

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

Tese de Doutorado

SÍNTESE ASSIMÉTRICA DE 3-CARBOXAMIDAS ENANTIOMERICAMENTE
PURAS E DE HIDRAZIDAS E ARIL-HIDRAZONAS, DERIVADAS DO NOVO
HETEROCICLO 7-(BENZOIL)-2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINA.
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.



VALDERES MORAES DE ALMEIDA

RECIFE - PE
SETEMBRO DE 2008

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

**SÍNTESE ASSIMÉTRICA DE 3-CARBOXAMIDAS ENANTIOMERICAMENTE
PURAS E DE HIDRAZIDAS E ARIL-HIDRAZONAS, DERIVADAS DO NOVO
HETEROCICLO 7-(BENZOIL)-2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINA.
AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.**

**VALDERES MORAES DE ALMEIDA
DOUTORANDO**

*Tese de Doutorado, apresentada ao
programa de Pós-Graduação do
Departamento de Ciências Farmacêuticas
da Universidade Federal de Pernambuco,
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências Farmacêuticas.*

**PROF. DR. ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA
ORIENTADOR**

**PROF.^a TERESINHA GONÇALVES DA SILVA
CO-ORIENTADORA**

Recife – PE
Setembro de 2008

Almeida, Valderes Moraes de.

Síntese assimétrica de 3-carboxamidas enantiomericamente puras e de hidrazidas e aril-hidrazonas, derivadas do novo heterociclo 7-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-b] pirrolidina. Avaliação das atividades biológicas. / Valderes Moraes de Almeida. – Recife : O Autor, 2009.

167 folhas : Il.; fig. e tab.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2009.

Inclui bibliografia.

1. Sínteses e reações químicas. 2. 2-isoxazolininas. 3. Hidrazonas. 4. Cicloadição 1,3-dipolar assimétrica. 5. Atividade anti-inflamatória I.Título.

547-30
547.204

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2009-003

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

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. José Tadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof.^a Jane Sheila Higino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Samuel Daniel de Souza Filho

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

Prof. Pedro Rolim Neto

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

Prof.^a Beate Saegesser Santos



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

Recife, 30 de setembro de 2008.

Defesa de Tese de Doutorado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 30 de setembro de 2008 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

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

Assinatura: _____

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

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Paulo Henrique Menezes da Silva (Deptº de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior
(Deptº de Bioquímica da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB)

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia (Deptº de Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE)

Assinatura: _____

*Dedico este trabalho
à minha esposa Raquel
e nossa filha Camila;*

AGRADECIMENTOS

Esta talvez seja uma das tarefas mais complicadas deste trabalho, não porque este seja um sentimento difícil de expressar, mas sim porque corro o risco de esquecer pessoas que tenham de alguma forma contribuído para realização deste trabalho.

À Deus, criador de todas as coisas pela Sua infinita graça;

À minha querida esposa Tereza Raquel, por estar sempre ao meu lado incentivando, ajudando e confortando ao longo destes quatro anos. Por trabalhar junto comigo na realização deste sonho.

Aos meus pais, Florival e Jucineide, pelo constante incentivo e apoio durante toda minha vida, pelas muitas renúncias em prol de seus filhos;

A Valdir, meu irmão, exemplo de determinação e perseverança na construção de sua formação e luta incessável na realização dos seus sonhos.

Ao companheiro Márcio Ananias, primo por parentesco, mas irmão de coração;

Ao Professor Antônio Rodolfo, enquanto idealizador e orientador deste trabalho, pela sua valiosa contribuição nos aspectos técnicos deste trabalho. E ao amigo Rodolfo por mais de dez anos de convivência e trabalho em conjunto, pela confiança e por ter apostado nesta parceria que rendeu grandes frutos.

À professora Terezinha, pela realização dos ensaios biológicos e orientação; e Lina pelo empenho nos testes anti-inflamatórios e analgésico deste trabalho;

A Thiago Aquino, pela amizade e suas valiosas contribuições na redação final desta tese.

Aos técnicos da Central Analítica, Ricardo e Eliete pela realização das análises espectrométricas.

Ao companheiro de laboratório e amigo Sílvio Leandro;

Aos amigos do Lasof, Gleybson, Rafaela, Leilane, Karina, Charles, Romilson e Hugo por todos os momentos compartilhados no laboratório;

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

“SENHOR, TU ME SONDAS E ME CONHECES. SABES QUANDO ME ASSENTO E QUANDO ME LEVANTO; DE LONGE PENETRAS OS MEUS PENSAMENTOS. ESQUADRINHAS O MEU ANDAR E O MEU DEITAR E CONHECES TODOS OS MEUS CAMINHOS. AINDA A PALAVRA NÃO ME CHEGOU À LINGUA, E TU, SENHOR, JÁ A CONHECES TODA. TU ME CERCAS POR TRÁS E POR DIANTE E SOBRE MIM PÕES A MÃO. TAL CONHECIMENTO É MARAVILHOSO DE MAIS PARA MIM, É SOBREMODO ELEVADO, NÃO O POSSO ATINGIR. PARA ONDE ME AUSENTAREI DO TEU ESPÍRITO? PARA ONDE FUGIREI DA TUA FACE? SE SUBO AOS CÉUS, LÁ ESTÁS; SE FAÇO A MINHA CAMA NO MAIS PROFUNDO ABISMO, LÁ ESTAS TAMBÉM; SE TOMO AS ASAS DA ALVORADA E ME DETENHO NOS CONFINES DOS MARÉS, AINDA LÁ ME HAVERÁ DE GUIAR A TUA MÃO, E A TUA DESTRA ME SUSTERÁ.

Salmo: 139: 1 -10

SUMÁRIO

o	Resumo.....	x
o	Abstract.....	xi
o	Lista de figuras.....	xii
o	Lista de tabelas.....	xv
o	Lista de abreviaturas.....	xvi

I - INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.0 – Introdução e Revisão da Literatura	17
1.1 – Isoxazolinas.....	18
1.1.1 - Ocorrência Natural.....	19
1.1.2 - Atividade Biológica e Aplicação Terapêutica.....	20
1.1.3 - Métodos de obtenção de 2-Isoxazolinas.....	25
1.1.3.1 - Reações de cicloadição 1,3 – dipolar racêmica.....	25
1.1.3.2 - Reações de cicloadição 1,3 – dipolar assimétrica.....	31
1.1.4 Aplicação sintética de 2-Isoxazolinas.....	34
1.2 – Derivados de Hidrazonas.....	36
1.2.1 - Obtenção de Hidrazonas.....	38
1.3 – Síntese Assimétrica.....	40
1.3.1 - Uso de substratos quirais.....	41
1.3.2 - Auxiliares quirais.....	42
1.3.3 - Reagentes quirais.....	42
1.3.4 - Catalisadores quirais.....	43

II – OBJETIVOS

2.0 – Objetivos Gerais.....	44
2.1 – Objetivos Específicos.....	45

III - METODOLOGIA

3.0 – Metodologia Utilizada.....	46
----------------------------------	----

IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.0 – Resultados e Discussão.....	53
4.1 – Síntese das hidrazidas e hidrazonas derivadas de N-(benzoil)-2-	

Isoxazolina[5,4-b]piperidina.....	53
4.1.1 - Preparação do trímero da 1-piperideína <u>93</u>	53
4.1.2 - Síntese das enamidas endocíclicas de 6 membros <u>97</u>	55
4.1.3 - Síntese do clorooximidoacetato de etila <u>98</u> , precursor do N- óxido de nitrila – CEFNO <u>79</u>	56
4.1.4 Reação de cicloadição 1,3-dipolar de enamidas endocíclicas de 6 membros com o N-óxido de nitrila – CEFNO.....	56
4.1.5 Síntese das hidrazidas derivadas do heterobiciclo 2- Isoxazolina[5,4-b]piperidina.....	57
4.2 - Síntese das hidrazidas e hidrazonas derivadas de N-(benzoil)-2- Isoxazolina[5,4-b]pirrolidina.....	59
4.2.1 - Preparação do trímero da 1-pirrolina <u>52</u>	60
4.2.2 - Síntese do enecarbamato <i>n</i> -(benziloxicarbonil)-2-pirrolina <u>85</u>	60
4.2.3 - Reações de cicloadição 1,3-dipolar do enecarbamato endocíclico de 5 membros <u>85</u> com o N-óxido de nitrila – CEFNO <u>79</u>	61
4.2.4 - Reação de desproteção do nitrogênio pirrolidínico de <u>86</u>	61
4.2.5 - Reação de acilação do nitrogênio pirrolidínico de <u>87</u> com cloretos de benzoílas <i>p</i> -substituídos.....	62
4.2.6 - Síntese das hidrazidas <u>89</u> derivadas do heterobiciclo 2- Isoxazolina[5,4-b]pirrolidina <u>88</u>	63
4.2.7 - - Síntese das hidrazonas <u>90</u> e <u>91</u> derivadas do heterobiciclo 2- Isoxazolina[5,4-b]pirrolidina <u>89</u>	65
4.3 – Síntese assimétrica de N-(<i>p</i> -fluorobenzoil)-2-Isoxazolina[5,4- b]pirrolidinas, enantiomericamente puras.....	71
4.3.1 - Síntese do enecarbamato quiral <u>107</u>	71
4.3.2 - Reações de cicloadição 1,3-dipolar do N-óxido de nitrila – CEFNO <u>79</u> com o enecarbamato quiral <u>107</u> com substrato quiral.....	72
4.3.3 - Descarboxilação seletiva dos cicloadutos diastereoisoméricos <u>108a</u> e <u>108b</u>	79
4.3.3.1 - Hidrogenólise do éster benzílico <u>108a</u>	79
4.3.3.2 - Síntese do fenilsseleneto de sódio <u>111</u>	79
4.3.3.3 - Reação de esterificação com fenilsseleneto de sódio <u>111</u> , seguida de descarboxilação.....	81
4.3.3.4 - Remoção do grupo Boc de <u>113a</u> e <u>113b</u> seguida de N- acilação com cloreto de <i>p</i> -fluorobenzoíla.....	83

V – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 - Síntese racêmica de derivados de 2-isoxazolinas piperidínicas.....	87
5.2 – Síntese racêmica de derivados de 2-isoxazolinas pirrolidínicas.....	100
5.3 – Síntese assimétrica das amidas isoxazolínicas aza-bicíclicas.....	134

VI– ESTUDO BIOLÓGICO

6.1 – Introdução.....	148
6.1.1 – Toxicidade aguda.....	148
6.1.2 – Peritonite em camundongos.....	148
6.1.3 – Nocicepção induzida por ácido acético.....	149
6.2 - Avaliação da atividade biológica.....	150
6.2.1 – Material.....	150
6.2.2 – Animais.....	150
6.3 – Metodologia.....	151
6.3.1 - Toxicidade aguda.....	151
6.3.2 - Peritonite em camundongos.....	151
6.3.3 - Nocicepção induzida por ácido acético.....	151
6.4 - Resultados e discussão.....	152
6.4.1 - Toxicidade aguda.....	152
6.4.2 - Peritonite induzida por carragenina.....	152
6.4.2.1 – Hidrazonas série <u>90</u>	152
6.4.2.2 – Amidas isoxazolínicas <u>116a</u> e <u>116b</u> , enantiomericamente puras.....	156
6.4.3 - Nocicepção induzida por ácido acético.....	157

VII – CONCLUSÕES

7.0 – Conclusões.....	160
-----------------------	-----

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RESUMO

Em estudos prévios, 2-isoxazolinaz-a-bicíclicas foram obtidos por nosso grupo de pesquisa, dando origem a núcleos como o 2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]pirrolidina. Amidas *N*-benzoidadas derivadas dessas substâncias, apresentaram-se biologicamente ativas, (teste antiinflamatório e de efeitos gerais). Substâncias contendo as funções hidrazida e hidrazona são descritas na literatura, apresentando inúmeras e pronunciadas atividades biológicas. A funcionalidade hidrazona consiste no grupo farmacofórico de inúmeras substâncias, induzindo às atividades analgésicas, anti-inflamatória, e anticonvulsivante. Diante desses fatos, obtivemos, através da hibridação molecular, hidrazidas e hidrazonas, contendo tais aza-biciclos. Os ésteres isoxazolinícos foram obtidos através de reações de cicloadição 1,3-dipolar entre enecarbamato *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina e óxido de nitrila (CEFNO), seguido por hidrogenólise e *N*-benzoidação. Obteve-se primeiramente as hidrazidas, reagindo-se os ésteres da série pirrolidínica com hidrazina. Rendimentos de 80 a 90% foram obtidos em condições brandas. Em seguida submeteu-se as hidrazidas às reações de condensação com aldeídos aromáticos para obtenção de 20 novos derivados *N*-acil-arilhidrazonas, que foram obtidas com rendimentos variando de 75 a 97%. Todas as hidrazidas e hidrazonas foram devidamente identificadas por métodos espectrométricos (RMN ¹³C e ¹H, IVFT). A atividade anti-inflamatória das hidrazonas foi avaliada pelo método de peritonite em camundongos nas doses de 50, 100 e 200 µmol/kg; A indometacina foi utilizada como padrão na dose de 50 µmol/kg. A hidrazona (R¹ = Cl, R² = OMe) apresentou 27%, 39% e 44% de inibição da inflamação, respectivamente nas doses testadas. A atividade antinociceptiva foi realizada pelo método de contorções abdominais induzida por ácido acético. A hidrazona (R¹ = NO₂ e R² = F) apresentou 74% de efeito analgésico contra 65% da dipirona, fármaco padrão.

Uma segunda abordagem deste trabalho foi dada a síntese assimétrica. Diante dos excelentes resultados de atividade anti-inflamatória do derivado 3-carboxamidas-*N*-(benzoid)-2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]pirrolidina, sintetizamos ambos os enantiômeros puros, para averiguarmos a influência da estereoquímica relativa e absoluta da 2-isoxazolinaz-a-bicíclica, em questão, na atividade anti-inflamatória, isoladamente de cada antípoda óptico, assim como para o desenvolvimento de metodologia sintética de isoxazolinaz-a-bicíclicas quirais. Partindo do ácido *L*-piroglutâmico, realizou-se a proteção da função ácido como éster benzílico. Em seguida, o nitrogênio do éster do ácido piroglutâmico foi protegido com o grupamento *terc*-butóxido-carbonila (Boc). Redução da carbonila carbamídica levou à formação de um lactamol, com 81% de rendimento. Eliminação da hidroxila do lactamol levou a formação do enecarbamato quiral, com 82% de rendimento. Utilizando o enecarbamato quiral, com um centro assimétrico com configuração absoluta definida, houve, através da reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica com *N*-óxido de nitrila-CEFNO, a formação de um par de diastereoisômeros. Após separação dos mesmos por cromatografia, remoção do indutor quiral, que ocorre em 3 etapas, obteve-se portanto os enantiômeros separados. Reação de eliminação do grupamento Boc, seguida de acilação do nitrogênio com o grupo *p*-fluorobenzoila e por fim a amonólise do éster etílico, conduziu à formação das amidas quirais enantiomericamente puras. A atividade anti-inflamatória dos enantiômeros separados e da mistura racêmica, foi realizada pelo método de peritonite em camundongos, sendo testada a dose de 150 µmol/Kg. A mistura racêmica apresentou uma atividade anti-inflamatória de 67%, contra 65% para um enantiômero 59% para o outro enantiômero. A exploração sintética dos núcleos 2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]pirrolidina, foi realizada de forma bastante satisfatória neste trabalho, demonstrando o grande potencial destes heterociclos. Através de síntese assimétrica obtivemos os derivados 3-carboxamidas *N*-(benzoid)-2-isoxazolinaz-a[5,4-*b*]pirrolidina enantiomericamente puro. A etapa chave para a obtenção dos enantiômeros foi a reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica envolvendo enecarbamatos endocíclicos quirais com *N*-óxido de nitrila, reação esta, ainda não relatada na literatura até o momento.

Palavras-chave – 2-isoxazolinaz-a, hidrazidas, hidrazonas, cicloadição 1,3-dipolar assimétrica, atividade analgésica, atividade anti-inflamatória.

ABSTRACT

In our previous studies, aza-bicyclic 2-isoxazolines were obtained, such as, 2-isoxazoline[5,4-*b*] piperidine and 2-isoxazoline[5,4-*b*] pyrrolidine. *N*-(benzoyl)-amides and, derived from these heterocycles, showed promising biological activity, (anti-inflammatory and toxicity). Compounds containing hydrazide and hydrazone functionalities are described in the literature, presenting numerous and pronounced biological activities. Hydrazone functionality consists in a pharmacophore of many compounds, inducing analgesic, anti-inflammatory and anticonvulsant activities. In face of these facts, we obtained hydrazides and hydrazones containing such aza-bicycles, through molecular hybridization. Isoxazoline esters were obtained through a 1,3-dipolar cycloaddition reaction between enecarbamate *N*-(benzyloxycarbonyl)-2-pyrroline and carboethoxyfoemonitrile oxide (CEFNO), followed by hydrogenolysis and *N*-benzylation. After reactions of these isoxazoline esters with hydrazine 80%, isoxazoline hydrazides were yielded in 80-90% in mild conditions. Then, isoxazoline hydrazides were submitted to condensation reaction with aromatic aldehydes to obtain the new series of isoxazoline hydrazones (acyl-aryl-hydrazone 75-97%). New *N*-acyl-arylhydrazones present two different sites for replacements, facilitating the synthesis of 20 new derivatives with distinctive stereo-electronic properties. All hydrazides and hydrazones were fully identified by spectrometric analysis. The anti-inflammatory activity of hydrazones, was evaluated by peritonitis method in mice at doses of 50, 100 and 200 $\mu\text{mol} / \text{kg}$. Indomethacin was used as the reference drug at dose of 50 $\mu\text{mol} / \text{kg}$. Hydrazone ($\text{Cl} = \text{R}^1$, $\text{R}^2 = \text{OMe}$) presented 27%, 39% and 44% inhibition of inflammation, in the doses tested. The antinociceptive activity was carried out by abdominal contortion in mice, induced by acetic acid. Hydrazone ($\text{NO}_2 = \text{R}^1$ and $\text{R}^2 = \text{F}$) showed 74% of analgesic effect against 65% of dipyrone, used in reference drug. A second approach of this work was the asymmetric synthesis of isoxazolines, which is one of the current borders of organic chemistry and aims to the preparation of optically pure stereoisomers. In view of the excellent results of anti-inflammatory activity of the derivatives 3-carboxamide-*N*-(benzoyl)-2-isoxazoline[5, 4-*b*]pyrrolidine, we synthesized both enantiomers pures, to investigate the influence of relative and absolute stereochemistry of 2-aza-bicycle isoxazoline, in the anti-inflammatory activity for each optical antipode, as well as for the development of synthetic methodology of chiral aza-bicyclic isoxazolines. Using *L*-pyroglutamic acid, the acid moiety was protected as benzyl ester, producing the product with 58% of yield. Then, the lactam nitrogen was protected as carbamate, using the group tert-butoxycarbonyl (Boc), forming quantitatively the protected product. Reduction of carbamate carbonyl (81% of yield) followed by elimination of lactamol hydroxyl, led to the formation of chiral enecarbamate in 82% of yield. Using the chiral enecarbamate as dipolarophile, it was obtained a pair of diastereoisomers in a 1,3-dipolar cycloaddition reaction with CEFNO. After separation of diastereoisomers by flash chromatography, removal of chiral inducer, which occurs in 3 steps, the separated enantiomers were obtained. Elimination of Boc group, followed by acylation of the nitrogen with *para*-fluorobenzoyl chloride and then ammonolysis of the ethyl ester, led to the formation of the enantiomerically pure amides. The anti-inflammatory activity of separated enantiomers and the racemic mixture, was performed by the method of peritonitis induced in mice, testing a dose of 150 $\mu\text{mol} / \text{kg}$. The racemic mixture showed an anti-inflammatory activity of 67%, against 65% for the enantiomer and 59% for the other enantiomer. The synthetic exploration of 2-isoxazoline[5,4-*b*]piperidine and 2-isoxazoline 5,4-*b*]pyrrolidine, was performed in a way quite satisfactory in this work, demonstrating the great potential of these heterocycles. Through asymmetric synthesis we obtained enantiomerically pure 3-carboxamides from *N*-(benzoyl)-2-isoxazoline[5,4-*b*]pyrrolidine. The key step to produce the enantiomers was a asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition reaction of chiral endocyclic enecarbamate with nitrile oxide. This asymmetric reaction had not yet been reported in the literature so far.

Keywords –, 2- isoxazolines, hydrazones, asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition, analgesic activity, antiinflammatory activity.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 01 – Núcleos isoxazolínicos	17
Figura 02 – Isoxazóis, isoxazolinas e isoxazolidinas	19
Figura 03 – Geometria do 1,3-dipolo	26
Figura 04 - Dipolos do tipo alenila e do tipo alila	26
Figura 05 – Mecanismo da reação de cicloadição 1,3-dipolar	27
Figura 06 – Obtenção de 2-isoxazolinas por cicloadição 1,3-dipolar	38
Figura 07: Exemplos de enantiômeros	41
Figura 08 – Nomenclatura dos núcleos isoxazolínicos	46
Figura 09 - Amidas isoxazolínicas racêmicas	47
Figura 10 – Fármacos anti-inflamatórios de referência	47
Figura 11 – Rota sintética para obtenção das hidrazonas derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4- <i>b</i>]piperidina e 2-isoxazolina[5,4- <i>b</i>]pirrolidina.	49
Figura 12 - Par de enantiômeros	51
Figura 13 - Rota sintética para obtenção das amidas <i>N</i> -(<i>p</i> -fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4- <i>b</i>]pirrolidinas enantiomericamente puras.	52
Figura 14 – Espectros RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e IVFT da hidrazida 89a	65
Figura 15 – Aldeídos aromáticos	66
Figura 16 – Hidrazonas racêmicas: série 90 e 91	66
Figura 17 – Dados espectroscópicos da hidrazona 90a . Deslocamento químico em ppm	68

Figura 18 - Espectros RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e IVFT da hidrazona 90a	69
Figura 19 – Diastereoisômeros (<i>E</i>) e (<i>Z</i>) das hidrazonas 90 e 91	60
Figura 20 - RMN de ^1H do cicloaduto 108b	74
Figura 21 – Rotação da ligação carbamídica nos cicloadutos 108b	75
Figura 22 – Dinâmica de ressonância magnética nuclear do cicloaduto 108b	76
Figura 23 – Espectro RMN de ^1H do cicloaduto 108b à 65°C	77
Figura 24 – Configuração relativa do diastereoisômero 108 usando técnica de NOE-DIF	77
Figura 25 - Mecanismo de reação da cicloadição assimétrica	78
Figura 26 – Espectro de Infravermelho do ácido 109a	80
Figura 27 – Espectro RMN de ^{77}Se do produto 112a	82
Figura 28 – Carboxamidas enantioméricas, obtidas separadamente	83
Figura 29 - Espectro RMN de ^1H e RMN de ^{13}C do enantiômero 116b	85
Figura 30: Efeito das hidrazonas 90b , c , d , g e l (50, $\mu\text{mol/kg}$, v.o), Indometacina (50 $\mu\text{mol/kg}$), piroxicam (9 $\mu\text{mol/kg}$) e dexametasona (5 $\mu\text{mol/kg}$) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de $n = 7/\text{grupo}$. * $p < 0,05$; ANOVA.	154
Figura 31: Efeito das hidrazonas 90b , c , d , g e l (100 $\mu\text{mol/kg}$, v.o), Indometacina (50 $\mu\text{mol/kg}$), piroxicam (9 $\mu\text{mol/kg}$) e dexametasona (5 $\mu\text{mol/kg}$) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de $n = 7/\text{grupo}$. * $p < 0,05$; ANOVA.	154
Figura 32: Efeito das hidrazonas 90b , c , d , g e l (200 $\mu\text{mol/kg}$, v.o), Indometacina (50 $\mu\text{mol/kg}$), piroxicam (9 $\mu\text{mol/kg}$) e dexametasona (5 $\mu\text{mol/kg}$) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de $n = 7/\text{grupo}$. * $p < 0,05$; ANOVA.	155

Figura 33: Efeito dos enantiômeros **116a**, **116b**, e mistura racêmica **116** (150 $\mu\text{mol/kg}$, v.o), Indometacina (50 $\mu\text{mol/kg}$), piroxicam (9 $\mu\text{mol/kg}$) e dexametasona (5 $\mu\text{mol/kg}$) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de $n = 7/\text{grupo}$. * $p < 0,05$; ANOVA. 157

Figura 34: Efeito das hidrazonas sobre a nocicepção, induzida por ácido acético (1%), em camundongos. Cada grupo representa a média de 8 animais. Os dados representam a média $\pm$ EPM. Todos os resultados apresentaram significância estatística em relação ao grupo controle, ao nível de $p < 0,05$ (ANOVA). 159

LISTA DE TABELAS

	Páginas
Tabela 01 – Condições reacionais para obtenção dos produtos <u>41</u> e <u>42</u> (esquema 08)	32
Tabela 02 - Grupos substituintes e rendimentos reacionais da série de hidrazonas <u>90</u> e <u>91</u>	67
Tabela 03 : Número de PMNL e percentual de atividade anti-inflamatória das hidrazonas.	153
Tabela 04 : Número de PMNL e percentual de atividade anti-inflamatória dos enantiômeros	156
Tabela 05 : Percentual de inibição das hidrazonas no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.	158

LISTA DE ABREVIATURAS

AIBN – Aza isobutilnitrila
(Boc)₂O – Di-*ter*-butildicarbonato
BAIB – Bis-acetóxi-iodo-benzeno
CBZ - Benziloxi carbonila
CCD – Cromatografia em camada delgada
CEFNO – óxido de carboetoxiformonitrila
DCC - Dicicloexilcarbodiimida
DIBAL-H – Hidreto de diisobutilalumínio
DMAP – Dimetil aminopiridina
DMSO – Dimetilsufóxido
GABA – Ácido gama-aminobutírico
HOMO – Orbital ocupado de maior energia
LDA – Diisopropilamideto de lítio
LUMO – Orbital não-ocupado de menor energia
NOE – Efeito Overhause nuclear
PNZ – *p*-nitro benziloxi
Rac. - racêmico
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
TBS – *terc*-butilsilano
TEA - Trietilamina
TFA – Ácido trifluoroacético
TFAA – Anidrido trifluoroacético
THF - Tetraidrofurano

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

Dentre a imensa variedade de substâncias orgânicas conhecidas, mais da metade contém no mínimo, um componente heterocíclico, sendo este definido como um composto orgânico, cíclico e estável, que contém no seu anel um ou mais átomos diferentes do carbono. (1)

Muitas substâncias, que contêm heterociclos em suas estruturas, ocorrem naturalmente, tendo funções específicas e de fundamental importância para os seres vivos, participando como componentes chaves em vários processos biológicos.

Nas diversas áreas de estudo da síntese orgânica, a química dos compostos heterocíclicos e a química de compostos quirais tem um grande interesse por parte dos pesquisadores por frequentemente possibilitarem a obtenção de compostos biologicamente ativos.

Em estudos prévios, foram obtidos em nosso grupo de pesquisa 2-isoxazolininas, (descritas a seguir) conjugadas com heterociclos como pirrolidina e piperidina, dando origem a novos núcleos como o 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina **1** e 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina **2**, (fig. 01) substâncias que apresentaram-se biologicamente ativas, frente a modelos experimentais de inflamação. (2, 3)

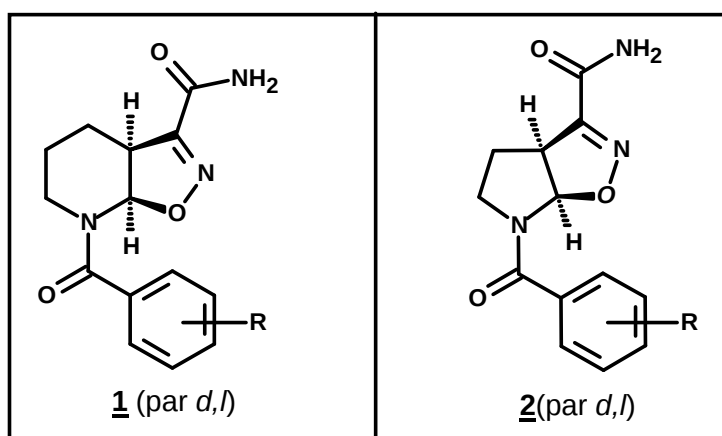


Figura 01 – Núcleos isoxazolínicos

Na química medicinal, o método de modificação molecular é uma excelente ferramenta para obtenção de moléculas bioativas a partir de um composto protótipo. A modificação estrutural de um protótipo, tem por objetivo otimizar sua atividade farmacológica principalmente para se obter fármacos mais seletivos e menos tóxicos, com melhor farmacocinética e sem problemas de formulação farmacêutica devidos a solubilidade ou

estabilidade inadequada. Este processo é praticamente indispensável no desenvolvimento de qualquer fármaco. ⁽⁴⁾

A conjugação de características estruturais definidas de dois compostos bioativos distintos, em uma nova molécula, representa a estratégia de hibridação molecular de um composto protótipo. ⁽⁵⁾ Assim, hibridação molecular entre os núcleos isoxazolínicos e hidrazonas, funcionalidade que apresenta inúmeras atividades biológicas, como veremos a seguir, potencializou os efeitos farmacológicos das novas substâncias.

Uma segunda abordagem deste trabalho foi dada a síntese assimétrica, que é uma das fronteiras atuais da química orgânica e objetiva a preparação de substâncias enantiomericamente puras.

O conhecimento da configuração absoluta do centro estereogênico de uma molécula bioativa, particularmente um fármaco, é indispensável à completa compreensão dos fatores estruturais envolvidos e relacionados com sua atividade. Devido à natureza protéica, os biorreceptores são enantio-específicos, discriminando antípodas. Dessa forma, os fármacos empregados como misturas racêmicas podem compreender apenas um enantiômero bioativo, denominado eutômero, termo criado por Ariens e colaboradores em 1976. O outro enantiômero, denominado distômero, pode não apresentar nenhuma atividade relacionada ao eutômero, ou ser reconhecido enantio-especificamente por outro tipo de bio-receptor, apresentando um perfil farmacológico distinto ou propriedades tóxicas. ⁽⁵⁾

A obtenção do núcleo 2-isoxazolina[5,4-b]pirrolidina enantiomericamente puro, foi possível através do uso de uma metodologia sintética, que envolve a reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica.

1.1 - ISOXAZOLINAS

Heterociclos de 5 membros, contendo átomos de oxigênio e nitrogênio ligados entre si, tem despertado grande interesse, devido ao grande potencial biológico que estas substâncias apresentam.

Estes heterociclos são classificados de acordo com o grau de oxidação do anel heterocíclico e apresentam propriedades químicas distintas, inerentes às suas estruturas: Isoxazóis **3**, totalmente oxidados e aromáticos, Isoxazolinas **4a**, **4b** e **4c** parcialmente oxidadas e Isoxazolidinas **5**, totalmente reduzidas (fig. 02).

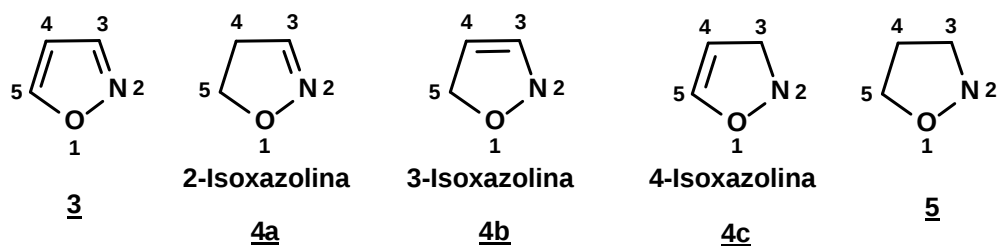


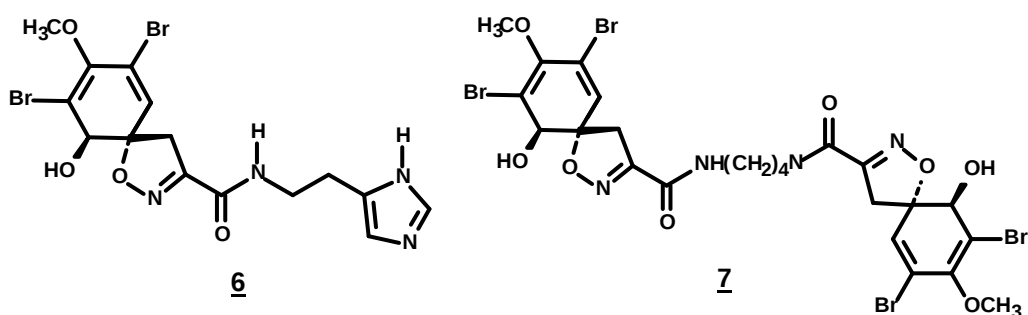
Figura 02 – Isoxazóis, isoxazolinas e isoxazolidinas

Dos heterociclos descritos acima, particularmente as isoxazolinas $\underline{4a}$ despertam grande interesse em estratégias sintéticas que visam a obtenção de substâncias com potenciais atividades biológicas. A seguir serão descritos e discutidos de forma representativa relatos da literatura, sobre 2-isoxazolinas, como por exemplo, ocorrência natural, atividades biológicas e aplicações terapêuticas, métodos de obtenção e aplicação sintética, ilustrando a grande importância químico-biológica das mesmas.

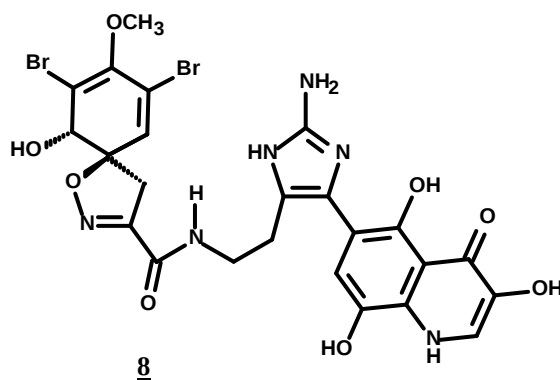
1.1.1 - OCORRÊNCIA NATURAL

A incidência natural de 2-isoxazolinas é bem restrita, sendo encontrado basicamente em algumas espécies de esponjas marinhas, como espiro-compostos.

Alcalóides isoxazolínicos $\underline{6}$ e $\underline{7}$ foram isolados da esponja *Aplisina aerophoba* e estão envolvidos no mecanismo de defesa da esponja contra peixes predadores. Estas isoxazolinas são precursoras de substâncias tóxicas formadas por catálise enzimática.⁽⁶⁾



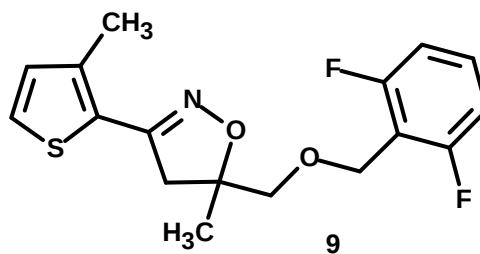
Uma espiroisoxazolina natural $\underline{8}$, um alcalóide isolado da esponja *Aplisina gerardogreeni* apresentou-se biologicamente ativa, com ação efetiva contra *Mycobacterium tuberculosis*.^(7, 8)



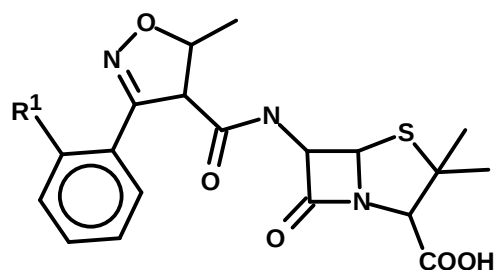
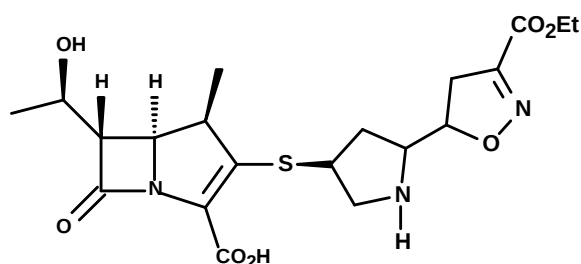
1.1.2 - ATIVIDADE BIOLÓGICA E APLICAÇÃO TERAPÊUTICA

A literatura relata vários exemplos de compostos bioativos, contendo o núcleo 2-isoxazolina, que tem apresentado os mais diversos tipos de atividade biológica, compreendendo desde atividade herbicida e antimicrobiana até atividade no Sistema Nervoso Central.

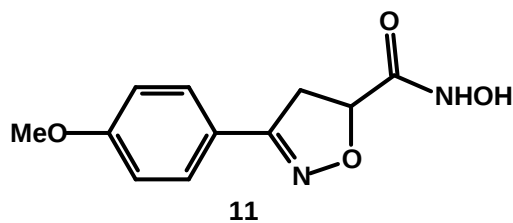
A 2-isoxazolina 9, apresentou excelente seletividade e potente atividade herbicida contra diversas espécies de ervas daninhas, principalmente em culturas de arroz. Os estudos de toxicidade em camundongos revelaram que 9 apresenta baixa toxicidade, com DL_{50} acima de 5000 mg/Kg.⁽⁹⁾



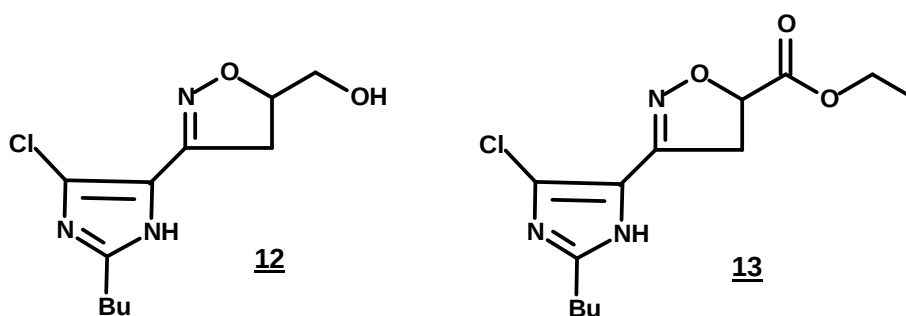
Penicilinas semi-sintéticas comerciais, tais como oxacilina e cloxacilina, possuem em sua cadeia lateral o radical isoxazolila. Carbapenems 10, contendo isoxazolinas como radical, têm apresentado potente atividade antibacteriana.⁽¹⁰⁾



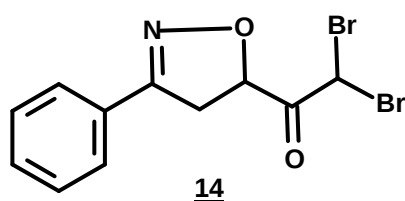
Recentemente foi relatada uma série de heterociclos inibidores da biossíntese de lipídios, que apresentam atividade contra bactérias Gram negativas. Estes heterociclos têm como núcleo base uma 2-isoxazolina. O derivado mais potente desta série, a 2-isoxazolina **11** teve excelente atividade contra *Escherichia coli*.⁽¹¹⁾



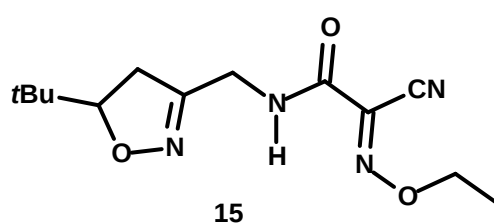
Excelentes resultados foram relatados quando derivados de 2-isoxazolinias **12** e **13**, tendo o anel imidazol como substituinte na posição 3 do núcleo isoxazolinico, foram submetidos a testes antifúngicos, apresentando Concentração Mínima Inibitória – CMI contra *Aspergillus flavus* e *Fusarium moniliforme* bem inferior ao fármaco antifúngico nistatina, usado atualmente na terapêutica.⁽¹²⁾



A 2-isoxazolina dissustituída **14** apresentou atividade espermicida e anti-HIV com mais de 95% de redução do vírus.⁽¹³⁾



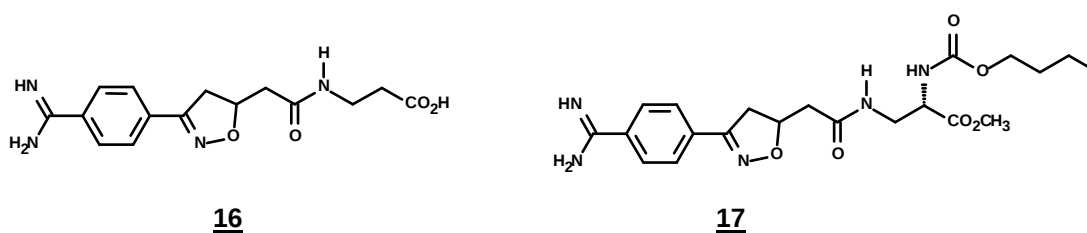
Potente atividade antiviral contra o vírus da influenza humana foi apresentada por uma série de derivados de 2-isoxazolinias. Das substâncias estudadas, o protótipo **15** apresentou a maior atividade antiviral e uma baixa citotoxicidade.⁽¹⁴⁾



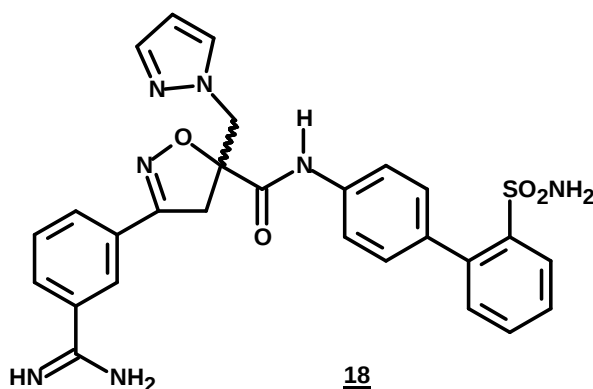
Um dos protótipos da série apresentou excelente controle do vírus H1N1 com uma dose de 3 µg/mL, com atividade bastante superior à Amantadina, uma fármaco antiviral comercial.

Atualmente tem se pesquisado muito sobre doenças que envolvam o processo de adesão celular, tais como trombose, metástases e osteoporose.⁽¹⁵⁾

Substâncias contendo 2-isoxazolininas em suas estruturas são relatadas como antagonistas dos receptores da superfície celular, glicoproteína IIb/IIIa, impedindo a ligação do fibrinogênio e conseqüentemente a agregação plaquetária, sendo portanto, um atrativo representante do arsenal terapêutico no tratamento de aterosclerose e trombose. Entre essas, estão as 2-isoxazolininas-3,5-dissubstituídas **16** e **17**.⁽¹⁶⁾



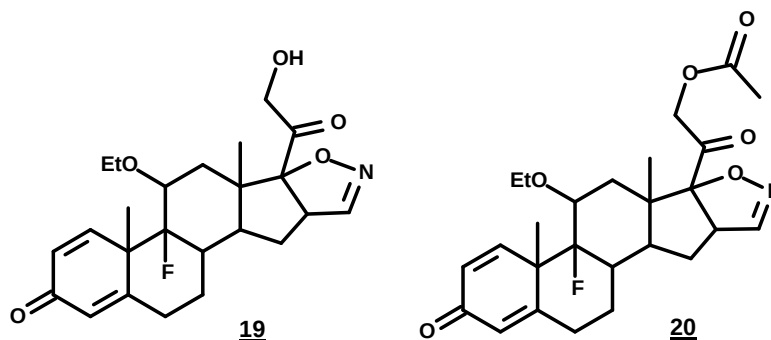
Também com relação à atividade antitrombótica, recentes estudos mostraram 2-isoxazolininas, exemplificada pela estrutura **18**, como potentes inibidores do fator **Xa**, responsável pela catálise na produção de trombina a partir de protrombina, um dos mecanismos envolvidos na cascata da coagulação sanguínea.⁽¹⁷⁾ A inibição do fator **Xa** tem surgido como um alvo atrativo para aplicação terapêutica, potencial no tratamento de trombose venosa e arterial.⁽¹⁸⁾



Na literatura há também muitos relatos de atividade anti-inflamatória e analgésica para substâncias que apresentam o núcleo 2-isoxazolina.

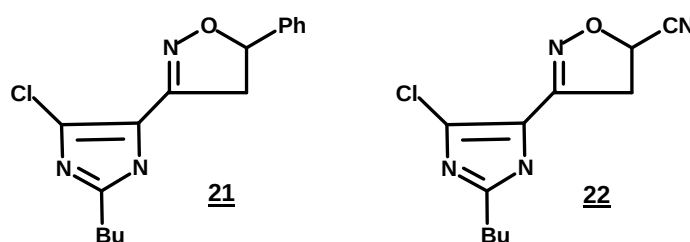
Relatou-se recentemente que substâncias esteroidais, contendo o núcleo 2-isoxazolina em sua estrutura, apresentaram excelente atividade anti-inflamatória e alta afinidade com os

glico-receptores. Os fármacos esteroidais **19** e **20** apresentaram-se 5 e 5,3 vezes respectivamente mais potente que a prednisolona, um corticosteróide usado na terapêutica. ⁽¹⁹⁾

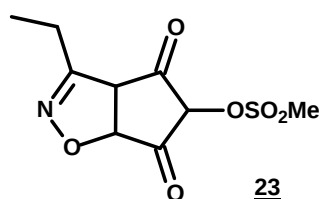


A fosfolipase A₂ consiste em uma classe de enzimas que catalisa a hidrólise de fosfolipídios da membrana celular no ácido araquidônico, este é metabolizado pelas ciclooxygenases 1 e 2 (COX) e lipoxigenases na produção dos mediadores inflamatórios, tais como prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos etc. Substâncias capazes de inibir o desencadeamento dos processos inflamatórios são conhecidas como agentes anti-inflamatórios.

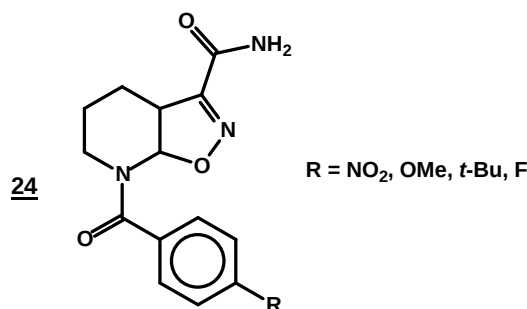
Bassapa *et al* sintetizaram vários derivados de 2-isoxazolininas que apresentaram ação inibitória da fosfolipase A₂, impedindo assim a formação do processo inflamatório. Alguns protótipos, representados pelas estruturas **21** e **22**, tiveram ação anti-inflamatória bastante superior ao fármaco padrão utilizado nos testes, o Ácido Ursólico. ⁽²⁰⁾



Derivados de 2-isoxazolininas, representados pela substância **23**, apresentaram atividades inibidoras de enzimas proteolíticas, envolvidas em processos inflamatórios crônicos, como artrite reumática, enfisema pulmonar, entre outros, relatados por Groutas *et al*. ⁽²¹⁾



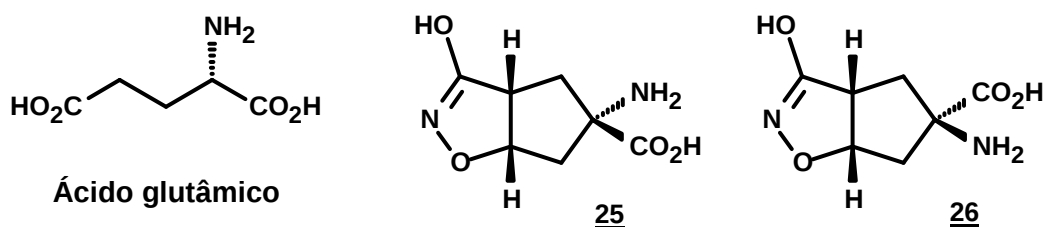
2-isoxazolininas piperidínicas **24** obtidas por reações de cicloadição 1,3-dipolar, entre enamidas endocíclicas e *N*-óxido de nitrila, foram analisadas quanto à atividade anti-inflamatória, através do método do edema de pata induzido por carragenina em ratos. As isoxazolininas apresentaram redução do edema com a mesma eficácia que a indometacina, medicamento anti-inflamatório padrão utilizado nos testes. O derivado isoxazolinínico com substituinte *p*-nitro, apresentou na terceira e quinta hora do teste efeito inibitório do edema mais acentuado que a indometacina. ⁽²²⁾



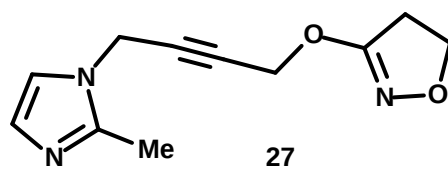
O ácido glutâmico é o principal neurotransmissor excitatório encontrado no Sistema Nervoso Central dos mamíferos e está envolvido na regulação fisiológica de processos como aprendizagem e memória.

Por sua vez, uma hiper-atividade glutaminérgica conduz a uma neurotoxicidade típica, desencadeando doenças neurodegenerativas agudas e crônicas, como por exemplo, Isquemia Cerebral, Epilepsia, Doença de Parkinson e Mal de Alzheimer. ⁽²³⁾

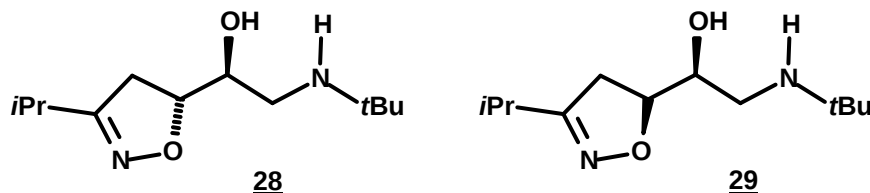
Dessa forma, aminoácidos conformacionalmente restringidos, análogos do ácido glutâmico, que têm como núcleo base 2-isoxazolininas, como por exemplo, os derivados 3-hidroxi-2-isoxazolinina ciclopentano **25** e **26**, têm sido extensivamente estudados por Conti *et al* como moduladores dos receptores glutaminérgicos, tendo um papel relevante nessas desordens neurodegenerativas. ^(24, 25)



Amici *et al* demonstraram que derivados de 2-isoxazolininas representados pela substância **27**, apresentaram alta afinidade pelos receptores Muscarínicos M1, encontrados nos gânglios parassimpáticos e tecido neuronal, com ação agonista, sendo portanto um potencial fármaco no tratamento de doenças degenerativas, como o Mal de Alzheimer. ⁽²⁶⁾



Vários pesquisadores têm investigado a interação de 2-isoxazolininas com os receptores β_1 e β_2 adrenérgicos. Os diastereoisômeros *syn* e *anti* de 2-isoxazolininas **28** e **29** apresentaram ação antagonista com este tipo de receptor. ^(27, 28, 29)



Diante da vasta literatura que relata as atividades biológicas de 2-isoxazolininas, pretende-se apresentar a seguir, de forma representativa, trabalhos que demonstram a importância química desse tipo de substância, justificando o grande interesse de pesquisadores, tanto em Síntese Orgânica, como em Química Medicinal.

1.1.3 - MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE 2-ISOXAZOLINAS

O principal método de preparo de 2-isoxazolininas consiste na reação de cicloadição 1,3-dipolar de *N*-óxido de nitrila com alquenos. Métodos adicionais incluem reações de cetonas α,β -insaturadas com hidroxilamina. ⁽³⁰⁾

1.1.3.1 - REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR RACÊMICA

A adição de 1,3 dipolo a um alqueno ou alquino, para síntese de heterociclos de 5 membros, é uma reação clássica em síntese orgânica. As reações de cicloadição são utilizadas na preparação de moléculas de fundamental importância, tanto em pesquisa acadêmica, quanto na indústria, ⁽³¹⁾ incluindo 2-isoxazolininas e isoxazóis.

O 1,3-dipolo é definido como uma espécie que é representada por uma estrutura zwitteriônica, que sofre cicloadições com um sistema dipolarófilo. ⁽³²⁾

Basicamente, o 1,3-dipolo pode ser classificado em dois diferentes tipos: tipo ânion alila e tipo ânion alenila. O 1,3-dipolo do tipo de ânion alila é caracterizado pela presença de quatro elétrons em três orbitais *p*, paralelos e perpendiculares ao plano do 1,3 dipolo, que é

angular. O 1,3-dipolo do tipo ânion alenila tem um orbital π extra, localizado no plano ortogonal, e é linear.⁽³²⁾ (fig. 03)

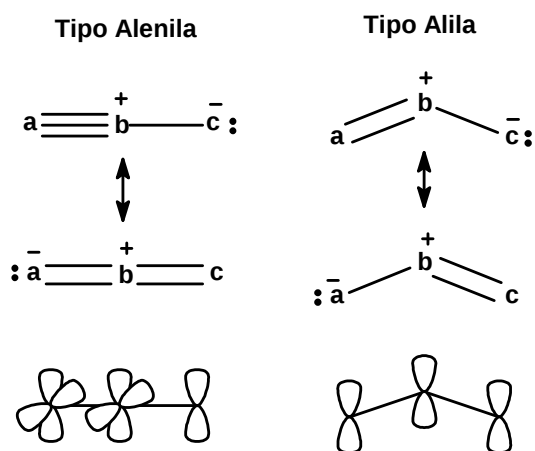
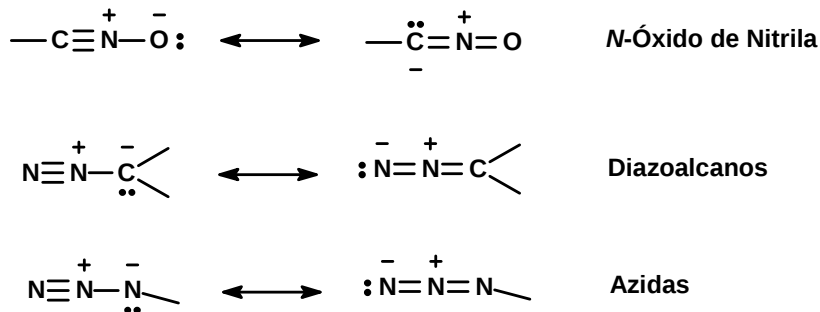


Figura 03 – Geometria do 1,3-dipolo

Existem diversos 1,3-dipolos do tipo Alila e Alenila, que são utilizados em reações de cicloadição 1,3-dipolar, alguns exemplos são apresentados na figura 04.

1,3-dipolos do Tipo Alenila



1,3-dipolos do Tipo Alila

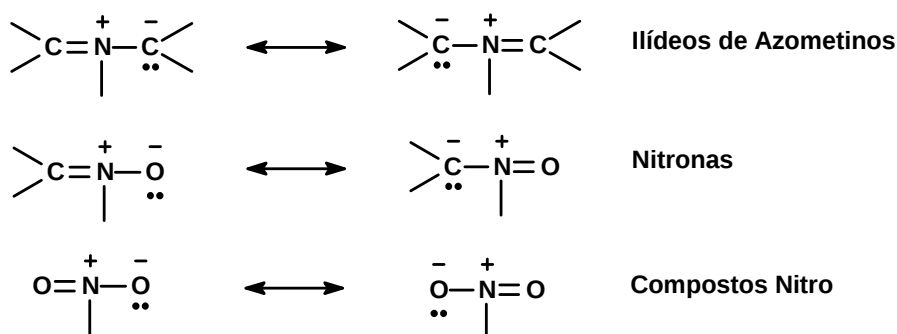


Figura 04 - Dipolos do tipo alenila e do tipo alila

As reações de cicloadição 1,3-dipolar do 1,3-dipolo com alquenos ou alquinos (dipolarófilos) envolvem quatro elétrons π do 1,3-dipolo e 2 elétrons π do dipolarófilo.

As reações de cicloadição 1,3-dipolar são controladas pelos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMO) HOMO e LUMO do 1,3-dipolo e do dipolarófilo. A teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira é utilizada para explicar a regioselectividade da cicloadição. ⁽³²⁾

Uma proposta de mecanismo para as reações de cicloadição 1,3-dipolar, entre o dipolo *N*-óxido de nitrila e uma enamida endocíclica como dipolarófilo, é apresentado na figura 05.

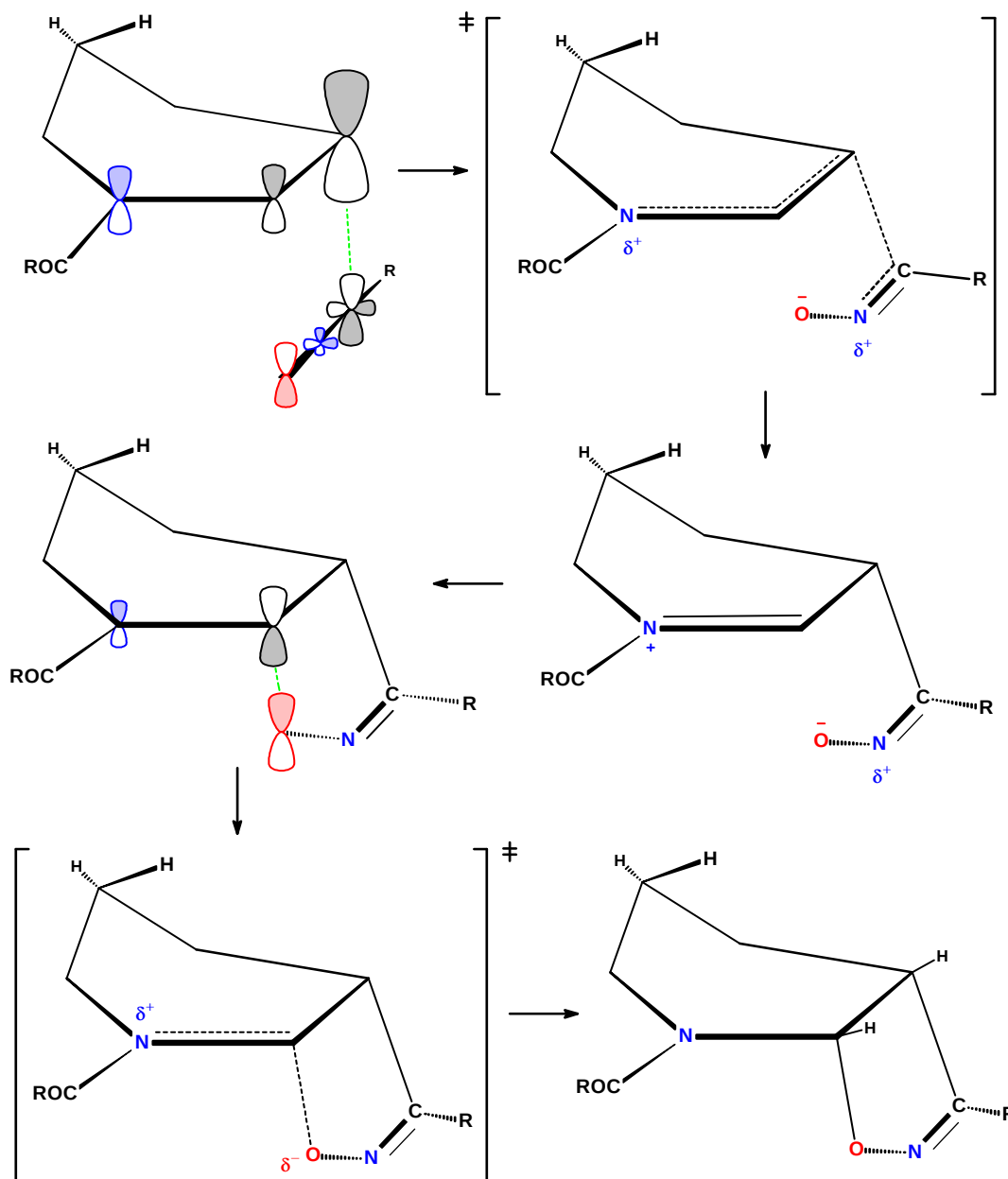


Figura 05 – Mecanismo da reação de cicloadição 1,3-dipolar

Neste mecanismo consideramos a linearidade do *N*-óxido de nitrila (dipolo alenila) e a grande diferença dos valores de coeficiente de orbital HOMO do enecarbamato/enamida, que dificultam a formação simultânea das duas ligações na reação de cicloadição. A ligação do carbono β ao átomo de nitrogênio com o carbono do *N*-óxido de nitrila é concluída primeiro, formando um intermediário *N*-acil-imínio dipolar.

No intermediário *N*-acil-imínio, tem-se agora uma estrutura angular *N*-óxido-imina, que devido à maior proximidade espacial, possibilita a adição do oxigênio ao carbono do acil-imínio, ocorrendo a interação frontal entre o orbital preenchido do oxigênio com o orbital LUMO do imínio (fig. 05).

A utilização de óxidos de nitrila (1,3-dipolo) em reações de cicloadição 1,3-dipolar com alquenos (dipolarófilos) consiste na principal estratégia para obtenção de 2-isoxazolininas (fig. 06). Utilizando-se alquinos como dipolarófilos, obtêm-se diretamente os isoxazóis.

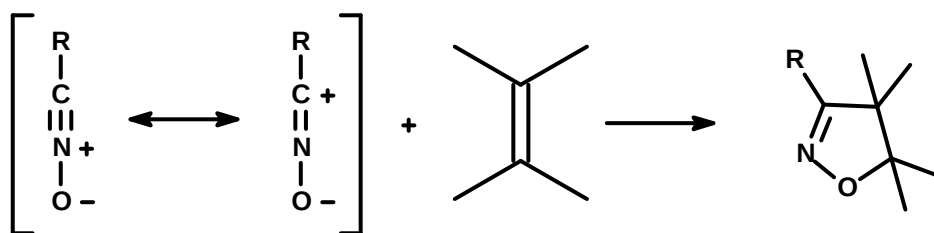
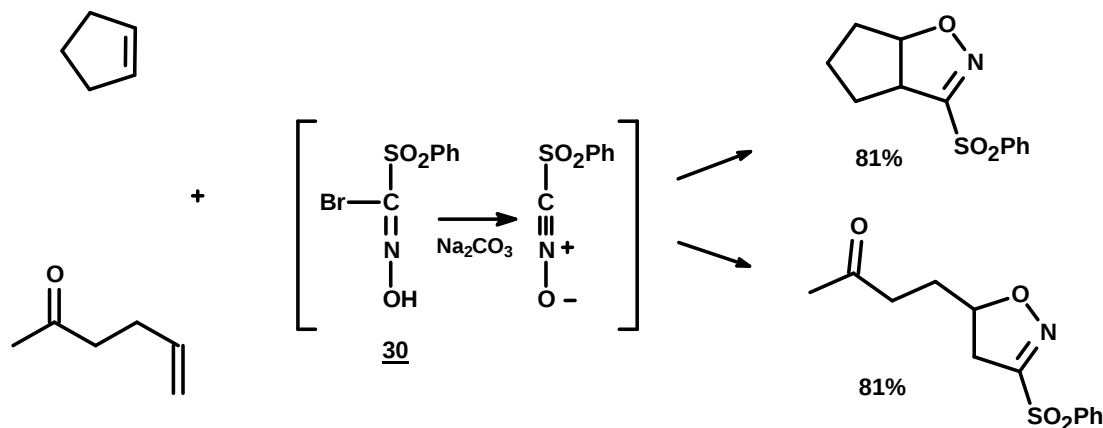


Figura 06 – Obtenção de 2-isoxazolininas por cicloadição 1,3-dipolar

A seguir, serão discutidos alguns métodos de obtenção de 2-isoxazolininas, relatados na literatura.

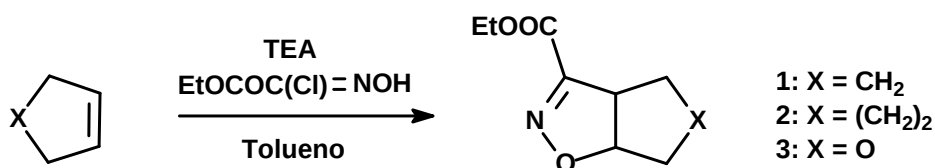
2-Isoxazolininas foram obtidas através da reação de cicloadição de diversos alquenos cíclicos e alicíclicos com óxido de benzenosulfonitrila. ⁽³³⁾



Esquema 01

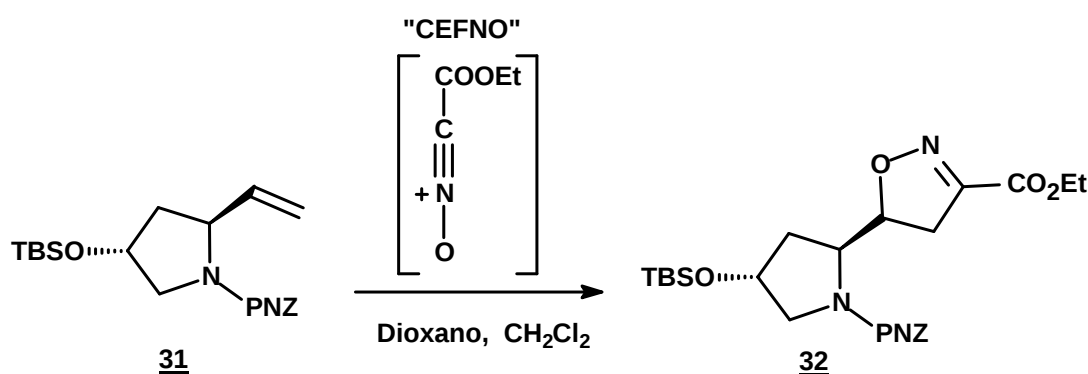
A adição lenta de uma solução do precursor do 1,3-dipolo **30** sobre a mistura aquosa do alqueno, em excesso, e solução aquosa de carbonato de sódio, resultou na formação do cicloaduto isoxazolinico, com rendimentos de até 81% (esq. 01).

2-Isoxazolininas foram preparadas em solução de tolueno, sob refluxo, durante 36h, com dipolarófilos apropriados e clorooximidoacetato de etila, como precursor do 1,3-dipolo. Os experimentos realizados sob atmosfera inerte e com adição lenta do precursor, forneceram 2-isoxazolininas, ⁽³⁴⁾ com rendimentos de 42% a 89% (esq. 02).



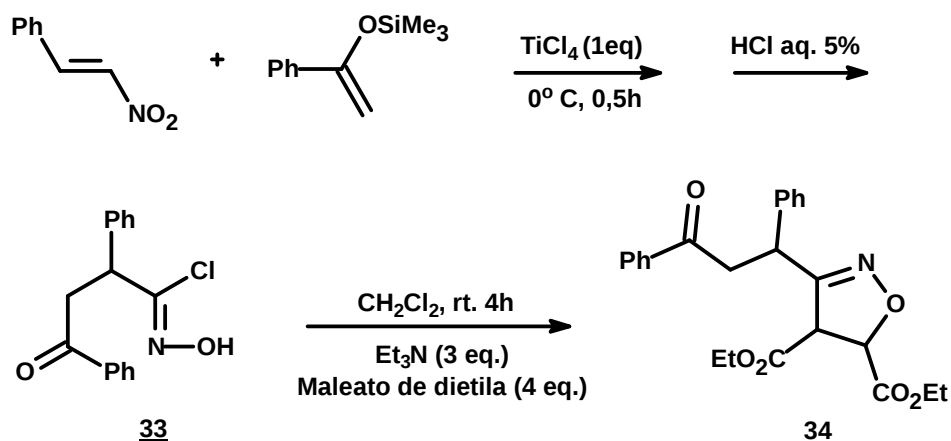
Esquema 02

A isoxazolina **32** foi preparada através da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre a 2-vinil-pirrolidina **31** e óxido de nitrila (CEFNO – óxido de carboetoxiformonitrila) como dipolo, gerado *in situ*, a partir da adição lenta de trietilamina sobre o precursor clorooximidoacetato de etila. ⁽³⁵⁾ (esq. 03).



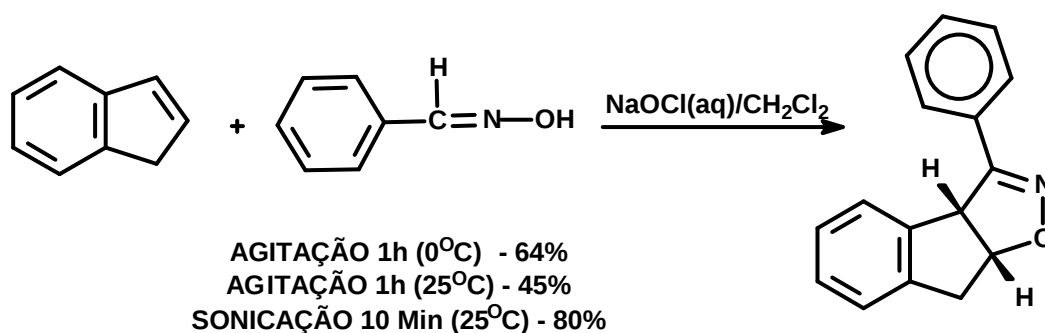
Esquema 03

Derivados de cloretos de hidroximoila **33**, obtidos através de reações de nitro-olefinas com silil-enol-éter, em presença de TiCl₄, quando submetidos a reações com um dipolarófilo (maleato de dietila), na presença de TEA, levaram à formação de 2-isoxazolininas **34** correspondentes, por cicloadição 1,3-dipolar intermolecular, com um rendimento global de 84% ⁽³⁶⁾ (esq. 04).



Esquema 04

Khalid *et al* obtiveram vários derivados de 2-isoxazolininas através da reação de cicloadição 1,3-dipolar em meio bifásico de $\text{NaOCl}_{(\text{aq})}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ à 0°C e 25°C ⁽³⁷⁾ (esq. 05).

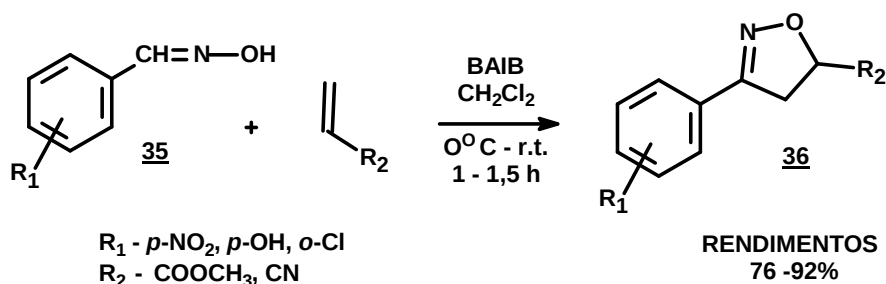


Esquema 05

Usando método de agitação clássica, os rendimentos a 25°C foram em média 20% menores que a 0°C . Quando o autor utilizou sonicação por 10 minutos, como método de processamento das reações na temperatura de 25°C , houve um aumento na velocidade da reação com rendimentos aproximadamente duas vezes maiores. ⁽³⁷⁾

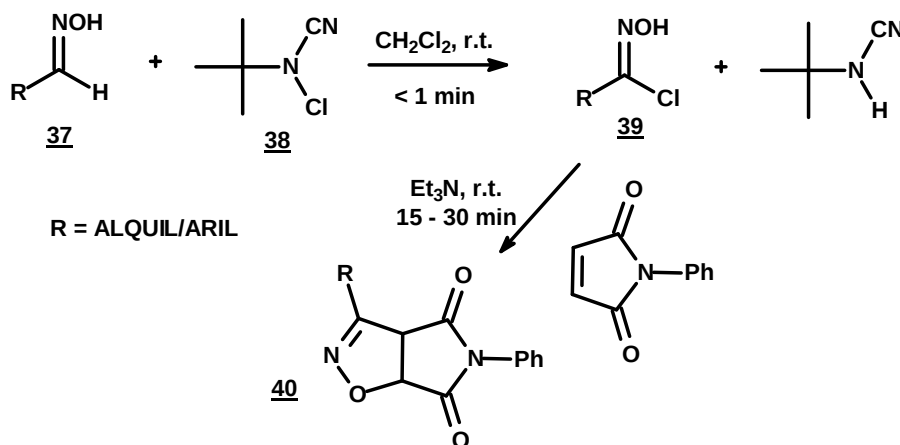
Tratamento de aldoximas **35** com alquenos funcionalizados na presença de BAIB levou à formação de 2-isoxazolininas **36** em altos rendimentos (esq. 06).

O mecanismo envolve a formação do óxido de nitrila a partir da aldoxima e subsequente cicloadição com o alqueno. ⁽³⁸⁾



Esquema 06

Kumar *et al* obtiveram 2-isoxazolininas através do tratamento de aldoximas **37** com *N*-*tert*-butil-*N*-clorocianoamida **38**, fornecendo cloretos de hidroximoila **39** em rendimentos quantitativos, em menos de um minuto. Desidrogenação na presença de trietilamina forma o óxido de nitrila, que em reação subsequente com *N*-fenil maleimida, como dipolarófilo, forma os cicloadutos **40** (esq. 07) em apenas 30 minutos de reação com rendimentos em torno de 90%. ⁽³⁹⁾



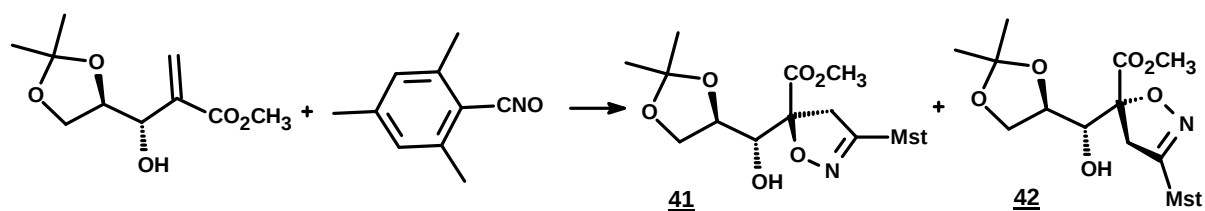
Esquema 07

1.1.3.2 - REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR ASSIMÉTRICA

O recente estudo de reações de cicloadição 1,3-dipolar tem nos últimos anos entrado em um novo estágio no controle da estereoquímica. O desafio da seletividade é o controle da regio, diastereo e enantiosseletividade da reação de cicloadição 1,3-dipolar. A estereoquímica destas reações pode ser controlada pela escolha de 1,3-dipolos apropriados ou controlando-se a reação por um complexo metálico agindo como catalisador. ⁽⁴⁰⁾

Se alquenos quirais forem utilizados como dipolarófilos em reações de Cicloadição 1,3-dipolar, dois diastereoisômeros podem ser formados.

Peter Micuch *et al* obtiveram 2-isoxazolininas diastereoisoméricas **41** e **42** através da cicloadição de dipolarófilos deficientes em elétrons com o dipolo óxido de mesitonitrila (esq. 08).



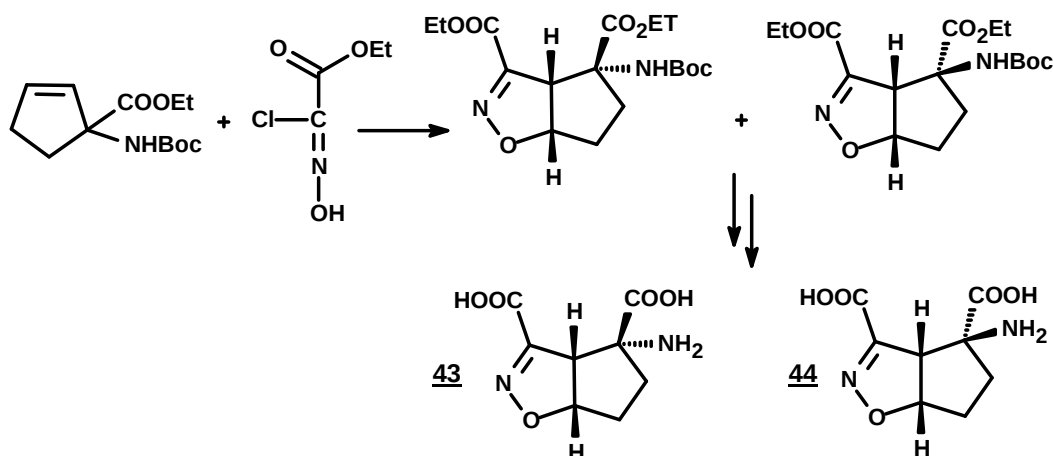
Esquema 08

Tabela 01 – Condições reacionais para obtenção dos produtos **41** e **42** (esquema 08)

Solvente	Ácido de Lewis	Tempo	Condições	Rendimento (%)	Razão 41:42
Tolueno	-	2 h	80° C	89	22:78
Diclorometano	MeMgBr	48h	25° C	50	95:5
Clorobenzeno	MeMgBr	4 min.	Microondas	34	78:22

Micuch relatou em seu trabalho o uso de Mg (II) para inverter a diastereosseletividade neste tipo de reação e também o uso de microondas para acelerar a velocidade das reações. Como pode ser observado nos dados reacionais, com a adição do Mg (II) através do brometo de metil magnésio (MeMgBr), ocorre a inversão da diastereosseletividade, isto se deve a um estado de transição em que o magnésio, através da interação com os átomos de oxigênio coordena a ligação entre o dipolo e o dipolarófilo. Quando a reação foi realizada sob microondas, foram necessários apenas quatro minutos para que os diastereoisômeros fossem formados, contra 48 horas à temperatura de 25°C.⁽⁴¹⁾

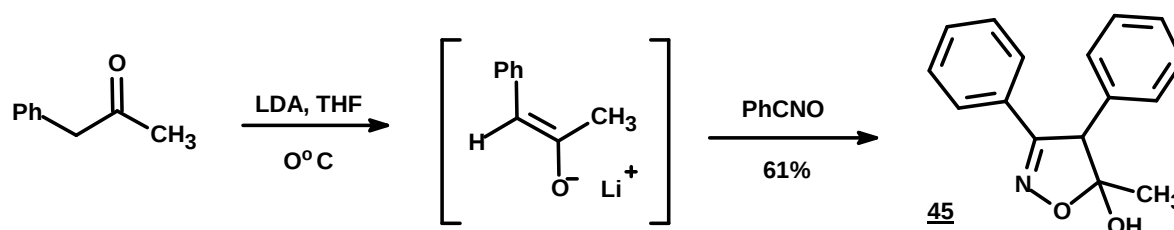
A obtenção de aminoácidos conformacionalmente restringidos, análogos do Ácido Glutâmico, foi realizada por Conti *et al* também através de reações de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica⁽²⁴⁾ (esq. 09).



Esquema 09

Nesta reação foi obtido o par de diastereoisômeros **43** e **44** e também seus respectivos regioisômeros. Solução do alqueno em acetato de etila, seguida da adição do precursor do dipolo e NaHCO_3 , permaneceu em agitação por cinco dias. Reações de eliminação do grupamento Boc com ácido trifluoracético, seguida por hidrólise básica dos ésteres com $\text{NaOH}/\text{EtOH}-\text{H}_2\text{O}$, levou à formação dos análogos do ácido glutâmico, conformacionalmente restringidos, com a presença do núcleo 2-isoxazolina.⁽²⁴⁾

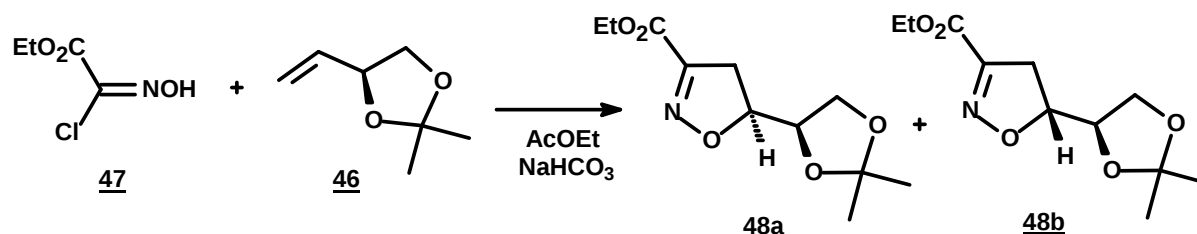
Reação de cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de arilnitrilas e enolatos foi o método utilizado por Di Nunno *et al* na obtenção da 2-isoxazolina **45** (eq. 10).



Esquema 10

O uso do LDA como base na obtenção do enolato, a partir da metalação da fenilacetona, pode gerar dois diferentes enolatos. Nestas condições reacionais utilizando diisopropilamida de lítio a 0°C , forma-se preferencialmente o enolato termodinâmico. O controle das condições termodinâmicas da reação é imprescindível na diastereosseletividade.⁽⁴²⁾

2-isoxazolinas diastereoisoméricas foram obtidas através da reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica entre, óxido de nitrila, formado *in situ* a partir do cloroóximidoacetato de etila e do alqueno (S)-(+)- **46** (eq. 11).

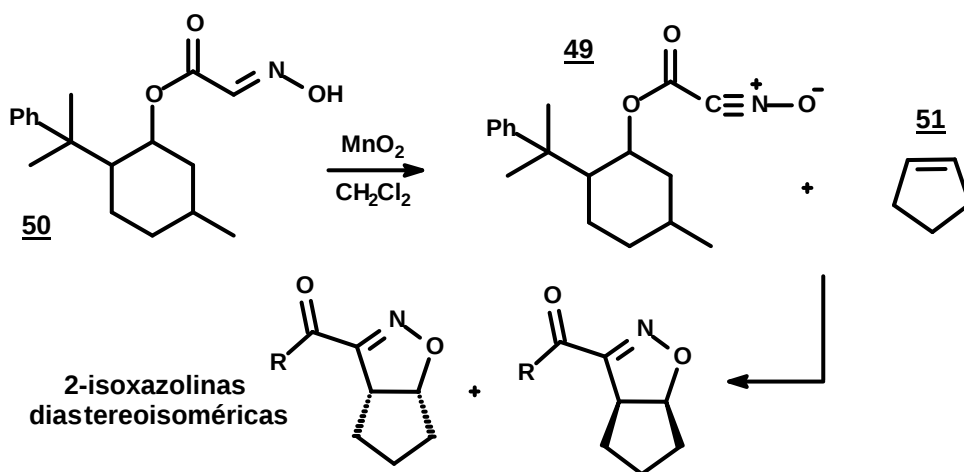


Esquema 11

A uma solução das substâncias **46** e **47** em acetato de etila foi adicionado bicarbonato de sódio sólido. Esta mistura reacional permaneceu sob agitação por 1 dia seguido por um

processo de extração para obtenção das 2-isoxazolinias diastereoisoméricas **48a** e **48b**, formadas na proporção 72:28. ⁽⁴³⁾

Síntese estereocontrolada de 2-isoxazolinias também foi realizada por Romanski *et al.* O óxido de nitrila quiral **49**, gerado a partir da oxidação da aldoxima **50** por MnO_2 , reagiu com o cicloalqueno **51**, para formar 2-isoxazolinias como uma mistura diastereoisomérica, apresentando rendimento de 50% (esq. 12). ⁽⁴⁰⁾

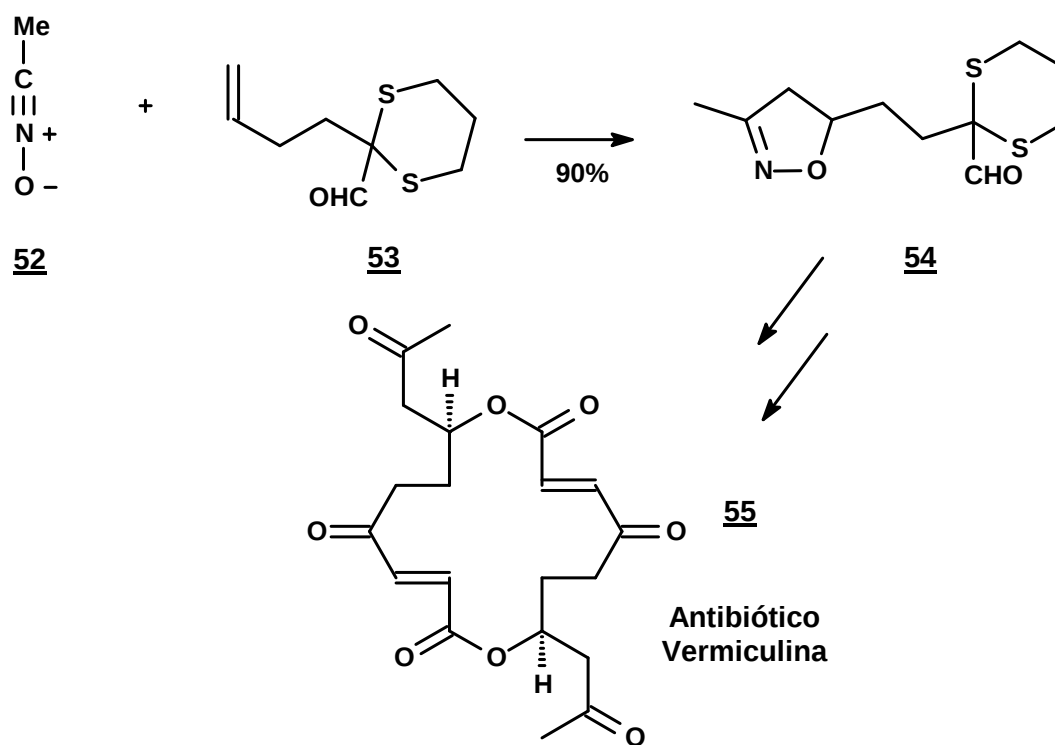


Esquema 12

1.1.4 – APLICAÇÃO SINTÉTICA DE 2-ISOXAZOLINAS

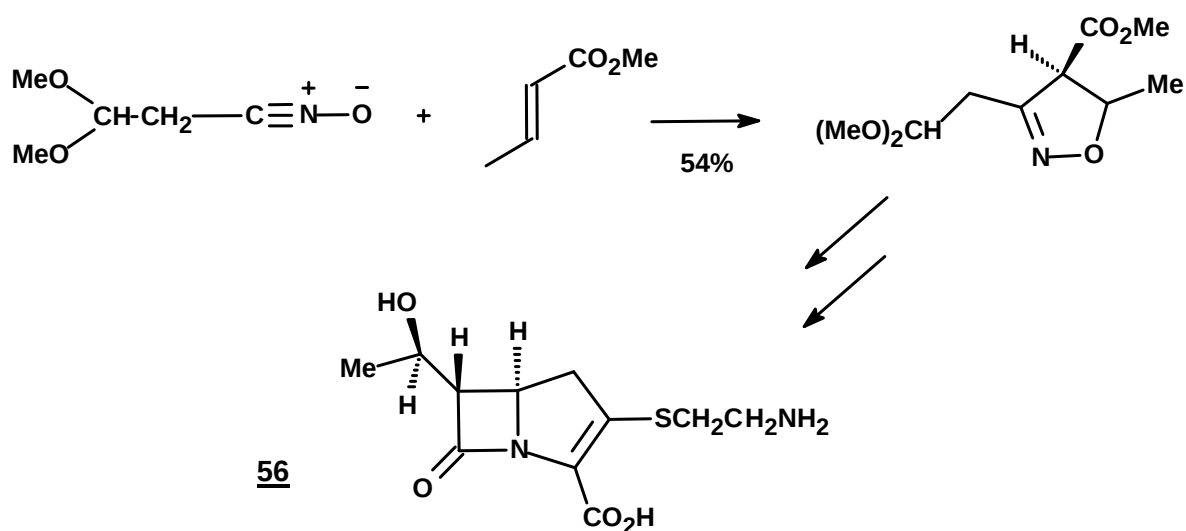
Alguns exemplos representativos de utilização de 2-isoxazolinias em síntese orgânica, como material de partida, ou intermediário sintético, serão descritos a seguir.

O antibiótico Vermiculina **55**, isolado da fermentação do caldo de *Penicillium vermiculatum*, foi sintetizado através da cicloadição 1,3-dipolar do óxido de acetonitrila **52** com o alqueno **53**, produzindo a isoxazolina **54**, com rendimento de 90%, que após diversas etapas subsequentes, levou à formação do antibiótico esperado ⁽⁴⁴⁾ (esq. 13).



Esquema 13

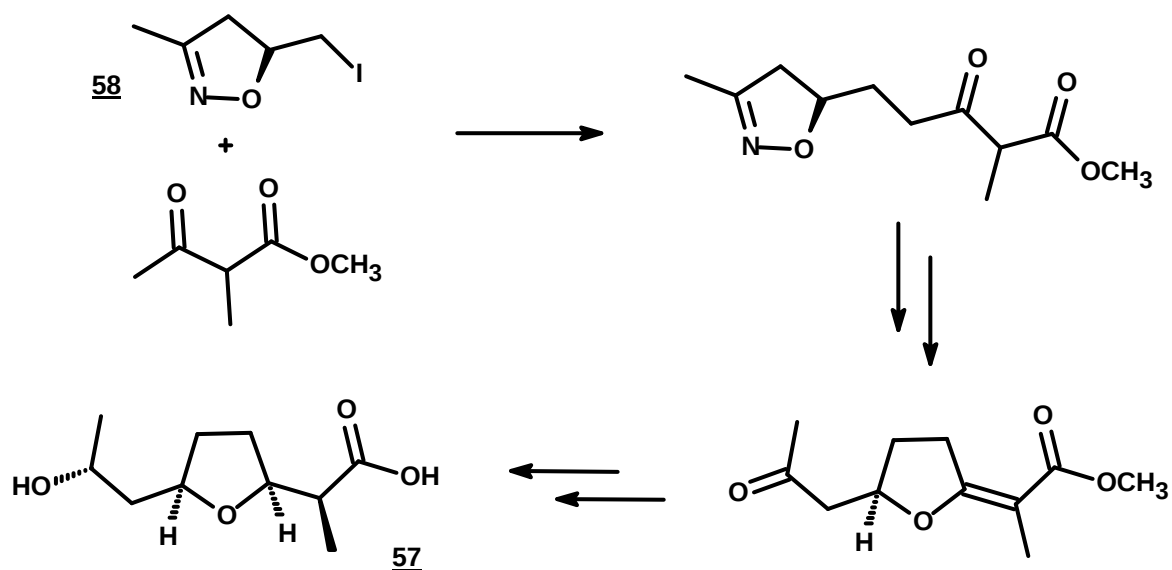
De forma similar, o antibiótico Tienamicina 56, isolado da fermentação do caldo do microorganismo de solo *Streptomyces cattleya*, foi obtido via reação de cicloadição 1,3-dipolar, tendo uma 2-isoxazolina como intermediário sintético, com rendimento de 54%⁽⁴⁵⁾ (esq. 14).



Esquema 14

A Nonactina, um homólogo, membro da família dos antibióticos macrotetrolídeos, isolado de uma variedade de *Streptomyces cultures*, consiste de duas subunidades do (+)-

ácido nonático 57 e duas subunidades do (-)-ácido nonático. O material de partida para síntese destas moléculas é a 2-isoxazolina opticamente ativa 58 (esq.15).⁽⁴⁶⁾



Esquema 15

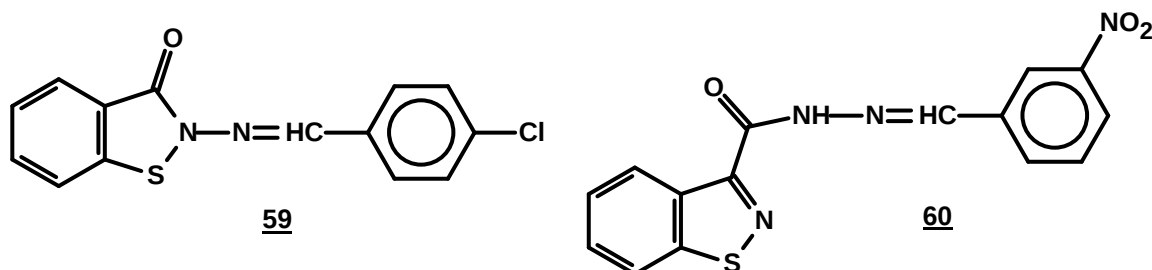
1.2 – DERIVADOS DE HIDRAZONAS

Como mencionado na introdução deste trabalho, um dos métodos para obtenção de novos fármacos, a modificação molecular, propicia inúmeras vantagens, como por exemplo, obtenção de moléculas com propriedades farmacológicas superiores; possibilidade de elucidar a relação estrutura-atividade da molécula; emprego dos mesmos métodos de ensaios biológicos utilizados para o protótipo. Dessa forma, através da modificação molecular é possível descobrir o grupamento farmacofórico essencial e obter fármacos que apresentem propriedades mais desejáveis que o protótipo, em potência, especificidade, duração de ação, estabilidade e custo de produção.⁽⁴⁷⁾

Diante dessas considerações, nosso interesse também tem se voltado para a obtenção de isoxazolinas biclas piperidínicas e isoxazolinas biclas pirrolidínicas com modificação molecular no radical éster do biciclo.

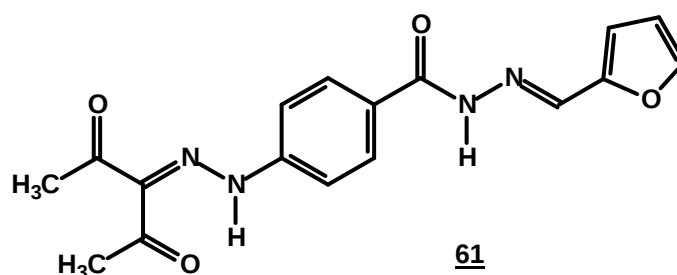
Uma das funcionalizações que tem sido bastante relatada na literatura, pelas suas propriedades farmacológicas, são os derivados de hidrazidas e hidrazonas, que estão envolvidos em inúmeras rotas sintéticas, que visam o potencial biológico dessas substâncias, relatadas representativamente a seguir.⁽⁴⁸⁾

Uma série de hidrazonas, representadas pela estruturas **59** e **60**, derivadas da hidrazida 1,2-benzotiazol, foram sintetizadas por Vicini *et al* e a avaliação biológica revelou uma potente ação antimicrobiana, expressa pelos valores da Concentração Mínima Inibitória (CMI), comprovando a importância do grupo hidrazona para atividade.⁽⁴⁹⁾

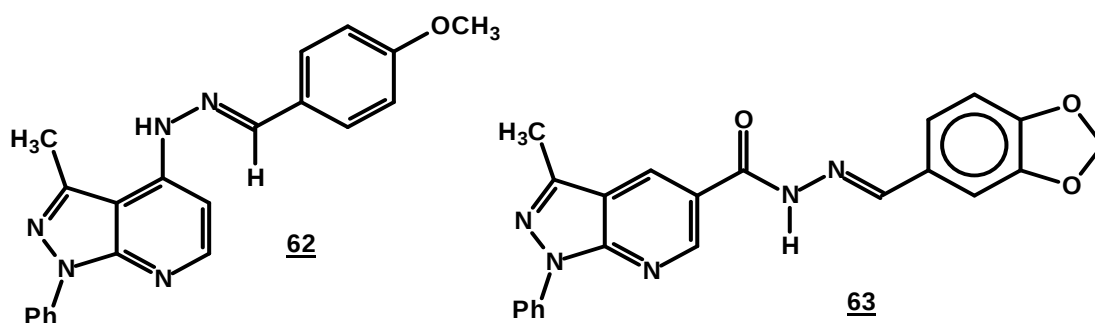


Atividade antibacteriana de hidrazidas e hidrazonas é também relatada por vários outros autores.^(50, 51)

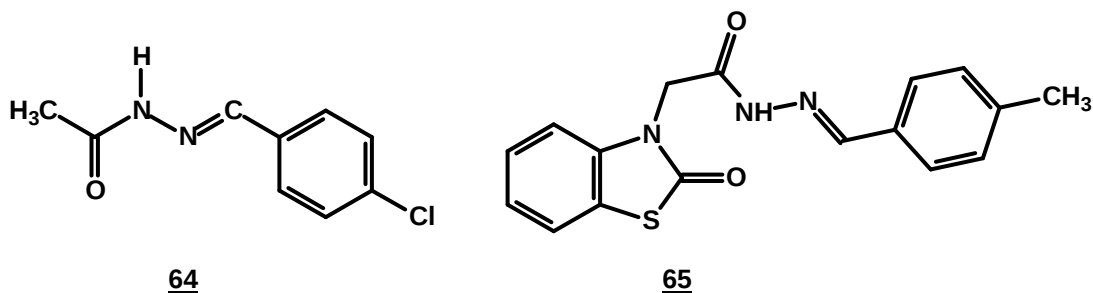
Güniz *et al* relata em vários trabalhos atividade antituberculose para várias hidrazonas. A hidrazona **61** apresenta percentual de inibição de *Mycobacterium tuberculosis* semelhante ao antibiótico rifampicina.^(52, 53, 54)



Barreiro *et al* relataram a síntese de novas arilhidrazonas⁽⁵⁵⁾ e acil-arilhidrazonas,⁽⁵⁶⁾ sendo observados excelentes resultados para atividade analgésica. A analgesia proporcionada pela arilhidrazona **62** foi muito próxima da obtida com a dipirona. Já a analgesia observada com a acil-arilhidrazona **63** foi superior ao efeito da dipirona.



Propriedades anticonvulsivantes também têm sido relatadas para hidrazonas. Dimmock *et al* sintetizaram várias *N*-acetilhidrazonas **64**, oxamoihidrazonas e semicarbazonas, como possíveis candidatas a agentes anticonvulsivantes. Os resultados obtidos revelaram que *N*-acetilhidrazonas são mais promissoras para atividade anticonvulsivante. (57, 58, 59)



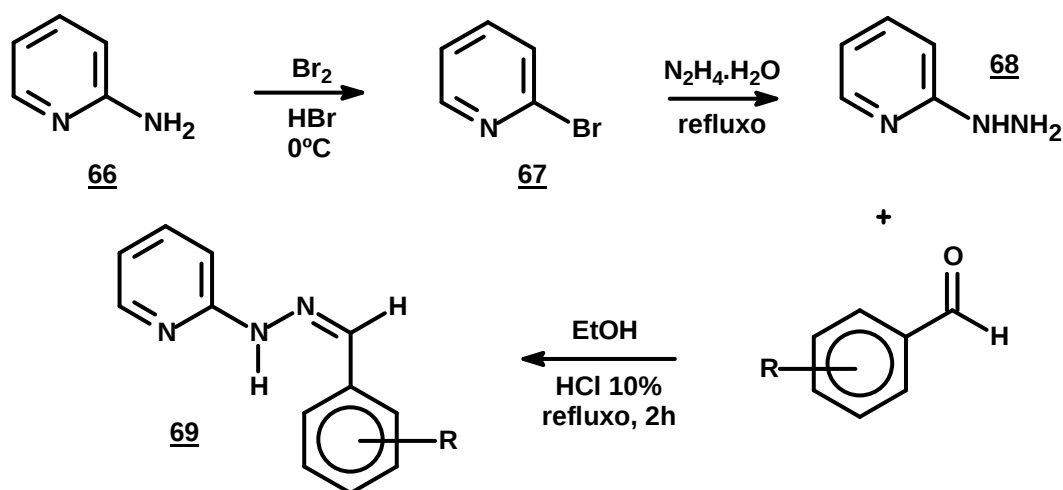
A hidrazona **65** obtida por Çakir *et al* apresentou também atividade anticonvulsivante significativa, sendo evidenciada a importância da porção hidrazona para a atividade. (60)

Sendo conhecidas as atividades farmacológicas das isoxazolinas piperidínicas bicíclicas, como discutido anteriormente, acreditamos que a junção da funcionalidade hidrazona à porção éster da isoxazolina bicíclica, seja de relevância farmacológica para estes inéditos heterociclos.

1.2.1 - OBTENÇÃO DE HIDRAZONAS

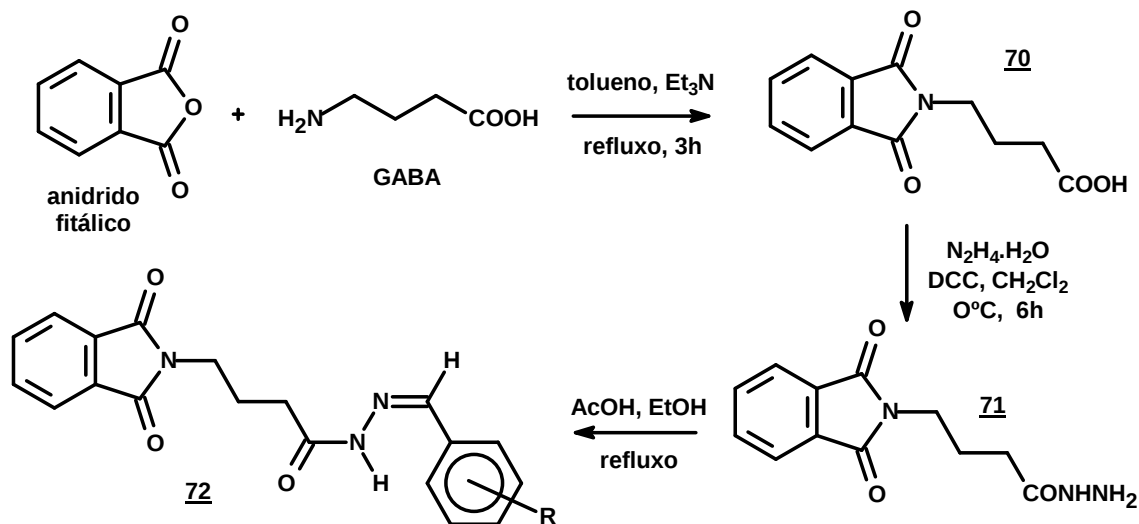
A síntese de hidrazonas é relativamente simples, consistindo basicamente na condensação de hidrazidas e hidrazinas com aldeídos. Devido à importância biológica de hidrazonas, elas são extensivamente descritas na literatura. Alguns exemplos representativos de preparação de hidrazonas são descritos a seguir.

Uma série de 2-piridinil-arilhidrazonas **69** foram sintetizadas por Barreiro *et al*. A aminopiridina **66** foi transformada no correspondente 2-bromoderivado **67**, que em condições de substituição nucleofílica aromática, foi tratado com hidrazina para formar a 2-hidrazidapiridina **68**. Reações de condensação entre as hidrazidas e aril-aldeídos propiciou a formação de hidrazonas **69** em bons rendimentos (esq. 16). (61)



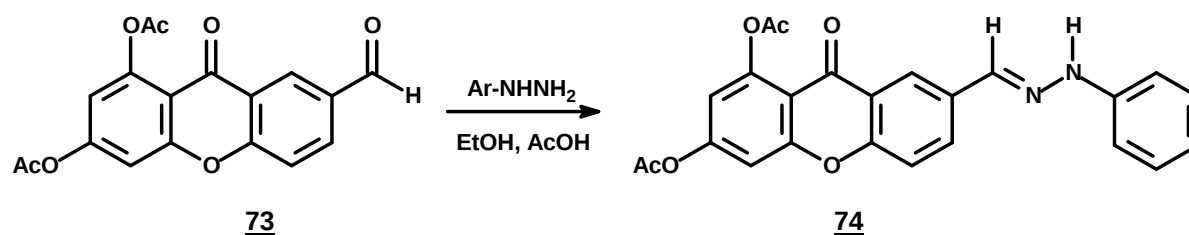
Esquema 16

Grupos farmacofóricos híbridos de fitalimida-GABA/hidrazonas foram obtidos em três etapas. Proteção do GABA (ácido gama-aminobutírico) pela reação com anidrido ftálico forneceu o produto **70**, que foi submetido à condensação com hidrazina, na presença de DCC. A ftoil-GABA/hidrazida **71** formada e aldeídos substituídos foram submetidos à refluxo em etanol e ácido acético glacial por 6 horas para formar as hidrazonas **72**, com rendimentos entre 50% e 78%, dependendo do substituinte no anel aromático (esq. 17).⁽⁶²⁾



Esquema 17

A hidrazona **74** foi sintetizada através da reação de condensação do aldeído **73** com arilhidrazidas (esq. 18). Os reagentes foram solubilizados em etanol e permaneceram em agitação por 15 minutos, seguido por adição de ácido acético catalítico. A mistura reacional permaneceu 2 horas sob refluxo, para formação das hidrazonas em bons rendimentos.⁽⁶³⁾



Esquema 18

1.3 – SÍNTESE ASSIMÉTRICA

Alguns aspectos relevantes de síntese assimétrica são pertinentes na revisão da literatura, visto que, além de derivados híbridos isoxazolinas/hidrazonas, estudos de reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica, serão descritos neste trabalho, visando a obtenção de 2-isoxazolinas diastereoisoméricas e enantioméricas, para posterior investigação biológica.

O conhecimento sobre a existência e a diferença entre enantiômeros data de mais de um século. Mas foi somente com a tragédia da talidomida na década de 60 que o mundo voltou-se para a importância dos estudos e do controle de fármacos enantioméricos.

Atualmente a síntese assimétrica objetiva a preparação de substâncias enantiomericamente puras através da síntese exclusiva ou preferencial de um estereoisômero.

Dois enantiômeros podem apresentar ações diferenciadas nos organismos vivos, levando a diferentes sabores, odores, toxicidade e ações biológicas.⁽⁶⁴⁾

Alguns exemplos clássicos podem ser citados (fig. 07) como o (*R*)-Limoneno que apresenta odor de laranja e (*S*)-Limoneno que apresenta odor de limão. No caso dos fármacos, pode-se destacar o (*S*)-Ibuprofeno que tem ação anti-inflamatória e o (*R*)-Ibuprofeno que não apresenta ação biológica; a (*S*)-Metildopa que tem ação anti-hipertensiva e a (*R*)-Metildopa que não apresenta atividade biológica; a (*R*)-Penicilamina, um fármaco anti-artrite e seu antípoda óptico a (*S*)-Penicilamina que apresenta ação tóxica mutagênica.

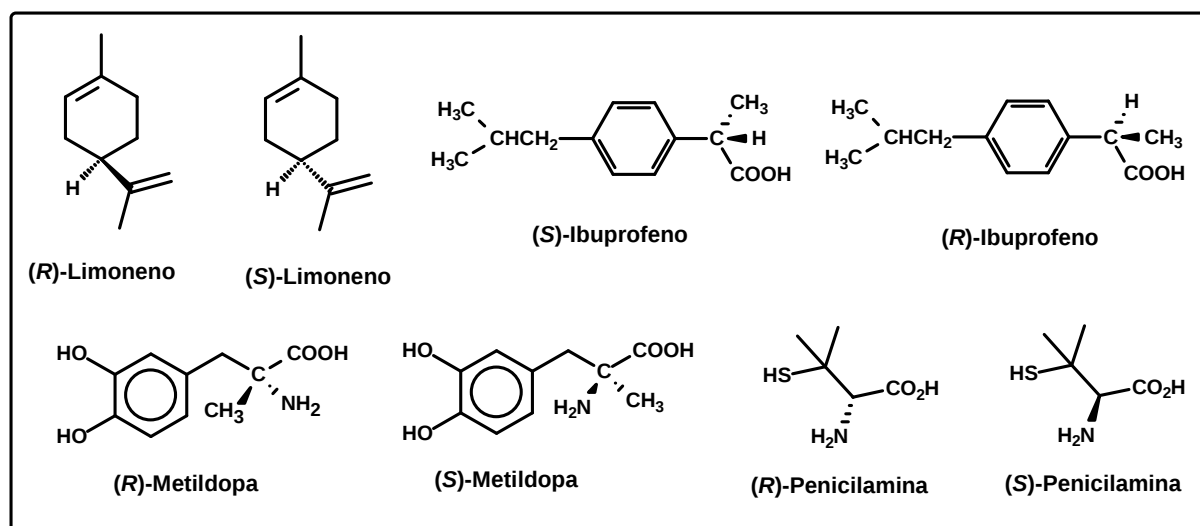


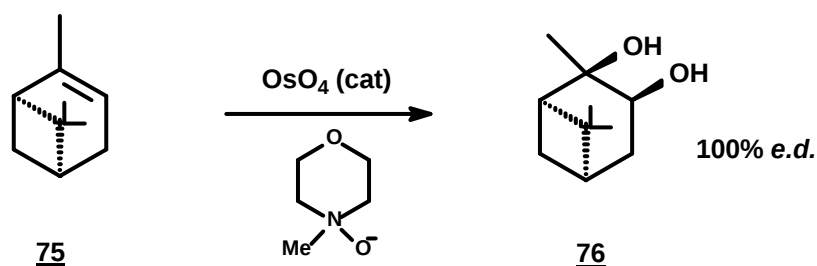
Figura 07: Exemplos de enantiômeros

Esta enantio-diferenciação é baseada nas diferentes propriedades físicas dos diastereoisômeros formados a partir da interação entre os enantiômeros de um substrato e os receptores biológicos, que são macromoléculas quirais.⁽⁶⁵⁾ A síntese assimétrica possibilita a criação de novos centros assimétricos durante as etapas de uma síntese, onde um composto enantiomericamente puro pode ser obtido através do uso de substratos quirais; auxiliares quirais; reagentes quirais e catalisadores quirais.

1.3.1 - USO DE SUBSTRATOS QUIRAIS

Esta foi a primeira metodologia empregada na literatura em síntese assimétrica, sendo por isso, um método de primeira geração.⁽⁶⁵⁾ De fato, esta abordagem foi bastante popularizada por Hannesian no início da década de 1980, durante a síntese total de vários produtos naturais.⁽⁶⁶⁾ Esta metodologia possibilita a formação de novos centros estereogênicos a partir de matérias primas quirais, através de reações diastereosseletivas.

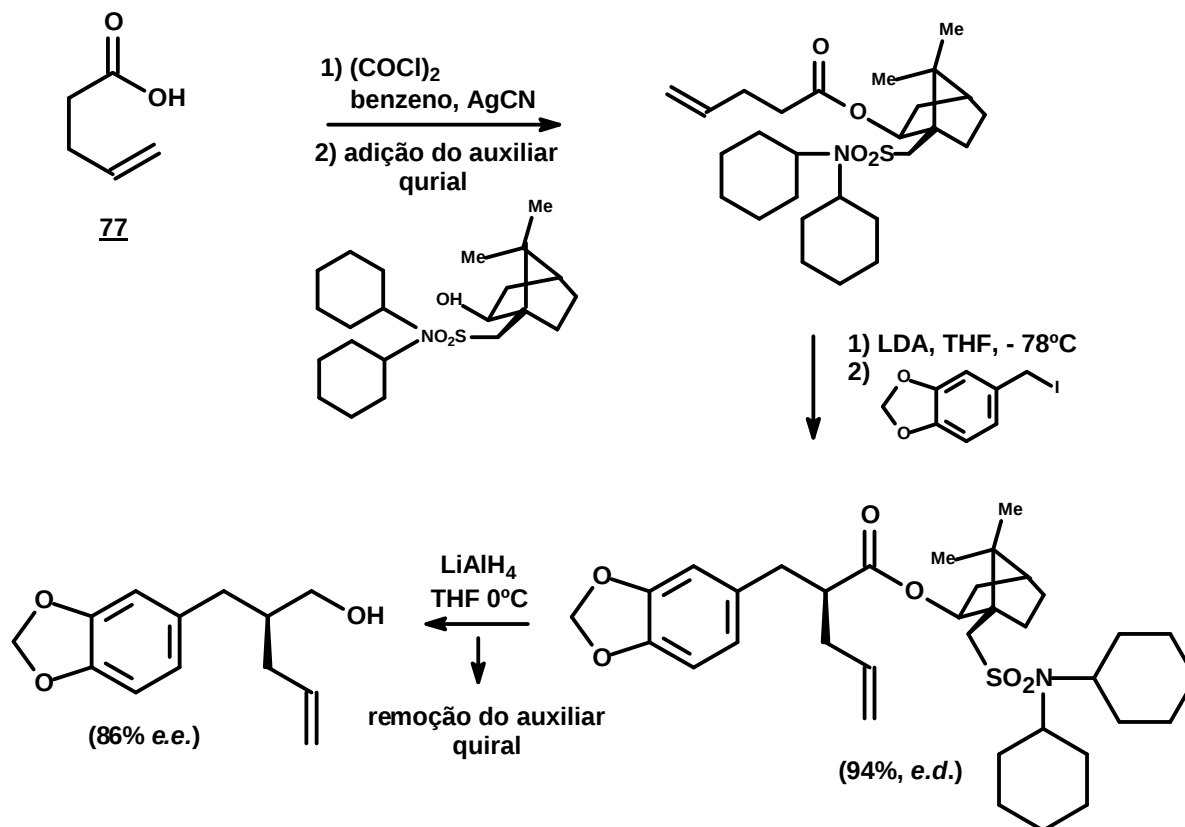
Nessa abordagem, como exemplo, há a transferência de quiralidade do substrato quiral **75** para o produto **76**. O curso estereoquímico da reação é dirigido pelos centros quirais já presentes no substrato quiral **75** (esq. 19).



Esquema 19

1.3.2 - AUXILIARES QUIRAIS

O emprego de auxiliares quirais é um método de segunda geração em síntese assimétrica e foi desenvolvido em meados da década de 80. Esta metodologia permite a formação de centros assimétricos a partir de matérias-primas aquirais 77, através de reações diastereosseletivas, conforme exemplo mostrado no esquema 20.



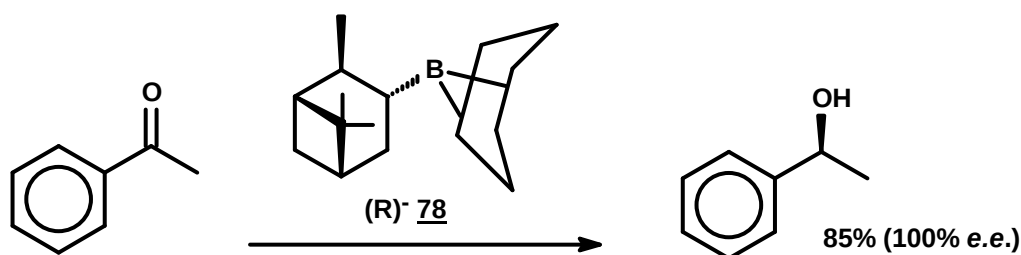
Esquema 20

Para o uso em síntese assimétrica, um bom auxiliar quiral deve apresentar certas características: a adição e a remoção do auxiliar devem ser efetuadas por reações simples com elevados rendimentos químicos; a etapa de transferência de quiralidade deve ocorrer em elevadas diastereosseletividade e finalmente, auxiliares quirais enantioméricos devem conduzir, após a remoção do auxiliar, aos produtos correspondentes em estereosseletividades semelhantes. Embora a utilização de auxiliares quirais seja bastante empregada em síntese assimétrica, a necessidade de duas etapas adicionais (a adição e a remoção do auxiliar quiral) é uma característica pouco atraente do método.

1.3.3 - REAGENTES QUIRAIS

O uso de reagentes quirais é um método de terceira geração.⁽⁶⁵⁾ Nessa abordagem, um substrato pró-quiral é diretamente convertido a um produto quiral, pelo uso de um reagente

quiral, através de reações enantiosseletivas. Como exemplo, o reagente quiral (*R*)-alpino-borano **78** é largamente empregado na redução de cetonas, em que um dos substituintes da carbonila (Ph) seja muito mais volumoso do que o outro (CH₃) (esq. 21).

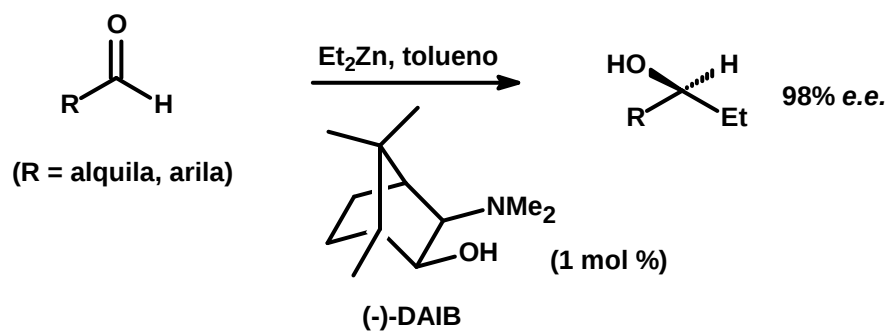


Esquema 21

1.3.4 - CATALISADORES QUIRAIS

O emprego de catalisadores quirais é uma abordagem de quarta geração em síntese assimétrica.⁽⁶⁵⁾ Nessa abordagem, um substrato pró-quiral é diretamente convertido a um produto quiral pelo uso de um reagente aquiral na presença de um catalisador quiral, os quais podem ser divididos em duas classes: sintéticos (por exemplo, organometálicos) e biológicos (microorganismos e enzimas).

O esquema 22 exemplifica este método, no qual o aldeído pró-quiral é reduzido ao álcool quiral por Et₂Zn (aquiral), utilizando-se o catalisador quiral (-)-DAIB.



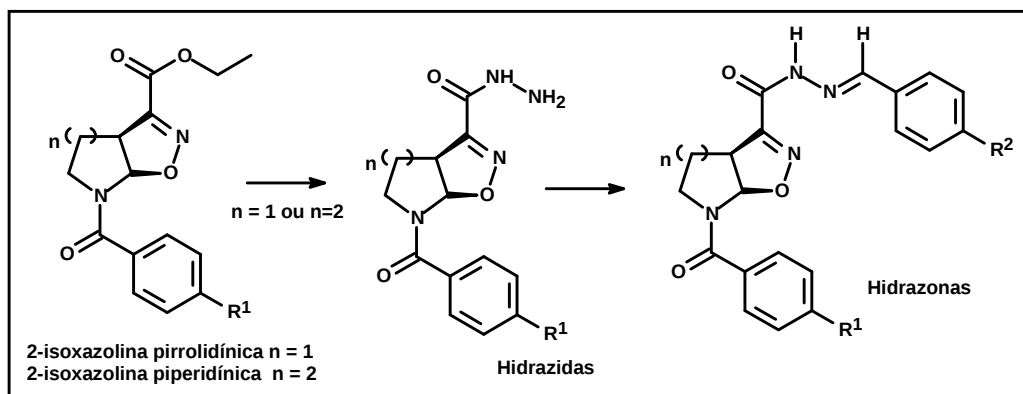
Esquema 22

Algumas dificuldades maiores se impõem quanto ao uso de catalisadores quirais em síntese assimétrica: uma é devida ao número até hoje restrito de reações estudadas.⁽⁶⁷⁾ Outra diz respeito aos custos dos ligantes quirais, especialmente quando esses são usados em quantidades estequiométricas.

2 – OBJETIVOS

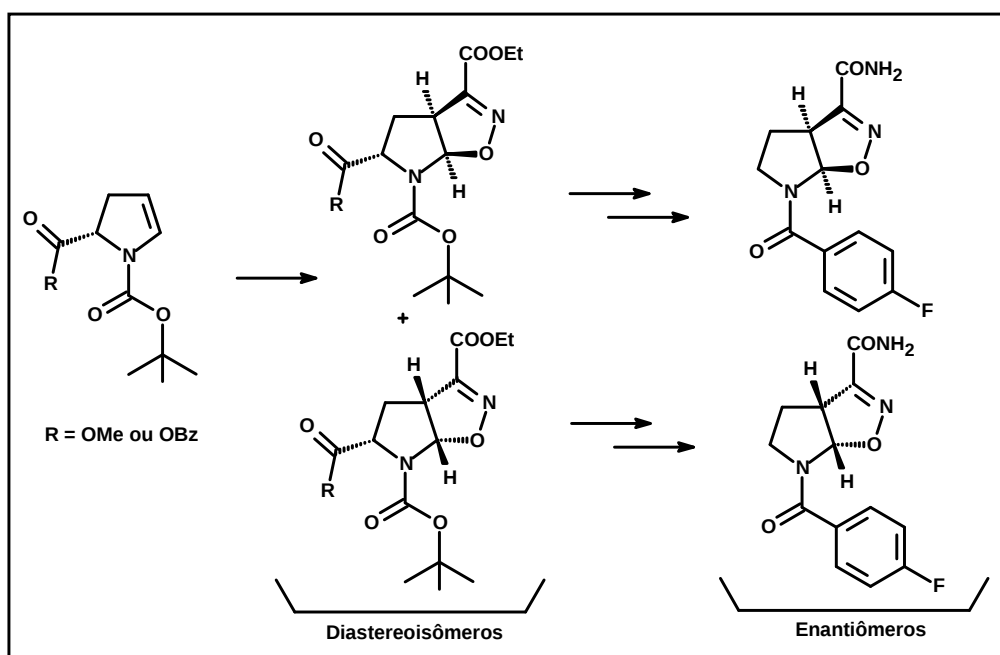
2.1 – OBJETIVOS GERAIS

- ❖ Ampliação da aplicação sintética e obtenção de novas substâncias bioativas, hidrazidas e acil-aril-hidrazonas, derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa, assim como avaliação das potenciais atividades biológicas das mesmas (esq. 23).



Esquema 23

- ❖ Desenvolvimento de nova metodologia sintética, envolvendo as reações de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica de enecarbamatos endocíclicos quirais de 5 membros com *N*-óxido de nitrila e aplicação sintética na obtenção das amidas *N*-(*p*-fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas enantiomericamente puras (esq. 24).



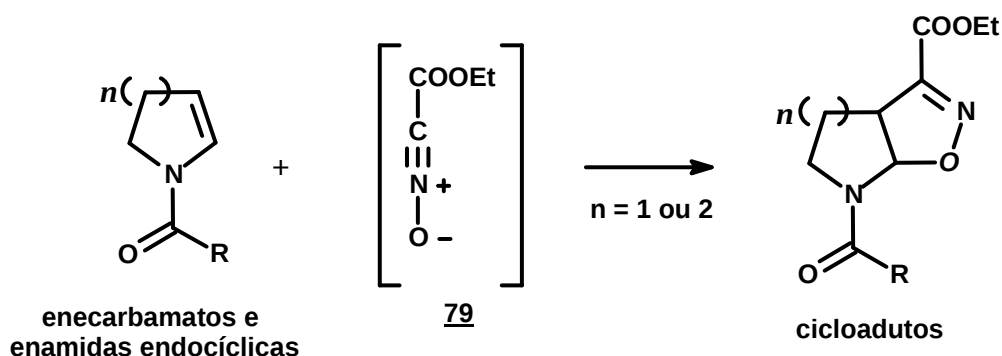
Esquema 24

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Sintetizar hidrazidas e acil-aril-hidrazonas derivadas de *N*-benzoil-2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e *N*-benzoil-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina;
- 2) Síntese enantiosseletiva de *N*-(*p*-fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas;
- 3) Determinar as propriedades físico-químicas das novas substâncias, tais como: R_f , ponto de fusão;
- 4) Elucidar as estruturas das novas substâncias obtidas por técnicas espectrométricas RMN de ^1H , RMN de ^{13}C (1D e 2D), Infra-vermelho (IV-FT), de Massas de alta resolução (MS);
- 5) Determinar a atividade anti-inflamatória das novas hidrazonas isoxazolínicas e das *N*-(*p*-fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas enantiomericamente puras;
- 6) Determinar a atividade analgésica das novas hidrazonas isoxazolínicas, em modelo experimental de analgesia.

3 – METODOLOGIA UTILIZADA

Recentemente foi desenvolvido em nosso grupo de pesquisa uma nova metodologia sintética, envolvendo reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos (R= OEt, OBn) e enamidas endocíclicas (R= Arila) de 5 e de 6 membros (n = 1 ou 2) com *N*-óxidos de nitrila **79** (esq. 25). Os cicloadutos obtidos, contendo os novos heterobiciclos: 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina foram aplicados na obtenção de derivados potencialmente bioativos. ⁽²⁾



Esquema 25

As 2-isoxazolinazabicíclicas (fig. 08) possuem dois anéis fundidos: uma 2-isoxazolina e uma piperidina **80**, e uma 2-isoxazolina e uma pirrolidina **81**, constituindo em dois novos heterociclos, de acordo com pesquisas na literatura.

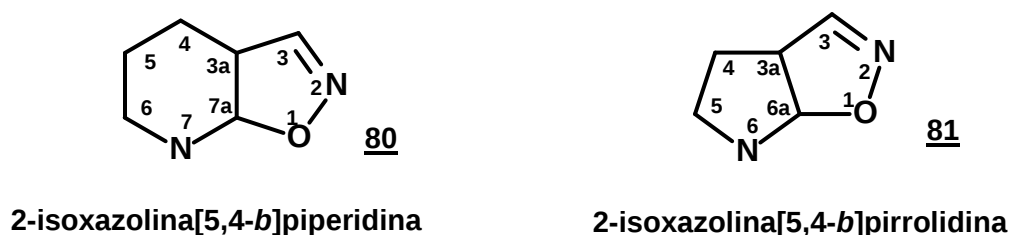


Figura 08 – Nomenclatura dos núcleos isoxazolínicos

Dos vários derivados e aplicações sintéticas do novo heterociclo, aqueles substituídos com grupamentos benzoila no nitrogênio N7 e carboxamida na posição C3 **1** e **2** (fig. 09), apresentaram excelentes atividades biológicas, como: anti-inflamatória (teste específico) e indícios de possível atividade analgésica (testes gerais de toxicidade aguda). ⁽²²⁾

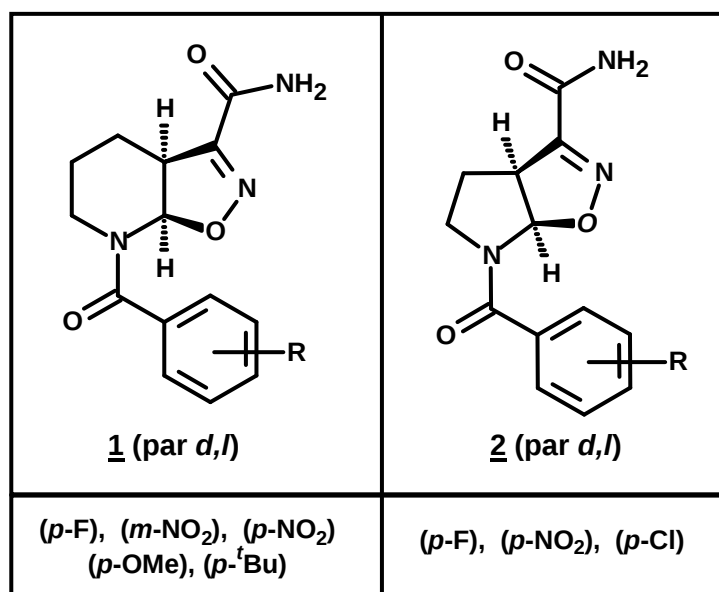


Figura 09 - Amidas isoxazolínicas racêmicas

A escolha dos substituintes *N*-benzoila e carboxamida dos derivados **1** e **2** se deveu à tentativa de induzir a atividade anti-inflamatória dos mesmos, fazendo certa analogia estrutural ao anti-inflamatório de referência *Indometacina* **82** e *salicilamida* **83** (fig. 10), mesmo nosso novo heterociclo não apresentando propriedades aromáticas, que *a priori* pareciam ser necessárias para a atividade destes fármacos anti-inflamatórios não esteroidais **82** e **83**.

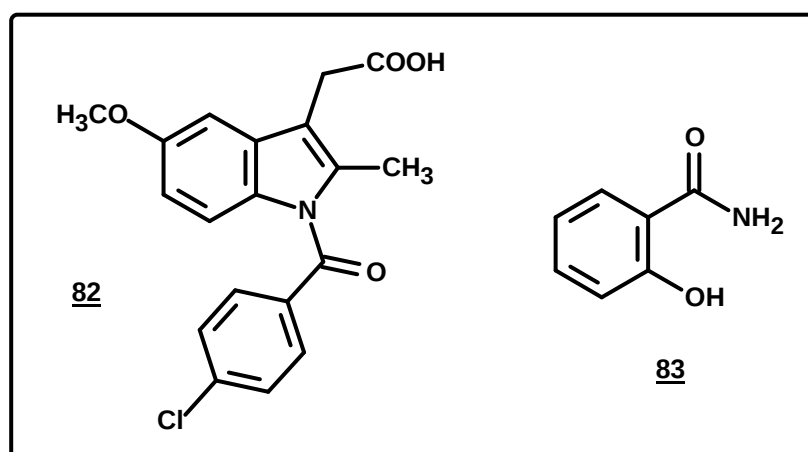


Figura 10 – Fármacos anti-inflamatórios de referência

Diante desses excelentes resultados apresentados pelas substâncias **1** e **2**, com relação à atividade anti-inflamatória e toxicidade aguda, realizamos nesse trabalho uma ampliação e continuação no desenvolvimento de novos anti-inflamatórios e também possivelmente novos analgésicos, utilizando nossa metodologia sintética desenvolvida.

Este trabalho foi realizado em duas partes distintas, que terão suas respectivas metodologias descritas em seguida.

I -Estudo Químico: Síntese Orgânica.

I-A Obtenção de hidrazidas e acil-aril-hidrazonas derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina

As possíveis hidrazidas e acil-aril-hidrazonas foram obtidas a partir do núcleo base, o novo heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina. As reações para obtenção de hidrazidas e hidrazonas são freqüentemente descritas na literatura e de fácil execução.

Em seguida serão apresentadas as rotas sintéticas para obtenção das hidrazidas e hidrazonas, derivadas das 2-isoxazolin[5,4-*b*]piperidina e das 2-isoxazolin[5,4-*b*]pirrolidinas (fig. 11).

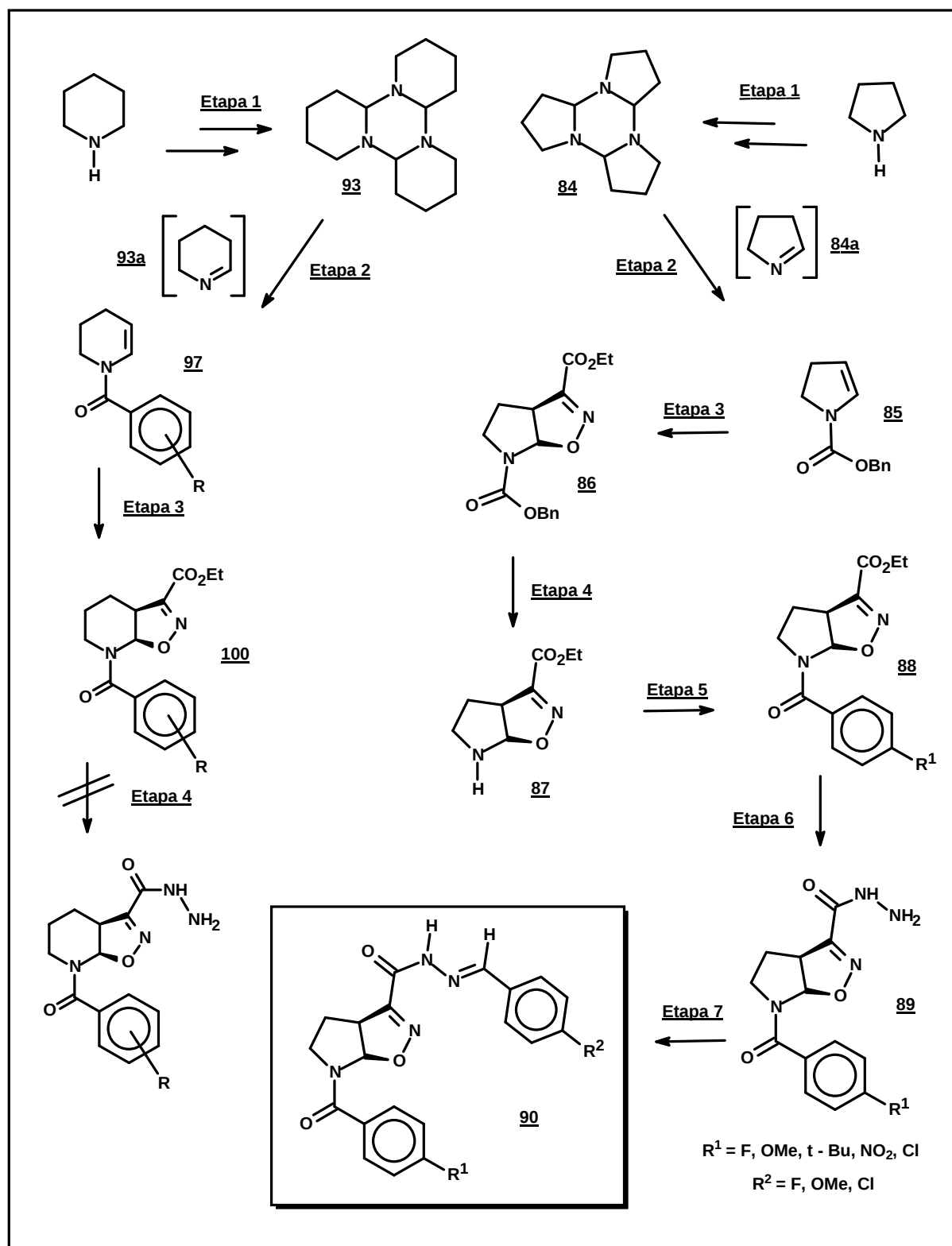


Figura 11 – Rota sintética para obtenção das hidrazonas derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina e 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina.

A figura 11 mostra a sequência de reações envolvidas em nosso trabalho, visando à obtenção de hidrazidas e hidrazonas derivadas dos núcleos isoxazolínicos pirrolidínicos e piperidínicos.

Na síntese das hidrazidas **89** e hidrazonas **90** derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina, o enecarbamato *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina **85** foi obtido a partir da *N*-acilação da 1-pirrolina **84a**, que por sua vez foi obtida a partir de seu respectivo trímero **84** (etapas 1 e 2). As isoxazolininas bicíclicas pirrolidínicas esterificadas **86**, foram obtidas a partir do respectivo enecarbamato **85** através da reação de cicloadição 1,3-dipolar com *N*-óxido de nitrila. O cicloaduto **86** foi submetido à reação de hidrogenólise para remoção do grupamento benziloxicarbonoila, formando o produto **87**, seguida de *N*-acilação do nitrogênio pirrolidínico com cloretos de benzoila *p*-substituídos.

A sexta etapa envolveu a reação de **88** com hidrazina para obtenção das hidrazidas **89**, que em seguida, foram submetidas às reações de condensação com aldeídos aromáticos substituídos, visando a obtenção das hidrazonas **90**, que possuem dois sítios distintos de substituição R¹ e R².

Os substituintes “R” variam desde grupamentos elétron atratores a elétron doadores, para averiguarmos possíveis efeitos eletrônicos nas atividades biológicas observadas.

Na rota sintética para obtenção das hidrazidas e hidrazonas, derivadas do heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina, as enamidas *N*-(benzoil)-2-piperideína **97** foram obtidas a partir da *N*-benzoilação da 1-piperideína **93a**, que por sua vez foi obtida a partir de seu respectivo trímero **93** (etapa 1 e 2). As isoxazolininas bicíclicas piperidínicas esterificadas **100**, foram obtidas, a partir das respectivas enamidas **97**, através da reação de cicloadição 1,3-dipolar com *N*-óxido de nitrila.

I-B Síntese de *N*-(*p*-fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas, enantiomericamente puras.

A metodologia desenvolvida para a síntese das amidas *N*-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina **1**, e *N*-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina **2**, que envolveu o estudo da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas endocíclicas com *N*-óxidos de nitrila, propiciou a obtenção da mistura racêmica de **1** e também de **2** (ver pag. 01) respectivamente (síntese racêmica).

Na etapa chave do processo, que envolveu a reação de cicloadição 1,3-dipolar, dois centros assimétricos foram formados, com configuração relativa *syn*, sem seletividade de face, portanto dois diastereoisômeros foram formados.

As amidas isoxazolínicas **1** e **2** (pag. 01) se mostraram intensamente ativas *in vivo*, como por exemplo, atividade anti-inflamatória e possivelmente analgésica. Devido às estruturas bicíclicas serem nitidamente curvas, apresentando um lado côncavo e outro convexo, possivelmente a interação de cada um dos enantiômeros (fig. 12) com os bio-receptores, responsáveis pelas atividades apresentadas, não se processará da mesma forma.

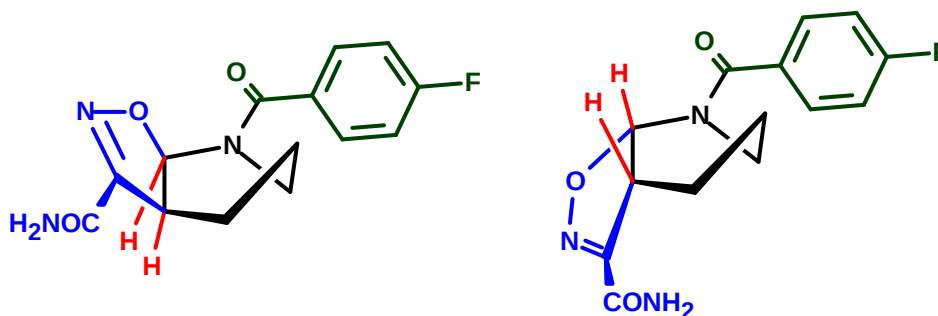


Figura 12 - Par de enantiômeros

Uma metodologia sintética, que envolve uma reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica, possibilitou a obtenção dos enantiômeros citados acima. Como pode ser observado na rota sintética para obtenção dos enantiômeros (fig. 13), partindo do ácido L-pirolglutâmico **103**, obtido comercialmente, primeiramente protegeu-se a função ácido, como éster benzílico, formando o produto **104**. Em seguida, o nitrogênio lactâmico de **104** foi protegido com o grupamento *tert*-butoxicarbonila (Boc), formando o produto protegido **105**. Redução da carbonila do anel de **105** levou a formação de um lactamol **106**. Posterior eliminação da hidroxila do lactamol conduziu à formação do enecarbamato quiral **107**. Utilizando o enecarbamato quiral, possuindo um centro assimétrico com configuração absoluta definida, formou-se, através da reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica com *N*-óxido de nitrila - CEFNO (etapa 5), um par de diastereoisômeros **108**. Após separação dos mesmos por cromatografia e remoção do indutor quiral, que ocorreu em 3 etapas, obteve-se portanto os enantiômeros separados **113**.

Reação de remoção do grupamento Boc, seguida de acilação do nitrogênio com o grupo *p*-fluorobenzoila e por último amonólise do éster etílico (etapa 11), propiciou a formação das amidas quirais **116**, enantiomericamente puras, para averiguação das respectivas atividades biológicas, isoladamente. Após separação dos diastereoisômeros, todas as etapas subsequentes foram realizadas separadamente para cada diastereoisômero obtido.

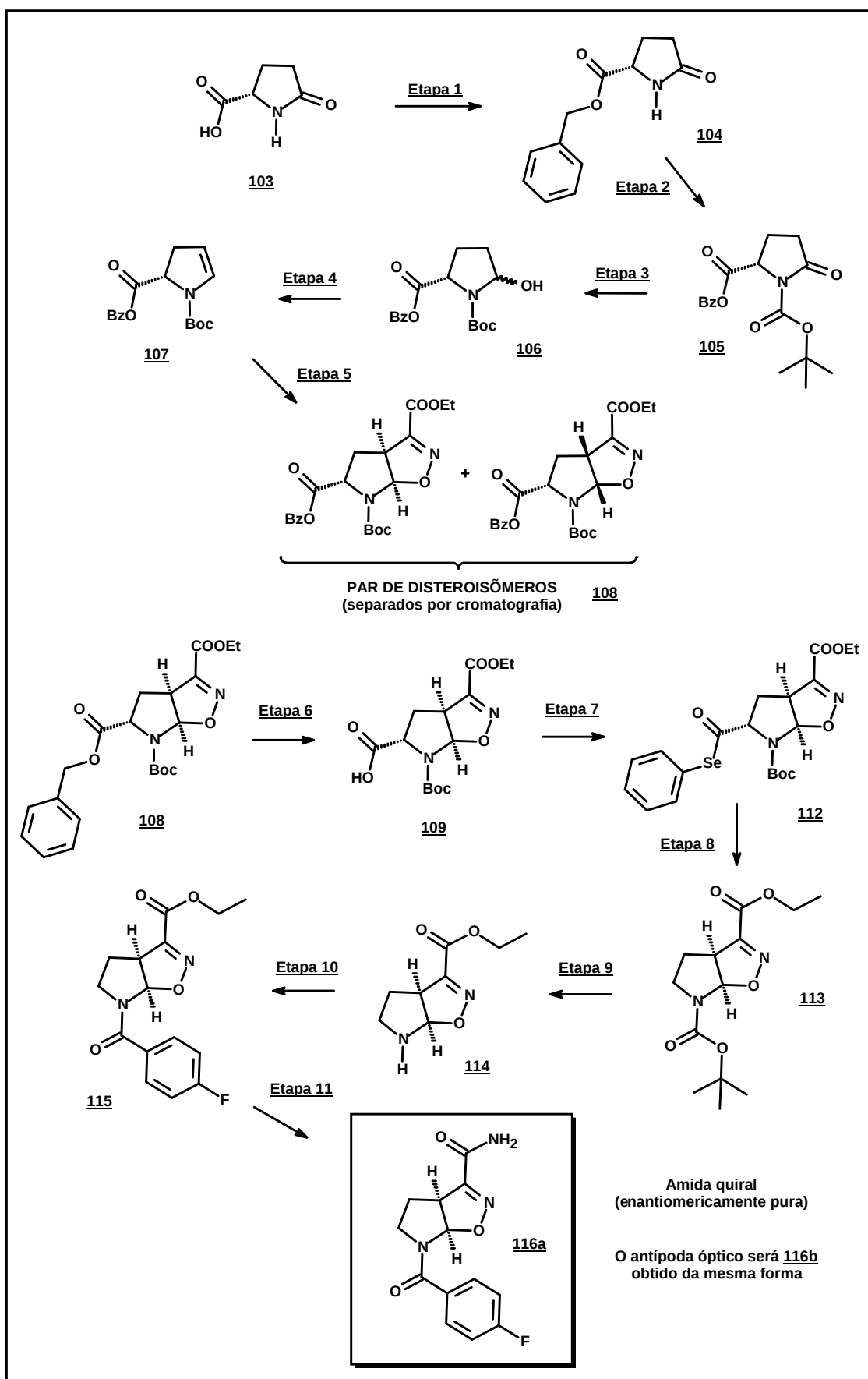


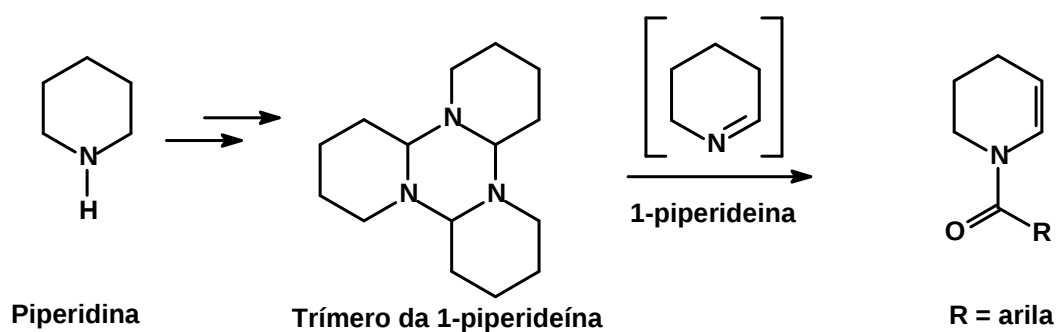
Figura 13 - Rota sintética para obtenção das amidas *N*-(*p*-fluorobenzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas enantiomericamente puras.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - SÍNTESE DAS HIDRAZIDAS E HIDRAZONAS DERIVADAS DE *N*-(BENZOIL)-2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIPERIDINA

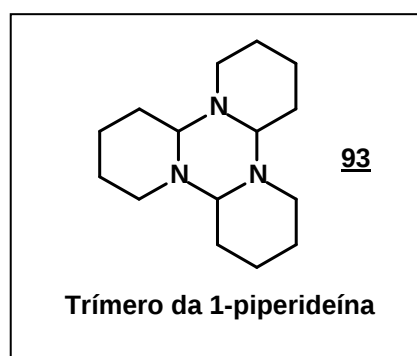
Enamidas podem ser obtidas a partir da *N*-acilação da 1-piperideína. Devido à sua instabilidade, ela é formada e *N*-acilada *in situ* a partir do seu respectivo trímero. O trímero da 1-piperideína, por apresentar uma boa estabilidade, pode ser sintetizado em escala multi-gramas e armazenado por longo período.

Diante do exposto, partimos para a obtenção do trímero da 1-piperideína (esq. 26), que foi preparado nas três etapas descritas a seguir:



Esquema 26

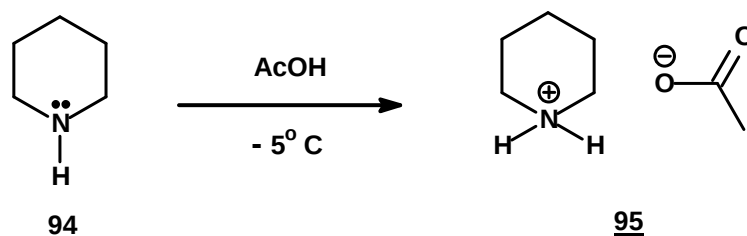
4.1.1 - PREPARAÇÃO DO TRÍMERO DA 1-PIPERIDEÍNA 93 ⁽⁶⁸⁾



1ª Etapa: Obtenção do acetato de piperidínio 95

Nesta etapa foi obtido o acetato de piperidínio 95, precursor da *N*-cloro piperidina 96.

A piperidina **94**, disponível comercialmente, foi submetida à reação com ácido acético glacial, segundo as condições especificadas abaixo, obtendo-se o respectivo sal. Por ser uma reação quantitativa, o produto foi utilizado sem prévia purificação (esq. 27).

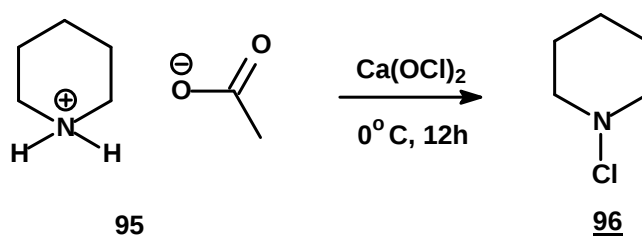


Esquema 27

2ª Etapa: Obtenção da *N*-cloropiperidina **96**

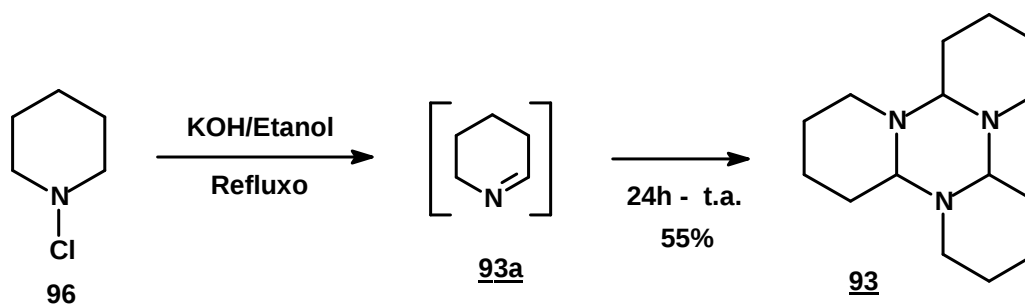
O acetato de piperidínio **95**, foi submetido à reação com hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$), resultando na *N*-cloração da piperidina **96**, através de um mecanismo radicalar (esq. 28).

A solução de hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$), foi preparada segundo métodos descritos na literatura,⁽⁶⁸⁾ a partir do hipoclorito de cálcio HTH para piscinas (65%). O doseamento da solução foi feito pelo método iodométrico (KI , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).



Esquema 28

3ª Etapa: Obtenção do Trímero da 1-piperideína **93**



Esquema 29

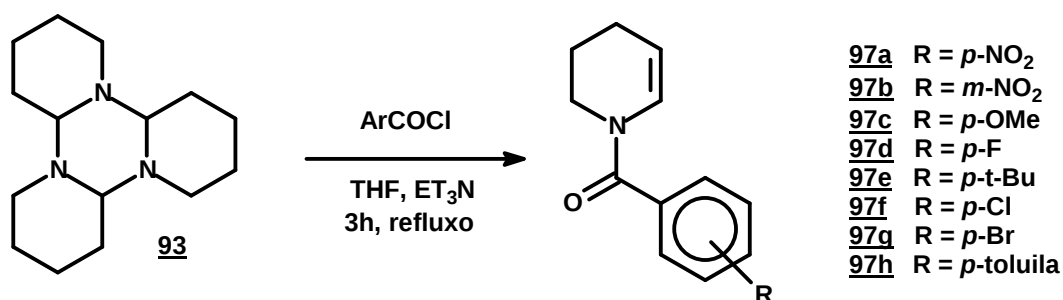
A *N*-cloropiperidina **96** reage com o hidróxido de potássio, convertendo-se na 1-piperideína **93a**. A 1-piperideína **93a**, que é bastante instável, sofre trimerização no meio reacional, formando o trímero da 1-piperideína **93** (esq. 29).

Cristais amarelos do trímero, devidamente caracterizados por métodos espectrométricos (RMN ^{13}C), foram obtidos por cristalização em acetona resfriada à -20°C , com um rendimento global de 42% a partir da piperidina, conforme a literatura. ⁽⁶⁸⁾

4.1.2 - SÍNTESE DAS ENAMIDAS ENDOCÍCLICAS DE 6 MEMBROS **97** ⁽⁶⁹⁾

A síntese das enamidas endocíclicas de seis membros, a partir do seu respectivo trímero (da 1-piperideína), foi baseada em uma adaptação da síntese dos homólogos de 5 membros, ⁽⁶⁸⁾ visto que o mesmo procedimento da literatura não é apropriado para a série de 6 membros, com o qual se obtém rendimentos de apenas 3%.

Nesta etapa, através da destrimerização do trímero da 1-piperideína e adição do agente *N*-acilante, sob refluxo, obteve-se as enamidas endocíclicas de 6 membros **97a-h** (esq. 30). Os agentes acilantes utilizados foram os respectivos cloretos de benzoila, com substituintes no anel aromático em posições para ou meta, conforme pode ser visto no esquema 30.



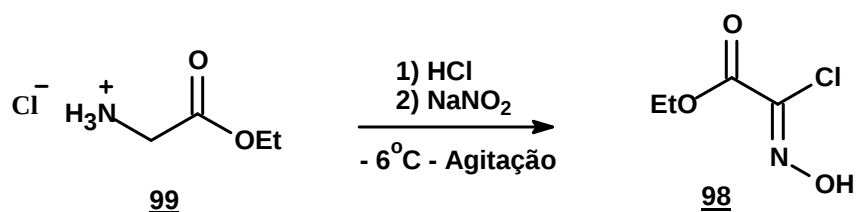
Esquema 30

Através da variação dos citados substituintes, sendo estes elétron-doadores ou elétron-retiradores, foi possível obter as respectivas enamidas com rendimentos variando entre 93 - 98%, com propriedades estéreo-eletrônicas distintas.

4.1.3 - SÍNTESE DO CLOROOXIMIDOACETATO DE ETILA 98, PRECURSOR DO N-ÓXIDO DE NITRILA – CEFNO 79⁽⁷⁰⁾

O *N*-óxido de nitrila - CEFNO, utilizado na reação de cicloadição 1,3-dipolar, foi obtido *in situ*, através do seu precursor clorooximidoacetato de etila 98.

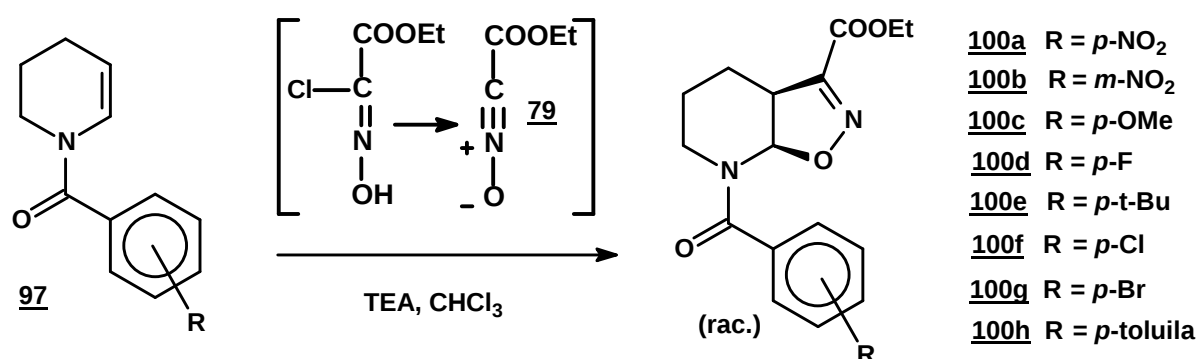
O precursor do *N*-óxido de nitrila, clorooximidoacetato de etila 98, foi preparado através da oxidação do cloridrato da glicina esterificada 99 por NaNO₂, em meio ácido (HCl), (esq. 31).



Esquema 31

4.1.4 - REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR DE ENAMIDAS ENDOCÍCLICAS DE 6 MEMBROS COM O N-ÓXIDO DE NITRILA – CEFNO⁽²⁾

A reação de cicloadição 1,3-dipolar entre enamidas de 6 membros e o *N*-óxido de nitrila “CEFNO”, constitui a etapa chave do processo⁽²⁾ (esq. 32). Os novos heterociclos obtidos, 100a-h são potenciais intermediários na preparação de inúmeras substâncias com atividade biológica.



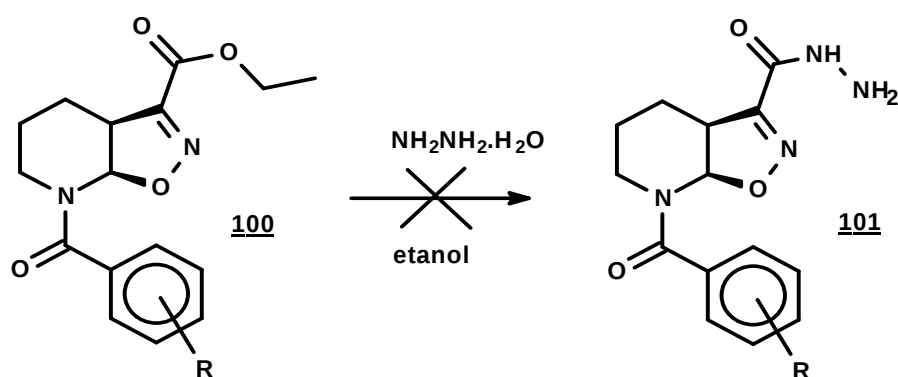
Esquema 32

As reações de cicloadição das enamidas 97 com CEFNO 79, apesar de apresentarem rendimentos de moderados para bons, apresentam percentuais de conversão aos respectivos cicloadutos de aproximadamente 100%, devido à total recuperação em coluna cromatográfica

das enamidas que não reagiram. Dessa forma têm-se reações de caráter praticamente quantitativo, com relação ao percentual de conversão.

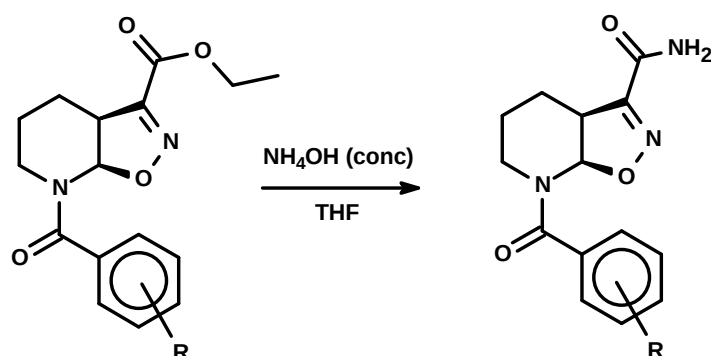
4.1.5 - SÍNTESE DAS HIDRAZIDAS DERIVADAS DO HETEROBICICLO 2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIPERIDINA

As tentativas de síntese das hidrazidas de 6 membros, partindo dos cicloadutos **100**, com hidrazina 80% e etanol como solvente, foi uma surpresa na realização deste trabalho, pois não foi possível obter as hidrazidas **101** (esq. 33).



Esquema 33

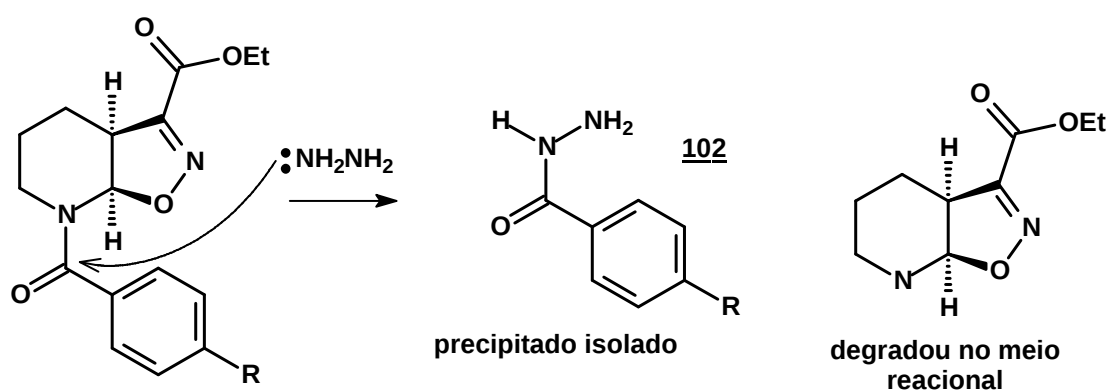
A reação não aconteceu como o esperado, não ocorrendo a formação da função hidrazida na posição 3 do anel isoxazolínico **100**. Considerando nossas reações prévias de amonólise da função éster, na qual as respectivas amidas foram obtidas em ótimos rendimentos⁽²⁾ (esq. 34), acreditávamos que a reação com a hidrazina em substituição à amônia, teria o mesmo comportamento, com a adição do nucleófilo, hidrazina, à carbonila da função éster (esq. 33).



Esquema 34

Nesta série piperidínica, não houve a possibilidade de obtenção das respectivas hidrazonas, devido ao fato de que na tentativa de obtenção das hidrazidas, necessárias para a condensação com os aldeídos, houve a degradação do núcleo isoxazolínico piperidínico no meio reacional, precipitando a hidrazida da porção benzoíla, o que impossibilitou a seqüência sintética dessa série (esq. 35).

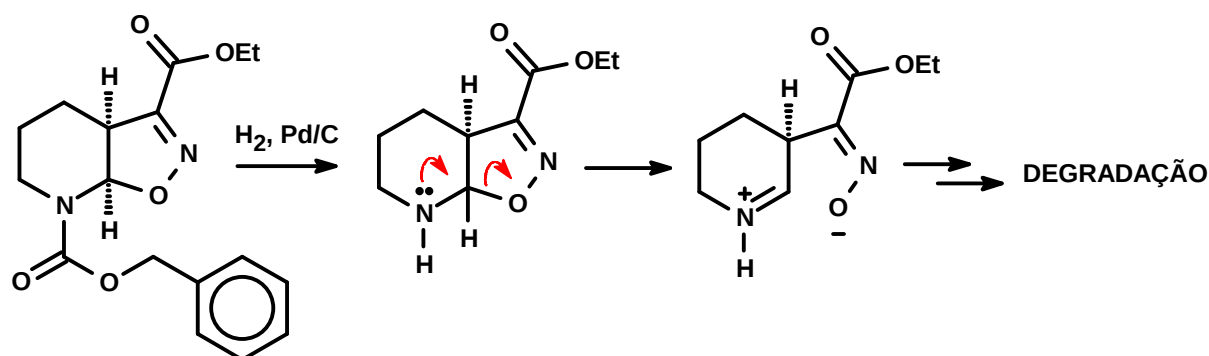
Utilizando a hidrazina como nucleófilo, obteve-se benzoil hidrazidas **102** em rendimentos quantitativos (esq. 35). Ocorreu um ataque da hidrazina na função amida em N7 ao invés do éster em C3. As benzoil hidrazidas **102** foram identificadas por RMN ^1H e ^{13}C .



Esquema 35

A amida piperidínica, provavelmente, está se comportando reacionalmente como uma cetona ativada perante a hidrazina, devido a fatores estéricos. O orbital não ligante do átomo de nitrogênio possivelmente não está em ressonância com a ligação dupla da carbonila, fazendo com que a mesma fique mais reativa do que o éster etílico na posição C3, tendo apenas o efeito indutivo retirador de elétrons do átomo de nitrogênio. Este fato não ocorreu com a série pirrolidínica, ocorrendo o ataque da hidrazina à carbonila da função éster em C3 e não na função amida, como esperado, o que possibilitou a obtenção dos produtos finais sem maiores problemas.

O núcleo isoxazolínico piperidínico livre não foi mais detectado no meio reacional, devido à uma possível degradação, pois já percebemos em reações de tentativa de desproteção por hidrogenólise, que o núcleo isoxazolínico piperidínico desprotegido em N7 desaparece do meio, produzindo vários sub-produtos não identificáveis, detectados pela cromatografia de camada delgada (esq. 36)



Esquema 36

Várias condições reacionais foram utilizadas no intuito de obter a hidrazida **101** (eq. 35). Variações na concentração da hidrazina, solvente e temperatura da reação foram feitas diversas vezes sem obter o produto desejado.

- Hidrazina 20%, solvente etanol, refluxo
- Hidrazina 20%, solvente etanol, t.a.
- Hidrazina 80%, solvente etanol, refluxo
- Hidrazina 80%, solvente etanol, t.a.

Utilizamos também THF como solvente, substituindo o etanol em todas as reações, mas não houve formação da hidrazida **101**. Em nenhuma das reações realizadas conseguiu-se isolar os sub-produtos da porção isoxazolina bicyclica.

4.2 - SÍNTESE DAS HIDRAZIDAS E HIDRAZONAS DERIVADAS DE *N*-(BENZOIL)-2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINA

Os enecarbamatos endocíclicos de 5 membros, material de partida deste trabalho, foram obtidos através da *N*-acilação da Δ^1 -pirrolina **84a**, à -78°C , segundo o método de Kraus⁽⁷¹⁾.

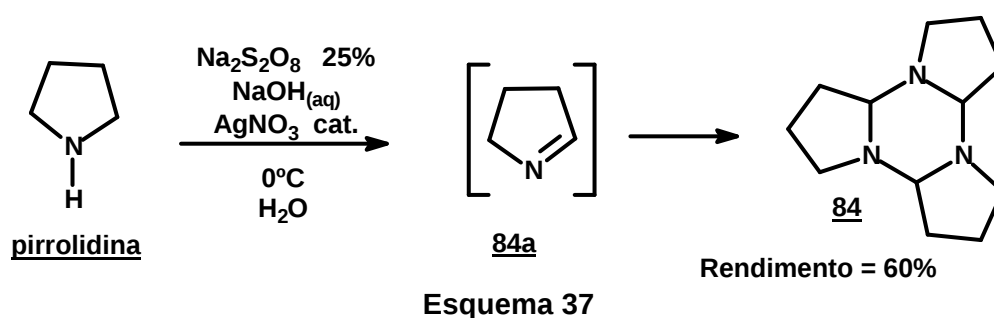
Devido à alta instabilidade da Δ^1 -pirrolina **84a**, seu respectivo trímico **84**, obtido através da oxidação da pirrolidina (obtida comercialmente), é utilizado logo em seguida na obtenção do enecarbamato.

Diante do exposto, partimos para a obtenção do trímico da Δ^1 -pirrolina (eq. 37), que foi preparado segundo as etapas descritas a seguir:

4.2.1 - PREPARAÇÃO DO TRÍMERO DA 1-PIRROLINA 52 ⁽⁷¹⁾

A Δ^1 -pirrolina 84a, intermediário chave na síntese do enecarbamato de 5 membros, foi obtida através da oxidação catalítica da pirrolidina, pelo persulfato de sódio, em meio básico e AgNO_3 como catalisador.

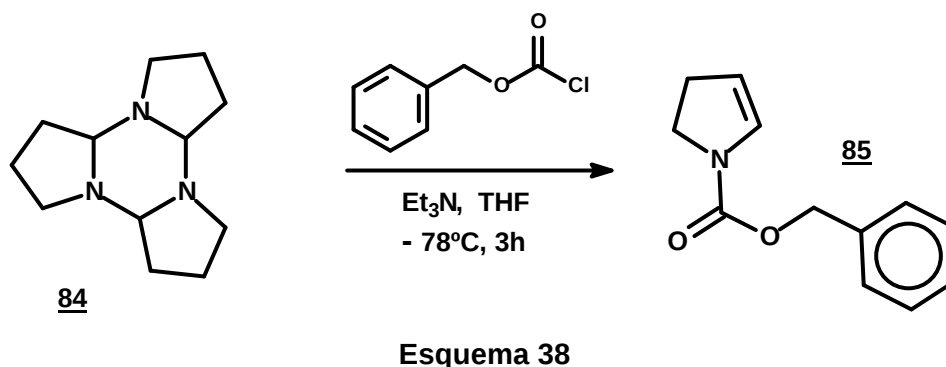
Devido à sua grande reatividade e instabilidade, o monômero 84a trimeriza no meio reacional, formando o respectivo trímero 84, que é isolado convenientemente ⁽⁷¹⁾ (esq. 37).



4.2.2 - SÍNTESE DO ENECARBAMATO *N*-(BENZOLOXICARBONIL)-2-PIRROLINA 85 ^(69, 70)

O enecarbamato *N*-(benziloxicarbonil)-2-pirrolina 85 foi preparado, visando sua aplicação na obtenção das *N*-benzoil-isoxazolinaz aza-bicíclicas, visto que a remoção posterior do grupamento benziloxicarbonila, via hidrogenólise catalítica, foi de fácil execução e tem rendimento quantitativo.

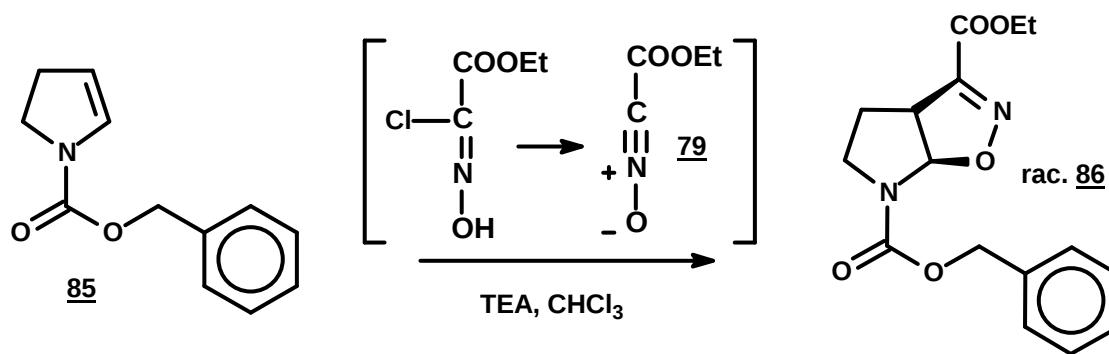
Nesta etapa, o trímero da 1-pirrolina 84 foi solubilizado em THF seco e o monômero 84a, resultante da destrimerização, devido ao aquecimento, foi codestilado com o THF e recolhido à -78°C , temperatura na qual se mantém estável. Ainda à -78°C e na presença de trietilamina, o agente acilante, cloroformato de benzila, foi adicionado lentamente, obtendo-se o respectivo enecarbamato *N*-benziloxicarbonil-2-pirrolina 85, com 65% de rendimento (esq. 38).



4.2.3 - REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR DO ENECARBAMATO ENDOCÍCLICO DE 5 MEMBROS **85** COM O *N*-ÓXIDO DE NITRILA – CEFNO **79**

As reações de cicloadição 1,3-dipolar do enecarbamato *N*-benziloxycarbonil-2-pirrolina **85** com *N*-óxido de nitrila foi bem sucedida em nosso trabalho. Isto se deve provavelmente à grande reatividade e propriedades eletrônicas do dipolo *N*-óxido de nitrila, bem como a alta reatividade da ligação dupla do enecarbamato, se comportando como uma enamina relativamente desativada.

A reação de cicloadição 1,3-dipolar entre enecarbamatos endocíclicos de 5 membros e o *N*-óxido de nitrila “CEFNO” **79**, constitui a etapa chave do processo⁽²⁾ (esq. 39).



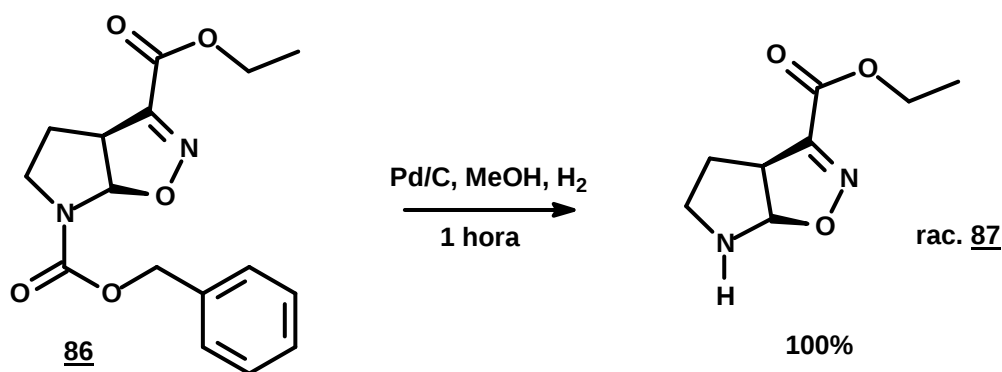
Esquema 39

A isoxazolina pirrolidínica bicíclica **86**, foi obtida com 70% de rendimento e devidamente caracterizada por métodos espectrométricos.

A análise de cromatografia em camada delgada em vários sistemas de eluentes, assim como elucidação espectrométrica dos produtos reacionais, indicam a formação de um único produto na reação de cicloadição, confirmando a diastereo e regioseletividade esperadas, segundo o estudo teórico da reação, havendo a formação de um único par *d,l*, de configuração relativa *cis*.⁽³⁾

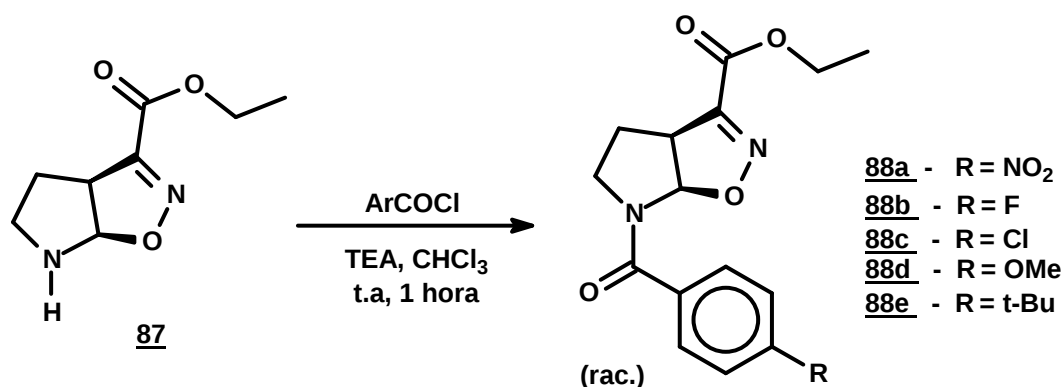
4.2.4 - REAÇÃO DE DESPROTEÇÃO DO NITROGÊNIO PIRROLIDÍNICO DE **86**

A reação de hidrogenólise do grupamento CBz do heterobícclo **86**, catalisada por Pd⁰ (esq. 40), é bem conhecida e dominada pelo grupo de pesquisa, apresentando rendimentos quantitativos.



A formação da amina livre propiciou a introdução dos substituintes benzoila para-substituídos em N6 na etapa posterior. A 2-isoxazolina pirrolidínica **87**, agora sem o grupamento protetor CBz, foi utilizada diretamente, sem prévia purificação, na reação subsequente.

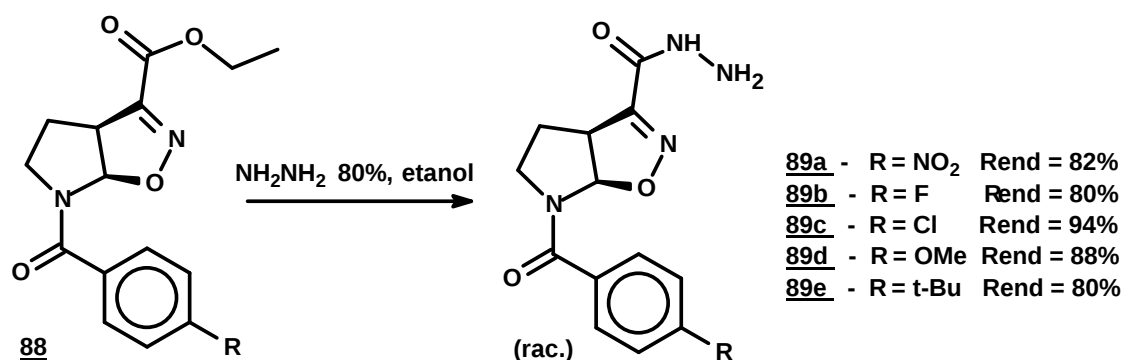
4.2.5 - REAÇÃO DE ACILAÇÃO DO NITROGÊNIO PIRROLIDÍNICO DE **87** COM CLORETOS DE BENZOILA *p*-SUBSTITUÍDOS



A isoxazolina pirrolidínica **87** foi submetida à *N*-acilação com os respectivos cloretos de benzoila *p*-substituídos (esq. 41). A reação foi realizada em clorofórmio seco, na presença de trietilamina, à temperatura ambiente, atmosfera de argônio e agitação vigorosa. Nesta etapa obteve-se rendimentos de 80% a 93%, com formação de cinco isoxazolinias pirrolidínicas *N*-aciladas **88a-e** com variação dos substituintes em R (esq. 41).

Escolheu-se tais substituintes, com o intuito de variar as propriedades estereoeletrônicas das *N*-benzoil-isoxazolinias azabíclicas.

4.2.6 - SÍNTESE DAS HIDRAZIDAS **89** DERIVADAS DO HETEROBICICLO 2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINA **88**



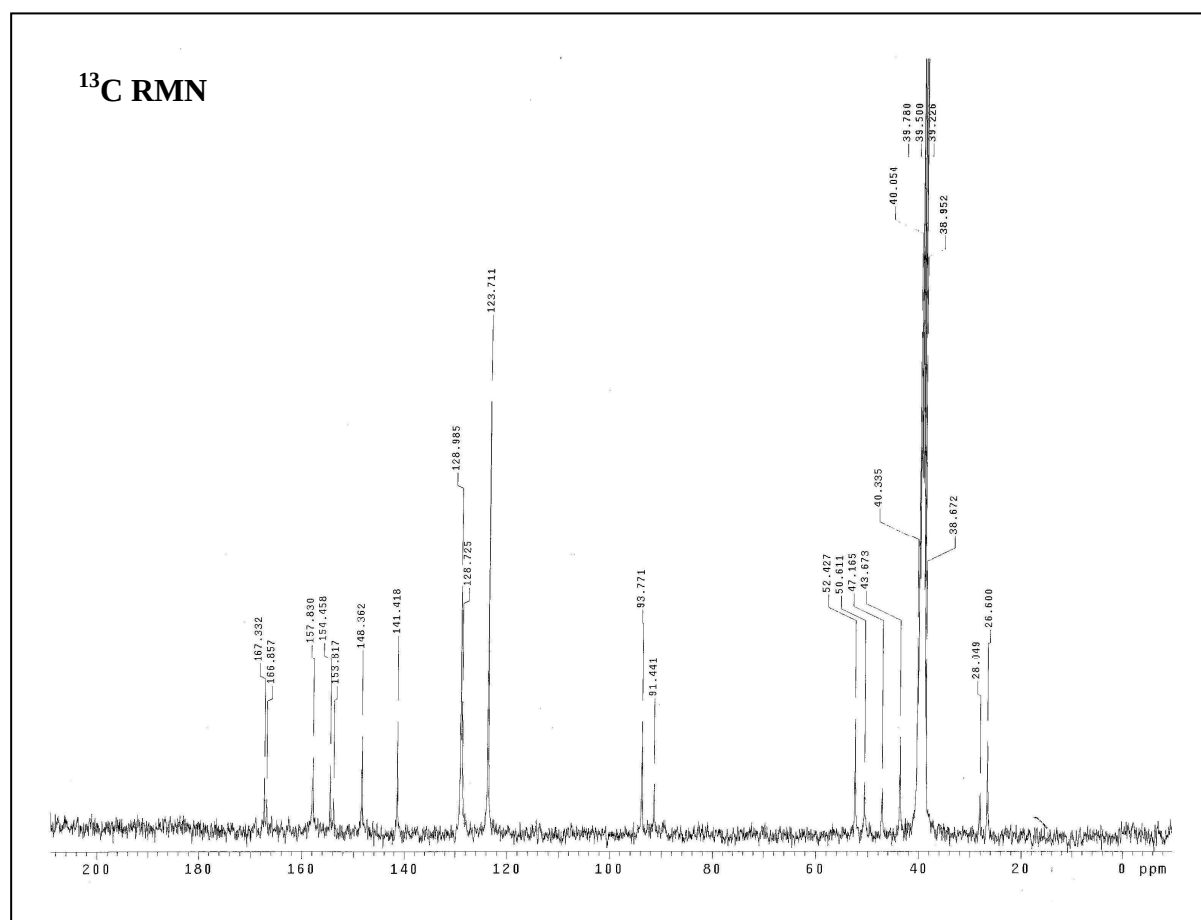
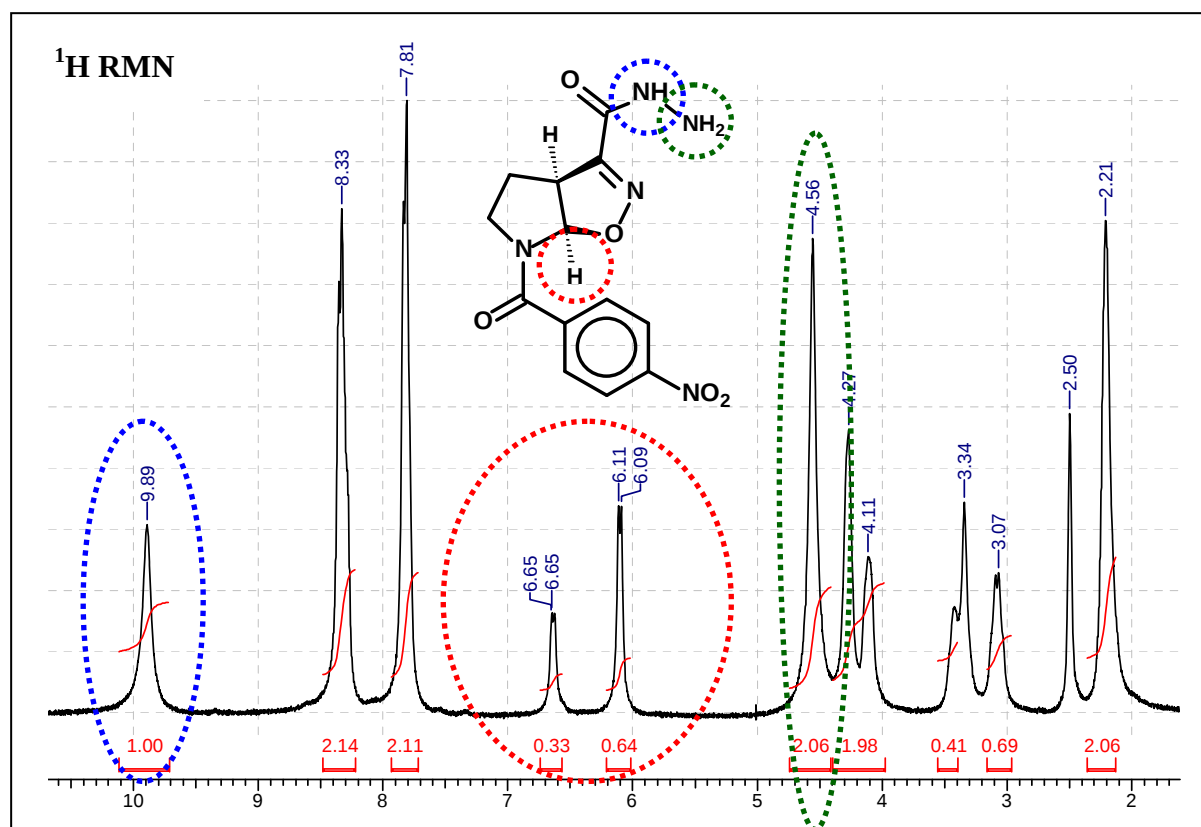
Esquema 42

As hidrazidas **89a-e** foram obtidas submetendo-se isoxazolinopirrolidínicas **88a-e**, à reações com hidrazina 80% (esq. 42). As 2-isoxazolinopirrolidínicas **88** foram solubilizadas em etanol e sob esta solução adicionou-se lentamente a hidrazina 80%. A reação se processou rapidamente, sendo acompanhada através de CCD, onde se percebeu o início da formação da hidrazida logo após o início da reação.

Com o tempo médio de uma hora, a reação se completou com consumo total do éster **88**. A hidrazida formada precipitou no meio reacional. Recristalização em etanol forneceu o produto puro para a etapa subsequente, com rendimentos variando entre 80% e 94%. A formação da função hidrazida na posição 3 do anel isoxazolínico é imprescindível para etapa seguinte de obtenção das hidrazonas.

Ao contrário da série piperidínica, as hidrazidas em C3 (porção éster) foram formadas, como esperado para a série pirrolidínica.

Todas as hidrazidas **89a-e** foram devidamente identificadas por métodos espectrométricos RMN de ¹H e RMN de ¹³C. A figura 14 apresenta o espectros de RMN de ¹H, RMN de ¹³C e IVFT da hidrazida **89a**. Em 4,56 ppm um sinal largo referente aos hidrogênios NH₂ e em 9,89 ppm um singlete do hidrogênio N-H. O hidrogênio referente ao metino da junção dos anéis, α ao átomo de nitrogênio aparece em 6,1 ppm e 6,65 ppm. Este sinal duplicado é devido a presença de rotâmeros que serão discutidos em detalhes no final do capítulo. Os demais sinais estão todos de acordo com a molécula em questão.



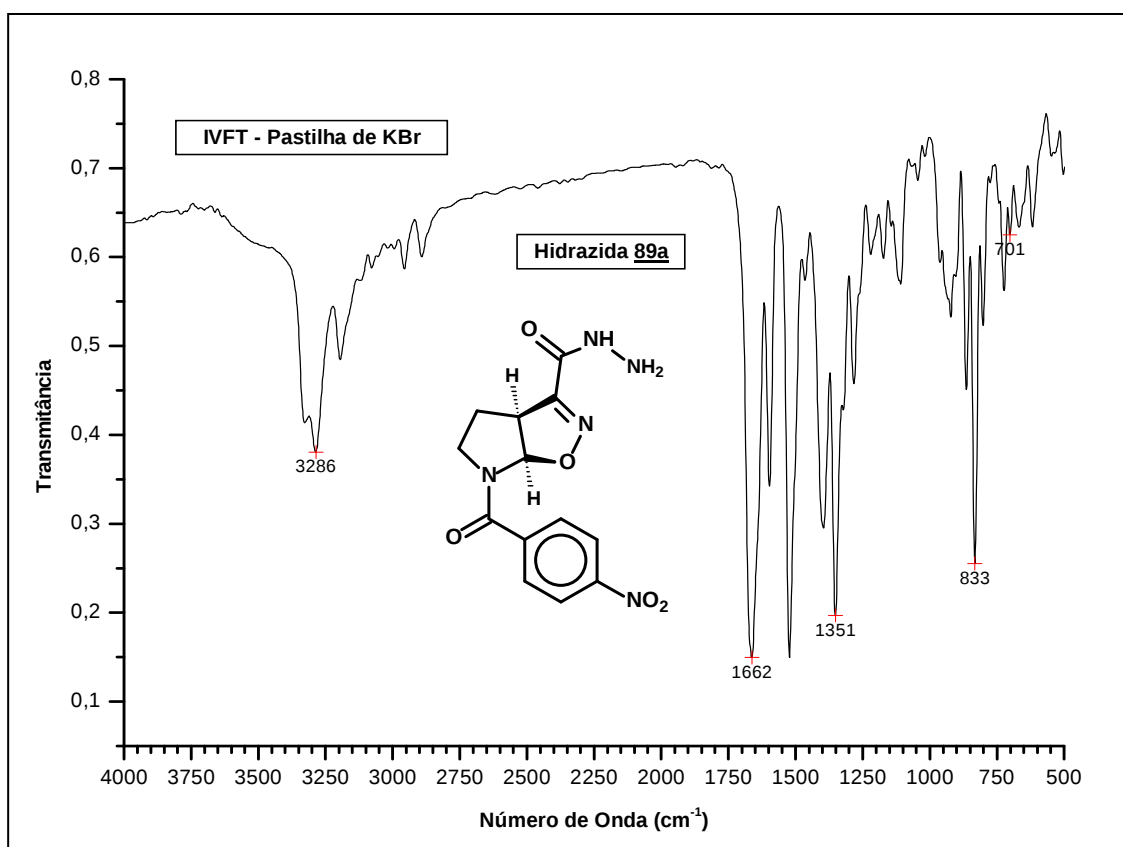


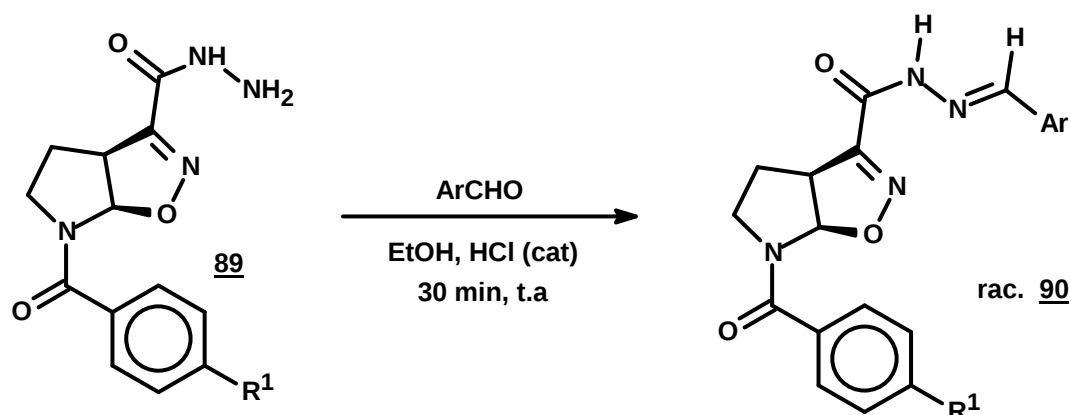
Figura 14 – Espectros RMN de ¹H, ¹³C e IVFT da hidrazida **89a**

4.2.7 - SÍNTESE DAS HIDRAZONAS **90** e **91**, DERIVADAS DO HETEROBICICLO 2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINA **89**

Condensação das hidrazidas **89a-e** com diversos aldeídos aromáticos propiciou a obtenção das respectivas hidrazonas **90a-p** e **91a-e** (fig. 16 e tab. 02). Este tipo de reação é amplamente descrito na literatura com outras hidrazidas. Utilizamos aldeídos aromáticos com vários substituintes (fig. 15), visando a obtenção de hidrazonas com propriedades eletrônicas diversas na porção arila.^(55, 56)

As hidrazidas **89** foram solubilizadas em etanol, contendo no meio reacional HCl concentrado (2 gotas), como catalisador da reação. Sobre esta solução, à temperatura ambiente, adicionou-se o aldeído (benzaldeído *p*-substituído ou furfuraldeído). A reação se processou de forma imediata, com precipitação da hidrazona em menos de 2 minutos. Após 30 minutos de reação e exaustiva precipitação da hidrazona, o meio reacional foi resfriado em banho de gelo e neutralizado com bicarbonato de sódio 10%. Filtração e recristalização em

etanol forneceu as hidrazonas puras, com rendimentos variando entre 70% e 96%, dependendo dos grupos substituintes (esq. 43).



Esquema 43

A figura 15 apresenta as estruturas dos aldeídos aromáticos utilizados nas reações de condensação com as hidrazidas: benzaldeídos *para*-substituídos e furfuraldeído.

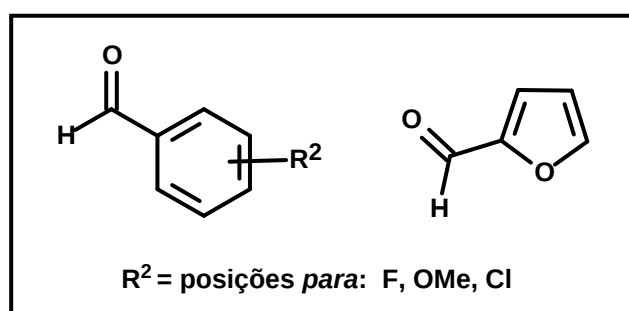


Figura 15 – Aldeídos aromáticos

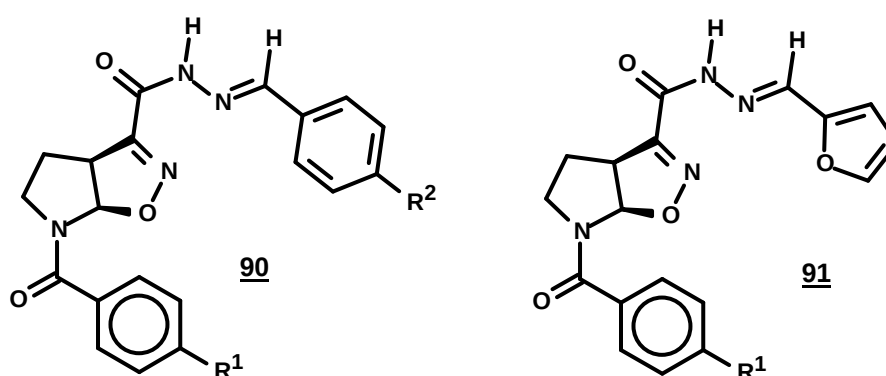


Figura 16 – Hidrazonas racêmicas: série **90** e **91**

As novas *N*-acil-arilhidrazonas obtidas, **90** e **91** têm dois sítios distintos de substituição, o que facilitou a obtenção de uma gama de derivados, com propriedades estéreo-

eletrônicas bem distintas. A tabela 02 apresenta todas as hidrazonas sintetizadas com os diversos grupos substituintes em R¹ e R², bem como o rendimento das reações.

Tabela 02- Grupos substituintes e rendimentos reacionais da série de hidrazonas **90** e **91**

Subst.	R ¹	R ²	Rend. (%)	Subst.	R ¹	R ²	Rend. (%)
90a	Cl	Cl	83	90l	NO ₂	F	60
90b	Cl	F	76	90m	NO ₂	OMe	96
90c	Cl	OMe	88	90n	<i>t</i> -Bu	Cl	78
90d	F	Cl	78	90o	<i>t</i> -Bu	F	76
90e	F	F	97	90p	<i>t</i> -Bu	OMe	76
90f	F	OMe	90	91a	Cl	—	87
90g	OMe	Cl	78	91b	F	—	96
90h	OMe	F	78	91c	OMe	—	81
90i	OMe	OMe	90	91d	NO ₂	—	94
90j	NO ₂	Cl	92	91e	<i>t</i> -Bu	—	74

As estruturas das hidrazonas **90** e **91** foram devidamente elucidadas por métodos espectrométricos (RMN de ¹H, RMN de ¹³C e IV-FT).

A figura 17 apresenta a estrutura da hidrazona **90a** com todos os sinais de RMN de ¹H e RMN de ¹³C. Os sinais característicos do heterobiciclo, aparecem em torno de 6 ppm em RMN de ¹H e 90 ppm em RMN de ¹³C, respectivamente do hidrogênio e do carbono do metino (α ao átomo de nitrogênio) da junção dos anéis, que confirmam a presença da 2-isoxazolina azabicíclica. Com deslocamento químico em 12,2 ppm e 8,4 ppm aparecem respectivamente o hidrogênio da ligação N-H e CH=N (fig. 17).

Na figura 18 são apresentados, de forma representativa, os espectros RMN de ¹H e RMN de ¹³C e IVFT da hidrazona **90a**.

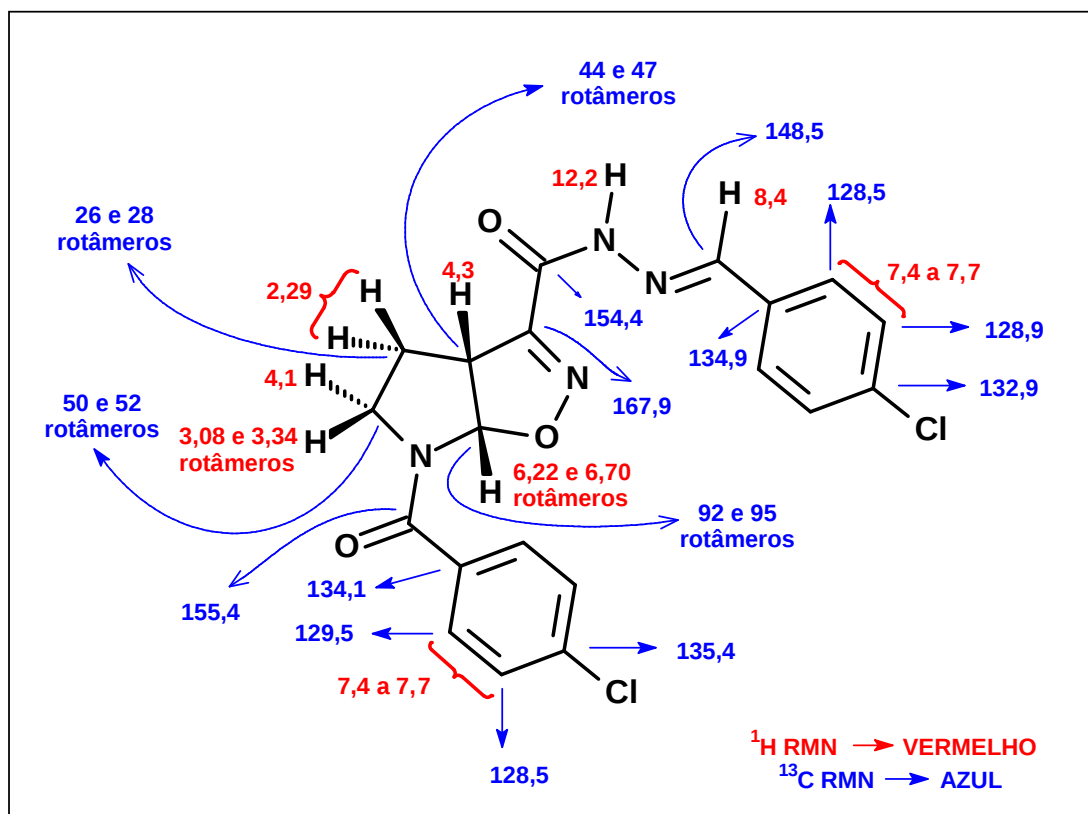
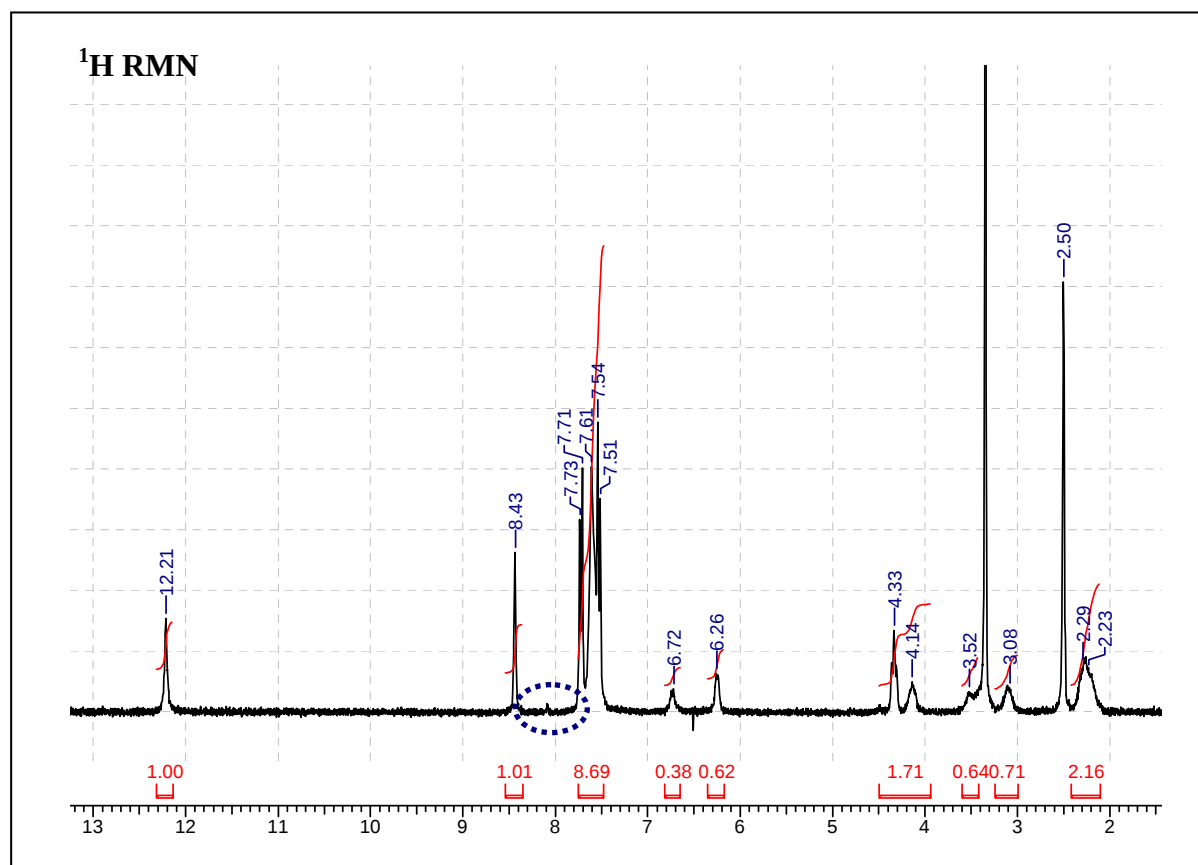


Figura 17 – Dados espectroscópicos da hidrazona **90a**. Deslocamento químico em ppm



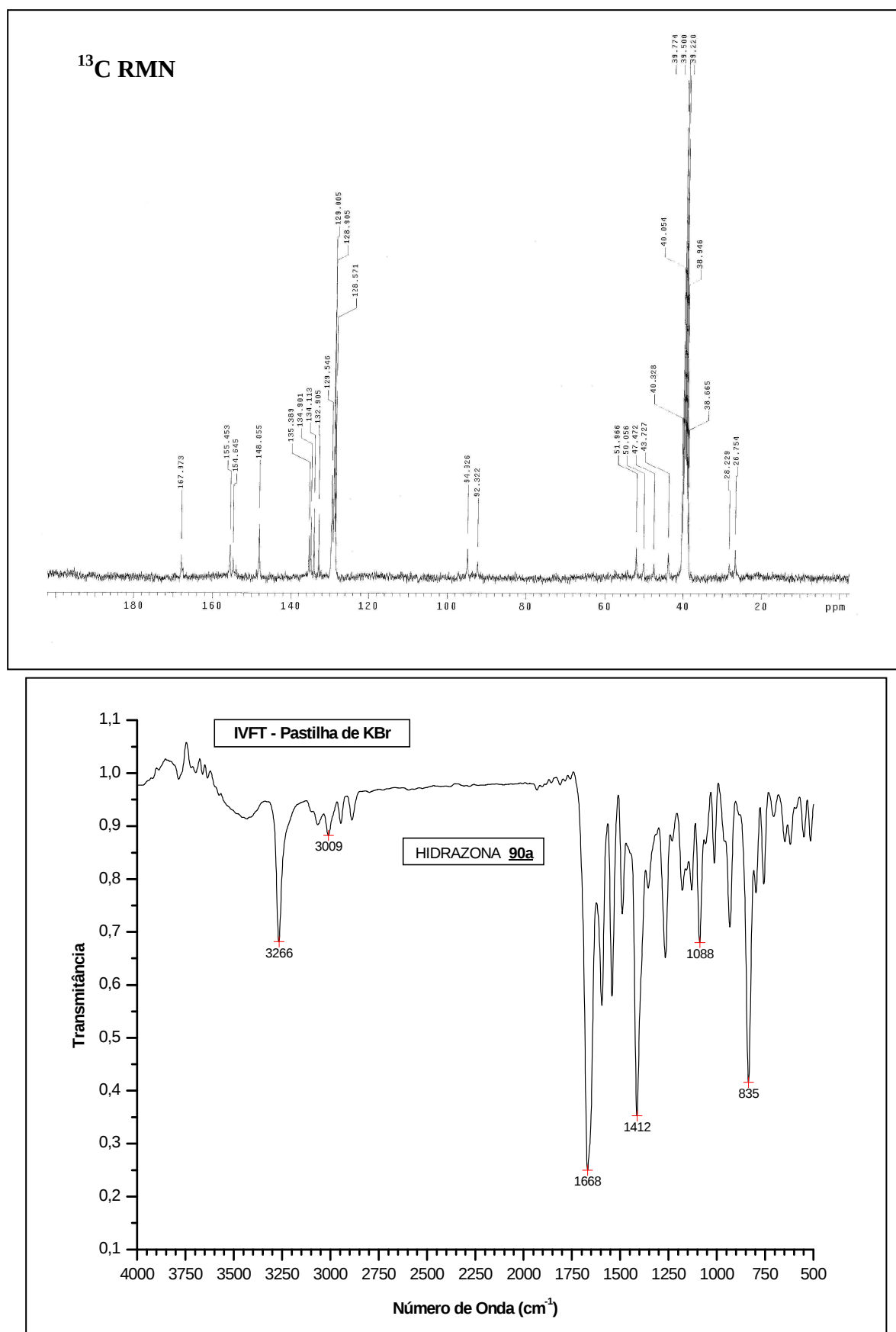


Figura 18 - Espectros RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e IVFT da hidrazona 90a

Uma análise minuciosa dos espectros de RMN de ^1H das hidrazonas **90a-p** e **91a-e** foi realizada para determinar a estereoquímica relativa da ligação $\text{CH}=\text{N}$.

Durante a formação da funcionalidade hidrazona, nas reações de condensação das hidrazidas **89a-e** com aldeídos aromáticos, poderiam, *a priori*, ser formados dois diastereoisômeros (*E*) e (*Z*), como pode ser observado na figura 19. Para todas as hidrazonas sintetizadas **90a-p** e **91a-e**, a CCD indicou a presença de um único produto formado, que foi atribuído como diastereoisômero (*E*), baseado nos trabalhos prévios de Karabastos *et. al.* que determinaram a configuração relativa de hidrazonas, em que o hidrogênio imínio do diastereoisômero (*E*) aparece com deslocamento químico 0,2 a 0,3 ppm menor que o correspondente diastereoisômero (*Z*).⁽⁷²⁾

Todas as hidrazonas sintetizadas **90a-p** e **91a-e**, apresentaram um singlete, com integração para um hidrogênio, referente ao hidrogênio $\text{CH}=\text{N}$, com deslocamento entre 8,3 e 8,5 ppm (fig. 18). Curiosamente todos os espectros analisados, apresentaram um sinal pouco intenso, quase imperceptível, com deslocamento químico aproximadamente 0,3 ppm menor que o sinal do hidrogênio (*E*), o que possivelmente indica a existência de traços do diastereoisômero (*Z*), como pode ser observado no espectro RMN de ^1H da figura 18, sinal em destaque em aproximadamente 8 ppm.

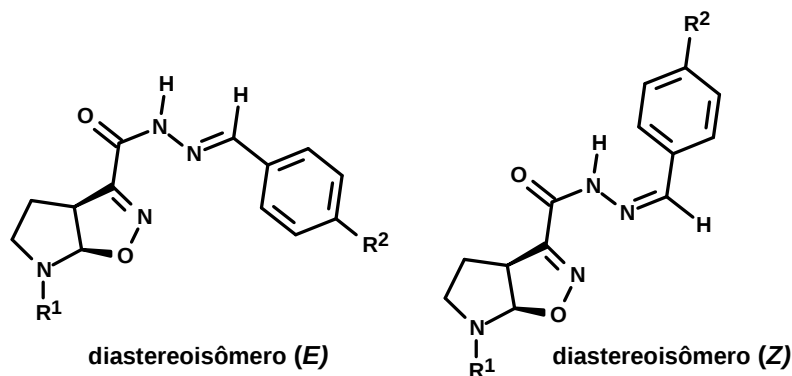


Figura 19 – Diastereoisômeros (*E*) e (*Z*) das hidrazonas **90** e **91**

Como pode ser observado nas figuras 17 e 18, a presença de sinais duplicados, devido a presença de rotâmeros, é bastante característico neste tipo de estrutura. Uma discussão mais ampla sobre a presença de rotâmeros será realizada no final deste capítulo.

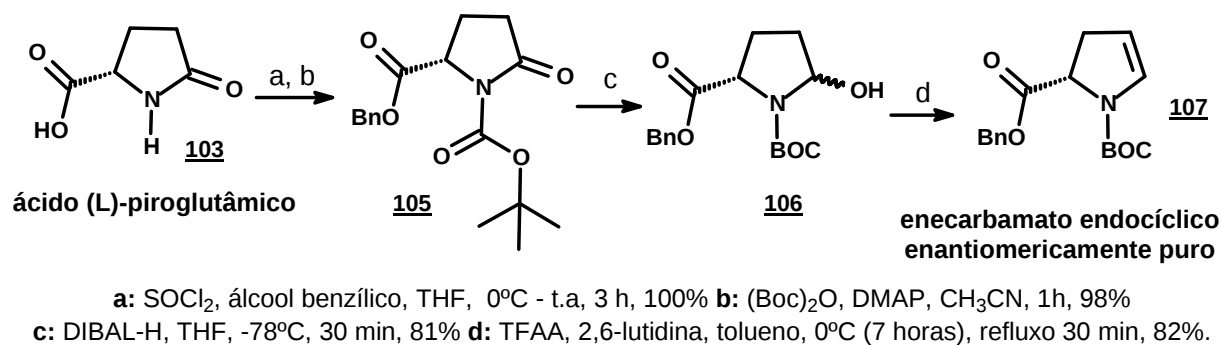
4.3 - SÍNTESE ASSIMÉTRICA DE *N*-(*p*-FLUOROBENZOIL)-2-ISOXAZOLINA[5,4-*b*]PIRROLIDINAS, ENANTIOMERICAMENTE PURAS.

Diante dos excelentes resultados de atividade anti-inflamatória dos derivados 3-carboxamidas *N*-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidinas **1** e 3-carboxamidas *N*-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina **2**, principalmente em relação ao derivado *p*-flúor substituído (racêmico)⁽²²⁾ (fig. 09, pag. 31), sintetizamos ambos os enantiômeros puros e separados, para averiguarmos a influência da estereoquímica relativa e absoluta do biciclo em questão, na atividade anti-inflamatória, isoladamente de cada antípoda óptico, assim como para o desenvolvimento de metodologia sintética de isoxazolininas bicíclicas quirais.

Como pode ser observado na rota sintética (fig. 13, pag. 36), a obtenção dos enantiômeros foi realizada em sete etapas, a partir de um enecarbamato quiral. Discutiremos cada uma delas a seguir.

4.3.1 - SÍNTESE DO ENECARBAMATO QUIRAL **107**⁽⁷³⁾

Para a obtenção das isoxazolininas enantioméricas puras, primeiramente obtivemos o enecarbamato quiral **107**, com a configuração absoluta definida no carbono C5 do anel pirrolidínico, cujo substituinte neste carbono atua como indutor quiral na reação. São necessárias 4 etapas para obtenção do enecarbamato enantiomericamente puro⁽⁷³⁾ (esq. 44).



Esquema 44

O enecarbamato quiral **107** foi obtido a partir do ácido (L)-piroglutâmico **103**, este disponível comercialmente. Inicialmente protegemos o ácido como éster benzílico. Em seguida o átomo de nitrogênio do éster (L)-piroglutâmico foi protegido com o grupamento *tert*-butoxicarbonila (Boc). Esta reação é de fácil execução, utilizando apenas acetonitrila

como solvente e DMAP como catalisador. Obtivemos o éster benzílico do ácido (L)-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-piroglutâmico **105** em excelente rendimento.

Em seguida a redução da carbonila lactâmica, com DIBAL-H em THF à -78°C, conduziu à formação do lactamol **106**. Purificação do produto por cromatografia em coluna forneceu o lactamol **106** puro para ser utilizado na reação seguinte.

A quarta etapa envolveu a eliminação da hidroxila para obtenção da ligação dupla, alfa ao átomo de nitrogênio, fornecendo o enecarbamato quiral **107** (eq. 44).

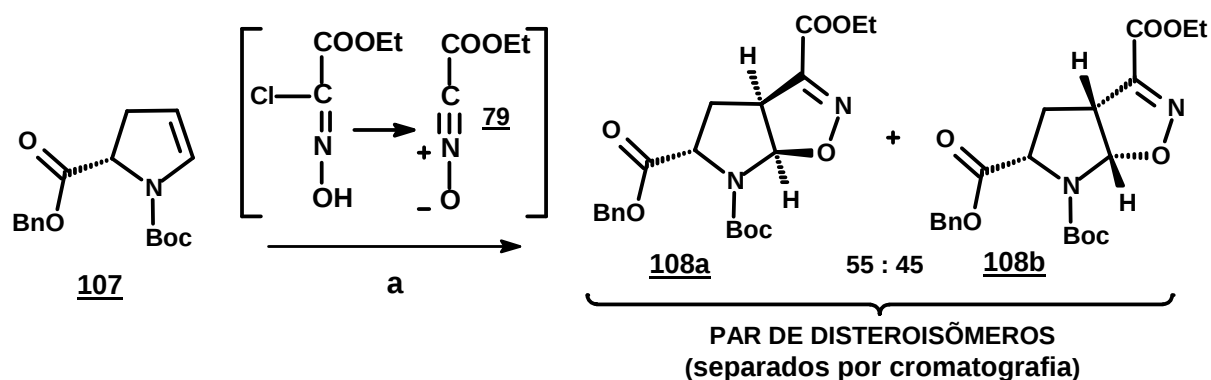
A acilação do lactamol com anidrido trifluoroacético, converteu a hidroxila em trifluoacetoxila, que foi facilmente eliminada na presença da base 2,6-lutidina. O enecarbamato quiral **107** foi produzido nessas condições, após purificação adequada.

4.3.2 - REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR DO *N*-ÓXIDO DE NITRILA-CEFNO **79** COM O ENECARBAMATO QUIRAL **107**, COMO SUBSTRATO QUIRAL

A reação de cicloadição 1,3-dipolar do *N*-óxido de nitrila CEFNO **79** com o enecarbamato quiral **107** constitui a etapa chave nessa síntese assimétrica. As condições reacionais utilizadas foram as mesmas aplicadas na cicloadição racêmica⁽²⁾ (eq. 45).

Como a reação de cicloadição cria dois novos centros assimétricos, com estereoquímica relativa *syn* e o centro assimétrico do enecarbamato em C5 não é afetado na reação, houve, portanto a formação dos dois diastereoisômeros **108a** e **108b**.

A enecarbamato **107**, por possuir um centro assimétrico no carbono C5, tem a face do grupamento benziloxicarbonila mais impedida, sendo menos provável que o *N*-óxido de nitrila **79** se aproxime deste lado, o que levaria a uma mistura não equimolar dos cicloadutos diastereoisoméricos.



a) TEA, CHCl₃, 83%

Esquema 45

O N-óxido de nitrila CEFNO **79** (óxido de carboetoxiformonitrila) foi formado *in situ*, a partir de seu precursor clorooxiimidoacetato de etila **98**. O precursor **98** foi adicionado sobre o enecarbamato endocíclico **107**, na presença de trietilamina.

A análise por cromatografia em camada delgada apresenta os diastereoisômeros com um $\Delta R_f = 0,1$ o que os torna totalmente separáveis por cromatografia em coluna. No processo de separação dos diastereoisômeros, por cromatografia em coluna, foi possível obter o diastereoisômero **108a** puro em maior quantidade que o diastereoisômero **108b** em uma proporção de 55:45 respectivamente (também determinada por HPLC).

Neste trabalho, a quase inexistência de excesso diastereoisomérico (*de*), propiciou a sequência de obtenção dos enantiômeros separadamente, nosso objetivo inicial, visto que teríamos massa suficiente, de ambos os enantiômeros, devido a baixa diastereosseletividade.

A identificação dos diastereoisômeros **108a** e **108b** foi realizada por técnicas de ressonância magnética nuclear de uma e duas dimensões, como discutido a seguir.

Os sinais “diagnósticos”, bastante característicos do novo heterobiciclo, aparecem em torno de 6 ppm em RMN de ^1H e 90 ppm em RMN de ^{13}C , respectivamente do hidrogênio e do carbono do metino **6a** da junção dos anéis, que determinam a formação do cicloaduto em questão, devido a regioespecificidade da reação. A figura 20 apresenta o espectro RMN de ^1H do cicloaduto **108b** obtido a temperatura ambiente.

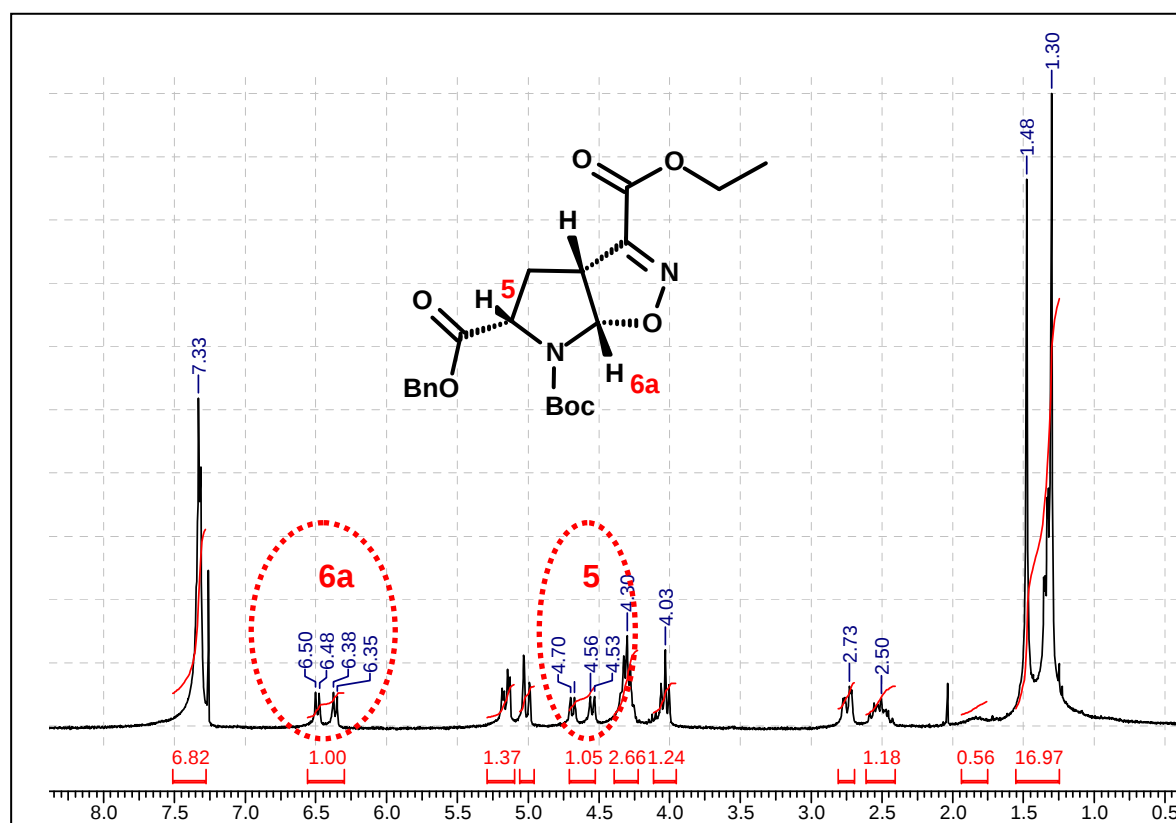


Figura 20 - ^1H RMN do cicloaduto **108b**

Uma peculiaridade apresentada pelos cicloadutos derivados de enecarbamatos sendo estes quirais ou não, foi a presença de sinais de rotâmeros nos espectros RMN de ^1H e de ^{13}C .

Rotâmeros, ou confôrmeros rotacionais, são detectados em espectrometria de ressonância magnética nuclear, quando a velocidade de interconversão entre eles é baixa, devido à relativa alta barreira energética rotacional. Este fenômeno é verificado quando se tem a presença de ligações amídicas ou carbamídicas, como percebido nas hidrazidas **89**, nas hidrazonas **90** e **91** e também nos cicloadutos diastereoisoméricos **108a** e **108b**.

A rotação da ligação amídica/carbamídica passa necessariamente por um confôrmero planar, onde os orbitais “n” do átomo do nitrogênio e “p” da carbonila ficam coplanares e entram em ressonância, formando uma estrutura canônica, que confere um caráter de ligação dupla para o híbrido de ressonância, fazendo com que a barreira energética rotacional seja elevada (fig. 21). Tendo a frequência de rotação baixa, a espectrometria de RMN detecta portanto a presença de dois hidrogênios ^1H ou carbonos ^{13}C em ambientes químicos e magnéticos diferentes, aparecendo então dois sinais.

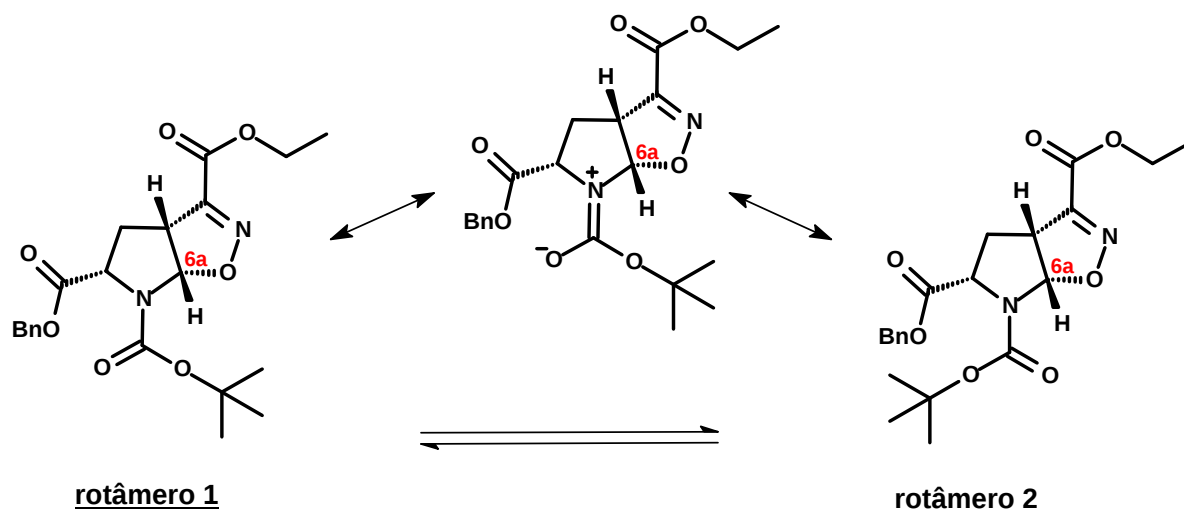


Figura 21 – Rotação da ligação carbamídica nos cicloadutos **108b**

Por exemplo, o hidrogênio e o carbono 6a do rotâmero 2, estão no cone de desproteção da carbonila, enquanto que os mesmos átomos no rotâmero 1 estão muito afastados do cone de desproteção (mais protegidos), aparecendo portanto em deslocamentos químicos distintos.

Os sinais dos núcleos ^1H e ^{13}C em RMN próximos da ligação amídica/carbamídica aparecem portanto, na maioria das vezes, duplicados. À medida que se afasta da ligação amídica/carbamídica, a separação dos sinais dos rotâmeros diminui, até não mais existir, como por exemplo, na etila da função éster (fig. 20).

Um estudo de dinâmica de ressonância magnética nuclear foi realizado para confirmarmos a presença de rotâmeros. Escolheu-se o cicloaduto diastereoisomérico **108b**, que apresentou os sinais de rotâmeros do hidrogênio 6a bem característicos e separados, além de outros sinais, também duplicados. Obteve-se espectros RMN de ^1H em várias temperaturas (20°C, 30°C, 40°C, 50°C, 55°C, 60°C e 65°C), no qual verificou-se que os sinais coalesciam, à medida que os espectros eram obtidos em temperaturas maiores, tornando-se apenas um sinal à 65°C, com deslocamento químico intermediário dos dois anteriores (fig. 22). Todo o espectro foi simplificado à 65°C, superando à barreira rotacional da ligação carbamídica, conforme observado na figura 23.

Este estudo de dinâmica de RMN comprovou a existência de rotâmeros, mesmo ocorrendo perda da resolução do sinal, com o aumento da temperatura.

Dados espectrométricos do hidrogênio 6a:

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300MHz, δ ppm, t.a.)
6,36 (d; $J = 7,5\text{Hz}$; 1H; rotâmero em 6,49 ppm)

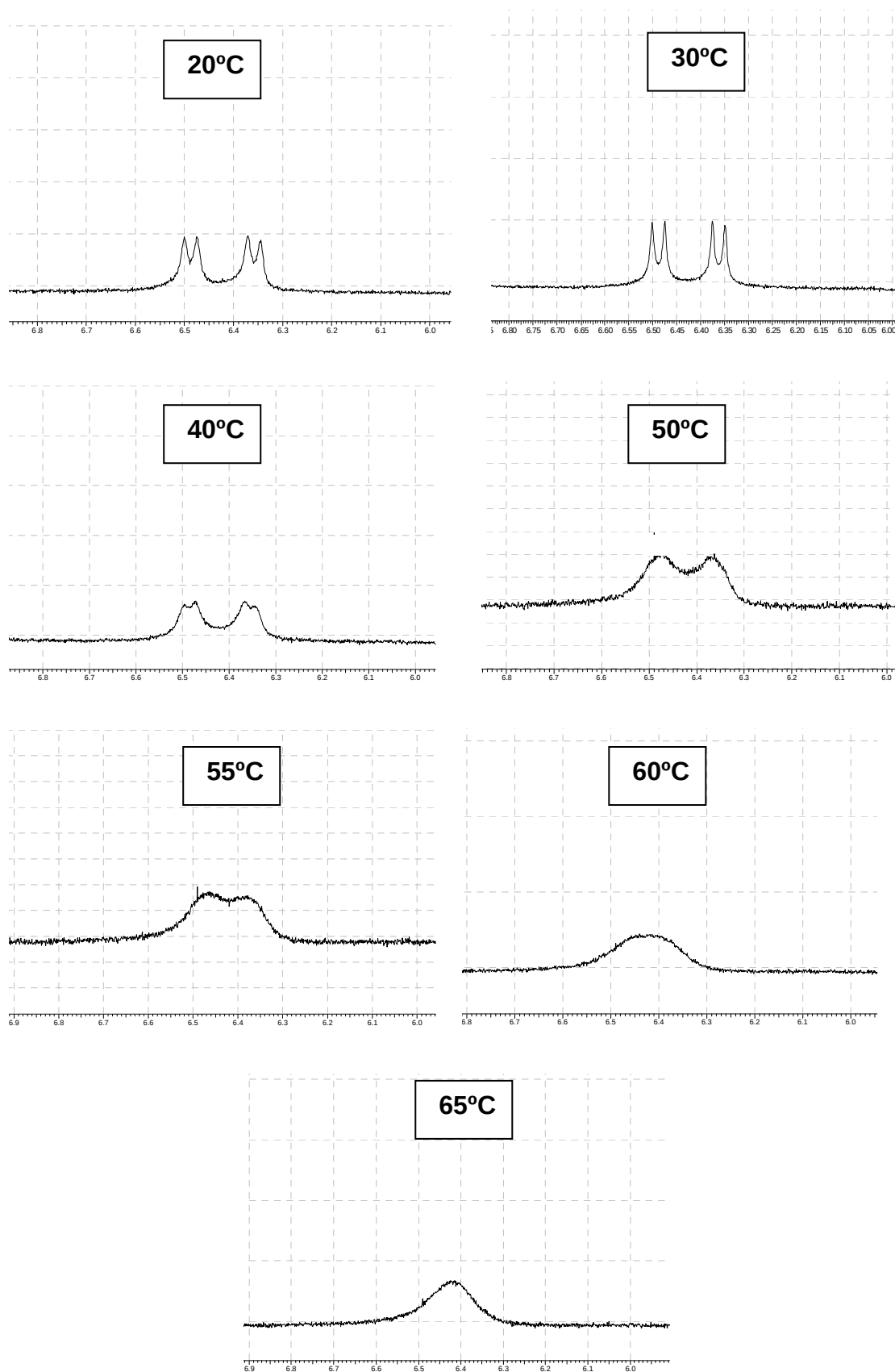


Figura 22 – Dinâmica de ressonância magnética nuclear do cicloaduto **108b**

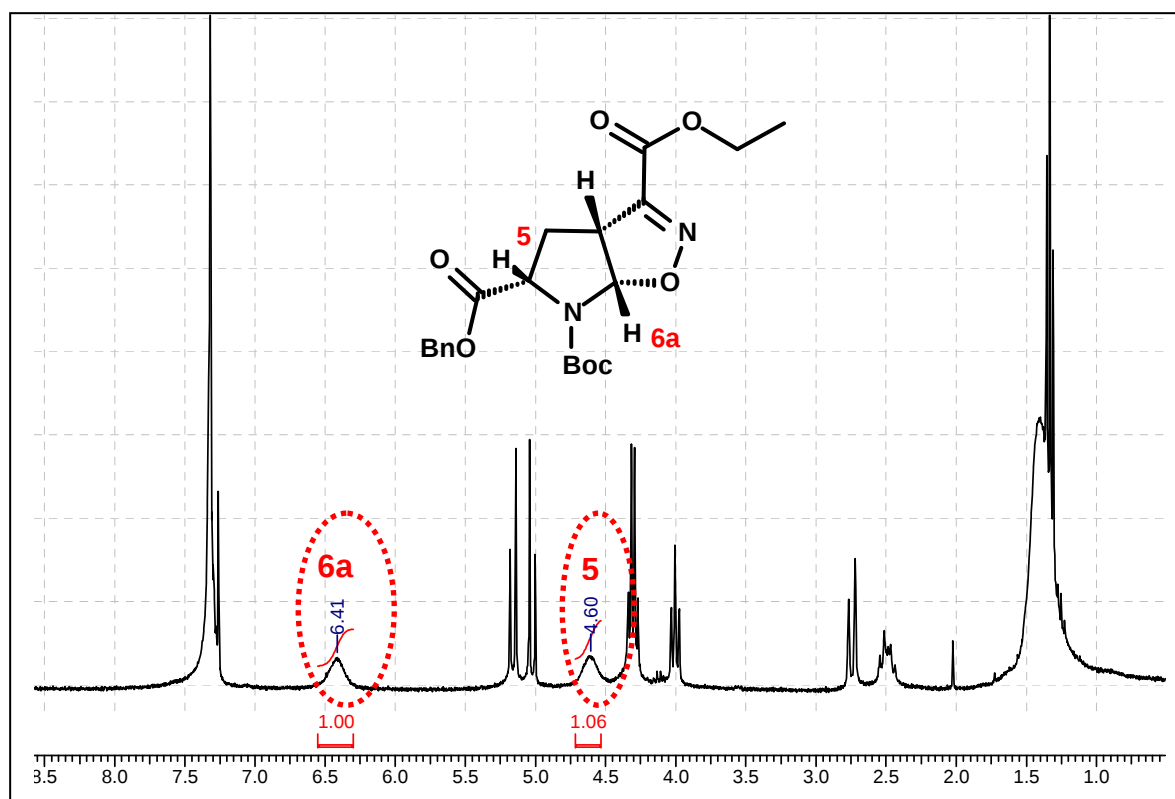


Figura 23 – Espectro RMN de ^1H do cicloaduto **108b** à 65°C

A atribuição da estereoquímica relativa e absoluta de ambos os diastereoisômeros foi realizada através de espectros RMN NOE-DIF e NOESY.

O diastereoisômero mais polar na CCD apresentou um efeito Overhauser nuclear de 3,7% para o hidrogênio H^5 , quando H^{6a} foi irradiado. Já o diastereoisômero mais apolar, na CCD não apresentou nenhuma correlação no espectro NOESY entre os hidrogênios H^{6a} e H^5 (fig. 24).

Pôde-se então concluir que o diastereoisômero mais apolar é a isoxazolina **108a** e o diastereoisômero mais polar é a isoxazolina **108b**.

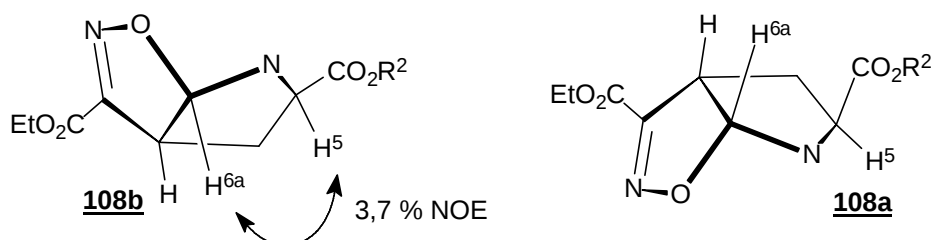


Figura 24 – Configuração relativa do diastereoisômero **108** usando técnica de NOE-DIF

Possível mecanismo da reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica.

A formação dos diastereoisômeros possivelmente se passa por um mecanismo não concertado dipolar, onde praticamente não há seletividade de face para a adição do 1,3-dipolo, devido à distância do grupamento indutor de quiralidade.

Neste mecanismo consideramos a linearidade do *N*-óxido de nitrila (dipolo alenila) e a grande diferença dos valores de coeficiente de orbital HOMO do enecarbamato quiral, que dificulta a formação simultânea das duas ligações na reação de cicloadição. A ligação do carbono β ao átomo de nitrogênio com o carbono do *N*-óxido de nitrila é concluída primeiro, formando um intermediário *N*-acil-imínio dipolar (fig. 25).

No intermediário *N*-acil-imínio, tem-se agora uma estrutura angular *N*-óxido-imina, que devido à maior proximidade espacial, possibilitaria a adição do oxigênio ao carbono do acil-imínio, ocorrendo a interação frontal entre o orbital preenchido do oxigênio com o orbital LUMO do imínio (fig. 25).

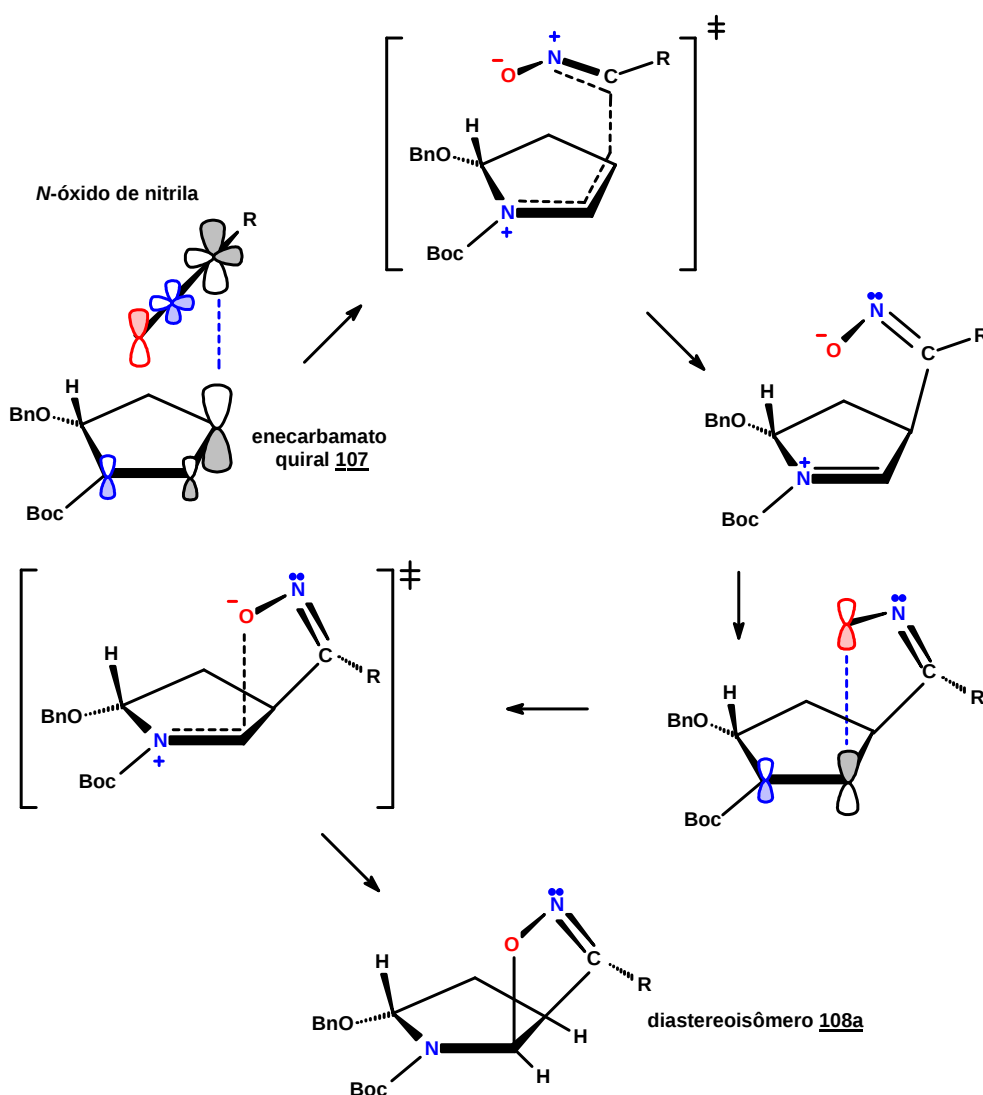


Figura 25 - Mecanismo de reação da cicloadição assimétrica

No diastereoisômero **108a** o grupamento benziloxicarbonila ligado em posição α ao átomo de nitrogênio fica voltado para face convexa do biciclo, o que justifica o pequeno excesso diastereoisomérico (*de*), uma vez que esta face do enecarbamato quiral é menos impedida. A formação do diastereoisômero **108b** deve provavelmente se passar pelo mesmo mecanismo, contudo a aproximação do *N*-óxido de nitrila ocorre do mesmo lado do grupamento benziloxicarbonila, ficando este voltado para face côncava do biciclo.

Este mecanismo impossibilita a formação da isoxazolina aza-bicíclica de configuração *trans*, pois o estado de transição seria altamente tensionado, com interação desprezível entre o orbital não ligante do oxigênio e o LUMO do imínio (ângulo de $\sim 90^\circ$ e não frontal).

Até o momento não havia relato na literatura de reações de cicloadição 1,3-dipolar assimétricas envolvendo enecarbamatos endocíclicos.

A partir deste ponto da síntese assimétrica, como pode ser observado na rota sintética (fig. 13, pag. 36), as etapas subseqüentes para obtenção dos enantiômeros, foram realizadas com cada um dos cicloadutos diastereoisoméricos **108a** e **108b** separadamente.

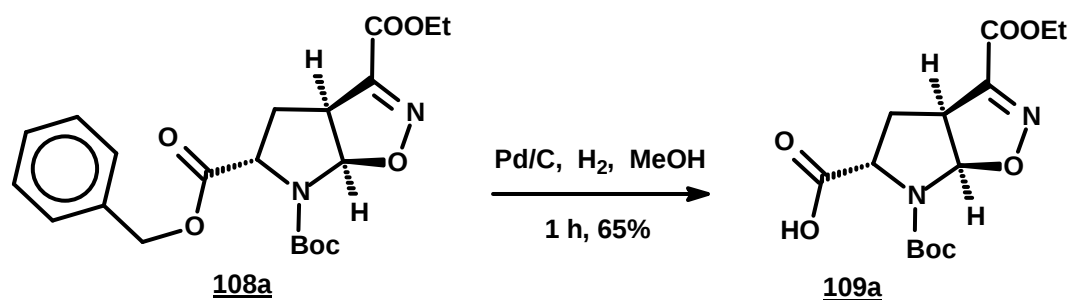
4.3.3 - DESCARBOXILAÇÃO SELETIVA DOS CICLOADUTOS DIASTEREOISOMÉRICOS **108a E **108b****

Após separação dos cicloadutos diastereoisoméricos **108a** e **108b** por cromatografia em coluna, iniciamos a descarboxilação seletiva do éster benzílico de cada um dos cicloadutos. ⁽⁷³⁾

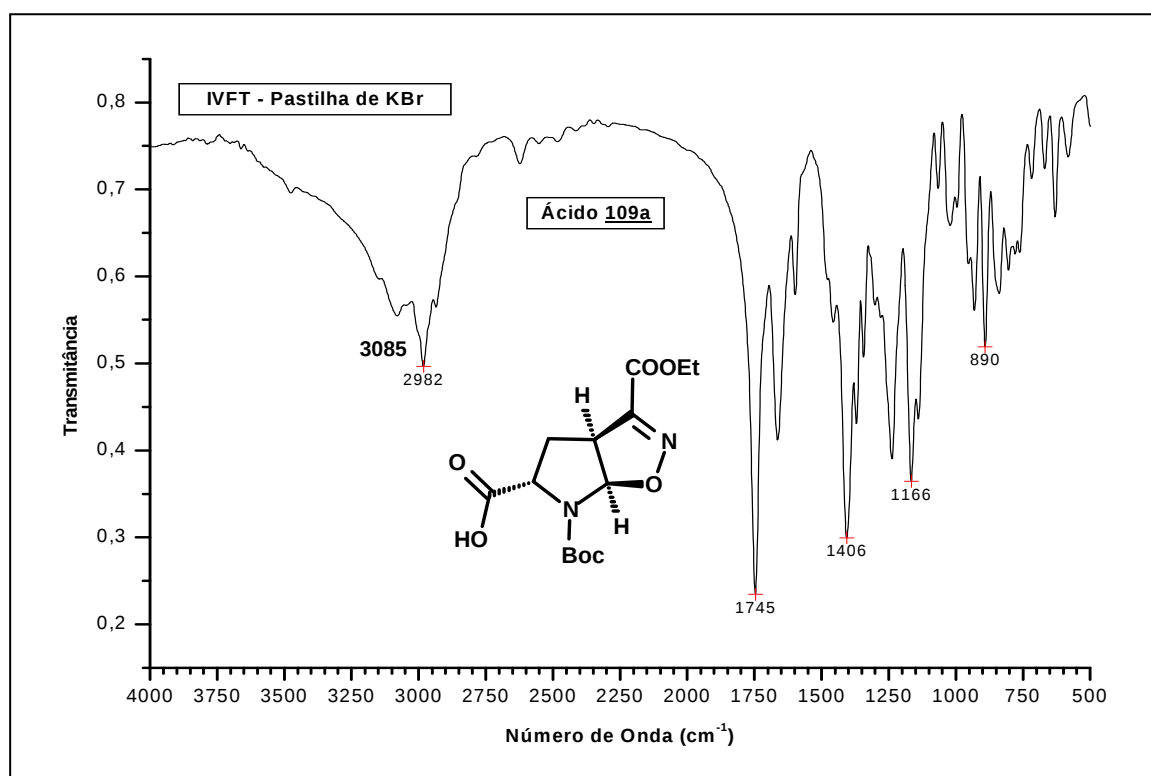
O procedimento de descarboxilação dos cicloadutos foi feito em três etapas, sem purificação dos intermediários, como pode ser observado no esquema 49 (pag. 66).

4.3.3.1 – HIDROGENÓLISE DO ÉSTER BENZÍLICO **108a**

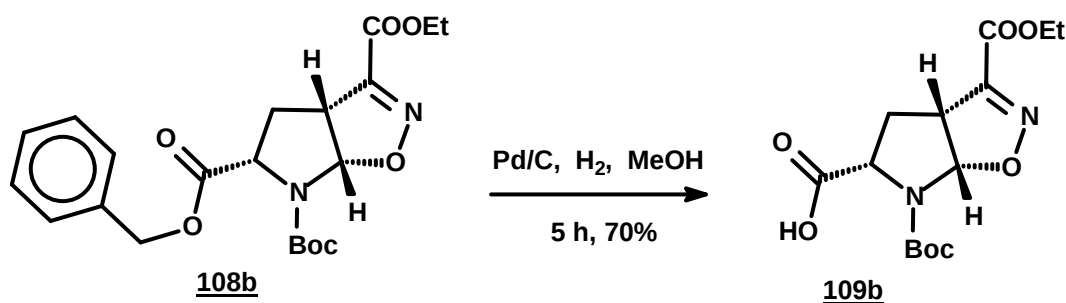
Escolheu-se proteger a função ácido do ácido (*L*)-piroglutâmico como éster benzílico, justamente devido a esta etapa de hidrogenólise, que não afetaria o éster etílico da posição C3 (esq. 46).



O procedimento reacional utilizado foi semelhante ao da reação de hidrogenólise do grupo CBz apresentado no item 4.2.4 (esq. 40, pag. 46). O processo de isolamento do ácido formado é dificultado pela sua alta polaridade, tendo como consequência um percentual de recuperação do produto de apenas 65%, mesmo seu rendimento sendo quantitativo, segundo CCD. A figura 26 apresenta o espectro de infravermelho do ácido **109a** com banda larga característica em 3085 referente a ligação O-H.



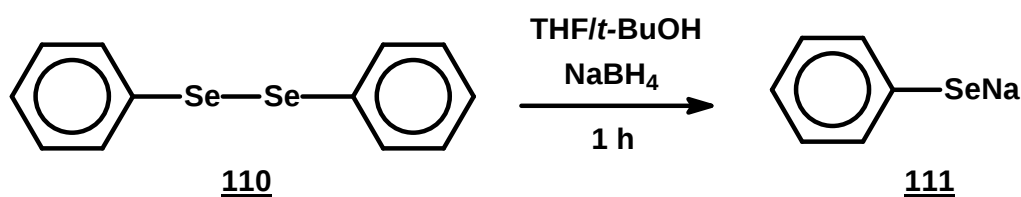
Quando o éster benzílico **108a** foi submetido a esta reação, a hidrogenólise se completou em uma hora (eq. 46). Quando o produto utilizado foi o diastereoisômero **108b** (eq. 47), foram necessários mais de 5 horas para total consumo do produto de partida. O diastereoisômero **108b** tem o éster benzílico voltado para face côncava do biciclo, causando um impedimento estérico, o que fez aumentar o tempo da reação. Já o diastereoisômero **108a** tem o éster benzílico totalmente desimpedido, voltado para face convexa do biciclo e a reação se processa em apenas 1 hora.



Esquema 47

4.3.3.2 – SÍNTESE DO FENILSSELENETO DE SÓDIO⁽⁷³⁾ **111**

O PhSeSePh **110**, obtido comercialmente, foi reduzido com NaBH₄, utilizando-se THF e *tert*-butanol (1:1) como solvente. Após a adição do NaBH₄, a mistura reacional de cor laranja clareia e passa para incolor, quando todo o PhSeSePh é reduzido, indicando o final da reação, que ocorre em aproximadamente 1 hora (eq. 48). A solução resultante foi utilizada diretamente na reação de síntese do seleno-éster.



Esquema 48

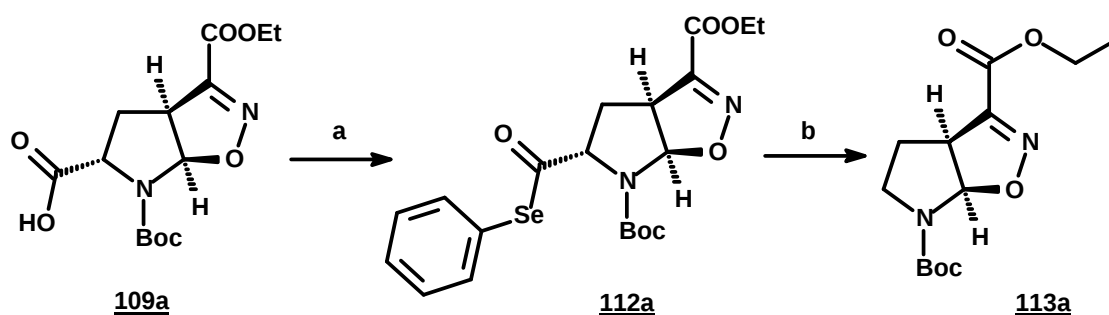
4.3.3.3 - REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO COM FENILSSELENETO DE SÓDIO **111**, SEGUIDA DE DESCARBOXILAÇÃO

Após formação do anidrido misto entre **109a** e cloroformato de isobutila, a adição do fenilseleneto de sódio **111** propiciou a formação do seleno-éster **112a**, que foi devidamente

purificado e identificado por RMN de ^{77}Se (fig. 27), com a presença de um singlete em 628 ppm e como discutido anteriormente, um sinal em 634 ppm referente ao rotâmero.

A descarboxilação do seleno-éster **112a** foi realizada com Bu_3SnH , *via* radicalar, propiciando então a obtenção da isoxazolina pirrolidínica **113a**, enantiomericamente pura (esq. 49).

O antípoda óptico de **113a** também foi obtido, utilizando-se o ácido diastereoisomérico **109b**



- a) *i*- cloroformato de isobutila, *N*-metilmorfolina, THF, *ii*-PhSeNa, THF/ $^t\text{BuOH}$,
b) Bu_3SnH , AIBN, benzeno, refluxo, 3h, 47% (duas etapas)

Esquema 49

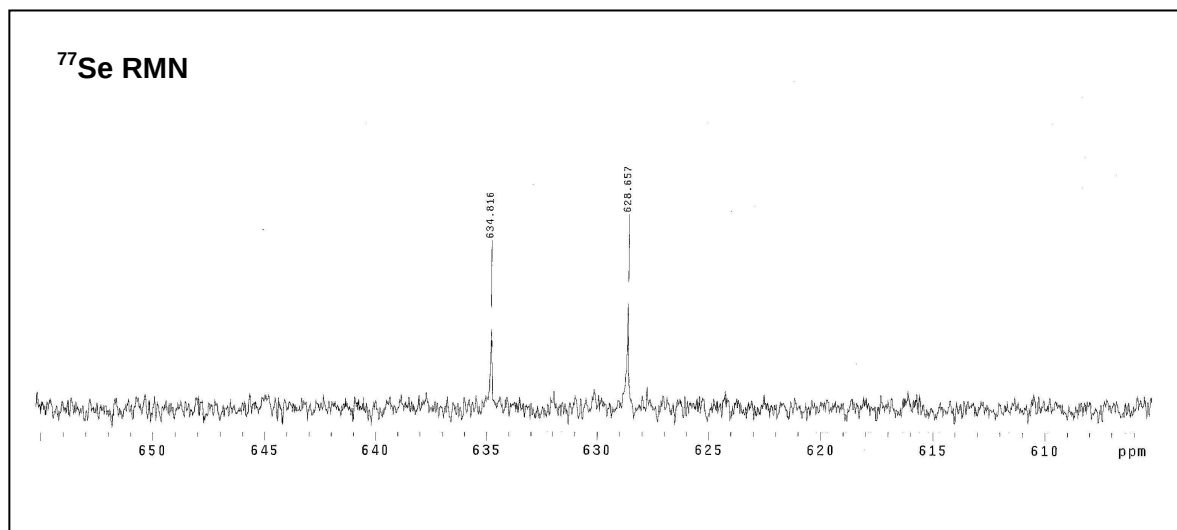
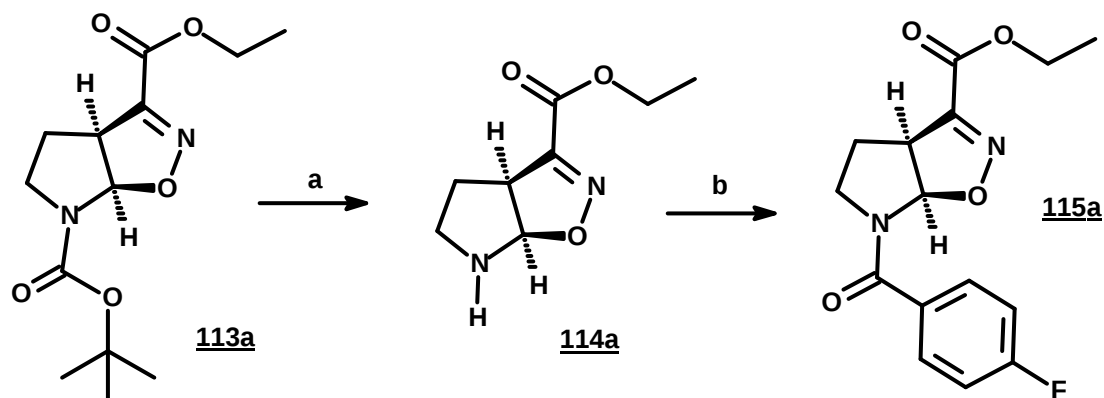


Figura 27 – Espectro de ^{77}Se RMN do produto **112a**

4.3.3.4 - REMOÇÃO DO GRUPO Boc⁽⁷⁴⁾ de **113a** e **113b** SEGUIDA DE *N*-ACILAÇÃO COM CLORETO DE *p*-FLUOROBENZOILA



a) TFA, CH₂Cl₂, 0°C, 1,5hora, rendimento quantitativo

b) Cloreto de *p*-fluorobenzoíla, TEA, CHCl₃, 1 hora, 94%

Esquema 50

A reação de remoção do grupo Boc, com TFA é amplamente descrita na literatura.⁽⁷⁴⁾

O enantiômero desprotegido **114a** foi então submetido a *N*-acilação com cloreto de *p*-fluorobenzoíla, para obtenção da isoxazolina pirrolidínica *N*-benzoilada enantiomericamente pura **115a**. Nesta etapa obteve-se rendimento de 94% (esq. 50).

O cicloaduto diastereoisomérico **109b** também sofreu o mesmo tipo de reação separadamente, obtendo-se, após a mesma seqüência de reações, o respectivo éster enantiomérico **115b** a partir da substância **113b**. Após reação de amonólise do éster em posição C3, de ambos os enantiômeros **115a** e **115b**, obteve-se as carboxamidas enantioméricas puras e separadas **116a** e **116b** (fig.28).

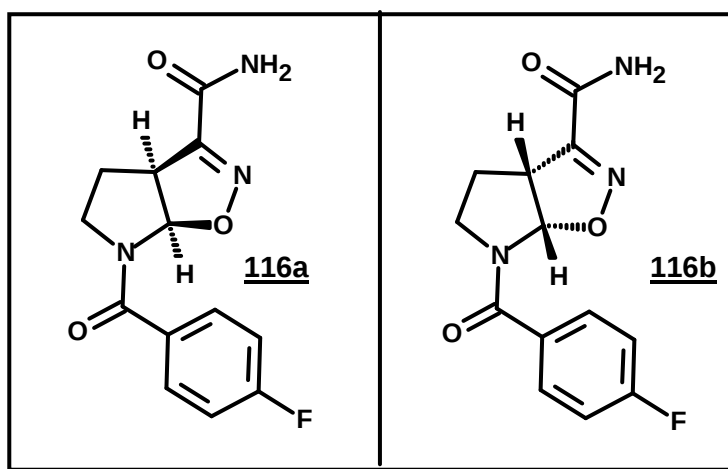


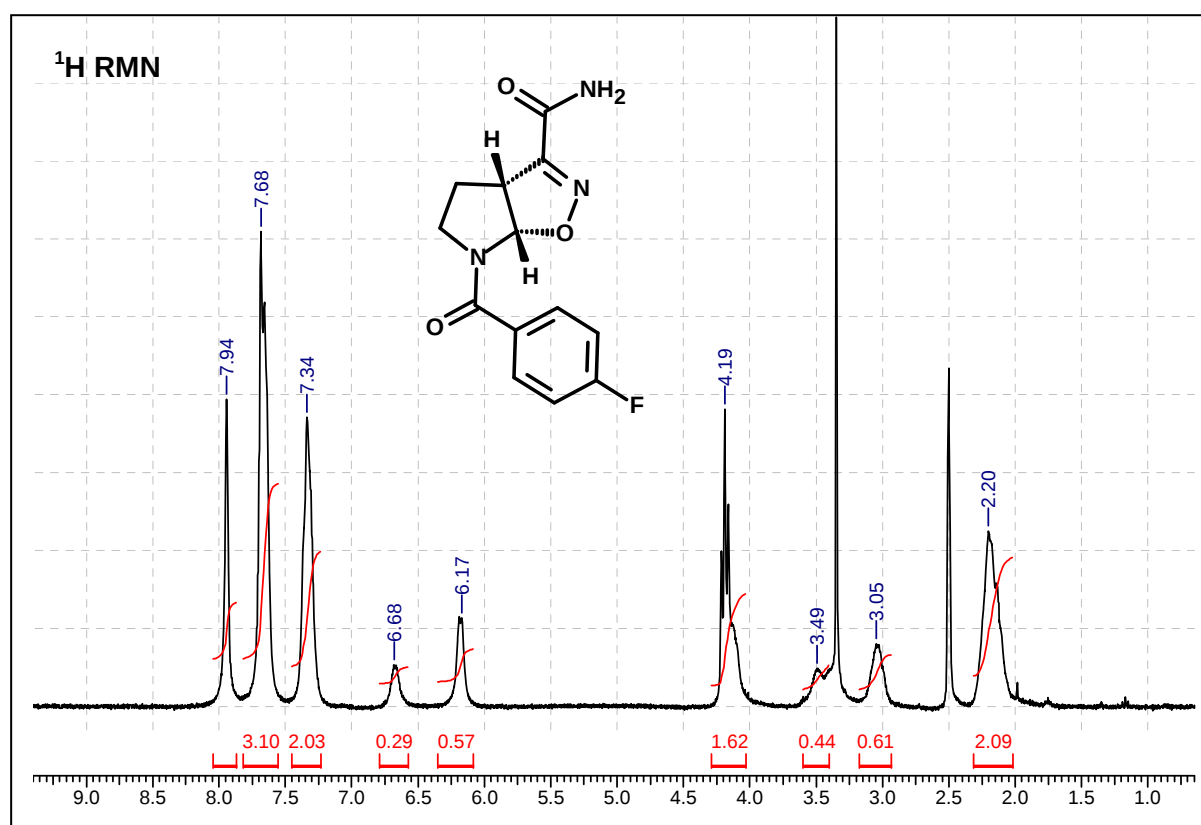
Figura 28 – Carboxamidas enantioméricas, obtidas separadamente

As carboxamidas **116a** e **116b**, que foram obtidas anteriormente como mistura racêmica **2** (fig. 09, pag.),⁽²⁾ foram agora avaliadas quanto ao seu potencial anti-inflamatório separadamente.

As rotações específicas dos enantiômeros obtidos em ambas as rotas sintéticas estão sendo obtidas no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. Todos os intermediários foram devidamente identificados por métodos espectrométricos.

Na síntese assimétrica para obtenção dos enantiômeros **116a** e **116b**, todas as estruturas dos produtos finais, assim como intermediários, foram devidamente elucidadas por métodos espectrométricos (^1H RMN, ^{13}C RMN, IV-FT).

A figura 29 apresenta os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN do enantiômero **116b**. Da mesma forma que nos espectros discutidos anteriormente, percebe-se alguns sinais duplicados devido à presença de rotâmeros.



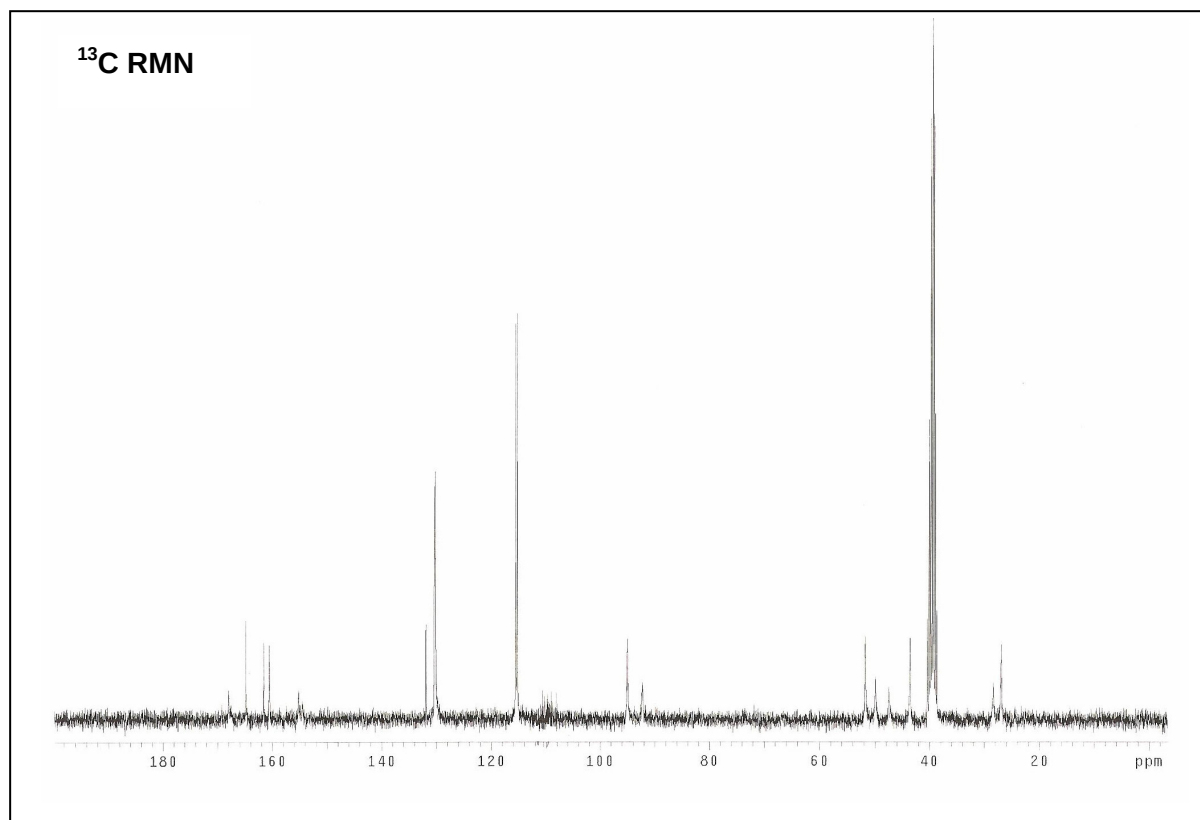


Figura 29 - Espectro de ¹H RMN e ¹³C RMN do enantiômero **116b**

5 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

MATERIAS E MÉTODOS

As reações de síntese de enecarbamatos endocíclicos de 5 membros da série racêmica e assimétrica, enamidas endocíclicas de 6 membros e também as reações de cicloadição 1,3-dipolar racêmica e assimétrica são sensíveis à umidade e foram realizadas sob atmosfera de argônio, em aparato previamente seco em estufa por 4h (120°C).

Acetonitrila, trietilamina e 2,6-lutidina foram tratados com hidreto de cálcio e destilados antes do uso. Clorofórmio foi seco sob cloreto de cálcio anidro. Metanol foi tratado com Mg^0/I_2 e destilado antes do uso. Tetraidrofurano (THF), benzeno e tolueno foram tratados com sódio/benzofenona e destilados imediatamente antes do uso.

As reações de hidrogenólise foram realizadas sob pressão positiva de hidrogênio, borbulhando-se o gás no meio reacional por 1 a 2 h.

Acetato de etila e hexano, utilizados em colunas cromatográficas, foram bidestilados.

Quando não mencionado, reagentes e solventes foram utilizados sem prévio tratamento.

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD) foi efetuada em cromatofolhas de alumínio (gel de sílica 60), com espessura de 0,2 mm, contendo indicador para 254 nm. A visualização das manchas foi efetuada com lâmpada de U.V. ENF – 2400 C/F, ácido fosfomolibdico 7% em etanol, seguido de aquecimento ou por absorção de iodo.

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

Os produtos sólidos tiveram seu ponto de fusão aferidos em aparelhos POLAX WRS – 1, e não foram corrigidos.

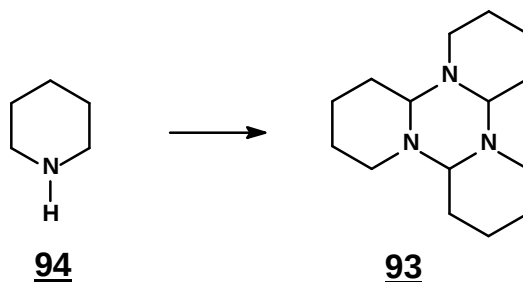
Os espectros no infravermelho (I.V-FT) foram obtidos em aparelhos Bruker IFS 66 (transformada de Fourier), com as frequências de absorção sendo expressas em cm^{-1} , utilizando-se pastilhas ou janelas de KBr.

Os espectros RMN de 1H , RMN ^{13}C e RMN ^{77}Se foram obtidos em aparelhos Varian Unity 300 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano para RMN 1H e o solvente da análise (DMSO- d_6 ou $CDCl_3$) para RMN de ^{13}C . Os sinais dos espectros de RMN 1H são designados da seguinte forma: deslocamento químico (ppm), multiplicidade (s = singlete, d = dublete, dl = dublete largo, t = tripleto, tl = tripleto largo, q = quarteto, dd = duplo dublete, dt = duplo tripleto, ddl = duplo

dubleto largo, m = multiplete, ml = multiplete largo, sl = sinal largo), constante de acoplamento (Hz) e números de hidrogênios.

5.1 – SÍNTESE RACÊMICA DE DERIVADOS DE 2-ISOXAZOLINAS PIPERIDÍNICAS

5.1.1 - TRÍMERO DA 1-PIPERIDEÍNA⁽⁶⁸⁾ (ISÔMERO α) 93



5.1.1.1 - PREPARAÇÃO DO ACETATO DE PIPERIDÍNIO 95

Em um balão de duas bocas colocou-se 23 mL (0,238 moles) de piperidina e em seguida resfriou-se a - 5° C. Sob forte agitação e sem ultrapassar a temperatura de 10° C, adicionou-se lentamente 13,4 mL (0,238 moles) de ácido acético glacial, através de um funil de adição. Periodicamente colocou-se gelo picado no meio reacional para dissolver o produto formado. Obteve-se uma solução aquosa, límpida e viscosa, correspondendo ao acetato de piperidínio.

5.1.1.2 - PREPARAÇÃO DA N-CLOROPIPERIDINA 96

Em um balão de duas bocas de 250 mL, colocou-se 280 mL de uma solução 0,93 M de hipoclorito de cálcio (0,26 moles de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$)¹. Em seguida, resfriou-se essa solução em banho de gelo/ NH_4Cl . Sob forte agitação e mantendo-se a temperatura do banho sempre abaixo de 0° C, adicionou-se lentamente, durante 1,5 h, a solução de acetato de piperidínio preparada anteriormente. Deixou-se a solução resultante em agitação por mais 15 min. Em seguida, fez-se a extração da solução amarelada resultante com éter etílico (3 x 100 mL). O extrato etéreo incolor foi seco durante a noite sob Na_2SO_4 anidro e armazenado em geladeira. Concentrou-se o extrato etéreo seco em banho de água (~50° C), nunca ultrapassando 60° C. A solução etérea concentrada foi utilizada logo em seguida na reação subsequente.

¹ Utilizou-se hipoclorito de cálcio HTH para piscinas (65%). A solução foi aferida pelo método iodométrico (KI, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

5.1.1.3 - PREPARAÇÃO DO TRÍMERO DA 1-PIPERIDEÍNA **93**

A um balão de 2 bocas de 500 ml, equipado com funil de adição com equalização de pressão e condensador de refluxo, foram colocados 30,6 g (0,53 moles) de hidróxido de potássio e 150 ml de etanol seco. Após completa dissolução do hidróxido de potássio em etanol, sob refluxo, adicionou-se lentamente durante 3 h, via funil de adição, a solução concentrada de *N*-Cloropiperidina preparada no dia anterior, mantendo-se sempre agitação magnética vigorosa. Após o término da adição, a suspensão amarelada resultante foi deixada sob refluxo por mais 2h e em seguida mantida em repouso absoluto a temperatura ambiente durante 24h.

Filtrou-se o cloreto de potássio precipitado em funil de vidro sinterizado, lavando-se o precipitado com etanol. Após completa remoção do etanol em evaporador rotatório, obteve-se um líquido oleoso de cor castanha.

O sal foi solubilizado em 150 mL de água destilada e em seguida foi feita a extração (3 x 80 mL de éter etílico), obtendo-se uma solução etérea do trímerno, que possivelmente tenha sido retido na sal. Ao produto obtido da evaporação do etanol foi vertida a solução etérea, secando-se a solução resultante sob Na₂SO₄ anidro.

Após remoção completa do solvente², obteve-se um líquido oleoso de cor castanha, que foi solubilizado em 9 mL de acetona. A cristalização foi efetuada a -18° C (freezer). Os cristais obtidos, ainda congelados, foram lavados com acetona resfriada (abaixo de -20°C). Obtiveram-se 9,3g do trímerno **93**, correspondendo a um rendimento de 47%. Os cristais podem ser armazenados por mais de 1 ano em recipientes secos. Dados de RMN ¹H e ¹³C do produto estão de acordo com a literatura para o isômero α.

Propriedades Físicas de **93**

- Cristais amarelos
- Ponto de Fusão 58° C (conforme literatura).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **93**

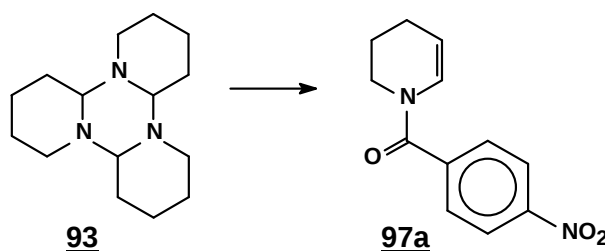
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a

1,28 (m, 3 H); 1,56 (m, 6 H); 1,71 (m, 9H); 2,03 (m, 3 H); 2,79 (dd; 3 H); 3,12 (m, 3 H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

82,0 (CH); 46,4 (CH₂); 29,2 (CH₂); 25,8 (CH₂); 22,3 (CH₂)

² A remoção do solvente deve ser eficiente, pois traços do solvente podem dificultar a cristalização.

5.1.2 - N-(4-NITROBENZOIL)-2-PIPERIDEÍNA 97a

Uma solução do trímero da 1-piperideína 93 (2g; 8,01 mmoles) e trietilamina (2,2 mL; 16,06 mmoles) em THF seco (85 mL) foi levada à refluxo. A esta solução sob refluxo adicionou-se lentamente, via seringa, durante 30 min, uma solução de cloreto de 4-nitrobenzoila (3,72g; 16,06 mmoles em 4 mL de THF seco). Após o termino da adição, obteve-se uma suspensão levemente amarelada, que foi deixada em agitação por mais 3,0 h adicionais.

A suspensão amarelada foi filtrada em funil sinterizado e após remoção do solvente, obteve-se um óleo amarelado. O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:5). Obteve-se 3,6g da enamida 97a, correspondendo a um rendimento de 96%.

Propriedades Físicas de 97a

- Cristais amarelos
- Faixa de Fusão 93,5 – 94,0° C.
- R_f = 0,27 (AcOEt/hexano 1:5)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 97a**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

1,97 (m, 2H); 2,13 e 1,82 (m, 2H, rotâmeros); 3,85 e 3,49 (m, 2H, rotâmeros); 4,95 e 5,30 (m, 1H, rotâmeros); 6,30 e 7,25 (dl, J = 8,4 Hz, 1H, rotâmeros); 7,64 (dl, J = 8,7 Hz, 2H); 8,27 (dl, J = 8,7 Hz, 2H).

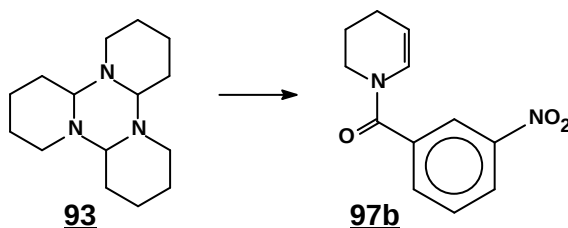
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

21.4 (CH₂); 21.8 (CH₂); 41.1 (CH₂); 109.4 (CH); 123.6 (CH); 126.3 (CH); 129.1 (CH); 141.1 (C); 148.6 (C); 167.0 (C=O).

I.V. (pastilha KBr, cm⁻¹) principais sinais.

3.107, 2.955, 2.932, 2.895, 1.627, 1.600, 1.515, 1.413, 1.385, 1.350, 1.317, 1.288, 1.270, 1.258, 993, 864, 840, 755.

5.1.3 - *N*-(3-NITROBENZOIL)-2-PIPERIDEÍNA **97b**



Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.2.

Trímero da 1-piperideína **93** (2g; 8,03 mmoles), trietilamina (2,23 mL; 16,06 mmoles) e THF seco (85 mL), cloreto de 3-nitrobenzoila (3,72g; 16,06 mmoles em 4 mL de THF seco).

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:4), forneceu 3,5g da enamida **97b**, correspondendo a um rendimento de 95%.

Propriedades Físicas de **97b**

- Cristais amarelos
- Faixa de Fusão 70,6 – 71,5° C.
- R_f = 0,21 (AcOEt/hexano 1:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **97b**

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

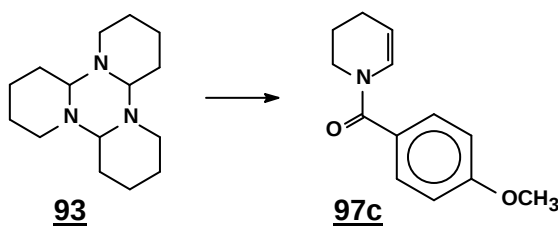
1,99 e 1,84 (m, 2H, rotâmeros); 2,16 (m, 2H); 3,86 e 3,57 (m, 2H, rotâmeros); 4,97 e 5,33 (m, 1H, rotâmeros); 6,35 e 7,26 (dl, J = 8,4 Hz, 1H, rotâmeros); 7,65 (t, J = 8,1 Hz, 1H); 7,84 (dl, J = 8,1Hz, 1H), 8,33 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.

21.4 (CH₂); 21.7 (CH₂); 41.2 e 46.6 (CH₂, rotâmeros); 109.5 e 111.7 (CH, rotâmeros); 123.2 e 122,5 (CH, rotâmeros); 124.8 e 124,1 (CH, rotâmeros); 126.3 (CH); 129.6 (CH); 134.1 e 133,4 (CH, rotâmeros); 136.6 (C); 147.0 (C); 166.4 (C=O).

I.V. (pastilha KBr, cm⁻¹) principais sinais.

3.077, 2.954, 2.925, 2.876, 1.634, 1.531, 1.412, 1.385, 1.351, 994, 918, 720, 614.

5.1.4 - N-(4-METOXIBENZOIL)-2-PIPERIDEÍNA 97c

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.2.

Trímero da 1-piperideína **93** (1,8g; 7,2 mmoles), trietilamina (2,01 mL; 14,4 mmoles) e THF seco (80 mL), cloreto de 4-metoxibenzoila (2,46g; 14,45 mmoles em 4 mL de THF seco). O produto foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 3:7). Obteve-se 3,0g da enamida **97c**, correspondendo a um rendimento de 97%.

Propriedades Físicas de 97c

- Líquido viscoso incolor
- R_f = 0,25 (AcOEt/hexano 1:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 97c**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

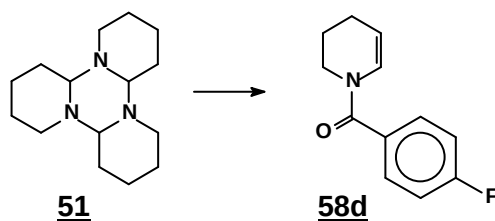
1,93 (sl, 2H); 2,11 (m, 2H); 3,80 (sl, 2H); 3,82 (s, 3H); 4,84 e 5,17 (sl, 1H, rotâmeros); 6,52 (sl, 1H); 6,90 (dl, J = 8,7 Hz, 2H); 7,47 (dl, J = 8,7 Hz, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

21.9 (CH₂); 21.8 (CH₂); 41.2 (CH₂); 55.3 (CH₃); 107.2 (CH); 113.5 (CH); 127.1 (CH); 127.9 (C); 130.3 (CH); 161.1 (C); 169.0 (C=O).

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

3.080, 3.000, 2.930, 2.830, 1.629, 1.510, 1.407, 1.375, 1.253, 1.175, 1.029, 992, 842, 760, 720, 586.

5.1.5 - N-(4-FLUORBENZOIL)-2-PIPERIDEÍNA 97d

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.2.

Trímero da 1-piperideína 93 (1,8g; 7,2 mmoles), trietilamina (2,01 ml; 14,4 mmoles) e THF seco (80 mL), cloreto de 4-fluorobenzoila (2,3g; 14,4 mmoles em 4 mL de THF seco). Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:3) forneceu 2,95g da enamida 97d, correspondendo a um rendimento de 98%.

Propriedades Físicas de 97d

- Líquido incolor.
- R_f = 0,4 (AcOEt/hexano 1:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 97d**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

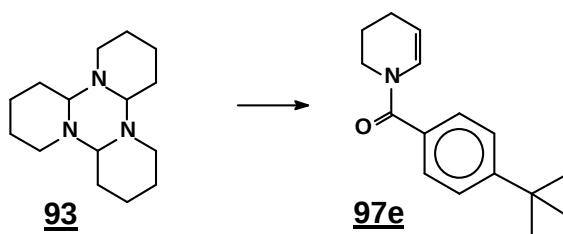
1,95 e 1,81 (m, 2H, rotâmeros); 2,13 (m, 2H); 3,81 e 3,57 (m, 2H, rotâmeros); 4,88 e 5,24 (m, 1H, rotâmeros); 6,45 e 7,23 (d, J = 8,1 Hz, 1H, rotâmeros); 7,10 (m, 2H); 7,51 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.

21.6 (CH₂); 21.8 (CH₂); 41.2 e 46,7 (CH₂, rotâmeros); 108.0 e 110,0 (CH, rotâmeros); 115.4 (d, J = 21,6 Hz, CH); 127.3 e 124,7 (CH, rotâmeros); 129.9 (C); 130.6 (d, J = 8,4 Hz, CH); 163.7 (d, J = 249 Hz, C); 168.2 (C=O).

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

3.110, 2.920, 2.875, 2.800, 1.633, 1.601, 1.507, 1.409, 1.377, 1.227, 993, 848, 757, 723, 577.

5.1.6 - N-(4-TERBUTILBENZOIL)-2-PIPERIDEÍNA 97e

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.2.

Trímero da 1-piperideína 93 (2g; 8,03 mmoles), trietilamina (2,23 mL; 16,06 mmoles) e THF seco (85 mL), cloreto de 4-terbutilbenzoila (3,15g; 16,06 mmoles em 4 mL de THF seco).

O produto foi submetido á cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1:9). Obteve-se 3,6g da enamida 97e, correspondendo a um rendimento de 93%.

Propriedades Físicas de 97e

- Cristais brancos
- Faixa de Fusão 99,0 – 99,4° C.
- Rf = 0,32 (AcOEt/hexano 1:9)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 97e**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

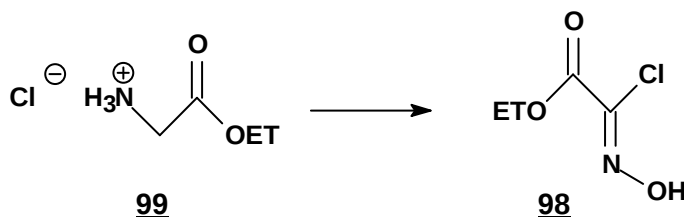
1,32 (s, 9H); 1,95 (sl, 2H); 2,05 (m, 2H); 3,82 (sl, 2H); 4,84 (sl, 1H); 6,51 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 7,42 (s, 4H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

21.8 (CH₂); 31.2 (CH₃); 34.8 (CH₂); 41.1 (CH₂); 47.0 (C); 107.2 (CH); 125 a 133 (CH); 153.5 (CH); 169.4 (C=O).

I.V. (pastilha KBr, cm⁻¹) principais sinais.

3.000 – 3180, 2.960, 2.869, 1.623, 1407, 1.374, 1.266, 992, 850, 699.

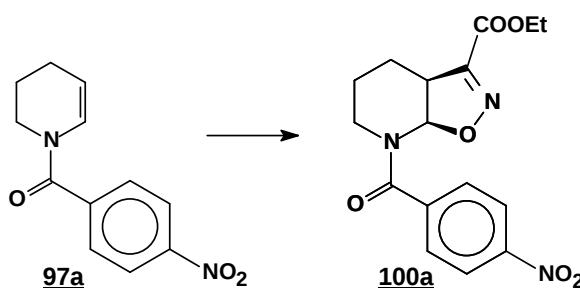
5.1.7 - CLOROOXIMIDOACETATO DE ETILA⁽⁷⁰⁾ 98

Em um balão de 250 mL foi adicionado o cloridrato da glicina etíl-éster **99** (10,2g; 73 mmoles), água estilada (15 mL) e ácido clorídrico concentrado (6,3 mL; 73 mmoles). Em seguida, resfriou-se essa solução em banho de gelo/NH₄Cl. Sob forte agitação e mantendo-se a temperatura do banho sempre abaixo de 0° C, adicionou-se lentamente, via funil de adição, a solução de nitrito de sódio (5,1g; 73 mmoles; 9 mL de água). Ao término desta adição, repetiu-se o processo, adicionando-se mais um equivalente de HCl 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 mL) e seco sob sulfato de sódio anidro.

Após remoção do solvente, seguido de adição de hexano, ocorre precipitação de cristais brancos, que são lavados com hexano e secos sob vácuo. Obteve-se 5g do produto identificado como **98**, correspondendo a um rendimento de 45%.

Propriedades Físicas de 98

- Ponto de Fusão 80° C, conforme literatura.

5.1.8 - 7-(4-NITROBENZOIL)-3a,4,5,6,7,7a-HEXAHIDROISOXAZOLO[5,4-b]PIRIDINA-3-CARBOXILATO DE ETILA 100a

A um balão de 100 mL, acoplado com funil de adição com equalizador de pressão e agitador magnético, foi adicionado a enamida **97a** (2g; 8,6 mmoles), trietilamina (1,45 mL;

10,4 mmoles) e clorofórmio seco (17 ml). A esta solução, sob vigorosa agitação, foi adicionada lentamente durante 2h a solução clorofórmica do precursor do CEFNO **98** (1,43g; 9,48 mmoles, 4 ml de clorofórmio). Logo após o término desta primeira adição, adiciona-se um segundo equivalente de trietilamina e do precursor nas mesmas condições. A reação é acompanhada através de cromatografia de camada delgada, onde percebe-se a formação do produto (cicloaduto) logo após o início da adição do precursor.

Lavou-se a fase orgânica com água destilada (50 ml) e após separação das fases, a fase aquosa foi extraída com clorofórmio (2 x 40 ml). As fases orgânicas foram combinadas e secas sob Na₂SO₄ anidro. 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 3:7). Obteve-se 1,5g do cicloaduto **100a**, correspondendo a um rendimento de 50%.

Propriedades Físicas de 100a

- Pó branco
- Faixa de fusão 113,1 - 114° C.
- R_f = 0,2 (AcOEt/hexano 3:7)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **100a**

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

1,33 (t, J = 6,9 Hz, 3H); 1,70 a 1,95 (m, 4H); 3,26 (m, 1H); 3,36 (sl, 1H); 4,31 (m, 3H); 5,94 (sl, 1H); 7,72 (d, J = 7,8 Hz, 2H); 8,26 (d, J = 8,7 Hz, 2H);

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

13,9 (CH₃); 18,6 (CH₂); 21,6 (CH₂); 39,2 (CH₂); 41,5 (CH); 62,2 (CH₂); 90,9 (CH); 123,7 (CH); 128,5 (CH); 140,4 (C); 148,7 (C); 156,0 (C); 159,7 (C=O); 170,1 (C=O).

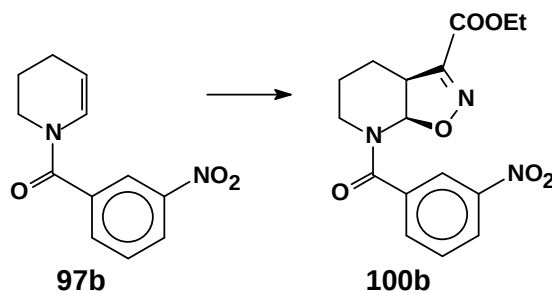
I.V. (pastilha KBr, cm⁻¹) principais sinais.

3.074, 2.980, 1.722, 1.638, 1.591, 1.519, 1.428, 1.347, 1.126, 958, 919, 864, 792, 768.

E.M – Alta Resolução (m/z). Calculado 347.11174, encontrado 347.11345. Principais sinais.

85.01197, 104.02589, 150.01470 (100%), 167.0314, 232.08456, 279.14359, 330.0949, 347.11345 (M⁺)

5.1.9 - 7-(3-NITROBENZOIL)-3a,4,5,6,7,7a-HEXAHIDROISOXAZOLO[5,4-b]PIRIDINA-3-CARBOXILATO DE ETILA 100b



Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.8

Enamida 97b (1,73g; 7,4 mmoles), trietilamina (1,25 mL; 9,0 mmoles), Clorofórmio seco (15 mL), precursor 98 (1,24g; 8,2 mmoles, 4 ml de clorofórmio) dois equivalentes.

O produto foi purificado através de cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 3:7). Obteve-se assim 1,2g do cicloaduto 100b correspondendo a um rendimento de 48%.

Propriedades Físicas de 100b

- Pó branco - Faixa de fusão 107,2 – 107,4° C.
- R_f = 0,15 (AcOEt/hexano 3:7)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS 100b

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a

1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,70 a 1,98 (m, 4H); 3,27 (m, 1H); 3,40 (sl, 1H); 4,31 (m, 3H); 6,00 (sl, 1H); 7,62 (t, J = 8,1 Hz, 1H); 7,89 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 8,37 (sl, 1H); 8,28 (m, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

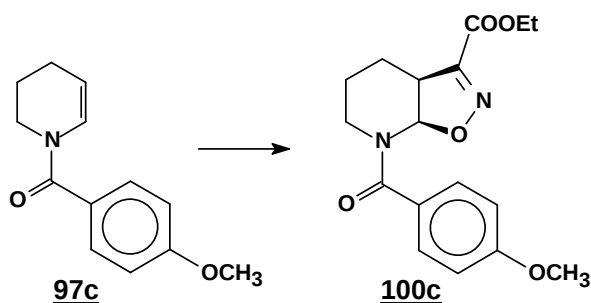
13,9 (CH₃); 18,7 (CH₂); 21,6 (CH₂); 39,4 (CH₂); 41,5 (CH); 62,2 (CH₂); 91,0 (CH); 122,7 (CH); 125,0 (CH); 129,7 (CH); 133,1 (CH); 136,1 (C); 148,0 (C); 155,9 (C); 159,7 (C=O); 169,7 (C=O).

I.V. (pastilha KBr, cm⁻¹) principais sinais.

3.105, 2.980, 2.965, 2.880, 1.723, 1.668, 1.532, 1.432, 1.351, 1.250, 1.117, 929, 858, 765, 730, 700.

E.M – Alta Resolução (m/z). Calculado 347.11174, encontrado 347.11345. Principais sinais.

104.02289, 150.01025 (100%), 232.07465, 274.07465, 330.1072, 347.11600 (M⁺)

5.1.10 - 7-(4-METOXIBENZOIL)-3a,4,5,6,7,7a-HEXAHIDROISOXAZOLO[5,4-b]PIRIDINA-3-CARBOXILATO DE ETILA 100c

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.8

Enamida **97c** (2,8g; 12,9 mmoles) trietilamina (2,17 mL 15,6 mmoles), clorofórmio seco (26 mL), precursor **98** (2,14g; 14,19 mmoles; 5 ml de clorofórmio) dois equivalentes.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:3) forneceu 2,78g do cicloaduto **100c** correspondendo a um rendimento de 65%.

Propriedades Físicas de 100c

- Óleo levemente amarelo
- R_f = 0,15 (AcOEt/hexano 1:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 100c**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a**

1,36 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,68 a 1,93 (m, 4H); 3,21 (m, 1H); 3,36 (m, 1H); 3,82 (s, 3H); 4,34 (m, 3H); 6,33 (sl, 1H); 6,92 (dl, J = 9 Hz, 2H); 7,50 (dl, J = 9,0 Hz, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a

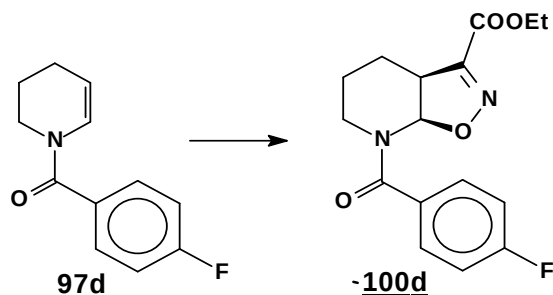
14,0 (CH₃); 18,9 (CH₂); 21,7 (CH₂); 39,5 (CH₂); 41,3 (CH); 55,3 (CH₃); 62,1 (CH₂); 91,6 (CH); 113,8 (CH); 126,4 (C); 129,7 (CH); 155,9 (C); 160,0 (C); 161,4 (C=O).

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

2.958, 1.722, 1.651, 1.606, 1.417, 1.344, 1.251, 1.176, 1.129, 1.024, 921, 843, 763.

E.M – Alta Resolução (m/z). Calculado 332.13722, encontrado 332.12713. Principais sinais.

77.02489, 107.03699, 135.03258 (100%), 217.09206, 332.12713 (M⁺).

5.1.11 - 7-(4-FLUORBENZOIL)-3a,4,5,6,7,7a-HEXAHIDROISOXAZOLO[5,4-b]PIRIDINA-3-CARBOXILATO DE ETILA 100d

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.8

Enamida 97d (2,17g; 10,6 mmoles), trietilamina (1,78 mL; 12,8 mmoles), clorofórmio seco (22 mL), precursor 98 (1,76g; 11,6 mmoles; 5 ml de clorofórmio) dois equivalentes.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:3) forneceu 2,37g do cicloaduto 100d correspondendo a um rendimento de 70%.

Propriedades Físicas de 100d

- Óleo incolor

- $R_f = 0,18$ (AcOEt/hexano 1:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 100d**RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.**

1,36 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H); 1,70 a 2,08 e 2,51 (m, 4H, rotâmeros); 3,24 (m, 1H); 3,37 e 3,80 (m, 1H, rotâmeros); 4,34 (m, 3H); 6,16 (sl, 1H); 7,12 (m, 2H); 7,59 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a.

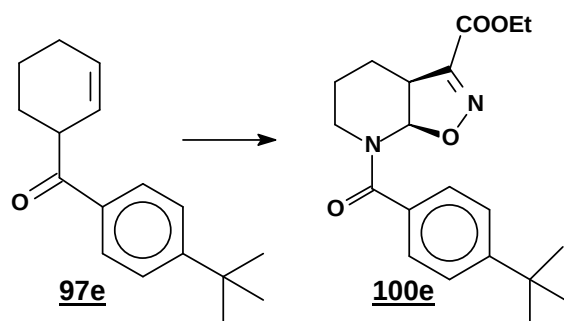
13,9 (CH_3); 18,9 (CH_2); 21,6 (CH_2); 39,0 (CH_2); 41,3 (CH); 62,1 (CH_2); 91,4 (CH); 115,6 (d, $J = 21,5\text{Hz}$, CH); 129,9 (d, $J = 8,5$ Hz, CH); 130,0 (d, $J = 8,4$ Hz, C); 155,8 (C); 159,9 (C=O); 165,3 (d, $J = 250$ Hz, C); 171,2 (C=O).

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

2.980, 1.725, 1.644, 1.602, 1.417, 1.376, 1.348, 1.233, 1.128, 922, 851, 762.

E.M – Alta Resolução (m/z). Calculado 320.11724, encontrado 320.11768. Principais sinais.

75.02981, 95.03430, 123.03420 (100%), 205.10546, 247.10365, 303.11120, 320.11768 (M^+).

5.1.12 - 7-[4-(t-BUTYL)BENZOIL]-3a,4,5,6,7,7a-HEXAHIDROISOXAZOLO[5,4-b]PIRIDINA-3-CARBOXILATO DE ETILA 100e

Procedimento experimental idêntico ao item 5.1.8

Enamida **97e** (2,65g; 10,93 mmoles), trietilamina (1,84 mL; 13,2 mmoles), clorofórmio seco (22 mL), precursor **98** (1,81g; 12,0 mmoles; 5 ml de clorofórmio) dois equivalentes.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:9), forneceu 2,58g do cicloaduto **100e** correspondendo a um rendimento de 66%.

Propriedades Físicas de 100e

- Óleo incolor

- R_f = 0,2 (AcOEt/hexano 1:5)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 100e**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

1,31 (s, 9H); 1,35 (t, J = 7,2Hz, 3H); 1,68 a 1,94 (m, 4H); 3,23 (m, 1H); 3,33 (sl, 1H); 4,34 (m, 3H); 6,22 (sl, 1H); 7,46 (m, 4H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a., presença de rotâmeros.

14,0 e 12,8 (CH₃, rotâmeros); 18,9 (CH₂); 21,8 (CH₂); 31,0 (CH₃); 34,8 (C); 41,2 (CH); 42,7 (CH₂); 62,2 e 64,2 (CH₃, rotâmeros); 92,0 (CH); 125,4 (CH); 127,3 (CH); 131,4 (C); 153,9 (C); 160,0 (C); 160,8 (C); 172,4 (C=O).

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

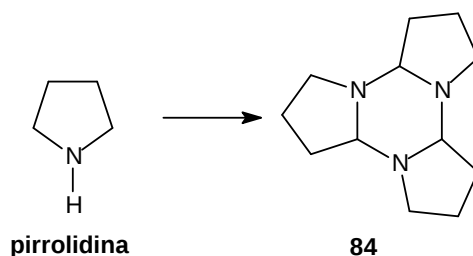
2.962, 1.721, 1.657, 1.580, 1.417, 1.374, 1.345, 1.246, 1.128, 921, 850, 770, 731, 712.

E.M – Alta Resolução (m/z). Calculado 358.18926, encontrado 358.17850. Principais sinais.

83.06093, 128.07009, 161.09528 (100%), 260.13304, 358.17850 (M⁺).

5.2 – SÍNTESE RACÊMICA DE DERIVADOS DE 2-ISOXAZOLINAS PIRROLIDÍNICAS

5.2.1 - TRÍMERO DA Δ^1 -PIRROLINA (ISÔMERO α) 84



Uma solução aquosa a 25% de persulfato de sódio (20,7g; 88 mmoles; 90 mL água) foi adicionada lentamente à 0°C sobre uma solução de pirrolidina (7,3 mL; 88 mmoles), hidróxido de sódio (6,9 g; 176 mmoles) e nitrato de prata (0,07 g; 0,4 mmoles) em 90 mL de água. Ao término da adição, a solução foi deixada em agitação por mais 1 hora à 0°C e posteriormente por mais 3 horas a temperatura ambiente.

A solução escura resultante foi extraída com diclorometano (3x40 mL). Secou-se a fase orgânica sob sulfato de sódio anidro e após remoção do solvente obteve-se 3,34 g de um líquido amarelado viscoso, correspondendo a um rendimento de 55% do trímero 84.

O trímero é utilizado sem qualquer purificação adicional na preparação das 2-pirrolinas o mais rápido possível, devido a sua instabilidade.

Propriedades Físicas de 84

- Óleo amarelo viscoso;
- Sensível a acidez.

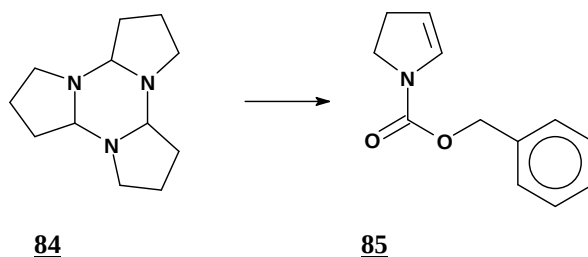
DADOS ESPECTROMÉTRICOS

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a

(parte do monômero está presente, devido ao equilíbrio).

1,75 (m); 2,28 (m); 2,50 (m); 2,99 (m); 3,82(m); 7,59 (s).

5.2.2 - N-(BENZOILCARBONIL)-2-PIRROLINA **85**



Destilou-se uma solução do trímero da Δ^1 -pirrolina **84** (2,56 g; 12,4 mmoles; 125 mL de THF seco), recolhendo-se o destilado em um recipiente pré-resfriado à -78°C , contendo trietilamina (3,5 mL; 24,8 mmoles). Após o término da destilação, adicionou-se lentamente, via seringa, sobre o destilado ainda à -78°C , cloroformato de benzila (3,35 mL; 24,8 mmoles). Deixou-se a suspensão resultante em agitação durante toda noite, aquecendo gradualmente à temperatura ambiente.

A suspensão foi filtrada em funil sinterizado e após remoção do solvente, obteve-se um óleo amarelado. O cloreto de benzila presente como subproduto foi removido por filtração em coluna cromatográfica, utilizando-se apenas hexano. Logo após, o produto residual foi submetido à cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/hexano 1: 9). Obteve-se 1,64 g de um líquido incolor correspondendo a um rendimento de 65% do enecarbamato **85**.

Propriedades Físicas de **85**

- Óleo incolor
- $R_f = 0,26$ (AcOEt/hexano 1: 9)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **85**

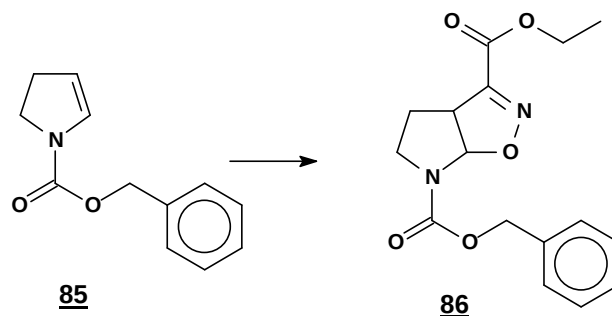
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.

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

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

5.2.3 – ÉSTER 6-BENZIL-3-ETIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO **86**



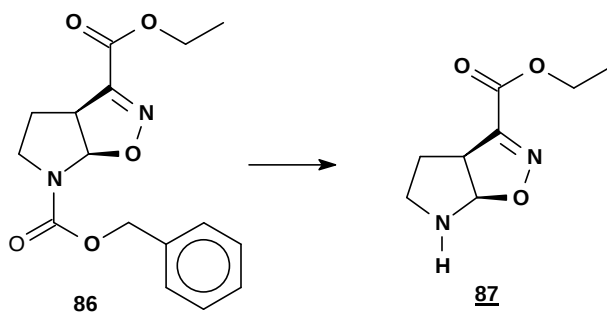
A um balão de 100 ml, acoplado com funil de adição com equalizador de pressão, foi adicionado o enecarbamato **54** (3,61g; 17,8 mmoles), trietilamina (3,14 ml; 22,52 mmoles, 10% de excesso em relação ao precursor do dipolo) e clorofórmio seco (30 ml). A esta solução, sob forte agitação, foi adicionada lentamente, durante 2h, a solução clorofórmica do clorooximidoacetato de etila **98**, precursor do dipolo **79**, (3,1; 20,47 mmoles; 20 ml de CHCl₃ seco). Logo após o término desta primeira adição, adicionou-se um segundo equivalente de trietilamina no meio reacional e também do clorooximidoacetato de etila **98** nas mesmas condições. A reação foi acompanhada através de cromatografia de camada delgada, onde se percebe a formação do produto (cicloaduto) desde o início da adição do precursor do *N*-óxido de nitrila **79**. Todo o enecarbamato **85** usado como reagente é consumido ao final da reação.

Após 5 horas de reação evaporou-se o solvente. O sal formado, cloreto de trietilamônio, foi filtrado em funil sinterizado, utilizando-se uma mistura de acetato/hexano a 40%. 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). Obteve-se 3,97g do cicloaduto **86**, correspondendo a um rendimento de 70%.

Propriedades Físicas de **86**

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

5.2.4 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDROPIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 87



A um balão de 250 mL foi adicionado o cicloaduto **86** (4,76g; 14,97 mmoles), hidróxido de paládio a 5% (0,05g) e metanol PA (200 mL).

À mistura reacional, sob agitação vigorosa, borbulhou-se durante 20 minutos o gás hidrogênio. Em seguida deixou-se a mistura sob pressão positiva de H₂ durante mais uma hora.

Após remoção do metanol solubilizou-se o produto em clorofórmio. A solução clorofórmica foi seca sob sulfato de sódio anidro e filtrada em funil sinterizado.

Após remoção do metanol, obteve-se 2,75g do produto *N*-desprotegido **87** puro, correspondendo a um rendimento quantitativo. O cicloaduto **87** é utilizado nas reações subseqüentes sem necessidade de purificação em coluna cromatográfica.

Propriedades Físicas de **87**

- Óleo incolor

- R_f = 0,2 (AcOEt/hexano 3:7)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **87**

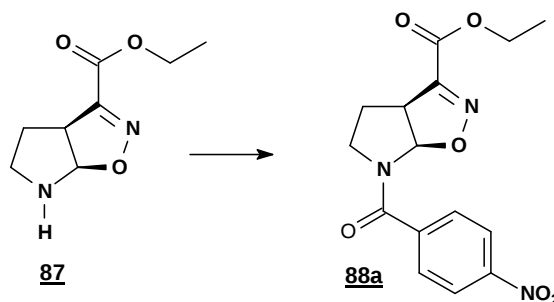
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a

1,35 (t; J = 6,0 Hz; 3H); 2,07 (m; 2H); 2,81 (m; 2H); 3,12 (m; 1H); 3,87 (m, 1H); 4,32 (m; 2H); 6,07 (d; J = 6,9 Hz; 1H)

APT RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a.

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

5.2.5 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-NITROBENZOIL)-4,5,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88a**



A um balão de 50 mL foi adicionado a 2-isoxazolina *N*-desprotegida **87** (160 mg; 0,87 mmoles), trietilamina seca (0,25 mL; 0,9 mmoles, ligeiro excesso), clorofórmio seco (25 mL) e cloreto de 4-nitrobenzoila (161,3 mg; 0,87 mmoles em 4 mL de clorofórmio), que foi adicionado lentamente durante 30 minutos e sob atmosfera de argônio. Após a adição lenta do cloreto de benzoila, a reação foi deixada sob agitação por mais 1 hora.

Após remoção do solvente, o produto foi purificado através de cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 2:3). Obteve-se assim 0,235g do produto **88a**, correspondendo a um rendimento de 82%.

Propriedades Físicas de **88a**

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

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **88a**

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

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

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a.

13,9 (CH_3); 27,6 (CH_2); 43,5 (CH_2); 51,4 (CH); 62,4 (CH_2); 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)

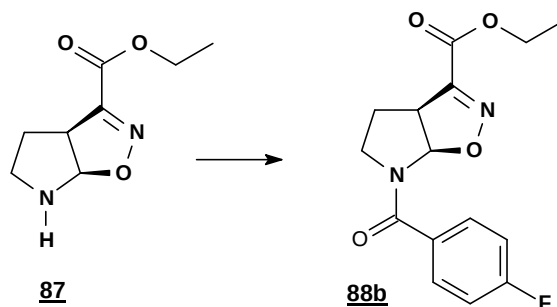
I.V. - FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais.

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

E.M. – Alta Resolução (m/z), calculado 333,09609, encontrado 333,09763. principais sinais.

59.0484 (100%), 76.03306, 101.06232, 120.04708, 150.02432, 218.06591, 234.06628, 316.09288, 333.09763 (M^+).

5.2.6 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88b**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.5

A 2-isoxazolina *N*-desprotegida **87** (138 mg; 0,75 mmoles), trietilamina seca (0,1 mL; 0,8 mmoles), clorofórmio seco (25 mL) e cloreto de 4-fluorobenzoila (0,119g; 0,75 mmoles).

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica Isopropanol/hexano 1:9) forneceu 0,200g do produto **88b**, correspondendo a um rendimento de 86%.

Propriedades Físicas de **88b**

- Óleo incolor
- $R_f = 0,39$ (AcOEt/hexano 1:1)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **88b**

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , 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 (ml; 1H); 4,12 (t; $J = 8,0$ Hz; 1H); 4,36 (m; 3H); 6,22 (sl; 1H); 7,12 (m; 2H); 7,69 (sl; 2H).

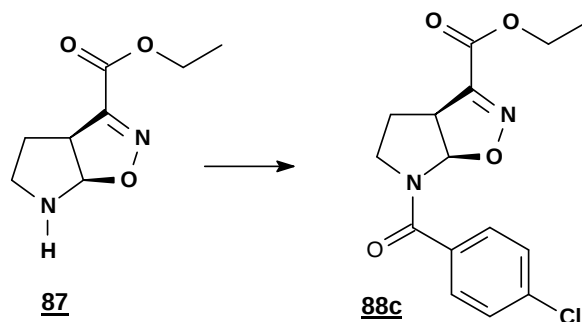
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a.

14,08 (CH_3); 27,95 (CH_2); 43,53 (CH_2); 51,19 (CH); 62,4 (CH_2); 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.

5.2.7 – ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-CLOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88c**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.5

A 2-isoxazolina *N*-desprotegida **87** (0,900g; 4,89 mmoles), trietilamina seca (0,8 mL; 5,0 mmoles, ligeiro excesso), clorofórmio seco (130 mL) e cloreto de 4-clorobenzoila (0,856g; 4,89 mmoles).

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 2:3), forneceu 1,49g do produto **88c** correspondendo a um rendimento de 95%.

Propriedades Físicas de **88c**

- Óleo incolor viscoso
- $R_f = 0,38$ (AcOEt/hexano 1:1)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **88c**

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , 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).

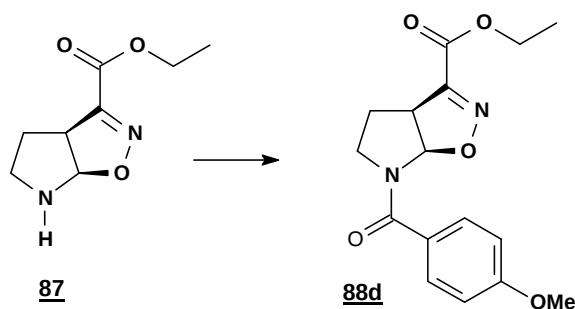
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a.

14,0(CH_3); 27,8(CH_2); 43,5(CH_2); 51,1(CH); 62,3(CH_2); 95,8(CH); 128,6(CH); 129,5(CH); 133,1(C); 137,0(C); 152,2(C); 159,7($\text{C}=\text{O}$); 168,5($\text{C}=\text{O}$).

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.

5.2.8 – ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-METOXIBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88d**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.5

A 2-isoxazolina *N*-desprotegida **87** (0,620g; 3,37 mmoles), trietilamina seca (0,55 mL; 3,5 mmoles, ligeiro excesso), clorofórmio seco (90 mL) e cloreto de 4-metoxibenzoila (0,575g; 3,37 mmoles).

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:1), forneceu 1,05g do produto **88d** correspondendo a um rendimento de 98%.

Propriedades Físicas de **88d**

- Óleo amarelo-claro viscoso
- $R_f = 0,32$ (AcOEt/hexano 1:1)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **88d**

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a

1,38 (t; $J = 7,1\text{Hz}$; 3H); 2,19 (m; 1H); 2,35 (dd; $J = 6,0\text{Hz}$; $J = 13,3\text{Hz}$; 1H); 3,22 (sl; 1H); 3,83 (s; 3H); 4,08 (t; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 4,36(m; 3H); 6,35 (sl; 1H); 6,93 (d; $J = 9,0\text{Hz}$; 2H); 7,64 (sl; 2H).

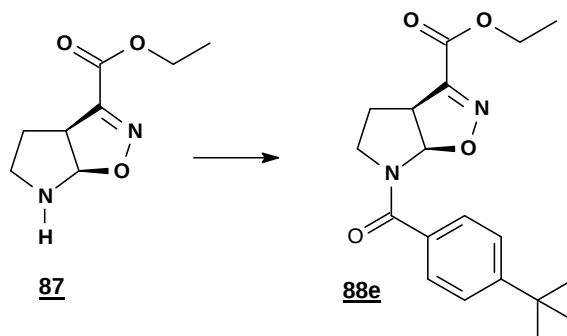
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a.

14,1(CH_3); 28,1(CH_2); 43,25(CH_2); 50,9(CH); 55,4(CH_3); 62,3(CH_2); 96,3(CH); 113,6(CH); 126,0(C); 130,1(CH); 152,4(C); 159,9(C-O); 161,7(C=O); 169,3(C=O).

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

2.998, 1.722, 1.645, 1.607, 1.513, 1.393, 1.257, 1.174, 1.128, 1.027, 932, 847.

5.2.9 – ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-t-BUTILBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88e**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.5

A 2-isoxazolina *N*-desprotegida **87** (182,2 mg; 0,1 mmoles), trietilamina seca (0,02 mL; 0,12 mmoles, ligeiro excesso), clorofórmio seco (25 mL) e cloreto de 4'-*t*-butil-benzoila (0,194 mg; 0,9898 mmoles).

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 1:1), forneceu 0,286g do produto **882e** correspondendo a um rendimento de 84%.

Propriedades Físicas de **88e**

- Óleo incolor viscoso
- R_f = 0,5 (AcOEt/hexano 1:1)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **88e**

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

1,30 (s; 9H); 1,36(t; J = 7,2Hz; 3H); 2,18 (m; 1H); 2,34 (dd; J = 6,1Hz; J = 13,2Hz; 1H); 3,16(sl; 1H); 4,08(m; 1H); 4,35(m; 2H); 4,45(sl; 1H); 6,25(sl; 1H; rotâmero em 6,89); 7,43 (m; 2H); 7,59 (ml; 2H).

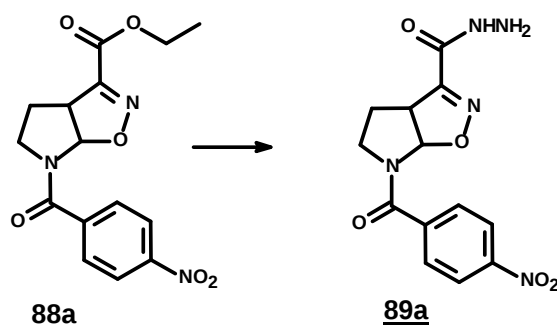
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a.

14,00(CH₃); 27,9(CH₂); 31,05(CH₃); 34,8(CH₂); 40,05(C); 50,78(CH); 62,26(CH₂); 96,18(CH); 125,3(CH); 127,87(2CH); 131,8(C); 152,3(C); 154,26(C); 159,6(C=O); 169,66(C=O).

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

2.963, 1.722, 1.651, 1.613, 1.587, 1.405, 1.270, 1.019, 853.

5.2.10 - HIDRAZIDA DO ÁCIDO 6-(4-NITROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **89a**



A um balão de 100 mL foi adicionado a 2-isoxazolina pirrolidínica **88a** (3,2g; 9,6 mmoles) e 30 mL de etanol absoluto. Sobre esta solução, em agitação e temperatura ambiente, adicionou-se gota-a-gota a hidrazina 80% (9,6 mmol). A mistura reacional foi mantida em agitação por 2 horas, quando CCD indicou final da reação.

Após remoção do solvente a hidrazida **89a** precipitou. Recristalização em etanol forneceu 2,5g da hidrazida **89a** pura, correspondendo a um rendimento de 82%.

Propriedades Físicas de **89a**

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 175 – 177°C.
- R_f = 0,23 (AcOEt)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **89a**

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

2,21 (sl, 2H); 3,08 e 3,42 (m; 1H; rotâmeros); 4,11 (sl; 1H); 4,27 (sl; 1H); 4,55 (sl; 2H); 6,10 e 6,63 (d; J = 7,8Hz; 1H; rotâmeros); 7,82 (m; 2H); 8,34 (m; 2H); 9,88 (s; 1H).

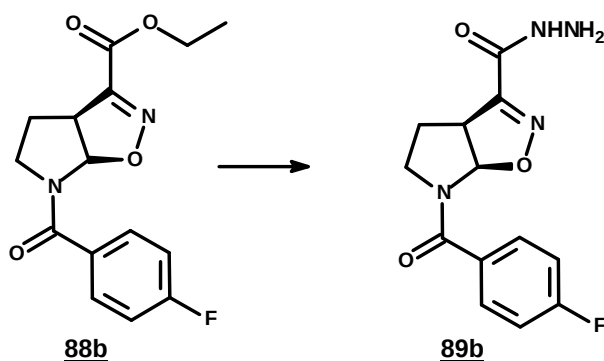
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,6 e 28,1 (CH₂; rotâmeros); 43,6 e 47,1 (CH); 50,6 e 52,4 (CH₂; rotâmeros); 91,4 e 93,8 (CH; rotâmeros); 123,7 (CH); 129,0 (CH); 141,4 (C); 148,4 (C); 154,5 (C=N); 157,8 (C=O); 167,3 (C=O)

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

3334, 3286, 3190, 2957, 2284, 1662, 1598, 1398, 1351, 1112, 922, 833, 724, 701.

5.2.11 - HIDRAZIDA DO ÁCIDO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **89b**



Procedimento experimental semelhante item 5.2.10

2-isoxazolina pirrolidínica **88b** (2,6g; 8,5 mmoles), etanol (26 mL) e hidrazina 80% (8,5 mmol).

Recristalização em etanol, forneceu 2,0g da hidrazida **88b** correspondendo a um rendimento de 80%.

Propriedades Físicas de **88b**

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 191 – 193°C.
- R_f = 0,23 (AcOEt)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **88b**

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

2,17 (m; 2H); 3,03 e 3,40 (m; 1H; rotâmero); 4,13 (m; 1H); 4,24 (m; 1H); 4,53(sl; 2H); 6,16 e 6,65 (sl; 1H; rotâmero); 7,32 (sl; 2H); 7,65 (sl; 2H); 9,87 (s; 1H).

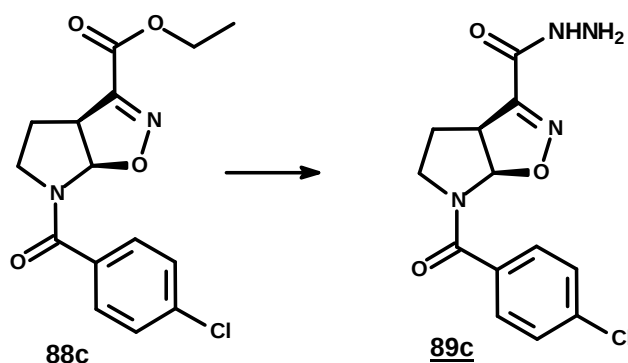
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,7 e 28,1(CH₂; rotâmero); 43,5 47,4 (CH; rotâmero); 50,4 e 52,2 (CH₂; rotâmero); 91,5 e 94,3 (CH; rotâmero); 1115,3 e 115,6 (CH, d, ²J = 21,5 Hz); 130,2 (CH); 131,9 (C); 154,4 (C=N); 157,9 (C=O); 161,5 e 164,8 (C, d, ¹J = 246 Hz); 168 (C=O).

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

3314, 3271, 2966, 2901, 1687, 1653, 1598, 1400, 1219, 1167, 930, 845, 796, 601.

5.2.12 - HIDRAZIDA DO ÁCIDO 6-(4-CLOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **89c**



Procedimento experimental semelhante item 5.2.10

2-isoxazolina pirrolidínica **88c** (3,43g; 10,64 mmoles), etanol (30 mL) e hidrazina 80% (10,6 mmol).

Recristalização em etanol, forneceu 2,85g da hidrazida **89c** correspondendo a um rendimento de 87%.

Propriedades Físicas de **89c**

- Cristais brancos em forma de agulha
- Faixa de Fusão 148 – 150°C.
- R_f = 0,22 (AcOEt)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **89c**

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

2,18 (sl; 2H); 3,05 e 3,49 (sl; 1H; rotâmero); 4,11 (sl; 1H); 4,25 (m; 1H); 4,51 (sl; 2H); 6,16 e 6,63 (sl; 1H; rotâmero); 7,57 (sl; 4H); 9,82 (sl; 1H).

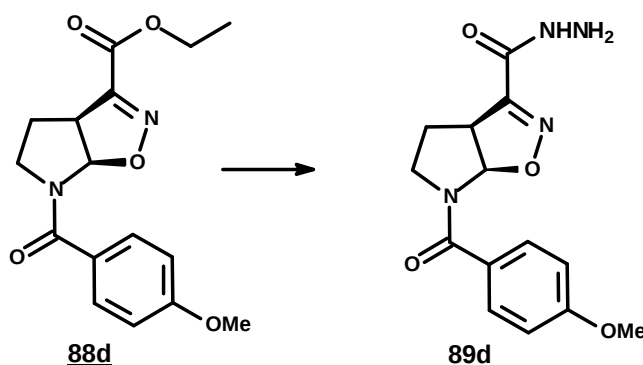
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,7 e 27,5 (CH₂; rotâmero); 43,5 e 47,4 (CH; rotâmero); 50,4 e 52,3 (CH₂; rotâmero); 91,5 e 94,1 (CH; rotâmero); 128,4 (CH); 129,5 (CH); 134,2 (C); 135,3 (C); 154,5 (C=N); 157,9 (C=O); 167,9 (C=O).

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

3325, 3277, 2992, 2966, 2901, 1678, 1655, 1589, 1405, 1273, 1021, 931, 837, 760, 601.

5.2.13 - HIDRAZIDA DO ÁCIDO 6-(4-METOXIBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **88d**



Procedimento experimental semelhante item 5.2.10

2-isoxazolina pirrolidínica **88d** (3,63g; 11,4 mmoles), etanol (32 mL) e hidrazina 80% (11,0 mmol).

Recristalização em etanol, forneceu 2,95g da hidrazida **89d** correspondendo a um rendimento de 88%.

Propriedades Físicas de **89d**

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 135 – 137°C.
- R_f = 0,21 (AcOEt)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **89d**

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

2,14 (sl; 2H); 3,0 (sl; 1H); 3,80 (s, 3H) 4,04 (m; 1H); 4,23 (m; 1H); 4,53 (sl; 2H); 6,22 e 6,66 (sl; 1H; rotâmero); 7,02 (ml; 2H); 7,57 (m; 2H) 9,82 (s; 1H).

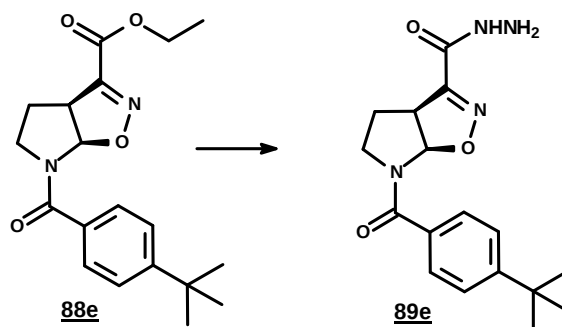
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,9 e 28,9(CH₂; rotâmero); 43,5 (CH); 50,2 e 52,0 (CH; rotâmero); 55,3 (CH₃) 91,8 e 94,5 (CH; rotâmero); 113,6 (CH); 127,3 (C); 129,8 (CH); 154,2 (C=N); 158,1 (C=O); 161,0 (C); 168,4 (C=O).

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

3319, 3218, 3001, 2966, 1661, 1628, 1598, 1517, 1386, 1224, 1021, 914, 843, 668.

5.2.14 - HIDRAZIDA DO ÁCIDO 6-(4-TERT-BUTIL-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **89e**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.10.

2-isoxazolina pirrolidínica **88e** (4,0g; 11,6 mmoles), etanol (35 mL) e hidrazina 80% (11,6 mmol).

Recristalização em etanol, forneceu 3,05g da hidrazida **89e** correspondendo a um rendimento de 80%.

Propriedades Físicas de **89e**

- Cristais amarelo claro
- Faixa de Fusão 145 – 147° C.
- R_f = 0,26 (AcOEt)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **89e**

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

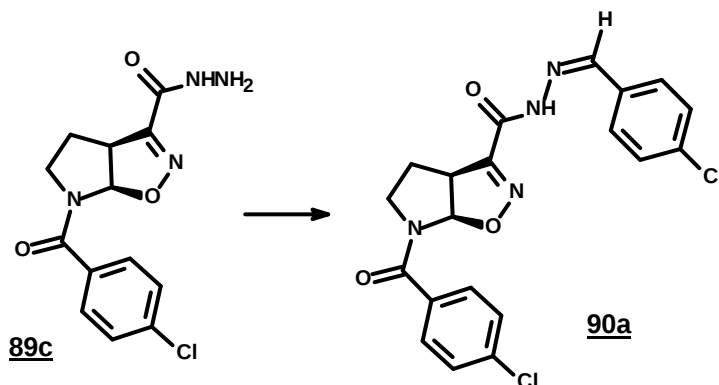
1,3 (s; 9H) 2,15 (sl; 2H); 3,02 e 3,52 (sl; 1H; rotâmero); 4,14 (sl; 1H); 4,23 (m; 1H); 4,55 (s; 2H); 6,18 e 6,66 (sl; 1H; rotâmero); 7,51 (sl; 4H); 9,87 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 30,9 (CH₃); 34,6 (C) 43,3 e 47,0 (CH; rotâmero); 50,3 e 52,0 (CH₂; rotâmero); 91,6 e 94,4 (CH; rotâmero); 125,0 (CH); 127,5 (CH); 132,5 (C); 153,3 (C); 154,4 (C=N); 158,0 (C=O); 168,9 (C=O).

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

3320, 2960, 2901, 2866, 1646, 1517, 1410, 1273, 1141, 1021, 931, 836, 709, 544.

5.2.15 – (4-CLOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-CLORO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90a

A uma solução de 1,33g (4,31 mmoles) da hidrazida **89c** em etanol absoluto (38 mL), contendo duas gotas de ácido clorídrico 37%, foi adicionado 0,64g (4,52 mmoles) de *p*-cloro benzaldeído. A mistura reacional ficou sob agitação a temperatura ambiente durante 30 minutos, após extensiva precipitação ter sido visualizada. A reação foi resfriada em banho de gelo e sob agitação, neutralizada com solução aquosa de NaHCO₃ 10%. O precipitado foi filtrado e seco em estufa a 40° C.

Recristalização em Metanol forneceu 1,55g da hidrazona **90a** pura correspondendo a um rendimento de 83%.

Propriedades Físicas de 90a

- Pó amorfo branco
- Ponto de Fusão - Carbonizou a 215°C
- R_f = 0,38 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90a**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

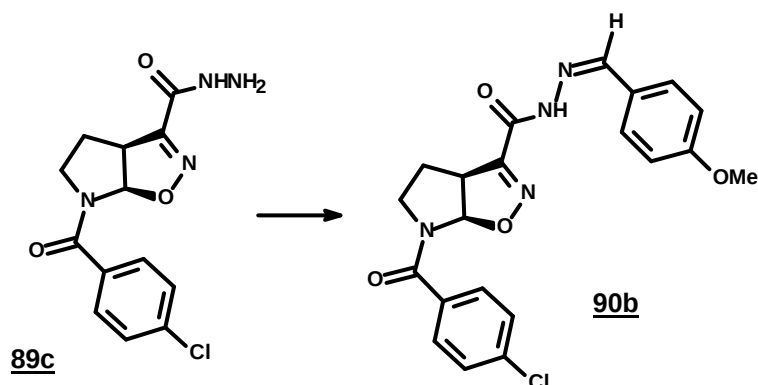
2,24 (m; 2H); 3,08 e 3,34 (m; 1H; rotâmero); 4,11 (ml; 1H); 4,31 (m; 1H); 6,22 e 6,7 (sl; 1H; rotâmero); 7,40 e 7,71 (ml; 8H); 8,4 (s; 1H); 12,18 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,7 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,4 (CH; rotâmero); 50,0 e 51,9 (CH₂; rotâmero); 92,3 e 94,9 (CH; rotâmero); 128,5(CH); 128,9(CH); 129,5(CH); 132,9(C); 134,1(C); 134,9(C); 135,4(C); 148,5 (N=CH); 154,6 (C=O); 155,4 (C=N); 168 9 (C=O).

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

3266, 3009, 2947, 2885, 1669, 1598, 1543, 1412, 1264, 1088, 1021, 931, 835, 751.

5.2.16 – (4-METOXIBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-CLORO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90b

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89c** (1,06g; 3,44 mmoles), etanol (29 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metoxibenzaldeído (0,44mL, 3,44 mmoles).

Recristalização em metanol, forneceu 1,2g da hidrazida **90b** correspondendo a um rendimento de 83%.

Propriedades Físicas de 90b

- Pó amorfo branco
- Ponto de Fusão - Carbonizou a 210°C
- R_f = 0,23 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90b**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

2,3 (m; 2H); 3,18 e 3,36 (m; 1H; rotâmero); 3,80 (s; 3H) 4,14 (m; 1H); 4,33 (m; 1H); 6,24 e 6,71 (m; 1H; rotâmero); 7,0 (m; 1H); 7,02 (m; 1H); 7,6 e 7,71 (ml; 6H); 8,39 (s; 1H); 11,97 (s; 1H).

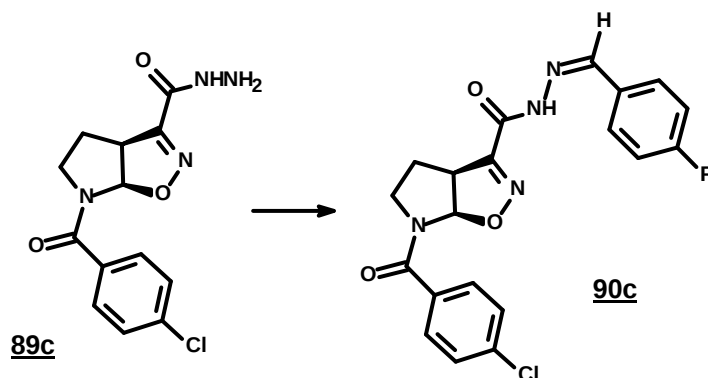
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,7 e 28,3 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,2 e 52,1 (CH₂; rotâmero); 55,3 (CH₃); 92,2 e 94,7 (CH; rotâmero); 114,4 (CH); 126,5 (C); 128,6 (CH); 128,9 (CH); 129,5 (CH); 134,1 (C); 135,4(C); 149,3 (N=CH); 155,2(C=O); 154(C = N); 161,1 (C); 167,9 (C=O).

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

3270, 3009, 2894, 2839, 1675, 1598, 1508, 1394, 1256, 1172, 1021, 931, 831, 787, 751, 626.

5.2.17 – (4-FLUOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-CLORO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **90c**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89c** (1,37g; 4,45 mmoles), etanol (30 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-fluorobenzaldeído (0,47mL, 4,45 mmoles).

Recristalização em metanol, forneceu 1,4g da hidrazona **90c** correspondendo a um rendimento de 76%.

Propriedades Físicas de **90c**

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 200 - 201°C
- R_f = 0,38 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **90c**

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

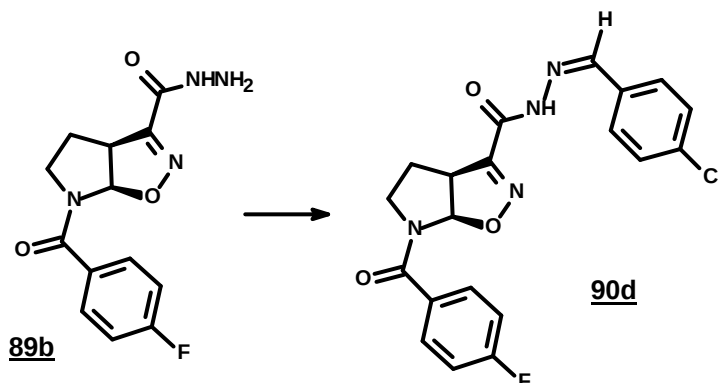
2,21 e 2,30 (m; 2H; rotâmero); 3,14 e 3,40 (m; 1H; rotâmero); 4,12 (m; 1H); 4,33 (m; 1H); 6,24 e 6,72 (m; 1H; rotâmero); 7,28 (m; 2H); 7,58 e 7,75 (m; 6H); 8,45 (s; 1H); 12,08 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,1 e 52,1 (CH₂; rotâmero); 92,2 e 94,8 (CH; rotâmero); 115,8 e 116,1 (CH, d, ²J = 21Hz) 128,6 (CH); 129,4 (CH); 130,7 (C); 134,2 (C); 135,4 (C); 148,5 (N=CH); 154,8 (C=O); 155,4 (C=N); 161,6 e 164,9 (C, d, ¹J = 246 Hz); 167,9 (C=O).

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

3268, 3049, 2948, 2894, 1653, 1598, 1507, 1410, 1264, 1238, 1021, 931, 840, 760, 524.

5.2.18 - (4-CLOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-FLUOR-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90d

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89b** (0,9g; 3,08 mmoles), etanol (27 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-clorobenzaldeído (0,45 g, 3,24 mmoles).

Recristalização em metanol, forneceu 1,0g da hidrazona **90d** correspondendo a um rendimento de 78%.

Propriedades Físicas de 90d

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 215 - 217°C
- R_f = 0,34 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90d**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

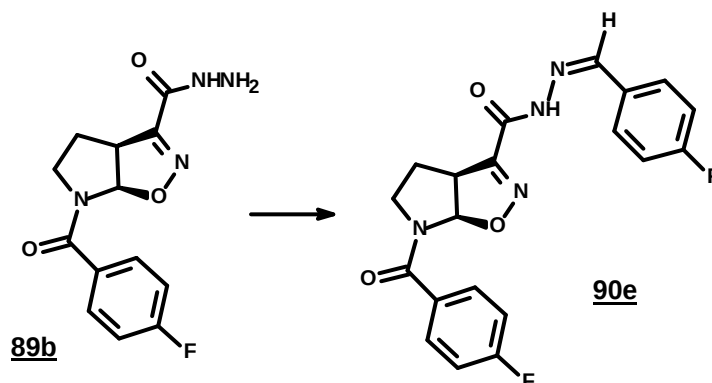
2,29 (m; 2H; rotâmero); 3,14 e 3,59 (m; 1H; rotâmero); 4,16 (m; 1H); 4,34 (m; 1H); 6,28 e 6,73 (sl; 1H; rotâmero); 7,2 a 7,9 (m; 8H); 8,45 (s; 1H); 12,15 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,3 (CH₂; rotâmero); 43,8 e 47,5 (CH₂; rotâmero); 50,1 e 52,0 (CH; rotâmero); 92,4 e 95,0 (CH; rotâmero); 115,4 e 115,6 (CH, d, ²J = 22 Hz) 128,9 (CH); 129 (CH); 130,2 (CH); 131,8(C); 131,9 (C) 133 (C); 135,4(C); 148 (N=CH); 154,8 (C=O); 155,6 (C=N); 161,6 e 164,8 (C, d, ¹J = 235 Hz); 167,9 (C=O).

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

3252, 3064, 2983, 2957, 2885, 1669, 1598, 1543, 1390, 1219, 1159, 1012, 922, 844, 760, 605, 517.

5.2.19 – (4-FLUOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90e

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89b** (1,25g; 4,28 mmoles), etanol (30 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-fluorobenzaldeído (0,45 mL, 4,4 mmoles).

Recristalização em metanol, forneceu 1,65g da hidrazona **90e** correspondendo a um rendimento de 97%.

Propriedades Físicas de 90e

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 217 - 218°C
- R_f = 0,32 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90e**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

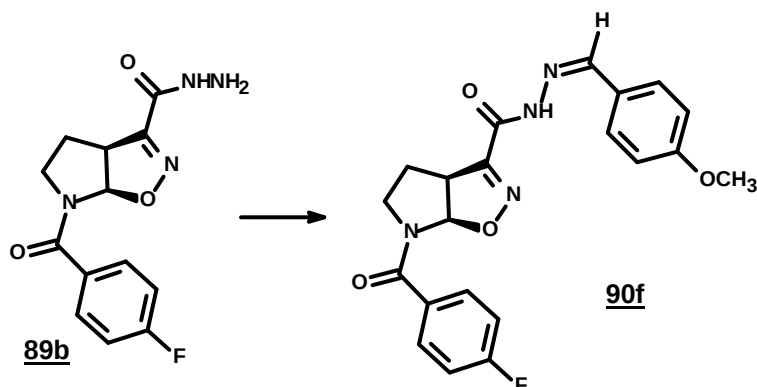
2,26 (m; 2H); 3,1 e 3,47 (m, 1H, rot); 4,15 (sl; 1H); 4,33 (t; 1H, J= 9Hz); 6,26 e 6,74 (sl; 1H; rotâmero); 7,32 (m; 4H); 7,7 (m; 4H); 8,4 (s; 1H); 12,16 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

27,1 e 28 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,2 (CH₂; rotâmero); 51,2 e 51,9 (CH₂; rotâmero); 92,1 e 95,0 (CH; rotâmero); 115,3 e 115,6 (CH, d, ²J = 22 Hz); 115,9 e 116,2 (CH, d, ²J = 21 Hz); 129,5 (CH); 130,2 (CH); 130,6 (C); 131,8 (C); 135,4 (C); 148,2 (N=CH); 154,7 (C=O); 155,4 (C=N); 161,6 e 164,9 (C, d, ¹J = 247 Hz); 168 (C=O).

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

3263, 3064, 3001, 2894, 1672, 1598, 1507, 1405, 1238, 1158, 1021, 931, 843, 805, 596, 517.

5.2.20 - (4-METOXIBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90f

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89b** (0,9g; 3,08 mmol), etanol (27 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metoxibenzaldeído (0,39 mL, 3,23 mmol).

Recristalização em metanol, forneceu 1,2g da hidrazona **90f** correspondendo a um rendimento de 90%.

Propriedades Físicas de 90f

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 225 - 228°C
- R_f = 0,21 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90f

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

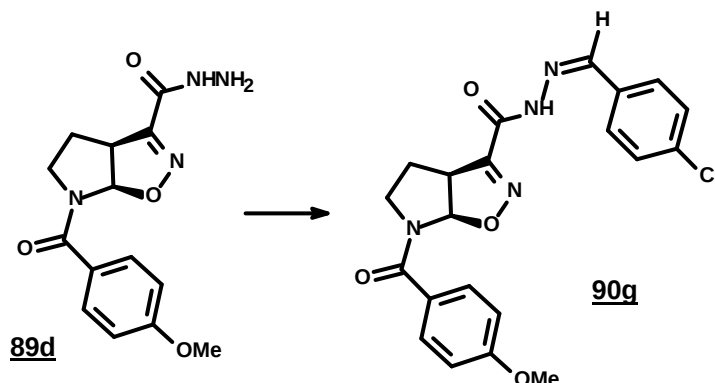
2,24 (m; 2H); 3,3 (s, 3H); 4,14 (m; 1H); 4,33 (m; 1H); 6,25 e 6,72 (sl; 1H; rotâmero); 7,02 (m; 2H); 7,32 (m; 2H); 7,62 a 7,66 (m; 4H); 8,39 (s; 1H); 11,92 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH₂; rotâmero); 50,2 e 52,0 (CH; rotâmero); 55,3 (CH₃); 92,2 e 94,9 (CH; rotâmero); 114,4 (CH); 115,4 e 115,6 (CH, d, ²J = 22 Hz); 126,5 (C); 128,9 (CH); 130,3 (CH); 131,8 (C); 149,2 (N=CH); 154,7 (C=O); 155,2 (C=N); 161,1 (C) 161,6 e 164,9 (C, d, ¹J = 235 Hz); 168 (C=O).

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

3268, 3064, 3007, 2947, 2894, 2839, 1673, 1598, 1507, 1396, 1256, 1169, 1021, 931, 846, 805, 761, 600.

5.2.21 - (4-CLOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-METOXI-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90g

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89d** (1,32g; 4,34 mmoles), etanol (35 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-clorobenzaldeído (0,61g, 4,4 mmoles).

Recristalização em metanol, forneceu 1,7g da hidrazona **90g** correspondendo a um rendimento de 92%.

Propriedades Físicas de 90g

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão – Carbonizou a 236°C
- $R_f = 0,29$ (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90g**RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.**

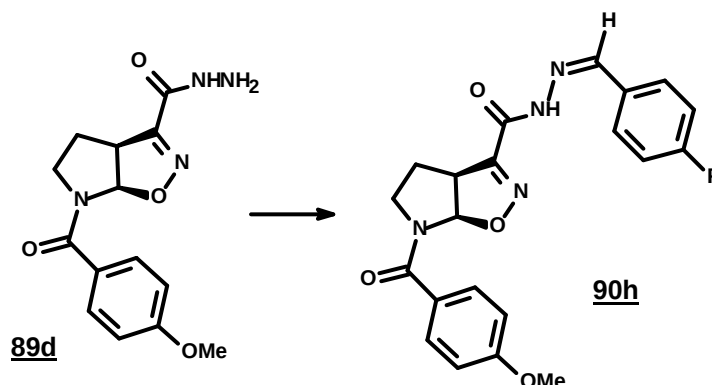
2,22 (m; 2H); 3,08 e 3,36 (s; 1H; rotâmero); 3,81 (s; 3H); 4,16 (sl; 1H); 4,32 (t; $J = 8$ Hz ; 3H); 6,33 e 6,75 (sl; 1H; rotâmero); 7,03 (m; 2H); 7,5 a 7,75 (m; 6H); 8,44 (s; 1H); 12,21 (s; 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a, presença de rotâmeros.

27,1 (CH_2); 44,1 e 47,0 (CH; rotâmero); 51,7 (CH_2); 55,4 (CH_3); 95,6 (CH); 113,8 (CH); 127,4 (CH); 129 (CH); 129,7 (CH); 132,9 (C); 135 (C); 147 (C); 148,2 ($\text{N}=\text{CH}$); 154,5 ($\text{C}=\text{O}$); 155,7 ($\text{C}=\text{N}$); 161,2 (C); 168,6 ($\text{C}=\text{O}$).

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

3251, 3064, 3001, 2948, 2887, 2839, 1667, 1606, 1543, 1382, 1258, 1169, 1121, 1021, 922, 839, 796, 751, 609, 517.

5.2.22 – (4-FLUOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-METOXI-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3- CARBOXÍLICO 90h

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89d** (1,45g; 4,7 mmol), etanol (32 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e p-fluorobenzaldeído (0,5g, 4,8 mmol).

Recristalização em metanol, forneceu 1,7g da hidrazona **90h** correspondendo a um rendimento de 88%.

Propriedades Físicas de 90h

- Pó amorfo branco
- Ponto de Fusão – Carbonizou a 220°C
- R_f = 0,31 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90h**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

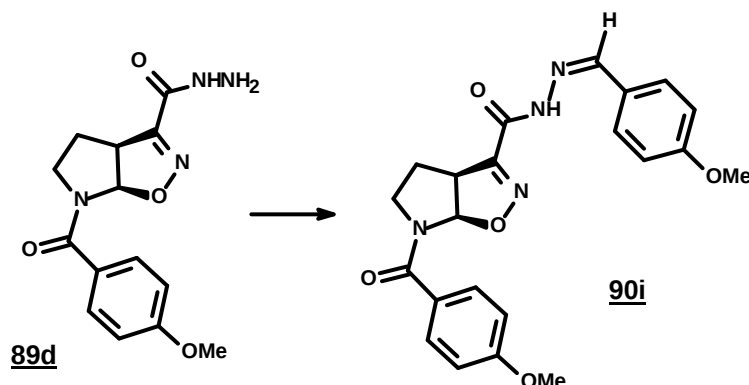
2,21 (m; 2H); 3,09 e 3,35 (m; 1H; rotâmero); 4,17 (m; 1H); 4,32 (m; 1H); 6,34 e 6,75 (sl; 1H; rotâmero); 7,02 a 7,78 (m; 8H); 8,44 (s; 1H); 12,15 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

27,0 e 28,3 (CH₂, rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH₂; rotâmero); 49,9 e 51,7 (CH; rotâmero); 55,3 (CH₃); 92,5 e 95,3 (CH; rotâmero); 113,6 (CH); 115,8 e 116,0 (C, d, ²J = 22 Hz); 127,3 (C); 129,5 (CH); 129,7 (CH); 130,6 (C); 148,2 (N=CH); 154,5 (C=O); 155,5 (C = N); 161,0 (C); 161,7 e 164,9 (C, d, J = 247 Hz); 167,9 (C = O).

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

3252, 3073, 2994, 2948, 2894, 1664, 1606, 1507, 1391, 1259, 1172, 1021, 931, 838, 786, 751, 600.

5.2.23 – (4-METOXIBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-METOXI-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90i

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89d** (1,35g; 4,44 mmoles), etanol (35 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metoxibenzaldeído (0,61g, 4,6 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,68g da hidrazona **90i** correspondendo a um rendimento de 90%.

Propriedades Físicas de 90i

- Pó amorfo levemente amarelo
- Faixa de Fusão 198 a 200°C
- R_f = 0,18 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90i**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

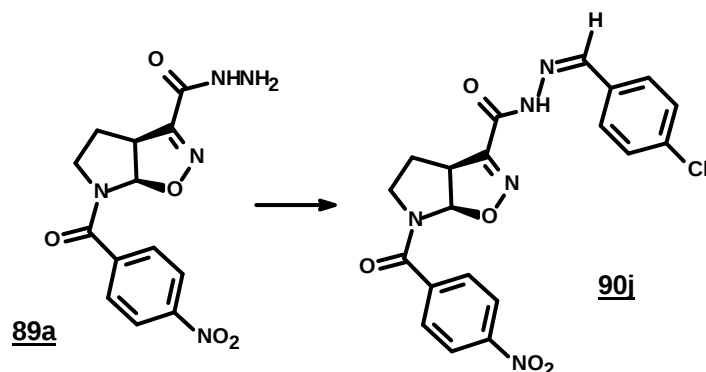
2,21 (m; 2H); 3,08 e 3,36 (s; 1H; rotâmero); 3,81 (s; 6H) 4,16 (sl; 1H); 4,32 (t; 1H; J = 7,8 Hz); 6,33 e 6,75 (m; 1H; rotâmero); 7,03 (m; 2H); 7,5 a 7,75 (m; 6H) 8,44 (s; 1H); 12,21 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

27,1 (CH₂); 50,4 (CH); 51,4 (CH₂); 55,2 (CH₃); 55,4 (CH₃); 95,1 (CH); 113,5 (CH); 114,3 (CH); 126,5 (C); 127,3 (C); 128,8 (CH); 129,7 (CH); 149,2 (N=CH); 154,4 (C = O); 155,3, 7 (C=N); 161,1 (C); 168,3 (C = O).

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

3250, 3064, 3001, 2948, 2888, 2839, 1667, 1605, 1543, 1381, 1259, 1169, 1121, 1021, 922, 840, 796, 751, 609, 517.

5.2.24 - (4-CLOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-NITRO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90j

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89a** (1,1g; 3,45 mmoles), etanol (31 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-clorobenzaldeído (0,51g, 3,62 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,2g da hidrazona **90j** correspondendo a um rendimento de 78%.

Propriedades Físicas de 90j

- Pó amorfo levemente amarelo
- Ponto de Fusão – Carbonizou a 238°C
- R_f = 0,3 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90j**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

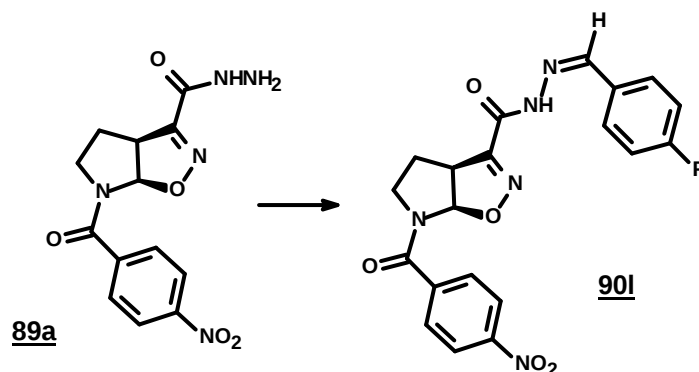
2,25 e 2,33 (m; 2H; rotâmero); 3,16 e 3,30 (m; 1H; rotâmero); 4,14 (m; 1H); 4,37 (m; 1H); 6,21 e 6,73 (sl; 1H; rotâmero); 7,5 a 7,8 (m; 6H) 7,83 (m; 2H) 8,44 (s; 1H); 12,12 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,6 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,8 e 47,3 (CH; rotâmero) 50,3 e 52,2 (CH₂; rotâmero); 92,2 e 94,6 (CH; rotâmero); 123,7 (CH); 128,8 (CH); 128,9 (CH); 129 (CH); 132,9 (C); 134,9 (C); 141,3(C); 148,1 (N=CH); 148,4 (C) 154,6 (C = O); 155,3 (C=N); 167,3 (C = O).

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

3262, 3108, 3064, 3010, 2948, 2885, 1670, 1598, 1526, 1426, 1346, 1264, 1174, 1084, 1012, 921, 833, 733, 616.

5.2.25 – (4-FLUOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-NITRO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90I

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89a** (1,3g; 4,07 mmoles), etanol (30 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-fluorobenzaldeído (0,43 mL, 4,2 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,0g da hidrazona **90I** correspondendo a um rendimento de 60%.

Propriedades Físicas de 90I

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 220 a 221°C
- R_f = 0,3 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90I**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

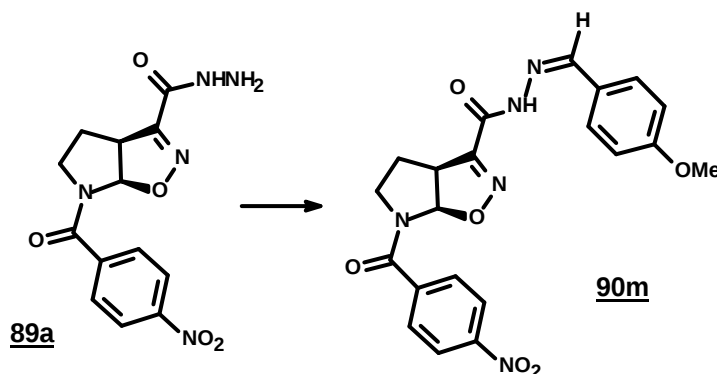
2,30 (m; 2H); 3,15 e 3,34 (m; 1H; rotâmero); 4,12 (m; 1H); 4,36 (m; 1H); 6,20 e 6,72 (sl; 1H; rotâmero); 7,3 a 7,8 (m; 8H) 8,43 (s; 1H); 12,15 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,6 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,9 e 47,3 (CH; rotâmero) 50,4 e 52,2 (CH₂; rotâmero); 92,2 e 94,5 (CH; rotâmero); 115,9 116,2 (CH, d, ²J = 21Hz); 123,8 (CH); 128,8 (CH); 129,5 (CH); 130,6 (C); 141,4 (C); 148,4 (N=CH); 155,3 (C = O); 154 (C=N); 161,7 e 165,0 (C, d, ¹J = 242 Hz); 167,4 (C = O).

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

3219, 3055, 2361, 2948, 1661, 1615, 1598, 1526, 1418, 1351, 1264, 1021, 931, 831, 760.

5.2.26 – (4-METOXIBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-NITRO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90m

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89a** (1,1g; 3,45 mmoles), etanol (31 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metóxi-benzaldeído (0,44 mL, 3,62 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,24g da hidrazona **90m** correspondendo a um rendimento de 83%.

Propriedades Físicas de 90m

- Pó amorfo amarelo
- Faixa de Fusão – Carbonizou à 240°C
- R_f = 0,18 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90m**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

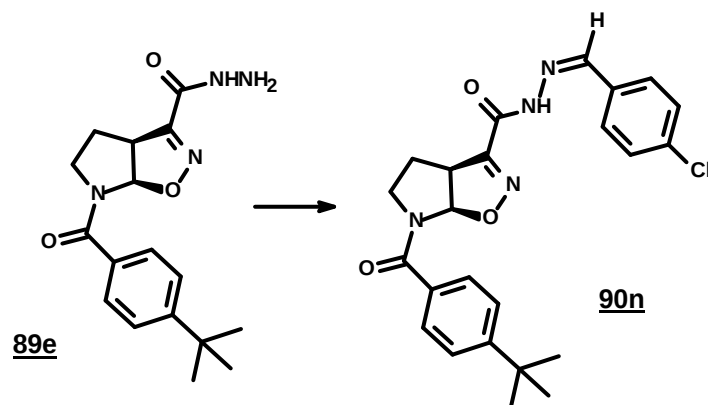
2,25 e 2,32 (m; 2H; rotâmero); 3,3 e 3,5 (m; 1H; rotâmero); 3,8 (s, 3H) 4,13 (m; 1H); 4,36 (m; 1H); 6,20 e 6,70 (sl; 1H; rotâmero); 7,0 (m; 2H); 7,64 (m; 2H) 7,84 (m; 2H) 8,35 (m; 2H); 8,38 (s 1H) 12,12 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,6 e 28,1 (CH₂; rotâmero); 43,9 e 46,5 (CH; rotâmero); 50,4 e 52,3 (CH₂; rotâmero); 55,3 (CH₃) 92,1 e 94,3 (CH; rotâmero); 114,4 (CH); 123,7 (CH); 126,5 (C); 128,7 (CH); 128,9 (CH); 141,4 (C); 148,4 (N=CH); 149,4 (C); 151,4 (C=O) e 154,7 (C = N); 161,1 (C); 167,4 (C = O).

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

3273, 3073, 2973, 2839, 1676, 1598, 1507, 1417, 1351, 1256, 1169, 1021, 922, 859, 832, 704, 616.

5.2.27 – (4-CLOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-TERTBUTIL-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90n

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89e** (1,4g; 4,24 mmoles), etanol (40 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metóxi-benzaldeído (0,6g, 4,5 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,45g da hidrazona **90m** correspondendo a um rendimento de 78%.

Propriedades Físicas de 90n

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão – 220 a 221°C
- R_f = 0,38 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90n

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

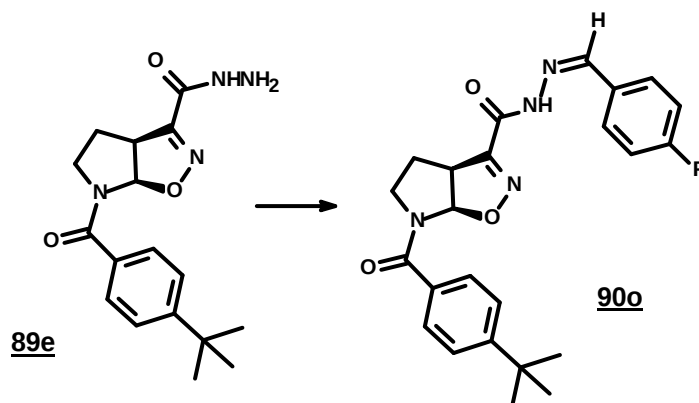
1,3 (s, 9H); 2,23 (m; 2H); 3,12 (m; 1H); 4,18 (m; 1H); 4,32 (m; 1H); 6,30 e 6,75 (sl; 1H; rotâmero); 7,5 a 7,73 (m; 8H); 8,45 (s; 1H); 12,14 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,9 e 28,4 (CH₂; rotâmero); 30,9 (CH₃); 34,6 (C); 43,5 e 47,0 (CH; rotâmero); 49,9 e 51,8 (CH₂; rotâmero); 92,4 e 95,2 (CH; rotâmero); 125,1 (CH); 127,5 (CH); 128,8 (CH); 128,9 (CH); 132,5 (C); 132,9 (C); 148 (N=CH); 153,4 (C); 154,7 (C = O); 155,5 (C=O); 168,9 (C = O).

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

3302, 3082, 2964, 2875, 1689, 1642, 1605, 1507, 1388, 1150, 931, 846, 533.

5.2.28 – (4-FLUOROBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-TERTBUTIL-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90o

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89e** (1,4g; 4,24 mmoles), etanol (40 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-fluorbenzaldeído (0,45mL, 4,5 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,4g da hidrazona **90o** correspondendo a um rendimento de 76%.

Propriedades Físicas de 90o

- Pó amorfo branco
- Faixa de Fusão 196 a 197°C
- R_f = 0,46 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90o**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

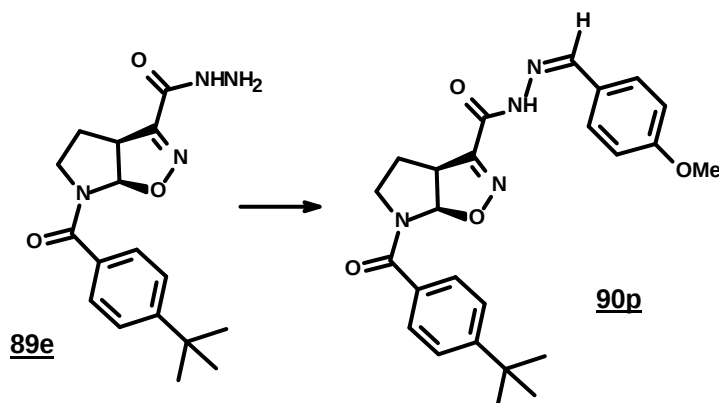
1,31 (s, 9H); 2,23 (m; 2H); 3,27 (m; 1H); 4,15 (m; 1H); 4,32 (m; 1H); 6,32 e 6,65 (sl; 1H; rotâmero); 7,25 a 7,8 (m; 8H); 8,45 (s; 1H); 12,05 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,3 (CH₂; rotâmero); 30,1 (CH₃); 34,6 (C); 43,5 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,0 e 51,5 (CH₂; rotâmero); 92,4 e 95,1 (CH; rotâmero); 115,9 (CH); 125,2 (CH); 127,5 (CH); 129,5 (CH); 130,6 (C); 132,5(C); 148,2 (HC=N); 153,4(C); 154,7 (C = O); 155,5 (C=N); 161,7 e 165 (C, d, ¹J = 247 Hz); 168,8 (C = O).

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

3302, 3082, 2964, 2875, 1689, 1642, 1605, 1507, 1388, 1150, 931, 846, 533.

5.2.29 – (4-METOXIBENZILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-TERTBUTIL-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 90p

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89e** (1,4g; 4,24 mmol), etanol (40 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e *p*-metóxi-benzaldeído (0,51mL, 4,5 mmol).

Recristalização em metanol forneceu 1,41g da hidrazona **90p** correspondendo a um rendimento de 76%.

Propriedades Físicas de 90p

- Pó amorfo branco
- Ponto de Fusão 208 a 210°C
- $R_f = 0,31$ (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 90p

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

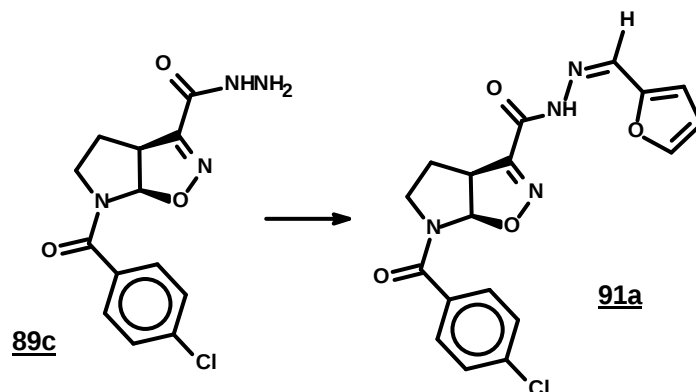
1,30 (s, 9H); 2,3 (m; 2H); 3,08 e 3,35 (m; 1H; rotâmero); 3,8 (s; 3H) 4,16 (m; 1H); 4,31 (m; 1H); 6,27 e 6,74 (sl; 1H; rotâmero); 7,01 (m; 2H); 7,52 a 7,65 (m; 6H); 8,38 (s; 1H); 12,01 (s; 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a, presença de rotâmeros.

26,9 e 28,4 (CH_2 ; rotâmero); 30,9 (CH_3); 34,6 (C); 43,5 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,0 e 51,8 (CH_2 ; rotâmero); 55,3 (CH_3); 92,3 e 95,0 (CH; rotâmero); 114,4 (CH); 125,2 (CH); 126,5 (C); 126,5 (CH); 127,6 (CH); 128,9 (CH); 132,5(C); 149,3 (N=CH); 153,4(C); 154,8 (C = O); 155,2 (C=N); 161,1 (C); 168,8 (C = O).

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

3280, 3064, 2963, 2885, 1676, 1605, 1533, 1507, 1398, 1256, 1172, 1138, 1021, 931, 828, 796, 618, 535.

5.2.30 – (FURAN-2-METILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-CLORO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 91a

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89c** (1,37g; 4,45 mmoles), etanol (40 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e 2-furfuraldeído (0,37mL, 4,6 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,5g da hidrazona **91a** correspondendo a um rendimento de 87%.

Propriedades Físicas de 91a

- Pó amorfo amarelo claro
- Ponto de Fusão – Carbonizou à 190°C
- R_f = 0,23 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 91a

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

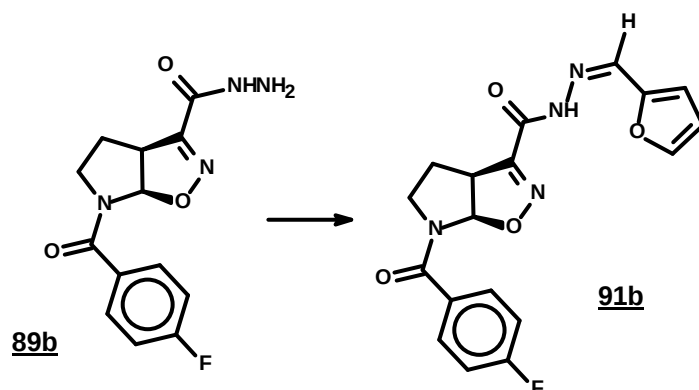
2,6 (sl; 2H); 3,09 e 3,42 (m; 1H; rotâmero); 4,13 (m; 1H); 4,32 (m; 1H); 6,24 e 6,71 (sl; 1H; rotâmero); 6,93 (m; 1H); 7,6 (m; 4H); 7,85 (m; 1H); 8,31 (s; 1H); 12,12 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,3 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,1 e 52,0 (CH₂; rotâmero); 92,2 e 94,8 (CH; rotâmero); 112,3 (CH); 114,1 (CH); 128,5 (CH); 129,5 (CH); 134,1 (C); 135,3 (C); 138,8 (N=CH); 145,6 (CH); 149,2 (C); 154,8 (C = O); 155,5 (C=N); 167,9 (C = O).

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

3203, 3127, 3064, 3001, 1589, 1543, 1412, 1273, 1184, 1018, 1381, 931, 836, 748, 652.

5.2.31 - (FURAN-2-METILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-FLUOR-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 91b

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89b** (1,25g; 4,28 mmoles), etanol (36 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e 2-furfuraldeído (0,35mL, 4,6 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,5g da hidrazona **91b** correspondendo a um rendimento de 96%.

Propriedades Físicas de 91b

- Pó amorfo amarelo claro
- Faixa de Fusão – Carbonizou à 215°C
- R_f = 0,18 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 91b**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

2,25 (m; 2H); 3,10 e 3,52 (m; 1H; rotâmero); 4,15 (m; 1H); 4,32 (t; 1H); 6,26 e 6,74 (sl; 1H; rotâmero); 6,64 (m; 1H); 6,94 (d; 1H); 7,35 (sl; 2H); 7,66 (sl; 2H); 7,86 (d; 1H); 8,32 (s; 1H); 12,11 (s; 1H).

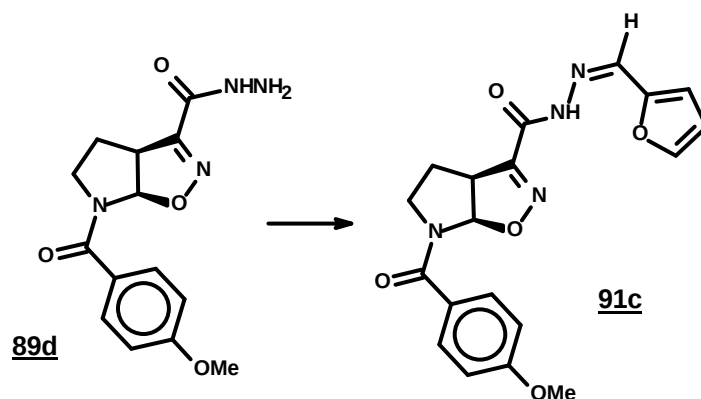
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,8 e 28,2 (CH₂; rotâmero); 43,7 e 47,5 (CH; rotâmero); 50,1 e 51,9 (CH₂; rotâmero); 92,4 e 95,0 (CH; rotâmero); 112,3 (CH); 114,3 (CH); 115,3 e 115,6 (CH, d, ²J = 21 Hz); 130,2 (CH); 131,8 (C); 138,8 (HC=N); 145,6 (CH); 149,1 (C); 154,6 (C = O); 155,3 (C = N); 161,6 e 164,8 (C, d, ¹J = 240 Hz); 167,9 (C = O).

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

3211, 3055, 3010, 2894, 1650, 1605, 1542, 1273, 1160, 1021, 914, 848, 750, 652, 607.

5.2.32 – (FURAN-2-METILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-METOXI-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 91c



Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89d** (1,45g; 4,7 mmol), etanol (36 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e 2-furfuraldeído (0,39mL, 4,8 mmol).

Recristalização em metanol forneceu 1,46g da hidrazona **91c** correspondendo a um rendimento de 81%.

Propriedades Físicas de **91c**

- Pó amorfo branco
- Ponto de Fusão – Carbonizou à 220°C
- $R_f = 0,18$ (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **91c**

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

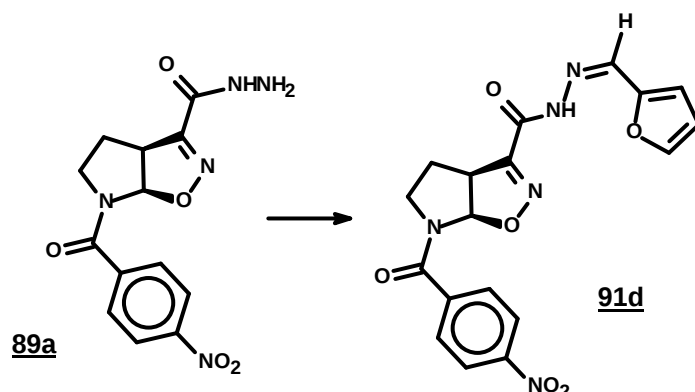
2,21 (m; 2H); 3,08 e 3,34 (m; 1H; rotâmero); 3,81 (s; 3H); 4,16 (m; 1H); 4,30 (t; 1H); 6,32 e 6,70 (sl; 1H; rotâmero); 6,64 (m; 1H); 6,94 (d; 1H); 7,02 (m; 2H); 7,58 (m; 2H); 7,86 (s; 1H); 8,32 (s; 1H); 12,10 (s; 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a, presença de rotâmeros.

26,9 e 28,3 (CH_2 ; rotâmero); 43,6 e 47,6 (CH; rotâmero); 49,8 e 51,7 (CH_2 ; rotâmero); 55,8 (CH_3); 92,5 e 95,3 (CH; rotâmero); 112,3 (CH); 114,3 (CH); 113,7 (CH); 127,2 (C); 129,7 (CH); 138,8 ($\text{HC}=\text{N}$); 145,6 (CH); 149,1 (C); 154,5 ($\text{C}=\text{O}$); 155,4 ($\text{N}=\text{C}$); 161,1 (C); 168,8 ($\text{C}=\text{O}$).

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

3204, 3055, 3001, 2901, 2830, 1641, 1615, 1412, 1260, 1170, 1021, 1381, 931, 839, 751, 613.

5.2.33 - (FURAN-2-METILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-NITRO-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 91d

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89a** (1,3g; 4,07 mmoles), etanol (35 mL), duas gotas de ácido clorídrico 37% e 2-furfuraldeído (0,34mL, 4,2 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,52g da hidrazona **91d** correspondendo a um rendimento de 94%.

Propriedades Físicas de 91d

- Pó amorfo amarelo
- Ponto de Fusão – Carbonizou à 218°C
- R_f = 0,16 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 91d

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

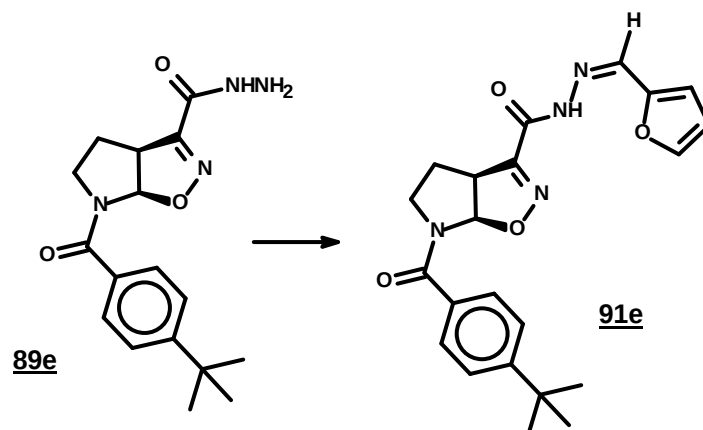
2,3 (m; 2H); 3,15 e 3,34 (m; 1H; rotâmero); 4,13 (m; 1H); 4,36 (m; 1H); 6,2 e 6,72 (sl; 1H; rotâmero); 7,3 (m; 2H); 7,76 a 7,83 (m; 3H); 8,35 (m; 2H); 8,44 (s; 1H); 12,15 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,6 e 28,1 (CH₂; rotâmero); 43,8 e 47,3 (CH; rotâmero); 50,4 e 52,2 (CH₂; rotâmero); 55,8 (CH₃); 92,2 e 94,5 (CH; rotâmero); 112,4 (CH); 114,5 (CH); 123,7 (CH); 129 (CH); 138,8 (HC=N); 141 (C); 145,6 (CH); 149,1 (C); 154,7 (C=O); 155,2 (C=N); 167,4 (C = O).

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

3266, 3073, 3010, 2948, 2885, 1671, 1516, 1419, 1346, 1237, 1153, 931, 834, 727.

5.2.34 – (FURAN-2-METILIDENO)-HIDRAZIDA DO ÁCIDO-6-(4-TERTBUTIL-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 91e

Procedimento experimental semelhante ao item 5.2.15.

Hidrazida **89e** (1,4g; 4,24 mmoles), etanol (35 mL), duas gotas de ácido clorídrico à 37% e 2-furfuraldeído (0,36mL, 4,4 mmoles).

Recristalização em metanol forneceu 1,3g da hidrazona **91e** correspondendo a um rendimento de 74%.

Propriedades Físicas de 91e

- Pó amorfo amarelo claro
- Ponto de Fusão 197 - 198°C
- R_f = 0,29 (AcOEt/hexano 7:3)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 91e**RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.**

1,3 (s; 9H); 2,22 (m; 2H); 3,07 e 3,55 (m; 1H; rotâmero); 4,15 (m; 1H); 4,31 (m; 1H); 6,28 e 6,74 (sl; 1H; rotâmero); 6,64 (s; 1H) 6,94 (s; 1H); 7,52 (sl; 4H); 7,86 (s; 1H); 8,32 (s; 1H); 12,1 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

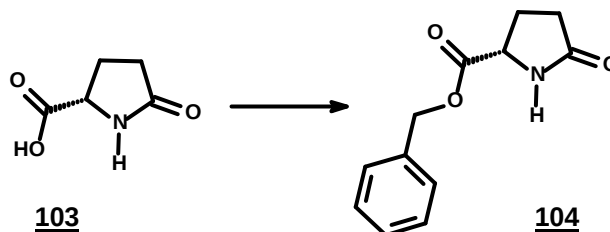
26,9 e 28,3 (CH₂; rotâmero); 30,9 (CH₃); 34,6 (C) 43,5 e 47,3 (CH; rotâmero); 50,0 e 51,7 (CH₂; rotâmero); 92,3 e 95,2 (CH; rotâmero); 112,4 (CH); 114,2 (CH); 125,2 (CH); 127,5 (CH); 132,5 (C); 138,8 (HC=N); 145,6 (CH); 149,2 (C); 153,4 (C); 154,6 (C=O); 155,3 (C=N); 168,8 (C = O).

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

3251, 3127, 3064, 3010, 2962, 2866, 1671, 1570, 1533, 1480, 1264, 1186, 1021, 931, 852, 751, 650, 526.

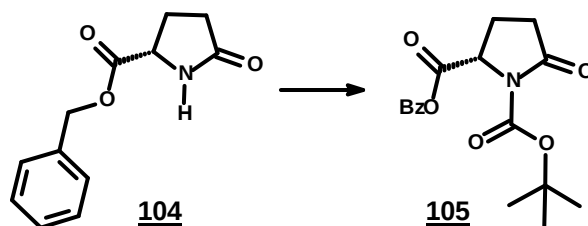
5.3 – SÍNTESE ASSIMÉTRICA DAS AMIDAS ISOXAZOLÍNICAS AZA-BICÍCLICAS

5.3.1 – ÉSTER BENZÍLICO DO ÁCIDO 5-OXO-PIRROLIDINA-2-CARBOXÍLICO 103



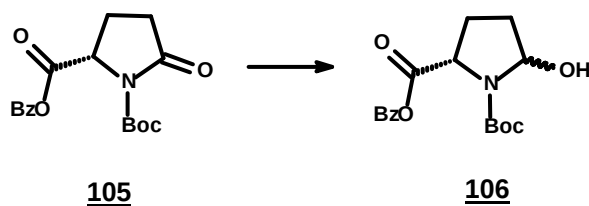
6,0g (46,5 mmol) do ácido L-piroglutâmico 103 foi dissolvido em 140 mL de THF seco e 28 mL de álcool benzílico. A mistura reacional foi resfriada com um banho de gelo/água a 0° C e 6,75 mL (93,0 mmol) de cloreto de tionila foram adicionados lentamente. O banho foi removido e reação permaneceu sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Ao final da reação, THF e álcool benzílico foram removidos e o produto bruto solubilizado em 200 mL de CH₂Cl₂ que foi então lavado com NaHCO₃ 10% (2 x 20 mL) e em seguida 20 mL de NaCl saturado. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ (2 x 10 mL). Toda a fase orgânica foi seca sob Na₂SO₄ anidro e após remoção do solvente obteve-se 10,2g do produto bruto 104, um óleo amarelo, correspondendo a um rendimento quantitativo. R_f = 0,25 (AcOEt/hexano 1:1)

5.3.2 – ÉSTER 2-BENZIL-1-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 5-OXO-PIRROLIDINA-1,2-DICARBOXÍLICO 105



A uma solução de 10,2g (46,6 mmol) do éster 104 em 120 mL de acetonitrila seca, foram adicionados 11,9 mL (55 mmol) de (Boc)₂O e 0,55 g (4,66 mmol) de DMAP. A mistura reacional permaneceu sob agitação por 1 hora, quando CCD indicou final da reação. Após remoção do solvente, obteve-se um óleo amarelo escuro. Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 1:4) forneceu 15,5 g do produto 105 puro, correspondendo a um rendimento quantitativo. R_f = 0,26 (AcOEt/Hexano 1:4)

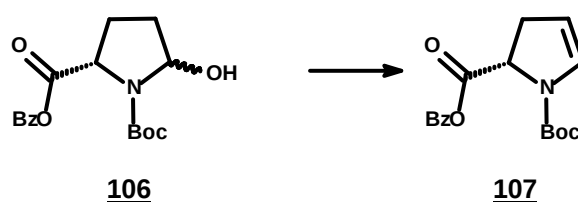
5.3.3 - ÉSTER 2-BENZIL-1-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 5-HIDROXI-PIRROLIDINA-1,2-DICARBOXÍLICO 106



A uma solução de 15,5g (48,6 mmol) de 105, em 117 mL de THF seco, à -72°C (gelo seco/etanol,) foram adicionados lentamente 48,6 mL de hidreto de lítio trietilboro 1M (48,6 mmol). A reação foi deixada em agitação por 15 minutos e após remoção do banho de gelo adicionou-se 160 mL de solução aquosa saturada de NH_4Cl e 120 mL de solução aquosa de Na_2CO_3 10%. A solução resultante foi então extraída com CH_2Cl_2 (4 x 80 mL). A fase orgânica composta de CH_2Cl_2 e THF foi seca com Na_2SO_4 anidro e após remoção do solvente obteve-se o produto bruto.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 1:4) forneceu 12,6 g do produto 106 puro correspondendo a um rendimento de 81%. $R_f = 0,23$ (AcOEt/Hexano 1:4)

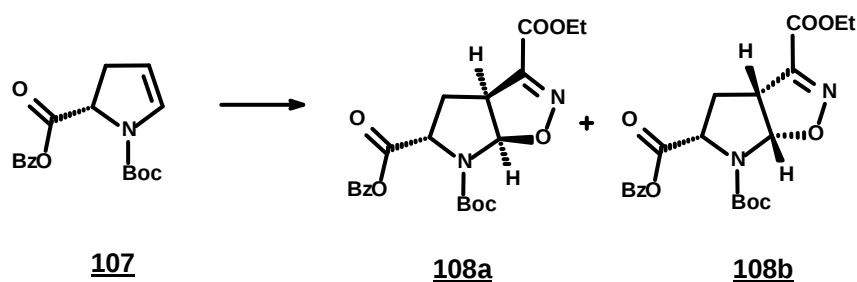
5.3.4 - ÉSTER 2-BENZIL-1-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 2,3-DIIDROPIRROL-1,2-DICARBOXÍLICO 107



12,2g (38,12 mmol) do lactamol 106 foram dissolvidos em 120 mL de tolueno seco, juntamente com 35,5 mL (304 mmol) de 2,6-Lutidina. A mistura reacional foi resfriada a 0°C (gelo/água) e sobre esta solução foram adicionados 5,3 mL (38,12 mmol) de anidrido trifluoracético. A temperatura permaneceu a 0°C por 7 horas, quando o banho de gelo foi removido, permanecendo durante toda a noite, sob agitação. Em seguida, a mistura reacional foi colocada sob refluxo por 20 minutos seguida por adição de 180 mL de solução aquosa saturada de NaHCO_3 , deixando-se em agitação por 1 hora. Separou-se a fase orgânica, sendo a fase aquosa extraída com hexano (3 x 100 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e após remoção do solvente e da lutidina, obteve-se o produto bruto.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 1:19) forneceu 9,4g do enecarbamato quiral **107**, como um óleo incolor viscoso, correspondendo a um rendimento de 82%. $R_f = 0,35$ (AcOEt/Hexano 2:8).

5.3.5 - ÉSTER 3-ETIL-5-BENZIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,5,6-TRICARBOXILICO **108a** e **108b**



A uma solução do enecarbamato quiral **107**, 9,0g (29,7 mmol) e 5,0 mL (36 mmol) de trietilamina em 250 ml de clorofórmio seco, foram adicionados lentamente, durante 1 hora, uma solução clorofórmica do precursor do dipolo **98** (5,0g, 32,7 mmol dissolvido em 40 mL de CHCl_3). Logo após o término desta primeira adição, adicionou-se um segundo equivalente de trietilamina no meio reacional e do precursor do dipolo **98** nas mesmas condições. A reação foi acompanhada através de cromatografia de camada delgada, onde se percebeu a formação dos diastereoisômeros (cicloadutos) desde o início da adição do precursor do *N*-óxido de nitrila **98**.

Após 2 horas de reação, a mistura reacional foi lavada com água (2 x 60 mL). A fase aquosa foi extraída com CHCl_3 (2 X 40 mL). As fases orgânicas foram secas com Na_2SO_4 anidro e após remoção do solvente obteve-se 18 mL do produto bruto, como um óleo amarelo escuro e bastante viscoso.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 15:85) forneceu 10,0g da mistura diastereoisomérica **108a** e **108b**, como um óleo incolor, correspondendo a um rendimento total de 83%. $R_f = 0,28$ para diastereoisômero **108b** e $R_f = 0,38$ para diastereoisômero **108a** (AcOEt/Hexano 3:7).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 108a**RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.**

1,36 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,49 e 1,35 (s; 9H; rotâmero); 2,35 (m, 1H); 2,54 (m, 1H); 4,01 (m, 1H); 4,36 (m, 1H); 4,34 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H); 5,16 (m, 2H, rotâmero); 6,53 e 6,37 (d, $J = 7,8$ Hz, rotâmero); 7,34 (bs, 5H).

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

13,9 (CH_3); 27,8 e 28,0 (CH_3 , rotâmero); 32,2 e 33,3 (CH_2 , rotâmero); 48,2 e 49,3 (CH , rotâmero); 58,5 e 59,1 (CH , rotâmero); 62,2 (CH_2 , éster etílico); 67,2 (CH_2 , éster benzílico); 82,1 (C, Boc), 95,6 e 96,5 (CH , rotâmero); 128,2-128,6 (CH , aromático); 134,8 e 135,1 (C, aromático); 152,2 e 152,5 ($\text{C}=\text{O}$, Boc, rotâmero); 152,7 ($\text{C}=\text{N}$); 159,7 ($\text{C}=\text{O}$, éster etílico); 170,8 e 171,3 ($\text{C}=\text{O}$, éster benzílico, rotâmero).

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

3080, 2980, 2940, 1750, 1725, 1595, 1452, 1380, 1252, 1180, 1039.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 108b**RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.**

1,33 (t, $J = 7$ Hz, 3H); 1,48 e 1,30 (s, 9H, rotâmero); 2,50 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 4,03 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 4,30 (q, $J = 7$ Hz, 2H); 4,69 e 4,55 (d, $J = 9$ Hz, 1H rotâmero); 5,22-4,90 (m, 2H, rotâmero); 6,48 e 6,35 (d, $J = 8$ Hz, 1H, rotâmero); 7,33 (bs, 5H).

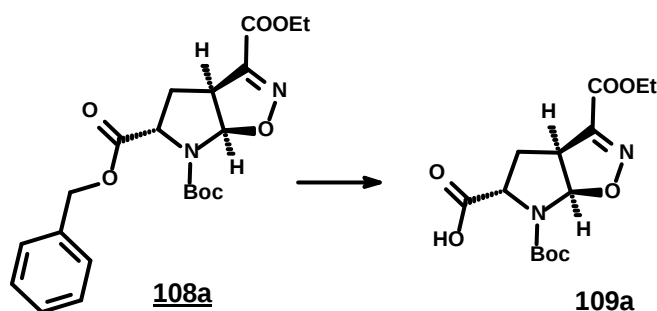
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.

13,9 (CH_3); 27,9 (CH_3); 31,6 e 30,7 (CH_2 , rotâmero); 50,3 e 49,3 (CH , rotâmero); 58,3 e 57,8 (CH , rotâmero.); 62 (CH_2 , éster etílico); 67,3 (CH_2 , éster benzílico); 82 (C, Boc); 94,7 e 94,4 (CH , rotâmero); 127,8-128,4 (CH , aromático); 135,1 (C, aromático); 151,4 ($\text{C}=\text{O}$, Boc); 152,3 ($\text{C}=\text{N}$); 159,8 ($\text{C}=\text{O}$, éster etílico); 170,7 e 170,5 ($\text{C}=\text{O}$, éster benzílico, rotâmero).

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

3090, 2980, 2950, 1720 (bb), 1570, 1455, 1392, 1260, 1165, 1140, 1032, 900.

5.3.6 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,5,6-TRICARBOXILICO 109a



A uma solução de 2,94 g (9,0 mmol) do éster benzílico **108a** em 130 mL de metanol, foram adicionados 120 mg de Pd/C 10%. Sobre a suspensão resultante, sob agitação vigorosa, borbulhou-se durante 1 hora gás hidrogênio em fluxo contínuo, quando CCD evidenciou consumo total do éster benzílico **108a**. A suspensão foi filtrada através de Celite[®]. Após remoção do solvente, o produto bruto foi então dissolvido em acetato de etila, transferido para um funil de separação e lavado com solução aquosa saturada de NaHCO₃. A fase aquosa foi separada, extraída com CH₂Cl₂ (2x 50 mL) e acidificada com HCl 5% até pH 2 – 3. A fase aquosa foi então extraída com EtOAc e CH₂Cl₂ (10x 30 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas sob sulfato de sódio anidro.

Após remoção do solvente foram obtidos 1,5g (65% de rendimento) de um óleo viscoso, correspondendo ao ácido carboxílico **109a**. R_f = 0,4 (EtOAc)

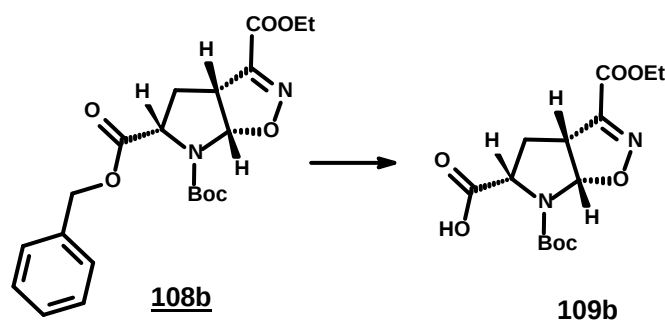
Este produto é utilizado na etapa subsequente sem necessidade de purificação.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **109a**

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

3092, 2982, 2929, 2624, 1745, 1661, 1598, 1406, 1238, 1166, 890, 842, 760, 643.

5.3.7 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,5,6-TRICARBOXILICO 109b



Procedimento experimental semelhante ao item 4.3.6.

3,5g (8,31 mmol) do éster benzílico **108b**, 150 mL de metanol e 140 mg de Pd/C(10%) /H₂.

Após remoção do solvente obteve-se 1,91g (70% de rendimento) de um óleo viscoso correspondendo ao ácido carboxílico **109b**. R_f = 0,25 (EtOAc)

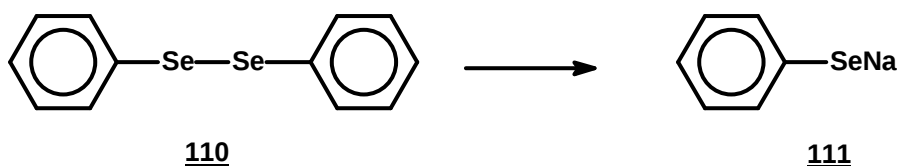
Este produto foi utilizado na etapa subsequente sem necessidade de purificação.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 109b

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

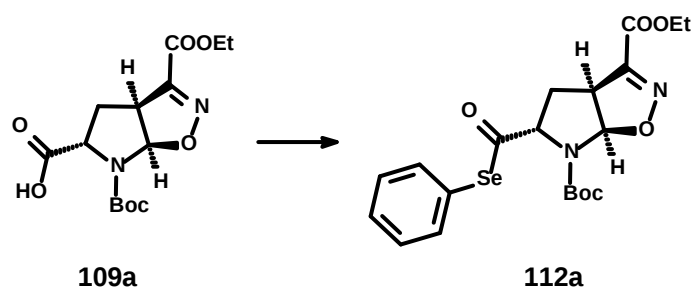
3378, 3345, 3180, 2980, 2930, 1690, 1598, 1392, 1256, 1163, 1030, 888, 770.

5.3.8 – FENIL SELENETO DE SÓDIO 111



A uma solução de 0,78g (2,5 mmol) do difenil disseleneto **110**, em 15 mL de THF e 15 mL de *t*-BuOH (solução de cor laranja), foi adicionado 0,2g (5,0 mmol) de boridreto de sódio. A reação foi deixada sob agitação até descolorir. Esta solução foi utilizada diretamente na reação de síntese do éster de selênio.

5.3.8 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 5-FENILSELENILCARBONIL-3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXILICO 112a



Sobre uma solução de 1,3g (4,0 mmol) do ácido carboxílico **109a** em 160 mL de THF seco, à -20°C, foram adicionados 0,52 mL (4,74 mmol) de *N*-metilmorfolina e 0,62 mL (4,74 mmol) de cloroformato de isobutila. A mistura reacional foi deixada sob agitação à -20°C por 20 minutos e agitação a temperatura ambiente por 30 minutos adicionais. A mistura reacional foi novamente resfriada a -20°C e uma solução de PhSeNa **111** (4,0 mmol) em THF/*t*-BuOH (30 mL, 1:1) foi adicionada, permanecendo sob agitação por mais 30 minutos e agitação a temperatura ambiente por 30 minutos adicionais.

Após remoção do solvente obteve-se o éster do selênio **112a** bruto, que foi utilizado na etapa subsequente sem prévia purificação.

Propriedades físicas de 112a

Pó amorfo branco

Faixa de fusão 150 -151°C

R_f = 0,32 EtOAc/Hexano 1:4

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 112a

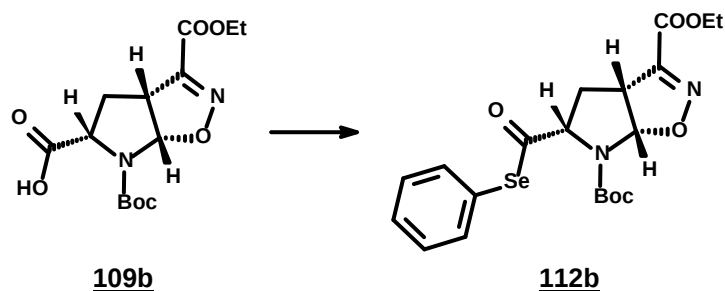
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.

1,37 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 1,49 (s; 9H); 2,25 (m; 2H); 4,07 (m; 1H); 4,36 (q; J = 7,2 Hz; 1H); 4,53 (m; 1H); 6,39 e 6,56 (d; J = 7,5 Hz; 1H; rotâmero); 7,37 a 7,50 (m; 5H);

RMN ⁷⁷Se (57,2 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.

628,6 e 634,8 (Se; rotâmero)

5.3.9 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 5-FENILSELENILCARBONIL-3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXILICO **112b**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.3.8.

2,1g (4,0 mmol) do ácido carboxílico **109b**, 250 mL de THF seco, 0,83 mL (7,6 mmol) de *N*-metilmorfolina, e 0,98 mL (7,6 mmol) de cloroformato de isobutila.

Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 3:7) forneceu 2,06g do produto **112b**, um óleo incolor, correspondendo a um rendimento 75%.

Propriedades físicas de **112b**

Pó amorfo branco

Faixa de fusão 150 -151°C

R_f = 0,20 EtOAc/Hexano 1:4

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **112b**

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

1,32 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 1,58 (s; 9H); 2,43 (m; 1H); 2,83 (m; 1H) 4,04 (t; J = 6,6 Hz 1H); 4,32 (m; 2H); 4,6 e 4,74 (m; 1H; rotâmeros); 6,46 e 6,57 (sl; 1H; rotâmero); 7,33 a 7,45 (m; 5H);

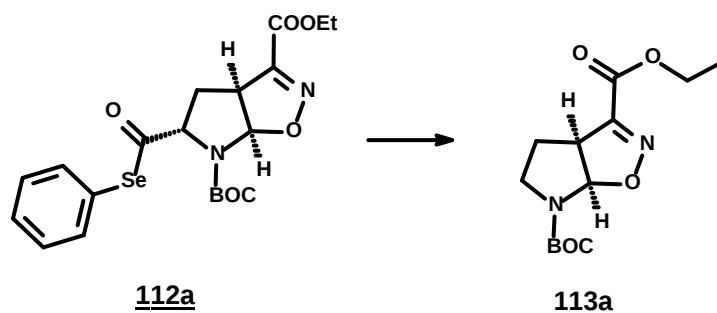
RMN ⁷⁷Se (57,2 MHz, CDCl₃) δ, t.a, presença de rotâmeros.

678,0 e 680,1 (Se; rotâmero)

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

2976, 2929, 1707, 1580, 1445, 1379, 1273, 1164, 1129, 1021, 931, 896, 805, 742, 688.

5.3.10 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO **113a**



O éster de selênio **112a** foi solubilizado em 100 mL de benzeno seco. Foram adicionados 3,2 mL (12 mmol) de hidreto de tributilestânio e 130 mg (0,74 mmol) de AIBN. A reação foi deixada sob refluxo por 3 horas, quando a CCD evidenciou consumo total de **112a**. A mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente seguida por adição de 100 mL de solução de fluoreto de potássio a 30%. O sistema bifásico resultante foi deixado sob agitação vigorosa por 1 hora.

Após separação das fases, a fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio anidro e após remoção do solvente obteve-se um óleo viscoso.

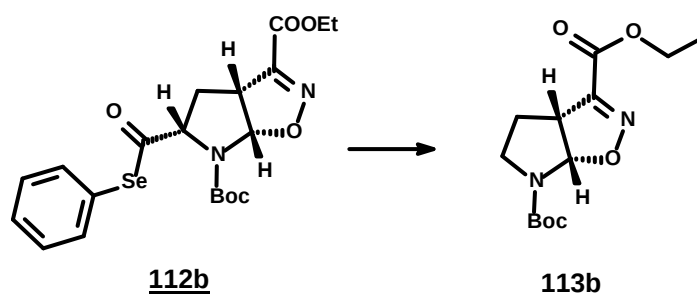
Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 2:8) forneceu 0,5g do enantiômero **113a**, um óleo incolor, correspondendo a um rendimento total de 45% (duas etapas). $R_f = 0,33$ (AcOEt/Hexano 3:7).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS **113a**

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

1,36 (t; $J = 7,2$ Hz; 3H); 1,49 (s; 9H); 2,21 (m; 1H); 2,30 (dd; $J = 6,3$ Hz, $J = 13,2$ Hz; 1H); 3,11 (m; 1H); 3,75 (m; 1H); 4,03 (t; $J = 7,8$ Hz; 1H); 4,34 (q; $J = 7,2$ Hz; 2H); 6,33 e 6,49 (m; 1H; rotâmero);

5.3.11 - ÉSTER 3-ETIL-6-*tert*-BUTIL DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3,6-DICARBOXÍLICO 113b



Procedimento experimental semelhante ao item 5.3.10.

2,06g (7,3 mmol) do éster de selênio **112b**, 130 mL de benzeno seco, 3,5 mL (12,6 mmol) de hidreto de tributilestano e 140 mg (0,8 mmol) de AIBN.

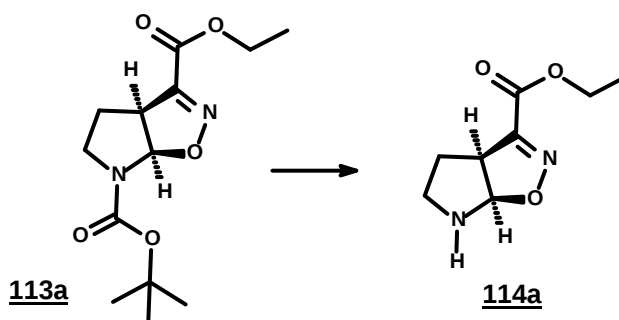
Cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica, AcOEt/Hexano 2:8) forneceu 0,6g do enantiômero **113b**, um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 48%. R_f = 0,33 (AcOEt/Hexano 3:7).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS 113b

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

1,35 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 1,47 (s; 9H); 2,22 (m; 1H); 2,29 (dd; J = 6,3 Hz, J = 13,2 Hz; 1H); 3,10 (m; 1H); 3,73 (m; 1H); 4,02 (t; J = 7,8 Hz; 1H); 4,33 (q; J = 7,2 Hz; 2H); 6,32 e 6,4 (sl; 1H; rotâmero);

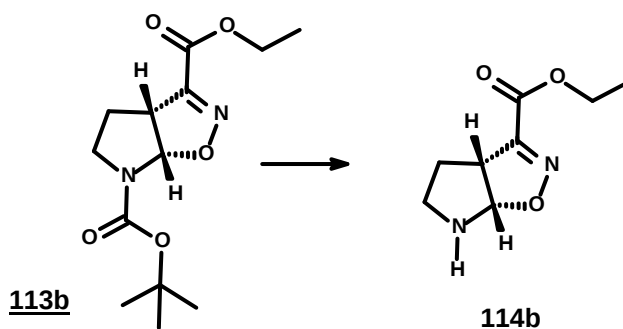
5.3.12 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 114a



A uma solução de 0,4g (1,39 mmol) do produto **113a** em 20 mL CH₂Cl₂, à 0°C, foram adicionados lentamente 4 mL de ácido trifluoracético. A mistura reacional foi deixada sob

agitação por 2 horas, quando a CCD evidenciou consumo total do produto de partida. Após remoção do solvente, foi obtido um óleo amarelo escuro, correspondendo ao produto **114a**, utilizado na reação seguinte sem prévia purificação. Rf = 0,2 (AcOEt/hexano 1:1)

5.3.13 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 3a,4,5,6a-TETRAHIDRO-PIRROL[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **114b**

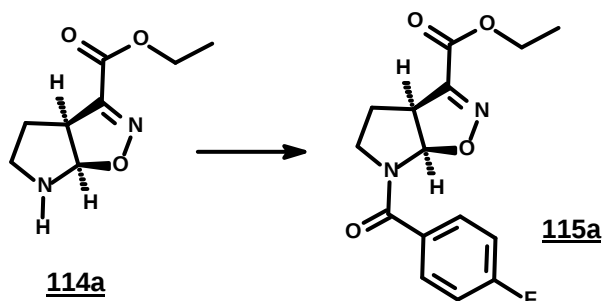


Procedimento semelhante ao item 5.3.12

0,43g (1,53 mmol) de **113b**, 22 mL CH₂Cl₂, 4,4 mL de ácido trifluoracético.

Após remoção do solvente foi obtido um óleo amarelo escuro, correspondendo ao produto **114b**, utilizado na reação seguinte sem prévia purificação. Rf = 0,2 (AcOEt/hexano 1:1)

5.3.14 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **115a**



A uma solução do produto bruto **114a**, em 45 mL de CHCl₃ seco e 0,2 ml (1,5 mmol) de trietilamina, foram adicionados lentamente uma solução clorofórmica do cloreto de *p*-fluorobenzoíla (0,18mL – 1,5 mmol - em 5 mL CHCl₃ seco). A mistura reacional permaneceu sob agitação por 1,5 horas, quando a CCD indicou consumo total do produto de partida.

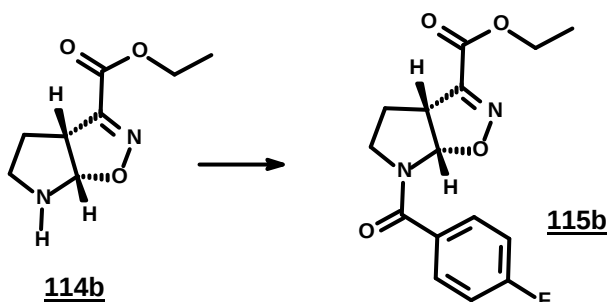
Após remoção do solvente o produto foi purificado através de cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 4:6). Obteve-se assim 0,4g do cicloaduto **115a**, um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 94%. Rf = 0,3 AcOEt/Hexano 1:1

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 115a

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

1,39 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 2,20 (m; 2H); 2,39 (dd; J = 6,3 Hz; J = 13,5Hz; 1H); 3,17 (m; 1H); 4,09 (t; J = 8,1 Hz; 1H); 4,37 (q; J = 7,2 Hz; 2H); 6,2 (sl; 1H); 7,13 (t; J = 8,4 Hz; 2H); 7,7 (sl; 2H).

5.3.15 - ÉSTER ETÍLICO DO ÁCIDO 6-(4-FLUOROBENZOIL)-4,5,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **115b**



Procedimento experimental semelhante ao item 5.3.14.

Produto bruto **114b**, 50 mL de CHCl_3 seco, 0,24 ml (1,7 mmol) de trietilamina, cloreto de *p*-fluorobenzoíla (0,2mL – 1,6 mmol – em 5 mL CHCl_3 seco).

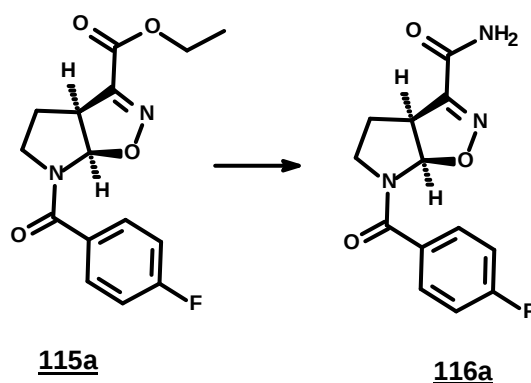
Após remoção do solvente o produto foi purificado através de cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica AcOEt/hexano 4:6). Obteve-se assim 0,3g do cicloaduto **115b**, um óleo incolor, correspondendo a um rendimento de 49,1% (duas etapas). Rf = 0,3 AcOEt/Hexano 1:1

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 115b

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

1,37 (t; J = 7,2 Hz; 3H); 2,20 (m; 2H); 2,39 (dd; J = 5,73 Hz; J = 13,5Hz; 1H); 3,17 (m; 1H); 4,10 (t; J = 8,1 Hz; 1H); 4,37 (q; J = 7,2 Hz; 2H); 6,2 (sl; 1H); 7,13 (t; J = 8,7 Hz; 2H); 7,7 (sl; 2H).

5.3.16 - AMIDA DO ÁCIDO 6-(4-METOXI-BENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO **116a**



Uma solução de 0,42g (1,38 mmol) do éster **115a**, em 60 mL de THF e 20 mL de NH₄OH concentrado (25%), permaneceu em agitação constante por 20 horas, quando consumo total do éster etílico **115a** foi evidenciado por CCD.

Após remoção do THF, ocorreu precipitação da amida. Filtrou-se o produto sob vácuo e após solubilização em acetato de etila a fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio anidro. Removeu-se o solvente e obteve-se a amida **116a**. Recristalização em acetato de etila, forneceu 0,25g da amida **116a**, correspondendo a um rendimento de 66%.

Propriedades Físicas de **116a**

- Pó amorfo branco
- Faixa de fusão 222 – 224° C
- R_f = 0,26 (AcOEt/hexano 6:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de **116a**

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

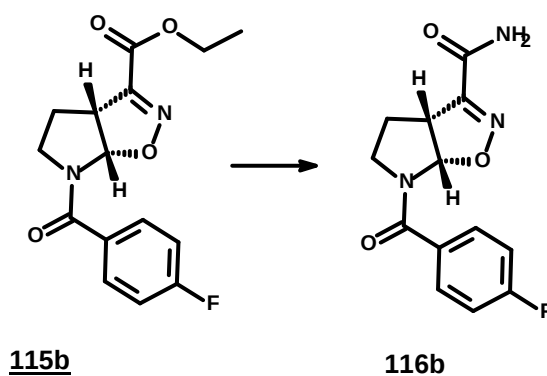
2,12 (ml; 2H); 3,08 e 3,45 (m; 2H, rotâmero); 4,18 (m; 1H); 6,20 e 6,65 (m; 1H; rotâmero); 7,3 (m; 2H); 7,65 (sl; 3H); 7,92 (s; 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) δ, t.a, presença de rotâmeros.

26,9(CH₂); 43,6 e 47,5 (CH₂, rotâmero); 50,1 e 51,6 (CH₂); 92,3 e 95,0 (CH; rotâmero); 115,1 e 115,4 (CH, d, ²J = 20 Hz); 130,16 (CH); 131,8(C); 155,0 (C=N); 160,5(C=O); 161,5 e 164,7 (C, d, 1J = 246 Hz); 167,8 (C=O).

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

3403, 3308, 3244, 3194, 2992, 1643, 1598, 1400, 1273, 914, 851, 805, 678, 589.

5.3.17 - AMIDA DO ÁCIDO 6-(4-METOXIBENZOIL)-4,5,6,6a-TETRAHIDRO-3aH-PIRROLO[3,2-d]ISOXAZOL-3-CARBOXÍLICO 116b

Procedimento experimental semelhante ao item 5.3.16

0,23g (0,75 mmol) do éster **115b**, 40 mL de THF e 20 mL de NH_4OH concentrado (25%). Recristalização em acetato de etila, forneceu 0,15g da amida **116b**, correspondendo a um rendimento de 72%.

Propriedades Físicas de 116b

- Pó amorfo branco
- Faixa de fusão 222 – 224° C
- $R_f = 0,26$ (AcOEt/hexano 6:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS de 116b**RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros.**

2,2 (ml; 2H); 3,04 e 3,5 (m; 1H; rotâmeros); 4,19 (ml; 2H); 6,19 e 6,80 (sl; 1H; rotâmero); 7,33 (sl; 2H); 7,66 (s; 3H); 7,94 (s; 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ , t.a, presença de rotâmeros.

26,9 e 28,3 (CH_2); 43,5 e 47,5 (CH, rotâmero); 49,9 e 51,7 (CH; rotâmero); 92,2 e 94,7 (CH; rotâmero); 115,3 e 115,6 (CH, d, $^2J = 21,5$ Hz); 130,2 (CH); 131,8(C); 155,2 (C=N); 160,6 (C=O); 161,5 e 164,8 (C, d, $1J = 246$ Hz); 167,9 (C=O).

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

3403, 3313, 3253, 3196, 2992, 1641, 1590, 1400, 1233, 1132, 922, 849, 810, 678.

6 – ESTUDO BIOLÓGICO

6.1 – Introdução

6.1.1 – Toxicidade aguda

As interações químicas de moléculas biologicamente ativas no organismo vivo, podem ocorrer através de uma série de mecanismos, tais como: ligação às proteínas, biotransformação e excreção.⁽⁷⁵⁾

As ações farmacológicas dessas moléculas no organismo são verificadas através da avaliação da toxicidade aguda, que é caracterizada por alterações decorrentes de uma única exposição ou de exposições múltiplas da substância bioativa, durante o período de 24 horas. Essas alterações ocorrem imediatamente após o contato ou até em duas semanas após a exposição.⁽⁷⁶⁾

Todos os aspectos reacionais de uma substância no organismo vivo devem ser considerados quanto aos sinais e sintomas de intoxicação e o percentual de mortalidade para o cálculo de doses letais. Estes valores são calculados estatisticamente a partir de dados obtidos experimentalmente, correlacionando as doses das substâncias e a mortalidade dos animais.⁽⁷⁷⁾

6.1.2 – Peritonite em camundongos

A inflamação é fundamentalmente uma resposta protetora cujo objetivo final é livrar o organismo da causa inicial da lesão celular e das conseqüências dessa lesão.⁽⁷⁸⁾

Definida como reação do tecido vivo vascularizado a uma agressão, a inflamação se caracteriza pelas seguintes reações: vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, migração dos leucócitos das vênulas e capilares e desenvolvimento subsequente de exudato nos tecidos lesados.⁽⁷⁹⁾ Os sinais característicos da inflamação se dividem em quatro: rubor, calor, dor e tumor.

A resposta inflamatória é mediada por uma série de compostos endógenos, incluindo fatores imunológicos e quimiotáticos, proteínas do sistema do complemento, histamina, bradicinina, leucotrienos e prostaglandinas, entre outros.⁽⁸⁰⁾

No processo inflamatório quando células são ativadas por diferentes estímulos, os lipídios das suas membranas são rapidamente remodelados para gerar mediadores lipídicos biologicamente ativos que servem como sinais intra e extracelulares. Estimulas mecânicos,

químicos, físicos e outros, são capazes de mobilizar fosfolipídios das membranas celulares através da atuação de lipases do tipo fosfolipase A₂ (PLA₂), liberando um ácido graxo de 20 carbonos denominado ácido araquidônico (AA). Duas classes principais de enzimas: ciclooxygenases (COX) e lipoxigenases (LOX) atuam sobre o AA, produzindo as prostaglandinas (PGs) e tromboxanos (TXA), e os leucotrienos (LT) e lipoxinas, respectivamente. ^(80, 81)

As prostaglandinas e leucotrienos contribuem significativamente para patogenia dos sinais e sintomas da inflamação. A PGE₂, PGI₂ (prostaciclina) e PGD₂ aumentam acentuadamente a formação do edema e infiltração leucocitária, facilitando o fluxo sanguíneo para região inflamada e os tromboxanos promovem a agregação plaquetária e a vasoconstrição. ⁽⁸²⁾ A histamina é considerada um dos principais mediadores da inflamação aguda, produzindo vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, o que contribui para formação do edema e espasmo da musculatura lisa. A bradicinina age localmente, induzindo dor, vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular. ⁽⁸³⁾

Os medicamentos anti-inflamatórios não esteróides (MAINES), são usados para tratar dores leves ou temperatura corporal elevada, artrite e outros distúrbios inflamatórios como gota e hiperuricemia.

Os MAINES agem através da inibição da ciclooxygenase, enzima responsável pela biosíntese das prostaglandinas.

6.1.3 – Nocicepção induzida por ácido acético

Os fármacos que produzem efeitos analgésicos podem atuar a nível periférico e central, seja modulando ou inibindo a síntese de substâncias mediadoras da inflamação. ⁽⁸⁴⁾

Segundo Cunha *et. al*, os fármacos analgésicos podem ser classificados em função dos seus mecanismos de ação nos seguintes grupos principais⁽⁸⁵⁾: 1) impedem a ativação dos nociceptores sensibilizados; 2) previnem a sensibilização dos nociceptores; 3) bloqueiam os mecanismos moleculares envolvidos na sensibilização dos nociceptores. Os fármacos que bloqueiam a síntese, ou os receptores de leucotrienos, endotelinas ou de taquicinas previnem também a sensibilização dos nociceptores. O conjunto de fármacos que bloqueiam os mecanismos moleculares envolvidos na sensibilização dos nociceptores agem, em sua maioria, ativando a NO sintase com conseqüente produção de NO. Drogas que promovem abertura dos canais de potássio por ação direta, tais como minoxidil e diazóxido, possuem atividades analgésicas.

6.2 - Avaliação da atividade biológica

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório Bioensaios para Pesquisa de Fármacos (LBPF) do Departamento de Antibióticos, da Universidade Federal de Pernambuco, sob a responsabilidade da Professora Dra. Teresinha Gonçalves da Silva.

Os experimentos foram realizados de acordo com as normas aprovadas pela Comissão de Ética para Experimentação com animais, da UFPE, (processo nº 040743/2007-19).

6.2.1 - MATERIAL

Para determinação da toxicidade aguda, atividade anti-inflamatória e antinociceptiva das hidrazonas, derivadas das 2- isoxazolin[5,4-*b*]pirrolidina **90a-p** e **91a-e** foram utilizados os seguintes materiais: balança analítica; seringas descartáveis tuberculina; solução salina a 0,9%; Tween 80 (MERCK); Carragenina (SIGMA-ALDRICH); ácido acético (VETEC), éter dietílico (VETEC); piroxicam, indometacina, dipirona e dexametasona

6.2.2 - ANIMAIS

Foram utilizados Camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), machos, com aproximadamente 60 dias de vida, variando de 25 ± 30 gramas, oriundos do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, registrado no COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) sob nº 18. Os animais foram divididos em grupos e mantidos em caixas plásticas à temperatura $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina) e água *ad libitum*. Todos os animais utilizados para determinação da atividade anti-inflamatória foram mantidos em jejum de 8 horas antes do experimento, com água *ad libitum*, em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

6.3 - METODOLOGIA

6.3.1 - Toxicidade aguda⁽⁷⁷⁾

Para avaliação da toxicidade aguda, os camundongos foram separados em grupos de 06 animais. Em seguida foram administradas por via intraperitoneal as hidrazonas isoxazolínicas, **90g** e **91b** na dose de 1000mg/Kg. O grupo controle recebeu solução salina de NaCl a 1%. A observação dos efeitos tóxicos foi efetuada com os animais em livre movimentação, em superfície plana, por um período inicial de 60 minutos. Após esse período, os animais foram ainda observados durante 48 horas, para registro do índice de mortalidade de cada grupo e durante 14 dias para observações gerais. ⁽⁷⁷⁾

6.3.2 - Peritonite em camundongos⁽⁸⁶⁾

Para a indução da peritonite, os animais foram submetidos à injeção de 0,25mL de solução de carragenina (1%) na cavidade peritoneal. Os animais receberam como tratamentos: solução salina de NaCl 1% (controle), dexametasona (5 µmol/Kg), indometacina (100 µmol/Kg) via oral (controle positivo anti-inflamatório), hidrazonas **90** derivadas das 2-isoxazolin[5,4-b]pirrolidina (50, 100 e 200 µmol/kg v.o.) uma hora antes da indução da peritonite. Decorridas quatro horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e imediatamente submetidos à cirurgia para abertura do abdome, e a cavidade peritoneal foi então lavada com 2 mL de solução salina com EDTA e o líquido foi coletado através de uma pipeta automática.

A contagem total dos leucócitos (polimorfonucleares PMNL) presentes no exsudato coletado nas cavidades abdominais foi realizada em câmara de Neubauer, sob microscópio ótico, após a diluição da amostra em líquido de Türk (1:20). O número total de leucócitos por mililitro do lavado peritoneal foi expresso como a média $\pm$ E.P.M. dos grupos analisados. O percentual de inibição da migração celular dos grupos tratados foi calculado em relação ao grupo controle.

6.3.3 - Nocicepção induzida por ácido acético^(87, 88)

A atividade antinociceptiva foi verificada através do teste de contorção abdominal induzida pelo ácido acético. Os animais foram arranjados aleatoriamente (n= 6 camundongos

por grupo), pré-tratados por via intraperitoneal 60 minutos antes do teste com as hidrazonas, **90** e **91** (100 µmol/Kg) derivadas das 2- isoxazolina[5,4-*b*] pirrolidinas ou substância padrão dipirona (100 µmol/Kg). Os grupos controles receberam o veículo. O ácido acético 1% foi injetado dentro da cavidade peritoneal dos animais (10 mL/Kg), para induzir contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. Dez minutos após a injeção do ácido acético a 1%, os camundongos foram colocados individualmente em caixas transparentes, registrando-se o número de contorções abdominais durante 20 minutos. Calculou-se a porcentagem de inibição mediante a redução do número de contorções totais nos grupos pré-tratados em relação ao grupo controle.

6.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.4.1 - Toxicidade Aguda

Os resultados obtidos na avaliação da toxicidade aguda das hidrazonas, derivadas da 2-isoxazolina[5,4-*b*] pirrolidinas **90g** e **91b**, revelou baixa toxicidade na dose de 1000mg/Kg.

Foram observados alguns efeitos comuns a todos os animais dos grupos pertencentes aos experimentos, mas nenhum animal veio a óbito na dose de testada.

6.4.2 - Peritonite Induzida por carragenina

Para avaliação da atividade anti-inflamatória foram testadas as hidrazonas **90b,c,d,g** e **91**; as amidas enantioméricas **116a**, **116b**, assim como a mistura racêmica de **116**; os padrões Indometacina, Piroxicam e Dexametasona; solução salina 0,9%, como grupo controle, todos administrados em diferentes doses através da via oral (v.o.).

O percentual de atividade anti-inflamatória, avaliado pelo método de peritonite induzida por carragenina, foi calculado de acordo com a equação: $\%[(C-T)/C] \times 100$, onde C = média do grupo controle e T = média do grupo tratado. A análise estatística de todos os valores foi expressa como média $\pm$ erro padrão e os resultados analisados segundo a análise de variância $p \leq 0,05$ (ANOVA).

6.4.2.1 – Hidrazonas série **90**

As inibições da migração leucocitária produzidas pelas hidrazonas estão sumarizadas na tabela 03 e ilustradas graficamente na figura 30, 31 e 32.

Tabela 03: Número de PMNL e percentual de atividade anti-inflamatória das hidrazonas.

Substância	Dose ($\mu\text{mol/Kg}$); vo	Contagem de PMNL / mm^3 ($\times 10^5$) $\pm$ EPM	Redução da migração leucocitária (%)
<u>90b</u>	50	6,17 $\pm$ 1,46	37,43
	100	7,25 $\pm$ 3,52	26,48
	200	5,50 $\pm$ 1,21	44,23
<u>90c</u>	50	7,22 $\pm$ 0,92	27,60
	100	6,13 $\pm$ 1,89	38,50
	200	5,60 $\pm$ 3,41	43,90
<u>90d</u>	50	8,65 $\pm$ 4,91	12,30
	100	8,17 $\pm$ 1,20	17,11
	200	5,12 $\pm$ 1,90	48,08
<u>90g</u>	50	5,27 $\pm$ 2,54	46,51
	100	4,17 $\pm$ 1,35	57,63
	200	4,87 $\pm$ 2,80	50,62
<u>90l</u>	50	4,79 $\pm$ 0,88	51,43
	100	4,93 $\pm$ 1,03	50,01
	200	4,20 $\pm$ 2,16	57,41
Piroxicam	9,0	5,20 $\pm$ 0,46	47,28
Indometacina	50	5,18 $\pm$ 0,29	43,40
Dexametasona	5,0	3,12 $\pm$ 0,26	68,35
Grupo controle (salina)		9,85 $\pm$ 3,61	

PMNL = Leucócitos polimorfonucleares. Camundongos tratados oralmente com **HIDRAZONAS** nas doses mencionadas. Cada valor representa a média $\pm$ EP (erro padrão) de $n = 7/\text{grupo}$. O percentual de inibição foi calculado pela comparação entre grupo controle e grupo tratado * $p < 0,05$; ANOVA.

As hidrazonas **90b,c,d,g** e **l** foram testadas nas doses de 50, 100 e 200 $\mu\text{mol/Kg}$ para avaliação da atividade anti-inflamatória. Como pode ser observado na tabela 03, os melhores resultados foram obtidos com a hidrazona **90g** (R^1 $p\text{-OMe}$ e R^2 $p\text{-Cl}$) na dose de 100 $\mu\text{mol/Kg}$, com um percentual de inibição de 57,6% e **90l** (R^1 $p\text{-NO}_2$ e R^2 $p\text{-F}$) na dose de 200 $\mu\text{mol/Kg}$, apresentando 57,4% de inibição da inflamação. Estes resultados foram superiores ao observado para a indometacina e piroxicam, padrões utilizados no teste.

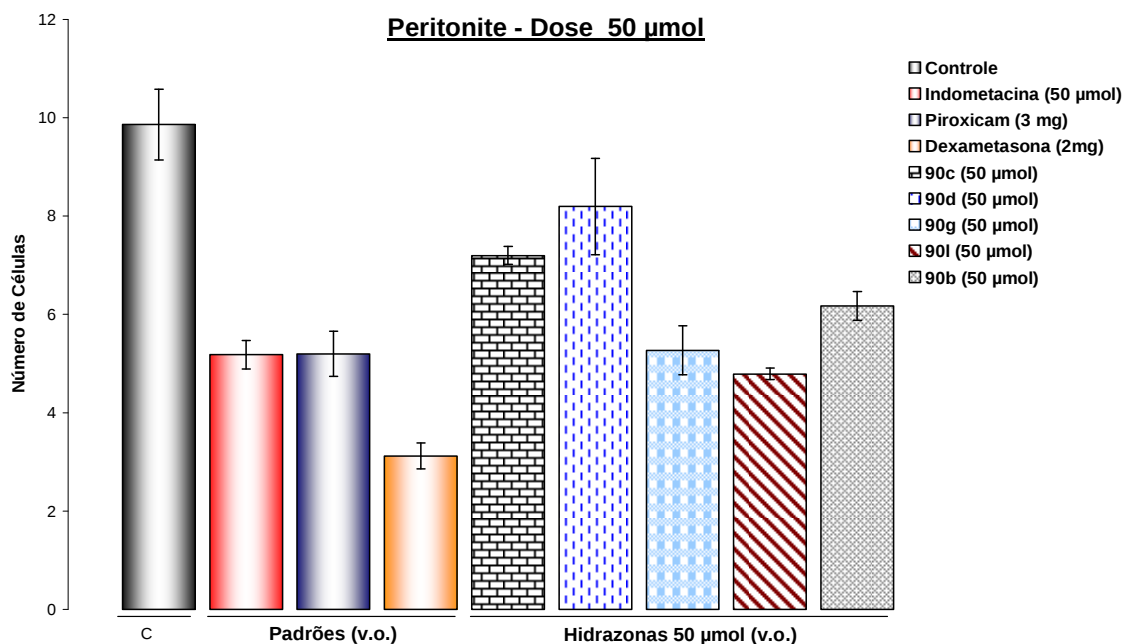


Figura 30: Efeito das hidrazonas **90b**, **c**, **d**, **g** e **l** (50, μ mol/kg, v.o), Indometacina (50 μ mol/kg), piroxicam (9 μ mol/kg) e dexametasona (5 μ mol/kg) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de n = 7/grupo. * p< 0,05; ANOVA.

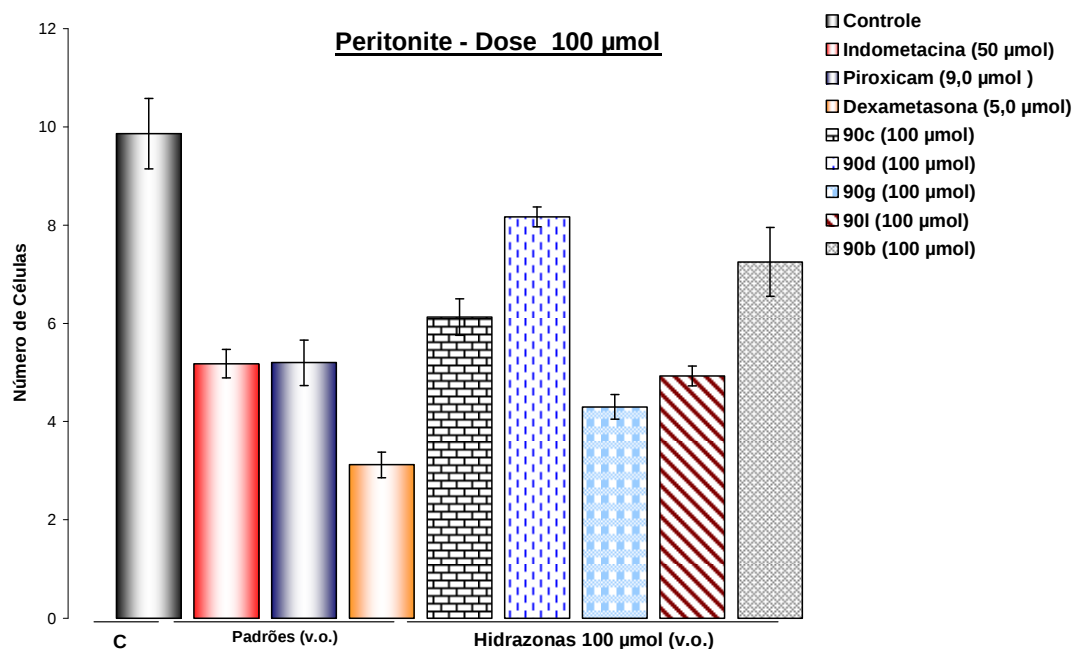


Figura 31: Efeito das hidrazonas **90b**, **c**, **d**, **g** e **l** (100 μ mol/kg, v.o), Indometacina (50 μ mol/kg), piroxicam (9 μ mol/kg) e dexametasona (5 μ mol/kg) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média $\pm$ EPM (erro padrão da média) de n = 7/grupo. * p< 0,05; ANOVA.

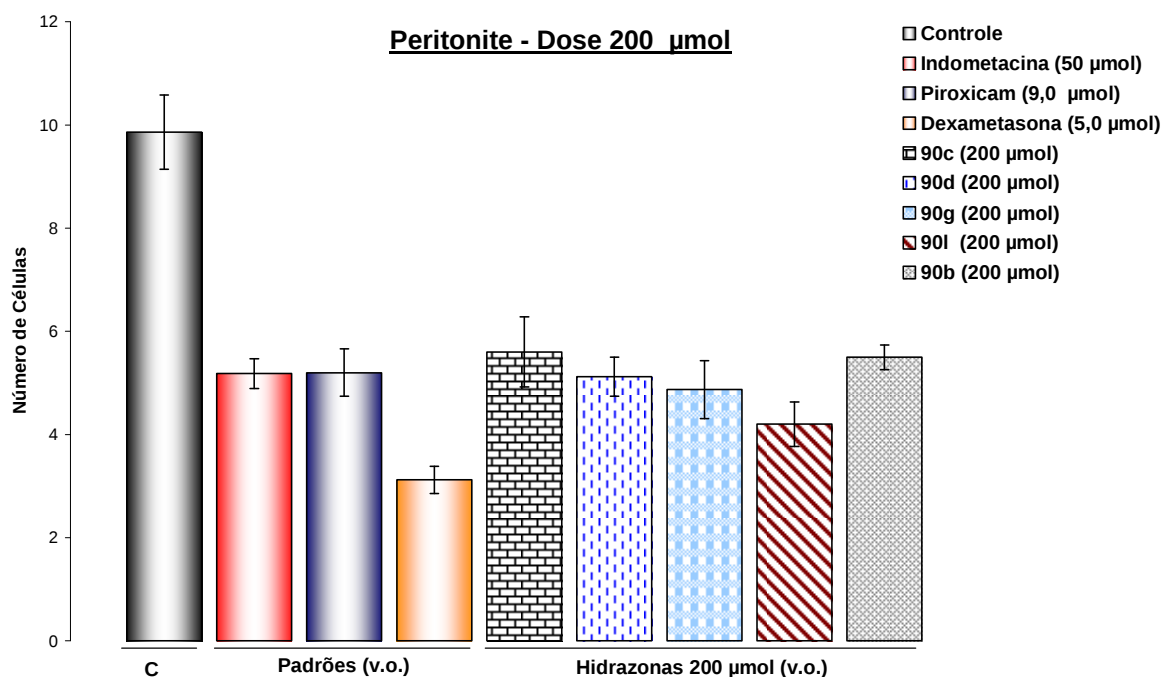


Figura 32: Efeito das hidrazonas **90b**, **c**, **d**, **g** e **l** (200 µmol/kg, v.o.), Indometacina (50 µmol/kg), piroxicam (9 µmol/kg) e dexametasona (5 µmol/kg) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média ± EPM (erro padrão da média) de n = 7/grupo. * p < 0,05; ANOVA.

Os três fármacos padrões utilizados nos testes foram testados conforme sua dose terapêutica. Para a indometacina, esta dose é de 10mg/Kg. Este fármaco quando testado na dose de 100 µmol/Kg, o que equivale a 37mg/kg, levou todos os animais a óbito, pois se trata de uma dose tóxica, aproximadamente quatro vezes maior do que a necessária para produzir os efeitos desejáveis. Na dose de 50 µmol/Kg teve um percentual de inibição da inflamação de 43%.

O Piroxicam, que foi testado na dose de 9 µmol/Kg (3 mg/Kg), apresentou um percentual de inibição de 47% e a dexametasona na dose de 5 µmol/Kg, o que equivale a 2 mg/Kg, teve um efeito de 68% de inibição sobre a migração leucocitária induzida pela carragenina.

O efeito anti-inflamatório das hidrazonas testadas foi bastante satisfatório quando comparado aos padrões utilizados nos testes. Na dose de 50 µmol/Kg, a hidrazona **90l** (R¹ p-NO₂ e R² p-F) apresentou 51,4% de atividade, já a hidrazona **90d** (R¹ p-F e R² p-Cl) foi a que apresentou menor atividade anti-inflamatória em relação aos demais.

O efeito anti-inflamatório observado na dose de 200 $\mu\text{mol/Kg}$ foi bastante satisfatório, tendo em vista que todas as hidrazonas testadas apresentaram inibição da inflamação superior a 44%, equivalente ao efeito proporcionado pela indometacina.

6.4.2.2 – Amidas isoxazolínicas **116a** e **116b**, enantiomericamente puras

As inibições da migração leucocitária produzidas pelos enantiômeros **116a**, **116b** e mistura racêmica **116**, testados na dose de 150 $\mu\text{mol/Kg}$, estão sumarizadas na tabela 04 e ilustradas graficamente na figura 33.

Tabela 04: Número de PMNL e percentual de atividade anti-inflamatória dos enantiômeros

Substância	Dose ($\mu\text{mol/Kg}$); i.p	Contagem de PMNL / mL ($\times 10^5$) $\pm$ EPM	Percentual de Atividade Anti-inflamatória (%)
116a	150	3,36 $\pm$ 0,46	65,4
116b	150	3,96 $\pm$ 0,76	59,2
mistura racêmica	150	3,17 $\pm$ 0,38	67,3
Piroxicam	9,0	5,20 $\pm$ 0,29	47,28
Indometacina	50	5,18 $\pm$ 0,46	43,40
Dexametasona	5,0	3,12 $\pm$ 0,26	68,35
Grupo controle		9,85 $\pm$ 3,61	

Como pode ser observado na tabela 04, a mistura racêmica apresentou uma atividade anti-inflamatória de 67%, contra 65% para o enantiômero **116a** e 59% para o enantiômero **116b**.

Os resultados obtidos com os enantiômeros e com a mistura racêmica foram bastante satisfatórios, uma vez que apresentaram atividade anti-inflamatória significativamente maior do que o piroxicam e a indometacina. Com relação aos enantiômeros a diferença foi relativamente discreta, tendo o enantiômero **116b** apresentado 5 pontos percentuais mais ativo do que o enantiômero **116a**. Estes resultados mostram que os dois enantiômeros são bastante ativos, com efeito anti-inflamatório semelhante.

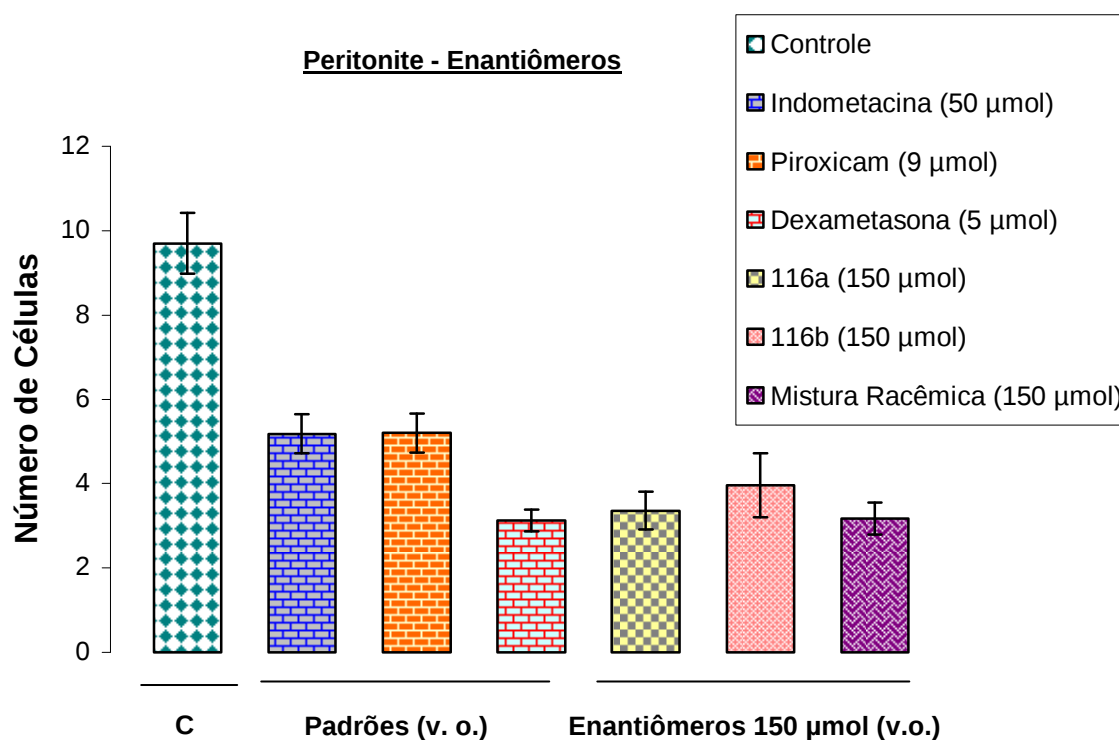


Figura 33: Efeito dos enantiômeros **116a**, **116b**, e mistura racêmica **116** (150 µmol/kg, v.o), Indometacina (50 µmol/kg), piroxicam (9 µmol/kg) e dexametasona (5 µmol/kg) sobre a atividade inflamatória induzida por carragenina (1%). Cada ponto representa a média ± EPM (erro padrão da média) de n = 7/grupo. * p< 0,05; ANOVA.

6.4.3 - Nocicepção induzida por ácido acético

As hidrazonas isoxazolínicas **90** (100 µmol/Kg), administradas por via intraperitoneal, inibiram significativamente as contorções abdominais induzidas por ácido acético em relação ao controle.

Os percentuais de inibição foram calculados através da fórmula:

Porcentagem de inibição = $(1 - V_t/V_c) \times 100$, onde V_t e V_c representam a média das contorções dos grupos tratados e controle, respectivamente.

O percentual inibição das hidrazonas testadas estão sumarizados na tabela 05.

Tabela 05: Efeito antinociceptivo das hidrazonas no modelo experimental de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

Substância	Dose ($\mu\text{mol/Kg}$)	Média $\pm$ EPM.	Proteção (%)
90a	100	17,00 $\pm$ 3,75	66,92
90b	100	16,75 $\pm$ 4,86	67,41
90d	100	15,40 $\pm$ 2,23	70,03
90g	100	15,80 $\pm$ 3,75	69,11
90h	100	38,17 $\pm$ 2,93	25,74
90j	100	46,66 $\pm$ 7,79	9,20
90l	100	13,66 $\pm$ 2,10	73,41
90p	100	24,5 $\pm$ 3,40	52,33%
90b	100	40,75 $\pm$ 5,8	20,72
91e	100	28,00 $\pm$ 2,96	50,62
Dipirona	100	18,20 $\pm$ 1,95	65,40
Controle	-	51,40 $\pm$ 3,97	-

Efeito das hidrazonas sobre a nocicepção, induzida por ácido acético (1%), em camundongos. Cada grupo representa a média de 8 animais. Os dados representam a média das contorções abdominais $\pm$ Erro Padrão Médio.

A avaliação da atividade analgésica foi realizada pelo método de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Os resultados estão apresentados na tabela 05 e representados graficamente na figura 34.

Na dose de 100 $\mu\text{mol/Kg}$, as hidrazonas **90a**, **90b**, **90d**, **90g** e **90l** foram as mais potentes desta série, apresentando uma atividade analgésica superior a dipirona, que foi usada como padrão. Das hidrazonas testadas, apenas duas não apresentaram efeito analgésico significativo. A hidrazona **90j** apresentou apenas 9,2% de inibição das contorções abdominais, quando comparada com o grupo controle, e a hidrazona **90b** com 20% de efeito analgésico.

O melhor resultado obtido foi com a hidrazona **90l**, que apresentou 73% de inibição da dor, contra 65% de inibição da dor, apresentada pela dipirona, sendo ambas testadas na dose de 100 $\mu\text{mol/Kg}$.

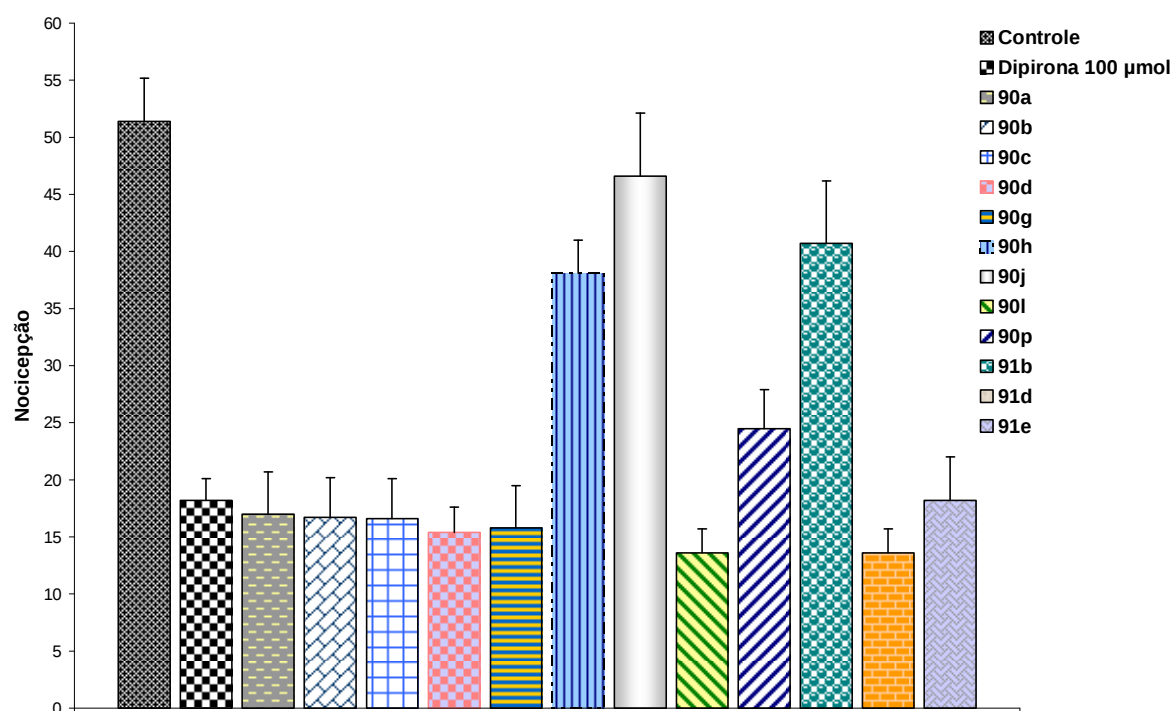


Figura 34: Efeito das hidrazonas sobre a nocicepção, induzida por ácido acético (1%), em camundongos. Cada grupo representa a média de 8 animais. Os dados representam a média $\pm$ EPM. Todos os resultados apresentaram significância estatística em relação ao grupo controle, ao nível de $p < 0,05$ (ANOVA).

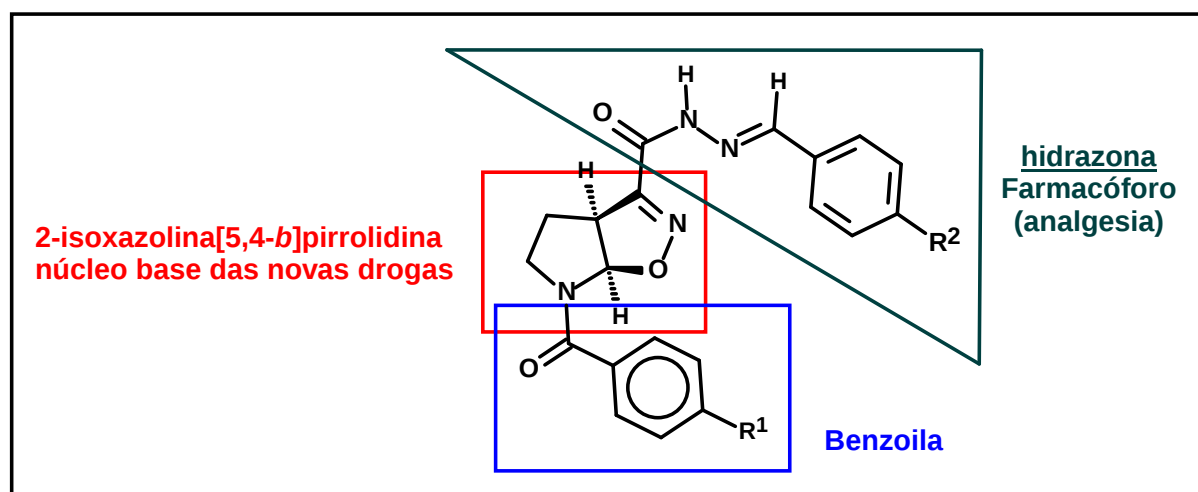
7.0 - CONCLUSÕES

Neste trabalho, exploramos quimicamente o novo heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*] piperidina e 2-isoxazolina[5,4-*b*] pirrolidina, através da aplicação sintética destes núcleos na obtenção de derivados de hidrazonas.

A rota sintética para obtenção das hidrazonas derivadas do novo heterociclo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina não foi concluída. Devido à problemas químicos na etapa de síntese das hidrazidas, o núcleo isoxazolínicico piperidínico degradou no meio reacional, impossibilitando a sequência desta rota. As hidrazonas da série piperidínica não foram obtidas, mas a exploração química do núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]piperidina foi realizada.

A obtenção das hidrazonas derivadas do núcleo 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina foi realizada com sucesso. Primeiramente foram obtidas cinco hidrazidas isoxazolínicas pirrolidínicas **89**, com um sítio de substituição (R^1), e em seguida através das reações de condensação com aldeídos aromáticos *p*-substituídos e furfuraldeico, foi possível obter 20 novos derivados de hidrazonas, com dois sítios distintos de substituição (R^1 e R^2) série **90** e um sítio de substituição (R^1), série **91**, com propriedades estereoeletrônicas bem distintas, que foram averiguadas quanto a atividade biológica.

As novas substâncias obtidas apresentam o núcleo base 2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidina *N*-benzoilado, que apresentaram excelentes atividades anti-inflamatória, e a funcionalidade hidrazona, que conforme a literatura, é um grupamento farmacofórico para analgesia.



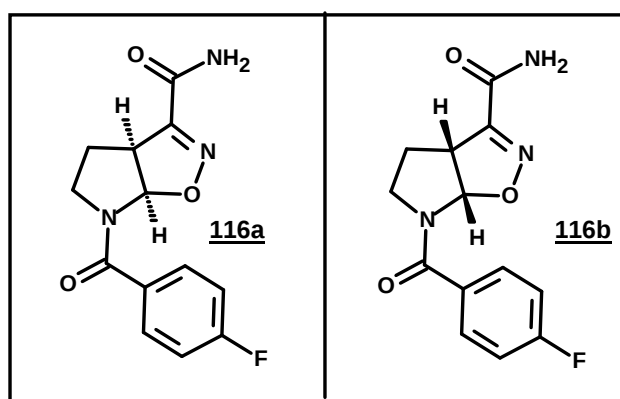
As avaliações da atividade analgésica e anti-inflamatória das hidrazonas **90a-p** e **91a-e** forneceram excelentes resultados.

No teste de atividade analgésica, realizado pelo método de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, foram testadas dez hidrazonas e o analgésico dipirona, como padrão, todos na dose de 100 $\mu\text{mol/Kg}$. Os resultados foram bastante satisfatórios, sendo que a dipirona apresentou um percentual de inibição da dor de 65% e cinco das hidrazonas testadas apresentaram atividade analgésica superior à dipirona. O derivado **90l** apresentou 73,4% de inibição da dor, bastante superior ao padrão.

A avaliação da atividade anti-inflamatória foi testada pelo método de peritonite em camundongos. Foram avaliadas cinco hidrazonas **90b,c,d,g** e **l** nas doses de 50, 100 e 200 $\mu\text{mol/Kg}$. Os resultados obtidos foram bastante expressivos, com as hidrazonas isoxazolínicas **90g** e **90l** apresentando nas três doses testadas, efeito superior ao Piroxicam e a Indometacina.

Na segunda parte deste trabalho foi desenvolvida uma síntese assimétrica das 2-isoxazolininas aza-bicíclicas.

Diante dos resultados prévios de atividade anti-inflamatória dos derivados 3-carboxamidas *N*-(benzoil)-2-isoxazolina[5,4-*b*]pirrolidinas (racêmico), realizamos a síntese dos enantiômeros destes derivados para analisarmos a influência da estereoquímica relativa e absoluta na atividade anti-inflamatória. Desta forma foram obtidos os enantiômeros **116a** e **116b**, derivados *p*-F substituídos. A etapa chave para a obtenção dos enantiômeros foi a reação de cicloadição 1,3-dipolar assimétrica envolvendo enecarbamatos endocíclicos quirais com *N*-óxido de nitrila, reação esta, ainda não relatada na literatura até o momento.



Os objetivos propostos inicialmente no projeto, quanto à parte química e biológica, foram plenamente executados, apresentando resultados bastante satisfatórios.

Estes resultados todos demonstram a grande versatilidade sintética e aplicação biológica dos novos heterociclos isoxazolínicos, o que nos incentiva a ampliar a investigação sintética e biológica destes novos núcleos obtidos a partir de enecarbamatos endocíclicos.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gilchrist, T. L. *Heterocyclic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, New York, USA, **1992**.
2. Almeida, V. M. *Dissertação de Mestrado* - Departamento de Ciências Farmacêuticas UFPE, **2003**.
3. Santos, R. J. *Dissertação de Mestrado* - Departamento de Ciências Farmacêuticas UFPE, **2003**.
4. Avendano, C. *Introducción a La Química Farmacêutica*, McGaw Hill-Interamericana, Espana, **2001**.
5. Barreiro E. J.; Fraga C. A. M. *Química Medicinal – As Bases Farmacológicas da Ação dos Fármacos*. Ed. ArtMed, **2001**, 63.
6. Ebel, R.; Marin A.; Proksch P. *Biochemical Systematics and Ecology* **1999**, 27, 769-777.
7. Ogamino, T.; Nishiyama, S. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46, 1083-1086.
8. Nicholas, G. M.; Newton, G. L.; Fahey, R. C.; Bewley, C. A. *Organic Letters* **2001**, 3, 1543-1545.
9. Hwang, I. T.; Kim, H. R.; Jeon, D. J.; Hong, K. S.; Cho, K. Y. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 8639-8643.
10. Kang, Y. K.; Shin, K. J.; Yoo, K. H.; Seo, K. J.; Hong, C.Y.; Lee, C.; Park, S.Y.; Kim, D. J.; Park, S. W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, 10, 95-99.
11. Pirrung, M. C.; Tumey, L. N.; Raetz, C. R. H.; Rusche, K. M. *J. Med Chem.* **2002**, 45, 4359-4370
12. Basappa, M. P.; Sadashiva, K.; Mantelingu, S.; Rangappa, K. S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2003**, 11, 4539-4544.
13. Srivastava, S.; Li, K.; Bajpai, S.; Batra, A. P.; Bhadur, J. P.; Maikhuri, G. G.; Dhar, J. D. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1999**, 11, 2607-2613.
14. Kai, H.; Matsumoto, H.; Hattori, N.; Takase, A.; Fujiwara, T.; Sugimoto, H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, 11, 1997-2000.
15. Smallheer, J. M.; Weigelt, C. A.; Woerner, F.; Wells, J. S.; Daneker, W. F.; Wexler, R. R.; Jadhav, P. K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, 383-387.
16. Wityak, J.; Tobin, A. E.; Mousa, S. A.; Wexler, R. R.; Olson, R. E. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, 9, 123-126.

17. Pruitt, J. R.; Pinto, D. J.; Estrella, M. J.; Bostrom, L. L.; Knabb, R. M.; Wong, P. C.; Wright, M. R.; Wexler, R. R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, *10*, 685-690.
18. Quan, M. L.; Ellis, C. D.; He, M. Y.; Liauw, A. Y.; Lam, P. Y. S.; Rossi K. A.; Wong, P. C.; Wexler R. R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, *13*, 1023-1028.
19. Park, K.; Ko, D.; You, Z.; Khan, M. O. F.; Lee H. J. *Steroids* **2006**, *71*, 183-188.
20. Basappa, M. S.; Kumar, S. N.; Swamy, M. M.; Prasad, J. S.; Viswanath, B. S.; Rangappa, K. S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 3679-3681.
21. Groutas, W. C.; Venkataramam, R.; L Chong, S.; Yoder, J. E.; Stanga, M. A.; Kim, E.-H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1995**, *3*, 125-128.
22. Almeida, V. M.; Santos, R. J.; Góes, A. J. S.; Souza, I. A.; De Faria, A. R. *Rev. Bras. Ciências da Saúde* **2005**, *9*, 275-282.
23. Roda, G.; Conti, P.; De Amici, M.; He, J.; Polavarapu, P. L.; De Micheli, C. *Tetrahedron Asymmetry* **2004**, *15*, 3079-3090.
24. Conti P.; De Amici, M.; Osborne, H. B.; Madsen, U.; Toma, L.; De Micheli, C. *Il Fármaco* **2002**, *57*, 889-895.
25. Conti, P.; De Amici, M.; Roda, G.; Vistoli, G.; Stensbol, T. B.; Osborne, H. B.; Madsen, U.; Toma, L.; De Micheli, C. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1443-1452.
26. De Amici, M.; Conti, P.; Fasoli, E.; Barocelli, E.; Ballabeni, V.; Bertini, S.; De Micheli, C. *Il Fármaco* **2003**, 739-748.
27. Conti, P.; Dallanoce, C.; De Amici, M.; De Micheli, C.; Klotz, K. N. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, *6*, 401-408.
28. Dallanoce, C.; De Amici, M.; Carrea, G. F.; Secundo, S. C.; De Micheli, C. *Tetrahedron Asymmetry* **2000**, *11*, 2741-2751.
29. Breschi, MC.; Manera, M.; Micali, E.; Nardini, C.; Nencetti, S.; Rossello, A.; Scatizzi, R. *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, *31*, 159-163.
30. Katritzky A. R.; Rees, C. W. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry. The Structure, Reactions, Synthesis and Uses of Heterocyclic Compounds* **1984**, volume 6, Pergamon Press.
31. Gothelf, K. V.; Jorgensem, K. A. *Chem Rev.* **1998**, *98*, 863-909.
32. Fleming, I. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*; John Wiley and Sons, N. Y. **1976**.
33. Wade, P. A.; Hinney, H. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1319-1320.

34. De Amici, M.; De Micheli, C.; Carrea, G.; Riva, S.; *Tetrahedron Asymmetry* **1996**, 7, 787-796.
35. Kang, Y. K.; Shin, K. J.; Yoo, K. H.; Seo, K. J.; Hong, C. Y.; Lee, C.; Park, S. Y.; Kim D. J.; Park S. W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, 10, 95-99.
36. Yan, M., Tu, Z.; Lin, C. *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 7991-7994.
37. Bougrim, K.; Lamiri, M.; Soufiaoui, M. *Tetrahedron Letters* **1998**, 39, 4455-4458.
38. Das, B.; Holla, H.; Mahender, G.; Banerjee, J.; Reddy, R. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 7347-7350.
39. Kumar, V.; Kaushik, M. P. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47, 1457-1460.
40. Romański, J.; Jóźwik, J.; Chapuis, C.; Asztemborska, M.; Jurczak, J. *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18, 865-872.
41. Micuchi, P.; Fisera, L.; Cyranski, M. K.; Krygowski, T. M.; Krajcik, J. *Tetrahedron* **2000**, 56, 5465-5472.
42. Di Nunno, L.; Vitale, P.; Scilimati, A.; Tacconelli, S.; Patrignani, P. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 4881-4890.
43. Dallanoce, C.; Meroni, G.; De Amici, M.; Hoffmann, C.; Klotz, K-N.; De Micheli, C. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, 14, 4393-4401.
44. Burri, K. F.; Cardone, R. A.; Chen, W. Y.; Rosem, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 7069-7071.
45. Kametani, T.; Huang, S. P.; Yokohama, S.; Suzuki, Y.; Yhara, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 2060-2065.
46. Lee, J. Y.; Kim, B. H.; *Tetrahedron* **1996**, 52, 571-588.
47. Korolkovas A. *Química Farmacêutica*; Ed. Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro-RJ, **1988**, 48-49.
48. Küçükgülzel, S. G.; Mazi, A.; Sahin, F.; Öztürk, S.; Stables, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 1005 - 1013.
49. Vicini, P. Zani, F.; Cozzoni, P.; Doytchinova, I. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 553 – 564.
50. Rollas, S.; Gulerman, N.; Erdeniz, H. *Il Farmaco* **2002**, 57, 171 - 174.
51. Gürsoy, A.; Terzioğlu N.; Ötük, G. *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, 32, 753 - 757.
52. Küçükgülzel, S. G.; Rollas, S.; Küçükgülzel, I.; Kiraz, M. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, 34, 1093 – 1100.

53. Sahin, F.; Ozbek, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37, 197– 206.
54. Küçükgülzel, S. G.; Rollas, S. *Il Farmaco* **2002**, 57, 583 - 587.
55. Gaston, M. A.; Dias, L. R. S.; Freitas, A. C. C.; Miranda, A. L. P.; Barreiro, E. J. *Pharmaceutica Acta Helvetiae* **1996**, 71, 213 – 219.
56. Lima, P. C.; Lima, L. M.; Da Silva, K. C. M.; Leda, P. H. O.; Miranda, A. L. P.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 187 – 203.
57. Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Stables, J. P. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 241 – 248.
58. Dimmock, J. R.; Brenner, J. M.; Philips, O. A. *Pharmazie* **1987**, 42, 376 – 379.
59. Dimmock, J. R.; Vashishtha, S. C.; Sables, J. P. *Pharmazie* **1995**, 50, 823 - 824.
60. Çakir, B.; Yildirim, E.; Ercanli, T.; Erol, K.; Sahim, M. F. *Il Farmaco* **1999**, 54, 842 - 845.
61. Todeschine, A. R.; Miranda, A. L. P.; Silva, K. C. M.; Parrini, S. C.; Barreiro, E. J. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, 33, 189-199.
62. Ragavendran, J. V.; Sriram, D.; Patel, S. K.; Reddy, I. V.; Bharathwajan N.; Stables, J.; Yogeewari, P. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, 42, 146-151.
63. Varache-Lembege, M.; Moreau, S.; Larouture, S.; Nuhrich, A.; *European Journal Medicinal Chemistry* **2007**, doi: 10.1016/j.ejmech2007.09003
64. Thall, E. J. *J. Chem. Ed.* **1996**, 481-484.
65. Pinheiro, F.; Ferreira, V. F. *Química Nova*, **1998**, 21, 312-317.
66. Hannesian, S. *Total Synthesis de Natural Products: The Chiron Approach*, Pergamon, Oxford **1983**
67. Noyore, R. *Assymmetric Catalisys in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons, Inc., N. Y. **1994**.
68. Claxton, G. P.; Allen, L.; Grisar, J. M. *Organic Synthesis*; 5, 968.
69. De Faria, A. R. *Tese de Doutorado - Instituto de Química - UNICAMP*, **1996**.
70. Kozikowski, A. P.; Adamczyk, M. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 366-384.
71. Kraus, G. A.; Neuenschwander, K. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 4791-4792.
72. Karabasto G. J.; Graham, J. D.; Vane, F. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 82, 753-755.

73. Ambrózio, J. C.; Santos, L. R. H. A.; Correia, C. R. D. *J. Braz. Chem. Soc.*; **2003**, *14*, 27 – 38.
74. Dollé, F.; Dolci, L.; Valette, H.; Crouzil, C. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2251-2259.
75. Klaasem, C. D. and Watkins, I. B. *Mec. da Toxicidade – A Ciência Básica dos Tóxicos*; Casarett & Doull's; 5^a ed, Mc Graw Hill **2001**.
76. Oga, Z. *Avaliação da Toxicidade – Fundamentos de Toxicologia*; Ed. Atheneu, São Paulo-SP, **1996**, 62-63.
77. De Luca, R. R.; Alexandre, S. R.; Marques, T.; Souza, N. L.; Merusse, J. L. B.; Neves, S. P. *Manual Para Técnicas em Bioterismo* 2^a ed., **1996**, 15-17.
78. Collins, T. Inflamação aguda e crônica. In: *Patologia Estrutural e Funcional*. 6^o Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A. **2000**, 233-295.
79. Catran, S. R.; Kumar, V.; Robins, S. L.; *Inflamação: Patologia Estrutural e Funcional*; 3^a ed. Guanabara Koogan, **1991**, 33-37.
80. Brody, T. M.; Larner, J.; Minerman, K. P.; Neu, C. H.; *Farmacologia Humana – da Molécula à Clínica*; Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, **1997**, 71-73.
81. Foegh, M. L.; Os eicosanóides: prostaglandinas tromboxanos, leucotrienos e compostos relacionados. In: Katzung, B. G. *Farmacologia Básica e Clínica*. 8^o Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan **2003**.
82. Philips, J.; Murray, P.; The biology of disease. Blackwell Science **1995**, *25*, 22 – 43.
83. Gilman, A. G.; *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*; 9^a ed.; McGraw Hill **1996**
84. Vane, J.R.; Botting, R.M. *The American Journal of Medicine* **1998**, *104*, n. 3A, 2S-8S
85. Cunha, F.Q.; Bases Moleculares da Terapia da Dor Inflamatória. *Revista Brasileira de Reumatologia* **2004**, *44*, 1-12.
86. Gupta, M.; Mazunde, U. K.; Kumar, R. S.; Gomathi, P.; Rajeshwa, Y.; Kakoti, B. B.; Selven, V. T. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *98*, 267–273.
87. Pérez-Guerrero, C.; Herrera, M. D.; Ortiz, R.; Sotomayor, M. A.; Fernandez, M. A. *Journal of Ethnopharmacology* **2001**, *76*, 279–284.
88. Young, H.Y.; LUO Y. L.; Cheng, H.Y.; Hsieh, W.C.; Liao, J.C.; Peng, W.H.. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *96*, 207–210.