



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LUCAS PEREIRA SOUZA DA SILVA

**SÍNTSE, ELUCIDAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
NOVAS OXIMAS ISOXAZOLÍNICAS AZA-BICÍCLICAS**

Recife-PE
Junho de 2014

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

LUCAS PEREIRA SOUZA DA SILVA

MESTRANDO

**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
NOVAS OXIMAS ISOXAZOLÍNICAS AZA-BICÍCLICAS**

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

Junho de 2014

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Susyleide Brito, CRB4-1141

S586s Silva, Lucas Pereira Souza da.
Síntese, elucidação e avaliação da atividade antimicrobiana de novas oximas isoxazolínicas aza-bicíclicas / Lucas Pereira Souza da Silva. – Recife, 2014.
105 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Antônio Rodolfo de Faria.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2014.
Inclui referências e anexos.

1. Oximas. 2. Reação de cicloadição. 3. Agentes antimicrobianos.
I.Faria, Antônio Rodolfo de (Orientador). II. Título.

615.2 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS 2017-019)

LUCAS PEREIRA SOUZA DA SILVA

**SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
NOVAS OXIMAS ISOXAZOLÍNICAS AZA-BICÍCLICAS**

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.

Aprovada em: 03/06/2014

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Cláudia Sampaio de Andrade Lima (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

**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 Souza 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 Brandini

**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

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a **Deus** pela oportunidade de realizar este trabalho em minha vida, onde tenho certeza que Ele esteve sempre presente, principalmente nos momentos mais difíceis.

Agradeço também a minha família, pelo incentivo e compreensão ao longo desta jornada e de tantas outras escolhas. A minha mãe, **Sônia**, ao meu pai, **Pedro**, ao meu irmão **Gabriel**, a minha tia, **Tereza**, e a todos os parentes mais próximos. Principalmente, também, a minha esposa **Denise**, e meus sogros, **Júlio** e **Divane**.

Ao meu orientador, Antonio **Rodolfo de Faria**, sou muito grato pela oportunidade de me integrar ao seu grupo de pesquisa, e por todos os seus conhecimentos e experiências compartilhados, que me acrescentaram tanto no lado pessoal como no âmbito profissional.

E por fim, aos meus colegas de laboratório, os amigos do LASOF, que passaram comigo momentos inesquecíveis. Momentos de troca de conhecimentos durante a execução dos experimentos e momentos de descontração que aconteceram ao longo desses anos. **Adriano, Marlene, Ronmilson, Charles, Hellen, Natanael, Otoni, Eduarda, Jéssica**.

Resumo

Em estudos prévios, realizados por Almeida, foram obtidas substâncias 2-isoxazolinas aza-bicíclicas, que deram origem a núcleos como o 2-isoxazolina[5,4-b]piperidina e 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina. Amidas N benzoiladas derivadas dessas substâncias apresentaram-se farmacologicamente ativas, principalmente em testes anti-inflamatório e antimicrobianos realizados com esses compostos. Além disso, várias substâncias contendo a função oxima, em sua forma livre e como éteres de oxima, são descritas na literatura, apresentando atividades biológicas antimicrobianas. Diante disso, foi obtido através da hibridização molecular, derivados 2-isoxazolínicos aza-bicíclico contendo a função oxima em sua estrutura. Os ésteres isoxazolínicos **34** e **36** foram obtidos através de reações de cicloadição 1,3-dipolar por duas diferentes rotas sintéticas, pela reação do óxido de nitrila **41** (CEFNO) tanto com o enecarbamato cbz, quanto com as enamidas endocíclicas para-substituídas. Os cicloadutos oriundos do enecarbamato endocíclico, sofreram reações de hidrogenólise e posterior N-benzoilação. A porção éster, presente nos compostos N-benzoilados para-substituídos, foi reduzida a álcool e em seguida submetida a uma oxidação de Swern, resultando nos aldeídos isoxazolínicos. A partir desses aldeídos **38**, através de uma reação com hidroxilamina, chegou-se nas oximas isoxazolínicas **39**. Os novos derivados foram submetidos a testes biológicos com o intuito de avaliar sua atividade antimicrobiana. O teste foi realizado pelo método de difusão em disco, contendo bactérias Gram negativas e Gram positivas, onde os derivados isoxazolínicos apresentaram halos variados frente aos microrganismos em estudo. O composto **39b** caracterizou-se como uma substância promissora no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, com halos de 10 mm para o *Staphylococcus aureus*, 11 mm para o *Micrococcus luteus*, 13 mm *Bacillus subtilis* e 13 mm para o microrganismo *Micobacterium smegmatis*.

Palavras chave: Oximas. Reação de cicloadição. Agentes antimicrobianos.

Abstract

In previous studies conducted by Almeida substances were obtained isoxazolines 2-aza-bicyclic, giving rise to nuclei as 2-oxazoline [5,4-b] piperidine and 2-oxazoline [5,4-b] pyrrolidine. N benzoiladas amides derived from these substances had become pharmacologically active, especially in anti-inflammatory and antimicrobial tests conducted with these compounds. Furthermore, substances containing various oxime function, in free form and as oxime ethers are described in literature, showing microbial biological activities. Thus, was obtained by molecular hybridization, derivatives aza-bicyclic 2-oxazolínicos containing the oxime function in its structure. Esters isoxazolínicos **34** and **36** were obtained by cycloaddition 1,3-dipolar cycloaddition reactions of two different synthetic routes, by reaction of the nitrile oxide **41** (CEFNO) with both the cbz enecarbamate, as with the endocyclic enamides para-substituted. Cicloadutos coming from the endocyclic enecarbamate suffered reactions of hydrogenolysis and subsequent N-benzoylation. The ester moiety present in the N-substituted compounds for benzoilados was reduced to alcohol, and then subjected to a Swern oxidation, resulting in isoxazolínicos aldehydes. From these aldehydes **38** by means of a reaction with hydroxylamine, was reached in isoxazolínicas oximes **39**. The novel derivatives were subjected to biological tests in order to evaluate its antimicrobial activity. The test was performed using the disk diffusion method, comprising Gram negative and Gram positive where isoxzolínicos halo derivatives showed varied across the microorganisms under study. Compound **39b** was characterized as a promising substance in the development of new antimicrobial agents with halos of 10 mm for *Staphylococcus aureus*, 11 to *Micrococcus luteus* mm, 13 mm and 13 mm *Bacillus subtilis* microorganism *Mycobacterium smegmatis* for.

Keywords: Oximes. Cycloaddition reaction. Anti-infective agents.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Derivados isoxazolínicos, núcleo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina, protótipo oxima anti-inflamatória	18
Figura 2 Geometria do 1,3 dipolo	21
Figura 3. Exemplos de 1,3 dipolo	21
Figura 4. Diagrama de energia dos orbitais de fronteira.	22
Figura 5. Classificação das isoxazolinas	23
Figura 6. Derivados diarilisoxazol e diarilisoxazolina	27
Figura 7. Derivados isoxazolínicos análogos da procainamida e procaína.	28
Figura 8. Derivados tiofenos isoxazolínicos substituídos	28
Figura 9. Análogos de ésteres de isoxazolinas.	29
Figura 10. Derivados da piridina contendo a função isoxazolina.	30
Figura 11. Derivados amidas 2-isoxazolínicas azabicíclicas	30
Figura 12. 2-Isoxazolina funcionalizada com hidrazona.	31
Figura 13. Oximas imidazólicas N- substituídas	34
Figura 14. Éster de oxima biciclo com atividade antimicrobiana.	34
Figura 15. Derivado piperidínico contendo a função oxima.	35

Figura 16. Derivados de oxima e de aciloximas.	35
Figura 17. Derivados do tiofeno contendo éster de oxima.	36
Figura 18. Derivados tiazol com função oxima.	37
Figura 19. Oxima análoga da benzofenona.	37
Figura 20. Derivados isoxazolina e enamida com atividades biológicas.	40
Figura 21. Derivados de oxima com atividade anti-inflamatória e antimicrobiana.	40
Figura 22. Isoxazolil-aryl-oximas.	41
Figura 23. Deslocamentos químicos do cicloaduto isoxazolínico para-nitro.	48
Figura 24. Diastero e regioseletividade da cicloadição 1,3-dipolar	49
Figura 25. Mecanismo de cicloadição 1,3-dipolar não concertado.	50
Figura 26. Híbridos de ressonância das enamidas e dos enecarbamatos.	51
Figura 27. Deslocamentos químicos dos alcoóis isoxazolínicos.	55
Figura 28. Espectro de ^1H RMN do composto 39a.	56
Figura 29. Espectro de ^{13}C RMN do composto 39a.	56
Figura 30. Espectro de infravermelho do composto 39a.	57
Figura 31. Deslocamentos químicos do aldeído p-F 40 a.	59

Figura 32. Espectro de 1H RMN do composto 40a.	60
Figura 33. Espectro de 13C RMN do composto 40a.	60
Figura 34. Espectro infravermelho do composto 40 a.	61
Figura 35. Reatividade da hidroxilamina	62
Figura 36. Deslocamentos químicos da oxima p-F 41 a.	62
Figura 37. Espectro de 1H RMN do composto 41a.	63
Figura 38. Espectro de 13C RMN do composto 41a.	64
Figura 39. Espectro infravermelho do composto 41 a.	64
Figura 40. Halos de inibição das novas oximas isoxazolinas.	94

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Síntese enantioseletiva de 2- isoxazolinas trifluorometil substituídas	24
Esquema 2 Métodos de obtenção de 2-isoxazolinas	25
Esquema 3. Cicloadição 1,3-dipolar de óxido de arilnitrilas com derivados 5- hidro-3-metil-1,5-dihidropirrol-2-ona	25
Esquema 4. Cicloadição 1,3-dipolar entre os óxidos de nitrila gerados a partir das oximas utilizando o t-BuOCl	26
Esquema 5. Cicloadição 1,3 dipolar entre óxidos de nitrila gerados a partir de oximas utilizando reagentes de iodo	26
Esquema 6. Síntese de oximas a partir da hidroxilamina	32
Esquema 7. Síntese de oximas a partir da utilização do ultrassom.	32
Esquema 8. Síntese de oximas com pouca adição de solvente	33
Esquema 9. Síntese de oximas a partir de nitro derivados.	33
Esquema 10. Cicloadição 1,3-dipolar.	39
Esquema 11. Rota sintética utilizada na preparação das isoxazoil-aryl-oximas.	42
Esquema 12. Obtenção do trímero da 1-pirrolina	43
Esquema 13. Obtenção das enamidas endocíclicas p-substituídas.	43
Esquema 14. Obtenção dos enecarbamatos endocíclicas Cbz e Boc.	44

Esquema 15. Obtenção do clorooximidoacetato de etila.	46
Esquema 16. Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas e o N-óxido de nitrila.	46
Esquema 17. Cicloadição entre os enecarbamatos Cbz e Boc com o N-óxido de nitrila.	50
Esquema 18. Desproteção dos cicloadutos Cbz e Boc.	52
Esquema 19. N-benzoilação do cicloaduto desprotegido.	53
Esquema 20. Redução ésteres isoxazolínicos p-substituídos.	54
Esquema 21. Oxidação dos alcoóis através da reação de Swern.	57
Esquema 22. Ativação do DMSO pelo cloreto de oxalila	58
Esquema 23. Reação de Swern.	59
Esquema 24. Síntese de oxima a partir dos aldeídos.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação dos métodos de síntese das enamidas endocíclicas p- substituídas.	44
Tabela 2 Comparação dos métodos de síntese do Enecarbamato Cbz.	45
Tabela 3. Rendimentos dos cicloadutos para-substituídos através das enamidas.	47
Tabela 4. Rendimento das reações de N-benzoilação.	53
Tabela 5. Rendimento das reações de redução.	54
Tabela 6. Rendimento das reações de Swern.	58
Tabela 7. Rendimento das reações de síntese de oxima.	62
Tabela 8. Valores de halos de inibição em mm das novas oximas isoxazolinas.	93

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AgNO₃ – Nitrato de Prata
BOC- *Tert*-Butiloxi Carbonila
CBZ – Benzoiloxi Carbonila
CEFNO – Óxido de Carboetoxiformonitrila
COX - Ciclooxygenase
DMSO – Dimetil sulfóxido
FMO – Orbitais moleculares de fronteira
HOMO - Orbital ocupado de mais alta energia
IVTF – Infravermelho transformada de Fourier
LUMO - Orbital desocupados de menor
energia MIC – Concentração mínima inibitória
PhI(OAc)₂ – Diacetoxi-iodobenzeno
PLA2 – Enzima fosfolipase
A₂ Rf – Fator de Retenção
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
t-BuOCl – Hipoclorito de *tert*-butila t-
BuOI - Hipoiodito de *tert*-butila
TEA – Trietilamina
THF – Tetraidrofurano

SUMÁRIO

1 Introdução	17
2 Revisão da Literatura	19
2.1 Resistência antimicrobiana	19
2.2 Cicloadição 1,3-dipolar	20
2.3 Isoxazolinas	23
2.3.1 Métodos de obtenção de 2-isoxazolinas	24
2.3.2 Atividade biológica e aplicações terapêuticas	27
2.4 Oximas	31
2.4.1 Métodos de obtenção de oximas	31
2.4.2 Oximas com atividades biológicas e aplicações terapêuticas	33
3 Objetivos	38
3.1 Objetivos Gerais	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4 Metodologia	39
5 Resultados e Discussão	43
5.1 Preparação do trímero da 1-pirrolina <u>30</u>	43
5.2 Síntese das enamidas endocíclicas <u>33</u>	43
5.3 Síntese dos enecarbamatos <i>N</i> -(benziloxicarbonil) – pirrolina, <i>N</i> -(tbutoxicarbonil)-2-pirrolina	44
5.4 Síntese do clorooximidoacetato de etila <u>41</u>	46
5.5 Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas com o <i>N</i> -óxido de nitrila	46
5.6 Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre os enecarbamatos endocíclico <u>34 a</u> e <u>34 b</u> com o <i>N</i> -óxido de nitrila	50
5.7 Desproteção da amina secundária em <i>N</i> 6	52
5.8 Reação de acilação em <i>N</i> 6 de <u>35</u> com cloreto de benzoíla para substituídos	53
5.9 Síntese dos alcoóis isoxazolínicos <u>37</u>	54
5.10 Síntese dos aldeídos isoxazolínicos <u>38</u>	57
5.11 Síntese da oximas isoxazolínicas <u>39</u>	61
6 Procedimentos experimentais	65
6.1 Materiais e métodos	65
6.2 Trímero da 1-pirrolina <u>30</u>	66
6.3 <i>N</i> -(benziloxicarbonil)-2-pirrolina <u>32 a</u>	67
6.4 <i>N</i> -(t-butoxicarbonil)-2-pirrolina <u>32b</u>	68
6.5 <i>N</i> -(4-fluorobenzoil)-2-pirrolina <u>34 a</u>	69
6.6 <i>N</i> -(4-clorobenzoil)-2-pirrolina <u>33 b</u>	70
6.7 <i>N</i> -(4-nitrobenzoil)-2-pirrolina <u>33c</u>	71

6.8 Clorooximido acetato de etila	41	72	
6.9 Éster 6-benzil-3-etyl do ácido	3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-3,6-dicarboxílico	34 a	73
6.10 Éster 6-terc-butil do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d] isoxazol -3,6- dicarboxílico	34 b	74
6.11 Éster 6-(4-fluorobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d] isoxazol -3,6- dicarboxílico	36 a	75
6.12 Éster 6-(4-clorobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d] isoxazol -3,6- dicarboxílico	36b	76
6.13 Éster 6-(4-nitrobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d] isoxazol -3,6- dicarboxílico	36c	77
6.14 Éster etílico do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d] isoxazol -3,6- dicarboxílico	35	78
6.15 Éster 6-(4-fluorobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo[3,2-d]isoxazol-3,6-dicarboxílico	36 a	79
6.16 Éster 6-(4-clorobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d]isoxazol-3,6-dicarboxílico	36b	80
6.17 Éster 6-(4-nitrobenzoil) do ácido	3a,4,5,6a- tetrahidropirrolo [3,2-d]isoxazol-3,6-dicarboxílico	36c	81
6.18 obtenção do álcool(4-fluorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo [3,2-d]isoxazol-6-il-metanona	37 a	81	
6.19 obtenção do álcool(4-clorofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo [3,2-d]isoxazol-6-il-metanona	37b	83	
6.20 obtenção do álcool (4-nitrofenil)-(3-hidroximetil-3a,4,5,6a-tetrahidropirrolo [3,2-d]isoxazol-6-il-metanona	37c	84	
6.21 obtenção do 6-(4- fluorobenzoil)-4,5,6,6a-tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isozazol-3-carbaldeído	38 a	85	
6.22 obtenção do 6-(4-clorobenzoil)-4,5,6,6a- tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isozazol -3- carbaldeído	38b	86	
6.23 obtenção do 6-(4-nitrobenzoil)-4,5,6,6a- tetrahidro-3aHpirrolo[3,2-d]isozazol -3- carbaldeído	38c	87	
6.24 obtenção do 6-(4-fluorobenzoil)-3aH,4H,5H,6H,6aH- tetrahidropirrolo [3,2-d]-isoxazol-3-hidroxilamina	39 a	88	
6.25 Obtenção do 6-(4-fluorobenzoil)-3aH,4H,5H,6H,6aH- tetrahidropirrolo [3,2-d]-isoxazol-3-hidroxilamina	39b	90	
6.26 Obtenção do 6-(4-fluorobenzoil)-3aH,4H,5H,6H,6aH- tetrahidropirrolo [3,2-d]-isoxazol-3-hidroxilamina	39c	91	
7 Atividade antimicrobiana		92	
7.1 Materiais e Métodos		92	
7.2 Resultados e discussão		93	
8 Conclusões e perspectivas		95	
REFERÊNCIAS		96	
ANEXOS		102	
Anexo A: Espectro de RMN ^1H e ^{13}C do composto 37b		103	
Anexo B: Espectro de RMN ^1H e ^{13}C do composto 38b		104	
Anexo C: Espectro de infravermelho do composto 38b		105	

1. Introdução

No avanço das ciências farmacêuticas, a química medicinal se tornou uma das principais áreas, responsáveis pelo desenvolvimento de novos fármacos. Suas diversas ferramentas químicas e matemáticas têm como objetivo a projeção, descoberta e síntese de compostos biologicamente ativos, descrevendo a relação entre sua estrutura química e a atividade farmacológica¹.

Nesse aspecto, tem se procurado desenvolver novos agentes antimicrobianos que possam ser utilizados em doenças causadas por microrganismos resistentes. Diversas bactérias, ao longo das últimas décadas, tem desenvolvido mecanismos de defesa contra mais de um tipo de antibiótico disponível no mercado, além disso, o uso indiscriminado dos antibióticos tem provocado o aumento dessa resistência².

Uma das estratégias da utilizadas pela química medicinal na descoberta de novos fármacos mais potentes, com um maior espectro e com um perfil farmacológico mais seguro, é a hibridação molecular. Que tem como princípio, a síntese de moléculas híbridas com dois ou mais grupos farmacofóricos biologicamente ativos, onde esses grupos possuem atividade farmacológica para uma ou mais atividades terapêuticas. Dessa maneira, é possível descobrir o grupamento farmacofórico essencial e obter fármacos mais desejáveis que o protótipo, em especificidade, duração de ação e menor toxicidade³.

Almeida e colaboradores obtiveram derivados amidas contendo o núcleo 2-isoxazolina aza-biciclo que foram submetidos à avaliações biológicas. Onde foi observado excelentes resultados em diversas atividades, como anti-inflamatória, antichagásica e antimicrobiana⁴.

Além desse núcleo, derivados híbridos da função oxima, com vários heterocíclicos sintetizadas na última década, vêm apresentando atividades antimicrobianas promissoras. Sendo a função oxima, em sua maioria, caracterizada como o grupo farmacofórico responsável por essa atividade⁵.

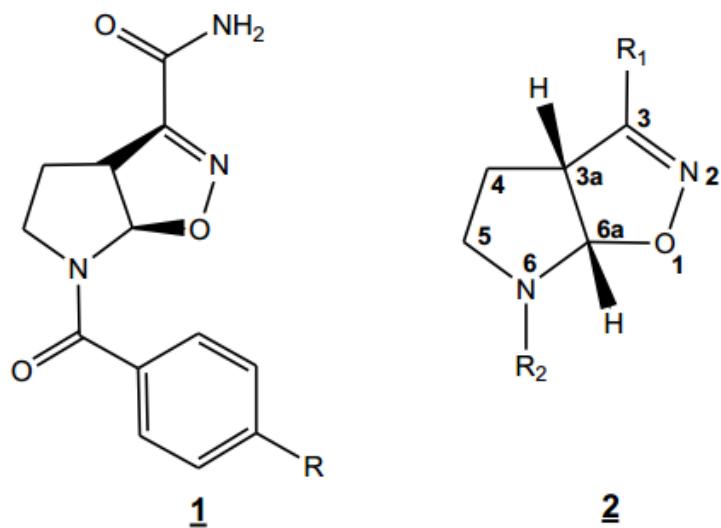


Figura 1 – Derivados isoxazolínicos, núcleo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina.

Diante disso, nosso trabalho visa colaborar com a pesquisa de novos fármacos com potenciais atividades antimicrobianas, contendo em sua estrutura molecular o núcleo 2-isoxazolina aza-biciclo juntamente com a função oxima em C3 e arilados em N6.

2. Revisão da Literatura

2.1 Resistência antimicrobiana

Ao longo da história, a humanidade buscou diversas estratégias para combater os inúmeros microrganismos existentes causadores de infecções e doenças. Nos últimos 70 anos, os antibióticos foram os principais agentes terapêuticos utilizados contra bactérias e obtiveram destaque na área farmacêutica pela efetiva redução na morbidade e mortalidade de doenças associadas a essas infecções⁶.

Os antibióticos são substâncias utilizadas com o objetivo de combater as bactérias presentes em um organismo, sem causar alterações fisiológicas no hospedeiro. No entanto, o uso de um antibiótico em um indivíduo, pode resultar em alterações na sua ecologia microbiana que tem o potencial de influenciar o uso dessas substâncias em outras pessoas⁷.

Durante a descoberta da penicilina e, posteriormente, o seu uso na segunda guerra mundial, Alexander Fleming constatou que não existia nenhum antibiótico tão eficaz, em que as bactérias não pudessem desenvolver um mecanismo de defesa contra ele⁸.

Esses microrganismos têm habitado a terra por bilhões de anos, e durante esse período entraram em contato com diversos antibióticos de ocorrência natural, o que proporcionou o desenvolvimento de mecanismos para a sua sobrevivência. Mudanças metabólicas e estruturais ocorrem em todos os organismos vivos, para que o mesmo possa se adaptar ao ambiente em que ele está sendo submetido⁶.

Parte dessa adaptação acontece pelo ajuste das bactérias a condições adversas como escassez de alimentos, água, disponibilidade de oxigênio e, principalmente, agentes externos potencialmente letais, onde se classificam os antibióticos⁶.

Além disso, o uso indiscriminado e inadequado dos antibióticos tanto na clínica terapêutica, para o tratamento de diversas doenças, quanto na indústria alimentícia, como conservantes, contribuiu de maneira significativa para o processo de adaptação das bactérias. O fenômeno de resistência a substâncias por parte das bactérias faz parte de uma seleção natural desse micro-organismo⁹.

Quando um antibiótico é administrado para o tratamento de uma infecção, as bactérias mais susceptíveis morrem, enquanto as remanescentes passam por esse

“stress” e saem mais fortalecidas, sendo consideradas resistentes. O principal problema relacionado a isso é que, essa resistência está diretamente relacionada a carga genética da bactéria que pode ser passada de geração em geração, e até mesmo, para outras bactérias⁹.

Dessa forma, não é surpresa que as bactérias tenham se tornados resistentes a diversos medicamentos antimicrobianos desenvolvidos nas últimas décadas. Além disso, algumas bactérias denominadas super-resistentes desenvolveram a habilidade de se proteger contra mais de um tipo de agente terapêutico. A *S. aureus*, por exemplo, um tipo de bactéria multirresistente, é responsável por milhares de infecções todos os anos⁸.

Em 2004, a sociedade Americana de Doenças Infecciosas divulgou que mais de 70% das bactérias patogênicas era resistente a pelo menos um tipo de antibiótico disponível atualmente. O que tornou alguns medicamentos ineficazes no tratamento de infecções simples causadas por esses patógenos⁸.

Por isso, é necessário uma contínua pesquisa e desenvolvimento de novas drogas com atividade antimicrobiana que possam ser utilizadas nesses quadros clínicos. Além disso, assim como outras classes de medicamentos o uso de antibióticos causam diversos efeitos colaterais, tais como distúrbios gastrointestinais, diarreia, reações alérgicas, dentre outras⁸.

2.2 Cicloadição 1,3-dipolar

A cicloadição 1,3-dipolar foi introduzida por Huisgen e se apresenta como uma ferramenta poderosa e versátil na síntese de heterocíclicos de cinco membros, além disso, proporciona uma maior funcionalização e formação de centros estereoquímicos em moléculas orgânicas cíclicas.¹⁰⁻¹¹

Esse tipo de reação se constitui pela adição de um sistema 1,3 dipolo a um composto insaturado, um alqueno ou alquino, proporcionando a formação de um anel de 5 membros. O dipolo é um zwitterion (íon dipolo), constituído por quatro elétrons PI deslocalizados através dos orbitais p por três átomos, onde o átomo central pode estar hibridizado em sp^2 ou sp .¹¹

Os sistemas 1,3 dipolo são classificados em dois tipos (Figura 2): o dipolo alila de geometria angular, onde o átomo central pode ser nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

e o dipolo alenila que tem como átomo central a presença do nitrogênio sp, responsável por sua geometria linear.¹¹

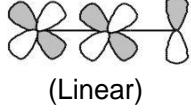
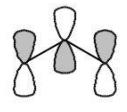
1,3-Dipolo	Geometria do dipolo	Hibridização do Atómo central
Alenila $a \equiv \overset{+}{b} - \overset{-}{c} : \longleftrightarrow : \overset{-}{a} - \overset{+}{b} \equiv c$		sp
Alila $a \not\equiv \overset{+}{b} - \overset{-}{c} : \longleftrightarrow : \overset{-}{a} - \overset{+}{b} \equiv c$		sp^2

Figura 2 – Geometria do 1,3-dipolo

Diversas estruturas do tipo 1,3 dipolos podem ser obtidas através da combinação entre átomos de nitrogênio, oxigênio e carbono. Na figura 3 são observados alguns exemplos de 1,3 dipolo, tanto do tipo alila quanto do tipo alenila que são utilizados na reação de cicloadição.

Alenila		Alila	
$\text{N} \equiv \overset{+}{\text{N}} - \overset{-}{\text{N}} : \longleftrightarrow : \overset{-}{\text{N}} = \overset{+}{\text{N}} = \text{N} \backslash$	Azidas	$\text{N} \overset{+}{\backslash} \text{O} : \longleftrightarrow \text{N} \overset{+}{\backslash} \text{O}$	Nitronas
$\text{N} \equiv \overset{+}{\text{N}} - \overset{-}{\text{C}} : \longleftrightarrow : \overset{-}{\text{N}} = \overset{+}{\text{N}} = \text{C} \backslash$	Compostos diazo	$\text{N} \overset{+}{\backslash} \text{N} : \longleftrightarrow \text{N} \overset{+}{\backslash} \text{N} \backslash$	Azometino Iminas
$\text{C} \equiv \overset{+}{\text{N}} - \overset{-}{\text{O}} : \longleftrightarrow \text{C} \overset{+}{\backslash} \text{N} = \text{O}$	Óxidos de Nitrila	$\text{N} \overset{+}{\backslash} \text{C} - \overset{-}{\text{C}} : \longleftrightarrow \text{N} \overset{+}{\backslash} \text{C} \backslash$	Ilídeos de Azometinos
$\text{C} \equiv \overset{+}{\text{N}} - \overset{-}{\text{C}} : \longleftrightarrow \text{C} \overset{+}{\backslash} \text{N} = \text{C} \backslash$	Ilídeos de Nitrila	$\text{O} \overset{+}{\backslash} \text{C} - \overset{-}{\text{C}} : \longleftrightarrow \text{O} \overset{+}{\backslash} \text{C} \backslash$	Ilídeos de Carbonila
$\text{C} \equiv \overset{+}{\text{N}} - \overset{-}{\text{N}} : \longleftrightarrow \text{C} \overset{+}{\backslash} \text{N} = \text{N} \backslash$	Nitrila imidas	$\text{S} \overset{+}{\backslash} \text{C} - \overset{-}{\text{C}} : \longleftrightarrow \text{S} \overset{+}{\backslash} \text{C} \backslash$	Ilídeos de Tiocarbonilas

Figura 3 – Exemplos de 1,3-dipolos.

A cicloadição 1,3 dipolar envolve a interação dos quatro elétrons π do 1,3 dipolo com os dois elétrons π presentes na estrutura insaturada, chamada de dipolarófilo. Huisgen, em seus trabalhos, observou que essa reação acontecia através de um mecanismo concertado, ou seja, passando por apenas uma etapa na formação do produto. Um estado de transição, onde duas ligações são parcialmente formadas, não necessariamente ao mesmo tempo.¹¹⁻¹²

Atualmente, a teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMO) é a que melhor explica a reatividade, bem como a régio e estereoseletividade da cicloadição 1,3-dipolar. Nesse modelo, a reação ocorre entre os orbitais moleculares ocupados de alta energia (HOMO) e os orbitais moleculares desocupados de menor energia (LUMO). Essas interações acontecem entre orbitais com a menor diferença de energia, dando produtos mais estáveis, por isso, está diretamente relacionada aos coeficientes orbitalares dos átomos que participam da reação, presentes no 1,3 dipolo e no dipolarófilo.¹³

Dessa forma as reações de cicloadição 1,3 dipolar podem ser classificadas em três tipos, de acordo com as energias relativas dos orbitais moleculares de fronteira envolvidos (Figura 4):¹¹

Reações entre os orbitais HOMO do dipolo e LUMO do dipolarófilo.

Reações controladas pelos orbitais LUMO do dipolo e HOMO do dipolarófilo.

Reações controladas pelos orbitais HOMO e LUMO tanto do dipolo quanto do dipolarófilo.

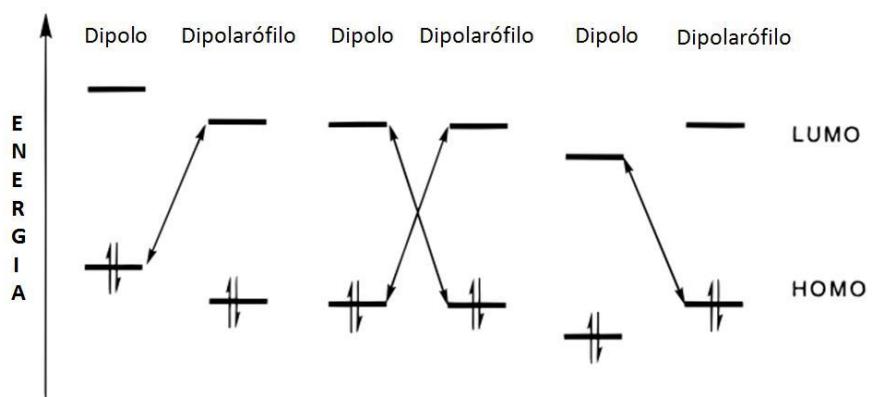


Figura 4 – Diagrama de energia dos orbitais de fronteira.

Dos Santos e colaboradores desenvolveram trabalhos sobre cicloadição 1,3 dipolar entre enamidas e encarbamatos com N-óxidos de nitrila na formação de heterocíclicos de cinco membros. Nessa pesquisa foi observado que as reações acontecem pela interação do HOMO das enamidas e enecarbamatos (dipolarófilos), compostos com alta densidade eletrônica, com o LUMO do N-óxido de nitrila (1,3-dipolo).⁴

2.3 Isoxazolinas

Os compostos heterocíclicos são um grupo de moléculas que apresentam variadas atividades biológicas descritas na literatura, além disso, estão presentes em moléculas de origem natural e sintética com propriedades farmacológicas significativas para o desenvolvimento da química farmacêutica e medicinal. Diversos núcleos heterocíclicos se destacam na síntese orgânica, devido a sua aplicação sintética como intermediários na síntese de novas estruturas e funcionalidades químicas.¹³⁻¹⁴

As isoxazolinas são uma importante classe de heterocíclicos de cinco membros, possuindo dois heteroátomos, um átomo de nitrogênio e um de oxigênio ligados diretamente entre si (Figura 5). Além disso, apresentam uma ligação dupla responsável pela a classificação desse núcleo, que varia de acordo com a posição da insaturação no anel.¹⁶

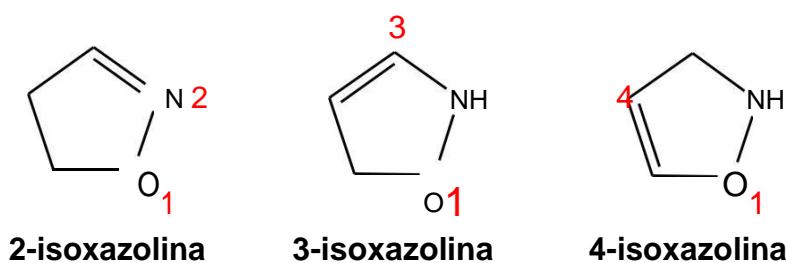


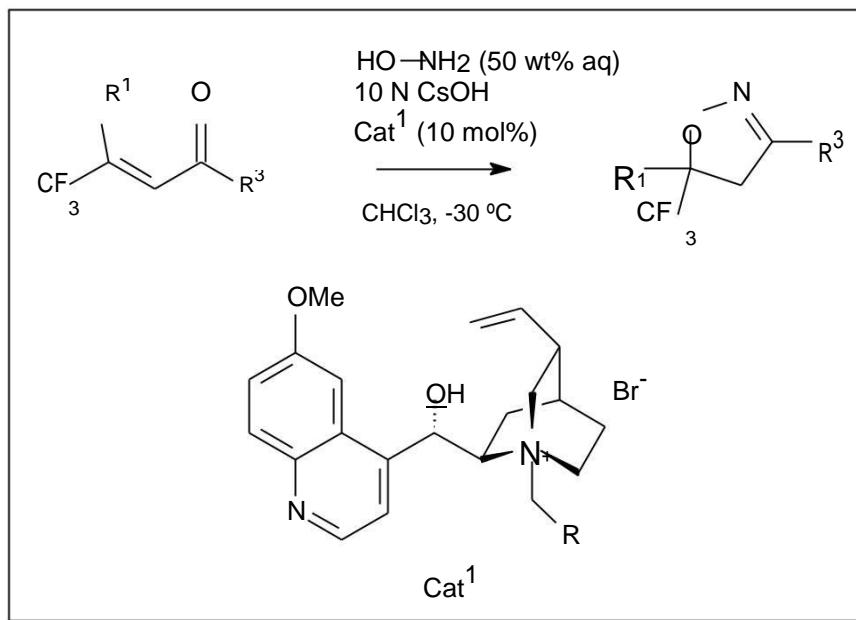
Figura 5 – Classificação das isoxazolinas.

Na síntese orgânica, as isoxazolinas apresentam interessantes aplicações sintéticas, como sua conversão em β -amino álcool e β -hidroxi cetonas, a partir da abertura do anel. As isoxazolinas são preparadas por diferentes métodos, sendo a

cicloadição 1,3 dipolar o mais eficiente, pois proporciona o controle estereoquímico da reação quando utilizado determinados substratos.¹⁷

2.3.1 Métodos de obtenção de 2-isoxazolinas

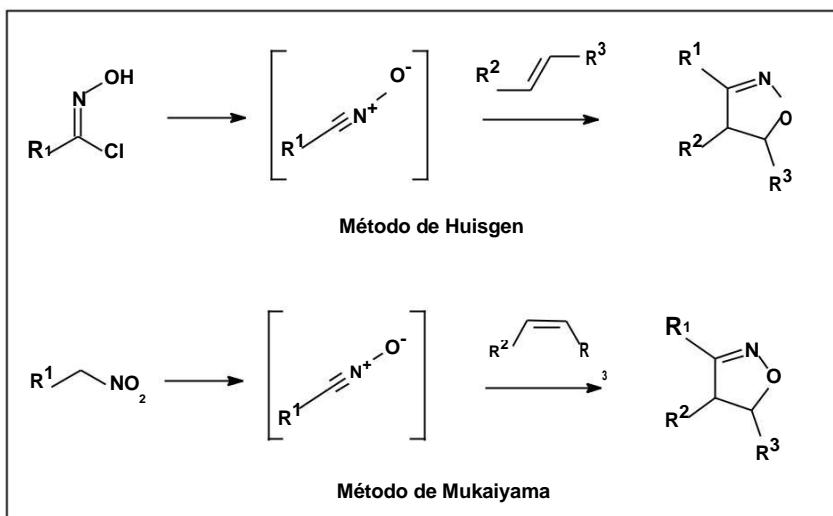
Uma das primeiras sínteses de um composto contendo a função 2-isoxazolina foi obtida por volta de 1895, através da reação entre cetonas α,β insaturadas e a hidroxilamina. No entanto, a técnica não foi bastante empregada, pois a maioria dos experimentos obtidos por esse método apresentavam baixos rendimentos.¹⁸ Shibata e Matoba sintetizaram diversos derivados 2-isoxazolinas trifluorometil substituídos através desse método, alcançando excelentes rendimentos, 80% à 90%, e relativa enantioseletividade dos produtos (Esquema 1).¹⁹



Esquema 1 - Síntese enantioseletiva de 2-isoxazolinas trifluorometil substituídas

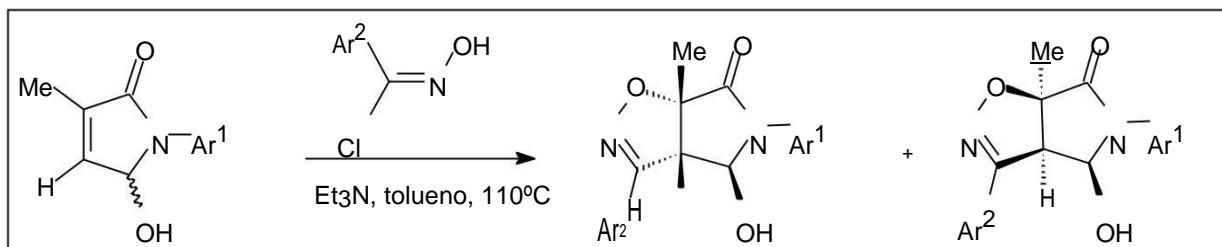
A cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de nitrila e alquenos é o método mais utilizado na síntese de isoxazolinas, demonstrando ser um dos mais eficientes, pois proporcionam bons rendimentos e relativo direcionamento estereoquímico dos produtos finais. Os óxidos de nitrilas, substâncias chave nesse tipo de reação, são gerados *in situ* a partir de dois métodos, como ilustrado no esquema 2: a desidrohalogenação dos cloretos de hidroximinoílas induzidas por base (Método de

Huisgen); e pela desidratação de derivados nitroalcanos primários (Método de Mukaiyama).²⁰



Esquema 2 - Métodos de obtenção de 2-isoxazolininas

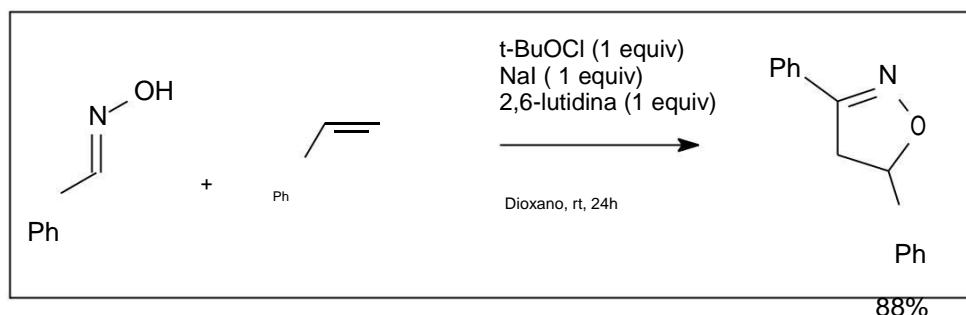
Hamadi e colaboradores, através da reação de cicloadição 1,3-dipolar, entre óxidos de aril nitrilas e derivados da 5-hidroxi-3-metil-1,5-dihidropirrol-2-ona, obtiveram uma série de derivados 2-isoxazolinicos bicíclicos (Esquema 3), com rendimentos que oscilaram de 75% a 90% e relativa regioseletividade dos produtos finais. Os óxidos de nitrila foram produzidos *in situ*, a partir do uso dos cloreto de hidroximinoílas e trietilamina como base.²¹



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

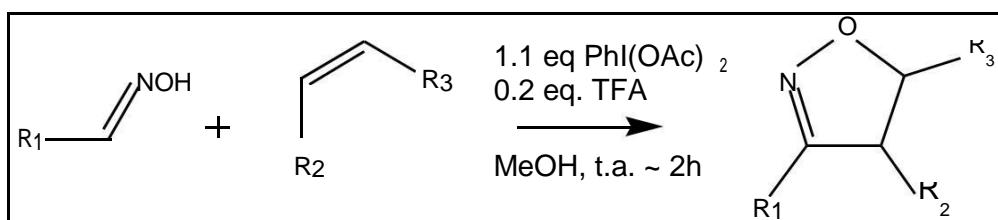
Minakata e colaboradores desenvolveram um novo método na obtenção dos óxidos de nitrilas a partir de oximas, que tem como princípio a utilização do hipiodito de *tert*-butila (*t*-BuOI), produzido *in situ*, na formação do iodeto de hidroximinoíla (Esquema 4). Essa metodologia demonstrou ser bastante simples e eficiente, variando

diversos parâmetros como o dipolarófilo, o solvente e as oximas, onde apresentou rendimentos que variam de 65% a 98%. A superioridade do método foi comprovada utilizando outras substâncias eletrofílicas halogenadas, como o N-iodosuccinimida e o t-BuOCl, sob as mesmas condições reacionais, obtendo rendimentos de 25% e 44%, respectivamente, resultados inferiores ao rendimento de 88% na utilização do t-BuOI.²²



Esquema 4 - Cicloadição 1,3-dipolar entre os óxidos de nitrila gerados a partir das oximas utilizando o t-BuOCl

Outra variação da síntese de óxidos de nitrila a partir de oximas foi desenvolvida por Mendelsohn, utilizando reagentes de iodo hipervalentes como, o PhI(OAc)_2 diacetoxi-iodobenzeno, e quantidades catalíticas do ácido trifluoroacético (Esquema 5). O método foi aplicado para diferentes espécies de oximas na síntese de derivados isoxazolínicos através de reações intra e intermoleculares, obtendo rendimentos entre 40% e 90%.²³



Esquema 5 – Cicloadição 1,3 dipolar entre óxidos de nitrila gerados a partir de oximas utilizando reagentes de iodo.

2.3.2 Atividade biológica e aplicações terapêuticas

Além de sua grande aplicação sintética na química orgânica, o heterociclo 2-isoxazolina apresenta também um importante papel na química medicinal, possuindo diversas atividades biológicas, tais como anti-inflamatório, antifúngico e antimicrobiano. Devido a sua importância, esse grupo farmacofórico está inserido em diversos agentes terapêuticos²⁴.

Knaus e colaboradores publicaram um estudo descrevendo o planejamento e a síntese de moléculas tricíclicas diarilisoxazóis com propriedades analgésicas e anti-inflamatórias. Um dos compostos obtidos apresentou excelente seletividade para COX-2, onde a concentração para a inibição da COX-1 foi quinhentas mil vezes superior a inibição da COX-2. Essa pesquisa contribuiu para o possível desenvolvimento de novos fármacos anti-inflamatórios seletivos às enzimas COX.²⁵

Com o objetivo de expandir seus resultados no desenvolvimento de substâncias anti-inflamatórias com inibição seletiva pela COX-2, Knaus sintetizou novos derivados 4,5-difenil-4-isoxazolinas. Foram avaliadas a relação estrutura atividade das novas moléculas através da substituição do anel isoxazol, uma estrutura planar, pela porção isoxazolina, que possui torsões no anel. Alguns compostos (Figura 6) exibiram uma atividade analgésica e anti-inflamatória com potente inibição e seletividade da COX-2.²⁶

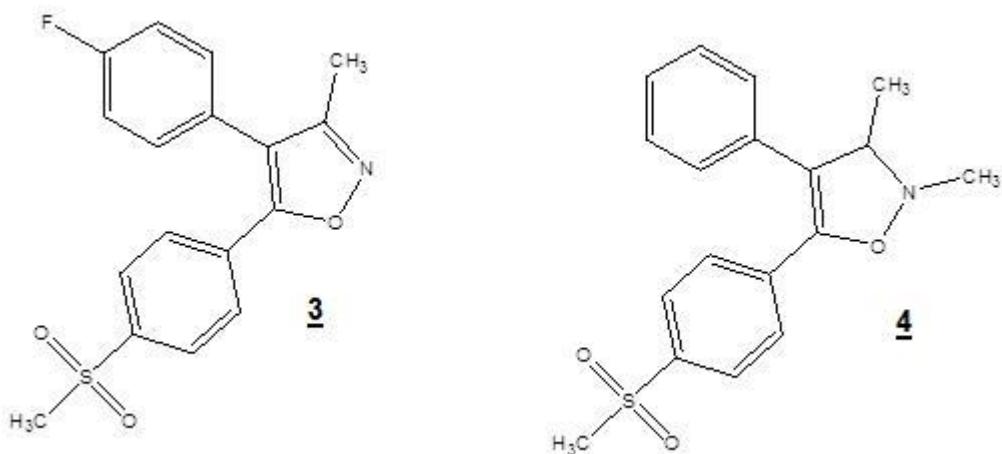


Figura 6 - Derivados diarilisoxazol e diarilisoxazolina

Kuck, Franco Sbardella e colaboradores sintetizaram uma série de compostos análogos da procaína e procainamida contendo a função 2-isoxazolina, com possível atividade inibitória contra a enzima DNA metiltransferase 1. Foram produzidos isoxazolinas ariladas conformacionalmente restrinhas e outras isoxazolinas de livre rotação. Um dos compostos obtidos apresentou boa atividade inibitória contra a enzima ($IC_{50} = 150\mu M$) (Figura 7).²⁷

Um resultado de grande relevância na busca de novas substâncias não nucleosídicas inibidoras da DNA metiltransferase, uma das enzimas relacionadas no desenvolvimento do câncer.²⁷

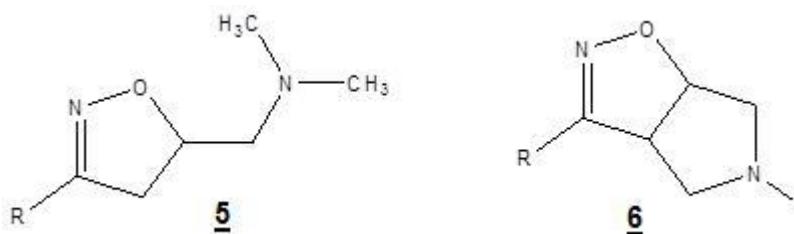


Figura 7 – Derivados isoxazolínicos análogos da procainamida e procaína.

Mandawad e colaboradores sintetizaram novos compostos tiofenos isoxazolínicos substituídos que foram submetidos a testes antimicrobiano e antifúngico. Alguns compostos apresentaram excelentes atividades in vitro frente as espécies de bactérias e fungos que foram testadas (Figura 8).²⁸

Dessa forma, os novos compostos sintetizados análogos da isoxazolina podem ser úteis no descobrimento de novos agentes antimicrobianos²⁸.

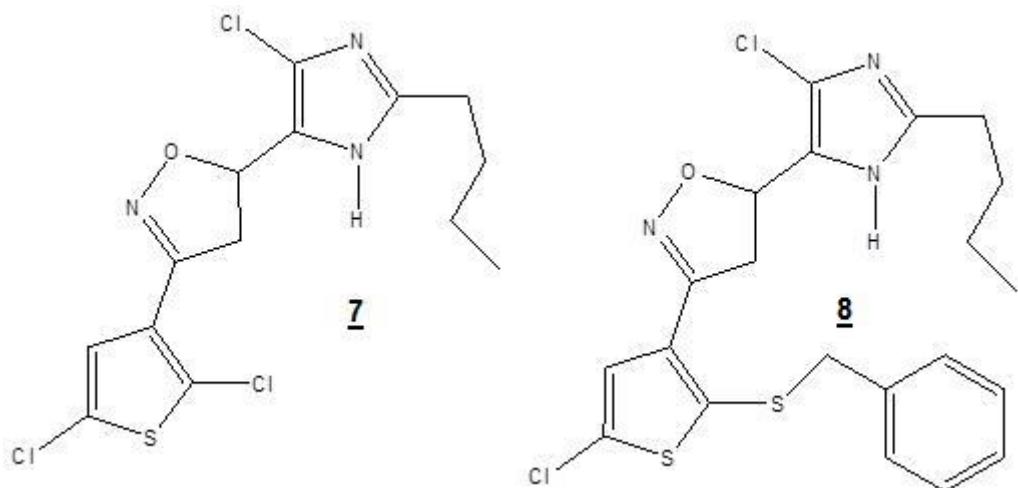


Figura 8 – Derivados tiofenos isoxazolínicos substituídos.

Em 2007, Lee e colaboradores sintetizaram análogos de ésteres de isoxazolina substituídos na posição 5 por piperazil-uréias e piperazil-carbamatos. Os novos derivados foram submetidos a testes contra o micro-organismo *Mycobacterium tuberculosis*, onde as substâncias **9** e **10** (Figura 9) apresentaram excelente atividade in vitro, com valores de MIC 0,4 e 0,8 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente²⁹.

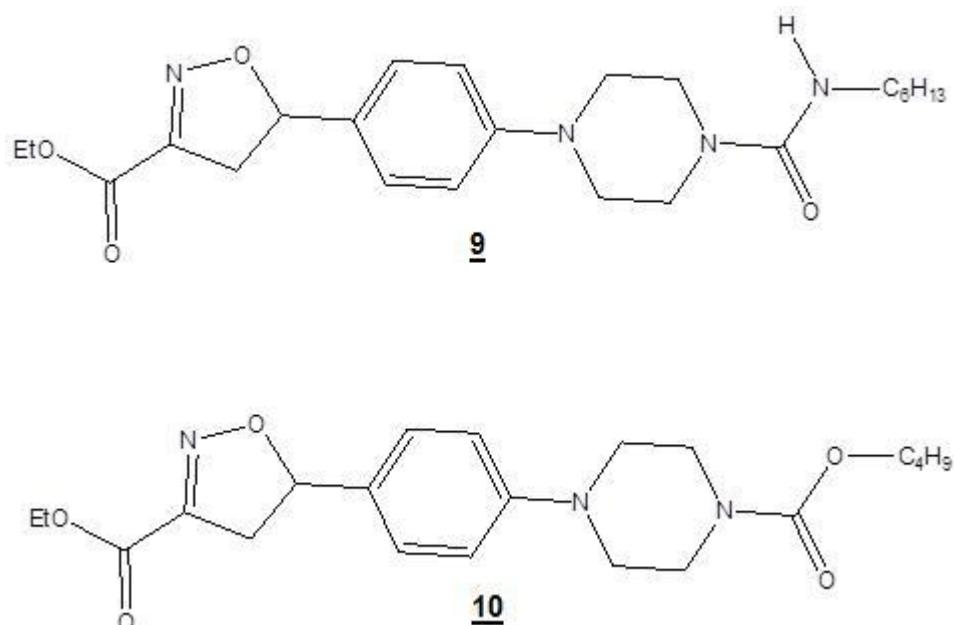


Figura 9 – Análogos de ésteres de isoxazolinas.

Gaonkar e colaboradores obtiveram novos compostos heterociclos contendo uma porção piridina ligada ao anel isoxazolínico, como principal grupo farmacofórico. Todos os compostos foram submetidos a avaliação de sua atividade antimicrobiana através do teste de difusão em disco frente a diversas cepas³⁰.

As substâncias **11** e **12** (Figura 10), através desse teste, apresentaram atividade antimicrobiana semelhante a estreptomicina e tetraciclina, drogas utilizadas como padrão³⁰.

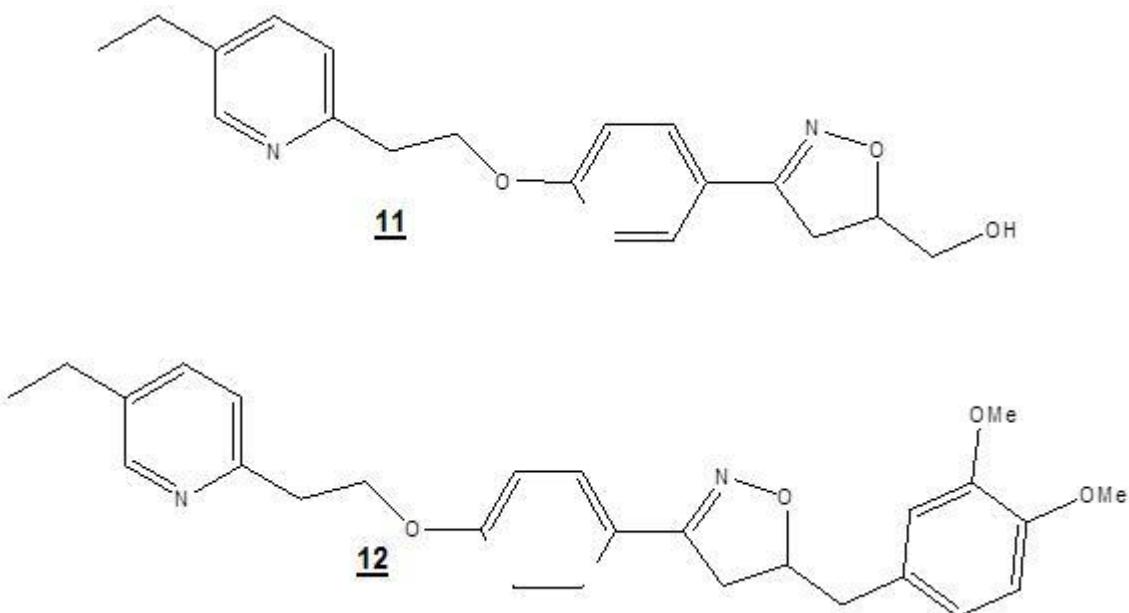


Figura 10 – Derivados da piridina contendo a função isoxazolina.

De Almeida e colaboradores em 2009, obtiveram uma série de novas moléculas 2-isoxazolinas azabicíclicas através de uma inédita reação de cicloadição 1,3-dipolar, entre enecarbamatos endocíclicos, contendo cinco ou seis membros, e aril N-óxidos de nitrila substituídos. Dentre os compostos, alguns apresentaram importante atividade analgésica e anti-inflamatória (Figura 11).⁴

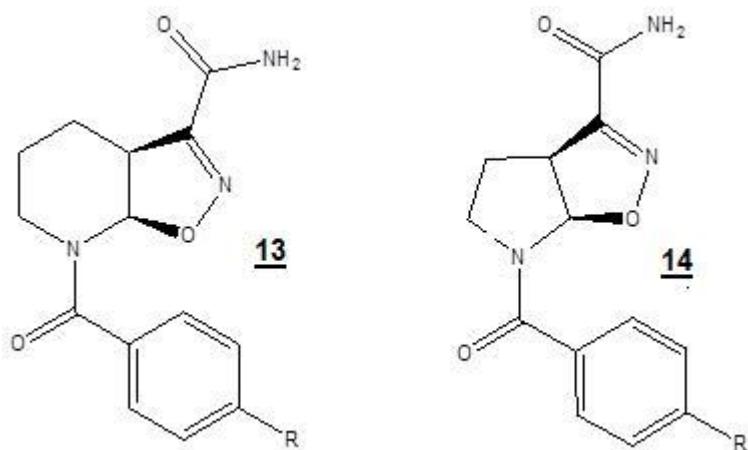


Figura 11 - Derivados amidas 2-isoxazolínicas azabicíclicas

Reis e colaboradores em 2011 por meio da hibridização molecular sintetizaram novos derivados 2-isoxazolínicos contendo a porção hidrazona, conhecidas na

literatura por suas atividades analgésicas e anti-inflamatórias. As avaliações biológicas das novas isoxazolil hidrazonas demonstraram baixa toxicidade dos compostos, além disso, a substância 15 (Figura 12), a mais potente da série, obteve atividade antinociceptiva superior a dipirona.³¹

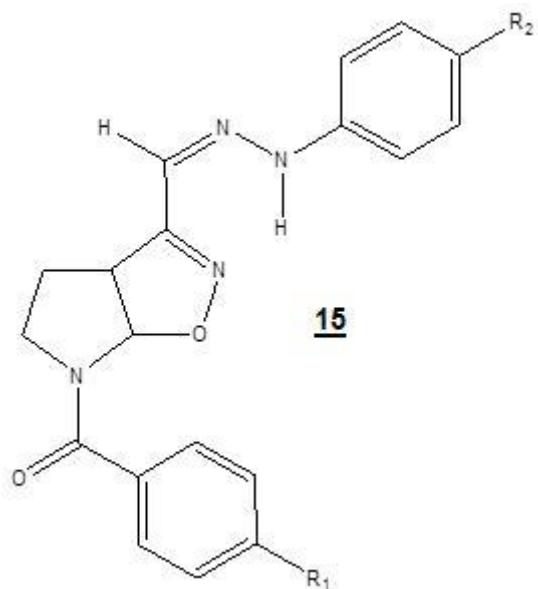


Figura 12 - 2-Isoxazolina funcionalizada com hidrazona.

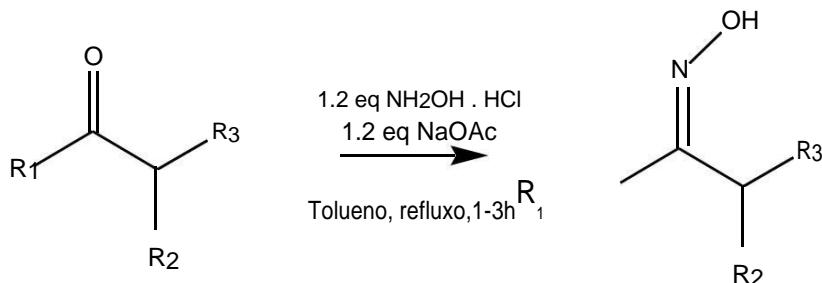
2.4 Oximas

As oximas são consideradas substâncias de grande interesse na química por apresentarem diferentes atividades biológicas na química medicinal e agrícola. Além disso, essa função tem importantes aplicações como intermediário na síntese orgânica, podendo ser transformada de maneira eficiente em diversas funções como amidas, aminas, diazois, isoxazolinas, isoquinolinas, nitroalcanos e, considerada importante ligante na formação de complexos com metais.³²⁻³³

2.4.1 Métodos de obtenção de oximas

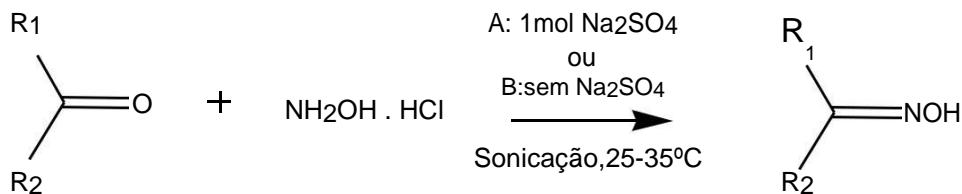
As oximas são sintetizadas em sua maioria a partir de dois diferentes métodos. No primeiro método, o mais difundido, ocorre a condensação de compostos carbonílicos (cetonas e aldeídos) com a hidroxilamina na presença de uma base³⁴.

Essa metodologia foi utilizada por Singh na síntese de derivados enamidas a partir de oximas (Esquema 6), que foram obtidas a partir da reação entre cetonas cílicas e benzílicas utilizando a hidroxilamina, além do acetato de sódio como base. Foi obtido excelentes rendimentos a partir dessa experiência que variaram de 93% a 100%.³⁵



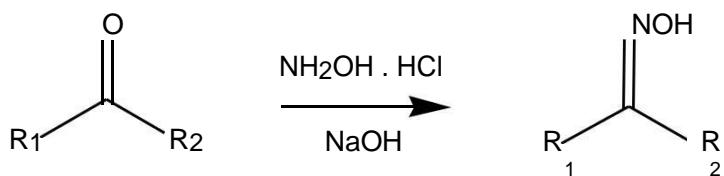
Esquema 6 – Síntese de oximas a partir da hidroxilamina.

Variações dessa metodologia foram desenvolvidas por Li e colaboradores em 2006, produzindo diversas oximas, a partir de aldeídos e cetonas benzílicos, reagindo com a hidroxilamina sob a ação do ultrassom (Esquema 7). Além da adição inédita do ultrassom na síntese dessa função, os autores compararam a reatividade dos diversos substratos na ausência de uma base e utilizando sulfato de sódio como base. Diante disso, foram obtidos produtos com excelentes rendimentos, que variaram de 64% a 98%, e tempo reacional, variando de 5 a 180 minutos.³⁶

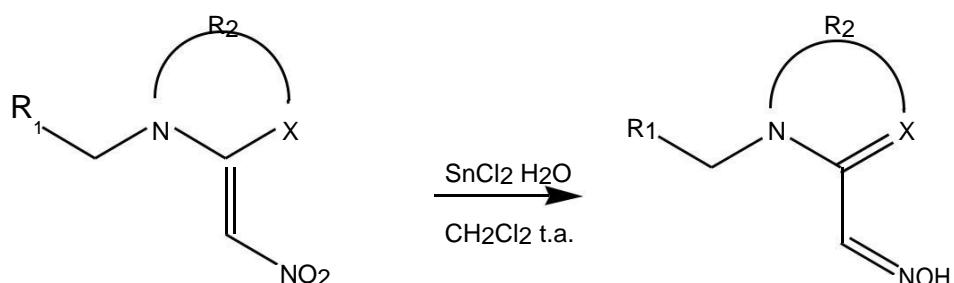


Esquema 7 – Síntese de oximas a partir da utilização do ultrassom.

Vukicevic e colaboradores também desenvolveram uma metodologia inovadora na síntese de oximas utilizando apenas a hidroxilamina e hidróxido de sódio em temperatura ambiente utilizando pouco solvente (Esquema 8). Foram utilizadas diversas cetonas cílicas e carbonilas alifáticas insaturadas na obtenção das respectivas oximas com rendimentos que variam de 75% a 100%.³²



O segundo método baseia-se na redução de compostos nitro derivados para obtenção de suas respectivas oximas. Qian, Cui e colaboradores sintetizaram uma série de novas oximas insaturadas a partir da redução de compostos nitro vinílicos, utilizando cloreto de estanho hidratado (Esquema 9). Obtendo rendimentos entre 40% e 75%, com tempo reacional de 5 horas.³⁴



Esquema 9 – Síntese de oximas a partir de nitro derivados.

2.4.2 Oximas com atividades biológicas e aplicações terapêuticas

Skosibusic sintetizou e averiguou a atividade antimicrobiana de determinados oximas imidazólicas *N*-substituído e os seus respectivos sais quaternários. Dentre as substâncias avaliadas, os compostos **16** e **17** apresentaram eficácia comparada ao fármaco padrão, cefotaxima e gentamicina.

Além disso, o composto **17** teve um notável potencial antimicrobiano frente a microrganismos multirresistentes, o que pode ser utilizado no desenvolvimento de novos fármacos com esse perfil³⁷.

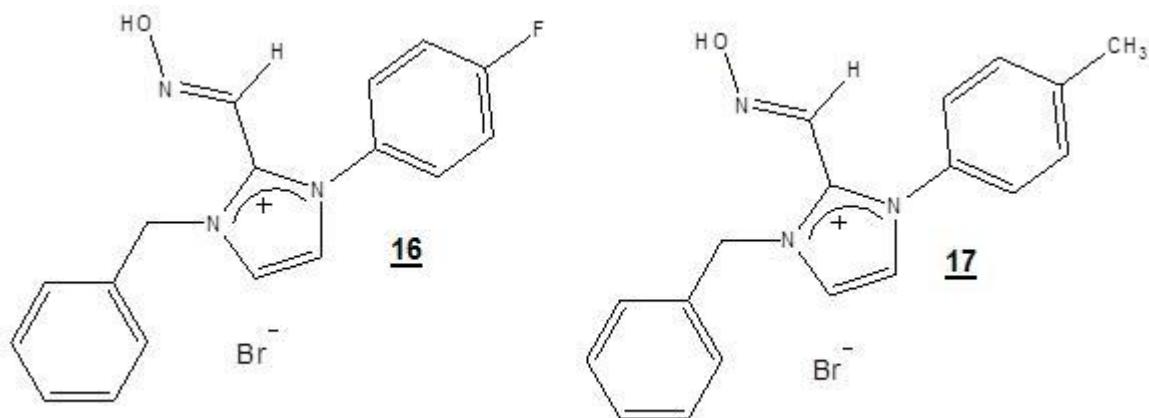


Figura 13 – Oximas imidazólicas N- substituídas.

Kabilan e seus colaboradores sintetizaram uma série de ésteres de oxima biciclo, onde foram submetidos a testes *in vitro* para avaliação antimicrobiana. Alguns compostos obtiveram excelentes resultados, dentre eles, os compostos **18** se destacaram com valores de MIC menores que as drogas utilizadas como padrão, ciprofloxacino e anfotericina B³⁸.

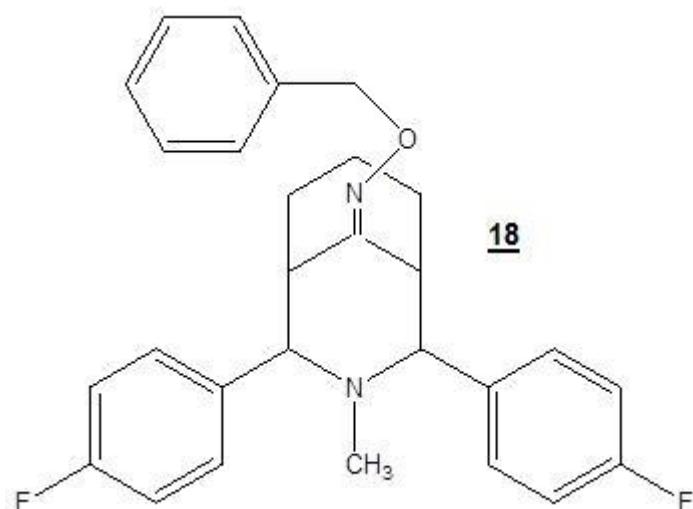


Figura 14 – Éster de oxima biciclo com atividade antimicrobiana.

Jayabharathi e colaboradores avaliaram a atividade antimicrobiana e antifúngica de uma série de compostos piperidínicos contendo a função oxima em sua estrutura. Os resultados foram expressos em valores de MIC, onde o composto **19** se demonstrou superior ao ciprofloxacino, fármaco utilizado como padrão³⁹.

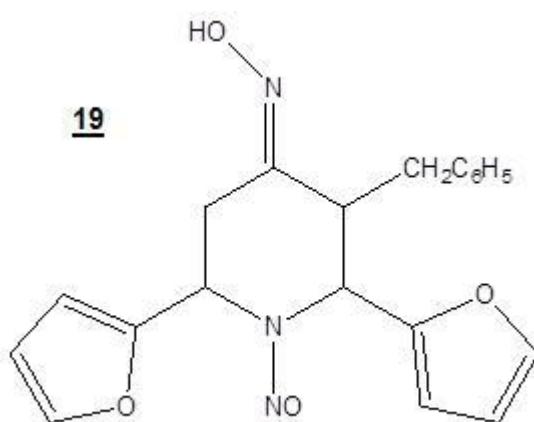


Figura 15 – Derivado piperidínico contendo a função oxima.

Katagi e colaboradores sintetizaram diversos compostos contendo a função oxima e ésteres de oxima como principal grupo farmacofórico, com objetivo de avaliar as suas respectivas atividades anti-inflamatórias. Foi obtido cerca de sete substâncias com boa atividade anti-inflamatória, exibindo valores semelhantes ou a até mesmo superiores a aspirina, um anti-inflamatório não esteroidal inibidor das enzimas COX (Figura 16)⁴⁰.

Em um trabalho posterior, a série de derivados de oxima foi estendida. Nesse segundo estudo em 1996, o mesmo grupo sintetizou acetil oximas e seus derivados ligados a um aminoácido. Os resultados obtidos foram semelhantes, demonstrando o importante papel das oximas na síntese e desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios.⁴¹

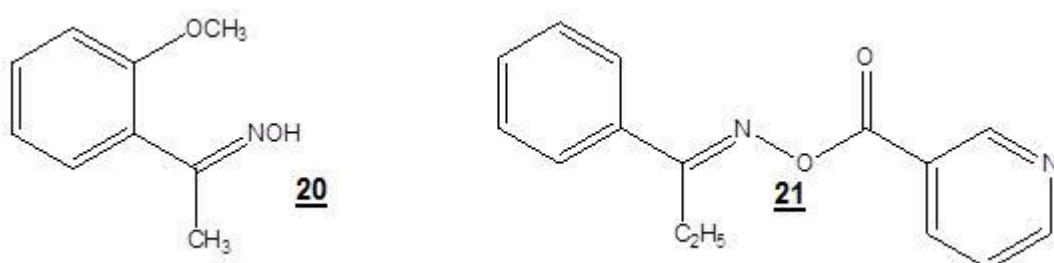


Figura 16 – Derivados de oxima e de aciloximas.

Vasu e colaboradores obtiveram uma série de compostos ramificados derivados do tiofeno com objetivo de avaliar a importância da função oxima na atividade anti-inflamatória associada a esse núcleo. Nesse estudo foi sintetizado e avaliado a atividade anti-inflamatória de cerca de dezenove moléculas, onde foi comparado derivados com a função oxima na forma de éster e em sua forma benzílica. Alguns desses derivados (Figura 17) apresentaram resultados anti-inflamatórios equivalentes ou superiores quando comparados ao ibuprofeno, além disso, durante o estudo, a relação estrutura atividade demonstrou a importância dos ésteres de oximas na atividade anti-inflamatória desses compostos.⁵

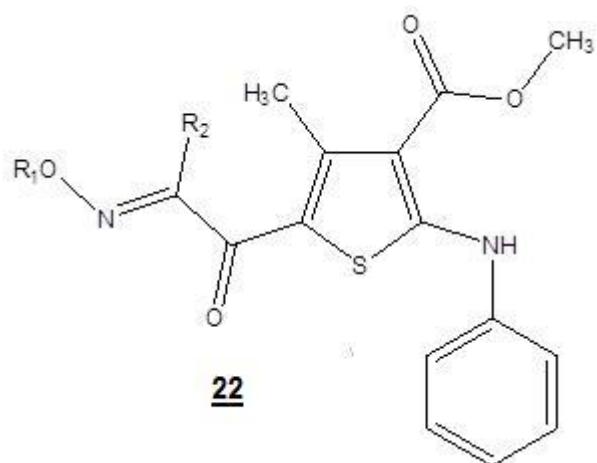


Figura 17 – Derivados do tiofeno contendo éster de oxima.

Com objetivo de expandir os estudos na descoberta de um núcleo farmacofórico para a atividade anti-inflamatória, Vasu e colaboradores sintetizaram novos derivados heterocíclicos substituídos, contendo a função oxima em sua estrutura. Os derivados tiazóis (Figura 18) demonstraram excelentes resultados em sua atividade anti-inflamatória, apresentando valores de inibição da inflamação semelhantes aos obtidos pela dexametasona, e superiores comparados ao ibuprofeno e ao rofecoxibe, um inibidor seletivo da COX-2. Além disso, um dos derivados apresentou um excelente perfil gastroprotetor, proporcionando a descoberta de um possível grupo farmacofórico no desenvolvimento de novos fármacos anti-inflamatórios, com efeitos colaterais gastrointestinais minimizados.⁴²

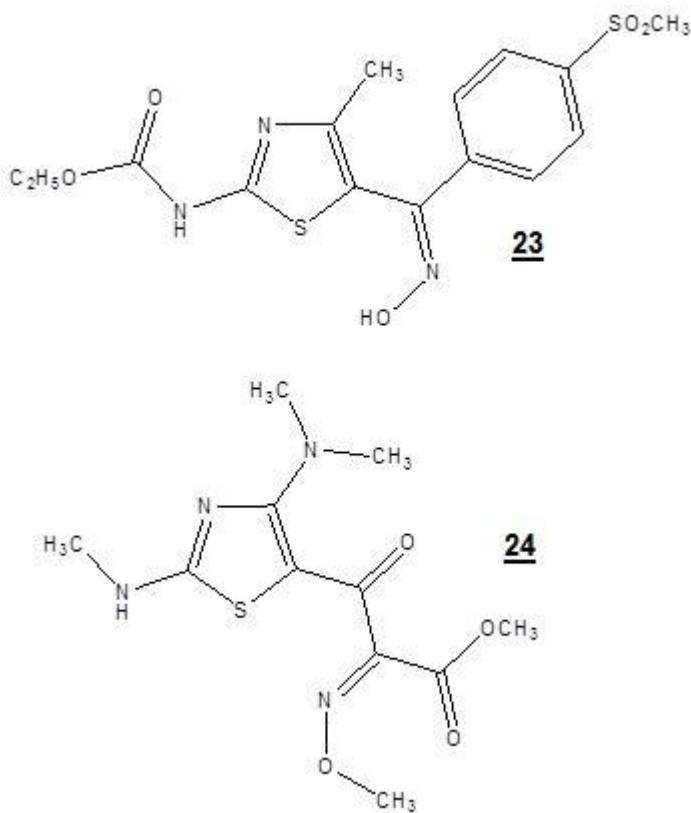


Figura 18 – Derivados tiazol com função oxima.

Vishwanath e colaboradores sintetizaram derivados de oximas análogos da benzofenona, prevendo sua potencial atividade anti-inflamatória através da inibição da enzima fosfolipase A2 (PLA2) (Figura 19). Sua metodologia foi desenvolvida baseando-se na semelhança estrutural entre esses derivados e o fármaco anti-inflamatório fenoprofeno. Os compostos obtidos apresentaram excelentes valores de inibição da enzima PLA2 in vitro e boa atividade anti-inflamatória in vivo, através do método do edema induzido.⁴³

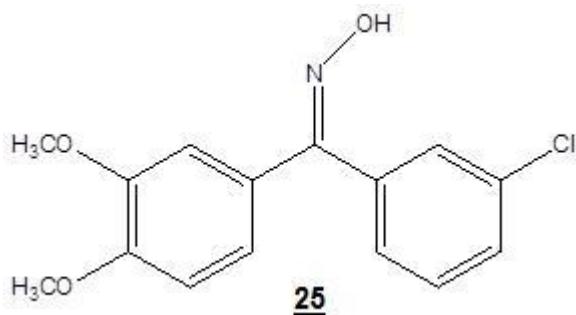


Figura 19 –oxima análoga da benzofenona.

3. Objetivos

3.1 Objetivos Gerais

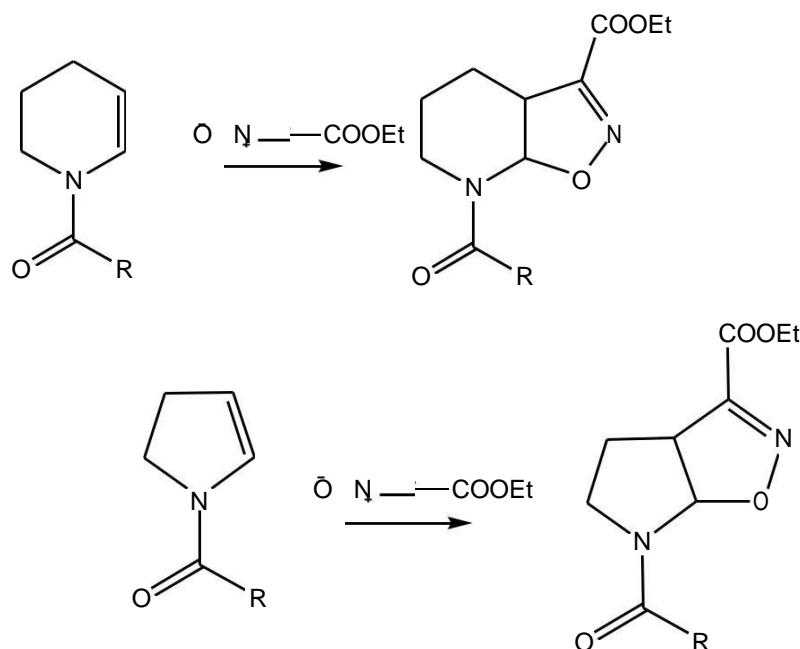
- ✓ Ampliar a metodologia sintética da síntese de isoxazolinas para a obtenção de novos compostos bioativos derivados do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina com a introdução da função oxima. Bem como, avaliar sua atividade antimicrobiana *in vitro*.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Sintetizar oximas derivadas do *N*-benzoi-2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina.
- ✓ Purificar e determinar algumas propriedades físico-químicas das novas substâncias, como Rf e ponto de fusão.
- ✓ Elucidar as estruturas das novas substâncias através de técnicas espectrométricas como RMN ^1H e ^{13}C (1D) e infra-vermelho IVTF.
- ✓ Avaliar atividade antimicrobiana *in vitro* das novas oximas obtidas.

4. Metodologia

Em trabalhos recentes, realizados por de Almeida, foi desenvolvido uma metodologia inédita envolvendo reações de cicloadição 1,3, dipolar, utilizando enecarbamatos e enamidas de cinco e seis membros com *N*-óxidos de nitrila. A partir dessas reações foram obtidos novos núcleos 2 isoxazolínicos azabicíclico, exemplificado na (Esquema 10).³



Esquema 10 – Cicloadição 1,3-dipolar.

Diversas aplicações sintéticas foram realizadas desse novo núcleo 2-isoxazolínico azabiciclo e de alguns de seus intermediários, originando vários derivados com diferentes atividades biológicas. Alguns dos derivados obtidos, exemplificados na figura 20, apresentaram pronunciadas atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas, respectivamente.⁴

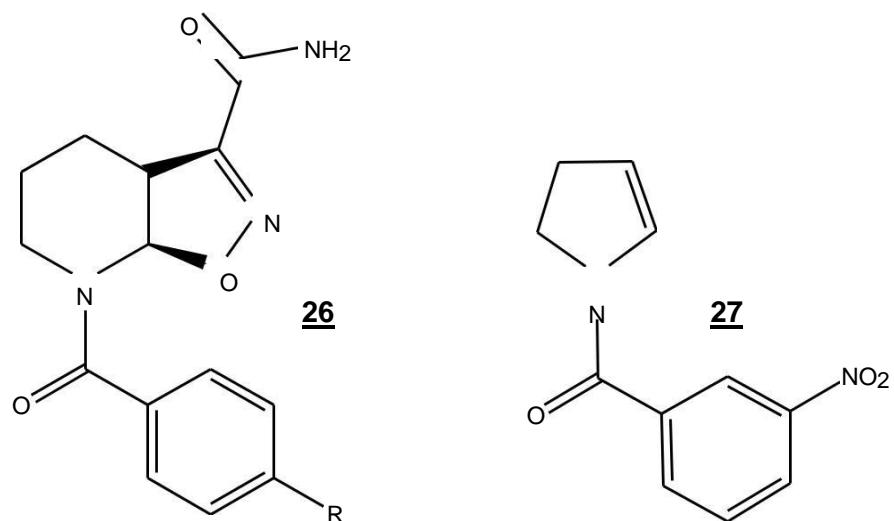


Figura 20 – Derivados isoxazolina e enamida com atividades biológicas.

Foram sintetizadas diversas moléculas contendo a função oxima em sua estrutura sob diferentes formas, tais como éteres e ésteres de oxima. Grande parte dessas moléculas (Figura 21) apresentaram atividades anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana e antifúngica promissoras, devido, principalmente, à presença da função oxima como um de seus grupos farmacofóricos.^{39,43}

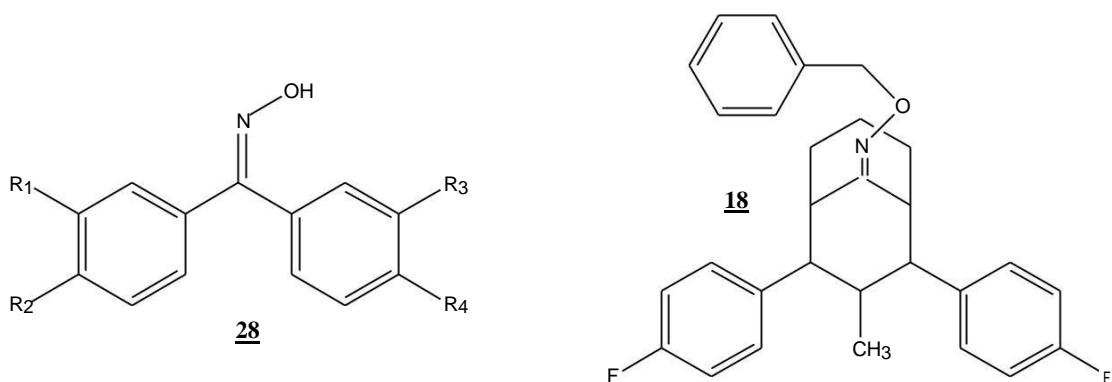


Figura 21 – Derivados de oxima com atividade anti-inflamatória e antimicrobiana.

A partir disso, foram sintetizadas moléculas inéditas, através da hibridação molecular, contendo o heterociclo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina que apresentam a função oxima no carbono C3, com possível atividade antimicrobiana.

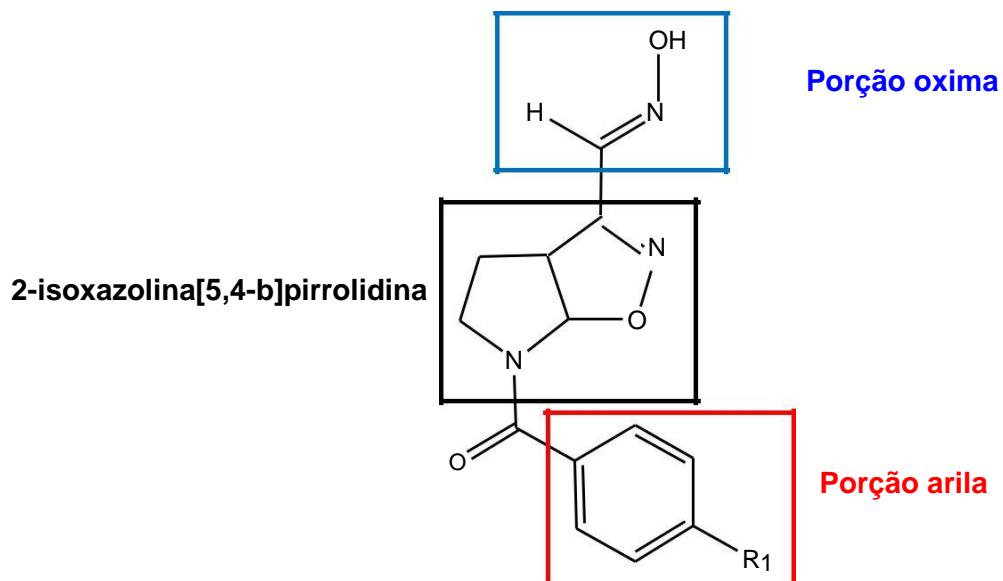


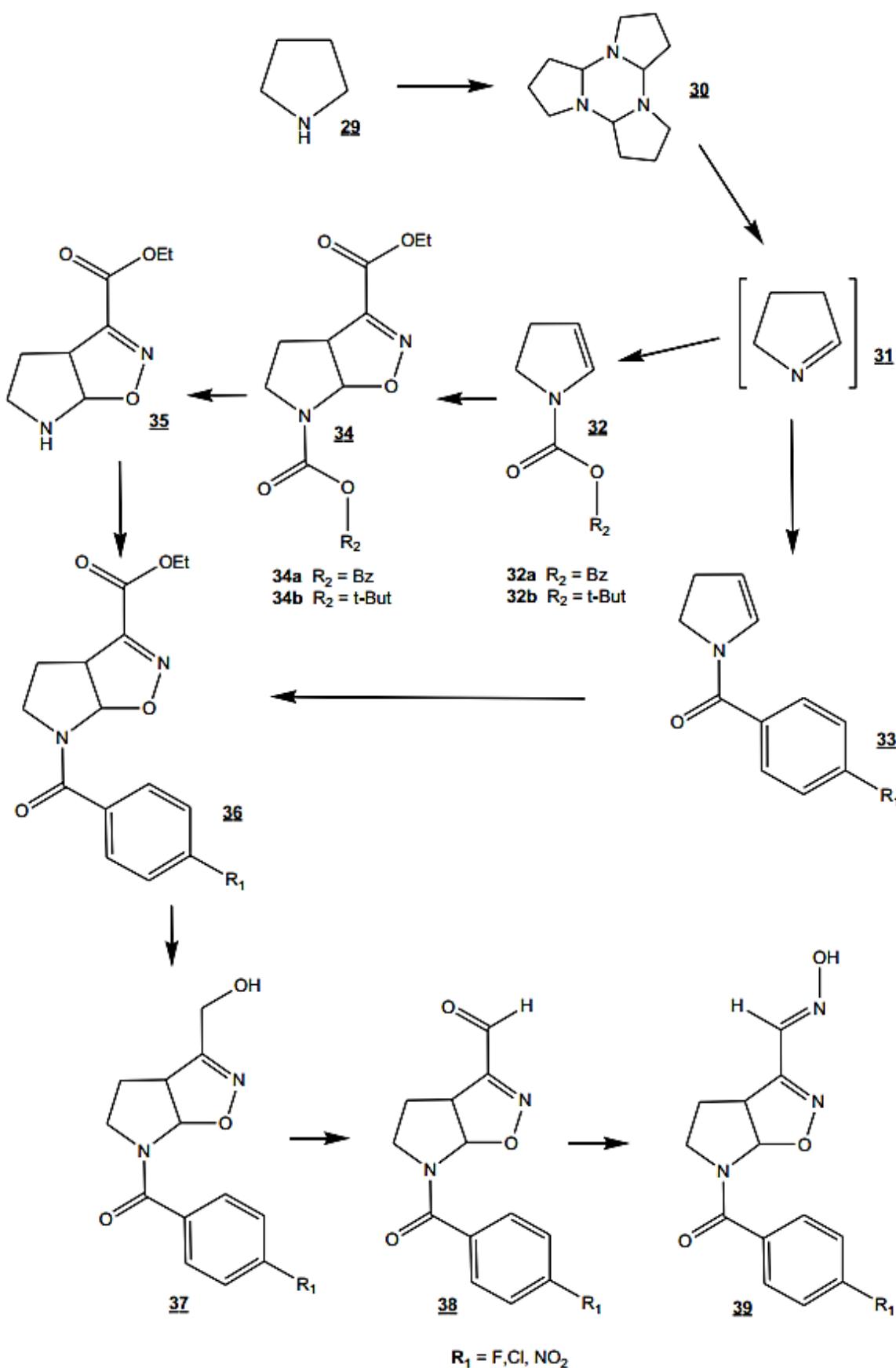
Figura 22 – Isoxazolil-aryl-oximas.

As novas oximas isoxazolínicas foram obtidas a partir de duas rotas, uma delas envolvia a síntese de enecarbamato endocíclico com a presença do grupo protetor Cbz. Por outro lado, através de enamidas endocíclicas como intermediário.

O enecarbamato endocíclico foi obtido através da reação do cloreto de benzoíla com o monômero da pirrolina, que por sua vez foi obtido a partir da oxidação da pirrolidina. Após a cicloadição 1,3-dipolar entre o enecarbamato e o óxido de nitrila, gerados *in situ*, os cicloadutos isoxazolínicos foram sintetizados. Após a remoção do grupo protetor Cbz em N6 e uma reação de *N*-benzoilação com cloretos de benzoílas *para*-substituídos, chegou-se a alguns derivados isoxazolínicos.

Esses mesmos derivados isoxazolínicos substituídos foram obtidos reagindo o monômero da 1-pirrolina com os cloretos de benzoíla substituídos, e, posterior reação de cicloadição 1,3-dipolar entre essas enamidas e o *N*-óxido de nitrila.

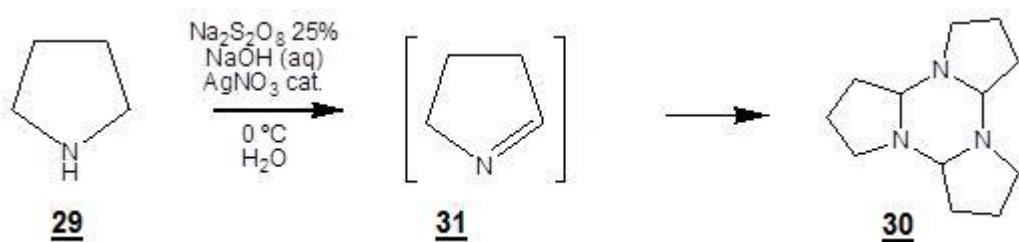
A partir dessa etapa, os compostos idênticos que foram obtidos por ambas as vias foram submetidos a uma redução da função éster em C3, produzindo os álcoois isoxazolínicos. Posteriormente sofreram uma oxidação de Swern, onde foram obtidos os aldeídos isoxazolínicos, que após reagirem com a hidroxilamina, formaram suas respectivas oximas isoxazolínicas.



Esquema 11 – Rota sintética utilizada na preparação das isoxazoil-aryl-oximas.

5 Resultados e discussão

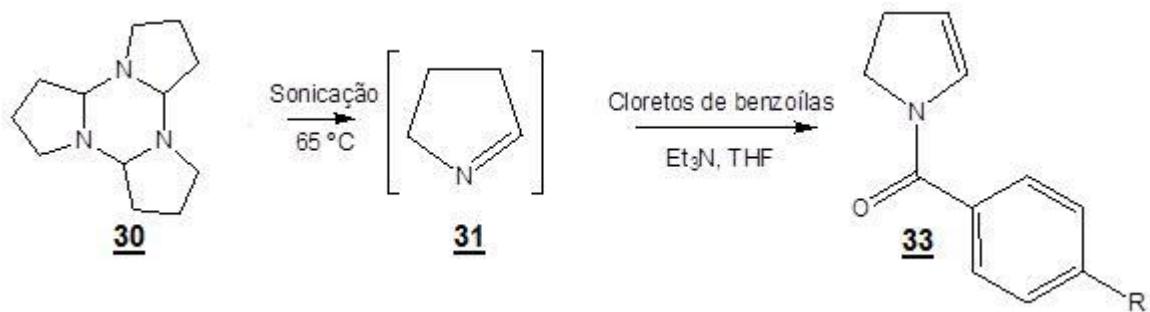
5.1 Preparação do trímero da 1-pirrolina 30



Esquema 12 – Obtenção do trímero da 1-pirrolina

A ¹-pirrolina 31, material de partida para a síntese dos enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 5 membros, foi obtida através da oxidação catalítica da pirrolidina 29, pelo persulfato de sódio, em meio básico na presença de AgNO_3 como catalisador (Esquema 12). Devido a sua alta reatividade na temperatura ambiente, o monômero se polimeriza no meio reacional, dando origem ao seu respectivo trímero 30.⁴⁴

5.2 Síntese das enamidas endocíclicas 33



Esquema 13 – Obtenção das enamidas endocíclicas p-substituídas.

As enamidas endocíclicas 33 foram sintetizadas através da *N*-acilação ¹-pirrolina 31. Para que essa reação ocorra é necessário a destrimerização do trímero, que em trabalhos anteriores, realizados e aperfeiçoados no nosso grupo de pesquisa, foi obtido através de uma co-destilação, colocando o trímero da pirrolina 26 sob refluxo juntamente com o THF (Esquema 13).

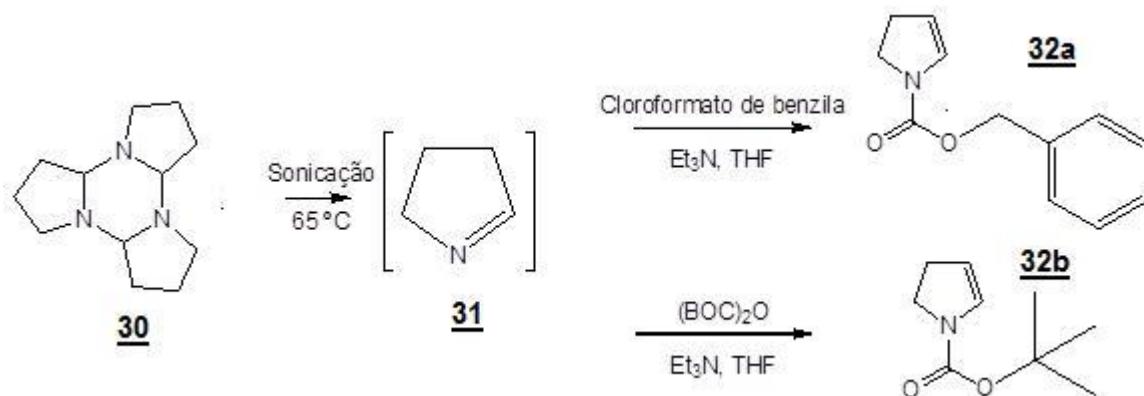
No presente trabalho, foi desenvolvido um novo método para obtenção das enamidas endocíclicas, onde além do aquecimento, o trímero 30 é submetido também a sonicação, facilitando sua destrimerização. Esse novo método demonstra ser superior ao procedimento inicialmente utilizado, pelo fato de possibilitar a utilização do trímero bruto no preparo da reação, além de diminuir o tempo reacional e fornecer melhores rendimentos.

Esses aspectos podem ser observados na tabela 1, onde, o método A, caracteriza o procedimento feito através da destilação e o Método B, produto obtido pela sonicação.

Método	Condições reacionais	Tempo reacional	Rendimento
A	Co-destilação com THF	4h	p-F = 20%
			p-Cl = 35%
			p-NO ₂ = 24%
B	Material bruto / Sonicação	1,5 h	p-F = 32%
			p-Cl = 42%
			p-NO ₂ = 38%

Tabela 1 – Comparaçao dos métodos de síntese das enamidas endocíclicas p-substituídas.

5.3 Síntese dos enecarbamatos *N*-(benziloxicarbonil) – pirrolina, *N*-(t-butoxicarbonil)-2-pirrolina



Esquema 14 – Obtenção dos enecarbamatos endocíclicas Cbz e Boc.

Na síntese do *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina (enecarbamato Cbz) **32a**, por dos santos, também havia sido aplicado o método A, baseado na co-destilação do trímero com o THF. No entanto, no trabalho atual, foi aplicado a sonicação, método B, para a síntese desses compostos.⁴

Através do ultrassom, ocorreu a destimerização do trímero **30** em seu respectivo monômero de cinco membros, que posteriormente, sofreu acilação no nitrogênio através de sua reação com o cloroformato de benzila.

Apesar do rendimento obtido pelo método B ter sido inferior ao método tradicional para a síntese do *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina (enecarbamato Cbz), os resultados foram promissores, principalmente pela utilização do trímero bruto e por um menor tempo reacional, proporcionando uma maior simplicidade no processo como um todo.

Método	Condições reacionais	Tempo reacional	Rendimento
A	Co-destilação com THF	4h	Ene. Cbz = 67%
B	Material bruto / Sonicação	1,5 h	Ene. Cbz = 50%

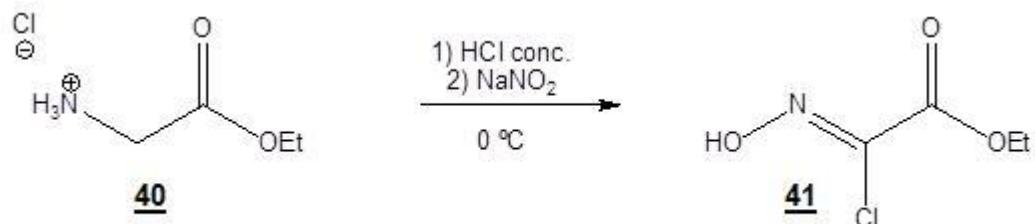
Tabela 2 – Comparação dos métodos de síntese do Enecarbamato Cbz.

A utilização da sonicação, aplicada na síntese de enamidas e enecarbamatos endocíclicos, além de favorecer o andamento da reação, acelera a destimerização do trímero, diminuindo o tempo reacional. Isso pode ser explicado pela cavitação, onde são geradas microbolhas no solvente, causadas pela elevada pressão negativa aplicada sobre ele. Quando essas microbolhas são desfeitas, uma grande quantidade de energia é liberada, gerando uma temperatura em torno de 5000k e uma pressão de milhares de atmosferas, o que é mais do que suficiente para acelerar essa e outras reações.⁴⁵

Na síntese do *N*-*t*-butoxicarbonil-2-pirrolina (enecarbamato endocíclico Boc) **32b** (Esquema 14) não foi empregado a metodologia com o ultrassom, devido a falta de estudos prévios sobre o comportamento dos reagentes quando submetido a este tipo de energia. Dessa forma, foi aplicado o método em que o trímero **30** bruto sofre

destrimerização através do seu aquecimento juntamente com o THF. Nesta reação foi utilizado o ditercbutil dicarbonato na presença da trietilamina como base, fornecendo excelentes rendimentos do composto **32b**.

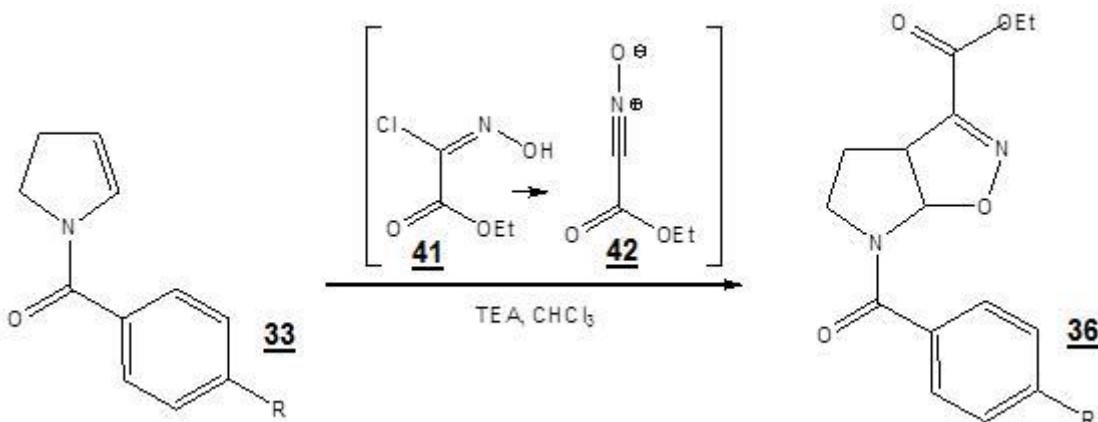
5.4 Síntese do clorooximidoacetato de etila **41**



Esquema 15 – Obtenção do clorooximidoacetato de etila.

O *N*-óxido de nitrila **42** – carbetoxiformonitrila (CEFNO), composto utilizado na reação cicloadição 1,3-dipolar, foi obtido *in situ* através do seu precursor clorooximidoacetato de etila **41**. Este composto é produzido a partir da glicina esterificada, através de uma oxidação pelo NaNO₂ em meio ácido (HCl conc.). Produzindo um cristal estável que pode ser armazenado por um longo período de tempo.

5.5 Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas com o *N*-óxido de nitrila



Esquema 16 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas e o *N*-óxido de nitrila.

Os ésteres isoxazolínicos **36** foram obtidos a partir da reação de cicloadição entre enamidas endocíclicas *para*-substituídas **33** e o dipolo *N*-óxido de nitrila **42**, que foi produzido *in situ*, na presença de uma base, a partir do precursor clorooximidoacetato de etila. A reação se desenvolveu em temperatura ambiente e proporcionando rendimentos satisfatórios.³

Composto	Substituinte	Rendimento
36a	R=F	62%
36b	R=Cl	70%
36c	R=NO ₂	64%

Tabela 3 – Rendimentos dos cicloadutos para-substituídos através das enamidas.

Os cicloadutos para-substituídos foram identificados por RMN ¹H apresentando alguns sinais característicos a estes compostos. Todas as considerações abordadas para esse heterobiciclo são semelhantes aos demais produtos finais **36** obtidos (figura 23).

Um dos sinais característicos que evidenciam a formação do cicloaduto é o deslocamento químico de 95,3 ppm no RMN ¹³C que pertence ao carbono **6a** da junção do anel, demonstrando uma forte desblindagem oriunda dos heteroátomos oxigênio e nitrogênio ligados diretamente a este carbono. O outro carbono da junção dos anéis **3a**, apresenta deslocamento de 51,4 ppm, o que ainda reflete uma certa desblindagem devido aos efeitos eletrônicos dos heteroátomos numa região próxima a este carbono.

Ainda podem ser identificados mais dois sinais referentes ao anel, um em 43,5 ppm, que pertence ao carbono **C5**, e o outro em 27,6 ppm referente ao **C4**. Essa diferença de deslocamento químico se deve ao fato do átomo **C5** estar diretamente ligado ao nitrogênio **N6** do anel.

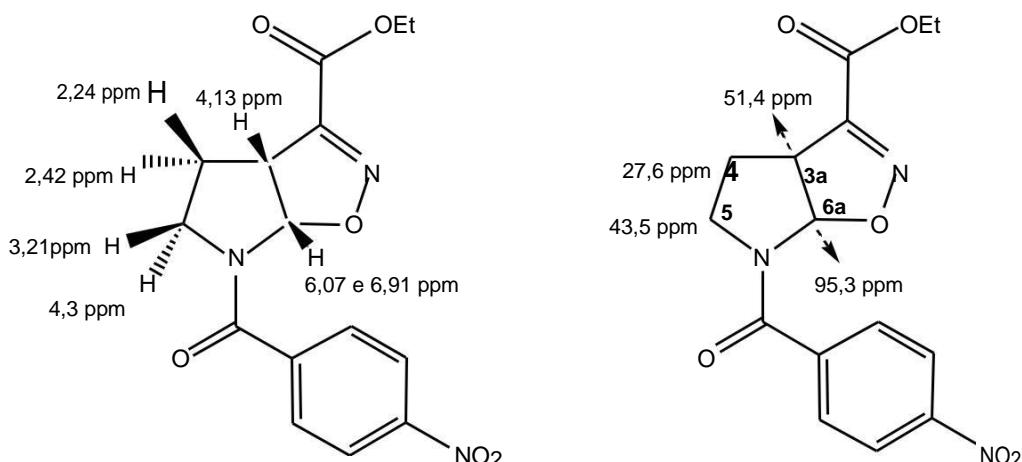


Figura 23 – Deslocamentos químicos do cicloaduto isoxazolínico para-nitro.

Ao analisarmos os espectros RMN ¹H, também se pode confirmar a formação do cicloaduto, principalmente, através dos hidrogênios ligados a junção do anel. Uma peculiaridade apresentada por esses biciclos é a presença de rotâmeros tanto no espectro de ¹H quanto no de ¹³C.

Rotâmeros são detectados através do RMN quando a velocidade de interconversão entre os confôrmeros é baixa, devido a uma alta barreira energética rotacional. Esse fenômeno é frequentemente verificado quando se tem a presença de ligações amídicas ou carbamídicas, como nos cicloadutos em questão. Como consequência, os sinais de hidrogênios próximos da ligação amídica no aza-biciclo, se apresentam duplicados, e em algumas situações, tem deslocamentos químicos muitos similares.

Quanto mais próximo da ligação amídica, mais intenso é o fenômeno, originando deslocamentos químicos bem distintos. Esse fato pode ser observado, por exemplo, no hidrogênio ligado ao carbono **6a** da junção, aspecto bem característico da formação do biciclo 2-oxazolina[5,4-d]pirrolidina: um dos rotâmeros apresentando deslocamento químico de 6,07 ppm e o seu confôrmero rotacional com um deslocamento em torno de 6,91 ppm.

Outro sinal característico apresenta deslocamento químico de 4,13 ppm e se refere ao hidrogênio ligado ao carbono **3a**, que faz parte da junção dos anéis, o que também confirma a formação do biciclo.

Através da análise dos espectros e da observação da cromatografia em camada delgada em vários eluentes, pode-se constatar a formação de um único

produto na reação de cicloadição, caracterizando a diastereo e regioseletividade desta reação, como mostrado na figura 24.

Essa seletividade pode ser explicada ao analisarmos o mecanismo de cicloadição 1,3-dipolar, figura 25, onde existe a presença de um dipolarófilo (enamida) com sua ligação dupla fortemente polarizada e um dipolo alenila, com geometria linear que sofre desativação pela presença heteroátomos com cargas parcialmente positivas, diminuindo a energia do seu orbital HOMO, e aumentando os coeficientes orbitalares para o orbital LUMO.

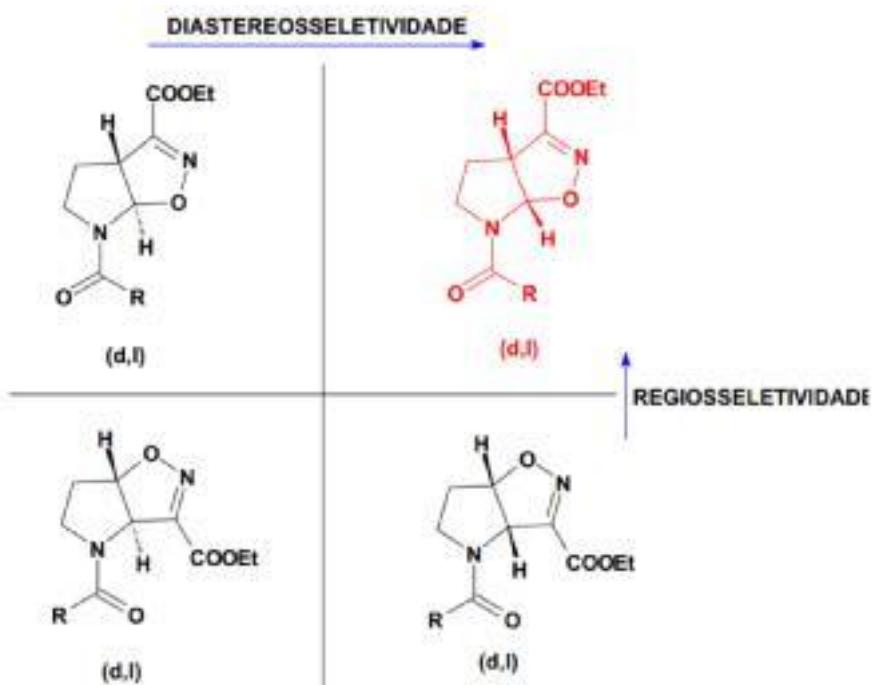


Figura 24 – Diastero e regioseletividade da cicloadição 1,3-dipolar.

Ao longo dos trabalhos realizados em nosso grupo de pesquisa referente a reações de cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas e enecarbamatos endocíclicos e o N-óxido de nitrila, foi proposto um mecanismo de cicloadição não concertado, onde ocorre a formação de um intermediário N-acil-imínio dipolar, que devido a sua disposição espacial, favorece a formação da segunda ligação, que ocorre entre o oxigênio do dipolo e o carbono alfa ao nitrogênio do dipolarófilo.³

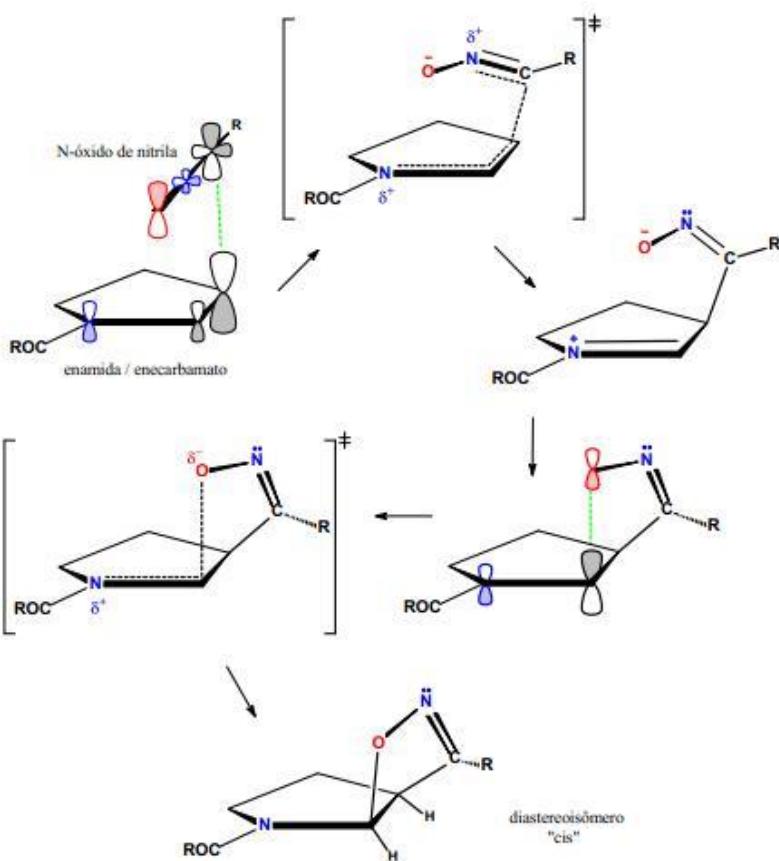
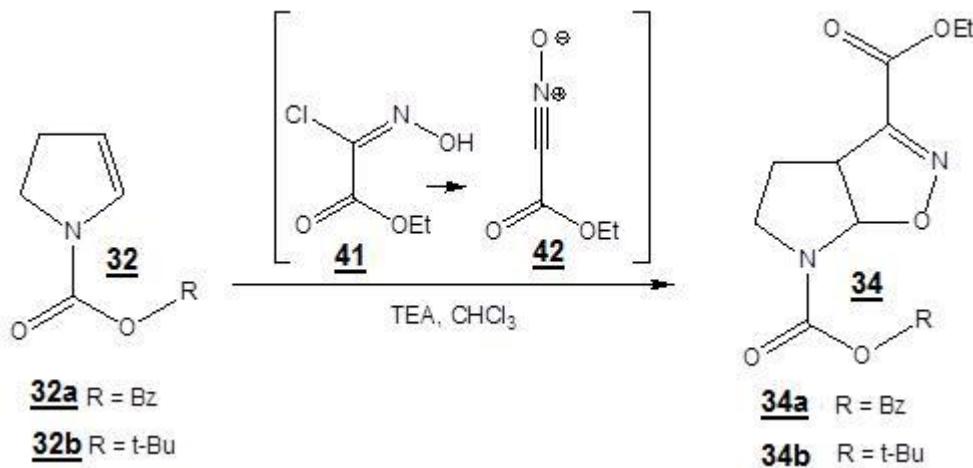


Figura 25 – Mecanismo de cicloadição 1,3-dipolar não concertado.

5.6 Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre os enecarbamatos endocíclicos 34 a e 34 b com o N-óxido de nitrila



Esquema 17 – Cicloadição entre os enecarbamatos Cbz e Boc com o N-óxido de nitrila.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar do enecarbamato endocíclico Cbz 32a com o N-óxido de nitrila acontece de maneira semelhante à reação de cicloadição com as

enamidas, ambas tendo as mesmas propriedades régio e diasteroespecíficas inerentes a este tipo de reação.

Apesar destes aspectos, o rendimento da reação de cicloadição com o enecarbamato **32a** foi de 87% e com enecarbamato **32b** em torno de 70%, sendo superior aos rendimentos obtidos quando o dipolarófilo empregado foram as enamidas, onde foi obtido rendimentos um pouco acima de 60%. Isso pode ser deduzido ao observarmos as estruturas dos dois dipolarófilos, as enamidas **33** e o enecarbamatos **32a** e **32b**.

Nas enamidas existe uma acentuada ressonância (Figura 26) entre os átomos de nitrogênio e o oxigênio da carbonila, ocasionando um maior deslocamento do par de elétrons do nitrogênio para esta região da molécula. Como consequência, há uma diminuição da densidade eletrônica na ligação dupla, diminuindo a energia do orbital HOMO deste dipolarófilo. No enecarbamato essa mesma ressonância ocorre, porém de forma mais acentuada, pois além do nitrogênio, o oxigênio da carbonila entra em ressonância com o outro átomo de oxigênio da função enecarbamato, mantendo a densidade eletrônica da ligação dupla, o que favorece a reação de cicloadição.

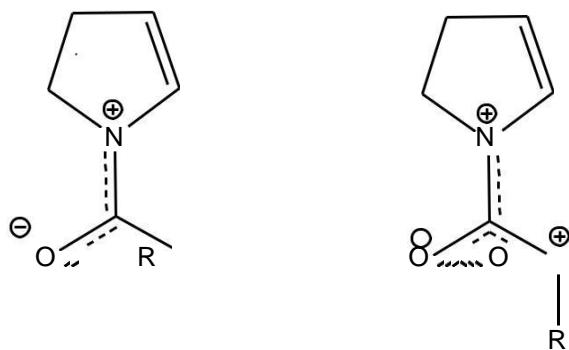
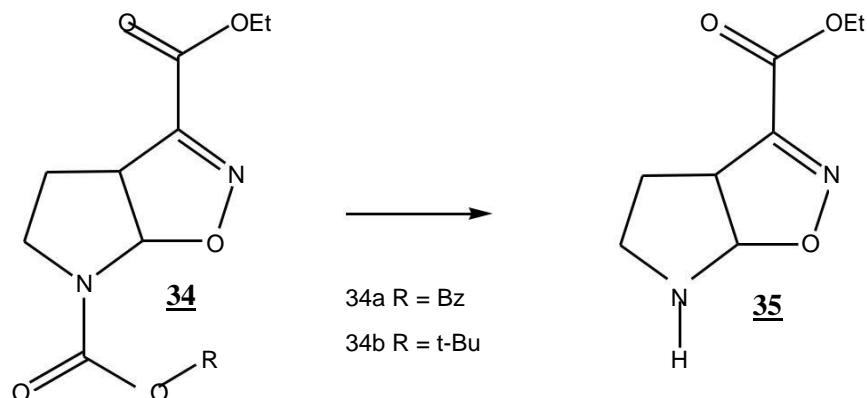


Figura 26 – Híbridos de ressonância das enamidas e dos enecarbamatos.

5.7 Desproteção da amina secundária em N6

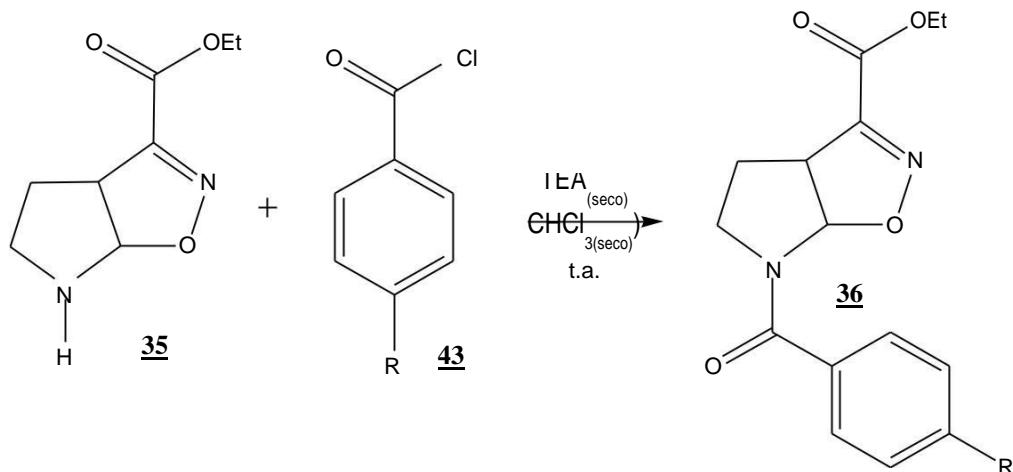


Esquema 18 – Desproteção dos cicloadutos Cbz e Boc.

Após a obtenção do cicloaduto protegido, tanto com o grupo Cbz **34a**, quanto com o Boc **34b**, foi necessária uma reação de desproteção destes intermediários, para que o produto obtido fosse utilizado nas reações subsequentes. Na desproteção do *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina (enecarbamato Cbz) foi utilizada a reação de hidrogenólise catalisada por paládio, uma desproteção suave e de fácil aplicação, que vem sendo utilizada com bastante eficiência em nosso grupo de pesquisa, com rendimentos quantitativos.³

A amina **35** livre foi formada com ótimos rendimentos e proporcionou a introdução dos substituintes benzoílas para substituídos em N6. A 2-oxazolina pirrolidínica foi utilizada diretamente, sem prévia purificação, na reação subsequente. Com o intuito de se obter o mesmo composto **35**, o cicloaduto protegido com o Boc foi submetido a uma reação de hidrólise ácida com ácido trifluoroacético, à 0 °C, no entanto, através da análise da cromatografia em camada delgada, observou-se que houve degradação do produto no meio reacional.

5.8 Reação de acilação em N6 de 35 com cloretos de benzoílas para substituídos



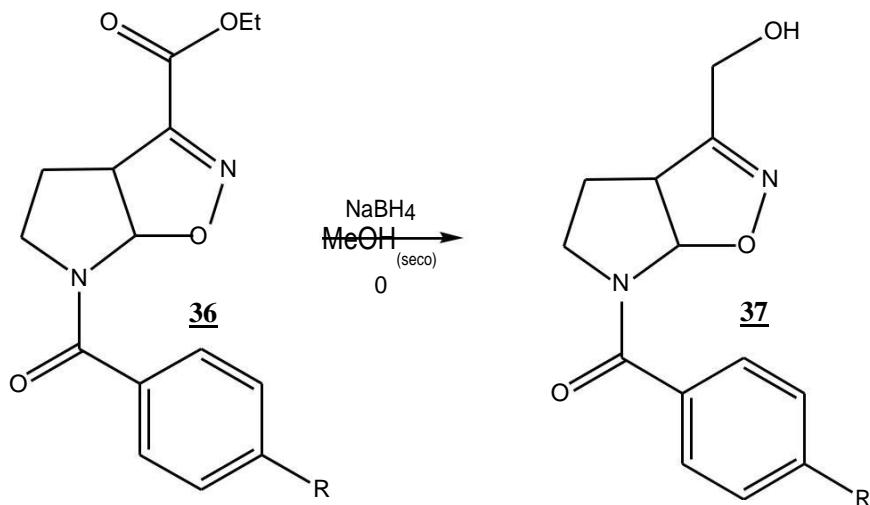
Esquema 19 – N-benzilação do cicloaduto desprotegido.

A 2-isoxazolina pirrolidínica 37 foi submetida a uma *N*-acilação com os respectivos cloretos de benzoílas *para*-substituídas em temperatura ambiente. Nessa reação, o composto 37 atua como um nucleófilo adicionando-se a carbonila, , na presença de trietilamina como base. Os cicloadutos *para*-substituídos foram obtidos com bons rendimentos que variaram entre 82% e 92% (Tabela 4).

Composto	Substituinte	Rendimento
<u>36a</u>	R=F	88%
<u>36b</u>	R=Cl	92%
<u>36c</u>	R=NO ₂	82%

Tabela 4 – Rendimento das reações de N-benzilação.

5.9 Síntese dos alcoóis isoxazolínicos 37



Esquema 20 –Redução ésteres isoxazolínicos p-substituídos.

Em trabalhos anteriores, realizados por Reis e colaboradores, foi proposta a síntese direta de derivados aldeídos isoxazolínicos a partir de seus respectivos ésteres isoxazolínicos 36. No entanto, várias tentativas de reduções brandas utilizando reagentes como DIBAL-H e superhidreto $[(Et_3AlH)Li]$ não deram resultados, pois o éster permaneceu intacto. Dessa forma os ésteres isoxazolínicos foram reduzidos à álcool e posteriormente oxidados a aldeídos.³

No presente trabalho essa metodologia foi aplicada com o intuito de obter as novas oximas isoxazolínicas à partir de seus respectivos aldeídos. Na redução do éster foi utilizado o $NaBH_4$ à temperatura inicial de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde depois de um certo tempo reacional, foi aumentando gradativamente até atingir a temperatura ambiente. A reação demonstrou ser bastante rápida, seletiva e com excelentes rendimentos (Tabela 5).³

Composto	Substituinte	Rendimento
<u>37 a</u>	$R=F$	88%
<u>37b</u>	$R=Cl$	90%
<u>37c</u>	$R=NO_2$	95%

Tabela 5 – Rendimento das reações de redução.

A redução seletiva do éster em C3 pode ser confirmada através da análise do espectro de RMN ^1H , onde identificamos dois sinais na forma de doubletos com deslocamentos de 4,3 e 4,5 ppm, referentes aos hidrogênios diastereotópicos do grupamento hidroximetila dos alcoóis. Um outro sinal em 5,4 ppm, sugerindo um hidrogênio um pouco mais desblindado, está relacionado ao hidrogênio da hidroxila. Além disso, os alcoóis **37** apresentaram nos espectros de IVTF, bandas características em torno de 3505 cm^{-1} , relativamente finas e intensas, caracterizando o estiramento da ligação O-H do grupamento hidroxila.

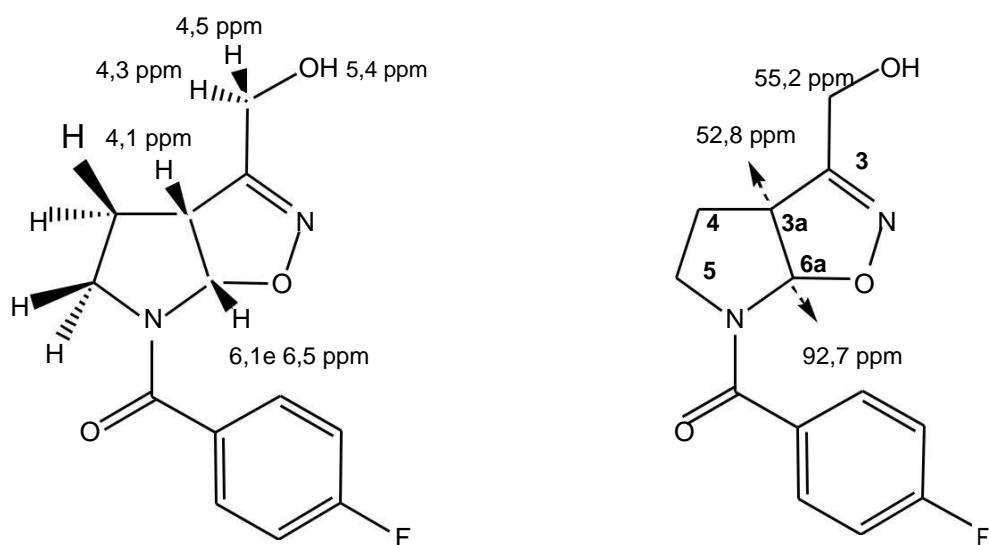


Figura 27 – Deslocamentos químicos dos alcoóis isoxazolínicos.

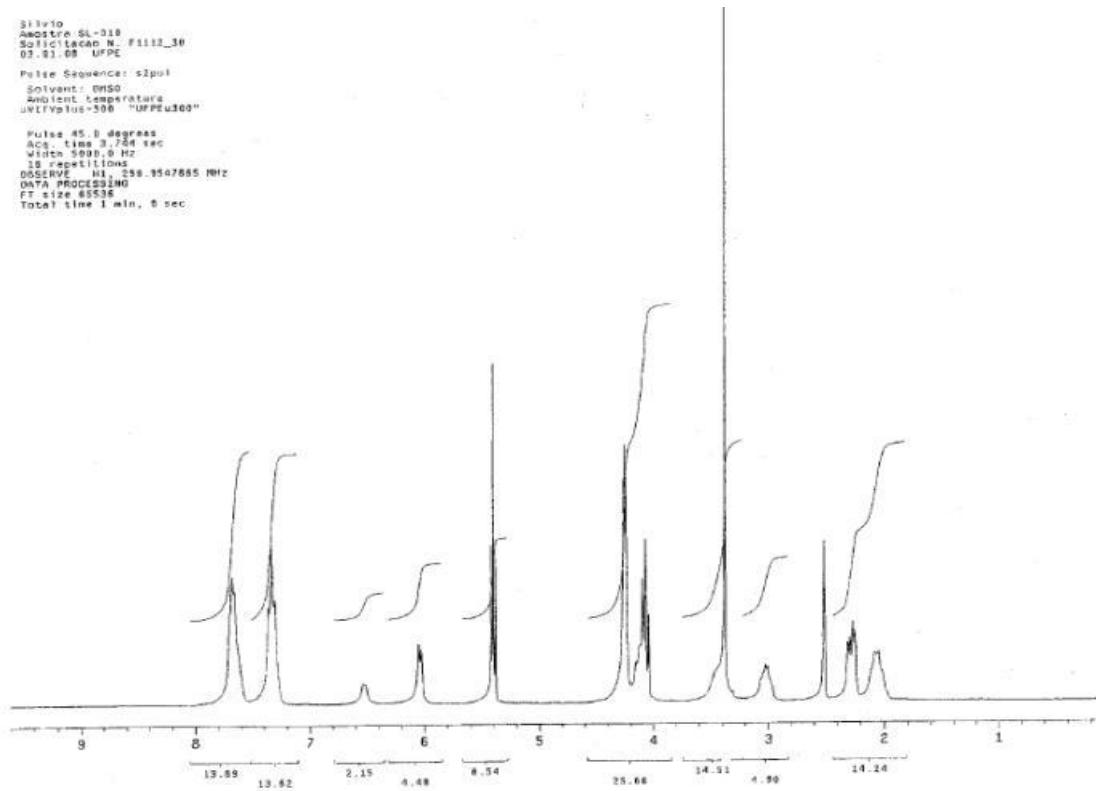


Figura 28 – Espectro de ^1H RMN do composto 39a.

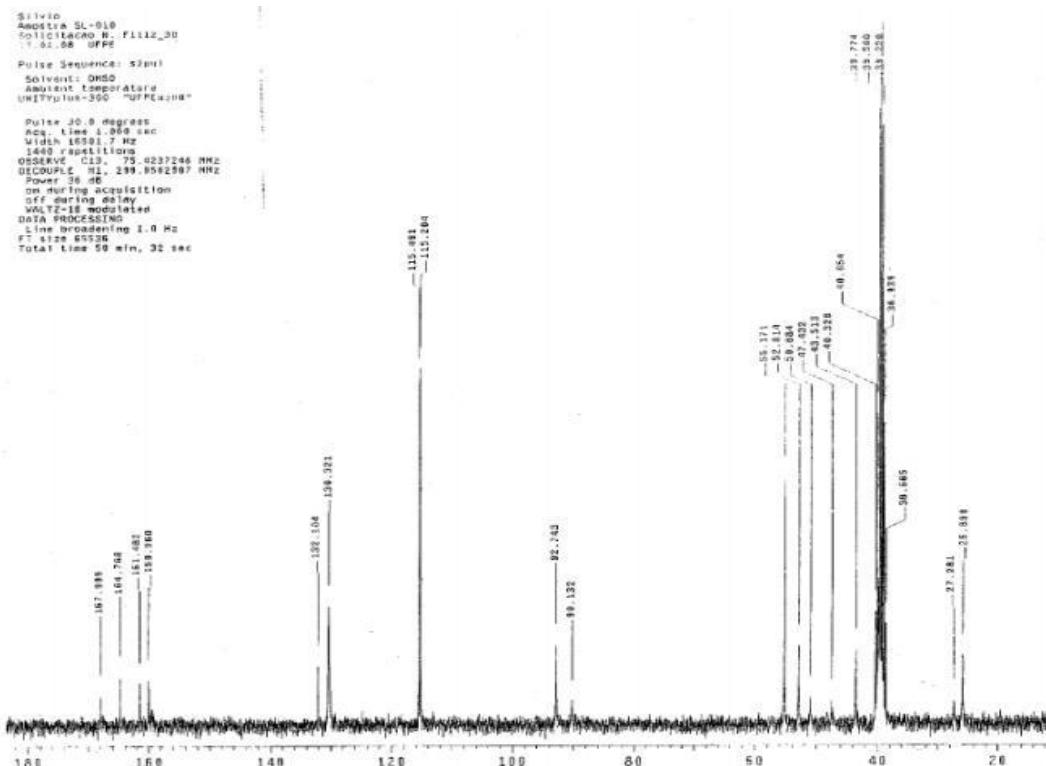


Figura 29 – Espectro de ^{13}C RMN do composto 39a.

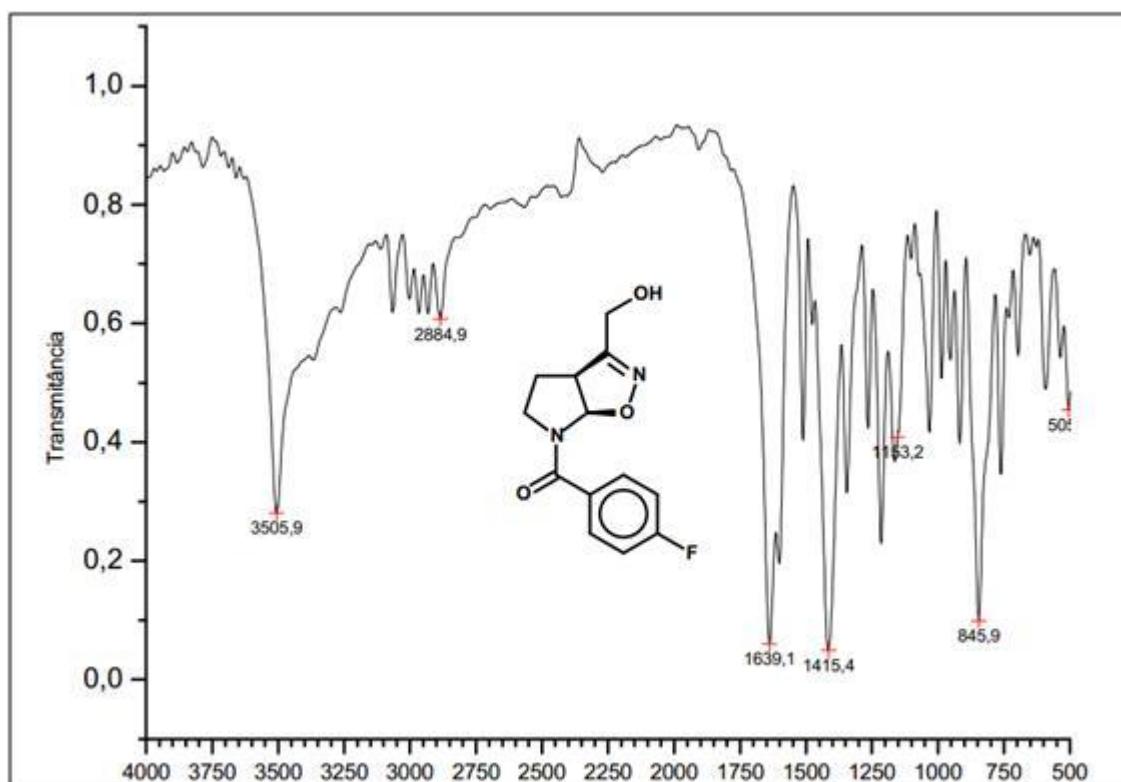
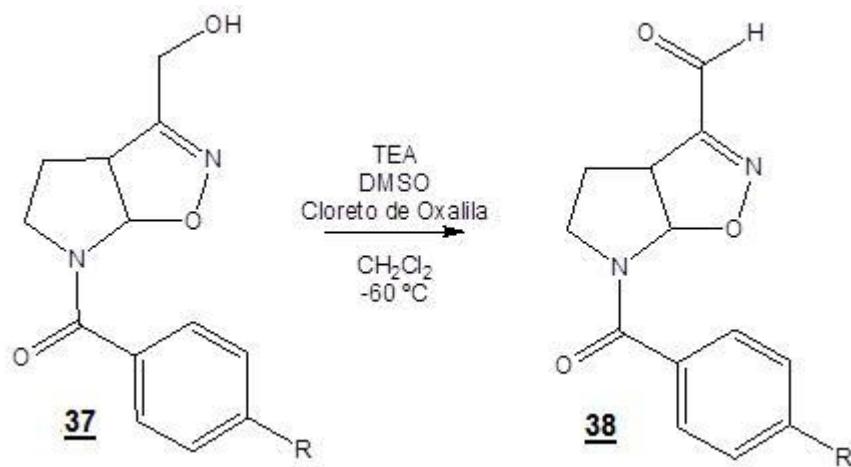


Figura 30 – Espectro de infravermelho do composto 39a.

5.10 Síntese dos aldeídos isoxazolínicos 38



Esquema 21 –Oxidação dos alcoóis através da reação de Swern.

Como foi discutido anteriormente, a obtenção dos aldeídos isoxazolínicos 38 a partir da redução direta dos ésteres 36, não foi possível. A partir disso, foi aplicada a

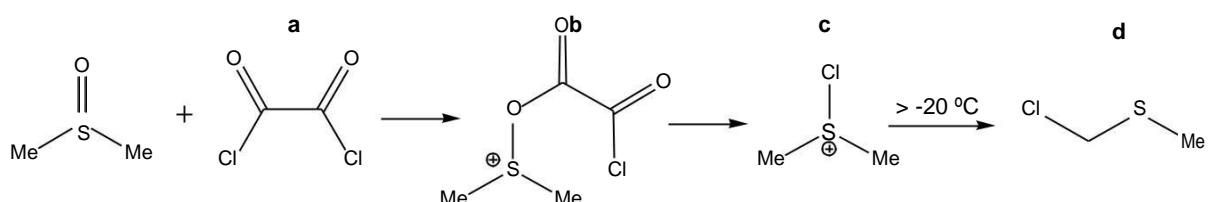
reação de Swern em nossa metodologia, ocorrendo a oxidação dos alcoóis *para*-substituídos **37** aos respectivos aldeídos.

A reação de Swern se caracteriza como uma oxidação branda, sem a possibilidade de formar o ácido carboxílico, o que nos permitiu chegar aos aldeídos com rendimentos consideráveis. Apesar dessas características, a oxidação de Swern, é uma reação sensível a diversos fatores como umidade, tempo reacional e temperatura, sendo imprescindível o controle destes parâmetros para que se tenha um bom rendimento.⁴⁶

Composto	Substituinte	Rendimento
38a	R=F	35%
38b	R=Cl	42%
38c	R=NO ₂	32%

Tabela 6 – Rendimento das reações de Swern.

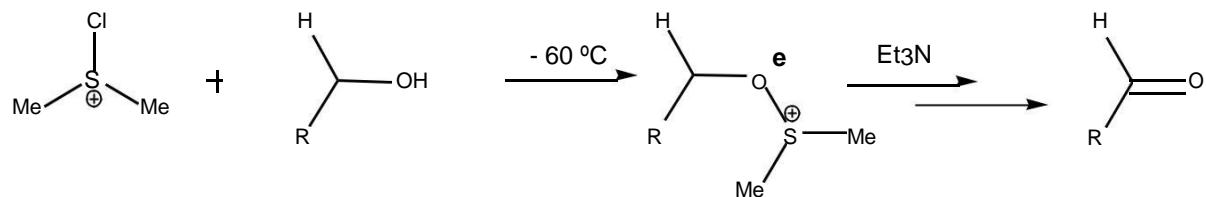
A reação ocorre à temperatura em torno de -60 °C, devido a instabilidade de diversos intermediários presentes no meio reacional. Inicialmente ocorre a reação instantânea entre o DMSO e o cloreto de oxalila **a** (Esquema 22), produzindo o primeiro intermediário **b**, que rapidamente se decompõe formando o cátion cloro **c** (DMSO ativado). Este constitui o intermediário essencial para o sucesso da reação, dessa forma deve-se evitar o aumento da temperatura e a presença de umidade, caso contrário o intermediário **c** se decompõe facilmente na estrutura **d** ou sofre um ataque nucleofílico pela água, inativando-o.⁴⁷



Esquema 22 –Ativação do DMSO pelo cloreto de oxalila

O DMSO ativado **c** sofre o ataque nucleofílico, a medida que o álcool isoxazolínico é adicionado na reação, formando um intermediário chave no andamento da reação, cloridrato de alcooxidimetilsulfônio **e**, que reage com a trietilamina, dando o seu respectivo aldeído (Esquema 23). Além disso, é produzido

como o subproduto dimetilsufóxido subproduto, que possui um cheiro característico dando um indício de que a reação ocorreu.⁴⁷



Esquema 23 – Reação de Swern.

Os aldeídos **38** foram submetidos a análises espectrométricas, onde os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C apresentaram os sinais característicos da junção do núcleo isoxazolínico, os hidrogênios ligados aos carbonos **6a** e **3a** próximos a 4,1 e 6,3 ppm respectivamente, e deslocamento químico dos carbonos em 92,0 ppm, comprovando que o bírculo pirrolidínico permaneceu intacto (Figura 31).

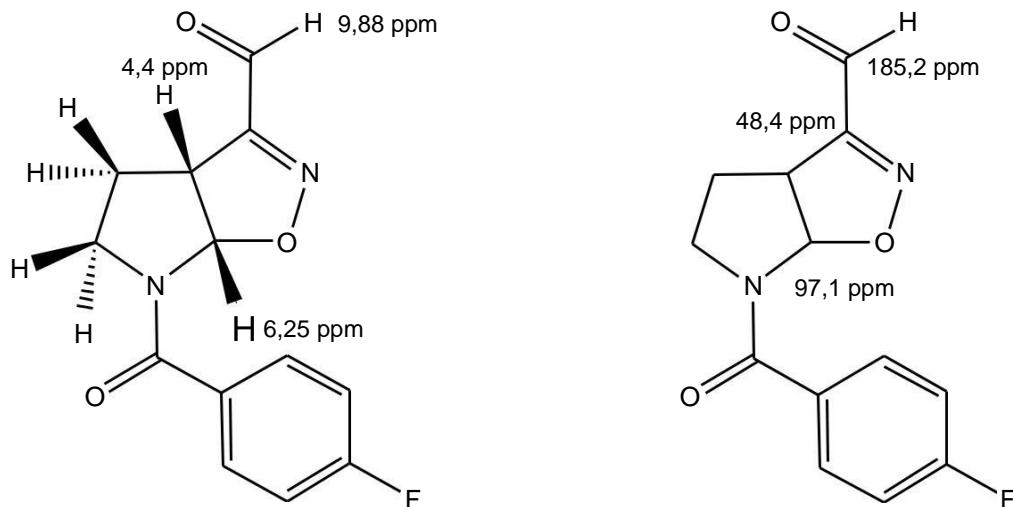


Figura 31 – Deslocamentos químicos do aldeído p-F 40 a.

Além disso, pode-se confirmar a formação da função aldeído pelo deslocamento químico de 9,8 ppm no RMN ^1H e um deslocamento de 185 ppm no RMN ^{13}C , ambos demonstrando átomos respectivamente bastante desblindados, referentes ao hidrogênio e o carbono da função aldeído. Através da análise dos espectros de IVTF, os aldeídos apresentaram uma banda intensa em 1710 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação carbono – oxigênio da carbonila do aldeído, além

do desaparecimento do estiramento da ligação OH, que estava presente no produto de partida **37** dessa reação.

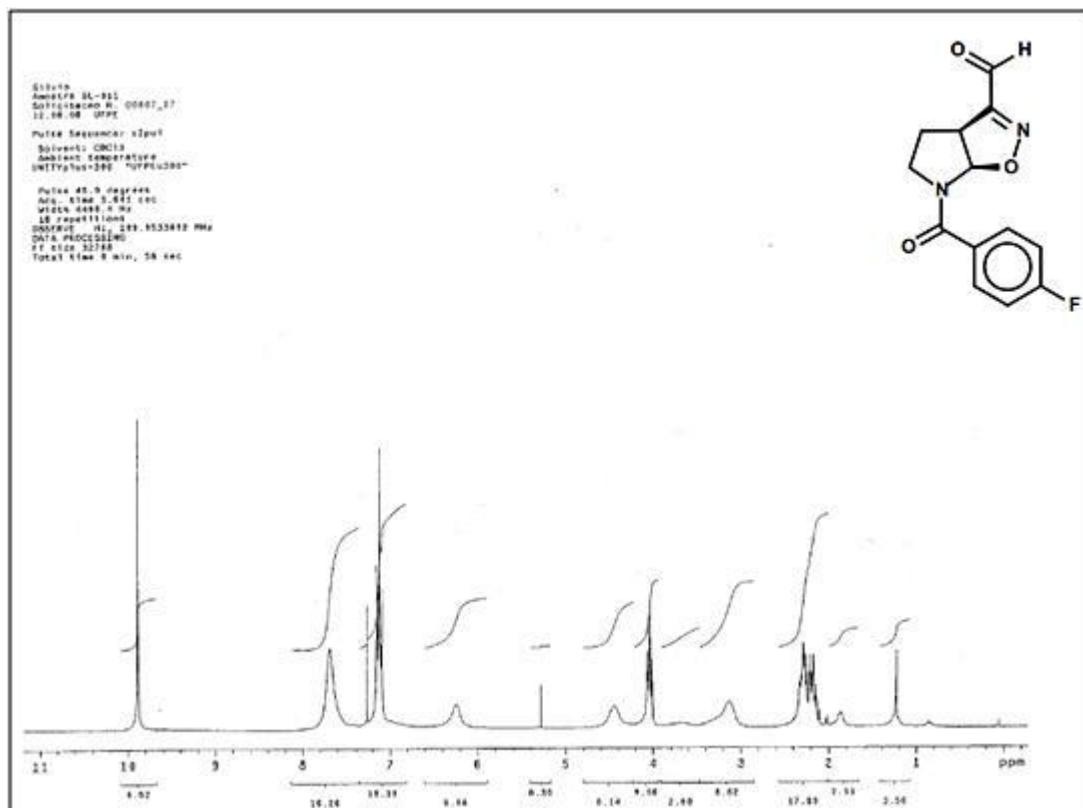


Figura 32 – Espectro de ¹H RMN do composto 40a.

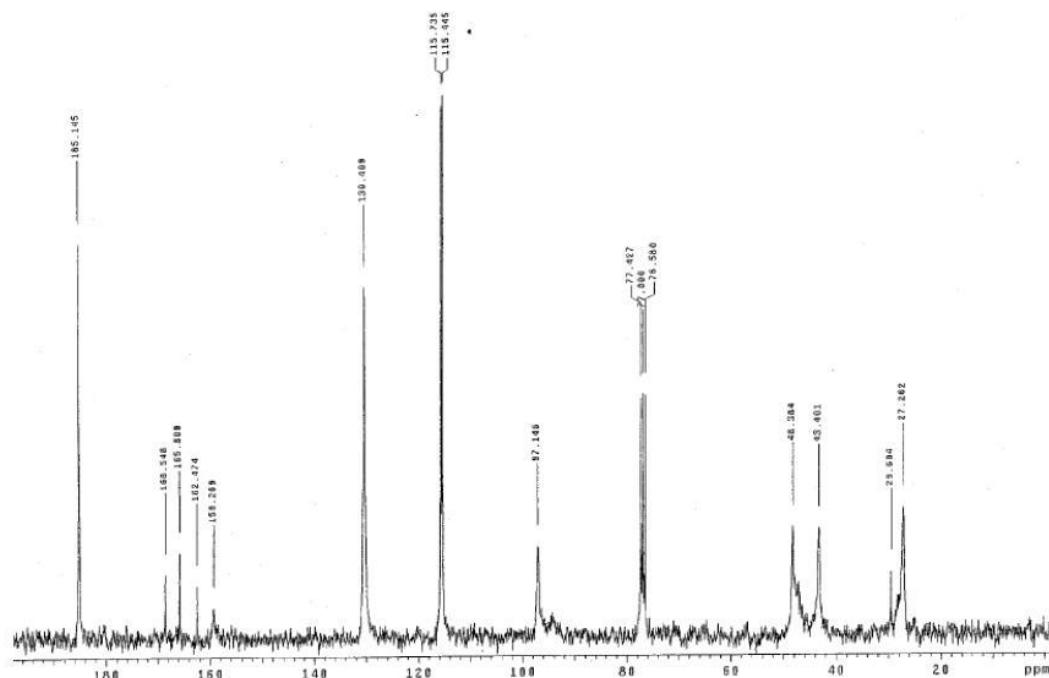


Figura 33 – Espectro de ¹³C RMN do composto 40a.

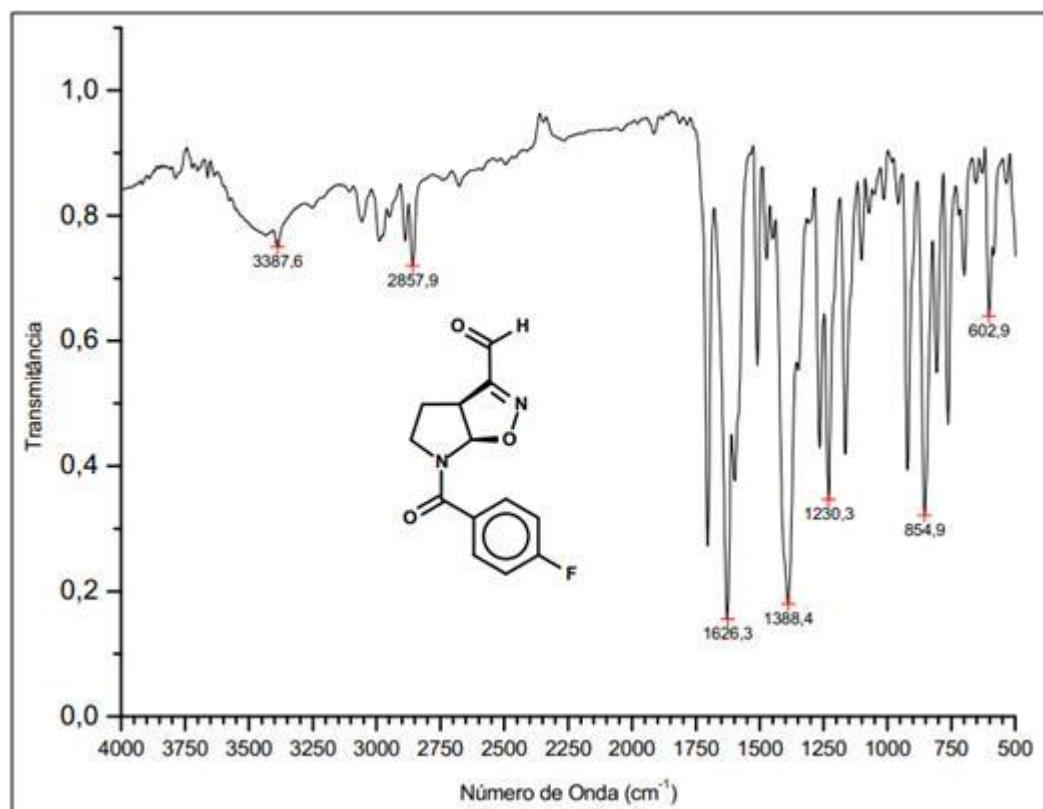
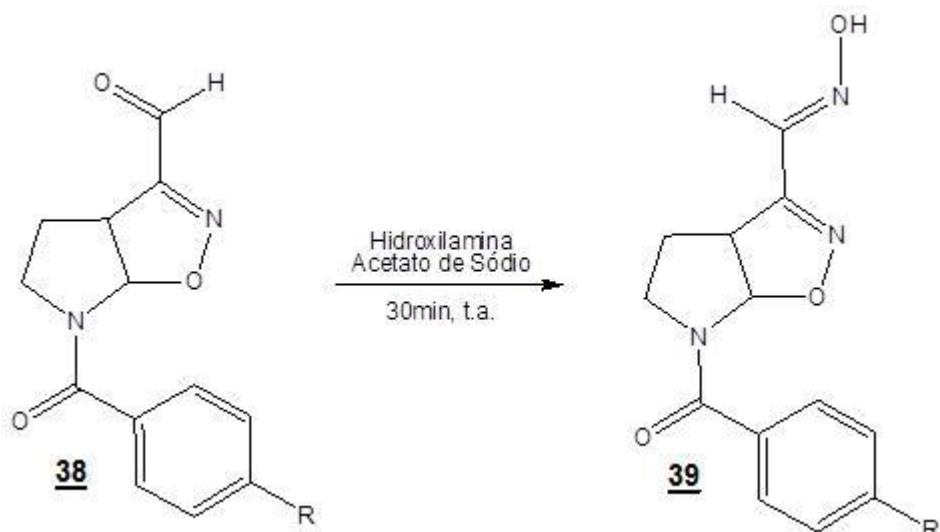


Figura 34 – Espectro infravermelho do composto 40 a.

5.11 Síntese da oximas isoxazolínicas **39**



Esquema 24 – Síntese de oxima a partir dos aldeídos.

A síntese das oximas isoxazolínicas **39** foi realizada através da reação dos seus respectivos aldeídos **38** com a hidroxilamina, utilizando acetato de etila como base. A

reação ocorre de maneira rápida, em temperatura ambiente, fornecendo ótimos rendimentos para todos os radicais.⁴⁸

Composto	Substituinte	Rendimento
39a	R=F	84%
39b	R=Cl	92%
39c	R=NO ₂	82%

Tabela 7 – Rendimento das reações de síntese de oxima.

É importante salientar que a nucleofilia do átomo de nitrogênio da hidroxilamina altera de acordo com o valor do pH (Figura 35). Dessa forma, o meio básico é necessário, pois favorece a desprotonação do hidrogênio ligado ao oxigênio, formando uma espécie mais reativa, facilitando o ataque do grupo amina ao carbono da carbonila pertencente ao aldeído.⁴⁹

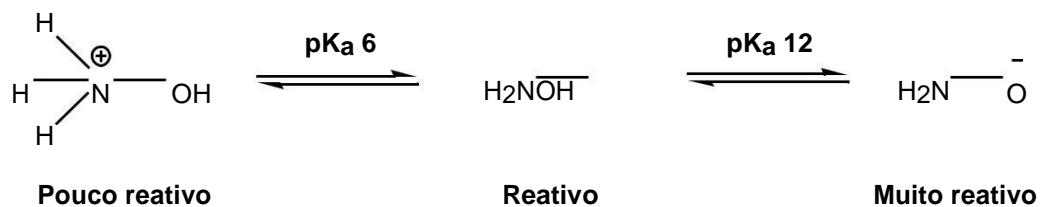


Figura 35 – Reatividade da hidroxilamina

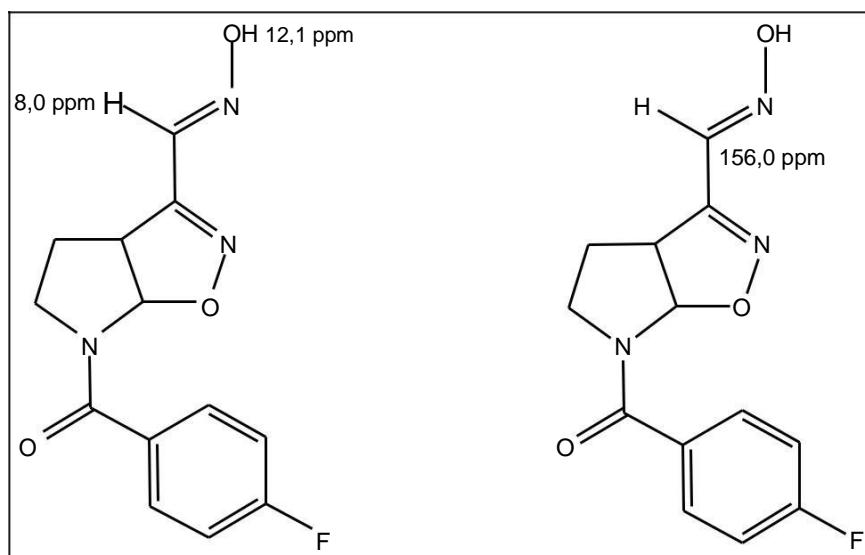


Figura 36 – Deslocamentos químicos da oxima p-F 41 a.

A reação de formação das oximas isoxazolínicas foi bastante eficiente, tanto pela simplicidade da reação, quanto pelos seus rendimentos. Esses compostos foram devidamente identificados através do espectro de ^1H e ^{13}C . Na análise dos espectros, pode ser observado a presença de um sinal com deslocamento químico em 12 ppm, referente ao hidrogênio da função oxima. Isso se deve ao fato o átomo de hidrogênio estar diretamente ligado ao C=N – O, grupo que possui átomos bastante eletronegativos, deixando-o fortemente desblindado.

Além disso, outro sinal característico do espectro de ^1H aparece com um deslocamento de 8 ppm, que pertence ao hidrogênio vinílico ligado ao carbono sp^2 da função oxima. Este mesmo carbono apresenta no espectro de ^{13}C RMN um deslocamento químico de 156 ppm, pelo fato de ser um carbono sp^2 e estar ligado a átomos bastante eletronegativos (Figura 37 e 38).

As novas oximas isoxazolínicas também foram submetidas a análise de IVTF, onde apresentaram uma banda em $3246\text{ }^{-1}\text{cm}$, que se refere ao estiramento da ligação N – O – H, presente na função oxima.

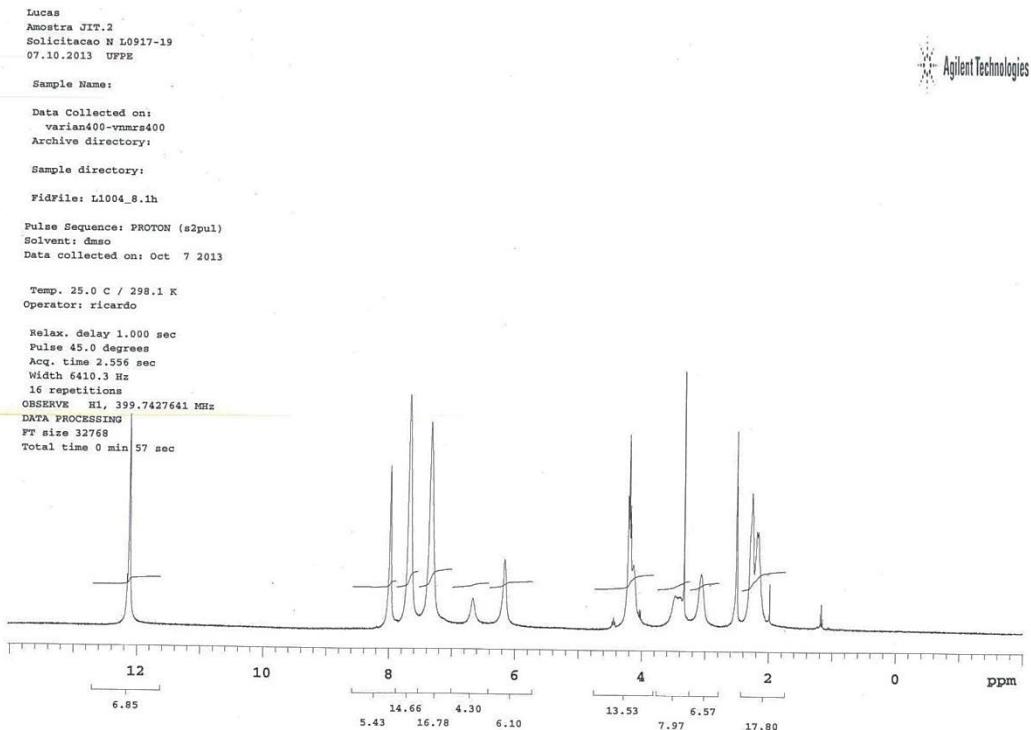


Figura 37 - Espectro de ^1H RMN do composto 41a.

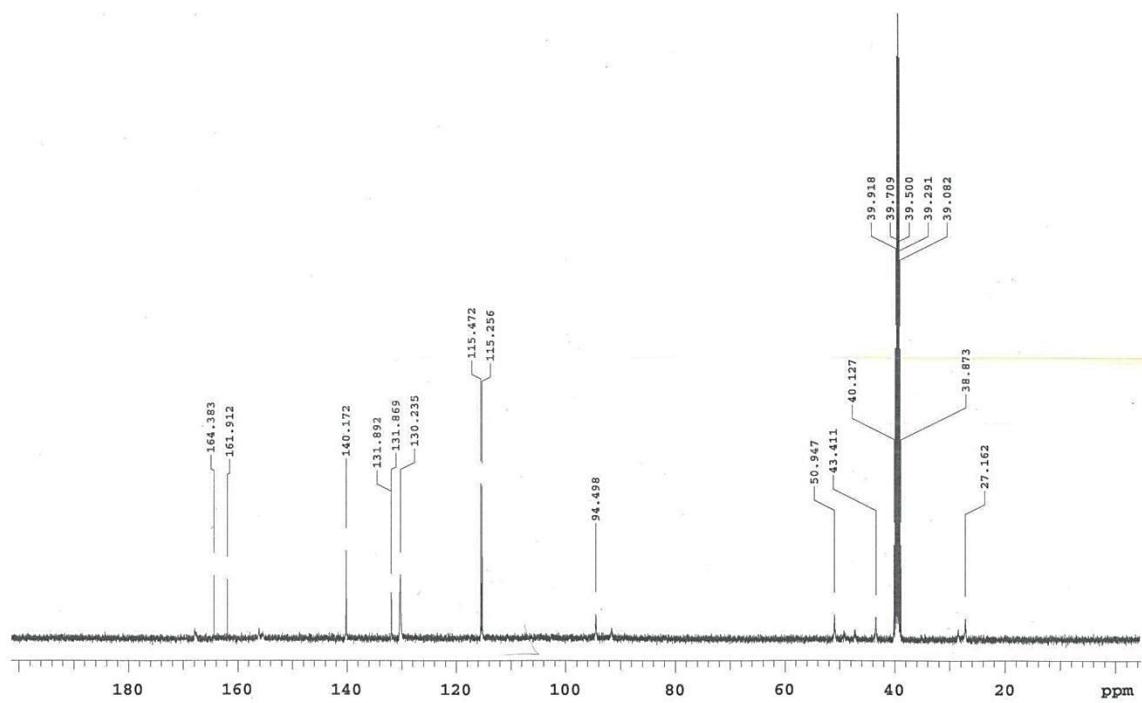


Figura 38 - Espectro de ^{13}C RMN do composto 41a.

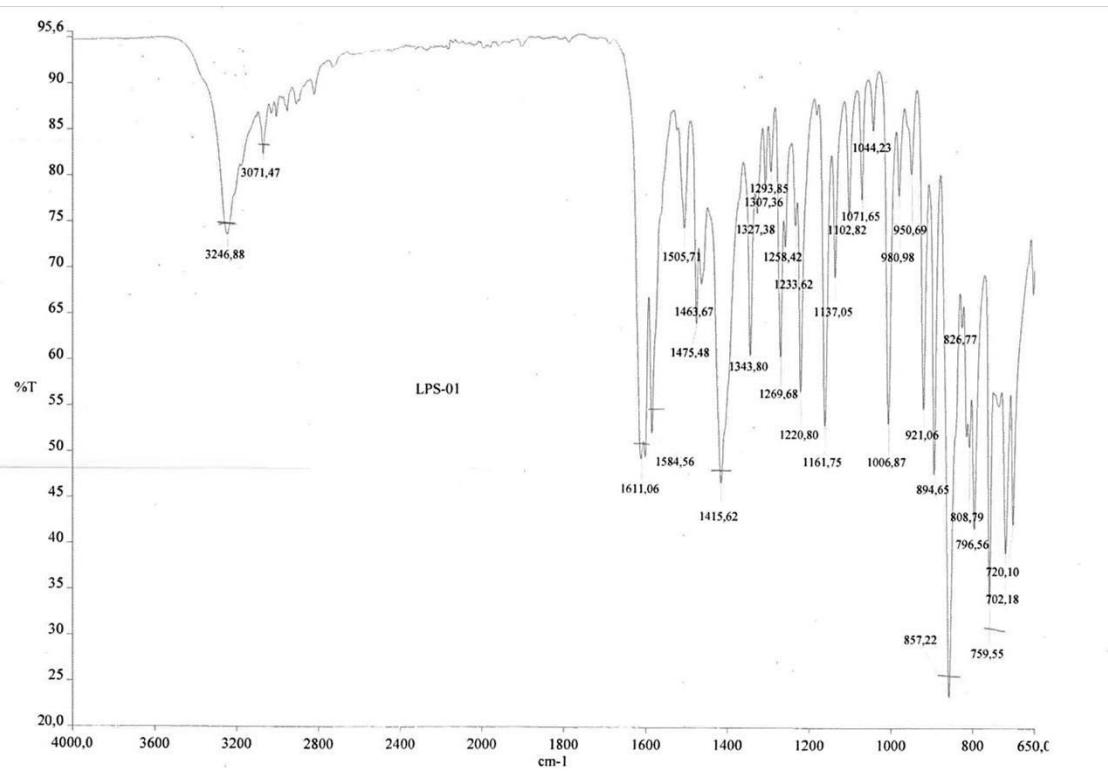


Figura 39 - Espectro infravermelho do composto 41 a.

6 Procedimentos experimentais

6.1 Materiais e métodos

As reações de síntese das enamidas, dos enecarbamatos, de cicloadição 1,3-dipolar, redução do álcool e oxidação de Swern são todas sensíveis à umidade, sendo realizadas sob atmosfera de argônio, e com vidrarias previamente secas em estufa por 4h, a 110ºC.

Com relação aos solventes utilizados nas etapas descritas acima, foram previamente tratados com agentes secantes adequados para cada solvente, os quais foram destilados antes do uso, afim de serem utilizados isentos ou com o mínimo de umidade.

A caracterização por cromatografia em camada delgada foi realizada 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 o método de adsorção de iodo como revelador.

As colunas cromatográficas foram empacotadas com gel de sílica 60(230-400 mesh) e eluidas sob pressão (Flash). Os solventes utilizados nas colunas cromatográficas, hexano, acetato de etila e isopropanol, foram previamente destilados.

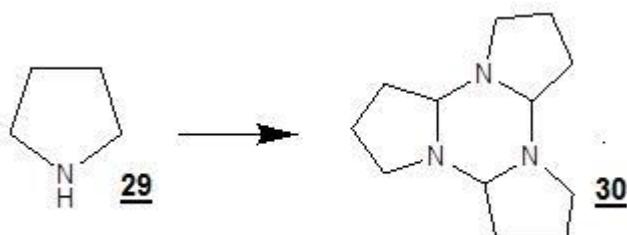
Nas reações com ultrassom foi empregado o aparelho UNIQUE® USC 1400-A, com frequência 40 KHz. As faixas de fusão dos produtos sólidos foram mensuradas no equipamento FISATON® 431D, à seco com leitura digital.

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 DMSO deuterado. Os sinais dos espectros de RMN ¹H são designados da seguinte forma: deslocamento químico (δ), multiplicidade (s = singuleto, d = doubleto, dl = doubleto largo, t = tripleto, tl = tripleto largo, q = quarteto, dd = duplo

dubleto, dt = duplo triplo, ddl = duplo doubleto largo, m = multipleto, ml = multipleto largo, sl = sinal largo), constante de acoplamento (Hz) e número de hidrogênio.

6.2 Trímero da 1-pirrolina **30**



Uma solução aquosa de hidróxido de sódio (5,74 g; 144,0 mmol) foi preparada, a uma temperatura de 0°C, sob vigorosa agitação, aplicaram-se a pirrolidina **29** (5,8 mL; 72,0 mmol), e nitrato de prata (59,0 mg; 0,33 mmol), em um total de 70,0 mL de água. Por fim, uma solução 25% de sódio (6,91 g; 72,0 mmol; 67,0 mL) foi adicionada, lentamente, ao sistema pré-reacional, o qual permaneceu em agitação por uma hora a 0°C e mais três horas à temperatura ambiente.

A solução escura resultante foi extraída com diclorometano (4 x 30,0 mL). Secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e após remoção do solvente obteve-se 4,13 g de um líquido amarelado viscoso, correspondendo a um rendimento de 72,0 % do trímero **30**. Devido a sua instabilidade, o trímero foi utilizado bruto, isento de procedimentos de purificação, na preparação tanto das enamidas **33** quanto nos enecarbamatos endocíclicos **32a** e **32b**.

Propriedades físicas do composto 30

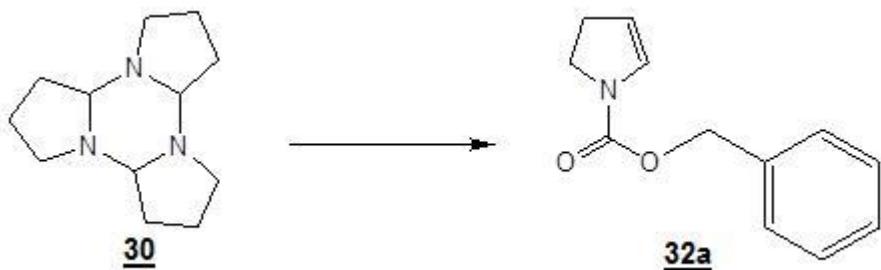
- Óleo amarelo viscoso;
- Sensível a solventes próticos;

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a).

1,75 (m); 2,28 (m); 2,5 (m); 2,99 (m); 3,82 (m); 7,59 (s)

6.3 N-(BENZILOXICARBONIL)-2-PIRROLINA 32a



Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da 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 término da adição, a solução foi sonicada por mais 30 minutos. Com o término 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 32a, correspondendo a um rendimento de 50%.

Propriedade físicas do composto 32a

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

DADOS ESPECTROMÉTRICOS

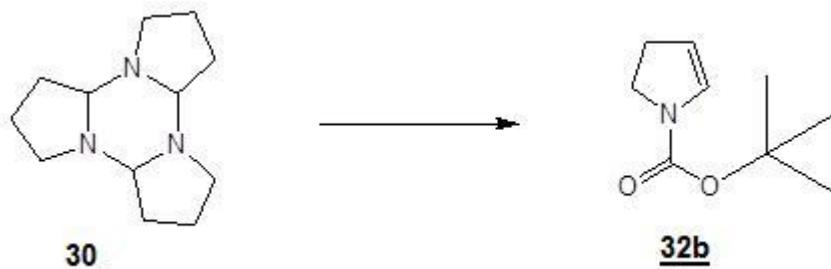
¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

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

6.4 N-(*t*-BUTOXICARBONIL)-2-PIRROLINA 32b



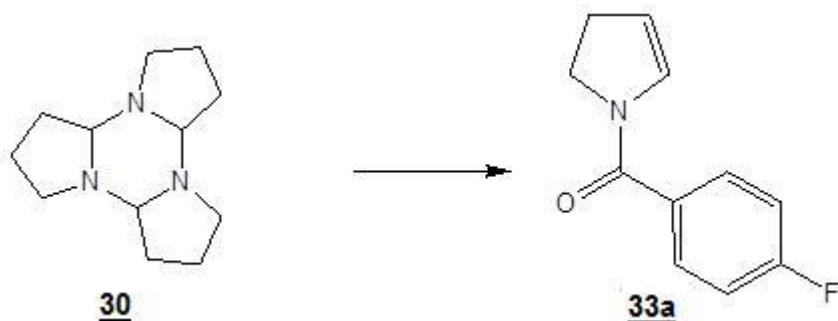
Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da ¹-pirrolina (2,56g; 12,4 mmols; 125 mL de THF) codestilada sob a temperatura 60 °C. Após 30 minutos sob refluxo, foi adicionado o DMAP (0,46g, 3,84 mmols). Em seguida foi realizada a adição lenta do dicarbonato de *t*-butila (5,7 mL, 24,8 mmols). A reação 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 32b, correspondendo a um rendimento de 48%.

Propriedade físicas do composto 32b

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

6.5 ***N*-(4-FLUOROBENZOIL)-2-PIRROLINA 33a**



Em atmosfera de argônio, uma solução do trímero da 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; 10,6mmols) 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 termo da adição, a solução foi sonicada por mais 30 minutos. Com o termo da reação, obteve-se uma solução 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 33a, correspondendo a um rendimento de 32%.

Propriedades físicas do composto 33a

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

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, 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).

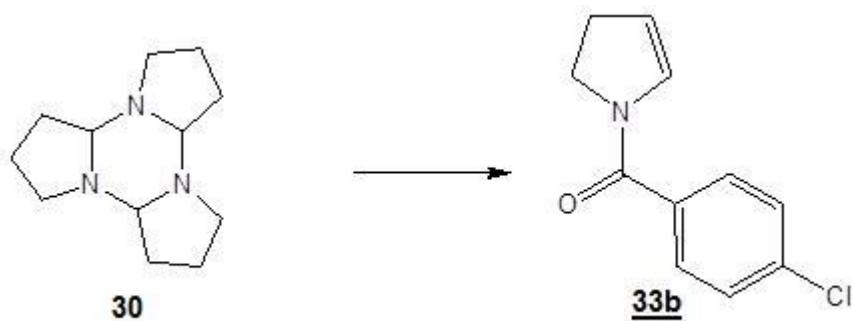
¹³C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

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. T.F (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.

6.6 *N*-(4-CLOROBENZOIL)-2-PIRROLINA 33b



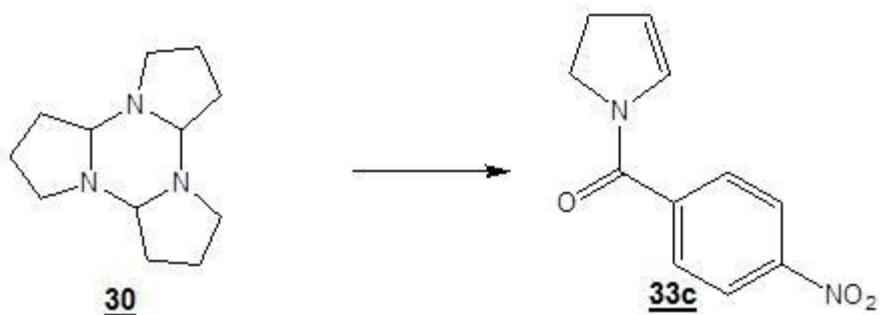
Procedimento experimental semelhante ao 6.5.

Trímero da 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 2:7), forneceu 0,509g da enamida 33b, equivalendo a um rendimento de 42%.

Propriedades físicas do composto 33b

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

6.7 ***N*-(4-NITROBENZOIL)-2-PIRROLINA 33c**



Procedimento experimental semelhante ao 6.5.

Trímero da 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 2:3), forneceu 0,480g da enamida **33c**, equivalendo a um rendimento de 38%.

Propriedades físicas do composto 33c

- Cristais amarelos.
- Ponto de fusão 148-150 °C
- $R_f = 0,34$ (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,76 (m, 2H; rotâmero em 2,64); 4,06 (m, 2H; rotâmero em 3,79); 5,31 (m; 1H; rotâmero em 5,48); 6,34 (m; 1H; rotâmero em 7,06); 7,70 (m; 2H); 8,29 (m, 2H).

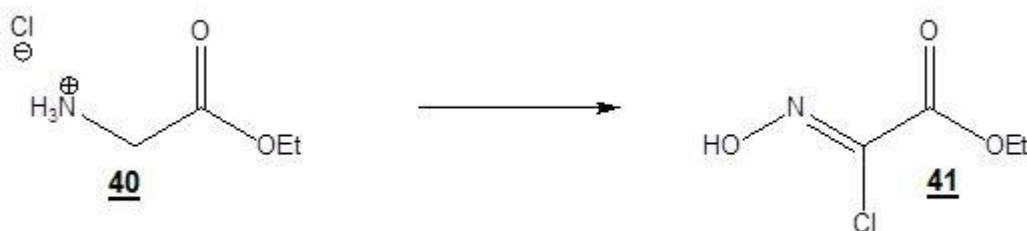
¹³C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

28,4 (CH₂); 45,8 (CH₂), 113,7(CH), 123,8(CH; rotâmero em 123), 128,8 (CH; rotâmero em 128,3); 129,5(CH); 141,6 (C), 148,6 (C); 164,4 (C=O).

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

3.100, 2.968, 2.862, 1.633, 1.595, 1.512, 1.427, 1.353, 1.316, 860.

6.8 CLOROOXIMIDOACETATO DE ETILA 41



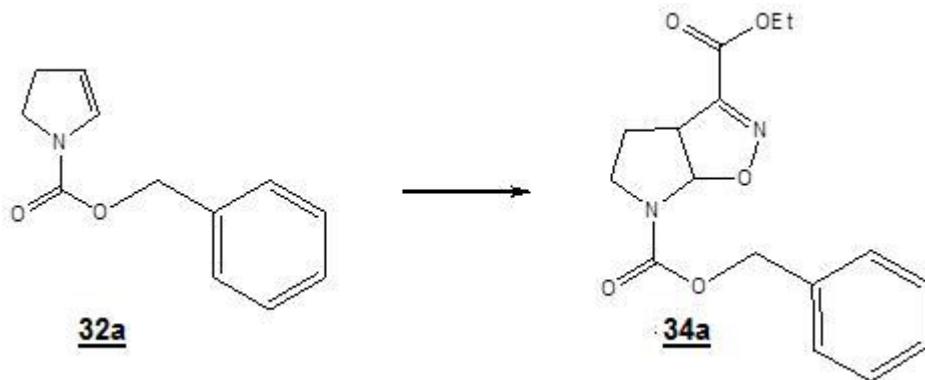
Em um balão de 250 mL foi adicionado o cloridrato do éster etílico da glicina 40 (10,20 g; 73,0 mmol), água destilada (15,0 mL); e ácido clorídrico concentrado (6,3 mL; 73,0 mmol). Em seguida resfriou-se essa solução em banho de gelo/NH₄Cl. Sob forte agitação e mantendo-se a temperatura do banho nunca acima de 0° C, adicionou-se lentamente, via funil de adição, a solução de nitrito de sódio (5,1 g; 73,0 mmol; 9,0 mL de água). Ao término desta adição repetiu-se o processo, adicionando-se mais um equivalente de HCl concentrado e de nitrito de sódio. Deixou-se a solução resultante em agitação por mais 15 min à mesma temperatura. Em seguida o produto foi extraído com clorofórmio (4 x 40,0 mL) e seco sob sulfato de sódio anidro.

Após remoção do solvente, ocorreu intensa precipitação de cristais brancos, após a adição de N-hexano, onde esses foram lavados com N-hexano e secos sob vácuo. Obteve-se 5,0 g do produto identificado como **41**, correspondendo a um rendimento de 45,0 %

Propriedades Físicas de 41

- Ponto de Fusão 80° C, conforme literatura.

6.9 ÉSTER 6-BENZIL-3-ETIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 34a



Em um balão acoplado a um funil de adição com equalizador de pressão e contendo um agitador magnético, foi adicionado o enecarbamato 32a (3,83 g; 18,87 mmol), tetrahidorfurano seco (40,0 mL) para dissolver o enecarbamato. Em seguida, aplicou-se a trietilamina (5,26 g; 37,73 mmol, excesso de dois equivalentes-mol em relação ao enecarbamato, aplicada em duas partes alternadas a solução do precursor do CEFNO). A este sistema, sob forte agitação, deixar gotejar calmamente, a solução de clorooximidoacetato de etila 41, precursor do dipolo 42, (5,7 g; 37,73 mmol, excesso de dois equivalentes-mol em relação enecarbamato; em 36,0 ml de THF seco, adicionado em duas partes) A reação foi acompanhada através de CCD, onde se percebeu a formação do produto, cicloaduto 34a, desde o início da adição do precursor 41 do N-óxido de nitrila.

Após 2 horas de reação e total consumo do material de partida, removeu-se o solvente. O sal formado, cloreto de trietilamônio, foi filtrado em funil sinterizado, utilizando-se uma mistura de acetato de etila. Após remoção do solvente, obteve-se um óleo amarelo escuro e bastante viscoso. O produto bruto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 2:3), obtendo-se 5,12 g do cicloaduto 34a, correspondendo a um rendimento de 87%.

Propriedades Físicas de 34a

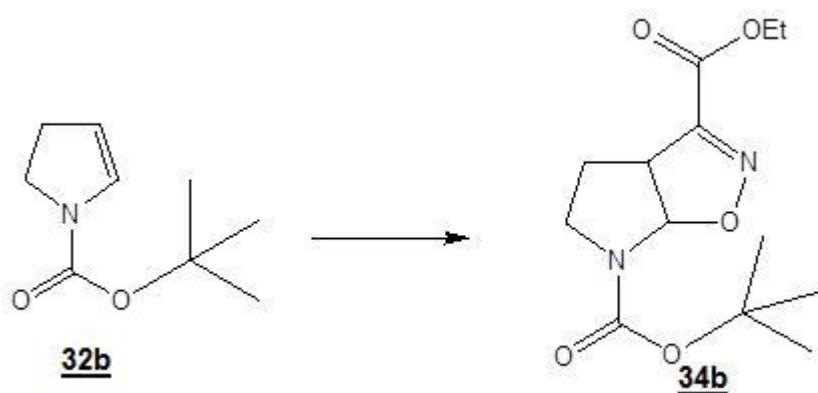
- Óleo amarelo claro viscoso.
- $R_f = 0,47$ (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

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

7,36 (m; 5H); 6,53 e 6,42 (d; $J=7,5\text{Hz}$; 1H; rotâmeros); 5,2 (m; 2H); 4,36 (m; 2H); 4,08 (m; 1H); 3,84 (m; 1H); 3,18 (dt; $J= 11,1\text{Hz}$; $J= 11,1\text{Hz}$; $J=6,3$; 1H); 2,23 (m; 2H); 1,37 (t; $J=7,2\text{Hz}$; 3H).

6.10 ÉSTER 6-TERT-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 34b



Procedimento experimental semelhante ao 6.9.

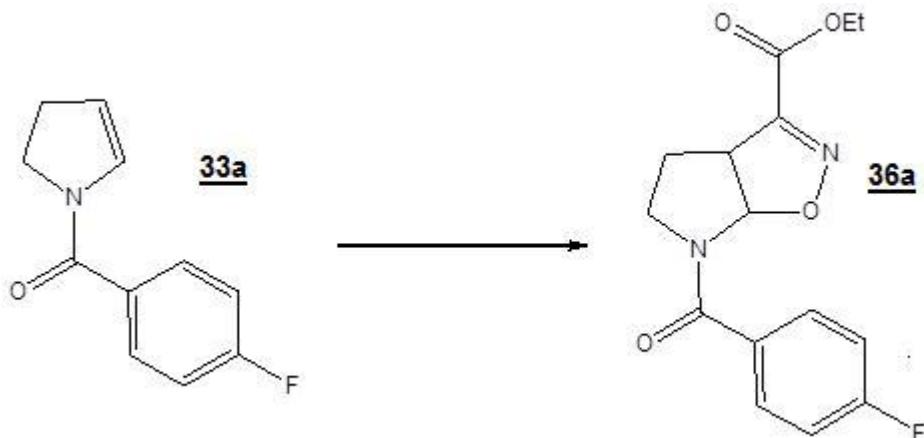
Enecarbamato **32b** (1,0g; 3,51 mmols; 50 ml de THF), trietilamina (2 ml; 14,7 mmols), clorooximido acetato de etila **43** (1,5g; 6,59 mmols; 10 ml THF).

Cromatografia em coluna flash (gel de sílica, sistema isopropanol:hexano (1:9), forneceu 648g do cicloaduto **34b** correspondendo a um rendimento 70%.

Propriedades Físicas de **34a**

- Óleo amarelo claro viscoso.
- $R_f = 0,54$ (AcOEt/hexano 1:1)

6.11 ÉSTER 6-(4-FLUOROBENZOIL) DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36a



Procedimento experimental semelhante ao 6.9.

Enamida 33a (1,0g; 3,51 mmols; 50 ml de THF), trietilamina (2 ml; 14,7 mmols), clorooximido acetato de etila 43 (1,5g; 6,59 mmols; 10 ml THF).

Cromatografia em coluna flash (gel de sílica, sistema isopropanol:hexano (1:9), forneceu 960mg do cicloaduto 36a correspondendo a um rendimento 62%.

Propriedades Físicas de 36a

- Óleo amarelo escuro viscoso.
- $R_f = 0,39$ (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

1,38 (t; $J = 7,0$ Hz; 3H); 2,22 (m; 1H); 2,40 (dd; $J = 6,0$ Hz; $J = 13,5$ Hz; 1H); 3,20 (m; 1H); 4,12 (t; $J = 8,0$ Hz; 1H); 4,36 (m; 3H); 6,22 (sI; 1H); 7,12 (m; 2H); 7,69 (sI; 2H)

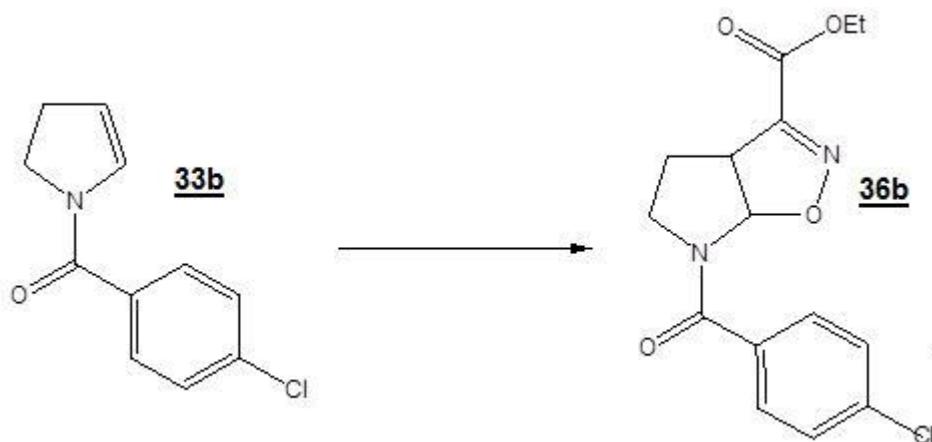
^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

14,08 (CH₃); 27,95 (CH₂); 43,53 (CH₂); 51,19 (CH); 62,4 (CH₂); 96,17(CH); 115,6(d; $J = 21,5$ Hz; CH); 130,4(CH); 164,1(d; $J = 250,0$ Hz; C-F); 131,0(C); 152,4(C); 159,8(C=O); 168,7(C=O)

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

3.030, 2.986, 2.860, 1.721, 1.652, 1.600, 1.509, 1.408, 1.270, 1.131; 931, 853.

6.12 ÉSTER DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36b



Procedimento experimental semelhante ao 6.9.

Enamida **33b** (1,0g; 3,51 mmols; 50 ml de THF), trietilamina (2 ml; 14,7 mmols), clorooximido acetato de etila **43** (1,5g; 6,59 mmols; 10 ml THF).

Cromatografia em coluna flash (gel de sílica, sistema isopropanol:hexano 1:9), forneceu 985mg do cicloaduto **36b** correspondendo a um rendimento 70%.

Propriedades Físicas de **36b**

- Precipitado branco cristalino.
- Ponto de fusão 63-65 °C
- $R_f = 0,38$ (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

1,36 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,19 (ml; 1H); 2,37 (ddl; $J = 5,9\text{Hz}$; $J = 12,9\text{Hz}$; 1H); 3,17 (sl; 1H); 4,07 (m; 1H); 4,35(m; 3H); 6,16 (sl; 1H; rotâmero em 6,97); 7,4 (dl; $J = 8,4\text{Hz}$; 2H); 7,6 (ml; 2H).

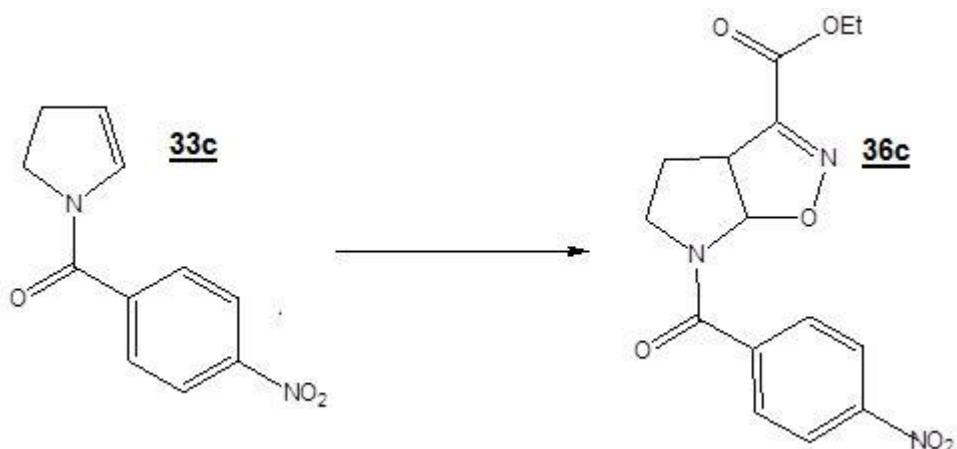
^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

14,0(CH₃); 27,8(CH₂); 43,5(CH₂); 51,1(CH); 62,3(CH₂); 95,8(CH); 128,6(CH); 129,5(CH); 133,1(C); 137,0(C); 152,2(C); 159,7(C=O); 168,5(C=O)

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

2.985, 1.724, 1.650, 1.591, 1.408, 1.270, 1.180, 1.132, 1.015, 931, 836, 756.

6.13 ÉSTER 6-(4-NITROBENZOIL) DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36c



Procedimento experimental semelhante ao 6.9.

Enamida 33c (1,0g; 3,51 mmols; 50 ml de THF), trietilamina (2 ml; 14,7 mmols), clorooximido acetato de etila 43 (1,5g; 6,59 mmols; 10 ml THF).

Cromatografia em coluna flash (gel de sílica, sistema isopropanol:hexano (1:9), forneceu 985mg do cicloaduto 36c correspondendo a um rendimento %.

Propriedades Físicas de 36c

- Óleo amarelo escuro viscoso.
- R_f = 0,35 (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

1,36 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 2,24 (m; 1H); 2,42 (dd; J = 6,1Hz; J = 13,3Hz; 1H); 3,21 (ml; 1H); 4,13 (m; 1H); 4,35(m; 3H); 6,07 (d; J = 7,8Hz; 1H; rotâmero em 6,91); 7,83 (dl; J = 7,8Hz; 2H); 8,28 (d; J = 8,7; 2H).

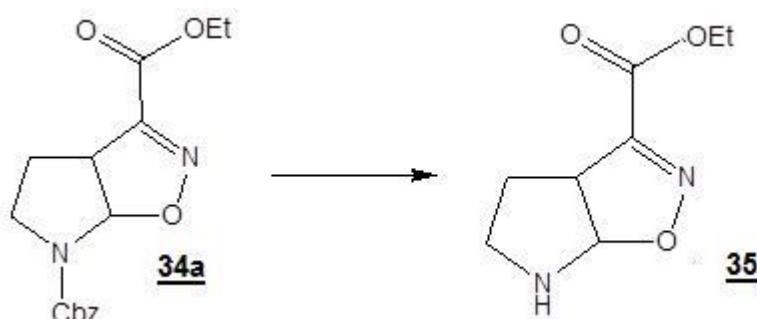
^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

13,9 (CH₃); 27,6 (CH₂); 43,5 (CH₂); 51,4 (CH); 62,4 (CH₂); 95,3 (CH); 123,7 (CH); 129,0 (CH); 140,6 (C); 148,9 (C); 152,4 (C); 159,6 (C=O); 167,5 (C=O)

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

2.970, 1.722, 1.652, 1.600, 1.524, 1.414, 1.350, 1.272, 1.130, 829

6.14 ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 3a,4,5,6,6a-TETRAHIDROPIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 35



Dissolveu o cicloaduto 34a (2,03 g; 11,03 mmol) em metanol P.A. (186,0 mL). Em seguida, adicionou-se o paládio/carbono 10% (103,1 mg) e à mistura reacional, sob agitação vigorosa, borbulhou-se o gás hidrogênio durante uma hora, quando por CCD se pode confirmar o fim da reação.

Promoveu-se uma filtração à vácuo, sob camada de celite, após a remoção do solvente, e pôde-se obter 1,0 g da isoxazolina N-desprotegida 35 pura, correspondendo a um rendimento quantitativo. O composto 35 foi utilizado nas reações subseqüentes sem necessidade de submetê-lo a qualquer procedimento de purificação.

Propriedades Físicas de 35

- Óleo incolor.
- R_f = 0,25 (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

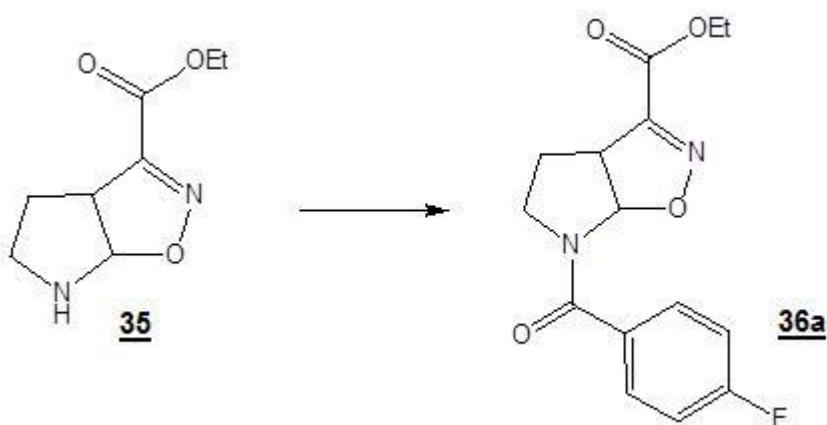
^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

6,07 (d; $J= 6,9\text{Hz}$; 1H); 4,32 (m; 2H); 3,87 (m; 1H); 3,12 (m; 1H); 2,81 (ml; 2H); 2,07 (m; 2H); 1,35 (t; $J=6\text{Hz}$; 3H

^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

160,5 (C); 152,3 (C); 100,8 (CH); 61,9 (CH₂); 49,1 (CH₂); 42,8 (CH); 29,9 (CH₂); 14,0 (CH₃).

6.15 ÉSTER 6-(4-FLUOROBENZOIL) DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36a



Observação: O cicloaduto **36a** também foi obtido a partir da cicloadição entre a enamida **33a** e o N-óxido de nitrila **41**, conforme descrito na reação 6.11.

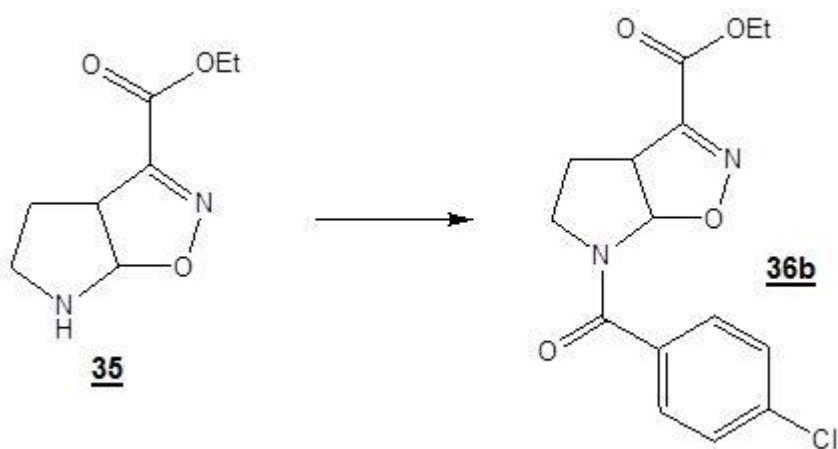
Em um balão de 250 mL foram solubilizados a isoxazolina N-desprotegida 37 (1,39 g; 7,55 mmol) e trietilamina seca (1,02 mL; 8,31 mmol), em clorofórmio seco (200,0 mL). Sob vigorosa agitação, adicionou-se cloreto de 4-fluorobenzoíla (0,98 mL; 8,31 mmol), que foi adicionado lentamente durante 10 minutos e sob atmosfera de argônio. A reação foi deixada sob agitação, à temperatura ambiente, por mais uma hora adicional.

Após remoção do solvente, promoveu-se uma extração com 20,0 mL de acetato de etila para dissolver o produto reacional, seguida de 10,0 mL de água destilada e mais 4 x 20,0 mL de acetato de etila, retirou-se a água com sulfato de

sódio anidro, seguida de uma filtração simples, onde por fim removeu-se o solvente no evaporador rotatório.

O produto foi purificado através de recristalização em etanol P.A., e uma posterior remoção do solvente por evaporador rotatório, obtendo-se assim 2,05 g do N-(benzóil)-isoxazolina 36a, o que corresponde a um rendimento de 88 %.

6.16 ÉSTER 6-(4-CLOROBENZOIL) DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36b

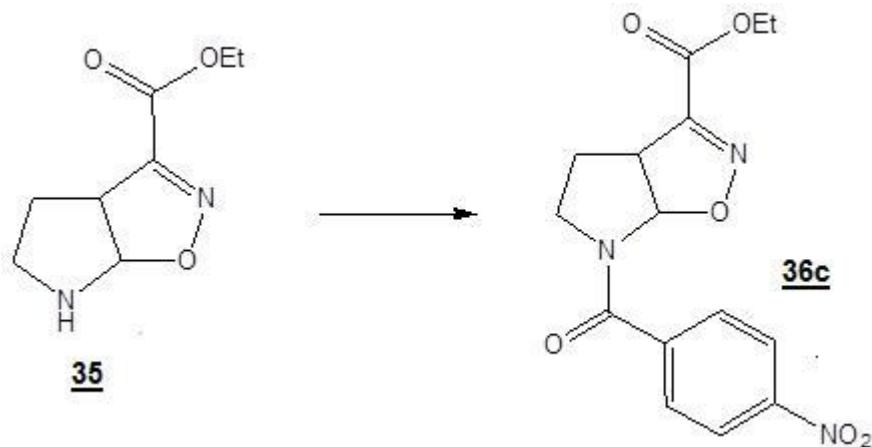


Observação: O cicloaduto **36b** também foi obtido a partir da cicloadição entre a enamida **33b** e o N-óxido de nitrila **41**, conforme descrito na reação 6.12.

Procedimento experimental semelhante a reação 6.15.

Isoxazolina N-desprotegida **35** (1,01 g; 5,48 mmol), trietilamina seca (0,82 mL; 6,03 mmol), clorofórmio seco (145,0 mL) e cloreto de 4-clorobenzoila (0,77 mL; 6,03 mmoles). Uma extração com acetato de etila, seguida de uma cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 3:7), forneceu 1,59 g do cicloaduto **36b**, correspondendo a um rendimento de 92,0 %

6.17 ÉSTER DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 36c

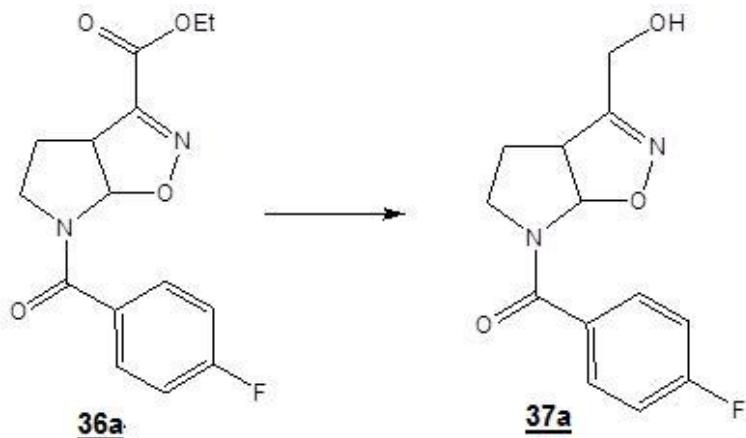


Observação: O cicloaduto **36c** também foi obtido a partir da cicloadição entre a enamida **33c** e o N-óxido de nitrila **41**, conforme descrito na reação 6.12.

Procedimento experimental semelhante a reação 6.15.

Isoxazolina N-desprotegida **35** (1,01 g; 5,48 mmol), trietilamina seca (0,82 mL; 6,03 mmol), clorofórmio seco (145,0 mL) e cloreto de 4-clorobenzoila (0,77 mL; 6,03 mmoles). Uma extração com acetato de etila, seguida de uma cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 3:7), forneceu 1,59 g do cicloaduto **36c**, correspondendo a um rendimento de 92,0 %

6.18 OBTENÇÃO DO ÁLCOOL (4-FLUOROFENIL)-(3-HIDROXIMETIL-3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-6-IL-METANONA 37a



A uma solução de éster 36a (1,0g; 3,35 mmol) e metanol seco (90,0 mL), a 0°C e sob vigorosa agitação, adicionou-se NaBH4 (0,38 g; 10,02 mmol; 1,5 equivalentes-mol do éster isoxazolínico) em três partes iguais. Ao término da adição, deixou-se sob agitação por cerca de uma hora à 0 °C e uma hora à t.a. A reação foi acompanhada através de CCD, onde se visualizou a formação do álcool desde o início da adição do NaBH4.

Após remoção do metanol, promoveu-se uma extração solubilizando o produto em 50,0 mL de acetato de etila, seguida da adição de 30,0 mL de água destilada e acetato de etila (3 x 30,0 mL). Retirou-se a água com Na₂SO₄ anidro, o solvente foi filtrado e removido. Conseguindo-se um óleo incolor bastante viscoso, no qual, após cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, Isopropanol/hexano 1:1), pode-se obter 0,8 g do respectivo álcool puro 37a, com um rendimento de 88,0 %.

Propriedades Físicas de 37a

- Óleo incolor viscoso.
- Rf = 0,10 (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,06 (m, 1H); 2,27 (dd; J = 12,6; J = 5,7 Hz; 1H); 3,00 (m, 1H) rotâmero em 3,40; 4,00 – 4,20 (m, 2H); 4,24 (m, 2H); 5,39 (t; J = 6,0 Hz; 1H OH); 6,03 (d; J = 7,5 Hz; 1H); rotâmero em 6,53; 7,33 (m; 2H); 7,67 (m; 2H).

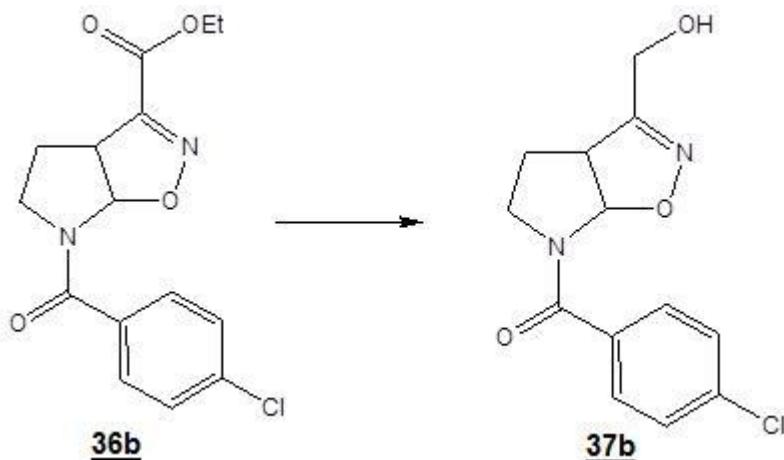
¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

25,9 (CH₂) rotâmero 27,3; 43,5 (CH₂) rotâmero 47,4; 52,8 (CH) rotâmero 50,8; 55,2 (CH₂); 92,7 (CH) rotâmero 90,1; 115,3 (d; J = 21,0 Hz; CH); 130,3 (CH); 132,1 (C); 159,9 (C=N); 164,7 e 161,5 (d; J = 240 Hz, C); 167,9 (C=O);

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

3506, 3052, 2970, 2884, 1639, 1597, 1500, 1415, 1210, 1153, 845

6.19 OBTENÇÃO DO ÁLCOOL (4-CLOROFENIL)-(3-HIDROXIMETIL-3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-6-IL-METANONA 37b



Procedimento semelhante ao item 6.18.

Éster isoxazolínico **36b** (1,23 g; 4,0 mmol), metanol (120,0 mL), NaBH_4 (0,46 g; 12,20 mmol).

Foi obtido um óleo incolor bastante viscoso, no qual, após cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, Isopropanol/hexano 1:1), obteve-se 1,0 g do respectivo álcool puro **37b**, com um rendimento de 90 %.

Propriedades Físicas de 37b

- Óleo incolor viscoso
- $R_f = 0,11$ (AcOEt/hexano 1:1)

Dados Espectrométricos

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

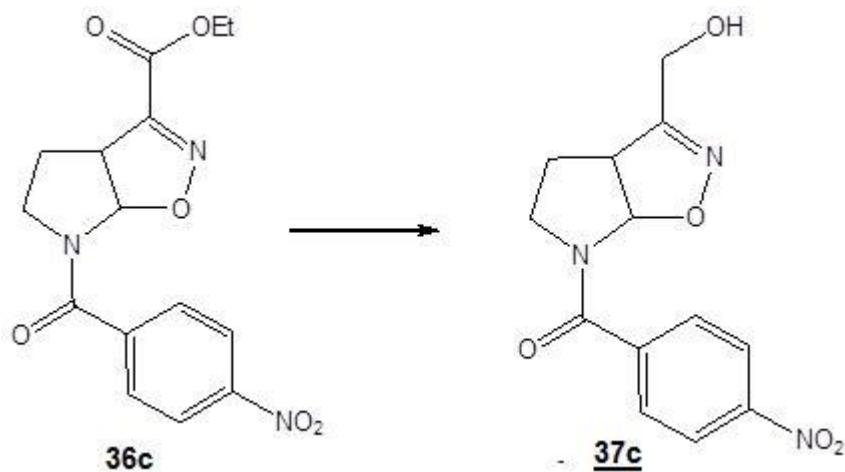
2,00 – 2,20 (m, 1H); 2,30 (dd, $J = 13$ Hz; $J = 5,7$ Hz; 1H); 2,90 – 3,65 (m, 2H); 4,00 (m, 1H); 4,35 (d; $J = 14,1$ Hz; 1H); 4,44 (d; $J = 14,1$; 1H); 5,97 (d; $J = 7,0$ Hz; 1H) rotâmero em 6,72; 7,40 (d; $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,64 (dl; $J = 8,0$ Hz, 2H)

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

26,7 (CH_2); 43,4 (CH_2) rotâmero em 47; 52,6 (CH); 56,8 (CH_2); 93,3 (CH) rotâmero em 91; 128,6 (CH); 129,6 (CH); 133,3 (C); 136,9 (C); 158,9 (C=N); 169,1 (C=O)

I.V. FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

3508, 3080, 2970, 2888, 1632, 159, 1505, 1420, 1215, 848.

6.20 OBTENÇÃO DO ÁLCOOL (4-NITROFENIL)-(3-HIDROXIMETIL-3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-6-IL-METANONA 37c

Procedimento semelhante ao item 6.18.

Éster isoazolínico **36c** (0,78 g; 2,342 mmol), metanol (70,0 mL), NaBH_4 (0,27 g; 7,03 mmol). Foi obtido um óleo amarelado escuro bastante viscoso, o qual, após cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, Isopropanol/hexano 1:1), apresentou 0,65 g do respectivo álcool puro **37c** e um rendimento de 95 %.

Propriedades Físicas de **37c**

- Óleo amarelo escuro.
- $\text{Rf} = 0,11$ (AcOEt/hexano 1:1)

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

2,23 (m, 2H); 3,08 (m; 1H); 3,70 (m; 1H); 4,24 (m, 1H); 4,28 (s, 1H); 5,16 (s; 1H; rotâmero em 5,14); 6,40 (d; $J = 7,8$; 1H); 7,38 (m, 4H)

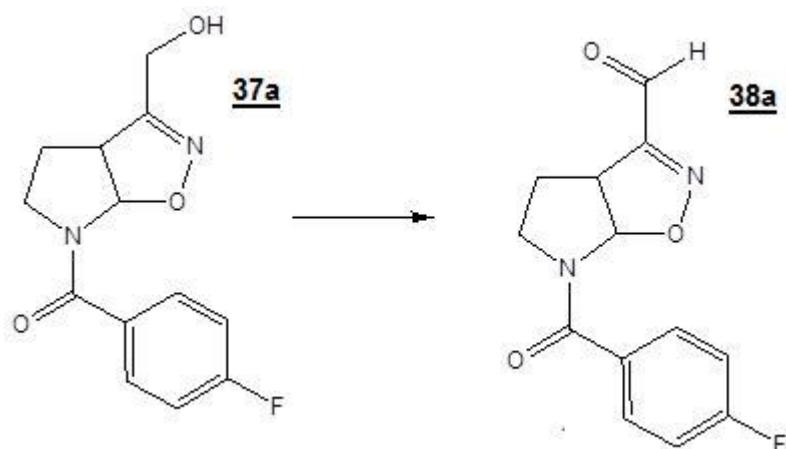
 ^{13}C RMN (CDCl_3 , δ , ppm, 75MHz, t.a)

26,9 (CH₂; rotâmero em 27,7); 44,2 (CH₂), 50,8 (CH; rotâmero em 49,7); 94,2 (CH; rotâmero em 95,0); 128,4; 127,9; 127,7; 127,5 (dois CH com rotâmeros); 136,4 (C); 152,5 (C); 152,6 (C=N; rotâmero em 153,3); 159,4 (C=O)

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

3406; 3108; 3077; 2954; 1639; 1599; 1523; 1424; 1350; 843.

6.21 OBTENÇÃO DO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aHPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBALDEÍDO 38a



Adicionou-se a um balão, 0,20 mL de cloreto de oxalila (2,24 mmol) e 4,3 mL de CH₂Cl₂ seco e deixou-se sob agitação à temperatura de -72°C, sob atmosfera de argônio. Concomitantemente, são elaboradas mais outras duas soluções a t.a.; a primeira (solução 1) contendo 0,12 mL de DMSO seco (5,6 mmol) em 1,0 mL de CH₂Cl₂ e a segunda (solução 2) contendo o álcool 37a (0,5g: 4,73mmol) em 1,2 mL de CH₂Cl₂.

Estabilizaram-se a agitação e a temperatura, a -72 °C, e adicionou-se a solução 1, ao balão reacional, deixou-os em agitação por 2 minutos. Em seguida, a solução 2 foi aplicada lentamente durante 5 minutos, deixando-se em agitação por mais 15 minutos. Por fim, adicionou-se a trietilamina (1,26 mL; 23,87 mmol), deixando-se a reação em agitação por 5 minutos. Através de CCD verificou-se que todo o álcool havia sido consumido, evidenciando-se a formação do aldeído 78a, parando a reação com a aplicação direta de água destilada no meio reacional.

Promoveu-se uma extração com diclorometano P.A. (3 x 20,0 mL), retirando-se a água com sulfato de sódio anidro. Após remoção do solvente, o produto

bruto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica Isopropanol/Hexano 1:4), permitindo a obtenção de 125mg do aldeído 38a puro, correspondendo a um rendimento de 34,5%.

Propriedades Físicas de 38a

- Sólido amorfo amarelo claro
- $R_f = 0,45$ (AcOEt/hexano 2:3)
- Ponto de fusão: 129 °C

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,10 – 2,20 (m, 2H); 3,13 (s, 1H) rotâmero em 3,66; 4,04 (t; $J = 8,1$ Hz; 1H); 4,44 (s, 1H); 6,24 (s, 1H); 7,12 (t; $J = 8,4$ Hz; 2H); 7,69 (s, 2H); 9,88 (s, 1H)

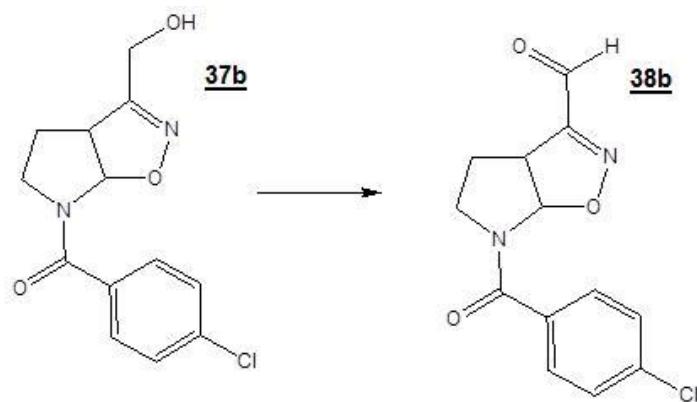
^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

27,3 (CH₂); 43,4 (CH₂); 48,4 (CH); 97,1 rotâmero em 94,3; 115,6 (d; $J = 21$ Hz; CH); 130,5 (CH); 132,0 (C); 159,1 (C=N); 162,5 e 165,8 (d; $J = 250$ Hz, C); 168,6 (C=O); 185,2 (C=O)

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

3048, 2960, 2857, 1700, 1626, 1590, 1388, 1230, 854.

6.22 OBTENÇÃO DO 6-(4-CLOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aHPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBALDEÍDO 38b



Procedimento experimental semelhante ao item 6.21.

Cloreto de oxalila (0,20 mL; 2,24 mmol; 4,3 mL de CH₂Cl₂), solução 1 (0,12 mL de DMSO, 5,6 mmol, 1,0 mL de CH₂Cl₂), solução 2 (álcool 39b, 0,5g: 4,73mmol, 1,2 mL de CH₂Cl₂). Rendimento de 42%

Propriedades Físicas de 38b

- Sólido amorfo amarelo claro
- R_f = 0,43 (AcOEt/hexano 2:3)
- Ponto de fusão: 124 °C

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,00 – 2,40 (m, 2H); 3,07 (m, 1H) rotâmero em 3,94; 4,16 (m, 2H); 6,30 (d; J = 6,6 Hz; 1 H) rotâmero em 6,81; 7,61 (s; 4H); 9,81 (s, 1H)

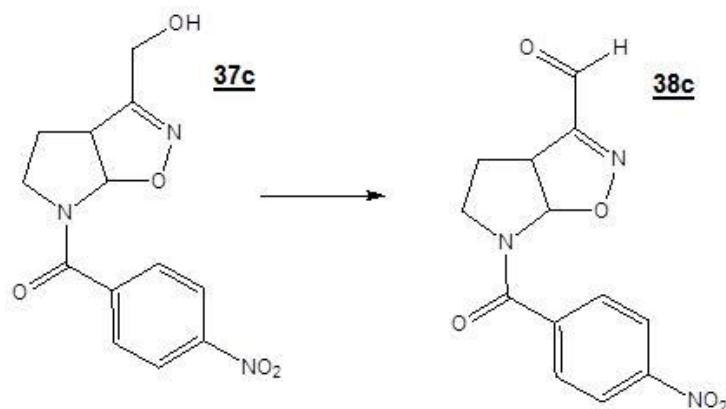
¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

26,2 (CH₂); rotâmeros em 27,6); 43,6 (CH₂); rotâmero em 46,7); 48,6 (CH; rotâmero em 47,3); 96,9 (CH; rotâmero em 94,0); 128,6 (CH); 129,6; (CH);

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

3030, 2980, 2861, 1650, 1626, 1580, 1398, 1250, 1090, 915, 843

6.23 OBTENÇÃO DO 6-(4-NITROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aHPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBALDEÍDO 38c



Procedimento experimental semelhante ao item 6.21.

Cloreto de oxalila (0,20 mL; 2,24 mmol; 4,3 mL de CH₂Cl₂), solução 1 (0,12 mL de DMSO, 5,6 mmol, 1,0 mL de CH₂Cl₂), solução 2 (álcool 39C, 0,5g: 4,73mmol, 1,2 mL de CH₂Cl₂). Rendimento de 32%

Propriedades Físicas de 38c

- Sólido amorfo amarelo claro
- R_f =0,45 (AcOEt/hexano 2:3)
- Ponto de fusão: 81 °C

Dados Espectrométricos

¹H RMN (CDCl₃, δ, ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,00 – 2,40 (m, 2H); 3,07 (m, 1H) rotâmero em 3,94; 4,16 (m, 2H); 6,30 (d; J = 6,6 Hz; 1 H) rotâmero em 6,81; 7,61 (s; 4H); 9,81 (s, 1H)

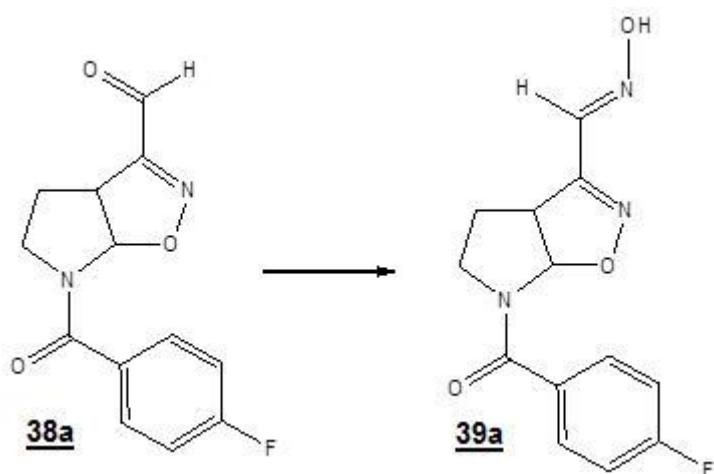
¹³C RMN (CDCl₃, δ, ppm, 75MHz, t.a)

26,2 (CH₂); rotâmeros em 27,6); 43,6 (CH₂); rotâmero em 46,7); 48,6 (CH; rotâmero em 47,3); 96,9 (CH; rotâmero em 94,0); 128,6 (CH); 129,6; (CH);

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

3080, 2986, 2862, 1702, 1625, 1580, 1389, 1266; 1167, 1090; 921, 841; 759; 484

6.24 OBTENÇÃO DO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-3aH,4H,5H,6H,6aH-TETRAHIDRO-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-HIDROXILAMINA 39a



Uma quantidade de 0,10g (0,38 mmol) do aldeído 38 a foi dissolvida em 6,0 ml de THF, colocando-se em vigorosa agitação e sob temperatura ambiente. Após completa solubilização foi adicionada uma solução hidroalcoólica (3 ml de água, 3 ml de MeOH). Só então foi introduzido no sistema reacional o cloridrato de hidroxilamina (0,140g; 2,15 mmols), que após sua completa solubilização, foi adicionado o acetato de sódio (0,275g; 3,34 mmols). Após decorrido o tempo de 30 minutos, pode-se confirmar o consumo total do aldeído 40a e o término da reação através de CCD.

Inicialmente foi adicionada a mistura reacional 3 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 0,850g do composto 39 a, correspondendo um rendimento de 84%.

Propriedades Físicas de 39a

- Sólido amorfo branco
- $R_f = 0,5$ (Acet/Hex 1:1)
- Ponto de fusão: 102 °C

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,10 – 2,20 (m, 2H); 3,13 (s; 1H) rotâmero em 3,66; 4,04 (t; $J = 8,1$ Hz; 1H); 4,44 (s; 1H); 6,18 (d; 1H, rotâmero em 6,45); 7,3 (s; 2H); 7,7 (s; 2H); 8,0 (s; 1H); 12,1 (s, 1H)

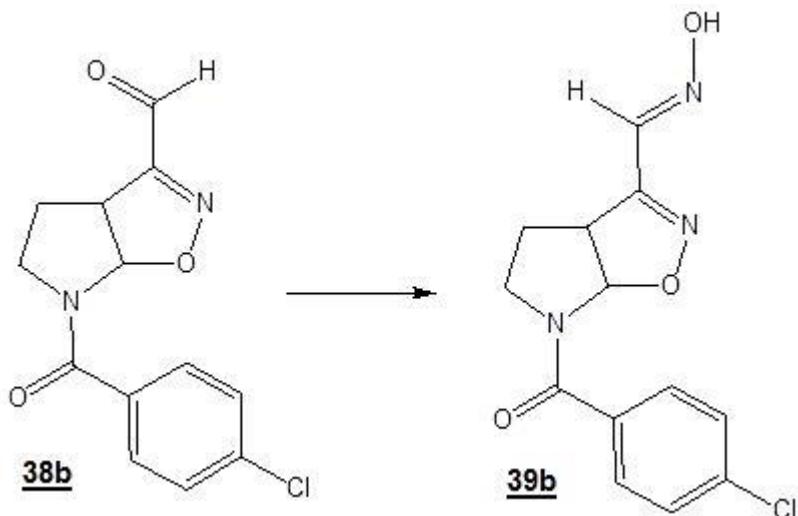
^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

27,1 (CH₂); 43,4 (CH₂); 50,9 (CH); 94,5 (CH); 115,4 (d; $J = 21$ Hz; CH); 130,5 (CH); 132,0 (C); 140,1 (C=N); 156,1 (C=N; oxima); 161,9 e 164,3 (d; $J = 250$ Hz, C); 167,6 (C=O).

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

3.246, 3.071, 1.611, 1.584, 1.415, 857, 759.

6.25 OBTENÇÃO DO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-3aH,4H,5H,6H,6aH-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]-ISOXAZOL-3-HIDROXILAMINA 39b



Procedimento semelhante ao item 6.23.

Aldeído 38 b (0,10g; 0,34 mmol; 6,0 ml de THF), solução hidroalcoólica (3 ml de água, 3 ml de MeOH), cloridrato de hidroxilamina (0,140g; 2,15 mmols), acetato de sódio (0,275g; 3,34 mmols). Rendimento de 92%

Propriedades Físicas de 39b

- Sólido amorfó branco
- $R_f = 0,6$ (Ace/Hex 1:1)
- Ponto de fusão: 112 °C

Dados Espectrométricos

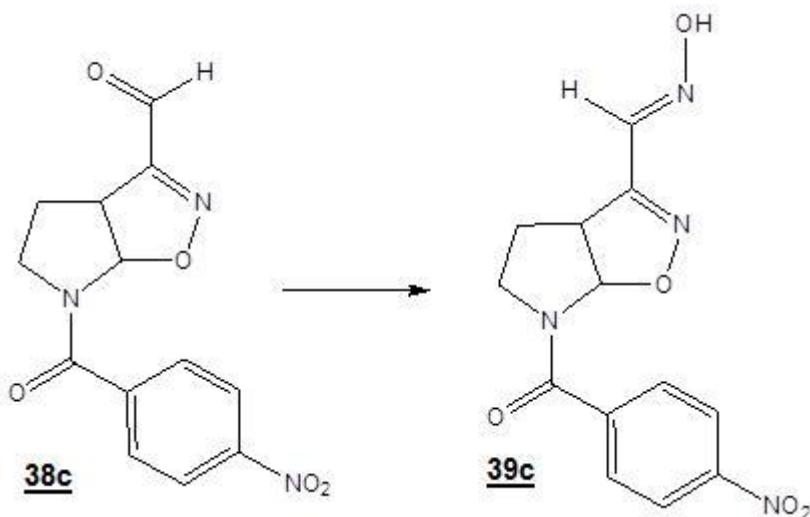
^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,10 – 2,20 (m, 2H); 3,13 (s; 1H) rotâmero em 3,66; 4,04 (t; $J = 8,1$ Hz; 1H); 4,44 (s; 1H); 6,18 (d; 1H, rotâmero em 6,45); 7,5 (s; 4H); 8,0 (s; 1H); 12,1 (s, 1H)

^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

27,1 (CH₂); 43,4 (CH₂); 50,9 (CH); 94,3 (CH); 128,4 (CH); 129,5 (CH); 134,1 (CH); 135,2 (C); 135,8 (C); 140,1 (C=N); 156,1 (C=N; oxima); 161,8 (C=O).

6.26 OBTENÇÃO DO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-3aH,4H,5H,6H,6aH-TETRAHIDRO-PIRROLO[3,2-d]-ISOXAZOL-3-HIDROXILAMINA 39c



Procedimento semelhante ao item 6.23.

Aldeído 38c (0,10g; 0,34 mmol; 6,0 ml de THF), solução hidroalcoólica (3 ml de água, 3 ml de MeOH), cloridrato de hidroxilamina (0,140g; 2,15 mmols), acetato de sódio (0,275g; 3,34 mmols). Rendimento de 82%

Propriedades Físicas de 39b

- Sólido amorfo branco
- $R_f = 0,35$ (Ace/Hex 1:1)
- Ponto de fusão: 120 °C

Dados Espectrométricos

^1H RMN (CDCl₃, δ , ppm, 300MHz, t.a), presença de rotâmeros.

2,10 – 2,20 (m, 2H); 3,13 (s; 1H) rotâmero em 3,66; 4,04 (t; $J = 8,1$ Hz; 1H); 4,44 (s; 1H); 6,18 (d; 1H, rotâmero em 6,6); 7,7 (d; 2H); 7,9 (d; 2H); 8,3 (d; 1H); 12,1 (t, 1H)

^{13}C RMN (CDCl₃, δ , ppm, 75MHz, t.a)

27,0 (CH₂); 43,5 (CH₂); 51,1 (CH); 94,2 (CH); 128,6(CH); 128,9 (CH); 135,7 (C); 140,0 (C); 141,4 (C=N); 156,0 (C=N; oxima); 167,2 (C=O)

7 Atividade antimicrobiana

Os antibióticos são substâncias produzidas por diversos grupos de microrganismos ou sinteticamente em laboratórios, que inibem o crescimento de bactérias, podendo eventualmente destruí-los.

Diante das várias moléculas que vem sendo propostas como agentes antimicrobianos, faz-se necessário um mecanismo seguro que comprove a veracidade do potencial biológico da substância. Uma ferramenta bastante solicitada e que há anos vem correspondendo a este objetivo é o ensaio de difusão em Agar desenvolvido por Bauer e col.⁵⁵

Também chamado de teste de difusão em disco, a técnica descrita por Bauer informa se o microrganismo é sensível ou resistente ao antibiótico ou quimioterápico testado, quando em um meio de cultura se aplica um disco de difusão contendo a substância analisada, e após período de incubação se desenvolve um halo de inibição, que caso seja maior que 10,0 mm a substância pode ser considerada inibidor do microrganismo.⁵⁵

7.1 Materiais e Métodos

Todos as cepas utilizadas neste estudo foram procedentes da coleção de microorganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE, sendo um total de 8 microrganismos, contendo bactérias Gram-positivos e Gram-negativos. As substâncias 39a e 39b foram submetidas a avaliação da atividade antimicrobiana seguindo-se o métodos de difusão em disco, desenvolvido por Bauer.⁵⁰

Staphylococcus aureus (Gram-positivo) – DAUFPE 01

Micrococcus luteus (Gram-positivo) – DAUFPE 06 *Bacillus*

subtilis (Gram-positivo) – DAUFPE 16 *Pseudomonas*

aeruginosa (Gram-negativo) – DAUFPE 39

Mycobacterium smegmatis (álcool ácido resistente) – DAUFPE

71 *Enterococcus faecalis* (Gram-positivo) – DAUFPE 138

Escherichia coli (Gram-negativo) – DAUFPE 224

Serratia marcescens (Gram-negativo) – DAUFPE 398

As suspensões padronizadas dos micro-organismos testes foram semeadas com o auxílio de swab na superfície do meio, em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo 18 mL do meio Ágar Müller Hinton.

Os compostos **39a** e **39b**, foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana, verificando-se a inibição do crescimento dos micro-organismos em placas de difusão com 9 cm de diâmetro. Todas as avaliações das substâncias em relação a todos os microrganismos foram realizados em duplicata, tendo a ampicilina como padrão.

Cerca de 8 mg de cada composto foi pesado e dissolvido em DMSO, de um modo que as soluções finais ficaram com uma concentração de 300 µg/µL. Posteriormente foi retirado cerca de 10 µL que foram utilizados para embeber os discos de difusão. Estes, após a evaporação completa do solvente, foram inseridos cuidadosamente na superfície das placas contendo os meios de culturas com o microrganismo testados.

As placas contendo as substâncias e os microrganismos foram incubadas a 35 °C durante o período de 24 a 48 horas, dependendo do microrganismo. Após incubação, foram efetuadas as leituras dos diâmetros dos halos de inibição em milímetros (mm).

7.2 Resultados e discussão

Todos os testes foram realizados em duplicatas e os resultados dos halos de inibição expressos em milímetros (mm), conforme exemplificados na tabela 8. Utilizou-se como padrão o fármaco Ampicilina na concentração de 10 µg/disco.

Substâncias	<i>S.aureus</i>	<i>M.luteus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>M.smegmatis</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.marcesens</i>
41 a	0	0	0	0	0	0	0	0
41 b	10,0	11,0	13,0	0	13,0	0	0	0
Ampicilina	50,5	60,0	34,0	0	14,0	28,0	26,5	14,0

Tabela 8 – valores de halos de inibição em mm das novas oximas isoxazolinas.

Os principais resultados da avaliação antimicrobiana são apresentados na figura 40. As imagens de A a D exemplificam os resultados de alguns dos halos de inibição promovidos pelas novas moléculas produzidas nesta pesquisa frente ao

desenvolvimento de alguns microrganismos. Uma parte das numerações inscritas nas placas referem-se aos respectivos compostos obtidos: 1 ao composto **39 a**, 2 a substância **39 b**.

Frente a todos os microrganismos o composto **39 a** não apresentou halo algum. Já o composto **39b**, desenvolveu halos moderados de inibição em quatro dos oito microrganismos presentes no teste.

Na imagem A, pode-se observar um halo de inibição (13 mm) desenvolvido pelo composto **39b** contra o *Bacillus subtilis* DAUFPE 16, enquanto na imagem B, o mesmo composto apresentou um halo (11 mm) frente ao *Micrococcus luteus* DAUFPE 06. Já na imagem C, este composto desenvolveu um halo (10 mm) contra o micro-organismo *Staphylococcus aureus* DAUFPE 01, e na imagem D, halo de 13 mm contra o *Mycobacterium smegmatis* DAUFPE 71.

Dessa forma, a substância **39b**, caracterizou-se como sendo um padrão promissor no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos, por apresentar halos de inibição moderados frente a bactérias Gram-positivas, principalmente quando comparados aos halos desenvolvidos pelo fármaco padrão. Esses resultados dão indícios de que realizando algumas modificações ou hibridações com outros grupos moleculares, pode ser obtidas moléculas com maiores halos de inibição.

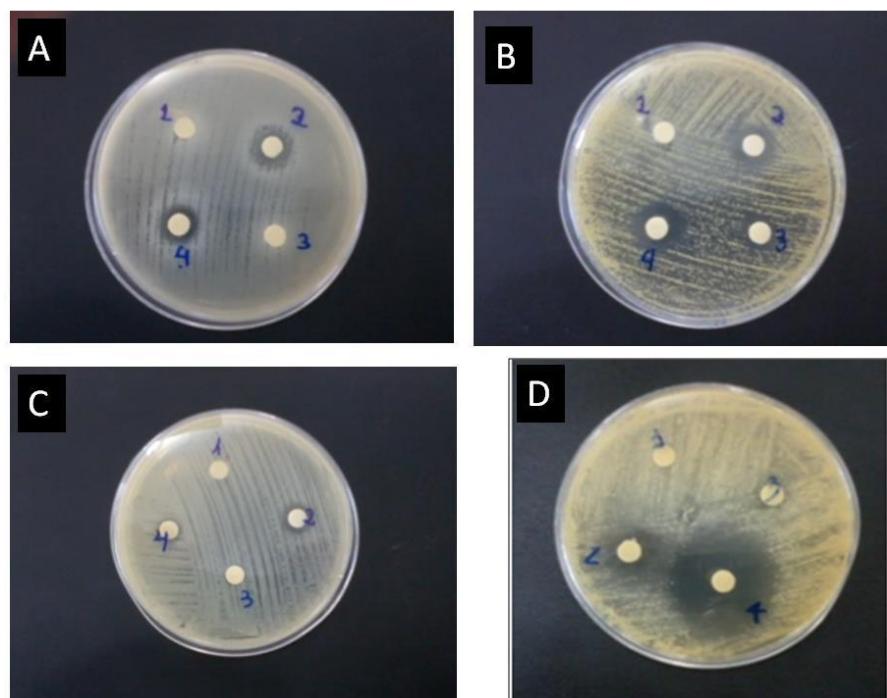


Figura 40 – Halos de inibição das novas oximas isoxazolininas.

8 Conclusões e perspectivas

Neste trabalho, exploramos quimicamente o heterobiciclo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina, através da aplicação sintética deste núcleo na obtenção de inéditos derivados de oxima arilados na posição N6.

Foram obtidos excelentes resultados na síntese de enamidas e enecarbamatos endocíclicos de cinco membros, realizados através do ultrassom e aquecimento. O que demonstrou ser um excelente método na obtenção destes compostos.

As reações de cicloadição 1,3-dipolar entre as enamidas endocíclicas 33 com o N-óxido de nitrila 41 foram eficientes, proporcionando rendimentos esperados, acima de 60%. Quando foi utilizado o Enecarbamato Cbz e o Enecarbamato Boc como dipolarófilo os resultados foram ainda melhores, obtendo-se os compostos N-(benziloxicarbonil)-2-pirrolina 32 a e N-(t-butoxicarbonil)-2-pirrolina 32 b, respectivamente, com rendimentos acima de 70%.

O composto 35, que contém o nitrogênio N6 livre, não pode ser obtido diretamente através da substância 34 b, pois durante o processo reacional de desproteção, o núcleo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina se degradou no meio.

Dentre os compostos sintetizados, o 39 a, apresentou halos de inibição moderados nos testes antimicrobianos frente a bactérias gram-positivas. Onde através da modificação molecular, com inclusão de outros grupos farmacofóricos pode-se obter compostos antimicrobianos ainda mais potentes.

Após esse resultado, pretende-se expandir a síntese de enamidas e enecarbamato de cinco membros através da aplicação do ultrassom nessas reações. Além disso, projeta-se a síntese de novas oximas derivadas do núcleo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina, ampliando a série de moléculas.

REFERÊNCIAS

1. BARREIRO, E. J.; FRAGA, C.A.M.; Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos; **Artmed Editora Ltda**; Porto Alegre; RS; 2001.
2. ALEKSHUN, M.N.; LEVY, S.B. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance; **Cell**; 128, março 28, 1037-1050.
3. FRAGA, C.A.M; BARREIRO, E. J; JUNIOR, C. V.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V.S. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, 14,1829-1852, 2007.
4. DE ALMEIDA, V. M.; DOS SANTOS, R. J. ; GÓES,A. J. S.; DE LIMA, J. G. ; CORREIA C. R.; DE FARIA . A. R. Synthesis of new aza-bicyclic 2-isoxazolines by 1,3-dipolar cycloaddition of endocyclic enecarbamates and enamides with nitrile oxides; **Tetrahedron Lett**, v. 50,p. 842, 2009.
5. PILLAI, A.D.; RATHOD, P.D.; FRANKLIN, P.X.; PADH, H.; VASU, K.K.;SUDARSANAM, V. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 317, 1067-1074, 2004.
6. ALANIS, A.J. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?; **Archives of Medical Research**; 36, 697-705, 2005.
7. MONROE, S.; POLK, R. Antimicrobial use and bacterial resistance; **Current Opinion in Microbiology**, 3, 496-501, 2000.
8. DEMAIN, A.L.; SANCHEZ,S. Microbial drug discovery: 80 years of progress; **The Journal of antibiotics**. 62, 5-16, 2009.
9. SMITH, M.A.; Antibiotic Resistance; **Nursing clinics of North America**; 40, 63-75, 2005.

10. KANEMASSA, S.; NISHIUCHI, M.; KAMIMURA, A.; HORI, K. First Successful Metal Coordination Control in 1,3-Dipolar Cycloadditions. High-Rate Acceleration and Regio- and Stereocontrol of Nitrile Oxide Cycloadditions to the Magnesium Alkoxides of Allylic and Homoallylic Alcohols **Journal of the American Chemical Society**, 116, 2324-2339, 1994.
11. GOTHELF, K.V.; JORGENSEN, K.A. Asymmetric 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions. **Chemical Reviews**, 98, 863-909, 1998.
12. NAMBOOTHIRI, I.N.N.; RASTTOGI, N. Isoxazolines from Nitro Compounds: Synthesis and Applications.
13. . FLEMINING, I. Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions; John **Wiley and Sons, N. Y.** 1976.
14. . NEFZI, A.; DADIBOYENA, S. Solid phase synthesis of isoxazole and isoxazoline-carboxamides via [2+3] dipolar cycloaddition using resin-bound alkynes or alkenes; **Tetrahedron Letters**, 53, 2096-2099, 2012.
15. 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**, 14, 846-887, 2010.
16. CHENG, K.F. ; AL-ABED, BIOORG.Y.; **Med. Chem. Letters**, v. 16, p. 3376-3379, 2006.
17. SEGA, A.; GIORGI, G.; LAMPARIELLO, L.F. et al. Developing Molecular Diversity in the Construction of a Family of Bicyclic Isoxazolines Scaffolds: Control of Regio- and Diastereoselectivities; **European Journal of Medicinal Chemistry**, 4777-4785, 2007.

18. GUIRADO, A.; MARTIZ, B.; ANDREU, R.; BAUTISTA, D. A new and efficient approach to isoxazolines. First synthesis of 3-aryl-5-dichloromethyl-2-isoxazolines; **Tetrahedron**, 67, 5811-5815, 2011.
19. SHIBATA, N.; MATOBA, K. Enantioselective Synthesis of Trifluoromethyl-Substituted 2-Isoxazolines: Asymmetric Hydroxylamine/Enone Cascade Reaction; **Angewandte Chemie**, 49, 5762-5766, 2010.
20. . M. NONN, L. KISS, E. FORRO, Z. MUCSI, F. FULOP. Synthesis of novel isoxazoline-fused cyclic β -amino esters by regio- and stereo-selective 1,3-dipolar cycloaddition; **Tetrahedron**, 67, 4079-4085, 2011.
21. HAMADI, N. B.; MSADDEK, M. 1,3-dipolar cycloadditions of aryl nitrile oxides and 2-diazopropane with 5-hydroxy-3-methyl-1,5-dihydropyrrrol-2-one derivatives; **Comptes. Rendus Chemie**, v.14, p. 891-895, 2011.
22. 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.
23. CIUFOLINI, M.A.; MENDELSOHN, B.A. et al. Oxidation of Oximes to Nitrile Oxides with Hypervalent Iodine Reagents; **Organic Letters**, 11, 1539-1542, 2009.
24. . PERUMAL, P.T.; KARTHIKEYANA, K.; SEELANB, T. V.; LALITHAB, K. G. A facile sequential three-component regio- and stereoselective synthesis of novel spiro-isoxazoline/acridinone hybrids; **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 19, 3370-3373, 2009.
25. . 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. **J. Med. Chem.** v. 44, p. 2921-2927, 2001.

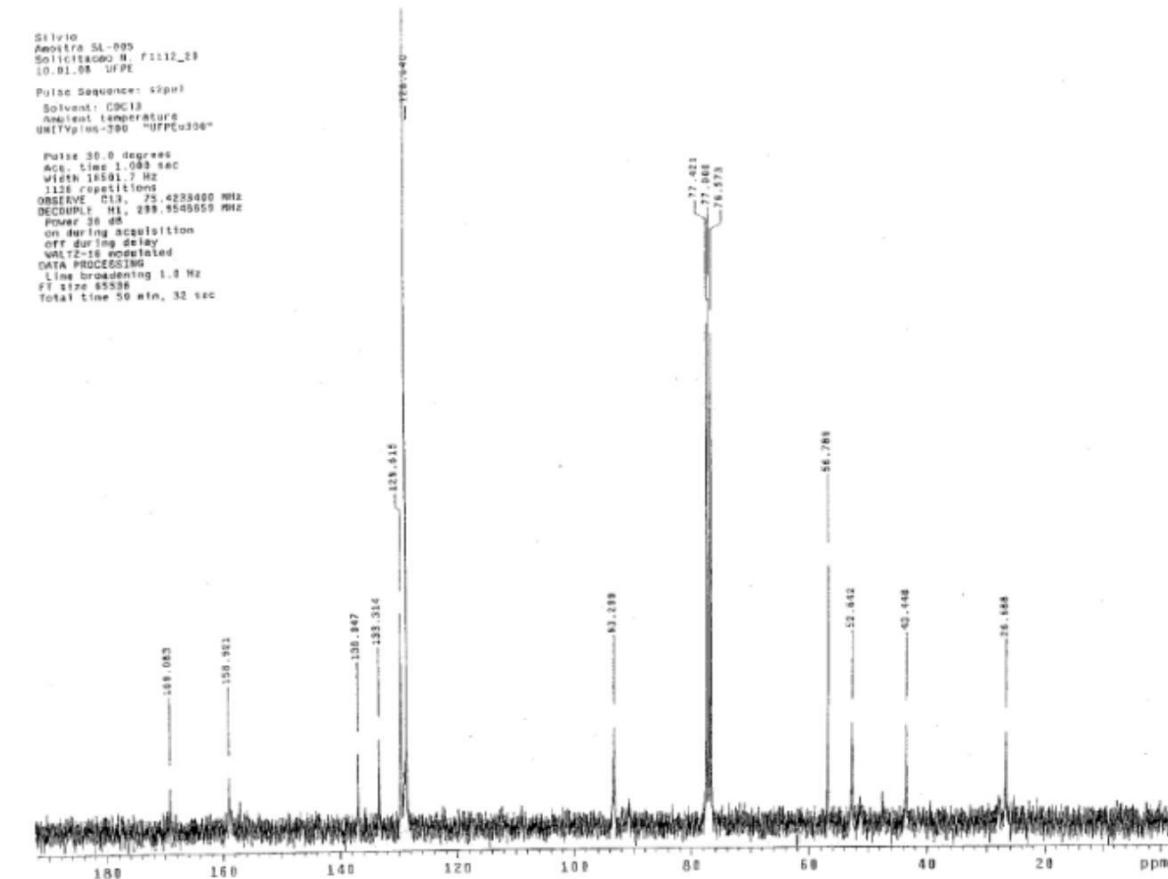
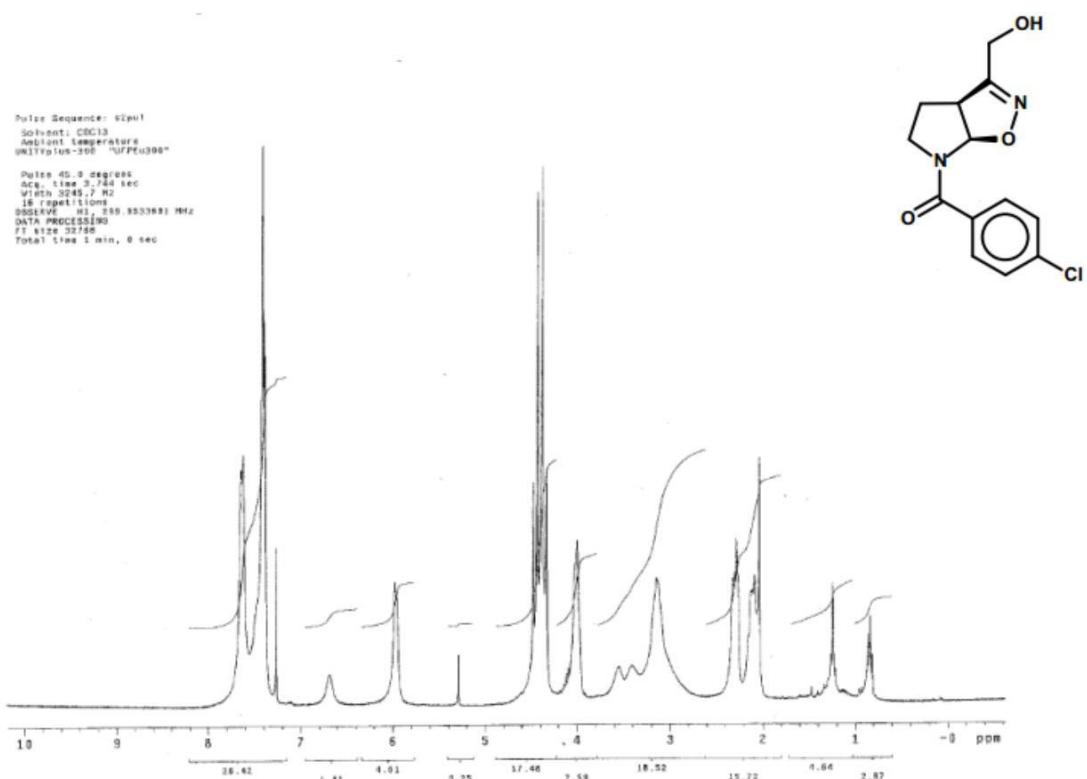
26. . HABEEB, A. G. ; PRAVEEN RAO, P. N. ; KNAUS, E. E. Design and Synthesis of 4,5-Diphenyl-4-isoxazolines: Novel Inhibitors of Cyclooxygenase-2 with Analgesic and Antiinflammatory Activity; **Drug Dev. Res.**, v. 51, p. 273-286, 2000.
27. SBARDELLA, G.; FRANCO, J.L. M.; KUCK, D. Synthesis and Biochemical Evaluation of 2-Isoxazoline Derivatives as DNA Methyltransferase 1 Inhibitors; **Journal of Medicinal Chemistry**, 54, 7663-7677, 2011.
28. . MANDAWAD, G. G.; KAMBLE, R. D.; HESE, S. V.; DAWANE, B. S. An efficient synthesis of isoxazoline libraries of thiophene analogs and its antimycobacterial investigation; **Medicinal Chemistry Research**; 23, 4455-4463, 2014.
29. . LEE, R.E.; RAKESH; SUN, D.; LEE, R.B.; TANGALLAPALLY, R.P.; Synthesis, optimization and structure reactivity relationships of 3, 5-disubstituted isoxazolines as new anti-tuberculosis agents; **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 460-472, 2009.
30. . GAONKAR ,S.L.; LOKANATHA RAI, K.M.; PRABHUSWAMY, B. Synthesis of novel 3-[5-ethyl-2-(2-phenoxy-ethyl)-pyridin]-5-substituted isoxazoline libraries via 1,3-dipolar cycloaddition and evaluation of antimicrobial activities, **Medical Chemistry Research**, 15, 407-417, 2007.
31. . REIS, S. L. G. B. ; DE ALMEIDA, V. M. ; DE ALMEIDA, G. C. ; BOAVIAGEM, K. M. ; MENDES, C. C.D. B. ; . GÓES, A. J. D.S; MAGALHÃES, L. R. ; DA SILVA, T. G. ; DE FARIA, A. R. Síntese e Avaliação Preliminar da Atividade Antinociceptiva de Novas Isoxazolil-aryl-hidrazonas; **Química Nova**, v. 34, p. 76-81, 2011.
32. . VUKICEVIC, R.D.; VUKICEVIC, M.; DAMLJANOVIC, I. A Simple Synthesis of Oximes. **Monatshefte für Chemie**, 137, 301-305, 2006.
33. . SRIDHAR, M.; NARSAIAH, C. et al. Efficient microwave-assisted synthesis of oximes from acetohydroxamic acid and carbonyl compounds using BF_3OEt_2 as the catalyst; **Tetrahedron Letters**, 52, 4701-4704, 2011.

34. . CUI, J.; WANG, K.; QIAN, X. One step from nitro to oxime: a convenient preparation of unsaturated oximes by the reduction of the corresponding vinylnitro compounds; **Tetrahedron**, 65, 10377-10382, 2009.
35. . SINGH, S.P.; ZHAO, H. et al. An Efficient Synthesis of Enamides from Ketones. **Organic Letters**, 10, 505-507, 2008.
36. . LI, J.T.; LI, X.L.; LI, T.S. Synthesis of oximes under ultrasound irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, 13, 200-202, 2006.
37. SKOCIBUSIC, M.; ODZAK, R.; MARAVIC, A. Synthesis and antimicrobial profile of N-substituted imidazolium oximes and their monoquaternary salts against multidrug resistant bacteria; **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 21, 7499-7506, 2013.
38. KABILAN, S.; PARTHIBAN, P.; ARIDOSS, G.; RATHIKA, P.; RAMKUMAR, V. Synthesis, stereochemistry and antimicrobial studies of novel oxime ethers of aza/diazabicycles; **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 19, 6981-6985, 2009.
39. JAYABHARATHI, J.; MANIMEKALAI, A.; PADMAVATHY, M. Synthesis, spectral, theoretical, and antimicrobial screening of some heterocyclic oximes; **Medicinal Chemistry Research**, 20, 981-995, 2011.
40. . KATAGI, T.; KATAOKA, H.; TAKAHASHI, H.; et al. Syntheses and anti-inflammatory activity of novel oximes and o-acyloximes; **Chem. Pharm. Bull.**, 40, 2419-2422, 1992.
41. KATAGI, T.; KATAOKA, H.; TAKAHASHI, H.; et al. Syntheses and anti-inflammatory activity o-acyloximes II; **Chem. Pharm. Bull.**, 44, 145-149, 1996.
42. . PILLAI, A.D.; RATHOD, P.D.; FRANKLIN, P.X.; PADH, H.; VASU, K.K.; SUDARSANAM, V.; YERANDE, S.; NIVSARKAR, M.. 2-Amino-5-thiazolyl motif: A novel scaffold for designing anti-inflammatory agents of diverse structures. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 43, 129-134, 2008.

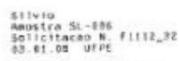
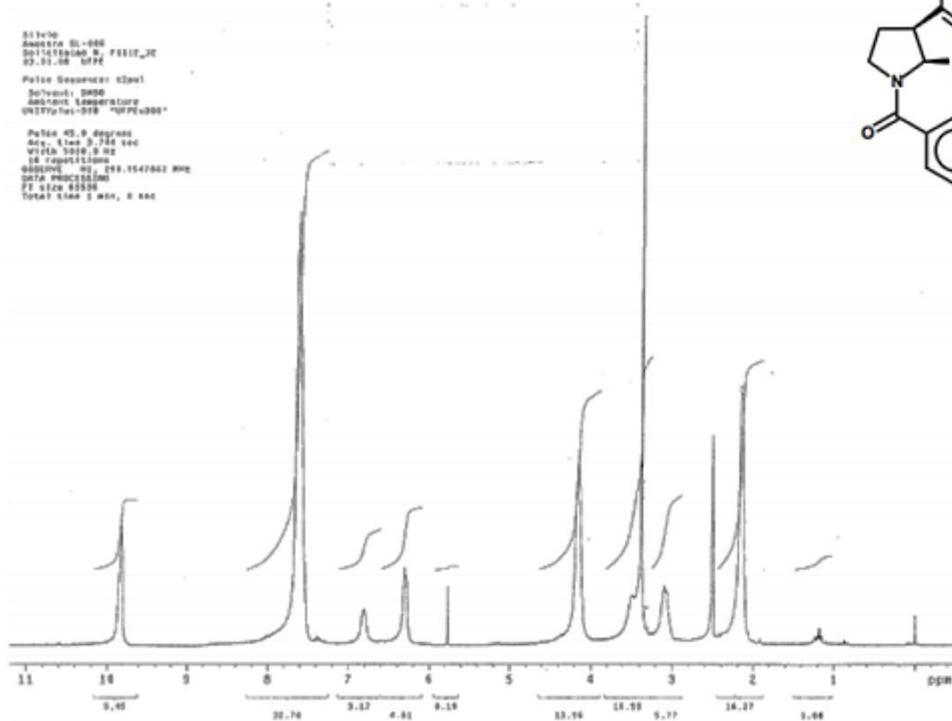
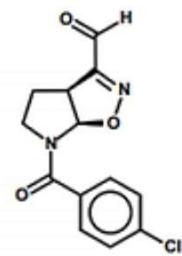
43. . VISHWANATH, B.S.; MURARI, S.K.; SRIHARSHA, S.N.; SHASHIKANTH, S. Synthesis of benzophenone oxime analogues as inhibitor of secretory phospholipase A₂ with anti-inflammatory activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 14, 2423-2425, 2004.
44. . KRAUS, G. A.; NEUENSCHWANDER, K.; Facile synthesis of N-acyl-2-pyrrolines; **J. Org. Chem.**, v.46, p.4791-4792, 1981.
45. . ZANG, H.; WANG, M.; CHENG, B.W.; SONG, J. Ultrasound-promoted synthesis of oximes catalyzed by a basic ionic liquid [bmIm]OH; **Ultrasonics Sonochemistry**, 16, 301–303, 2009.
46. . MANCUSO, A.J.; SWERN, D. Activated Dimethyl Sulfoxide: Useful Reagents for Synthesis; **Synthesis**, 1981, 165-185.
47. . TOJO, G.; FERNANDEZ, M.I. Oxidation of alcohols to aldehydes and ketones. **Springer**, 97-179, 2006.
48. . PARK, K.; MARSHALL, W. J. **Tetrahedron Letts**, 45, 4931, 2004.
49. CLAYDEN; Organic Chemistry, 7. **Oxford University Press**, 2001.
50. Bauer, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M.; **Am. J. Clin. Pathol.**, 1966, 45, 493-496.

ANEXO

ANEXO A: Espectro de RMN 1H e 13C do composto 37b



ANEXO B: Espectro de RMN 1H e 13C do composto 38b

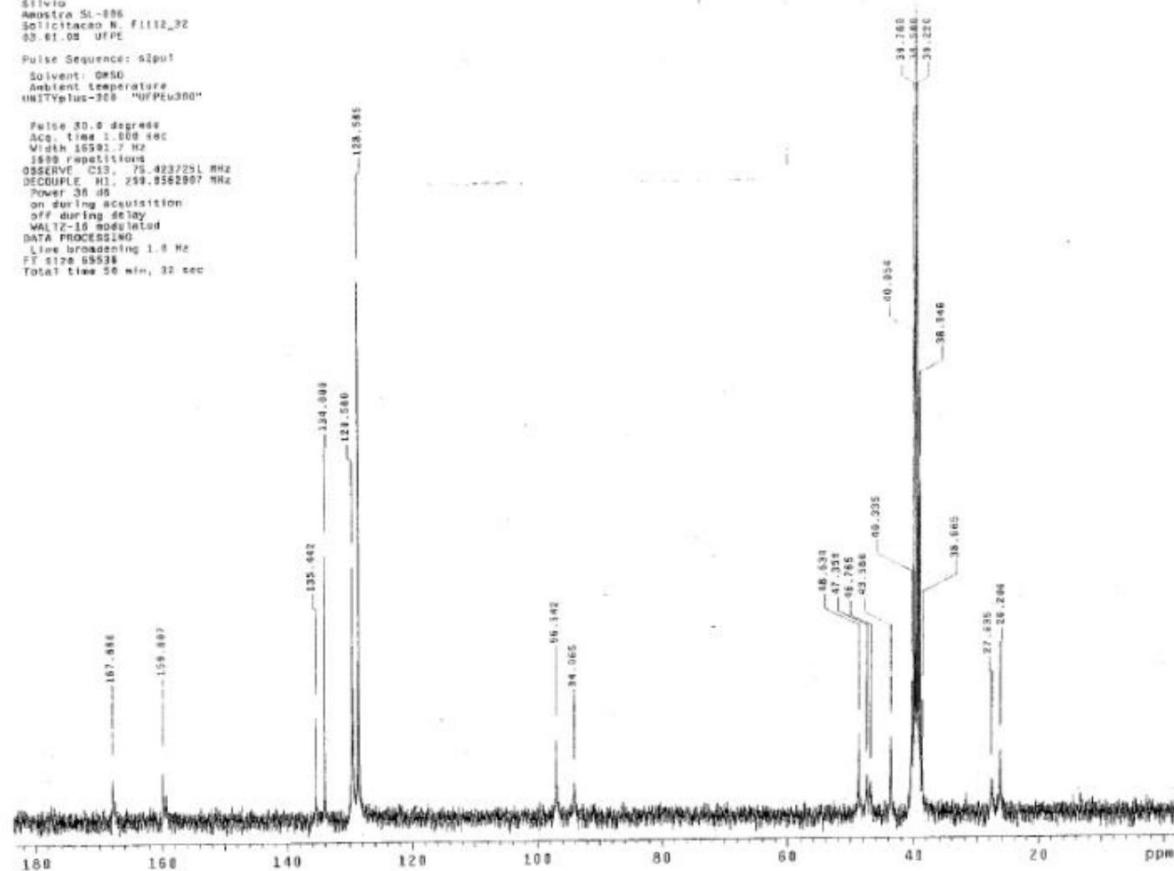


Pulse Sequence: *sl9p1t*
Solvent: *DMso*
Ambient temperature
NMRType: *3-08* "UR3E200"

```

Pulse 30.0 degrees
Acc. time 1.000 sec
Width 1552.7 Hz
1599 repetitions
OBSERVE C1, 75.4937251
DESCRIBE C1, 75.4937251
TIME 38.48
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 55336
Total time 50 min, 32 sec

```



ANEXO C: Espectro de infravermelho do composto 38b

