

Síntese, Caracterização, Avaliação Citotóxica e Antimicrobiana de 2-(3-Aril-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol

Synthesis, Characterization, Cytotoxic and Antimicrobial Evaluation of 2-(3-Aryl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-ethanethiol

Mauricélia M. de Souza Mata,^a Maria V. de Sales Barbosa,^a Jucarlos R. de Freitas,^b Bianca M. Macário Gonçalves Acioli,^a Gisele B. Bezerra,^a Moacyr Cunha Filho,^b Jucleiton J. Rufino de Freitas,^c Juliano C. Rufino de Freitas,^{a,d,*} João R. de Freitas Filho^{a,#}

^a Universidade Federal de Rural de Pernambuco, Departamento de Química, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

^b Universidade Federal de Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biometria e Estatística Aplicada, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, CEP 52171-900, Recife-PE, Brasil.

^c Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica do Cabo de Santo Agostinho, Rua Cento e Sessenta e Três 300, Cohab, CEP 54518-430, Cabo de Santo Agostinho-PE, Brasil.

^d Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, Olho D'água da Bica s/n, CEP 58175-000, Cuité-PB, Brasil.

*E-mail: joaoveronice@yahoo.com.br; rufinofreitas@dq.ufrpe.br

#E-mail: julianocrufino@yahoo.com.br

Recebido em: 14 de Outubro de 2020

Aceito em: 9 de Junho de 2021

Publicado online: 27 de Setembro de 2021

Among the different classes of heterocyclic compounds, oxadiazoles deserve to be highlighted, because these molecules have the most varied applications, whether in medicinal chemistry, in the chemistry of new materials, as well as in agricultural chemistry. This work describes the synthesis, characterization, and evaluation of the cytotoxic and antimicrobial activities of a series of 2-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-ethanethiol **7a-d**. The synthesis of **3a-d** amidoximes was performed by ultrasound irradiation, in a time ranging from 30-90 min and with yields range between excellent to good. On the other hand, the synthesis of 1,2,4-oxadiazole **7a-d** was developed, lasting 10 minutes, using microwave irradiation providing the compounds in moderate yields. The structures of **7a-d** were characterized by infrared and nuclear magnetic resonance techniques (¹H and ¹³C NMR). The cytotoxic evaluation was performed against *Artemia salina*, where it was found that the mortality percentage varied from 75-100% in all concentrations. As for antimicrobial activity, it was found that the compound **70c** was the most active against the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* (Gram-positive). All compounds demonstrated a good ability to inhibit the growth of *Escherichia coli* (Gram-negative) bacteria.

Keywords: 1,2,4-Oxadiazole; cytotoxic; antimicrobial activity.

1. Introdução

Os compostos heterocíclicos constituem uma importante classe de substâncias orgânicas com aplicações nas mais variadas áreas,¹ podendo ser usados como aditivos e modificadores nas indústrias de cosmético, plásticos, antioxidantes e solventes, além de atuarem em diversos processos bioquímicos.² Entre as diversas classes de compostos heterocíclicos, os oxadiazóis merecem destaque, isto porque essas moléculas apresentam as mais variadas aplicações, quer seja na química medicinal, quer seja na química de novos materiais, como também na química agrícola.³

Por outro lado, os 1,2,4-oxadiazóis são compostos de cinco membros pertencentes a classe dos azóis e apresentam aplicações na ciência de materiais, em diferentes setores industriais e, especialmente, na química medicinal.⁴ Os 1,2,4-oxadiazóis, em especial, apresentam um espectro biológico de atividades que incluem, por exemplo, ação anti-inflamatória,⁵ antifúngica,⁶ antibiótica,⁷ antioxidante,⁸ propriedades anticonvulsivantes⁹ e anticâncer.¹⁰ Adicionalmente, a unidade 1,2,4-oxadiazólica se apresenta na estrutura de vários fármacos disponíveis no mercado.⁵

Conseqüentemente, na literatura são descritas várias abordagens para a síntese desta classe de compostos. Por exemplo, para síntese de 1,2,4-oxadiazóis duas rotas clássicas são bastante conhecidas e amplamente utilizadas: a) cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrila à nitrilas¹¹; b) ciclização de derivados de amidoxima.¹²

Em particular, os óxidos de nitrila que sofrem cicloadição [3 + 2] eficiente com imidatos, levando a uma série de derivados de 1,2,4-oxadiazol substituídos de maneira variada, conforme descrito por Hachicha *et al.* (2016).¹³ Todavia, a ciclização de derivados de amidoximas é uma das rotas de síntese que envolve o acoplamento de uma amidoxima com um grupo carboxila ativado, produzindo uma *O*-acilamidoxima seguida de ciclodesidratação. Convém destacar que a ciclização de *O*-acilamidoximas podem ser realizadas através de um método clássico com uso de aditivos, tais como, *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida (DCC),¹⁴ *N*- [3-(dimetilamino)-propil]-*N'*-etilcarbodiimida (EDC),¹⁵ *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) [24],¹⁶ *O*-(benzotriazol-

1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametilurônio tetrafluoroborato (TBTU),¹⁷ e *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC)/HOBt.¹⁸ No entanto, essas reações são demoradas e exigem altas temperaturas, formam-se subprodutos e, em geral, são difíceis purificação.¹⁹

Nos dias atuais, um protocolo alternativo para a síntese de 1,2,4-oxadiazóis faz uso da irradiação de micro-ondas, a irradiação de ultrassom e o aquecimento na ausência de solvente e de base, que do ponto de vista da química verde representa uma alternativa ambientalmente benigna em síntese orgânica [28-31].²⁰⁻²³

Na literatura consultada, há poucos relatos de estudos químicos e biológicos de 1,2,4-oxadiazol contendo uma cadeia alifática no carbono 5 do anel oxadiazólico. Assim, objetivou-se neste trabalho sintetizar caracterizar e avaliar as atividades citotóxica e antimicrobiana uma série de 2-(3-*aril*-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol usando modelos experimentais *in vitro*. As estruturas dos compostos obtidos foram determinadas através da técnica espectroscópica de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C.

2. Parte Experimental

2.1. Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos comercialmente da Sigma Aldrich, Merck, Cinética, Dinâmica e Vetec. Os solventes como *n*-hexano e acetato de etila foram inicialmente destilados para processos de purificação em coluna. Ao diclorometano anidro foi usado o sulfato de cálcio anidro como agente secante. As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), onde foi utilizada placa de sílica gel, contendo indicador de fluorescência F₂₅₄, da Maycherey/Nagel (Düren, Alemanha). Os reveladores para as placas foram a câmara de irradiação ultravioleta 254nm, ácido sulfúrico: etanol (5:95) e os vapores de iodo. Nas colunas cromatográficas foram utilizadas sílica gel 60 (Merck, 70-230 mesh).

2.2. Equipamentos

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier foram obtidos com o equipamento Varian modelo 640 FTIR. Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram obtidos nos equipamentos da Varian modelos Unity Plus (300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono-13), usando CDCl₃ como solvente ou o sinal residual do solvente como padrão interno de referência. Os valores de deslocamento químico (δ) estão expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz). Os pontos de fusão dos compostos foram realizados no aparelho PFM II da BioSan. O banho ultrassônico utilizado foi o modelo UltraCleaner 1400A da Unique, de frequência 40KHz. O forno de micro-ondas focado foi da marca CEM, discover SP.

2.3. Procedimentos de síntese das amidoximas

Em um frasco de vidro de 10 mL a nitrila (1 mmol) foi dissolvida em 5 mL de álcool etílico. Separadamente, em outro frasco de vidro de 10 mL, foi dissolvido em 5 mL de água 3 mmol de cloridrato de hidroxilamina e 1,5 mmol de carbonato de sódio. Essa solução foi adicionada à primeira e o meio reacional foi levado ao banho de ultrassom de 15 a 30 minutos em temperatura de 55 °C, até o desaparecimento da nitrila, visualizada através de cromatografia em camada delgada (CCD), em sistema clorofórmio/hexano (1:1) e revelado em câmara de UV. Após o término da reação, o etanol foi evaporado e duas fases são formadas: a fase aquosa e o produto insolúvel em água, podendo ser um óleo ou um sólido. Quando sólido, o precipitado foi filtrado e recristalizado em clorofórmio e/ou etanol. Quando o produto formado foi um óleo, foi realizada uma extração com acetato de etila (2 x 10mL), à fase orgânica é adicionado Na₂SO₄. Após uma filtração, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado por cristalização em clorofórmio. Os produtos 3a-d foram obtidos com moderados a bons rendimentos (70-97%). Os dados de IV, RMN ¹H e ¹³C, corroboram com os descritos na literatura.²³

2.4. Procedimentos de síntese do 3-mercaptopropanoato de isopropila

Pesou-se 5g (33,78 mmol) do ácido 3-mercaptopropiônico em um balão de 250 mL e adicionou-se 80 mL do álcool isopropílico. Posteriormente levou-se a mistura a um banho de gelo (0 °C) e adicionou-se lentamente 2,0 mL de ácido sulfúrico sob agitação. Em seguida, a mistura foi colocada em refluxo por 4 horas. Decorrido esse tempo, uma alíquota foi analisada por cromatografia em camada delgada (CCD), eluída em sistema hexano: AcOEt (8:2). Após verificação do consumo do material de partida e formação do produto, reduzimos o solvente à baixa pressão e neutralizou-se a reação com uma solução saturada de bicarbonato de sódio, verificando o ponto de neutralização por papel indicador de pH. Após a neutralização, foi realizada a extração da fase orgânica com acetato de etila (3x 20mL), e em um funil de separação a fase orgânica foi separada da fase aquosa. Dando continuidade secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtrou e evaporou-se o solvente a baixa pressão. O produto foi obtido um líquido incolor com rendimento de 75%.

Caracterização: Óleo transparente, rendimento 79%; IV (KBR): 2971, 2578, 1738, 1207 cm⁻¹; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4,97 (1H, m), 2,87 (t, 2H, *J* = 7,24 Hz), 2,64 (t, 2H, *J* = 7,24 Hz), 1,19 (d, 6H, *J* = 6,26 Hz); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 171,29; 68,35; 34,62; 33,55; 21,98.

2.5. Procedimentos de síntese dos 1,2,4-oxadiazóis

Os 1,2,4-oxadiazóis foram sintetizados fazendo uma adaptação da metodologia (BAYKOV *et al.*, 2017). Em

um reator de vidro, adicionou-se 1 mmol (0,136 g) da arilamidoxima, 1,25mmol (0,05 g) de NaOH e 1 mL de DMSO. Fez a homogeneização da mistura e em seguida adicionou-se 0,1 mmol do 3-mercaptopropanoato de isopropila (0,12 g). Após a homogeneização de todos os reagentes a mistura reacional foi levada para o ultrassom em 25 °C (temperatura ambiente) por 10min. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), usando como eluente um sistema de hexano: acetato (7:3). Após término da reação os produtos foram purificados através de cromatografia em coluna por Adsorção. Os compostos foram obtidos com rendimentos moderados variando de 50-70%.

2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7a**: Sólido amarelado, rendimento 60%; p.f: 69-70 °C; $R_f = 0,50$ (Hex:AcOEt, 8:2); IV (KBR): 2981, 2355, 1599, 1190 cm^{-1} ; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 8,06 (2H, dd $J = 8,0$ Hz); 7,47 (3H, m); 3,27 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz); 3,11 (t, 2H, $J = 8,0$ Hz); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 177,64; 168,29; 131,14; 128,78; 127,36; 126,59; 28,49; 27,43.

2-(3-(*p*-tolui)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7b**: Sólido branco, rendimento 70%; p.f: 104-105 °C $R_f = 0,50$ (Hex:AcOEt, 8:2); IV (KBR): 2983, 2478, 1543, 1119 cm^{-1} ; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,94 (2H, d $J = 7,8$ Hz); 7,26 (2H, d $J = 7,4$ Hz); 3,26 (t, 2H, $J = 7,84$ e 7,44 Hz); 3,11(t, 2H, $J = 7,44$ e 7,08 Hz); 2,40 (s, 3H); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 177,48; 168,32; 141,49; 129,52; 127,30; 123,79; 28,52; 27,46; 21,52.

2-(3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7c**: Sólido branco, rendimento 50%; p.f: 109-110 °C; $R_f = 0,50$ (Hex:AcOEt, 8:2); IV (KBR): 2978, 2438, 1563, 1201 cm^{-1} ; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,92 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz); 7,60 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz); 3,27 (t, 2H, $J = 7,40$ e 7,04 Hz); 3,11(t, 2H, $J = 7,40$ e 7,04 Hz); 2,40 (s, 3H); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 177,88; 167,65; 132,13; 128,87; 125,78; 125,55; 28,50; 27,44.

2-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7d**: Sólido amarelado, rendimento 51%; p.f: 106-107 °C; $R_f = 0,63$ (Hex:AcOEt, 8:2); IV (KBR): 2982, 2510, 1547, 1107 cm^{-1} ; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,99 (d, 3H, $J = 8,2$ Hz); 7,67 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz); 3,28 (t, 2H, $J = 7,44$ Hz); 3,11 (t, 2H $J = 7,44$ Hz); RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 177,89; 167,57; 137,38; 129,17; 128,70; 125,11; 28,51; 27,45.

2.6. Determinação da atividade antimicrobiana

O procedimento utilizado para a realização da atividade antimicrobiana foi o teste de Concentração Mínima Inibitória (CMI) onde foi realizado através da técnica de microdiluição, em multiplacas com 96 poços, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute – 2010. As multiplacas foram preparadas de acordo com o microrganismo testado. Foram utilizados meios de cultura líquidos Saubouraud (Sab) para Fungos Filamentosos e Fungos Leveduriformes; e meio líquido Mueller

Hinton (MH) para Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas. Foram utilizadas três bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02/ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 86) e *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138); e duas Gram-negativas, *Escherichia coli* (UFPEDA 224 / ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416 / ATCC 27853) utilizando como meio líquido Mueller Hinton (MH) para Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas.

2.7. Bioensaio de letalidade frente a *Artemia Salina*

Os ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodirem em solução de sal marinho e iluminação artificial. Decorridas 24 horas de eclosão, 10 larvas foram adicionadas em tubos de ensaio contendo soluções dos 1,2,4-oxadiazóis de concentrações que variaram de 25-100 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO, todas estando em triplicatas. Para grupo controle uma triplicata de solução de sal marinho e DMSO foi preparada. Após 24 horas de exposição, foi feita a contagem de náuplios vivos e mortos, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentassem qualquer tipo de movimento quando observados próximos a uma fonte luminosa. Só foram considerados válidos os testes nos quais o controle apresentou uma mortalidade igual ou inferior a 10 % da população.

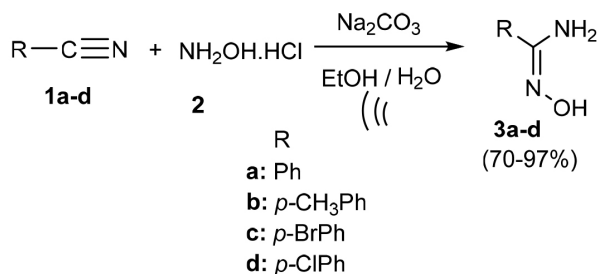
Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL50), foi utilizada a análise através do software R TEAM CORE.²⁴

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese e caracterização das amidoximas, do éster e dos 1,2,4-oxadiazóis

O primeiro procedimento de síntese consistiu na preparação de quatro arilamidoxima **3a-d**. O método utilizado para obtenção das arilamidoximas foi através da irradiação de ultrassom com tempo variando de 30-90min. As diferentes arilamidoximas **3a-d** foram sintetizadas a partir de arilnitrilas **1a-d** com o cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) e carbonato de sódio (Na_2CO_3), numa solução hidroalcoólica, utilizado o método descrito literatura (Esquema 1).^{25,26} Vale destacar que as reações também foram realizadas sob influência de irradiação de micro-ondas, neste caso o rendimento foi inferior ao método de irradiação de ultrassom.

As arilamidoximas obtidas apresentaram moderados a bons rendimentos reacionais que variaram de 70 a 97%. Como as arilamidoximas são compostos conhecidos e bastante descritos na literatura, sua caracterização foi feita somente através do espectro de infravermelho. As análises dos espectros de infravermelho das arilamidoximas mostram a ausência da banda característica das nitrilas em 2240 cm^{-1} do estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ e o aparecimento de bandas

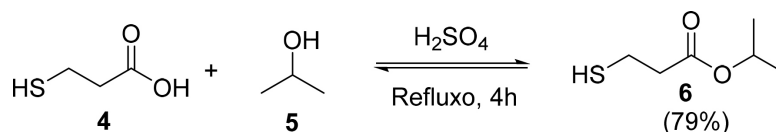


Esquema 1. Síntese de arilamidoximas utilizando irradiação de ultrassom

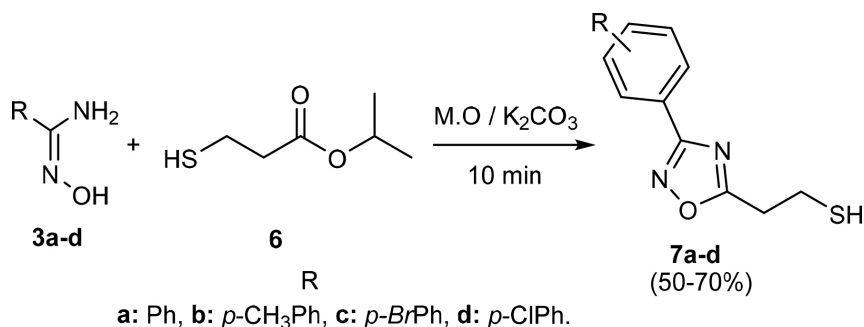
nas regiões de $3359\text{-}3453\text{cm}^{-1}$, 3200cm^{-1} e 1650cm^{-1} referente ao estiramento simétrico e assimétrico dos grupos NH_2 , OH e $\text{C}=\text{N}$ respectivamente, o que indica a formação das arilamidoximas.

O segundo procedimento consistiu na síntese do 3-mercaptopropionato de isopropila **6** o qual foi sintetizado a partir do ácido 3-mercaptopropiônico **4** e do álcool isopropílico **5**, usando como catalisador o H_2SO_4 em refluxo durante 4 h (Esquema 2). O produto purificado em cromatografia em coluna foi obtido com rendimento de 79%. A estrutura do composto **6** foi confirmada por técnicas espectroscópicas IV, RMN ^1H e ^{13}C .

No espectro de RMN de ^1H do composto **6** pode-se observar dois tripletos com integral para 4H, na região entre 2,5 ppm e 3,0 ppm referente aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura, próximo ao grupo tiol e carbonílico da molécula, os hidrogênios têm constantes de acoplamento de 6 Hz. É observado na região de 1,19 ppm um duplete com integral para 6H, referente aos seis hidrogênios metílicos quimicamente equivalentes presentes na molécula. Enquanto na região entre 4,8 ppm e 5,0 ppm temos um septeto com integral para 1H, confirmando assim a estrutura do composto proposto. Em relação ao espectro de RMN de ^{13}C para o composto, é possível observar em δ 21,98 ppm o sinal referente aos carbonos das metilas (CH_3) equivalentes, em δ 34,62 e 33,55 ppm pode-se observar o sinal referente aos CH_2 metilênicos do composto **6**, em δ 68,35 ppm, o



Esquema 2. Síntese do 3-mercaptopropionato de isopropila



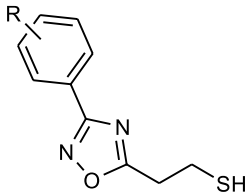
Esquema 3. Síntese 2-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7a-d**

sinal referente ao carbono secundário que está ligado ao grupo carboxílico (C_2), na região de δ 171,29 ppm, tem-se sinal referente ao carbono da carbonila confirmando assim a estrutura do composto.

O terceiro procedimento trata da síntese 2-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7a-d**. Os 1,2,4-oxadiazóis **7a-d** foram sintetizados a partir das arilamidoximas **3a-d**, e do 3-mercaptopropionato de isopropila **6** em presença da K_2CO_3 e uma gota de DMF, sob a irradiação de micro-ondas focado (Esquema 3). Outro método usado neste trabalho para preparação dos 1,2,4-oxadiazóis (**5a-d**) consistiu em reagir diferentes arilamidoximas (**3a-d**) com 3-mercaptopropionato de isopropila **6** em presença de carbonato de potássio, sob refluxo em um sistema de solvente na proporção de 7:3 de tolueno/DMF, com duração de 8h e baixo rendimento. Das duas metodologias utilizadas, a primeira forneceu os produtos em menor tempo reacional, com duração de 10 min. Outro ponto de destaque dessa reação é que os rendimentos reacionais são excelentes e a utilização de irradiação de micro-ondas segue uma química ambientalmente limpa.

Os 1,2,4-oxadiazóis **7a-d** foram obtidos em curtos tempos reacionais (10 min) e com rendimentos moderados. Também é importante ressaltar que grupos eletrodoadores presente no anel aromático como é o caso da metila de **7b** que favorecem a reação levando a um melhor rendimento. Por outro lado, grupos eletroretiradores desfavorecem a reação, como é o caso do composto **7c/d**. As estruturas dos compostos sintetizados foram caracterizadas pelas técnicas espectroscópicas convencionais, RMN ^1H e ^{13}C . A Tabela 1 sumariza dados experimentais referentes aos compostos **7a-d**.

Após análise do espectro de RMN de ^1H do composto **7a** pode-se observar dois tripletos com integral para 4H, na região entre 3,09 ppm e 3,29 ppm referente aos hidrogênios metilênicos presentes na estrutura na cadeia lateral, próximo ao grupo tiol da molécula, os prótons têm constantes de acoplamento de 8,0Hz. Na região compreendida entre

Tabela 1. Dados experimentais referentes aos compostos **7a-d**


Compostos	R	Rendimentos (%)	Ponto de fusão (°C)
7a	H	60	69-70
7b	<i>p</i> -CH ₃	70	104-105
7c	<i>p</i> -Cl	50	109-110
7d	<i>p</i> -Br	51	106-107

*Após cromatografia em coluna

7,48 ppm e 8,07 ppm característica para hidrogênios aromáticos, pode-se observar os hidrogênios aromáticos da molécula, com integral para 5H, confirmando assim a estrutura do composto proposto. Constatou-se nos espectros de RMN de ¹H dos compostos **7b-d** um padrão de substituição, para os hidrogênios aromáticos, do tipo duplete com constante de acoplamento que variou de 7,4 a 8,6 Hz. No caso do espectro de RMN de ¹³C, observa-se dois picos em deslocamento 27,43 ppm e 28,49 ppm referentes aos carbonos metilênicos da cadeia alifática; na região de deslocamento que compreende 126,59 ppm e 131,14 ppm observa-se os 4 carbonos aromáticos da molécula. Por fim, os carbonos do anel 1,2,4-oxadiazol aparecem na região já característica para o anel, ou seja, em 168,29 ppm para o carbono entre os dois átomos de nitrogênio, e em 177,64 ppm podemos observar o outro carbono do anel, que está situado entre os átomos de oxigênio e nitrogênios.

O mecanismo de reação proposto para a formação do 1,2,4-oxadiazol **7a-d** é mostrado no Esquema 4. Inicialmente, o átomo de oxigênio da arilamidoxima **3a-d** ataca a carbonila do composto **6** fornecendo a espécie instável tetraédrica **I** com subsequente perda de isopropanol

para fornecer **II**. Posteriormente o composto **II** é convertido no **III** pela abstração do próton de **IV** e quebra da ligação N-H, com o par de elétrons migrando para o átomo de nitrogênio. Em seguida, este intermediário é ciclizado para fornecer **V**, que sofre eliminação da água por aquecimento (intermediário **VI** e **VII**) para produzir 1,2,4-oxadiazol **7a-d**.

3.2. Avaliação das Atividades biológicas

Uma vez sintetizados e caracterizados, os compostos **7a-d** foram submetidos a avaliação da citotoxicidade e atividade antimicrobiana. A avaliação da toxicidade dos compostos **7a-d** foi realizada frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, no qual o valor da taxa de mortalidade da solução variou de 75-100 %, em todas as concentrações que variaram de 250-1000 µg/mL (Tabela 2).

A Tabela 3 sumariza, para os 2-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7a-d**, os valores de DL₅₀ e os intervalos de confiança obtidos da média das triplicatas para cada ensaio de toxicidade obtidos em cada composto.

Os valores da CL₅₀ igual a 24,38 e 22,50 µg/mL implicam que os compostos **7a-d** apresentam elevadas

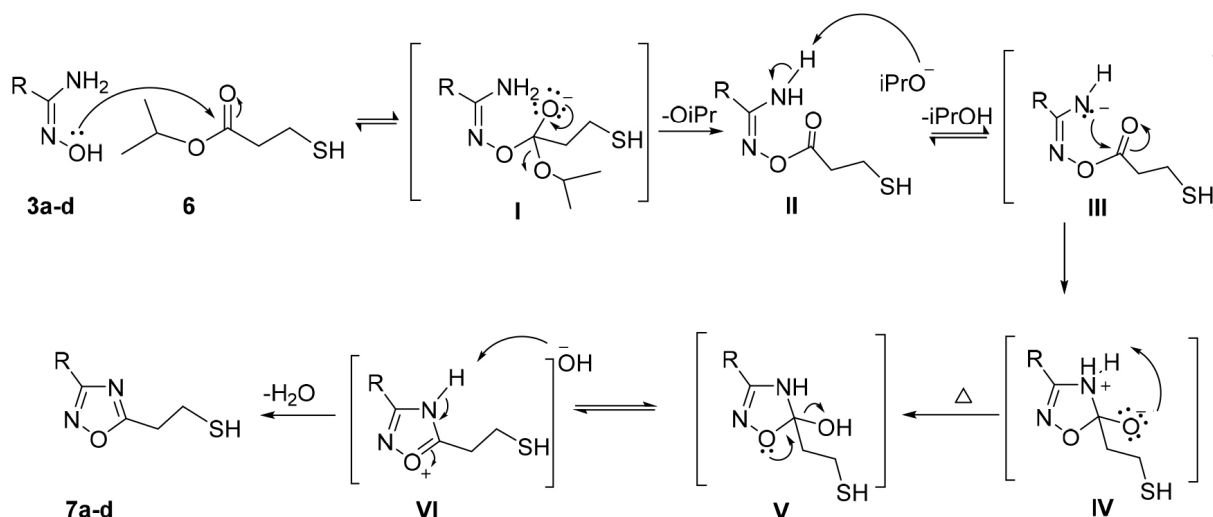
**Esquema 4.** Mecanismo geral para formação dos 1,2,4-oxadiazóis

Tabela 2. Concentrações utilizadas frente as artemias para a obtenção da CL₅₀

Compostos	Concentração	Taxa de mortalidade
7a	0	0%
	25	75%
	50	90%
	75	90%
	100	100%
7b	0	0%
	25	75%
	50	90%
	75	90%
	100	100%
7c	0	0%
	25	75%
	50	90%
	75	100%
	100	100%
7d	0	0%
	25	75%
	50	90%
	75	100%
	100	100%

Concentração 0 : Controle

Tabela 3. Resultado do teste de toxicidade frente à *Artemia salina*

Compostos	CL ₅₀ (µg/mL)	Intervalo de Confiança
7a	24,38	12,87 a 35,88
7b	24,38	12,87 a 35,88
7c	22,50	13,66 a 31,34
7d	22,50	13,66 a 31,34

toxicidades, uma vez que esse valor se enquadra nos índices inferiores a 100 µg/mL. Sabe-se que quanto menor o valor de DL₅₀, mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica, sugerindo maior potencial como antitumoral. De acordo com Amarante *et al.* (2011),²⁷ um composto com baixa toxicidade quando o mesmo apresentar DL₅₀ superior à 500 µg.mL⁻¹, moderada entre 100 e 500 µg/mL e muito tóxico quando inferior à 100 µg/mL. Muitos estudos têm mostrado que a toxicidade de um composto frente à *A. salina* apresenta correlação com a atividade citotóxica contra tumores humanos. Segundo relatado por McLaughlin, Roger e Anderson (1998)²⁸ este bioensaio levou à descoberta de uma nova classe de agentes antitumorais ativos (*Annonaceous acetogenins*), estando relacionada também com a atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de chagas,²⁹ com a atividade virucida, antifúngica e antimicrobiana.³⁰

Todavia, tendo em vista os resultados dos testes frente à *Artemia salina*, para os compostos **7a-d**, pode-se concluir que os mesmos podem apresentar uma potencial atividade biológica frente às células virais ou tumorais. Por outro lado, os resultados obtidos, nos motiva a utilizar estes compostos em outros testes biológicos, incluindo em células ou até mesmo animais, na busca de um novo fármaco.

Dando continuidade ao estudo das atividades biológicas dos 1,2,4-oxadiazóis, foi avaliado a atividade antimicrobiana dos compostos **7a-d** frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02 / ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 86), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), (Gram-positivas), e *Escherichia coli* (UFPEDA 224 / ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416 / ATCC 27853) (Gram-negativas) utilizando como meio líquido Mueller Hinton (MH) para Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas.

De uma maneira geral, com base nos dados da Tabela 4, o composto **70c** foi o mais ativo frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Gram-positivas). As bactérias *Bacillus subtilis* (86) e *Pseudomonas aeruginosa* (416) apresentaram resistência ou insensibilidade aos compostos testados. Os compostos **7a-c** demonstraram uma boa capacidade de inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* (Gram-negativa).

A solução do antibiótico metronidazol utilizada como controle positivo apresentou CIM igual a 19,5 µg/mL para *Escherichia coli* e 19,5 µg/mL para *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. O acetato de etila utilizado como controle negativo não apresentou nenhuma ação inibitória frente aos microrganismos testados. Convém destacar que o composto **70c** apresentou as melhores respostas da atividade

Tabela 4. Atividade antibacteriana dos 1,2,4-oxadiazóis **70a-d**

Micro-organismos	Compostos					
	7a	7b	7c	7d	Controle +	Controle -
Bactérias Gram-Positivas	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	625	nt	19,5	>2500
<i>Bacillus subtilis</i>	X	X	X	nt		
<i>Enterococcus faecalis</i>	X	X	156,2	nt	19,5	>2500
Bactérias Gram-Negativas	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)	CMI* (µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	1250	1250	312,5	nt	19,5	>2500
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X	nt	X	X

*Concentrações maiores que 250 µg/mL não foram testadas. X não inibição ao crescimento do micro-organismo. Controle positivo: Metronidazol. Controle negativo: acetato de etila. NT não testado.

para as bactérias gram positivas e que o mesmo tem na sua estrutura um átomo de bromo *p*-substituído aromático (grupo retirador de elétron) no anel e, provavelmente, o efeito inibitório observado possa ser atribuído a ele, no entanto, isto é, uma asserção apenas inicial e estudos adicionais sobre o mecanismo de ação para bioatividades observadas deverão ser realizados para uma avaliação mais completa dessa observação.

4. Conclusão

Neste trabalho, foi realizada a síntese de quatro (4) arilamidoximas, as quais são reagentes de partidas para a síntese de 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituídos. As arilamidoximas foram obtidas com rendimentos variando entre 70–97%.

A reação de esterificação do ácido 3-mercaptopropionico pela metodologia proposta por Fischer, forneceu o 3-mercaptopropionato de isopropila em rendimento de 78%.

Quatro (4) novos 2-(3-aril-1,2,4-oxadiazol-5-il)-etanotiol **7a-d**, foram obtidos com rendimentos variando de 50-70% em um tempo reacional de 10 min, utilizando a radiação de micro-ondas focado. Todos os compostos foram caracterizados por técnicas de Infravermelho e RMN ¹H e ¹³C.

Os compostos **7a-d** foram submetidos a avaliação citotóxica e antimicrobiana. Haja vista os resultados dos testes frente à *Artemia salina*, para os compostos **7a-d**, conclui-se que os mesmos podem apresentar uma potencial atividade biológica frente às células virais ou tumorais. Por outro lado, os resultados obtidos, nos motiva a utilizar estes compostos em outros testes biológicos, incluindo em células ou até mesmo animais, na busca de um novo fármaco. Quanto a atividade antimicrobiana, constatou-se que o composto **70c** foi o mais ativo frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Gram-positivas). Todos os compostos demonstraram uma boa capacidade de inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* (Gram-negativa).

Agradecimentos

Os autores deste trabalho agradecem a todas as agências de fomento que financiaram a nossa pesquisa: CAPES, CNPq e FACEPE pelas bolsas concedidas.

Referências Bibliográficas

- Hossain, M.; Nanda, A. K.; A Review on Heterocyclic: Synthesis and Their Application in Medicinal Chemistry of Imidazole Moiety. *Science Journal of Chemistry* **2018**, *6*, 83. [CrossRef]
- Martins, M. A. P.; Frizzo, C. P.; Moreira, D. N.; Burriol, L.; Machado, P.; Solvent-free heterocyclic synthesis. *Chemical Reviews* **2009**, *109*, 4140. [CrossRef][PubMed]
- Aguiar, A. P.; Cunha, F. S.; Síntese e Bioatividade de 1,2,4-oxadiazóis. *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 2509. [CrossRef]
- Pace, A.; Buscemi, S.; Piccionello, A. P.; Pibirri, I.; Recent Advances in The Chemistry of 1,2,4-Oxadiazoles. *Advances in Heterocyclic Chemistry* **2015**, *116*, 1. [CrossRef]
- Chawla, G.; 1,2,4-Oxadiazole as a Privileged Scaffold for Anti-inflammatory and Analgesic Activities: A Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2018**, *18*, 1536. [CrossRef][PubMed]
- Sangshetti J. N.; Shinde, D. B.; Synthesis of some novel 3-(1-(1-substitutedpiperidin-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-substituted phenyl-1,2,4-oxadiazoles as antifungal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 1040. [CrossRef]
- Leemans, E.; Mahasen, K. V.; Kumarasiri, M.; Spink, E.; Ding, D.; O'daniel, P. I.; Boudreau, M. A.; Lastochkin, E.; Testero, S. A.; Yamaguchi, T.; Lee, M.; Heseck, D.; Fischer, J. F.; Chang, M.; Mobashery, S.; Three-dimensional QSAR analysis and design of new 1,2,4-oxadiazole antibacterials. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2016**, *26*, 1011. [CrossRef][PubMed]
- Leal, J. G.; Sauer, A. C.; Mayer, J. C. P.; Stefanello, S. T.; Gonçalves, D. F.; Soares, F. A. A.; Iglesias, B. A.; Fack, D. F.; Rodrigues, O. E. D.; Dornelles, L.; Synthesis and electrochemical and antioxidant properties of chalcogenocyanate oxadiazole and 5-heteroarylchalcogenomethyl-1H-tetrazole derivatives. *New Journal of Chemistry* **2017**, *41*, 5875. [CrossRef]

9. Mohammadi-Khanaposhtani, M.; Shabani, M.; Faizi, M.; Aghaei, I.; Jahani, R.; Sharafi, Z.; Zafarghandi, N. S.; Mahdavi, M.; Akbarzadeh, T.; Emami, S.; Shafiee, A.; Foroumadi, A.; Design, synthesis, pharmacological evaluation, and docking study of new acridonebased 1,2,4-oxadiazoles as potential anticonvulsant agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *112*, 91. [[CrossRef](#)]
10. Caneschi, W.; Enes, K. B.; Mendonça, C. G.; Fernandes, F. S.; Miguel, F. B.; Martins, J. S.; Hyaric, M. L.; Pinho, R. R.; Duarte, L. M.; Oliveira, M. A. L.; Santos, H. F.; Lopes, M. T. P.; Dittz, D.; Silva, H.; Couri, M. R. C.; Synthesis and anticancer evaluation of new lipophilic 1,2,4 and 1,3,4-oxadiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *165*, 18. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
11. Jiang, H.; Zhao, J.; Han, X.; Zhu, S.; Stereoselective preparation of 1,2,4-oxadiazole derivatives substituted by pentafluorophenyl by 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11008. [[CrossRef](#)]
12. Tiemann, F.; Krüger, P.; Ueber amidoximeund azoxime. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1884**, *17*, 1685. [[CrossRef](#)]
13. Hachicha, M.; Balti, M.; Jalloul, I.; Efrit, M. L.; 1,3-dipolar cycloaddition of aryl nitrile oxides to imidates: Synthesis of novel 1,2,4-oxadiazole derivatives. *Journal of The Tunisian Chemical Society* **2016**, *18*, 68. [[Link](#)]
14. Scorzo, C. M.; Fascio, M. L.; D'accorso, N. B.; Cabrera, M. G.; Saavedra, L. A.; Synthesis and antiacetylcholinesterase activity of new *D*-glyceraldehyde heterocyclic derivados. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2010**, *21*, 1, 43. [[CrossRef](#)]
15. Herath, A.; Cosford, N. D. P.; Continuous-flow synthesis of highly functionalized imidazo-oxadiazoles facilitated by microfluidic extraction. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* **2017**, *13*, 239. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
16. Lukin, K.; Kishore, V.; Highly Efficient One-pot Preparation of 1,2,4-Oxadiazoles in The Presence of Diazabicycloundecene. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2013**, *51*, 256. [[CrossRef](#)]
17. Kumar, K. A.; Lokeshwari, D. M.; Pavithra, G.; Kumar, G. V.; 1,2,4-oxadiazoles: a potencial pharmacological agents-an overview. *Research Journal of Pharmacy and Technology* **2012**, *5*, 1490. [[Link](#)]
18. Pizzuti, L.; Martins, P. L. G.; Ribeiro, B. A.; Quina, F. H.; Pinto, E.; Flores, A. F. C.; Venzke, D.; Pereira, C. M. P.; Efficient sonochemical synthesis of novel 3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-1-carboximidamides. *Ultrasonics Sonochemistry* **2010**, *17*, 34. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
19. Hamzé, A.; Hernandez, J.-F.; Fulcrand, P.; Martinez, J.; Synthesis of Various 3-Substituted 1,2,4-Oxadiazole-Containing Chiral α -Amino Acids from Fmoc-Protected Aspartic Acid. *The Journal of Organic Chemistry* **2003**, *68*, 7316. [[CrossRef](#)]
20. Polshettiwar, V.; Varma, R. S.; Aqueous microwave chemistry: a clean and green synthetic tool for rapid drug Discovery. *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 1546. [[CrossRef](#)]
21. Bretanha, L. C.; Teixeira, V. E.; Ritter, M.; Siqueira, G. M.; Cunico, W.; Pereira, C. M. P.; Freitag, R. A.; Ultrasound-promoted synthesis of 3-trichloromethyl-5-alkyl(aryl)-1,2,4-oxadiazoles. *Ultrasonics Sonochemistry* **2011**, *18*, 704. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
22. 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. *Revista Virtual de Química* **2012**, *4*, 670. [[CrossRef](#)]
23. Andrade, D.; Freitas Filho, J. R.; Freitas, J. C. R.; Aplicação de amidoximas como catalisadores da reação de alilação por alitrifluoroborato de potássio em meio bifásico. *Química Nova* **2016**, *39*, 1225. [[CrossRef](#)]
24. Team, R. Core.; *A language and environment for statistical computing*, 3a. ed., R Foundation for Statistical Computing: Vienna, 2013. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)]
25. Barros, C. J. P.; Freitas, J. J. R.; Oliveira, R. N.; Freitas Filho, J. R.; Synthesis of amidoximes using an efficient and rapid ultrasound method. *Journal of the Chilean Chemical Society* **2011**, *56*, 721. [[CrossRef](#)]
26. Barros, C. J. P.; Souza, Z. C.; Freitas, J. J. R.; Silva, P. B. N.; Militão, G. C. G.; Silva, T. G.; Freitas, J. C. R.; Freitas Filho, J. R.; A convenient synthesis and cytotoxic activity of 3-aryl-5-pentyl-1,2,4-oxadiazoles from carboxylic acid esters and arylamidoximes under solvent-free conditions. *Journal of the Chilean Chemical Society* **2014**, *59*, 2359. [[CrossRef](#)]
27. Amarante, C. B.; Müller, A. H.; Póvoa, M. M.; Dolabela, M. F.; Estudo Fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*M. linifera*). *Acta Amazonica* **2011**, *41*, 431. [[CrossRef](#)]
28. McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., Anderson, J. E. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Information Journal* **1998**, *32*, 513. [[CrossRef](#)]
29. Alves, T. M. A.; Silva, A. F.; Brandão, M.; Grandi, T.; S. M.; Smânia, E. F. A.; Smânia, J. R., A.; Zani, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2000**, *95*, 367. [[CrossRef](#)]
30. Macrae, W. D.; Hudson, J. B.; Towers, G. H. N.; Studies on the pharmacological activity of amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology* **1988**, *22*, 143. [[CrossRef](#)]