

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

EDUARDA KARYNNE SOUZA

NOVOS ÁCIDOS HIDROXÂMICOS CONTENDO OS NÚCLEOS 2-ISOXAZOLINA
AZABICÍCLICA DE CINCO E SEIS MEMBROS. PLANEJAMENTO, SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI *Trypanosoma cruzi*

Recife
2019

EDUARDA KARYNNE SOUZA

NOVOS ÁCIDOS HIDROXÂMICOS CONTENDO OS NÚCLEOS 2-ISOXAZOLINA
AZABICÍCLICA DE CINCO E SEIS MEMBROS. PLANEJAMENTO, SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI *Trypanosoma cruzi*

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica do Centro de Biociências da
Universidade Federal de Pernambuco,
requisito obrigatório, para a obtenção do
Título de Mestre em Inovação Terapêutica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

COORIENTADOR: Valéria Pereira Hernandez

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Souza, Eduarda Karynne

Novos ácidos hidroxâmicos contendo os núcleos 2-isoxazolina azabíclica de cinco e seis membros. Planejamento, síntese e avaliação da atividade anti *Trypanosoma cruzi* / Eduarda Karynne Souza - 2019.

202 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Antônio Rodolfo de Faria

Coorientadora: Valéria Pereira Hernandes

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica. Recife, 2019.

Inclui referências e apêndices.

1. Fármacos 2. Doença de Chagas 3. Hibridização molecular
I. Faria, Antônio Rodolfo de (Orientador) II. Hernandes, Valéria Pereira (Coorientadora) III. Título

616.9363

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-059

EDUARDA KARYNNE SOUZA

NOVOS ÁCIDOS HIDROXÂMICOS CONTENDO OS NÚCLEOS 2-ISOXAZOLINA
AZABICÍCLICA DE CINCO E SEIS MEMBROS. PLANEJAMENTO, SÍNTESE E
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI *Trypanosoma cruzi*

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Inovação
Terapêutica do Centro de Biociências da
Universidade Federal de Pernambuco,
requisito obrigatório, para a obtenção do
Título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovada em: 15 de agosto de 2019.

BANCA EXAMINADORA

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

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo
(Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – Universidade Federal de
Pernambuco)

EXAMINADORA EXTERNA: Prof.^a Dr.^a Ivani Malvestiti
(Departamento de Química Fundamental - Universidade Federal de Pernambuco)

Ao grande arquiteto e designer do universo. Ao que é o arquétipo, que não pode ter seus juízos sondados ou seus caminhos prescrutados. Àquele cuja mente não pode ser conhecida e que não precisa de conselhos. Àquele de onde provém todas as coisas, inclusive a sabedoria e o conhecimento (Rm 11:33-26). Ao que não é limitado pelo tempo ou pelo espaço, sendo o início e o fim de tudo.

Ao que mediu as águas na concha da mão e que definiu com o palmo os limites dos céus, que calculou o peso da terra e pesou os montes na balança e as colinas nos seus pratos (Is 40:12). Ao que faz coisas grandiosas, acima do nosso entendimento. Diz à neve: 'Caia sobre a terra', e à chuva: 'Seja um forte aguaceiro'. Ele paralisa o trabalho de cada homem, a fim de que todos os que Ele criou conheçam a sua obra. Os animais vão para os seus esconderijos e ficam nas suas tocas. A tempestade sai da sua câmara, e dos ventos vem o frio. Seu sopro produz gelo e as vastas águas se congelam. Também carrega de umidade as nuvens, e entre elas espalha os seus relâmpagos. Ele as faz girar, circulando sobre a superfície de toda a terra, para fazerem tudo o que Ele lhes ordenar (Jó 37:5-12).

Se perguntássemos aos animais, eles nos ensinariam, ou às aves do céu, elas nos contariam. Se falássemos com a terra, ela nos instruiria, ou os peixes do mar nos informariam. Quem de todos eles ignora o que a mão do Senhor fez? Em Sua mão está a vida de cada criatura e o fôlego de toda a humanidade (Jó 12:7-10).

Ao que nos permite descobrir, estudar e entender detalhes maravilhosos de sua criação, os macroscópicos e os microscópicos. Ao Senhor que se revela.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria, pela confiança em mim depositada para realização não só desse trabalho, mas de tantas outras atividades. Sou grata por seus ensinamentos, pelo seu cuidado e zelo desde a graduação. Por ter me ensinado a fazer moléculas, purificações e elucidações estruturais, mas sobretudo por ter me ensinado, com o exemplo, a ser um bom profissional, a agir com honestidade, a cumprir com os meus compromissos e a perseverar (mesmo quando as coisas não estão indo como o esperado, porque a ciência nem sempre é tão previsível).

Agradeço à minha co-orientadora, professora Valéria Hernandes pela orientação.

Agradeço à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental e às técnicas Abene e Eliete pelas análises de RMN, ao Laboratório de Tecnologia de Medicamentos do Departamento de Ciências Farmacêuticas, na pessoa do Prof. Dr. Pedro Rolim e à mestrandia Laysa pelas análises de IV, ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste, na pessoa de Júlia e à Marlene pelas análises de Massas, ao Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular, na pessoa da Prof. Dra. Valéria Hernandes Pereira e às alunas Ana Catarina, Aline e Sophia pela realização dos testes biológicos.

Agradeço aos órgãos financiadores CNPq e CAPES pelo financiamento do projeto e pela bolsa concedida.

Agradeço à minha família por ter me dado condições de estudar e aprender, por terem me proporcionado aquilo que não tiveram oportunidade de ter. Agradeço aos meus avós, que foram também pais. À minha tia Rose, Wanderley e Lara por terem sido minha família e meu ponto de apoio. À minha tia Riso pelo cuidado e preocupação. Aos meus irmãos por me apoiarem, me incentivarem e cuidarem de mim, mesmo distantes fisicamente. À minha mãe que me ensinou as coisas mais importantes da vida e que me mantém no caminho certo. Ao meu namorado Pedro por me acompanhar e pela paciência nessa etapa final.

Agradeço à minha segunda família, o LASOF. Àqueles que já não estão mais lá, mas que contribuíram para minha formação desde a graduação. Aos meus amigos e irmãos: Marlene, por me ensinar sobre perseverança, determinação e disciplina, por me aconselhar e me ajudar com sua experiência; Jéssica, por conseguir fazer tantas

coisas ao mesmo tempo e ainda conseguir olhar com amor para todos que estão a sua volta, sou feliz por ser alvo desse amor; Felipe, pela amizade e apoio. À minha IC Mylena, que trouxe mais felicidade e leveza para os desafios e incertezas que são lançados a um pesquisador. Aos outros lasofianos e agregados que também fizeram parte dessa construção: Agamenon, Lucas, Sophia, Clara e Bruna.

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para construção desse trabalho. Aos meus amigos Laysa e Wellithom pelas disciplinas, conversas de corredor, apoio e análises. Às secretárias do DCFar Dani e Fátima por todo auxílio e amizade.

Agradeço sobretudo à Deus, que é o dono de todas as coisas, que as mantém e governa, por quem me movo e existo, que é a razão de tudo e para quem são os frutos de minhas mãos.

RESUMO

A doença de Chagas é uma parasitose, causada pelo protozoário *Trypanossoma cruzi* e atinge cerca de 7 milhões de pessoas no mundo. O arsenal farmacológico para o tratamento da doença se resume ao uso do benznidazol e do nifurtimox, drogas com efeitos colaterais importantes e baixa eficácia de cura, o que implica na necessidade do desenvolvimento de alternativas terapêuticas. Os heterociclos de cinco membros, como as isoxazolininas, bem como ácidos hidroxâmicos são comumente empregados no desenvolvimento de moléculas bioativas por apresentarem dentre outras, as atividades antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória e antiparasitária. Esse trabalho tem, portanto, como objetivo sintetizar duas séries de moléculas contendo a função ácido hidroxâmico e os núcleos isoxazolínicos azabicíclicos de cinco e seis membros, para posterior avaliação do perfil de citotoxicidade e atividade tripanossomicida dos mesmos. Por meio de reações de cicloadição 1,3-dipolar, entre enamidas endocíclicas de cinco e seis membros com o *N*-óxido de nitrila CEFNO, foram obtidos os ésteres isoxazolínicos azabicíclicos que, posteriormente foram submetidos a reação com hidroxilamina em meio básico para formação do híbrido ácido hidroxâmico isoxazolínicos. As moléculas finais foram sintetizadas com sucesso, embora o processo de síntese e de purificação devam ser otimizados. Foram obtidas sete moléculas finais de cada série com rendimentos entre 14 – 77 %, que foram caracterizadas pelos métodos espectrométricos de RMN de ^1H e ^{13}C , IV-ATR e massas (MALDTON) e tiveram suas propriedades físico-químicas determinadas. Os compostos sintetizados foram submetidos à avaliação de suas atividades tripanossomicida para as formas evolutivas tripomastigota e amastigota, bem como a avaliação da citotoxicidade. Foram obtidos resultados biológicos com valores de IC_{50} entre 2,95 e 11,70 μM e CC_{50} entre 158,46 e 691,35 μM para série de cinco membros e IC_{50} entre 17,29 e 329,69 μM e CC_{50} entre 37,45 e 194,17 μM para série de seis membros, no teste com a forma tripomastigota. Os compostos da **1a**, **1c** e **1e** foram mais ativos que o fármaco padrão utilizado, benznidazol, (IC_{50} = 40,96 μM e CC_{50} = 597,39 μM) e menos citotóxicos. Na série de seis membros os compostos **2f** e **2g** foram mais ativos que o benznidazol, porém foram mais citotóxicos. No teste com amastigota, os compostos **1d** e **2d** apresentaram atividade com IC_{50} de 22,93 μM e 16,79 μM , respectivamente, apresentaram toxicidade maior que o fármaco padrão

para fibroblastos L929, mas com índice de seletividade de 5,1 e 3,4. Os resultados obtidos se mostraram bastante promissores na sequência de estudos para obtenção de novos fármacos antichagásicos realmente eficazes e pouco tóxicos.

Palavras chaves: Cicloadição 1,3-dipolar. Doença de Chagas. Hibridização molecular.

ABSTRACT

Chagas disease is a parasitosis caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and affects about 7 million people worldwide. The pharmacological arsenal for the treatment of the disease is limited to the use of benznidazole and nifurtimox, drugs with important side effects and low healing efficacy, which implies the need to develop therapeutic alternatives. The five-membered heterocycles, such as isoxazolines, as well as hydroxamic acids are commonly used in the development of bioactive molecules because they present, among others, antimicrobial, antitumor, anti-inflammatory and anti-parasitic activities. This work, therefore, aims to synthesize two series of compounds containing hydroxamic acid function and the five- and six-membered azabicyclic isoxazolinic nuclei, for further evaluation of their cytotoxicity profile and trypanosomicidal activity. Through 1,3-dipolar cycloaddition reactions, between five- and six-membered endocyclic enamides with the CEFNO nitrile *N*-oxide, the azabicyclic isoxazoline esters were obtained, which were subsequently underwent to reaction with hydroxylamine in basic medium to form hybrids of isoxazoline and hydroxamic acid. The final hybrid compounds have been successfully synthesized, although the synthesis and purification process must be optimized. Seven final molecules from each series were obtained with yields between 14 - 77%, which were fully characterized by ^1H and ^{13}C NMR spectrometric methods, IV-ATR and Mass spectrometry (MALD-TOF) and had their physicochemical properties determined. The synthesized compounds were underwent to the trypanosomicidal activities evaluation for the evolutionary forms trypomastigote and amastigote, as well as the evaluation of cytotoxicity. Against trypomastigote form, the obtained values were as follow: IC_{50} between 2.95 and 11.70 μM and CC_{50} between 158.46 and 691.35 μM for the five-membered series and IC_{50} between 17.29 and 329.69 μM and CC_{50} between 37.45 and 194.17 μM for the six-membered series. The compounds 1a, 1c and 1e (five-membered series) were more active than the standard drug used, benznidazole, (IC_{50} = 40.96 μM and CC_{50} = 597.39 μM) and less cytotoxic than it. Regarding to the six-membered series, compounds 2f and 2g were more active than benznidazole, but were more cytotoxic than it. Against the amastigote form, compounds 1d and 2d showed IC_{50} of 22.93 μM and 16.79 μM , respectively, being more toxic than the standard drug benznidazole for L929 fibroblasts, but with the selectivity index of 5.1 and 3.4

respectively. The chemical and biological results have shown to be quite promising to further studies to obtain new, effective and low-toxic antichagasic drugs.

Keywords: Isoxazolines. Hydroxamic acids. 1,3-dipolar cycloaddition. Chagas disease. Molecular hybridization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíclicos de cinco e seis membros	26
Figura 2 -	Distribuição da doença de Chagas, segundo município de residência no ano de 2016	29
Figura 3 -	Ciclo biológico do <i>Trypanossoma cruzi</i>	31
Figura 4 -	Estrutura química do benznidazol e nifurtimox	33
Figura 5 -	Mecanismo de ação proposto dos fármacos nifurtimox e benznidazol (Adaptado de DIAS, L. C. et al, 2009)	35
Figura 6 -	Composto submetido a estudos clínicos de fase II	36
Figura 7 -	Estruturas de ácido hidroxâmico, hidroxamatos e hidroximatos..	38
Figura 8 -	Isômeros E e Z das formas ceto e enol dos ácidos hidroxâmicos.....	38
Figura 9 -	Inibidores de HDCA aprovados pelo FDA	39
Figura 10 -	Ácido hidroxâmico 3-hidroxiimino-2-oxidolínico incorporado com o ligante 1-alkil4-metil-1H-1,2,3-triazol	40
Figura 11 -	Ácido hidroxâmico inibidor de autotaxina	40
Figura 12 -	Inibidor da enzima falsicina	41
Figura 13 -	Complexo de hidroxamato com Sb (III)	42
Figura 14 -	Ácido hidroxâmico inibidor de TcCA	43
Figura 15 -	Estrutura química de isoxazóis e seus derivados	46
Figura 16 -	Derivados de espirooxindol isoxazolina/triazol e isoxazolina/isoxazol com atividades antibacterianas e antifúngicas	47
Figura 17 -	Isoxazolina nitrofurânil substituída	48
Figura 18 -	Isoxazolina cumarínica anticancerígena	48
Figura 19 -	Derivado sintético isoxazolínico de cumarina natural	49
Figura 20 -	Composto de tetra-hidropiridina substituído com 5-(2-pirrolidin--il) isoxazolina na posição 3	49
Figura 21 -	Híbrido ácido salicílico isoxazolínico	50
Figura 22 -	Isoxazolina com atividade pesticida	50
Figura 23 -	Isoxazolina nitrofurfuril hidrazona	51

Figura 24 - Espectro de RMN de ^1H do subproduto da reação de formação dos ácidos hidroxâmicos, utilizando DMSO-d_6 como solvente	68
Figura 25 - Espectro de RMN de ^1H do subproduto da reação de formação dos ácidos hidroxâmicos	68
Figura 26 - Dados espectrométricos de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -Cl <u>1a</u> ...	74
Figura 27 - Espectro de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -Cl <u>1a</u> .	74
Figura 28 - Dados espectrométricos de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolínico <u>1a</u>	75
Figura 29 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	75
Figura 30 - Espectro de infravermelho (IV-ATR) do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	76
Figura 31 - Espectro de massas (MALDI/TOF) do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	77
Figura 32 - Espectro de RMN ^1H do produto da reação utilizando DMSO-d_6 como solvente	82
Figura 33 - Espectro de IV do produto da reação	83
Figura 34 - Dados espectrométricos de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -NO ₂ <u>2f</u>	85
Figura 35 - Espectro de de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -NO ₂ <u>2f</u>	85
Figura 36 - Dados espectrométricos de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -NO ₂ <u>2f</u>	86
Figura 37 - Espectro de de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolínico <i>p</i> -NO ₂ <u>2f</u>	86
Figura 38 - Espectro de infravermelho (IV-ATR) do ácido hidroxâmico isoxazolínico de seis membros <i>p</i> -NO ₂ <u>2f</u>	87
Figura 39 - Espectro de massas do ácido hidroxâmico isoxazolínico de seis membros <i>p</i> -Cl <u>2a</u>	88
Figura 40 - Estrutura 3D dos núcleos isoxazolínicos azabíclicos pirrolidínico e piperidínico	130

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Enamidas endocíclicas de cinco membros: rendimentos pelo método do ultrassom e pelo método da codestilação do trímero com THF (DOS SANTOS, 2003)	61
Tabela 2 -	Cicloadutos de cinco membros: rendimentos	63
Tabela 3 -	Rendimentos e tempo reacional da formação dos ácidos hidroxâmicos com e sem excesso de base	71
Tabela 4 -	Rendimento das enamidas endocíclicas de seis membros	80
Tabela 5 -	Rendimentos dos cicloadutos isoxazolínicos de seis membros ..	81
Tabela 6 -	Rendimentos dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos <u>2a-g</u>	84
Tabela 7 -	Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação das enamidas <u>24a-g</u>	92
Tabela 8 -	Propriedades físico-químicas de <u>24a-g</u>	93
Tabela 9 -	Propriedades físico-químicas de <u>26</u>	96
Tabela 10 -	Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos cicloadutos <u>28a-g</u>	97
Tabela 11 -	Propriedades físico-químicas de <u>28a-g</u>	98
Tabela 12 -	Propriedades físico-químicas de <u>1a-g</u>	102
Tabela 13 -	Reagentes utilizados na síntese e purificação dos híbridos <u>1a-g</u>	103
Tabela 14 -	Propriedades físico-químicas de <u>33</u>	109
Tabela 15 -	Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação das enamidas <u>34a-g</u>	110
Tabela 16 -	Propriedades físico-químicas de <u>34a-g</u>	111
Tabela 17 -	Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos cicloadutos <u>35a-g</u>	114
Tabela 18 -	Propriedades físico-químicas de <u>35a-g</u>	115
Tabela 19 -	Propriedades físico-químicas de <u>2a-g</u>	119
Tabela 20 -	Reagentes utilizados na síntese e purificação dos híbridos <u>2a-g</u>	120
Tabela 21 -	Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida para a forma tripomastigota	127
Tabela 22 -	Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida para forma tripomastigota	129
Tabela 23 -	Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida frente a forma amastigota	131

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 -	Esquema geral de síntese de ácidos hidroxâmicos a partir de ésteres.....	43
Esquema 2 -	Síntese de ácido hidroxâmico a partir de éster metílico	44
Esquema 3 -	Síntese de ácidos hidroxâmicos fenilpirazol a partir do respectivo éster	44
Esquema 4 -	Síntese de 2-arylisoindolina-4-carboxamidas	44
Esquema 5 -	Método geral de síntese de ácidos hidroxâmicos a partir de haletos.....	45
Esquema 6 -	Síntese de ácido hidroxâmico a partir de fosfoglicolamida	45
Esquema 7 -	Síntese de ácidos hidroxâmicos usando <i>Pseudomonas aruginosa</i>	45
Esquema 8 -	Síntese de ácido hidroxâmico a partir de aldeído usando <i>N</i> -hidroxibenzenossulfonamida	46
Esquema 9 -	Cicloadição [2+3]-dipolar de óxidos de nitrila e olefinas	51
Esquema 10 -	Método de Mukaiyama	52
Esquema 11 -	Obtenção de triazóis de espirooxindol isoxazolina 1,4-substituídos	52
Esquema 12 -	Obtenção de 2-isoxazolininas pelo método do óxido nítrico.....	53
Esquema 13 -	Obtenção de isoxazolininas 5-cianadas	53
Esquema 14 -	2-isoxazolininas obtidas a partir de O-alenil-alcoxilaminas	54
Esquema 15 -	Síntese de derivados da podofilotoxina (20,60)-(di)halogenopodofilotoxina contendo isoxazolina	54
Esquema 16 -	Rota sintética dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíclicos de cinco e seis membros.....	57
Esquema 17 -	Síntese do trímero da Δ^1 -pirrolina	58
Esquema 18 -	Trimerização do monômero da 1-pirrolina	58
Esquema 19 -	Síntese das enamidas endocíclicas <u>24</u>	59
Esquema 20 -	Suposto mecanismo de reação para formação das enamidas endocíclicas	60
Esquema 21 -	Síntese do cloroximidoacetato de etila	61
Esquema 22 -	Formação do N-óxido de nitrila CEFNO e do seu dímero	63

Esquema 23 - Mecanismo proposto por Dos Santos (2003) para formação no núcleo 2-isoxazolína azabíclico	64
Esquema 24 - Primeira tentativa de síntese de ácido hidroxâmico	65
Esquema 25 - Segunda tentativa de síntese de ácido hidroxâmico	66
Esquema 26 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolíneo <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	66
Esquema 27 - Formação do complexo de ácido hidroxâmico com íon de Fe ³⁺	67
Esquema 28 - Suposto mecanismo de formação de subproduto na reação dos ácidos hidroxâmicos	69
Esquema 29 - Mecanismo da reação de formação de ácidos hidroxâmicos a partir de ésteres.....	70
Esquema 30 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolíneo <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	70
Esquema 31 - Síntese do acetato de piperidínio <u>30</u>	77
Esquema 32 - Síntese da <i>N</i> -cloropiperidina <u>31</u>	78
Esquema 33 - Síntese do trímero da piperideína <u>33</u>	79
Esquema 34 - Síntese das enamidas endocíclicas de seis membros <u>34</u>	79
Esquema 35 - Síntese dos cicloatados isoxazolínicos azabíclicos de seis membros <u>35</u>	80
Esquema 36 - Primeira tentativa de síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíclicos de 6 membros	82
Esquema 37 - Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 6 membros <u>2a-g</u>	83
Esquema 38 - Síntese do trímero da Δ^1 -pirrolina <u>23</u>	90
Esquema 39 - Esquema geral para síntese das enamidas endocíclicas <u>24</u>	91
Esquema 40 - Síntese do precursor (CEFNO) <u>26</u>	95
Esquema 41 - Esquema de síntese geral para síntese dos cicloadutos <u>28a-g</u>	96
Esquema 42 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolíneo <i>p</i> -Cl <u>1a</u>	101
Esquema 43 - Preparação do acetato de piperidíneo <u>30</u>	106
Esquema 44 - Reação de obtenção da <i>N</i> -cloropiperidina <u>31</u>	107
Esquema 45 - Síntese do trímero da 1-piperideína <u>33</u>	108
Esquema 46 - Esquema geral de síntese das enamidas endocíclicas <u>34a-g</u> ...	109
Esquema 47 - Esquema geral de síntese dos cicloadutos isoxazolínicos <u>35a-g</u>	113
Esquema 48 - Esquema geral de síntese dos ácido hidroxâmico isoxazolínicos azabíclicos <u>2a-g</u>	118

LISTA DE ABREVIATURAS

CA	Anidrases carbônicas
CCD	Cromatografia em camada delgada
CC ₅₀	Concentração citotóxica para 50% da cultura
CEFNO	Óxido de carboetoxiformonitrila
CMI	Concentração inibitória mínima
DNDi	Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
FDA	Food and Drug Administration
GSK	GlaxoSmithKline
HDCA	Histonasdesacetilases
HOMO	Highest occupied molecular orbital
IC ₅₀	Concentração inibitória para 50% das células
IV-ATR	Infravermelho com dispositivo de reflectância total aumentada
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
MS	Ministério da saúde
MTT	3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio
OMF	Orbitais moleculares de fronteira
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato salino
P&D	Pesquisa e Desenvolvimento
P.F.	Ponto de fusão
RAMs	Reações adversas a medicamentos

Rf	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
TcCA	α -anidrase carbônica de <i>T. cruzi</i>
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
1.1	OBJETIVOS	27
1.1.1	Objetivo geral	27
1.1.2	Objetivos específicos	27
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	28
2.1	DOENÇA DE CHAGAS.....	28
2.1.1	Contexto e epidemiologia.....	28
2.1.2	Transmissão	29
2.1.3	Ciclo biológico	30
2.1.4	Aspectos clínicos e diagnóstico.....	31
2.2	TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS E A DESCOBERTA DE NOVAS DROGAS ANTITRIPANOSSOMATÍDEOS.....	33
2.2.1	Drogas antiparasitárias	33
2.2.2	Desenvolvimento de novos fármacos para a doença de Chagas: um desafio atual.....	35
2.2.3	Química medicinal e estratégias utilizadas para o desenvolvimento de drogas antitripanossomatídeas.....	36
2.3	ÁCIDOS HIDROXÂMICOS	38
2.3.1	Atividades biológicas	39
2.3.2	Métodos de síntese	43
2.4	ISOXAZOLINAS.....	46
2.4.1	Atividades biológicas	46
2.4.2	Métodos de síntese	51
3	METODOLOGIA	56
3.1	Estratégia de síntese	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58

4.1	PARTE QUÍMICA – SÉRIE DE 5 MEMBROS.....	58
4.1.1	Síntese do trímero da Δ^1-pirrolina	58
4.1.2	Síntese das enamidas endocíclicas de 5 membros	59
4.1.3	Síntese do cloroximidoacetato de etila	61
4.1.4	Síntese dos cicloadutos ésteres de 5 mebro.....	62
4.1.5	Síntese dos híbridos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 5 membros	64
4.1.5.1	Método 1	65
4.1.5.2	Método 2	66
4.1.5.3	Método 3	66
4.1.5.4	Método 4	70
4.1.5.5	Purificação dos ácidos hidroxâmicos	71
4.1.5.6	Elucidação estrutural	73
4.2	PARTE QUÍMICA – SÉRIE DE 6 MEMBROS.....	77
4.2.1	Síntese do trímero da piperideína 33	77
4.2.1.1	Preparação do acetato de piperidínio 30	77
4.2.1.2	Obtenção da <i>N</i> -cloropiperidina 31.....	78
4.2.1.3	Obtenção do trímero da piperideína 33.....	79
4.2.2	Síntese das enamidas endocíclicas de 6 membros 34	79
4.2.3	Síntese dos cicloadutos ésteres de 6 mebro.....	80
4.2.4	Síntese dos híbridos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 6 membros	82
4.2.4.1	Elucidação estrutural	84
5	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	89
5.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	89
5.2	SÉRIE DE ISOXAZOLINAS DE CINCO MEMBROS	90
5.2.1	Síntese do trímero da 1-pirrolina 23	90

5.2.2	Síntese das enamidas endocíclicas 24	91
5.2.2.1	Síntese da <i>N</i> -(4-clorobenzoil)-2-pirrolina 24a	91
5.2.3	Síntese do clorooximidoacetato de etila (precursor do CEFNO) .	95
5.2.4	Cicloadição 1,3-dipolar das enamidas endocíclicas com o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO)	96
5.2.5	Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos 1a-g.....	101
5.3	SÉRIE DE ISOXAZOLINAS DE SEIS MEMBROS	106
5.3.1	Síntese do trímero da 1-piperideína	106
5.3.1.1	Preparação do acetato de piperidínio 30	106
5.3.1.2	Titulação da solução de hipoclorito de sódio.....	107
5.3.1.3	Obtenção da <i>N</i> -cloropiperidina 31	107
5.3.1.4	Obtenção do trímero da 1-piperideína 33	108
5.3.2	Síntese das enamidas endocíclicas de seis membros	109
5.3.3	Síntese dos cicloadutos isoxazolínicos de 6 membros.....	113
5.3.4	Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 6 membros.	118
6	ESTUDO BIOLÓGICO.....	124
6.1	ATIVIDADE ANTI <i>Trypanossoma cruzi</i>	124
6.1.1	Tripomastigotas	124
6.1.2	Amastigotas.....	124
6.2	CITOTOXICIDADE.....	125
6.2.1	Citotoxicidade em Macrófagos RAW 264.7	125
6.2.2	Citotoxicidade em Fibroblastos L929.....	126
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	126
6.3.1	Ensaio de citotoxicidade em macrófagos RAW 264.7 e atividade tripanossomicida frente a forma tripomastigota	126
6.3.2	Ensaio de citotoxicidade em células da linhagem L929 e atividade tripanossomicida frente a forma amastigota	131
7	CONCLUSÕES.....	134

8	PERSPECTIVAS	135
8.1	PERSPECTIVAS DA PARTE QUÍMICA	135
8.2	PERSPECTIVAS DA PARTE BIOLÓGICA	135
	REFERÊNCIAS	136
	APÊNDICE A - ESPECTRO DE RMN DE ¹H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1a</u>.....	153
	APÊNDICE B - ESPECTRO DE RMN DE ¹³C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1a</u>.....	154
	APÊNDICE C - ESPECTRO INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1a</u>	155
	APÊNDICE D - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1a</u>	156
	APÊNDICE E - ESPECTRO DE RMN DE ¹H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1b</u>.....	157
	APÊNDICE F - ESPECTRO DE RMN DE ¹³C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1b</u>	158
	APÊNDICE G - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1b</u>	159
	APÊNDICE H - ESPECTRO DE RMN DE ¹H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1c</u>	160
	APÊNDICE I - ESPECTRO DE RMN DE ¹³C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1c</u>	161
	APÊNDICE J - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>3a</u>	162
	APÊNDICE K - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1c</u>	163
	APÊNDICE L - ESPECTRO DE RMN DE ¹H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1d</u>	164
	APÊNDICE M - ESPECTRO DE RMN DE ¹³C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1d</u>	165
	APÊNDICE N - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1d</u>	166

APÊNDICE O - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1d</u>	167
APÊNDICE P - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1e</u>	168
APÊNDICE Q - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1e</u>	169
APÊNDICE R - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA <u>1e</u>	170
APÊNDICE S - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1e</u>	171
APÊNDICE T - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1f</u>	172
APÊNDICE U - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1f</u>	173
APÊNDICE V - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1f</u>	174
APÊNDICE W - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1g</u>	175
APÊNDICE X - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1g</u>	176
APÊNDICE Y - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>1g</u>	177
APÊNDICE Z - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2a</u>	178
APÊNDICE AA - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2a</u>	179
APÊNDICE AB - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2a</u>	180
APÊNDICE AC - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2a</u>	181
APÊNDICE AD - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2b</u>	182

APÊNDICE AE - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2b</u>	183
APÊNDICE AF - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2b</u>	184
APÊNDICE AG - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2b</u>	185
APÊNDICE AH - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2c</u>	186
APÊNDICE AI - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2c</u>	187
APÊNDICE AJ - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2c</u>	188
APÊNDICE AK - ESPECTRO DE RMN DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2c</u>	189
APÊNDICE AL - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2d</u>	190
APÊNDICE AM - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2d</u>	191
APÊNDICE AN - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2d</u>	192
APÊNDICE AO - ESPECTRO DE RMN DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2d</u>	193
APÊNDICE AP - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2e</u>	194
APÊNDICE AQ - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2e</u>	195
APÊNDICE AR - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2e</u>	196
APÊNDICE AS - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2f</u>	197
APÊNDICE AT - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2f</u>	198

APÊNDICE AU - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2f</u>	199
APÊNDICE AV - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2g</u>	200
APÊNDICE AW - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2g</u>	201
APÊNDICE AX - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA <u>2g</u>	202

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma doença tropical negligenciada (DTN) causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e juntamente com a Leishmaniose e Tripanossomíase Africana Humana somam o maior número de mortes entre todas as DTNs (HOTEZ et al, 2007). Isoladamente a Tripanossomíase Americana causa a morte de 12 mil pessoas anualmente (VARIKUTI et al, 2018) e a infecção atinge cerca de 7 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2018).

Clinicamente a doença de Chagas se divide em uma fase aguda, geralmente assintomática e uma fase crônica sintomática, caracterizada pelo acometimento digestivo e/ou cardíaco, sendo uma doença altamente incapacitante (WHO, 2014). O tratamento etiológico, no Brasil, se resume à utilização do benznidazol e em outros países é utilizado também o nifurtimox (BERN, 2015).

É importante ressaltar que é um tratamento relacionado a inúmeros efeitos colaterais (MORILLO et al, 2015) e com eficácia de cura ruim, principalmente na fase crônica da doença, que é a fase em que geralmente a doença é descoberta (JANNIN; VILLA, 2007). Além disso, o tratamento com benznidazol é contra-indicado para mulheres grávidas e pacientes com insuficiência renal e hepática (ANDREWS; FISHER; SKINNER-ADAMS, 2014).

Portanto, a descoberta de uma alternativa terapêutica com toxicidade e eficácia adequadas para esta doença é uma necessidade atual, apesar dos avanços já obtidos na área (FIELD et al, 2017; CLAYTON, 2010; CHATELAIN, 2015). A química medicinal tem empregado como ferramenta para o desenvolvimento de novas drogas, inclusive as antiparasitárias, a hibridização molecular. (CARDONA; YEPES; HERRERA, 2018). Os compostos híbridos são estruturas químicas com dois ou mais domínios estruturais com diferentes funções biológicas, que têm por objetivo aumentar a atuação do composto, em um ou mais alvos biológicos (MEUNIER, 2008).

Dentre os compostos heterocíclicos de cinco membros está o núcleo isoxazolina que se destaca na literatura por apresentar diversas atividades biológicas, é um grupo farmacofórico presente em vários agentes terapêuticos, além de ter várias aplicações sintéticas (WANG et al, 2018). Algumas atividades descritas para o núcleo isoxazolina inclui as atividades antimicrobiana (BARBOSA et al, 2019) antitumoral (MOUSSA et al, 2018), anti-inflamatória (PINTO et al, 2018), anti-Alzheimer (GHOSH

et al, 2018), inseticida e/ou acaricida (ASAHIA et al, 2018) e antiparasitária (RODRIGUES et al, 2014; DE MENEZES et al, 2016).

Ácidos hidroxâmicos e seus derivados possuem várias aplicações no desenvolvimento de novos fármacos (MURI et al, 2002), sendo abordadas na literatura, dentre outras, a atividade anticâncer (DUNG et al, 2018), anti-inflamatória (SELLMER et al, 2018); antimicrobiana (CHANCE et al, 2018), anti-leishmania (KEOGAN et al, 2013) e tripanossomicida (RODRIGUES et al, 2014).

Atualmente para a atividade tripanossomicida, de isoxazolininas, existe apenas um artigo publicado. Híbridos isoxazolínicos com a função ácido hidroxâmico foram desenvolvidos por Rodrigues et al (2014) e permitiu a identificação de um potente agente tripanossomicida, inibidor seletivo da enzima anidrase carbônica do parasita. Esta enzima é responsável pela hidratação reversível de CO_2 e está envolvida na transformação das formas evolutivas do *T. cruzi*. Os resultados promissores desse trabalho apontam um novo caminho no desenvolvimento de drogas que possam ser utilizadas no tratamento da doença de Chagas (ILIES, 2014).

Com base nos dados expostos, o objetivo desse trabalho é a síntese de novos ácidos hidroxâmicos contendo os núcleos isoxazolínicos azabíclicos de cinco e seis membros **1**, **2** (Figura 1), desenvolvidos no nosso grupo de pesquisa. Bem como a avaliar o perfil citotóxico e a atividade tripanossomicida dos compostos sintetizados, sendo esperados resultados promissores e uma atuação possível na enzima anidrase carbônica pela presença dos grupos farmacofóricos utilizados.

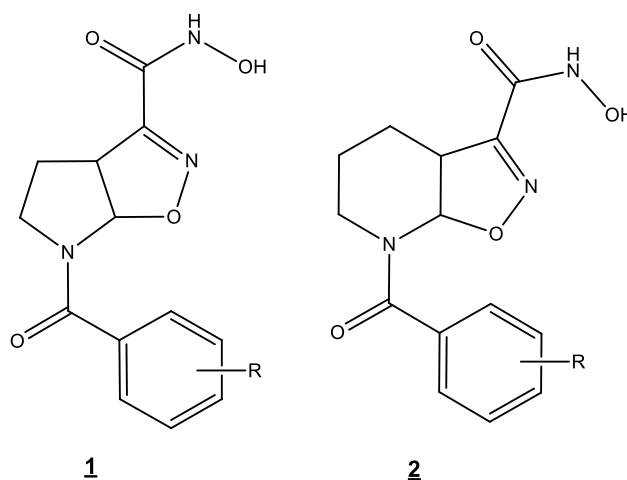


Figura 1 - Ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíclicos de cinco e seis membros

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Obter novos ácidos hidroxâmicos, contendo os núcleos 2-isoxazolina azabíclicas de cinco e seis membros, elucidar suas estruturas químicas e avaliar suas atividades citotóxica e tripanomicida preliminares.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Sintetizar ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos **1** e **2** inéditos, a partir da reação de cicloadição 1,3-dipolar de enamidas endocíclicas de cinco e seis membros.
- b) Purificar e determinar as propriedades físico-químicas das novas moléculas.
- c) Elucidar estruturalmente as novas moleculares sintetizadas.
- d) Avaliar a citotoxicidade, assim como as IC₅₀ para as formas tripomastigota e amastigota do parasita *T. cruzi* dos derivados híbridos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DOENÇA DE CHAGAS

2.1.1 Contexto e epidemiologia

A doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana é uma parasitose, descoberta há mais de 100 anos pelo médico Carlos Chagas e ainda é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como doença negligenciada. As doenças negligenciadas se concentram, geralmente, em regiões mais pobres, áreas rurais remotas e favelas urbanas, onde há falta de moradias adequadas, saneamento básico e água tratada, além da presença de vetores e insetos responsáveis pela transmissão de doenças (WHO, 2010).

Apesar da doença de Chagas ter caráter endêmico na América Latina e em outros países em desenvolvimento, tem se tornado uma doença global, uma vez que tem atingindo também países desenvolvidos, devido, sobretudo, aos processos migratórios (SCHMUNIS; SCHMUNIS; YADON, 2010; COURA; VIÑAS; JUNQUEIRA, 2014). Se difere, portanto, de outras doenças tropicais negligenciadas, que tendem ao desaparecimento conforme cresce o desenvolvimento e as condições de vida e que não se espalham para países distantes nem afetam viajantes (WHO, 2010).

A doença de Chagas é a doença parasitária mais importante do Ocidente, por ser altamente incapacitante, comprometendo 7,5 vezes mais anos de vida do que a malária (WHO, 2014). Existem, segundo a OMS, cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas pelo *Trypanossoma cruzi* no mundo (WHO, 2018).

No Brasil atinge de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas (HOTES; FUJIWARA, 2014; MASRTINS-NETO et al, 2014). Dos anos de 2012-2016 foram confirmados 1190 novos casos da doença em pacientes com uma média de idade de 32 anos. A incidência da doença é de 0,1 casos/100 mil habitantes, predominantes na região Norte (Figura 2). A principal via de transmissão foi a via oral com 73% dos casos, seguida da transmissão vetorial com 8,5% (Ministério da Saúde, 2019).

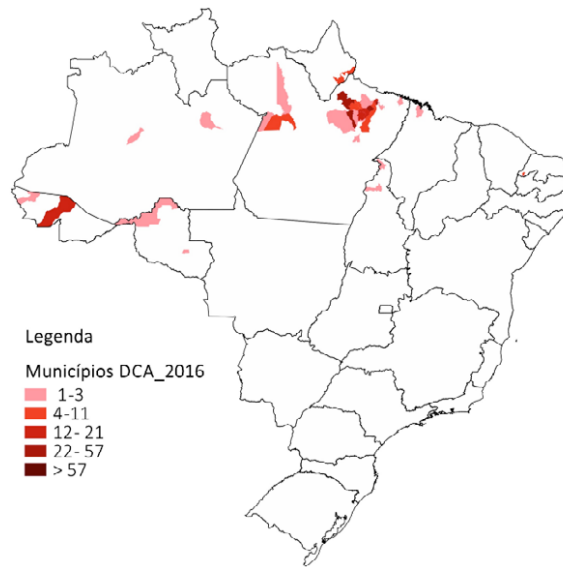


Figura 2 - Distribuição da doença de Chagas, segundo município de residência no ano de 2016

Fonte: Sinan/ SVS/MS. Atualizado em setembro/2016

2.1.2 Transmissão

Uma importante via de transmissão do hemoparasita flagelado, *T. cruzi*, é a vetorial, onde estão envolvidos insetos sugadores de sangue da subfamília Triatominae. As três espécies mais importantes são *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* (DEANE, 1964; WHO, 2002). Nos mecanismos não-vetoriais estão envolvidas as vias transfusional, congênita e oral, sendo as vias transfusionais e congênitas as principais formas de infecção em zonas urbanas e em países não endêmicos (RASSI Jr; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

Bancos de sangue em países endêmicos da América Latina e Estados Unidos realizam triagem sorológica para *T. cruzi* e alguns países possuem triagem para a doença de Chagas congênita (WHO, 2014). A chance de adquirir a doença após receber transfusão de um doador infectado é de 10-20%. (SCHUMUNIS, 1999; BERN et al, 2008). A transmissão congênita pode ocorrer em cerca de 5% das gestações em mulheres cronicamente infectadas (TORRICO et al, 2004).

A transmissão oral normalmente ocorre pela ingestão de alimentos triturados juntamente com insetos infectados pelo *T. cruzi* (TOSO; VIAL; GALANTI, 2011) e tornou-se um mecanismo de transmissão importante, sobretudo, na Amazônia brasileira depois que a Organização Panamericana de Saúde declarou a interrupção

da transmissão vetorial pelo *Triatoma infestans* (YOSHIDA; TYLER; LLEWELLYN, 2011).

2.1.3 Ciclo biológico

O ciclo biológico do *T. cruzi* (Figura 3) é heteroxênico, com formas evolutivas se desenvolvendo no hospedeiro invertebrado, inseto vetor, e outras se desenvolvendo no hospedeiro vertebrado, mamífero. Seu início se dá quando insetos triatomíneos ingerem as formas tripomastigotas circulantes durante o repasto sanguíneo em um hospedeiro mamífero infectado (Figura 3 – etapa 5). As tripomastigotas se transformam na forma replicativa epimastigotas (Etapa 6), que posteriormente migram para o intestino posterior do inseto, onde se diferenciam em tripomastigotas metacíclicas infecciosas (Etapa 8) (AZAMBUJA; GARCIA, 2017).

O hospedeiro definitivo é infectado quando o vetor, ao fazer o repasto sanguíneo, excreta em suas fezes as formas infectantes, que penetram na pele através da ferida da mordida ou na mucosa íntegra do olho (Etapa 1). Podendo causar, respectivamente, uma reação no tecido subcutâneo com edema e endurecimento local, congestão vascular e infiltração vascular – chagoma ou reação indolor da conjuntiva, com edema unilateral das pálpebras e linfadenite dos gânglios pré-auriculares – sinal de romaña (RASSI Jr; RASSI; MARIN-NETO, 2010; AZAMBUJA; GARCIA, 2017).

Ao atingir a corrente sanguínea, as tripomastigotas metacíclicas invadem diferentes células nucleadas, caracterizando o estágio agudo da doença. Nas células as tripomastigotas se transformam na forma amastigota (Etapa 2), que se replica por divisão binária até que a célula fique repleta delas. As amastigotas se transformam novamente em tripomastigotas e lisam a célula, ganham a circulação linfática e sanguínea a fim de invadirem células de outros tecidos, principalmente os tecidos esquelético, cardíaco e liso, além de células ganglionares, onde os ciclos se repetem (Etapa 3 e 4) (AZAMBUJA; GARCIA, 2017).

Os parasitas circulantes estão disponíveis para infectar novos vetores e assim se completa o ciclo biológico. A redução da parasitemia indica o término da fase aguda, mas a infecção dos tecidos específicos persiste por toda a vida quando o parasita não é completamente eliminado (RASSI Jr; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

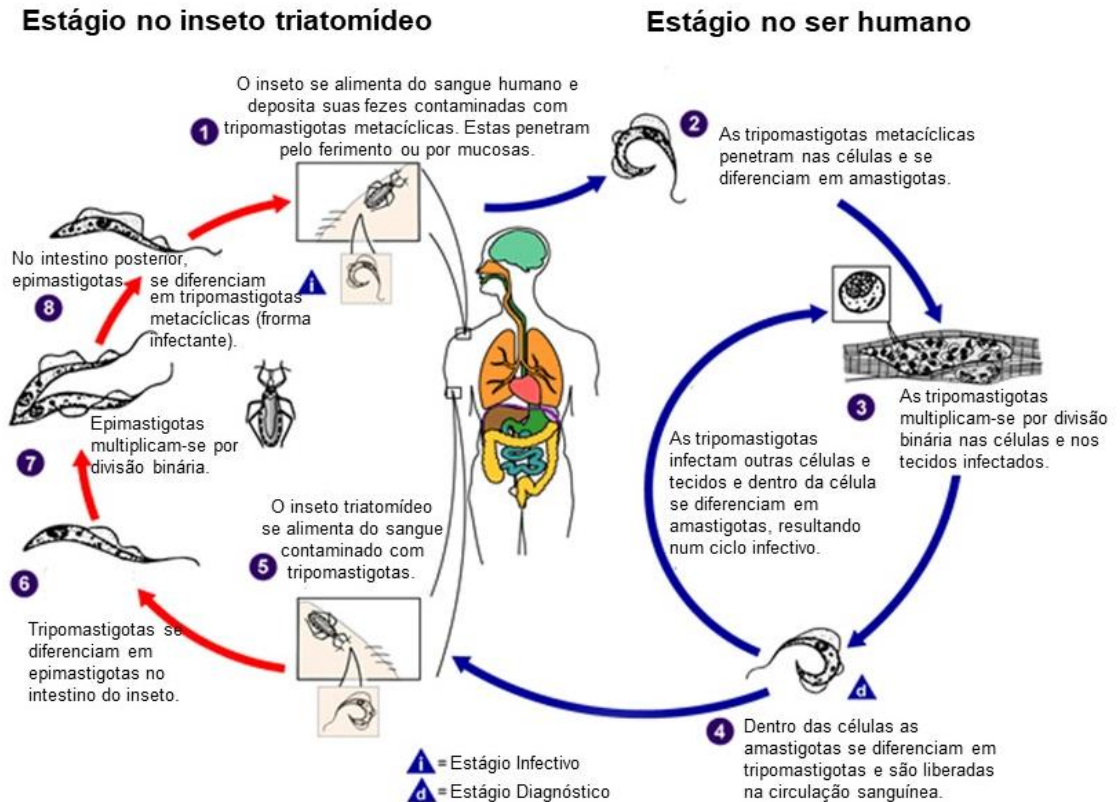


Figura 3 - Ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi*

Fonte: Adaptado de www.dpd.cdc.gov/dpdx

2.1.4 Aspectos clínicos e diagnóstico

Clinicamente a doença de Chagas se divide em duas fases, uma aguda e uma crônica. A fase aguda dura de quatro a oito semanas e coincide com a parasitemia, que só diminui de maneira evidente a partir de 90 dias. Cerca de 99% dos pacientes são assintomáticos ou cursam com sintomas leves e inespecíficos, como febre, mal-estar, hepatoesplenomegalia e linfocitose atípica (LARANJA et al, 1956; WEGNER; ROHWEDDER, 1972). Nessa fase o diagnóstico pode ser feito pela identificação do parasita em exames diretos (pesquisa direta a fresco ou testes de concentração) ou sorologia reagente para IgM (título $\geq 1:40$) (MS, 2018).

Aproximadamente 1% dos pacientes cursam com um quadro grave, podendo apresentar miocardite aguda, derrame pericárdico e meningoencefalite. Por esses motivos as infecções agudas raramente são identificadas, a não ser que o paciente apresente sinais de inoculação como chagoma ou sinal de Romana, que levam a suspeita da infecção (BERN; MARTIN; GILMAN, 2011; PINTO et al, 2008).

A fase crônica se subdivide nas formas indeterminada, cardíaca e digestiva. A fase indeterminada é posterior a fase aguda e é caracterizada pela soropositividade para *T. cruzi* (IgG: título $\geq 1:80$), ausência de sinais e sintomas clínicos envolvendo o coração ou trato digestivo, além de radiografia de tórax e eletrocardiograma normais (PRATA, 2001; RIBEIRO; ROCHA, 1998; MARIN-NETO et al, 2002).

O prognóstico de pacientes com a forma indeterminada é muito bom e possuem expectativa de vida semelhante a indivíduos sem a doença. Cerca de 40% desses pacientes persistem por anos nessa condição clínica, mas a maioria deles evolui para a fase crônica determinada. Anormalidades no eletrocardiograma ou evidência de cardiopatia se desenvolvem em 1,8-5,0% dos pacientes a cada ano. (DIAS, 1989; SABINO et al, 2013).

A fase crônica não indeterminada pode se desenvolver de 10-30 anos após a infecção aguda e leva à cardiomiopatia, tipo mais frequente e grave, ou megaviscera – megaesôfago e/ou megacólon (COURA et al, 1985; ESPINOSA et al, 1985). A doença de Chagas cardíaca afeta principalmente o sistema de condução e o miocárdio e tem como consequências e principais causas de morte: a morte súbita, a insuficiência cardíaca refratária e tromboembolismo (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; RASSI JR; RASSI; RASSI, 2001). A patogênese da cardiomiopatia chagásica ainda não é completamente compreendida, mas sugere-se que a persistência do parasita seja central para doença. (TARLETON, 2001).

A doença de Chagas digestiva, por sua vez, está relacionada à danos nos neurônios intramurais. Na doença esofágica os pacientes apresentam desde distúrbios de motilidade assintomáticos e megaesôfago leve até megaesôfago grave, com disfagia, odinofagia, refluxo esofágico, perda de peso, aspiração e regurgitação. O megacólon é caracterizado por constipação constante e pode resultar em fecaloma, vólvulo e isquemia intestinal (DE OLIVEIRA et al, 1998; PIZANO et al, 2010).

2.2 TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS E A DESCOBERTA DE NOVAS DROGAS ANTITRIPANOSSOMATÍDEOS

2.2.1 Drogas antiparasitárias

O tratamento da doença de Chagas é constituído de uma terapia antiparasitária e outra adjunta para o tratamento da insuficiência cardíaca. A terapia antiparasitária é recomendada para a doença de Chagas aguda e congênita, infecções reativadas por imunossupressão e doenças crônicas em crianças com menos de 18 anos. Adultos na fase crônica geralmente recebem o tratamento se estiverem na fase indeterminada ou se apresentarem clínica leve ou moderada (ANDRADE et al, 2011; WHO, 2002). Pacientes crônicos avançados devem ser tratados com cuidado porque a patologia existente pode não ser revertida, por outro lado, aqueles com manifestações gastrintestinais podem ter menor risco de desenvolver miocardiopatia após o tratamento (VIOTTI et al, 2014).

Atualmente existem apenas dois fármacos com eficácia clínica comprovada, que são os nitroderivados benznidazol (Rochagam® da Roche) ou *N*-benzil-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il) **3** e o nifurtimox (Lapit® da Bayer) ou (RS)-3-metil-*N*-[(1E)-(5-nitro-2-furil)metileno]1,1-dióxido de tiomorfolin-4-amina **4**, lançados na década de 70 e 60, respectivamente (FIGURA 4) (GELB; HOL, 2002). Eles apresentam em comum melhor tolerância das crianças, maior efetividade durante a fase aguda e maior toxicidade em adultos (TOLEDO et al, 2004).

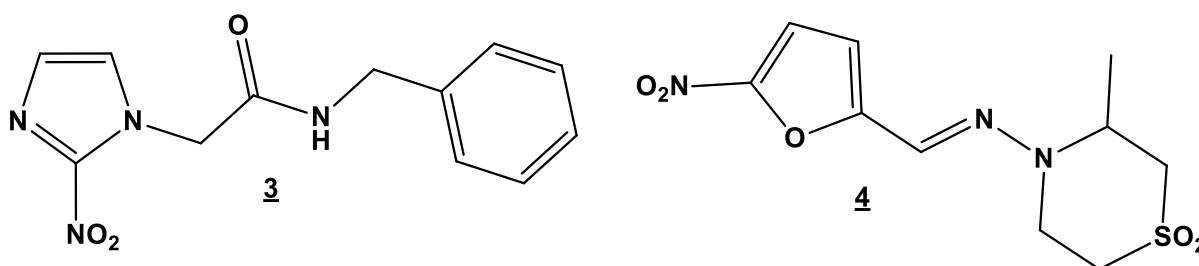


Figura 4 – Estrutura química do benznidazol e nifurtimox

O nifurtimox, embora ainda seja utilizado em alguns países da América Central, foi retirado do mercado no Brasil, Argentina, Chile, Uruguai e Estados Unidos devido a sua genotoxicidade, seus efeitos adversos gastrintestinais e no sistema nervoso

central (LESCURE et al, 2010). O benznidazol é produzido no Brasil, pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) e pelo laboratório ELEA, na Argentina, estando disponível em duas apresentações: comprimidos de liberação imediata de 100 mg para uso adulto e comprimidos de 12,5 mg para uso infantil (MEDEIROS, 2010; DNDi, 2012; CASTRO; SOEIRO, 2017).

À esta terapêutica estão atrelados dois problemas importantes. O primeiro diz respeito aos efeitos colaterais: o número de pacientes que relatam reações adversas a medicamentos (RAMs) chega a 50%. Embora 99% das RAMs não sejam consideradas graves, aproximadamente um terço dos pacientes abandonam o tratamento com benznidazol, por esse ou outros motivos (HASSLOCHER-MORENO et al, 2012; MORILLO et al, 2015). Entre os efeitos adversos do benznidazol estão reações de hipersensibilidade, como dermatite, edema periorbital, linfadenopatia, dores musculares e febre; casos de polineuropatia periférica – parestesia e polineurite e mais raramente depressão da medula óssea com neutropenia, agranulocitose e púrpura trombocitopênica (CASTRO; MECCA; BARTEL, 2006).

O segundo diz respeito a eficácia de cura, que é substancialmente melhor na fase aguda (50 – 80 %) do que na fase crônica (8 – 20 %) (COURA; DE CASTRO, 2002; JANNIN; VILLA, 2007). Essa informação torna-se ainda mais importante quando se leva em consideração que a grande maioria dos pacientes não são diagnosticados na fase aguda da doença e, portanto, não começam o tratamento nessa fase.

O período de tratamento, a dose, a idade e sistema imunológico do paciente e origem geográfica também podem influenciar na eficácia de cura do benznidazol e do nifurtimox (COURA; DE CASTRO, 2002). Além dos fatores mencionados, há também a descrição de cepas de *T. cruzi* naturalmente resistentes às drogas existentes, que acarretam no insucesso terapêutico (MURTA et al, 1998).

Quanto aos mecanismos de ação (Figura 5), o nifurtimox atua por meio da geração de radicais livres e consequente estresse oxidativo. O grupo nitro é reduzido a radicais nitroaniônicos instáveis, que reagem formando radicais de oxigênio, como superóxido e peróxido. O *T. cruzi* apresenta deficiência em mecanismos de desintoxicação de metabólitos de oxigênio, sendo mais sensível que outras células (STOPPANI, 1999; DOCAMPO, 1990).

O benznidazol, por sua vez, atua por estresse redutivo, modificando covalentemente macromoléculas por intermediários de nitrorredução. Inicialmente o grupo nitro é reduzido enzimaticamente, por nitroredutases, ao grupamento amino.

Posteriormente ocorre uma reação, catalisada pela NADPH P450 redutase, com formação de um intermediário radicalar ($R\text{-NO}_2^-$) e hidroxilamina ($R\text{-NHOH}$). Estes últimos se ligam covalentemente à macromoléculas do parasita – DNA nuclear e mitocondrial, lipídeos e proteínas e exercem o efeito tripanossomicida (Figura 5) (DOCAMPO; MORENO, 1986; CASTRO; TORANZO, 1988).

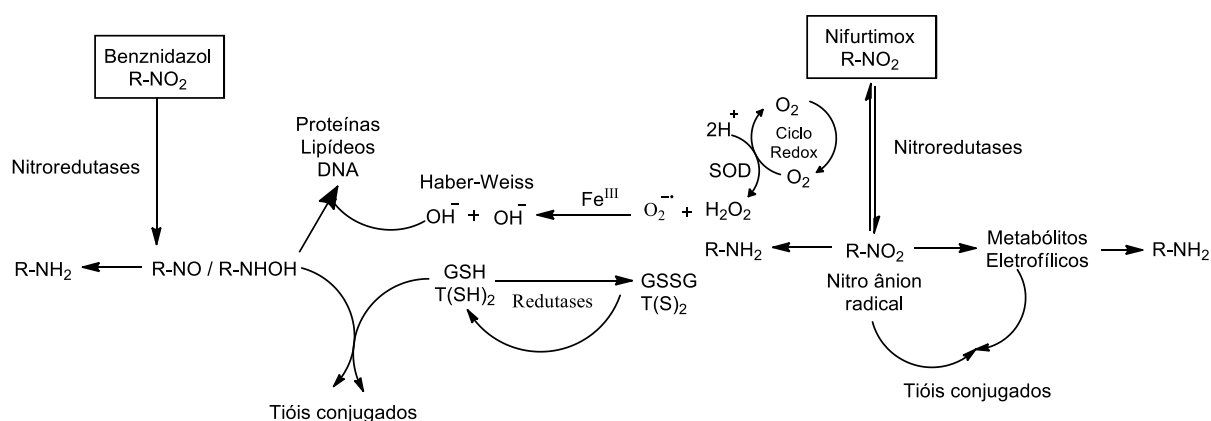


Figura 5 – Mecanismo de ação proposto dos fármacos nifurtimox e benznidazol (Adaptado de DIAS, L. C. et al, 2009)

2.2.2 Desenvolvimento de novos fármacos para a doença de Chagas: um desafio atual

Mais de 100 anos após a descoberta da doença de Chagas e quatro décadas desde os primeiros estudos com o benznidazol, o controle da doença progrediu devido às medidas de contenção dos vetores e melhoria de moradias, mas o tratamento continua sendo um desafio. O baixo arsenal terapêutico associado a efeitos colaterais, inespecificidade e ineficácia levam a necessidade do desenvolvimento e descoberta de novas drogas capazes de superar esses problemas (FIELD et al, 2017).

A indústria, sobretudo em países desenvolvidos, não tem muito interesse em investir no desenvolvimento de novos ou melhores produtos para tratar doenças ligadas à pobreza e que consequentemente se destinam à um mercado que não pode pagar. Em países em desenvolvimento, como o Brasil, a indústria não tem capacidade tecnológica satisfatória para gerar inovações e estas atividades estão muitas vezes restritas à academia e centros públicos de pesquisa. (VIEIRA; OHAYON, 2006).

Há pouco mais de uma década os esforços e pesquisadores envolvidos para entregar novos medicamentos para doença de Chagas eram limitados (CLAYTON, 2010). Esse cenário evoluiu com o surgimento de novos pesquisadores, com o desenvolvimento tecnológico em P&D e com a avaliação de novas entidades químicas para o tratamento de pacientes na fase indeterminada. A Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas (DNDi), programas como o Lead Optimization, o Consórcio Chagas Drug Discovery, além de indústrias farmacêuticas, que começaram a ser ativas na área, como a GlaxoSmithKline (GSK) e a Novartis, têm dedicado esforços para avaliar e descobrir novos candidatos à medicamentos para a doença (CHATELAIN, 2015).

Foram identificados compostos com excelente atividade tripanossomicida, como é o caso do fexinidazol, que é um profármaco ativado por uma nitrorredutase (WYLLIE et al, 2016). O fexinidazol (Figura 6) demonstrou ter potencial para o tratamento da doença de Chagas e chegou a ser iniciado um estudo clínico de fase II (BAHIA et al, 2012), porém as doses utilizadas causaram problemas de segurança e tolerabilidade e o estudo foi interrompido (FIELD et al, 2017).

Muitos avanços foram alcançados, porém a droga ideal, com melhor atividade farmacológica, tanto tripanossomicida como cardioprotetora, e menor toxicidade, ainda não foi descoberta. Pesquisar e encontrar essa molécula continua a ser um desafio atual.

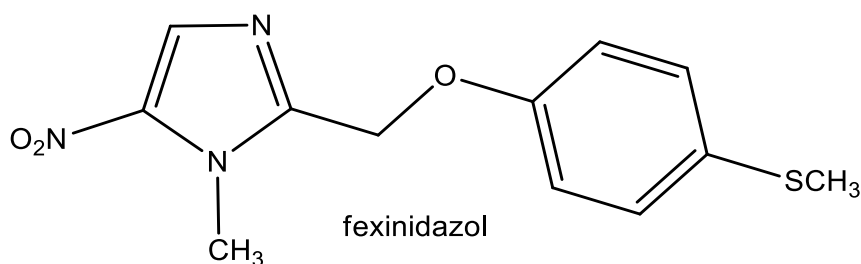


Figura 6 – Composto submetido a estudos clínicos de fase II

2.2.3 Química medicinal e estratégias utilizadas para o desenvolvimento de drogas antitripanossomatídeas

A química medicinal, uma ciência de caráter multidisciplinar, que envolve aspectos importantes das Ciências Farmacêuticas, Médicas e Biológicas (AMARAL et al, 2017), dedica-se à descoberta, invenção e preparo de substâncias biologicamente

ativas - potenciais fármacos, à compreensão da relação estrutura química atividade e aos aspectos farmacocinéticos e de toxicidade (WERMUTH, 2008).

No que se refere à descoberta de drogas antitripanossomatídeos, podem ser utilizadas a abordagem baseada em alvos, onde se busca um inibidor de uma proteína específica ou a abordagem fenotípica, onde procura-se um inibidor do crescimento do parasita e o reposicionamento de drogas (FIELD et al, 2017).

A abordagem baseada em metas e alvos moleculares se limita pela ausência de alvos robustamente validados química e geneticamente e de modelos celulares e animais que prevejam a eficácia clínica em humanos (FREARSON et al, 2007). Alguns alvos de fármaco validados para tripanossomatídeos são: ornitina descarboxilase (PRIOTTO et al, 2008) e proteassoma (KHARE et al, 2016). A enzima cruzaina é um alvo molecular abordado em programas de descoberta para a doença de Chagas (CHOY et al, 2013; BARR et al, 2005). Outras enzimas têm sido apresentadas como potenciais alvos, como a α -anidrase carbônica de *T. cruzi* (TcCA) e metaloproteinases (RODRIGUES et al, 2014; VERMELHO et al, 2017).

As abordagens fenotípicas tentam contornar os desafios da abordagem baseada em alvo e utilizam bibliotecas químicas, ensaios robustos e cascatas de triagem adequadas (GILBERT; LEORY; FREARSON, 2011; BRENK et al, 2008). As bibliotecas químicas geram muitos pontos de partida químicos, por outro lado, a otimização deles pode ser um desafio no que se refere a questões farmacocinéticas, potência insuficiente ou toxicidade fora do alvo (SKINNER-ADAMS et al, 2016).

Utilizando ambas as abordagens muitos compostos foram sintetizados, a saber: naftoquinonas, diaminas, nitroimidazóis e complexos relacionados, e complexos de rutênio, muitas vezes associados a problemas de toxicidade ou drogabilidade (SOEIRO et al, 2009; SOEIRO; CASTRO, 2011; SILVA et al, 2010).

Nesse contexto, uma ferramenta utilizada pela química medicinal para criar drogas eficientes é a hibridização molecular (MUNIER, 2008). Moléculas híbridas são definidas como compostos químicos que possuem, em sua estrutura, dois ou mais domínios com funções biológicas diferentes (ETTMAYER et al., 2004). Essa junção pode se basear na junção de fármacos distintos, sendo denominada droga-droga ou apenas nos grupos farmacofóricos, sendo denominada de farmacofórica. O que se espera são moléculas que tenham maior afinidade e eficácia do que aquelas que lhe originaram (NEPALI et al., 2014).

Os diferentes grupos do composto híbrido não atuam necessariamente no mesmo alvo biológico e podem ter uma atividade dupla (ETTMAYER et al., 2004). O que pode ser considerado um nicho dentro dos principais fluxos na descoberta de medicamentos desenvolvidos nas últimas décadas em grandes empresas farmacêuticas (MUNIER, 2008).

2.3 ÁCIDOS HIDROXÂMICOS

Os ácidos hidroxâmicos, de fórmula geral, $RCONHOH$, são *N*-hidroxiamidas (Figura 7). Geralmente são ácidos fracos com valores de pK_a do próton $N-OH$ em solventes aquosos na ordem de 8,5 a 10,3 (FAZARY, 2005). Podem existir em duas formas tautoméricas: tautômeros ceto e enol (Figura 8). Ambas as formas podem ser estáveis em meio ácido ou básico e podem adotar a conformação *E* ou *Z* (HARVEY; MANNING, 1950, BROWN et al, 1988).

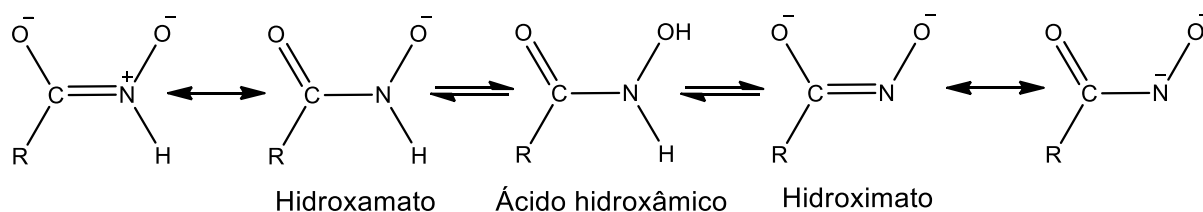


Figura 7 - Estruturas de ácido hidroxâmico, hidroxamatos e hidroximatos

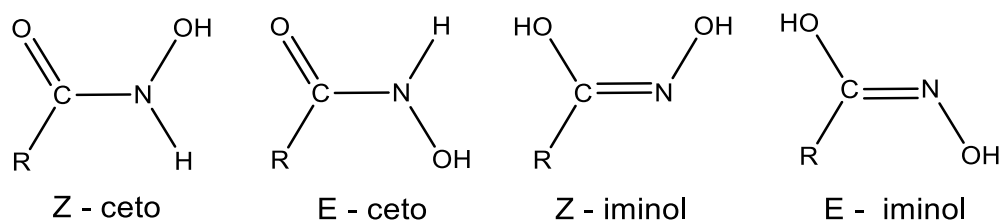


Figura 8 - Isômeros *E* e *Z* das formas ceto e enol dos ácidos hidroxâmicos

Têm como característica marcante a propriedade de quelar metais, sendo capazes de coordenar sítios metálicos em metaloenzimas. Se ligam geralmente de modo bidentado, com oxigênios desprotonados do hidroxamato ou hidroximato, formando um anel de 5 membros estável. A ligação monodentada pelo nitrogênio ou oxigênio desprotonado precisa de estabilidade adicional e requer ambientes de

coordenação especialmente projetadas (WINUM; SUPURAN, 2015; WINUM et al, 2006).

2.3.1 Atividades biológicas

Ácidos hidroxâmicos e seus derivados têm mostrados várias aplicações no desenvolvimento de fármacos para doenças como câncer, doenças cardiovasculares, HIV, Alzheimer, malária, doenças alérgicas, tuberculose e antimicrobianos (MURI et al, 2002). Algumas delas, abordadas em trabalhos mais recentes, serão descritas com mais detalhes a seguir.

A ação de ácidos hidroxâmicos como agentes antitumorais tem sido relatada por inibirem histonasdesacetilases (HDAC) (DUNG et al, 2018). Vorinostat **5** (Zolinza®) e panobinostat **6** (Farydak®) (Figura 9) são exemplos de ácidos hidroxâmicos inibidores de HDCA aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de linfomas de células T cutâneas e mieloma múltiplo, respectivamente (DUNG et al, 2018).

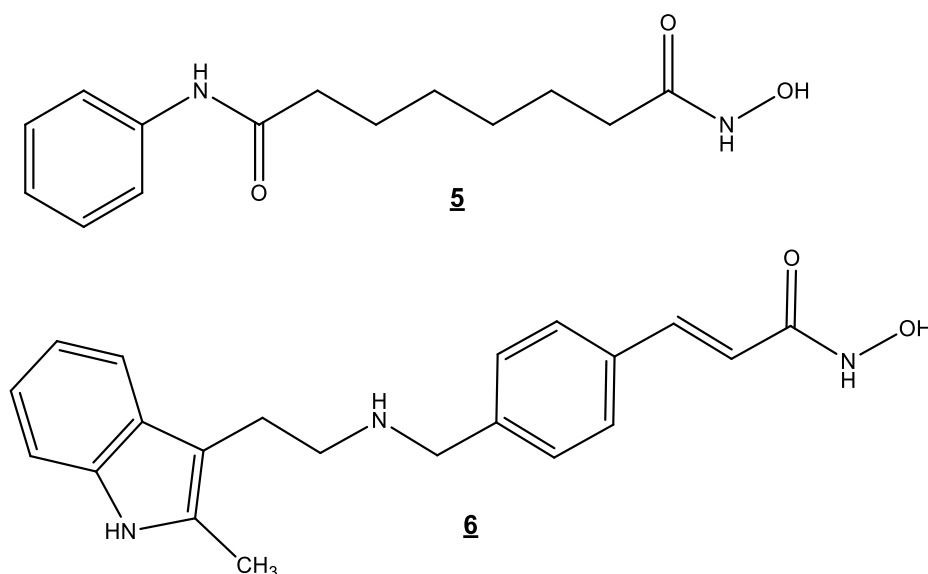


Figura 9 - Inibidores de HDCA aprovados pelo FDA

Dunge et al descreveram uma série de ácidos hidroxâmicos com o sistema 2-oxoindolina. As moléculas foram avaliadas quanto a sua capacidade de inibir a HDAC2 e citotoxicidade frente a linhagens de células cancerígenas humanas, incluindo câncer de cólon, câncer de próstata e câncer de pâncreas. O composto **7** com R = 5-OCH₃ apresentou inibição de HDAC2 semelhante ao Vorinostat e o

composto com R = 5-CH₃ apresentou citotoxicidade até 8 vezes maior que o Vorinostat nas três linhagens de células tumorais testadas (Figura 10) (DUNG et al, 2018).

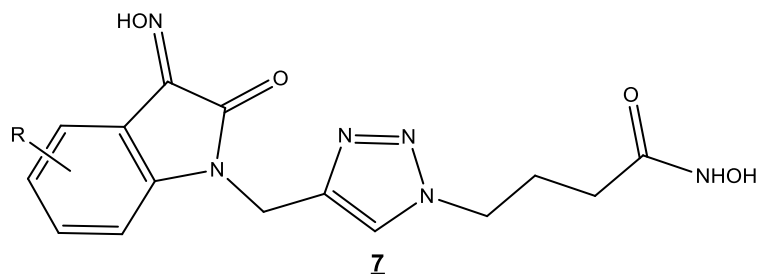


Figura 10 - Ácido hidroxâmico 3-hidroxiimino-2-oxidolínico incorporado com o ligante 1-alkil4-metil-1H-1,2,3-triazol

A atividade anti-inflamatória de ácidos hidroxâmicos foi verificada pela capacidade de inibir *in vitro* a autotaxina e *in vivo* frente à um modelo de inflamação pulmonar e fibrose induzida por bleomicina (NIKOLAOU et al, 2018). A autotaxina catalisa a hidrólise de ligações pirofosfato ou fosfodiéster em nucleosídeos e é essencial para o desenvolvimento vascular, estando envolvida em inflamações crônicas, como artrite e também no câncer (SEVASTOU et al, 2013; PERRAKIS; MOOLENAAR, 2014; BENESCH et al, 2016; FREDERICO et al, 2016).

Os ácidos hidroxâmicos foram usados devido à sua capacidade de se ligar ao íon Zn²⁺ necessário para atividade da enzima, resíduos de ácido 4-aminofenilacético também foram usados porque ácidos fosfônicos já foram comprovados como eficientes inibidores de autotoxina. Foram identificados compostos com ação inibitória na faixa de nanomolar e o mais ativo **8** (Figura 11) apresentou IC₅₀ de 60 nM. Nos testes *in vivo* exibiu eficácia promissora, com efeitos benéficos no desenvolvimento da fibrose pulmonar (NIKOLAOU et al, 2018).

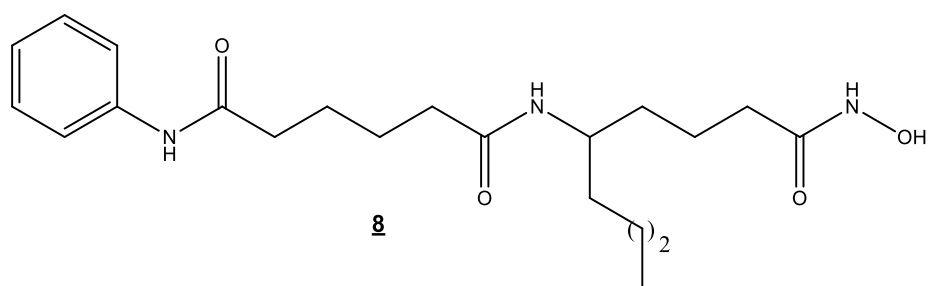


Figura 11 - Ácido hidroxâmico inibidor de autotaxina

Outros trabalhos também descrevem o estudo de ácidos hidroxâmicos como potencial ferramenta nas terapias da oncologia e/ou inflamação como inibidores de HDAC (MARTIN et al, 2018; TUNG et al, 2013; NAM et al, 2013; NAM et al, 2014), na oncologia pela inibição de aminopeptidase N (CAO et al, 2018) e na inflamação pela inibição seletiva de β -meprina (RAMSBECK et al, 2018) e inibição seletiva de matriz de metaloproteinase-13 (NUTI et al, 2009; TOMMASI et al, 2011; BECKER et al, 2010).

No que se refere as propriedades antiparasitárias dessa classe, Chance et al desenvolveram uma série de ácidos hidroxâmicos piperazínicos com os objetivos de inibir e investigar a enzima falcisina, uma metaloprotease essencial para o desenvolvimento do *Plasmodium falciparum* causador da malária (CHANCE et al, 2018). Entre as vantagens citadas, para a escolha do arcabouço geral da molécula, estão a boa permeabilidade da membrana e a capacidade de atingir múltiplas superfícies de ligação do sítio ativo da protease. A porção ácido hidroxâmico coordena o átomo de zinco catalítico no sítio ativo da protease e os substituintes da moléculas atuam em sub-sítios para o reconhecimento do substrato (CHENG et al, 2000).

Através de um estudo de relação estrutura química atividade concluíram que grupos volumosos eram importantes para inibição da falcisina e obtiveram o composto antimalárico mais potente da série **9**, com $IC_{50} = 1,4$ mM (Figura 12) (CHANCE et al, 2018).

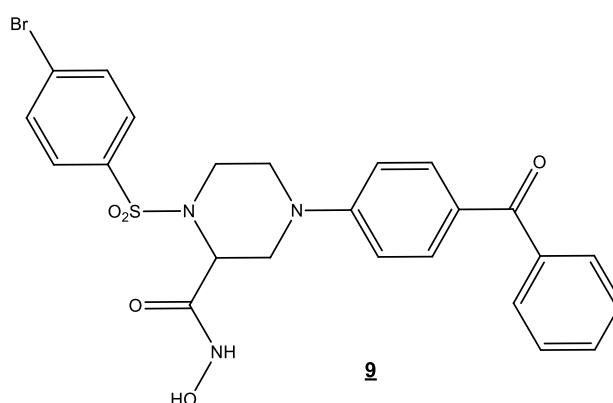


Figura 12 - Inibidor da enzima falcisina

Atividade anti-leishmania foi descrita por Keogan (2013). Complexos de hidroxamatos com Sb (III) **10** foram sintetizados e nos testes biológicos inibiram significativamente a proliferação de promastigota de *Leishmania amazonenses* e *L.*

chagasi e induziram alterações morfológicas nos parasitas. Os complexos causaram ainda diminuição na permeabilidade da membrana plasmática e na atividade da desidrogenase mitocondrial das espécies de *Leishmania* (Figura 13) (KEOGAN et al, 2013).

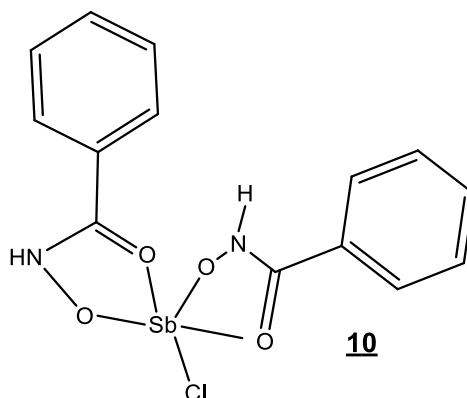


Figura 13 - Complexo de hidroxamato com Sb (III)

A atividade tripanomicida foi também relatada na literatura (RODRIGUES et al, 2014) e se baseia na inibição de anidrases carbônicas (CA), que são metaloenzimas responsáveis pela hidratação reversível do gás carbônico a bicarbonato e prótons, por ataque nucleofílico do hidróxido ligado ao Zn (II). Essa enzima está relacionada a diversas funções fisiológicas em todas as esferas da vida e em processos patológicos de microrganismos e humanos (SUPURAN; CAPASSO, 2015; VULLO et al, 2005). O parasita *T. cruzi* possui uma α -anidrase carbônica (TcCA) com atividade catalítica semelhante a isoforma humana HCA II (SUPURAN, 2017).

Uma série de 4,5-di-hidroisoxazóis contendo hidroxamato foi sintetizada e a avaliação da atividade tripanocida mostrou ótimos valores de inibição de crescimento para as três formas evolutivas do parasita (estirpes de epimastigotas Y: IC₅₀ de 7,6 μ M; estirpes tripomastigotas Y: IC₅₀ de 3,5 μ M; estirpes amastigotas Y em THP1: IC₅₀ <1 μ M). O composto mais promissor **11** da série (Figura 14) não foi citotóxico para macrófagos, mostrou boa resposta inibitória para TcCA (KI = 39,8 nM) e inibiu moderadamente as isoformas humanas CA I e CA II (KhCA I = 641 nM, KhCA II = 815 nM). Em dados preliminares dos testes *in vivo* demonstrou diminuir a parasitemia de camundongos Balb/C infectados e foi mais eficaz que o padrão benznidazol (RODRIGUES et al, 2014).

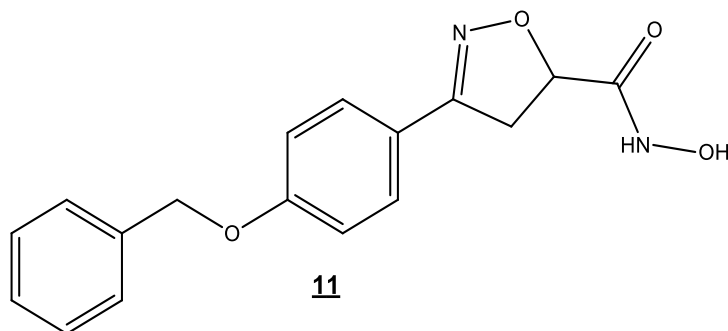
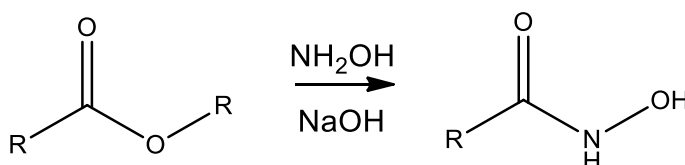


Figura 14 - Ácido hidroxâmico inibidor de TcCA

A importância essencial da porção hidroxamato nesse estudo foi evidenciada pela substituição da mesma por uma porção acil-hidrazina, que levou à completa perda da atividade tripanomicida dos compostos e a perda da capacidade inibitória de TcCA e hCA I/II (RODRIGUES et al, 2014).

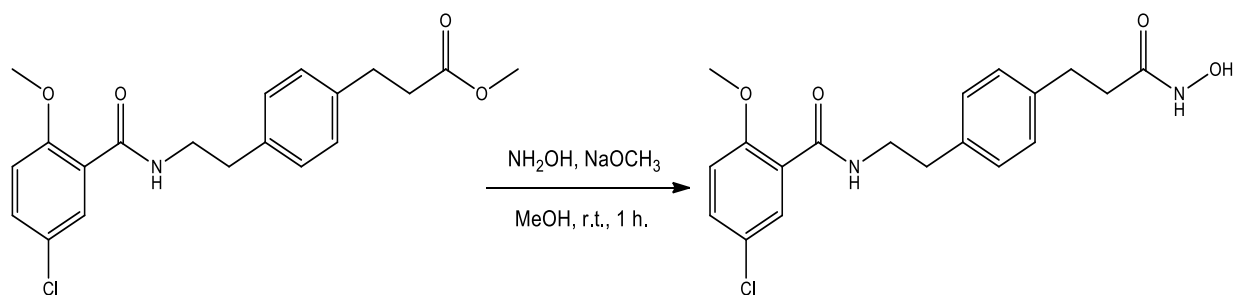
2.3.2 Métodos de síntese

Ácidos hidroxâmicos são normalmente obtidos por reação simples de derivados de ácido carboxílico, halogenetos ou ésteres principalmente, com *N*-hidroxilaminas (Esquema 1) (YALE, 1943). Ésteres alquílicos reagem com hidroxilamina em condições básicas (ex. NaOH) e não requerem condições especiais como temperaturas elevadas (SPARKS et al, 2004).

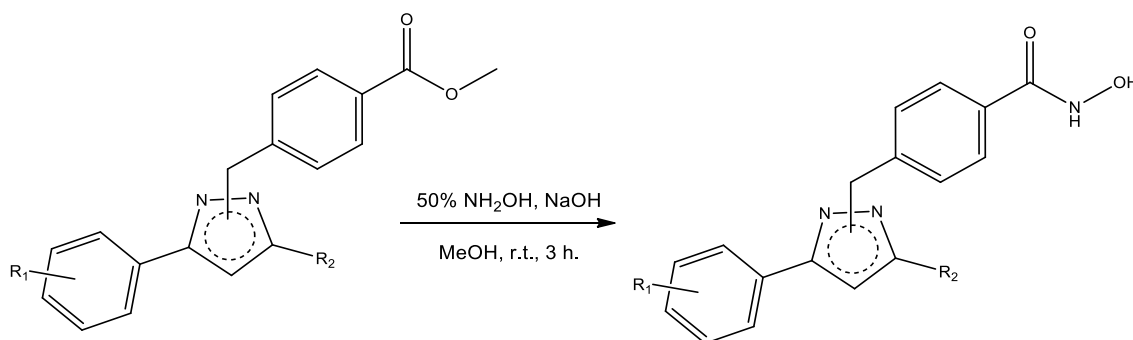


Esquema 1 - Esquema geral de síntese de ácidos hidroxâmicos a partir de ésteres

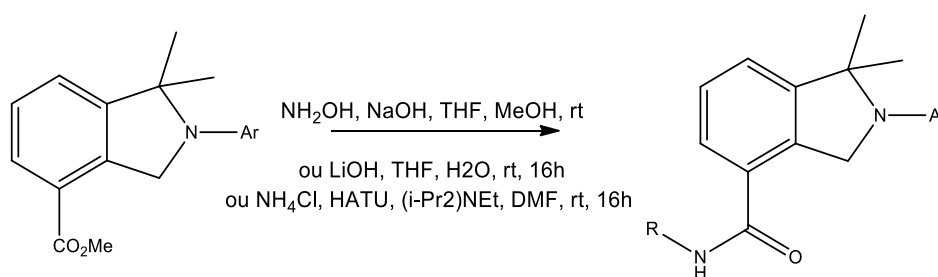
Essa metodologia foi aplicada em trabalhos recentes, com pequenas variações: Yuan et al sintetizaram ácidos hidroxâmicos, potenciais compostos anticâncer, a partir de ésteres metílicos, usando NaOMe como base (Esquema 2) (YUAN et al, 2017); Yang et al utilizaram NaOH na sua síntese (Esquema 3) (YANG et al, 2018) e Martin et al empregaram três diferentes condições reacionais (Esquema 4), obtendo melhores rendimentos (78-94%) quando a reação se procedeu em uma mistura de água e tetrahydrofurano (THF), e tendo LiOH como base (MARTIIN et al, 2018).



Esquema 2 - Síntese de ácido hidroxâmico a partir de éster metílico

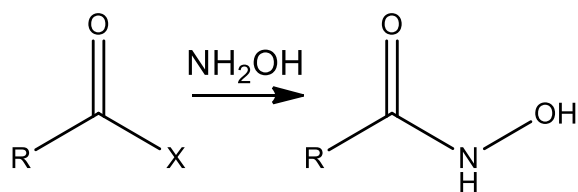


Esquema 3 - Síntese de ácidos hidroxâmicos fenilpirazol a partir do respectivo éster



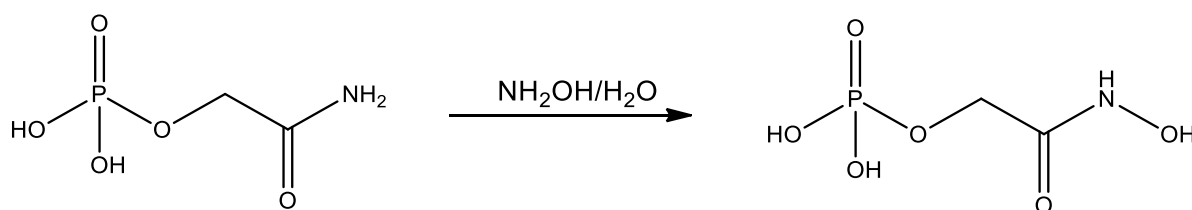
Esquema 4 - Síntese de 2-arylisoinolina-4-carboxamidas

A síntese a partir de ácidos carboxílicos ativados em haletos de ácido para posterior reação com hidroxilamina são os métodos preferidos para síntese de ácidos hidroxâmicos (Esquema 5). Os haletos são produzidos usando cloreto de oxalila, tricloreto de fósforo, oxicloreto de fósforo, cloreto de tionila ou pentacloreto de fósforo. Posteriormente reagem com hidroxilamina em meio básico, para reter o HCl formado e para evitar conversão da hidroxilamina no seu sal cloridrato não reativo. (GANESHPURKAR; KUMAR; SINGH, 2018).



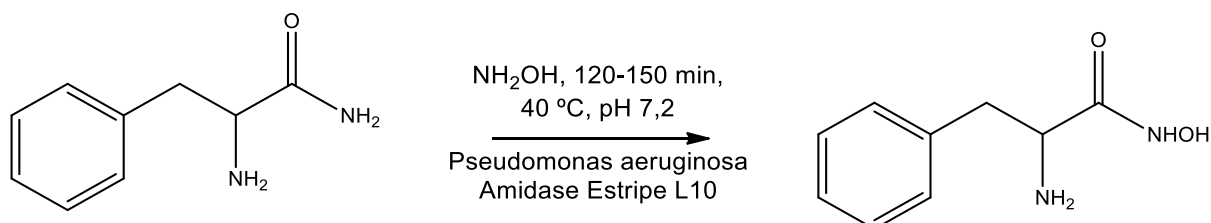
Esquema 5 - Método geral de síntese de ácidos hidroxâmicos a partir de haletos

A conversão direta de amidas em hidroxamatos não é comumente realizada, por causa da estabilidade inerente à amida, a ressonância da função reduz sua reatividade com nucleófilos (GANESHPURKAR; KUMAR; SINGH, 2018). Mas pode ser exemplificada pelo trabalho de Weber et al, que sintetizou ácido fosfoglicol-hidroxâmico a partir de uma solução aquosa de fosfoglicolamida neutralizada com excesso de solução alcalina de hidroxilamina (Esquema 6) (WEBER et al, 2003).



Esquema 6 - Síntese de ácido hidroxâmico a partir de fosfoglicolamida

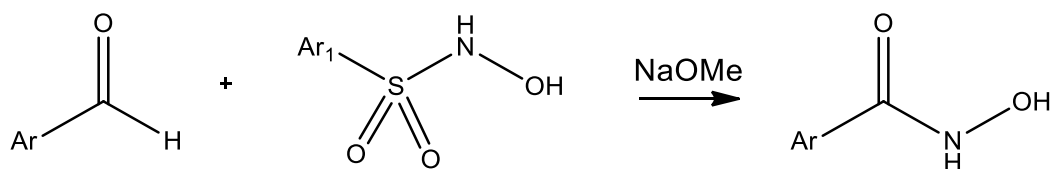
Biocatalisadores, também podem ser empregados para obtenção de ácidos hidroxâmicos a partir de amidas. Amidases presentes em células de *Pseudomonas aeruginosa* (estirpe L10) livres ou imobilizadas são usadas como biocatalisador para reações de transaminação de aminoácidos, amidas aromáticas e substratos de ésteres (Esquema 7) (BERNARDO et al, 2013).



Esquema 7 - Síntese de ácidos hidroxâmicos usando *Pseudomonas aeruginosa*

Os ácidos hidroxâmicos podem ainda ser obtidos pela reação entre aldeídos e *N*-hidroxibenzenossulfonamida, conhecida como reação de Angeli-Rimini. A reação

ocorre na presença de base forte, metóxido de sódio (NaOMe), que atua como catalisador. O NaOMe abstrai prótons da *N*-hidroxibenzenossulfonamida aumentando a sua nucleofilicidade, que posteriormente ataca o centro eletrofílico carbonílico (Esquema 8) (YALE, 1943).



Esquema 8 - Síntese de ácido hidroxâmico a partir de aldeído usando *N*-hidroxibenzenossulfonamida

2.4 ISOXAZOLINAS

Isoxazolinás são heterociclos de cinco membros contendo átomos de nitrogênio e oxigênio e uma insaturação nas posições 2, 3 ou 4. Seus análogos estruturais são os núcleos isoxazol, totalmente insaturado e aromático e isoxazolidina, totalmente saturado. (Figura 15) (HEANEY, 2002). O núcleo isoxazolina está presente em diversas moléculas com atividade biológica e atuam também como intermediários na síntese orgânica (WANG et al, 2018).

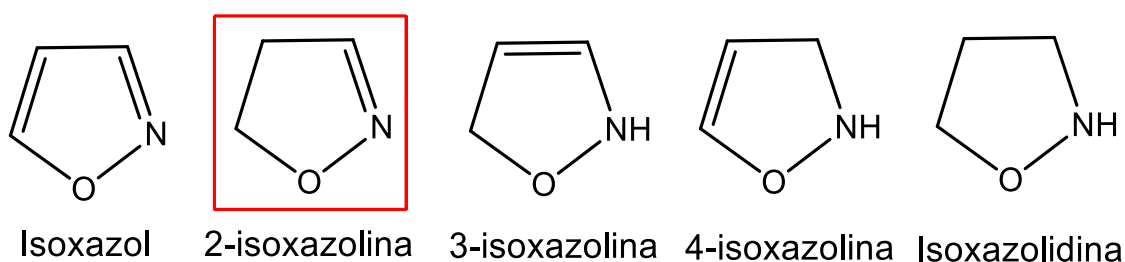


Figura 15 - Estrutura química de isoxazóis e seus derivados

2.4.1 Atividades biológicas

Diversas atividades são descritas na literatura para o núcleo isoxazolina, incluindo as atividades antimicrobiana (SAKLY et al, 2017; BARBOSA et al, 2019; LEE et al, 2018) antitumoral (LINGARAJU et al, 2018; ZNATI et al, 2018; MOUSSA et al, 2018), anti-inflamatória (ZNATI et al, 2018; PINTO et al, 2018), anti-Alzheimer (HUANG et al, 2015; ARUN et al, 2018), inseticida e/ou acaricida (YANG; LV; XU,

2018; YAN; ZHANG; XU, 2018; ASAHIA et al, 2018) e antiparasitária (RODRIGUES et al, 2014). Alguns trabalhos recentes contendo essas atividades e moléculas sintéticas serão abordados a seguir.

Atividade antibacteriana e antifúngica de isoxazolininas **12** **13** foi relatada por Sakly et al (2017) (Figura 16). Bons resultados foram observados em moléculas substituídas com metila, metoxila e grupos retiradores de elétrons nos anéis. Compostos substituídos com bromo, cloro e nitro apresentaram excelente atividade contra *E. coli* e os substituídos com $Ar^1 = p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ mostraram inibição máxima contra *P. aeruginosa* nas CIMs 57,44; 27,09 e 98,8 $\mu\text{mol} / \text{mL}$, **12a**, **12b** e **13b**, respectivamente. No teste antifúngico as moléculas contendo grupo nitro e metila no anel triazol foram altamente ativas contra *C. albicans*, em comparação com o fármaco padrão, griseofulvina (SAKLY et al, 2017).

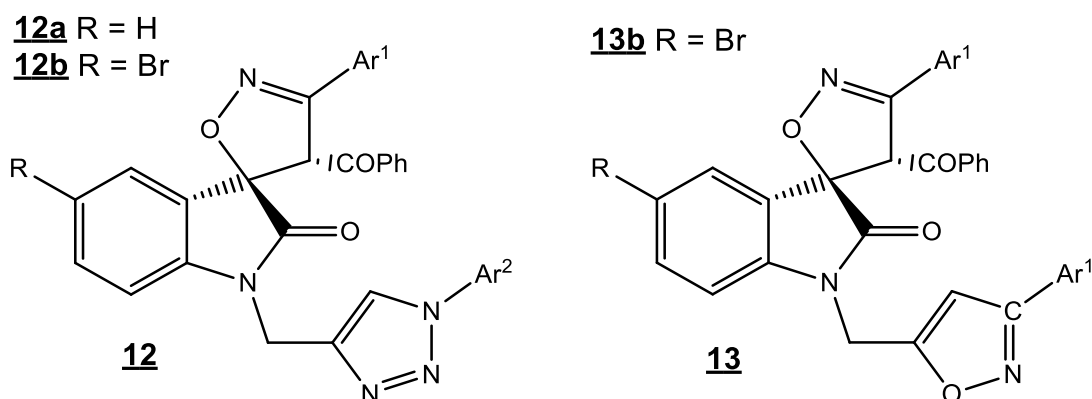


Figura 16 - Derivados de espirooxindol isoxazolina/triazol e isoxazolina/isoxazol com atividades antibacterianas e antifúngicas

Atividade antimicrobiana de isoxazolininas também foi descrita por Barbosa et al (2019), onde uma série de 4,5-di-hidroisoxazóis 3,5-dissubstituídos foi sintetizada e testada contra bactérias Gram positivas e negativas. O composto substituído com nitrofuranyl **14** (Figura 17) foi o mais ativo da série com CIM $\leq 128 \mu\text{g} / \text{mL}$, valor inferior ao da amoxicilina contra *P. aeruginosa* (BARBOSA et al, 2019).

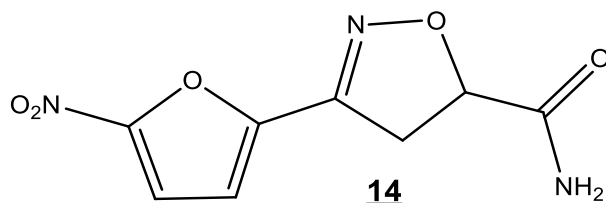


Figura 17 - Isoxazolina nitrofurânil substituída

A atividade citotóxica de isoxazolinas cumarínicas (Figura 18) foi avaliada *in vitro* contra células cancerígenas de melanoma e células normais de fibroblastos. Verificou-se que os compostos foram citotóxicos apenas para as células cancerígenas, com efeitos dependentes da dose e tempo. O candidato principal da série **15**, substituído com o grupo 3,4-dimetoxi no anel fenila, apresentou IC₅₀ de 10,5 µM e nos testes *in vivo* reduziu o volume do tumor, volume de ascite, número de células tumorais e aumentou o tempo de vida dos ratos (LINGARAJU et al, 2018).

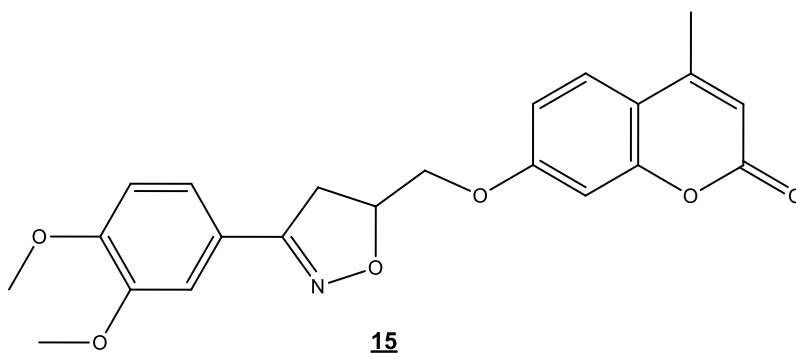


Figura 18 - Isoxazolina cumarínica anticancerígena

Outra série de isoxazolinas derivadas de uma cumarina natural também foi avaliada quanto a sua atividade citotóxica, em células do cólon e ovário (ZNATI et al, 2018). A comparação entre os resultados dos derivados sintéticos e do composto natural mostraram um aumento de quatro vezes mais citotoxicidade para o composto mais ativo **16** (Figura 19) na linhagem de cólon humano, demonstrando a contribuição da porção isoxazolina para esta atividade. Para as células do ovário a introdução da isoxazolina parece não ter melhorado a atividade do composto natural, o que foi atribuído à seletividade dos produtos testados para essas linhagens celulares de câncer (FUKASAWA et al, 2015).

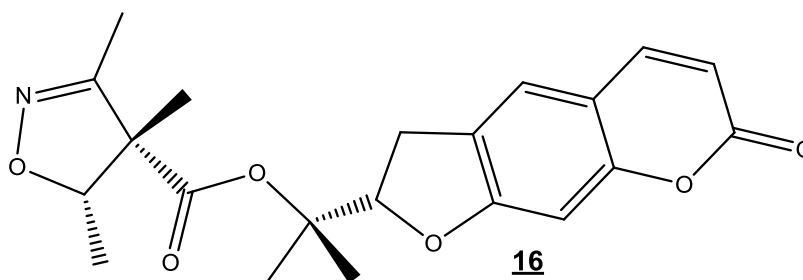


Figura 19 - Derivado sintético isoxazolinico de cumarina natural

Huang et al (2015) sintetizaram derivados isoxazolinicos agonistas de receptores de acetilcolina muscarínicos M1, que são relacionados a doença de Alzheimer. Os compostos foram avaliados *in vitro* contra a atividade agonista do receptor muscarínico M1-M5 em células HEK293 e destacou-se o composto de tetra-hidropiridina substituído com 5-(2-pirrolidin-1-il)-isoxazolina na posição 3 **17** (Figura 20). Exibiu potente e seletiva atividade agonista do receptor de M1 e apresentou papel modificador da doença de Alzheimer, com o aumento de processos *downstream* e redução do nível de β -amilóide (HUANG et al, 2015).

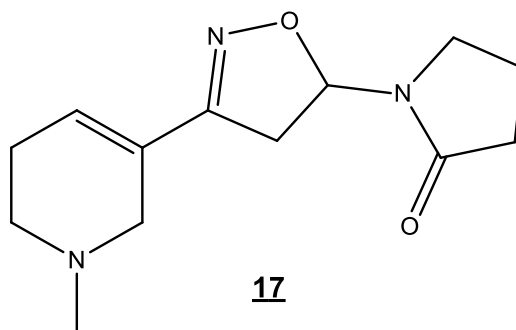


Figura 20 - Composto de tetra-hidropiridina substituído com 5-(2-pirrolodin--il) isoxazolina na posição 3

Compostos híbridos contendo a porção ácido salicílico e o núcleo isoxazolina foram avaliados quanto as suas atividades mitogênica e imunomoduladora. O melhor composto da série **18** (Figura 21) demonstrou ter papel significativo na ativação e proliferação de células do rim embrionário humano na concentração de 100 mM e mostrou ter capacidade de modular a resposta imune inata. Apresentou aumento na resposta proliferativa de linfócitos, com um índice maior que o controle positivo e estimulou o aumento da secreção de IL-2 em quatro vezes. Foi evidenciada ainda a

atividade pro-angiogênica do composto a partir de ensaios *in vitro* da membrana corio-alantóide de pinto e angiogênese de córnea de rato (PUTTASWAMY et al, 2016).

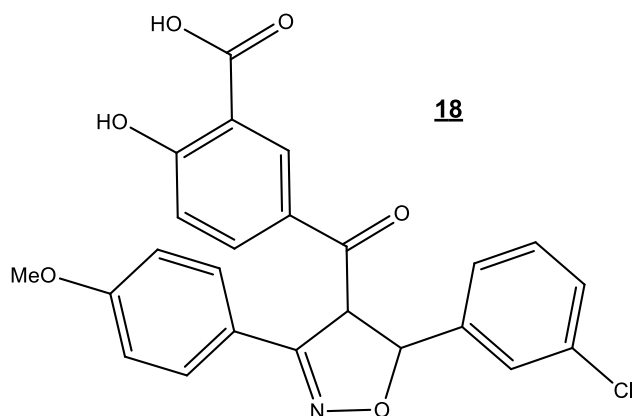


Figura 21 - Híbrido ácido salicílico isoxazolinico

A atividade pesticida de isoxazolininas e pirazolininas foram avaliadas contra *T. cinnabarinus*, *M. separata* e *P. xylostella*. Isoxazolininas substituídas com Cloro e Flúor **19** (Figura 22) apresentaram atividade 40 vezes maior que o composto padrão contra *T. cinnabarinus*, toxicidade oral mais potente contra *P. xylostella* e atividade inibitória do crescimento mais promissora contra *M. separata*. As moléculas contendo o núcleo isoxazolina foram, no geral, mais potentes do que os seus análogos pirazolínicos (YANG; LV; XU, 2018).

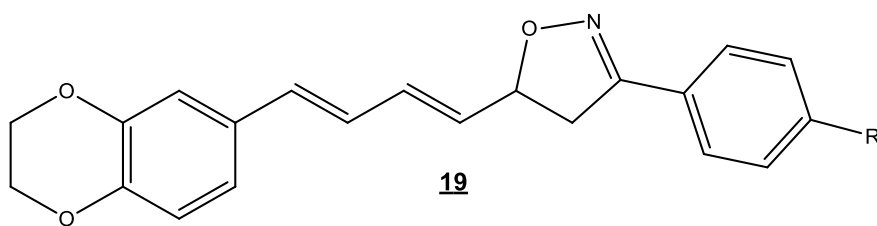


Figura 22 - Isoxazolina com atividade pesticida

A atividade tripanossomicida do núcleo isoxazolina em compostos híbridos com a função ácido hidroxâmico foi descrita por Rodrigues et al (2014), como já abordado no item 2.3.1. No nosso grupo de pesquisa, em uma dissertação de mestrado, derivados isoxazolinicos foram obtidos, na forma de hidrazonas, semicarbazonas e tiossemicarbazonas (Figura 23). Os compostos foram submetidos a avaliação da atividade antitripanossoma e a nitrofurfuril-hidrazona **20** despontou como o agente mais potente de ambas as séries que demonstrou CC₅₀ de 57,89 µM e IC₅₀ de 4,00

μM , valor superior ao benznidazol (CC_{50} de $96 \mu\text{M}$ e IC_{50} de $6,64 \mu\text{M}$) (DE ALMEIDA, 2010).

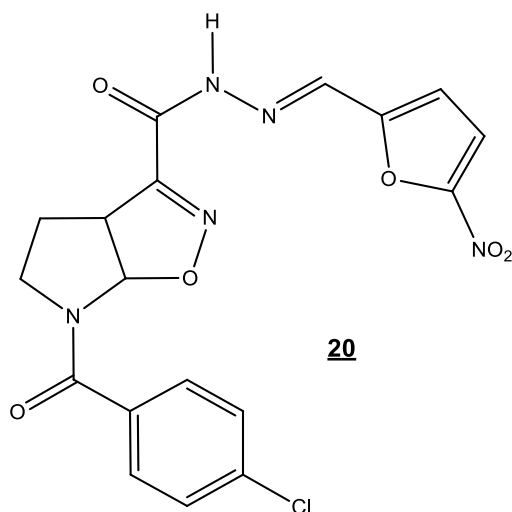
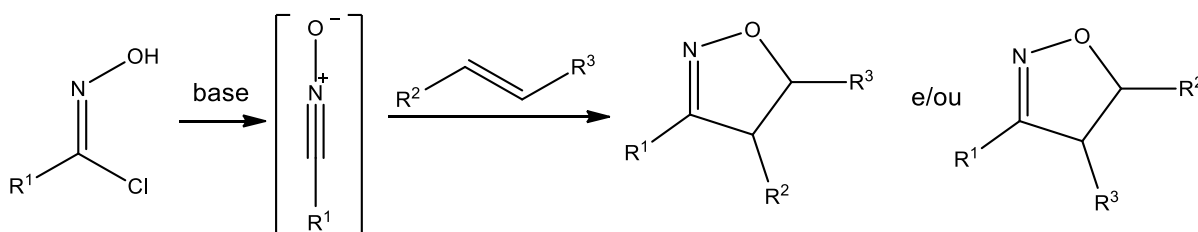


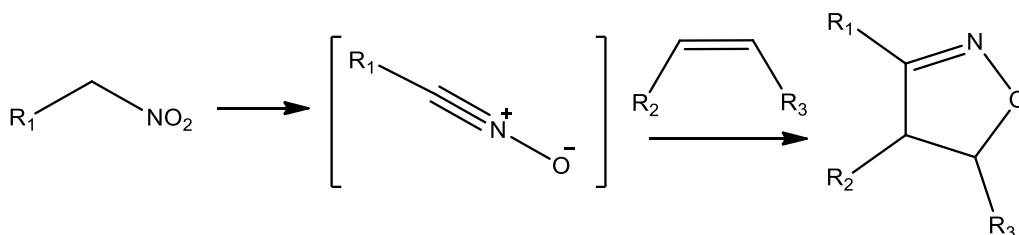
Figura 23 - Isoxazolina nitrofurfuril hidrazona

2.4.2 Métodos de síntese

Isoxazóis e seus derivados isoxazolina são comumente obtidos por meio de reações de cicloadição 1,3-dipolar. Estas reações envolvem óxidos nitrílicos, gerados *in situ*, a partir da desidrohalogenação de cloretos de hidroximinóila na presença de bases (método de Huisgen), e alquenos, alquinos e enolatos (Esquema 9) (GRUNANGER, VITA-FINZI, DOWNLING, 2009). Outra forma de obtenção de isoxazolinas é por meio da desidratação dos derivados nitroalcanos primários (método de Mukaiyama) (Esquema 10) (MUKAIYAMA; HOSHINO, 1960). Exemplos dessas reações serão descritas a seguir.

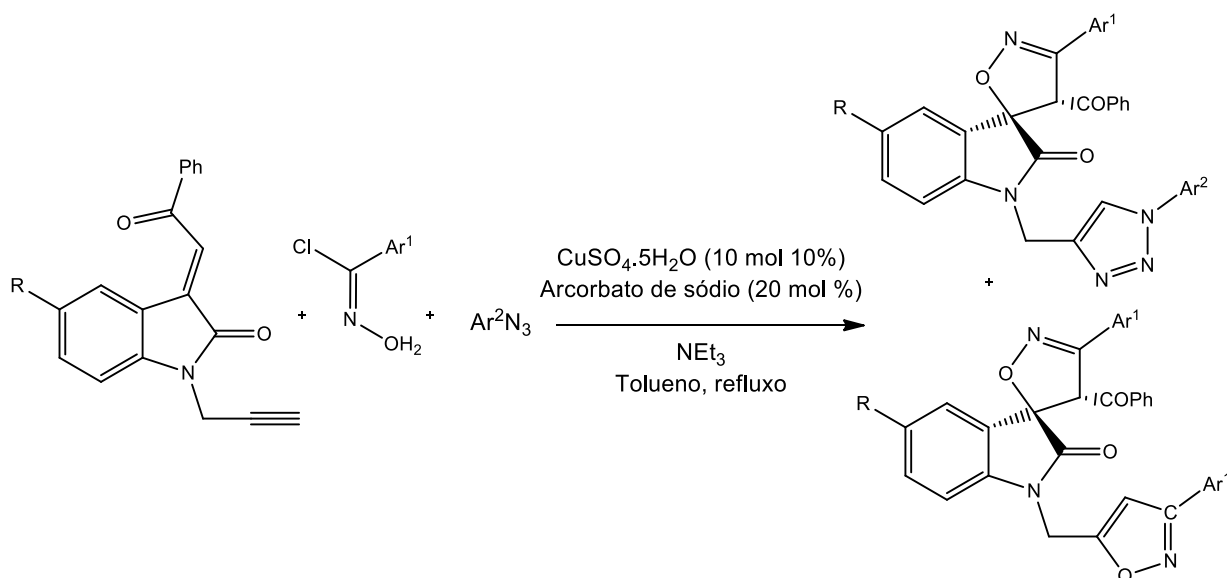


Esquema 9 - Cicloadição [2+3]-dipolar de óxidos de nitrila e olefinas



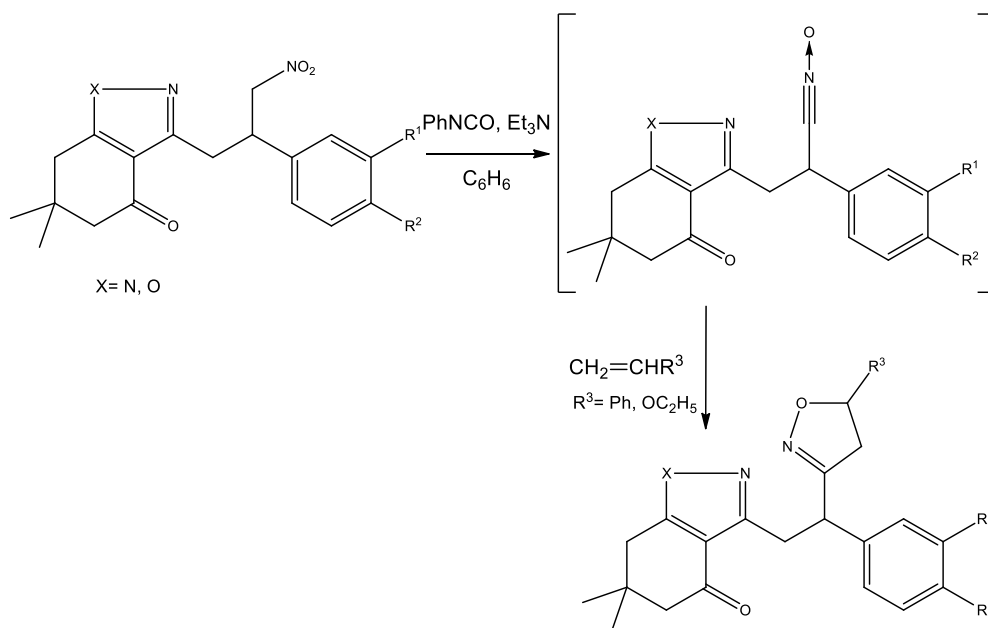
Esquema 10 - Método de Mukaiyama

Novos triazóis de espirooxindol isoxazolina 1,4-substituídos foram obtidos por meio de reação de cicloadição. Foi realizada condensação de precursores de óxido de arilnitrila, arilazida e (E)-2-(1-propargil-2-oxoindolina-3-ilideno) acetofenonas em *one pote* para formação dos produtos. Ascorbato de sódio e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ foram usados com catalisador, proporcionando rendimentos de até 94%. (Esquema 11) (SAKLY et al, 2017).



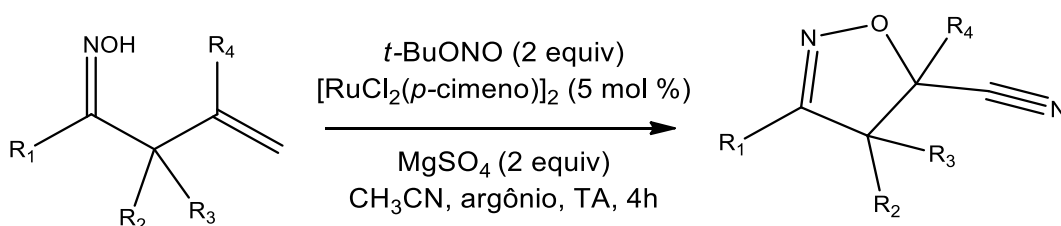
Esquema 11 - Obtenção de triazóis de espirooxindol isoxazolina 1,4-substituídos

Pashkovskii et al (2018) descreveram a síntese de 2-isoxazolininas a partir de 6,7-di-hidrobenzo[d]isoxazol-4(5'-)-onas e 6,7-di-hidro-1-indazol-4-(5-an)-onas pelo método do óxido nítrico (Esquema 12). O material de partida foi tratado com isocianato de fenila em benzeno na presença de quantidades catalíticas de trietilamina. Os intermediários óxidos de nitrila, gerados *in situ*, reagiram com olefinas terminais para dar os derivados isoxazolina com rendimentos de 20-60% (PASHKOVSKII et al, 2018).



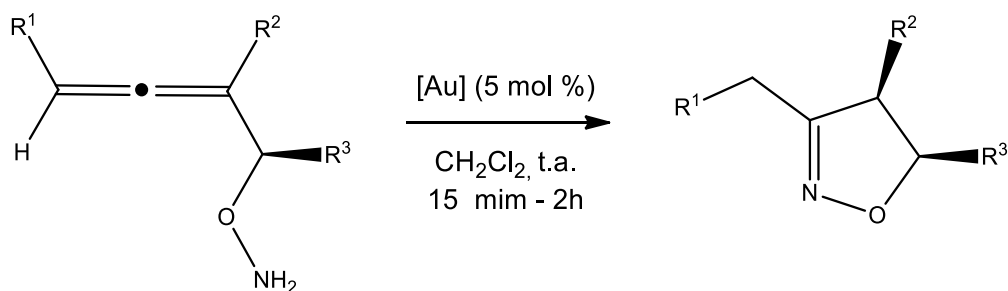
Esquema 12 - Obtenção de 2-isoxazolinias pelo método do óxido nítrico

Isoxazolinias substituídas em C5 com nitrila foram recentemente obtidas a partir de alquenil oximas, em uma reação catalisada por rutênio e tendo como base um intermediário radical não estabilizado. O nitrilo de *tert*-butila foi utilizado como agente oxidante e como fonte de nitrogênio e sulfato de magnésio foi usado como aditivo. Foram obtidos compostos com bons rendimentos (76-91%), tendo sido utilizados substratos com diferentes grupos funcionais como arilo, heteroarilo, alquila e outros (Esquema 13) (WANG et al, 2018).



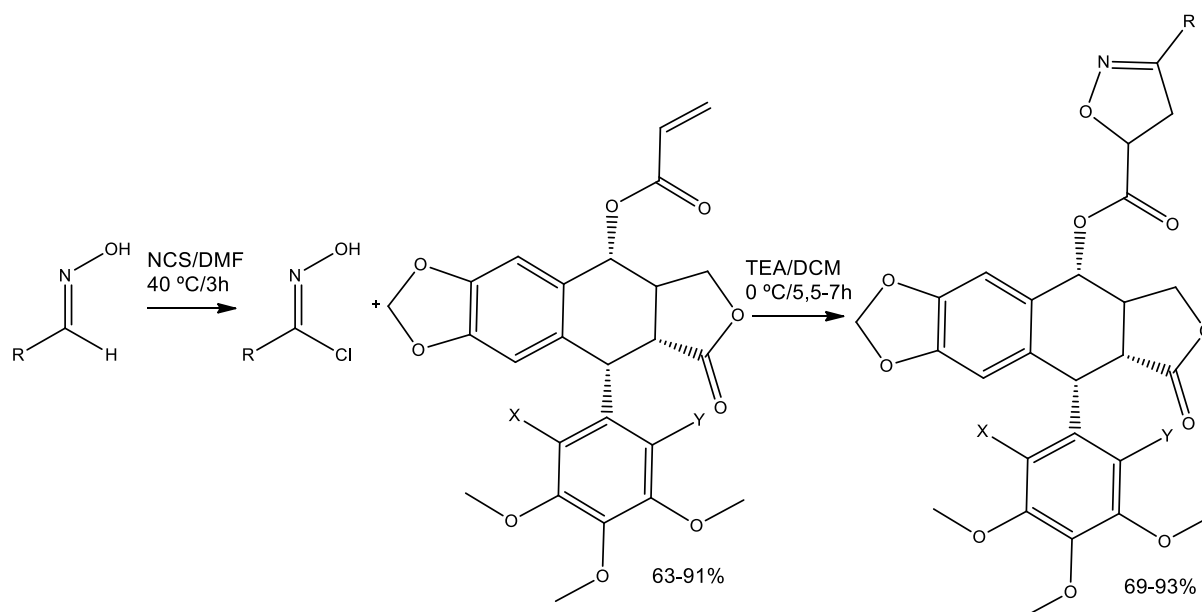
Esquema 13 - Obtenção de isoxazolinias 5-cianadas

2-isoxazolinias podem também ser obtidas a partir de *O*-alenil-alcoxilaminas desprotegidas por meio de uma reação de hidro-aminação, catalisada por ouro (Esquema 14). A reação em questão permite o uso de substituintes éteres benzílico, grupos éster e alenos terminais, com rendimentos entre 72-87% (WINTER; KRAUSE, 2009).



Esquema 14 - 2-isoxazolininas obtidas a partir de O-alenil-alcoxilaminas

Isoxazolininas formadas a partir da reação entre cloreto de hidroxiiiminoíla e enolatos de β -cetoésteres foram descritas por Yang et al (2018). A partir da cloração de óximas com *N*-clorossuccinimida foram preparados os cloretos de hidroxiiiminoíla. Estes, na presença da base trietilamina geram seus respectivos dipolos de óxido nitrílico que reagem com o enolato formando o núcleo isoxazolina através de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar (Esquema 15) (YANG; ZHANG, XU, 2018).



Esquema 15 - Síntese de derivados da podofilotoxina (20,60)-(di)halogenopodofilotoxina contendo isoxazolina

A reação de cicloadição 1,3-dipolar se tornou o método mais empregado para a construção de compostos heterocíclicos de cinco membros, desde a década de 60, após trabalhos desenvolvidos por Rolf Huisgen. Através dessa reação, heteroátomos puderam ser inseridos na formação dos cicloadutos e centros estereoquímicos

puderam ser formados em uma única etapa, além de ser reações com bons rendimentos (CALVO-FLORES et al, 2000; HAMADI; MSADDEK, 2012).

Essa reação foi amplamente empregada em nosso grupo de pesquisa por Dos Santos e De Almeida na construção de inéditas isoxazolinazabílicas de 5 e 6 membros a partir da reação entre enamidas e enecarbamatos com *N*-óxido de nitrilas, sendo uma das reações-chaves nesse trabalho.

3 METODOLOGIA

Os materiais e equipamentos utilizados na síntese e elucidações estruturais, bem como todos os procedimentos estão descritos na seção 6 – Procedimentos experimentais.

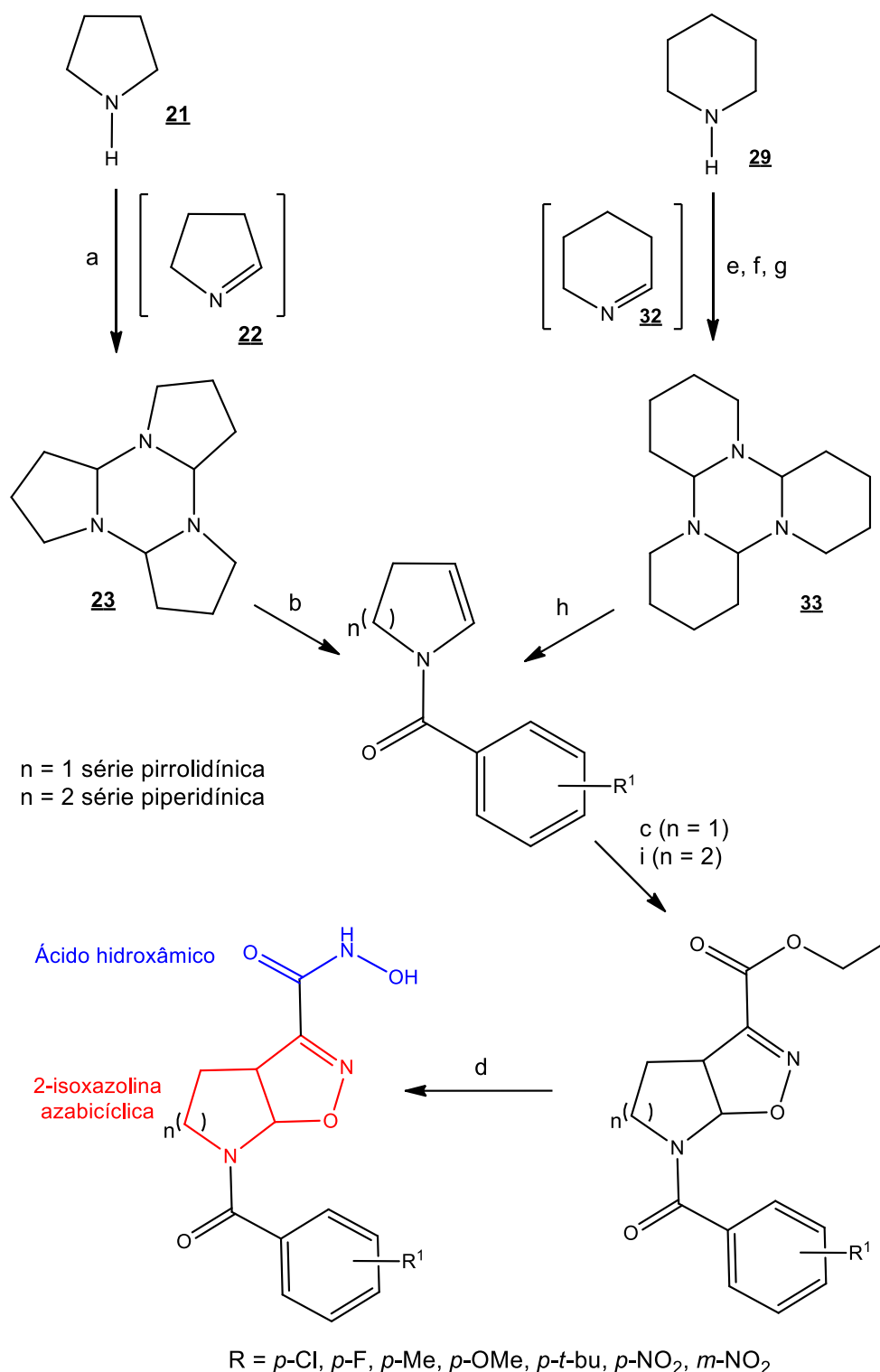
3.1 ESTRATÉGIA DE SÍNTESE

A rota sintética da síntese dos novos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de cinco 1 e seis 2 membros está representada no esquema 16. Os materiais de partida para obtenção dos compostos são, respectivamente, o trímero da 1-pirrolina 23, obtido a partir da oxidação da pirrolidina 21, em meio básico, pelo persulfato de sódio e o trímero da piperideína 33, obtido a partir da preparação do sal acetato de piperidíneo, que subsequentemente sofre uma *N*-cloração, para posterior reação de eliminação do cloro em condições básicas.

O trímero da pirrolidina sofre destrimerização em ultrassom, enquanto o trímero da piperideína destrimeriza em condições de refluxo e são utilizados na síntese das enamidas endocíclicas de cinco 24 e de seis membros 34, obtidas a partir da reação de *N*-substituição entre os monômeros 21 e 29 e os cloretos de benzoíla substituídos.

Foram utilizados seis cloretos de benzoíla substituídos na posição *para* e um na posição *meta*, incluindo grupos doadores e retiradores de elétrons e grupos volumosos, conforme a disponibilidade dos reagentes.

As enamidas endocíclicas, por sua vez, reagem com o *N*-óxido de nitrila (óxido de carboetoxiformonitrila – CEFNO) através de uma reação de cicloadição, obtendo-se os cicloadutos ésteres isoxazolínicos 28 e 35, conforme metodologia bem explorada pelo grupo de pesquisa. A última etapa reacional consiste na conversão da função éster em ácidos hidroxâmicos 1 e 2 através da reação com hidroxilamina em condições básicas e neutra.



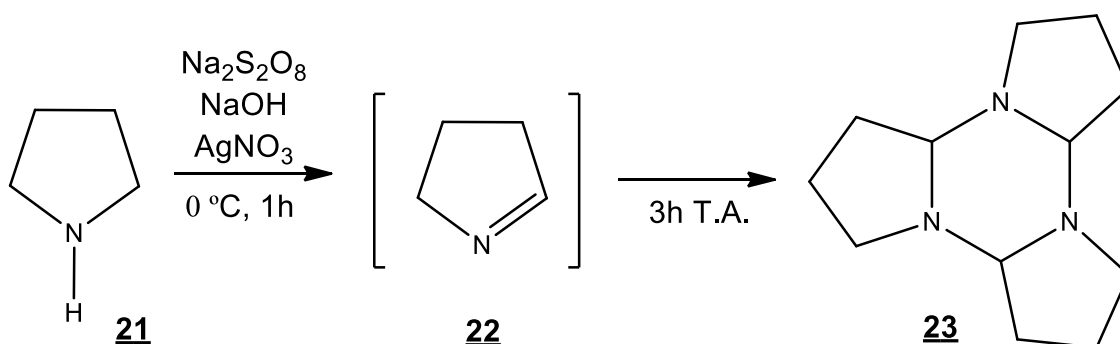
Esquema 16 - Rota sintética dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíciclicos de cinco e seis membros

Legenda: a: AgNO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, NaOH , 1h 0 °C, 3 h T.A.; b: TEA, THF, Cl^- de benzoíla substituídos; c: TEA, THF, cloroimidoacetato de etila, T.A.; d: KOH , $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, MeOH; e: CH_3COOH , -5 °C; f: NaOCl(aq) , 0 °C; g: KOH , EtOH, refluxo; h: TEA, THF, refluxo, Cl^- de benzoíla substituídos; i: TEA, THF, cloroimidoacetato de etila, refluxo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

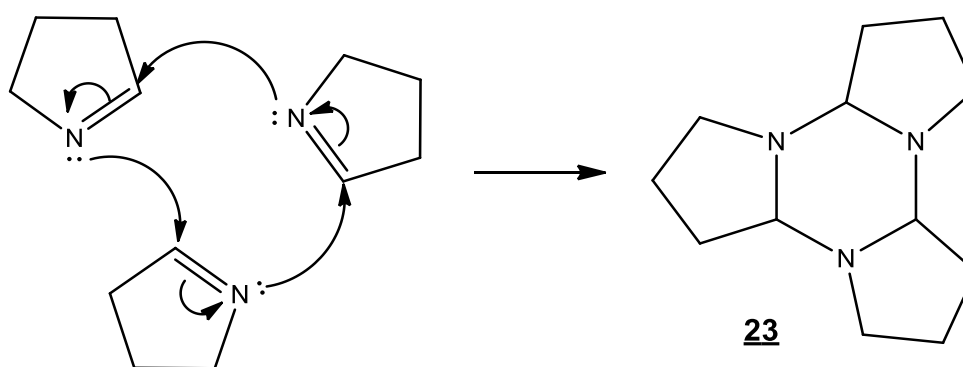
4.1 PARTE QUÍMICA – SÉRIE DE 5 MEMBROS

4.1.1 Síntese do trímero da Δ^1 -pirrolina



Esquema 17 - Síntese do trímero da Δ^1 -pirrolina

A oxidação da pirrolidina comercial **21** pelo persulfato de sódio em meio básico, tendo o nitrato de prata como agente catalisador, dá origem ao monômero Δ^1 -pirrolina **22** (Esquema 17), que por ser altamente reativo sofre trimerização no meio reacional, dando origem ao seu respectivo trímero **23** (Esquema 18).

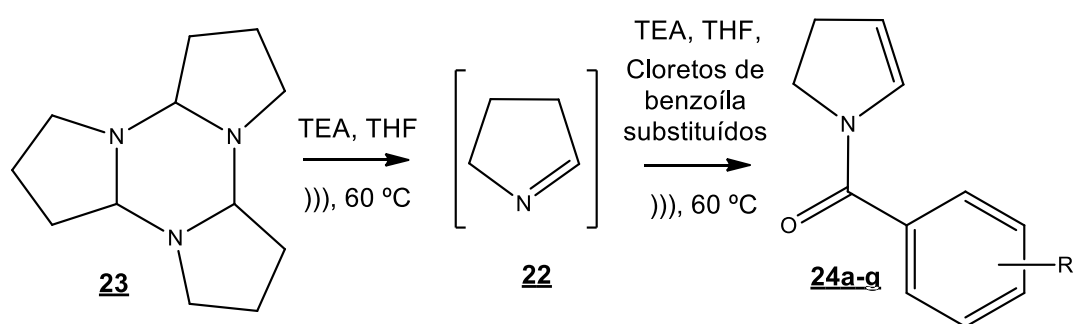


Esquema 18 - Trimerização do monômero da 1-pirrolina

O trímero **23** pode sofrer decomposição em temperatura próxima à 40 °C, tem sensibilidade ácida e é um produto de purificação difícil, podendo ser obtido como um óleo incolor por eluição em coluna de alumina neutra com éter (NOMURA et al, 1977). O produto não purificado é um óleo de cor castanha, com rendimento médio bruto de 70%.

A qualidade dos reagentes, a manutenção das temperaturas em cada fase da reação, bem como a agitação vigorosa foram determinantes para obtenção de melhores rendimentos. Devido à sensibilidade do produto, o armazenamento do mesmo só foi possível por curtos períodos, uma semana, no máximo, em geladeira (temperatura entre 2 - 8 °C). O trímero foi utilizado nas reações subsequentes sem prévia purificação.

4.1.2 Síntese das enamidas endocíclicas de 5 membros



24a R = *p*-Cl; **24b** R = *p*-F; **24c** R = *p*-OMe; **24d** R = *p*-*t*-bu
24e R = *p*-Me; **24f** R = *p*-NO₂; **24g** R = *m*-NO₂

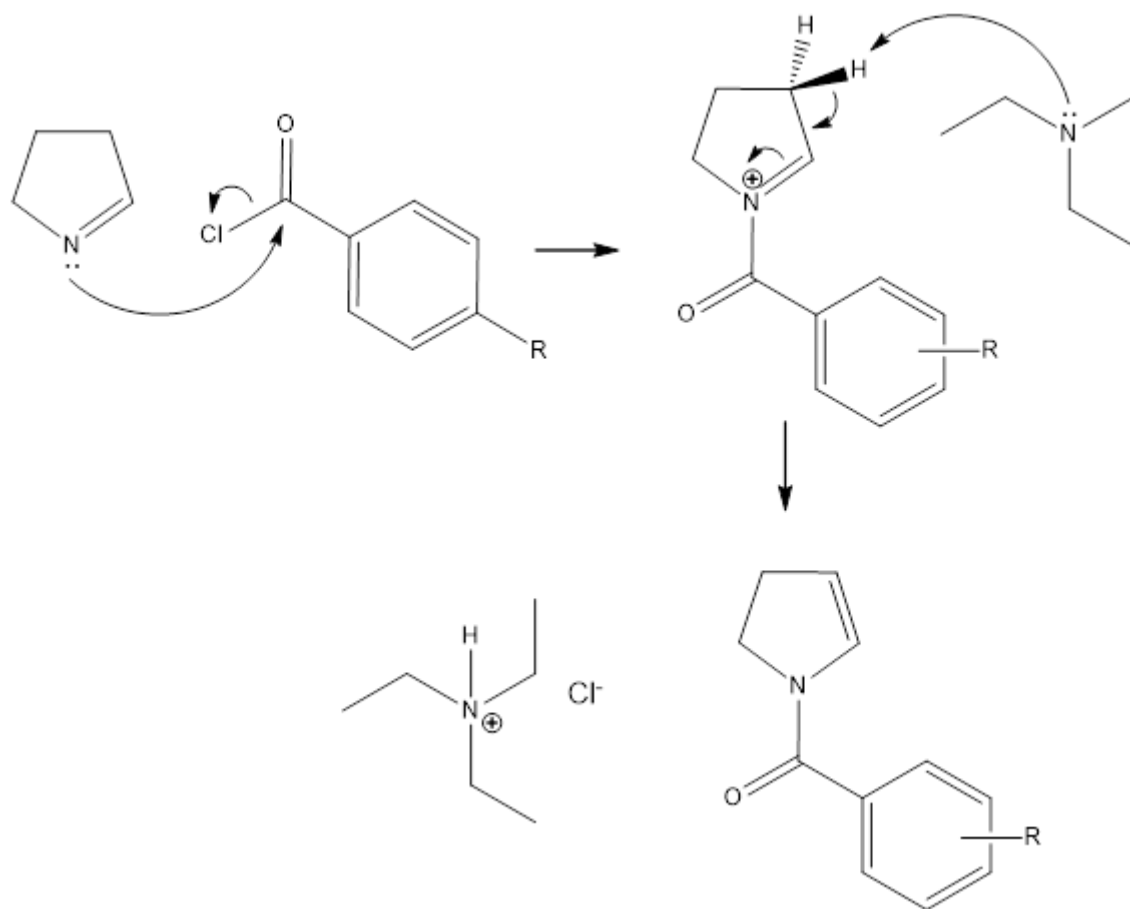
Esquema 19 – Síntese das enamidas endocíclicas **24**

As enamidas endocíclicas de cinco membros **24a-g** foram obtidas a partir da reação de *N*-acilação do monômero da Δ^1 -pirrolina **22** com os respectivos cloretos de benzoíla substituídos na posição *para* e um na posição *meta*. Foram utilizados substituintes retiradores e doadores de elétrons e grupos volumosos conforme a disponibilidade de reagentes.

A reação foi processada em aparelho de ultrassom em aquecimento brando (60°C – temperatura de aquecimento do aparelho). A sonicação promove destrimerização do trímero da Δ^1 -pirrolina e consequente liberação do seu monômero, que é altamente reativo, com caráter nucleofílico marcante ocasionado pelo par de elétrons livres no átomo de nitrogênio e a nuvem eletrônica π conjugada.

A adição dos cloretos de benzoíla foi realizada de maneira lenta por gotejamento, também sob sonicação e aquecimento. A presença da base TEA evita a degradação do monômero e participa da reação restaurando o par de elétrons do nitrogênio do anel pirrolidínico, através de uma reação ácido base, onde o par de

elétrons livre do nitrogênio da trietilamina captura o próton em C3, para posterior formação da ligação π (Esquema 20).



Esquema 20 - Suposto mecanismo de reação para formação das enamidas endocíclicas

As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada e todas as enamidas sintetizadas resultaram em um óleo viscoso de cor castanha que foi purificado por cromatografia em coluna. Foram obtidas sete enamidas com os rendimentos baixos, mas dentro dos resultados já alcançados pelo grupo de pesquisa. Observou-se que as enamidas com melhores rendimentos foram as *p*-F e *p*-*t*-butil substituídas, que foram sintetizadas utilizando cloretos de benzoíla recém adquiridos e, portanto, lacrados. A sensibilidade dos cloretos de benzoíla, bem como as condições e o tempo de armazenamento são fatores determinantes para bons rendimentos.

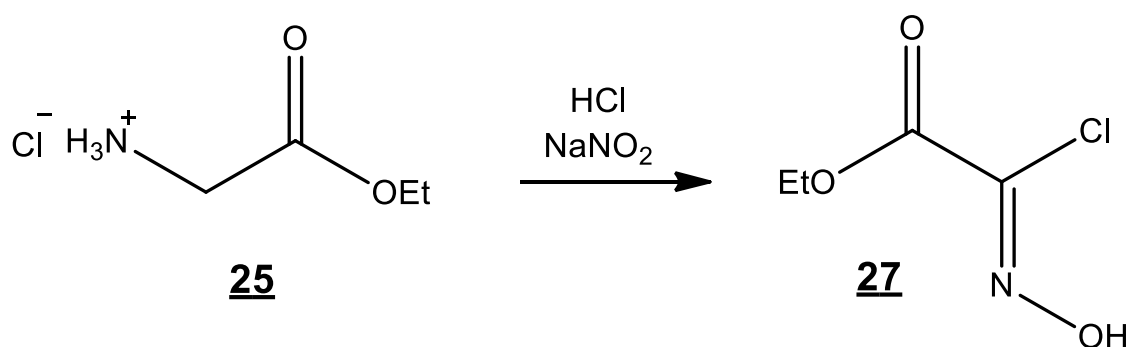
Outra metodologia que pode ser empregada na síntese das enamidas é a codestilação do trímero da Δ^1 -pirrolina com THF, onde o aquecimento promove a destrimerização do trímero e o monômero que codestila com o THF é colhido à temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, ficando estável nesta temperatura (KRAUS;

NEUNSWANDER, 1981). Posteriormente à solução do monômero é adicionada a TEA e o cloreto de benzoíla, e a reação se processa em refluxo (DOS SANTOS, 2003). Os rendimentos obtidos pelas duas metodologias são semelhantes e podem ser visualizados na tabela 1.

Tabela 1 - Enamidas endocíclicas de cinco membros: rendimentos pelo método do ultrassom e pelo método da codestilação do trímero com THF (DOS SANTOS, 2003)

Enamidas N-aril-substituídas	Rendimento Ultrassom (%)	Rendimento Codestilação (%)
<u>24a</u> <i>p</i> -Cl	21	-
<u>24b</u> <i>p</i> -F	45	20
<u>24c</u> <i>p</i> -OMe	30	28
<u>24d</u> <i>p</i> -terc-butil	44	50
<u>24e</u> <i>p</i> -toluil	13	-
<u>24f</u> <i>p</i> -NO ₂	16	24
<u>24g</u> <i>m</i> -NO ₂	18	16

4.1.3 Síntese do cloroximidoacetato de etila

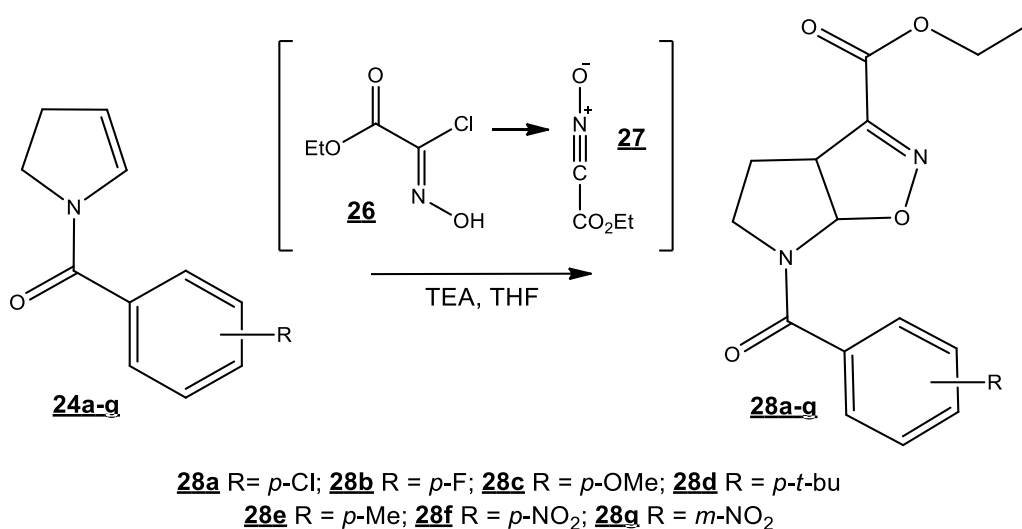


Esquema 21 - Síntese do cloroximidoacetato de etila

O cloroximidoacetato de etila 27, precursor do óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO), é obtido a partir da reação de oxidação do éster etílico da glicina 25 pelo nitrito de sódio em meio ácido (Esquema 21). O éster de glicina utilizado nesta reação foi previamente sintetizado a partir da reação entre a glicina obtida comercialmente e o cloreto de tionila, em meio etanólico, sob refluxo.

O precursor do CEFNO é um produto estável, que pode ser armazenado por períodos relativamente longos na geladeira, por isso foi obtido em multigramas para posterior utilização nas reações de cicloadição. Foi purificado por recristalização com hexano gelado, com rendimento de 40%. O manuseio deste produto requer cuidados especiais, como o uso de luvas, uma vez que é irritante e pode provocar reações de hipersensibilidade.

4.1.4 Síntese dos cicloadutos ésteres de 5 mebrs



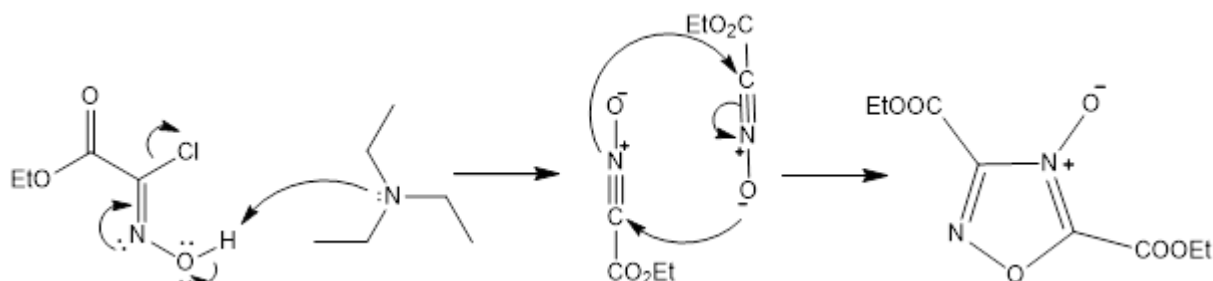
Esquema 22 – Esquema de síntese geral para a síntese dos cicloadutos **28a-g**

As isoxazolinazabícclicas de cinco membros **28** foram sintetizadas por meio de uma reação comumente empregada na obtenção de heterociclos, a cicloadição 1,3-dipolar. Por ser a reação onde um dos grupos farmacofóricos é formado, constitui uma etapa chave na síntese dos compostos híbridos propostos.

A reação de cicloadição envolve a participação de um dipolarófilo, a enamida **24** e de um dipolo, que é uma estrutura zwitteriônica, nesse caso, o *N*-óxido de nitrila CEFNO **27**, gerado, *in situ*, a partir do precursor. Esta reação é controlada pelos Orbitais Moleculares de Fronteira (OMF) HOMO e LUMO do dipolo e do dipolarófilo.

A síntese dos cicloadutos para série de cinco membros ocorre à temperatura ambiente, normalmente sem muitos problemas. A enamida é quase completamente consumida, após a adição de 1 ou 1/2 equivalente extra de precursor. A adição lenta do precursor constitui um fator determinante para formação do produto e rendimento

reacional, uma vez que o *N*-óxido de nitrila, gerado *in situ*, pode dimerizar no meio reacional (Esquema 22).



Esquema 22 - Formação do *N*-óxido de nitrila CEFNO e do seu dímero

Foram obtidos sete cicloadutos, conforme a substituição proveniente das enamidas utilizadas. Os rendimentos obtidos podem ser vistos na tabela abaixo:

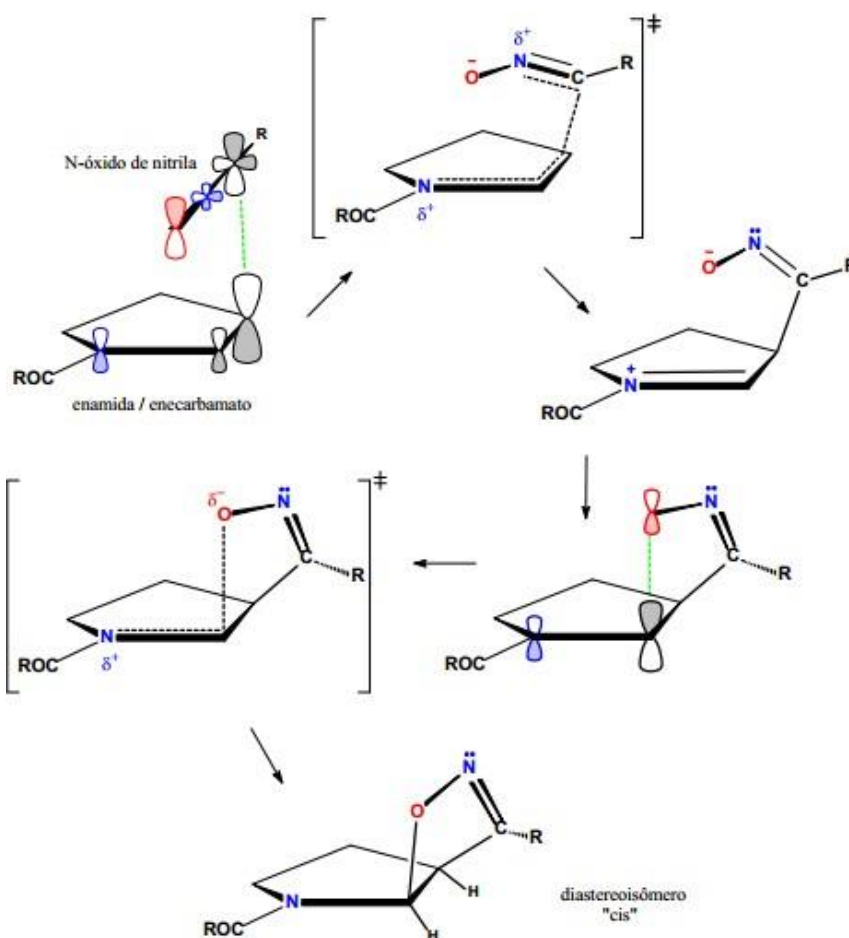
Tabela 2 - Cicloadutos de cinco membros: rendimentos

Cicloadutos <i>N</i> -aril-substituídos	Rendimento (%)
<u>28a</u> <i>p</i>-Cl	93
<u>28b</u> <i>p</i>-F	70
<u>28c</u> <i>p</i>-OMe	83
<u>28d</u> <i>p</i>-terc-butil	58
<u>28e</u> <i>p</i>-toluil	55
<u>28f</u> <i>p</i>-NO₂	57
<u>28g</u> <i>m</i>-NO₂	86

Dos Santos (2003) propôs o mecanismo de reação para formação do núcleo isoxazolinico azabíclico, sugerindo um mecanismo de ação não concertado do cicloaduto, onde há formação de intermediário. A explicação para esse tipo de mecanismo se baseia na linearidade no *N*-óxido de nitrila (dipolo do tipo alenila) e na diferença dos valores de coeficiente de orbital HOMO da enamida, que dificultariam a formação simultânea das duas ligações para formação do núcleo.

No mecanismo proposto, inicialmente ocorre a ligação do carbono β ao átomo de nitrogênio da enamida com o carbono do *N*-óxido de nitrila, formando um

intermediário *N*-acil-imínio dipolar. O carbono do *N*-óxido de nitrila que antes tinha hibridização sp , passa a ter hibridização sp^2 e estrutura angular. Promovendo assim, maior proximidade espacial, interação frontal entre o orbital preenchido do oxigênio com o orbital LUMO do imínio e a adição do oxigênio ao carbono do acil-imínio, formando a segunda ligação e consequentemente o núcleo isoxazolinico (Esquema 23) (DOS SANTOS, 2003).



Esquema 23 - Mecanismo proposto por Dos Santos (2003) para formação no núcleo 2-isoxazolinazabíclico

4.1.5 Síntese dos híbridos ácidos hidroxâmicos isoxazolinicos de 5 membros

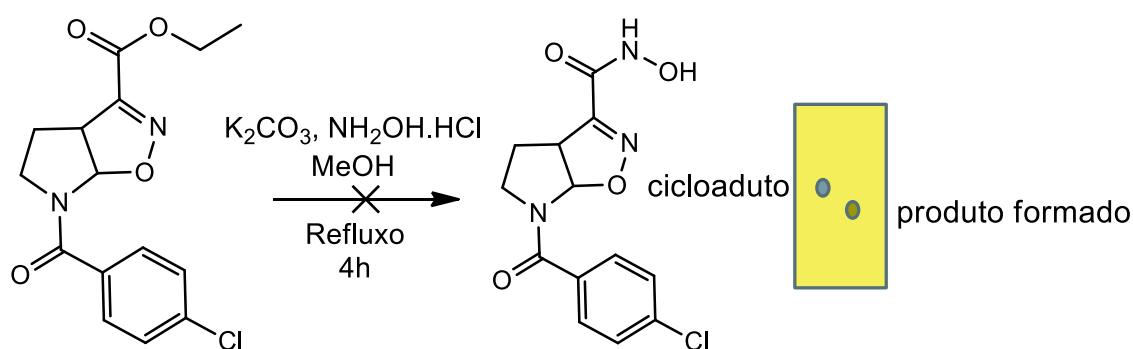
Ácidos hidroxâmicos são comumente preparados a partir de reações entre hidroxilamina protegidas e ácidos carboxílicos ativados, no entanto, essas são metodologias que utilizam reagentes de hidroxilamina dispendiosos e alguns não estão disponíveis no mercado. A preparação mais econômica de ácidos hidroxâmicos

é a partir da reação entre hidroxilamina e cloretos ou ésteres de ácido (DEVLIN et al, 1975).

Neste trabalho os ácidos hidroxâmicos foram sintetizados a partir dos cicloadutos ésteres etílicos, obtidos na etapa anterior. A utilização de outra estratégia de síntese, partindo de cloretos de ácidos ou até mesmo aldeídos, acarretariam etapas adicionais à rota sintética, sem benefícios capazes de superar a rota adotada, como por exemplo, rendimentos maiores ou facilidade de purificação.

Foram obtidas sete moléculas inéditas **1** da série de cinco membros a partir da reação entre os cicloadutos isoxazolínicos ésteres e a hidroxilamina em meio básico ou neutro. Quatro condições reacionais foram testadas para a síntese dos compostos e serão abordadas a seguir.

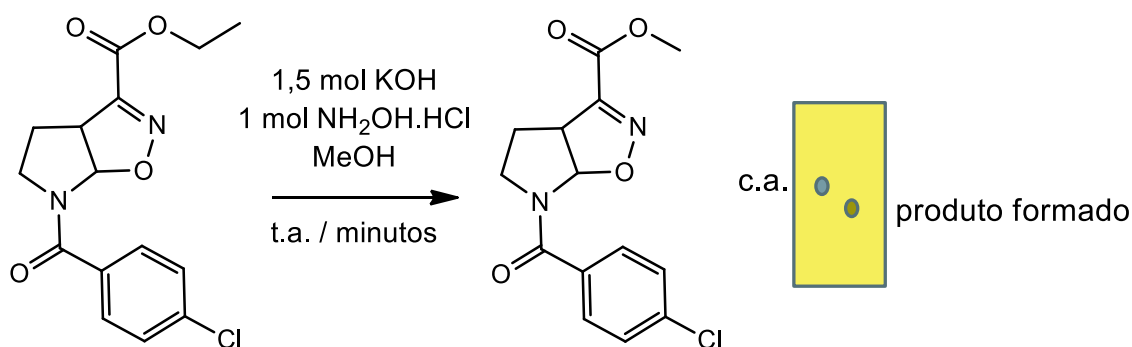
4.1.5.1 Método 1



Esquema 24 - Primeira tentativa de síntese de ácido hidroxâmico

Na primeira condição reacional foi utilizado o carbonato de potássio como base para neutralização do cloridrato de hidroxilamina e metanol como solvente. No entanto, devido à baixa solubilidade do sal em metanol, não houve neutralização. Na cromatografia em camada delgada foi observada a formação de um produto com RF logo abaixo do ponto do cicloaduto após quatro horas de reação, sob as condições de agitação e refluxo (Esquema 24). Posteriormente, utilizando a metodologia descrita no tópico 5.1.5.2 foi formado um produto com igual RF, que foi elucidado. Percebeu-se que ele não possuía a função ácido hidroxâmico pretendida, tratando-se de um éster metílico.

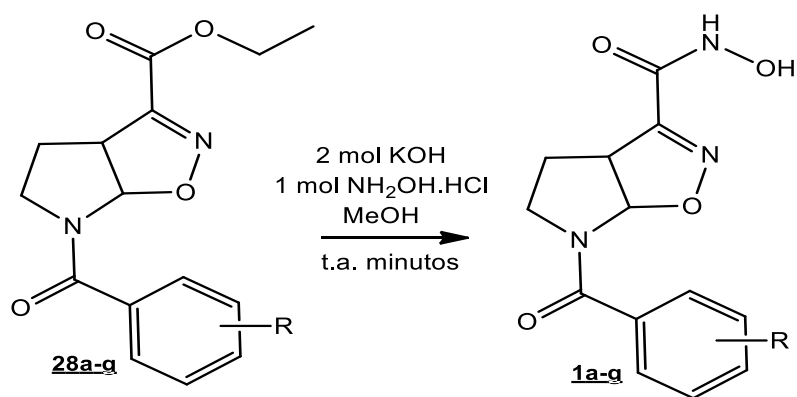
4.1.5.2 Método 2



Esquema 25 - Segunda tentativa de síntese de ácido hidroxâmico

Posteriormente, a reação foi processada à temperatura ambiente e utilizado o hidróxido de potássio como base, na proporção de 1,5 mol de KOH para 1 mol de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, sendo observada a formação do mesmo produto da reação anterior logo após o término da adição da solução de hidroxilamina e hidróxido de potássio (Esquema 25). Esse produto foi isolado em cromatografia em coluna flash com um sistema eluente de acetato de etila e hexano (2:3) e foi submetido às análises de infravermelho e RMN, porém não foram evidenciadas as bandas nem os picos correspondentes à função ácido hidroxâmico. As análises espectrométricas apontaram que o produto isolado se trata da isoxazolina éster metílico e que antes da formação do ácido hidroxâmico ocorre uma reação de transesterificação do cicloaduto éster etílico.

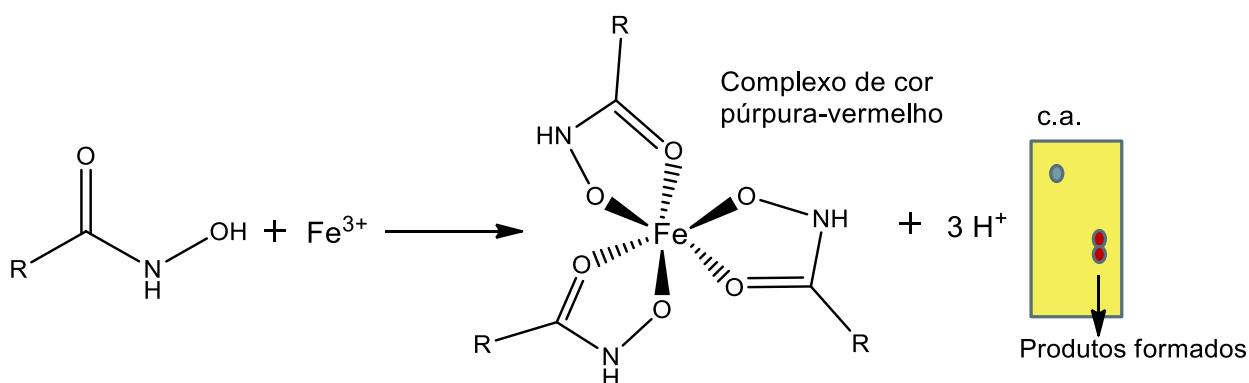
4.1.5.3 Método 3



a R = *p*-Cl; **b** R = *p*-F; **c** R = *p*-OMe; **d** R = *p*-*t*-bu **e** R = *p*-Me; **f** R = *p*-NO₂; **g** R = *m*-NO₂

Esquema 26 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-Cl **1a**

Na terceira metodologia aplicada (Esquema 26) as reações foram realizadas utilizando KOH e $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ na proporção de 2:1 mol e tiveram seu término minutos após a adição da solução desses reagentes ao cicloaduto. Foram ajustados os parâmetros e técnicas para identificação do produto formado, como o sistema de eluição da CCD (Metanol em CHCl_3 1:9) e a utilização de solução de FeCl_3 como indicador na placa de CCD. Os ácidos hidroxâmicos por serem estruturas capazes de quelar metais, formam com eles complexos estáveis. No caso do íon de ferro (III), ácidos hidroxâmicos formam complexos de cor púrpura-vermelho que podem ser visualizados na CCD quando o $\text{FeCl}_{3(\text{aq})}$ é borrifado na placa (Esquema 27).



Esquema 27 - Formação do complexo de ácido hidroxâmico com íon de Fe (III)

Nessa condição reacional foi observada a formação de dois produtos com R_f bastante próximos, com revelação pela solução de cloreto férrico (Esquema 27). Os produtos foram isolados por meio de cromatografia em coluna flash, seguida de recristalização com etanol e hexano e foram feitas as análises de RMN e de IV.

Observou-se nos espectros que a mancha com maior R_f tinha as bandas e picos correspondentes as funções pretendidas para o composto final. A mancha com menor R_f , por sua vez, tinha apenas as bandas e picos correspondentes ao ácido hidroxâmico. No espectro de RMN de ^1H do subproduto (Figura 24) não observam-se os sinais diagnóstico da junção dos anéis que possuem deslocamento químico em torno de 6 ppm, por outro lado é possível visualizar sinais de hidrogênios de anel aromáticos em 7,5 e 8,0 ppm e sinais de baixa intensidade em 9,8 e 10,85 referentes aos hidrogênios lábeis da função ácido hidroxâmico. Também é possível visualizar a banda referente aos estiramentos de ligação N-H e O-H no espectro de IV (Figura 25).

Amostra E8 06.2
 Solucao N. Q0730_2
 Data 01.08.18_UFPE

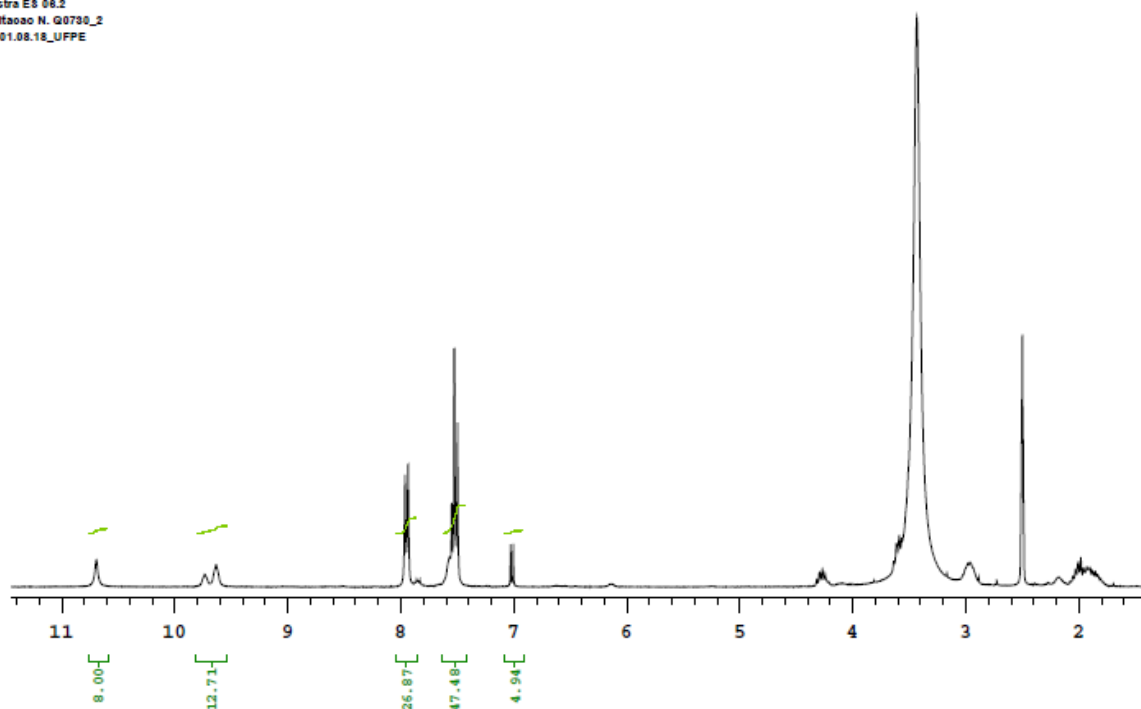


Figura 24 - Espectro de RMN de ^1H do subproduto da reação de formação dos ácidos hidroxâmicos, utilizando DMSO-d_6 como solvente

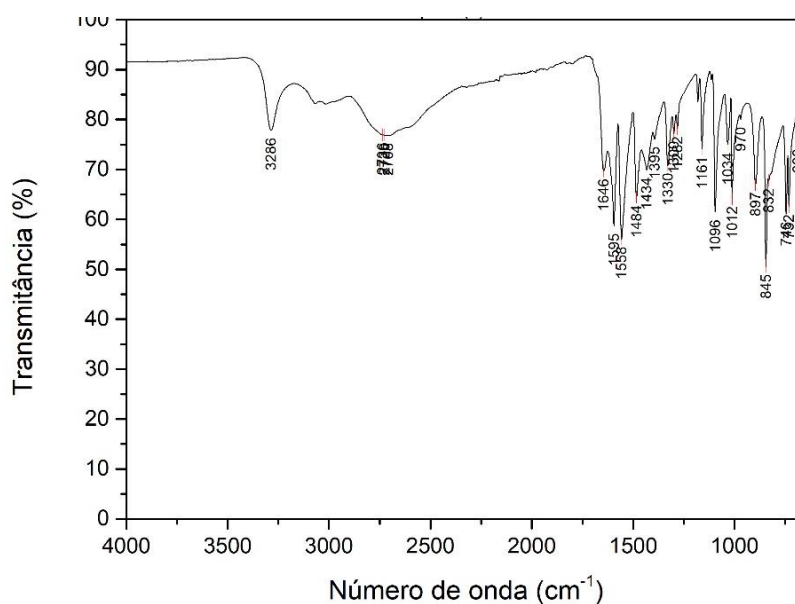
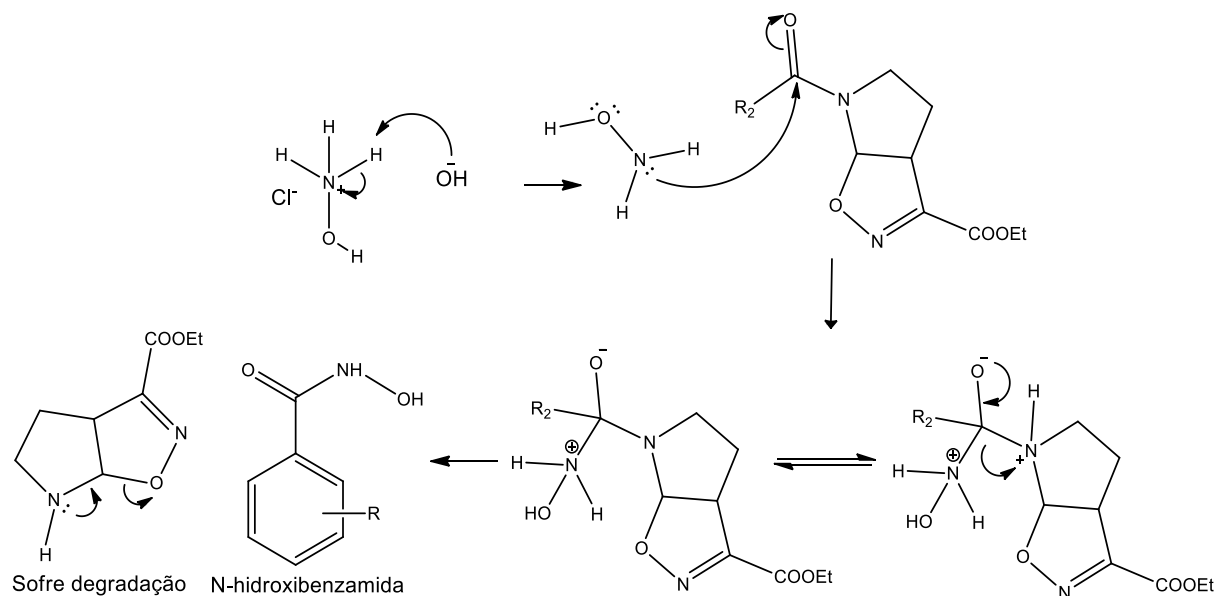


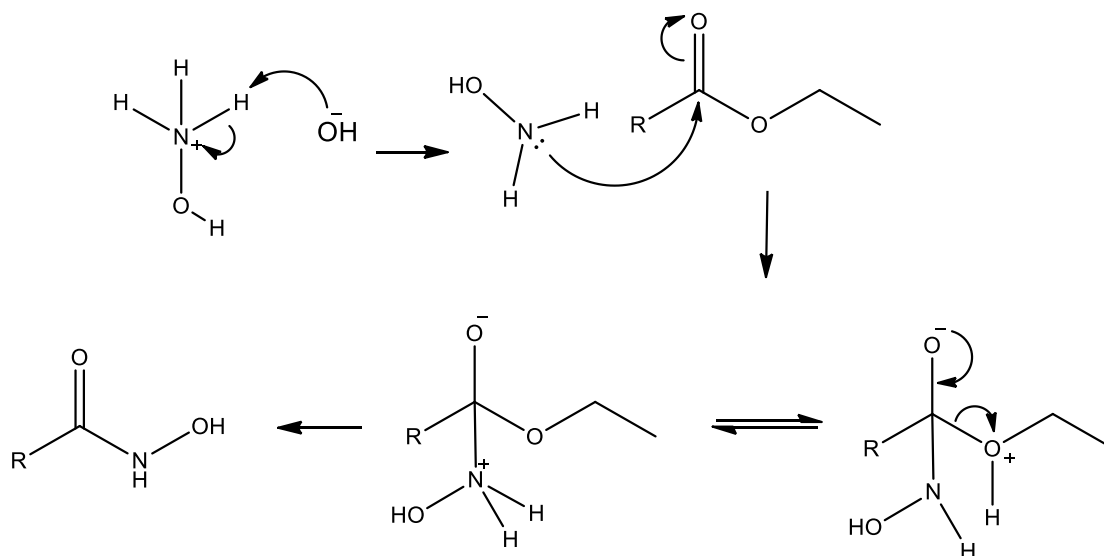
Figura 25 - Espectro de IV-ATR do subproduto da reação de formação dos ácidos hidroxâmicos

A partir dos dados e espectros obtidos e considerando-se a presença da função amida na estrutura do cicloaduto, sugere-se que nessas condições reacionais a hidroxilamina reage não só com o éster etílico presente nas moléculas, mas também com a função amida, embora esta seja mais estável devido a ressonância e menos

sensível a reagir com qualquer nucleófilo. Seria, portanto, formado a *N*-hidroxibenzamida, conforme mecanismo proposto no esquema 28.

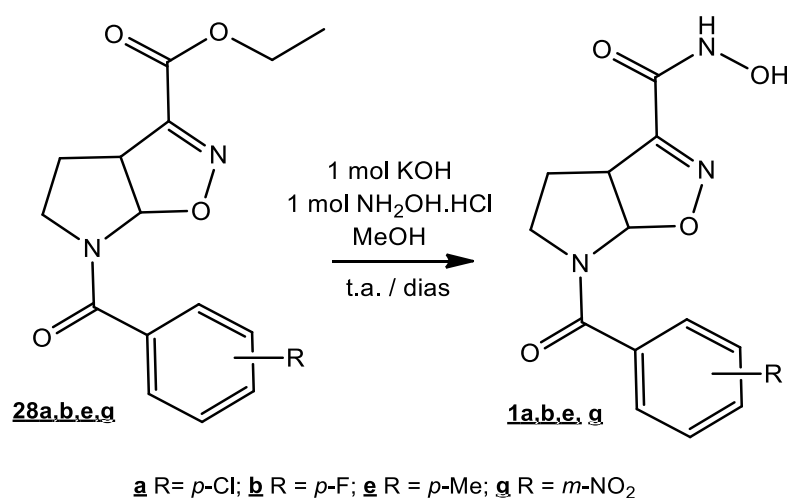


A formação dos ácido hidroxâmicos a partir dos ésteres se dá de maneira semelhante, onde a base atua neutralizando o cloridrato de hidroxilamina, para a liberação de sua forma neutra, mais reativa. A hidroxilamina, reage com o éster através do ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio ao carbono da carbonila no éster. Consequentemente ocorre a deslocalização dos elétrons da dupla ligação para o átomo de oxigênio. O retorno dos elétrons do oxigênio para refazer a dupla ligação promove a liberação de etanol e a formação do ácido hidroxâmico (Esquema 29).



Esquema 29 - Mecanismo da reação de formação de ácidos hidroxâmicos a partir de ésteres

4.1.5.4 Método 4



Esquema 30 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-Cl **1a**

As reações da série, com rendimento menor que 50%, foram repetidas utilizando quantidades equimolares de base e de cloridrato de hidroxilamina (Esquema 30), com o objetivo de melhorar o rendimento e otimizar a reação. Observou-se nessas reações que a formação do subproduto da reação (mancha com *R_f* menor) é praticamente inexistente e as moléculas substituídas com *p*-F, *p*-Cl e *p*-Me tiveram uma melhora significativa nos rendimentos, porém essa metodologia tem como desvantagem o tempo de processamento da reação, com duração de dias. A

comparação entre os rendimentos e o tempo de reação pode ser vista na tabela abaixo:

Tabela 3 - Rendimentos e tempo reacional da formação dos ácidos hidroxâmicos com e sem excesso de base

Ácidos hidroxâmicos <i>N</i> -aril-substituídos	Rendimento/tempo reacional com excesso de base	Rendimento e tempo reacional sem excesso de base
1a <i>p</i> -Cl	30% / minutos	57% / 7 dias
1b <i>p</i> -F	20% / minutos	70% / 5,5 dias
1c <i>p</i> -OMe	50% / minutos	-
1d <i>p</i> -terc-butil	55% / minutos	-
1e <i>p</i> -toluil	33% / minutos	77% / 6 dias
1f <i>p</i> -NO ₂	57% / minutos	-
1g <i>m</i> -NO ₂	39% / minutos	33% / -

A formação do subproduto nas reações com excesso de base (método 3) sugere que essa condição é importante para a possível reação entre a hidroxilamina e a função amida do cicloaduto éster e compromete o rendimento da reação. Conclui-se ainda que a basicidade do meio não é imprescindível para formação do produto, mas é determinante para o tempo reacional. Ajustes nas quantidades de base são importantes para encontrar o equilíbrio entre reações menos prolongadas e menor formação de subprodutos. O uso de temperatura também pode ser uma alternativa na tentativa de otimização da reação.

4.1.5.5 Purificação dos ácidos hidroxâmicos

No que diz respeito a síntese de ácidos hidroxâmicos, muitos progressos foram feitos ao longo do tempo, no entanto a maioria dos métodos não é adequada para sínteses múltiplas paralelas ou produção em larga escala, devido à purificação e ou isolamento tedioso desse tipo de composto (YANG; LOU, 2003). Os procedimentos geralmente resultam em reações colaterais com o nitrogênio e acilações de oxigênio

(JOHNSON et al, 1971), gerando grandes quantidades de subprodutos indesejáveis, que diminuem os rendimentos, aumentam as etapas e a dificuldade da purificação e tornam a bancada ainda mais complexa (MOCCI et al, 2016).

Essas informações trazidas pela literatura foram observadas na prática, uma vez que a maior dificuldade encontrada foi o isolamento e a purificação dos compostos finais. As características físico-químicas, principalmente polaridade e consequentemente solubilidade interferem bastante nas metodologias de purificação comumente empregadas, como a cromatografia em coluna.

A alta polaridade dos ácidos hidroxâmicos, por exemplo, faz com que eles tenham grande afinidade pela fase estacionária (sílica gel) utilizada na cromatografia em coluna, exigindo o uso de um sistema de eluição também com características mais polares (MeOH em CHCl_3 1:9). Observou-se, na prática, que parte do produto fica retido na sílica e não houve êxito na separação dos compostos e seus subprodutos quando tinham R_f muito próximos.

A síntese dos ácidos hidroxâmicos em meio básico, como a utilizada no método 3, tem por finalidade não apenas neutralizar o cloridrato da hidroxilamina, mas também formar o composto na sua forma de sal (hidroxamato). Para esse tipo de procedimento o isolamento dos produtos pode ocorrer da seguinte forma: o solvente da reação (metanol) é eliminado, o produto é solubilizado em água e o meio neutralizado com solução de ácido. Dessa forma o ácido hidroxâmico na sua forma protonada e, portanto, menos solúvel em água precipita no meio.

Nas sínteses executadas nesse trabalho, a tentativa de precipitar os compostos com a neutralização do meio, em água, não teve êxito, pois os compostos não precipitaram. Foi necessária a realização de uma extração com acetato de etila para a remoção dos compostos do meio aquoso. A extração foi feita manipulando-se o pH do meio, onde em pH mais próximo de 6 observou-se maior facilidade do produto migrar para fase orgânica por estar na sua forma protonada, embora tenha levado mais impurezas também.

Inicialmente tentou-se cromatografia em coluna para purificação dos compostos, mas não obteve-se sucesso em todos os casos. Posteriormente foram testados vários solventes para recristalização. Observou-se que os ácidos hidroxâmicos sintetizados tem baixa solubilidade em solventes orgânicos, tendo sido solúveis ou parcialmente solúveis em metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrila e dimetilsufóxido.

A purificação dos compostos foi possível através de recristalização com etanol e hexano. Sendo o etanol utilizado para solubilizar os compostos a quente e o hexano para induzir a precipitação, que por vezes foi realizada a frio.

4.1.5.6 Elucidação estrutural

Os novos ácidos hidroxâmicos sintetizados foram elucidados estruturalmente por meio das técnicas espectrométricas de RMN ^1H e ^{13}C , IV-ATR e massas e tiveram suas características físico-químicas determinadas. As análises de RMN foram realizadas tendo como solvente DMSO-d_6 . Todos os espectros podem ser visualizados no apêndice deste trabalho.

De maneira demonstrativa serão apresentados os espectros referentes ao composto **1a**. A figura 27 mostra o espectro de RMN de ^1H , onde podem ser visualizados os sinais diagnósticos da molécula. Os picos correspondentes aos hidrogênios lábeis do N-H e O-H, da função ácido hidroxâmico, aparecem em 9,36 e 11,35 ppm, respectivamente, bastante desblindados por estarem ligados a átomos bastante eletronegativos. Os hidrogênios do anel aromático aparecem região característica em 7,74 ppm, como multiplete, integrando para quatro hidrogênios. Os hidrogênios presentes no núcleo 2-isoxazolina aza-bicíclica apresentam deslocamentos e comportamentos similares à outras moléculas contendo o mesmo núcleo desenvolvidas no grupo de pesquisa. O hidrogênio 3a, da junção do biciclo, um multiplete em 4,24 ppm acopla com dois hidrogênios diferentes. O outro hidrogênio da junção dos anéis, o 6a, aparece nos sinais rotâmetros em 6,14 e 6,63 ppm (Figuras 26 e 27).

Confôrmeros rotacionais podem ser identificados em espectros de RMN e são característicos em estruturas com ligações amídicas e carbamídicas. A baixa temperatura da análise e o volume do anel aromático faz com que a rotação da ligação N-C da amida se dê de forma lenta criando dois ambientes químicos e consequentemente dois sinais (rotâmetros) com deslocamentos químicos similares, como é caso do hidrogênio da junção do anéis.

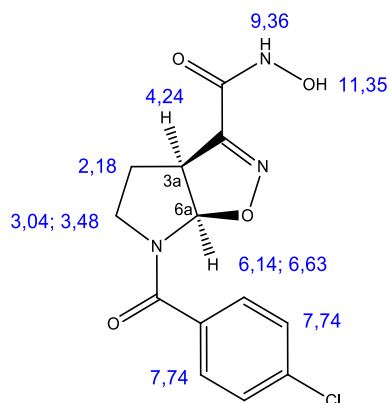


Figura 26 - Dados espectrométricos de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolinico p-Cl **1a**

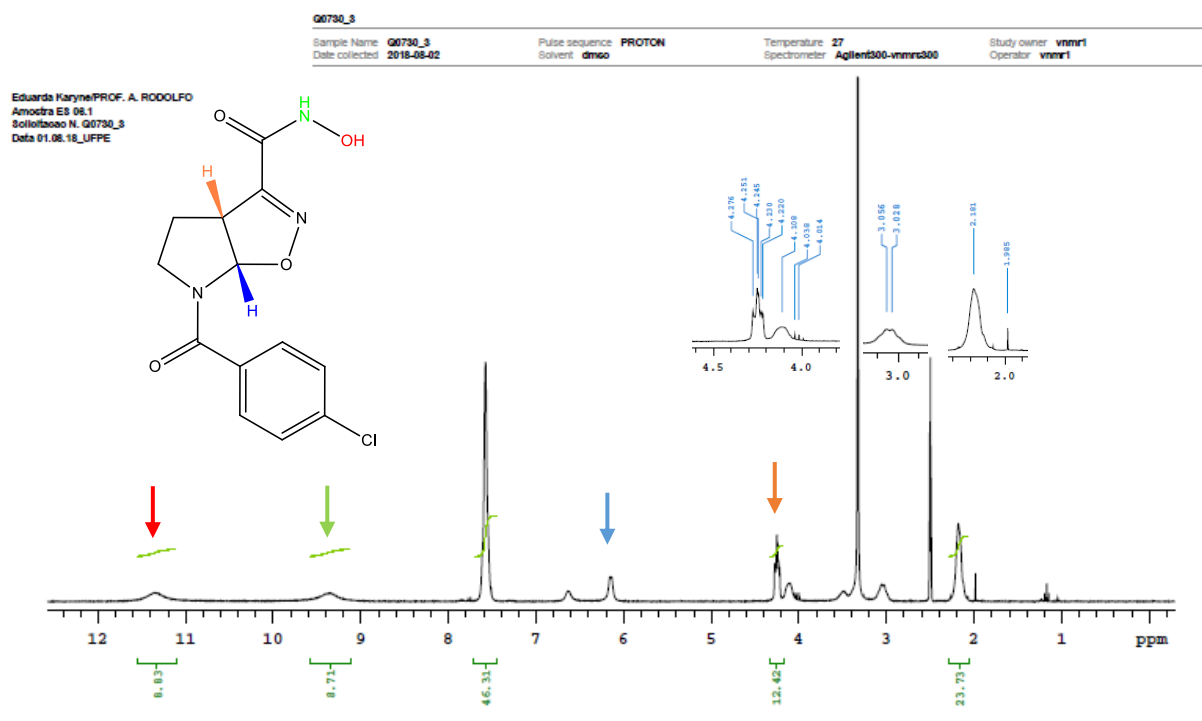


Figura 27 - Espectro de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolinico p-Cl **1a**

O espectro de RMN de ^{13}C do composto **1a** mostra os sinais diagnósticos do cicloaduto isoxazolinico que são o carbono 3a da junção dos anéis que aparece em 43,5 ppm e o carbono terciário 6a da junção dos anéis em 93,9 ppm, bastante desblindado por estar ligado diretamente aos heteroátomos de nitrogênio e oxigênio. Outros sinais aparecem em 28,5 e 52,2 ppm em deslocamento característico de carbono metileno. Dois sinais com intensidade baixa em 167,9 e 172,7 ppm são referentes às carbonilas. A visualização desses sinais pode ser melhorada com a repetição da análise, mas com diferentes condições experimentais (tempo de

aquisição e/ou número de repetições). As atribuições dos outros sinais podem ser vistas nas figuras 28 e 29.

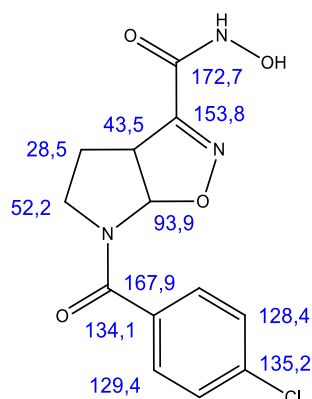


Figura 28 - Dados espectrométricos de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolinico **1a**

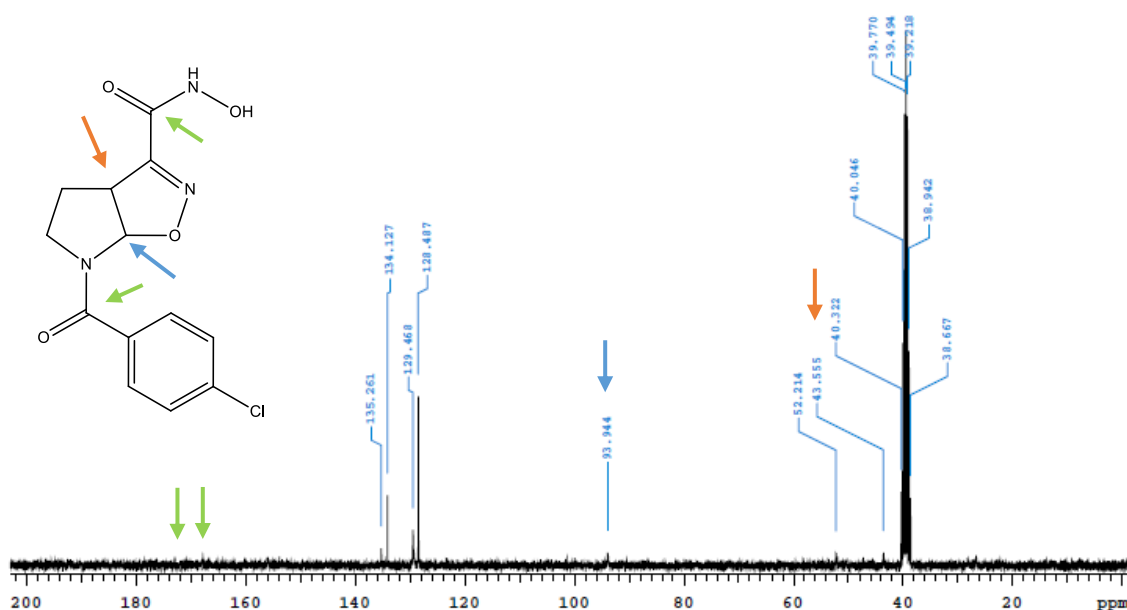


Figura 29 - Espectro de RMN ^{13}C do ácido hidroxâmico isoxazolinico p-Cl **1a**

No espectro de infravermelho da molécula **1a** (Figura 30) é possível observar as bandas correspondentes às funções presentes nos compostos sintetizados. Em $\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ aparece uma banda larga correspondendo aos estiramentos das ligações N-H e O-H. Em 2888 cm^{-1} estiramentos de cadeia saturada C-H. Em 1638 cm^{-1} aparece uma banda intensa e larga, que corresponde ao estiramento das carbonilas, enquanto que em 1594 cm^{-1} a banda de média intensidade corresponde ao estiramento da ligação C=N.

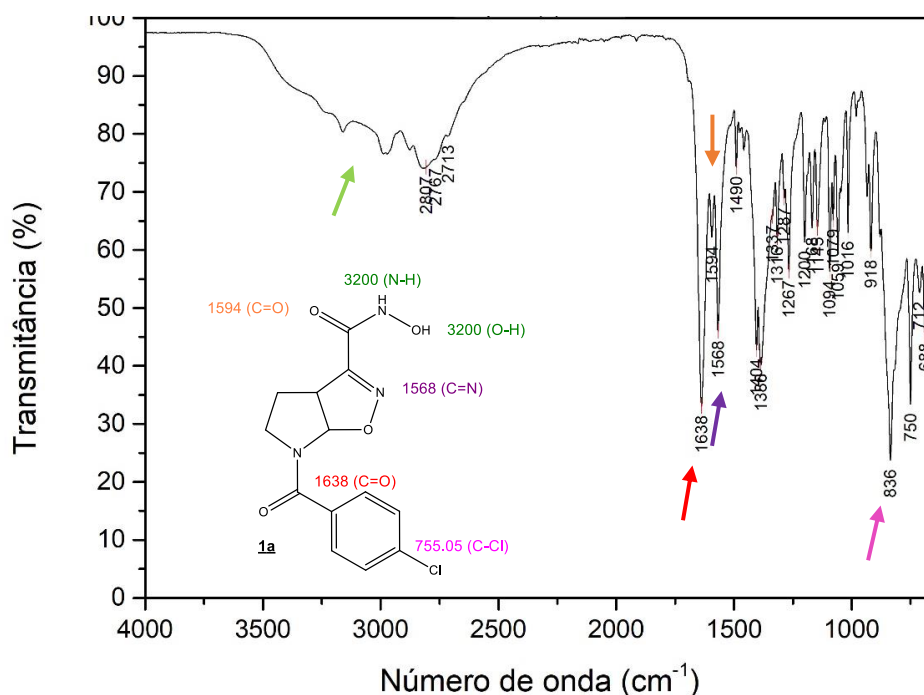


Figura 30 - Espectro de infravermelho (IV-ATR) do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-Cl **1a**

O espectro de massas de alta resolução foi obtido apenas para as moléculas substituídas com Cl, OMe, *t*-bu e Me. A figura 50 ilustra o espectro de massas do composto *p*-Cl substituído **1a**, cuja massa molecular é de 309,71 g/mol. O espectro foi gerado a partir da ionização positiva da molécula com geração do íon molecular $M^+ + 1$, cuja massa calculada foi 310,0594 e a encontrada foi 310,0519. No espectro é possível observar, ainda, um pico em 312,0520, correspondente ao $M^+ + 2$, com um terço da intensidade do pico principal. Estes sinais comprovam a massa do composto sintetizado e a presença do átomo do Cl na estrutura do composto, uma vez que apresenta o perfil isotópico do cloro (^{35}Cl – mais comum e ^{37}Cl - 30% de abundância natural) (Figura 31).

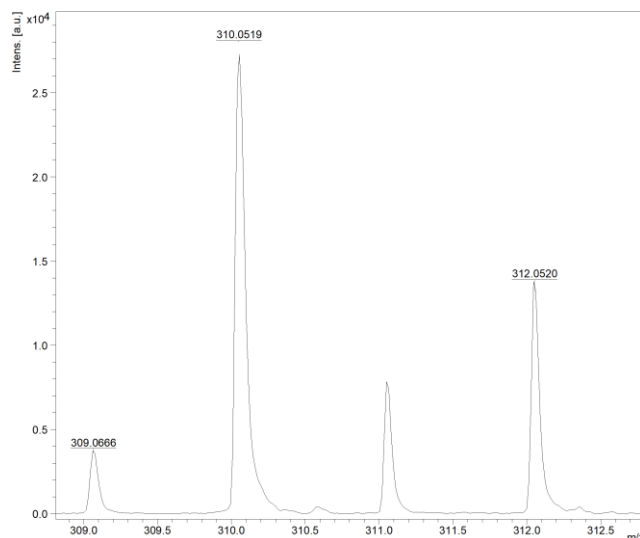


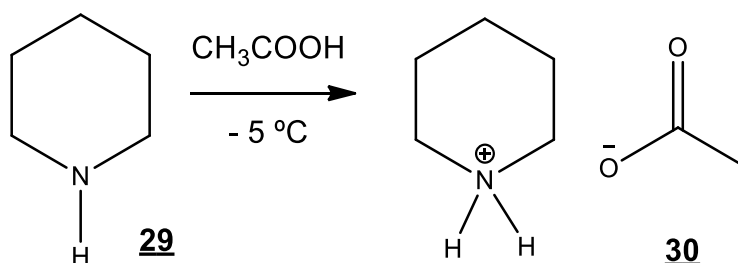
Figura 31 - Espectro de massas (MALDI/TOF) do ácido hidroxâmico isoxazolínico *p*-Cl **1a**

4.2 PARTE QUÍMICA – SÉRIE DE 6 MEMBROS

4.2.1 Síntese do trímero da piperideína **33**

A série dos híbridos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de seis membros foi obtida de maneira semelhante à série de cinco membros. No entanto, o reagente de partida foi a piperidina, utilizada para preparação do trímero da piperideína. Esta reação se divide em três etapas e resulta em cristais amarelos como produto final, com boa estabilidade e passível de armazenamento por longos períodos, diferentemente do trímero da pirrolina.

4.2.1.1 Preparação do acetato de piperidínio **30**

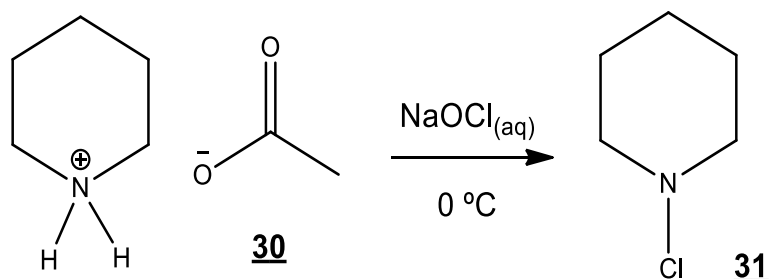


Esquema 31 - Síntese do acetato de piperidínio **30**

O acetato de piperidínio **30** foi sintetizado através de uma reação ácido base entre a piperidina **29** e o ácido acético glacial. A formação do sal acetato de piperidíneo

se faz necessária uma vez que a etapa subsequente ocorre em meio aquoso e a piperidina não é solúvel em água. O produto foi utilizado sem purificação prévia, já que tem rendimento quantitativo.

4.2.1.2 Obtenção da *N*-cloropiperidina **31**



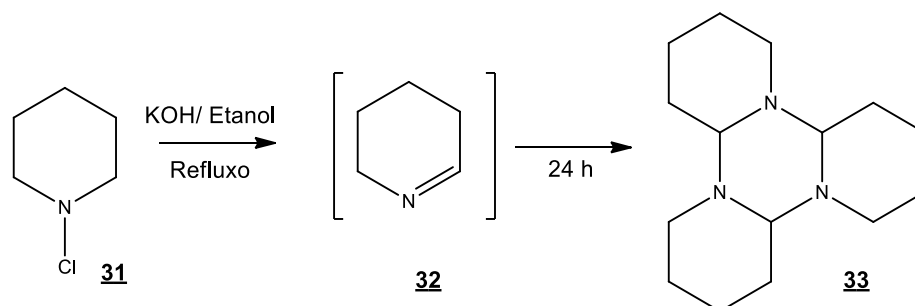
Esquema 32 - Síntese da *N*-cloropiperidina **31**

A *N*-cloração da piperidina **30** ocorre por meio da reação entre o acetato de piperidíneo e o hipoclorito de sódio, através de um mecanismo radicalar.

Para esta síntese é normalmente empregada uma solução de hipoclorito de cálcio preparada conforme metodologia descrita por Claxton et al (2003), a partir de hipoclorito de cálcio 65%, comumente utilizado em limpezas de piscinas. A substituição por solução de hipoclorito de sódio (de uso hospitalar) proporcionou otimização de tempo e processo, uma vez que o procedimento anteriormente empregado no preparo da solução de hipoclorito de cálcio era lento e trabalhoso (*overnight* em agitação e filtração em funil sinterizado).

A substituição por hipoclorito de sódio (de uso hospitalar, ~ 12,5% m/v) só foi possível por ser uma solução concentrada, não sendo necessária a utilização de grande volume de solução na reação, diferente do hipoclorito de sódio comercial (~ 2,5% m/v) que inviabilizaria o processo. Para confirmação e determinação da concentração da solução de hipoclorito de sódio foi realizada uma titulação de acordo com o método iodométrico (KI e Na₂S₂O₃).

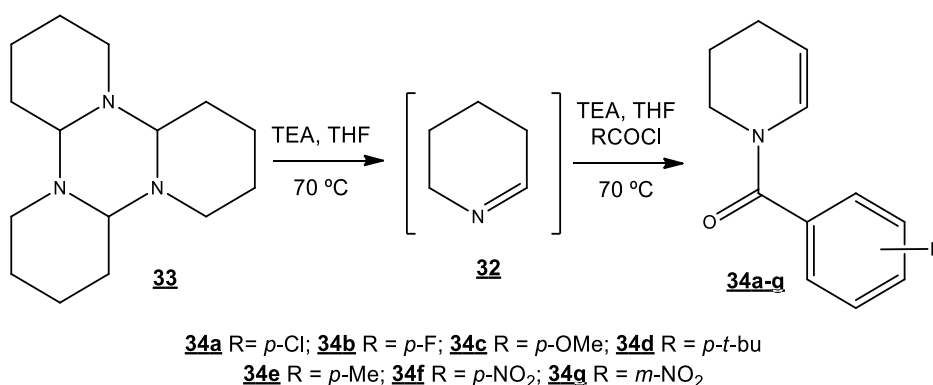
4.2.1.3 Obtenção do trímero da piperideína **33**



A reação entre a *N*-cloropiperidina **31** e o hidróxido de potássio origina o monômero 1-piperideína **32**, por eliminação de HCl. O monômero por ser altamente instável sofre processo de trimerização formando o seu respectivo trímero **33** no meio reacional.

O trímero foi isolado por meio de cristalização com acetona gelada (- 20 °C), resultando em cristais amarelos com rendimento global de 40%. A confirmação da formação do produto foi realizada através da verificação da faixa de fusão (58-62 °C), conforme descrito na literatura.

4.2.2 Síntese das enamidas endocíclicas de 6 membros **34**



Esquema 34 - Síntese das enamidas endocíclicas de seis membros **34**

As enamidas endocíclicas de seis membros **34** foram obtidas a partir da adaptação da metodologia de síntese dos análogos de cinco membros, descrita por Dos Santos (2003). Essa reação se processa em temperatura de refluxo e a destrimerização do trímero **33** ocorre por meio da energia térmica fornecida. O

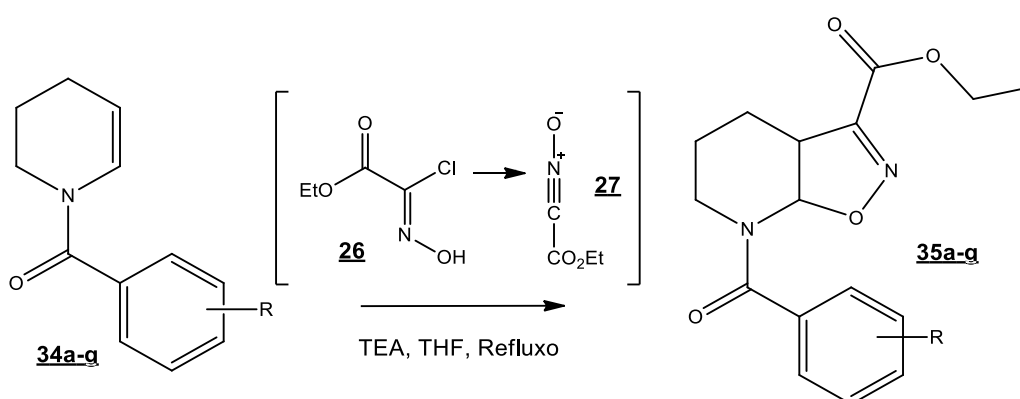
mecanismo da reação bem como as características dos reagentes segue o mesmo raciocínio descrito para as enamidas de cinco membros.

Foram empregados os mesmos substituintes e observa-se na cromatografia em camada delgada que as enamidas de seis membros são obtidas com uma reação mais limpa e rendimentos relativamente melhores que os análogos de cinco membros. Esse fato pode ser atribuído a pureza dos trimeros usados, na série de cinco membro o trímero da pirrolidina é utilizado bruto, enquanto na série de seis membros o trímero da piperidina é utilizado na forma de cristais puros. Os rendimentos dos produtos sintetizados estão descritos na tabela abaixo:

Tabela 4 - Rendimento das enamidas endocíclicas de seis membros

Enamidas <i>N</i> -aril-substituídas	Rendimento (%)
34a <i>p</i> -Cl	75
34b <i>p</i> -F	89
34c <i>p</i> -OMe	77
34d <i>p</i> - <i>terc</i> -butil	71
34e <i>p</i> -toluil	85
34f <i>p</i> -NO ₂	53
34g <i>m</i> -NO ₂	53

4.2.3 Síntese dos cicloadutos ésteres de 6 mebrs **35**



35a R = *p*-Cl; **35b** R = *p*-F; **35c** R = *p*-OMe; **35d** R = *p*-*t*-bu **35e** R = *p*-Me; **35f** R = *p*-NO₂; **35g** R = *m*-NO₂

Esquema 35 - Síntese dos cicloadutos isoxazolinônicos azabíclicos de seis membros **35**

A formação do heterobícclo isoxazolícnco de seis membros **35** ocorre pelo mesmo processo de cicloadição 1,3-dipolar descrito para a série de cinco membros.

Quanto à metodologia de síntese, se diferem com relação a temperatura empregada. As reações foram realizadas utilizando refluxo, uma vez que, em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa, foi observado um aumento de cerca de 10% nos rendimentos das reações em relação às realizadas à temperatura ambiente.

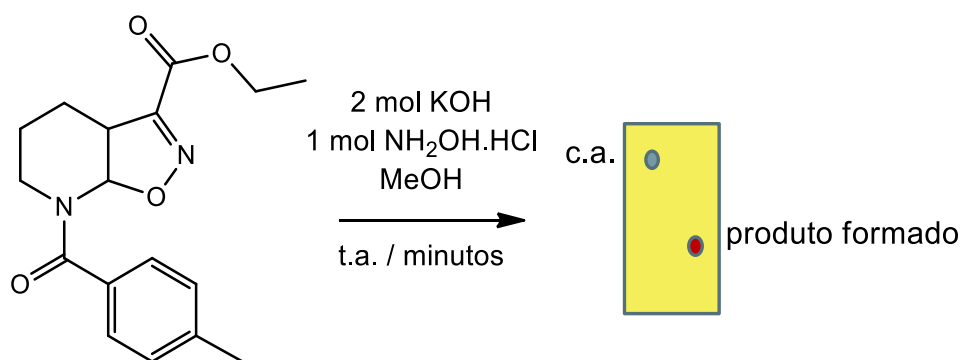
Diferente das reações dos análogos de cinco membros, as enamidas de seis membros não são completamente consumidas na reação de cicloadição, mesmo com a adição de mais um equivalente de trietilamina e do clorooximidoacetato de etila, podendo-se inferir que a reação entra em equilíbrio químico. Os rendimentos obtidos (Tabela 5) são relativamente menores para essa série, quando comparada com a série de cinco membros, no entanto a enamida não consumida é completamente recuperada no processo de purificação.

Estas diferenças podem ser atribuídas às reatividades diferentes da enamidas de cinco e seis membros. Outro fator é a temperatura em que a reação ocorre. Para série de seis membros a reação é realizada em temperatura de refluxo, que favorece a formação do dímero do precursor do CEFNO, diminuindo um dos reagentes da reação.

Tabela 5 - Rendimentos dos cicloadutos isoxazolícnicos de seis membros

Cicloadutos <i>N</i> -aril-substituídos	Rendimento (%)
35a <i>p</i> -Cl	35
35b <i>p</i> -F	32
35c <i>p</i> -OMe	36
35d <i>p</i> - <i>terc</i> -butil	42
35e <i>p</i> -toluil	46
35f <i>p</i> -NO ₂	34
<i>m</i> -NO ₂	56

4.2.4 Síntese dos híbridos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 6 membros



Esquema 36 – Primeira tentativa de síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos azabíclicos de 6 membros

Inicialmente a síntese dos ácidos hidroxâmicos foi feita utilizando excesso de base, na proporção de 2 mol de KOH para cada mol de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$. A reação aconteceu em alguns minutos e foi formado um produto com revelação pela solução de cloreto férrico, que foi isolado e submetido à análise de RMN de ^1H e ^{13}C . (Esquema 36). Os espectros não evidenciaram a formação do produto, uma vez que os sinais diagnósticos do heterobícclo isoxazolínicos na faixa de 6 ppm não apareceram no espectro de RMN de ^1H (Figura 32), embora tenham aparecido no espectro de infravermelho as bandas correspondentes aos estiramentos das ligações N-H e O-H da função ácido hidroxâmico, em 3034 cm^{-1} e 3293 cm^{-1} (Figura 33).

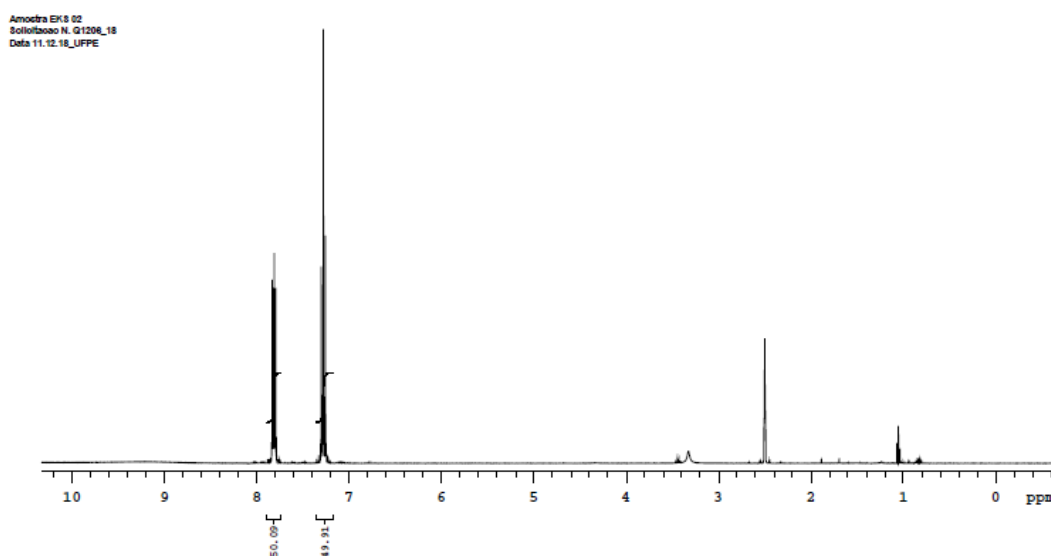


Figura 32 - Espectro de RMN ^1H do produto da reação utilizando DMSO-d_6 como solvente

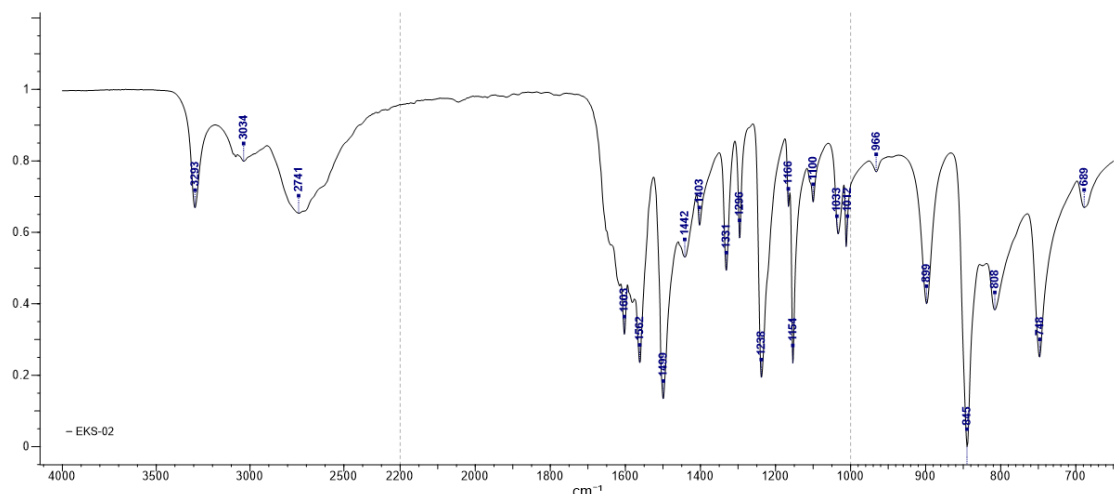
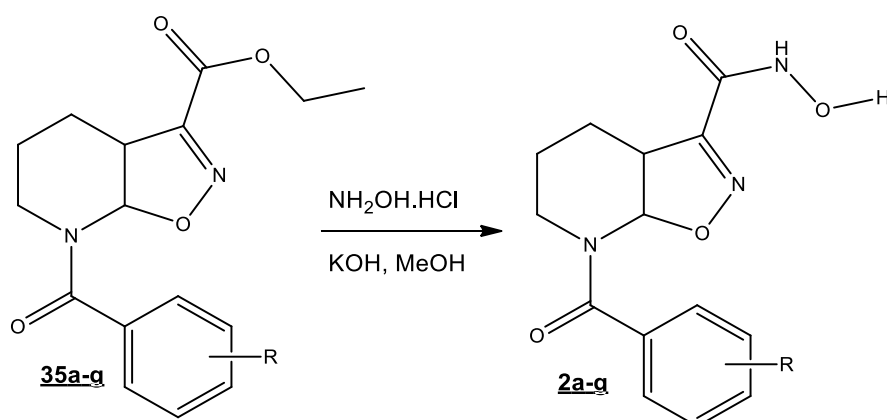


Figura 33 - Espectro de IV do produto da reação

Pelas características semelhantes apresentadas nos espectros obtidos para o subproduto de reação isolado na série de cinco membros, sugere-se se tratar do mesmo tipo de reação, com formação de *N*-hidroxibenzamida.

Posteriormente, as reações foram realizadas utilizando quantidades equimolares de cloridrato de hidroxilamina e KOH. O processamento da reação ocorreu de maneira mais lenta com duração de dias, porém as análises espectroscópicas evidenciaram a formação dos produtos pretendidos. Semelhantemente à série de cinco membros, foram obtidas sete moléculas finais inéditas da série de seis membros (Esquema 37).



2a R = *p*-Cl; **2b** R = *p*-F; **1c** R = *p*-OMe; **2d** R = *p*-*t*-bu; **2e** R = *p*-Me; **2f** R = *p*-NO₂; **2g** R = *m*-NO₂

Esquema 37 - Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolinícos de 6 membros **2a-g**

Os rendimentos obtidos e tempos reacionais podem ser vistos na tabela abaixo:

Tabela 6 - Rendimentos dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos **2a-g**

Ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos <i>N</i> -aril-substituídos de seis membros	Rendimento (%)/ Tempo de reação
2a <i>p</i> -Cl	66 / 4 dias
2b <i>p</i> -F	75 / 4 dias
2c <i>p</i> -OMe	50 / 4,5 dias
2d <i>p</i> - <i>tert</i> -butil	48 / 3 dias
2e <i>p</i> -toluil	50 / 3,5 dias
2f <i>p</i> -NO ₂	42 / 8 dias
2g <i>m</i> -NO ₂	14 / 3 dias

Observa-se que o excesso de base tanto na série de cinco quanto de seis membros compromete a formação dos produtos desejados e o rendimento das reações, sendo mais expressivo na série de seis membros. Esse fato pode ser atribuído à flexibilidade e rigidez dos anéis de seis e cinco membros, respectivamente, que lhes conferem estabilidade e reatividade distintas.

4.2.4.1 Elucidação estrutural

Os novos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de seis membros foram elucidados estruturalmente por meio das técnicas espectrométricas de RMN ¹H e ¹³C, IV-ATR e massas e tiveram suas características físico-químicas determinadas. As análises de RMN foram realizadas tendo como solvente DMSO_{d6}. Todos os espectros podem ser visualizados no apêndice deste trabalho.

A caracterização estrutural das moléculas está exemplificada pelos espectros de RMN e IV da molécula *p*-NO₂ **2f** e espectro de massas da molécula **2a**. No espectro de RMN de hidrogênio do híbrido **2f** (Figura 34 e 35), os picos correspondentes aos hidrogênios lábeis do N-H e O-H, da função ácido hidroxâmico, aparecem em 9,23 e 11,29 ppm, respectivamente, bastante desblindados por estarem ligados a átomos muito eletronegativos. O núcleo isoxazolínico é confirmado com o sinal do hidrogênio 3a, da junção do biciclo, um multiplete em 4,01 ppm, que acopla com dois hidrogênios

diferentes e tem $J = 14,4$ Hz. O outro hidrogênio da junção dos anéis, o 7a, aparece em 5,91 ppm. Em 3,57 e 3,09 ppm, os hidrogênios diastereotópicos do metileno ligado ao nitrogênio e os dois dubletos em 7,73 ppm e 8,29 ppm, integrando para 2 hidrogênios cada, com $J = 8,8$ Hz, dos hidrogênios do anel aromático confirmam a estrutura da molécula.

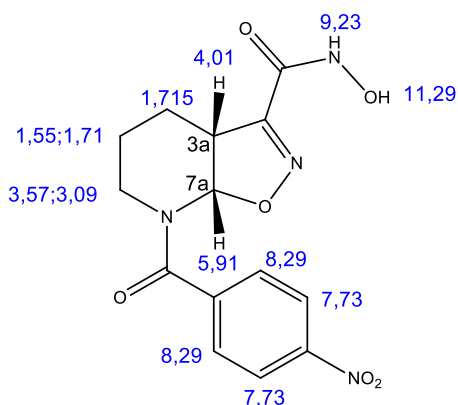


Figura 34 - Dados espectrométricos de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-NO **2f**

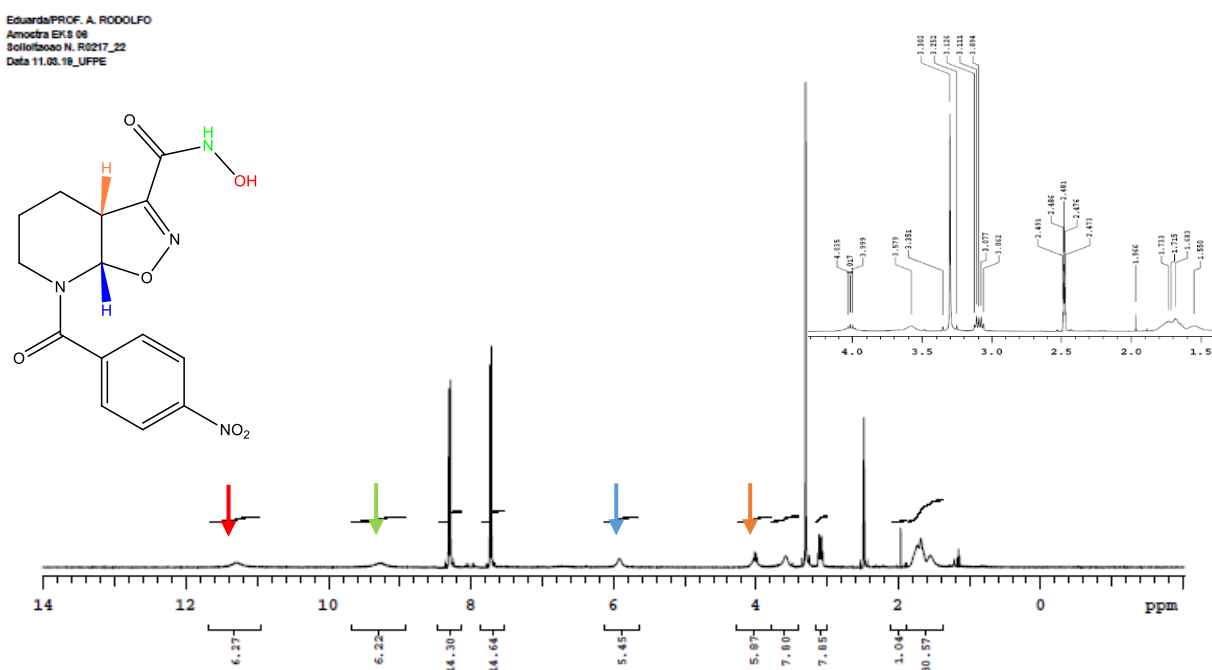


Figura 35 - Espectro de de RMN ^1H do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-NO₂ **2f**

O espectro de RMN de ^{13}C do composto **2f** (Figura 37) mostra os sinais diagnósticos em em 170,1 e 157,5 ppm referentes às carbonilas do ácido e da amida, respectivamente, o sinal do carbono 3a em 42,7 ppm e correspondente ao carbono

7a em 89,8 ppm. O sinal diagnóstico referente ao carbono 7a só apareceu nas moléculas substituídas com o grupamento nitro, nas posições meta e para, será necessária a repetição das análises. As atribuições dos outros sinais podem ser vistas na figura 36.

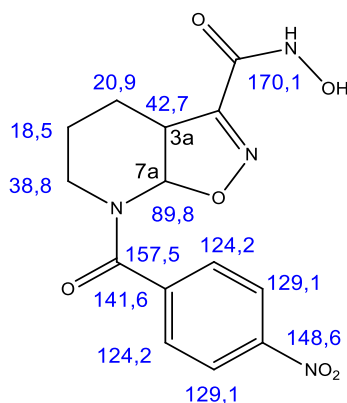


Figura 36 - Dados espectrométricos de RMN ¹³C do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-NO₂ **2f**

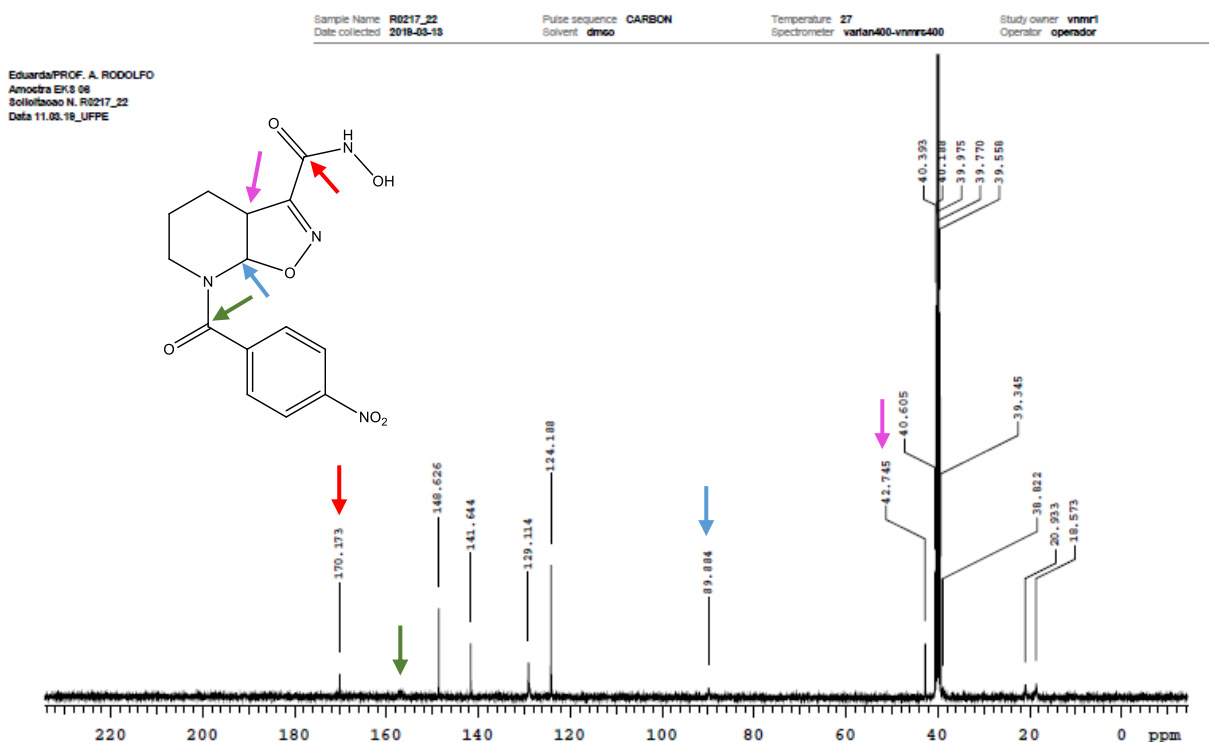


Figura 37 - Espectro de de RMN 13C do ácido hidroxâmico isoxazolinico *p*-NO₂ **2f**

No espectro de infravermelho da molécula **2f** (Figura 38) é possível observar as bandas correspondentes às funções presentes nos compostos sintetizados. Em 3389 cm⁻¹ e 3300 cm⁻¹ aparecem as bandas referentes ao estiramento da ligação O-

H e da ligação N-H da função ácido hidroxâmico, respectivamente. Em 2852 cm^{-1} estiramentos de cadeia saturada. Uma banda intensa referente as carbonilas aparece em 1635 e 1676 cm^{-1} , enquanto o estiramento da ligação NO_2 parece em 1518 e 1345 cm^{-1} e o estiramento da ligação $\text{C}=\text{N}$ aparece em uma banda de média intensidade em 1588 cm^{-1} .

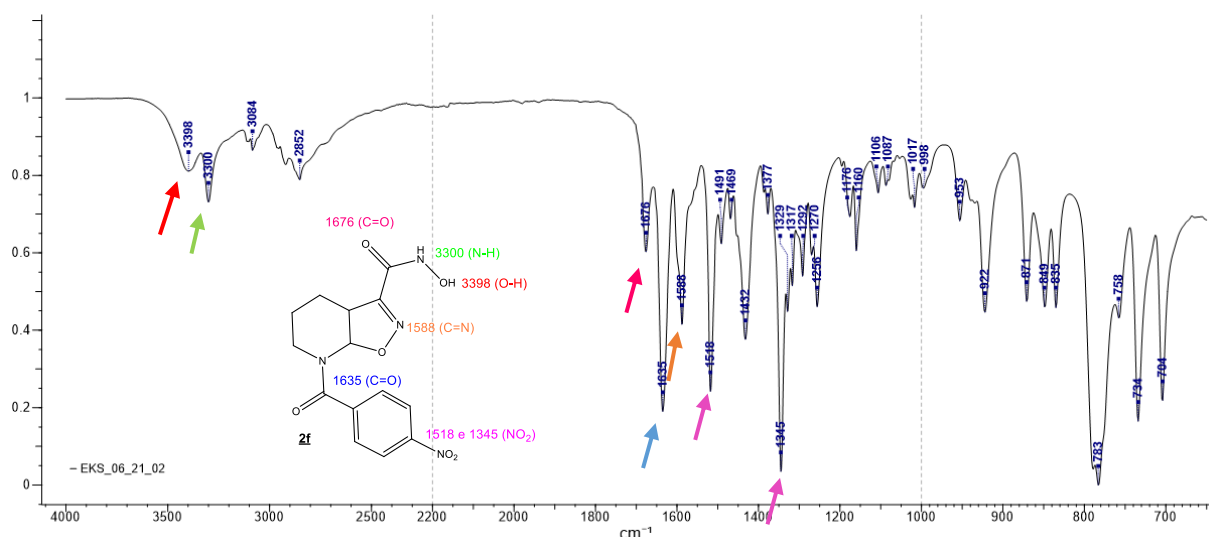


Figura 38 - Espectro de infravermelho (IV-ATR) do ácido hidroxâmico isoxazolinico de seis membros *p*-NO₂ **2f**

O espectro de massas foi obtido apenas para as moléculas substituídas com Cl, F, OMe e *t*-bu. A figura 55 ilustra o espectro de massas do composto *p*-Cl substituído **2a**, cuja massa molecular é de 323,73 g/mol. O espectro foi gerado a partir da ionização positiva da molécula com geração do íon molecular $\text{M}^+ + 1$, cuja massa calculada foi 324,0751 e a encontrada foi 324,0635. No espectro é possível observar, ainda, um pico em 326,0584 correspondente ao $\text{M}^+ + 2$, com um terço da intensidade do pico principal. Estes sinais comprovam a massa do composto sintetizado e a presença do átomo do Cl na estrutura do composto, uma vez que apresenta o perfil isotópico do cloro (^{35}Cl – mais comum e ^{37}Cl - 30% de abundância natural) (Figura 39).

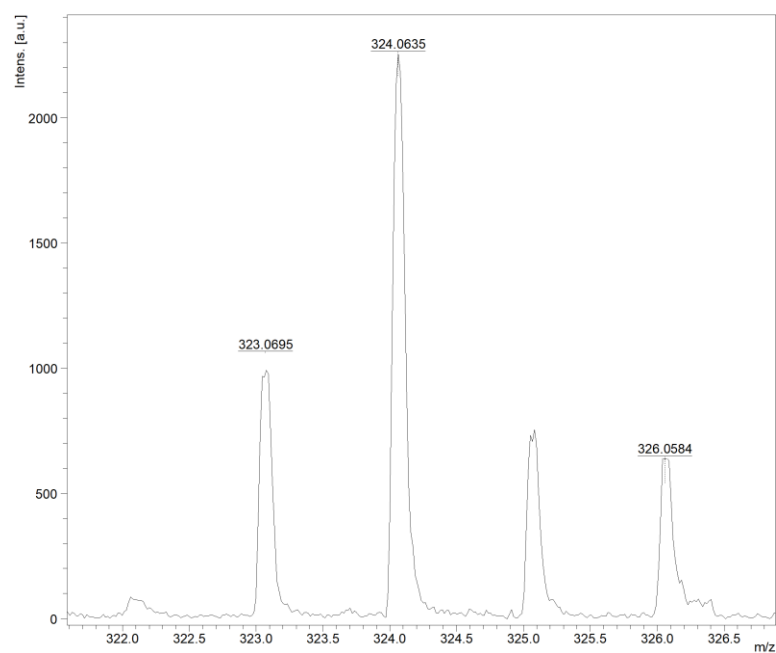


Figura 39 - Espectro de massas do ácido hidroxâmico isoxazolínico de seis membros *p*-Cl **2a**

5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

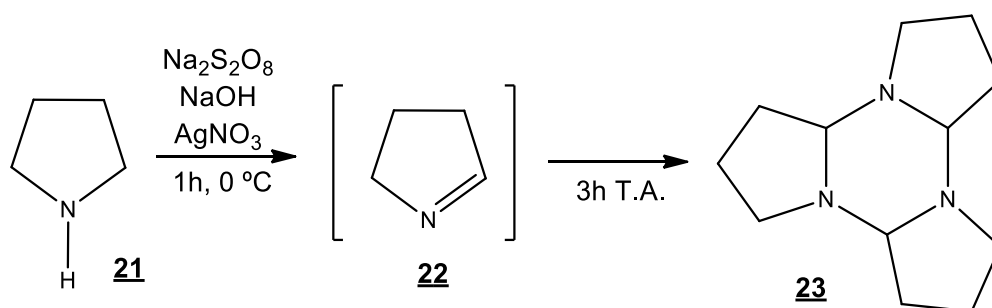
5.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

A síntese dos compostos foi realizada no Laboratório de Química Orgânica Aplicada à Fármacos, no Departamento de Ciências Farmacêuticas. As reações de síntese das enamidas endocíclicas e a cicloadição 1,3-dipolar, por serem reações sensíveis à umidade e, portanto, anidras, foram realizadas em vidrarias secas em estufa por 4 horas a 120°C, sob atmosfera de argônio e utilizando solventes tratados com agentes secantes para eliminação de água. O tetrahidrofurano (THF) foi tratado com Na⁰/benzofenona e a trietilamina (TEA) com hidreto de cálcio. Ambos foram destilados antes do uso. O acetato de etila e o hexano, utilizados em purificações por cromatografia em coluna *flash*, foram previamente destilados. Metanol e clorofórmio também foram utilizados em purificações em cromatografia em coluna *flash*, porém sem prévia destilação. Os reagentes utilizados nas reações foram da marca Aldrich e/ou Sigma e/ou Dinâmica. As análises em cromatografia de camada delgada (CCD) foram realizadas em cromatofolhas de alumínio (gel de sílica 60), contendo indicador para 254 nm. A visualização das manchas foi efetuada em lâmpada de U. V. λ 254nm, adsorção do iodo e revelação com solução ácida de cloreto férrico. 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 no aparelho FISATON® 431D, e, nas reações realizadas com sonicação foi utilizado o UNIQUE® USC 1400-A, com frequência 40 KHz. As análises de RMN de ¹H e ¹³C foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, onde os espectros foram obtidos no equipamento da Varian Unity® 300MHz e Varian Unmrs® 400MHz. Os deslocamentos químicos são expressos em ppm, tendo como padrão interno o tetrametilsilano para RMN de ¹H. Os solventes utilizados nas análises foram o CDCl₃-d₁, CH₃CN-d₃ ou DMSO-d₆. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, no Departamento de Ciências Farmacêuticas, utilizando o equipamento PerkinElmer® (Spectrum 400), com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de selênio e aparelhos Bruker IFS 66 (transformada de Fourier). As frequências de absorção foram expressas em cm⁻¹. As análises de massas dos compostos finais

foram realizadas no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste, sendo obtidas no espectrômetro de Massa MALDI-TOF Autoflex III (Bruker Daltonics, Billerica, MA, USA), Laser Nd:YAG Smartbeam®, 355 nm, na frequência de 100 Hz, utilizando como matriz ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico - HCCA (10 mg/mL) em acetonitrila (ACN) 50% e ácido trifluoroacético (TFA) 0,3%, da Fluka e Sigma, respectivamente.

5.2 SÉRIE DE ISOXAZOLINAS DE CINCO MEMBROS

5.2.1 Síntese do trímero da 1-pirrolina 23



Esquema 38 - Síntese do trímero da Δ^1 -pirrolina 23

Em um balão de fundo redondo, em banho de gelo (0 °C), foi adicionada a pirrolidina 21 (11,6 mL; 138 mmol) e soluções aquosas de hidróxido de sódio (11,48 g; 287 mmol) e nitrato de prata (0,118 g; 0,694 mmol), previamente preparadas com 140 mL de água destilada. Ao meio reacional foi adicionada lentamente uma solução aquosa de persulfato de sódio (33,82 g; 142 mmol; 134 mL). Após o término da adição, a reação permaneceu em agitação vigorosa durante uma hora à temperatura de 0 °C e mais três horas a temperatura ambiente (Esquema 38).

O isolamento do produto 23 foi realizado por meio de extração com diclorometano (3x 120 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo castanho viscoso, com rendimento médio de 70%.

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE 23

Fórmula molecular: C₁₂H₂₁N₃

Peso molecular: 207,32 g/mol

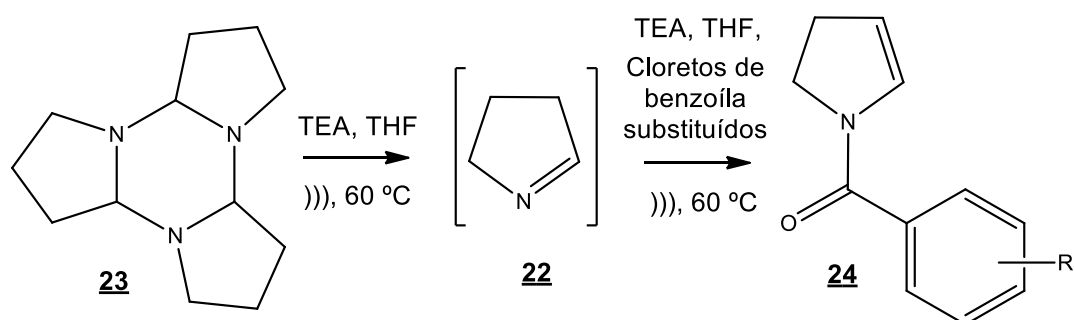
Característica física: Óleo viscoso castanho

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **23**

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, 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 Síntese das enamidas endocíclicas **24**

5.2.2.1 Síntese da *N*-(4-clorobenzoil)-2-pirrolina **24a**



24a R = *p*-Cl; **24b** R = *p*-F; **24c** R = *p*-OMe; **24d** R = *p*-*t*-bu

24e R = *p*-Me; **24f** R = *p*-NO₂; **24g** R = *m*-NO₂

Esquema 39 – Esquema geral para síntese das enamidas endocíclicas **24**

O trímero da Δ^1 -pirrolina **23** foi solubilizado em THF, previamente seco e à esta solução foi adicionada a trietilamina (TEA). A mistura foi submetida à sonicação e a temperatura de 60 °C em aparelho de ultrassom durante 30 minutos. Posteriormente foi adicionado lentamente o cloreto de benzoíla *para* ou *meta* substituído e a reação permaneceu sob as mesmas condições por mais duas horas (Esquema 39). A formação do produto **24** foi confirmada por cromatografia em camada delgada (CCD).

A suspensão resultante foi filtrada em funil de vidro sinterizado e o solvente removido em evaporador rotatório. Os produtos foram purificados em cromatografia em coluna *flash*, utilizando acetato de etila e hexano como sistema de eluição.

A quantidade dos reagentes e solventes utilizados, bem como o rendimento das moléculas sintetizadas podem ser vistas na tabela 7 e os dados físico-químicos na tabela 8.

Tabela 7 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação das enamidas **24a-g**

Enamida	Trímero	Cloreto de benzoíla	TEA	THF	Sistema de eluição/ Rendimento
24a <i>p</i> -Cl	1,9778 g (9,7801 mmol)	<i>p</i> -Cl: 2,52 mL (19,5614 mmol)	3,3 mL (19,5613 mmol)	87 mL	1:5 / 32%
24b <i>p</i> -F	3,1518 g (15,2025 mmol)	<i>p</i> -F: 3,69 mL (31,2901 mmol)	4,24 mL (32,5974 mmol)	160 mL	3:7 / 45%
24c <i>p</i> -OMe	3,1236 g (15,0665 mmol)	<i>p</i> -OMe: 4,0 mL (32,9049 mmol)	4,28 mL (30,7094 mmol)	96 mL	1:1 / 50%
24d <i>p-t</i> -butil	2,8774 g (13,8852 mmol)	<i>p-t</i> -butil: 5,7 mL (28,459 mmol)	4,80 mL (28,4590 mmol)	100 mL	1,5:8,5 / 44%
24e <i>p</i> -Me	3,2446 g (15,6502 mmol)	<i>p</i> -Me: 4,94 mL (31,3004 mmol)	5,28 mL (31,3004 mmol)	139 mL	3,5:6,5 / 13%
24f <i>p</i> -NO ₂	3,8787 g (18,7087 mmol)	<i>p</i> -NO ₂ : 3,464 g (18,6688 mmol)	5,0 mL (36,4323 mmol)	119 mL	3:7 / 16%
24g <i>m</i> -NO ₂	3,2446 g (15,6502 mmol)	<i>m</i> -NO ₂ : 5,89 g (31,3016 mmol)	5,28 mL (31,3002 mmol)	139 mL	2:3 / 18%

Tabela 8 - Propriedades físico-químicas de **24a-g**

Enamida	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	Rf
24a <i>p</i> -Cl	C ₁₁ H ₁₀ ClN O	207,66 g/mol	Sólido branco amorfo	75-76	0,55 (AcOEt/Hexano 3:7)
24b <i>p</i> -F	C ₁₁ H ₁₀ FNO	191,20 g/mol	Sólido branco amorfo	59,4 - 61	0,42 (AcOEt/hexano 1:1)
24c <i>p</i> -OMe	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂	203,24 g/mol	Óleo amarelo viscoso	-	0,29 (AcOEt/hexano 1:1)
24d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₁₅ H ₁₉ NO	229,32 g/mol	Cristais amarelados	78-80	0,52 (AcOEt/hexano 1:1)
24e <i>p</i> -Me	C ₁₂ H ₁₃ NO	187,24 g/mol	Óleo amarelado	-	0,28 (AcOEt/hexano 1:1)
24f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₃	218,21 g/mol	Cristais amarelos	148- 153	0,34 (AcOEt/hexano 1:1)
24f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₃	218,21 g/mol	Cristais alaranjados	104- 106	0,32 (AcOEt/hexano 1:1)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24a

RMN de ¹H (CDCl₃, δ, ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,70 (m; 2H); 4,0 (t; *J* = 8 Hz; 2H); 5,21 (m; 1H; rotâmero em 5,38); 6,40 (m; 1H; rotâmero em 7,06); 7,38 (d; *J* = 8 Hz; 2H), 7,45 (t; *J* = 12 Hz; 2H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, δ, ppm, 100 MHz, t.a.): 28,5 (CH₂); 45,8 (CH₂); 112,3 (CH); 128,8 (CH); 129,3 (CH); 130,4 (CH); 134,3 (C); 136,5 (C-Cl); 166,8 (C=O).

I.V. (filme, cm⁻¹), principais sinais:

2863; 1590; 1566; 1423; 846; 708.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24b

RMN de ¹H (CDCl₃, δ, ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,68 (m; 2H); 3,98 (tl; *J* = 8,7 Hz; 2H; rotâmero em 3,79); 5,19 (m; 1H; rotâmero em 5,36); 6,40 (m; 1H); 7,07 (m; 2H); 7,50 (m; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 28,2 (CH_2); 45,67 (CH_2); 112,0 (CH); 115,4 (d; $J = 21,7\text{Hz}$; CH); 129,9 (d; $J = 8,7\text{Hz}$; CH); 130,3 (CH); 131,8 (C); 163,6 (d; $J = 248\text{ Hz}$; C); 165,7 ($\text{C}=\text{O}$).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3.124; 3.078; 3.055; 2.966; 2.898; 2.865; 1.606; 1.508; 1.469; 1.428; 1.368; 1.289; 1.220; 1.153; 1.095; 847; 733; 567.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24c

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,68(m; 2H; rotâmero em 2,55); 3,81(s;3H); 3,98(m; 2H); 5,16(s; 1H); 6,50(s; 1H; rotâmero em 7,14); 6,89(m; 2H); 7,47(m; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.): 28,2(CH_2); 45,7(CH_2); 55,2(CH_3); 111,5(CH); 127,9(CH); 159,5(CH); 130,8(CH); 161,0(C); 167,0($\text{C}=\text{O}$).

I.V. – FT (janela de KBr, cm^{-1}), principais sinais: 2.957, 1.607, 1.574, 1.512, 1.404, 1.365, 1.110, 1.028, 839, 708.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24d

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,28(s; 9H); 2,65(m; 2H); 3,97(tl; $J = 8,7\text{Hz}$; 2H); 5,12(m; 1H; rotâmero em 5,31); 6,47(m; 1H; rotâmero em 7,05); 7,39(m; 4H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 28,2(CH_2); 31,0(CH_3); 34,6(C); 45,4 (CH_2); 111,2 (CH); 125,1(CH); 127,4(CH); 130,7(CH); 132,7 (C); 153,4 (C); 166,8($\text{C}=\text{O}$).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3.125; 3.045; 2.960; 2.867; 1.608; 1.413; 1.361; 996; 924; 854.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24e

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,37 (s; 3H); 2,69 (m; 2H); 4,0 (t; $J = 8\text{ Hz}$; 2H; rotâmero em 3,82); 5,16 (s; 1H; rotâmero em 5,34); 6,47 (s; 1H; rotâmero em 7,08); 7,20 (d; $J = 8\text{ Hz}$; 2H); 7,4 (t; $J = 4\text{ Hz}$; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.): 21,5 (CH_3); 28,5 (CH_2); 45,8 (CH_2); 111,4 (CH); 127,9 (CH); 129,1 (CH); 130,9 (CH); 140,6 (C); 167,1 ($\text{C}=\text{O}$).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 2856; 1602; 1567; 1412; 1366; 828.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24f

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,76 (m; 2H; rotâmero em 2,64); 4,06 (m; 2H; rotâmero em 3,79); 5,31 (m; 1H; rotâmero em 5,48); 6,34 (m; 1H; rotâmero 7,06); 7,70 (m, 2H); 8,29 (m, 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 28,4 (CH_2); 45,8 (CH_2); 123,8 (CH; rotâmero em 123); 128,8 (CH; rotâmero em 128,3); 129,5 (CH); 141,6 (C); 164,4 (C=O).

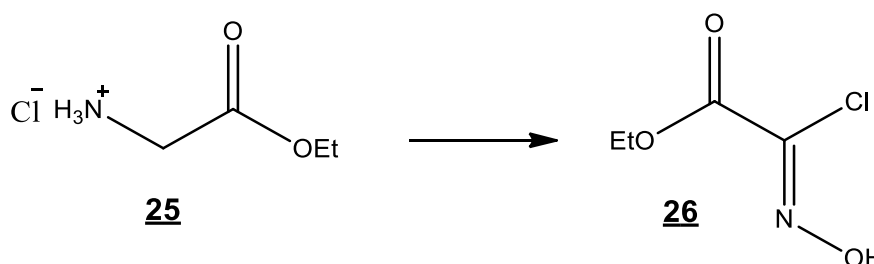
I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3.100; 2.968; 2.862; 1.595; 1.512; 1.427; 1.353; 1.316; 860.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 24g

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,73 (m; 2H; rotâmero em 2,62); 4,03 (m; 2H; rotâmero em 3,82); 5,29 (s; 1H; rotâmero em 5,44); 6,36 (s; 1H; rotâmero em 7,06); 7,62 (t; $J = 8,0$ Hz; 2H); 7,84 (dl; 1H) 8,29 (dl; 1H); 8,35 (s; 1H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.): 28,3 (CH_2); 45,8 (CH_2); 113,5 (CH); 122,7 (CH); 124,9 (CH); 129,5 (CH); 129,7 (CH); 133,6 (CH); 137,2 (C); 147,2 (C); 163,97 (C=O).

I.V. – FT (pastilha de KBr, cm^{-1}), principais sinais: 3.093; 2.957; 2.864; 1.635; 1.609; 1.531; 1.442; 1.348; 1.301; 718.

5.2.3 Síntese do clorooximidoacetato de etila (precursor do CEFNO) 26

Esquema 40 - Síntese do precursor (CEFNO) 26

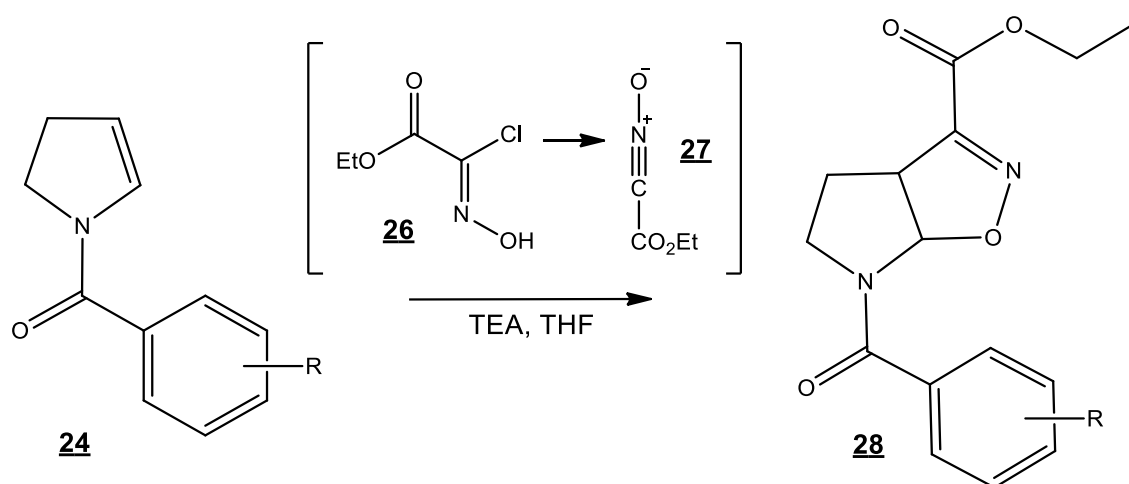
O cloridrato da glicina esterificada 25 (17,5 g; 0,1253 mol) foi solubilizado em água destilada (26,25 mL) e submetido à agitação e banho de gelo (0 °C). Em seguida foi adicionado ácido clorídrico concentrado (21,68 mL; 0,70 mol) e uma solução

aquosa de nitrito de sódio (17,5 g; 0,2536 mol; 30,6 mL de água). A adição desses reagentes foi feita adicionando-se metade do volume do ácido, seguida da metade do volume da solução do NaNO₂ e posteriormente a outra metade do volume do ácido e da solução do NaNO₂. A mistura reacional permaneceu sob agitação à 0 °C por 20 minutos (Esquema 40). O produto **26** foi extraído com diclorometano (6x 35 mL) e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado em evaporador rotatório e hexano gelado foi adicionado ao meio para precipitação do produto. O rendimento da reação foi de 40%.

Tabela 9 - Propriedades físico-químicas de **26**

Composto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F.
26	C ₄ H ₆ ClNO ₃	151,55 g/mol	Cristais brancos	80 °C

5.2.4 Cicloadição 1,3-dipolar das enamidas endocíclicas com o óxido de carboetoxiformonitrila (CEFNO)



28a R = *p*-Cl; **28b** R = *p*-F; **28c** R = *p*-OMe; **28d** R = *p*-*t*-bu

28e R = *p*-Me; **28f** R = *p*-NO₂; **28g** R = *m*-NO₂

Esquema 41 – Esquema de síntese geral para a síntese dos cicloadutos **28a-g**

A enamida endocíclica de cinco membros **24a-g** foi solubilizada em THF e sob agitação vigorosa foi adicionada a TEA. Paralelamente foi preparada uma solução com o clorooximidoacetato de etila em THF e esta foi adicionada à reação lentamente via funil de adição (Esquema 41). Após uma hora, o término da reação foi evidenciado

por CCD. A suspensão resultante foi filtrada em funil de vidro sinterizado e o solvente evaporado em evaporador rotatório. Os produtos **28a-g** foram purificados em cromatografia em coluna *flash*, utilizando acetato de etila e hexano como sistema de eluição.

A quantidade dos reagentes e solventes utilizados, bem como o rendimento das moléculas sintetizadas podem ser vistas na tabela 10 e os dados físico-químicos na tabela 11.

Tabela 10 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos cicloadutos **28a-g**

Cicloaduto	Enamida	Precursor do CEFNO / THF	TEA	THF	Sistema de eluição/ Rendimento
28a <i>p</i> -Cl	24a 1,2509g (6,0237 mmol)	1,0489g (6,9213 mmol) / 7,5 mL	1,06 mL (7,634 mmol)	32 mL	1:5 / 93%
24b <i>p</i> -F	24b 2,7162 g (14,2060 mmol)	2,4738 g (16,259 mmol) / 16 mL	2,49 mL (14,8083 mmol)	24 mL	3,5:7,5 / 70%
28c <i>p</i> -OMe	24c 1,8601 g (9,1522 mmol)	1,5377 g (10,147 mmol) / 11 mL	1,58 mL (9,4029 mmol)	30 mL	4,5:6,5 / 83%
28d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	24d 3,5572 g (15,5119 mmol)	2,6074 g (19,197 mmol) / 18,6 mL	2,67 mL (19,219 mmol)	51,5 mL	3,5:7,5 / 73%
28e <i>p</i> -Me	24e 2,06 g (11,0019 mmol)	1,8340 g (13,5029 mmol) / 6 mL	1,88 mL (13,5324 mmol)	30 mL	1,5:3,5 / 96%
28f <i>p</i> -NO ₂	24f 2,0687 g (9,4802 mmol)	1,6583 g (10,8992 mmol) / 5,0 mL	1,68 mL (12,0754 mmol)	50 mL	2:3 / 57%
28g <i>m</i> -NO ₂	24g 1,2425 g (5,6940 mmol)	0,9740 g (6,3724 mmol) / 2,7 mL	0,99 mL (7,1218 mmol)	19 mL	2:3 / 86%

Tabela 11 - Propriedades físico-químicas de **28a-g**

cicloaduto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	R _f (AcOEt/hexano 1:1)
28a <i>p</i> -Cl	C ₁₅ H ₁₅ ClN ₂ O ₄	322,74 g/mol	Sólido amorfo amarelado	102-104	0,38
28b <i>p</i> -F	C ₁₅ H ₁₅ FN ₂ O ₄	306,10 g/mol	Sólido amorfo amarelado	83-84	0,39
28c <i>p</i> -OMe	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₅	318,12 g/mol	Óleo viscoso amarelado	-	0,32
24d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	344,40 g/mol	Sólido amorfo amarelado		0,5
24e <i>p</i> -Me	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₄	302,33 g/mol	Óleo amarelado	-	0,21
24f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₆	333,30 g/mol	Cristais brancos	110	0,35
24f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₆	333,30 g/mol	Óleo alaranjado	-	0,31

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28a

RMN de ¹H (CDCl₃, δ, ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,36 (t; *J* = 7,0Hz; 3H); 2,19 (ml; 1H); 2,37 (dd; *J* = 5,9Hz; *J* = 12,9Hz; 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* = 8,4Hz; 2H); 7,6 (ml; 2H).

RMN de ¹³C (CDCl₃, δ, ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 14,0 (CH₃); 27,8 (CH₂); 43,5 (CH₂); 51,1 (CH); 62,3 (CH₂); 95,8 (CH); 128,6 (CH); 129,5 (CH); 133,1 (C); 137,0 (C); 152,2 (C); 159,7 (C=O); 168,5 (C=O).

I.V. (filme, 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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28b

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

1,38 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,22 (ml; 1H); 2,40 (dd; $J = 6,0\text{Hz}$; $J = 13,5\text{Hz}$; 1H); 3,20 (ml; 1H); 4,12 (t; $J = 8,0\text{Hz}$; 1H); 4,36 (m; 3H); 6,22 (sl; 1H); 7,12 (m; 2H); 7,69 (sl; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 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; $J = 21,5\text{Hz}$; CH); 130,4 (CH); 164,1 (d; $J = 250,0\text{Hz}$; C-F); 131,0 (C); 152,4 (C); 159,8 (C=O); 168,7 (C=O).

I.V. (filme, 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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28c

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 1,38 (t; $J = 7,1\text{Hz}$; 3H); 2,19 (ml; 1H); 2,35 (dd; $J = 6,0\text{Hz}$; $J = 13,3\text{Hz}$; 1H); 3,22 (sl; 1H); 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 de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, 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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28d

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,30 (s; 9H); 1,36 (t; $J = 7,2\text{Hz}$; 3H); 2,18(m; 1H); 2,34 (dd; $J = 6,1\text{Hz}$; $J = 13,2\text{Hz}$; 1H) 3,16 (sl; 1H); 4,08 (m; 2H); 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 de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 14,00 (CH_3); 27,9 (CH_2); 31,5 (CH_3); 34,8 (CH_2); 40,5 (C); 50,78 (CH); 62,26 (CH_2); 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. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 2.923; 1.722; 1.651; 1.613; 1.587; 1.405; 1.270; 1.019; 853.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28e

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 400 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,39 (t; $J = 7,6\text{Hz}$; 3H); 2,2 (m; 1H); 2,39 (s; 3H); 3,19 (sl; 1H); 4,07 (t; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 4,38 (m; 2H); 6,24 (sl; 1H); 7,24 (d; $J = 8,4\text{Hz}$; 2H); 7,57 (sl; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 100 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 14,03 (CH_3); 21,40 (CH_3); 28,04 (CH_2); 43,12 (CH_2); 50,89 (CH); 62,29 (CH_2); 96,31 (C-O); 128,06 (C); 129,01 (C); 131,92 (C); 141,26 (C); 152,25 (C=N); 159,94 (C=O); 169,74 (C=O).

I.V. - ATR (cm^{-1}), principais sinais: 2.983, 1.718, 1.645, 1.381, 1.266; 1.777; 1.124, 1.016, 928, 830.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28f

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,36 (t; $J = 7,2\text{Hz}$; 3H); 2,24 (m; 1H); 2,42 (dd; $J = 6,1\text{Hz}$; $J = 13,3\text{Hz}$; 1H); 3,21 (ml; 1H); 4,13 (m; 1H); 4,35 (m; 3H); 6,07 (d; $J = 7,8\text{Hz}$; rotâmero em 6,91); 7,83 (dl; $J = 7,8\text{Hz}$; 2H); 8,28 (d; $J = 8,7\text{ Hz}$; 2H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 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. (filme, 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; 150.02432; 218.06591; 234.06628; 316.09288; 333.09763 (M+).

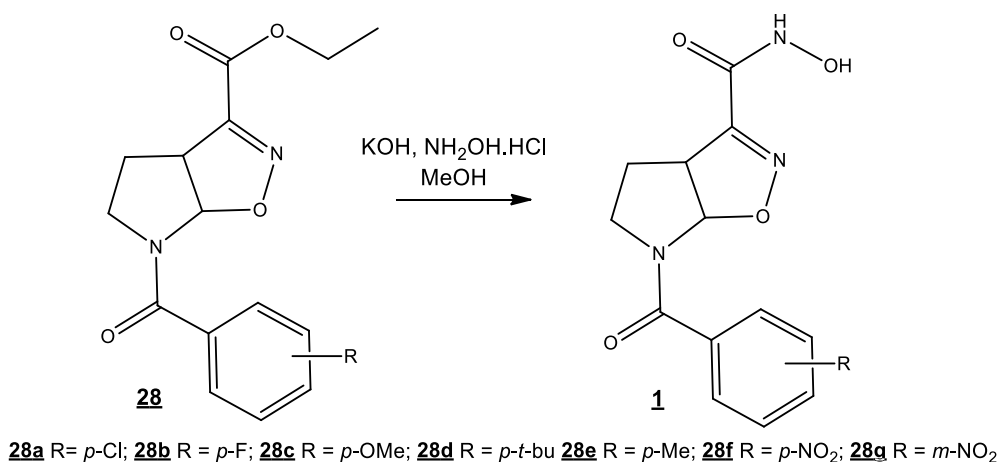
DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 28g

RMN de ^1H (CDCl_3 , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,36 (t; $J = 7,0\text{Hz}$; 3H); 2,25 (m; 1H); 2,43 (dd; $J = 5,7\text{Hz}$; $J = 13,2\text{Hz}$; 1H); 3,23 (ml; 1H; rotâmero em 3,54); 4,15 (t; $J = 8,1\text{Hz}$; 1H); 4,35 (m; 3H); 6,13 (d; $J = 5,4\text{Hz}$; 1H; rotâmero em 6,91); 7,65 (t; $J = 8,0\text{Hz}$; 1H); 7,99 (sl; 1H); 8,30 (d; $J = 8,4\text{Hz}$; 1H); 8,49 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , δ , ppm, 75 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 13,95 (CH_3); 27,54 (CH_2); 43,63 (CH_2); 51,45 (CH); 62,4 (CH_2); 95,4 (CH); 123,12 (CH); 125,4 (CH); 129,73 (CH); 133,8 (CH); 136,42 (C); 147,94 (C); 152,4 (C-N); 159,6 (C=O); 167,15 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 2.934, 1.725, 1.657, 1.587, 1.532, 1.478, 1.439, 1.403, 1.350, 1.269, 922, 880.

5.2.5 Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos **1a-g**



Esquema 42 - Síntese do ácido hidroxâmico isoxazolínicos *p*-Cl **1a**

Inicialmente foram preparadas, separadamente, uma solução de cloridrato de hidroxilamina em metanol e uma solução de hidróxido de potássio, também em metanol. As duas soluções foram misturadas e agitadas durante 15 minutos. A suspensão resultante foi filtrada para eliminação do KCl precipitado.

Paralelamente, o cicloaduto éster **28a-g** foi solubilizado em metanol e arrefecido com banho de gelo (0 °C). Ao cicloaduto foi adicionado o filtrado da solução de hidroxilamina e hidróxido de potássio gota a gota (Esquema 42). Após a adição, o banho de gelo foi removido e o final da reação foi acompanhado por CCD. A formação do ácido hidroxâmico **1a** foi evidenciada utilizando, como revelador, uma solução de cloreto férrico. Na CCD a mancha do produto adquire coloração púrpura-vermelho.

Após o término da reação, o metanol foi removido em evaporador rotatório, o produto foi solubilizado em água (~ 1 mL) e o meio foi neutralizado com solução de ácido acético (1,25 mol.L⁻¹). O produto foi extraído da água com acetato de etila (5 x 5 mL). Para purificação, foi realizada uma cromatografia em coluna “flash”, utilizando metanol e clorofórmio (CHCl₃) (1:9) como sistema de eluição, seguida de recristalização com etanol e hexano.

Tabela 12 - Propriedades físico-químicas de **1a-g**

Composto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	R _f (MeOH/CHCl ₃ 1:9)
1a <i>p</i> -Cl	C ₁₃ H ₁₂ ClN ₃ O ₄	309,71 g/mol	Sólido amorfo salmão	166-168	0,26
1b <i>p</i> -F	C ₁₃ H ₁₂ FN ₃ O ₄	293,08 g/mol	Sólido branco amorfo	105-107	0,28
1c <i>p</i> -OMe	C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O ₅	305,10 g/mol	Sólido amorfo alaranjado	157-160	0,28
1d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₁₇ H ₂₁ N ₃ O ₄	331,37 g/mol	Sólido amorfo alaranjado	95-98	0,30
1e <i>p</i> -Me	C ₁₄ H ₁₅ N ₃ O ₄	289,29 g/mol	Sólido amorfo branco	166-168	0,28
1f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₆	320,08 g/mol	Sólido amorfo amarelo	Degrada a 170°C	0,24
1f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₆	320,08 g/mol	Sólido amorfo amarelado	115-117	0,28

Tabela 13 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos híbridos **1a-g**

Composto	Ciclooaduto / MeOH	NH ₂ OH.HCl/ MeOH	KOH/ MeOH	Tempo de reação	Purificação/ Rendimento
1a <i>p</i> -Cl	28a 0,25g (0,7790 mmol) / 2,6 mL	0,3997 g (5,7517 mmol) / 3,5 mL	0,32274 g (5,7517 mmol) / 2,4 mL	7 dias	Recristalização com etanol e hexano / 57%
1b <i>p</i> -F	28b 0,2 g (0,6889 mmol) / 2,0 mL	0,3912 g (5,6308 mmol) / 3,1 mL	0,2951 g (5,6308 mmol) / 2,0 mL	5,5 dias	Recristalização com etanol e hexano / 70%
1c <i>p</i> -OMe	28c 0,5 g (1,5707 mmol) / 4,0 mL	0,87 g (12,4571 mmol) / 4,0 mL	1,408 g (24,9152 mmol) / 4,0 mL	minutos	Cromatografia em coluna <i>flash</i> (MeOH/ CHCl ₃ 1:9) e recristalização com etanol e hexano / 50%
1d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	28d 0,5 g (1,4518 mmol) / 4,0 mL	0,8041 g (11,5139 mmol) / 4,0 mL	1,3013 g (23,0285 mmol) / 4,0 mL	Minutos	Cromatografia em coluna <i>flash</i> (MeOH/ CHCl ₃ 1:9) / 55%
1e <i>p</i> -Me	28d 0,25 g (0,8220 mmol) / 2,0 mL	0,4546 g (6,0671 mmol) / 3,7 mL	0,349 g (6,0671 mmol) / 1,7 mL	6 dias	Recristalização com etanol e hexano / 73%
1f <i>p</i> -NO ₂	28f 0,5 g (1,5010 mmol) / 5,5 mL	0,8313 g (11,0941 mmol) / 4,5 mL	1,3454 g (23,8089 mmol) / 4,5 mL	Minutos	O produto pptou no meio/ lavagem com etanol/ 57%
1g <i>m</i> -NO ₂	28g 0,5 g (1,5010 mmol) / 1 mL	0,8313 g / (11,094 mmol) / 4,5 mL	1,3454 g (23,8089 mmol) / 4,5 mL	Minutos	Cromatografia em coluna <i>flash</i> (MeOH/ CHCl ₃ 1:9) e recristalização com etanol e hexano / 39%

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1a

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,18 (sl; 2H); 3,04 (sl; 1H); 3,48 (sl; 1H); 4,25 e 4,10 (m; 1H; rotâmeros); 6,14 e 6,63 (d; 1H; $J = 5,4$ Hz; rotâmeros); 7,74 (s; 4H); 9,33 (sl; 1H); 11,35 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 28,5 (CH_2); 52,2 (CH_2); 43,55 (CH); 93,94 (CH); 128,48 (CH); 129,46 (CH); 134,12 (C); 135,26 (C); 153,8 (C); 167,9 (C=O); 172,7 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3204,23 (N-H e O-H); 2884,41 (C-H); 1633,86 (C=O); 1590,74 (C=N); 755,05 (C-Cl).

HRMS – MALDTON (m/z): $[\text{M}^++1]$ calculado: 310,0594; encontrado: 310,0519.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1b

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,17 (sl; 2H); 3,05 (sl; 1H); 4,116 (sl; 1H); 4,23 (m; 1H); 6,65 e 6,16 (sl; 1H; rotâmeros); 7,32 (ft; 2 H; $J_1 = J_2 = 10,8$ Hz); 7,63 (sl; 2H); 9,35 (sl; 1H); 11,34 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 28,7 (CH_2); 52,2 (CH_2); 44,0 (CH); 95,0 (CH); 125,8 (CH; d; $J = 87,3$ Hz); 130,6 (CH; d; $J = 13,8$ Hz); 132,3 (C); 154,2 (C); 161,0 (C); 162,2 (C=O); 161,9 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3161,34 (N-H e O-H); 2815,04 (C-H); 1638,37 (C=O); 1603,92 (C=N); 1386,85 (C-F).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1c

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 2,15 (sl; 2H); 3,1 (sl; 1H); 3,435 (s; 3H); 4,15 (sl; 1H); 4,23 (t; 1H; $J = 14,7$ Hz); 6,2 (sl; 1H); 7,01 (d; 2H; $J = 9$ Hz); 7,55 (d; 2H; $J = 8,1$ Hz); 9,38 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 55,7 (CH_3); 19 (CH_2); 56,5 (CH_2); 40 (CH); 94 (CH); 114,1 (CH); 130,1 (CH); 156,6 (C); 154,3 (C); 127,7 (C); 168,9 (C=O); 161,5 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3232,58 (N-H e O-H); 2913,87 (C-H); 1655,36 e 1631,77 (C=O); 1597,41 (C=N); 1264,86 (C-O)

HRMS – MALDTON (m/z): $[\text{M}^++1]$ calculado: 306,1089; encontrado: 306,1072.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1d

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 1,3 (s; 9H); 2,16 (sl; 2H); 3,15 (sl; 1H); 4,24 (m; 1H); 4,15 (sl; 1H); 6,19 e 6,64 (sl; 1H; rotâmeros); 7,51 (fs; 4H); 9,32 (sl; 1H); 11,35 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 30,9 (CH_3); 14,0 (CH_2); 59,7 (CH_2); 34,5 (CH); 94 (CH); 125,1 (CH); 127,4 (CH); 40,3 (C); 132,5 (C); 153,3 (C); 160 (C); 170,2 (C=O); 169 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3247,00 (N-H e O-H); 2890,19 (C-H); 1635,20 (C=O); 1597,02 (C=N); 1412,07 (C-H).

HRMS – MALDTON (m/z): $[\text{M}^++1]$ calculado: 332,0835, encontrado: 332,1180.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1e

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,16 (sl; 2H); 2,35 (s; 3H); 3,02 (sl; 1H); 4,23 (m; 1H); 4,11 (sl; 1H); 6,17 e 6,63 (sl; 1H; rotâmeros); 7,28 (d; 2H; $J = 7,8$ Hz); 7,45 (sl; 2H); 9,41 (sl; 1H); 11,31 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 21,0 (CH_3); 26,9 (CH_2); 43,5 (CH_2); 52,1 (CH); 94,3 (CH); 127,7 (CH); 128,9 (CH); 132,5 (C); 140,5 (C); 153,9 (C); 156,2 (C=O); 162,5 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3247,00 (N-H e O-H); 2890,19 (C-H); 1635,20 (C=O); 1597,02 (C=N); 1412,07 (C-H).

HRMS – MALDTON (m/z): $[\text{M}^++1]$ calculado: 290,1140, encontrado: 290,8821.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 1f

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,09 (m; 2H); 3,02 (m; 1H); 3,33 (sl; 1H); 4,02 (m; 1H); 6,44 e 5,91 (d; 1H; $J = 7,5$ Hz; rotâmeros); 7,81 (m; 2H); 8,31 (m; 2H); 8,58 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 28,4 (CH_2); 43,5 (CH_2); 52,9 (CH); 92,4 (CH); 123,5 (CH); 128,9 (CH); 141,8 (C); 148,2 (C); 157,9 (C); 167,2 (C=O); 158,0 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3607,05 (O-H); 3301,96 (N-H); 16445,20 (C=O); 1598,83 (C=N); 1419,58 e 1344,39 (NO_2).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **1g**

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.), presença de rotâmeros: 2,21 (sl; 2H); 3,15 e 3,07 (sl; 1H; rotâmeros); 4,14 (sl; 1H); 4,26 (sl; 1H); 6,15 e 6,64 (sl; 1H; rotâmeros); 7,80 (sl; 1H); 7,99 (sl; 1H); 8,38 e 8,28 (sl; 2H, rotâmeros).

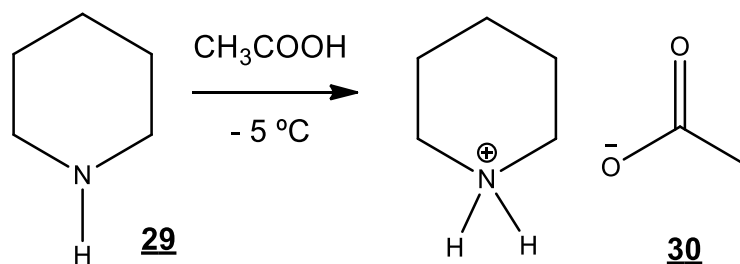
RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 300 MHz, t.a.): 26,7 (CH_2); 43,8 (CH_2); 52,5 (CH); 93,8 (CH); 122,4 (CH); 125,2 (CH); 130,4 (CH); 134,1 (CH); 136,8 (C); 147,6 (C); 154,1 (C); 166,9 ($\text{C}=\text{O}$); 156,0 ($\text{C}=\text{O}$).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3197,51 (N-H e O-H); 2882,38 (C-H); 1633,94 ($\text{C}=\text{O}$); 1403,82 e ~ 1300 (NO_2).

5.3 SÉRIE DE ISOXAZOLINAS DE SEIS MEMBROS

5.3.1 Síntese do trímero da 1-piperideína

5.3.1.1 Preparação do acetato de piperidínio **30**



Esquema 43 - Preparação do acetato de piperidínio **30**

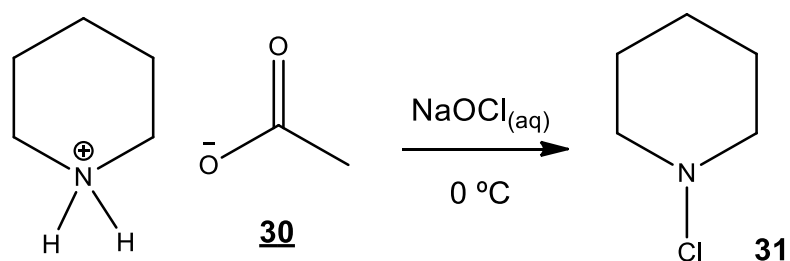
Em um balão foram adicionados 15 mL de piperidina **29** (155,85 mmol) e o meio reacional foi resfriado a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ com banho de gelo/ NH_4Cl . Com o sistema sob agitação e sem ultrapassar a temperatura de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, foi adicionado lentamente 8,76 mL (155,85 mmol) de ácido acético glacial, através da pipeta graduada. Ainda durante a adição do ácido foram colocadas algumas lascas de gelo no meio reacional, para completa solubilização do sal formado. Ao término do procedimento foi obtida uma solução aquosa límpida e viscosa, correspondendo ao acetato de piperidínio **30** (Esquema 43).

5.3.1.2 Titulação da solução de hipoclorito de sódio

Uma solução de hipoclorito de sódio concentrada e obtida comercialmente foi titulada a fim de verificar sua concentração. Para a titulação foram utilizados 25 mL de solução aquosa de KI 4% (m/v), 15 mL de solução aquosa de H₂SO₄ 10 % (v/v) e 1 mL da solução de hipoclorito de sódio. Estas soluções foram misturadas em um erlenmayer e adquiriram uma coloração vermelha escuro devido à redução do iodeto a iodo (I₂) pelo hipoclorito. O agente titulante utilizado foi uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 M.

Conforme adição do agente titulante a solução titulada foi sofrendo descoloração até atingir uma cor laranja claro, quando foi adicionado amido (previamente solubilizado em água, apenas algumas gotas foram utilizadas) e a solução adquiriu uma coloração azul, devido à interação iodo/amido. A titulação foi continuada e ponto de virada foi observado quando a coloração passou de azul para incolor. A concentração final do hipoclorito de sódio nessa titulação foi de 12,5%.

5.3.1.3 Obtenção da *N*-cloropiperidina **31**



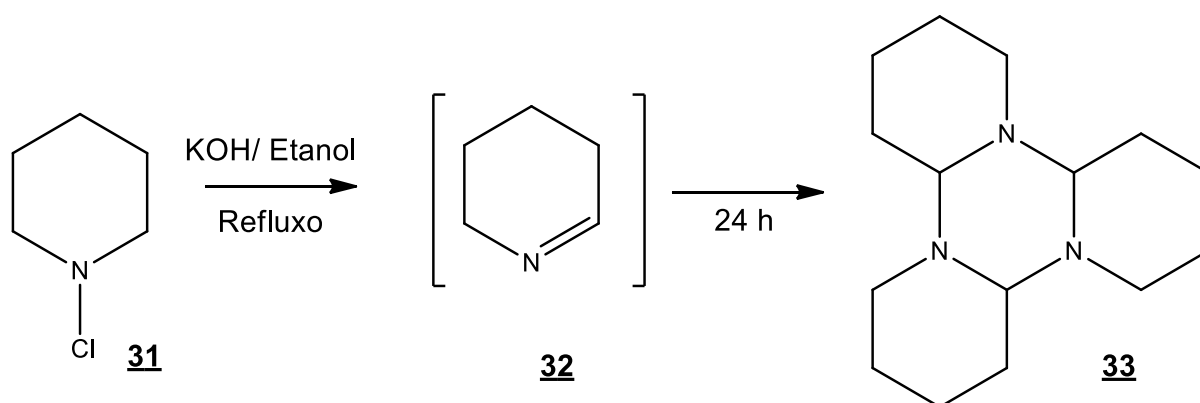
Esquema 44 - Reação de obtenção da *N*-cloropiperidina **31**

Em um balão foram adicionados 250 mL da solução de hipoclorito de sódio 12,5 % (218,56 mmol de NaOCl, quantidade em excesso). O sistema foi resfriado em banho de gelo ($\leq 0\text{ }^{\circ}\text{C}$) e colocado em agitação. Em seguida foi adicionada, lentamente via funil de adição, a solução de acetato de piperidínio **30**, anteriormente preparada.

A solução resultante permaneceu em agitação por 15 min. Observou-se a turvação do meio reacional devida a formação da *N*-cloropiperidina **31**, insolúvel em água (Esquema 44). Posteriormente foi realizada extração com éter etílico (3x 30mL). O extrato etéreo foi seco com sulfato de sódio anidro durante a noite e armazenado

em geladeira. Para utilização na próxima reação, o extrato etéreo foi concentrado até o volume de aproximadamente 50 mL, utilizando um banho de água (temperatura ~ 50 °C, nunca ultrapassando 65 °C).

5.3.1.4 Obtenção do trímero da 1-piperideína **33**



Esquema 45 - Síntese do trímero da 1-piperideína **33**

Em um balão de duas bocas, equipado com funil de adição com equalizador de pressão e condensador de refluxo, foram colocados 19,674 g (311,7 mmol) de KOH e 86,7 mL de etanol seco. Após completa dissolução do KOH em etanol, sob refluxo, foi adicionado lentamente via funil de adição, a solução concentrada de *N*-cloropiperidina **31** preparada anteriormente, mantendo a agitação magnética vigorosa (Esquema 45). Após o término da adição, a suspensão resultante ficou em agitação por mais 1,5h sob refluxo e em seguida sob agitação à temperatura ambiente por mais 24 h.

Decorrido esse tempo, o precipitado de KCl foi filtrado em funil de vidro sinterizado e lavado com etanol. O etanol foi removido em evaporador rotatório, obtendo-se um líquido oleoso de cor castanha.

Para evitar perdas do produto e remover trímero possivelmente retido no sal precipitado, o KCl foi solubilizado em 180 mL de água destilada e foi realizada uma extração com éter etílico (3 x 60 mL). A fase etérea foi misturada com o produto obtido da evaporação da fase etanólica e foi seca sob Na₂SO₄ anidro.

Após completa remoção do solvente, obteve-se um líquido oleoso de cor castanha que foi solubilizado em 3 mL de acetona. A cristalização foi efetuada à -18 °C (freezer). Os cristais obtidos, ainda congelados, foram lavados com acetona

gelada. O produto obtido **33** foi armazenado em frasco âmbar e seco no auto-vácuo e teve rendimento de 40%.

Tabela 13 - Propriedades físico-químicas de **33**

Composto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F.
33	C ₁₅ H ₂₇ N ₃	149,39 g/mol	Cristais amarelos	58-62 °C

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE **33**

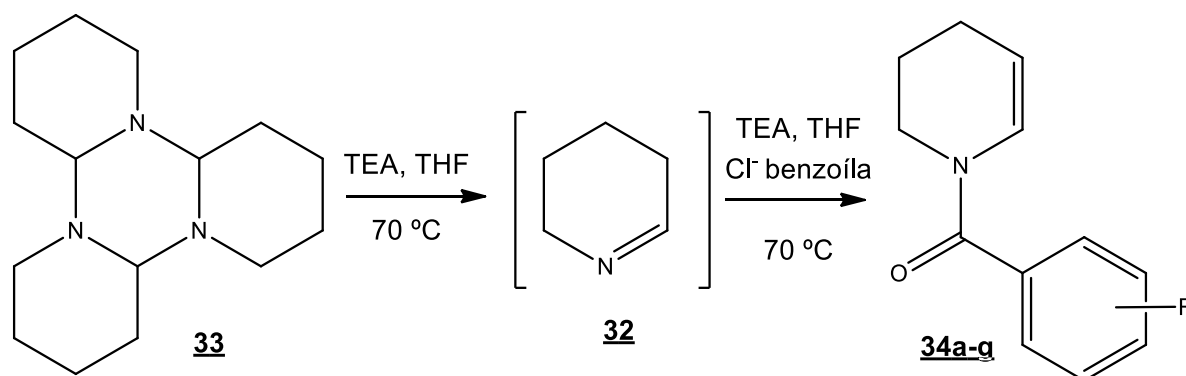
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ, t.a:

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).

5.3.2 Síntese das enamidas endocíclicas de seis membros



34a R = *p*-Cl; **34b** R = *p*-F; **34c** R = *p*-OMe; **34d** R = *p*-*t*-bu

34e R = *p*-Me; **34f** R = *p*-NO₂; **34g** R = *m*-NO₂

Esquema 46 – Esquema geral de síntese das enamidas endocíclicas **34a-g**

Em um balão de duas bocas foi pesado o trímico da 1-piperideína **33** e este foi acoplado a um sistema de refluxo. Em seguida adicionou-se o THF e a trietilamina e a esta solução sob refluxo foi adicionado lentamente, via seringa e agulha, o cloreto de benzoíla *para* ou *meta* substituído. Ao término da adição a reação permaneceu em refluxo por mais 3h sendo acompanhada por CCD.

A solução resultante foi filtrada em funil de vidro sinterizado e levada ao rota-evaporador para remoção completa do solvente. Os produtos **34a-g** foram purificados

em cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica), utilizando sistema de eluição de acetato/hexano.

A quantidade dos reagentes e solventes utilizados, bem como o rendimento das moléculas sintetizadas podem ser vistas na tabela 15 e os dados físico-químicos na tabela 16.

Tabela 14 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação das enamidas **34a-g**

Enamida	Trímero	Cloreto de benzoíla	TEA	THF	Sistema de eluição/ Rendimento
34a <i>p</i> -Cl	0,500 g (2,008 mmol)	<i>p</i> -Cl: 0,728 mL (4,016 mmol)	0,55 mL (4,016 mmol)	22 mL	1:4 / 75%
34b <i>p</i> -F	0,680 g (2,7184 mmol)	<i>p</i> -F: 0,65 mL (5,4698 mmol)	0,76 mL (5,436 mmol)	30,5 mL	1,5:3,5 / 89%
34c <i>p</i> -OMe	0,500 g (2,008 mmol)	<i>p</i> -OMe: 0,68 mL (4,016 mmol)	0,558 mL (4,016 mmol)	22 mL	1:4 / 77%
34d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	0,500 g (2,008 mmol)	<i>p</i> - <i>t</i> -butil: 0,78 mL (4,016 mmol)	0,558 mL (4,016 mmol)	22 mL	1:4 / 71%
34e <i>p</i> -Me	0,610 g (2,4522 mmol)	<i>p</i> -Me: 0,70 mL (4,9044 mmol)	0,68 mL (4,904 mmol)	27,5 mL	1:4 / 85%
34f <i>p</i> -NO ₂	0,500 g (2,008 mmol)	<i>p</i> -NO ₂ : 0,743 g (4,016 mmol) / 1 mL de THF	0,558 mL (4,016 mmol)	22 mL	1:4 / 53%
34g <i>m</i> -NO ₂	0,640 g (2,5731 mmol)	<i>m</i> -NO ₂ : 0,952 g (5,1461 mmol)	0,70 mL (5,0482 mmol)	28 mL	1,5:3,5 / 56%

Tabela 15 - Propriedades físico-químicas de **34a-g**

Enamida	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	Rf
34a <i>p</i> -Cl	C ₁₂ H ₁₂ CINO	221,68 g/mol			
34b <i>p</i> -F	C ₁₂ H ₁₂ FNO	205,23 g/mol	Líquido incolor	-	0,4 (AcOEt/hexano 1:4)
34c <i>p</i> -OMe	C ₁₃ H ₁₅ NO ₂	217,26 g/mol	Óleo incolor	-	0,47 (AcOEt/hexano 1:1)
34d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₁₆ H ₂₁ NO	243,34 g/mol	Cristais brancos	99 – 99,4	0,32 (AcOEt/hexano 1:9)
34e <i>p</i> -Me	C ₁₃ H ₁₅ NO	201,26 g/mol	Cristais brancos	41,4-43	0,60 (AcOEt/hexano 1:1)
34f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	232,24 g/mol	Cristais amarelos	93,5-94	0,27 (AcOEt/hexano 1:5)
34f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	232,24 g/mol	Cristais amarelos	70,6-71,5	0,21 (AcOEt/hexano 1:4)

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34b

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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34c

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) 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 de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a: 21,9 (CH_2); 21,8 (CH_2); 41,2 (CH_2); 55,3 (CH_3); 107,2 (CH); 113,5 (CH); 127,1 (CH); 127,9 (C); 130,3 (CH); 161,1 (C); 169,0 ($\text{C}=\text{O}$).

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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34d

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) 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 ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a: 21,8 (CH_2); 31,2 (CH_3); 34,8 (CH_2); 41,1 (CH_2); 47,0 (C); 107,2 (CH); 125 a 133 (CH); 153,5 (CH); 169,4 ($\text{C}=\text{O}$).

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.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34e

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros: 1,92 (sl, 2H); 2,10 (m, 2H); 2,36 (s, 3H); 3,79 (sl, 2H); 4,81 (sl, 1H); 6,45 (sl, 1H); 7,17 (dl, $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,35 (dl, $J = 8,1$ Hz, 2H).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a: 21,3 (CH_3); 21,6 (CH_2); 21,8 (CH_2); 41,0 (CH_2); 107,0 (CH); 127,6 (CH); 128,2 (CH); 128,8 (CH); 128,9 (CH_2); 140,2 ($\text{C}=\text{O}$).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34f

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) 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 ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a: 21,4 (CH_2); 21,8 (CH_2); 41,1 (CH_2); 109,4 (CH); 123,6 (CH); 126,3 (CH); 129,1 (CH); 141,1 (C); 148,6 (C); 167,0 ($\text{C}=\text{O}$).

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.

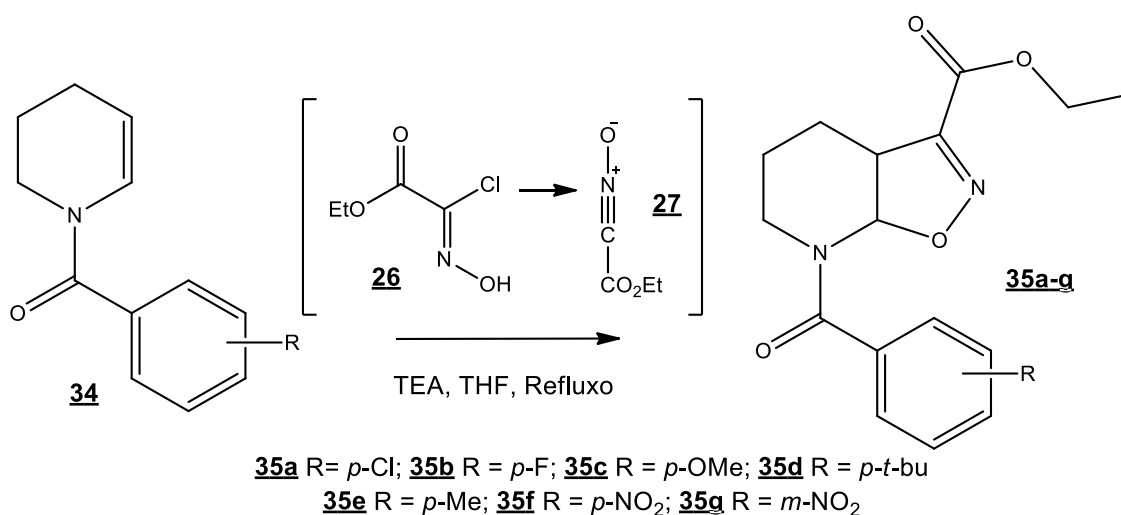
DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 34g

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) 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, $J = 8,1$ Hz, 1H), 8,33 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ , t.a, presença de rotâmeros: 21.4 (CH_2); 21.7 (CH_2); 41.2 e 46.6 (CH_2 , 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 ($\text{C}=\text{O}$).

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.

5.3.3 Síntese dos cicloadutos isoxazolínicos de 6 membros



Esquema 47 – Esquema geral de síntese dos cicloadutos isoxazolínicos **35a-g**

Em um balão de duas bocas foi adicionada a enamida **34a-g**, o THF e a trietilamina. À esta solução, sob refluxo, foi adicionada lentamente, via funil de adição, a solução de clorooximidoacetato de etila **26**. Completada a adição, mais um equivalente de trietilamina e de precursor **26** foi adicionado nas mesmas condições descritas anteriormente.

Ao término da adição, a reação permaneceu por mais 20 min sob refluxo e a formação do produto foi confirmada por CCD. O sal formado (cloreto de trietilamônio) foi filtrado e o solvente foi removido por meio de evaporador rotatório. Os produtos

foram purificados em cromatografia em coluna “flash” (gel de sílica), sistema acetato/hexano.

A quantidade dos reagentes e solventes utilizados, bem como o rendimento das moléculas sintetizadas podem ser vistas na tabela 17 e os dados físico-químicos na tabela 18.

Tabela 16 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos cicloadutos **35a-g**

Cicloaduto	Enamida	Precursor do CEFNO / THF	TEA	THF	Sistema de eluição/ Rendimento
35a <i>p</i> -Cl	34a 1,0079 g (4,5606 mmol)	0,7504 g (5,0109 mmol) / 3,7 mL	0,76 mL (5,5073 mmol)	14,5 mL	1:4 / 35%
35b <i>p</i> -F	34b 1,4972 g (7,2938 mmol)	1,5617 g (10,4175 mmol) / 4,7 mL	1,9 mL (13,541 mmol)	23,5 mL	2,5:7,5 / 35%
35c <i>p</i> -OMe	34c 1,0058 g (4,6350 mmol)	0,7694 g (5,0987 mmol) / 4,0 mL	0,779 mL (5,6086 mmol)	17,5 mL	1,5:3,5 / 36%
35d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	34d 1,0404 g (4,2815 mmol)	0,7131 g (4,7078 mmol) / 3,5 mL	0,72 mL (5,1786 mmol)	25 mL	2,5:7,5 / 42%
35e <i>p</i> -Me	34e 1,3022 g (6,5057 mmol)	1,399 g (9,2919 mmol) / 4,0 mL	1,7 mL (12,078 mmol)	21 mL	2,5:7,5 / 46%
35f <i>p</i> -NO ₂	34f 0,750 g (3,2327 mmol)	0,540 g (3,5594 mmol) / 2,7 mL	0,54 mL (3,9423 mmol)	10,6 mL	1,5:3,5 / 34%
35g <i>m</i> -NO ₂	34g 0,999 g (4,3060 mmol)	0,720 g (4,7411 mmol) / 3,6 mL	0,73 mL (5,3170 mmol)	14 mL	1,5:3,5 / 56%

Tabela 17 - Propriedades físico-químicas de **35a-g**

Cicloaduto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	Rf / AcOEt/hexano
35a <i>p</i> -Cl	C ₁₆ H ₁₇ ClN ₂ O ₄	336,74 g/mol			
35b <i>p</i> -F	C ₁₆ H ₁₇ FN ₂ O ₄	320,32 g/mol	Óleo incolor	-	0,18 / 1:3
35c <i>p</i> -OMe	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₅	318,12 g/mol	Óleo amarelado	-	0,15 / 1:3
35d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O ₄	358,43 g/mol	Óleo incolor	-	0,2 / 1:5
35e <i>p</i> -Me	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₄	316,35 g/mol	Óleo incolor	-	0,58 / 1:1
35f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₆	347,32 g/mol	Sólido amorfo branco	113-114	0,2 / 3:7
35f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₆ H ₁₇ N ₃ O ₆	347,32 g/mol	Sólido amorfo branco	107-107,4	0,15 / 3:7

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35b

RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) 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 13C (75 MHz, CDCl₃) δ, t.a: 13,9 (CH₃); 18,9 (CH₂); 21,6 (CH₂); 39,0 (CH₂); 41,3 (CH); 62,1 (CH₂); 91,4 (CH); 115,6 (d, *J* = 21,5Hz, 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⁺).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35c

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⁺).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35d

RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) δ , t.a, presença de rotâmeros: 1,31 (s, 9H); 1,35 (t, $J = 7,2$ Hz, 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⁺).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35e

RMN de 1H (300 MHz, CDCl₃) δ , t.a: 1,34 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 1,69 a 1,88 (m, 4H); 2,36 (s, 3H); 3,20 (m, 1H); 4,20 (sl, 1H); 4,31 (m, 3H); 6,28 (sl, 1H); 7,18 (dl, $J = 7,8$ Hz, 2H); 7,41 (dl, $J = 8,4$ Hz, 2H).

RMN de 13C (75 MHz, CDCl₃) δ , t.a: 13,99 (CH₃); 18,84 (CH₂); 21,31 (CH₃); 21,59 (CH₂); 41,26 (CH); 62,06 (CH₂); 91,0 (CH); 127,55 (CH); 129,0 (CH); 131,4 (C); 140,8 (C); 159,9 (C); 172,3 (C=O).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35f

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+).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 35g

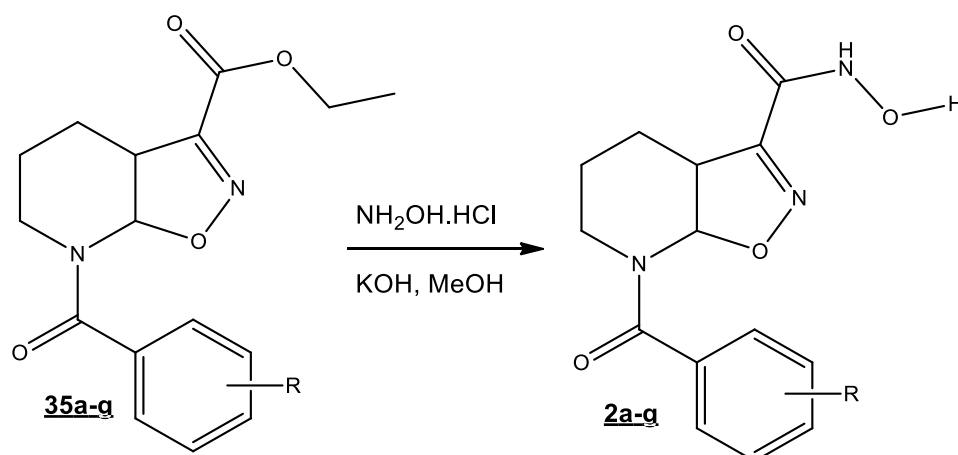
RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) δ , t.a: 1,33 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,70 a 1,98 (m, 4H); 3,27 (m, 1H); 3,40 (sl, 1H); 4,31 (m, 3H); 6,00 (sl, 1H); 7,62 (t, J = 8,1 Hz, 1H); 7,89 (d, J = 7,2 Hz, 1H); 8,37 (sl, 1H); 8,28 (m, 1H).

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+).

5.3.4 Síntese dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos de 6 membros



2a R = *p*-Cl; **2b** R = *p*-F; **1c** R = *p*-OMe; **2d** R = *p*-*t*-bu; **2e** R = *p*-Me; **2f** R = *p*-NO₂; **2g** R = *m*-NO₂

Esquema 48 – Esquema geral de síntese dos ácido hidroxâmico isoxazolínicos azabícíclicos **2a-g**

Inicialmente foram preparadas, separadamente, uma solução de cloridrato de hidroxilamina em metanol e uma solução de hidróxido de potássio, também em metanol. As duas soluções foram misturadas e agitadas durante 15 minutos. A suspensão resultante foi filtrada para eliminação do KCl precipitado.

Paralelamente, o cicloaduto éster **35a-g** foi solubilizado em metanol e foi adicionado o filtrado da solução de hidroxilamina e hidróxido de potássio gota a gota. O cicloaduto não solubiliza completamente no metanol e a reação ocorre inicialmente em um sistema bifásico. Conforme ocorre seu consumo, o cicloaduto vai solubilizando no meio.

O término da reação foi acompanhado por CCD e a formação do ácido hidroxâmico **2a** foi evidenciada utilizando, como revelador, uma solução de cloreto férrico. Na CCD a mancha do produto adquire coloração vermelho-púrpura. Os produtos que precipitaram no meio foram filtrados em funil de vidro sinterizado e lavados com etanol. Nas outras reações o solvente da reação foi eliminado em evaporador rotatório e o produto foi purificado por recristalização com etanol/hexano.

Os dados referentes as quantidades dos reagentes e solventes utilizados nas reações, isolamento e purificação dos produtos podem ser vistos na tabela 19 e as propriedades físico-químicas na tabela 20.

Tabela 18 - Propriedades físico-químicas de **2a-g**

Composto	Fórmula molecular	Peso molecular	Característica física	P.F. (°C)	R _f (MeOH/CHCl ₃ 0,8/9,2)
2a <i>p</i> -Cl	C ₁₄ H ₁₄ ClN ₃ O ₄	323,73 g/mol	Sólido branco amorfo	185-187	0,24
2b <i>p</i> -F	C ₁₄ H ₁₄ FN ₃ O ₄	307,8 g/mol	Sólido amorfo salmão	174-176	0,36
2c <i>p</i> -OMe	C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₅	319,31 g/mol	Sólido branco amorfo	166-168	0,22
2d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	C ₁₈ H ₂₃ N ₃ O ₄	345,39 g/mol	Sólido amorfo salmão	162-164	0,36
2e <i>p</i> -Me	C ₁₅ H ₁₇ N ₃ O ₄	303,31 g/mol	Sólido branco amorfo	152-154	0,26
2f <i>p</i> -NO ₂	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₆	334,28 g/mol	Sólido amarelo escuro	130-132	0,29
2f <i>m</i> -NO ₂	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₆	334,28 g/mol	Sólido amarelo	84-87	0,24

Tabela 20 - Reagentes e quantidades utilizadas nas sínteses e purificação dos ácidos hidroxâmicos isoxazolinícos **2a-g**

Composto	Cicloaduto / MeOH	NH ₂ OH.HCl/ MeOH	KOH/ MeOH	Tempo de reação	Purificação/ Rendimento
2a <i>p</i> -Cl	35a 0,475 g (1,480 mmol) / 5 mL	0,7598 g (10,9334 mmol) / 6 mL	0,6135 g (10,9334 mmol) / 4 mL	4 dias	O produto pptou no meio (início: 48h) / lavagem com etanol/ 66%
2b <i>p</i> -F	35b 0,402 g (1,255 mmol) / 3,0 mL	0,694 g (9,2656 mmol) / 6 mL	0,5235 g (9,2656 mmol) / 4 mL	4 dias	Recristalização com etanol e hexano / 75%
2c <i>p</i> -OMe	35c 0,5582 g (1,6795 mmol) / 5,0 mL	0,8617 g (12,4005 mmol) / 7,0 mL	0,6958 g (12,4005 mmol) / 5,0 mL	4,5 dias	O produto pptou no meio (início: 60h) / lavagem com etanol/ 50%
2d <i>p</i> - <i>t</i> -butil	35d 0,632 g (1,8479 mmol) / 6,0 mL	0,948 g (13,6441 mmol) / 7,5 mL	0,7655 g (13,6441 mmol) / 5,8 mL	3 dias	Recristalização com etanol e hexano / 48%
2e <i>p</i> -Me	35d 0,360 g (1,1315 mmol) / 4 mL	0,6258 g (8,3544 mmol) / 5 mL	0,472 g (8,3544 mmol) / 3,5 mL	4,5 dias	O produto pptou no meio (início: 64h) / lavagem com etanol/ 50%
2f <i>p</i> -NO ₂	35f 0,356 g (1,0755 mmol) / 4 mL	0,6815 g (9,0983 mmol) / 5 mL	0,5140 g (9,0983 mmol) / 3,5 mL	8 dias	Ver observações na página seguinte
2g <i>m</i> -NO ₂	35g 0,495 g (1,4940 mmol) / 5 mL	0,7666 g (11,0308 mmol) / 6 mL	0,6189 g (11,0308 mmol) / 4,6 mL	3 dias	Ver observações na página seguinte

Observações sobre o isolamento e purificação do composto 2f:

A partir do quarto dia precipitou um pó branco no meio reacional, insolúvel em água e acetato de etila. Por meio de CCD evidenciou-se que não era o produto e o precipitado foi descartado. A reação permaneceu em agitação durante oito dias, quando o produto foi isolado, mesmo sem o término do consumo do cicloaduto, pois observou-se que não havia mais variação de intensidade de sua mancha na CCD. O sobrenadante foi evaporado em evaporador rotatório e foi realizada uma extração com água e acetato de etila (5x5mL). Parte do produto precipitou durante a extração. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. O produto foi recristalizado com etanol e hexano, foram obtidos 153 mg do composto 2f com rendimento de 42%.

Observações sobre o isolamento e purificação do composto 2g:

A reação permaneceu em agitação durante três dias, quando foi evidenciado o término da reação. Formou-se um precipitado no meio reacional que não era o produto, conforme a CCD. Este foi filtrado e desprezado. O sobrenadante foi evaporado em evaporador rotatório e foi realizada uma extração com água e acetato de etila (5x5mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. O produto foi recristalizado com etanol e hexano e foram obtidos 69,8 mg do composto 2g com rendimento de 14%.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2a

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,55 (sl; 1H); 1,71 (m; 3H); 3,07 (m; 1H; $J = 26$ Hz); 3,6 (s; 1H); 4,0 (sl; 1H); 6,05 (sl; 1H); 7,51 (d; 2H; $J = 11,2$ Hz); 7,51 (d; 2H; $J = 11,2$ Hz).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 18,7 (CH_2); 20,9 (CH_2); 40,0 (CH_2); 42,6 (CH); 129,0 (CH); 129,7 (CH); 134,2 (C); 135,4 (C); 156,7 (C); 157,0 (C=O); 170,8 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3259,14 (N-H e OH); 2931,02 (C-H); 1650,79 e 1623,09 (C=O); 1587,99 (C=N); ~800 (C-Cl).

HRMS – MALDTON (m/z): $[\text{M}^+ + 1]$ calculado: 324,0751, encontrado: 324,0635.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2b

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,56 (sl; 1H); 1,71 (m; 3H); 3,07 (m; 1H); 3,63 (sl; 1H); 3,95 (sl; 1H); 6,15 (sl; 1H); 7,32 (ft; 2H; $J_1 = J_2 = 8,8$ Hz); 7,56 (d; 2H; $J_1 = 11,2$ Hz e $J_2 = 8,4$ Hz); 9,27 (s; 1H); 11,32 (s; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 18,3 (CH_2); 20,3 (CH_2); 40,0 (CH_2); 42,1 (CH); 115,4 (CH, d; $J = 88$ Hz); 129,9 (CH; d; $J = 33,6$ Hz); 131,4 (C); 156,4 (C); 161,7 (C); 164,2 (C=O); 170,4 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3253 (N-H); 2931 (O-H); 1651 e 1625 (C=O); 1589 (C=N); 1428 (C-F).

HRMS – MALD TOF (m/z): [$\text{M}^+ + 1$] calculado: 308,1046, encontrado: 308,0510.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2c

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,72 (m; 3H); 1,55 (m; 1H; $J = 10,4$ Hz); 3,80 (s; 3H); 3,04 (m; 1H); 3,61 (m; 1H); 3,9 (sl; 1H); 6,45 (sl; 1H); 7,02 (d; 2H; $J = 8,8$ Hz); 7,47 (d; 2H; $J = 8,8$ Hz); 9,3 (sl; 1H); 11,3 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 55,8 (CH_3); 18,9 (CH_2); 20,9 (CH_2); 40,2 (CH_2); 42,4 (CH); 114,2 (CH); 129,9 (CH); 127,3 (C); 157,2 (C); 171,5 (C=O); 161,2 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3235 (N-H); 2918 (O-H); 1650 (C=O); 1609 (C=N), 1263 (C-O)

HRMS – MALD TOF (m/z): [$\text{M}^+ + 1$] calculado: 320,1246, encontrado: 320,1208.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2d

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,30 (s; 9H); 1,56 (sl; 1H); 1,70; (m; 3H); 3,06 (m; 1H); 3,62 (sl; 1H); 4,0 (sl; 1H); 6,18 (sl; 1H); 7,43 (d; 2H; $J = 8,4$ Hz); 7,50 (d; 2H; $J = 8,8$ Hz); 9,3 (sl; 1H); 11,3 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 31,4 (CH_3); 18,9 (CH_2); 20,9 (CH_2); 60 (CH_2); 42,5 (CH); 125,7 (CH); 127,7 (CH); 35,03 (C); 132,55 (C); 153,38 (C); 156,78 (C); 171,78 (C=O); 157,22 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3210.0 (N-H); 2960.0 (O-H); 1635.0 (C=O); 1610.0 (C=N); 1418 (C- CH_3).

HRMS – MALD TOF (m/z): [$\text{M}^+ + 1$] calculado: 346,1766, encontrado: 346,2207.

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2e

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,70 (m; 3H); 1,57 (sl; 1H); 2,35 (s; 3H); 3,05 (m; 1H; $J = 13,2$ Hz); 3,61 (sl; 1H); 3,9 (sl; 1H); 6,23 (sl; 1H); 7,28 (d; 2H; $J = 8,4$ Hz); 7,38 (d; 2H; $J = 8$ Hz); 9,25 (sl; 1H); 11,25 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 20,9 (CH_3); 18,4 (CH_2); 20,4 (CH_2); 39,5 (CH_2); 41,9 (CH); 127,3 (CH); 129,9 (CH); 132,0 (C); 140,01 (C); 157 (C=O); 171,3 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3252 (N-H); 2931 (O-H); 1651 e 1625 (C=O); 1589 (C=N); 1426 (C-H).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2f

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,71 (m; 3H); 1,55 (sl; 1H); 3,09 (m; 1H); 3,58 (sl; 1H); 4,02 (q; 1H; $J = 14,4$ Hz); 5,91 (sl; 1H; rotâmeros); 7,73 (d; 2H; $J = 8,8$ Hz); 8,29 (d; 2H; $J = 8,8$ Hz); 9,23 (sl; 1H); 11,29 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 18,6 (CH_2); 20,9 (CH_2); 38,8 (CH_2); 42,7 (CH); 89,8 (CH); 124,2 (CH); 129,1 (CH); 141,6 (C); 148,6 (C); 156,9 (C); 157,5 (C=O); 170,173 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3398.0 (N-H); 3300 e 2852 (O-H); 1635.0 (C=O); 1588.0 (C=N); 1432 e 1345 (NO_2).

DADOS ESPECTROMÉTRICOS DE 2g

RMN de ^1H (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 1,71 (m; 3H); 1,57 (sl; 1H); 3,13 (m; 1H); 3,59 (sl; 1H); 3,6 (m; 1H); 6,02 e 6,39 (sl; 1H; rotâmeros); 7,79 (t; 1H; $J = 15,6$ Hz); 7,93 (d; 1H; $J = 8,4$ Hz); 8,29 (sl; 1H); 8,36 (d; 1H; $J = 8,4$ Hz); 9,28 (sl; 1H); 11,32 (sl; 1H).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6} , δ , ppm, 400 MHz, t.a.): 18,1 (CH_2); 20,5 (CH_2); 29,4 (CH_2); 42,2 (CH); 89,0 (CH); 122,1 (CH); 124,8 (CH); 130,3 (CH); 133,6 (CH); 136,4 (C); 147,5 (C); 152,2 (C); 166,4 (C=O); 170,3 (C=O).

I.V. (filme, cm^{-1}), principais sinais: 3203 (N-H); 2878 (O-H); 1638 (C=O); 1528 (C=N); 1421 e 1337 (NO_2).

6 ESTUDO BIOLÓGICO

Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Imunogenética do Instituto Aggeu Magalhães - FIOCRUZ - UFPE, coordenados pela Professora Dra. Valéria Pereira Hernandez. Os ensaios foram feitos como sugeridos pela OMS, sendo testes robustos e de elevada exatidão. Os laboratórios envolvidos apresentam condições de Biossegurança (contenções para NB2) adequadas para execução do trabalho proposto e para trabalho com animais experimentais.

6.1 ATIVIDADE ANTI *Trypanossoma cruzi*

6.1.1 Tripomastigotas

Após obterem 100% de confluência em cultura, células Vero foram infectadas com 1×10^7 de tripomastigotas (cepa Y) e cultivadas em meio RPMI + 5 % de SFB. Após 7 dias, as células começaram a liberar novos tripomastigotas e novas garrafas de cultura de células Vero foram infectadas.

Para determinar o efeito antiproliferativo para formas tripomastigotas da cepa Y (4×10^6 parasitas/mL), mantidas em meio RPMI + 1% de antibiótico + 5% de SFB, foram semeadas em placas de 96 poços a 37°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19; 1,56; 6,25; 25; 100 µg/mL) por 24h a atmosfera de 5% de CO₂. Obteve-se como controle negativo da reação poços sem tratamento e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benzonidazol. Determinou-se a viabilidade parasitária por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, obteve-se a IC₅₀. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

6.1.2 Amastigotas

O ensaio foi realizado em cepa de *T. cruzi* Tulahuen expressando o gene β-galactosidase de *Escherichia coli*. As formas tripomastigotas foram obtidas através de cultura em monocamadas de fibroblastos L929 de camundongo em Meio RPMI-1640 (pH 7,2-7,4), sem vermelho de fenol (Gibco BRL), contendo 10% de soro bovino fetal e 2 mM de glutamina. Para o bioensaio, 4.000 células L929 em 80 µL de meio

suplementado foram adicionados a cada poço de um Placa de microtitulação de 96 poços. Após uma incubação durante a noite, 40.000 tripomastigotas em 20 µL foram adicionados às células (10 tripomastigotas/ célula) e posteriormente incubadas por 2 h. O meio contendo parasitas que não penetraram nas células foi substituído por 200 µL de meio fresco e a placa foi incubada por 48 horas adicionais para estabelecer a infecção. O meio foi então substituído por soluções de compostos a 10 ou 20 µg / mL em DMSO (200 µL) e a placa incubada por 96 h 37 ° C. Após esse período, 50 µL de clorofenol e 500 µM glicosídeo vermelho em Nonidet P40 a 0,5% foram adicionados a cada poço e a placa incubada por 18 horas à 37 ° C, posteriormente a absorbância a 570 nm foi medida. Controles com células não infectadas e células infectadas tratadas com benznidazol e não tratados foram executados em paralelo. Os resultados foram expressos como a porcentagem de inibição do crescimento de *T. cruzi* em células testadas com composto em comparação com as células infectadas e não tratadas. Os ensaios em triplicata foram realizados na mesma placa.

6.2 CITOTOXICIDADE

6.2.1 Citotoxicidade em Macrofágos RAW 264.7

A citotoxicidade em células de mamíferos foi avaliada através de ensaios com MTT (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio). Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram plaqueados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂, para aderência. Após esse tempo, os compostos foram adicionados nas concentrações de 6 a 200 µg/mL (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 µg/mL) e incubados novamente por um período de 48h. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25µL de MTT a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2h, a 37°C e ao abrigo da luz. Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100µL de DMSO foi adicionado por poço para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT. Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

6.2.2 Citotoxicidade em Fibroblastos L929

Para este bioensaio, 4.000 células de mamífero em 200 µL de meio RPMI-1640 (pH 7,2-7,4) (Gibco BRL) mais soro bovino fetal a 10% e glutamina 2 mM foram adicionados a cada poço de uma placa de microtitulação de 96 poços que foi incubada por três dias a 37 °C. O meio foi então substituído por soluções dos compostos (diluídos em 200 µL de DMSO) nas concentrações de 50x a IC₅₀ encontradas no ensaio descrito no item 6.1.2 e a placa foi incubada por quatro dias a 37 °C. Após esse período, 20 µL de AlamarBlue™ foram adicionados a cada poço e a placa incubada por 4-6 h. Posteriormente a absorbância a 570 e 600 nm foi medida. Controles com células não tratadas e tratadas com benznidazol foram executadas em paralelo. As triplicatas foram executadas na mesma placa. Os resultados foram expressos como a diferença percentual na redução entre células tratadas (CT) e não tratadas (UT), usando a seguinte equação:
$$\frac{(117,216) (Abs_{570} \text{ TC}) - (80,586) (Abs_{600} \text{ TC})}{(117,216) (Abs_{570} \text{ UT}) - (80,586) (Abs_{600} \text{ UT})} \times 100.$$

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

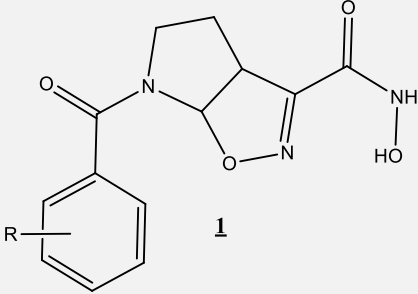
A avaliação da atividade anti *T. cruzi* dos compostos sintetizados foi realizada para as formas evolutivas tripomastigota e amastigota. Não foram realizados testes para a forma epimastigota porque esta forma evolutiva está presente apenas nos insetos barbeiros e são testes tidos como não importantes pelos revisores de periódicos.

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados em células de macrófagos RAW 264.7 pelo método do MTT e em células da linhagem L929.

6.3.1 Ensaio de citotoxicidade em macrófagos RAW 264.7 e atividade tripanossomicida frente a forma tripomastigota

Os resultados obtidos na avaliação da atividade contra as formas tripomastigotas e de citotoxicidade frente aos macrófagos RAW dos compostos da série de cinco membros podem ser vistos na tabela abaixo:

Tabela 19 - Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida para a forma tripomastigota

Composto	R	Tripomastigota (μM)	Citotoxicidade (μM)	Índice de seletividade (IS)
				
1a	<i>p</i> -Cl	8,81	> 645,76	73,29
1b	<i>p</i> -F	ND	ND	-
1c	<i>p</i> -OMe	2,95	> 655,52	222,20
1d	<i>p</i> -t-bu	ND	158,46	-
1e	<i>p</i> -Me	11,70	> 691,35	59,00
1f	<i>p</i> -NO ₂	ND	> 624,84	-
1g	<i>m</i> -NO ₂	ND	> 624,84	-
Padrão		40,96	579,39	-

Legenda: ND = não determinado. Padrão: Benznidazol.

Com base nos resultados obtidos para as ácidos hidroxâmicos isozaxolínicos azabicíclicos de cinco membros (série 1), observa-se que todos os compostos da série que tiveram a IC₅₀ determinada apresentaram excelentes resultados quando comparados ao fármaco padrão utilizado.

Todos os compostos foram mais ativos do que o benznidazol, tendo sido o composto substituído com metoxila o mais ativo da série, necessitando de doses 14 vezes menores para inibir a viabilidade de 50% das formas tripomastigotas de *T. cruzi* do teste. Os compostos com os substituintes cloro e metoxila na posição *para* foram 4,6 e 3,5 vezes mais potentes que o benznidazol, respectivamente.

Arelado aos resultados da avaliação da atividade tripanossomicida, no teste de citotoxicidade seis dos sete compostos testados foram menos citotóxicos para células saudáveis, com valores de CC₅₀ superiores ao benznidazol. Apenas o composto **1d** (*p*-*t*-butil) apresentou toxicidade importante com CC₅₀ de 158,46 μM .

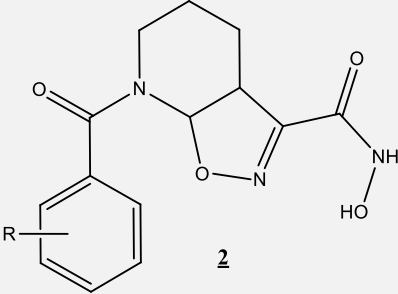
A ausência de efeitos tóxicos em células do hospedeiro é um critério importante na pesquisa, uma vez que, um grande entrave da terapia atual são os efeitos colaterais associados. A citotoxicidade para macrófagos RAW 264.7 e para protozoários foi comparada utilizando o índice de seletividade ($IS = CC_{50}/IC_{50}$). Os resultados de IS mostram que os compostos **1a**, **1c** e **1e** foram 73,28; 222,2 e 59 menos tóxicos para as células do hospedeiro do que para os protozoários, respectivamente.

Alguns valores de IC_{50} das moléculas testadas foram tidos como não determinados (ND). Isso ocorreu pela impossibilidade de fazer a regressão dos valores pelo software Prisma 5.0 Graphpad, apesar das medidas terem sido feitas. Portanto, os dados de atividade para a curva dose-resposta foram adquiridos, mas não foi possível determinar a IC_{50} .

A curva dose-resposta é a representação gráfica da expressão matemática da relação entre a dose de um fármaco e o seu efeito, sendo comumente expressa em uma curva sigmóide. Como a intensidade da resposta dada por um fármaco é proporcional à dose administrada, uma justificativa para não determinação da IC_{50} é que as doses utilizadas nos testes tenham resultado em respostas iguais, sendo necessário repetir o teste com outras concentrações.

Para os análogos estruturais contendo o núcleo isoxazolínico piperidínico os resultados dos testes de citotoxicidade e do ensaio tripanossomicida estão apresentados na tabela abaixo:

Tabela 20 - Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida para forma tripomastigota

Composto	R	Tripomastigota (μM)	Citotoxicidade (μM)	Índice de seletividade (IS)
				
<u>2a</u>	<i>p</i> -Cl	> 305,13	159,29	0,52
<u>2b</u>	<i>p</i> -F	158,6	-	-
<u>2c</u>	<i>p</i> -OMe	> 313,17	194,17	0,62
<u>2d</u>	<i>p</i> -t-bu	66,04	37,20	0,56
<u>2e</u>	<i>p</i> -Me	> 329,69	116,71	0,35
<u>2f</u>	<i>p</i> -NO ₂	17,29	147,63	10,1
<u>2g</u>	<i>m</i> -NO ₂	37,45	154,29	4,11
Padrão		40,96	579,39	-

Legenda: Padrão: Benznidazol.

Para os compostos da série de seis membros todos os valores de IC₅₀ foram determinados e dois dos compostos sintetizados apresentaram valores de IC₅₀ abaixo do benznidazol (40,96 μM), tendo sido o composto **2f** (*p*-NO₂) o mais ativo da série com IC₅₀ de 17,29 μM e o **2g** (*m*-NO₂) com IC₅₀ de 37,45 μM . Os compostos nitro substituídos apesar de terem apresentado valor de CC₅₀ inferior ao do benznidazol, tiveram índice de seletividade maior que 1, sendo, portanto, mais tóxicos para células do protozoário do que para células do hospedeiro.

Comparando as duas séries observa-se que os compostos da série de cinco membros (1a-f) são todos menos citotóxicos para os macrófagos RAW que o fármaco padrão benznidazol, além de terem valores de IC₅₀ menores, quando comparados aos seus análogos estruturais piperidínicos.

No que diz respeito a estrutura das moléculas das duas séries: se diferenciam apenas pelo número de carbonos que o heterobícclo isoxazolícnico possui. O anel pirrolidinícnico do azabícclo isoxazolícnico, com apenas cinco carbonos, tem estrutura rígida e angulação própria, enquanto o anel piperídínico com seis carbonos, tem estrutura flexível podendo assumir suas diferentes conformações de barco ou cadeira (Figura 40).

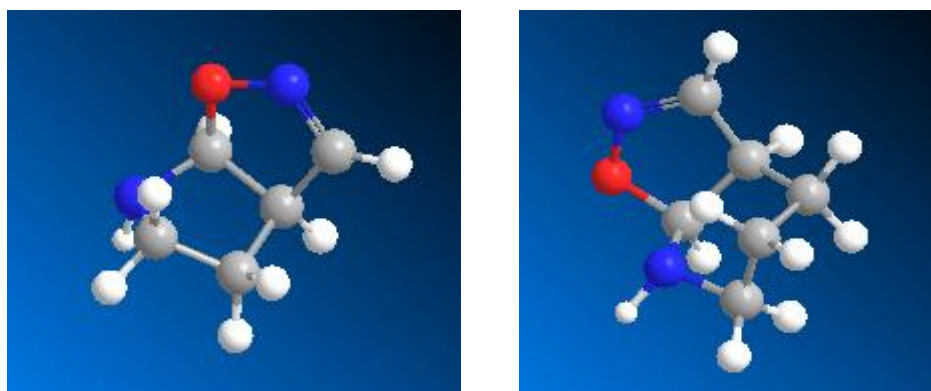


Figura 40 - Estrutura 3D dos núcleos isoxazolícnicos azabícclicos pirrolidinícnico e piperídínico

Estas informações indicam que de alguma forma, a rigidez do anel isoxazolícnico azabícclico de 5 membros contribui para diminuição da toxicidade dos compostos sintetizados, bem como para o aumento da atividade tripanocida, tornando estas moléculas mais seletivas. Outros compostos sintetizados pelo grupo, contendo esses núcleos, também apresentam padrão de toxicidade semelhante.

As constatações feitas acima indicam que o fator conformacional é bastante importante. Estudos de minimização de energia das estruturas e *docking* com alvos serão necessários para o entendimento desse comportamento.

Quanto aos substituintes utilizados, baseado nos resultados obtidos para as duas séries e na comparação deles, não foi possível estabelecer uma relação estrutura-atividade, por causa dos resultados tidos como ND na série de cinco membros. Esperava-se bons resultados para os compostos substituídos com nitro na série de cinco membros, assim como expressos na série de seis membros, considerando as características desse grupamento. Uma consideração a ser feita é

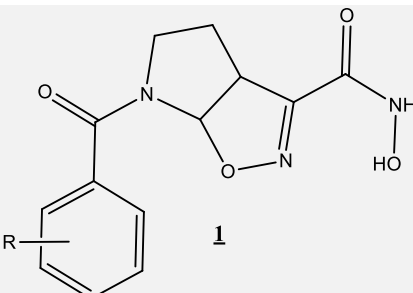
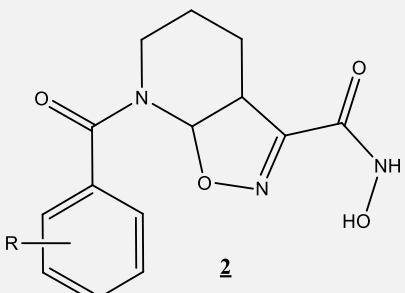
que nas duas séries a presença de grupos volumosos (*p-t*-butil) aumentou a toxicidade, enquanto a presença de heteroátomos diminuiu a toxicidade deles.

De maneira geral, as moléculas da série de cinco membros (pirrolidínicas) **1** são superiores às de seis membros em dois aspectos: apresentam maior atividade inibitória para as formas tripomastigotas e menor toxicidade quando comparadas ao benznidazol, tornando, em princípio, os derivados **1a**, **1c** e **1e** em potenciais fármacos antichagásicos promissores, devido às suas menores citotoxicidade e maiores potências contra a forma tripomastigota. Os compostos **2f** e **2g**, da série de seis membros (piperidínica), tiveram bons resultados frente as tripomastigotas e toxicidade superior ao benznidazol, embora tenham tido índice de seletividade maior que um.

6.3.2 Ensaio de citotoxicidade em células da linhagem L929 e atividade tripanossomicida frente a forma amastigota

Os resultados para os ensaios de avaliação da atividade anti *T. cruzi* frente as formas amastigotas, bem como dos ensaios de citotoxicidade frente a células da linhagem L929 estão expressos na tabela a seguir:

Tabela 21 - Resultados de citotoxicidade e de atividade tripanossomicida frente a forma amastigota

Composto	R	Tripomastigota (μM)	Citotoxicidade (μM)	Índice de seletividade (IS)
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>1</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>2</p> </div> </div>				
1a	<i>p</i> -Cl	Inativo	-	-
1b	<i>p</i> -F	Inativo	-	-
1c	<i>p</i> -OMe	Inativo	-	-

<u>1d</u>	<i>p</i> -t-bu	22,93 μ M	117,08 μ M	5.1
<u>1e</u>	<i>p</i> -Me	Inativo	-	-
<u>1f</u>	<i>p</i> -NO ₂	Inativo	-	-
<u>1g</u>	<i>m</i> -NO ₂	Inativo	-	-
<u>2a</u>	<i>p</i> -Cl	Inativo	-	-
<u>2b</u>	<i>p</i> -F	Inativo	-	-
<u>2c</u>	<i>p</i> -OMe	Inativo	-	-
<u>2d</u>	<i>p</i> -t-bu	16,79 μ M	57,9 μ M	3.4
<u>2e</u>	<i>p</i> -Me	Inativo	-	-
<u>2f</u>	<i>p</i> -NO ₂	Inativo	> 478,64 μ M	-
<u>2g</u>	<i>m</i> -NO ₂	> 59,83 μ M	> 59,83 μ M	-
Padrão		3,8 μ M	240,14 μ M	63,2

Legenda: Padrão: Benznidazol.

Para as concentrações utilizadas no teste, três compostos apresentaram atividade contra as formas amastigotas de *T. cruzi*, sendo as mais ativas as moléculas **1d** e **2d**, representantes da série de cinco e seis membros, respectivamente, substituídos com o grupamento *p*-*t*-butila. Apresentaram toxicidade maior do que o benznidazol com CC₅₀ de 117,08 μ M e 57,9 μ M, mas o índice de seletividade foi maior que 1, sendo 5,1 e 3,4 vezes mais tóxicos para células do protozoário do que para células do hospedeiro.

Esperava-se para o ensaio com amastigotas um padrão semelhante de atividade dos compostos comparado ao ensaio com tripomastigotas, no entanto, isso não foi observado. Os compostos substituídos com *t*-butila mais ativos no teste com amastigotas tiveram IC₅₀ não determinado nos testes com tripomastigotas para o composto **1d** e atividade moderada com IC₅₀ de 66,04 (benznidazol – IC₅₀ 40,96) para o composto **2d**. Os compostos **1a**, **1c** e **1e** que se apresentaram como compostos mais promissores nos testes contra tripomastigotas não apresentaram atividade contra forma amastigota.

Embora os ensaios com tripomastigotas e amastigotas tenham tido resultados aparentemente divergentes, a união entre os ácidos hidroxâmicos e os núcleos

isoxazolínicos representam um arcabouço interessante na busca por novos fármacos tripanomicidas. Os resultados do teste com amastigotas sugerem modificações estruturais nos compostos de modo a manter a atividade obtida nos testes para tripomastigotas.

As formas evolutivas amastigotas são intracelulares, o que implica dizer que os compostos teriam ao mínimo duas barreiras para superar: a membrana plasmática das células do hospedeiro e a própria membrana do protozoário. Como os compostos que tiveram resultados mais expressivos foram os compostos substituídos com o grupamento *p-t*-butila e por consequência os mais lipofílicos das duas séries, pressupõe-se que a polaridade dos compostos foi um fator limitante para atividade. Modificações estruturais com adição de substituintes com características mais apolares seria uma alternativa para contornar esse fato.

7 CONCLUSÕES

Todos os intermediários de síntese foram obtidos sem grandes dificuldades e em quantidades suficientes para síntese dos compostos finais. Os cicloadutos isoxazolínicos foram submetidos à reação com a hidroxilamina e as moléculas híbridas finais **1** e **2** foram obtidos com sucesso. O método de obtenção dos ácidos hidroxâmicos sem excesso de base foi o que resultou em maiores rendimentos e o melhor método de purificação dos ácidos hidroxâmicos isoxazolínicos foi a recristalização com etanol e hexano.

As novas moléculas tiveram suas características químicas determinadas e foram caracterizadas estruturalmente através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H , ^{13}C , infravermelho e espectrométrica de massas.

As análises biológicas para averiguação da atividade tripanossomicida e perfil de citotoxicidade foram realizadas e excelentes resultados foram obtidos, sobretudo para os ácidos hidroxâmicos da série de cinco membros (isoxazolinas aza-bicíclicas pirrolidínicas), onde os compostos além de terem sido mais ativos contra as formas tripomastigotas, foram também menos tóxicos que o fármaco padrão utilizado, o benzinidazol, sendo bastante promissores na sequência dos estudos para obtenção de novos fármacos antichagásicos realmente eficazes e pouco tóxicos.

8 PERSPECTIVAS

8.1 PERSPECTIVAS DA PARTE QUÍMICA

Pretende-se dar continuidade à otimização da síntese das moléculas finais, de modo a reduzir o tempo reacional e aumentar o rendimento. Todos híbridos propostos foram obtidos, porém será necessária a obtenção de maior quantidade de alguns produtos finais para realização de outros testes biológicos. Tanto essa reação quanto a purificação dos compostos finais precisam ser otimizadas a fim de se obter maiores rendimentos, mas com menos gasto de tempo e energia.

Serão realizadas as análises espectrométricas de massas de algumas moléculas finais e repetição de análises de RMN de ^1H de compostos que foram contaminados com acetato de etila durante o preparo da amostra para análise, e de RMN de ^{13}C , em outras condições de análises, para as moléculas finais da série de seis membros, com a finalidade de visualização do pico referente ao carbono da junção dos anéis em torno de 90 ppm e de outros carbonos que porventura não apareceram.

8.2 PERSPECTIVAS DA PARTE BIOLÓGICA

A partir dos excelentes resultados obtidos nos testes de citotoxicidade e atividade anti *T. cruzi*, para as formas tripomastigotas, os ensaios de biológicos para a forma evolutiva amastigota foram conduzidos. Pretende-se a partir desses resultados a modificação estrutural do arcabouço das moléculas com o objetivo de melhorar a atividade frente a forma amastigota e posteriormente realização de testes *in vivo*.

Almeja-se ainda fazer submissão de artigo científico para as duas séries sintetizadas.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. T.; ANDRADE, C. H.; KUMMERLE, A. E.; GUIDOD, R. V. C.; A evolução da química medicinal no Brasil: Avanços nos 40 anos da sociedade brasileira de química. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 694-700, 2017.

ANDRADE, J. P.; MARIN NETO, J. A.; PAOLA, A. A.; et al. I Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 96, p. 434-42, 2011.

ANDREWS, K. T.; FISHER, G.; SKINNER-ADAMS, T.S. Drug repurposing and human parasitic protozoan diseases. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 4, p. 95-111, 2014.

ASAHI, M.; KOBAYASHI, M. KAGAMIA, T.; NAKAHIRA, K.; FURUKAWAB, Y.; OZOE, Y. Fluxametamide: A novel isoxazoline insecticide that acts via distictive antagonismo of insect ligand-gates chloride channels. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 151, p. 67-72, 2018.

AZAMBUJA, P.; GARCIA, E. S. FIOCRUZ - Hospedeiro Invertebrado. Disponível em: < <http://chagas.fiocruz.br/ciclo-evolutivo>>. Acesso em: 25/03/2019.

BAHIA, M. T.; MARTINS, T. A. F.; DO NASCIMENTO, A. F. S.; DINIZ, L. F.; CALDAS, T. S.; TALVANI, A.; TRUNZ, B. B.; TORREELE, E.; RIBEIRO, I. Fexinidazole: a potential new drug candidate for Chagas' disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, p. 1870, 2012.

BARBOSA, G. A. D.; DE AGUIAR, A. P.; DE CARVALHO, E. M.; NOGUEIRA, J. M. R. Synthesis of 3-furanyl-4,5-dihydroisoxazole Derivatives via Cycloaddition and their Antibacterial Evaluation. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 16, p. 364-369, 2019.

BARR, S. C.; WARNER, K. L.; KORNREIC, B. G.; PISCITELLI, J.; WOLFE, A.; BENET, L.; MCKERROW, J. H. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 5160-5161, 2005.

BECKER, D. P.; BARTA, T. E.; BEDELL, L. J.; BOEHM, T. L.; BOND, B. R.; CARROLL, J.; CARRON, C. P.; DECRESCENZO, G. A.; EASTON, A. M.; FRESKOS, J. N.; FUNCKESSHIPPY, C. L.; HERON, M.; HOCKERMAN, S.;

HOWARD, C. P.; KIEFER, J. R.; LI, M. H.; MATHIS, K. J.; MCDONALD, J. J.; MEHTA, P. P.; MUNIE, G. E.; SUNYER, T.; SWEARINGEN, C. A.; VILLAMIL, C. I.; WELSCH, D.; WILLIAMS, J. M.; YU, Y.; YAO, J. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 6653–6680, 2010.

BENESCH, M. G.; TANG, X.; VENKATRAMAN, G.; BEKELE, R. T.; BRINDLEY, D. N. Recent advances in targeting the autotaxinlysophosphatidate-lipid phosphate phosphatase axis in vivo. **Jornal of Biomedical Research**, v. 30, p. 272–284, 2016.

BERMUDEZ, J.; DAVIES, C.; SIMONAZZI, A.; REAL, J. P.; PALMAC, S. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas Disease **Acta Tropica**, v. 156, p. 1–16, 2016.

BERN, C.; MARTIN, D. L.; GILMAN, R.H. Acute and congenital Chagas disease. **Advances in Parasitology**, v. 75, p. 19-47, 2011.

BERN, C.; MONTGOMERY, S. P.; KATZ, L.; CAGLIOTI, S.; STRAMER, S. L. Chagas disease and the US blood supply. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 21, p. 476-482, 2008.

BERNARDO, M.; PACHECO, R.; SERRALHEIRO, M. L. M.; KARMALI, A. Production of hydroxamic acids by immobilized *Pseudomonas aeruginosa* cells: kinetic analysis in reverse micelles. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 93, p. 28-33, 2013.

BRENK, R.; SCHIPANI, A.; JAMES, D.; KRASOWSKI, A.; GILBERT, I. H.; FREARSON, J.; WYATT, P. G. Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. **ChemMedChem**, v. 3, p. 435–444, 2008.

BROWN, D. A.; GLASS, W. K.; Mageswaran, R.; Girmay, B. Cis–trans isomerism in monoalkylhydroxamic acids by ¹H, ¹³C and ¹⁵N NMR spectroscopy. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 26, p. 970, 1988.

CAO, J.; ZANG, J.; MA, C.; LI, X.; HOU, J.; LI, J.; HUANG, Y.; XU, W.; WANG, B.; ZHANG, Y. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of PyrazolineBased Hydroxamic Acid Derivatives as Aminopeptidase N (APN) Inhibitors. **ChemMedChem**, v. 13, p.431–436, 2018.

CALVO-FLORES, F. G.; ISAC-GARCA, J.; HERNÁNDEZ-MATEO, F.; PÉREZ-BALDERAS, F.; CALVO-ASÍN, J. A.; SANCHÉZ-VAQUERO, E.; SANTOYOGONZÁLEZ, F. 1,3-Dipolar Cycloadditions as a Tool for the Preparation of Multivalent Structures. **Organic letters**, v. 2, p. 2499-2502, 2000.

CARDONA, W.; YEPES A. F.; HERRERA, A. Hybrid Molecules: Promising Compounds for the Development of New Treatments Against Leishmaniasis and Chagas Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 3637-3679, 2018.

CASTRO, J. A.; DIAZ DE TORANZO, E. G. Toxic effects of nifurtimox and benznidazole, two drugs used against American trypanosomiasis (Chagas'disease). **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 1, n. 1, p. 19-33, 1988.

CASTRO, J. A.; MECCA, M. M.; BARTEL, L. C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human & Experimental Toxicology**, v. 25, n. 8, p. 471-479, 2006.

CASTRO, S. L.; SOEIRO, M. N. Estudos pré clínicos da doença de Chagas. Disponível em: <chagas.fiocruz.br/tratamento>. Acesso em: 20/06/2018.

CHANCE, J. P.; FEJZIC, H.; HERNANDEZ, O.; ISTVAN, E. S.; ANDAYA, A.; MASLOV, N.; AISPURO, R.; CRISANTO, T.; NGUYEN, H.; VIDAL, B.; SERRANO, W.; KUWAHARA, B.; ANDANADO, C. P.; GOLDBERG, D. E.; MALLARI, J. P. Development of piperazine-based hydroxamic acid inhibitors against falcilysin, an essential malarial protease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28, p. 1846–1848, 2018.

CHENG, M.; DE, B.; PIKUL, S.; G. Almstead, N. G.; Natchus, M. G.; Anastasio, M. V.; McPhail, S. J.; Snider, C. A.; Taiwo, T. O.; Chen, L.; Dunaway, C. M.; Gu, F.; Dowty, M. E.; Mieling, G. E.; Janusz, M. J.; Wang-Weigand, S. Design and synthesis of piperazine-based matrix metalloproteinase inhibitors. **Journal Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 369–380, 2000.

CHATELAIN, E. Chagas disease drug discovery: toward a new era. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 20(1), p. 22-35, 2015.

CHOY, J.W.; BRYANT, C.; CALVET, C. M.; DOYLE, P. S.; GUNATILLEKE, S. S.; LEUNG, S. S. F.; ANG, K. K. H.; CHEN, S.; GUT, J.; OSES-PRIETO, J. A.; JOHNSTON, J. B.; ARKIN, M. R.; BURLINGAME, A. L.; TAUNTON, J.; JACOBSON, M. P.; MCKERROW, J. M.; PODUST, L. M.; RENSLO, A. R. Chemical–biological

characterization of a cruzain inhibitor reveals a second target and a mammalian off-target. **The Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 9, p. 15-25, 2013.

CLAXTON G. P., ALLEN L., GRISAR J. M., 2,3,4,5-Tetrahydropyridine Trimer Pyridine, 2,3,4,5-tetrahydro-, trimer. **Organic Syntheses**, v. 56, p. , 2003.

CLAYTON, J. Chagas Disease: Pushing through the Pipeline. **Nature**, v. 465, p. 12-15, 2010.

COURA, J. R.; DE ABREU, L. L.; PEREIRA, J. B.; WILLCOX, H. P. Morbidity in Chagas' disease. IV. Longitudinal study of 10 years in Pains and Iguatama, Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, p. 73–80, 1985.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A.; JUNQUEIRA, A. C. Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 109(7), p. 856-62, 2014.

COURA, J.R.; DE CASTRO, S.L. A critical review on CD chemotherapy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 97, p. 3–24, 2002.

DE ALMEIDA, G. C. Síntese e avaliação preliminar da atividade antimicrobiana e antichagásica de novas isoxazolil-aril-semicarbazonas, e tiossemicarbazonas e isoxazolil-nitrofurfuril-hidrazonas. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFPE, Recife, 2010.

DE ANDRADE, G.; BARBOSA, D.; DE AGUIARA, A. P.; DE CARVALHO, E. M.; NOGUEIRA, J. M. R. Synthesis of 3-furanyl-4,5-dihydroisoxazole Derivatives via Cycloaddition and their Antibacterial Evaluation. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 16, p. 364-369, 2019.

DE MENEZES, D. R.; CALVET, C. M.; RODRIGUES, G. C.; PEREIRA, M. C. S.; ALMEIDA, I. R.; DE AGUIAR, A. P.; SUPURAN, C. T.; VERMELHO, A. B. Hydroxamic acid derivatives: a promising scaffold for rational compound optimization in Chagas disease; **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 31(6), p. 964–973, 2016.

DE OLIVEIRA, R. B.; TRONCON, L. E.; DANTAS, R. O.; MENGHELLI, U. G. Gastrointestinal manifestations of Chagas' disease. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 93, p. 884-889, 1998.

DEANE, L. M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil **Revista Brasileira De Malariologia E Doencas Tropicais**, v.16, p. 27-48, 1964.

DEVLIN, J. P.; OLLIS, W. D.; THORPE, J. E. **Journal of the Chemical Society**, v. 1, p. 846, 1975.

DIAS, J. C. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease A clinical epidemiological review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, p. 147–156, 1989.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMAM, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Chemotherapy of Chagas' disease: state of the art and perspectives for the development of new drugs. **Química Nova**, v. 32, n. 9, 2009.

DNDi – Drugs for Neglected Disease initiative. Proposal for the inclusion of benznidazol pediatric dosage form as treatment for Chagas disease in children younger than 2 years old in the World Health Organization model list of essential medicines for children. Rio de Janeiro, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/19/applications/Benznidazole_6552_C_NF.pdf> Acesso em: 10 de março de 2019.

DOCAMPO, R. **Chemico-Biological Interactions**, v. 1, p. 73, 1990.

DOCAMPO, R.; MORENO, S.N.J. **Federation proceedings**, v. 45, p. 2471, 1986.

DOS SANTOS, R. J. Reações de Cicloadição 1,3-Dipolar de Enecarbamatos e Enamidas Endocíclicas de 5 membros com N-Óxido de Nitrila. Síntese e Avaliação da Atividade Antiinflamatória de Derivados Isoxazolínicos Bicíclicos Pirrolidínicos e Antimicrobiana de Enamidas Endocíclicas de 5 membros. *Dissertação de Mestrado*. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

DUNG, D. T. M.; HAI, P.; ANH, D. T.; HUONG, L.; YEN, N. T. K.; HAN, B. W.; PARK, E. J.; CHOI, Y. J.; KANG, J. S.; HUE, V.; HAN, S.; NAM, N. Novel hydroxamic acids incorporating 1-((1H-1,2,3-Triazol-4-yl)methyl)-3-hydroxyimino-indolin-2-ones: synthesis, biological evaluation, and SAR analysis. **Journal of Chemical Sciences**, v. 63, p. 100, 2018.

ESPINOSA, R.; CARRASCO, H. A.; BELANDRIA, F.; et al. Life expectancy analysis in patients with Chagas' disease: prognosis after one decade (1973–1983). **International Journal of Cardiology**, v. 8, p. 45–56, 1985.

ETTMAYER, P.; AMINDON, G. L.; CLEMENT, B.; TESTA, B. Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 2393-2404, 2004.

FAZARY, A. E. Thermodynamic studies on the protonation equilibria of some hydroxamic acids in NaNO₃ solutions in water and in mixtures of water and dioxane. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 50, n. 3, p. 888-895, 2005.

FEDERICO, L.; JEONG, K. J.; VELLANO, C. P.; MILLS, G. B. Autotaxin, a lysophospholipase D with pleomorphic effects in oncogenesis and cancer progression. **Journal of Lipid Research**, v. 57, p. 25-35, 2016.

FELDER, C. C., BYMASTER, F. P., WARD, J., DELAPP, N. Therapeutic opportunities for muscarinic receptors in the central nervous system. **Journal of medicinal chemistry**, v. 43, p. 4333-4353, 2000.

FIELD, M. C.; HORN, D.; FAIRLAMB, A. H.; FERGUSON, M. A. J.; GRAY, D. W.; READ, K. D.; RYCKER, M. D.; TORRIE, L. S.; WYATT, P. G.; WYLLIE, S.; GILBERT, I. H. Anti-trypanosomatid drug discovery: an ongoing challenge and a continuing need. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1-15, 2017.

FREARSON, J. A., WYATT, P. G., GILBERT, I. H.; FAIRLAMB, A. H. Target assessment for antiparasitic drug discovery. **Trends in Parasitology**, v. 23, p. 589-595, 2007.

FUKASAWA, K.; KAGAYA, S.; MARUYAMA, S.; KUROIWA, S.; MASUDA, K.; KAMEYAMA, Y.; SATOH, Y.; AKATSU, Y.; TOMURA, A.; NISHIKAWA, K.; HORIE, S.; ICHIKAWA, Y. A novel compound, NK150460, exhibits selective antitumor activity against breast cancer cell lines through the activation of the aryl hydrocarbon receptor. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 14, p. 343-354, 2015.

GANESHPURKAR, A.; KUMAR, D.; SINGH, S. K. Strategies for the Synthesis of Hydroxamic Acids. **Current Organic Synthesis**, v. 15, p. 154-165, 2018.

GELB, M. H., HOL, W. G. Drugs to combat Tropical Protozoan Parasites. *Science*, v. 297, p. 343, 2002.

GHOSH, A. K.; GHOSH K.; BRINDISI, M.; LENDYC, E. K.; YEN, Y.; KUMARAGURUBARAN, N.; HUANGE, X.; TANGE, J.; MESECARA, A. D. Design, synthesis, X-ray studies, and biological evaluation of novel BACE1 inhibitors with bicyclic isoxazoline carboxamides as the P3 ligand **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28, p. 2605-2610, 2018.

GILBERT, I. H.; LEROY, D.; FREARSON, J. A. Finding new hits in neglected disease projects: target or phenotypic based screening? **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1284–1291, 2011.

GREUNANGER, P.; VITA-FINZI, P.; DOWLING, J. E. The Chemistry of Heterocyclic Compounds Isoxazoles. Part 2, vol. 170, John Wiley & Sons, 2009.

HAMADI, N. B.; M. MSADDEK, C. R.; An unexpected transformation by reduction of isoxazoles. **Comptes Rendus Chimie**, v.14, p. 653-657, 2012.

HARVEY, A. E.; MANNING, D. L. Spectrophotometric methods of establishing empirical formulas of colored complexes in solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, p. 4498, 1950.

HASSLOCHER-MORENO, A. M.; DO BRASIL, P. E.; DE SOUSA, A. S.; et al. Safety of benznidazole use in the treatment of chronic Chagas' disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 1261–6, 2012.

HEANEY, F. Nitrile Oxide/Alkyne Cycloadditions – A Credible Platform for Synthesis of Bioinspired Molecules by Metal-Free Molecular Clicking, **European Journal of Organic Chemistry**, v. 3043, 2012.

HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical disease: an overview and a report card. **Microbes Infect**, v. 16, n. 8, p. 601-606, 2014.

HOTEZ, P. J.; MOLYNEUX, D. H.; FENWICK, A.; KUMARESAN, J.; SACHS, S. E.; SACHS, J. D.; et al. Control of neglected tropical diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 357, p. 1018–1027, 2007.

HOTEZ, P. J.; PECOUL, B. "Manifesto" for advancing the control and elimination of neglected tropical diseases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 4(5), p. 718, 2010.

HUANG, M.; SUK, D.; CHO, N.; BHATTARAI, D.; KANG, S. B.; KIM, Y.; PAE, A. N.; RHIM, H.; KEUM, G. Synthesis and biological evaluation of isoxazoline derivatives as potent M1 muscarinic acetylcholine receptor agonists.

HURD, C. D.; BUESS, C. M. The formation of polypeptides by rearrangement of carboxy hydroxamic acids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 73(6), p. 2409-2412, 1951.

ILIES, M. A. New Synthetic Strategies for the Management of Chagas Disease (American Trypanosomiasis); **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 296–297, 2014.

JANNIN, J.; VILLA, L. An overview of CD treatment. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** 102 (Supl I): 95–97, 2007.

JOHNSON, J. E.; SPRINGFIELD, J. R.; HWANG, J. S.; HAYES, L. J.; CUNNINGHAM, W. C.; MCCLAUGHERTY, D. L. **Journal of Organic Chemistry**, v. 36, 284–294, 1971.

KEOGAN, D. M.; OLIVEIRA, S. S. C.; SANGENITO, L. S.; BRANQUINHA, M. H.; JAGOO, R. D.; TWAMLEY, B.; SANTOS, A. L. S.; GRIFFITHA, D. M. Novel Antimony(III) Hydroxamic Acid Complexes as Potential Antileishmanial Agents **The Royal Society of Chemistry**, v. 00, p. 1–3, 2013.

KHARE, S.; NAGLE, A. S.; BIGGART, A.; LAI, Y. H.; LIANG, F.; DAVIS, L. C.; BARNES, S. H.; MATHISON, C. J. N.; MYBURGH, E.; GAO, M.; GILLESPIE, J. R.; LIU, X.; TAN, J. L.; STINSON, M.; RIVERA, I. C.; BALLARD, J.; YEH, V.; GROESSL, T.; FEDERE, G.; KOH, H. X. Y.; VENABLE, J. D.; BURSULAYA, B.; SHAPIRO, M.; MISHRA, P. K.; SPRAGGON, G.; BROCK, A.; MOTTRAM, J. C.; BUCKNER, F. S.; RAO, F. P. S.; WEN, B. G.; WALKER, J. R.; TUNTLAND, T.; MOLTENI, V.; GLYNNE, R. J.; SUPEK, F. Proteasome inhibition for treatment of leishmaniasis, Chagas' disease and sleeping sickness. **Nature**, v. 537, p. 229–233, 2016.

KIM, Y.; PAE, A. N.; RHIM, H.; KEUM, G. Synthesis and biological evaluation of isoxazoline derivatives as potent M1 muscarinic acetylcholine receptor agonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 1546–1551, 2015.

KRAUS, G. A. & NEUENSCHWANDER, K. A. Facile Synthesis of *N*-Acyl-2-pyrrolines. **Journal of Organic Chemistry**, v. 46, p. 4792–4795, 1981.

LARANJA, F. S.; DIAS, E.; NOBREGA, G.; MIRANDA, A. Chagas' disease: A clinical, epidemiologic, and pathologic study. **Circulation**, v. 14, p. 1035–60, 1956.

LEE, P. S.; LAPOINTE, G.; MADERA, A. M.; SIMMONS, R. L.; XU, W.; YIFRU, S.; TIANDRA, M.; KARUR, S.; RICO, A.; THOMPSON, K.; BOJKOVIC, J.; XEI, L.; UEHARA, K.; LIU, A.; SHU, W.; BELLAMACINA, C. MCKENNEY, D.; MORRIS, L.; TONN, G. R.; OSBORNE, C.; BENTON, B. M.; MCDOWELL, L.; FU, J. P.; SWEENEY, Z. K. Application of virtual screening to the identification of new LpxC inhibitor chemotypes, oxazolidione and isoxazoline. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, p. 9360–9370, 2018.

LESCURE, F. X.; LE LOUP, G.; FREILJJ, H.; DEVELOUX, M.; PARIS, L.; BRUTUS, L.; PIALOUX, G. Chagas disease: changes in knowledge and management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 10, p.556–570, 2010.

LINGARAJU, S. G.; BALAJI, K. S.; JAYARAMA, S.; ANIL, S. M.; KIRAN, K. R.; SADASHIVA, M. P. Synthesis of new coumarin tethered isoxazolines as potential anticancer agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28 (23–24), p. 3606-3612, 2018.

MARTIN, M. W.; LEE, J. Y.; LANCI JR., D. R.; NG, P. Y.; HAN, B.; THOMASON, J. R.; LYNES, M. S.; MARSHALL, C. G.; CONTI, C.; COLLIS, A.; MORALES, M. A.; DOSHI, K.; RUDNITSKAYA, A.; YAO, B.; ZHENG, X. Discovery of novel N-hydroxy-2-arylisoindoline-4-carboxamides as potent and selective inhibitors of HDAC11. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28, p. 2143–2147, 2018.

MARTINS-MELO, F. R.; ROGERLÂNDIO, F., et al. Prevalence of Chagas disease in Brasil: A systematic review and meta-analysis. **Acta Tropica**, v. 130, p. 167-174, 2014.

MARIN-NETO, J. A.; ALMEIDA FILHO, O. C.; PAZIN-FILHO, A.; MACIEL, B. C.; Indeterminate form of Chagas' disease. Proposal of new diagnostic criteria and perspectives for early treatment of cardiomyopathy. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, p. 623–627, 2002.

MEDEIROS, F. P. M. Potenciais formulações com o benznidazol para tratamento de crianças com a doença de Chagas. 2010. 186 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

MELLO, J., GOMES, R. A., VITAL-FUJII, D. G., FERREIRA, G. M.; TROSSINI, G. H. G. Fragment-based drug discovery as alternative strategy to the drug development for neglected diseases. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 90, p. 1067–1078, 2017.

MEUNIER, B. Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality? **Accounts of Chemical Research**, v. 41, p. 69-77, 2008.

MOCCI, R.; LUCA, L.; DELOGU, F.; PORCHEDDU, A. An Environmentally Sustainable Mechanochemical Route to Hydroxamic Acid Derivatives. *Advanced Synthesis & Catalysis*, v. 2, p. , 2016

MORILLO, C. A.; MARIN-NETO, J. A.; AVEZUM, A.; et al. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**, v. 373, p. 1295-1306, 2015.

MOUSSA, S. A.; OSMAN, E. E. A.; EID, N. M.; ABOU-SERI, S. M.; EL MOGHAZY, S. M. Design and synthesis of novel 5-(4-chlorophenyl)furan derivatives with inhibitory activity on tubulin polymerization **Future Medicinal Chemistry**, v. 10 (16), p. 1907, 2018.

MS. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico. Secretária de Vigilância em Saúde, v. 50, n. 2, 2019. Disponível em: < portal.arquivos2.saude.gov.br/imagens/pdf/2019/23/2018-025.pdf > Acesso em 20/06/2019.

MUKAIYAMA, T.; HOSHINO, T. The reaction of primary nitroparaffins with isocyanates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 82, p. 5339-5342, 1960.

MURI, E. M.; NIETO, M. J.; SINDELAR, R. D.; WILLIAMSON, J. S. **Current Medicinal Chemistry**. v. 9, p. 1631–1653, 2002.

MURTA, S. M. F.; GAZZINELLI, R. T.; BRENER, Z.; ROMANHA, A. J. Molecular characterization of susceptible and naturally resistant strains of *Trypanosoma cruzi* to benznidazole and nifurtimox. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 93, p. 203–214, 1998.

NAM, N. H.; HUONG, T. L.; DUNG, D. T. M.; DUNG, P. T. P.; OANH, D. T. K.; PARK, S. H.; KIM, K.; HAN, S. W.; YOON, J. E.; KANG, J. S.; KIMYSANDHAN, S.B. Synthesis, bioevaluation and docking study of 5-substitutedphenyl-1,3,4-thiadiazole based hydroxamic acids as histonedecetylase inhibitors and antitumor agentes. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 29, p. 611, 2014.

NAM, N. H.; HUONG, T. L.; DUNG, D. T. M.; DUNG, P. T. P.; OANH, D. T. K.; QUYEN, D.; THAO, L. T.; PARK, S. H.; KIM, K. R.; HAN, B.; YUN, J.; KANG, J. S.; KIM, Y.; HAN, S. B. Novel isatin-based hydroxamic acids as histone deacetylase inhibitors and antitumor agentes. **European Journal Medicinal Chemistry**, v. 70, p.477, 2013.

NEPALI, K.; SHARMA, S.; SHARMA, M.; BEDI, P. M. S.; DHAR, K. L. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 422, 2014.

NIKOLAOU, A.; NINOU, I.; KOKOTOU, M. G.; KAFFE, E.; AFANTITIS, A.; AIDINIS, V.; KOKOTOS, G. Hydroxamic Acids Constitute a Novel Class of Autotaxin Inhibitors that Exhibit in Vivo Efficacy in a Pulmonary Fibrosis Model. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, p. 3697–3711, 2018.

NOMURA, Y. OGAWA, K.; TAKEUCHI, Y.; TOMODA, S. One-step synthesis and structural confirmation of 1-pyrrolinetrime. **Chemistry Letters**, p. 693–696, 1977.

NUTI, E.; CASALINI, F.; AVRAMOVA, S. I.; SANTAMARIA, S.; CERCIGNANI, G.; MARINELLI, L.; LA PIETRA, V.; NOVELLINO, E.; ORLANDINI, E.; NENCETTI, S.; TUCCINARDI, T.; MARTINELLI, A.; LIM, N. H.; VISSE, R.; NAGASE, H.; ROSSELLO, A. N-O-isopropyl sulfonamido-based hydroxamates: design, synthesis and biological evaluation of selective matrix metalloproteinase-13 inhibitors as potential therapeutic agents for osteoarthritis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p. 4757–4773, 2009.

PASHKOVSKIYA, F. S.; DONTSOVA, Y. S.; RUBINOVA, D. B.; BARANOVSKIYA, A. V.; LAKHVICHA, F. A. Chemical Transformations of 5,5-Dimethyl-2-(3-aryl-4-nitrobutanoyl)cyclohexane-1,3-diones. Synthesis of 6,7-Dihydrobenzo[d]isoxazol-4(5H)-ones and 6,7-Dihydro-1H-indazol-4(5H)-ones with Isoxazole and Isoxazoline Fragments in the Side Chain. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 54(5), p. 751–762, 2018.

PERRAKIS, A.; MOOLENAAR, W. H. Autotaxin: structure-function and signaling. **Journal of Lipid Research**, v. 55, p. 1010–1018, 2014.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 391, p. 82–94, 2018.

PINAZO, M. J.; CAÑAS, E.; ELIZALDE, J. I.; et al. Diagnosis, management and treatment of chronic Chagas' gastrointestinal disease in areas where *Trypanosoma cruzi* infection is not endemic. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 33, p. 191–200, 2010.

PINTO, A. Y.; VALENTE, A. S.; VALENTE, V. D. C.; FERREIRA JUNIOR, A. G.; COURA, J. R. Acute phase of Chagas disease in the Brazilian Amazon region: study

of 233 cases from Pará, Amapá and Maranhão observed between 1988 and 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 602–14, 2008.

PINTO, A.; ALI, Z. E.; MONIOT, S.; TAMBORINI, L.; STEEGBORN, C.; FORESTI, R.; DE MICHELI, C. Effects of 3-Bromo-4,5-dihydroisoxazole Derivatives on Nrf2 Activation and Heme Oxygenase-1 Expression **ChemistryOpen**, v. 7, p. 858 –864, 2018.

PONDER, E. L.; FREUNDLICH, J. S.; SARKER, M.; EKINS, S. Computational models for neglected diseases: gaps and opportunities. **Pharmaceutical Research**, v. 31(2), p. 271–277, 2014.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, p. 92–100, 2001.

PRIOTTO, G.; PINOGES, L.; FURSA, I. B.; BURKE, B.; NICOLAY, N.; GRILLET, G.; HEWISON, C.; BALASEGARAM, M. Safety and effectiveness of first line eflornithine for *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness in Sudan: cohort study. **BMJ**, v. 336, p. 705–708, 2008.

PUTTASWAMY, N.; KUMAR, G. S. P.; AL-GHORBANI, M.; VIGNESHWARAN, V.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis and biological evaluation of salicylic acid conjugated isoxazoline analogues on immune cell proliferation and angiogenesis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 114, p. 153-161, 2016.

RAMSBECK, D.; HAMANN, A.; RICHTER, G.; SCHLENZIG, D.; GEISLER, S.; NYKIEL, V.; CYNIS, H.; SCHILLING, S.; BUCHHOLZ, M. Structure-Guided Design, Synthesis, and Characterization of NextGeneration Meprin β Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, p. 4578–4592, 2018.

RASSI JR, A.; RASSI, A.; MARI-NETO, J. A. Chagas Disease. **The Lancet**, v. 375, p. 1388-1402, 2010.

RASSI, A. Jr.; RASSI, S.G.; RASSI, A. Sudden death in Chagas' disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 76, p. 75–96, 2001.

RIBEIRO, A. L.; ROCHA, M. O. Indeterminate form of Chagas disease: considerations about diagnosis and prognosis **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 301 – 314, 1998.

RIBEIRO, I.; SEVCSIK, A. M.; ALVES F, DIAP G, DON R, HARHAY MO, et al. New improved treatments for Chagas disease: from the R&D pipeline to the patients. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 3(7), p. 484, 2009.

RODRIGUES, G. C.; FEIJÓ, D. F.; BOZZA, M. T.; PAN, P.; VULLO, D.; PARKKILA, S.; SUPURAN, C. T.; CAPASSO, C.; AGUIAR, A. P.; VERMELHO, A. B. Design, Synthesis, and Evaluation of Hydroxamic Acid Derivatives as Promising Agents for the Management of Chagas Disease; **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 298–308, 2014.

SABINO, E. C.; RIBEIRO, A. L.; SALEMI, V. M.; IANNI, B. M.; NASTARI, L.; FERNANDES, F.; OLIVEIRA, C. D. L.; ANTUNES, A. P.; MENEZES, M. M.; PATAVINO, G. M.; CAPUANI, L.; DE ALMEIDA-NETO, C.; SACHDEV, V.; CARRICK, D. M.; WRIGHT, D.; KAVOUNIS, K.; GONZALEZ, T. T.; CUSTER, B.; BUSCH, M. P.; MURPHY, E. L.; CARNEIRO-PROIETTI, A. Ten-year incidence of Chagas cardiomyopathy among asymptomatic *Trypanosoma cruzi* seropositive former blood donors. **Circulation**, v. 127, p.1105–1115, 2013.

SCHMUNIS, G. A. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94 (supl 1), p. 93-101, 1999.

SCHMUNIS, G. A.; SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, p. 14–21, 2010.

SELLMER, A.; STANGL, H.; BEYER, M.; GRÜNSTEIN, E.; LEONHARDT, M.; PONGRATZ, H.; EICHHORN, E.; ELZ, S.; STRIEGL, B.; JENEI-LANZL, Z.; DOVE, S.; STRAUB, R. H.; KRÄMER, O. H.; MAHBOOBI, S. Marbostat-100 Defines a New Class of Potent and Selective Antiinflammatory and Antirheumatic Histone Deacetylase 6 Inhibitors **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 61, p. 3454–3477, 2018.

SEVASTOU, I.; KAFFE, E.; MOURATIS, M. A.; AIDINIS, V. Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders: the PLA2/LPC and ATX/LPA axes. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of lipids**, v. 1831, p. 42–60, 2013.

SILVA, J. J.; GUEDES, P. M.; ZOTTIS, A.; BALLIANO, T. L.; SILVA, F. O. N.; LOPES, L. G. F.; ELLENA, J.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D.; FRANCO, D. W.; SILVA, J. S. Novel Ruthenium Complexes as Potential Drugs for Chagas' Disease: Enzyme Inhibition and In Vitro/In Vivo Trypanocidal Activity. **British Journal of Pharmacology**, v. 160, p. 260–269, 2010.

SKINNER-ADAMS, T. S.; SUMANADASA, S. D. M.; FISHER, G. M.; DAVIS, A. R.; DOOLAN, D. L.; ANDREWS, K. T. Defining the targets of antiparasitic compounds. **Drug Discovery Today**, v. 21, p. 725–739, 2016.

SOEIRO, M. N. C.; DANTAS, A. P.; DALIRY, A.; DA SILVA, C. F.; BATISTAI, D. G. J.; DE SOUZA, E. M.; OLIVEIRA, G. M.; SALOMÃO, K.; BATISTAI, M. M.; PACHECOI, M. G. O.; DA SILVA, P. B.; SANTA-RITA, R. M.; BARRETO, R. F. S. M.; BOYKIN, D. W.; DE CASTRO, S. L. Experimental Chemotherapy for Chagas Disease: 15 Years of Research Contributions from In Vivo and In Vitro Studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 301–310, 2009.

SOEIRO, M. N. C.; DE CASTRO, S. L. Screening of Potential Anti *Trypanosoma cruzi* Candidates: In vitro and In Vivo Studies. **The Open Medicinal Chemistry Journal**, v. 5, p. 21–30, 2011.

SPARKS, S. M.; CHOW, C. P.; ZHU, L.; SHEA, K. J. Type 2 intramolecular Nacylnitroso Diels-Alder reaction: Scope and application to the synthesis of medium ring lactams. **Journal of Organic Chemistry**, v. 69(9), p. 3025-3035, 2004.

STOPPANI, A. O. M. **Medicina**, v. 59 (Supl. II), p. 147, 1999.

SUPURAN, C. T.; CAPASSO, C. The eta-class carbonic anhydrases as drug targets for antimalarial agentes. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 19, p. 551–563, 2015.

TARLETON, R. L. Parasite persistence in the a etiology of Chagas disease. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 550-554, 2001.

TOLEDO, M.; BAHIA, M.; VELOSO, V.; CARNEIRO, C.; MACHADO-COELHO, G.; ALVES, C.; et al. Effects of specific treatment on parasitological and histopathological parameters in mice infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53 (6), p.1045–1053, 2004.

TOMMASI, R. A.; WEILER, S.; MCQUIRE, L. W.; ROGEL, O.; CHAMBERS, M.; CLARK, K.; DOUGHTY, J.; FANG, J.; GANU, V.; GROB, J.; GOLDBERG, R.; GOLDSTEIN, R.; LAVOIE, S.; KULATHILA, R.; MACCHIA, W.; MELTON, R.; SPRINGER, C.; WALKER, M.; ZHANG, J.; ZHU, L.; SHULTZ, M. Potent and selective 2-naphthylsulfonamide substituted hydroxamic acid inhibitors of matrix

metalloproteinase-13. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 6440–6445, 2011.

TORRICO, F.; ALONSO-VEGA, C.; SUAREZ, E. *et al.* Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity, and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 70, p. 201-209, 2004.

TOSO, M.A.; VIAL, U.F.; GALANTI, N. Oral transmission of Chagas' disease. **Revista médica de Chile** v. 139, p. 258–266, 2011.

TUNG, T.; KIM, O. D. T.; PHUONG, D. P. T.; HUE, V. T.; PARK, S. H.; HAN, S. W.; KIM, Y.; HONG, J. T.; HAN, S. B.; NAM, N. H. New benzothiazole/thiazole-containing hydroxamic acids as potent histone deacetylase inhibitors and antitumor agentes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 1051, 2013.

VARIKUTI, S.; JHA, B. K.; VOLPEDO, G.; RYAN, N. M.; HALSEY, G.; HAMZA, O. M.; MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Host-Directed Drug Therapies for Neglected Tropical Diseases Caused by Protozoan Parasites. **Frontiers in Microbiology** v. 9, p. 2566-2655, 2018.

VERMELHO, A. B.; CAPACI, G. R.; RODRIGUES, I. A.; CARDOSO, V. S.; MAZOTTO, A. M.; SUPURAN, C. T. Carbonic anhydrases from *Trypanosoma* and *Leishmania* as anti-protozoan drug targets. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 1543–1555, 2017.

VIEIRA, V. M. M.; OHAYON, P. **Revista Economia & Gestão**, v. 13, p. 1, 2006.

VIOTTI, R.; ALARCÓN DE NOVA, B.; ARAUJO-JORGE, T.; GRIJALVA, M. J., Guhl, F.; López, M. C.; *et al.* Towards a paradigm shift in the treatment of chronic chagas disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58 (2), p. 635–639, 2014.

VULLO, D.; VOIPIO, J.; INNOCENTI, A.; RIVERA, C.; RANKI, H.; SCOZZAFAVA, A.; KAILA, K.; SUPURAN, C. T. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the human cytosolic isozyme VII with aromatic and heterocyclic sulfonamides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15 (4), p. 971–976, 2005.

WANG, D.; CHEN, B.; WANG, Y.; ZHANG, X. Ruthenium-Catalyzed Direct Transformation of Alkenyl Oximes to 5-Cyanated Isoxazoles: A Cascade Approach Based on NonStabilized Radical Intermediate. **European Journal of Organic Chemistry**, p.1342–1346, 2018.

WEBER, P.; FONVIELLE, M.; THERISOD, M. New facile synthesis of phosphoglycolohydroxamic acid and other phosphoglycolic acid derivatives. **Tetrahedron Lett.**, v. 44(50), p. 9047-9049, 2003.

WEGNER, D. H.; ROHWEDDER, R. W. The effect of nifurtimox in acute Chagas' infection. **Arzneimittelforschung**, v. 22, p.1624–35, 1972.

WERMUTH, C. G. The Practice of Medicinal Chemistry, Third. ed.; Elsevier Ltd., 2008.

WESS, J.; EGLIN, R. M.; GAUTAM, D. *Muscarinic acetylcholine receptors: mutant mice provide new insights for drug development*. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, p. 721–733, 2007.

WHO. World Health Organization, 2014. Global burden of disease estimates for 2000–2012. Disponível em: < http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index2.html > Acesso em: 25/09/2018.

WHO. World Health Organization, Geneva, 2002. Control of Chagas disease. Second report of the WHO Expert Committee. Technical report series no 905.

WHO. World Health Organization, Geneva, 2010. First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases.

WINTER, C.; KRAUSE, N. Structural Diversity through Gold Catalysis: Stereoselective Synthesis of N-Hydroxypyrrolines, Dihydroisoxazoles, and Dihydro-1,2-oxazines. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, p. 6339 –6342, 2009.

WINUM, J. Y.; SCOZZAFAVA, A.; MONTERO, J. L.; SUPURAN, C. T. **Medicinal Research Reviews**, v. 26, p. 767–792, 2006.

WINUM, J. Y.; SUPURAN C. T. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**. v. 30, p. 321–324, 2015.

WYLLIE, S.; WYLLIE, S.; FOTH, B. J.; KELNER, A.; SOKOLOVA, A. Y.; BERRIMAN, M.; FAIRLAMB, A. H. Nitroheterocyclic drug-resistance mechanisms in *Trypanosoma brucei*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 71, p. 625–634, 2016.

YALE, H.L. The hydroxamic acids. **Chemical Reviews**, v. 33, p. 209-256, 1943.

YANG, R.; LV, M.; XU, H. Synthesis of Piperine Analogs Containing Isoxazoline/Pyrazoline Scaffold and Their Pesticidal Bioactivities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, p. 11254–11264, 2018.

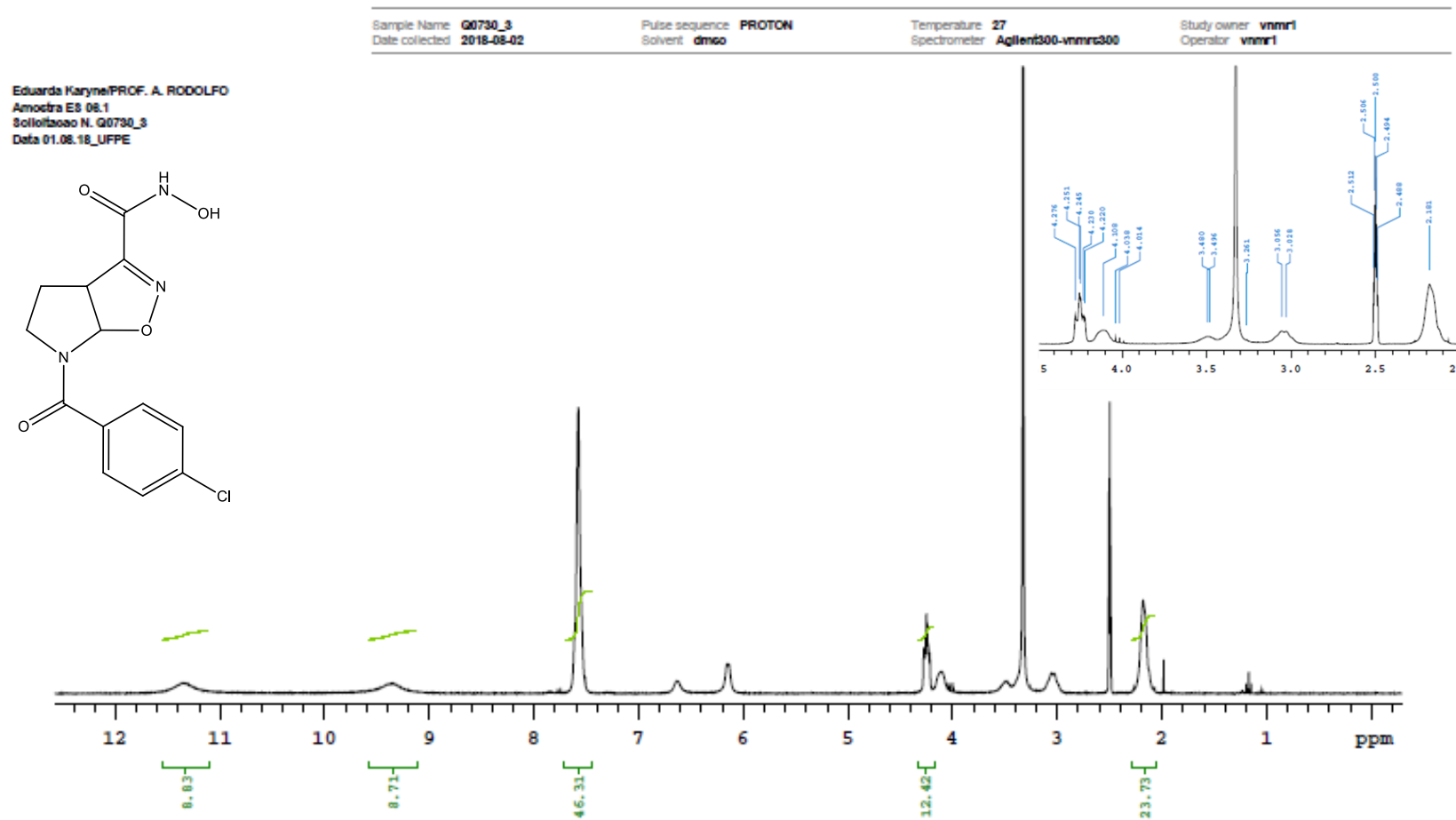
YANG, R.; ZHANG, Y.; XU, H. Synthesis of novel isoxazoline-containing podophyllotoxin/2'(2',6')-(di)halogenopodophyllotoxin derivatives and their insecticidal/acaricidal activities. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 28 (8), p. 1410-1416, 2018.

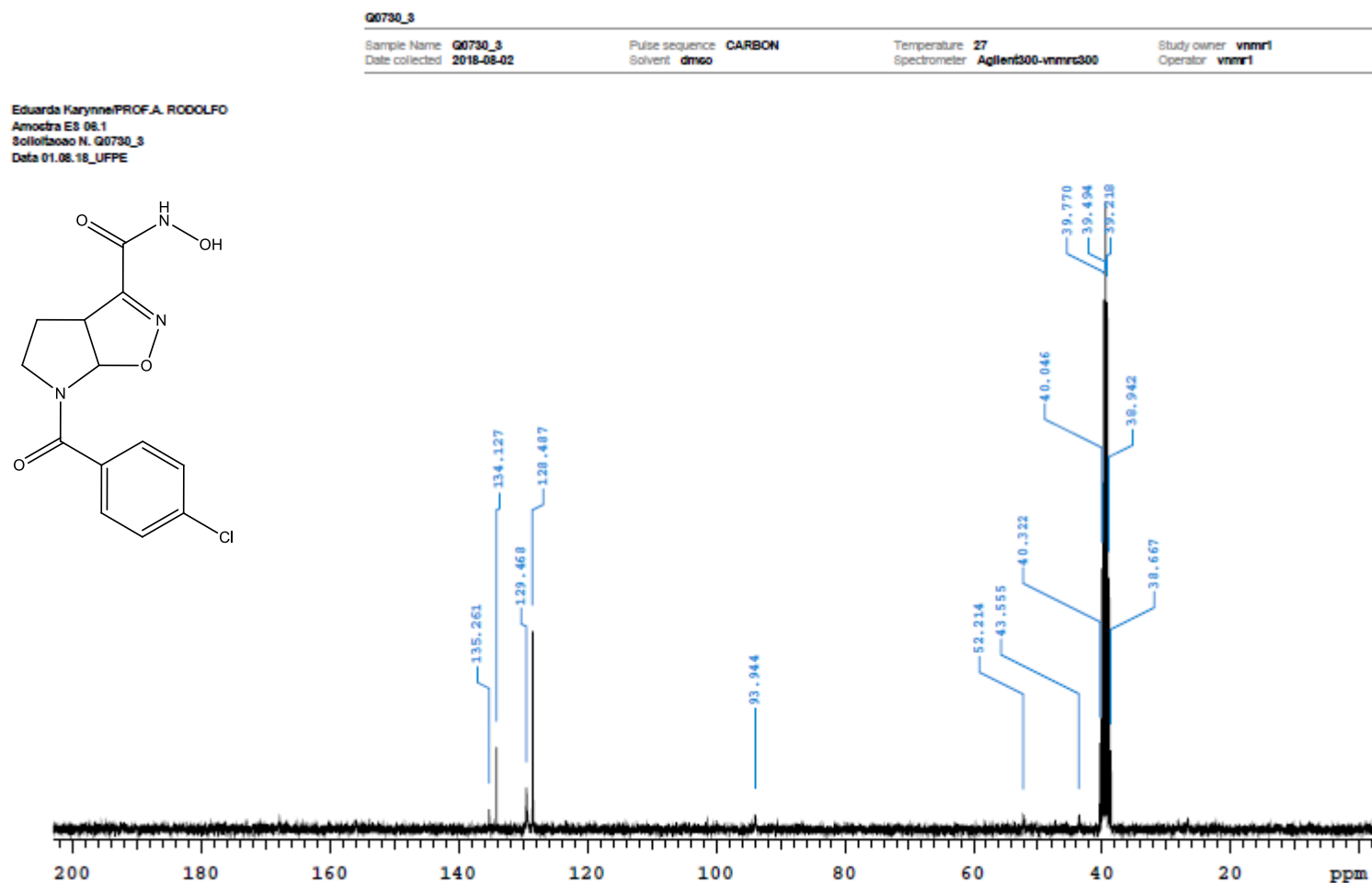
YANG, J.; CHENG, G.; XU, Q.; LUAN, S.; WANG, S.; LIU, D.; ZHAO, L. Design, synthesis and biological evaluation of novel hydroxamic acid based histone deacetylase 6 selective inhibitors bearing phenylpyrazol scaffold as surface recognition motif. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, p. 1418–1425, 2018.

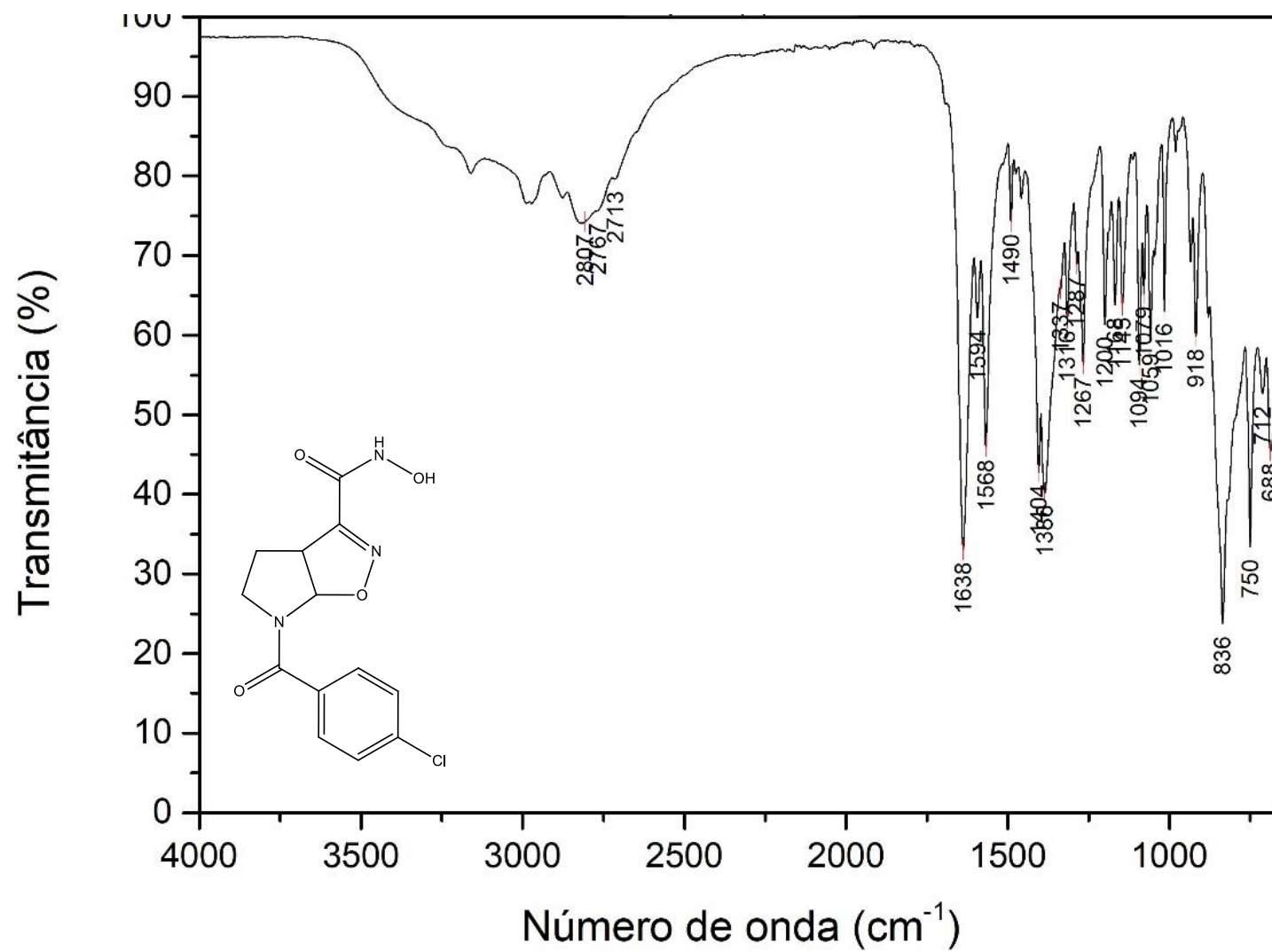
YANG, K.; LOU, B. Molecular Diversity of Hydroxamic Acids: Part I. Solution- and Solid-Phase Synthesis. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 3, p. 349-360, 2003.

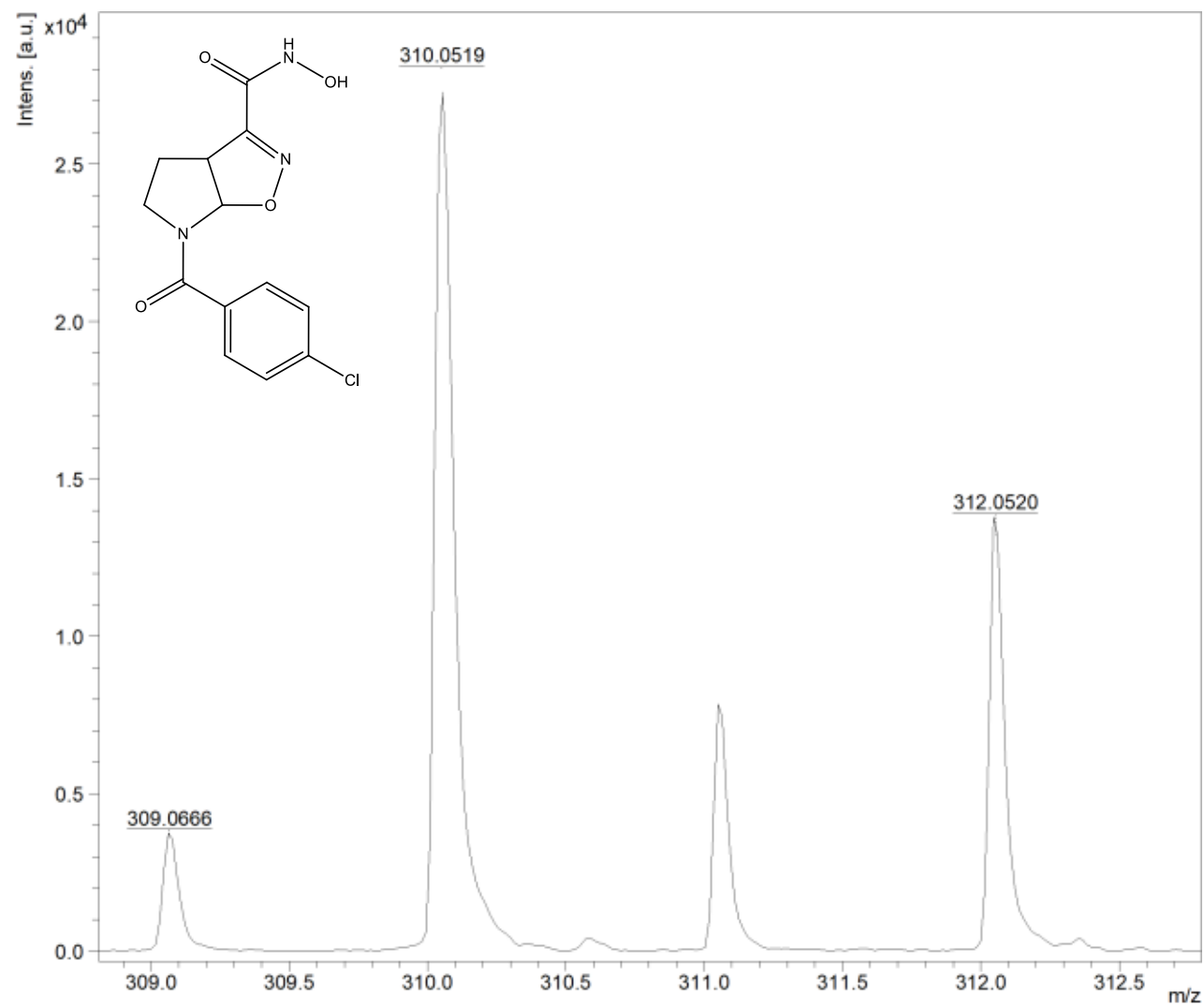
YOSHIDA, N.; TYLER, K.M.; LLEWELLYN, M.S. Invasion mechanisms among emerging food-borne protozoan parasites. **Trends in Parasitology**, v. 27, p. 459-466, 2011.

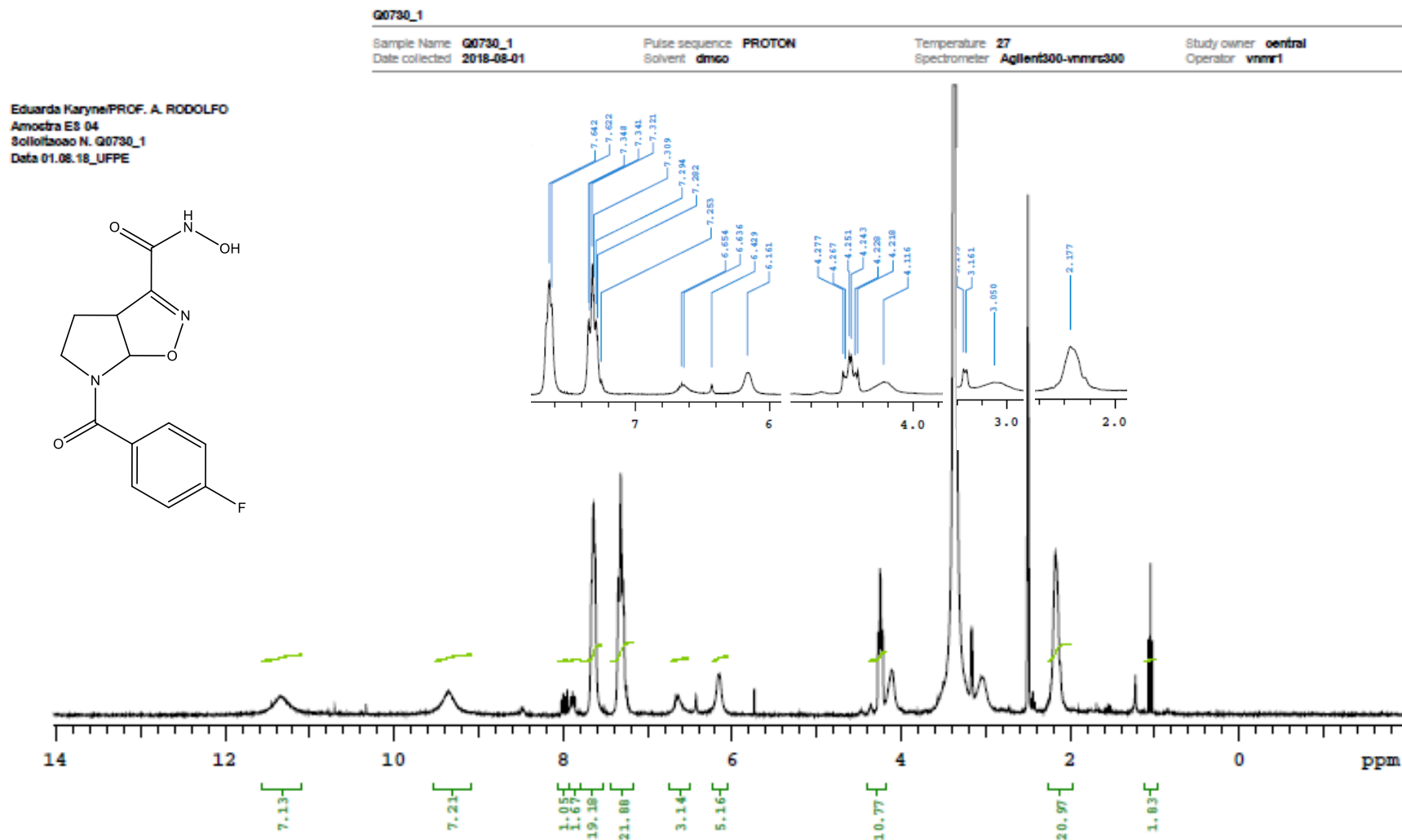
ZNATI, M.; DEBBABI, M.; ROMDHANE, A.; JANNET, H. B.; BOUAJILA, J. Synthesis of new anticancer and anti-inflammatory isoxazolines and aziridines from the natural (-)-deltoin. **Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70 (12), p. 1700–1712, 2018.

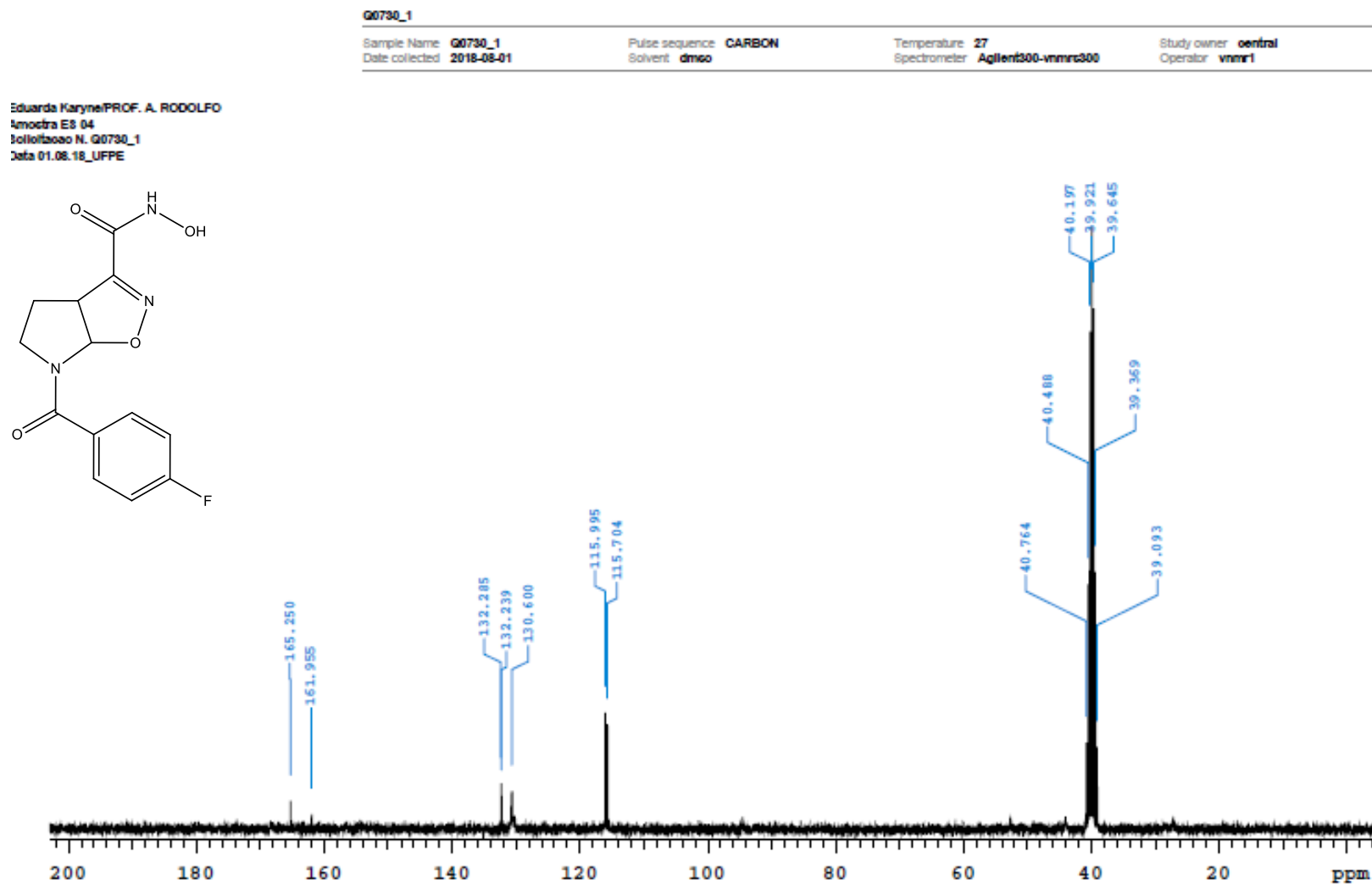
APÊNDICE A - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1a**

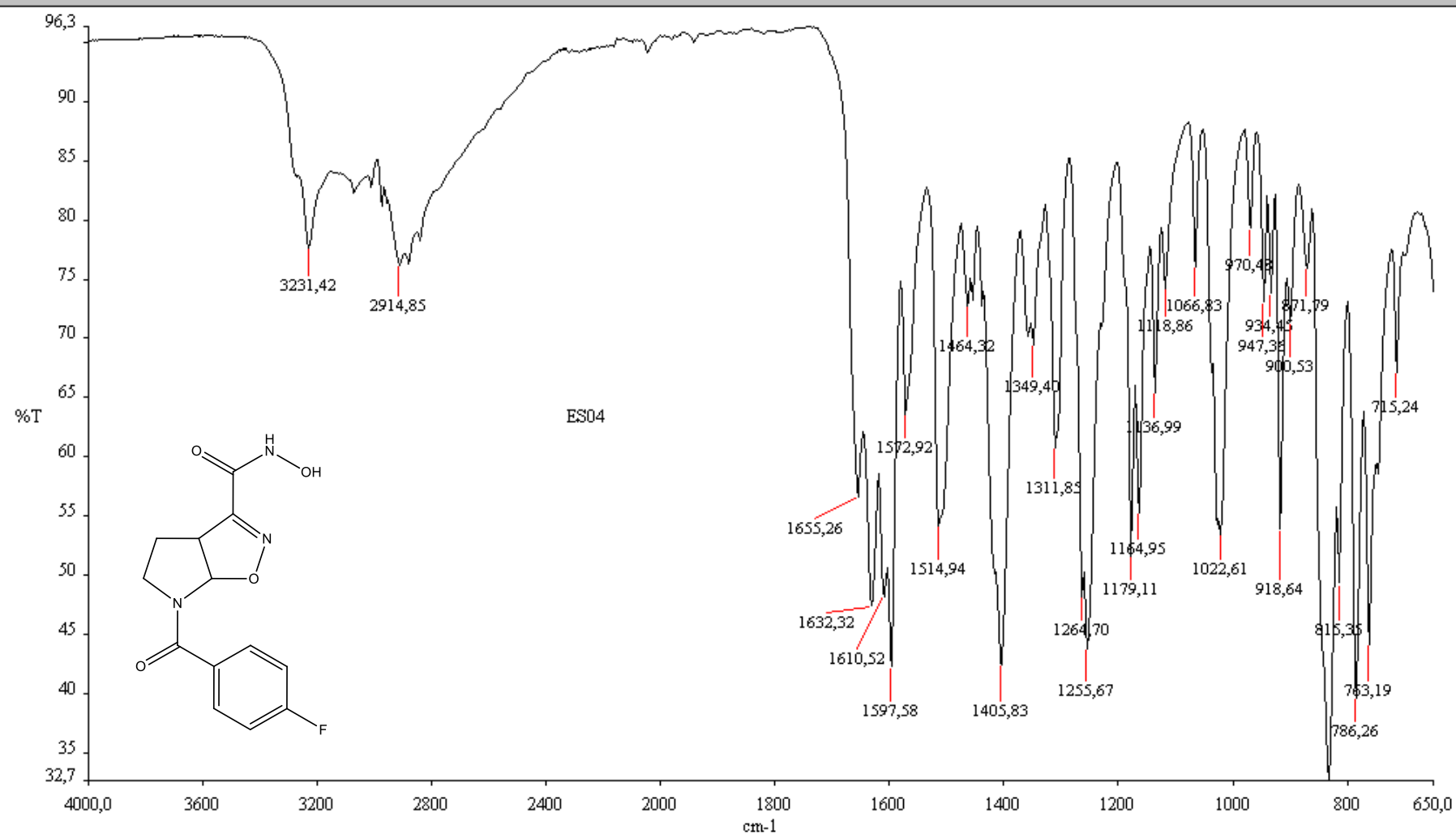
APÊNDICE B - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1a

APÊNDICE C - ESPECTRO INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1a**

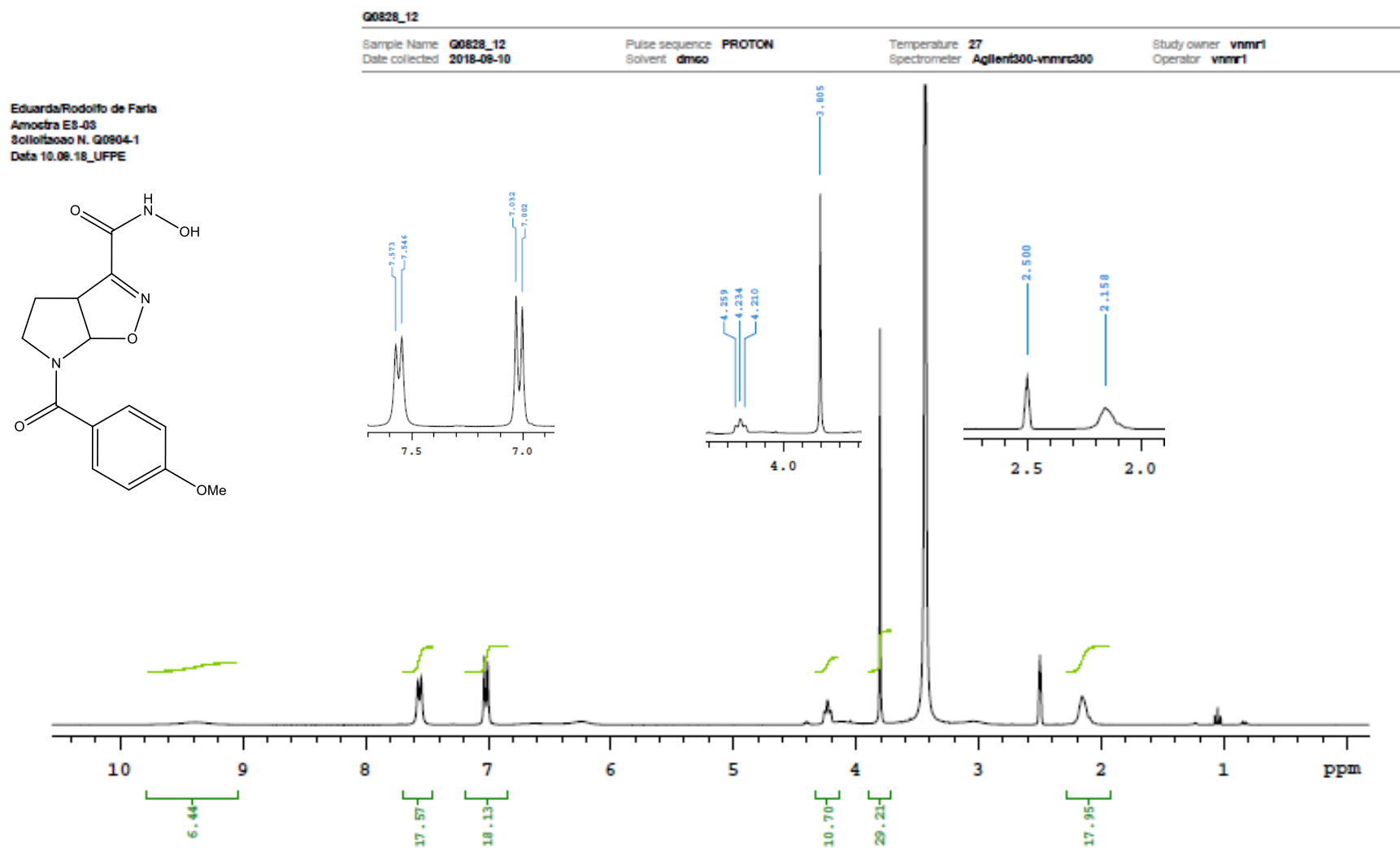
APÊNDICE D - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1a

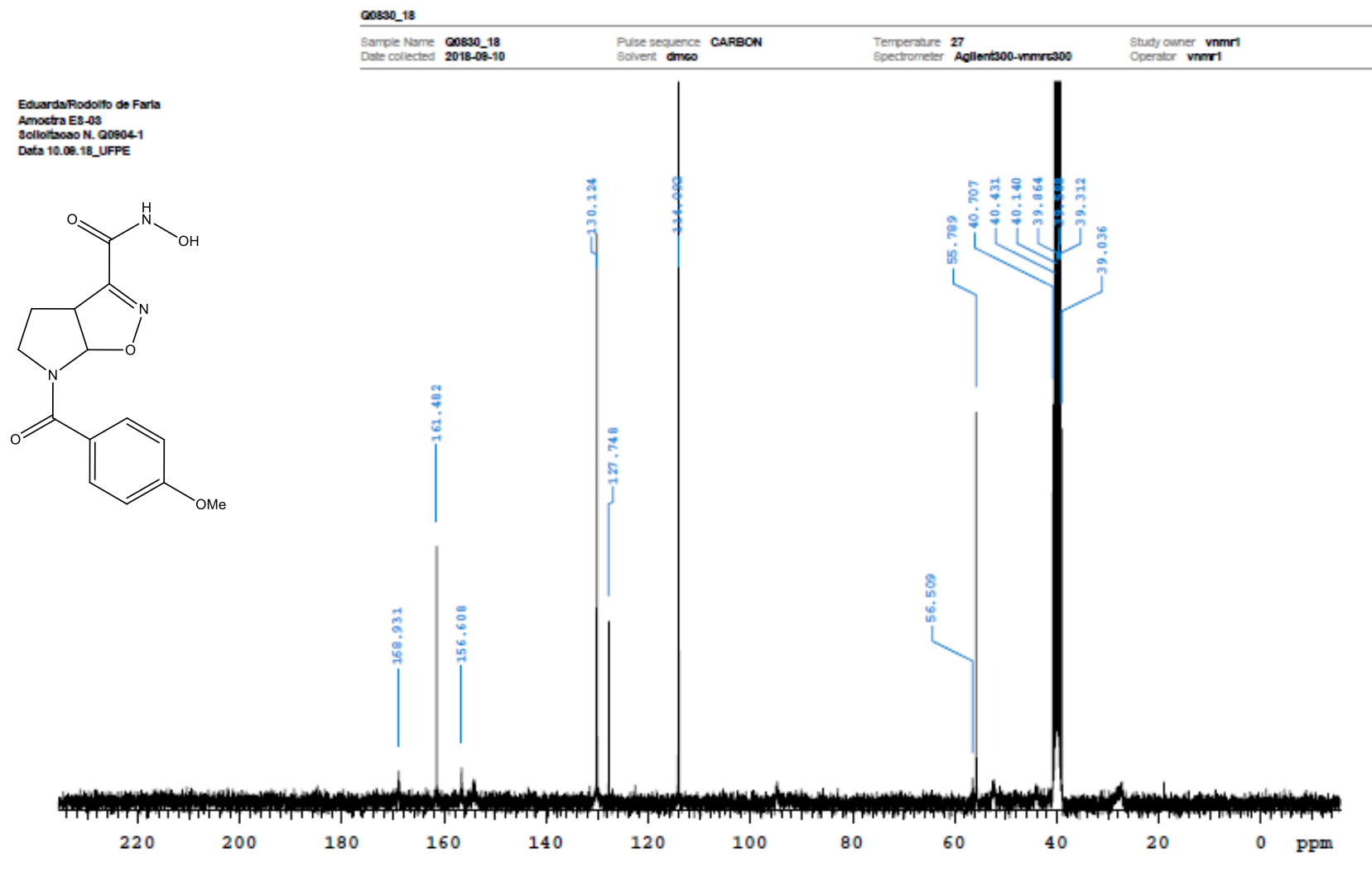
APÊNDICE E - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1b**

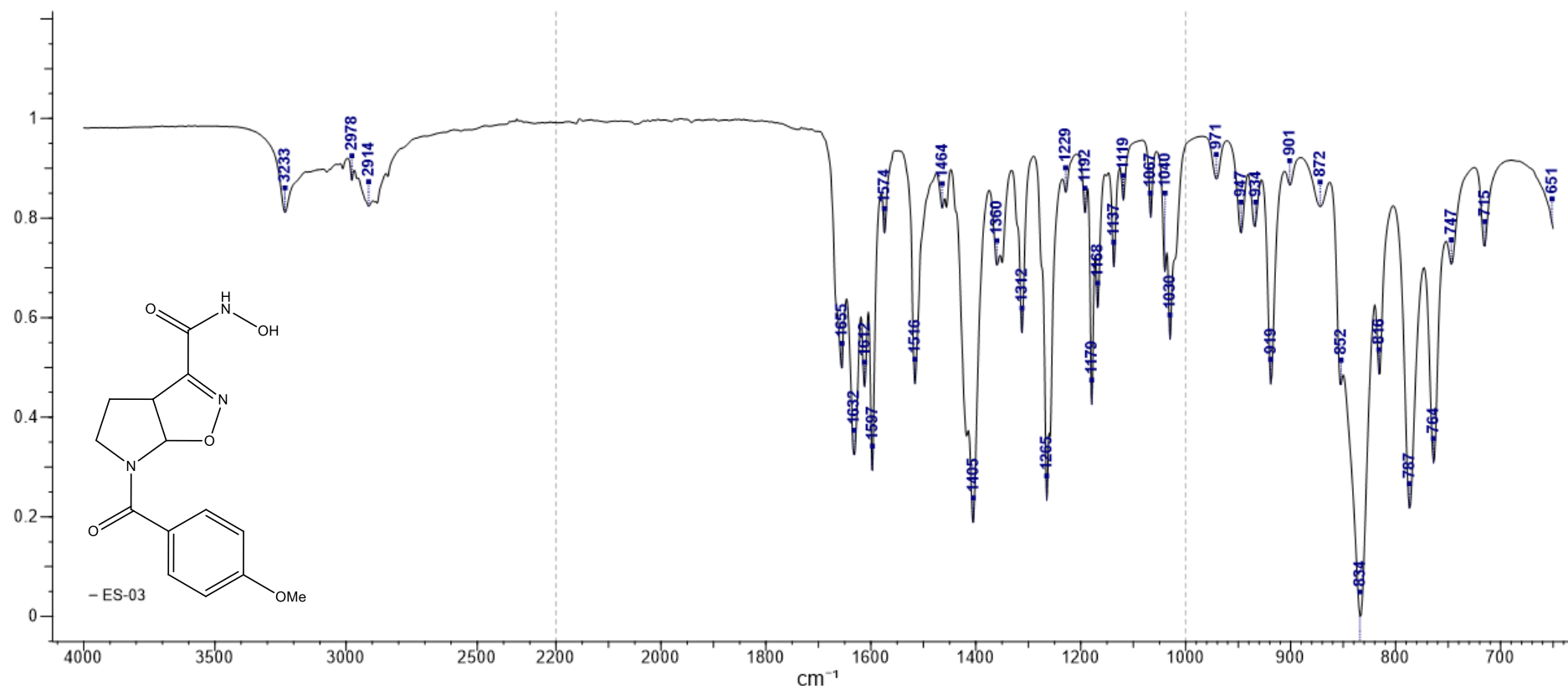
APÊNDICE F - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1b**

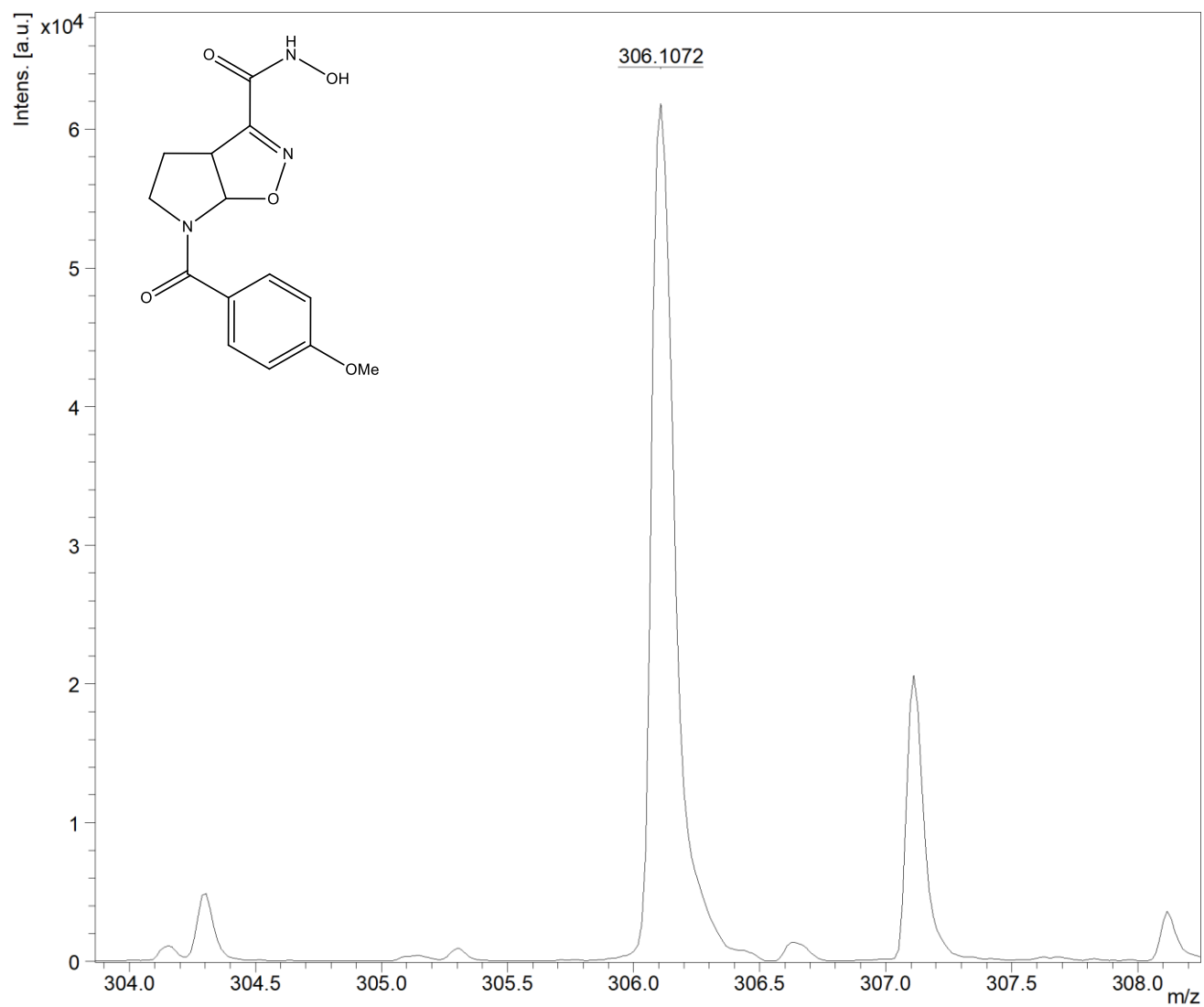
APÊNDICE G - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1b

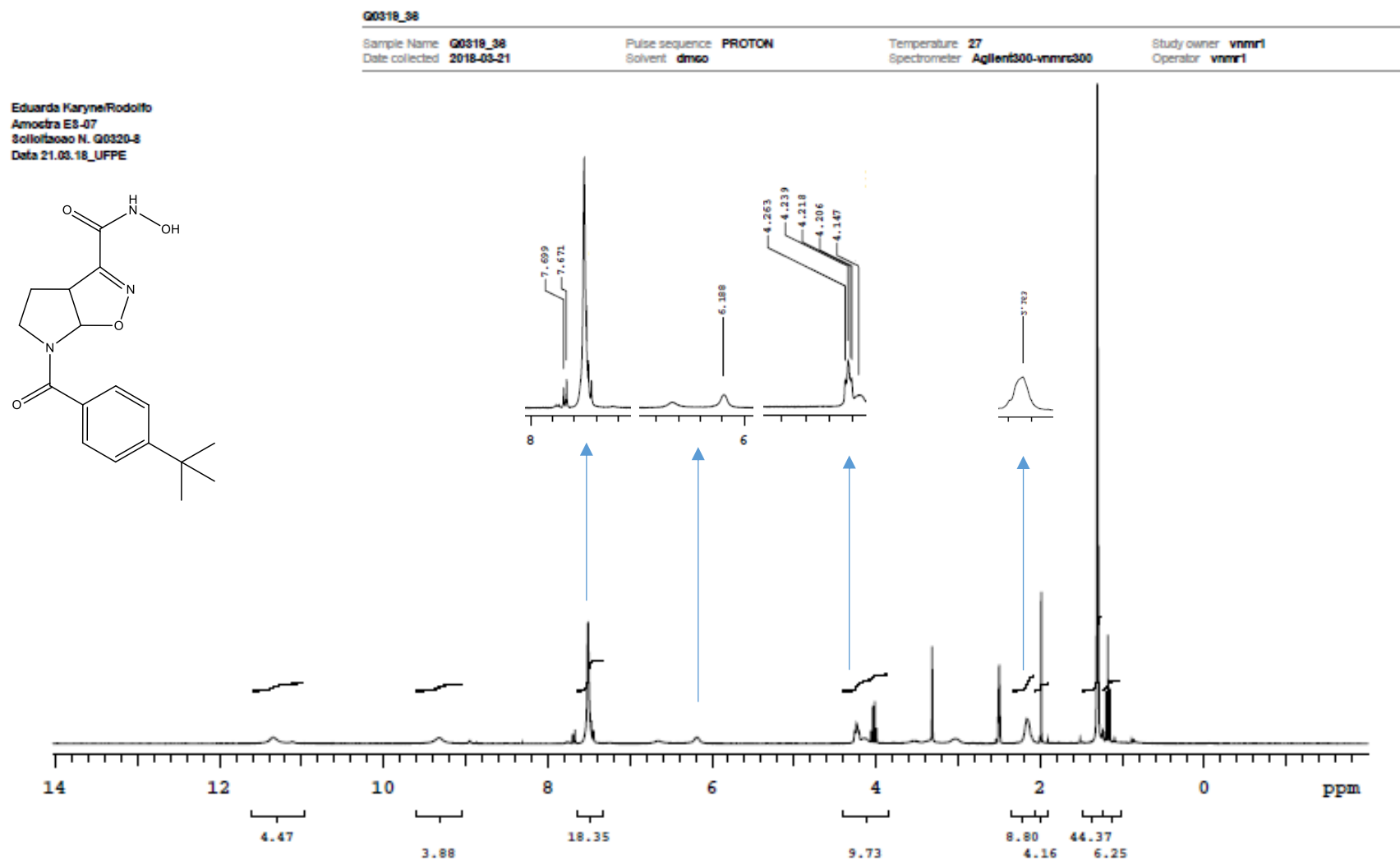
ES04 26 03 18.sp

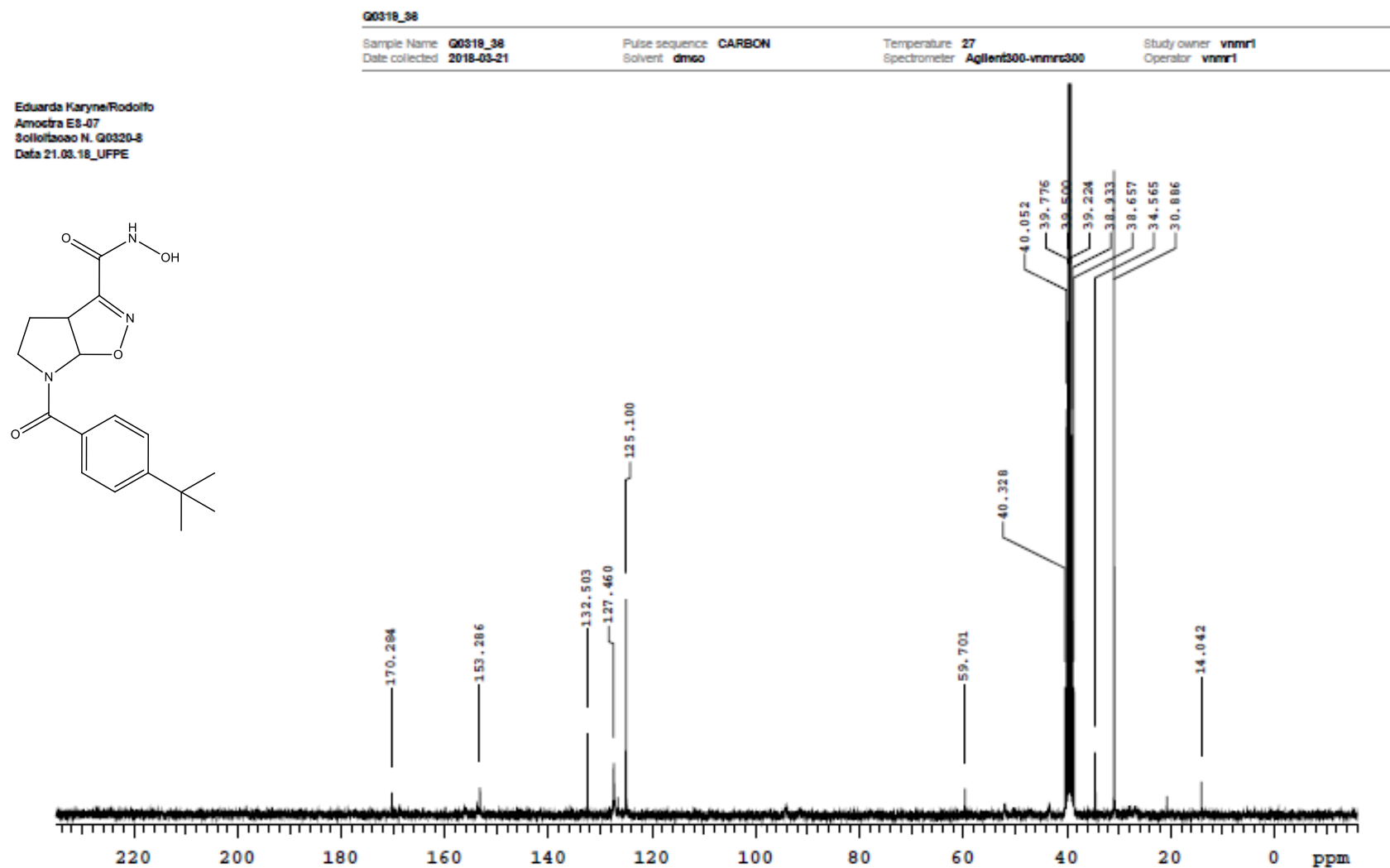
APÊNDICE H - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1c**

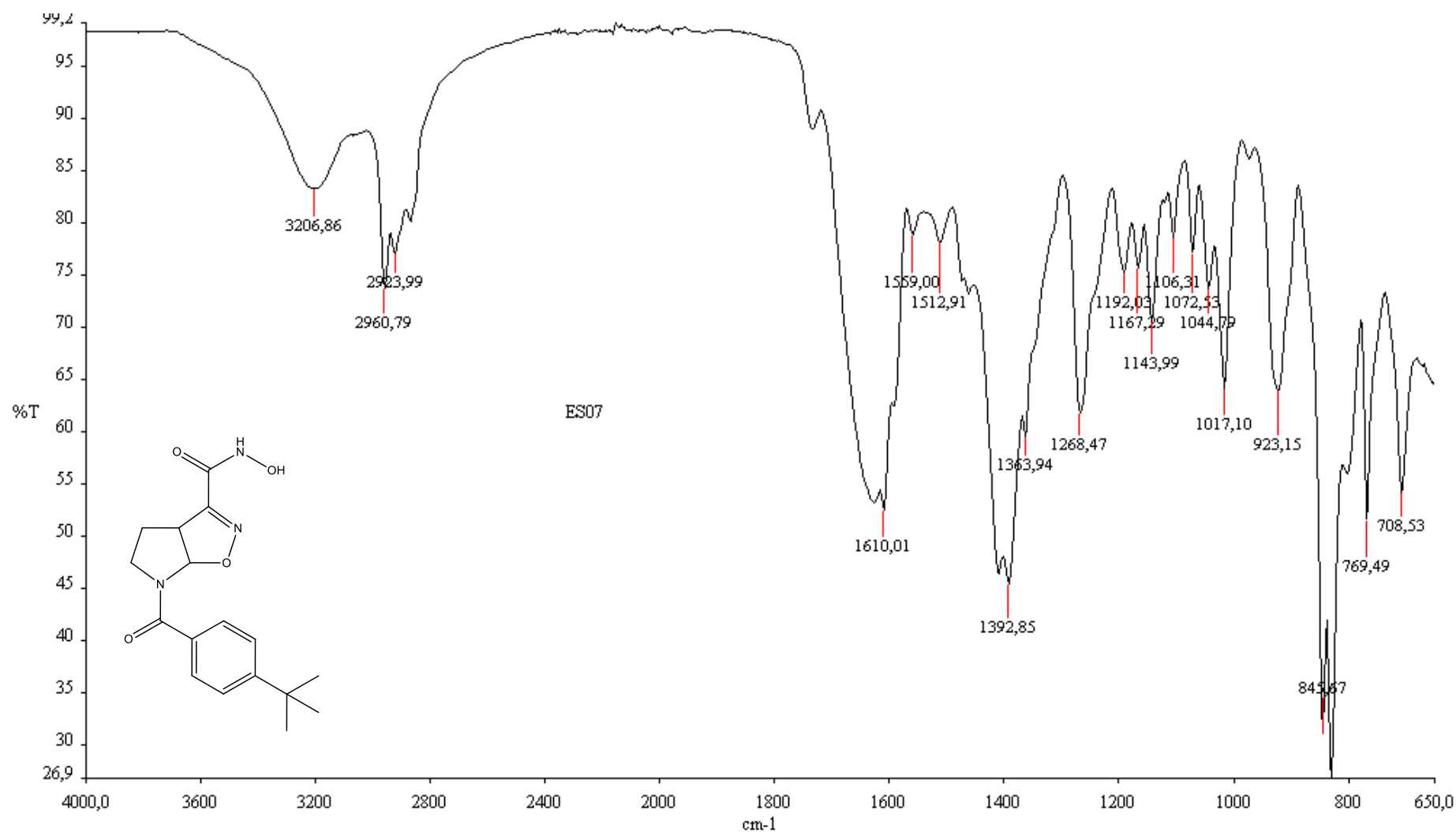
APÊNDICE I - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1c**

APÊNDICE J - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 3a

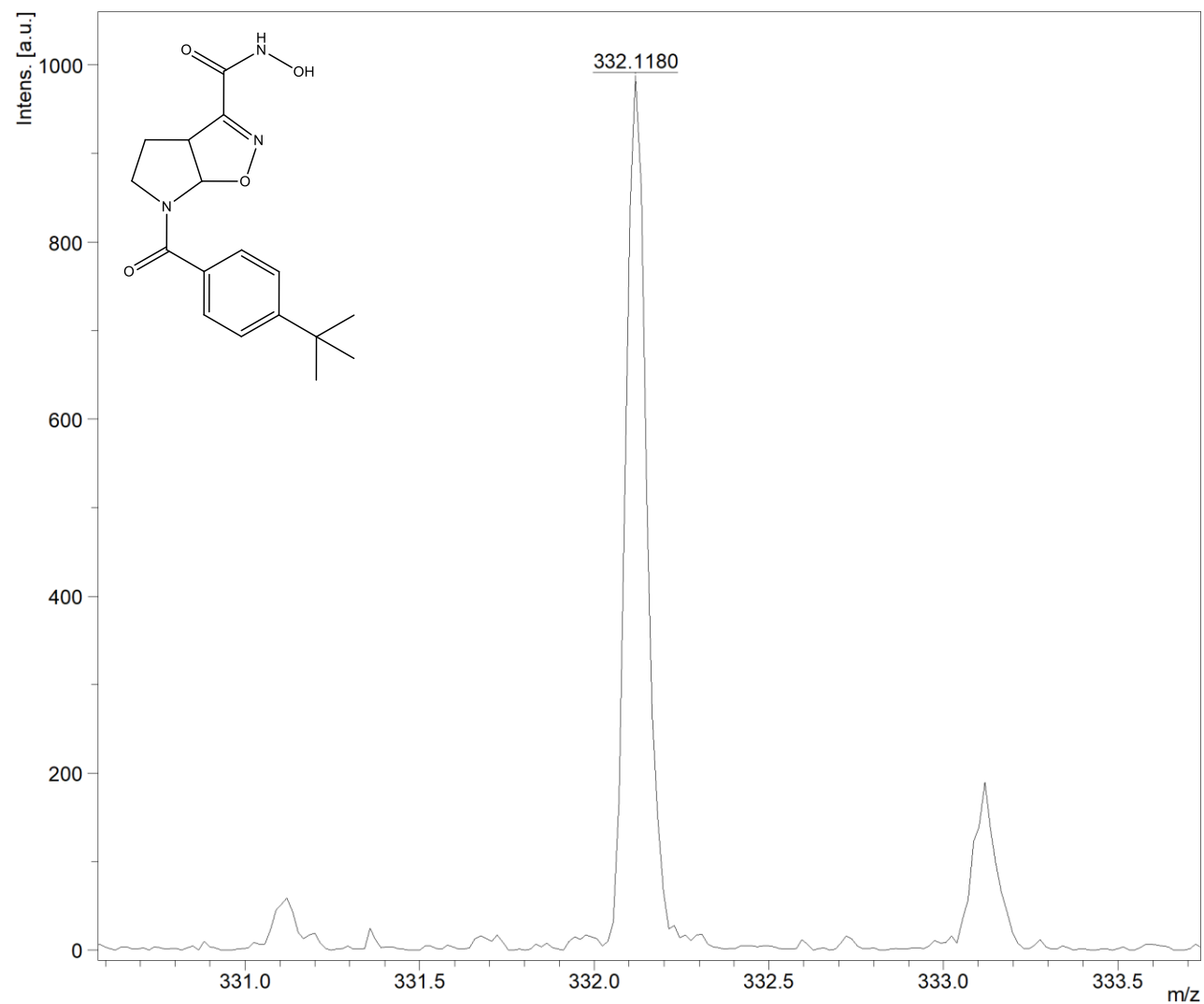
APÊNDICE K - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1c

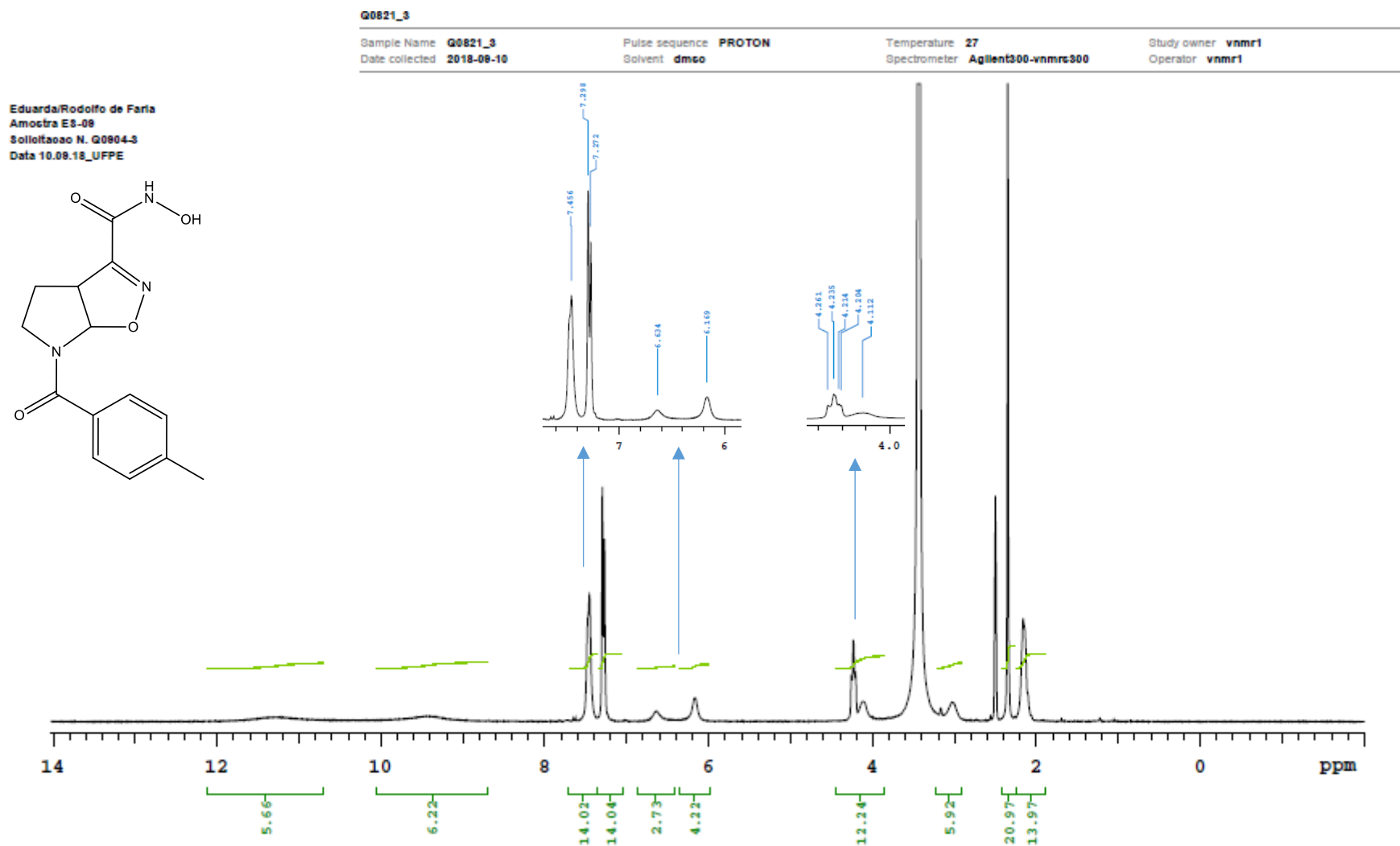
APÊNDICE L - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1d

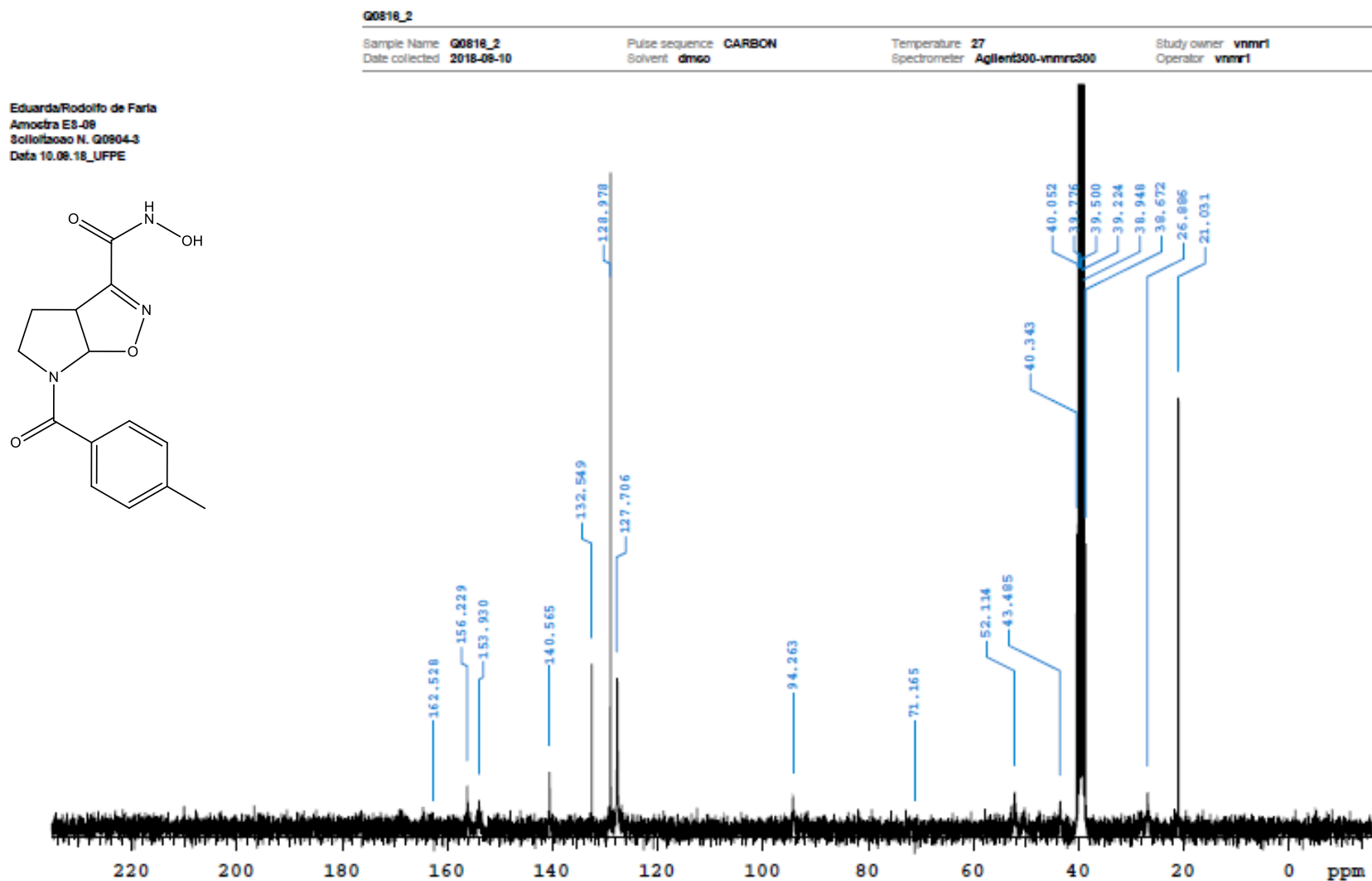
APÊNDICE M - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1d

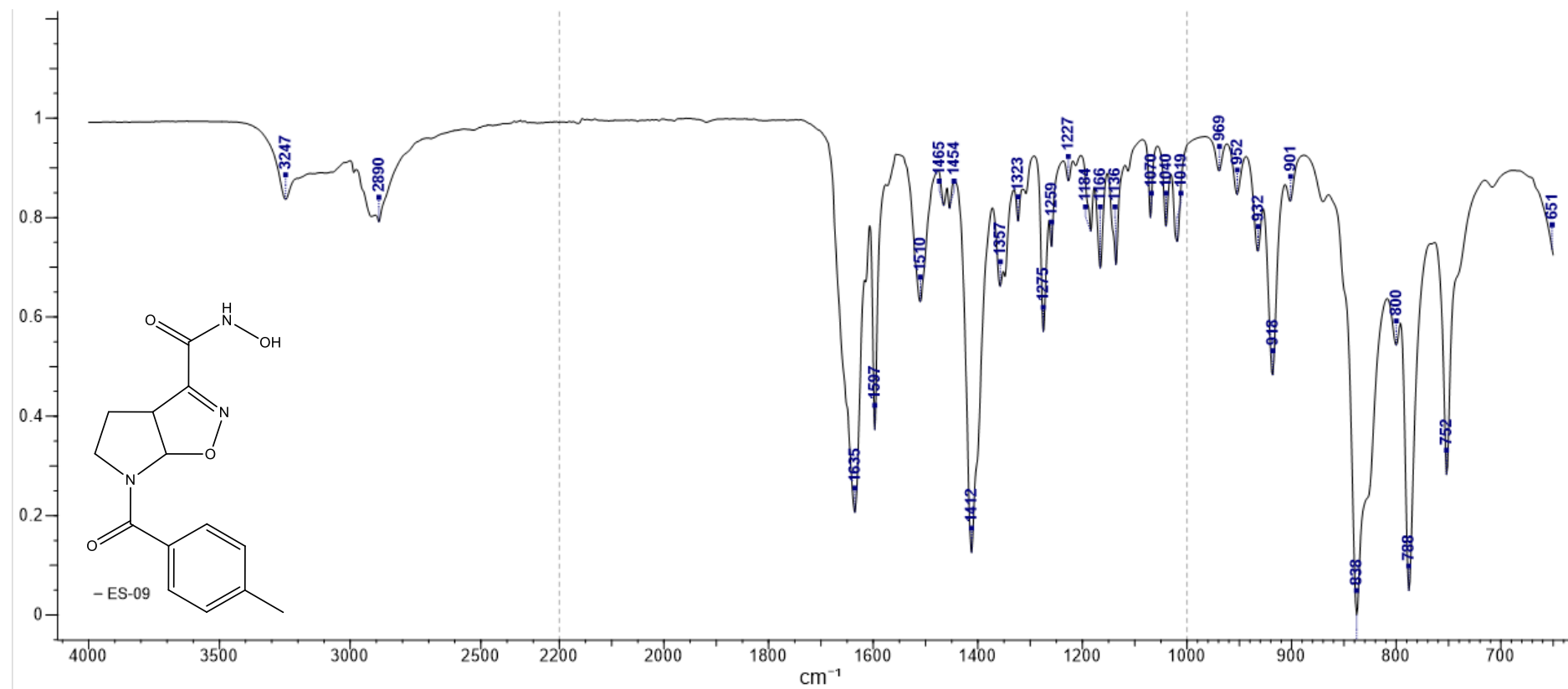
APÊNDICE N - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1d

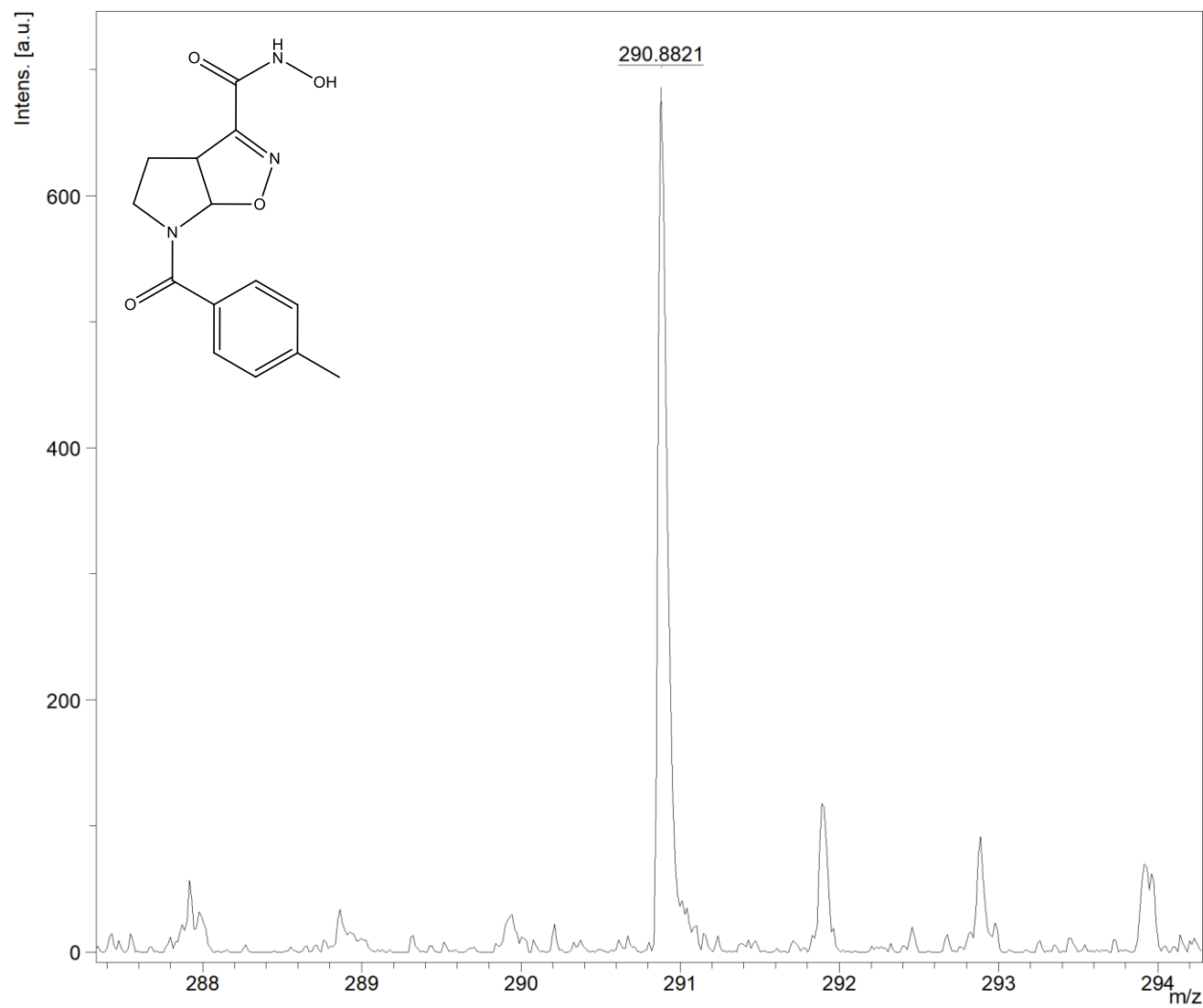
ES07 26 03 18.sp

APÊNDICE O - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1d

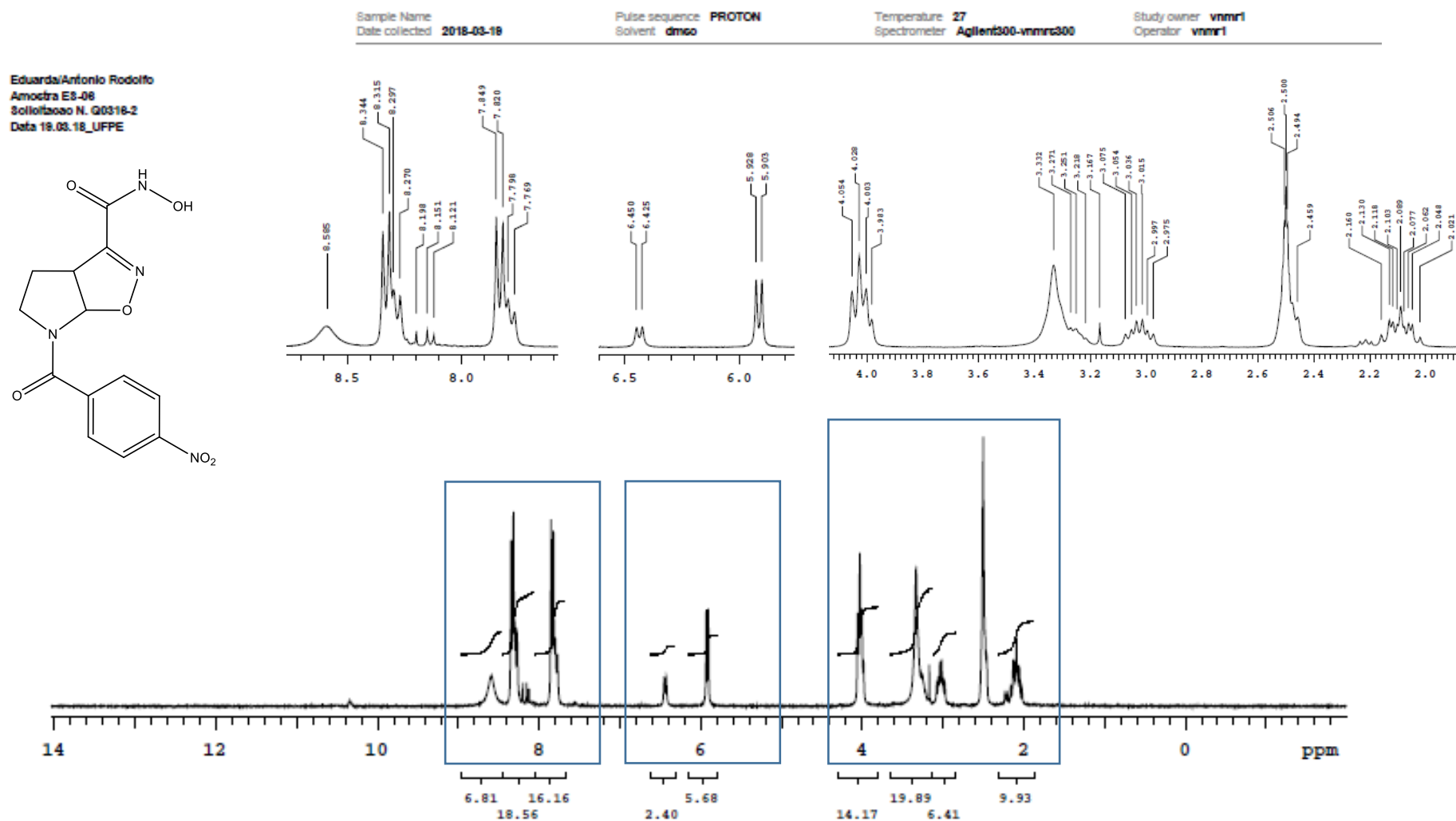
APÊNDICE P - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1e

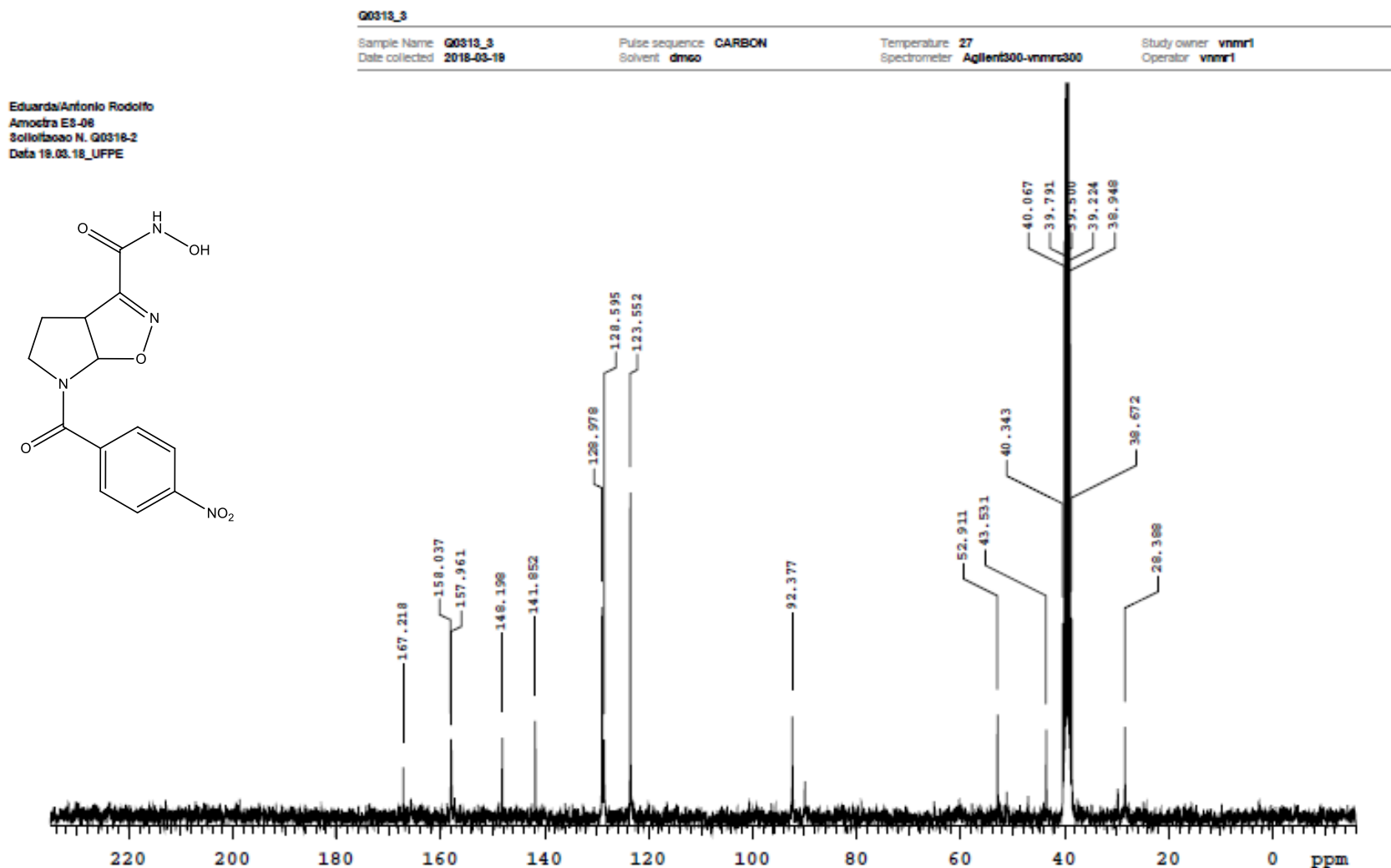
APÊNDICE Q - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1e**

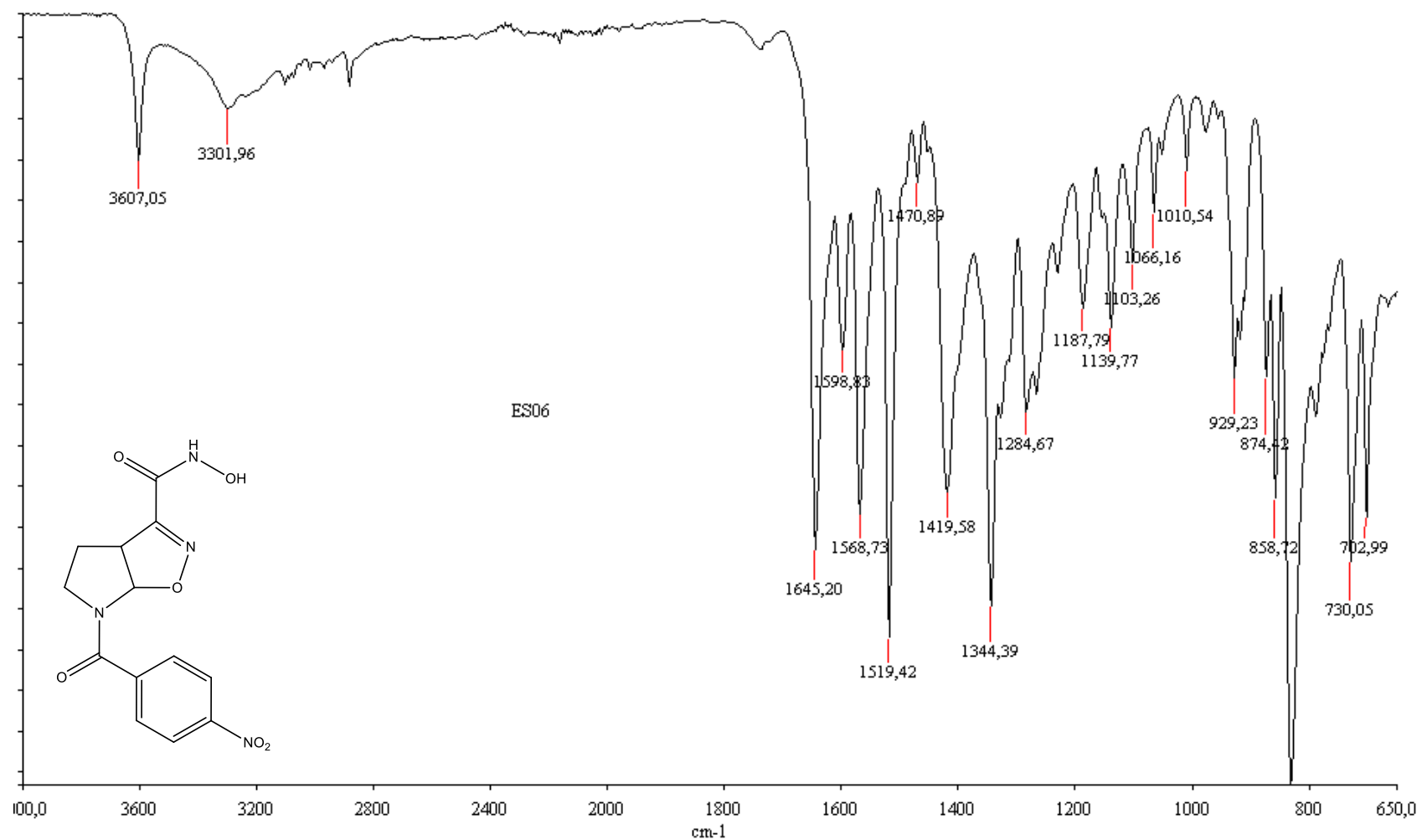
APÊNDICE R - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA 1e

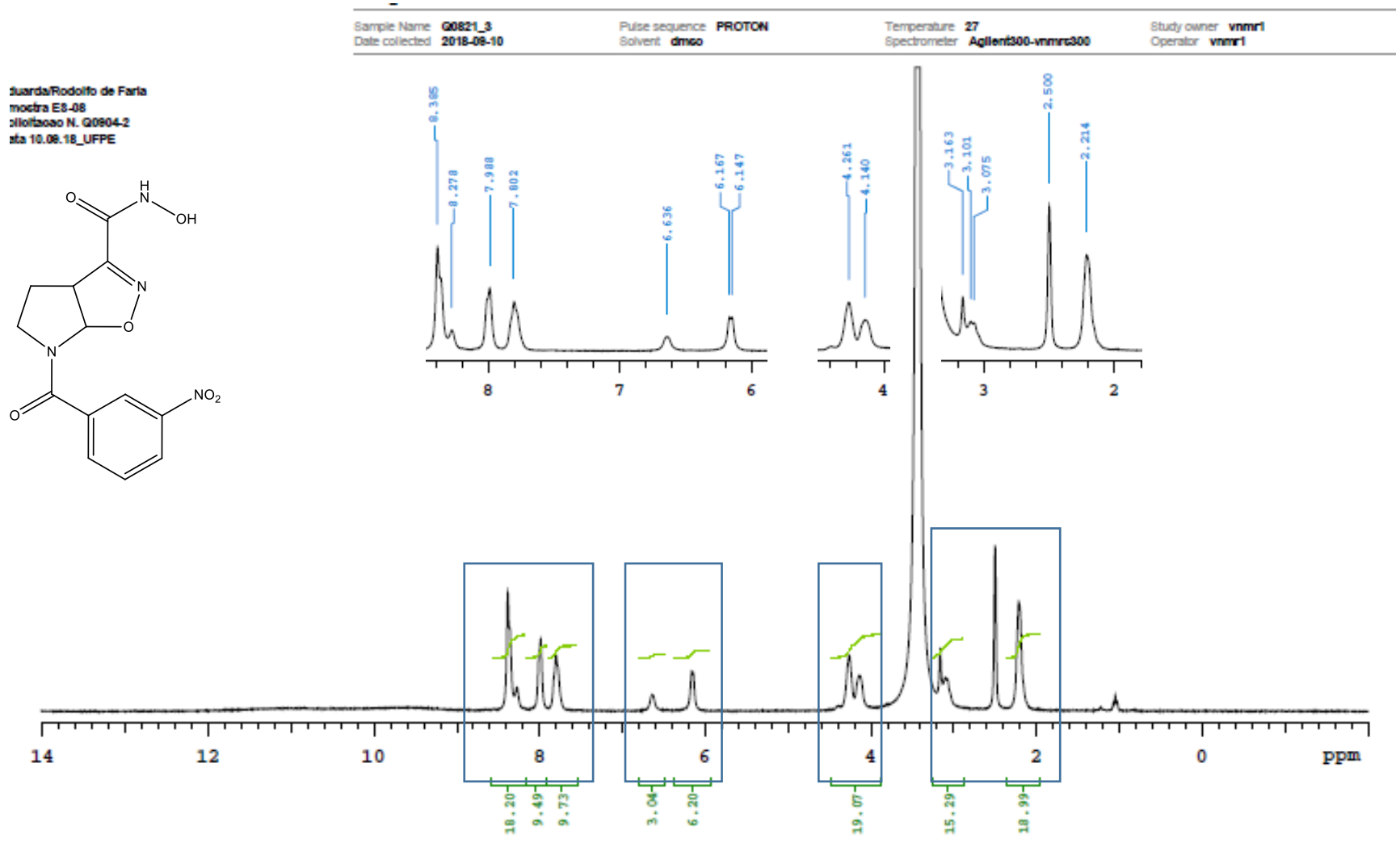
APÊNDICE S - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1e

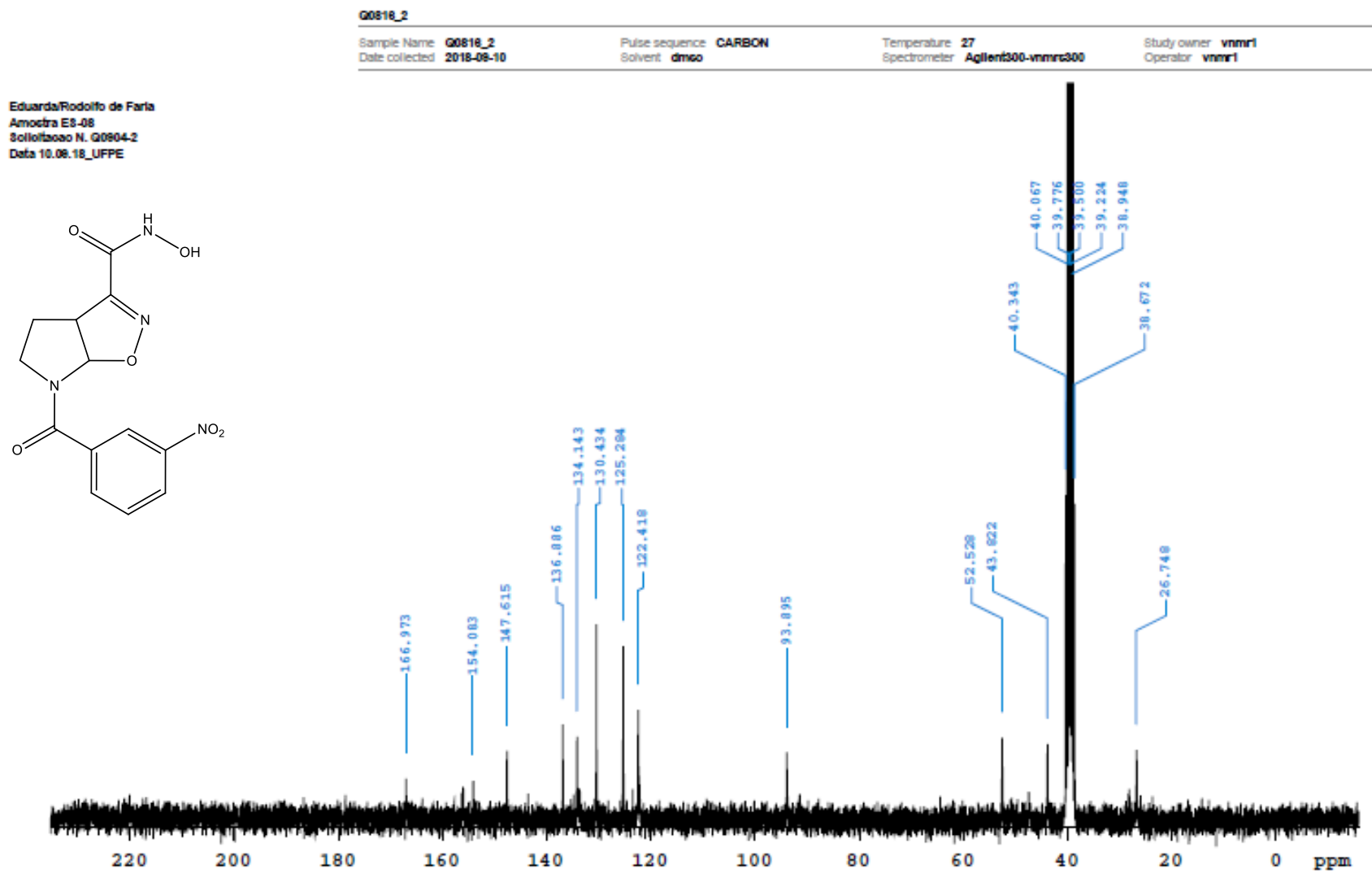
APÊNDICE T - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1f**

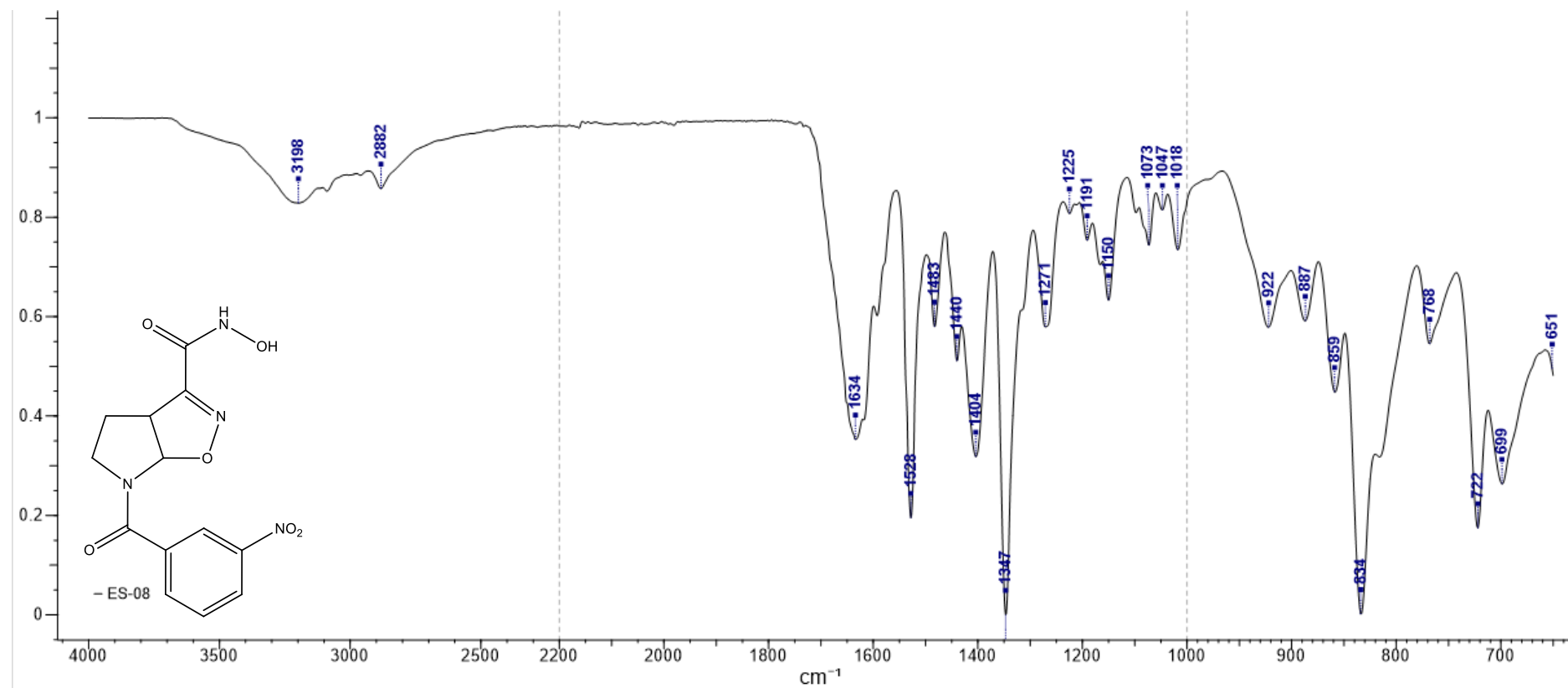


APÊNDICE U - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1f

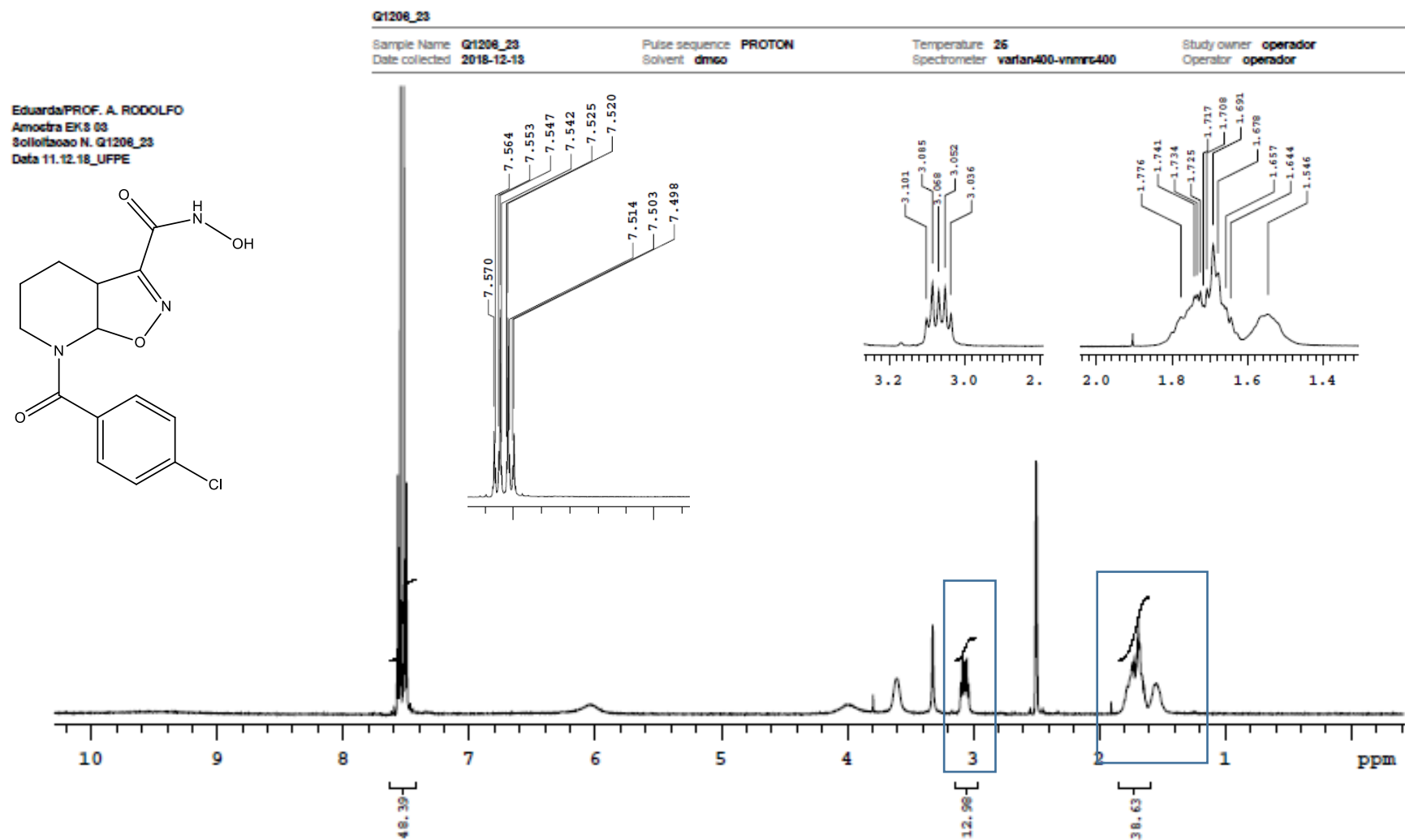
APÊNDICE V - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1f

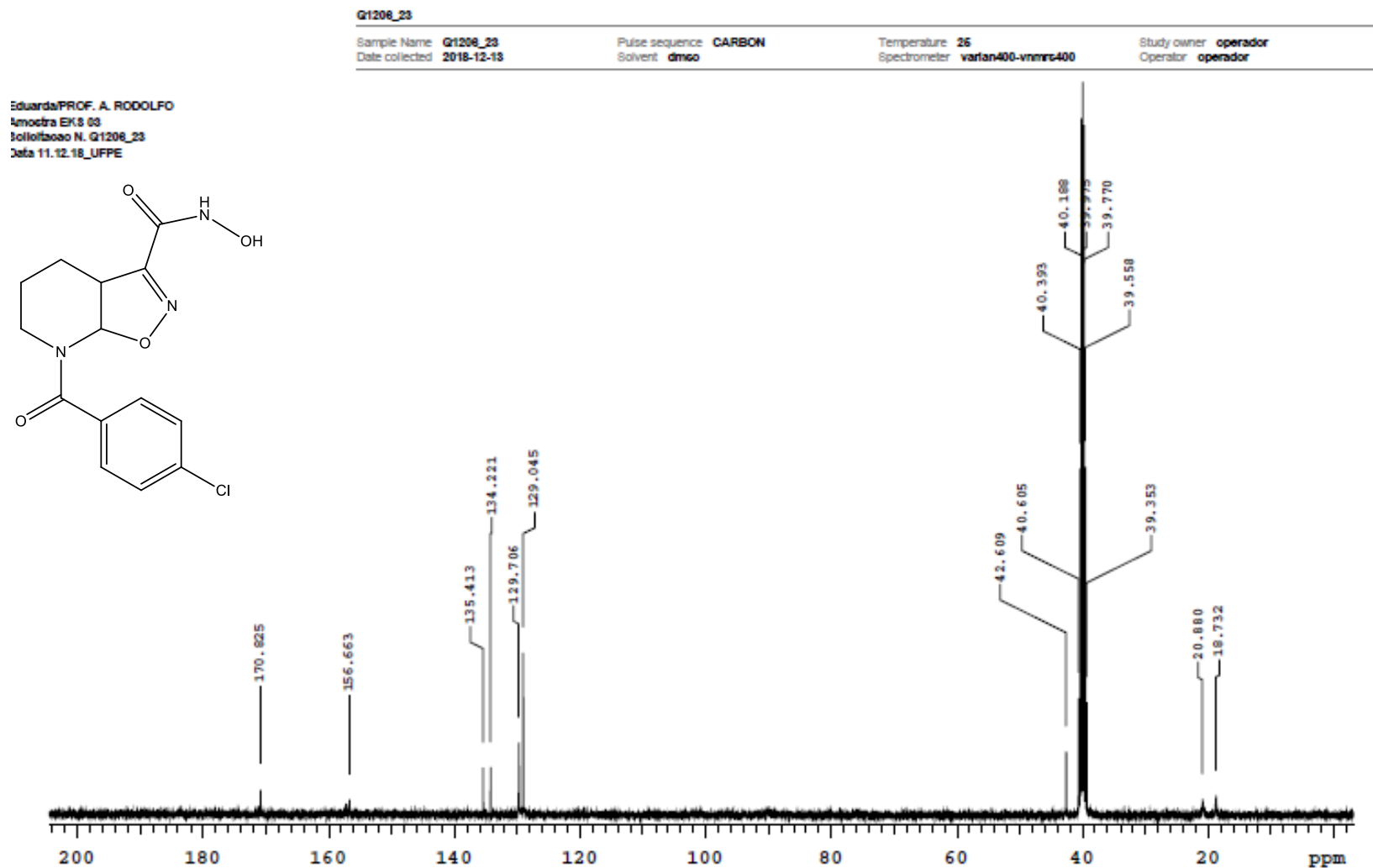
APÊNDICE W - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **1g**

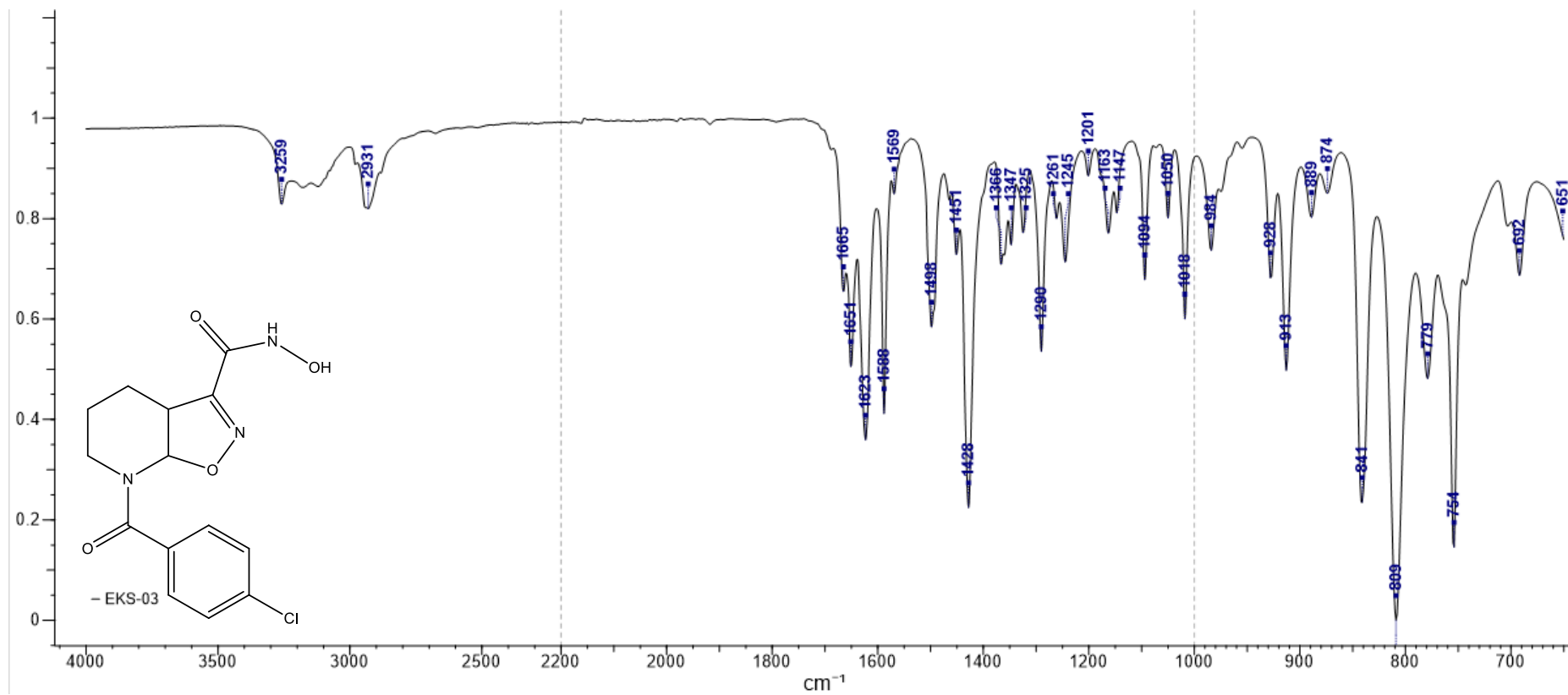
APÊNDICE Y - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1g

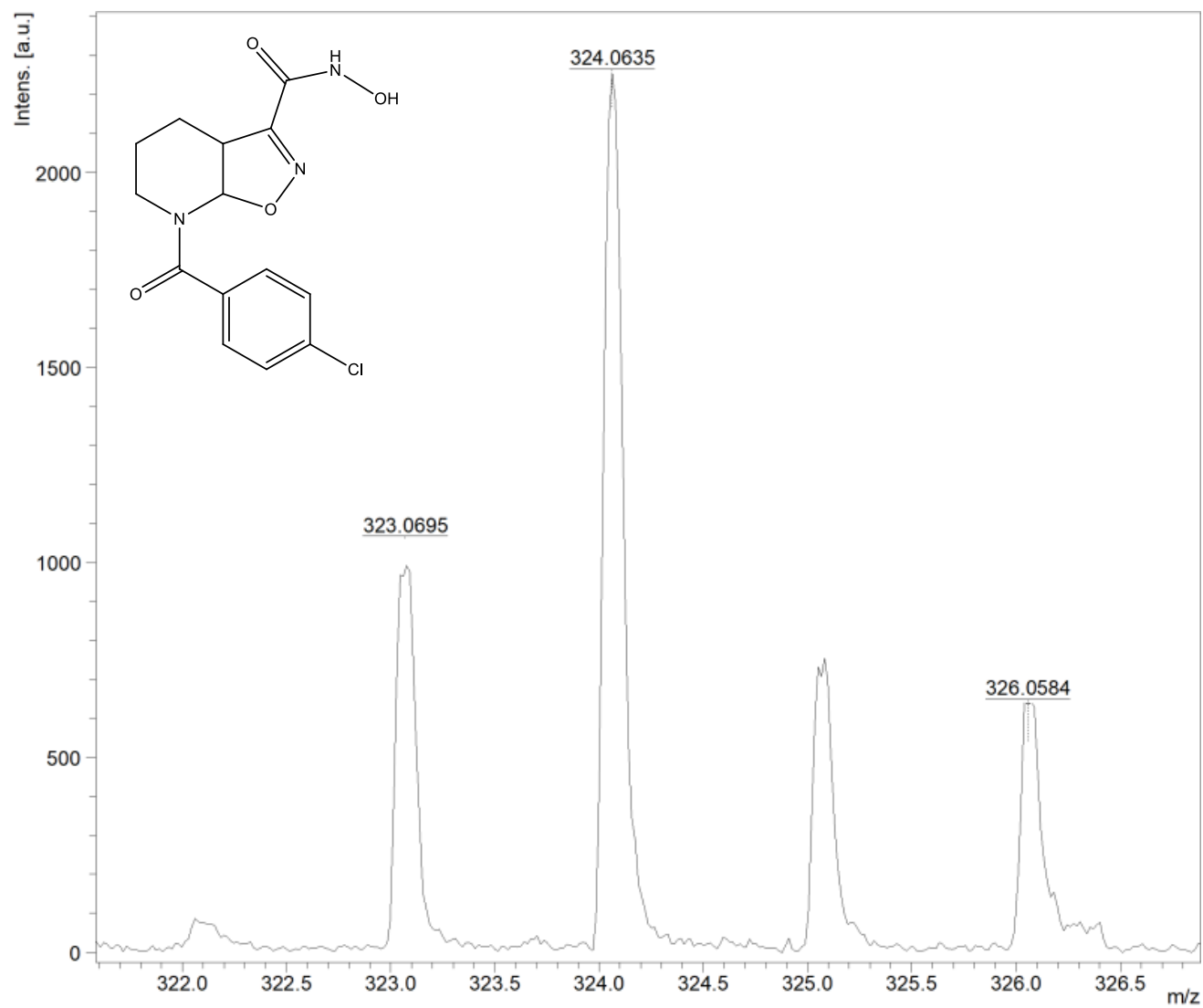
APÊNDICE Z - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 1g

APÊNDICE AA - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2a**

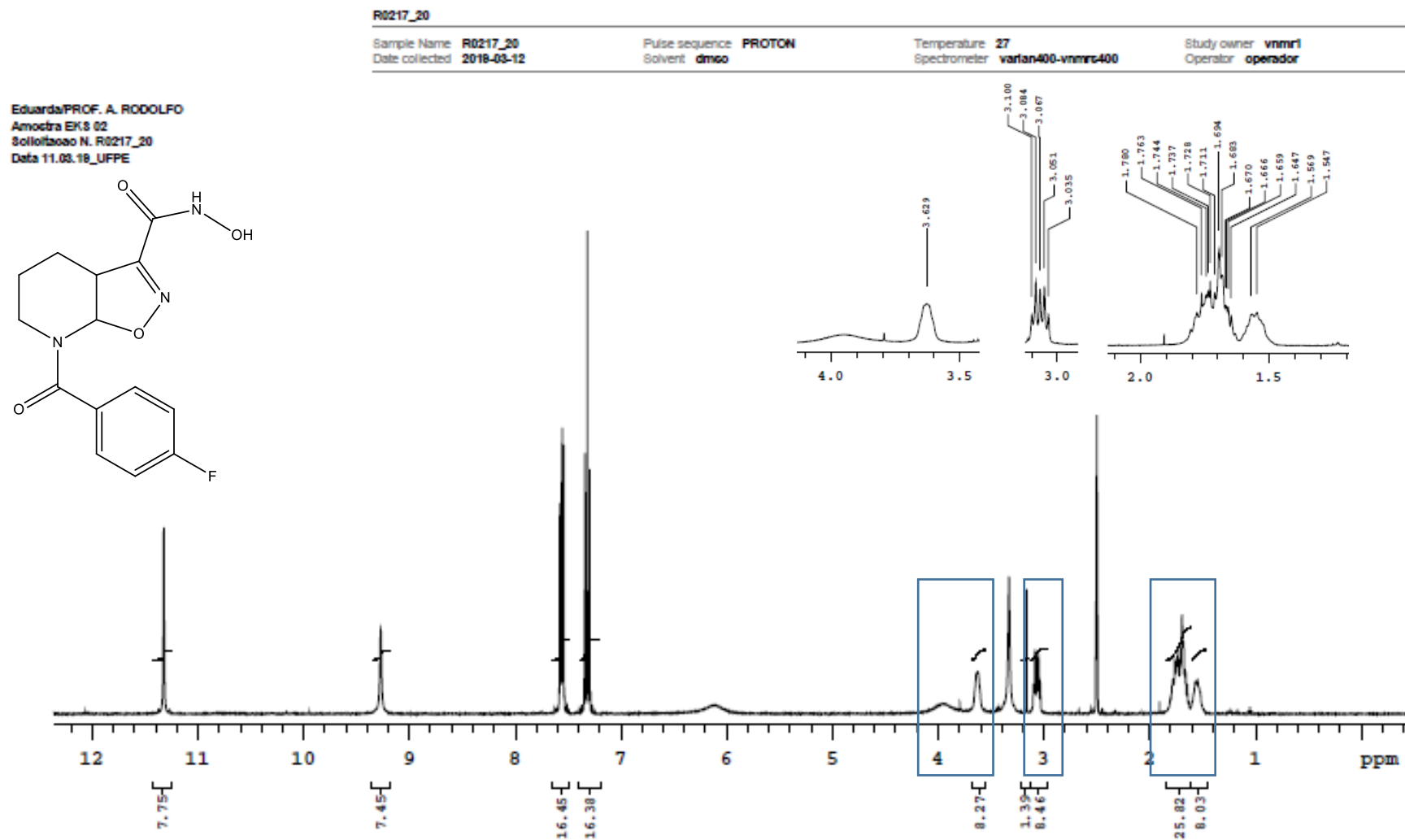


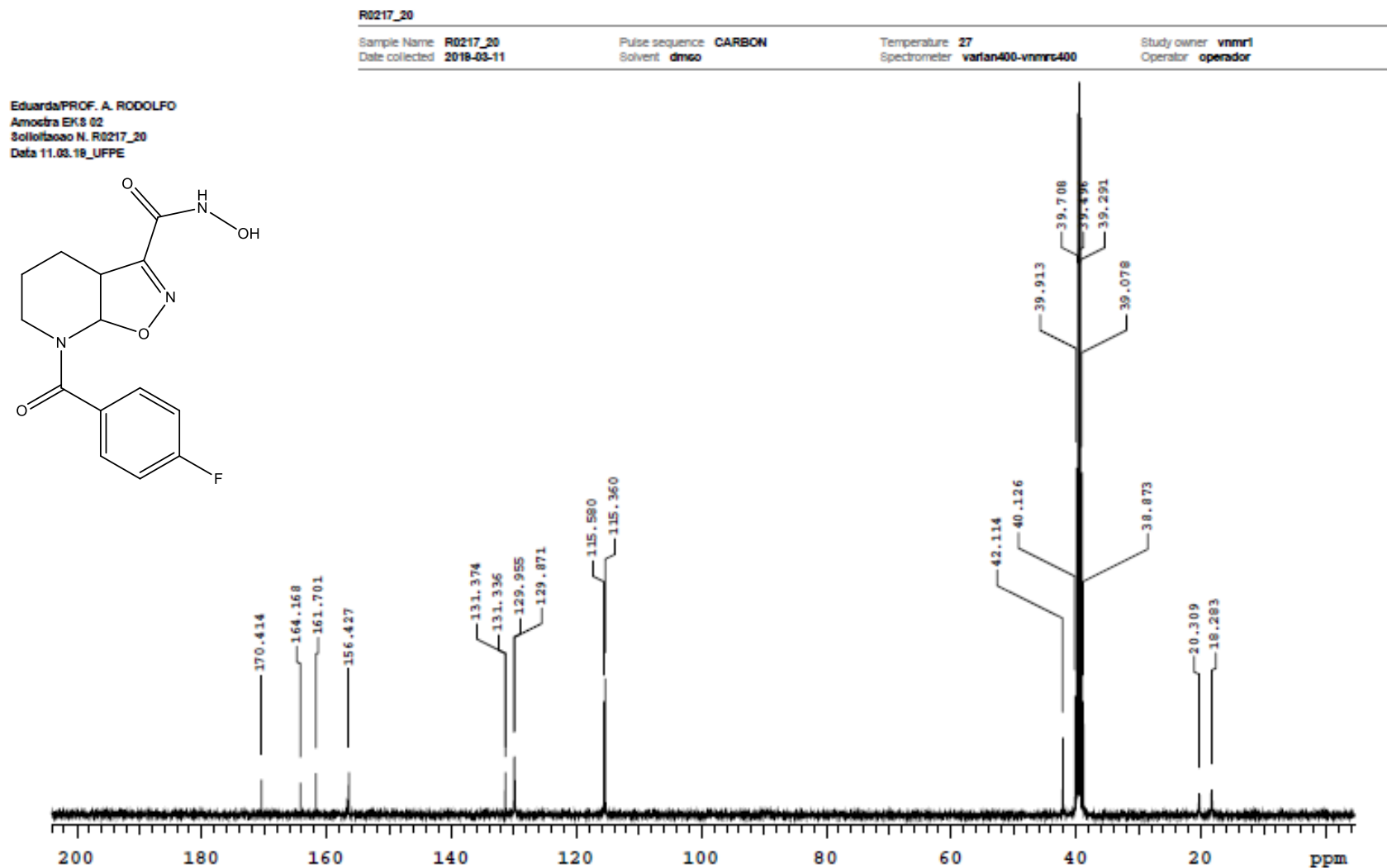
APÊNDICE AB - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2a

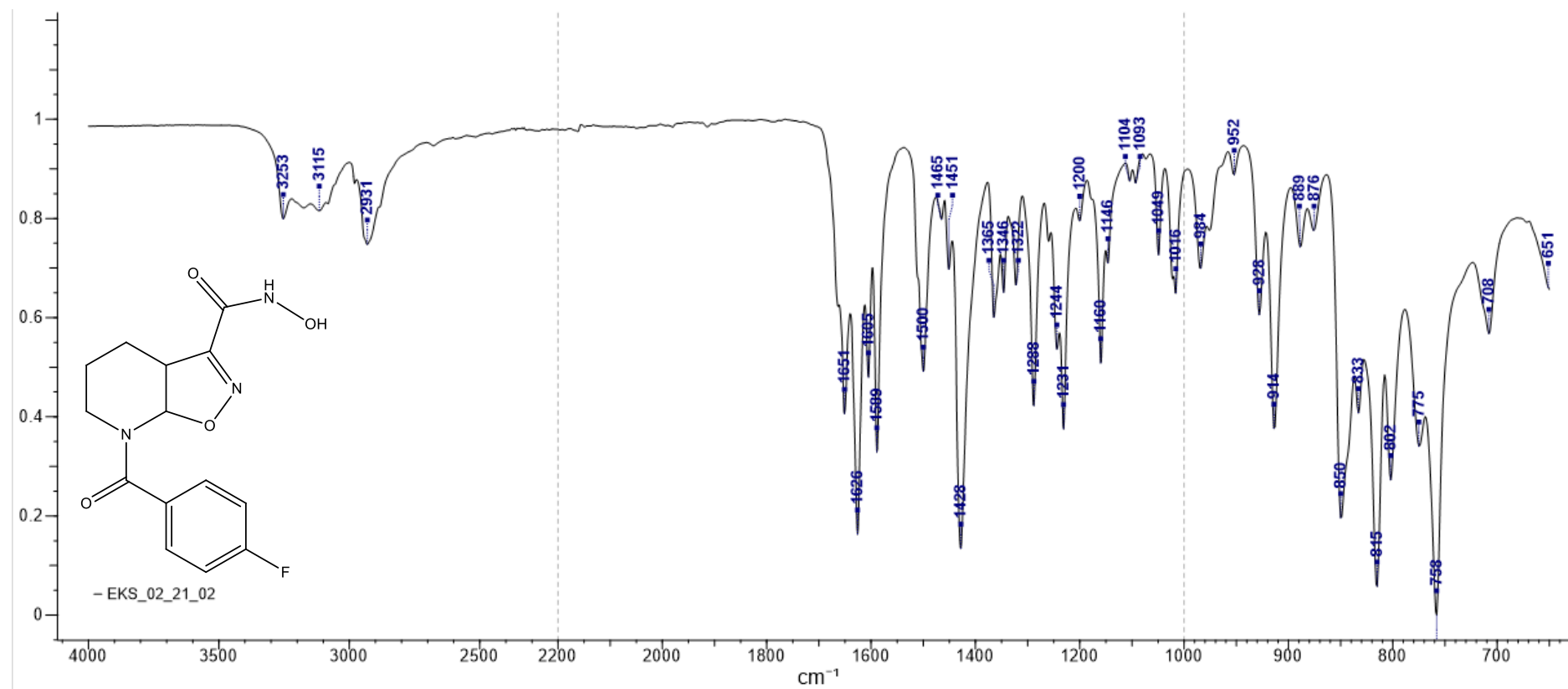
APÊNDICE AC - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2a

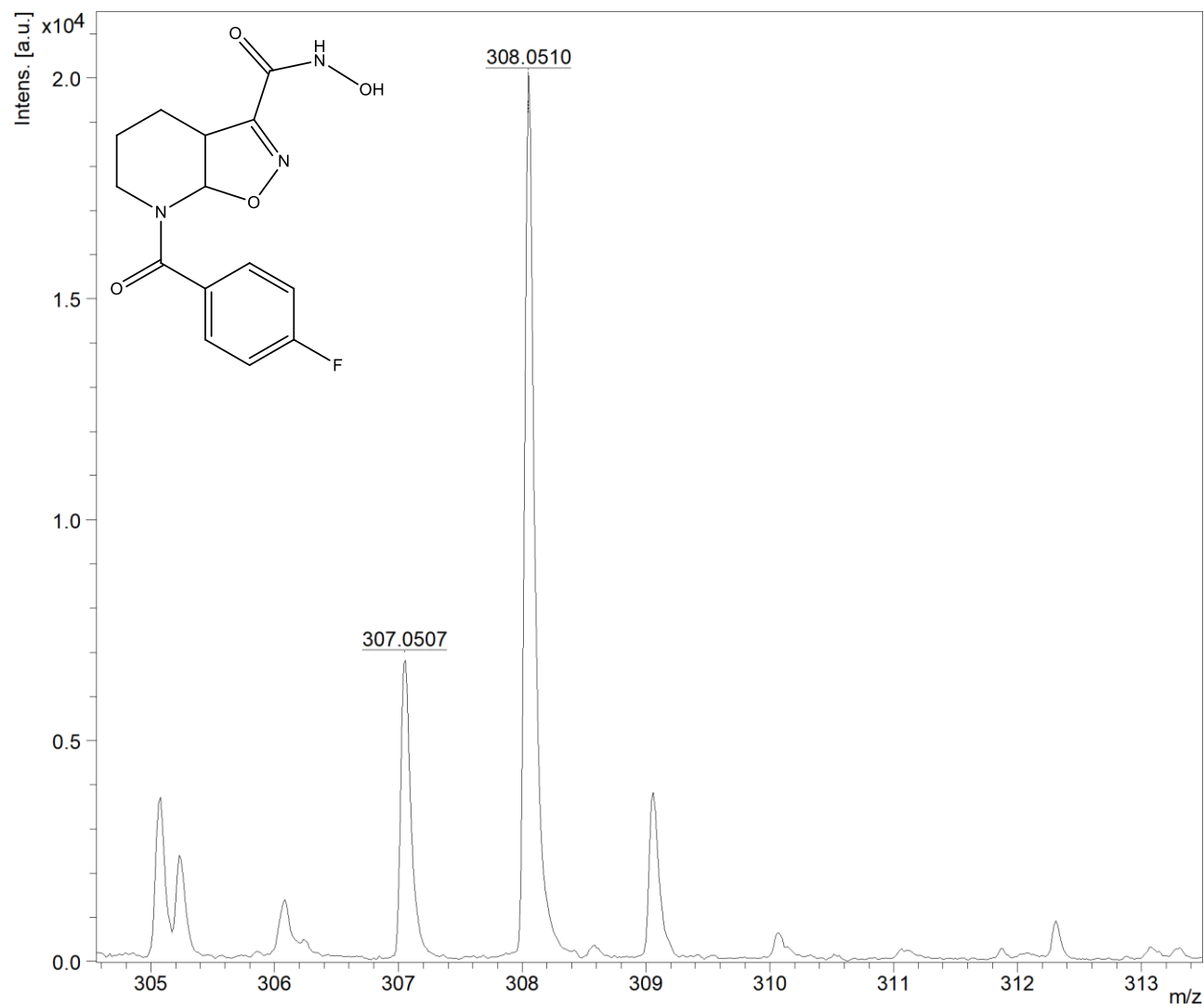
APÊNDICE AD - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2a

APÊNDICE AE - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2b**

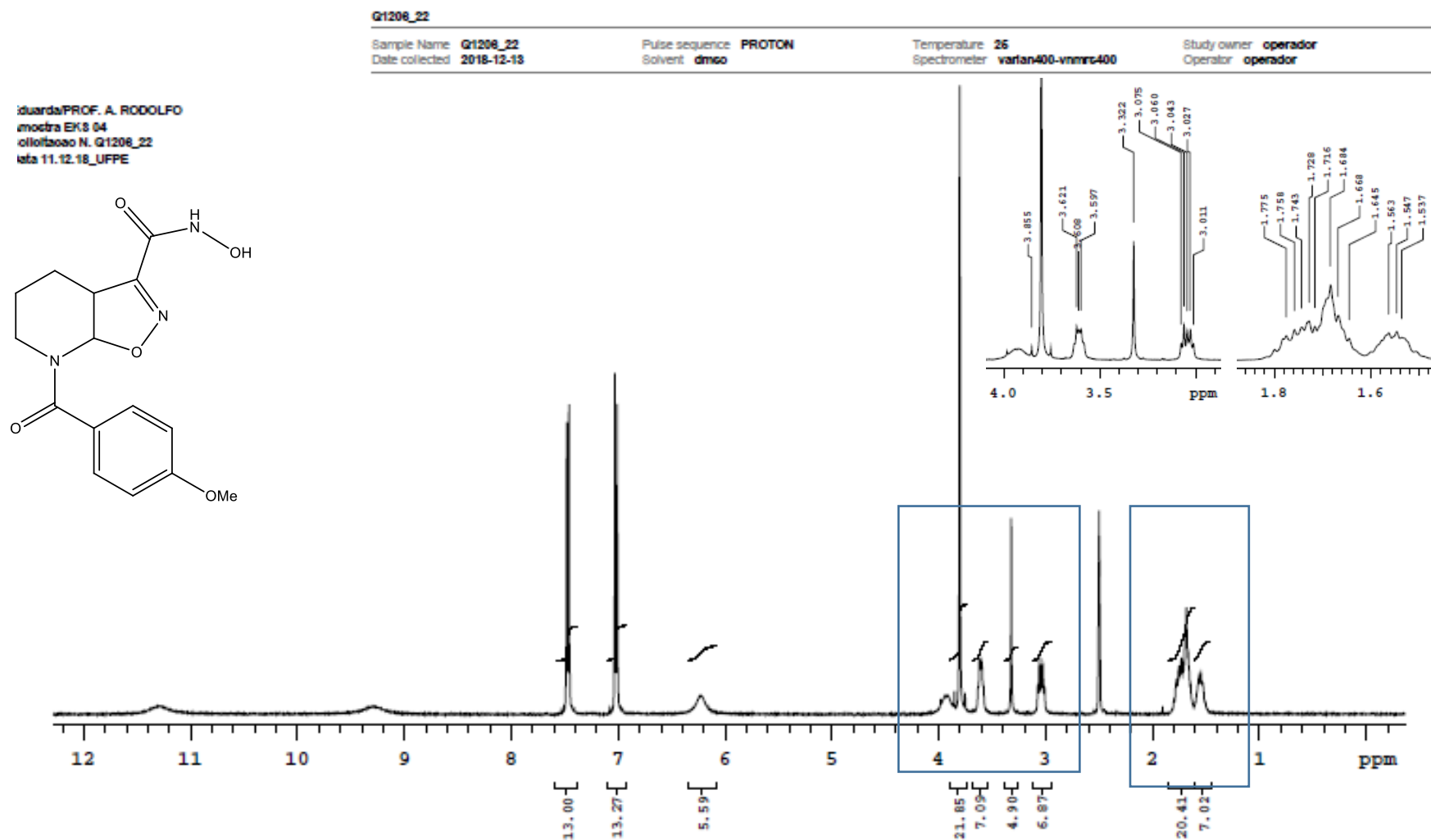


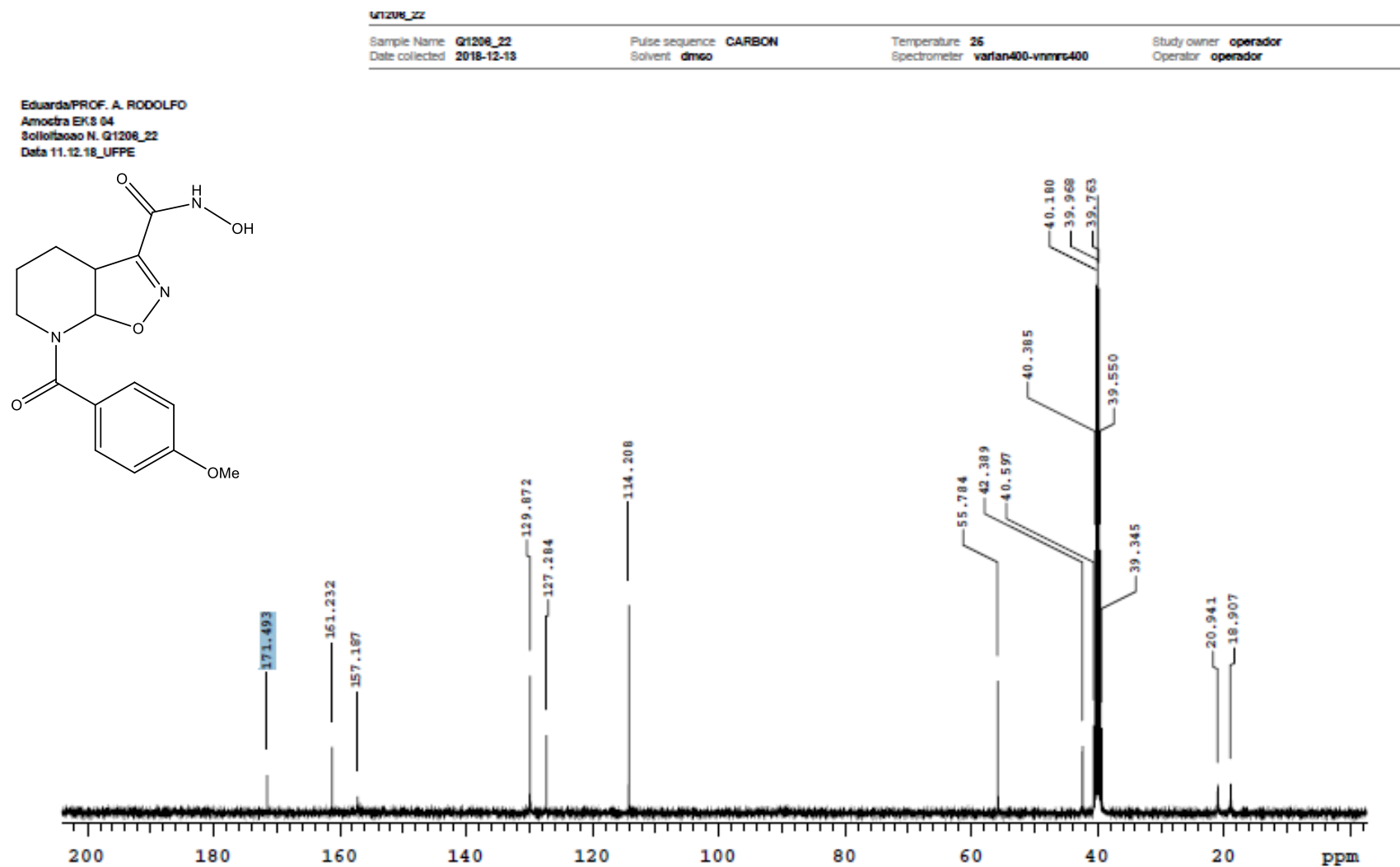
APÊNDICE AF - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2b

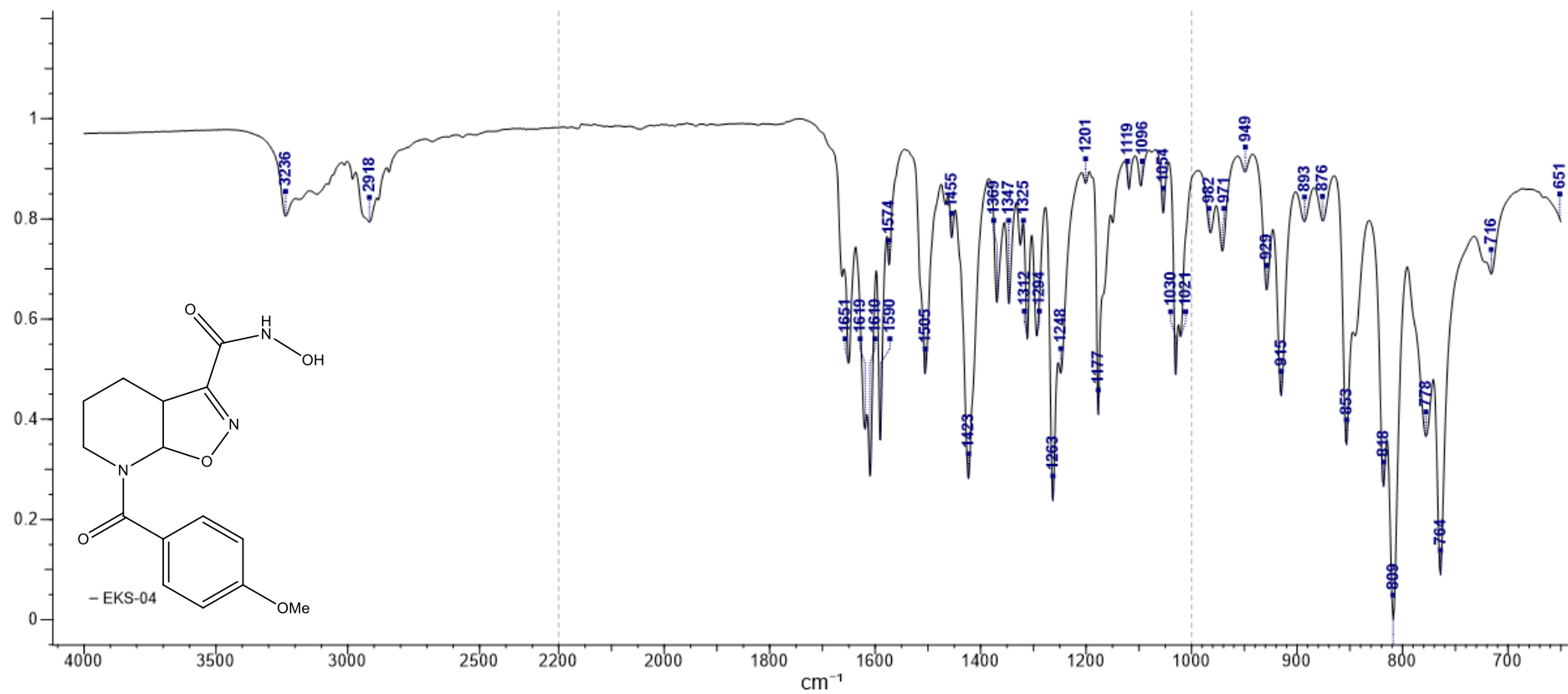
APÊNDICE AG - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2b

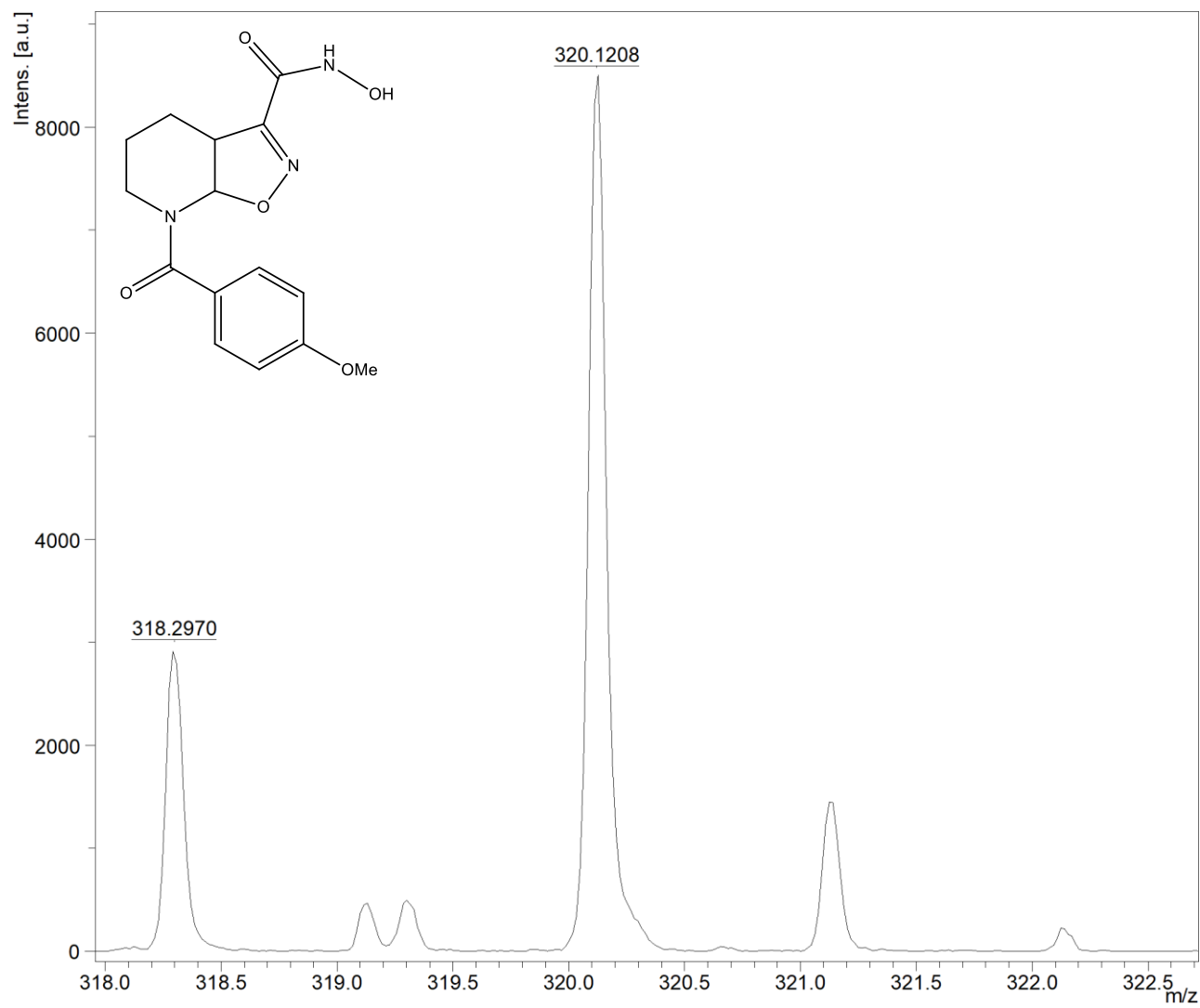
APÊNDICE AH - ESPECTRO DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2b

APÊNDICE AI - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2c**



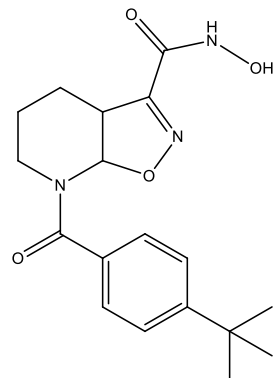
APÊNDICE AJ - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2c

APÊNDICE AK - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2c

APÊNDICE AL - ESPECTRO DE RMN DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2c

APÊNDICE AM - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2d**

Eduarda/PROF. A. RODOLFO
 Amostra EK3 06
 Solução/amo N. R0217_21
 Data 11.03.18_UFPE



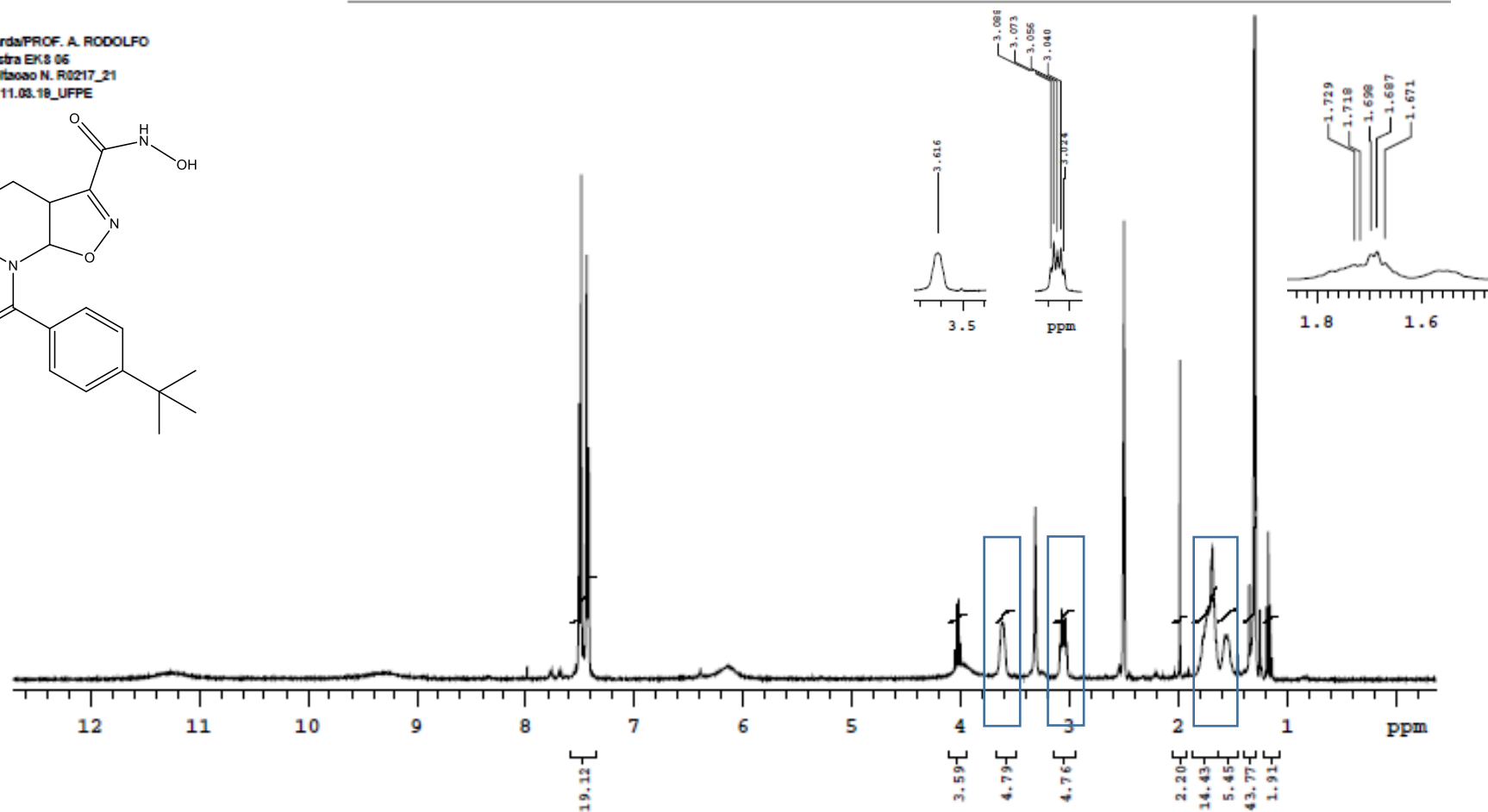
R0217_21

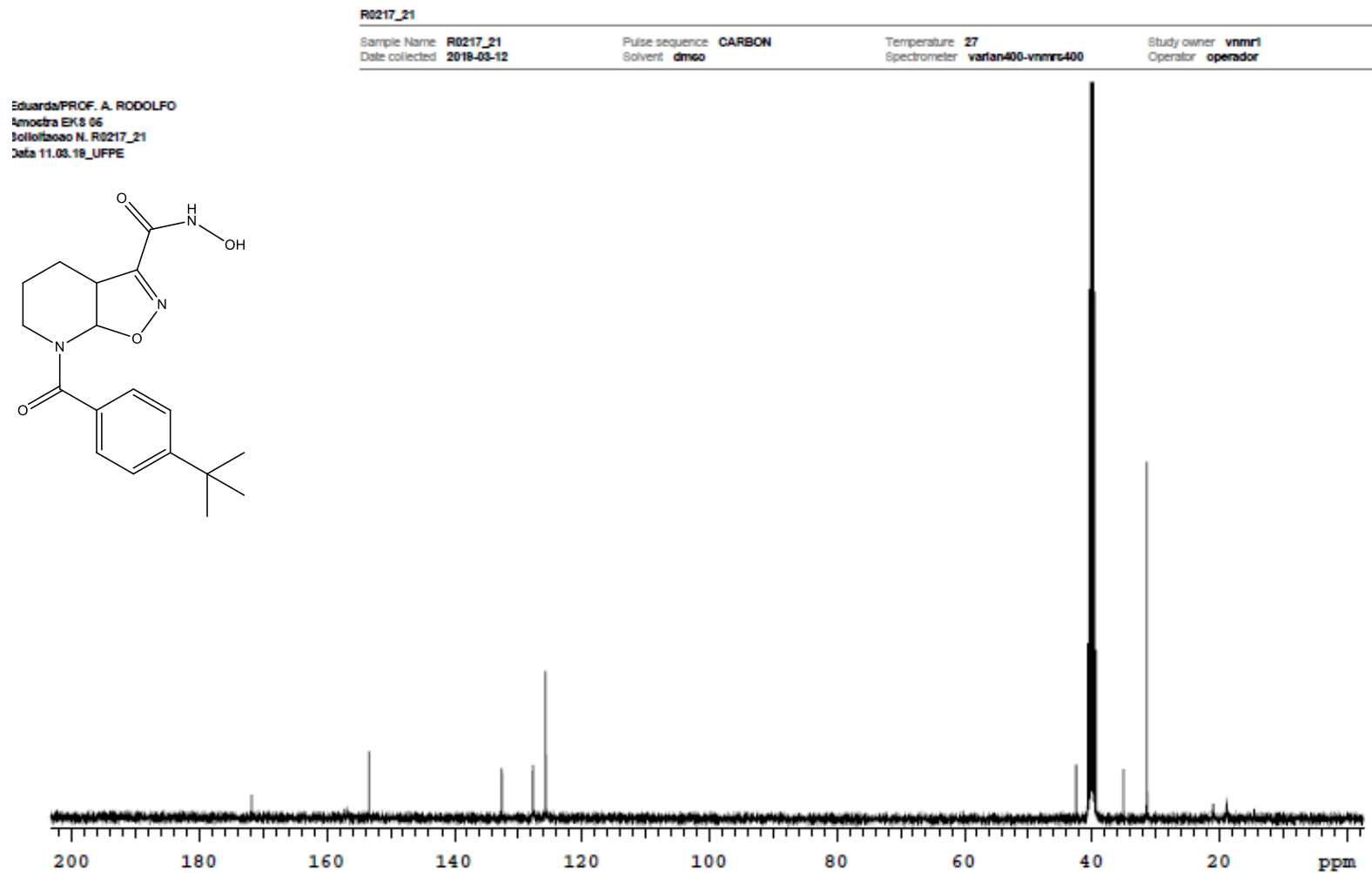
Sample Name R0217_21
 Date collected 2018-03-12

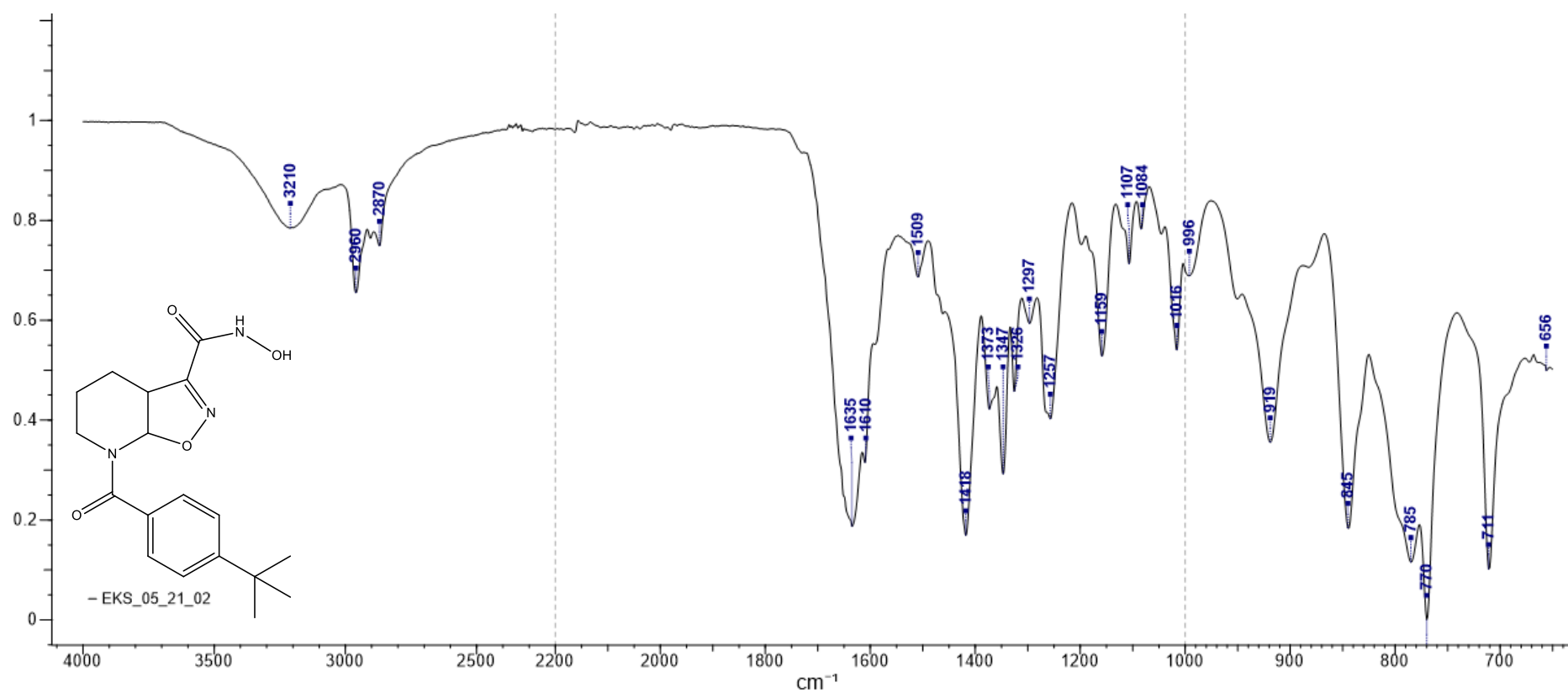
Pulse sequence PROTON
 Solvent dmsd

Temperature 27
 Spectrometer varian400-vnmr400

Study owner vnmr1
 Operator operador

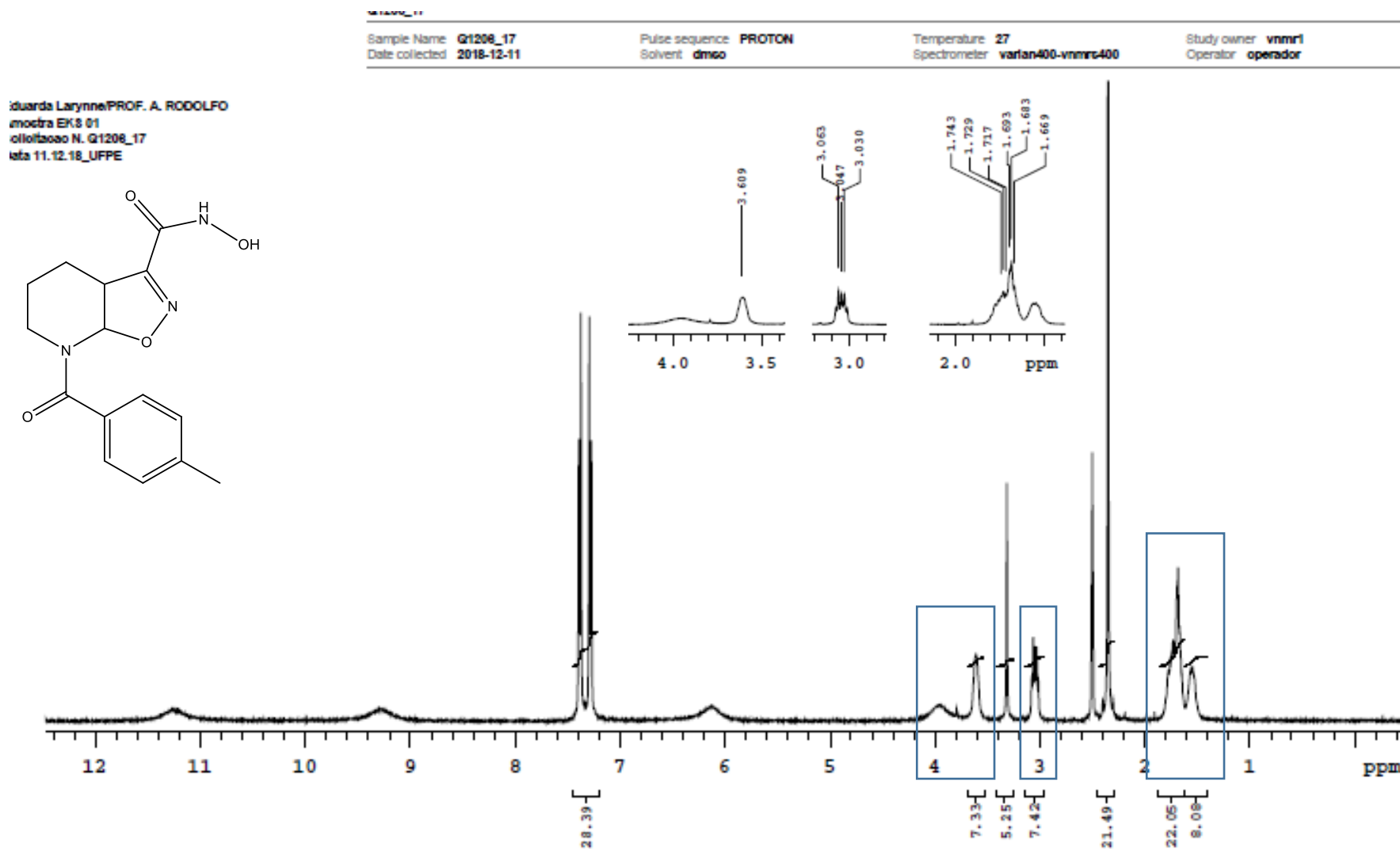


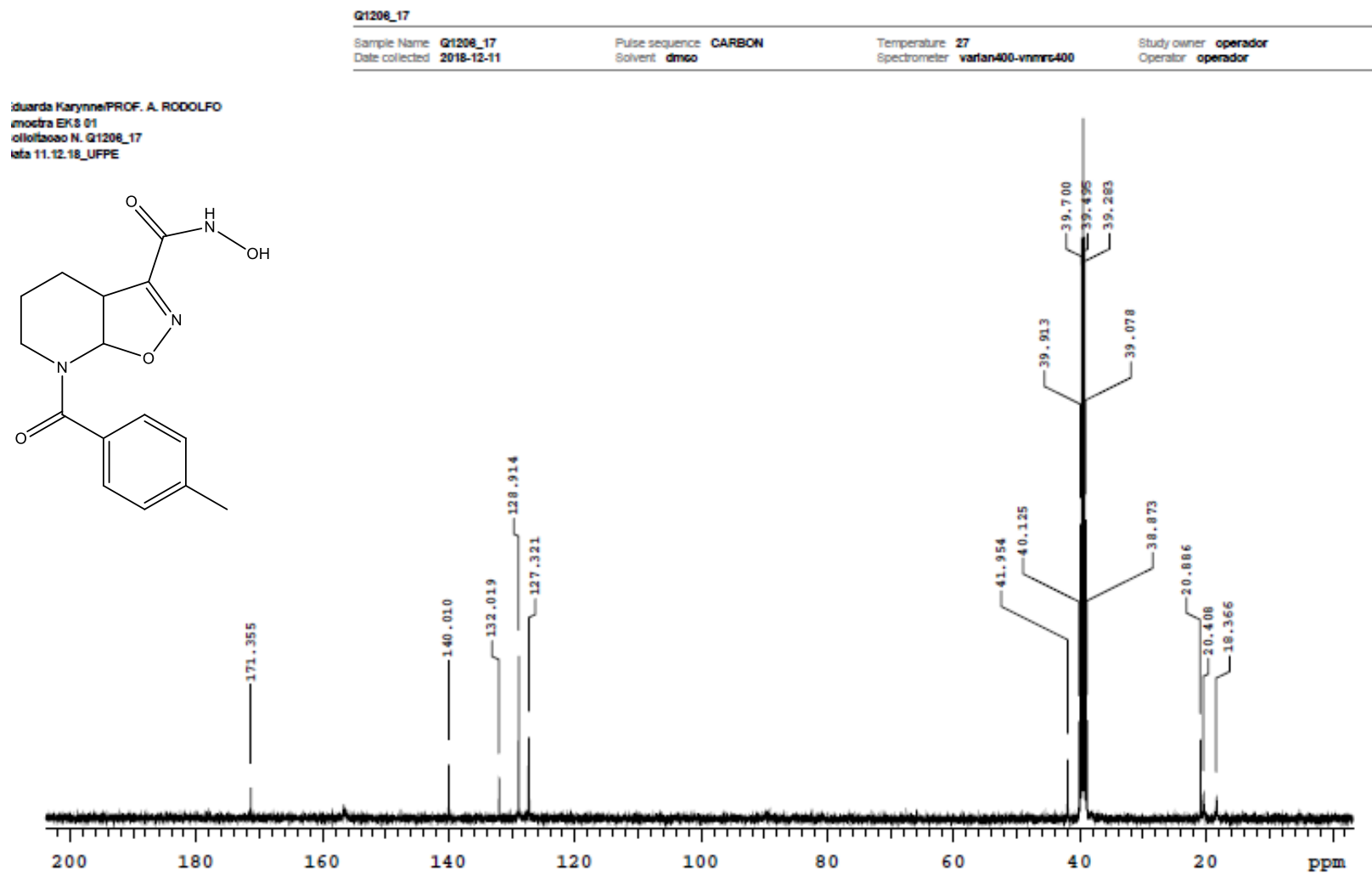
APÊNDICE AN - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2d

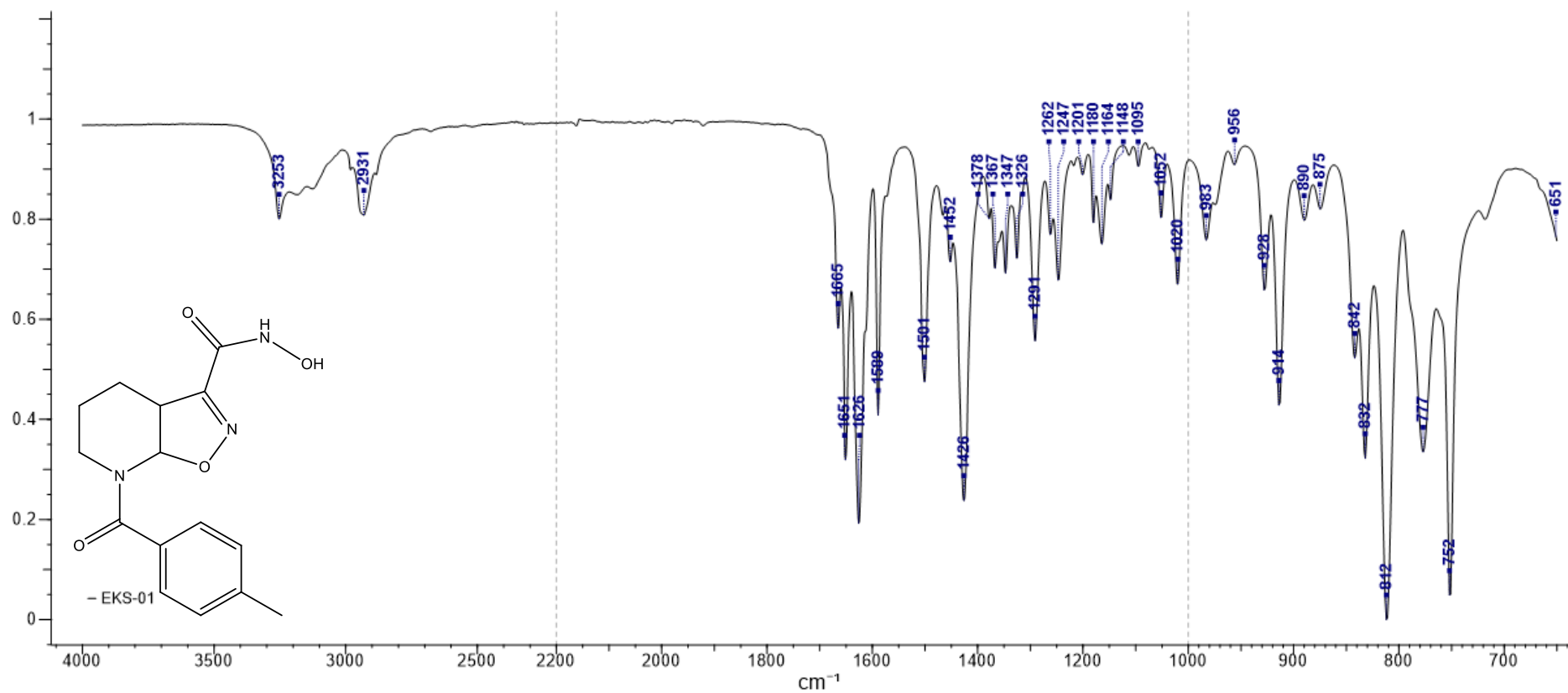
APÊNDICE AO - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2d

APÊNDICE AP - ESPECTRO DE RMN DE MASSAS DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2d

APÊNDICE AQ - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2e

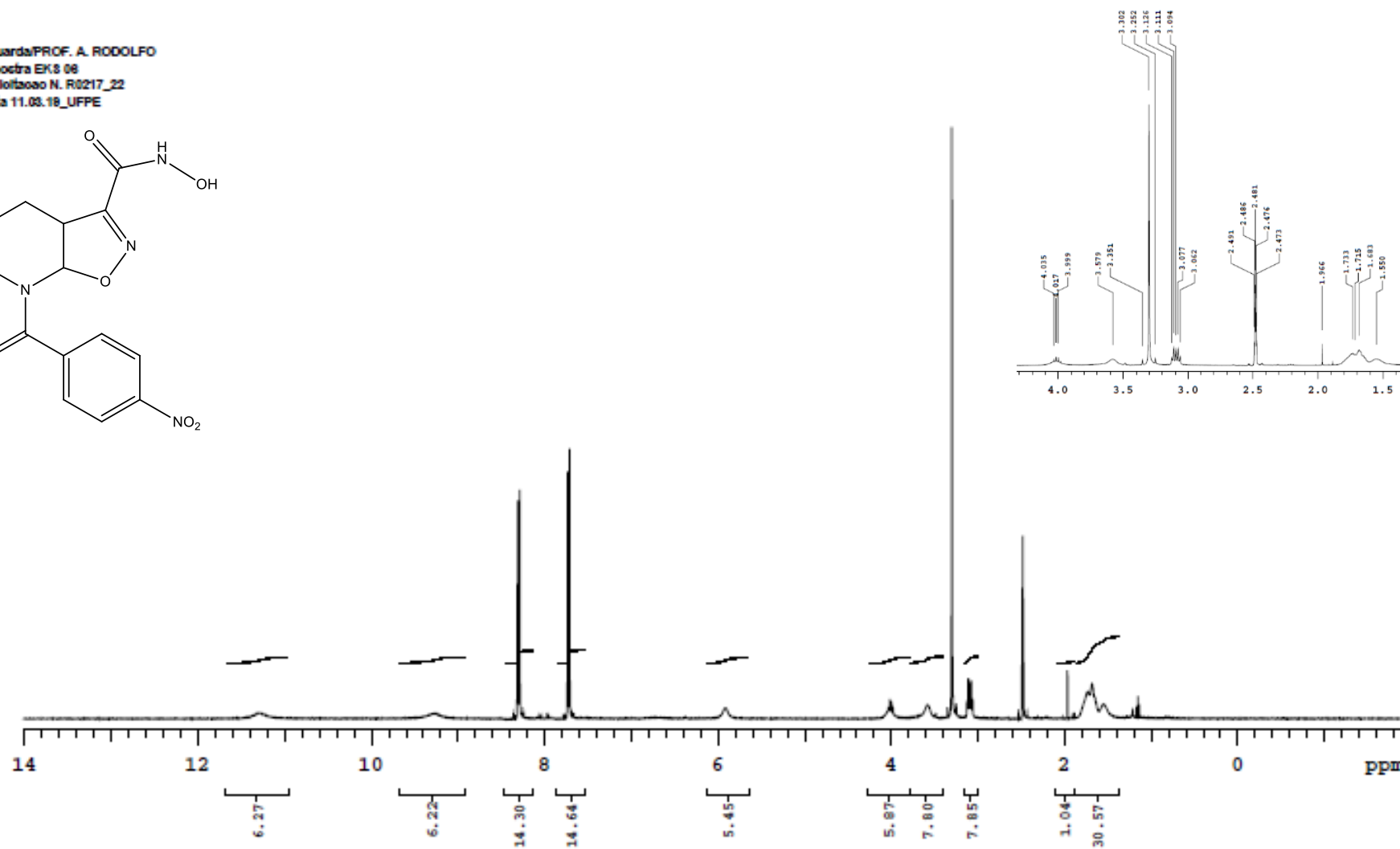
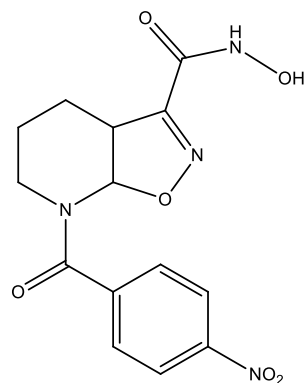


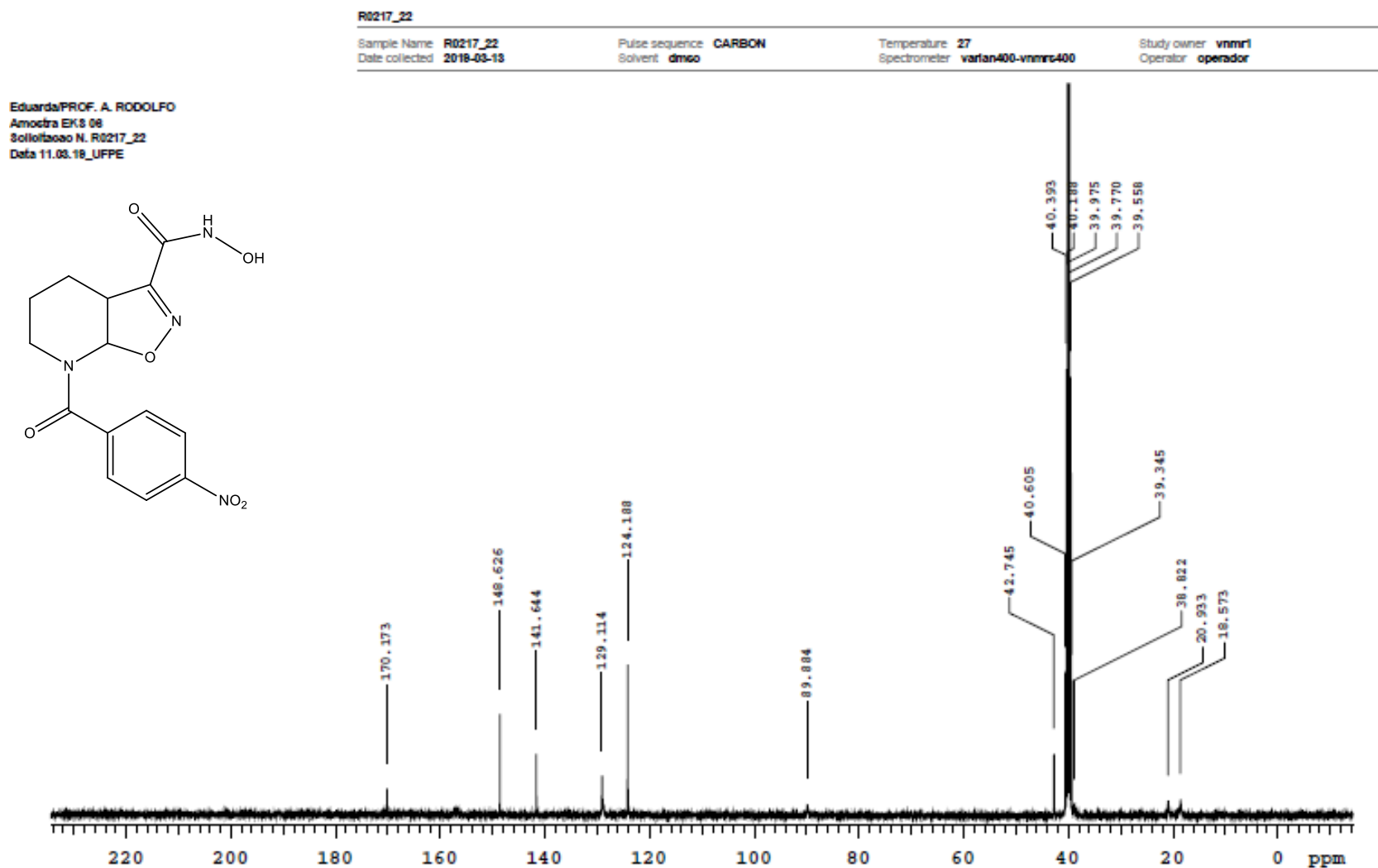
APÊNDICE AR - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2e

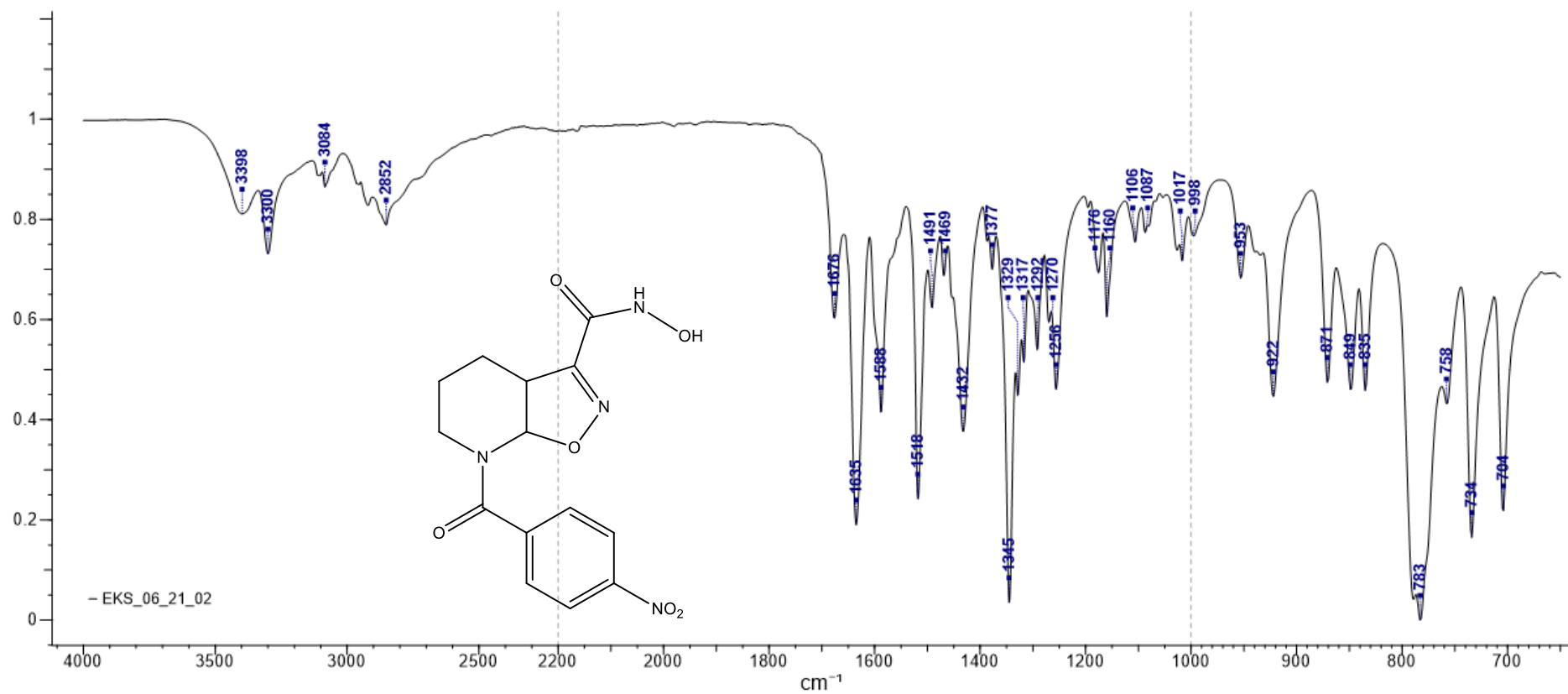
APÊNDICE AS - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2e

APÊNDICE AT - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2f**

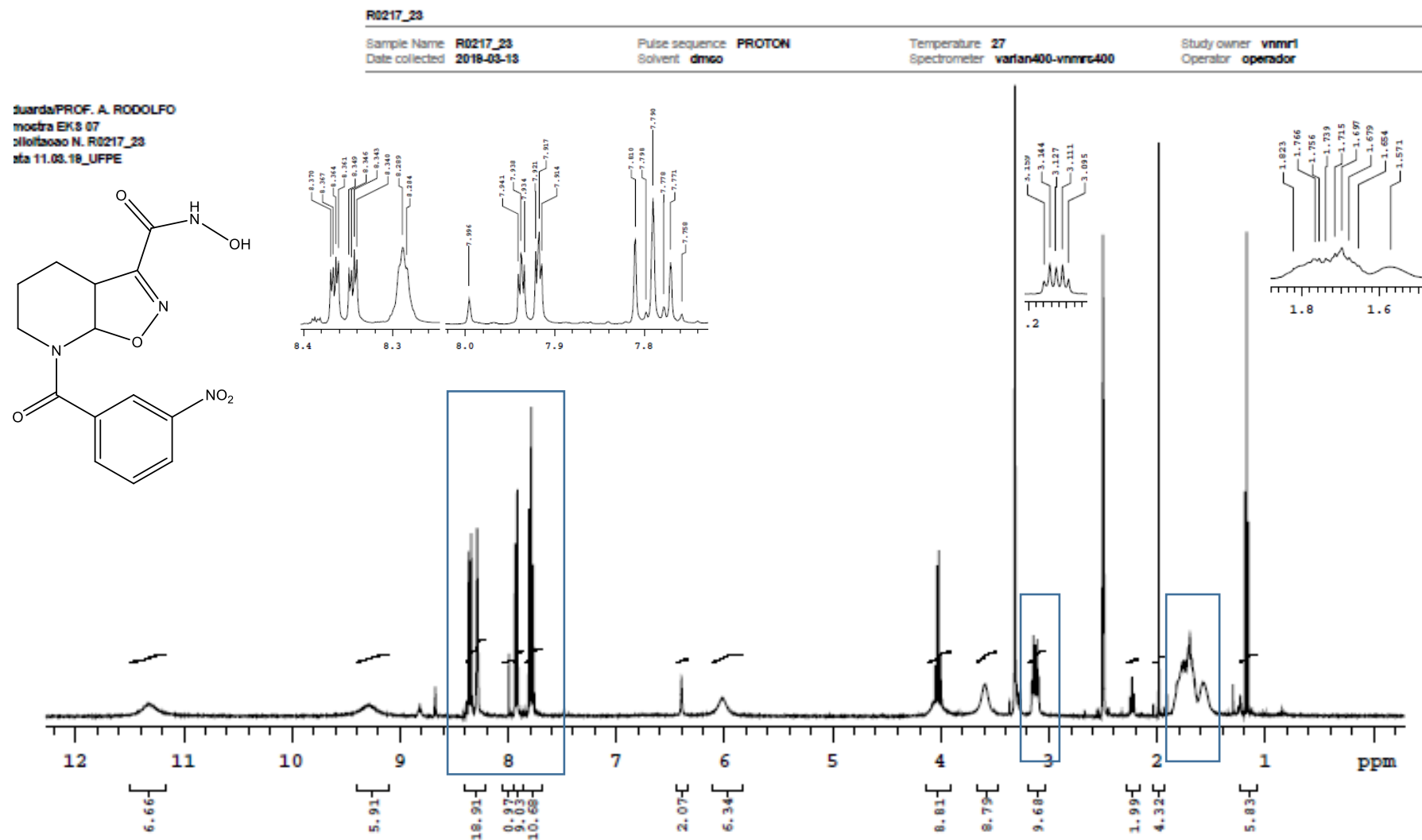
Eduarda/PROF. A. RODOLFO
Amostra EK8 08
Solvente: DMSO- d_6
Data 11.03.18_UFPE

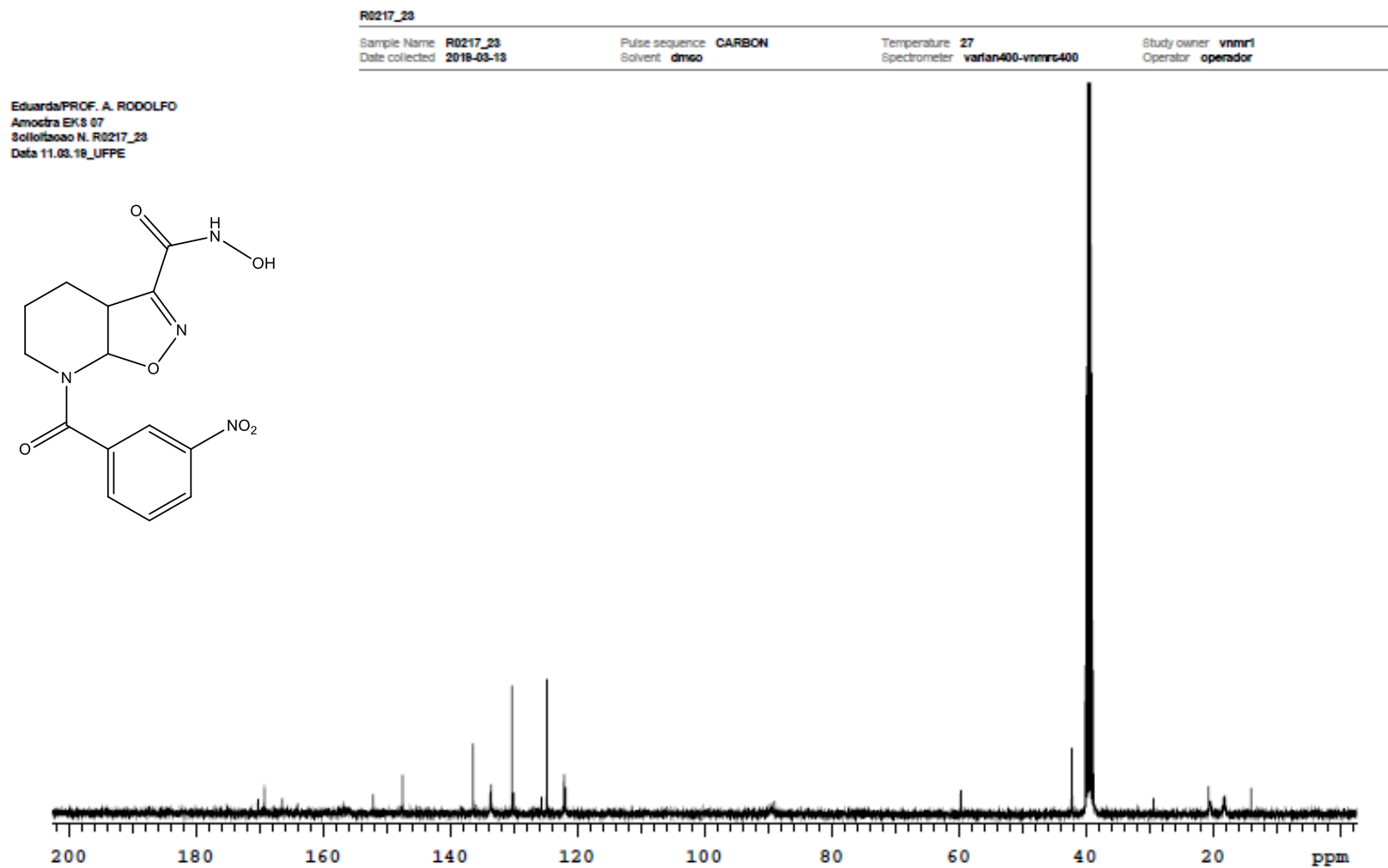


APÊNDICE AU - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2f

APÊNDICE AV - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2f

APÊNDICE AW - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2g



APÊNDICE AY - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA 2g

APÊNDICE AZ - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO (IV-ATR) DA NOVA MOLÉCULA HÍBRIDA **2g**