	192,67	1842,06	0,46
5d	832,61	12932,1	0,87
5e	435,82	26683,55	0,65
5f	4973,95	1222447,0	0,26
5g	5209,4	253063,6	0,79
8a	5652,9	548931,0	0,67
8b	300,17	612,37	0,0001
8c	2437,11	5051,42	0,80
8d	5659,9	548931,0	0,67
8e	558,73	5223,73	0,72
8f	1420,05	53147,14	0,54
8g	325,80	1591,47	0,75
Rotenona	23,24	79,88	1

Foi possível observar que as modificações estruturais realizadas na estrutura do cardanol não demonstraram aumento da atividade larvicida. Alguns compostos mostram-se promissores para o controle dos mosquitos vetores, no entanto, estudos adicionais de toxicidade e seus efeitos em outros organismos são necessários antes do desenvolvimento da formulação inseticida.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Materiais e Equipamentos utilizados

Os solventes utilizados foram de grau P.A., das marcas Vetec, Dinâmica, Merck, Quimex e Synth. Os reagentes e meios de cultura utilizados foram da marca Sigma-Aldrich. As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando-se sílica gel (70-230) mesh em proporções 1:50 ou 1:75 (g de amostra para g de sílica), utilizando misturas de hexano: acetato de etila como eluente. As cromatografias em camada delgada (CCD) foram desenvolvidas em cromatofolhas de sílica gel sobre alumínio (Merck), utilizando como eluente misturas de hexano: acetato de etila em várias proporções. Para a revelação química das substâncias, as placas foram pulverizadas com p-anisaldeído/ ácido sulfúrico ou vanilina/ácido sulfúrico com aquecimento.

O cardanol foi obtido através da destilação sobre pressão reduzida do LCC técnico¹⁶. O LCC técnico utilizado foi gentilmente cedido pela indústria Cardol.

As massas de todos reagentes e produtos foram devidamente determinados em balanças analíticas da Bell Engineering.

Os experimentos de RMN foram realizados em um espectrômetro da marca BRUKER, com campo magnético de 7,05 Tesla, modelo DPX300 de 300 MHz para a frequência do hidrogênio e 75 MHz para o carbono, utilizando o sinal dos hidrogênios residuais do solvente deuterado ou sinal do TMS como referência. Os parâmetros utilizados para aquisição e processamento estão relacionados nos espectros de RMN em anexo.

O ozônio foi gerado por um ozonizador da marca Ozone & Life, com fluxo de 75 mg L⁻¹ O₃/O₂. O ponto de fusão dos compostos foi realizado em triplicata utilizando o equipamento da marca Uniscience do Brasil, modelo UNI498.

Para eclosão dos ovos e o ensaio de atividade larvívora, foi utilizada uma câmara de germinação, da marca Tecnal, modelo TE-402.

4.2. Procedimento para obtenção do aldeído 3 a partir do cardanol¹⁶

O cardanol **1** (10 g, 34 mmol) em acetato de etila (200 mL), a -78°C foi borbulhado com mistura de gás O₃/O₂ durante 4 horas. Após este período, o solvente foi evaporado utilizando um evaporador rotatório para obtenção de óleo castanho claro. Ao cardanol ozonizado foram adicionados ácido acético glacial (100 mL) e zinco

em pó (1,0 g) e a mistura foi agitada a temperatura ambiente *overnight*. A mistura foi filtrada para remoção do zinco e, em seguida, o ácido acético e os aldeídos voláteis foram removidos a vácuo. O produto foi lavado com solução de bicarbonato de sódio a 2% (50 mL), seco com sulfato de sódio anidro, e o solvente removido a vácuo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente hexano:acetato de etila em gradiente de polaridade para obtenção de um óleo amarelo pálido.

8-(3-hidroxifenil)octanal (3): Óleo amarelo (60% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 9,71 (t, 1H, -COH, $^3J_{\text{H,H}} = 1,71$ Hz), 7,09 (t, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,71$ Hz), 6,71 (s, 1H), 6,66 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 6,5$ Hz), 2,51 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,77$ Hz), 2,39 (td, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,29$ Hz, $^3J_{\text{H,H}} = 1,70$ Hz); 1,58 (m, 4H), 1,28 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): 204,21; 158,21; 155,85; 144,62; 129,34; 120,59; 115,42; 112,66; 43,85; 35,74; 31,14; 29,13; 22,47 (A3-A5, página 57-58).

4.3. Procedimento para obtenção de *N*-acilidrazonas⁸¹

Para a obtenção das acilidrazonas **5a-g**, foram adicionados em um balão de fundo redondo 1 mmol do aldeído 8-(3-hidroxifenil)octanal **3**, 1 mmol da hidrazida correspondente **4 a-g**, e 10 mL etanol P.A. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD). A mistura foi submetida a refluxo até o consumo total dos reagentes⁴⁶. Após o término das reações, o solvente foi removido com o auxílio de um rotaevaporador e os produtos obtidos foram pesados e devidamente armazenados em ambiente fresco e ao abrigo da luz. Todos os compostos obtidos foram submetidos às análises de RMN ^1H e ^{13}C , utilizando-se dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6) como solvente.

(E)-4-fluoro-*N'*-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida (5a): Sólido amarelo pálido. P.F: 61-65 °C; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6): δ 11,37 (s, 1H, NH), 9,15 (s, 1H, OH), 7,87 (dd, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,46$ Hz, $^3J_{\text{H,F}} = 5,92$ Hz, H-2/H-6), 7,68 (t, 1H, N=CH-Ar, $^3J_{\text{H,H}} = 5,37$ Hz), 7,28 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,46$, $^3J_{\text{H,F}} = 8,46$ Hz, H-3/H-5), 6,99 (t, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,62$ Hz), 6,52 (t, 3H, $^3J_{\text{H,H}} = 8,46$ Hz), 2,42 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,18$ Hz), 2,20 (q, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 5,84$ Hz); 1,45 (m, 4H), 1,26 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): 162,21; 157,68;

152,96; 144,14; 130,68; 130,56; 129,52; 119,36; 115,92; 115,58; 113,00; 56,48; 35,57; 32,40; 31,27; 29,08; 29,01; 26,47; 18,99. (A6 e A7, página 58 e 59)

(E)-4-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida (5b): Sólido amarelo pálido. P.F: 122-123 °C; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,42 (s, 1H, NH), 9,15 (s, 1H, OH), 7,82 (d, 2H, $^3J_{H,H}=8,37$ Hz, H-2/H-6), 7,68 (t, 1H, N=CH-Ar, $^3J_{H,H}=5,46$ Hz), 7,52 (d, 2H, $^3J_{H,H}=8,37$ Hz, H-3/H-5), 6,99 (t, 1H, $^3J_{H,H}=7,53$ Hz), 6,52 (t, 3H, $^3J_{H,H}=8,37$ Hz), 2,42 (t, 2H, $^3J_{H,H}=7,54$ Hz), 2,20 (q, 2H, $^3J_{H,H}=5,99$ Hz); 1,51 (m, 4H), 1,26 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 162,18; 157,67; 153,27; 144,15; 136,79; 129,87; 129,53; 128,92; 119,38; 115,58; 113,00; 35,58; 32,40; 31,28; 29,09; 29,01; 26,45 (A8 e A9, página 59 e 60).

(E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida (5c): Sólido amarelo pálido. P.F: 133-134 °C; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,43 (s, 1H, NH), 9,15 (s, 1H, OH), 7,66 (t, 1H, N=CH-Ar), 7,74 (d, 2H, $^3J_{H,H}=8,48$ Hz, H-2/H-6), 7,66 (d, 2H, $^3J_{H,H}=8,48$ Hz, H-3/H-5), 7,03 (t, 1H, $^3J_{H,H}=7,61$ Hz), 6,52 (t, 3H, $J=8,78$ Hz), 2,43 (t, 2H, $^3J_{H,H}=7,28$ Hz), 2,20 (q, 2H, $^3J_{H,H}=6,71$ Hz); 1,51 (m, 4H), 1,26 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 162,24; 157,68; 153,24; 144,15; 133,10; 131,86; 130,07; 129,54; 125,70; 119,37; 115,58; 113,00; 35,58; 32,42; 31,29; 29,10; 29,03; 26,46. (A10 e A11, página 60 e 61).

(E)-2-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil) octilideno)benzohidrazida (5d): Óleo amarelo. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,44 (s, 1H, NH), 11,41 (s, 1H, NH), 9,15 (s, 1H, OH), 7,30-7,57 (m, 4H), 7,00 (t, 2H, $^3J_{H,H}=7,79$ Hz), 6,53 (m, 3H), 2,41 (t, 2H, $^3J_{H,H}=8,19$ Hz), 2,19 (q, 2H, $^3J_{H,H}=7,37$ Hz); 1,45 (m, 4H), 1,26 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 168, 52; 162,50; 157,68; 153,00; 149,10; 144,15; 136,79; 135,92; 131,60; 131,31; 130,75; 130,58; 130,09; 129,95; 129,81; 129,62; 129,29; 128,82; 127,63; 127,48; 127,19; 119,36; 115,58; 113,00; 35,58; 32,38; 31,73; 31,26; 29,08; 29,00; 28,71; 26,31; 26,02; 18,99. (A12 e A3, página 61 e 62).

(E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)nicotinahidrazida (5e): Sólido amarelo pálido. Degradação a partir de 106°C; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,51 (s, 1H, NH), 9,13 (s, 1H, OH), 8,95 (sl, 1H, H-2), 8,68 (dl, 1H, $^3J_{H,H}=4,39$ Hz, H-4), 8,13 (d, 1H,

$^3J_{H,H} = 7,84$ Hz, H-6), 7,68 (t, 1H, N=CH-Ar, $^3J_{H,H} = 5,20$ Hz), 7,48 (dd, 1H, $^3J_{H,H} = 7,84$, $^3J_{H,H} = 5,10$ Hz H-5), 6,99 (t, 1H, $^3J_{H,H} = 7,42$ Hz), 6,52 (t, 3H, $^3J_{H,H} = 8,77$ Hz), 2,43 (t, 2H, $^3J_{H,H} = 7,47$ Hz), 2,22 (q, 2H, $^3J_{H,H} = 6,09$ Hz); 1,47 (m, 4H), 1,27 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 162,68; 157,68; 153,59; 148,90; 144,14; 135,75; 129,52; 123,95; 119,37; 115,58; 118,07; 113,01, 35,57; 32,39; 31,26; 29,01; 26,41 (A14 e A15, página 62 e 63).

(E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)furano-2-carbohidrazida (5f): Sólido amarelo pálido. P.F: 133-134 °C; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 11,35 (s, 1H, NH), 9,17 (s, 1H, OH), 7,84 (s, 1H, H3), 7,67 (sl, 1H, N=CH-Ar), 7,16 (sl, 1H, H5), 6,99 (t, 1H, $^3J_{H,H} = 8,23$ Hz), 6,61 (sl, 1H, H4), 6,52 (m, 3H), 2,42 (t, 2H, $^3J_{H,H} = 7,10$ Hz), 2,19 (q, 2H, $^3J_{H,H} = 6,22$ Hz); 1,45 (m, 4H), 1,25 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 158,47; 146,78; 144,96; 130,34; 120,19; 116,38; 113,81; 113,20; 36,38; 33,19; 32,08; 29,88; 29,82. (A16 e A17, página 63 e 64).

N'-(8-(3-hidroxifenil) octalideno)tiofeno-2-carbohidrazida (5g): Sólido amarelo pálido (A18 e A19, página 64 e 65).

4.4. Procedimento para obtenção das hidrazonas⁸¹

Para a obtenção das hidrazonas **7a-e**, foram adicionados em um balão de fundo redondo 1 mmol do aldeído 8-(3-hidroxifenil)octanal **3**, 1 mmol da hidrazina correspondente **6 a-g**, e 10 mL etanol P.A⁸¹. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD). Após o término das reações, o solvente foi removido com o auxílio de um rotaevaporador. Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna utilizando como eluente hexano: acetato de etila em gradiente de polaridade, no entanto sofreram degradação durante o processo de purificação.

4.5. Procedimento para obtenção de 1,3,4 oxadiazóis

Para a obtenção do oxadiazol, pesou-se 50 mg da acilidrazona correspondente **5a-g** e adicionou-se 1 mL de anidrido acético. A mistura foi mantida a 50°C por até 1 hora. Depois a mistura foi resfriada até à temperatura ambiente e realizou-se o work-up da reação, adicionando, vagarosamente, o conteúdo do balão em um béquer

contendo 25 mL de água gelada sob constante agitação durante 30 min para decomposição do excesso de Ac_2O ⁵². Após a filtração, o produto foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente hexano: acetato de etila em gradiente de polaridade.

Os produtos obtidos foram pesados e devidamente armazenados em ambiente fresco e ao abrigo da luz. Todos os compostos obtidos foram submetidos às análises de RMN de ^1H e ^{13}C , utilizando-se metanol- d_4 como solvente.

3-(7-(3-acetil-5-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8a): Óleo incolor, (44% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, $\text{MeOD}-\text{d}_4$): δ 7,86 (dd, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 8,95$, ${}_3J_{\text{H,F}} = 5,65$ Hz, H-2/H-6), 7,21 (m, 3H, H-3/H-5/H-5'), 6,99 (d, 1H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,55$ Hz), 6,84 (d, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 8,05$ Hz), 6,99 (d, 1H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,55$ Hz), 6,25 (sl, 1H), 2,56 (t, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,52$ Hz), 2,26 (s, 3H), 2,22 (s, 3H); 1,91 (m, 2H) 1,51 (m, 2H), 1,30 (m, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$): 170,21; 169,86; 148,78; 166,62; 150,85; 144,34; 129,10; 128,97; 128,71; 125,48; 121,18; 118,49; 115,49; 93,01; 35,12; 32,62; 30,90; 28,84; 28,67; 28,60; 22,14; 19,87; 19,54 (A21 e A22, página 66).

3-(7-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8b): Óleo incolor, (58% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, $\text{MeOD}-\text{d}_4$): δ 7,77 (d, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 8,73$ Hz, H-2/H-6), 7,44 (d, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 8,73$ Hz, H-3/H-5), 7,20 (m, 1H), 6,99 (t, 1H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,48$ Hz), 6,84 (m, 3H), 6,48 (m, 3H), 6,23 (sl, 1H), 2,53 (t, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,81$ Hz), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H); 1,91 (m, 2H), 1,54 (m, 4H), 1,28 (m, 6H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$): 169,81; 168,22; 155,56; 150,86; 144,32; 137,55; 128,83; 128,74; 128,04; 125,48; 123,11; 121,19; 119,30; 118,51; 114,84; 112,13; 98,50; 35,16; 32,66; 30,89; 29,10; 28,86; 28,68; 24,40; 22,19; 19,95; 19,61 (A23 e A24, página 66).

3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8c): Óleo incolor. (50% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, $\text{MeOD}-\text{d}_4$): δ 7,69 (d, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,08$ Hz, H-2/H-6), 7,59 (d, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,08$ Hz, H-3/H-5), 7,21 (t, 1H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,49$ Hz), 6,98 (d, 1H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,49$ Hz), 6,83 (m, 3H), 6,23 (sl, 1H), 2,53 (t, 2H, ${}_3J_{\text{H,H}} = 7,48$ Hz), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3H); 1,95 (m, 2H) 1,53 (m, 2H), 1,27 (m, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-\text{d}_6$): 169,82; 168,25; 155,65; 150,86; 144,32; 132,28; 131,85;

128,74; 128,15; 125,87; 125,48; 123,52; 121,18; 118,51; 93,16; 35,15; 32,66; 30,87; 28,85; 28,68; 28,62, 22,20; 19,96; 19,62 (A25 e A26, página 68).

3-(7-(3-acetil-5-(2-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8d): Óleo incolor. (69% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_4): δ 7,76 (d, 1H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz, H-6), 7,49 (t 1H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz, H-5), 7,45 (m, 1H, H-3), 7,36 (t 1H, $^3J_{H,H} = 7,58$ Hz, H-4), 7,21 (t, 1H, $^3J_{H,H} = 7,62$ Hz), 6,98 (d, 1H, $^3J_{H,H} = 7,17$ Hz), 6,85 (m, 2H), 6,22 (sl, 1H), 2,56 (t, 2H, $^3J_{H,H} = 6,75$ Hz), 2,25 (s, 3H), 2,21 (s, 3 H) ; 1,94 (m, 2H) 1,54 (m, 2H), 1,28 (m, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 169,80; 168,44; 154,62; 150,86; 144,33; 132,95; 132,25; 130,94; 130,48; 128,73; 126,85; 125,49; 123,36; 121,20; 118,52, 92,51; 35,17; 32,69; 30,90; 29,07; 28,86; 28,67; 24,40; 22,30 (A27 e A28, página 69).

3-(7-(3-acetil-5-(piridin-3-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8e): Óleo incolor. (66% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_4): δ 8,95 (sl, 1H, H-2), 8,65 (dl, 1H, $^3J_{H,H} = 4,13$ Hz, H-4), 8,18 (d, 1H, $^3J_{H,H} = 8,26$ Hz, H-6), 7,49 (dd, 1H, $^3J_{H,H} = 7,57$ Hz, $^3J_{H,H} = 4,89$ Hz, H-5), 7,21 (t, 1H, $^3J_{H,H} = 7,73$ Hz), 6,98 (d, 1H, $^3J_{H,H} = 7,53$ Hz), 6,85 (m, 2H), 6,27 (m, 1H), 2,53 (t, 2H, $^3J_{H,H} = 7,73$ Hz), 2,27 (s, 3H), 2,21 (s, 3 H) ; 1,98 (m, 2H) 1,54 (m, 2H), 1,28 (m, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 169,78; 168,39; 154,13; 151,53; 150,87; 146,98; 144,31; 136,10; 135,90; 134,57; 128,74; 125,48; 124,00; 121,49; 121,21; 118,53; 93,41; 35,14; 32,71; 30,87; 28,85; 28,69; 28,63; 22,21; 20,01; 19,63 (A29 e A30, página 70).

3-(7-(3-acetil-5-(furan-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato (8f):

Óleo incolor. (54% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_4): δ 7,71 (sl, 1H, H-3), 7,21 (t, 1H, $^3J_{H,H} = 7,30$ Hz), 7,01 (sl, 2H, H-5), 6,59 (sl, 1H, H-4), 6,86 (sl, 2H), 6,21 (sl, 1H), 2,56 (sl, 1H), 2,22 (s, 6H), 1,94 (m, 2H), 1,56 (sl, 2H), 1,30 (sl, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 169,87; 168,27; 150,86; 149,57; 146,17; 144,36; 139,71; 128,72; 125,49; 121,19; 118,49; 114,52; 111,61; 92,67; 35,13; 32,56; 30,89; 28,83; 28,65; 28,60; 22,09; 19,86; 19,55 (A31 e A32, página 71).

3-(7-(3-acetil-5-(tiofen-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato

(8g): Óleo incolor. (50% de rendimento); RMN de ^1H (300 MHz, MeOD- d_4): δ 7,64 (dl,

^1H , $^3J_{\text{H,H}} = 4,60$ Hz, H-3), 7,58 (sl, 1H, H-5), 7,12 (m, 1H, H-4), 7,22 (t, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,42$ Hz), 6,99 (d, 1H, $^3J_{\text{H,H}} = 7,83$ Hz), 6,85 (sl, 2H), 6,22 (sl, 1H), 2,55 (t, 2H, $^3J_{\text{H,H}} = 6,90$ Hz), 2,22 (s, 6H), 1,95 (m, 2H), 1,55 (sl, 2H), 1,29 (sl, 8H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): 169,83; 168,03; 153,01; 150,86; 144,35; 130,29; 130,07; 128,72; 127,65; 125,70; 125,48; 121,18; 118,49; 93,01; 35,14; 32,59; 30,87; 28,83; 28,66; 28,61; 22,13; 19,88; 19,57 (A33 e A34, página 72).

4.6. Metodologia Computacional: Método Hartree-Fock

Os estudos de modelagem computacional foram realizados com a colaboração do Prof. Dr. Valter Aragão do Nascimento da Faculdade de Medicina – FAMED/UFMS. Embora existam vários softwares disponíveis, o Software utilizado nesse trabalho foi o Spartan[®]14, disponível para Windows e Linux. Este Software foi adquirido com recursos próprios do grupo de pesquisa do Prof. Valter, sendo que o mesmo possui uma interface gráfica, composta por módulos de acesso. Possui em seu banco de dados, a teoria do orbital molecular, teoria funcional densidade (DFT), métodos *ab initio* (Hartree-Fock), semi-empírico, e mecânica molecular, também conhecida como método de campos de força. Desta forma, em decorrência de possuir vários recursos, este software permite modelar moléculas orgânicas e inorgânicas, organometálicas e polipeptídeos.

Para otimizarmos uma molécula no Software Spartan[®]14 e obtermos os seus valores geométricos como distâncias, ângulos e cargas atômicas, utilizou-se a sequência de execução: a) Desenhamos a estrutura química da molécula em um módulo e; b) Na sequência escolhemos o módulo para a realização dos cálculos, que pode ser o método semi-empírico, Hartree Fock, entre outros; c) Após otimização geometria, ou de equilíbrio, coletamos os parâmetros geométricos utilizando recursos do software.

Todas as simulações foram obtidas utilizando o *software* Spartan[®]14, método de Hartree Fock e funções bases 3-21G.

4.7. Avaliação da atividade antibiótica

A atividade antibiótica foi avaliada frente a quatro cepas bacterianas padrão, as gram-positivas *Enterococcus faecalis* (NEWP0012) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e as gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *P. aeruginosa*

(ATCC 27853), cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Análises Clínicas/ Hospital Universitário – UFMS. Os ensaios foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, através do método de microdiluição em caldo, segundo o método estabelecido pelo NCCLS (2003)⁸².

Placas de 96 poços foram preparadas colocando-se 100 µL de caldo Mueller-Hinton em cada poço. 100 µL de uma solução de cada composto, preparada inicialmente na concentração de 1 mg. mL⁻¹ foi adicionada ao primeiro poço. Então, 100 µL deste poço foram transferidos para o segundo e sucessivas diluições 1:2, com volume final de 100 µL em cada poço. O inóculo foi preparado a partir de uma cultura bacteriana de 24 horas em ágar Mueller-Hinton, e uma solução de concentração aproximada 10⁸ CFU. mL⁻¹ foi preparada em solução salina estéril 0,45%, e posteriormente diluída 1/10 em solução salina estéril, sendo 5 µL (concentração final de 10⁴ CFU. mL⁻¹) foram 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 20 µL de uma solução aquosa (0.5 %) de cloreto de trifênil tetrazolio (TTC) foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas novamente a 36°C por 2 horas. Nos poços onde o crescimento bacteriano ocorreu, houve uma mudança de coloração, de incolor para vermelho. A CMI foi definida como a menor concentração de cada substância onde não ocorreu mudança de coloração da solução⁷⁶.

4.7. Avaliação da atividade antituberculose

Os ensaios de atividade antituberculose foram realizados em colaboração com o Prof. Dr. Fernando Pavan e a mestrande Débora Leite Campos no Laboratório de Micobacteriologia “Prof Hugo David” da Faculdade de Ciências Farmacêuticas na Universidade Estadual Paulista - UNESP – Araraquara/SP.

A atividade contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis* dos compostos sintetizados foi determinada através do método de Resaurina Microtiter Assay (REMA) de acordo com Palomino *et al.* 2002⁸³. As soluções estoque dos compostos testados foram preparadas em dimetil-sulfóxido (DMSO) e depois diluídas em caldo Middlebrook 7H9 (Difco, Detroit, MI, EUA) suplementado com ácido oleico, albumina, dextrose e catalase (enriquecimento OADC - BBL / Becton-Dickinson, Detroit, MI, EUA) utilizando um Precision XS (Biotek Instruments, Inc, EUA) para obter uma gama de concentrações de fármaco final de 0,09-25 µg. mL⁻¹. Uma suspensão de *M.*

tuberculosis H37Rv ATCC 27294 foi cultivada em caldo Middlebrook 7H9 suplementado com OADC e 0,05% de Tween 80. A cultura foi mantida a -80°C em alíquotas. Após dois dias, determinou-se a CFU/ mL da alíquota. A concentração foi ajustada para 5×10^5 CFU. mL⁻¹ e adicionaram-se 100 µL do inóculo a cada poço de uma microplaca de 96 poços juntamente com 100 µL dos compostos. As amostras foram colocadas em triplicata. Incubou-se a placa durante 7 dias a 37°C . Após 24 h, adicionou-se 30 µL de resazurina a 0,01% (solubilizada em água). A fluorescência dos poços foi lida após 24 h utilizando uma Cytation 3 (Biotek Instruments, Inc, U.S.A.). O MIC₉₀ foi definido como a concentração mais baixa resultando numa inibição de 90% do crescimento de *M. tuberculosis*.

4.8. Avaliação da atividade larvicida

A fim de determinar a atividade larvicida dos compostos sintetizados, utilizou-se o protocolo da World Health Organization (1981)⁸⁴, empregando algumas modificações. Os ensaios foram realizados no Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Para a obtenção de larvas de *Aedes aegypti* no 4th instar, os ovos foram colocados num recipiente de plástico contendo 1000 mL de água sem cloro, seguindo-se a incubação em uma câmara de germinação, durante 24 – 48 horas, a uma temperatura controlada de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata utilizando 10 larvas para cada replicata. Foram preparadas soluções de amostra contendo 10 mg. mL⁻¹ em DMSO, utilizando 200, 50 e 25 µL de solução em cada ensaio, a fim de obter concentrações finais de 200, 100, 50 e 25 µg.mL⁻¹, respectivamente. As larvas foram colocadas em tubos contendo 10 mL de água, seguido pela adição da amostra. Como controle negativo foi utilizado DMSO. A atividade larvicida foi observada após 24 h através da contagem do número de larvas mortas em cada amostra; as larvas moribundas e aquelas incapazes de atingir a superfície da água quando perturbadas foram consideradas mortas⁸⁵. Como controle positivo foi usado a Rotenona.

Utilizou-se o método Probitos de análise para obtenção dos valores de CL₅₀ e os seus respectivos Coeficiente de determinação linear R².

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho foram sintetizadas sete *N*-acilidrazonas (**5 a-g**) a partir da reação das hidrazidas aromáticas (4-fluorfenil, 4-clorofenil, 4-bromofenil, 2-clorofenil, nicotínica, tiofênica e furóica) e 8-(3-hidroxifenil)octanal, com rendimentos quantitativos. Todas as *N*-acilidrazonas foram obtidas com estereoquímica *E* e sem mistura de conformeros, com exceção do composto **5d**, onde foi observado mistura de conformeros sin-,anti-periplanar, devido ao efeito do substituinte cloro na posição orto. Foram realizados também estudos e cálculos teóricos de energia dos conformeros para o composto **5d** utilizando os recursos da modelagem molecular.

Foram encontradas dificuldades para a obtenção das hidrazonas (**7-a-e**), a partir da reação das hidrazinas aromáticas (2-nitrofenil, 4-bromofenil, 4-fluorfenil, 4 bromofenil e 2-clorofenil) e 8-(3-hidroxifenil)octanal, devido à instabilidade química e facilidade de sofrer reações de hidrólise.

A partir da reação entre as *N*-acilhidrazonas (**5 a-g**) e anidrido acético foram sintetizados, sete 1,3,4-oxadiázóis (**8a-e**), com rendimentos moderados.

Os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade antibiótica frente a quatro cepas bacterianas padrão, as Gram-positivas *E. faecalis* (NEWP0012) e *S. aureus* (ATCC 25923) e as Gram-negativas *E. coli* (ATCC 25922) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853). As *N*-acilidrazonas se mostraram moderadamente ativas contra cepas padrão de *S. aureus* com CMI de 125 µg. mL⁻¹ para os compostos **4a-c** (4-fluorfenil, 4-clorofenil e 4-bromofenil e tiofênica).

As *N*-acilidrazonas **5f** e **5g** foram ativas contra cepas de *Micobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294, com CMI₉₀ de 11,998 e 3,879 µg. mL⁻¹, sendo o composto 5g considerado promissor. Os compostos foram submetidos a ensaios de atividade larvicideira contra *Aedes aegypti*. Com base nos critérios estabelecidos na literatura, os biosensaio de atividade larvicideira mostraram que o cardanol foi muito ativo com DL₅₀ de 20,22 µg. mL⁻¹. O cardanol ozonizado e o aldeído foram considerados ativos, com DL₅₀ de 57,94 e 56,93 µg. mL⁻¹. Dentre os 17 compostos avaliados, 7 foram considerados inativos indicando que as modificações estruturais realizadas na estrutura do cardanol não demonstraram aumento significativo da atividade larvicideira.

6. REFERÊNCIAS

1. ROBLES, O & ROMO, D. Chemo- and site-selective derivatizations of natural products enabling biological studies. *Nat. Prod. Rep.*, 31, 318-334, 2014.
2. CROTEAU , R. , KUTCHAN , T.M. AND LEWIS , N. Natural products (secondary metabolites). In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* . Edited by Buchanan , B. , Gruissem , W. and Jones , R. American Society of Plant Physiologists , Rockville, MD, 1250 – 1318, 2002.
3. KOEHN, F. E. Biosynthetic medicinal chemistry of natural product drugs. *Med. Chem. Commun.*, 3, 854-865, 2012.
4. RODULOVI, N. S.; BLAGOJEVI, P. D.; STOJANOVI-RADI, Z. Z.; STOJANOVI, N. M. Antimicrobial plant metabolites: Structural diversity and mechanism of action. *Curr. Med. Chem.*, 20, 932-952, 2013.
5. SILVA, J. G.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V., PEREIRA, MARIA DO SOCORRO, V. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Rev. bras. Farmacogn.*, 17, 4, 572-577, 2007.
6. FALCÃO, H.S.; LIMA, I.O.; SANTOS, V.L.; DANTAS, H.F.; DINIZ, M.F. BARBOSA-FILHO J.M.; BATISTA, L.M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 15, 381-391, 2005.
7. OLIVEIRA, F., SALTO, M.L. Alguns vegetais brasileiros empregados no tratamento de diabetes. *Rev. bras. Farmacogn.*, 2/4, 170-196, 1989.
8. BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, K.C.P.; DINIZ, M.F.; BATISTA, L.M.; ATHAYDE-FILHO P.F.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; ALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Rev. bras. Farmacogn.*, 16, 258-285, 2006.
9. GÓMEZ-CARAVACA, A.M.; VERARDOA, V.; CABONI, M.F. Chromatographic techniques for the determination of alkyl-phenols, tocopherols and other minor polar compounds in raw and roasted cold pressed cashew nut oils. *J. Chromatogr. A*, 1217, 7411–7417, 2010.

10. MELO, M.L.P., MAIA, G.A., SILVA, A.P.V., OLIVEIRA, G.S.F., & FIGUEIREDO, R.W.. (1998). CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA AMÊNDOA DA CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.) CRUA E TOSTADA. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 1998, vol.18, n.2, pp.184-187.
11. MAIA, F.J.N.; RIBEIRO, V.G.P.; LOMONACO, D.; LUNA, F.M.T.; MAZZETTO, S.E. Synthesis of a new thiophosphorylated compound derived from cashew nut shell liquid and study of its antioxidant activity. *Ind Crops Prod*, 36, 271–275, 2012.
12. OLIVEIRA, M. S. C.; MORAIS, S.M.; MAGALHÃES, D.V.; BATISTA, W.P.; VIEIRA, Í. G. P.; CRAVEIRO, A.A.; MANEZES, J. E. S. A.; CARVALHO, A.F.U.; LIMA, G.P.G. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Tropica*, 117, 165–170, 2011.
13. RODRIGUES, F. H. A.; FRANÇA, F. C. F.; SOUZA, J. R. R.; RICARDO, N. M. P. S.; FEITOSA, J. P. A. Comparison Between Physico-Chemical Properties of the Technical Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) and those Natural Extracted from Solvent and Pressing. *Polímeros*, 21, 2, 156-160, 2011.
14. BALACHANDRAN, V.S.; JADHAV, S.R.; VEMULA, P.K.; JOHN, G. Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.*, 42, 427-438, 2013.
15. FOUQUET, T., PUCHOT, L.; VERGE, P.; BOMFIM, J. A.S.; RUCH, D. Exploration of cardanol-based phenolated and epoxidized resins by size exclusion chromatography and MALDI mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 843, 46–58, 2014.
16. GRAHAM, M. B.; TYMAN, J.H.P. Ozonization of Phenols from *Anacardium occidentale* (cashew). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79, 7, 2002.
17. SCHWARTZ, C., RAIBLE, J., MOTT, K., DUSSAULT, P. H. Reductive ozonolysis' via a new fragmentation of carbonyl oxides. *Tetrahedron*, 62, 10747–10752, 2006.
18. MUROI, H.; KUBO, I. Antibacterial activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Bacteriol.*, 80, 387–394, 1996.
19. SUNG, B.; PANDEY, M.K.; AHN, K.S.; YI, T.; CHATURVEDI, M.M.; LIU, M.; AGGARWAL, B.B. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappaB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappa B alpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. *Blood*, 111, 4880–4891, 2008.

20. MAHATA, D.; MANDAL, S. M.; BHARTI, R.; GUPTA, V. K.; MANDAL, M.; NAG, A.; GOLOK B.; NANDO. G.B. Self-assembled cardanol azo derivatives as antifungal agent with chitin-binding ability. *Int. J. Biol. Macromol.*, 69, 5–11, 2015.
21. WILLIAMS, P.; SORRIBAS, A.; HOWES, M. J. R. Natural products as a source of Alzheimer's drug leads. *Nat. Prod. Rep.*, 28, 48, 2011.
22. PAULA, A.A.N.; MARTINS, J.B.L.; SANTOS, M.L.; NASCENTE, L. C.; ROMEIRO, L.A.S.; AREAS, T.F.M.A.; VIEIRA, K.S.T.; GAMBÔA, N.F.; CASTRO, N.G.; GARGANO. R. New potential AChE inhibitor candidates. *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 3754-3759, 2009.
23. LOMONACO, D., PINHEIRO SANTIAGO, G. M., FERREIRA, Y. S., CAMPOS ARRIAGA, A. M., MAZZETTO, S. E., MELE, G., VASAPOLLO, G., Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green Chemistry*, 11, 31-33, 2009.
24. HECKERA, H.; JOHANNISSONB, R.; KOCHC, E.; SIEGERS, C.P. In vitro evaluation of the cytotoxic potential of alkylphenols from *Ginkgo biloba* L. *Toxicology*, 177, 2–3, 167–177, 2002.
25. MAHATA, D.; MANDAL, S. M.; NANDO, G. B; Self-assembled amphoterecin B loaded into a selfassembled cardanol derivative as a soft green carrier for delivery and enhanced antifungal activity. *RSC Adv.*, 4, 48559-48562, 2014.
26. CRAGG, G. M., GROTHAUS, P. G., NEWMAN, D. J. Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. *Chem. Rev.* 2009, 109: 3012-3043.
27. LEE, K. J. Current Developments in the Discovery and Design of New Drug Candidates from Plant Natural Product Leads. *Nat. Prod.*, 2004, 67, 273-283.
28. World Health Organization - Neglected tropical diseases. Acesso em: dezembro, 2016. http://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/mosquito-borne-diseases/en/
29. BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiol. Serv. Saúde*, 16, 4, 179-293, 2007.
30. TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 18, 3, 867-871, 2002.
31. ROCHA, D. K., MATOS, O., NOVO, M. T., FIGUEIREDO, A. C., DELGADO, M., MOITEIRO, C. Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde. *Nat. Prod. Commun.*, 10, 4, 2015.

32. SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; SILVA, V. B.; SANTOS, S. R. L.; CAVALCANTI, S. C. H.; MENDONÇA JÚNIOR, F.J.B. Chemometric studies on potential larvicidal compounds against *Aedes aegypti*. *Med. Chem.*, 10, 201-210, 2014.
33. GUBLER, D.J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin. Microbiol. Ver.*, 11, 3, 480-496, 1998.
34. PESARO, A. E.; D'AMICO, É.; ARANHA, L. F. C. Dengue: Manifestações Cardíacas e Implicações na Terapêutica Antitrombótica. *Arq. Bras. Cardiol.* 89, 2, 12-15, 2007.
35. Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. V. 47, n.31, 2016.
36. VASCONCELOS, P. F. da C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?. *Rev. Pan-Amaz. Saude*, 6, 2, 9-10, 2015.
37. CHOUIN-CARNEIRO, T., VEGA-RUA, A., VAZEILLE, M., YEBAKIMA, A., GIROD R., GOINDIN, D., DUPONT-ROUZEYROL, M., LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R., FAILLOUX, A.B. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *Negl. Trop. Dis.* 10,3, 2016.
38. Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). Zika Epidemiological Update – 30 junho 2016. Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2016 Pan American Health Organization. www.paho.org
39. HALSTEAD, S.B. Reappearance of Chikungunya, Formerly Called Dengue, in the Americas. *Emerg. Infect Dis.*, 21, 4, 557-561, 2015.
40. Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. V. 47, n.38, 2016.
41. JUNG, J.; MOON, H. Retracted: Larvicidal activity of 4-hydroxycoumarin derivatives against *Aedes aegypti*. *Pharm. Biol.*, 49, 190-193, 2011.
42. JINDAL, B.A.K.; PANDYA, M. K.; KHAN, M.I.D. Antimicrobial resistance: A public health challenge. *Med. J. Armed Forces India*, 71, 178-181, 2015.
43. NASTASĂ, C.; TIPERCIUC, B.; DUMA, M.; BENEDEC, D.; ONIGA, O. New Hydrazones Bearing Thiazole Scaffold: Synthesis, Characterization, Antimicrobial, and Antioxidant Investigation *Molecules*, 20, 17325-17338, 2015.

44. LAXMINARAYAN, R.; DUSE, A.; WATTAL, C.; ZAIDI, A.K.M.; WERTHEIM, H.F.L., SUMPRADIT, N.; VLIEGHE, E.; HARA, G.L.; GOULD, I.M.; GOOSSENS, H.; GREKO, C.; SO, A.D.; BIGDELI, M.; TOMSON, G.; WOODHOUSE, W.; OMBAKA, E.; PERALTA, A.P.; QAMAR, F. N.; MIR, F.; KARIUKI, S.; BHUTTA, Z. Q. A.; COATES, A.; BERGSTROM, R.; WRIGHT, G. D.; BROWN, E.D.; CARS, O. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect Dis.*, 13, 2013.
45. TANG, S. S.; APISARNTHANARAK, A.; HSU, L.Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 78, 3-13, 2014.
46. CATÃO, R.M.R.; SILVA, P.M.F. FEITOSA, R.J.P.; PIMENTEL, M.C.; PEREIRA, H.S. Prevalência de infecções hospitalares por *Staphylococcus aureus* e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos. *Rev. enferm. UFPE on line*, 7, 8, 5257-64, 2013.
47. World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
48. BEDIA, K.; ELÇIN, O.; SEDA, U.; FATMA, K.; NATHALY, S.; SEVIM, R.; DIMOGLO, A. Synthesis and characterization of novel hydrazide–hydrazones and the study of their structure–antituberculosis activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 41, 1253–1261, 2006.
49. SANTOS, F. C.; CASTRO, H.C.; LOURENÇO, M.C.S.; ABREU, P.A.; BATALHA, P.N.; CUNHA, A.C.; CARVALHO, G.S.L.; RODRIGUES, C.R.; MEDEIROS, C.A.; SOUZA, S.D.; FERREIRA, V.F.; SOUZA, M.C.B.V. Tuberculosis: Finding a New Potential Antimycobacterium Derivative in a Aldehyde–Arylhydrazone–Oxoquinoline Series. *Curr Microbiol.*, 65:455–460, 2012.
50. COSTA, L.B.; CARDOSO, M. V. O.; FILHO, G. B. O.; GOMES, P. A. T. M.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; SILVA, T. G. J.; TORRES, P. H. M.; JUNIOR, F. P. S.; MARTIN, J.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q.; LEITE, A. C. L. Compound profiling and 3D-QSAR studies of hydrazones derivatives with activity against intracellular *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 8, 1608-1618, 2016.
51. 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.
52. 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.
53. ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, S.G. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules.*, 12(8):1910-1939, 2007.
54. ROLLAS, S.; GULERMAN, N.; ERDENIZ, H. Synthesis and antimicrobial activity of some new hydrazones of 4-fluorobenzoic acid hydrazide and 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines. *Il Farmaco*, 2002, 57, 171–174.
55. FREITAS, J. J. R.; SILVA, E. E.; REGUEIRA, J. L. L. F.; ANDRADE, S. A.; CAVALCANTE, P. M. M.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS-FILHO, J. R. 1,2,4-Oxadiazóis: Síntese e Aplicações. *Rev. Virtual Quim.*, 4, 6, 670-691, 2012.
56. OLIVEIRA, C.S.; LIRA, B.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; LORENZO, J. G. F.; ATHAYDE-FILHO, P. F; Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012. *Molecules*, 17, 10192-10231, 2012.
57. YU, W.; HUANG, G.; ZHANG, Y.; LIU, H.; DONG, L.; YU, X.; LI, Y.; CHANG, J. I₂-Mediated Oxidative C–O Bond Formation for the Synthesis of 1,3,4-Oxadiazoles from Aldehydes and Hydrazides. *J. Org. Chem.*, 78, 10337–10343, 2013.
58. DESAI, N.C.; KOTADIYA, G.M. Microwave-assisted synthesis of benzimidazole bearing 1,3,4- oxadiazole derivatives: screening for their in vitro antimicrobial activity *Curr. Org. Chem.*, 18, 2561-2570, 2014.
59. KOGAWA, N. R. A.; DE ARRUDA, E. J.; MICHELETTI, A. C.; MATOS, M. F. C.; DE OLIVEIRA, L. C. S.; DE LIMA, D. P.; CARVALHO, N. C. P.; OLIVEIRA, P. D.; CUNHA, M. C.; OJEDA, M.; BEATRIZ, A. Synthesis, characterization, thermal behavior and biological activity of ozonides from vegetable oils. *RSC Advances*, 5, 65427- 65436, 2015.
60. BRANCO, F. S. C.; SILVA, B. V.; RIO, G. F.; SANTANA, M. J.; QUEIROZ JÚNIOR, L. H. K.; PINTO, A. C.; BOECHAT, N.; LIÃO, L. M. Ressonância magnética nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. *Quím. Nova*, 38, 9, 1237-1246, 2015.
61. ROMERO, E. L.; D'VRIES, R. F.; ZULUAGA, F.; CHAUR, M. N. Multiple Dynamics of Hydrazone Based Compounds. *J. Braz. Chem. Soc.*, 26, 6, 1265-1273, 2015.
62. LOPES, A.B.; MIGUEZ, E.; KÜMMERLE, A.E.; RUMJANEK, V.M.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Characterization of Amide Bond Conformers for a Novel

Heterocyclic Template of *N*-acylhydrazone Derivatives. *Molecules*, 18, 11683-11704, 2013.

63. QUATTROPANI, A.; DORBAIS, J.; COVINI, D.; PITTET, P.-A.; COLOVRAY, V.; THOMAS, R.J.; COXHEAD, R.; HALAZY, S.; SCHEER, A.; MISSOTTEN, M.; et al. Discovery and development of a new class of potent, selective, orally active oxytocin receptor antagonists. *J. Med. Chem.*, 48, 7882–7905, 2005.

64. FLEMING, I. Molecular Orbitals and Organic Reactions, Student Edition, Wiley, 2010.

65. LAUVERGNAT, D.; HIBERTY, P.C. Role of Conjugation in the Stabilities and Rotational Barriers of Formamide and Thioformamide. An ab Initio Valence-Bond Study. *J. Am. Chem. Soc.* 119, 9478-948, 1997.

66. RAHMAN, V.P.M.; MUKHTAR, S.; ANSARI, W. H.; LEMIERE, G. Synthesis, stereochemistry and biological activity of some novel long alkyl chain substituted thiazolidin-4-ones and thiazan-4-one from 10-undecenoic acid hydrazide. *Eur. J. Med. Chem.* 40, 173–184, 2005.

67. YOUNG, D. C. Computational Chemistry, A practical Guide for applying Techniques to Real-World Problems, John Wiley & Sons. Inc. 2001.

68. TAMAR, S. Molecular modeling and Simulation, An interdisciplinary guide, 3 edition, Springer. 2004.

69. LEE, C.; YANG, W.; AND PARR, P.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.* 37, 785, 1988.

70. SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. *Rev. Virtual Quim.*, 1, 1, 49-57, 2009.

71. HINCHLIFFE, A. Molecular Modelling for Beginners. John Wiley & Sons Ltd. Second Edition, 2003

72. ALLEN, F.H.; KENNARD, O.; WATSON, D.G.; BRAMMER, L.; ORPEN, A.G.; TAYLOR, R. Tables of Bond Lengths determined by X-ray and Neutron Diffraction. Part 1. Bonds lengths in organic compounds. *J. Chem. Soc. Perkin Trans II*, 1987.

73. Roothaan, C. C. J, New Developments in Molecular Orbital Theory, *Rev. Mod. Phys.*, 23, 69, 1951.
74. ALBUQUERQUE, C.A. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de sistemas nanoscópicos bioativos, Universidade Federal de Itajubá. Programa de pós-graduação em materiais para engenharia, 2008.
75. Kalia, J.; Raines, R.T. Hydrolytic Stability of Hydrazones and Oximes. *Angew Chem Int Ed Engl.* 47, 39, 7523–7526, 2008.
76. Micheletti, A. C.; Honda, N. K.; Carvalho, N. C. P.; Lima, D. P.; Beatriz, A. Design, Synthesis and in vitro Antimicrobial Activity Evaluation of Novel Hybrids of Lichexantone – THC Derivatives. *Orbital: Electron. J. Chem.*, 7, 4, p. 301-307, 2015.
77. Radmacher, E.; Stansen, K.C.; Besra, G.S.; Alderwick, L.J.; Maughan, W.N.; Hollweg, G.; Sahm, H.; Wendisch, V.F.; Eggeling, L. Ethambutol, a cell wall inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis*, elicits L-glutamate efflux of *Corynebacterium glutamicum*. *Microbiology*. 151, 5, 1359-68, 2005.
78. Micheletti, A. C.; Honda, N. K.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Matos, M. F. C.; Perdomo, R. T.; Bogo, D.; Alcântara, G. B.; Beatriz, A. Increment of Antimycobacterial Activity on Lichexanthone Derivatives. *Med. Chem.*, 9, 904-910, 2013.
79. Cardoso, L.N.F.; Bispo, M.L.F.; Kaiser, C.R.; Wardell, J.L.; Wardell, S.M.S.V.; Lourenço, M.C.S.; Bezerra, F. A. F. M.; Soares, R. P. P.; Rocha, M. N.; Souza, M.V.N. Anti-Tuberculosis Evaluation and Conformational Study of N-Acylhydrazones Containing the Thiophene Nucleus. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 347, 432–44, 2014.
80. Rocha, D. K., Matos, O., Novo, M. T., Figueiredo, A.C., Delgado, M., Moiteiro, C. Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde. *Nat. Prod. Commun.*, 10, 4, 2015.
81. Kuçukguzel, S. G.; Koç, D.; Qkla-Suzgun, P.; Ozsavci, D.; Bingol-Ozakpmar, M.; MEGA-Tiber, P.; Orun, O.; Erzincan, P.; Sag-erdem, S.;

SAHIN, F. Synthesis of TolmetinHydrazide-Hydrazones and Discovery of a Potent Apptosis Inducer in Colon Cancer Cells. *Archiv der Pharmazie: Chemistry in Life Sciences*, 348, 730-742, 2015.

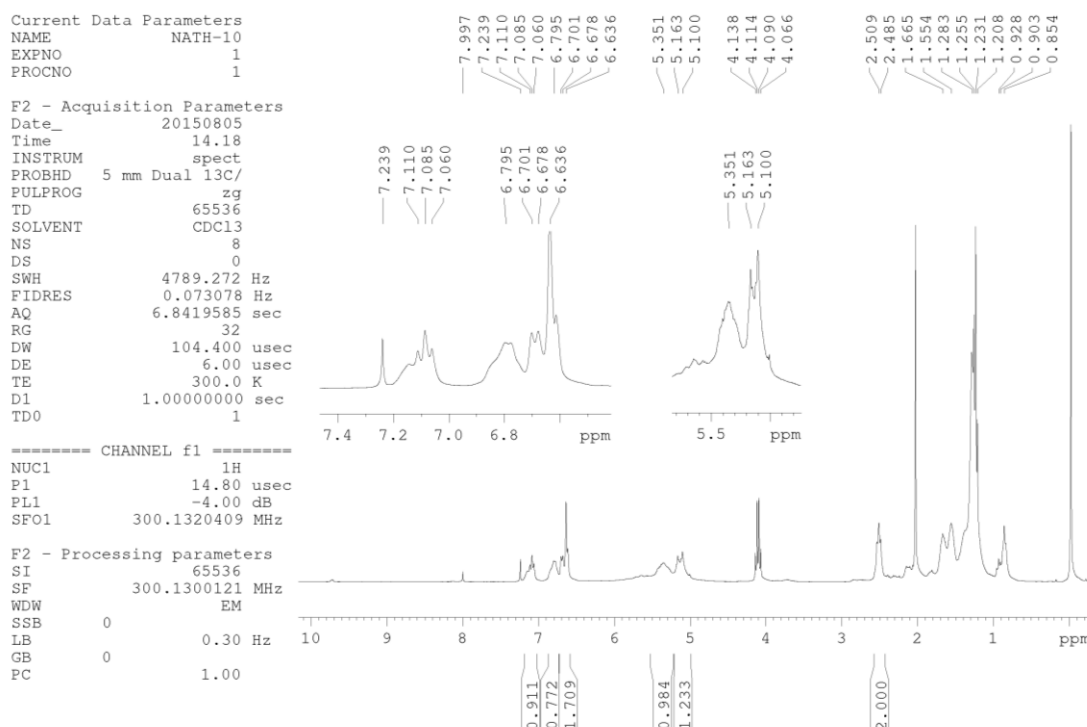
82. NCCLS. Sixth Edition. NCCLS document M7-A6. 2003

83. PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; RESAZURIN, F.P. Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 46, 8, 2720-2722, 2002.

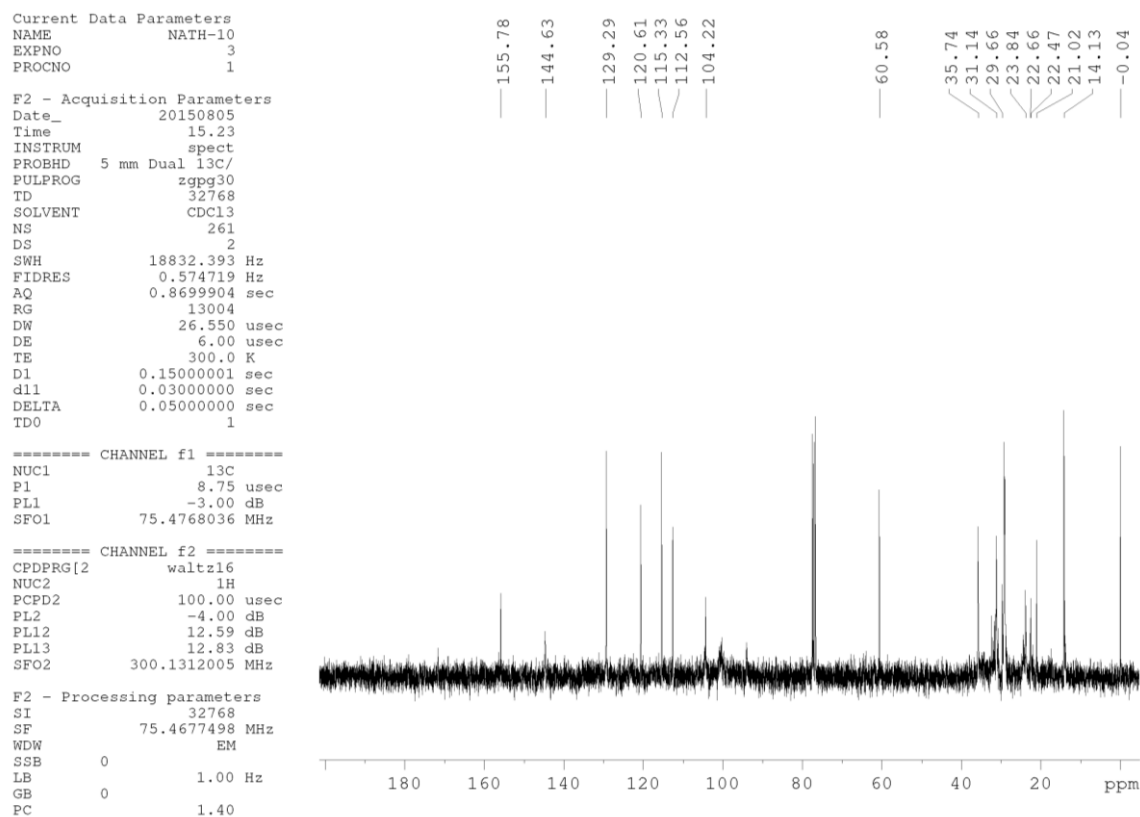
84. World Health Organisation. Report of the WHO informal consultation on the evaluation and testing of insecticides, CTD/WHOPES/IC/96.1, 69, 1996.

85. FERNANDO A.C. DE MENDONÇA, F.A.C.; SILVA, K.F.S.; SANTOS, K.K.; RIBEIRO JUNIOR, K.L.A.; SANT'ANA, A.E.G. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia*, 76, 629–636, 2005.

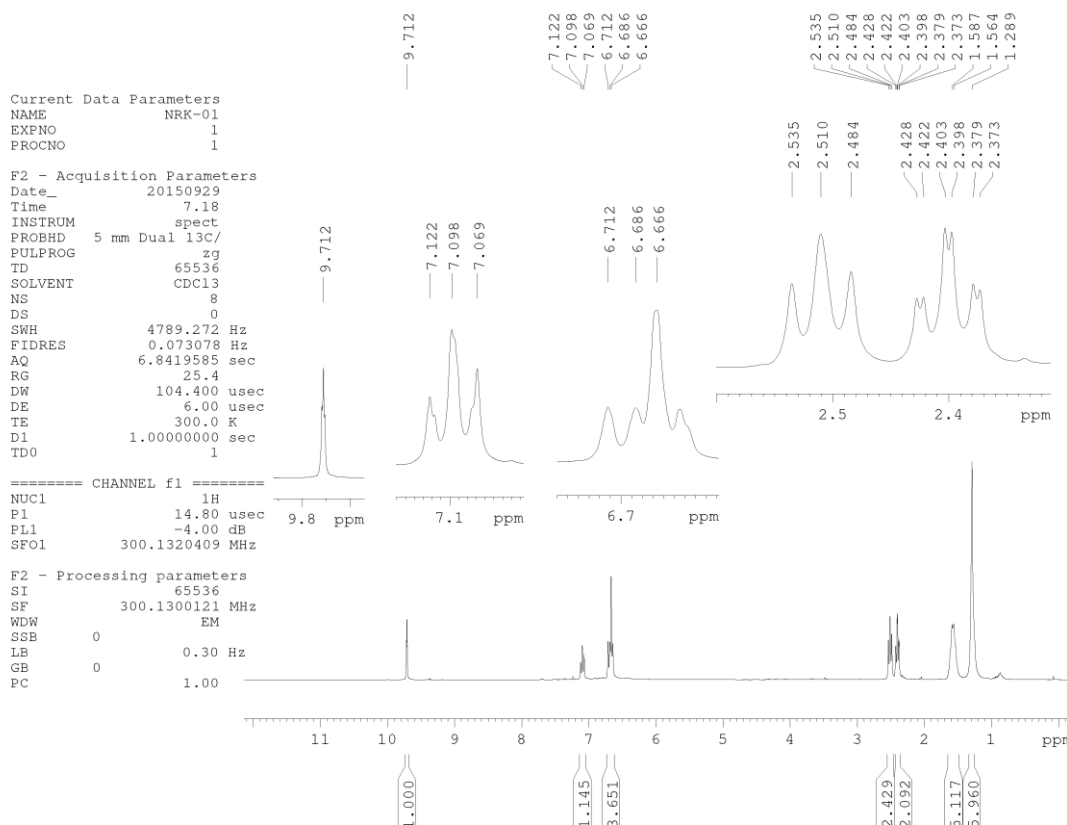
ANEXOS



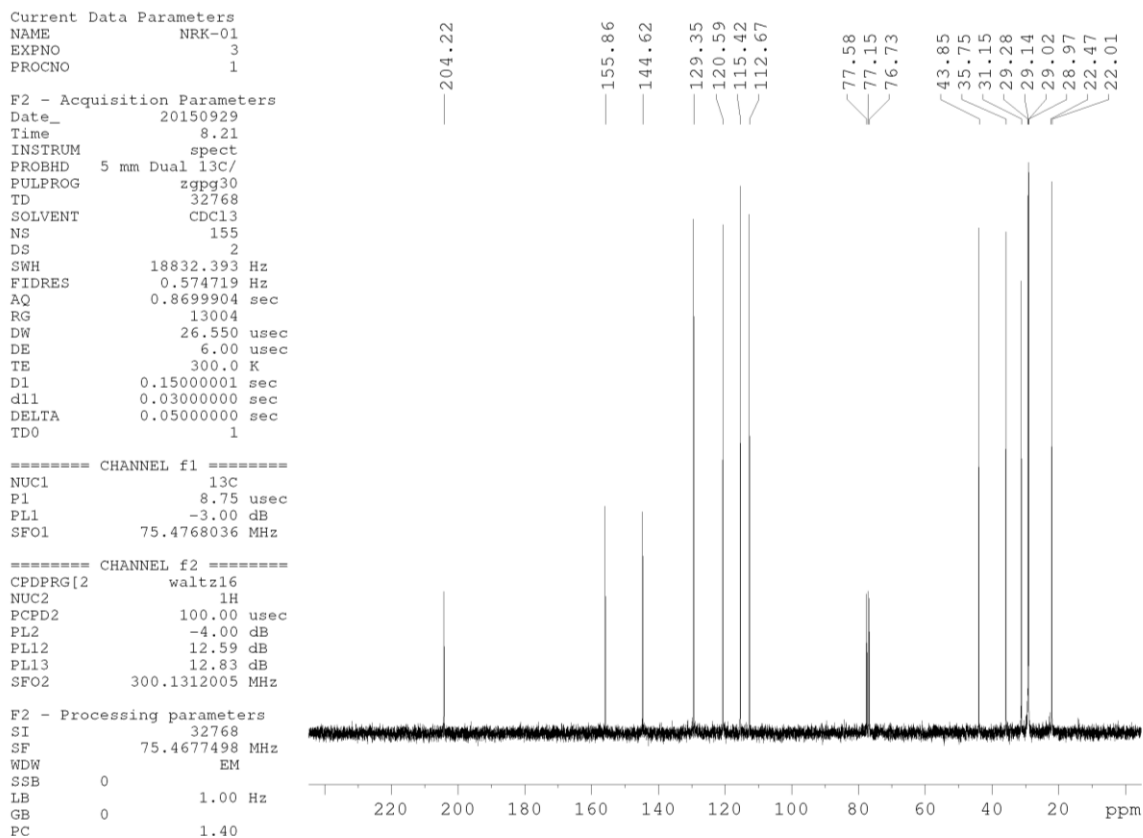
A 1: Espectro de RMN de ^1H do cardanol ozonizado 2 em CDCl_3 .



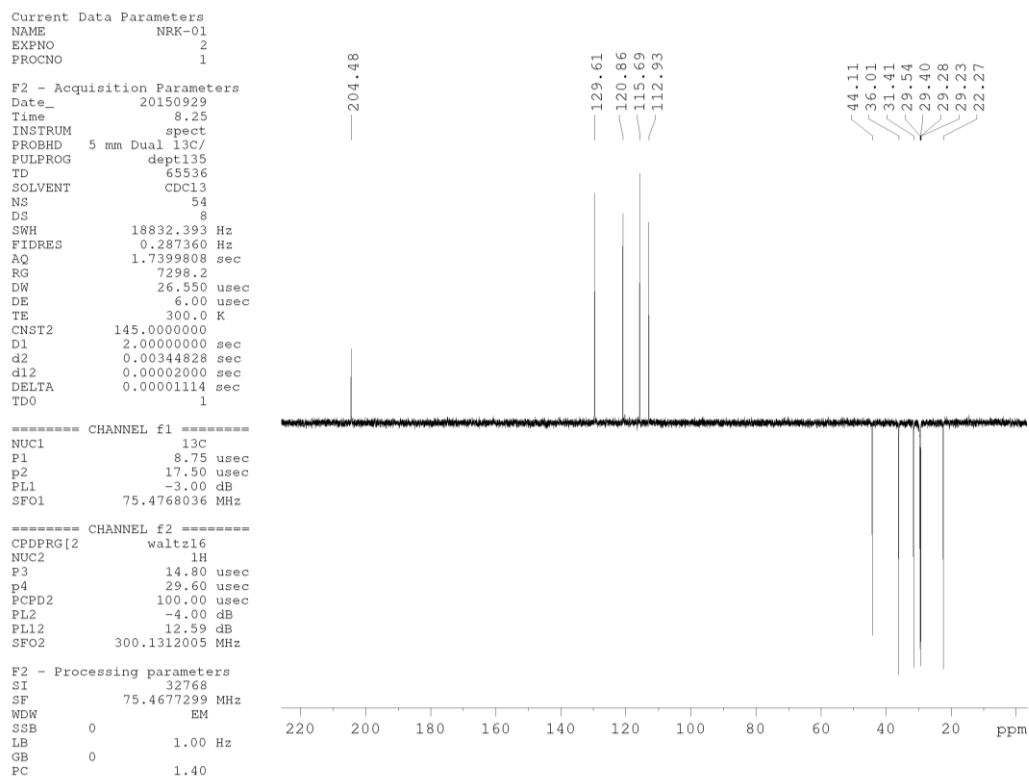
A 2: Espectro de RMN de ^{13}C do cardanol ozonizado 2 em CDCl_3 .



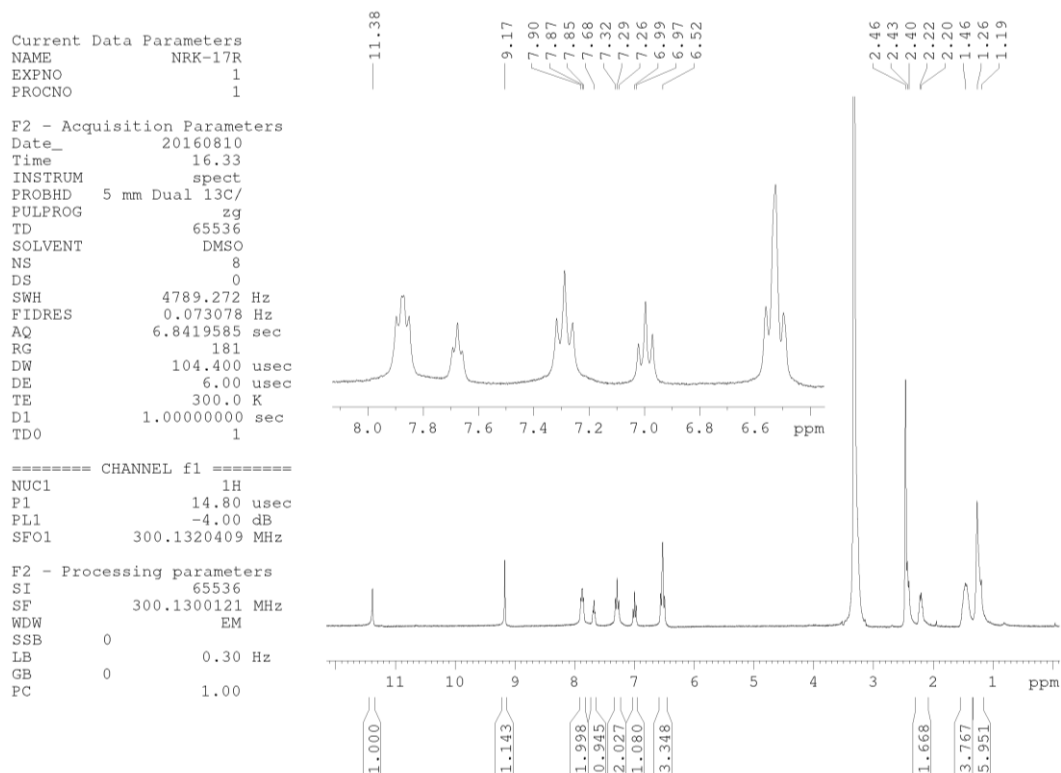
A 3: Espectro de RMN de ^1H do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3 .



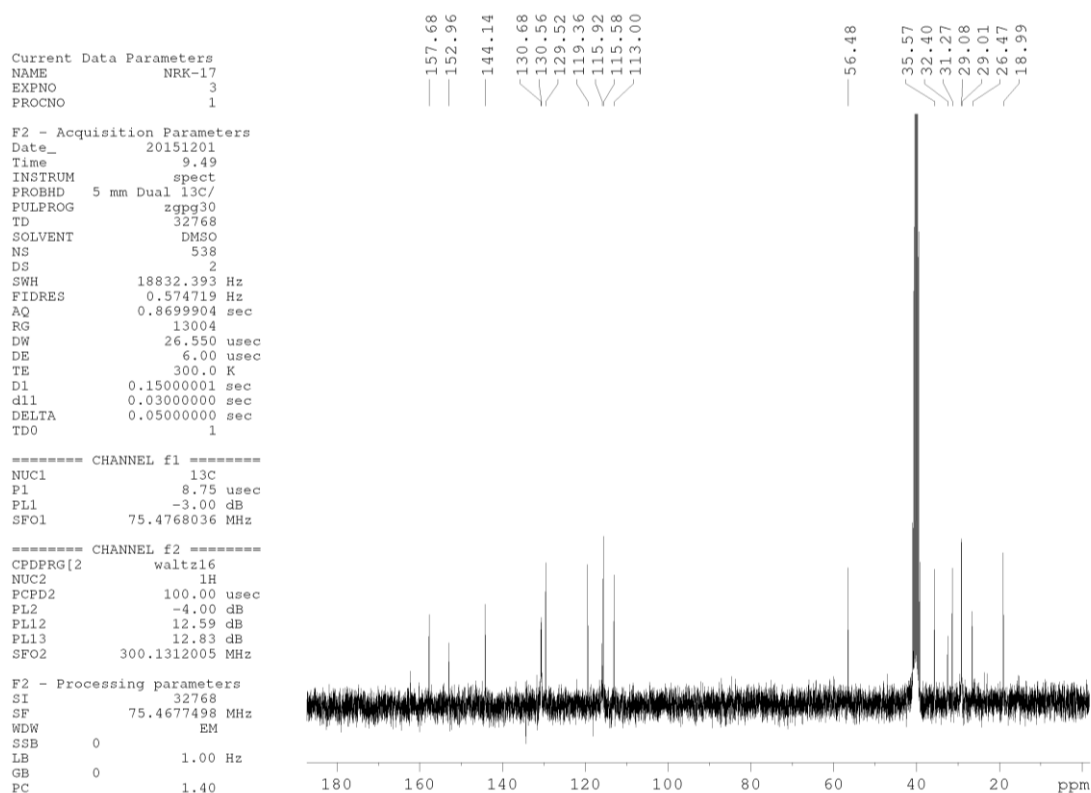
A 4: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3 .



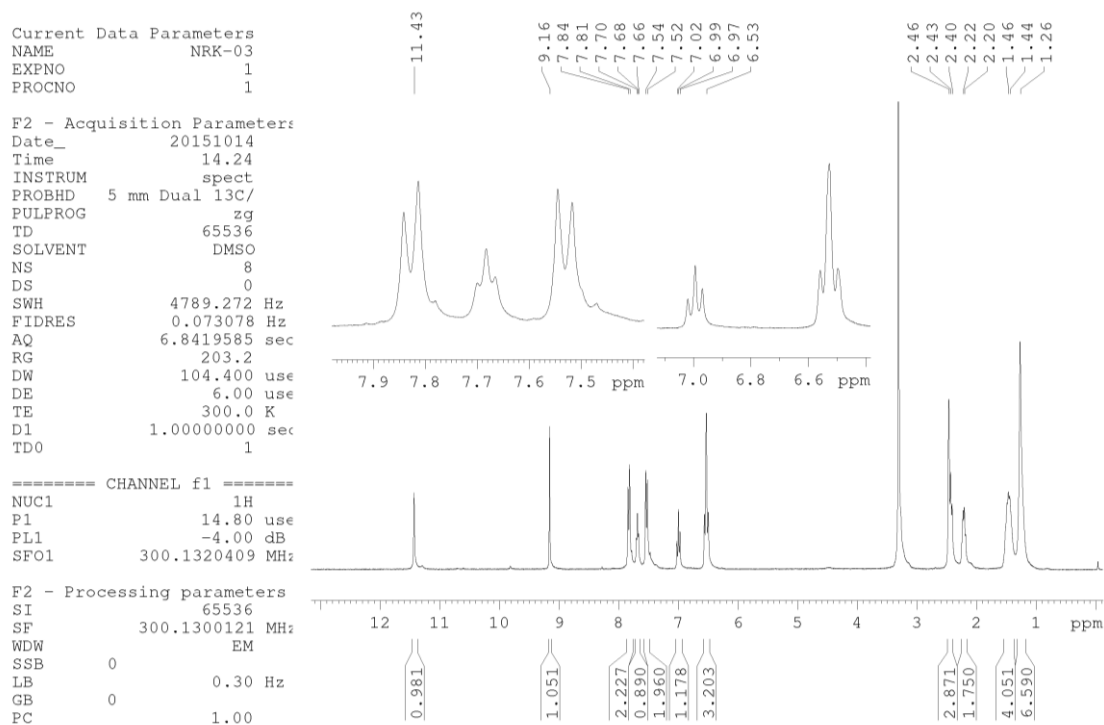
A 5: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135 do composto 3, 8-(3-hidroxifenil)octanal em CDCl_3 .



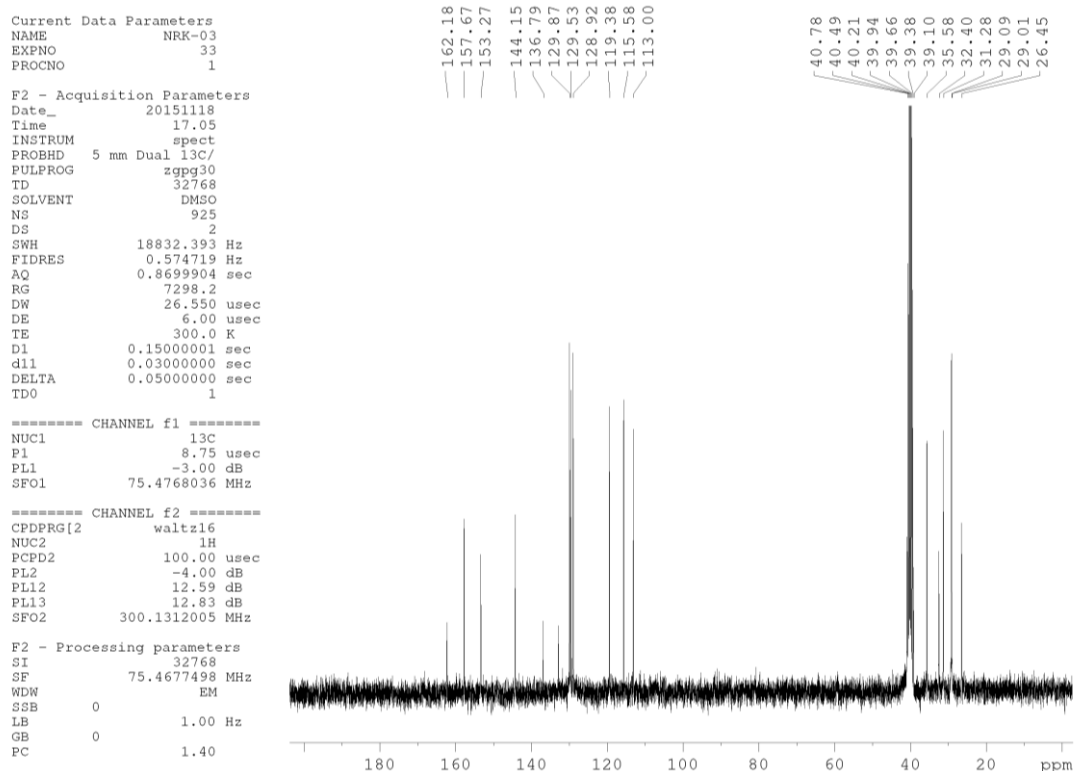
A 6: Espectro de RMN de ^1H composto 5a, (E)-4-fluoro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



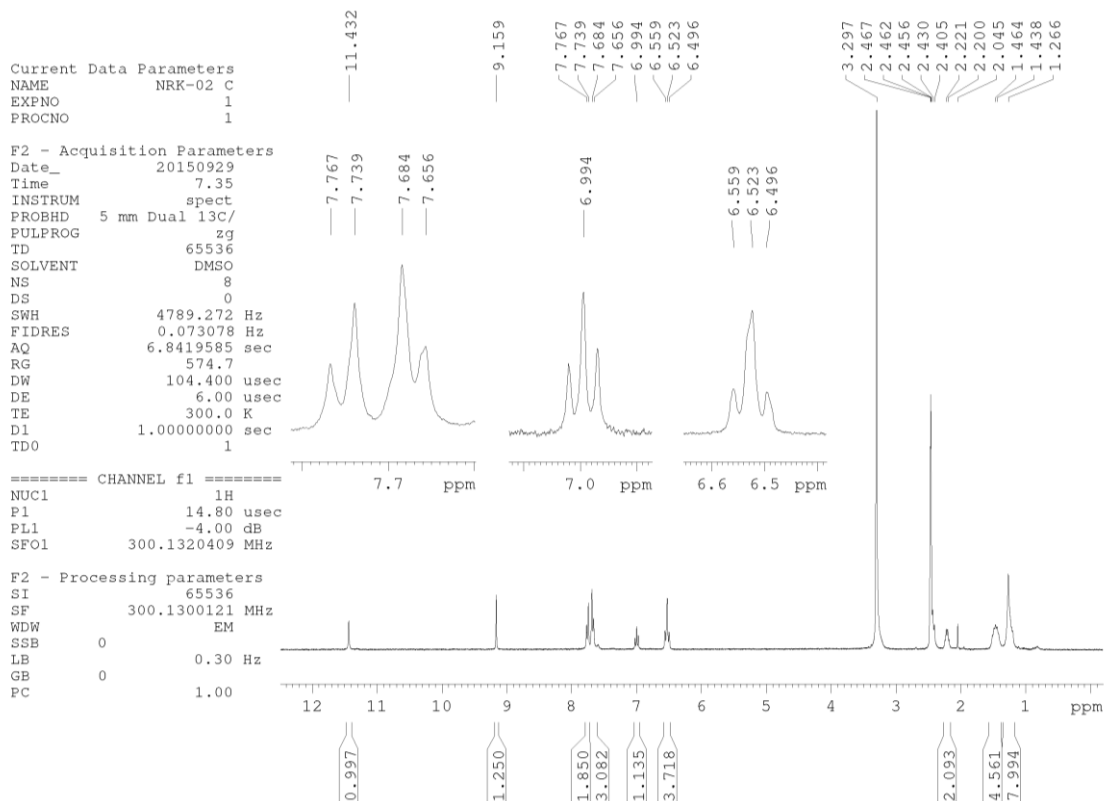
A 7: Espectro de RMN de ^{13}C composto 5a, (E)-4-fluoro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



A 8: Espectro de RMN de ^1H do composto 5b, (E)-4-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



A 9: Espectro: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5b, (E)-4-cloro-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em DMSO-d_6 .



A 10: Espectro de RMN de ^1H do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em DMSO-d_6 .

```

Current Data Parameters
NAME          NRK-02 C
EXPNO         3
PROCNO        1

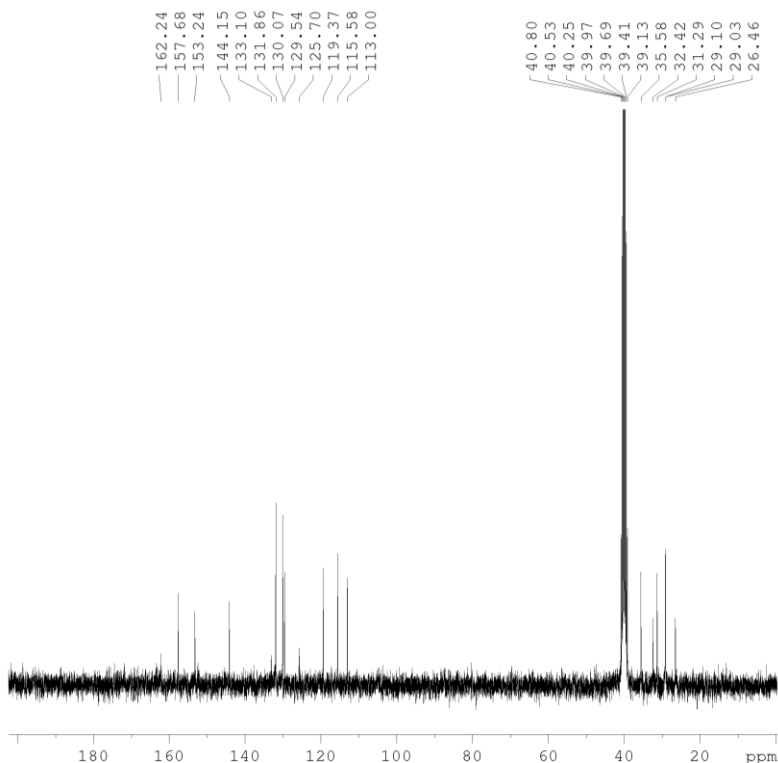
F2 - Acquisition Parameters
Date_         20151006
Time          9.24
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm Dual 13C/
PULPROG       zgpg30
TD            32768
SOLVENT       DMSO
NS            889
DS            2
SWH           18832.393 Hz
FIDRES        0.574719 Hz
AQ            0.8699904 sec
RG            13004
DW            26.550 usec
DE            6.00 usec
TE            300.0 K
D1            0.15000001 sec
d11           0.03000000 sec
DELTA         0.05000000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            8.75 usec
PL1           -3.00 dB
SFO1          75.4768036 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG[2]    waltz16
NUC2          1H
PCPD2         100.00 usec
PL2           -4.00 dB
PL12          12.59 dB
PL13          12.83 dB
SFO2          300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
SI            32768
SF            75.4677498 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            1.00 Hz
GB            0
PC            1.40

```



A 11: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno)benzohidrazide em DMSO-d_6 .

```

Current Data Parameters
NAME          NRK-02
EXPNO         7
PROCNO        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_         20160518
Time          8.50
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm Multinucl
PULPROG       cosygpgf
TD            4096
SOLVENT       DMSO
NS            2
DS            16
SWH           4789.272 Hz
FIDRES        1.169256 Hz
AQ            0.4276224 sec
RG            512
DW            104.400 usec
DE            6.00 usec
TE            300.0 K
d0            0.0000300 sec
D1            1.48689198 sec
d13           0.0000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00020880 sec

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          1H
P1            4.00 usec
PL1           -6.00 dB
SFO1          300.1320409 MHz

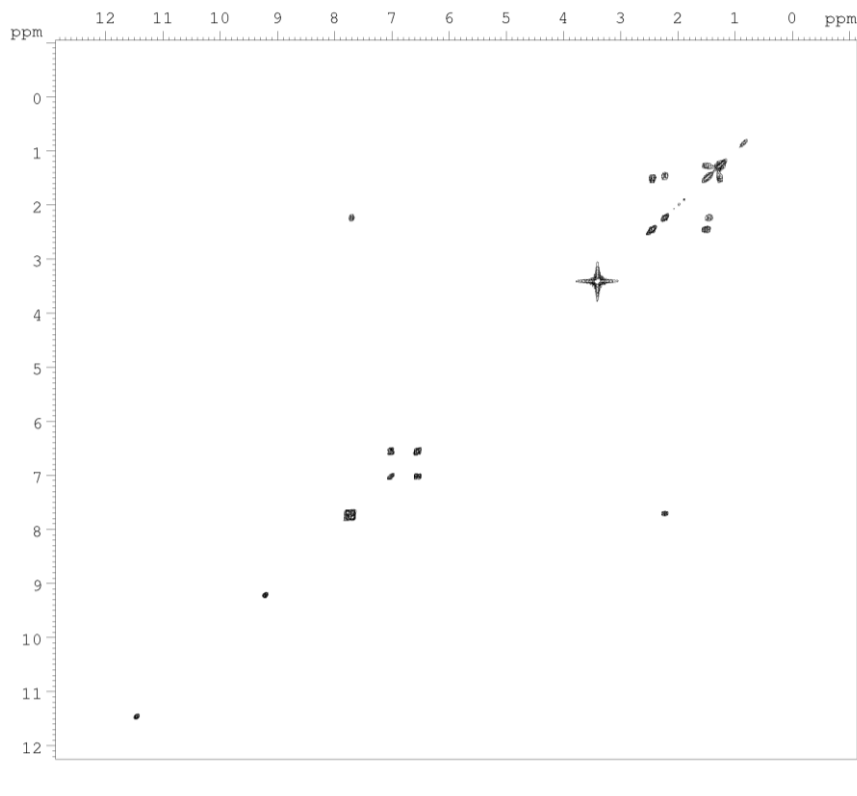
===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]      SINE.100
GPZ1          10.00 %
P16           1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD            256
SFO1          300.132 MHz
FIDRES        37.416187 Hz
SW            15.957 ppm
F1MODE        QF

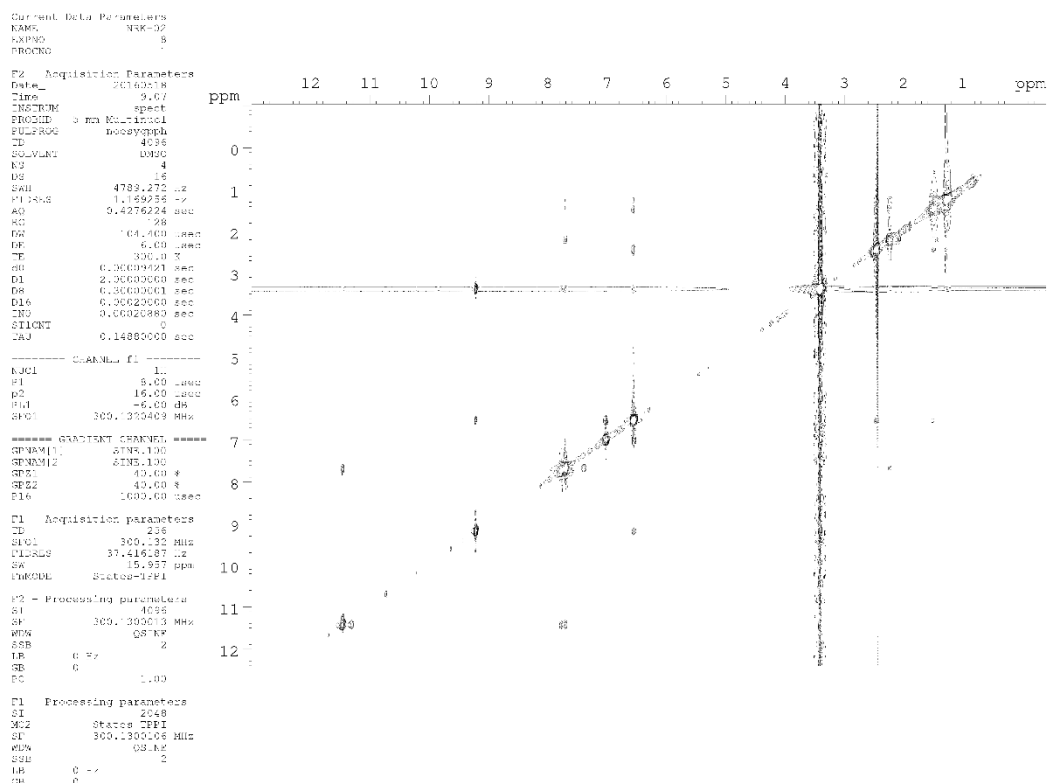
F2 - Processing parameters
SI            4096
SF            300.1300034 MHz
WDW           SINE
SSB           0
LB            0 Hz
GB            0
PC            1.40

F1 - Processing parameters
SI            2048
MC2           QF
SF            300.1299979 MHz
WDW           SINE
SSB           0
LB            0 Hz
GB            0

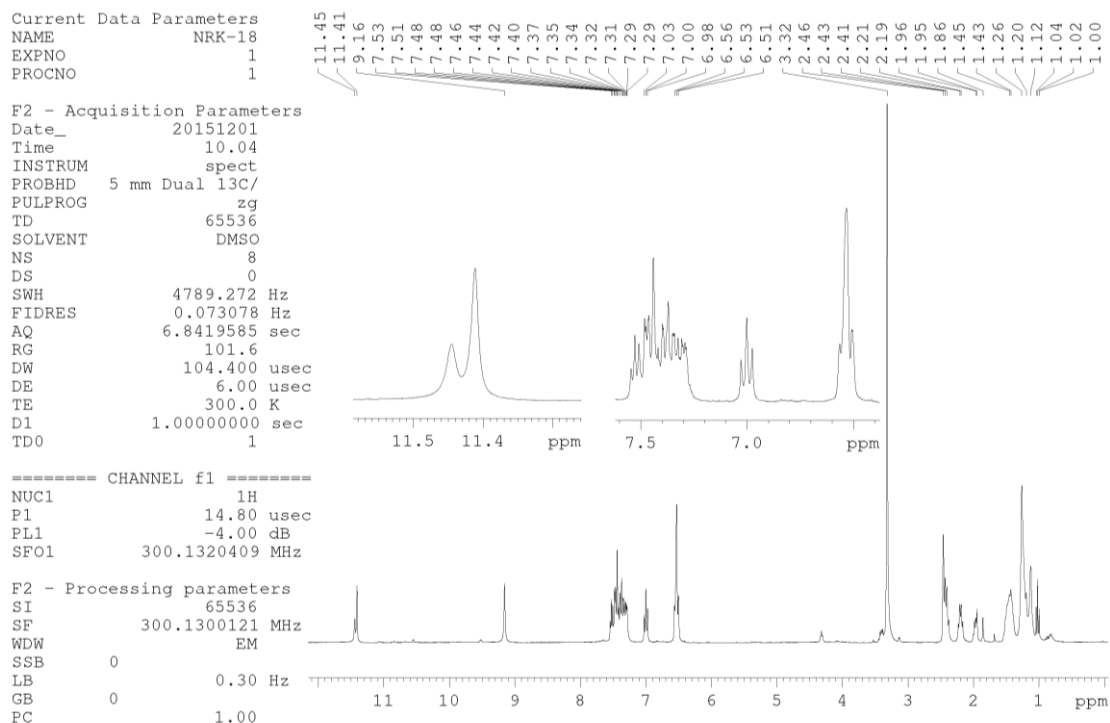
```



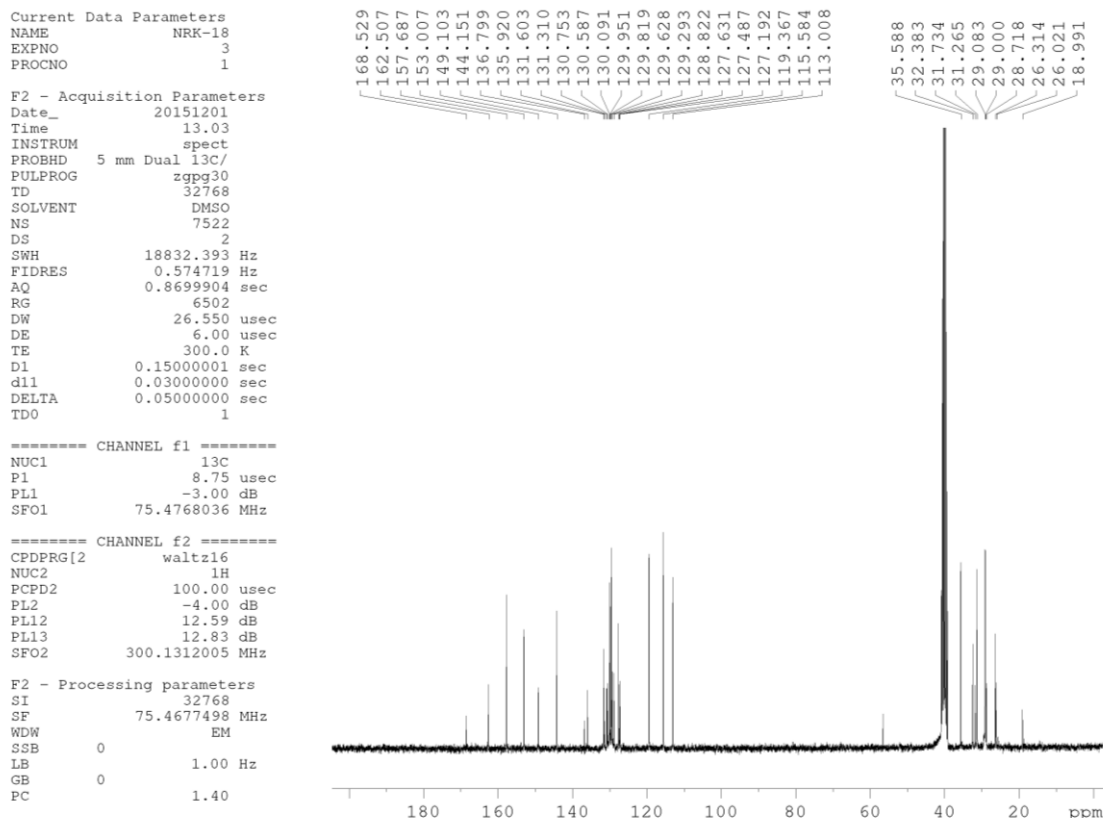
A 12: Mapa de correlações homonuclear ^1H - ^{13}C , gCOSY do composto 5c, (E)-4-bromo-N'-(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida DMSO-d_6 .



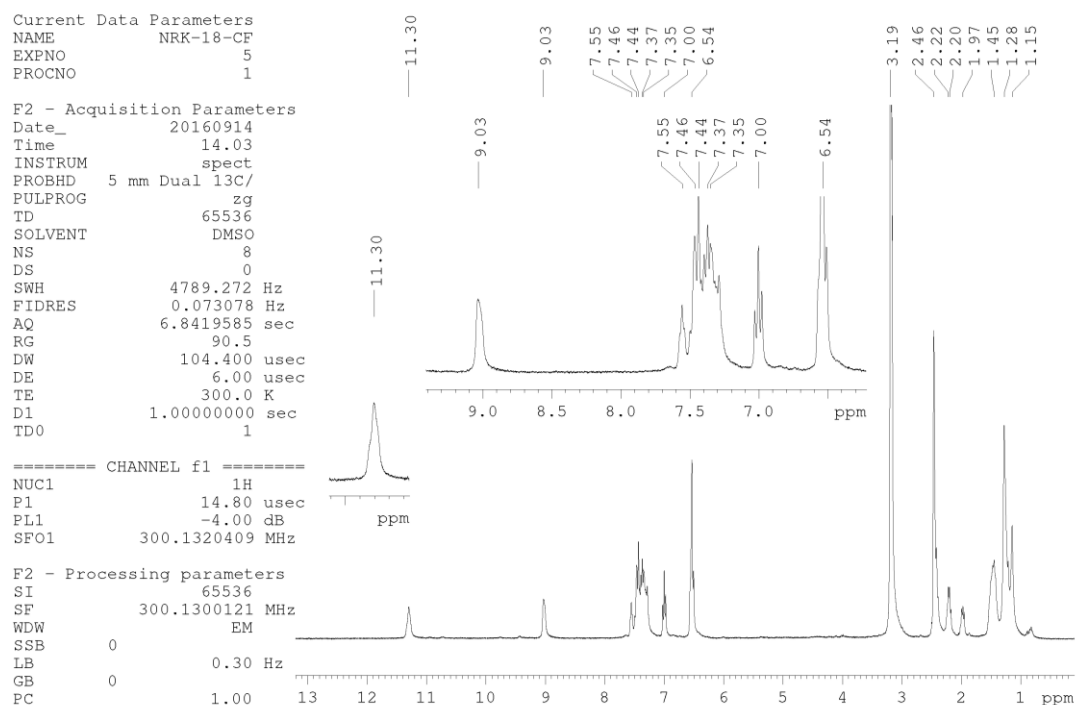
A 13: Mapa de correlações espaciais, ^1H - ^1H gNOESY do composto 5c, (E)-4-bromo- N' -(8-(3-hidroxifenil)octilideno) benzohidrazida.



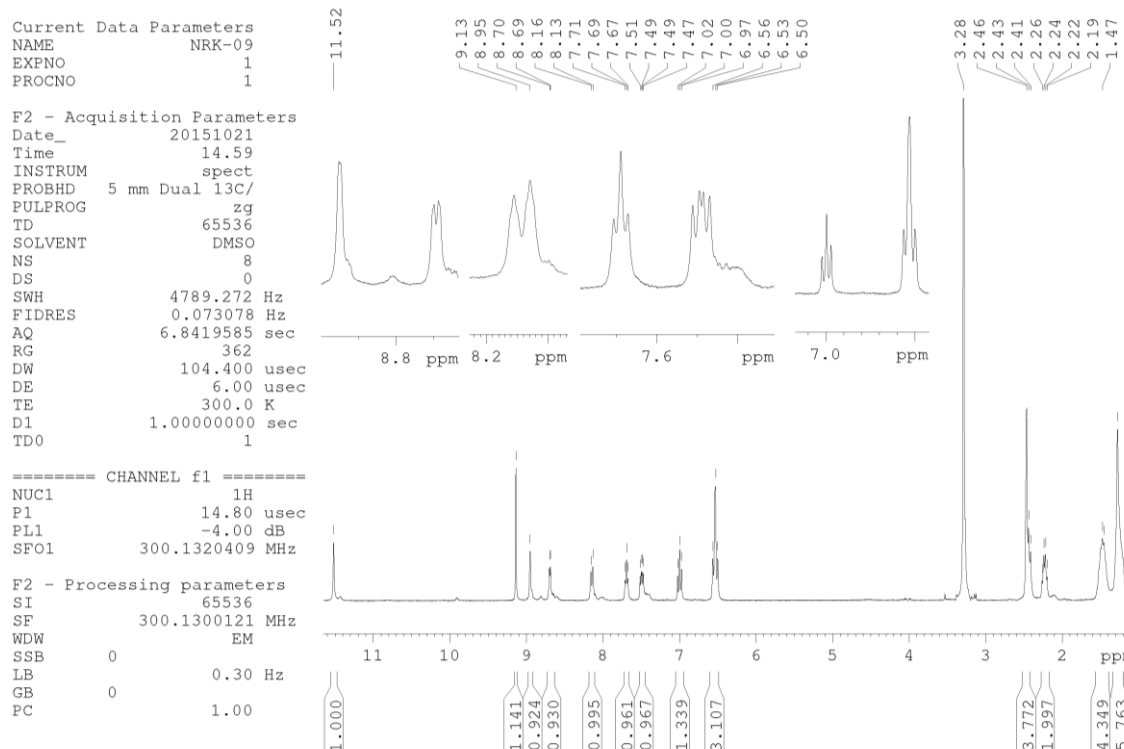
A 14: Espectro de RMN de ^1H do composto 5d, 2-cloro- N' -(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



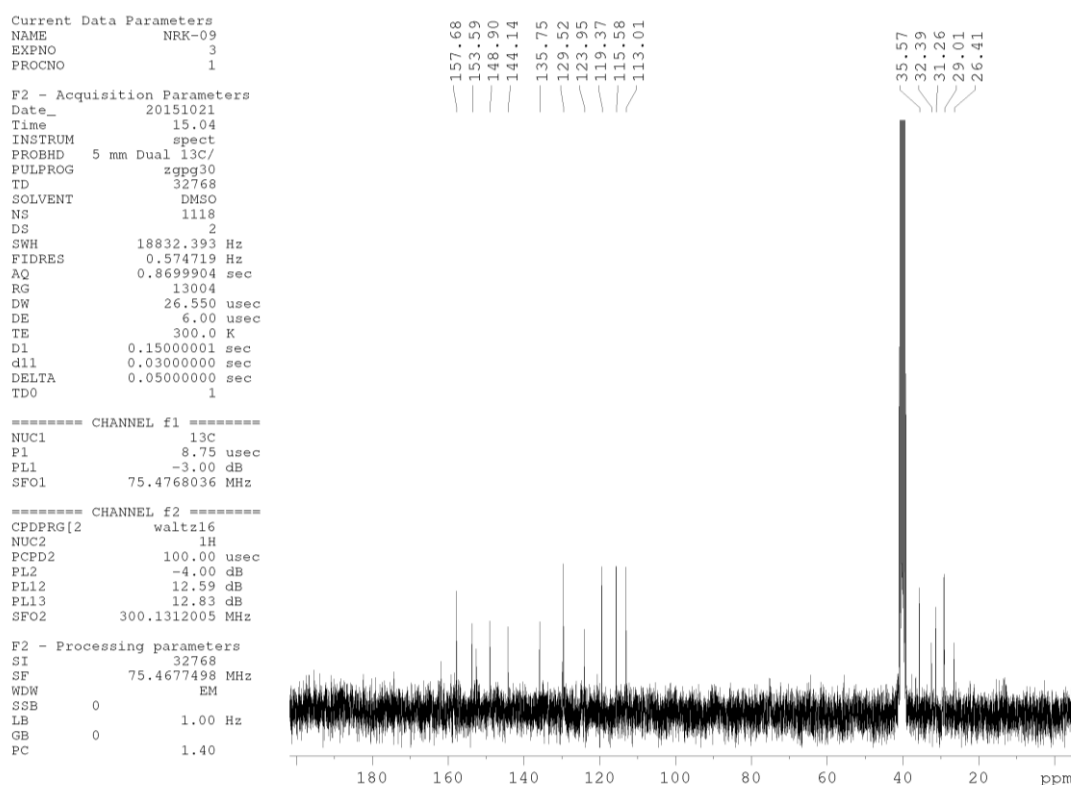
A 15: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5d, 2-cloro- N' -(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em DMSO-d_6 .



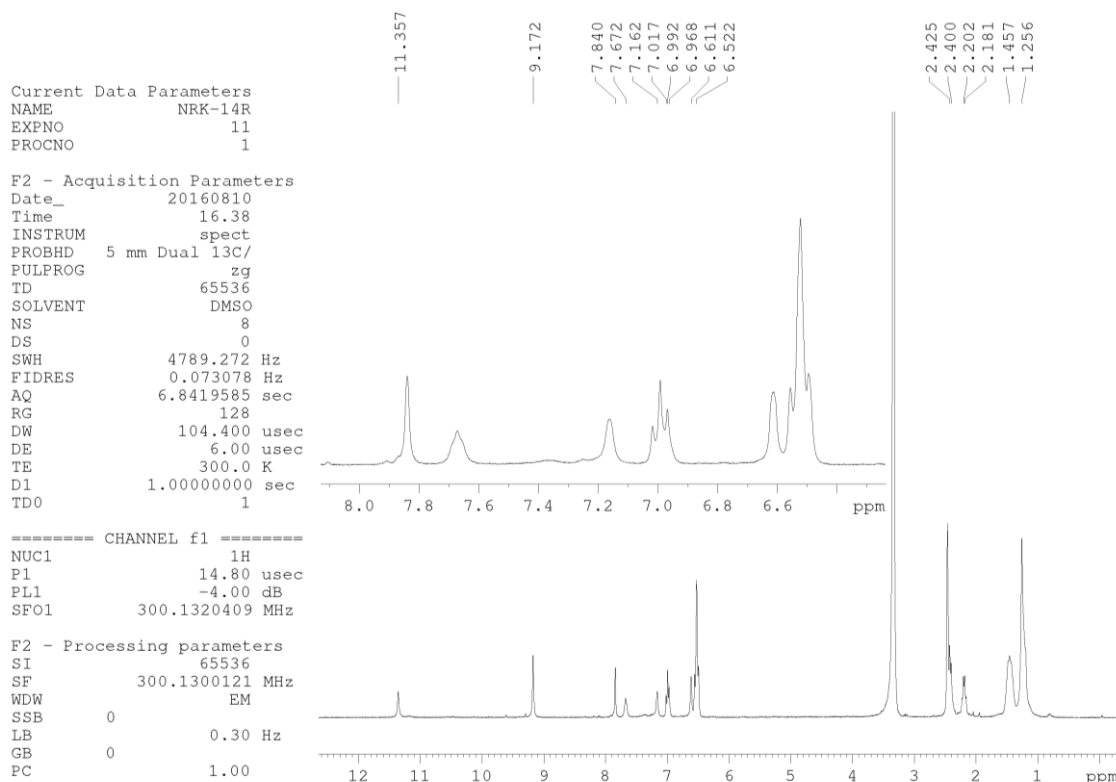
A 16: Espectro de RMN de ^1H do composto 5d, 2-cloro- N' -(8-(3-hidroxifenil)octalideno)benzohidrazida em DMSO-d_6 após aquecimento a 60°C .



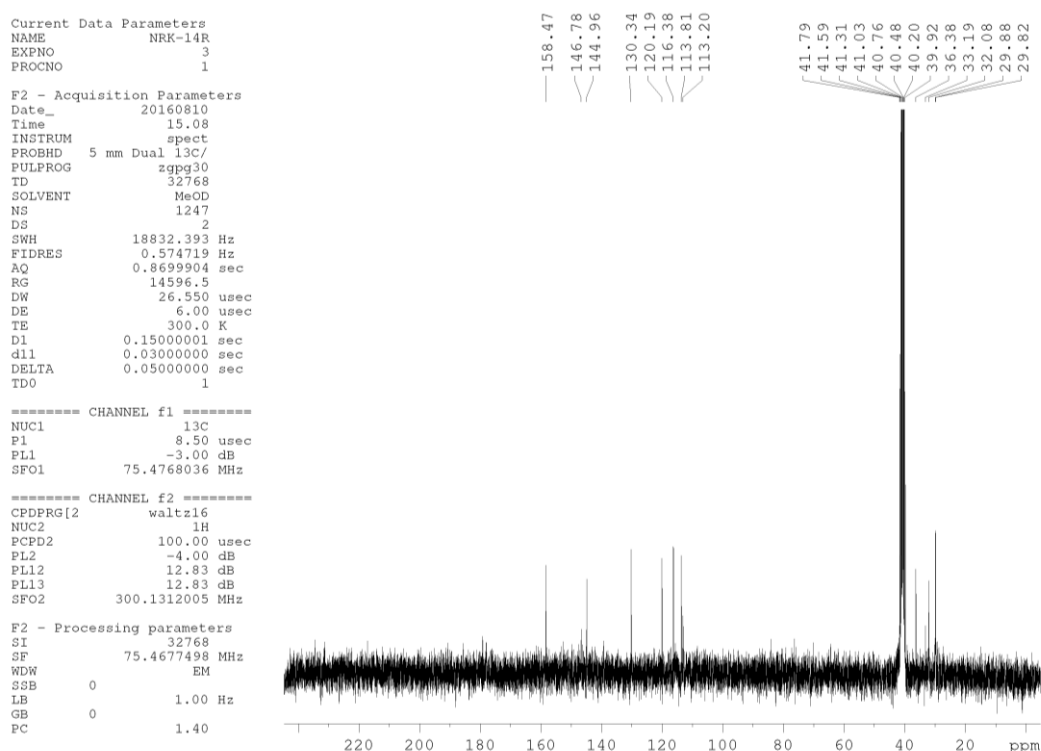
A 17: Espectro de RMN de ^1H do composto 5e, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno) nicotinahidrazida em DMSO-d_6 .



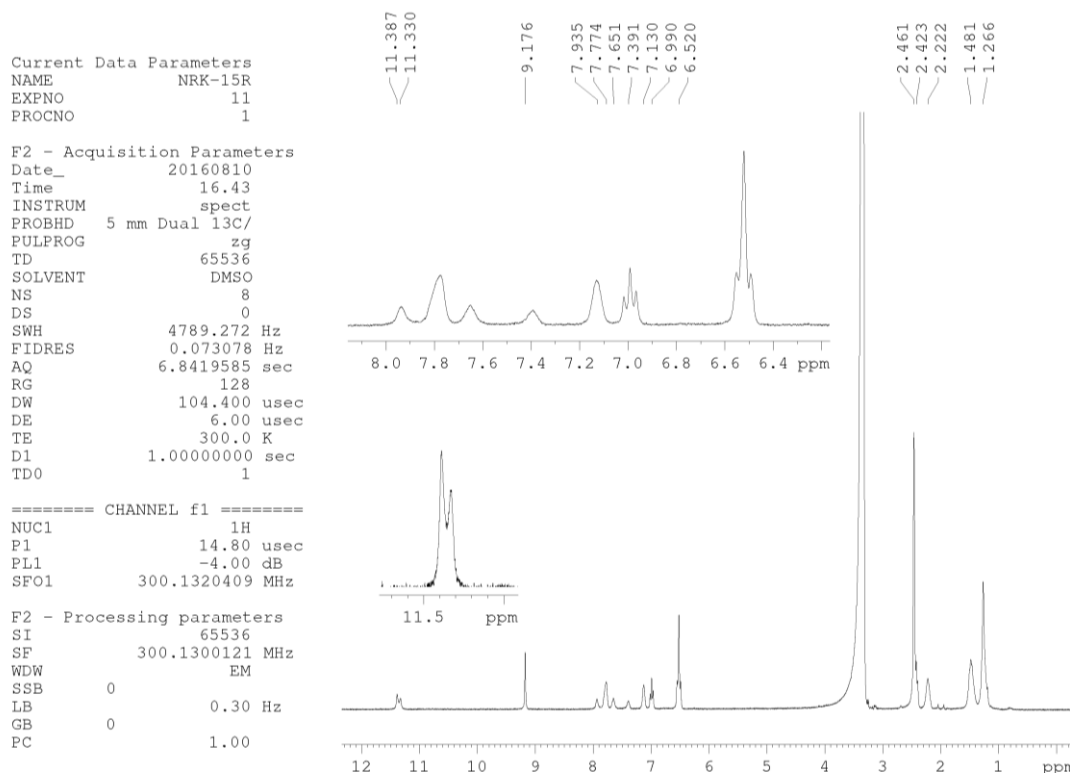
A 18: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5e, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno) nicotinahidrazida em DMSO-d_6 .



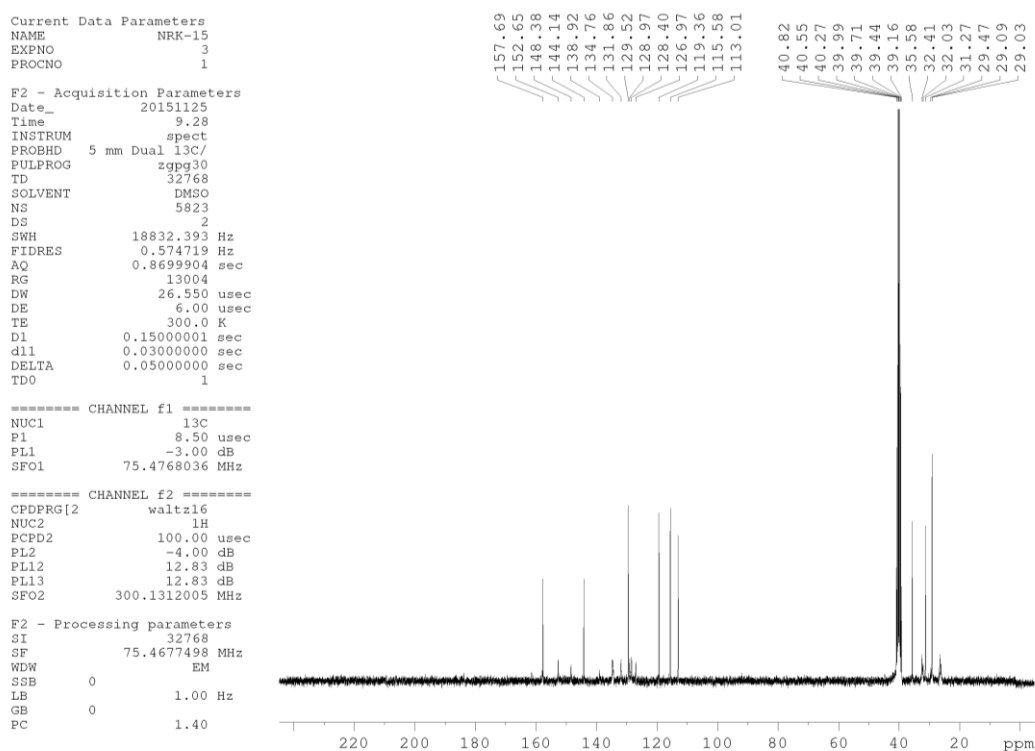
A 19: Espectro de RMN de ^1H do composto 5f, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)furano-2-carbohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



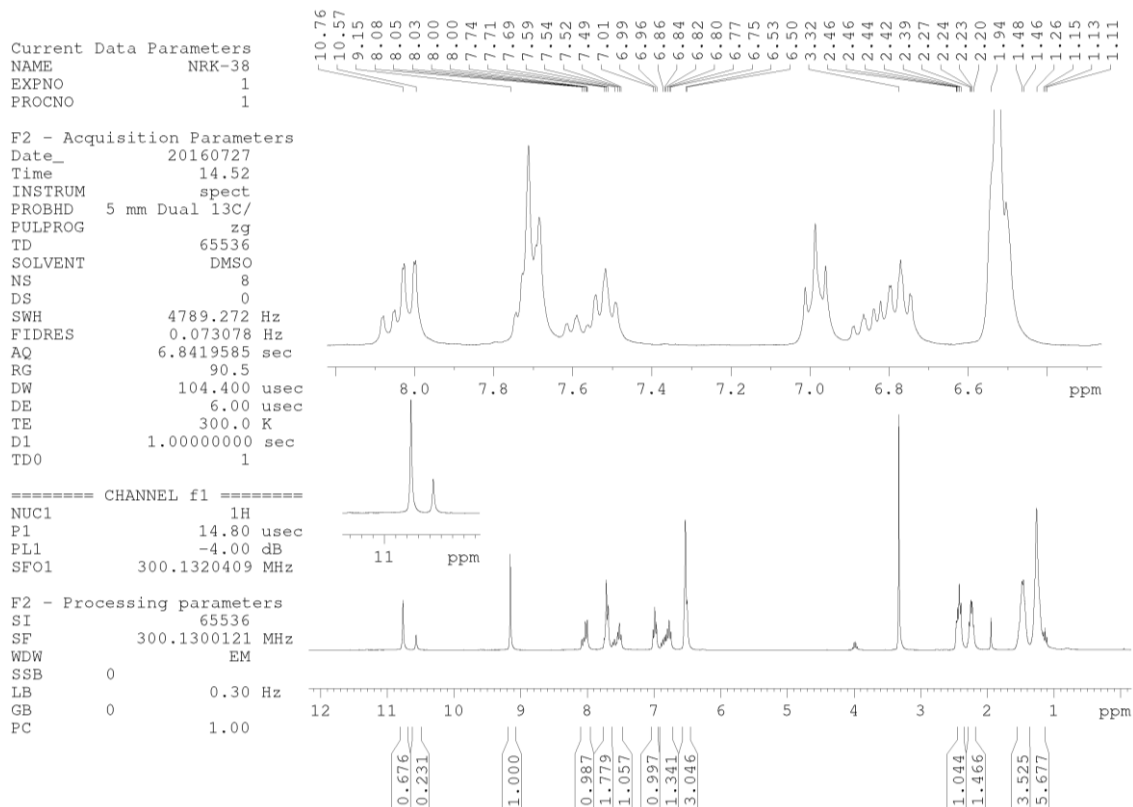
A 20: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5f, (E)-N'-(8-(3-hidroxifenil)octalideno)furano-2-carbohidrazida em $\text{DMSO}-d_6$.



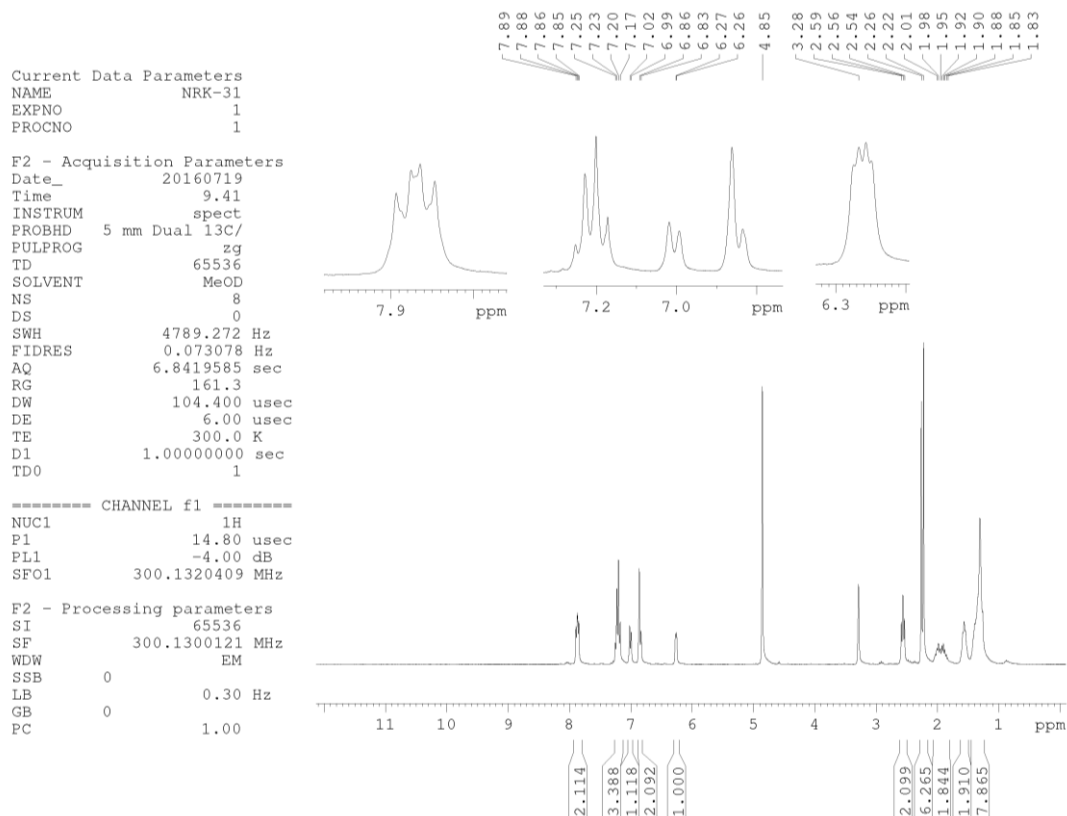
A 21: Espectro de RMN de ^1H do composto 5g, *N'*-(8-(3-hidroxifenil) octalideno)tiofeno-2-carbohidrazida em DMSO-d_6 .



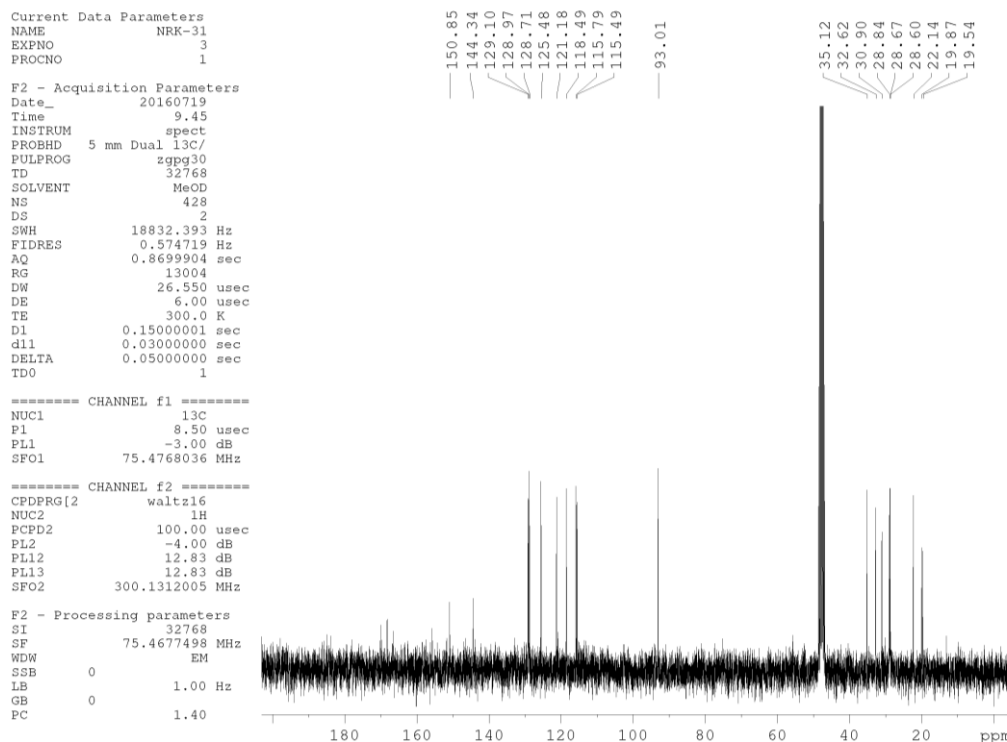
A 22: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5g, *N'*-(8-(3-hidroxifenil) octalideno)tiofeno-2-carbohidrazida em DMSO-d_6 .



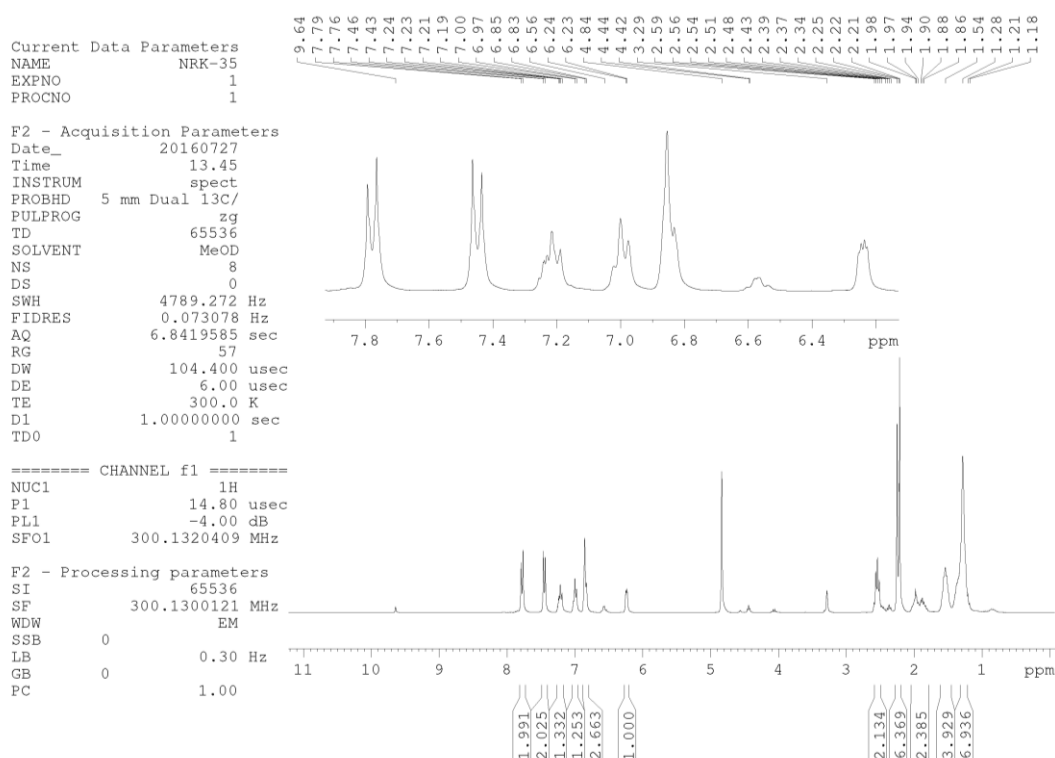
A 23: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7e, 3-(8-(2-(2-nitrofenil)hidrazona)octil)fenol em DMSO-d_6 .



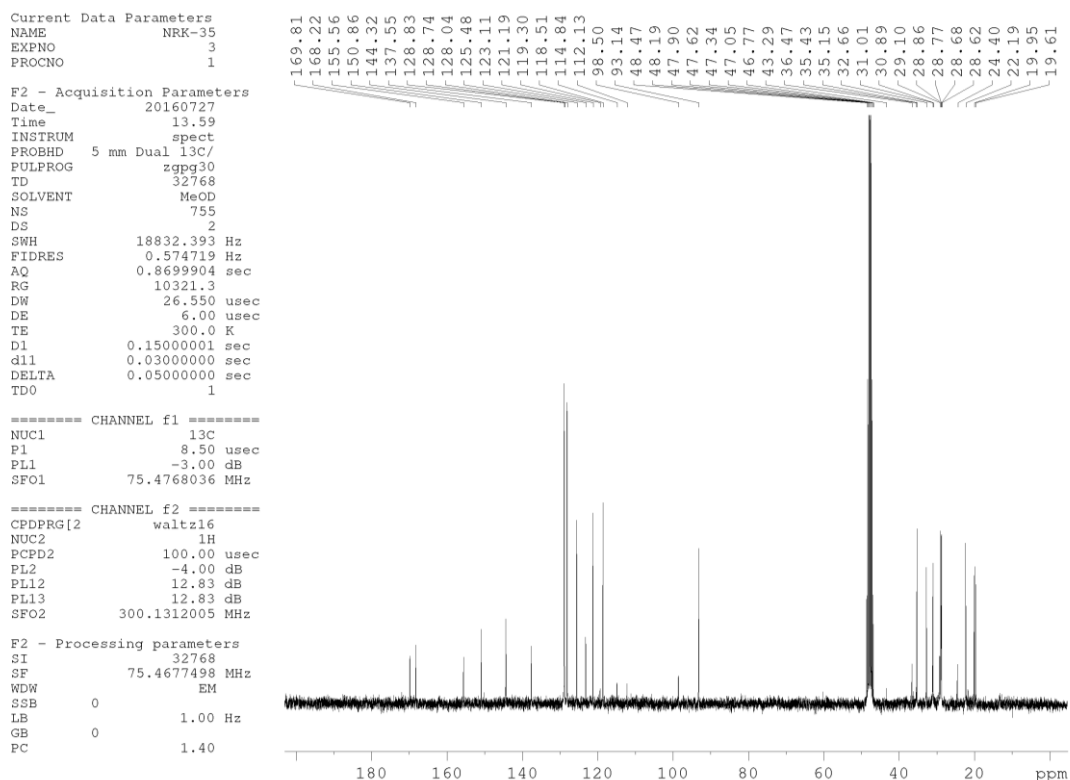
A 24: Espectro de RMN de ^1H do composto 8a, 3-(7-(3-acetil-5-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol-d_4 .



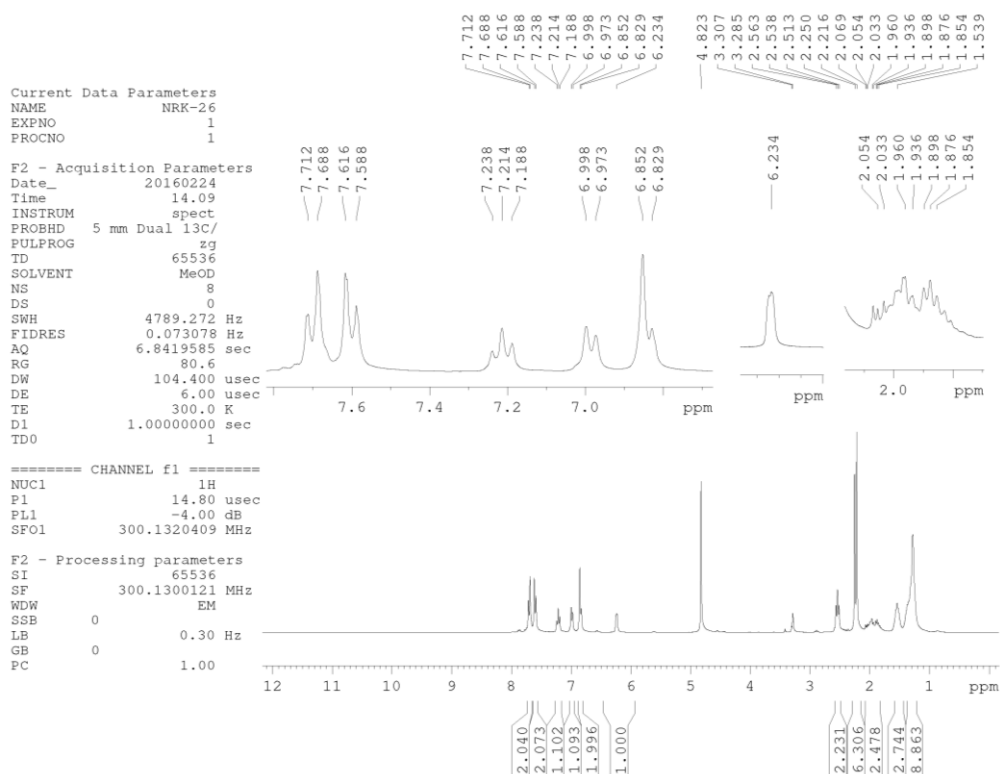
A 25: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8a, 3-(7-(3-acetil-5-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



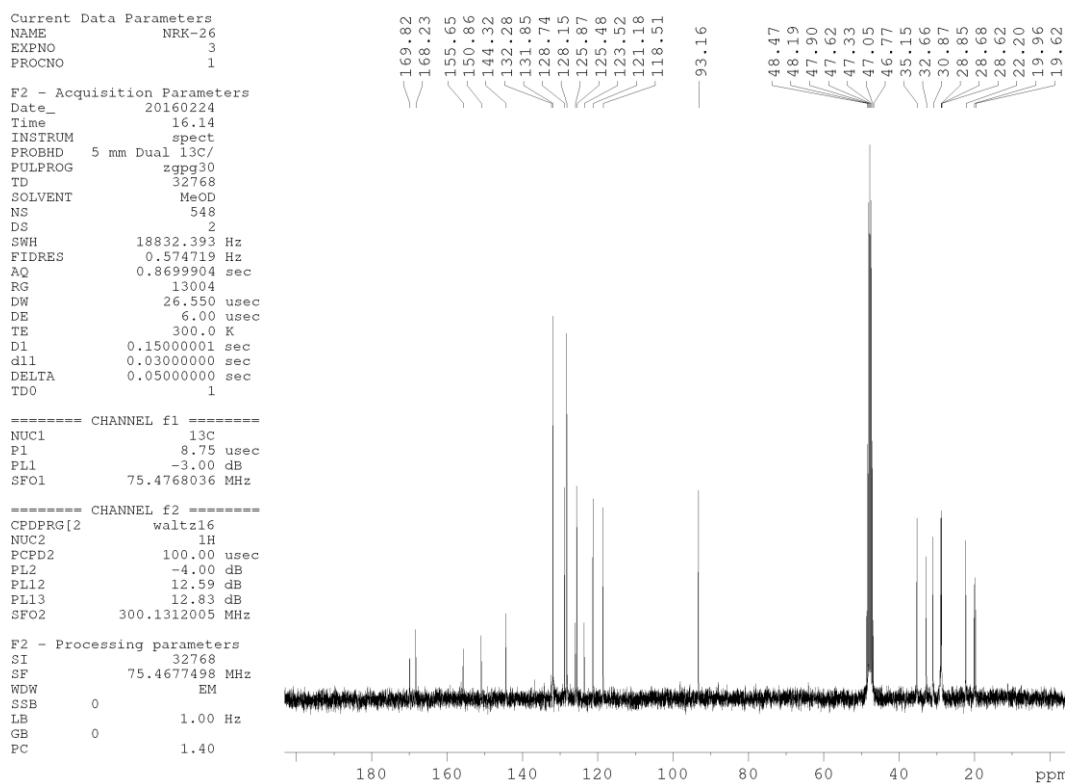
A 26: Espectro de RMN de ^1H do composto 8b, 3-(7-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



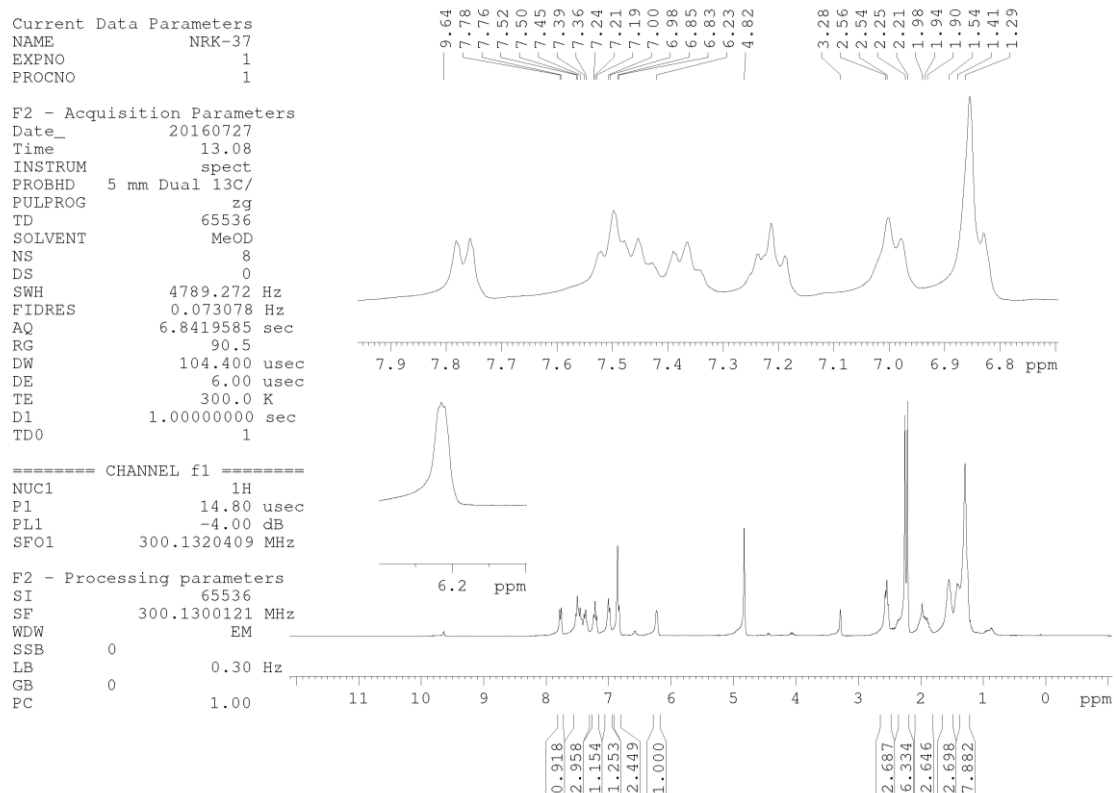
A 27: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8b, 3-(7-(3-acetil-5-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



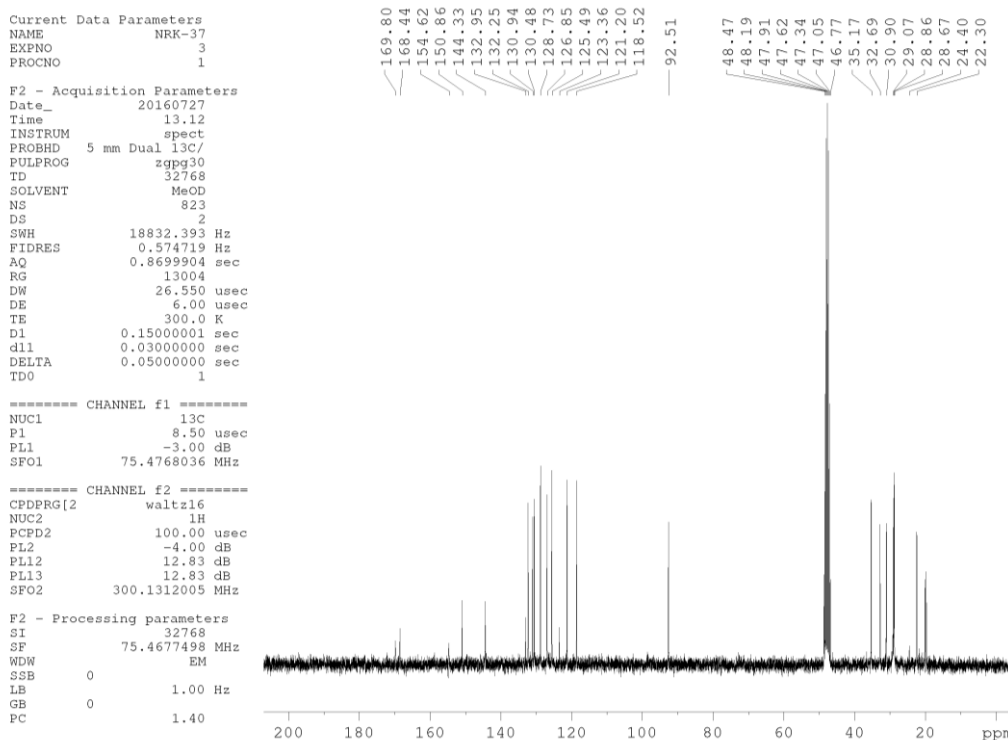
A 28: Espectro de RMN de ^1H do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



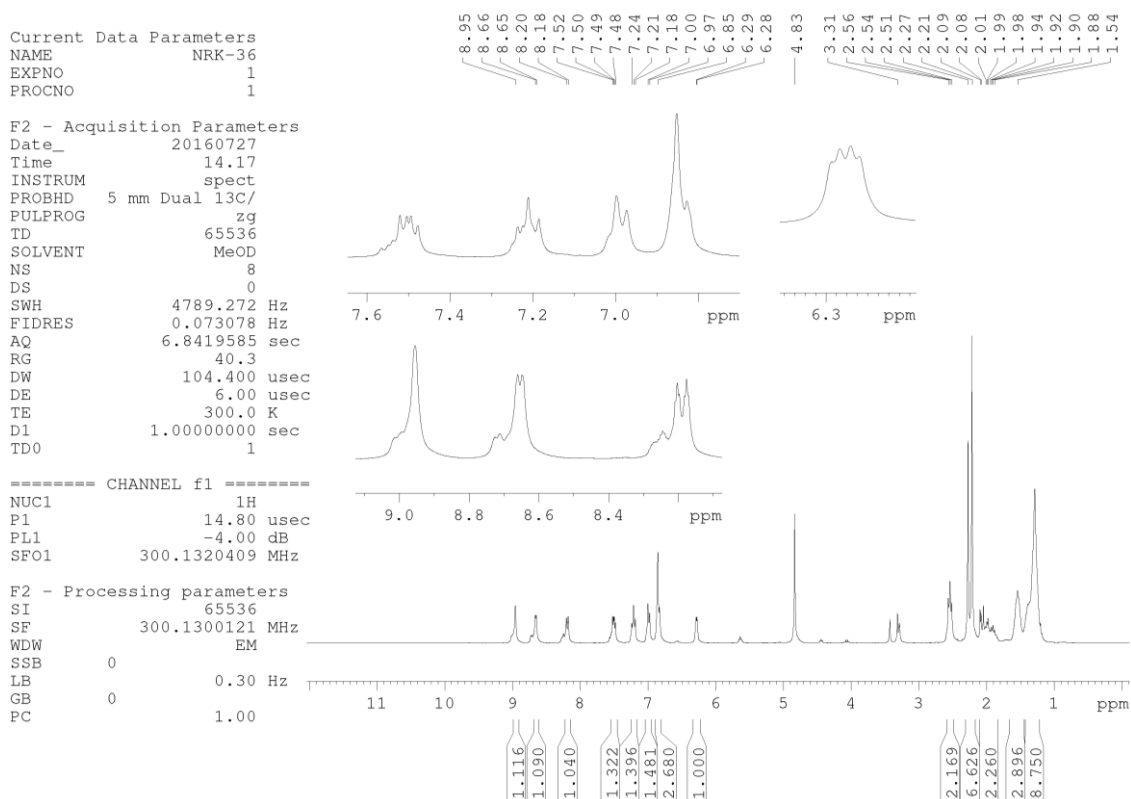
A 29: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8c, 3-(7-(3-acetil-5-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



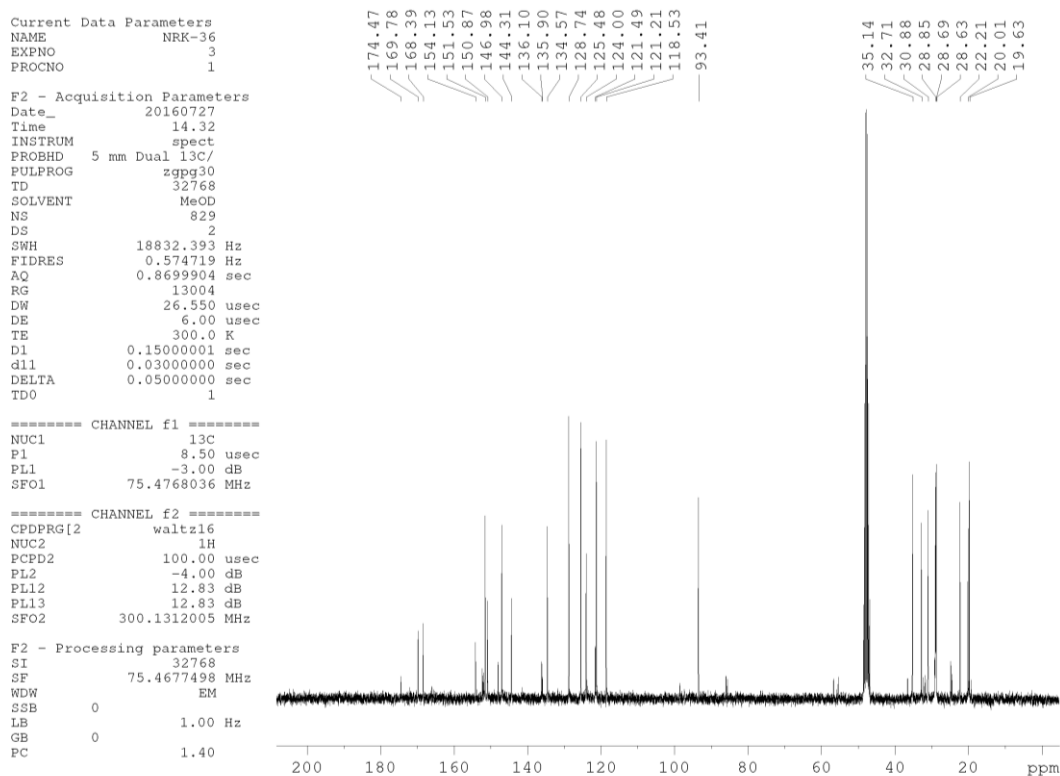
A 30: Espectro de RMN de ^1H do composto 8d, 3-(7-(3-acetil-5-(2-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



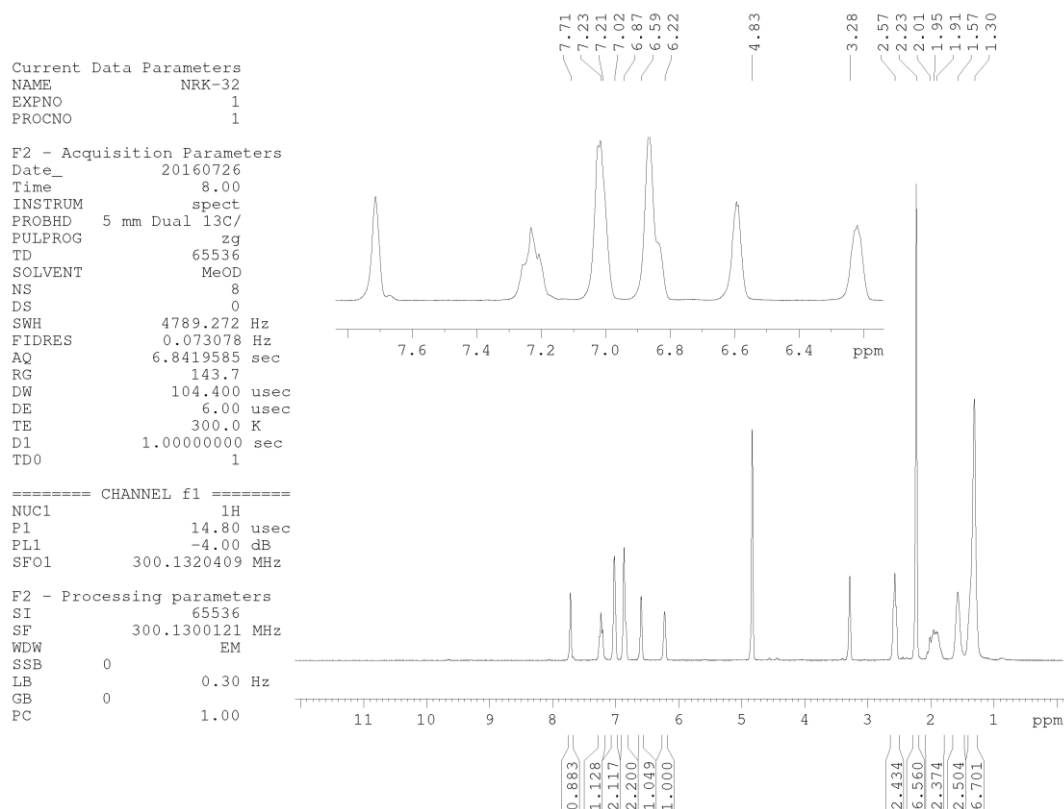
A 31: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8d, 3-(7-(3-acetil-5-(2-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



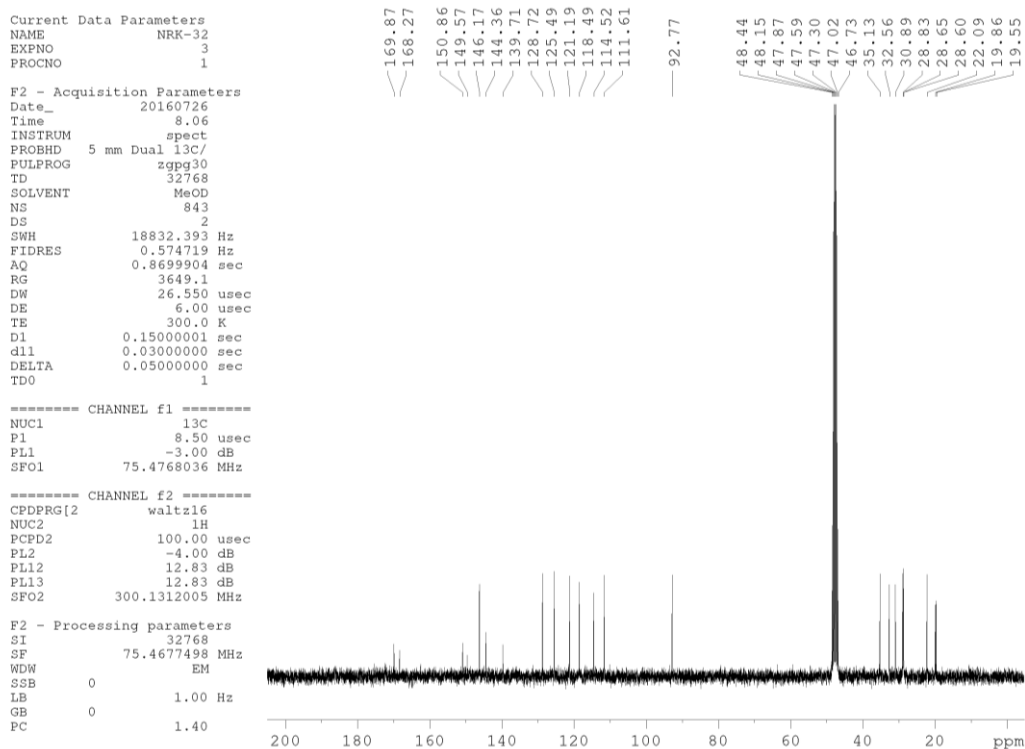
A 32: Espectro de RMN de ^1H do composto 8e, 3-(7-(3-acetil-5-(piridin-3-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



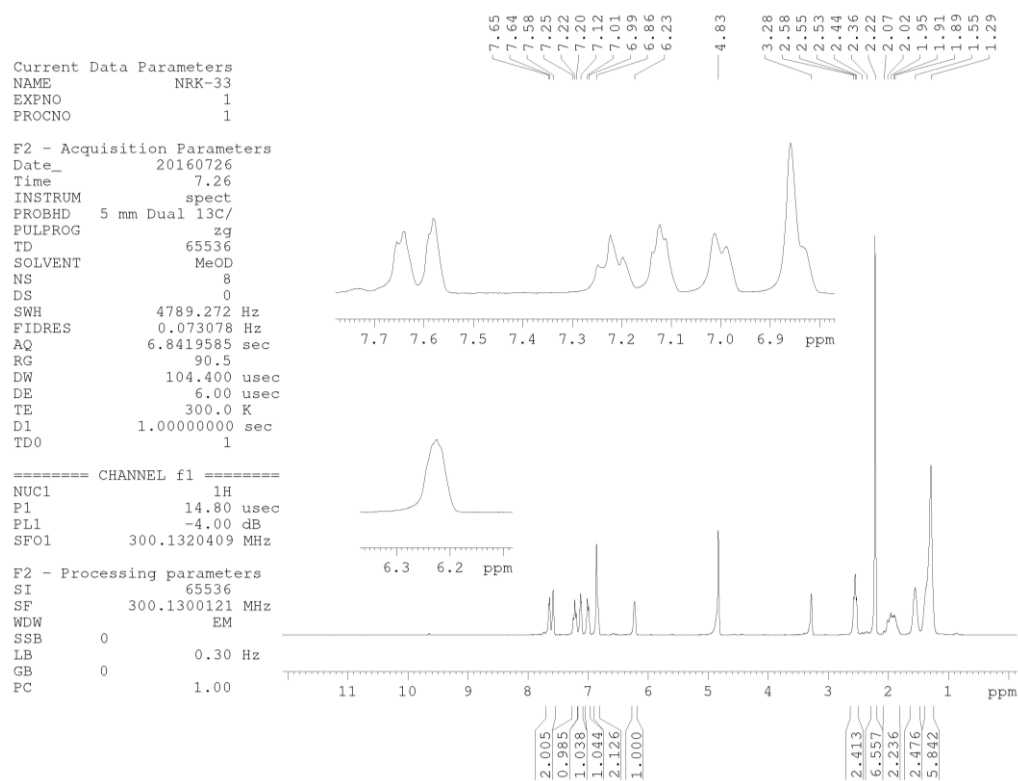
A 33: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8e, 3-(7-(3-acetil-5-(piridin-3-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



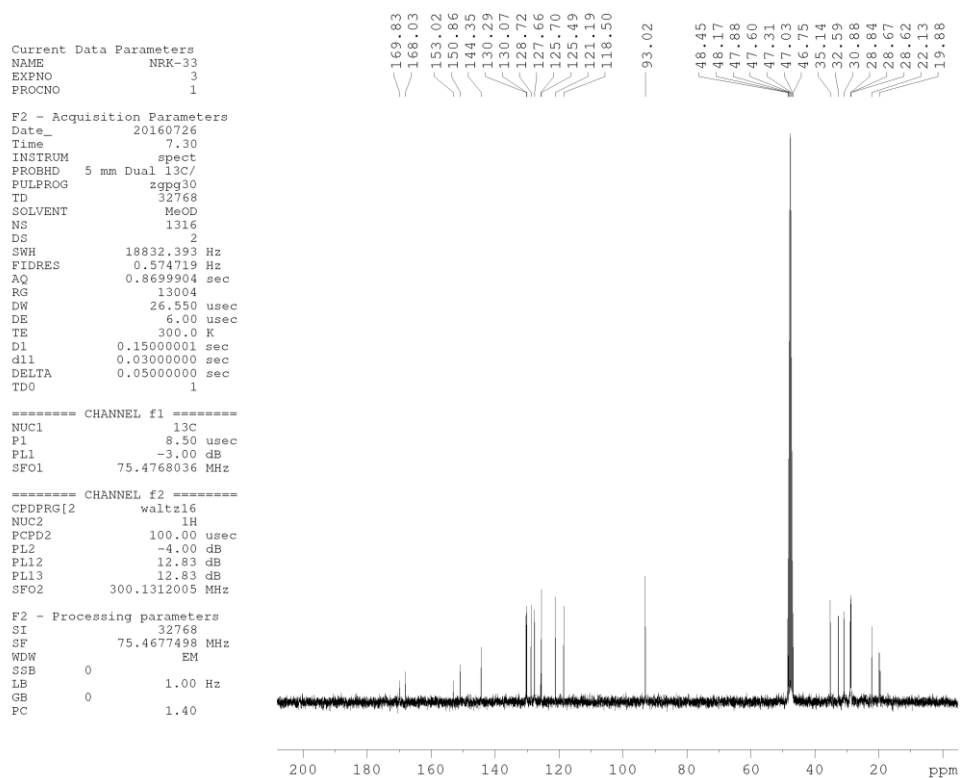
A 34: Espectro de RMN de ^1H do composto 8f, 3-(7-(3-acetil-5-(furan-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



A 35: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8f, 3-(7-(3-acetil-5-(furan-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em Metanol- d_4 .



A 36: Espectro de RMN de ^1H do composto 8g, 3-(7-(3-acetil-5-(tiofen-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4 .



A 37: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8g, 3-(7-(3-acetil-5-(tiofen-2-il)-2,3-dihidro-1,3,4-oxadiazol-2-il)heptil)fenilacetato em MeOD- d_4 .