



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA A SÍNTESE DE  
N-ACILIDRAZONAS DERIVADAS DE ISATINAS**

**Felipe Bezerra de Sousa**

**SAPIENTIA AEDIFICAT**

**João Pessoa – PB – Brasil  
Janeiro / 2025**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA A SÍNTESE DE  
N-ACILIDRAZONAS DERIVADAS DE ISATINAS**

**Felipe Bezerra de Sousa**

**Dissertação apresentada como  
requisito para obtenção do título de  
Mestre em Química pela  
Universidade Federal da Paraíba.**

**Orientador: Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima-Junior  
Coorientadora: Profa. Dra. Dayse das Neves Moreira**

**\*Bolsista CAPES**

**João Pessoa – PB – Brasil  
Janeiro / 2025**

Catálogo na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação

S725d Sousa, Felipe Bezerra de.

Desenvolvimento de métodos alternativos para a síntese de N-acilidrazonas derivadas de isatinas / Felipe Bezerra de Sousa. - João Pessoa, 2025. 155 f. : il.

Orientação: Claudio Gabriel Lima-Junior.  
Coorientação: Dayse das Neves Moreira.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. N-acilidrazônicos - Isatina. 2. Prenila. 3. Síntese verde. 4. Solvente Eutético Profundo. I. Lima-Junior, Claudio Gabriel. II. Moreira, Dayse das Neves. III. Título.

UFPB/BC

CDU 547.7(043)

# **“Desenvolvimento de métodos alternativos para a síntese de N-acilidrazonas derivadas de isatinas”.**

Dissertação de Mestrado apresentada pelo discente Felipe Bezerra de Sousa e aprovada pela banca examinadora em 21 de fevereiro de 2025.

Documento assinado digitalmente  
 **CLAUDIO GABRIEL LIMA JUNIOR**  
Data: 21/02/2025 20:17:17-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior  
DQ/UFPB  
Orientador/Presidente

Documento assinado digitalmente  
 **DAYSE DAS NEVES MOREIRA**  
Data: 21/02/2025 19:54:20-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Dayse das Neves Moreira  
DQ/UFPB  
Co-Orientadora

Documento assinado digitalmente  
 **JOSE MAURICIO DOS SANTOS FILHO**  
Data: 21/02/2025 17:46:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Maurício dos Santos Filho  
CTG-DEQ/UFPE  
Examinador externo

Documento assinado digitalmente  
 **ANTONIA LUCIA DE SOUZA**  
Data: 22/02/2025 10:11:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Antonia Lúcia de Sousa  
DQ/UFPB  
Examinadora interna

Dedico esse trabalho a Deus, a Domingos Savio e Maria Marluce, meus pais, à Ísis Lorryne, minha namorada, à Angela Maria, minha tia, e a toda minha família.

“Tudo a seu tempo! As coisas estão se aproximando do fim agora...”

(J. R. R. Tolkien)

## AGRADECIMENTOS

Mais um ciclo se encerra com muito aprendizado e ensinamentos que levarei em toda minha vida. Vivi muitas coisas em um curto espaço de tempo, conheci pessoas que vieram para somar na minha vida. Apostei e continuo apostando todas as minhas fichas na educação e na busca por conhecimento.

Primeiramente, destino esses agradecimentos a Deus, nada disso seria possível sem Ele. Sempre levo na minha caminhada bastante fé, pensamentos positivos e uma boa dose de confiança, sem deixar de lado a perseverança e a esperança de que no final tudo dará certo.

Agradeço a minha família (Vovó Maria, Paula, Soia, Gracinha, Fátima, Bertrand, Buda, Lafaelson, Rosália, Almira, Lídia, Marcílio, Juliano, Raquel, Tiago, Nayara, Rafael, Kalyne, Marcelo, Helena, Chiara, Marina, Rebeca, Antelo, Vinicius, Maria Clara, Arthur) que me acolheu aqui em João Pessoa e principalmente a Tia Angela que abriu todas as portas da sua casa e do seu coração para me receber como filho, jamais esquecerei desse gesto e sempre serei grato.

Agradeço a minha família (Salvino, Marluce, Tica, Iago, Nicolý, Beatriz, Gustavo, Cícero, Cacau, Suênnia, Yasmin, Lúcia, Assis) que vivem em Cajazeiras-PB, minha cidade natal, por todo apoio, incentivo e ajuda nessa jornada. Não esquecerei minhas raízes e minha certeza, de que sempre terei um lar, ao qual retornar.

Agradeço a minha namorada, Ísis Lorryne, por sempre estar ao meu lado em cada momento, crescendo junto, apesar das adversidades do tempo e da distância. Enfrentamos juntos cada pedra que apareceu em nosso caminho, nos momentos de insegurança e incertezas que passei, ela foi meu porto seguro. Ela é minha companheira e eu só tenho a agradecer por poder compartilhar a vida ao lado dela.

Agradeço aos amigos que fiz no LASOM (Emelly, Rita, Bruno, Mayara, Rosa, Rodrigo, Jéssica, Rafael, Lidiane) por todas as experiências e vivências durante esse curto período. Cada um contribuiu e agregou de alguma forma, com ideias de novos experimentos e conselhos que mostraram o melhor caminho a seguir.

Agradeço aos amigos de outros laboratórios (Renato, Joaldo, Ashley, João, Tácio, Luciano, Eduardo, Jéssica) que foram solícitos, compartilhando

conhecimentos, ferramentas, consertando equipamentos, instalando software no meu notebook, quando precisei, auxiliando no desenvolvimento da minha pesquisa, a vocês, o meu obrigado.

Agradeço ao meu orientador Claudio Gabriel pelos conselhos, auxílio em cada passo deste projeto, sempre de prontidão para as minhas dúvidas, e em qualquer momento. Uma orientação, da qual nunca esquecerei.

Agradeço a professora Dayse pela sua orientação, incentivo e todo amparo neste projeto, mesmo quando estava muito ocupada, sempre mostrou-se disposta a aprimorar o trabalho e meu currículo, contribuindo com dicas valiosas e conselhos que enriqueceram esta experiência.

Agradeço ao professor Rodrigo Cristiano, que nas inúmeras vezes que me viu angustiado com algum experimento, estendeu-me a mão e pensou em conjunto nas soluções. Resiliente, me ensinou que sempre há uma saída, quando algo não acontece da forma que esperamos.

Agradeço aos professores do PPGQ, em especial, a professora Antônia Lúcia, que demonstrou interesse e excelência em repassar conhecimentos, disposta a ajudar da melhor forma. Agradeço também, aos professores do CFP/UFCG, principalmente a Everton Vieira e José Gorete, que me incentivaram a seguir por este caminho.

Ademais, a todos que, de alguma forma, estenderam a mão em gesto de ajuda, o meu muito obrigado e minha eterna gratidão. Eu não desenvolvi esse trabalho sozinho, muitas mãos me auxiliaram, se hoje estou a finalizar o mestrado, foi pela razão de diversas pessoas terem colaborado.

## RESUMO

**Título:** Desenvolvimento de Métodos Alternativos para a Síntese de *N*-Acilidrazonas Derivadas de Isatinas

A isatina é um heterocíclico amplamente conhecido pelas suas aplicações em química medicinal. Derivados *N*-acilidrazônicos da isatina configuram uma importante classe de moléculas com ampla ação farmacológica. Paralelamente, alcaloides indólicos contendo o grupo prenila vêm apresentando atividade em células tumorais. Levando em consideração esses aspectos, o objetivo desse trabalho foi desenvolver métodos alternativos na síntese de novas *N*-acilidrazonas derivadas de isatinas *N*-preniladas. Foram sintetizados os derivados *N*-prenilados de isatina, 5-fluoro-isatina, 5-bromo-isatina e 5-metil-isatina usando brometo de prenila como agente alquilante,  $K_2CO_3$  como base em meio de dimetilformamida, obtendo estes intermediários com rendimentos que variaram entre 79% a 94%. No processo de investigação, o método que se destacou foi o que utilizou o solvente eutético profundo de cloreto de colina:ácido acético como solvente/catalisador na síntese das doze *N*-acilidrazonas, sendo onze inéditas, obtendo tempos reacionais entre 3 a 17 minutos e rendimentos que variaram entre 82% a 97%. Todos os compostos foram plenamente caracterizados por métodos físicos (infravermelho, ressonância magnética nuclear de  $^1H$  e  $^{13}C$  e espectrometria de massas), sendo observada a formação de conformação *sin/antiperiplanar* nos compostos substituídos *o*-cloro na porção da benzoidrazida. A maioria dos compostos foram avaliados em relação a atividade anticâncer nas linhagens de K562 (leucemia mielóide crônica), NCI-H1299 (carcinoma de pulmão) e HCT116 (câncer cólon humano). O composto (*Z*)-2-cloro-*N'*-(5-fluoro-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5k**) foi o único que apresentou porcentagem de inibição do crescimento acima de 60% nas linhagens K562 e HCT116. Portanto, foi possível desenvolver um método eficiente utilizando o solvente eutético profundo como solvente/catalisador para obtenção de novos compostos *N*-acilidrazônicos.

**Palavras-chave:** Síntese verde, Solvente Eutético Profundo, *N*-acilidrazona, prenila.

## ABSTRACT

**Title:** Development of Alternative Methods for the Synthesis of Isatin-Derived *N*-Acylhydrazones

Isatin is a heterocyclic compound widely known for its applications in medicinal chemistry. *N*-acylhydrazone derivatives of isatin constitute an important class of molecules with broad pharmacological action. In parallel, indole alkaloids containing the prenyl group have shown activity in tumor cells. Taking these aspects into consideration, the objective of this work was to develop alternative methods for the synthesis of new *N*-acylhydrazones derivatives of *N*-prenylated isatins. The *N*-prenylated derivatives of isatin, 5-fluoro-isatin, 5-bromo-isatin and 5-methyl-isatin were synthesized using prenyl bromide as the alkylating agent and  $K_2CO_3$  as the base in dimethylformamide medium, obtaining these intermediates with yields ranging from 79% to 94%. In the investigation process, the method that stood out was the one that used the deep eutectic solvent of choline chloride:acetic acid as solvent/catalyst in the synthesis of the twelve *N*-acylhydrazones, eleven of which were new, obtaining reaction times between 3 and 17 minutes and yields that varied between 82% and 97%. All compounds were fully characterized by physical methods (infrared,  $^1H$  and  $^{13}C$  nuclear magnetic resonance and mass spectrometry), with the formation of *syn/antiperiplanar* conformation being observed in the compounds substituted *o*-chloro in the benzohydrazide moiety. Most of the compounds were evaluated for anticancer activity in the K562 (chronic myeloid leukemia), NCI-H1299 (lung carcinoma) and HCT116 (human colon cancer) cell lines. The compound (*Z*)-2-chloro-*N*-(5-fluoro-1-(3-methylbut-2-en-1-yl)-2-oxoindolin-3-ylidene)benzohydrazide (**5k**) was the only one that presented a growth inhibition percentage above 60% in the K562 and HCT116 strains. Therefore, it was possible to develop an efficient method using the deep eutectic solvent as a solvent/catalyst to obtain new *N*-acylhydrazones compounds.

**Keywords:** Green synthesis, Deep Eutectic Solvent, *N*-acylhydrazone, prenyl.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> O núcleo das bases de Schiff.....	20
<b>Figura 2.</b> Reação geral da <i>N</i> -acilidrazona .....	23
<b>Figura 3.</b> Isômeros e Conformações da <i>N</i> -acilidrazona.....	24
<b>Figura 4.</b> Pontos farmacofóricos de interação da NAH.....	31
<b>Figura 5.</b> <i>N</i> -acilidrazona como estrutura privilegiada em Química Medicinal ..	31
<b>Figura 6.</b> <i>N</i> -acilidrazonas derivadas da isatina com diversas propriedades biológicas .....	34
<b>Figura 7.</b> Espectro de IV (KBr) da molécula <b>3b</b> .....	42
<b>Figura 8.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) para a molécula <b>3b</b> .....	42
<b>Figura 9.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) para a molécula <b>3b</b> ..	43
<b>Figura 10.</b> Espectro de massa do composto <b>3d</b> .....	44
<b>Figura 11.</b> Infravermelho do DES de ChCl:AA e dos seus componentes .....	46
<b>Figura 12.</b> Infravermelho do DES de ChCl:APTS e dos seus componentes ...	47
<b>Figura 13.</b> Atuação do DES de ácido acético em proposta de mecanismo na formação da <i>N</i> -acilidrazona.....	49
<b>Figura 14.</b> Espectro de IV da molécula <b>5g</b> .....	52
<b>Figura 15.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) para a molécula <b>5g</b> .....	52
<b>Figura 16.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) para a molécula <b>5g</b> ..	53
<b>Figura 17.</b> Espectro bidimensional HSQC da molécula <b>5g</b> .....	54
<b>Figura 18.</b> Espectro bidimensional HMBC da molécula <b>5g</b> .....	55
<b>Figura 19.</b> Espectro bidimensional HMBC da molécula <b>5g</b> mostrando o acoplamento do NH com o carbono da imina (C=N).....	56
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 500 MHz) para a molécula <b>5i</b> .....	57
<b>Figura 21.</b> Representação dos confôrmeros <i>sin/antiperiplanar</i> para molécula <b>5i</b> .....	58
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C-APT (CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz) para a molécula <b>5i</b> ..	58
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 600 MHz) e <sup>13</sup> C (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 150 MHz) para a molécula <b>5i</b> .....	59
<b>Figura 24.</b> Tubo de micro-ondas com o meio reacional e imagem após a filtração.....	60
<b>Figura 25.</b> Estrutura da molécula <b>5b</b> e <b>5g</b> .....	63

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Rendimentos e tempos das reações de alquilação dos derivados da isatina .....	40
<b>Tabela 2.</b> Preparação dos DES ChCl:AA e ChCl:APTS <sup>a</sup> .....	45
<b>Tabela 3.</b> Condições reacionais para síntese da <i>N</i> -acilidrazona.....	48
<b>Tabela 4.</b> Tempos e rendimentos utilizando DES(ChCl:AcOH).....	51
<b>Tabela 5.</b> Teste de solubilidade em diferentes solventes .....	61
<b>Tabela 6.</b> Porcentagem de inibição do crescimento celular (%) e desvio padrão da média (DP) dos compostos em linhagens tumorais .....	64

**LISTA DE ESQUEMAS**

<b>Esquema 1.</b> Reação entre benzaldeídos e hidrazida de oxalato de etila .....	24
<b>Esquema 2.</b> Síntese de NAH utilizando aquecimento por ultrassom.....	25
<b>Esquema 3.</b> Síntese de NAH utilizando aquecimento promovido por micro-ondas .....	25
<b>Esquema 4.</b> Método utilizando catalisador inorgânico na síntese de NAH.....	26
<b>Esquema 5.</b> Método utilizando catalisador heterogêneo na síntese de NAH ..	27
<b>Esquema 6.</b> Método utilizando bentonita como catalisador heterogêneo na síntese de NAH a partir de derivados de isatina .....	28
<b>Esquema 7.</b> Síntese de NAH utilizando DES de $\text{CHCl}_3$ :Ácido malônico como solvente/catalisador.....	30

## LISTA DE ESPECTROS

<b>Espectro 1.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>3a</b> .....	96
<b>Espectro 2.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>3b</b> .....	97
<b>Espectro 3.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>3c</b> .....	98
<b>Espectro 4.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>3d</b> .....	99
<b>Espectro 5.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5a</b> .....	100
<b>Espectro 6.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5b</b> .....	101
<b>Espectro 7.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5c</b> .....	102
<b>Espectro 8.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5d</b> .....	103
<b>Espectro 9.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5e</b> .....	104
<b>Espectro 10.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5f</b> .....	105
<b>Espectro 11.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5g</b> .....	106
<b>Espectro 12.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5h</b> .....	107
<b>Espectro 13.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5i</b> .....	108
<b>Espectro 14.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5j</b> .....	109
<b>Espectro 15.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5k</b> .....	110
<b>Espectro 16.</b> Espectro de IV (KBr) do composto <b>5l</b> .....	111
<b>Espectro 17.</b> Espectro de IV (KBr) do DES(ChCl:AA).....	113
<b>Espectro 18.</b> Espectro de IV (KBr) do DES (ChCl:APTS) .....	114
<b>Espectro 19.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3a</b> .....	116
<b>Espectro 20.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3a</b> .....	117
<b>Espectro 21.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3b</b> .....	118
<b>Espectro 22.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3b</b> .....	119
<b>Espectro 23.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3c</b> .....	120
<b>Espectro 24.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3c</b> .....	121
<b>Espectro 25.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3d</b> .....	122
<b>Espectro 26.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>3d</b> .....	123
<b>Espectro 27.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5a</b> .....	124
<b>Espectro 28.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5a</b> .....	125
<b>Espectro 29.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5b</b> .....	126
<b>Espectro 30.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5b</b> .....	127
<b>Espectro 31.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5c</b> .....	128
<b>Espectro 32.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5c</b> .....	129
<b>Espectro 33.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5d</b> .....	130
<b>Espectro 34.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5d</b> .....	131
<b>Espectro 35.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5e</b> .....	132
<b>Espectro 36.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5e</b> .....	133
<b>Espectro 37.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5f</b> .....	134
<b>Espectro 38.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5f</b> .....	135

<b>Espectro 39.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5g</b> .....	136
<b>Espectro 40.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5g</b>	137
<b>Espectro 41.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5h</b> .....	138
<b>Espectro 42.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5h</b> .....	139
<b>Espectro 43.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5i</b> .....	140
<b>Espectro 44.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5i</b>	141
<b>Espectro 45.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5j</b> .....	142
<b>Espectro 46.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5j</b> ..	143
<b>Espectro 47.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5k</b> .....	144
<b>Espectro 48.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5k</b> .	145
<b>Espectro 49.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5l</b> .....	146
<b>Espectro 50.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5l</b>	147
<b>Espectro 51.</b> Espectro de RMN bidimensional HSQC do composto <b>5j</b> .....	149
<b>Espectro 52.</b> Espectro de RMN bidimensional HMBC do composto <b>5j</b> .....	150
<b>Espectro 53.</b> Espectro de RMN bidimensional HSQC do composto <b>5g</b> .....	151
<b>Espectro 54.</b> Espectro de RMN bidimensional HMBC do composto <b>5g</b> .....	152
<b>Espectro 55.</b> Espectro de massa do composto <b>3c</b> .....	154
<b>Espectro 56.</b> Espectro de massa do composto <b>3d</b> .....	154
<b>Espectro 57.</b> Espectro de massa do composto <b>5b</b> .....	154
<b>Espectro 58.</b> Espectro de massa do composto <b>5c</b> .....	155
<b>Espectro 59.</b> Espectro de massa do composto <b>5e</b> .....	155
<b>Espectro 60.</b> Espectro de massa do composto <b>5f</b> .....	155
<b>Espectro 61.</b> Espectro de massa do composto <b>5g</b> .....	156
<b>Espectro 62.</b> Espectro de massa do composto <b>5i</b> .....	156
<b>Espectro 63.</b> Espectro de massa do composto <b>5j</b> .....	156
<b>Espectro 64.</b> Espectro de massa do composto <b>5k</b> .....	156

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

<b>AA</b>	Ácido Acético
<b>ADMET</b>	Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade
<b>APTS</b>	Ácido <i>p</i> -Toluenossufônico
<b>CCDA</b>	Cromatografia de Camada Delgada Analítica
<b>ChCl</b>	Cloreto de Colina (do inglês, <i>Choline Chloride</i> )
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração Letal média
<b>d</b>	Dubleto
<b>dd</b>	Duplo dubleto
<b>DES</b>	Solvente Eutético Profundo (do inglês, <i>Deep Eutectic Solvent</i> )
<b>DMF</b>	Dimetilformamida
<b>dt</b>	Duplo Tripleto
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetra-acético
<b>HBA</b>	Aceptor de ligação de Hidrogênio (do inglês, <i>Hydrogen Bond Acceptor</i> )
<b>HBD</b>	Doador de ligação de Hidrogênio (do inglês, <i>Hydrogen Bond Donor</i> )
<b>HMBC</b>	Correlação de ligação múltipla heteronuclear (do inglês, <i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> )
<b>HRMS</b>	Espectrometria de Massa de Alta Resolução (do inglês, <i>High Resolution Mass Spectrometry</i> )
<b>HSQC</b>	Correlação quântica simples heteronuclear (do inglês, <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i> )
<b>Hz</b>	Hertz
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentração Inibitória média
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>IUPAC</b>	União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> )
<b>J</b>	Constante de Acoplamento
<b>LaCEM</b>	Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas
<b>LabRMN</b>	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear
<b>LASOM</b>	Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal
<b>LMCA</b>	Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises
<b>LQQC</b>	Laboratório de Química Quântica Computacional
<b>m</b>	Multiplete

<b>MGC</b>	Concentração Mínima de Gelificação (do inglês, <i>Minimum Gelation Concentration</i> )
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>MIC</b>	Concentração Inibitória Mínima (do inglês, <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> )
<b>NAH</b>	<i>N</i> -Acilidrazona
<b>pKa</b>	Logaritmo negativo da constante de dissociação ácida (Ka)
<b>ppm</b>	partes por milhão
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>s</b>	Singleto
<b>t</b>	Tripleto
<b>td</b>	Triplo Dupleto
<b>tq</b>	Tripleto de quinteto
<b>tt</b>	Triplo Tripleto
<b>Å</b>	Angstrom
<b>δ</b>	Deslocamento Químico
<b>ΔG</b>	Varição da energia livre de Gibbs
<b>π</b>	Pi

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	23
2.1 ASPECTOS DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS .....	23
2.2 DIFERENTES MÉTODOS NA OBTENÇÃO DE <i>N</i> -ACILIDRAZONA .....	24
2.3 SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS: ASPECTOS GERAIS E POTENCIAIS APLICAÇÕES NA SÍNTESE DE <i>N</i> -ACILIDRAZONAS .....	28
2.4 A QUÍMICA MEDICINAL DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS .....	30
2.5 <i>N</i> -ACILIDRAZONAS DERIVADAS DA ISATINA .....	33
2.6 LIPOFILICIDADE EM QUÍMICA MEDICINAL E A IMPORTÂNCIA DO GRUPO PRENILA .....	34
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	38
3.1 OBJETIVO GERAL .....	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	38
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
4.1 PREPARAÇÃO DAS ISATINAS <i>N</i> -PRENILADAS .....	40
4.2 PREPARAÇÃO DOS SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DES) .....	44
4.3 INVESTIGAÇÃO DE ALGUNS MÉTODOS PARA A SÍNTESE DE <i>N</i> - ACILIDRAZONA .....	47
4.4 APLICAÇÃO DO MELHOR MÉTODO PARA SÍNTESE DAS <i>N</i> - ACILIDRAZONAS <b>5b-5l</b> .....	50
4.5 COMPOSTOS <b>5b</b> , <b>5e-5g</b> , E A FORMAÇÃO DE GÉIS .....	60
4.6 ATIVIDADE ANTICÂNCER .....	64
<b>5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	67
5.1 CONCLUSÕES .....	67
5.2 PERSPECTIVAS .....	68
<b>6 SEÇÃO EXPERIMENTAL</b> .....	70
6.1 TÉCNICAS E EQUIPAMENTOS .....	70
6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DOS DERIVADOS DE ISATINA <i>N</i> -PRENILADA .....	71
6.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ISATINAS <i>N</i> -PRENILADAS <b>3a-3d</b> .....	71
6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS DESs DE ChCl:APTS E ChCl:AA .....	73
6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS .....	74
6.6 CARACTERIZAÇÃO DAS <i>N</i> -ACILIDRAZONAS <b>5a-5l</b> .....	74

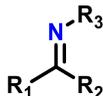
6.7 PROCEDIMENTO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICÂNCER ...	83
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85
<b>ESPECTROS</b> .....	94

# **CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

As bases de Schiff foram relatadas pela primeira vez em 1864 pelo químico alemão Hugo Schiff, o precursor na preparação destes compostos através de reações entre aminas primárias e compostos carbonílicos [1]. Seu núcleo é caracterizado pela presença do grupo funcional imina (Figura 1) que une uma variedade de substituintes alquila ou arila, e é encontrado nas di-hidrazidas, hidrazonas e *N*-acilidrazonas (NAH) [2].

**Figura 1.** O núcleo das bases de Schiff



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> são grupos alquila ou arila  
R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> podem ser H

A *N*-acilidrazona se caracteriza por um núcleo formado de imina e amida unidas por uma ligação entre os dois nitrogênios dos respectivos grupos funcionais. É uma estrutura privilegiada por apresentar sítios de interações passíveis de ligações de hidrogênio, mimetizando fragmentos peptídicos. São estáveis quimicamente e, a partir desse núcleo, podem ser projetadas diversas estruturas biologicamente funcionais [3,4]. O núcleo da *N*-acilidrazona já é relatado com muitas atividades biológicas, como antimicrobiana, analgésica e anti-inflamatória, anticancerígena, antiviral, anticonvulsivante, anticoagulante, antipsicótico, antituberculose, agente vasodilatador, entre outros [5].

A isatina é um composto heterocíclico derivado do indol que apresenta duas carbonilas de funções orgânicas distintas, cetona e amida, passíveis de reações de substituição nucleofílica, formação de ligação carbono-carbono, adição e condensação à carbonila [6-8]. Contém um anel aromático que pode sofrer reações de substituição eletrofílica aromática e um nitrogênio amídico susceptível a reações de *N*-alquilação e *N*-acilação [9]. Com isso, exibe versatilidade sintética e é de baixo custo, podendo ser utilizada como matéria-prima para a síntese de novos compostos [14]. Além disso, a isatina já é relatada com diversas propriedades biológicas como antimicrobiana, anticâncer, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antituberculose etc. [10-13].

Dessa forma, *N*-acilidrazonas derivadas da isatina são uma classe promissora no projeto de novos candidatos a fármacos. Sua estrutura exibe estudos frente a atividade antibacterianas, anti-inflamatórios, agentes anticonvulsivantes, agentes terapêuticos para doença de Parkinson,

antialodínico em modelo de dor neuropática, herbicidas e anticancerígenos [15-24].

Um outro importante grupo para o planejamento de novos candidatos a fármacos é o grupo prenila. Este se configura como uma cadeia carbônica insaturada, presente nos terpenos e naftoquinonas e diversos produtos naturais isolados de plantas, bactérias e fungos. Poucos alcalóides indólicos possuem esse núcleo, no entanto, os que a possuem apresentam relevante atividade anticâncer [26,27]. Alguns autores sugerem que a presença do grupo prenila em certos compostos pode estar relacionada à intensificação das suas propriedades biológicas [25-27].

Do ponto de vista sintético, as reações de obtenção de NAH ocorrem normalmente utilizando solventes polares próticos como etanol, metanol e água, além de usar meio ácido como catalisadores, podendo ser ácido acético, ácido clorídrico e ácido p-toluenossulfônico [28-33]. Também podem ser obtidas usando apenas solventes polares próticos na ausência de catalisadores [34-36], ou sob catálise heterogênea e catalisadores inorgânicos [37-39]. Alguns estudos têm empregado solventes eutéticos profundos como solventes e catalisadores, obtendo menor tempo de reação e altos rendimentos em comparação com os métodos anteriores [40].

Portanto, o objetivo desse trabalho foi investigar e desenvolver protocolos que envolveram o uso do solvente eutético profundo, método convencional de síntese das NAH (EtOH/AcOH) e diferentes métodos de aquecimento (micro-ondas e ultrassom), além de realizar a avaliação preliminares frente a linhagens de células tumorais.

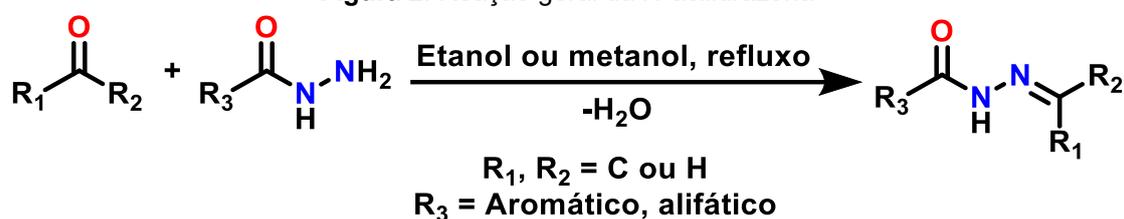
# **CAPÍTULO 2: FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 ASPECTOS DAS N-ACILIDRAZONAS

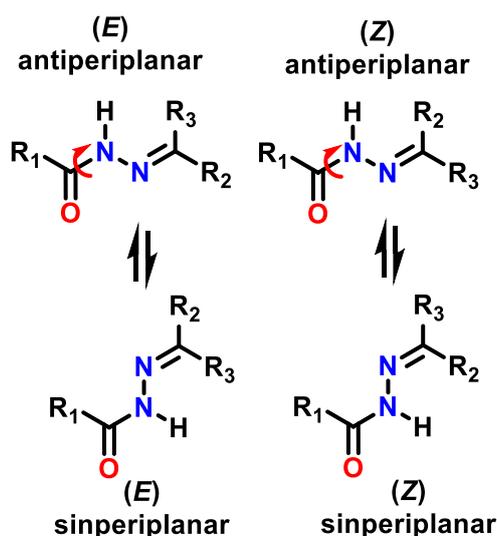
As *N*-acilidrazonas (NAH) são uma classe de compostos marcada pela presença do núcleo  $(R)_2-C=N-NH-C(=O)-R$ . A sua nomenclatura é devida ao seu material de partida, a *N*-acilidrazina ou hidrazida, que ao reagir com aldeídos ou cetonas irão formar a *N*-acilidrazona, termo cunhado por Fischer em 1888 [41]. A reação de condensação a carbonila ocorre na presença de solventes polares próticos e podem ser catalisadas em meio básico ou ácido, porém, de maneira geral as reações são realizadas em meio ácido [42,2].

Figura 2. Reação geral da *N*-acilidrazona



O mecanismo de formação das hidrazonas foi descrito em 1964 por Jencks, fundamentado no ataque nucleofílico (nitrogênio) ao eletrófilo (carbonila) ativado pela catálise ácida, acompanhado pela transferência de prótons e formação do intermediário tetraédrico. Posteriormente, ocorre a desidratação após o grupo OH ser protonado, a ligação da imina é formada resultando em uma hidrazona depois da desprotonação [41,43].

O isomerismo geométrico pode ser observado nas NAH devido ao grupo imina ( $C=N$ ), podendo existir na forma de isômeros *Z* e *E*. Por efeito da ligação do outro nitrogênio ao carbono carbonílico de amida ( $C-N$ ), também podem existir conformações em solução do tipo antiperiplanar e sinperiplanar dependendo da variação da temperatura. Teoricamente, pode haver formação de quatro isômeros, dois geométricos (*Z/E*) e dois conformacionais (*sin/anti*), como demonstrado na Figura 3. Se houver formação de mistura, os produtos podem ser identificados por meio de ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio ( $^1H$ ) e carbono ( $^{13}C$ ) pela presença dos sinais adicionais nos respectivos espectros [44,45].

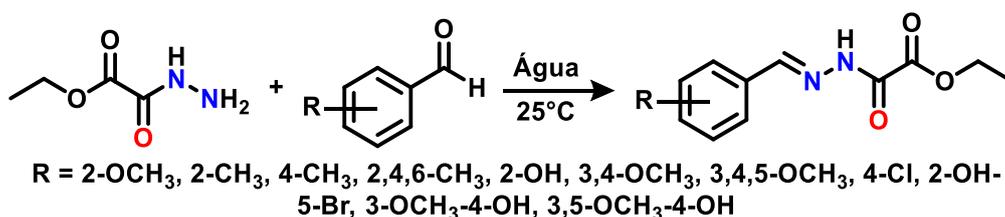
**Figura 3.** Isômeros e Conformações da *N*-acilidrazona

Fonte: Adaptado de Hincapié-Otero *et al.* (2021) [44]

## 2.2 DIFERENTES MÉTODOS NA OBTENÇÃO DE *N*-ACILIDRAZONA

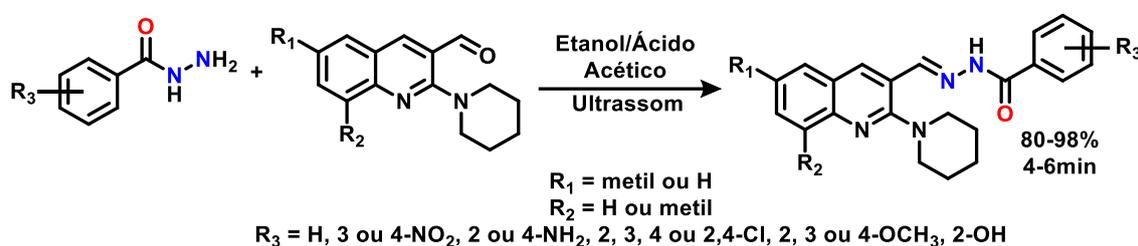
Métodos alternativos na obtenção das *N*-acilidrazonas vêm sendo empregados recentemente no intuito de realizar reações sustentáveis, adotando dentro dessa classe os princípios da química verde. A Química Verde surgiu no início da década de 1990, definida como “projeto de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias perigosas”. Assim, surgiram os doze Princípios da Química Verde, caracterizados por planejamento cuidadoso da síntese química e do design molecular com o intuito de reduzir as consequências adversas [46].

Utilizando os princípios da Química Verde, Zhao, Cheng e Pang (2018) [47] sintetizaram uma série de *N*-acilidrazonas derivadas de benzaldeído com hidrazidas de oxalato de etila em água. Para a maioria dos compostos a reação foi realizada a 25°C obtendo-se rendimentos entre 60% a 98% e tempo entre 10 a 420min (Esquema 1). Um aspecto importante tratado nesse artigo foi o uso da água ao invés de solventes orgânicos tradicionais, demonstrando o potencial para o desenvolvimento de novas metodologias para essas reações.

**Esquema 1.** Reação entre benzaldeídos e hidrazida de oxalato de etila

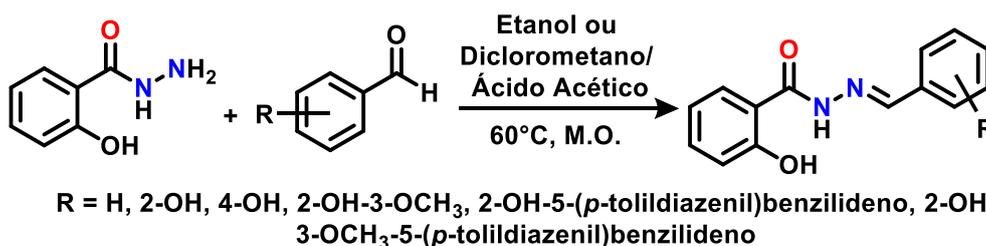
Munir *et al.* (2023) [48] sintetizaram uma série de acilidrazonas derivadas da piperidinil-quinolina, utilizando método convencional (etanol/ácido acético) para reação de condensação entre hidrazidas substituídas e aldeídos de piperidinil-quinolina em refluxo ou assistida por banho ultrassônico (Esquema 2). Em refluxo, as reações ocorreram entre 15 a 45 minutos com rendimentos entre 65% a 94%. Utilizando o ultrassom, as reações se processaram com tempo entre 4 a 6min e rendimentos entre 80% a 98%. Com isso, a utilização de ultrassom se mostrou eficaz, com excelente tempo e rendimento, se comparado com a reação processada em refluxo, além de ser um método alternativo para obtenção da classe das *N*-acilidrazonas.

**Esquema 2.** Síntese de NAH utilizando aquecimento por ultrassom



Boubekri *et al.* (2024) [49] sintetizaram uma série de *N*-acilidrazonas através da reação de condensação entre 2-hidroxibenzoidrazida com derivados de benzaldeído substituídos (Esquema 3). Primeiramente, a reação foi realizada em método convencional (etanol/ácido acético), foram conduzidas em refluxo com tempo relativamente longo de quatro horas, obtendo-se rendimento entre 69% a 80%. Depois, os compostos foram preparados em micro-ondas a 60°C utilizando etanol ou diclorometano como solvente e quantidade catalítica de ácido acético. Para as reações com etanol, o tempo reacional foi de 10 minutos e para as reações em diclorometano o tempo foi de 4 minutos. Se comparado com o método convencional, as reações assistidas por micro-ondas obtiveram excelentes rendimentos (95-98%). Portanto, a síntese assistida por micro-ondas provou ser um método simples, rápido e alternativo para preparação das *N*-acilidrazonas.

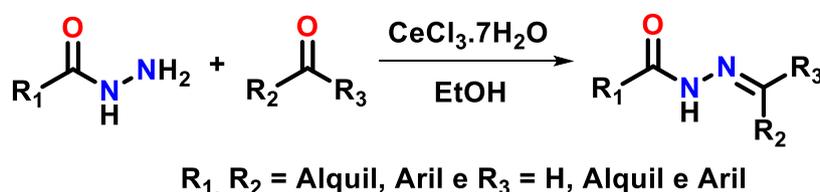
**Esquema 3.** Síntese de NAH utilizando aquecimento promovido por micro-ondas



Na síntese de NAH, é comum observar a utilização de solventes polares próticos (etanol, metanol e água) associados a catálise ácida, além disso, também é relatado reações utilizando apenas os solventes polares, como descrito acima. Porém, outros métodos de obtenção desses compostos utilizando catalisadores inorgânicos e heterogêneos já são descritos na literatura.

Dos Santos Filho (2014) [37] preparou *N*-acilidrazonas usando cloreto de cério (III) heptahidratado como catalisador ácido de Lewis, em etanol. Foram utilizadas benzoidrazidas substituídas e diferentes aldeídos e cetonas (Esquema 4). As reações com os aldeídos substituídos ocorreram a 20°C, obtiveram tempo entre 20 a 360s e rendimentos na faixa de 90% a 98%. Com as cetonas substituídas variaram a temperatura 40-70°C, tempo entre 1min a 24h e rendimento entre 86% a 97%. Para vários substratos, pode-se perceber que o catalisador foi eficiente em condições muito suaves, com bons tempos e rendimentos bons a excelentes, ele apresentou também estereosseletividade para o isômero *E*. Por fim, o cloreto de cério (III) heptahidratado é um catalisador relevante na síntese de *N*-acilidrazonas, se mostrou eficaz e dentro dos princípios da química verde, podendo também ser utilizado com água à temperatura ambiente.

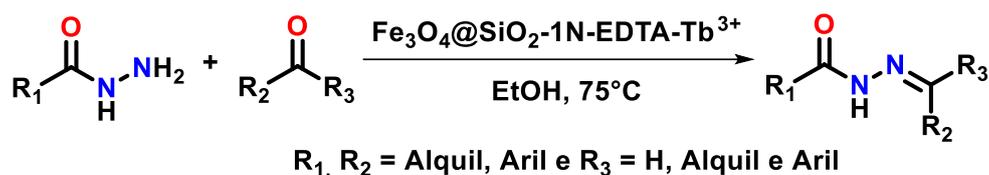
**Esquema 4.** Método utilizando catalisador inorgânico na síntese de NAH



Resende Filho *et al.* (2019) [38] sintetizaram complexos lantanídeos-EDTA ligados covalentemente em nanopartículas magnéticas  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$  e investigaram como catalisador heterogêneo para a síntese de NAH. No processo de otimização, o catalisador mais eficiente foi o  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-1N-EDTA-Tb}^{3+}$ , apresentando tempo reacional de 5min e rendimento de 90% na síntese padrão

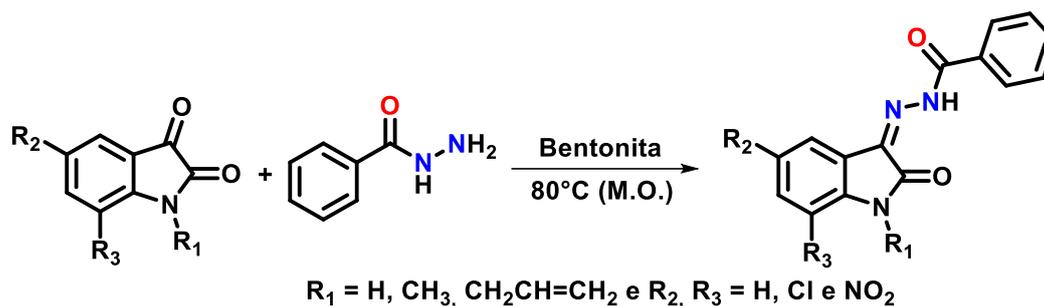
entre benzoidrazida e vanilina, em etanol a 75°C. Com as condições otimizadas, aplicaram o  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-1N-EDTA-Tb}^{3+}$  como catalisador na síntese (Esquema 5) de NAH utilizando várias hidrazidas e compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas). Para as sínteses usando aldeído, obtiveram tempo entre 3 a 50min com rendimentos na faixa de 80% a 95%. Já com as cetonas o tempo reacional variou entre 15 a 180min com rendimentos entre 65% a 89%. Dessa forma, os complexos lantanídeos-EDTA ligados covalentemente em nanopartículas magnéticas  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$  ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-1N-EDTA-Tb}^{3+}$ ) apresentaram alta eficiência como catalisador heterogêneo na síntese de NAH, preparando produtos estruturalmente variados com rendimentos isolados bons a excelentes sob condições amenas. Adicionalmente, os catalisadores de nanopartículas magnéticas são facilmente recuperados e eficientemente recicláveis, podendo ser reutilizado em seis ciclos sem perdas significativas, estando nos padrões necessários para sínteses sustentáveis.

**Esquema 5.** Método utilizando catalisador heterogêneo na síntese de NAH



Silva *et al.* (2022) [39] desenvolveram um método para síntese de NAH entre isatinas substituídas e benzoidrazidas, utilizando argila bentonita como catalisador e livre de solventes sob irradiação de micro-ondas. Otimizaram as condições da reação padrão entre a isatina e benzoidrazida, estudando a influência de fonte de aquecimento, temperatura, solvente e catalisador, chegando à conclusão de que o melhor protocolo foi a catálise de bentonita, sob irradiação de micro-ondas a 80°C e livre de solventes (Esquema 6). Com isso, aplicaram este método para síntese de *N*-acilidrazonas a partir de derivados de isatinas e benzoidrazidas, alcançando tempo entre 15 a 60min e rendimentos de 37% a 92%. Portanto, este método se mostrou relevante se comparado com o método de obtenção utilizando metanol e catálise de ácido acético. A bentonita é reciclável, podendo ser utilizada até três ciclos sem perdas significativas, além de não ser tóxica em comparação com o metanol, minimizando a geração de resíduos, se tornando uma alternativa de baixo custo e verde no preparo de NAH derivadas de isatinas.

**Esquema 6.** Método utilizando bentonita como catalizador heterogêneo na síntese de NAH a partir de derivados de isatina



Observa-se que certos métodos alternativos já vêm sendo aplicados por alguns autores objetivando a síntese de algumas *N*-acilidrazonas. No que se refere a solventes especificamente, como os eutéticos profundos, não há muitos relatos, sendo apresentado na próxima subseção alguns aspectos gerais sobre esta classe de solventes, um breve histórico e aplicações em potencial.

### 2.3 SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS: ASPECTOS GERAIS E POTENCIAIS APLICAÇÕES NA SÍNTESE DE *N*-ACILIDRAZONAS

Solventes eutéticos profundos, do inglês “*Deep Eutectic Solvents*” ou simplesmente DES, são uma classe de solventes verdes formados quando substâncias químicas com diferentes pontos de fusão, capazes de doar e aceitar ligações de hidrogênio são misturadas resultando em um líquido a temperatura ambiente. Essa mistura é eutética se caracterizada uma depressão anormal do ponto de fusão. Os DESs apresentam características importantes como alta estabilidade térmica, baixa volatilidade, baixas pressões de vapor e polaridade ajustável, além de apresentar baixo custo, biodegradabilidade, atoxicidade e facilidade na preparação [50].

Em 2003, Abbott e col. observaram pela primeira vez, ao misturar cloreto de colina (ChCl, ponto de fusão = 302°C) e ureia (ponto de fusão = 133°C) em uma equivalência de 1:2, a formação de um líquido a temperatura ambiente com ponto de fusão eutético igual a 12°C. Inicialmente, foi dado nome de mistura eutética profunda, do inglês “*Deep Eutectic Mixture*” (DEM), porém, os estudos foram direcionados para as curiosas propriedades do líquido, então adotaram o termo solvente eutético profundo (*Deep Eutectic Solvent*) para essa classe emergente de materiais [51].

Os DESs são classificados quanto os seus diferentes tipos de HBD (doadores de ligação de hidrogênio, do inglês “*Hydrogen Bond Donor*”) e HBA

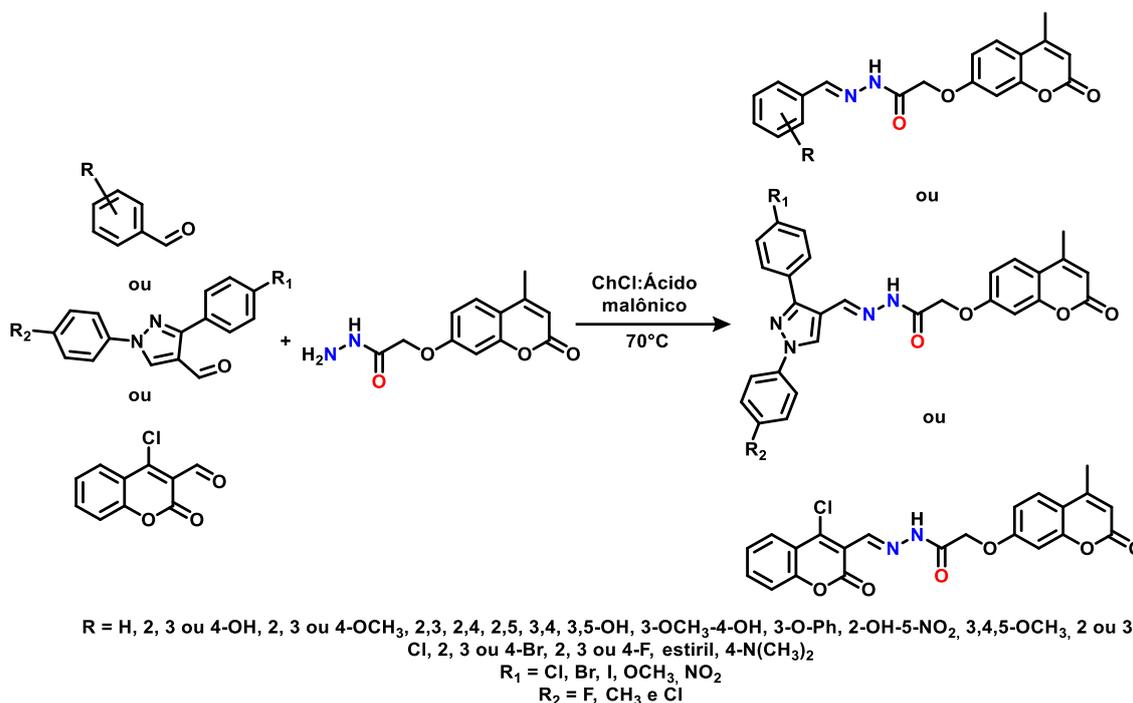
(aceptores de ligação de hidrogênio, do inglês “*Hydrogen Bond Acceptor*”). São divididos em cinco tipos. O Tipo I combina sais de amônio quaternário e cloreto de metal não hidratado; Tipo II é formado por um sal de amônio quaternário e um hidrato de cloreto de metal; Tipo III é composto por sal de amônio quaternário e os doadores de ligação de hidrogênio podem ser componentes moleculares orgânicos (ácido carboxílico ou poliol); Tipo IV é constituído por hidrato de cloreto metálico e HBD (ureia, acetamida, etilenoglicol e 1,6 hexanodiol), e por fim, o Tipo V são os DESs não iônicos, formado apenas por substâncias moleculares. Existe também algumas misturas que não se encaixam em nenhum desses tipos, porém apresentam uma depressão em seu ponto de fusão, são as misturas de ácidos e bases de Brønsted-Lowry, sugerindo que novas classificações ainda podem surgir [52]. Evidentemente, a classificação de DES utilizada nesse trabalho foi a do Tipo III.

Devido a sua versatilidade, existem diversas aplicações possíveis para DESs. Eles podem ser usados na metalurgia e eletrodeposição, separação e captação de gás, sistemas de energia e tecnologias de baterias, biocatálise e química orgânica, processamento de biomassa, estrutura e estabilidade biomolecular, genômica/fundamentos de ácidos nucleicos, farmacêutica e pesquisa médica, síntese de nanomateriais, entre outros [50]. Aplicações recentes visam à extração de produtos naturais (flavonoides e fenóis), sistemas de administração de fármacos (aumento da solubilidade de fármacos), determinação de traços de metais (extrair e realizar concentrações de metais), síntese de nanomateriais e eletroquímica (podem ser usados como eletrólitos em reações eletroquímicas) [53].

Em síntese orgânica, os DESs são utilizados como solventes, com o intuito de substituir solventes orgânicos voláteis tóxicos, atuando adicionalmente na catálise de reações, com intenção de substituição de catalisadores convencionais sem reutilização [54]. Da mesma forma, os DESs surgem como uma alternativa sustentável nos processos de síntese orgânica, estando enquadrado nos doze princípios da química verde, especificadamente no princípio 5 – Solventes e auxiliares mais seguros, que fala sobre a escolha de solventes mais seguros disponíveis para qualquer etapa, o uso mínimo de quantidade de solventes e substâncias auxiliares, com o objetivo de minimizar a criação de resíduos [46].

Em vista disso, Molnar *et al.* (2017) [40] sintetizaram uma série de *N*-acilidrazonas a partir de 2-((4-metil-2-oxo-2H-cromen-7-il)oxi)acetoidrazida e diferentes aldeídos (benzaldeídos substituídos, aldeídos a base de pirazol e 4-cloro-2-oxocromeno-3-carbaldeído) utilizando cloreto de colina:ácido malônico (1:1) (Esquema 7). Obtiveram bons rendimentos (44-95%) com tempos reacionais não ultrapassando quatro horas.

**Esquema 7.** Síntese de NAH utilizando DES de ChCl:Ácido malônico como solvente/catalisador



Diante do exposto, alternativas sustentáveis utilizando DESs ácidos ou métodos de aquecimento diferentes (ultrassom e micro-ondas) devem ser investigadas para a síntese de *N*-acilidrazonas, com o intuito de tornar a obtenção desses produtos mais sustentável e mitigar danos ao meio ambiente.

#### 2.4 A QUÍMICA MEDICINAL DAS N-ACILIDRAZONAS

Dentro do campo da Química Medicinal, a *N*-acilidrazona é uma estrutura privilegiada, fornecendo pontos ligantes para vários biorreceptores. Sua estrutura apresenta pontos farmacofóricos de interação, oferecendo aceptores e doadores de ligação de hidrogênio (Figura 4), sendo capaz de interagir com uma gama de resíduos de aminoácidos [3]. Além disso, as NAH não foram introduzidas na área de química medicinal por acaso, essas estruturas apresentam elevada estabilidade química contra hidrólise se comparada com

seus grupos funcionais de partida isolados (amida e imina) e mimetizam porções peptídicas [5].

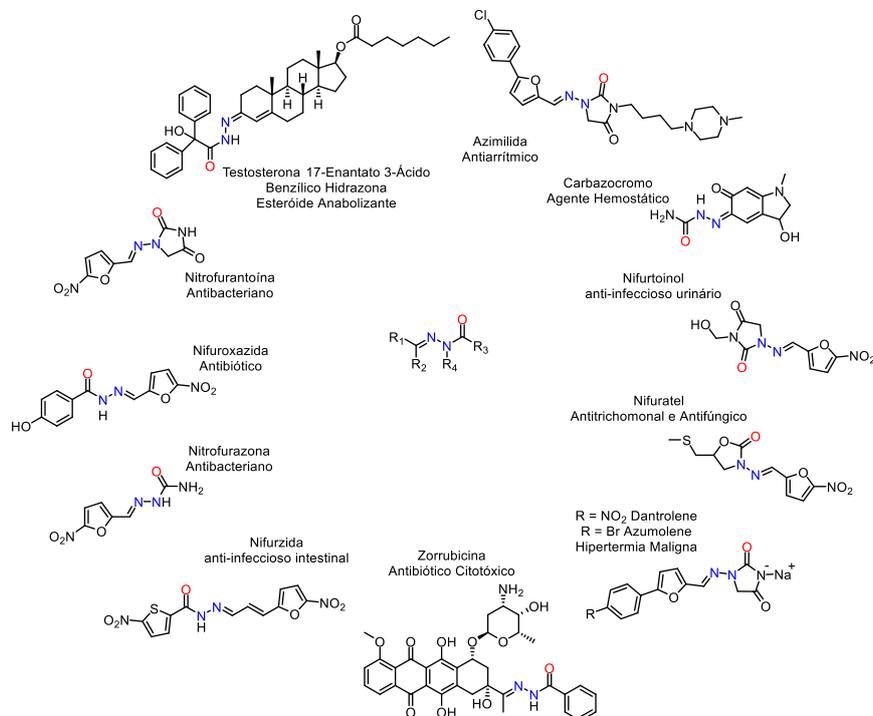
**Figura 4.** Pontos farmacofóricos de interação da NAH



Fonte: Adaptado de Maia *et al.* (2014) [3]

Dessa forma, o poderoso núcleo bioativo da NAH foi capaz de produzir candidatos a fármacos com variadas atividades (Figura 5), usados na terapia como Azimilida (antiarrítmico), Carbazocromo (agente hemostático), Nifurtoinol (anti-infeccioso urinário), Nifuratel (antitrichomonal, antifúngico), Dantrolene ou Azulmolene (hipertermia maligna), Zorrubicina (antibiótico citotóxico), Nifurzida (anti-infeccioso intestinal), Nitrofurazona (antibacteriano), Nifuroxazida (antibiótico), Nitrofurantoina (antibacteriano) e Testosterona 17-Enantato 3-Ácido Benzílico Hidrazona (esteróide anabolizante) [4,55].

**Figura 5.** *N*-acilidrazona como estrutura privilegiada em Química Medicinal



Levando em consideração a importância do núcleo da NAH com diversas atividades biológicas relacionadas, Mali *et al.* (2021) [56] publicaram uma pequena revisão acerca da importância das hidrazonas e seus derivados. Nessa

pesquisa, relataram aspectos biológicos, demonstrando várias moléculas com atividade antimicrobiana, antiviral e antituberculose. Destacaram também, características estruturais e diferentes rotas sintéticas utilizadas na síntese desses compostos. Em concordância, Fernandes *et al.* (2021) [57] relataram que acilidrazonas aromáticas atuam como inibidoras da síntese de esfingolípídios fúngicos e em estudos mais aprofundados, descobriram novos compostos como potenciais fungicidas e altamente seletivos para fungos encontrados em hospitais, apresentando alto índice de seletividade.

Belyaeva *et al.* (2022) [58] divulgaram em sua revisão características sintéticas e biológicas das *N*-acilidrazonas. Ressaltaram que, frente a atividade antituberculose, o derivado de hidrazona da xantina com grupos nitro nos ciclos benzeno e furano apresentou 100% de atividade contra a cepa de *M. tuberculosis* H37RV. No que se refere a atividade antimicrobiana, NAH derivadas da piridina foram eficazes contra *P. aeruginosa* com MIC de 0,220 e 0,195 µg/mL. A respeito da atividade antiviral, acilidrazonas contendo morfolina foram sintetizadas e testadas frente aos vírus da influenza A e B, expondo  $CI_{50}$  entre 3,15 µM a 2,61 µM, atividade inibitória mais alta do que o fármaco de referência carboxilato de oseltamivir ( $CI_{50} = 3,84$  µM). Quanto à atividade anti-inflamatória, NAH derivadas do *p*-nitrofenil manifestaram atividade anti-inflamatória com atuação na modulação da secreção de IL-1 $\beta$ , síntese da prostaglandina E2 em macrófagos e a inibição da atividade da calcineurina fosfatase nos linfócitos. Para atividade anticâncer, derivados de NAH com porção 4-(dietil amino)salicilideno apresentaram forte citotoxicidade com valores médios de  $CI_{50}$  na faixa de submicromolar e seletividade celular em concentrações de nanomolares. Por fim, para atividade como pesticida, foram sintetizados NAH derivadas de dieneidrazida à base de piperina para uso como inseticidas e testados contra larvas de *Culex pipiens*, obtendo valores de  $CL_{50}$  entre 0,221 mg/mL a 0,094 mg/mL; esses compostos demonstram maior atividade larvicida do que a deltametrina. Portanto, *N*-acilidrazonas possuem uma ampla gama de propriedades biológicas, possibilitando seu uso na medicina e na agricultura.

Kassab (2023) [59] discorreu em uma revisão recente os progressos de 2017 até 2022 de agentes anticancerígenos que incorporam em suas estruturas o núcleo da *N*-acilidrazona. Descreveu *N*-acilidrazonas como quelantes metálicos, indutoras de apoptose, como agentes antioxidantes via sequestro do

radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), agentes antiangiogênicos, agentes anticancerígenos multialvo, agentes antiproliferativos, inibidoras da topoisomerase, da tirosina quinase, da desmetilase 1 específica da lisina (LSD1), da histona desacetilase (HDAC), do alvo RAD51, da anidrase carbônica II (CA-II) e do fator induzível por hipóxia (HIF-1 $\alpha$ ). Sendo assim, compostos com núcleo da *N*-acilidrazona são promissores agentes anticâncer que podem atuar em diversas vias mecanísticas. Além disso, ostenta potente atividade antiproliferativa de amplo espectro contra várias linhagens de células tumorais humanas.

## 2.5 *N*-ACILIDRAZONAS DERIVADAS DA ISATINA

A isatina (1*H*-indol-2,3-diona) é uma molécula heterocíclica que possui uma estrutura de anel indol, sendo composto por um anel aromático de seis membros passível a reações de substituição eletrofílica aromática, um anel de cinco membros que possui dois grupos cetônicos suscetíveis a reações de condensação, adição e redução, e um nitrogênio vulnerável a reações de *N*-alquilação e *N*-acilação. Sua estrutura foi descoberta por Linne Erdman e Auguste Laurent no ano de 1941 a partir da reação de oxidação do corante índigo na presença de ácidos nítrico e crômico, resultando em cristais de cor laranja [10-12, 60,61].

É um farmacóforo natural privilegiado, encontrado em plantas do gênero *Isatis*, *Calanthe discolor* Lindl., *Couropita guianensis* Aubl., um componente da secreção da glândula parótida de sapos Bufo e em humanos como derivados metabólicos da adrenalina. Ademais, derivados de isatina possuem um amplo espectro de atividades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticâncer, antiviral, anticonvulsivante, antioxidante etc. [13,14, 62,63].

Tendo em vista a importância da isatina e da classe das NAH, alguns autores vêm apresentando estudos frente à síntese e avaliação biológica de *N*-acilidrazonas derivadas da isatina. Estes, por sua vez, apresentam diversas propriedades biológicas (Figura 6), como antibacterianos [15,16], anti-inflamatórios [17], agentes anticonvulsivantes [18], agentes terapêuticos para doença de Parkinson [19], analgésicos em modelo de dor neuropática [20], herbicidas [21] e anticancerígenos [22-24].



“representação da afinidade de uma molécula ou de um fragmento por ambiente lipofílico. É comumente medida por seu comportamento de distribuição em um sistema bifásico, seja líquido-líquido (coeficiente de partição em octanol/água) ou sólido líquido (retenção por métodos cromatográficos diversos)” [64].

Dessarte, a lipofilicidade se faz importante no desenvolvimento de candidatos a fármacos, desempenhando papel fundamental na determinação de propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade (ADMET). Desse modo, busca-se projetar fármacos com bons valores de lipofilicidade, contudo, exacerbado aumento da lipossolubilidade expande diversas interações com lipídios, podendo causar retenção irreversível na camada lipídica da membrana celular. Em vista disso, faz-se necessário manter o equilíbrio da lipofilicidade, aumentando assim as chances de sucesso nos projetos de medicamentos [65,66].

Levando em consideração o exposto acima, o grupo prenila tem sua importância dentro da química de produtos naturais, tendo em vista que produtos naturais *N*-prenilados já foram isolados de plantas da família Rutaceae, de organismos marinhos (briozoários), fungos (*Aspergillus* e *Penicillium* spp.) e bactérias (*Streptomyces* spp.). Adicionalmente, produtos naturais com a presença do grupo prenila podem estar associados ao desenvolvimento de novos produtos naturais ativos biologicamente [25].

Vale salientar que alcalóides indólicos com a presença do grupo prenila foram relatados por Genovese, Curini e Epifano (2009) [26], sendo avaliados quanto às suas atividades citotóxicas *in vitro* em linhagens de células cancerígenas (MOLT-4 leucemia linfoblástica aguda humana, A549 carcinoma pulmonar humano, HL-60 leucemia promielocítica humana e BEL-7420 carcinoma hepatocelular humano) expondo  $CI_{50}$  na casa de micromolar ( $\mu M$ ). De mesmo modo, Gonzari *et al.* (2021) [27] citou um alcalóide heptapeptídeo prenilado chamado de Ciclomarina A produzido por uma cepa de *Streptomyces* CNB-982 derivada de sedimentos marinhos que exibiu citotoxicidade contra várias linhagens celulares cancerígena com valor médio de  $CI_{50}$  igual 2,6 mM. Seu análogo, Ciclomarina D produzida por *Salinispora arenicola* CNS-205, bactéria derivada de sedimentos marinhos, também demonstrou citotoxicidade contra HT-116 (adenocarcinoma de cólon humano) com valor de  $CI_{50}$  2,0 mM.

Outrossim, a reação de prenilação pode ocorrer de maneira natural ou sintética, que consiste na adição de uma cadeia lipofílica (grupo prenila) a uma molécula receptora que pode ser um terpenóide, proteína ou compostos aromáticos como os indóis e seus derivados (isatina). Com isso, essa adição do grupo prenila pode ter efeito de tornar a molécula biologicamente mais ativa se comparada ao composto original [25, 67].

# **CAPÍTULO 3: OBJETIVOS**

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar novos compostos *N*-acilidrazônicos derivados de isatinas *N*-preniladas por diferentes metodologias.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar a reação de *N*-prenilação da isatina, 5-metil isatina e derivados halogenados;
- ✓ Investigar a reação de condensação entre a *N*-prenil isatina e benzoidrazida variando métodos de aquecimento, solvente eutético profundo e solvente/catalisador;
- ✓ Aumentar o escopo da reação para obtenção de novos compostos utilizando isatinas e benzoidrazidas substituídas;
- ✓ Avaliar a atividade anticâncer em diferentes linhagens de células.

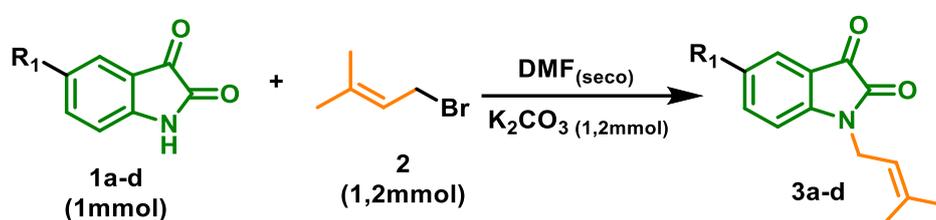
# **CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 PREPARAÇÃO DAS ISATINAS *N*-PRENILADAS

Inicialmente, foram realizadas as reações de *N*-alquilação dos derivados da isatina com metodologia adaptada de YANG *et al.* (2018) [16], utilizando carbonato de potássio como meio básico para promover a desprotonação do nitrogênio amídico da isatina e então adicionar o excesso de brometo de prenila em temperatura ambiente. A reação foi acompanhada via cromatografia em camada delgada (CCD), onde não foi observado presença do material de partida. Na Tabela 1, podemos observar que essas reações se processaram entre 3 a 5h com rendimentos entre 79% a 94%.

**Tabela 1.** Rendimentos e tempos das reações de alquilação dos derivados da isatina

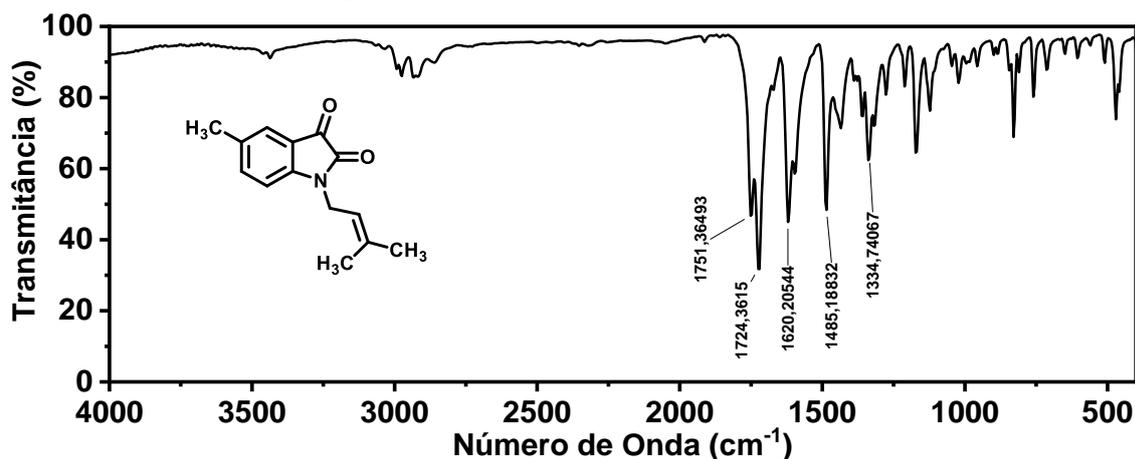


Entrada	R <sub>1</sub>	Produto	Tempo	Rendimento isolado(%)	Literatura
1	H	<b>3a</b>	5h	79	78%/1h <sup>[68]</sup>
2	CH <sub>3</sub>	<b>3b</b>	4h	91	56%/24h <sup>[69]</sup>
3	F	<b>3c</b>	4h	90	
4	Br	<b>3d</b>	3h	94	

O derivado **3a** e **3b** já são relatados na literatura, porém, utilizando métodos de obtenção diferentes. A síntese da molécula **3a** foi realizada sob atmosfera inerte a 0°C, utilizando como meio básico o hidreto de sódio (NaH) ao invés do carbonato de potássio utilizado nesse trabalho [68]. E para o composto **3b**, utilizou-se uma mistura de dimetilsulfóxido (DMSO) e tolueno como solvente, sob 1atm de monóxido de carbono a 100°C, empregando-se dicloreto de *bis*(trifenilfosfina)paládio(II) e pivalato de cobre(II) como catalisadores [69]. Ambas as metodologias mencionadas manuseiam reagentes de alto valor agregado, diferente do que foi realizado nesse trabalho. Vale ressaltar que os derivados **3c** e **3d** são inéditos, não foram mencionados na literatura até o momento presente.

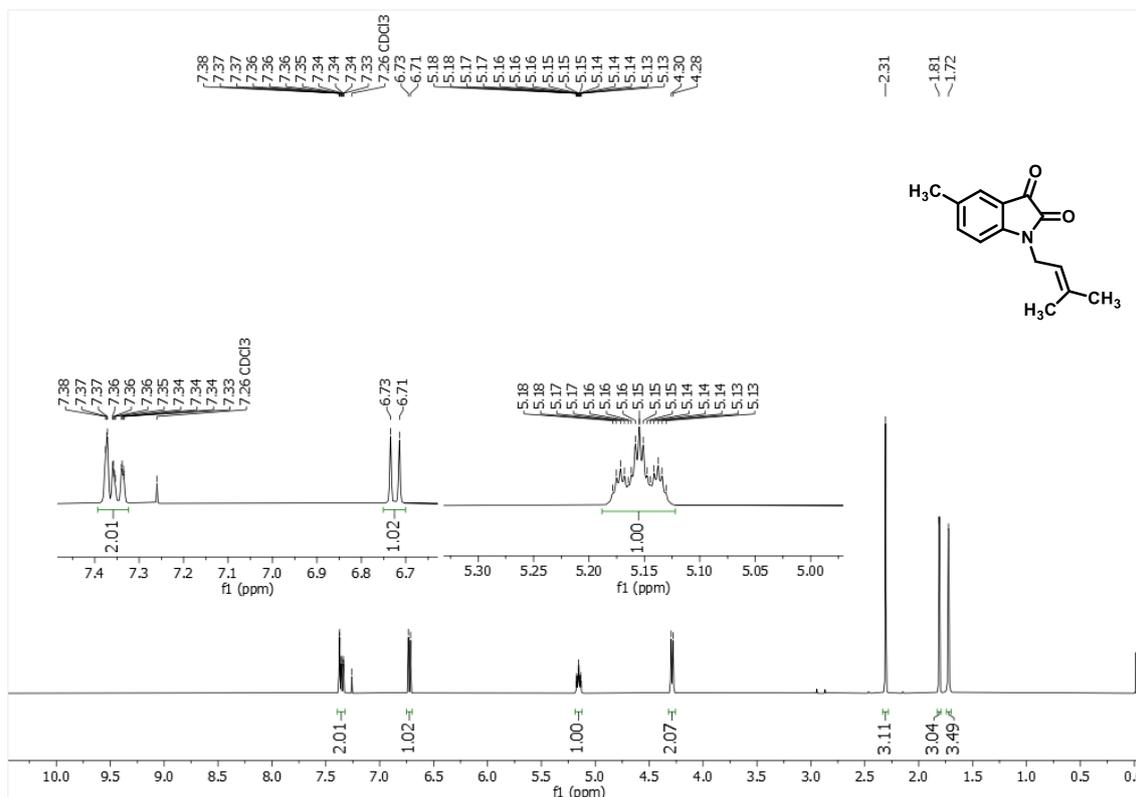
Comparando os tempos reacionais obtidos, na entrada 1, a isatina sem substituição no anel aromático levou mais tempo de reação se comparado com as outras entradas. Isso pode estar relacionado com os seus substituintes. O CH<sub>3</sub> doa densidade eletrônica nas posições *orto* e *para*, tornando o nitrogênio amídico mais nucleofílico para reação de alquilação via mecanismo de substituição nucleofílica bimolecular. Em relação aos substituintes F e Br nas entradas 3 e 4, eles deixam o hidrogênio do nitrogênio amídico mais ácido, pois retiram densidade eletrônica, ocorrendo mais rápido a desprotonação e em seguida a alquilação [70]. Porém, para o derivado bromado a reação se processou mais rápida em comparação com o derivado que apresenta o átomo de flúor, sugerindo que com a presença do bromo houve uma maior solubilidade, logo a reação se processou mais rapidamente. Para o isolamento desses produtos, o meio reacional foi vertido em gelo e ocorre a precipitação dos compostos, então o rendimento está relacionado a etapa de filtração, pois o precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, ou seja, parte do produto pode passar para a fase aquosa, assim, diminuindo o rendimento.

Com relação a caracterização dos derivados, foi possível observar na Figura 7 que o espectro de infravermelho (IV) do composto **3b** apresenta ausência da banda de NH amídico do material de partida na região entre 3300 cm<sup>-1</sup> a 3250 cm<sup>-1</sup>, sugerindo que a reação de alquilação foi bem-sucedida. As bandas de carbonilas de cetona e amida continuam presentes em 1751 cm<sup>-1</sup> e 1724 cm<sup>-1</sup>, respectivamente, bem como a banda relativa a C=C aromática em 1485 cm<sup>-1</sup>. A presença de bandas de alceno foi possível ser observada em 1620 cm<sup>-1</sup>, indicando a presença do grupo prenila. Os espectros dos outros derivados seguem o mesmo padrão.

Figura 7. Espectro de IV (KBr) da molécula **3b**

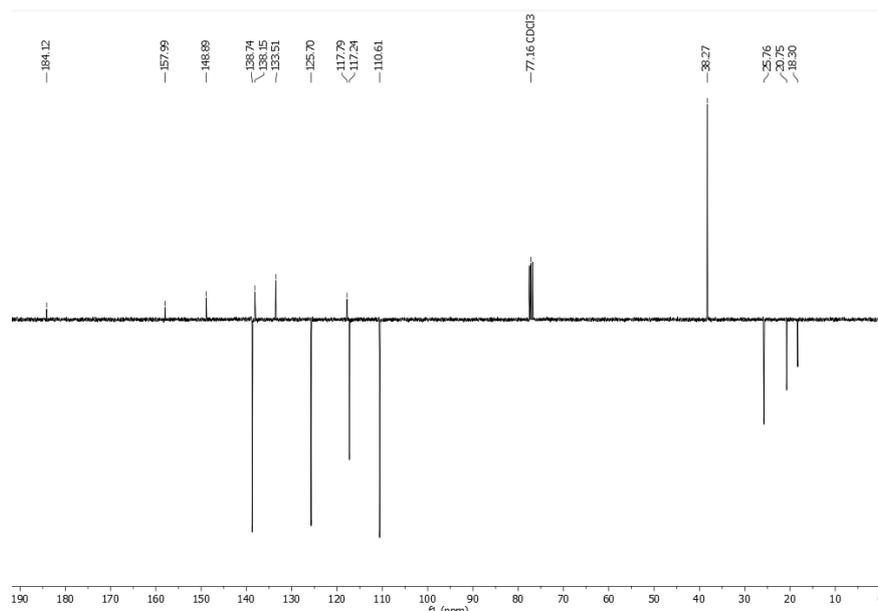
Observando os deslocamentos químicos dos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) para o <sup>1</sup>H, não há a presença do sinal do hidrogênio amídico em ~10 ppm da isatina, confirmando que não sobrou material de partida, mas há um tripleto característico para um hidrogênio do CH vinílico presente na prenila em ~5 ppm, podendo desdobrar para um triplo tripleto ou tripleto de quinteto, pois ocorre acoplamento com o CH<sub>2</sub> formando o tripleto e desdobrando o tripleto que pode acoplar com os CH<sub>3</sub> presentes no grupo prenila. Foi possível identificar também o dubleto referente ao CH<sub>2</sub> do grupo prenila em ~4 ppm, pois acopla com o CH, e os dois singletos relativos aos dois CH<sub>3</sub> entre 1,80 ppm a 1,70 ppm, com ressalva do composto **3b** que apresenta um singleto para 3H em 2,31 ppm da metila presente no anel aromático. Os sinais relacionados aos hidrogênios aromáticos são mantidos, aparecendo na região entre 7,70 ppm a 6,70 ppm.

Figura 8. Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) para a molécula **3b**



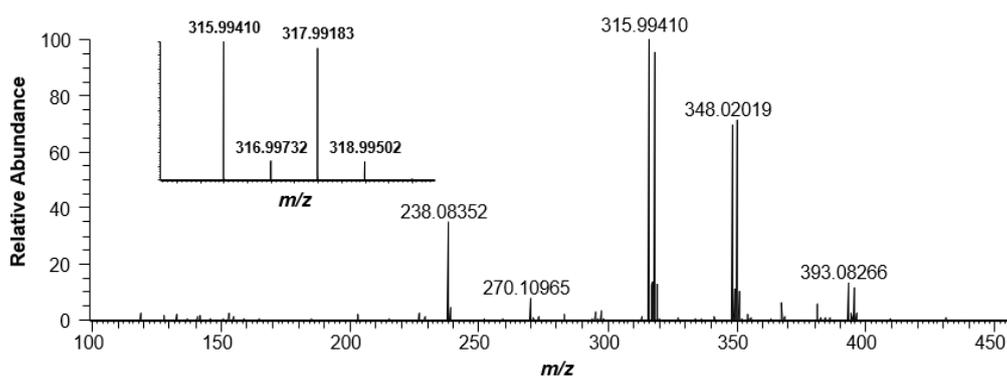
Não menos importante, no  $^{13}\text{C}$  foi constatada a presença do sinal do carbono carbonílico de cetona desblindado em  $\sim 180$  ppm e o de amida em  $\sim 160$  ppm. Também foi verificado o sinal do carbono pertencente ao  $\text{CH}_2$  da porção prenila em  $\sim 38$  ppm e os sinais dos  $\text{CH}_3$  entre 25 ppm a 18 ppm, com exceção da molécula **3b** que apresenta uma metila a mais na mesma região de deslocamento pertencente ao substituinte  $\text{CH}_3$  da isatina. O sinal do  $\text{CH}$  vinílico apresenta deslocamento em  $\sim 117$  ppm. Os compostos **3a** e **3b** apresentam caracterização análoga relatada na literatura já referenciada neste trabalho [68,69].

**Figura 9.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) para a molécula **3b**



Para os compostos **3c** e **3d** foram realizados espectrometria de massas de alta resolução (HRMS), não sendo realizado para as moléculas **3a** e **3b** por serem relatadas na literatura. A molécula **3c** tem  $[M+Na]^+$  calculado para  $C_{13}H_{12}FNNaO_2$ , 256,07443, encontrado 256,07401. Para  $[M+H]^+$  foi calculado  $C_{13}H_{13}FNO_2$ , 234,09248, encontrado 234,09219. O composto **3d** tem  $[M+Na]^+$  calculado para  $C_{13}H_{12}BrNNaO_2$ , 315,99436, encontrado 315,99410. Assim, confirmando a estrutura dessas moléculas. Na Figura 10 está presente o espectro de massas para a molécula **3d**.

Figura 10. Espectro de massa do composto **3d**



#### 4.2 PREPARAÇÃO DOS SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DES)

O método de síntese convencional das *N*-acilidrazonas geralmente ocorre em meio polar prótico (metanol ou etanol) sob catálise ácida, sendo o ácido acético como catalisador mais comumente utilizado [42]. Pensando em alternativas verdes e observando as aplicações de solventes ecologicamente amigáveis, surge a ideia de utilizar alguns solventes eutéticos profundos como

um solvente/catalisador que apresente características ácidas para síntese das *N*-acilidrazonas.

O DES utilizado neste trabalho foi baseado em cloreto de colina (ChCl), sal de amônio quaternário acceptor de ligação de hidrogênio, como uma alternativa de baixo custo e por ser biodegradável [71]. O doador de ligação de hidrogênio aplicado foi o ácido acético (AA), por ser o mais utilizado para essas sínteses, e foi empregado também o ácido *p*-toluenossufônico (APTS) como uma alternativa a mais para ser investigada. Na Tabela 2 são apresentados dados necessários para preparação dos DES. Vale salientar que, se o DES de ChCl:AA não for preparado com excesso de ácido acético, não há formação do solvente eutético profundo.

Tabela 2. Preparação dos DES ChCl:AA e ChCl:APTS<sup>a</sup>



Entrada	ChCl (mmol)	AA (mmol)	APTS (mmol)	T (°C)	t (h)
1	10	20	-	60	1
2	20	-	20	80-100	2

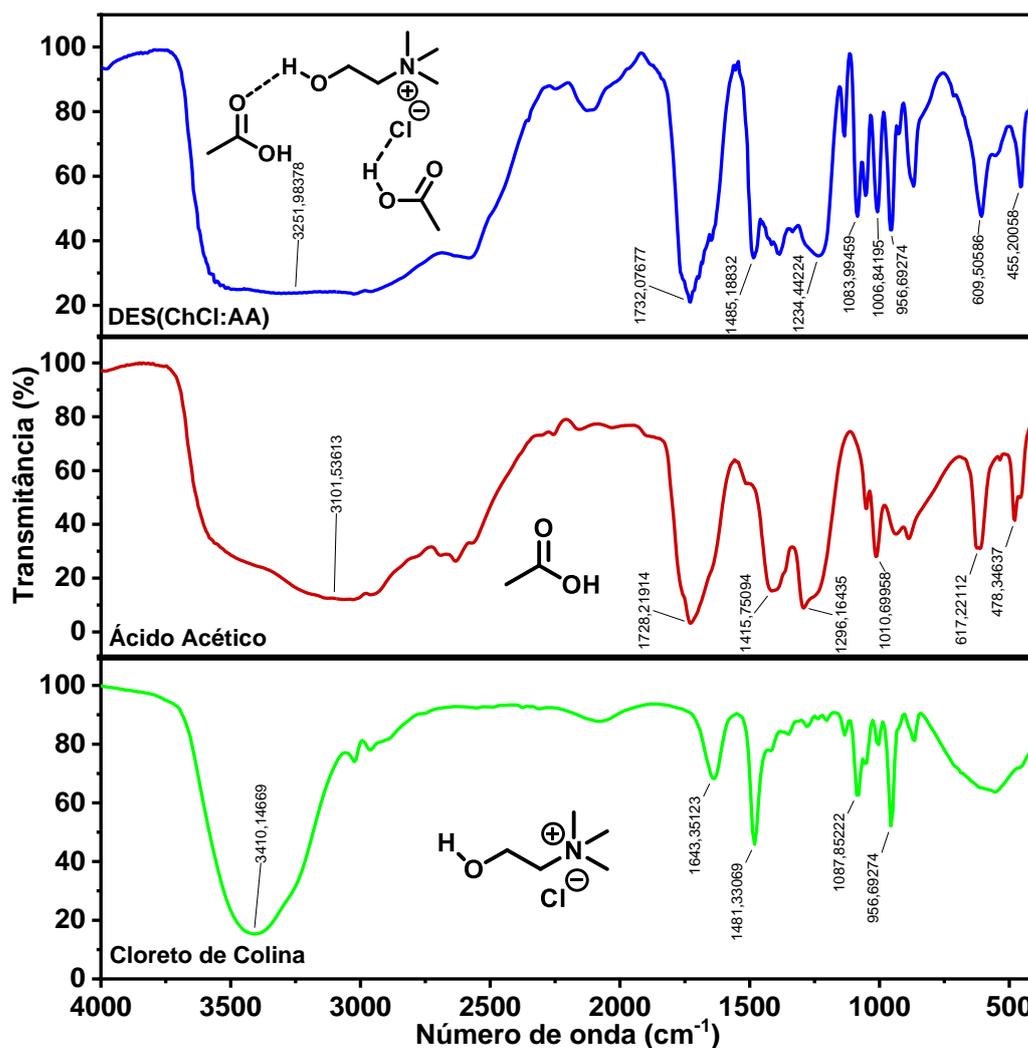
<sup>a</sup>Síntese realizada sob aquecimento convencional em banho de óleo.

A respeito da caracterização dos DES, foi realizado infravermelho dos componentes de formação e do solvente eutético profundo a fim de se observarem os deslocamentos das bandas antes da formação do DES e depois, para evidenciarmos a obtenção dos DESs de ChCl:APTS e ChCl:AA.

Na Figura 11 é possível ver as variações de deslocamentos do número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) para o estiramento OH do cloreto de colina em  $3410 \text{ cm}^{-1}$  e do ácido acético em  $3101 \text{ cm}^{-1}$ , no espectro do DES a banda de OH apareceu em  $3251 \text{ cm}^{-1}$ , isso ocorreu devido as ligações de hidrogênio formadas. Além disso, a banda larga de OH no espectro do DES é possível por conta do excesso de ácido acético utilizado na preparação do DES (ChCl:AA) e das interações do tipo ligação de hidrogênio formadas. Em  $1732 \text{ cm}^{-1}$  é a banda de carbonila do ácido presente no espectro do DES com leve deslocamento se comparada a banda em  $1728 \text{ cm}^{-1}$  no espectro do ácido acético. Em  $1234 \text{ cm}^{-1}$  é o valor do

estiramento C-O ( $sp^2$ ) no espectro do DES, essa banda aparece em  $1296\text{ cm}^{-1}$  no espectro do ácido acético. A banda de C-O ( $sp^3$ ) do cloreto de colina aparece em  $1083\text{ cm}^{-1}$  no espectro do DES, no espectro do cloreto de colina apresenta-se em  $1087\text{ cm}^{-1}$ . Essas variações do número de onda podem estar relacionadas as ligações de hidrogênio formadas no Solvente Eutético Profundo [72].

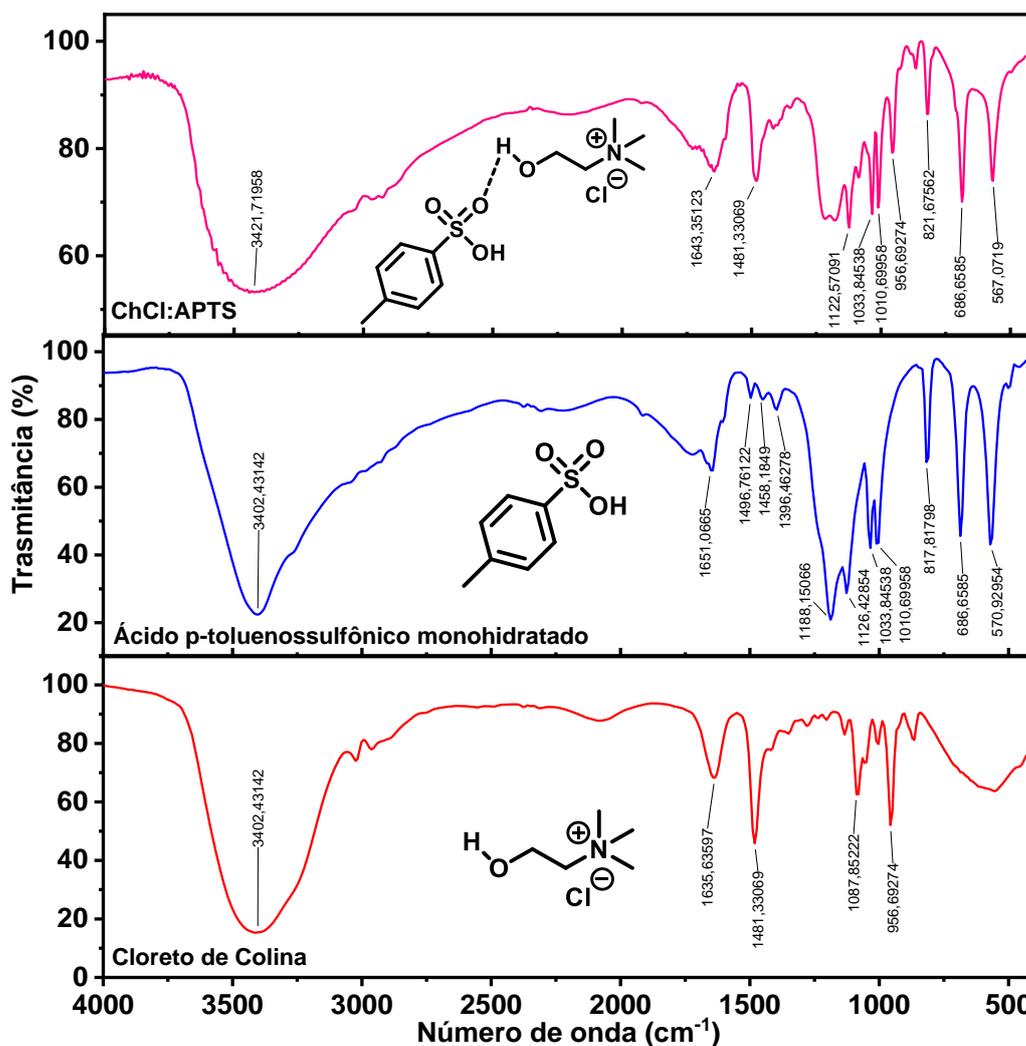
Figura 11. Infravermelho do DES de ChCl:AA e dos seus componentes



No que se refere aos espectros do DES de ChCl:APTS e seus componentes, na Figura 12 é possível observar as bandas de OH do cloreto de colina e do APTS em  $3402\text{ cm}^{-1}$  e no espectro do DES essa banda apresenta-se em  $3421\text{ cm}^{-1}$ , leve deslocamento causado pela ligação de hidrogênio formada. No espectro de APTS, as bandas entre  $1651\text{ cm}^{-1}$  a  $1396\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas aos estiramentos C=C do anel aromático. Em  $1188\text{--}1126\text{ cm}^{-1}$  são os estiramentos de S=O, e em  $686\text{ cm}^{-1}$  é o estiramento S-O. A banda em  $817\text{ cm}^{-1}$  é relacionada a *para* substituição presente no APTS. Algumas dessas bandas

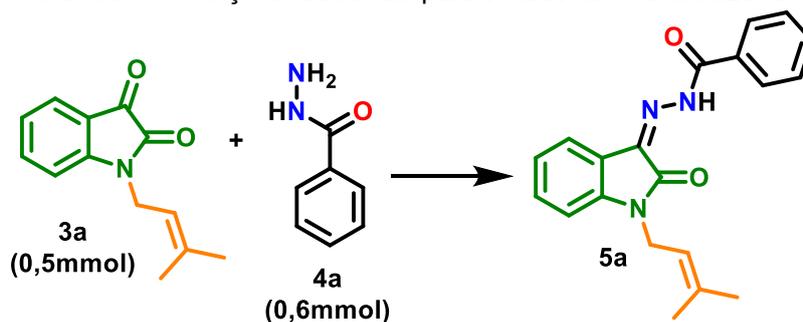
estão presentes no espectro do DES. Para o espectro do cloreto de colina, a banda de flexão assimétrica para o  $N^+(CH_3)_3$  aparece em  $956\text{ cm}^{-1}$ . Já as bandas de alongamento simétrico e assimétrico aparecem em  $3020\text{ cm}^{-1}$  e  $920\text{-}930\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, sendo dificultada a identificação por possíveis sobreposição de bandas [73].

Figura 12. Infravermelho do DES de ChCl:APTS e dos seus componentes



#### 4.3 INVESTIGAÇÃO DE ALGUNS MÉTODOS PARA A SÍNTESE DE N-ACILIDRAZONA

Com todos os derivados caracterizados, iniciou-se uma investigação a respeito do melhor método reacional para síntese dos compostos N-acilidrazônicos. No primeiro momento, foram realizadas reações de condensação entre o derivado de isatina **3a** (0,5 mmol) e a benzoidrazida **4a** (0,6 mmol) em excesso, com uma equivalência de 1:1,2. Na Tabela 3, encontram-se os valores de tempos e rendimentos reacionais.

Tabela 3. Condições reacionais para síntese da *N*-acilidrazona

Entrada	Método	Solvente/Catalisador	T (°C)	Tempo	Rendimento <sup>a</sup>
1	Ultrassom	EtOH/AcOH	40-50	12h	73%
2	Micro-ondas	EtOH/AcOH	60	50min	60%
3	Banho de óleo	EtOH/AcOH	60	2h05min	66%
4	Banho de óleo	EtOH/APTS	60	19h32min	<sup>b</sup>
5	Banho de óleo	DES(ChCl:APTS:H <sub>2</sub> O)	115	13min	78%
6	Banho de óleo	DES(ChCl:AcOH)	60	4min	97%

<sup>a</sup> Rendimento isolado; <sup>b</sup> Reação apresentou formação de alguns coprodutos.

Levando em consideração os dados apresentados na Tabela 4, preliminarmente as reações foram realizadas variando o método de aquecimento nas entradas 1, 2 e 3, em meio de etanol (3mL) como solvente e utilizando quantidades catalíticas de ácido acético (AcOH). As reações foram a consumo completo com bons rendimentos e elevados tempos reacionais.

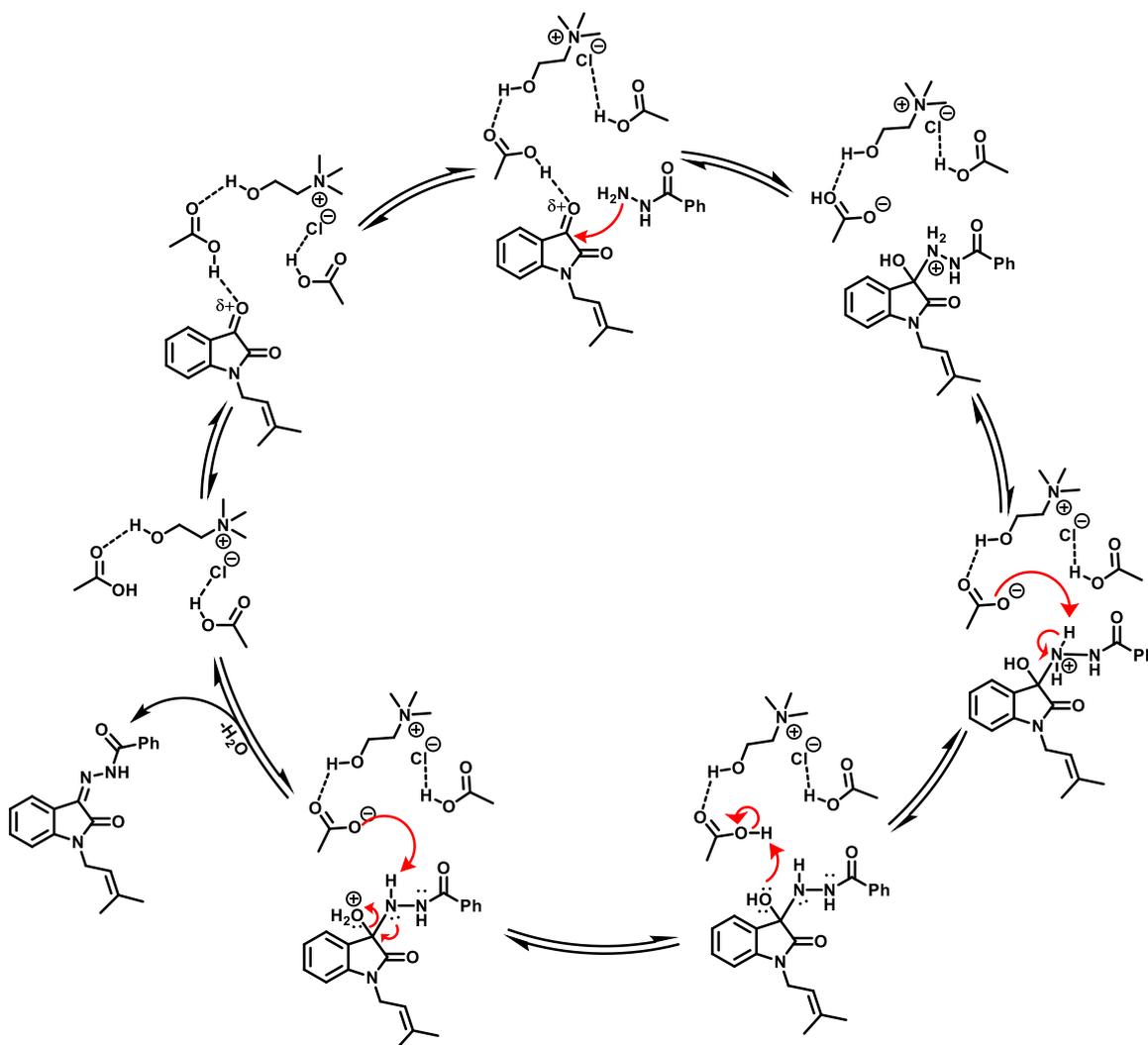
Porém, na entrada 4 que utiliza ácido *p*-toluenossulfônico (APTS) como catalisador, a reação não foi a consumo completo mesmo depois de quase 20h. Além disso, foi observada via CCD a formação de alguns coprodutos, impossibilitando a purificação para o cálculo do rendimento. A explicação para este fato está na possibilidade do meio muito ácido, como é o caso do APTS com  $pK_a$  igual a -2,8, reagir com a dupla ligação da prenila formando produtos indesejados [74].

Nas duas últimas entradas, foram utilizados DESs variando os doadores de ligação de hidrogênio, ambos ácidos. Observando a entrada 5, o DES utilizado apresenta-se diluído com 35% da sua massa em água para melhoria da sua viscosidade e consequentemente da sua manipulação. A reação foi realizada a 115°C devido à baixa solubilidade do material de partida em menores temperaturas. Essa reação, com as mesmas condições utilizadas na entrada 5,

foi feita a 60°C e observou-se que não houve consumo completo, pois o material de partida não foi totalmente solúvel em temperaturas menores.

A entrada 6 apresenta a melhor metodologia, porque a reação ocorreu em 4min com consumo total dos materiais de partida e rendimento isolado de 97%. Esse foi o melhor solvente/catalisador, por ter demonstrado melhor solubilidade dos materiais de partida e, além disso, esse solvente apresenta propriedades ácidas devido ao ácido acético, sendo também um bom catalisador para esse tipo de reação que em sua maioria usa meio ácido [42]. Por fim, a última entrada foi a que apresentou um menor tempo reacional seguido de um bom rendimento, sendo o melhor método testado nesse trabalho para ser aplicado na obtenção dos outros produtos.

**Figura 13.** Atuação do DES de ácido acético em proposta de mecanismo na formação da *N*-acilidrazona



Fonte: Adaptado de Molnar *et al.* (2023) [75]

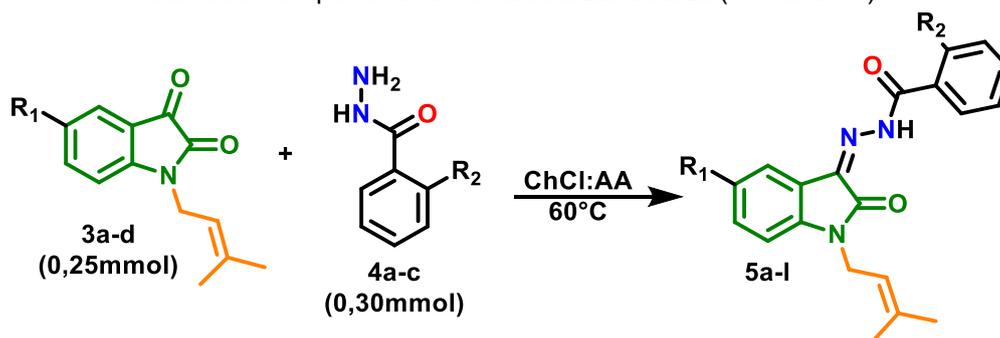
A atuação do DES de ácido acético como catalisador na síntese da *N*-acilidrazona é relatada na Figura 13 como uma proposta do mecanismo. Na primeira parte do mecanismo (etapa A), ocorre a ativação da carbonila de cetona pelo DES, deixando-a mais suscetível ao ataque nucleofílico da amina primária. Na etapa B, que é a etapa lenta, a benzoidrazida ataca a carbonila gerando o intermediário hemiaminal *N*-protonado na etapa C. Posteriormente, a etapa D mostra a desprotonação do intermediário pela base conjugada e na etapa E a hidroxila é protonada, melhorando assim o grupo abandonador. Por último, na etapa F e G, acontece a desprotonação do nitrogênio regenerando o DES e a ligação azometina é formada logo após a desidratação.

#### 4.4 APLICAÇÃO DO MELHOR MÉTODO PARA SÍNTESE DAS *N*-ACILIDRAZONAS **5b-5l**

Após a investigação realizada de alguns métodos de obtenção para a preparação da *N*-acilidrazona sem substituição nos anéis aromáticos da isatina e benzoidrazida (**5a**), o melhor protocolo foi reproduzido para síntese dos demais produtos. As reações foram realizadas sob 60°C, a quantidade de DES de ChCl:AcOH utilizada foi de 500 mg, pois foi uma quantidade necessária para solubilizar bem os reagentes.

De acordo com a Tabela 4, essas reações se processaram entre 4 a 17min com rendimentos entre 82% a 97%. Comparando os tempos, as reações com o derivado bromado apresentaram maior tempo reacional, variando entre 12 a 17min. Por conta da presença do átomo de bromo, o derivado se torna mais lipofílico e isso diminui um pouco a solubilidade desse derivado se comparado com os outros, refletindo diretamente na reação, pois se o material de partida demora para solubilizar, e a reação também ocorre de maneira mais lenta. Comparando as entradas 5-8 com o restante, é possível perceber que com a presença do átomo de F na posição *orto* da benzoidrazida as reações se processaram mais rapidamente, levantando hipótese de que para essas reações a benzoidrazida *o*-F é mais solúvel no solvente eutético profundo utilizado se comparado com as outras benzoidrazidas (H e Cl). Foram obtidos excelentes rendimentos, porque na etapa de isolamento foram lavados com água destilada e filtrado a vácuo, todos os produtos são insolúveis em água, dificultando a perda desses compostos na fase aquosa.

Tabela 4. Tempos e rendimentos utilizando DES(ChCl:AcOH)



Entrada	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Produto	Tempo(min)	Rendimento(%) <sup>a</sup>
1	H	H	<b>5a</b>	4	97
2	CH <sub>3</sub>	H	<b>5b</b>	11	96
3	F	H	<b>5c</b>	10	92
4	Br	H	<b>5d</b>	15	82
5	H	F	<b>5e</b>	3	90
6	CH <sub>3</sub>	F	<b>5f</b>	9	90
7	F	F	<b>5g</b>	7	96
8	Br	F	<b>5h</b>	12	94
9	H	Cl	<b>5i</b>	5	91
10	CH <sub>3</sub>	Cl	<b>5j</b>	10	96
11	F	Cl	<b>5k</b>	14	97
12	Br	Cl	<b>5l</b>	17	88

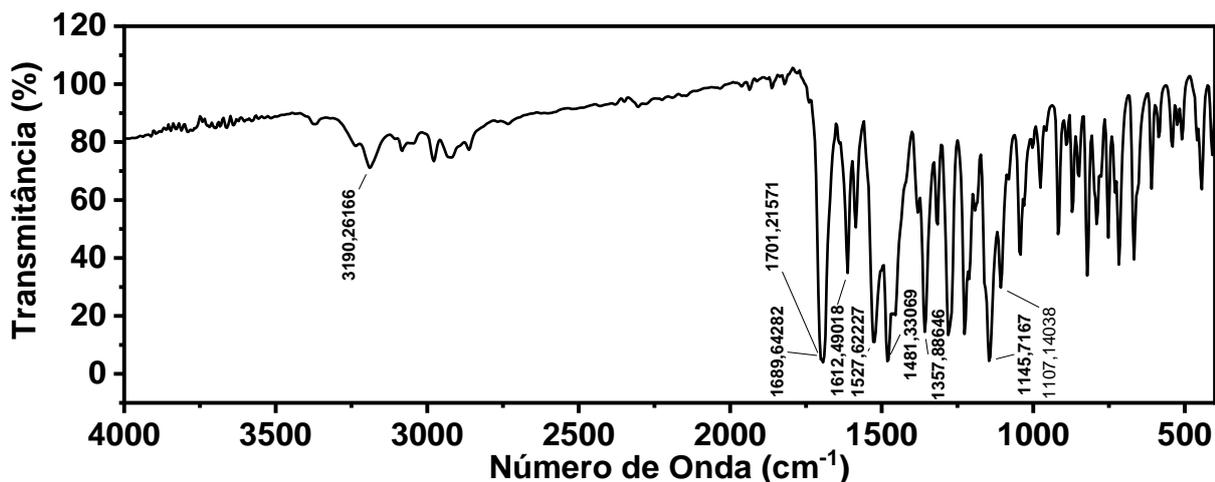
<sup>a</sup>Rendimento isolado.

O produto **5a** já tem relato na literatura [16] sendo sintetizado de forma convencional, em meio de etanol como solvente e ácido acético como catalisador, utilizando equivalência de 1:1 entre a isatina e a benzoidrazida. Porém, essa reação foi realizada em temperatura ambiente e o produto purificado em coluna. Em comparação, foi usado neste trabalho fonte de aquecimento e um excesso de benzoidrazida para garantir consumo total da isatina, evitando assim purificação por coluna e gasto excessivo de solventes orgânicos voláteis e tóxicos. Além disso, foi utilizado um DES de ácido acético já conhecido na literatura [72], que atuou como solvente/catalisador.

A respeito da caracterização dos compostos **5a-h**, acima mencionados, é possível observar na Figura 14 o espectro de IV para a molécula **5g**, destacando a banda de NH em 3190 cm<sup>-1</sup>, de imina (C=N) e das carbonilas de amida

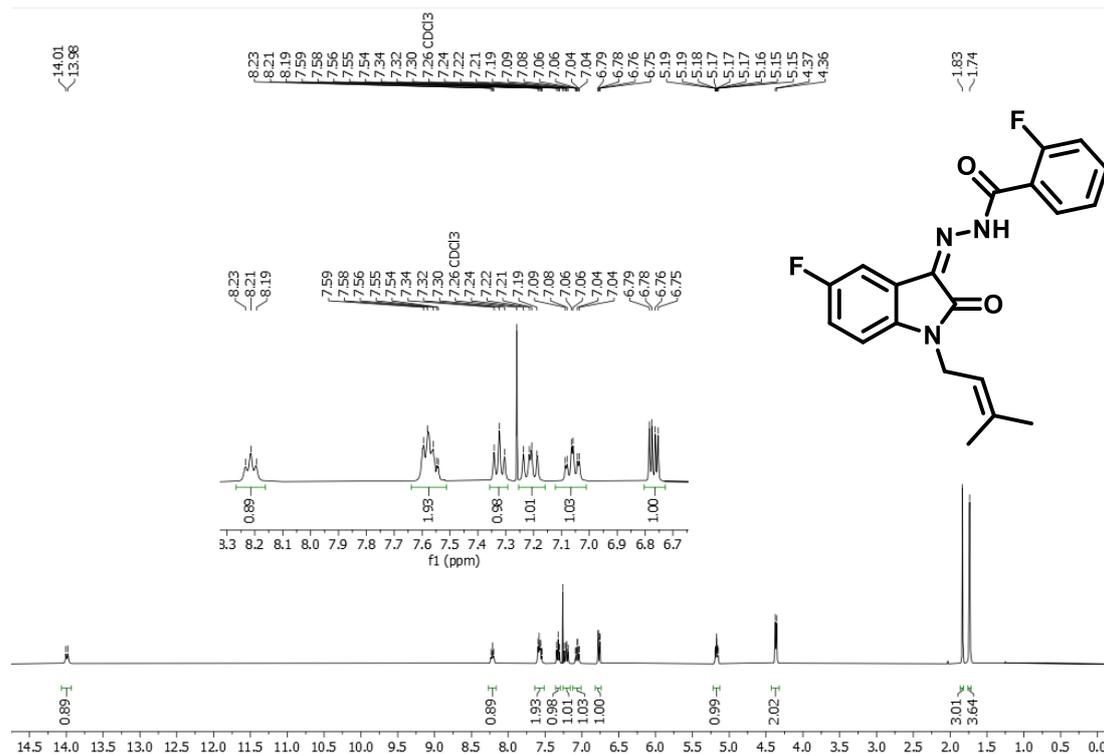
sobrepostas em 1701-1689  $\text{cm}^{-1}$ . Apresenta também uma banda em 1145-1107  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento das ligações C-F. Com isso, é possível observar a presença dos principais grupos funcionais presentes no composto **5g**, havendo um indicativo de que a molécula foi obtida. Para os outros compostos sintetizados, apresentaram bandas com os valores de número de onda semelhantes.

Figura 14. Espectro de IV da molécula **5g**



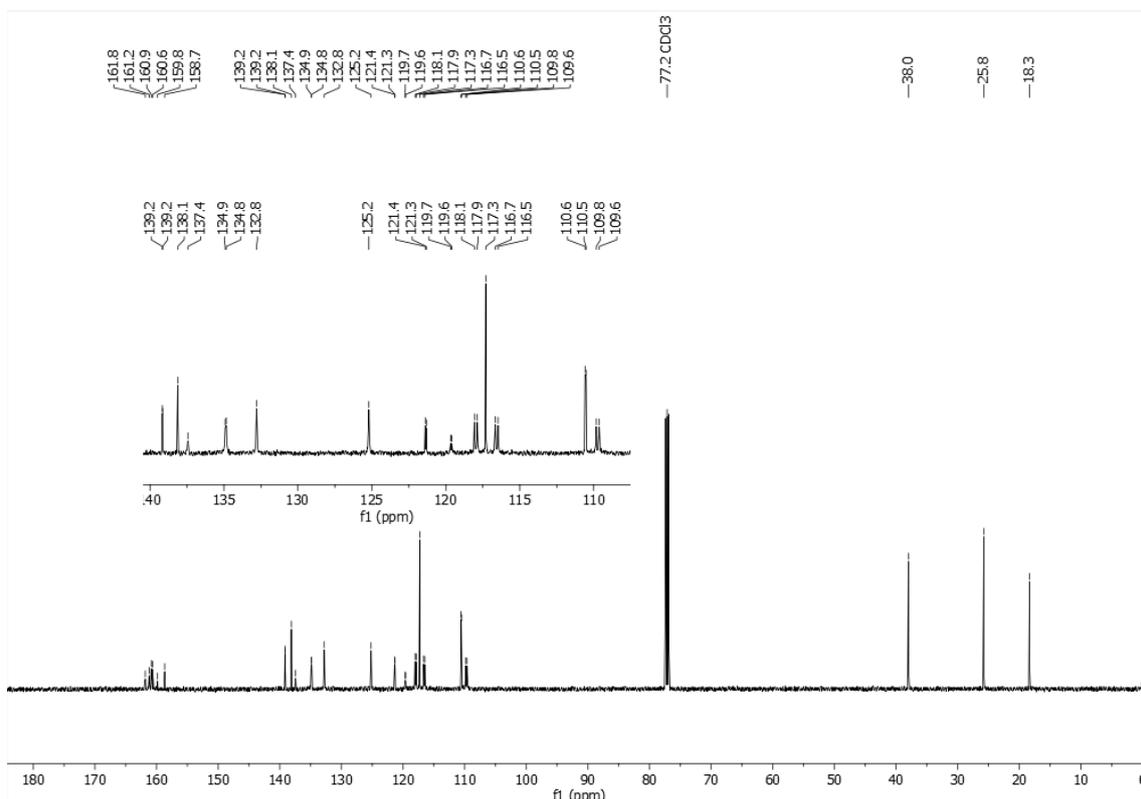
Sobre a caracterização das moléculas **5a-h** em RMN unidimensional, na Figura 15 está o espectro de  $^1\text{H}$  realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) para o composto **5g**. No espectro, o sinal relativo ao CH da prenila está em 5,17 ppm como um triplo triplo para um hidrogênio, pois acopla com o  $\text{CH}_2$  dando um  $J = 6,8$  Hz e acoplado com as metilas que apresenta deslocamento químico entre 1,83 ppm a 1,74 ppm. As metilas apresentam-se como um singleto para três hidrogênios cada uma e o  $\text{CH}_2$  aparece como um dubleto para dois hidrogênios em 4,37 ppm, pois também acopla com o CH. O sinal em 13,99 ppm pertence ao hidrogênio amídico e encontra-se como dubleto devido a influência de acoplamento dos átomos de flúor [76]. Por fim, na região entre 8,21 ppm a 6,77 ppm estão os sinais relativos aos hidrogênios dos aromáticos, um total de sete hidrogênios, sendo três pertencentes a parte da isatina e quatro a benzoidrazida substituída *o*-fluoro. Se houvesse mistura com material de partida, era possível observar sinal relativo ao  $\text{NH}_2$  da benzoidrazida. Para o restante das moléculas (**5a-h**), segue o mesmo padrão, porém com deslocamentos químicos e constantes de acoplamento diferentes.

Figura 15. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) para a molécula **5g**



Para o espectro de  $^{13}\text{C}$  da molécula **5g**, a Figura 16 expõe o espectro de RMN realizado em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Os dois  $\text{CH}_3$  estão em 18,3 ppm e 25,8 ppm, e o  $\text{CH}_2$  está em 38 ppm. As carbonilas aparecem em 161,8-160,6 ppm e os carbonos ligados diretamente ao flúor estão em 159,9 ppm e 158,7 ppm. Os sinais dos carbonos relativos à imina ( $\text{C}=\text{N}$ ), carbonos de aromáticos e os carbonos do alceno (prenila) estão presentes na região entre 139,2 ppm a 109,6 ppm. Para as outras moléculas, segue o mesmo raciocínio.

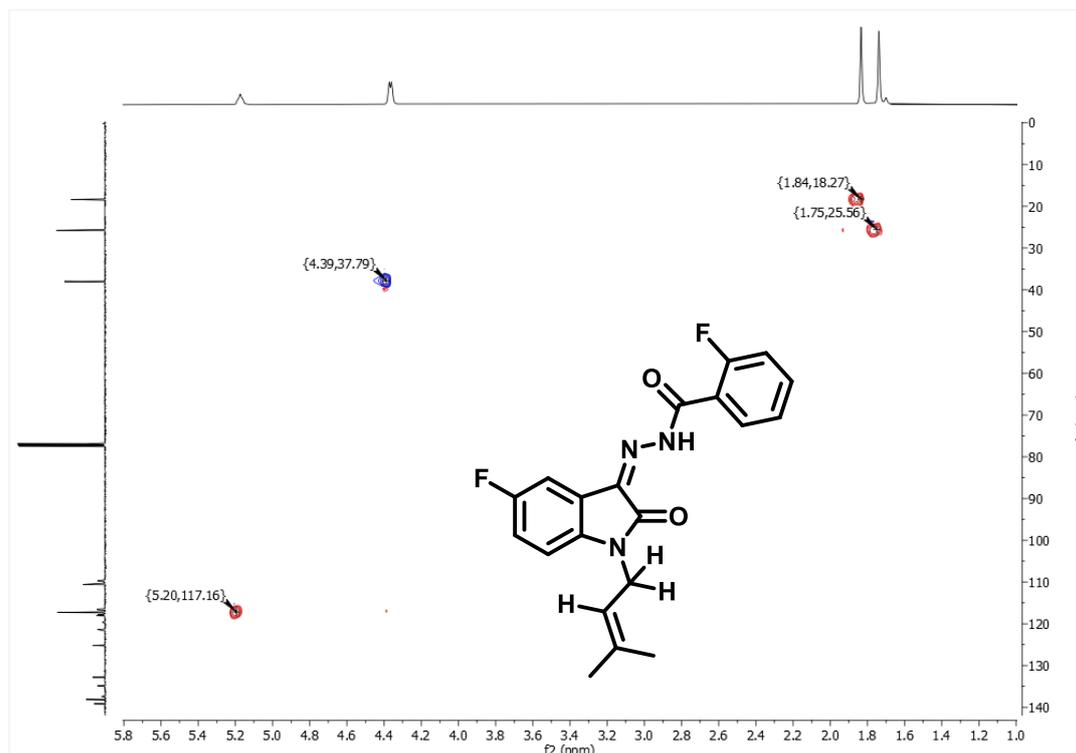
**Figura 16.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) para a molécula **5g**



Portanto, a molécula **5g** encontra-se caracterizada, com os RMN unidimensionais de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  equivalentes a estrutura do composto. Indicando assim, que a síntese foi bem-sucedida e a molécula foi obtida com sucesso. Porém, para sabermos onde se encontra o restante dos sinais da prenila e o sinal da imina para afirmar com certeza que essa é a molécula proposta, foi realizado o bidimensional do composto **5g**.

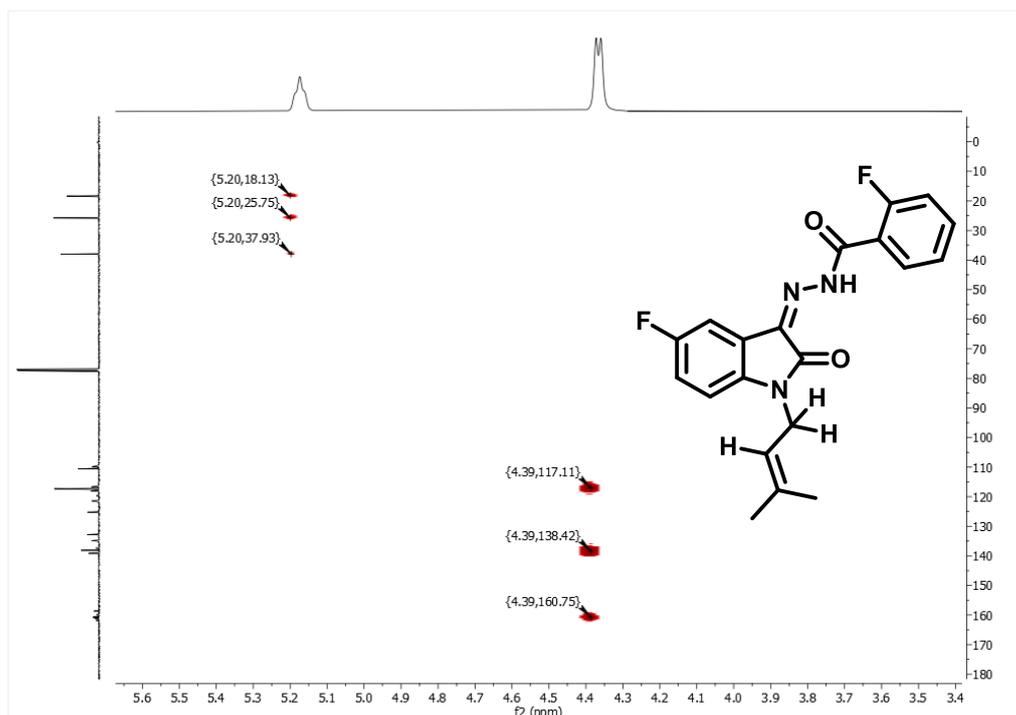
Na Figura 17 está presente o HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*), mostrando as correlações entre os hidrogênios e carbonos a curta distância. Observando este espectro, pode-se aferir que o CH da prenila aparece em aproximadamente 117 ppm.

**Figura 17.** Espectro bidimensional HSQC da molécula **5g**



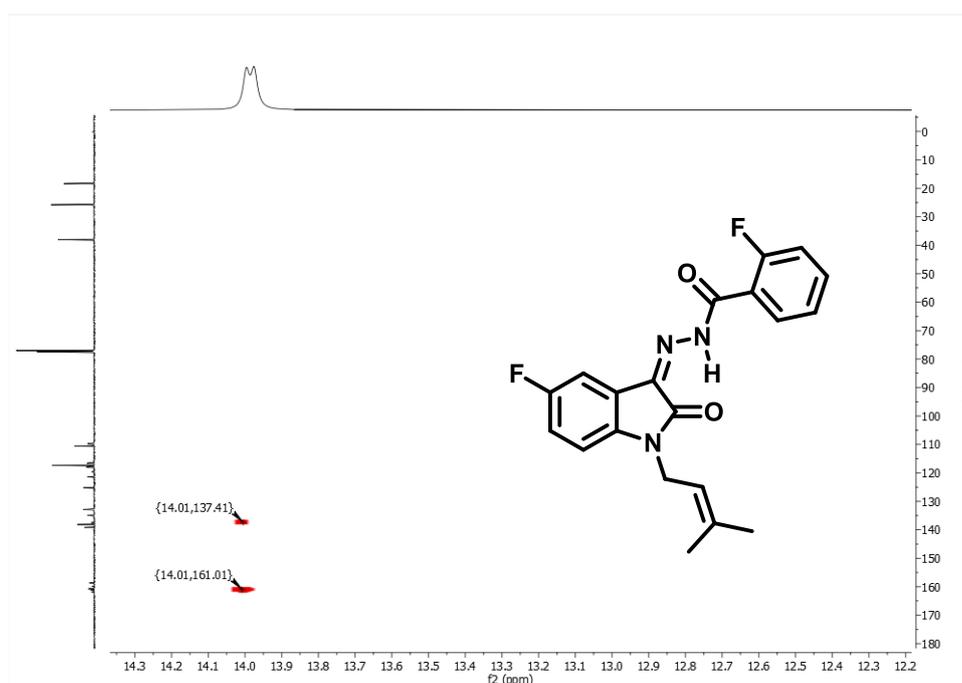
Diante do exposto, para atribuir inequivocamente o sinal do carbono da imina e o carbono não hidrogenado do alceno, foi necessário o bidimensional HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) que mostra a correlação entre hidrogênio e carbono a longa distância, de duas a quatro ligações. Na Figura 18 está presente o espectro HMBC da molécula **5g**. Neste espectro, pode-se considerar que o CH da prenila acopla com os CH<sub>3</sub> e o CH<sub>2</sub>. O CH<sub>2</sub> está acoplado com o carbono do CH em 117,11 ppm, com a carbonila de amida da isatina que é vizinha em 160,75 ppm e acopla com um carbono em 138,42 ppm, que é o carbono sem hidrogênio do alceno.

**Figura 18.** Espectro bidimensional HMBC da molécula **5g**



Em vista disso, falta atribuir o carbono da imina. Na estrutura da molécula **5g** o hidrogênio do NH está a três ligações do carbono da imina, podendo sim acoplar com este carbono. Na Figura 19 está o espectro do HMBC com o zoom em outra posição podendo ver este acoplamento mencionado. O hidrogênio do NH acopla com o carbono da imina em 137,41 ppm.

**Figura 19.** Espectro bidimensional HMBC da molécula **5g** mostrando o acoplamento do NH com o carbono da imina (C=N)

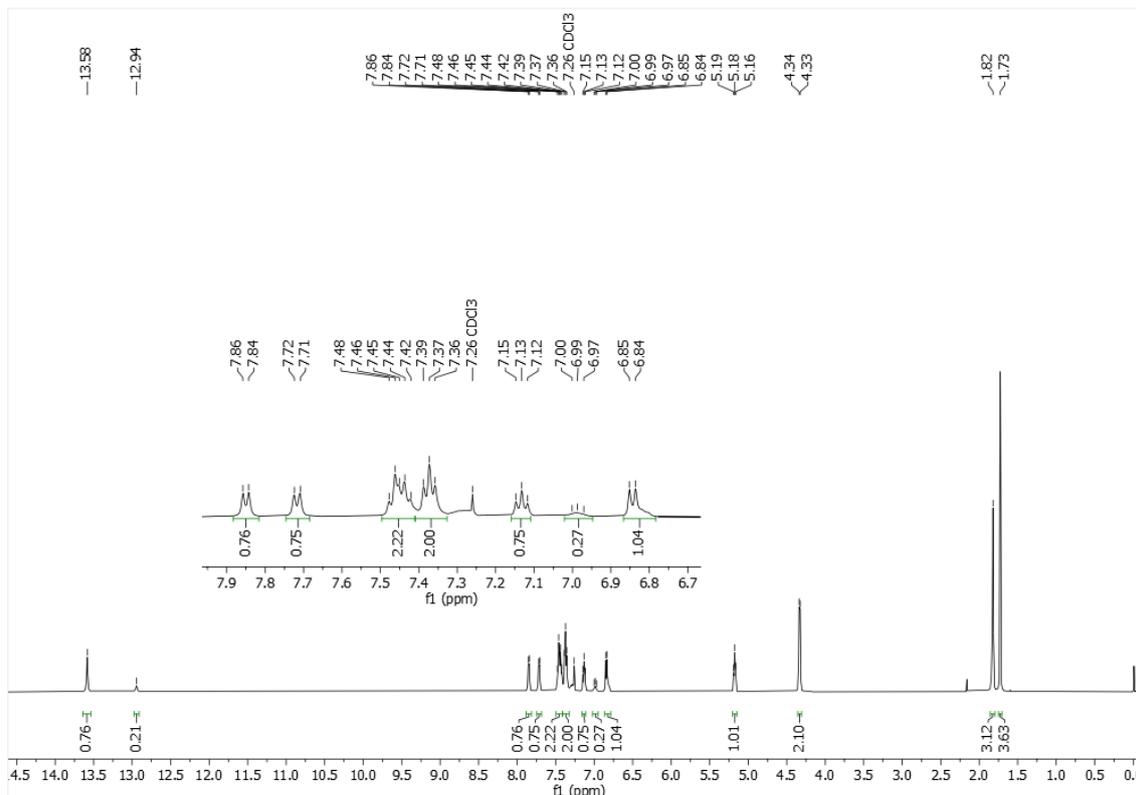


Considerando os dados apresentados, a molécula **5g** está plenamente caracterizada, com todas as atribuições de cada sinal do hidrogênio e carbono. Esta caracterização foi levada adiante para as outras moléculas, variando um pouco dos deslocamentos químicos e acoplamentos, pois apresentam outros substituintes, mas sempre com a mesma ideia do exposto acima.

Para as moléculas **5i-l**, com substituição *o*-Cl na benzoidrazida, foi presenciado algo curioso. Inicialmente, achávamos que era impureza ou resquícios de materiais de partida. Porém, se houvesse sobrado materiais de partida, a quantidade de sinais de hidrogênio na região do aromático teria que ser maior, mas não foi constatado este aumento.

Na Figura 20, está o espectro de  $^1\text{H}$  para a molécula **5i**, os sinais da prenila equivalem ao que já foi exposto neste trabalho. Aparecem os oito hidrogênios dos aromáticos, quatro são da parte da isatina e os outros quatro fazem parte da benzoidrazida *o*-Cl. No entanto, aparece um pequeno sinal próximo ao NH da amida em 12,94 ppm que quando integrado, não chega a dar um hidrogênio.

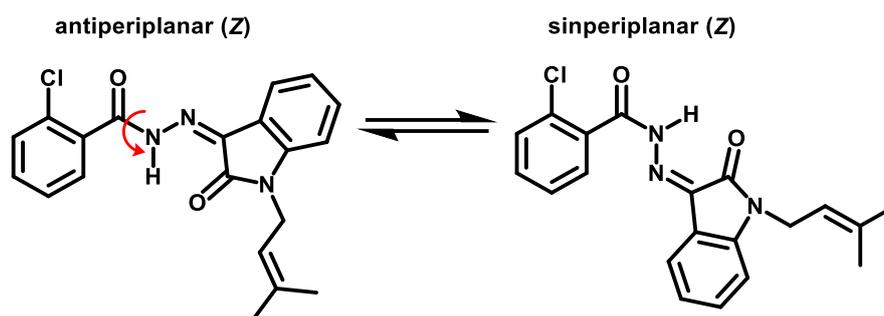
**Figura 20.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) para a molécula **5i**



Então, pensando na estrutura desta molécula e nas possibilidades de rotâmeros, surge hipótese de que ocorreu a rotação da ligação de amida ( $\text{CO}$ -

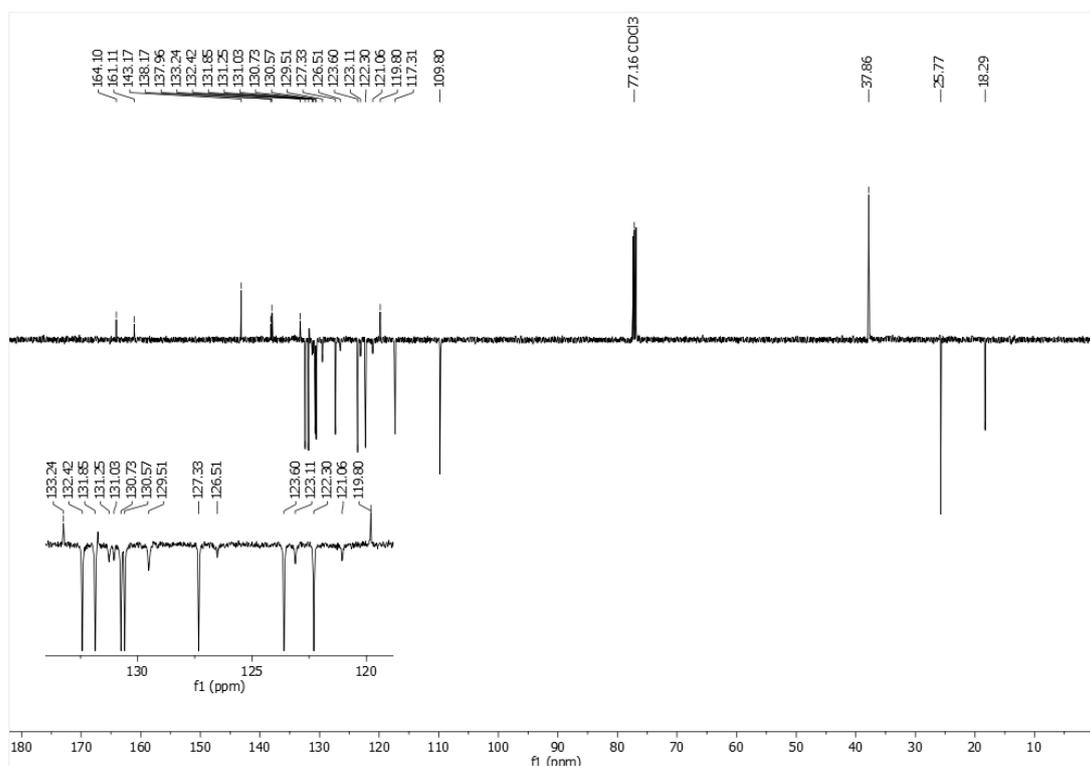
NH) apresentando conformação *sin/antiperiplanar* (Figura 21). As NAH derivadas da isatina têm configuração *Z*, porque o hidrogênio amídico (NH) realiza ligação de hidrogênio com o oxigênio carbonílico da porção da isatina, sendo a configuração mais estável para essas estruturas [39]. Porém, devido a presença dos conformêros *sin/antiperiplanar*, houve a duplicação do sinal do NH. Outro fato observado na Figura 20, foi que apareceu sinais desdobrados de hidrogênio do aromático com baixa integração, indicando a presença desses conformêros.

**Figura 21.** Representação dos conformêros *sin/antiperiplanar* para molécula **5i**



No espectro de  $^{13}\text{C}$  da molécula **5i** (Figura 22), aparecem alguns sinais menores bem próximo ao CH dos aromáticos, podendo sim está relacionado aos rotâmeros discutido acima.

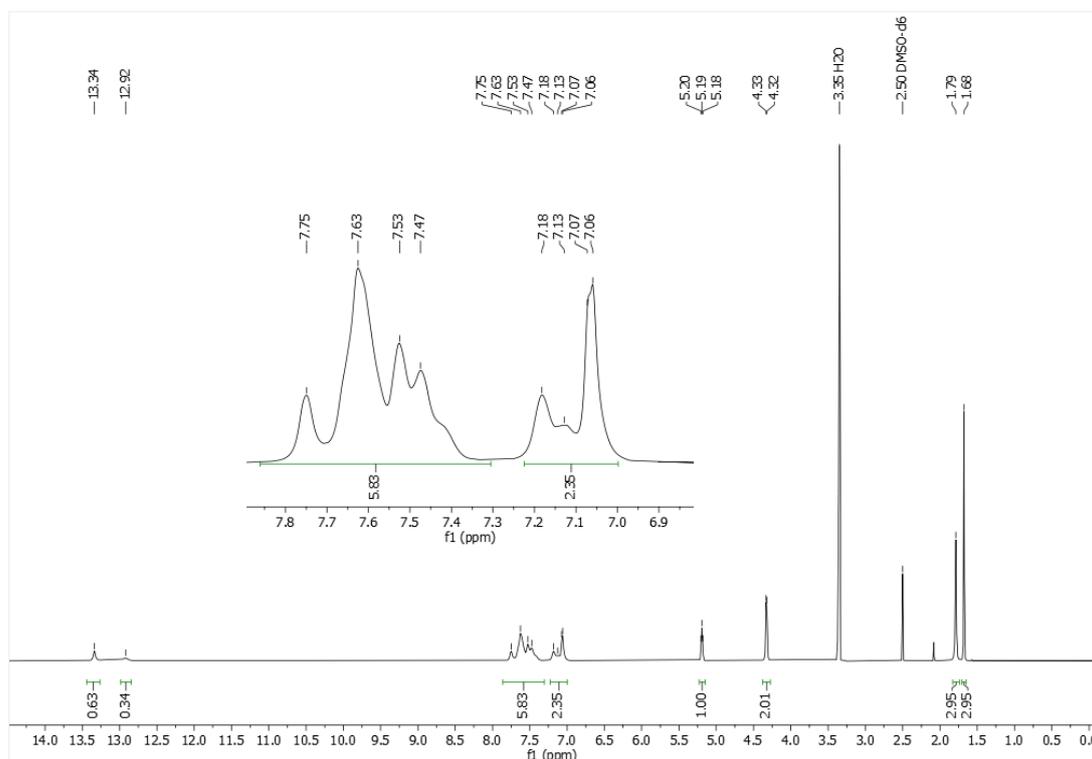
**Figura 22.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) para a molécula **5i**

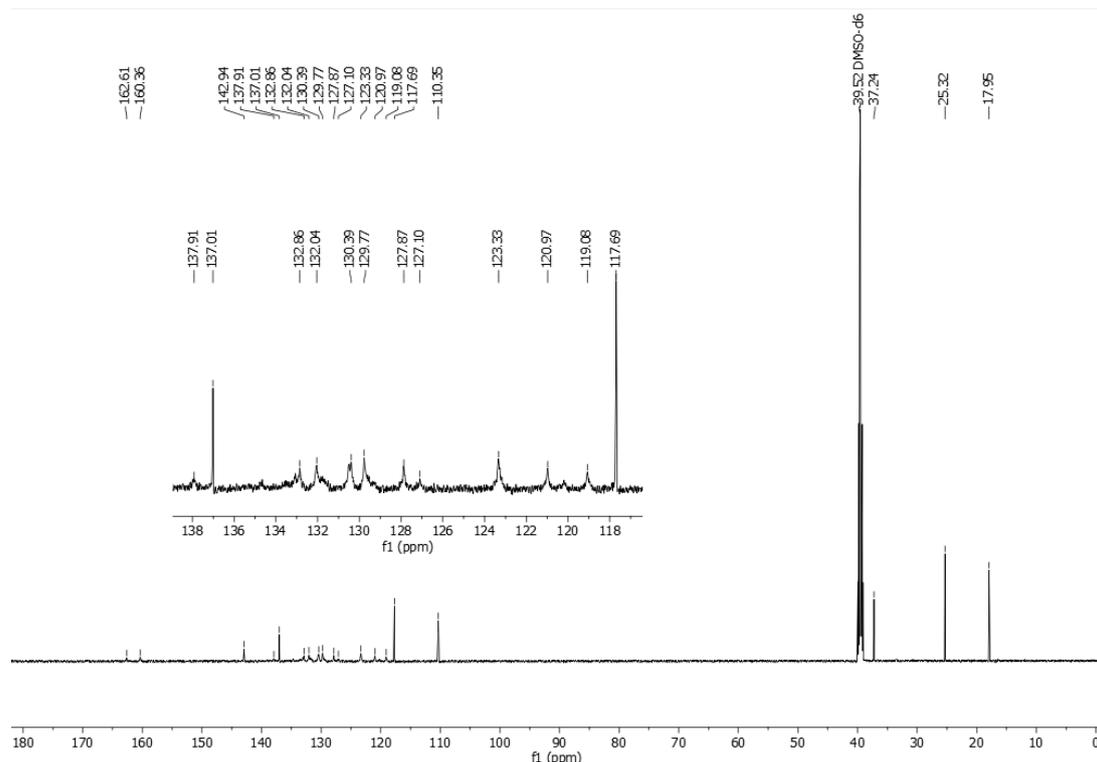


Esses RMN foram realizados em  $\text{CDCl}_3$ , mudando o solvente deuterado para  $\text{DMSO-}d_6$  (Figura 23), o mesmo comportamento foi observado. Porém, há uma pequena diferença nos deslocamentos químicos, no RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  o sinal relativo ao hidrogênio ligado ao nitrogênio (NH) aparece em 13,58 e 12,94 ppm, já em  $\text{DMSO-}d_6$ , aparece em 13,34 e 12,92 ppm. Para o espectro de  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$ , o sinal do carbono carbonílico da porção da benzoidrazida aparece em 164,1 ppm, em  $\text{DMSO-}d_6$  aparece em 162,6 ppm, essa diferença está relacionada a mudança de polaridade dos solventes deuterados.

Além disso, a proporção entre os sinais do hidrogênio amídico (NH) no espectro de  $^1\text{H}$  realizado em  $\text{CDCl}_3$  é de 3,62 (0,76/0,21), já em  $\text{DMSO-}d_6$  é de 1,85 (0,63/0,34), ou seja, não apresenta a mesma razão entre o par de sinais duplicado [77], corroborando com a hipótese sugerida. Apresentaram características semelhantes todas as moléculas que têm o cloro na posição *orto* da parte da benzoidrazida.

**Figura 23.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 600 MHz) e  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 150 MHz) para a molécula **5i**





#### 4.5 COMPOSTOS **5b**, **5e-5g**, E A FORMAÇÃO DE GÉIS

Ao realizar a síntese das moléculas **5b**, **5e**, **5f** e **5g**, em micro-ondas com EtOH/AcOH, foi observado uma característica distinta das outras moléculas no fim da reação. Ao resfriar em temperatura ambiente do meio reacional, os compostos absorveram o solvente e o aprisionaram. Este fato foi registrado e pode ser observado na Figura 24. Após a filtração, o composto ficou com um aspecto aveludado, semelhante a uma lã de algodão. Essa característica não foi possível ser observada para as outras moléculas, pois onde há o Cl na posição *orto* da benzoidrazida apresentou formação de confôrmeros sin/antiperiplanar, a ausência do átomo de F na posição *orto* da benzoidrazida diminui a possibilidade de interações necessárias para os compostos apresentarem essa característica, porém se há uma maior quantidade de carbono que podem realizar interações não covalentes, essa ausência é suprida.

**Figura 24.** Tubo de micro-ondas com o meio reacional e imagem após a filtração



Fonte: autoria própria

Dado o exposto acima, após a observação de características semelhantes a moléculas sintetizadas no Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LASOM) por outro colaborador, foi proposto que essas moléculas sintetizadas possuíam propriedades de formadores de géis de baixo peso molecular. Esses formadores de géis podem imobilizar solventes orgânicos por meio da automontagem molecular, criando uma rede tridimensional. Esses processos de automontagem são conduzidos por interações intermoleculares não covalentes específicas, como eletrostáticas, dipolo-dipolo, van der Waals, empilhamento  $\pi$ - $\pi$  ou ligação de hidrogênio [78]. Neste caso específico, foi proposto que ocorra interações do tipo ligação de hidrogênio, e isso pode explicar o fato observado no final da reação para essas moléculas.

Aprofundando-se mais um pouco sobre esta classe de formadores de géis, foram realizados testes de solubilidades a temperatura ambiente em diferentes solventes com o intuito de conhecer mais sobre as propriedades das moléculas **5b**, **5e**, **5f** e **5g**. Na Tabela 5 estão descritos os solventes utilizados nos testes.

**Tabela 5.** Teste de solubilidade em diferentes solventes

Solventes	<b>5b</b>	<b>5e</b>	<b>5f</b>	<b>5g</b>
Hexano	I	I	I	I
Heptano	I	I	I	I
Tolueno	S	S	P	S
Dioxano	S	S	S	S
Éter etílico	I	S	I	I
Diclorometano	S	S	S	S

Tetraidrofurano	S	S	S	S
Dimetilformamida	S	S	S	S
Acetonitrila	S	S	P	S
Dimetilsulfóxido	S	S	S	S
Etanol	S	P	S	P
Metanol	P	S	P	S
Isopropanol	P	P	P	G (2,26%)
Etilenoglicol	G (0,84%)	G (1,26%)	G (1,47%)	G (0,38%)
Glicerol	GP (>3%)	GP (>3%)	GP (>3%)	GP (>3%)
Água	I	I	I	I

S: solúvel; P: precipitado; I: insolúvel; G: gel; GP: gel parcial.

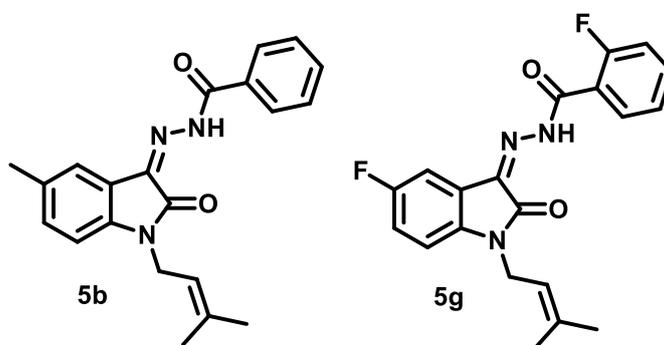
Após este teste inicial de solubilidade a temperatura ambiente, foram selecionados métodos clássicos para observar se realmente as moléculas apresentam a capacidade de aprisionar solventes orgânicos, formando organogéis. O primeiro teste realizado em relação aos métodos clássicos, foi o de aquecimento-resfriamento. Inicialmente, foi realizada mistura de 10 mg do composto isolado com 500 mg do solvente, resultando em uma concentração final de 2% m/m em solventes que foi observado baixa solubilidade ou nenhuma solubilidade nos testes de solubilidade a temperatura ambiente, seguindo metodologia de SUN *et al.* (2019) [79]. Após vedação dos frascos, todos foram aquecidos até ser notado uma certa ebulição dos solventes em questão. Logo em seguida, esperou-se por algum instante o resfriamento em temperatura ambiente. Naqueles frascos onde a solução não apresentou nenhuma formação de precipitado, foi marcado na tabela com S, ou seja, houve solubilidade após o aquecimento. Nos frascos onde foi observado formação de cristais, foi marcado com P, indicando que houve uma precipitação. Nos frascos onde houve o aprisionamento do solvente e ao colocar ele voltado para baixo, nada cai, eles foram classificados com G de gel, ou seja, a molécula é um formador de gel naquele solvente orgânico testado em questão. E, nos frascos onde apresentaram um parcial aprisionamento de solvente, mas ao virar o frasco a mistura cai, foi classificado como gel parcial (GP), indicando que aquela concentração não foi suficiente para formar um gel total.

Ao verificar a solubilidade das moléculas nesses diferentes solventes, pôde ser constatado que com o aumento da polaridade a solubilidade dos compostos foram diminuindo, sendo insolúveis em contato com a água e ficando na forma de precipitado, porém ao entrarem em contato com o etilenoglicol as moléculas se demonstraram insolúveis, não apresentando-se na forma de precipitado, mas de estruturas automontadas aprisionando esse solvente que favoreceu as interações do tipo ligação de hidrogênio entre as moléculas [80].

Como esse teste foi realizado em uma concentração relativamente alta, para encontramos a Concentração Mínima de Gelificação (*Minimum Gelation Concentration* - MGC) as soluções precisavam ser diluídas nos solventes onde foram observados essa propriedade, até encontrar a mínima concentração na qual os formadores ainda apresentam a propriedade de gel, procedimento adaptado de SUN *et al.* (2019) [79]. Os valores estão entre parênteses na Tabela 6, com porcentagem em massa como unidade.

Considerando os valores de MGC observados, a molécula que apresentou o menor valor e a propriedade de aprisionar mais solventes foi o composto **5g**. Essa molécula apresenta dois átomos de flúor em partes diferentes da sua estrutura (Figura 25). Essa característica se demonstrou essencial no processo de automontagem, devido aos átomos de flúor poderem formar interações do tipo ligação de halogênio [81], além das interações do tipo ligações de hidrogênio. Em comparação, a molécula que não apresenta flúor em sua estrutura (**5b**), apresentou uma MGC maior, havendo possibilidade apenas de interações do tipo ligação de hidrogênio.

Figura 25. Estrutura da molécula **5b** e **5g**



Estes resultados preliminares abrem novas perspectivas frente a aplicações para os presentes compostos e possibilidade de planejamento de novas NAH formadoras de géis.

#### 4.6 ATIVIDADE ANTICÂNCER

Foram realizados estudos, em colaboração com a Profa. Dra. Gardenia Carmen Gadelha Militão e mestrando Yuri Virgilio dos Santos no Laboratório de Proliferação Celular e Câncer da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para avaliar a citotoxicidade dos compostos **5a**, **5b**, **5c**, **5e**, **5f**, **5g**, **5i**, **5j** e **5k** em três linhagens de célula tumoral. As linhagens tumorais utilizadas foram K562 (leucemia mielóide crônica), NCI-H1299 (carcinoma de pulmão de não pequenas células) e o HCT116 (câncer colón humano), com o intuito de determinar o potencial antitumoral dos compostos.

As amostras foram testadas na concentração de 25 µg/mL e a Cisplatina foi utilizada como controle positivo na concentração de 5 µg/mL. Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade, com pouca atividade (inibição de crescimento celular variando de 1 a 50%), com atividade moderada (inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (inibição de crescimento variando de 75 a 100%). Os dados seguem na Tabela 6.

**Tabela 6.** Porcentagem de inibição do crescimento celular (%) e desvio padrão da média (DP) dos compostos em linhagens tumorais

Compostos	K562		NCI-H1299		HCT116	
	%inibição	DP	%inibição	DP	%inibição	DP
<b>5a</b>	32,66	12,8	10,38	5,3	38,09	13,6
<b>5b</b>	12,18	6,1	20,49	9,4	27,04	11,3
<b>5c</b>	27,20	0,4	37,49	1,03	39,59	2,4
<b>5e</b>	58,54	14,08	35,62	13,4	54,45	15,4
<b>5f</b>	7,7	4,1	4,87	2,6	28,57	11,7
<b>5g</b>	11,82	6,2	41,50	14,01	5,14	2,9
<b>5i</b>	54,44	14,4	17,44	8,3	25,26	11,06
<b>5j</b>	33,73	13,1	0	0	19,36	9,04
<b>5k</b>	62,10	14,75	0,62	0,3	66,23	12,9
Cisplatina	94,21	3,1	89,06	5,6	90,25	5,3

Entre as moléculas analisadas, as que tiveram maior porcentagem de inibição de crescimento celular foram os compostos **5e**, **5i** e **5k** frente à linhagem K562, destacando a molécula **5k** com porcentagem de 62,10%. Para a linhagem

---

NCI-H1299, nenhum composto apresentou resultados promissores. Na linhagem HCT116, as moléculas **5e** e **5k** demonstraram maior porcentagem de inibição, com destaque para o composto **5k** com 66,23%, sendo o maior valor de inibição apresentado na Tabela 6. Do ponto de vista estrutural, a molécula que se apresentou mais ativa foi a **5k**, exibindo o maior valor de inibição para duas linhagens diferentes (K562 e HCT116). A presença dos átomos de flúor e cloro em partes diferentes da estrutura mostraram uma relativa eficiência no combate a linhagens cancerígenas, introduzindo a importância dos átomos de halogênio em estruturas com potencial atividade biológica, podendo apresentar capacidade de estabilidade metabólica e química [82].

# **CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

## 5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

### 5.1 CONCLUSÕES

Podemos concluir a partir deste trabalho de dissertação que doze derivados *N*-Acilidrazônicos da isatina, sendo 11 inéditos, foram sintetizados com tempos reacionais entre 3 a 17 minutos e rendimentos entre 82% a 97% utilizando o solvente eutético profundo de ChCl:AA (1:2) como meio reacional, uma metodologia verde. Todos foram caracterizados por ponto de fusão, IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , RMN bidimensionais HSQC e HMBC, e massas de alta resolução.

Foram sintetizados também quatro derivados de isatina *N*-prenilada em temperatura ambiente, com tempos entre 3 a 5 horas e rendimentos entre 79% a 94%, caracterizados por ponto de fusão, IV, RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , sendo dois inéditos (**3c-F** e **3d-Br**) caracterizados por massas de alta resolução.

Para os compostos **5i-l**, onde apresentam o Cl na posição *orto* da porção da benzoidrazida, ocorreu a formação de conformações *sin/antiperiplanar*. Para explicação deste fato, os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio em diferentes solventes deuterados ( $\text{CDCl}_3$  e  $\text{DMSO-}d_6$ ) mostraram a diferença na proporção entre os sinais do hidrogênio amídico (NH), sendo uma característica prevalente para identificação dos rotâmeros.

Os compostos **5b**, **5e**, **5f** e **5g** apresentaram características de formadores de géis na presença de isopropanol, etilenoglicol e glicerol. Isso pode ter ocorrido pelo fato de que esses solventes maximizaram as interações do tipo ligação de hidrogênio e halogênio, podendo assim, essas moléculas formarem redes fibrilares que aprisionam esses solventes.

Os compostos sintetizados foram avaliados frente a atividade em linhagens de câncer K562 (leucemia mielóide crônica), NCI-H1299 (carcinoma de pulmão de não pequenas células) e HCT116 (câncer cólon humano). Foi observado que o derivado **5k** foi o que apresentou maior percentual de inibição do crescimento, sendo de 62,10% para a linhagem K562 e 66,23% para HCT116. A presença dos átomos de F e Cl na estrutura pode ter sido essencial para apresentar maior porcentagem de inibição se comparado com as outras moléculas.

Portanto, esperamos ter avançado no desenvolvimento de métodos mais eficientes e verde, utilizando o solvente eutético profundo como solvente/catalisador para obtenção de novos compostos *N*-acilidrazônicos derivados de isatina *N*-prenilada.

## 5.2 PERSPECTIVAS

Como perspectiva deste trabalho de dissertação, podemos inferir que:

- ✓ É necessária uma investigação mais profunda com relação a propriedade de gel observada em alguns compostos (**5b**, **5e**, **5f** e **5g**), podendo se estender aos demais;
- ✓ Uma investigação da reutilização do solvente eutético profundo de cloreto de colina:ácido acético (1:2) é necessária, estudos são indispensáveis para um melhor método de recuperação desse solvente na etapa de extração;
- ✓ Trabalhos recentes [16,18,20] indicam que os compostos possuem potencial atividade frente a urease, dor e anticonvulsivante, assim, faz-se relevante uma investigação junto de colaboradores para realização de testes em relação aos alvos citados.

# **CAPÍTULO 6: SEÇÃO EXPERIMENTAL**

## 6 SEÇÃO EXPERIMENTAL

### 6.1 TÉCNICAS E EQUIPAMENTOS

Todos os reagentes são comerciais e foram adquiridos na Sigma-Aldrich. Os solventes foram adquiridos da Tedia, Quimiz e da Vetec. Em alguns casos, foram utilizadas peneiras moleculares para secagem de alguns solventes.

As reações foram acompanhadas pela técnica de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), sendo utilizado Gel de Sílica 60 suportados em cromatofolhas de alumínio da marca Macherey Nagel, contendo indicador de fluorescência a 254 nm, e misturas binárias de acetato de etila/hexano em proporções variadas foram usadas como fase móvel, sendo irradiadas em câmara de ultravioleta com comprimento de onda de 254 nm.

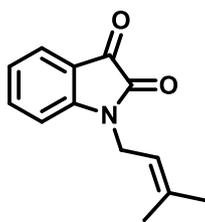
O ultrassom utilizado é portátil da marca Hielscher modelo UP200Ht (200W, 26kHz). O reator de micro-ondas é da marca Discover-System Benchmate modelo CEM (300W, 2450MHz) com temperatura monitorada por sensor infravermelho. Os espectros de Infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige-21, em pastilhas de KBr, todos respectivos aparelhos estão disponíveis no Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LASOM) da Universidade Federal da Paraíba. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em um Varian Mercury 500 operando a 400 MHz para  $^1\text{H}$  e 100 MHz para  $^{13}\text{C}$  e em um Bruker AVANCE NEO operando a 500 MHz para  $^1\text{H}$  e 125 para  $^{13}\text{C}$  usando TMS como padrão interno, disponíveis no Laboratório Multiusuário de Caracterização Analítica (LMCA) da Universidade Federal da Paraíba. Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho PFM-II da MS Tecnopon. Os espectros de RMN bidimensionais foram registrados em UltraShield Bruker 11.72 T - 500 MHz, sonda Banda-larga de dupla ressonância (BBI), no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear (LabRMN-UFG). Os espectros de massas de alta resolução (HRMS) foram realizados em um espectrômetro de massas Thermo Scientific Q Exactive Hybrid Quadrupolo-Orbitrap. Os espectros de massas foram adquiridos e processados usando um software Xcalibur (Thermo Scientific) em colaboração com o Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM-UFG), coordenado pelo Dr. Boniek Gontijo Vaz.

## 6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DOS DERIVADOS DE ISATINA N-PRENILADA

Na preparação da isatina *N*-alquilada, foram adicionados em um balão de 50 mL 1 mmol de isatina, 5-Fluoro-isatina, 5-Metil-isatina ou 5-Bromo-isatina, 3 mL de DMF seco e colocado sob agitação magnética em temperatura ambiente. Em seguida, foi pesado em um béquer 1,2 mmol de  $K_2CO_3$  o qual foi adicionado ao meio reacional. Após alguns minutos para dissolver e reagir o carbonato de potássio, foi adicionado 1,2 mmol do agente alquilante (brometo de prenila). Ao ser constatado o final da reação através da CCD, o meio reacional foi vertido em gelo, o produto foi precipitado, filtrado a vácuo e lavado com água destilada gelada.

## 6.3 CARACTERIZAÇÃO DAS ISATINAS N-PRENILADAS **3a-3d**

Molécula 1-(3-metilbut-2-en-1-il)indolina-2,3-diona (**3a**)



Aspecto físico: sólido laranja

Rendimento: 79%

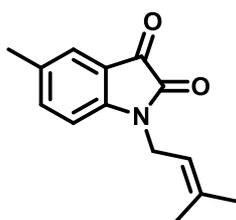
Ponto de Fusão: 76-79°C, Literatura 128-129°C

**IV** ( $cm^{-1}$ ): 1739(C=O), 1732(C=O), 1612(C=C), 1469(C=C).

**RMN  $^1H$**  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  7,57 – 7,53 (m, 2H, H-Ar), 7,09 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-Ar), 6,83 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-Ar), 5,17 (t,  $J = 6,8$  Hz, 1H, CH), 4,31 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $CH_2$ ), 1,82 (s, 3H,  $CH_3$ ), 1,73 (s, 3H,  $CH_3$ ).

**RMN  $^{13}C$**  (125 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  183,9 (C=O), 157,9 (C=O), 151,1 (C-Ar), 138,4 (CH-Ar), 138,3 (C-AL), 125,4 (CH-Ar), 123,7 (CH-Ar), 117,8 (C-Ar), 117,1 (CH), 110,8 (CH-Ar), 38,3 ( $CH_2$ ), 25,8 ( $CH_3$ ), 18,3 ( $CH_3$ ).

Molécula 5-metil-1-(3-metilbut-2-en-1-il)indolina-2,3-diona (**3b**)



Aspecto físico: sólido laranja

Rendimento: 91%

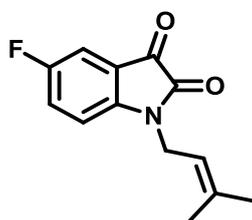
Ponto de Fusão: 113-116°C

**IV** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1751(C=O), 1724(C=O), 1620(C=C), 1485(C=C).

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,38 – 7,33 (m, 2H, H-Ar), 6,72 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, H-Ar), 5,15 (tq,  $J = 6,8, 1,4$  Hz, 1H, CH), 4,29 (d,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,81 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,72 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  184,1 (C=O), 158,0 (C=O), 148,9 (C-Ar), 138,7 (CH-Ar), 138,2 (C-AL), 133,5 (C- $\text{CH}_3$ ), 125,7 (CH-Ar), 117,8 (C-Ar), 117,2 (CH), 110,6 (CH-Ar), 38,3 ( $\text{CH}_2$ ), 25,8 ( $\text{CH}_3$ ), 20,8 ( $\text{CH}_3$ ), 18,3 ( $\text{CH}_3$ ).

Molécula 5-fluoro-1-(3-metilbut-2-en-1-il)indolina-2,3-diona (**3c**)



Aspecto físico: sólido laranja

Rendimento: 90%

Ponto de Fusão: 110-112°C

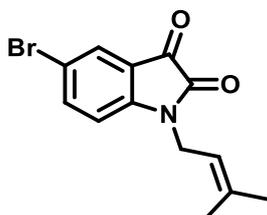
**IV** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1747(C=O), 1720(C=O), 1620(C=C), 1489(C=C), 1165(C-F).

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,31 – 7,27 (m, 2H, H-Ar), 6,83 – 6,80 (m, 1H, H-Ar), 5,16 (tt,  $J = 6,7, 1,5$  Hz, 1H, CH), 4,34 (d,  $J = 6,7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,84 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,76 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  183,3 (C=O), 160,6 (C=O), 158,2 (C-F), 157,7 (C-F), 147,1 (C-Ar), 138,7 (C-AL), 124,8 (CH-Ar), 124,5 (CH-Ar), 118,4 (C-Ar), 118,3 (C-Ar), 116,8 (CH), 112,6 (CH-Ar), 112,3 (CH-Ar), 112,0 (CH-Ar), 111,9 (CH-Ar), 38,4 ( $\text{CH}_2$ ), 25,8 ( $\text{CH}_3$ ), 18,3 ( $\text{CH}_3$ ).

**ESI-HRMS** ( $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FNNaO}_2$ , 256,07443, encontrado, 256,07401;  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{FNO}_2$ , 234,09248, encontrado, 234,09219.

Molécula 5-bromo-1-(3-metilbut-2-en-1-il)indolina-2,3-diona (**3d**)



Aspecto físico: sólido roxo

Rendimento: 94%

Ponto de Fusão: 105-107°C

**IV** (cm<sup>-1</sup>): 1735(C=O), 1600(C=C), 1469(C=C), 709(C-Br).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,67 – 7,65 (m, 2H, H-Ar), 6,75 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,14 (tt, *J* = 6,7, 1,5 Hz, 1H, CH), 4,31 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 182,7(C=O), 157,2(C=O), 149,8 (C-Ar), 140,6 (CH-Ar), 138,9 (C-AL), 128,1 (CH-Ar), 118,9 (C-Br), 116,6 (CH), 116,6 (C-Ar), 112,5 (CH-Ar), 38,4 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,4 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>BrNNaO<sub>2</sub>, 315,99436, encontrado, 315,99410.

#### 6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA PREPARAÇÃO DOS DESs DE ChCl:APTS E ChCl:AA

Na preparação do DES de ChCl:APTS, em um balão de 50 mL, foi pesado 20 mmol de cloreto de colina e 20 mmol de ácido p-toluenossulfônico (APTS), ambos previamente secos. O balão foi levado ao banho de óleo com temperatura entre 80°C a 100°C por 2 horas e após observação de aspecto homogêneo, o aquecimento foi suspenso para deixar chegar à temperatura ambiente. Um líquido transparente viscoso foi obtido. Durante o manuseio do DES de ChCl:APTS, foi observado uma certa dificuldade em relação a sua viscosidade, relatado na literatura [73] com valor de 309 mPa.s a 35°C com 8,13% da sua massa em água, então para ajustar esse problema o DES foi diluído em 15, 35 e 50% da sua massa em água. A melhor diluição para essa síntese foi a de 35%, onde foi também observado uma melhora na solubilidade dos materiais de partida, além de solucionar o problema com o manuseio.

Na preparação do DES de ChCl:AA, em um balão de 50 mL, foi pesado 10 mmol de cloreto de colina previamente seco e adicionado logo em seguida 20 mmol de ácido acético (AA). O balão foi levado ao banho de óleo a 60°C por 1 hora e após observação de aspecto homogêneo, o aquecimento foi suspenso para deixar chegar à temperatura ambiente. Um líquido transparente foi obtido. Sua viscosidade relatada [52] é de 35,4 mPa.s a 35°C, ou seja, menos viscoso do que o DES de ChCl:APTS.

## 6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA SÍNTESE DAS N-ACILIDRAZONAS

Para realização da reação em ultrassom, ou em banho de óleo, foi utilizado um balão de 50 mL e em micro-ondas foi utilizado tubo de quartzo específico para reator de micro-ondas, foi pesado 0,5 mmol da isatina *N*-prenilada (**3a**) e 0,6 mmol de benzoidrazida (**4a**), em seguida foi adicionado 3 mL de etanol e uma quantidade catalítica de ácido acético ou APTS, por fim foi levado aos respectivos sistemas para reagir.

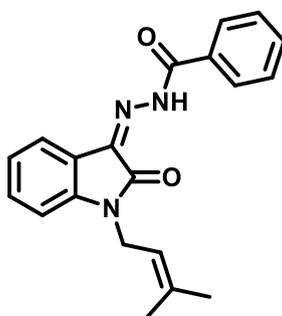
Utilizando o DES de ácido acético ou APTS, em um balão de 50 mL foi pesado 500 mg do DES e 0,5 mmol da isatina *N*-prenilada (**3a**), foi levado ao banho de óleo a 60°C e após a solubilização foi adicionado 0,6 mmol de benzoidrazida (**4a**).

Para o isolamento dos produtos, foram lavados com água destilada gelada e secos utilizando o sistema de filtração a vácuo, em alguns casos, foram realizadas extração líquido-líquido utilizando acetato de etila ou diclorometano como fase orgânica e após a extração os produtos ficavam na forma de sólido.

## 6.6 CARACTERIZAÇÃO DAS N-ACILIDRAZONAS **5a-5l**

Molécula (*Z*)-*N'*-(1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida

(**5a**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 97%

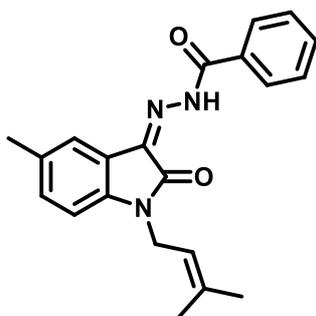
Ponto de Fusão: 147-149°C, Literatura 128-129°C

**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3178(N-H), 1697(C=N), 1681(C=O), 1616(C=C), 1469(C=C).

**RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,08 (s, 1H, NH), 8,04 – 7,98 (m, 2H, H-Ar), 7,85 (d, *J* = 7 Hz, 1H, H-Ar), 7,62 – 7,48 (m, 3H, H-Ar), 7,36 (td, *J* = 7,8, 1,4 Hz, 1H, H-Ar), 7,13 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-Ar), 6,85 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,20 (tt, *J* = 6,9, 1,4 Hz, 1H, CH), 4,37 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161,5 (C=O), 142,9 (C-Ar), 138,0 (C-AL), 132,9 (CH-Ar), 132,3 (C-Ar), 131,5 (CH-Ar), 129,0 (CH-Ar), 128,0 (CH-Ar), 123,6 (CH-Ar), 122,1 (CH-Ar), 119,9 (C-Ar), 117,4 (CH), 109,8 (CH-Ar), 37,9 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

Molécula (Z)-N'-(5-metil-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5b**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 96%

Ponto de Fusão: 136-137°C

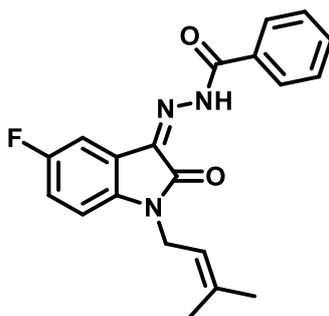
**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3174(N-H), 1697(C=N), 1678(C=O), 1624(C=C), 1489(C=C).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,05 (s, 1H, NH), 8,00 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, H-Ar), 7,68 (s, 1H, H-Ar), 7,61 – 7,46 (m, 3H, H-Ar), 7,15 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-Ar), 6,73 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,19 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H, CH), 4,34 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161,5 (C=O), 140,7 (C-Ar), 137,8 (C-AL), 133,3 (C-CH<sub>3</sub>), 132,8 (CH-Ar), 132,3 (C-Ar), 131,9 (CH-Ar), 129,0 (CH-Ar), 127,9 (CH-Ar), 122,7 (CH-Ar), 119,9 (C-Ar), 117,5 (CH), 109,5 (CH-Ar), 37,9 (CH<sub>2</sub>), 25,7 (CH<sub>3</sub>), 21,1 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 370,15260, encontrado, 370,15237; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 348,17065, encontrado, 348,17050.

Molécula (Z)-N'-(5-fluoro-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5c**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 92%

Ponto de Fusão: 169-172°C

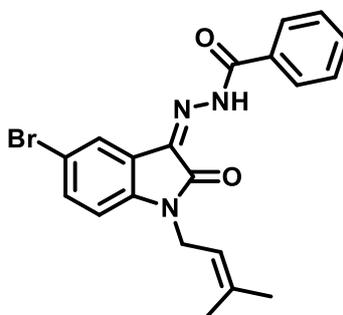
**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3186(N-H), 1705(C=N), 1678(C=O), 1620(C=C), 1481(C=C), 1153(C-F).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,05 (s, 1H, NH), 8,00 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-Ar), 7,64 – 7,47 (m, 4H, H-Ar), 7,06 (td, *J* = 8,7, 2,6 Hz, 1H, H-Ar), 6,78 (dd, *J* = 8,6, 4,0 Hz, 1H, H-Ar), 5,19 (t, 1H, CH), 4,37 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161,5 (C=O), 160,9 (C=O), 158,5 (C-F), 138,9 (C-Ar), 138,3 (C-AL), 133,0 (CH-Ar), 132,0 (C-Ar), 129,1 (CH-Ar), 128,0 (CH-Ar), 121,3 (C-Ar), 121,2 (C-Ar), 118,0 (CH-Ar), 117,7 (CH-Ar), 117,1 (CH), 110,7 (CH-Ar), 110,6 (CH-Ar), 109,7 (CH-Ar), 109,5 (CH-Ar), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 374,12753, encontrado, 374,12723; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 352,14558, encontrado, 352,14532.

Molécula (Z)-N'-(5-bromo-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5d**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 82%

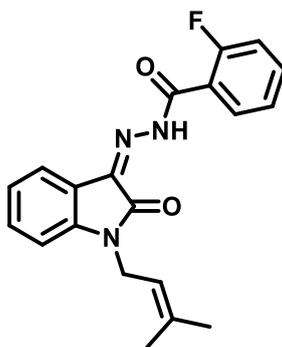
Ponto de Fusão: 208-211°C

**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3259(N-H), 1701(C=N), 1681(C=O), 1608(C=C), 1473(C=C), 702(C-Br).

**RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 13,99 (s, 1H, NH), 8,04 – 7,96 (m, 3H, H-Ar), 7,64 – 7,57 (m, 1H, H-Ar), 7,56 – 7,49 (m, 2H, H-Ar), 7,47 (dd, *J* = 8,3, 2,1 Hz, 1H, H-Ar), 6,74 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, H-Ar), 5,17 (tt, *J* = 6,9, 1,4 Hz, 1H, CH), 4,37 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 161,1 (C=O), 141,6 (C-Ar), 138,5 (C-AL), 133,9 (CH-Ar), 133,1 (CH-Ar), 132,0 (C-Ar), 129,1 (CH-Ar), 128,0 (CH-Ar), 125,0 (CH-Ar), 121,7 (C-Ar), 117,0 (CH), 116,5 (C-Br), 111,3 (CH-Ar), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,4 (CH<sub>3</sub>).

Molécula (Z)-2-fluoro-*N'*-(1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5e**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 90%

Ponto de Fusão: 136-137°C

**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3194(N-H), 1705(C=N), 1678(C=O), 1612(C=C), 1469(C=C), 1141(C-F).

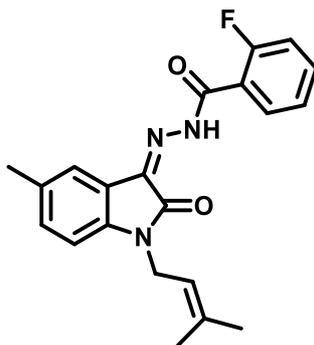
**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 14,00 (d, *J* = 10,6 Hz, 1H, NH), 8,21 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H, H-Ar), 7,86 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-Ar), 7,61 – 7,51 (m, 1H, H-Ar), 7,34 (dt, *J* = 15,9, 7,6 Hz, 2H, H-Ar), 7,25 – 7,08 (m, 2H, H-Ar), 6,84 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,19 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H, CH), 4,37 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 162,0 (C=O), 161,2 (C=O), 160,9 (C=O), 159,5 (C-F), 143,2 (C-Ar), 138,1 (C-AL), 137,8 (C=N), 134,7 (CH-Ar), 134,7 (CH-Ar), 132,7 (CH-Ar), 131,7 (CH-Ar), 125,1 (CH-Ar), 123,5 (CH-Ar), 122,3 (CH-Ar),

120,0 (C-Ar), 119,7 (C-Ar), 117,5 (CH), 116,6 (CH-Ar), 116,4 (CH-Ar), 109,7 (CH-Ar), 37,9 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 374,12753, encontrado, 374,12720; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 352,14558, encontrado, 352,14529.

Molécula (Z)-2-fluoro-*N'*-(5-metil-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5f**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 90%

Ponto de Fusão: 180-181°C

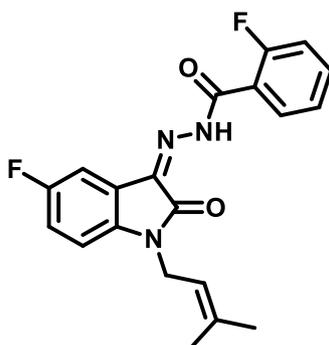
**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3236(N-H), 1697(C=N), 1678(C=O), 1612(C=C), 1485(C=C), 1145(C-F).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13,99 (d, *J* = 10,1 Hz, 1H, NH), 8,22 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, H-Ar), 7,71 (s, 1H, H-Ar), 7,61 – 7,51 (m, 1H, H-Ar), 7,32 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, H-Ar), 7,26 – 7,13 (m, 2H, H-Ar), 6,73 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,19 (tt, *J* = 6,7, 1,5 Hz, 1H, CH), 4,35 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2,35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 162,1 (C=O), 161,0 (C=O), 159,6 (C-F), 141,0 (C-Ar), 138,3 (C-AL), 137,7 (C=N), 134,7 (CH-Ar), 134,6 (CH-Ar), 133,2 (C-CH<sub>3</sub>), 132,7 (CH-Ar), 132,1 (CH-Ar), 125,1 (CH-Ar), 122,9 (CH-Ar), 120,0 (C-Ar), 117,6 (CH), 116,7 (CH-Ar), 116,4 (CH-Ar), 109,6 (CH-Ar), 37,9 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 21,1 (CH<sub>3</sub>), 18,4 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 388,14318, encontrado, 388,14291; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 366,16123, encontrado, 366,16116.

Molécula (Z)-2-fluoro-*N'*-(5-fluoro-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5g**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 96%

Ponto de Fusão: 149-150°C

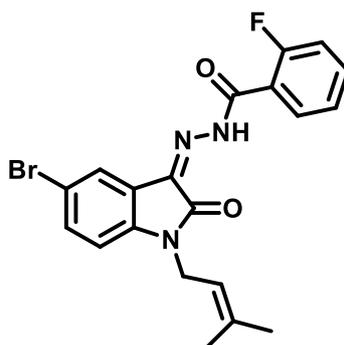
**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3190(N-H), 1701(C=N), 1689(C=O), 1612(C=C), 1481(C=C), 1145(C-F), 1107(C-F).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13,99 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H, NH), 8,21 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-Ar), 7,62 – 7,52 (m, 2H, H-Ar), 7,32 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H-Ar), 7,21 (dd, *J* = 11,2, 7,8 Hz, 1H, H-Ar), 7,06 (td, *J* = 8,8, 2,6 Hz, 1H, H-Ar), 6,77 (dd, *J* = 8,7, 3,9 Hz, 1H, H-Ar), 5,17 (tt, *J* = 6,8, 1,5 Hz, 1H, CH), 4,37 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,74 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 161,8 (C=O), 161,2 (C=O), 160,9 (C=O), 160,6 (C=O), 159,9 (C-F), 158,7 (C-F), 139,2 (C-Ar), 139,2 (C-Ar), 138,1 (C-AL), 137,4 (C=N), 134,9 (CH-Ar), 134,8 (CH-Ar), 132,8 (CH-Ar), 125,2 (CH-Ar), 121,4 (C-Ar), 121,3 (C-Ar), 119,7 (C-Ar), 119,6 (C-Ar), 118,1 (CH-Ar), 117,9 (CH-Ar), 117,3 (CH), 116,7 (CH-Ar), 116,5 (CH-Ar), 110,6 (CH-Ar), 110,5 (CH-Ar), 109,8 (CH-Ar), 109,6 (CH-Ar), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 392,11810, encontrado, 392,11780; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 370,13616, encontrado, 370,13589.

Molécula (Z)-N'-(5-bromo-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)-2-fluorobenzoidrazida (**5h**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 94%

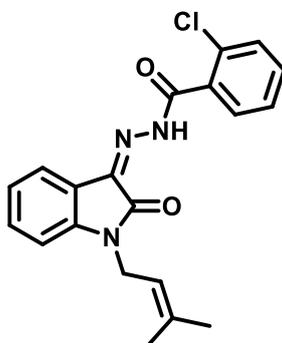
Ponto de Fusão: 213-214°C

**IV** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3263(N-H), 1705(C=N), 1681(C=O), 1612(C=C), 1473(C=C), 1149(C-F), 756(C-Br).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13,93 (d,  $J = 11,1$  Hz, 1H, NH), 8,22 (s, 1H, H-Ar), 8,00 (s, 1H, H-Ar), 7,57 (q,  $J = 7,2$  Hz, 1H, H-Ar), 7,47 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1H, H-Ar), 7,32 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-Ar), 7,25 – 7,17 (m, 1H, H-Ar), 6,72 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H, H-Ar), 5,16 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H, CH), 4,36 (d,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,83 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,74 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  161,9 (C=O), 161,2 (C=O), 160,5 (C=O), 159,9 (C-F), 141,9 (C-Ar), 138,3 (C-AL), 136,7 (C=N), 135,0 (CH-Ar), 134,9 (CH-Ar), 134,0 (CH-Ar), 132,8 (CH-Ar), 125,2 (CH-Ar), 125,1 (CH-Ar), 121,8 (C-Ar), 119,5 (C-Br), 117,1 (CH), 116,7 (CH-Ar), 116,5 (CH-Ar), 111,3 (CH-Ar), 38,0 ( $\text{CH}_2$ ), 25,77 ( $\text{CH}_3$ ), 18,36 ( $\text{CH}_3$ ).

Molécula (Z)-2-cloro-*N'*-(1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5i**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 91%

Ponto de Fusão: 119-121°C

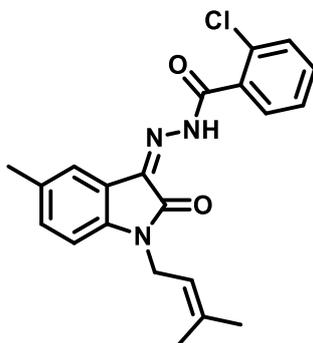
**IV** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3167(N-H), 1674(C=N), 1670(C=O), 1612(C=C), 1465(C=C), 744(C-Cl).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13,58 (s, 1H, NH), 7,85 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H, H-Ar), 7,72 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H, H-Ar), 7,50 – 7,41 (m, 2H, H-Ar), 7,37 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H, H-Ar), 7,13 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H, H-Ar), 6,84 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H, H-Ar), 5,17 (t, 1H, CH), 4,33 (d,  $J = 6,7$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,82 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,73 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164,1 (C=O), 161,1 (C=O), 143,2 (C-Ar), 138,2 (C-AL), 138,0 (C=N), 133,2 (C-Cl), 132,4 (CH-Ar), 131,9 (CH-Ar), 131,3 (CH-Ar), 131,0 (CH-Ar), 130,7 (CH-Ar), 130,6 (CH-Ar), 129,5 (CH-Ar), 127,3 (CH-Ar), 126,5 (CH-Ar), 123,6 (CH-Ar), 123,1 (CH-Ar), 122,3 (CH-Ar), 121,1 (CH-Ar), 119,8 (C-Ar), 117,3 (CH), 109,8 (CH-Ar), 37,9 ( $\text{CH}_2$ ), 25,8 ( $\text{CH}_3$ ), 18,3 ( $\text{CH}_3$ ).

**ESI-HRMS** ( $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{NaO}_2$ , 390,09798, encontrado, 390,09766;  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}_2$ , 368,11603, encontrado, 368,11575.

Molécula (Z)-2-cloro-*N'*-(5-metil-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5j**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 96%

Ponto de Fusão: 147-150°C

**IV** ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3197(N-H), 1674(C=N), 1670(C=O), 1627(C=C), 1485(C=C), 744(C-Cl).

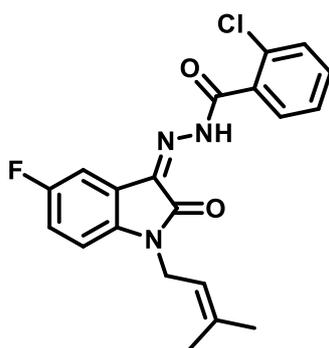
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  13,55 (s, 1H, NH), 7,72 – 7,69 (m, 2H, H-Ar), 7,47 – 7,35 (m, 3H, H-Ar), 7,19 – 7,04 (m, 1H, H-Ar), 6,73 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, H-Ar), 5,17 (t,  $J = 6,9$  Hz, 1H, CH), 4,30 (d,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2,35 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,81 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,72 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  164,0 (C=O), 161,2 (C=O), 141,0 (C-Ar), 138,4 (C-AL), 137,8 (C=N), 133,3 (C-Cl), 132,4 (CH-Ar), 132,3 (CH-Ar), 131,8 (C-Ar),

131,0 (CH-Ar), 130,7 (CH-Ar), 130,6 (CH-Ar), 129,6 (CH-Ar), 127,3 (CH-Ar), 126,5 (CH-Ar), 122,9 (CH-Ar), 121,5 (CH-Ar), 119,8 (C-Ar), 117,5 (CH), 109,6 (CH-Ar), 37,9 (CH<sub>2</sub>), 25,7 (CH<sub>3</sub>), 21,0 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 404,11363, encontrado, 404,11343; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 382,13168, encontrado, 382,13159.

Molécula (Z)-2-cloro-N'-(5-fluoro-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)benzoidrazida (**5k**)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 97%

Ponto de Fusão: 96-99°C

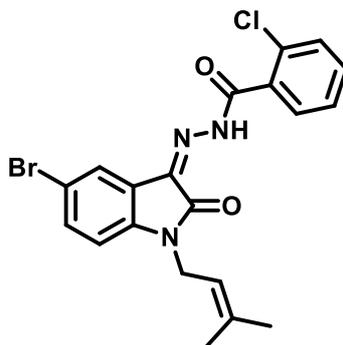
**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3178(N-H), 1681(C=N), 1678(C=O), 1624(C=C), 1481(C=C), 1157(C-F), 748(C-Cl).

**RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13,58 (s, 1H, NH), 7,73 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-Ar), 7,57 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-Ar), 7,50 – 7,33 (m, 3H, H-Ar), 7,11 – 6,94 (m, 1H, H-Ar), 6,77 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H, H-Ar), 5,16 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, CH), 4,33 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN** <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 164,0 (C=O), 161,1 (C=O), 160,7 (C=O), 158,7 (C-F), 139,2 (C-Ar), 139,2 (C-Ar), 138,3 (C-AL), 137,5 (C=N), 133,0 (C-Cl), 132,6 (CH-Ar), 131,8 (C-Ar), 130,8 (CH-Ar), 130,7 (CH-Ar), 129,6 (CH-Ar), 127,4 (CH-Ar), 126,6 (CH-Ar), 121,2 (C-Ar), 121,2 (C-Ar), 118,3 (CH-Ar), 118,1 (CH-Ar), 117,1 (CH), 110,6 (CH-Ar), 109,9 (CH-Ar), 109,7 (CH-Ar), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

**ESI-HRMS** (m/z): [M+Na]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>ClFN<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>, 408,08855, encontrado, 408,08844; [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClFN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, 386,10661, encontrado, 386,10654.

Molécula (Z)-N'-(5-bromo-1-(3-metilbut-2-en-1-il)-2-oxoindolin-3-ilideno)-2-clorobenzoidrazida (5I)



Aspecto físico: sólido amarelo

Rendimento: 88%

Ponto de Fusão: 173-174°C

**IV** (cm<sup>-1</sup>): 3255(N-H), 1689(C=N), 1681(C=O), 1604(C=C), 1442(C=C), 741(C-Cl), 617(C-Br).

**RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 13,51 (s, 1H, NH), 7,99 (s, 1H, H-Ar), 7,73 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H-Ar), 7,55 – 7,41 (m, 3H, H-Ar), 7,38 (t, J = 7,5 Hz, 1H, H-Ar), 6,72 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H-Ar), 5,14 (t, J = 6,9 Hz, 1H, CH), 4,32 (d, J = 6,9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,73 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**RMN <sup>13</sup>C** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 164,0 (C=O), 160,7 (C=O), 141,9 (C-Ar), 138,4 (C-AL), 136,8 (C=N), 134,2 (CH-Ar), 133,0 (C-Cl), 132,6 (CH-Ar), 131,8 (C-Ar), 131,3 (CH-Ar), 130,8 (CH-Ar), 127,4 (CH-Ar), 126,7 (CH-Ar), 125,1 (CH-Ar), 121,6 (C-Ar), 117,0 (CH), 116,5 (C-Br), 111,3 (CH-Ar), 38,0 (CH<sub>2</sub>), 25,8 (CH<sub>3</sub>), 18,3 (CH<sub>3</sub>).

## 6.7 PROCEDIMENTO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICÂNCER

As linhagens tumorais utilizadas foram K562 (leucemia mielóide crônica), HCT116 (câncer colón humano) e a NCI-H1299 (carcinoma de pulmão de não pequenas células) que foi obtida do Banco de células do Rio de Janeiro, tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

A análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano [83]. É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a

capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação [84].

As células foram plaqueadas na concentração de  $1 \times 10^5$  células/mL. As substâncias previamente dissolvidas em DMSO foram diluídas em série no meio RPMI para obtenção das concentrações finais e adicionadas em placa de 96 poços (100µL/ poço).

As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Em seguida, foram adicionados 20 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas novamente por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 575 nm.

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos desvios padrão da média no programa LibreOffice Calc (Versão: 6.4.7.2). Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos independentes.

# REFERÊNCIAS

- [1] SCHIFF, H. Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine neue Reihe organischer Basen. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, 131(1), 118-119, 1864.
- [2] RACZUK, E.; DMOCHOWSKA, B.; SAMASZKO-FIERTEK, J.; MADAJ, J. Different Schiff Bases—Structure, Importance and Classification. **Molecules**, 27(3), 1-24, 2022.
- [3] MAIA, R. C.; TESCH, R.; FRAGA, C. A. M. Acylhydrazone derivatives: a patent review. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, 24(11), 1161-1170, 2014.
- [4] THOTA, S.; RODRIGUES, D. A.; PINHEIRO, P. S. M.; LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. *N*-Acylhydrazones as drugs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 28(17), 2797-2806, 2018.
- [5] SANTOS FILHO, J. M.; PINHEIRO, S. M. Stereoselective, solvent free, highly efficient synthesis of aldo- and keto-*N*-acyhydrazones applying grindstone chemistry. **Green Chemistry**, 19(9), 2212-2224, 2017.
- [6] SOLAISELVI, R.; MANDAL, A. B.; SHANMUGAM, P. Nucleophilic substitution reaction of Morita–Baylis–Hillman adducts of isatin with X, S, N, and O-nucleophiles: a facile and efficient synthesis of highly functionalized tetrasubstituted alkene appended oxindoles. **Tetrahedron Letters**, 53(1), 90-94, 2012.
- [7] MENG, J.; JIA, R.; LENG, J.; WEN, M.; YU, X.; DENG, W.-P. Carbon–Carbon Bond Formation by Reaction of Rhodium Azavinylcarbenes with Secondary Amides: Access to Indigo Analogues from Isatins. **Organic Letters**, 19(17), 4520-4523, 2017.
- [8] ALCAIDE, B.; ALMENDROS, P.; RODRÍGUEZ-ACEBES, R. Efficient Entry to Diversely Functionalized Spirocyclic Oxindoles from Isatins through Carbonyl-Addition/Cyclization Reaction Sequences. **The Journal of Organic Chemistry**, 71(6), 2346-2351, 2006.
- [9] MARTINEZ, S. T.; FERREIRA, V. F. As Isatinas do Professor Angelo. **Revista Virtual de Química**. 9(3), 1154-1183, 2017.
- [10] GREWAL, A. S. Isatin Derivatives with Several Biological Activities. **International Journal of Pharmaceutical Research**, 6(1), 1-7, 2014.
- [11] SILVA, B. V. Isatin, a Versatile Molecule: Studies in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 24(5), 707-720, 2013.
- [12] NATH, P.; MUKHERJEE, A.; MUKHERJEE, S.; BANERJEE, S.; DAS, S.; BANERJEE, S. Isatin: A Scaffold with Immense Biodiversity. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, 21(9), 1096-1112, 2021.
- [13] GUO, H. Isatin derivatives and their anti-bacterial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 164, 678-688, 2019.

- [14] PATHAK, A.; SONI, N.; PANDEY, D. D.; VERMA, D. Recent Advances, Future Challenges, Sar And Antimicrobial Activities Of Isatin: A Breaif Review. **Journal of Pharmaceutical Negative Results**, 13(9), 7285-7307, 2022.
- [15] SALEM, M. A.; RAGAB, A.; EL-KHALAFAWY, A.; MAKHLOUF, A. H.; ASKAR, A. A.; AMMAR, Y. A. Design, synthesis, *in vitro* antimicrobial evaluation and molecular docking studies of indol-2-one tagged with morpholinosulfonyl moiety as DNA gyrase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, 96, 1-12, 2020.
- [16] YANG, Y. -S.; SU, M. -M.; ZHANG, X. -P.; LIU, Q. -X.; HE, Z. -X.; XU, C. Developing potential *Helicobacter pylori* urease inhibitors from novel oxoindoline derivatives: Synthesis, biological evaluation and *in silico* study. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 28(19), 3182-3186, 2018.
- [17] JARAPULA, R.; GANGARAPU, K.; MANDA, S.; REKULAPALLY, S. Synthesis, *In Vivo* Anti-Inflammatory Activity, and Molecular Docking Studies of New Isatin Derivatives. **International Journal of Medicinal Chemistry**, 2016, 1-9, 2016.
- [18] EMAMI, S.; VALIPOUR, M.; KOMISHANI, F. K.; SADATI-ASHRAFI, F.; RASOULIAN, M.; GHASEMIAN, M.; TAJBAKHSH, M.; MASIHI, P. H.; SHAKIBA, A.; IRANNEJAD, H.; AHANGAR, N. Synthesis, *in silico*, *in vitro* and *in vivo* evaluations of isatin aroylhydrazones as highly potent anticonvulsant agentes. **Bioorganic Chemistry**, 112, 1-11, 2021.
- [19] KUMAR, S.; MIN OH, J.; PRABHAKARAN, P.; AWASTI, A.; KIM, H.; MATHEW, B. Isatin-tethered halogen-containing acylhydrazone derivatives as monoamine oxidase inhibitor with neuroprotective effect. **Scientific Reports**, 14(1264), 1-20, 2024.
- [20] DIAZ, P.; XU, J.; ASTRUC-DIAZ, F.; PAN, H. -M.; BROWN, D. L.; NAGUIB, M. Design and Synthesis of a Novel Series of *N*-Alkyl Isatin Acylhydrazone Derivatives that Act as Selective Cannabinoid Receptor 2 Agonists for the Treatment of Neuropathic Pain. **Journal of Medicinal Chemistry**, 51(16), 4932-4947, 2008.
- [21] WANG, J.; TAN, H.; LI, Y.; MA, Y.; LI, Z.; GUDDAT, L. W. Chemical Synthesis, *in Vitro* Acetohydroxyacid Synthase (AHAS) Inhibition, Herbicidal Activity, and Computational Studies of Isatin Derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59(18), 9892-9900, 2011.
- [22] KATIYAR, A.; HEGDE, M.; KUMAR, S.; GOPALAKRISHNAN, V.; BHATELIA, K. D.; ANANTHASWAMY, K.; RAMAREDDY, S. A.; CLERCQ, E.; CHOUDHARY, B.; SCHOLS, D.; RAGHAVAN, S. C.; KARKI, S. Synthesis and evaluation of the biological activity of *N'*-[2-oxo 1,2 dihydro-3H-indol-3-ylidene] benzohydrazides as potential anticancer agentes. **The Royal Society of Chemistry Advances**, 5(56), 45492-45501, 2015.
- [23] SIRISOMA, N.; PERVIN, A.; DREWE, J.; TSENG, B.; CAI, S. X. Discovery of substituted *N'*-(2-oxoindolin-3-ylidene)benzohydrazides as new apoptosis

inducers using a cell- and caspase-based HTS assay. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 19(10), 2710-2713, 2009.

[24] AHMED, S.; QUEEN, A.; IRFAN, I.; SIDDIQUI, M. N.; ALMUQDADI, H. T. A.; SETIA, N.; ANSARI, J.; HUSSAIN, A.; HASSAN, M. I.; ABID, M. Vanillin-Isatin Hybrid-Induced MARK4 Inhibition As a Promising Therapeutic Strategy against Hepatocellular Carcinoma. **ACS OMEGA**, 9(24), 25945-25959, 2024.

[25] NEVES, M. P.; CIDADE, H.; PINTO, M.; SILVA, A. M. S.; GALES, L.; DAMAS, A. M.; LIMA, R. T.; VASCONCELOS, M. H.; NASCIMENTO, M. S. J. Prenylated derivatives of baicalein and 3,7-dihydroxyflavone: Synthesis and study of their effects on tumor cell lines growth, cell cycle and apoptosis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 46(6), 2562-2574, 2011.

[26] GENOVESE, S.; CURINI, M.; EPIFANO, F. Chemistry and biological activity of azoprenylated secondary metabolites. **Phytochemistry**, 70(9), 1082-1091, 2009.

[27] GOZARI, M.; ALBORZ, M.; EL-SEEDI, H. R.; JASSBI, A. R. Chemistry, biosynthesis and biological activity of terpenoids and meroterpenoids in bacteria and fungi isolated from different marine habitats. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 210, 1-27, 2021.

[28] TURAN-ZITOUNI, G.; YURTTAS, L.; KAPLANCIKLI, Z. A.; CAN, O. D.; OZKAY, U. D. Synthesis and anti-nociceptive, anti-inflammatory activities of new aroyl propionic acid derivatives including *N*-acylhydrazone motif. **Medicinal Chemistry Research**, 24, 2406-2416, 2015.

[29] TIAN, B.; HE, M.; TAN, Z.; TANG, S.; HEWLETT, I.; CHEN, S.; JIN, Y.; YANG, M. Synthesis and Antiviral Evaluation of New *N*-acylhydrazones Containing Glycine Residue. **Chemical Biology & Drug Design**, 77(3), 189-198, 2011.

[30] MIRFAZLI, S. S.; KOBARFARD, F.; FIROOZPOUR, L.; ASADIPOUR, A.; ESFAHANIZADEH, M.; TABIB, K.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. *N*-Substituted indole carbohydrazone derivatives: synthesis and evaluation of their antiplatelet aggregation activity. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, 22(65), 1-10, 2014.

[31] INCE, U.; HAN, M. I. Investigation of Antimicrobial Activity of Some Ethylparaben Hydrazide-Hydrazone Derivatives. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, 20(1), 35-38, 2023.

[32] AVAJI, P. G.; KUMAR, C.H. V.; PATIL, S. A.; SHIVANANDA, K. N.; NAGARAJU, C. Synthesis, spectral characterization, in-vitro microbiological evaluation and cytotoxic activities of novel macrocyclic bis hydrazone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44(9), 3552-3559, 2009.

[33] LARGANI, T. H.; IMANZADEH, G.; PESYAN, N. N.; ŞAHIN, E. Unexpected simultaneous synthesis of trisubstituted quinolines and acylhydrazones under catalyst-free conditions. **Synthetic Communications**, 47(11), 1077-1084, 2017.

- [34] MORJAN, R. Y.; MKADMH, A. M.; BEADHAM, I.; ELMANAMA, A. A.; MATTAR, M. R.; RAFTERY, J.; PRITCHARD, R. G.; AWADALLAH, A. M.; GARDINER, J. M. Antibacterial activities of novel nicotinic acid hydrazides and their conversion into *N*-acetyl-1,3,4-oxadiazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 24(24), 5796–5800, 2014.
- [35] BARAN, A. U. Comparative study of microwave-assisted and conventional synthesis of ibuprofen-based acyl hydrazone derivatives. **Turkish Journal of Chemistry**, 37(6), 927-935, 2013.
- [36] LEI, Y.; LI, T.-Z.; FU, C.; GUAN, X.-L.; TAN, Y. SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURES, AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A SERIES OF HYDRAZONE COMPOUNDS DERIVED FROM 4-METHYLBENZOHYDRAZIDE. **Journal of the Chilean Chemical Society**, 60(2), 2961-2965, 2015.
- [37] DOS SANTOS FILHO, J. M. Mild, Stereoselective, and Highly Efficient Synthesis of *N*-Acyldiazones Mediated by  $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  in a Broad Range of Solvents. **European Journal of Organic Chemistry**, 2014(29), 6411-6417, 2014.
- [38] RESENDE FILHO, J. B. M.; FALCÃO, N. K. S. M.; PIRES, G. P.; VASCONCELOS, L. F. S.; PINHEIRO, S. M.; DOS SANTOS FILHO, J. M.; BARBOSA, M. I. F.; DORIGUETTO, A. C.; TEOTONIO, E. E. S.; VALE, J. A. Lanthanide–EDTA complexes covalently bonded on  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$  magnetic nanoparticles promote the green, stereoselective synthesis of *N*-acyldiazones. **New Journal of Chemistry**, 43(36), 14257-14269, 2019.
- [39] SILVA, G. A.; CASTRO, A. C.; MENDES, R. K. S.; MOREIRA, D. N.; CAVALCANTI, G. R. S.; FONSECA, M. G.; GOMES, J. P. A.; ALENCAR-FILHO, E. B.; VAZ, B. G.; SANTOS, G. F.; LIMA, G. S.; SILVA, F. F.; LIMA-JUNIOR, C. G. Bentonite catalyzed solvent-free synthesis of *N'*-(2-oxoindolin-3-ylidene) benzohydrazide derivatives under microwave irradiation. **Journal of Molecular Structure**, 1270, 1-11, 2022.
- [40] MOLNAR, M.; KOMAR, M.; BRAHMBHATT, H.; BABIĆ, J.; JOKIĆ, S.; RASTIJA, V. Deep Eutectic Solvents as Convenient Media for Synthesis of Novel Coumarinyl Schiff Bases and Their QSAR Studies. **Molecules**, 22(9), 1-15, 2017.
- [41] RAMIMOGHADAM, D.; EYCKENS, D. J.; EVANS, R. A.; MOAD, G.; HOLMES, S.; SIMONS, R. Towards Sustainable Materials: A Review of Acyldiazone Chemistry for Reversible Polymers. **Chemistry-A European Journal**, 30, 1-24, 2024.
- [42] GUIMARÃES, D. G.; ROLIM, L. A.; GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M. Investigação do Potencial Biológico de Hidrazonas Obtidas Sinteticamente na Última Década (2006-2016): Uma Revisão Sistemática. **Revista Virtual Química**, 9(6), 2551-2592, 2017.

- [43] JENCKS, W. P. Mechanism and Catalysis of Simple Carbonyl Group Reactions. **Progress in Physical Organic Chemistry** (eds S. G. Cohen, A. Streitwieser and R. W. Taft), 2, 63-128, 1964.
- [44] HINCAPIÉ-OTERO, M. M.; JOAQUI-JOAQUI, A.; POLO-CERÓN, D. Synthesis and characterization of four *N*-acylhydrazones as potential O,N,O donors for Cu<sup>2+</sup>: An experimental and theoretical study. **Universitas Scientiarum**, 26(2), 193-215, 2021.
- [45] GAMOV, G. A.; KHODOV, I. A.; BELOV, K. V.; ZAVALISHIN, M. N.; KISELEV, A. N.; USACHEVA, T. R.; SHARNIN, V. A. Spatial structure, thermodynamics and kinetics of formation of hydrazones derived from pyridoxal 5'-phosphate and 2-furoic, thiophene-2-carboxylic hydrazides in solution. **Journal of Molecular Liquids**, 283, 825-833, 2019.
- [46] ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chemical Society Reviews**, 39(1), 301-312, 2010.
- [47] ZHAO, Z. X.; CHENG, L. P.; PANG, W. Green synthesis of ethyl oxalate benzylidynyl hydrazides. **Tetrahedron Letters**, 59(21), 2079-2081, 2018.
- [48] MUNIR, R.; ZAIB, S.; ZIA-UR-REHMAN, M.; HUSSAIN, N.; CHAUDHRY, F.; YOUNAS, M. T.; ZAHRA, F. T.; TAJAMMUL, Z.; JAVID, N.; DERA, A. A.; OGALY, H. A.; KHAN, I. Ultrasound-Assisted Synthesis of Piperidinyl-Quinoline Acylhydrazones as New Anti-Alzheimer's Agents: Assessment of Cholinesterase Inhibitory Profile, Molecular Docking Analysis, and Drug-like Properties. **Molecules**, 28(5), 1-26, 2023.
- [49] BOUBEKRI, Y.; SLASSI, S.; AARJANE, M.; TAZI, B.; AMINE, A. Microwave assisted synthesis, photoisomerization study and antioxidant activity of a series of *N*-acylhydrazones. **Arabian Journal of Chemistry**, 17(9), 1-7, 2024.
- [50] HANSEN, B. B.; SPITTLE, S.; CHEN, B.; POE, D.; ZHANG, Y.; KLEIN, J. M.; HORTON, A.; ADHIKARI, L.; ZELOVICH, T.; DOHERTY, B. W.; GURKAN, B.; MAGINN, E. J.; RAGAUSKAS, A.; DADMUN, M.; ZAWODZINSKI, T. A.; BAKER, G. A.; TUCKERMAN, M. E.; SAVINELL, R. F.; SANGORO, J. R. Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. **Chemical Reviews**, 121(3), 1232-1285, 2021.
- [51] ABBOTT, A. P.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K.; TAMBYRAJAH, V. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. **Chemical Communications**, 0(1), 70-71, 2003.
- [52] PINHO, M. R.; LIMA, A. S.; OLIVEIRA, G. A. R.; LIAO, L. M.; FRANCESCHI, E.; SILVA, R.; CARDOZO-FILHO, L. Choline Chloride- and Organic Acids-Based Deep Eutectic Solvents: Exploring Chemical and Thermophysical Properties. **Journal of Chemical & Engineering Data**, 69(10), 3403-3414, 2024.
- [53] MU, L.; GAO, J.; ZHANG, Q.; KONG, F.; ZHANG, Y.; MA, Z.; SUN, C.; LV, S. Research Progress on Deep Eutectic Solvents and Recent Applications. **Processes**, 11(7), 1-15, 2023.

- [54] FALCINI, C.; GONZALO, G. Deep Eutectic Solvents as Catalysts in the Synthesis of Active Pharmaceutical Ingredients and Precursors. **Catalysts**, 14(2), 1-16, 2024.
- [55] SOCEA, L. -I.; BARNUCEANU, S. -F.; PAHONTU, E. M.; DUMITRU, A. -C.; NITULESCU, G. M.; SFETEA, R. C.; APOSTOL, T. -V. Acylhydrazones and Their Biological Activity: A Review. **Molecules**, 27(24), 1-38, 2022.
- [56] MALI, S. N.; THORAT, B. R.; GUPTA, D. R.; PANDEY, A. Mini-Review of the Importance of Hydrazides and Their Derivatives—Synthesis and Biological Activity. **Engineering Proceedings**, 11(1), 1-9, 2021.
- [57] FERNANDES, C. M.; DASILVA, D.; HARANAHALLI, K.; MCCARTHY, J. B.; MALLAMO, J.; OJIMA, I.; DEL POETA, M. The Future of Antifungal Drug Therapy: Novel Compounds and Targets. **American Society for Microbiology Journals-Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 65(2), 1-13, 2021.
- [58] BELYAEVA, E. R.; MYASOEDOVA, Y. V.; ISHMURATOVA, N. M.; ISHMURATOV, G. Y. Synthesis and Biological Activity of *N*-Acylhydrazones. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, 48(6), 1123-1150, 2022.
- [59] KASSAB, A. E. Anticancer agentes incorporating the *N*-acylhydrazone scaffold: Progress from 2017 to presente. **DPhG Archiv der Pharmazie**, 356(5), 1-22, 2023.
- [60] PAKRAVAN, P.; KASHANIAN, S.; KHODAEI, M. M.; HARDING, F. J. Biochemical and pharmacological characterization of isatin and its derivatives: from structure to activity. **Pharmacological Reports**, 65(2), 313-335, 2013.
- [61] KUMAR, A.; ROHILA, Y.; KUMAR, V.; LAL, K. A Mini Review on Pharmacological Significance of Isatin-1,2,3-triazole Hybrids. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 23(10), 833-847, 2023.
- [62] NATH, R.; PATHANIA, S.; GROVER, G.; AKHTAR, M. J. Isatin containing heterocycles for different biological activities: Analysis of structure activity relationship. **Journal of Molecular Structure**, 1222, 1-58, 2020.
- [63] WANG, J.; YUN, D.; YAO, J.; FU, W.; HUANG, F.; CHEN, L.; WEI, T.; YU, C.; XU, H.; ZHOU, X.; HUANG, Y.; WU, J.; QIU, P.; LI, W. Design, synthesis and QSAR study of novel isatin analogues inspired Michael acceptor as potential anticancer compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 144, 493-503, 2018.
- [64] NOGUEIRA, L. J.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Histórico da Evolução da Química Medicinal e a Importância da Lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as Contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**, 1(3), 227-240, 2009.
- [65] KLIMOSZEK, D.; PYKA-PAJAK, A. Lipophilicity Study of Fumaric and Maleic Acids. **Processes**, 11(4), 1-13, 2023.

- [66] WARING, M. J. Lipophilicity in drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, 5(3), 235-248, 2010.
- [67] BODET, C.; BURUCOA, C.; ROUILLON, S.; BELLIN, N.; TADDEO, V. A.; FIORITO, S.; GENOVESE, S.; EPIFANO, F. Antibacterial Activities of Oxyprenylated Chalcones and Naphthoquinone against *Helicobacter pylori*. **Natural Product Communications**, 9(9), 1299-1301, 2014.
- [68] GANGAR, M.; KASHYAP, N.; KUMAR, K.; GOYAL, S.; NAIR, V. A. Imidazolidinone based chiral auxiliary mediated acetate aldol reactions of isatin derivatives and stereoselective synthesis of 3-substituted-3-hydroxy-2-oxindoles. **Tetrahedron Letters**, 56(51), 7074-7081, 2015.
- [69] LI, W.; DUAN, Z.; ZHANG, X.; ZHANG, H.; WANG, M.; JIANG, R.; ZENG, H.; LIU, C.; LEI, A. From Anilines to Isatins: Oxidative Palladium-Catalyzed Double Carbonylation of C-H Bonds. **Angewandte Chemie International Edition**, 54(6), 1893-1896, 2015.
- [70] GARDEN, S. J.; TORRES, J. C.; SILVA, L. E.; PINTO, A. C. A Convenient Methodology for the *N*-Alkylation of Isatin Compounds. **Synthetic Communications**, 28(9), 1679-1689, 1998.
- [71] ZHU, S.; LI, H.; ZHU, W.; JIANG, W.; WANG, C.; WU, P.; ZHANG, Q.; LI, H. Vibrational analysis and formation mechanism of typical deep eutectic solvents: An experimental and theoretical study. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, 68, 158-175, 2016.
- [72] GAUTAM, R.; KUMAR, N.; LYNAM, J. G. Theoretical and experimental study of choline chloride-carboxylic acid deep eutectic solvents and their hydrogen bonds. **Journal of Molecular Structure**, 1222, 1-12, 2020.
- [73] RODRIGUEZ, N. R.; MACHIELS, L.; BINNEMANS, K. *p*-Toluenesulfonic Acid-Based Deep-Eutectic Solvents for Solubilizing Metal Oxides. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 7(4), 3940-3948, 2019.
- [74] GOMES, C. L.; SALES, V. A. W.; MELO, C. G.; SILVA, R. M. F.; NISHIMURA, R. H. V.; ROLIM, L. A.; ROLIM NETO, P. J. Beta-lapachone: Natural occurrence, physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. **Phytochemistry**, 186, 1-8, 2021.
- [75] MOLNAR, M.; KRALJEVIĆ, T. G.; PAVIĆ, V.; RASTIJA, V.; KOMAR, M. Environmentally Friendly Approach to the Synthesis of 3-[Benzylideneamino]-2-methylquinazolin-4(3*H*)-one Derivatives and Calculation of Their Toxicity. **Chemistry & Biodiversity**, 20(8), 1-7, 2023.
- [76] 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. **Química Nova**, 38(9), 1237-1246, 2015.
- [77] 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(10), 11683-11704, 2013.

[78] DEBNATH, S.; SHOME, A.; DUTTA, S.; DAS, P. K. Dipeptide-Based Low-Molecular-Weight Efficient Organogelators and Their Application in Water Purification. **Chemistry-A European Journal**, 14(23), 6870-6881, 2008.

[79] SUN, H. -L.; CHUAI, J.; WEI, H.; ZHANG, X.; YU, H. Multi-functional organic gelator derived from phenyllactic acid for phenol removal and oil recovery. **Journal of Hazardous Materials**, 366, 46-53, 2019.

[80] QIAO, L.; LIU, C.; LIU, C.; ZONG, L.; GU, H.; WANG, C.; JIAN, X. Self-healing, pH-sensitive and shape memory hydrogels based on acylhydrazone and hydrogen bonds. **European Polymer Journal**, 162, 1-11, 2022.

[81] GILDAY, L. C.; ROBINSON, S. W.; BARENDT, T. A.; LANGTON, M. J.; MULLANEY, B. R.; BEER, P. D. Halogen Bonding in Supramolecular Chemistry. **Chemical Reviews**, 115(15), 7118-7195, 2015.

[82] HERNANDES, M. Z.; CAVALCANTI, S. M. T.; MOREIRA, D. R. M.; AZEVEDO JUNIOR, W. F.; LEITE, A. C. L. Halogen Atoms in the Modern Medicinal Chemistry: Hints for the Drug Design. **Current Drug Targets**, 11(3), 303-314, 2010.

[83] SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BODESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, 82(13), 1107-1112, 1990.

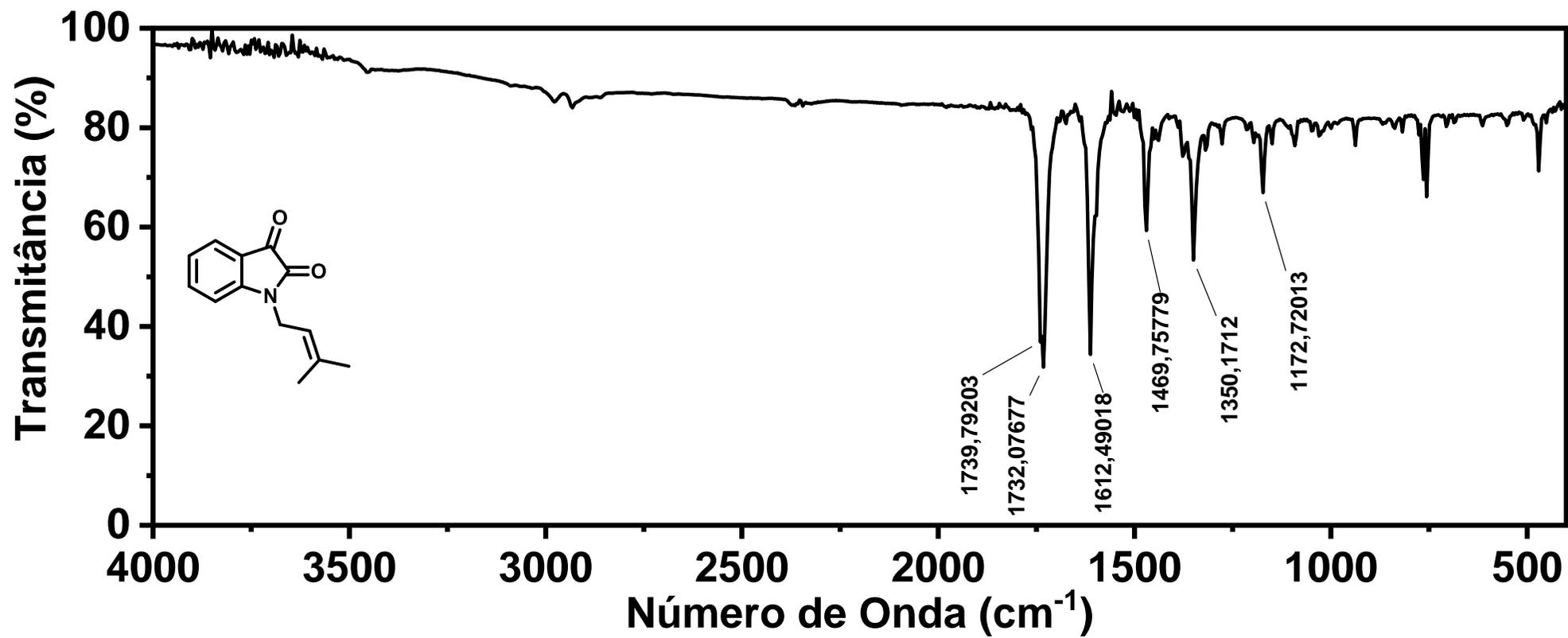
[84] BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; McCOY, K. D.; WANG, R. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, 4, 14-19, 1996.

# **ESPECTROS**

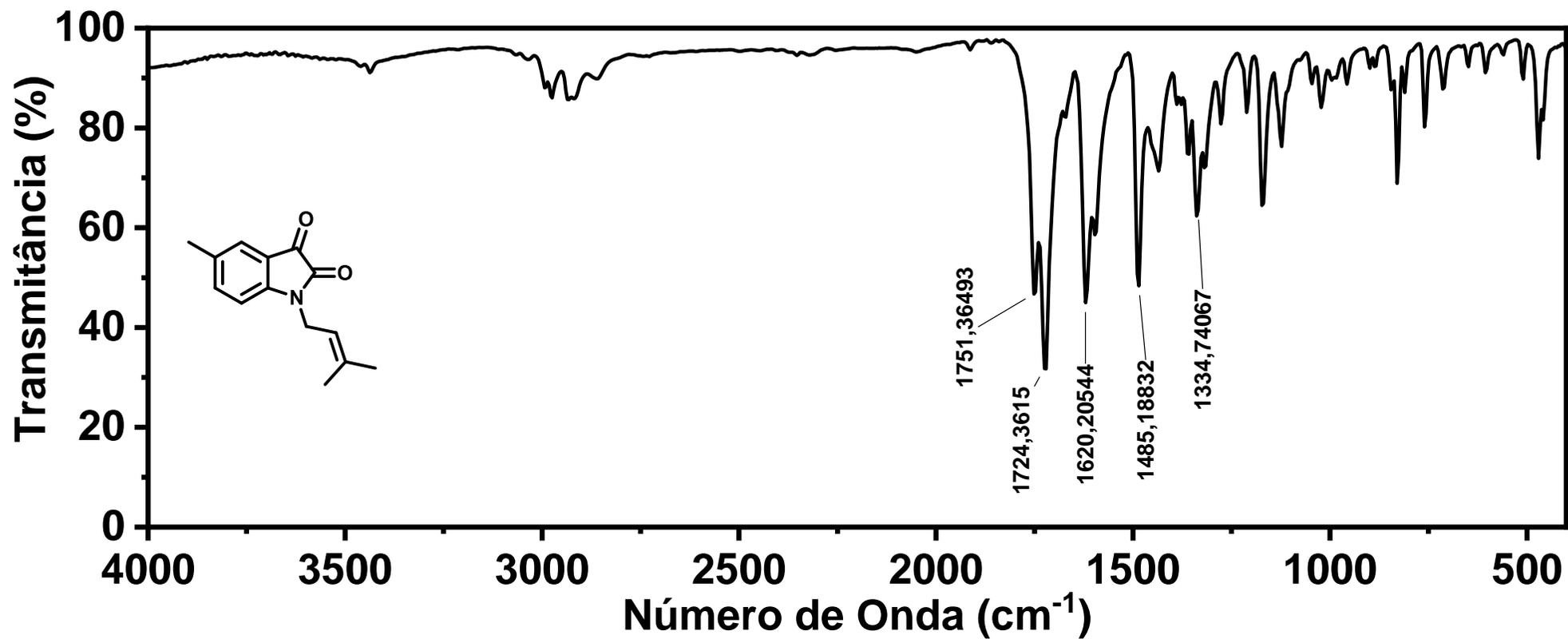
## **ESPECTROS 1**

Espectros de Infravermelho dos compostos sintetizados nesta dissertação

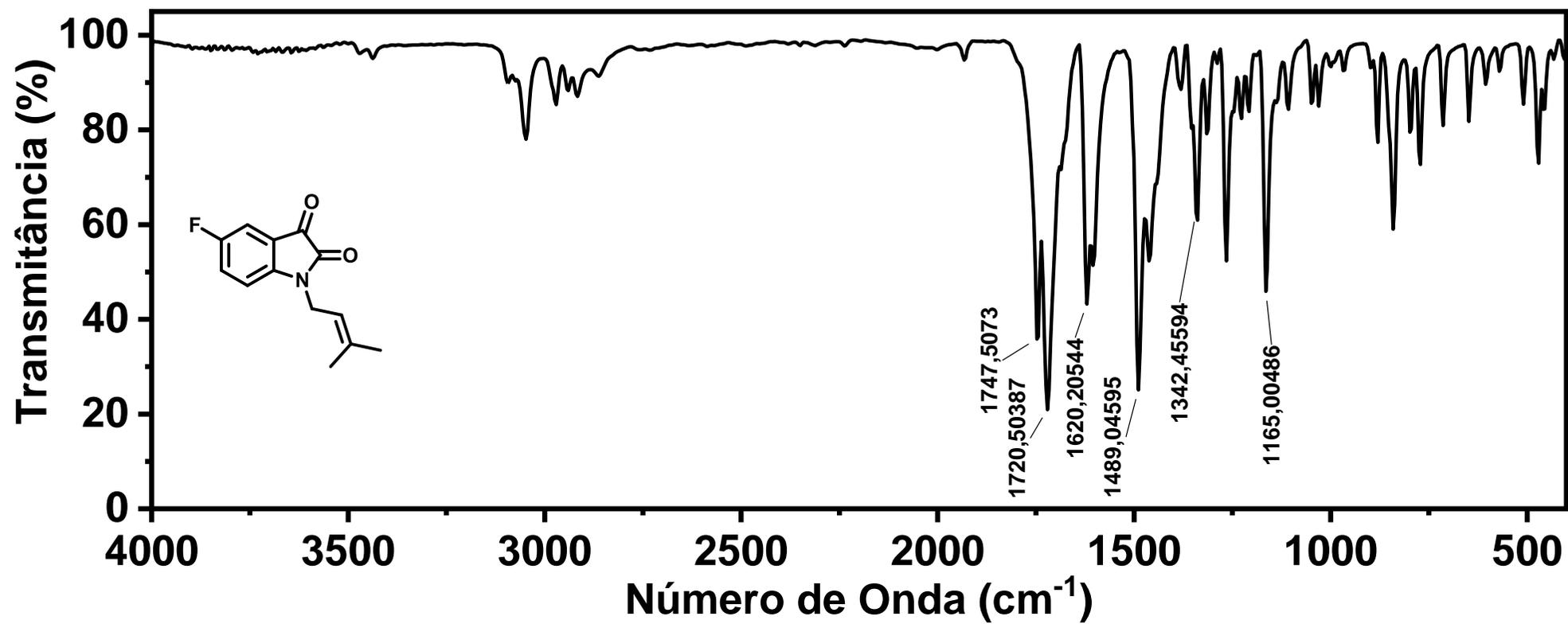
Espectro 1. Espectro de IV (KBr) do composto 3a



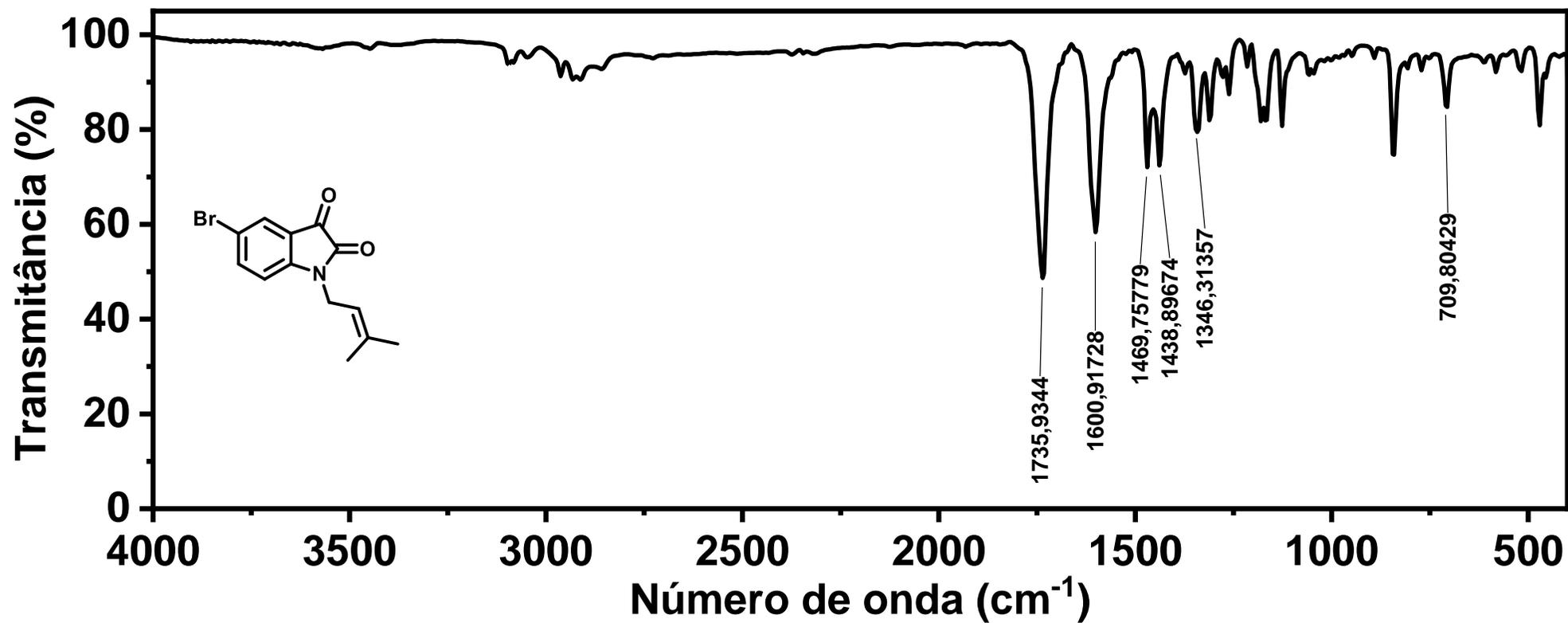
Espectro 2. Espectro de IV (KBr) do composto 3b



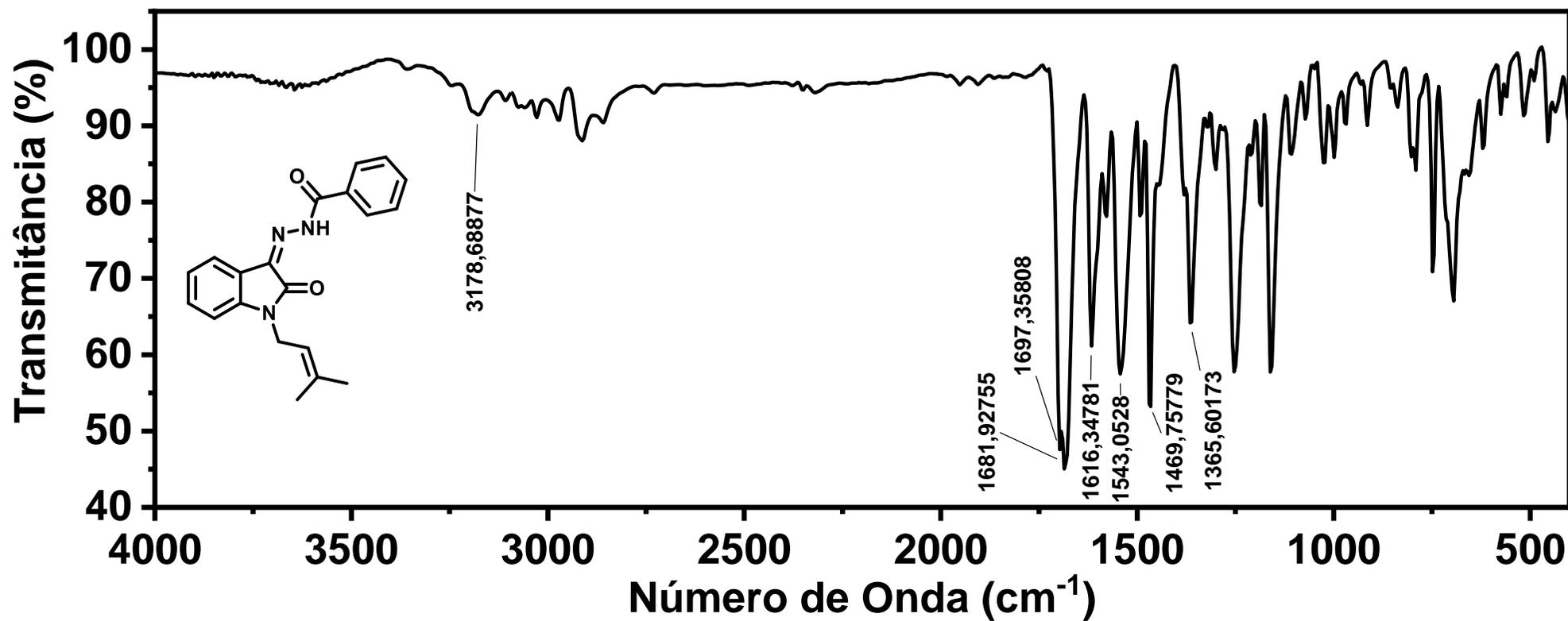
Espectro 3. Espectro de IV (KBr) do composto 3c



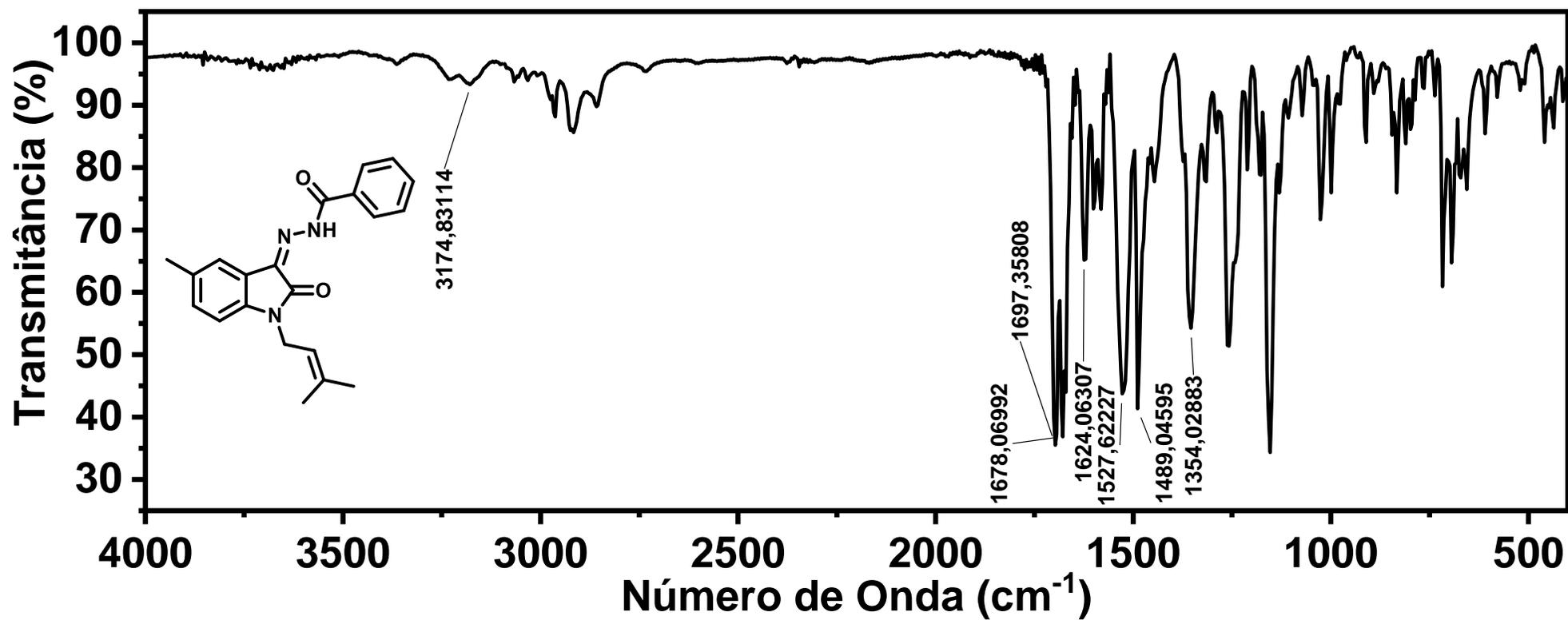
Espectro 4. Espectro de IV (KBr) do composto 3d



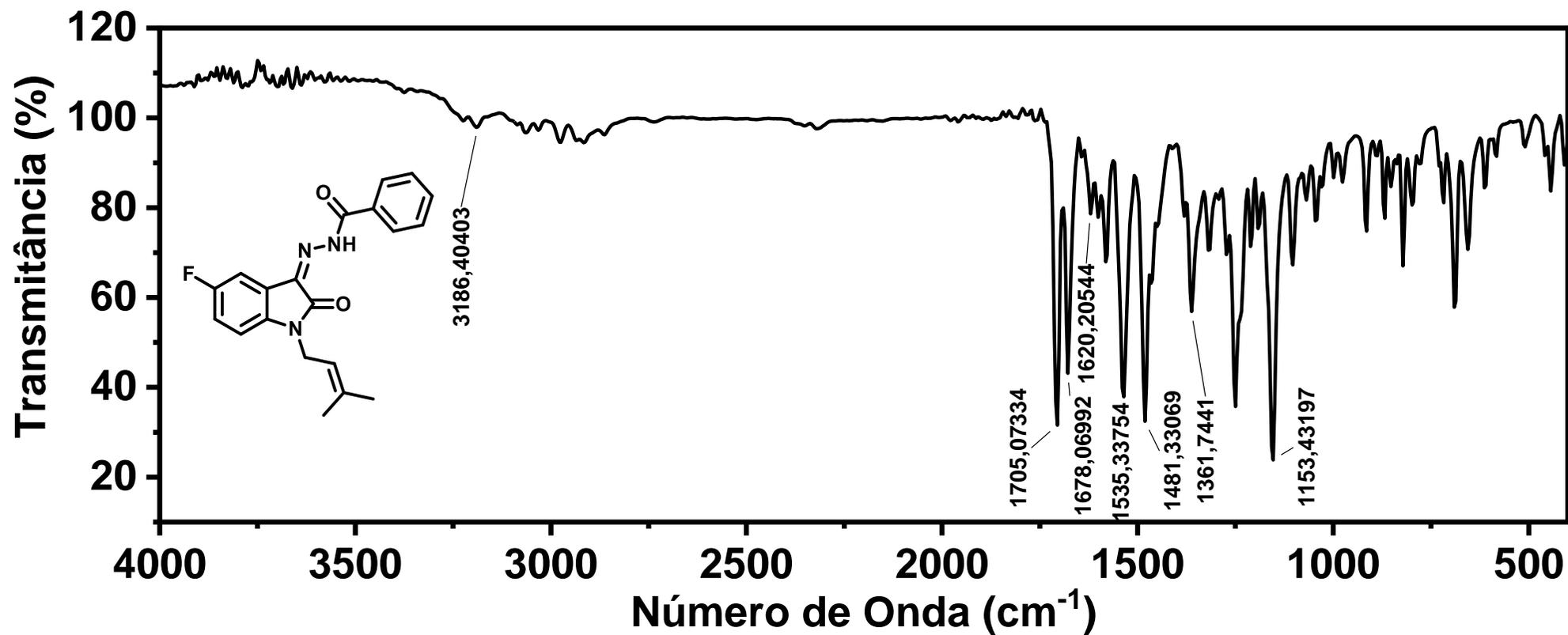
Espectro 5. Espectro de IV (KBr) do composto 5a



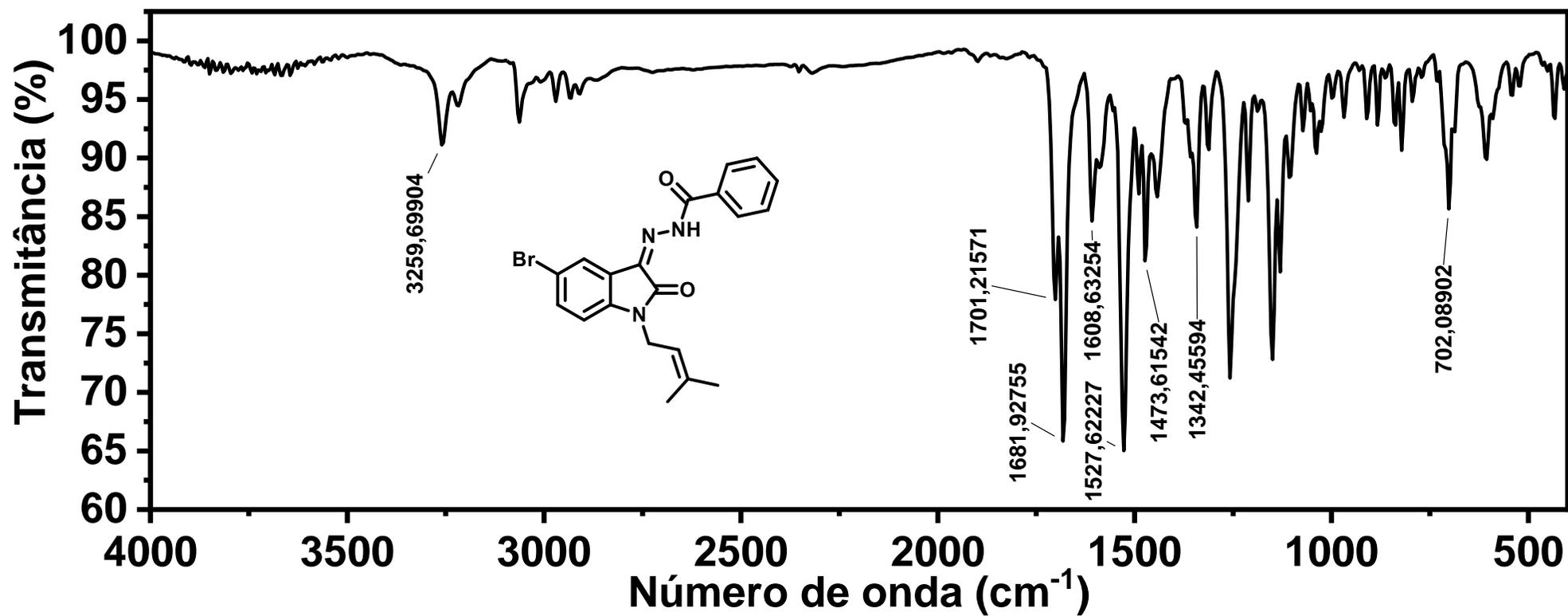
Espectro 6. Espectro de IV (KBr) do composto 5b



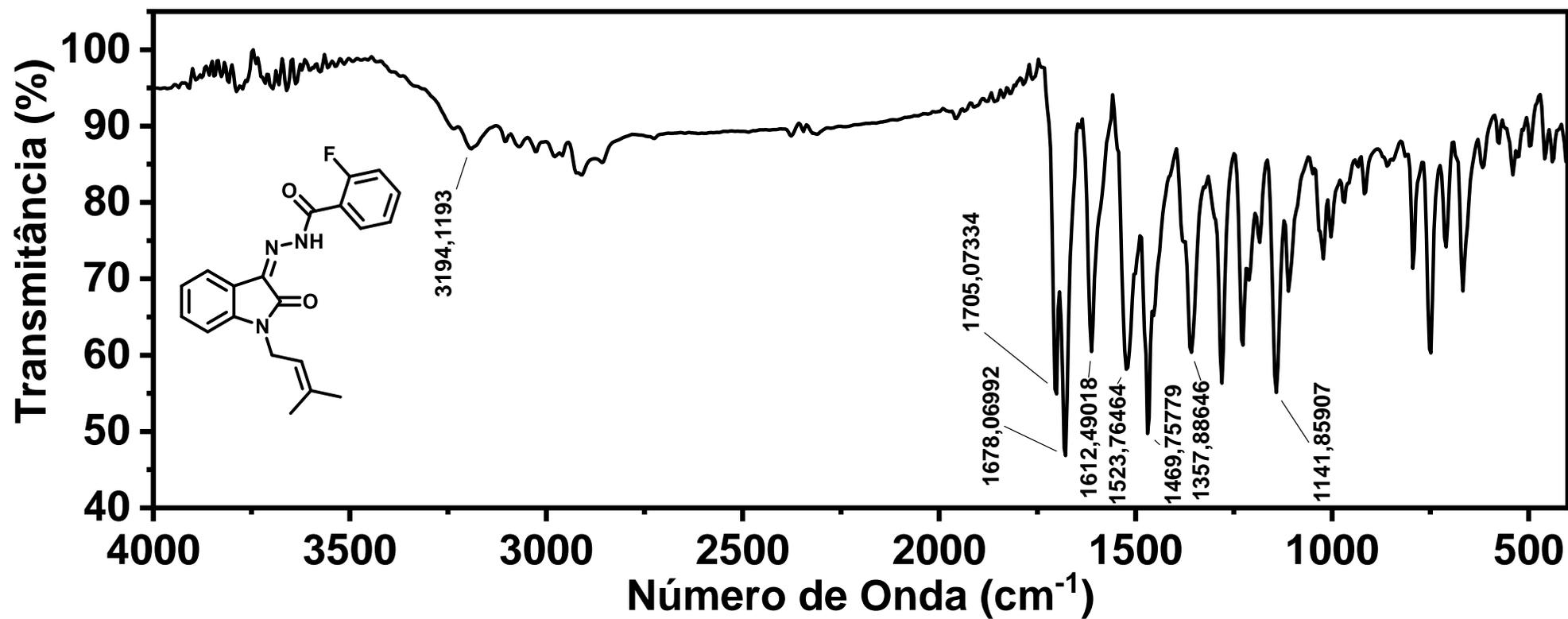
Espectro 7. Espectro de IV (KBr) do composto 5c



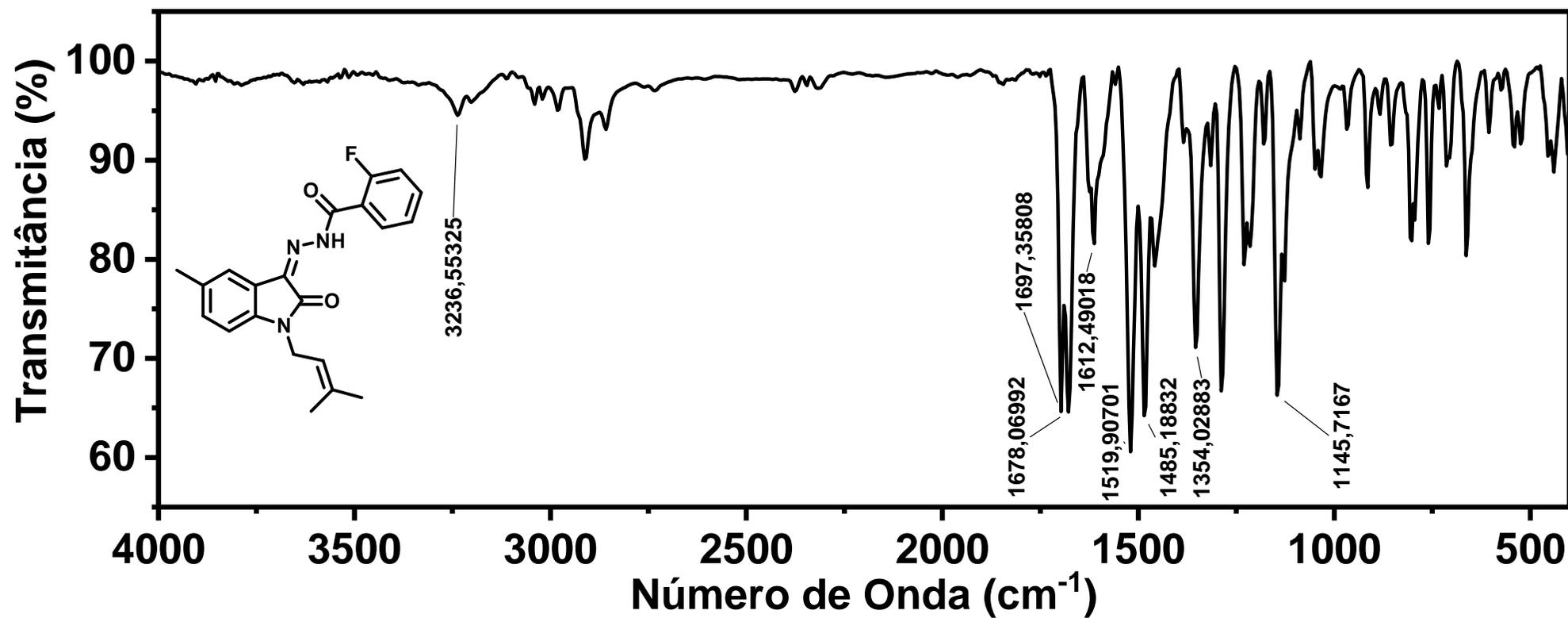
Espectro 8. Espectro de IV (KBr) do composto 5d



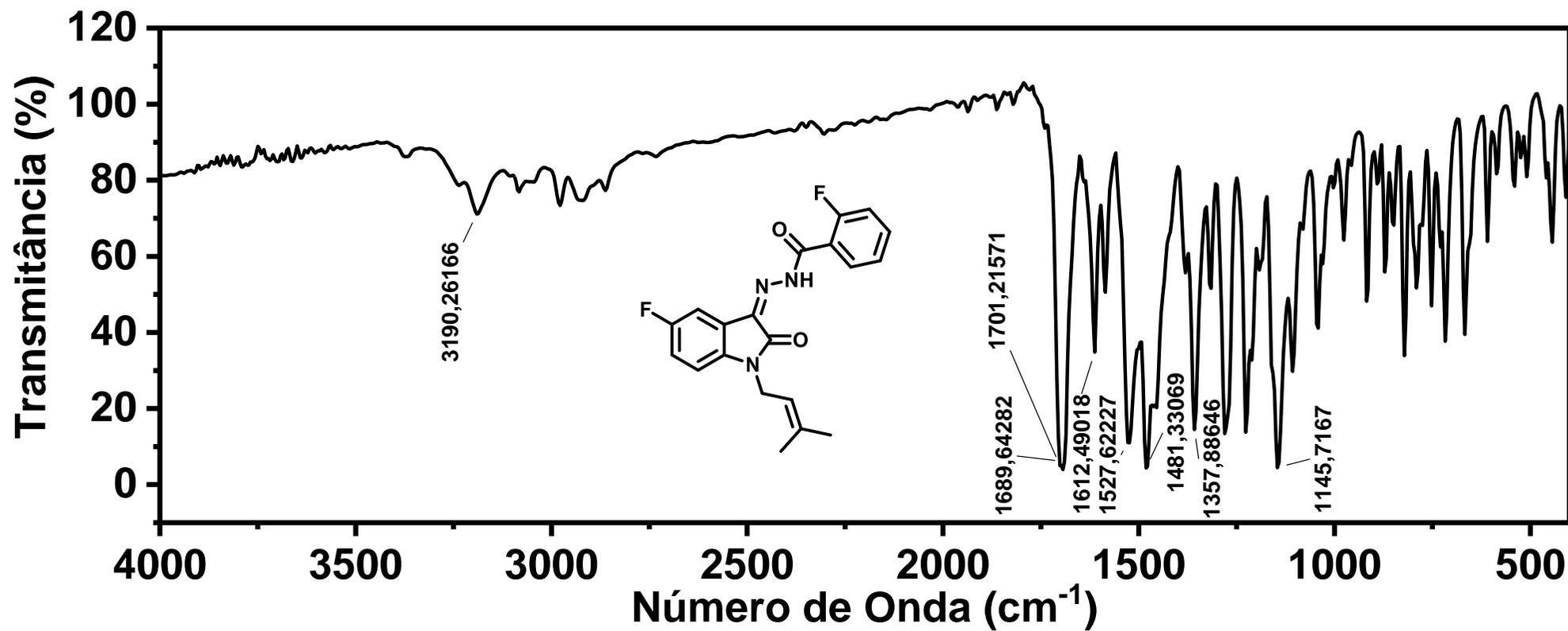
Espectro 9. Espectro de IV (KBr) do composto 5e



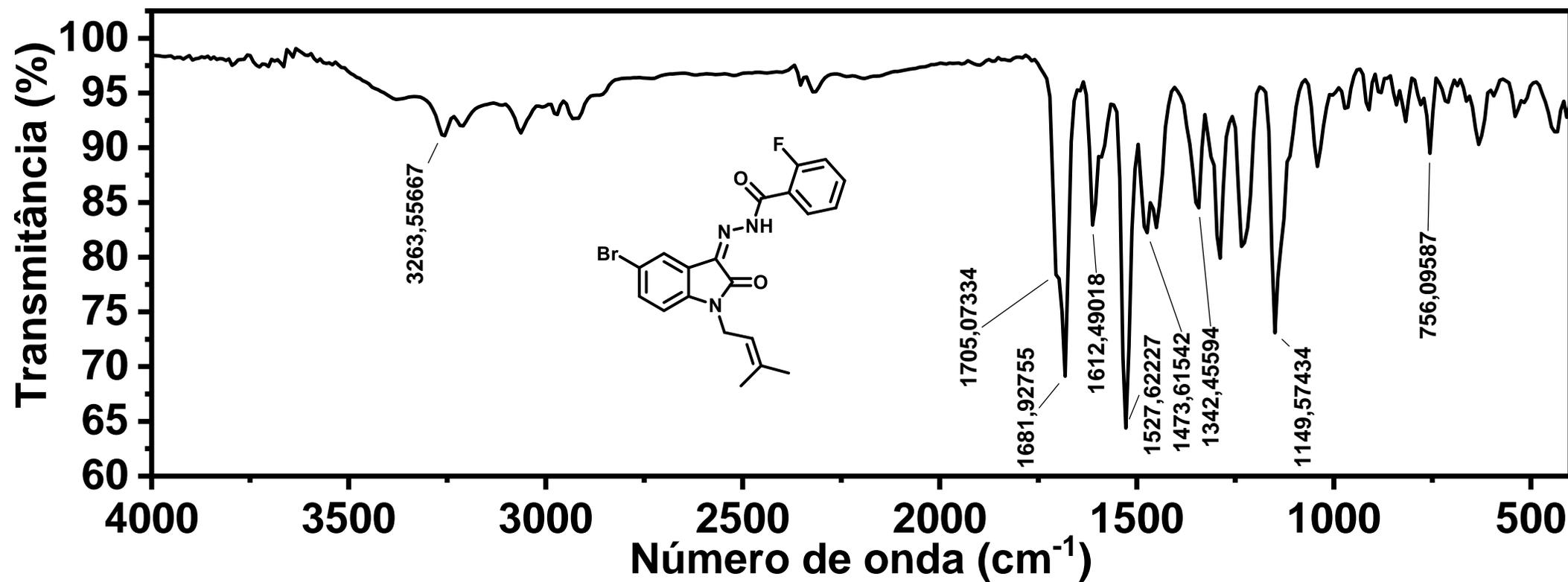
Espectro 10. Espectro de IV (KBr) do composto 5f



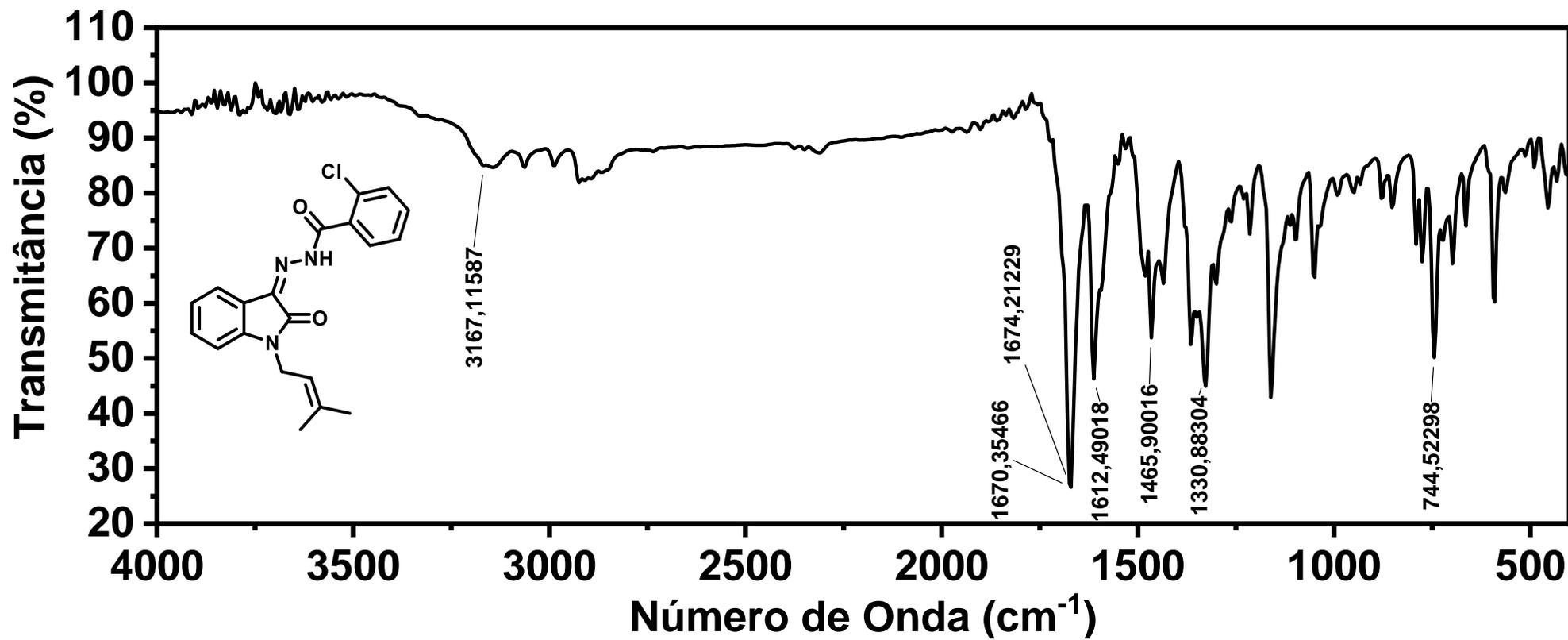
Espectro 11. Espectro de IV (KBr) do composto 5g



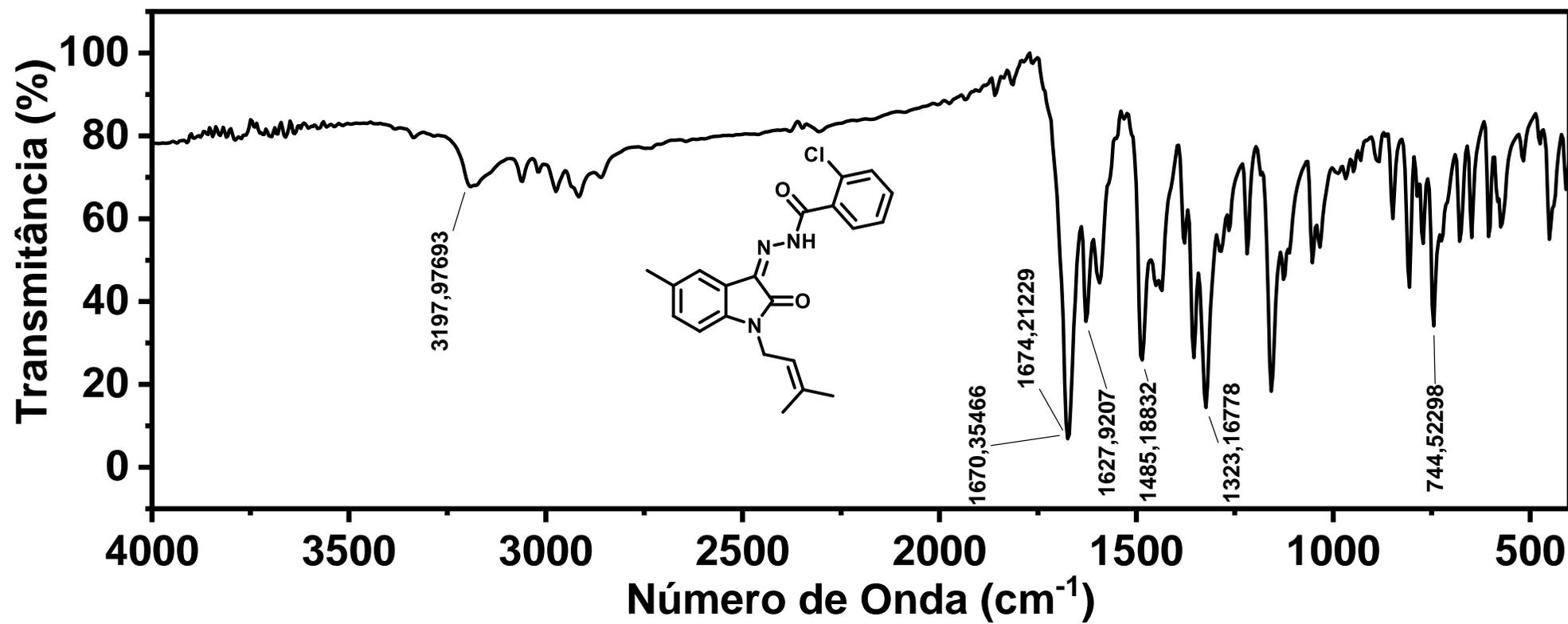
Espectro 12. Espectro de IV (KBr) do composto 5h



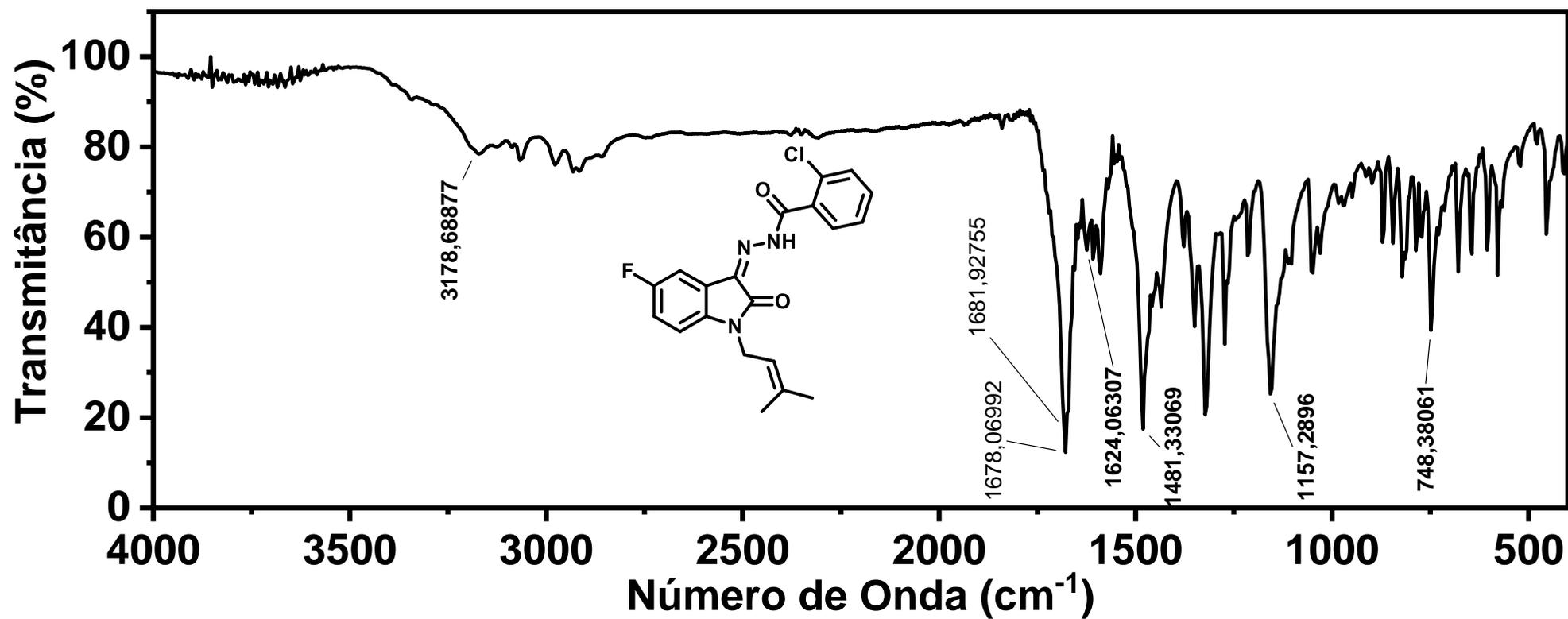
Espectro 13. Espectro de IV (KBr) do composto 5i



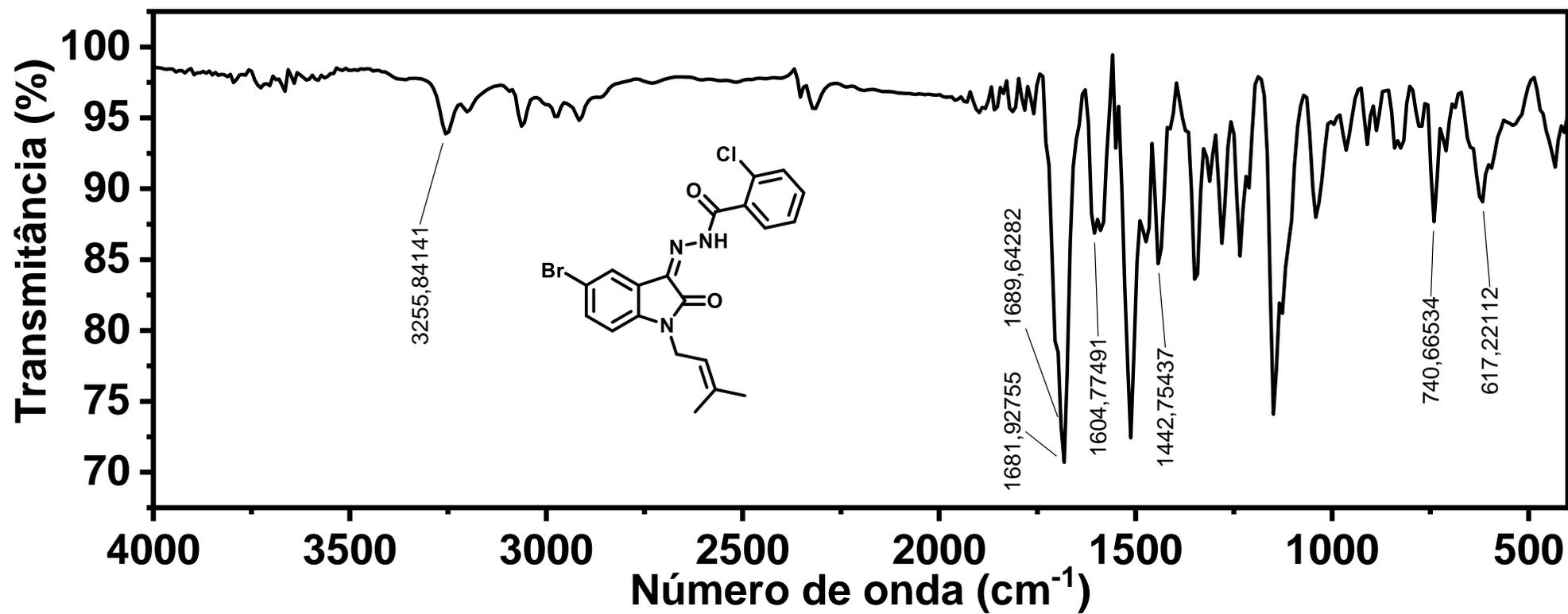
Espectro 14. Espectro de IV (KBr) do composto 5j



Espectro 15. Espectro de IV (KBr) do composto 5k



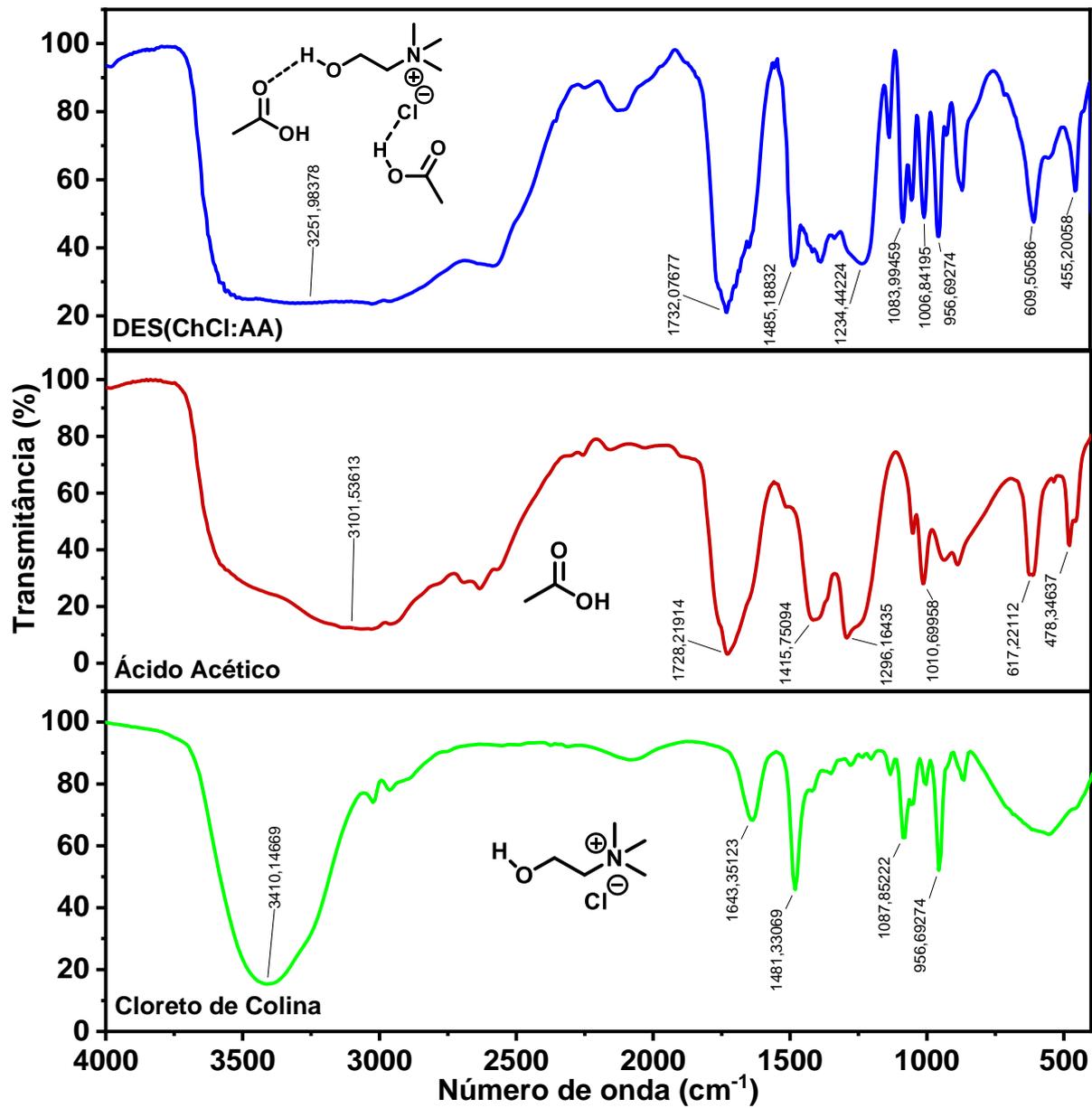
Espectro 16. Espectro de IV (KBr) do composto 5I



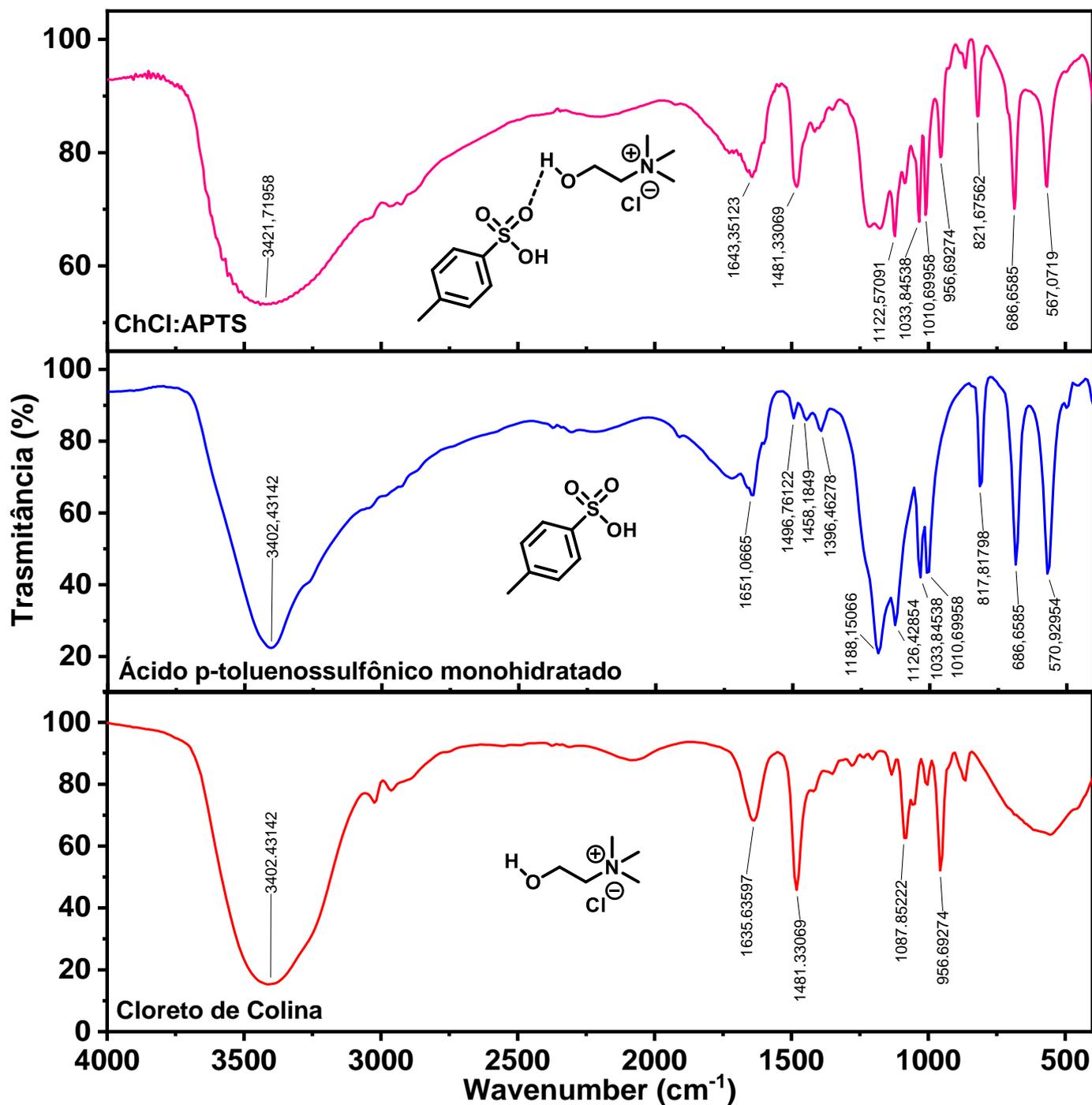
## **ESPECTROS 2**

Espectros de Infravermelho dos Solventes Eutéticos Profundos preparados  
nesta dissertação

Espectro 17. Espectro de IV (KBr) do DES(ChCl:AA)

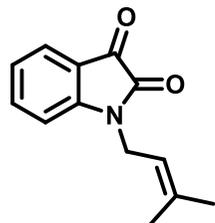
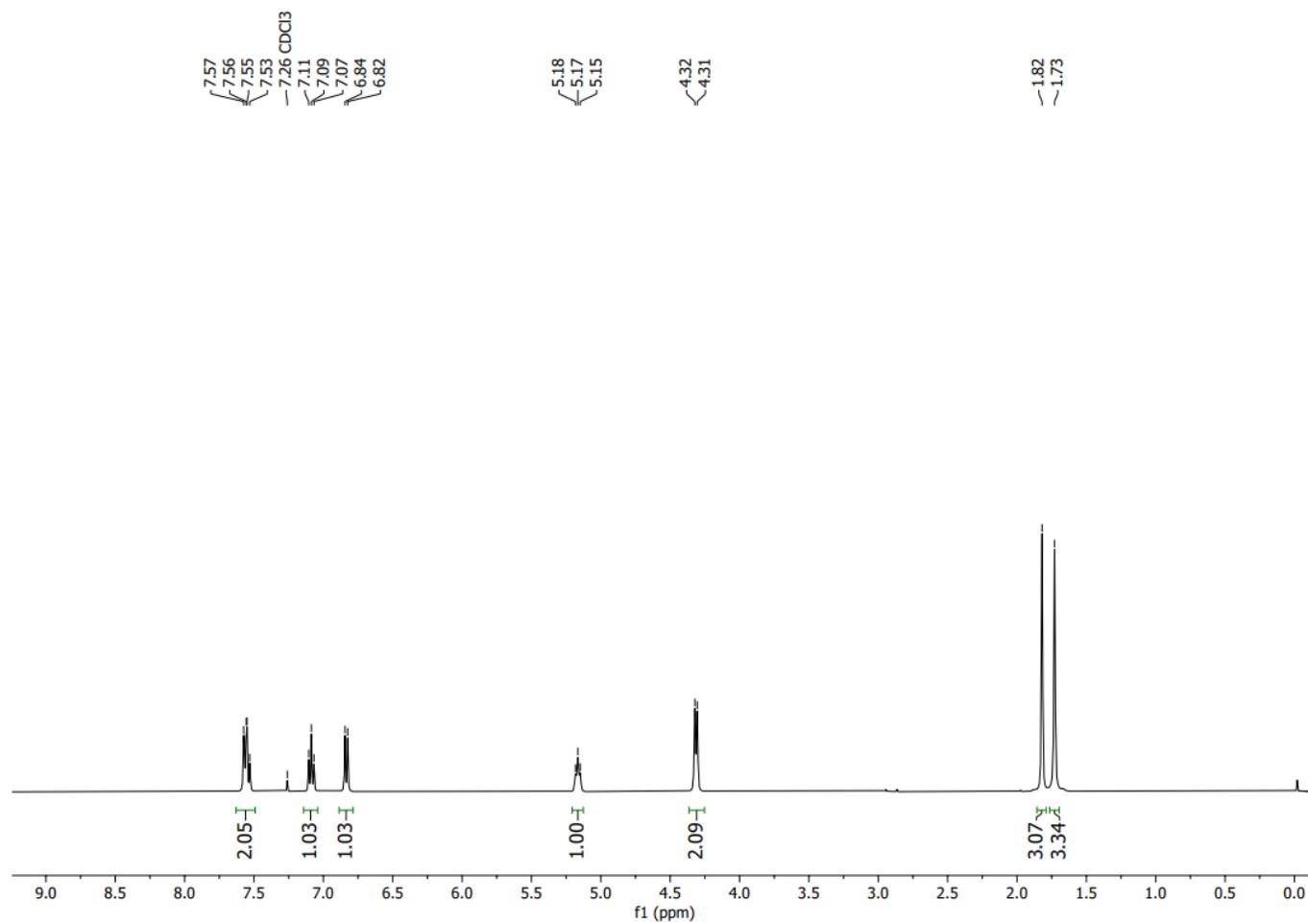


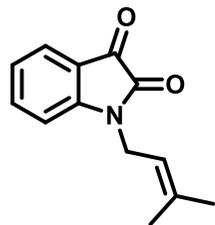
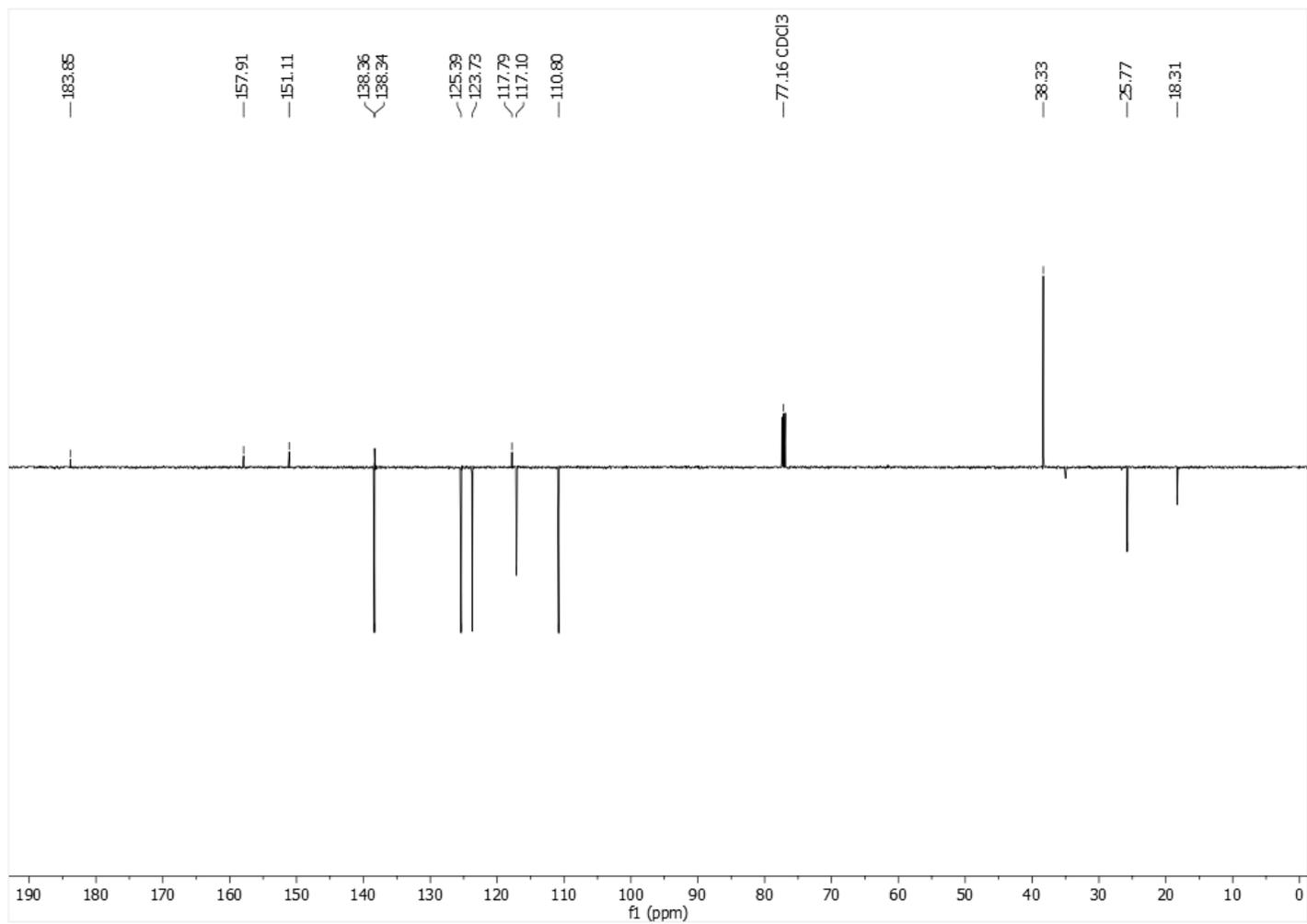
Espectro 18. Espectro de IV (KBr) do DES (ChCl:APTS)

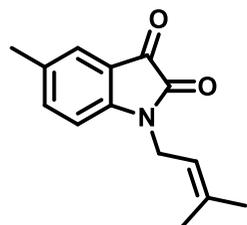
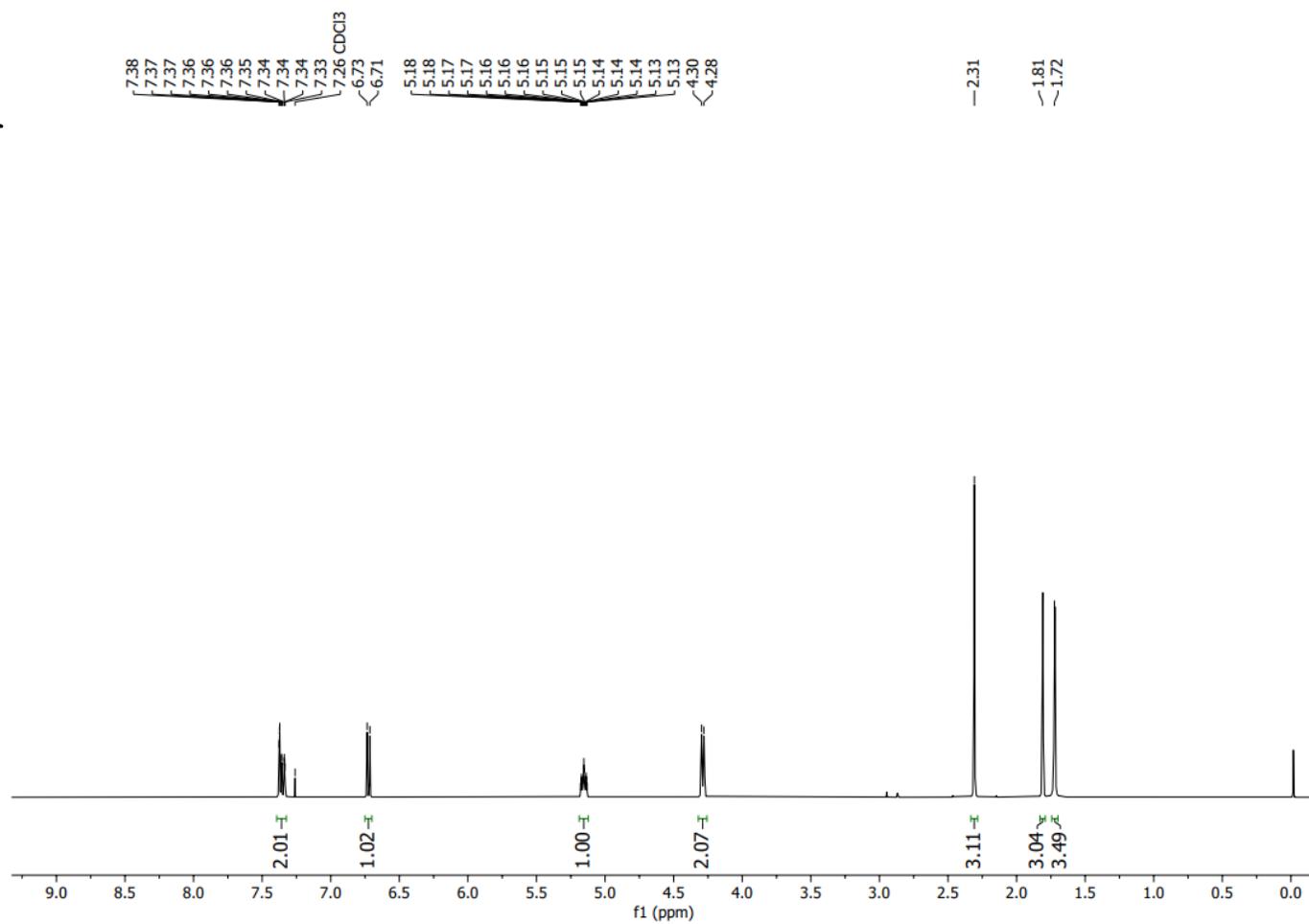


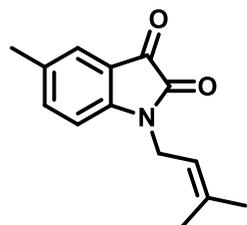
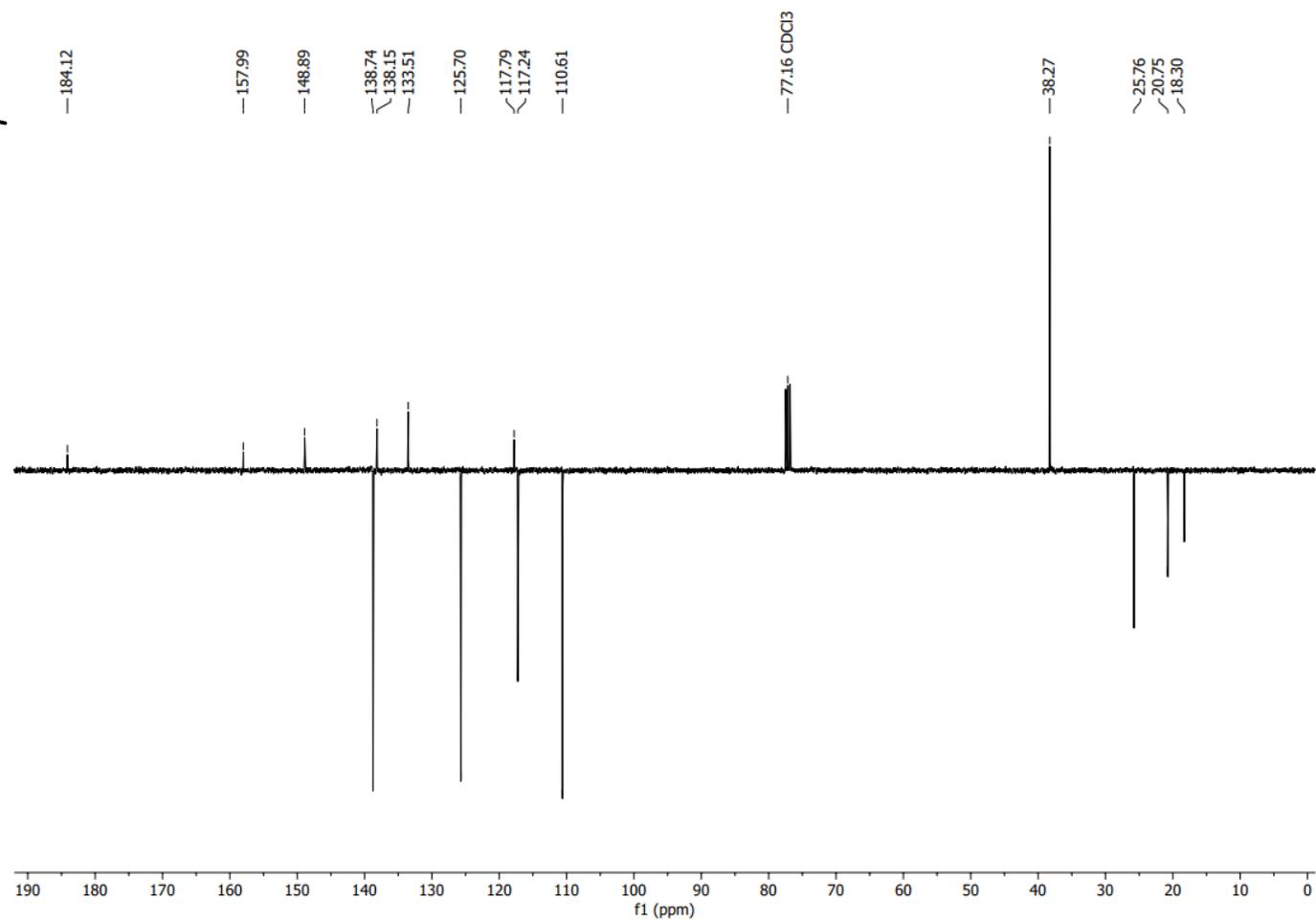
## **ESPECTROS 3**

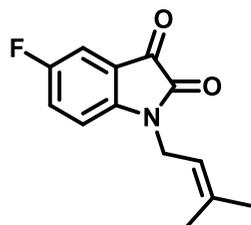
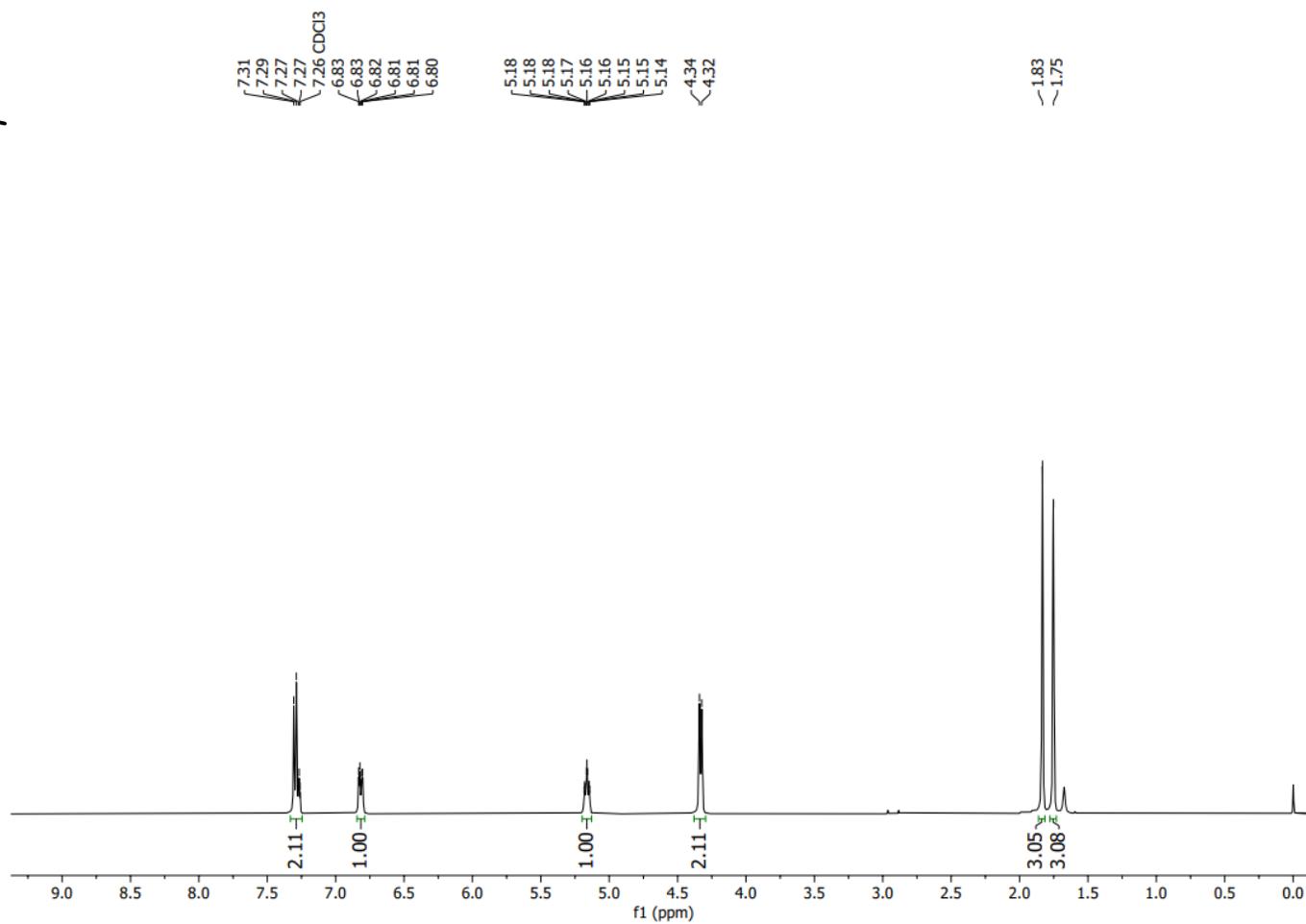
Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos sintetizados nesta dissertação

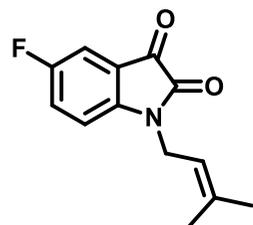
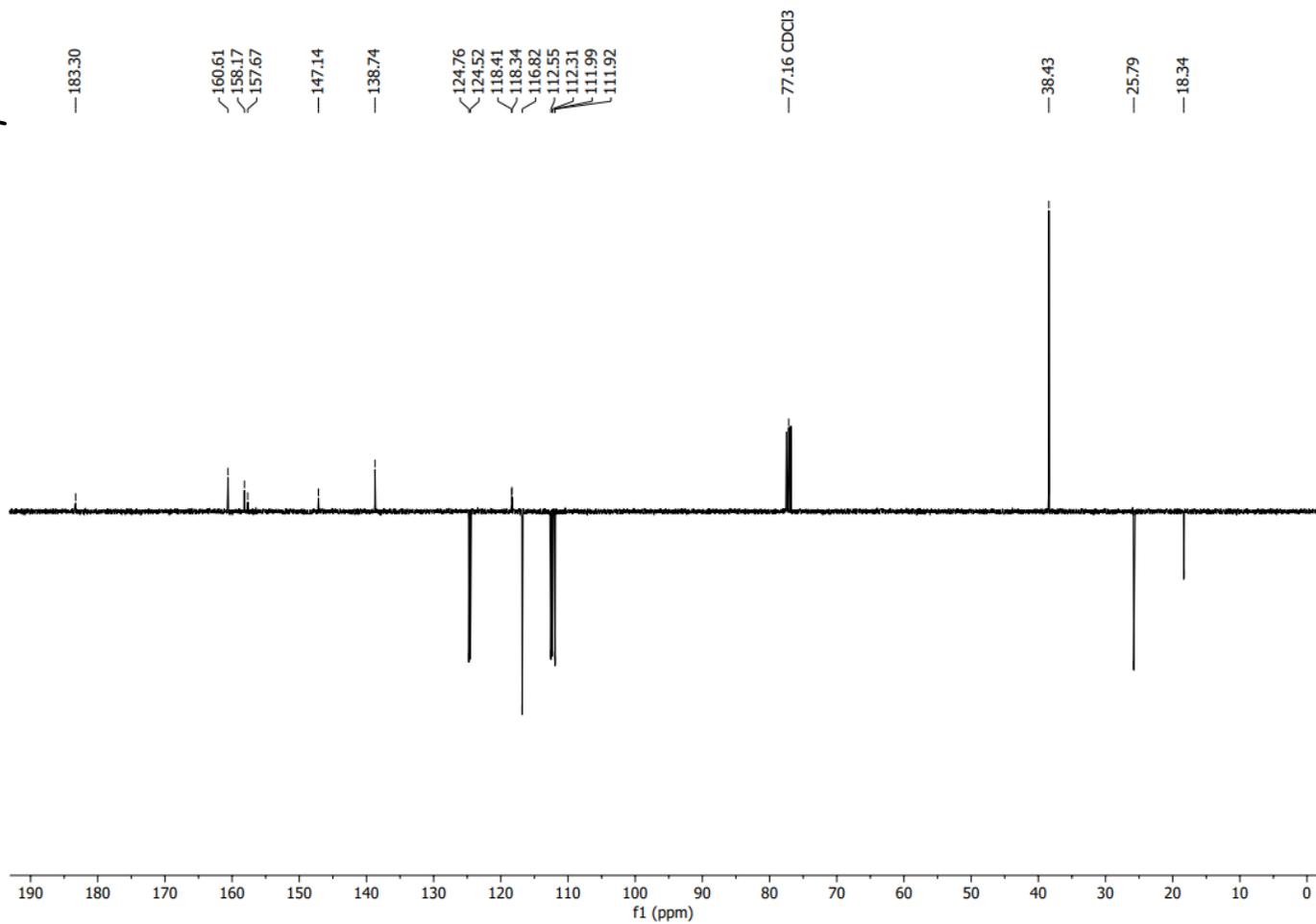
**Espectro 19.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3a**

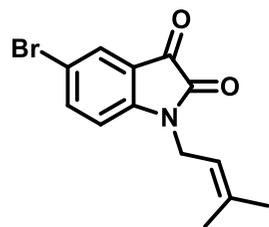
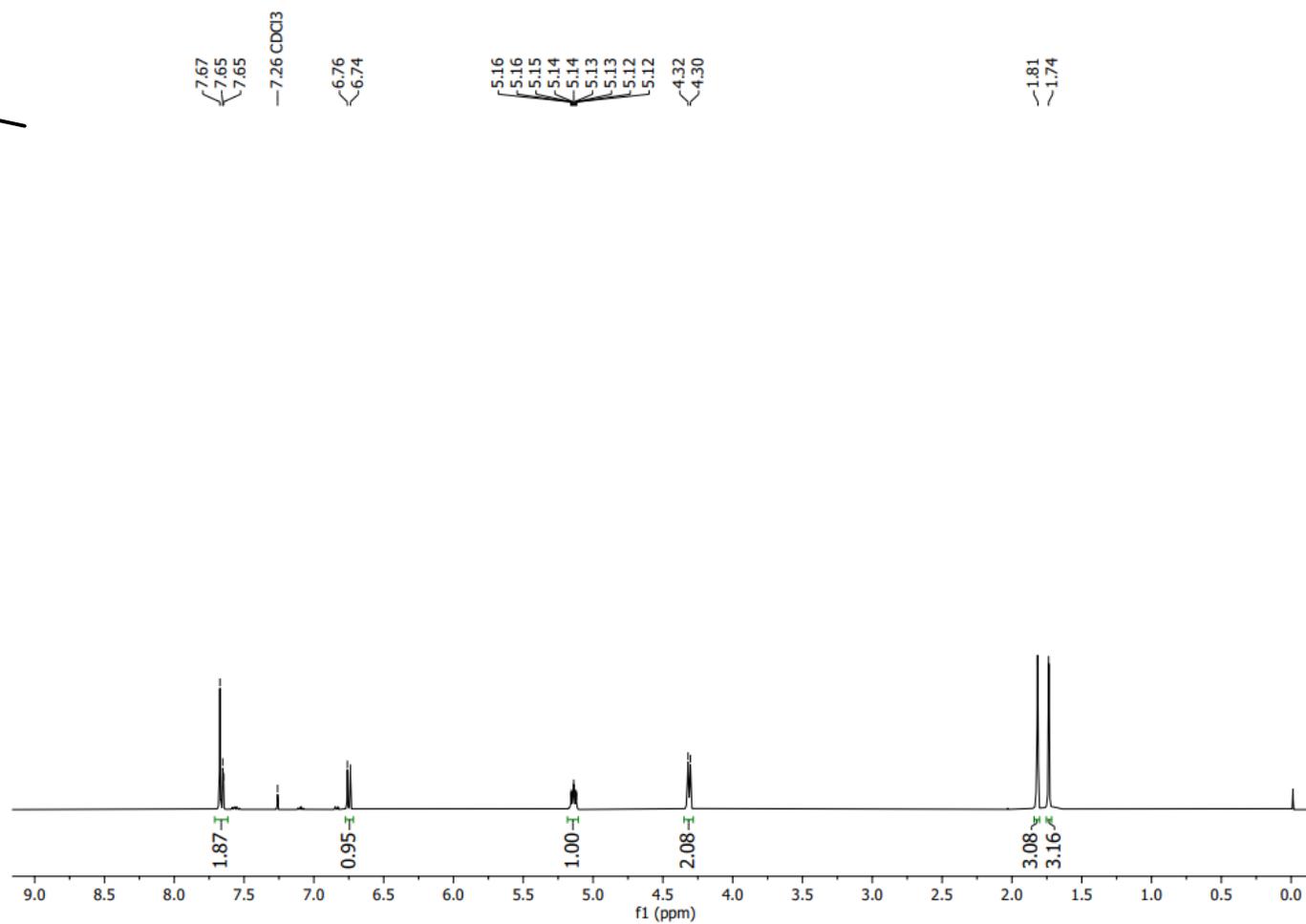
**Espectro 20.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3a**

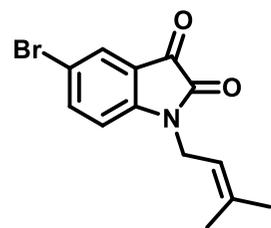
**Espectro 21.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3b**

**Espectro 22.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3b**

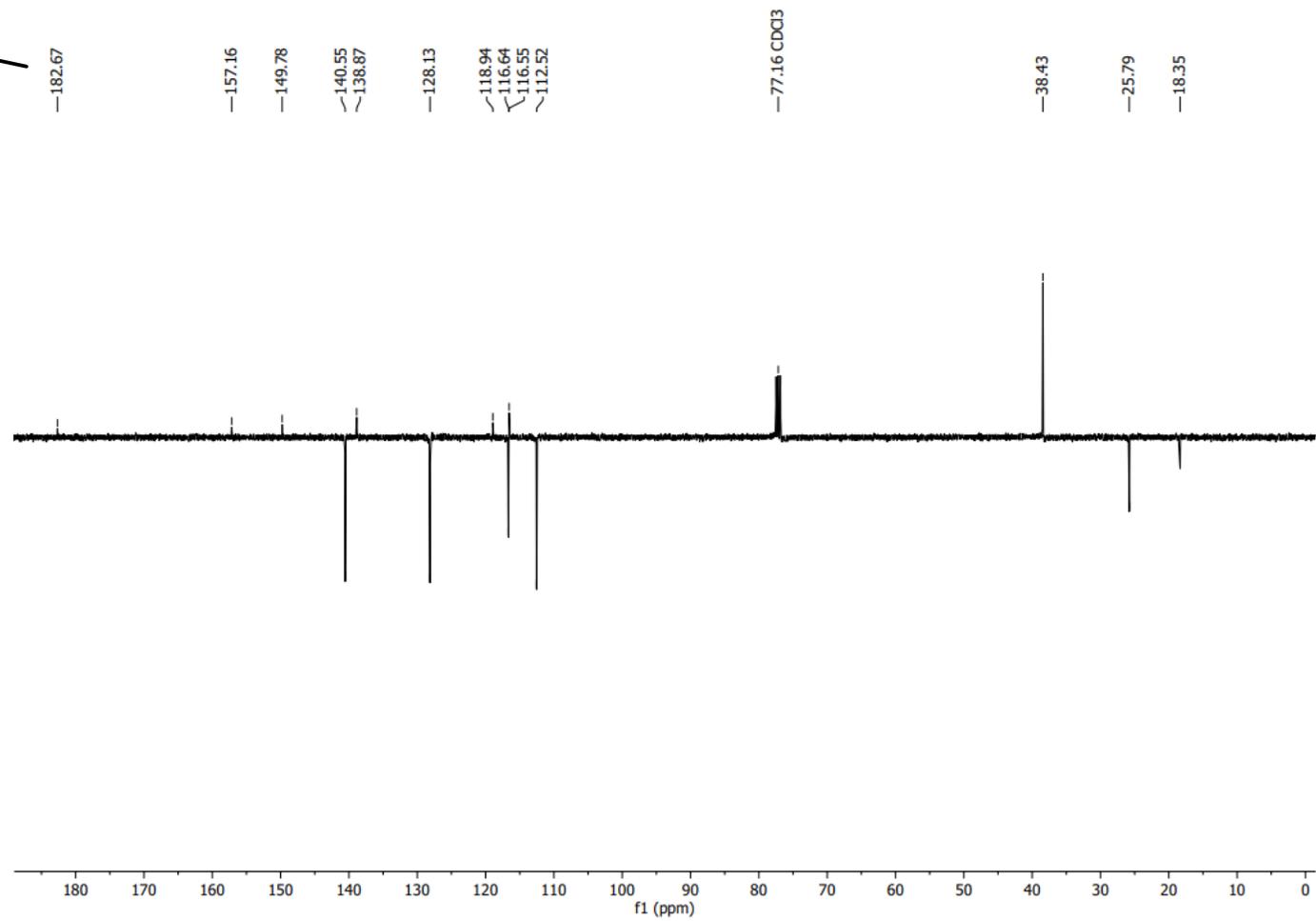
**Espectro 23.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3c**

**Espectro 24.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3c**

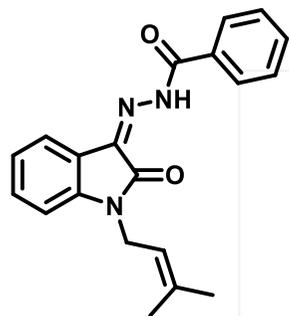
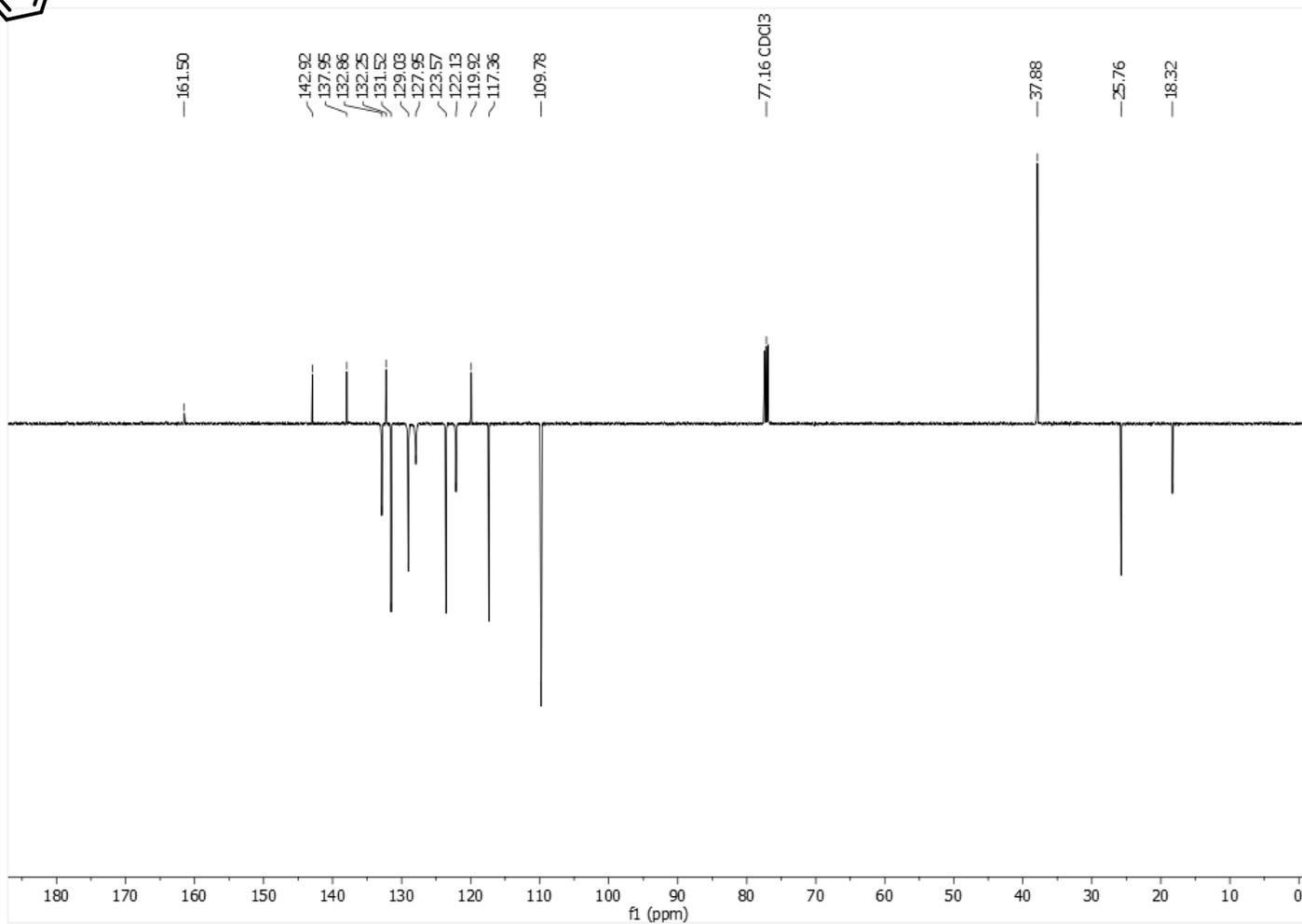
**Espectro 25.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3d**

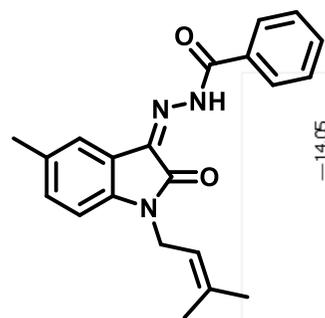
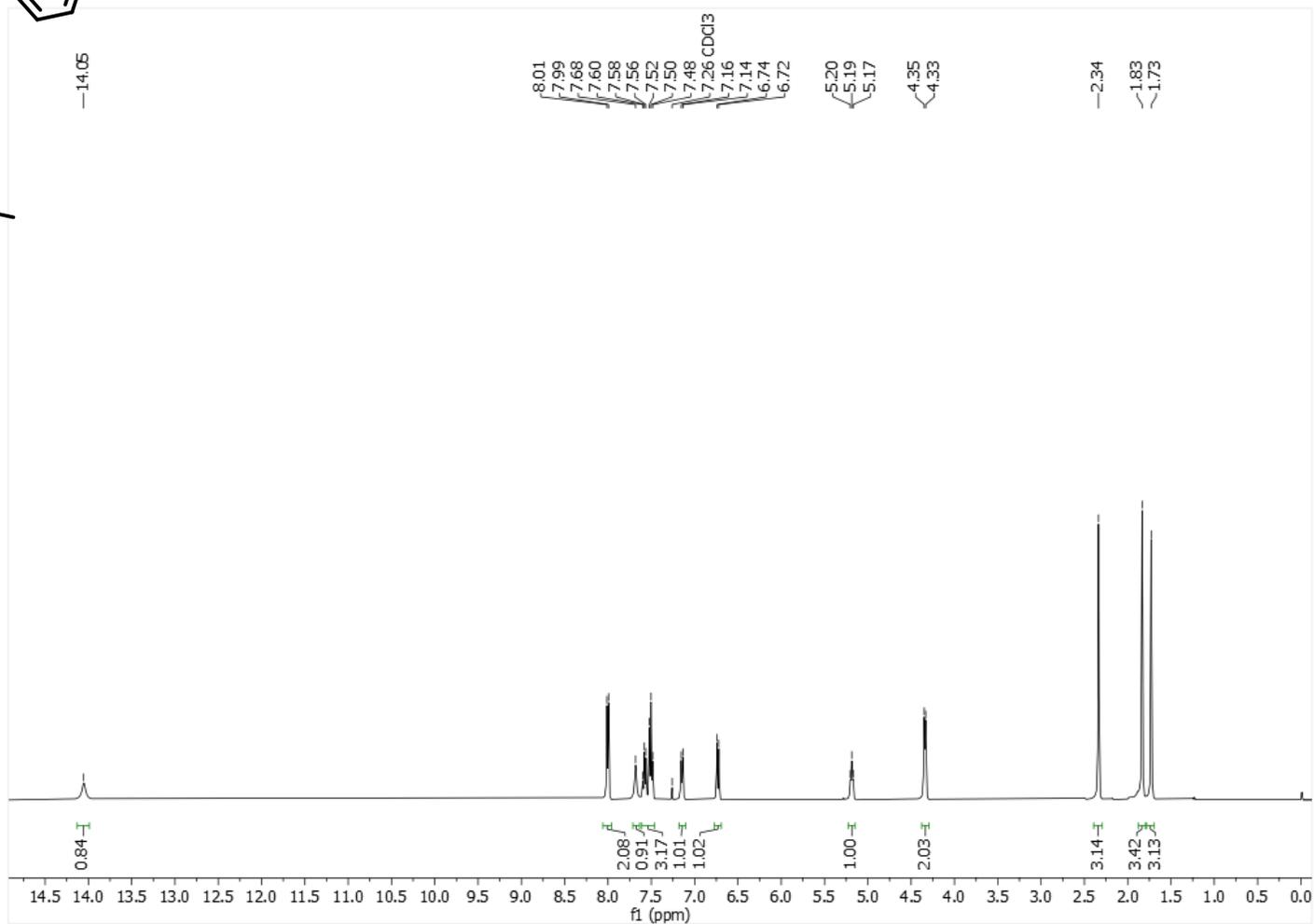


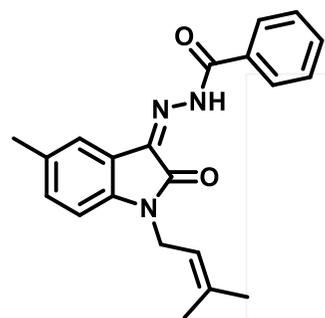
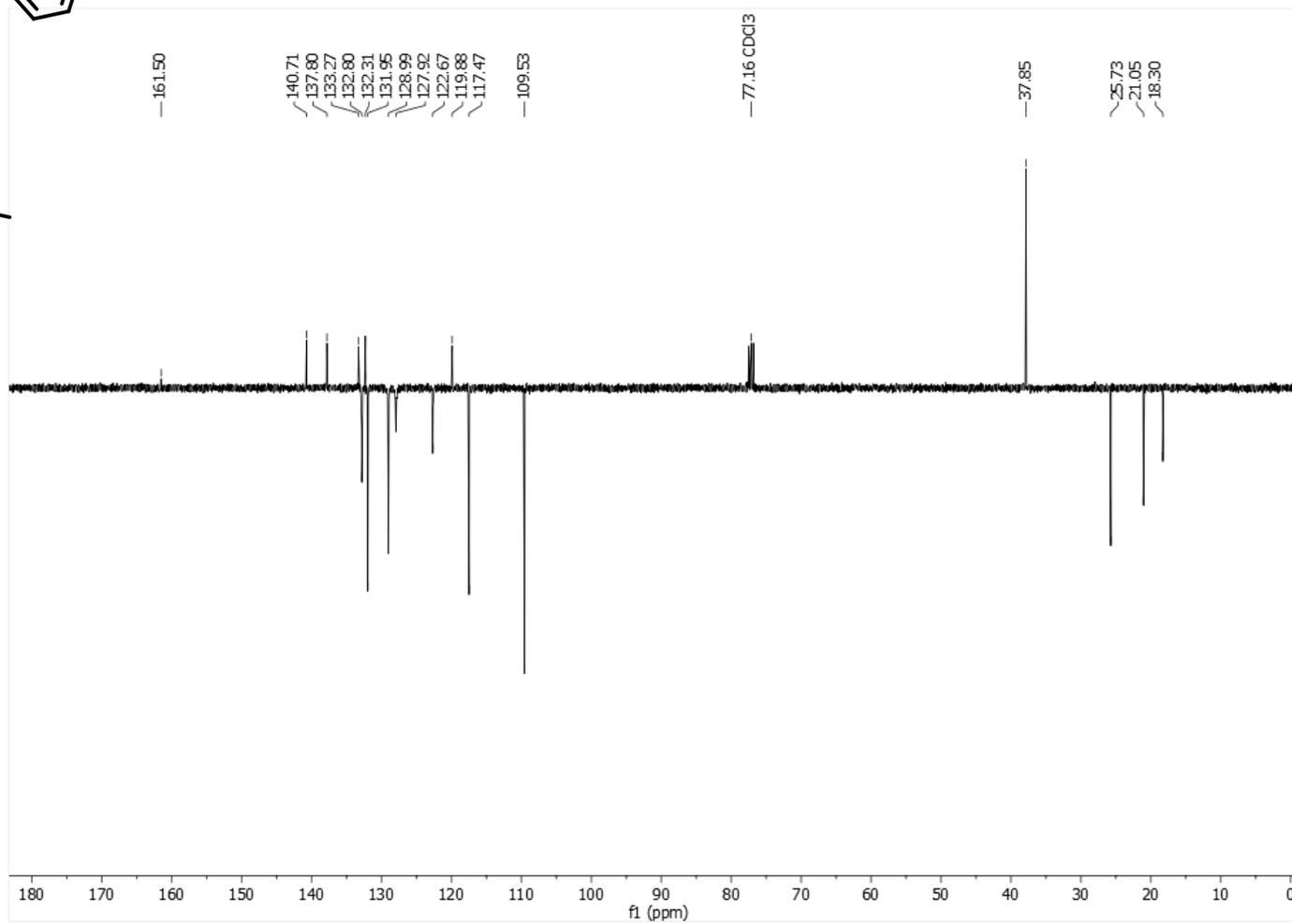
**Espectro 26.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3d**

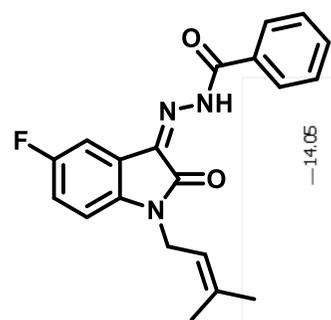
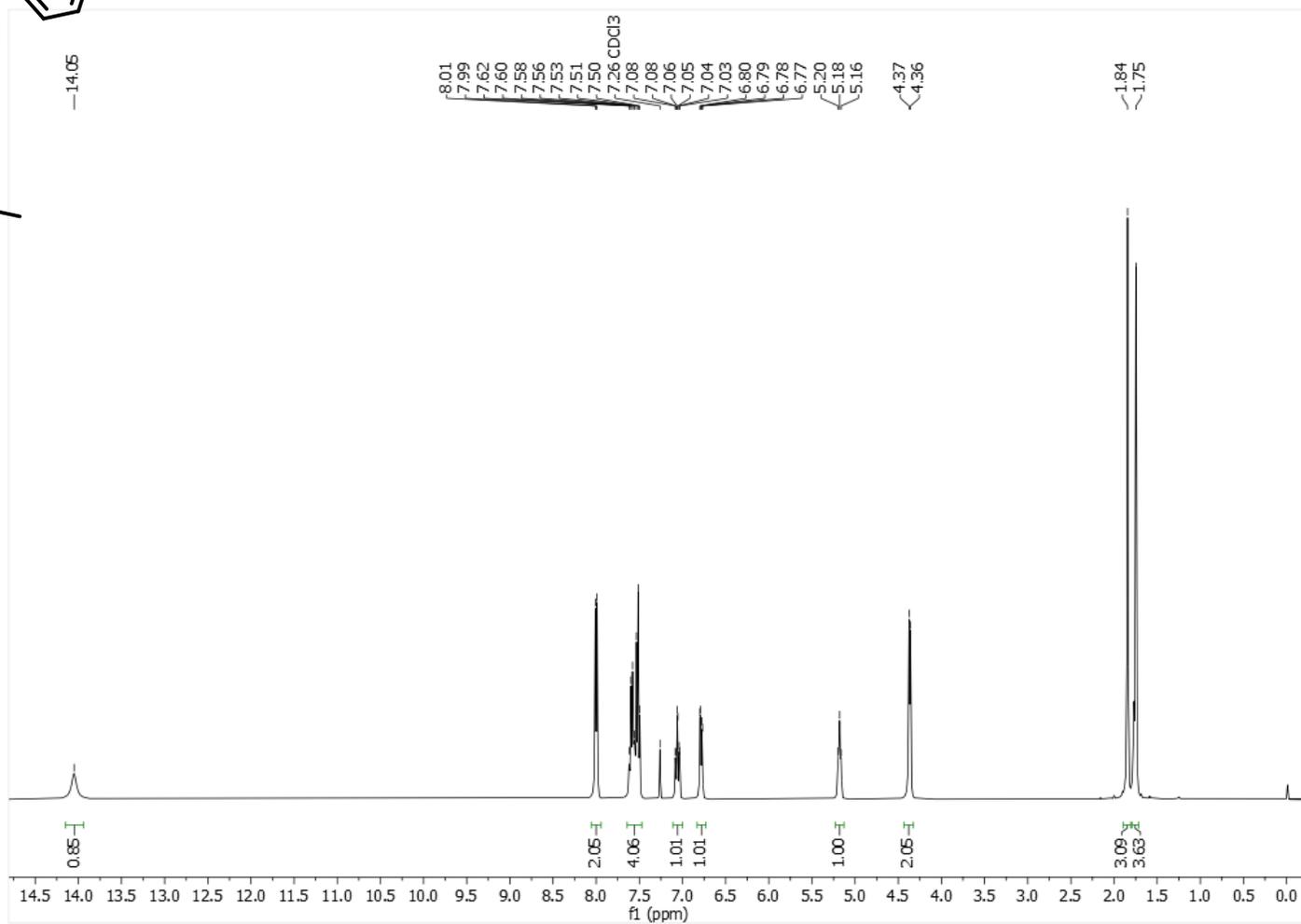


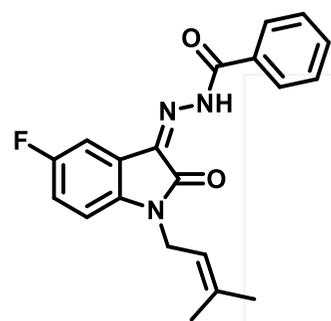
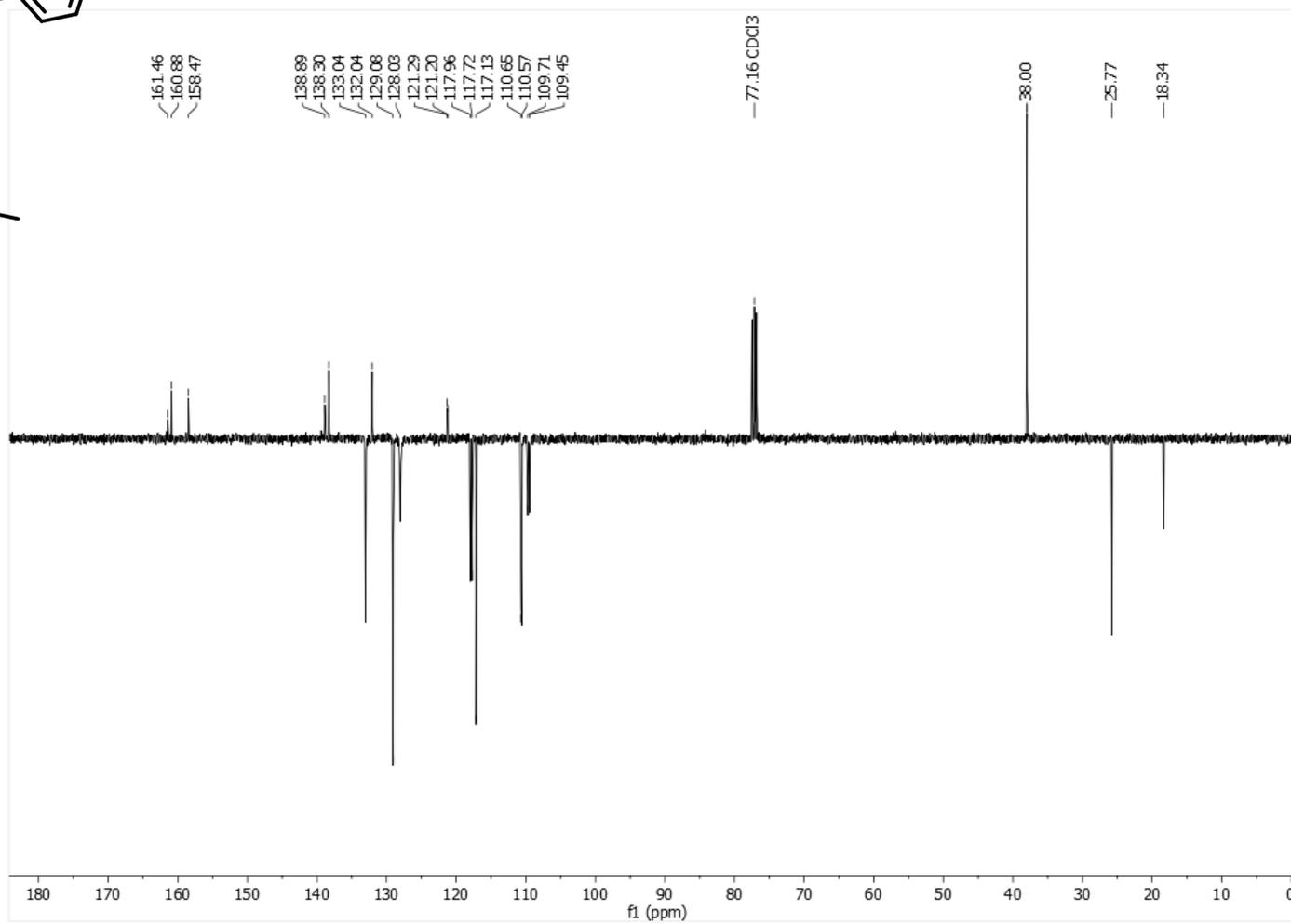


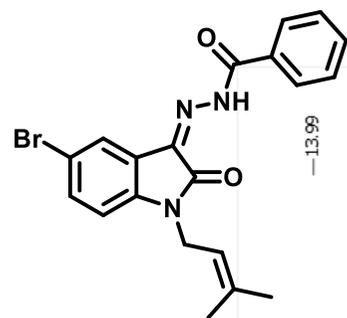
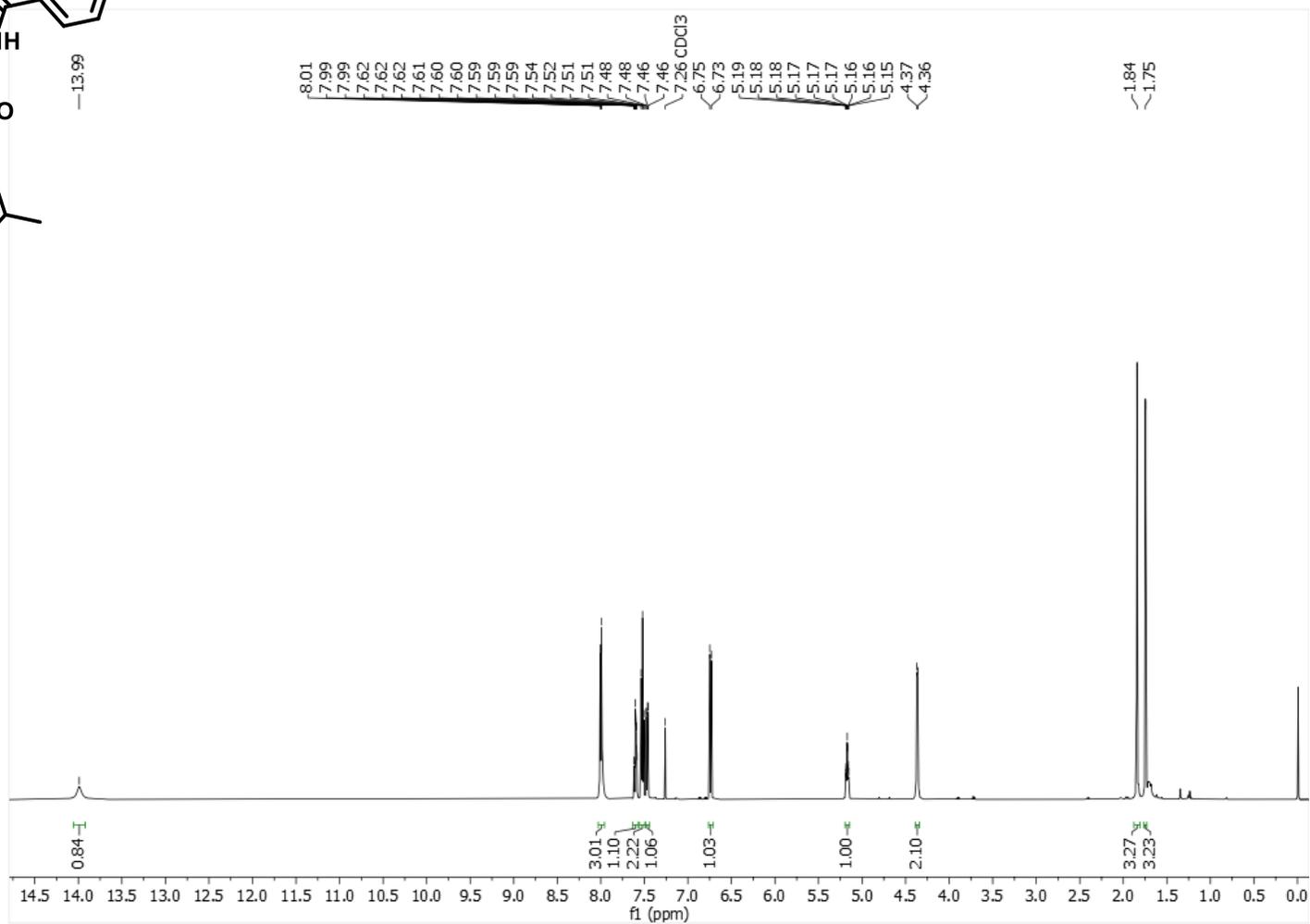
**Espectro 28.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5a**

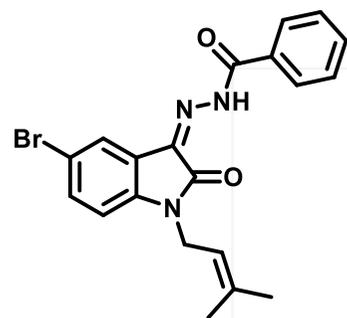
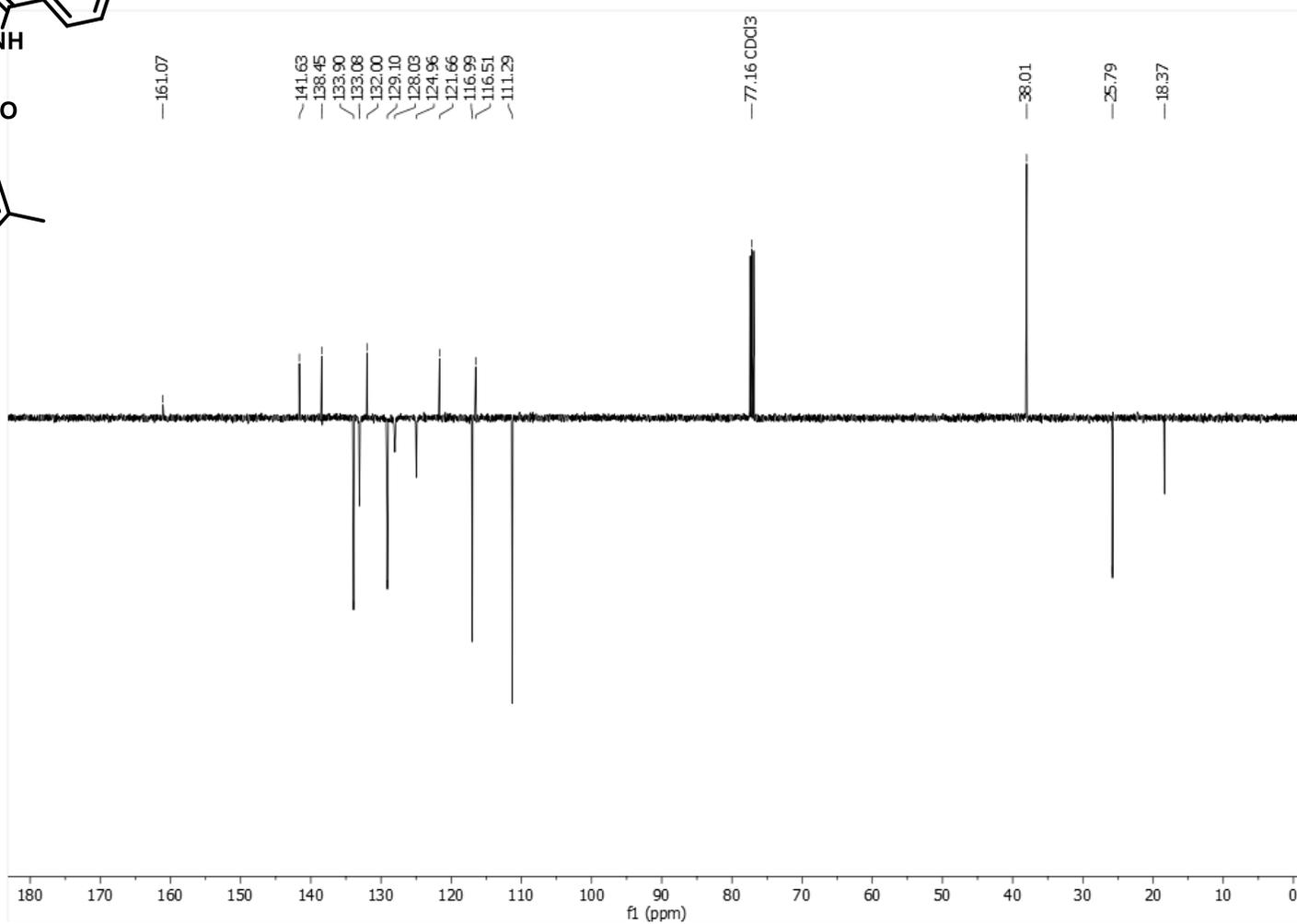
Espectro 29. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5b**

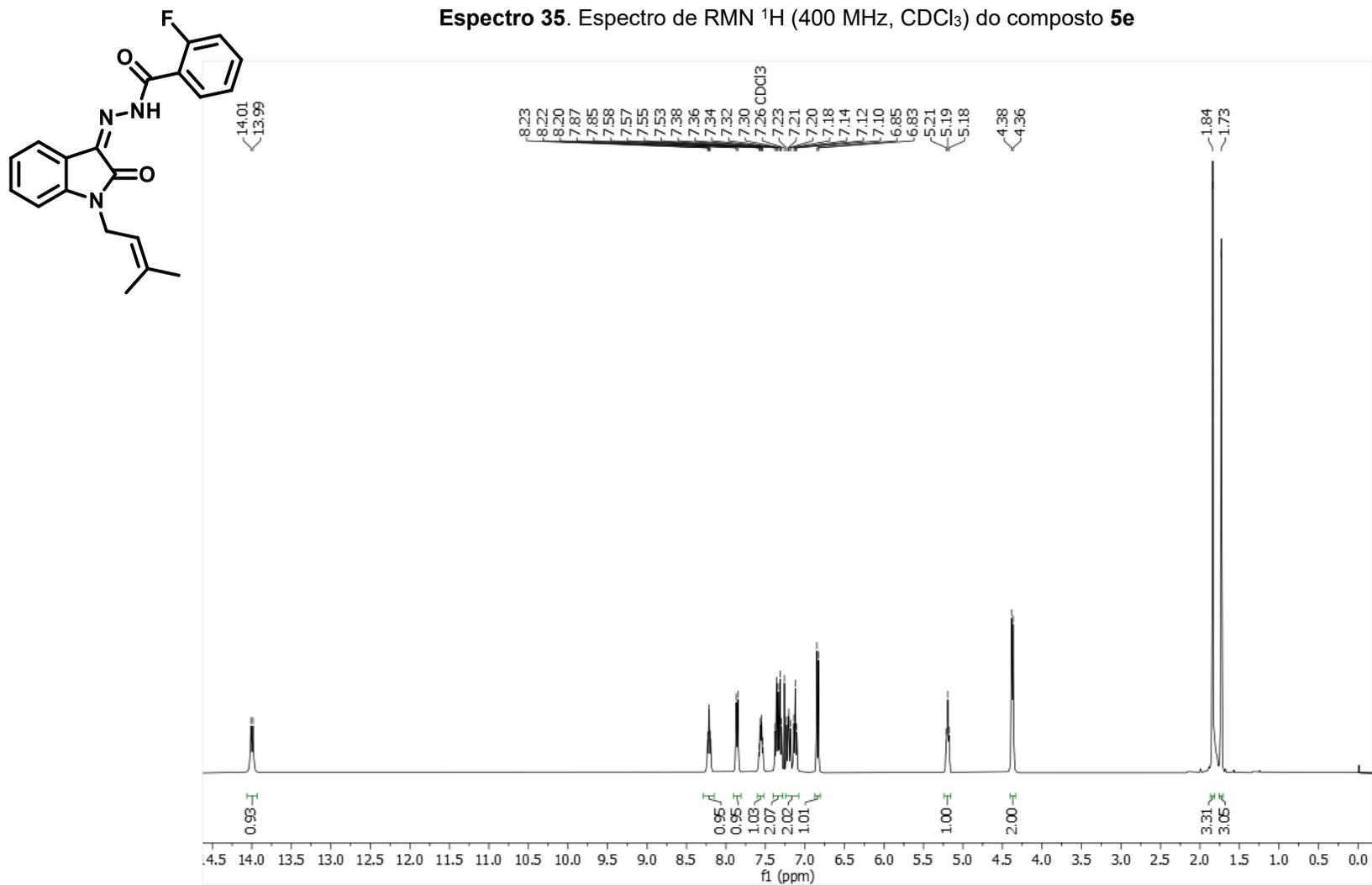
**Espectro 30.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5b**

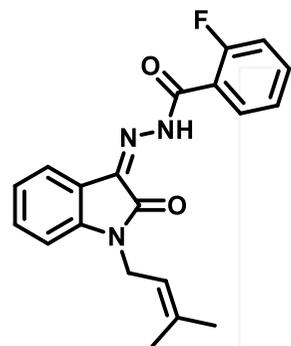
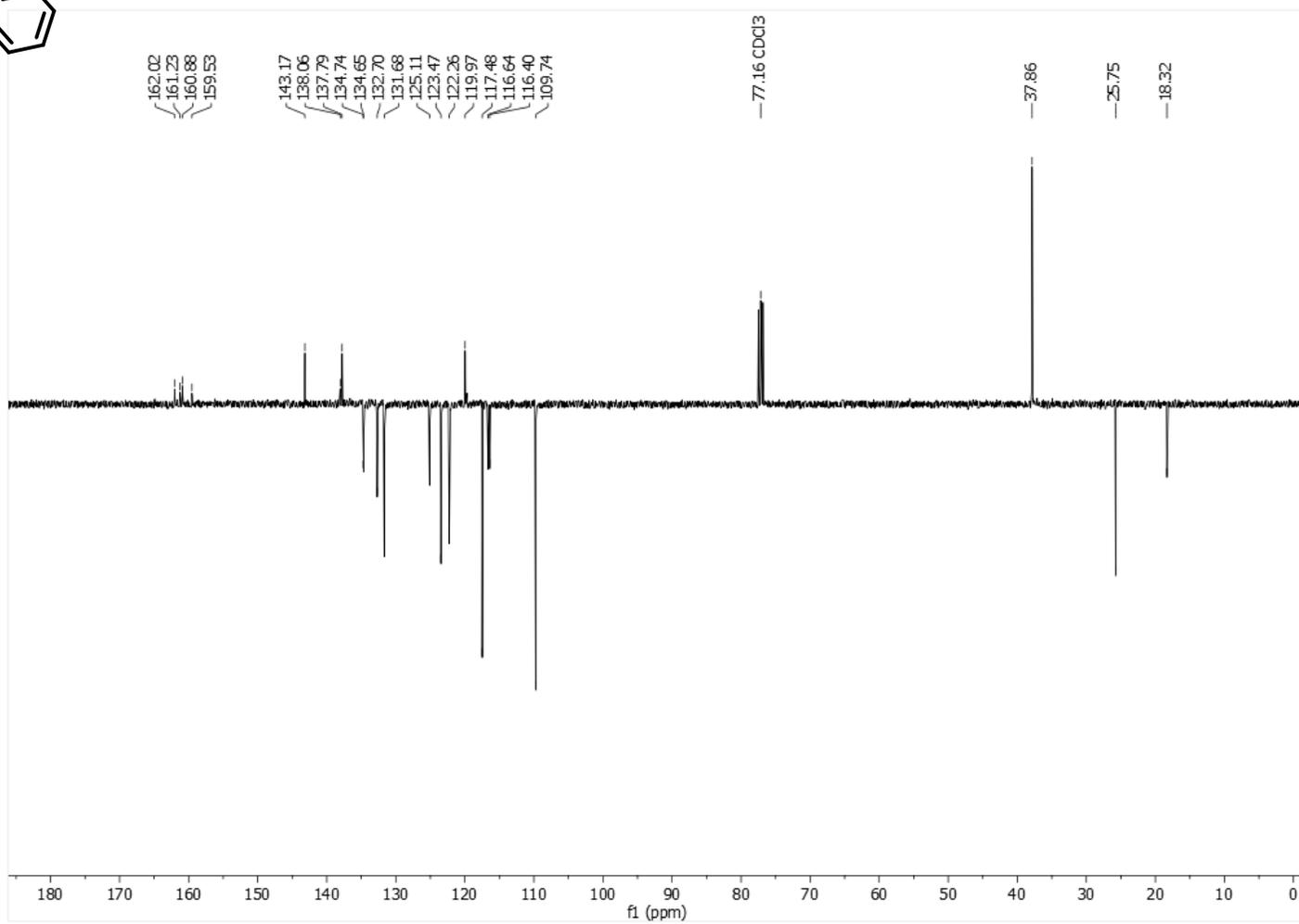
Espectro 31. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5c

**Espectro 32.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5c**

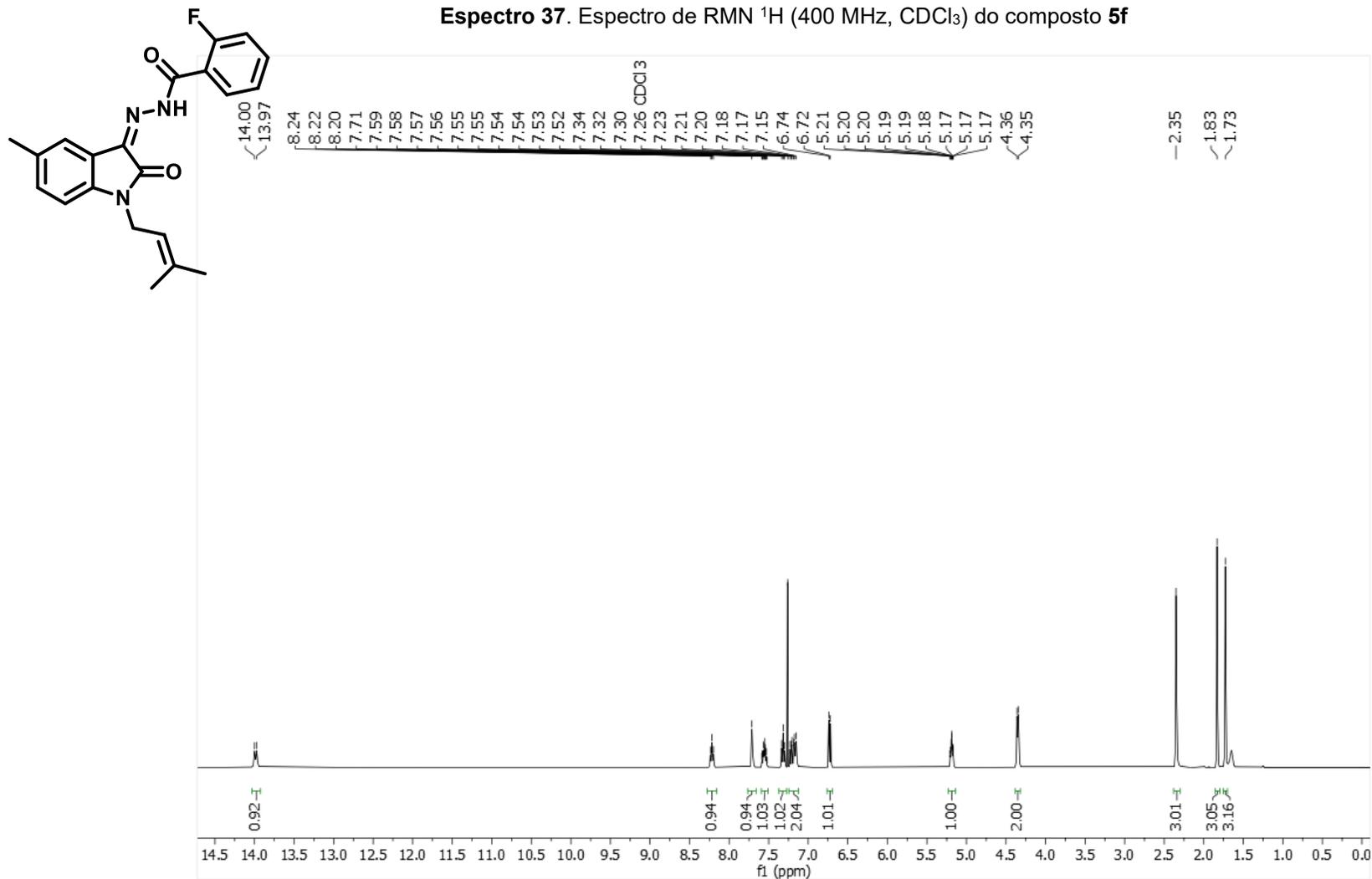
**Espectro 33.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **5d**

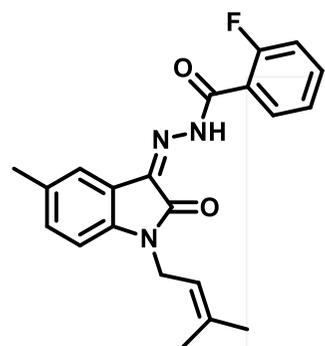
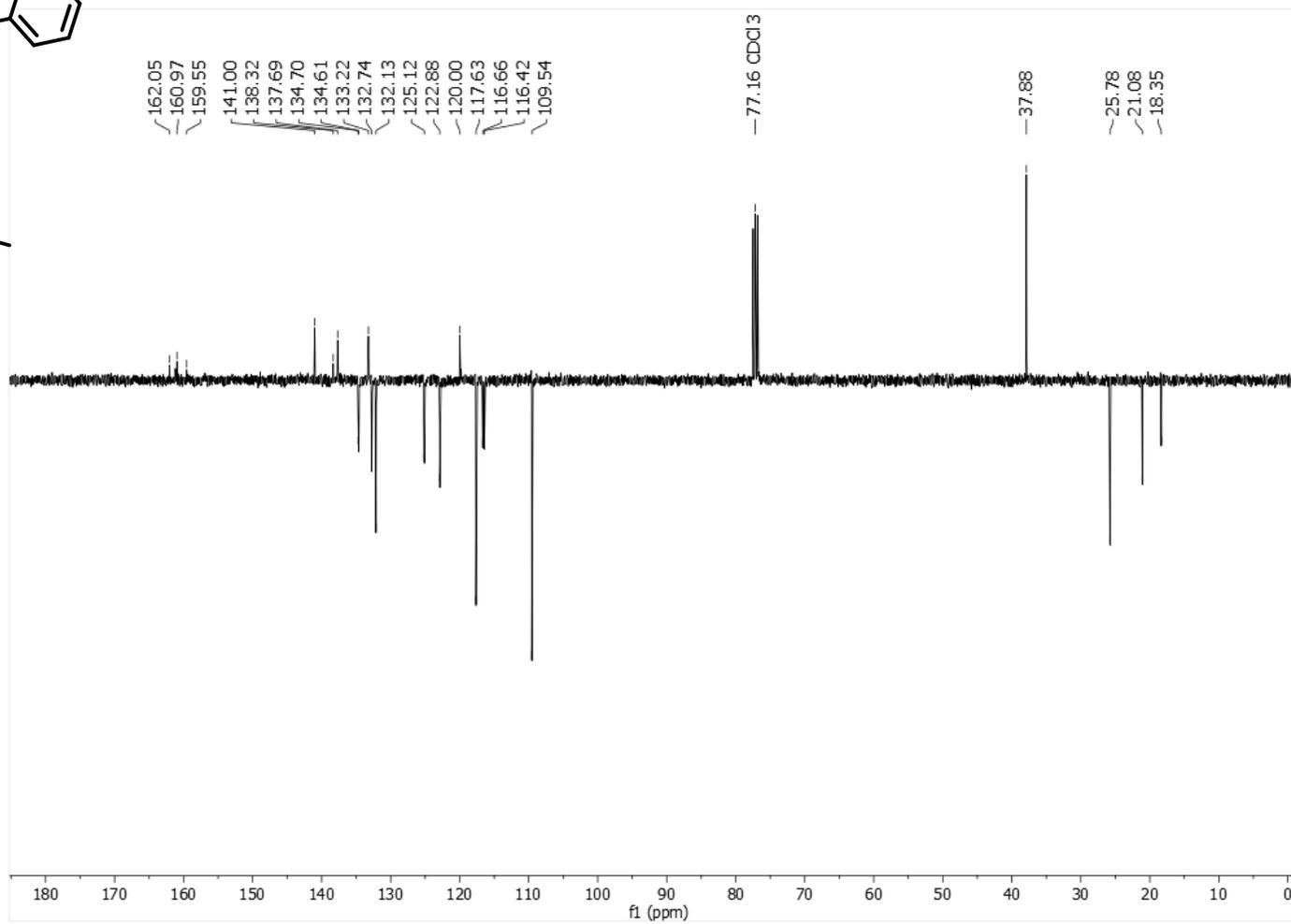
Espectro 34. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5d**

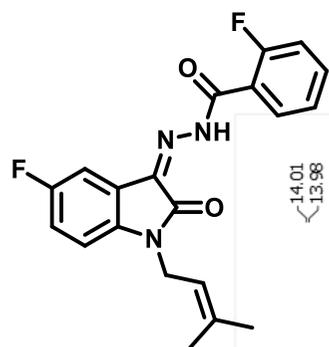
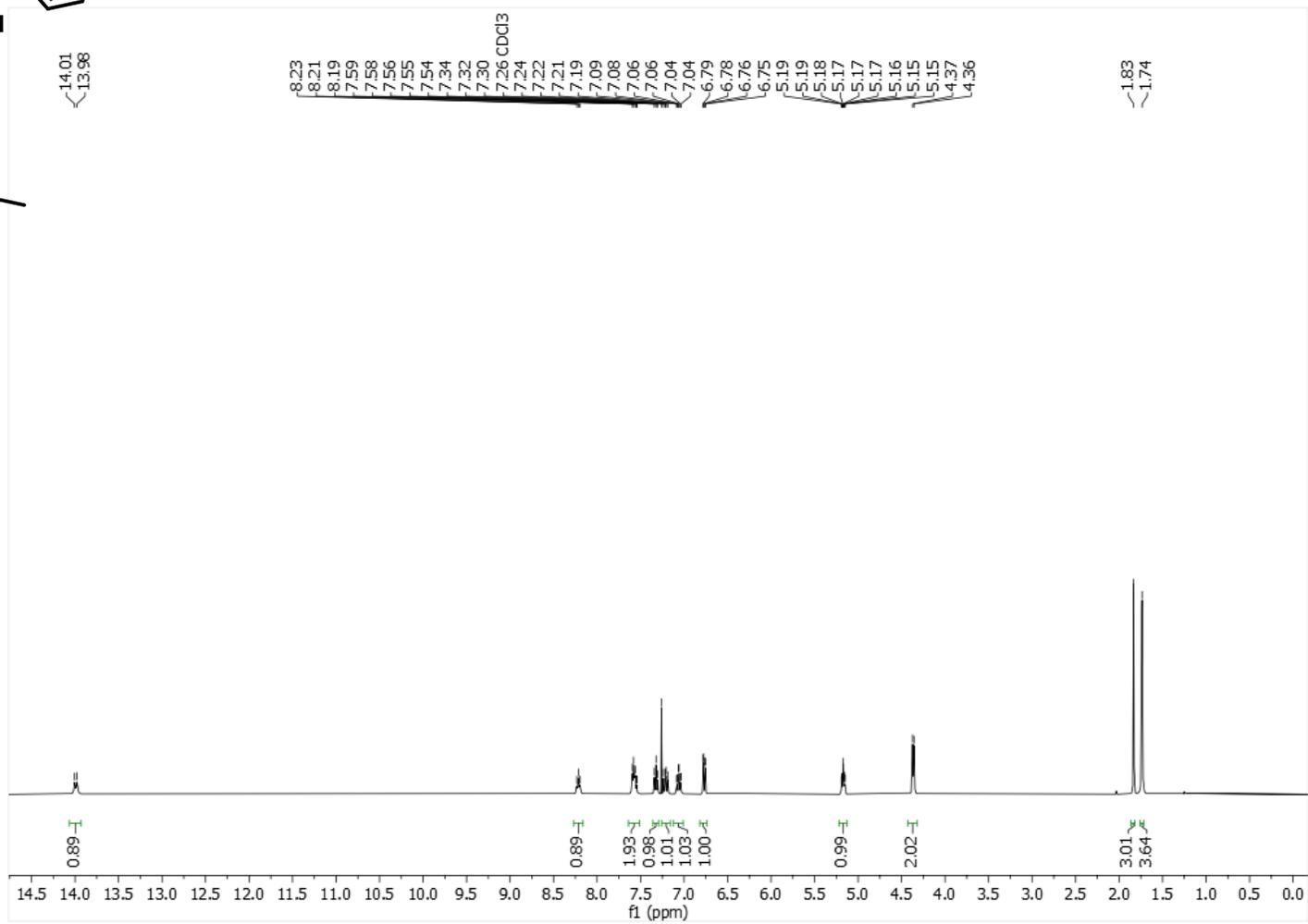
Espectro 35. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5e**

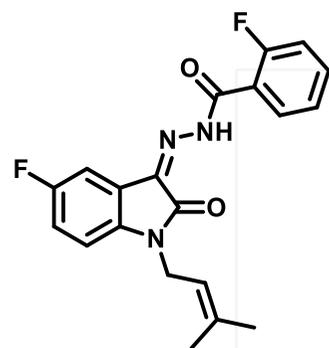
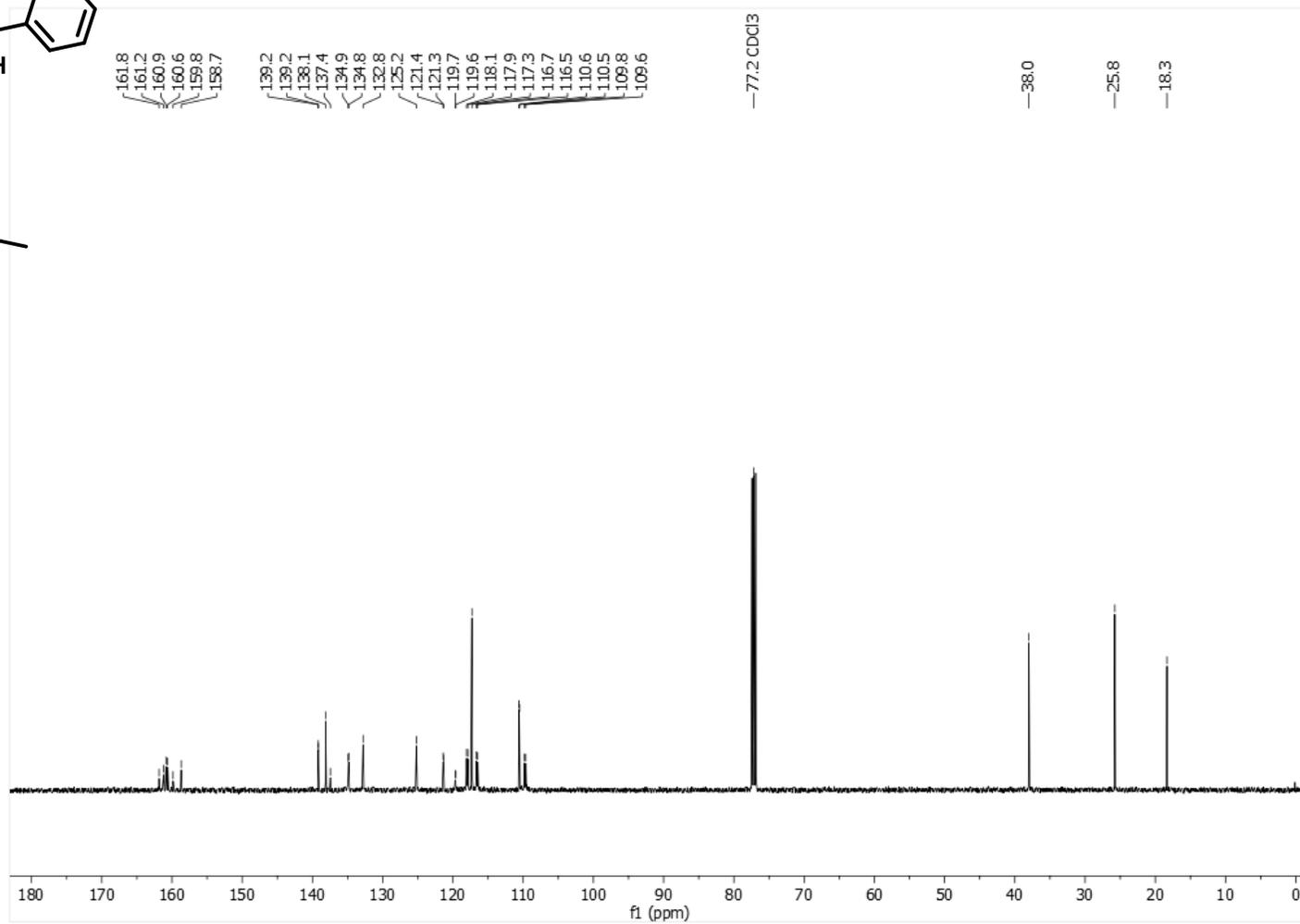
**Espectro 36.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5e**

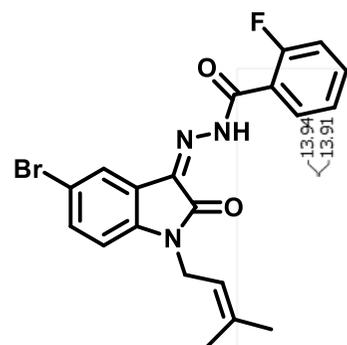
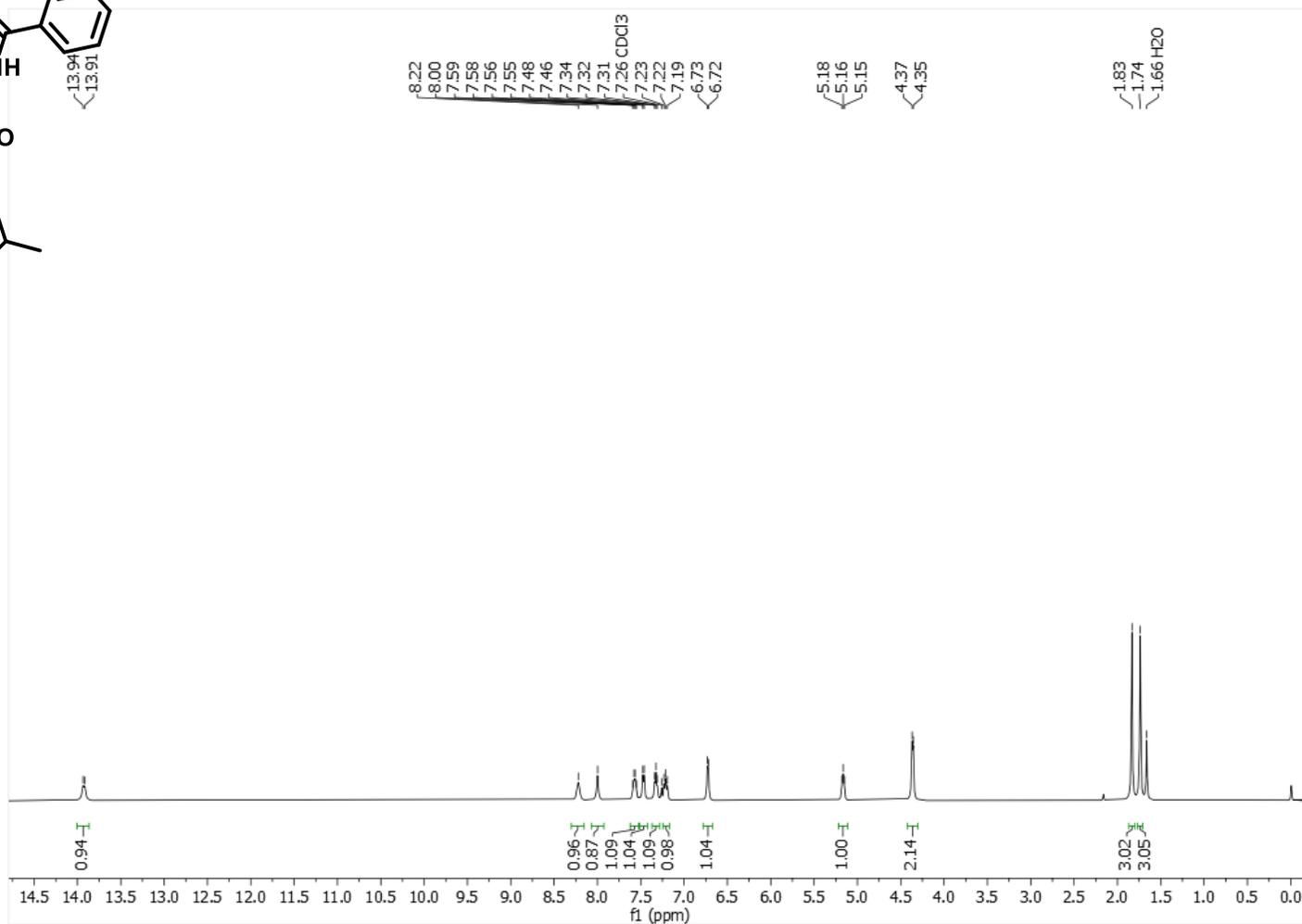
**Espectro 37.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **5f**

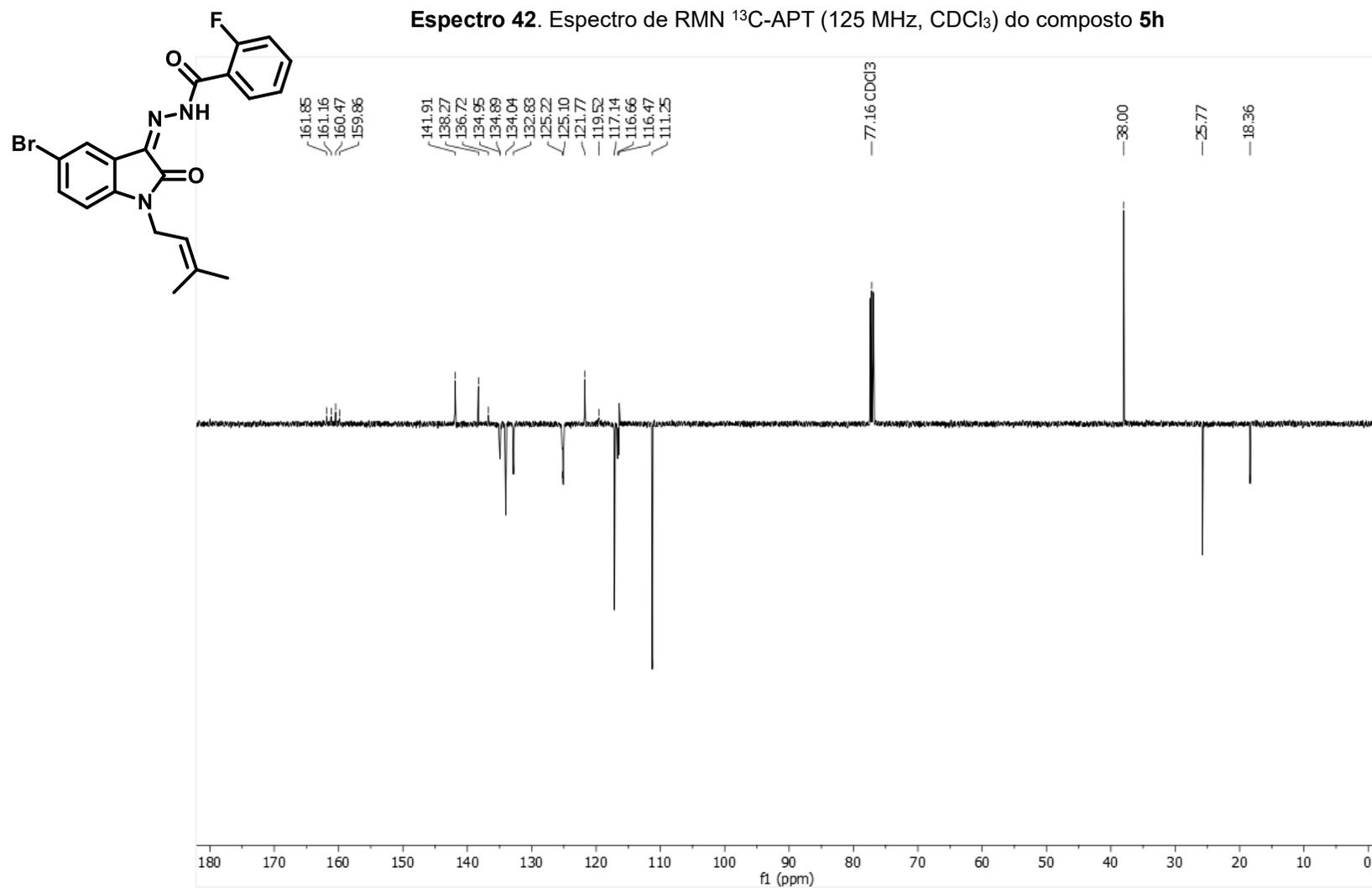


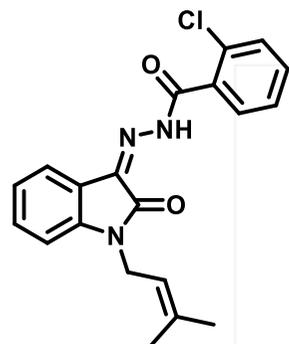
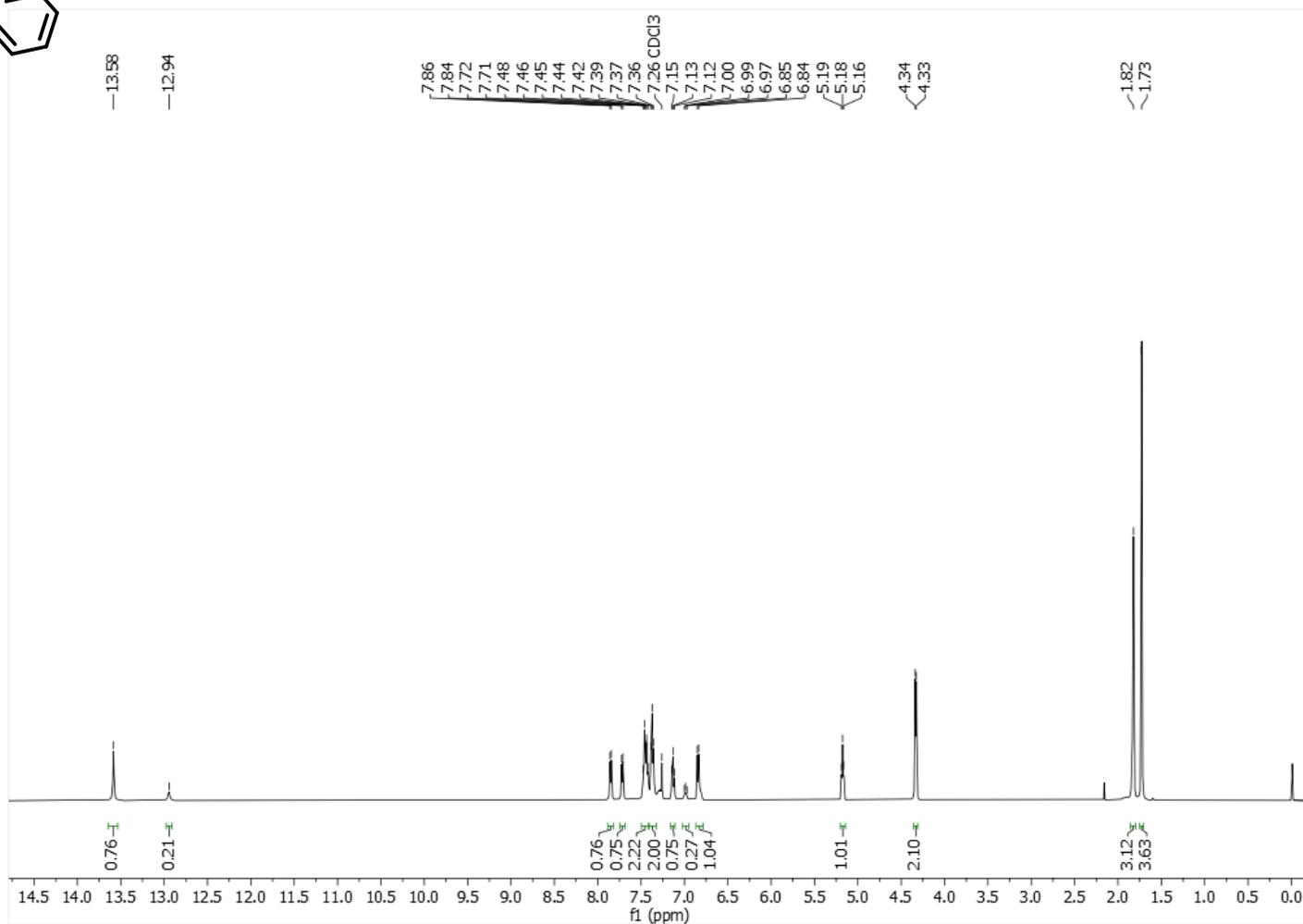
Espectro 38. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5f**

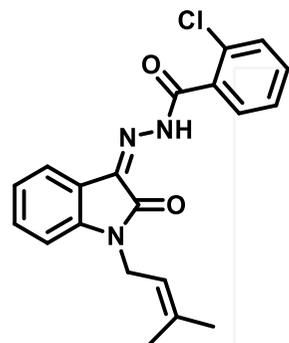
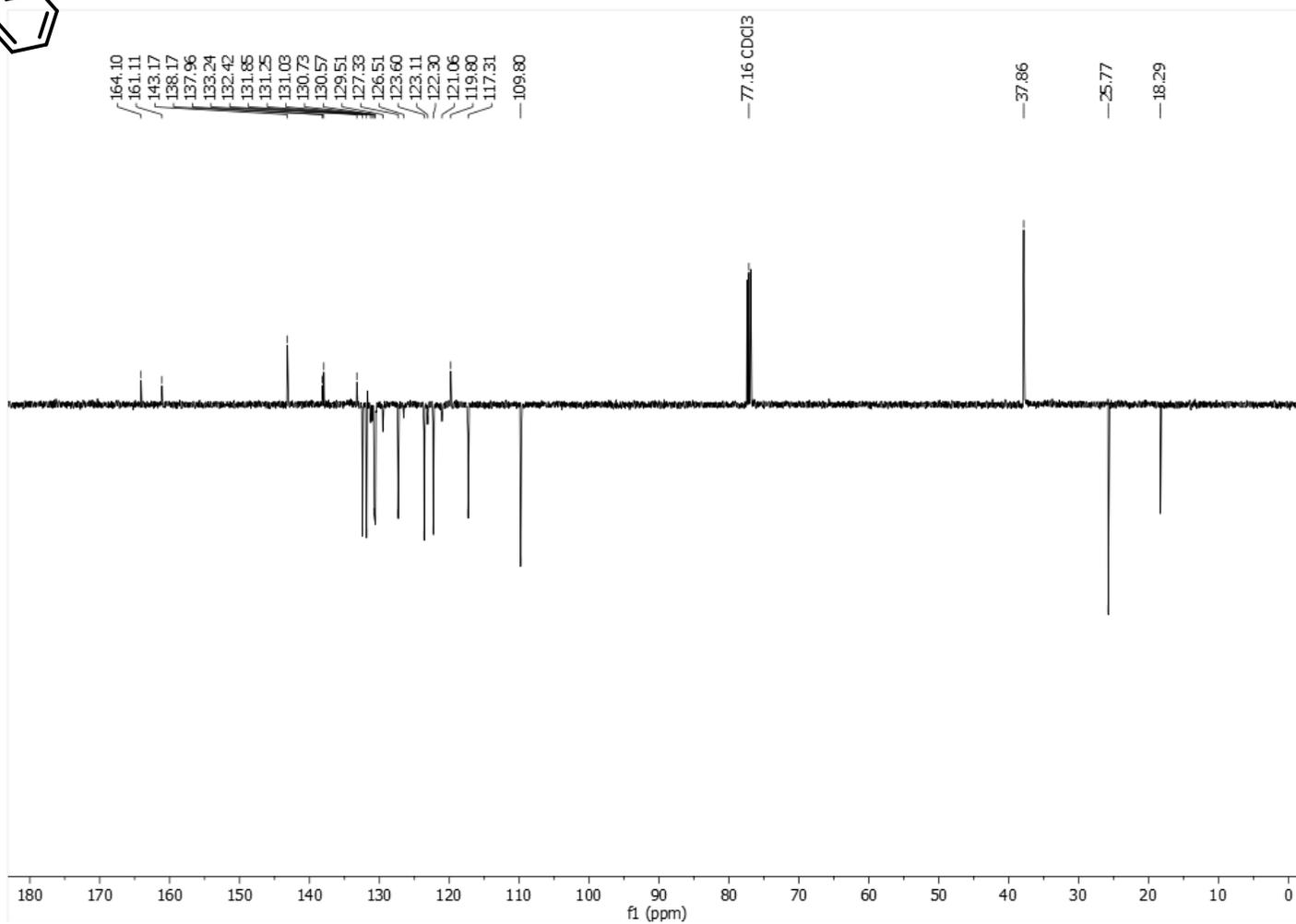
Espectro 39. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5g**

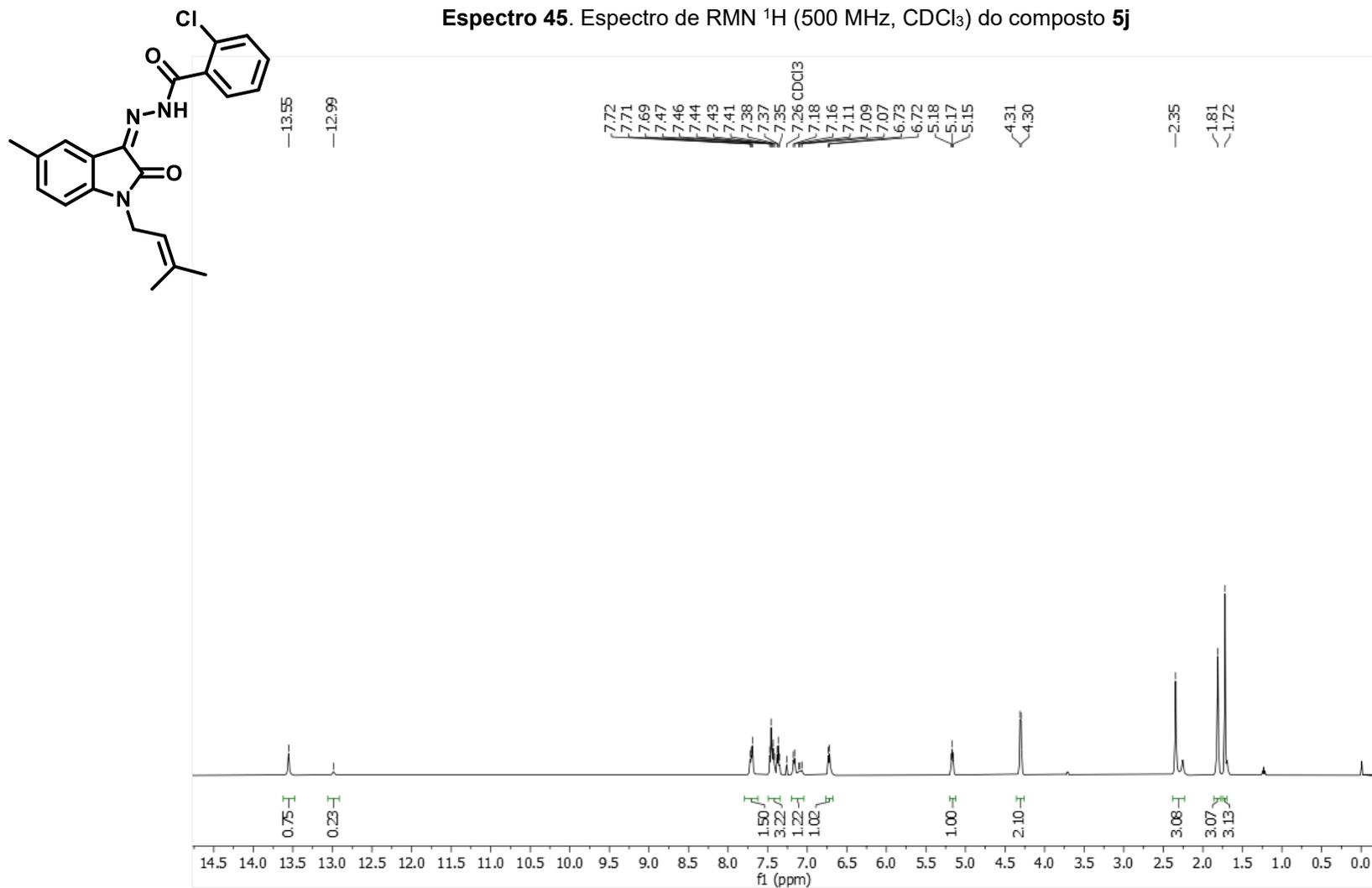
Espectro 40. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5g

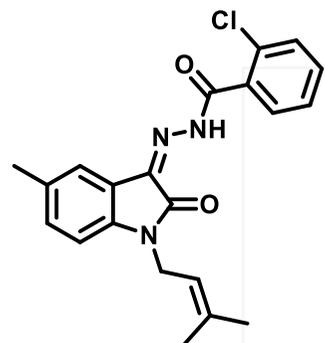
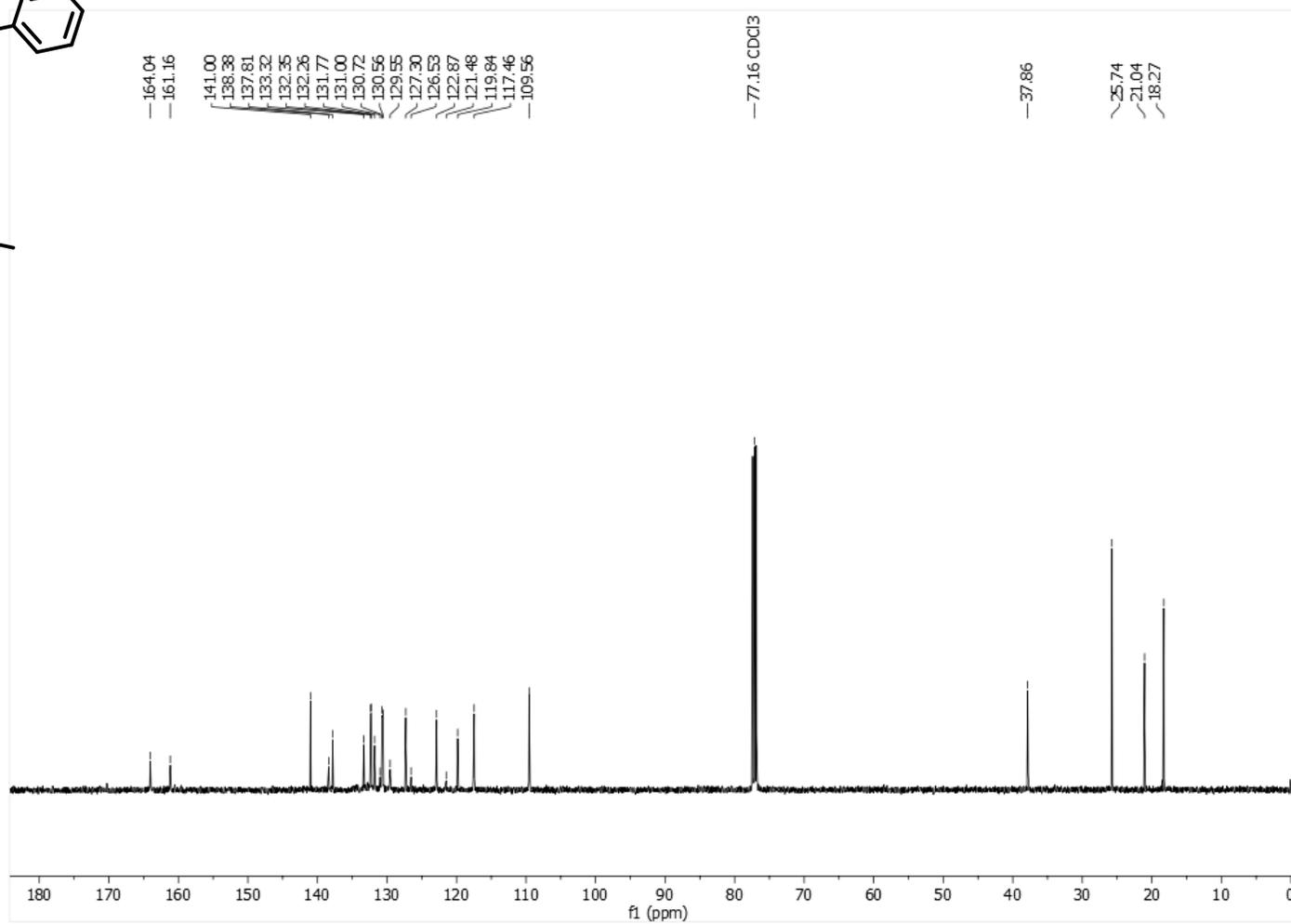
Espectro 41. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 5h

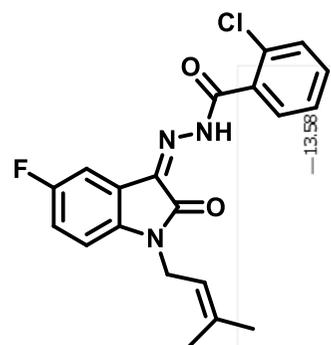
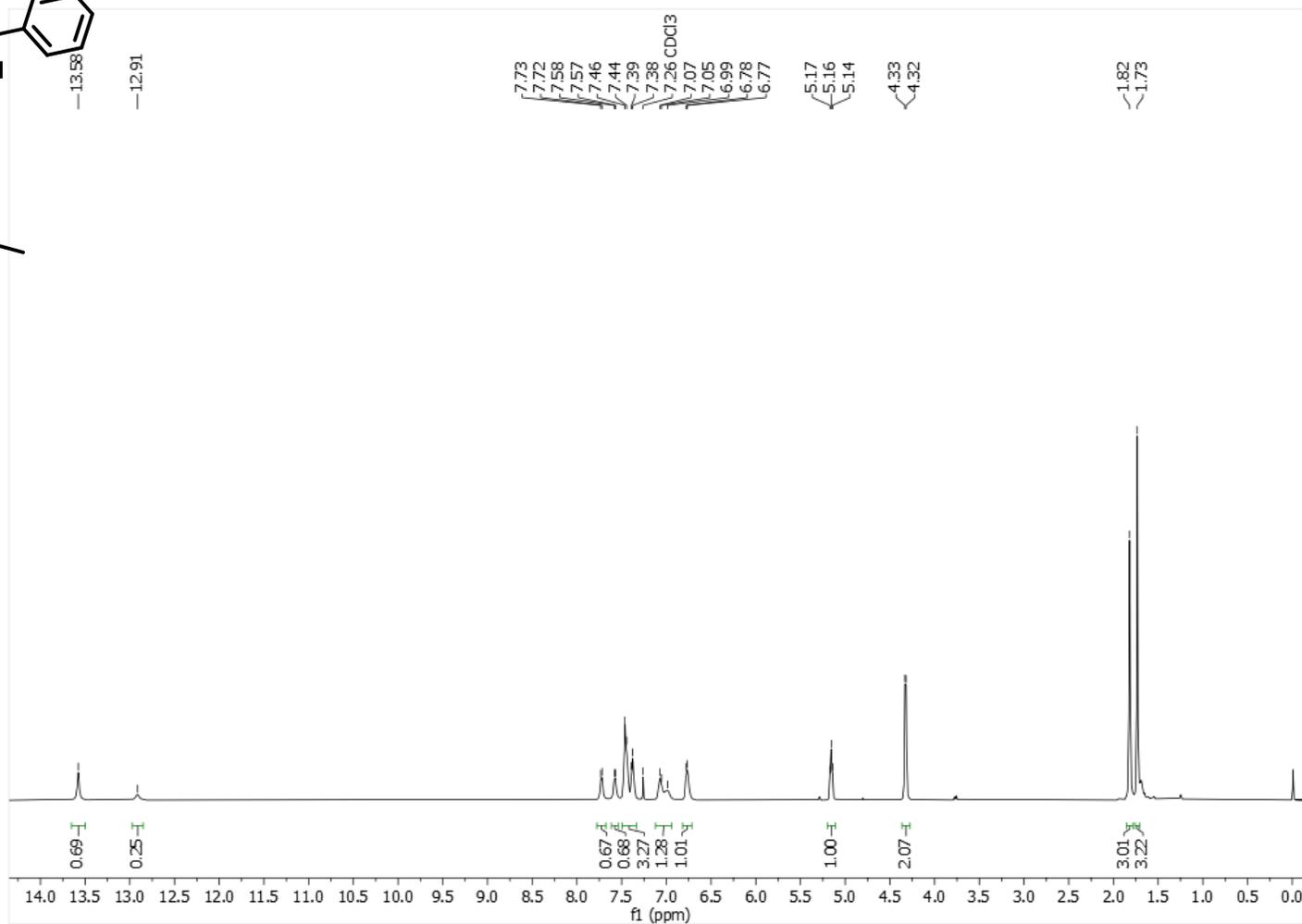


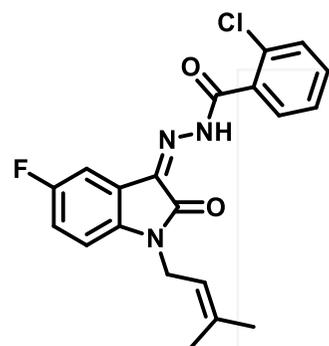
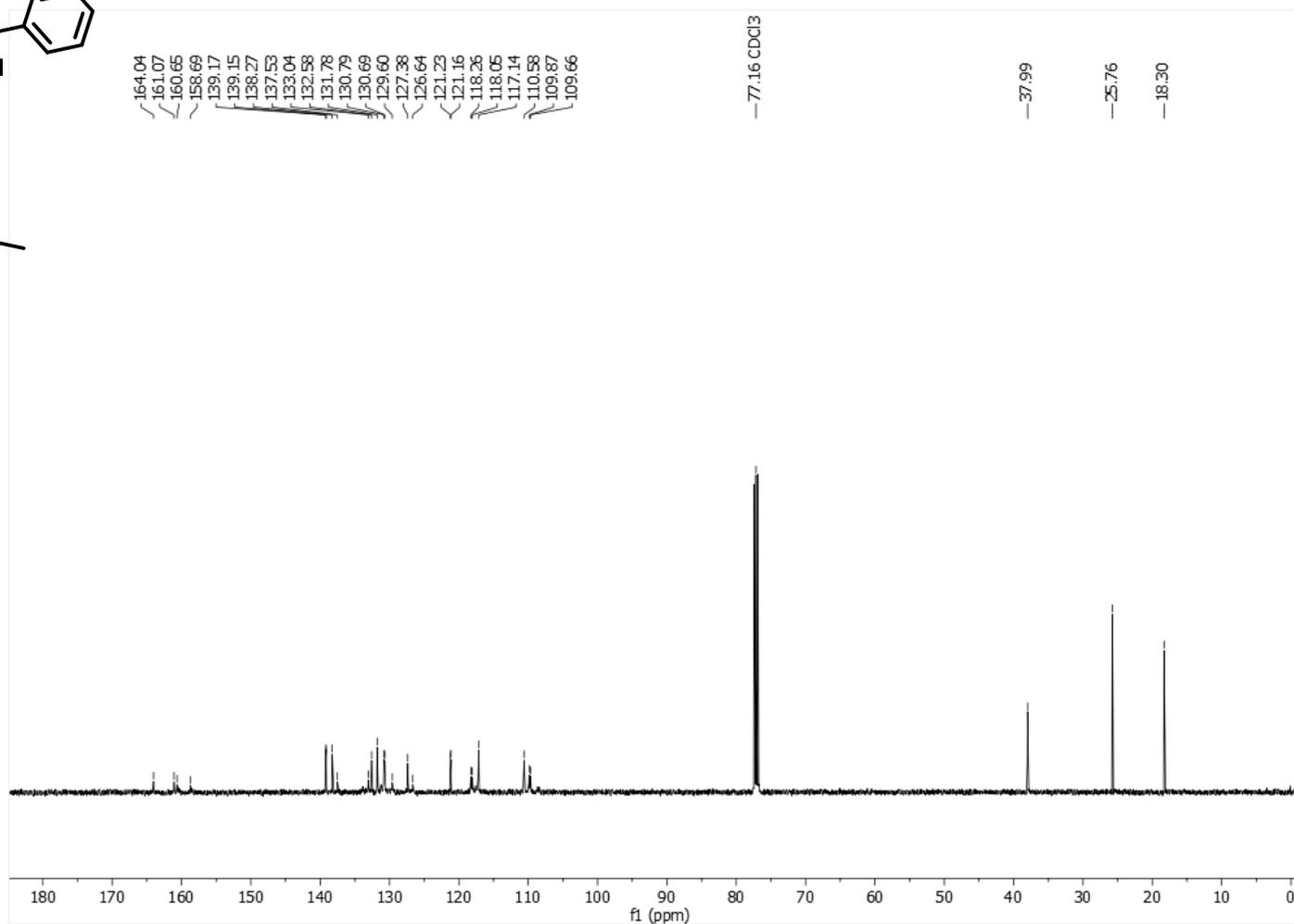
Espectro 43. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5i**

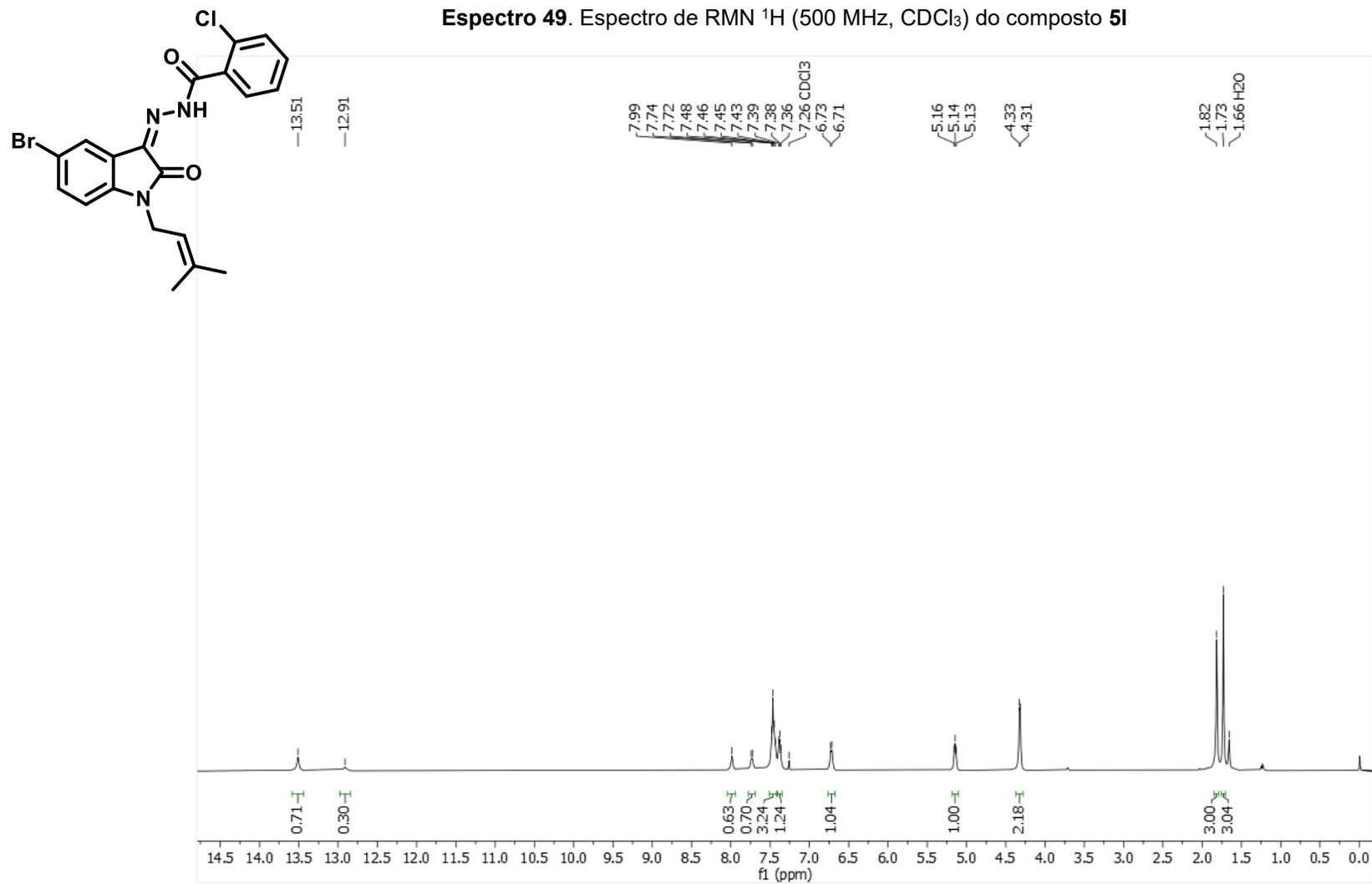
**Espectro 44.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5i**

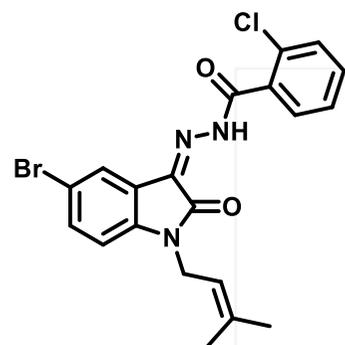
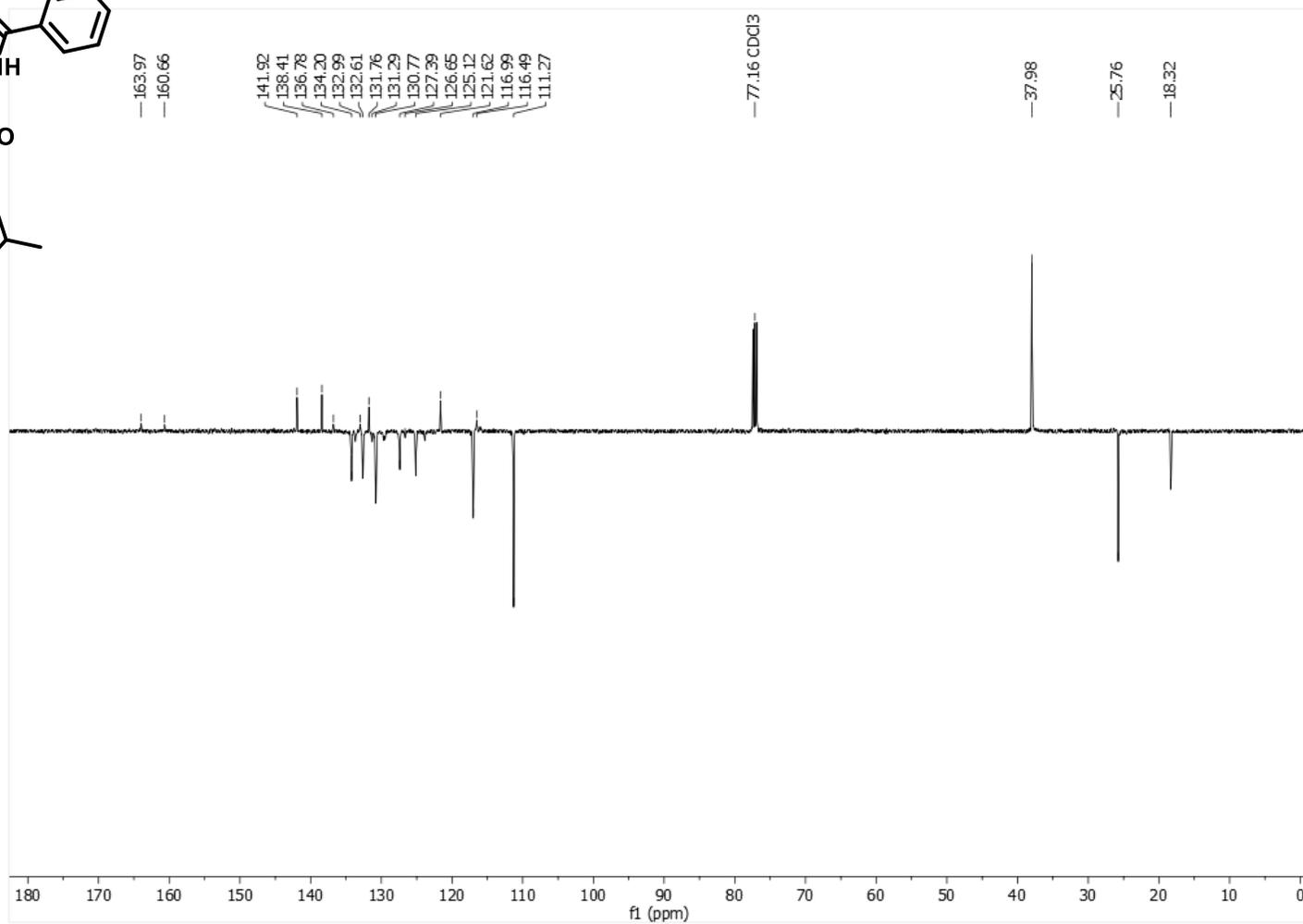
Espectro 45. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5j**

**Espectro 46.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5j**

Espectro 47. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5k**

Espectro 48. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5k**

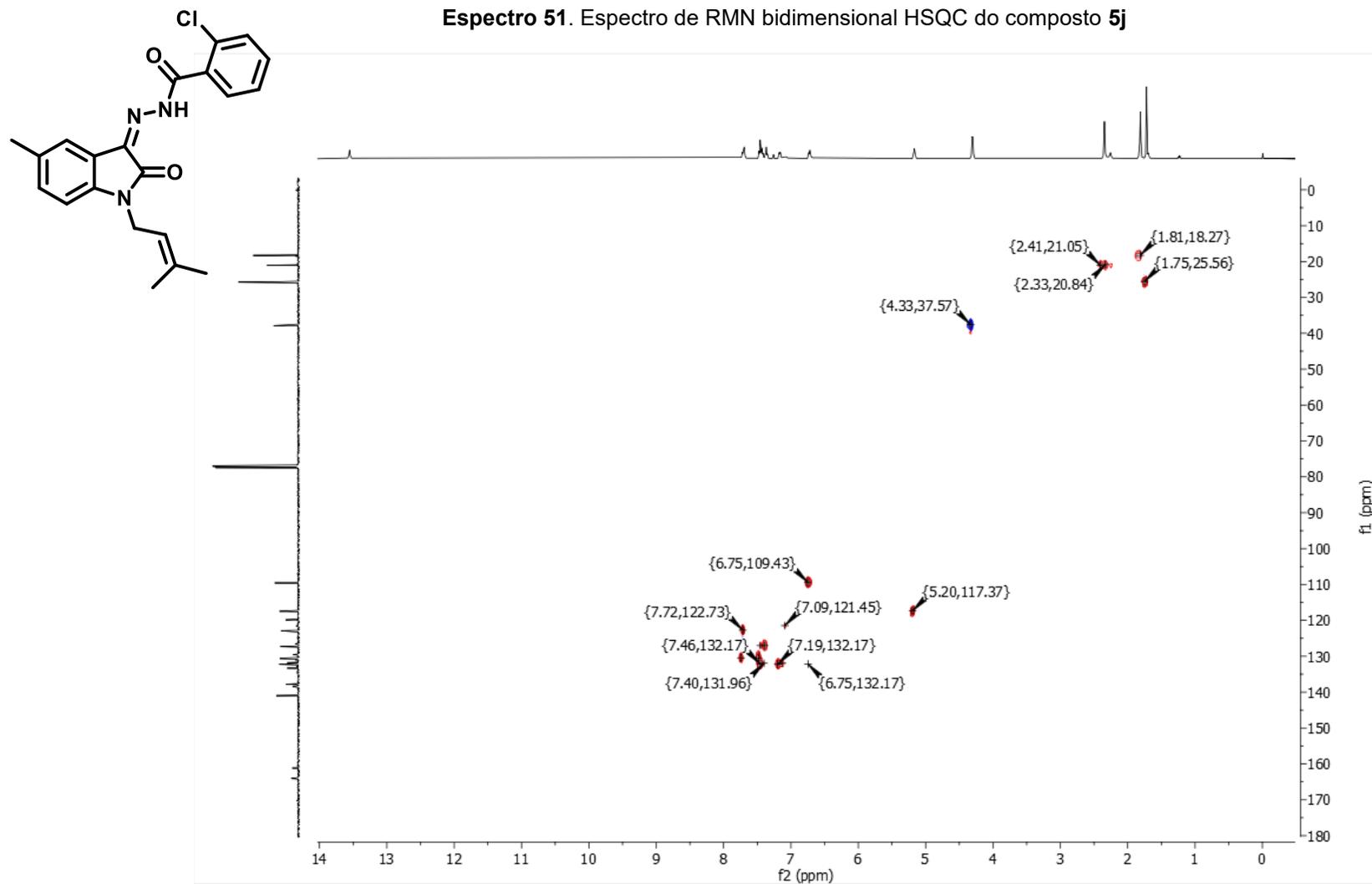
Espectro 49. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5I**

**Espectro 50.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5I**

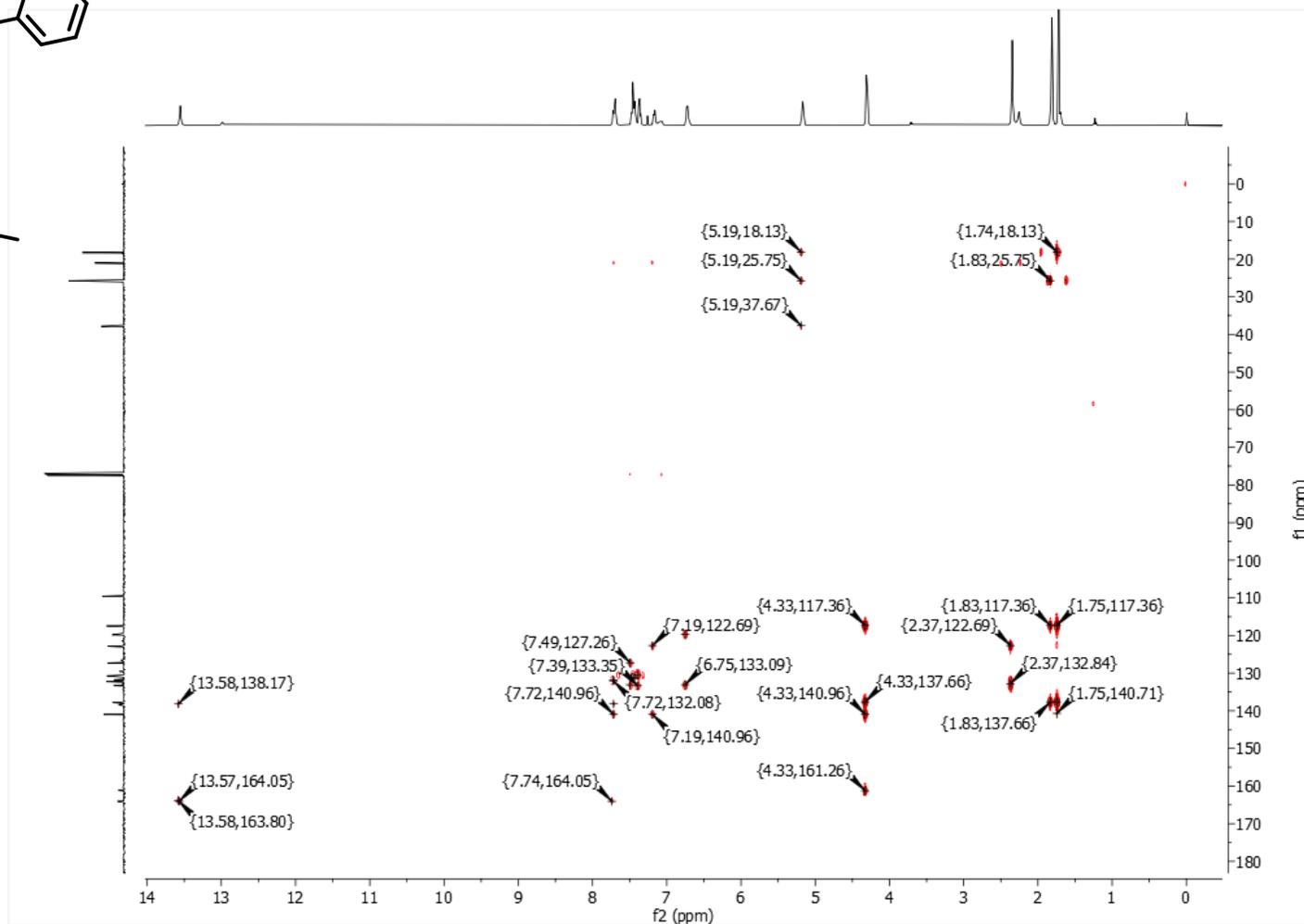
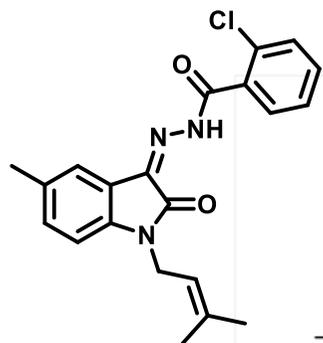
## **ESPECTROS 4**

Espectros de RMN bidimensional dos compostos sintetizados nesta  
dissertação

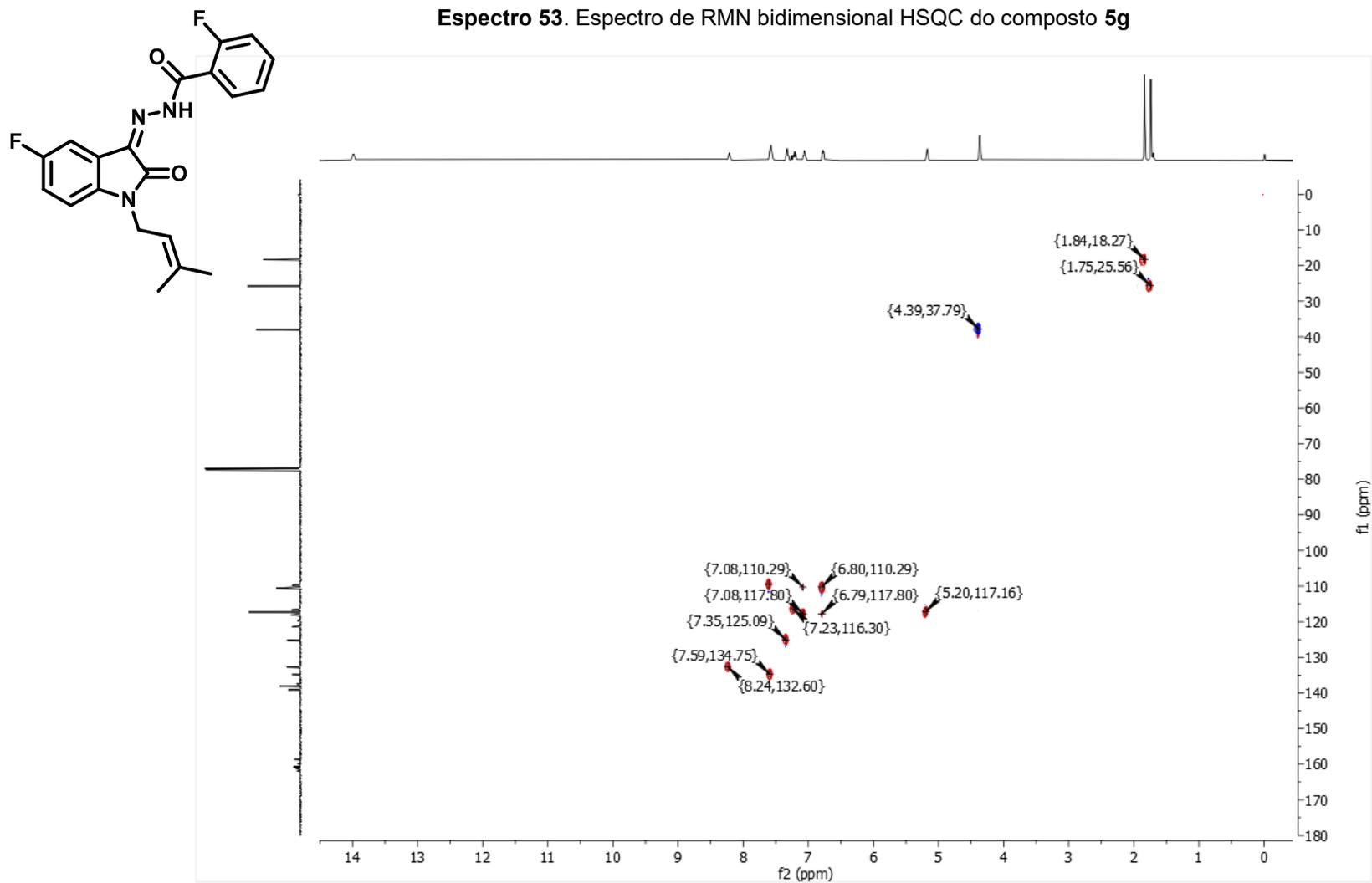
Espectro 51. Espectro de RMN bidimensional HSQC do composto 5j



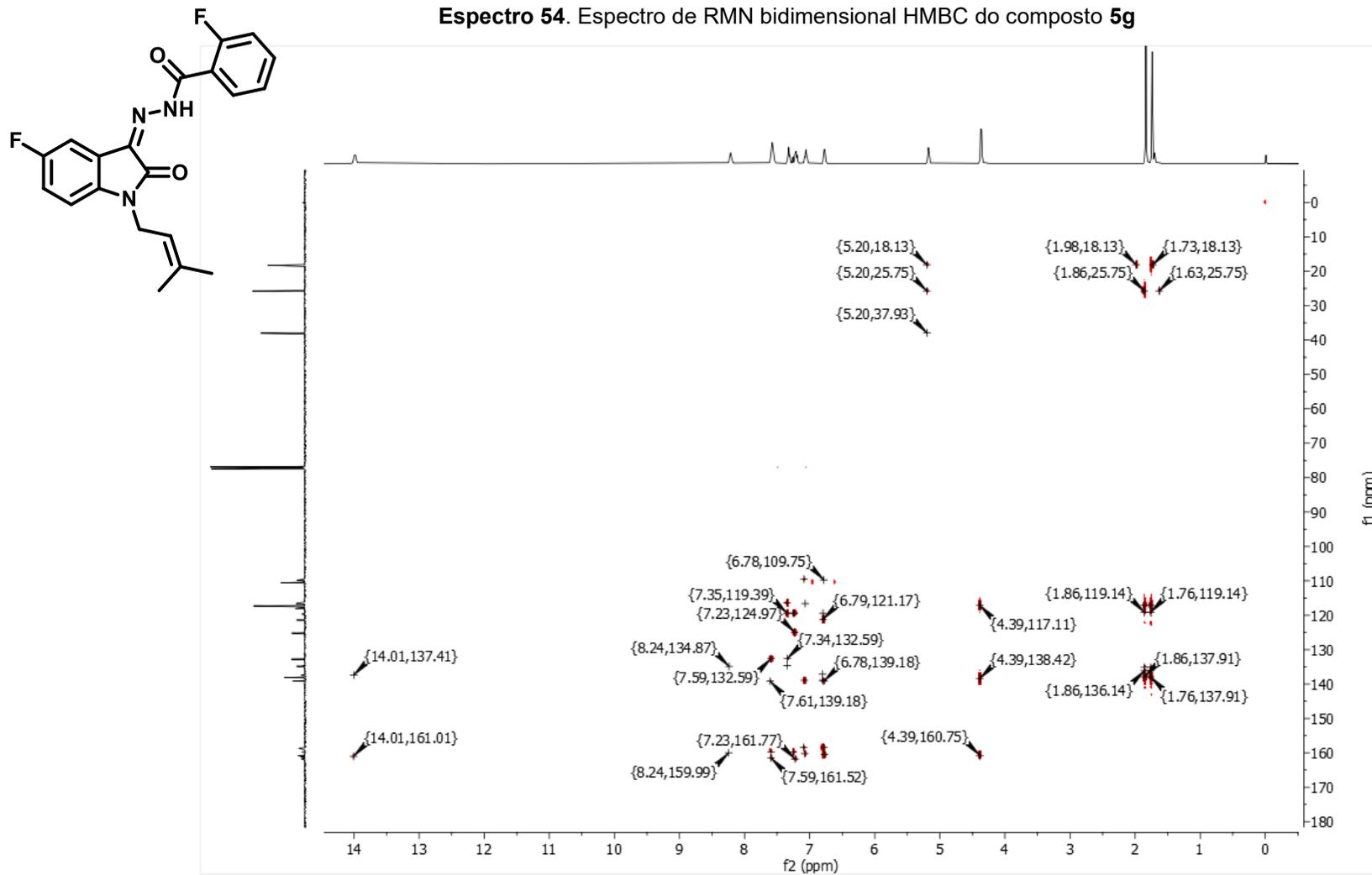
Espectro 52. Espectro de RMN bidimensional HMBC do composto 5j



Espectro 53. Espectro de RMN bidimensional HSQC do composto 5g

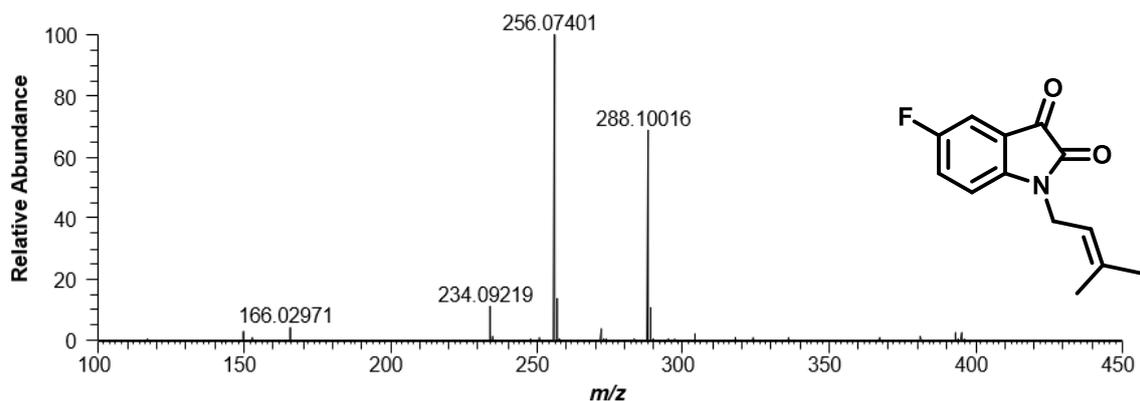
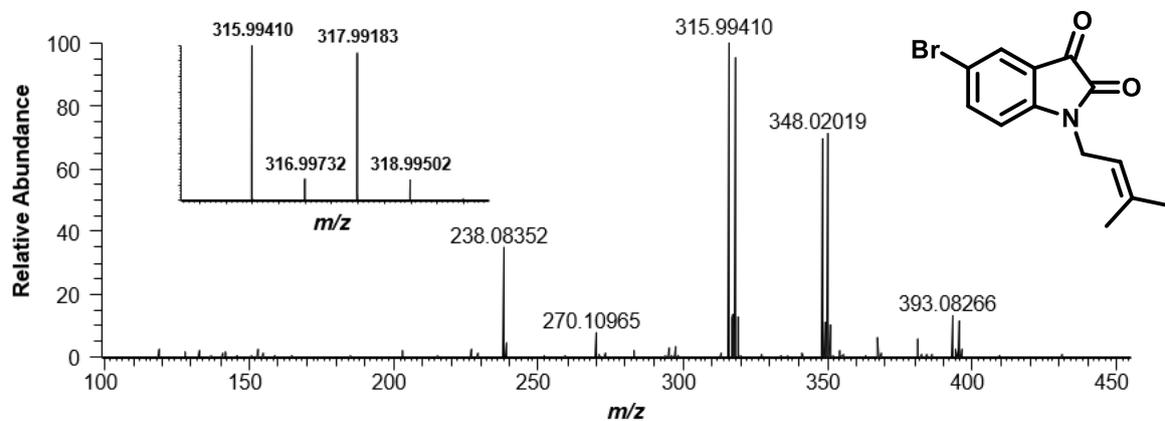
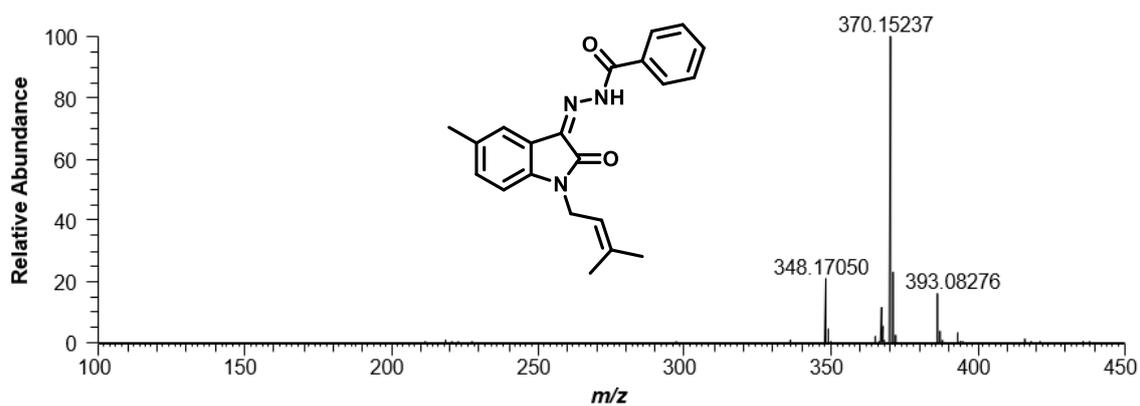


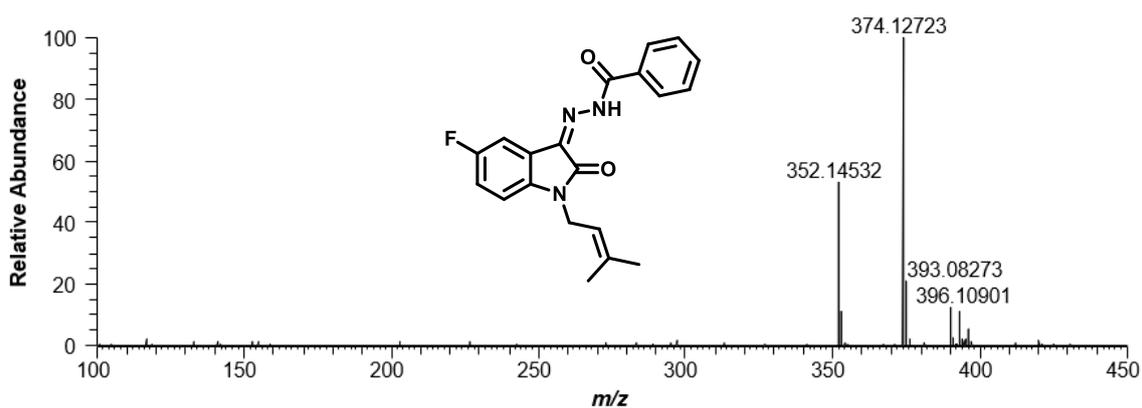
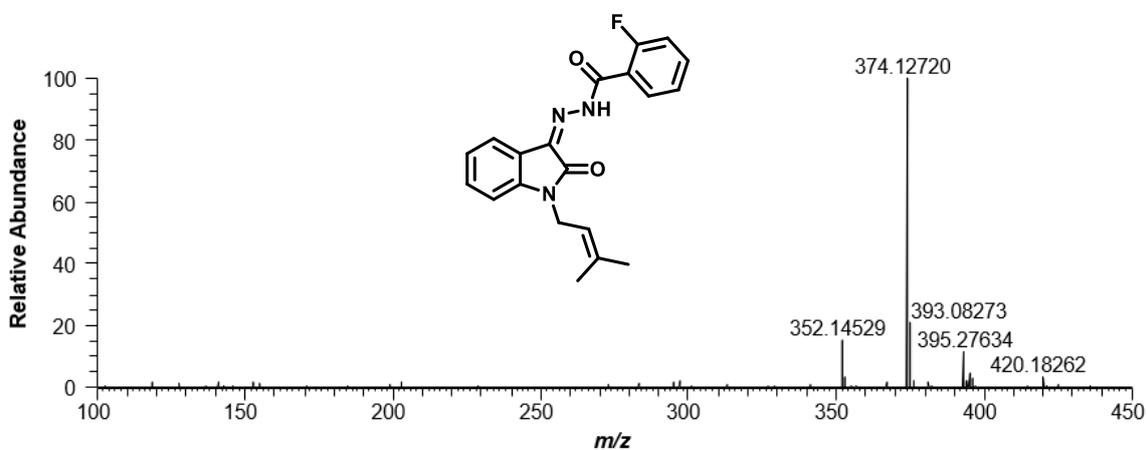
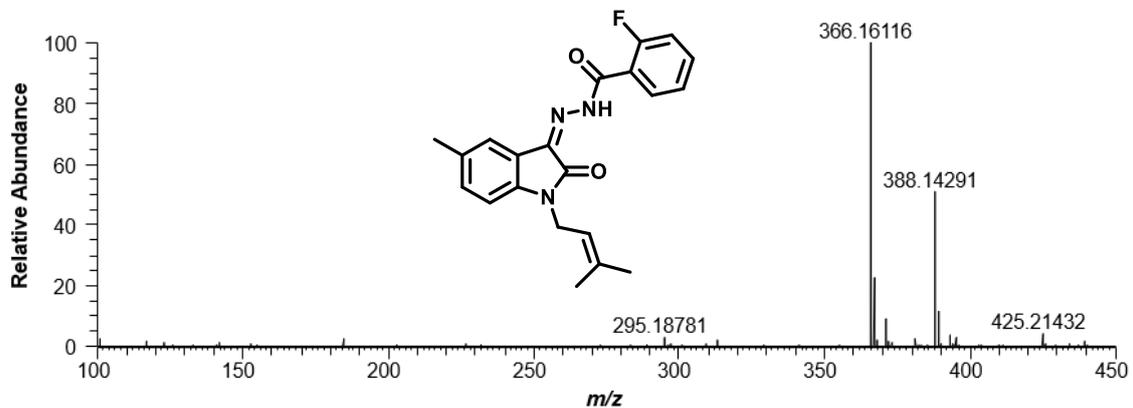
**Espectro 54.** Espectro de RMN bidimensional HMBC do composto **5g**



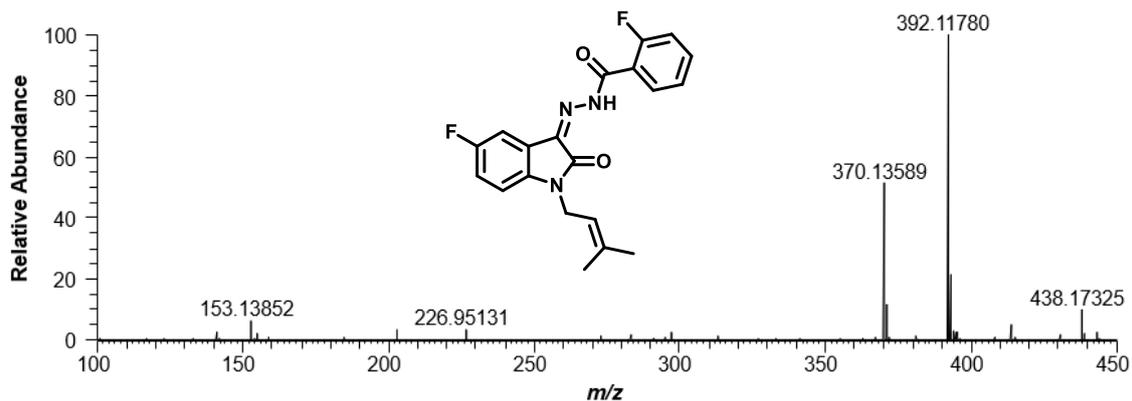
## **ESPECTROS 5**

Espectros de Massas de alta resolução dos compostos sintetizados nesta  
dissertação

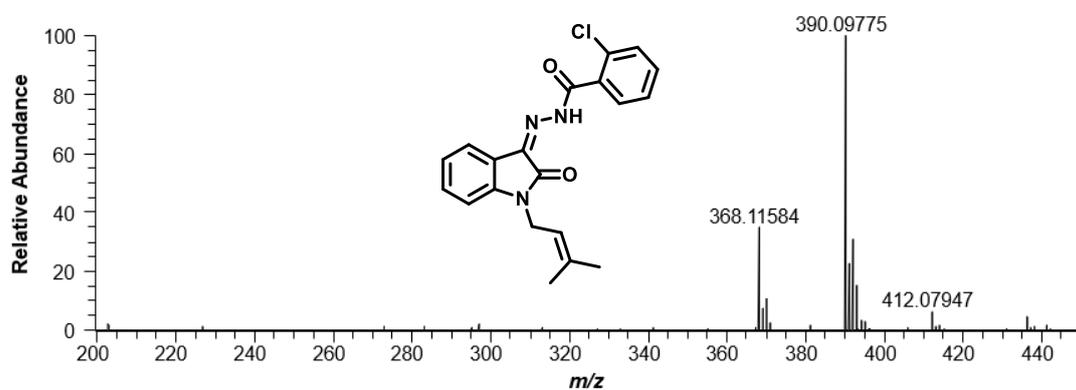
**Espectro 55.** Espectro de massa do composto **3c****Espectro 56.** Espectro de massa do composto **3d****Espectro 57.** Espectro de massa do composto **5b**

**Espectro 58.** Espectro de massa do composto **5c****Espectro 59.** Espectro de massa do composto **5e****Espectro 60.** Espectro de massa do composto **5f**

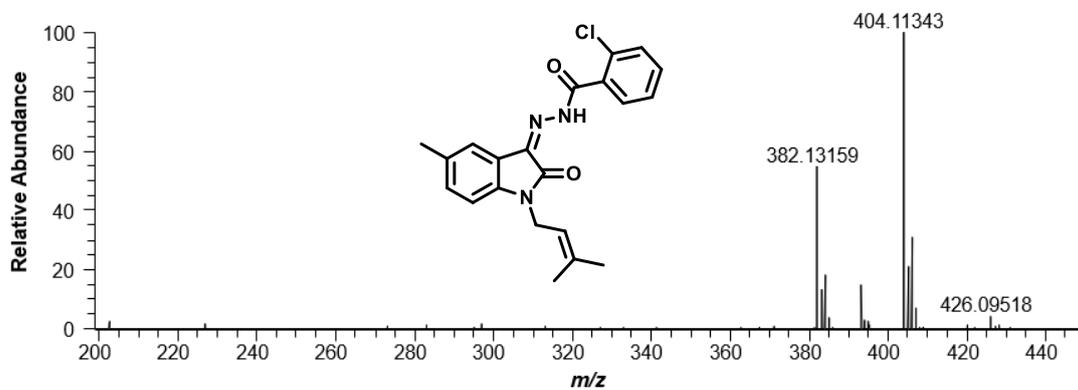
Espectro 61. Espectro de massa do composto 5g



Espectro 62. Espectro de massa do composto 5i



Espectro 63. Espectro de massa do composto 5j



Espectro 64. Espectro de massa do composto 5k

