



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE DE 3-ARIL-2-ISOXAZOLINAS AZA-BICÍCLICAS, POTENCIAIS
ANTI-INFLAMATÓRIOS**

RONMILSON ALVES MARQUES

Recife-PE

Agosto de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**SÍNTESE DE 3-ARIL-2-ISOXAZOLINAS AZA-BICÍCLICAS, POTENCIAIS
ANTI-INFLAMATÓRIOS**

RONMILSON ALVES MARQUES
MESTRANDO

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas do Centro de
Ciências da Saúde da UFPE, como
requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

PROF. DR. ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA
ORIENTADOR

RECIFE-PE

Agosto de 2013

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

M357s Marques, Ronmilson Alves.
Síntese de 3-*aril*-2-isoxazolinaz aza-bicíclicas, potenciais anti-inflamatórios / Ronmilson Alves Marques. – Recife: O autor, 2013.
93 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Antônio Rodolfo de Faria.

Disertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.
Inclui referências.

1. Cicloadição 1,3-dipolar. 2. Fármacos anti-inflamatórios. 3. Inibidores de ciclo-oxigenase. 4. 2-isoxazolina. I. Faria, Antônio Rodolfo de (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2014-219)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 29 de agosto de 2013.

Defesa de Dissertação de Mestrado de **Ronmilson Alves Marques** defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 29 de agosto de 2013 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria
(Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. José Gildo de Lima
(Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Jefferson Luiz Princival
(Depto. de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof.^a Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dalci José Brondani

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

Prof.^a Ana Cristina Lima Leite

*Dedico esse trabalho
à minha esposa
Silvia Rafaelli Marques.*

AGRADECIMENTOS

Mais uma importante etapa da minha vida foi realizada. Posso afirmar que este sonho só foi concretizado devido à graça de **Deus**, que, em tudo, supriu minhas necessidades.

À minha esposa **Silvia Rafaelli Marques** por estar comigo desde o início desta jornada. Por me motivar, por me ensinar, por me cobrar, por me acalmar, por me acordar todas as manhãs... Sem ela não chegaria até aqui. Esta vitória é nossa. Sil Te amo!

À **Seu Biu** e **Dona Maria**... Não tenho como os dois passarem despercebidos neste trabalho. Esta é mais uma conquista de vocês! Pai o senhor escreveu 50% desse trabalho quando saía todos os dias para trabalhar pela manhã e só voltava no fim da tarde! Mãe a senhora escreveu os 50% quando ficava em casa cuidando de duas crianças, que hoje são “alguém na vida” porque a senhora sacrificou a sua! Pai e Mãe te amo!

À minha irmã **Meirinha**, ela tem parcela importante nesta vitória, pois é uma das pessoas que mais torce por mim.

Aos meus familiares que sempre torcem pelo meu sucesso, em especial minha avó (**Dona Severina**), meu avô (**Seu Alcides**), meus tios Jairo, Joab e Raquel e a **Dona Lúcia** e **Seu Wanderlan**, que além do apoio, me agraciaram com sua filha, Silvia.

Ao **Professor Antônio Rodolfo de Faria**, não só pelos ensinamentos e conhecimentos adquiridos, mas também pela confiança depositada, desde a monitoria de química geral até o presente momento.

Aos meus grandes amigos e companheiros de laboratório **Adriano, Charles Du Barrier, Charles Simões, Eduarda, Helen, Lucas, Marlene, Natanael e Victor**. Com vocês as colunas cromatográficas sempre foram realizadas com sorriso no rosto.

Ao grande amigo **Alexandre de Oliveira Lima** pelo enorme apoio na realização deste trabalho.

À **Prof.^a Teresinha Gonçalves da Silva** do Laboratório Bioensaio para a Pesquisa de Fármacos (LBPF), do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco pela contribuição na execução dos ensaios biológicos. Às técnicas da Central Analítica do DQF **Abner** e **Eliete**.

Aos professores que fazem parte do programa de Pós-graduação em ciências farmacêuticas.

RESUMO

Comumente, os anti-inflamatórios não esteroidais são aplicados no tratamento da dor, estados febris e na inflamação. Porém o uso dos AINES está relacionado com distúrbios gastrointestinais. Com a descoberta dos inibidores seletivos da COX-2, os efeitos gástricos foram anulados, porém são relatados efeitos cardiovasculares negativos, sendo necessária a pesquisa por novos fármacos com atividade antiinflamatória e isentos de efeitos adversos significativos. Inúmeras substâncias orgânicas biologicamente ativas são conhecidas na literatura concernente à Química Medicinal. Dentre essas, mais da metade apresenta em sua composição heterociclos que são definidos como estruturas cíclicas que contêm no anel pelo menos um heteroátomo. No rol dos compostos heterocíclicos, estão inseridos as 2-isoxazolininas que atraem a atenção da Química Medicinal, visto que apresentam um amplo espectro na atividade biológica incluindo propriedades farmacológicas como antimicrobiana, neurotransmissora e anti-inflamatória. A cicloadição 1,3 dipolar entre óxidos de nitrila (dipolo) com alquenos (dipolarófilo) é o método mais empregado para a obtenção de 2-isoxazolininas com excelentes rendimentos. No presente trabalho, o trímero 29 da Δ^1 -pirrolina foi reagido inicialmente com cloretos de benzoílas *p*-substituídos, obtendo as enamidas endocíclicas 31, e posteriormente com anidrido BOC e cloroformato de benzila obtendo os enecarbamatos 33 e 36, respectivamente. Os óxidos de arilnitrilas 41 utilizados nas reações de cicloadição 1,3-dipolar foram gerados, *in situ*, a partir dos cloretos de hidroxiiiminoílas 40. As reações de cicloadições entre os *N*-óxidos de nitrila 41 com as enamidas endocíclicas 31, apresentaram rendimentos acima de 50%. Já as reações entre os enecarbamatos endocíclicos 33 e 36 com os *N*-óxidos de nitrila 41 apresentaram bons rendimentos, que variam 70 a 77%. Por efeitos estereo-eletrônicos os cicloadutos isoxazolinínicos desprotegidos em N6 35, não foram obtidos, degradando no meio reacional. Ao final deste trabalho foram sintetizados sete produtos finais que foram identificados por métodos espectrométricos (RMN ^1H e ^{13}C). Infelizmente, as atividades antiinflamatória e citotóxica não foram realizadas em tempo hábil, estando em fase de execução.

Palavras-chave: Cicloadição 1,3-dipolar, fármacos anti-inflamatórios, inibidores de ciclo-oxigenase, 2-isoxazolinina.

ABSTRACT

Commonly, NSAIDs are used in the treatment of pain, fever and inflammation states. However, the use of NSAIDs is related with gastrointestinal disorders. With the discovery of selective inhibitors of COX-2, the gastric effects were canceled, but are reported adverse cardiovascular effects, the search for new drugs with anti-inflammatory activity and free of significant adverse made necessary. Numerous biologically active organic substances are known in the literature concerning the Medicinal Chemistry. Among these, more than half has in its composition heterocycles are defined as cyclic structures containing at least one ring heteroatom. On the list of heterocyclic compounds, are inserted the 2-isoxazolines which attract the attention of Medicinal Chemistry, since they exhibit a broad spectrum in biological activity including pharmacological properties such as antimicrobial, anti-inflammatory and neurotransmitter. The 1,3 dipolar cycloaddition between nitrile oxides (dipole) with alkenes (dipolarophile) is the method most used for obtaining 2-isoxazolines with excellent yields. In the present work, the trimer 29 of Δ^1 -pyrroline was initially reacted with p-substituted chlorides benzoílas getting the endocyclic enamides 31, and later with BOC anhydride and benzyl chloroformate getting the enecarbamates 33 and 36, respectively. 41 arilnitrilas oxides used in the reactions of 1,3-dipolar cycloaddition were generated in situ from chlorides hidroxiiminoyls 40 cycloaddition reactions between nitrile *N*-oxides 41 with the endocyclic enamides 31 presented above yields 50%. The reactions between the endocyclic enecarbamates 33 and 36 with the *N*-oxides of nitrile 41 were good yields ranging from 70-77%. For the stereo-electronic effects in unprotected N6 isoxazolínicos cycloadducts 35 were not obtained, degrading the reaction medium. At the end of this work seven final products were identified by spectroscopic methods (¹H and ¹³C NMR) were synthesized. Unfortunately, the anti-inflammatory and cytotoxic activities were not conducted in a timely manner and are under implementation.

Key word: 1,3-dipolar cycloaddition, anti-inflammatory drugs, cyclooxygenase inhibitors, 2-isozaxoline.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES	Pág.
Figura 1 - Inibidores Seletivos da COX-2	18
Figura 2 - Derivados isoxazolínicos, Núcleo 2-isoxazolina[5,4- <i>b</i>]pirrolidina, Indometacina	19
Figura 3 - Via metabólica de síntese dos prostanóides a partir do ácido araquidônico. O ácido araquidônico é formado a partir dos fosfolipídios de membrana pela ação da fosfolipase A2.	20
Figura 4 - Classificação das Isoxazolininas	21
Figura 5 - Derivados diarilisoaxazol e diarilisoxazolina	23
Figura 6 - Derivados Nitrofuranyl 2-isoxazolínicos	24
Figura 7 - Derivados Benzofuranos isoxazolínicos	24
Figura 8 - Derivados Isoxazolínicos com atividade inibitória do fator de migração de macrófagos	25
Figura 9 - Derivados pirazoil-2-isoxazolínicos e pirazoilisoxazóis	25
Figura 10 - Derivado 2-isoxazolina com atividade bloqueadora de canais de Na ⁺ voltagem dependentes	26
Figura 11 - Derivados amidas 2-isoxazolínicas azabicíclicas	26
Figura 12 - Derivados hidrazonas 2-Isoxazolina azabicíclicas	27
Figura 13 - Aminoácidos 2-isoxazolínicos análogos do ácido glutâmico	27
Figura 14 - Derivados espirocíclicos Δ^2 – isoxazolina	28
Figura 15 - Métodos de obtenção de 2-isoxazolininas	29
Figura 16 - Geometria do 1,3-dipolo	32
Figura 17 - Exemplos de 1,3 dipolos	32
Figura 18 - Derivados do heterociclo 2-isoxazolina [5,4- <i>b</i>]pirrolidina inéditos	34
Figura 19 - Planejamento de amidas 2-isoxazolínica aza-bicíclica	35
Figura 20 - Inibidores seletivos da COX-2	36
Figura 21 - Reatividade da hidroxilamina	43
Figura 22 - Síntese dos Cloretos de Hidroxiiminoílas	44
Figura 23 - Dímero do N-óxido de nitrila 41	45
Figura 24 - Cicloaduto com configuração relativa cis	47
Figura 25 - Espectro de RMN de ¹³ C do cicloaduto 32 com R1 = Cl e R2 = F	48
Figura 26 - Espectro de RMN de ¹ H do cicloaduto 32 com R1 = Cl e R2 = F	48
Figura 27 - Mecanismo dipolar não concertado	50

Figura 28 - Mecanismo dipolar concertado não sincronizado	51
Figura 29 - Híbridos de Ressonância da enamida e do enecarbamato	54
Figura 30 - Deslocamentos químicos dos cicloadutos protegidos com CBZ	55
Figura 31 - Espectro de RMN de ^1H do cicloaduto 37 com $\text{R}^2 = \text{Cl}$	55
Figura 32 - Deslocamentos químicos dos cicloadutos protegidos com BOC <u>34</u>	56
Figura 33 - Espectro de RMN de ^1H do cicloaduto <u>34</u> , com $\text{R}^2 = \text{Cl}$	56

LISTA DE ESQUEMAS	Pág.
Esquema 01 - Cicloadição 1,3-dipolar de óxido de arilnitrilas com derivados 5-hidro-3-metil-1,5-dihidropirrol-2-one	29
Esquema 02 - Preparação de isoxazóis a partir da 2-isoxazolininas	30
Esquema 03 - Cicloadição 1,3-dipolar entre os óxidos de nitrila gerados a partir das oximas utilizando o t-BuOI	30
Esquema 04 - Síntese enantiosseletiva de 2-isoxazolininas trifluorometil substituídas	31
Esquema 05 - Cicloadição 1,3-dipolar	35
Esquema 06 - Retrossíntese dos cicloadutos isoxazolínicos azabícclos	37
Esquema 7 - Rota Sintética para a obtenção dos derivados C-3 e N-6 do heterociclo 2-isoxazolina[5,4- <i>b</i>]pirrolidina	38
Esquema 8 - Síntese das enamidas endocíclicas <u>31</u>	40
Esquema 9 - Obtenção do trímero da Δ^1 -pirrolina	40
Esquema 10 - Síntese das enamidas endocíclicas de cinco membros	41
Esquema 11 - Obtenção dos N-óxidos de Nitrila	42
Esquema 12 - Obtenção das oximas, em meio básico	42
Esquema 13 - Obtenção das oxima via ultrassom	43
Esquema 14 - Obtenção dos Cloretos de Hidroxiiminoílas	44
Esquema 15 - Mecanismo de formação dos N-óxidos de nitrila, com a água agindo como base	45
Esquema 16 - Cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas e N-óxidos de nitrila	46
Esquema 17 - Rota para obtenção dos derivados 2-isoxazolinicos arilados em C3	51
Esquema 18 - Obtenção dos enecarbamatos	52
Esquema 19 - Cicloadição 1,3-dipolar	53
Esquema 20 - Remoção dos grupos protetores	57
Esquema 21 - Abertura do anel isoxazolínicos piperidínico	58
Esquema 22 - Abertura do anel isoxazolínicos pirrolidínico	58

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 – Comparação dos métodos empregados para a obtenção de enamidas endocíclicas de cinco membros <u>31</u>	41
Tabela 2- Comparação dos métodos empregados para a obtenção de enecarbamatos endocíclicos de cinco membros	52

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AgNO₃ – Nitrato de Prata

AINES – Anti-Inflamatórios Não-Esteroidais

BOC- *Tert*-Butiloxi Carbonila

CBZ – Benzoiloxi Carbonila

CEFNO – Óxido de Carboetoxiformonitrila

COX – Ciclo-Oxigenase

DMAP – Dimetilaminopiridina

FMO- Orbitais Moleculares de Fronteira

HOMO - Orbital ocupado de mais alta energia

HRMS – Espectro de Massas de Alta Resolução

I.V - Infravermelho

LUMO - Orbital desocupados de menor energia

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

TEA – Trietilamina

TFA – Ácido Trifluoroacético

THF – Tetraidrofurano

SUMÁRIO

	Pág.
1 - Introdução	17
2 - Revisão Bibliográfica	19
2.1 - Inflamação	19
2.1.1 - Ciclo-oxigenase	19
2.2 – Isoxazolinas	21
2.2.1 - Atividades biológicas e aplicações terapêuticas	22
2.2.2 - Métodos de obtenção de 2-isoxazolinas	28
2.3 - Reações de cicloadição 1,3 dipolar	31
3 - Objetivos	34
3.1 - Objetivos Gerais	34
3.2 - Objetivos Específicos	34
4 – Metodologia	35
4.1 - Análise Retrossintética	36
4.2 – Síntese	38
5 - Resultados e Discussão	40
5.1 - Obtenção das Enamidas Endocíclicas	40
5.1.1 - Preparação do Trímero da 1-pirrolina	40
5.1.2 - Síntese das Enamidas Endocíclicas <u>31</u>	41
5.2 - Obtenção dos N-óxidos de Nitrila <u>41</u>	42
5.2.1 - Síntese das Benzaldoximas <i>p</i> -Substituídas	42
5.2.2 - Obtenção do Cloreto de Hidroxiiminoíla <u>40</u>	44
5.3 - Reação de Cicloadição 1,3-Dipolar entre as Enamidas Endocíclicas <u>31</u> com N-Óxidos de Nitrila <u>41</u>	46
5.4 - Obtenção das 3-Aril-2-Isoxazolina[5,4- <i>b</i>]pirrolidina <u>35</u>	51
5.4.1 - Obtenção do Enecarbamato Endocíclicos <u>33</u> e <u>36</u>	52
5.4.2 - Reação de Cicloadição 1,3-Dipolar entre as Enecarbamatos Endocíclicos <u>33</u> e <u>36</u> com N-óxidos de Nitrila <u>41</u>	53
5.4.3 - Desproteção da Amina Secundária em N6	57
6 - Procedimentos Experimentais	59
6.1 - Materiais e Métodos	59
6.2 - Trímero da Δ^1 - Pirrolina <u>29</u>	60

6.3 - N-(4-Fluorobenzoil)-2-Pirrolina <u>31a</u>	61
6.4 - N-(4-Clorobenzoil)-2-Pirrolina <u>31b</u>	62
6.5 - 4-Fluorobenzaldoxima <u>39a</u>	63
6.5.1 - Método C	63
6.5.2 - Método D	63
6.6 - 4-Clorobenzaldoxima <u>39b</u>	64
6.6.1 - Método C	64
6.6.2 - Método D	64
6.7 - Cloreto de 4-Fluorofenilhidroxiiminoíla <u>40a</u>	65
6.8 - Cloreto de 4-Clorofenilhidroxiiminoíla <u>40b</u>	66
6.9 - N-(<i>t</i> -Butoxicarbonil)-2-Pirrolina <u>33</u>	66
6.10 - N-(Benziloxicarbonil)-2-Pirrolina <u>36</u>	67
6.11 - Obtenção do 6- <i>tert</i> -Butoxicarbonil-3-(4-Fluorofenil)-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>34^a</u>	68
6.12 - Obtenção do (6- <i>tert</i> -Butoxicarbonil)-(3-Clorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>34b</u>	69
6.13 - Obtenção do (6-Benziloxicarbonil)-(3-Fluorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>37^a</u>	70
6.14 - Obtenção do (6-Benziloxicarbonil)-(3-Clorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>37b</u>	71
6.15 - Obtenção do (6-Fluorofenil)-(3-Fluorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>32a</u>	72
6.16 - Obtenção do (6-Clorofenil)-(3-Clorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-Pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>32b</u>	73
6.17 - Obtenção do (6-Clorofenil)-(3-Clorofenil-3a,4,5,6a-Tetrahydro-pirrol[3,2- <i>d</i>]Isoxazol) <u>32c</u>	74
7 - Conclusões e Perspectivas	75
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS	87

1. INTRODUÇÃO

Episódios dolorosos acometem indivíduos em todo mundo, e o seu não tratamento é um grave problema global. No continente europeu, 20% da população adulta foi submetida a alguma sensação dolorosa relacionada à inflamação¹.

As síndromes de dores crônicas como artrites, fibromialgia, cistite intersticial, dores neuropáticas, enxaquecas e etc., são processos de dor inflamação-induzida que impactam tanto na saúde dos pacientes quanto no seu convívio social. Desta forma, a dor é considerada um dos mais importantes determinantes da qualidade de vida de um indivíduo.²

Inúmeros anti-inflamatórios não esteroides (AINES) são aplicados para o tratamento da dor, dos estados febris, das doenças inflamatórias crônicas. A maior parte deles atua inibindo não seletivamente as isoformas da enzima ciclo-oxigenase (COX), reduzindo a síntese de prostaglandinas. Infelizmente, o uso dos AINES clássicos nos estados de inflamação e de dor está associado com dispepsia, úlceras gástricas e nefrotoxicidade.³⁻⁵

A descoberta da expressão da COX-2 nos processos inflamatórios possibilitou o desenvolvimento de inibidores seletivos dessa enzima. Tais fármacos demonstraram acentuada eficácia frente aos inibidores não seletivos, com o incremento da isenção de efeitos gástricos⁵. Em contrapartida, os inibidores seletivos da COX-2 estão relacionados a efeitos cardiovasculares negativos.^{5,6}

Recentes pesquisas evidenciaram uma importante relação da COX-2 na carcinogênese, porém esse mecanismo não foi claramente elucidado. Além disso, alguns trabalhos inferiram que o uso dos AINES pode reduzir a incidência e mortalidade de vários tipos de câncer como gastrointestinal, colorretal, câncer de mama e de próstata.⁷⁻¹²

Em recente pesquisa, Arber et al. observou que a administração do fármaco Celocoxibe 1, inibidor seletivo da COX-2, diminuiu a ocorrência de adenomas colorretais, visto que, além de suprimir o desenvolvimento de adenomas existente, preveniu a formação de novos adenomas.¹³

Dentre os inibidores seletivos da COX-2 podemos destacar o Valdecoxibe 2 e o Parecoxibe 3, que contem em sua estrutura molecular o heterocíclico isoxazol, o

qual funciona como extensor na molécula, e nas posições 3 e 4 temos grupos arila, sendo *p*-substituídos apenas na posição 3 (Figura 1).

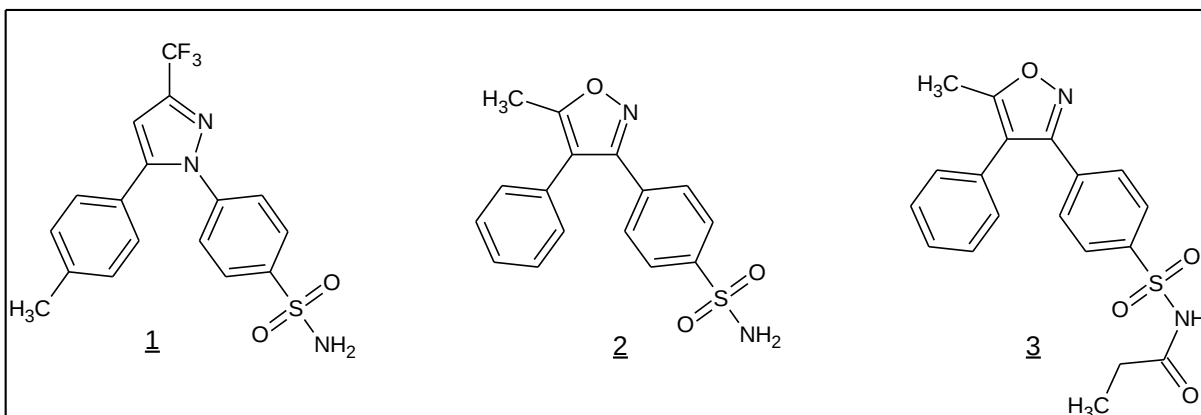


Figura 1 – Inibidores Seletivos da COX-2

Inúmeras substâncias orgânicas biologicamente ativas são conhecidas na química medicinal. Dentre essas, mais da metade apresenta em sua composição heterocíclicos, que são definidos como estruturas cíclicas que contém no anel pelo menos um átomo distinto do carbono.¹⁴

No universo dos compostos heterocíclicos, assim como os isoxázois, as isoxazolininas atraem a atenção da química medicinal, uma vez que apresentam um amplo espectro na atividade biológica incluindo propriedades farmacológicas como antimicrobiana¹⁵, neurotransmissora^{16, 17} e anti-inflamatória.¹⁸⁻²⁰

Aliado a este fato, o anel isoxazolinínico é considerado um bioisótero estável da ligação amida, a qual é encontrada em diversos fármacos e moléculas biologicamente ativas, acentuando o interesse dos pesquisadores por esse núcleo.¹⁴

Em trabalho do nosso grupo de pesquisa, derivados amidas 4, contendo o núcleo 2-isoxazolinínico aza-bicíclica 5, demonstrou atividade anti-inflamatória comparável ao fármaco padrão, a indometacina 6 (Figura 2).²¹

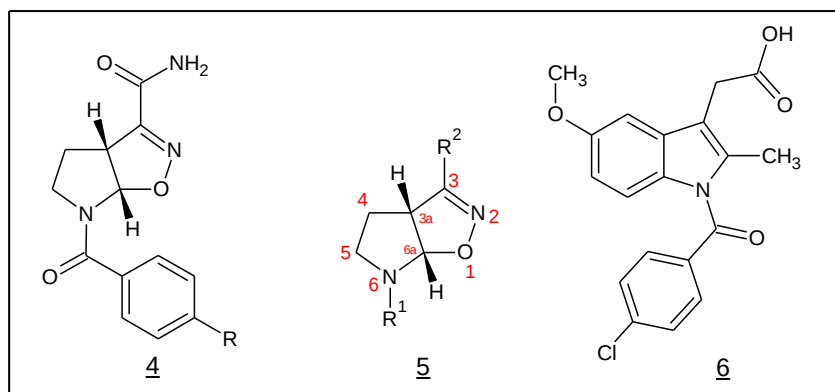


Figura 2 – Derivados isoxazolínicos, Núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, Indometacina

Mediante o exposto, este trabalho visou colaborar com a pesquisa de novos fármacos com potenciais atividades anti-inflamatória, contendo o núcleo 2-isoxazolina [5,4-*b*] pirrolidina arilados em C3 e N6.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Inflamação

A inflamação é um processo bioquímico que ocorre em resposta a injúrias físicas, químicas e biológicas, dessa forma, o processo inflamatório é um mecanismo biológico utilizado para reparar as regiões dos tecidos lesionados.⁶⁷⁻⁶⁹

O retorno ao estado fisiológico ocorre naturalmente quando os compostos bioquímicos são sintetizados com a função de desencadear a resposta do organismo às lesões físicas e/ou ação patogênica. Esses compostos bioquímicos anteriormente citados são denominados de mediadores da inflamação. Eles atuam nos nociceptores e nas terminações nervosas ocasionando hipersensibilidade na área lesionada⁶⁷⁻⁶⁹.

2.1.1 Ciclo- oxigenase (COX)

A via do ácido araquidônico é responsável pela produção de inúmeros compostos bioativos, chamados de eicosanoides. A síntese desses compostos ocorre mediante a ação de três grupos distintos de enzimas: as ciclo-oxigenases (COX), as lipoxigenases e as epoxigenases (citocromo P450). A enzima

prostaglandina endoperoxidase, conhecida também como ciclo-oxigenase é responsável pela conversão do ácido araquidônico no precursor das prostaglandinas, a PGH_2 ⁷¹. Estudos revelam que a PGH_2 origina os outros prostanóides como a PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGI_2 (prostaciclina) e o TXA_2 (tromboxanos), mediante reações enzimáticas de redução, rearranjo e isomerização (Figura 3).⁷²

Na década de 90, foi demonstrada a existência de duas isoformas da COX. Uma forma constitutiva (COX-1), presente na maioria dos tipos de tecidos. Os prostanóides derivados dessa isoforma conferem citoproteção da mucosa gástrica, regulação do fluxo sanguíneo renal e agregação plaquetária.⁷³ Enquanto a outra (COX-2) é expressa nos tecidos periféricos induzida pela ação de citocinas, fatores de crescimento bem como outros estímulos químicos, dessa forma, estando relacionada à produção dos prostanóides pro-inflamatórios⁷³. É importante ressaltar que, regiões específicas, como cérebro, coluna vertebral e rins, produzem, em condições basais, a isoforma COX-2. Além disso, a COX-2 tem sido identificada em inúmeras células neoplásicas em diversos tipos de tumores.^{74,76}

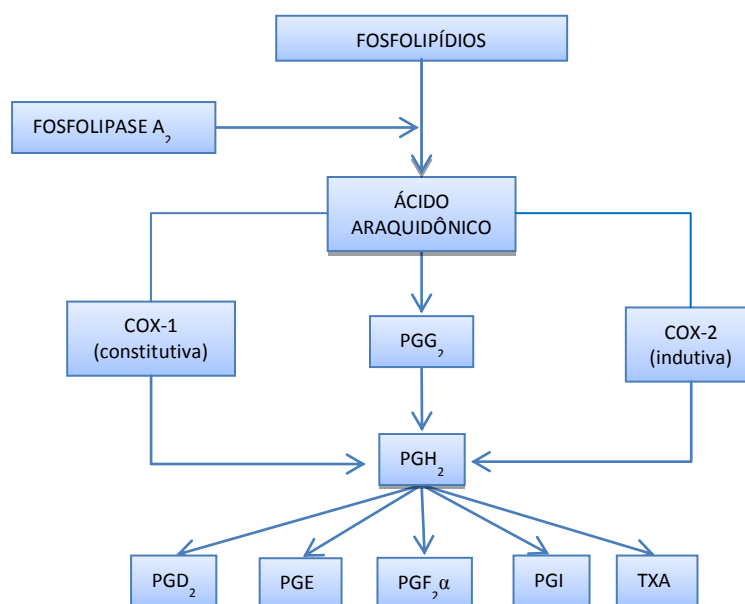


Figura 3 – Via metabólica de síntese dos prostanóides a partir do ácido araquidônico. O ácido araquidônico é formado a partir dos fosfolipídios de membrana pela ação da fosfolipase A_2 . Imagem adaptada

Uma terceira variante da COX que foi identificada como COX-3, que apresentou uma sensibilidade diferenciada para o acetaminofeno (paracetamol) e é expressa especialmente no cérebro.⁷⁵

Dentre a família das prostaglandinas, as PGE_2 merecem atenção especial, visto que atuam como potentes vasodilatadores, aumentando o fluxo sanguíneo local e, em conjunto com as bradicininas e histaminas, participam da formação do edema.^{71, 72} As PGE_2 também agem no sistema nervoso central ocasionando a sensibilização dos nervos aferentes, desencadeando a sensação dolorosa.⁷⁶ Portanto, a inibição da síntese da PGE_2 é o mecanismo bioquímico de ação dos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) para o controle da inflamação.⁷⁶

2.2 Isoxazolininas

Os heterociclos são descritos na literatura por apresentarem significativas atividades biológicas. São encontrados em inúmeros produtos naturais e moléculas sintéticas, cujas propriedades farmacológicas demonstram ser bem relevantes para a química medicinal.²²

Tais compostos também são importantes para a síntese orgânica, uma vez que, devido a sua versatilidade, atuam como blocos de construção de intermediários sintéticos, em virtude do amplo perfil de reatividade que apresentam.²³

As isoxazolininas pertencem a uma classe de heterociclos de cinco membros que possui como heteroátomos um átomo de oxigênio ligado diretamente a um átomo de nitrogênio, contendo uma ligação dupla na posição 2 do anel. Ela pode ser classificada de acordo com a disposição da insaturação no ciclo (Figura 4).³⁶

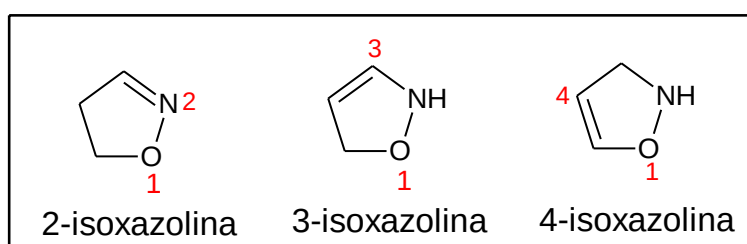


Figura 4 – Classificação das Isoxazolininas

Do ponto de vista da síntese orgânica, as isoxazolininas servem como substratos para obtermos funcionalidades químicas interessantes como as β -hidroxiketonas ou β -amino álcoois a partir da abertura do anel.²⁴

Aliado a esse fato, comumente as isoxazolininas são preparadas a partir da cicloadição de óxidos de nitrilas com olefinas, que mediante a utilização de grupos funcionais adequados, a regioquímica da reação pode ser precisamente controlada.

25-26

2.2.1 Atividades Biológicas e Aplicações Terapêuticas

As isoxazolininas apresentam várias atividades biológicas incluindo atividade antidiabética, antibacteriana, anti-inflamatória, neuromoduladora.^{27-30.}

Habeeb et al. publicou os resultados de um estudo descrevendo o planejamento, a síntese e as propriedades anti-inflamatórias de uma série de diaril-isoxazóis (Figura 5). Desses, o composto 7 apresentou excelente inibição, *in vitro*, para a COX-2 (IC_{50} = 1nM) e não inibição para a COX-1 (IC_{50} > 500 μ M), o que é um dado importante, porquanto, os efeitos adversos atribuídos aos AINES estão relacionados com a inibição da COX-1.¹⁹

Com o objetivo de expandir os resultados sobre a relação estrutura-atividade, inibição seletiva pela COX-2 e atividade anti-inflamatória, *in vivo*, dos diarilizoxazóis sintetizados, Habeeb sintetizou uma série de 4,5-difenil-4-isoxazolininas, para averiguar a relação da estrutura aromática planar do núcleo isoxazol frente ao núcleo 4-isoxazolinínico, que além de não apresentar aromaticidade possui torsões no anel. Esse trabalho inferiu que o composto 8 exibiu uma potente e seletiva inibição da COX-2 e com acentuadas atividades analgésicas e anti-inflamatórias (Figura 5).³²

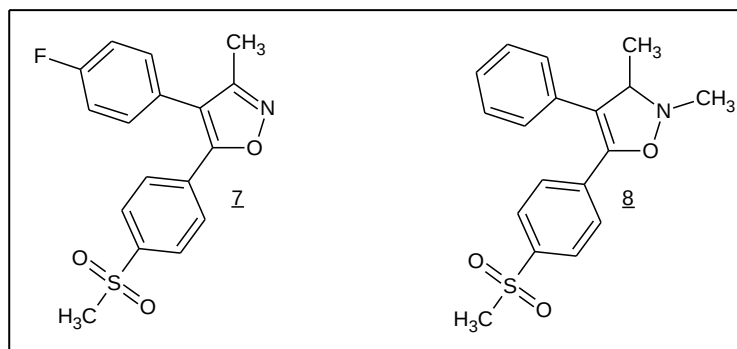


Figura 5 - Derivados diarilisoaxazol e diarilisoaxazolina

Na literatura identificamos também algumas atividades antimicrobianas das isoxazolininas. A classe dos antibióticos nitroaromáticos é uma das poucas que tem atividade contra aos *Mycobacterium tuberculosis* na forma latente. Tangallapally et al. sintetizou uma série de derivados nitrofurânil amidas 9, que demonstraram excelente atividade *in vitro* (Figura 6).³³

Ampliando a pesquisa Tangallapally et al. incrementou as propriedades farmacocinéticas as nitrofurânil amidas obtidas, dessa forma obteve uma série de novos derivados nitrofurânil 2-isoxazolininas 10, uma vez que a isoxazolina é considerada um bioisómero estável das amidas.¹⁴ Outros análogos desse derivado 2-isoxazolina também apresentaram boa atividade frente aos *Mycobacterium tuberculosis*, *in vitro*, porém *in vivo* a atividade discreta. Nesse mesmo trabalho, para averiguar uma possível atividade intrínseca das 2-isoxazolininas, foram sintetizadas uma série de inéditos derivados 11, sem a porção nitrofurânil, os quais apresentaram atividade microbiana, porém menos potente que os nitrofuranos (Figura 6).³⁴

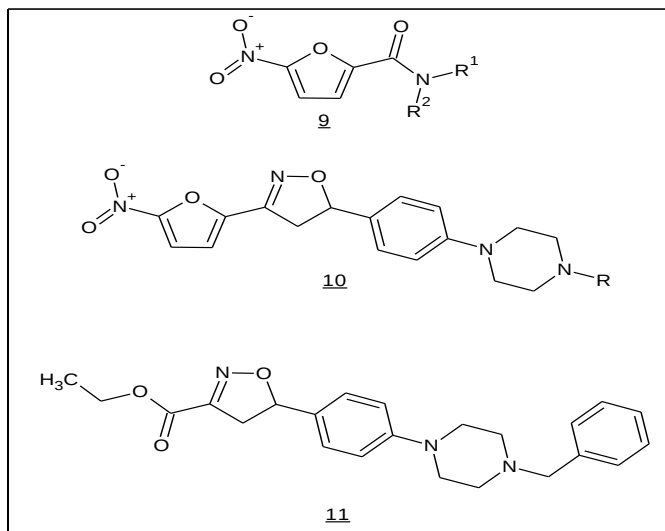


Figura 6 – Derivados Nitrofuranil 2-isoxazolínicos.

Como pode ser observado na literatura, a 2-isoxazolina apresenta ampla aplicações biológicas. Ahmad, et al. sintetizou inéditos derivados benzofurano isoxazolínicos que apresentaram atividade inibitória da tirosina fosfatase 1B. Dentre os derivados obtidos, **12** e **13** demonstraram promissora atividade inibitória.³⁵

Este resultado é de grande relevância, já que a inibição desta enzima pode está relacionada uma melhora da ação da insulina, sendo, portanto uma recente estratégia para o tratamento da diabetes tipo-2 e da obesidade (Figura 7).³⁵

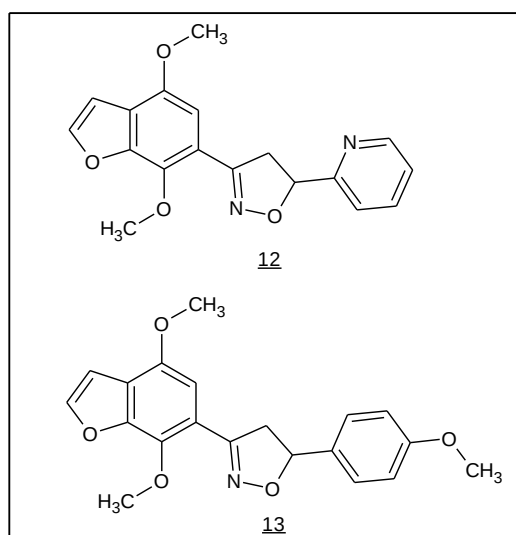


Figura 7 – Derivados Benzofuranos Isoxazolínicos

Na pesquisa para descoberta de novos anti-inflamatórios Cheng et al. descreveu uma série de modificações realizadas no composto **14**, obtendo novos

derivados isoxazolínicos dos quais os compostos 15 e 16 apresentaram potente atividade de inibição do fator de migração de macrófagos (Figura 8).³⁶ O fator de migração de macrófagos é uma citocina pro-inflamatória associadas à patogênese da inflamação.³⁷ Outros estudos evidenciaram que esta citocina também foi relacionada à fisiopatologia da sepsis.³⁸

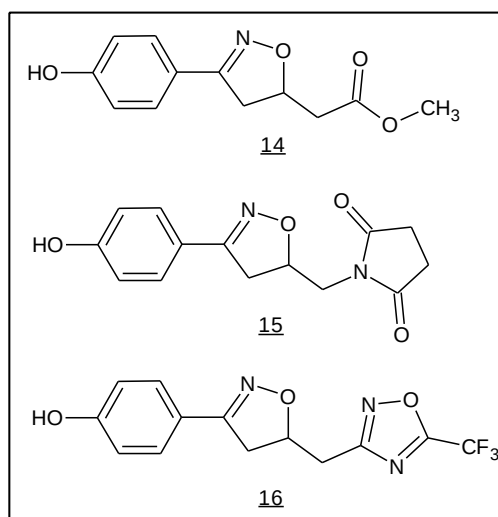


Figura 8 – Derivados Isoxazolínicos com atividade inibitória do fator de migração de macrófagos

Com a proposta de averiguar a atividade antinociceptiva dos derivados pirazoil-2-isoxazolina 17 e pirazoilisoxazol 18, Karthikeyan et al. sintetizou uma série desses inéditos derivados (Figura 9). Dentre os compostos obtidos, alguns apresentaram eficácia comparada ao fármaco padrão, a aspirina.³⁹

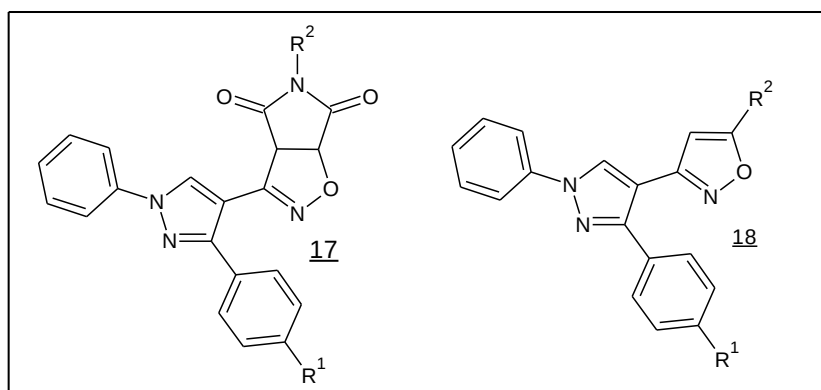


Figura 9 - Derivados pirazoil-2-isoxazolínicos e pirazoilisoxazóis.

Na busca por novos anti-inflamatórios, Shao et al. publicou um trabalho no qual descobriu uma nova classe de isoxazol e 2-isoxazolina bloqueadoras dos canais de sódio, voltagem-dependentes, para o tratamento da dor crônica.^{40,41} O

composto 19 demonstrou ser promissor nos ensaios biológicos de dor em ratos (Figura 10).

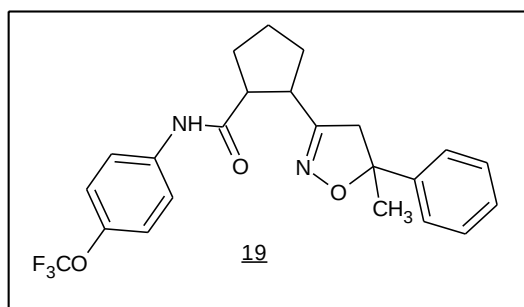


Figura 10 – Derivado 2-isoxazolina com atividade bloqueadora de canais de Na^+ voltagem dependentes.

Nosso grupo de pesquisa também já descreveu promissoras atividades anti-inflamatórias de moléculas contendo o núcleo 2-isoxazolina. De Almeida et al. desenvolveu uma reação inédita de cicloadição 1,3 dipolar, entre enecarbamatos endocíclicos, com cinco ou seis membros, e *N*-óxidos de nitrila, e obteve uma série de novas 2-isoxazolinas aza-bicíclicas. Neste trabalho os derivados com a funcionalidade carboxamidas contendo os biciclos 2-isoxazolina piperidínica 20 e 2-isoxazolina-pirrolidínica 21 apresentaram expressiva atividade analgésica e anti-inflamatória (Figura 11).²¹

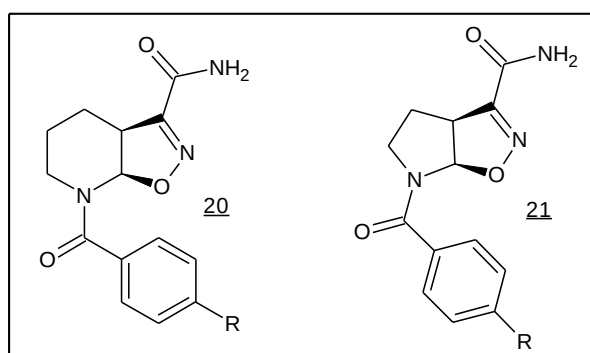


Figura 11 – Derivados amidas 2-isoxazolínicas azabicíclicas

Ainda em nosso grupo, Reis et al. aplicou a hibridização molecular, desenvolvendo novos derivados 2-isoxazolínicos contendo a porção hidrazona, que são descritas na literatura por apresentarem acentuada atividade analgésica e anti-inflamatória (Figura 12). Neste estudo foram mensuradas as médias das contorções induzidas por ácido acético e o derivado 2-isoxazolínico 22 foi o mais potente da

série, apresentando atividade anti-inflamatória superior ao controle utilizado no ensaio biológico, a dipirona.⁴¹

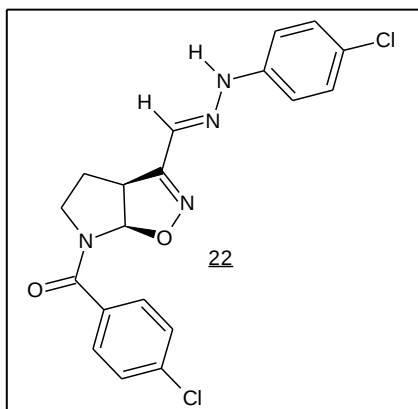


Figura 12 – Derivados hidrazonas
2-Isoxazolina azabíclicos

Em 2008, Pinto publicou a síntese enantiosseletiva de novos aminoácidos 2-isoxazolínicos, análogos do glutamato, com atividade inibitória das proteínas transportadoras de aminoácidos excitatórios (Figura 13).³⁰ O L-glutamato é o neurotransmissor excitatório mais abundante no cérebro, estando envolvido no desenvolvimento das sinapses neurais, cognição, processo de aprendizagem e memorização, dor e nocicepção.⁴²

O aumento anormal da concentração extracelular do glutamato produz um quadro de neurotoxicidade, ocasionando a morte da célula neural, evidenciando patologias neurodegenerativas como Doença de Parkinson, Mal de Alzheimer, isquemia cerebral.⁴³

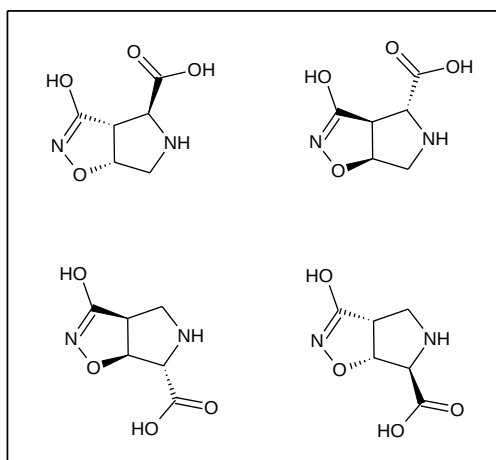


Figura 13 - Aminoácidos 2-isoxazolínicos
análogos do ácido glutâmico.

Recentemente, Dallanoce ampliou o estudo aplicações neurotransmissoras das 2-isoxazolininas, obteve inéditos derivados espirocíclicos Δ^2 -isoxazolininas, descritos como agonista seletivo dos receptores neurais nicotínicos $\alpha 7$ da acetilcolina (Figura 14).¹⁶

Os receptores $\alpha 7$ atuam modulando o aumento dos neurotransmissores como a acetilcolina, glutamato, ácido gama amino-butírico, histamina, noradrenalina e dopamina, os quais são largamente utilizados no sistema nervoso central. Portanto, tais receptores estão envolvidos nos processos fisiológicos como a cognição, humor, nocicepção e neuroproteção, e nos estados patológicos incluindo Doença de Parkinson e Alzheimer, déficit de atenção com hiperatividade, esquizofrenia e epilepsia.^{44,45}

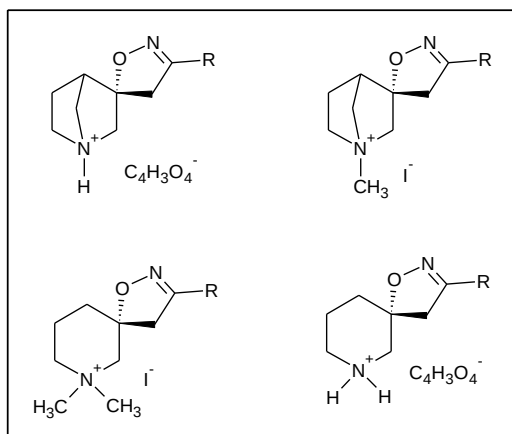


Figura 14 - Derivados espirocíclicos Δ^2 – isoxazolinina

2.2.2 Métodos de Obtenção de 2-isoxazolininas

A cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de nitrila e alquenos é o método mais amplamente utilizado para a obtenção de isoxazolininas em bons rendimentos.²⁶ Os óxidos de nitrila são gerados *in situ*, pela desidrohalogenação, base-induzida, dos cloretos de hidroxiiminoíla (método de Huisgen)⁴⁶ ou pela desidratação dos derivados nitroalcanos primários (método de Mukaiyama), (Figura 15).⁴⁷

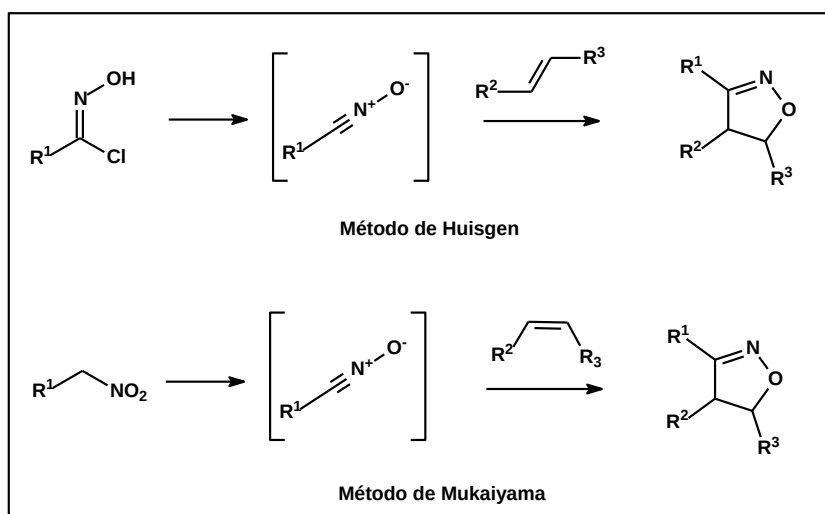
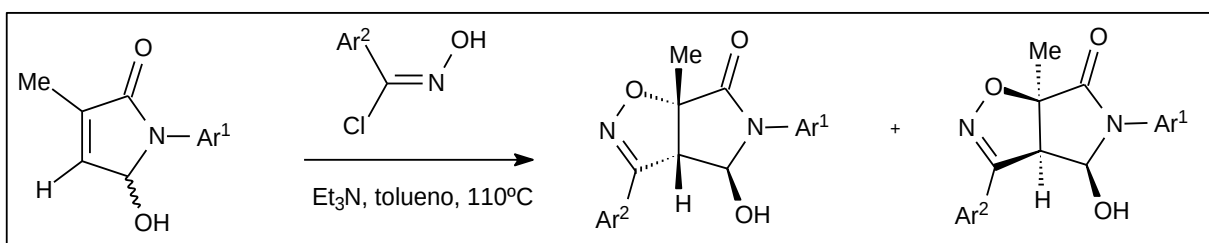


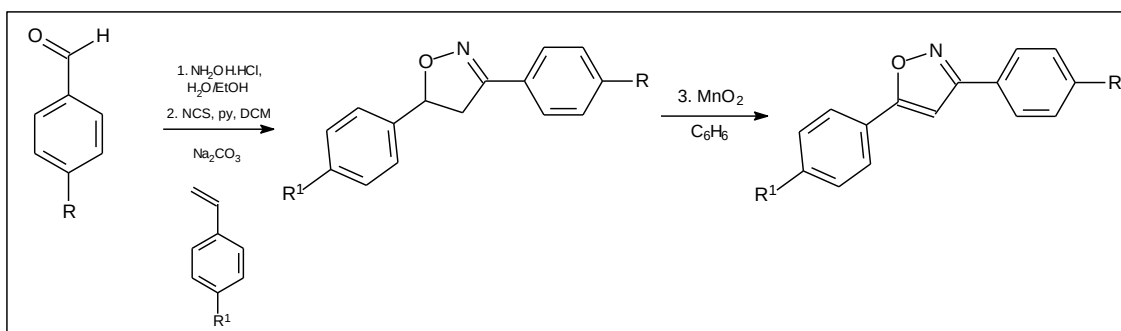
Figura 15 – Métodos de obtenção de 2-isoxazolinás

Hamadi obteve vários derivados 2-isoxazolinicos bicíclicos através de cicloadição 1,3-dipolar entre os óxidos de aril-nitrilas, com os derivados da 5-hidroxi-3-metil-1,5-dihidropirrol-2-ona, alcançando rendimentos que variaram de 75 a 90% (Esquema 1). Os óxidos de nitrilas foram gerados, *in situ*, a partir dos cloretos de hidroxiiminoílas arilados.⁴⁸



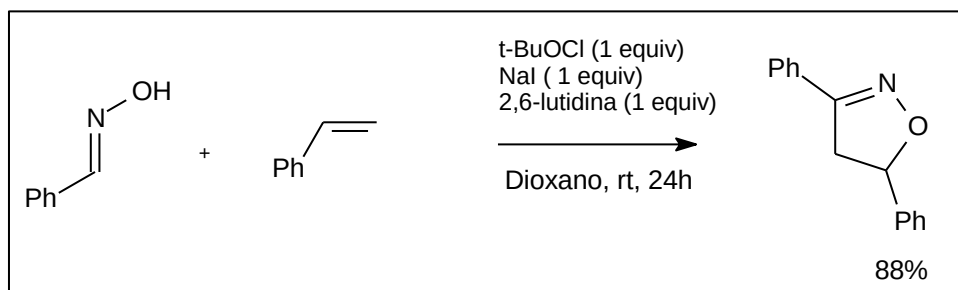
Esquema 1- Cicloadição 1,3-dipolar de óxido de arilnitrilas com derivados 5-hidro-3-metil-1,5-dihidropirrol-2-one.

Com o objetivo de obter novos cristais líquidos contendo o núcleo isoxazolina, Merlo et al. partindo dos aldeídos aromáticos, sintetizou oximas *p*-substituídas, que foram transformadas nos seus respectivos cloretos de hidroxiiminoílas. Esses foram os precursores dos óxidos de nitrilas, que foram submetidos à reação com estirenos *p*-substituídos, produzindo as 2-isoxazolinás 3,5-dissubstituídas. Nesse mesmo trabalho também foram descritas 2-isoxazolinás como intermediária para a síntese dos isoxázois 3,5 dissubstituídos (Esquema 2).⁴⁹



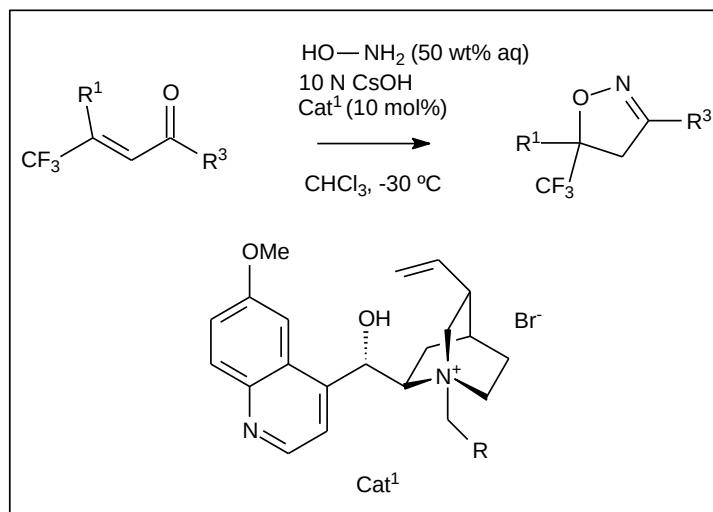
Esquema 2 – Preparação de isoxazóis a partir da 2-isoxazolininas

Em 2011, Minakata et al. desenvolveu um novo método para a obtenção dos óxidos de nitrila a partir das oximas, utilizando hipoiodito de 2-butila (*t*-BuOI).⁵⁰ Para comprovar a superioridade do método, foram realizadas reações com *t*-BuOCl e o *N*-iodosuccinimida, empregando a mesma base, a 2,6-lutidina, obtendo rendimentos de 44% e 25%, respectivamente, que são muito inferiores ao obtido utilizando o *t*-BuOI (rendimento de 88%). Essa metodologia demonstrou ser bastante eficiente variando tanto a oxima quanto o dipolarófilo, apresentando rendimentos que variam de 65% a 98% (Esquema 3).⁵⁰



Esquema 3 – Cicloadição 1,3-dipolar entre os óxidos de nitrila gerados a partir das oximas utilizando o *t*-BuOI.

Existe outra possível rota sintética para a obtenção de 2-isoxazolina, porém menos empregada. Essa consiste na reação entre cetonas α,β insaturada e hidroxilamina.⁵¹ Matoba sintetizou uma série de derivados 2-isoxazolininas trifluorometil substituídas utilizando esse método, com rendimentos que variaram de 80 à 99% (Esquema 4).⁵²



Esquema 4 – Síntese enantiosseletiva de 2-isoxazolinas trifluorometil substituídas

2.3 Reações de cicloadição 1,3 dipolar

Na década de 60, Rolf Huisgen desenvolveu excelentes trabalhos sobre a cicloadição 1,3-dipolar. Desde então, essa reação tornou-se o método mais empregado para a construção de compostos heterocíclicos de cinco membros.⁵³⁻⁵⁵

A cicloadição 1,3-dipolar ampliou a discussão de duas áreas importantes da síntese orgânica: a primeira foi à inserção de heteroátomos nos cicloadutos formados, aumentando a funcionalização de moléculas orgânicas e a segunda foi a produção anéis com centros estereoquímicos em apenas uma etapa.⁵⁶

Nesse tipo de reação temos a adição de 1,3-dipolo a um sistema insaturado (alqueno ou alquino), obtendo-se o anel de cinco membros.³³ O 1,3-dipolo é um íon dipolo (zwitterion), que apresenta um sistema de quatro elétrons π deslocalizados por três átomos, sendo que o átomo central pode estar hibridizado em sp ou sp^2 .⁵⁷ Desta forma, dependendo da hibridização do átomo central do 1,3-dipolo, podemos classifica-lo em: dipolo ânion alila e dipolo ânion alenila (Figura 16).

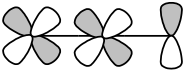
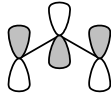
1,3-Dipolo	Geometria do dipolo	Hibridização do Átomo central
Alenila $a \equiv b^+ - \bar{c} : \longleftrightarrow : \bar{a} - b^+ \equiv c$	 (Linear)	sp
Alila $a = b^+ - \bar{c} : \longleftrightarrow : \bar{a} - b^+ = c$	 (Angular)	sp ²

Figura 16 – Geometria do 1,3-dipolo

A nomenclatura 1,3-dipolar está relacionada com os átomos do dipolo que interagem através dos orbitais moleculares com o dipolarófilo, não estando associada com as cargas formais existentes. Na figura 16 observamos os exemplos dos 1,3-dipolos alenila e alila que são aplicados nas reações de cicloadição 1,3-dipolar (Figura 17).

Alenila	Alila
$N \equiv N^+ - \bar{N} : \longleftrightarrow : \bar{N} = N^+ = N$ Azidas	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = \bar{O} : \longleftrightarrow \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = O$ Nitronas
$N \equiv N^+ - \bar{C} : \longleftrightarrow : \bar{N} = N^+ = \bar{C}$ Compostos diazo	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = \bar{N} : \longleftrightarrow \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = N$ Azometino Iminas
$-C \equiv N^+ - \bar{O} : \longleftrightarrow \bar{C} = N^+ = O$ Óxidos de Nitrila	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = \bar{C} : \longleftrightarrow \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - N^+ = C$ Ilídeos de Azometinos
$-C \equiv N^+ - \bar{C} : \longleftrightarrow \bar{C} = N^+ = C$ Ilídeos de Nitrila	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - O^+ = \bar{C} : \longleftrightarrow \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - O^+ = C$ Ilídeos de Carbonila
$-C \equiv N^+ - \bar{N} : \longleftrightarrow \bar{C} = N^+ = N$ Nitrila imidas	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - S^+ = \bar{C} : \longleftrightarrow \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \end{array} - S^+ = C$ Ilídeos de Tiocarbonilas

Figura 17 - Exemplos de 1,3 dipolos

Huisgen observou em seus trabalhos que a reação de cicloadição 1,3-dipolar ocorre de através do mecanismo concertado. Isso significa a existência de apenas uma etapa para a formação do cicloadutos.^{54,55}

Atualmente, a melhor teoria que explica esse mecanismo, bem como a região e estereosseletividade da cicloadição 1,3-dipolar é a dos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMO).⁵⁸

Nesse modelo os orbitais moleculares ocupados de mais alta energia (HOMO) e os orbitais moleculares desocupados de menor energia (LUMO) do 1,3-dipolo e do dipolarófilo são calculados juntamente com os coeficientes orbitais dos átomos que irão participar da ciclização.⁵⁸

Dependendo das energias relativas dos orbitais moleculares de fronteira do dipolo e do dipolarófilo, as reações dipolares podem ser classificadas em:

- Reações controladas pelos Orbitais HOMO do dipolo/ LUMO do Dipolarófilo
- Reações controladas pelos Orbitais LUMO do dipolo/ HOMO do Dipolarófilo
- Reações controladas pelos Orbitais HOMO e LUMO tanto do dipolo quanto do dipolarófilo.

Essa teoria foi empregada em nosso grupo de pesquisa por Dos Santos et al. quando foi desenvolvido excelentes trabalhos envolvendo cicloadição 1,3-dipolar de enamidas e enecarbamatos com *N*-óxido de nitrilas, expandindo a aplicação deste tipo de reação com enamidas e enecarbamatos endocíclicos de cinco membros.⁵⁹ Ele observou que as reações são controladas pelo HOMO das enamidas e os enecarbamatos (dipolarófilos), visto que são ricas em elétrons, e pelo LUMO do *N*-óxido de nitrila (1,3-dipolo) que sofre uma desativação de elétrons pela presença da carbonila.⁵⁹

3- OBJETIVOS

3.1 – Objetivos gerais

- ✓ Aplicação sintética visando a obtenção de novos compostos bioativos derivados do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, bem como averiguar as possíveis atividades anti-inflamatória e citotóxica (Figura 18).

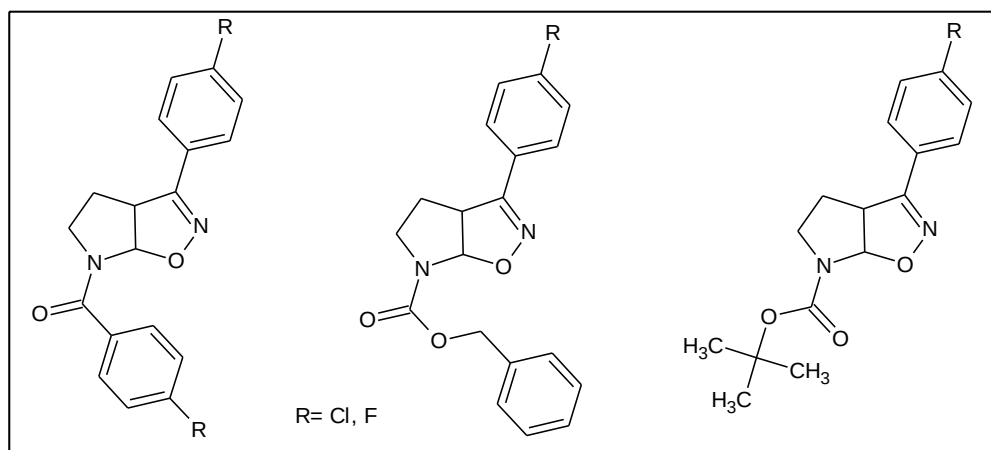


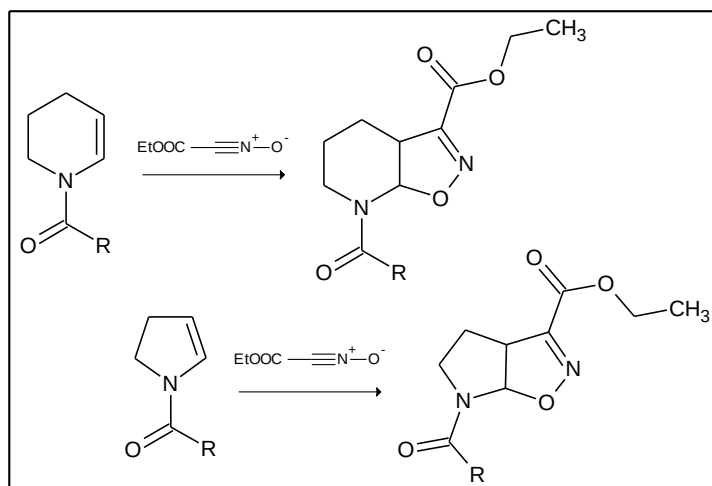
Figura 18 – Derivados do heterociclo 2-isoxazolina [5,4-*b*]pirrolidina inéditos.

3.2 – Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar os compostos derivados da 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina;
- ✓ Determinar a faixa de fusão das inéditas substâncias;
- ✓ Elucidar as estruturas das novas substâncias através de técnicas espectrométricas RMN de ^1H e ^{13}C (1D), Infravermelho (IV-FT) e Massas de Alta Resolução (HRMS);

4. METODOLOGIA

Em trabalhos passados, nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma metodologia envolvendo reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas endocíclicas de cinco e seis membros com *N*-óxidos de nitrila 23 (Esquema 5)^{18,59}.



Esquema 5 – Cicloadição 1,3-dipolar

No avanço do conhecimento dessa nova metodologia de obtenção do núcleo 2-isoxazolínico azabíclico, foram sintetizados novos derivados amidas isoxazolínicas racêmicas 24 e 25, de modo que seu planejamento estava vinculado à sua analogia aos fármacos indometacina 26 e a salicinamida 27, os quais são empregados como anti-inflamatórios (Figura 19).²¹

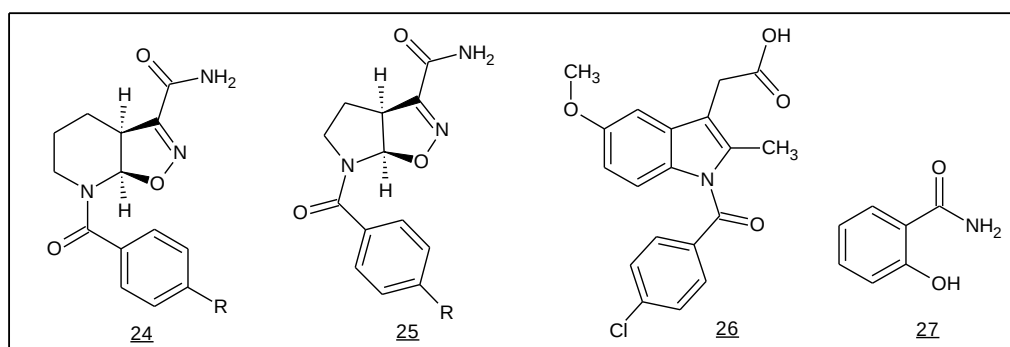


Figura 19 – Planejamento de amidas 2-isoxazolínica aza-bicíclica

Praticamente todos os inibidores específicos da COX-2 possuem uma característica em comum: Dois grupos arilas substituídos, ou não, ligados diretamente a um heterociclo, o qual funciona como um extensor nesses fármacos (Figura 20).

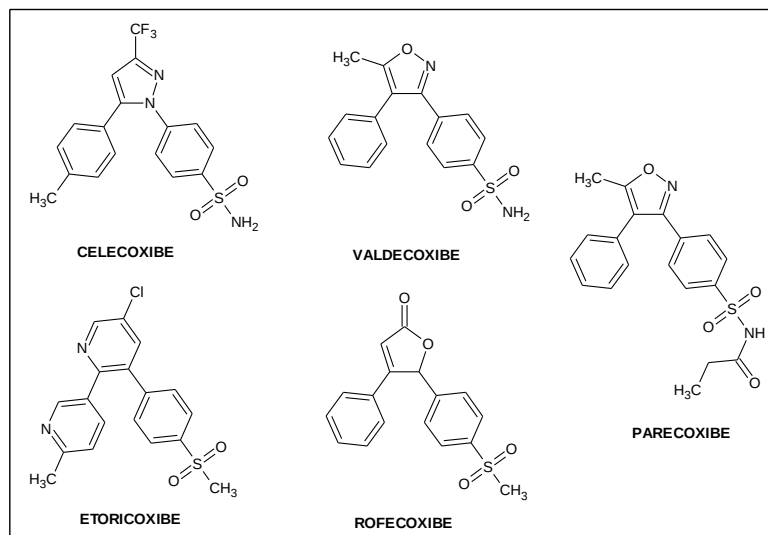


Figura 20 - Inibidores seletivos da COX-2

Com isso, foram sintetizadas inéditas moléculas contendo o heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina ariladas em C3 e benzoilados em N6.

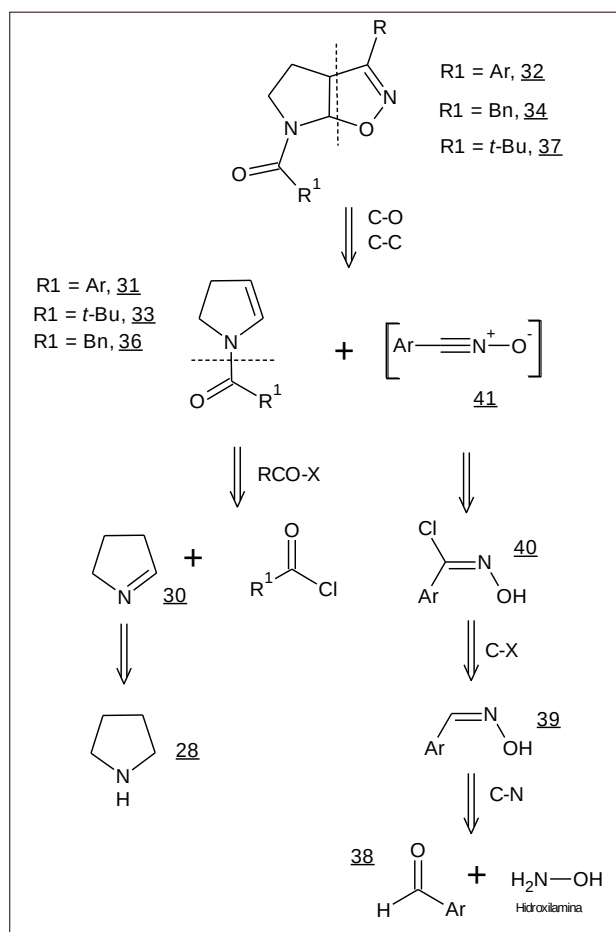
4.1 Análise retrossintética

Para obtermos as moléculas-alvo, analisamos as possíveis rotas sintéticas através da análise retrossintética (Esquema 6). Por conseguinte, aplicando os princípios da retrossíntese, efetuamos uma desconexão na região central da molécula de modo que, identificamos duas desconexões: uma C-C e outra C-O.

Avaliando inicialmente que as moléculas finais é um biciclo, os equivalentes sintéticos serão reagentes de uma reação de ciclização. Considerando em segundo plano que, os dois ciclos possuem cinco membros, os equivalente sintéticos devem favorecer a formação de anéis de cinco membros. Logo, identificamos que a reação de cicloadição 1,3-dipolar é uma excelente opção, visto que, a partir de um alqueno cíclico com um dipolo obteríamos um biciclo.

Considerando que um dos ciclos é um anel isoxazolinico, o equivalente sintético imediato é o dipolo alenila *N*-óxido de nitrila **41** e o outro ciclo seria um

alqueno cíclico, tendo como equivalente sintético a enamida 31 ou um enecarbamato 33 e 36.



Esquema 6 – Retrossíntese dos cicloadutos isoxazolínicos azabiciclos.

Seguindo a análise retrossintética, traçamos duas vias distintas: Uma para obtermos os reagentes para a síntese das enamidas e enecarbamatos; e outra para a obtenção dos *N*-óxidos de nitrila.

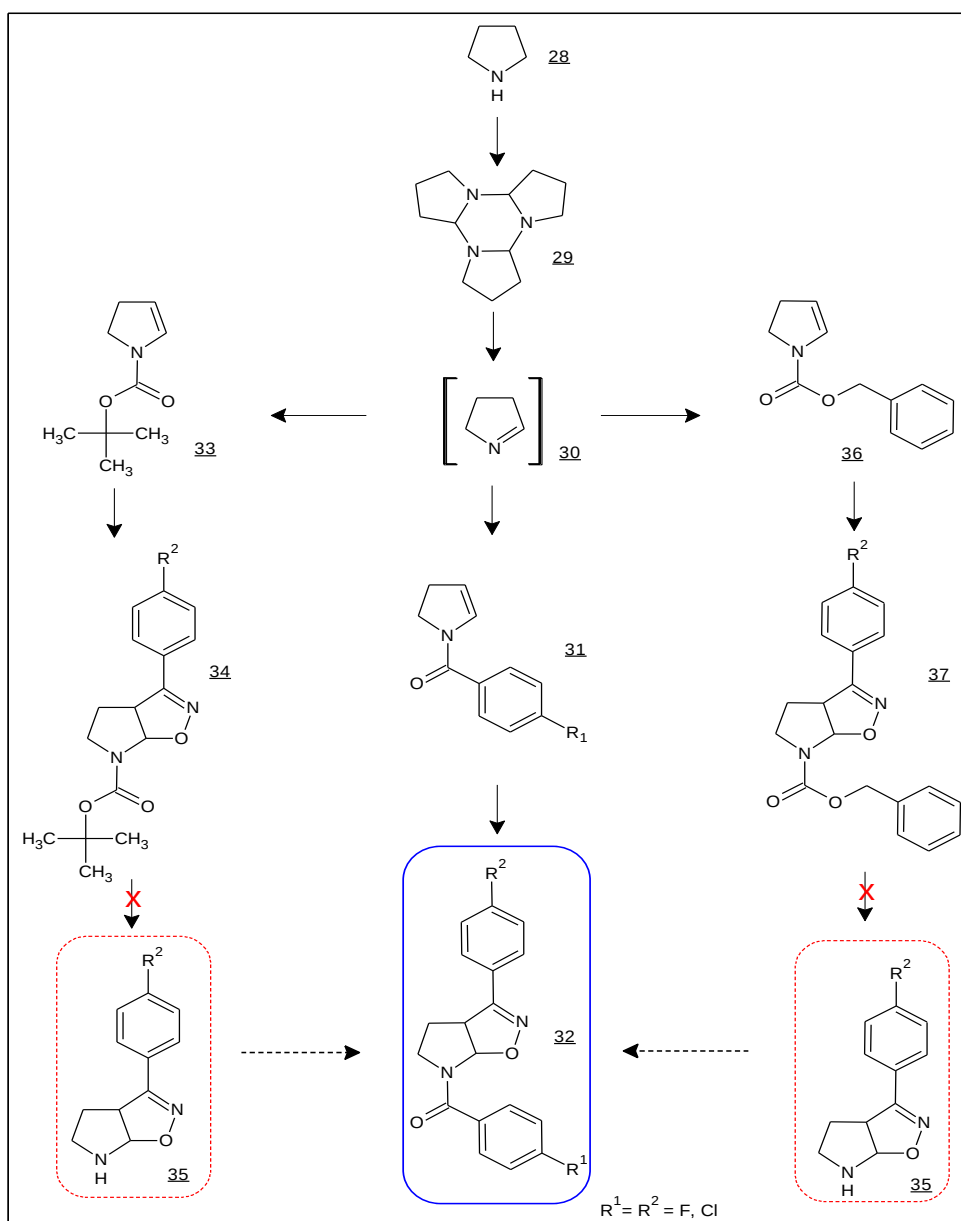
Em uma das vias, ao efetuarmos uma desconexão RCO-X nas enamidas 31 e os enecarbamatos 33 e 36, obtivemos os seguintes equivalentes sintéticos: os cloretos de benzoílas *p*-substituídos; e o monômero da 1-pirrolina 30, o qual não pode ser obtida comercialmente, porém pode ser obtida pela oxidação pirrolidina 28, a qual está disponível comercialmente.

No outro caminho, observamos que os *N*-óxidos de nitrilas 41 são oriundos dos cloretos de hidroximinóilas 40. Para tal, traçamos uma desconexão C-X , identificando que os intermediários sintéticos seriam as oximas 39 e doador de cloro (NCS). Seguindo a retrossíntese ao desconectar a ligação C-N das oximas 39,

chegamos aos produtos de partida nessa via, os aldeídos aromáticos **38** e a hidroxilamina.

4.2 Síntese

A partir da pirrolidina **28** obtivemos monômero da pirrolina **30**. As enamidas endocíclicas **31** foram obtidas reagindo o monômero com os cloretos de benzoílas *p*-substituídos. Após a cicloadição 1,3-dipolar das enamidas **31** com os N-óxidos de nitrila, gerados *in situ*, os cicloadutos isoxazolínicos **32** foram sintetizados (Esquema 7).

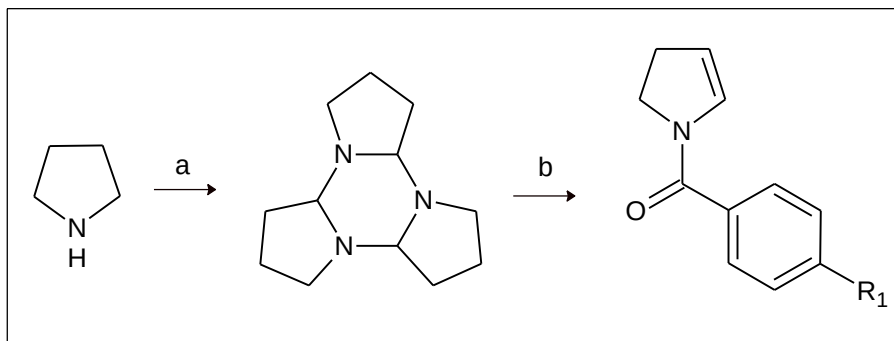


Com o intuito de observar a influência da funcionalização em N6 no núcleo azabíciclo, anteriormente havíamos planejado sintetizar os mesmos compostos 32, porém passando por um intermediário arilado apenas em C3 35 para averiguar seu comportamento nos ensaios biológicos preliminares.

Para tais requisitos, sintetizamos enecarbamatos endocíclicos reagindo o monômero 1-pirrolina 30, com os grupos protetores BOC 33 e CBZ 36. Os mesmos foram submetidos à reação com os *N*-óxidos de nitrila, obtendo-se os cicloadutos 34 e 37. Após a remoção dos grupos protetores, obteríamos o composto 35 e em seguida, após *N*-acilação com cloretos de benzoílas os produtos finais 32 seriam obtidos. Porém não foi possível obter o produto 35, por questões de reatividade e estabilidade do intermediário 35 (Esquema 7).

5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 – Obtenção das enamidas endocíclicas 31

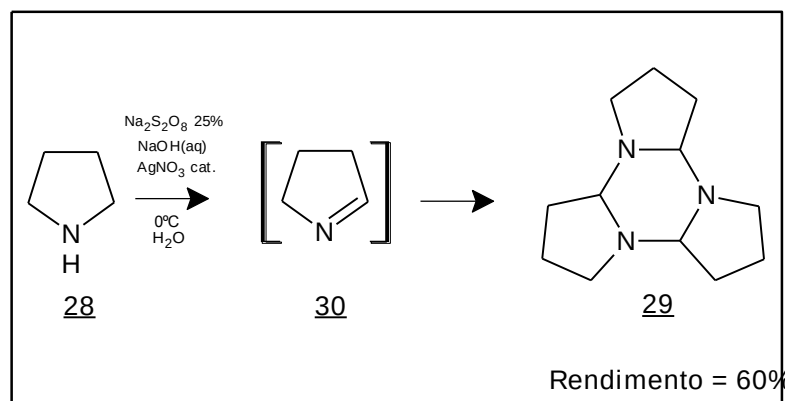


Esquema 8 – Síntese das enamidas endocíclicas 31

Para a obtenção das enamida 31, passamos por duas etapas. Na primeira (etapa a) utilizamos a metodologia desenvolvida e amplamente utilizada em nosso grupo de pesquisa, descrita em trabalhos anteriores.⁵⁹ Na segunda (etapa b) introduzimos um novo método utilizando o ultrassom (Esquema 8).

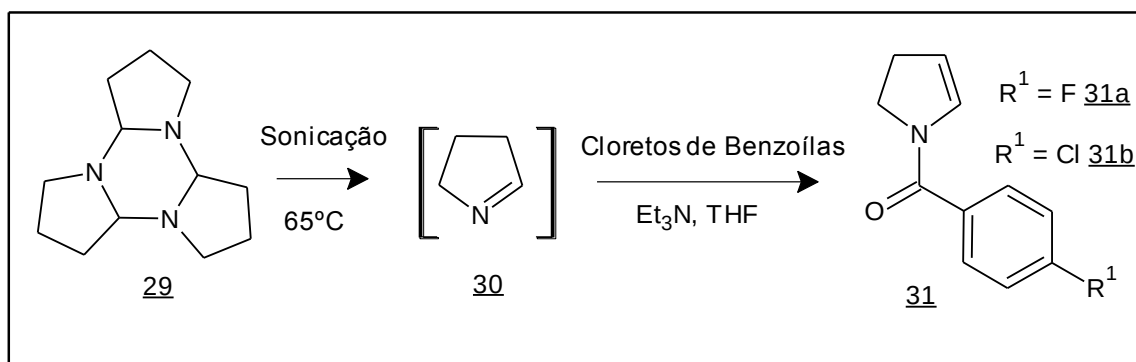
5.1.1 – Preparação do trímero da 1-pirrolina

A Δ^1 -pirrolina 30 foi obtida através da oxidação catalítica da pirrolidina, pelo persulfato de sódio, em meio básico e AgNO_3 como catalisador. Devido à sua elevada reatividade, o monômero trimeriza no meio reacional, obtendo seu respectivo trímero 29 (Esquema 9).⁶⁰



Esquema 9 – Obtenção do trímero da Δ^1 -pirrolina

5.1.2 – Síntese das enamidas endocíclicas 31



Esquema 10 – Síntese das enamidas endocíclicas de cinco membros

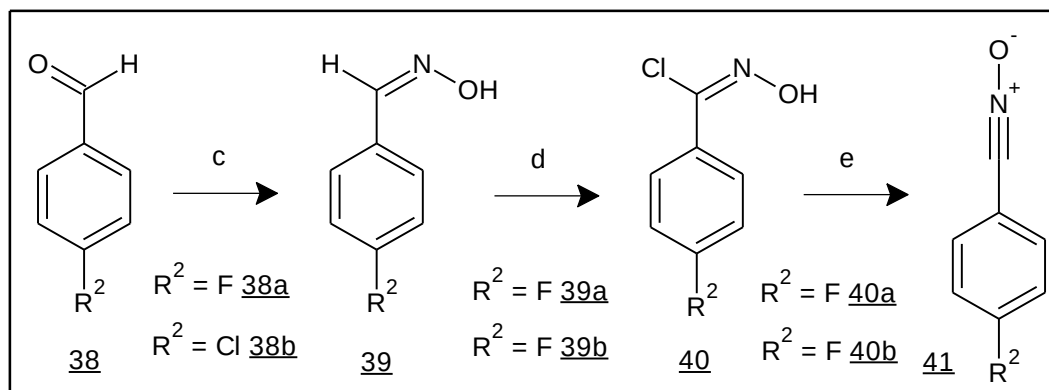
A enamida endocíclica de cinco membros 31 foi sintetizada através da *N*-acilação da Δ^1 -pirrolina 30. Como podemos observar no Esquema 10, para que a acilação se proceda, é necessário que ocorra a destrimerização do trímero 29. Em trabalhos anteriores, nosso laboratório aperfeiçoou uma metodologia para a obtenção de enamidas endocíclicas de cinco membros a partir do trímero da Δ^1 -pirrolina. Nesse método, o trímero 29 destrimerizava sob refluxo em THF.⁵⁹

No presente trabalho, desenvolvemos um novo método de obtenção de enamidas endocíclicas. Além do aquecimento, utilizamos a sonicação para a destrimerização do composto 29. Como podemos observar na tabela 1, esse novo método demonstra ser superior ao procedimento antigo em três importantes aspectos: Preparação da reação, tempo de reação e rendimentos. Para fins didáticos classificamos o método anterior como **MÉTODO A** e o novo empregado como **MÉTODO B**.

MÉTODO	CONDIÇÃO	TEMPO	RENDIMENTO
A	CODESTILAÇÃO THF	4 HORAS	<i>p</i> -F = 20%
B	MATERIAL BRUTO	2 HORAS	<i>p</i> -F = 32% <i>p</i> -Cl = 42%

Tabela 1 – Comparação dos métodos empregados para a obtenção de enamidas endocíclicas de cinco membros 31

5.2 – Obtenção dos *N*-óxidos de nitrila 41

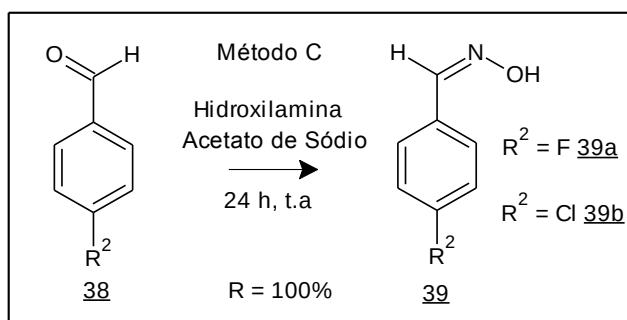


Para a geração dos *N*-óxidos de nitrila 41, utilizamos uma metodologia que recentemente foi otimizada e adaptada em nosso laboratório.^{21,61} Consiste em três etapas, tendo como material de partida o benzaldeído *p*-substituído 38, disponível comercialmente (Esquema 11).

5.2.1 – Síntese das benzaldoximas *p*-substituídas

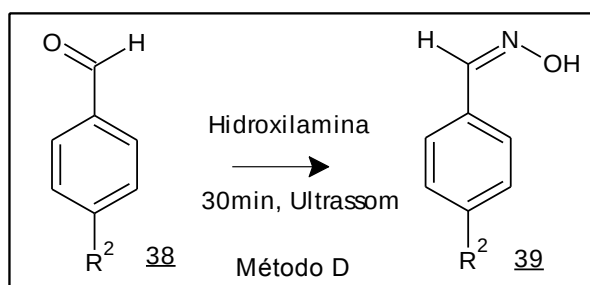
Para a obtenção das benzaldoximas *p*-substituídas 39 dois métodos foram aplicados. Ambos os métodos foram utilizados a hidroxilamina e benzaldeídos *p*-substituídos como reagente.

O primeiro método (Método C), aplicado em trabalhos recentes no nosso grupo, consiste na formação das oximas em temperatura ambiente, sob agitação, por 24h, na presença de uma base, acetato de sódio (Esquema 12).⁶¹



No presente trabalho, introduzimos um segundo método (Método D), no qual utilizamos o ultrassom para a formação das benzaldoximas 39. Em 30 minutos de

sonicação obtivemos os produtos desejáveis 39 com excelentes rendimentos ($R^2 = F$, 91%; $Cl = 95\%$), (Esquema 13).⁶²



Esquema 13 – Obtenção das oxima via ultrassom

Ainda que o método C tenha propiciado rendimentos quantitativos, concluímos que a utilização do método D é mais interessante, pois além de ótimos rendimentos, o tempo de reação é muito inferior, consumindo quantidade menor de reagentes, tanto no procedimento reacional, quanto nas etapas de purificação.

É valido salientar que a nucleofilia dos átomos da hidroxilamina altera de acordo com o valor do pH (Figura 21). Logo no método C, o meio básico, favorece a desprotonação do hidrogênio ligado ao átomo de oxigênio, tornando uma espécie mais reativa, dessa forma, ocorrendo o ataque do grupo amina ao carbono da carbonila do aldeído.⁶³

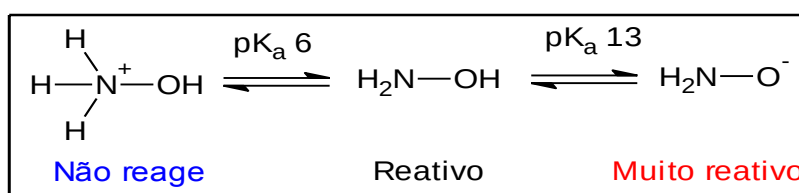
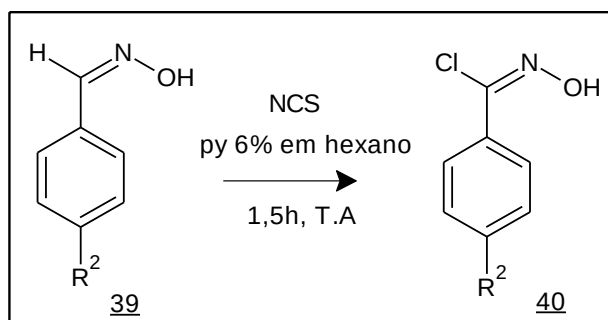


Figura 21 – Reatividade da hidroxilamina

No método D, a energia da irradiação ultrassônica, acelera a condensação dos aldeídos com o cloridrato de hidroxilamina. Isso pode ser explicado pelo fenômeno da cavitação, no qual são geradas microbolhas no líquido, quando uma elevada pressão negativa é aplicada sobre ele. Uma grande quantidade de energia é produzida quando as microbolhas são desfeitas (colapsadas). Estima-se que a temperatura de 5000K e a pressão de milhares de atmosferas são geradas no colapso da microbolhas, o que ocasiona uma reação muito rápida.⁶²

O composto 39 é conhecido e já foi relatado na literatura, logo para identificá-lo mensuramos o seu R_f , faixa de fusão e espectro no Infravermelho.

5.2.2 – Obtenção do cloreto de hidroxiiminoíla 40



Esquema 14 – Obtenção dos Cloretos de Hidroxiiminoílas

O cloreto de hidroxiiminoíla 40, precursor do *N*-óxido de nitrila, foi obtido através da cloração ao composto 39. O doador de cloro utilizado foi *N*-clorossuccinimida (NCS), obtido comercialmente, utilizando-se uma solução de piridina 6% em hexano como catalisador (Esquema 14).⁶¹ Relatos na literatura sugerem que o mecanismo proposto para esta reação é uma adição eletrolítica.^{62, 63}

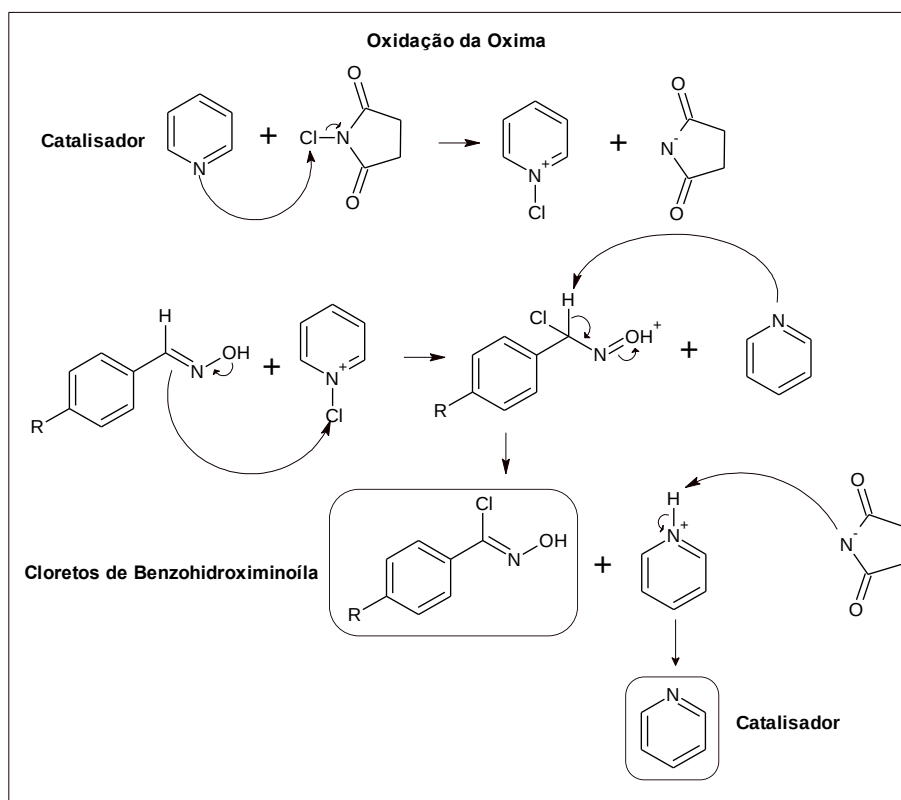


Figura 22 – Síntese dos Cloretos de Hidroxiiminoílas

Essa etapa é muito delicada, uma vez que os cloretos de hidroxiiminoíla são altamente reativos, e em alguns minutos visualizamos a formação do seu dímero 42, formando um derivado contendo o núcleo 1,2,5-oxadiazol-2-óxido (Figura 23).

Segundo relatos da literatura a formação do dímero é comum para alguns precursores do *N*-óxidos de nitrila.^{64, 65} No início da nossa pesquisa, essa etapa tinha que ser programada de tal maneira que a reação de cicloadição deveria ocorrer no mesmo dia, pois os cloretos de hidroxiiminoílas degradavam no seu respectivo dímero. Com o melhor domínio da síntese, observamos que após completa remoção de solvente, os cloretos mostravam-se ser sólidos, dessa forma foi possível armazená-los de 2 a 3 dias, sem observar sinais de degradação. Esse tempo de degradação foi expandido para uma semana, quando armazenamos os cloretos de hidroxiiminoílas dissolvidos em solvente propício, contendo como agente secante, o sulfato de sódio anidro.

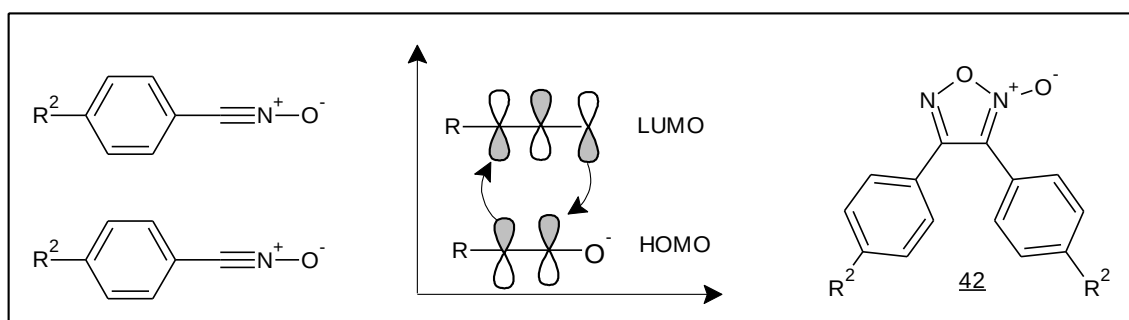
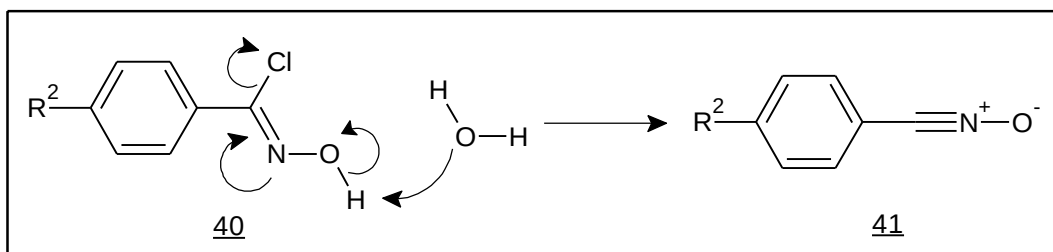


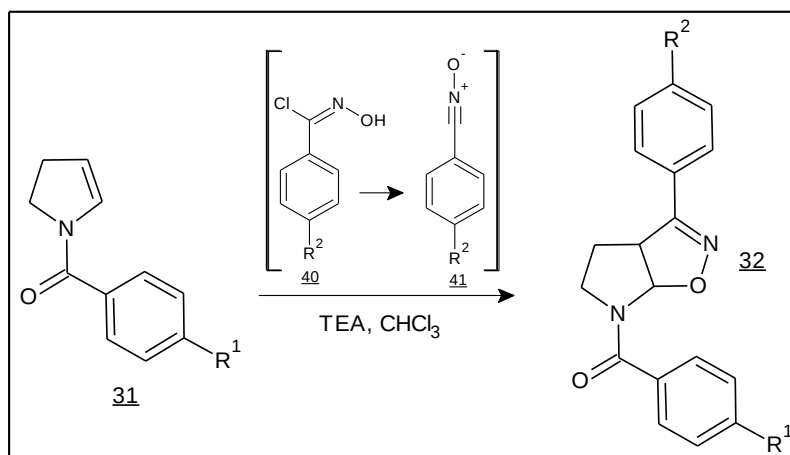
Figura 23 – Dímero do *N*-óxido de nitrila 41

Provavelmente resquícios de água presente no meio reacional atuam como base para a formação do *N*-óxido de nitrila, culminando com a dimerização (Esquema 14).



Esquema 15 – Mecanismo de formação dos *N*-óxidos de nitrila, com a água agindo como base

5.3 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas **31** com *N*-óxidos de nitrila **41**.



Esquema 16 – Cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas e *N*-óxidos de nitrila

Em trabalhos anteriores nosso grupo de pesquisa obteve o núcleo pirrolina[5,4-*b*]-2-isoxazolina através da cicloadição 1,3-dipolar do enecarbamato endocíclico *N*-(benziloxicarbonil)-2-pirrolina com óxido de carboetoxiformonitrila (CEFENO) com rendimentos de 70%.^{18,20,21,59}

No presente trabalho aplicamos a mesma metodologia acima citada, porém utilizando os *N*-óxidos de aril nitrila **41** e as enamidas endocíclicas **31**. Os *N*-óxidos de nitrilas foram produzidos, *in situ*, na presença de uma base, a partir do precursor cloreto de hidroxminoíla **40** (Esquema 16).

Os cicloadutos **32** foram identificados por métodos espectrométricos. Os resultados obtidos demonstraram ser bastante promissores, com rendimentos acima de 50%. Adotando o cicloaduto **32** com $R^1 = \text{Cl}$ e $R^2 = \text{F}$ como referencia, todas as considerações dos espectros de RMN de ^{13}C e ^1H abordadas para esse heterobiciclo, são semelhantes aos demais produtos finais **32** obtidos.

Um sinal bem característico, indicando que a reação de cicloadição 1,3-dipolar ocorreu, é identificado no espectro de RMN C^{13} um sinal, cujo deslocamento químico corresponde a 94 ppm, que reflete estar sob forte desblindagem, pertence ao carbono terciário **6a** da junção dos anéis, sendo a intensa desblindagem oriunda dos heteroátomos oxigênio e nitrogênio ligados diretamente a esse carbono, além a tensão anelar (Figuras 24 e 25).

O sinal do outro carbono da junção dois anéis **3a**, apresenta deslocamento de 52 ppm, característico de carbono CH com os efeitos eletrônicos que apresenta. Ainda no espectro de RMN ^{13}C , identificamos dois sinais um 43 ppm e outro em 28ppm. Esta faixa do espectro é bem característica de carbono de metileno, logo o sinal que corresponde ao carbono mais desblindado, em 43ppm, pertence ao átomo de carbono ligado diretamente ao nitrogênio, por conseguinte, o C4 tem deslocamento de 28ppm (Figuras 24 e 25).

Uma peculiaridade foi observada, sendo presente apenas em moléculas que apresenta a ligação carbono-flúor. O espectro de RMN ^{13}C sugere, em princípio, a existência de dois singletos com deslocamento de 165 ppm e outro com 162 ppm, porém este é um único sinal cuja a multiplicidade é dubleto, correspondendo ao acoplamento J^1 de 250Hz entre o átomo de carbono com o átomo de flúor (Figura 25).

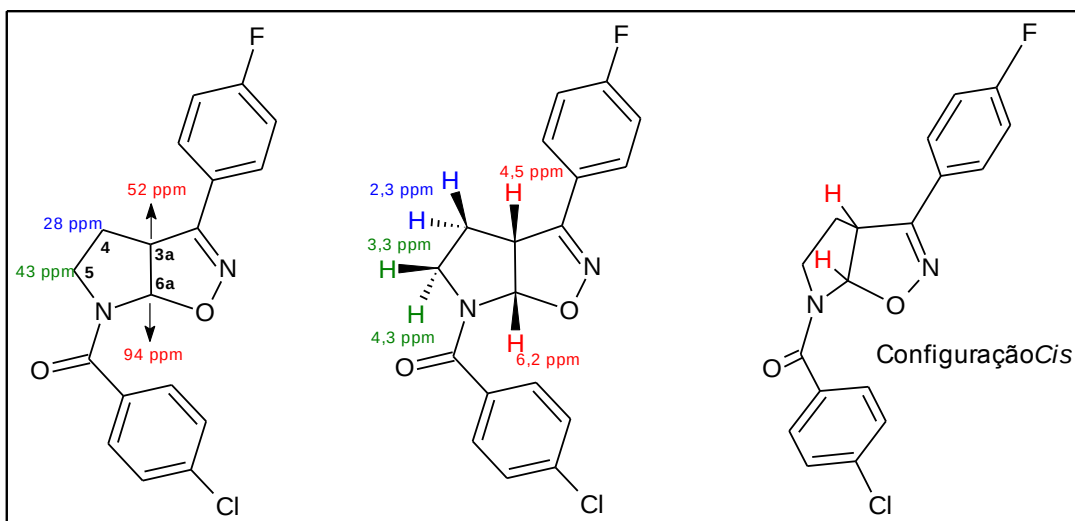


Figura 24 – Cicloaduto com configuração relativa *cis*

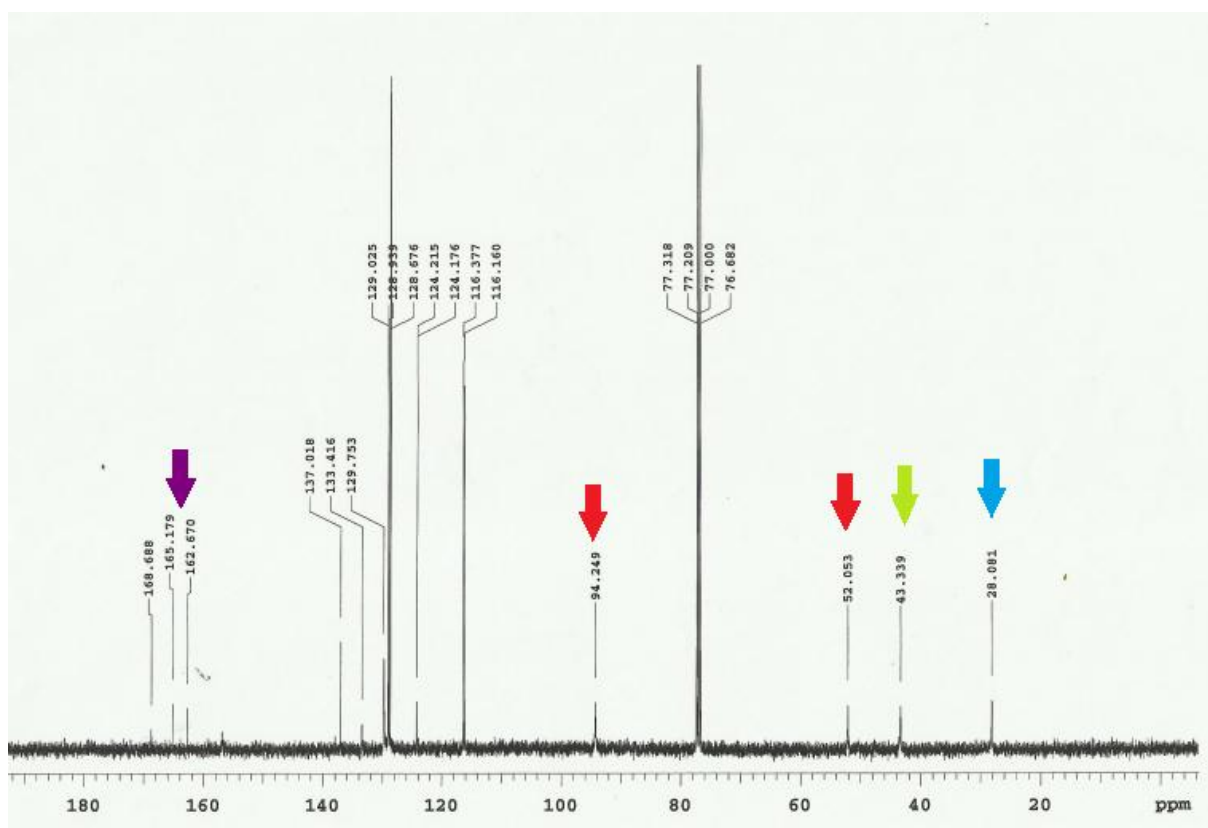


Figura 25 – Espectro de RMN de ^{13}C do cicloaduto 32 com $\text{R}^1 = \text{Cl}$ e $\text{R}^2 = \text{F}$

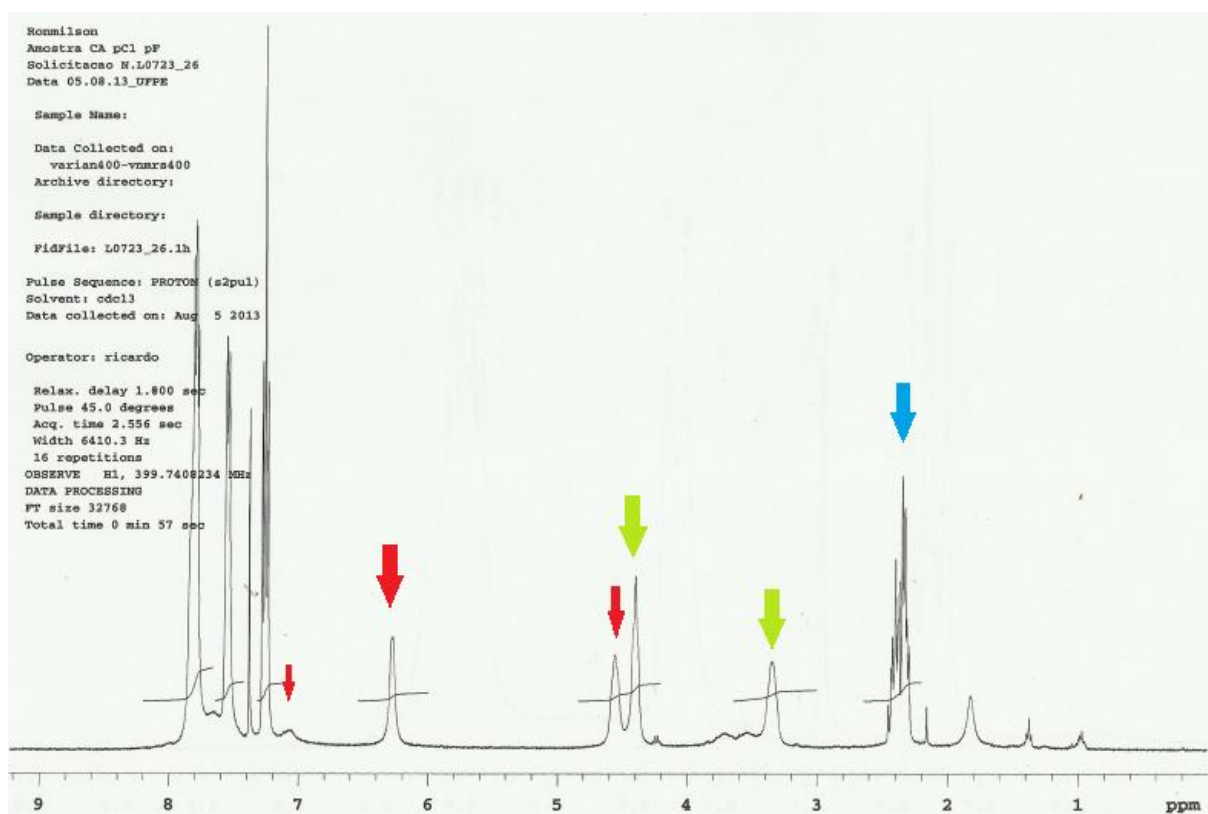


Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H do cicloaduto 32 com $\text{R}^1 = \text{Cl}$ e $\text{R}^2 = \text{F}$

Nos espectros de RMN de C^{13} e H^1 dos heterobiciclos 32 identificamos a presença de rotâmeros que são conhecidos também como confôrmeros rotacionais. Esse fenômeno era previsto, uma vez que, esse comportamento é bem característico em estruturas com ligações amídicas e carbamídicas. Com isso, os sinais dos núcleos de H^1 e C^{13} em RMN próximos da ligação amídica no azabicyclo, se apresentam duplicados, e em algumas situações, tem deslocamentos químicos muito similares, dificultando a identificação da multiplicidade dos sinais e por consequência, a confirmação dos prováveis acoplamentos entre os átomos de hidrogênio (Figura 26).

Quanto mais próximo da ligação amídica, mais intenso é o fenômeno, e os sinais dos rotâmeros apresentam deslocamentos químicos bem distintos. Por exemplo, no cicloaduto com $R^1 = Cl$ e $R^2 = F$, o hidrogênio ligado ao **C3a** tem dois sinais: Um dos rotâmeros é bem característico da formação do heterobicyclo 2-isoxazolina[2,3-*d*]pirrolidina, apresentando deslocamento de 6,2 ppm, já o seu confôrmero rotacional tem um sinal bem fraco, quase imperceptível no espectro, com área pequena, tendo deslocamento ligeiramente acima de 7 ppm. Este ciclo mostra que um dos rotâmeros é majoritário em relação ao outro.

Pelo mesmo raciocínio, à medida que afastamos da ligação amídica, menos pronunciado é o efeito, mais próximos então são os sinais dos rotâmeros. O fenômeno dos rotâmeros pode ser nitidamente visualizado nos espectros de RMN de 1H dos enecarbamatos 34 e 37, visto que, a proporção entre os rotâmeros é mais equitativa e os referidos sinais são mais nítidos nos espectros.

Através da elucidação dos espectros dos compostos 32, bem como a observação da cromatografia em camada delgada em vários eluentes, observamos que o cicloaduto obtido é régio e diastereosseletivo, havendo apenas a formação de um par de enantiômeros com configuração relativa *cis* (Figura 24). Quando analisamos o mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar, evidenciamos que tais características eram esperadas para a reação, visto que, existe a presença de um dipolarófilo altamente polarizado (enamida) e um dipolo alenila, ou seja, com geometria linear que sofre uma acentuada desativação pelo anel aromático, diminuindo a energia do seu orbital LUMO.

Ainda em nosso grupo de pesquisa, Dos Santos descreveu uma proposta de mecanismo para cicloadição 1,3-dipolar com enamidas e enecarbamatos

endocíclicos de 5 membros com *N*-óxidos de nitrila, baseado em um mecanismo de cicloadição não concertado. Nesse caso, observamos que ocorre a formação de um intermediário *N*-acil-imínio dipolar, que interage com o então formado *N*-óxido-imínio, que devido à sua disposição espacial possibilitará a adição do oxigênio ao carbono do acil-imínio (Figura 27).⁵⁹

Em seus trabalhos, Polissier observou que, quando o dipolo é estabilizado por ressonância, devido à presença de um heteroátomo (O, N e S), um mecanismo não concertado é viável. Essa conclusão entra em consonância com a proposta de mecanismo não concertado desenvolvido por Dos santos e pelo qual também nossa cicloadição é dirigida.⁶⁶

Uma segunda proposta de mecanismo para a cicloadição 1,3-dipolar consiste na reação concertada e não sincronizada. É pouco provável que essa mecânica ocorra devido aos atributos estereo-eletrônicos do *N*-óxido de nitrila e das enamidas (Figura 28).

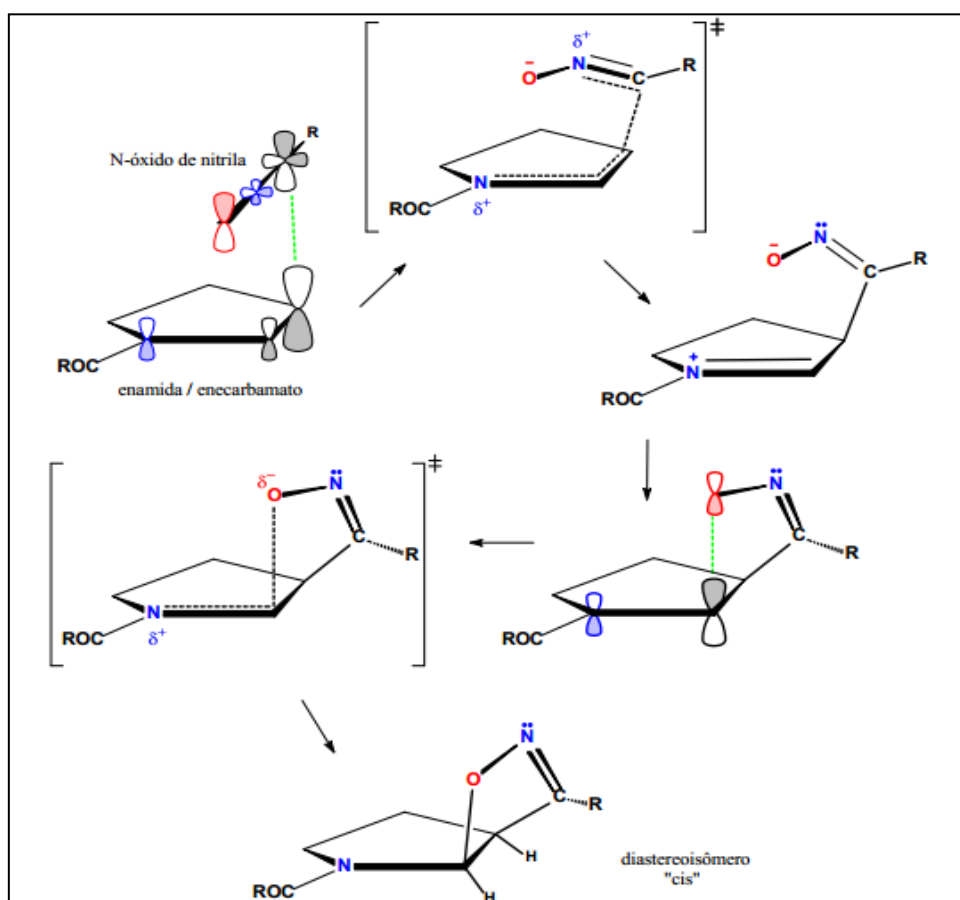


Figura 27 – Mecanismo dipolar não concertado

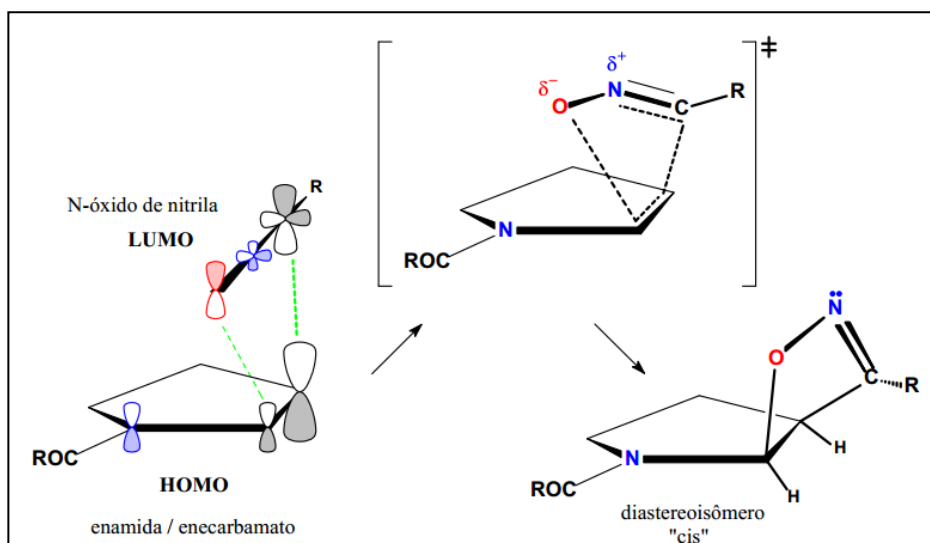
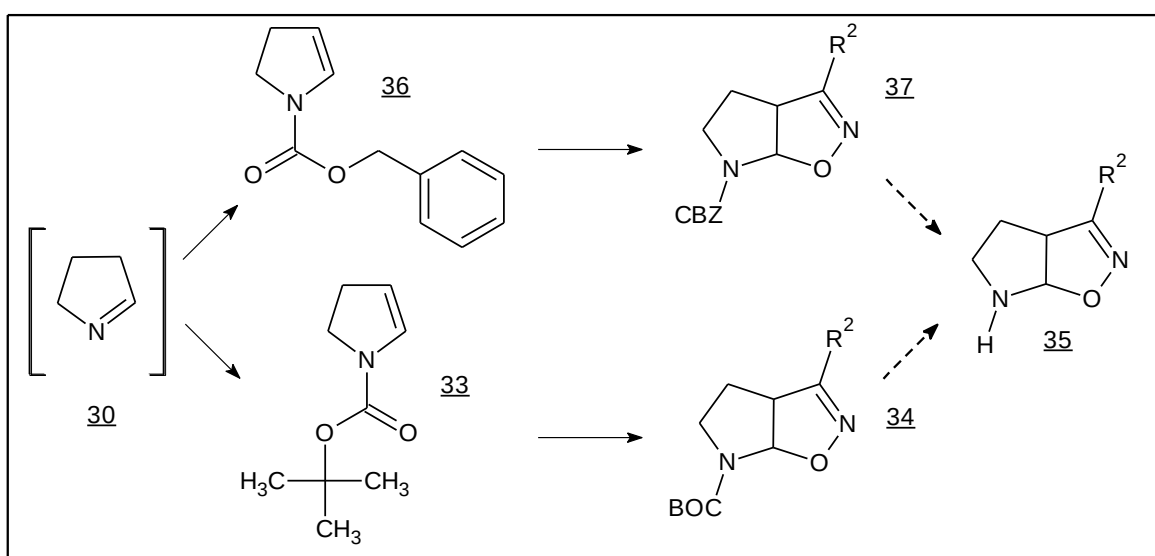


Figura 28 – Mecanismo dipolar concertado não sincronizado

5.4 – Obtenção das 3-*aril*-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina 35



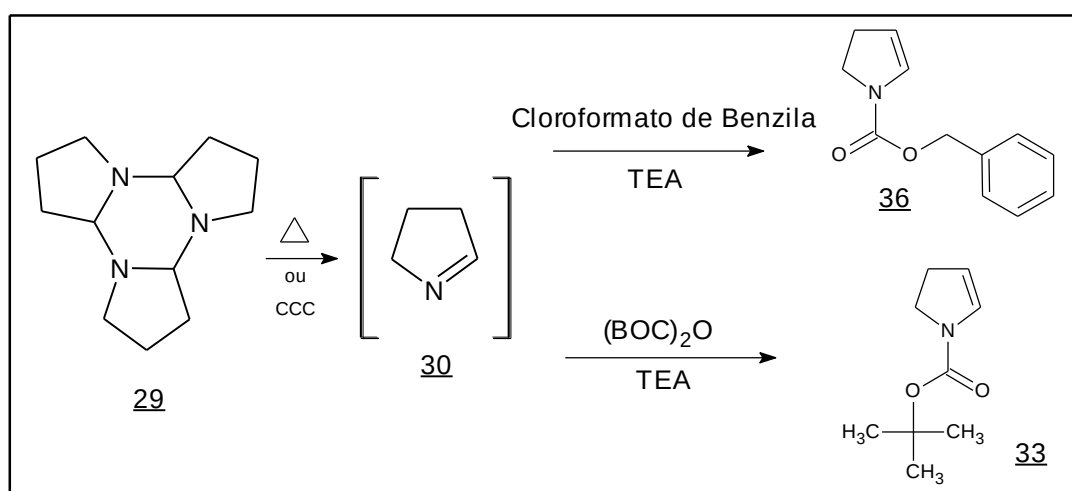
Esquema 17 – Rota para obtenção dos derivados 2-isoxazolinicos arilados em C3

Durante a execução do trabalho, vislumbramos outra via para obter os cicloadutos 32. O principal interesse nessa nova rota seria a possibilidade de sintetizar, identificar e observar o comportamento nos ensaios biológicos dos inéditos compostos 35, visto que, os mesmo teriam a porção N6 livre, diferentemente dos produtos finais 32, benzoilados em N6. Inicialmente idealizamos a obtenção dos cicloadutos 34, que com remoção do grupo protetor obteríamos os derivados 3-*aril*-2-isoxazolinicos aza-biciclos 35. Os cicloadutos 34 e 37 foram obtidos através da cicloadição 1,3-dipolar dos respectivos enecarbamatos

endocíclicos 33 e 36 com os *N*-óxidos de nitrila 41 (Esquema 17). Infelizmente, por fatores que serão discutidos mais adiante o produto 35 não pôde ser obtido.

5.4.1 – Obtenção do enecarbamato endocíclicos 33 e 36

A mesma metodologia (método B) que sintetizamos as enamidas a partir do trímero Δ^1 -pirrolina 30, aplicamos para a síntese do enecarbamato endocíclico 36.



Esquema 18 – Obtenção dos enecarbamatos

Destrimerizamos o trímero 29 no seu respectivo monômero de cinco membros, através da irradiação ultrassônica, com posterior acilação do nitrogênio. Diferente da síntese das enamidas endocíclicas, onde os rendimentos demonstram serem bem promissores, quando comparados ao método tradicional (método A), o rendimento obtido com o enecarbamato endocíclico 36 foi inferior ao método anterior. Em relação ao tempo de reação, observamos que o método B é mais viável. Além disso, utilizando o ultrassom aplicamos o trímero bruto, sem a codestilação prévia do mesmo com THF (Tabela 2).

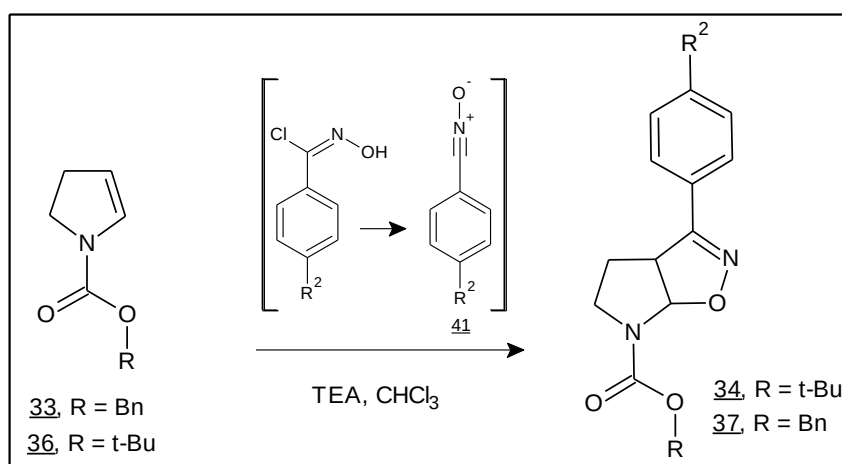
MÉTODO	CONDIÇÃO	TEMPO	RENDIMENTO
A	CODESTILAÇÃO THF	4 HORAS	CBZ - 67%
B	MATERIAL BRUTO	1,5 HORAS	CBZ - 50%

Tabela 2- Comparação dos métodos empregados para a obtenção de enecarbamatos endocíclicos de cinco membros

Para a síntese do enecarbamato 33 não foi empregado a metodologia com o ultrassom por falta de estudos prévios sobre o comportamento dos reagentes quando submetidos à irradiação ultrassônica. Dessa forma foi preferível aplicar o método anterior no qual a destrimerização foi realizada através do aquecimento com a codestilação do THF.

Os enecarbamatos endocíclicos são materiais de partida utilizados comumente em nosso grupo de pesquisa sendo identificados através da observação em cromatografia de camada delgada do seu R_f , utilizando como reveladores a radiação ultravioleta e o iodo, visto que ocorre uma acentuada conjugação do grupamento enecarbamato, favorecendo a adsorção do iodo pela ligação dupla.

5.4.2 - Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as enecarbamatos endocíclicos 33 e 36 com *N*-óxidos de nitrila 41.



Esquema 19 – Cicloadição 1,3-dipolar

A reação de cicloadição 1,3-dipolar dos enecarbamatos endocíclicos com os *N*-óxidos de nitrila 41 é semelhante à reação entre as enamidas endocíclicas 31 com os *N*-óxidos de nitrila 41 para obter o produto final 32.

Os rendimentos, tanto com o grupo protetor BOC quanto com o CBZ, foram maiores que 70%, sendo superiores aos rendimentos obtidos quando o dipolarófilo empregado foram as enamidas acima de 50%. Isso é facilmente explicado quando observamos as estruturas das enamidas 31 e dos enecarbamatos 33 e 36. Nas enamidas observamos que existe uma acentuada ressonância entre os átomos de nitrogênio e oxigênio da carbonila, que provavelmente, diminui a energia do HOMO

do dipolarófilo, tornando-o menos reativo. No enecarbamato a mesma estrutura ressonante é possível, embora seja menos pronunciada, pois o mesmo oxigênio da carbonila entra também em ressonância com outro átomo de oxigênio da função enecarbamato, dessa forma, tornando relativamente a ligação dupla mais reativa (Figura 29).

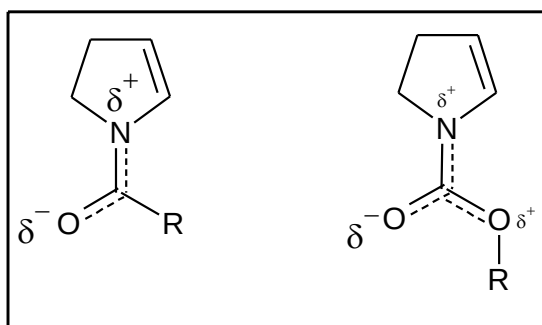


Figura 29 – Híbridos de Ressonância da enamida e do enecarbamato

Os cicloadutos formados foram devidamente identificados através da análise dos espectro de RMN ^1H .

Assim como no espectro de RMN de ^1H dos cicloadutos oriundo das enamidas, observamos também, de forma mais intensa, a presença dos rotâmeros no espectro dos cicloadutos provenientes dos enecarbamatos (Figura 31).

Ao analisarmos o espectro de RMN ^1H do cicloaduto protegido com CBZ 37, identificamos um sinal com deslocamento químico em 6,4 ppm, cuja multiplicidade é um dubleto, indicando acoplamento entre dois átomos de hidrogênio, sofrendo intensa desblindagem, sendo bem característico. Esse sinal corresponde ao hidrogênio do carbono da junção dos anéis **6a**. O seu rotâmero surge muito próximo com deslocamento de 6,5 ppm (Figura 30 e 31).

O outro átomo do hidrogênio ligado ao carbono **3a** tem deslocamento químico em 4,2 ppm, a multiplicidade esperada é tripleto, visto que acopla com o outro hidrogênio da junção dos anéis e com apenas um dos dois hidrogênios do C4. Devido à distância da ligação carbamídica desse hidrogênio, não observamos rotâmeros. Os hidrogênios metilênicos em C4 e C5 são diastereotópicos, logo, apresentaram sinais distintos no espectro de RMN ^1H . Para os dois hidrogênios do C4, os deslocamentos são 2,1 ppm e 2,3 ppm, já os hidrogênios do C5 apresentam deslocamentos químicos de 3,8 ppm e 3,1ppm, respectivamente.

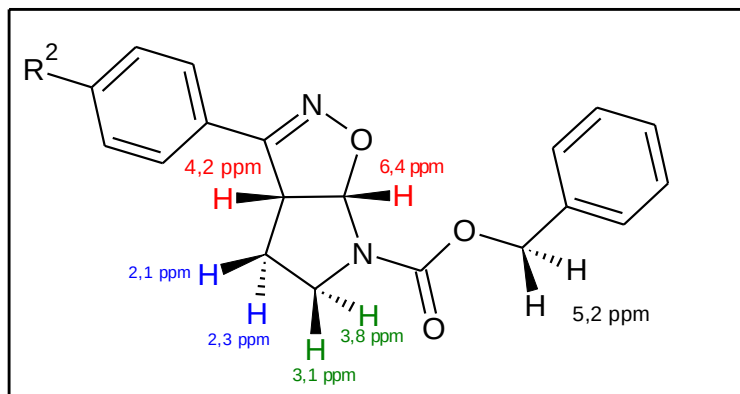


Figura 30 – Deslocamentos químicos dos cicloadutos protegidos com CBZ

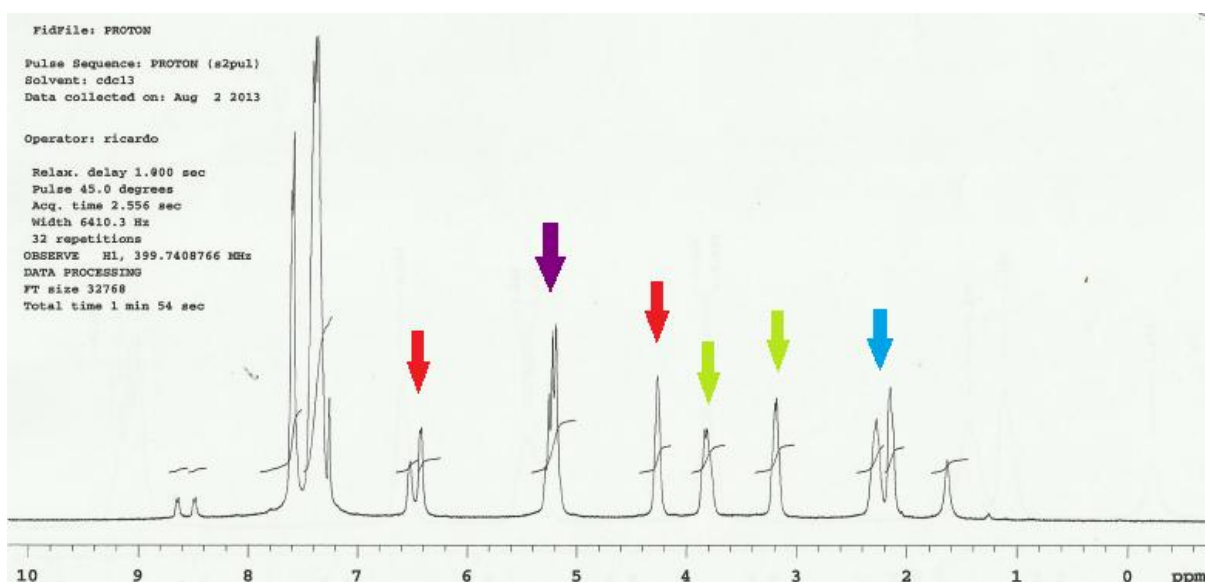


Figura 31 – Espectro de RMN de ¹H do cicloaduto 37 com R² = Cl

No espectro de RMN de ¹H dos cicloadutos protegidos com BOC, evidenciamos que os hidrogênios do biciclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina apresentavam comportamentos magnéticos semelhantes, àqueles hidrogênios do cicloaduto protegido com CBZ. Outro atributo semelhante entre os dois enecarbamatos foi a presença de confôrmeros rotacionais, que assim como ocorrido com a enamidas, dificultam a identificação da multiplicidade dos sinais, pois os deslocamentos dos rotâmeros eram muito próximos (Figura 32 e 33).

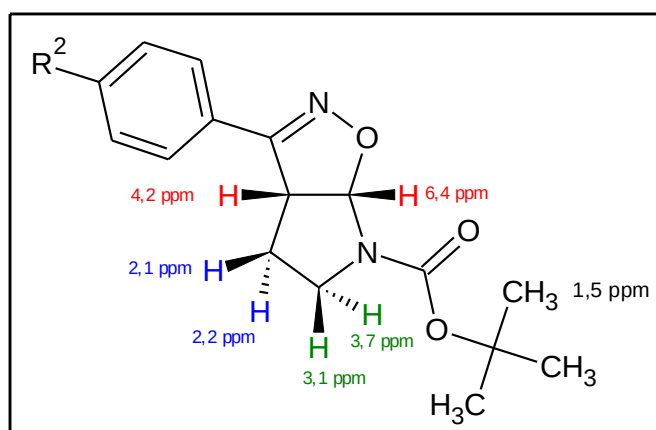


Figura 32 – Deslocamentos químicos dos cicloadutos protegidos com BOC 34

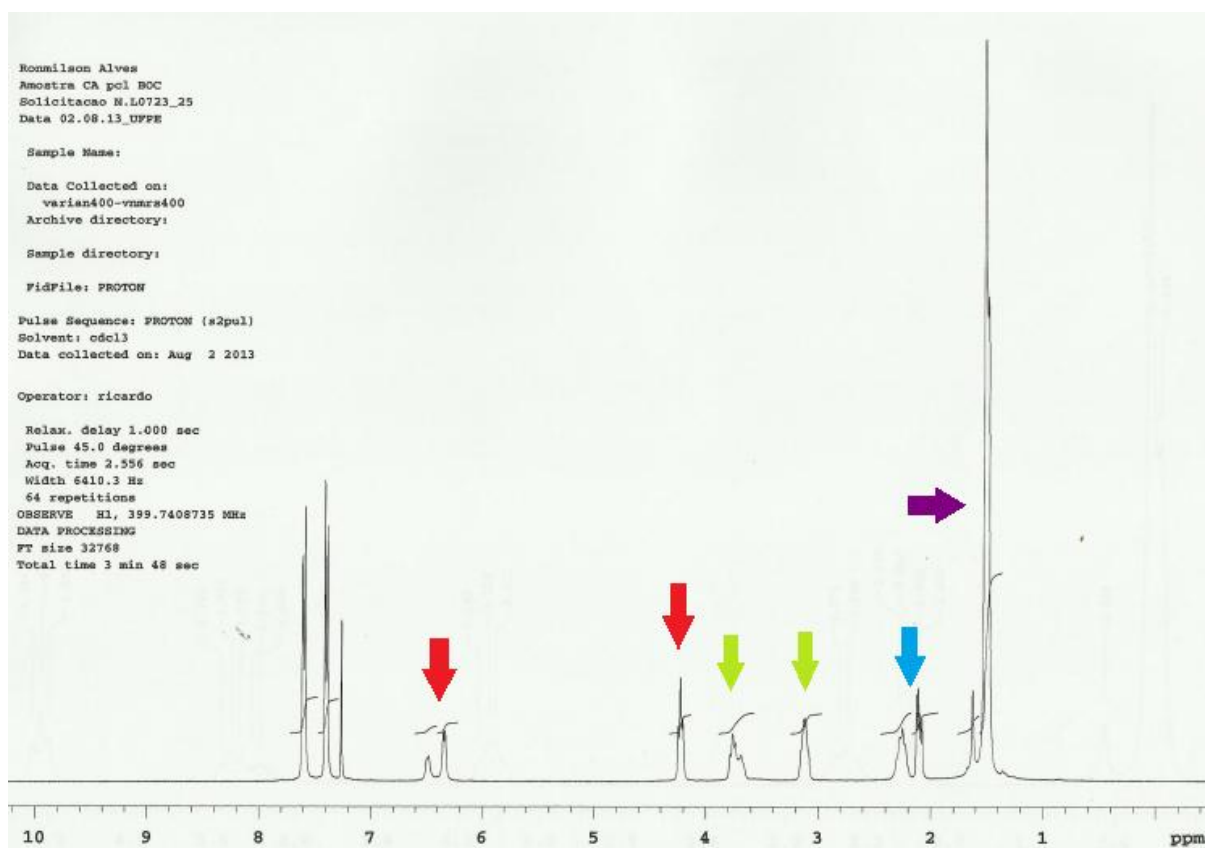
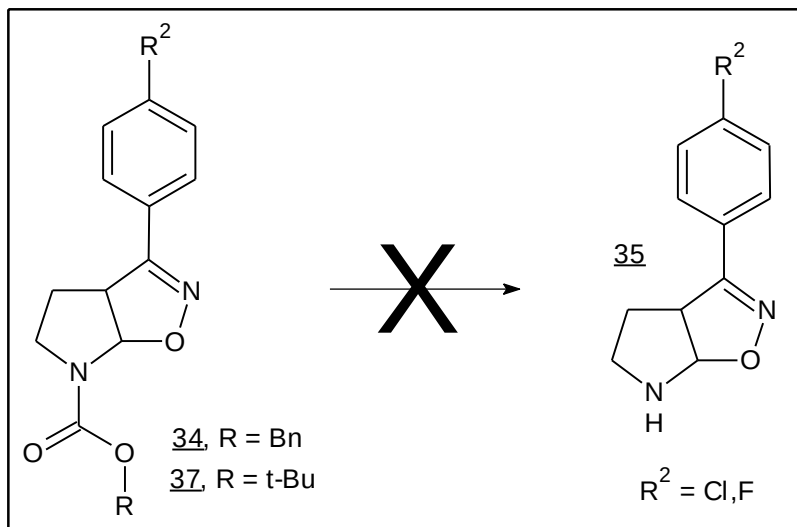


Figura 33 – Espectro de RMN de ^1H do cicloaduto 34, com $R^2 = \text{Cl}$

5.4.3 – Desproteção da amina secundária em N6



Esquema 20 – Remoção dos grupos protetores

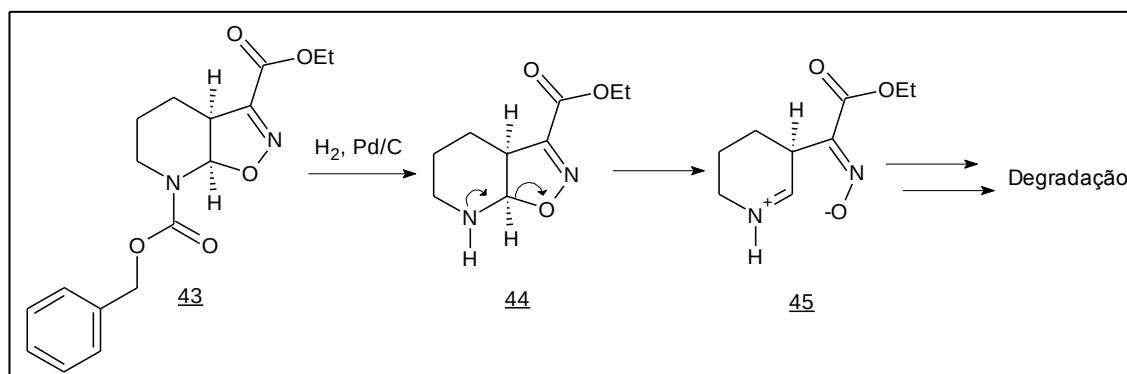
Infelizmente, não obtivemos êxito nas tentativas para a remoção dos grupos protetores BOC e CBZ (Esquema 20).

Inicialmente projetamos a síntese dos compostos **35**, fazendo a proteção da amina secundária N6 com o BOC, devido a maior facilidade de purificação. Quando realizamos a reação de desproteção do intermediário **37** com TFA, à 0°C, observamos através da CCD que o produto esperado não havia formado, uma vez que esse tipo de desproteção é bem conhecido e comumente utilizado em nosso grupo, apresentando rendimentos quantitativos. No entanto, houve degradação do produto no meio reacional.

Levando em consideração do fato que o meio reacional está ácido, elaboramos uma hipótese que a acidez estaria ocasionando degradação do núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolina. Devido a isso, alteramos o grupo protetor realizando a proteção com o CBZ, pois sua desproteção ocorre em condições mais brandas. Esse desproteção é uma reação conhecida como hidrogenólise. Com características similares, a hidrogenólise do cicloaduto protegido com CBZ **34** ocasionou a degradação do heterobiciclo, levando à formação de vários subprodutos não identificáveis, detectados pela cromatográfica de camada delgada.

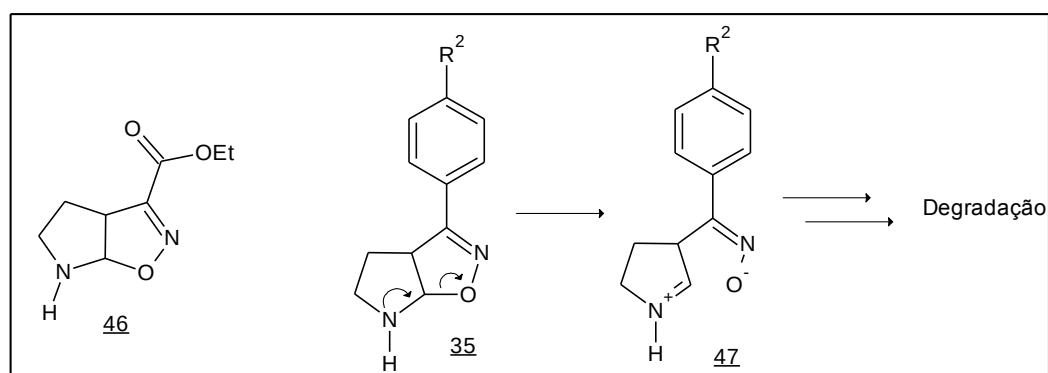
Este fato, a degradação do núcleo aza-bicíclico pirrolidínico, não havia sido detectada ainda em nosso laboratório, sendo apenas a abertura e degradação da série piperidínica observado nestas mesmas condições. Sendo proposta a seguinte

hipótese: A estereoquímica do anel de seis membros favorece a abertura do biciclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidínico 44, formando um intermediário acil-imínio 45 instável e, por conseguinte, altamente reativo, decompondo em vários compostos não identificáveis (Esquema 21).⁵⁹



Esquema 21 – Abertura do anel isoxazolínico piperidínico

Considerando que em trabalhos anteriores, o composto 41 contendo o núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, com a porção amina 1' em N6 livre foi obtido; E que a maleabilidade do anel de seis membros piperidínico ocasiona a abertura do biciclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidínico 39; foi proposta a seguinte hipótese: A abertura do heterobicyclo de 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina está relacionada com a presença do grupo arila *p*-substituído ligado diretamente ao núcleo em posição C3, exercendo forte efeito retirador de elétrons, que é favorecido pela expressiva conjugação dos orbitais π na porção 2-isoxazolina do heterobicyclo, formando um intermediário altamente reativo, o *N*-acil-imínio 42, que se decompõe em inúmeros compostos não identificáveis (Esquema 21).



Esquema 22- Abertura do anel isoxazolínico pirrolidínico

6 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.1 – Materiais e métodos

As reações de síntese das enamidas, dos enecarbamatos, de cicloadição 1,3-dipolar e de cloração das benzaldoximas são sensíveis à umidade, sendo realizadas sob atmosfera de argônio, em aparato previamente seco em estufa por 4h, a 120°C. Com relação aos solventes utilizados nas etapas acima descritas, foram previamente tratados com os agentes secantes adequados para cada solvente, os quais foram destilados antes do uso.

Os solventes utilizados nas colunas cromatográficas, hexano e acetato de etila, foram previamente destilados. Quando não mencionado, reagentes e solventes foram aplicados isentos de pré-tratamento.

As reações de hidrogenólise foram reproduzidas sob pressão positiva de hidrogênio, borbulhando-se o gás no ambiente reacional.

A caracterização por cromatografia em camada delgada é evidenciada em cromatofolhas de alumínio (gel de sílica 60), com espessura de 0,2mm, contendo indicador para 254 nm. Para a visualização dos pontos foi utilizada com lâmpada de U.V ENF – 2400 C/F; e quando possível, foi aplicado como revelador o ácido fosfomolibdico 7% em etanol, com posterior aquecimento da placa cromatográfica, e a adsorção do iodo.

As colunas cromatográficas foram empacotadas com gel de sílica 60(230-400 mesh) e eluidas sob pressão (Flash).

Nas reações com ultrassom foi empregado o aparelho UNIQUE[®] USC 1400-A, com frequência 40 KHz.

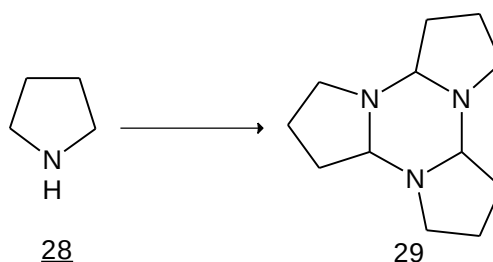
As faixas de fusão dos produtos sólidos foram mensuradas no equipamento FISATON[®] 431D, à seco com leitura digital.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio. As frequências de absorção foram expressas em cm⁻¹.

Os espectros RMN de ¹H, RMN de ¹³C foram emitidos no equipamento da Varian Unity[®] 400MHz. Os deslocamentos químicos são expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano para RMN ¹H. O solvente empregado nas

análises foi o CDCl_3 . Os sinais dos espectros de RMN ^1H são designados da seguinte forma: deslocamento químico (δ), multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, dl = dubleto largo, t = tripleto, tl = tripleto largo, q = quarteto, dd = duplo dubleto, dt = duplo tripleto, ddl = duplo dubleto largo, m = multipleteo, ml = multipleteo largo, sl = sinal largo), constante de acoplamento (Hz) e número de hidrogênio

6.2 – Trímero da Δ^1 -pirrolina 29



Uma solução aquosa de persulfato de sódio 25% (33,82 g; 144 mmols; 90 mL água) foi adicionada lentamente e sob forte agitação, sobre uma solução de pirrolidina (11,6 mL; 144 mmols), hidróxido de sódio (11,5 g; 288 mmols) e nitrato de prata (0,118 g, 0,65 mmols) em 90 mL de água à 0°C. Ao término da reação, a solução foi deixada em agitação por mais 1 hora a 0°C e em seguida à temperatura ambiente.

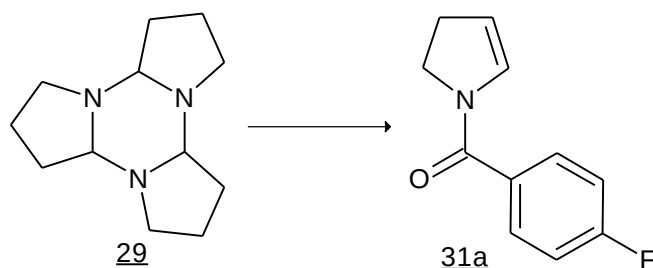
A mistura resultante foi extraída com diclorometano (3x40 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e após remoção do solvente obteve-se 8,1g de um líquido amarelado viscoso, correspondendo a um rendimento de 84% do trímero 29.

Devido a sua instabilidade, o trímero 29 foi utilizado bruto, isento de procedimentos de purificação, na preparação tanto das enamidas 31 quanto nos enecarbamatos endocíclicos 33 e 36.

Propriedades físicas do composto 29

- Óleo amarelo viscoso;
- Sensível a solventes próticos;

6.3 – *N*-(4-fluorobenzoyl)-2-pirrolina **31a**



Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da Δ^1 -pirrolina (1,5g; 7,246 mmols; 90 mL de THF) foi submetida à sonicação por 30 minutos a temperatura de 55°C. Em seguida foi adicionada a trietilamina, em excesso, (1,5 mL; 10,6 mmols) e o sistema reacional foi sonicado por mais 30 minutos.

Então foi iniciada a adição lenta, com funil de adição, durante 30 minutos da solução contendo o cloreto de 4-fluorbenzoíla, em excesso, (1,4016g; 8,83 mmols; 10 mL de THF).

Após o termino da adição, a solução foi sonicada por mais 30 minutos. Com o termino da reação, obteve-se uma suspensão amarelada, que foi filtrada em funil sinterizado, e após remoção completa do solvente, um óleo amarelo escuro foi obtido. Este foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 3:7), obtendo 0,548g da enamida **31a**, correspondendo a um rendimento de 32%.

Propriedades físicas do composto 31a

- Óleo viscoso amarelo;
- $R_f = 0,28$ (AcOEt/hexano 3:7)

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,68 (m, 2H); 3,98 (tl; $J = 8,7$ Hz; 2H; rotâmero em 3,79); 5,19 (m; 1H; rotâmero em 5,36); 6,40 (m; 1H); 7,07 (m; 2H); 7,5 (m, 2H).

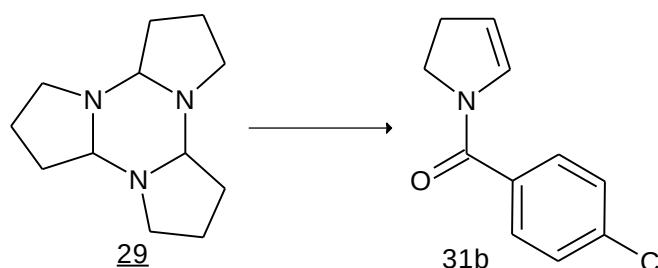
^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 75MHz, t.a)

28,2 (CH₂); 45,67 (CH₂), 112,0(CH), 115,4(d = 21,7Hz; CH), 129,9 (d = 8,7 Hz; CH); 130,3 (CH); 131,8 (C), 163,6 (d = 248 Hz;C); 163,7 (C=O).

I.V. FT (janela de KBr, cm⁻¹), principais sinais.

3.124, 3.078, 3.055, 2.966, 2.926, 2.898, 2.898, 1.606, 1.508, 1.469, 1.428, 1.368, 1.289, 1.220, 1.153, 1.095, 847, 733, 567.

6.4 – *N*-(4-clorobenzoil)-2-pirrolina 31b



Procedimento experimental semelhante ao 6.3.

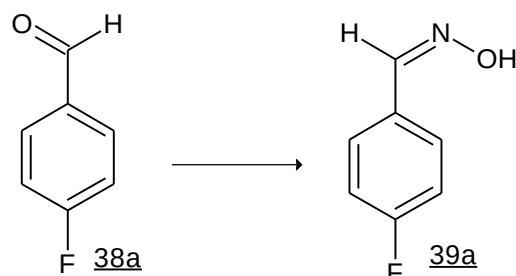
Trímero da Δ^1 -pirrolina (1g; 4,830 mmols; 60 mL de THF), trietilamina (1 mL; 7,177 mmols), o cloreto de 4-clorobenzoíla (1,014g; 5,797 mmols; 9mL de THF). Cromatografia de coluna flash (gel de sílica, AcOEt/hexano 3:7), forneceu 0,509g da enamida 31b, equivalendo a um rendimento de 42%.

Propriedades físicas do composto 31b

- Óleo amarelo
- R_f = 0,33 (AcOEt/hexano 3:7)

6.5 – 4-fluorobenzaldoxima 39a

6.5.1 – Método C



Uma solução do 4-fluorobenzaldeído 38a (2,786g; 22mmols, 60 mL de THF) foi preparada sob vigorosa agitação, a temperatura ambiente. Após completa solubilização foi adicionada uma solução hidroalcoólica (30 ml de água, 30 ml de MeOH). Só então foi introduzido no sistema reacional o cloridrato de hidroxilamina (3,057g; 44mmols), que após sua completa solubilização, foi adicionado o acetato de sódio(5,425g; 66mmols). A reação foi mantida, sob agitação, durante 24 horas.

Inicialmente foi adicionada a mistura reacional 30 ml de uma solução saturada aquosa de NaHCO_3 , e foi realizada duas extrações com diclorometano. À fase orgânica foi adicionada o CaCO_3 anidro, previamente seco na estufa. A amostra foi filtrada e após completa remoção do solvente obteve-se a 4-fluorobenzaldoxima, correspondendo um rendimento quantitativo.

6.5.2 – Método D

Uma solução do 4-fluorobenzaldeído 38a (1,4g, 11mmols; 50 ml EtOH), foi adicionada a solução de cloridrato de hidroxilamina (0,85g, 12,23mmols; 5 mL água) e a mistura reacional foi submetida a sonicação por 30 minutos.

Com o termino da reação foram realizadas três extrações com diclorometano. A fase orgânica foi recolhida e após remoção do solvente foi obtida a 4-fluorobenzaldoxima, obteve-se a massa de 1,42g, significando um rendimento de 91%

Propriedades físicas do composto 39a

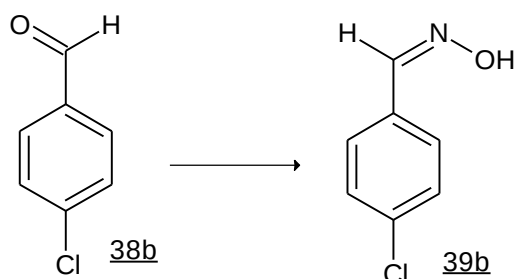
- Sólido branco amorfo
- $R_f = 0,45$ (AcOEt/hexano 1:5)
- Faixa de Fusão = 81°C – 83°C

Dados espectrométricos

I.V. (cm^{-1}), principais sinais.

3.257,68; 3.018,07; 1.883,62; 1.643,87; 1606,42, 1509,38; 957,11; 879,42; 824,67.

6.6 – 4-clorobenzaldoxima 39b



6.6.1 – Método C

Procedimento experimental semelhante ao 6.5.1.

4-Clorobenzaldeído 39a (3.139g; 22mmols, 60 mL de THF), solução hidroalcoólica (30 ml de água, 30 ml de MeOH), cloridrato de hidroxilamina (3,057g; 44mmols), acetato de sódio(5,425g; 66mmols). Rendimento quantitativo.

6.6.2 – Método D

Procedimento experimental semelhante ao 6.5.2.

4-clorobenzaldeído 38b (2,8g, 19.9mmols; 100 ml EtOH), cloridrato de hidroxilamina (1,7g, 24,46mmols; 50 mL água). Obteve-se a massa de 2,944g, correspondendo a um rendimento de 95%.

Propriedades físicas do composto 39b

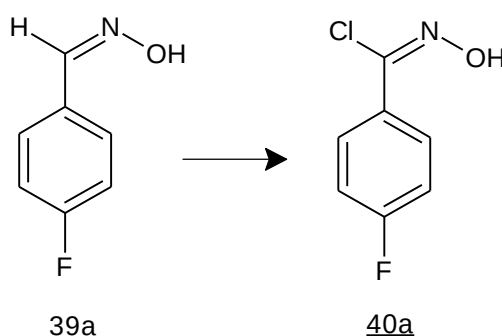
- Sólido branco amorfo
- $R_f = 0,48$ (AcOEt/hexano 1:5)
- Faixa de Fusão = 107°C – 108°C

Dados espectrométricos

I.V. (cm^{-1}), principais sinais.

3.259, 3.056,13; 1868,98; 1.654,95; 1596,12, 1493,52; 954,55; 873,75; 821,54.

6.7 – Cloreto de 4-fluorofenilhidroxiiminoíla 40a

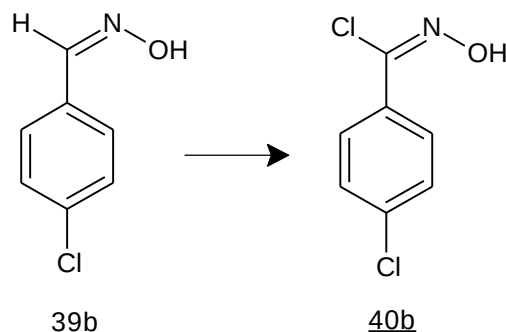


Foi preparada uma solução de NCS (0,739g, 5,5345 mmols, 20 mL de CHCl_3). A esta foi adicionada, em quantidades catalíticas, uma solução de piridina 6% em hexano (0,33 ml). Então foi adicionada a 4-fluorobenzaloxima 39a (0,5180g, 3,7266 mmols). Após duas horas de reação foi adicionado 10 mL de água destilada, e logo em seguida, duas gotas de HCl concentrado. A solução resultante foi extraída com clorofórmio (3x 20 mL), após completa remoção do solvente obteve-se um sólido amarelo. Infelizmente o calculo de rendimento não pode ser efetuado, pois além do cloreto de hidroxiiminoíla ser muito reativo, se adere à sílica, tornando inviável sua purificação.

Propriedades físicas do composto 40a

- Sólido amorfo amarelo
- $R_f = 0,47$ (AcOEt/hexano 3:7)

6.8 – Cloreto de 4-clorofenilhidroxiiminoíla **40b**



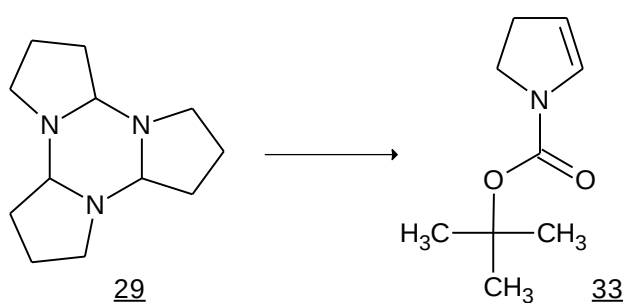
Procedimento experimental semelhante ao 6.7.

NCS (0,7390g, 5,5345 mmols, 20 mL de CHCl_3), solução de piridina 6% em hexano (0,33 ml), 4-clorobenzaldoxima **39b** (0,5740g, 3,6897mmols).

Propriedades físicas do composto 40a

- Sólido amorfo amarelo
- $R_f = 0,53$ (AcOEt/hexano 3:7)

6.9 – *N*-(*t*-butoxicarbonil)-2-pirrolina **33**



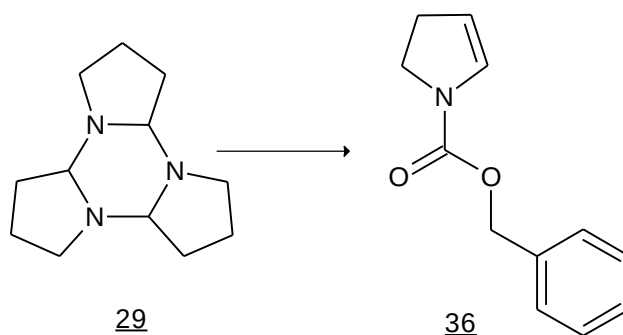
Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da Δ^1 -pirrolina (2,56g; 12,4 mmols; 125 mL de THF) codestilada sob a temperatura. Após 30 minutos sob-refluxo, foi adicionado o DMAP (0,46g, 3,84 mmols). Em seguida foi realizada a adição lenta do dicarbonato de *t*-butila (5,7 mL, 24,8 mmols). A reação permaneceu sob vigorosa agitação por 12 horas sob temperatura de 60°C. Após o final da reação, foi removido completamente o solvente, obteve-se um óleo marrom.

Este foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:1), obtendo 2g do enecarbamato 33, correspondendo a um rendimento de 48%.

Propriedade físicas do composto 33

- Óleo incolor
- R_f = 0,45 (AcOEt/hexano 1:9)

6.10 – *N*-(benziloxycarbonil)-2-pirrolina 36



Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da Δ^1 -pirrolina (2,56g; 12,4 mmols; 120 mL de THF) foi submetida à sonicação por 30 minutos a temperatura de 55°C. Em seguida foi adicionada a trietilamina, em excesso, (2,1 mL; 16,12 mmols) e o sistema reacional foi sonicado por mais 30 minutos.

Então foi iniciada a adição lenta do cloroformato de benzila (3,35 mL, 24,8 mmols), mantendo durante todo processo a sonicação.

Após o termino da adição, a solução foi sonicada por mais 30 minutos. Com o termino da reação, obteve-se uma suspensão amarelada, que foi filtrada em funil sinterizado, e após remoção completa do solvente, um óleo amarelo escuro foi obtido. Este foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 3:7), obtendo 2,52g do enecarbamato 36, correspondendo a um rendimento de 50%.

Propriedade físicas do composto 36

- Óleo incolor
- $R_f = 0,37$ (AcOEt/hexano 1:9)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

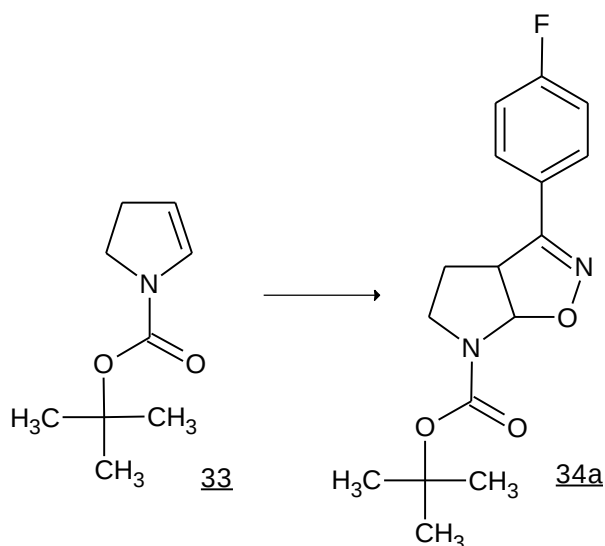
^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,64 (ql: $J = 9,7$ Hz; 2H); 3,77 (q; $J = 9,1$ Hz; 2H); 5,02 e 5,07 (m, 1H, rotâmeros); 5,17(s: 2H); 6,54 e 6,63(m, 1H, rotâmeros); 7,35 (m; 5H).

I.V.(filme, cm^{-1}), principais sinais.

3.032, 2.956, 1.706, 1.618, 1.422, 1.342, 1.214, 1.128, 756, 698.

6.11 – Obtenção do 6-*tert*-butoxicarbonil-3-(4-fluorofenil)-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrólo[3,2-*d*]isoxazol) 34a



Em atmosfera de argônio, foi preparada uma solução do enecarbamato **33** (1g; 5,9 mmols; 50 mL de CHCl_3). Ao sistema reacional foi adicionada a trietilamina (2,5 mL; 17,9 mmols). Lentamente, foi introduzido na reação o precursor do **N**-óxido de nitrila **40a**. A formação do cicloaduto **34a**, bem como o consumo do enecarbamato **33** foi acompanhada através da cromatografia de camada delgada (CCD). A suspensão resultante foi filtrada, e após completa remoção do solvente, obteve-se um óleo viscoso amarelado.

Este foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:5), obtendo 1,39 g do cicloaduto **34a**, correspondendo a um rendimento de 77%.

Propriedade físicas do composto 34a

- Sólido amorfo branco
- $R_f = 0,29$ (AcOEt/hexano 1:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

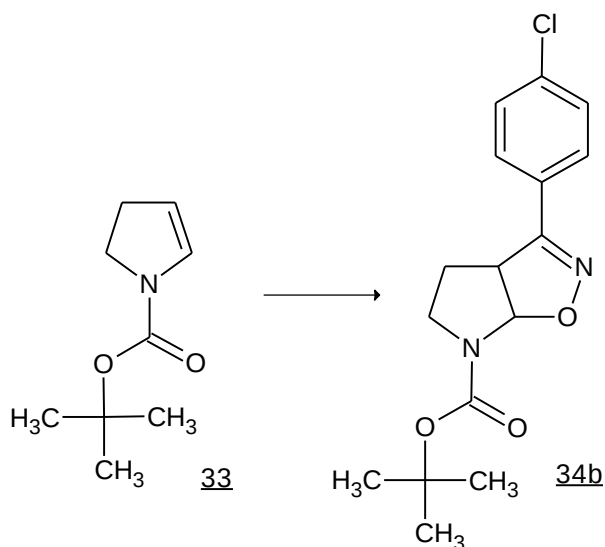
^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

1,518 e 1,489 (s: 9H, rotâmeros); 2,133 (m; 1H); 2,270 (m, 1H); 3,130 (m: 1H); 3,758 e 3,680(m, 1H, rotâmeros); 4,233(t; 1H); 6,336 e 6,468 (d: 1H, rotâmeros).

^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a)

28,314 (CH_3); 28,670(CH_2) 43,533 (CH_2), 51,619(CH), 80,989 (C), 92,823 (CH), 116,199 (CH), 124,641 (C), 128,924 (CH); 164,970 e 162,468 (d = 100 Hz; C-F); 156,234 (C=O).

6.12 – Obtenção do (6-tert-butoxicarbonil)-(3-clorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrólo[3,2-d]isoxazol) 34b



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enecarbamato 33 (1g; 5,9 mmols; 50 mL de CHCl_3), trietilamina (2,5 mL, 17,9 mmols), o precursor do N-óxido de nitrila 40b. Massa obtida foi 1,43 g correspondendo ao rendimento de 75%.

Propriedade físicas do composto 34b

- Sólido amorfo branco
- $R_f = 0,32$ (AcOEt/hexano 1:4)
- Faixa de fusão = 151 - 152°C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

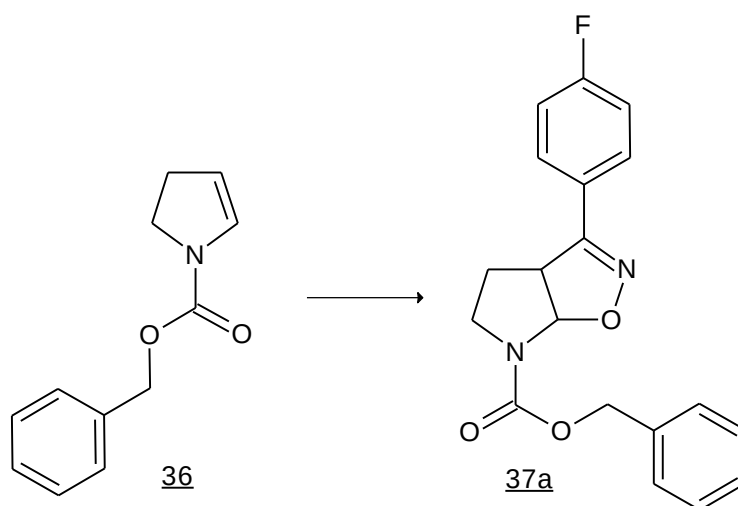
^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

1,519 e 1,490 (s: 9H, rotâmeros); 2,125 (m; 1H); 2,271 (m, 1H); 3,129 (m: 1H); 3,758 e 3,686(m, 1H, rotâmeros); 4,225(t; 1H); 6,330 e 6,479 (d: 1H, rotâmeros).

^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a)

27,880 (CH_2); 28,314(CH_3) 43,533 (CH_2), 51,418(CH), 92,978 (CH), 128,142 (CH); 129,195 (CH); 156,234 (C=O).

6.13 – Obtenção do (6-benziloxicarbonil)-(3-fluorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrólo[3,2-*d*]isoxazol) 37a



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enecarbamato 36 (1g; 4,9 mmols; 50 mL de CHCl_3), trietilamina (2 mL, 14,7 mmols), o precursor do *N*-óxido de nitrila 40a. Rendimento de 70%, correspondendo a massa de 1,17g.

Propriedade físicas do composto 37a

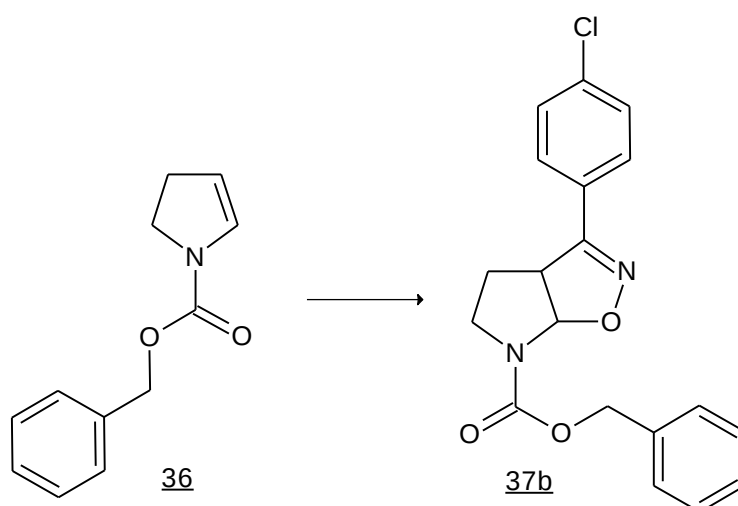
- Sólido amorfo branco
- R_f = 0,30 (AcOEt/hexano 3:7)
- Faixa de fusão = 121 – 122°C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,179 (m; 1H); 2,280 (m, 1H); 3,209 (m: 1H); 3,839 (m: 1H); 4,282 (t, 1H); 5,226(m; 2H); 6,430 e 6,531(d: 1H, rotâmeros).

6.14 – Obtenção do (6-benziloxicarbonil)-(3-clorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidro-pirrólo[3,2-d]isoxazol) 37b



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enecarbamato 36 (1g; 4,9 mmols; 50 mL de CHCl₃), trietilamina (2 mL, 14,7 mmols), o precursor do *N*-óxido de nitrila 40b. Rendimento de 72%, correspondendo a massa de 1,26g.

Propriedade físicas do composto 37b

- Sólido amorfo branco
- R_f = 0,35 (AcOEt/hexano 3:7)
- Faixa de fusão = 155 - 156°C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

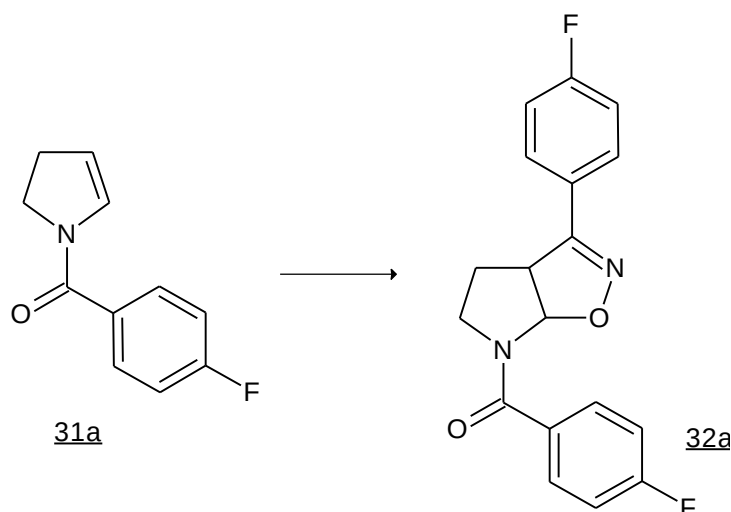
^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,149 (m; 1H); 2,273 (m, 1H); 3,199 (m: 1H); 3,834 (m: 1H); 4,270 (t, 1H); 5,223(m; 1H); 6,434 e 6,535(d: 1H, rotâmeros).

^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

27,841 e 28,662 (CH_2 , rotâmeros); 43,959 e 44,129 (CH_2 , rotâmeros), 50,604 e 51,673 (CH, rotâmeros), 67,458 (CH_2), 92,575 e 93,288 (CH), 136,359 (C); 156,350 (C=O).

6.15 – Obtenção do (6-fluorofenil)-(3-fluorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol) 32a



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enamida 31a (0,3g; 1,5706 mmols; 10 mL de CHCl_3), trietilamina (0,5mL, 3,59 mmols), o precursor do N-óxido de nitrila 40a. Rendimento de 60%, correspondendo à massa de 0,29.

Propriedade físicas do composto 32a

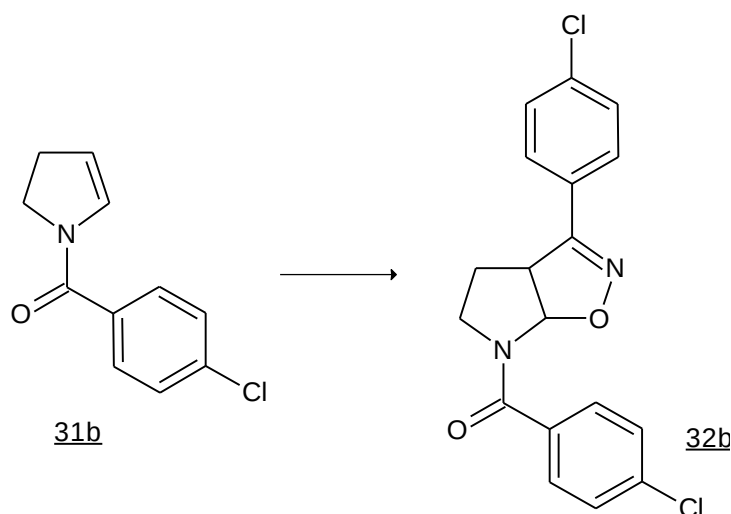
- Sólido amorfo branco.
- $R_f = 0,26$ (AcOEt/hexano 2:3)
- Faixa de fusão = 75 - 76°C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,251 (m; 1H); 2,280 (m, 1H); 3,238 (m: 1H); 4,278 (t, 1H); 4,459(m; 1H); 6,185 (d: 1H).

6.16 – Obtenção do (6-clorofenil)-(3-clorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol) 32b



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enamida **31b** (0,25g; 1,2077 mmols; 10 mL de CHCl_3), trietilamina (0,5mL, 3,59 mmols), o precursor do N-óxido de nitrila **40b**. Rendimento de 56%, correspondendo à massa de 0,24.

Propriedade físicas do composto **32b**

- Cristais amarelados
- $R_f = 0,42$ (AcOEt/hexano 2:3)
- Faixa de fusão = 149 – 150°C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

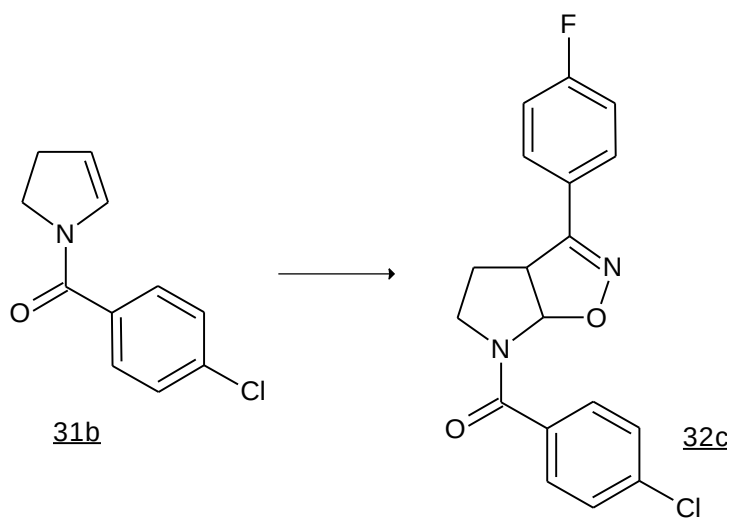
^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2.210 (m; 1H); 2.276 (m, 1H); 3.222 (m: 1H); 4.269 (t, 1H); 4.430(m; 1H); 6.159 (d: 1H).

^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

28.043 (CH); 43.339 (CH_2), 51.844 (CH), 94.380 (CH), 92.575 e 93.288 (CH), 126.414 (C); 137.025 (C); 168.680 ($\text{C}=\text{O}$).

6.17 – Obtenção do (6-clorofenil)-(3-clorofenil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrólo[3,2-d]isoxazol) 32c



Procedimento experimental semelhante ao 6.10.

Enamida 31b (0,25g; 1,2038 mmols; 10 mL de CHCl_3), trietilamina (0,5mL, 3,59 mmols), o precursor do N-óxido de nitrila 40a. Rendimento de 59%, correspondendo a massa de 0,24.

Propriedade físicas do composto 32c

- Sólido amorfo branco
- $R_f = 0,31$ (AcOEt/hexano 2:3)
- Faixa de Fusão =

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

^1H RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a).

2.348 (m; 1H); 2.399 (m, 1H); 3.350 (m: 1H); 4.398 (t, 1H); 4.555(m; 1H); 6.273 (d: 1H).

^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 400MHz, t.a), presença de rotâmeros.

28.081 (CH); 43.339 (CH_2), 52.053 (CH), 94.249 (CH), 124.215 (C); 137.018 (C); 165.179 e 162.670 ($d = 100$ Hz; C-F), 168.688 (C=O).

7 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho, exploramos quimicamente o heterobícclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, através da aplicação sintética deste núcleo na obtenção de inéditos derivados arilados na posição C3 e benzilados em N6.

Bons resultados foram alcançados na síntese de enamidas e enecarbamatos endocíclicos de cinco membros. A destrimerização do trímero do monômero da Δ^1 -pirrolina através da associação do ultrassom com aquecimento demonstrou ser excelente método para obtenção tanto das enamidas quanto dos enecarbamatos.

Promissores rendimentos foram obtidos nas etapas de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas 31 de cinco membros com os *N*-óxidos de nitrila 41. Nas reações de cicloadição 1,3-dipolar entre os enecarbamatos endocíclicos de cinco membros 33 e 36 foram bastante significativos, todos acima de 70%.

Os derivados 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, arilados apenas em C3, 35 não foram obtidos. Devido à problemas químicos nas etapas de remoção dos grupos protetores tanto com o BOC quanto com o CBZ, o núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina degradou no meio reacional, impossibilitando a sequencia da rota sintética.

Os objetivos propostos inicialmente quanto no presente trabalho foram parcialmente realizados. Infelizmente os resultados das atividades biológica anti-inflamatória e citotóxico dos produtos finais não foram realizados em tempo hábil, estando em fase de execução.

Com os resultados obtidos observamos a grande versatilidade química dos novos heterociclos isoxazolínicos, o que nos incentiva a ampliar a investigação sintética, deste núcleo obtido a partir das enamidas endocíclicas.

Como perspectiva esperamos expandir a síntese de novas enamidas endocíclicas de cinco membros com o ultrassom para obter novos heterobícclos variando R^1 e R^2 do produto final 32 com diferentes grupos doadores e retiradores de elétrons. Esperamos também averiguar as possíveis atividades anti-inflamatória e

a citotoxicidade dos cicloadutos 32, bem como ampliar a investigação química e biológicas dos dímeros 42 oriundos dos *N*-óxidos de nitrila 41.

REFERENCIAS

1. BREIVIK, H.; COLLET, B.; VENTAFRIDDA, V.; COHEN R.; GALLACHER, D. Survey of chronic pain in Europe: Prevalence, impact on daily life, and treatment. **European Journal of Pain**, v. 10, p. 287-333, 2006.
2. BOUHASSIRA, D.; LANTERÍ-MINET, M.; ATTAL, A.; LAURENT, B.; TOUBOUL, C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. **Pain**, v. 136, p. 380-387, 2008.
3. TALLEY J. J.; BROWN D. L.; CARTER J. S.; GRANETO M. J.; KOBOLDT C. M. MASFERRER J. L.; PERKINS, W. E.; ROGERS, R. S.; SHAFTE, A. F.; ZHANG, Y. Y. ZWEIFEL, B. S.; SEIBERT, K. 4-[5-Metyl-3-phenylisoxazol-4-yl]-benzenesufonamide, valdecoxib: a potent and selective inhibitor of COX-2. **Journal of Medical Chemistry**, v. 43, p. 775-777, 2000.
4. PALOMER A.; CABRE F.; PASCUAL J.; CAMPOS J.; TRUGILLO M.A.; ENTRENA A.; GALLO, M. A.; GARCÍA, L.; MAULEÓN, D.; ESPINOSA A. Identification of novel cyclooxygenase-2-selective inhibitors using pharmacophore model. **Journal of Medical Chemistry**, v. 45, p. 1402-1411, 2002.
5. INGALE N.; MADDI V.; PALKAR M.; RONALD P.; MAMLEDESAI S.; VISHWANATHSWAMY A. H. M., SATYANARAYANA D. Synthesis and evaluation of anti-inflammatory and analgesic activity of 3-[(5-substituted-1,3,4-oxadiazol-2-yl-thio)acetyl]-2Hchromen-2-ones. **Medical Chemistry Research**, v. 21. p. 16-26, 2012.
6. BOMBARDIER C.; LAINE L.; REICIN A.; SHARPIRO D.; BURGOS-VARGAS R.; DAVIS B.; DAY R.; FERRAZ M. B.; HAWKEY C.; HOCHBERG, M. C., KVIEN, T. K.; SCHNITZER, T. J. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. **The New England Journal of Medicine**, .v 343, p. 1520-1528, 2000.

7. COLLET, J. P.; SHARPE, C.; BELZILE, E.; BOIVIN, J. F.; HANLEY, J.; ABENHAIM, L. Colorectal cancer prevention by non-steroidal anti-inflammatory drugs: effects of dosage and timing. **British Journal of Cancer**, v. 81, p.62–68, 1999.

8. HARRIS, R. E.; CHELEBOWSKI, R. T.; JACKSON, R. D.; FRID, D. J.; ASCENSEO, J. L.; ANDERSON, G.; LOAR, A.; RODABOUGH, R. J.; WHITE, E.; MCTIERNAN, A. Breast Cancer and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Prospective Results from the Women's Health Initiative, **Cancer Research**, v. 63, p. 6096–6101, 2003.

9. KHUDER, S. A.; MUTGI, A. B. Breast cancer and NSAID use: a meta-analysis. **British Journal of Cancer**, v. 84, p. 1188–1192, 2001.

10. LANGMAN, M. J.; CHENG, K. K.; GILMAN, E. A.; LANCASHIRE, R. J. Effect of anti-inflammatory drugs on overall risk of common cancer: case-control study in general practice research database. **British Medical Journal**, v. 320, p. 1642–1646, 2000.

11. ROBERTS, R. O.; JACOBSON, D. J.; GIRMAN, C. J.; RHODES, T.; LIEBER, M. M; JACOBSEN, S. J. A Population-Based Study of Daily Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use and Prostate Cancer. **Mayo Clinic Proceedings**. V. 77, p. 219–225, 2002.

12. INABA, T.; SANO, H.; KAWAHITO, Y.; HLA, T.; AKITA, K.; TODA, M.; INOVE, M.; YAMASHINA, I., NAKADA, H. Induction of cyclooxygenase-2 in monocyte/macrophage by mucins secreted from colon cancer cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.100, p. 2736-2741, 2002.

13. ARBER, N.; EAGLE, C. J.; SPICAK, J.; RACZ, I.; DITE, P.; HAJER, J.; ZAVORAL, M.; LECHUGA, M. J.; GERLETTI, P.; TANG, J.; ROSIENSTEIN, R. B.; MACDONALD, K.; BHADRA, P.; FOWLER, R.; WITTES, J., ZAUBER, A. G.; SOLOMON, S. D.; LEVIN, B. Celecoxib for the prevention of colorectal adenomatous polyps. **The New England Journal of Medicine**, v.355, p. 885–895. 2006.

14. Dua, R.; Shrivastava, S.; Sonwane, S. K.; Srivastava, S. K. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: A Review. **Advances in Biological Research**, v. 3, p. 120-144 2011
15. SUN, D. R.; LEE, R. B.; TANGALLAPALLY R. P.; SUN D.; LEE, R. E. Synthesis, optimization and structure–activity relationships of 3,5-disubstituted isoxazolines as new anti-tuberculosis agents . **European journal of Medicinal Chemistry**. v. 44, p. 460-472, 2009.
16. DALLANOCE C.; FRIGERIO F.; GRAZIOSO G.; MATERA C.; VISCONTI G. L.; DE AMICI, M.; PUCCI, L.; PISTILLO, F.; FUCILE, S.; GOTTI, C.; CLEMENTI, F. New spirocyclic Δ^2 -isoxazoline derivatives related to selective agonists of $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46. p. 5790-5799, 2011.
17. DALLANOCE C.; CANOVI M.; MATERA C; MENNINI T.; DE AMICI M.; GOBBI, M.; DE MICHELI, CARLO. A novel spirocyclic tropanyl- Δ^2 -isoxazoline derivative enhances citalopram and paroxetine binding to serotonin transporters as well as serotonin uptake. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 6344-6355, 2012.
18. HERNÁNDEZ-LINARES, M. G.; SANDOVAL-RAMÍREZ, J.; MEZA-REYES, S.; MONTIEL-SMITH, S.; GUERRERO-LUNA, G. Stereospecific synthesis of new steroidal isoxazoles in dry media. **Steroids**, v. 76, p. 1521-1526, 2011
19. HABEEB A. G.; RAO P. N. P.; KNAUS E. E. Design and Syntheses of Diarylisoxazoles: Novel Inhibitors of Cyclooxygenase-2 (COX-2) With Analgesic-Antiinflammatory Activity. **Drug development research**. v. 51, p. 273-286, 2000.
20. REIS S. L. G. B.; DE ALMEIDA V. M.; DE ALMEIDA G. C.; BOAVIAGEM K. M.; MENDES C. C. B; DE FARIA A. R. Síntese e avaliação preliminar da atividade antinociceptiva de novas isoxazolil-aril-hidrazonas, **Química Nova**, v. 34, p. 76-81, 2011.

21. DE ALMEIDA, V. M.; DOS SANTOS, R. J.; GÓES, A. J. S.; DE SOUZA, I. A.; DE FARIA, A. R. Synthesis of new aza-bicyclic 2-isoxazolines by 1,3-dipolar cycloaddition of endocyclic enecarbamates and enamides with nitriles oxides. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 684-687, 2009.
22. DADIBOYENA, S.; NEFZI, A. Solid phase synthesis and isoxazole and isoxazoline-carboxamides via [2+3]-dipolar cycloaddition using resin-bound alkynes or alkenes. **Tetrahedron Letters**, v. 53, p. 2096-2099, 2012.
23. MAJUMDAR, K. C.; ROY, B.; DEBNATH, P.; TAHER, A. Metal-mediated heterocyclization: synthesis of heterocyclic compounds containing more than one heteroatom through carbon-heteroatom bond forming reactions. **Current Organic Chemistry**, v. 14, p. 846-887, 2010.
24. KOZIKOWSKI, A. P. The Isoxazoline Route to the Molecules of Nature. **Accounts of Chemical Research**, v. 17, p.410-416, 1984.
25. GIORGI, G.; LAMPARIELLO, L. R.; MINETTO, G.; PAOLI, M. L.; RIELLO, V.; RODRIQUEZ, M.; SEGA, A. Developing molecular diversity in the construction of a famile of bicyclic isoxazolinins scaffolds: Control of region- and diastereoselectiviities. **European Journal Organic Chemistry**. p. 4777-4785, 2003.
26. NONN, M.; KISS, L.; FORRÓ, E.; MUCSI, Z.; FÜLÖP, F. Synthesis of novel isoxazoline-fused cyclic β -amino esters by regio- and stereo selective 1,3-dipolar cycloaddition. **Tetrahedron**, v. 67, p. 4079-4085, 2011.
27. BASAPPA, M.; SADASHIVA, P.; MANTELINGU, K.; NANJUNDA, S.; RANGAPPA, K. S. Solution-phase synthesis of novel Δ^2 -isoxazoline libraries via 1,3-dipolar cycloaddition and their antifungal properties. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v.11, p. 4535-4544, 2003.
28. SRIVASTAVA, S.; BAJPAI, L. K.; BATRA, S.; BHADURI, A. P.; MAIKRURI, J. P.; GUPTA, G.; DHAR, J.D. In search of new chemical entities with spermicidal and anti-HIV activities. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 2607-1613, 1999.

29. BALACHANDRAN, S.; RODGE, A.; GADEKAR, P. K.; YADAV, V. N. KAMATH, D.; CHETRAPAL-KUNWAR, A.; BHATT, P.; SRINIVASAN, S.; SHARMA, S.; VISHWAKARMA, R. A.; DAGIA, N. M. Novel derivatives of ISO-1 as potent inhibitors of MIF biological function. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 4773-4776, 2009.
30. PINTO, A.; CONTI, P.; DE AMICI, M.; TAMBORINI, L.; GRAZIOSO, G.; COLLEONI, S.; MENNINI, T.; GOBBI, M.; DE MICHELI, C. Synthesis of enantiomerically pure HIP-A and HIP-B and investigation of their activity as inhibitors of excitatory amino acid transporters. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 19, p. 867-875, 2008.
31. MOR, A.; MOHIL, R.; KUMAR, D.; AHUJA, M. Synthesis and antimicrobial activities of some isoxazolyl thiazolyl pyrazoles. **Medicinal Chemistry Research**, v. 21, p. 3541-3548, 2012.
32. HABEEB A. G.; RAO P. N. P.; KNAUS E. E. Design and synthesis of 4,5-diphenyl-4-isoxazolines: Novel inhibitors of cyclooxygenase-2 with analgesic and anti-inflammatory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 2921-2927, 2001.
33. TANGALLAPALLY, R. P.; YENDAPALLY, R.; LEE, R. E.; LENAERTS, A. J. M.; HEVENER, K.; JONES, V. C.; K.; MCNEIL, N. R.; YANG, W.; FRANZBLAU, S.; LEE, R. E. Synthesis and evaluation of nitrofuranylamides as novel antituberculosis agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 5276-5383, 2004.
34. TANGALLAPALLY, R. P.; SUN, D.; RAKESH; BUDHA, N.; LEE, R. E. B.; LENAERTS, A. J. M.; MEIBHOM, B.; LEE, R. E. Discovery of novel isoxazolinas as anti-tuberculosis agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 6638-6642, 2007.
35. AHMAD, G.; MISHRA, P. K.; GUPTA, P.; YADAV, P. P.; TIWARI, P.; TAMARKAR, A. K.; SRIVASTAVA, A. K.; MAURYA, R. Synthesis of novel

benzofuran isoxazolinas **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.16, p. 2139-2143, 2006.

36. CHENG, K. F.; AL-ABED, Y. Critical modifications of the ISO-1 scaffold improve its potent inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) tautomerase activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 3376-3379, 2006.

37. CALANDRA, T.; ROGER, T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity, **Nature Review Immunology**, v.3, p. 791-800, 2003.

38. AL-ABED, Y. ; DABIDEEN, D. ; ALJABARI, B. ; VALSTER, A. ; MESSMER, D.; OCHANI, M. ; TANOVIC, M. ; OCHANI, K. ; BACHER, M. ; NICOLETTI, F.; PAVLOV, V.A. E.; MILLER, J. ; TRACEY, K. J. ISO-1 Binding to the Tautomerase Active Site of MIF Inhibits Its Pro-inflammatory Activity and Increases Survival in Severe Sepsis. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 280, p.36541-36544, 2005.

39. KARTHIKEYAN, K.; SEELAN, T. A.; LALITHA, K. G.; PERUMAL, P. T. Synthesis and nociceptive activity pyrazolyl isoxazolinas and pyrazolyl isoxazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.19, p. 3370-3373, 2009.

40. SHAO, P. P.; Ye, F.; WEBER, A. E.; LI, X.; LYONS, K. A.; PARSONS, W.H.; GARCIA, M. L.; PRIEST, T. B.; SMITH, M. M.; FELIX, J. P.; WILLIAMS, B. S.; KACZOROWSKI, G. J.; MCGOWAN, E.; ABBADAE, C.; MARTIN, W. J. MCMASTERS, D. R.; GAO, Y. Discovery of a novel class of isoxazoline voltage gated sodium channel blockers. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v.19, p. 5329- 5333, 2009.

41. SHAO, P. P.; Ye, F.; WEBER, A. E.; LI, X.; LYONS, K. A.; PARSONS, W.H.; GARCIA, M. L.; PRIEST, T. B.; SMITH, M. M.; FELIX, J. P.; WILLIAMS, B. S.; KACZOROWSKI, G. J.; MCGOWAN, E.; ABBADAE, C.; MARTIN, W. J. MCMASTERS, D. R.; GAO, Y. Discovery of isoxazole voltage gated sodium channel blockers for treatment of chronic pain. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v.19, p. 5334- 5338, 2009.

42. KEW, J.N.C.; KEMP, J.A. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. **Psychopharmacology**, v.179, p. 4-29, 2005.
43. BRAÜNER-OSBORNE, H.; EGEBJERG, J.; NIELSEN, E.; MADSEN, U.; KROGSGAARD-LARSEN, P. J. Ligands for Glutamate Receptors: Design and Therapeutic Prospects. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.43, p. 2609-2645, 2000.
44. TALUY, A; CORRINGER, P.; GUEDIN, D.; LESTAGE, P.; CHANGEUX, J.; Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. **Nature Reviews Drug Discovery** v. 9, p. 47-56, 2008.
45. WALLACE, T. L.; BALLARD, T. M.; POUZET, B.; RIEDEL, W. J.; WETTSTEIN, J. G. Drug targets for cognitive enhancement in neuropsychiatric disorders. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 99, p. 130-145, 2011.
46. HUISGEN, R. The Concerted Nature of 1,3-Dipolar Cycloadditions and the Question of Diradical Intermediates. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 41, p. 403-419, 1976.
47. MUKAIYAMA, T.; HOSHINO, T. The reaction of primary nitroparaffins with isocyanates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 82, p. 5339-5342, 1960.
48. HAMADI, N. B.; MSADDEK, M. 1,3-dipolar cycloadditions of aryl nitrile oxides and 2-diazopropane with 5-hydroxy-3-methyl-1,5-dihydropyrrol-2-one derivatives. **Comptes Rendus Chimie**, v.14, p. 891-895, 2011.
49. VILELA, G. D.; DA ROSA, R. R.; SCHNEIDER, P. H.; BECHTOLD, I. H.; ECCHER, J.; MERLO, A. A. Expedient preparation of isoxazoles from Δ^2 -isoxazolines as advanced intermediates for functional materials. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 6569-6572, 2011.

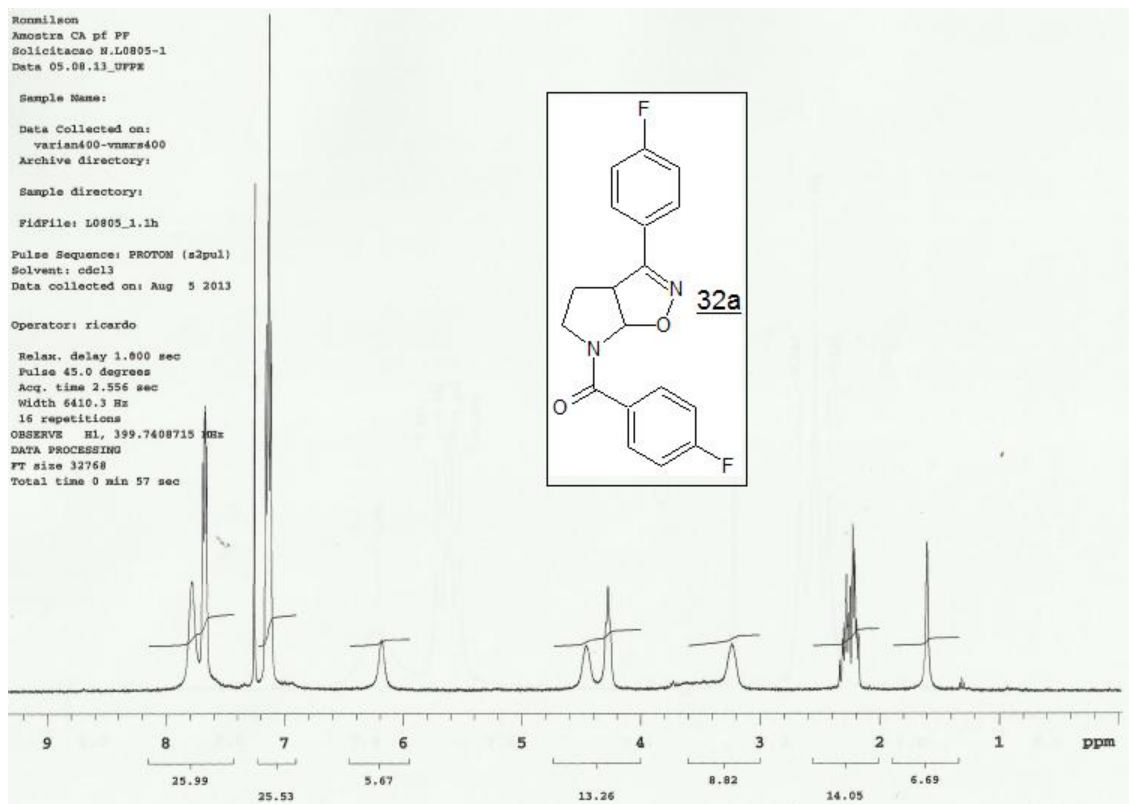
50. MINAKATA, S.; OKUMURA, S.; NAGAMACHI, T.; TAKEDA, Y. Generation of Nitrile Oxides from Oximes Using *t*-BuOI and Their Cycloaddition. **Organic Letters**, v.13, p. 2966-2969, 2011.
51. KATRITZKY, A.R.; REES, C.W. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. The Structure, Reactions, Synthesis and Uses of Heterocyclic Compounds, **Pergamon Press**, v.6, 1984.
52. MATOBA, K.; KAWAI, H.; FURUKAWA, T.; KASUDA, A.; TOKUNAGA, E.; NAKAMURA, S.; SHIRO, M.; SHIBATA, N. Enantioselective Synthesis of Trifluoromethyl-substituted 2-isoxazolines: Asymmetric Hydroxylamine/Enone Cascade Reaction, **Organocatalysis**, v. 49, v. 5762-5766, 2010.
53. CALVO-FLORES, F. G.; ISAC-GARCA, J.; HERNÁNDEZ-MATEO, F.; PÉREZ-BALDERAS, F.; CALVO-ASÍN, J. A.; SANCHÉZ-VAQUERO, E.; SANTOYO-GONZÁLEZ, F. 1,3-Dipolar Cycloadditions as a Tool for the Preparation of Multivalent Structures. **Organic letters**, v. 2, p. 2499-2502, 2000
54. HUISGEN, R.; Kinetics and Mechanism of 1,3-Dipolar Cycloadditions **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n.11,p. 633–645, 1963.
55. HUISGEN, R. "1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future". **Angewandte Chemie International Edition**, v. 2, n.10, p. 565–598,1963.
56. HAMADI, N. B.; M. MSADDEK, C. R; An unexpected transformation by reduction of isoxazolines. **Comptes Rendus Chimie**, v.14, p. 653-657, 2012.
57. GOTHELF, K.V.; JORGENSEM, K. A. Transition-Metal Catalyzed Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions between Alkenes and Nitrones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 54, p. 5687-5691, 1994.
58. FLEMINING, I. **Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions**. New York: John Wiley & Sons, 1976. 378 p.

59. DOS SANTOS, R. J. Reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 5 membros com N-óxidos de nitrila. Síntese e avaliação das atividades anti-inflamatória de derivados isoxazolínicos bicíclicos pirrolidínico e antimicrobiana de enamidas endocíclicas de 5 membros. Universidade Federal de Pernambuco. **(Dissertação)**.137f. 2003.
60. KRAUS, G. A.; NEUENSCHWANDER, K. A Facile Synthesis of N-Acyl-2-pyrrolines **Journal of Organic Chemistry**, v. 46, p. 4791-4792, 1981.
61. PARK, K.; MARSHALL, W. J. Intramolecular [3+2] nitrile oxide cycloaddition: synthesis of tetrahydroisoxazoloindazoles. **Tetrahedron Letts**, v. 45, p. 4931-4934, 2004.
62. Li, J. T.; Li, X.L.; Li, T. S. Synthesis of oximes under ultrasound irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, p. 200-202, 2006.
63. CLAYDEN, J. WARREN. S. GREEVES, N., WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University Press, 2001. 1512 p.
64. CECCHI, L.; DE SARLO, F.; MACHETTI, F. Isoxazoline derivatives from activated primary nitrocompounds and tertiary diamines. **Tetrahedron Letters**, v. 46, p.7877-7879. 2005.
65. PADWA, A., PEARSON, W. H. **Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products. Methods for the Generation of Nitrile Oxides**. New York: John Wiley & Sons, 2002. 940 p.
66. POLLISSIER, H. Asymmetric 1,3-dipolar cycloadditions, **TETRAHEDRON.**, v. 63, p. 3235-3285, 2007
67. OMOIGUI, S. The biochemical origin of pain – Proposing a new law of pain: The origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 1 of 3 – A unifying law of pain. **Medical Hypotheses**, v. 69, p. 70-82, 2007.

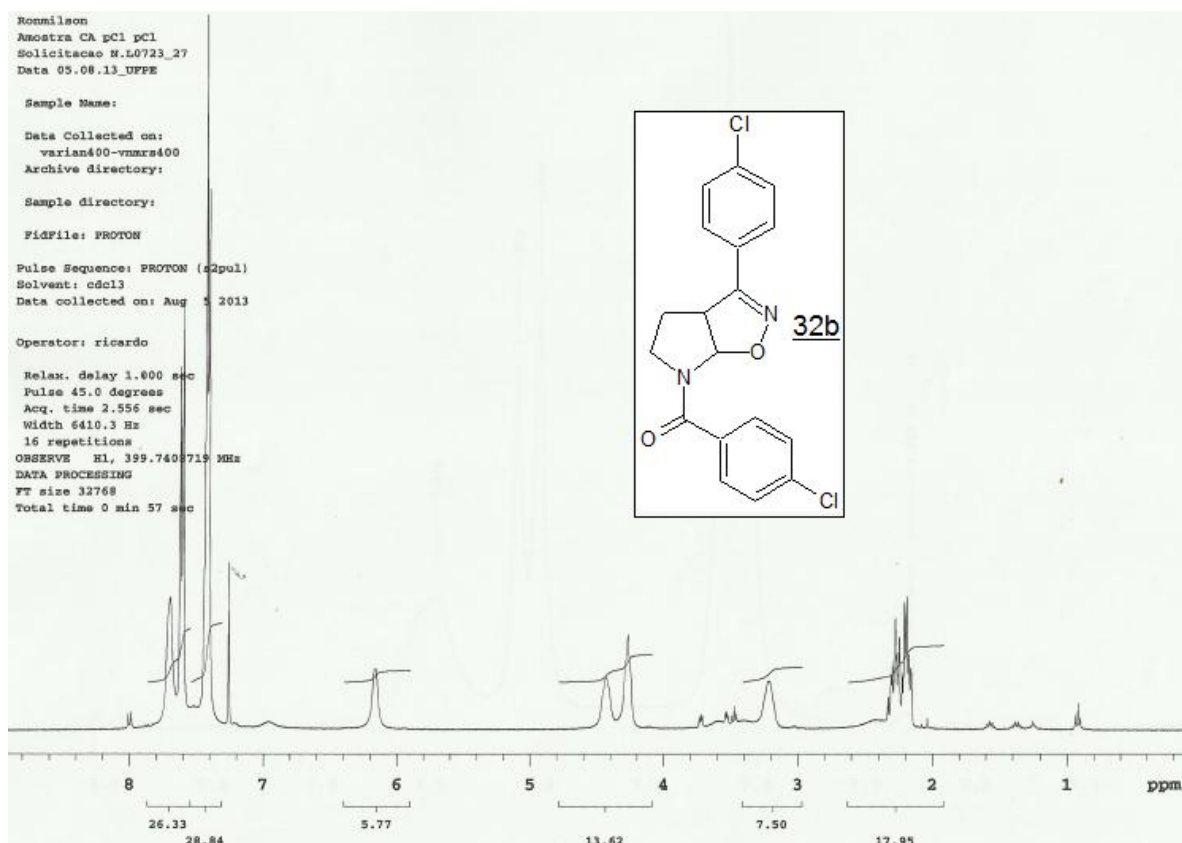
68. OMOIGUI, S. The biochemical origin of pain: The origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 2 of 3 – Inflammatory profile of pain syndromes. **Medical Hypotheses**, v. 69, p. 1169-1178, 2007.
69. MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.
70. HANSEN, E. C.; LEVENT, M.; CONNOLY T. J. Safe and Scaleable Oxidation of Benzaldoximes to Benzohydroximinoyl Chlorides. **Organic Process Research & Development**, v. 14, p. 574-578, 2010.
71. DAVIES, P.; BAILEY, P. J.; GOLDENBERG, M. M. The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. **Annual reviews Immunology**, v. 2, p. 335-357, 1984.
72. WILLIAMS, T. J.; PECK, M. J. Role of prostaglandin-mediated vasodilatation in inflammation. **Nature**, v. 270, p. 530- 532, 1977.
73. SEIBERT, K.; ZHANG, Y.; LEAHY, K.; HAUSER, S.; MASFERRER, J.; PERKINS, W.; LEE, L.; ISAKSON, P. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. **Pharmacology**, v. 91, p. 12013-12017, 1994.
74. TSUJI, S.; KAWAI, N.; TSUJII, M.; KAWANO, S.; HORI, M. Review article: inflammation-related promotion of gastrointestinal carcinogenesis – a perigenetic pathway. **Aliment pharmacol ther**, v. 18, p. 82-89, 2003.
75. CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L. T.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, p. 12936-12931, 2002.
76. SAHIN, M.; SAHIN, E.; GÜMÜSLÜ, S. Cyclooxygenase-2 in Cancer and Angiogenesis. **Angiology**, v. 60, p. 242-253, 2009.

ANEXOS

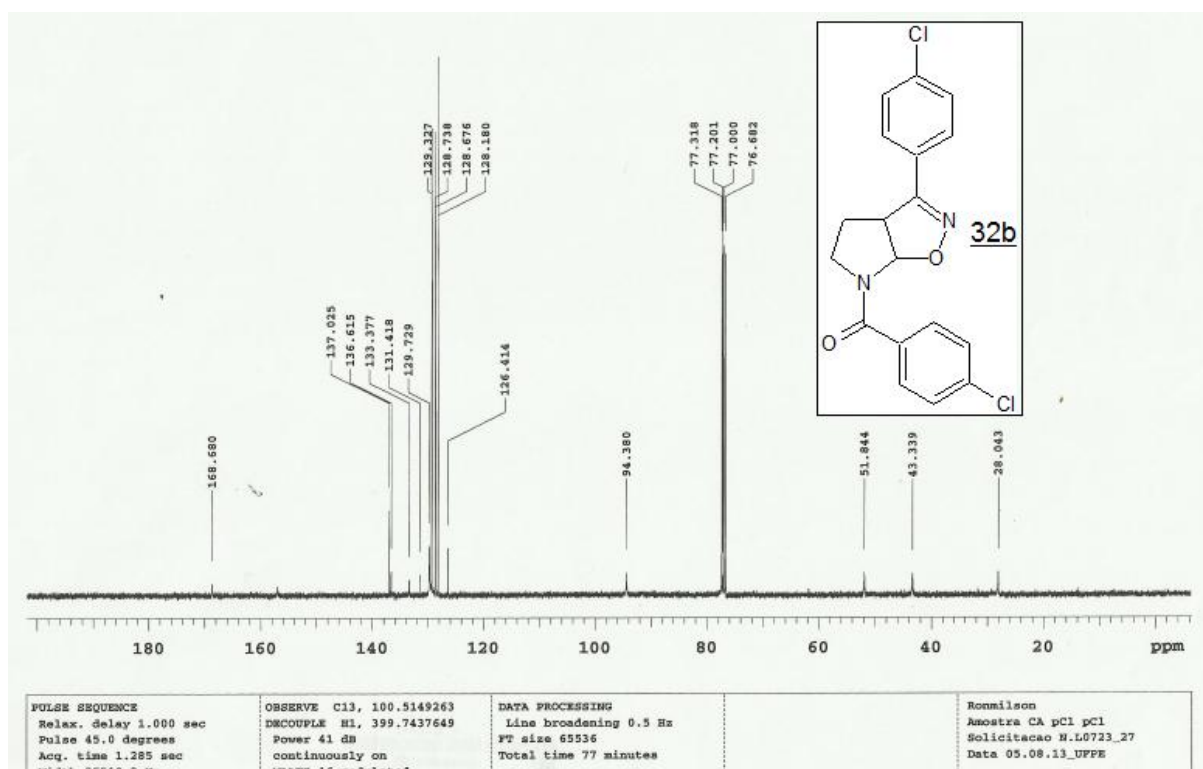
^1H RMN, 400MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.



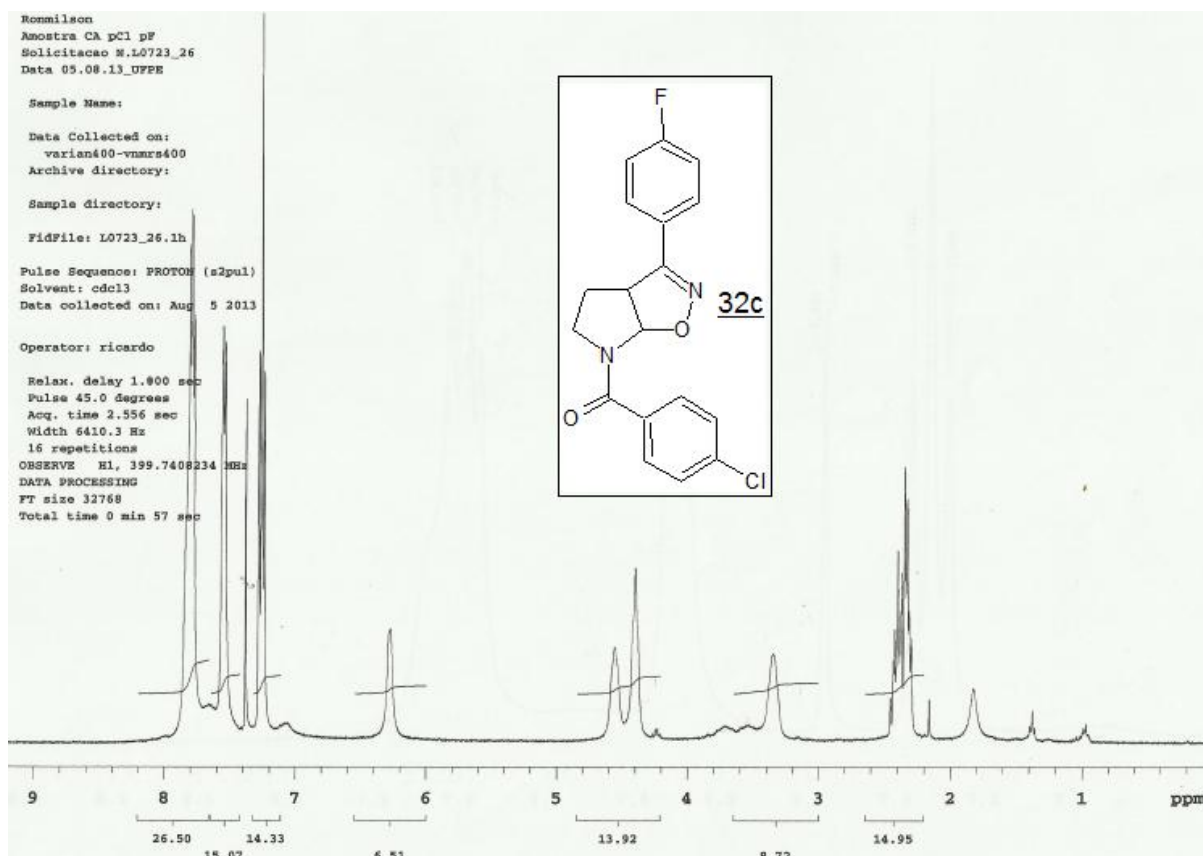
^1H RMN, 400MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.

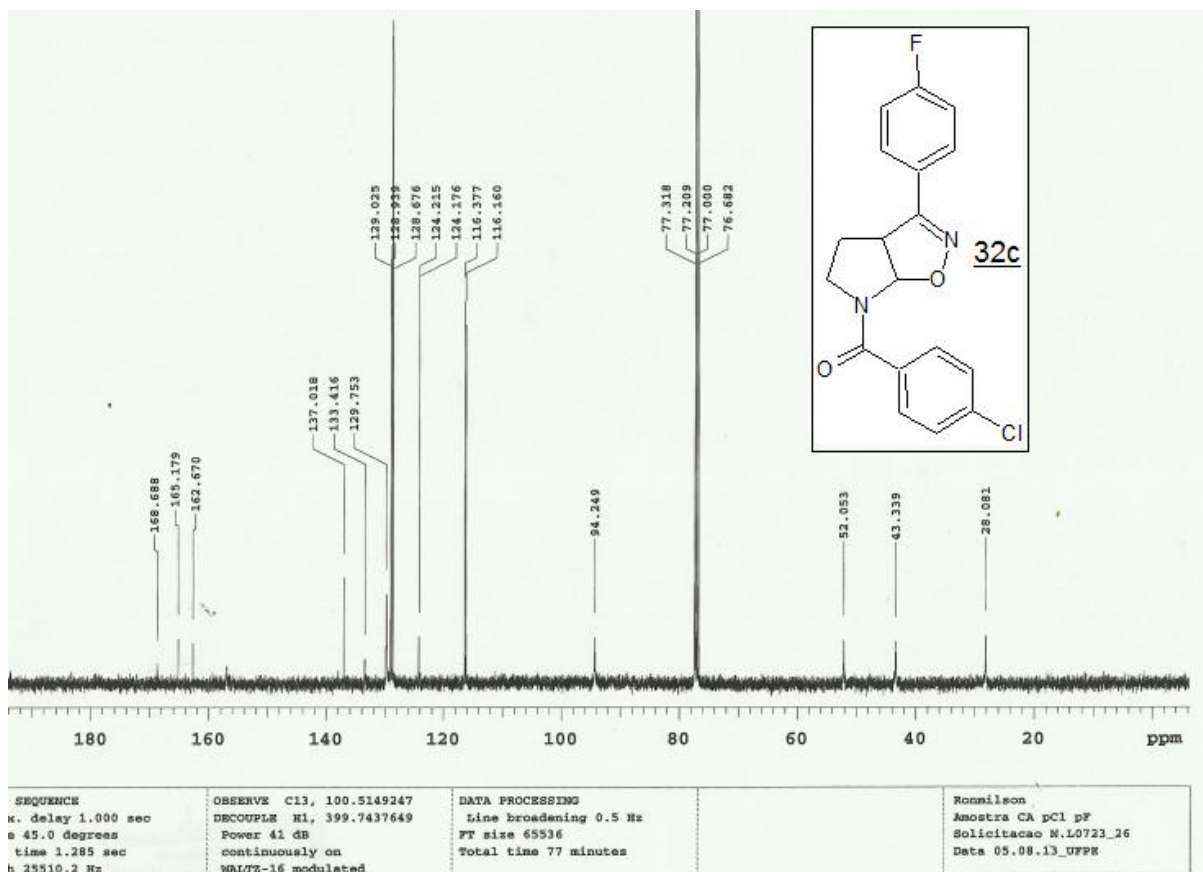


^{13}C RMN, 100MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.

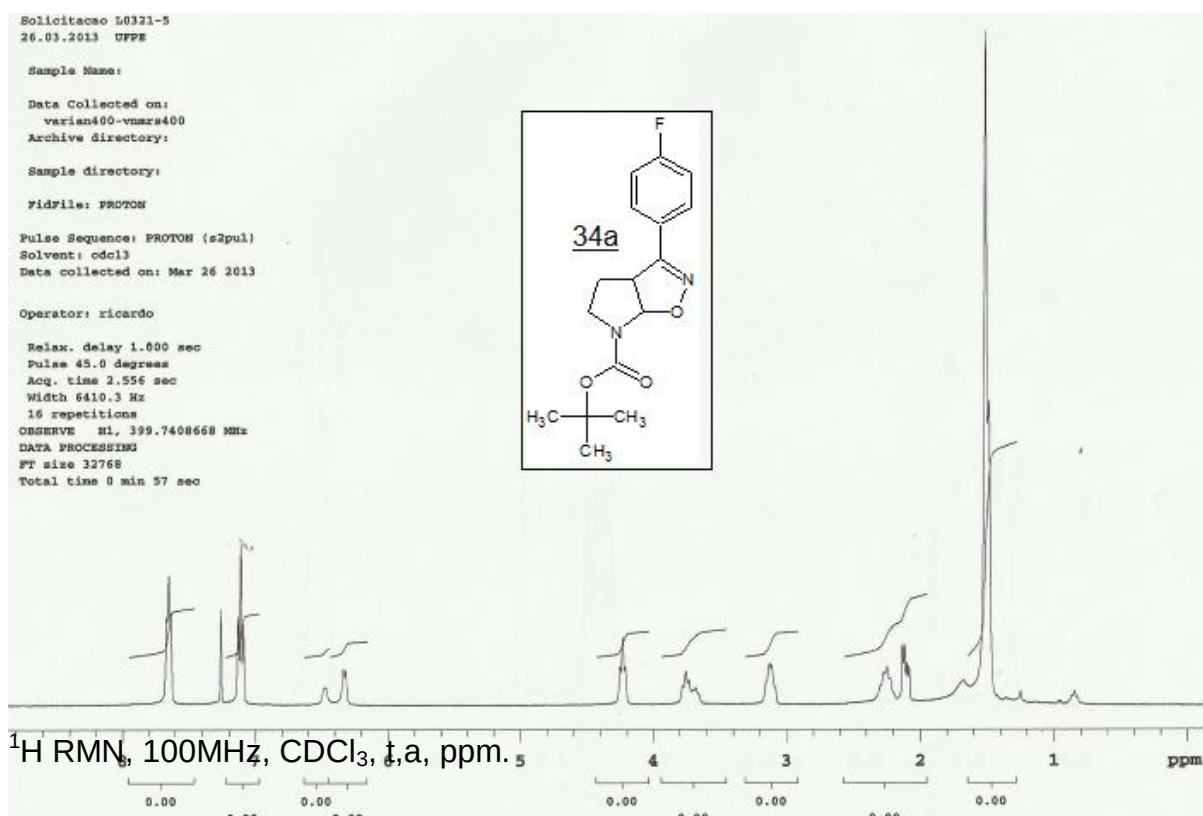


^1H RMN, 400MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.

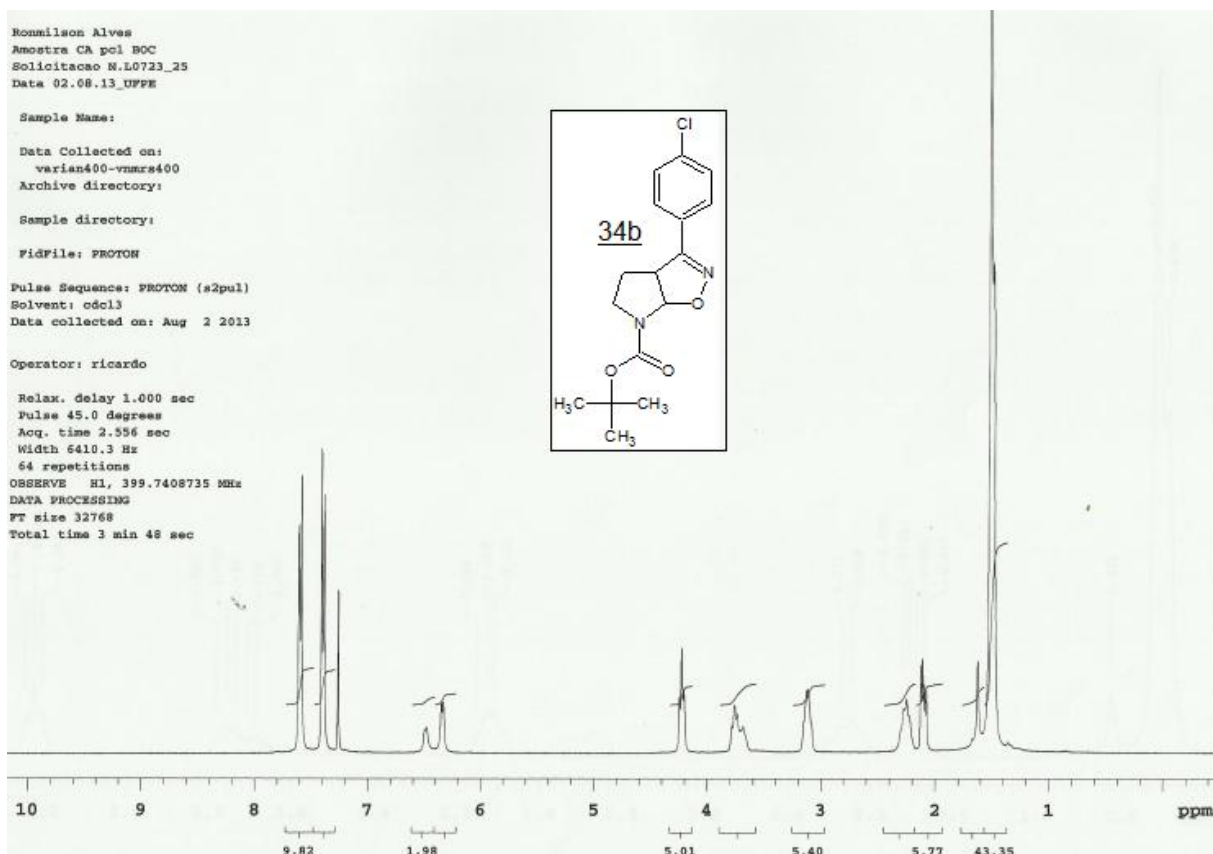




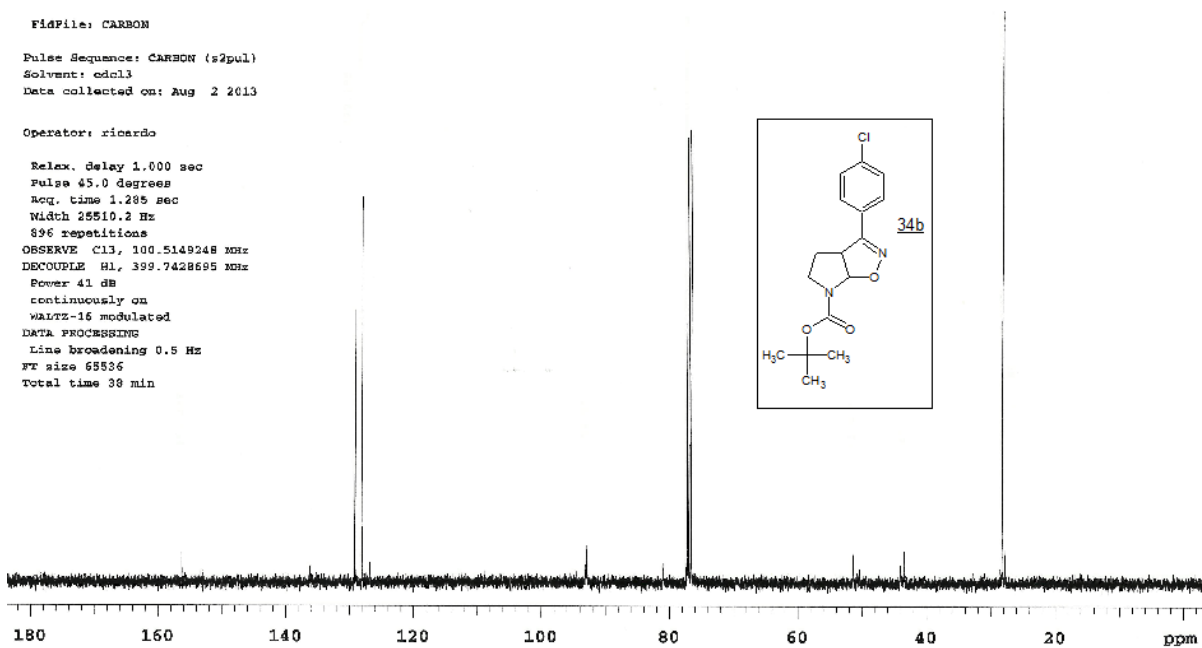
^1H RMN, 400MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.



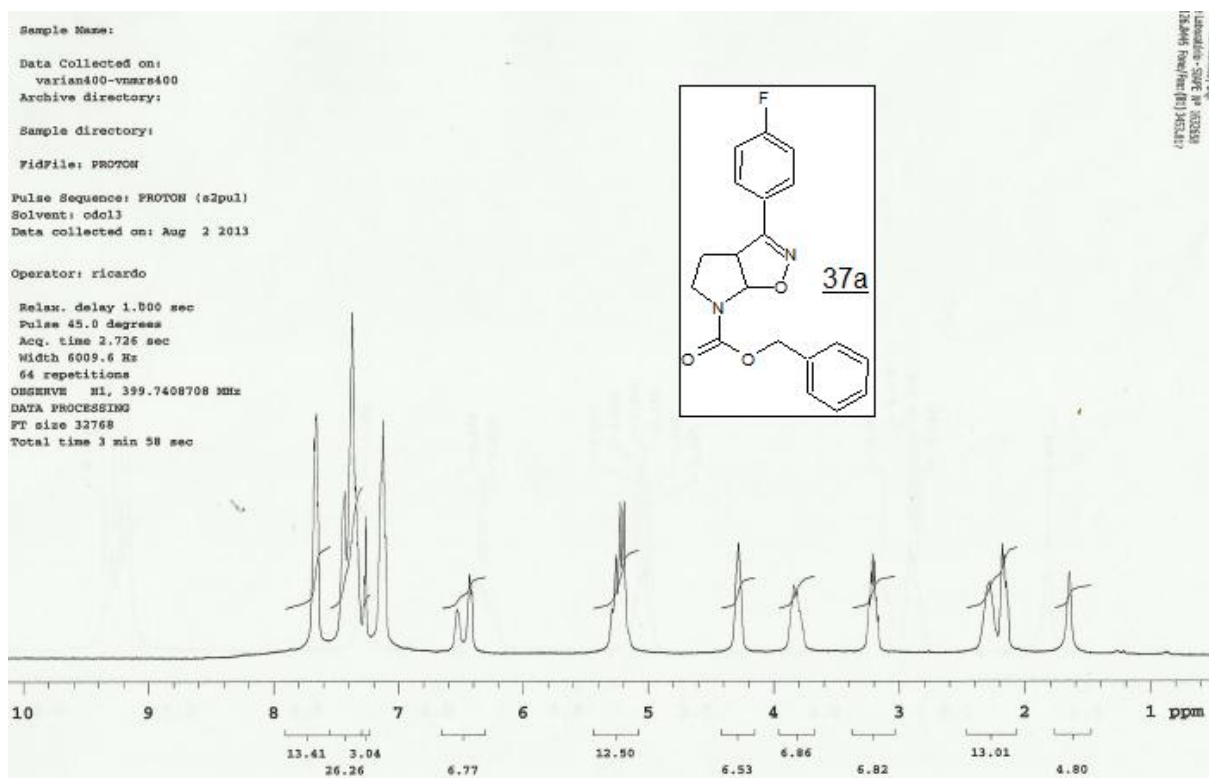
^1H RMN, 100MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.



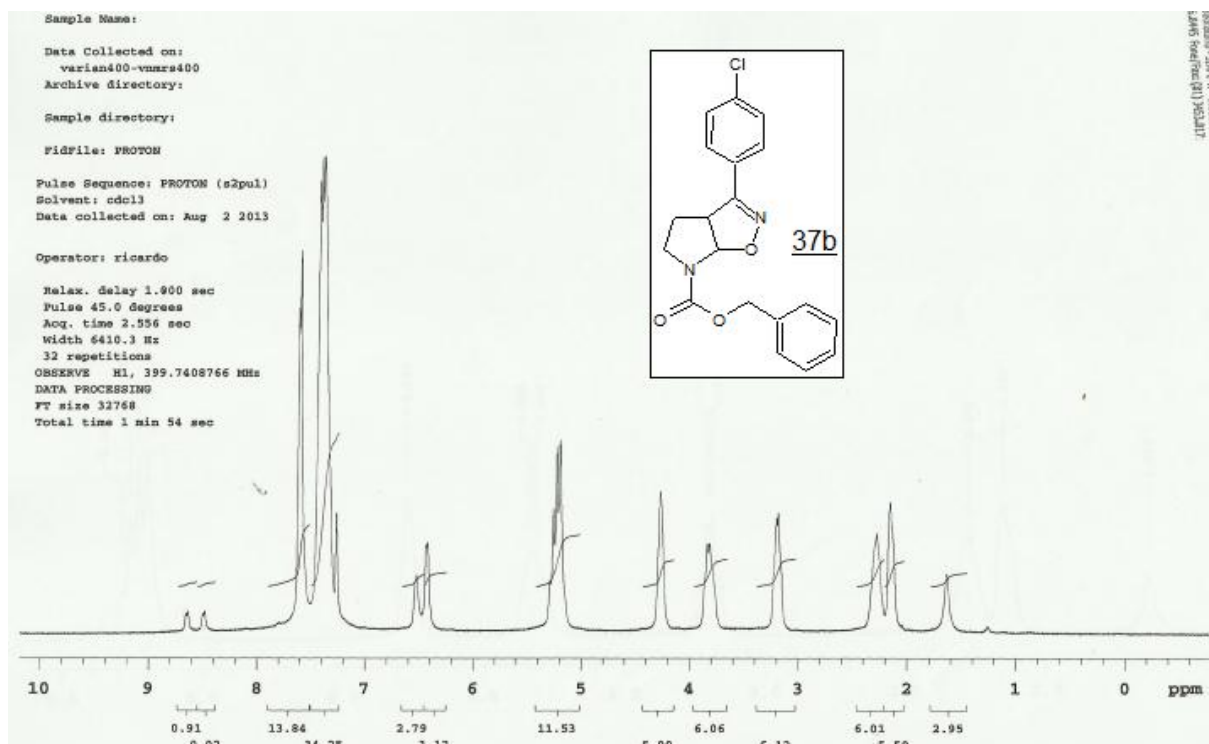
^{13}C RMN, 100 MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.



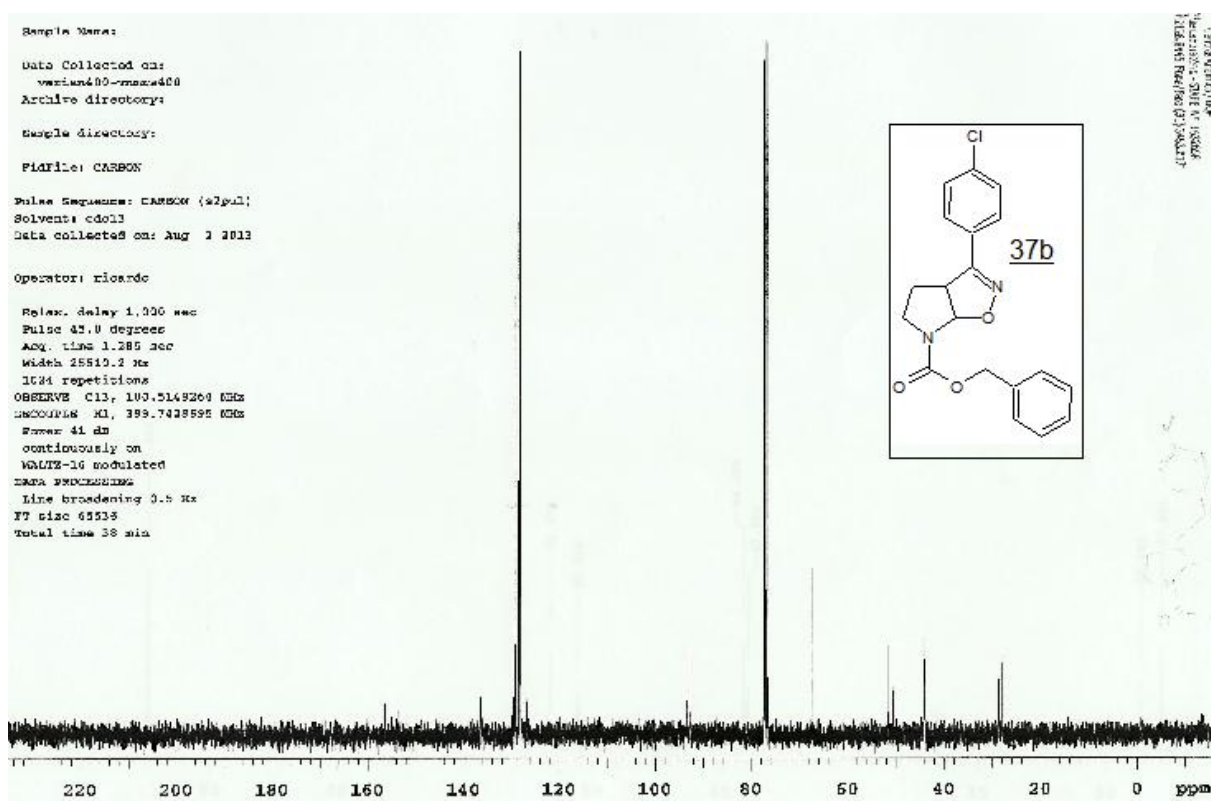
^1H RMN, 400 MHz, CDCl_3 , t.a, ppm.



^1H RMN, 400 MHz, CDCl_3 , t.a, ppm.



^{13}C RMN, 100 MHz, CDCl_3 , t,a, ppm.



I.V, cm^{-1}

