



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

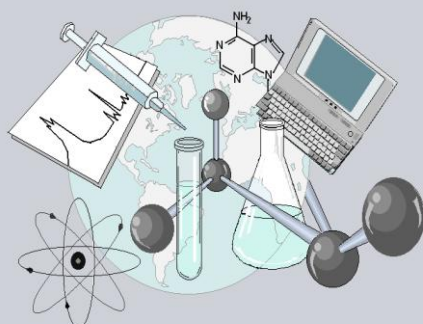
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIPROLIFERATIVA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO β -
CARBOLÍNICOS CONTENDO AS UNIDADES 1,3,4-OXADIAZOL-2-
ONA E 1,3-OXAZOL-5-ONA NA POSIÇÃO-3”**

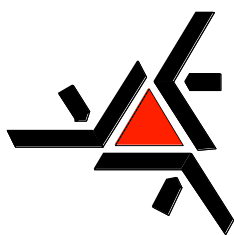
Tese apresentada por
Franciele Cristina Savariz ao
Programa de Pós-Graduação em
Química do Departamento de
Química do Centro de Ciências
Exatas da Universidade Estadual de
Maringá como parte dos requisitos
para a obtenção do título de
Doutorado em Química.

CE
CE



Centro de
Ciências Exatas

MARINGÁ, JUNHO/2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIPROLIFERATIVA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO
 β -CARBOLÍNICOS CONTENDO AS UNIDADES 1,3,4-OXADIAZOL-2-
ONA E 1,3-OXAZOL-5-ONA NA POSIÇÃO-3.**

Doutoranda: FRANCIELE CRISTINA SAVARIZ

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto

MARINGÁ, JUNHO DE 2013.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S182s Savariz, Franciele Cristina
Síntese e avaliação das atividades antiproliferativa e antimicrobiana de derivados 1-fenilssubstituído β -carbolínicos contendo as unidades 1,3,4-oxadiazol-2-ona e 1,3-oxazol-5-ona na posição-3 / Franciele Cristina Savariz. -- Maringá, 2013.
280 f.: il., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química.

1. Atividade antitumoral. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Oxadiazol. 4. Oxazol I.Sarragiotto, Maria Helena, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

540 21.ed.




Universidade Estadual de Maringá


Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

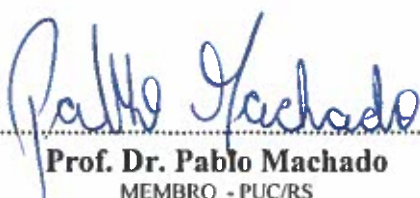
Este é o exemplar definitivo da Tese apresentada por Franciele Cristina Savariz, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 22 de julho de 2013.

COMISSÃO JULGADORA:


.....
Prof. Dra. Maria Helena Sarragiotto
PRESIDENTE - DQI/UEM


.....
Prof. Dra. Gisele de Freitas Gauze Bandoch
MEMBRO - DQI/UEM


.....
Prof. Dr. Emerson Meyer
- MEMBRO - DQI/UEM


.....
Prof. Dr. Pablo Machado
MEMBRO - PUC/RS


.....
Prof. Dra. Ana Lucia Tasca Gois Ruiz
MEMBRO - UNICAMP

Dedico este trabalho ao meu marido Eduardo,
meu pai Itacir,
minha mãe Elmi,
minha orientadora Maria Helena,
pelo amor, paciência, compreensão, incentivo,
por acreditarem em mim e esperar...

AGRADECIMENTOS

À Deus por renovar em mim a força do Espírito Santo todos os dias.

À Prof. Dra. Maria Helena Sarragiotto, pela orientação, paciência, amizade, incentivo, carinho e amor pela química.

A Fundação Araucária e a CAPES pela bolsa de estudo.

Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá, pela disponibilidade de concretização deste trabalho.

Ao meu marido Prof. Dr. Eduardo A. Sanches, pelo amor, paciência, amizade, atenção, incentivo, luz...tudo.

A meu pai Itacir e minha mãe Elmi pelo amor e torcida.

A meu irmão Wellington e minha irmã Eliane que me incentivaram a continuar.

As lindas sobrinhas Sthefanny e Laryssa e aos cunhados(as).

A Regina e Altair, as nonas, por terem sido tão gentis e torcido tanto por mim.

À Anelise, Camila L., Camila K., Carla, Debora, Eduardo, Emerson, Fabiane, George, Letícia, Ligia, Liliam, Jamile, Juliana, Manuela, Marcos, Marquinhos, Maria Augusta, Pamela, Pollyanna, Raissa, Rosemery, Valéria, Prof. Dr. Willian Costa pelo aprendizado, amizade e paciência no laboratório do 31.

À Ivânia, grande companheira, pela ajuda, amizade e realização dos espectros de RMN.

A Ana e ao Edson pelos espectros de IV e de massas. Ao Moacir pela colaboração, paciência, atenção e preocupação.

A todos os (as) amigos(as) de Toledo, Maringá, Goioerê pela força em todos os momentos desta obra e que perto e a distância rezaram e esperam por mim.

RESUMO

Síntese e avaliação das atividades antiproliferativa e antimicrobiana de derivados 1-fenilsubstituído β -carbolínicos contendo as unidades 1,3,4-oxadiazol-2-ona e 1,3-oxazol-5-ona na posição-3.

Palavras chaves: β -carbolinas, 1,3,4-oxadiazol-2-ona, bases de Mannich, 1,3-oxazol-5-ona, atividade antitumoral e antimicrobiana, estudo in silico

Diversas pesquisas têm sido desenvolvidas para a obtenção de derivados β -carbolínicos com diferentes substituintes, principalmente nas posições-1 e -3 do anel β -carbolínico, visando compostos com atividades biológicas, dentre elas, as atividades antitumoral e antimicrobiana. Estudos anteriormente realizados por nosso grupo de pesquisa com esta classe de compostos mostraram que β -carbolinas com grupos fenilsubstituídos na posição-1, e diferentes heterociclos na posição-3, apresentaram potentes atividades antiprotozoária, antiviral, antitumoral e antimicrobiana.

Compostos contendo as unidades 1,3,4-oxadiazol-2-ona e 1,3-oxazol-5-ona são muito reportados na literatura por possuírem diversas atividades farmacológicas importantes. A potencialidade destes núcleos associada às do núcleo β -carbolínico, motivou o desenvolvimento do presente trabalho na busca por compostos com atividades antitumoral e antimicrobiana.

No primeiro capítulo deste trabalho descrevemos a síntese e as atividades antitumoral e antimicrobiana dos compostos inéditos 1-fenilsubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**87a-g**) e das suas bases de Mannich, 1-fenilsubstituído 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolinas (**88-92 a-d**). As β -carbolina-3-carboidrazidas (**86a-g**), intermediários chaves da rota sintética para a obtenção dos derivados com a unidade 1,3,4-oxadiazol-2-ona foram preparadas pela reação de condensação do éster metílico do L-triptofano (**83**) com aldeídos aromáticos, contendo grupos doadores e retiradores de elétrons, via reação de Pictet-Spengler catalisada por ácido, seguida pela oxidação com enxofre das 3-carbometóxi-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolinas (**84a-g**) e posterior tratamento com hidrazina hidratada. Para a preparação dos derivados 1-fenilsubstituído 3-(2-oxo-

RESUMO

1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**87a-g**), as β -carbolina-3-carboidrazidas (**86 a-g**) foram submetidas a reação com carbonildiimidazol, em DMF, o que forneceu os produtos com rendimentos de 20 - 80%. Os derivados **87a-d** foram então submetidos à reação de condensação com diferentes aminas, em presença de formaldeído, para a obtenção das respectivas bases de Mannich, 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolinas (**88 - 92 a-d**) em rendimentos na faixa de 20 - 70%.

O segundo capítulo deste trabalho refere-se à síntese e as atividades antitumoral e antimicrobiana de novas β -carbolinas com a unidade 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona na posição-3. Para a preparação das 1,3-oxazolonas desejadas, partiu-se das 3-carbometóxi- β -carbolinas (**85**), cuja hidrólise com hidróxido de sódio, em água/metanol, forneceu os compostos 3-carbóxi- β -carbolínicos (**142**). A partir da reação de **142** com éster etílico do cloridrato de glicina, seguido de hidrólise do éster terminal e reação de síntese de Plöchl-Erlenmeyer com diferentes aldeídos, em anidrido acético/acetato de sódio foram obtidos os produtos 1-fenilsubstituído 3-[4-(substituído benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolínicos (**146-149**), com rendimentos entre 30 - 42%.

As estruturas de todos os compostos sintetizados foram confirmadas com base na análise dos dados de RMN ^1H e $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$, HSQC, IV e EI-MS.

Os compostos sintetizados foram submetidos à avaliação da atividade antitumoral, frente a diversas linhagens de células tumorais humanas, e da atividade antimicrobiana frente a diferentes culturas de bactérias e fungos.

Dentre os compostos avaliados quanto a atividade antitumoral, a 1-(*p*-dimetilaminofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87b**), 1-fenil-3-[3-(morfolilmetil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**92b**) e a 1-(*p*-metóxfenil)-3-(4-benzilideno-5-oxo-1,3-oxazol-2-il)- β -carbolina (**149**) apresentaram valores de GI_{50} menores que 10 μM , sendo promissores candidato à continuação dos estudos *in vivo*. Os compostos avaliados quanto a atividade antimicrobiana não foram ativos para os microrganismos testados, apresentando valores de $\text{GI}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Com a finalidade de pré-selecionar candidatos a testes *in vivo*, realizou-se o estudo *in silico* dos parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) dos novos compostos sintetizados investigando os parâmetros de Lipinski, área da superfície polar (TPSA) e a porcentagem de absorção (% ABS).

ABSTRACT

Synthesis, antiproliferative and antimicrobial activities evaluation of of 1-substitutedphenyl β -carboline derivatives containing 1,3,4-oxadiazol-2-one and 1,3-oxazol-5-one units in position-3.

Keywords: *β -carbolines, 1,3,4-oxadiazol-2-one, Mannich bases, 1,3-oxazol-5-one, antimicrobial and antitumor activities, in silico study*

Several research has been developed on the synthesis of β -carboline derivatives with different substituents, mainly at positions-1 and -3 of the β -carboline ring, aiming the preparation of compounds with biological activities, among them, antitumor and antimicrobial activities. Studies previously carried out by our research group showed that β -carbolines with substituted phenyl groups at position-1, and different heterocyclic at position-3, presented potent antiprotozoal, antiviral, antitumor and antimicrobial activities.

Compounds containing the 1,3,4-oxadiazol-2-one and 1,3-oxazol-5-one units are reported in literature for possessing diverse important pharmacologic activities. The potentiality of these nuclei, associated to that presented for the β -carbolines, motivated us to the development of the present work, expecting to obtain new antitumor and antimicrobial agents.

In the first part of this work we describe the synthesis, antitumor and antimicrobial activities of the new compounds 1-substitutedphenyl 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl)- β -carbolines (**87a-g**) and of its bases of Mannich, 1-substituted phenyl 3-[2-oxo-3-(alkylaminomethyl)-1,3,4-oxadiazol-5-yl]- β -carbolines (**88-92 ad**). The β -carboline-3-carbohydrazides (**86a-g**), intermediate for the synthetic route for the preparation of the desired derivatives were prepared by the Pictet-Spengler condensation, under acid catalyses, of L-tryptophan methyl ester (**83**) with aromatic aldehydes containing electron donating and withdrawing groups, followed of oxidation with sulphur of 3-carbomethoxy-tetrahydro- β -carbolines (**84a-g**), and further treatment with hydrazine hydrate. For the preparation of the derivatives 1-substitutedphenyl 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl)- β -carbolines (**87a-g**) the β -carboline-3-carbohydrazides (**86a-g**) were submitted to the reaction with 1,1'-

ABSTRACT

carbonyldiimidazole, in DMF, afforded the products in 20 - 80% yield. The derivatives **87a-d** were then submitted to the condensation with different amines, in presence of formaldehyde, to give the respective Mannich bases, 3-[2-oxo-3-(alkylaminomethyl)-1,3,4-oxadiazol-5-yl]- β -carbolines (**88 - 92 a-d**) in 20 to 70% yield.

The second part of this work involved the synthesis, antitumor and antimicrobial activities of the new β -carbolines with the 4-(substituted-benzylidene)-1,3-oxazol-5-one unit in the position-3. For the preparation of desired 1,3-oxazolones, the 3-carbomethoxy- β -carbolines (**85**) was used as starting material, which was subjected to hydrolysis with sodium hydroxyde, in water/methanol, to afford the 3-carboxy- β -carbolines (**142**). From the reaction of **142** with glycine hydrochloride ethyl ester, followed for hydrolysis of the terminal ester, and Plöchl-Erlenmeyer reaction with different aldehydes, in anhydride acetic/sodium acetate, led to the 1-substituted phenyl-3-(substituted benzylidene)-5-oxo-1,3-oxazol]- β -carbolines (**146-149**), with 30 - 42% yield.

All novel compounds were characterized by their data HR-ESIMS, IR, ^1H and ^{13}C NMR and HSQC.

The synthesized compounds were evaluated against a panel of human tumor cell lines, and towards different microorganisms, including bacteria and fungi.

Among the evaluated compounds, the derivatives 1-(*p*-dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl)- β -carboline (**87b**), 1-phenyl-3-[3-(morpholylmethyl)-2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl]- β -carboline (**92b**) and 1-(*p*-methoxyphenyl)-3-(4-benzylidene-5-oxo-1,3-oxazol-2-yl)- β -carboline (**149**) showed GI_{50} values less than 10 μM , being potential candidate for *in vivo* studies. The antimicrobial assay results showed that all synthesized compounds were inactive, presenting $\text{GI}_{50} > 100 \mu\text{M}$.

In order to select candidates for *in vivo* assays, an *in silico* study of the ADME (absorption, distribution, metabolism and excretion) properties of the novel synthesized β -carboline derivatives was carried out by investigating their Lipinski's parameters, topological polar surface area (TPSA) and percentage of absorption (% ABS).

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura dos compostos β -carbolínicos 1-fenilsubstituído propostos, contendo as unidades: **A)** 1,3,4-oxadiazol-2-ona; **B)** 3-alkilaminometil-1,3,4-oxadiazol-2-ona e **C)** 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona, na posição-3.....3

Figura 2 - Espectro de Absorção do composto **14d** em diferentes molaridades de CT-DNA.....9

CAPÍTULO I

Figura I.1 - Compostos com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona estudados por Ozoe (2000).....32

Figura I.2a - Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto **86b**.....40

Figura I.2b - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, DMSO- d_6) do composto **86b**. ...41

Figura I.2c - Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **86b**.42

Figura I.3a - Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto **87b**.....45

Figura I.3b - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, DMSO- d_6) do composto **87b**. ...47

Figura I.3c - Espectro de RMN de ^{13}C (75,0 MHz, DMSO- d_6) do composto **87b**.48

Figura I.3d - Espectro de massas do composto **87b**.50

Figura I.4a - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, DMSO- d_6) do composto **88a**.55

Figura I.4b - Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **88a**.56

Figura I.4c - Espectro de massas do composto **88a**.59

Figura I.5a - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, DMSO- d_6) do composto **92b**.....60

Figura I.5b - Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **92b**.61

Figura I.5c - Espectro de massas do composto **92b**.62

CAPÍTULO II

Figura II.1 - Composto sintetizado por Rodrigues (2012).95

Figura II.2a - Espectro de RMN de ^1H do derivado 1-fenil-3-[4-(p-metóxi-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol- β -carbolina (**149**). 102

Figura II.2b - Espectro de RMN de ^{13}C do derivado 1-fenil-3-[4-(p-metóxi-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol- β -carbolina (**149**)..... 103

Figura II.2b - Espectro de massas do derivado **149**. 104

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Exemplos de compostos β -carbolínicos 1,3-dissubstituídos sintetizados e avaliados biologicamente por nosso grupo de pesquisa. 15

Quadro 2 - Exemplos de compostos β -carbolínicos-1,3-dissubstituídos, contendo heterociclos na posição-3, sintetizados e avaliados biologicamente em estudos anteriores por nosso grupo de pesquisa. 16

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela I.1 - Dados comparativos de RMN de ^1H e RMN ^{13}C (300,0/75,0 MHz, DMSO- d_6) para 86b e 87b	49
Tabela I.2 - Valores de massa molecular (MM), m/z para o íon molecular (M^+) e m/z de F_1 para os compostos 87a-g	51
Tabela I.3 - Valores de RMN de ^1H /RMN ^{13}C para os grupos 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona dos derivados 89a , 90a e 91a	57
Tabela I.4 - Valores de GI_{50} (μM) da avaliação da atividade antitumoral dos compostos 87a-g	69
Tabela I.5 - Valores de GI_{50} (μM) da avaliação da atividade antitumoral das bases de Mannich 88-92 (a-d)	70
Tabela I.6 - Valores dos dados <i>in silico</i> calculados para os compostos 87-92 (a-d)	74
Tabela I.7 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados 84 a-i	77
Tabela I.8 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados 85 a-g	78
Tabela I.9 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados 86 a-g	79
Tabela I.10 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados 87a-g	80
Tabela I.11 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados 88-92 (a-d)	82

CAPÍTULO II

Tabela II.1 - Avaliação da atividade antitumoral dos compostos **146-149**. Valores de GI_{50} em μM 105

Tabela II.2 - Valores teóricos da regra do “cinco de Lipinski” calculados para os compostos 3-azalactonas- β -carbolinas. 108

Tabela II.3 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados **142 a,g,h**. 110

Tabela II.4 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados **145 a,g,h**. 111

Tabela II.5 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados **144 a,g,h**. 112

Tabela II.6 - Fórmula molecular, massa molecular e rendimentos dos derivados **146-149**. 113

ÍNDICE DE GRÁFICOS

CAPÍTULO I

Gráfico I.1 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-fenil-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87a**).63

Gráfico I.2 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87b**).....64

Gráfico I.3 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(2-clorofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87c**).65

Gráfico I.4 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-dimetilaminofenil)-3-[2-oxo-3-(morfolilmetil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**92b**).66

Gráfico I.5 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-flúorfenil)-3-[2-oxo-3-(butilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**89d**).67

Gráfico I.6 - Valores de “Druglikeness” e “Drugscore” dos derivados 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**88-92 a-d**) e dos seus precursores **87 a-d**.75

CAPÍTULO II

Gráfico II.1 - Gráfico de Crescimento celular (%) *versus* Concentração (μM) para o composto **149**. 106

Gráfico II.2 - Valores de “Druglikeness” e “Drugscore” dos derivados 1-fenilssubstituído 3-[4-(substituído benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol]- β -carbolínicos (**146-149**). 109

ÍNDICE DE ESQUEMAS

CAPÍTULO I

Esquema I.1 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Yale e colaboradores (1954).	28
Esquema I.2 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Stempel e colaboradores (1955).	29
Esquema I.3 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Davidson (1988)	29
Esquema I.4 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mazouz (1990)...	30
Esquema I.5 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mazouz (1990)...	30
Esquema I.6 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Hassan (1997)...	31
Esquema I.7 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Thomposon (1998).....	31
Esquema I.8 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Levins (2008).....	32
Esquema I.9 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Ohmoto (2001). .	33
Esquema I.10 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Sahin (2002)....	33
Esquema I.11 - Síntese de bases de Mannich a partir do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mamolo (2005).....	34
Esquema I.12 - Síntese de bases de Mannich com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Zampieri (2009).	34
Esquema I.13 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Jansen e Dannhardt (2003).	35
Esquema I.14 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Farghaly (2004).	35
Esquema I.15 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Farghaly e El-Kashef (2006).....	36
Esquema I.16 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Yan (2012).....	36
Esquema I.17 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Liu (2012).	37
Esquema I.18 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Debnath (2013)	37
Esquema I.19 - Rota para a síntese dos compostos 1-fenilssubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il) β -carbolínicos (87a-g).....	38

Esquema I.20 - Proposta mecanística para síntese das 1,2,3,4-tetraidro- β -carbolinas via reação de Pictet-Spengler.	39
Esquema I.21 - Intermediário de síntese utilizando cloreto de dimetilcarbamil.	43
Esquema I.22 - Intermediário de síntese utilizando CDI/Dioxano.....	43
Esquema I.23 - Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol)- β -carbolinas (87a-g).....	44
Esquema I.24 - Proposta de fragmentação do massas para os derivados 87 a-g . ..	50
Esquema I.25 - Rota para a síntese dos compostos 1-fenilssubstituído contendo o grupo 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona na posição-3 da unidade β -carbolínica (88-92 a-d).....	52
Esquema I.26 - Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 1-fenilssubstituído 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (88-92 a-d).	53
Esquema I.27 - Fragmentação no espectro de massas do derivado 88a	58

CAPÍTULO II

Esquema II.1 - Rota geral para a síntese de azalactonas.....	86
Esquema II.2 – Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gilbert (2004).....	87
Esquema II.3 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Pasha (2007).....	87
Esquema II.4 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Argade (2008).....	88
Esquema II.5 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Abdel-Aty (2009).....	88
Esquema II.6 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Taile (2009).....	89
Esquema II.7 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Khan (2006).....	90
Esquema II.8 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Hamidian (2013).....	91
Esquema II.9 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Parveen (2013).....	92

Esquema II.10 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Mesaik (2004).....	92
Esquema II.11 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gündoğdu (2010).....	93
Esquema II.12 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Barros (2010).....	94
Esquema II.13 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Shi (2011).....	94
Esquema II.14 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gucký (2009).....	95
Esquema II.15 - Rota sintética proposta para a preparação das 3-azalactonas- β -carbolinas.....	97
Esquema II.16 - Rota sintética para os derivados 3-azalactonas- β -carbolinas sintetizados neste trabalho.....	99
Esquema II.17 - Mecanismo proposto para a formação da unidade 4-(substituído benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona.....	100

ÍNDICE DE ESPECTROS

CAPITULO I

ESPECTROS DE RMN ¹H

ERMN ¹ H-1: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87a	133
ERMN ¹ H-2: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87b	136
ERMN ¹ H-3: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87c	138
ERMN ¹ H-4: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87d	142
ERMN ¹ H-5: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87e	145
ERMN ¹ H-6: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87f	148
ERMN ¹ H-7: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87g	151
ERMN ¹ H-8: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88a	154
ERMN ¹ H-9: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88b	157
ERMN ¹ H-10: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88c	159
ERMN ¹ H-11: Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88d	162
ERMN ¹ H-12: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89a	165
ERMN ¹ H-13: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89b	168
ERMN ¹ H-14: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89c	171
ERMN ¹ H-15: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89d	174
ERMN ¹ H-16: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90a	177
ERMN ¹ H-17: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90b	180
ERMN ¹ H-18: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90c	183
ERMN ¹ H-19: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90d	186
ERMN ¹ H-20: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91a	189
ERMN ¹ H-21: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91b	192
ERMN ¹ H-22: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91c	195
ERMN ¹ H-23: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91d	198
ERMN ¹ H-24: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92a	201
ERMN ¹ H-25: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92b	204
ERMN ¹ H-26: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92c	207
ERMN ¹ H-27: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92d	210

ESPECTROS DE RMN ¹³C

ERMN ¹³ C-1: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87	134
ERMN ¹³ C-2: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87b	137
ERMN ¹³ C-3: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87c	140
ERMN ¹³ C-4: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87d	143

ÍNDICE DE ESPECTROS

ERMN ¹³ C-5: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87e	146
ERMN ¹³ C-6: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO) do composto 87f	149
ERMN ¹³ C-7: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87g	152
ERMN ¹³ C-8: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88a	155
ERMN ¹³ C-10: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88c	160
ERMN ¹³ C-11: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88d	163
ERMN ¹³ C-12: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89a	166
ERMN ¹³ C-13: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89b	169
ERMN ¹³ C-14: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89c	172
ERMN ¹³ C-15: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89d	175
ERMN ¹³ C-16: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90a	178
ERMN ¹³ C-17: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90b	181
ERMN ¹³ C-18: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90c	184
ERMN ¹³ C-19: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90d	187
ERMN ¹³ C-20: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91a	190
ERMN ¹³ C-21: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91b	193
ERMN ¹³ C-22: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91c	196
ERMN ¹³ C-23: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91d	199
ERMN ¹³ C-24: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92a	202
ERMN ¹³ C-25: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92b	205
ERMN ¹³ C-26: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92c	208
ERMN ¹³ C-27: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92d	211

ESPECTROS HSQC

EHSQC-1: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87a	135
EHSQC-2: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87b	138
EHSQC-3: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87c	141
EHSQC-4: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87d	144
EHSQC-5: Espectro HSQC (300 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87e	147
EHSQC-6: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87f	150
EHSQC-7: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 87g	153
EHSQC-8: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88a	156
EHSQC-10: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88c	161
EHSQC-11: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 88d	164
EHSQC-12: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89a	167
EHSQC-13: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89b	170
EHSQC-14: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89c	173
EHSQC-15: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 89d	176
EHSQC-16: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90a	179

ÍNDICE DE ESPECTROS

EHSQC-17: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90b	182
EHSQC-18: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90c	185
EHSQC-19: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 90d	188
EHSQC-20: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91a	191
EHSQC-21: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91b	194
EHSQC-22: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91c	197
EHSQC-23: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 91d	200
EHSQC-24: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92a	203
EHSQC-25: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92b	206
EHSQC-26: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92c	209
EHSQC-27: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 92d	212

ESPECTROS NO INFRAVERMELHO

EIV-1: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87a	134
EIV-2: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87b	137
EIV-3: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87c	140
EIV-4: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87d	143
EIV-5: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87e	146
EIV-6: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87f	149
EIV-7: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 87g	152
EIV-8: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 88a	155
EIV-9: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 88b	158
EIV-10: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 88c	160
EIV-11: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 88d	163
EIV-12: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 89a	166
EIV-13: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 89b	169
EIV-14: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 89c	172
EIV-15: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 89d	175
EIV-16: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 90a	178
EIV-17: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 90b	181
EIV-18: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 90c	184
EIV-19: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 90d	187
EIV-20: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 91a	190
EIV-21: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 91b	193
EIV-22: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 91c	196
EIV-23: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 91d	199
EIV-24: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 29a	202
EIV-25: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 92b	205
EIV-26: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 92c	208
EIV-27: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 92d	211

ESPECTROS DE MASSAS DE BAIXA RESOLUÇÃO

EI-MS- 1: Espectro de massas do composto 87a	135
EI-MS- 2: Espectro de massas do composto 87b	138
EI-MS- 3: Espectro de massas do composto 87c	141
EI-MS- 4: Espectro de massas do composto 87d	144
EI-MS- 5: Espectro de massas do composto 87e	147
EI-MS- 6: Espectro de massas do composto 87f	150
EI-MS- 7: Espectro de massas do composto 87g	153
EI-MS- 8: Espectro de massas do composto 88a	156
EI-MS- 9: Espectro de massas do composto 88b	158
EI-MS- 10: Espectro de massas do composto 88c	161
EI-MS- 11: Espectro de massas do composto 88d	164
EI-MS- 12: Espectro de massas do composto 89a	167
EI-MS- 13: Espectro de massas do composto 89b	170
EI-MS- 14: Espectro de massas do composto 89c	173
EI-MS- 15: Espectro de massas do composto 89d	176
EI-MS- 16: Espectro de massas do composto 90a	179
EI-MS- 17: Espectro de massas do composto 90b	182
EI-MS- 18: Espectro de massas do composto 90c	185
EI-MS- 19: Espectro de massas do composto 90d	188
EI-MS- 20: Espectro de massas do composto 91a	191
EI-MS- 21: Espectro de massas do composto 91b	194
EI-MS- 22: Espectro de massas do composto 91c	197
EI-MS- 23: Espectro de massas do composto 91d	200
EI-MS- 24: Espectro de massas do composto 92a	203
EI-MS- 25: Espectro de massas do composto 92b	206
EI-MS- 26: Espectro de massas do composto 92c	209
EI-MS- 27: Espectro de massas do composto 92d	212

CAPÍTULO II**ESPECTROS DE RMN ¹H**

ERMN ¹H-28: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142a	214
ERMN ¹H-29: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142g	217
ERMN ¹H-30: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142h	219
ERMN ¹H-31: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, CDCl ₃) do composto 145a	222
ERMN ¹H-32: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 145g	225
ERMN ¹H-33: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, CDCl ₃) do composto 145h	228
ERMN ¹H-34: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144a	231
ERMN ¹H-35: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144g	234
ERMN ¹H-36: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144h	237
ERMN ¹H-37: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 146	240
ERMN ¹H-38: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 147	244
ERMN ¹H-39: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 148	247
ERMN ¹H-40: Espectro de RMN de ¹ H (300,0 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 149	251

ESPECTROS DE RMN ¹³C

ERMN ¹³C-28: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142a	215
ERMN ¹³C-29: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142g	218
ERMN ¹³C-30: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 142h	220
ERMN ¹³C-31: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, CDCl ₃) do composto 145a	223
ERMN ¹³C-32: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 145g	226
ERMN ¹³C-33: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, CDCl ₃) do composto 145h	229
ERMN ¹³C-34: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144a	232
ERMN ¹³C-35: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144g	235
ERMN ¹³C-36: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144h	238
ERMN ¹³C-37: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 146	241
ERMN ¹³C-38: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 147	245
ERMN ¹³C-39: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 148	248
ERMN ¹³C-40: Espectro de RMN de ¹³ C/DEPT (75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 149	252

ESPECTROS DE HSQC

EHSQC-32: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl ₃ /DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 145g	227
EHSQC-34: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144a	233
EHSQC-35: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 144g	236
EHSQC-36: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl ₃ /DMSO) do composto 144h	239
EHSQC-37: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 146	242
EHSQC-38: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 147	246
EHSQC-39: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 148	249
EHSQC-40: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) do composto 149	253

ESPECTROS NO INFRAVERMELHO

EIV-28: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 142a	215
EIV-29: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 142g	218
EIV-30: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 142h	220
EIV-31: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 145a	223
EIV-32: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 145g	226
EIV-33: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 145h	229
EIV-34: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 144a	232
EIV-35: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 144g	235
EIV-36: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 144h	238
EIV-37: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 146	241
EIV-38: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 147	245
EIV-39: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 148	248
EIV-40: Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto 149	252

ESPECTROS DE MASSAS DE BAIXA RESOLUÇÃO

EI-MS- 28: Espectro de massas do composto 142a	216
EI-MS- 30: Espectro de massas do composto 142h	221
EI-MS- 31: Espectro de massas do composto 145a	224
EI-MS- 32: Espectro de massas do composto 145g	227
EI-MS- 33: Espectro de massas do composto 145h	230
EI-MS- 34: Espectro de massas do composto 144a	233
EI-MS- 35: Espectro de massas do composto 144g	236
EI-MS- 36: Espectro de massas do composto 144h	239
EI-MS-37: Espectro de massas do composto 146	242
EI-MS-39: Espectro de massas do composto 148	249
EI-MS-40: Espectro de massas do composto 149	253

ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO

EHR-ESI- 37: Espectro de massas de alta resolução do composto 146	243
EHR-ESI- 38: Espectro de massas de alta resolução do composto 147	246
EHR-ESI- 39: Espectro de massas de alta resolução do composto 148	250
EHR-ESI- 40: Espectro de massas de alta resolução do composto 149	254

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Å²	Ângstron ao quadrado
ABS%	Porcentagem de absorção
AcOH	Ácido acético
AcONa	Acetato de sódio
ADME	Absorção, distribuição, metabolismo, excreção
ALH	Aceptores de ligação hidrogênio
ATC	Ácido tricloroacético
BOP	(1H-Benzotriazol-1-yloxy)[tris(dimethylamino)]phosphonium hexafluorophosphate
CDI	1,1-carbonildiimidazol
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDKs	Quinases Dependentes de Ciclinas
CMI	Concentração mínima inibitória
CT-DNA	Calf thymus DNA
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo Dupleto
<i>ddd</i>	Duplo Duplo Dupleto
DCC	N,N' - dicicloexilcarbodiimida
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DLH	Doadores de ligação hidrogênio
DMAP	4-(N,N'-dimetil)aminopiridina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Transferência de Polarização acentuada sem Distorção)
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
Decomp.	Decomposição
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
Eg5	Kinesin-5 (proteína da família quinase)
EtOH	Etanol
EM	Espectro de massas
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IKK	Inhibitor of nuclear factor kappa kinase complex (Inibidor do complexo quinase)
IV	Infravermelho

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

GI₅₀	Concentração do fármaco que causa a inibição de 50% do crescimento celular
J	Constante de acoplamento
m	Multiplete
m/z	Relação massa/carga
MK-2	Proteína Miogênica quinase-2
MHz	Megahertz
MM	Massa Molecular
MilogP	Moriguchi Log P (Coeficiente de partição Octanol/Água)
mmol	Milimol
pen	Penicilina
ppm	Partes por milhão
PLK1	Polo-like kinases 1
Ph	Fenila
TPSA	Topological Polar surface area (área topológica da superfície polar)
Quint.	Quinteto
Rend.	Rendimento
RMN de ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
RMN de ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMCs	Reação Multicomponentes
s	Simpleto
sl	Simpleto Largo
sext.	Sexteto
SFB	Soro fetal bovino
SRB	Sulforrodamina B
strep	Estreptomicina
t. amb.	Temperatura ambiente
t	Triplete
td	Triplete de Duplete
TFA	Ácido Trifluoroacético
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
μM	Micromolar
δ_H	Deslocamento Químico de Hidrogênio em ppm
δ_C	Deslocamento Químico de Carbono-13 em ppm

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE QUADROS	ii
ÍNDICE DE TABELAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	v
ÍNDICE DE ESQUEMAS	vi
ÍNDICE DE ESPECTROS	ix
LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS.....	xvi
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 OBJETIVOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS: ASPECTOS GERAIS	4
3.2 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS COMO AGENTES ANTITUMORAIS.....	5
3.3 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS	10
3.4 TRABALHOS DE NOSSO GRUPO DE PESQUISA.....	14
3.5 ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DOS PARÂMETROS DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO (ADME)	18
4 EXPERIMENTAL GERAL	20
4.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	20
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA OS ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	21
4.3.1 Atividade antitumoral dos compostos	21
4.3.1.1 Linhagens de células utilizadas	21
4.3.1.1.1 <i>Procedimento dos ensaios para a determinação da atividade anticâncer dos compostos</i>	<i>21</i>
4.3.1.1.2 <i>Diluição das amostras</i>	<i>22</i>
4.3.1.1.3 <i>Ensaio da Sulforrodamina B.....</i>	<i>22</i>
4.3.1.2 Análise dos resultados.....	23
4.3.2 Teste de susceptibilidade antimicrobiana	23
4.3.2.1 Teste de susceptibilidade antibacteriana.....	23
4.3.2.2 Teste de susceptibilidade antifúngica	24

CAPÍTULO I: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL)-β-CARBOLÍNICOS E DE SUAS BASES DE MANNICH.....	26
I.1 INTRODUÇÃO.....	27
I.1.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-ONA.....	27
I.1.2 PRINCIPAIS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-ONA E DE SUAS BASES DE MANNICH.....	28
I.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
I.2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL)-β-CARBOLÍNICOS.....	38
I.2.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[2-OXO-3-(ALQUILAMINOMETIL)-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL]-β-CARBOLÍNICOS (BASES DE MANNICH).....	52
I.3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTITUMORAL, ANTIMICROBIANA E ESTUDO <i>IN SILICO</i>.....	63
I.3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL.....	63
I.3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	71
I.3.3 ESTUDOS DOS PARÂMETROS <i>IN SILICO</i> DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DOS DERIVADOS 87-92 (a-d).....	72
I.4 SÍNTESE DOS COMPOSTOS.....	76
I.4.1 SÍNTESE DO TRIPTOFANO METIL ÉSTER (83).....	76
I.4.2 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBOMETÓXI-TETRAIDRO-β-CARBOLINAS (84 a-i).....	77
I.4.3 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBOMETÓXI-β-CARBOLINAS (85 a-i).....	78
I.4.4 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO β-CARBOLINAS-3-CARBOIDRAZIDAS (86 a-g).....	79
I.4.5 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL)-β-CARBOLÍNICOS (87 a-g).....	80
I.4.6 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[2-OXO-3-(ALQUILAMINOMETIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-IL]-β-CARBOLÍNICOS (88-92 a-d)....	81
I.5 CONCLUSÃO.....	83

CAPÍTULO II: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS 3-[4-(SUBSTITUÍDO-BENZILIDENO)-5-OXO-1,3-OXAZOL-2-IL]-β-CARBOLINAS (3-AZALACTONAS-β-CARBOLINAS)	84
II.1 INTRODUÇÃO	85
II.1.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE 1,3-OXAZÓIS-5-ONA	85
II.1.2 PRINCIPAIS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE 4-(SUBSTITUÍDO-BENZILIDENO)-1,3-OXAZÓIS-5-ONA	86
II.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	96
II.2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[4-(SUBSTITUÍDO-BENZILIDENO)-5-OXO-1,3-OXAZOL-2-IL]-β-CARBOLÍNICOS (3-AZALACTONAS-β-CARBOLINAS)	96
II. 3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTITUMORAL, ANTIMICROBIANA E ESTUDO <i>IN SILICO</i>	105
II.3.1 ATIVIDADE ANTITUMORAL	105
II.3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	107
II.3.3 ESTUDOS DOS PARÂMETROS <i>IN SILICO</i> DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DOS DERIVADOS 146-149	108
II.4 PARTE EXPERIMENTAL	110
II.4.1 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXI-β-CARBOLÍNICOS (142 a,g,h)	110
II.4.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXIGLICILETILÉSTER-β-CARBOLÍNICOS (145 a,g,h)	111
II.4.3 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXIGLICILÁCIDO-β-CARBOLÍNICOS (144 a,g,h)	112
II.4.4 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[4-(SUBSTITUÍDO BENZILIDENO)-5-OXO-1,3-OXAZOL-2-IL]-β-CARBOLÍNICOS (146-149)	113
II.5 CONCLUSÃO	114
5. CONCLUSÕES GERAIS	115
6. REFERÊNCIAS	116
7. ANEXOS	131
8. APÊNDICES	255

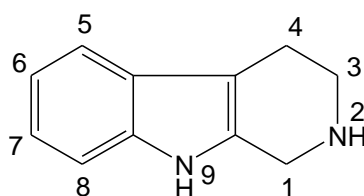
1 INTRODUÇÃO GERAL

O termo câncer é utilizado para representar um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, estas dividindo-se rapidamente invadem tecidos e órgãos, determinando a formação de tumores malignos.^{1,2} Dentre os fármacos anticâncer utilizados na atualidade, destacam-se a vincristina (Oncovin®), utilizada no tratamento de leucemia, o paclitaxel (Taxol®), utilizado no tratamento de câncer de mama e ovário e bevacizumab (Avastin®), usado frente aos tumores de pulmão.

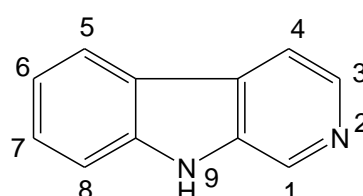
Apesar dos fármacos já existentes, vários tumores sólidos ainda não dispõem de tratamento adequado. O carcinoma de pulmão, que se encontra entre os mais frequentes em todo o mundo, apresenta respostas modestas a todos os quimioterápicos disponíveis.^{3,4} Segundo levantamento do Instituto Nacional de Câncer "José Alencar Gomes da Silva" (INCA), no Brasil, as estimativas para o biênio 2012/2013, apontam para a ocorrência de 518.510 novos casos de câncer, com destaque para os cânceres de pele não melanoma, próstata, pulmão, cólon, reto, estômago, mama, colo do útero e glândula tireoíde.¹

Diante desse cenário, é evidente a necessidade do desenvolvimento de pesquisas de novos agentes antitumorais e antimicrobianos, de fácil absorção e com efeitos colaterais reduzidos.

Os relatos sobre o potencial de alcaloides com os núcleos tetraidro- β -carbolínico (I) e β -carbolínico (II), naturais e sintéticos, no desenvolvimento de agentes parasiticidas,⁵⁻⁸ antivirais,^{9,10} antimicrobianos^{11,12} e, principalmente, o potencial destes como agentes anticâncer¹³⁻²³ nos levaram ao estudo desta classe de compostos.



Tetraidro β -carbolina (I)



β -carbolina (II)

Estudos da literatura sobre a relação estrutura-atividade, baseados na introdução de diferentes substituintes nas posições -1, -2, -3 e/ou -9 do núcleo β -carbolínico, demonstraram a influência destes grupos na síntese de derivados mais ativos e com menor toxicidade.^{17,22} Dentro deste enfoque e, visando o

desenvolvimento de novos agentes antitumorais e antimicrobianos, nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo estudos de síntese e avaliação de atividades biológicas de séries de compostos contendo diferentes substituintes nas posições-1 e -3 dos núcleos tetraidro- β -carbolínico e β -carbolínico.²⁴⁻³³ Os resultados destes estudos apontaram que a introdução de substituintes apropriados nas posições-1 e -3 do esqueleto β -carbolínico, aumentam as atividades antitumoral e antimicrobiana,²⁵ sendo que a presença de heterociclos na posição-3, tais como os grupos 1,3,4-oxadiazol-2-tiona,²⁵ 1,3,4-tiadiazol³³ e 1,2,4-triazol-5-tiona influenciaram significativamente a atividade dos novos derivados sintetizados, levando a compostos com potente atividade antitumoral.

Além dos heterociclos já estudados por nosso grupo,^{24, 25} outros núcleos tais como 1,3,4-oxadiazol-2-ona³⁴⁻³⁶ e 1,3-oxazol-5-ona³⁷⁻³⁸ possuem atividades farmacológicas importantes, podendo ser incorporados como substituintes na posição-3 do esqueleto β -carbolínico, o que resultaria em uma gama de novos derivados β -carbolínicos e na possibilidade de estudar os efeitos de diferentes heterociclos sobre a atividade.

A potencialidade destes núcleos associada às do núcleo β -carbolínico, bem como, o interesse de nosso grupo na obtenção de compostos com maior atividade, levou ao desenvolvimento do presente trabalho, no qual realizou-se a síntese e avaliação das atividades antitumoral e antimicrobiana de 1-fenilssubstituído-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolinas e de suas bases de Mannich (**Capítulo I**) e de 1-fenilssubstituído-3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolinas (**Capítulo II**).

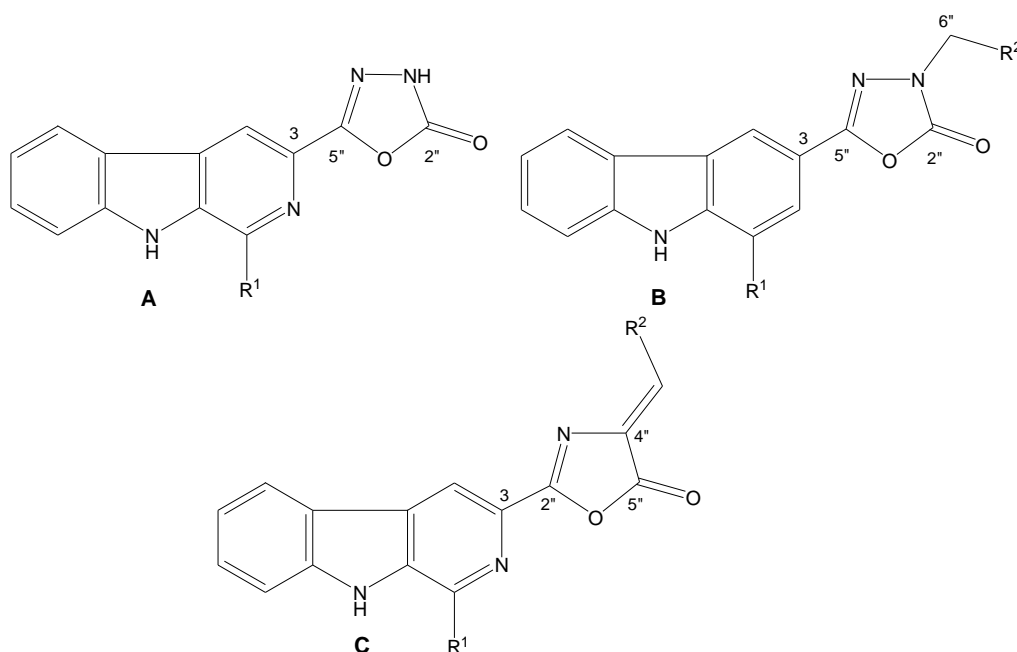
Além disso, para prever o potencial de novos compostos como fármacos, é importante um estudo teórico (*in silico*) sobre os parâmetros relacionados à absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) das novas moléculas antes de ensaios *in vivo*.³⁹⁻⁴⁴ Desta forma, neste trabalho procurou-se avaliar *in silico* os parâmetros de ADME dos novos compostos sintetizados, com o objetivo de pré-selecionar possíveis candidatos a estudos *in vivo*.

2 OBJETIVOS

Devido as atividades biológicas descritas na literatura para os derivados β -carbolínicos e considerando a necessidade de desenvolver novos fármacos antitumorais e antimicrobianos, o trabalho teve como objetivos:

- ✓ Preparar e caracterizar uma série de derivados 1-fenilssubstituído-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**Figura 1A**);
- ✓ Preparar e caracterizar uma série de derivados 1-fenilssubstituído-3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**Figura 1B**);
- ✓ Preparar e caracterizar uma série de derivados 1-fenilssubstituído-3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolínicos (**Figura 1C**);
- ✓ Realizar ensaios biológicos para avaliar as atividades anticâncer, antibacteriana e antifúngica dos novos compostos;
- ✓ Realizar estudos de absorção e distribuição *in silico* de todos os novos compostos;
- ✓ Realizar estudos de relação estrutura/atividade dos compostos β -carbolínicos sintetizados.

Figura 1 - Estrutura dos compostos β -carbolínicos 1-fenilssubstituído propostos, contendo as unidades: **A**) 1,3,4-oxadiazol-2-ona; **B**) 3-alquilaminometil-1,3,4-oxadiazol-2-ona e **C**) 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona, na posição-3.



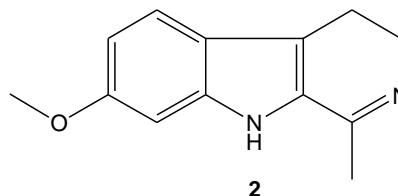
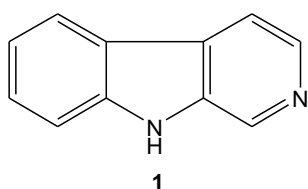
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na revisão bibliográfica a seguir são abordados: **a)** alguns aspectos gerais sobre compostos β -carbolínicos; **b)** os principais estudos descritos sobre a síntese e atividade antitumoral e antimicrobiana de compostos β -carbolínicos, sendo estas as atividades avaliadas para os compostos sintetizados neste trabalho; **c)** as pesquisas anteriores de nosso grupo relacionadas aos objetivos do presente trabalho e uma breve descrição sobre parâmetros *in silico* utilizados na busca de novos fármacos.

3.1 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS: ASPECTOS GERAIS

O isolamento e a síntese de compostos tetraidro- β -carbolínicos e β -carbolínico vem sendo alvo de estudos por pesquisadores do mundo todo, devido ao vasto espectro de funções bioquímicas e farmacológicas demonstrado para essa classe de alcaloides.^{17,45,46}

Os primeiros alcaloides conhecidos desta classe foram nor-harmana (**1**) e harmalina (**2**), isolados da planta *Peganum harmala* (Zygophillaceae, Syrian Rue) utilizada na medicina popular do norte da África como abortiva.^{12,17,47,48}



Esta classe de compostos apresenta uma gama de atividades farmacológicas, tais como alucinógena, hipnótica, sedativa, anti-inflamatória,⁴⁹ antimicrobiana,^{11,12} antiviral,^{9,10} antifilarial,⁶ antitrombótica,⁷ antitripanossômica,^{50, 51} antileishmania^{5, 8} e no tratamento de Alzheimer.⁵²⁻⁵⁴

Outros estudos apontam atuação também sobre sistemas enzimáticos: topoisomerase I e II,^{55, 56} além da ação inibidora sobre IKK,⁵⁷ CDKs,^{58,59} MK-2,⁶⁰ PLK1,⁶¹ Eg5⁶² e mono-oxigenases⁶³ e interação com receptores benzodiazepínicos e 5-hidróxi-serotoninícos.^{17, 64}

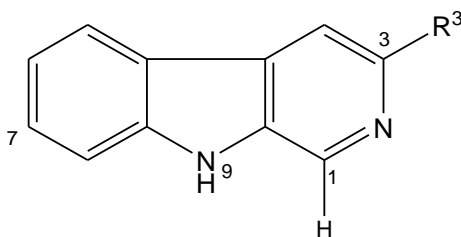
Além das atividades citadas acima, trabalhos recentes apontam os alcaloides β -carbolínicos como uma nova classe de potenciais agentes antitumorais.^{13, 17, 20, 65-67}

3.2 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS COMO AGENTES ANTITUMORAIS

Dos vários trabalhos sobre a atividade antitumoral de β -carbolinas, destacam-se aqueles descritos por Cao e colaboradores¹³⁻²⁰ os quais relatam a síntese de compostos com diferentes substituintes nas posições-1, -2, -3, -7 e -9 da unidade β -carbolínica e a avaliação da atividade antitumoral frente diversas linhagens de células tumorais humanas.

Dentre os trabalhos de síntese de compostos β -carbolínicos, encontra-se a descrição da síntese da nor-harmana (**1**),¹⁴ composto sem substituintes no núcleo β -carbolínico, o qual apresentou atividade citotóxica significativa frente as células tumorais de pulmão (PLA-801) com valor de concentração inibitória de 50% do crescimento das células tumorais, isto é, IC₅₀ de 17 μ M.¹⁴

Dentro da série dos compostos β -carbolínicos **3a-h**, com diferentes substituintes na posição-3 do esqueleto β -carbolínico, o composto **3f** foi o mais ativo com IC₅₀ de 80 μ M, 84 μ M e 86 μ M frente às células tumorais de fígado (HepG2), gástricas (BGC-823) e cervical (Hela), respectivamente.¹⁴



3a) R³=COOCH₂CH₃

3b) R³=CONHNH₂

3c) R³=NH₂

3d) R³=NHCOOCH₃

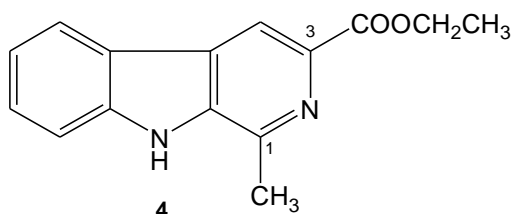
3e) R³=NHCOOCH₂CH₃

3f) R³=CONHCH₂CH₂NH₂

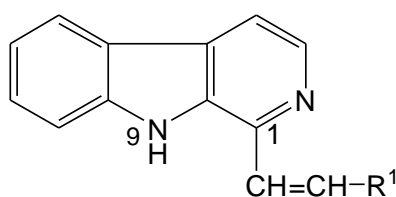
3g) R³=CH₂OH

3h) R³=CH₂OOCCH₃

Cao e col. (2005) ¹⁴ também sintetizaram compostos com uma metila na posição-1 e diferentes grupos na posição-3. O composto mais ativo foi o contendo o grupo 3-carboetóxi (**4**) com IC₅₀ de 83 µM frente células cólon (LOVO) e 86 µM frente células de fígado (HepG2).



A presença de diferentes grupos alilsubstituídos na posição-1 da unidade β-carbolínica, resultou em compostos com elevada atividade antitumoral, tais como **5a** e **5c**, que apresentaram valores de IC₅₀ de 7,8 µM e 5,7 µM, respectivamente, frente as células de carcinoma renal (769-P). ¹⁸



5a R¹=C₆H₅

5c R¹=C₆H₂(3,4,5-trimetóxi)

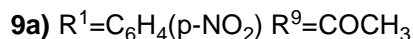
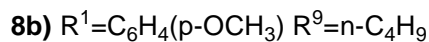
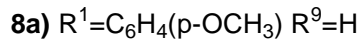
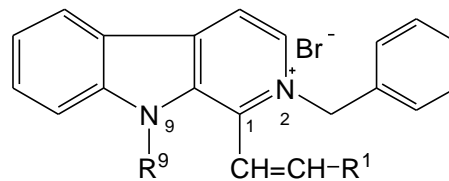
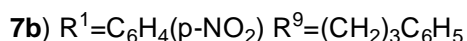
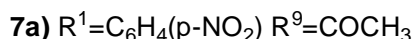
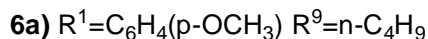
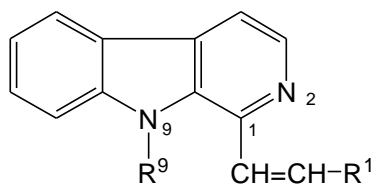
5b R¹=C₆H₄(p-OCH₃)

5d C₆H₄(p-NO₂)

Por outro lado a adição de substituintes na posição-9 dos derivados **5b** e **5d** resultou nos compostos **6** - **7** (**a-b**) enquanto a formação do sal na posição-2 forneceu os compostos **8a-c** e **9a**.

Após avaliação in vitro observou-se que os derivados **8a** e **9a** foram ativos com valores de IC₅₀ de 4,9 µM frente carcinoma renal (769-P) e 5,2 µM frente ao carcinoma gástrico (BGC-823), respectivamente. ¹⁸

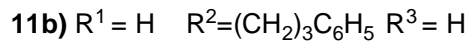
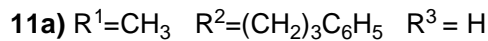
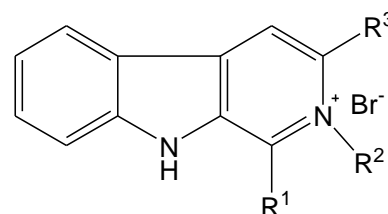
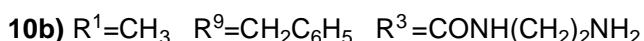
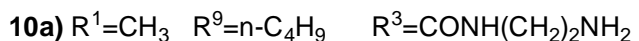
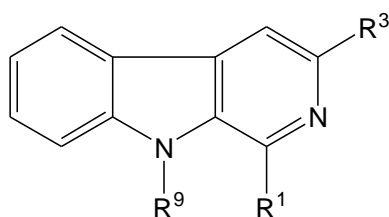
O composto **8c** foi o mais ativo com IC₅₀ de 0,46 - 4,6 µM frente à todas as linhagens de células testadas, com destaque frente as células de carcinoma gástrico (BGC-823), melanoma maligno (A375) e carcinoma epidermóide oral (KB) apresentando valores de IC₅₀ inferiores a 1 µM para essas linhagens. ¹⁸



Cao e col. (2010)¹⁹ com o auxílio de estudos 3D-QSAR selecionaram os compostos **10 - 11 (a-b)** como promissores agentes anticâncer.

Ao sintetizar os compostos **10a** e **10b** e avalia-lós frente diferentes células tumorais, estes apresentaram valores de IC_{50} de 7,5 μM e 4,7 μM , respectivamente, frente às células tumorais de mama (MCF-7).

Por outro lado, os compostos **11a** e **11b**, sem substituinte na posição-9 e com o grupo fenilpropil na posição-2, apresentaram IC_{50} de 3,5 μM e 7,1 μM para células tumorais gástricas (BGC-823).¹⁹



A síntese e estudos de relação estrutura-atividade de compostos β -carbolínicos com os grupos carboxamida e amina na posição-1, sugeriram que o grupo amina (**12a-f**) é o grupo bioisótero apropriado e que a introdução de um grupo alquilaril na posição-9 potencializa o efeito citotóxico destes derivados, destacando-se o potencial antiproliferativo do composto **12e**, o qual apresentou IC_{50} de 2,2 μM , 2,9 μM e de 4,0 μM , frente às células tumorais renais (769-P), de

Atualmente, o uso de Docking Molecular possibilita uma pré-seleção de compostos com provável atividade antitumoral, direcionando a síntese. Dentro deste enfoque, Wu e colaboradores (2010)⁷¹ sintetizaram e avaliaram a atividade de dezoito compostos 1,3,9-substituídos (**14a-r**).

A avaliação da atividade antitumoral *in vitro*, frente a cinco linhagens de células tumorais, e testes *in vivo* (indução de tumor sólido com células S180 em ratos) indicou que o composto **14o** apresentou IC₅₀ de 11,1 μM frente às células tumorais humanas de melanoma (B16) e, no teste *in vivo*, este foi mais eficiente que o padrão citarabina.⁷¹

Os dados obtidos dos espectros de UV (**Figura 2**), a partir dos ensaios com CT-DNA, sugeriram que o mecanismo de ação desses compostos é em parte por intercalação no DNA. A análise por estudos de 3D-QSAR demonstrou que a atividade *in vivo* tem significativa dependência eletrostática e estérica do grupo aminoácido terminal.⁷¹

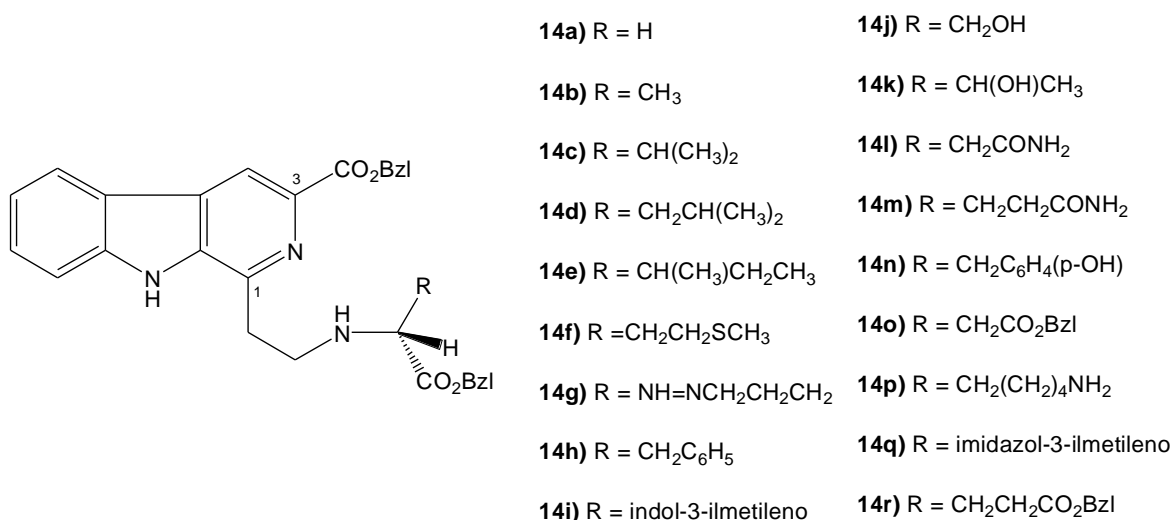
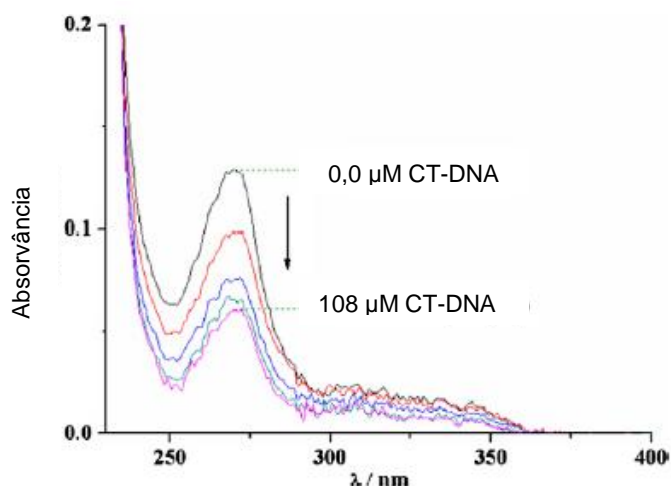


Figura 2 - Espectro de Absorção do composto **14d** em diferentes molaridades de CT-DNA.



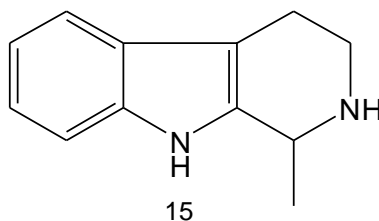
Esses estudos sobre mecanismo de ação indicaram que as β -carbolinas podem intercalar entre a hélice do DNA causando danos ao DNA, ou seja, atuam como intercaladores do DNA. Os estudos mostraram uma correlação direta entre a habilidade de intercalação ao DNA e a citotoxicidade.^{69, 70}

3.3 COMPOSTOS β -CARBOLÍNICOS COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS

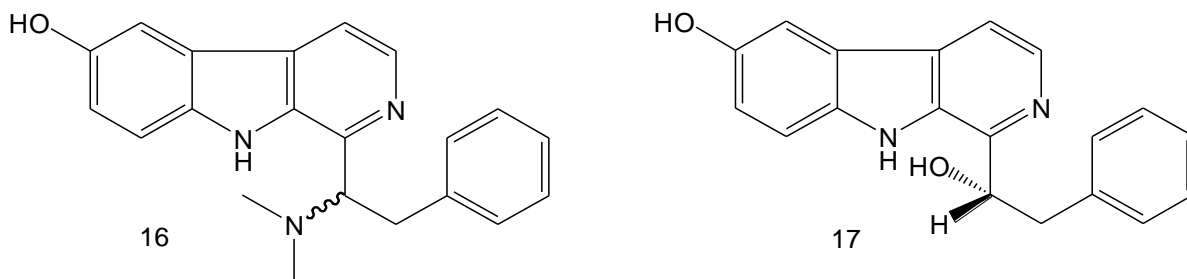
Há centenas de antibióticos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias, sem ter efeitos tóxicos para o homem ou animal. Apesar disto, muitas bactérias se tornaram resistente aos medicamentos já existentes sendo necessário novos medicamentos antimicrobianos eficientes.^{72, 73}

Dentre as várias classes de agentes com propriedades antimicrobianas encontram-se os alcaloides β -carbolínicos.⁷⁴

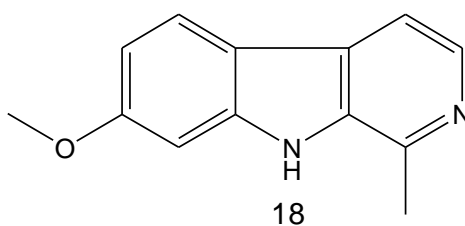
A substância 1-metil-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolina (**15**) isolada por extração ácido-base dos galhos de *Calycorectes psidiiflorus* por Domingues e col. (2010), apresentou-se “moderadamente ativa” frente ao fungo *Candida tropicalis*.⁷⁵



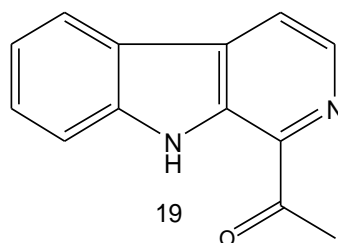
Além disso, as eudistominas X e W foram isoladas de *Eudistoma sp.* e avaliadas quanto a atividade antimicrobiana. A eudistomina X (**16**) apresentou propriedade antibacteriana frente às bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e atividade fungicida frente a *Candida albicans*, enquanto a eudistomina W (**17**) foi seletiva, possuindo atividade frente ao fungo *C. albicans* mas não apresentou atividade antibacteriana.⁷⁶



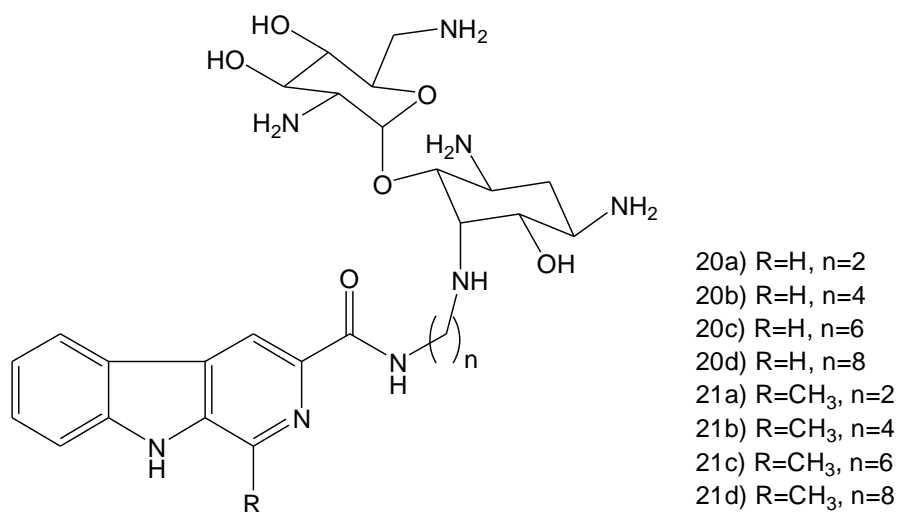
Alcaloides β -carbolínicos isolados de *Peganum harmala L.* foram avaliados frente às bactérias *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* e *Proteus vulgaris* e frente aos fungos *Aspergillus niger* e *Candida albicans*. A harmina (**18**) foi o composto mais ativo frente a *P. vulgaris*, *B. subtilis* e *C. albicans* com zona de inibição entre 21,2 mm e 24,7 mm.¹²



Em 2010, Shin e colaboradores⁷⁷ isolaram o composto 1-acetil- β -carbolina (**19**) de um fungo actinomiceto marinho. Este composto exibiu concentração mínima inibitória (CMI) de 64 $\mu\text{g/mL}$ frente às bactérias patogênicas gram-positivas *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina, *Enterococcus faecalis*, *B. subtilis* e valor de CMI = 128 $\mu\text{g/mL}$ frente às bactérias gram-negativas *E.coli* e *Klebsiella pneumonia*, *Legionella birminghamensis* e *Pseudomonas aeruginosa*.⁷⁷

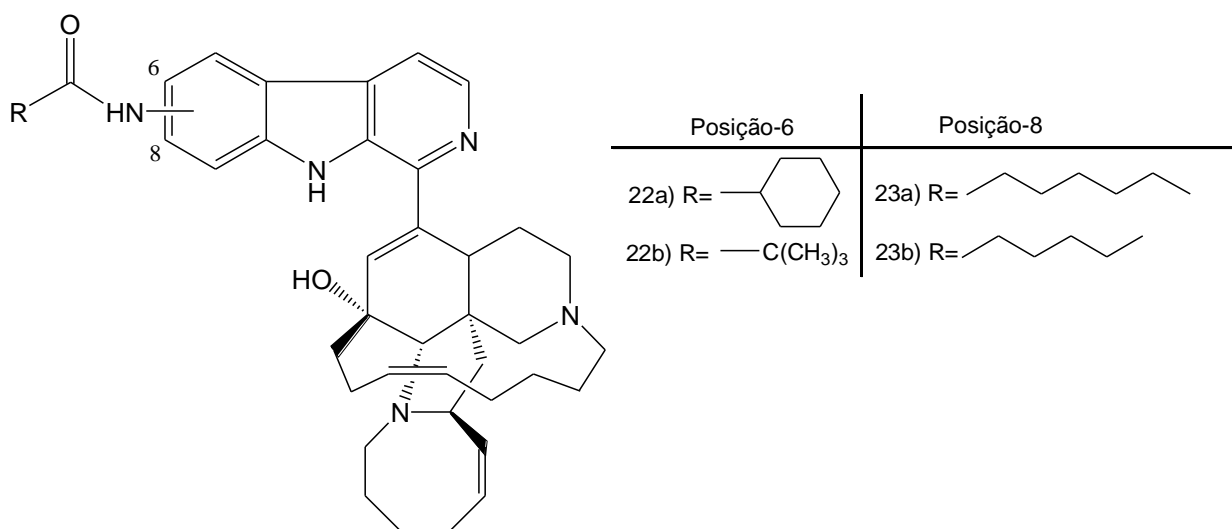


Wu e col. (2010)¹¹ sintetizaram β -carbolinas conjugadas com neaminas e a atividade antibacteriana foi avaliada frente a *P. aeruginosa*, sendo que os compostos **20a**, **20d** e **21d** foram os mais ativos.

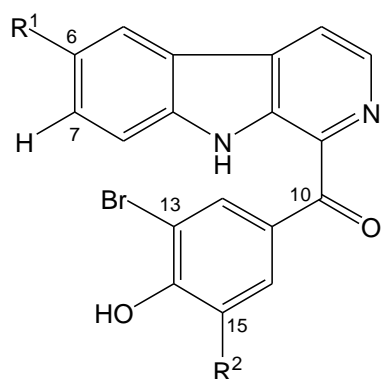


A atividade antimicrobiana *in vitro* de uma série de manzaminas modificadas na posição-6 e 8, pela introdução de grupos amidas, foi investigada frente *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium intracellulare* e *Aspergillus fumigatus*.⁷⁸ Dentre os compostos com substituintes na posição-6, os derivados cicloexamidamanzamina 6-A (**22a**) e pivalamidamanzamina 6-A (**22b**) demonstraram as melhores atividades frente a *M. intracellulare*, com valores de IC₅₀ de 1,26 µM e 1,54 µM, respectivamente.

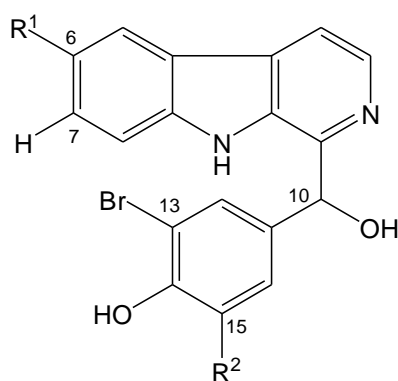
O derivado 8-n-octamidamanzamina A (**23a**) foi ligeiramente mais potente que manzamina (IC₅₀ = 0,508 µM) e o composto 8-n-hexamidamanzamina A (**23b**) foi o mais potente dentre todos com um IC₅₀ de 0,030 µM.⁷⁸



As β -carbolinas (**24a-c**) da classe das eudistominas Y foram isoladas e quimicamente convertidas aos derivados **25a-c**. A avaliação destes compostos frente a diferentes microrganismos (*S. aureus*, *B. subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, *E. coli*, *A. fumigatus*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *C. albicans*) mostrou que os compostos **24a-c**, com um grupo carbonila em C-10, exibiram atividades antibacteriana superiores aos compostos **25a-c**, que contêm um grupo hidroxila na mesma posição.⁷⁹



24a) R¹=Br, R²=H
 24b) R¹=H, R²=Br
 24c) R¹=Br, R²=Br



25a) R¹=Br, R²=H
 25b) R¹=H, R²=Br
 25c) R¹=Br, R²=Br

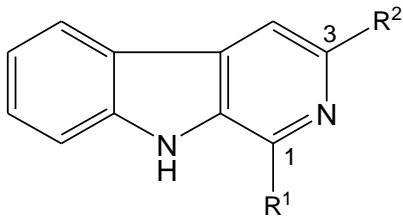
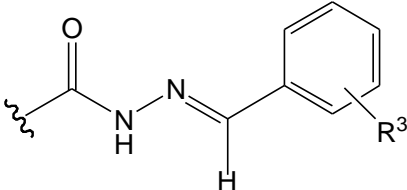
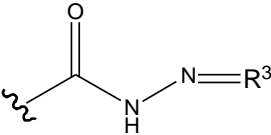
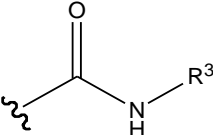
3.4 TRABALHOS DE NOSSO GRUPO DE PESQUISA

Nosso grupo de pesquisa vem desde 2003, trabalhando com a síntese e atividade biológica de compostos β -carbólicos contendo grupos fenilsubstituído na posição-1 da unidade β -carbólica e diferentes grupos na posição-3.

Formagio (2008)⁸⁰ e Tonin (2009)³³ sintetizaram derivados β -carbólicos com os grupos benzilidenocarboidrazida (**26**),²⁸ alquilidenocarboidrazida (**27**),²⁶ e alquilcarboxamida (**28**)³² na posição-3, conforme ilustrado no **Quadro 1**.

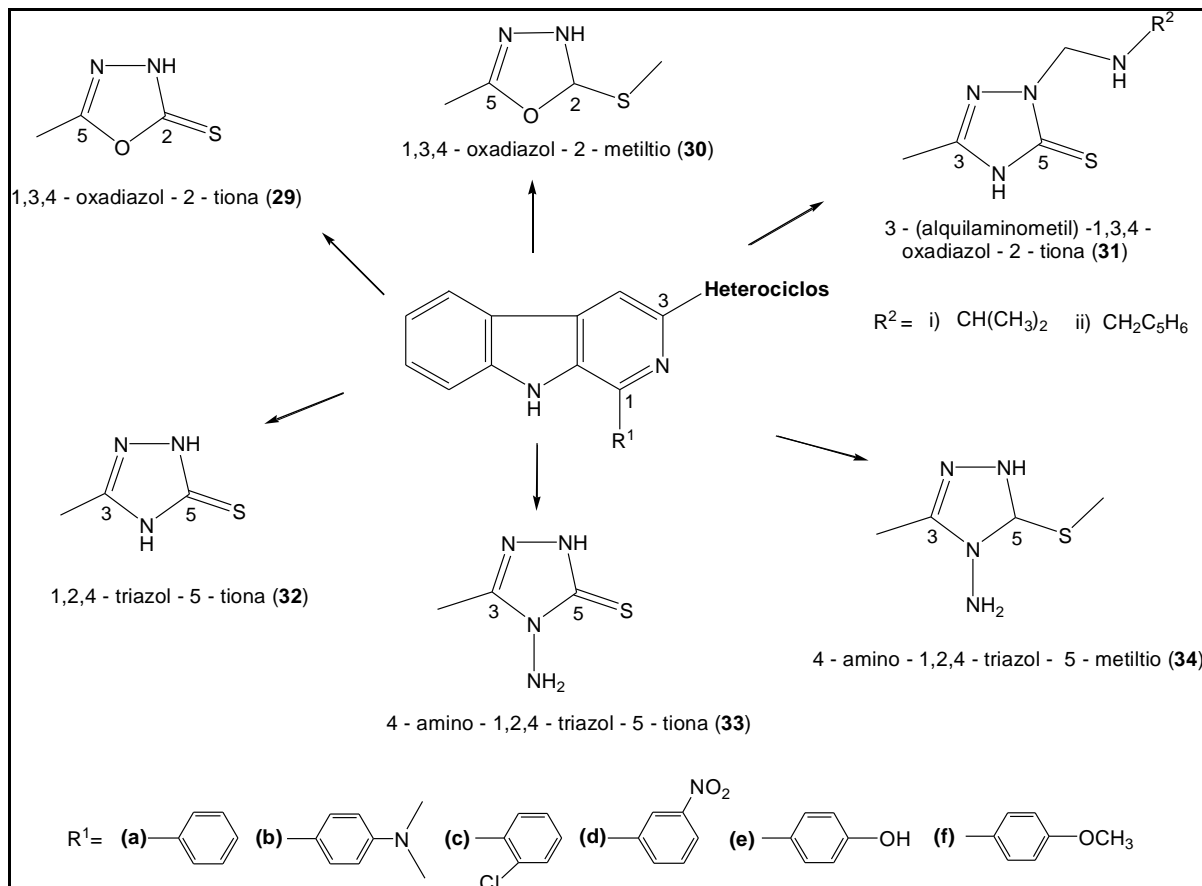
Os compostos sintetizados apresentaram atividade antitumoral frente a diversas linhagens de células tumorais humanas com valores de GI₅₀ inferiores a 10 μ M (**Quadro 1**).

Quadro 1 - Exemplos de compostos β -carbolínicos 1,3-dissubstituídos sintetizados e avaliados biologicamente por nosso grupo de pesquisa.

		
R^2	Substituintes nas posições R^1/R^3	Células tumorais Valor de GI_{50}
 <p>Benzilidenocarbohidrazida (26)</p>	$R^1 = 3$ -nitrofenil $R^3 = p$ -N(CH ₃) ₂ $R^1 = p$ -metóxi fenil $R^3 = o$ -Cl	Rim (786-0) $GI_{50} = 0,04 \mu M$ Ovário (OVCAR-03) $GI_{50} = 0,19 \mu M$ Pulmão (NCI-460) $GI_{50} = 1,43 \mu M$ Colo (HT-29) $GI_{50} = 1,26 \mu M$
 <p>Alquilidenocarbohidrazida (27)</p>	$R^1 = p$ -hidróxi fenil $R^3 =$ cicloexil $R^1 = o$ -clorofenil $R^3 =$ ciclopentil	Melanoma (UACC-62) $GI_{50} = 7,86 \mu M$ Mama (MCF-7) $GI_{50} = 7,37 \mu M$
 <p>Alquilcarboxamida (28)</p>	$R^1 = m$ -metóxi(p -hidróxi)fenil/ $R^3 =$ benzil $R^1 =$ fenil/ $R^3 =$ pirrolidina	Pulmão (NCI-460) $GI_{50} = 0,04 \mu M$ Ovário res.(NCI-ADR/RES) $GI_{50} = 0,04 \mu M$ Pulmão (NCI-460) $GI_{50} = 0,10 \mu M$ Leucemia (K-562) $GI_{50} = 0,20 \mu M$

Compostos β -carbolínicos com anéis heterocíclicos na posição-3, tais como 1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**29**),²⁴ 1,3,4-oxadiazol-2-metiltio (**30**),²⁴ 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**31**),²⁵ 1,2,4-triazol-5-tiona (**32**),³³ 1,2,4-triazol-4-amino-5-tiona (**33**)³³ e 1,2,4-triazol-4-amino-5-metiltio (**34**),³³ mostrados no **Quadro 2**, foram também sintetizados e avaliados frente a células tumorais humanas.

Quadro 2 - Exemplos de compostos β -carbolínicos-1,3-dissubstituídos, contendo heterociclos na posição-3, sintetizados e avaliados biologicamente em estudos anteriores por nosso grupo de pesquisa.



Os compostos contendo o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**29**)^{24,80} na posição-3 da unidade β -carbolínica e diferentes grupos fenilssubstituídos na posição-1, apresentaram potente atividade antitumoral. Dentre estes os derivados contendo os grupos *m*-nitrofenil (**29d**) e *p*-hidróxifenil (**29e**), na posição-1 da β -carbolina, foram ativos e altamente seletivos frente as células de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com GI₅₀ de 0,45 μ M e 0,37 μ M, respectivamente.

Os compostos contendo o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-metiltio (**30**)^{24,33} e os grupos fenil (**30a**) e *o*-clorofenil (**30c**) na posição-1, apresentam atividade antitumoral frente as células de leucemia (K-562) com valores de GI₅₀=0,43 μ M e GI₅₀=0,17 μ M, respectivamente, e com forte atividade para as células de ovário (OVCAR-03) com GI₅₀ de 0,01 μ M.

Os derivados 2-tioxo-3-(isopropilaminometil)-1,3,4-oxadiazol- β -carbolínicos (**31bi**) e 2-tioxo-3-(benzilaminometil)-1,3,4-oxadiazol β -carbolínicos (**31bii**), ambos

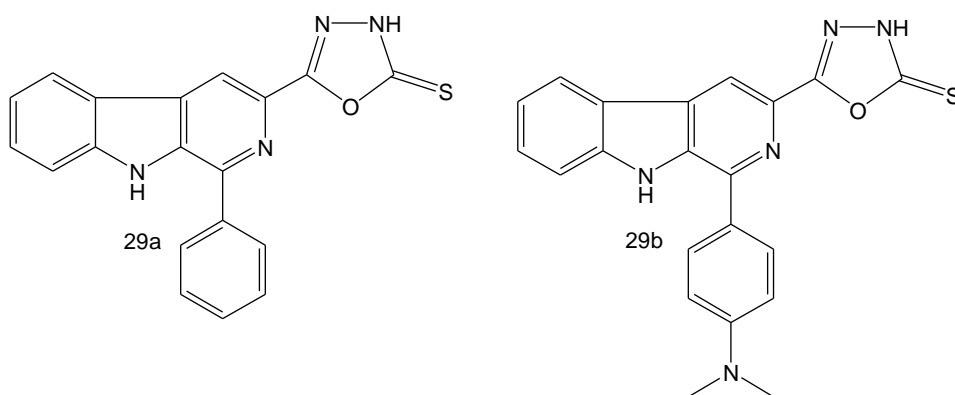
com o grupo 4-N,N-dimetilaminofenil na posição-1, apresentaram atividade frente as células tumorais de pulmão (NCI-460) com GI_{50} de 1,01 μM e 1,28 μM . O derivado **31bii** apresentou alta seletividade, inibindo o crescimento da cultura de células renal (786-0) com valores de GI_{50} de 0,38 μM .²⁵

Entre os compostos com o núcleo 1,2,4-triazol-5-tiona (**32**),³³ os derivados com os grupos *p*-dimetilaminofenil (**32b**) e *p*-hidróxifenil (**32e**) foram ativos frente as células tumorais de rim (786-0) com valores de GI_{50} de 0,04 μM e 0,17 μM , respectivamente.

Entre os compostos com o núcleo 4-amino-1,2,4-triazol-5-tiona (**33**), os derivados com os grupos *p*-dimetilaminofenil (**33b**) e *p*-hidróxifenil (**33e**) na posição-1, foram ativos frente as células tumorais de rim (786-0) e pulmão (NCI-H460) com valores de IC_{50} inferiores a 1,0 μM .

Os compostos com o núcleo 4-amino-1,2,4-triazol-5-metiltio (**34**) e os grupos fenil (**34a**) e *o*-clorofenil (**34c**), apresentaram atividade frente as células tumorais de leucemia (K-562), com valores de GI_{50} 2,04 μM e 1,92 μM , respectivamente.

Os compostos com o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiona na posição-3, foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana e o composto **29a** contendo o grupo fenil na posição-1 foi ativo perante as bactérias *Bacillus subtilis*, *S. aureus* e ao fungo *Candida albicans* com valores de concentração mínima inibitória (CMI) de 7,8, 62,5 e 15,6 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. O derivado **29b** contendo o grupo *p*-dimetilaminofenil na posição-1 mostrou-se ativo frente às bactérias *B. subtilis* e *S. aureus* com valores de CMI de 31,2 $\mu\text{g/mL}$.⁸⁰



Devido aos resultados destes estudos observa-se que a introdução de substituintes apropriados nas posições-1 e -3 do esqueleto β -carbólico aumentam a atividade antitumoral e antimicrobiana dos derivados β -carbólicos.

3.5 ANÁLISE *IN SILICO* DOS PARÂMETROS DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO (ADME)

Nos estágios iniciais da pesquisa envolvendo a busca de novos fármacos, a previsão dos processos farmacocinéticos de novas substâncias é de extrema importância. A otimização das propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME) através de modificações moleculares de compostos promissores, é essencial na seleção dos candidatos com maiores probabilidades de não serem abandonados, mais adiante, na fase clínica, uma vez que o fracasso na fase clínica representa grandes perdas de tempo e dinheiro.⁴¹

Uma substância precisa, para produzir seu efeito esperado, estar presente em concentrações apropriadas no local de atuação específico. Além da quantidade ministrada, as concentrações obtidas dependem da velocidade de absorção, distribuição, ligações e/ou localização nos tecidos, biotransformação e eliminação desta substância. Estas concentrações, por sua vez, estão diretamente correlacionada com a passagem da substância por membranas celulares.⁴²

Resumidamente as propriedades de ADME dizem respeito á:

Absorção: é a passagem do fármaco do local em que foi administrado para a circulação sistêmica. Constitui-se do transporte da substância através das membranas biológicas.

Distribuição: é a passagem de um fármaco da corrente sanguínea para os tecidos. A distribuição é afetada por fatores fisiológicos e pelas propriedades físico-químicas da substância.

Metabolismo: é a transformação do fármaco em outra(s) substância(s), por meio de alterações químicas. A biotransformação ocorre principalmente no fígado, nos rins, nos pulmões e no tubo gastrointestinal.

Excreção: as substâncias são eliminadas do organismo tanto na forma inalterada como sob a forma de metabólitos. A eliminação ocorre por diferentes vias e varia conforme as características físico-químicas da substância a ser excretada.

Estudos *in silico* dos parâmetros de ADME e de toxicidade são realizados em etapas preliminares do processo de desenvolvimento de fármacos, com o intuito de economizar tempo e direcionar o estudo dos novos compostos.⁴⁰

Os estudos *in silico* mais simples envolvem a análise dos dados da “regra do cinco” de Lipinski,^{43,44} o cálculo da área topológica da superfície polar (TPSA),⁴⁴ os

dados de “druglikeness” e de “drugscore”. Para obter esses dados podem ser utilizados programas gratuitos tais como Molinspiration⁴³ e Osiris.⁴⁴

A “regra do cinco de Lipinski” estabelece que para um composto administrado por via oral ter uma boa absorção ou permeabilidade, o mesmo deverá satisfazer os seguintes critérios.⁴⁰

a) Número de grupos doadores de ligação hidrogênio (DLH), tais como n-OH, NH, (DLH) ≤ 5 ;

b) Número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (ALH), tais como n=O, (ALH) ≤ 10 ;

c) Massa molecular (MM) < 500 ;

d) Coeficiente de partição octanol/água (milogP) < 5 .

Moléculas com mais de uma violação das regras podem ter problemas com a biodisponibilidade.

A área de superfície polar (PSA) é um fator que pode ser considerado na análise da permeabilidade celular. Valores inferiores a 140 Å² indicam uma boa permeabilidade do fármaco na membrana plasmática celular.³⁹ A porcentagem de absorção pode ser estimada usando a equação: % ABS = 109 – 0.345 x TPSA, de acordo com Zhao e col.³⁹

O LogS determina a solubilidade do composto em água. A solubilidade do composto afeta significativamente a sua absorção e distribuição. Normalmente uma baixa solubilidade leva a uma má absorção. O valor de LogS é um valor estimado da solubilidade do composto medida em mol.L⁻¹. A maioria dos medicamentos comerciais possuem LogS maior do que -4 mol.L⁻¹.⁴⁰

Para determinar a pontuação global como fármaco (drugscore) os compostos são avaliados através do programa Osiris.⁴⁴ Os valores positivos de “drugscore” entre 0,1 e 1,0 indicam que a molécula contém predominantemente grupos farmacofóricos, que são frequentemente presentes em medicamentos comerciais. O valor de “drugscore” combina registros de “druglikeness”, cLogP, LogS, peso molecular e riscos de toxicidade em um único valor prático que pode ser utilizado para prever o potencial global dos compostos como candidatos a novos fármacos.⁴⁴

4 EXPERIMENTAL GERAL

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro VARIAN modelo Mercury Plus (Palo Alto, Califórnia, USA), operando a 300,0 MHz para ^1H e 75,5 MHz para ^{13}C tendo como referência interna o tetrametilsilano (TMS). Os deslocamentos químicos foram obtidos em ppm e o solvente utilizado foi DMSO- d_6 . A interpretação dos dados foi realizada com ajuda da técnica de DEPT, em $\text{CH}_3/\text{CH} =$ sinal positivo (+), $\text{CH}_2 =$ sinal negativo (-), C_0 (não ligado a hidrogênio) = sinal de intensidade zero e técnica bidimensional de HSQC.

Os espectros de absorção na região do IV foram registrados em um espectrofotômetro BOMEN, modelo MB-100 (Quebec, Canadá), em pastilha de KBr, na região de 400 a 4000cm^{-1} . Utilizou-se absorção em 1601cm^{-1} de um pastilha de poliestireno como referência.

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho Micro-Química modelo MQAPF-301.

Os espectros de massas de baixa resolução (**EI-MS**) foram obtidos em um equipamento Focus-DSQ II Thermoelectron Corporation (Austin, USA). Os espectros de massas de alta resolução (**HR-ESI**) foram obtidos em um aparelho Q-Tof Micromass (Manchester, UK), no Instituto de Química da UNICAMP.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) foi utilizada sílica gel 60 (GF 254) (0,063 – 0,200mm) da Merck. As eluições foram feitas em solventes orgânicos puros ou combinados. As revelações das placas foram obtidas por irradiação com lâmpada ultravioleta em 254/366nm, iodo ressublimado e reagente de Dragendorff.

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas em coluna de vidro, utilizando-se sílica gel 60 (0,063 – 0,200mm) da Merck. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser cromatografada. As eluições foram feitas em solventes orgânicos puros ou combinados em ordem crescente de polaridade e as frações coletadas foram evaporadas, à pressão reduzida, em evaporador rotativo.

4.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA OS ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.3.1 Atividade antitumoral dos compostos

A avaliação da atividade anticâncer foi realizada no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP sob responsabilidade dos professores Dr. João Ernesto de Carvalho, Dra. Mary Ann Foglio e Dra. Ana Lúcia T. G. Ruiz.

4.3.1.1 Linhagens de células utilizadas

As linhagens de células utilizadas na avaliação da atividade anticâncer foram cedidas pelo National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos da América (EUA). Todos os procedimentos foram realizados segundo metodologia descrita por Monks e col.⁸¹ As culturas de células tumorais humanas utilizadas foram: Mama (MCF-7), Glioma (U251), Ovário resistente (NCI-ADR/RES) (linhagem com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos), Pulmão (NCI-H460), Ovário (OVCAR-03), Cólon (HT-29), Próstata (PC-3) e Melanoma (UACC-62), sendo que todos os tipos de culturas são de linhagens aderidas.

A linhagem de células renais normais de macaco verde (VERO) foi obtida do banco de células do Rio de Janeiro.

As células foram mantidas em 5 mL do meio de cultura RPMI-1640 (GIBCO BRL) suplementando com 5% de soro fetal bovino (SFB, GIBCO) a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂ e penicilina: estreptomicina (1000 µg/L:1000 U/L, 1 mL/L) foram adicionados aos meios de cultura durante os experimentos.

4.3.1.1.1 Procedimento dos ensaios para a determinação da atividade anticâncer dos compostos

Foram plaqueados 100 µL/compartimento das células tumorais, nas suas respectivas densidades de inoculação, nos compartimento das placas de 96 compartimentos, em meio de cultura RPMI-1640 suplementando com 5% de soro fetal bovino (SFB) e penicilina: estreptomicina (meio RPMI/SFB/pen:strep). Estas placas foram incubadas por 24 horas, a 37°C em atmosfera de 5% de CO₂ e 100%

de umidade. Para cada linhagem foi utilizado um número estipulado de placas, além da placa T₀ (placa controle), dependendo da quantidade de células obtidas na contagem.

4.3.1.1.2 *Diluição das amostras*

As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 0,1g/mL resultando em soluções estoques. Estas soluções foram diluídas 40 vezes em meio RPMI/SFB/pen:strep. Foram adicionadas 100 µL/compartimento da solução dos compostos nos compartimento das placas de 96 compartimentos, exceto na T₀, nas concentrações de 0,25; 2,5; 25 e 250 µg/mL. Neste mesmo momento foi realizada a fixação da placa T₀, determinando-se assim a quantidade de células presentes no momento em que os compostos foram colocados. As demais placas foram incubadas por 48 horas, nas mesmas condições já descritas. Após este período, foram realizadas as leituras pelo ensaio da Sulforrodamina B (SRB).

4.3.1.1.3 *Ensaio da Sulforrodamina B*

As células foram fixadas com 50 µL/compartimento de ácido tricloroacético a 50% (ATC) em cada compartimento. Para completar a fixação celular, as placas foram incubadas por 1 hora a 4°C. Após esse tempo, foram submetidas a quatro lavagens consecutivas com água destilada para a remoção dos resíduos de ATC, meio, SFB e metabólitos secundários. Estas placas foram mantidas a temperatura ambiente até a secagem completa. Em seguida, as células foram coradas pela adição de 50 µL/compartimento de SRB a 0,4% (peso/volume), dissolvido em ácido acético a 1%. Após 30 minutos à temperatura ambiente, as placas foram lavadas por 4 vezes consecutivas com uma solução de ácido acético 1%. O resíduo da solução de lavagem foi removido e as placas foram novamente secas à temperatura ambiente. O corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com uma solução de Trizma Base, na concentração de 10 µM e pH 10,5. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em 560 nm em um leitor de microplacas.

4.3.1.2 Análise dos resultados

Foram calculadas as médias das absorbâncias descontadas de seus respectivos brancos e através das fórmulas seguintes, foi determinado o crescimento celular.

Se $T > C$ a substância estimulou o crescimento.

Se $C > T \geq T_0$, a substância foi citostática:

$\text{Cresc.(\%)} = 100 * [(T - T_0) / (C - T_0)]$.

Se $T \leq T_0$ a substância foi citocida, $\text{Cresc.(\%)} = 100 * [(T - T_0) / (T_0)]$;

Onde: T é a média da absorbância da célula tratada;

C é o controle de célula;

T_0 é o controle das células no dia da adição das substâncias.

Foram gerados gráficos de crescimento (em porcentagem) em função da concentração da amostra testada, para cada uma das linhagens testadas. Uma concentração efetiva denominada GI_{50} (do inglês *growth inhibition*, concentração necessária para que ocorra a inibição de 50% do crescimento celular) foi calculada por regressão não linear, tipo sigmoideal, utilizando-se software ORIGIN (OriginLab Corporation), versão 8.0.

4.3.2 Teste de susceptibilidade antimicrobiana

O ensaio de avaliação da atividade antimicrobiana foi realizado no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) sob responsabilidade da professora Dra. Marta C. T. Duarte, aplicando-se o teste de susceptibilidade para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI). A CMI é definida como a maior diluição onde houve inibição do crescimento, ou seja, ausência de turvação quando comparado com o controle bacteriano ou de leveduras.

4.3.2.1 Teste de susceptibilidade antibacteriana

Os ensaios para avaliação da atividade antibacteriana foram realizados, aplicando-se o teste de susceptibilidade pelo método de microdiluição para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) da amostra e dos antibióticos

de referência usando caldo Müller-Hinton em placas de microtitulação de 96 poços, segundo normas descritas pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).⁸² A solução estoque das amostras dos derivados (10mg) dissolvida em DMSO (1mL), foi diluída repetidamente em meio Müller-Hinton, obtendo uma série de concentrações na ordem de 1 mg/mL para 10 µg/mL. Alíquotas de 100 µL do meio bacteriano foram adicionados em cada poço. Foi realizada a partir do primeiro poço, uma diluição seriada, homogeneizando e transferindo 100 µL do primeiro poço para o segundo, do segundo para o terceiro e assim sucessivamente até o décimo primeiro poço. Alíquotas de 5 µL da suspensão de bactérias contendo $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, foram adicionadas a cada poço da placa de microdiluição. Foram utilizados também como controle meio não inoculado (controle negativo) e meio sem a substância (controle positivo). As placas foram incubadas a 36 °C por 24 horas. As bactérias utilizadas e seus antibióticos de referência foram *Escherichia coli* ATCC-25922 (gram -) (tetraciclina), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 (gram -) (tetraciclina), *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 (gram +) (penicilina) e *Bacillus subtilis* ATCC-6623 (gram +) (vancomicina).

4.3.2.2 Teste de susceptibilidade antifúngica

Os ensaios para avaliação da atividade antifúngica foram realizados, aplicando-se o teste de susceptibilidade pelo método de microdiluição para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) da amostra e dos antibióticos de referência usando caldo Sabouraud dextrose, em placas de microtitulação de 96 poços, segundo normas descritas pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).⁸³ Para a padronização do inóculo do fungo leveduriforme, foi adicionado volume suficiente da suspensão de levedura, em 5 mL de solução salina estéril, até a obtenção de uma turvação padronizada de acordo com o tubo 0,5 da escala MacFarland ($1,0 \times 10^8$ UFC/mL). A suspensão do fungo foi diluída 1:100 em água destilada (4,95 mL de água destilada + 50 µL da suspensão). Em seguida 2 mL dessa suspensão foram adicionados em 38 mL de meio RPMI-1640 (diluição 1:20). Alíquotas de 100 µL da suspensão fúngica foram adicionados em cada poço. Foi realizada a partir do primeiro poço, uma diluição seriada, homogeneizando e transferindo 100 µL do primeiro poço para o segundo, do segundo para o terceiro e assim sucessivamente até o décimo primeiro poço. Alíquotas de 5 µL da suspensão

fúngica contendo $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, foram adicionadas a cada poço da placa de microdiluição. Os tubos foram incubados à temperatura de 37°C por 24 horas. Os fungos utilizados foram: *Candida albicans* ATCC-10231, *Candida tropicalis* ATCC-28707 e *Candida parapsilosis* ATCC-22019 e a micostatina foi utilizada como antifúngico de referência.

CAPÍTULO I

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL)- *β*-CARBOLÍNICOS E DE SUAS BASES DE MANNICH

I.1 INTRODUÇÃO

No **Capítulo I** são abordados: **a)** alguns aspectos gerais sobre 1,3,4-oxadiazol-2-ona; **b)** a síntese e caracterização dos derivados 1-fenilssubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos e dos derivados 1-fenilssubstituído 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (Bases de Mannich); **c)** a avaliação das atividades antitumoral e antimicrobiana e o estudo *in silico* dos parâmetros ADME dos compostos sintetizados.

I.1.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-ONA.

A atividade antitumoral e antimicrobiana observadas em nossos estudos para β -carbolinas contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiona na posição-3^{24,25}, e o potencial relatados para o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona, nos levaram a propor a síntese de uma série de derivados 1-fenilssubstituído-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos, com o intuito de obter compostos com potencial antitumoral e antimicrobiano e esperando um aumento significativo da atividade antitumoral em comparação com os derivados 1-fenilssubstituído-3-(2-tioxo-1,3,4-oxadiazol)- β -carbolínicos²⁵.

Nos últimos anos compostos com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona tem sido alvo de muitos estudos de síntese e atividade biológicas, com propriedades pesticidas^{84,85}, antimicrobiana⁸⁶⁻⁸⁸, antimicobacteriana/antituberculose^{35,89}, antialérgico⁹⁰, inibidoras das monoamina oxidase (MAO) dos tipos A e B⁹¹, agonista do receptor GABA⁹² e bons intermediários para a síntese de importantes inibidores peptidiomiméticos⁹³.

Em função dos relatos sobre a importância biológica de compostos contendo o grupo 1,3,4-oxadiazol-2-ona, sintetizou-se derivados β -carbolínicos, contendo o grupo 1,3,4-oxadiazol-2-ona na posição-3 e avaliou-se as atividades antitumoral e antimicrobiana dos derivados sintetizados.

Estudos de relação estrutura-atividade descritos na literatura demonstraram que análogos N-aminometil-oxadiazolínicos, obtidos pela reação de Mannich entre oxadiazóis e uma amina, são mais eficazes do que os seus precursores^{25,35}.

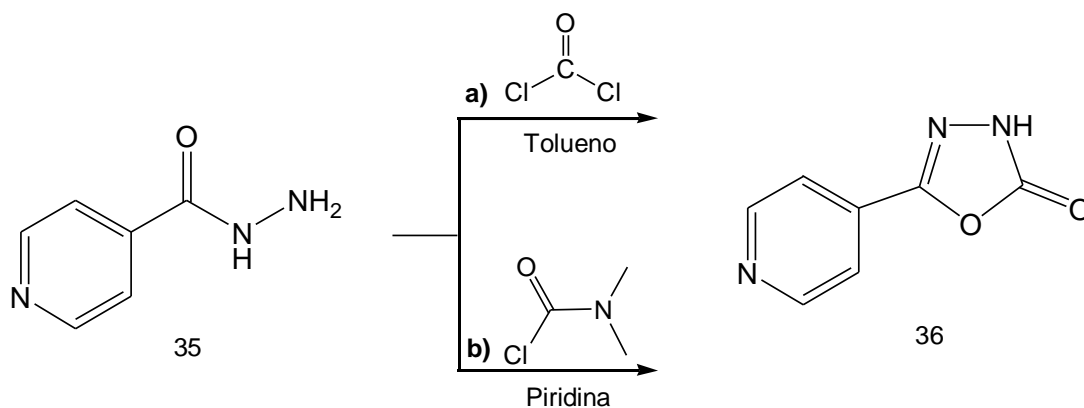
Devido a isso, a partir dos derivados 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol) β -carbolínicos, sintetizou-se suas respectivas bases de Mannich esperando melhores resultado de atividades antitumoral.

I.1.2 PRINCIPAIS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-ONA E DE SUAS BASES DE MANNICH

Diversos métodos de síntese, bem como, estudos de atividade biológica do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-(3H)-2-ona são encontrados na literatura.

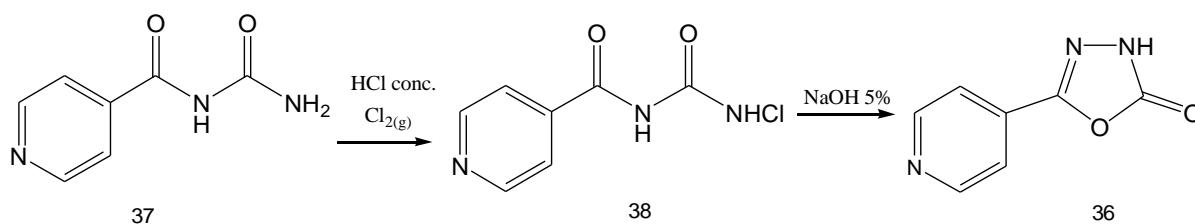
Na discussão a seguir são abordados os principais métodos de síntese e estudos de atividade de compostos com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-(3H)-2-ona⁸⁹⁻¹⁰⁴.

Um dos primeiros relatos da síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona foi de Yale e colaboradores (1954)⁹⁴, os quais sintetizaram o derivado 5-(4-píridil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona (**36**) a partir de dois métodos. Método **a**: a partir da hidrazida do ácido isonicotínico (isoniazida) (**35**) utilizando fosgênio em água/tolueno; método **b**: utilizando cloreto de dimetilcarbamil em piridina o produto desejado foi obtido, com rendimentos de 55% e 41%, respectivamente (**Esquema I.1**).



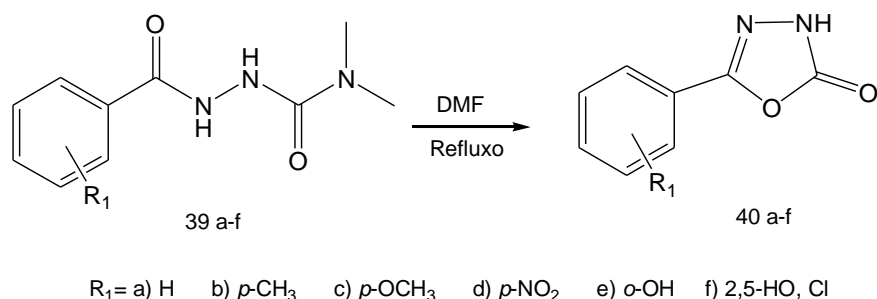
Esquema I.1 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Yale e colaboradores (1954).

Stempel e colaboradores (1955)⁹⁵, tratando a isonicotina uréa (**37**) com ácido clorídrico concentrado sob fluxo de gás cloro, seguido de adição de água e neutralização com carbonato de sódio, obtiveram o sal de isonicotina uréa (**38**). O tratamento deste sal com solução aquosa de hidróxido de sódio forneceu o 5-(4-piridil)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-ona (**36**), com rendimento de 45% (**Esquema I.2**).



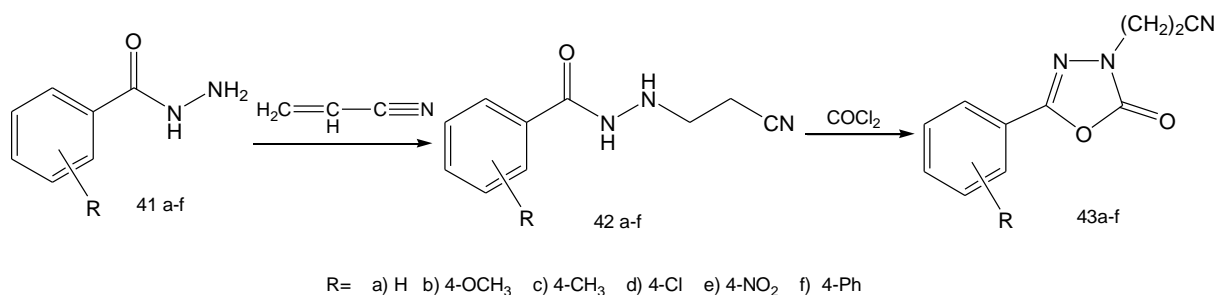
Esquema I.2 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Stempel e colaboradores (1955).

Davidson (1988)⁹⁶, a partir da reação de diferentes carboidrazidas fenilssubstituídas com cloreto de dimetilcarbamil, em piridina, obteve as semicarbazidas (**39 a-f**), as quais tratadas com dimetilformamida (DMF) e refluxo forneceu os produtos desejados **40 a-f** (**Esquema I.3**).



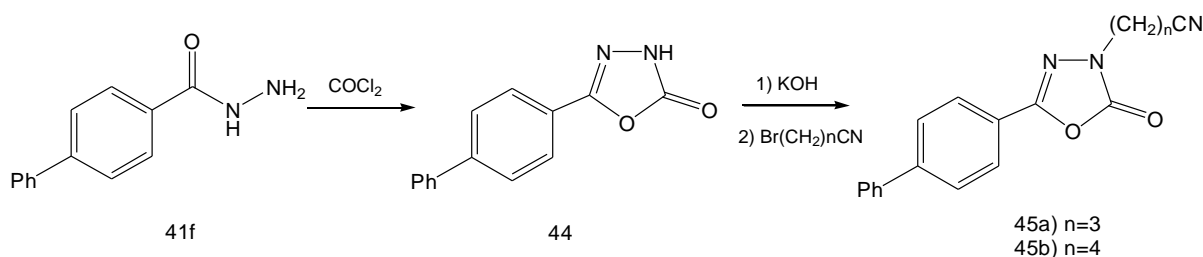
Esquema I.3 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Davidson (1988).

Mazouz e colaboradores (1990)⁹¹ obtiveram aril hidrazinas monossustituídas, por exemplo, aril-2-(2-cianoetil) hidrazinas (**42-a-f**), a partir de aril hidrazinas (**41a-f**), através da adição de Michael de acrilonitrila. A reação de **42a-f** com fosgênio forneceu os derivados 5-aryl-3-(2-cianoetil)-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**43a-f**) (**Esquema I.4**).



Esquema I.4 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mazouz (1990).

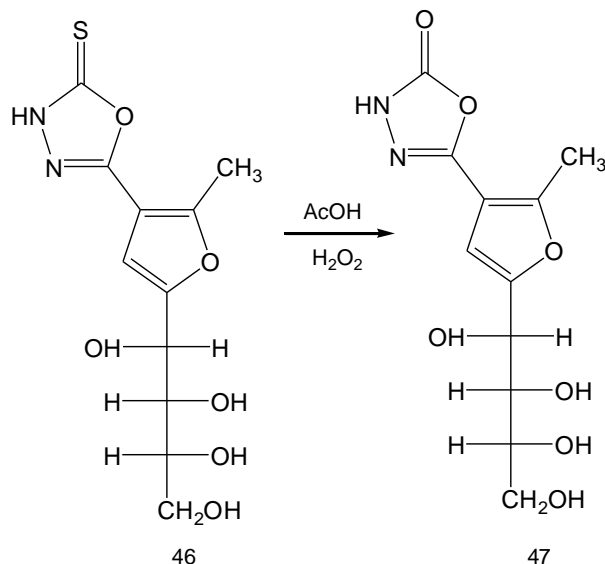
A partir da reação da 4-bifenilcarbohidrazina (**41f**) com fosgênio, em dioxano, foi obtida a 5-(4-bifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**44**), esta por sua vez via reação de N-alkilação com sal potássico forneceu os derivados 5-(4-bifenil)-3-(cianoalquil)-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**45a e 45b**) **Esquema I.5**⁹¹.



Esquema I.5 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mazouz (1990).

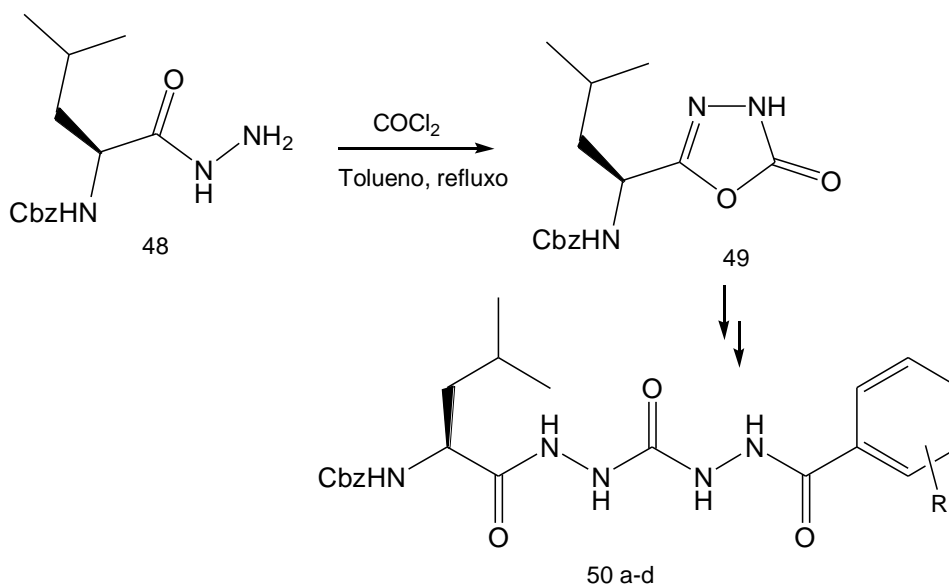
Os compostos 5-aryl-3-(2-cianoetil)-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**43a-f**) e 5-(4-bifenil)-3-(cianoalquil)-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**45a-b**) foram avaliados quanto suas propriedades de inibição das monoamina oxidase (MAO) dos tipos A e B. Os derivados apresentaram IC₅₀ na faixa de 7,80 a 270 μM, para MAO do tipo A e entre 0,056 -128 μM para a MAO B, com destaque para o derivado **43f**, o mais potente, seletivo e competitivo inibidor da MAO-B com os menores valores de concentração para inibição da enzima⁹¹.

Hassan e col.(1997)⁹⁷, sintetizaram um derivado sacarídeo com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**47**) pela oxidação do derivado 1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**46**) com ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, com rendimento de 30% (Esquema I.6).



Esquema I.6 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Hassan (1997).

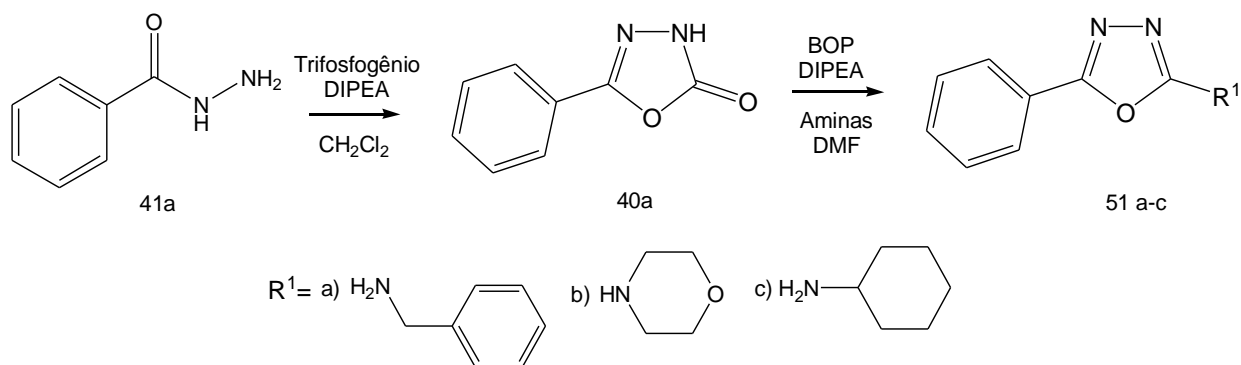
Thompson e col. (1998)⁹³ sintetizaram o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**49**) a partir da hidrazida da leucina protegida (**48**), utilizando fosgênio e utilizou-o como intermediário chave para a síntese de importantes inibidores peptidomiméticos (**50 a-d**) (Esquema I.7).



R= a) o-benziloxi b) m-benziloxi c) p-benziloxi d) H

Esquema I.7 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Thompson (1998).

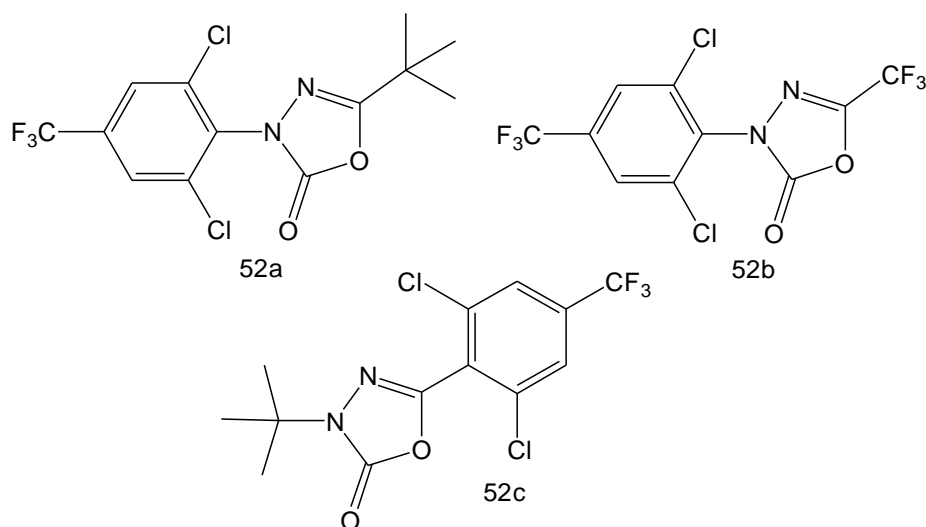
Levins e Wan (2008)¹⁰⁰ também utilizaram o derivado 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**40a**), sintetizado a partir da fenilcarboidrazida (**41a**) com trifosgênio e N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), como intermediários para a síntese dos derivados 2-amino-1,3,4-oxadiazol (**51a-c**), os quais tem sido sintetizados por diversas formas, sendo este um dos relatos de síntese com ótimos rendimentos (92-94%) (**Esquema I.8**).



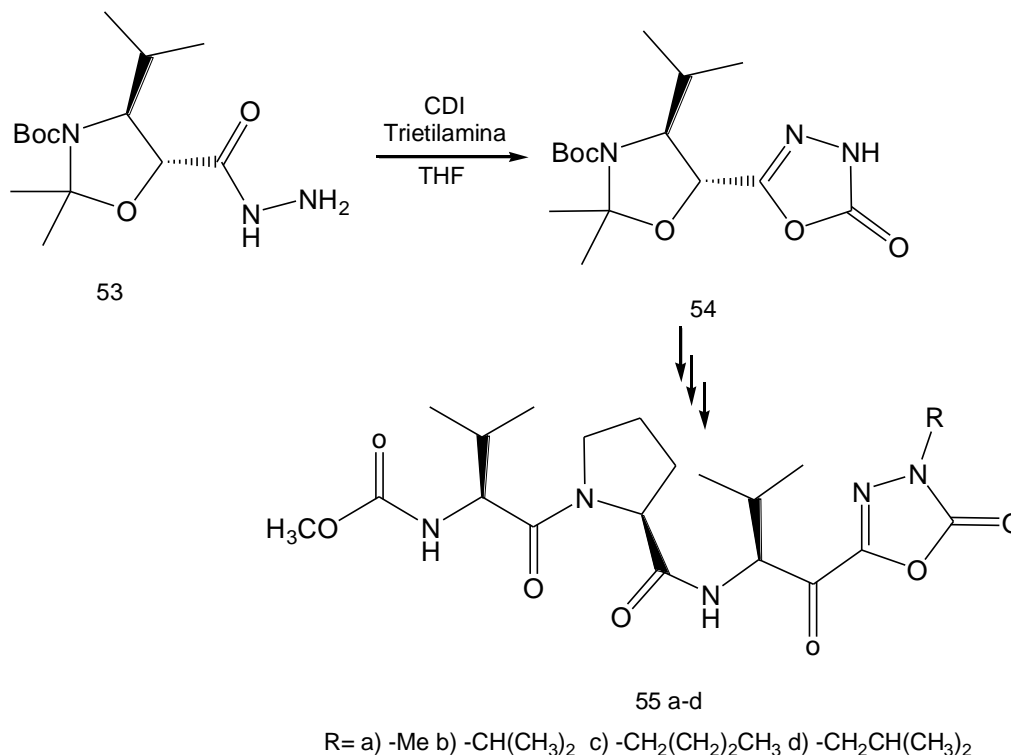
Esquema I.8 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Levins (2008).

Ozoe e colaboradores (2000)⁸⁴ estudaram o potencial inseticida de uma série de compostos heterocíclicos, entre estes os derivados **52a-c**. O derivado 3-(2,6-dicloro-4-trifluorometilfenil)-5-terc-butil-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**52a**) exibiu alta seletividade para o receptor GABA de *Musca domestica L.* com $IC_{50}=49,1$ nM, mostrando-se como um promissor inseticida (**Figura I.1**).

Figura I.1 - Compostos com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona estudados por Ozoe (2000).

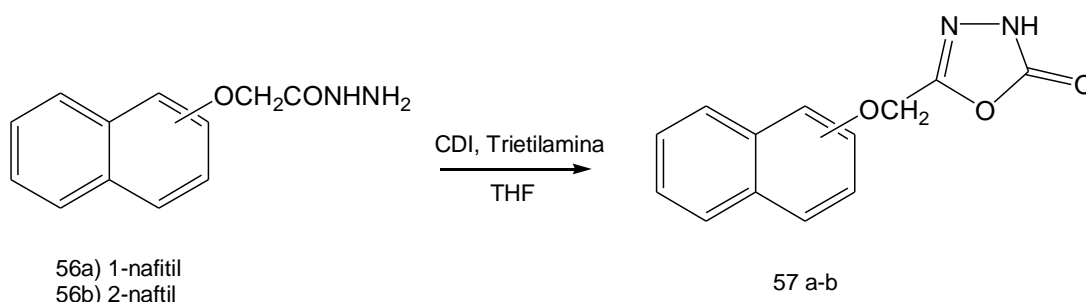


Ohmoto e col. (2001)⁹⁸ sintetizaram o peptídeo α -ceto 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**54**), utilizando carbonildiimidazol (CDI) e trietilamina em THF, sendo este precursor para a síntese de novos inibidores da elastase dos neutrófilos humanos (**55 a-d**) (**Esquema I.9**).



Esquema I.9 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Ohmoto (2001).

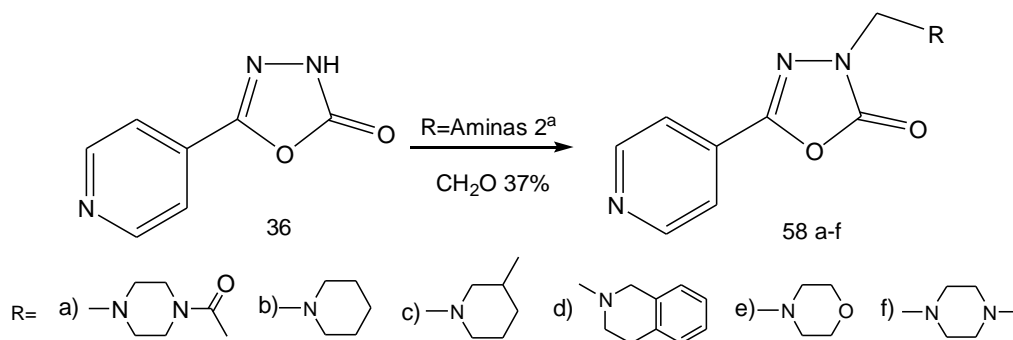
Sahin e col. (2002)⁸⁶ sintetizaram os compostos 5-(1-/2-naftiloximetil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**57a-b**) utilizando CDI/trietilamina em THF (**Esquema I.10**). Estes compostos foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana, frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* e frente aos fungos *Candida albicans*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Os derivados **57a** e **57b** apresentaram moderada atividade frente aos fungos avaliados com valor de CMI de 64 μ g/mL e 32 μ g/mL, respectivamente. O composto **57b** apresentou moderada atividade frente à bactéria *S. aureus* (ATCC 25923) com CMI=64 μ g/mL.



Esquema I.10 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Sahin (2002).

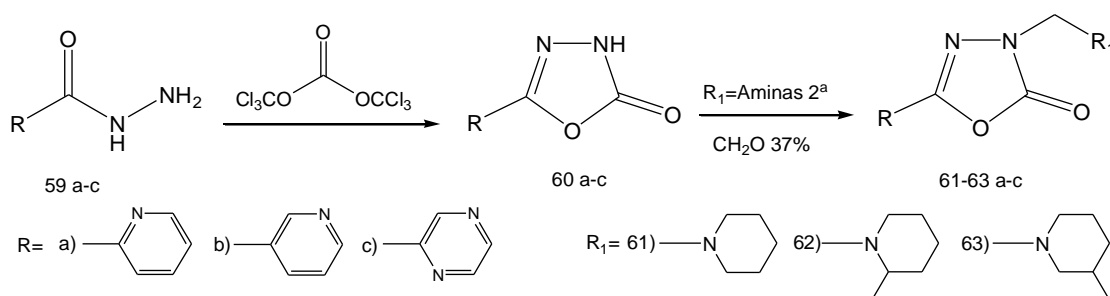
O derivado 5-(piridin-4-il)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**36**) foi sintetizado por Mamolo e col. (2005) usando o **método b** descrito por Yale (1954)⁹⁴. Este composto foi submetido à reação com formaldeído a 37% e diferentes aminas secundárias, obtendo-se uma série de bases de Mannich (**58a-f**) com rendimentos de 25-61% (**Esquema I.11**)³⁵.

Estas foram testados *in vitro* quanto a atividade antimicobacteriana, frente à proliferação do *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv*. Toda a série de bases de Mannich apresentou atividade antimicobacteriana notável, com valores de CMI entre 2,5 e 1,5 µg/mL. O precursor **36** apresenta atividade de 4,0 µg/mL, o que mostra a eficiência da substituição da posição-3 do heterociclo⁸⁹.



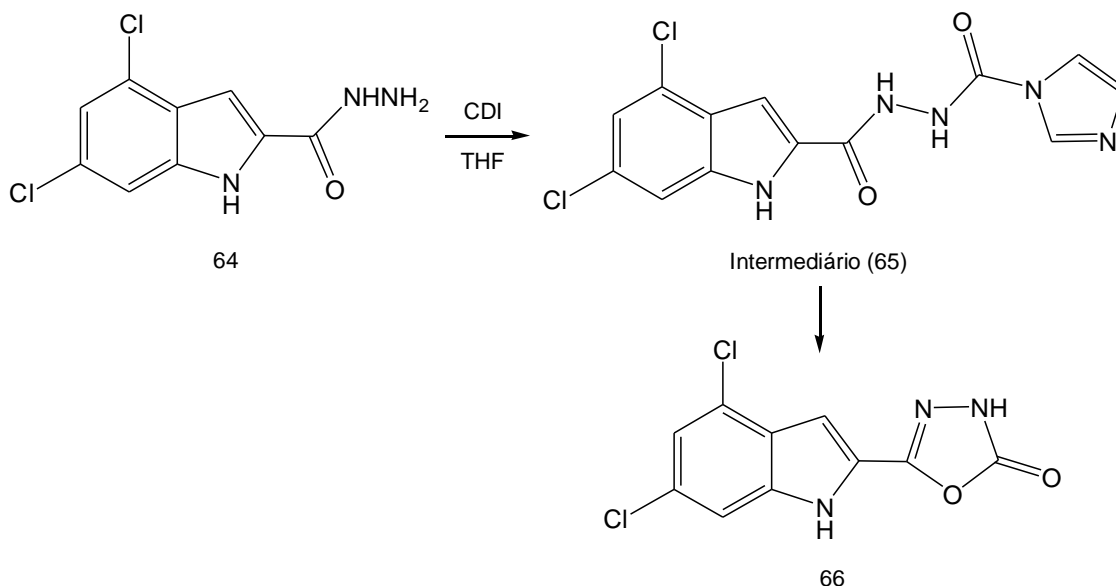
Esquema I.11 - Síntese de bases de Mannich a partir do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Mamolo (2005).

Zampieri e col. (2009)⁸⁹, sintetizaram uma série de 5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**60a-c**) a partir da reação das arilcarboidrazidas (**59 a-c**) com solução aquosa de trifosgênio em tolueno. A partir desses foram sintetizadas as bases de Mannich **61aa-cc**, com rendimento de 26-64%. (**Esquema I.12**). Ao serem testados *in vitro* contra a proliferação da *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv*, os compostos com o grupo 5-(2-piridina)-1,3,4-oxadiazol e suas bases de Mannich apresentaram maior atividade antimicobacteriana, com valores de CMI de 4,00 µg/mL⁸⁹.



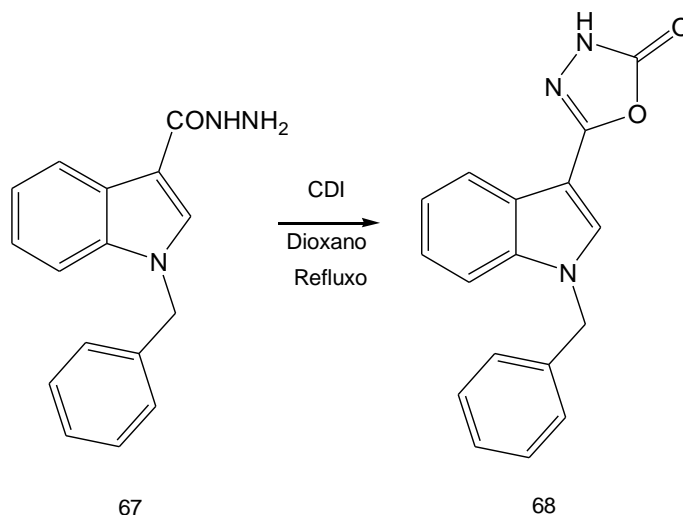
Esquema I.12 - Síntese de bases de Mannich com o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Zampieri (2009).

Jansen e Dannhardt (2003)¹⁰⁴ sintetizaram o derivado 5-(4,6-dicloro-1H-indol-2-il)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**66**), utilizando carboidrazida (**64**) suspensa em THF:DMF (10:1), com N,N'-carbonildiimidazol (CDI) e trietilamina, e acidificação com HCl 1M, passando pelo intermediário imidazolil carbonilidrazida (**65**) (**Esquema I.13**).



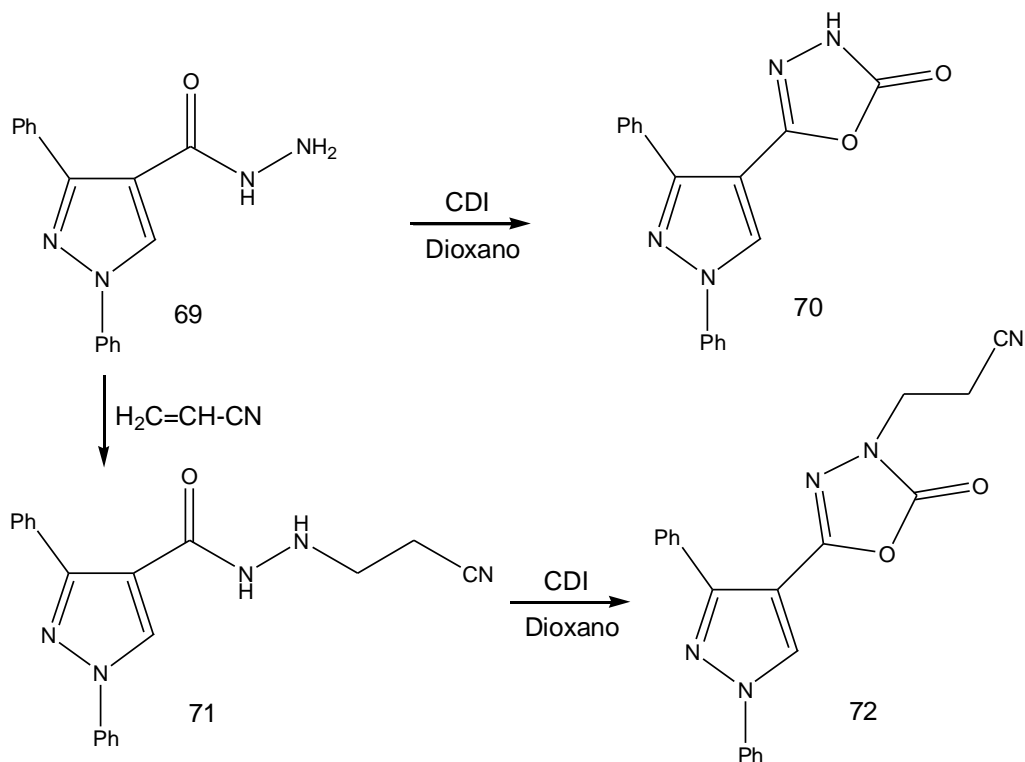
Esquema I.13 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Jansen e Dannhardt (2003).

Farghaly (2004)¹⁰⁵ sintetizou a 2-(1-benzil-1H-indol-3-il)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**68**) a partir da reação da indol carboidrazida (**67**) com CDI, em dioxano sob refluxo 6h, com rendimento de 93% (**Esquema I.14**).



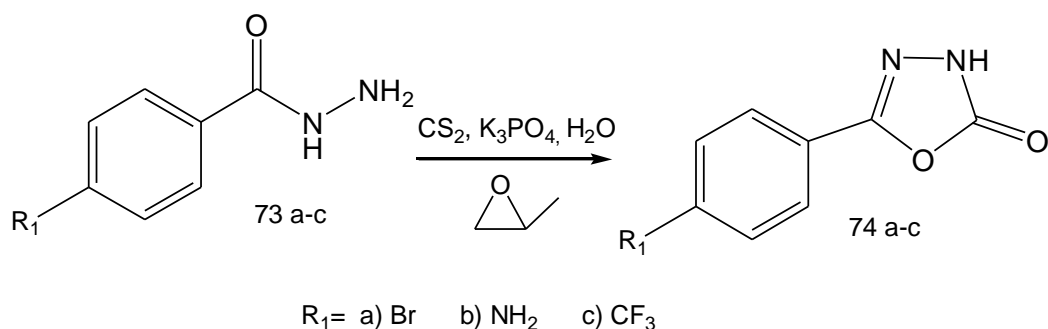
Esquema I.14 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Farghaly (2004).

Farghaly e El-Kashef (2006)⁹⁹ sintetizaram a 5-(1,3-difenil-1H-pirazol-4-il) 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**70**), a partir da reação de hidrazida com CDI, em dioxano, efetuando uma modificação na síntese descrita por Mazouz (1990)⁹¹, ou seja, utilizando CDI ao invés de fosgênio (COCl₂) para sintetizar o derivado com o grupo 3-(2-cianoetil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**72**) (**Esquema I.15**) esperando compostos com atividade antiviral.



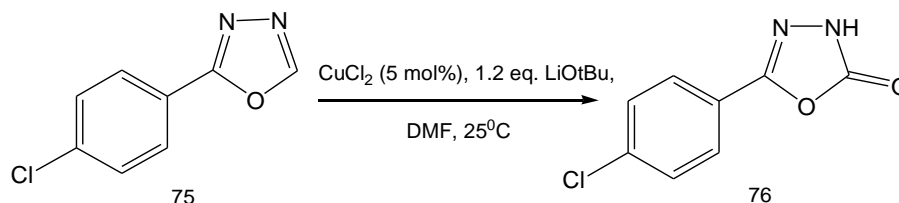
Esquema I.15 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Farghaly e El-Kashef (2006).

Yan e colaboradores (2012)¹⁰¹ sintetizaram uma série de 5-substituídas 1,3,4-oxadiazol-2-onas (**74a-c**), utilizando a metodologia *one-pot* com óxido de propileno (**Esquema I.16**).



Esquema I.16 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Yan (2012).

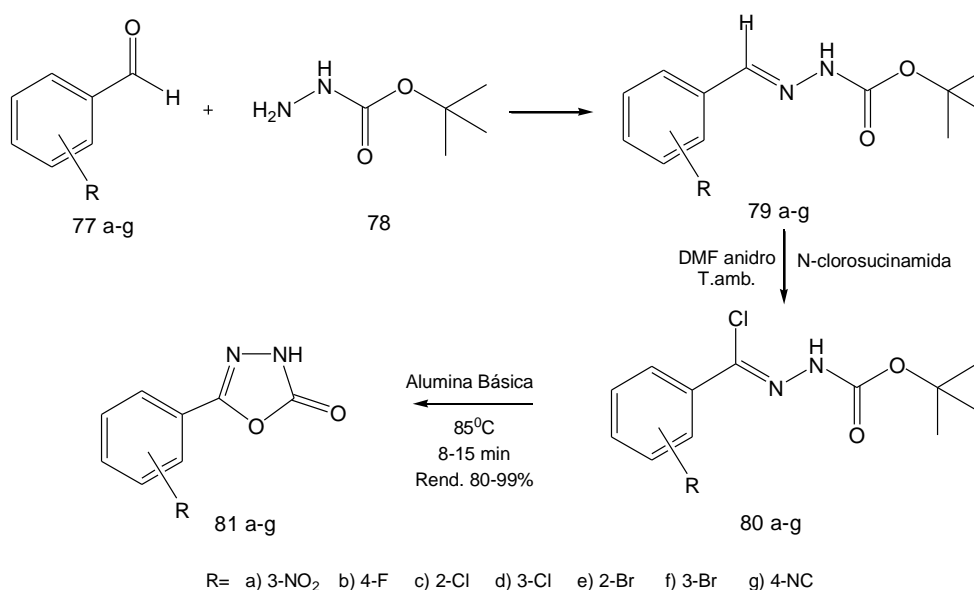
Liu (2012)¹⁰² através de oxidação de heteroarênios (**75**) catalisada por cloreto de cobre na presença de terc-butóxido de lítio, obteve os heterociclos desejados 1,3,4-oxadiazol-2-onas (**76**) (**Esquema I.17**).



Esquema I.17 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Liu (2012).

Embora esses métodos sejam úteis para a construção do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona, todos estas reações têm algumas desvantagens significativas, como a utilização de reagentes perigosos e tóxicos, longos tempos de reação e uso de condições drásticas que não são ideais para a síntese de compostos com heterocíclicos biologicamente importantes.

Recentemente Debnath e colaboradores (2013)¹⁰³ sintetizaram uma série de 5-aryl-(3H)-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**81 a-g**). Inicialmente, uma série de carbo-terc-butoxihidrazonas (**79a-g**) foi preparada através da condensação de aldeídos aromáticos (**77a-g**) com tert-butilcarbamato (**78**). Subsequentemente, os compostos **79 a-g** foram tratados com N-clorosucinamida em DMF anidro para obter N'-(cloroaryl-metileno)-terc-butilcarbamatos (**80 a-g**). Estes submetidos à reação na superfície de alumina básica, sem o uso de solventes, forneceram os derivados 5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2-onas (**81 a-g**) (**Esquema I.18**).

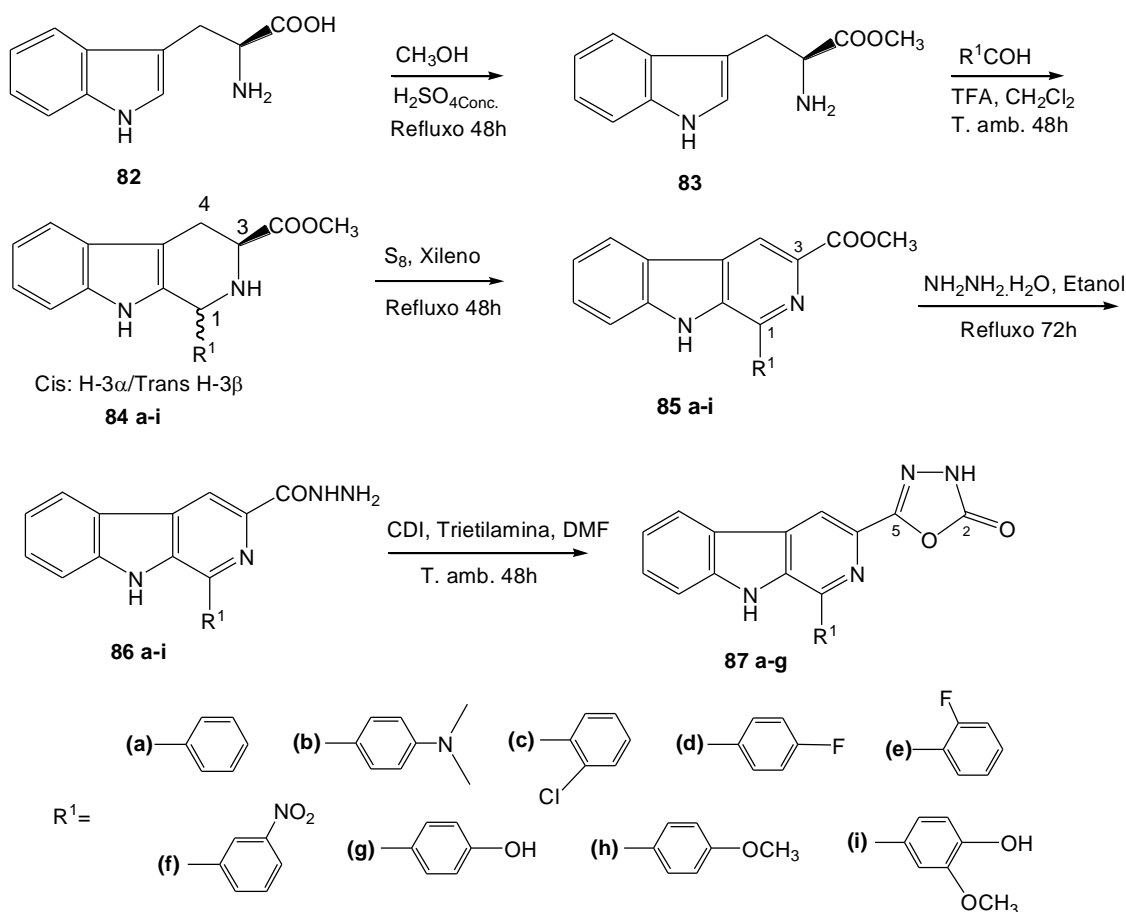


Esquema I.18 - Síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona segundo Debnath (2013).

I.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

 I.2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL)- β -CARBOLÍNICOS

A rota geral para a síntese dos derivados 1-fenilssubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolicos (**87 a-g**) está ilustrada no **Esquema I.19**.



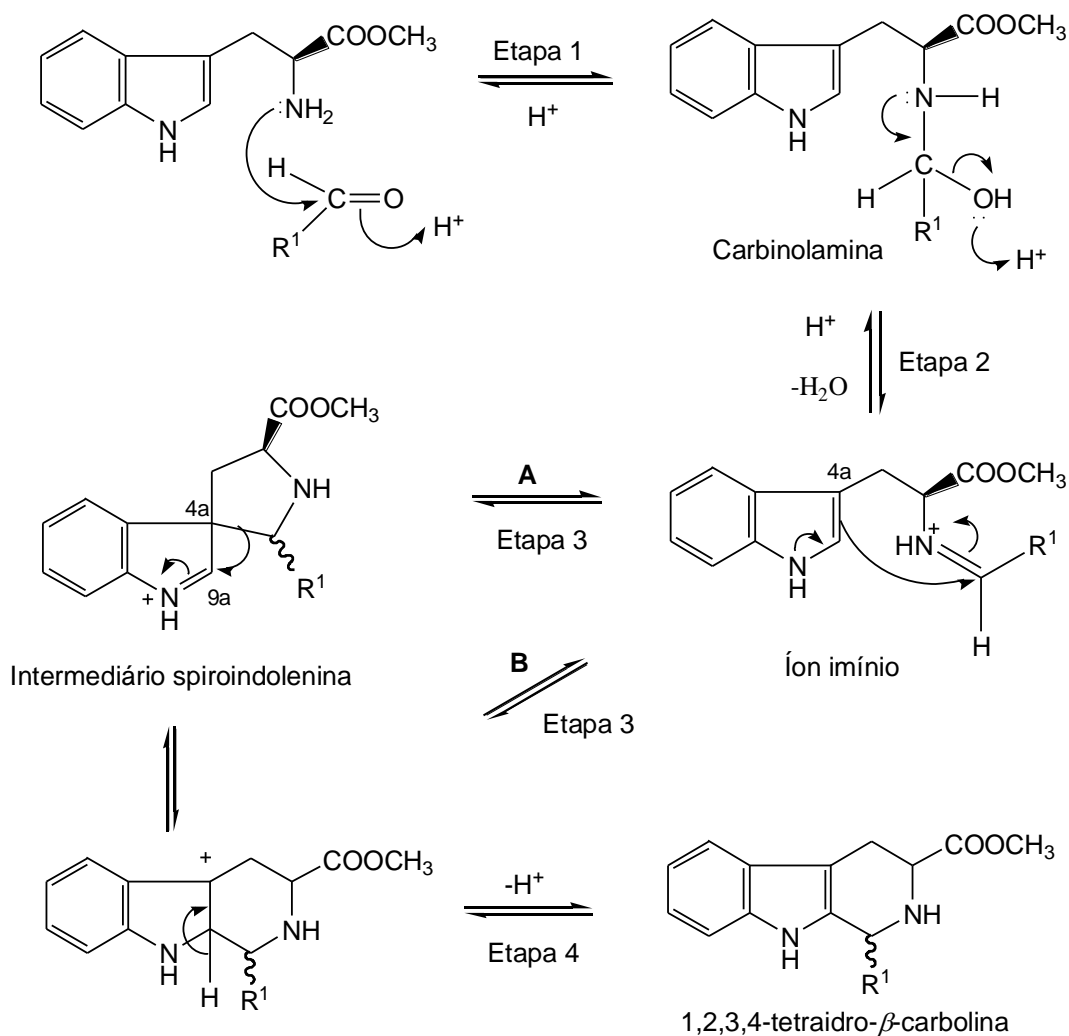
Esquema I.19 - Rota para a síntese dos compostos 1-fenilssubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolicos (**87a-g**).

Inicialmente o L-triptofano comercial (**82**) foi esterificado com metanol em meio ácido, obtendo-se o L-triptofano metil éster (**83**), com rendimento de 95%.

O L-triptofano metil éster (**83**) foi condensado com os aldeídos aromáticos: benzaldeído (**a**), 4-N,N-dimetilaminobenzaldeído (**b**), 2-clorobenzaldeído (**c**), 4-flúorbenzaldeído (**d**), 2-flúorbenzaldeído (**e**), 3-nitrobenzaldeído (**f**), 4-

hidróxibenzaldeído (**g**), 4-metóxibenzaldeído (*p*-anisaldeído) (**h**) e 4-hidróxi-3-metóxibenzaldeído (vanilina) (**i**), via reação de Pictet-Spengler, obtendo-se os compostos tetraidro- β -carbolínicos na forma de uma mistura dos diastereoisômeros *cis* e *trans* (**84 a-i**), estes não foram separados para a próxima etapa.

O mecanismo da reação de condensação de Pictet-Spengler¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ é muito discutido pela literatura. Nos artigos mais recentes o mecanismo é proposto por dois caminhos distintos. Segundo Kusurkar¹⁰⁷ o mecanismo envolve um intermediário do tipo espiroindolenina como apresentado no **caminho A (Esquema 20)**. Maresh¹⁰⁸, utilizando cálculos computacionais mostrou que a ciclização ocorre preferencialmente por ataque direto do C-9a do indol ao carbono imínico (**caminho B**). Ambos os caminhos propõe a formação de um íon imínio como intermediário.



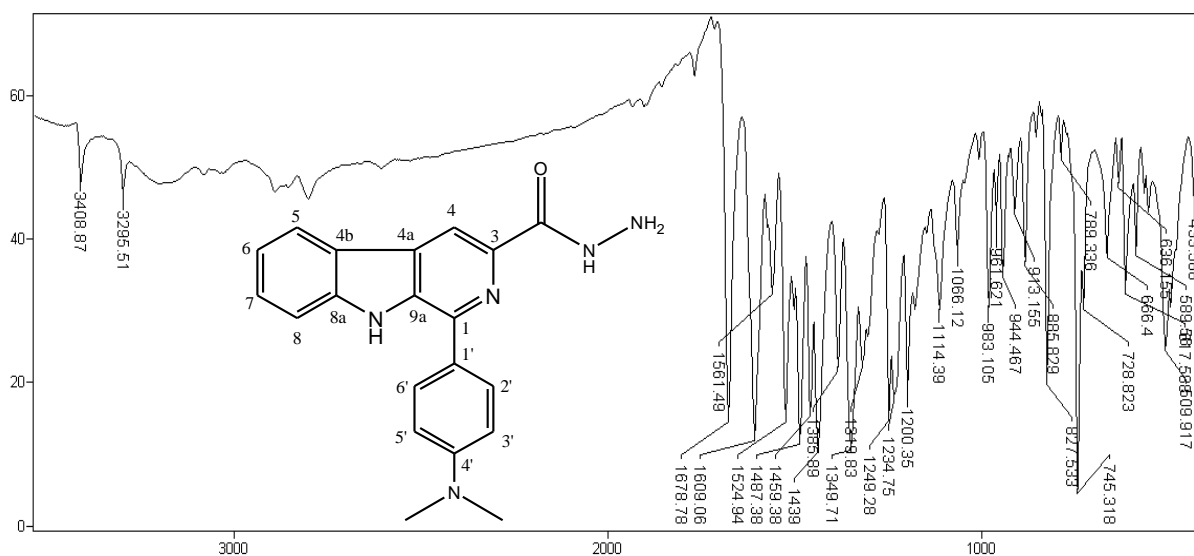
Esquema I.20 - Proposta mecanística para síntese das 1,2,3,4-tetraidro- β -carbolinas via reação de Pictet-Spengler.

As tetraidro- β -carbolinas **84a-i** foram submetidas à reação de oxidação com enxofre para fornecer os derivados 1-fenilsubstituído 3-carbometóxi- β -carbolínicos (**85a-i**), os quais foram tratados com hidrazina monoidratada ($\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) em etanol, sob agitação e refluxo por 72h, obtendo-se as β -carbolinas 3-carboidrazidas (**86a-i**).

A confirmação estrutural dos derivados **82** a **86** foi realizada pela análise dos dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$ e IV, os quais foram concordantes com os publicados anteriormente por Formagio⁸⁰ e Dusman¹⁰⁹. Devido à similaridade dos espectros dentro das séries e porque foram sintetizados anteriormente, discutiremos os dados espectroscópicos apenas para um dos compostos da série **86 a-i**.

O espectro na região do infravermelho do composto 1-(4-N,N-dimetilaminofenil)- β -carbolina-3-carboidrazida (**86b**) apresentou bandas de absorção em 1678 cm^{-1} (C=O de amida), 3408 cm^{-1} (NH_2), 3295 cm^{-1} (N-H indol), 1609 cm^{-1} (C=N), 745 cm^{-1} (N-H indol), como ilustrado na **Figura I.2a**.

Figura I.2a- Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto **86b**.



A ausência dos sinais referentes à metoxila do éster em δ_{H} 4,00 (s, 3H)/ δ_{C} 53,2 (OCH_3) e a presença do sinal na região de δ_{C} 164,0, referente à carbonila da amida, confirmam a substituição da metoxila. A presença dos simpletos em δ_{H} 4,58 (NH_2) e 9,63 ppm (NH) caracterizam o grupo 3-carboidrazida (**Figura I.2b e I.2c**).

Figura I.2b - Espectro de RMN ^1H (300,0 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **86b**.

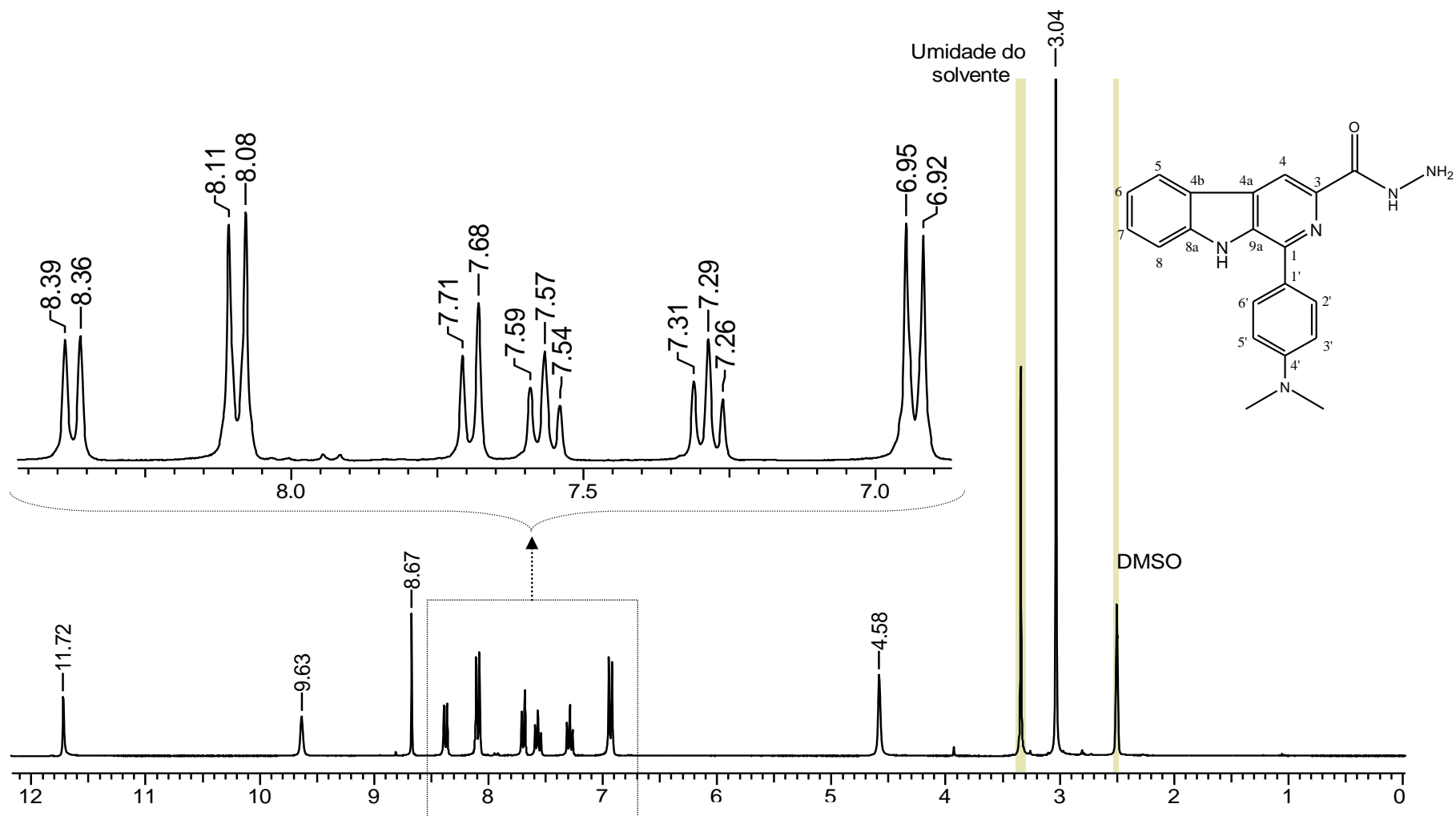
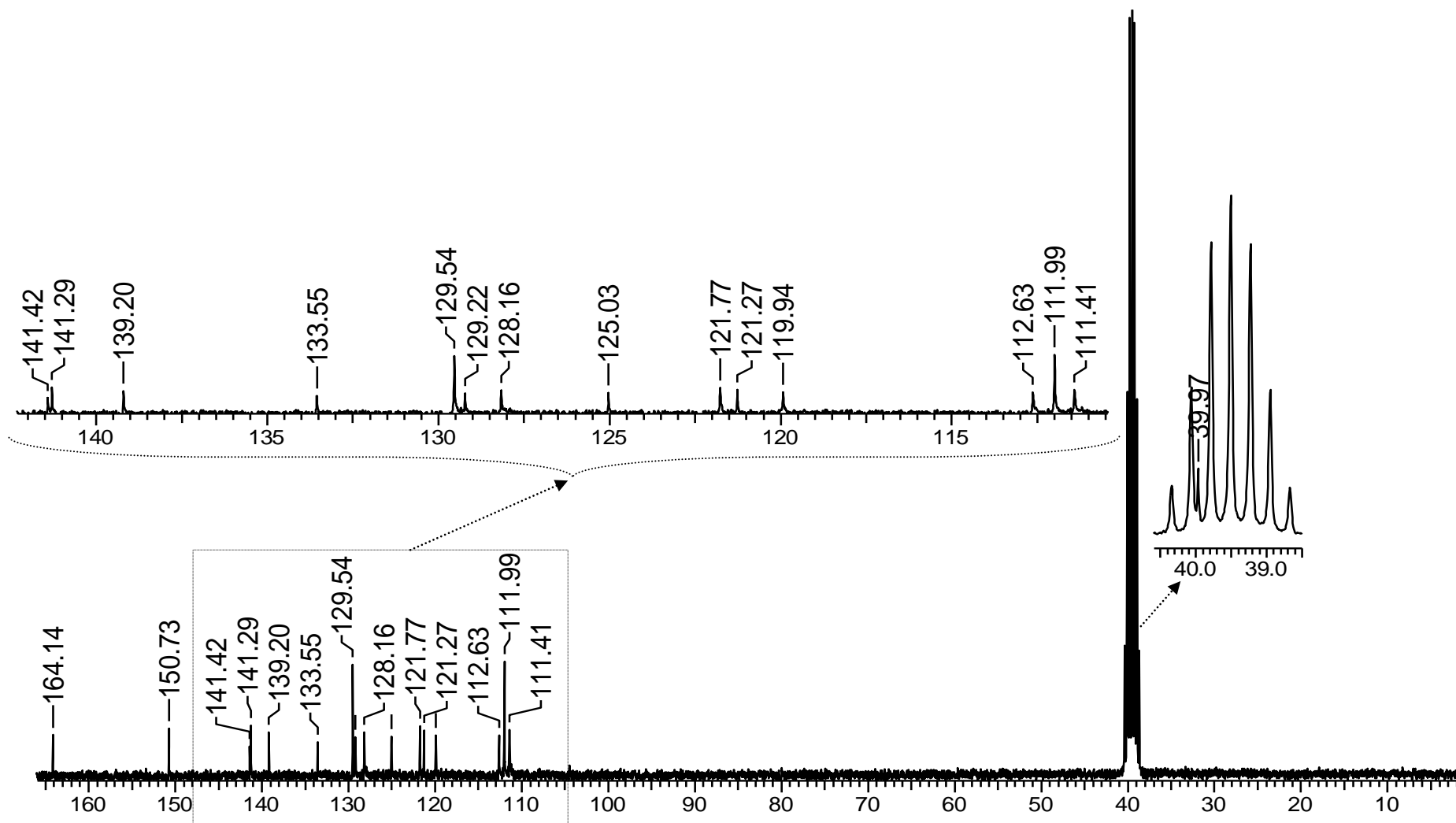
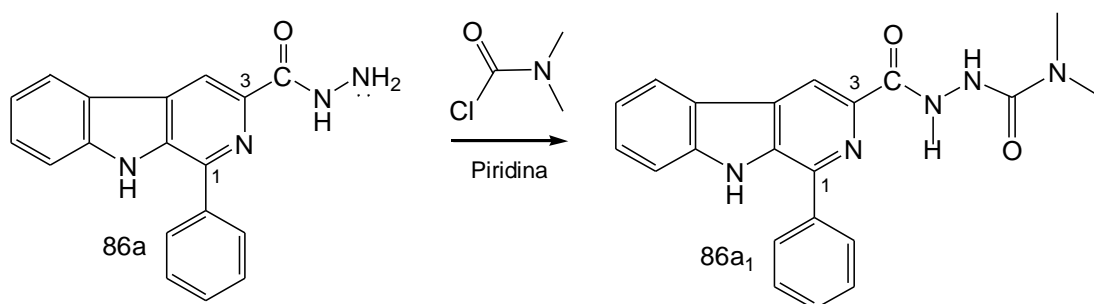


Figura I.2c - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **86b**.



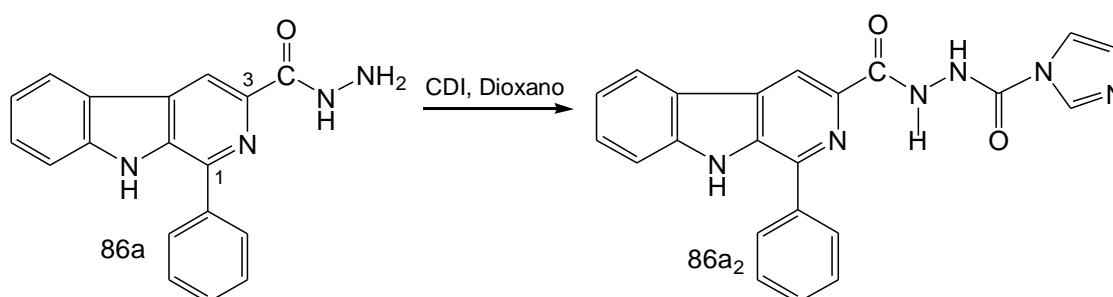
Para a formação do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-ona, inicialmente o composto 1'-(2-clorofenil)-3-(2-tioxo-1,3,4-oxadiazol)- β -carbolina (**86c**) sintetizado anteriormente por Formagio, 2008⁸⁰, foi tratado com ácido acético e peróxido de hidrogênio (30%) segundo a metodologia de Hassan e colaboradores (1997)⁹⁷, observando-se somente a recuperação do material de partida.

Alternativamente, o composto 1-fenil- β -carbolina-3-carboidrazida (**86a**) foi submetido à reação com cloreto de dimetilcarbamil em piridina, de acordo com a metodologia descrita por Yale, 1954⁹⁴. Neste caso, observou-se apenas a introdução do dimetilcarbamil na posição-3 (**86a₁**), evidenciado pela presença das metilas no espectro de RMN ¹H/¹³C em 3,0/35,0 ppm e da carbolina em 154,0ppm, não ocorrendo a ciclização desejada. (**Esquema I.21**).



Esquema I.21 - Intermediário de síntese utilizando cloreto de dimetilcarbamil.

A utilização de carbonildiimidazol (CDI 1.50 eq.) em dioxano sob refluxo por 6 horas, conforme metodologia descrita por Farghaly (2004)¹⁰⁵, resultou na obtenção do intermediário da reação, a imidazolil-carbonilidrazida **86a₂**, sem ocorrer a ciclização (**Esquema I.22**).



Esquema I.22 - Intermediário de síntese utilizando CDI/Dioxano.

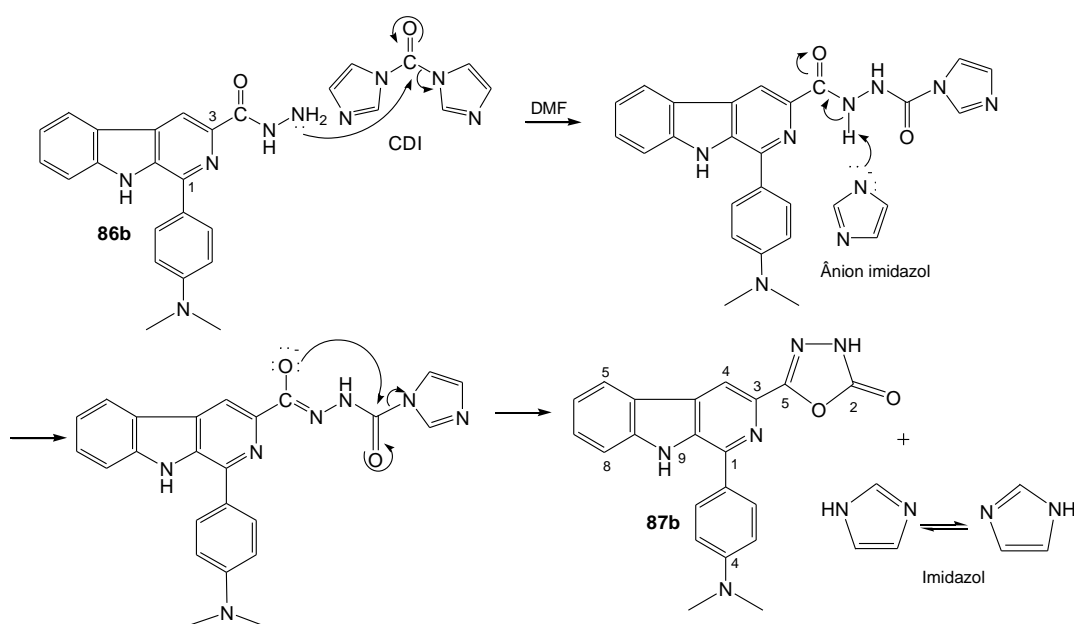
Alternativamente, utilizou-se CDI (1.21 eq.), trietilamina (1.24 eq.) e como solvente tetraidrofurano (THF) conforme Sahin, 2002⁸⁶, obtendo-se o produto desejado, mas em baixo rendimento 40%.

A utilização de N,N-dimetilformamida (DMF) ao invés de THF, como solvente, devido a melhor solubilização, resultou na obtenção do derivado **87a**, com rendimento de 62%, maior do que o rendimento obtido com THF.

Assim a síntese dos derivados 1-fenilsubstituído 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbólicos (**87a-g**) foi realizada, a partir dos compostos β -carbólicas 3-carboidrazidas (**86a-g**), utilizando a metodologia mediada por 1,1-carbonildiimidazol (CDI), trietilamina, em DMF, sob refluxo com rendimentos na faixa de 20-85%.

A síntese dos derivados **87h** e **87i**, foi testada sob as condições relacionadas acima, mas a obtenção dos compostos não foi possível devido à baixa solubilidade dos precursores. Mesmo utilizando-se DMF, grande quantidade de solvente é necessária para a solubilização, levando a dificuldades de remoção do DMF e na purificação dos compostos.

O mecanismo proposto para a síntese dos compostos 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbólicos, consiste na adição nucleofílica do 1,1-carbonildiimidazol (CDI) e eliminação de um íon imidazol, seguida de ciclização intramolecular formando a unidade 1,3,4-oxadiazol-2-ona, neste caso específico para o derivado **87b** com o grupo *p*-dimetilaminofenil na posição-1 (**Esquema I.23**).



Esquema I.23 - Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol)- β -carbólicas (**87a-g**).

A formação do grupo 1,3,4-oxadiazol-2-ona nos derivados **87a-g** foi evidenciada com base em dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C , HSQC, IV e EI-MS.

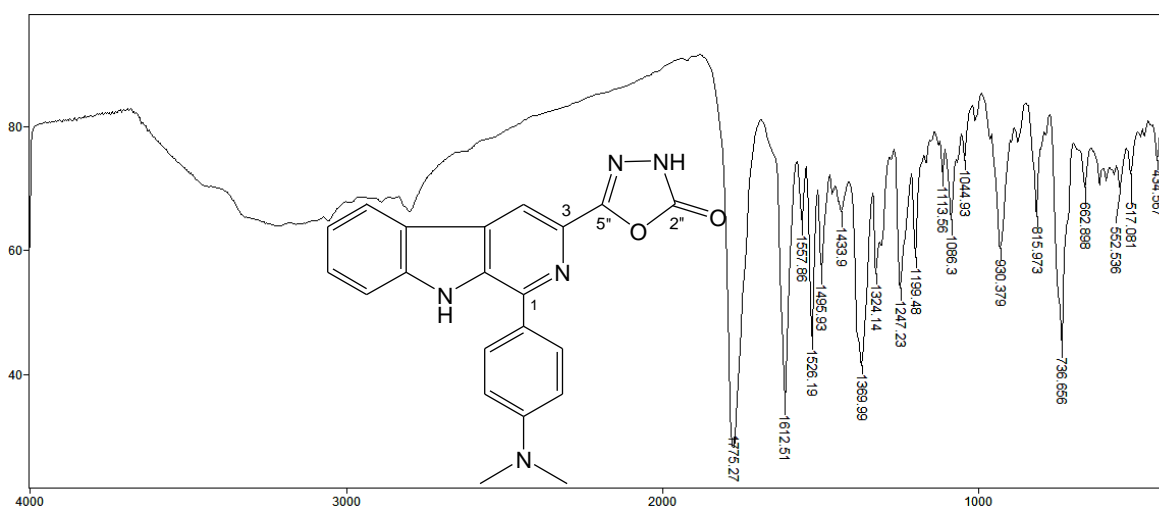
Os espectros no infravermelho dos compostos **87a-g**, apresentam bandas de estiramento de ligação C=O, na região de $1773 - 1782\text{ cm}^{-1}$ e bandas em 3050 cm^{-1} e 740 cm^{-1} do N-H indol. Observam-se também as bandas referentes ao estiramento do grupo C=N, em $1609-1625\text{ cm}^{-1}$.

Nos espectros de RMN de ^1H , a unidade 1,3,4-oxadiazol-2-ona foi evidenciada pela presença do sinal na região de 8,15-12,60 ppm referente ao hidrogênio do NH do anel formado. Os sinais nas regiões de 154,7-158,2 ppm e 154,2-157,8 ppm, no espectro de RMN de ^{13}C , foram atribuídos aos grupos C=O (C-2'') e C=N (C-5''), respectivamente, do núcleo oxadiazólico.

Devido à similaridade dos espectros dentro da série discutiremos os dados espectroscópicos apenas para um dos compostos desta série (composto **87b**). Os dados espectroscópicos obtidos para os derivados **87a-g** estão apresentados nos ANEXOS 1-7, p. 133-153.

O espectro no infravermelho do derivado **87b** apresenta banda de estiramento de ligação em 1775 cm^{-1} (C=O) e 1612 cm^{-1} (C=N) como ilustrado na **Figura I.3a** (EIV-2, p. 137).

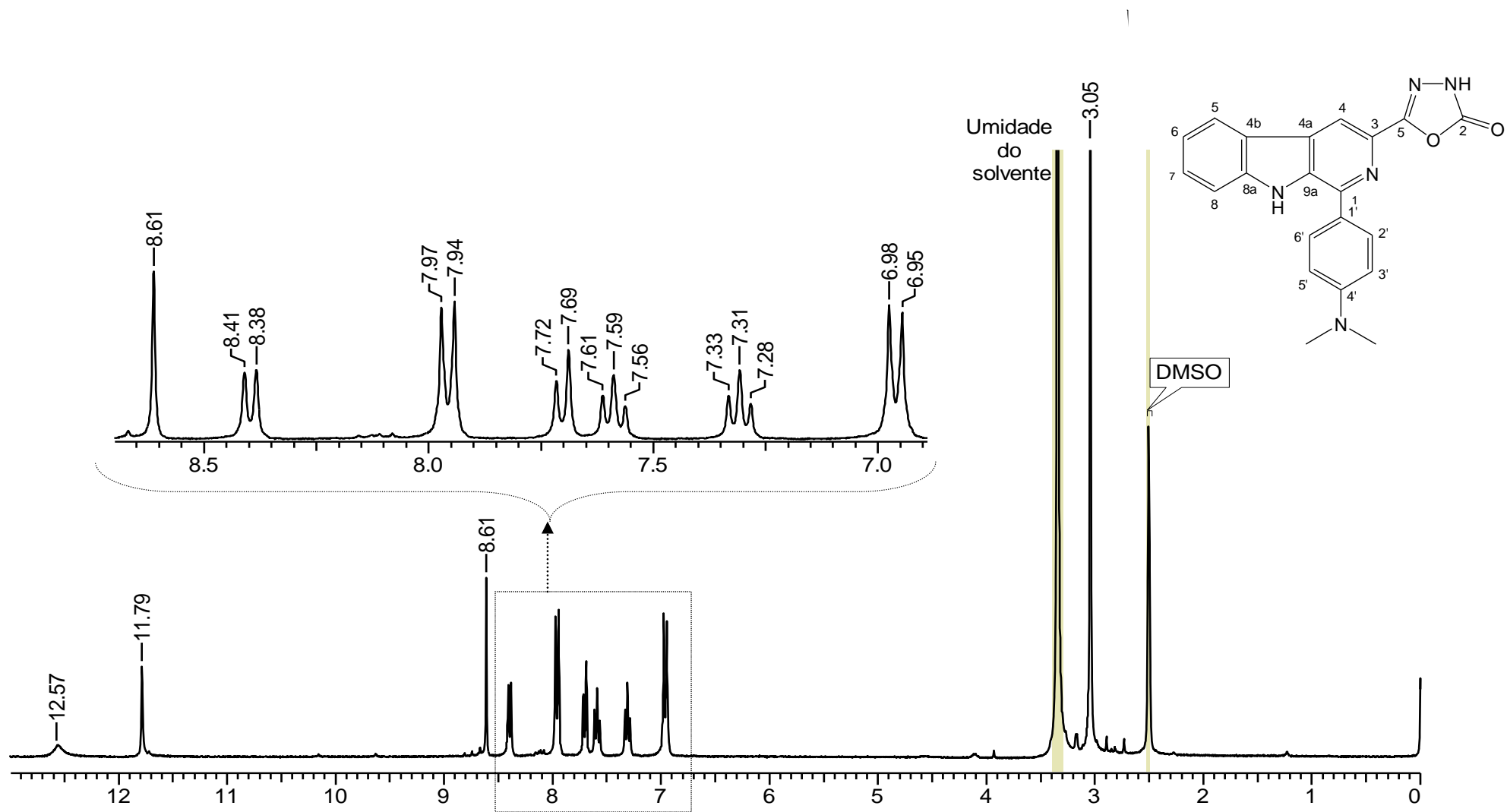
Figura I.3a - Espectro no IV (pastilha/KBr) do composto **87b**.



Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da 1-(4-N,N-dimetilaminofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87b**) apresentou, além dos sinais referentes à unidade β -carbolínica, a presença do simpleto em 12,60 ppm referente ao hidrogênio do NH do anel formado e os sinais na região de δ_{C} 154,9 e 154,7, referentes aos carbonos C-2" (C=O) e C-5" (C=N), que evidenciam a formação do novo heterocíclico, como ilustrado nas **Figuras I.3b e I.3c** e na **Tabela I.1**. (ERMN ^1H -2, p.136 e ERMN ^{13}C -2, p. 137).

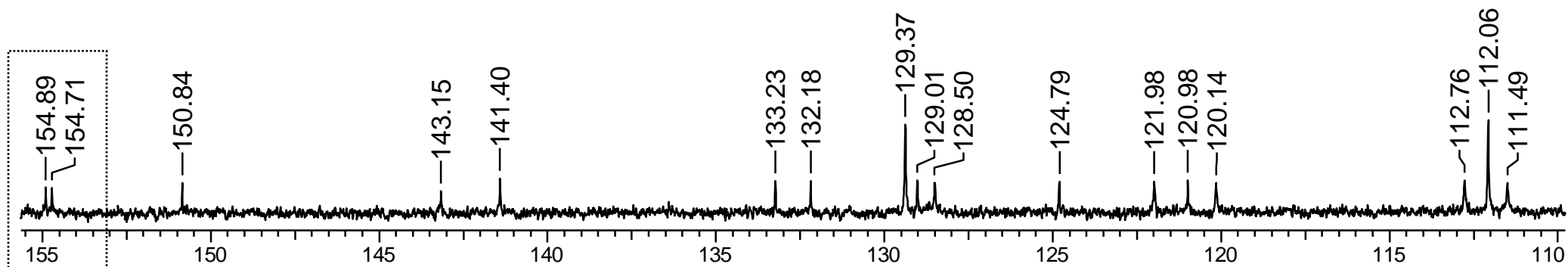
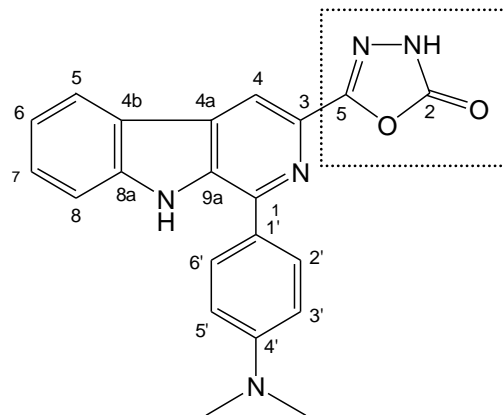
CAPÍTULO I: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura I.3b - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **87b**.



CAPÍTULO I: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura I.3c - Espectro de RMN de ^{13}C (75,0 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **87b**.



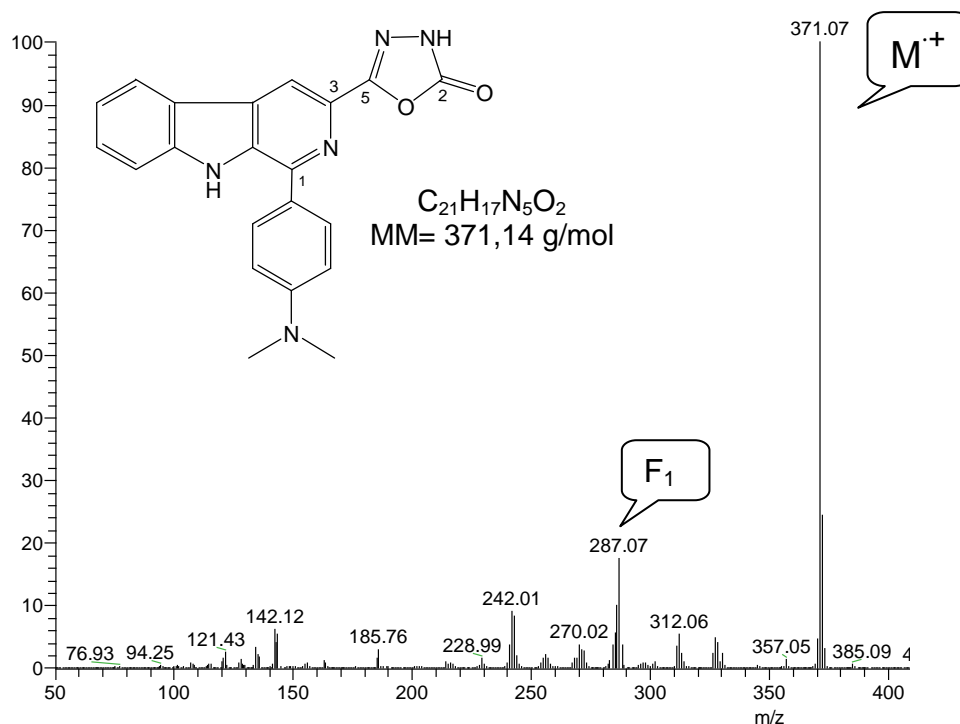
CAPÍTULO I: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela I.1 - Dados comparativos de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (300,0/75,0 MHz, DMSO- d_6) para **86b** e **87b**.

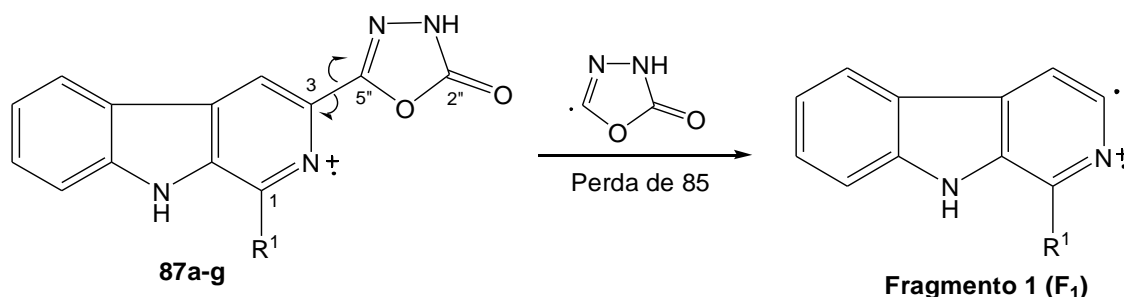
86b			87b		
C/H	δ_{H} (multiplicidade, $J = \text{Hz}$)	δ_{C}	C/H	δ_{H} (multiplicidade, $J = \text{Hz}$)	δ_{C}
1 (C ₀)	-	141,5	1 (C ₀)	-	143,2
3 (C ₀)	-	139,2	3 (C ₀)	-	133,2
4 (CH)	8,67 (s)	111,5	4 (CH)	8,61 (s)	111,5
4a (C ₀)	-	125,1	4a (C ₀)	-	124,8
4b (C ₀)	-	121,3	4b (C ₀)	-	120,9
5 (CH)	8,37 (d, 9,0)	121,8	5 (CH)	8,39 (d, 7,8)	121,9
6 (CH)	7,29 (t, 7,5)	120,0	6 (CH)	7,30 (t, 7,8)	120,1
7 (CH)	7,57 (t, 7,5)	128,3	7 (CH)	7,58 (t, 7,8)	128,5
8 (CH)	7,69 (d, 9,0)	112,7	8 (CH)	7,70 (d, 8,1)	112,7
8a (C ₀)	-	141,4	8a (C ₀)	-	141,4
9 (NH)	11,72 (s)	-	9 (NH)	11,78(s)	-
9a (C ₀)	-	133,6	9a (C ₀)	-	132,2
1' (C ₀)	-	129,3	1' (C ₀)	-	129,0
2'/6' (CH)	8,09 (d, 9,0)	126,6	2'/6' (2CH)	7,95 (d, 8,7)	129,4
3'/5' (CH)	6,93 (d, 9,0)	112,1	3'/5' (2CH)	6,96 (d, 8,7)	112,0
4' (C ₀)	-	150,8	4' (C ₀)	-	150,8
N(CH ₃) ₂	3,04 (s)	40,0	N(CH ₃) ₂	3,05 (s)	40,0
C=O	-	164,2	2'' (C=O)	-	154,9
NH	9,63 (s)	-	5'' (C=N)	-	154,7
NH ₂	4,58 (s)	-	3'' (NH)	12,55 (s)	-

O espectro de massas de baixa resolução do composto **87b** esta mostrado na **Figura I.3d** (EI-MS-2, p. 138).

Figura I.3d - Espectro de massas do composto **87b**.



Os espectros de massas de baixa resolução dos compostos **87 a-g** (EI-MS-1-7) mostraram um mesmo padrão de fragmentação, com a presença do fragmento em m/z $[M^+ - 85]$, relativo à perda da unidade 1,3,4-oxadiazol-2-ona, conforme proposto no **Esquema I.24**.


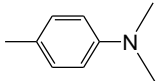
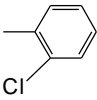
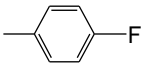
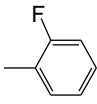
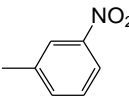
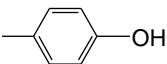


Esquema I.24 - Proposta de fragmentação do massas para os derivados **87 a-g**.

A fragmentação dos compostos envolve uma quebra homolítica da ligação entre a unidade β -carbolina (C-3) e o grupo 1,3,4-oxadiazol-2-ona (C-5'') formando o **Fragmento 1 (F₁)** com m/z característico para cada grupo substituinte na posição-1 (**Tabela I.2**).

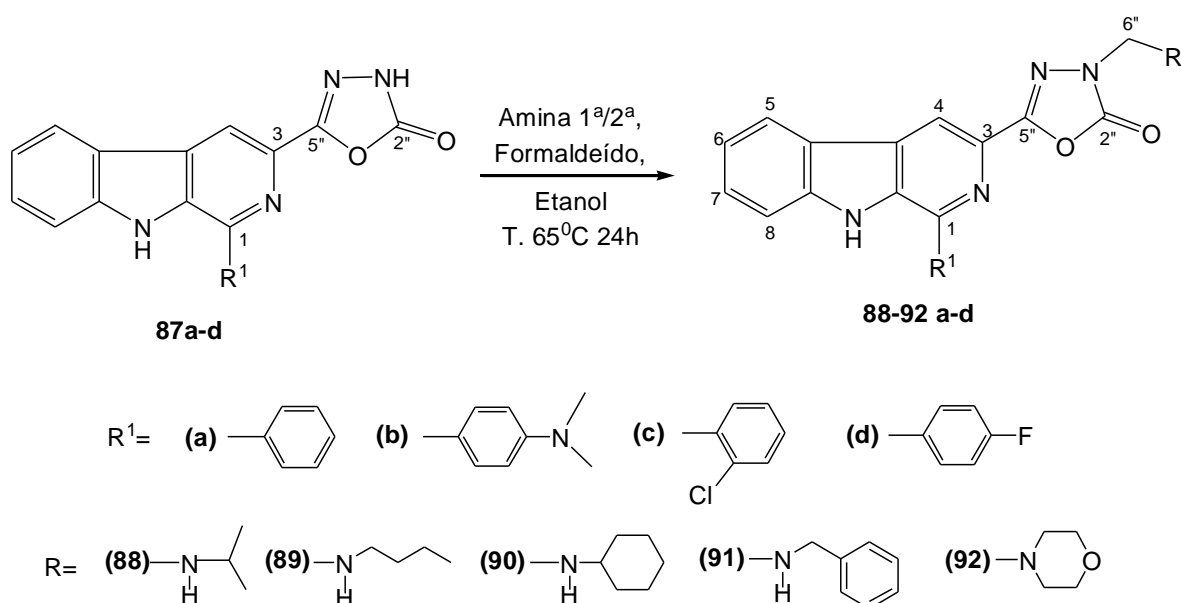
Na **Tabela I.2** estão apresentados os valores do pico do íon molecular (M^+) de cada um dos compostos **87 a-g**, além do valor de m/z do **Fragmento 1** (F_1) correspondente à perda do heterociclo.

Tabela I.2 - Valores de massa molecular (MM), m/z para o íon molecular (M^+) e m/z de F_1 para os compostos **87a-g**.

Composto	R ¹	MM (g/mol)	m/z (M^+)	m/z (F_1)
87a		328,10	328,02	243,02
87b		371,14	371,07	287,07
87c		362,06	361,94	277,97
87d		346,09	345,96	259,97
87e		346,09	346,00	261,01
87f		373,08	373,00	289,00
87g		344,09	344,01	259,01

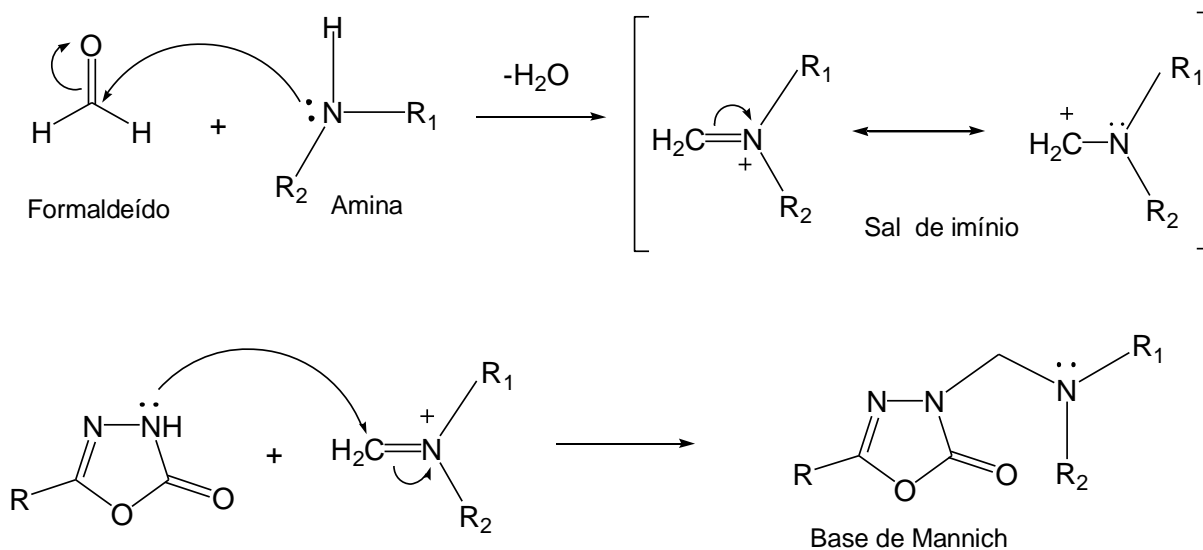
I.2.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[2-OXO-3-(ALQUILAMINOMETIL)-1,3,4-OXADIAZOL-5-IL]- β -CARBOLÍNICOS (BASES DE MANNICH)

Para a preparação das bases de Mannich propostas, os compostos 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbólicos (**87a-d**) foram selecionados e submetidos à reação de condensação com 1,50 eq. das aminas primárias isopropilamina, butilamina, cicloexilamina, benzilamina e da amina secundária morfolina, na presença de formaldeído (37%) (10 eq.) em etanol, obtendo-se os derivados 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbólicos (**88-92 a-d**), com rendimentos de 20 a 70%. (**Esquema I.25**)³⁵.



Esquema I.25 - Rota para a síntese dos compostos 1-fenilssubstituído contendo o grupo 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona na posição-3 da unidade β -carbólica (**88-92 a-d**).

O mecanismo da reação de Mannich envolve a condensação da amina com o formaldeído, formando inicialmente o sal de imínio (ou íon imínio). Em seguida ocorre a reação do NH do oxadiazol e o íon imínio, formando as respectivas bases de Mannich¹¹⁰⁻¹¹², conforme ilustrado no **Esquema I.26**.



Esquema I.26 - Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 1-fenilsubstituído 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**88-92 a-d**).

A confirmação da obtenção dos derivados **88-92 (a-d)** foi realizada por meio da análise dos dados de RMN ^1H e RMN $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$, IV em conjunto com dados de HSQC e de espectrometria de massas (Anexos 8 - 27, p. 154 - 212).

Os espectros de RMN ^{13}C destes compostos apresentaram os sinais correspondentes à carbonila ($\text{C}=\text{O}$) e ao carbono imínio ($\text{C}=\text{N}$) do anel 1,3,4-oxadiazol-2-ona, na região de δ_{C} 164,4-154,0 e δ_{C} 157,2-152,9, respectivamente. A formação das bases de Mannich foi também evidenciada pelos sinais dos hidrogênios metilênicos exocíclicos em δ_{H} 4,58-5,80 (*simpleto*) que correlacionam com os correspondentes carbonos na região de δ_{C} 62,1-69,3 ($\text{N}-\text{CH}_2-\text{N}$). Além disto, as bandas no infravermelho na região de $1608-1625\text{ cm}^{-1}$ e de $1671-1783\text{ cm}^{-1}$, relativas aos grupos $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{O}$, respectivamente, confirmam a presença do anel 1,3,4-oxadiazol-2-ona.

A título de ilustração, discutiremos mais detalhadamente os dados espectroscópicos para os derivados 1-fenil-3-(isopropilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**88a**) e 1-fenil-3-(morfolilmetil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**92a**).

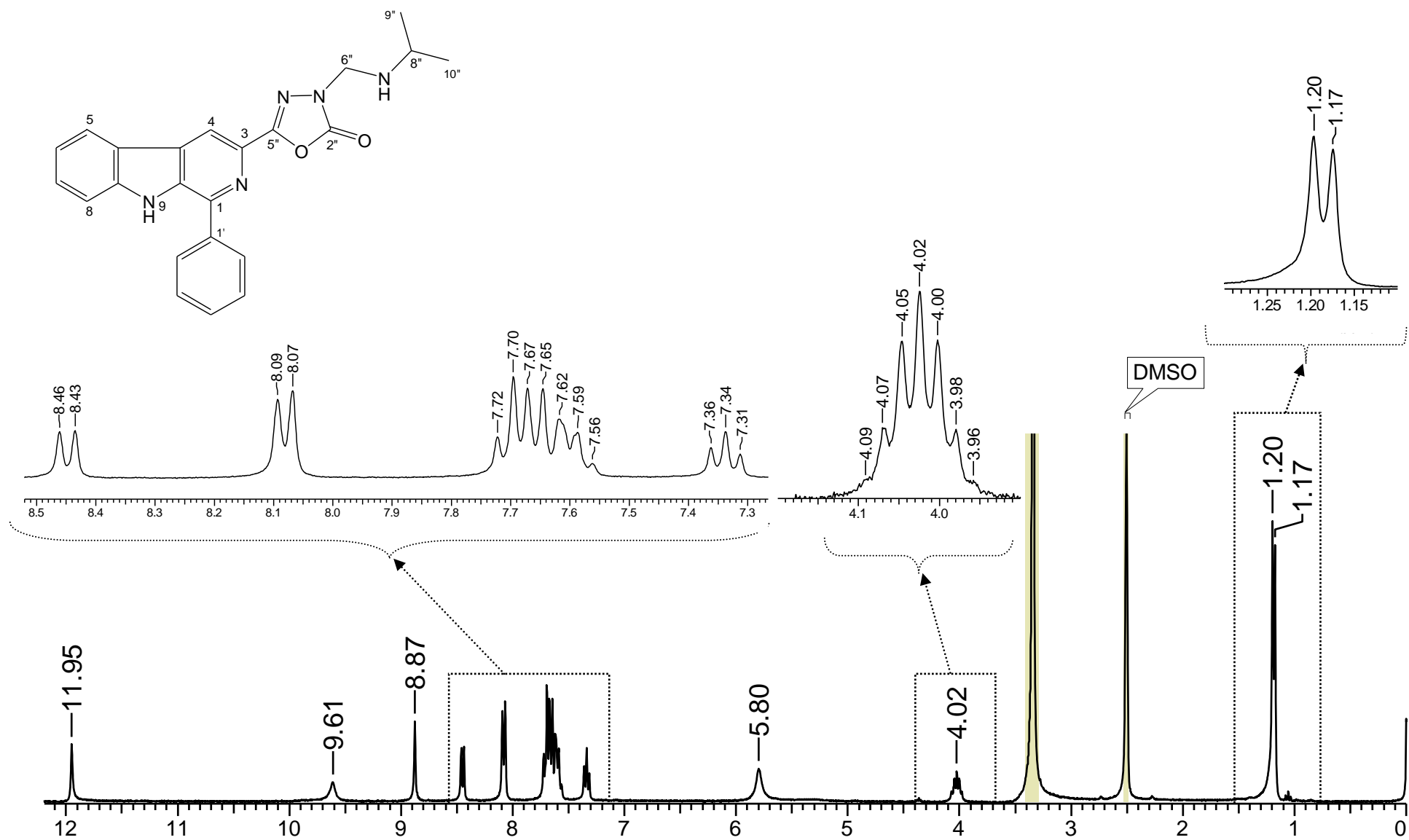
O espectro de RMN de ^1H do derivado 1-fenil-3-[2-oxo-3-(isopropilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**88a**) mostrou a presença dos sinais do grupo metilênico ($\text{N}-\text{CH}_2-\text{N}$) em 5,80 ppm (sl) e do grupo N-isopropil em 4,02 ppm (*sep*, 1H, J 6,9 Hz, H-8"), δ_{H} 1,18 (*d*, 6H, J 6,9 Hz, H-9"/H-10") e um

simpleto em 9,61 ppm referente ao NH, como ilustrado na **Figura I.4a** (ERMN ^1H -8, p. 154).

No espectro de RMN de ^{13}C , os sinais para o grupo N-isopropilaminometil foram observados em 62,5 ppm (N- CH_2 -N), 46,2 ppm (C-8") e 18,9 ppm (C-9"). Os sinais em δ_{C} 159,5 e δ_{C} 155,1 ppm correspondem aos carbonos C-2" (C=O) e C-5" (C=N), do anel heterociclo, como mostrado na **Figuras I.4b** (ERMN ^{13}C -8, p. 155).

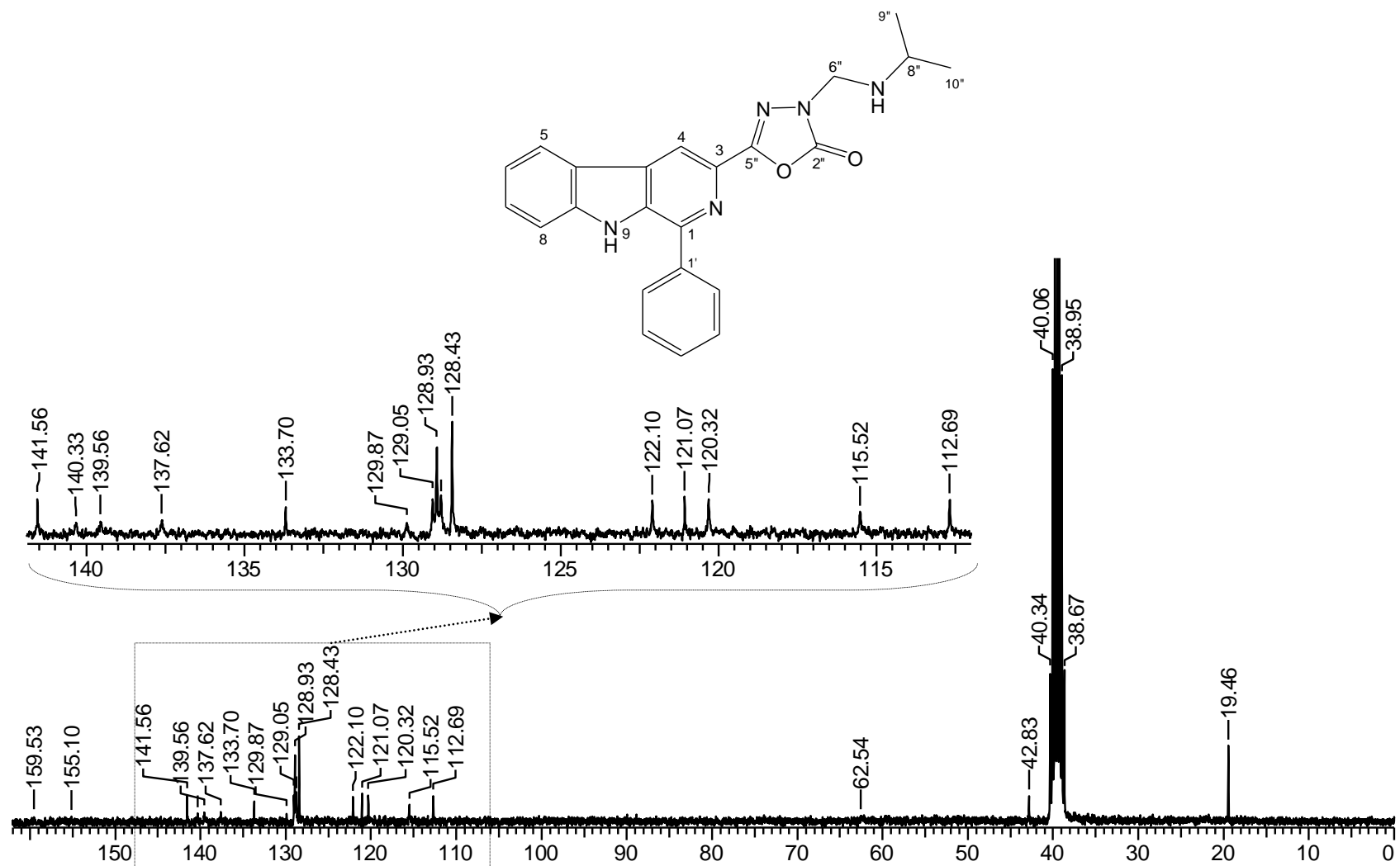
A **Tabela I.3** mostra os dados de RMN de ^1H /RMN ^{13}C que evidenciam a presença dos grupos 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona na posição-3 da unidade β -carbolina para os derivados com os grupos N-butilaminometil (**89a-d**) (Anexos 12 –15, p. 165-176), N-cicloexilaminometil (**90a-d**) (Anexos 16 – 19, p. 177-188) e N-benzilaminometil (**91a-d**) (Anexos 20 – 23, p. 189-200).

Figura I.4a - Espectro de RMN ^1H (300,0 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto 88a.



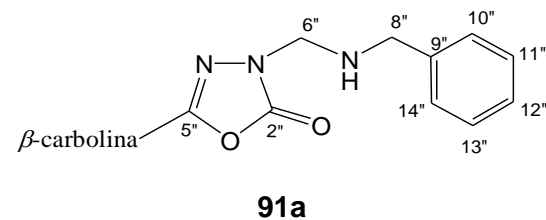
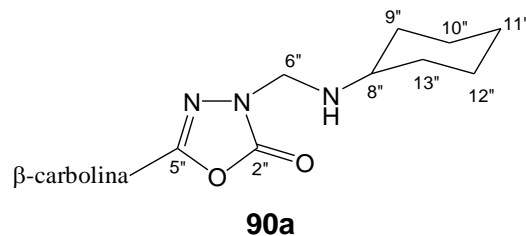
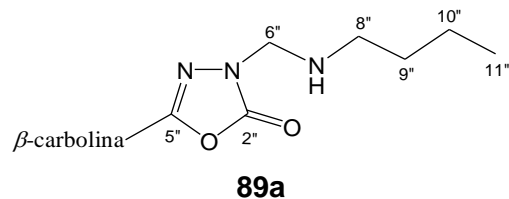
CAPÍTULO I: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura I.4b - Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **88a**.



CAPÍTULO I: RESULTADOS E DISCUSSÃO

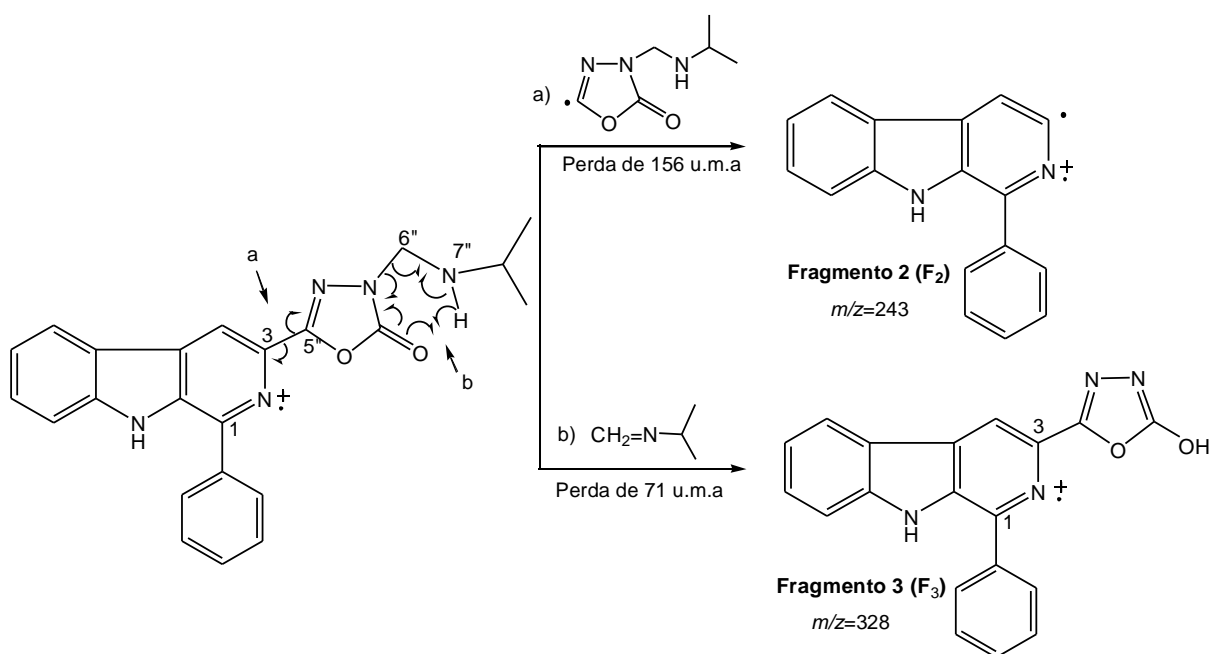
Tabela I.3 - Dados de RMN de ^1H /RMN de ^{13}C para os grupos 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona dos derivados **89a**, **90a** e **91a**.



	δ_{H} (<i>multiplicidade, J = Hz</i>)	δ_{C}	δ_{H} (<i>multiplicidade, J = Hz</i>)	δ_{C}	δ_{H} (<i>multiplicidade, J = Hz</i>)	δ_{C}
2'' (C=O)	–	160,2	–	159,6	–	164,3
5'' (C=N)	–	157,0	–	156,1	–	154,9
H-6''/C-6''	5,72 (s)	65,8	5,78 (s)	63,0	4,58 (s)	69,2
7''NH	9,63 (s)	–	9,57 (sl)	–	10,64 (s)	–
H-8''/C-8''	3,23 (t, 2H, J 6,9)	40,7	3,60 (t, 1H, J 6,0 Hz)	50,5	4,50 (s, 2H)	55,1
H-9''/C-9''	1,48 (quint, 2H, J 6,9)	29,1	1,78 (d, 4H, J 11,0 Hz, H-9''/13'')	29,7	–	134,4
H-10''/C-10''	1,31 (sext., 2H, J 7,2)	19,5	1,04-1,47 (m, 5H, H-10''/H-11''/H-12'')	25,0	7,55-7,72 (m, 3H, H-10'', 12''/14'')	128,8
H-11''/C-11''	0,89 (t, 3H, J 7,2)	13,6	1,04-1,47 (m, 5H, H-10''/H-11''/H-12'')	25,0	7,28-7,39 ppm (m, 2H, H-11''/H-13'')	128,9
H-12''/C-12''	–	–	1,04-1,47 (m, 5H, H-10''/H-11''/H-12'')	25,0	7,55-7,72 (m, 2H, H-10''/12''/14'')	129,0
H-13''/C-13''	–	–	1,78 (d, 4H, J 11,0 Hz, H-9''/13'')	29,7	7,28-7,39 ppm (m, 2H, H-11''/H-13'')	128,9
H-14''/C-14''	–	–	–	–	7,55-7,72 (m, 3H, H-10''/12''/14'')	128,8

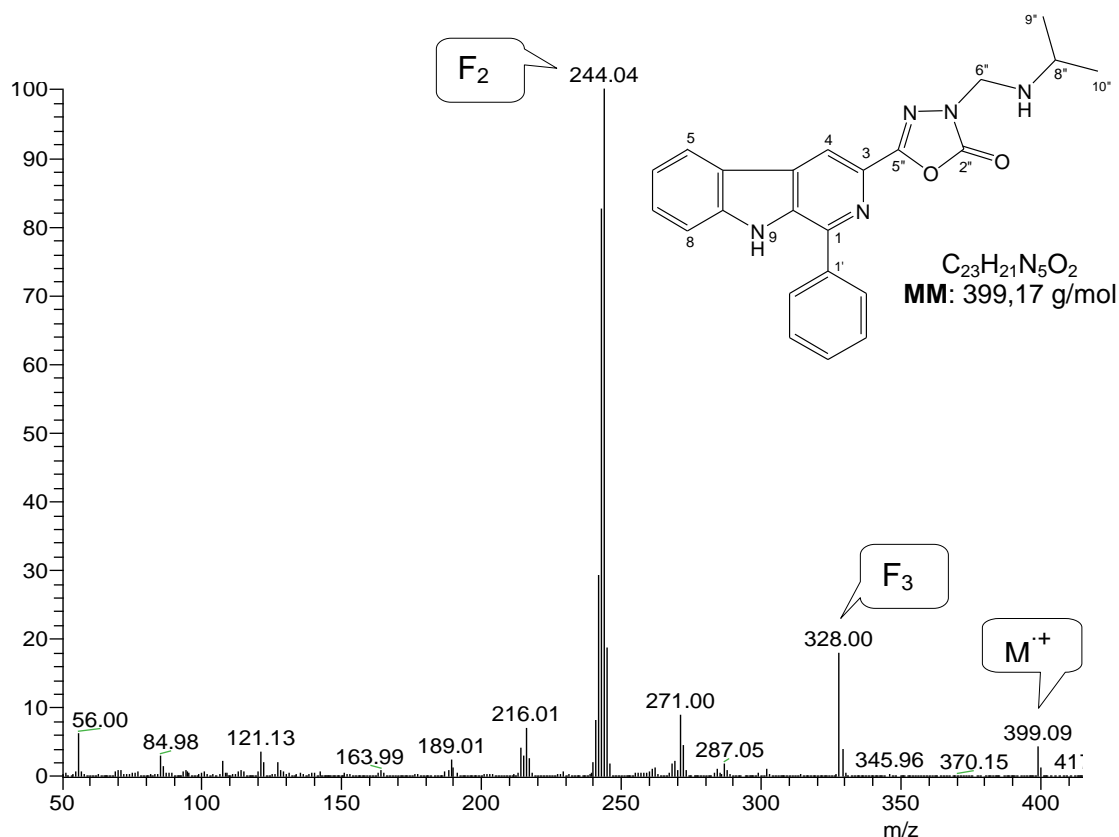
Na análise do espectro de massas do composto **88a**, a formação deste foi confirmada pelo pico do íon molecular (M^{++}) em m/z 399, conforme **Figura I.4c** (EI-MS-8, p. 156) Observou-se a presença do pico em m/z 243, Fragmento 2 (F_2), resultante da perda do grupo 3-(isopropilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (perda de 156 u.m.a) (**Esquema I.27**).

O pico em m/z 328 corresponde ao fragmento resultante da clivagem da ligação entre o C-6'' e o N-3'', por rearranjo de McLafferty, com a saída da molécula neutra (isopropil metileno amina) (perda de 71 u.m.a), conforme mecanismo propostos no **Esquema I.27**.



Esquema I.27 - Fragmentação no espectro de massas do derivado **88a**.

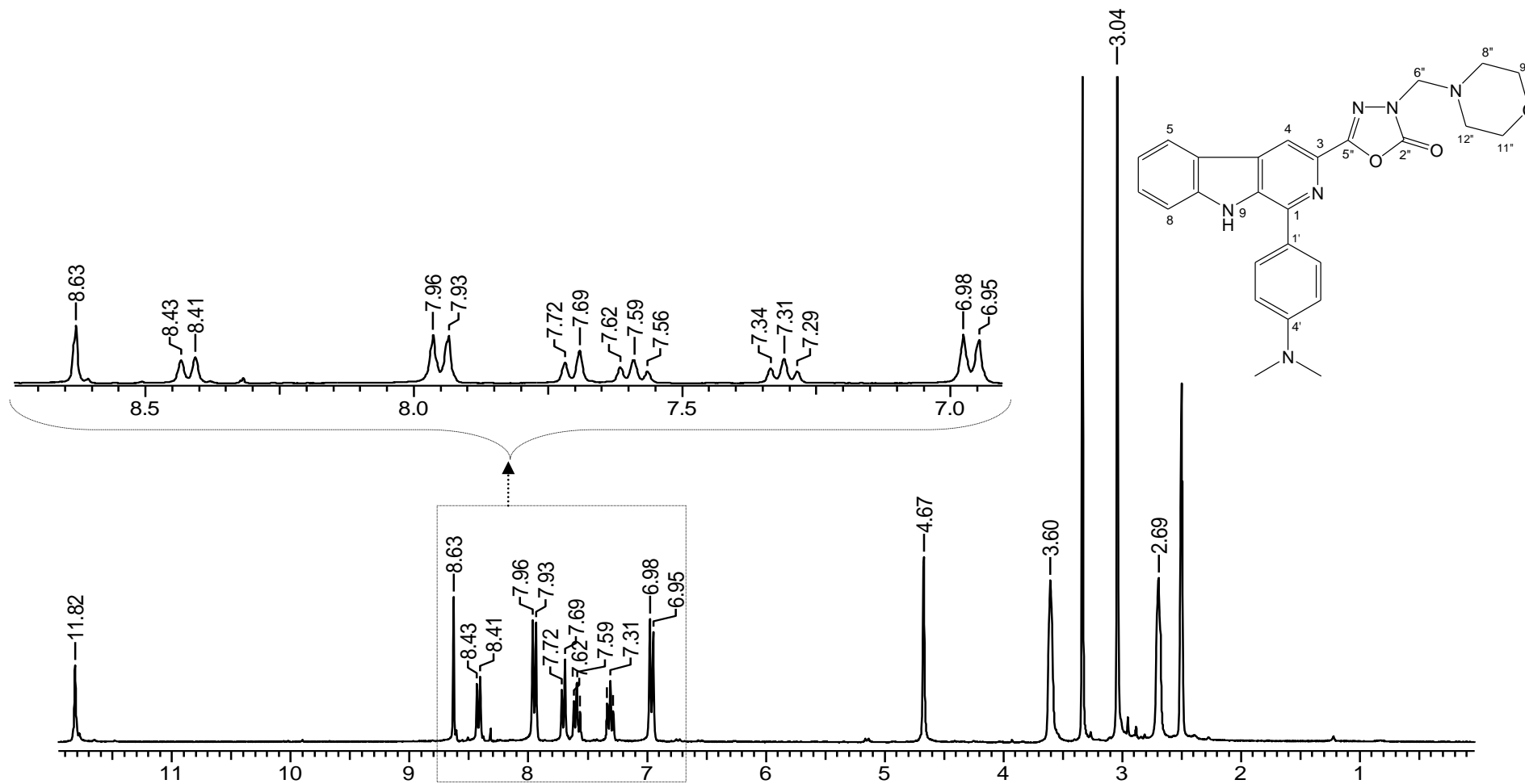
Figura I.4c3 - Espectro de massas do composto 88a.



A introdução do grupo morfolilmetil no composto **92b** (Figura I.5a) foi confirmada pelos sinais no espectro de RMN 1H em δ_H 4,67 (s, N-**CH₂**-N), δ_H 2,70 (t, 4H, *J* 4,0Hz, H-8"/H-12"), δ_H 3,61 (t, 4H, *J* 4,0Hz, H-9"/H-11") e pelos sinais no espectro de RMN ^{13}C dos carbonos metilênicos em δ_C 67,2 (N-**CH₂**-N), δ_C 49,8 (C-8"/C-12") e δ_C 66,1 ppm (C-9"/C-11") (Figura I.5b) (ERMN 1H -25, p. 204 e ERMN ^{13}C -25, p. 205).

Nos espectros de massas para a série dos derivados com o grupo 3-morfolilmetil (EI-MS-24 - 27), observa-se a presença do fragmento-4 (F₄), pico em $m/z=100$ (100%), característico do fragmento morfolil como ilustrado para o derivado **92b** na Figura I.5c.

Figura I.5a - Espectro de RMN de ^1H (300,0 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **92b**.



CAPÍTULO I : RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura I.5b - Espectro de RMN de ^{13}C (75,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **92b**.

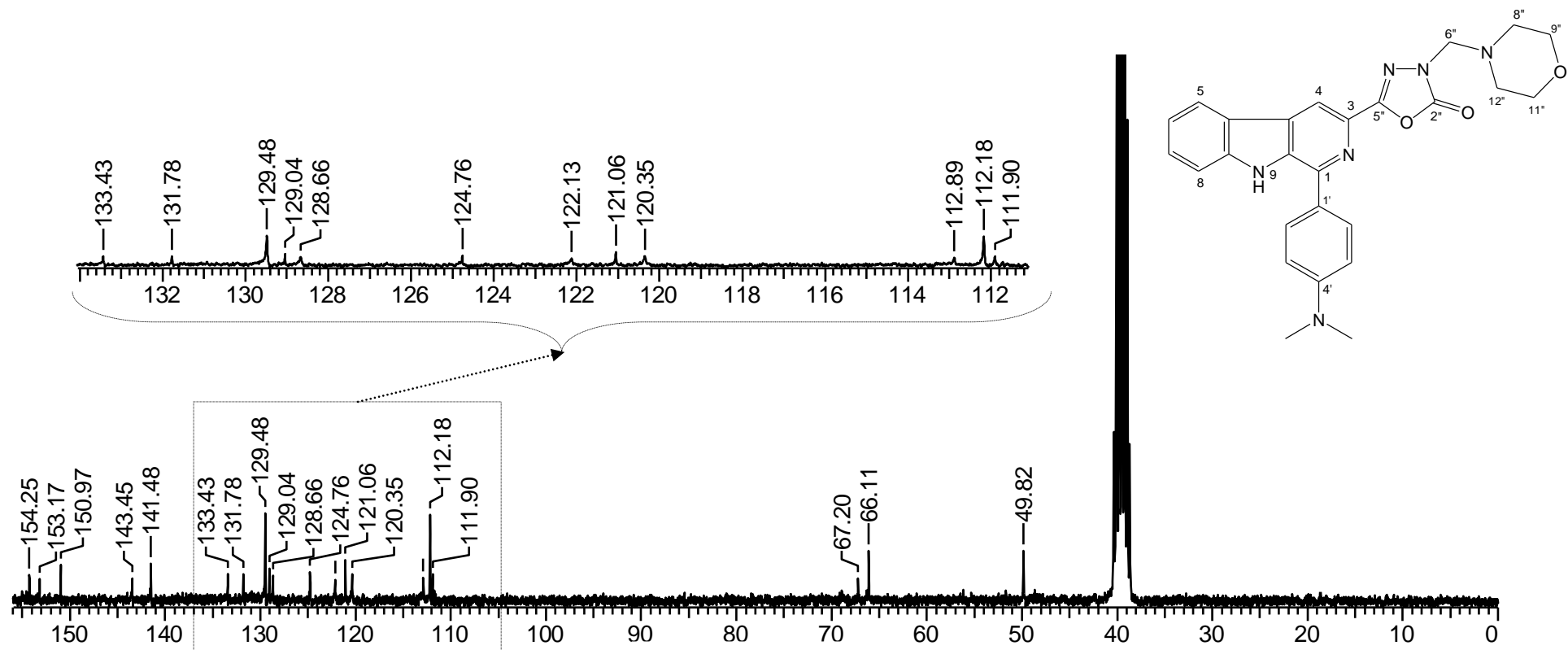
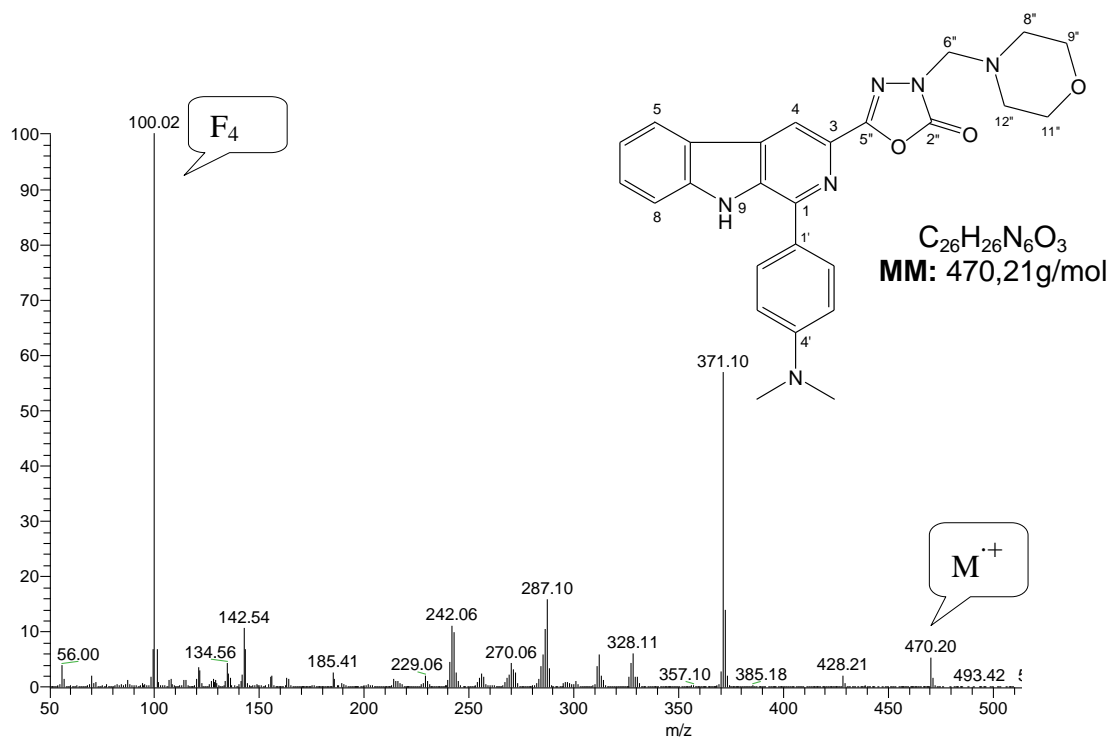


Figura I.5c - Espectro de massas do composto **92b**.



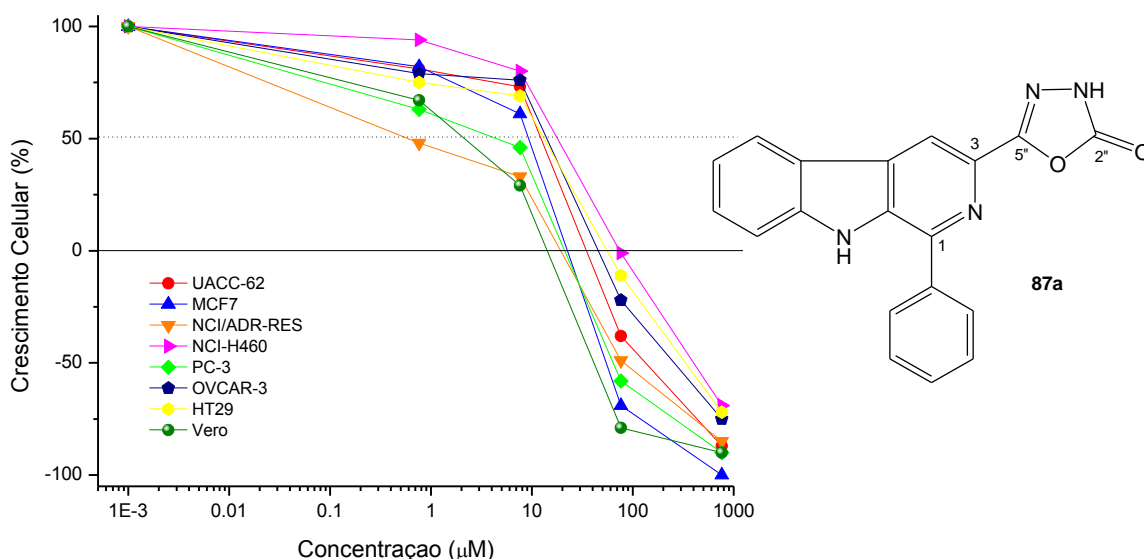
I.3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTITUMORAL E ANTIMICROBIANA

I.3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL.

Nas **Tabelas I.4** e **I.5** encontram-se, respectivamente os dados de GI_{50} dos derivados 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**87a-g**) e 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**88-92 a-d**), frente a sete linhagens de células tumorais humanas, sendo estas: mama (MCF-7), ovário resistente (NCI-ADR/RES), pulmão (NCI-H460), ovário (OVCAR-03), cólon (HT-29), próstata (PC-3) e melanoma (UACC-62). Compostos com valor de $GI_{50} \geq 100 \mu\text{M}$ foram considerados não ativos.

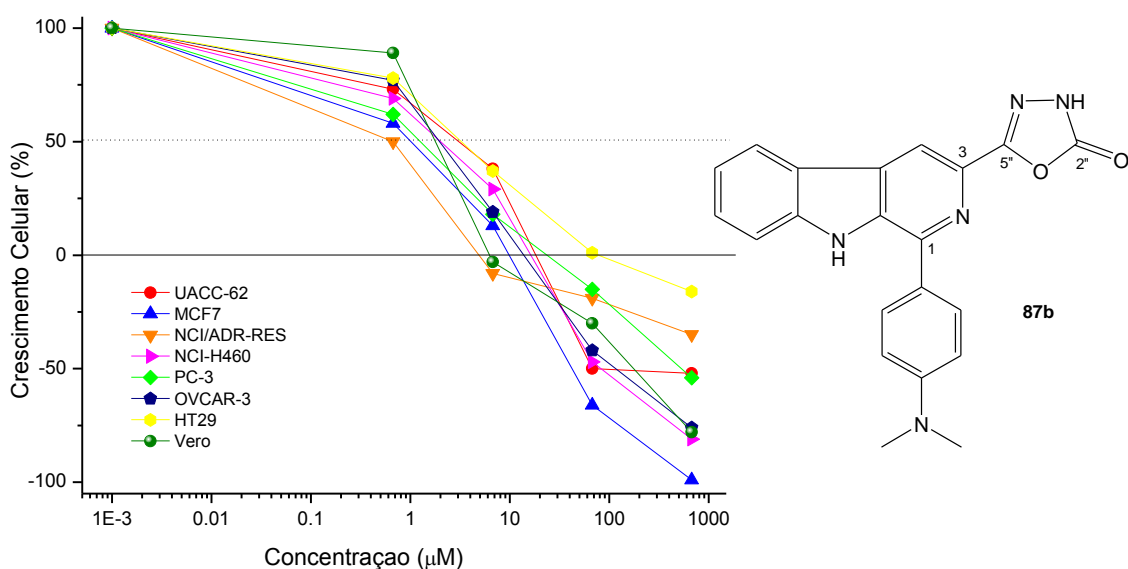
O derivado **87a**, contendo o grupo fenil na posição-1, foi ativo frente todas as linhagens de células testadas com valores de GI_{50} na faixa de 0,86-16,61 μM , sendo seletivo para a linhagem de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com valor de GI_{50} de 0,86 μM , sendo, desta forma, 2 vezes menos citotóxico para as células renais não tumorais (VERO) com GI_{50} de 1,65 μM (**Gráfico I.1**).

Gráfico I.1 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-fenil-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87a**).



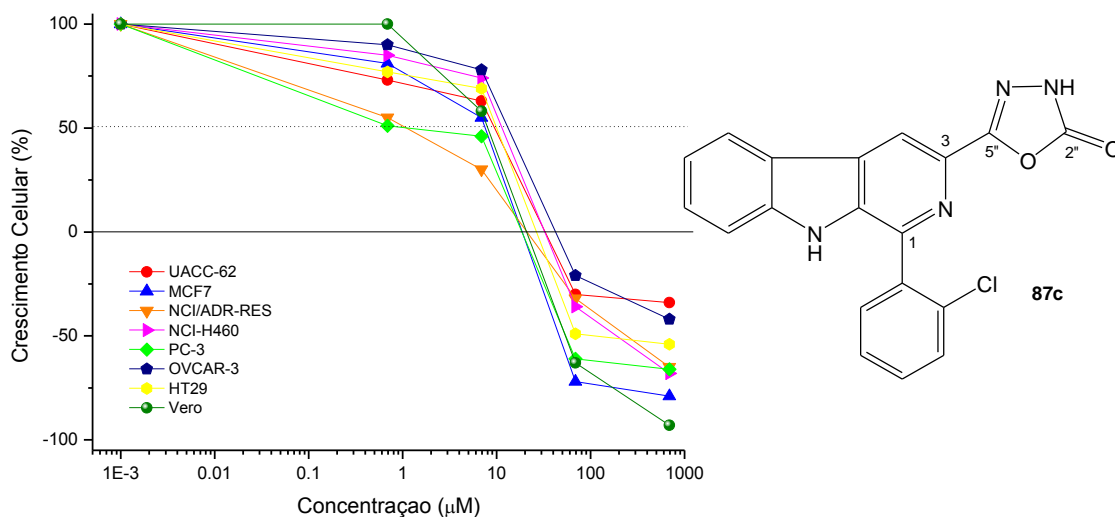
Dentro da série dos derivados 3-[2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**87a-g**), o derivado **87b**, contendo o grupo 4-dimetilaminofenil na posição-1, foi o mais ativo, apresentando valores de GI_{50} entre 0,67 - 3,20 μ M (**Gráfico I.2**). Este foi fortemente ativo frente às linhagens de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com GI_{50} de 0,67 μ M e mama (MCF-7) com GI_{50} = 0,88 μ M e interferiu com menor intensidade na proliferação das células renais não tumorais (VERO, GI_{50} = 3,65 μ M) quando comparada às linhagens mais sensíveis.

Gráfico I.2 - Gráfico de crescimento celular (%) versus concentração (μ M) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87b**).



O composto **87c**, com o grupo 2-clorofenil na posição-1, (**Gráfico I.3**) apresentou potente atividade para as linhagens de ovário resistente (NCI-ADR/RES) e próstata (PC-3), com GI_{50} de 1,04 μ M e 1,10 μ M, respectivamente. Este composto também interferiu com menor intensidade na proliferação da linhagem de VERO (GI_{50} = 7,18 μ M) em comparação com a ação antiproliferativa observada para as células de ovário resistente (NCI-ADR/RES) e de próstata (PC-3).

Gráfico I.3 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μM) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(2-clorofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87c**).



Para o derivado **87g**, foram observados valores de GI_{50} inferiores a $10 \mu\text{M}$ frente às células tumorais de ovário (OVCAR-03) e melanoma (UACC-62).

Comparando-se os valores de GI_{50} dos derivados **87c-e**, que contem halogênios como substituintes do grupo fenila, observa-se que o composto **87c** é mais ativo que os compostos com os grupos 4-fluorfenil (**87d**) e 2-fluorfenil (**87e**) na posição-1.

O composto **87e**, com o grupo 2-fluorfenil, é seletivo frente às células tumorais de ovário (OVCAR-03) com GI_{50} de $7,61 \mu\text{M}$, sendo para as demais células não ativo. O derivado **87f** com o grupo 3-nitrofenil na posição-1, apresentou atividade antitumoral significativa para as células de próstata (PC-3) com GI_{50} de $2,20 \mu\text{M}$, sem atividade para as demais linhagens.

Os compostos **87 d-f**, foram os menos ativos, o que demonstra que a presença dos grupos retiradores de densidade eletrônica na posição-1 da unidade β -carbolínica diminuem a atividade antiproliferativa dentro dessa série de compostos.

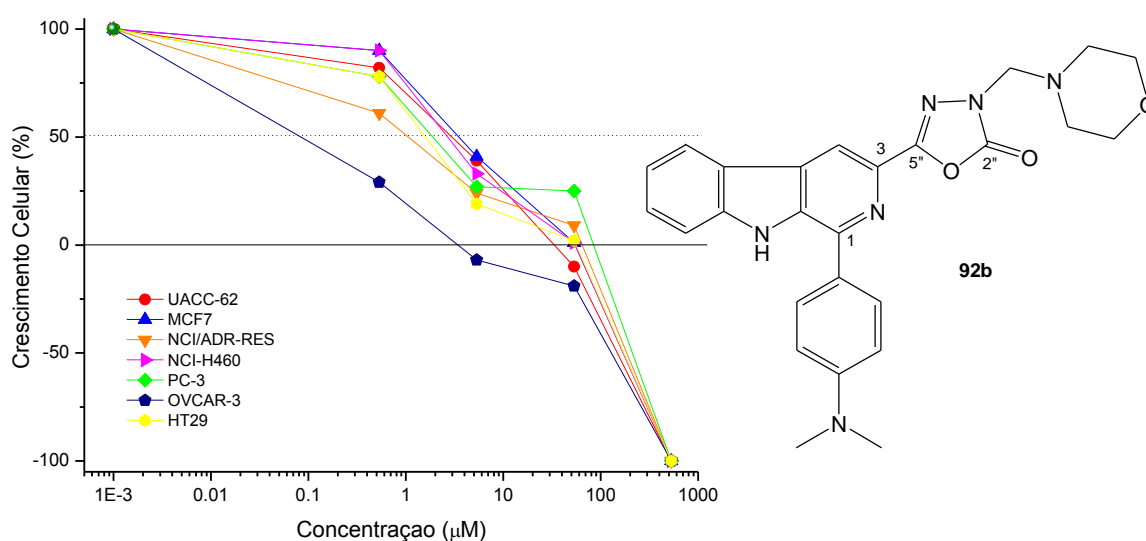
Considerando-se a atividade média (Média de GI_{50}) é possível ordenar os compostos, do mais ativo para o menos ativo, sendo: **87b** > **87c** > **87a** > **87g** \cong **87f** \cong **87d** > **87e**.

Com base nos resultados da atividade antiproliferativa dos derivados 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**87a-g**), os derivados **87 a-d** foram selecionados para síntese das

bases de Mannich **88-92 (a-d)**, esperando-se aumentar a atividade dos derivados 2-oxo-1,3,4-oxadiazol- β -carbolínicos (**87a-d**).

Nestas séries, o derivado **92b**, com o grupo 4-dimetilaminofenil na posição-1 e o grupo morfolilmetil na posição-3, foi fortemente ativo frente todas as linhagens de células testadas com valores de GI_{50} na faixa de 0,46 - 3,93 μ M, exceto para a linhagem de melanoma com GI_{50} de 26,94 μ M (**Gráfico I.4**). Este composto foi mais ativo do que seu precursor (**87b**), para as células de ovário (OVCAR-03) e cólon (HT29) com GI_{50} de 0,46 μ M e 1,53 μ M, respectivamente. Porém considerando-se a média de GI_{50} ele foi menos ativo do que **87b**.

Gráfico I.4 - Gráfico de crescimento celular (%) versus concentração (μ M) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-dimetilaminofenil)-3-[2-oxo-3-(morfolilmetil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**92b**).



O derivado **92c** foi ativo para as linhagens de ovário resistente (NCI-ADR/RES) e ovário (OVCAR-03) com GI_{50} 5,00 e 1,41 μ M, respectivamente. O derivado **92d** foi seletivo para a linhagem de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com valor de GI_{50} igual a 1,33 μ M.

O composto **89a**, com grupo fenil na posição-1 e o grupo butilaminometil na posição-3, além da forte atividade frente às células de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com GI_{50} de 0,20 μ M, apresentou significativa atividade frente às células de ovário (OVCAR-03) e de próstata (PC-3) com GI_{50} = 0,72 μ M e 2,23 μ M,

respectivamente, sendo para estas três linhagens de células, mais ativo que o seu precursor a 1-fenil-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolina (**87a**).

O derivado **88b** com o grupo 3-isopropilaminometil e grupo 1-(4-dimetilaminometil) foi ativo frente às células de ovário (OVCAR-03) e ovário resistente (NCI-ADR/RES) com valores de GI₅₀ de 0,22 μ M e 0,20 μ M, respectivamente.

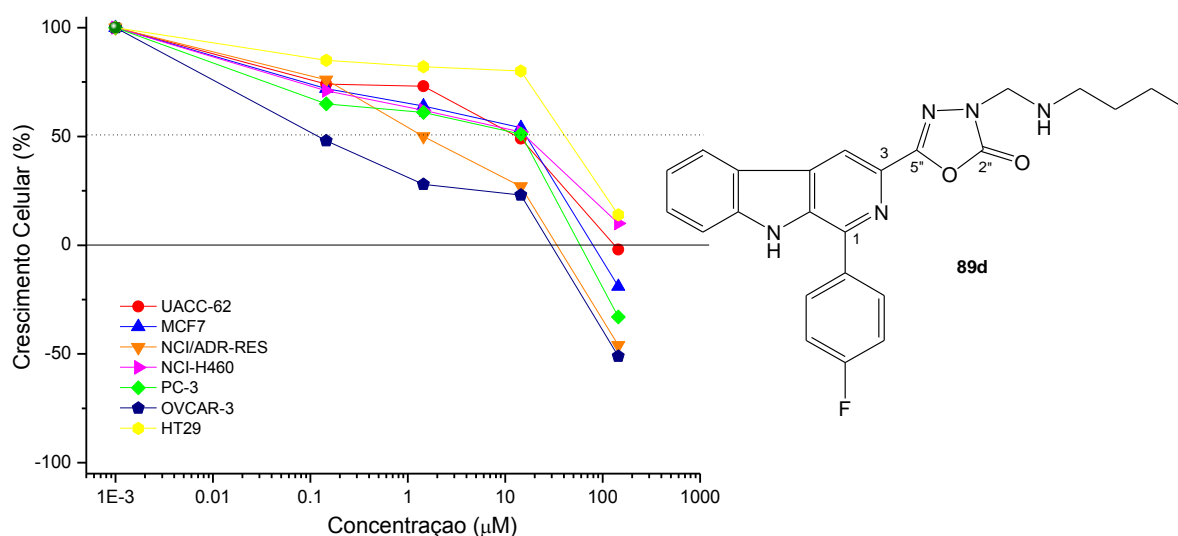
Os compostos **88b, d; 89a, c, d; 91d** e **92 a-b** foram fortemente ativos frente à linhagem de células tumorais de ovário (OVCAR-03) com valores de GI₅₀ inferiores a 1,0 μ M.

Por outro lado, os compostos **88a, b, d; 89a, c, d; 91a, d** e **92 b-d** foram fortemente ativos frente às células tumorais de ovário resistente (NCI-ADR/RES) com valores de GI₅₀ inferior a 10,0 μ M.

Os compostos **89 a, b, d** e **92b** foram fortemente ativos para as células de próstata (PC-3) com GI₅₀ de 2,23; 3,07; 2,11 e 2,04 μ M, respectivamente.

Observou-se melhora significativa da atividade antiproliferativa do derivado **89d**, com o grupo 4-fluorfenil na posição-1 e grupo butilaminometil na posição-3, em relação ao seu precursor **87d**, como ilustrado no **gráfico I.5**.

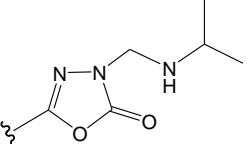
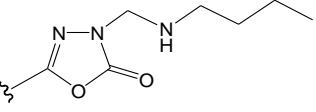
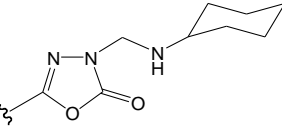
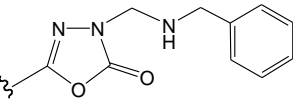
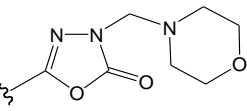
Gráfico I.5 - Gráfico de crescimento celular (%) *versus* concentração (μ M) para o ensaio de atividade antiproliferativa da 1-(4-flúorfenil)-3-[2-oxo-3-(butilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolina (**89d**).



Dentre todas as β -carbolinas contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-ona sintetizadas neste trabalho, o composto **92b** e seu precursor **87b** foram os mais ativos frente às sete linhagens de células tumorais humanas avaliadas.

CAPÍTULO I : ATIVIDADE ANTITUMORAL

Tabela I.5 - Valores de GI₅₀ (µM) da avaliação da atividade antitumoral das bases de Mannich 88-92 (a-d).

Compostos	Células	Mama (MCF-7)	Ovário Resistente (NCI-ADR/RES)	Pulmão (NCI-H460)	Ovário (OVCAR-03)	Cólon (HT29)	Próstata (PC-3)	Melanoma (UACC-62)	Média GI ₅₀
	DOX	0,05	0,22	0,02	0,04	0,35	0,13	0,07	0,12
	88a	16,09	1,09	67,18	4,14	14,31	NT	NT	20,56
	88b	61,68	2,91	63,77	0,22	64,20	21,95	63,84	39,79
	88c	20,83	15,41	22,77	20,89	21,52	NT	NT	20,28
	88d	10,63	2,75	33,74	0,72	24,88	25,90	15,96	16,36
	89a	63,00	0,20	7,04	0,72	24,01	2,23	16,68	16,26
	89b	>100	10,64	>100	18,52	59,76	3,07	9,92	>43,13
	89c	4,65	2,03	3,33	0,28	>100	17,67	10,59	>19,79
	89d	3,71	1,19	4,46	0,16	36,59	2,11	5,75	7,71
	90a	>100	>100	>100	64,47	>100	NT	NT	>92,89
	90b	68,90	55,34	62,04	53,65	60,76	59,97	56,88	59,64
	90c	26,79	77,81	20,29	23,40	49,57	NT	NT	39,57
	90d	>100	60,38	>100	2,64	>100	>100	66,96	75,71
	91a	>100	5,56	>100	5,38	>100	>100	37,42	>64,05
	91b	>100	>100	>100	>100	>100	NT	NT	>100
	91c	5,69	15,56	4,42	5,35	12,48	NT	NT	8,70
	91d	49,48	0,56	>100	0,67	>100	56,05	33,35	>48,58
	92a	13,70	13,70	13,70	0,25	14,20	11,30	8,97	10,83
	92b	3,93	1,00	3,10	0,46	1,53	2,04	26,97	5,57
	92c	54,42	5,00	53,72	1,41	23,09	11,90	22,86	24,62
	92d	52,30	1,33	37,02	65,68	13,03	>100	20,84	>41,45

DOX.: Doxorubicina

Média GI₅₀ = ΣGI₅₀/número de linhagens avaliadas

NT: Não avaliados frente às linhagens.

I.3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada no CPQBA na UNICAMP em colaboração com a Prof. Dra. Marta C. T. Duarte.

Os compostos **87a-g** foram testados frente às bactérias *Escherichia coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853, *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 e *Bacillus subtilis* ATCC-6623 e aos fungos *Candida albicans* ATCC-1023, *Candida tropicalis* ATCC-28707 e *Candida parapsilosis* ATCC-22019. A atividade antimicrobiana foi testada, na concentração máxima de 100 µg/mL.

Apesar dos relatos encontrados na literatura a respeito das atividades antibacteriana e antifúngica para compostos contendo o núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-ona⁸⁶, a introdução deste núcleo na posição-3 da unidade β -carbolílica não resultou em atividade antimicrobiana frente os microrganismos avaliados.

Nas condições empregadas os derivados sintetizados **87a-g** apresentaram CMI maior que 100 µg/mL e, devido a isso, as bases de Mannich **88-92 (a-d)** não foram encaminhadas a atividade antimicrobiana.

I.3.3 ESTUDOS DOS PARAMÊTROS *IN SILICO* DE ABSORÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS DERIVADOS 87-92 (a-d).

Um estudo teórico dos compostos 1-fenilsubstituído-3-(2-oxo-1, 3, 4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**87a-d**) e de suas bases de Mannich **88-92 (a-d)**, foi realizado, aplicando-se para isto a “regra do cinco” de Lipinski⁴⁰ e determinando-se a área topológica da superfície polar (TPSA)³⁹.

Os valores obtidos, através de cálculos teóricos, para os parâmetros de Lipinski para os novos derivados **87-92 (a-d)** estão mostrados na **Tabela I.6**. Todos os derivados apresentam número de grupos doadores de ligação hidrogênio (DLH), tal como OHNH, igual a 1 ou 2 e número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (ALH), sendo ON, de 6 à 9, dentro dos padrões estabelecidos.

As massas moleculares apresentaram-se entre 328,33 g/mol < MM <490,56 g/mol, estando dentro do parâmetro estabelecido (devem ser < 500g/mol).

Os compostos **87a-d** e as bases de mannich com os grupos N-isopropilaminometil (**88a-d**), N-butilaminometil (**89a-d**), N-benzilaminometil (**91a-d**) e morfolilmetil (**92a-d**) ligados ao anel oxadiazolínico apresentaram lipofilicidade menor do que 5,0, com valores entre 2,97 a 4,89, exceto os derivados **89c** e **91c**. Estes e todos os derivados com os grupos cicloexilaminometil (**90a-d**) apresentaram valores maiores do que 5,0, violando uma das regras de Lipinski^{40, 43}.

Os compostos **87-92 (a-d)** apresentaram valores de porcentagem de absorção entre 75,98 - 78,79%, indicando que os mesmos tem boa permeabilidade.

O ideal é que os compostos tenham valores de área topológica da superfície polar (do *inglês* Topological Polar Surface Area-TPSA) entre 70 a 140 Å². Os compostos apresentando valores entre 88,74 a 97,57 Å², estão de acordo com este parâmetro.

A maioria dos compostos sintetizados não apresentou nenhuma violação das regras de Lipinski, sendo promissores a estudos *in vivo*.

Os compostos avaliados apresentaram LogS de -5,45 a -8,06 mol.L⁻¹, o que não é o ideal, porque a maioria dos medicamentos comerciais possuem LogS maior do que -4⁴⁴.

Os valores de “druglikeness” e de “drugscore” para os novos derivados e seus precursores estão no **Gráfico I.6**. Os valores de “drugscore” variaram de 0,07 a 0,24 sendo baixos e os valores de “druglikeness” de 0,08 a -6,38 mol.L⁻¹, o ideal para “druglikeness” é que os valores sejam positivos ente 0 a 4, um valor positivo indica

que o composto contém predominantemente fragmentos que estão frequentemente presentes em fármacos comerciais⁴⁴. Os derivados **88a**, **88c**, **91c** e **92c** apresentaram valores positivos tanto de “druglikeness” como de “drugscore”, indicando uma tendência como bons fármacos, com destaque para o derivado **92c**.

CAPÍTULO I: ESTUDO *IN SILICO*

Tabela I.6 - Valores dos dados *in silico* calculados para os compostos **87-92 (a-d)**.

Compostos	% ABS	TPSA ^a (Å ²)	Regra do 5 de Lipinski ^a				n violações	Log S ^b
			nALH	nDLH	milogP	MM		
87a	75,34	97,57	6	2	3,45	328,33	0	-5,94
87b	77,67	90,81	7	2	3,56	371,4	0	-5,98
87c	78,79	87,57	6	2	4,08	362,7	0	-6,68
87d	78,79	87,57	6	2	3,62	346,3	0	-6,26
88a	78,38	88,74	7	2	3,97	399,4	0	-6,43
88b	77,27	91,98	8	2	4,07	442,52	0	-6,46
88c	78,38	88,74	7	2	4,6	433,8	0	-7,16
88d	78,38	88,74	7	2	4,13	417,4	0	-6,74
89a	78,38	88,74	7	2	4,73	413,48	0	-6,59
89b	77,27	91,98	8	2	4,83	456,55	0	-6,63
89c	78,38	88,74	7	2	5,36	447,92	1	-7,33
89d	78,38	88,74	7	2	4,89	431,47	0	-6,9
90a	78,38	88,74	7	2	5,20	439,52	1	-7,32
90b	77,27	91,98	8	2	5,30	482,58	1	-7,36
90c	78,38	88,74	7	2	5,83	473,96	1	-8,06
90d	78,38	88,74	7	2	5,36	457,50	1	-7,64
91a	78,38	88,74	7	2	4,69	447,49	0	-7,07
91b	77,27	91,98	8	2	4,79	490,56	0	-7,11
91c	78,38	88,74	7	2	5,32	481,94	1	-7,81
91d	78,38	88,74	7	2	4,86	465,48	0	-7,39
92a	78,23	89,19	8	1	3,38	427,46	0	-5,45
92b	77,11	92,43	9	1	3,49	470,53	0	-5,49
92c	78,23	89,19	8	1	4,01	461,90	0	-6,19
92d	78,23	89,19	8	1	3,55	445,45	0	-5,77

^a www.molinspiration.com/cgi-bin/properties

^b www.organic_chemistry.org/prog/peo

ABS= Absorção

TPSA= Area da superfície polar

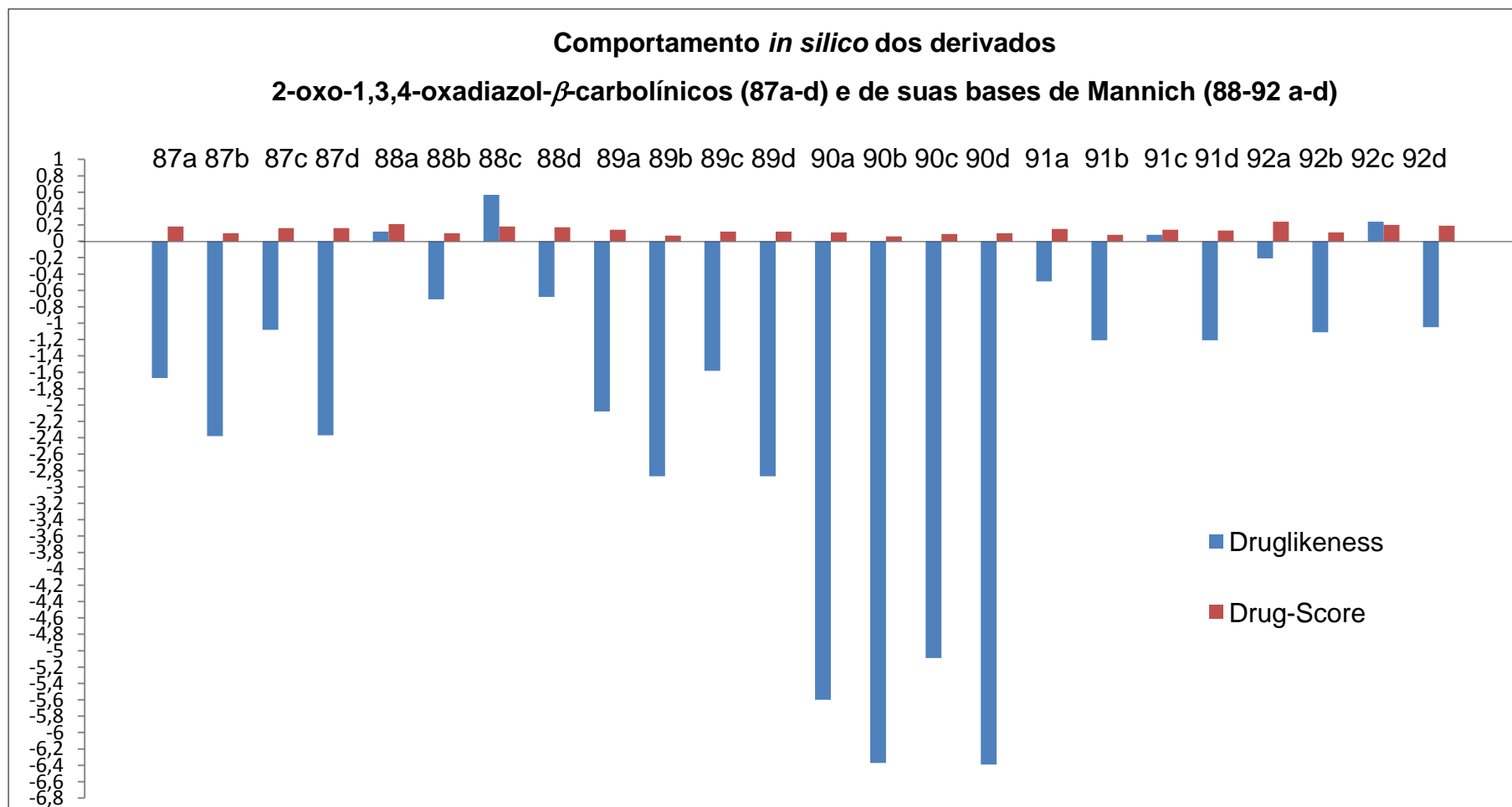
%ABS = 109 - 0.345 x TPSA

nDLH (número de grupos doadores de ligação hidrogênio) ≤ 5.

nALH (número de grupos aceptores de ligação hidrogênio) ≤ 10.

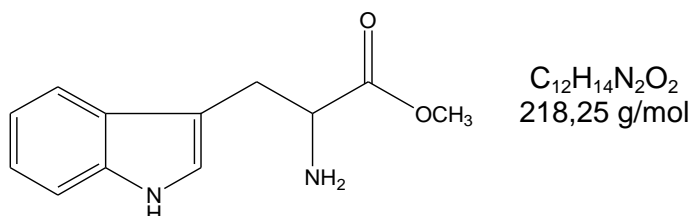
Log S: Solubilidade

Gráfico I.6 - Valores de “Druglikeness” e “Drugscore” dos derivados 3-[2-oxo-3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-5-il]- β -carbolínicos (**88-92 a-d**) e dos seus precursores **87 a-d**.



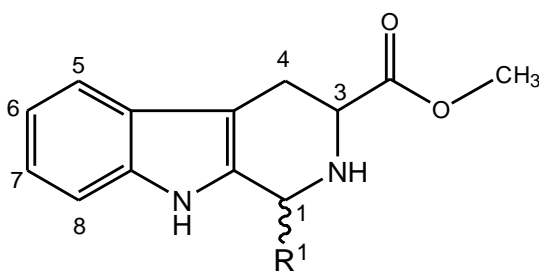
I.4 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

I.4.1 SÍNTESE DO TRIPTOFANO METIL ÉSTER (83)



À uma suspensão do L-triptofano comercial 3,00 g (13,72 mmol) em metanol (60 mL), adicionou-se gotas de ácido sulfúrico concentrado até total solubilização do L-triptofano. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 48h e, a seguir, neutralizada com uma solução de carbonato de sódio a 10% e extraída com acetato de etila (3x 30mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e, após filtragem do secante, o solvente foi removido em evaporador rotatório. O produto foi obtido puro com um rendimento de 95%.

I.4.2 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBOMETÓXI-TETRAIDRO- β -CARBOLINAS (84 a-i**).**



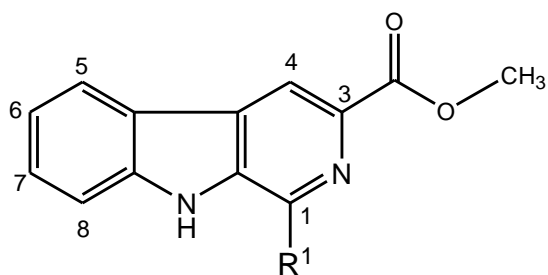
A uma solução de L-triptofano metil éster (**83**) (1,00g; 4,60 mmol) em 10 mL de CH_2Cl_2 foram adicionados 6,90 mmol (1,5 equivalentes) do aldeído apropriado (**Tabela I.7**) e ácido trifluoroacético (10,08 mmol; 2,2 equivalentes).

A mistura reacional foi mantida a temperatura ambiente sob agitação por 48h. Após esse período adicionou-se 30 mL de água destilada e neutralizou-se com uma solução aquosa de Na_2CO_3 5%, extraíndo-se posteriormente com diclorometano (1 x 30mL) e com acetato de etila (2 x 30 mL). Os solventes foram removidos em evaporador rotativo e o produto lavado com metanol. Os produtos foram obtidos como mistura dos isômeros *cis* e *trans* com rendimentos mostrados **Tabela I.7**.

Tabela I.7 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **84 a-i**.

Aldeídos	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento (%)
Benzaldeído	84a	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$	306,14	80
4-dimetilaminobenzaldeído	84b	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$	349,18	83
2-clorofenil	84c	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}$	340,10	87
4-flúorfenil	84d	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{F}$	324,13	70
2-flúorfenil	84e	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{F}$	324,13	75
3-nitrobenzaldeído	84f	$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$	351,36	85
4-hidróxifenil	84g	$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$	322,13	80
4-metóxifenil	84h	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$	336,15	85
3-metóxi 4-hidróxifenil	84i	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$	352,14	80

I.4.3 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBOMETÓXI- β -CARBOLINAS (85 a-i).

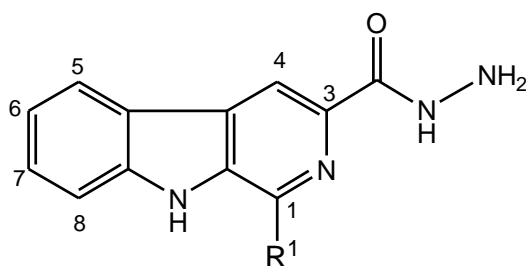


A uma solução da mistura *cis+trans* das 1-fenilsubstituído 3-carbometóxi-tetraidro- β -carbolicinas (**84 a-i**) foram adicionados 25 mL de xileno e 9,78 mmol de enxofre em pó (3,0 equivalentes). A solução foi mantida sob refluxo e agitação por 48 horas e, posteriormente, por 3 horas à 0°C sob agitação, para a precipitação. O precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner e lavado com éter de petróleo. Os rendimentos obtidos constam na **Tabela I.8**.

Tabela I.8 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **85 a-i**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento (%)
fenil	85a	C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₂	302,11	81
4-dimetilaminofenil	85b	C ₂₁ H ₁₉ N ₃ O ₂	345,15	90
2-clorofenil	85c	C ₁₉ H ₁₃ N ₂ O ₂ Cl	336,07	85
4-flúorfenil	85d	C ₁₉ H ₁₃ N ₂ O ₂ F	320,10	60
2-flúorfenil	85e	C ₁₉ H ₁₃ N ₂ O ₂ F	320,10	80
3-nitrofenil	85f	C ₁₉ H ₁₃ N ₃ O ₄	347,33	70
4-hidroxifenil	85g	C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₃	318,10	80
4-metóxfenil	85h	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₃	332,12	85
3-metóxi 4-hidróxifenil	85i	C ₂₀ H ₁₆ N ₂ O ₄	348,11	80

I.4.4 SÍNTESE DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO β -CARBOLINAS-3-CARBOIDRAZIDAS (86 a-g).

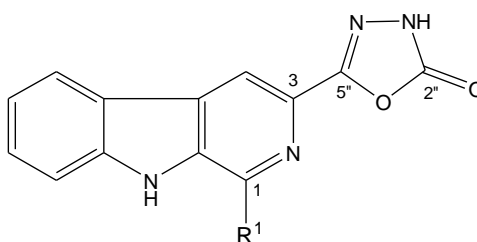


A uma solução das 1-fenilsubstituído 3-carbometóxi- β -carbolicinas (**85 a-g**) (3,31 mmol) em 50 mL de etanol adicionou-se hidrazina monoidratada 51% (52,96 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 72 horas e posteriormente, por 2 horas à 0°C sob agitação. O precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner e lavado com etanol. Os rendimentos obtidos constam na **Tabela I.9**.

Tabela I.9 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **86 a-g**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rendimento (%)
fenil	86a	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O	302,12	77
4-dimetilaminofenil	86b	C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O	345,16	90
2-clorofenil	86c	C ₁₈ H ₁₃ N ₄ OCl	336,08	80
4-flúorfenil	86d	C ₁₈ H ₁₃ N ₄ OF	320,11	60
2-flúorfenil	86e	C ₁₈ H ₁₃ N ₄ OF	320,11	70
3-nitrofenil	86f	C ₁₈ H ₁₃ N ₅ O ₃	347,10	72
4-hidroxifenil	86g	C ₁₈ H ₁₄ N ₄ O ₂	318,11	80

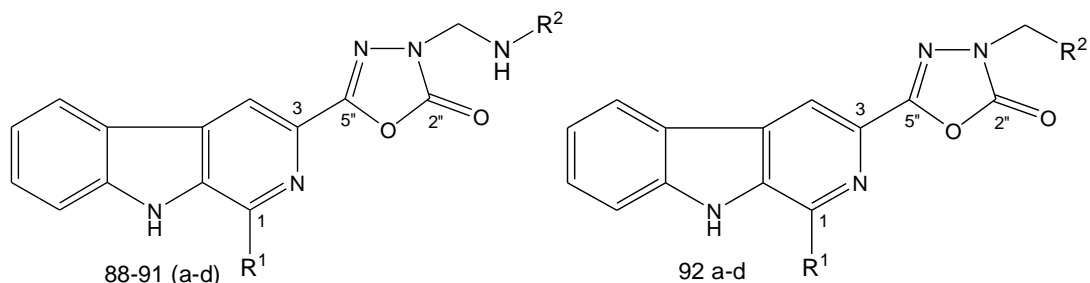
I.4.5 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-(2-OXO-1,3,4-OXADIAZOL)-β-CARBOLÍNICOS (87 a-g).



A uma solução das β-carbolina-3-carboidrazidas (**86 a-g**) (1 mmol) em dimetilformamida (5 mL), a 0 °C e sob agitação, adicionou-se trietilamina (1,25 mmol) e 1,1-carbonildiimidazol (1,20 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação por 1h, a 0° C, e por 48h a temperatura ambiente. Após este período, a mistura reacional foi resfriada em banho de gelo seguido da adição de água gelada (10 mL). O precipitado formado foi filtrado em funil de Buchner e lavado com água gelada. O filtrado foi extraído com acetato de etila (3 x 40mL) e a fase orgânica lavada com água (3 x 40 mL), tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotativo. Os rendimentos obtidos constam na **Tabela I.10**.

Tabela I.10 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **87a-g**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend. (%)	PF (°C)
fenil	87a	C ₁₉ H ₁₂ N ₄ O ₂	328,00	62	220-223
4-dimetilaminofenil	87b	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O ₂	371,00	45	240-242
2-clorofenil	87c	C ₁₉ H ₁₁ N ₄ O ₂ Cl	362,50	85	182-184
4-flúorfenil	87d	C ₁₉ H ₁₁ N ₄ O ₂ F	346,00	20	255-257
2-flúorfenil	87e	C ₁₉ H ₁₁ N ₄ O ₂ F	346,00	20	225-228
3-nitrofenil	87f	C ₁₉ H ₁₁ N ₅ O ₄	373,00	56	Decomp
4-hidroxifenil	87g	C ₁₉ H ₁₂ N ₄ O ₃	344,00	20	>250

1.4.6 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[2-OXO-3-(ALQUILAMINOMETIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-IL]- β -CARBOLÍNICOS (88-92 a-d).

A uma solução dos derivados **87a-d** (0,5 mmol) em etanol (5 mL), sob agitação e a temperatura ambiente, adicionou-se uma solução contendo formaldeído 37% (5,0 mmol) e a amina apropriada (isopropilamina, butilamina, cicloexilamina, benzilamina, pirrolidina ou morfolina) (0,5 mmol). A mistura reacional foi mantida a 70°C, sob agitação por 24 horas e posteriormente, deixada em agitação por 1 hora à 0 °C. O precipitado formado foi filtrado em funil de Buchner e lavado com etanol. Os rendimentos para os derivados obtidos constam na **Tabela I.11**.

CAPÍTULO I: PARTE EXPERIMENTAL

Tabela I.11 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **88-92 (a-d)**.

R ¹	R ²	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend. (%)	PF (°C)
Fenil	Isopropil	88a	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₂	399,17	45	218-220
4-dimetilaminofenil	Isopropil	88b	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₂	442,21	65	>250
2-clorofenil	Isopropil	88c	C ₂₃ H ₂₀ N ₅ O ₂ Cl	433,13	40	180-182
4-flúorfenil	Isopropil	88d	C ₂₃ H ₂₀ FN ₅ O ₂	417,16	20	247-249
Fenil	Butil	89a	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂	413,19	50	244-245
4-dimetilaminofenil	Butil	89b	C ₂₆ H ₂₈ N ₆ O ₂	456,23	70	222-224
2-clorofenil	Butil	89c	C ₂₄ H ₂₂ N ₅ O ₂ Cl	447,50	68	217-219
4-flúorfenil	Butil	89d	C ₂₄ H ₂₂ N ₅ O ₂ F	431,18	64	215-217
Fenil	Cicloexil	90a	C ₂₆ H ₂₅ N ₅ O ₂	439,20	30	>250
4-dimetilaminofenil	Cicloexil	90b	C ₂₈ H ₃₀ N ₆ O ₂	482,24	69	231-233
2-clorofenil	Cicloexil	90c	C ₂₆ H ₂₄ N ₅ O ₂ Cl	473,16	35	171-173
4-flúorfenil	Cicloexil	90d	C ₂₆ H ₂₄ N ₅ O ₂ F	457,19	45	237-240
Fenil	Benzil	91a	C ₂₇ H ₂₁ N ₅ O ₂	447,17	24	218-222
4-dimetilaminofenil	Benzil	91b	C ₂₉ H ₂₆ N ₆ O ₂	490,21	20	>250
2-clorofenil	Benzil	91c	C ₂₇ H ₂₀ N ₅ O ₂ Cl	481,13	25	>250
4-flúorfenil	Benzil	91d	C ₂₇ H ₂₀ N ₅ O ₂ F	465,16	20	229-231
Fenil	Morfolil	92a	C ₂₄ H ₂₁ N ₅ O ₃	427,16	67	187-189
4-dimetilaminofenil	Morfolil	92b	C ₂₆ H ₂₆ N ₆ O ₃	470,21	64	144-145
2-clorofenil	Morfolil	92c	C ₂₄ H ₂₀ N ₅ O ₃ Cl	461,13	50	230-233
4-flúorfenil	Morfolil	92d	C ₂₄ H ₂₀ N ₅ O ₃ F	445,16	44	212-215

I.5 CONCLUSÃO

Nesta parte do trabalho foi realizada a síntese e avaliação da atividade antitumoral e antimicrobiana dos derivados 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolínicos (**87 a-g**) e de suas bases de Mannich (**88-92 a-d**).

A síntese dos derivados (**87 a-g**) foi possível a partir da reação das β -carbolinas-3-carboidrazidas (**86 a-g**) com carbonildiimidazol (CDI), com rendimentos de 20 - 80%.

A síntese das séries de bases de Mannich (**88-92 a-d**) foi realizada pela reação das 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il)- β -carbolinas (**87 a-g**) com formaldeído e com as aminas: isopropilamina, butilamina, cicloexilamina, benzilamina e morfolina, com rendimentos de 20 - 70%.

Dentre todos os derivados avaliados da série das 1,3,4-oxadiazol-2-ona, o composto **87b**, com o grupo 4-dimetilaminofenil na posição-1, foi o mais ativo frente às linhagens de células tumorais humanas testadas. A introdução do grupo morfolilmetil em **87b** resultou no derivado mais ativo **92b**.

Os resultados dos ensaios de atividade antimicrobiana para os compostos **87 a-g** mostraram que os mesmos não foram ativos apresentado IC₅₀ maior que 100 μ g/mL para todos os microorganismos avaliados.

CAPÍTULO II

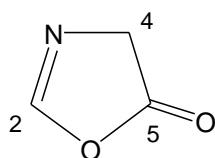
**Síntese e caracterização das 3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolinas
(3-azalactonas- β -carbolinas)**

II.1 INTRODUÇÃO

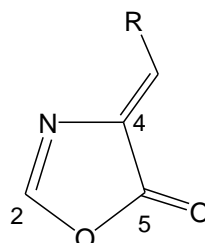
No capítulo II são abordados: **a)** alguns aspectos gerais sobre 1,3-oxazol-5-ona; **b)** a síntese e caracterização dos derivados 1-fenilssubstituído 3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol]- β -carbolínicos; **c)** a avaliação das atividades antitumoral e antimicrobiana e estudo *in silico* dos parâmetros ADME dos compostos sintetizados.

II.1.1 ASPECTOS GERAIS SOBRE 1,3-OXAZÓIS-5-ONA

Compostos contendo o heterociclo 1,3-oxazol-5-ona (**I**) vêm sendo estudados por vários grupos de pesquisa devido às diferentes atividades biológicas apresentadas, incluindo antimicrobiana¹¹³⁻¹¹⁶, inibidora da tirosinase¹¹⁷ e imunomoduladora¹¹⁸. Também são aplicados como fluoróforos para o reconhecimento de proteínas e peptídeos¹¹⁹ e são importantes intermediários em síntese¹²⁰⁻¹²², sendo que diversos métodos de síntese deste núcleo são encontrados na literatura^{37, 38, 123-126}.



1,3-oxazol-5-ona (**I**)



4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona (**II**)

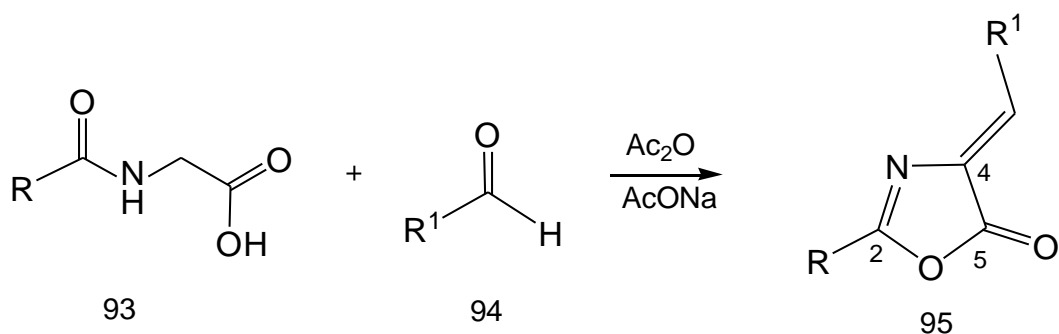
Devido à inexistência de relatos na literatura de atividade antitumoral de compostos com a unidade 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona, no trabalho descrito neste capítulo realizou-se a síntese e avaliação da atividade antitumoral e antimicrobiana de novas β -carbolinas contendo na posição-3 o grupo 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona, também chamados de azalactona.

II.1.2 PRINCIPAIS MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE 4-(SUBSTITUÍDO-BENZILIDENO)-1,3-OXAZÓIS-5-ONA

A seguir apresentamos uma breve revisão sobre a síntese, atividades farmacológicas e aplicação como intermediário para a síntese de compostos ativos, da unidade 4-(substituído-metilideno)-1,3-oxazol-5-ona.

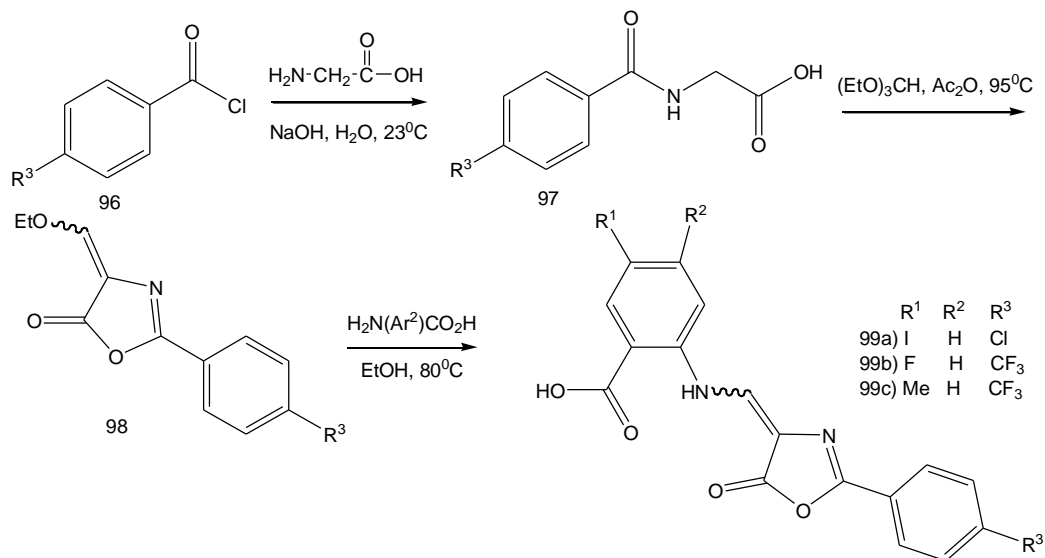
Compostos heterocíclicos com a unidade 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona, nomeadas também de azalactonas, são conhecidos desde o século XIX e preparados pelo método clássico conhecido como síntese de Plöchl-Erlenmeyer, e detalhadamente descrito na revisão de Carter e col. (1946)¹²³ e Bala e col. (2011)³⁷.

O procedimento experimental mais comum de preparação de tais compostos é via reação entre um derivado da glicina (**93**) (ou qualquer outro aminoácido) e um aldeído (**94**), utilizando anidrido acético como solvente e acetato de sódio como catalisador^{37, 38, 123, 127} (**Esquema II.1**).



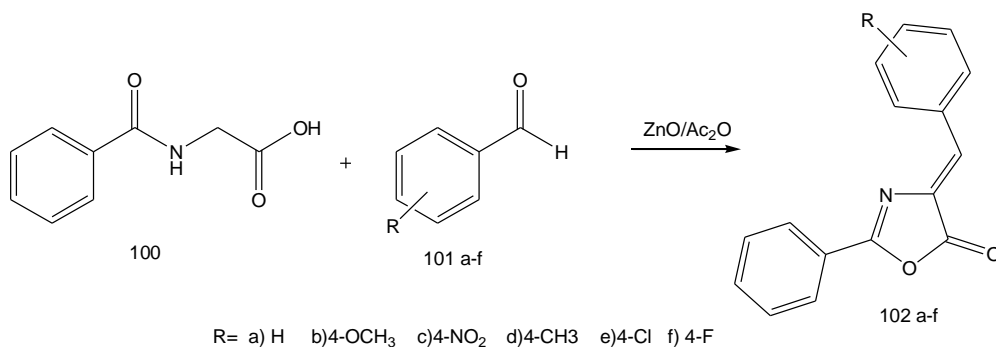
Esquema II.1 - Rota geral para a síntese de azalactonas.

Gilbert e col. (2004)¹²⁸ sintetizaram uma série de 1,3-oxazol-5-ona (**99a-c**) e analisaram a inibição *in vitro* da proteína transportadora de acil de bactérias resistentes a múltiplas drogas, observando para os derivados **99a-c**, valores de IC₅₀ de 1,3 µM, 1,9 µM e 0,83 µM, respectivamente. O derivado **99a** apresentou moderada atividade antibacteriana frente *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* ATCC e *E. faecalis* VRE com valores de CMI de 12,5-50,0 µM (**Esquema II.2**).



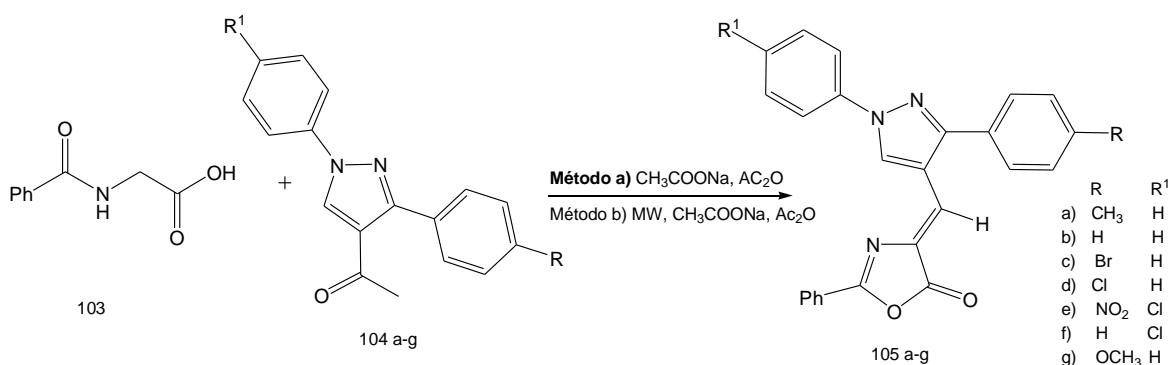
Esquema II.228 – Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gilbert (2004).

Pasha e col. (2007)¹²⁹ sintetizaram a partir da reação entre o ácido hipúrico (**100**) e diferentes aldeídos (**101**), catalisada por óxido de zinco a temperatura ambiente e em bons rendimentos, os compostos **102 a-f** (**Esquema II.3**). Esses foram avaliados frente as bactéria *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, sendo que o composto **102f** mostrou o melhor perfil antimicrobiano.



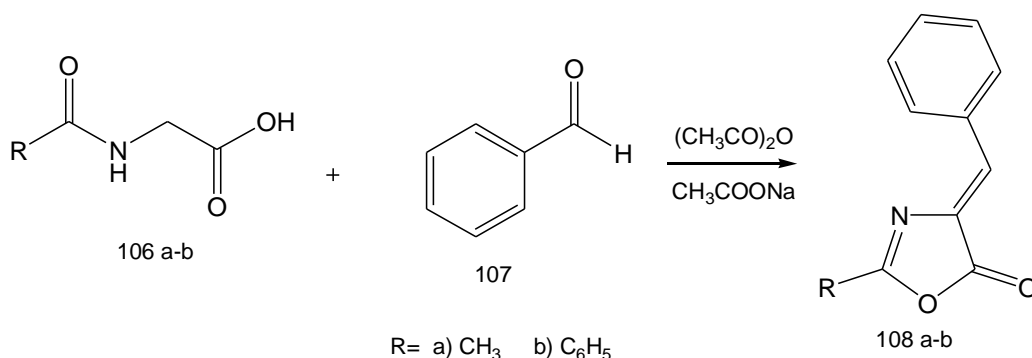
Esquema II.3 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Pasha (2007).

Argade e col. (2008)¹¹⁴ sintetizaram uma série de derivados 1,3-oxazol-5-ona pela metodologia convencional (**método A**) e utilizando microondas (**método B**), sendo que com microondas obtiveram rendimentos melhores e menores tempos reacionais. O composto **105d**, ao ser avaliado frente às bactérias *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, na dose de 25 µg/mL, apresentou halos de inibição de 9,4mm, 7,4mm e 8,3mm, respectivamente, sendo melhor do que os da ampicilina (o controle positivo) (**Esquema II.4**).



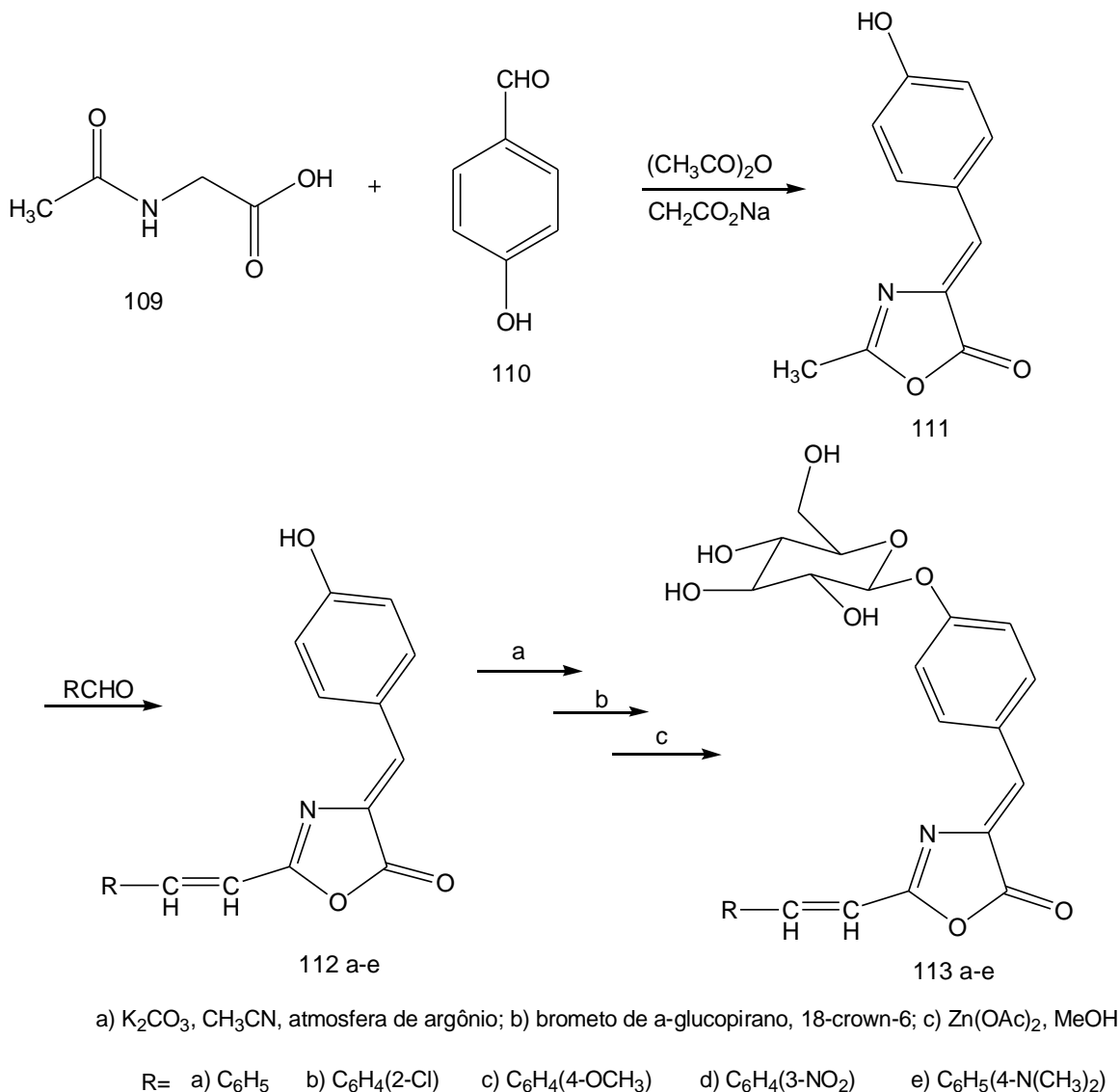
Esquema II.4 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Argade (2008).

Abdel-Aty (2009)¹³⁰ sintetizou os compostos 4-benzilideno-2-metil-1,3-oxazol-5-ona (**108a**) e 4-benzilideno-2-fenil-1,3-oxazol-5-ona (**108b**). Ao avaliá-los frente aos fungos patógenos *Fusarium calmorum*; *Pythium debarianum*, *Rhizoctonia solani* e *Macrofomina phaseoli*, o derivado **108b** apresentou IC₅₀ de 76,9 µg/mL frente ao *P. debarianum* (**Esquema II.5**).



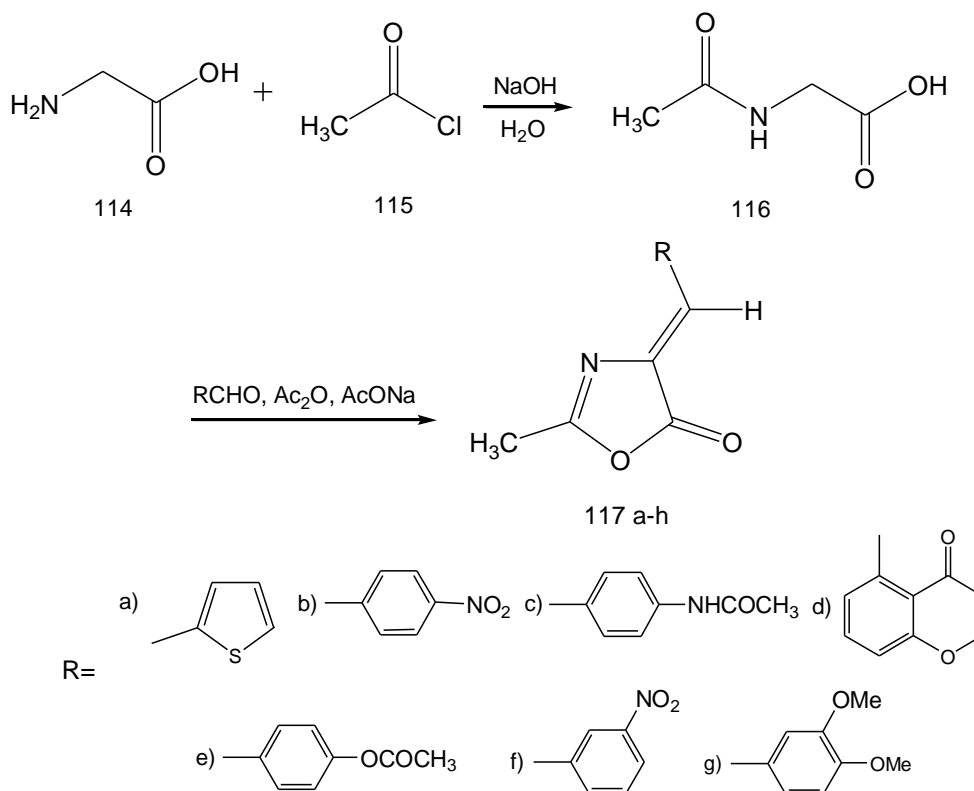
Esquema II.5 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Abdel-Aty (2009).

Os compostos 4-(4-*o*- β -D-glucose-benzilideno)-2-(substituído-stiril)-1,3-oxazol-5-onas foram sintetizados por Taile e col. (2009)¹³¹ e avaliados frente às bactérias *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, e *Klebsiella aerogenes* e aos fungos *Aspergillus niger* e *C. albicans*, com destaque ao derivado **113d** com halo de inibição frente *E. coli* de 31mm (**Esquema II.6**).



Esquema II.6 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Taile (2009).

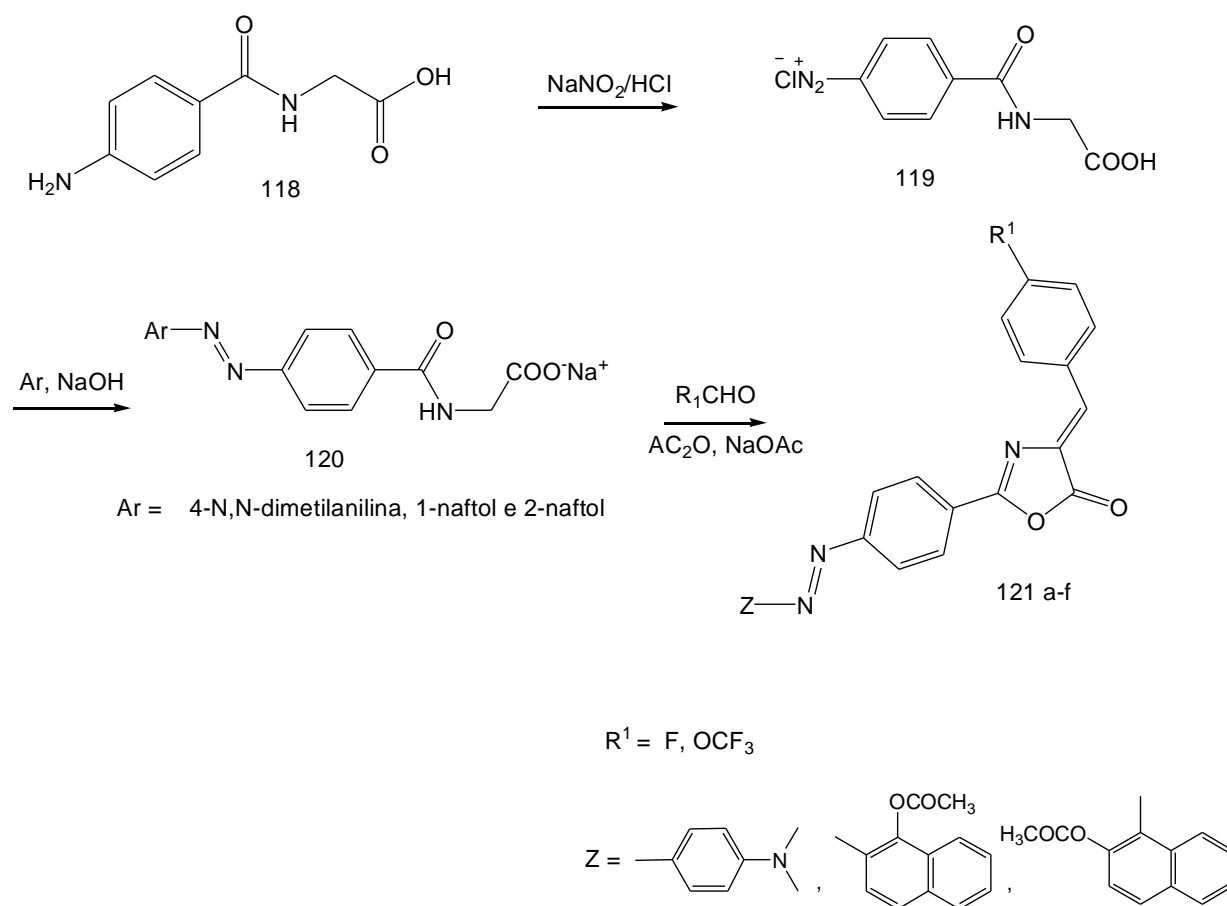
Khan e col (2006)¹¹⁷ sintetizaram uma série de 4-(substituído-metilideno)-1,3-oxazol-5-ona (**117 a-h**) partindo de N-acilglicina (**116**) e diferentes aldeídos (**Esquema II.7**). Os compostos foram avaliados quanto à atividade inibitória de tirosinase. A enzima tirosinase desempenha um papel crítico na regulação da biossíntese de melanina, assim, os inibidores da tirosinase que suprimem muitos melanogêneses têm sido amplamente estudados com o objetivo de desenvolver preparações para o tratamento de hiperpigmentação. Os derivados **117a** e **117b** apresentaram valores de IC₅₀ de 3,11 μM e 3,51 μM, respectivamente, sendo ainda melhores que o padrão a L-mimosina (IC₅₀ = 3,68 μM)¹¹⁷.



Esquema 29 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Khan (2006).

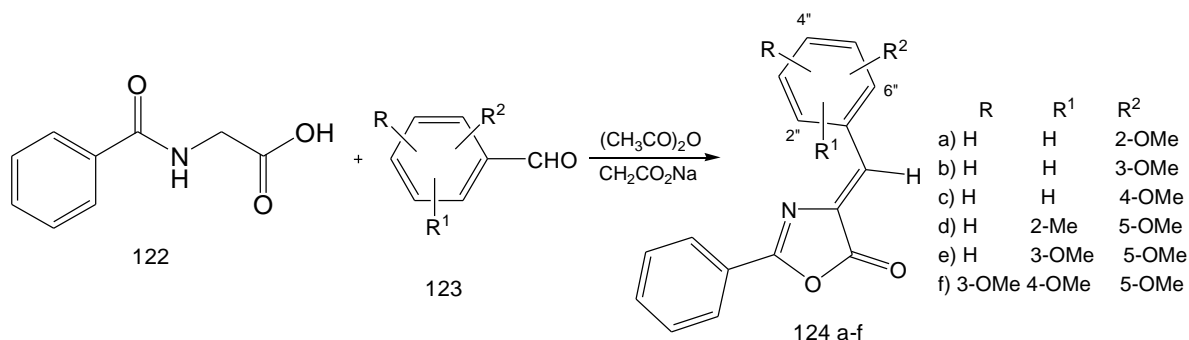
Hamidian e col. (2013)¹³² sintetizaram os corantes azóicos 4-arilideno-5-(4H)-oxazolona (**121a-f**), a partir de ácido 4-amino-hipúrico (**118**) seguido de reação de diazotação, acoplamento com *N,N*-dimetilaniлина, 1-naftol e 2-naftol obtendo os azo corantes (**120a-c**). Estes foram submetidos à reação com os aldeídos 4-flúorbenzaldeído e 4-triflúormetóxi-benzaldeído pelo método clássico de Erlenmeyer, observando-s a acetilação do 1-naftol e do 2-naftol (**Esquema II.8**).

Os compostos **121a-f** foram testados *in vitro* quanto à propriedade de inibição da tirosinase e exibiram um alto comportamento inibitório desta enzima, com valores de IC₅₀ de 1,44 - 4,33 μM, mostrando-se mais potente do que os inibidores de referência, a L-mimosina e o ácido kójico com valores de IC₅₀ de 3,68 e 16,67 μM, respectivamente¹³².



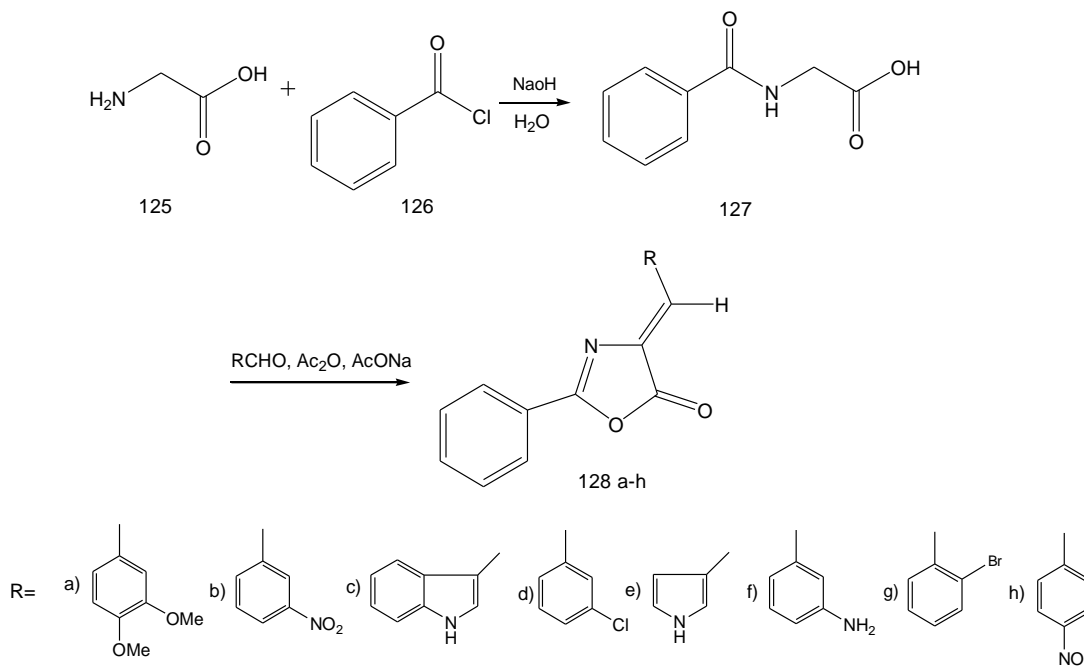
Esquema 30 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Hamidian (2013).

Parveen e col. (2013)¹³³ sintetizaram uma série de 1,3-oxazol-5-ona com diferentes substituintes, a partir do ácido hipúrico (**122**) e avaliaram a atividade antioxidante (atividade sequestradora de radicais livres), pelo método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), obtendo para os derivados **124c** e **124d** valores de IC₅₀ de 5,35 e 5,15 %, próximos do valor do padrão o ácido ascórbico que apresentou IC₅₀ de 4,78 % (**Esquema II.9**).



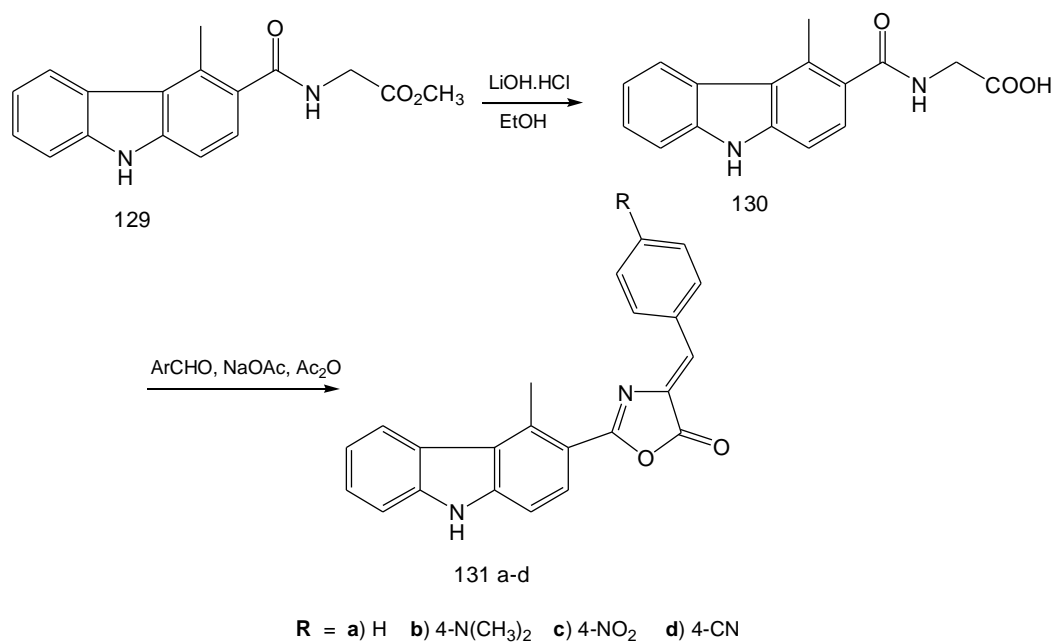
Esquema 31 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Parveen (2013).

Mesaik e col. (2004)¹¹⁸ sintetizaram uma série de 1,3-oxazol-5-ona (**128a-h**) partindo do ácido hipúrico (**127**) com diferentes aldeídos (**Esquema II.10**) e investigou suas respostas a diferentes aspectos imunológicos. O composto **128f** apresentou um grau de atividade supressiva de 78%, sendo considerado um potencial imunomodulador.



Esquema II.10 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Mesaik (2004).

Gündoğdu e col. 2010¹³⁴ sintetizam o derivado carbazolglíciléster (**129**) seguido de hidrólise básica e reação de Erlenmeyer com arilaldeídos obtendo os derivados carbazolil-oxazolonas (**131a-d**) (**Esquema II.11**). Estes apresentaram excelente fotoestabilidade e os derivados **131c** e **131d** foram relatados como promissoras sondas para a aplicação biológica.

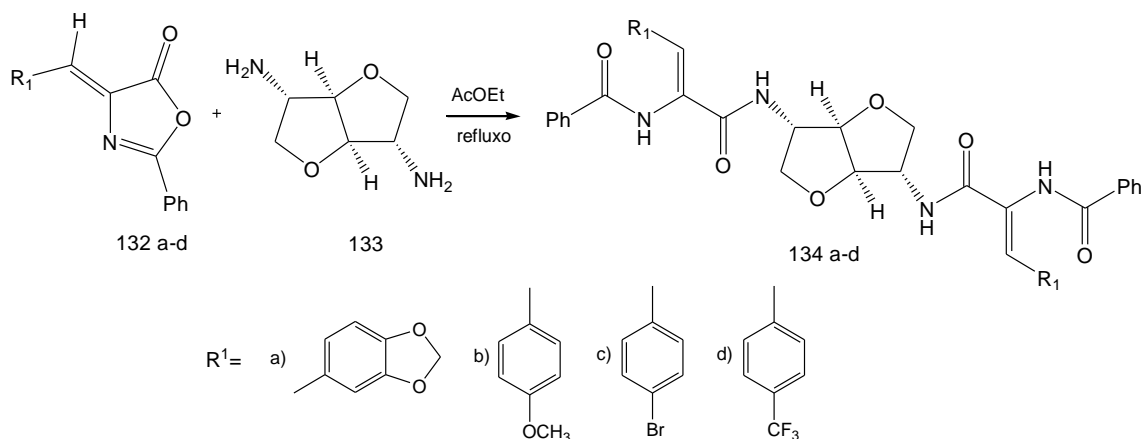


Esquema II.11 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gündoğdu (2010).

A unidade 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona é versátil precursor e intermediário de sínteses de compostos com atividades biológicas.

Barros e col. (2010)¹³⁵ relataram a síntese de uma série de pseudo-peptídios (**134a-d**) utilizando as oxazolonas (**132a-d**) e o composto bis-amino (**133**) (**Esquema II.12**).

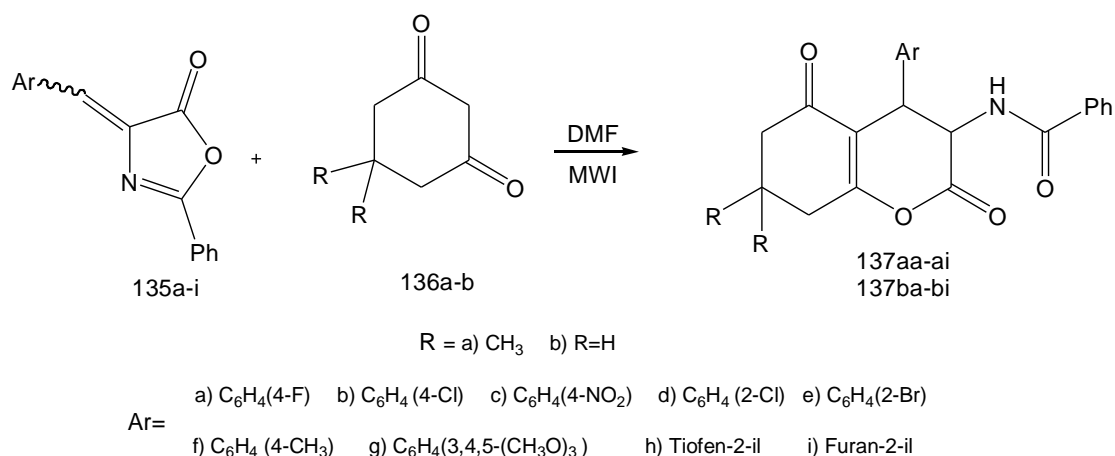
Os pseudo-peptídios (**134a-d**) apresentaram capacidade de inibição da replicação da enzima serina protease coexistentes nos flavivírus da hepatite C, dengue e febre do Nilo Ocidental¹³⁵.



Esquema II.12 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Barros (2010)

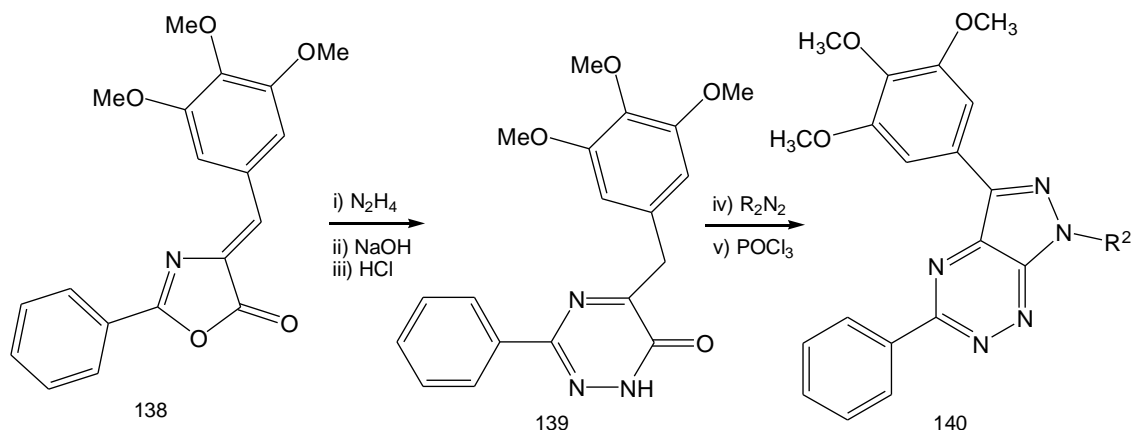
Shi e col. 2011¹³⁶ a partir da reação das 2-fenil-4-(arilideno)-1,3-oxazol-5-onas (**135a-i**) com 5,5-dimetil-1,3-ciclohexano-1,3-diona (**136a**) ou ciclohexano-1,3-diona (**136b**) via micro-ondas, obtiveram uma série de derivados 3-aminoexaidrocoumarinas (**137aa-ai** e **137ba-bi**) (**Esquema II.13**). Estes derivados apresentaram atividade antitumoral *in vitro* frente às linhagens de células de carcinoma do cólon (SW116) e de carcinoma do estômago (SGC7901).

Entre os derivados sintetizados, o composto **137ai**, com o grupo furanila, apresentou a menor taxa de viabilidade (VR) de 42,02%, valor este inferior a taxa de viabilidade do cloridrato de doxorrubicina (VR = 67,34%), fármaco anticâncer utilizado como controle positivo, e valor de IC₅₀ de 0,259 µg/mL para o carcinoma do estômago (SGC7901)¹³⁶.



Esquema II.13 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Shi (2011).

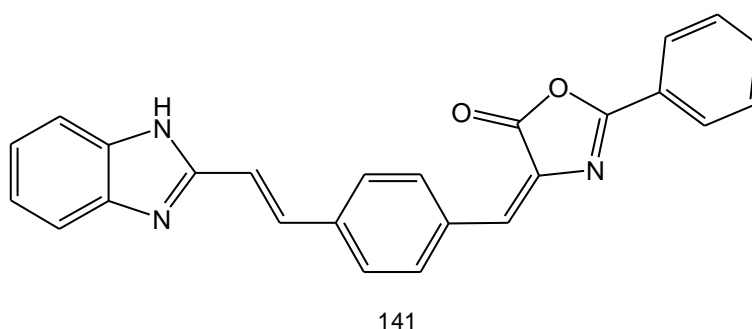
Gucký e col. (2009)¹³⁷ sintetizaram, a partir do 1,3-oxazol-5-ona (**138**), em cinco etapas as pirazolotriazininas (**140**), com atividade antitumoral frente a cinco linhagens tumorais humanas (**Esquema II.14**).



Esquema II.14 - Compostos com a unidade 1,3-oxazol-5-ona sintetizados por Gucký (2009).

Rodrigues e col. (2012)¹³⁸ sintetizaram uma série de 1,3-oxazol-5-onas pelo método clássico utilizando os aldeídos, com os grupos doadores de elétrons (fenil, dimetilaniilina e furanil) e receptores (nitrobenzeno e etenil-fenil-benzimidazol). Os derivados foram avaliados quanto às suas propriedades de fluorescência, determinando-se as propriedades ópticas lineares e não lineares. O melhor desempenho fluoróforo não-linear foi observado para o derivado **141** com o grupo benzimidazol (**Figura II.1**).

Figura II.14 - Composto sintetizado por Rodrigues (2012).



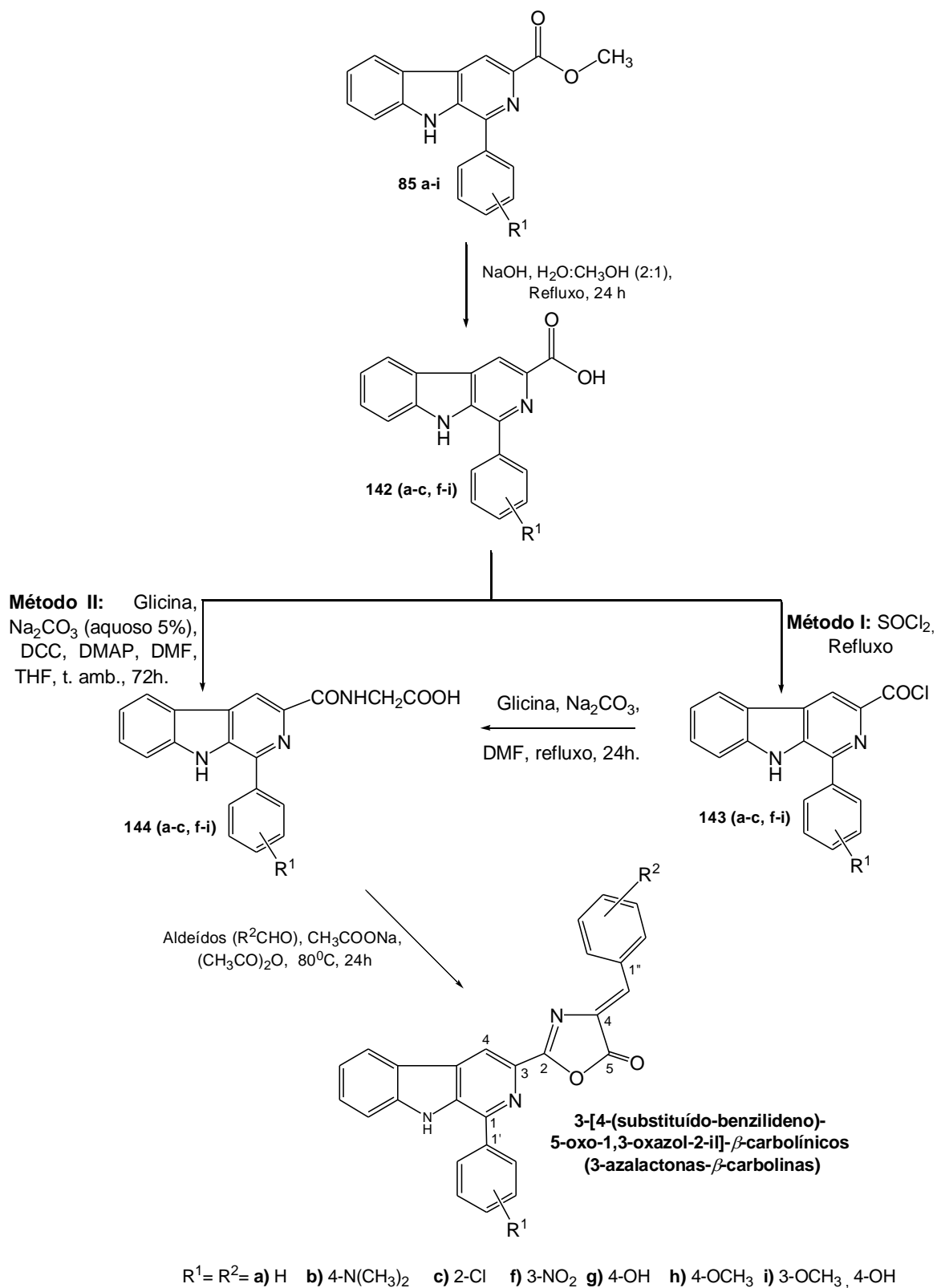
II.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

II.2.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[4-(SUBSTITUÍDO-BENZILIDENO)-5-OXO-1,3-OXAZOL-2-IL]- β -CARBOLÍNICOS (3-AZALACTONAS- β -CARBOLINAS)

A rota inicialmente proposta para a síntese dos derivados 1-fenilssubstituído 3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolínicos (3-azalactonas- β -carbolinas) está mostrada no **Esquema II.15**.

Os derivados 3-carbóxi- β -carbolínicos (**142 a-c, f-i**) (**Esquema II.15**) foram preparados pela reação de hidrólise básica¹⁴, em água/metanol 2:1, sob refluxo, dos derivados 1-fenilssubstituído 3-carbometóxi- β -carbolínicos (**85 a-c, f-i**) obtidos conforme descrito no CAPÍTULO I, item 8.3, p. 78.

A obtenção dos compostos **142 (a-c, f-i)** foi confirmada pelos dados espectroscópicos de RMN ¹H e RMN ¹³C/DEPT, pela ausência do simpleto em δ_H 3,72/ δ_C 53,2 com integração para três hidrogênios, atribuído à metoxila do éster e presença do sinal em δ_H 11,9 atribuído ao hidrogênio do grupo ácido carboxílico. No espectro de IV a banda em 1742 cm⁻¹ refere-se à carbonila de ácido carboxílico. Estes dados estão concordantes com os descritos por Tonin (2009)³³.



Esquema II.15 - Rota sintética proposta para a preparação das 3-azalactonas-β-carbolinas.

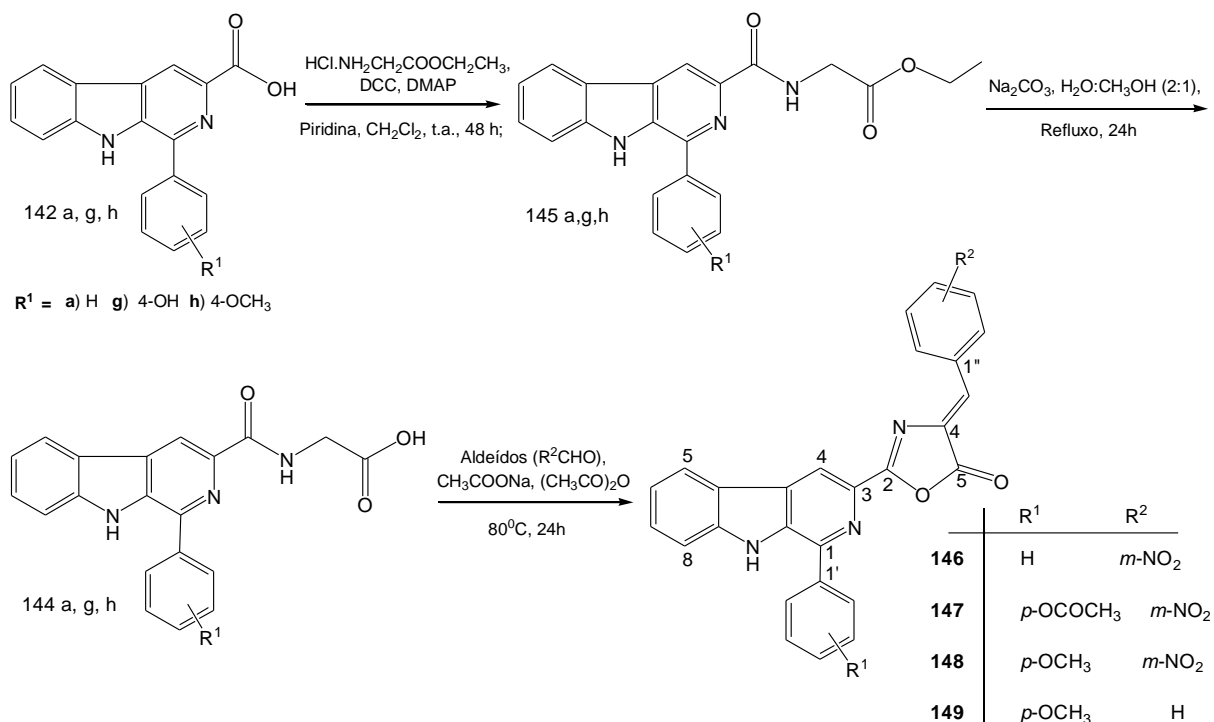
Para a preparação dos derivados 3-carbóxicilicil- β -carbolínico (**144**) foram propostas inicialmente duas metodologias (**Métodos 1 e 2, Esquema II.15**).

Inicialmente o composto **142a** foi submetido à reação com cloreto de tionila (SOCl_2), obtendo-se o cloreto de acila **143a**, que por sua vez foi tratado com glicina e Na_2CO_3 , conforme metodologia descrita por Khan, 2006¹¹⁷ (**metodologia 1, Esquema 42**), porém sem êxito na obtenção do composto **144a**.

Alternativamente o derivado 1-fenil-3-carbóxi- β -carbolínico (**142a**), foi submetido à reação de condensação com glicina, na presença de N,N'-dicicloexilcarbodiimida (DCC) e 4-(N,N-dimetil)aminopiridina (DMAP) conforme **Método 2 (Esquema II.15)**. O monitoramento da reação por CCDA e análise dos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C mostraram que esta metodologia não forneceu o derivado esperado, ocorrendo apenas à recuperação do material de partida.

Como método alternativo para a preparação de **144**, optou-se pela preparação do éster correspondente **145**, pelo uso do ester etílico do cloridrato da glicina ($\text{HCl.NH}_2\text{CONHCOOCH}_2\text{CH}_3$), seguido de hidrólise^{139,140} (**Esquema II.16**). Desta forma, os derivados **142 (a-c, f-i)** foram submetidos à reação com o ester etílico do cloridrato da glicina, utilizando-se piridina como solvente, devido à baixa solubilidade dos compostos carbóxi- β -carbolínicos em diclorometano ou acetonitrila, solventes estes mais comumente empregados. Para prevenir que acoplamentos mais lentos conduzissem à formação de N-aciluréias, optou-se por utilizar DCC/DMAP para a etapa de condensação.

No entanto, a reação com cloridrato da glicina esterificada forneceu os produtos desejados somente para os derivados **142a,g,h**, com os grupos fenil, p-hidroxifenil e p-metóxfenil na posição-1, obtendo-se os 3-carbóxiciliciletiléster- β -carbolínicos (**145a, g, h**)¹³⁹, como ilustrado no **Esquema II.16**.



Esquema 32 - Rota sintética para os derivados 3-azalactonas- β -carbolinas sintetizados neste trabalho.

A estrutura dos compostos 3-carbóxiciletiléster- β -carbolínicos (**145a, g, h**) foi confirmada pelos dados de RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, devido a presença dos sinais em δ_{H} 1,32 (*t.*, 3H, $J=7,2$ Hz)/ δ_{C} 14,4 e em δ_{H} 4,30 (*quart.*, 2H, $J=7,2$ Hz)/ δ_{C} 41,7, referentes ao grupo metila e metilênico, respectivamente, do grupo etoxila. Os sinais em δ_{H} 4,31 (*s*l)/ δ_{C} 61,7 e em 8,66 ppm (*t.*, 1H, $J=5,7$ Hz) evidenciaram a presença do grupo HN-CH₂-CO e do NH do grupo amida, respectivamente (Anexo 31-33, p. 222-230).

Para a preparação de **144a**, o composto **145a** foi inicialmente submetido a diferentes condições de hidrólise básica, utilizando-se NaOH em etanol/metanol, variando-se o tempo do refluxo de 4h, 12h e 24h. Sob estas condições, ocorreu à hidrólise total do grupo carboetóxicil e retorno ao composto 3-carbóxi- β -carbolina (**142a**).

A obtenção dos derivados 3-carbóxicilácido- β -carbolínicos (**144 a,g,h**) foi possível através de hidrólise mais branda utilizando-se como base o Na₂CO₃, em água/metanol (2:1) (Anexos 34 - 36, p. 231-239).

Para a preparação das azalactonas, os derivados **144 a,g,h** foram submetidos a reação de Plöchl-Erlenmeyer com diferentes aldeídos^{37, 127}. Ao submeter os derivados **144 a,g,h** à reação com os aldeídos contendo grupos doadores de

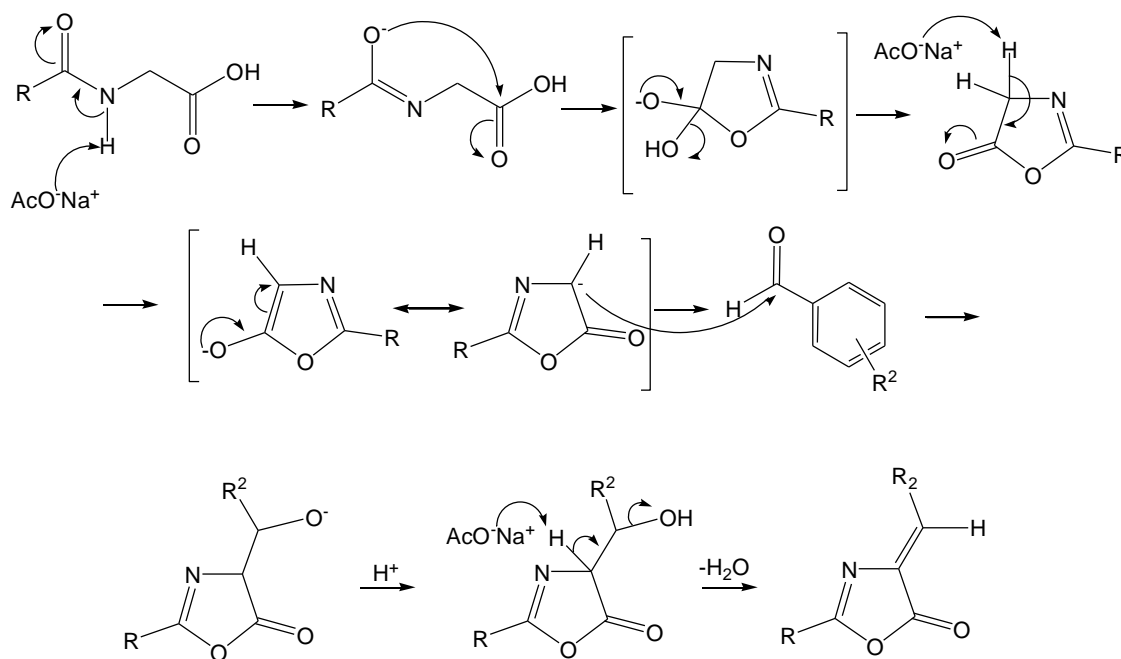
elétrons, como o *p*-metóxi-benzaldeído e *p*-dimetilaminobenzaldeído observou-se a formação de um resíduo escuro de difícil purificação e análise, sem êxito nestas reações provavelmente devido à baixa eletrofilicidade relativa dos aldeídos empregados.

Por outro lado, a reação dos compostos **144 a,g,h** com o 3-nitrobenzaldeído forneceu os derivados **146-148** (Anexos 37 - 39, p. 240-250).

Para o derivado **144g** ($R^1=p\text{-OH}$), a reação com anidrido acético/acetato de sódio, levou a acetilação do grupo *p*-OH, obtendo-se o derivado **148** acetilado.

Ao realizara reação com benzaldeído foi possível obter apenas a partir do derivado **144h** o produto **149** (Anexo 40, p. 251-254).

No **Esquema II.17** está mostrado o mecanismo para formação da unidade 4-(benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona^{141,142}, no qual, segundo Barros e col. 2010¹³⁵, devido ao uso da metodologia convencional de Erlenmeyer-Plöchl, o produto Z é favorecido termodinamicamente.



Esquema II.17 - Mecanismo proposto para a formação da unidade 4-(substituído benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona.

A formação da unidade 4-(benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona na posição-3 da unidade β -carbolínic foi evidenciada nos derivados sintetizados (**146-149**) pela presença do simpleto em δ_H 7,54-7,56, correlacionado ao sinal na região de

δ_C 126,4 - 131,5 no espectro de HSQC, correspondentes aos hidrogênios e carbonos do grupo metilideno.

Os carbonos C-2 (C=N) e C-5 (C=O) da unidade 1,3-oxadizol aparecem no RMN de ^{13}C em δ_C 164,0-164,5 e δ_C 166,9-168,0, respectivamente.

No espectro de infravermelho foi observada uma banda de absorção na região de 1780 - 1816 cm^{-1} que é característica do grupo carbonila.

As estruturas das 3-azalactonas- β -carbolinas também foram confirmadas por espectro de massas. Os compostos mostraram a presença do íon molecular $[\text{M}^+]$ consistente com as estruturas esperadas e o pico base m/z $[\text{M}^+$ - substituído-benzilideno-oxazol] correspondente à clivagem entre o C-3 da β -carbolina e o C-2 do anel do heterociclo 1,3-oxazol-5-ona.

As figuras **II.2 (a-c)** ilustram os espectros de RMN $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ e o espectro de massas do derivado 1-fenil-3-[4-(*p*-metóxi-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol] β -carbolina (**149**) e no espectro de massas de alta resolução (**HR-ESI**) observa-se o $[\text{M}+\text{H}]^+=446,15$ (Anexo 40, p. 251-254).

Figura II.2a - Espectro de RMN de ^1H do derivado 1-fenil-3-[4-(p-metóxi)benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol- β -carbolina (149).

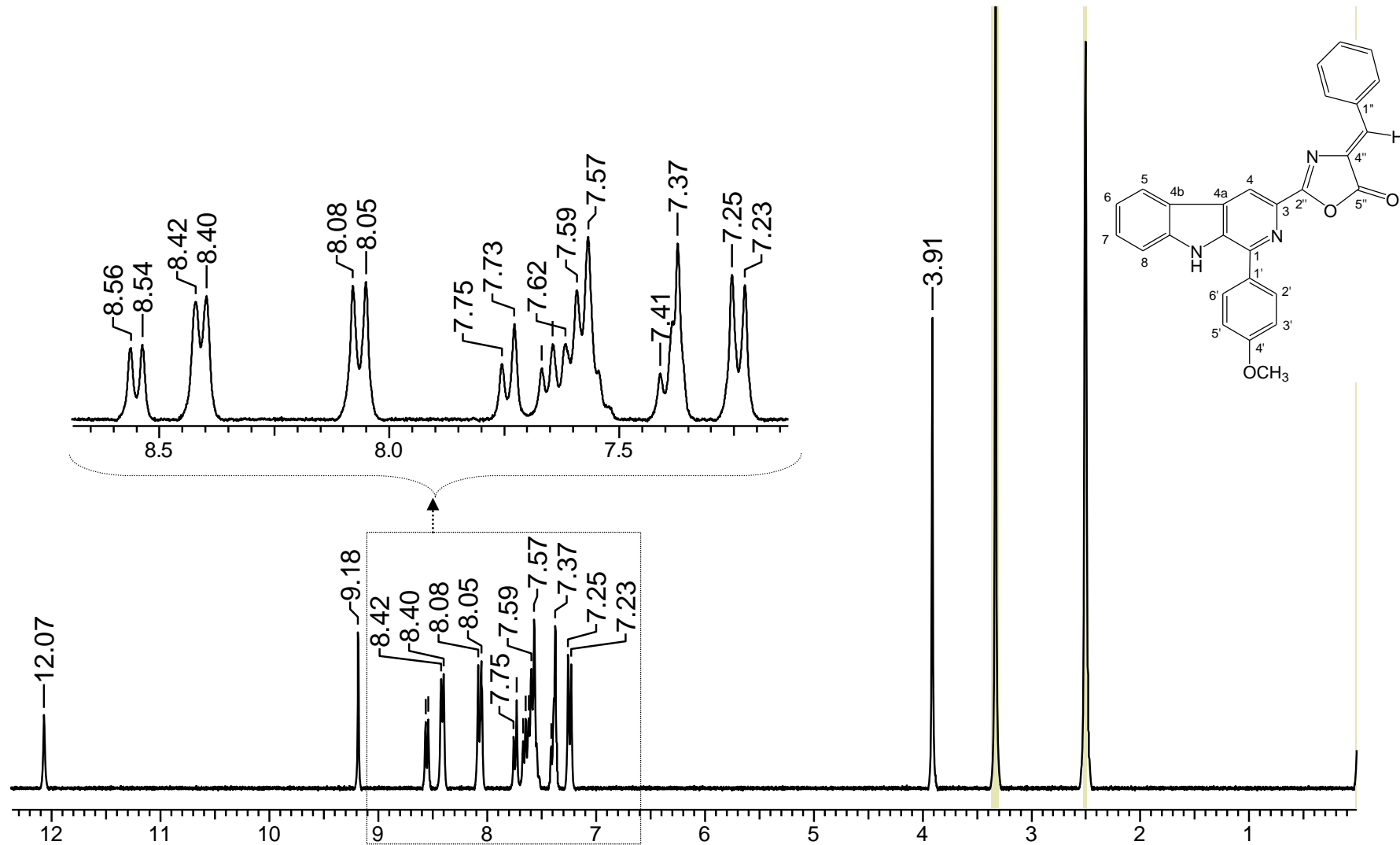


Figura II.2b - Espectro de RMN de ^{13}C do derivado 1-fenil-3-[4-(p-metóxi)benzilideno]-5-oxo-1,3-oxazol- β -carbolina (**149**).

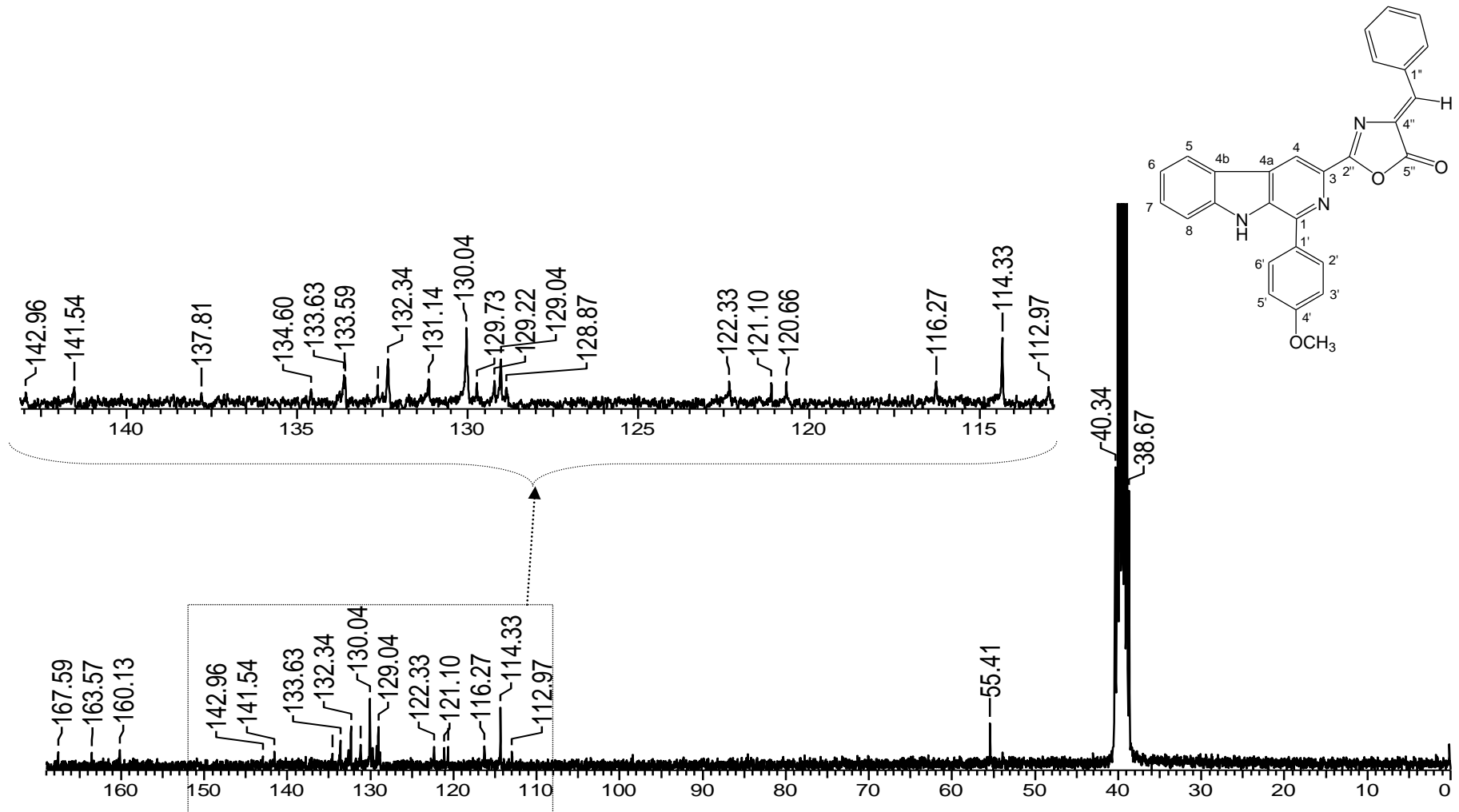
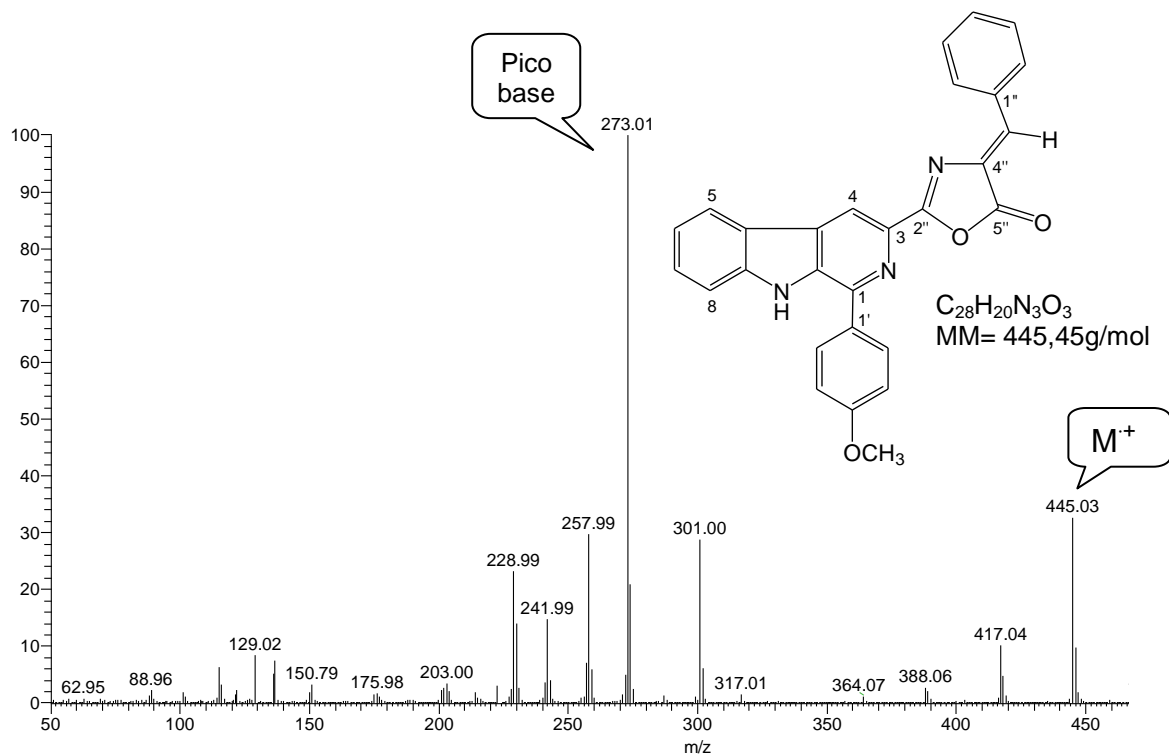


Figura II.2c - Espectro de massas do derivado 149.



II.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL, ANTIMICROBIANA E ESTUDO *IN SILICO*

II.3.1 ATIVIDADE ANTITUMORAL

Os valores de IC₅₀ dos derivados **146-149** estão sumarizados na **Tabela II.1**.

Tabela II.1 - Avaliação da atividade antitumoral dos compostos **146-149**. Valores de IC₅₀ em µM.

<i>Células:</i> <i>Compostos</i>	Mama (MCF7)	Glioma (U251)	Ovário (OVCAR-03)	Cólon (HT-29)	Próstata (PC-3)	Melanoma (UACC-62)	VERO
Dox.	0,06	0,03	0,42	0,18	0,05	0,04	0,50
146	>100	62,42	63,19	>100	>100	7,52	>100
147	>100	80,20	>100	>100	>100	8,76	>100
148	47,63	0,35	2,18	>100	5,28	15,93	>100
149	23,44	0,48	1,07	67,88	1,50	10,00	63,17

Os resultados dos ensaios mostraram que todos os compostos foram ativos para as células tumorais de melanoma (UACC-62) com atividade na faixa de IC₅₀ 15,93 a 7,52 e glioma (IC₅₀ na faixa de 0,48 a 62,42).

Os compostos 146 e 147 com valores de IC₅₀ de 7,52 µM e 8,76 µM, respectivamente, foram fortemente ativos frente à linhagem de células tumorais de melanoma (UACC-62).

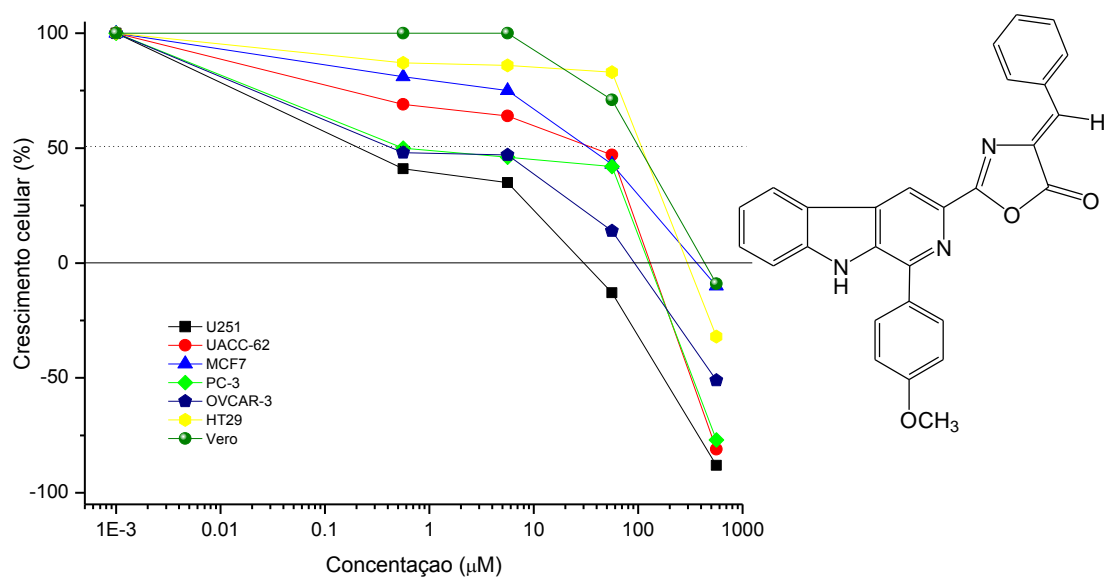
O composto **149** com o grupo p-metóxilfenil na posição-1 e o R²=H, apresentou valores de IC₅₀ < 100 µM para todas as seis linhagens de células tumorais avaliadas, sendo que os valores de IC₅₀ variaram entre 0,48 – 67,88 µM.

Para as linhagens de células de glioma (U251), ovário (OVCAR-03) e próstata (PC-3), apresentou valores de IC₅₀ de 0,48 µM, 1,07 µM e 1,50 µM sendo este o composto mais ativo dentro desta série.

Os compostos foram avaliados frente às células VERO, quanto a citotoxicidade e apresentaram baixa toxicidade.

O **gráfico II.1** ilustra a atividade antitumoral da 1-fenil 3-[4-(p-metóxilbenzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-β-carbolina (**149**)

Gráfico II.1 - Crescimento celular (%) versus Concentração (μM) para o composto 149.



II.3.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada no CPQBA na UNICAMP sob responsabilidade da Prof. Dra. Marta C. T. Duarte.

Os compostos **146-149** foram testados frente às bactérias *Escherichia coli* ATCC-25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853, *Staphylococcus aureus* ATCC-25923 e *Bacillus subtilis* ATCC-6623 e aos fungos *Candida albicans* ATCC-1023, *Candida tropicalis* ATCC-28707 e *Candida parapsilosis* ATCC-22019. A atividade antimicrobiana foi testada, na concentração máxima de 100 µg/mL e estes compostos não foram ativos.

II.3.3 ESTUDOS DOS PARAMÊTROS *IN SILICO* DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO E EXCREÇÃO DOS DERIVADOS 146-149.

Um estudo teórico dos compostos 1-fenilsubstituído 3-[4-(substituído benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol]- β -carbolínicos (**146-149**) foi realizado determinando as regras de Lipinski⁴⁰ e a área topológica da superfície polar (TPSA)^{43, 44} (**Tabela II.2**).

Tabela II.2 - Valores teóricos da regra do “cinco de Lipinski” calculados para os compostos 3-azalactonas- β -carbolinas.

Comp.	%ABS	TPSA ^a (Å ²)	Regra do 5 de Lipinski ^a					logS ^b
			ALH (ON)	DLH (OHNH)	logP ^a	MM	n violações	
146	68,42	117,61	8	1	5,45	460,45	1	-7,41
147	59,35	143,91	10	1	5,00	518,48	1	-7,71
148	65,24	126,85	9	1	5,50	490,47	1	-7,43
149	81,05	81,02	6	1	5,57	445,48	1	-6,97

^a www.molinspiration.com/cgi-bin/properties

^b www.organic_chemistry.org/prog/peo

%ABS = 109 - 0.345 x TPSA

nDLH (número de grupos doadores de ligação hidrogênio) ≤ 5.

nALH (número de grupos aceptores de ligação hidrogênio) ≤ 10.

Todos os derivados apresentam número de grupos doadores de ligação hidrogênio (DLH) tal como OHNH igual a 1 e número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (ALH), sendo ON, de 6 à 10, dentro dos padrões estabelecidos.

As massas moleculares apresentaram-se entre 445,48 < MM < 518,48 g/mol. O composto **147** violou uma regra devido à massa molecular maior do que 500 g/mol e os outros derivados apresentaram coeficiente de partição octanol-água (LogP) maior que 5,0.

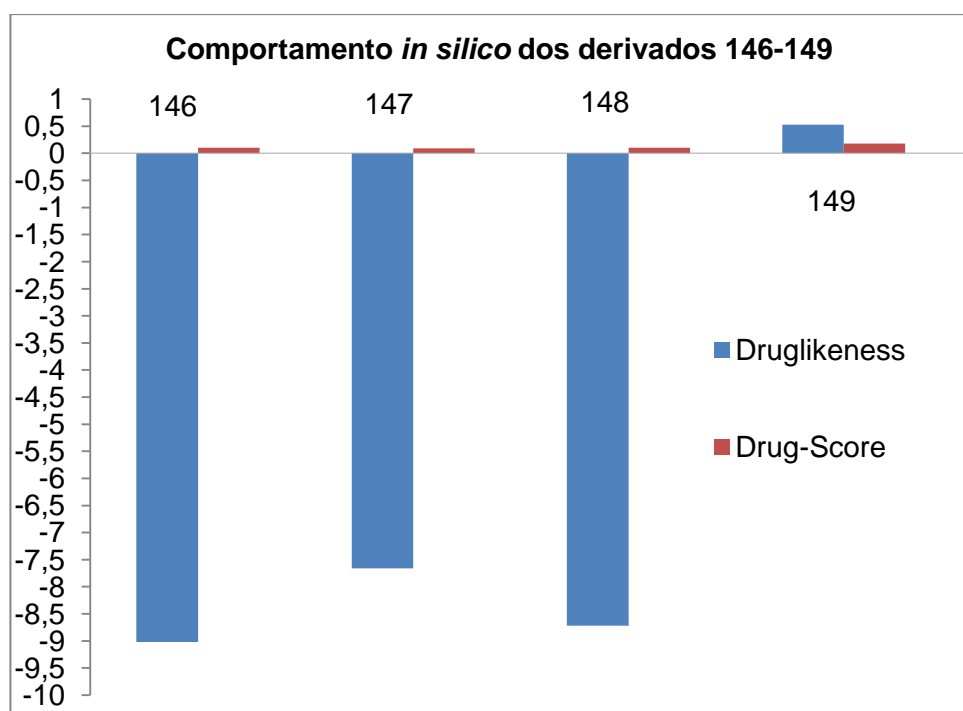
Os compostos apresentaram valores de porcentagem de absorção (% ABS) entre 59,35-81,05%, indicando que os mesmos tem boa permeabilidade na membrana plasmática.

Os resultados revelaram que todos os compostos violaram apenas uma das regras de Lipinski.

Os compostos avaliados apresentaram LogS de -6,97 a -7,71 mol.L⁻¹, o que não é o ideal, porque a maioria dos medicamentos comerciais possuem LogS maior do que -4⁴⁴.

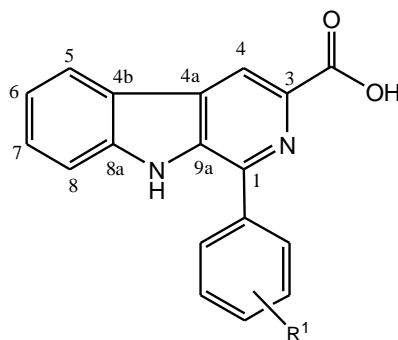
Os valores de “druglikeness” e de “drugscore” para os novos derivados e seus precursores estão no **Gráfico II.2**. Os valores de “drugscore” variaram de 0,09 a 0,18 sendo baixos e os valores de “druglikeness” de 0,53 a -9,02 mol.L⁻¹, o ideal para “druglikeness” é que os valores sejam positivos entre 0 a 4, um valor positivo indica que o composto contém predominantemente fragmentos que estão frequentemente presentes em medicamentos comerciais⁴⁴. O derivado **149** apresentou valores positivos tanto de “druglikeness” como de “drugscore”, sendo promissor candidato a testes *in vivo*.

Gráfico II.2 - Valores de “Druglikeness” e “Drugscore” dos derivados 1-fenilssubstituído 3-[4-(substituído benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol]- β -carbolínicos (**146-149**).



II.4 PARTE EXPERIMENTAL

II.4.1 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXI- β -CARBOLÍNICOS (**142 a,g,h**).

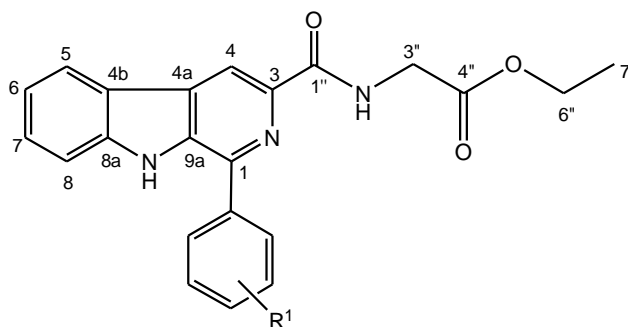


À uma suspensão dos derivados 3-carbometóxi- β -carbolicos (**85a,g,h**) (3,00 mmol), obtidos conforme procedimento especificado no Capítulo I, item 8.3, p.78, em metanol (20 mL), adicionou-se uma solução de NaOH (12,00 mmol) em água destilada (40 mL). A mistura reacional foi mantida a 80⁰C sob agitação por 24h e, posteriormente, por 2 horas à 0⁰C. A solução foi neutralizada com uma solução de HCl 5M e o precipitado formado, filtrado em funil de Buchner e lavado com água. Os produtos foram obtidos puros com rendimentos mostrados na **Tabela II.3**.

Tabela II.3 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **142 a,g,h**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend. (%)	PF (°C)
Fenil	142a	C ₁₈ H ₁₂ N ₂ O ₂	288,09	70	258-261
4-hidroxi	142g	C ₁₈ H ₁₂ N ₂ O ₃	304,08	80	166-168
4-metoxi	142h	C ₁₉ H ₁₄ N ₂ O ₃	318,10	75	229-231

II.4.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXIGLICILETILÉSTER- β -CARBOLÍNICOS (145 a,g,h).

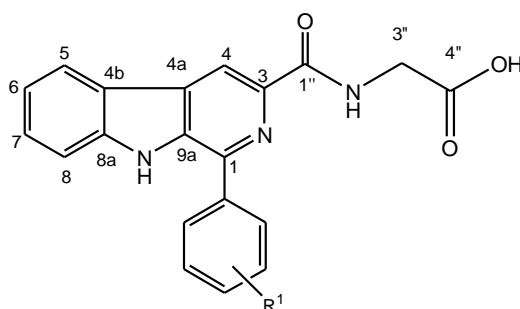


À uma suspensão das carbóxi- β -carbólinas (**142a,g,h**) (0,7 mmol) em piridina (5 mL), a 0 °C e sob agitação, adicionou-se HCl.NH₂CONHCOOCH₂CH₃ (0,7 mmol), 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,07 mmol) solubilizado em CH₂Cl₂ tratado com peneira molecular e redistilado (5 mL). Após 5 minutos, adicionou-se *N,N'*-dicicloexilcarbodiimida (DCC) (0,7 mmol) dissolvida em CH₂Cl₂ tratado (5 mL) e a mistura reacional foi mantida sob agitação a 0 °C por 2 horas, e por 24 h a temperatura ambiente. A mistura reacional foi resfriada novamente a 0 °C e adicionou-se 1eq. DCC (0,7 mmol) dissolvido em CH₂Cl₂ (5 mL), mantendo-se sob agitação a 0 °C por 2 h e por mais 24h a temperatura ambiente. O solvente foi evaporado e a seguir adicionou-se CH₂Cl₂, observando-se a precipitação de *N,N'*-dicicloexiluréia (DCU). O precipitado foi separado e o filtrado obtido concentrado e dissolvido em acetona a quente. A solução obtida foi mantida em freezer durante 24 horas, removendo-se novamente o precipitado formado por filtração. O filtrado foi concentrado e purificado por cromatografia em coluna, utilizando CHCl₃/CH₃OH 5% como eluente, obtendo-se os produtos puros, cujos rendimentos estão mostrados na **Tabela II.4.**

Tabela II.4 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **145a,g,h**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend. (%)	PF (°C)
H	145a	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₃	373,14	55	193-195
4-hidróxi	145g	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₄	389,14	45	168-171
4-metóxi	145h	C ₂₃ H ₂₁ N ₃ O ₄	403,15	56	183-186

II.4.3 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-CARBÓXIGLICILÁCIDO- β -CARBOLÍNICOS (144 a,g,h).

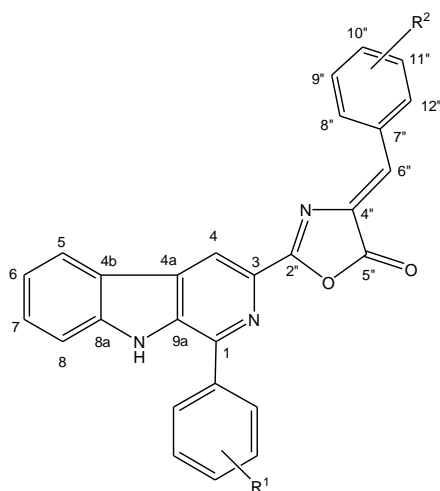


A uma suspensão dos derivados **145 a,g,h** (0,5 mmol) em H₂O/MeOH (2:1) (5 mL), adicionou-se Na₂CO₃ (1,5 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a 70^oC por 24h, e a seguir resfriada e mantida sob agitação a 0^oC, por 2 h. A mistura reacional foi neutralizada com HCl 5M e o precipitado formado, filtrado em funil de Büchner, lavado com água e recristalizado com etanol. Os rendimentos para os produtos obtidos constam na **Tabela II.5**.

Tabela II.5 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **144 a,g,h**.

R ¹	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend.(%)	PF (°C)
H	144a	C ₂₀ H ₁₇ N ₃ O ₄	345,11	77	236-238
4-hidróxi	144g	C ₂₀ H ₁₅ N ₃ O ₄	361,11	74	Decomp.
4-metóxi	144h	C ₂₁ H ₁₇ N ₃ O ₄	375,12	68	245-249

II.4.4 SÍNTESE DOS DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO 3-[4-(SUBSTITUÍDO BENZILIDENO)-5-OXO-1,3-OXAZOL-2-IL]- β -CARBOLÍNICOS (**146-149**).



À uma solução dos derivados **144a,g,h** (0,3 mmol) em anidrido acético (5 mL), adicionou-se 3-nitrobenzaléido (0,75 mmol), seguido da adição de acetato de sódio (1,5 mmol). A reação foi mantida sob agitação por 24h a 80°C e posteriormente, deixada em agitação por 1 hora à 0°C. O precipitado foi filtrado em funil de Büchner e lavado com acetona, fornecendo os compostos **146-148**.

O derivado **144h** foi também submetido a reação com benzaldeído (0,6 mmol), utilizando-se este mesmo procedimento, o que forneceu o produto **149**. Os rendimentos para os produtos obtidos constam **Tabela II.6**.

Tabela 12 - Fórmula Molecular, Massa Molecular e rendimentos dos derivados **146-149**.

Reagente	R ¹	R ²	Produto	Formula Molecular	Massa Molecular (g/mol)	Rend. (%)	PF (°C)
144a	H	3-nitro	146	C ₂₇ H ₁₆ N ₄ O ₄	460,45	42	270-273
144g	<i>p</i> -OCOCH ₃	3-nitro	147	C ₂₇ H ₁₆ N ₄ O ₅	518,12	30	254-257
144h	4-metóxi	3-nitro	148	C ₂₈ H ₁₈ N ₄ O ₅	490,47	32	200-203
144h	4-metóxi	fenil	149	C ₂₈ H ₁₉ N ₃ O ₃	445,45	40	244-247

II.5 CONCLUSÃO

Nesta parte do trabalho foi realizada a síntese de uma série de derivados 1-fenilssubstituído 3-[4-(substituído-benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il]- β -carbolínicos (**146-149**), utilizando a metodologia de Plöchl-Erlenmeyer com anidrido acético/acetato de sódio, com rendimentos entre 30 - 42%.

O composto 1-(*p*-metóxfenil)-3-[4-(benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**149**) apresentou o melhor perfil de atividade antitumoral, com valores de $IC_{50} \leq 1,5 \mu M$ para as linhagens de células tumorais de glioma (U251), ovário (OVCAR-03) e próstata (PC-3).

Os compostos **146-149** não apresentaram atividade antimicrobiana frente às culturas de bactérias e fungos avaliados.

O estudo *in silico* indicou que os compostos sintetizados são promissores candidatos a testes *in vivo* com destaque para o derivado **149**.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Neste trabalho foram sintetizados trinta e um (31) derivados inéditos 1-fenilsubstituído β -carbolínicos contendo as seguintes unidades na posição-3:

- ✓ 1,3,4-oxadiazol-2-ona (**87 a-g**);
- ✓ 3-(alquilaminometil)-1,3,4-oxadiazol-2-ona (**88-92a-d**);
- ✓ 4-(substituído-benzilideno)-1,3-oxazol-5-ona (**146-149**);

As estruturas de todos os compostos sintetizados foram confirmadas por dados de RMN de ^1H e RMN de $^{13}\text{C}/\text{DEPT}$, HSQC, IV e EI-MS.

Dentre as β -carbolinas contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-ona sintetizadas neste trabalho, os compostos mais ativos foram:

- ✓ 1-(*p*-dimetilaminofenil)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-il) (**87b**) com valores de IC_{50} entre 0,67-3,20 μM ;
- ✓ 1-(4-dimetilaminofenil)-3-[2-oxo-3-(morfolilmetil)]-1,3,4-oxadiazol (**92b**) com valores de IC_{50} 0,46-3,93 μM ;

Na série dos derivados com a unidade 1,3-oxazol-5-ona o derivado 4-(*p*-metóxfenil)-3-[4-(benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**149**) apresentou o melhor perfil de atividade antitumoral, com IC_{50} entre 0,48 μM - 1,50 μM para as linhagens de glioma (U251), ovário (OVCAR-03) e próstata (PC-3) mostrando-se um forte candidato a testes *in vivo*.

O estudo *in silico* apontou que os derivados sintetizados neste trabalho são promissores candidatos a testes *in vivo*.

6 REFERÊNCIAS

1. INCA, Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/index.asp?ID=1>. Acesso em: 10/03/2013
2. WHO, Disponível em: <http://www.who.int/topics/cancer/en/> Acesso em: 11/03/2013.
3. PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. Supl. 1, p. 45-61, 2002.
4. COSTA-LOTUFO, L. V. *et al.* A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, 2010.
5. KUMAR, R. *et al.* Synthesis of 2-(pyrimidin-2-yl)-1-phenyl-2,3,4,9-tetrahydro-1H- β -carbolines as antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3274-3280, 2010.
6. SRIVASTAVA, S. K. *et al.* Potent 1,3-disubstituted-9H-pyrido 3,4-b indoles as new lead compounds in antifilarial chemotherapy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 6, p. 1223-1236, 1999.
7. LIN, N. *et al.* Synthesis and antithrombotic activity of carbolinecarboxyl RGD sequence. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, n. 4, p. 585-587, 2002.
8. KUMAR, A. *et al.* Syntheses of new substituted triazino tetrahydroisoquinolines and β -carbolines as novel antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 106-113, 2006.
9. WANG, Y. H. *et al.* Flazinamide, a novel β -carboline compound with anti-HIV actions. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 355, n. 4, p. 1091-1095, 2007.
10. MILLER, J. F. *et al.* Substituted tetrahydro- β -carbolines as potential agents for the treatment of human papillomavirus infection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 1, p. 256-259, 2010.

11. WU, S. *et al.* Synthesis of neamine-carboline conjugates for RNA binding and their antibacterial activities. **Tetrahedron**, v. 66, n. 19, p. 3433-3440, 2010.
12. NENAAH, G. Antibacterial and antifungal activities of β -carboline alkaloids of *Peganum harmala (L)* seeds and their combination effects. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 779-782, 2010.
13. CAO, R. H. *et al.* Synthesis, acute toxicities, and antitumor effects of novel 9-substituted β -carboline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 17, p. 4613-4623, 2004.
14. CAO, R. *et al.* Design, synthesis and *in vitro* and *in vivo* antitumor activities of novel β -carboline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 991-1001, 2005.
15. CAO, R. H. *et al.* DNA binding properties of 9-substituted harmine derivatives. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 338, n. 3, p. 1557-1563, 2005.
16. CAO, R. H. *et al.* Synthesis and *in vitro* cytotoxic evaluation of 1,3-bisubstituted and 1,3,9-trisubstituted beta-carboline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 249-257, 2005.
17. CAO, R. *et al.* β -carboline alkaloids: Biochemical and pharmacological functions. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 4, p. 479-500, 2007.
18. CAO, R. *et al.* Synthesis and cytotoxic activities of 1-benzylidene substituted β -carboline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 24, p. 6558-6561, 2008.
19. CAO, R. *et al.* Design, synthesis and 3D-QSAR of β -carboline derivatives as potent antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 2503-2515, 2010.
20. CAO, R. *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of harmine derivatives as potential antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, p. 135-143, 2013.
21. MANSOOR, T. A. *et al.* Induction of apoptosis in HuH-7 cancer cells by monoterpene and β -carboline indole alkaloids isolated from the leaves of

- Tabernaemontana elegans*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 15, p. 4255-4258, 2009.
22. MA, C. *et al.* Synthesis and cytotoxic evaluation of N-2-benzylated quaternary β -carboline amino acid ester conjugates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1515-1523, 2010.
23. IKEDA, R. *et al.* 3-Benzylamino- β -carboline derivatives induce apoptosis through G(2)/M arrest in human carcinoma cells He La S-3. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 636-646, 2011.
24. FORMAGIO, A. S. N. *et al.* Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) β -carboline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 22, p. 9660-9667, 2008.
25. SAVARIZ, F. C. *et al.* Synthesis, antitumor and antimicrobial activity of novel 1-substituted phenyl-3-3-alkylamino(methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl β -carboline derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 2, p. 288-298, 2010.
26. BARBOSA, V. A. *et al.* Synthesis and antitumor activity of β -carboline 3-(substituted-carbohydrazide) derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 21, p. 6400-6408, 2011.
27. TONIN, L. T. D. *et al.* Comparative study of the trypanocidal activity of the methyl 1-nitrophenyl-1,2,3,4-9H-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylate derivatives and benznidazole using theoretical calculations and cyclic voltammetry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 4, p. 1745-1750, 2009.
28. FORMAGIO, A. S. N. *et al.* Synthesis and antiviral activity of β -carboline derivatives bearing a substituted carbohydrazide at C-3 against poliovirus and herpes simplex virus (HSV-1). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4695-4701, 2009.
29. TONIN, L. T. D. *et al.* Antitrypanosomal and antileishmanial activities of novel N-alkyl-(1-phenylsubstituted- β -carboline)-3-carboxamides. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64, n. 6, p. 386-389, 2010.

30. VALDEZ, R. H. *et al.* Biological activity of 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxamides against *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 110, n. 1, p. 7-14, 2009.
31. PEDROSO, R. B. *et al.* β -carboline-3-carboxamide derivatives as promising antileishmanial agents. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 105, n. 8, p. 549-557, 2011.
32. VALDEZ, R. H. *et al.* *In vitro* and *in vivo* trypanocidal synergistic activity of n-butyl-1-(4-dimethylamino)phenyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxamide associated with benznidazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 1, p. 507-512, 2012.
33. TONIN, L. T. D. **Síntese e avaliação da atividade antiprotozoário, antitumoral e antimicrobiana de 1-fenilssubstituído- β -carbolinas contendo os grupos n-alquil-carboxamida, 1,2,4-triazol e 1,3,4-tiodiazol na posição-3.** 2009. 294p. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
34. OLIVEIRA, C. S. D. *et al.* Synthesis, molecular properties prediction, and anti-staphylococcal activity of N-acylhydrazones and new 1,3,4-oxadiazole derivatives. **Molecules**, v. 17, n. 5, p. 5095-5107, 2012..
35. MAMOLO, M. G. *et al.* Antimycobacterial activity of new 3-substituted 5-(pyridin-4-yl)-3H-1,3,4-oxadiazol-2-one and 2-thione derivatives. Preliminary molecular modeling investigations. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 11, p. 3797-3809, 2005.
36. SAHIN, Z. S. *et al.* 5-(3,4-dichlorophenyl)-3-{4-(2-pyridyl)piperazine-1-yl methyl}-1,3,4-oxadiazole-2(3H)-one: Synthesis, characterization, X-ray and DFT structures. **Journal of Structural Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 938-942, 2012.
37. BALA, S. *et al.* Methods for synthesis of oxazolones: A Review. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, n. 3, p. 1102-1118, 2011.
38. FISK, J. S. *et al.* The diverse chemistry of oxazol-5-(4H)-ones. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 9, p. 1432-1440, 2007.
39. ZHAO, Y. H. *et al.* Rate-limited steps of human oral absorption and QSAR studies. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 10, p. 1446-1457, 2002.

40. LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012.
41. MODA, T. L. **Desenvolvimento de Modelos *In Silico* de propriedades de ADME para a triagem de novos candidatos a fármacos.** 2007, 82p. Dissertação de Mestrado. Instituto de Física de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos.
42. GILMAN, A. *et al.* **The Pharmacological Basis of Therapeutics. As bases farmacológicas da terapêutica.** 12 ed. MGGrawHill: Porto Alegre, 2012, 2080p. **Cap.2**
43. Molinspiration. Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score. Disponível em: <http://www.molinspiration.com>. Acesso em: 10/10/2012.
44. OSIRIS. Molecular Property Explorer. Disponível em: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>. Acesso em: 20/09/2012.
45. LI, S.F. *et al.* β -Carboline alkaloids from the leaves of *Trigonostemon lii* Y.T. Chang. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 6, p. 2296-2299, 2012.
46. ZHANG, Z. *et al.* Three novel β -carboline alkaloids from *Gelsemium elegans*. **Fitoterapia**, v. 83, n. 4, p. 704-708, 2012.
47. FRISON, G. *et al.* A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. **Forensic Science International**, v. 179, n. 2-3, p. E37-E43, 2008.
48. PATEL, K. *et al.* A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of β -carboline alkaloid "Harmine". **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 8, p. 660-664, 28, 2012.
49. YANG, M. L. *et al.* Synthesis, *in vitro* anti-inflammatory and cytotoxic evaluation, and mechanism of action studies of 1-benzoyl- β -carboline and 1-benzoyl-3-carboxy- β -carboline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1674-1682, 2011.

50. RIVAS, P. *et al.* Effects of some β -carboline alkaloids on intact *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology**, v. 122, n. 1, p. 27-31, 1999.
51. GALARRETA, B. C. *et al.* The use of natural product scaffolds as leads in the search for trypanothione reductase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 14, p. 6689-6695, 2008.
52. ROOK, Y. *et al.* Bivalent β -Carbolines as potential multitarget anti-Alzheimer agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 9, p. 3611-3617, 2010.
53. WANG, M. *et al.* Synthesis of carbon-11-labeled bivalent β -carbolines as new PET agents for imaging of cholinesterase in Alzheimer's disease. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 69, n. 4, p. 678-685, 2011.
54. FROST, D. *et al.* β -Carboline compounds, including harmine, inhibit DYRK1A and tau phosphorylation at multiple Alzheimer's disease-related sites. **Plos One**, v. 6, n. 5, 2011.
55. SOBHANI, A. M. *et al.* An *in vitro* evaluation of human DNA topoisomerase I inhibition by *Peganum harmala L.* seeds extract and its β -carboline alkaloids. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 1, p. 19-23, 2002.
56. DEVEAU, A. M. *et al.* The synthesis of amino-acid functionalized β -carbolines as topoisomerase II inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, n. 10, p. 1251-1255, 2001.
57. CASTRO, A. C. *et al.* Novel IKK inhibitors: β -carbolines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 14, p. 2419-2422, 2003.
58. SONG, Y. C. *et al.* β -Carbolines as specific inhibitors of cyclin-dependent kinases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, n. 7, p. 1129-1132, 2002.
59. LI, Y. *et al.* DH334, a β -carboline anti-cancer drug, inhibits the CDK activity of budding yeast. **Cancer Biology & Therapy**, v. 6, n. 8, p. 1193-1199, 2007.
60. TRUJILLO, J. I. *et al.* Novel tetrahydro-beta-carboline-1-carboxylic acids as inhibitors of mitogen activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MK-2). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 16, p. 4657-4663, 2007.

61. ZHANG, J. *et al.* DH166, a β -carboline derivative, inhibits the kinase activity of PLK1. **Cancer Biology & Therapy**, v. 8, n. 24, p. 2374-2383, 2009.
62. BARSANTI, P. A. *et al.* The discovery of tetrahydro- β -carbolines as inhibitors of the kinesin Eg5. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 1, p. 157-160, 2010.
63. HERRAIZ, T. *et al.* β -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 839-845, 2010.
64. BRIERLEY, D. I. *et al.* Developments in harmine pharmacology - Implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 39, n. 2, p. 263-272, 2012.
65. SHI, B. *et al.* Design, synthesis and *in vitro* and *in vivo* antitumor activities of novel bivalent β -carbolines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, p. 10-22, 2013.
66. IKEDA, R. *et al.* Structure-activity relationship in the antitumor activity of 6-, 8- or 6,8-substituted 3-benzylamino- β -carboline derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 10, p. 3506-3515, 2012.
67. LIU, L. *et al.* Synthesis and cytotoxic activity of 3-phenyl-4-substituted- β -carbolines. **Chinese Chemical Letters**, v. 23, n. 11, p. 1230-1232, 2012.
68. MA, C. *et al.* Synthesis and cytotoxic evaluation of 1-carboxamide and 1-amino side chain substituted β -carbolines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 5513-5519, 2010.
69. CHEN, Z. *et al.* Synthesis, cytotoxic activities and DNA binding properties of β -carboline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4740-4745, 2010.
70. CHEN, Z. *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel β -carbolines as potent cytotoxic and dna intercalating agents. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 58, n. 7, p. 901-907, 2010.

71. WU, J. *et al.* A class of novel carboline intercalators: Their synthesis, *in vitro* anti-proliferation, *in vivo* anti-tumor action, and 3D QSAR analysis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 6220-6229, 2010.
72. SALEEM, M. *et al.* Antimicrobial natural products: An update on future antibiotic drug candidates. **Natural Product Reports**, v. 27, n. 2, p. 238-254, 2010.
73. GUIMARÃES, D. O. *et al.* Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
74. TSUDA, M. *et al.* Chiral resolution of (+/-)-keramaphidin B and isolation of manzamine L, a new β -carboline alkaloid from a sponge *Amphimedon sp.* **Tetrahedron**, v. 52, n. 7, p. 2319-2324, 1996.
75. DOMINGUES, E. A. *et al.* Estudo fitoquímico e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* e da atividade antimicrobiana de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae. **Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 1, p. 23-27, 2010.
76. SCHUPP, P. *et al.* Eudistomins W and X, two new β -carbolines from the micronesian tunicate Eudistoma sp. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 2, p. 272-275, 2003.
77. SHIN, H. J. *et al.* The Synergistic Antibacterial Activity of 1-Acetyl- β -Carboline and β -Lactams Against *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 501-505, 2010.
78. WAHBA, A. E. *et al.* Structure-activity relationship studies of manzamine A: Amidation of positions 6 and 8 of the β -carboline moiety. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 22, p. 7775-7782, 2009.
79. WON, T. H. *et al.* β -carboline alkaloids derived from the ascidian *Synoicum sp.* **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 13, p. 4082-4087, 2012.
80. FORMAGIO, A. S. N. **Síntese e avaliação da atividade antitumoral, antiviral, antibacteriana e antifúngica de β -carbólinas contendo diferentes substituintes nas posições -1 e -3.** 2008. 255p. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

81. MONKS, A. *et al.* Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor-cell lines. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, n. 11, p. 757-766, 1991.
82. NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard.** 6th Ed.; NCCLS document M7-A6; NCCLS: Wayne, MI, USA, 2003.
83. NCCLS. **Methods for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts.** USA, 2002. *Approved Standard.* 2nd Ed.; NCCLS document M27-A; NCCLS: Wayne, MI, USA, 2002.
84. OZOE, Y. *et al.* Fipronil-related heterocyclic compounds: Structure-activity relationships for interaction with gamma-aminobutyric acid- and voltage-gated ion channels and insecticidal action. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 66, n. 2, p. 92-104, 2000.
85. JIANG, L.L. *et al.* Design, Synthesis, and 3D-QSAR Analysis of Novel 1,3,4-Oxadiazol-2(3H)-ones as Protoporphyrinogen Oxidase Inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 5, p. 2643-2651, 2010.
86. SAHIN, G. *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of some 1,3,4-oxadiazole derivatives. **Farmaco**, v. 57, n. 7, p. 539-542, 2002.
87. HIREMATH, D. M. *et al.* A Study of Antibacterial Activities of Indole Derivatives. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. v.3, n.1, p.969-975, 2012.
88. MANCHESTER, J. I. *et al.* Discovery of a novel azaindole class of antibacterial agents targeting the ATPase domains of DNA gyrase and Topoisomerase IV. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 15, p. 5150-5156, 2012.
89. ZAMPIERI, D. *et al.* Antimycobacterial activity of new 3,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one derivatives. Molecular modeling investigations. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 13, p. 4693-4707, 2009.
90. KHANDWALA, A. *et al.* RHC 3288 1-methyl-2(1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one-5-yl) benzimidazole and related-compounds - novel inhibitors of histamine-release from rat mast-cells and human basophils. **Biochemical Pharmacology**, v. 32, n. 22, p. 3325-3333, 1983.

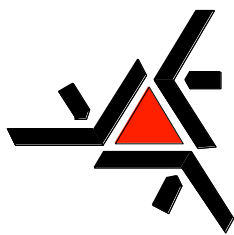
91. MAZOUZ, F. *et al.* 5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one derivatives and sulfur analogs as new selective and competitive monoamine-oxidase type-b inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 8, p. 659-671, 1990.
92. JANSEN, M. *et al.* Synthesis of GABA(A) receptor agonists and evaluation of their α -subunit selectivity and orientation in the GABA binding site. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4430-4448, 2008.
93. THOMPSON, S. K. *et al.* Structure-based design of cathepsin K inhibitors containing a benzyloxy-substituted benzoyl peptidomimetic. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 21, p. 3923-3927, 1998.
94. YALE, H. L. *et al.* Chemotherapy of experimental tuberculosis .X. Heterocyclic acyl derivatives of substituted semicarbazides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 76, n. 8, p. 2208-2211, 1954.
95. STEMPEL, A. *et al.* Preparation of 5-substituted-1,3,4-oxadiazol-2(3H)ones and their reactions. **Journal of Organic Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 412-418, 1955.
96. DAVIDSON, J. S. Some 1-aryloxy-4,4-dialkylsemicarbazides and their cyclization to afford 5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-ones. **Monatshefte Fur Chemie**, v. 119, n. 8-9, p. 1027-1029, 1988.
97. HASSAN, S. Y. *et al.* Synthesis and reactions of 5-(D-arabino-tetrahydroxybutyl)-3-(2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole-2-thion- 5-yl)-2-methylfuran and 5-(D-arabino-tetrahydroxybutyl)-3-(2-substituted amino-1,3,4-oxadiazol-5-yl)-2-methylfuran. **Carbohydrate Research**, v. 298, n. 1-2, p. 123-126, 1997.
98. OHMOTO, K. *et al.* Design and synthesis of new orally active inhibitors of human neutrophil elastase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 5, p. 1307-1323, 2001.
99. FARGHALY, A. R. *et al.* Synthesis of some new azoles with antiviral potential. **Arkivoc**, p. 76-90, 2006.
100. LEVINS, C. G. *et al.* Efficient phosphonium-mediated synthesis of 2-amino-1,3,4-oxadiazoles. **Organic Letters**, v. 10, n. 9, p. 1755-1758, 2008.
101. YAN, X. *et al.* Propylene oxide assisted one-pot, tandem synthesis of substituted-1,3,4-oxadiazole-2(3H)-ones in water. **Tetrahedron**, v. 68, n. 38, p. 7978-7983, 2012.

102. LIU, Q. *et al.* Room-Temperature Copper-Catalyzed Oxidation of Electron-Deficient Arenes and Heteroarenes Using Air. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 51, n. 19, p. 4666-4670, 2012.
103. DEBNATH, K. *et al.* Synthesis of 5-aryl-3H-1,3,4-oxadiazol-2-ones from N-(chloro-aryl-methylene)-tert-butylcarbazates using basic alumina as an efficient and recyclable surface under solvent-free condition. **Tetrahedron Letters**, v. 54, n. 8, p. 896-899, 2013.
104. JANSEN, M. *et al.* Variations of acidic functions at position 2 and substituents at positions 4, 5 and 6 of the indole moiety and their effect on NMDA-glycine site affinity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 10, p. 855-865, 2003.
105. FARGHALY, A-R. A. H. Synthesis, reactions and antimicrobial activity of some new indolyl-1,3,4-oxadiazole, triazole and pyrazole derivatives. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 51, n. 1, p. 147-156, 2004.
106. BAILEY, P. D. *et al.* Synthesis of polycyclic indolic structures. **Tetrahedron Letters**, v. 40, n. 24, p. 4597-4600, 1999.
107. KUSURKAR, R. S. *et al.* Use of the Pictet-Spengler reaction for the synthesis of 1,4-disubstituted-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolines and 1,4-disubstituted- β -carbolines: formation of γ -carbolines. **Tetrahedron**, v. 64, n. 8, p. 1654-1662, 2008.
108. MARESH, J. J. *et al.* Strictosidine synthase: Mechanism of a Pictet-Spengler catalyzing enzyme. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 2, p. 710-723, 2008.
109. DÜSMAN, L. T. **Síntese, estudos conformacionais e avaliação da atividade biológica frente trypanosoma cruzi e artemia salina de tetraidro- β -carbolinas-3-carbometóxi e 3-amido-1-benzossobstituídas.** 2005. 103p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
110. ALMAJAN, G. L. *et al.* Synthesis, characterization and antibacterial activity of some triazole Mannich bases carrying diphenylsulfone moieties. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 7, p. 3083-3089, 2009.
111. CLAYDEN, J. *et al.* **Organic Chemistry.** 2 ed. Oxford: 2001. 1392p.

112. MUNDY, B. P. et al. **Name Reactions and Reagents in Organic Synthesis**. John Wiley & Sons, Inc. 2 ed. New York, 2005. 900p.
113. DESAI, N. C. et al. Synthesis and Antimicrobial Activity of 5-Imidazolinone Derivatives. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, n. 1, p. 90-94, 2009.
114. ARGADE, N. D. et al. Microwave Assisted Improved Method for the Synthesis of Pyrazole Containing 2,4,-Disubstituted Oxazole-5-one and their Antimicrobial Activity. **E-Journal of Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 120-129, 2008.
115. TANDON, M. et al. Potent and selective inhibitors of bacterial methionyl tRNA synthetase derived from an oxazolone-dipeptide scaffold. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 8, p. 1909-1911, 2004.
116. SIDDIQUI, S. A. et al. New novel synthesis and antibacterial activity of 1-(substituted phenyl)-2-phenyl-4-(3'-halo, 4'-hydroxy 5'-methoxy benzylidene)-imidazole-5-ones. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 22, n. 9, p. 1033-1036, 2001.
117. KHAN, K. M. et al. Oxazolones: New tyrosinase inhibitors; synthesis and their structure-activity relationships. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 17, p. 6027-6033, 2006.
118. MESAİK, M. A. et al. Synthesis and immunomodulatory properties of selected oxazolone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 9, p. 2049-2057, 2004.
119. KOCZAN, G. et al. Synthesis and characterization of 4-ethoxymethylene-2-1-naphthyl-5(4H)-oxazolone and its fluorescent amino acid derivatives. **Tetrahedron**, v. 57, n. 21, p. 4589-4598, 2001.
120. HEILMANN, S. M. et al. Azlactone-reactive polymer supports for immobilizing synthetically useful enzymes - Part I. Pig liver esterase on dispersion polymer supports. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 30, n. 1, p. 33-42, 2004.
121. HASHIMOTO, M. et al. Synthetic studies of carzinophilin. Part 3: Synthetic approach toward carzinophilin and successful synthesis of 13-O-desacetyl-12,13-di-O-benzyl-4-O-methylcarzinophilin. **Tetrahedron**, v. 59, n. 17, p. 3063-3087, 2003.

122. MOSEY, R. A. *et al.* Stereoselective syntheses of quaternary substituted alpha-amino acids using oxazol-5-(4H)-ones. **Tetrahedron-Asymmetry**, v. 19, n. 24, p. 2755-2762, 2008..
123. CARTER, H. E. Azlactones. **Organic Reactions**, v. 3, p. 198-239, 1946.
124. TIKDARI, A. M. *et al.* Dodecatungstophosphoric Acid (H₃PW₁₂O₄₀), Samarium and Ruthenium (III) Chloride Catalyzed Synthesis of Unsaturated 2-Phenyl-5(4H)-oxazolone Derivatives under Solvent-free Conditions. **Molecules**, v. 13, n. 12, p. 3246-3252, 2008.
125. CLEARY, T. *et al.* Catalyzing the Erlenmeyer Plochl reaction: organic bases versus sodium acetate. **Tetrahedron Letters**, v. 51, n. 12, p. 1533-1536, 2010.
126. DIAZ, J. L. *et al.* Synthesis of polyconjugated carbazolyl-oxazolones by a tandem hydrozirconation-Erlenmeyer reaction. Study of their hyperpolarizability values. **Tetrahedron Letters**, v. 43, n. 24, p. 4333-4337, 2002.
127. ROSA, M. F. D. *et al.* Photodegradation of 4-[(4-N,N-dimethylamine)-benzylidene]-2-phenyl-oxazolone in different organic solvents. **Acta Scientiarum-Technology**, v. 29, n. 2, p. 209-212, 2007.
128. GILBERT, A. M. *et al.* Anthranilate 4H-oxazol-5-ones: novel small molecule antibacterial acyl carrier protein synthase (AcpS) inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 1, p. 37-41, 2004.
129. PASHA, M. A. *et al.* Zinc Oxide (ZnO): An Efficient Catalyst for the Synthesis of 4-arylmethylidene-2-phenyl 5(4H)-oxazolones having Antimicrobial Activity. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2, n. 3, p. 264-270, 2007.
130. ABDEL-ATY, A. S. Pesticidal Effects of Some Imidazolidine and Oxazolone Derivatives. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 1, p. 105-113, 2009.
131. TAILLE, V. *et al.* Synthesis and Biological Activity of 4-(4-Hydroxybenzylidene)-2-(substituted styryl) oxazol-5-ones and Their o-glucosides. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 33, n. 2, p. 295-305, 2009.
132. HAMIDIAN, H. *et al.* Synthesis of novel azo compounds containing 5(4H)-oxazolone ring as potent tyrosinase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 7, p. 2088-2092, 2013.

133. PARVEEN, M. *et al.* Synthesis, bioassay, crystal structure and *ab initio* studies of Erlenmeyer azlactones. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 104, p. 538-545, 2013.
134. GUNDOGDU, C. *et al.* Synthesis of Novel Carbazolyl-Oxazolone Derivatives and Their Spectroscopic Properties. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 1450-1453, 2010.
135. BARROS, T. G. *et al.* Pseudo-peptides derived from isomannide: inhibitors of serine proteases. **Amino Acids**, v. 38, n. 3, p. 701-709, 2010.
136. SHI, F. *et al.* Efficient microwave-assisted synthesis of novel 3-amino-hexahydrocoumarin derivatives and evaluation on their cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 953-960, 2011.
137. GUCKY, T. *et al.* Cyclocondensation reaction of heterocyclic carbonyl compounds, Part XIII: Synthesis and cytotoxic activity of some 3,7-diaryl-5-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrazolo 4,3-e 1,2,4 triazines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 891-900, 2009.
138. RODRIGUES, C. A. B. *et al.* Two-photon absorption properties of push-pull oxazolones derivatives. **Dyes and Pigments**, v. 95, n. 3, p. 713-722, 2012.
139. YODA, S. *et al.* Direct synthesis of poly(L-lactic acid) in supercritical carbon dioxide with dicyclohexyldimethylcarbodiimide and 4-dimethylaminopyridine. **Polymer**, v. 45, n. 23, p. 7839-7843, 2004.
140. SAVAGE, D. *et al.* Synthesis and structural characterization of N-para-ferrocenyl benzoyl amino acid ethyl esters and the X-ray crystal structures of the glycol and (+/-)-2-aminobutyric acid derivative Fc-C₆H₄CONHCH(C₂H₅)CO₂Et. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 690, n. 2, p. 383-393, 2005.
141. PAUL, S. *et al.* Calcium acetate catalyzed synthesis of 4-arylidene-2-phenyl-5(4H)-oxazolones under solvent-free conditions. **Tetrahedron Letters**, v. 45, n. 2, p. 425-427, 2004.
142. CHANDRASEKHAR, S. *et al.* Aromaticity in azlactone anions and its significance for the Erlenmeyer synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 47, n. 32, p. 5763-5766, 2006.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANEXOS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIPROLIFERATIVA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS 1-FENILSSUBSTITUÍDO
 β -CARBOLÍNICOS CONTENDO AS UNIDADES 1,3,4-OXADIAZOL-2-
ONA E 1,3-OXAZOL-5-ONA NA POSIÇÃO-3.**

Doutoranda: FRANCIELE CRISTINA SAVARIZ

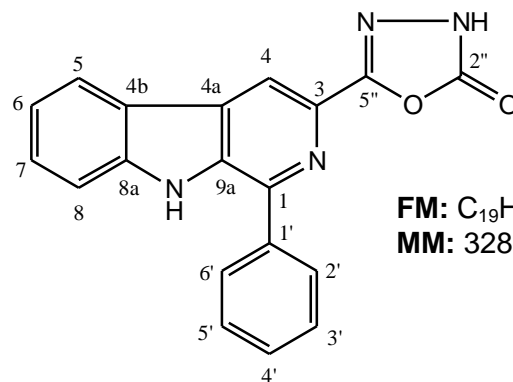
Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Sarragiotto

MARINGÁ, JUNHO DE 2013.

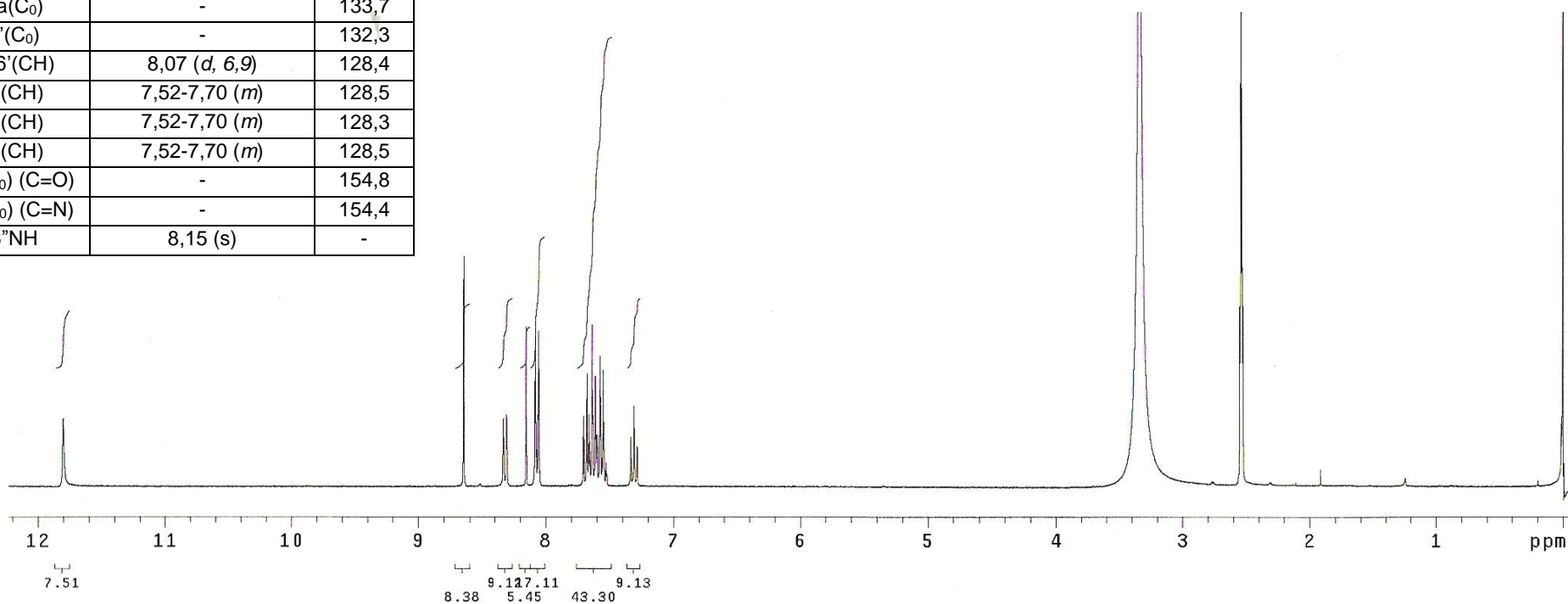
**ANEXOS DO
CAPÍTULO I**

Anexo 1: 1-fenil 3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87a**).

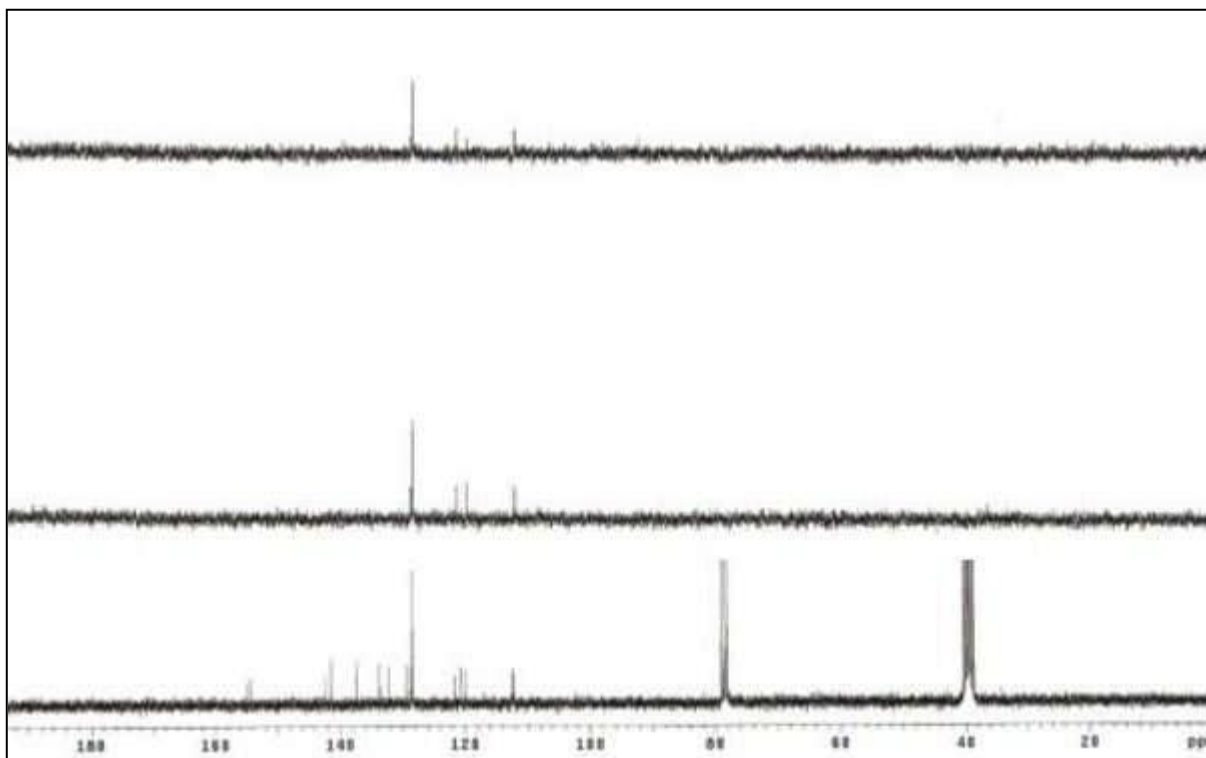
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	142,4
2(N)	-	-
3(C ₀)	-	137,4
4(CH)	8,64 (s)	112,2
4a(C ₀)	-	129,4
4b(C ₀)	-	120,7
5(CH)	8,32 (d, 7,8)	121,5
6(CH)	7,30 (t, 7,8)	119,9
7(CH)	7,52-7,70 (m)	128,7
8(CH)	7,52-7,70 (m)	112,5
8a(C ₀)	-	141,5
9(NH)	11,80 (s)	-
9a(C ₀)	-	133,7
1'(C ₀)	-	132,3
2'/6'(CH)	8,07 (d, 6,9)	128,4
3'(CH)	7,52-7,70 (m)	128,5
4'(CH)	7,52-7,70 (m)	128,3
5'(CH)	7,52-7,70 (m)	128,5
2''(C ₀) (C=O)	-	154,8
5''(C ₀) (C=N)	-	154,4
3''NH	8,15 (s)	-



FM: C₁₉H₁₂N₄O₂
MM: 328,10 g/mol

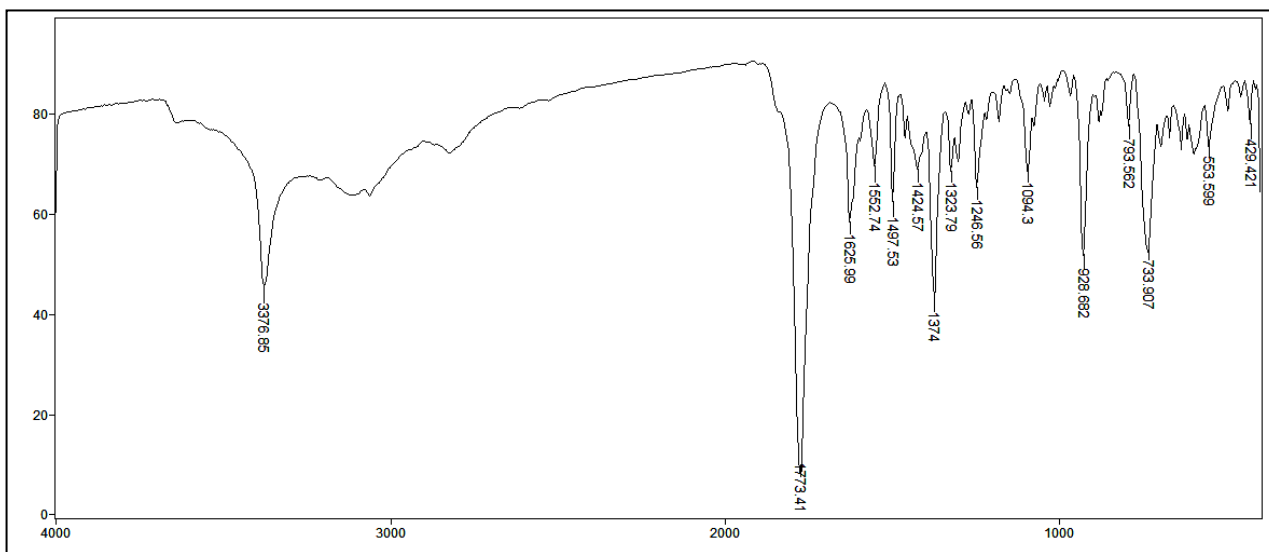


ERMN ¹H-1: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, CDCl₃/DMSO-*d*₆) do composto

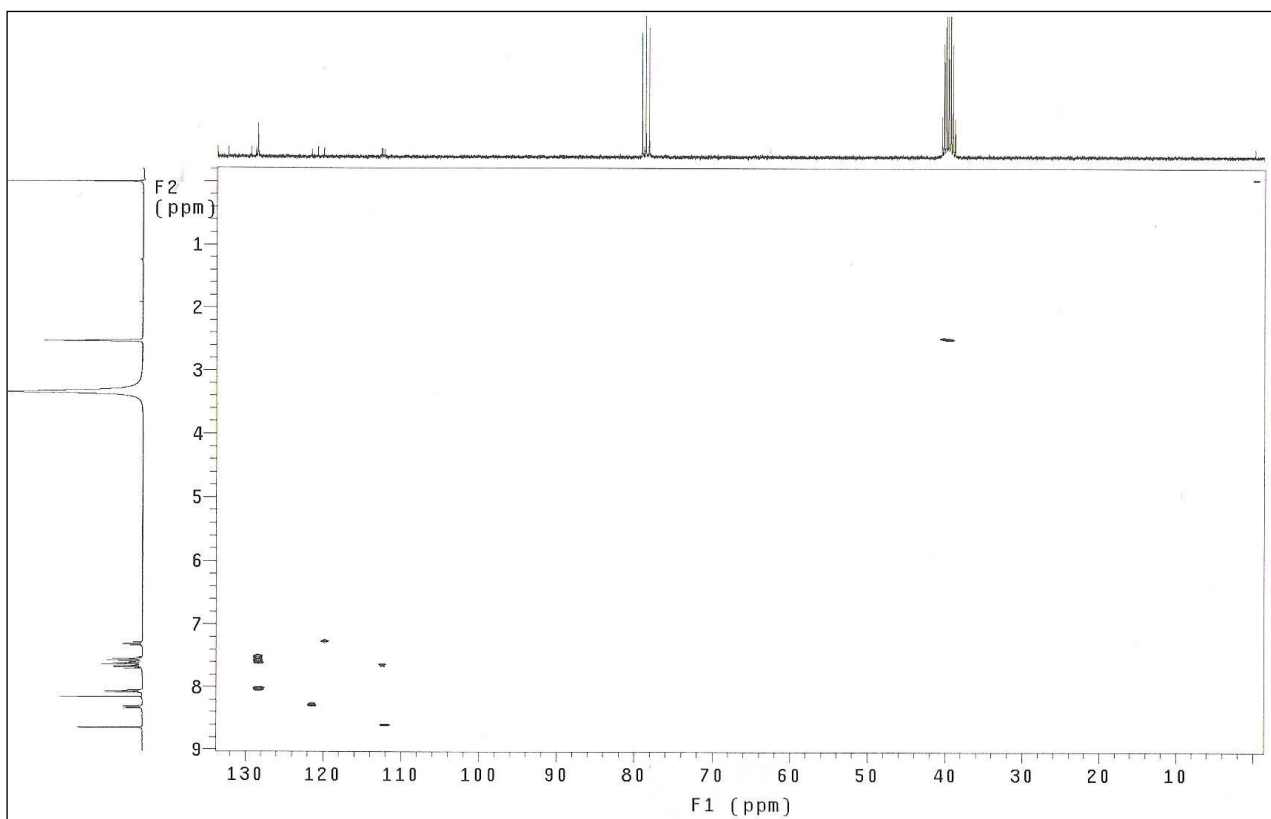


ERMN ¹³C-1: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5MHz, CDCl₃/DMSO-*d*₆) do composto **87a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3376 cm⁻¹ (N-H); 1773 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (C=N) e 733 (indol)

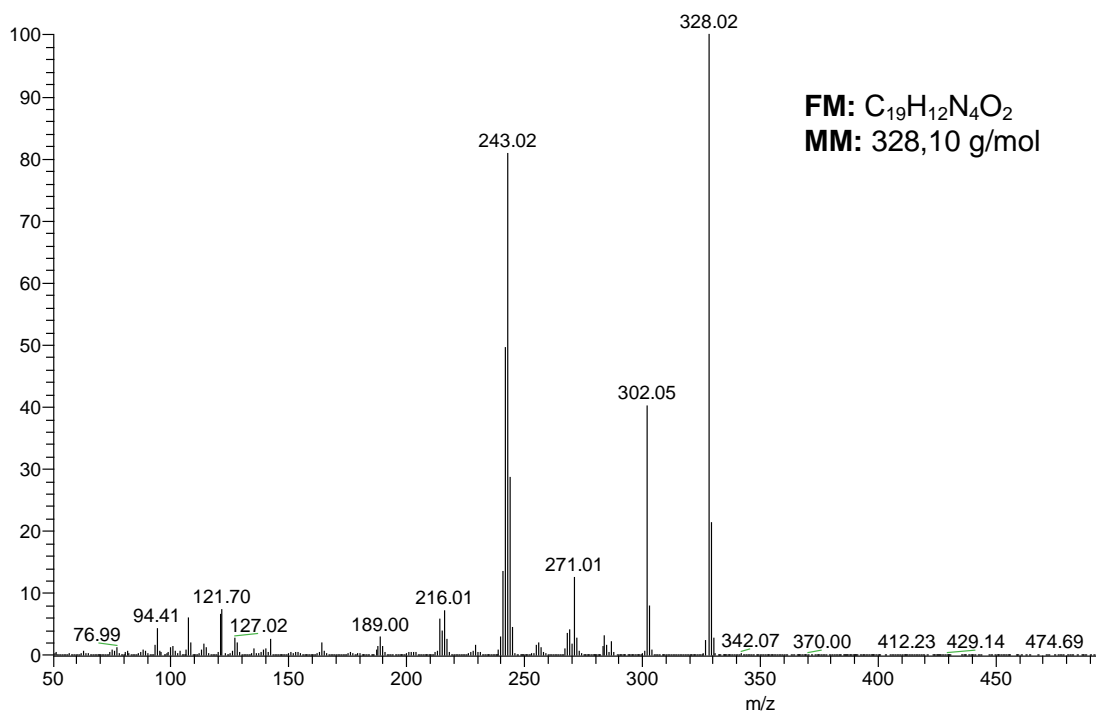


EIV-1: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87a**.



EHSQC-1: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{DMSO}-d_6$) do composto **87a**.

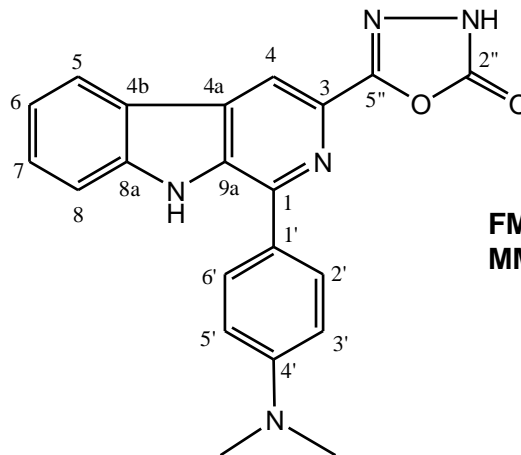
EI-MS- m/z (%): 328,02 (M^+ , 100), 271,01 (10), 243,02 (80), 302,05 (40).



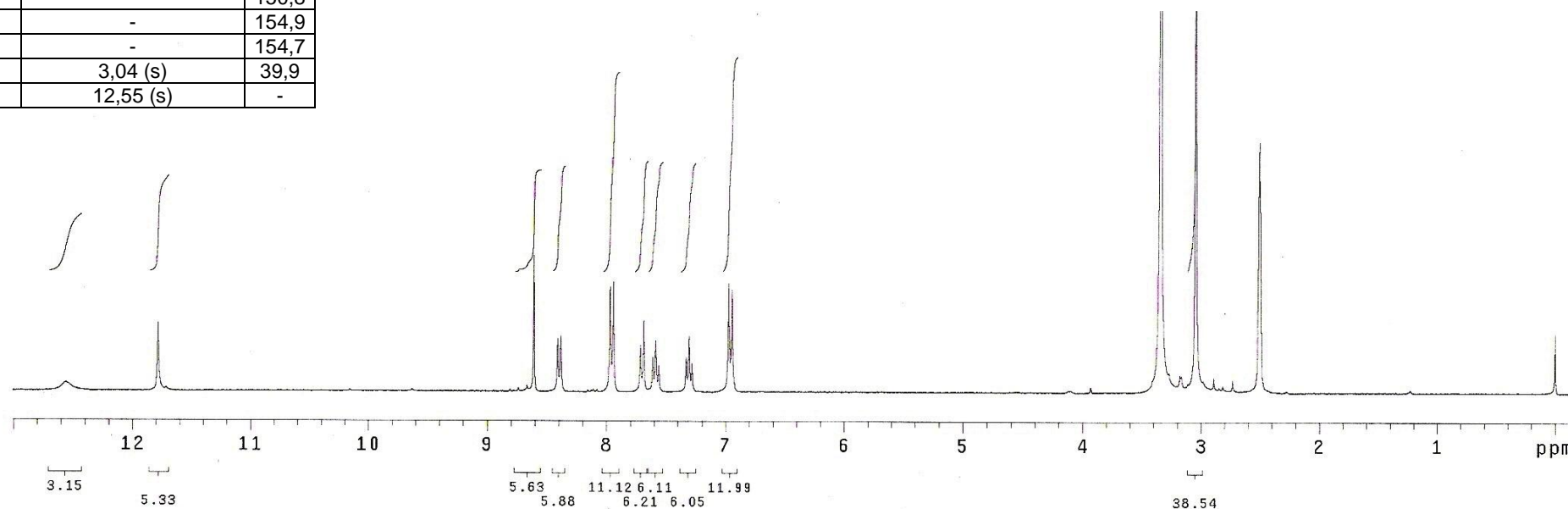
EI-MS- 1: Espectro de massas do composto **87a**.

Anexo 2: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87b**).

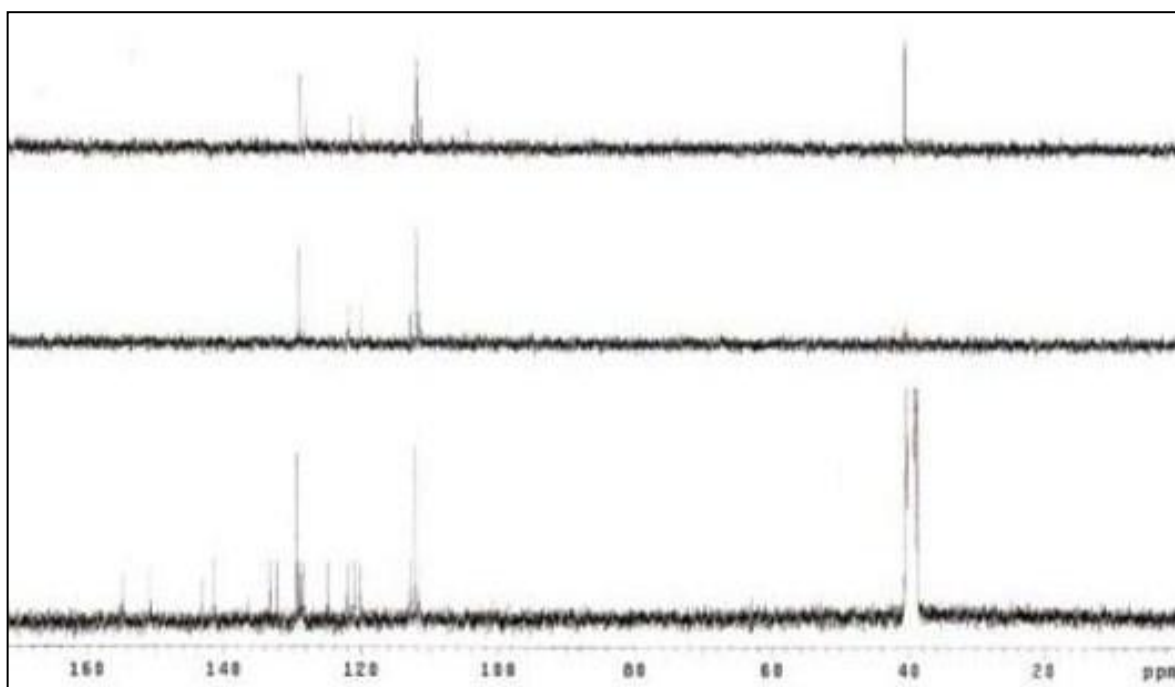
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	143,2
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	133,2
4(CH)	8,61 (s)	111,5
4a(C ₀)	-	124,8
4b(C ₀)	-	120,9
5(CH)	8,39 (d, 7,8)	121,9
6(CH)	7,30 (t, 7,8)	120,1
7(CH)	7,58 (t, 7,8)	128,5
8(CH)	7,70 (d, 8,1)	112,7
8a(C ₀)	-	141,4
9 (NH)	11,78 (s)	-
9a(C ₀)	-	132,2
1'(C ₀)	-	129,0
2'/6'(CH)	7,95 (d, 8,7)	129,4
3'/5'(CH)	6,96 (d, 8,7)	112,0
4'(C ₀)	-	150,8
2'' (C ₀)	-	154,9
5'' (C ₀)	-	154,7
N(CH ₃) ₂	3,04 (s)	39,9
3'' NH	12,55 (s)	-



FM: C₂₁H₁₇N₅O₂
MM: 371,14 g/mol

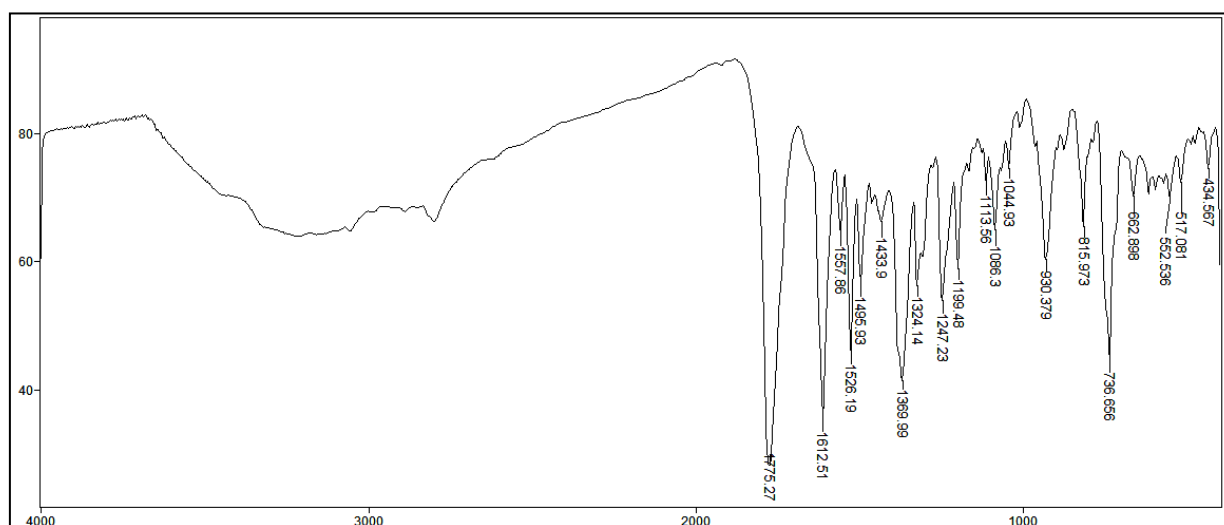


ERMN ¹H-2: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87b**.

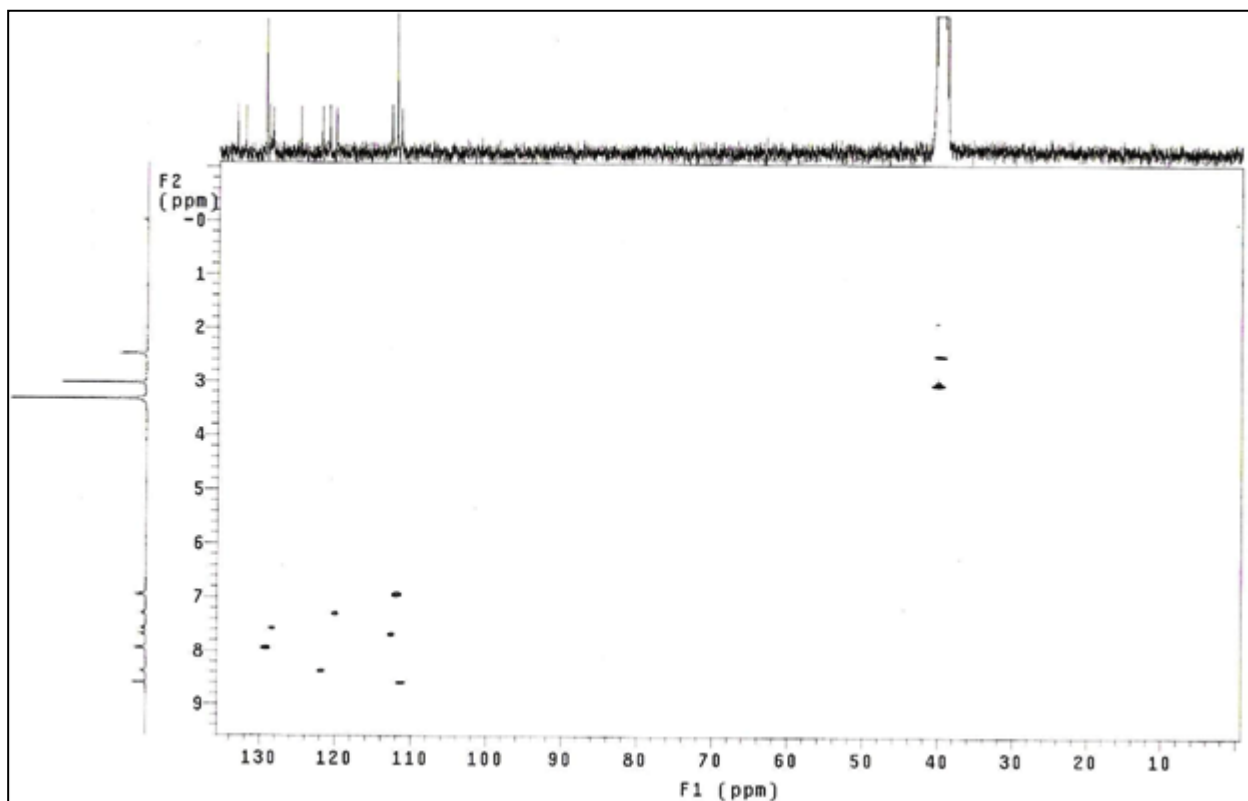


ERMN ¹³C-2: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87b**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1775 cm⁻¹ (C=O); 1612 cm⁻¹ (C=N) e 736 (indol)

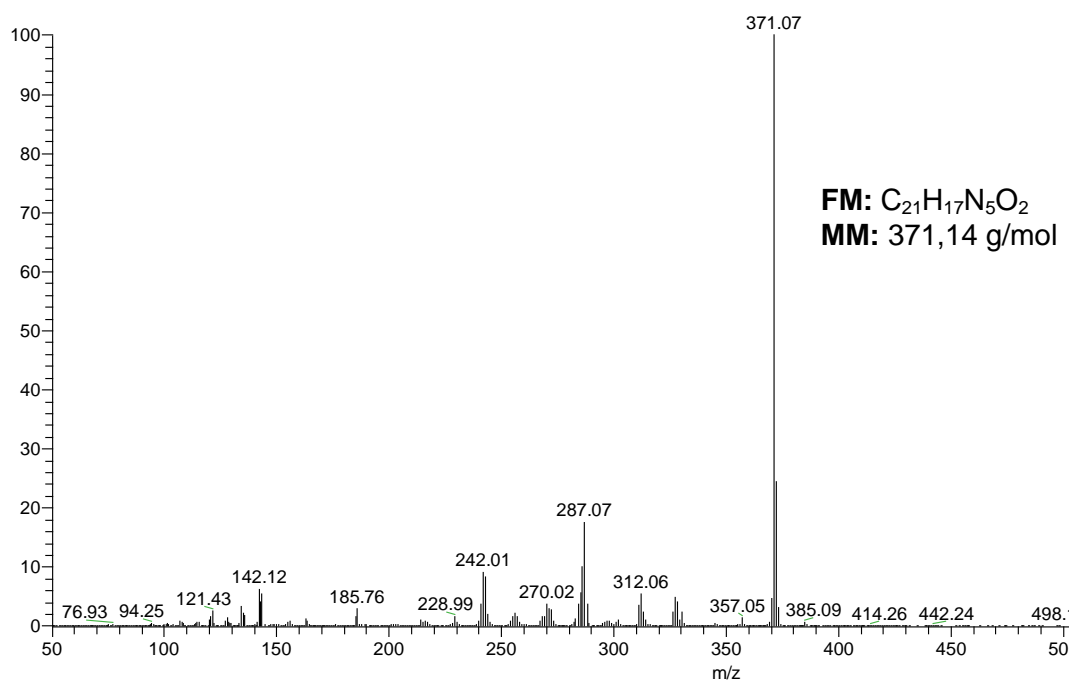


EIV-2: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87b**.



EHSQC-2: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87b**.

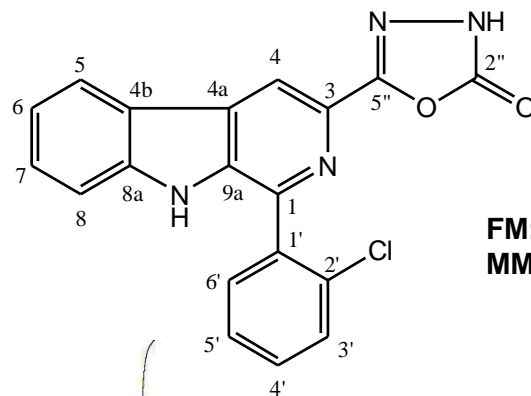
EI-MS- m/z (%): 371,07 (M^+ , 100), 242,01 (10), 287,07 (20).



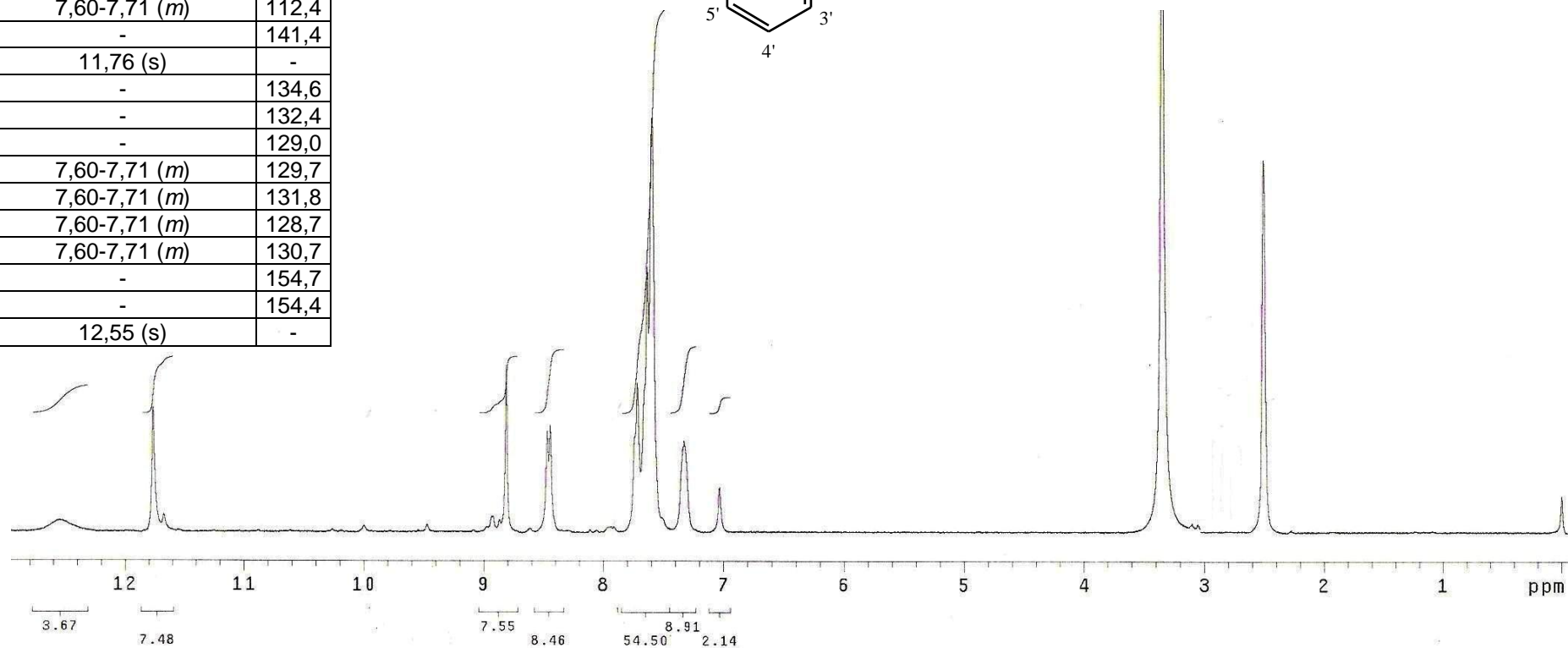
EI-MS- 2: Espectro de massas do composto **87b**.

Anexo 3: 1-(2'-clorofenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87c**).

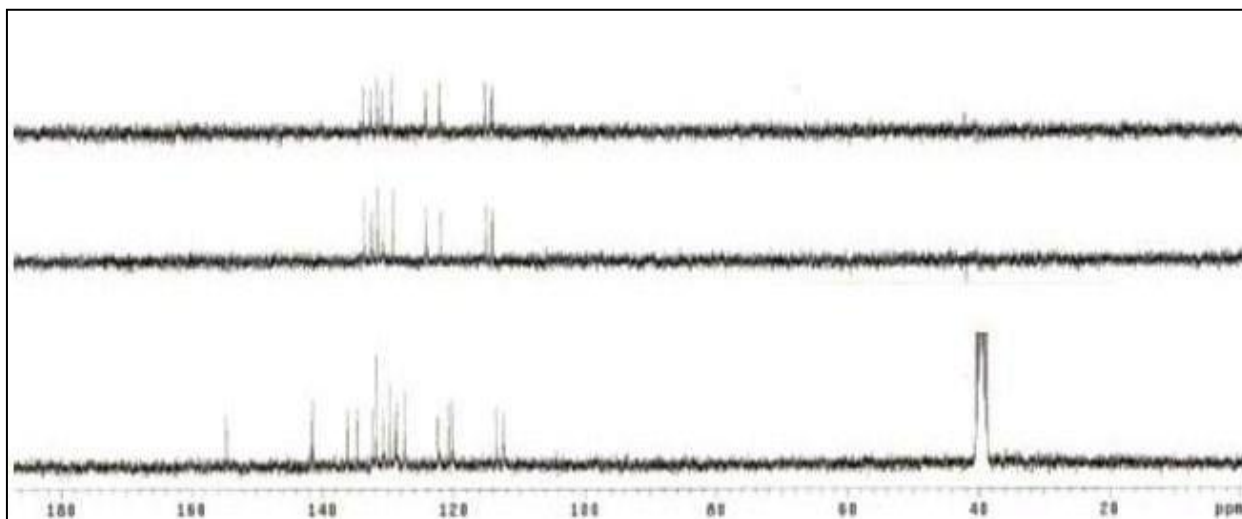
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	141,6
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	136,2
4(CH)	8,81 (s)	113,4
4a(C ₀)	-	*
4b(C ₀)	-	120,7
5(CH)	8,45 (d, 7,5)	122,4
6(CH)	7,33 (m)	120,2
7(CH)	7,60-7,71 (m)	127,5
8(CH)	7,60-7,71 (m)	112,4
8a(C ₀)	-	141,4
9 (NH)	11,76 (s)	-
9a(C ₀)	-	134,6
1'(C ₀)	-	132,4
2'(C ₀)	-	129,0
3'(CH)	7,60-7,71 (m)	129,7
4'(CH)	7,60-7,71 (m)	131,8
5'(CH)	7,60-7,71 (m)	128,7
6'(CH)	7,60-7,71 (m)	130,7
2'' (C ₀)	-	154,7
5'' (C ₀)	-	154,4
3''NH	12,55 (s)	-



FM: C₁₉H₁₁N₄O₂Cl
MM: 362,06 g/mol

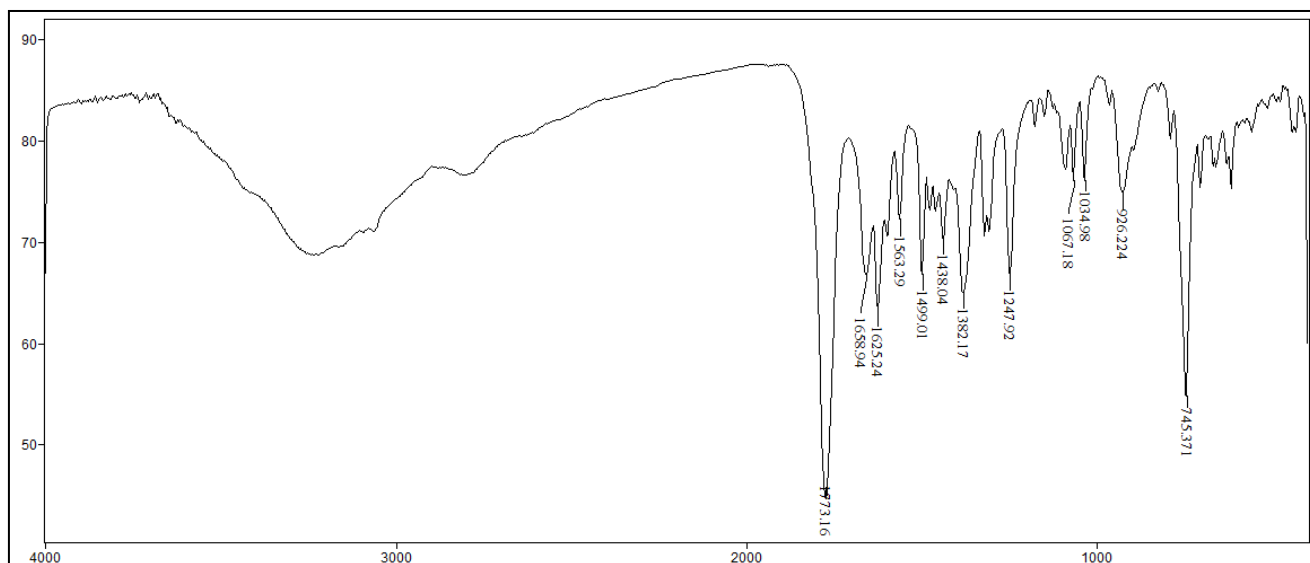


ERMN ¹H-3: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87c**.

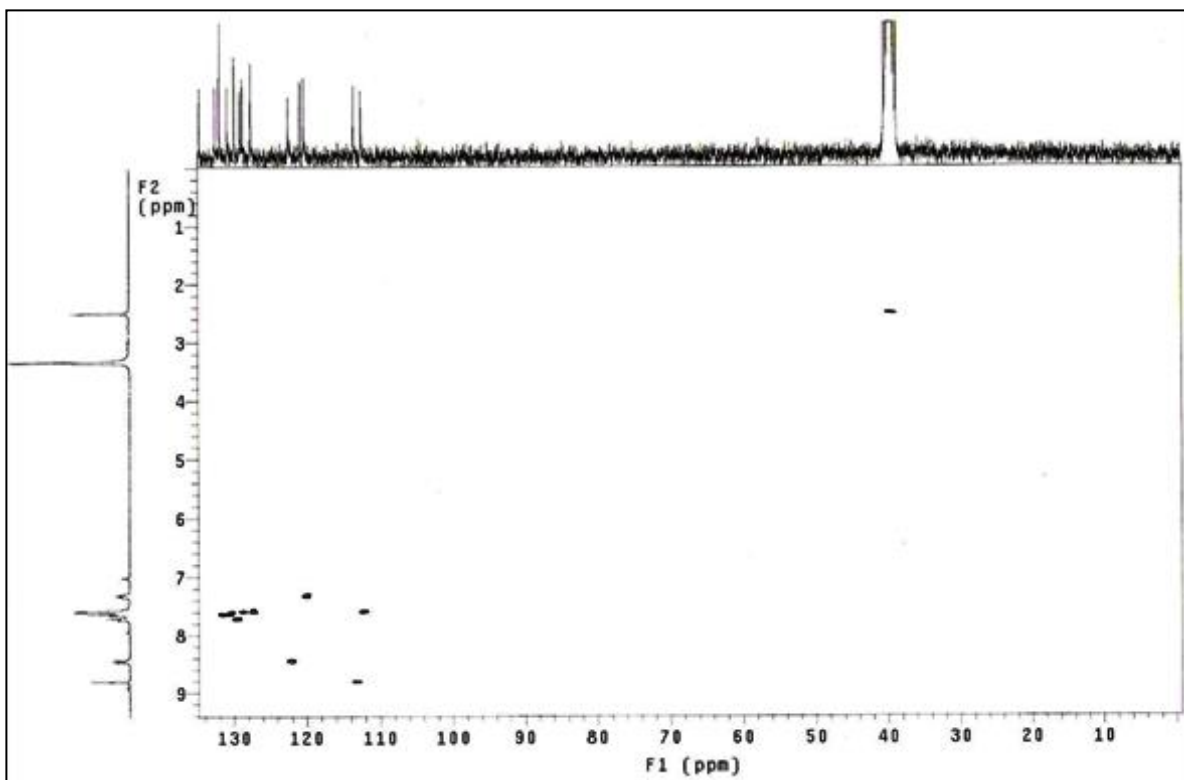


ERMN ¹³C-3 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87c**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1773 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (C=N) e 745 (indol)

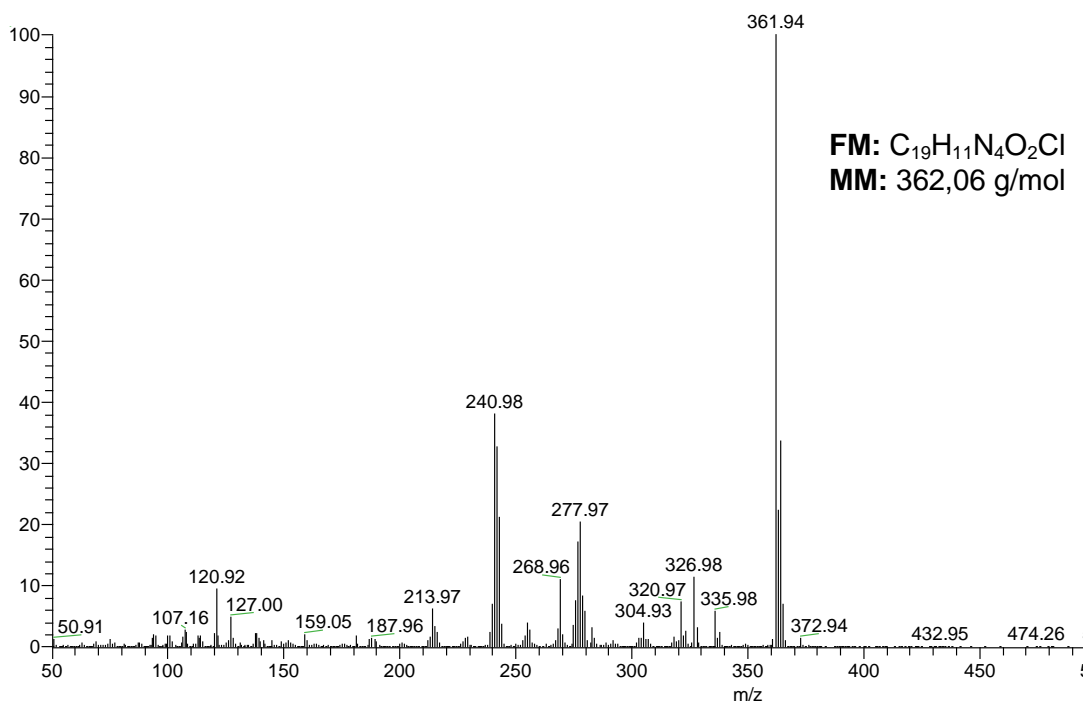


EIV-3: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87c**.



EHSQC-3: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87c**.

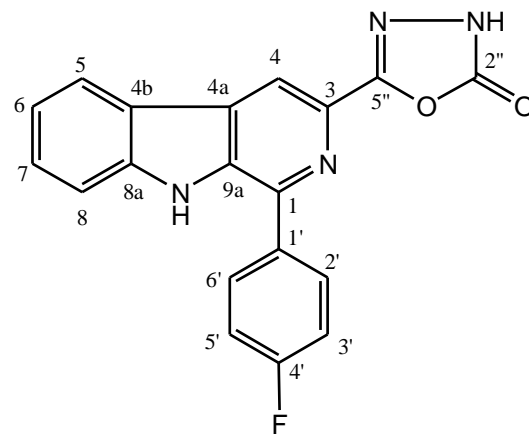
EI-MS- m/z (%): 361,94 (M^+ , 100), 240,98 (40), 277,97 (20).



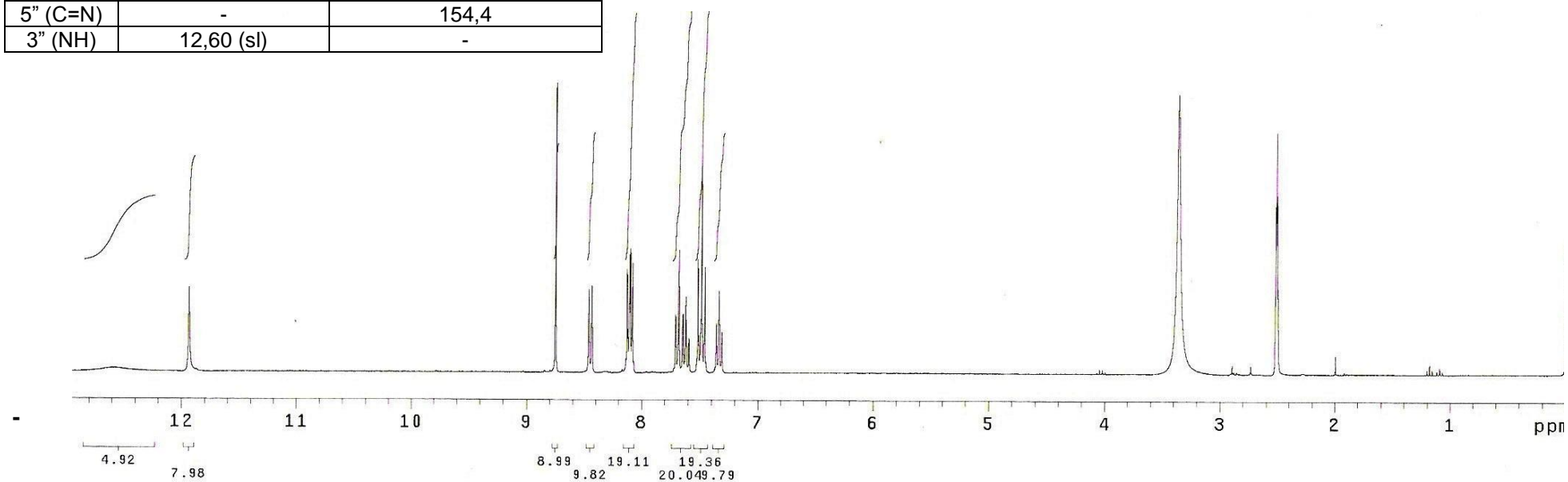
EI-MS- 3: Espectro de massas do composto **87c**.

Anexo 4: 1-(4'-flúorfenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87d**).

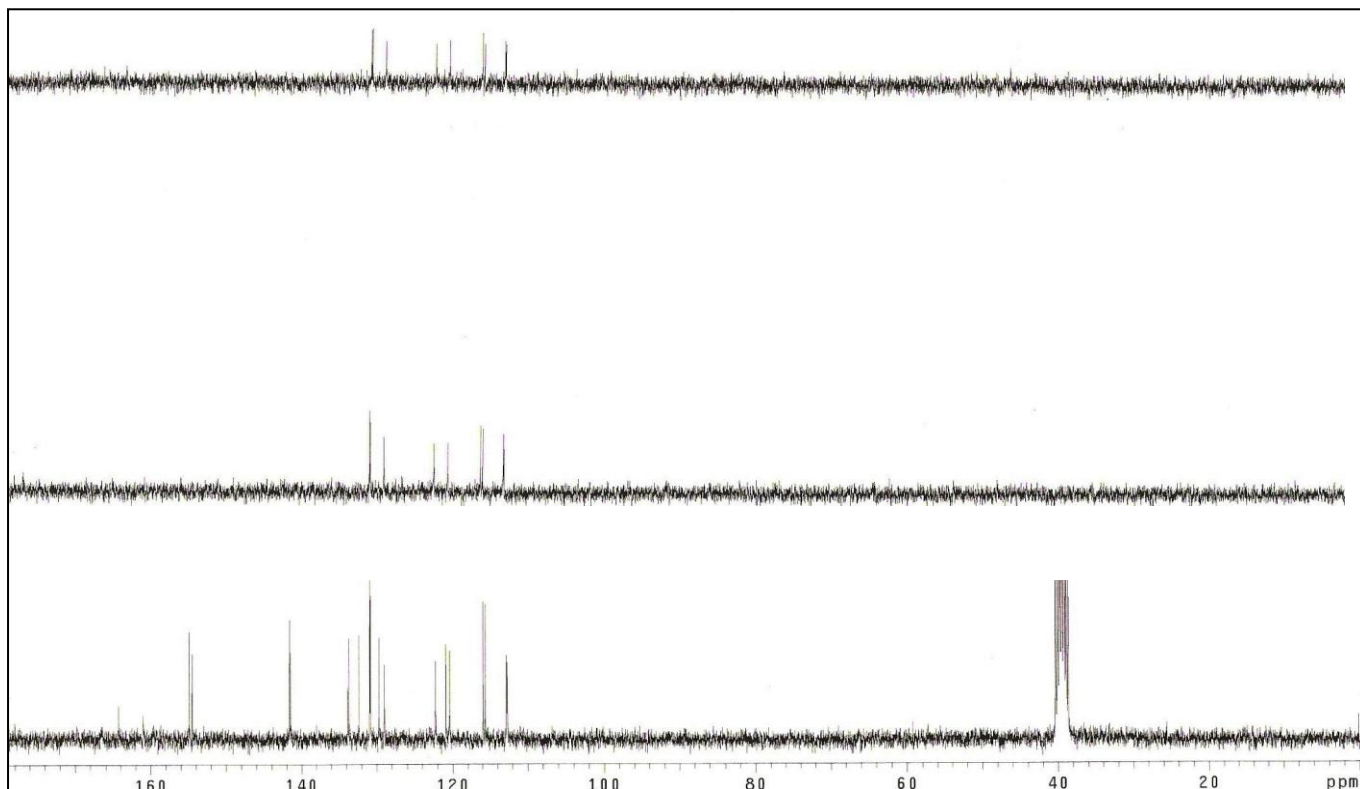
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	142,6
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	133,6
4(CH)	8,75 (s)	112,7
4a(C ₀)	-	129,6
4b(C ₀)	-	120,9
5(CH)	8,45 (d, 7,8)	122,2
6(CH)	7,34 (td, 7,8; 1,2)	120,4
7(CH)	7,62 (td, 7,8, 1,2)	128,9
8(CH)	7,69 (d, 8,1)	112,8
8a(C ₀)	-	141,4
9 (NH)	11,94 (s)	-
9a(C ₀)	-	132,3
1'(C ₀)	-	133,8/133,7 (d, 7.55)
2'/6'(CH)	8,10 (t, 8,1)	130,9/130,8 (d, 7.55)
3'/5'(CH)	7,49 (t, 8,1)	115,9/115,6 (d, 22.65)
4'(C ₀)	-	164,3/161,0 (d, 249,1)
2'' (C=O)	-	154,8
5'' (C=N)	-	154,4
3'' (NH)	12,60 (sl)	-



FM: C₁₉H₁₁N₄O₂F
MM: 346,09 g/mol

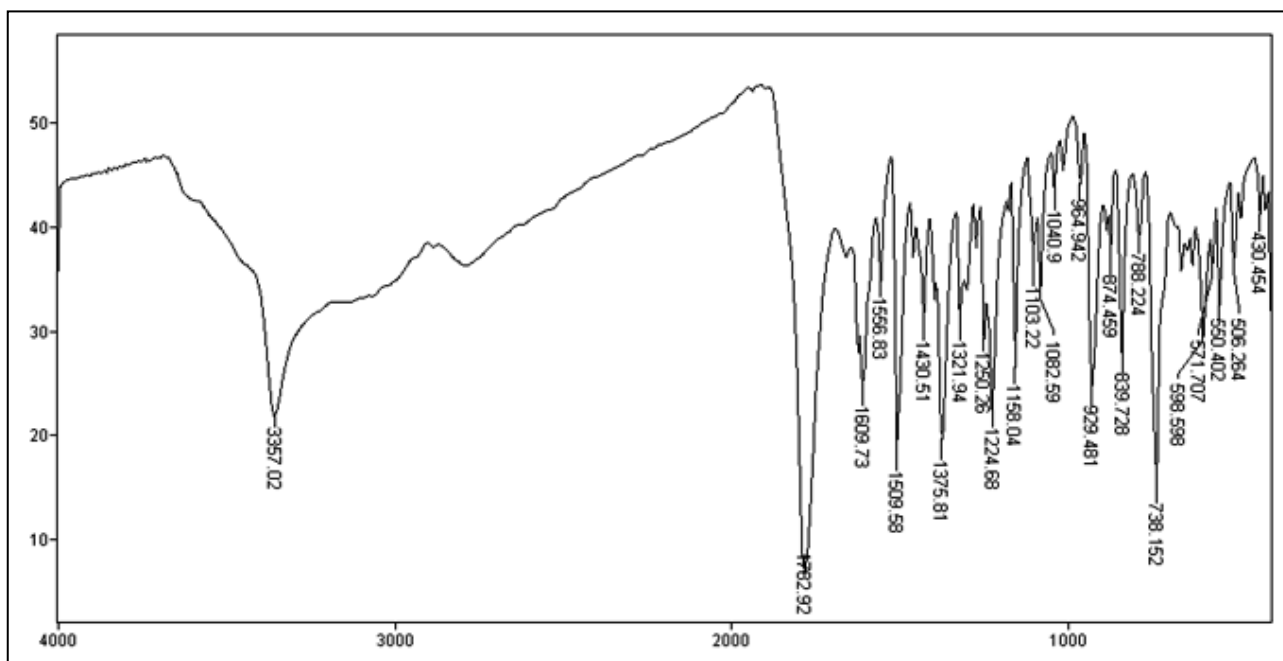


ERMN ¹H-4: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87d**.

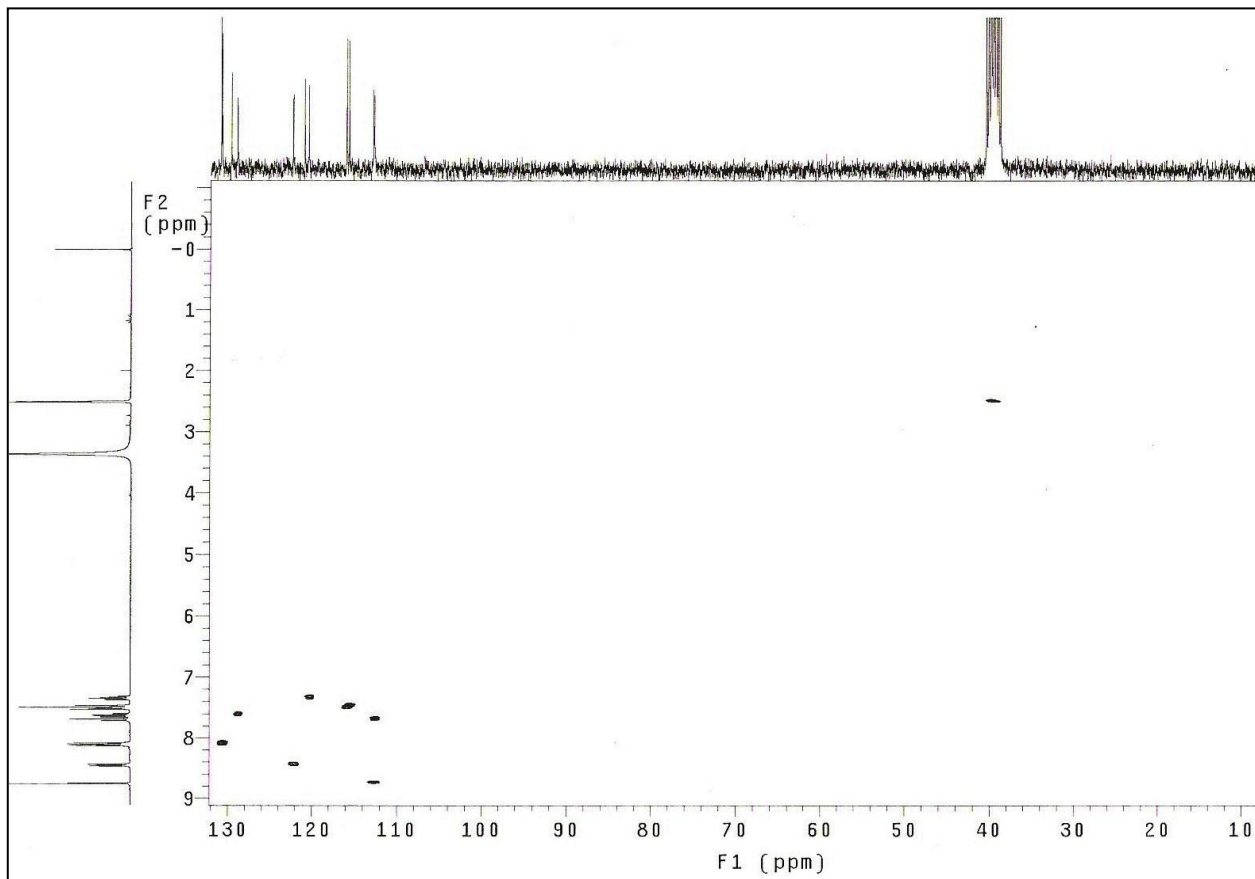


ERMN ¹³C-4 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87d**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1782 cm⁻¹ (C=O); 1609 cm⁻¹ (C=N) e 738 (indol)

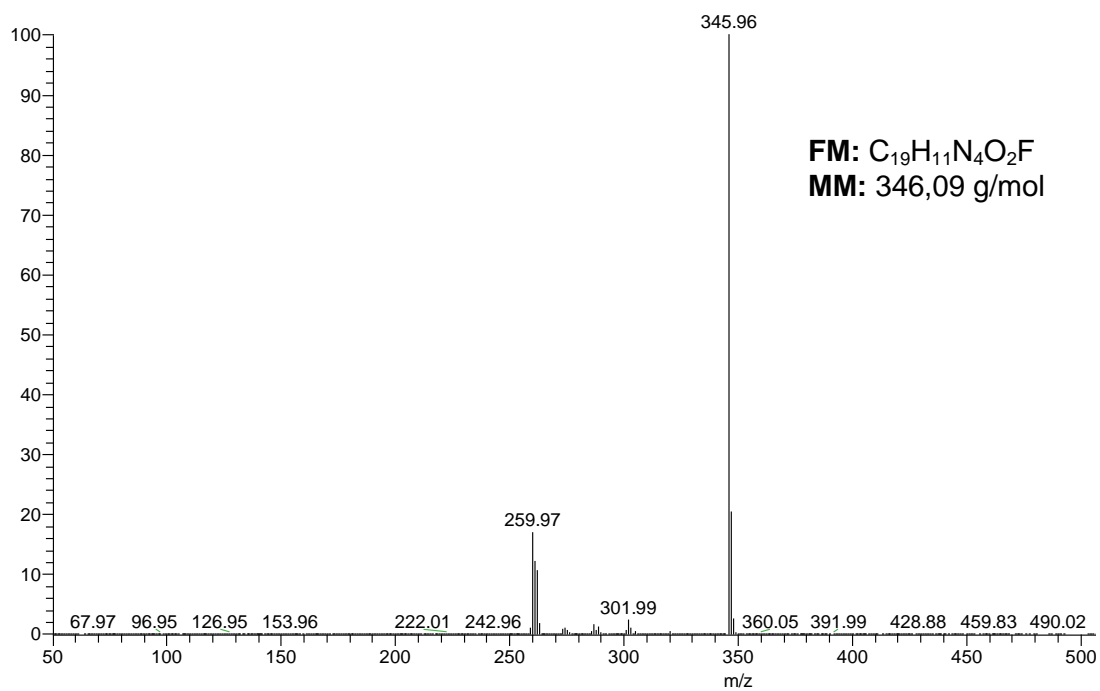


EIV-4: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87d**.



EHSQC-4: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87d**.

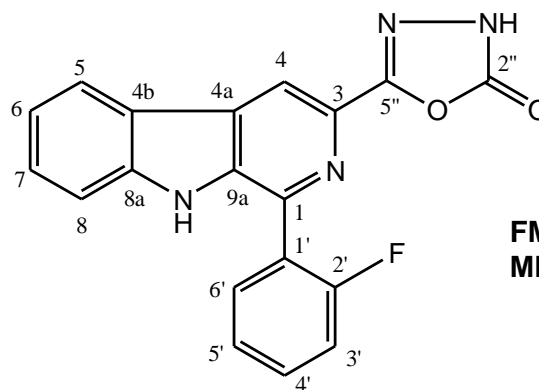
EI-MS- m/z (%): 345,96 (100), 259,97 (340), 301,99 (5).



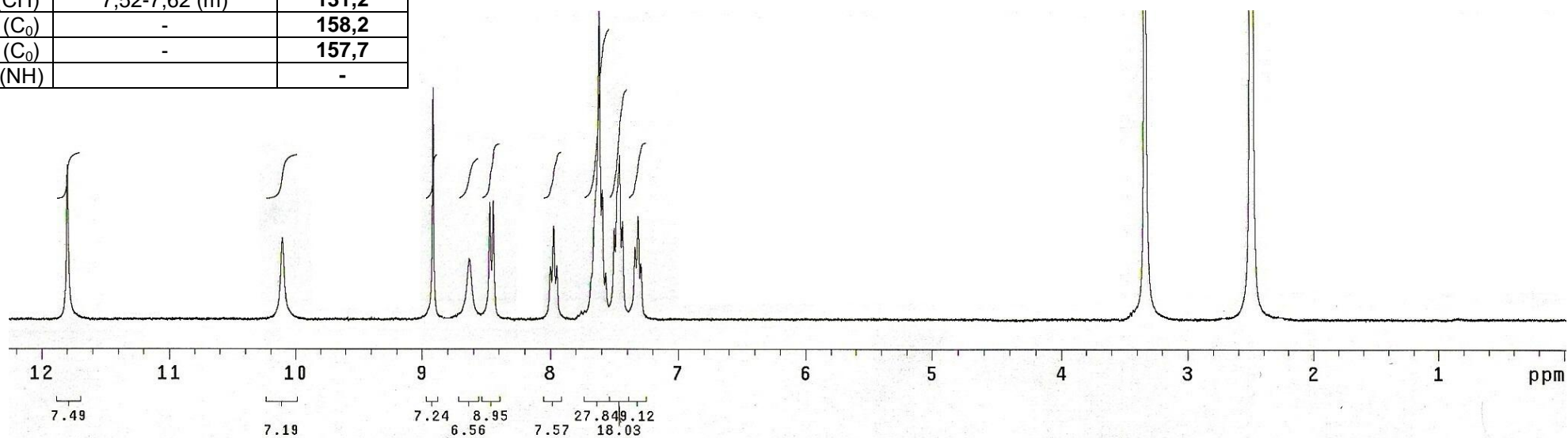
EI-MS- 4: Espectro de massas do composto **87d**.

Anexo 5: 1-(2'-flúorfenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)-β-carbolina (**87e**).

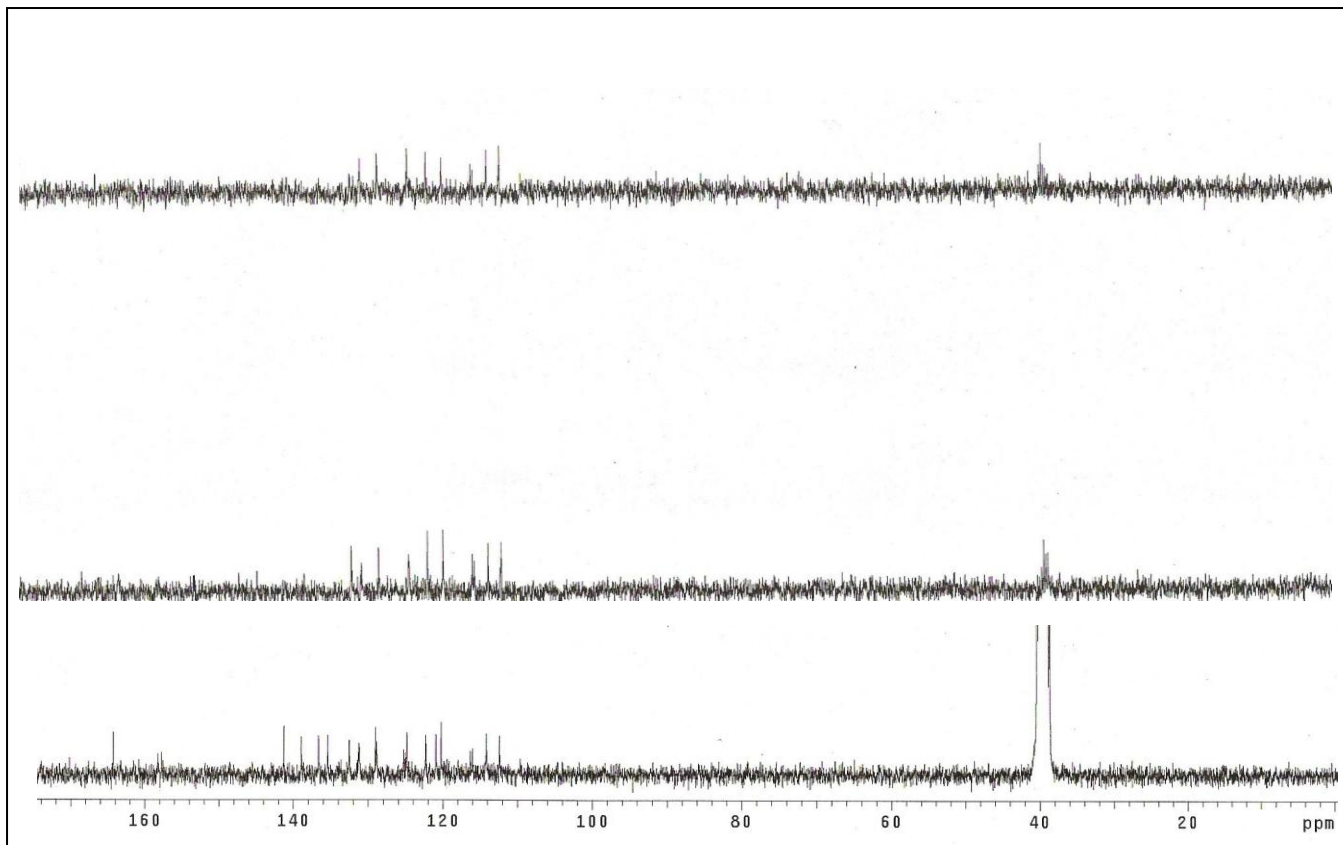
C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1(C ₀)	-	141,2
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	136,6
4(CH)	8,91 (s)	114,1
4a(C ₀)	-	128,8
4b(C ₀)	-	120,9
5(CH)	8,46 (d, 7,8)	122,3
6(CH)	7,31 (t, 7,8)	120,2
7(CH)	7,52-7,62 (m)	129,0
8(CH)	7,52-7,62 (m)	112,4
8a(C ₀)	-	138,9
9 (NH)	11,79 (s)	-
9a(C ₀)	-	136,4
1'(C ₀)	-	125,3/129,0
2'(C ₀)	-	164,2
3'(CH)	7,46 (t, 7,2)	116,3/115,9
4'(CH)	7,97 (t, 7,2)	132,5
5'(CH)	7,46 (t, 7,2)	124,8
6'(CH)	7,52-7,62 (m)	131,2
2'' (C ₀)	-	158,2
5'' (C ₀)	-	157,7
3'' (NH)	-	-



FM: C₁₉H₁₁N₄O₂F
MM: 346,09 g/mol

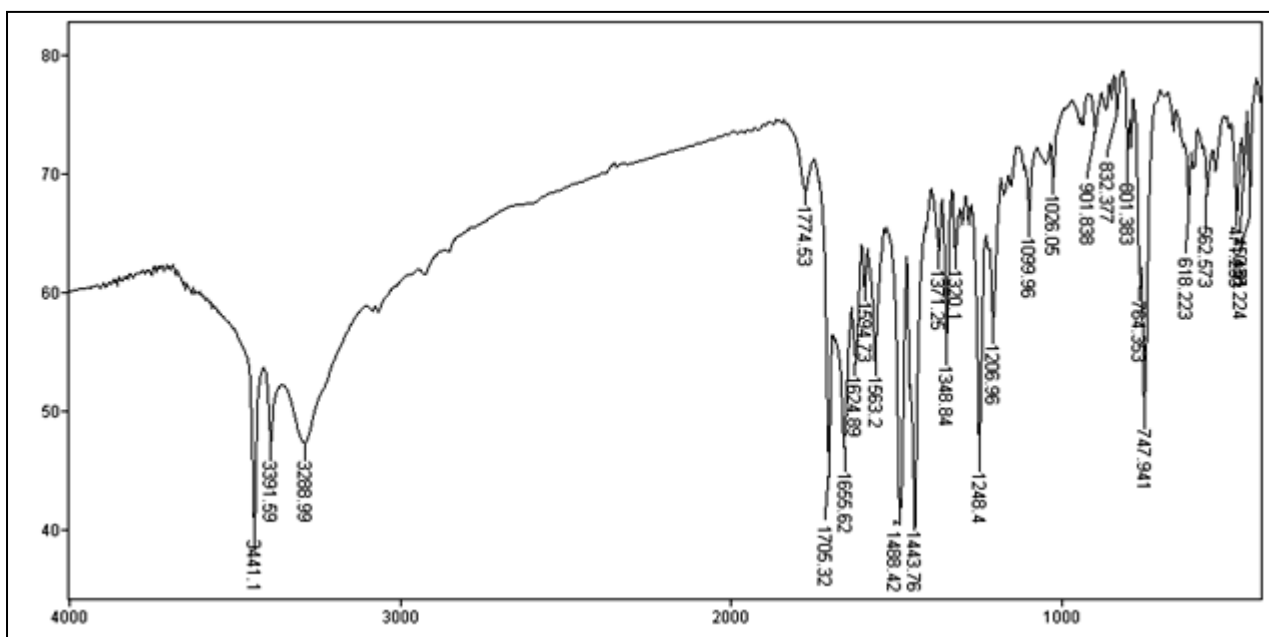


ERMN ¹H-5: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87e**.

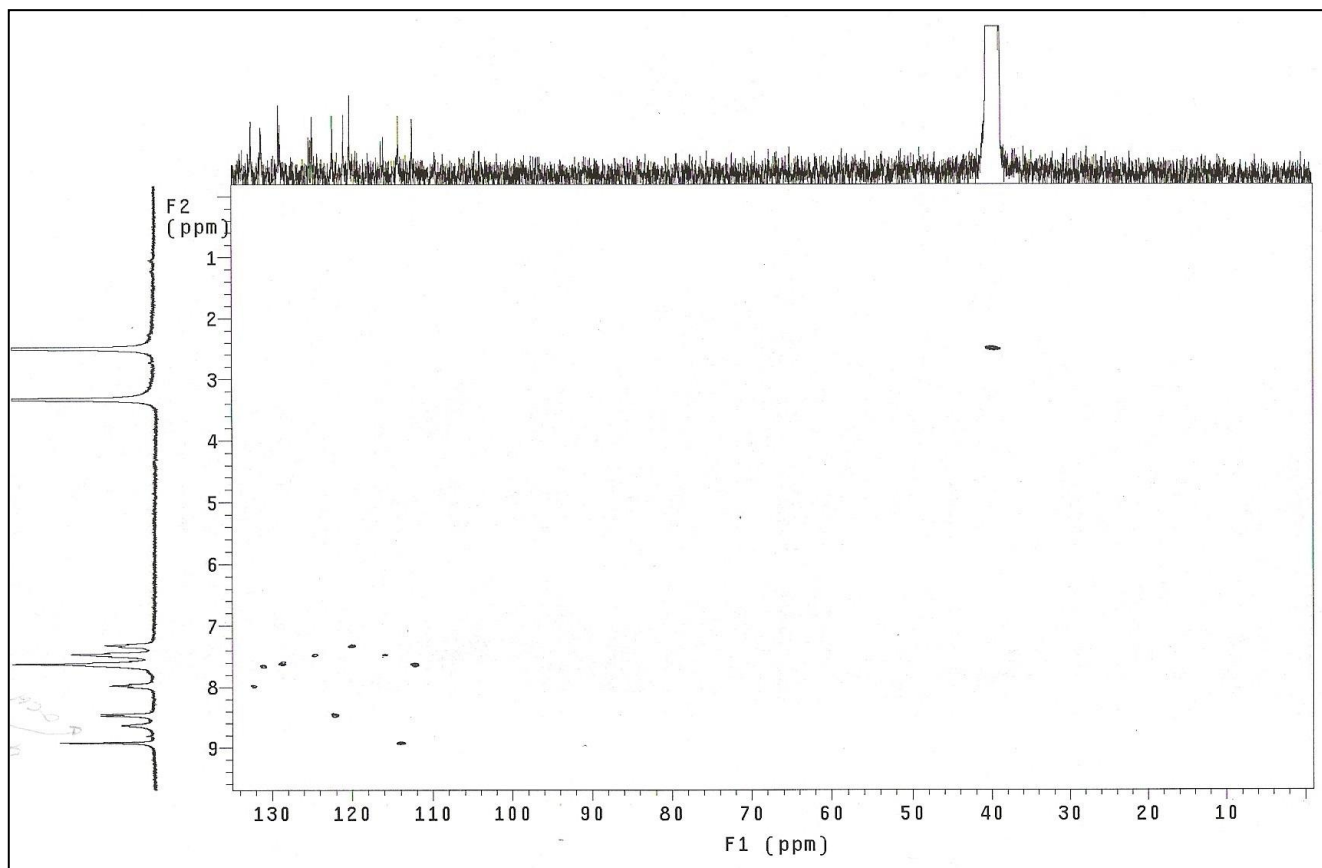


ERMN ¹³C-5 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87e**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1705 cm⁻¹ (C=O); 1624 cm⁻¹ (C=N) e 747 (indol)

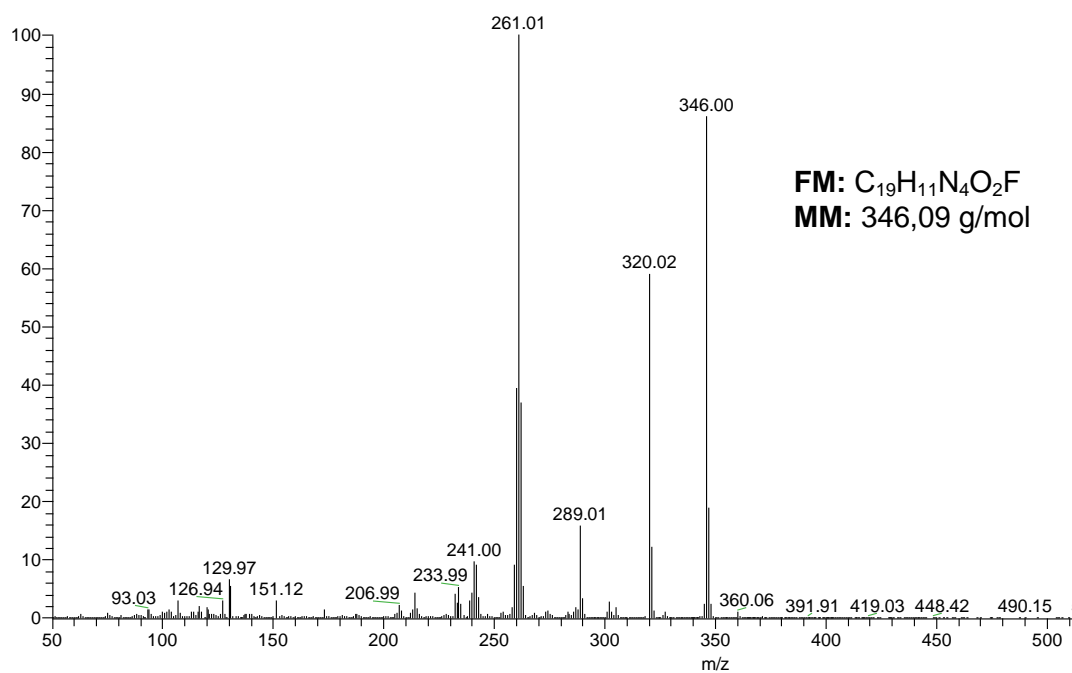


EIV-5: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87e**.



EHSQC-5: Espectro HSQC (300 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87e**.

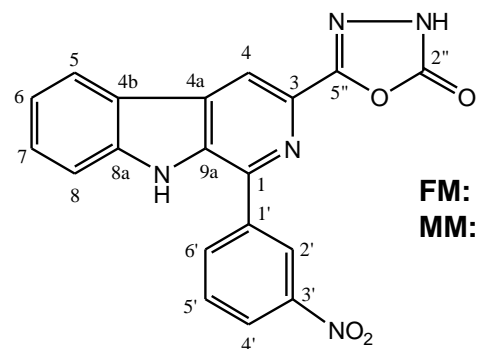
EI-MS- m/z (%): 346,00 (95), 261,01 (100), 289,00 (16), 320,02 (60).



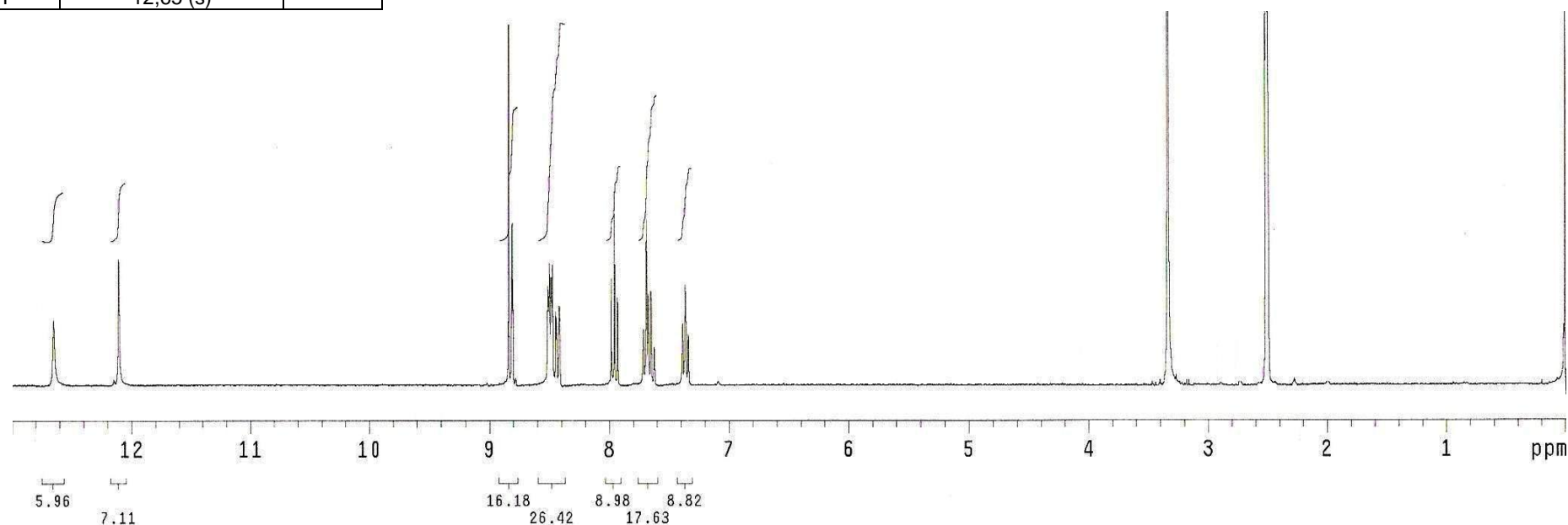
EI-MS- 5: Espectro de massas do composto **87e**.

Anexo 6: 1-(3'-nitrofenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87f**).

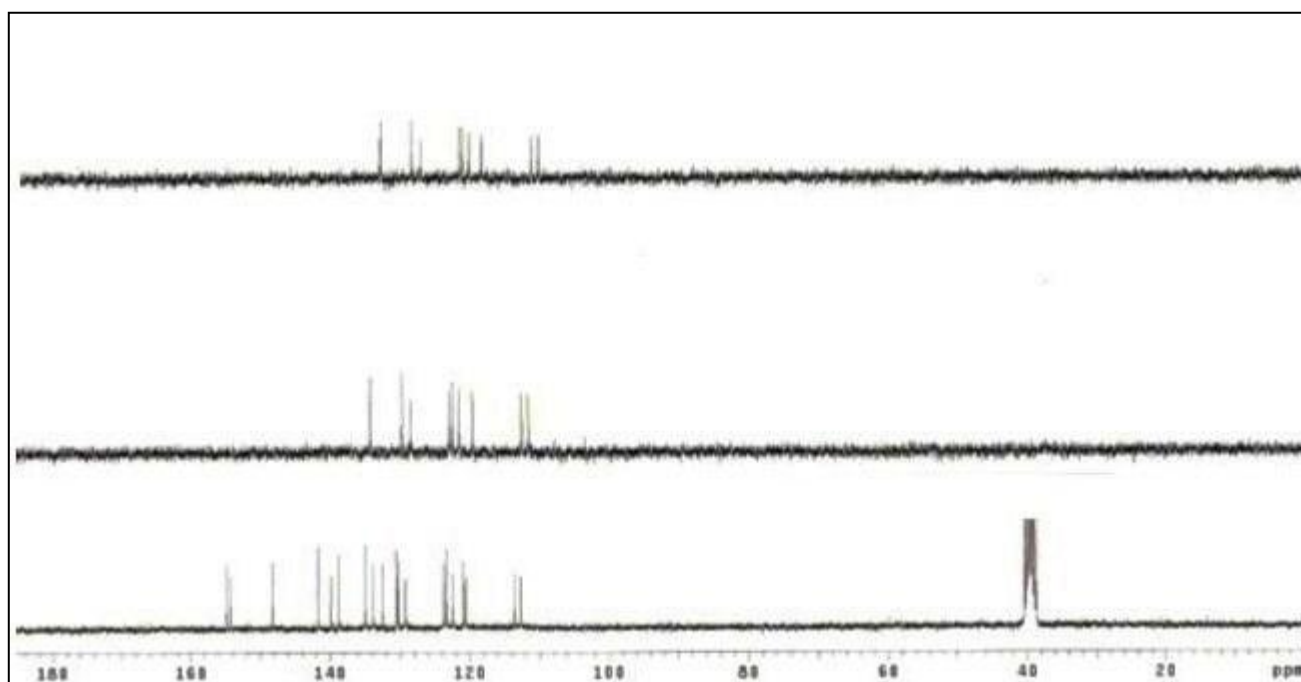
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	141,6
2(N)	-	-
3(C ₀)	-	138,7
4(CH)	8,83 (s)	113,6
4a(C ₀)	-	130,2
4b(C ₀)	-	120,5
5(CH)	8,50 (d, 6,9)	122,3
6(CH)	7,36 (t, 6,9)	120,8
7(CH)	7,62-7,71 (m)	129,2
8(CH)	7,62-7,71 (m)	112,6
8a(C ₀)	-	139,8
9(NH)	12,10 (s)	-
9a(C ₀)	-	133,8
1'(C ₀)	-	132,5
2'(CH)	8,80(s)	123,6
3'(C ₀)	-	148,1
4'(CH)	8,47 (d, 4,2)	123,3
5'(CH)	7,95 (t, 8,1)	130,5
6'(CH)	8,43 (dd, 8,4; 1,2)	123,6
2''(C ₀) (C=O)	-	154,8
5''(C ₀) (C=N)	-	154,2
3''NH	12,65 (s)	-



FM: C₁₉H₁₁N₅O₄
MM: 373,08 g/mol

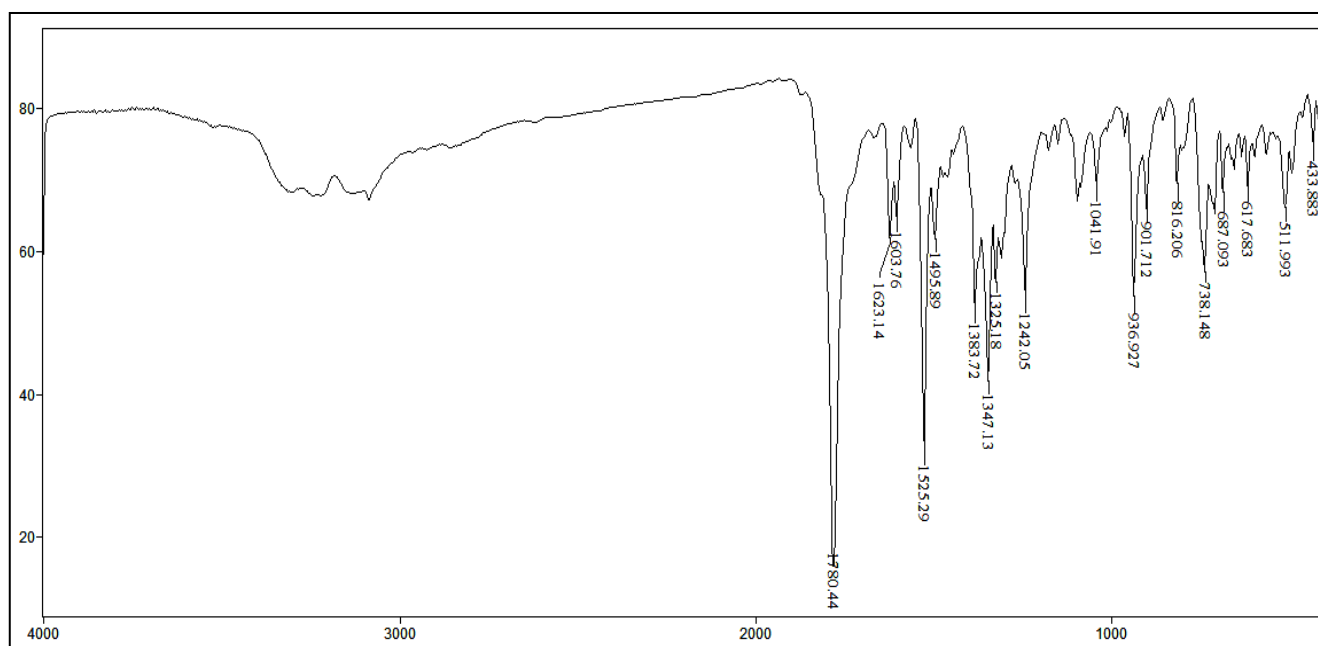


ERMN ¹H-6: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87f**.

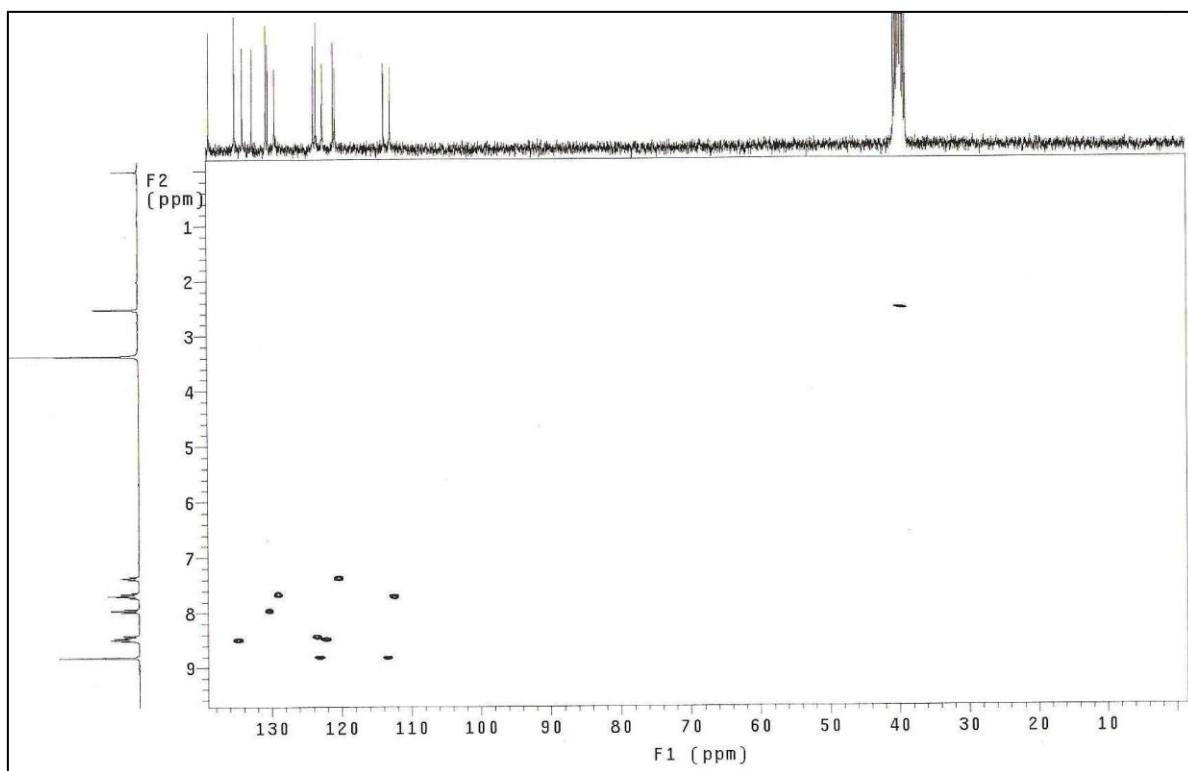


ERMN ¹³C-6: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO) do composto **87f**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1780 cm⁻¹ (C=O); 1525 cm⁻¹ (C=N) e 738 (indol)

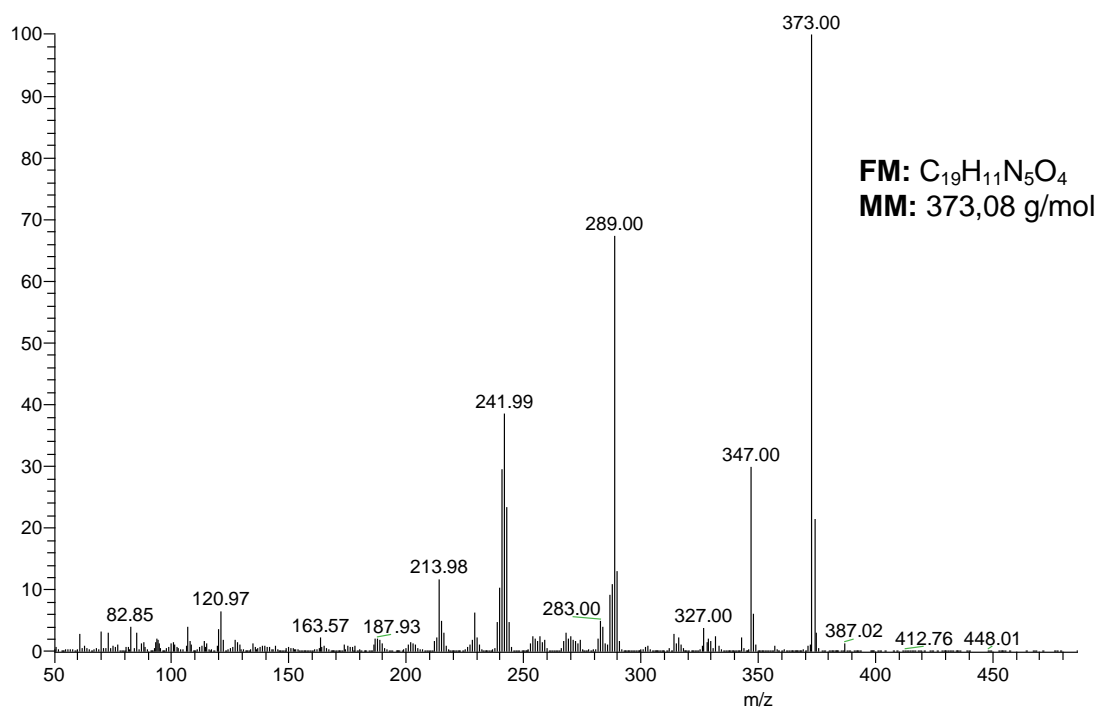


EIV-6: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87f**.



EHSQC-6: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87f**.

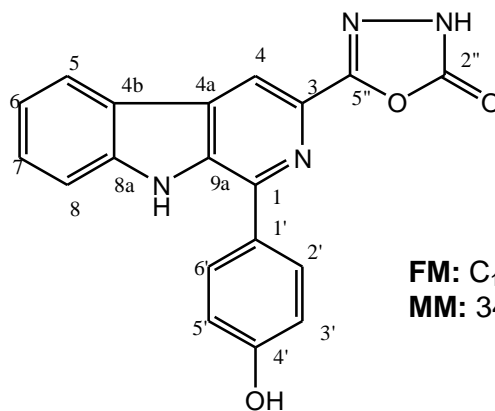
EI-MS- m/z (%): 373,00 (M^+ , 100), 241,99 (35), 289,00 (70), 347,00 (25).



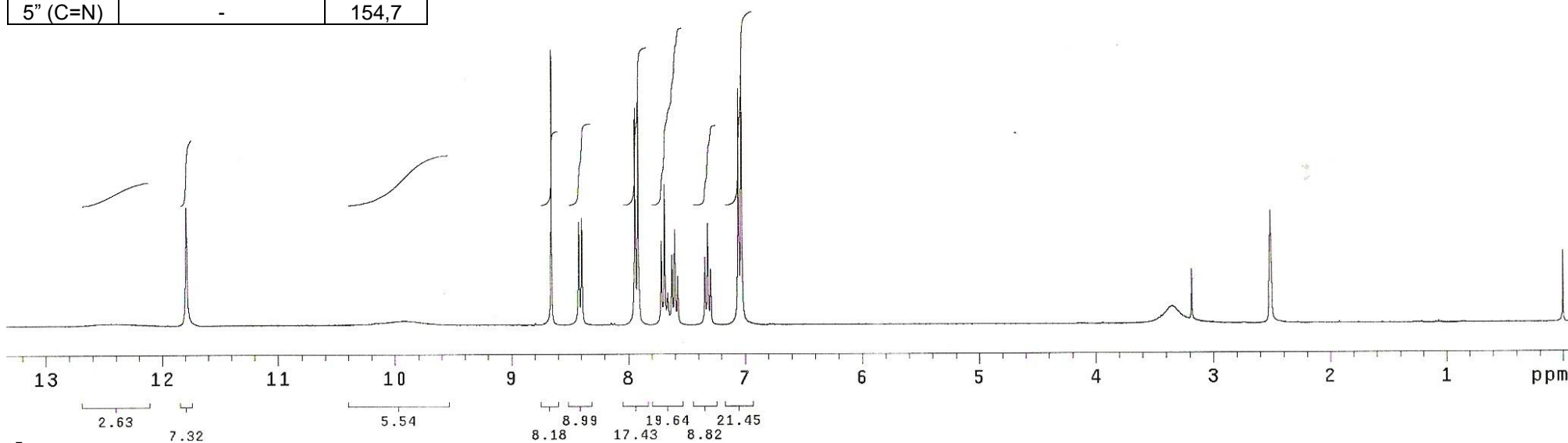
EI-MS- 6: Espectro de massas do composto **87f**.

Anexo 7: 1-(4'-hidróxifenil)-3-(2''-oxo-1'', 3'', 4''-oxadiazol-5''-il)- β -carbolina (**87g**).

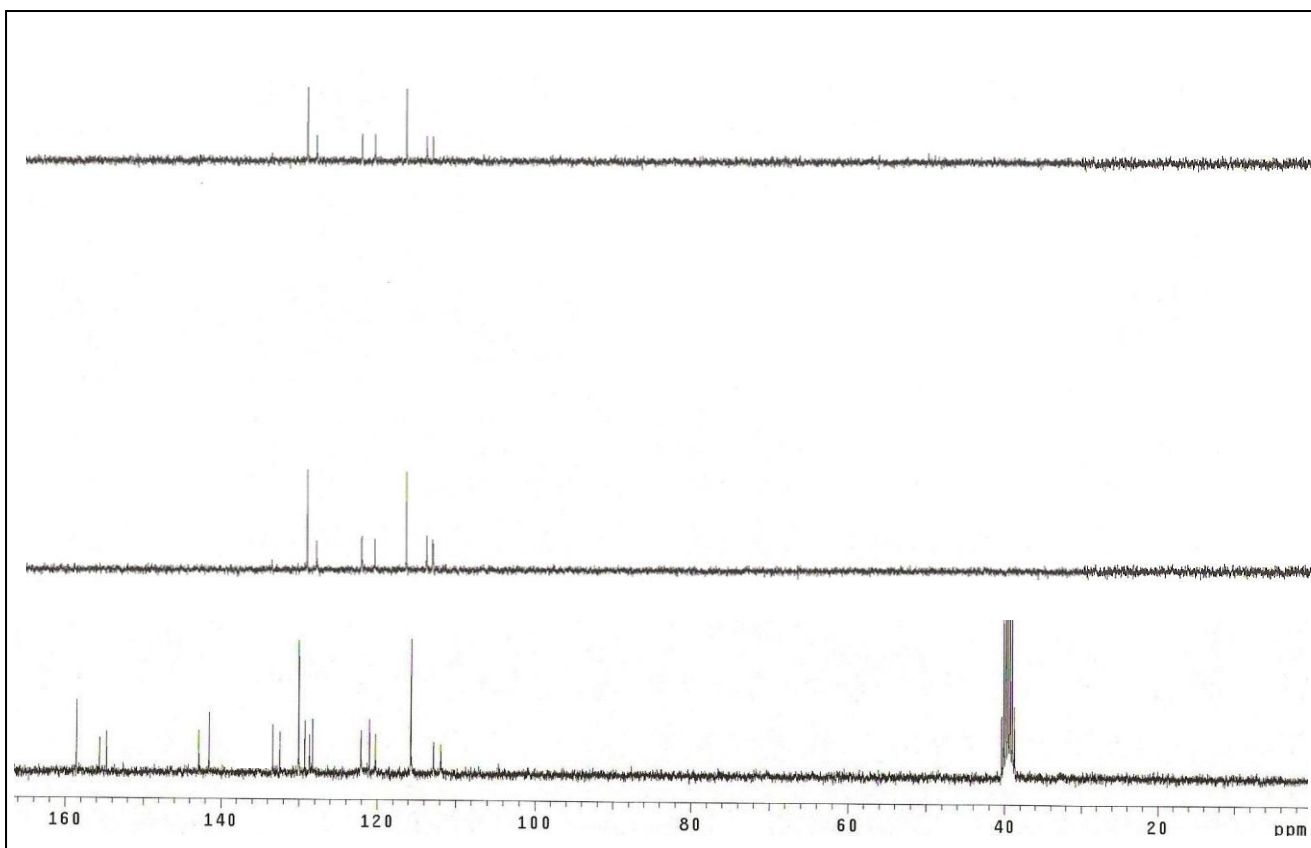
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1(C ₀)	-	142,8
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	132,2
4(CH)	8,65 (s)	111,9
4a(C ₀)	-	129,2
4b(C ₀)	-	120,9
5(CH)	8,40 (d, 7,8)	122,0
6(CH)	7,32 (t, 7,8)	120,2
7(CH)	7,60 (t, 7,8)	128,2
8(CH)	7,70 (d, 7,8)	112,7
8a(C ₀)	-	141,5
9 (NH)	11,79 (s)	-
9a(C ₀)	-	128,6
1'(C ₀)	-	133,4
2'/6'(CH)	7,93 (d, 8,4)	130,0
3'/5'(CH)	7,04 (d, 8,1)	115,6
4'(C ₀)	-	158,5
2'' (C=O)	-	154,9
5'' (C=N)	-	154,7



FM: C₁₉H₁₂N₄O₃
MM: 344,09 g/mol

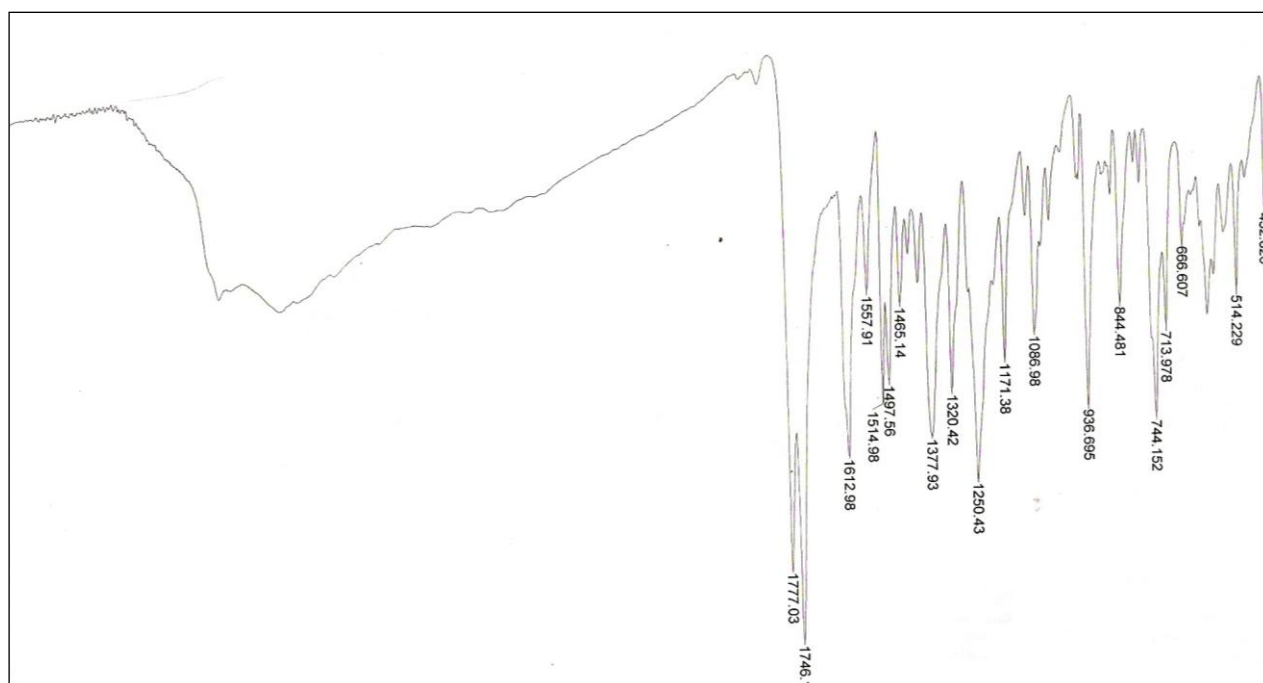


ERMN ¹H-7: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **87g**.

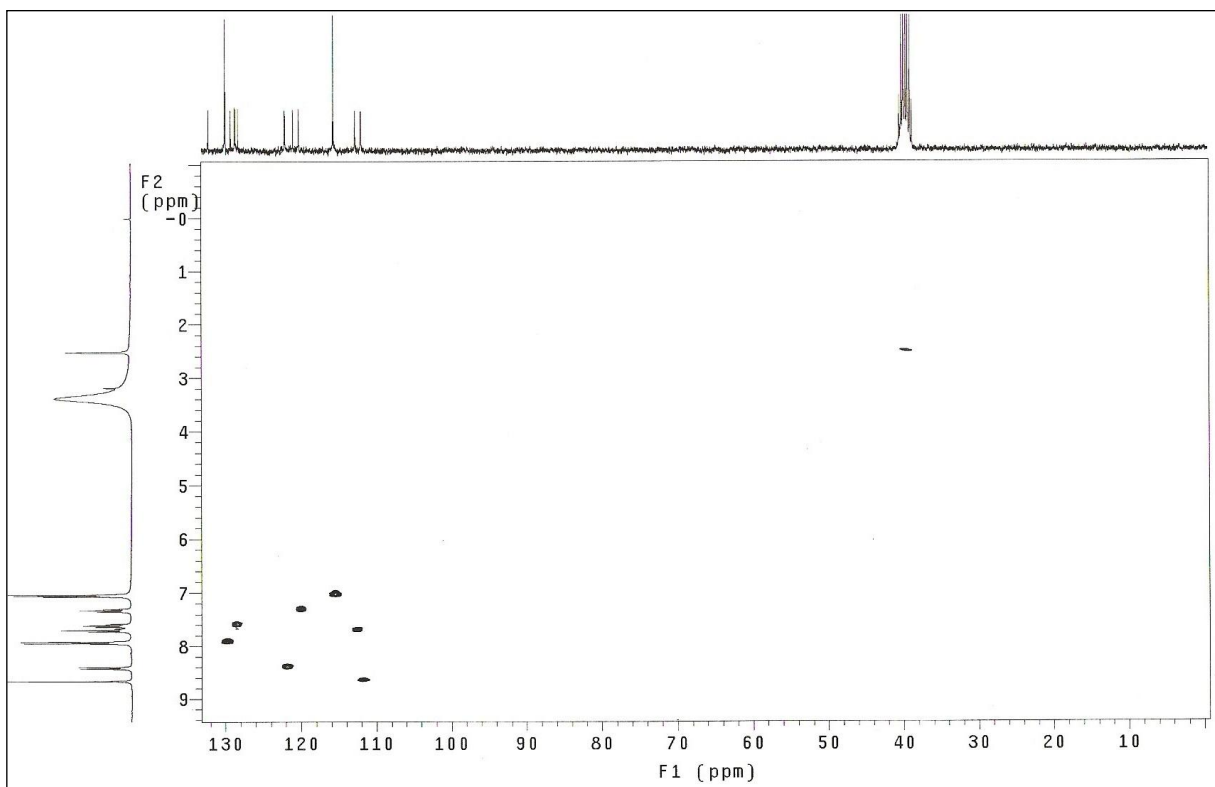


ERMN ¹³C-7 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-d₆) do composto **87g**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1770 cm⁻¹ (C=O); 1746 cm⁻¹ (C=O); 1612 cm⁻¹ (C=N) e 744 (indol)

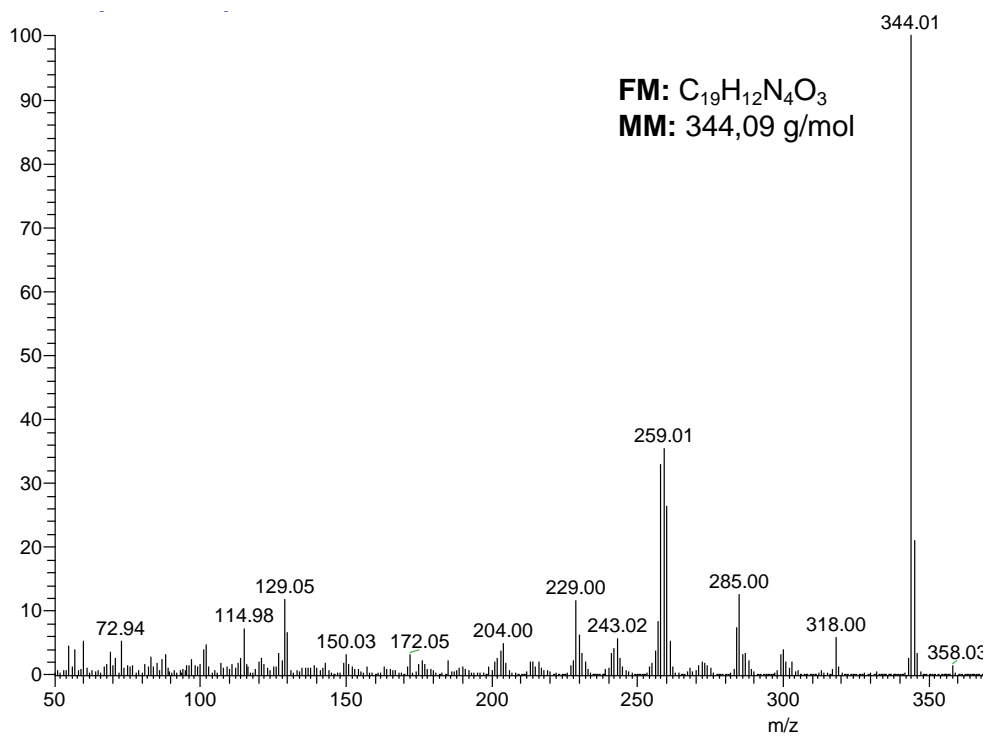


EIV-7: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **87g**.



EHSQC-7: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **87g**.

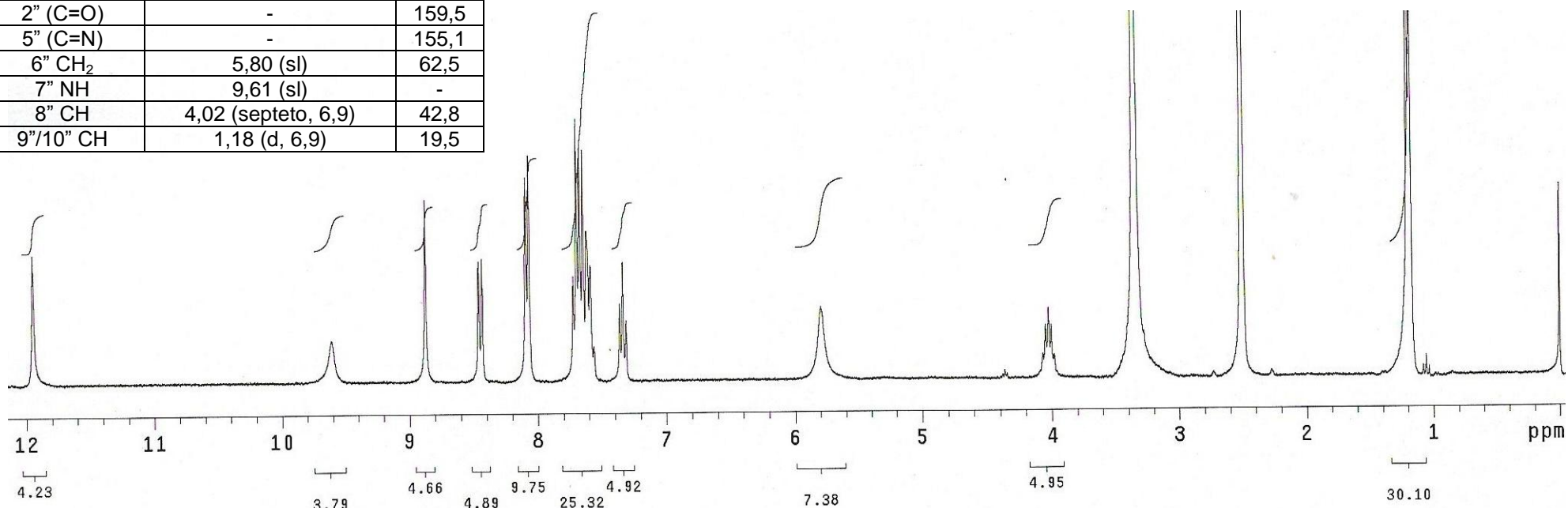
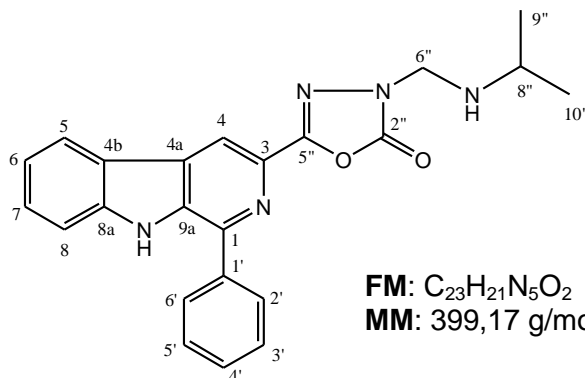
EI-MS- m/z (%): 344,01 (100), 259,01 (40), 285,00 (15), 318,00 (10).



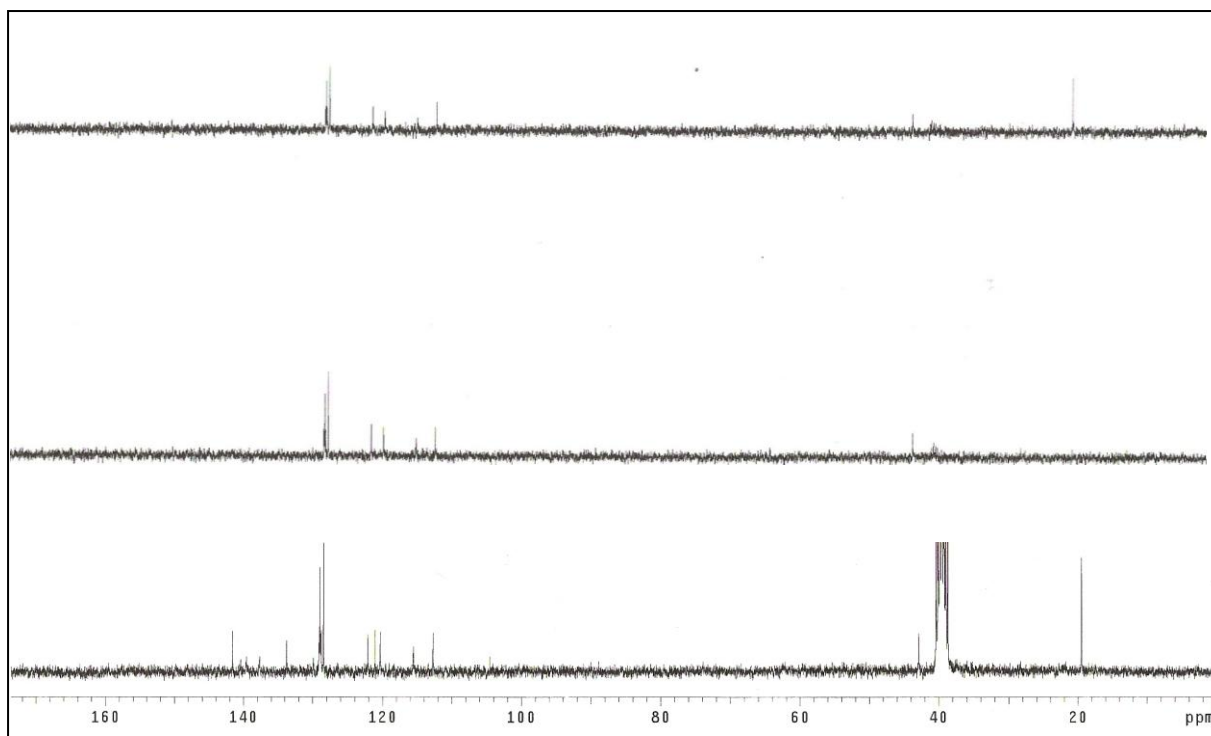
EI-MS- 7: Espectro de massas do composto **87g**.

ANEXO 8: 1-fenil-3-[2"-oxo-3"-(isopropilaminometil)-1",3",4"-oxadiazol-5"-il]- β -carbolina (**88a**).

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	139,6
4CH	8,87 (s)	115,5
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,44 (d, 7,5)	122,1
6CH	7,34 (t, 7,5)	120,3
7CH	7,56-7,72 (m)	129,1
8CH	7,56-7,72 (m)	112,7
8aC ₀	-	140,3
9NH	11,95 (s)	-
9aC ₀	-	137,6
1'C ₀	-	133,7
2'/6' CH	8,08 (d, 7,5)	128,44
3'/5' CH	7,56-7,72 (m)	128,9
4' CH	7,56-7,72 (m)	128,8
2" (C=O)	-	159,5
5" (C=N)	-	155,1
6" CH ₂	5,80 (sl)	62,5
7" NH	9,61 (sl)	-
8" CH	4,02 (septeto, 6,9)	42,8
9"/10" CH	1,18 (d, 6,9)	19,5

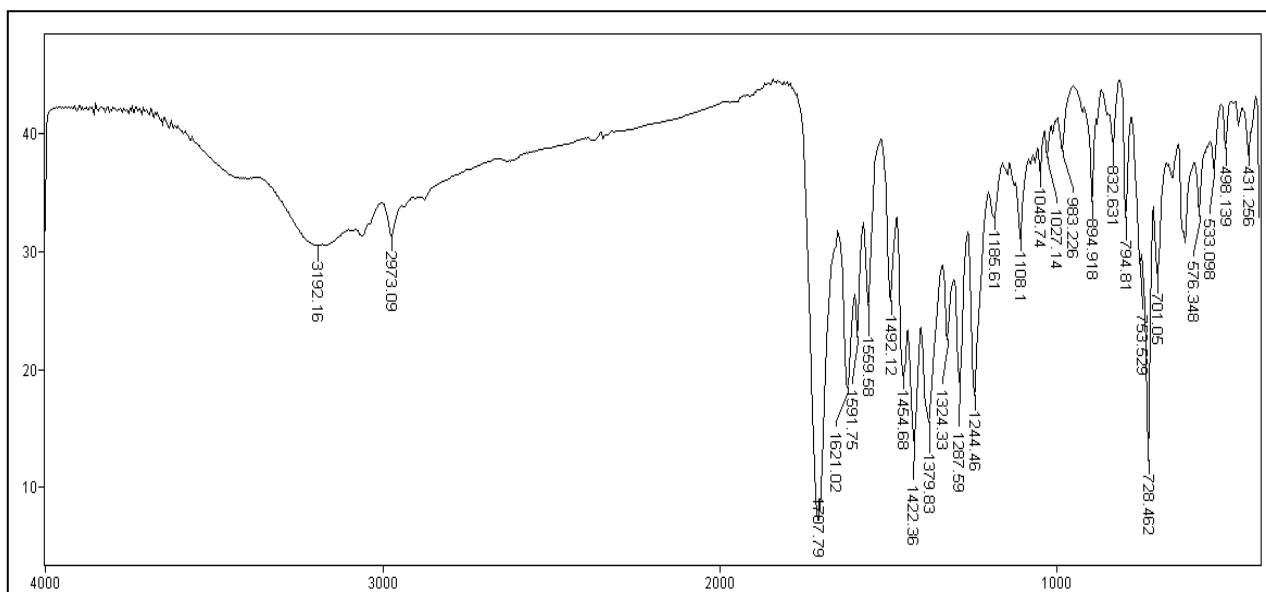


ERMN ¹H-8: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88a**.

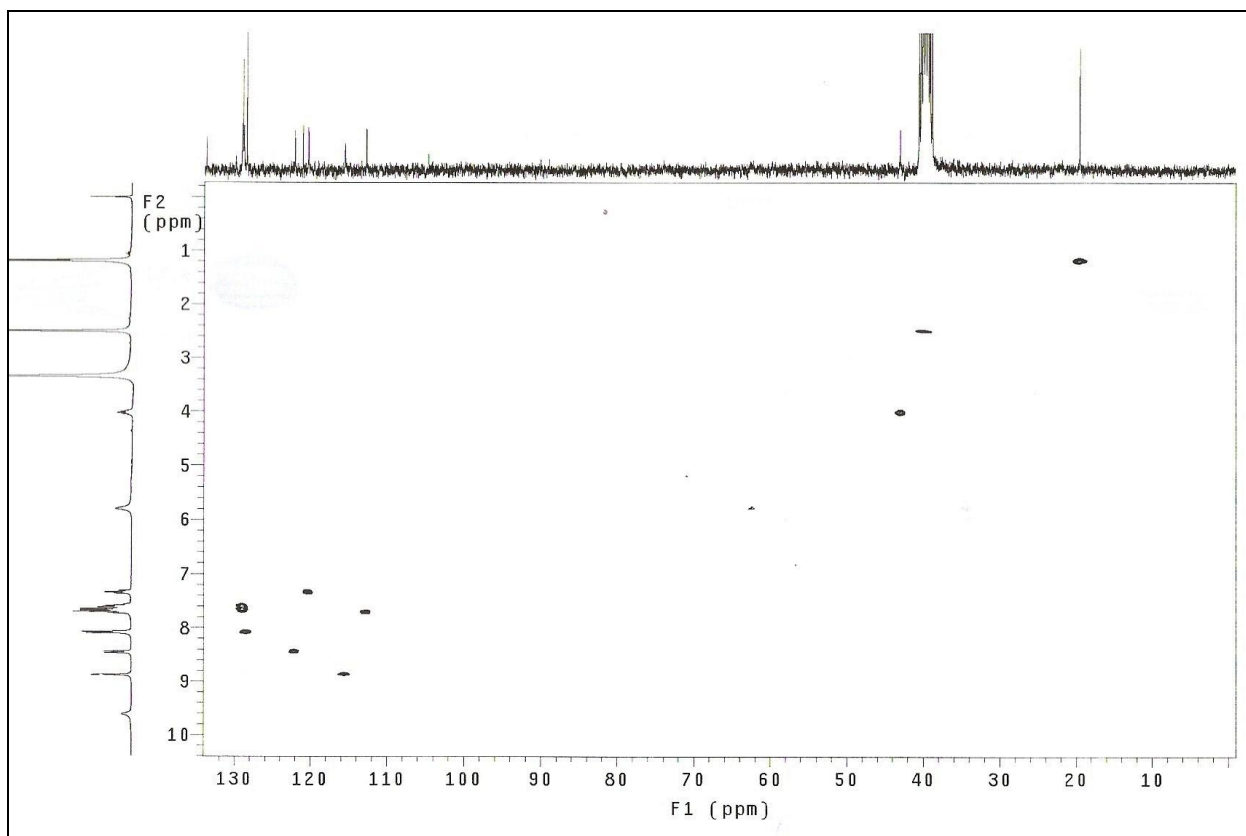


ERMN ¹³C-8 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1707 cm⁻¹ (C=O); 1621 cm⁻¹ (C=N) e 728 (indol)

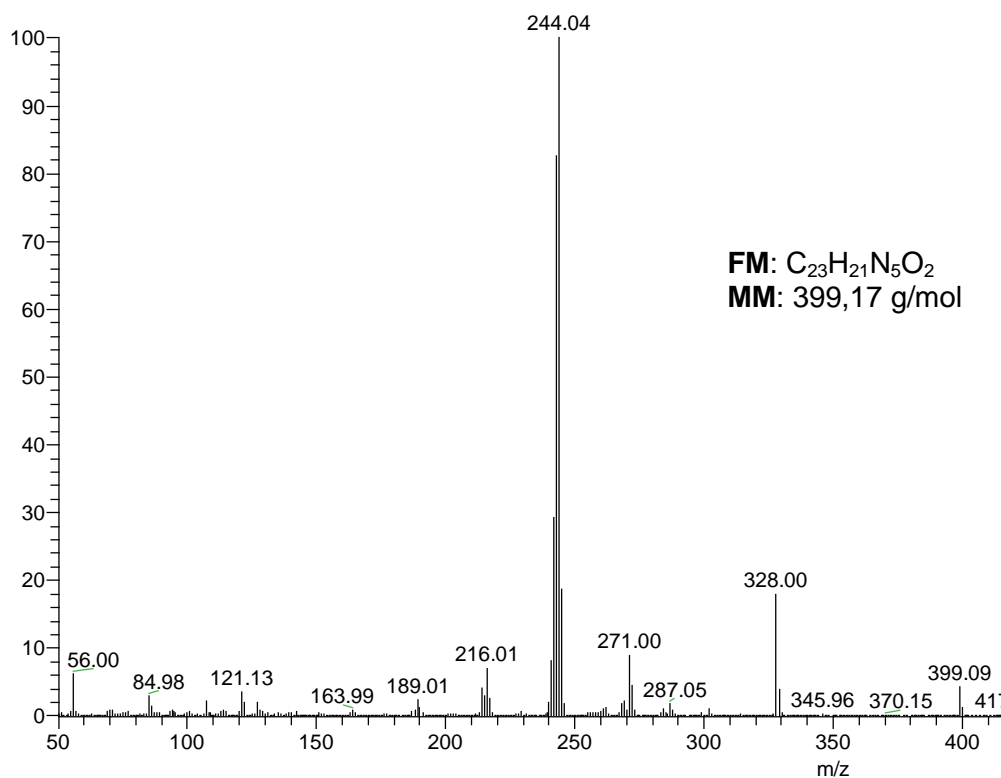


EIV-8: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **88a**.



EHSQC-8: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **88a**.

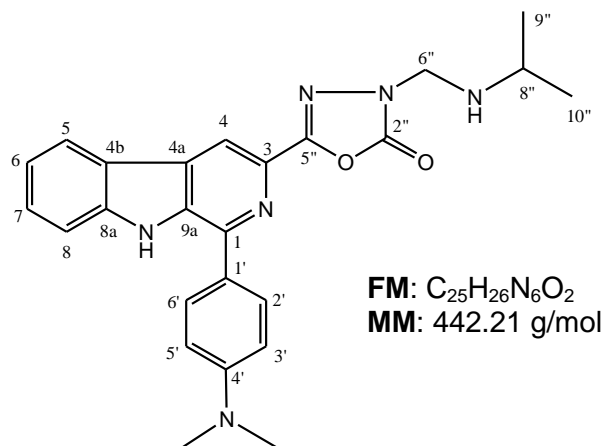
EI-MS- m/z (%): 399,09 (5), 271,00 (10), 328,00 (20), 244,00 (100).



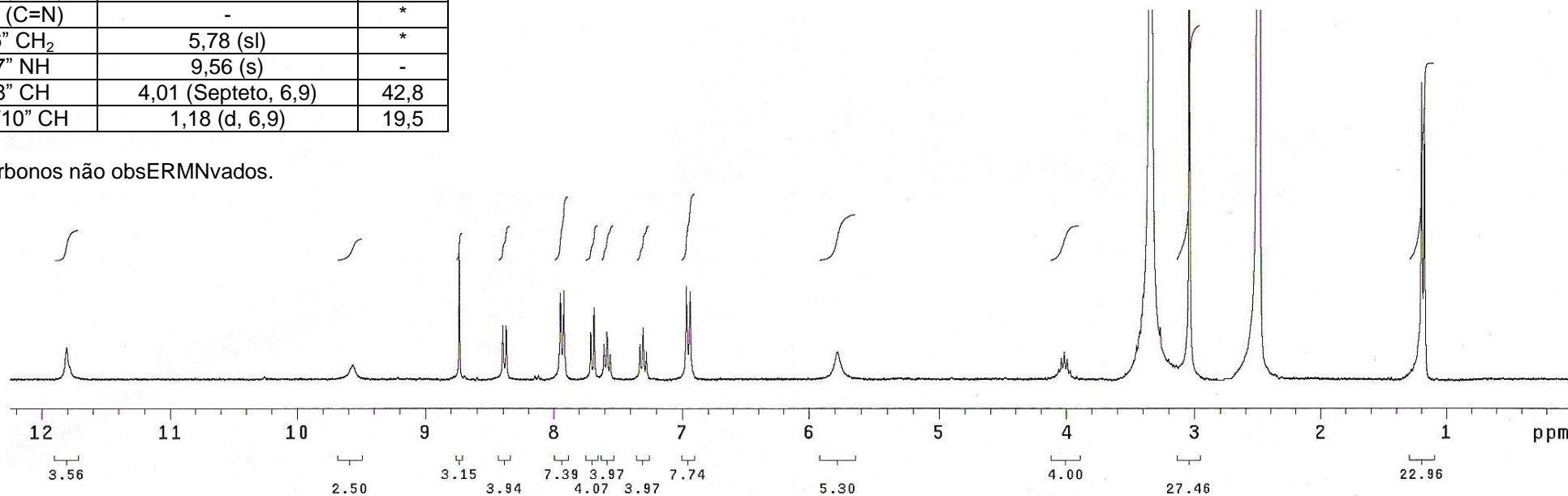
EI-MS- 8: Espectro de massas do composto **88a**.

ANEXO 9: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-[2''-oxo-3''-(isopropilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**88b**).

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C^*
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	*
4CH	8,74 (s)	*
4aC ₀	-	*
4bC ₀	-	*
5CH	8,40 (d, 7,8)	*
6CH	7,30 (t, 7,8)	*
7CH	7,58 (t, 8,4)	*
8CH	7,69 (d, 8,4)	112,1
8aC ₀	-	*
9NH	11,80 (s)	-
9aC ₀	-	*
1'C ₀	-	*
2'/6' CH	7,93 (d, 8,4)	129,2
3'/5' CH	6,95 (d, 8,4)	*
4'C ₀	-	*
N(CH ₃) ₂	3,03 (s)	*
2'' (C=O)	-	*
5'' (C=N)	-	*
6'' CH ₂	5,78 (sl)	*
7'' NH	9,56 (s)	-
8'' CH	4,01 (Septeto, 6,9)	42,8
9''/10'' CH	1,18 (d, 6,9)	19,5

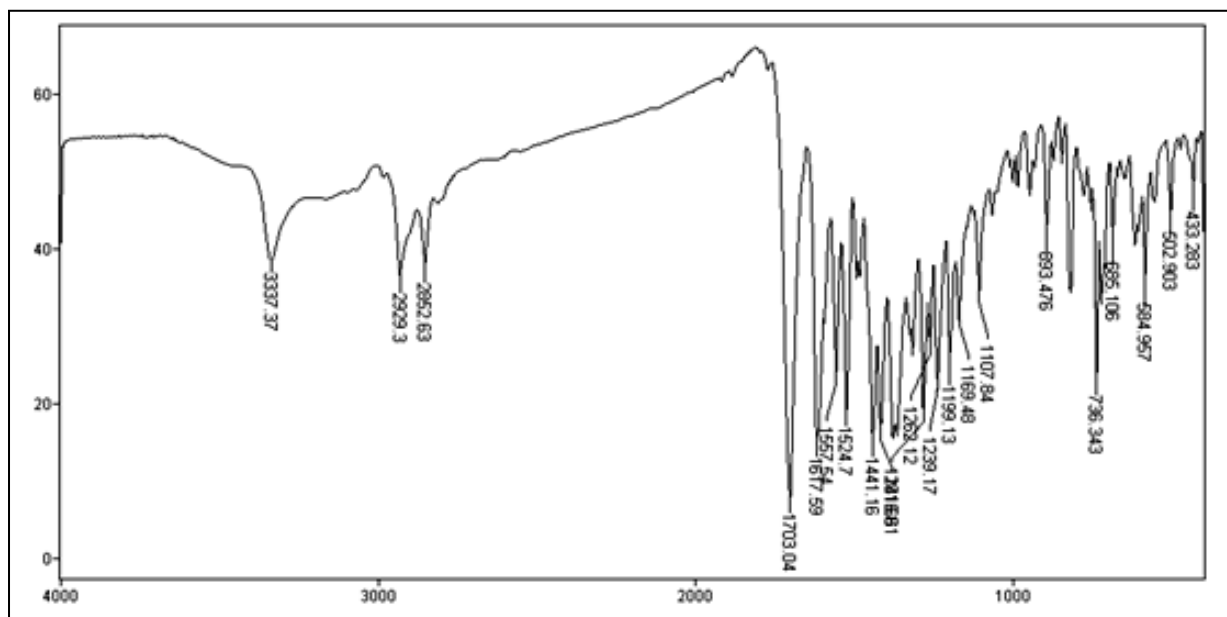


*Carbonos não observados.



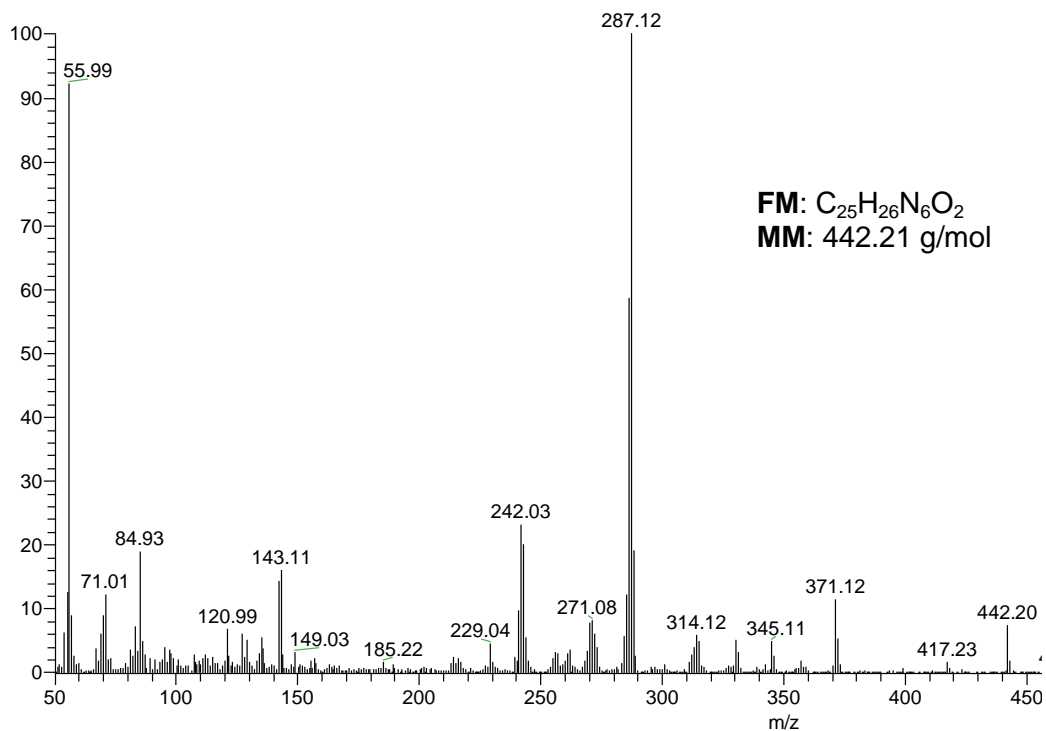
ERMN ¹H-9: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-d₆) do composto **88b**.

IV (ν , cm^{-1} ; KBr): 3337 (NH); 2929 e 2852 (CH); 1703 cm^{-1} (C=O); 1617 cm^{-1} (C=N) e 736 (indol)



EIV-9: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **88b**.

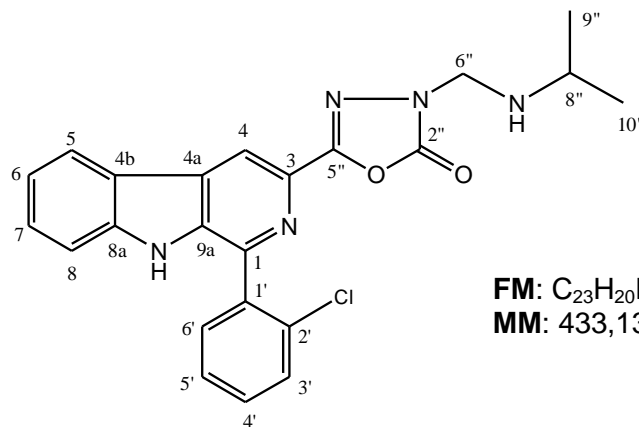
MS m/z (%): 442,20 (M^+ , 0.5), 371,10 (10), 242,04 (20), 287,11 (100).



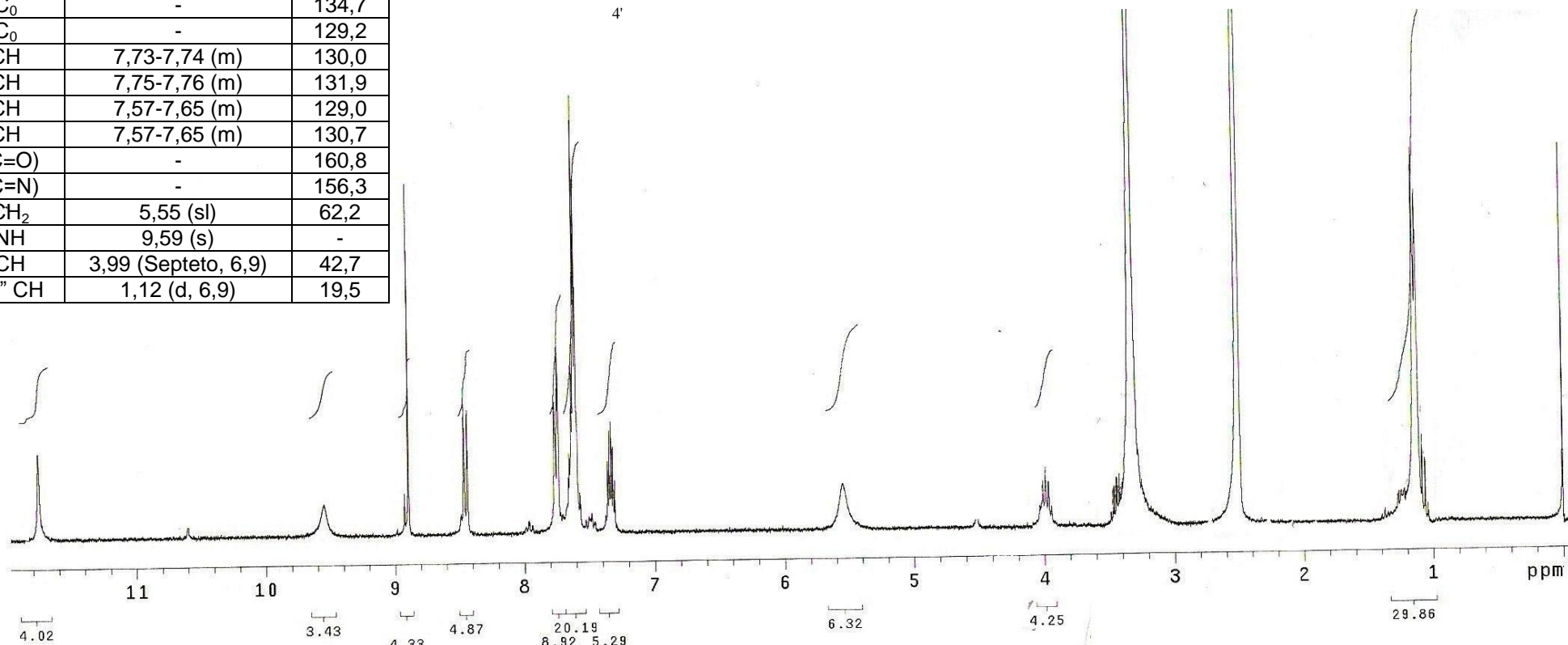
EI-MS- 9: Espectro de massas do composto **88b**.

ANEXO 10: 1-(2'-clorofenil)-3-[2''-oxo-3''-(isopropilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**88c**).

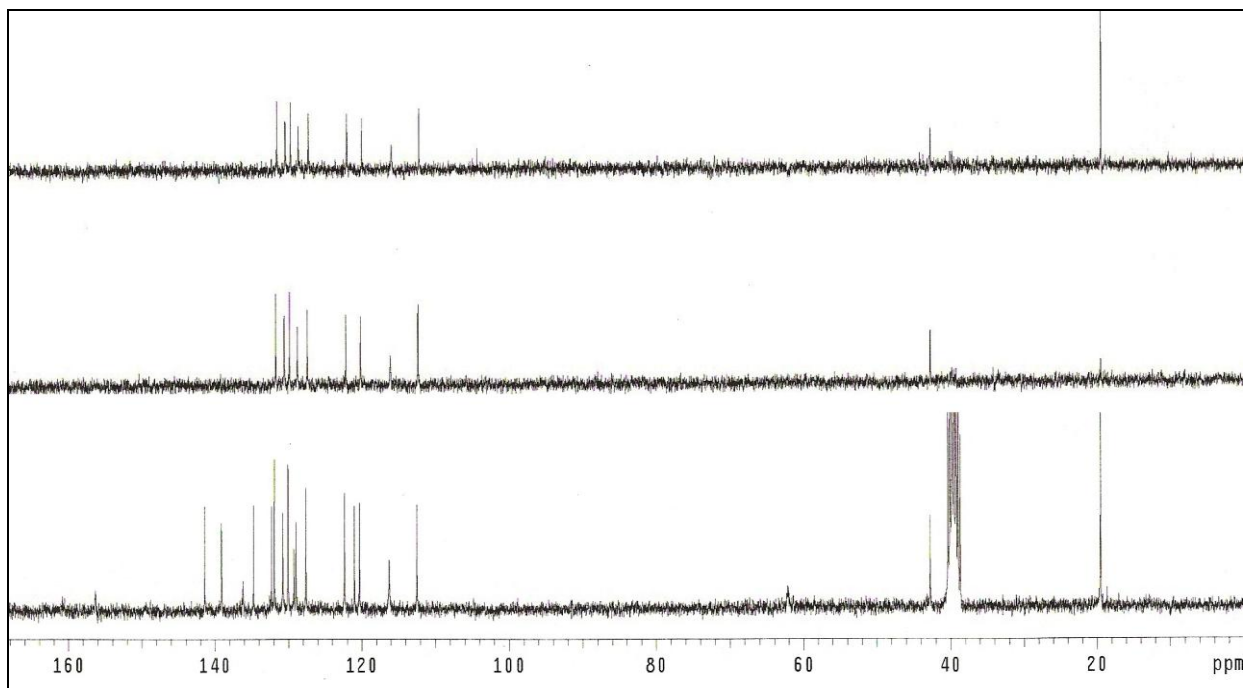
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	136,2
4CH	8,89 (s)	116,2
4aC ₀	-	*
4bC ₀	-	121,0
5CH	8,45 (d, 7,8)	122,3
6CH	7,30-7,36 (m)	120,3
7CH	7,57-7,65 (m)	127,6
8CH	7,57-7,65 (m)	112,5
8aC ₀	-	139,1
9NH	11,76 (s)	-
9aC ₀	-	132,3
1'C ₀	-	134,7
2'C ₀	-	129,2
3'CH	7,73-7,74 (m)	130,0
4'CH	7,75-7,76 (m)	131,9
5'CH	7,57-7,65 (m)	129,0
6'CH	7,57-7,65 (m)	130,7
2'' (C=O)	-	160,8
5'' (C=N)	-	156,3
6'' CH ₂	5,55 (sl)	62,2
7'' NH	9,59 (s)	-
8'' CH	3,99 (Septeto, 6,9)	42,7
9''/10'' CH	1,12 (d, 6,9)	19,5



FM: C₂₃H₂₀N₅O₂Cl
MM: 433,13 g/mol

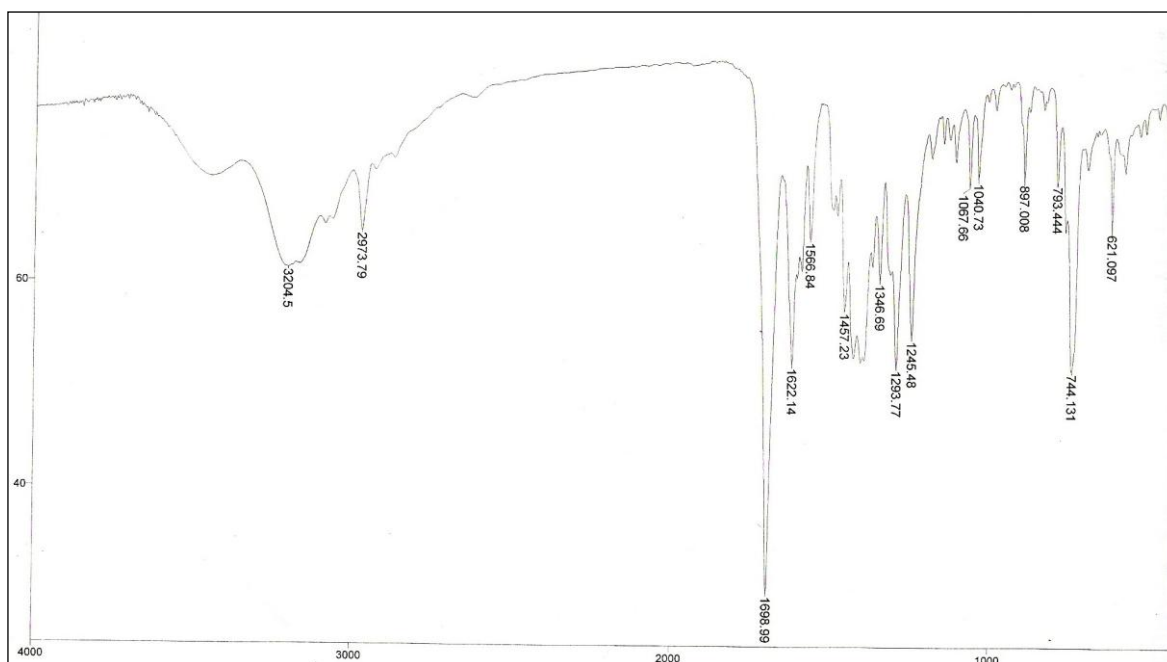


ERMN ¹H-10: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88c**.

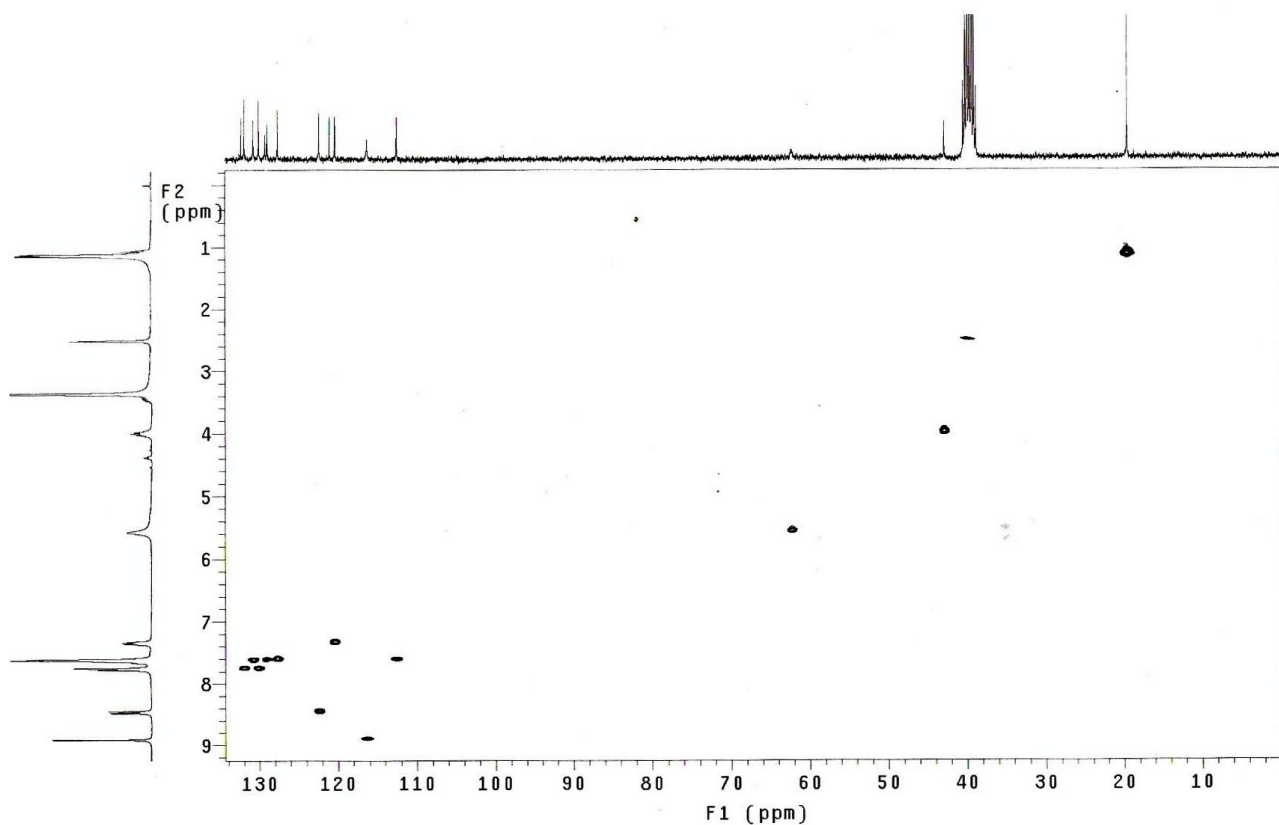


ERMN ¹³C-10 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88c**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3204 (NH); 2973 (CH); 1698 cm⁻¹ (C=O); 1622 cm⁻¹ (C=N) e 744 (indol)

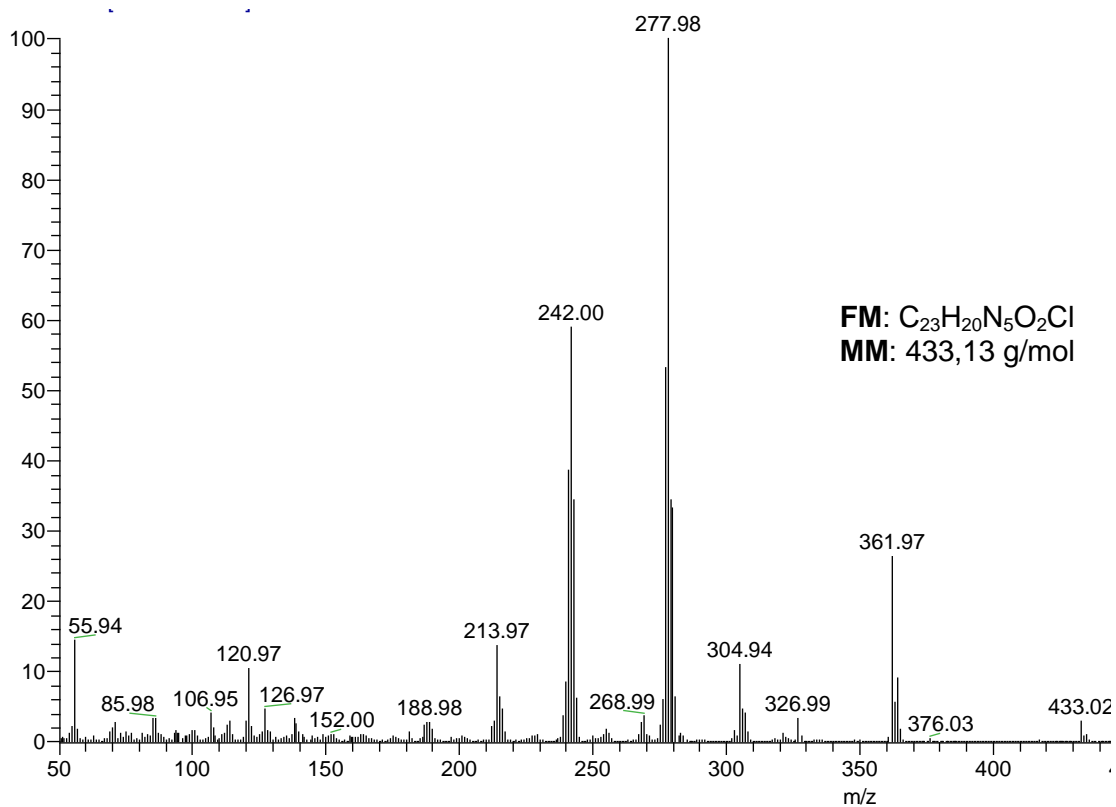


EIV-10: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **88c**.



EHSQC-10: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **88c**.

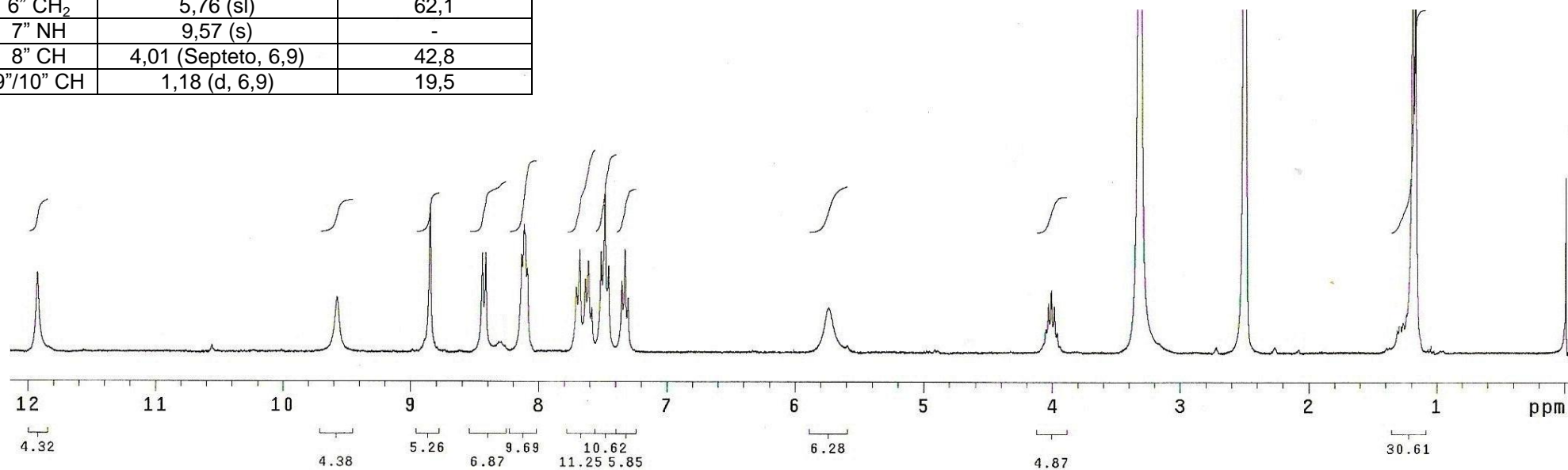
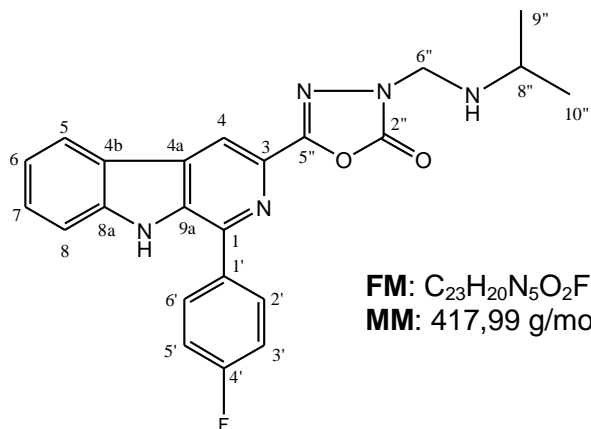
EI-MS- m/z (%): 433,02 (M^+ , 0,5), 361,97 (10), 242,00 (60), 277,98 (100).



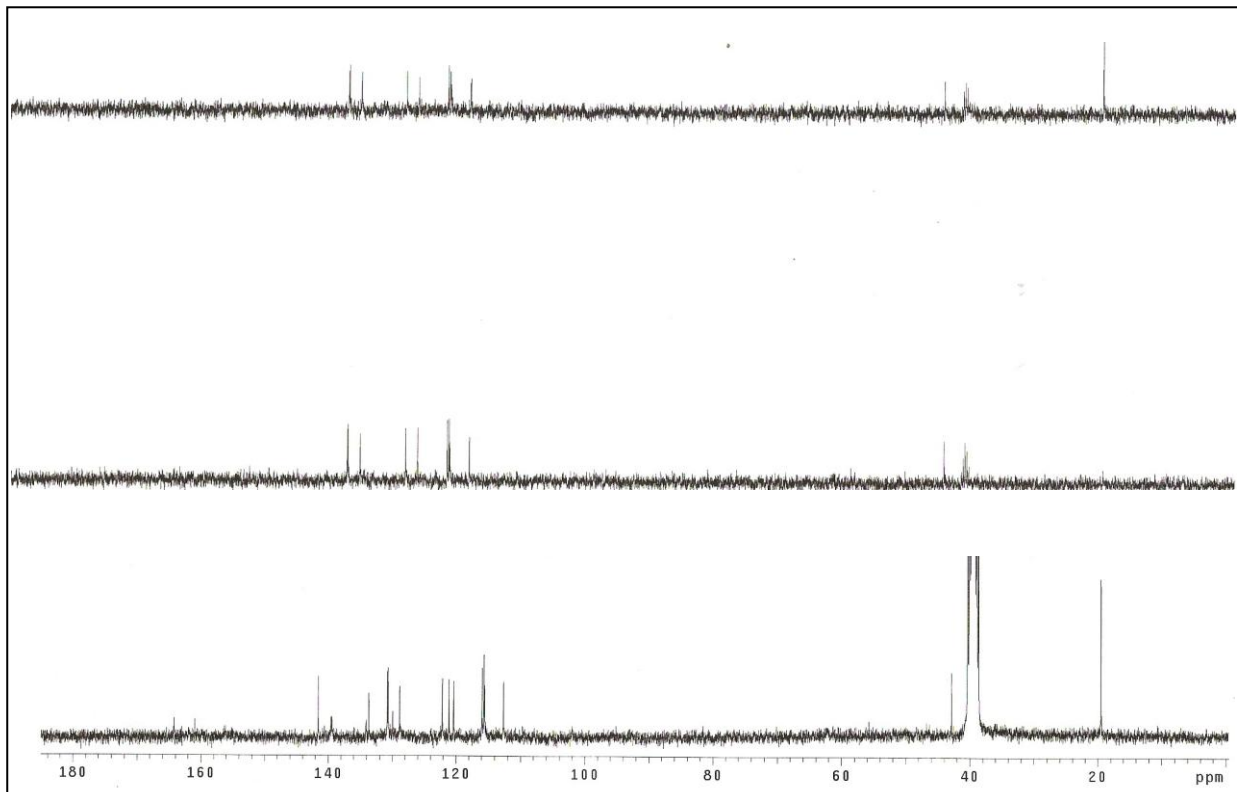
EI-MS- 10: Espectro de massas do composto **88c**.

ANEXO 11: 1-(4'-flúorfenil)-3-[2''-oxo-3''-(isopropilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β-carbolina (**88d**).

C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C *
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	139,4
4CH	8,85 (s)	115,9
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,43 (d, 7,5)	122,1
6CH	7,32 (t, 7,5)	120,3
7CH	7,61 (t, 7,5)	128,8
8CH	7,69 (d, 7,5)	112,6
8aC ₀	-	139,6
9NH	11,92 (s)	-
9aC ₀	-	134,0
1'C ₀	-	133,6
2'/6' CH	8,12 (sl)	130,7/130,6 (8,3)
3'/5' CH	7,48 (t, 8,7)	115,6/115,5 (7,5)
4'C ₀	-	164,2/160,9 (246)
2'' (C=O)	-	156,3
5'' (C=N)	-	156,1
6'' CH ₂	5,76 (sl)	62,1
7'' NH	9,57 (s)	-
8'' CH	4,01 (Septeto, 6,9)	42,8
9''/10'' CH	1,18 (d, 6,9)	19,5

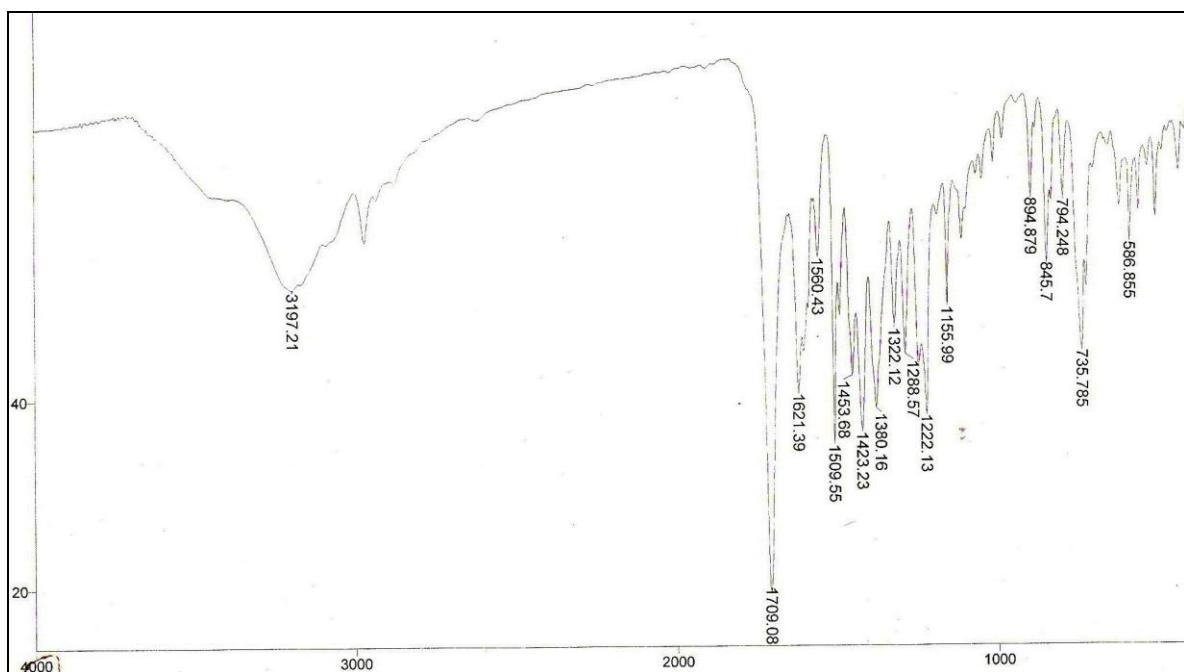


ERMN ¹H-11: Espectro de RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88d**.

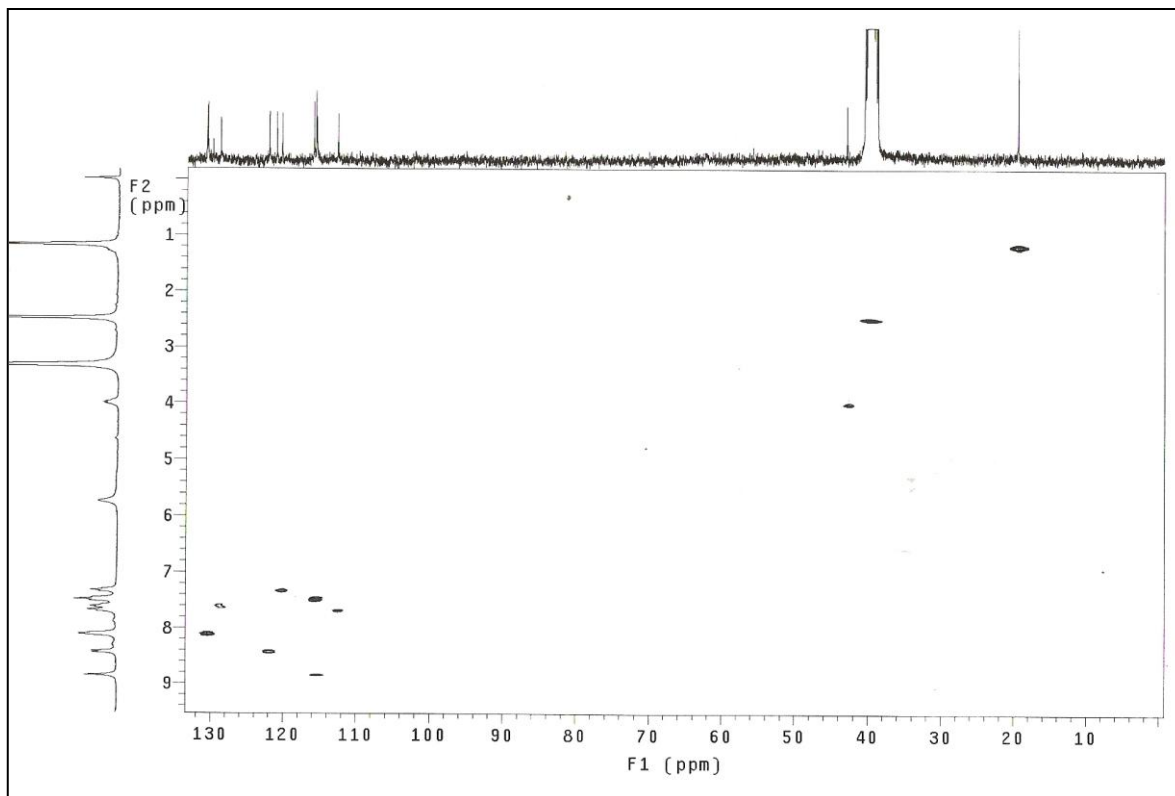


ERMN ¹³C-11 Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **88d**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3197 (NH), 1709 cm⁻¹ (C=O); 1621 cm⁻¹ (C=N) e 736

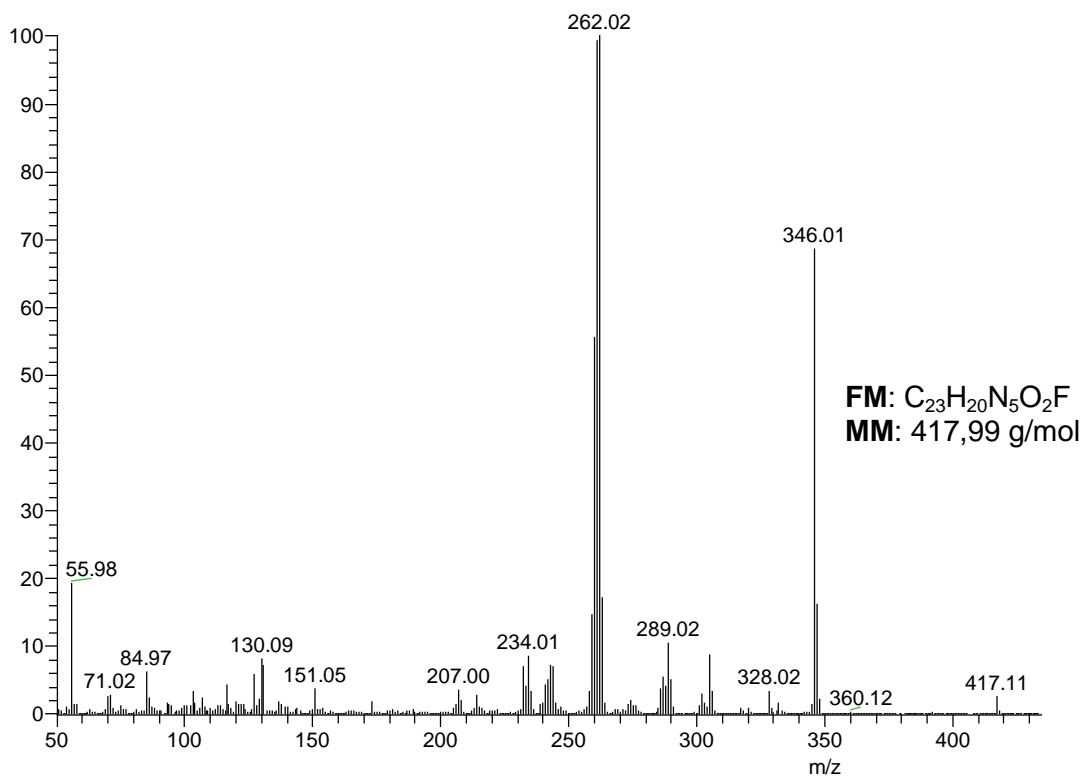


EIV-11: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **88d**.



EHSQC-11: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **88d**.

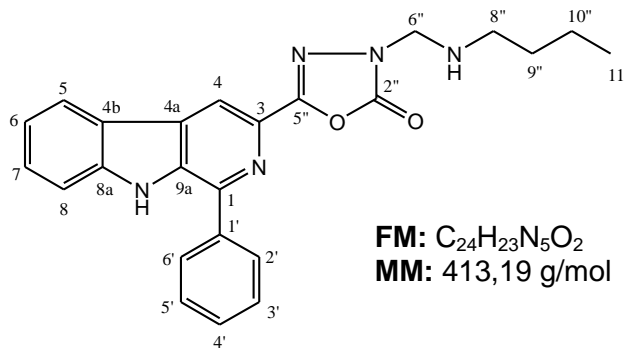
EI-MS- m/z (%): 417,11 (M^+ , 5), 289,02 (10), 346,01 (70), 262,02 (100).



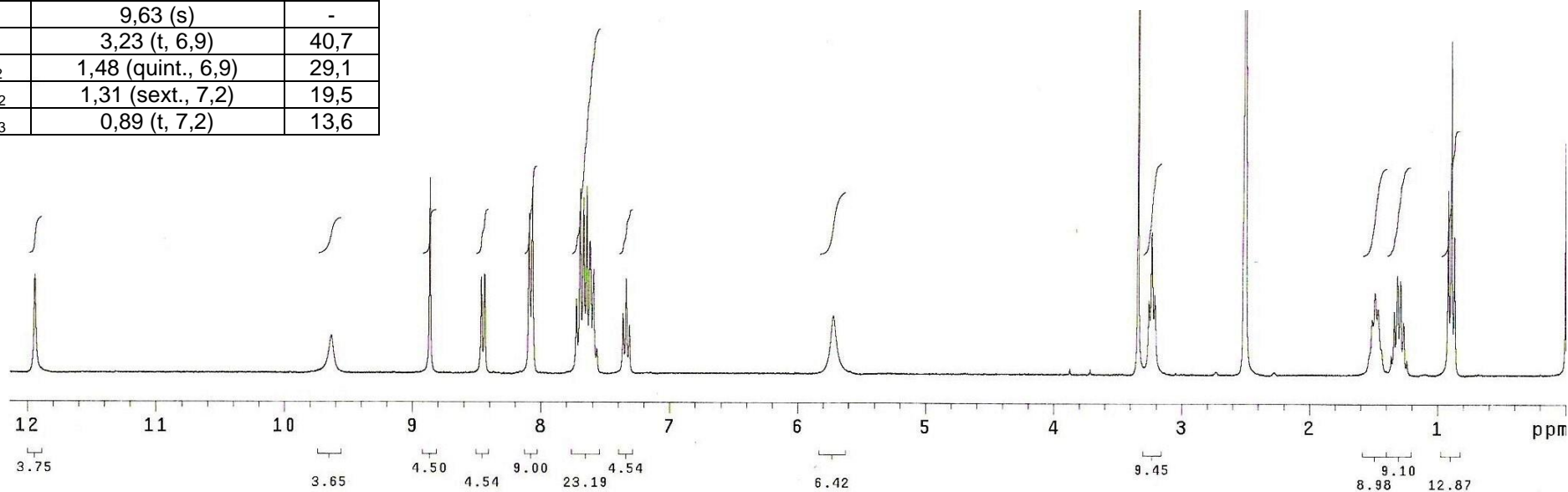
EI-MS- 11: Espectro de massas do composto **88d**.

ANEXO 12: 1-fenil-3-[2''-oxo-3''-(butilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**89a**).

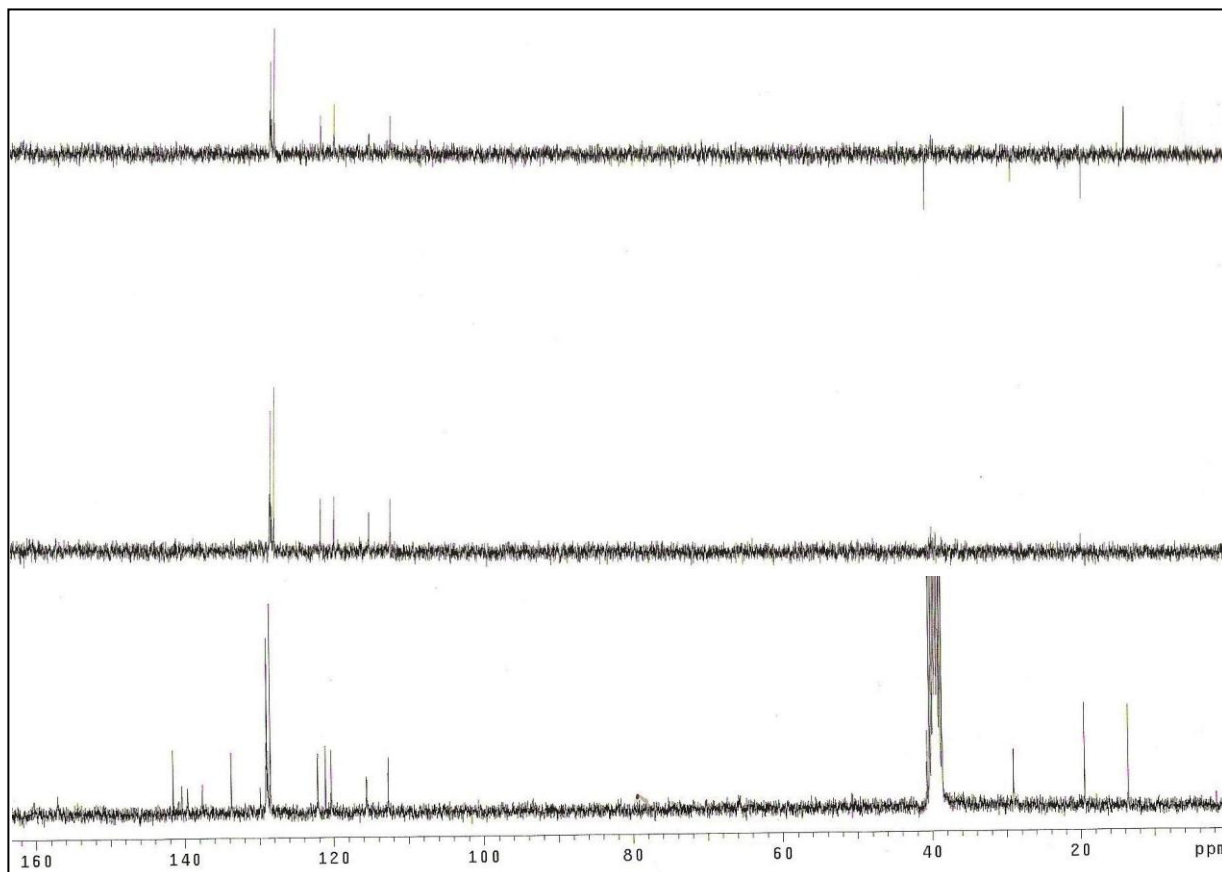
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	139,6
4CH	8,86 (s)	115,6
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,45 (d, 7,5)	122,2
6CH	7,34 (t, 7,5)	120,3
7CH	7,76-7,72 (m)	129,1
8CH	7,56-7,72 (m)	112,7
8aC ₀	-	140,4
9NH	11,94 (s)	-
9aC ₀	-	137,6
1'C ₀	-	133,7
2'/6' CH	8,07 (d, 6,9)	128,5
3'/5' CH	7,56-7,72 (m)	128,9
4'CH	7,56-7,72 (m)	128,8
2'' (C=O)	-	160,2
5'' (C=N)	-	157,0
6'' CH ₂	5,72 (s)	65,8
7''NH	9,63 (s)	-
8''CH ₂	3,23 (t, 6,9)	40,7
9'' CH ₂	1,48 (quint., 6,9)	29,1
10''CH ₂	1,31 (sext., 7,2)	19,5
11''CH ₃	0,89 (t, 7,2)	13,6



FM: C₂₄H₂₃N₅O₂
MM: 413,19 g/mol

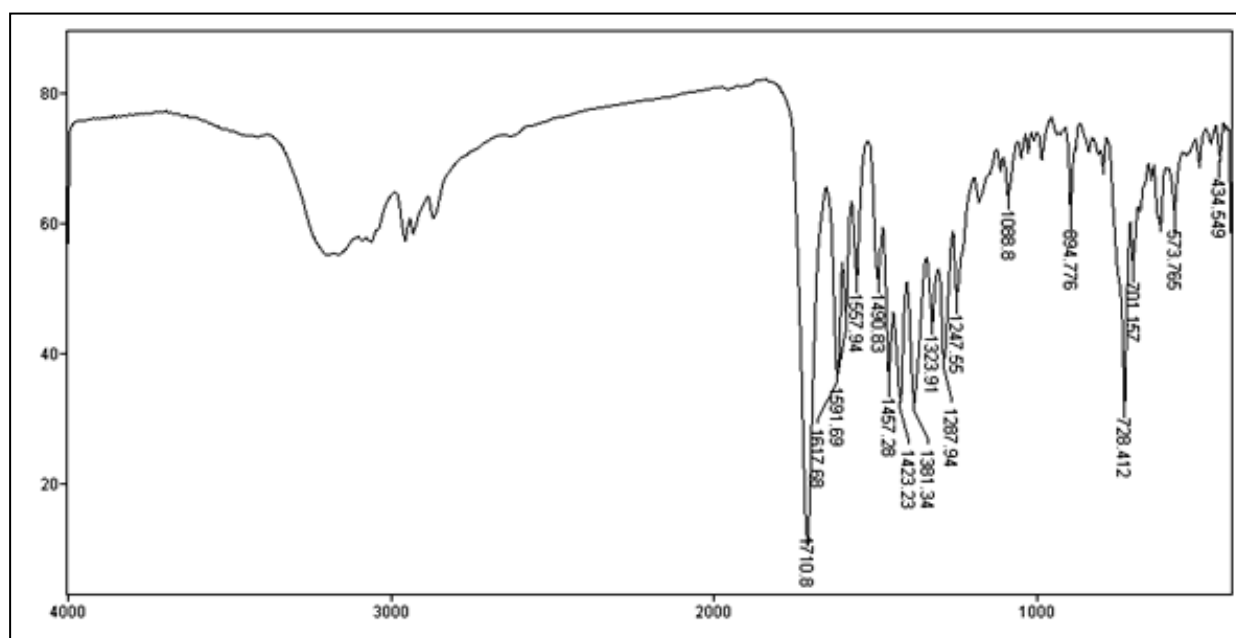


ERMN ¹H-12: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89a**.

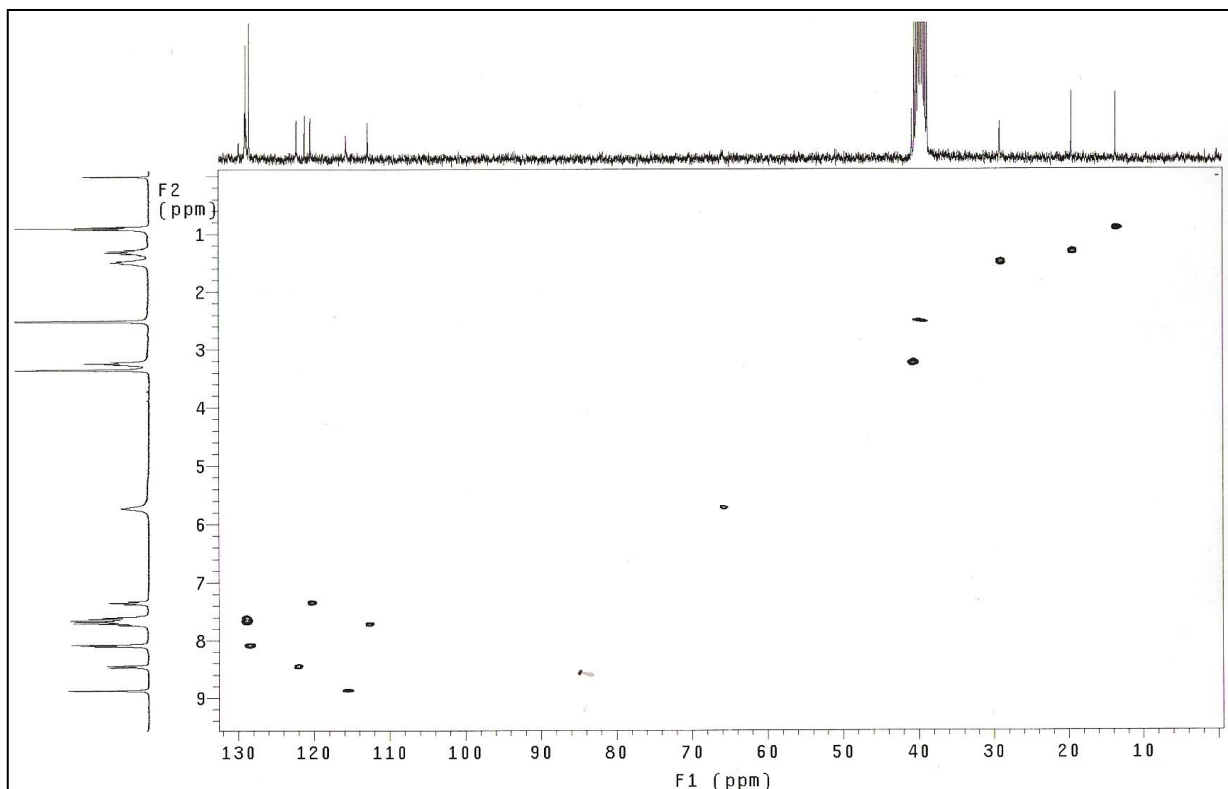


ERMN ¹³C-12: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1710 cm⁻¹ (C=O); 1617 cm⁻¹ (C=N) e 728 (indol)

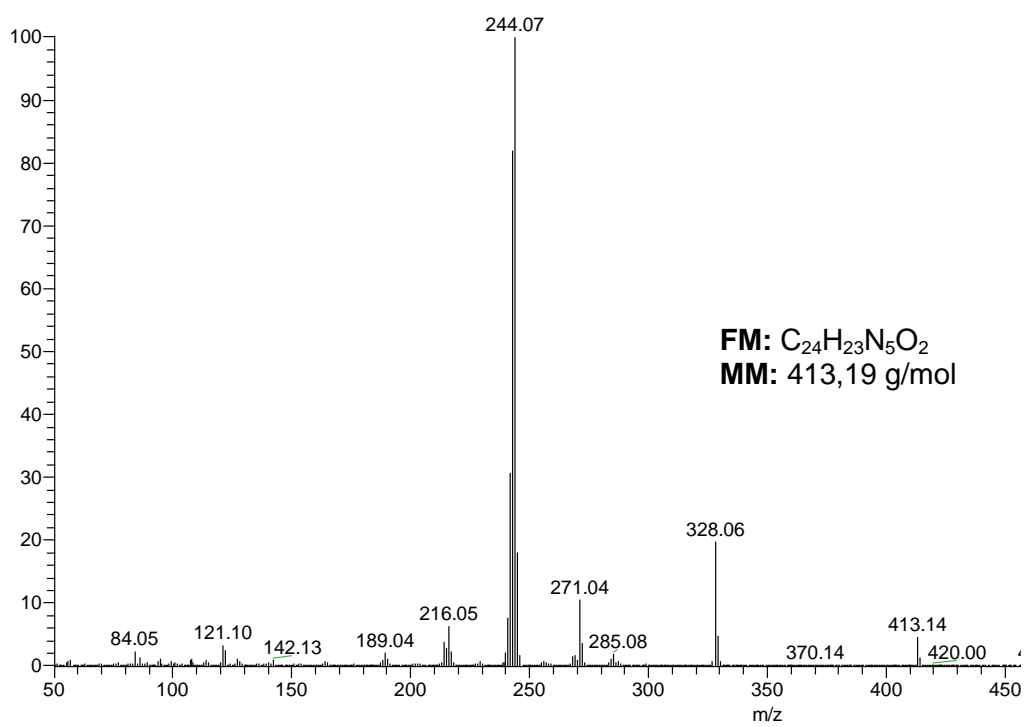


EIV-12: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **89a**.



EHSQC-12: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **89a**.

EI-MS- m/z (%): 413,14 (M^+ , 5), 328,06 (20), 244,08 (100).

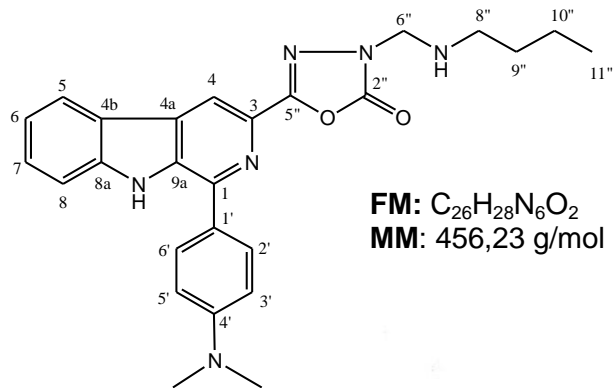


FM: $C_{24}H_{23}N_5O_2$
MM: 413,19 g/mol

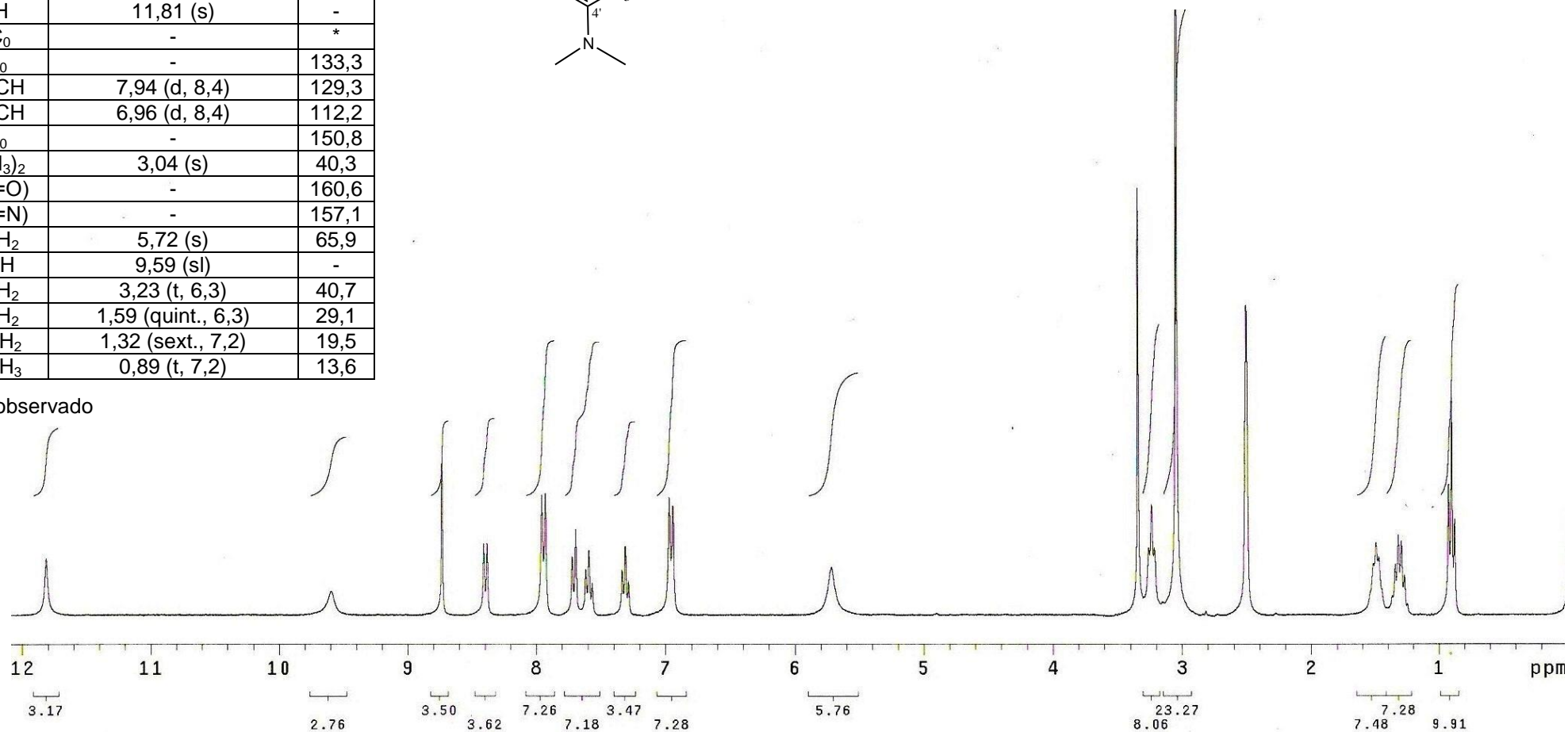
EI-MS- 12: Espectro de massas do composto **89a**.

ANEXO 13: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-[2''-oxo-3''-(butilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**89b**).

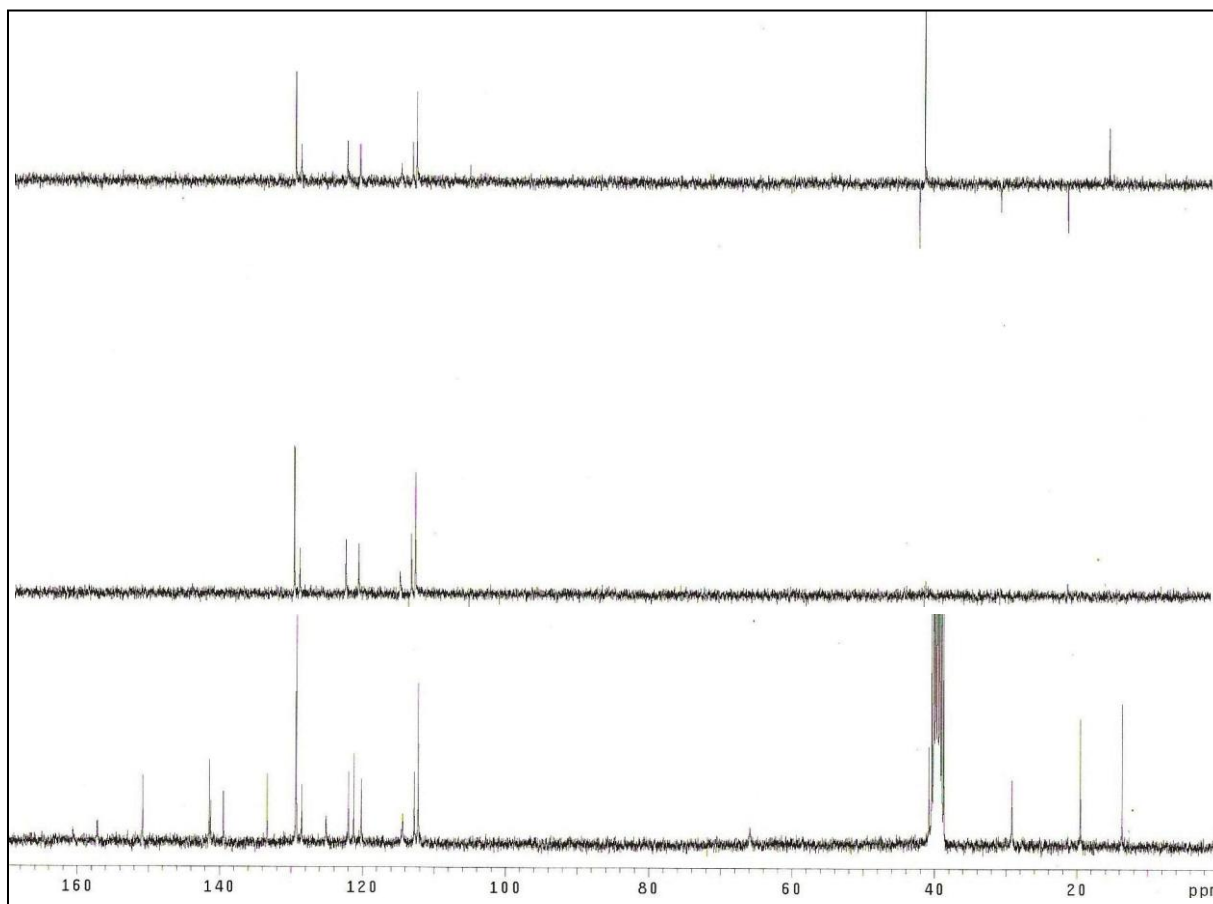
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	139,4
4CH	8,74 (s)	114,3
4aC ₀	-	125,1
4bC ₀	-	121,2
5CH	8,39 (d, 7,8)	121,9
6CH	7,31 (t, 7,8)	120,2
7CH	7,59 (t, 7,8)	128,5
8CH	7,77 (d, 7,8)	112,7
8aC ₀	-	141,2
9NH	11,81 (s)	-
9aC ₀	-	*
1'C ₀	-	133,3
2'/6' CH	7,94 (d, 8,4)	129,3
3'/5' CH	6,96 (d, 8,4)	112,2
4'C ₀	-	150,8
N(CH ₃) ₂	3,04 (s)	40,3
2'' (C=O)	-	160,6
5'' (C=N)	-	157,1
6'' CH ₂	5,72 (s)	65,9
7'' NH	9,59 (sl)	-
8'' CH ₂	3,23 (t, 6,3)	40,7
9'' CH ₂	1,59 (quint., 6,3)	29,1
10'' CH ₂	1,32 (sext., 7,2)	19,5
11'' CH ₃	0,89 (t, 7,2)	13,6



*Não observado

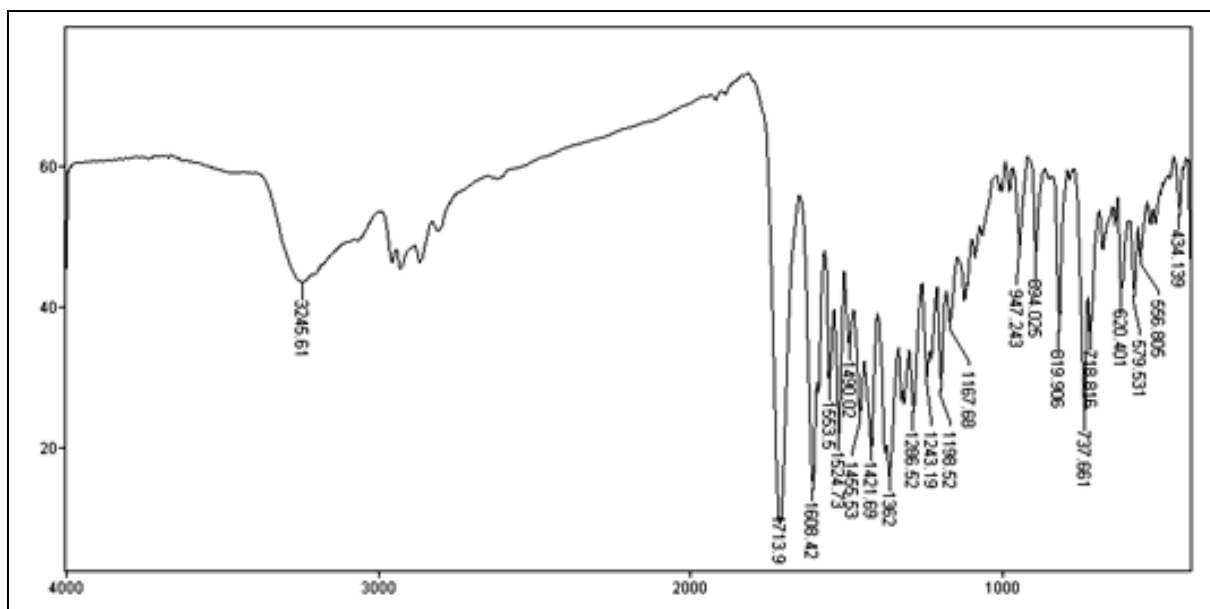


ERMN ¹H-13: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89b**.

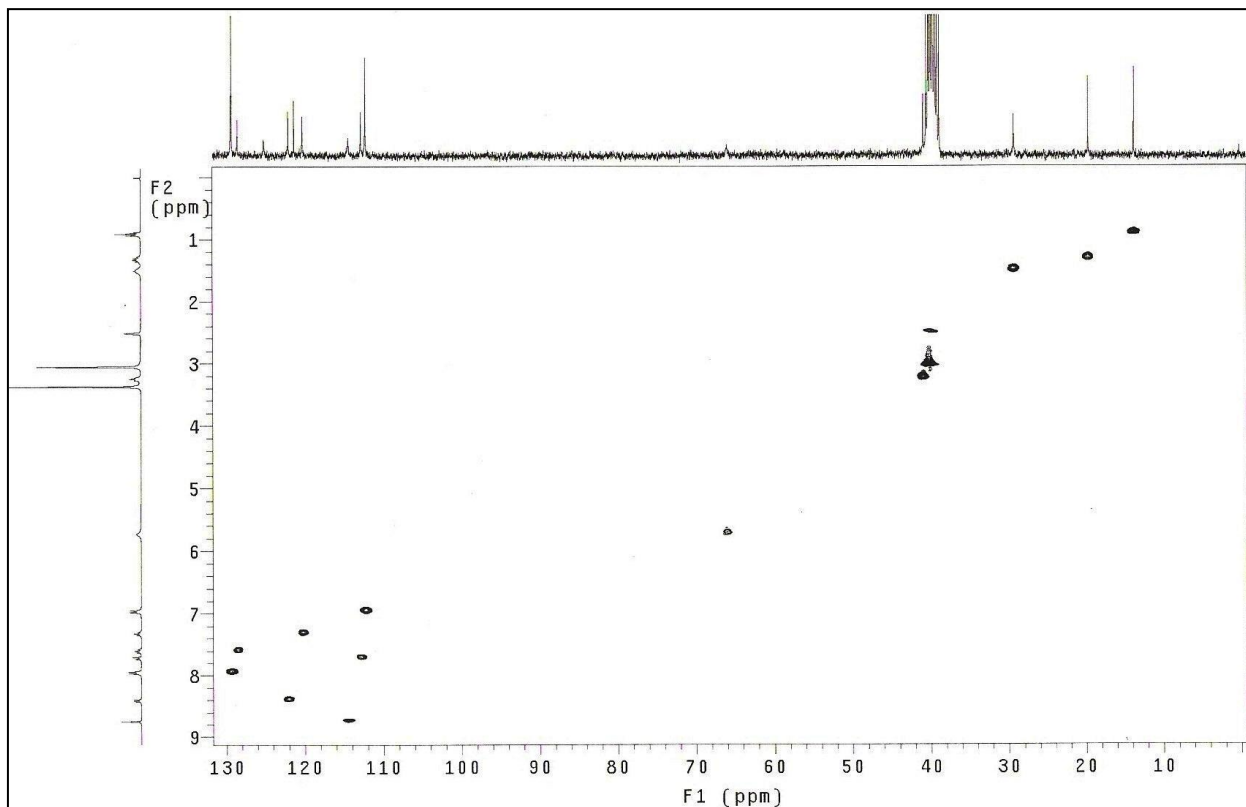


ERMN ¹³C-13: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89b**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1713 cm⁻¹ (C=O); 1608 cm⁻¹ (C=N) e 737 (indol)

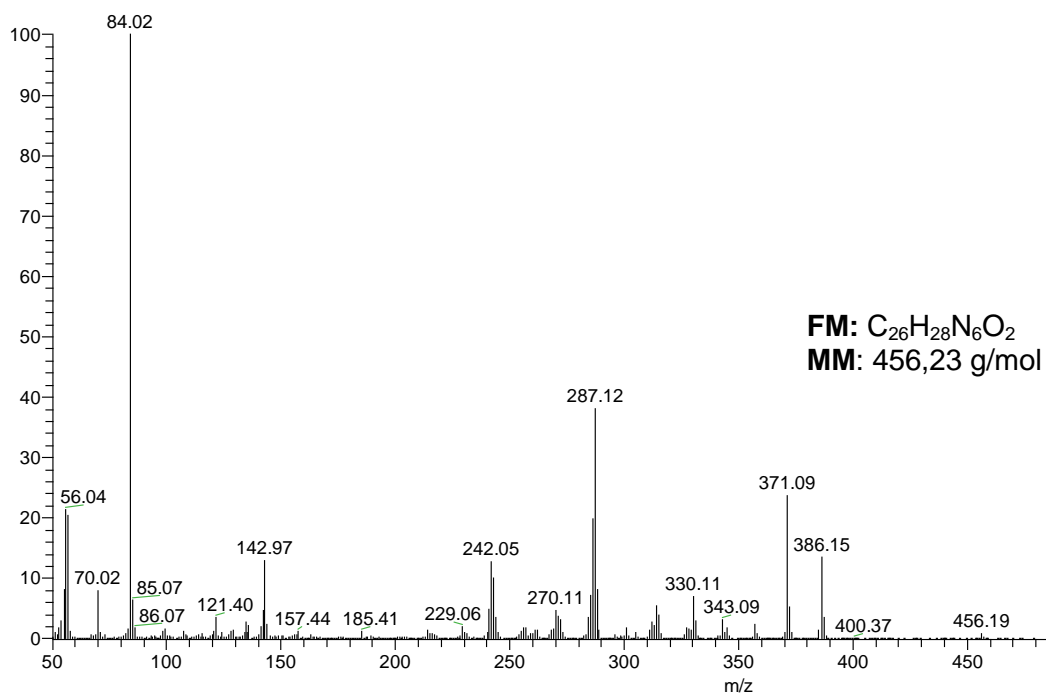


EIV-13: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **89b**.



EHSQC-13: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **89b**.

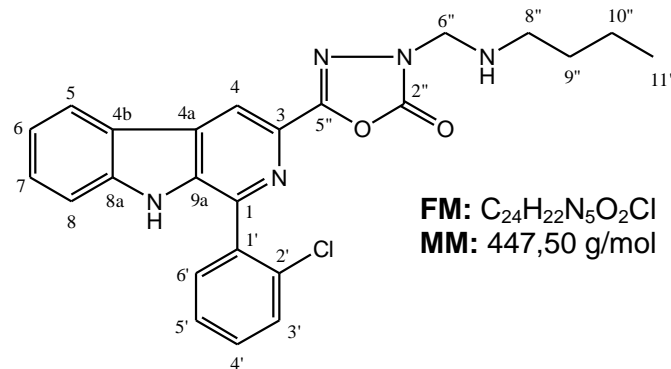
EI-MS- m/z (%): 456,19 (M^+ , 5), 371,09 (30), 287,12 (70), 84,02 (100).



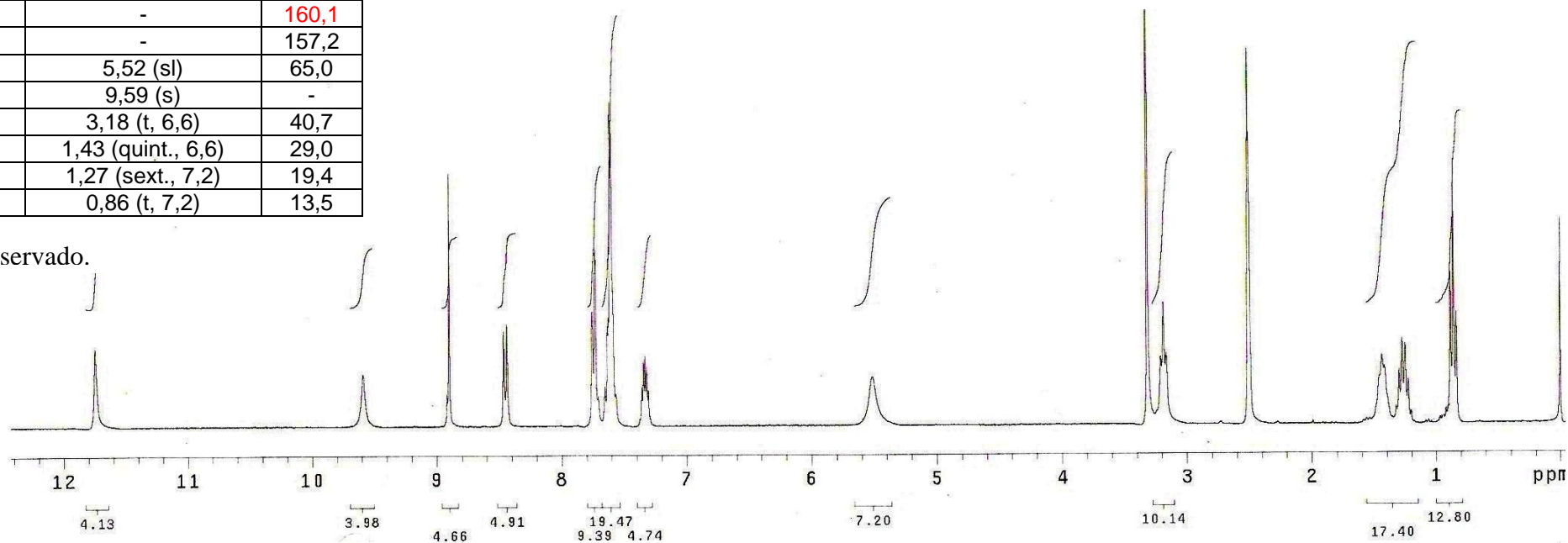
EI-MS- 13: Espectro de massas do composto **89b**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	139,1
4CH	8,90 (s)	116,3
4aC ₀	-	132,3
4bC ₀	-	120,9
5CH	8,45 (d, 7,8)	122,3
6CH	7,30-7,36 (m)	120,3
7CH	7,56-7,65 (m)	127,6
8CH	7,56-7,65 (m)	112,4
8aC ₀	-	139,1
9NH	11,75 (s)	-
9aC ₀	-	136,1
1'C ₀	-	134,7
2'C ₀	-	129,2
3'CH	7,70-7,75 (m)	130,0
4'CH	7,70-7,75 (m)	131,9
5'CH	7,56-7,65 (m)	128,9
6'CH	7,56-7,65 (m)	130,7
2'' (C=O)	-	160,1
5'' (C=N)	-	157,2
6'' CH ₂	5,52 (sl)	65,0
7'' NH	9,59 (s)	-
8'' CH ₂	3,18 (t, 6,6)	40,7
9'' CH ₂	1,43 (quint., 6,6)	29,0
10'' CH ₂	1,27 (sext., 7,2)	19,4
11'' CH ₃	0,86 (t, 7,2)	13,5

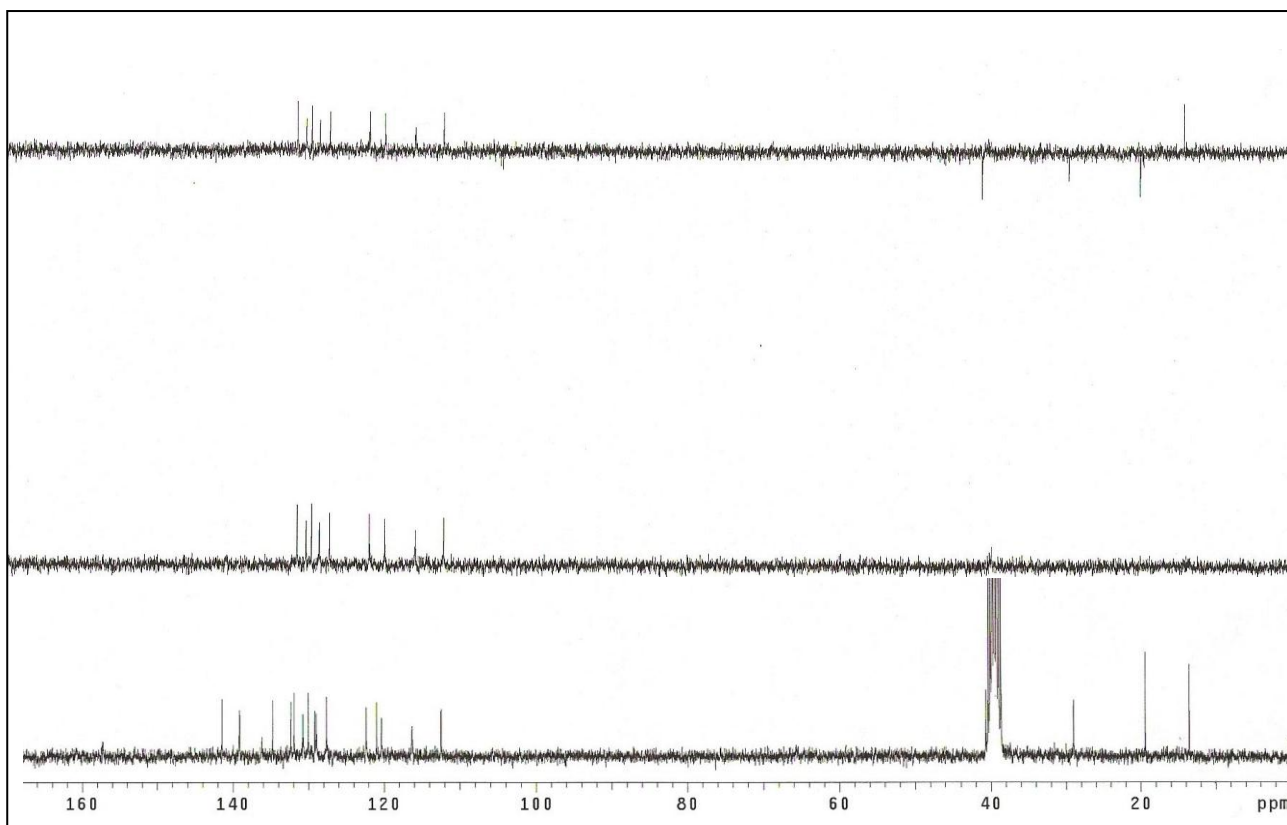
ANEXO 14: 1-(2'-clorofenil)-3-[2''-oxo-3''-(butilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**89c**).



* Não observado.

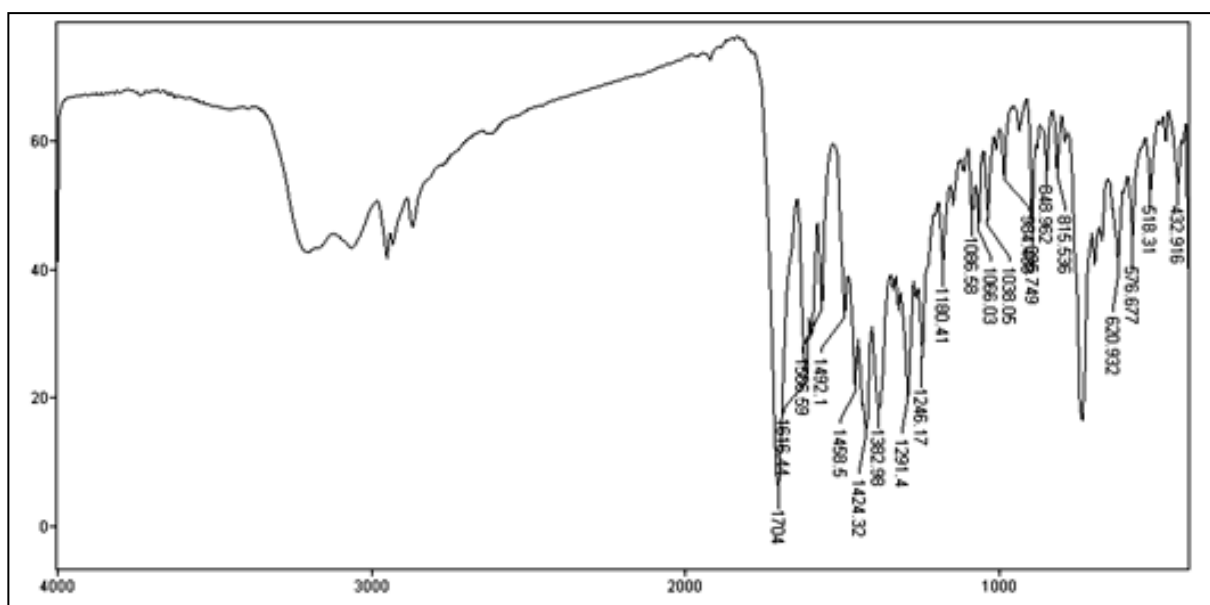


ERMN ¹H-14: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89c**.

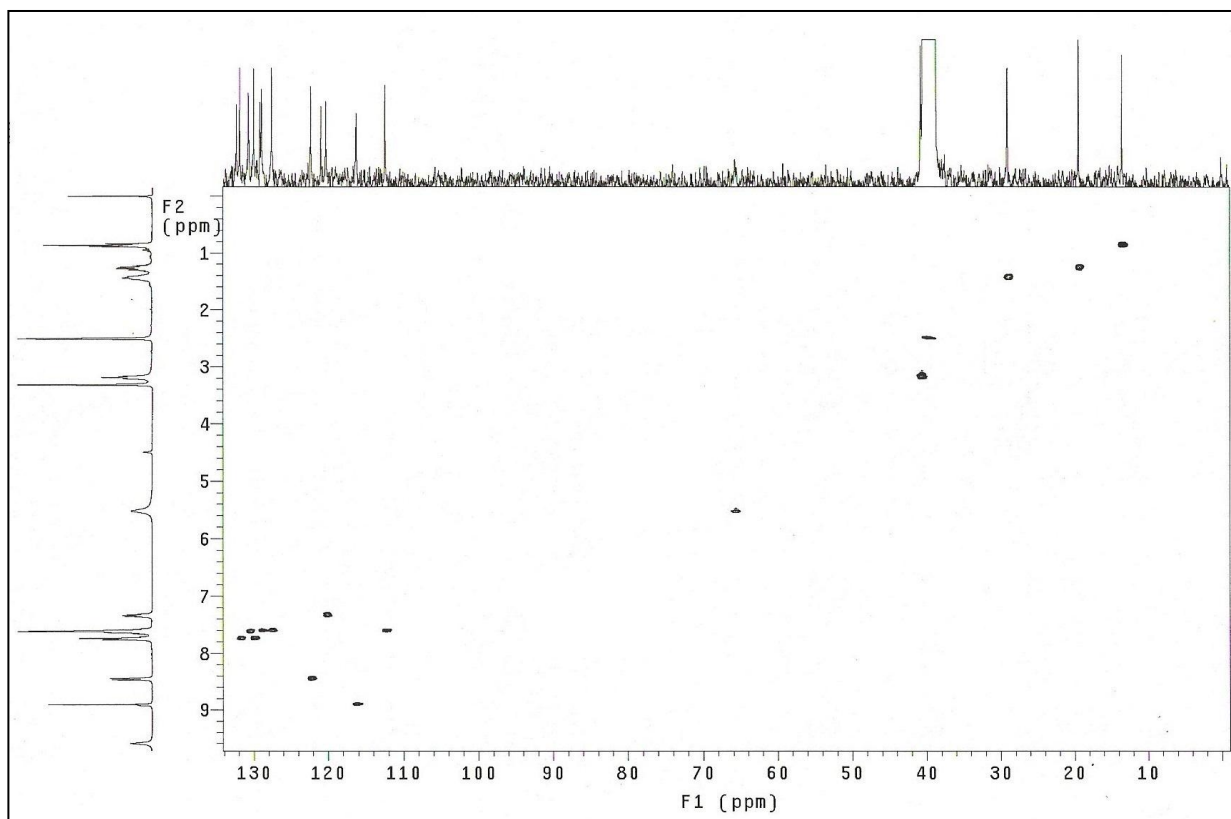


ERMN ¹³C-14: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89c**.

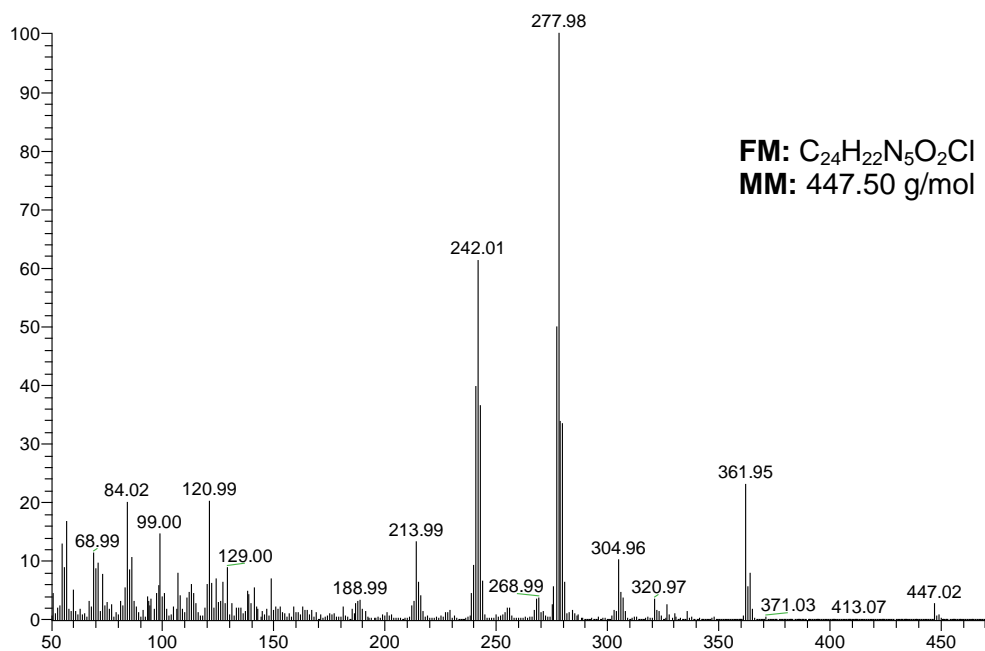
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1704 cm⁻¹ (C=O); 1616 cm⁻¹ (C=N) e 733 (indol)



EIV-14: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **89c**.



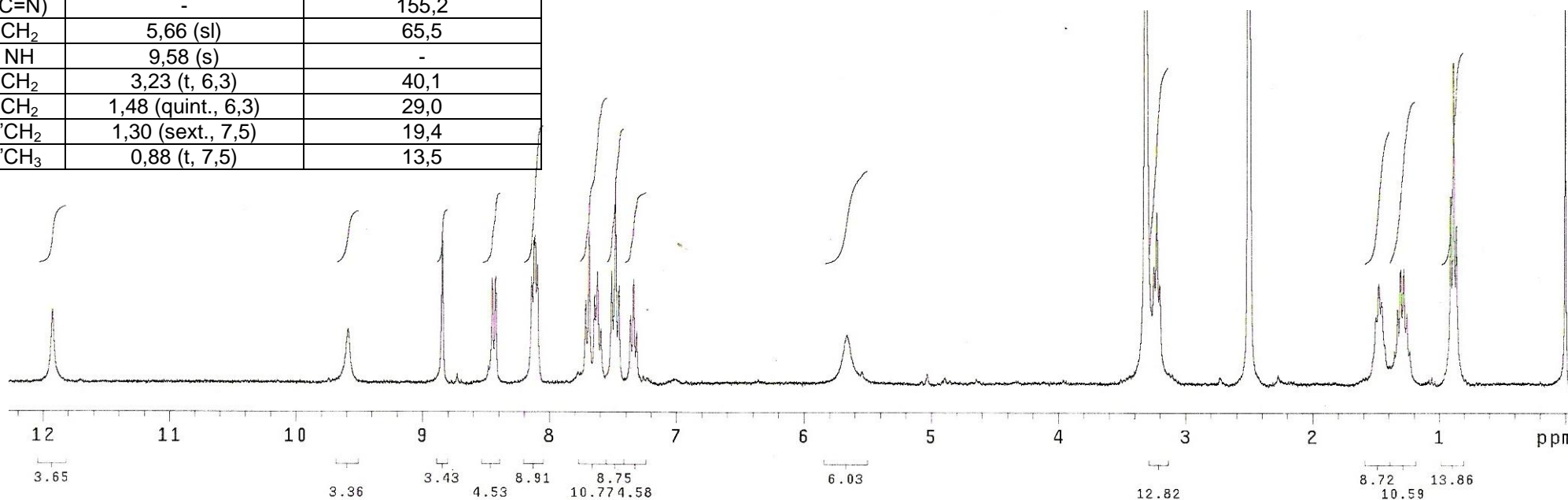
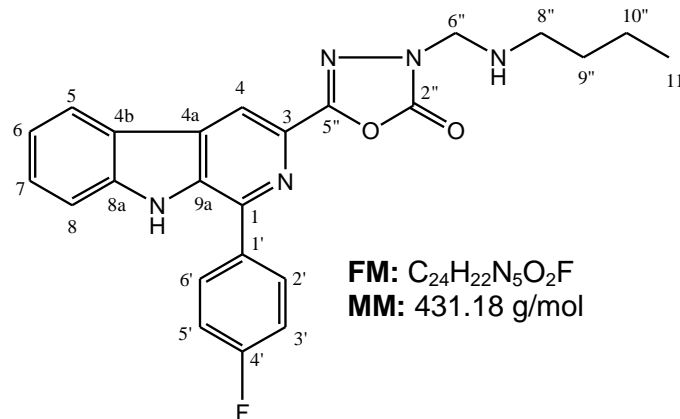
EHSQC-14: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **89c**.



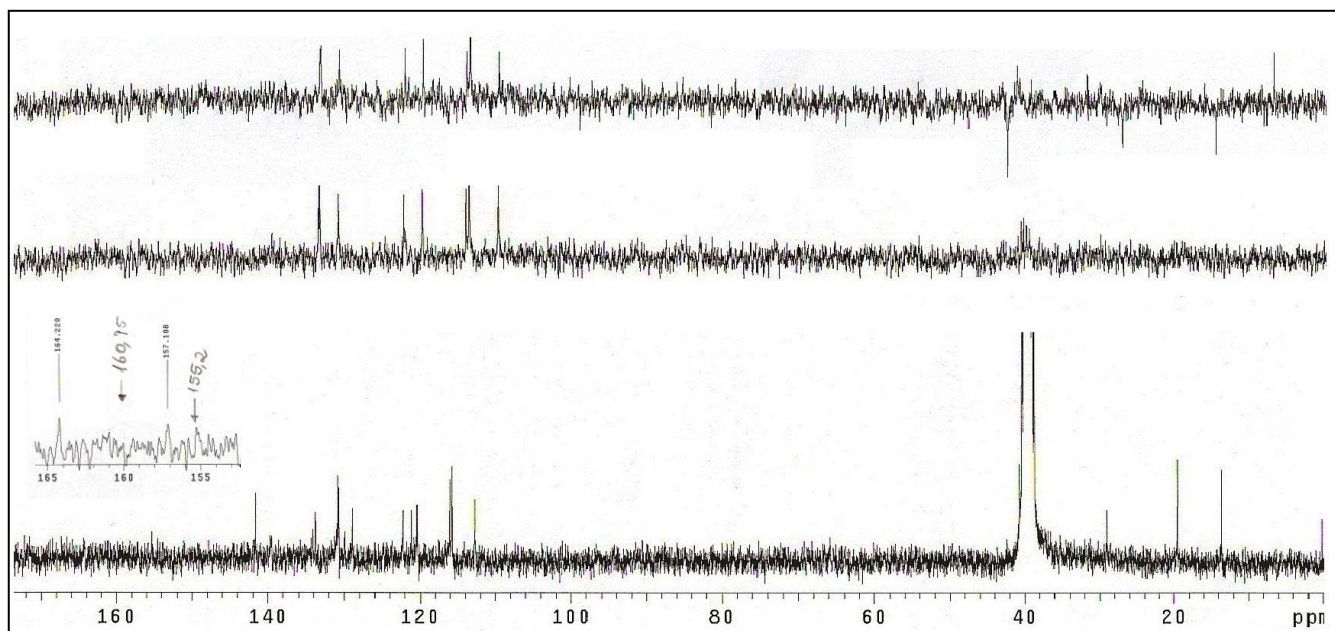
EI-MS- 14: Espectro de massas do composto **89c**.

ANEXO 15: 1-(4'-flúorfenil)-3-[2''-oxo-3''-(butilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β-carbolina (**89d**).

C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	133,7
4CH	8,84 (s)	115,9
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,44 (d, 7,8)	122,2
6CH	7,34 (t, 7,8)	120,4
7CH	7,62 (t, 7,8)	128,9
8CH	7,71 (d, 7,8)	112,7
8aC ₀	-	139,5
9NH	11,92 (s)	-
9aC ₀	-	128,7
1'C ₀	-	132,8
2'/6' CH	8,12 (t, 8,7)	130,8/130,7 (d, 8,6)
3'/5' CH	7,48 (t,8,7)	115,7/115,6 (d, 7,5)
4'C ₀	-	164,2/160,9 (d, 246,2)
2'' (C=O)	-	157,1
5'' (C=N)	-	155,2
6'' CH ₂	5,66 (sl)	65,5
7'' NH	9,58 (s)	-
8'' CH ₂	3,23 (t, 6,3)	40,1
9'' CH ₂	1,48 (quint., 6,3)	29,0
10''CH ₂	1,30 (sext., 7,5)	19,4
11''CH ₃	0,88 (t, 7,5)	13,5

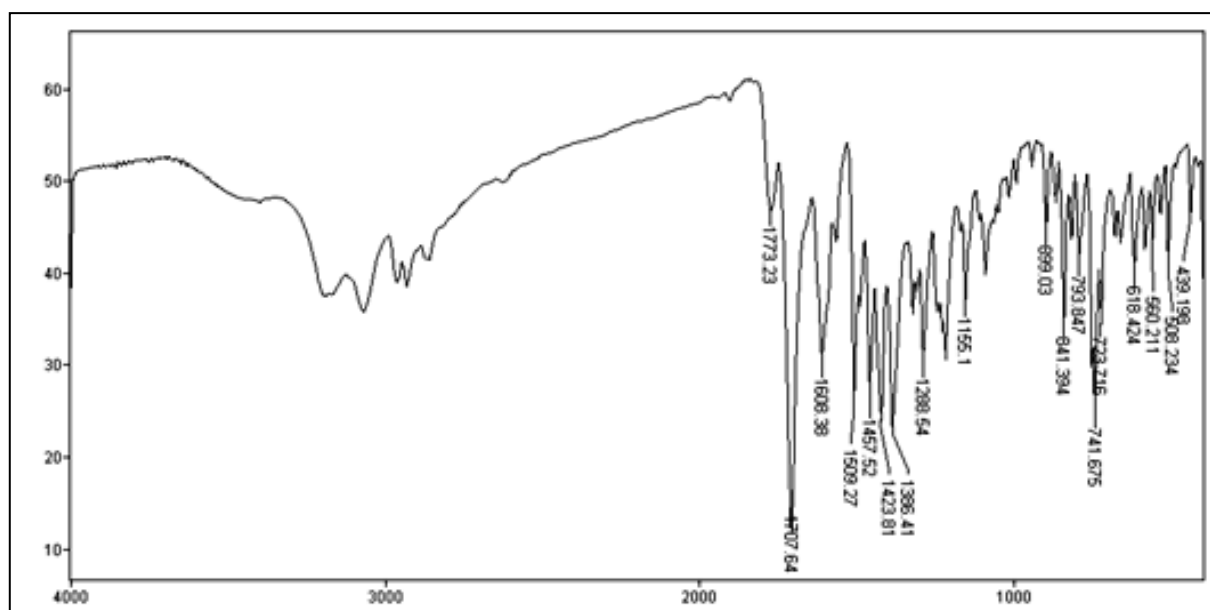


ERMN ¹H-15: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89d**.

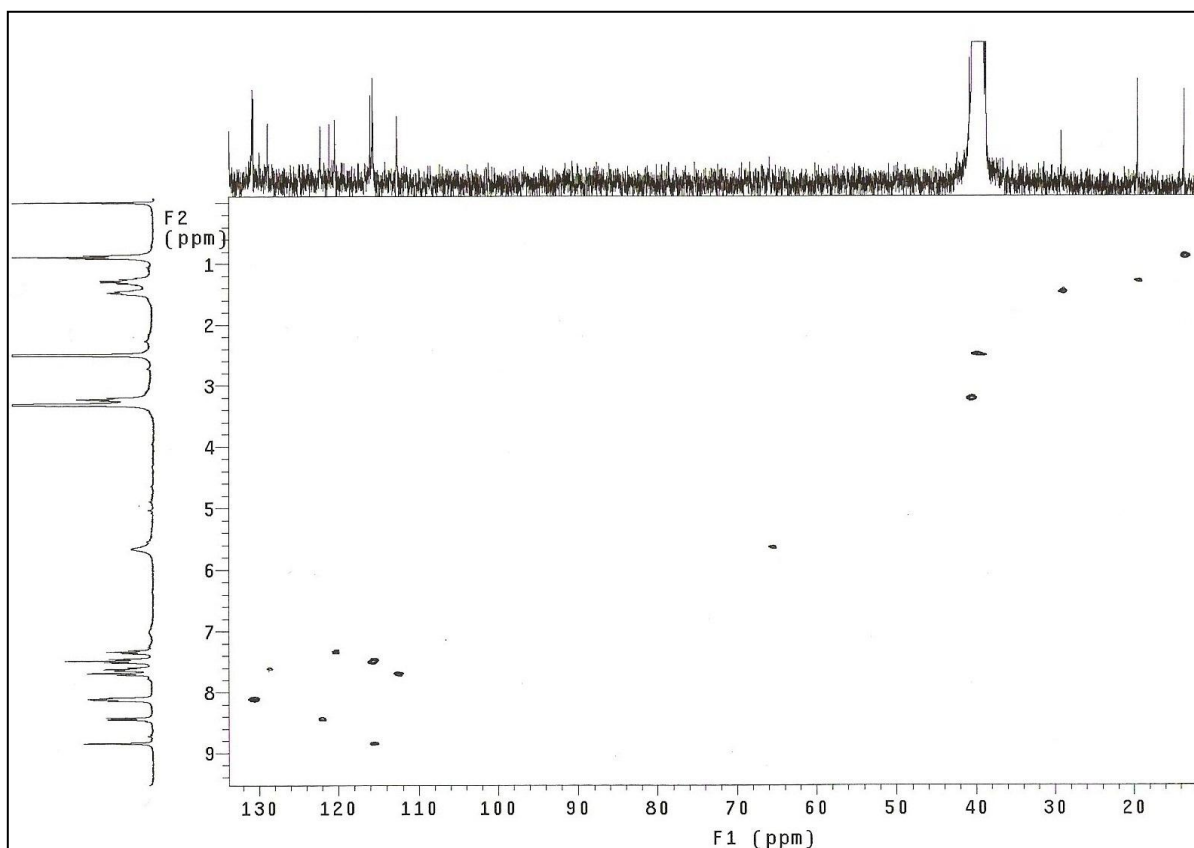


ERMN ¹³C-15: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **89d**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1707 cm⁻¹ (C=O); 1608 cm⁻¹ (C=N) e 741 (indol)

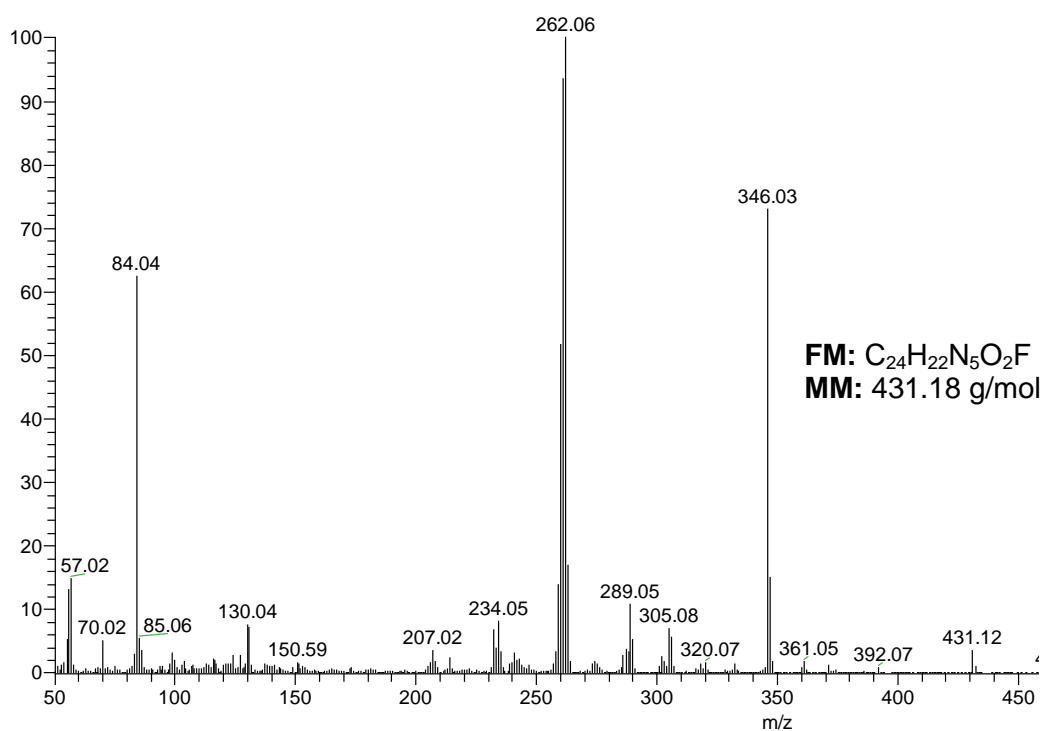


EIV-15: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **89d**.



EHSQC-15: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **89d**.

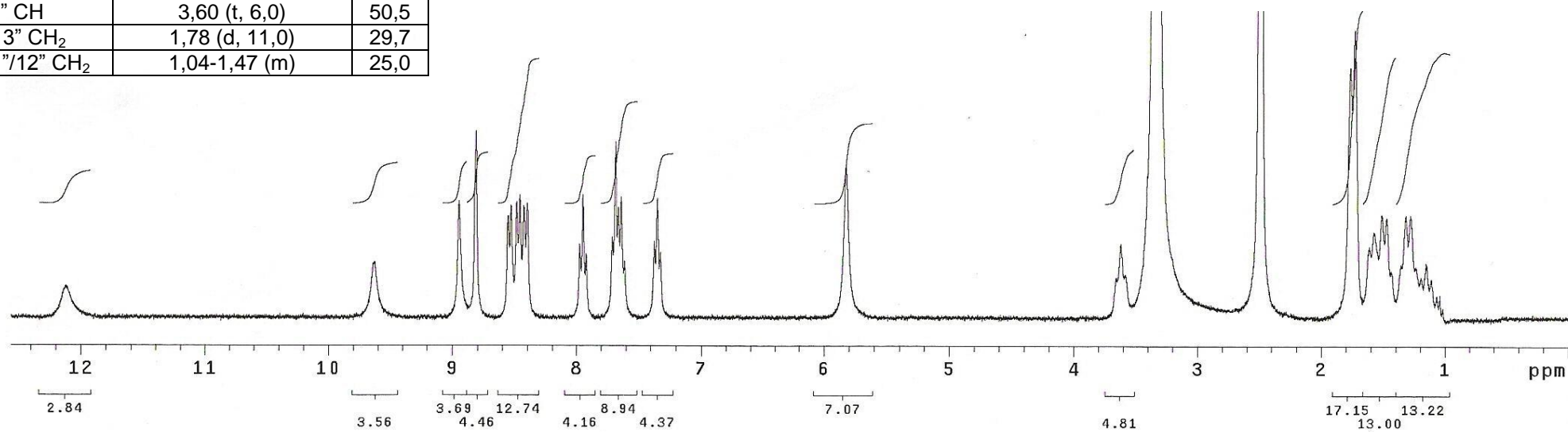
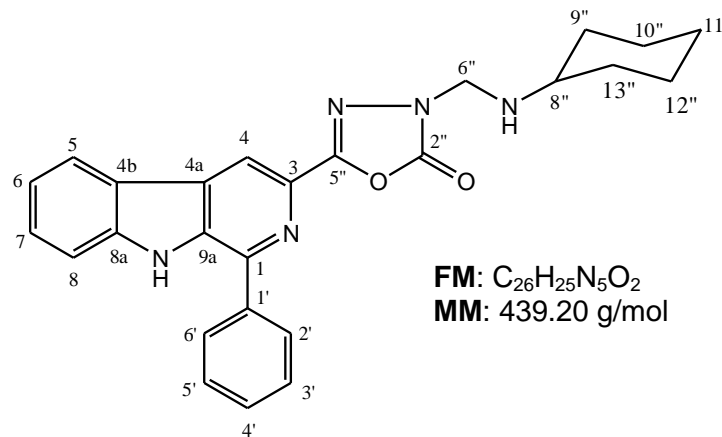
EI-MS- m/z (%): 431.12 (M^+ , 5), 346.09 (20), 84.04 (70), 262.06 (100).



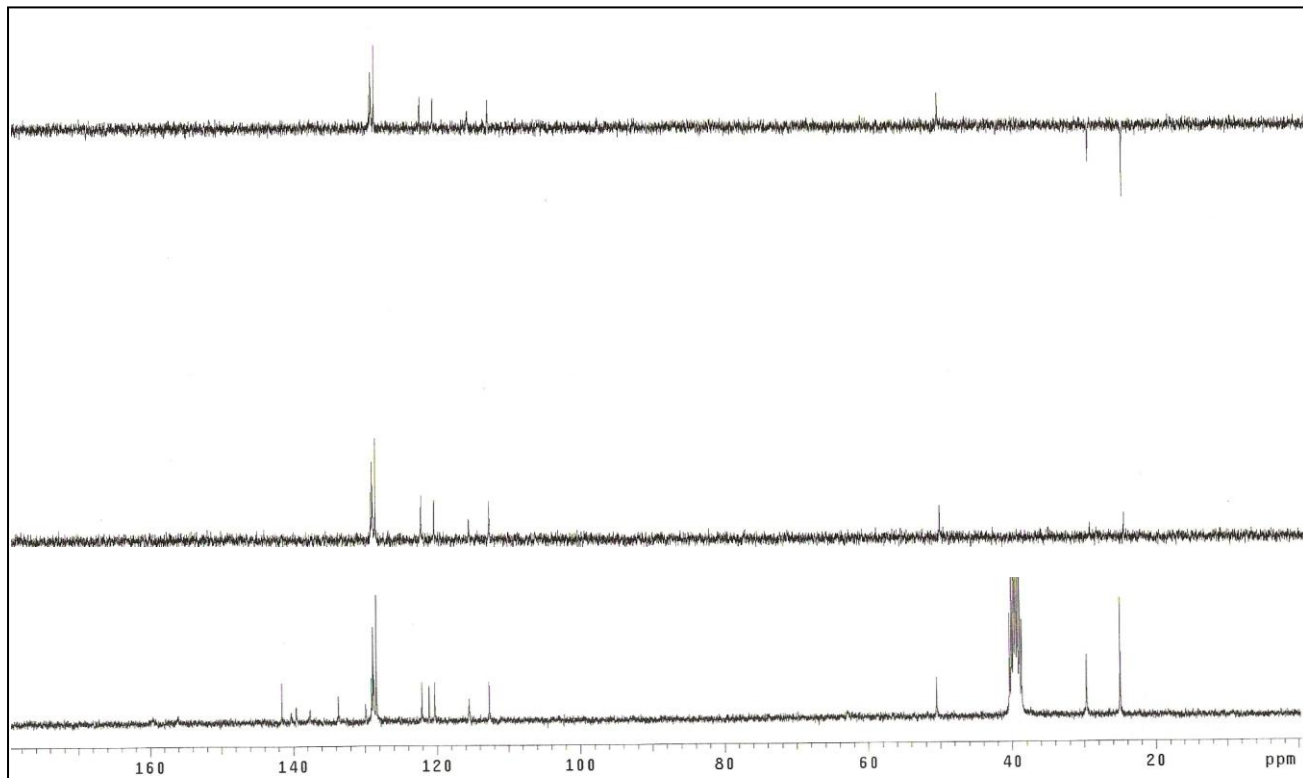
EI-MS- 15: Espectro de massas do composto **89d**.

ANEXO 16: 1-fenil-3-[2"-oxo-3"-(cicloexilaminometil)-1",3",4"-oxadiazol-5"-il] β -carbolina (**90a**).

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C^*
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	139,5
4CH	8,85 (s)	115,5
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,43 (d, 7,5)	122,1
6CH	7,32 (t, 7,5)	120,3
7CH	7,58-7,71 (m)	129,1
8CH	7,58-7,71 (m)	112,7
8aC ₀	-	140,2
9NH	11,92 (s)	-
9aC ₀	-	137,6
1'C ₀	-	133,7
2'/6' CH	8,07 (d, 7,2)	128,4
3'/5' CH	7,58-7,71 (m)	128,9
4'CH	7,58-7,71 (m)	128,8
2" (C=O)	-	159,6
5" (C=N)	-	156,1
6" CH ₂	5,78(sl)	63,0
7" NH	9,57 (sl)	-
8" CH	3,60 (t, 6,0)	50,5
9"/13" CH ₂	1,78 (d, 11,0)	29,7
10"/11"/12" CH ₂	1,04-1,47 (m)	25,0

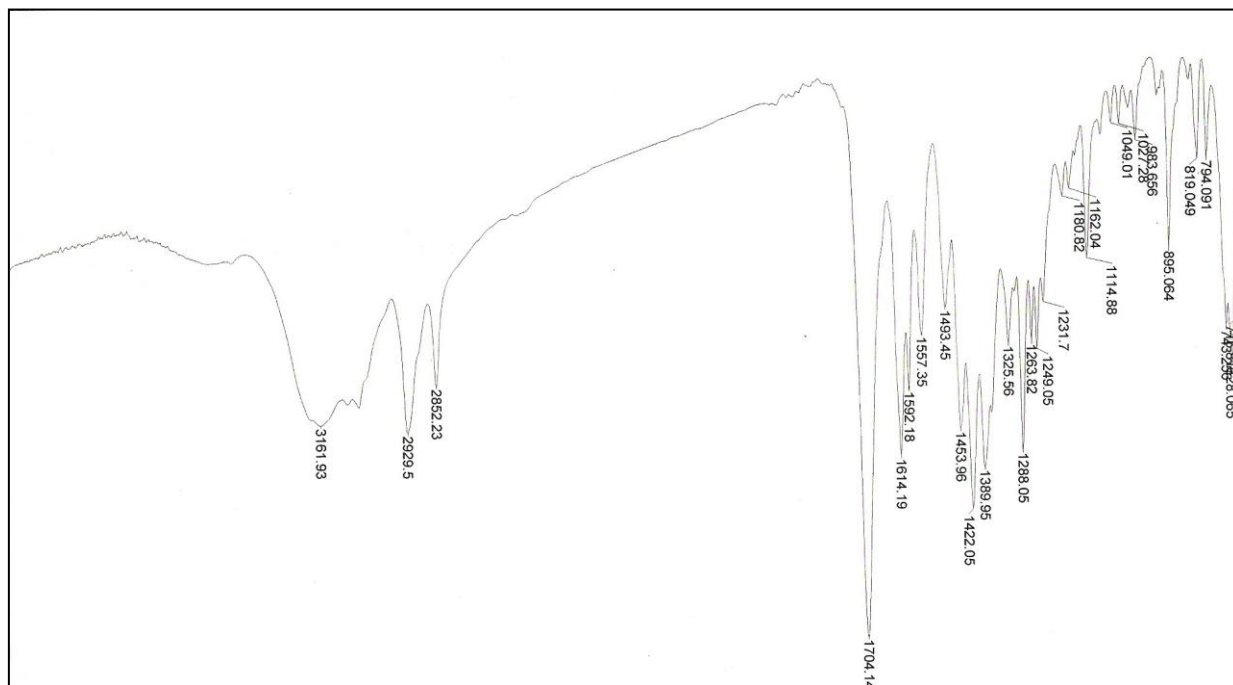


ERMN 1H-16: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90a**.

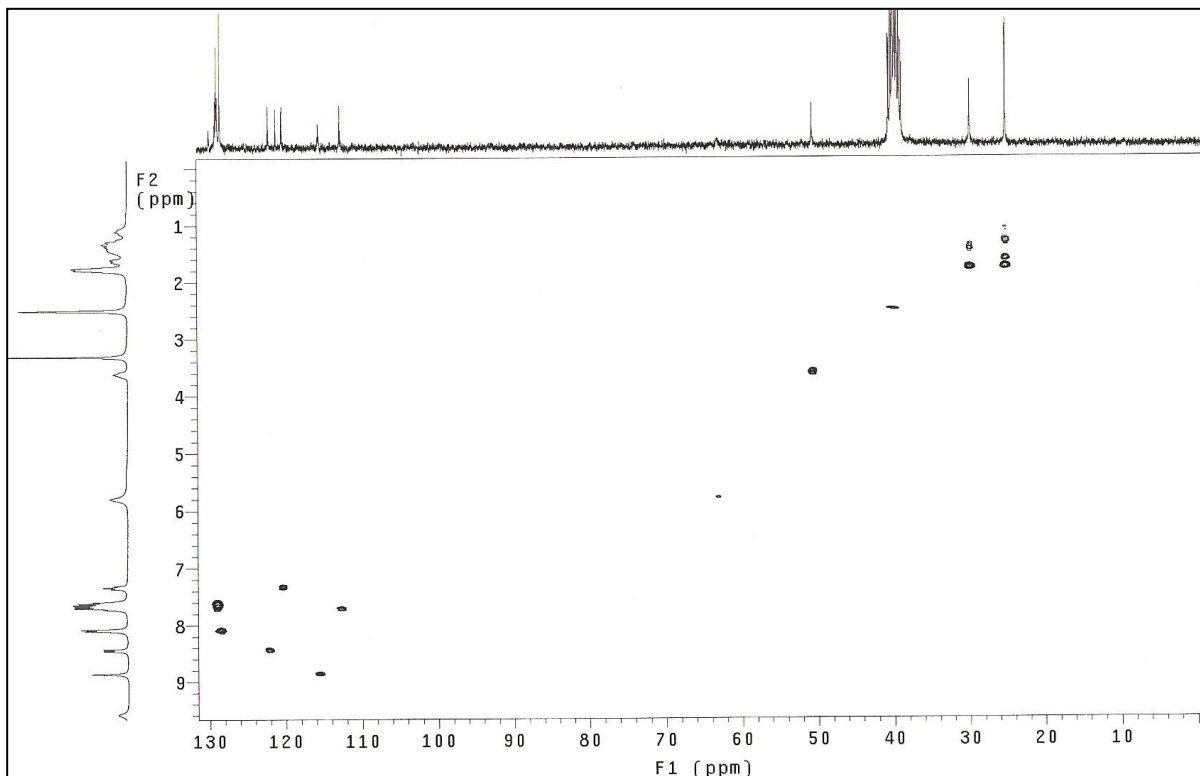


ERMN ¹³C-16: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3161 (NH); 2929 (CH); 2852 (CH); 1704 cm⁻¹ (C=O); 1614 cm⁻¹ (C=N) e 895 (indol)

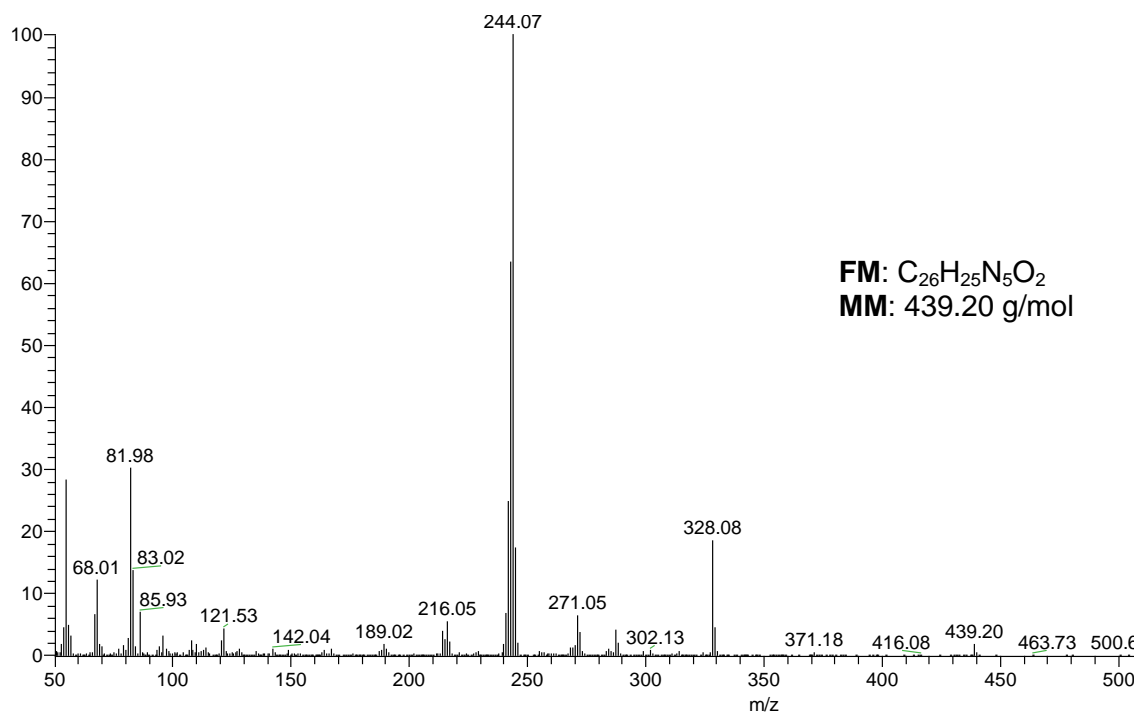


EIV-16: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **90a**.



EHSQC-16: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **90a**.

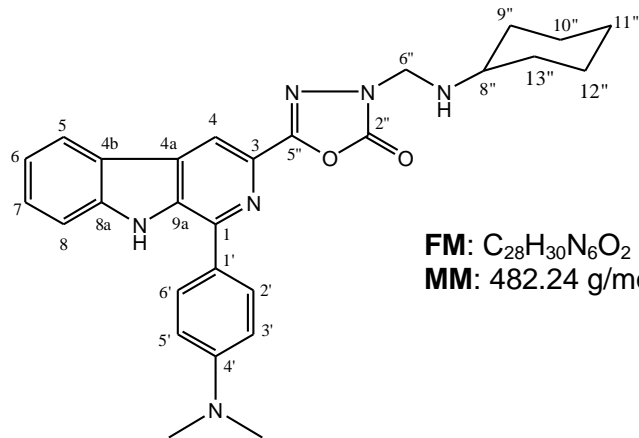
EI-MS- m/z (%): 439.20 (M^+ , 5), 328.08 (20), 244.07 (100).



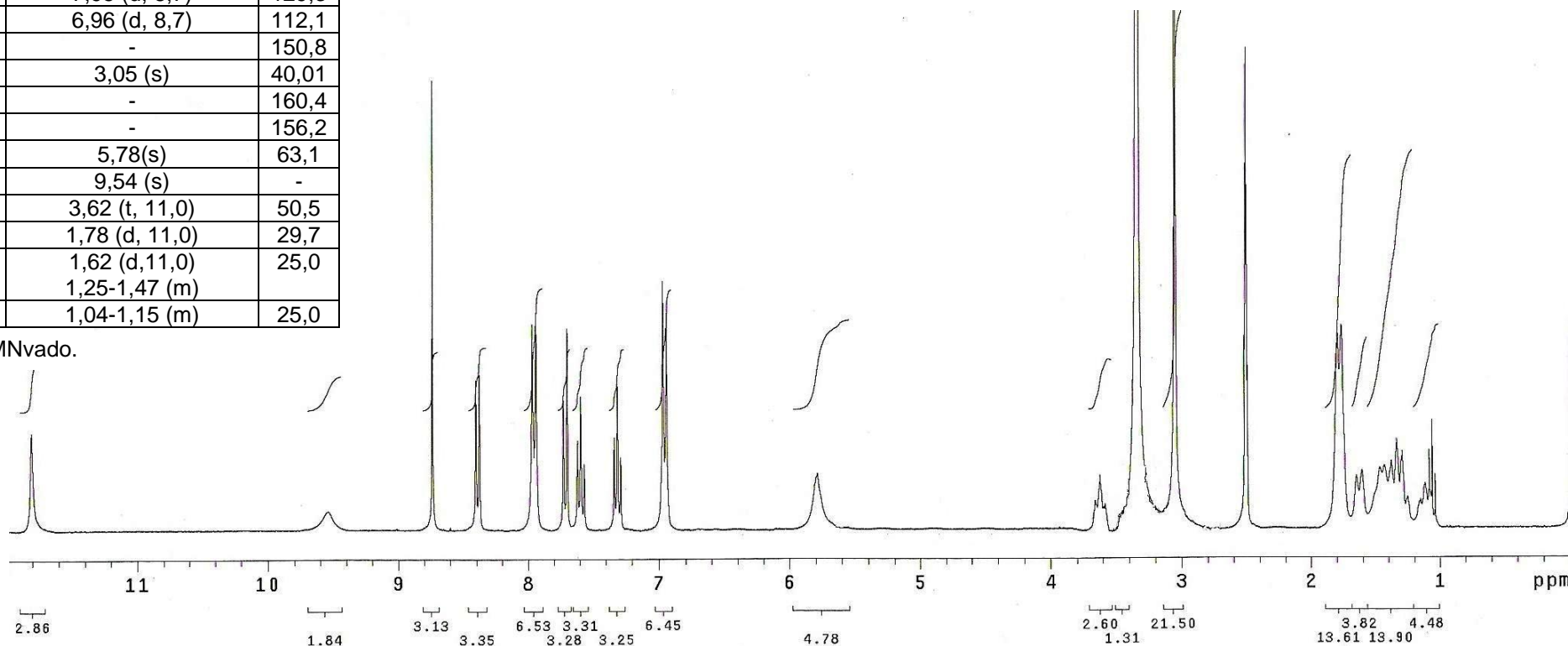
EI-MS- 16: Espectro de massas do composto **90a**.

ANEXO 17: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-[2''-oxo-3''-(cicloexilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**90b**).

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	133,3
4CH	8,73 (s)	114,3
4aC ₀	-	125,2
4bC ₀	-	121,2
5CH	8,40 (d, 7,8)	122,0
6CH	7,31 (t, 7,8)	120,2
7CH	7,59 (t, 7,8)	128,5
8CH	7,71 (d, 7,8)	112,8
8aC ₀	-	139,4
9NH	11,81 (s)	-
9aC ₀	-	*
1'C ₀	-	*
2'/6' CH	7,95 (d, 8,7)	129,3
3'/5' CH	6,96 (d, 8,7)	112,1
4'C ₀	-	150,8
N(CH ₃) ₂	3,05 (s)	40,01
2'' (C=O)	-	160,4
5'' (C=N)	-	156,2
6'' CH ₂	5,78(s)	63,1
7'' NH	9,54 (s)	-
8'' CH	3,62 (t, 11,0)	50,5
9''/13'' CH ₂	1,78 (d, 11,0)	29,7
10''/12'' CH ₂	1,62 (d, 11,0)	25,0
11'' CH ₂	1,25-1,47 (m)	25,0

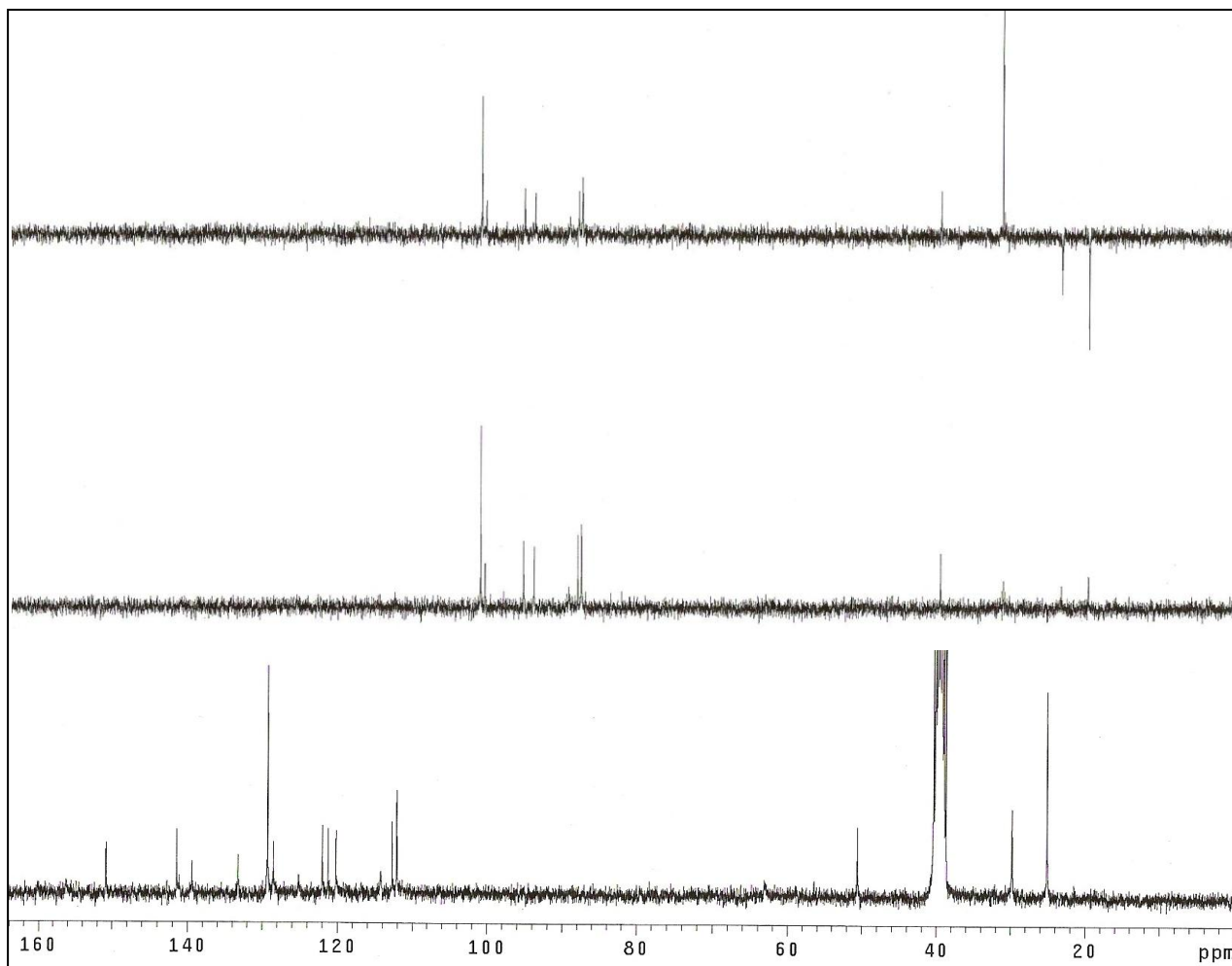


FM: C₂₈H₃₀N₆O₂
MM: 482.24 g/mol



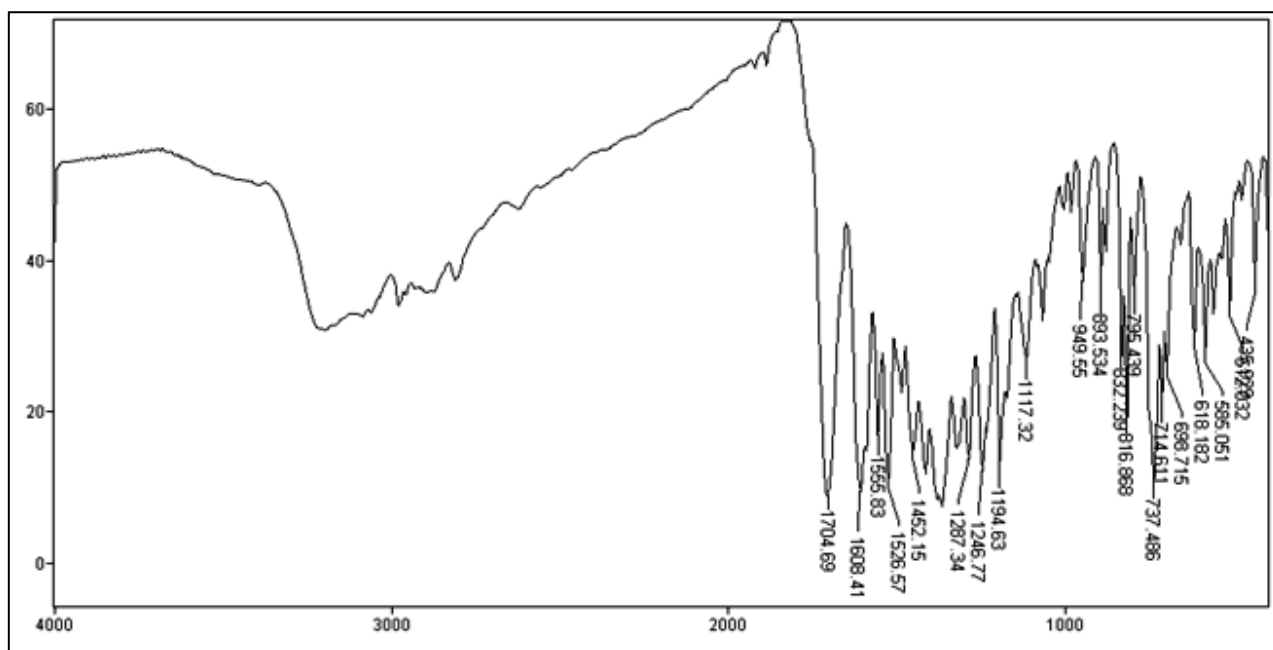
*Não obsERMNvado.

ERMN ¹H-17: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90b**.

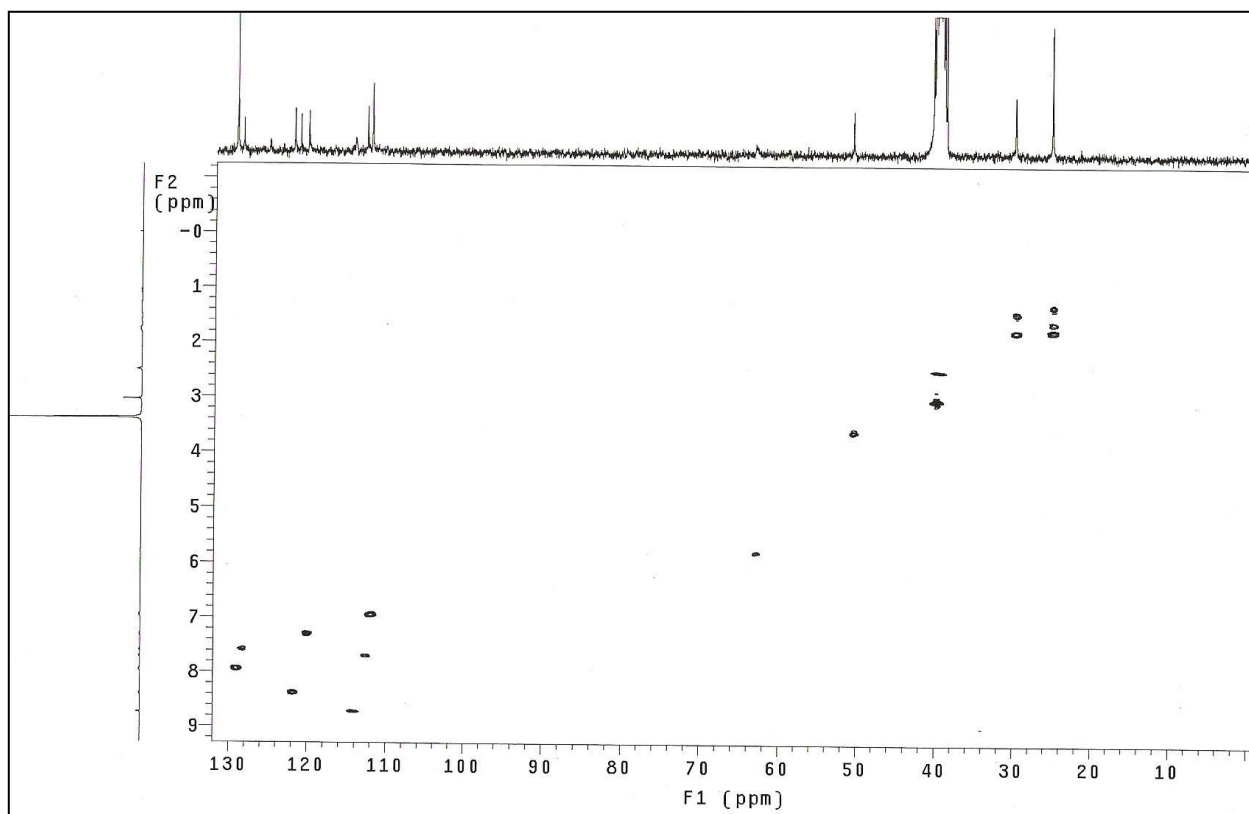


ERMN ^{13}C -17: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **90b**.

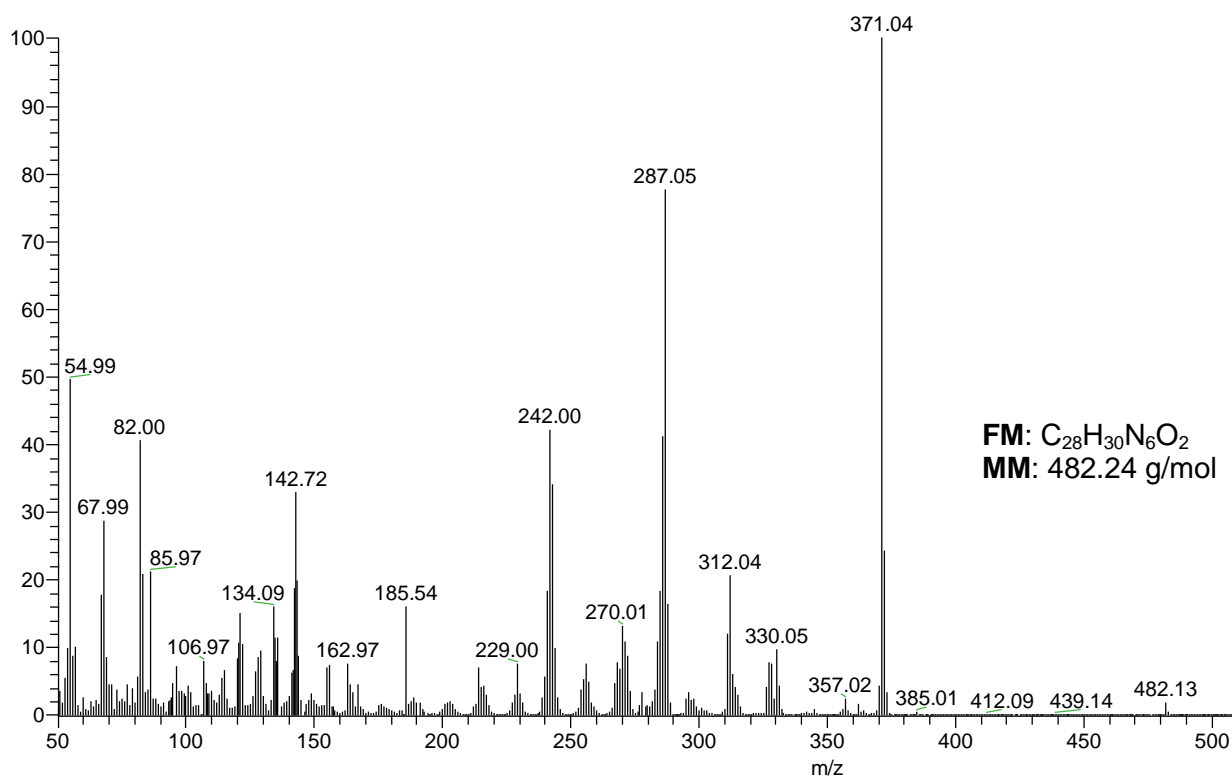
IV (ν , cm^{-1} ; KBr): 1704 cm^{-1} (C=O); 1608 cm^{-1} (C=N) e 737 (indol)



EIV-17: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **90b**.



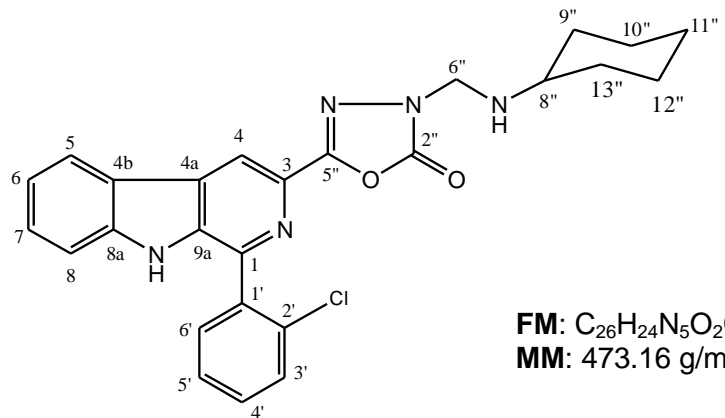
EHSQC-17: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **90b**.



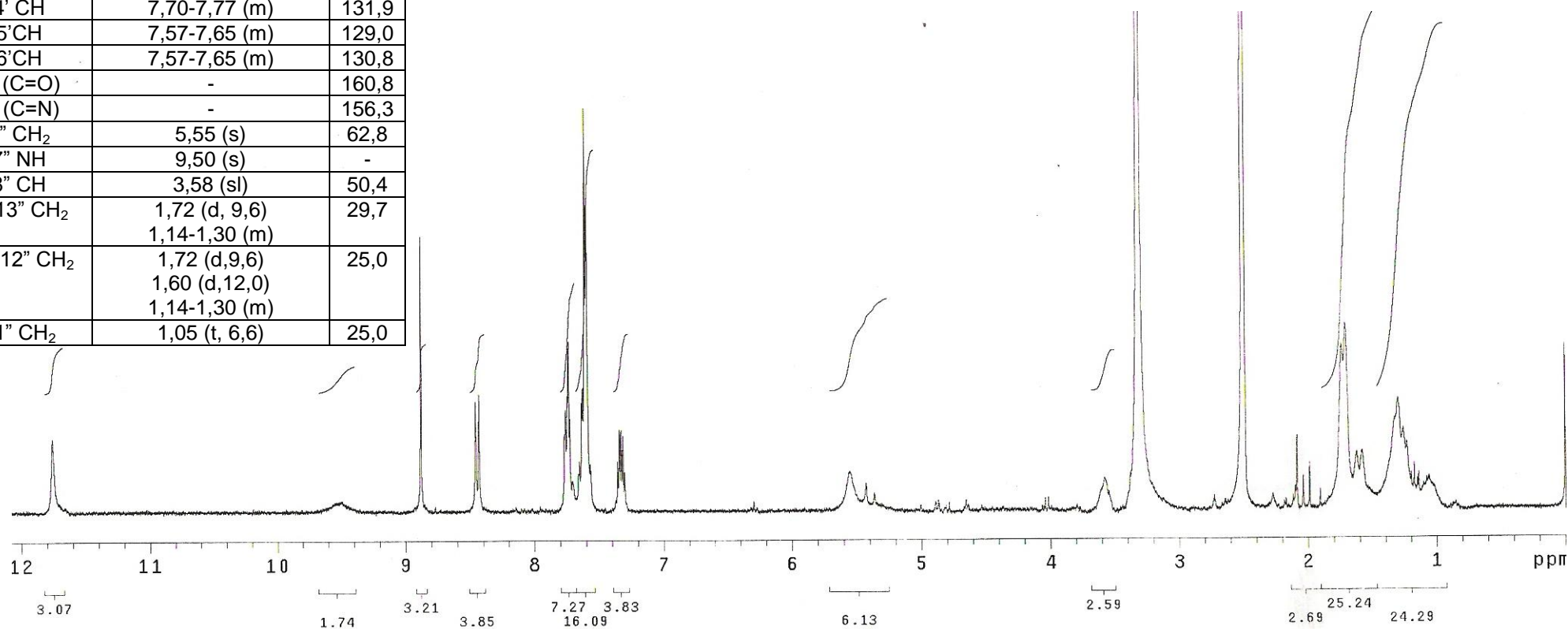
EI-MS- 17: Espectro de massas do composto **90b**.

ANEXO 18: 1-(2'-clorofenil)-3-[2''-oxo-3''-(cicloexilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**90c**).

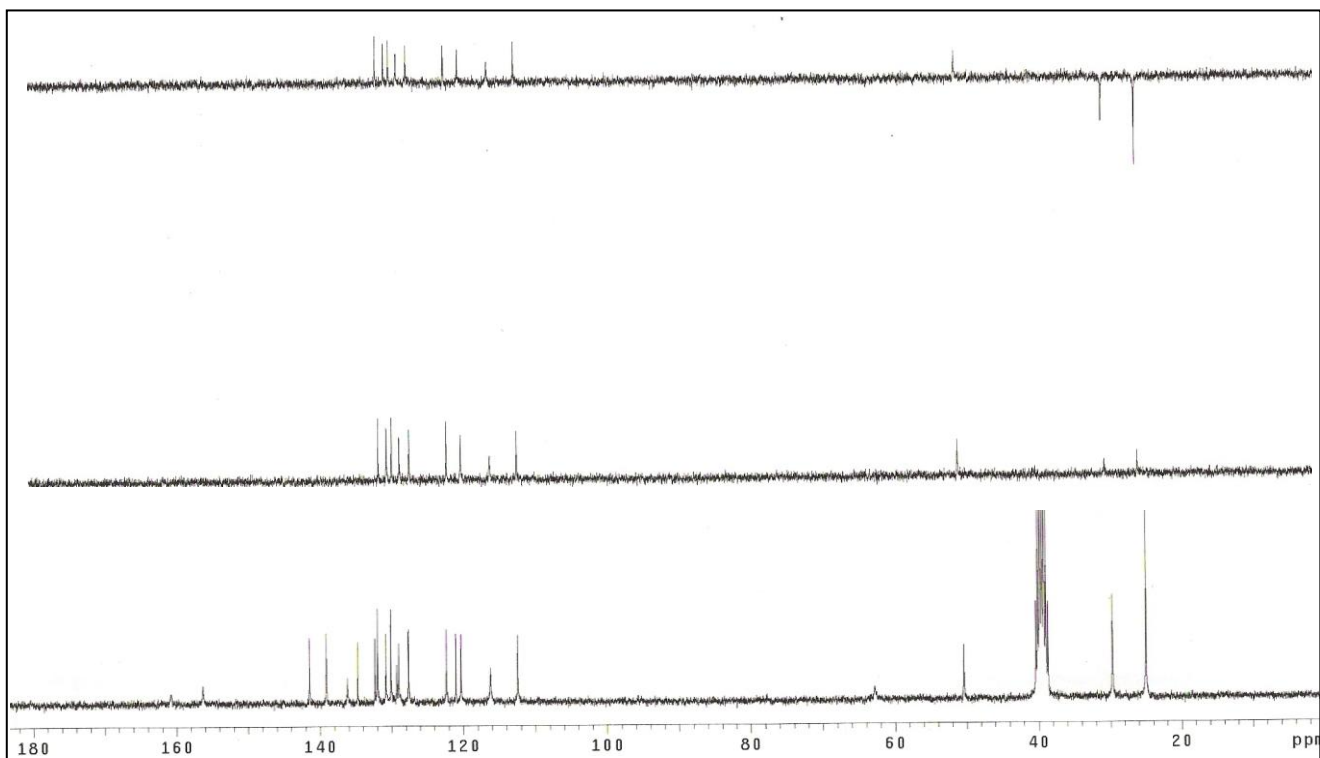
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	139,1
4CH	8,88 (s)	116,2
4aC ₀	-	132,3
4bC ₀	-	121,0
5CH	8,45 (d, 7,8)	122,3
6CH	7,30-7,36 (m)	120,3
7CH	7,57-7,65 (m)	127,6
8CH	7,57-7,65 (m)	112,5
8aC ₀	-	139,1
9NH	11,76 (s)	-
9aC ₀	-	136,2
1'C ₀	-	134,7
2'C ₀	-	129,2
3' CH	7,70-7,77 (m)	130,0
4' CH	7,70-7,77 (m)	131,9
5'CH	7,57-7,65 (m)	129,0
6'CH	7,57-7,65 (m)	130,8
2'' (C=O)	-	160,8
5'' (C=N)	-	156,3
6'' CH ₂	5,55 (s)	62,8
7'' NH	9,50 (s)	-
8'' CH	3,58 (sl)	50,4
9''/13'' CH ₂	1,72 (d, 9,6) 1,14-1,30 (m)	29,7
10''/12'' CH ₂	1,72 (d,9,6) 1,60 (d,12,0) 1,14-1,30 (m)	25,0
11'' CH ₂	1,05 (t, 6,6)	25,0



FM: C₂₆H₂₄N₅O₂Cl
MM: 473.16 g/mol

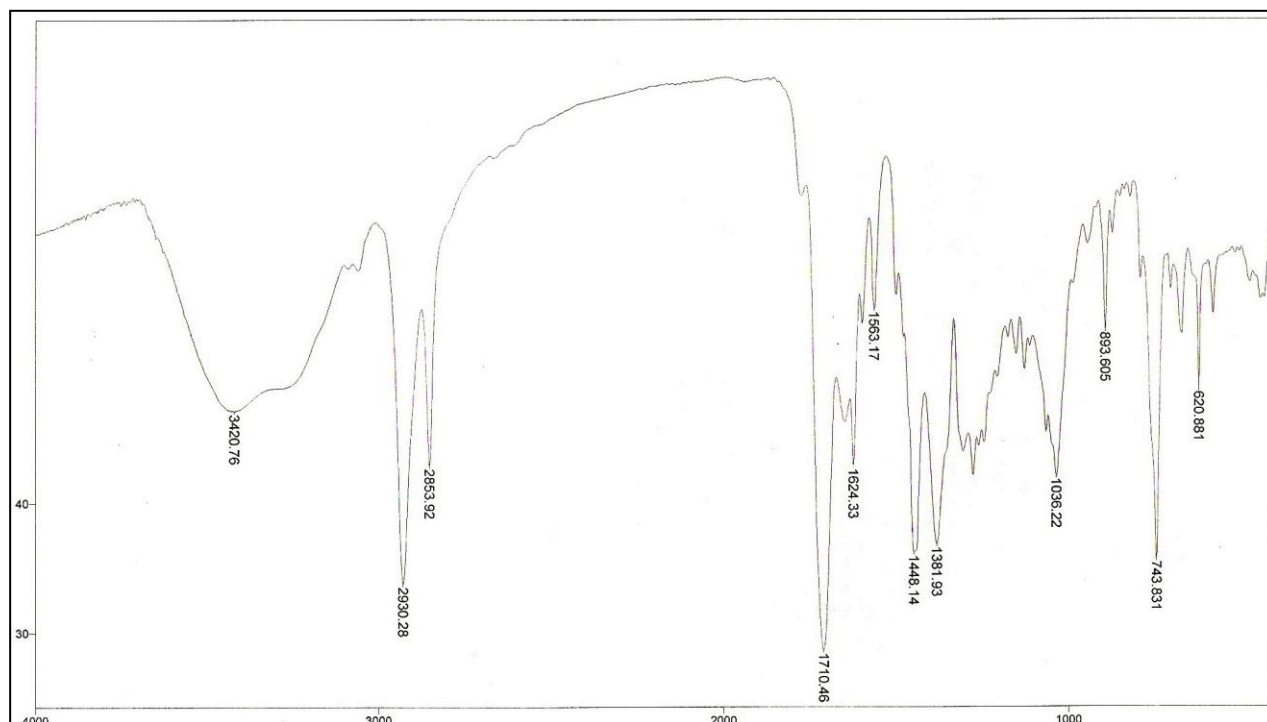


ERMN ¹H-18: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90c**.

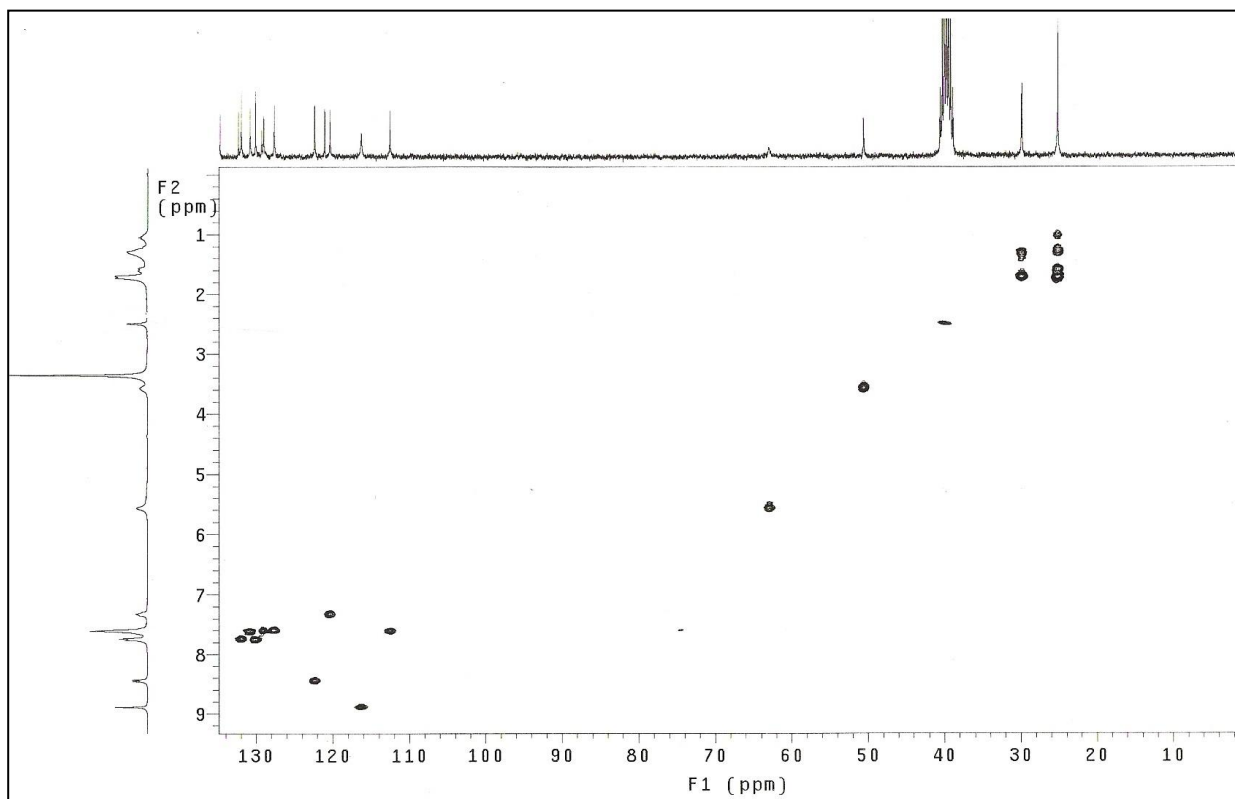


ERMN ¹³C-18: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90c**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1710 cm⁻¹ (C=O); 1624 cm⁻¹ (C=N) e 743 (indol)

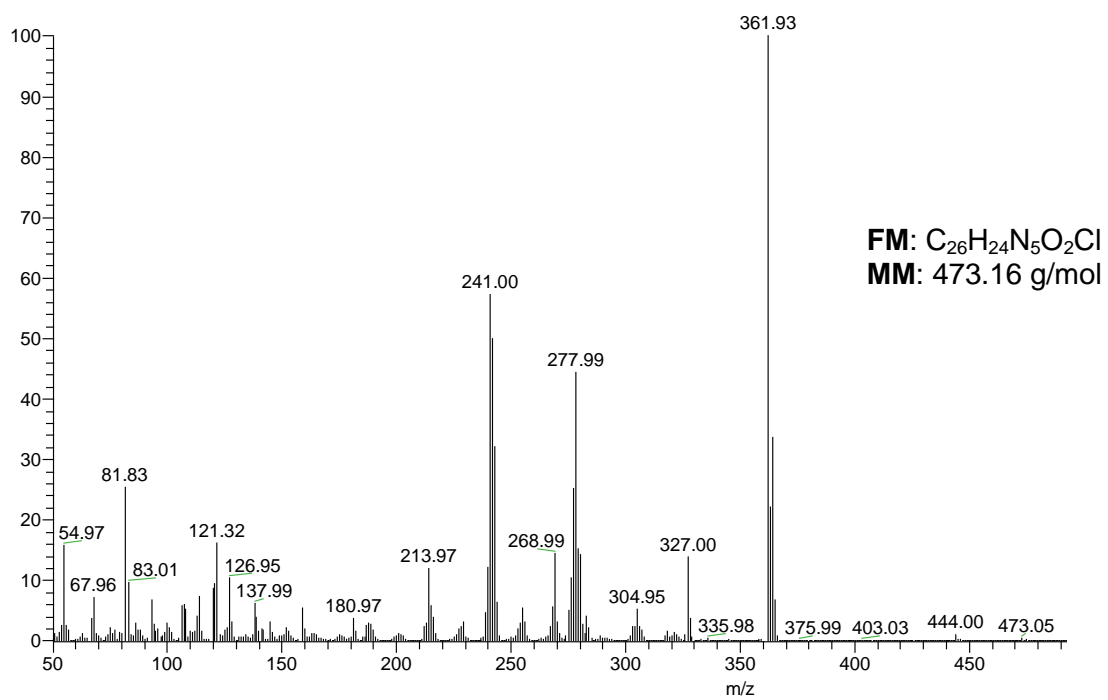


EIV-18: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **90c**.



EHSQC-18: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **90c**.

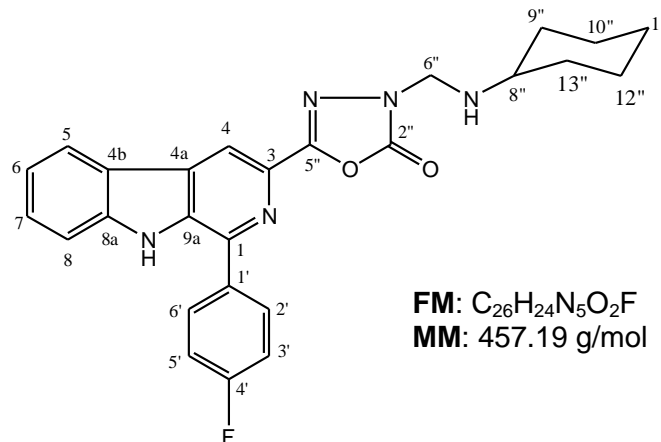
EI-MS- m/z (%): 473.05 (M^+ , 5), 241.00 (60), 277.99 (40), 361.93 (100).



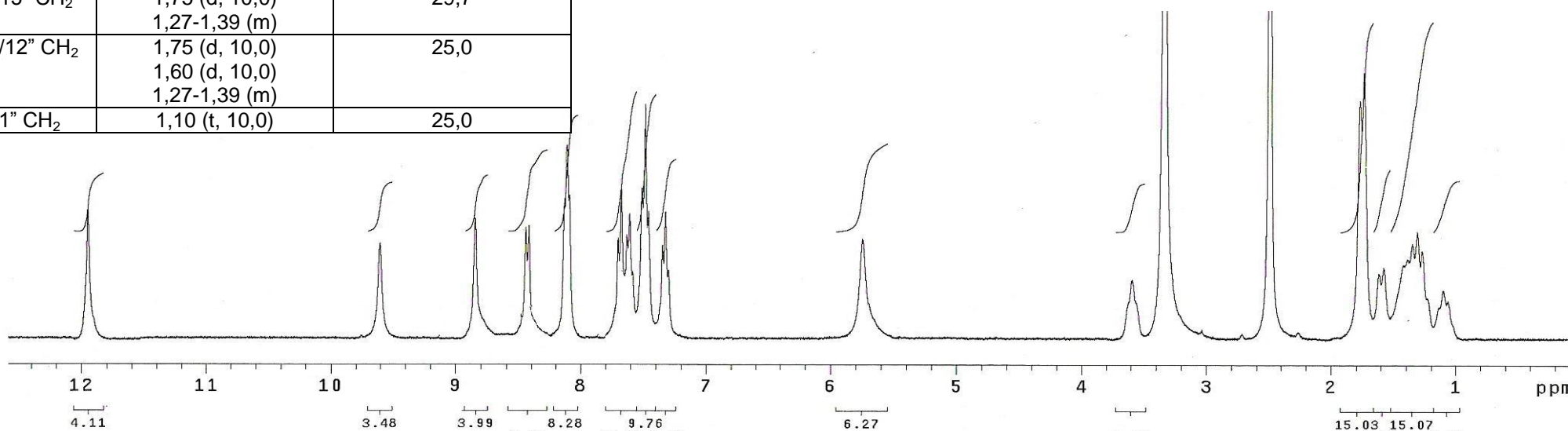
EI-MS- 18: Espectro de massas do composto **90c**.

ANEXO 19: 1-(4'-flúorfenil)-3-[2''-oxo-3''-(cicloexilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β-carbolina (**90d**).

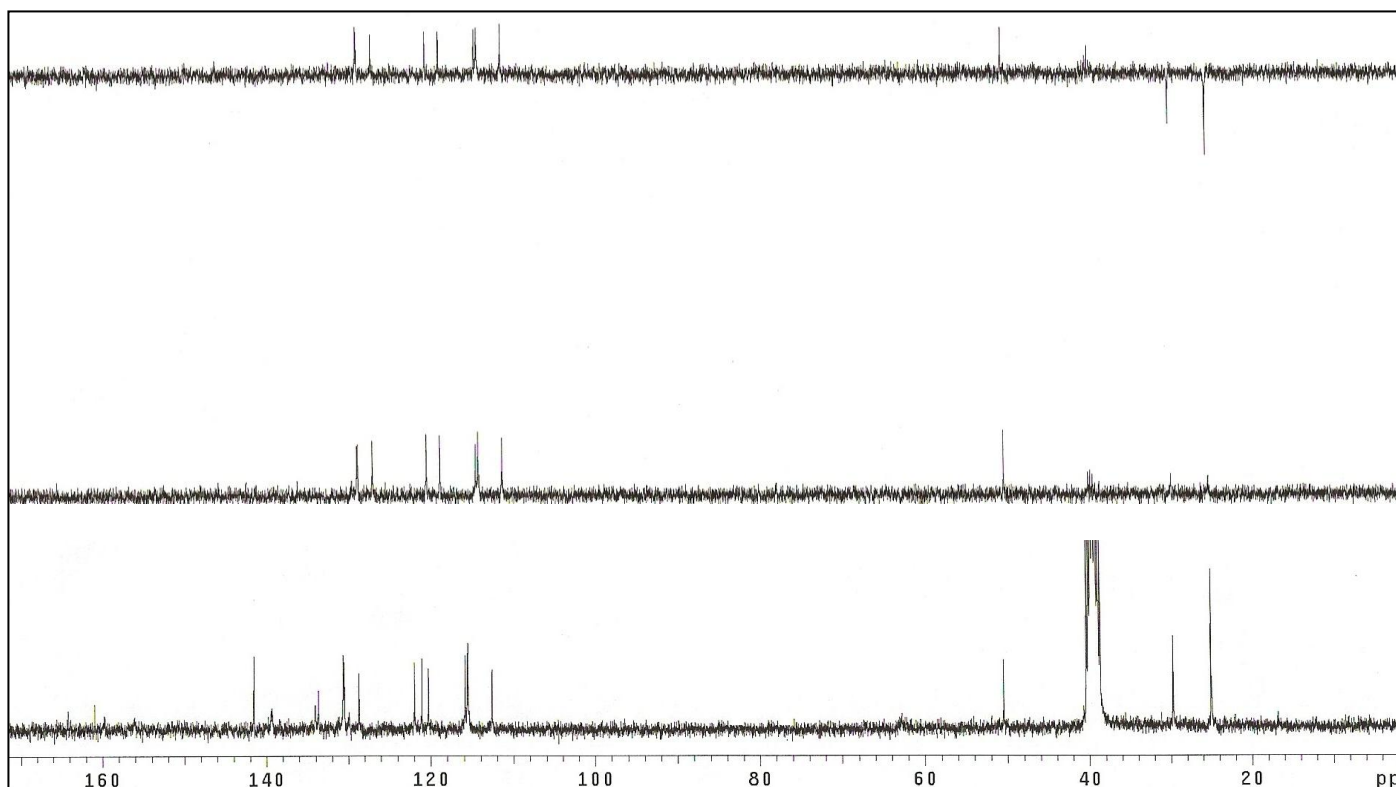
C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1C ₀	-	141,5
2N	-	-
3C ₀	-	139,4
4CH	8,85 (s)	115,8
4aC ₀	-	129,9
4bC ₀	-	121,0
5CH	8,43 (d, 7,5)	121,9
6CH	7,32 (t, 7,5)	120,2
7CH	7,61 (t, 7,5)	128,7
8CH	7,69 (t, 7,5)	112,6
8aC ₀	-	139,4
9NH	11,95 (s)	-
9aC ₀	-	134,0
1'C ₀	-	133,6
2'/6' CH	8,11 (t, 8,1)	130,6/130,5 (d, 8,3)
3'/5' CH	7,48 (t, 8,1)	115,5/115,4 (d, 7,5)
4'C ₀	-	164,2/160,9 (d, 246,7)
2'' (C=O)	-	159,7
5'' (C=N)	-	156,0
6'' CH ₂	5,74 (sl)	62,8
7'' NH	9,60 (s)	-
8'' CH	3,59 (t, 10,0)	50,5
9''/13'' CH ₂	1,75 (d, 10,0) 1,27-1,39 (m)	29,7
10''/12'' CH ₂	1,75 (d, 10,0) 1,60 (d, 10,0) 1,27-1,39 (m)	25,0
11'' CH ₂	1,10 (t, 10,0)	25,0



FM: C₂₆H₂₄N₅O₂F
MM: 457.19 g/mol

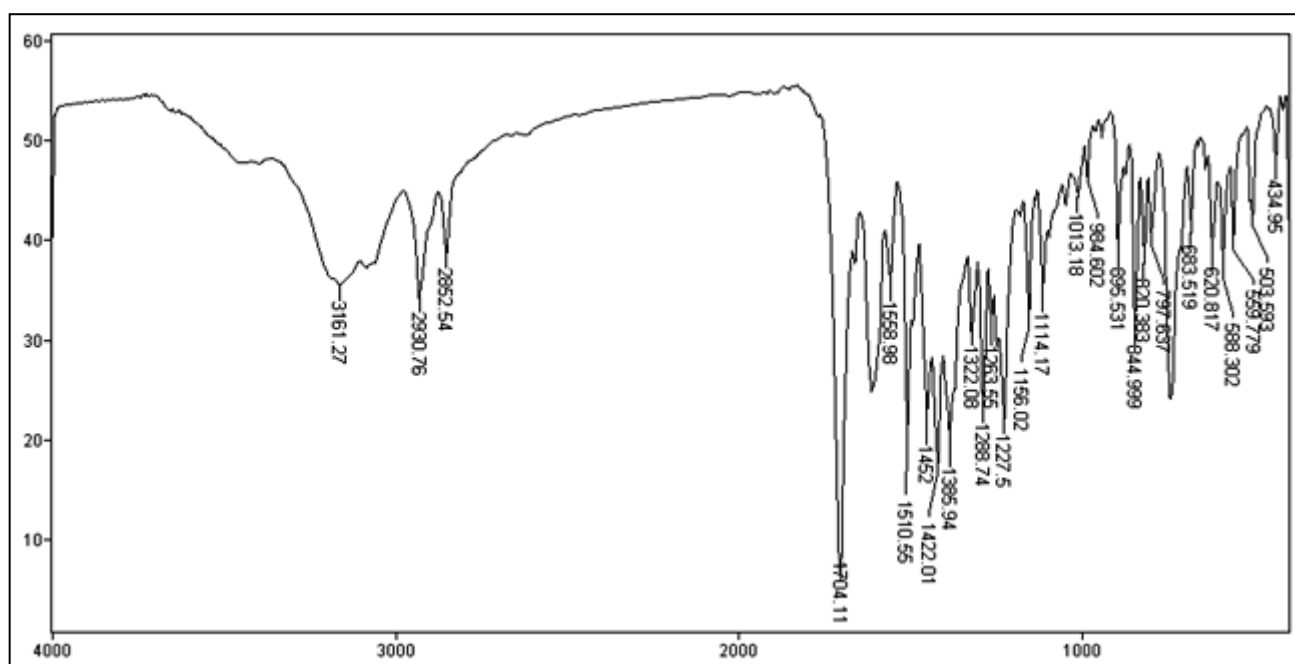


ERMN ¹H-19: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90d**.

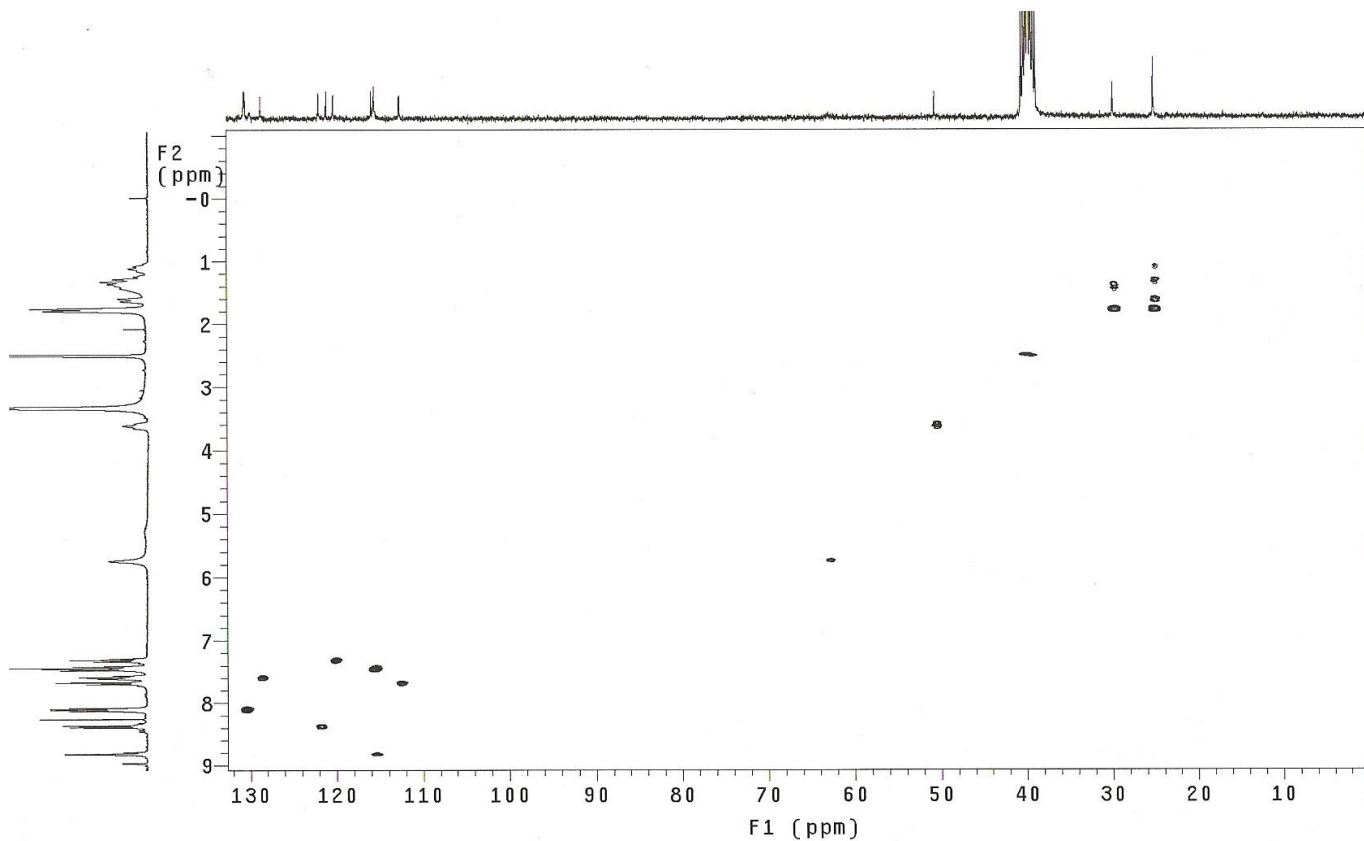


ERMN ¹³C-19: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **90d**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3161 (NH), 2930 e 2853 (CH), 1704 cm⁻¹ (C=O); 1610 cm⁻¹ (C=N) e 736 (indol)

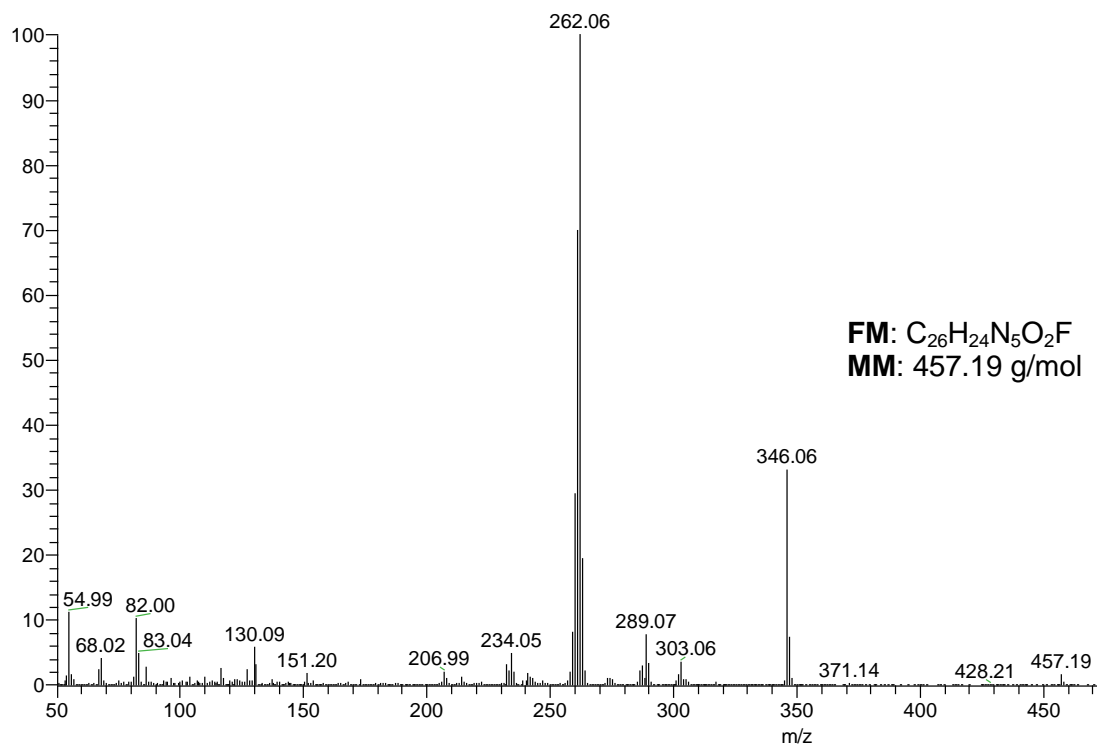


EIV-19: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **90d**.



EHSQC-19: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **90d**.

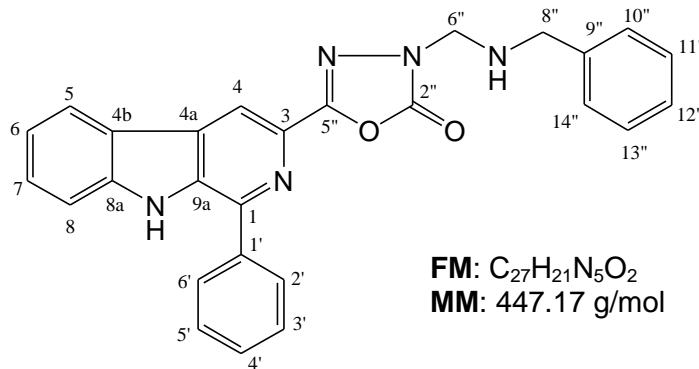
EI-MS- m/z (%): 457.19 (M^+ , 5), 346.06 (30), 289.07 (10), 262.06 (100).



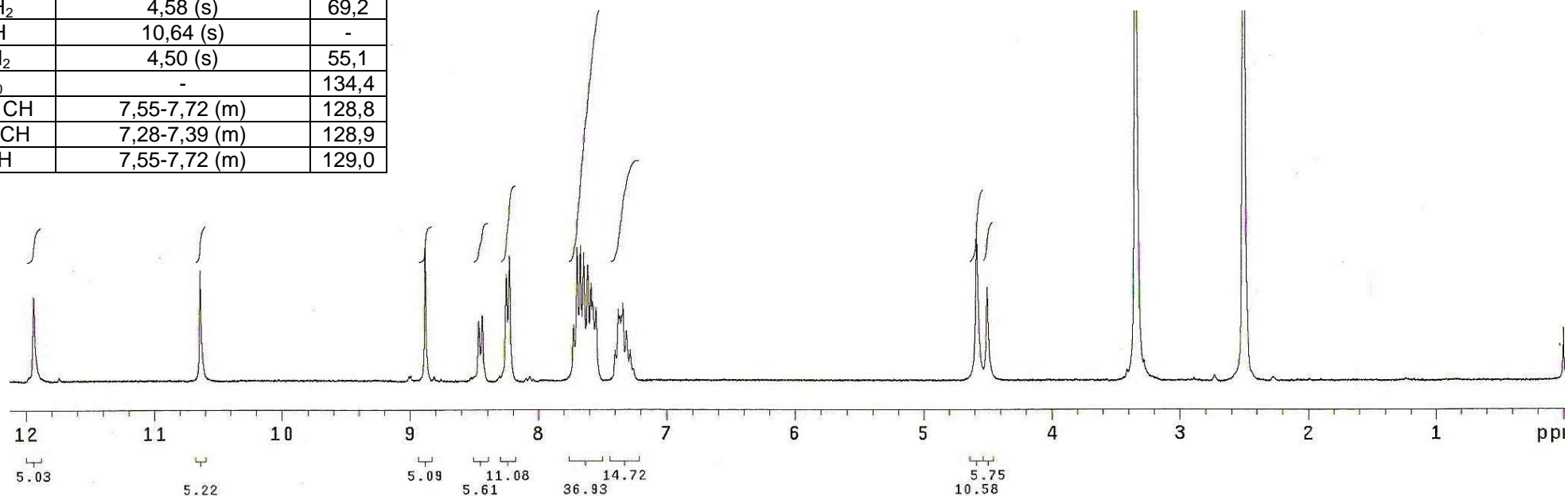
EI-MS- 19: Espectro de massas do composto **90d**.

ANEXO 20: 1-fenil-3-[2"-oxo-3"-(benzilaminometil)-1",3",4"-oxadiazol-5"-il] β -carbolina (**91a**).

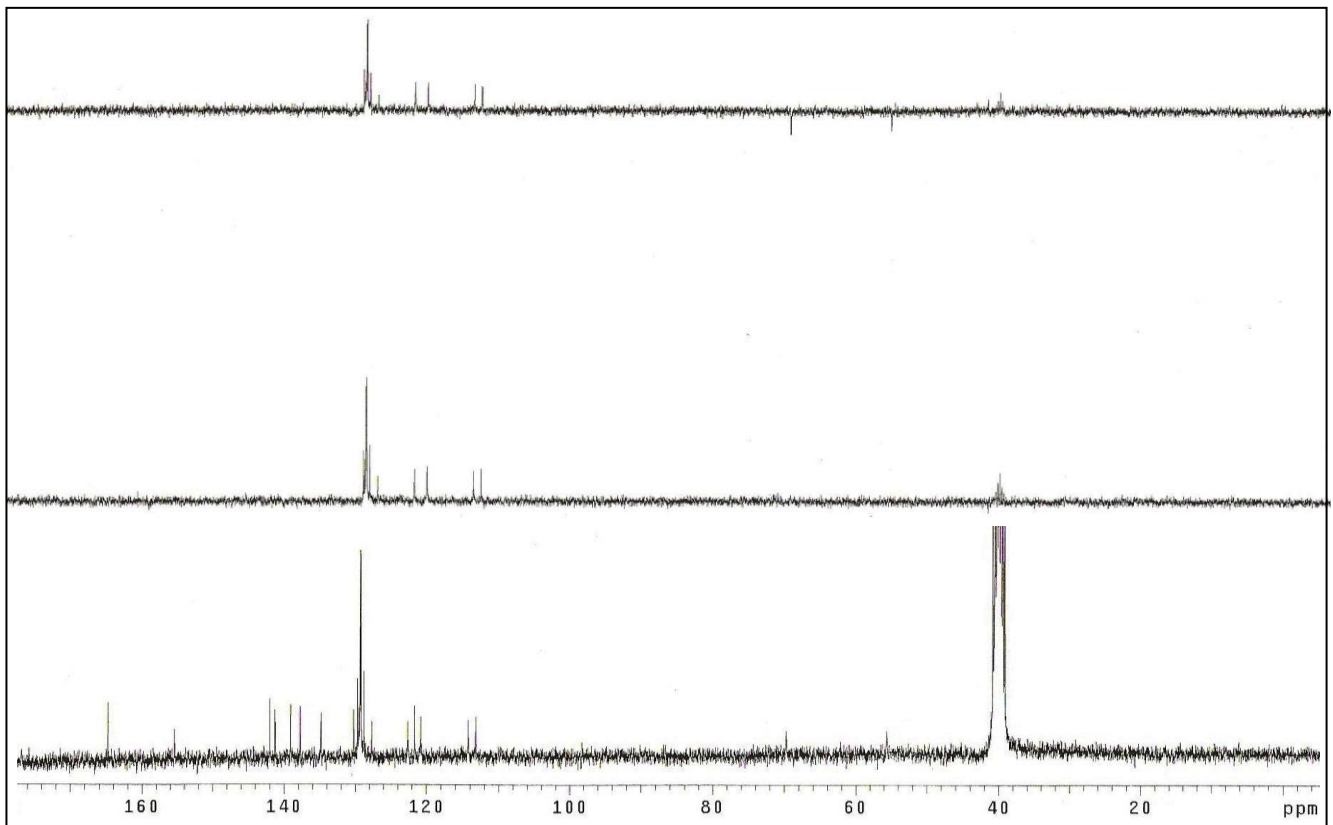
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,5
2N	-	-
3C ₀	-	138,7
4CH	8,88 (s)	113,8
4aC ₀	-	129,2
4bC ₀	-	121,2
5CH	8,45 (d, 7,8)	122,1
6CH	7,28-7,39 (m)	120,3
7CH	7,55-7,72 (m)	127,2
8CH	7,55-7,72 (m)	112,7
8aC ₀	-	140,8
9NH	11,94 (s)	-
9aC ₀	-	137,3
1'C ₀	-	129,7
2'/6' CH	8,24 (d, 7,2)	128,8
3'/5' CH	7,55-7,72 (m)	128,9
4'CH	7,55-7,72 (m)	128,3
2" (C=O)	-	164,3
5" (C=N)	-	154,9
6" CH ₂	4,58 (s)	69,2
7"NH	10,64 (s)	-
8"CH ₂	4,50 (s)	55,1
9"C ₀	-	134,4
10"/14" CH	7,55-7,72 (m)	128,8
11"/13"CH	7,28-7,39 (m)	128,9
12"CH	7,55-7,72 (m)	129,0



FM: C₂₇H₂₁N₅O₂
MM: 447.17 g/mol

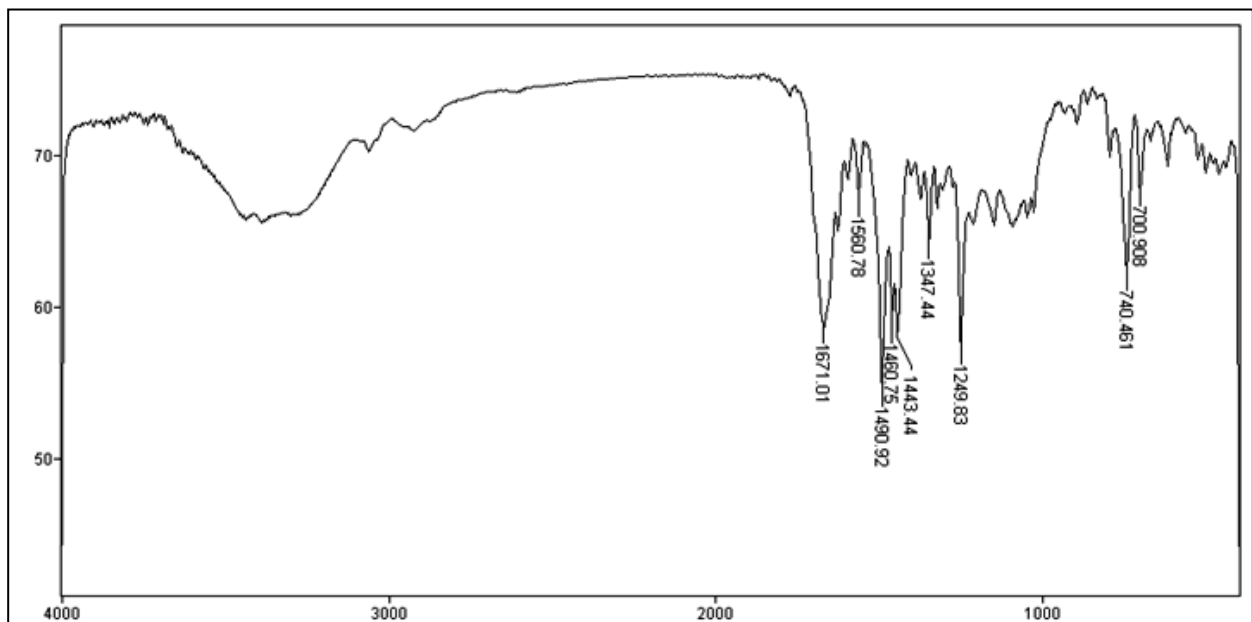


ERMN ¹H-20: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **91a**.

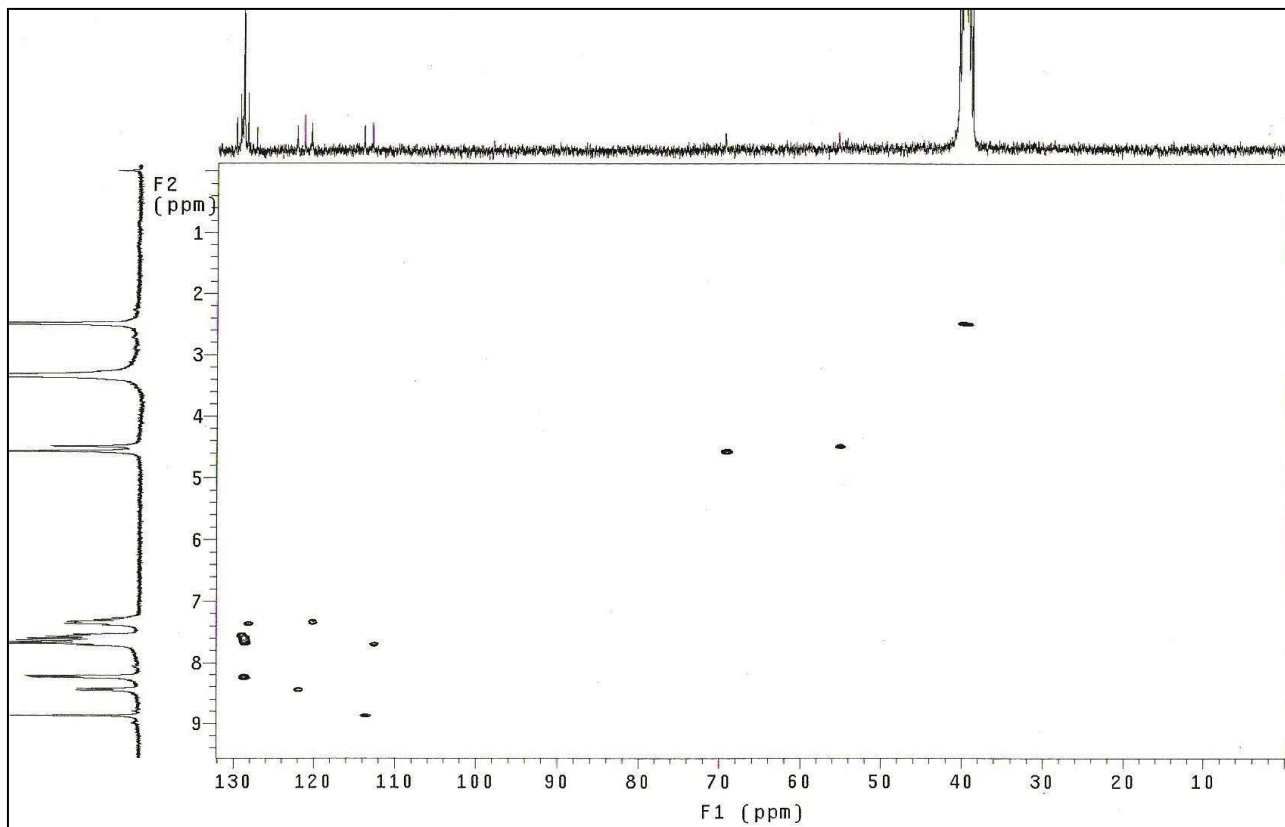


ERMN ¹³C-20: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-d₆) do composto **91a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1671 cm⁻¹ (C=O) e 740 (indol)

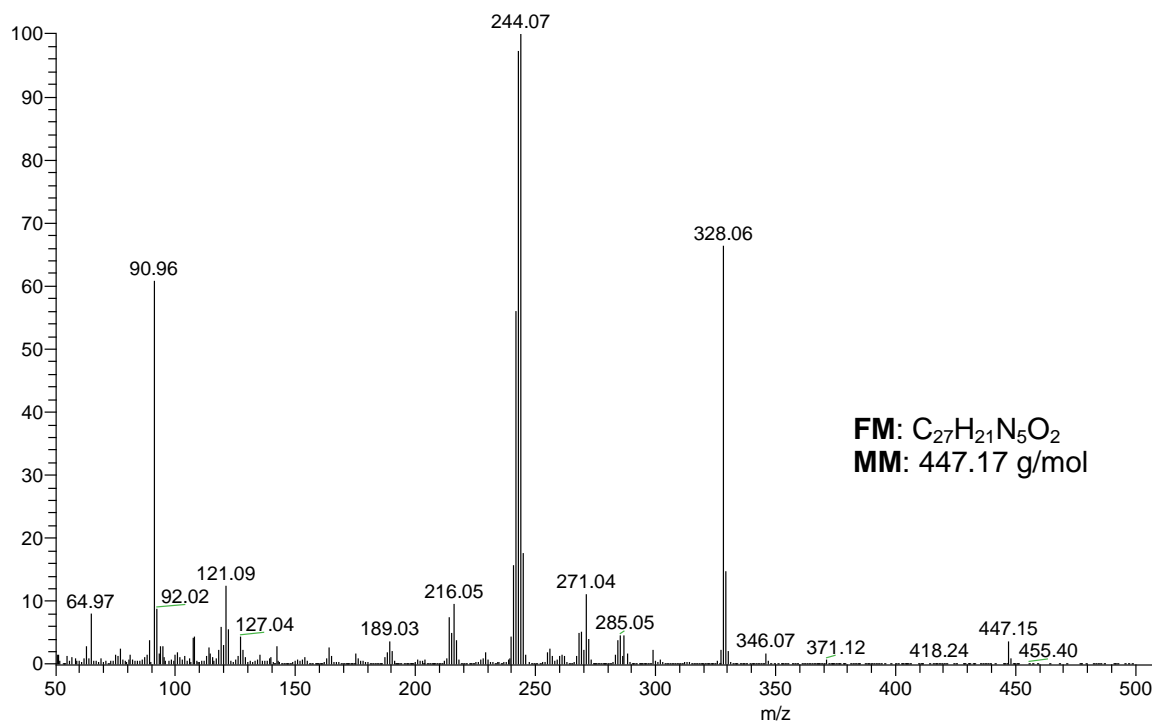


EIV-20: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **91a**.



EHSQC-20: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **91a**.

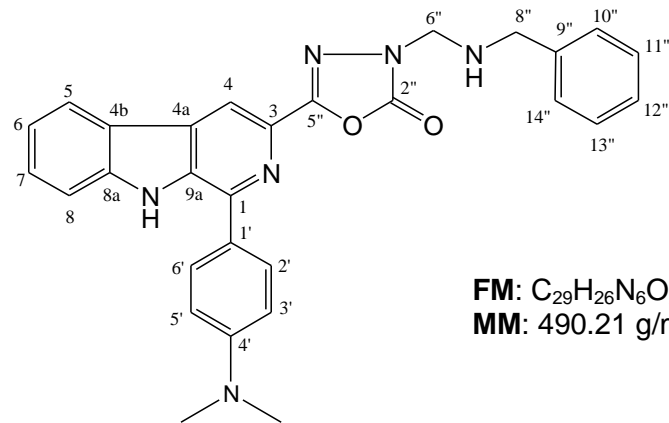
EI-MS- m/z (%): 447.15 (M^+ , 5), 271.04 (10), 90.96 (60), 328.06 (70), 244.07 (100).



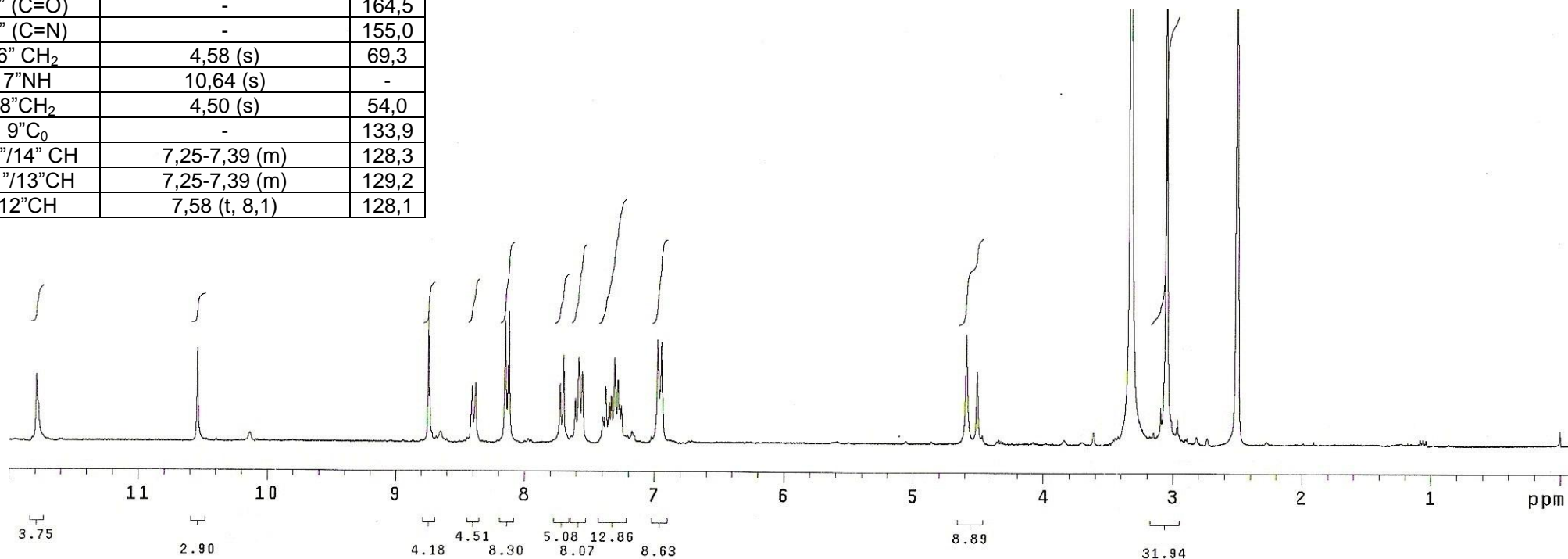
EI-MS- 20: Espectro de massas do composto **91a**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	138,7
4CH	8,74 (s)	112,7
4aC ₀	-	124,8
4bC ₀	-	121,3
5CH	8,39 (d, 7,8)	121,9
6CH	7,25-7,39 (m)	120,2
7CH	7,58 (t, 8,1)	127,2
8CH	7,71 (d, 8,1)	112,4
8aC ₀	-	141,3
9NH	11,79 (s)	-
9aC ₀	-	138,4
1'C ₀	-	129,2
2'/6' CH	8,13 (d, 8,7)	129,7
3'/5' CH	6,96 (d, 8,7)	112,0
4'C ₀	-	150,8
N(CH ₃) ₂	3,05 (s)	40,0
2'' (C=O)	-	164,5
5'' (C=N)	-	155,0
6'' CH ₂	4,58 (s)	69,3
7''NH	10,64 (s)	-
8''CH ₂	4,50 (s)	54,0
9''C ₀	-	133,9
10''/14'' CH	7,25-7,39 (m)	128,3
11''/13''CH	7,25-7,39 (m)	129,2
12''CH	7,58 (t, 8,1)	128,1

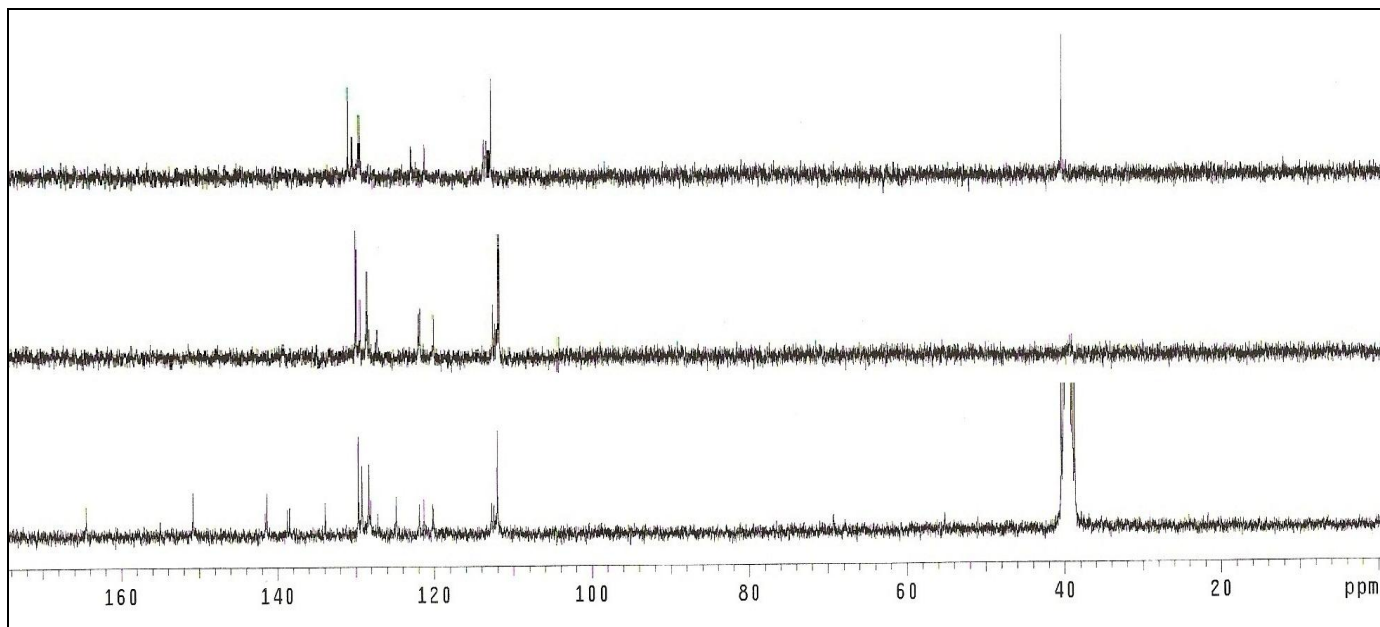
ANEXO 21: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-[2''-oxo-3''-(benzilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**91b**).



FM: C₂₉H₂₆N₆O₂
MM: 490.21 g/mol

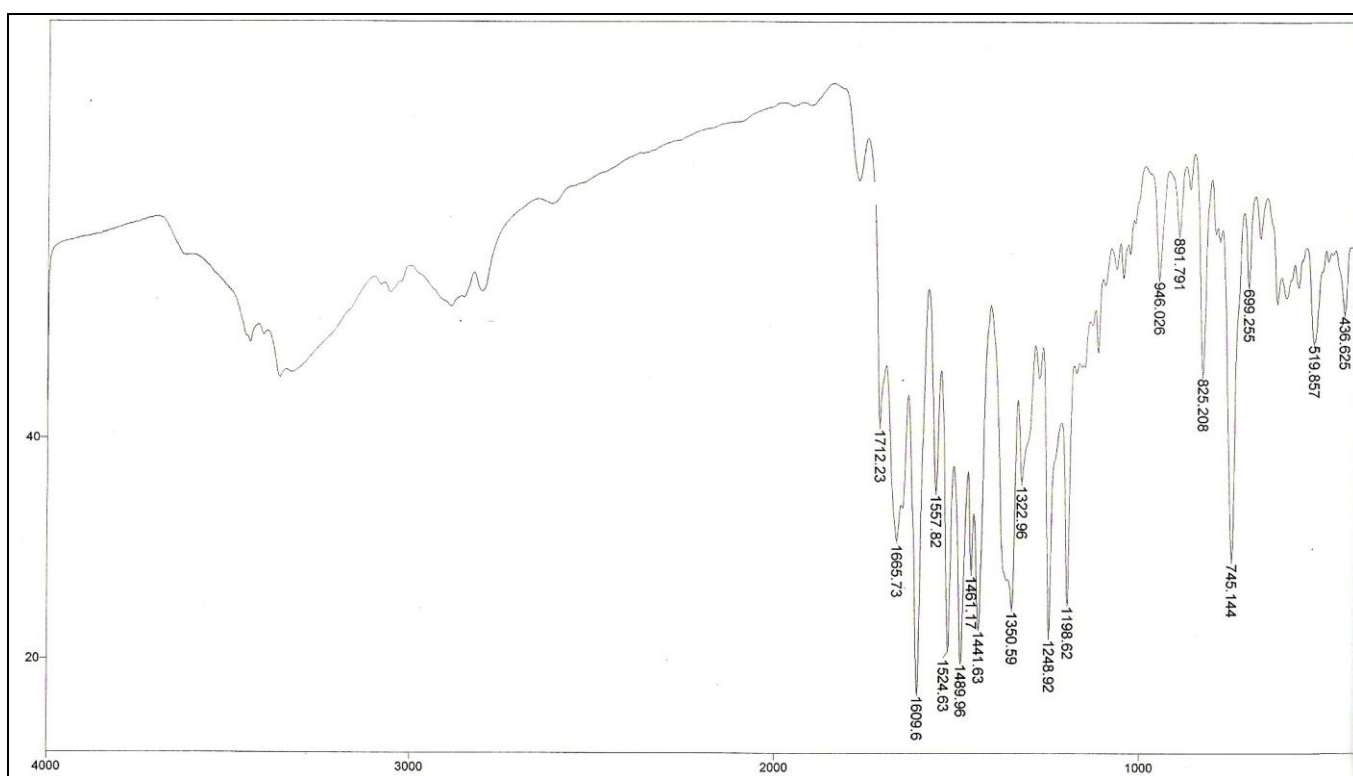


ERMN ¹H-21: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **91b**.

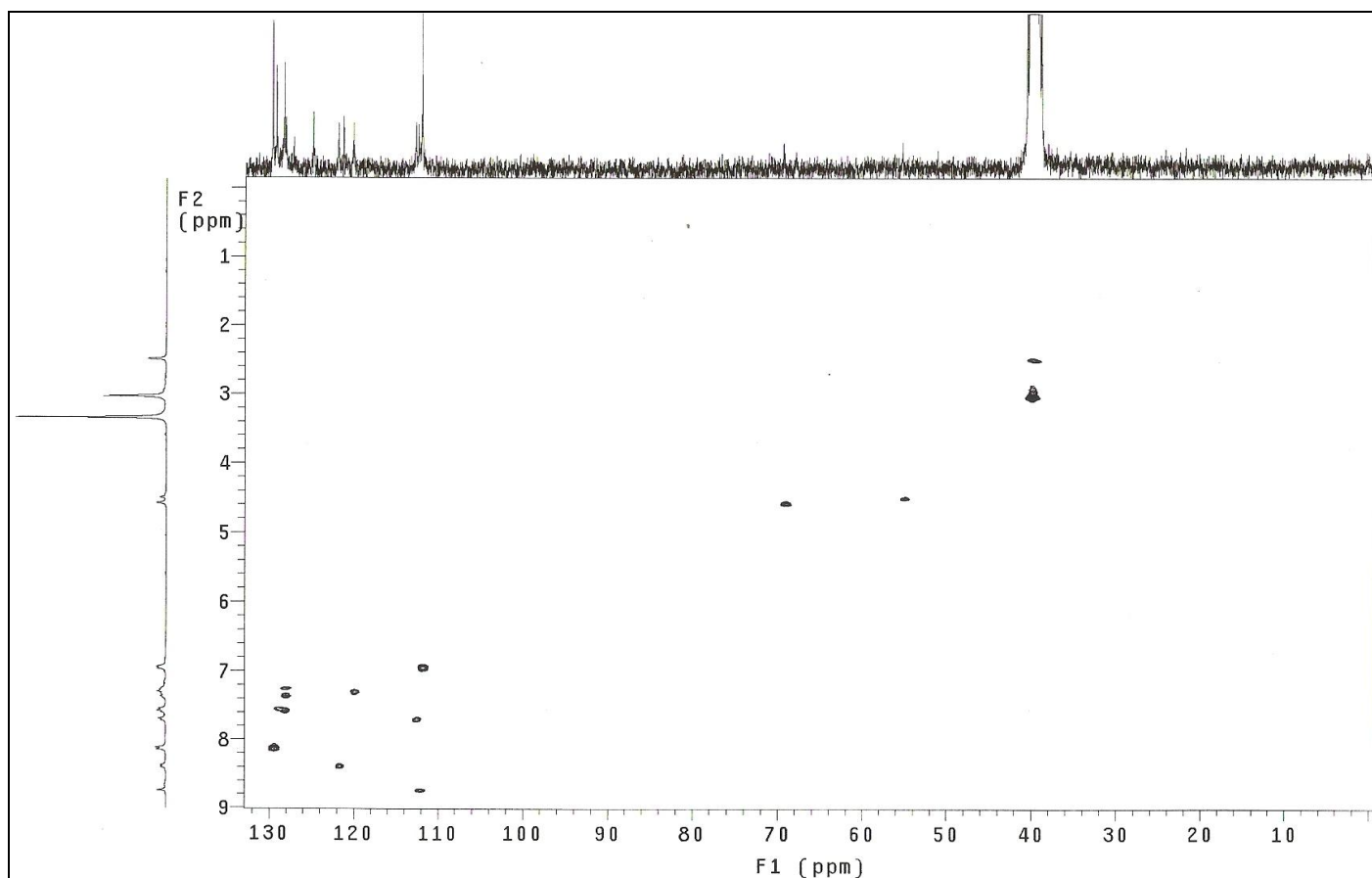


ERMN ^{13}C -21: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **91b**.

IV (ν , cm^{-1} ; KBr): 1712 cm^{-1} (C=O) e 1665 (C=N) e 745 (indol)

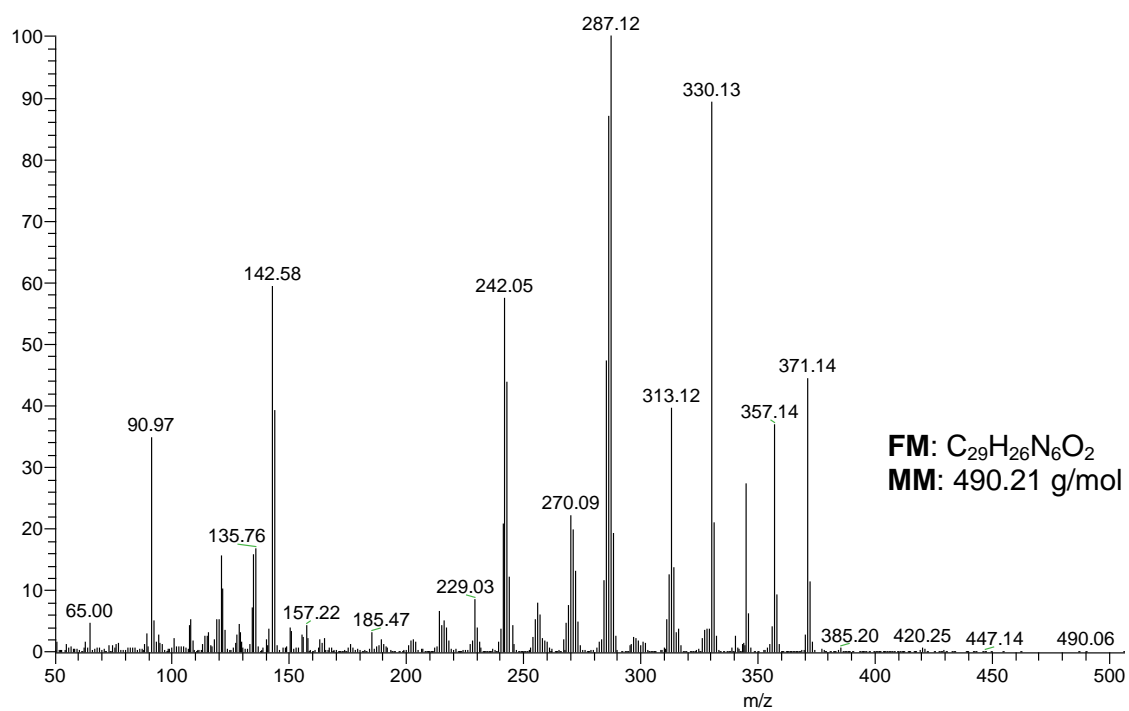


EIV-21: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **91b**.



EHSQC-21: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **91b**.

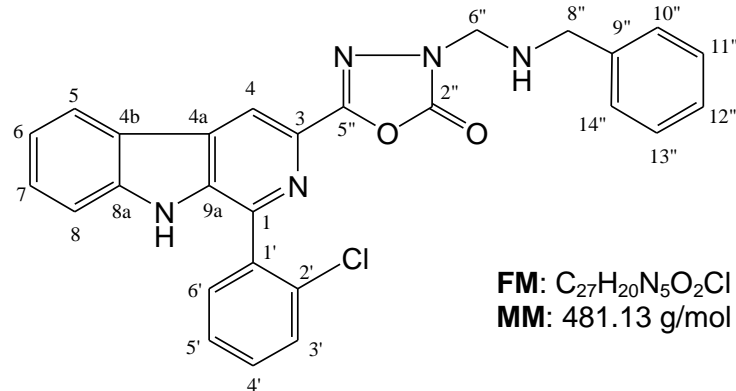
EI-MS- m/z (%): 490.06 (M^+ , 2), 371.14 (40), 330.13 (80), 242.05 (50), 287.12 (100).



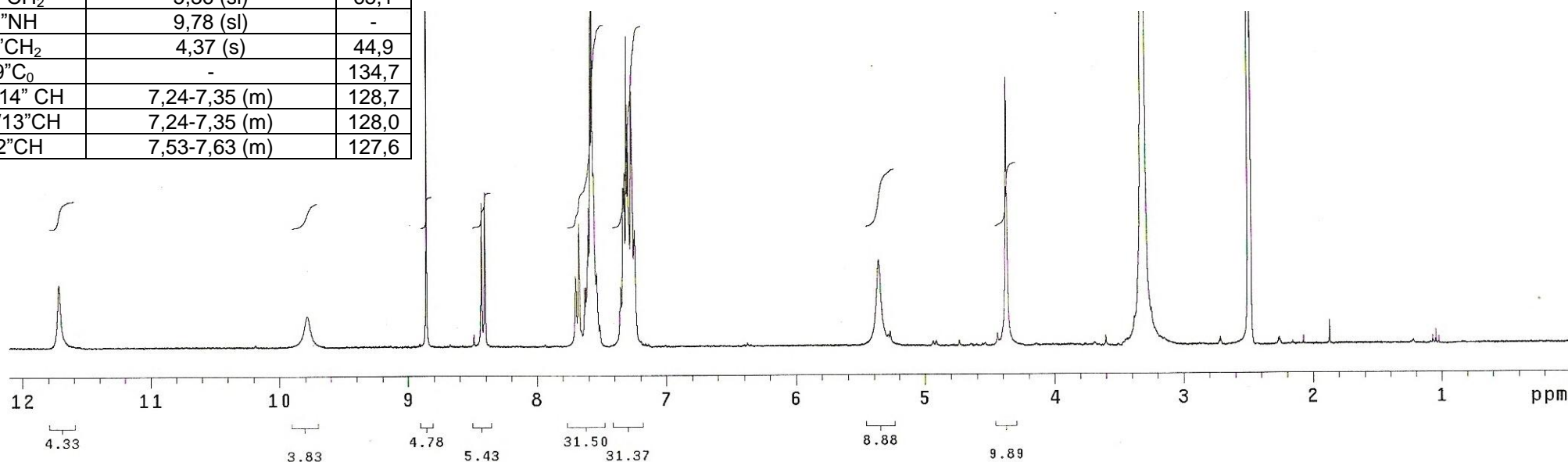
EI-MS- 21: Espectro de massas do composto **91b**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,4
2N	-	-
3C ₀	-	138,8
4CH	8,86 (s)	116,2
4aC ₀	-	128,9
4bC ₀	-	120,9
5CH	8,42 (d, 8,1)	122,3
6CH	7,24-7,35 (m)	120,3
7CH	7,53-7,63 (m)	127,5
8CH	7,53-7,63 (m)	112,4
8aC ₀	-	139,1
9NH	11,71 (s)	-
9aC ₀	-	136,0
1'C ₀	-	135,9
2'(C ₀)	-	129,9
3'(CH)	7,69 (d, 7,5)	130,6
4'(CH)	7,53-7,63 (m)	132,3
5'(CH)	7,53-7,63 (m)	129,1
6'(CH)	7,53-7,63 (m)	131,7
2'' (C=O)	-	158,7
5'' (C=N)	-	156,9
6'' CH ₂	5,36 (sl)	65,1
7''NH	9,78 (sl)	-
8''CH ₂	4,37 (s)	44,9
9''C ₀	-	134,7
10''/14'' CH	7,24-7,35 (m)	128,7
11''/13''CH	7,24-7,35 (m)	128,0
12''CH	7,53-7,63 (m)	127,6

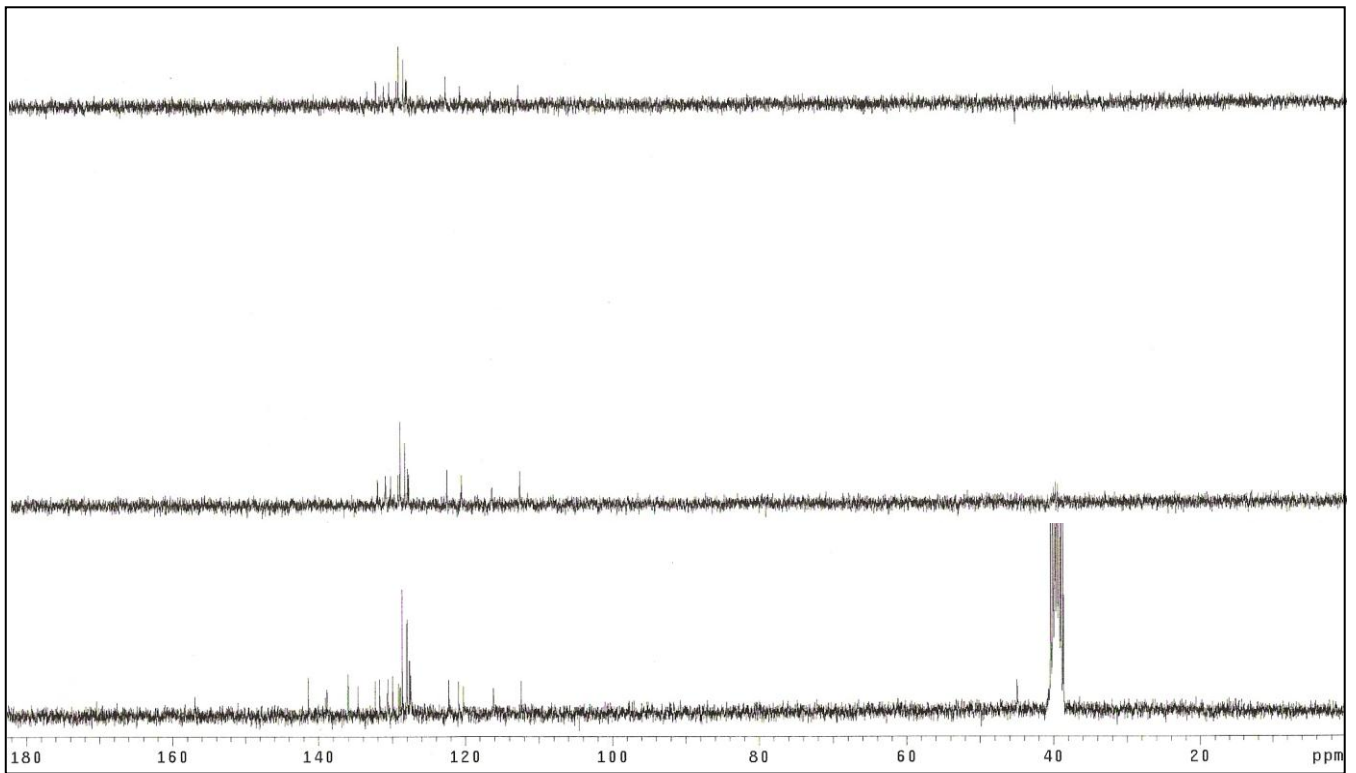
ANEXO 22: 1-(2'-clorofenil)-3-[2''-oxo-3''-(benzilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**91c**).



FM: C₂₇H₂₀N₅O₂Cl
MM: 481.13 g/mol

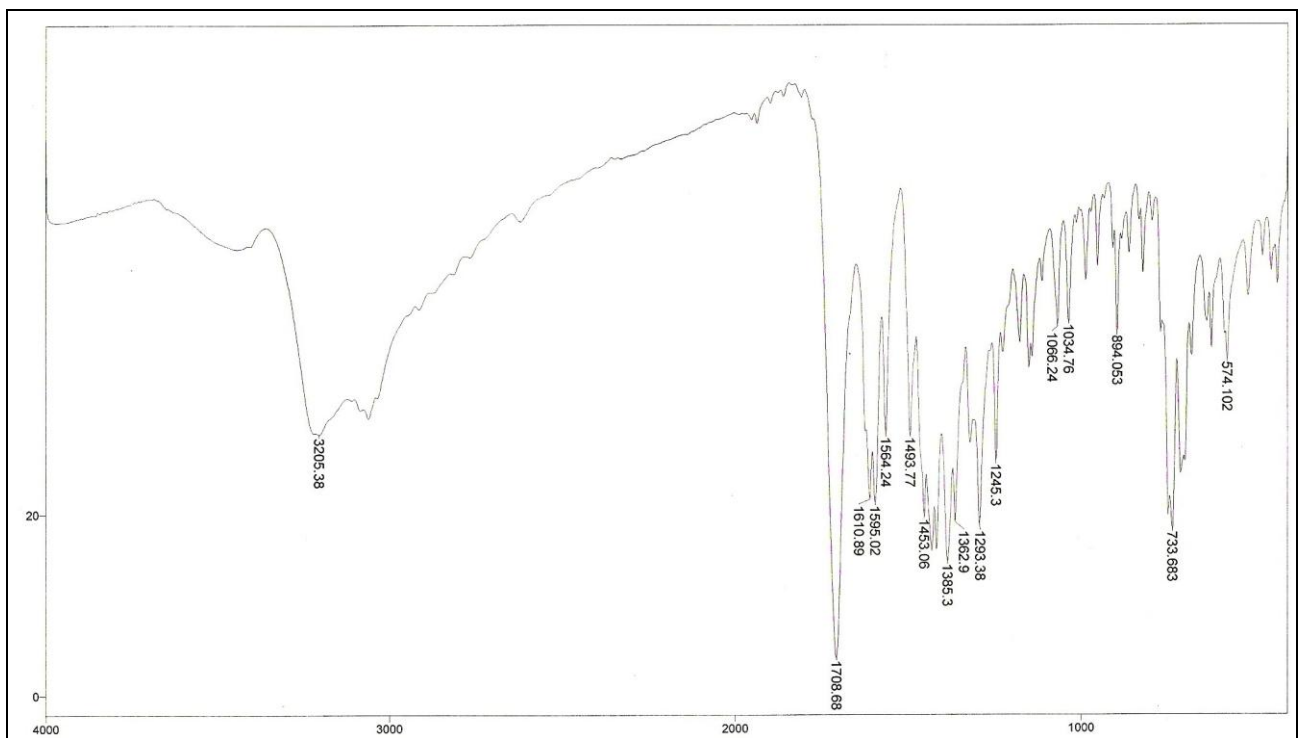


ERMN ¹H-22: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **91c**.

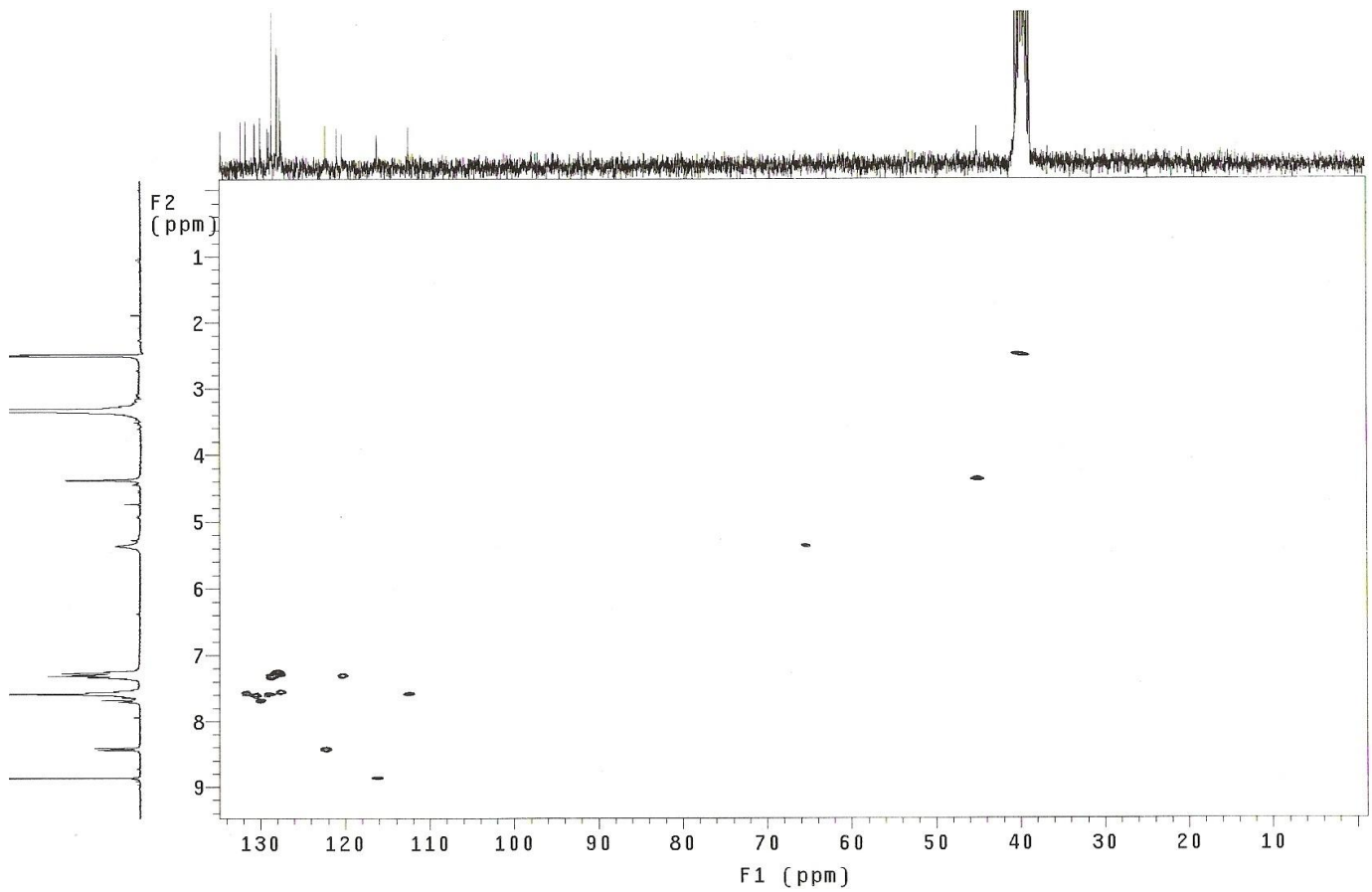


ERMN ¹³C-22: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **91c**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 3205 (NH), 1708 cm⁻¹ (C=O), 1610 (C=N) e 734 (indol)

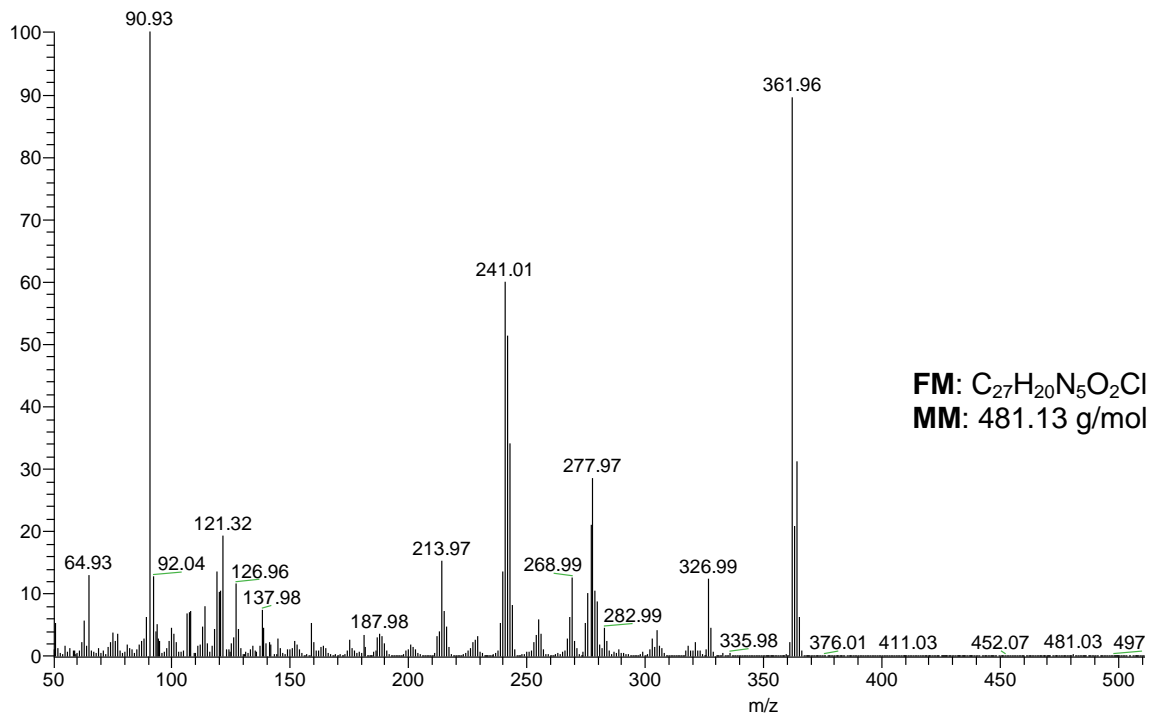


EIV-22: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **91c**.



EHSQC-22: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **91c**.

EI-MS- m/z (%): 481.03 (M^+ , 2), 361.96 (90), 277.97 (30), 241.01 (60), 90.93 (100).

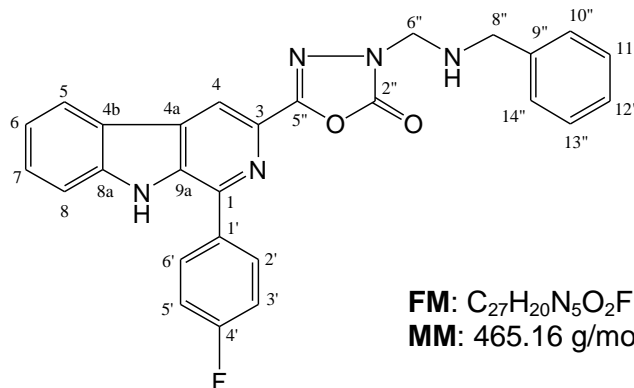


FM: $C_{27}H_{20}N_5O_2Cl$
MM: 481.13 g/mol

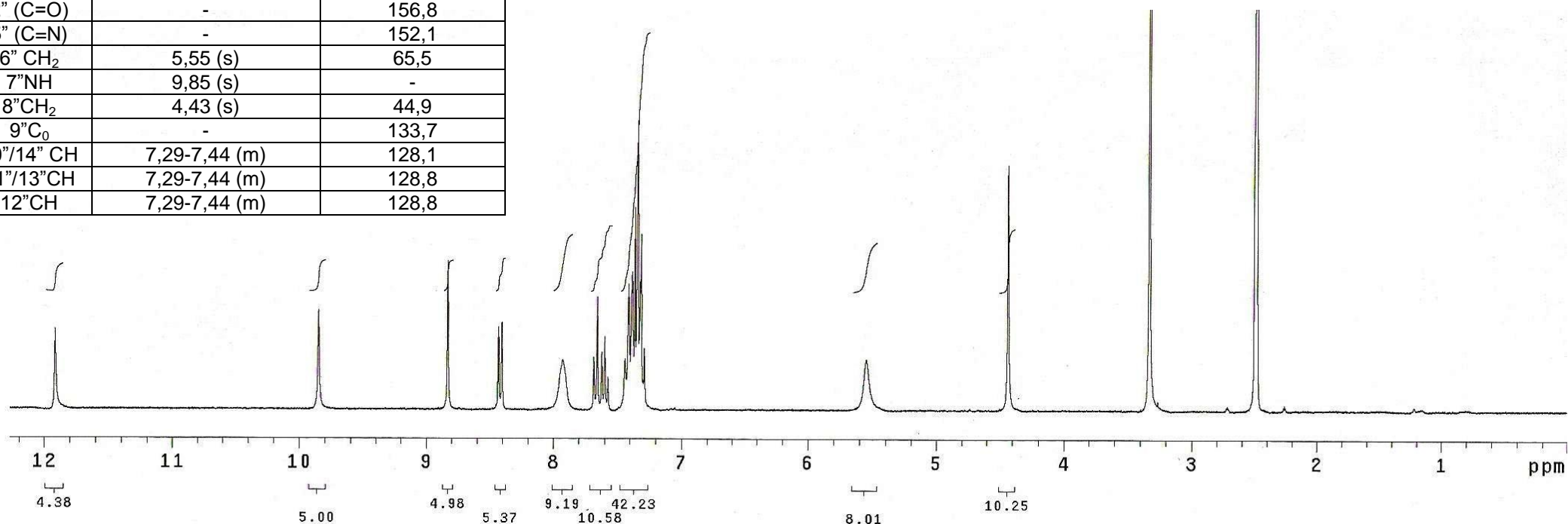
EI-MS- 22: Espectro de massas do composto **91c**.

ANEXO 23: 1-(4'-flúorfenil)-3-[2''-oxo-3''-(benzilaminometil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β-carbolina (**91d**).

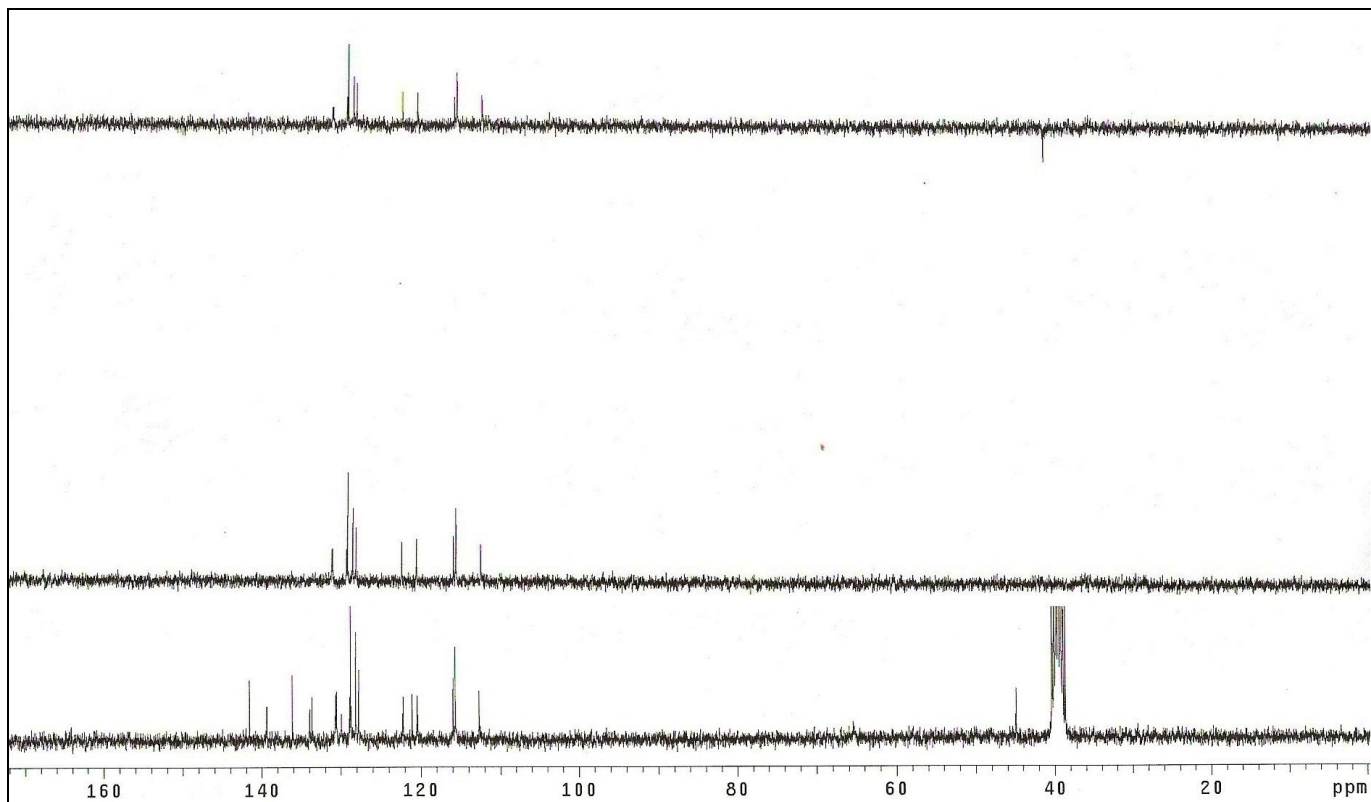
C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1C ₀	-	141,6
2N	-	-
3C ₀	-	136,1
4CH	8,83(s)	115,9
4aC ₀	-	128,9
4bC ₀	-	121,1
5CH	8,42 (d, 8,1)	122,2
6CH	7,29-7,44 (m)	120,4
7CH	7,60 (t, 81)	128,9
8CH	7,67 (t, 8,1)	112,7
8aC ₀	-	139,3
9NH	11,92 (s)	-
9aC ₀	-	133,9
1'C ₀	-	129,9
2'/6' CH	7,29-7,44 (m)	130,7/130,6 (8,3)
3'/5' CH	7,29-7,44 (m)	115,7
4'C ₀	-	*
2'' (C=O)	-	156,8
5'' (C=N)	-	152,1
6'' CH ₂	5,55 (s)	65,5
7''NH	9,85 (s)	-
8''CH ₂	4,43 (s)	44,9
9''C ₀	-	133,7
10''/14'' CH	7,29-7,44 (m)	128,1
11''/13''CH	7,29-7,44 (m)	128,8
12''CH	7,29-7,44 (m)	128,8



FM: C₂₇H₂₀N₅O₂F
MM: 465.16 g/mol

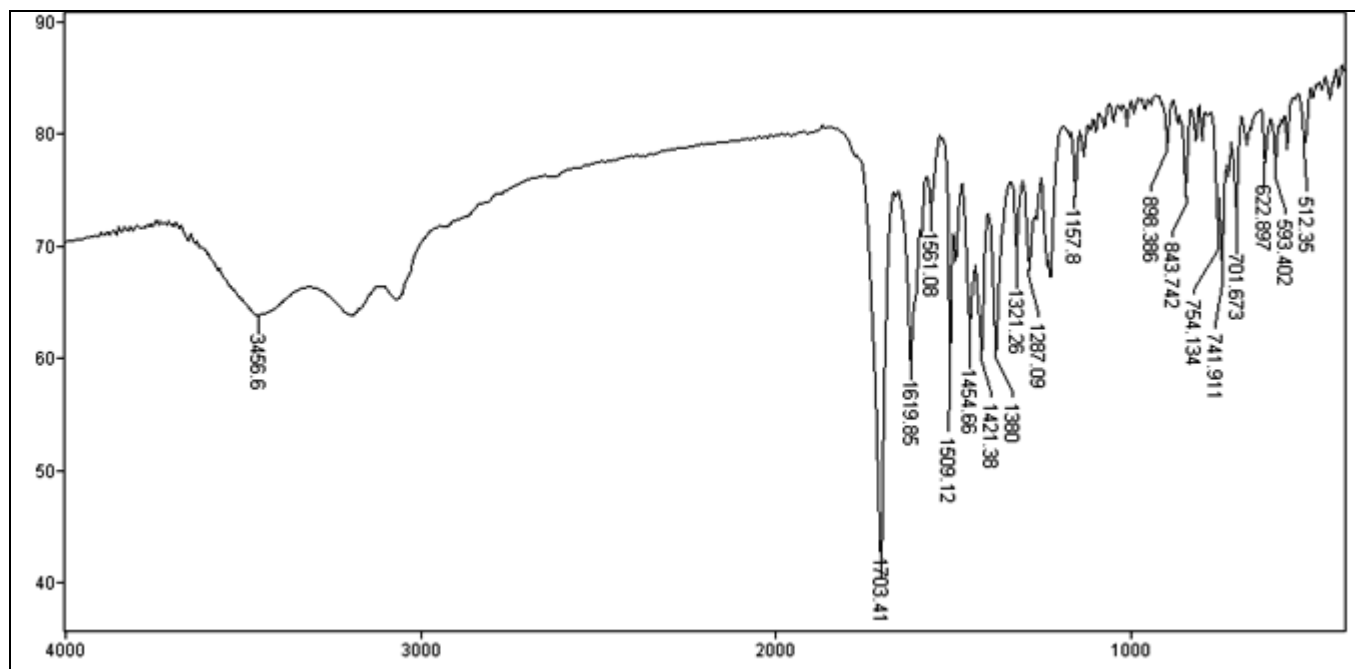


ERMN ¹H-23: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **91d**.

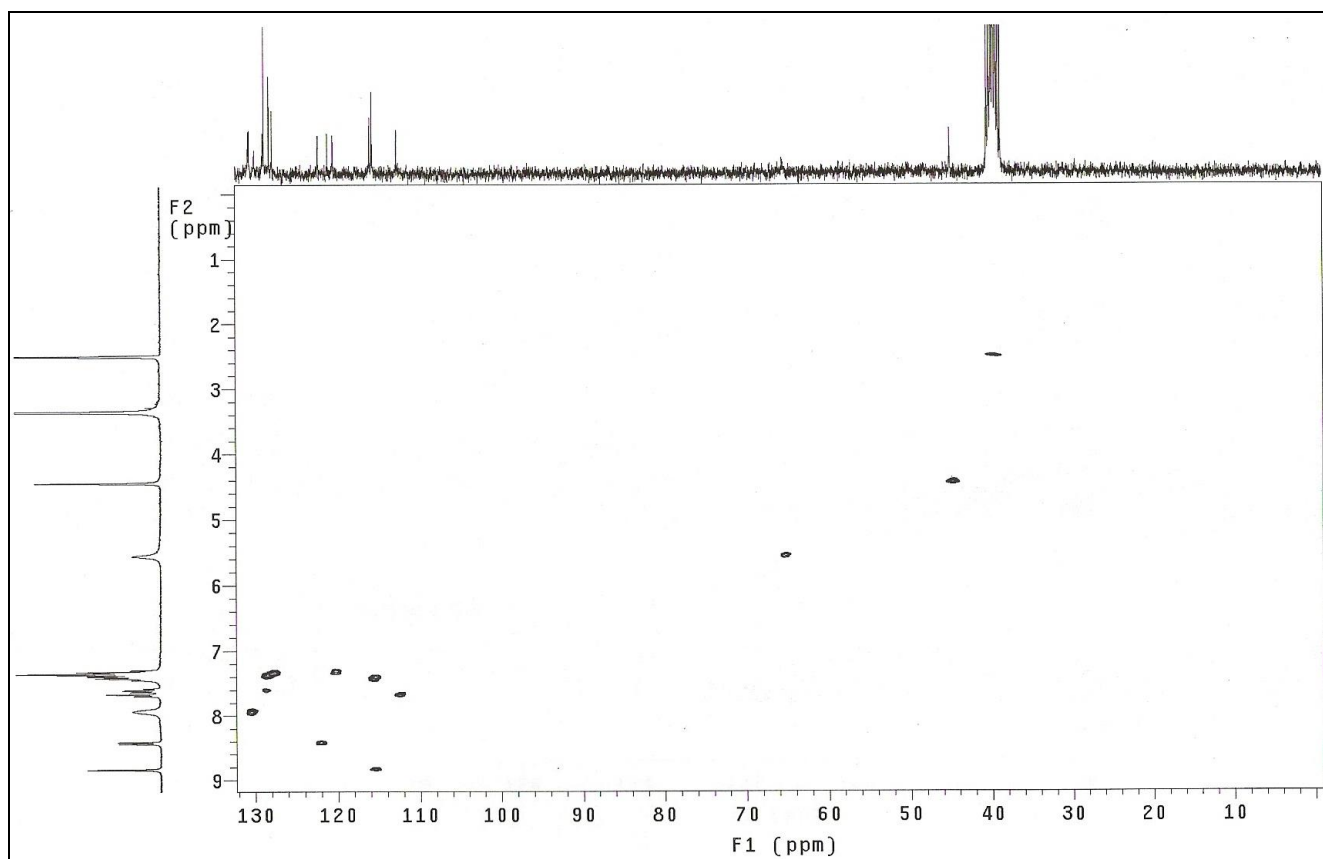


ERMN ^{13}C -23: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **91d**.

IV (ν , cm^{-1} ; KBr): 1703 cm^{-1} (C=O); 1619 cm^{-1} (C=N) e 742 (indol)

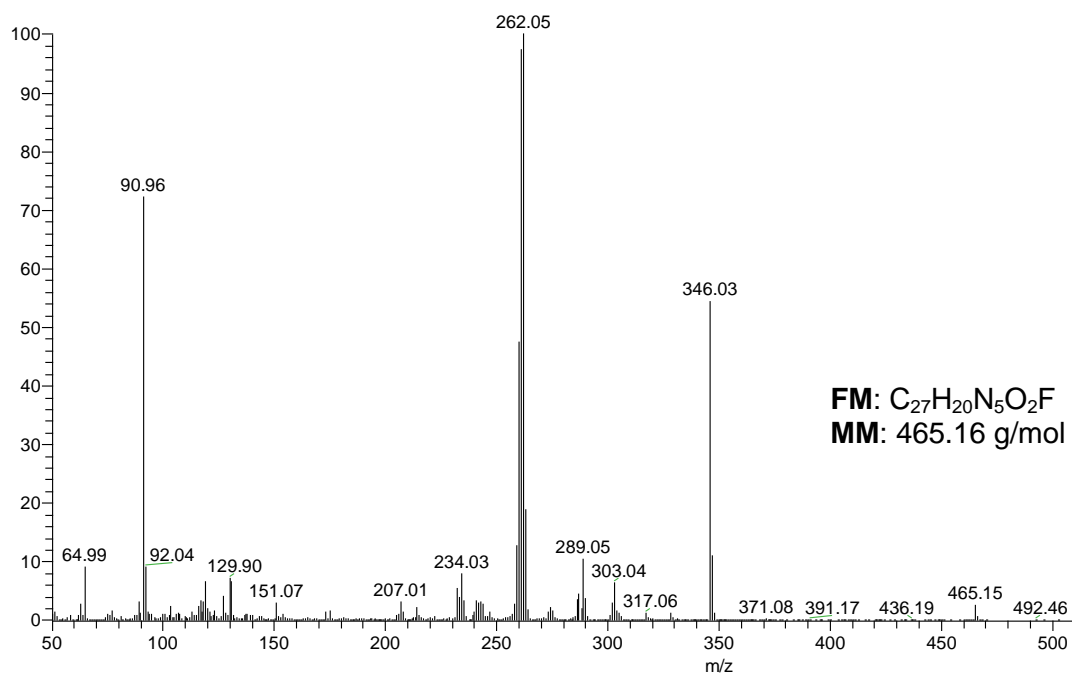


EIV-23: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **91d**.



EHSQC-23: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **91d**.

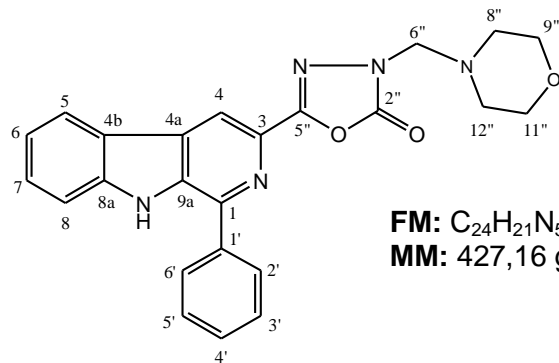
EI-MS- m/z (%): 465.15 (M^+ , 5), 346.03 (60), 90.96 (70), 262.05 (100).



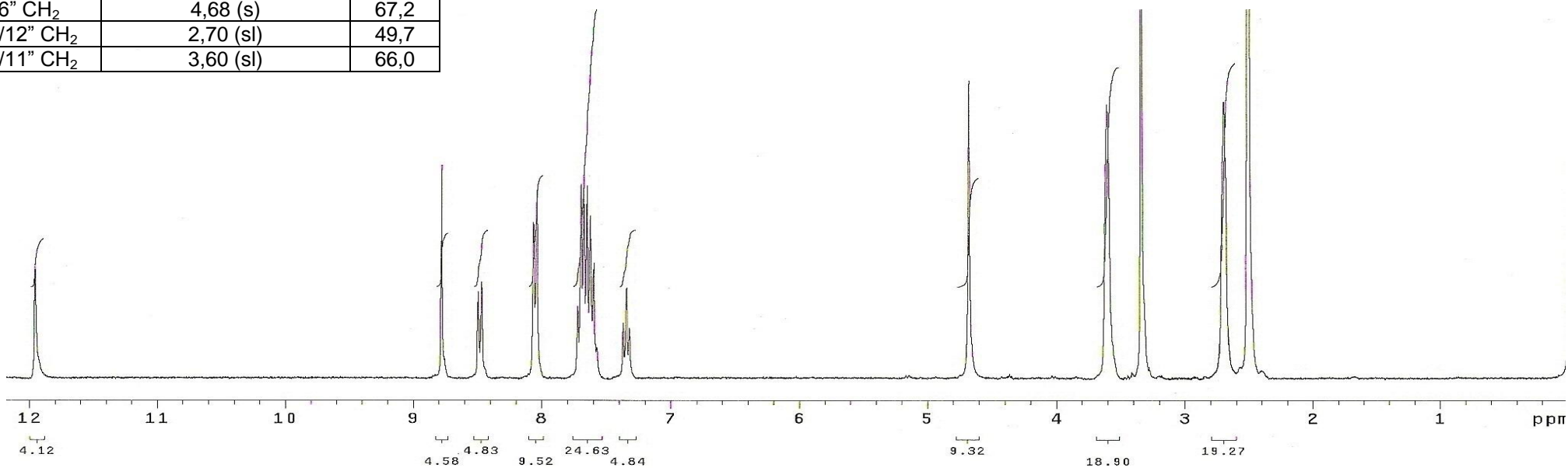
EI-MS- 23: Espectro de massas do composto **91d**.

ANEXO 24: 1-fenil-3-[2"-oxo-3"-(morfolilmetil)-1",3",4"-oxadiazol-5"-il] β -carbolina (**92a**).

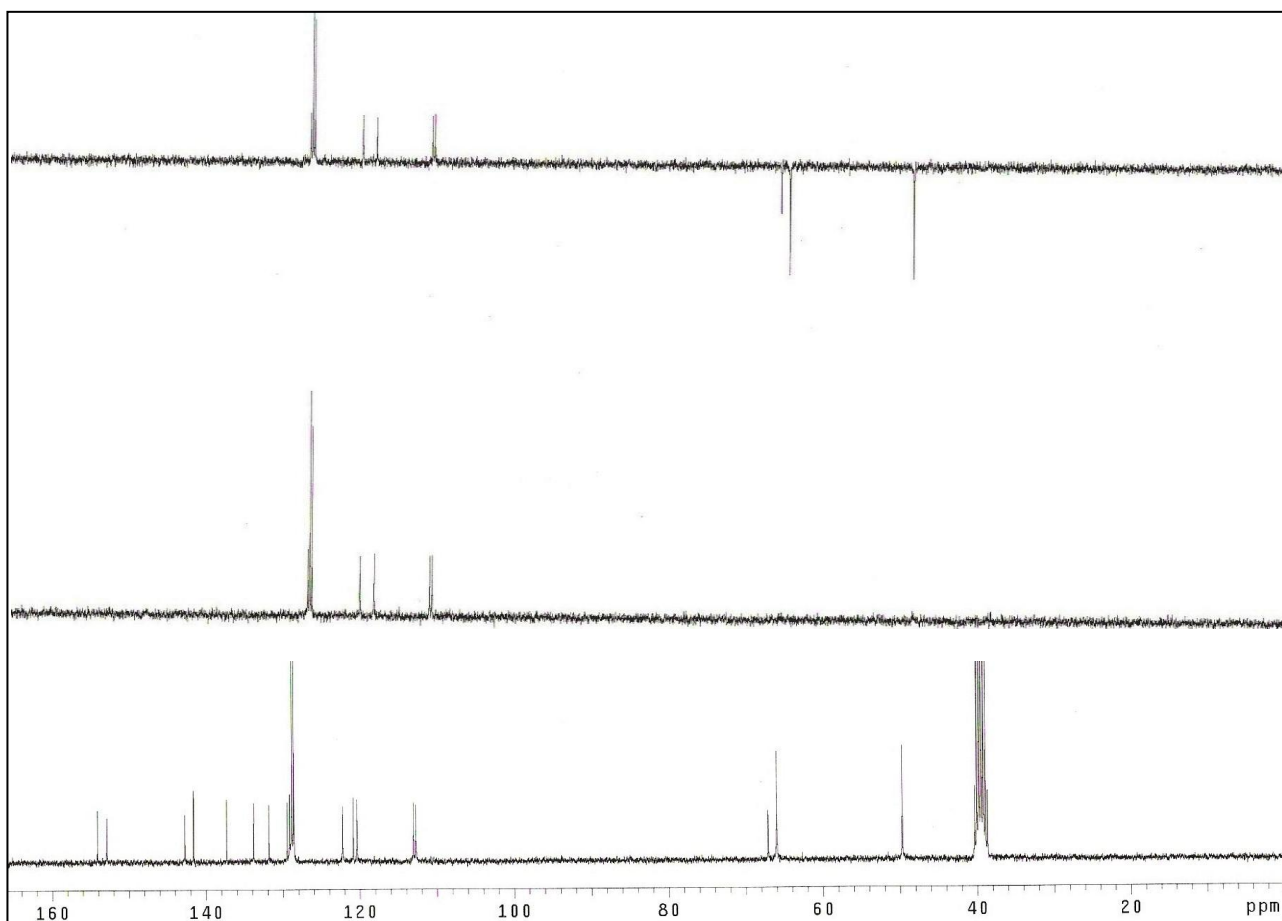
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	142,7
2N	-	-
3C ₀	-	137,3
4CH	8,78 (s)	112,8
4aC ₀	-	129,5
4bC ₀	-	120,9
5CH	8,48 (d, 7,8)	122,2
6CH	7,34 (t, 7,8)	120,4
7CH	7,57-7,72 (m)	129,1
8CH	7,57-7,72 (m)	113,0
8aC ₀	-	141,6
9NH	11,95 (s)	-
9aC ₀	-	133,8
1'C ₀	-	131,8
2'/6' CH	8,05 (d, 7,6)	128,6
3'/5' CH	7,57-7,72 (m)	128,9
4'CH	7,57-7,72 (m)	128,9
2" (C=O)	-	154,1
5" (C=N)	-	152,9
6" CH ₂	4,68 (s)	67,2
8"/12" CH ₂	2,70 (sl)	49,7
9"/11" CH ₂	3,60 (sl)	66,0



FM: C₂₄H₂₁N₅O₃
MM: 427,16 g/mol

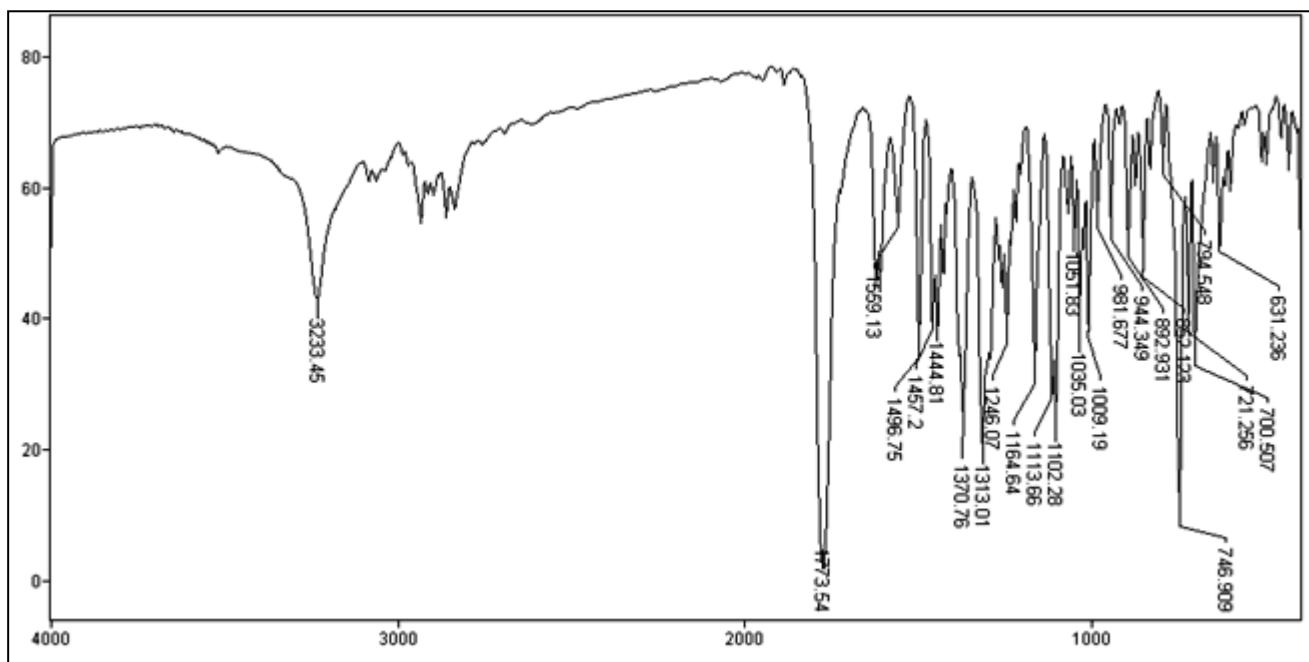


ERMN 1H-24: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92a**.

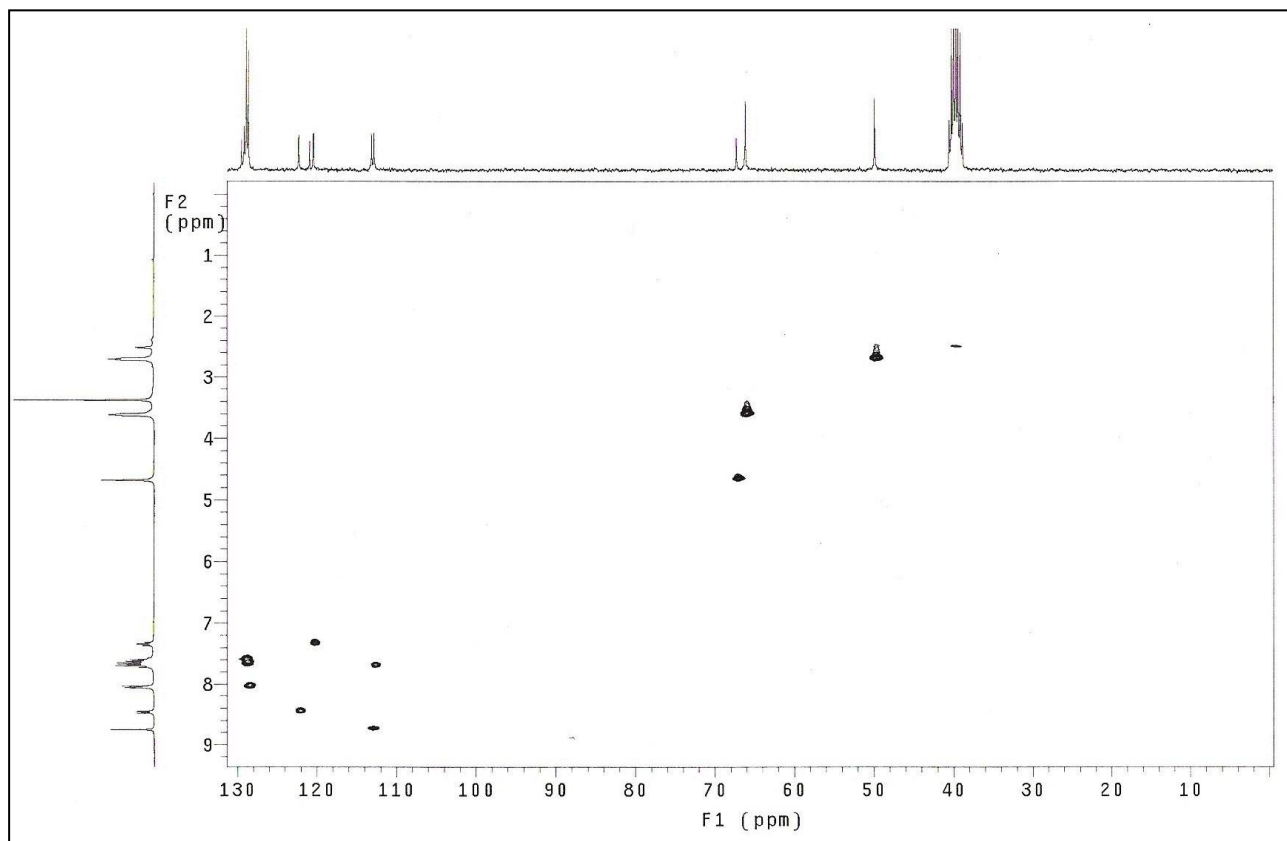


ERMN ¹³C-24: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-d₆) do composto **92a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3233 (NH), 1773 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (C=N) e 746 (indol)

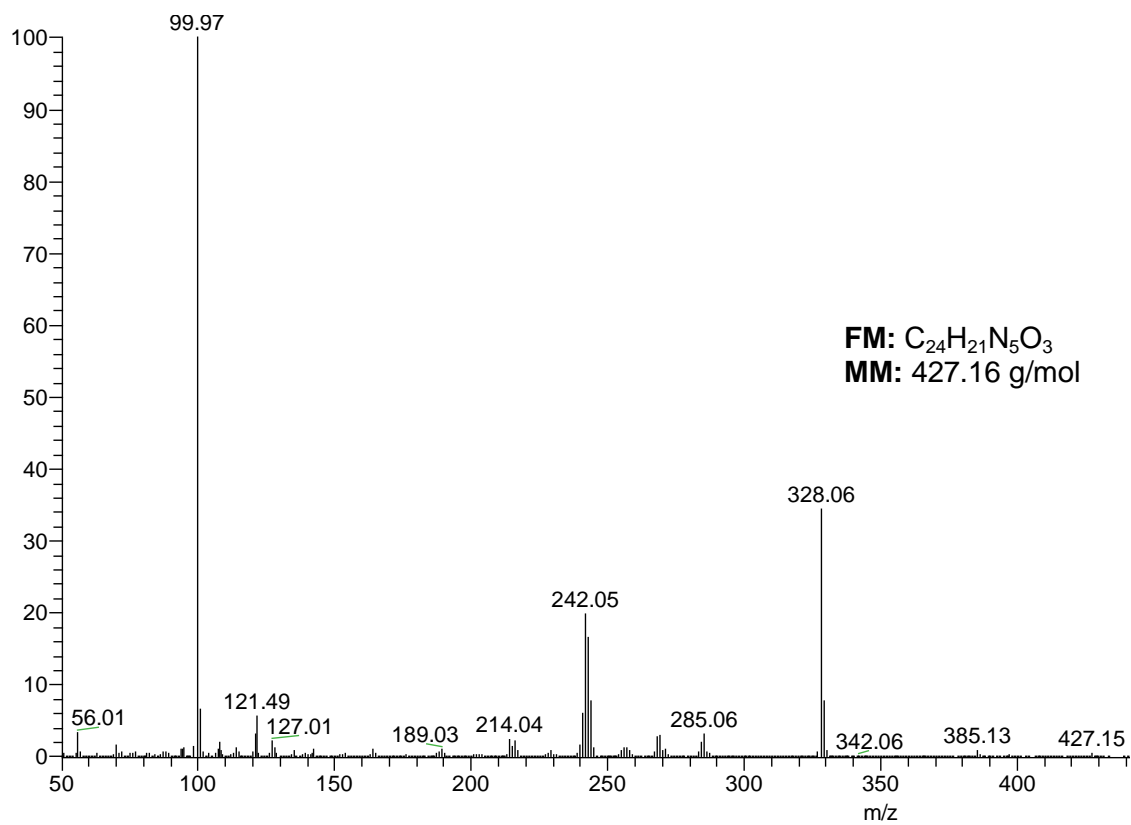


EIV-24: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **29a**.



EHSQC-24: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **92a**.

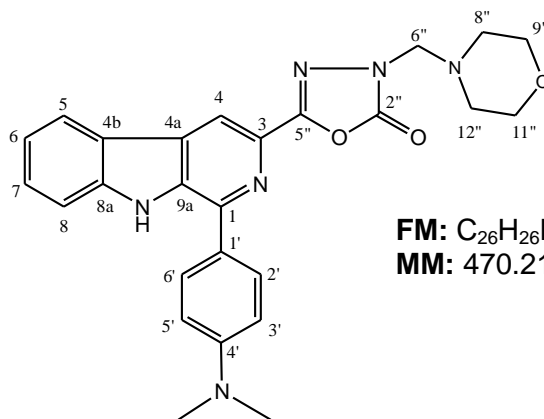
EI-MS- m/z (%): 427.15 (M^+ , 2), 242.05 (20), 328.06 (30), 100 (100).



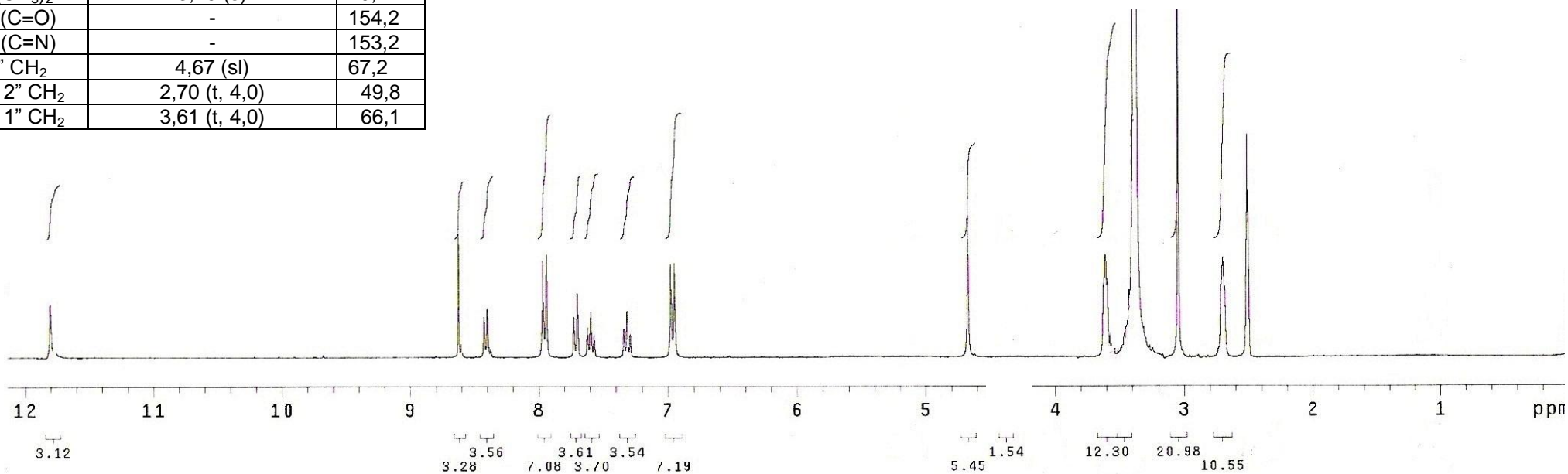
EI-MS- 24: Espectro de massas do composto **92a**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	143,4
2N	-	-
3C ₀	-	133,4
4CH	8,62 (s)	111,9
4aC ₀	-	124,8
4bC ₀	-	121,0
5CH	8,41 (d, 7,8)	122,1
6CH	7,31 (t, 7,8)	120,4
7CH	7,59 (t, 7,8)	128,7
8CH	7,71 (d, 7,8)	112,9
8aC ₀	-	141,5
9NH	11,80 (s)	-
9aC ₀	-	131,8
1'C ₀	-	129,0
2'/6' CH	7,95 (d, 8,7)	129,5
3'/5' CH	6,96 (d,8,7)	112,2
4'C ₀	-	150,9
N(CH ₃) ₂	3,40 (s)	40,4
2" (C=O)	-	154,2
5" (C=N)	-	153,2
6" CH ₂	4,67 (sl)	67,2
8"/12" CH ₂	2,70 (t, 4,0)	49,8
9"/11" CH ₂	3,61 (t, 4,0)	66,1

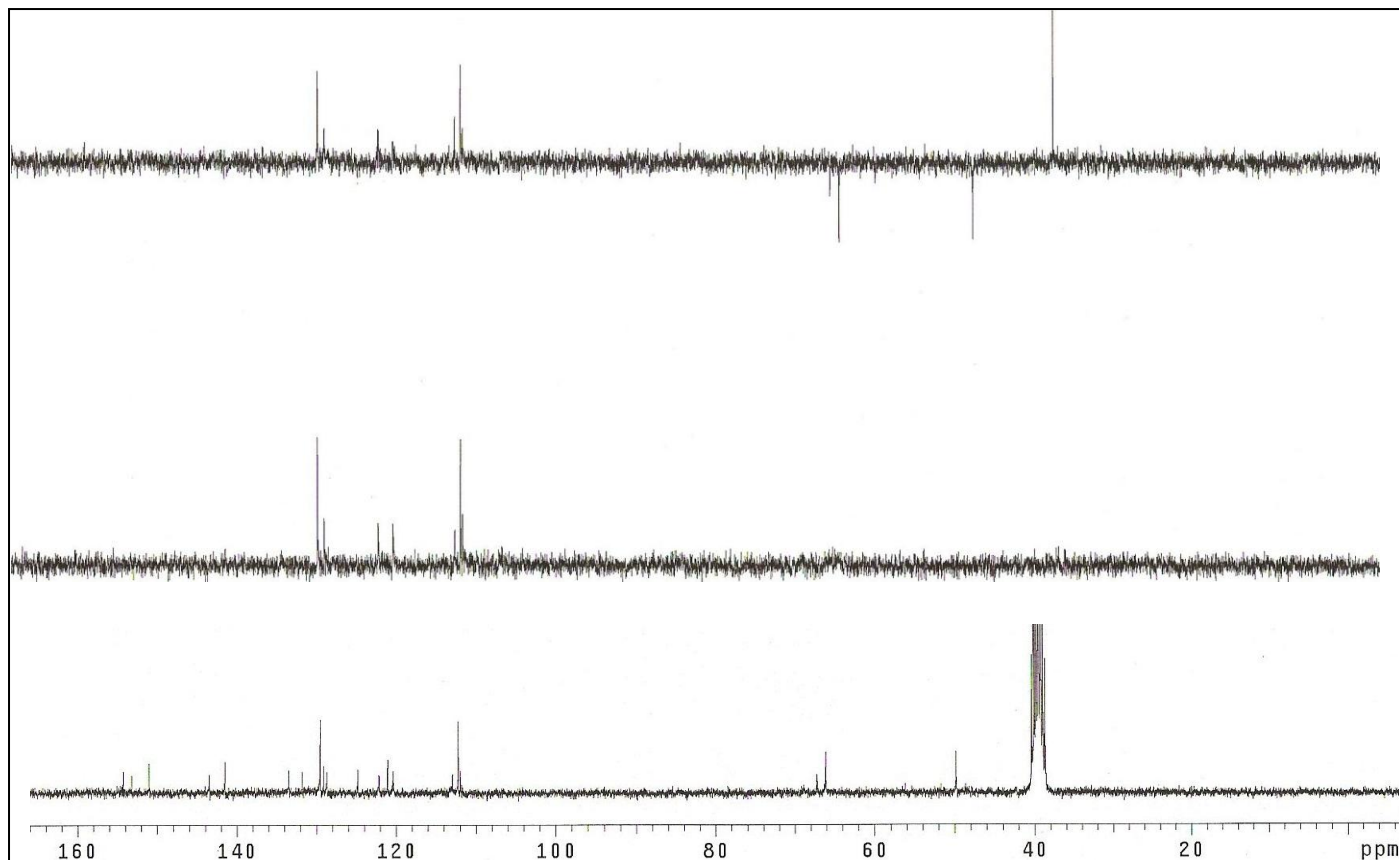
ANEXO 25: 1-(4'-dimetilaminofenil)-3-[2"-oxo-3"-(morfolilmetil)-1",3",4"-oxadiazol-5"-il] β -carbolina (**92b**).



FM: C₂₆H₂₆N₆O₃
MM: 470.21g/mol

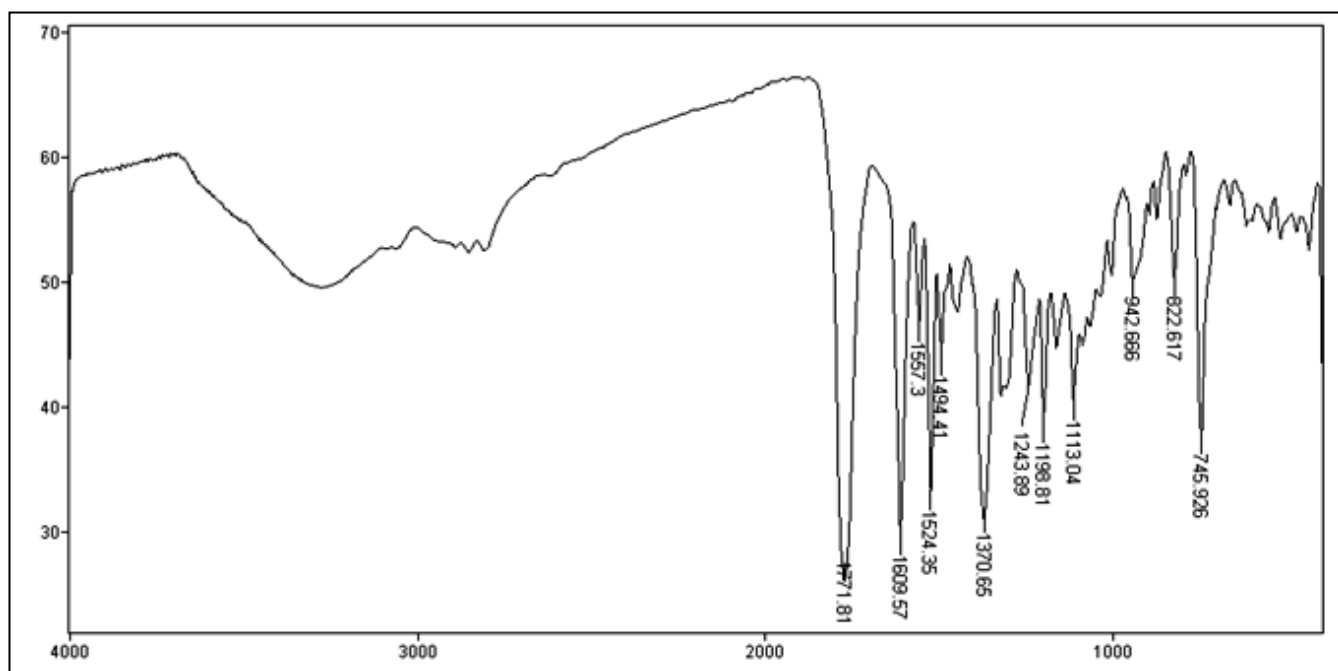


ERMN ¹H-25: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92b**.

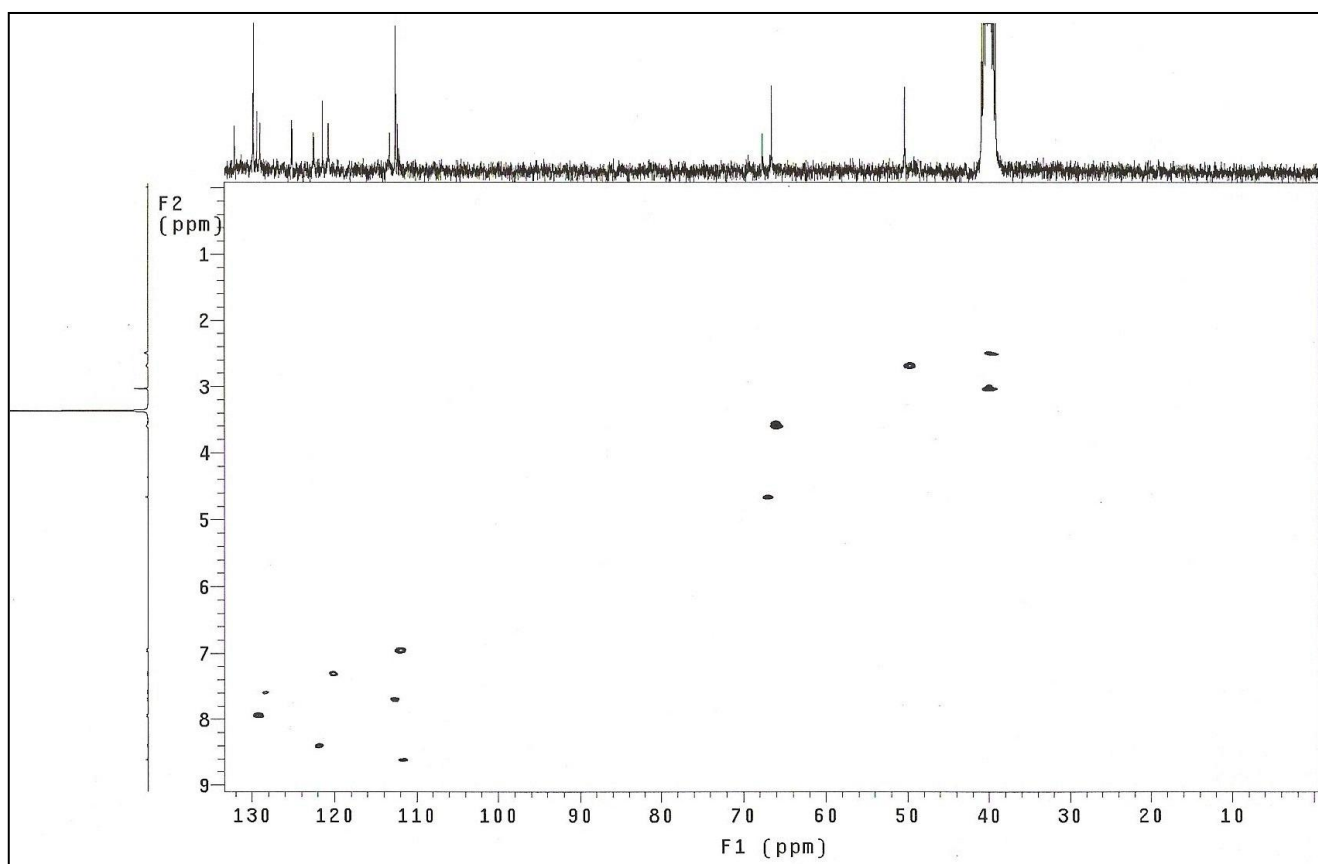


ERMN ¹³C-25: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92b**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1771 cm⁻¹ (C=O); 1609 cm⁻¹ (C=N) e 745 (indol)

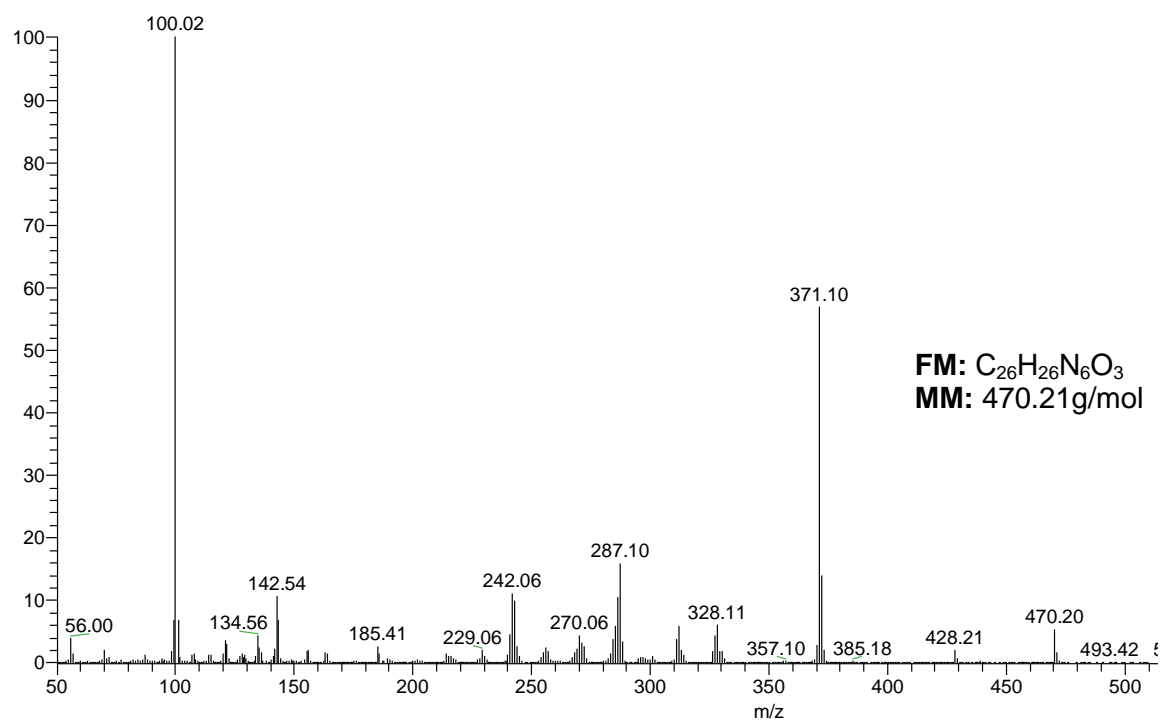


EIV-25: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **92b**.



EHSQC-25: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **92b**.

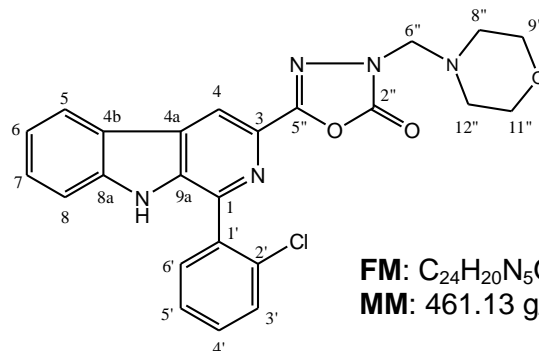
EI-MS- m/z (%): 470.20 (M^+ , 5), 242.06 (10), 287 (20), 371.10 (60), 100 (100).



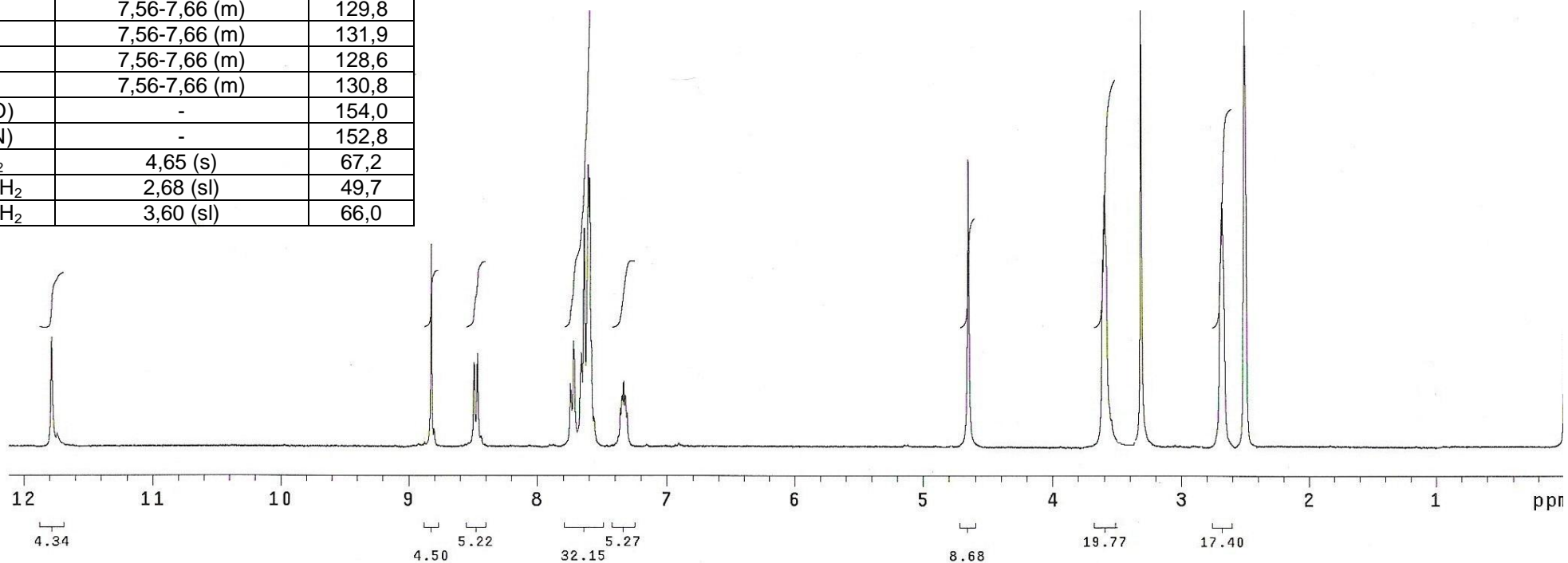
EI-MS- 25: Espectro de massas do composto **92b**.

ANEXO 26: 1-(2'-clorofenil)-3-[2''-oxo-3''-(morfolilmetil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β -carbolina (**92c**).

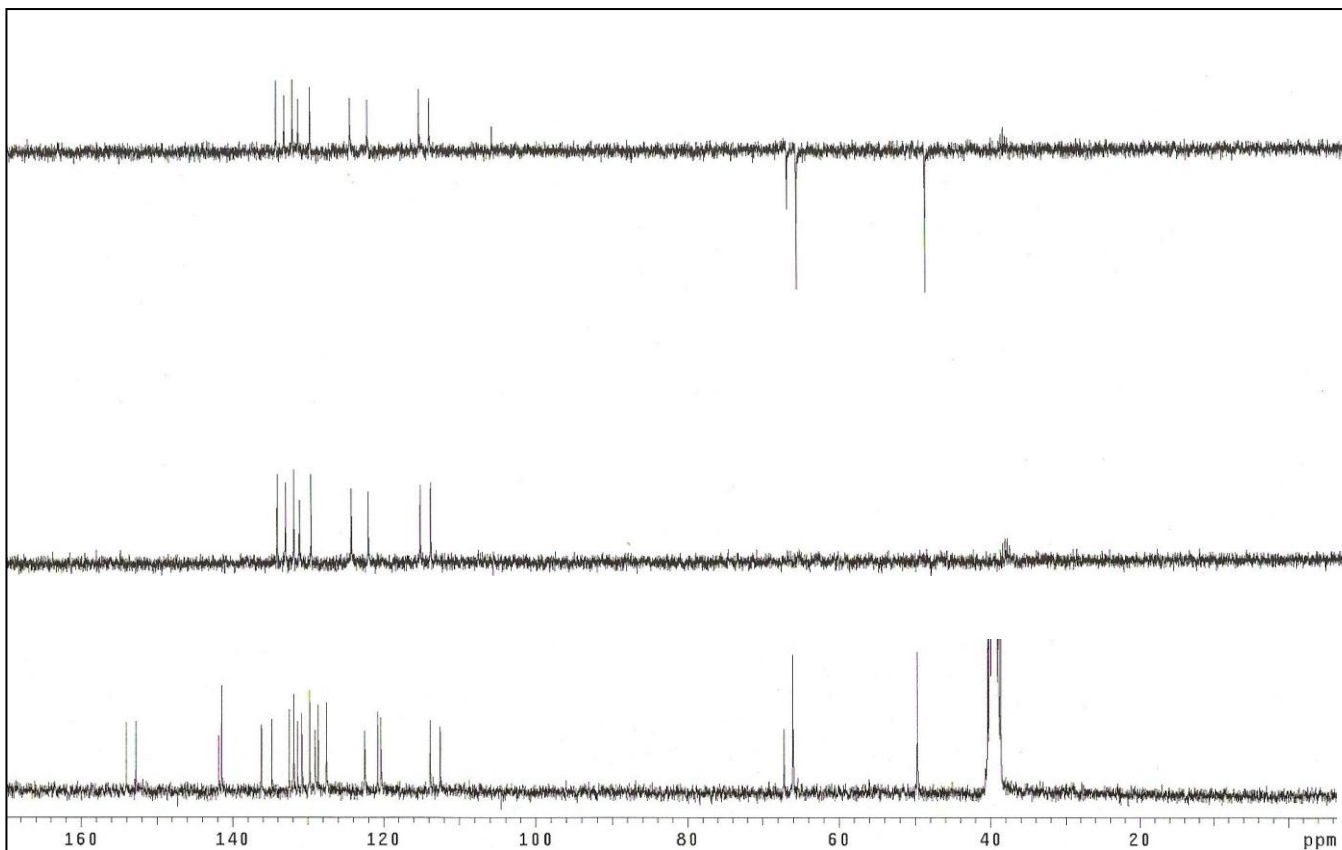
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,9
2N	-	-
3C ₀	-	136,1
4CH	8,82 (s)	113,8
4aC ₀	-	131,4
4bC ₀	-	120,8
5CH	8,48 (d, 7,8)	122,5
6CH	7,33 (t, 7,8)	120,3
7CH	7,56-7,66 (m)	127,5
8CH	7,53 (d, 7,8)	112,5
8aC ₀	-	141,4
9NH	11,78 (s)	-
9aC ₀	-	134,8
1'C ₀	-	132,5
2'C ₀	-	129,0
3'CH	7,56-7,66 (m)	129,8
4'CH	7,56-7,66 (m)	131,9
5'CH	7,56-7,66 (m)	128,6
6'CH	7,56-7,66 (m)	130,8
2'' (C=O)	-	154,0
5'' (C=N)	-	152,8
6'' CH ₂	4,65 (s)	67,2
8''/12'' CH ₂	2,68 (sl)	49,7
9''/11'' CH ₂	3,60 (sl)	66,0



FM: C₂₄H₂₀N₅O₃Cl
MM: 461.13 g/mol

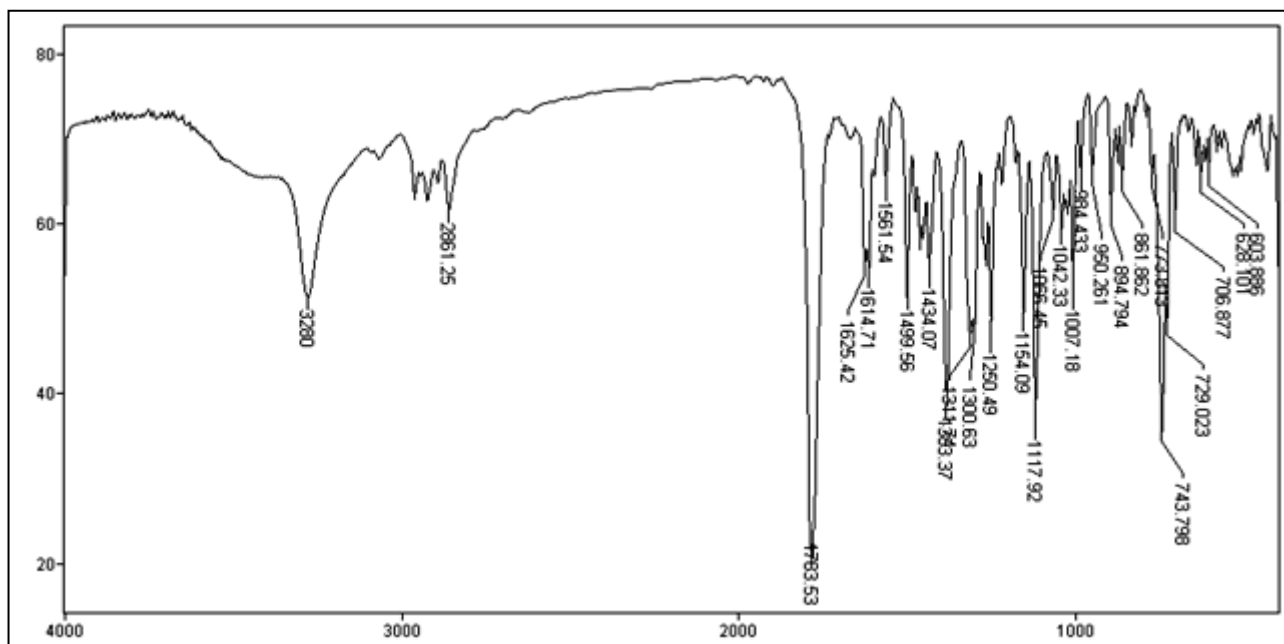


ERMN ¹H-26: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92c**.

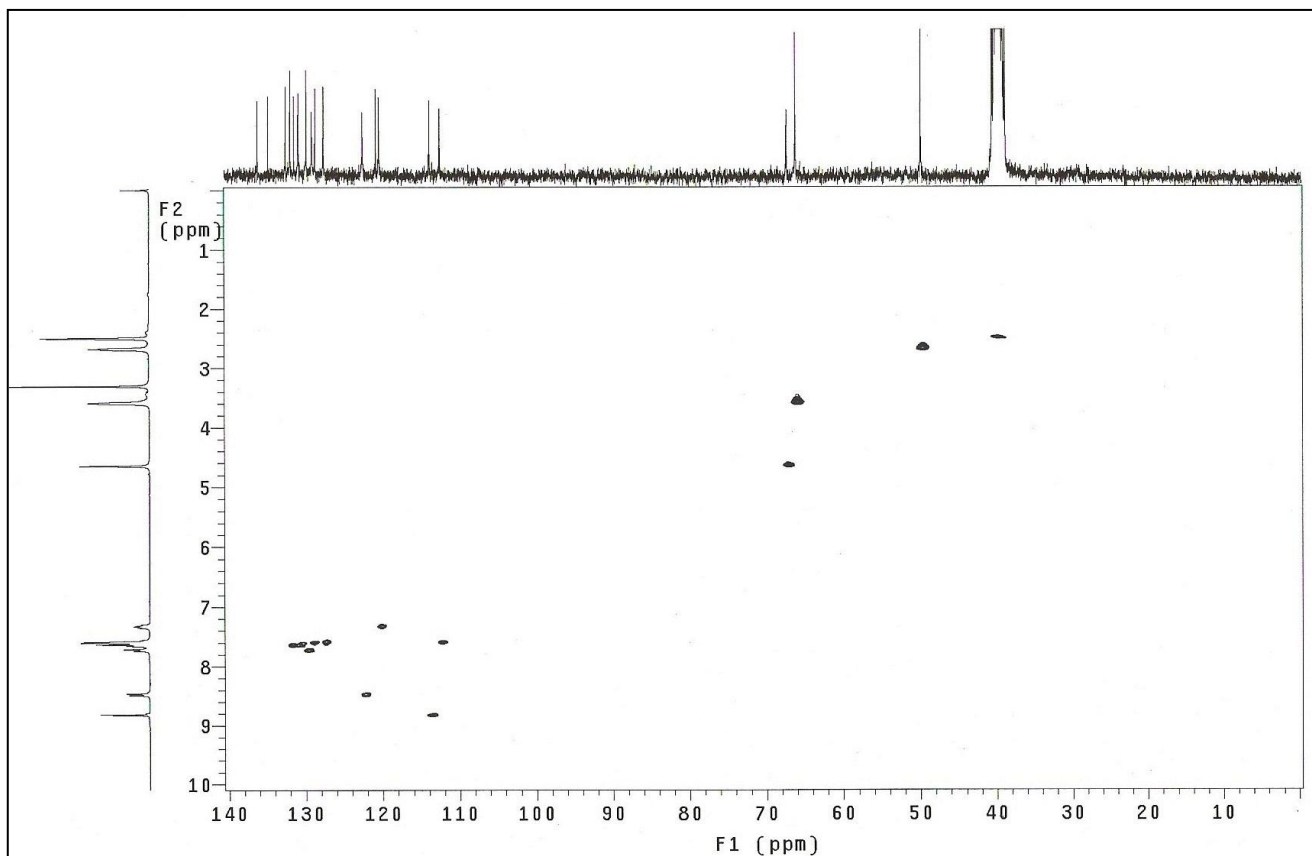


ERMN ¹³C-26: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92c**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3280 (NH), 1783 cm⁻¹ (C=O); 1614 cm⁻¹ (C=N) e 743 (indol)

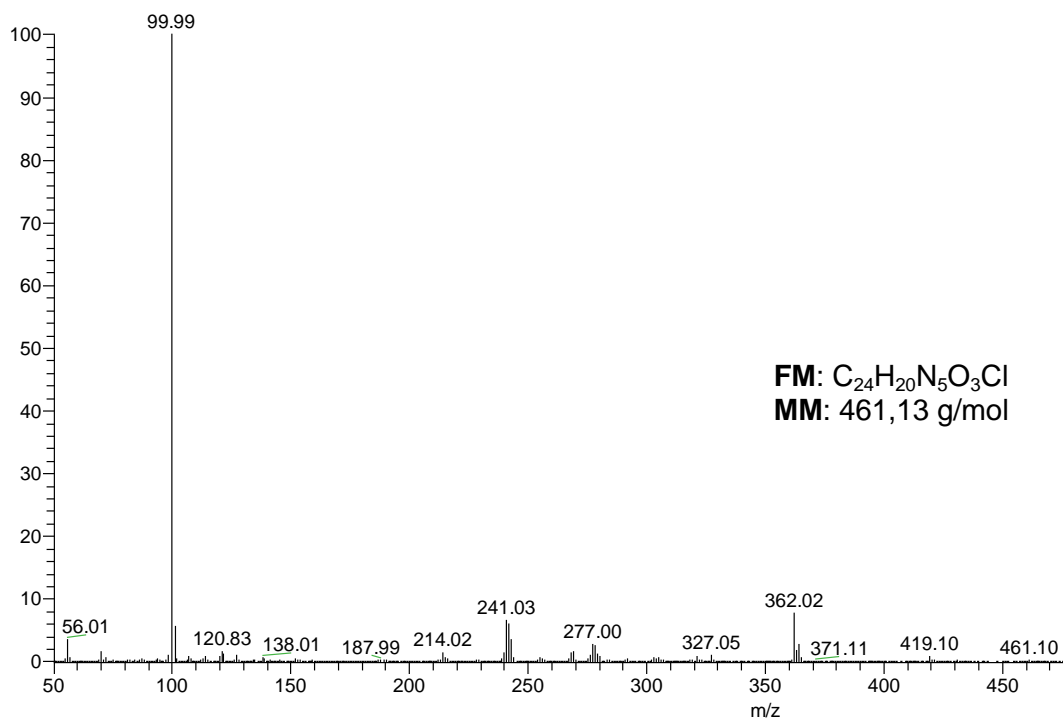


EIV-26: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **92c**.



EHSQC-26: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **92c**.

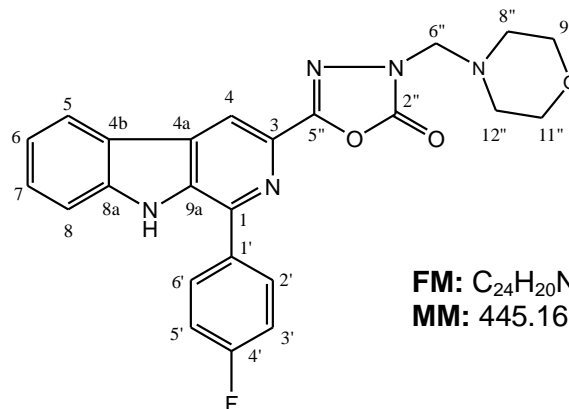
EI-MS- m/z (%): 461.10 (M^+ , 2), 241.03 (10), 362.02 (15), 100 (100).



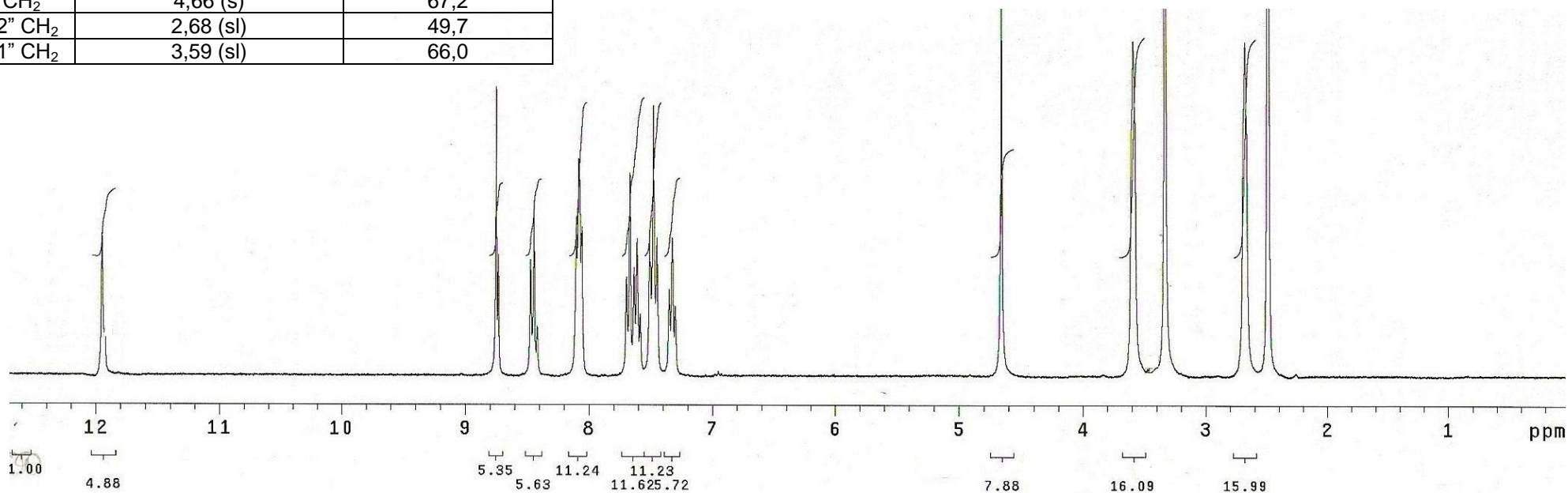
EI-MS- 26: Espectro de massas do composto **92c**.

ANEXO 27: 1-(4'-flúorfenil)-3-[2''-oxo-3''-(morfolilmetil)-1'',3'',4''-oxadiazol-5''-il] β-carbolina (**92d**).

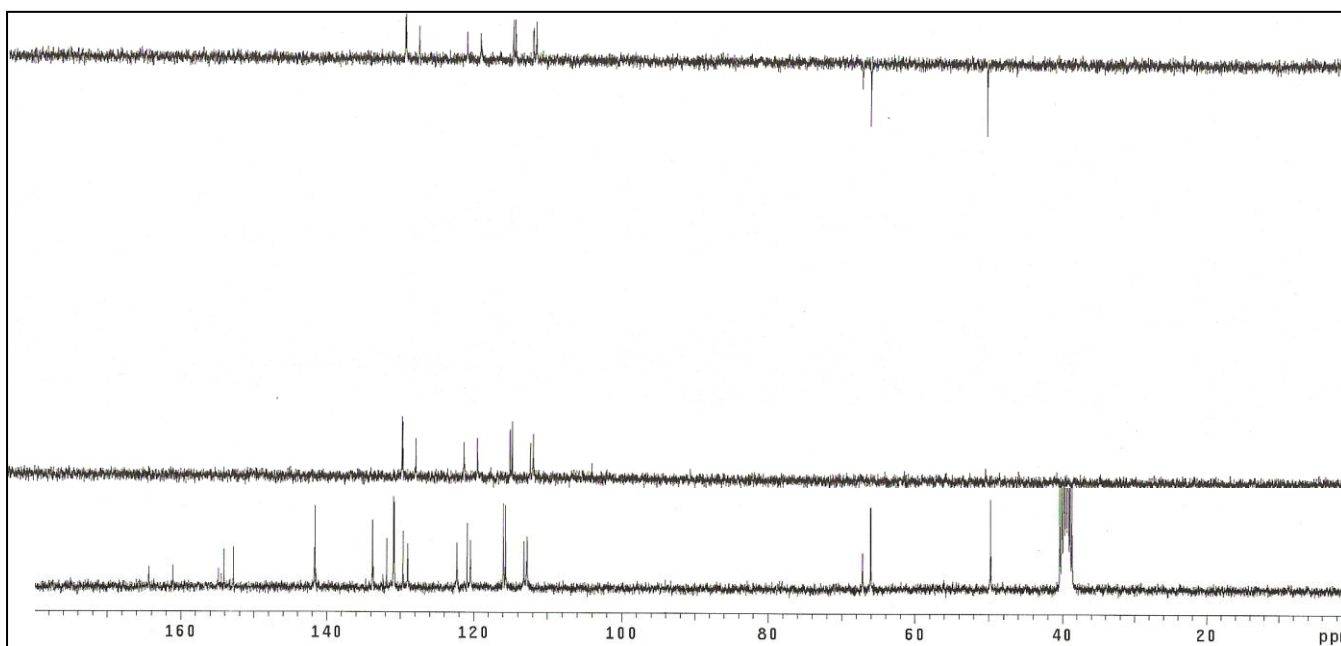
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1C ₀	-	141,7
2N	-	-
3C ₀	-	141,5
4CH	8,75 (s)	113,1
4aC ₀	-	129,6
4bC ₀	-	120,9
5CH	8,46 (d, 8,1)	122,3
6CH	7,33 (t, 8,1)	120,4
7CH	7,61 (t, 8,1)	129,0
8CH	7,68 (d, 8,1)	112,7
8aC ₀	-	141,6
9NH	11,95 (s)	-
9aC ₀	-	133,7
1'C ₀	-	131,8
2'/6' CH	8,08 (t, 8,1)	130,9/130,8 (8,6)
3'/5' CH	7,48 (t, 8,1)	115,9/ 115,6 (21,6)
4'C ₀	-	164,3/161,0 (246,5)
2'' (C=O)	-	154,1
5'' (C=N)	-	152,8
6'' CH ₂	4,66 (s)	67,2
8''/12'' CH ₂	2,68 (sl)	49,7
9''/11'' CH ₂	3,59 (sl)	66,0



FM: C₂₄H₂₀N₅O₃F
MM: 445.16 g/mol

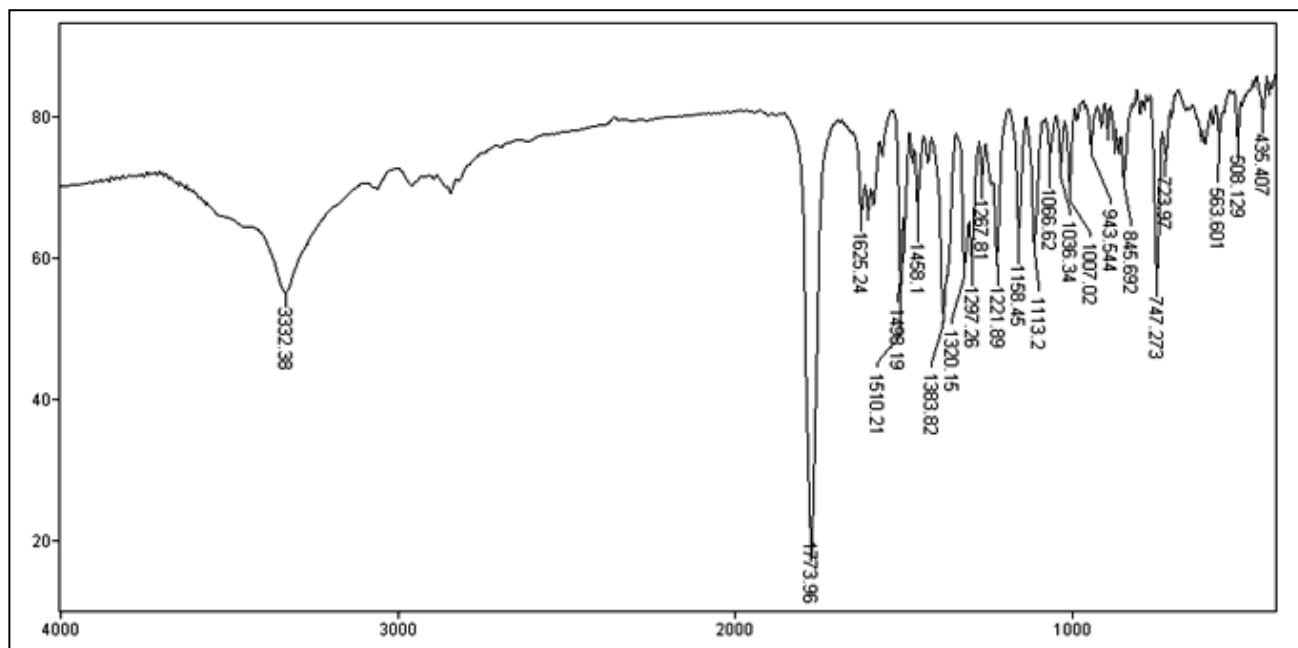


ERMN 1H-27: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92d**.

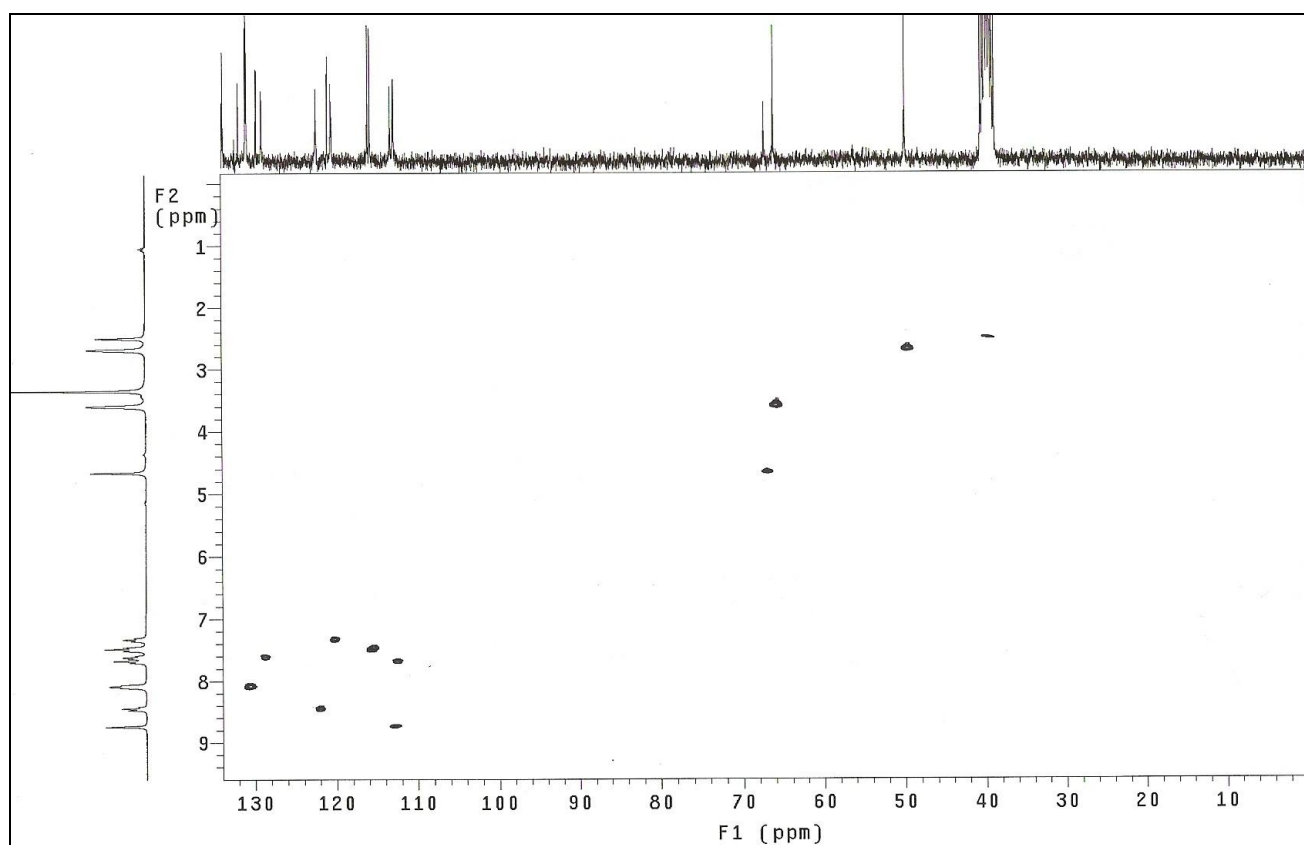


ERMN ¹³C-27: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **92d**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3332 (NH), 1773 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (C=N) e 747 (indol)

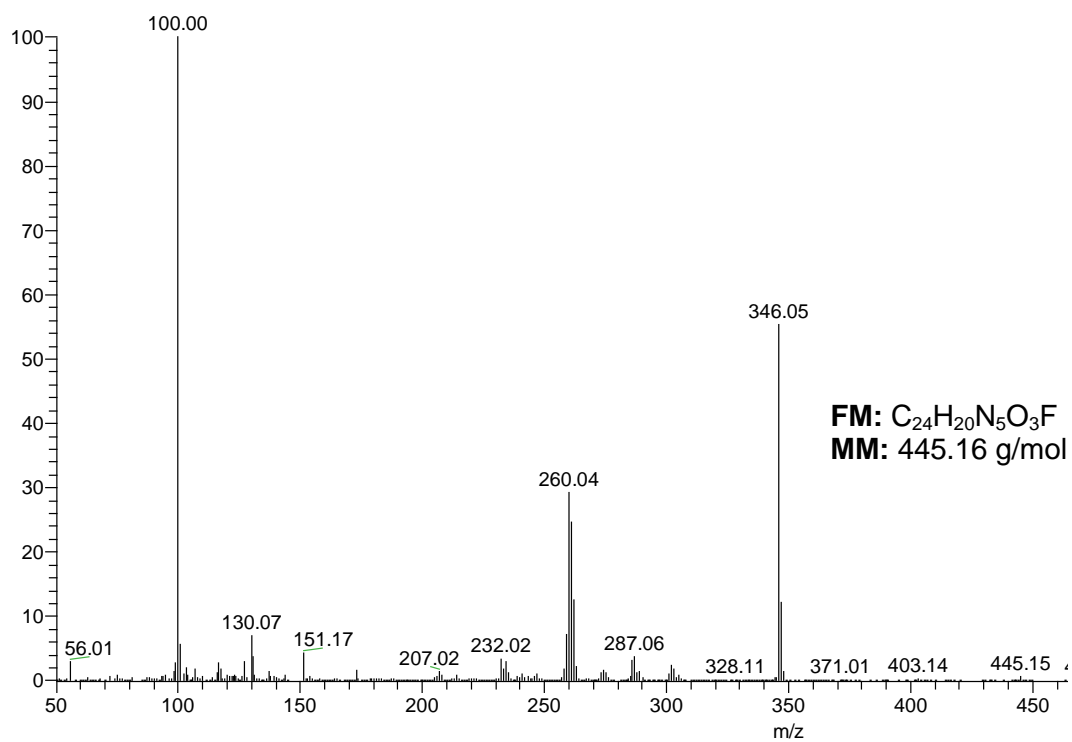


EIV-27: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **92d**.



EHSQC-27: Espectro HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **92d**.

EI-MS- m/z (%): 445.15 (M^+ , 2), 260.04 (30), 346.05 (60), 100 (100).

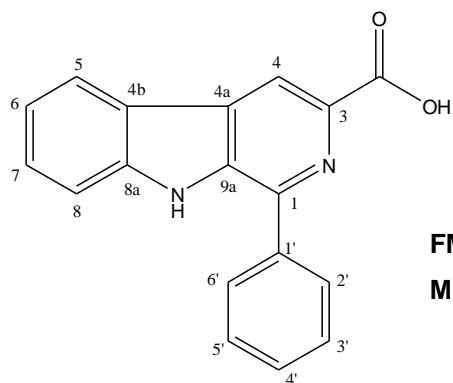


EI-MS- 27: Espectro de massas do composto **92d**.

ANEXOS DO
CAPÍTULO II

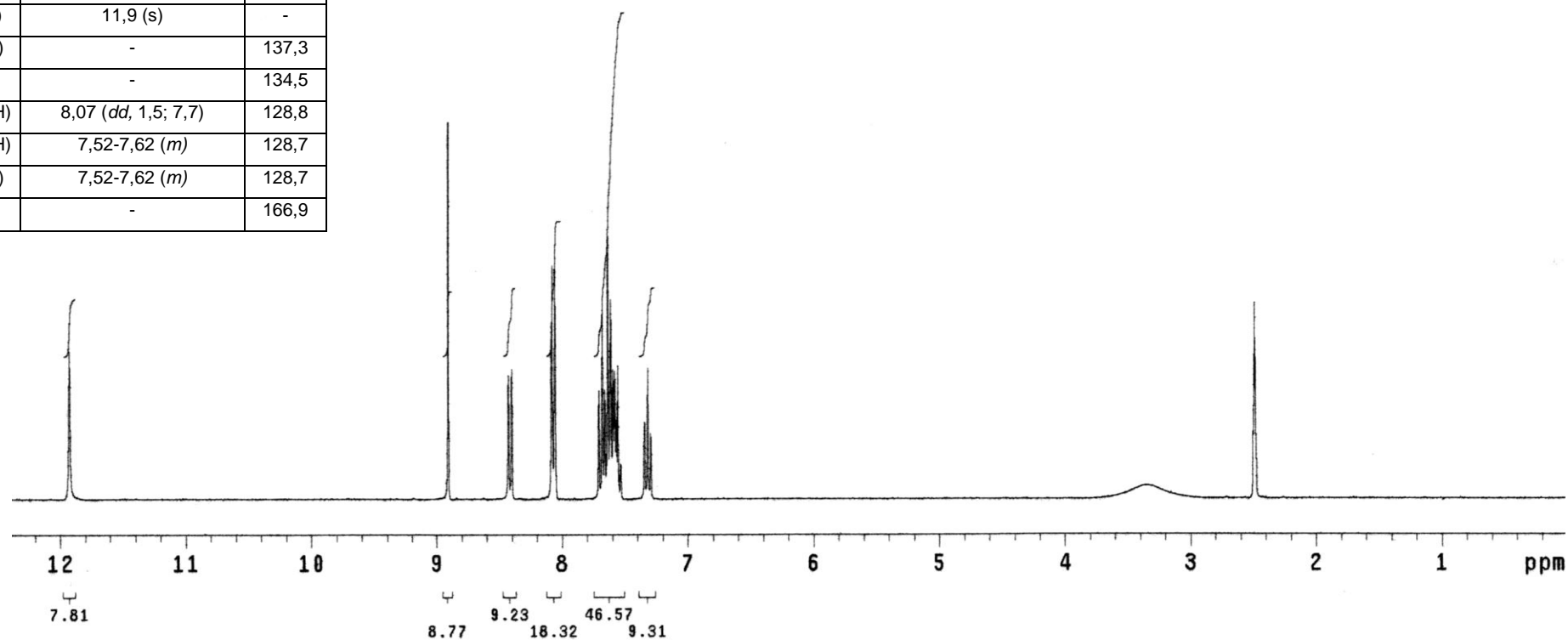
Anexo 28: 1-fenil-3-carbóxi β-carbolina (142a).

C/H	δ _H (multiplicidade, J = Hz)	δ _C
1 (C ₀)	-	141,7
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	137,5
4 (CH)	8,91 (s)	116,4
4a(C ₀)	-	129,4
4b(C ₀)	-	121,2
5 (CH)	8,42 (d, 7,8)	122,0
6 (CH)	7,32 (td, 1,0; 7,5)	120,4
7 (CH)	7,64 (t, 7,4)	129,0
8 (CH)	7,69 (d, 8,1)	112,8
8a (C ₀)	-	141,6
9 (NH)	11,9 (s)	-
9a (C ₀)	-	137,3
1' (C ₀)	-	134,5
2'/6'(CH)	8,07 (dd, 1,5; 7,7)	128,8
3'/5'(CH)	7,52-7,62 (m)	128,7
4' (CH)	7,52-7,62 (m)	128,7
C=O	-	166,9

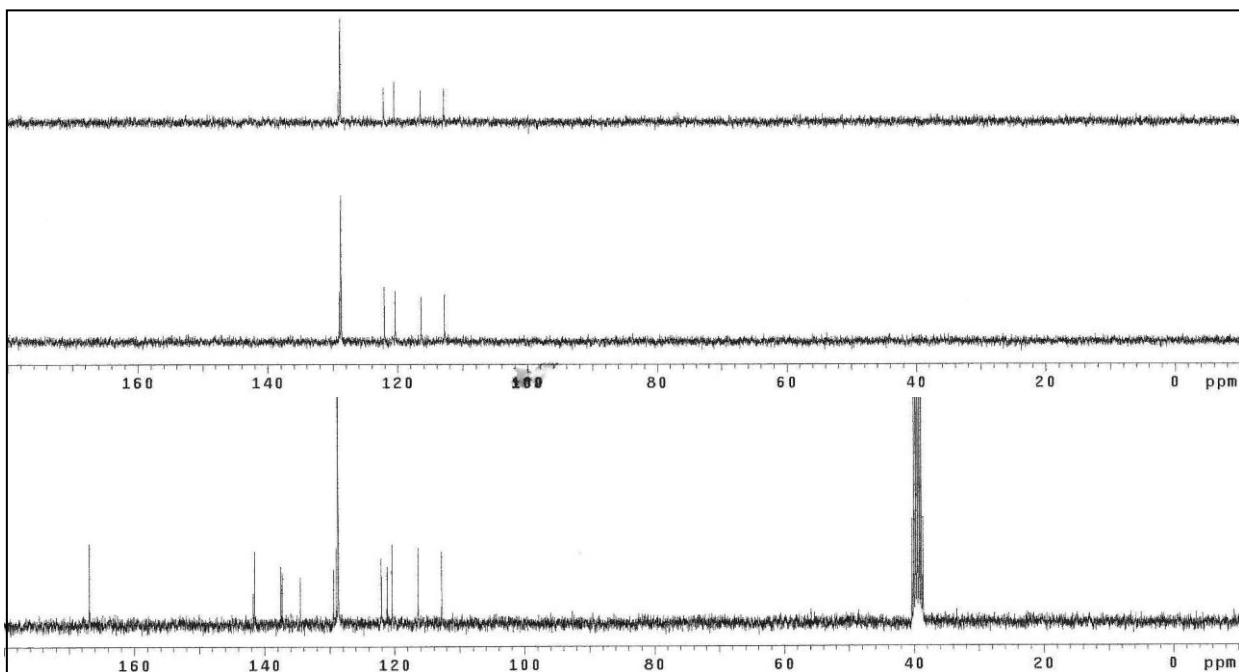


FM: C₁₈H₁₂O₂N₂

MM=288,09 g/mol

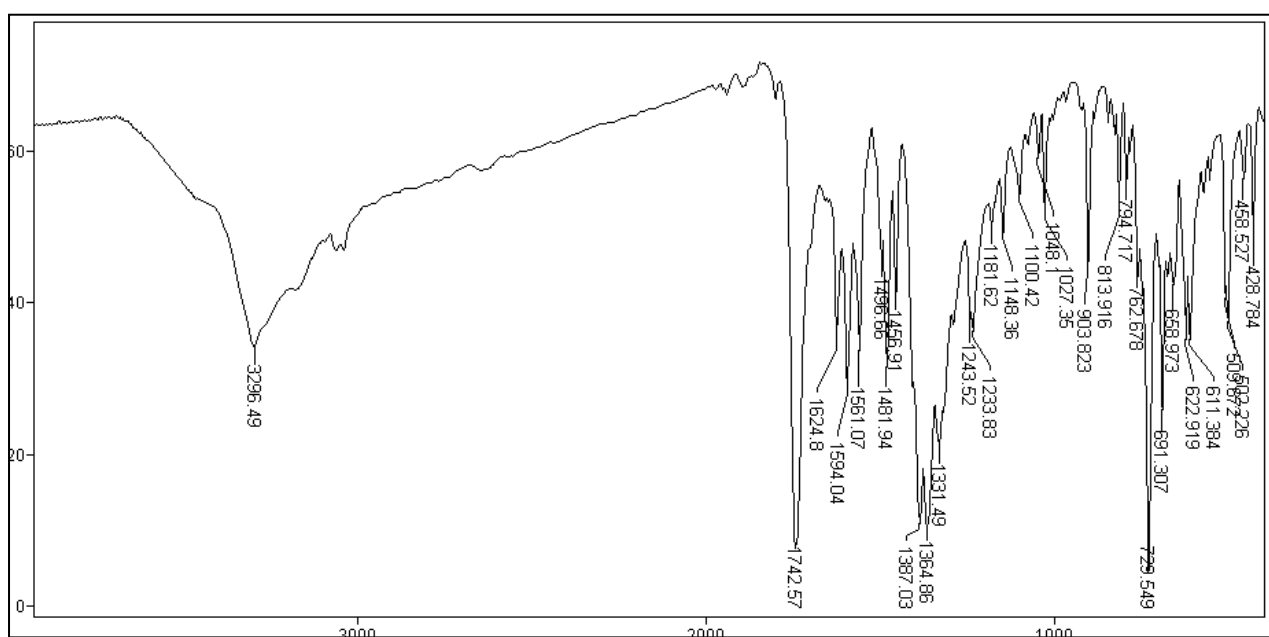


ERMN ¹H-28: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 142a.

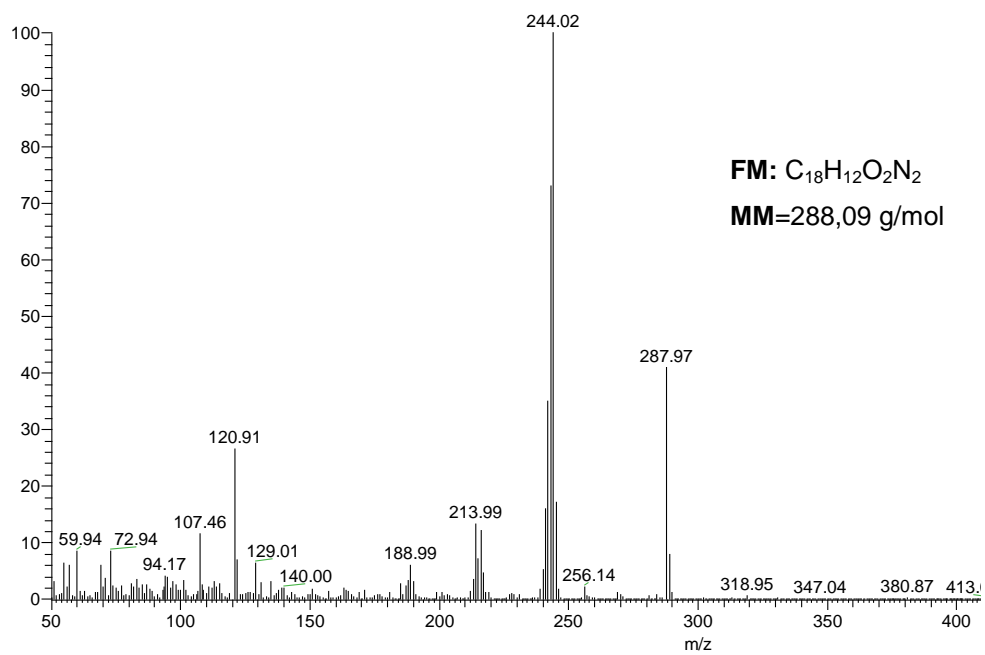


ERMN ¹³C-28: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **142a**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 1742 cm⁻¹ (C=O); 1724 cm⁻¹ (C=N); 1594-1481 cm⁻¹ (C=C).



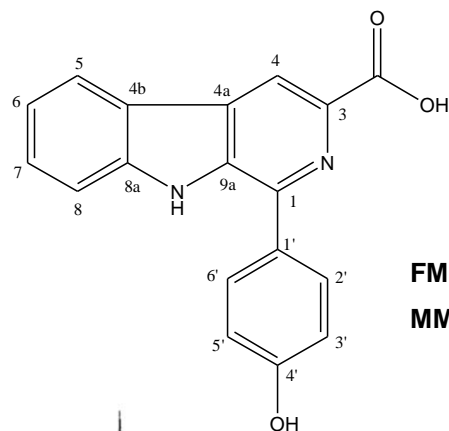
EIV-28: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **142a**.



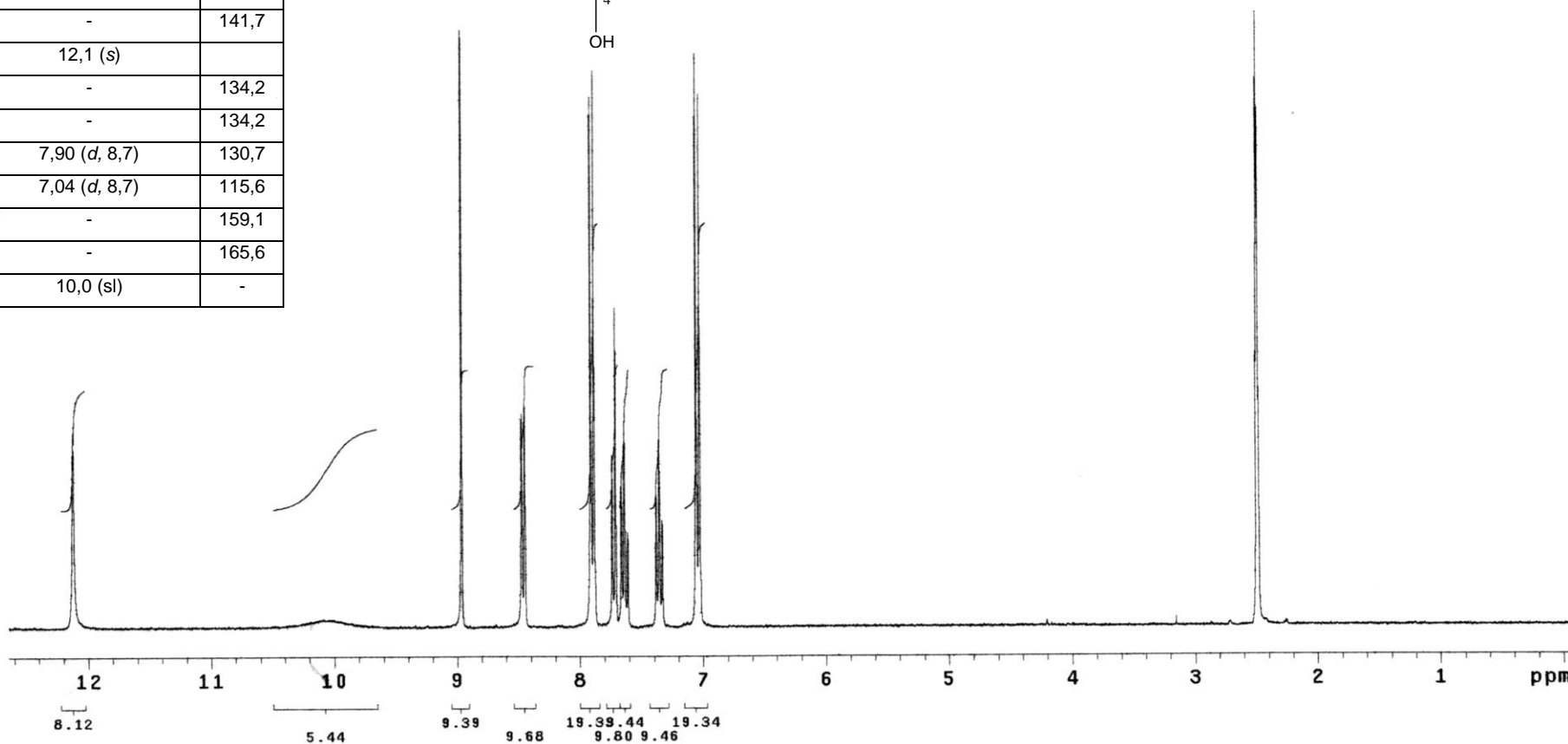
EI-MS- 28: Espectro de massas do composto **142a**.

Anexo 29: 1-(4'-hidróxifenil)-3-carbóxi β -carbolina (**142g**).

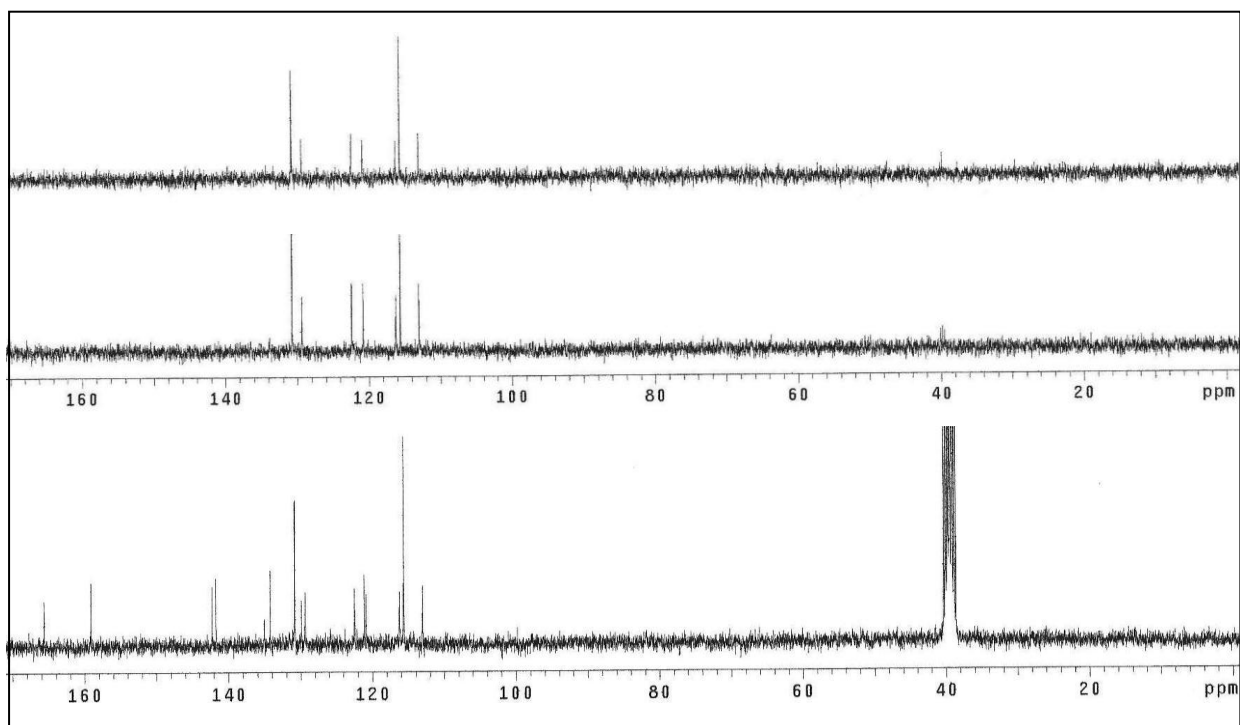
C/H	δ_H (multiplicidade, $J = H$)	δ_C
1(C ₀)	-	142,2
2 (N)	-	
3(C ₀)	-	135,0
4(CH)	8,96 (s)	116,2
4a(C ₀)	-	129,9
4b(C ₀)	-	120,8
5(CH)	8,46 (d, 7,8)	122,4
6(CH)	7,35 (t, 7,4)	121,1
7(CH)	7,64 (td, 1,0; 7,7)	129,4
8(CH)	7,72 (d, 8,1)	113,0
8a(C ₀)	-	141,7
9 (NH)	12,1 (s)	
9a(C ₀)	-	134,2
1'(C ₀)	-	134,2
2'/6'(CH)	7,90 (d, 8,7)	130,7
3'/5'(CH)	7,04 (d, 8,7)	115,6
4'(CH)	-	159,1
C=O	-	165,6
OH	10,0 (sl)	-



FM: C₁₈H₁₂O₃N₂
MM=304,08 g/mol

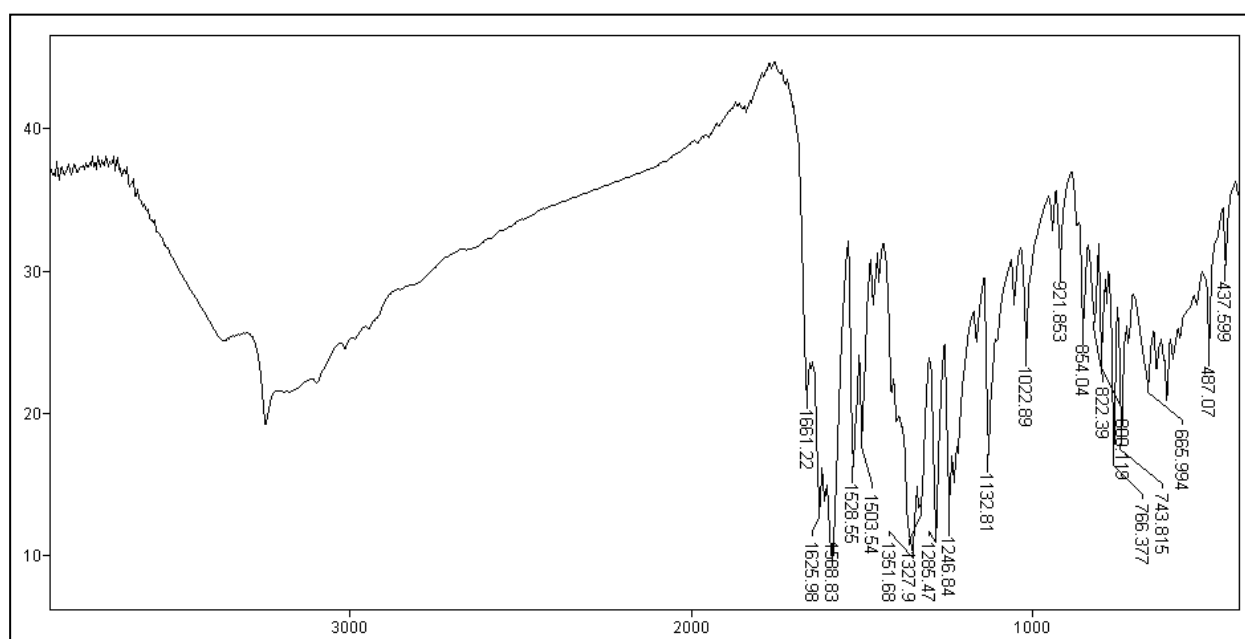


ERMN¹H-29: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **142g**.



ERMN ¹³C-29: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **142g**.

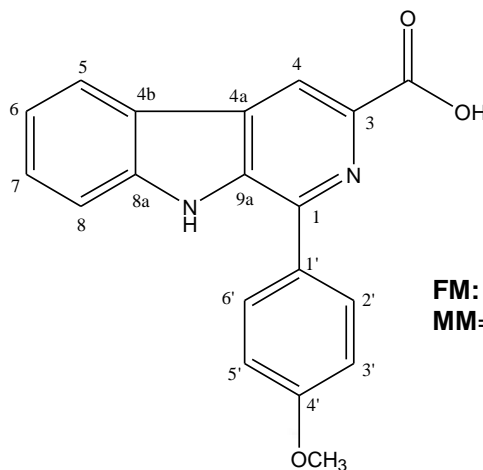
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1661 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (C=N); 1588-1503 cm⁻¹ (C=C).



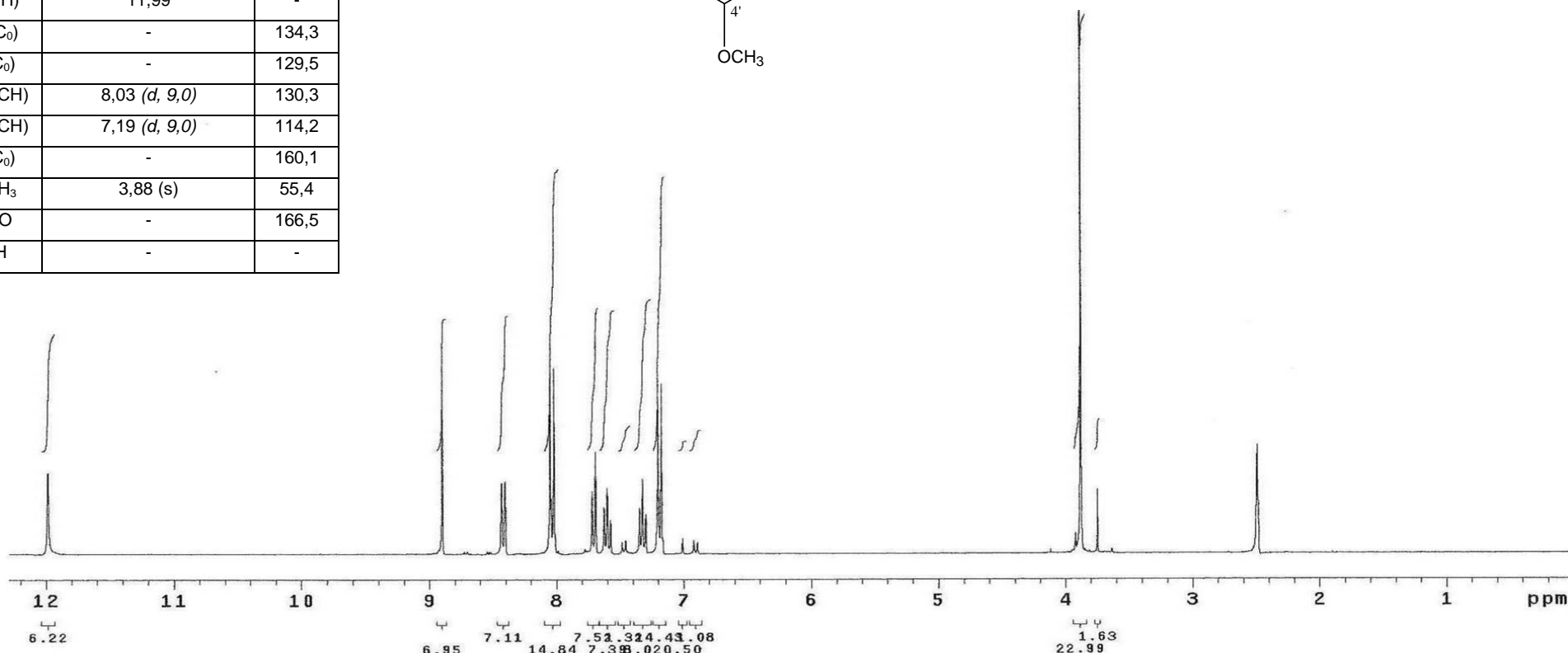
EIV-29: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **142g**.

Anexo 30: 1-(4'-metoxifenil)-3-carbóxi β -carbolina (142h).

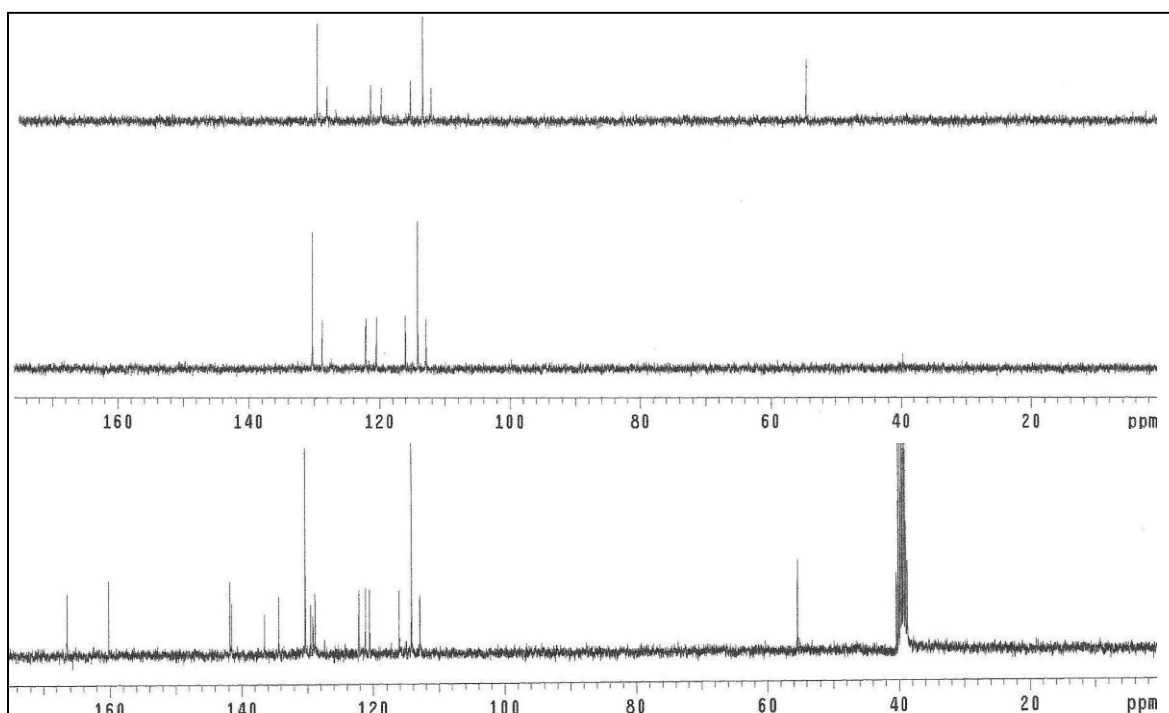
C/H	δ_H (multiplicidade, $J = H$)	δ_C
1(C ₀)	-	141,7
2 (N)	-	-
3(C ₀)	-	136,5
4(CH)	8,90 (s)	116,0
4a(C ₀)	-	129,1
4b(C ₀)	-	121,2
5(CH)	8,42 (d, 8,1)	122,1
6(CH)	7,32 (t, 7,5)	120,5
7(CH)	7,58-7,63 (m)	128,8
8(CH)	7,71 (d, 8,4)	112,9
8a(C ₀)	-	141,5
9 (NH)	11,99	-
9a(C ₀)	-	134,3
1'(C ₀)	-	129,5
2'/6'(CH)	8,03 (d, 9,0)	130,3
3'/5'(CH)	7,19 (d, 9,0)	114,2
4'(C ₀)	-	160,1
OCH ₃	3,88 (s)	55,4
C=O	-	166,5
OH	-	-



FM: C₁₉H₁₄O₃N₂
MM=318,10 g/mol

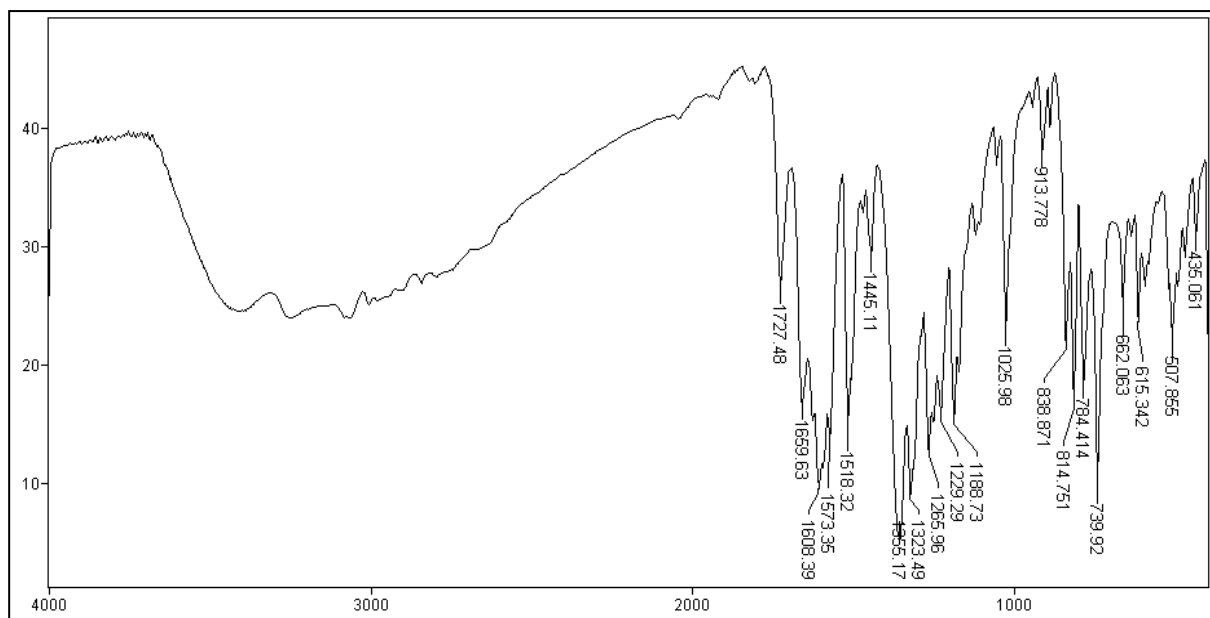


ERMN ¹H-30: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-d₆) do composto 142h.

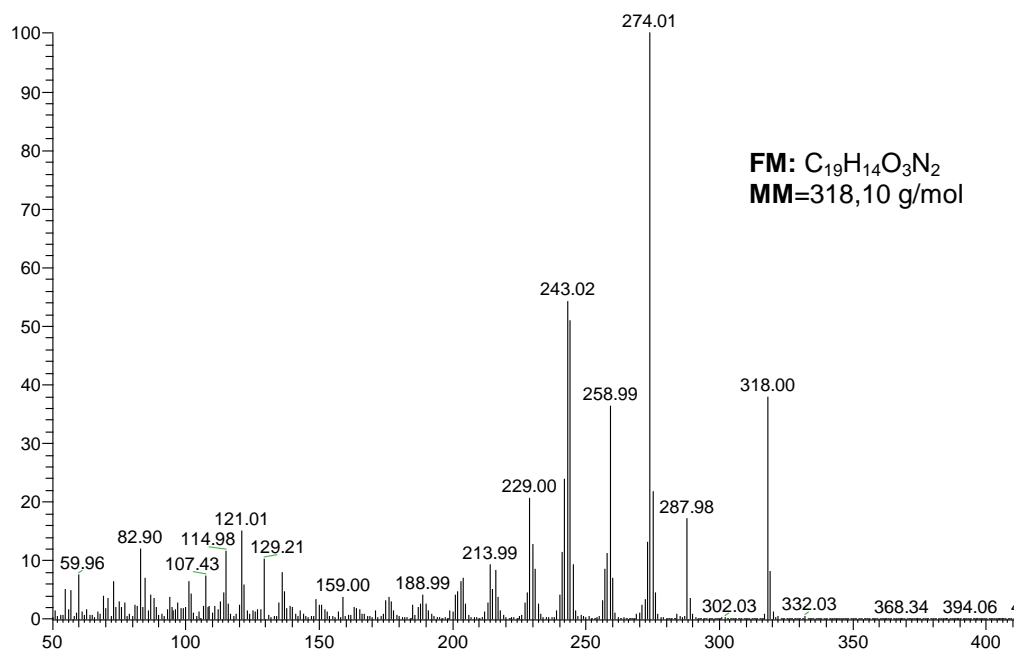


ERMN ¹³C-30: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-d₆) do composto **142h**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1727 cm⁻¹ (C=O); 1659 cm⁻¹ (C=N); 1573-1445 cm⁻¹ (C=C)



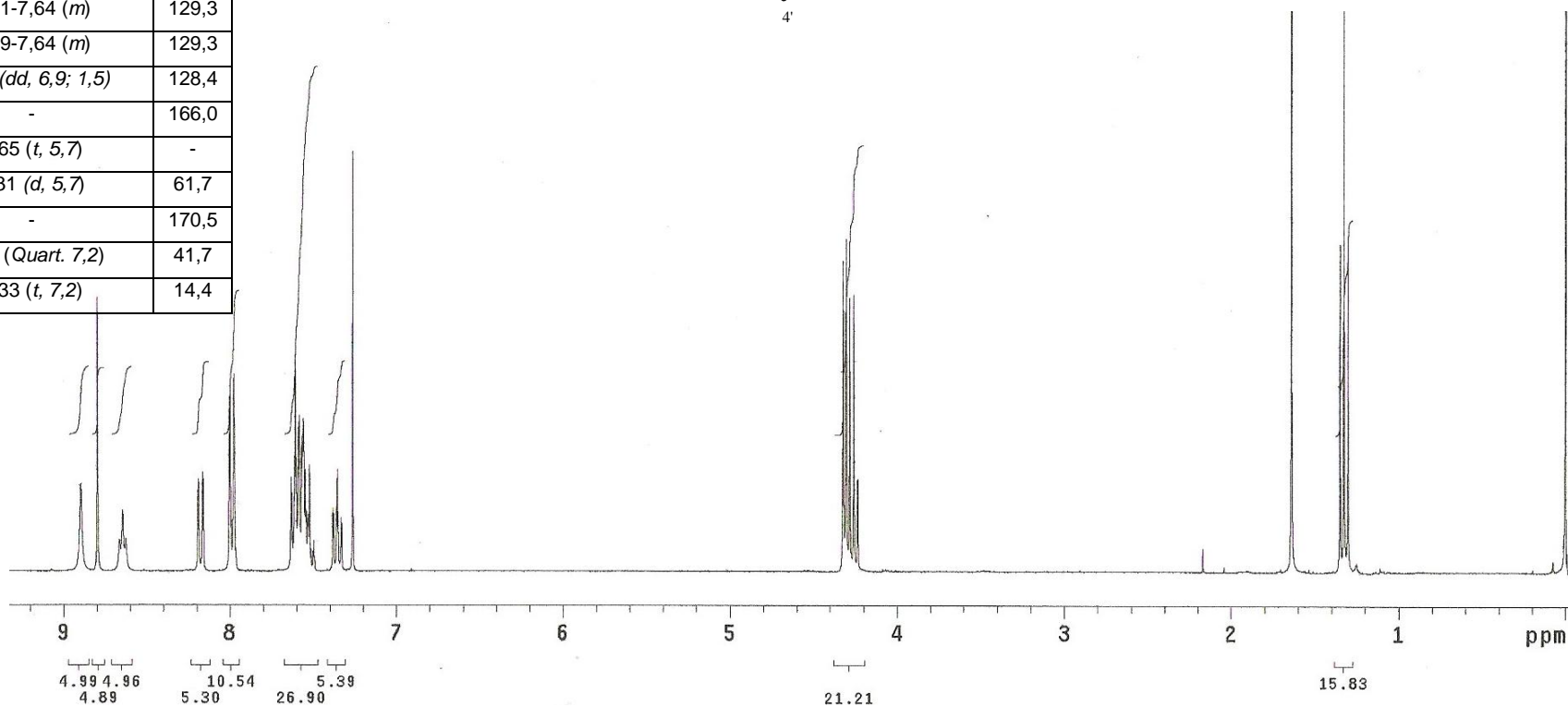
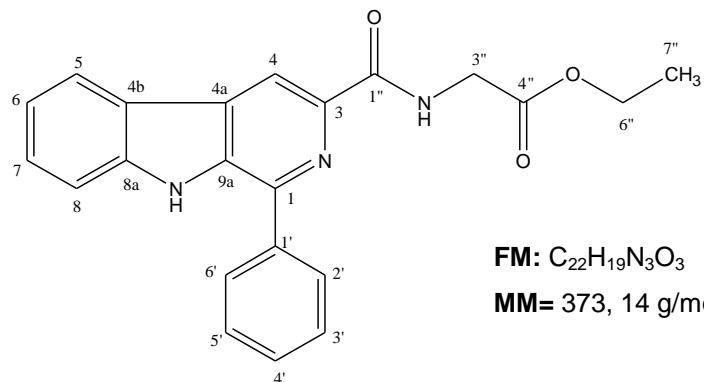
EIV-30: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **142h**.



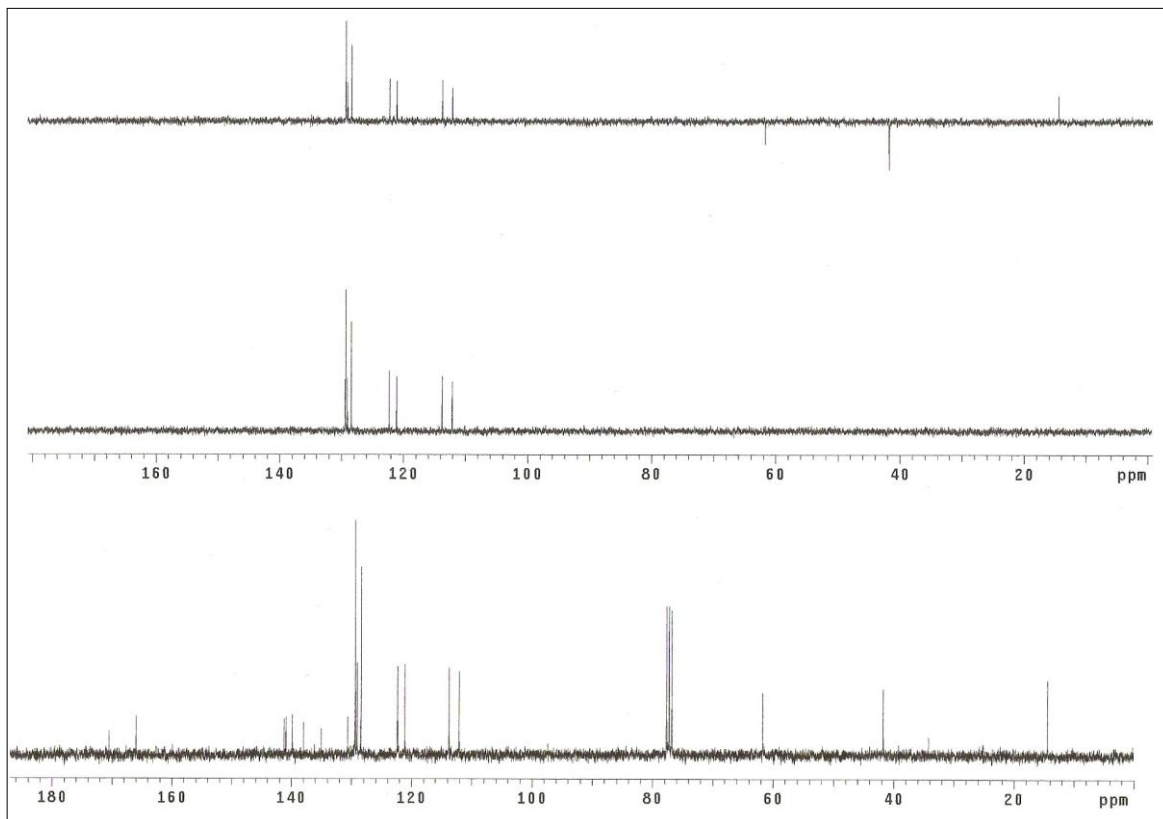
EI-MS- 30: Espectro de massas do composto **142h**.

Anexo 31: 1-fenil-3-carbóxiciletiléster β -carbolina (145a).

^1H	δ_{H} (multiplicidade, $J = \text{Hz}$)	δ_{C}
1 (C ₀)	-	141,2
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	139,8
4 (CH)	8,80 (s)	113,7
4a (C ₀)	-	130,6
4b (C ₀)	-	122,4
5 (CH)	8,18 (d,7,8)	122,3
6 (CH)	7,35 (td, 7,3; 1,5, 1,5)	121,1
7 (CH)	7,49-7,63 (m)	129,1
8 (CH)	7,49-7,63 (m)	112,1
8a (C ₀)	-	140,9
9 (NH)	8,89 (s)	-
9a (C ₀)	-	137,9
1' (C ₀)	-	135,0
2' (CH)	7,99 (dd, 6,9; 1,5;)	128,4
3'/5' (CH)	7,51-7,64 (m)	129,3
4' (CH)	7,49-7,64 (m)	129,3
6' (CH)	7,99 (dd, 6,9; 1,5)	128,4
HNC=O	-	166,0
2'' (NH)	8,65 (t, 5,7)	-
3''(CH ₂)	4,31 (d, 5,7)	61,7
4''(OC=O)	-	170,5
5''(CH ₂)	4,27 (Quart. 7,2)	41,7
6''(CH ₃)	1,33 (t, 7,2)	14,4

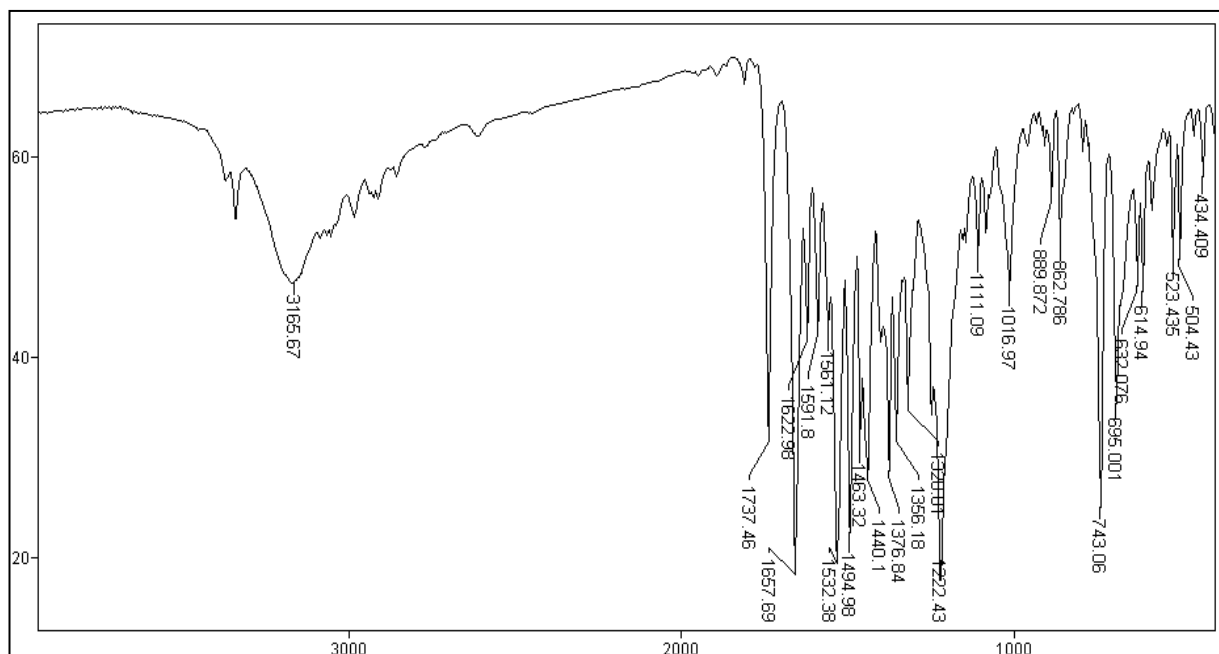


ERMN ¹H-31: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, CDCl₃) do composto 145a.

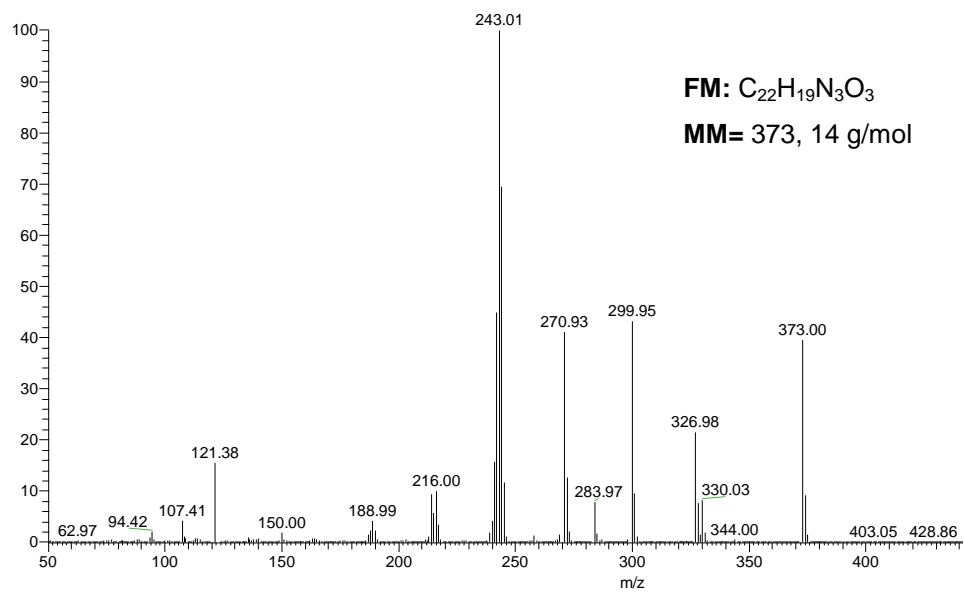


ERMN ¹³C-31: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, CDCl₃) do composto **145a**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1737 cm⁻¹ (O-C=O); 1657 cm⁻¹ (C=O); 1622 cm⁻¹ (C=N); 1591-1494 cm⁻¹ (C=C).



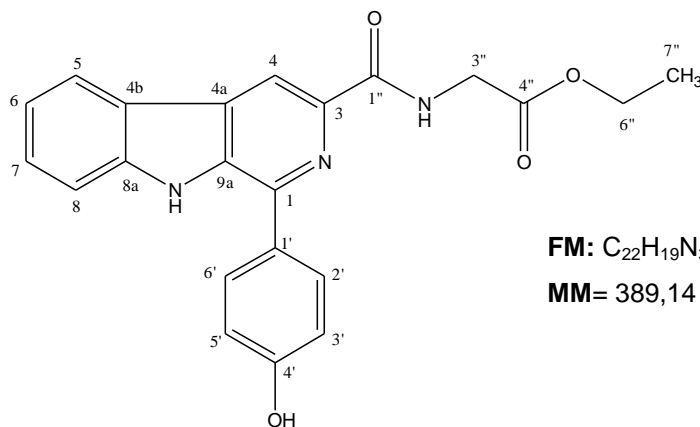
EIV-31: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **145a**.



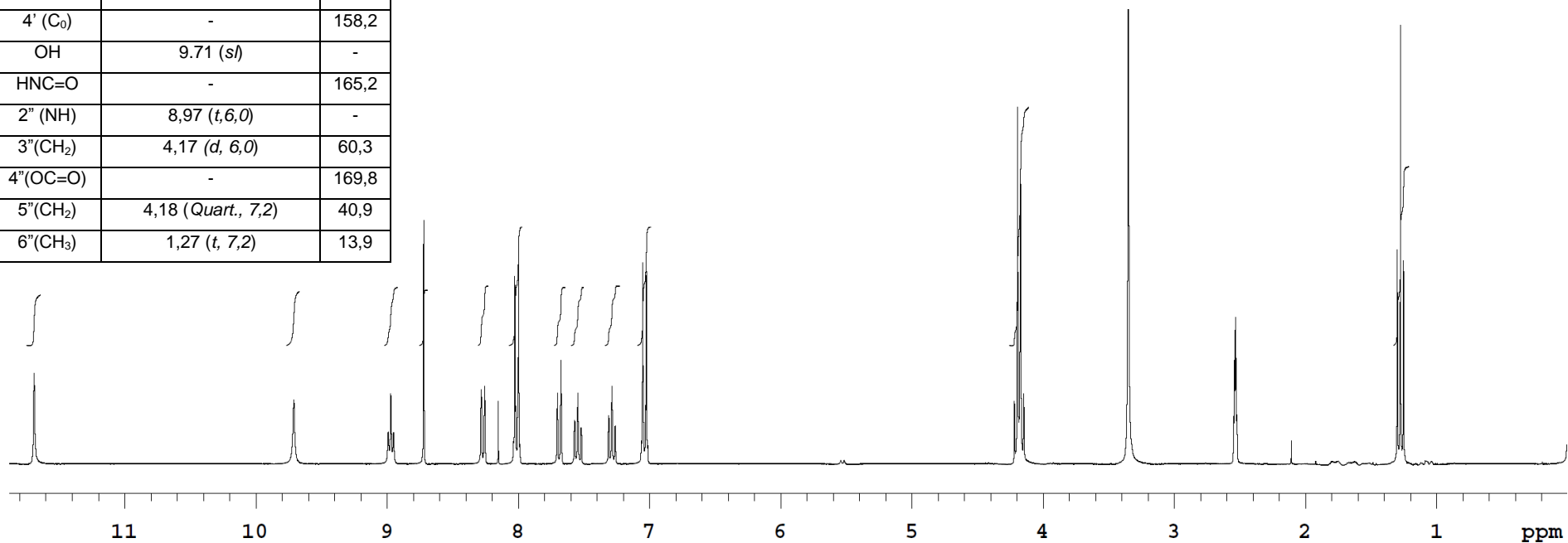
EI-MS- 31: Espectro de massas do composto **145a**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C ₀)	-	141,3
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	138,6
4 (CH)	8,72 (s)	111,9
4a (C ₀)	-	127,9
4b (C ₀)	-	121,1
5 (CH)	8,27 (d, 7,8)	121,3
6 (CH)	7,28 (t, 7,8)	119,7
7 (CH)	7,54 (t, 7,8)	128,2
8 (CH)	7,68 (d, 7,8)	112,4
8a (C ₀)	-	141,0
9 (NH)	11,69 (s)	-
9a (C ₀)	-	133,9
1' (C ₀)	-	129,3
2'/6' (CH)	8,01 (d, 8,7)	129,8
3'/5' (CH)	7,04 (d, 8,7)	115,3
4' (C ₀)	-	158,2
OH	9,71 (s)	-
HNC=O	-	165,2
2'' (NH)	8,97 (t, 6,0)	-
3'' (CH ₂)	4,17 (d, 6,0)	60,3
4'' (OC=O)	-	169,8
5'' (CH ₂)	4,18 (Quart., 7,2)	40,9
6'' (CH ₃)	1,27 (t, 7,2)	13,9

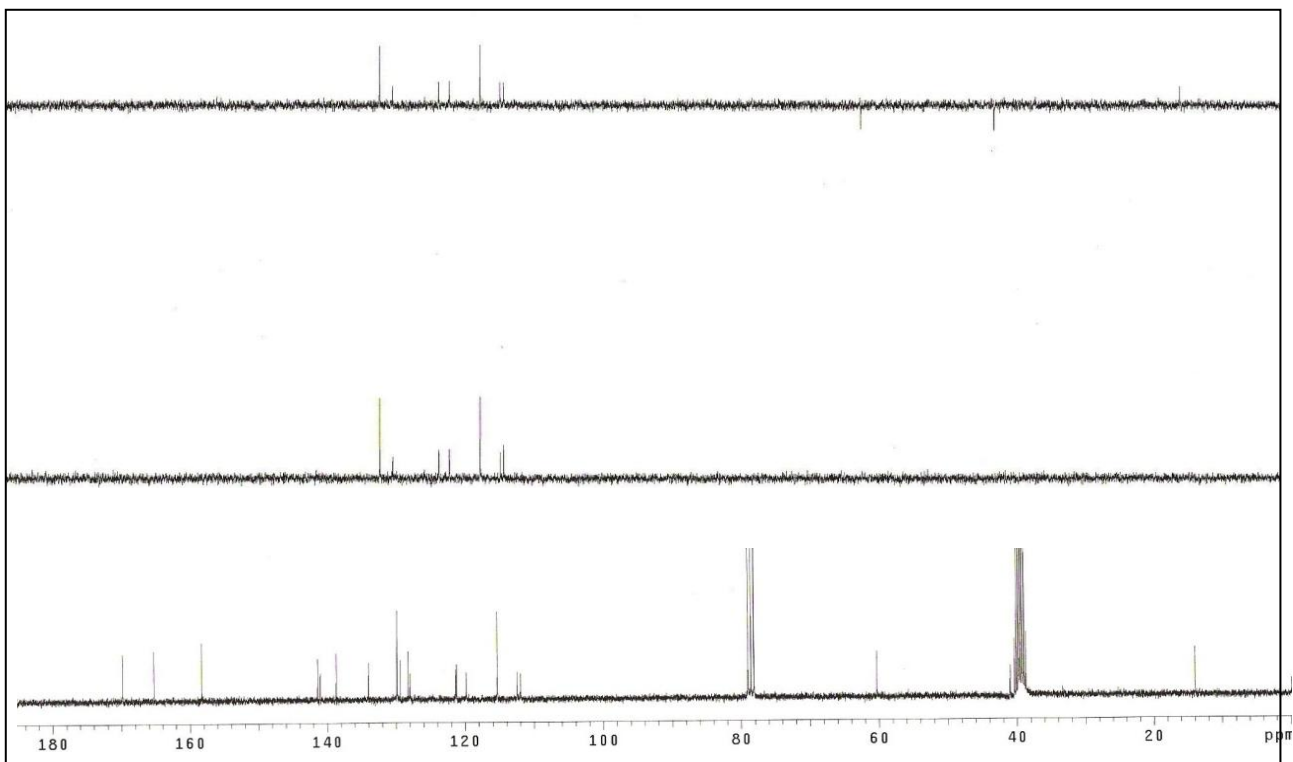
Anexo 32: 1-(4'-hidroxifenil)-3-carbóxiciletiléster β -carbolina (145g).



FM: C₂₂H₁₉N₃O₄
MM= 389,14 g/mol

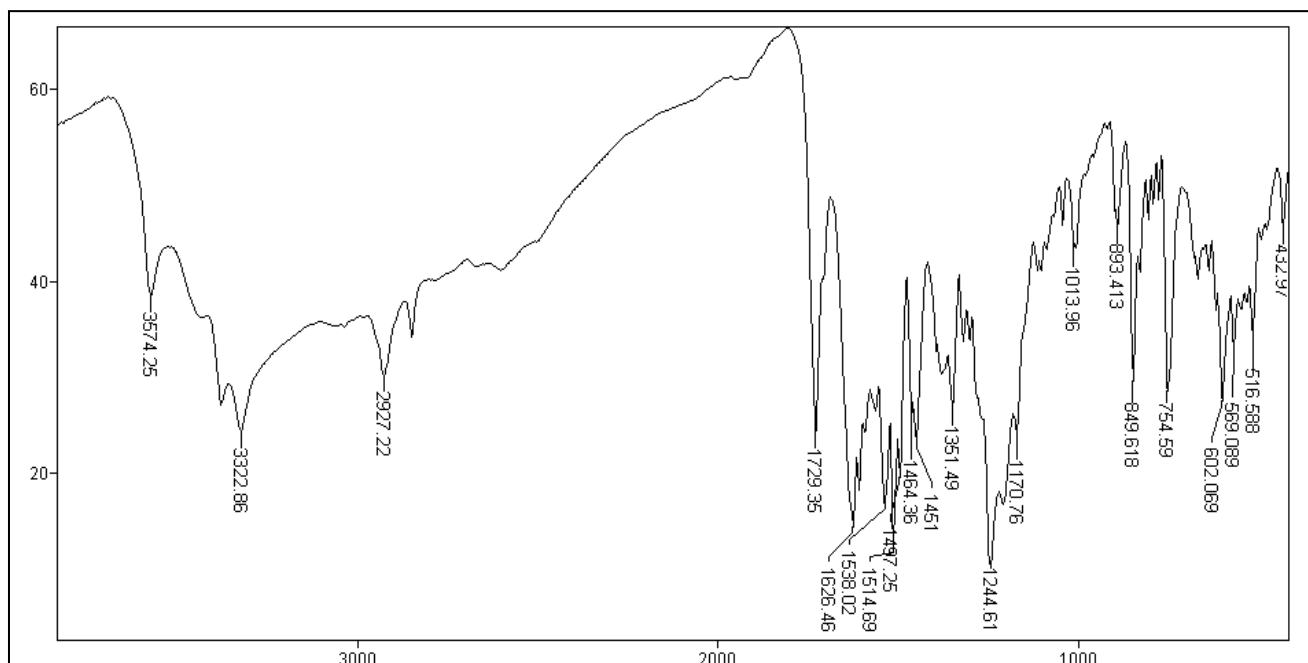


ERMN ¹H-32: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, CDCl₃/DMSO-*d*₆) do composto 145g.

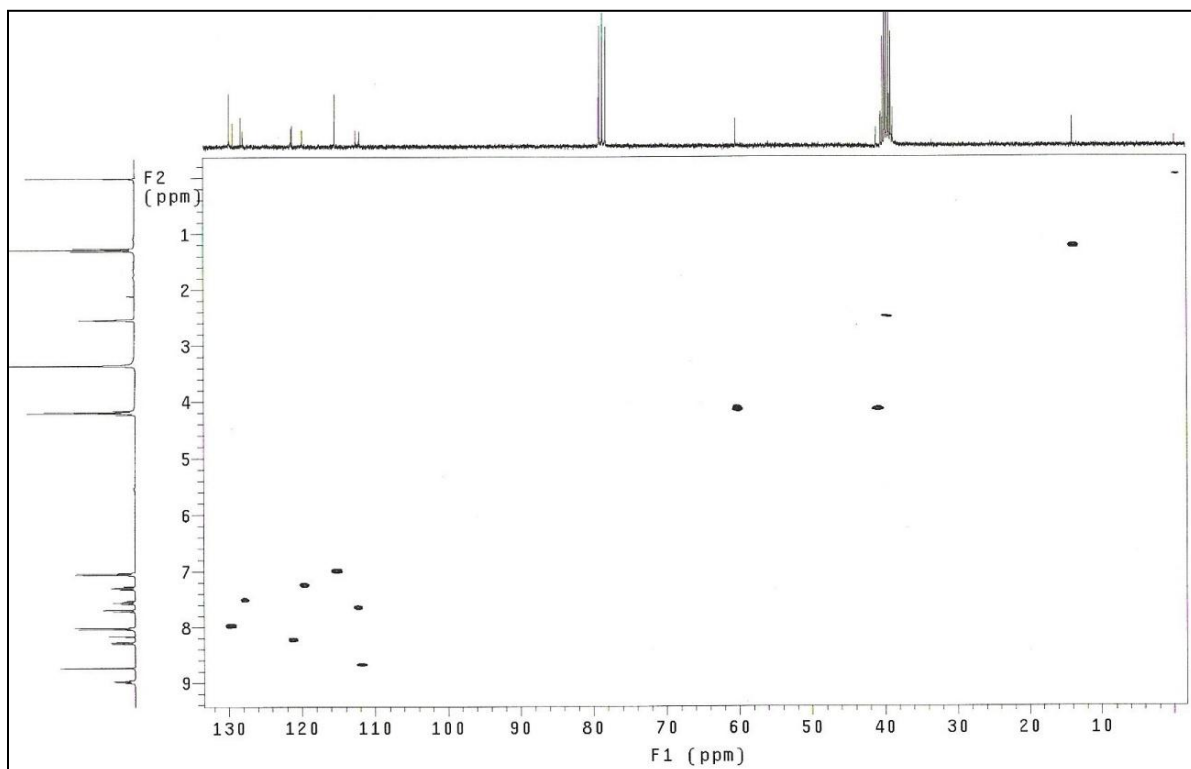


ERMN ¹³C-32: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **145g**.

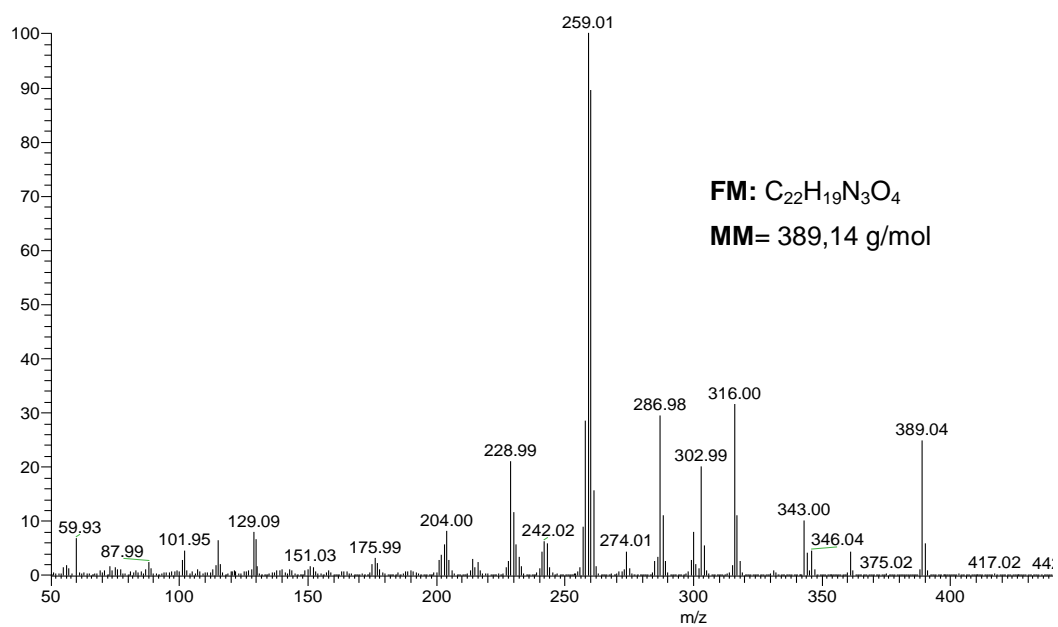
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1729 cm⁻¹ (OC=O); 1626 cm⁻¹ (C=N); 1538-1464 cm⁻¹ (C=C).



EIV-32: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **145g**.



EHSQC-32: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, CDCl₃/DMSO-*d*₆) do composto **145g**.

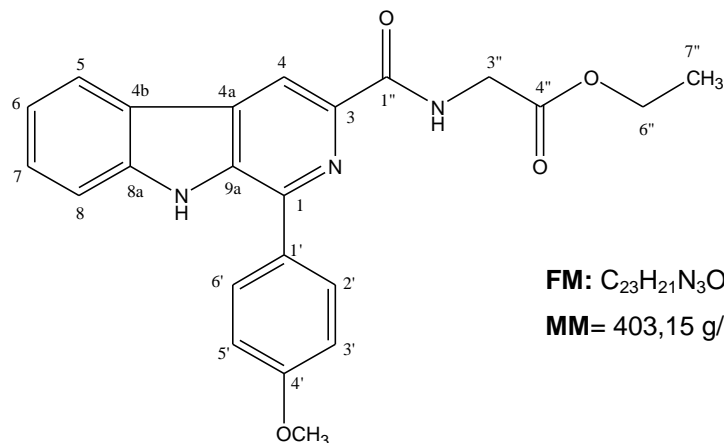


EI-MS-32: Espectro de massas do composto **145g**

C/H	δ_H (multiplicidade, $J = \text{Hz}$)	δ_C
1 (C ₀)	-	141,2
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	139,8
4 (CH)	8,79 (s)	113,3
4a (C ₀)	-	*
4b (C ₀)	-	122,5
5 (CH)	8,19 (d, 7,8)	122,3
6 (CH)	7,35 (td, 7,0; 1,5; 1,5)	121,1
7 (CH)	7,53-7,61 (m)	128,9
8 (CH)	7,53-7,61 (m)	112,0
8a (C ₀)	-	140,8
9 (NH)	8,81 (s)	-
9a (C ₀)	-	134,9
1' (C ₀)	-	130,5
2'/6' (CH)	7,95 (dd, 8,7; 1,8)	129,7
3'/5' (CH)	7,13 (dd, 8,7; 1,8)	114,8
4' (CH)	-	160,6
OCH ₃	3,92 (s)	55,6
HNC=O	-	166,1
2'' (NH)	8,67 (t, 5,5)	-
3'' (CH ₂)	4,32 (d, 5,5)	61,7
4'' (OC=O)	-	170,5
5'' (CH ₂)	4,27 (Quart., 7,0)	41,7
6'' (CH ₃)	1,33 (t, 7,0)	14,4

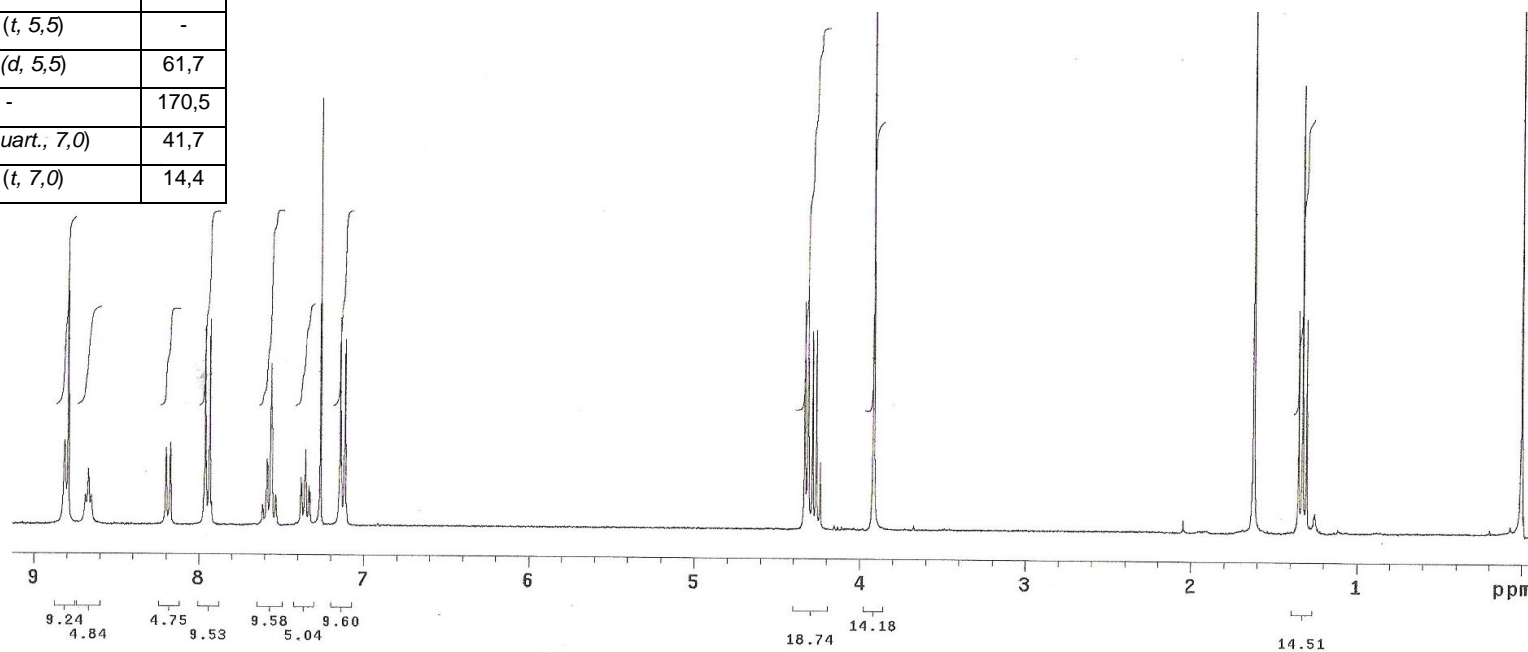
* Não observado

Anexo 33: 1-(4'-metoxifenil)-3-carbóxiciletiléster β -carbolina (145h).

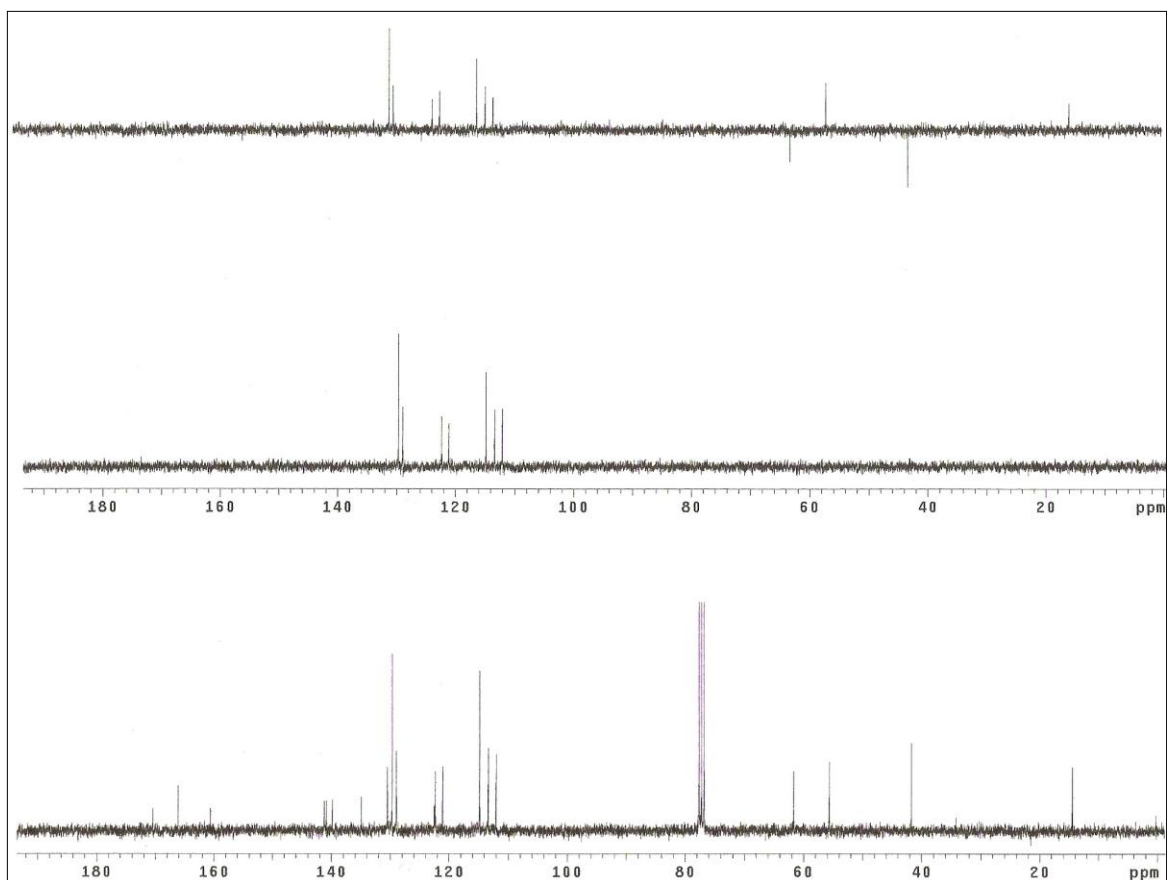


FM: C₂₃H₂₁N₃O₄

MM= 403,15 g/mol

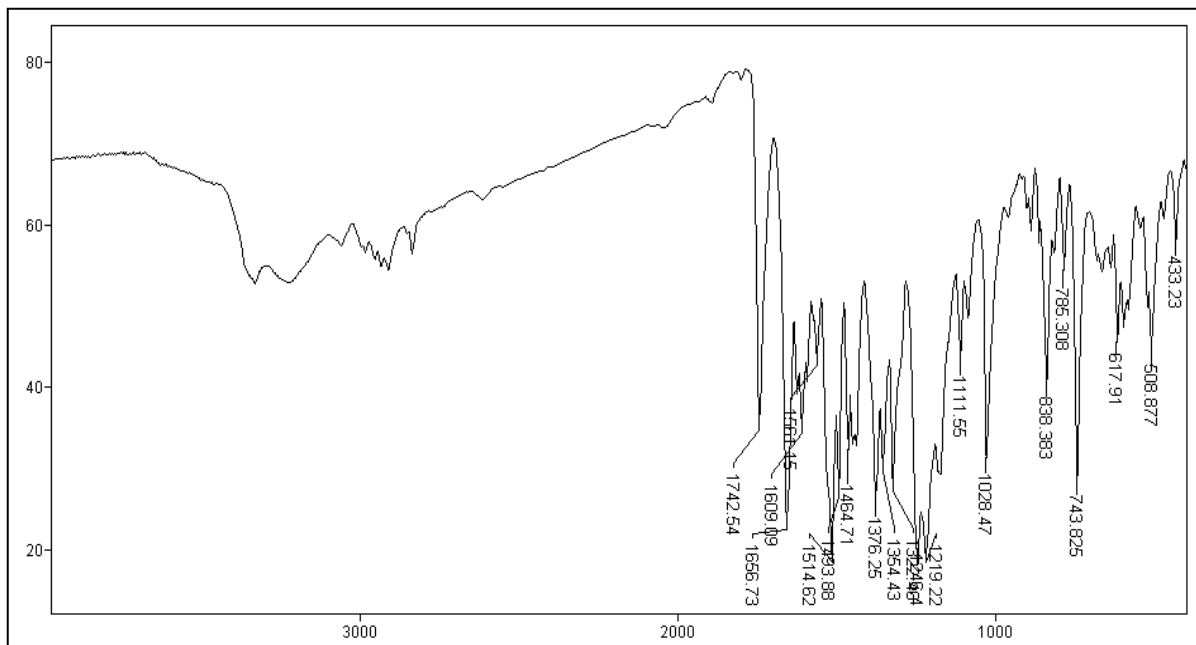


ERMN ¹H-33: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, CDCl₃) do composto 145h.

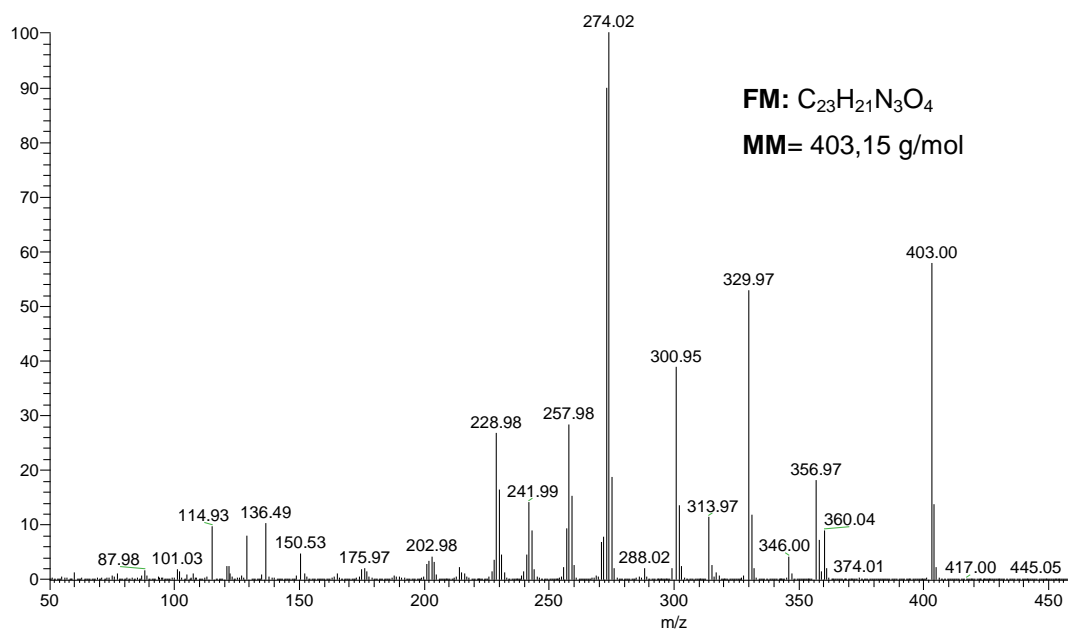


ERMN ¹³C-33: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, CDCl₃) do composto **145h**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 1742 cm⁻¹ (C=O); 1656 cm⁻¹ (C=O); 1609 cm⁻¹ (C=N); 1561-1464 cm⁻¹ (C=C).



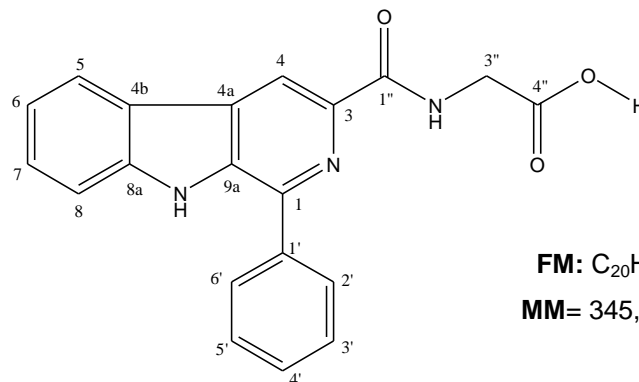
EIV-33: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **145h**.



EI-MS- 33: Espectro de massas do composto **145h**

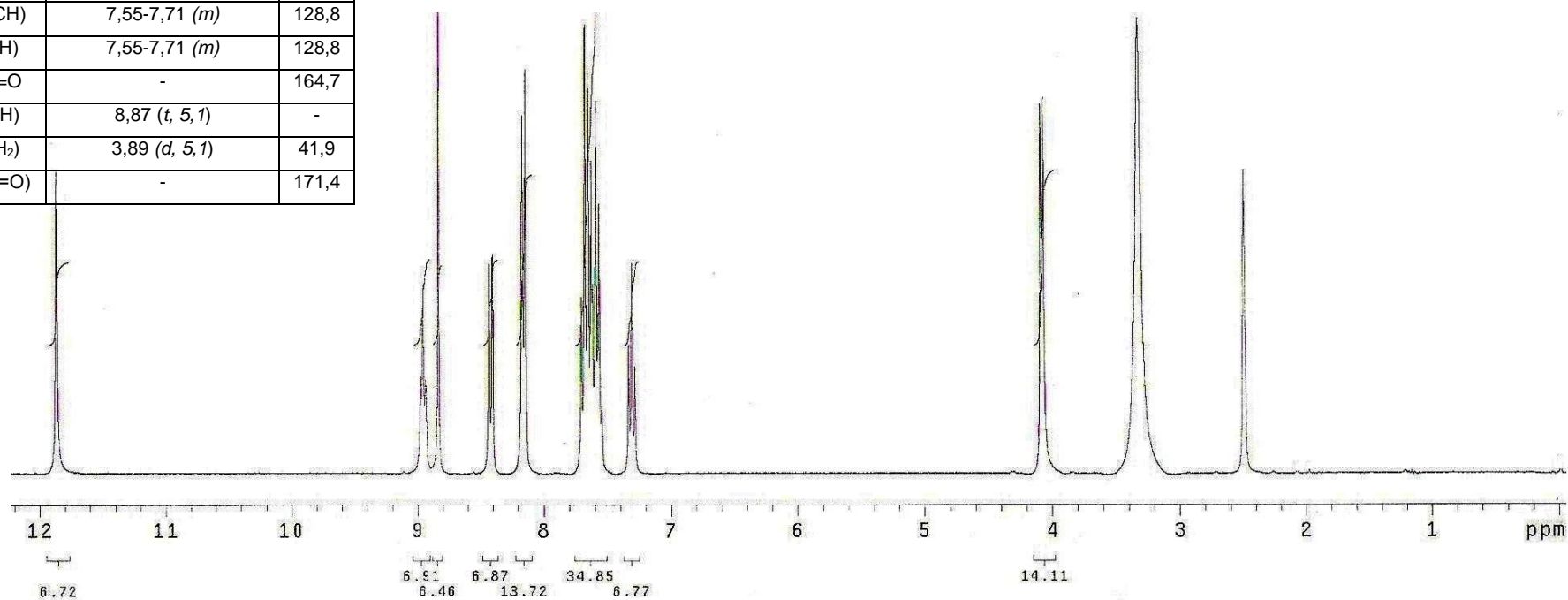
Anexo 34: 1-(fenil)-3-carbóxiciglicilácido β -carbolina (**144a**).

C/H	δ_H (multiplicidade, $J = \text{Hz}$)	δ_C
1 (C _o)	-	141,6
2 (N)	-	-
3 (C _o)	-	139,5
4 (CH)	8,83 (s)	112,9
4a (C _o)	-	129,9
4b (C _o)	-	122,0
5 (CH)	8,43 (<i>d</i> , 7,8)	121,2
6 (CH)	7,32 (<i>t</i> , 7,8)	120,2
7 (CH)	7,53-7,71 (<i>m</i>)	128,9
8 (CH)	7,53-7,71 (<i>m</i>)	112,7
8a (C _o)	-	140,6
9 (NH)	11,87 (<i>s</i>)	-
9a (C _o)	-	137,5
1' (C _o)	-	134,2
2'/6' (CH)	8,14 (<i>dd</i> , 7,8; 1,2)	128,6
3'/5' (CH)	7,55-7,71 (<i>m</i>)	128,8
4' (CH)	7,55-7,71 (<i>m</i>)	128,8
HNC=O	-	164,7
2'' (NH)	8,87 (<i>t</i> , 5,1)	-
3'' (CH ₂)	3,89 (<i>d</i> , 5,1)	41,9
4'' (OC=O)	-	171,4

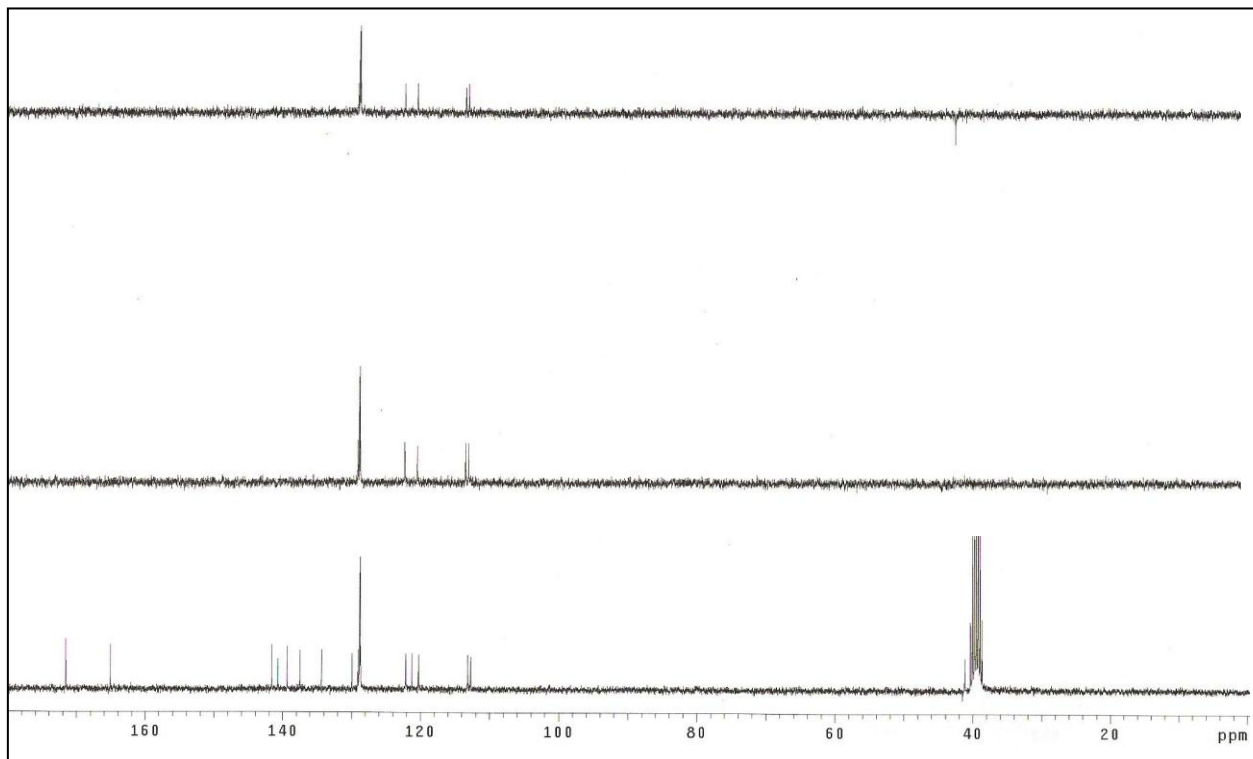


FM: C₂₀H₁₇N₃O₄

MM= 345,11 g/mol

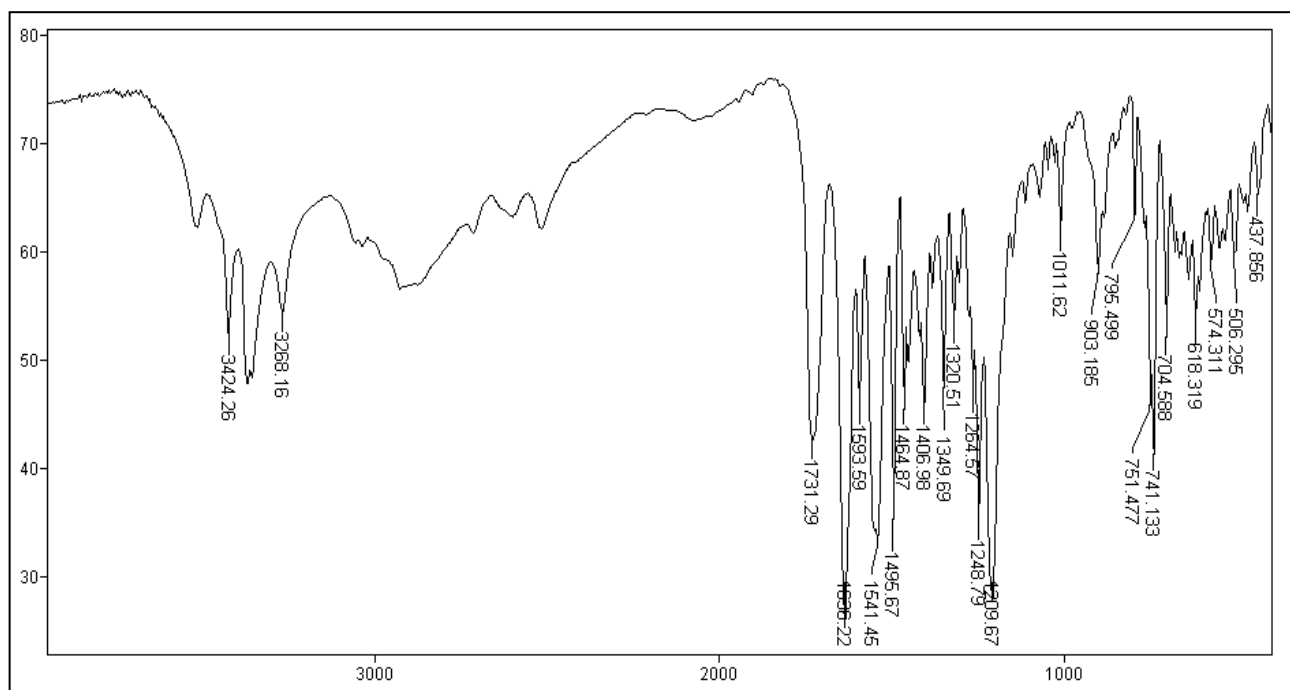


ERMN ¹H-34: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **144a**.

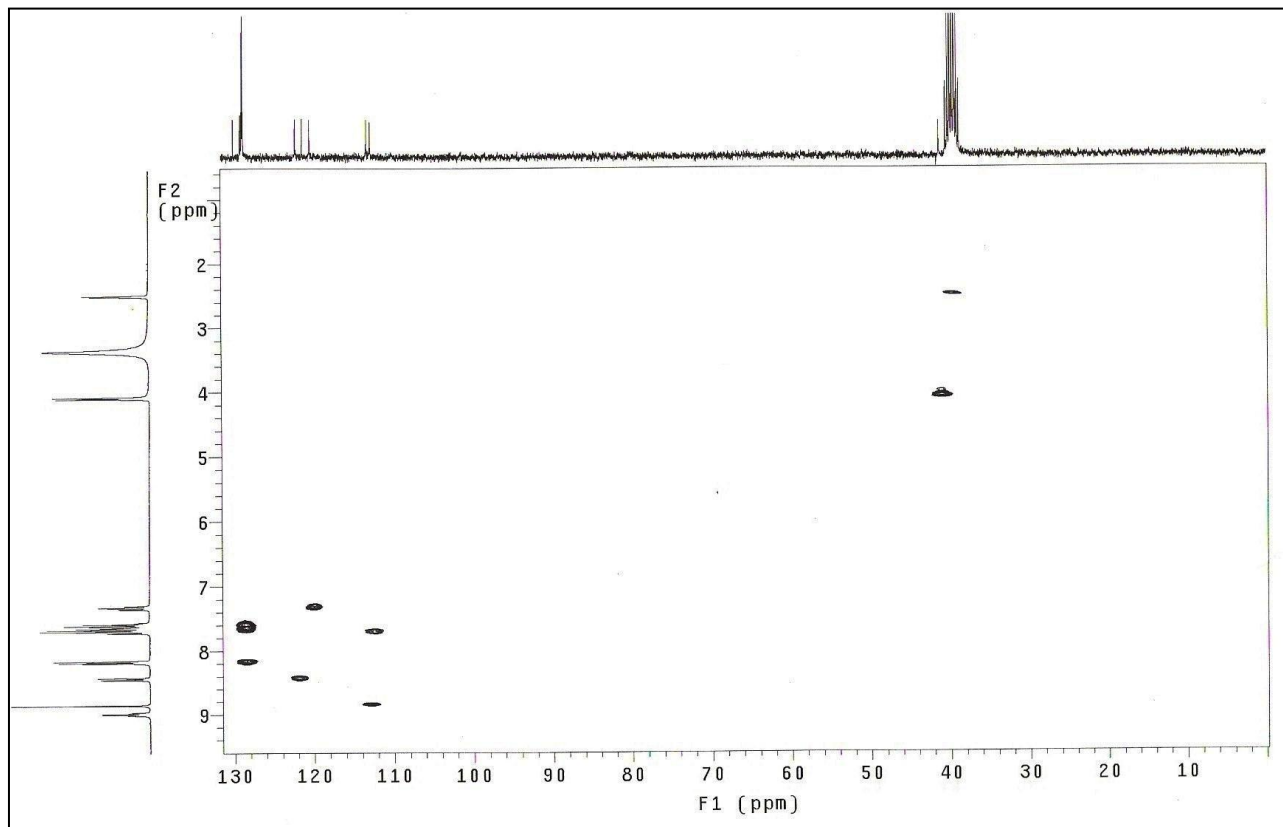


ERMN ¹³C-34: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **144a**.

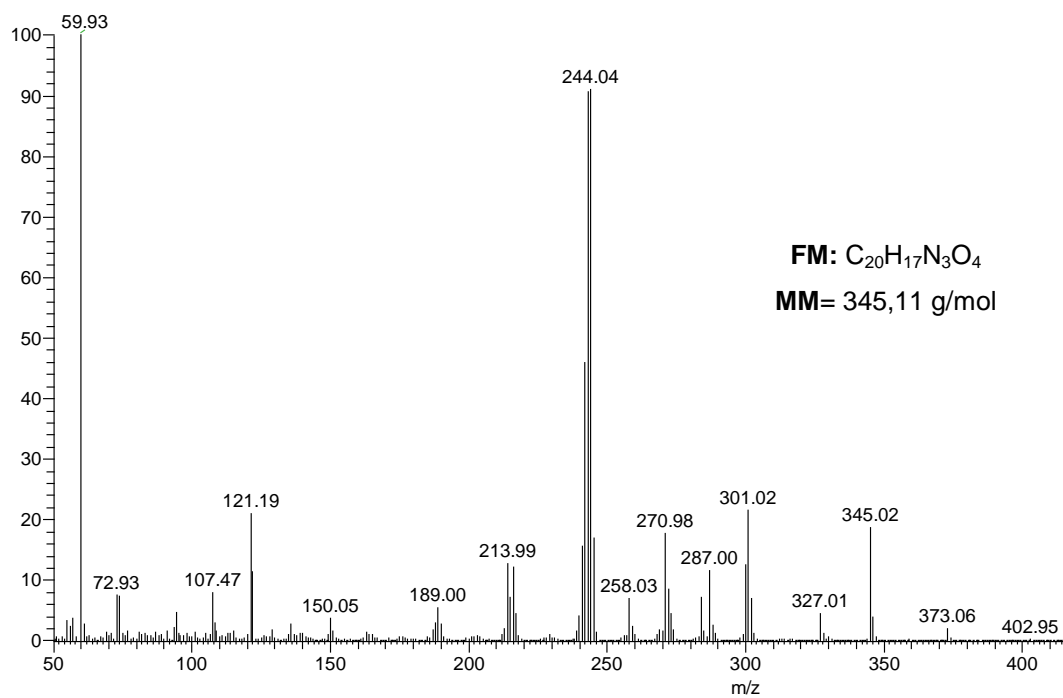
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1731 cm⁻¹ (OC=O); 1636 cm⁻¹ (C=N); 1593-1464 cm⁻¹ (C=C).



EIV-34: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **144a**.



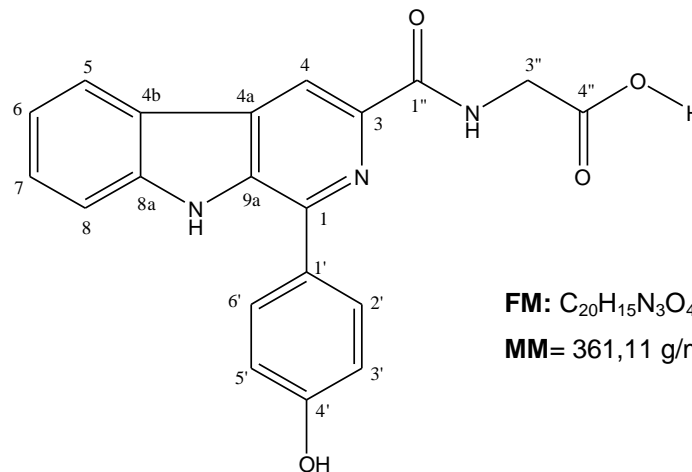
EHSQC-34: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **144a**.



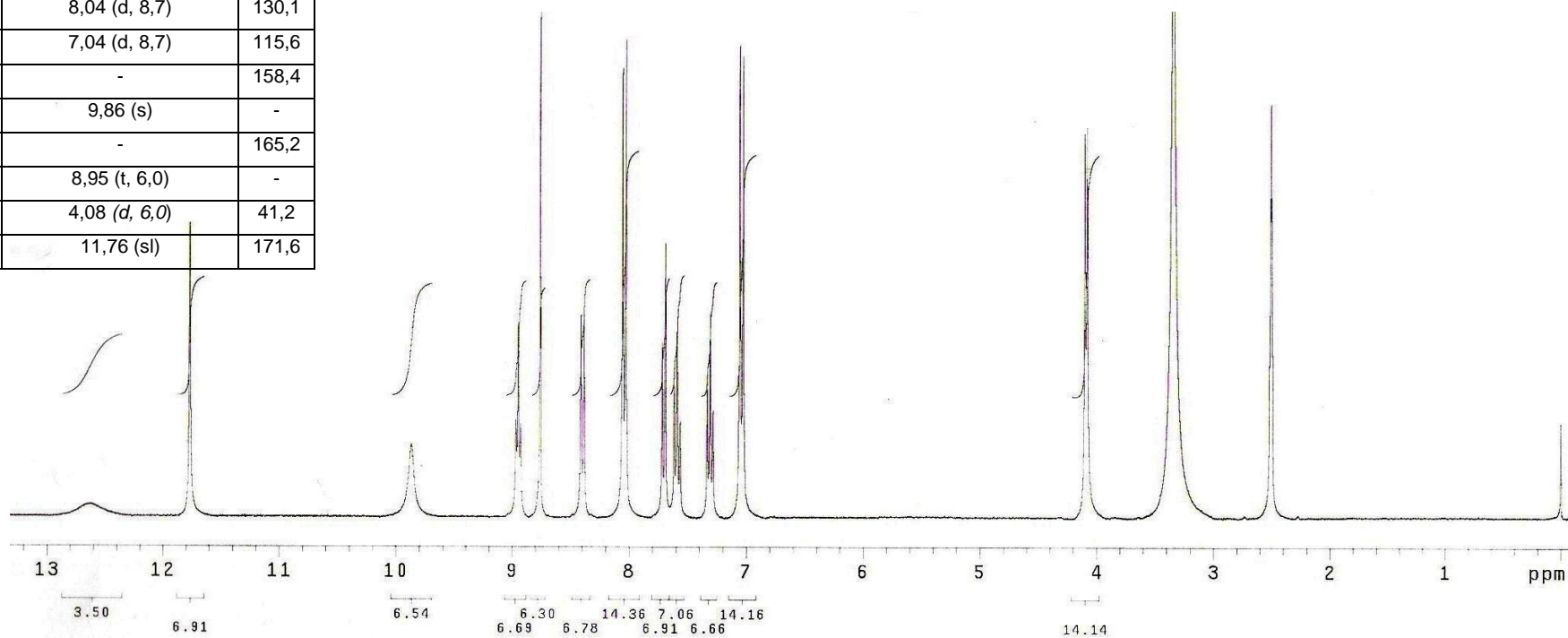
EI-MS- 34: Espectro de massas do composto **144a**

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C _o)	-	141,5
2 (N)	-	-
3 (C _o)	-	139,2
4 (CH)	8,76 (s)	112,3
4a (C _o)	-	128,4
4b (C _o)	-	121,3
5 (CH)	8,40 (d, 7,6)	121,9
6 (CH)	7,31 (t, 7,6)	120,1
7 (CH)	7,59 (t, 7,6)	128,31
8 (CH)	7,70 (d, 7,6)	112,7
8a (C _o)	-	141,0
9 (NH)	12,64 (s)	-
9a (C _o)	-	133,9
1' (C _o)	-	129,6
2'/6' (CH)	8,04 (d, 8,7)	130,1
3'/5' (CH)	7,04 (d, 8,7)	115,6
4' (C _o)	-	158,4
OH	9,86 (s)	-
HNC=O	-	165,2
2'' (NH)	8,95 (t, 6,0)	-
3'' (CH ₂)	4,08 (d, 6,0)	41,2
4'' (HOC=O)	11,76 (sl)	171,6

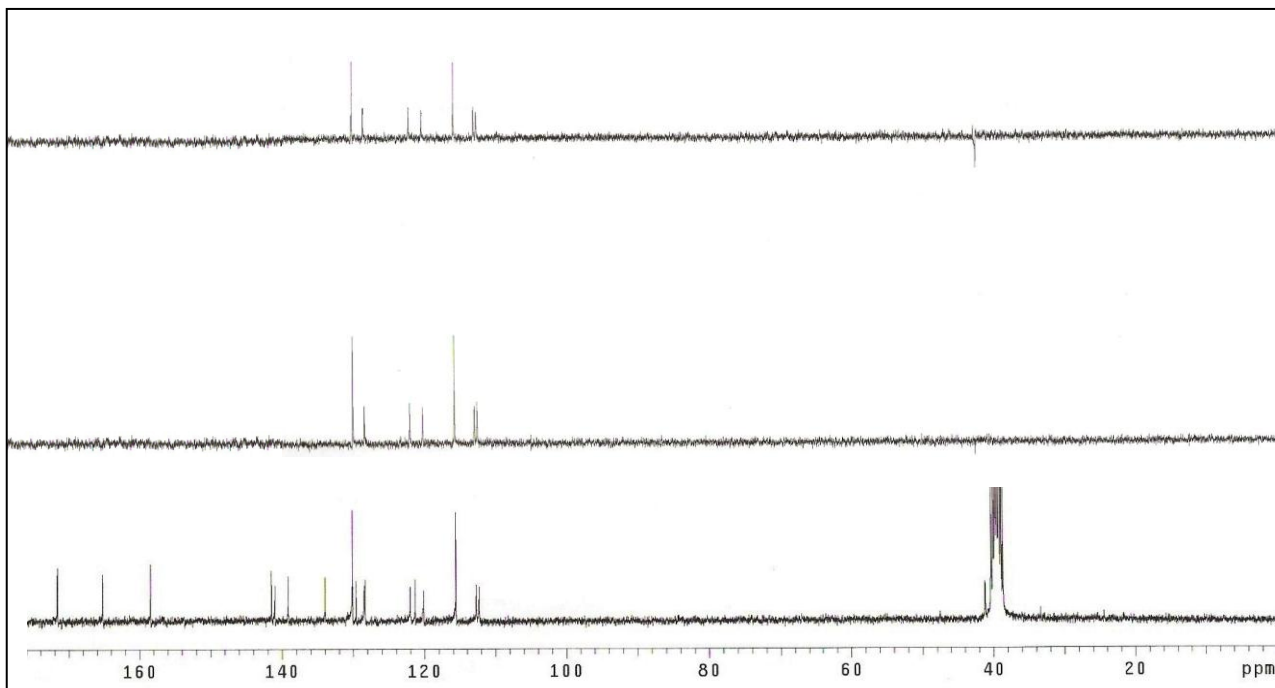
Anexo 35: 1-(4'-hidroxifenil)-3-carbóxicilicido β -carbolina (**144g**).



FM: C₂₀H₁₅N₃O₄
MM= 361,11 g/mol

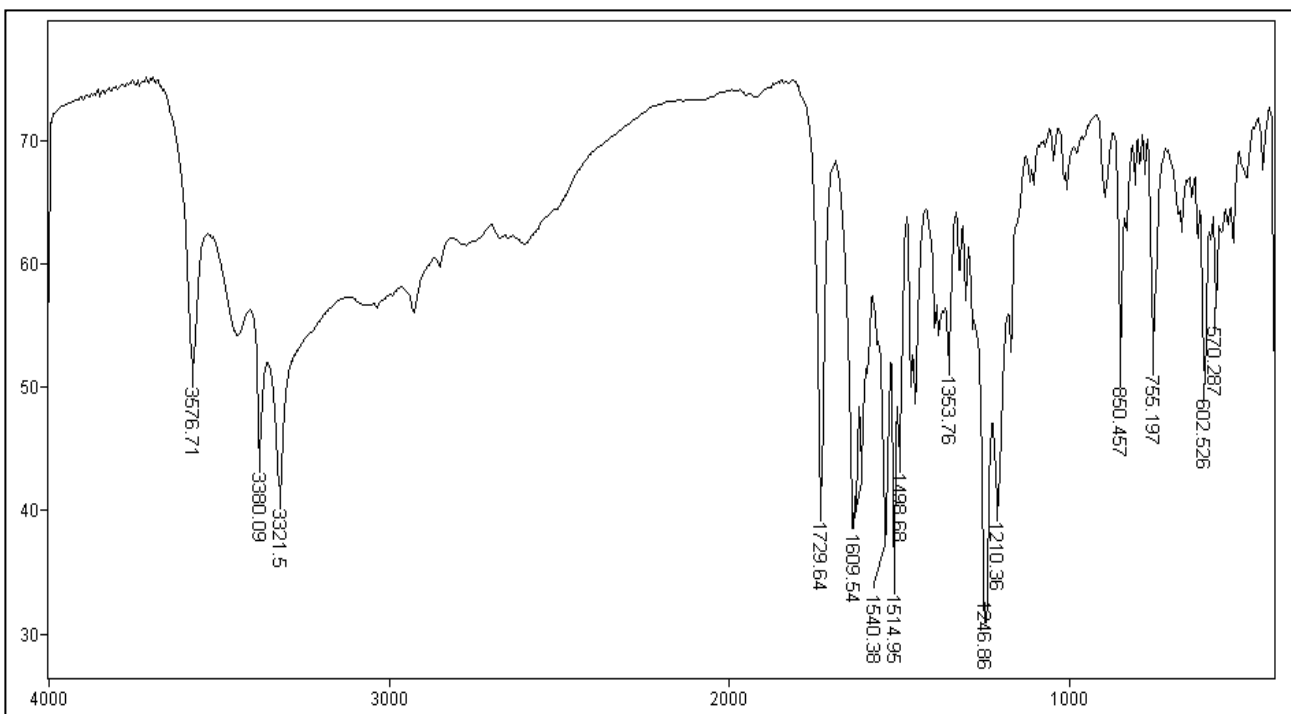


ERMN ¹H-35: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **144g**.

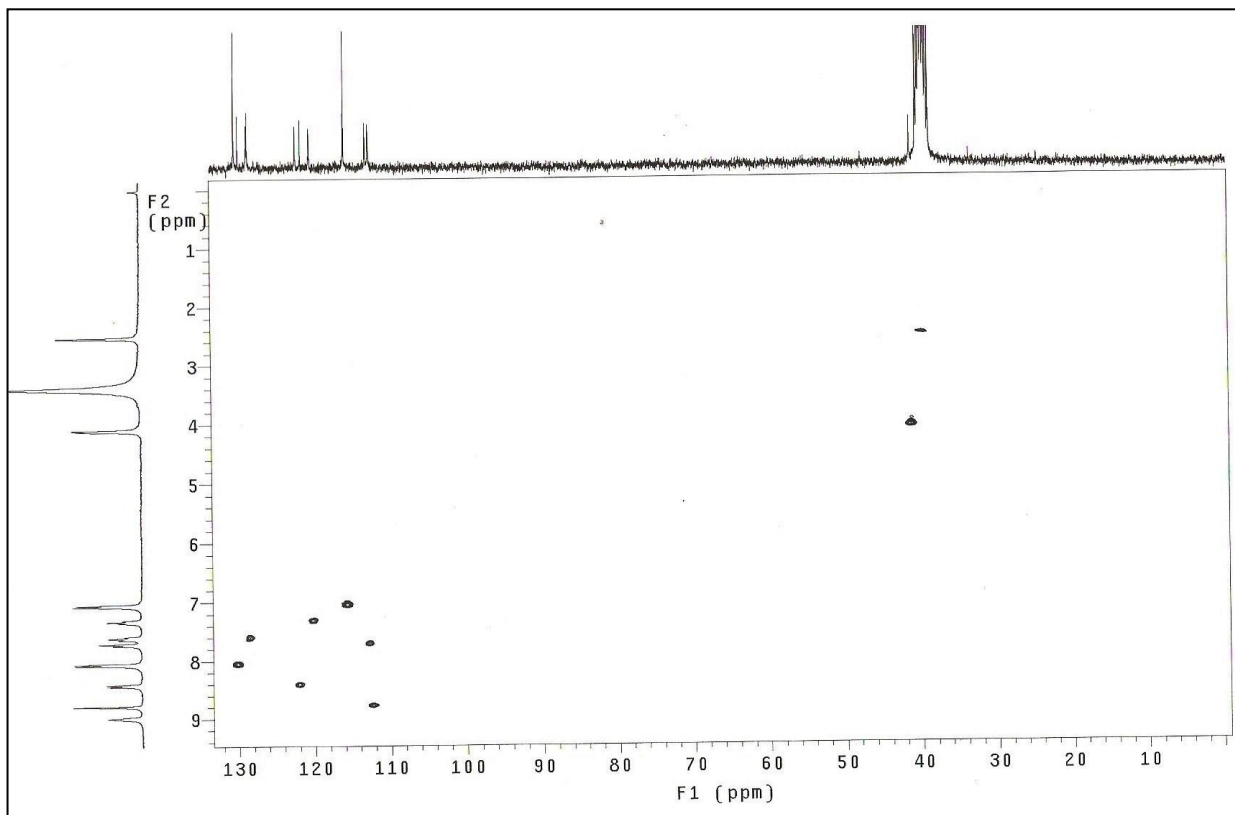


ERMN ¹³C-35: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-d₆) do composto **144g**.

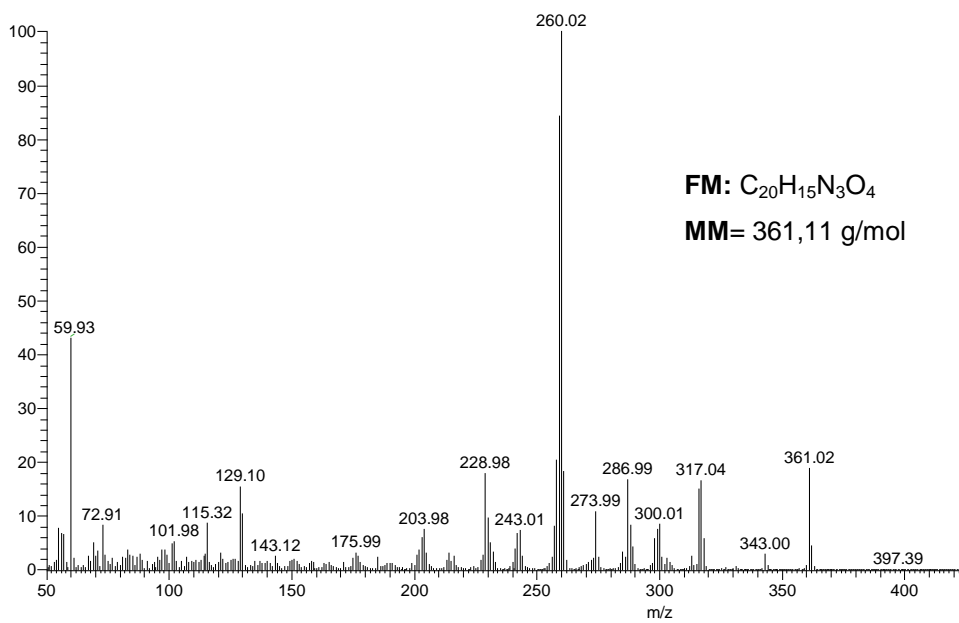
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1729 cm⁻¹ (C=O); 1609 cm⁻¹ (C=N); 1540-1498 cm⁻¹ (C=C).



EIV-35: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **144g**.



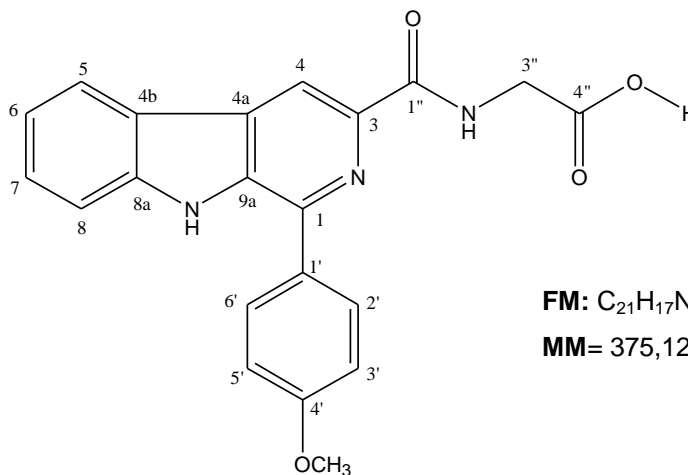
EHSQC-35: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **144g**.



EI-MS- 35: Espectro de massas do composto **144g**.

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C _o)	-	141,5
2 (N)	-	-
3 (C _o)	-	138,6
4 (CH)	8,76 (s)	112,3
4a (C _o)	-	*
4b (C _o)	-	121,1
5 (CH)	8,28 (d, 7,5)	121,4
6 (CH)	7,30 (t, 7,5)	119,9
7 (CH)	7,56 (t, 7,5)	128,1
8 (CH)	7,69 (d, 7,5)	112,5
8a (C _o)	-	140,4
9 (NH)	11,74 (s)	-
9a (C _o)	-	134,0
1' (C _o)	-	129,5
2'/6' (CH)	8,11 (d, 8,7)	129,9
3'/5' (CH)	7,91 (d, 8,7)	113,8
4' (C _o)	-	159,8
OCH ₃	3,91 (s)	55,0
HNC=O	-	164,8
2'' (NH)	8,90 (t, 5,7)	-
3'' (CH ₂)	4,13 (d, 5,7)	40,9
4'' (OC=O)	-	171,2

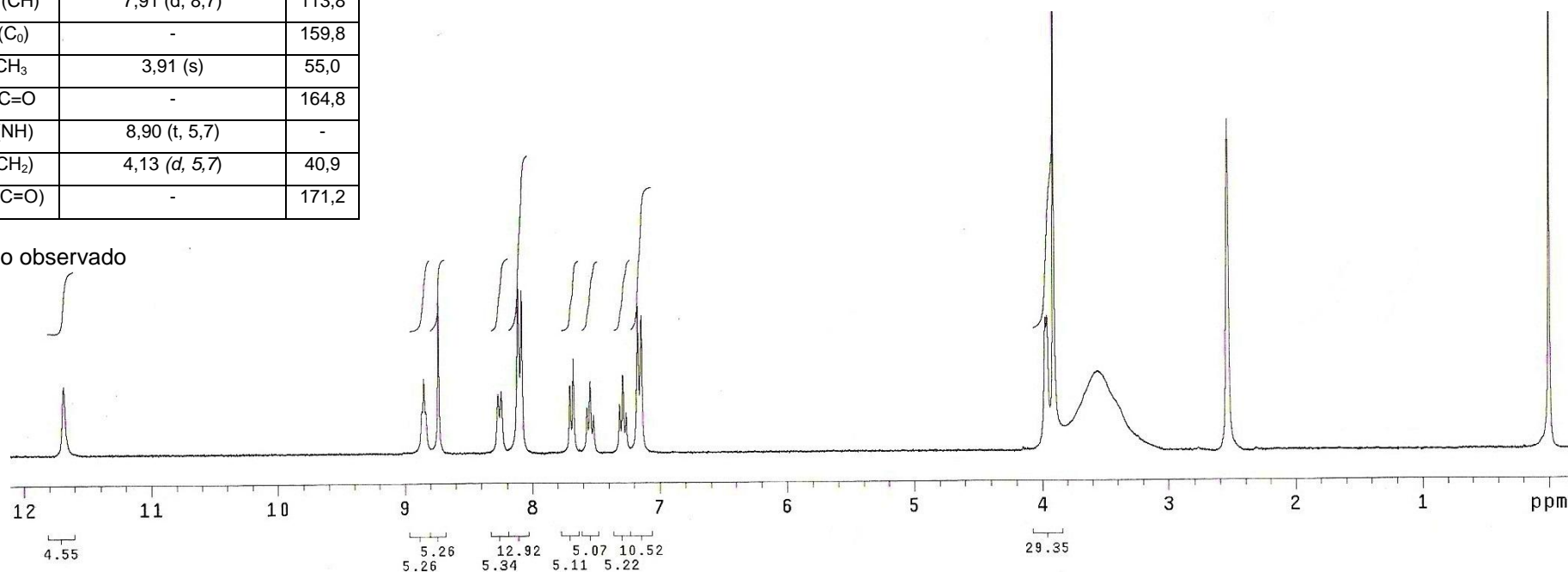
Anexo 36: 1-(4'-metoxifenil)-3-carbóxicilicido β -carbolina (**144h**).



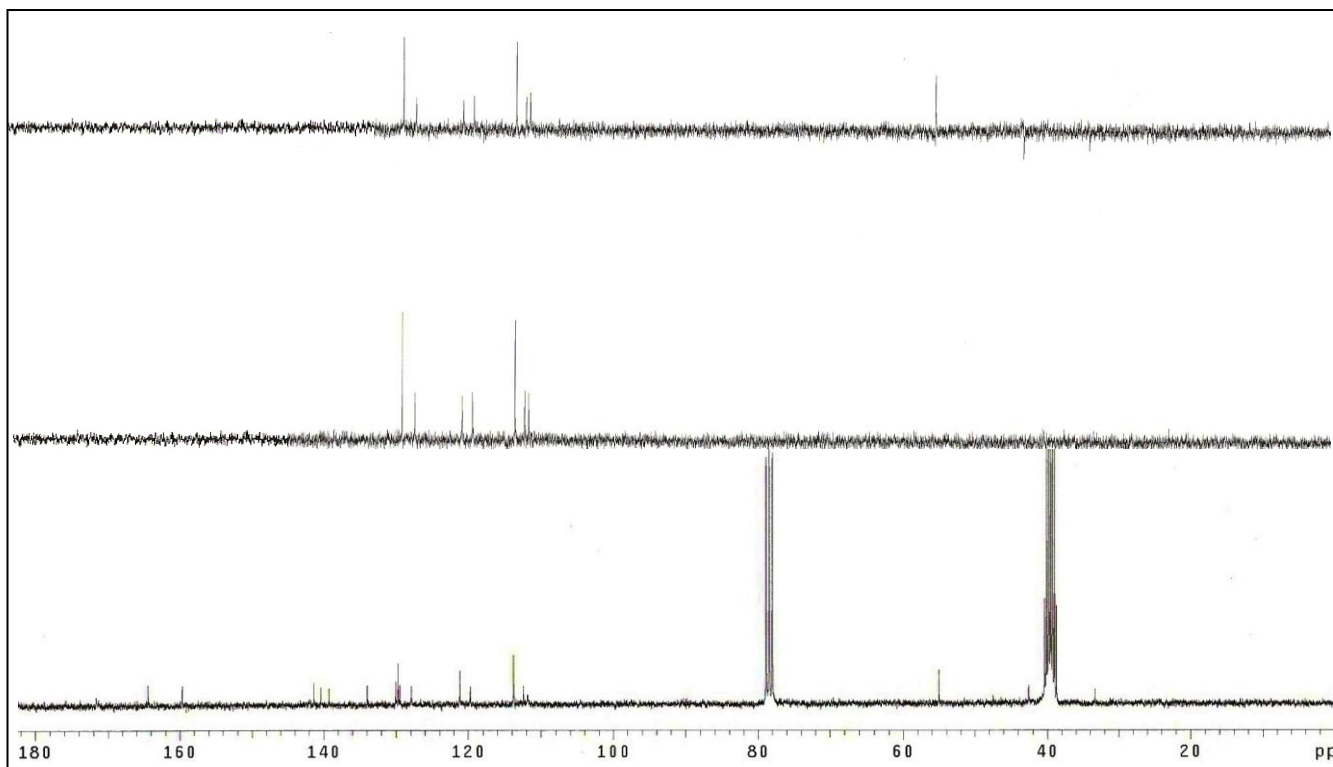
FM: C₂₁H₁₇N₃O₄

MM= 375,12 g/mol

* Não observado

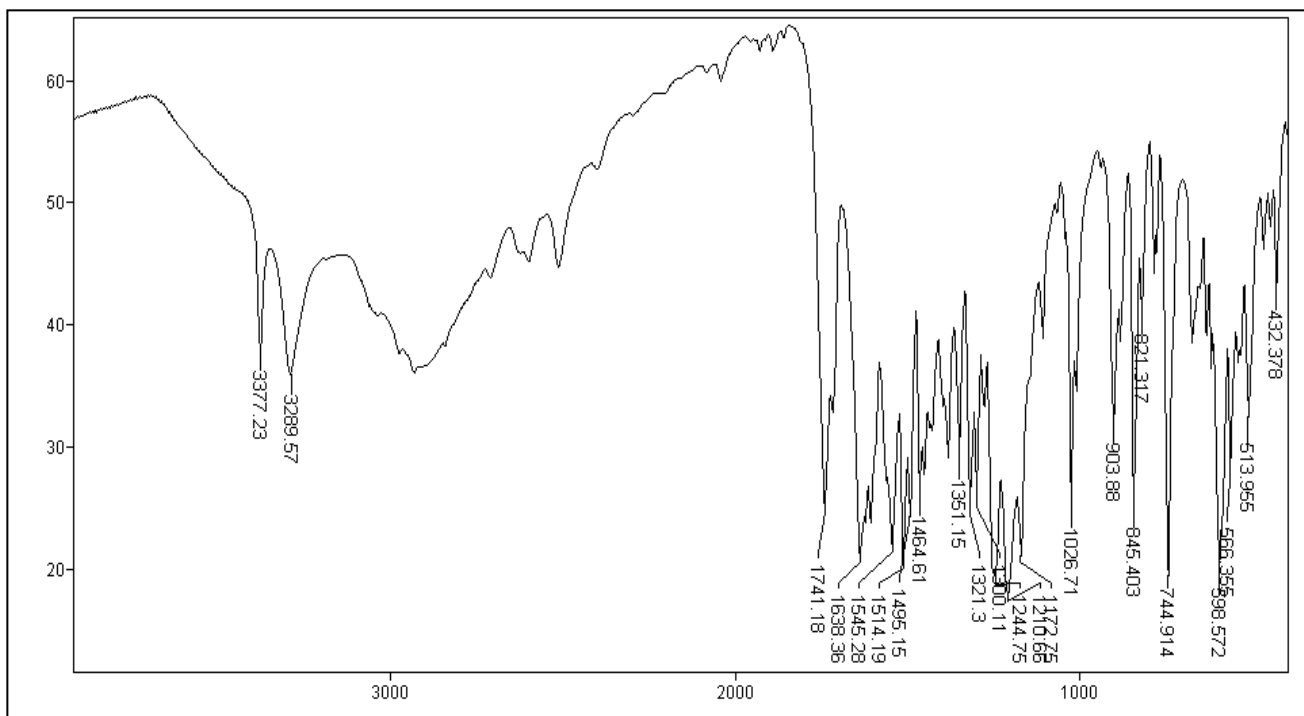


ERMN ¹H-36: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆/CDCl₃) do composto **144h**.

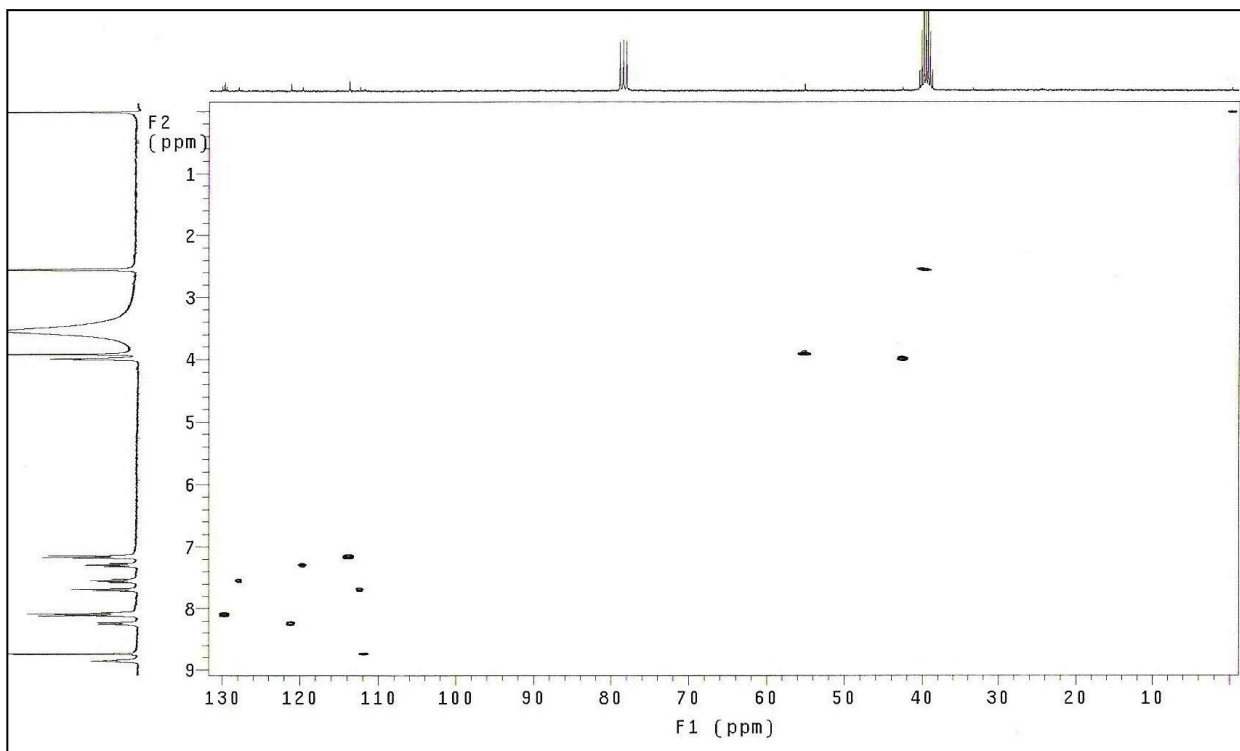


ERMN ¹³C-36: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆/CDCl₃) do composto **144h**.

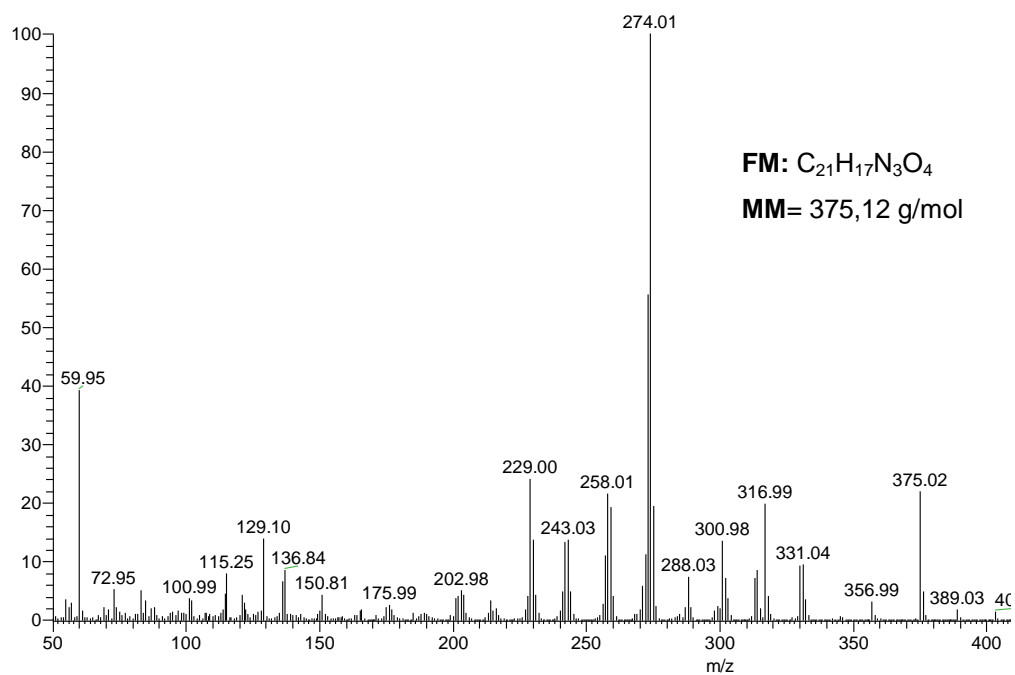
IV (v, cm⁻¹; KBr): 1741 cm⁻¹ (OC=O); 1638 cm⁻¹ (C=N); 1545-1464 cm⁻¹ (C=C).



EIV-36: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **144h**.



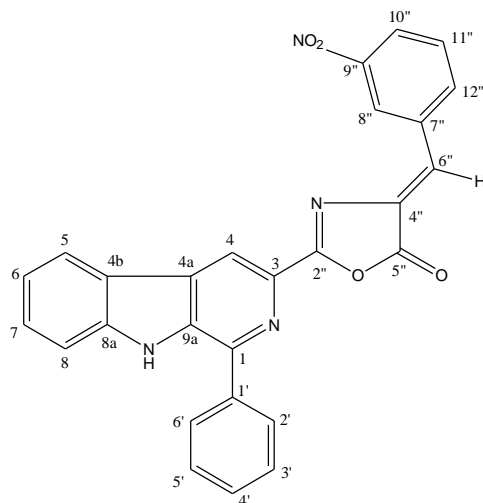
EHSQC-36: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO-*d*₆/CDCl₃) do composto **144h**.



EI-MS- 36: Espectro de massas do composto **144h**.

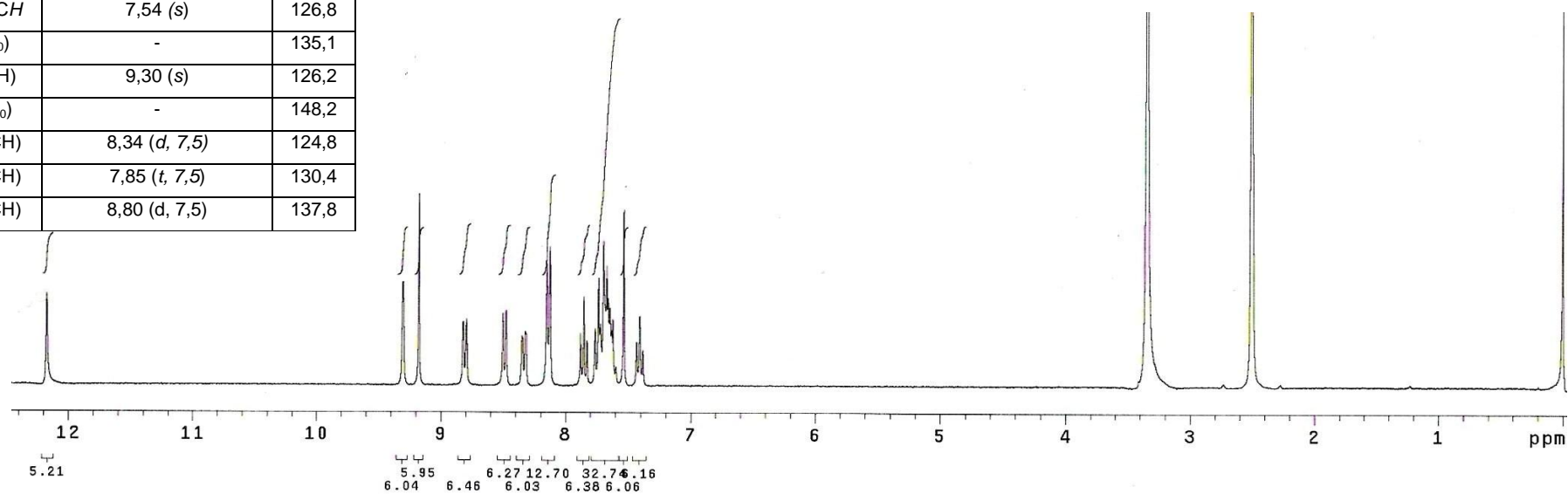
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C ₀)	-	143,1
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	137,2
4 (CH)	9,17 (s)	116,9
4a (C ₀)	-	129,1
4b (C ₀)	-	120,9
5 (CH)	8,49 (d, 7,8)	122
6 (CH)	7,41 (t, 7,8)	120,8
7 (CH)	7,59-7,66 (m)	129,3
8 (CH)	7,75 (d, 7,8)	113
8a (C ₀)	-	141,5
9 (NH)	12,17 (s)	-
9a (C ₀)	-	134,8
1' (C ₀)	-	132,3
2'/6' (CH)	8,12 (d, 8,0)	128,6
3'/5' (CH)	7,68 (d, 8,0)	128,9
4' (CH)	7,59-7,66 (m)	129
2" C=O	-	167
5" C=N	-	164,4
3" C=CH	-	135,7
6" C=CH	7,54 (s)	126,8
7" (C ₀)	-	135,1
8" (CH)	9,30 (s)	126,2
9" (C ₀)	-	148,2
10" (CH)	8,34 (d, 7,5)	124,8
11" (CH)	7,85 (t, 7,5)	130,4
12" (CH)	8,80 (d, 7,5)	137,8

Anexo 37: 1-fenil-3-[4-(3-nitrobenzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**146**).

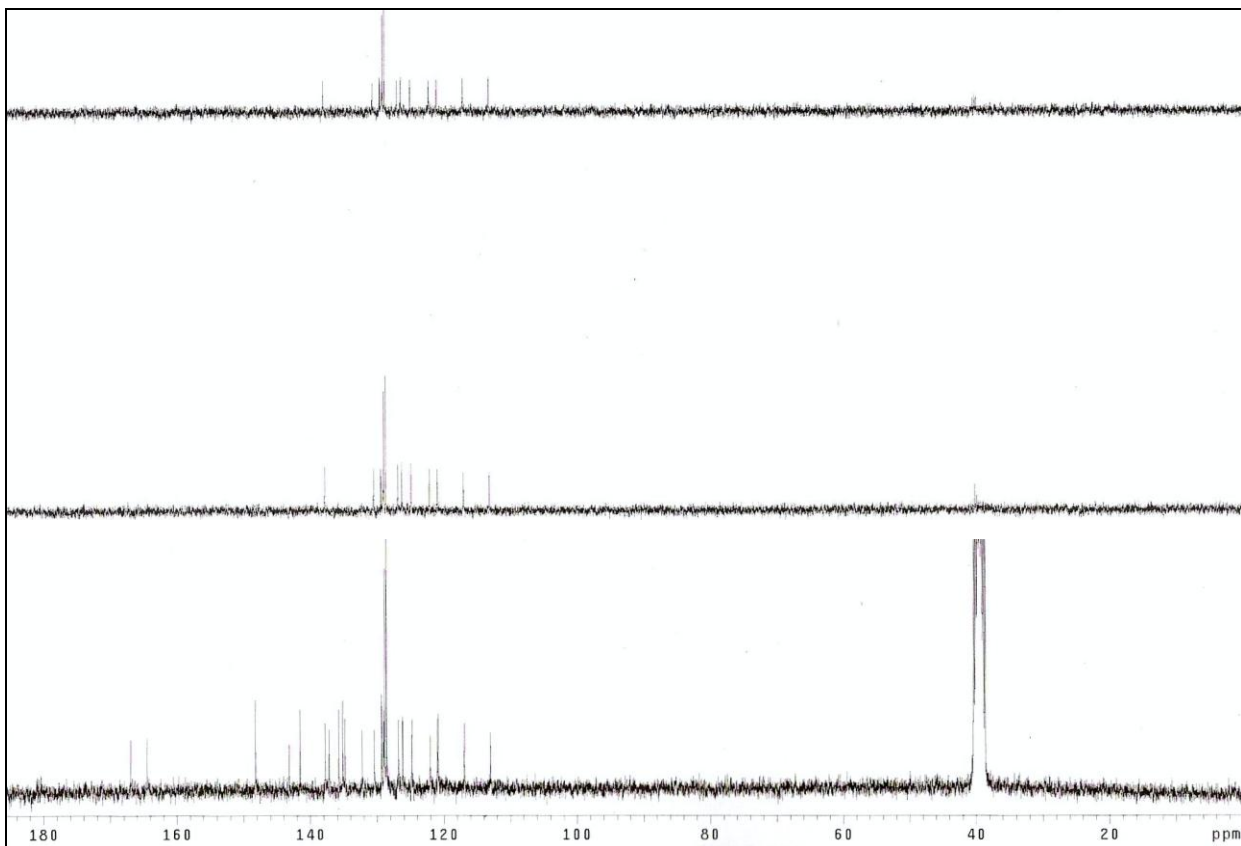


FM: C₂₇H₁₆N₄O₄

MM= 460,45 g/mol

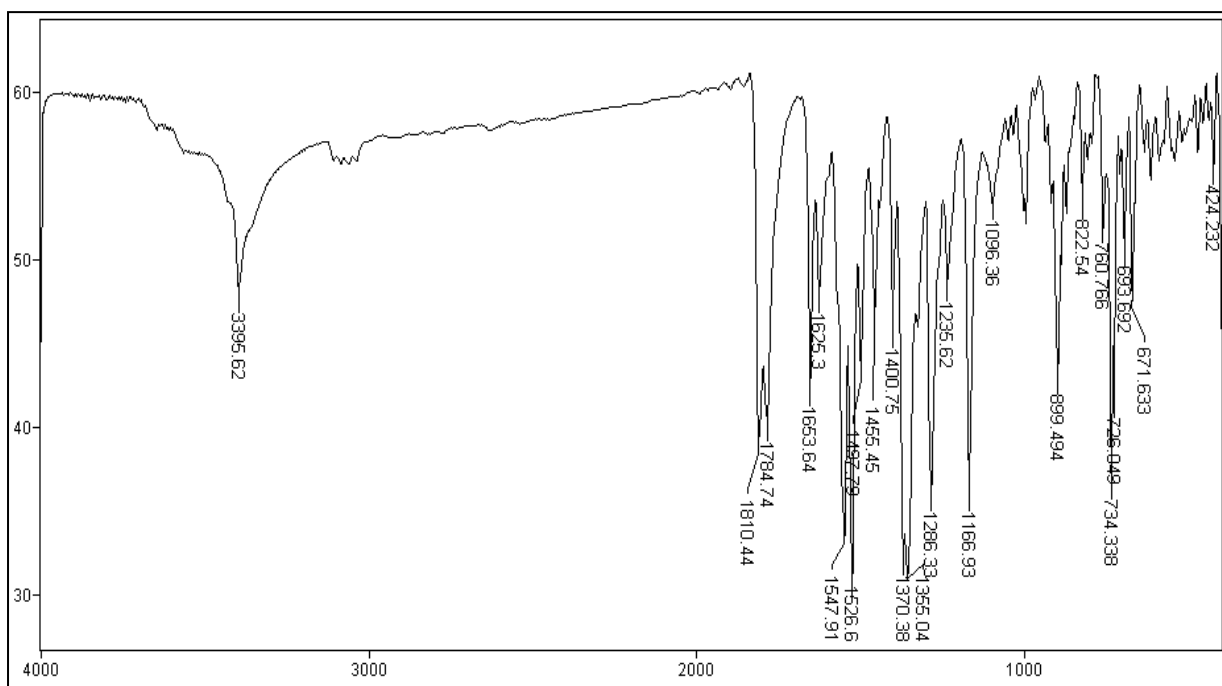


ERMN ¹H-37: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **146**.

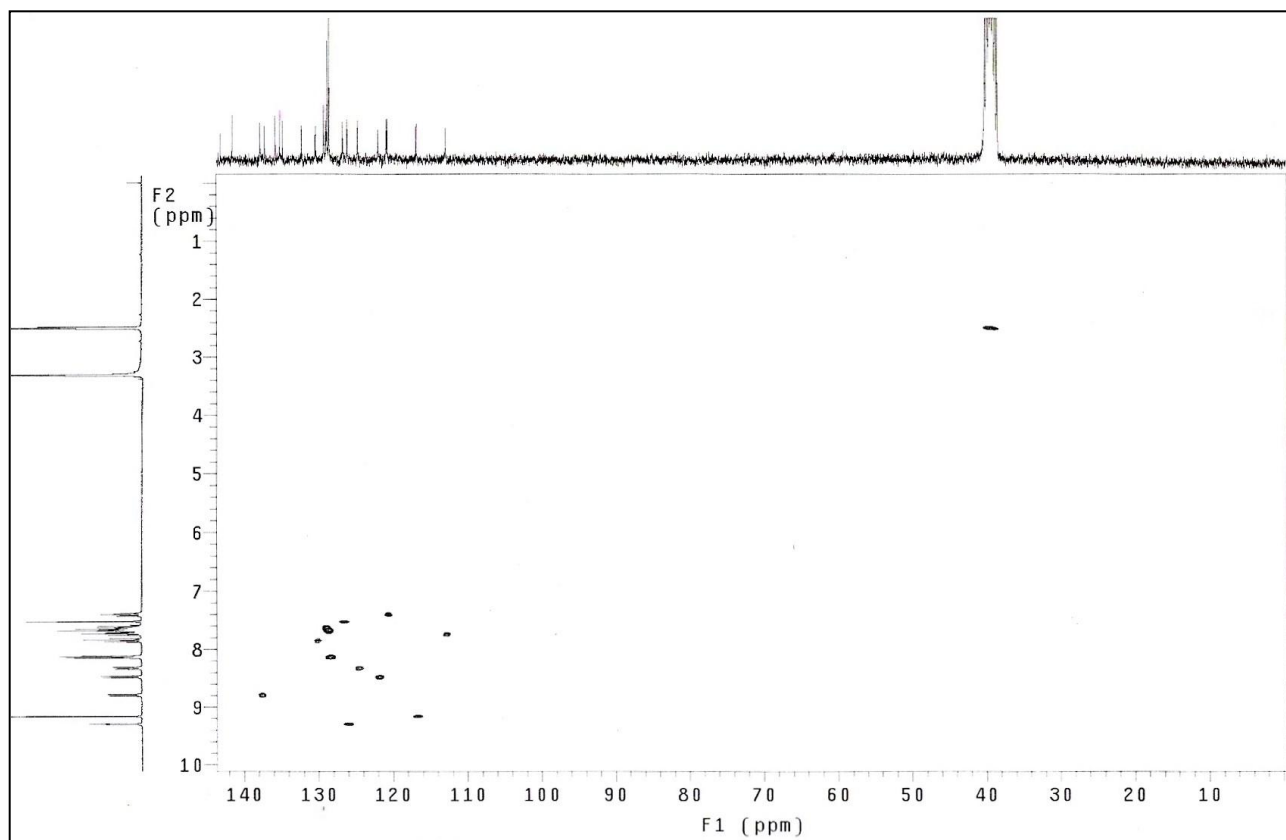


ERMN ¹³C-37: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **146**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3395 cm⁻¹ (N-H); 1810 cm⁻¹ (C=O); 1625 cm⁻¹ (N=C); 1547-1497 cm⁻¹ (C=C).

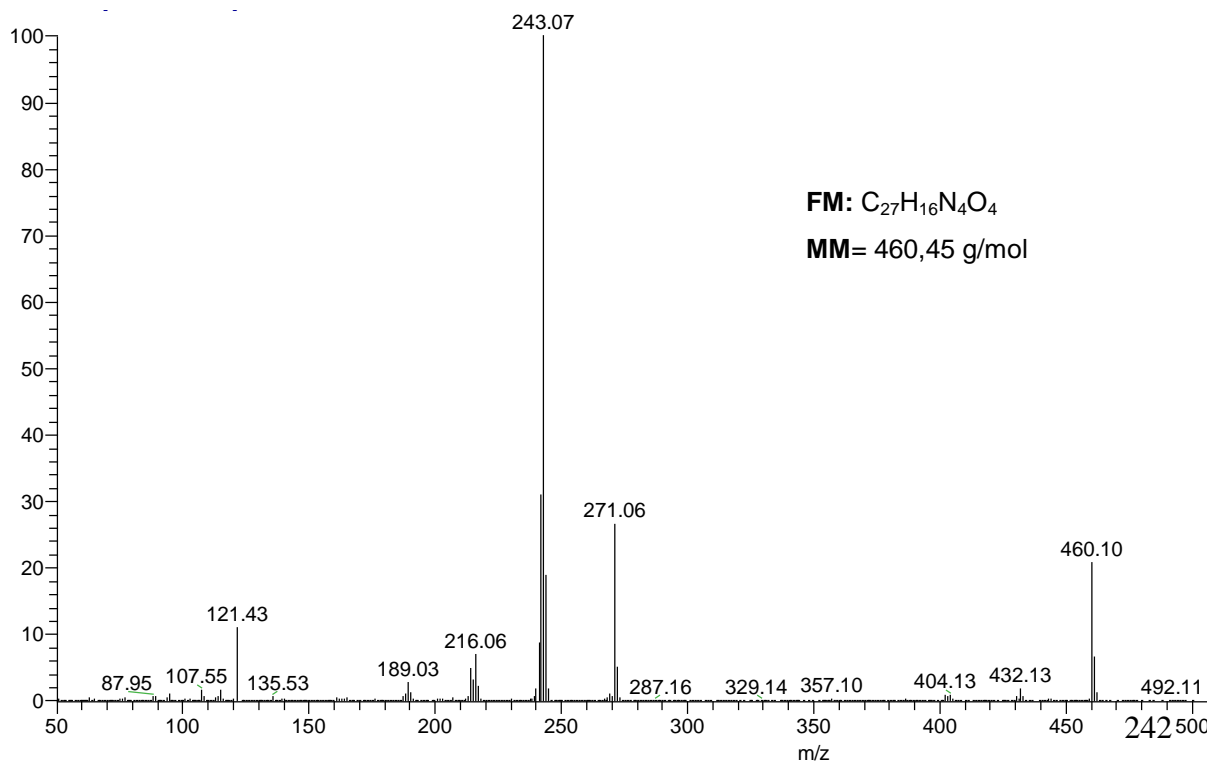


EIV-37: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **146**.

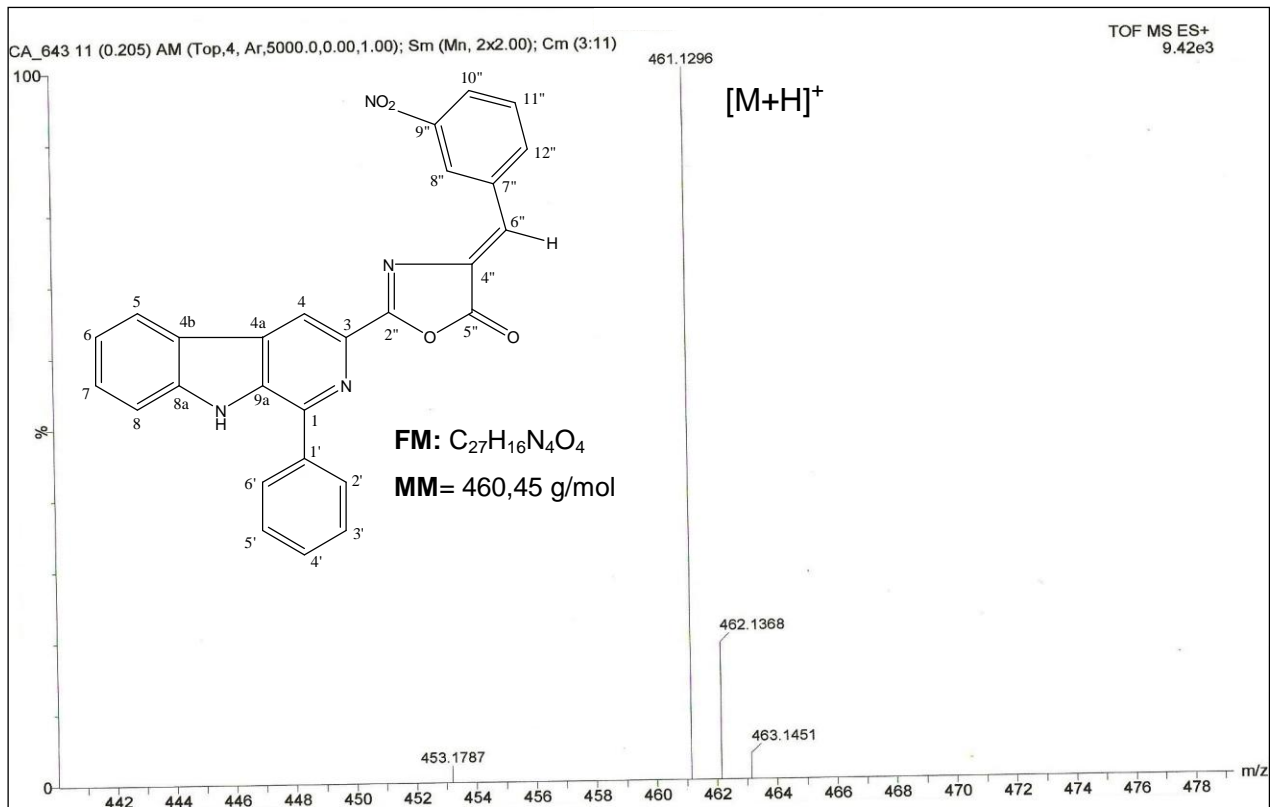


EHSQC-37: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **146**.

EI-MS- m/z (%): 460,10 (M^+ , 30), 243,07 (100), 271,06 (30), 432,13 (5).



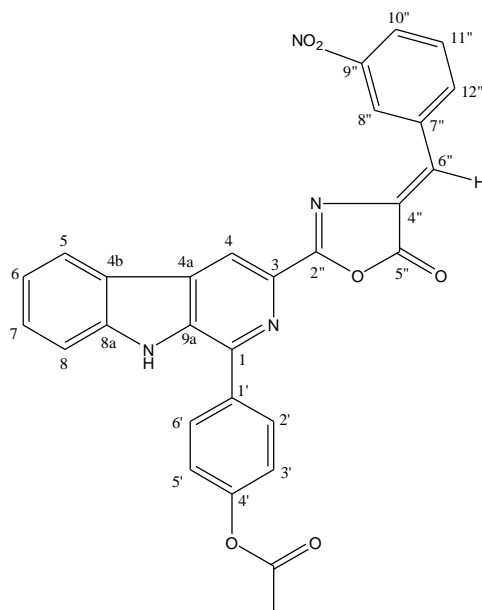
EI-MS-37: Espectro de massas do composto **146**



EHR-ESI- 37: Espectro de massas de alta resolução do composto **146**.

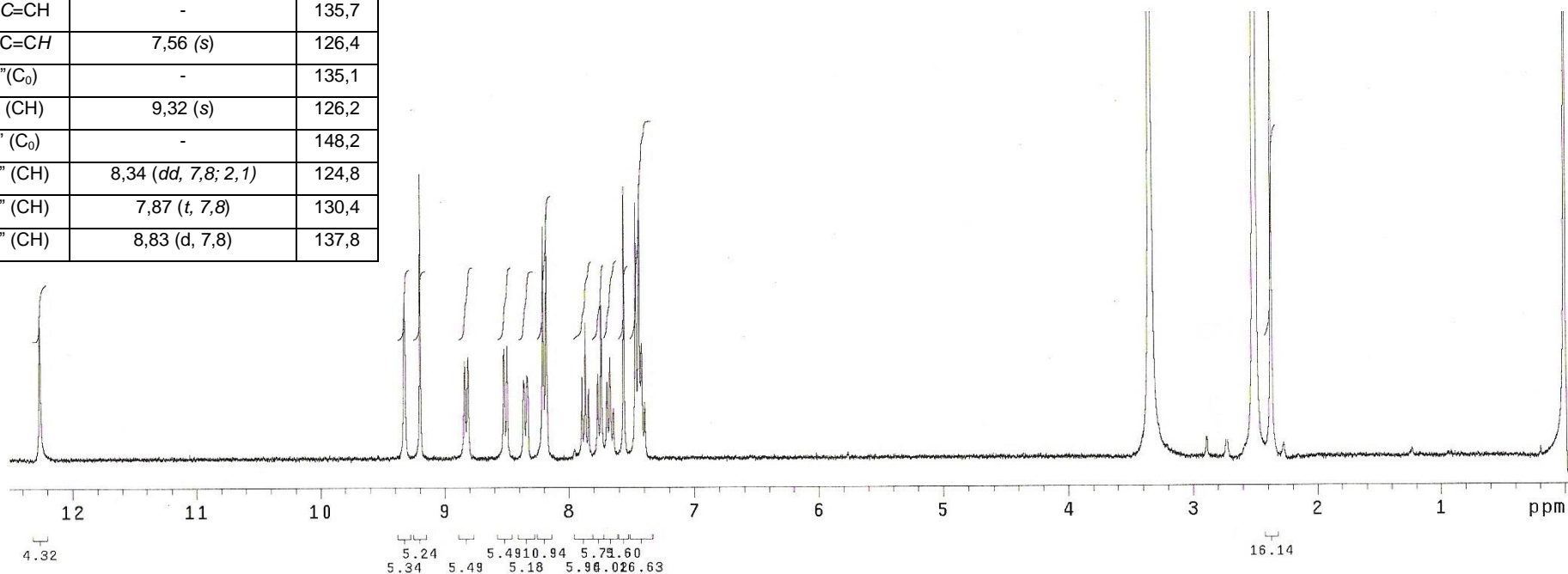
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C ₀)	-	142,3
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	141,5
4 (CH)	9,20 (s)	117,0
4a (C ₀)	-	129,1
4b (C ₀)	-	120,9
5 (CH)	8,51 (d, 8,1)	122,1
6 (CH)	7,41 (t, 8,1)	121,0
7 (CH)	7,67 (d, 8,1)	129,4
8 (CH)	7,75 (d, 8,1)	113,0
8a (C ₀)	-	144,1
9 (NH)	12,26 (s)	-
9a (C ₀)	-	134,7
1' (C ₀)	-	132,3
2'/6' (CH)	8,20 (d, 8,4)	129,8
3'/5' (CH)	7,45 (d, 8,4)	122,3
4' (C ₀)	-	151,3
2" C=O	-	166,9
5" C=N	-	164,4
3" C=CH	-	135,7
6" C=CH	7,56 (s)	126,4
7" (C ₀)	-	135,1
8" (CH)	9,32 (s)	126,2
9" (C ₀)	-	148,2
10" (CH)	8,34 (dd, 7,8; 2,1)	124,8
11" (CH)	7,87 (t, 7,8)	130,4
12" (CH)	8,83 (d, 7,8)	137,8

Anexo 38: 1-(4-hidróxifenil)-3-[4-(3-nitrobenzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**147**).

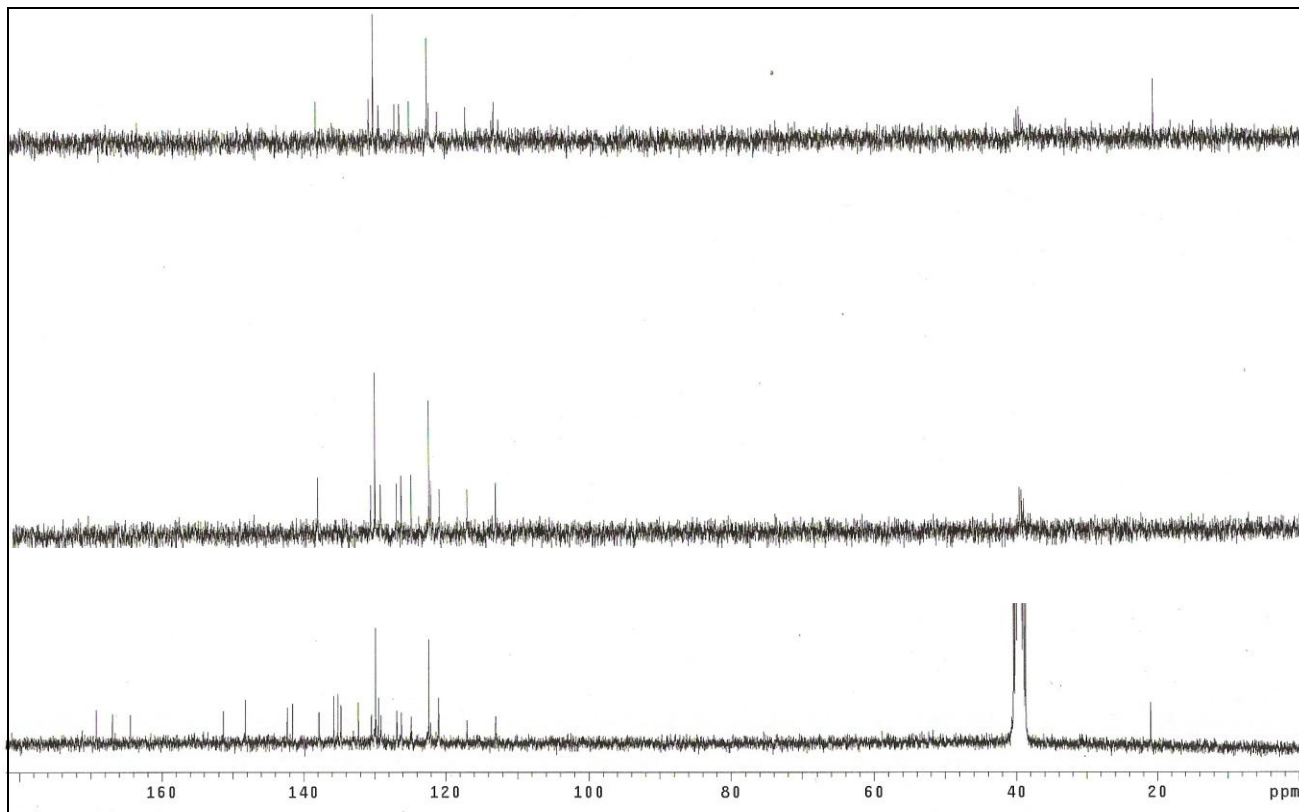


FM: C₂₇H₁₆N₄O₅

MM= 518,12 g/mol

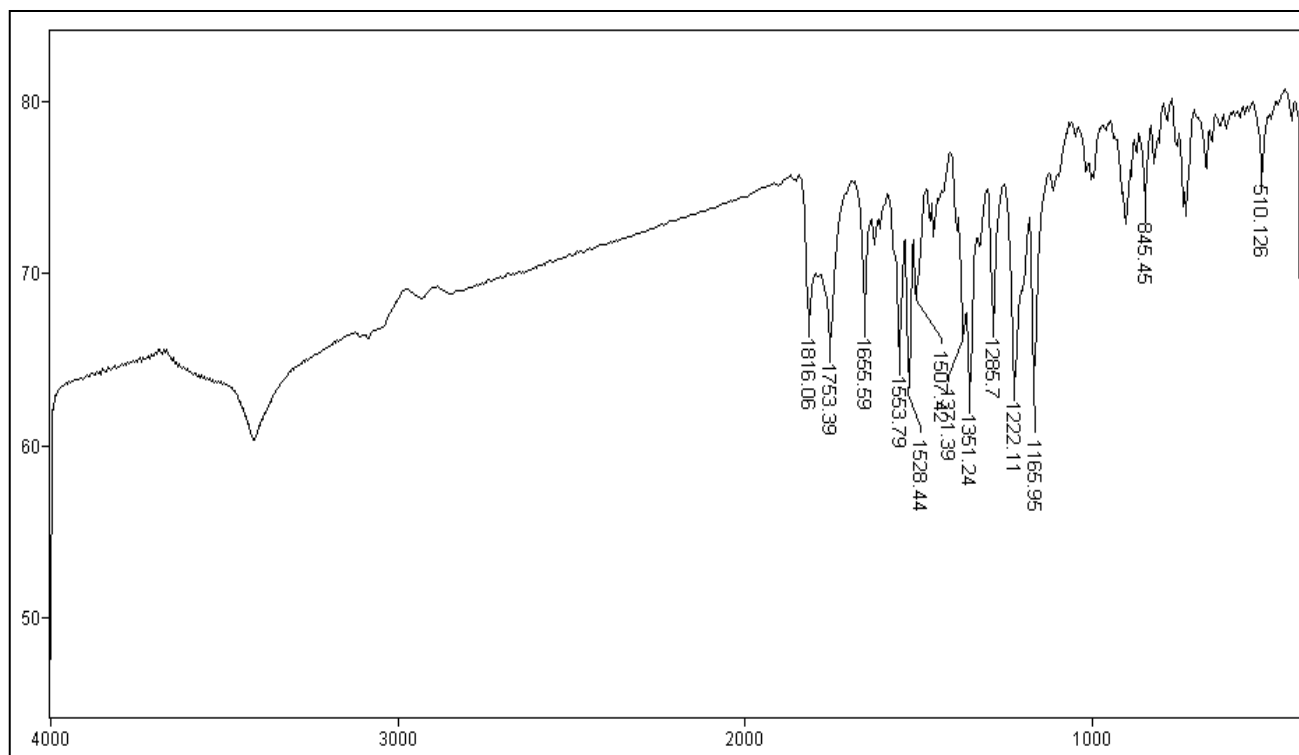


ERMN ¹H-38: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **147**.

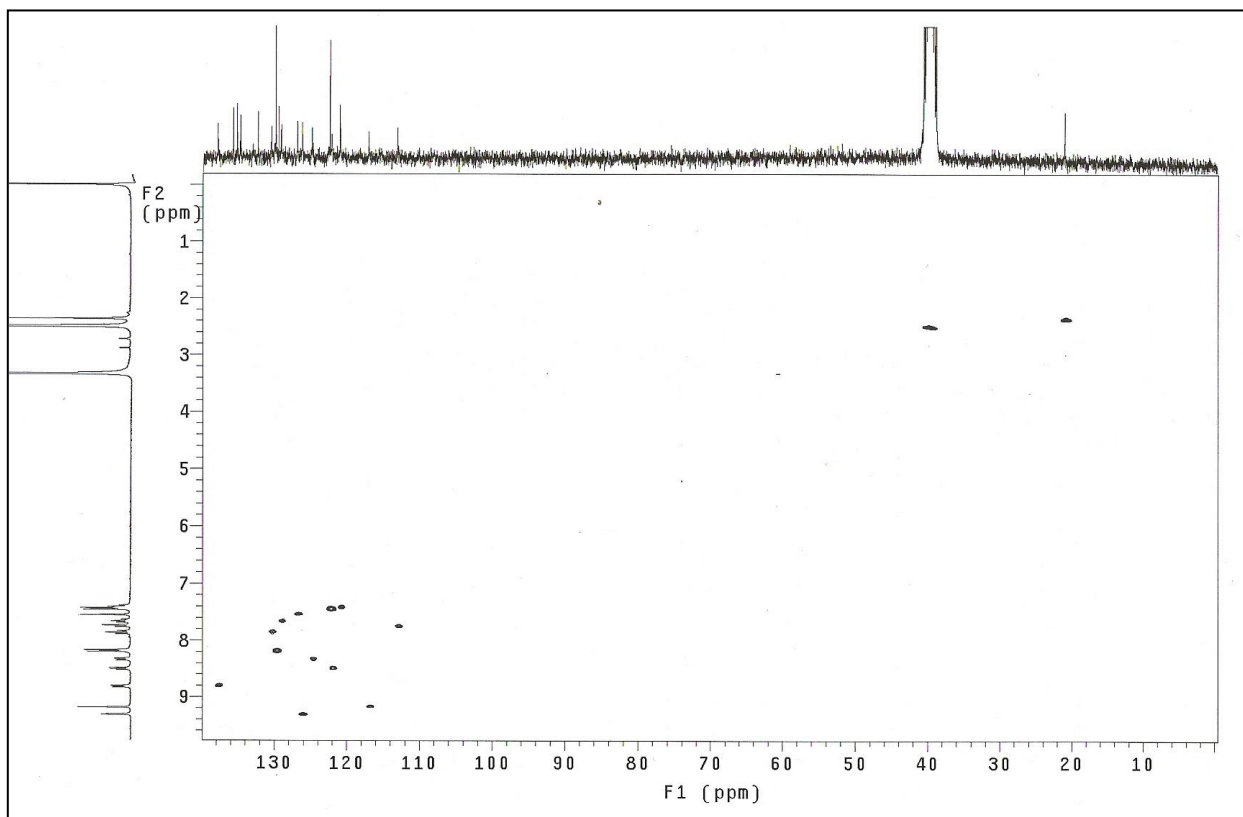


ERMN ^{13}C -38: Espectro de RMN ^{13}C /DEPT (75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **147**.

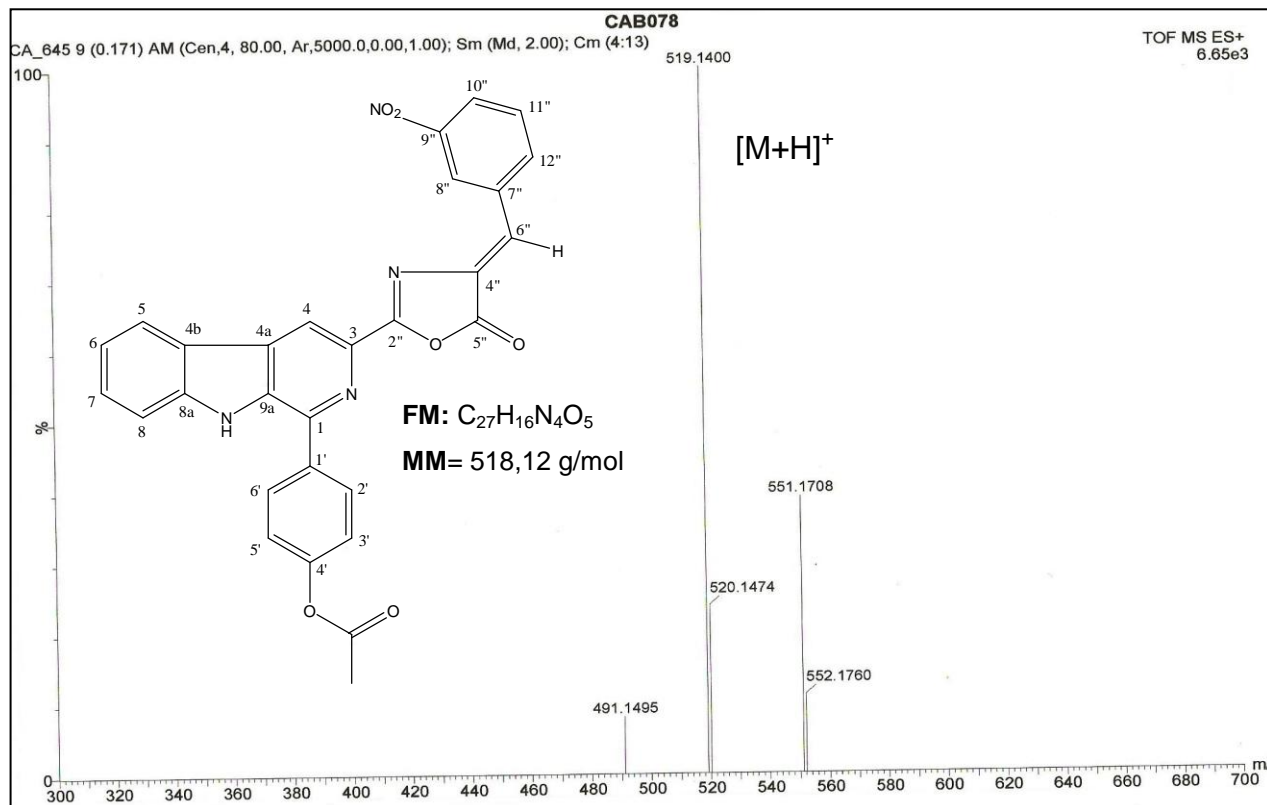
IV (v, cm^{-1} ; KBr): 1816 cm^{-1} (C=O); 1655 cm^{-1} (N=C); 1553-1528 cm^{-1} (C=C).



EIV-38: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **147**.



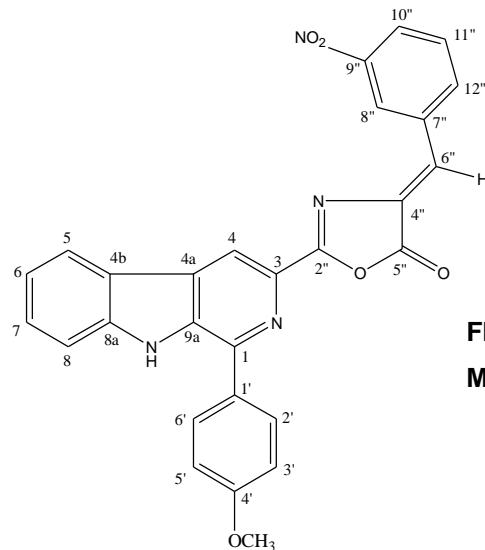
EHSQC-38: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **147**.



EHR-ESI- 38: Espectro de massas de alta resolução do composto **147**.

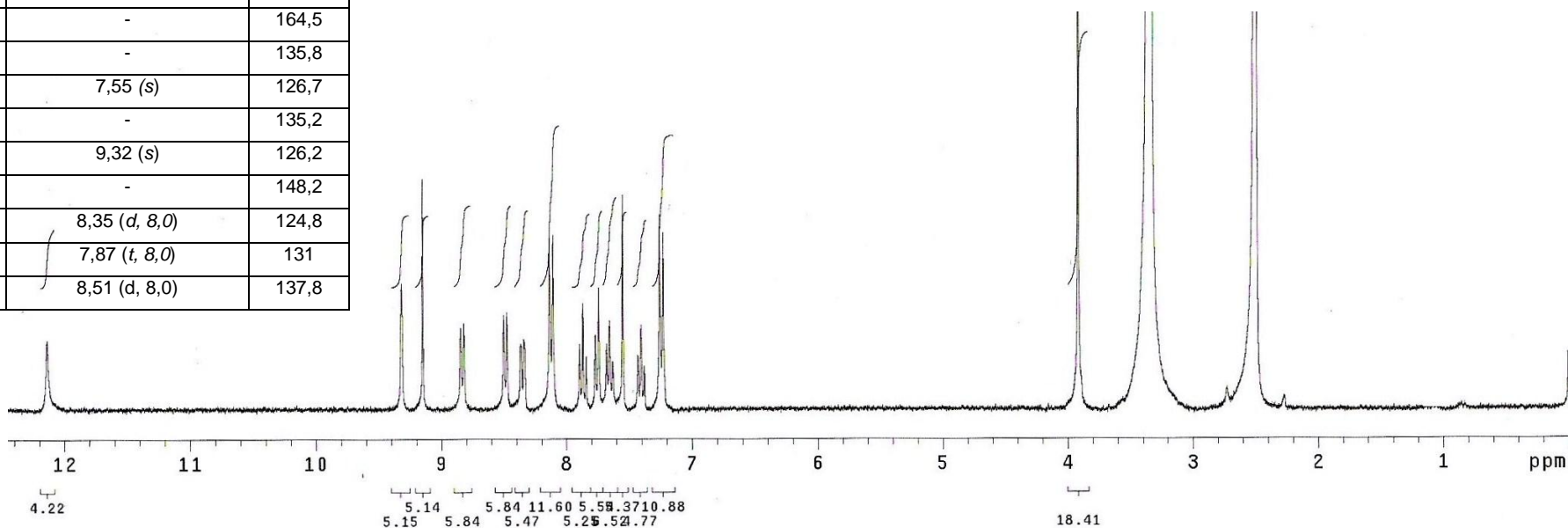
Anexo 39: 1-(4-metoxifenil)-3-[4-(3-nitrobenzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**148**).

C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_x
1 (C ₀)	-	143,1
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	138
4 (CH)	9,15 (s)	116,6
4a (C ₀)	-	129,2
4b (C ₀)	-	120
5 (CH)	8,48 (d, 7,6)	122
6 (CH)	7,40 (t, 7,6)	121
7 (CH)	7,65 (t, 7,6)	128,9
8 (CH)	7,71 (d, 7,6)	109,9
8a (C ₀)	-	142,0
9 (NH)	12,14 (s)	-
9a (C ₀)	-	134,7
1' (C ₀)	-	129,6
2'/6' (CH)	8,12 (d, 8,7)	130,1
3'/5' (CH)	7,24 (d, 8,7)	114,3
4' (C ₀)	-	160,2
OCH3	3,91 (s)	55,4
2" C=O	-	167,1
5" C=N	-	164,5
3" C=CH	-	135,8
6" C=CH	7,55 (s)	126,7
7" (C ₀)	-	135,2
8" (CH)	9,32 (s)	126,2
9" (C ₀)	-	148,2
10" (CH)	8,35 (d, 8,0)	124,8
11" (CH)	7,87 (t, 8,0)	131
12" (CH)	8,51 (d, 8,0)	137,8

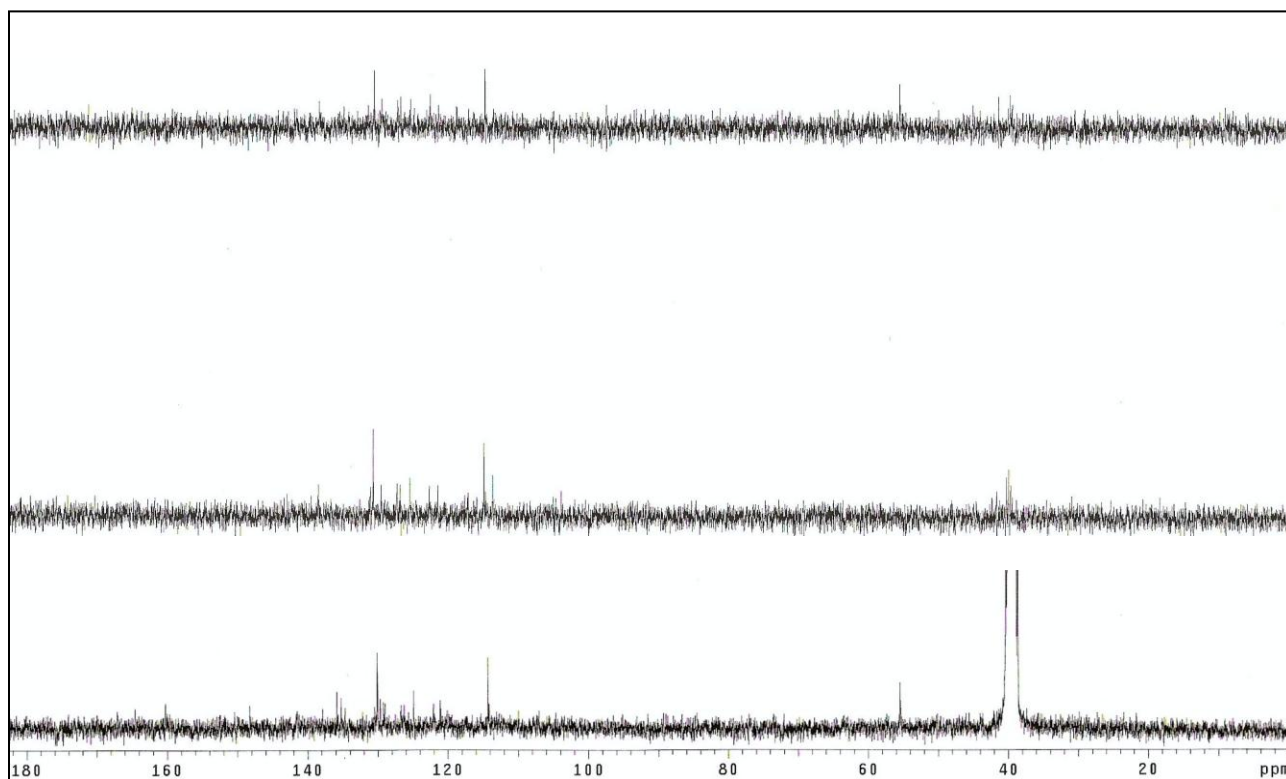


FM: C₂₈H₁₈N₄O₅

MM= 490,47 g/mol

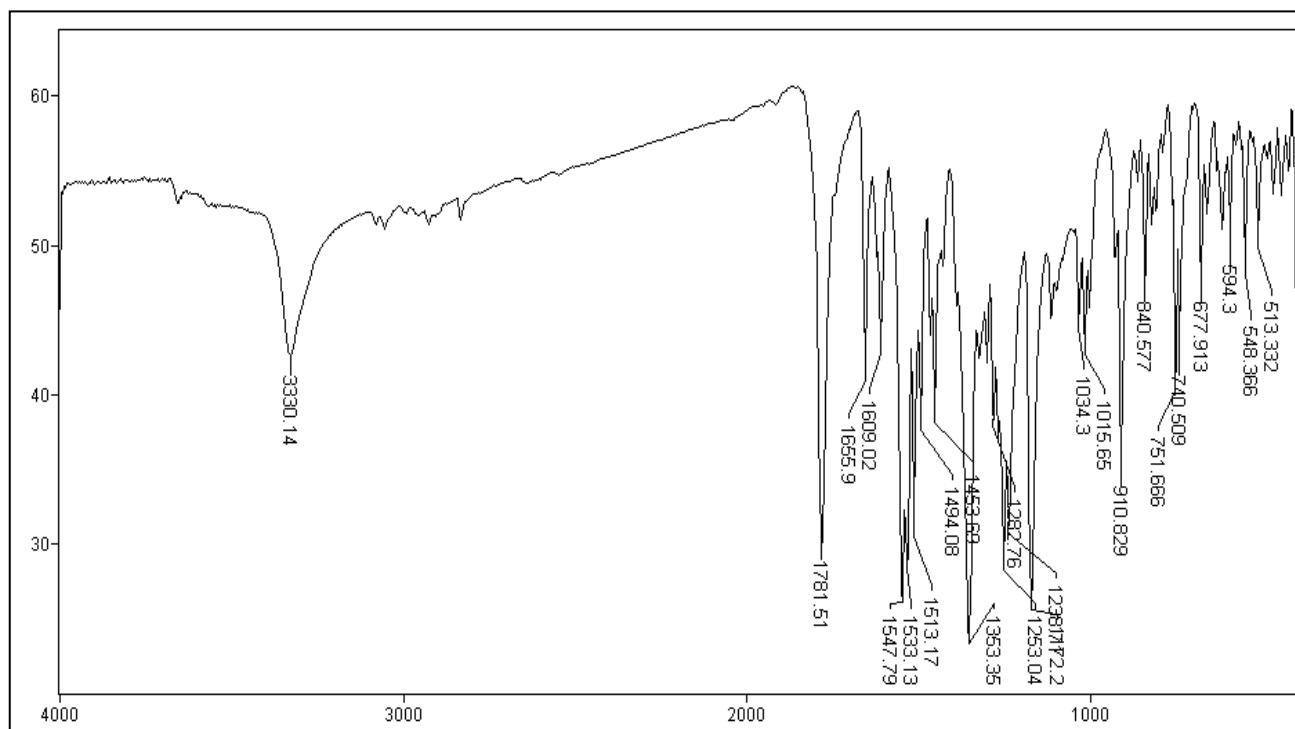


ERMN ¹H-39: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **148**.

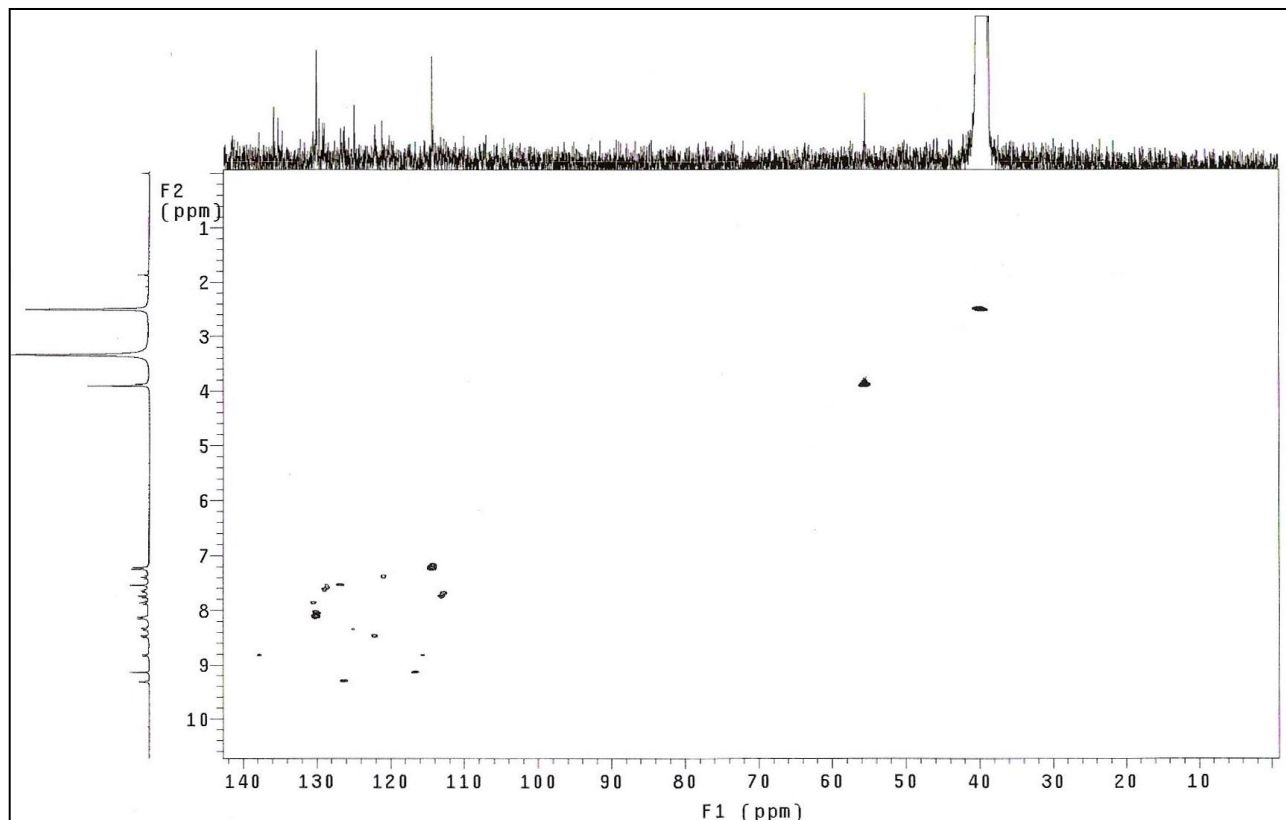


ERMN ¹³C-39: Espectro de RMN ¹³C /DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **148**.

IV (ν, cm⁻¹; KBr): 3330 cm⁻¹ (N-H); 1781 cm⁻¹ (C=O); 1609 cm⁻¹ (N=C); 1547-1494 cm⁻¹ (C=C).

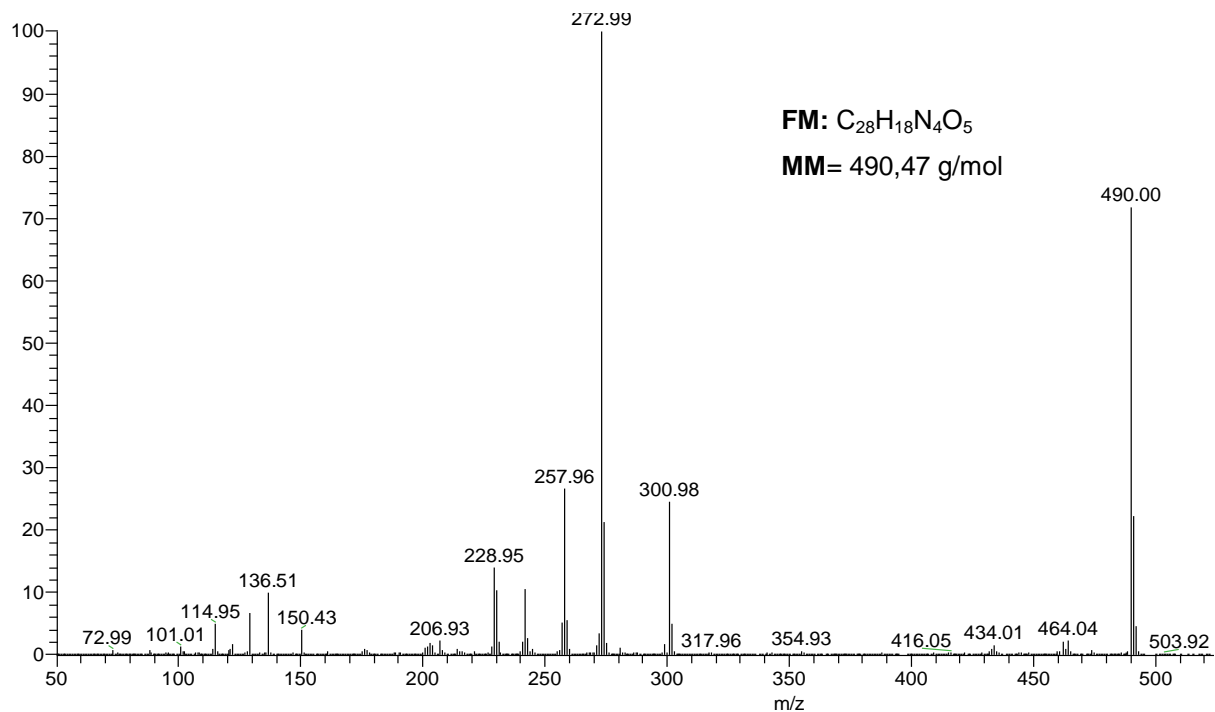


EIV-39: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **148**.

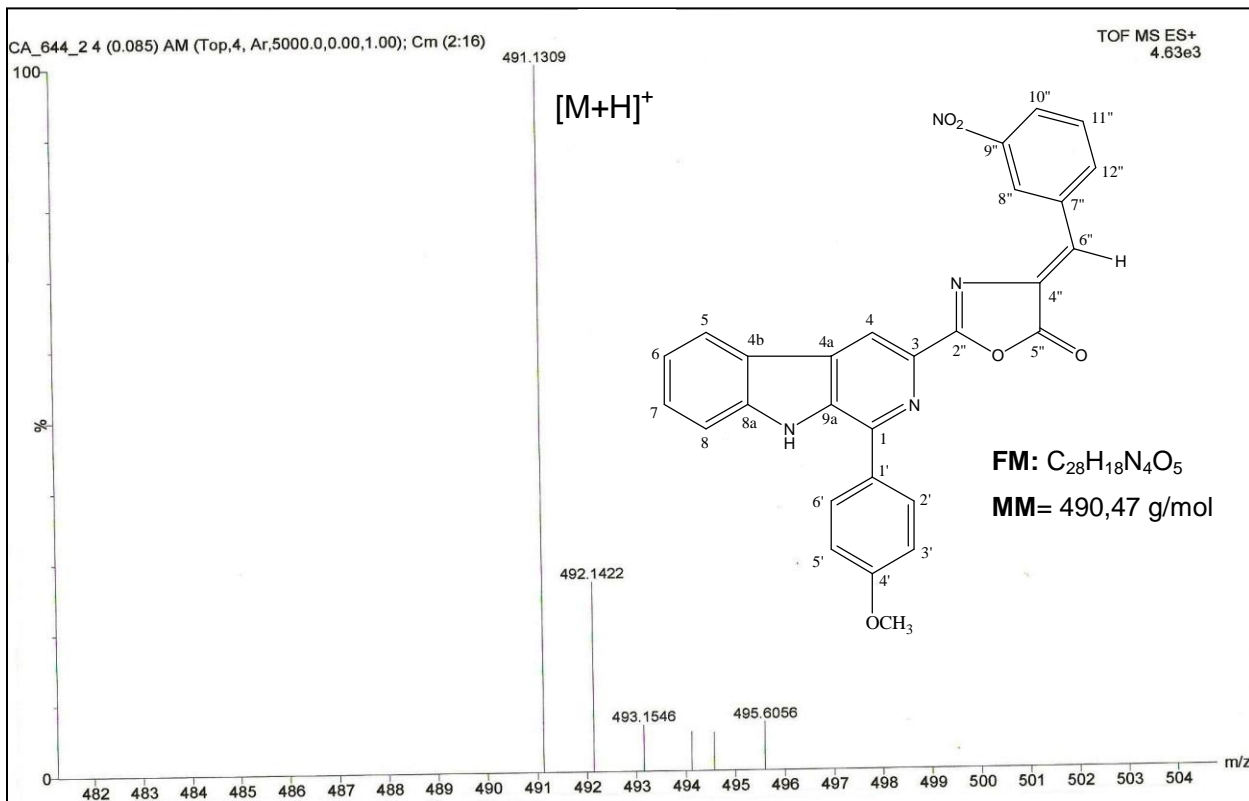


EHSQC-39: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **148**.

EI-MS- m/z (%):490,00 (M^+ , 60), 300,98 (30), 273,00 (100), 258 (35).



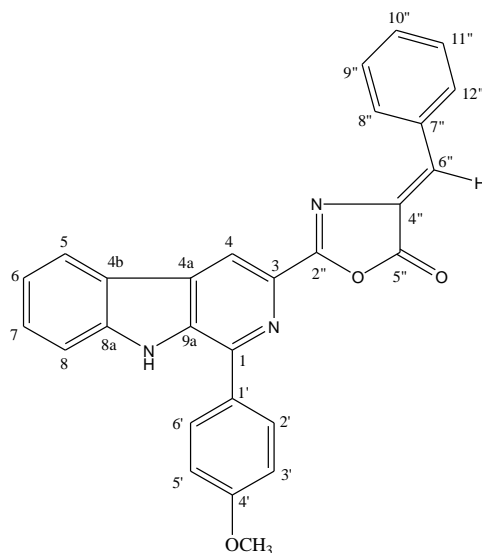
EI-MS-39: Espectro de massas do composto **148**



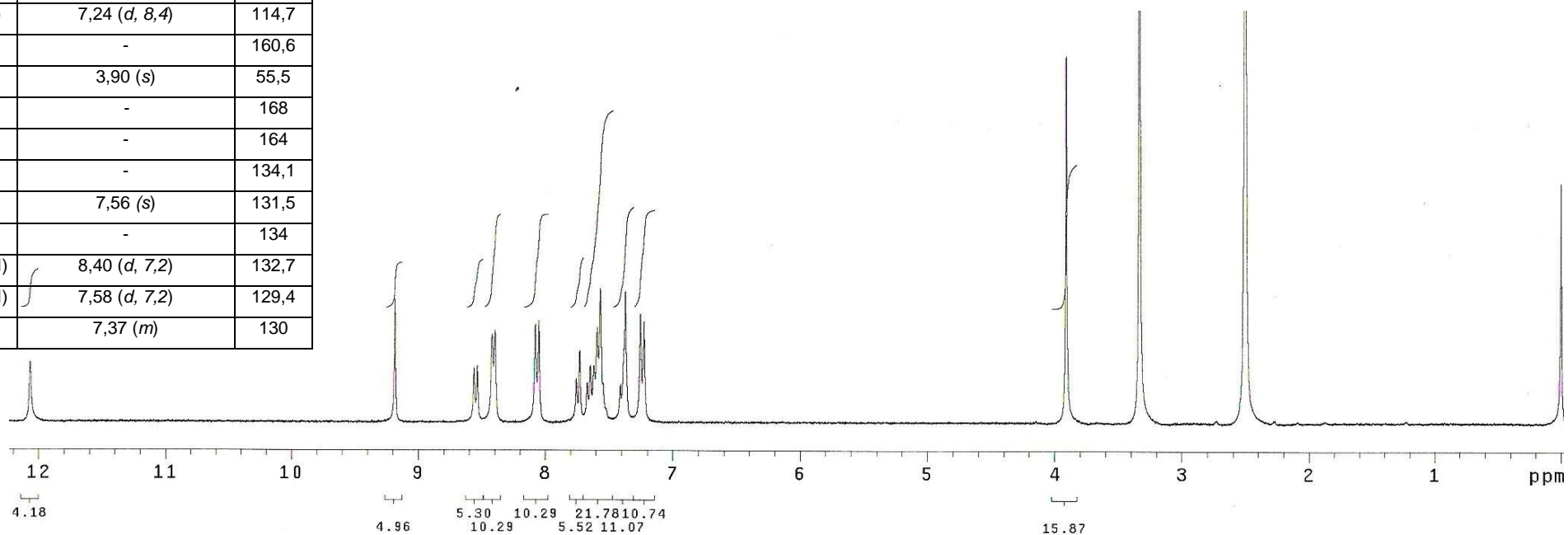
EHR-ESI- 39: Espectro de massas de alta resolução do composto **148**.

Anexo 40: 1-(4-metoxifenil)-3-[4-(benzilideno)-5-oxo-1,3-oxazol-2-il] β -carbolina (**149**).

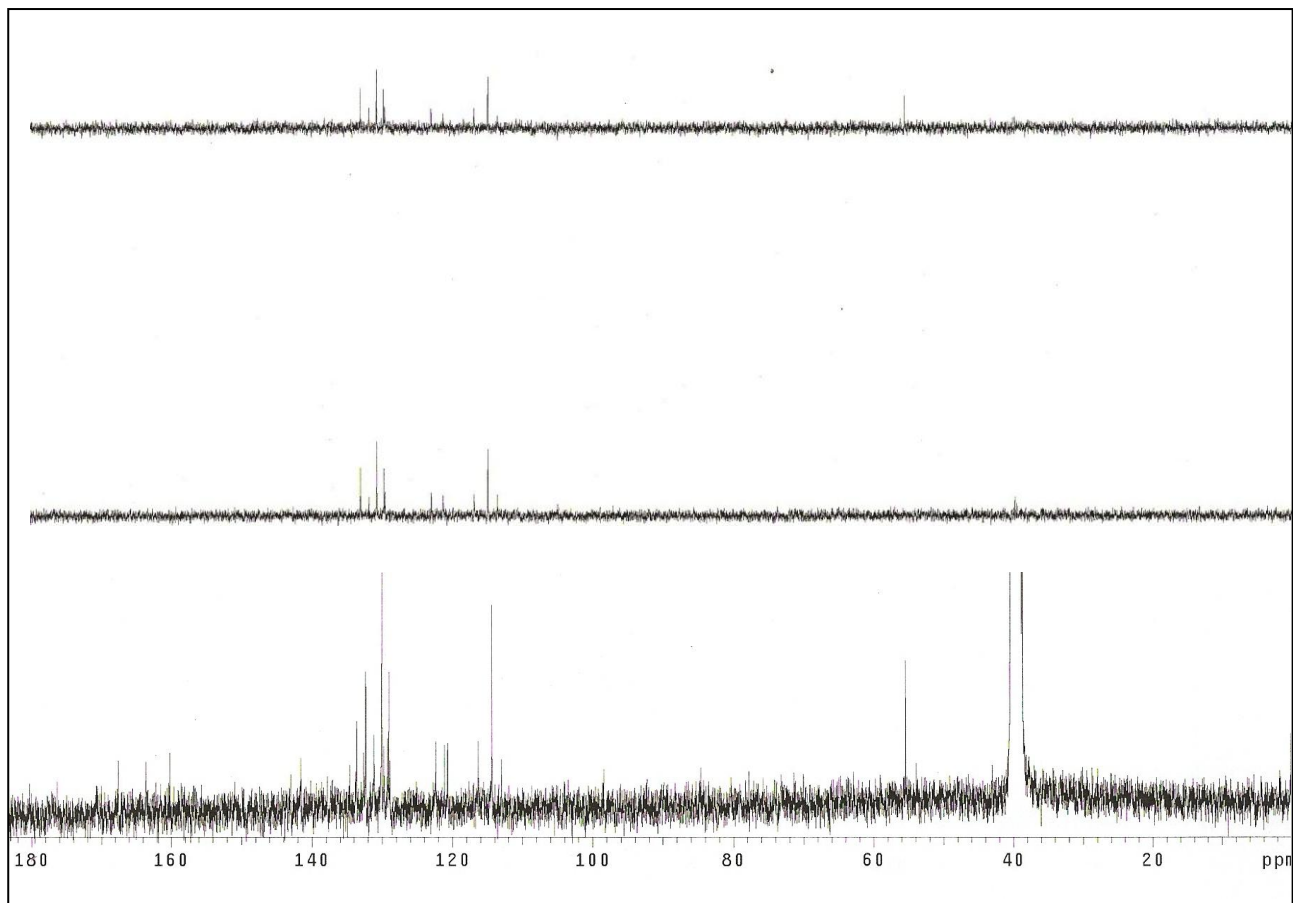
C/H	δ_H (multiplicidade, J = Hz)	δ_C
1 (C ₀)	-	143,4
2 (N)	-	-
3 (C ₀)	-	138,2
4 (CH)	9,18 (s)	116,7
4a (C ₀)	-	129,6
4b (C ₀)	-	121,5
5 (CH)	8,55 (d, 7,5)	122,7
6 (CH)	7,41 (m)	121,1
7 (CH)	7,64 (t, 7,5)	129,4
8 (CH)	7,74 (d, 7,5)	113,4
8a (C ₀)	-	141,9
9 (NH)	12,00 (s)	-
9a (C ₀)	-	135
1' (C ₀)	-	133,1
2'/6' (CH)	8,06 (d, 8,4)	130,5
3'/5' (CH)	7,24 (d, 8,4)	114,7
4' (C ₀)	-	160,6
OCH3	3,90 (s)	55,5
2" C=O	-	168
5" C=N	-	164
3" C=CH	-	134,1
6" C=CH	7,56 (s)	131,5
7" (C ₀)	-	134
8"/12" (CH)	8,40 (d, 7,2)	132,7
9"/11" (CH)	7,58 (d, 7,2)	129,4
10" (CH)	7,37 (m)	130



FM: C₂₈H₁₉N₃O₃
MM= 445,45 g/mol

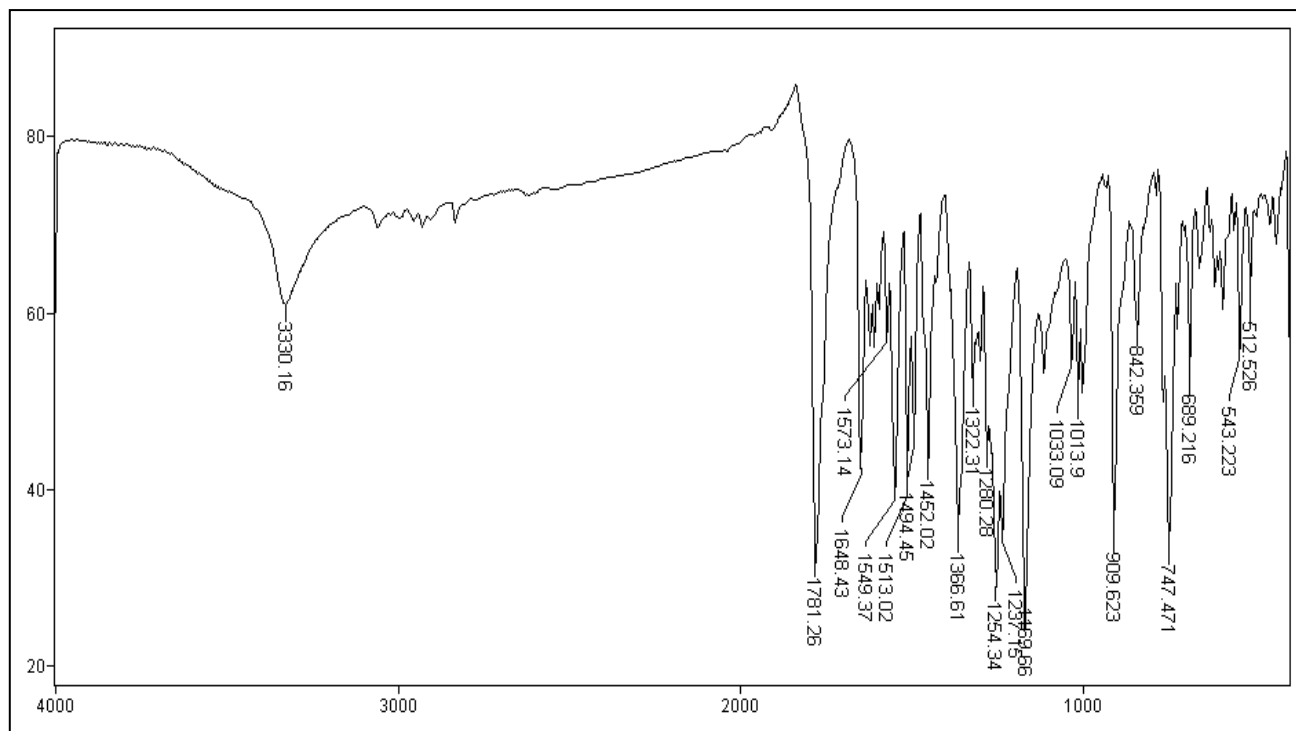


ERMN ¹H-40: Espectro de RMN ¹H (300,0 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **149**.

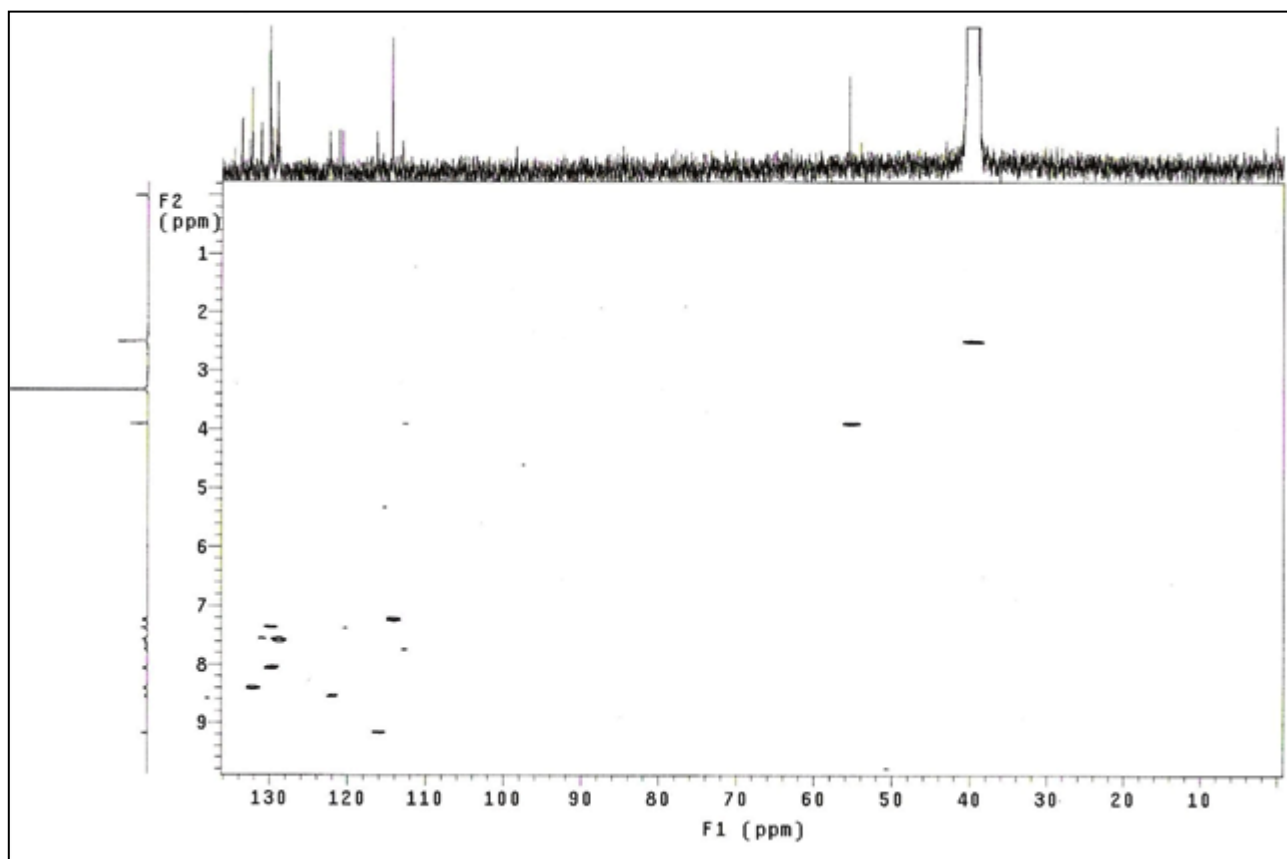


ERMN ¹³C-40: Espectro de RMN ¹³C/DEPT (75,5 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **149**.

IV (v, cm⁻¹; KBr): 3330 cm⁻¹ (N-H); 1781 cm⁻¹ (C=O); 1648 cm⁻¹ (N=C); 1573-1494 cm⁻¹ (C=C).

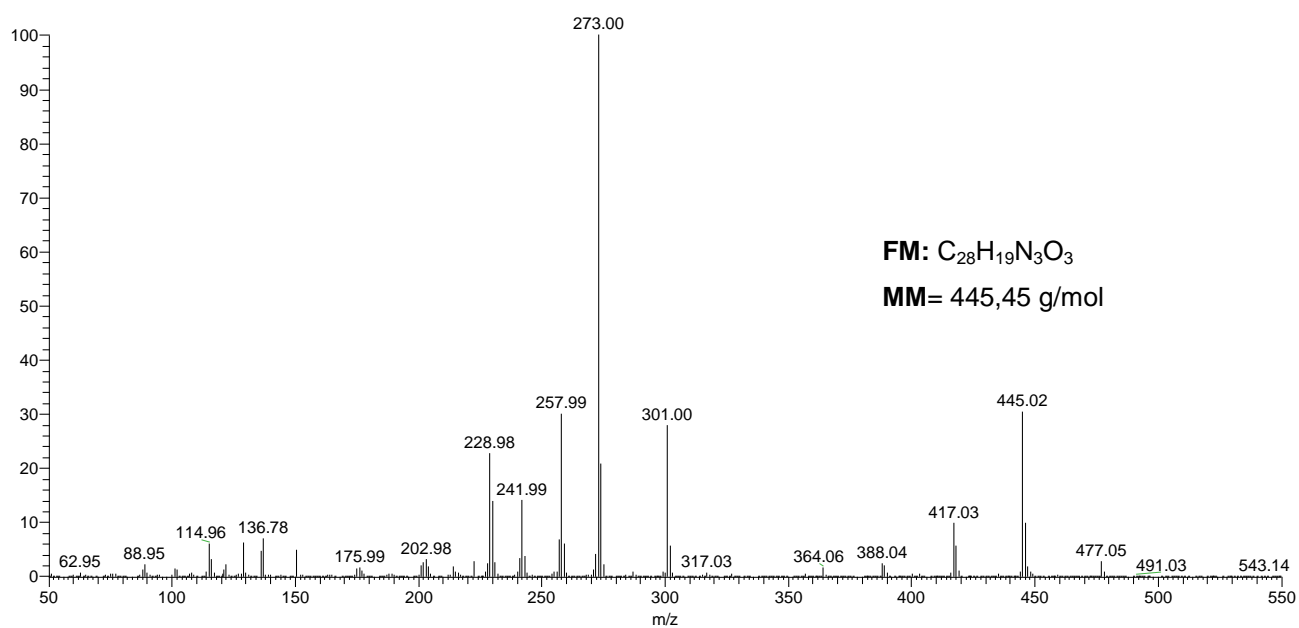


EIV-40: Espectro de IV (filme/KBr) do composto **149**.

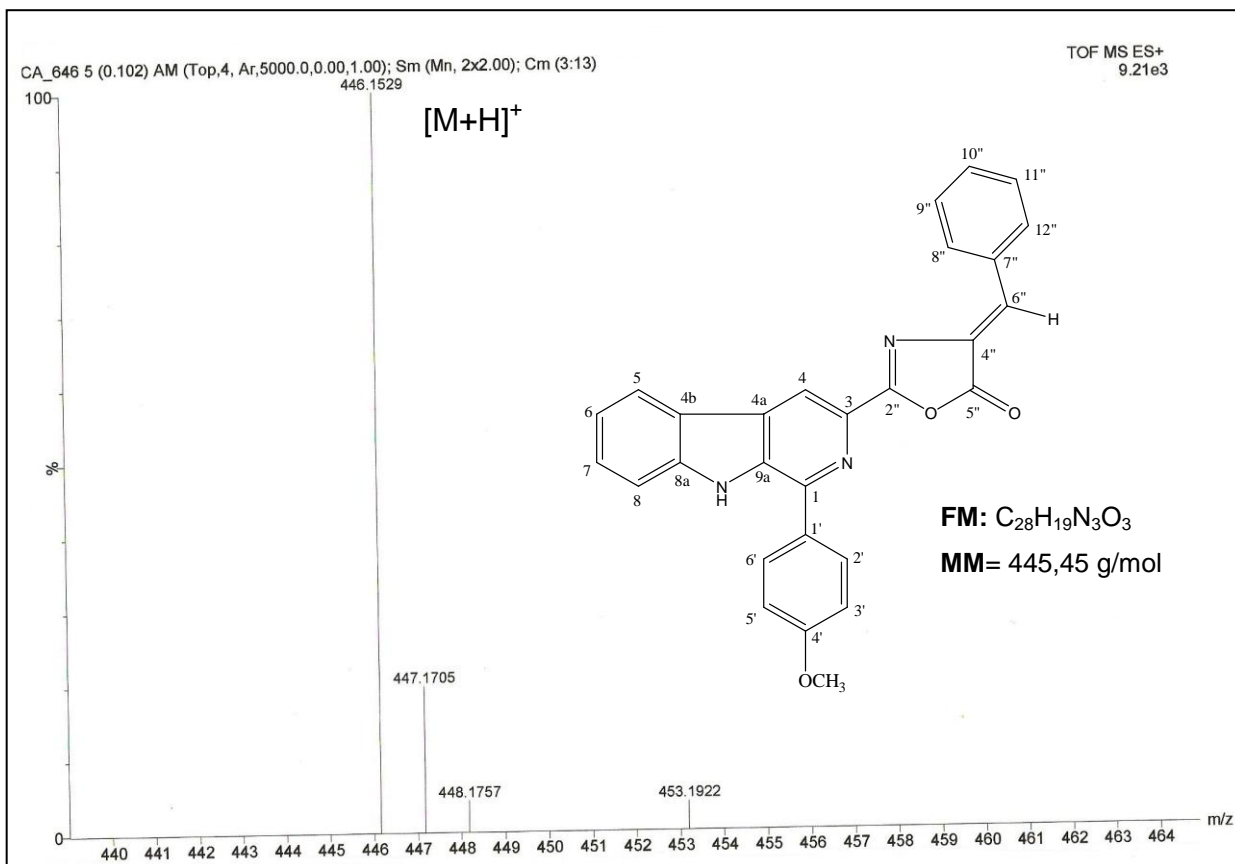


EHSQC-40: Espectro de HSQC (300,0 MHz/75,5 MHz, DMSO- d_6) do composto **149**.

EI-MS- m/z (%): 445,02 (M^+ , 35), 301,00 (30), 273,00 (100), 258,00 (35), 242,00 (15).



EI-MS-40: Espectro de massas do composto **149**



EHR-ESI- 40: Espectro de massas de alta resolução do composto 149

APÊNDICES

Article

Synthesis and Evaluation of New β -Carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-one Derivatives as Antitumor Agents

Franciele Cristina Savariz¹, Mary Ann Foglio², João Ernesto de Carvalho², Ana Lúcia T. G. Ruiz², Marta C. T. Duarte², Mauricio Ferreira da Rosa³, Emerson Meyer¹ and Maria Helena Sarragiotto^{1,*}

¹ Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Maringá, 87020-900 PR, Brazil

² Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Universidade Estadual de Campinas, 6171, Campinas, 13083-970 SP, Brazil

³ Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Rua da Faculdade, 645, Toledo, 85903-000 PR, Brazil

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: mhsarragiotto@uem.br; Tel.: +55-44-3261-3657; Fax: +55-44-3011-4125.

Received: 5 April 2012; in revised form: 5 May 2012 / Accepted: 7 May 2012 /

Published: 21 May 2012

Abstract: In the present work, we report the synthesis and *in vitro* anticancer and antimicrobial activity evaluation of a new series of 1-substituted- β -carboline derivatives bearing a 4-benzylidene-4H-oxazol-5-one unity at C-3. The compound 2-[1-(4-methoxyphenyl)-9H- β -carbolin-3-yl]-4-(benzylidene)-4H-oxazol-5-one (**11**) was the most active derivative, exhibiting a potent cytotoxic activity against glioma (U251), prostate (PC-3) and ovarian (OVCAR-03) cancer cell lines with IC₅₀ values of 0.48, 1.50 and 1.07 μ M, respectively. An *in silico* study of the ADME properties of the novel synthesized β -carboline derivatives was also performed.

Keywords: β -carboline; 4H-oxazol-5-one; cytotoxic activity; antimicrobial activity

1. Introduction

Natural and synthetic tetrahydro- β -carbolines and β -carbolines are a class of alkaloids with a large spectrum of important pharmacological properties [1–7]. Among the activities presented, the antitumor

activity has received special attention, and several studies on structure-activity relationship of β -carbolines have focused their anticancer activities [8–16]. The SAR studies have demonstrated that the introduction of appropriate substituents into the positions –1, –2, –3 and –9 of the β -carboline nucleus resulted in more potent antitumor β -carboline derivatives, with reduced toxicity.

The potential of β -carbolines and the importance of the search for new antitumor agents led our group to a continuing study of this class of compounds. In previous works, we reported the synthesis and *in vitro* antitumor activities, against a panel of human cancer cell lines, of a series of 1-substituted β -carboline derivatives bearing different substituents at C-3, such as 2-substituted-1,3,4-oxadiazole and 5-substituted-1,2,4-triazole rings [17], 3-alkylamino(methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazole groups [18] and *N*-(substituted-benzylidene)-carbohydrazide groups [19]. The anticancer assay results indicated several compounds with potent anticancer activity, with IC_{50} values lower than 1.0 μ M for some of the human cancer cell lines tested [17–19]. In addition to the antitumor activity, β -carbolines containing the 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole group at C-3 exhibited antimicrobial activity towards the fungus *Candida albicans* and the bacterium *Bacillus subtilis* [18]. Antimicrobial activity of β -carboline derivatives, mainly against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria and against *Candida albicans* fungi, was also reported in literature [20,21].

With the aim of evaluating the influence of different substituents at position-3 of 1-substituted- β -carbolines, in this work we propose the incorporation of a benzylidene-4*H*-oxazol-5-one unity at C-3, expecting an improvement of the antitumor and antimicrobial activities in relation to the most active β -carboline derivatives reported in our previous work [17–19]. The 4*H*-oxazol-5-one ring is found in natural and synthetic compounds possessing important biological activities, such as antimicrobial [22–24], antiviral [25], antiangiogenic [26], inhibitory of tyrosinase [27], cytotoxic and immunomodulatory properties [28]. Due their biological importance, several methods were reported for the synthesis of oxazolones [29–31].

Thus, in the present work, we report the synthesis and *in vitro* cytotoxic and antimicrobial activity evaluation of some novel 1-substituted β -carboline derivatives bearing a 4-(benzylidene)-4*H*-oxazol-5-one moiety at C-3. Additionally, an *in silico* study of the ADME properties of the novel synthesized β -carboline derivatives was carried out by investigating their Lipinski's parameters, topological polar surface area (TPSA) and percentage of absorption (% ABS).

2. Results and Discussion

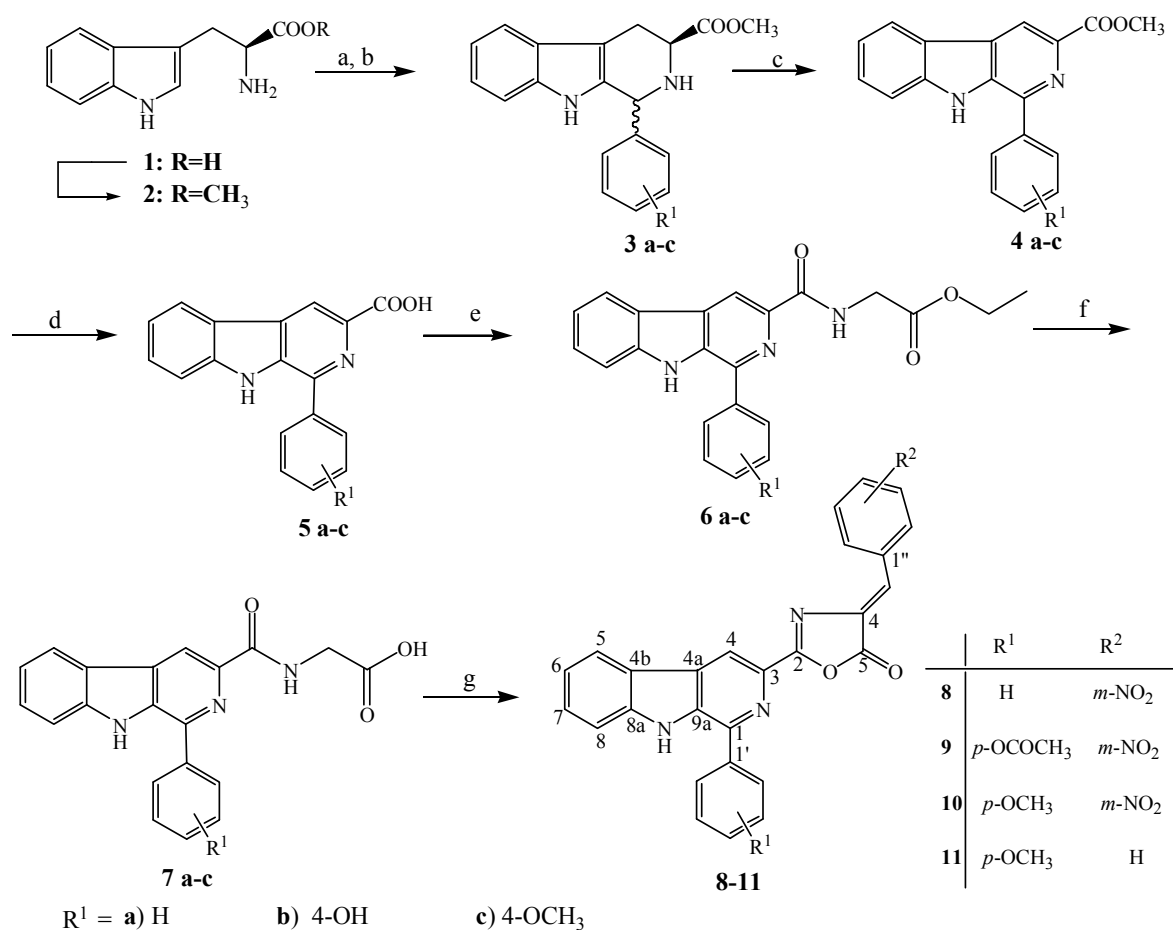
2.1. Chemistry

The synthetic route for the β -carboline-3-(4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-ones **8–11** is outlined in Scheme 1. The 1-substituted β -carboline-3-carboxylic acids **5a–c** were prepared from commercial L-tryptophan (**1**), according to the synthetic protocol described by our group [17–19]. The Pictet-Spengler condensation of L-tryptophan methyl ester (**2**) with benzaldehyde, 4-hydroxybenzaldehyde and 4-methoxybenzaldehyde afforded the 1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolines **3a–c**. Oxidation of **3a–c** with sulfur in refluxing xylene, led to the methyl β -carboline-3-carboxylates **4a–c**, which were hydrolyzed under basic conditions to give the β -carboline-3-carboxylic acids **5a–c**.

In order to synthesize the β -carboline-3-(4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-ones **8–11**, the Erlenmeyer-Plöchl reaction, the most common route to oxazolones, was employed [31]. The derivatives **5a–c** were converted to the respective *N*-(1-benzylidene- β -carboline-3-carbonyl)-glycine ethyl esters **6a–c** by activation of the β -carboline-3-carboxylic acids **5a–c** with *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) and dimethylaminopyridine (DMAP), in pyridine, followed by treatment with glycine ethyl ester hydrochloride [32]. To prepare the β -carboline-3-carbonyl-amino acids **7a–c**, the corresponding esters **6a–c** were submitted to hydrolysis with sodium carbonate in refluxing methanol/water. Erlenmeyer-Plöchl reaction of **7a** and **7c** with 3-nitrobenzaldehyde or benzaldehyde, afforded the corresponding β -carboline-3-oxazolones **8–11**. The reaction of the derivative **7b**, bearing the 4-hydroxyphenyl substituent at C-1, led to the oxazolone **9** with the hydroxyl group acetylated.

To evaluate the effects of electron-donating groups at the R² position of the benzylidene-4*H*-oxazol-5-one moiety on activity, compounds **7a** and **7c** were subjected to Erlenmeyer-Plöchl reaction with 4-*N,N*-dimethylaminobenzaldehyde and 4-methoxybenzaldehyde. However, these reactions failed to furnish the corresponding β -carboline-3-oxazolones, probably due to the relative low electrophilicity of the aldehydes employed.

Scheme 1. The synthetic route to compounds **8–11**.



Reagents and conditions: (a) CH₃OH, H₂SO₄, reflux, 48 h, 95%; (b) Aldehyde (R¹CHO), TFA, CH₂Cl₂, reflux, 48 h, 75–95%; (c) Sulfur, xylene, reflux, 48 h, 75–85%; (d) NaOH, H₂O:CH₃OH 2:1, reflux, 24 h and HCl 5 M, 0 °C, 3 h, 85–90%; (e) HCl.NH₂CH₂COOCH₂CH₃, DMAP, DCC, pyridine, CH₂Cl₂, RT, 48 h, 45–56%; (f) Na₂CO₃, H₂O:CH₃OH 2:1, reflux, 24 h and HCl 5 M, 0 °C, 3h, 68–77%; (g) Aldehyde (R²CHO), AcONa, (CH₃CO)₂O, 80 °C, 24 h, 30–42%.

All novel compounds were characterized by their spectroscopic data (IR, HR-ESIMS, ^1H and ^{13}C -NMR), which are described in the Experimental section. The (4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-one group at C-3 of **8–11** was evidenced by the presence of a singlet at δ_{H} 7.54–7.56 in the ^1H -NMR spectra, corresponding to the benzylidene hydrogen, which showed a correlation with the carbon signals at δ_{C} 126.4–131.5, in the HSQC spectra. The signals at δ_{C} 164.0–164.5 and 168.0–166.9, in the ^{13}C -NMR spectra, were assigned to the C-2 and C-5 carbons, respectively, of the 4*H*-oxazol-5-one ring. The IR spectra showed absorption bands characteristic for C=O stretching in the 1,780–1,816 cm^{-1} region.

The structures of **8–11** were also confirmed by their HR-ESI and EI mass spectra. The compounds showed the presence of the molecular ions $[\text{M}^+]$ consistent with the expected structures, and a base peak at m/z $[\text{M}^+$ -substituted-benzylidene oxazolone] corresponding to the cleavage between C-3 of β -carboline and C-2 of the 4*H*-oxazol-5-one ring.

2.2. Cytotoxic Activity

The IC_{50} values obtained for the synthesized compounds are shown in Table 1. Analysis of the IC_{50} values (Figure 1, Table 1) showed that compound **8** was active only against the melanoma (UACC-62) cell line, with IC_{50} of 7.52 μM . The same result was observed for the derivative **9**, where the phenyl group at C-1 was changed for a 4-acetoxyphenyl group.

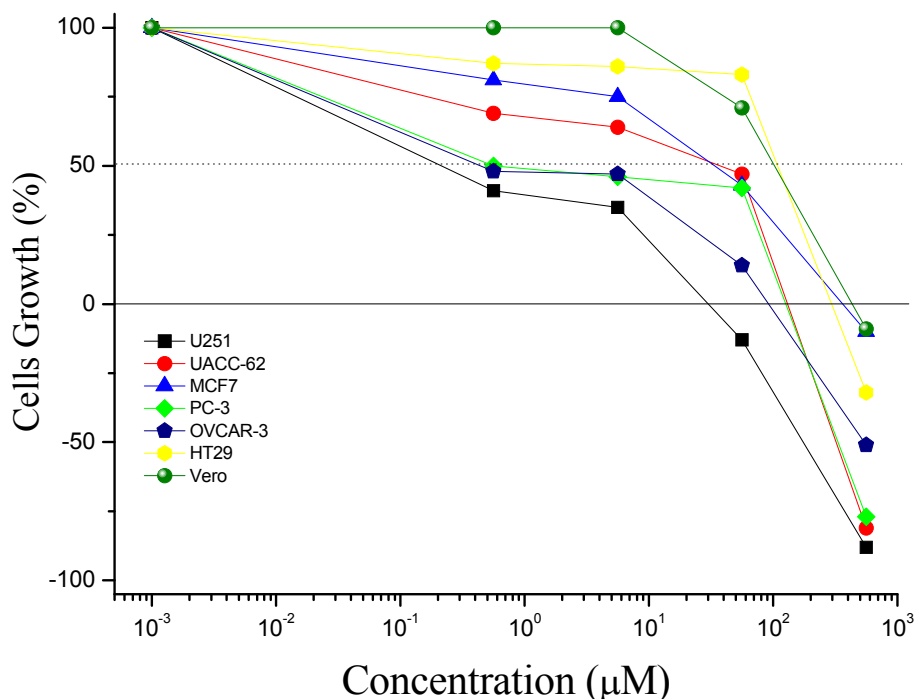
On the other hand, the substitution of the phenyl group at C-1, in compound **8**, for a 4-methoxyphenyl group resulted in the more active compound **10**, showing that a good electron-donating substituent at the phenyl ring is important for the cytotoxicity. A potent activity against glioma (U251) and ovarian (OVCAR-03) cell lines was observed for compound **10**, which presented IC_{50} values of 0.35 and 2.18 μM , respectively. Keeping the 4-methoxyphenyl group at C-1 and in order to evaluate the effect on activity of other groups at the oxazolone moiety, the 3-nitrophenyl group was substituted for a phenyl group, resulting in compound **11**, which displayed the better activity in comparison to all other synthesized compounds. Derivative **11** showed IC_{50} values ≤ 10.00 μM for four of the cells lines tested (Table 1). A potent activity was observed mainly against glioma (U251), prostate (PC-3) and ovarian (OVCAR-03) cell lines with IC_{50} values of 0.48, 1.50 and 1.07 μM , respectively.

Table 1. IC_{50} values (in μM) for compounds **8–11**.

	Glioma U251	Melanoma UACC-62	Breast MCF7	Prostate PC-3	Ovarian OVCAR-03	Colon HT-29	VERO
Doxorubicin ^a	0.03	0.04	0.06	0.05	0.42	0.18	0.50
8	62.42	7.52	>100	>100	63.19	>100	>100
9	80.20	8.76	>100	>100	>100	>100	>100
10	0.35	15.93	47.63	5.28	2.18	>100	>100
11	0.48	10.00	23.44	1.50	1.07	67.88	63.17

^a Doxorubicin was the positive control.

In addition to the effective growth inhibition (IC_{50} values), compound **11** showed also cytostatic activity, with IC_{100} values of 15.50, 56.83, 64.17 and 112.42 μM for glioma (U251), ovarian (OVCAR-03), prostate (PC-3) and melanoma (UACC-62) human cell lines, respectively (Figure 1).

Figure 1. Concentration (μM) versus cell growth (%) for compound **11**.

The comparison of IC_{50} data of **11** (Table 1) with those of the most active β -carboline derivatives reported in our previous work [17–19] demonstrated, in general, a lower cytotoxic activity for this compound. However, specifically for the prostate (PC-3) and ovarian (OVCAR-03) cancer cell lines, the cytotoxic activity of **11** was similar to that of some active reported compounds, such as 1-(4-*N,N*-dimethylaminophenyl)-3-(5-thioxo-1,2,4-triazol-3-yl)- β -carboline (prostate: $\text{IC}_{50} = 1.37 \mu\text{M}$; ovarian: $\text{IC}_{50} = 1.09 \mu\text{M}$) [17] and *N'*-(2-chlorobenzylidene)-1-(4-hydroxyphenyl)- β -carboline-3-carbohydrazide (prostate: $\text{IC}_{50} = 1.83 \mu\text{M}$, ovarian: $1.65 \mu\text{M}$) [19].

The IC_{50} data shown in Table 1 were also compared with those of previously reported β -carboline derivatives bearing the 4-methoxyphenyl group at position-1 and the 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole, 2-methylthio-1,3,4-oxadiazole and 5-thioxo-1,2,4-triazole groups [17], and (substituted benzylidene)-carbohydrazide groups [19], at position-3. This comparison pointed out that, except for 1-(4-methoxyphenyl)-3-(2-methylthio-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (ovarian: $\text{IC}_{50} = 2.13 \mu\text{M}$) [17], the synthesized oxazoles **10** and **11** showed higher cytotoxic activity, particularly for prostate (PC-3) and ovarian (OVCAR-03) cancer cell lines, than all other 1-(4-methoxyphenyl)-3-substituted- β -carboline derivatives previously tested [17,19]. These data demonstrate the importance of the (substituted benzylidene)-4*H*-oxazol-5-one moiety on the cytotoxic activity of compounds **10** and **11**.

2.3. Antimicrobial Activity

Compounds **8–11** were assayed against the bacteria *Bacillus subtilis* ATCC 2576, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, and against the fungi *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC-22019 and *Candida tropicalis* ATCC-28707. Contrarily to the expectation, the assay results showed no activity for compounds **8–11** ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$), indicating that the (substituted-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-one group at C-3 did not contribute to the antimicrobial activity.

2.4. In Silico Study

An *in silico* computational study of the synthesized β -carboline-3-(4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-ones **8–11** was performed by determining the Lipinski's parameters, topological polar surface area (TPSA) and percentage of absorption (% ABS) [33–35]. Calculations were performed using the *Molinspiration Online Property Calculation Toolkit* (www.molinspiration.com) [34] and *OSIRIS Property Explorer* (www.organic-chemistry.org/prog/peo) [35]. The percentage of absorption was estimated using the equation: % ABS = 109 – 0.345 × TPSA [33]. These data are shown in Table 2.

In vivo absorption of the new synthesized derivatives was tentatively assessed by means of theoretical calculations following Lipinski's rule of five, which establishes that the absorption or permeation of an orally administered compound is more likely to be good if the drug satisfies the following criteria: (a) hydrogen bond donors ≤ 5 (OH and NH groups); (b) hydrogen bond acceptors ≤ 10 (N and O atoms); (c) molecular weight < 500; (d) calculated logP < 5 [33–35]. Compounds violating more than one of these rules may present bioavailability problems.

Table 2. Lipinski's parameters and % ABS, TPSA, LogS for compounds **8–11**.

Comp.	%ABS	TPSA ^a (Å ²)	Lipinski's parameters					
			nHBA (NO)	nHBD (OHNH)	logP ^a	MW	n violations	logS ^a
8	68.42	117.61	8	1	5.45	460.45	1	−7.41
9	59.35	143.91	10	1	5.00	518.48	1	−7.71
10	65.24	126.85	9	1	5.50	490.47	1	−7.43
11	81.05	81.02	6	1	5.57	445.48	1	−6.97

^a www.molinspiration.com; ^b www.organic-chemistry.org/prog/peo; %ABS = 109 – 0.345 × TPSA; Number hydrogen bond acceptor (NO) = nHBA ≤ 10 ; Number hydrogen bond donors (OHNH) = nHBD ≤ 5 ; MW ≤ 500 ; Octanol-water partition coefficient = LogP < 5; Solubility = LogS > −4.

Our results (Table 2) revealed that the β -carboline-3-(4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-ones **8–11** violated only one of the Lipinski's rules. Compound **9** has a molecular weight larger than 500 g/mol and the derivatives **8**, **10** and **11** showed octanol-water partition coefficients (LogP) larger than 5.0.

All derivatives have number of hydrogen bond acceptors (*n*-ON = 6–10) and donors (*n*-OHNH = 1) in agreement with Lipinski's rule. The calculated percent absorption (% ABS) of all derivatives ranged between 59.35 and 81.05%, indicating that these compounds should have good cellular plasmatic membrane permeability.

3. Experimental

3.1. Chemistry

Melting points were determined in a Micro-Química MQAPF-301 apparatus and are uncorrected. ¹H- and ¹³C-NMR spectra were recorded in a Varian model Mercury plus 300 spectrometer (Palo Alto, CA, USA) at 300 MHz and 75.5 MHz, respectively, with DMSO-*d*₆ as solvent and TMS as the internal standard. EI-MS spectra were recorded in a Thermoelectron Corporation Focus-DSQ II spectrometer (Austin, TX, USA). HR-ESI mass spectra were recorded on a Q-TOF (Micromass) spectrometer in

positive ion mode (Manchester, UK). IR spectra were recorded on a BOMEM model MB-100 spectrometer (Quebec, CA, USA). For TLC, Merck precoated plates (silica gel 60 G254) were used. Silica gel 60 Merck (230–400 mesh) was used in the column chromatography purification of some compounds. All reagents were purchased from commercial suppliers.

3.2. General Method for Synthesis of *N*-(1-benzylidene- β -carboline-3-carbonyl)-glycine Ethyl Esters **6a–c**

To a solution of β -carboline-3-carboxylic acids **5a–c** (0.7 mmol) in pyridine (5 mL) at 0 °C was added glycine ethyl ester hydrochloride (0.7 mmol), DMAP (0.07 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL). The mixture was stirred for 5 min and a solution of DCC (0.7 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL) was added, followed by stirring for 2 h, at 0 °C, and for 24 h at room temperature. This step was repeated with a new amount of DCC (0.7 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL), followed by evaporation of the solvent, addition of CH₂Cl₂ and filtration of the DCU precipitate formed. The solvent was removed from the filtrate and the residual DCU separated by precipitation with acetone and filtration. The solvent was removed and the residue obtained purified on a chromatographic column (silica gel, CHCl₃/CH₃OH 5%) to give the pure β -carbolines **6a–c** in yields ranging from 45–56%.

N-(1-Phenyl- β -carboline-3-carbonyl)-glycine ethyl ester (**6a**). Yield: 55%, m.p. 194–195 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1737 (C=O); 1657 (C=O), 1622 (C=N); 1591–1494 (C=C). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.80 (s, H-4), 8.18 (d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 7.35 (td, *J* = 7.3 Hz and 1.5 Hz, H-6), 7.49–7.63 (m, H-7), 7.49–7.63 (m, H-8), 8.89 (s, NH-9), 7.99 (dd, *J* = 6.9 Hz and 1.5 Hz, H-2'), 7.51–7.64 (m, H-3'/5'), 7.49–7.64 (m, H-4'), 7.99 (dd, *J* = 6.9 Hz and 1.5 Hz, H-6'), 8.65 (t, *J* = 5.7 Hz, NH-2''), 4.31 (d, *J* = 5.7 Hz, NHCH₂), 4.27 (q, *J* = 7.2 Hz, OCH₂CH₃), 1.33 (t, *J* = 7.2 Hz, CH₃CH₂O). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 141.2 (C-1), 139.8 (C-3), 113.7 (C-4), 130.6 (C-4a), 122.4 (C-4b), 122.3 (C-5), 121.1 (C-6), 129.1 (C-7), 112.1 (C-8), 140.9 (C-8a), 137.9 (C-9a), 135.0 (C-1'), 128.4 (C-2'), 129.3 (C-3'/5'), 129.3 (C-4'), 128.4 (C-6'), 166.0 (C=O), 41.7 (NHCH₂), 170.5 (C=O), 61.7 (OCH₂CH₃), 14.4 (CH₃CH₂O). EIMS, 70 eV, *m/z* (rel. int. %): 373 (40, M⁺), 243 (100), 271 (40).

N-[1-(4-Hydroxyphenyl)- β -carboline-3-carbonyl]-glycine ethyl ester (**6b**). Yield: 45%, m.p. 168–170 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1729 (C=O), 1626 (C=N), 1538–1464 (C=C). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.72 (s, H-4), 8.27 (d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 7.28 (t, *J* = 7.8 Hz, H-6), 7.54 (t, *J* = 7.8 Hz, H-7), 7.68 (d, *J* = 7.8 Hz, H-8), 11.69 (s, NH-9), 8.01 (d, *J* = 8.7 Hz, H-2'/6'), 7.04 (d, *J* = 8.7 Hz, H-3'/5'), 9.71 (brs, OH), 8.97 (t, *J* = 6.0 Hz, NH-2''), 4.17 (d, *J* = 6.0 Hz, NHCH₂), 4.18 (q, *J* = 7.2 Hz, OCH₂CH₃), 1.27 (t, *J* = 7.2 Hz, CH₃CH₂O). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 141.3 (C-1), 138.6 (C-3), 111.9 (C-4), 127.9 (C-4a), 121.1 (C-4b), 121.3 (C-5), 119.7 (C-6), 128.2 (C-7), 112.4 (C-8), 141.0 (C-8a), 133.9 (C-9a), 129.3 (C-1'), 129.8 (C-2'/6'), 115.3 (C-3'/5'), 158.2 (C-4'), 165.2 (C=O), 40.9 (NHCH₂), 169.8 (C=O), 60.3 (OCH₂CH₃), 13.9 (CH₃CH₂O). EIMS, 70 eV, *m/z* (rel. int. %): 389 (25, M⁺), 259 (100), 343 (10).

N-[1-(4-Methoxyphenyl)- β -carboline-3-carbonyl]-glycine ethyl ester (**6c**). Yield: 56%, m.p. 184–186 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1742 (C=O); 1656 (C=O), 1609 (C=N), 1561–1464 (C=C). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.79 (s, H-4), 8.19 (d, *J* = 7.8 Hz, H-5), 7.35 (td, *J* = 7.0 Hz; *J* = 1.5 Hz, H-6), 7.53–7.61 (m, H-7), 7.53–7.61 (m, H-8), 8.81 (s, NH-9), 7.95 (dd, *J* = 8.7 Hz and 1.8 Hz, H-2'/6'), 7.13 (dd, *J* = 8.7 Hz and

1.8 Hz, H-3'/5'), 3.92 (s, OCH₃), 8.67 (t, $J = 5.5$ Hz, NH-2"), 4.32 (d, $J = 5.5$ Hz, NHCH₂), 4.27 (q, $J = 7.0$ Hz, OCH₂CH₃), 1.33 (t, $J = 7.0$ Hz, CH₃CH₂O). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 141.2 (C-1), 139.8 (C-3), 113.3 (C-4), 122.5 (C-4b), 122.3 (C-5), 121.1 (C-6), 128.9 (C-7), 112.0 (C-8), 140.8 (C-8a), 134.9 (C-9a), 130.5 (C-1'), 129.7 (C-2'/6'), 114.8 (C-3'/5'), 160.6 (C-4'), 55.6 (OCH₃), 166.1 (C=O), 170.5 (C=O), 41.7 (NHCH₂), 61.7 (OCH₂CH₃), 14.4 (CH₃CH₂O). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 403 (60, M⁺), 301 (45), 273 (100), 258 (30).

3.3. General Method for the Synthesis of *N*-(1-substituted- β -carboline-3-carbonyl)-glycine **7a–c**

A suspension of *N*-(1-substituted- β -carboline-3-carbonyl)-glycine ethyl esters **6a–c** (0.5 mmol) and Na₂CO₃ (1.5 mmol) in H₂O:MeOH 2:1 (5 mL) was stirred for 24 h, at 80 °C. The mixture was cooled at 0 °C, and after stirring for 2 h, the solution was neutralized with a solution of 5 M HCl solution. The product was collected by filtration, dried and crystallized from ethanol, furnishing the compounds **7a–c** in 68–77% yield.

N-(1-Phenyl- β -carboline-3-carbonyl)-glycine (**7a**). Yield: 77%, m.p. 236–238 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1731 (C=O); 1636 (C=N), 1593–1464 (C=C). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.83 (s, H-4), 8.43 (d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.32 (t, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.55–7.71 (m, H-7), 7.55–7.71 (m, H-8), 11.87 (s, NH-9), 8.14 (dd, $J = 7.8$ Hz and 1.2 Hz, H-2'/6'), 7.55–7.71 (m, H-3'/5'), 7.55–7.71 (m, H-4'), 8.87 (t, $J = 5.1$ Hz, NH-2"), 3.89 (d, $J = 5.1$ Hz, NHCH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 141.6 (C-1), 139.5 (C-3), 112.9 (C-4), 129.9 (C-4a), 122.0 (C-4b), 121.2 (C-5), 120.2 (C-6), 128.9 (C-7), 112.7 (C-8), 140.6 (C-8a), 137.5 (C-9a), 134.2 (C-1'), 128.6 (C-2'/6'), 128.8 (C-3'/5'), 128.8 (C-4'), 164.7 (C=O), 41.9 (NHCH₂), 171.4 (C=O). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 345 (20, M⁺), 301 (20), 243 (95), 60 (100).

N-[1-(4-Hydroxyphenyl)- β -carboline-3-carbonyl]-glycine (**7b**). Yield: 74%, mp decomp. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1729 (C=O), 1609 (C=N), 1540–1498 (C=C). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.76 (s, H-4), 8.40 (d, $J = 7.6$ Hz, H-5), 7.31 (t, $J = 7.6$ Hz, H-6), 7.59 (t, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.70 (d, $J = 7.6$ Hz, H-8), 12.64 (s, NH-9), 8.04 (d, $J = 8.7$ Hz, H-2'/6'), 7.04 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3'/5'), 9.86 (brs, OH), 8.95 (t, $J = 6.0$ Hz, NH-2"), 4.08 (d, $J = 6.0$ Hz, NHCH₂), 11.76 (s, OH). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 141.5 (C₀-1), 139.2 (C-3), 112.3 (C-4), 128.4 (C-4a), 121.3 (C-4b), 121.9 (C-5), 120.1 (C-6), 128.3 (C-7), 112.7 (C-8), 141.0 (C-8a), 133.9 (C-9a), 129.6 (C-1'), 130.1 (C-2'/6'), 115.6 (C-3'/5'), 158.4 (C-4'), 165.2 (C=O), 41.2 (NHCH₂), 171.6 (C=O). C₂₀H₁₅N₃O₄ EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 361 (20, M⁺), 260 (100), 229 (20), 60 (10).

N-[1-(4-Methoxyphenyl)- β -carboline-3-carbonyl]-glycine (**7c**). Yield: 68%, m.p. 247–249 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1741 (C=O), 1638 (C=N), 1545–1464 (C=C). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.76 (s, H-4), 8.28 (d, $J = 7.5$ Hz, H-5), 7.30 (t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 7.56 (t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 7.69 (d, $J = 7.5$ Hz, H-8), 11.74 (s, NH-9), 8.11 (d, $J = 8.7$ Hz, H-2'/6'), 7.91 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3'/5'), 3.91 (s, OCH₃), 8.90 (t, $J = 5.7$ Hz, NH-2"), 4.13 (d, $J = 5.7$ Hz, NHCH₂). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 141.5 (C-1), 138.6 (C-3), 112.3 (C-4), 121.1 (C-4b), 121.4 (C-5), 119.9 (C-6), 128.1 (C-7), 112.5 (C-8), 140.4 (C-8a), 134.0 (C-9a), 129.5 (C-1'), 129.9 (C-2'/6'), 113.8 (C-3'/5'), 159.8 (C-4'), 55.0 (OCH₃), 164.8 (C=O), 40.9 (NHCH₂), 171.2 (C=O). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 375 (25, M⁺), 274 (100), 229 (25), 60 (40).

3.4. General Method for Synthesis of 1-Substituted β -carboline-3-(4-benzylidene)-4H-oxazol-5-ones 8–11

To a solution of derivatives **7a–c** (0.3 mmol), in acetic anhydride (5 mL), was added 4-nitrobenzaldehyde or benzaldehyde (0.75 mmol), followed by addition of sodium acetate (1.5 mmol). The solution was stirred for 24 h at 80 °C and then, for 1h at 0 °C. The solid formed was filtered under vacuum and washed with cold acetone to afford the compounds **8–11**.

2-[1-Phenyl-9H- β -carbolin-3-yl]-4-(3-nitrobenzylidene)-4H-oxazol-5-one (8). Yield: 42%, m.p. 271–273 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 3395 (N–H), 1810 (C=O); 1625 (C=N), 1547–1497 (C=C). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.17 (s, H-4), 8.49 (d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.41 (t, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.59–7.66 (m, H-7), 7.75 (d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 12.17 (s, NH-9), 8.12 (d, $J = 8.0$ Hz, H-2'/6'), 7.68 (d, $J = 8.0$ Hz, H-3'/5'), 7.59–7.66 (m, H-4'), 7.54 (s, C=CH), 9.30 (s, H-2''), 8.34 (d, $J = 7.5$ Hz, H-4''), 7.85 (t, $J = 7.5$ Hz, H-5''), 8.80 (d, $J = 7.5$ Hz, H-6''). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 143.1 (C-1), 137.2 (C-3), 116.9 (C-4), 129.1 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122 (C-5), 120.8 (C-6), 129.3 (C-7), 113.0 (C-8), 141.5 (C-8a), 134.8 (C-9a), 132.3 (C-1'), 128.6 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/5'), 129.0 (C-4'), 167.0 (C=O), 164.4 (C=N), 135.7 (C=CH), 126.8 (C=CH), 135.1 (C-1''), 126.2 (C-2''), 148.2 (C-3''), 124.8 (C-4''), 130.4 (C-5''), 137.8 (C-6''). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 460 (30, M^+), 243 (100), 271 (30), 432 (5). HR-ESIMS: calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{N}_4\text{O}_4$: 461.1250 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$; found: 461.1296.

2-[1-(4-Acetoxyphenyl)-9H- β -carbolin-3-yl]-4-(3-nitrobenzylidene)-4H-oxazol-5-one (9). Yield: 30%, m.p. 255–257 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1816 cm^{-1} (C=O), 1655 (C=N), 1553–1528 (C=C). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.20 (s, H-4), 8.51 (d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 7.41 (t, $J = 8.1$ Hz, H-6), 7.67 (d, $J = 8.1$ Hz, H-7), 7.75 (d, $J = 8.1$ Hz, H-8), 12.26 (s, NH-9), 8.20 (d, $J = 8.4$ Hz, H-2'/6'), 7.45 (d, $J = 8.4$ Hz, H-3'/5'), 2.37 (s, CH_3), 7.56 (s, C=CH), 9.32 (s, H-2''), 8.34 (dd, $J = 7.8$ Hz and 2.1 Hz, H-4''), 7.87 (t, $J = 7.8$ Hz, H-5''), 8.83 (d, $J = 7.8$ Hz, H-6''). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 142.3 (C-1), 141.5 (C-3), 117.0 (C-4), 129.1 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122.1 (C-5), 121.0 (C-6), 129.4 (C-7), 113.0 (C-8), 144.1 (C-8a), 134.7 (C-9a), 132.3 (C-1'), 129.8 (C-2'/6'), 122.3 (C-3'/5'), 151.3 (C-4'), 20.9 (CH_3), 169.2 (OCOCH_3), 166.9 (C=O), 164.4 (C=N), 135.7 (C=CH), 126.4 (C=CH), 135.1 (C-1''), 126.2 (C-2''), 148.2 (C-3''), 124.8 (C-4''), 130.4 (C-5''), 137.8 (C-6''). HR-ESIMS: calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_6$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 519.1305; found: 519.1400.

2-[1-(4-Methoxyphenyl)-9H- β -carbolin-3-yl]-4-(3-nitrobenzylidene)-4H-oxazol-5-one (10). Yield: 32%, m.p. 201–203 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 3330 (N–H), 1781 cm^{-1} (C=O), 1609 (C=N), 1547–1494 (C=C). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.15 (s, H-4), 8.48 (d, $J = 7.6$ Hz, H-5), 7.40 (t, $J = 7.6$ Hz, H-6), 7.65 (t, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.71 (d, $J = 7.6$ Hz, H-8), 12.14 (s, NH-9), 8.12 (d, $J = 8.7$ Hz, H-2'/6'), 7.24 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3'/5'), 3.91 (s, OCH_3), 7.55 (s, C=CH), 9.32 (s, H-2''), 8.35 (d, $J = 8.0$ Hz, H-4''), 7.87 (t, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 8.51 (d, $J = 8.0$ Hz, H-6''). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 143.1 (C-1), 138.0 (C-3), 116.6 (C-4), 129.2 (C-4a), 120.0 (C-4b), 122.0 (C-5), 121.0 (C-6), 128.9 (C-7), 109.9 (C-8), 142.0 (C-8a), 134.7 (C-9a), 129.6 (C-1'), 130.1 (C-2'/6'), 114.3 (C-3'/5'), 160.2 (C-4'), 55.4 (OCH_3), 167.1 (C=O), 164.5 (C=N), 135.8 (C=CH), 126.7 (C=CH), 135.2 (C-1''), 126.2 (C-2''), 148.2 (C-3''), 124.8 (C-4''), 131.0 (C-5''), 137.8 (C-6''). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 490 (60, M^+), 301 (30), 273 (100), 258 (35). HR-ESIMS: calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_5$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 491.1355; found: 491.1309.

2-[1-(4-Methoxyphenyl)-9H- β -carbolin-3-yl]-4-benzylidene-4H-oxazol-5-one (**11**). Yield: 40%, m.p. 245–247 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 3330 (N–H), 1781 cm^{-1} (C=O), 1648 (C=N), 1573–1494 (C=C). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 9.18 (s, H-4), 8.55 (d, $J = 7.5$ Hz, H-5), 7.41 (m, H-6), 7.64 (t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 7.74 (d, $J = 7.5$ Hz, H-8), 12.00 (s, NH-9), 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, H-2'/6'), 7.24 (d, $J = 8.4$ Hz, H-3'/5'), 3.90 (s, OCH₃), 7.56 (s, C=CH), 8.40 (d, $J = 7.2$ Hz, H-2''/6''), 7.58 (d, $J = 7.2$ Hz, H-3''/5''), 7.37 (m, H-4''). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): δ 143.4 (C-1), 138.2 (C-3), 116.7 (C-4), 129.6 (C-4a) 121.5 (C-4b), 122.7 (C-5), 121.1 (C-6), 129.4 (C-7), 113.4 (C-8), 141.9 (C-8a), 135 (C-9a), 133.1 (C-1'), 130.5 (C-2'/6'), 114.7 (C-3'/5'), 160.6 (C₀-4'), 55.5 (OCH₃), 168.0 (C=O), 164.0 (C=N), 134.1 (C=CH), 131.5 (C=CH), 134 (C-1''), 132.7 (C-2''/6''), 129.4 (C-3''/5''), 130.0 (C-4''). EIMS, 70 eV, m/z (rel. int. %): 445 (35, M⁺), 301 (30), 273 (100), 258 (35), 242 (15). HR-ESIMS: calcd for C₂₈H₂₀N₃O₃ [M+H]⁺: 446.1505; found: 446.1529.

3.2. Biological Assays

3.2.1. Cytotoxic Assay

The synthesized compounds were evaluated *in vitro* against six human cancer cell lines consisting of glioma (U251), melanoma (UACC-62), breast (MCF-7), prostate (PC-3), ovarian (OVCAR-03) and colon (HT-29). Cell lines were obtained from National Cancer Institute (Frederick, MD, USA). Normal cell line (VERO, renal, green monkey), from the Rio de Janeiro Cell Bank, was also used. Stock cultures were grown in medium containing 5 mL RPMI 1640 (GIBCO BRL) supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS, GIBCO), at 37 °C with 5% CO₂. Penicillin:streptomycin (1000 $\mu\text{g/L}$:1000 U/L, 1 mL/L) was added to the experimental cultures. Cells in 96-well plates (100 μL cells well⁻¹) were exposed to compounds **8–11** in DMSO (concentrations of 0.25, 2.5, 25, and 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) at 37 °C, 5% of CO₂ in air for 48 h. Final DMSO concentration did not affect the cell viability. Afterwards cells were fixed with 50% trichloroacetic acid and cell proliferation determined by spectrophotometric quantification (540 nm) of cellular protein content by using sulforhodamine B assay and doxorubicin as the positive control [36]. Three measurements were obtained: at time zero (T₀, at the beginning of incubation) and 48 h post-incubation for compound-free (C) and tested (T) cells. Cell proliferation was determined according to the equation $100 \times [(T - T_0)/C - T_0]$, for $T_0 < T \leq C$, and $100 \times [(T - T_0)/T_0]$, for $T \leq T_0$ and a concentration-response curve for each cell line was plotted using software ORIGIN 8.0[®] (OriginLab Corporation). Using the concentration-response curve for each cell line, the IC₅₀ values (concentration that produces a 50% reduction in cellular growth when compared to untreated control cells) and IC₁₀₀ values (concentration that promotes total growth inhibition) were determined through non-linear regression analysis using software ORIGIN 8.0[®] (OriginLab Corporation) [37]. Compounds with IC₅₀ values < 100 μM were considered actives.

3.2.2. Antimicrobial Activity Assay

Antibacterial and antifungal assays for compounds **8–11** were carried out according to previously reported experimental protocols [38,39]. The bacterial strains were grown overnight at 36 °C in Nutrient Agar (Merck, Darmstadt, Germany), and the strains were grown in Sabouraud Dextrose Agar. Inoculum for the assays was prepared by diluting scraped cell mass in 0.85% NaCl solution, adjusted

to McFarland scale 0.5 and confirmed by spectrophotometrical reading at 580 nm. Cell suspensions were finally diluted to 10^4 UFC·mL⁻¹ for use in the activity assays. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) tests were carried out using Müller-Hinton broth (bacteria) or RPMI-1640 (yeasts) on a tissue culture test plate (96 wells). Each compound was tested in duplicate. The stock solutions of compounds firstly in DMSO and subsequently in Tween 80 water solution (0.1%) were diluted and transferred into the first well, and serial dilutions were performed so that concentrations in the range of 250–1.6 µg·mL⁻¹ were obtained. Chloramphenicol and nystatin (Merck) were used as the reference antibiotic control. The inoculum was added to all wells and the plates were incubated at 36 °C for 24 h. Antibacterial activity was detected by adding 0.5% aqueous solution of ntriphenyltetrazolium chloride (TTC, 20 µL, Merck). MIC was defined as the lowest concentration of the compounds that inhibited visible growth, as indicated by TTC staining (dead cells are not stained by TTC). For antifungal activity evaluation, after the incubation period changes in the RPMI-1640 medium color were verified from pink (original color) to yellow. The change indicates an acidification from medium by the microorganisms' growth.

4. Conclusions

In conclusion, four 1-substituted β-carboline-3-(4-benzylidene)-4*H*-oxazol-5-ones **8–11** were prepared and assayed for their antitumor and antimicrobial activities. The compound 2-[1-(4-methoxyphenyl)-9*H*-β-carbolin-3-yl]-4-(benzylidene)-4*H*-oxazol-5-one (**11**) was the most active derivative, exhibiting potent cytotoxic activity against glioma (U251), prostate (PC-3) and ovarian (OVCAR-03) cancer cell lines with IC₅₀ values of 0.48, 1.50 and 1.07 µM, respectively. *In silico* studies indicate that compounds of this class are potential new anticancer drug candidates.

Supplementary Materials

Supplementary materials can be accessed at: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/3/6099/s1>.

Acknowledgments

This work was supported by Fundação Araucária (Brazil, PR), Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil). We thank Fundação Araucária, CAPES and CNPq for fellowships (FCS, MAF, JEC, MCTD, MFR, MHS).

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References and Notes

1. Cao, R.; Peng, W.; Wang, Z.; Xu, A. β-Carboline alkaloids: Biochemical and pharmacological functions. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 479–500.

2. Yao, K.; Zhao, M.; Zhang, X.; Wang, Y.; Li, L.; Zheng, M.; Peng, S. A class of oral N-[(1*S*,3*S*)-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carbonyl]-N-(amino-acid-acyl) hydrazine: Discovery, synthesis, *in vitro* anti-platelet aggregation/*in vivo* anti-thrombotic evaluation and 3D QSAR analysis. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3237–3249.
3. Bi, W.; Bi, Y.; Xue, P.; Zhang, Y.; Gao, X.; Wang, Z.; Li, M.; Baudy-Floc'h, M.; Ngerebara, N.; Gibson, M.K.; *et al.* A new class of β -carboline alkaloid-peptide conjugates with therapeutic efficacy in acute limb ischemia/reperfusion injury. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1453–1462.
4. Liu, J.; Jiang, X.; Zhao, M.; Zhang, X.; Zheng, M.; Peng, L.; Peng, S. A class of 3*S*-2-aminoacyltetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acids: Their facile synthesis, inhibition for platelet activation, and high *in vivo* anti-thrombotic potency. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3106–3116.
5. Costa, E.V.; Pinheiro, M.L.B.; de Souza, A.D.L.; Barison, A.; Campos, F.R.; Valdez, R.H.; Ueda-Nakamura, T.; Dias, B.P.; Nakamura, C.V. Trypanocidal activity of oxoaporphine and pyrimidine- β -carboline alkaloids from the branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). *Molecules* **2011**, *16*, 9714–9720.
6. Polanski, W.; Reichmann, H.; Gille, G. Stimulation, protection and regeneration of dopaminergic neurons by 9-methyl- β -carboline: A new anti-Parkinson drug? *Expert Rev. Neurother.* **2011**, *11*, 845–860.
7. Valdez, R.H.; Tonin, L.T.D.; Ueda-Nakamura, T.; Silva, S.O.; Dias, B.P.; Kaneshima, E.N.; Yamada-Ogatta, S.F.; Yamauchi, L.M.; Sarragiotto, M.H.; Nakamura, C.V. *In vitro* and *in vivo* trypanocidal synergistic activity of *N*-butyl-1-(4-dimethylamino)phenyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxamide) associated with benzimidazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 507–512.
8. Ikeda, R.; Kurosawa, M.; Okabayashi, T.; Takei, A.; Yoshiwara, M.; Kumakura, T.; Sakai, N.; Funatsu, O.; Morita, A.; Ikekita, M.; *et al.* 3-(3-phenoxybenzyl)amino- β -carboline: A novel antitumor drug targeting α -tubulin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4784–4787.
9. Shen, L.; Park, E.-J.; Kondratyuk, P.; Guendisch, D.; Marler, L.; Pezzuto, J.M.; Wright, A.D.; Sun, D. Design, synthesis, and biological evaluation of callophycin A and analogues as potential chemopreventive and anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6182–6195.
10. Chen, Z.; Cao, R.; Shi, B.; Guo, L.; Sun, J.; Ma, Q.; Fan, W.; Song, H. Synthesis and biological evaluation of 1,9-disubstituted β -carbolines as potent DNA intercalating and cytotoxic agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5127–5137.
11. Zhang, X.; Yang, Y.; Zhao, M.; Liu, L.; Zheng, M.; Wang, Y.; Wu, J.; Peng, S. A class of Trp-Trp-AA-OBzl: Synthesis, *in vitro* anti-proliferation/*in vivo* anti-tumor evaluation, intercalation-mechanism investigation and 3D QSAR analysis. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 3410–3419.
12. Chen, Z.; Cao, R.; Shi, B.; Yi, W.; Yu, L.; Song, H.; Ren, Z. Synthesis and biological evaluation of novel β -carbolines as potent cytotoxic and DNA intercalating agents. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 901–907.
13. Ma, C.; Cao, R.; Shi, B.; Zhou, X.; Ma, Q.; Sun, J.; Guo, L.; Yi, W.; Chen, Z.; Song, H. Synthesis and cytotoxic evaluation of 1-carboxamide and 1-amino side chain substituted β -carbolines. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5513–5519.

14. Chen, Z.; Cao, R.; Yu, L.; Shi, B.; Sun, J.; Guo, L.; Ma, Q.; Yi, W.; Song, X.; Song, H. Synthesis, cytotoxic activities and DNA binding properties of β -carboline derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4740–4745.
15. Cao, R.; Guan, X.; Shi, B.; Chen, Z.; Ren, Z.; Peng, W.; Song, H. Design, synthesis and 3D-QSAR of β -carboline derivatives as potent antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 2503–2515.
16. Wu, J.; Li, C.; Zhao, M.; Wang, W.; Wang, Y.; Peng, S. A class of novel carboline intercalators: Their synthesis, *in vitro* anti-proliferation, *in vivo* anti-tumor action, and 3D QSAR analysis. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6220–6229.
17. Formagio, A.S.N.; Tonin, L.T.D.; Foglio, M.A.; Madjarof, C.; de Carvalho, J.E.; da Costa, W.F.; Cardoso, F.P.; Sarragiotto, M.H. Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) β -carboline derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9660–9667.
18. Savariz, F.C.; Formagio, A.S.N.; Barbosa, V.A.; Foglio, M.A.; de Carvalho, J.E.; Duarte, M.C.T.; Filho, B.P.D.; Sarragiotto, M.H. Synthesis, antitumor and antimicrobial activity of novel 1-substituted phenyl-3-[3-alkylamino(methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl] β -carboline derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 288–298.
19. Barbosa, V.A.; Formagio, A.S.N.; Savariz, F.C.; Foglio, M.A.; Spindola, H.M.; de Carvalho, J.E.; Meyer, E.; Sarragiotto, M.H. Synthesis and antitumor activity of β -carboline 3-(substituted-carbohydrazide) derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6400–6408.
20. Wu, S.; Fu, Y.; Yan, R.; Wu, Y.; Lei, X.; Ye, S. Synthesis of neamine-carboline conjugates for RNA binding and their antibacterial activities. *Tetrahedron* **2010**, *66*, 3433–3440.
21. Schupp, P.; Poehner, T.; Edrada, R.; Ebel, R.; Berg, A.; Wray, V.; Proksch, P. Eudistomins W and X, two new β -carboline derivatives from the Micronesian Tunicate *Eudistoma* sp. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 272–275.
22. Desai, N.C.; Bhavsar, A.M.; Baldaniya, B.B. Synthesis and antimicrobial activity of 5-imidazolinone derivatives. *Indian J. Pharm. Sci.* **2009**, *71*, 90–94.
23. Argade, N.D.; Kalrale, B.K.; Gill, C.H. Microwave assisted improved method for the synthesis of pyrazole containing 2,4-disubstituted oxazole-5-one and their antimicrobial activity. *Eur. J. Chem.* **2008**, *5*, 120–129.
24. Salgin-Goken, U.; Gokhan-Kelekçi, N.; Goktas, O.; Koysal, Y.; Kilic, E.; Isik, S.; Aktay, G.; Ozalp, M. 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5738–5751.
25. Siddiqui, I.R.; Singh, P.K.; Srivastava, V.; Singh, J. Facile synthesis of acyclic analogues of carbocyclic nucleoside as potential anti-HIV pro-drug. *Indian J. Chem.* **2010**, *49B*, 512–520.
26. Perron-Sierra, F.M.; Pierré, A.; Burbridge, M.; Guilbaud, N.; Novel bicyclic oxazolone derivatives as anti-angiogenic agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1463–1466.
27. Khan, K.M.; Mughal, U.R.; Khan, M.T.H.; Zia-Ullah; Perveen, S.; Choudhary, M.I. Oxazolones: New tyrosinase inhibitors; synthesis and their structure-activity relationships. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 6027–6033.

28. Mesaik, M.A.; Rahat, S.; Khan, K.M.; Zia-Ullah; Choudhary, M.I.; Murad, S.; Ismail, Z.; Atta-ur-Rahman; Ahmad, A. Synthesis and immunomodulatory properties of selected oxazolone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2049–2057.
29. Bala, S.; Saini, M.; Kamboj, S. Methods for synthesis of Oxazolones: A Review. *Int. J. ChemTech Res.* **2011**, *3*, 1102–1118.
30. Tikdari, A.M.; Fozooni, S.; Hamidian, H. Dodecatungstophosphoric acid (H₃PW₁₂O₄₀), samarium and ruthenium (III) chloride catalyzed synthesis of unsaturated 2-phenyl-5(4*H*)-oxazolone derivatives under solvent-free conditions. *Molecules* **2008**, *13*, 3246–3252.
31. Cleary, T.; Rawalpally, T.; Kennedy, N.; Chavez, F. Catalyzing the Erlenmeyer Plöchl reaction: Organic bases *versus* sodium acetate. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1533–1536.
32. Ma, C.; Cao, R.; Shi, B.; Li, S.; Chen, Z.; Yi, W.; Peng, W.; Ren, Z.; Song, H. Synthesis and cytotoxic evaluation of N²-benzylated quaternary β-carboline amino acid ester conjugates. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1515–1523.
33. Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3–25.
34. Ertl, P. Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score. Available online: <http://www.molinspiration.com> (accessed on 31 January 2012).
35. Sander, T. Molecular Property Explorer. Available online: <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo> (accessed on 31 January 2012).
36. Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; *et al.* Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757–766.
37. Shoemaker, R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 813–823.
38. NCCLS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically Approved Standard*, 6th Ed.; NCCLS document M7-A6; NCCLS: Wayne, MI, USA, 2003.
39. NCCLS. *Methods for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved standard*, 2nd Ed.; NCCLS document M27-A; NCCLS: Wayne, MI, USA, 2002.

Sample Availability: Samples of the compounds **8–11** are available from the authors.

© 2012 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).



Synthesis and antitumor activity of novel 1-substituted phenyl 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines and their Mannich bases



Franciele Cristina Savariz^a, Mary Ann Foglio^b, Ana Lucia T. Goes Ruiz^b, Willian Ferreira da Costa^a, Marina de Magalhães Silva^c, Josué Carinhonha Caldas Santos^c, Isis Martins Figueiredo^c, Emerson Meyer^a, João Ernesto de Carvalho^b, Maria Helena Sarragiotto^{a,*}

^a Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, CEP: 87020-900 Maringá, PR, Brazil

^b Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Universidade Estadual de Campinas, 6171, CEP: 13083-970 Campinas, SP, Brazil

^c Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins, CEP: 57072-970 Maceió, AL, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 August 2014

Revised 15 October 2014

Accepted 23 October 2014

Available online 29 October 2014

Keywords:

β -Carboline

2-Oxo-1,3,4-oxadiazole

Mannich bases

Antitumor activity

Synthesis

ctDNA interaction

ABSTRACT

A series of novel 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines (**4a–e**) and the corresponding Mannich bases **5–9(a–c)** were synthesized and evaluated for their in vitro antitumor activity against seven human cancer cell lines. Compounds of **4a–e** series showed a broad spectrum of antitumor activity, with GI₅₀ values lower than 15 μ M for five cell lines. The derivative **4b**, having the *N,N*-dimethylaminophenyl group at C-1, displayed the highest activity with GI₅₀ in the range of 0.67–3.20 μ M. A high selectivity and potent activity were observed for some Mannich bases, particularly towards resistant ovarian (NCI-ADR/RES) cell lines (**5a**, **5b**, **6a**, **6c** and **9b**), and ovarian (OVCAR-03) cell lines (**5b**, **6a**, **6c**, **9a**, **9b** and **9c**). In addition, the interaction of compound **4b** with DNA was investigated by using UV and fluorescence spectroscopic analysis. These studies indicated that **4b** interact with ctDNA by intercalation binding.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The β -carboline nucleus is present in many synthetic and naturally occurring compounds, displaying a large spectrum of important pharmacological and biological properties.^{1–6} It is worth mentioning the significant antitumor activity of β -carboline derivatives demonstrated in several studies, which have focused on the design, synthesis and structure–activity relationship (SAR), as well as on their anticancer action mode.^{7–13}

β -Carbolines can exert the antitumor activity through multiple mechanisms, such as DNA intercalation,^{10–12} DNA binding,^{13–15} or DNA synthesis inhibition.¹⁶ Additionally, some β -carboline derivatives are capable of inhibiting Topoisomerases I and II,^{17,18} Ikb kinase (IKK),¹⁹ cyclin-dependent kinases (CDKs),²⁰ polo-like kinase (PLK1)²¹ and kinesin-like protein Eg5.²²

SAR studies on the chemistry and antitumor activity of β -carboline alkaloids report that the introduction of appropriate substituents into 1-, 3- and 9-positions of β -carboline ring can result in more potent compounds with reduced toxicity and neurotoxic effects.^{7–13} In our previous work,^{23–25} we demonstrated that

derivatives bearing a phenyl group appropriately substituted at position-1, and different substituents at position-3 of the β -carboline nucleus showed potent antitumor activity. Among the substituents at C-3, the 2-thioxo-1,3,4-oxadiazolyl group was a suitable pharmacophoric group, giving rise to 1-(substituted phenyl)-3-(2-thioxo-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines (**1**, Fig. 1) with significant antitumor activity.²³ In addition, we found that the Mannich bases (**2**, Fig. 1), from the most active compounds of series **1**, displayed even higher antitumor activity.²⁵

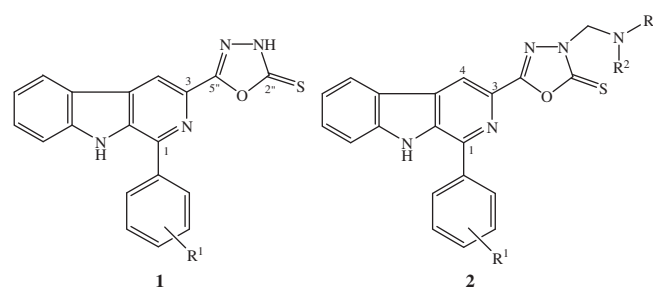


Figure 1. General structures of 1-(substituted phenyl)-3-(2-thioxo-1,3,4-oxadiazolyl)- β -carbolines (**1**) and the corresponding Mannich bases (**2**).

* Corresponding author. Tel.: +55 44 3011 5377; fax: +55 44 3261 4125.

E-mail address: mhsarragiotto@uem.br (M.H. Sarragiotto).

Based on our previous results, we decided to investigate the effect on the antitumor activity resulting of the replacement of the 2-thioxo-(1,3,4-oxadiazolyl) moiety by its 2-oxo analogue, and the respective Mannich base derivatives, at position-3 of β -carboline nucleus. With this in mind, we synthesized and evaluated the antitumor activity of a series of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl)- and 3-(2-oxo-3-alkylaminomethyl-1,3,4-oxadiazolyl)- β -carboline derivatives against seven human cancer cell lines. In addition, the DNA interaction studies for the more active derivative were performed.

2. Results and discussion

2.1. Chemistry

The methodology for synthesis of novel 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines (**4a–e**) and 3-(2-oxo-3-alkylaminomethyl-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines **5–9(a–c)**, bearing a phenyl or a substituted phenyl group at C-1, is outlined in Scheme 1. The oxadiazole derivatives **4a–e** were obtained from the carbohydrazides **3a–e** (Scheme 1), whose preparation was carried out by a Pictet–Spengler condensation of the *L*-tryptophan methyl ester with aromatic aldehydes, according with previously reported procedures.²³ The preparation of 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines (**4a–e**) from the carbohydrazides **3a–e** was firstly attempted by using 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI), triethylamine, and THF as solvent, which afforded the desired products only in low yields. The use of CDI, triethylamine, and *N,N*-dimethylformamide as solvent, led to an increase in yields of **4a–e**, probably due to the improved solubility of the starting material in DMF.

For the synthesis of Mannich bases, the 3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl) β -carboline derivatives (**4a–c**) were treated with 37% aqueous formaldehyde and isopropylamine, butylamine, cyclohexylamine, benzylamine or morpholine, in ethanol as solvent,²⁵ which afforded the 3-(2-oxo-3-alkylaminomethyl-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines **5a–c**, **6a–c**, **7a–c**, **8a–c**, and **9a–c**, in 20–70% yield.

All novel compounds were characterized by their spectroscopic data (IR, EIMS, ¹H and ¹³C NMR). The IR spectra of compounds **4a–e** showed absorption bands characteristics of C=O and C=N groups at 1780–1773 cm⁻¹ and 1625–1525 cm⁻¹, respectively. The signals in the ¹³C NMR spectra at δ_C 154.7–154.2 and δ_C 154.9–154.7 were assigned for C-5 and C-2 carbons, respectively, of the 1,3,4-oxadiazole ring.

The formation of the Mannich bases **5–9(a–c)** was evidenced by the presence of a singlet at δ_H 5.80–4.50 in the ¹H NMR spectra, corresponding to the exocyclic methylene hydrogens of the alkylamino(methyl) portion introduced at *N*-3 of the 1,3,4-oxadiazole ring, together with the signals characteristics for the different

alkylamino groups. The exocyclic methylene carbon appears in the region of δ_C 69.2–62.2 in the ¹³C NMR spectra. The signals at δ_C 164.5–154.0 and δ_C 157.2–152.8 were assigned for C-2 and C-5 carbons, respectively, of the 1,3,4-oxadiazole ring. The IR spectra of compounds **5–9(a–c)** showed characteristic C=O and C=N stretching absorption bands at 1783–1671 cm⁻¹ and 1665–1608 cm⁻¹, respectively.

2.2. Antitumor activity

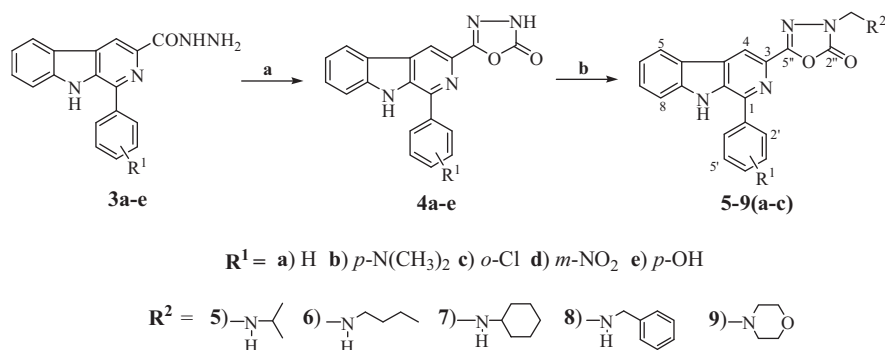
The GI₅₀ values obtained for the new β -carboline derivatives of the 2-oxo-1,3,4-oxadiazole series (**4a–e**), as well as for those of 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole series (**1a–e**) previously reported,²³ are summarized in Table 1. The assay results showed that the compounds of the **4a–e** series showed a broad spectrum of antitumor activity against all cell lines assayed, with GI₅₀ values ranging of 0.67–73.38 μ M.

Comparison of the average activity (mean GI₅₀) on all cell lines tested of **4a–e** with those described²³ for **1a–e** (Table 1) revealed a higher antitumor activity for the newly synthesized derivatives, indicating that the 2-oxo-1,3,4-oxadiazole moiety is a better pharmacophore for activity than its 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole correlate.

Additionally, an influence of the substituent at the phenyl group attached to the C-1 of the β -carboline nucleus on the antitumor activity was observed (Table 1, Fig. 2). Derivative **4a**, bearing a phenyl group at C-1, showed significant activity for all cell lines assayed, displaying mean of GI₅₀ values equal to 8.41 μ M, being particularly active for resistant ovarian cancer cell lines (NCI-ADR/RES) with a GI₅₀ value of 0.86 μ M. Considering the average activity (mean GI₅₀) on all cell lines tested, a moderated increase of activity was observed by introducing a chlorine substituent at 1-phenyl group (**6c**, mean GI₅₀ = 5.74 μ M). On the other hand, the incorporation of a *N,N*-dimethylamino substituent at 1-phenyl group led to an high enhancement of activity for derivative **4b** towards all cell lines tested. Compound **4b** (mean GI₅₀ = 1.68 μ M) displayed the highest activity among the derivatives of the **4a–e** series, and was thirteen times more active than its 2-thioxo analogue **1b** (mean GI₅₀ = 21.94 μ M).

Compared to **4a–c**, a decrease of cytotoxic effect was observed for the derivatives bearing the 3-nitrophenyl (**4d**, mean GI₅₀ = 20.10 μ M) and 4-hydroxyphenyl (**4e**, mean GI₅₀ = 20.01 μ M) groups at C-1 of the β -carboline nucleus.

The most active derivatives **4a–c** were converted into their Mannich bases by using different amines, which provide five series of 3-(2-oxa-3-alkylaminomethyl-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines (**5a–c**, **6a–c**, **7a–c**, **8a–c**, and **9a–c**). The GI₅₀ values for **5–9(a–c)** are summarized in Table 2.

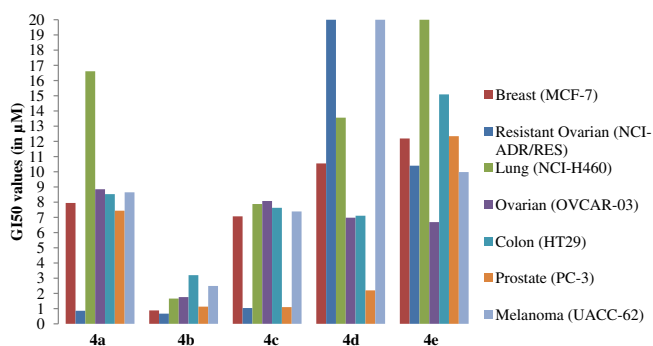


Scheme 1. Synthesis of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines (**4a–e**) and their Mannich bases **5–9(a–c)**. Reagents and conditions: (a) CDI, triethylamine, DMF, rt, 48 h; 20–85%. (b) 37% aqueous formaldehyde, R²NH₂, EtOH, 70 °C, 24 h; 20–70%.

Table 1GI₅₀ values (in μM) for β -carbolines of 2-oxo-1,3,4-oxadiazole (**1a–e**) and 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole (**4a–e**) series

Compds	Cell lines								
	R ¹	Breast (MCF-7)	Resistant Ovarian (NCI-ADR/RES)	Lung (NCI-H460)	Ovarian (OVCAR-03)	Colon (HT29)	Prostate (PC-3)	Melanoma (UACC-62)	Mean GI ₅₀
<i>3-(2-Oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β-carbolines</i>									
1a	H	25.54	nt	20.60	31.77	25.54	25.54	>100	>38.17
1b	N(CH ₃) ₂	18.84	nt	19.09	14.72	40.46	14.72	23.82	21.94
1c	2-Cl	26.93	nt	20.75	45.87	17.43	21.43	18.08	25.08
1d	3-NO ₂	27.93	0.37	73.41	22.31	27.93	12.20	24.10	26.89
1e	OH	88.70	0.45	>100	>100	>100	81.07	>100	>81.46
<i>3-(2-Thioxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β-carbolines</i>									
4a	H	7.95	0.86	16.61	8.85	8.53	7.44	8.65	8.41
4b	N(CH ₃) ₂	0.88	0.67	1.66	1.76	3.20	1.13	2.49	1.68
4c	2-Cl	7.07	1.04	7.88	8.08	7.63	1.10	7.39	5.74
4d	3-NO ₂	10.55	64.93	13.56	6.98	7.11	2.20	35.38	20.10
4e	OH	12.19	10.40	73.38	6.69	15.09	12.34	9.98	20.01
Doxorubicin		0.05	0.13	0.04	0.34	0.46	0.46	0.43	0.27

nt = not tested.

**Figure 2.** GI₅₀ values against human cancer cell lines for compounds **4a–e**.

In contrast with the observed increase in antitumor activity of the Mannich bases derived from the 3-(2-thioxo-1,3,4-oxadiazolyl) β -carbolines,²⁵ the assay results for **5–9(a–c)** showed that the introduction of a alkylaminomethyl group at N³-position of 2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl group of **4a–c** was detrimental for antitumor activity for most of the compounds. When compared to their parent compounds, an enhancement of antitumor activity was observed only for derivatives **6a** and **9b**, and against just specific cell lines, such as resistant ovarian (NCI-ADR/RES), ovarian

Table 2GI₅₀ values (in μM) for compounds **5–9(a–c)**

Compds	Cell lines							
	Breast (MCF-7)	Resistant Ovarian (NCI-ADR/RES)	Lung (NCI-H460)	Ovarian (OVCAR-03)	Colon (HT29)	Prostate (PC-3)	Melanoma (UACC-62)	Mean GI ₅₀
5a	16.09	1.09	67.18	4.14	14.31	nt	nt	20.56
5b	61.68	2.91	63.77	0.22	64.20	21.95	63.84	39.80
5c	20.83	15.41	22.77	20.89	21.52	nt	nt	20.28
6a	63.00	0.20	7.04	0.72	24.01	2.23	16.68	16.27
6b	>100	10.64	>100	18.52	59.76	3.07	9.92	>43.13
6c	4.65	2.03	3.33	0.28	>100	17.67	10.59	>19.79
7a	>100	>100	>100	64.47	>100	nt	nt	>92.89
7b	68.90	55.34	62.04	53.65	60.76	59.97	56.88	59.65
7c	26.79	77.81	20.29	23.40	49.57	nt	nt	39.57
8a	>100	5.56	>100	5.38	>100	>100	37.42	>64.05
8b	>100	>100	>100	>100	>100	nt	nt	>100
8c	5.69	15.56	4.42	5.35	12.48	nt	nt	8.70
9a	13.70	13.70	13.70	0.25	14.20	11.30	8.97	10.83
9b	3.93	1.00	3.10	0.46	1.53	2.04	26.97	5.58
9c	54.42	5.00	53.72	1.41	23.09	11.90	22.86	24.63
Doxorubicin	0.05	0.13	0.04	0.34	0.46	0.46	0.43	0.27

nt = not tested.

(OVCAR-03) and prostate (PC-3) for **6a**, and ovarian (OVCAR-03) and colon (HT29) for **9b**. It is worth noting the higher selectivity showed by some Mannich bases, particularly towards resistant ovarian (NCI-ADR/RES) cell lines (**5a**, **5b**, **6a**, **6c** and **9b**, with GI₅₀ values of 0.20 to 2.91 μM), and towards ovarian (OVCAR-03) cell lines (**5b**, **6a**, **6c**, **9a**, **9b** and **9c**), with GI₅₀ values of 0.22–1.41 μM .

Analysis of GI₅₀ values of the derivatives from the different Mannich bases indicated that the isopropylaminomethyl (**5a–c**) and morpholinylmethyl (**9a–c**) substituents on the 1,3,4-oxadiazole provided the most potent antitumor activity across the panel of cell lines in this study. Compound **9b**, bearing the *N,N*-dimethylaminophenyl group at position-1, exhibited the highest activity (mean GI₅₀ = 5.58 μM , Table 2) among all Mannich bases tested.

2.3. DNA interaction studies for compound **4b**

The interaction of compound **4b** with calf thymus DNA (ctDNA) was examined by UV and fluorescence spectroscopy. Compound **4b** was selected for DNA interaction studies due its potent activity against all tumor cells tested in this work.

The absorption spectra of **4b**, ctDNA and **4b**-ctDNA system are shown in the Figure 3a. The maximum absorption of **4b** and ctDNA were located at 281 and 260 nm, respectively (Fig. 3a). The addition of increasing amounts of ctDNA to the solution of **4b** shifted the absorption from 281 to 263 nm (Fig. 3b). These changes can be

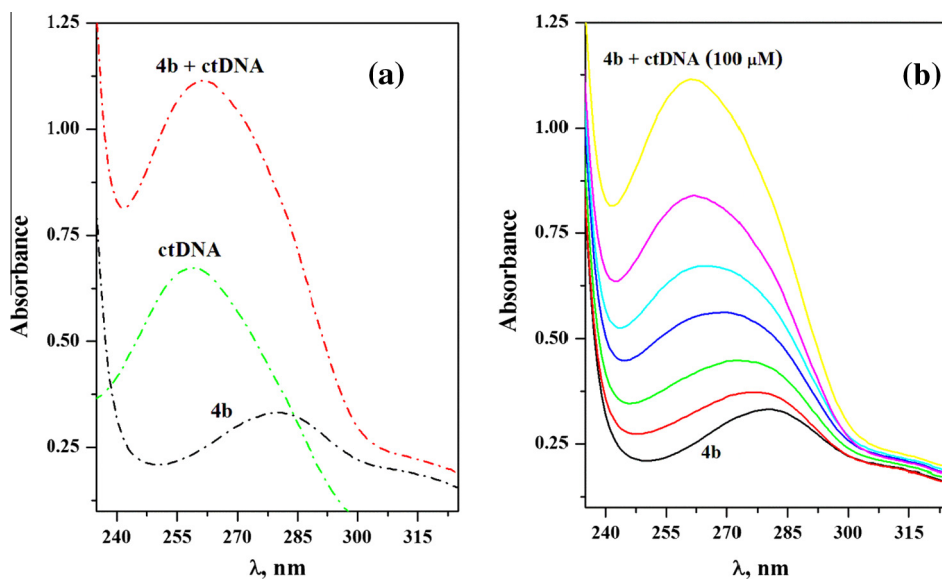


Figure 3. (a) The absorption spectra of **4b** (10 μM), ctDNA (100 μM) and **4b**-ctDNA. (b) Absorption spectra for compound **4b** (10 μM) at crescent molarities of ctDNA: 0, 10, 20, 35, 50, 75 and 100 μM . Condition: pH = 7.4 (Tris-HCl 50 mM, 100 mM NaCl) at 25 $^{\circ}\text{C}$.

associated with ctDNA absorption; however, the difference observed in the absorbance of **4b**-ctDNA mixture ($A_{4b\text{-ctDNA}} = 1.113$), and the sum of absorbance of **4b** and ctDNA ($A_{4b} + A_{\text{ctDNA}} = 1.005$) (Fig. 3a), indicated that compound **4b** could interact with ctDNA.²⁶

Compound **4b** showed strong fluorescence emission at 417 nm after being excited at 281 nm. As shown in Figure 4a, in the presence of increasing concentration of ctDNA added to the medium, the fluorescence intensity of compound **4b** gradually decreased (Fig. 4a). These results indicated that compound **4b** could bind with ctDNA, and a non-fluorescence **4b**-ctDNA complex was formed.²⁷ Thus, the fluorescence analysis corroborates the binding interaction of **4b** with ctDNA.

To determine the binding constant (K_b) and the binding sites number (n) for the complex of **4b** with ctDNA, a fluorescence titration was performed (Fig. 4b). The equilibrium parameters between **4b** and **4b**-ctDNA complex can be calculated by the equation:

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [\text{ctDNA}]$$

where F_0 is the fluorescence intensity of **4b**; F is the fluorescence intensity of **4b** after ctDNA addition; K_b is the binding constant and n represent the binding sites number.

The values of K_b and n were obtained from the intercept and slope of the linear plot $\log (F_0 - F)/F$ versus $\log [\text{ctDNA}]$. The binding constant (K_b) and the binding sites number (n) values found were $1.95 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ and $n = 1.44 (\pm 0.04)$, respectively. These data (K_b and n) were comparable with DNA interaction process of others β -carboline derivatives reported in the literature.²⁸

The interaction mode of **4b** with ctDNA was determined based on fluorescence quenching study and competition assay with ethidium bromide (EB). The fluorescence quenching experiment was performed with potassium iodide (KI) and the classical Stern-Volmer equation was employed for investigation of quenching process:

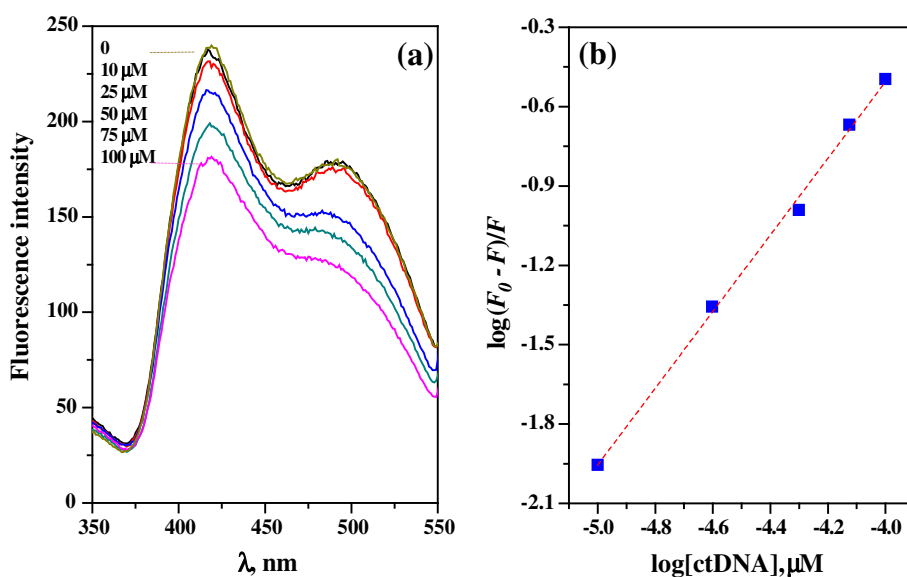


Figure 4. (a) Fluorescence spectra for compound **4b** (1.0 μM) at different molarities of ctDNA: 0, 10, 25, 50, 75 and 100 μM . Condition: pH = 7.4 (Tris-HCl 50 mM, 100 mM NaCl) at 25 $^{\circ}\text{C}$. (b) Double logarithmic curve of ctDNA quenching the fluorescence of **4b**.

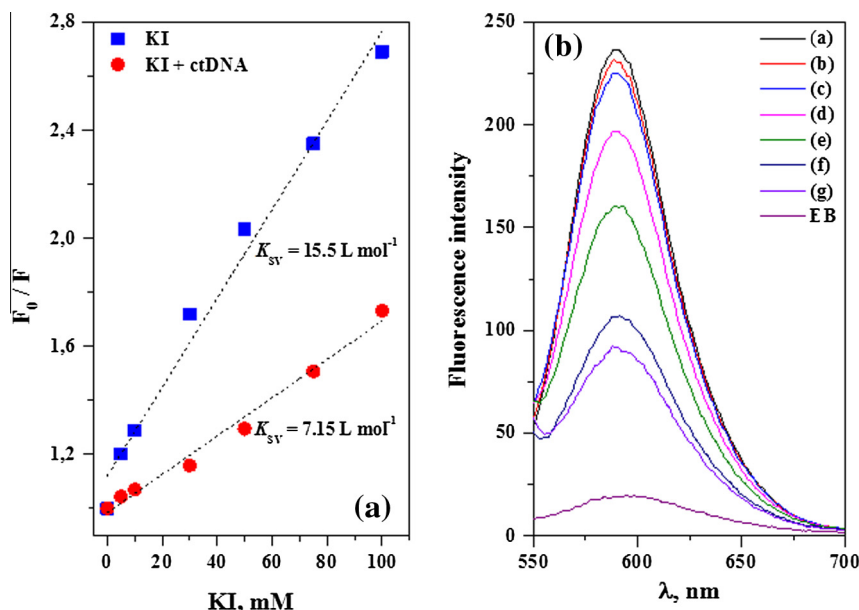


Figure 5. (a) Stern–Volmer linear plot for quenching of **4b** (1.0 μM) by KI in absence and presence of ctDNA (10 μM). (b) Fluorescence intensity decreasing of EB–ctDNA system by **4b**. The concentration of ethidium bromide (EB) and ctDNA were 1.0 and 4.0 μM , respectively. EB indicated the fluorescence of intercalator in absence of ctDNA at 1.0 μM . The concentration of **4b** evaluated was (a) 0, (b) 2.5, (c) 5.0, (d) 7.5, (e) 10, (f) 15 and (g) 20 μM . Condition: pH = 7.4 (Tris–HCl 50 mM, 100 mM NaCl) at 25 $^{\circ}\text{C}$, λ_{exc} = 525 nm and λ_{em} = 590 nm.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{\text{SV}}[\text{Q}]$$

where F_0 and F are the fluorescence intensities in the absence and presence of potassium iodine (Q) and K_{SV} is the Stern–Volmer quenching constant determined by linear plot F_0/F versus [KI]. If the molecule intercalated into DNA base pairs, the magnitude of K_{SV} should be lower than that of the free molecule because the intercalation mode protect the bound compound from the anionic quencher (KI). In the groove binding, the bound molecules might expose to the solvent surrounding the DNA helix and K_{SV} of bound molecules should be higher than that of free molecules.^{27,29}

The KI quenching study was chosen to determine the accessibility of **4b** to anionic quenchers in the presence of ctDNA. The K_{SV} values determined for the free **4b** and the bound **4b** with ctDNA (10 μM) were $K_{\text{SV}} = 15.5 \pm 1.4 \text{ L mol}^{-1}$ and $7.15 \pm 0.42 \text{ L mol}^{-1}$, respectively. The results showed that the K_{SV} of the bound **4b** was lower than that of the free **4b**, which indicated an intercalation mode with ctDNA (Fig. 5a).

To confirm the interaction mode, an additional assay based on the equilibrium competition between **4b** with ethidium bromide (EB) and ctDNA was performed. If **4b** binds to ctDNA in the same mode as EB, which is a typical intercalator,²⁹ competition will take place between EB and **4b**. In this experiment, the emission intensity of the EB–ctDNA decreases as the concentration of **4b** increases. The fluorescence intensity of EB–ctDNA system reduced from 3.1% to 62%, when the concentration of **4b** ranged of 2.5–20 μM (Fig. 5b). This result indicates that **4b** and EB bind to ctDNA of same mode.

3. Conclusion

In conclusion, a series of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines (**4a–e**) and their Mannich bases **5–9(a–c)** were synthesized and evaluated against seven human cancer cell lines. Some of compounds were proved to be potent antitumor agents. The derivative **4b** displayed the highest activity with GI_{50} in the range of 0.67–3.20 μM . The 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines newly synthesized displayed higher antitumor activity than its 2-thioxo-1,3,4-oxadiazole analogues from our previous work. Also, the cytotoxic

activity depends of the substituent at the phenyl group attached to the C-1 of the β -carboline nucleus. The assay results for **5–9(a–c)** showed that the introduction of a alkylaminomethyl substituent at N^3 -position of 2-oxo-1,3,4-oxadiazolyl group of **4a–c** was detrimental for antitumor activity for the most of compounds. The morpholinylmethyl substituent at the N^3 -position of 2-oxo-1,3,4-oxadiazole unity was the best for activity of the Mannich bases.

UV and fluorescence spectral studies revealed that compound **4b** exhibit significant DNA binding interaction. The binding constant (K_b) and the binding sites number (n) values found for the complex of **4b** with ctDNA evidenced a strong interaction with DNA. The fluorescence quenching study, and competition assay with ethidium bromide (EB), indicates that the interaction mode of **4b** with ctDNA is intercalative binding.

4. Experimental section

4.1. General

Melting points were determined in a Micro-Química MQAPP-301 apparatus and are uncorrected. ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded in a Varian spectrometer model Mercury plus BB at 300 MHz and 75.5 MHz, respectively, with $\text{DMSO-}d_6$ as solvent and TMS as internal standard. Mass spectra (MS) were recorded in a Thermolectron Corporation Focus-DSQ II spectrometer. IR spectra were recorded on a BOMEM spectrometer model MB-100. Merck precoated plates (silica gel 60 G254) were used for TLC. All reagents were purchased from commercial suppliers.

4.2. General procedure for synthesis of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines (**4a–e**)

To a solution of the β -carboline-3-carbohydrazides **3a–e** (1 mmol) in DMF (5 mL) were added triethylamine (1.25 mmol) and 1,1'-carbonyldiimidazole (1.20 mmol), at 0 $^{\circ}\text{C}$. The mixture was stirred for 48 h at room temperature followed of addition of cold water (10 mL). The precipitated was filtered under vacuum, washed with cold water, and recrystallized from methanol.

4.2.1. 1-Phenyl-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (4a)

Yield: 62%, mp 220–223 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1773 (C=O); 1625 (C=N) and 733 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.64 (s, 1H, H-4), 8.32 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.30 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.52–7.70 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.80 (s, 1H, 9-NH), 8.07 (d, J = 6.9 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 8.15 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 142.4 (C-1), 137.4 (C-3), 112.2 (C-4), 129.4 (C-4a), 120.7 (C-4b), 121.5 (C-5), 119.9 (C-6), 128.7 (C-7), 112.5 (C-8), 141.5 (C-8a), 133.7 (C-9a), 132.3 (C-1'), 128.4 (C-2'/6'), 128.5 (C-3'/5'), 128.3 (C-4'), 154.8 (C-2''), 154.4 (C-5''). MS m/z (%): 328 (M^+ , 100), 243 (80), 302 (40).

4.2.2. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (4b)

Yield: 45%, mp 240–242 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1775 (C=O), 1612 (C=N) and 736 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.61 (s, 1H, H-4), 8.39 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.30 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.58 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-7), 7.70 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-8), 11.78 (s, 1H, 9-NH), 7.95 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 6.96 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H-3' and H-5'), 3.04 (s, 6H, N(CH $_3$) $_2$), 12.55 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 143.2 (C-1), 133.2 (C-3), 111.5 (C-4), 124.8 (C-4a), 120.9 (C-4b), 121.9 (C-5), 120.1 (C-6), 128.5 (C-7), 112.7 (C-8), 141.4 (C-8a), 132.2 (C-9a), 129.0 (C-1'), 129.4 (C-2'/6'), 112.0 (C-3'/5'), 150.8 (C-4'), 39.9 (N(CH $_3$) $_2$), 154.9 (C-2''), 154.7 (C-5''). MS m/z (%): 371 (M^+ , 100), 242 (10), 287 (20).

4.2.3. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (4c)

Yield: 85%, mp 182–184 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1773 (C=O), 1625 (C=N) and 745 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.81 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 7.33 (m, 5H, H-6), 7.60–7.71 (m, 6H, H-7, H-8, H-3', H-4', H-5' and H-6'), 11.76 (s, 1H, 9-NH), 12.55 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 141.6 (C-1), 136.2 (C-3), 113.4 (C-4), * (C-4a), 120.7 (C-4b), 122.4 (C-5), 120.2 (C-6), 127.5 (C-7), 112.4 (C-8), 141.4 (C-8a), 134.6 (C-9a), 132.4 (C-1'), 129.0 (C-2'), 129.7 (C-3'), 131.8 (C-4'), 128.7 (C-5'), 130.7 (C-6'), 154.7 (C-2''), 154.4 (C-5''). MS m/z (%): 362 (M^+ , 100), 241 (40), 278 (20).

4.2.4. 1-(3-Nitrophenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (4d)

Yield: 56%, mp >250 °C (decomp.). IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1780 (C=O), 1525 (C=N) and 738 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.83 (s, 1H, H-4), 8.50 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H-5), 7.36 (t, J = 6.9 Hz, 1H, H-6), 7.62–7.71 (m, 2H, H-7 and H-8), 12.10 (s, 1H, 9-NH), 8.80 (s, 1H, H-2'), 8.47 (d, J = 4.2 Hz, 1H, H-4'), 7.95 (t, J = 8.1 Hz, 1H, H-5'), 8.43 (dd, J = 8.7 and 1.2 Hz, 1H, H-6'), 12.65 (s, 1H, NH). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 141.6 (C-1), 138.7 (C-3), 113.6 (C-4), 130.2 (C-4a), 120.5 (C-4b), 122.3 (C-5), 120.8 (C-6), 129.2 (C-7), 112.6 (C-8), 139.8 (C-8a), 133.8 (C-9a), 132.5 (C-1'), 123.6 (C-2'), 148.1 (C-3'), 123.3 (C-4'), 130.5 (C-5'), 123.6 (C-6'), 154.8 (C-2''), 154.2 (C-5''). MS m/z (%): 373 (M^+ , 100), 289 (70), 242 (35).

4.2.5. 1-(4-Hydroxyphenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (4e)

Yield: 20%, mp 250–251 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1770 (C=O), 1612 (C=N) and 744 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.65 (s, 1H, H-4), 8.40 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.32 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.60 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-7), 7.70 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-8), 11.79 (s, 1H, 9-NH), 7.93 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 7.04 (d, J = 8.1 Hz, 2H, H-3' and H-5'), 12.55 (br s, 1H, NH), 10.05 (br s, 1H, OH). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 142.8 (C-1), 132.2 (C-3), 111.9 (C-4), 129.2 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122.0 (C-5), 120.2 (C-6), 128.2 (C-7), 112.7 (C-8), 141.5 (C-8a), 128.6 (C-9a), 133.4 (C-1'), 130.0 (C-2'/6'), 115.6 (C-3'/5'), 158.5 (C-4'), 154.9 (C-2''), 154.7 (C-5''). MS m/z (%): 344 (M^+ , 100), 259 (40), 285 (15).

4.3. General procedure for synthesis of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-3-alkylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines 5–9(a-c)

To a solution of 1-(substituted phenyl)-3-(2-oxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carbolines (**4a–c**) (0.5 mmol) in ethanol (10 mL), at room temperature, was added a mixture containing the primary or secondary amines (0.5 mmol) and formaldehyde 37% (5.0 mmol). The solution was stirred for 24 h at 70 °C, and then for 1 h at 0 °C. The precipitate was filtered under vacuum, washed with cold ethanol, and recrystallized from ethanol.

4.3.1. 1-Phenyl-3-(2-oxo-3-isopropylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (5a)

Yield: 45%, mp 218–220 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1707 (C=O); 1621 (C=N) and 728 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.87 (s, 1H, H-4), 8.44 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.56–7.72 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.95 (s, 1H, 9-NH), 8.08 (d, J = 7.5 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 5.80 (br s, 2H, CH $_2$ -exocyclic), 9.61 (br s, 1H, NH-isopropyl), 4.02 (hept., J = 6.9 Hz, 1H, CH-isopropyl), 1.18 (d, J = 6.9 Hz, 6H, CH $_3$ -isopropyl). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 141.6 (C-1), 139.6 (C-3), 115.5 (C-4), 129.9 (C-4a), 121.1 (C-4b), 122.2 (C-5), 120.3 (C-6), 129.1 (C-7), 112.7 (C-8), 140.3 (C-8a), 137.6 (C-9a), 133.7 (C-1'), 128.5 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/5'), 128.8 (C-4'), 159.5 (C-2''), 155.1 (C-5''), 65.5 (CH $_2$ -exocyclic), 42.8 (CH-isopropyl), 19.5 (2CH $_3$ -isopropyl). MS m/z (%): 399 (M^+ , 5), 271 (10), 328 (20), 244 (100).

4.3.2. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-3-isopropylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (5b)

Yield: 65%, mp 259–261 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1703 (C=O), 1617 (C=N) and 736 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.74 (s, 1H, H-4), 8.40 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.30 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.58 (t, J = 8.4 Hz, 1H, H-7), 7.69 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H-8), 11.80 (s, 1H, 9-NH), 7.93 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 6.95 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-3' and H-5'), 3.03 (s, 6H, N(CH $_3$) $_2$), 5.78 (br s, 2H, CH $_2$ -exocyclic), 9.56 (br s, 1H, NH-isopropyl), 4.01 (hept., J = 6.9 Hz, 1H, CH-isopropyl), 1.18 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 2CH $_3$ -isopropyl). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 141.4 (C-1), 112.1 (C-8), 129.2 (C-2'/6'), 42.8 (CH-isopropyl), 19.5 (2CH $_3$ -isopropyl). MS m/z (%): 442 (M^+ , 5), 371 (10), 242 (20), 287 (90).

4.3.3. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-3-isopropylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (5c)

Yield: 40%, mp 180–182 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1698 (C=O), 1622 (C=N) and 744 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.89 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.30–7.36 (m, 1H, H-6), 7.57–7.65 (m, 4H, H-7, H-8, H-5' and H-6'), 7.73–7.74 (m, 1H, H-3'), 7.75–7.76 (m, 1H, H-4'), 11.76 (s, 1H, 9-NH), 5.55 (br s, 2H, CH $_2$ -exocyclic), 9.59 (br s, 1H, NH-isopropyl), 3.99 (hept., J = 6.9 Hz, 1H, CH-isopropyl), 1.12 (d, J = 6.9 Hz, 6H, CH $_3$ -isopropyl). ^{13}C NMR (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 141.4 (C-1), 136.2 (C-3), 116.2 (C-4), 121.0 (C-4b), 122.3 (C-5), 120.3 (C-6), 127.6 (C-7), 112.5 (C-8), 139.1 (C-8a), 132.3 (C-9a), 134.7 (C-1'), 129.2 (C-2'), 130.0 (C-3'), 131.9 (C-4'), 129.0 (C-5'), 130.7 (C-6'), 160.8 (C-2''), 156.3 (C-5''), 62.2 (CH $_2$ -exocyclic), 42.7 (CH-isopropyl), 19.5 (2CH $_3$ -isopropyl). MS m/z (%): 433 (M^+ , 5), 362 (10), 242 (60), 278 (100).

4.3.4. 1-Phenyl-3-(2-oxo-3-butylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (6a)

Yield: 50%, mp 244–245 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 1710 (C=O), 1617 (C=N) and 728 (NH). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.86 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 7.34 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.76–7.72 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.94 (s,

1H, 9-NH), 8.07 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, H-2' and H-6'), 5.72 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.63 (br s, 1H, NH-butyl), 3.23 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.48 (quint., $J = 6.9$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.31 (sext., $J = 7.2$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH₃-butyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.6 (C-1), 139.6 (C-3), 115.7 (C-4), 129.9 (C-4a), 121.1 (C-4b), 122.2 (C-5), 120.3 (C-6), 129.1 (C-7), 112.7 (C-8), 140.4 (C-8a), 137.6 (C-9a), 133.7 (C-1'), 128.5 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/5'), 128.8 (C-4'), 160.2 (C-2''), 157.0 (C-5''), 65.8 (CH₂-exocyclic), 40.7 (CH₂-butyl), 29.1 (CH₂-butyl), 19.5 (CH₂-butyl), 13.6 (CH₃-butyl). MS *m/z* (%): 413 (M⁺, 5), 328 (20), 244 (100).

4.3.5. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-3-butylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (6b)

Yield: 70%, mp 222–224 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1713 (C=O), 1608 (C=N) and 737 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.74 (s, 1H, H-4), 8.39 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.31 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-6), 7.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-7), 7.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-8), 11.81 (s, 1H, 9-NH), 7.94 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-2' and H-6'), 6.96 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-3' and H-5'), 3.04 (s, 6H, N(CH₃)₂), 5.72 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.59 (br s, 1H, NH-butyl), 3.23 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.59 (quint., $J = 6.3$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.32 (sext., $J = 7.2$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH₃-butyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.4 (C-1), 139.4 (C-3), 114.3 (C-4), 125.1 (C-4a), 121.2 (C-4b), 121.9 (C-5), 120.2 (C-6), 128.5 (C-7), 112.7 (C-8), 141.2 (C-8a), 133.3 (C-1'), 129.3 (C-2'/6'), 112.2 (C-3'/5'), 150.8 (C-4'), 40.3 (N(CH₃)₂), 160.6 (C-2''), 157.1 (C-5''), 65.9 (CH₂-exocyclic), 40.7 (CH₂-butyl), 29.1 (CH₂-butyl), 19.5 (CH₂-butyl), 13.6 (CH₃-butyl). MS *m/z* (%): 456 (M⁺, 5), 371 (30), 287 (70), 84 (100).

4.3.6. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-3-butylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (6c)

Yield: 68%, mp 217–219 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1704 (C=O), 1616 (C=N) and 733 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.90 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.30–7.36 (m, 1H, H-6), 7.56–7.65 (m, 4H, H-7, H-8, H-5' and H-6'), 7.70–7.75 (m, 2H, H-3'/4'), 11.75 (s, 1H, 9-NH), 5.52 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.59 (br s, 1H, NH-butyl), 3.18 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.43 (quint., $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 1.27 (sext., $J = 7.2$ Hz, 2H, CH₂-butyl), 0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH₃-butyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.4 (C-1), 139.1 (C-3), 116.3 (C-4), 132.3 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122.3 (C-5), 120.3 (C-6), 127.6 (C-7), 112.4 (C-8), 139.1 (C-8a), 136.1 (C-9a), 134.7 (C-1'), 129.2 (C-2'), 130.0 (C-3'), 131.9 (C-4'), 128.9 (C-5'), 130.7 (C-6'), 160.1 (C-2''), 157.2 (C-5''), 65.0 (CH₂-exocyclic), 40.7 (CH₂-butyl), 29.0 (CH₂-butyl), 19.4 (CH₂-butyl), 13.5 (CH₃-butyl). MS *m/z* (%): 447 (M⁺, 5), 242 (60), 278 (100).

4.3.7. 1-Phenyl-3-(2-oxo-3-cyclohexylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (7a)

Yield: 30%, mp 239–241 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1704 (C=O), 1614 (C=N) and 895 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.85 (s, 1H, H-4), 8.43 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-5), 7.32 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-6), 7.58–7.71 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.92 (s, 1H, 9-NH), 8.07 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2' and H-6'), 5.78 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.57 (br s, 1H, NH-cyclohexyl), 3.60 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H, CH-cyclohexyl), 1.78 (d, $J = 11.0$ Hz, 4H, 2CH₂-cyclohexyl), 1.04–1.47 (m, 6H, 3CH₂-cyclohexyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.6 (C-1), 139.5 (C-3), 115.5 (C-4), 129.9 (C-4a), 121.1 (C-4b), 122.1 (C-5), 120.3 (C-6), 129.1 (C-7), 112.7 (C-8), 140.2 (C-8a), 137.6 (C-9a), 133.7 (C-1'), 128.4 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/5'), 128.8 (C-4'), 159.6 (C-2''), 156.1 (C-5''), 63.0 (CH₂-exocyclic), 50.5 (CH-cyclohexyl), 29.7 (2CH₂-cyclohexyl), 25.0 (3CH₂-cyclohexyl). MS *m/z* (%): 439 (M⁺, 5), 328 (20), 244 (100).

4.3.8. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-3-cyclohexylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (7b)

Yield: 69%, mp 231–233 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1704 (C=O), 1608 (C=N) and 737 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.73 (s, 1H, H-4), 8.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.31 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-6), 7.59 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-7), 7.71 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-8), 11.81 (s, 1H, 9-NH), 7.95 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-2'/6'), 6.96 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-3'/5'), 3.05 (s, 6H, N(CH₃)₂), 5.78 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.54 (br s, 1H, NH-cyclohexyl), 3.62 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H, CH-cyclohexyl), 1.78 (d, $J = 11.0$ Hz, 4H, 2CH₂-cyclohexyl), 1.62 (d, $J = 11.0$ Hz, 2H, CH₂-cyclohexyl), 1.25–1.47 (m, 2H, CH₂-cyclohexyl), 1.04–1.15 (m, 2H, CH₂-cyclohexyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.4 (C-1), 133.3 (C-3), 114.3 (C-4), 125.2 (C-4a), 121.2 (C-4b), 122.0 (C-5), 120.2 (C-6), 128.5 (C-7), 112.8 (C-8), 139.4 (C-8a), 129.3 (C-2'/6'), 112.1 (C-3'/5'), 150.8 (C-4'), 40.0 (N(CH₃)₂), 160.4 (C-2''), 156.2 (C-5''), 63.1 (CH₂-exocyclic), 50.5 (CH-cyclohexyl), 29.7 (2CH₂-cyclohexyl), 25.0 (3CH₂-cyclohexyl). MS *m/z* (%): 482 (M⁺, 5), 371 (100), 287 (80), 242 (60).

4.3.9. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-3-cyclohexylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (7c)

Yield: 35%, mp 171–173 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1710 (C=O), 1624 (C=N) and 743 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.88 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.30–7.36 (m, 1H, H-6), 7.57–7.65 (m, 4H, H-7, H-8, H-5' and H-6'), 7.70–7.77 (m, 2H, H-3'/4'), 11.76 (s, 1H, 9-NH), 5.55 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.50 (br s, 1H, NH-cyclohexyl), 3.58 (br s, 1H, CH-cyclohexyl), 1.4–1.72 (m, 8H, 4CH₂-cyclohexyl), 1.05 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-cyclohexyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.4 (C-1), 139.1 (C-3), 116.2 (C-4), 132.3 (C-4a), 121.0 (C-4b), 122.3 (C-5), 120.3 (C-6), 127.6 (C-7), 112.5 (C-8), 139.1 (C-8a), 136.2 (C-9a), 134.7 (C-1'), 129.2 (C-2'), 130.0 (C-3'), 131.9 (C-4'), 129.0 (C-5'), 130.8 (C-6'), 160.8 (C-2''), 156.3 (C-5''), 62.8 (CH₂-exocyclic), 50.4 (CH-cyclohexyl), 29.7 (2CH₂-cyclohexyl), 25.0 (3CH₂-cyclohexyl). MS *m/z* (%): 473 (M⁺, 0.5), 278 (40), 241 (60), 362 (100).

4.3.10. 1-Phenyl-3-(2-oxo-3-benzylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (8a)

Yield: 24%, mp 218–222 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1671 (C=O) and 740 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.88 (s, 1H, H-4), 8.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.28–7.39 (m, 1H, H-6), 7.55–7.72 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.94 (br s, 1H, 9-NH), 8.24 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-2'/6'), 4.58 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 10.64 (br s, 1H, NH-benzyl), 4.50 (s, 2H, CH₂-benzyl), 7.28–7.39 (m, 2H, CH-benzyl), 7.55–7.72 (m, 3H, CH-benzyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.5 (C-1), 138.7 (C-3), 113.8 (C-4), 129.2 (C-4a), 121.2 (C-4b), 122.1 (C-5), 120.3 (C-6), 127.2 (C-7), 112.7 (C-8), 140.8 (C-8a), 137.3 (C-9a), 129.7 (C-1'), 128.8 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/5'), 128.3 (C-4'), 164.3 (C-2''), 154.9 (C-5''), 69.2 (CH₂-exocyclic), 55.1 (CH₂-benzyl), 134.4 (C-benzyl), 128.8 (2CH-benzyl), 128.9 (2CH-benzyl), 129.0 (CH-benzyl). MS *m/z* (%): 447 (M⁺, 5), 271 (10), 91 (60), 328 (70), 244 (100).

4.3.11. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-3-benzylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β -carboline (8b)

Yield: 20%, mp >250 °C (decomp). IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1712 (C=O), 1665 (C=N) and 745 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.74 (s, 1H, H-4), 8.39 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-5), 7.25–7.39 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-6), 7.58 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-7), 7.71 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H-8), 11.79 (s, 1H, 9-NH), 8.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-2' and H-6'), 6.96 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-3' and H-5'), 3.05 (s, 6H, N(CH₃)₂), 4.58 (s, 2H, CH₂-exocyclic), 10.64 (s, 1H, NH-benzyl), 4.50 (s, 2H, CH₂-benzyl), 7.25–7.39 (m, 4H, CH-benzyl), 7.58 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, CH-benzyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.6 (C-1), 138.7 (C-3), 112.7 (C-4), 124.8 (C-4a), 121.3 (C-4b), 121.9 (C-5), 120.2 (C-6), 127.2 (C-7), 112.4 (C-8), 141.3 (C-8a), 138.4 (C-9a), 129.2

(C-1'), 129.7 (C-2'/6'), 112.0 (C-3'/5'), 150.8 (C-4'), 164.5 (C-2''), 155.0 (C-5''), 40.0 (N(CH₃)₂), 69.3 (CH₂-exocyclic), 54.0 (CH₂-benzyl), 133.9 (C-benzyl), 128.3 (2CH-benzyl), 129.2 (2CH-benzyl), 128.1 (CH-benzyl). MS *m/z* (%): 490 (M⁺, 0.5), 371 (40), 242 (50), 330 (80), 287 (100).

4.3.12. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-3-benzylaminomethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β-carboline (8c)

Yield: 25%, mp >250 °C (decomp.). IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1708 (C=O), 1610 (C=N) and 734 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.86 (s, 1H, H-4), 8.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H-5), 7.24–7.35 (m, 1H, H-6), 7.53–7.63 (m, 5H, H-7, H-8, H-4', H-5' and H-6'), 7.69 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-3'), 11.71 (s, 1H, 9-NH), 5.36 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 9.78 (br s, 1H, NH-benzyl), 4.37 (s, 2H, CH₂-benzyl), 7.24–7.35 (m, 4H, CH-benzyl), 7.53–7.63 (m, 1H, CH-benzyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.4 (C-1), 138.8 (C-3), 116.2 (C-4), 128.9 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122.3 (C-5), 120.3 (C-6), 127.5 (C-7), 112.4 (C-8), 139.1 (C-8a), 136.0 (C-9a), 135.9 (C-1'), 129.9 (C-2'), 130.6 (C-3'), 132.3 (C-4'), 129.1 (C-5'), 131.7 (C-6'), 158.7 (C-2''), 156.9 (C-5''), 65.1 (CH₂-exocyclic), 44.9 (CH₂-benzyl), 134.7 (C-benzyl), 128.7 (2CH-benzyl), 128.0 (2CH-benzyl), 127.6 (CH-benzyl). MS *m/z* (%): 481 (M⁺, 0.5), 278 (30), 241 (60), 362 (90), 91 (100).

4.3.13. 1-Phenyl-3-(2-oxo-3-morpholinylmethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β-carboline (9a)

Yield: 67%, mp 187–189 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1773 (C=O), 1625 (C=N) and 746 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.78 (s, 1H, H-4), 8.48 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.34 (t, *J* = 7.8, 1H, H-6), 7.57–7.72 (m, 5H, H-7, H-8, H-3', H-4' and H-5'), 11.95 (s, 1H, 9-NH), 8.05 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, H-2' and H-6'), 4.68 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 2.70 (br s, 2H, CH₂-morpholinyl), 3.60 (br s, 2H, CH₂-morpholinyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 142.7 (C-1), 137.3 (C-3), 112.8 (C-4), 129.5 (C-4a), 120.9 (C-4b), 122.2 (C-5), 120.4 (C-6), 129.1 (C-7), 113.0 (C-8), 141.6 (C-8a), 133.8 (C-9a), 131.8 (C-1'), 128.6 (C-2'/6'), 128.9 (C-3'/4'/5'), 154.1 (C-2''), 152.9 (C-5''), 67.2 (CH₂-exocyclic), 49.7 (2CH₂-morpholinyl), 66.0 (2CH₂-morpholinyl). MS *m/z* (%): 427 (M⁺, 0.5), 242 (20), 328 (30), 100 (100).

4.3.14. 1-(4-*N,N*-Dimethylaminophenyl)-3-(2-oxo-3-morpholinylmethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl) β-carboline (9b)

Yield: 64%, mp >250 °C (decomp.). IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1771 (C=O), 1609 (C=N) and 745 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.62 (s, 1H, H-4), 8.41 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.31 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.59 (t, *J* = 7.8 Hz, H-7), 7.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-8), 11.80 (s, 1H, 9-NH), 7.95 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2' and H-6'), 6.96 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3' and H-5'), 3.40 (s, 6H, N(CH₃)₂), 4.67 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 2.70 (t, *J* = 4.0 Hz, 4H, CH₂-morpholinyl), 3.61 (t, *J* = 4.0 Hz, 4H, CH₂-morpholinyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 143.4 (C-1), 133.4 (C-3), 111.9 (C-4), 124.8 (C-4a), 121.0 (C-4b), 122.1 (C-5), 120.4 (C-6), 128.7 (C-7), 112.9 (C-8), 141.5 (C-8a), 131.8 (C-9a), 129.0 (C-1'), 129.5 (C-2'/6'), 112.2 (C-3'/5'), 150.9 (C-4'), 154.2 (C-2''), 153.2 (C-5''), 40.4 (N(CH₃)₂), 67.2 (CH₂-exocyclic), 49.8 (2CH₂-morpholinyl), 66.1 (2CH₂-morpholinyl). MS *m/z* (%): 470 (M⁺, 5), 242 (10), 287 (20), 371 (60), 100 (100).

4.3.15. 1-(2-Chlorophenyl)-3-(2-oxo-3-morpholinylmethyl-1,3,4-oxadiazol-5-yl)-β-carboline (9c)

Yield: 50%, mp 230–233 °C. IR (KBr) ν_{\max} cm⁻¹: 1783 (C=O), 1625 (C=N) and 743 (NH). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.82 (s, 1H, H-4), 8.48 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-5), 7.33 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-6), 7.53 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, H-8), 7.56–7.66 (m, 5H, H-7, H-3', H-4', H-5' and H-6'), 11.78 (s, 1H, 9-NH), 4.65 (br s, 2H, CH₂-exocyclic), 2.68 (br s, 4H, CH₂-morpholinyl), 3.60 (br s, CH₂-morpholinyl). ¹³C NMR (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 141.9 (C-1), 136.1 (C-3),

113.8 (C-4), 131.4 (C-4a), 120.8 (C-4b), 122.5 (C-5), 120.3 (C-6), 127.5 (C-7), 112.5 (C-8), 141.4 (C-8a), 134.8 (C-9a), 132.5 (C-1'), 129.0 (C-2'), 129.8 (C-3'), 131.9 (C-4'), 128.6 (C-5'), 130.8 (C-6'), 154.0 (C-2''), 152.8 (C-5''), 67.2 (CH₂-exocyclic), 49.7 (2CH₂-morpholinyl), 66.0 (2CH₂-morpholinyl). MS *m/z* (%): 461 (M⁺, 0.5), 241 (10), 362 (15), 100 (100).

4.4. Antitumor assays

The compounds **4a–e** and **5–9(a–c)** were evaluated in vitro against a panel of seven cell lines [breast (MCF7), ovarian resistant (NCI/ADR-RES), lung (NCI-H460), ovarian (OVCAR-03), colon (HT29), prostate (PC-3), and melanoma (UACC-62)] kindly provided by Frederick MA (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA). Stock and experimental cultures were grown in medium containing 5 mL RPMI 1640 (GIBCO BRL) supplemented with 5% fetal bovine serum (GIBCO BRL). Penicillin/Streptomycin mixture (1000 U/mL:1000 µg/mL, 1 mL/L RPMI) was added to the experimental cultures. Cells in 96-well plates (100 µL cells well⁻¹) were exposed to sample concentrations in DMSO/RPMI (0.25, 2.5, 25, 250 µg mL⁻¹) in triplicate at 37 °C, 5% of CO₂ in air for 48 h. The final DMSO concentration did not affect cell viability. Doxorubicin (0.025–25 µg/mL) was used as positive control. Before (T₀ plate) and after the sample addition (T₁ plates), cells were fixed with 50% trichloroacetic acid, and cell proliferation was determined by spectrophotometric quantification (540 nm) of cellular protein using the sulforhodamine B assay. All compounds were tested in triplicate each concentration. Using the dose–response curve for each cell line, the concentration that inhibits cell growth in 50% (GI₅₀) was determined through non-linear regression analysis using ORIGIN software version 8.0 (OriginLab Corporation).^{30,31} Compounds with GI₅₀ values >100 µM were considered inactive.

4.5. ctDNA interaction

4.5.1. Reagent e solutions

Calf thymus DNA (ctDNA) was purchase from Sigma. A stock solution was prepared by dissolving an appropriate amount of ctDNA in Tris–HCl buffer solution. The solution was stored at 4 °C in the dark. The concentration of stock DNA solution was determined by UV absorption at 260 nm, employing the extinction coefficient of $\epsilon_{260} = 6600 \text{ L mol}^{-1}$ at 25 °C. The purity of ctDNA solution was evaluated by monitoring the ratio of absorbance at 260–280 nm. The obtained value ($A_{260}/A_{280} > 1.8$) indicated that ctDNA solution was sufficiently free of protein contamination.

A stock solution of KI (0.2 mol L⁻¹) containing 1 mM of Na₂S₂O₃ was employed in the fluorescence quenching study. In the competition assays was used a ethidium bromide (EB, 1.0 µM) solution containing ctDNA (4.0 µM).

Solutions of the test compound were prepared by dissolving **4b** in DMSO, and dilution of resulting solution in buffer. Tris–HCl buffer (50 mM, pH = 7.40 ± 0.10) containing 100 mM NaCl was used to control the acidity and ionic force of all solutions.

4.5.2. Apparatus

The fluorescence measurements were performed on RF-5301PC spectrofluorometer (Shimadzu, Japan) equipped with a xenon lamp source, using a quartz cell with 10 mm of optical path. The UV spectra were record on Specord 200 Plus (Analytik Jena, Germany).

Acknowledgements

This work was supported by Fundação Araucária (Brazil, PR), Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL).

We thank Fundação Araucária, CAPES and CNPq for fellowships (FCS, MMS, MAF, JEC and MHS).

Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2014.10.031>.

References and notes

- Cao, R.; Peng, W.; Wang, Z.; Xu, A. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 479.
- Formagio, A. S. N.; Santos, P. R.; Zanolli, K.; Ueda-Nakamura, T.; Tonin, L. T. D.; Nakamura, C. V.; Sarragiotto, M. H. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 4695.
- Tonin, L. T. D.; Panice, M. R.; Nakamura, C. V.; Rocha, K. J. P.; dos Santos, A. O.; Ueda-Nakamura, T.; da Costa, W. F.; Sarragiotto, M. H. *Biomed. Pharmacother.* **2010**, *64*, 386.
- Song, H.; Liu, Y.; Liu, Y.; Wang, L.; Wang, Q. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 1010.
- Li, C.; Zhang, X.; Zhao, M.; Wang, Y.; Wu, J.; Liu, J.; Zheng, M.; Peng, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5598.
- Rook, Y.; Schmidtke, K.; Gaube, F.; Schepmann, D.; Weunsch, B.; Heilmann, J.; Lehmann, J.; Winckler, T. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3611.
- Shi, B.; Cao, R.; Fan, W.; Guo, L.; Ma, Q.; Chen, X.; Zhang, G.; Qiu, L.; Song, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 10.
- Zhang, G.; Cao, R.; Guo, L.; Ma, Q.; Fan, W.; Chen, X.; Li, J.; Shao, G.; Qiu, L.; Ren, Z. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65*, 21.
- Kamal, A.; Rao, M. P. N.; Swapna, P.; Srinivasulu, V.; Bagul, C.; Shaik, A. B.; Mullagiri, K.; Kovvuri, J.; Reddy, V. S.; Vidyasagarb, K.; Nagesh, N. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2370.
- Chen, Z.; Cao, R.; Shi, B.; Yi, W.; Yu, L.; Song, H.; Ren, Z. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 901.
- Chen, Z.; Cao, R.; Shi, B.; Guo, L.; Sun, J.; Mac, Q.; Fan, W.; Song, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5127.
- Wu, J.; Li, C.; Zhao, M.; Wang, W.; Wang, Y.; Peng, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6220.
- Chourasiya, R. K.; Rao, A. R.; Agrawal, R. K. *Letts. Drug Des. Discov.* **2013**, *10*, 572.
- Chen, Z.; Cao, R.; Yu, L.; Shi, B.; Sun, J.; Guo, L.; Ma, Q.; Yi, W.; Song, X.; Song, H. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4740.
- Nafisi, S.; Bonsaii, M.; Maali, P.; Khalilzadeh, M. A.; Manouchehri, F. *J. Photochem. Photobiol. B* **2010**, *100*, 84.
- Beauchard, A.; Jaunet, A.; Murillo, L.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Chérourvri, J.; Domon, L.; Picot, L.; Bailly, C.; Besson, T.; Thiéry, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3858.
- Deveau, A. M.; Labroli, M. A.; Dieckhaus, C. M.; Barthen, M. T.; Smith, K. S.; Macdonald, T. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1251.
- Madadkar-Sobhani, A.; Ebrahimi, S. A.; Mahmoudian, M. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2002**, *5*, 19.
- Castro, A. C.; Dang, L. C.; Soucy, F.; Grenier, L.; Mazdiyasi, H.; Hottelet, M.; Parent, L.; Pien, C.; Palombella, V.; Adams, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2419.
- Li, Y.; Liang, F.; Jiang, W.; Yu, F.; Cao, R.; Ma, Q.; Dai, X.; Jiang, J.; Wang, Y.; Si, S. *Cancer Biol. Ther.* **2007**, *6*, 1193.
- Zhang, J.; Li, Y.; Guo, L.; Cao, R.; Zhao, P.; Jiang, W.; Ma, Q.; Yi, H.; Li, Z.; Jiang, J.; Wu, J.; Wang, Y.; Si, S. *Cancer Biol. Ther.* **2009**, *8*, 2374.
- Barsanti, P. A.; Wang, W.; Ni, Z.; Duhl, D.; Brammeier, N.; Martin, E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 157.
- Formagio, A. S.; Tonin, L. T.; Foglio, M. A.; Madjarof, C.; de Carvalho, J. E.; da Costa, W. F.; Cardoso, F. P.; Sarragiotto, M. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9660.
- Barbosa, V. A.; Formagio, A. S.; Savariz, F. C.; Foglio, M. A.; Spindola, H. M.; de Carvalho, J. E.; Meyer, E.; Sarragiotto, M. H. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6400.
- Savariz, F. C.; Formagio, A. S. N.; Barbosa, V. A.; Foglio, M. A.; de Carvalho, J. E.; Duarte, M. C. T.; Filho, B. P. D.; Sarragiotto, M. H. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 288.
- Bi, S.; Pang, B.; Zhao, T.; Wang, T.; Wang, Y.; Yan, L. *Spectrochim. Acta, Part A* **2013**, *111*, 182.
- Geng, S.; Cui, Y.; Liu, Q.; Cui, F.; Zhang, G.; Chi, Y.; Peng, H. *J. Lumin.* **2013**, *144*.
- Wu, J.; Cui, G.; Zhao, M.; Cui, C.; Peng, S. *Mol. BioSyst.* **2007**, *3*, 855.
- Liang, X.; Zhong, W.; Huang, Q.; Ni, K. *J. Photochem. Photobiol. B* **2008**, *93*, 172.
- Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*, 757.
- Holbeck, S. L. *Eur. J. Cancer* **2004**, *40*, 785.