



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

Dissertação de Mestrado

**REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR DE ENECARBAMATOS
E ENAMIDAS ENDOCÍCLICAS DE 6 MEMBROS COM *N*-ÓXIDOS DE
NITRILA. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIINFLAMATÓRIAS E ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS
ISOXAZOLÍNICOS BICÍCLICOS PIPERIDÍNICOS**

VALDERES MORAES DE ALMEIDA

RECIFE - PE
ABRIL DE 2003

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

**REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3-DIPOLAR DE ENECARBAMATOS E
ENAMIDAS ENDOCÍCLICAS DE 6 MEMBROS COM N-ÓXIDOS DE
NITRILA. SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIINFLAMATÓRIAS E ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS
ISOXAZOLÍNICOS BICÍCLICOS PIPERIDÍNICOS**

VALDERES MORAES DE ALMEIDA

MESTRANDO

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

ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA

ORIENTADOR

Recife – PE
Abril de 2003

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

REITOR

Geraldo José Marques Pereira

VICE-REITOR

Yonyr de Sá Barreto Sampaio

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Paulo Roberto Freire Cunha

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Silvana Cabral Maggi

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Antônio Rodolfo de Faria

COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Davi Pereira de Santana

VICE-COORDENADOR DO CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Dalci José Brandoni

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

Recife, 25 de abril de 2003.

Dissertação de mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 25 de abril de 2003 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

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

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Sebastião José de Melo (Departamento de Antibióticos da UFPE).

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza (Departamento de Antibióticos da UFPE).

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Carlos Roque Duarte Correia (Instituto de Química - UNICAMP).

AGRADECIMENTOS

Não poderia deixar de expressar os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização de mais um sonho.

Primeiramente, agradeço profundamente, ao meu Bondoso Deus, pela Sua infinita graça, a Ele TODA a minha gratidão.

Aos meus queridos pais, Florival e Jucineide, os quais muito amo, pelo seu amor e pelo constante incentivo e apoio durante toda minha vida, pelas muitas renúncias em prol de seus filhos para realização deste sonho.

À minha irmã Valneide e de uma forma muito carinhosa, ao meu querido irmão Valdir, pelo incentivo constante e por estar sempre dividindo comigo os momentos de alegria e tristeza que passamos.

Aos meus primos, Márcio Ananias companheiro de todas as horas e Misael. À Maely, minha sincera gratidão por tudo.

Ao professor Rodolfo, minha sincera gratidão, pela oportunidade de ter aprendido muito contigo. Muito obrigado pela confiança que depositas em min e por mais de cinco anos de convivência e amizade, pela forma prazerosa e contagiante com que passa seus conhecimentos, estando sempre disponível a ajudar no que for possível – a ele minha admiração.

À professora Magali, pela realização dos testes microbiológicos e à Paulo, pela contribuição na realização dos ensaios.

À professora Ivone, pela realização dos testes farmacológicos e à Katarina, Igor, Lúcia, Elis e Ana Paula pela contribuição na realização dos ensaios.

Ao professor Carlos Roque, pelos espectros de Massa e a Kézia pela disponibilidade em ajudar.

À professora Tereza Jansen pela contribuição na montagem dos gráficos dos testes antiinflamatórios.

Ao professor Alexandre Góes, por ter disponibilizado o laboratório.

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

À Iguacy, secretária do mestrado, por estar sempre disponível a ajudar.

À Raquel, minha querida namorada, agradeço de forma muito especial, por todos os momentos que passamos juntos, estando sempre presente na conquista deste sonho.

Ao companheiro de luta Rosiel, por mais de cinco anos de caminhada acadêmica. Por todas as contribuições dadas para realização deste trabalho.

À Chico, por estar sempre presente em todos esses anos, compartilhando conosco toda essa jornada.

À Malagueño, um grande amigo, por todos os momentos vividos juntos.

À Karina Randau, pela amizade.

A Ceará, pela amizade e pelos momentos de descontração.

A Zodja, uma grande amiga, que apesar de distante, estar sempre presente.

Aos companheiros do laboratório, Emanuel, Elcione, Nádia, Elis, Flávia e Flavia de Toni, por todas as horas compartilhadas no trabalho e a Marcelo pela contribuição na reta final deste trabalho.

Aos colegas do mestrado, Ana Amélia, Risonildo, Thiago, Duda, Simone, Cristiano, Cristiane, Lúcia e Roseane.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

"Senhor , não é soberbo o meu coração,
nem altivo o meu olhar;
não ando à procura de grandes cousas,
nem de cousas maravilhosas demais para mim.

Pelo contrário,
fiz calar e sossegar a minha alma;
como a criança desmamada se aquieta
nos braços de sua mãe,
como essa criança
é a minha alma para comigo."

salmo : 131

SUMÁRIO

○ Índice de procedimentos experimentais e espectros.....	x
○ Resumo.....	xi
○ Abstract.....	xii
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	
1 – Introdução.....	1
1.1 - Isoxazóis, isoxazolininas e isoxazolidinas. Aspectos químicos estruturais e importância biológica	1
1.2 – Reações de cicloadição 1,3-dipolar.....	6
1.3 – Obtenção de 2-isoxazolininas e isoxazóis.....	10
1.4 - Encarbamatos e enamidas endocíclicas. Potenciais dipolarófilos na obtenção de 2-isoxazolininas.....	12
CAPÍTULO II – METODOLOGIA E OBJETIVOS	
2 – Metodologia e objetivos.....	20
2.1 - Metodologia.....	20
2.2 - Objetivos.....	23
2.2.1 – Objetivos gerais.....	23
2.2.2 - Objetivos específicos.....	24
CAPÍTULO III – ARTIGOS	
➤ <i>PI IL Farmaco</i> - Elsevier.....	25
➤ <i>PI Revista Brasileira de Ciências da Saúde</i>	31
➤ <i>PI Tetrahedron Letters</i> – Elsevier.....	40
CAPÍTULO IV – CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS	
4.1 – Conclusões Gerais.....	44
4.2 – Perspectivas.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

APÊNDICES – INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

CAPÍTULO V – ESTUDO QUÍMICO

5.1 – Resultado e discussão.....	51
5.1.1 – Preparação do trímico da 1-piperideína.....	51
5.1.2 – Síntese dos enecarbamatos e enamidas de 6 membros.....	53
5.1.3 - Síntese do cloroóximidoacetato de etila – precursor do N-óxido de nitrila – CEFNO.....	55
5.1.4 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas com o N-óxido de nitrila – CEFNO.....	55
5.1.4.1 – Fundamentação teórica para a nova reação.....	55
5.1.4.2 – Desenvolvimento da nova metodologia.....	57
5.1.5 – Rota sintética.....	65
5.1.6 – Reação de amonólise dos cicloadutos derivados das enamidas endocíclicas N-benzoiladas.....	66
5.2 – Procedimentos experimentais.....	68

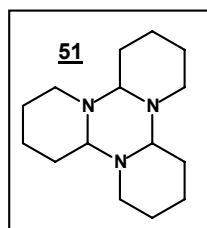
CAPÍTULO VI – ESTUDO BIOLÓGICO

6.1 – Atividade Antimicrobiana – Resultados e Discussão.....	81
6.2 – Atividade Antiinflamatória – Gráficos.....	83
6.3 – Atividade Antimicrobiana – Procedimento Experimental.....	89

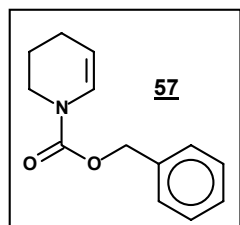
ANEXOS – ESPECTROS

➤ Espectros – IV, ¹ H RMN, ¹³ C RMN e Dept.....	91
---	----

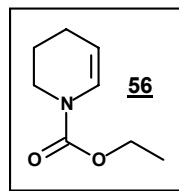
ÍNDICE DE PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS - APÊNDICES
E ESPECTROS - ANEXOS (páginas entre parênteses)



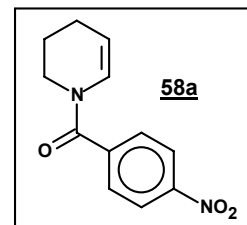
(68)



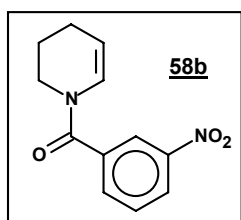
(70)



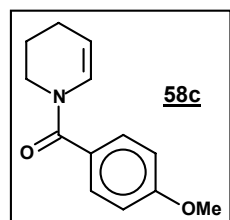
(70, 91)



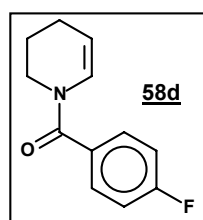
(71, 92)



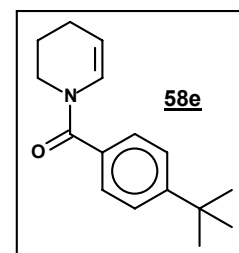
(71, 94)



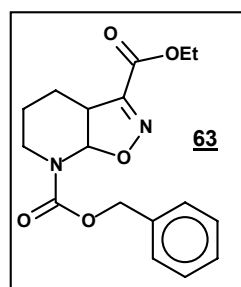
(72, 95)



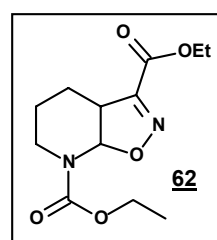
(72, 97)



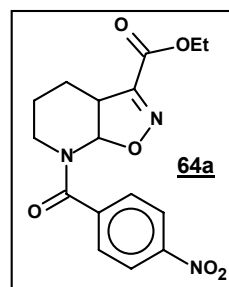
(73, 98)



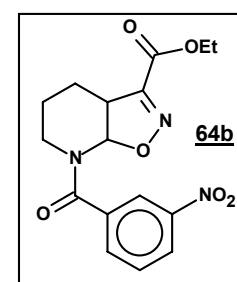
(74, 102)



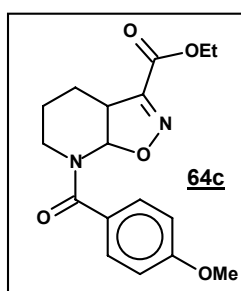
(75, 100)



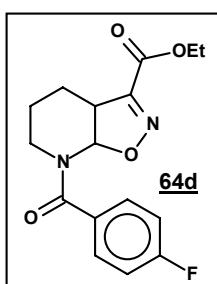
(76, 103)



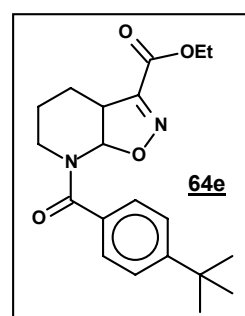
(76, 105)



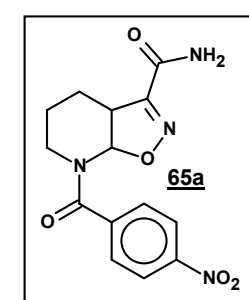
(77, 107)



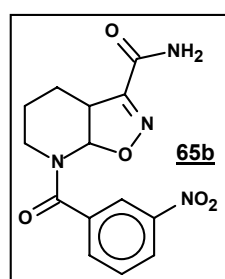
(77, 109)



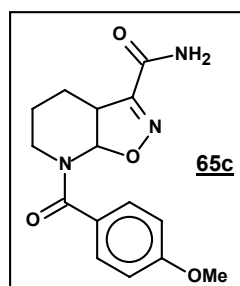
(78, 111)



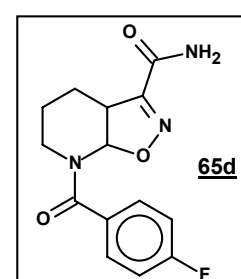
(78, 113)



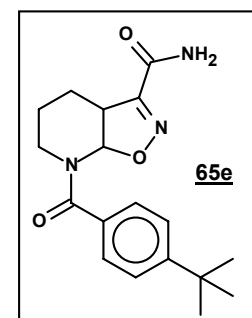
(79, 115)



(79, 117)



(80, 119)



(80, 121)

RESUMO

Enecarbamatos e enamidas endocíclicas são versáteis substâncias para a síntese de bicíclios e heterocíclios contendo nitrogênio, que apresentam importantes atividades biológicas. Embora conhecidos um grande número de reações de cicloadição 1,3-dipolar, de óxidos de nitrila com substâncias que possuem ligações duplas, a utilização de enecarbamatos e enamidas endocíclicas como dipolarófilos, é até o presente trabalho desconhecida. Em vista do fato, de que enecarbamatos e enamidas endocíclicas possuem uma ligação dupla, estrategicamente localizada, vizinha a um átomo de nitrogênio, eles poderiam ser utilizados como material de partida na obtenção de novos núcleos isoxazolínicos bicíclios, através de reações de cicloadição 1,3-dipolar. Neste trabalho, nós descrevemos as reações de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 6 membros, assim como a sua aplicação na obtenção de derivados isoxazolínicos bicíclios, com potenciais atividades antiinflamatórias. Enecarbamatos e enamidas endocíclicas de 6 membros foram preparados a partir da N-acilação do monômero 1-piperideína **55**, que por sua vez, é obtido pela destrimerização de seu respectivo trímero **51** (50%). Várias enamidas foram preparadas, variando o grupo substituinte no anel aromático do grupamento benzoila, em posições *meta* e *para*: NO₂, t-Bu, OMe e F (50-90%). Reações de Cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas com o N-óxido de nitrila CEFNO, para obtenção dos novos núcleos izoxasolínicos piperidínicos, foram desenvolvidas neste trabalho. A reação de cicloadição [3+2] envolve espécies dipolares (1,3-dipolos) com alquenos ou alquinos (dipolarófilos), produzindo anéis de 5 membros. As altas estereo e regeosletividade apresentadas neste trabalho, foram explicadas e confirmadas pela teoria de orbitais de fronteira. As novas isoxazolininas bicíclicas piperidínicas obtidas **62**, **63** e **64** (30 – 55%) foram caracterizadas por métodos espectrométricos (RMN ¹³C, ¹H, IVFT e MASSAS de alta resolução). As isoxazolininas bicíclicas **61**, obtidas a partir do enecarbamato N-(benziloxicarbonil)-2-pirrolina **54**, foram submetidas à reações de hidrogenólise e subsequente N-benzoilação, para a obtenção das isoxazolininas N-(benzoil)pirrolidinas bicíclicas. Posteriormente, os novos núcleos isoxazolínicos foram submetidos à reações de amonólise da função éster, com hidróxido de amônia, para obtenção da função amida, fundamental para a atividade antiinflamatória desejada. Todas as substâncias foram submetidas à testes de avaliação da atividade antimicrobiana, enquanto que as amidas N-(Benzoil)-isoxazolininas **65** também foram submetidas à avaliação da toxicidade aguda e atividade antiinflamatória. As N-(Benzoil) enamidas endocíclicas **58** apresentaram atividade antifúngica pronunciada contra *Candida sp*, apresentando halos de inibição de 20 mm para a N-(4-t-butil-benzoil)-2-piperideína **58e**, nos testes de Bauer & Kirb. As outras enamidas apresentaram halos de inibição entre 12 - 20 mm para outras espécies de fungos, como *Aspergillus niger* e *Fusarium moniliforme*. Os testes preliminares de toxicidade aguda revelaram substâncias com alta toxicidade para doses de 1000 mg/Kg, sendo observados efeitos estimulantes e depressores sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). A partir das observações feitas, efeitos como sonolência, presentes em todas as doses testadas, sugerem uma possível atividade analgésica. Quanto à atividade antiinflamatória, realizada pelo método de edema de pata induzido pela carragenina, as amidas apresentaram excelentes resultados, atingindo um máximo de inibição de 69% para a amida 4-nitro-benzoilada **65a**, contra 63% da Indometacina (padrão). A obtenção dos novos núcleos isoxazolínicos piperidínicos, através da reação de cicloadição 1,3-dipolar de enecarbamatos e enamidas com N-óxido de nitrila, demonstra o grande potencial e

versatilidade sintética da metodologia desenvolvida, na obtenção dos heterociclos com importantes atividades biológicas.

ABSTRACT

Endocyclic enecarbamates and enamides are versatile building blocks for the synthesis of bicyclic ring compounds and nitrogen-containing heterocycles of biological significance. Although a large number of 1,3-dipolar cycloadditions of nitrile oxide with compounds containing a double bond are known, the use of endocyclic enecarbamates and enamides, as dipolarophiles, is, until the present work, unexplored. In view of the fact that endocyclic enecarbamates and enamides possess a strategically placed double bond next to a nitrogen atom, a deactivated enamine group, they can be used as starting materials in the synthesis of new bicyclic 2-isoxazolines nuclei, by 1,3-dipolar cycloaddition. In this work, we describe the 1,3-dipolar cycloaddition reactions of 6-membered endocyclic enecarbamates and enamides, as well as, the obtention of bicyclic isoxazoline derivatives, with potential antiinflammatory activities. 6-Membered endocyclic enecarbamates and enamides **56**, **57** e **58** had been prepared from the N-acylation of the 1-piperidine monomer, that is gotten from the detrimerization of its respective trimer **51** (50%). Some enamides had been prepared, varying the substituting group in the benzoyl aromatic ring, in *meta* and *para* positions: NO₂, *t*-Bu, OMe e F (50-90%). 1,3-dipolar cycloaddition reactions of 6-membered endocyclic enamides and enecarbamates with nitrile oxide, CEFNO, for obtention of the new piperidine isoxazoline nuclei, had been developed in this work. The [3+2] cycloaddition reaction involves dipolar species (1,3-dipole) with alkenes and alkynes (dipolarophiles), producing 5-membered rings. According to frontier orbital molecular theory, the 1,3-dipolar cycloaddition reaction is a pericyclic reaction, when it occurs by a concerted mechanism. High stereo and regioselectivities presented in this work, had been explained and confirmed for the frontier orbital molecular theory. The obtained new piperidine bicyclic isoxazolines **62**, **63** e **64** (30-55%) had been characterized by spectrometric methods (¹H RMN, ¹³C RMN, IVFT and HRMS). Later, the new N-(benzoyl) bicyclic isoxazolines nuclei had been submitted to the ammonolysis reactions of the ester function, for the obtention of the amide function, that is pivotal for the desired antiinflammatory activity. All prepared compounds had been submitted to the tests of evaluation of the antimicrobial activity, while that the N-(benzoyl)-isoxazoline amides **65** also had been submitted to the evaluation of the acute toxicity and antiinflammatory activity. The endocyclic N-(benzoyl)-enamides **58** had presented sharp antifungal activity against *Candida sp.*, presenting, in the Bauer & Kirb tests, inhibition halos of 20 mm for the N-(4-*t*-butylbenzoyl)-2-piperidine **58e**. The other ones had presented inhibition halos between 12 - 20 mm for other fungal species, as *Aspergillus niger* and *Fusarium moniliform*. The preliminary tests of the acute toxicity had disclosed substances with high toxicity for doses of 1000 mg/Kg, being observed effect stimulants and depressors on central nervous system (CNS). From the made remarks, effect as sleepiness, presents in all the tested doses, suggest a possible analgesic activity. As for the antiinflammatory activity, carried through by the method of carragenin induced edema of rat hind paw, the compounds had presented excellent results, reaching a maximum of inhibition of 69% for 4-(nitrobenzoyl)-bicyclic-isoxazoline amide **65a**, and 63% for Indometacin (reference) **50**. The obtention of the new piperidine isoxazoline nuclei through the 1,3-dipolar cycloaddition reaction of endocyclic enecarbamates and enamides with Nitrile-oxide, evidences the great

potential and synthetic versatility of the developed methodology, in the preparation of the heterocycles with important biological activities.