

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

CLARA MARIA LIMA DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS  
COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ENZIMA UREASE**

Rio de Janeiro  
2025

CLARA MARIA LIMA DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS  
COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ENZIMA UREASE**

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Química do Instituto de Química da  
Universidade Federal do Rio de  
Janeiro, como parte dos requisitos para  
obtenção do grau do título de Mestre  
em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Raoni Schroeder Borges Gonçalves

Rio de Janeiro  
2025

## CIP - Catalogação na Publicação

S578s Silva, Clara Maria Lima da  
Síntese de Novos Isoxazóis 3,5-dissubstituídos como  
Potenciais Inibidores da Enzima Urease / Clara  
Maria Lima da Silva. -- Rio de Janeiro, 2025.  
150 f.

Orientador: Raoni Schroeder Borges Gonçalves.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do  
Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós  
Graduação em Química, 2025.

1. isoxazol. 2. cicloadição [3+2] 1,3-dipolar. 3.  
síntese orgânica. 4. inibidores de urease. 5. docagem  
molecular. I. Gonçalves, Raoni Schroeder Borges,  
orient. II. Título.


CLARA MARIA LIMA DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS  
COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ENZIMA UREASE**

Dissertação de Mestrado apresentada  
ao Programa de Pós-Graduação em  
Química do Instituto de Química da  
Universidade Federal do Rio de  
Janeiro, como parte dos requisitos para  
obtenção do grau do título de Mestre  
em Ciências.


Aprovado em Rio de Janeiro, 30 de outubro de 2025.

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente  
 **SABRINA BAPTISTA FERREIRA**  
Data: 19/11/2025 09:23:29-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Dr<sup>a</sup>. Sabrina Baptista Ferreira  
Doutorado em Química (UFRJ)

Documento assinado digitalmente  
 **BARBARA VASCONCELLOS DA SILVA**  
Data: 19/11/2025 11:16:16-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr<sup>a</sup> Bárbara Vasconcellos da Silva  
Doutorado em Química (UFRJ)

Documento assinado digitalmente  
 **THATYANA ROCHA ALVES VASCONCELOS**  
Data: 19/11/2025 13:49:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dr<sup>a</sup>. Thatyana Rocha Alves Vasconcelos  
Doutorado em Química (UFF)



*Dedico esse trabalho aos meus pais, Newton e Flauzina que sempre se empenharam com esforços para que eu tenha um caminho brilhante e de sucesso na presença de Deus.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter me sustentado até aqui, me concedendo força e serenidade para não desanimar diante dos desafios e percursos da vida.

Expresso minha profunda gratidão ao meu orientador e professor Dr. Raoni Schroeder, que não mediu esforços para compartilhar seus conhecimentos, sua dedicação para ensinar e caminhar ao meu lado na construção deste trabalho. Ser professor é como ser uma vela: consome-se para iluminar o caminho do próximo. É formar cidadãos, é transformar o mundo. Tenho imensa admiração e respeito por este professor que escolhi — e que também me escolheu e acolheu em seu laboratório, com paciência, dedicação e confiança.

Agradeço de todo coração à minha família, que sempre esteve presente em todas as etapas da minha trajetória acadêmica e pessoal, minha família sempre torceu por mim e nunca me desamparou, sou muito grata a Deus pela família que me concedeu.

Agradeço especialmente aos meus pais, Flauzina e Newton, que caminham comigo há 27 anos e nunca deixaram de acreditar no meu potencial. O amor incondicional, o incentivo constante, a paciência e os inúmeros sacrifícios que fizeram ao longo da minha vida são imensuráveis. Sem a presença diária de vocês, o cafezinho da manhã sempre à mesa, as orações antes de sair, as bênçãos pedidas todos os dias e o simples “cheguei” ao voltar para casa, nada disso seria possível. Vocês são minha base, meu alicerce e minha maior fonte de amor e inspiração. Sou imensamente privilegiada pela confiança e pelo carinho que vocês têm por mim.

Meu carinho e gratidão ao meu namorado Renato e agora noivo, por sempre estar ao meu lado e não medir esforços para me acolher, me escutar em todos os momentos que eu precisei. Seu amor, cuidado, paciência e suporte foram muito necessários. Nos momentos de desespero, medo e fraqueza você sempre me acolhia de uma forma que não me deixava eu me diminuir, e você sempre me incentivou e diz que eu sou capaz de alcançar todos os objetivos que eu traçava. Obrigada por ser essa pessoa tão dedicada, carinhosa e presente. Dividir a vida ao seu lado me faz imensamente feliz e completa, obrigada por tudo. Te amo, hoje e para sempre.

Não poderia deixar de agradecer aos amigos do laboratório LACASO, Felipe e Gabriel, com quem compartilhei mais de dois anos de trabalho intenso. Passamos longas horas no laboratório — muitas vezes até as 22h ou 23h — colunando, coletando frações mais puras possíveis e torcendo para que o produto finalmente desse certo. A amizade e o companheirismo de vocês tornaram essa jornada mais leve, divertida e inesquecível.

Estendo meus agradecimentos a todos os docentes com quem tive o privilégio de conviver durante o mestrado. Foram muitas lições, aprendizados e trocas que contribuíram não apenas para minha formação como cientista, mas também como ser humano.

Agradeço ainda às Professoras Dr<sup>a</sup> Bárbara Vasconcellos e Dr<sup>a</sup> Thatyana Rocha, pela disponibilidade e contribuições como membros da banca examinadora, e à Professora Dr<sup>a</sup> Sabrina Baptista, por aceitar com carinho o convite para presidir a banca.

Por fim, expresso meu reconhecimento aos órgãos de fomentos CAPES, CNPq, FAPERJ e Finep que financiaram essa pesquisa e auxílio financeiro.

A fé move montanhas — e foi ela que me guiou até aqui.

“Educar é de certo modo transformar uma animal humado em cidadão”. Gullar, Ferreira (1989, p. 152).

But I, I gotta keep trying  
Gotta keep my head held high  
There's always gonna be another mountain  
I'm always gonna wanna make it move  
Always gonna be an uphill battle  
Sometimes, I'm gonna have to lose  
Ain't about how fast I get there  
Ain't about what's waiting on the other side  
It's the climb

*The Climb* – Miley Cyrus

## RESUMO

A urease é uma metaloenzima dependente de níquel, amplamente distribuída na natureza, cuja atividade está associada tanto ao metabolismo do nitrogênio em plantas quanto à patogenicidade de microrganismos, como *Helicobacter pylori*. Devido à sua relevância clínica e agrícola, a busca por inibidores eficazes de urease representa uma área de intenso interesse científico. Neste trabalho, estudos de docagem molecular realizados frente à urease de *Canavalia ensiformis* (*Jack Bean Urease*, JBU), evidenciaram que os compostos sintetizados apresentaram atividade inibitória promissora permitindo avaliar as interações dos derivados isoxazólicos com o sítio ativo da enzima, destacando a contribuição de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas para a estabilização do complexo enzima-ligante. Foram sintetizados e caracterizados 14 derivados isoxazólicos funcionalizados, dos quais 13 representam novas estruturas químicas não descritas na literatura e com o objetivo de avaliar seu potencial como inibidores de urease. Foram empregadas metodologias clássicas de síntese orgânica, tendo como etapa-chave a reação de cicloadição [3+2] 1,3-dipolar, responsável pela construção do núcleo isoxazólico. O reagente de iodo hipervalente [bis(trifluoroacetoxi)iodo]benzeno (PIFA) foi utilizado como agente oxidante sustentável e livre de metais. Sua utilização apresenta vantagens significativas em relação a protocolos tradicionais baseados em metais, como maior estabilidade ao ar e umidade, ampla tolerância a grupos funcionais e eficiência econômica. A caracterização dos compostos foi realizada por RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e COSY, além de espectroscopia no infravermelho (IV) e espectrometria de massas de alta resolução (HRMS), confirmando a identidade estrutural das moléculas sintetizadas. Com o objetivo de avaliar o potencial biológico dos compostos sintetizados, foram realizados ensaios de inibição enzimática frente à urease de *Canavalia ensiformis*. Os resultados indicaram que parte dos derivados apresentou atividade inibitória de 97,5 %, evidenciando o potencial dessa classe de compostos como ponto de partida para o desenvolvimento de novos inibidores de urease. Os resultados obtidos demonstram que modificações estruturais no núcleo isoxazólico podem modular a atividade inibitória, reforçando o potencial desse sistema heterocíclico como arcabouço promissor para o desenvolvimento de novos possíveis candidatos a fármacos inibidores de urease. Além disso, a combinação de abordagens sintéticas, espectroscópicas e computacionais mostrou-se uma estratégia eficaz para a identificação de candidatos com potencial de aplicação tanto na área de química medicinal, voltada ao combate de infecções bacterianas relacionadas à urease, quanto na agrícola, visando reduzir perdas de nitrogênio em solos fertilizados com ureia. Assim, esta dissertação contribui para o avanço do conhecimento sobre a química de derivados isoxazólicos e sua aplicação como inibidores de urease, fornecendo subsídios para futuros estudos voltados à otimização estrutural, avaliação biológica ampliada e exploração de possíveis aplicações práticas em saúde e agricultura.

**Palavras-chave:** isoxazol, cicloadição [3+2] 1,3-dipolar, inibidores de urease, docagem molecular.

## ABSTRACT

Urease is a nickel-dependent metalloenzyme widely distributed in nature, whose activity is associated both with nitrogen metabolism in plants and with the pathogenicity of microorganisms such as *Helicobacter pylori*. Due to its clinical and agricultural relevance, the search for effective urease inhibitors represents an area of intense scientific interest. In this work, fourteen functionalized isoxazole derivatives were synthesized and characterized, thirteen of which represent novel chemical structures not previously described in the literature, with the aim of evaluating their potential as urease inhibitors. Classical organic synthesis methodologies were employed, having as the key step the 1,3-dipolar [3+2] cycloaddition reaction, responsible for constructing the isoxazole core. The hypervalent iodine reagent [bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene (PIFA) was used as a sustainable and metal-free oxidizing agent. Its use offers significant advantages over traditional metal-based protocols, such as greater stability to air and humidity, broad tolerance to functional groups, and economic efficiency. The synthesized compounds were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, COSY, infrared spectroscopy (IR), and high-resolution mass spectrometry (HRMS), confirming their proposed molecular structures. Molecular docking studies performed against *Canavalia ensiformis* urease (Jack Bean Urease, JBU) revealed that several of the synthesized compounds exhibited promising inhibitory profiles, allowing the evaluation of the interactions of the isoxazole derivatives with the enzyme active site. The results highlighted the role of hydrogen bonds and hydrophobic contacts in stabilizing the enzyme–ligand complex. To experimentally assess the biological potential of the synthesized compounds, enzyme inhibition assays against *C. ensiformis* urease were performed. The results indicated that some derivatives exhibited significant inhibitory activity, supporting the potential of this class of compounds as a starting point for the development of new urease inhibitors. The findings demonstrate that structural modifications on the isoxazole scaffold can modulate inhibitory activity, reinforcing the potential of this heterocyclic framework as a promising platform for designing new urease inhibitor candidates. Furthermore, the integration of synthetic, spectroscopic, and computational approaches proved to be an effective strategy for identifying molecules with potential applications in both medicinal chemistry, aimed at combating urease-related bacterial infections, and agrochemistry, focused on reducing nitrogen losses in urea-fertilized soils. Thus, this dissertation contributes to advancing the understanding of isoxazole-based chemistry and its application as urease inhibitors, providing a foundation for future studies directed toward structural optimization, expanded biological evaluation, and exploration of potential practical applications in health and agriculture.

**Keywords:** isoxazole; 1,3-dipolar [3+2] cycloaddition; urease inhibitors; molecular docking.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura química de derivados de Ácido Barbitúrico e Tiobarbitúrico.....	<b>23</b>
<b>Figura 2</b> - Estrutura química de derivados de Barbiturato-Hidrazona .....	<b>24</b>
<b>Figura 3</b> - Estrutura química de derivados de Tiazolidinona e Hidrazonotiazolinas .....	<b>25</b>
<b>Figura 4</b> - Estrutura química de derivados de Base de <i>Schiff</i> .....	<b>25</b>
<b>Figura 5</b> - Estrutura química de derivados de Hidrazida.....	<b>26</b>
<b>Figura 6</b> - Estrutura química de derivados de Tiossemicarbazidas e Semicarbazidas .....	<b>27</b>
<b>Figura 7</b> - Estrutura química de derivados de Tioureia .....	<b>28</b>
<b>Figura 8</b> - Estrutura química de derivados de Azina .....	<b>28</b>
<b>Figura 9</b> - Estrutura química de derivados contendo Amida.....	<b>29</b>
<b>Figura 10</b> - Estrutura química de derivados de Azol.....	<b>30</b>
<b>Figura 11</b> - Estrutura geral do isoxazol .....	<b>31</b>
<b>Figura 12</b> - Exemplos de alguns compostos químicos comercialmente usados contendo o heterociclo do isoxazol .....	<b>32</b>
<b>Figura 13</b> – Vista da modelagem de superfície para a cavidade equivalente ao sítio ativo da JBU (cavidade <b>6</b> ) por duas perspectivas diferentes, destacando sua posição em meio a diversos domínios $\alpha$ -hélice (à esquerda) e sua abertura para a entrada do substrato ou do ligante (à direita).....	<b>39</b>
<b>Figura 14</b> – Ampliação da melhor pose de docagem do ligante <b>17n</b> (à esquerda, destacado em laranja) acompanhada de diagrama bidimensional de interações do ligante com os resíduos de aminoácidos correspondentes da JBU (à direita). Imagens obtidas a partir do BIOVIA DSV.....	<b>42</b>
<b>Figura 15</b> - Ampliação da melhor pose de docagem do ligante <b>17d</b> (à esquerda, destacado em azul ciano) acompanhada de diagrama bidimensional de interações do ligante com os resíduos de aminoácidos correspondentes da JBU (à direita). Imagens obtidas a partir do BIOVIA DSV.....	<b>43</b>
<b>Figura 16</b> - Espectro com expansão de RMN de $^1\text{H}$ da oxima <b>23b</b> .....	<b>77</b>
<b>Figura 17</b> - Efeito do solvente na estabilidade da oxima: comparação do sinal de aldeído nos espectros de RMN de $^1\text{H}$ para reação do isoxazol <b>17e</b> .....	<b>79</b>
<b>Figura 18</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ do produto bruto do <b>17g</b> antes da purificação (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	<b>82</b>
<b>Figura 19</b> - <b>a)</b> Imagem de CCF à esquerda do produto bruto <b>17g</b> . <b>b)</b> Imagem de CCF ao	

centro do produto <b>17g</b> após coluna cromatográfica c) Imagem à direita do produto sólido <b>17g</b> após sua purificação .....	82
<b>Figura 20</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) com expansão do isoxazol <b>17g</b> .....	85
<b>Figura 21</b> - Classificação de Sustmann (1971) para as reações de cicloadição 1,3 dipolar .....	90
<b>Figura 22</b> - Orbitais de fronteira para um óxido de nitrila e dipolarófilos representativos .....	90
<b>Figura A1</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>20</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....	107
<b>Figura A2</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>20</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	107
<b>Figura A3</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>21</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	108
<b>Figura A4</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>21</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	108
<b>Figura A5</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17a</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	109
<b>Figura A6</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17a</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	109
<b>Figura A7</b> - Espectro COSY de ( <b>17a</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	110
<b>Figura A8</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto ( <b>17a</b> ) .....	111
<b>Figura A9</b> - Espectro de Massas do composto ( <b>17a</b> ) .....	111
<b>Figura A10</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17b</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	112
<b>Figura A11</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17b</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	112
<b>Figura A12</b> - Espectro COSY de ( <b>17b</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	113
<b>Figura A13</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto ( <b>17b</b> ) .....	114
<b>Figura A14</b> - Espectro de Massas do composto ( <b>17b</b> ) .....	114
<b>Figura A15</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17c</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	115
<b>Figura A16</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17c</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	115
<b>Figura A17</b> - Espectro COSY de ( <b>17c</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	116
<b>Figura A18</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto ( <b>17c</b> ) .....	117
<b>Figura A19</b> - Espectro de Massas do composto ( <b>17c</b> ) .....	117
<b>Figura A20</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17d</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	118
<b>Figura A21</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17d</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	118
<b>Figura A22</b> - Espectro COSY de ( <b>17d</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	119
<b>Figura A23</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto ( <b>17d</b> ) .....	120
<b>Figura A24</b> - Espectro de Massas do composto ( <b>17d</b> ) .....	120
<b>Figura A25</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17e</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	121
<b>Figura A26</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17e</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	121
<b>Figura A27</b> - Espectro COSY de ( <b>17e</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	122
<b>Figura A28</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de ( <b>17f</b> ). (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	123
<b>Figura A29</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de ( <b>17f</b> ). (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	123



<b>Figura A30</b> - Espectro COSY de <b>(17f)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	124
<b>Figura A31</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17f)</b> .....	125
<b>Figura A32</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17f)</b> .....	125
<b>Figura A33</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17g)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	126
<b>Figura A34</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17g)</b> . (126 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	126
<b>Figura A35</b> - Espectro COSY de <b>(17g)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	127
<b>Figura A36</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17g)</b> .....	128
<b>Figura A37</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17g)</b> .....	128
<b>Figura A38</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17h)</b> . (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	129
<b>Figura A39</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17h)</b> . (101 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	129
<b>Figura A40</b> - Espectro COSY de <b>(17h)</b> . (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	130
<b>Figura A41</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17h)</b> .....	131
<b>Figura A42</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17h)</b> .....	131
<b>Figura A43</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17i)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	132
<b>Figura A44</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17i)</b> . (126 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	132
<b>Figura A45</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17i)</b> .....	133
<b>Figura A46</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17i)</b> .....	133
<b>Figura A47</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17j)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	134
<b>Figura A48</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17j)</b> . (126 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	134
<b>Figura A49</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17j)</b> .....	135
<b>Figura A50</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17j)</b> .....	135
<b>Figura A51</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17k)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	136
<b>Figura A52</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17k)</b> . (126 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	136
<b>Figura A53</b> - Espectro COSY de <b>(17k)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	137
<b>Figura A54</b> - Espectro de RMN <sup>19</sup> F de <b>(17k)</b> . (471 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	138
<b>Figura A55</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17k)</b> .....	138
<b>Figura A56</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17k)</b> .....	139
<b>Figura A57</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17l)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	140
<b>Figura A58</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de <b>(17l)</b> . (126 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	140
<b>Figura A59</b> - Espectro COSY de <b>(17l)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	141
<b>Figura A60</b> - Espectro de RMN <sup>19</sup> F de <b>(17l)</b> . (471 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) .....	142
<b>Figura A61</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17l)</b> .....	142
<b>Figura A62</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17l)</b> .....	143
<b>Figura A63</b> - Espectro RMN <sup>1</sup> H de <b>(17m)</b> . (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ).....	144

<b>Figura A64</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>(17m)</b> . (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	<b>144</b>
<b>Figura A65</b> - Espectro COSY de <b>(17m)</b> . (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	<b>145</b>
<b>Figura A66</b> - Espectro de RMN $^{19}\text{F}$ de <b>(17m)</b> . (471 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) .....	<b>146</b>
<b>Figura A67</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17m)</b> .....	<b>146</b>
<b>Figura A68</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17m)</b> .....	<b>147</b>
<b>Figura A69</b> - Espectro RMN $^1\text{H}$ de <b>(17n)</b> . (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	<b>148</b>
<b>Figura A70</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>(17n)</b> . (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	<b>148</b>
<b>Figura A71</b> - Espectro COSY de <b>(17n)</b> . (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....	<b>149</b>
<b>Figura A72</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto <b>(17n)</b> .....	<b>150</b>
<b>Figura A73</b> - Espectro de Massas do composto <b>(17n)</b> .....	<b>151</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Resultado da busca por cavidades na enzima urease de <i>C. ensiformis</i> que sejam potenciais sítios de ligação para moléculas com atividade frente a essa enzima.....	<b>37</b>
<b>Tabela 2</b> - Informações a respeito da cavidade correspondente ao sítio ativo da JBU encontradas pelos cálculos do módulo <i>Cavity</i> do servidor <i>CavityPlus</i> .....	<b>38</b>
<b>Tabela 3</b> - Pose com melhor classificação de cada ligante e os respectivos valores de pontuação ( <i>Score</i> ) de afinidade de ligação ( <i>binding affinity</i> ) calculados pelo programa <i>DockTScore</i> e dos termos de energia do campo de forças MMFF94S. Todos os valores são dados em kcal/mol ....	<b>40</b>
<b>Tabela 4</b> - Rendimento das oximas sintetizadas ( <b>23a-m</b> ).....	<b>75</b>
<b>Tabela 5</b> - Efeito do solvente nas condições reacionais para a síntese de isoxazóis 3,5-dissubstituídos .....	<b>79</b>
<b>Tabela 6</b> - Propriedades físicas dos isoxazóis sintetizados ( <b>17a-n</b> ).....	<b>83</b>
<b>Tabela 7</b> - Dados do RMN de <sup>1</sup> H dos deslocamentos químicos ( $\delta$ , ppm) dos hidrogênios aromáticos e isoxasólicos nos compostos <b>17a-n</b> .....	<b>86</b>
<b>Tabela 8</b> - Atribuições das principais absorções na região do infravermelho dos compostos isoxazólicos <b>17a-n</b> (cm <sup>-1</sup> , pastilha KBr) .....	<b>87</b>
<b>Tabela 9</b> - Porcentagem de inibição (%) da urease de <i>Canavalia ensiformis</i> em compostos da série <b>17</b> (ponto de teste: 2,00 mM) .....	<b>95</b>
<b>Tabela A1</b> – Análise comparativa dos deslocamentos químicos de RMN de <sup>1</sup> H ( $\delta$ , ppm) das oximas sintetizadas ( <b>23a-m</b> ) com os valores reportados na literatura.....	<b>105</b>

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1</b> - Caminho de hidrólise enzimática da ureia.....	<b>20</b>
<b>Esquema 2</b> - Esquema geral da cicloadição [3+2] 1,3-dipolar, representando espécies envolvidas e o estado de transição.....	<b>32</b>
<b>Esquema 3</b> - Mecanismos da cicloadição 1,3 dipolar .....	<b>33</b>
<b>Esquema 4</b> - Formação do óxido de nitrila.....	<b>33</b>
<b>Esquema 5</b> - <i>Design</i> de novos potenciais inibidores .....	<b>35</b>
<b>Esquema 6</b> - Série de derivados contendo núcleo isoxazol com diferentes substituintes no anel aromáticos ( <b>17a-x</b> ).....	<b>36</b>
<b>Esquema 7</b> - Acoplamento Sonogashira .....	<b>46</b>
<b>Esquema 8</b> - Desproteção do trimetilsilil alquino.....	<b>47</b>
<b>Esquema 9</b> - Substituição nucleofílica para formação da oxima.....	<b>48</b>
<b>Esquema 10</b> - Ciclo adição de óxidos de nitrila e alcino.....	<b>56</b>
<b>Esquema 11</b> - Análise retrossintética cicloadição [3+2] para obtenção dos isoxazóis 3,5 dissustituídos .....	<b>71</b>
<b>Esquema 12</b> - Ciclo catalítico do mecanismo de reação de acoplamento Sonogashira .....	<b>72</b>
<b>Esquema 13</b> - Síntese do 2-etinilanol ( <b>21</b> ).....	<b>73</b>
<b>Esquema 14</b> – Síntese das aldoximas ( <b>23a-m</b> ) .....	<b>74</b>
<b>Esquema 15</b> – Esquema mecanístico para formação dos isômeros <i>E</i> e <i>Z</i> da oxima .....	<b>76</b>
<b>Esquema 16</b> - Síntese ( <i>E</i> )-3-metilbenzaldeído oxima ( <b>23b</b> ) .....	<b>77</b>
<b>Esquema 17</b> - Reação de cicloadição [3+2] 1,3 dipolar para síntese dos isoxazóis 3,5-dissustituídos.....	<b>79</b>
<b>Esquema 18</b> - Subprodutos da reação de dimerização do óxido de nitrila.....	<b>81</b>
<b>Esquema 19</b> - Esquema mecanístico proposto para formação do isoxazol através de uma cicloadição [3+2] 1,3 dipolar. <b>a)</b> Ataque do óxido de nitrila ao carbono mais substituído para formação do isoxazol 3,5-dissustituído. <b>b)</b> Ataque do óxido de nitrila ao carbono menos substituído para formação do isoxazol 3,4-dissustituído .....	<b>92</b>
<b>Esquema 20</b> - Reação de formação do indofenol .....	<b>93</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AHA</b>	Ácido Acetohidroxâmico
<b>CCF</b>	Cromatografia em camada fina
<b>COSY</b>	<i>Correlation spectroscopy</i>
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>HOMO</b>	Orbital Ocupado de Mais Alta Energia
<b>IBP</b>	Inibidor da Bomba de Prótons
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>JBU</b>	<i>Jack Bean Urease</i>
<b>LUMO</b>	Orbital Desocupado de Mais Alta Energia
<b>HRMS</b>	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
<b>OMF</b>	Orbital Molecular de Fronteira
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>P.F.</b>	Ponto de Fusão
<b>PIFA</b>	[bis(trifluoroacetoxi)iodo]benzeno
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>r.t.</b>	<i>Room Temperature</i>
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>TOMF</b>	Teoria dos Orbitais Moleculares de Fronteira

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
1.1	NOVAS MOLÉCULAS COMO INIBIDORES DA UREASE .....	19
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: INIBIDORES DA UREASE.....	22
1.2.1	Derivados de Ácido Barbitúrico e Tiobarbitúrico .....	23
1.2.2	Híbridos de Barbiturato-Hidrazona.....	23
1.2.3	Derivados de Hidrazona .....	24
1.2.4	Derivados de Imina .....	25
1.2.5	Derivados de Hidrazida .....	26
1.2.6	Tiossemicarbazidas e Semicarbazidas.....	26
1.2.7	Derivados de Tioureia .....	27
1.2.8	Derivados de Azina.....	28
1.2.9	Derivados contendo Amida .....	29
1.2.10	Derivados de Azol.....	29
<b>2</b>	<b>O HETEROCICLO ISOXAZOL .....</b>	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>34</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	34
3.2	OBJETIVOS EXPECÍFICOS .....	34
<b>4</b>	<b>PLANEJAMENTO DOS NOVOS INIBIDORES .....</b>	<b>35</b>
4.1	MODELAGEM MOLECULAR.....	35
4.1.1	Análise das cavidades da proteína-alvo.....	37
4.1.2	Análise da docagem molecular .....	40
4.1.3	Análise das interações proteína-ligante.....	42
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
5.1	SÍNTESE .....	44
5.1.1	Síntese do trimerilsili alquino (20).....	46
5.1.2	Síntese 2-etinilanol (21) .....	47
5.2	SÍNTESE DAS ALDOXIMAS (23a-m).....	48

5.3	SÍNTESE DO 5-(2-METOXFENIL)-3-ISOXAZOL E DERIVADOS (17a-n)	56
6	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	71
6.1	ANÁLISE RETROSSINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS DESEJADOS	71
6.2	SÍNTESE DO ALQUINO TERMINAL POR MEIO DA REAÇÃO DE ACOPLAMENTO DE SONOGASHIRA	72
6.3	OTIMIZAÇÃO DA REAÇÃO PARA OBTENÇÃO DOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS	78
6.4	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS	80
6.4.1	Síntese dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos	80
6.4.2	Desafios na purificação	81
6.4.3	Caracterização dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos	84
6.5	RACIONALIZANDO OS RESULTADOS: ASPECTOS MECANÍSTICOS DAS REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3 DIPOLAR	89
6.6	TESTES ENZIMÁTICOS	93
6.6.1	Inibição Enzimática com Urease de <i>Canavalia ensiformis</i>	93
7	<b>CONCLUSÕES</b>	96
8	<b>PERSPECTIVAS</b>	97
9	<b>REFERÊNCIAS</b>	98
	<b>ANEXO I</b>	105
	<b>ANEXO II – ESPECTROS</b>	107

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas moléculas possui um papel fundamental no avanço da química medicinal, pois permite a exploração de regiões ainda pouco desenvolvidas no espaço químico, com potencial para revelar compostos com propriedades biológicas únicas e inovadoras (Maryanoff; Wipf; 2019). O preparo de compostos inéditos contribui diretamente para a descoberta de fármacos mais eficazes e seletivos com alvos biológicos e perfil terapêutico aprimorado, incluindo maior eficácia, segurança, além de oferecer alternativas para superar limitações de medicamentos já existentes, como resistência, baixa biodisponibilidade ou toxicidade (Jarmila; Veronika; Peter; 2024). O contínuo aporte de moléculas originais fortalece os portfólios de propriedade intelectual, estimulando a inovação e colaboração entre universidades e indústria (Frye *et al.*, 2011). Nesse cenário, o cientista-pesquisador exerce papel central, combinando criatividade, rigor metodológico e interdisciplinaridade – como química orgânica, biologia molecular e farmacologia – para propor, sintetizar e validar essas moléculas com potencial terapêutico (Maryanoff; Wipf; 2019). Assim, a atividade científica não se restringe à produção de novos compostos, mas contribui também com um papel social essencial ao transformar descobertas químicas em benefícios reais para a saúde pública.

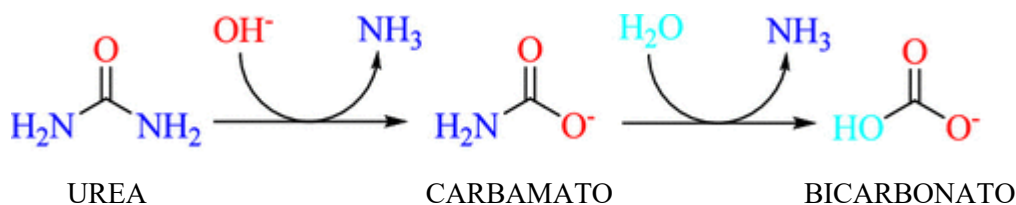
### 1.1 NOVAS MOLÉCULAS COMO INIBIDORES DA UREASE

A urease é uma metaloenzima amplamente distribuída na natureza, encontrada em organismos como bactérias, fungos, leveduras e plantas. Sua atividade catalítica foi descrita pela primeira vez por Musculus, em 1876, ao observar sua capacidade de hidrolisar a ureia, resultando na formação de amônia e dióxido de carbono por meio de um mecanismo altamente eficiente de catálise enzimática (Mobley; Island; Hausinger *et al.*, 1995). Ela contém dois íons de níquel ( $\text{Ni}^{2+}$ ) no centro ativo, essenciais para sua atividade catalítica. Esses íons coordenam-se com resíduos de histidina e aspartato, formando um ambiente ideal para a hidrólise da ureia que envolve duas etapas distintas. A primeira delas facilitada pela urease, resulta na formação do carbamato e amônia. Na segunda, amônia e bicarbonato são formados pela decomposição espontânea do carbamato (**Esquema 1**). A estrutura tridimensional foi elucidada pela primeira vez em 1995 a partir da urease de *Klebsiella aerogenes*, marcando um avanço no entendimento da catálise enzimática mediada por metais



(Jabri *et al.*, 1995).

**Esquema 1** - Caminho de hidrólise enzimática da ureia.



Fonte: Babaei *et al.*, 2025.

Na agricultura e no meio ambiente, a urease desempenha um papel crucial no ciclo global do nitrogênio, visto que a ureia é um fertilizante nitrogenado amplamente utilizado e que a atividade da urease no solo pode causar a perda de até 70 % do nitrogênio para o ambiente devido à hidrólise da ureia. Essa perda de nitrogênio tem implicações ambientais e econômicas sérias. Segundo Danial Babaei *et al.*, (2025), esse déficit pode contribuir para a eutrofização da água, acidificação do solo, poluição do ar e o efeito estufa. Além disso, a toxicidade da amônia resultante pode ser prejudicial para plantas maduras e mudas, e há uma redução na absorção de amônio pelas raízes das plantas. Portanto, inibidores de urease podem atuar de forma sinérgica junto a fertilizantes nitrogenados, melhorando a eficiência da fertilização e mitigando os impactos negativos.

No que diz respeito ao tratamento de doenças, a urease está associada à patogenicidade de diversas bactérias, como *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. A produção de amônia resultante da hidrólise da ureia promove alcalinização do ambiente, o que favorece a sobrevivência bacteriana em regiões ácidas, como o estômago. Essa alcalinização contribui para a inflamação tecidual, formação de cálculos urinários e outras condições clínicas associadas (Mobley; Hausinger; 1989). Além disso, a infecção por patógenos que possuem urease pode resultar em pielonefrite, coma hepático, encefalopatias amoniacais, cálculos urinários, úlcera péptica e câncer de estômago (Song *et al.*, 2022). Devido a isso, a urease tem sido amplamente investigada como alvo terapêutico.

Um caso particularmente relevante é o potencial do uso de inibidores de urease no tratamento de infecções causadas por *H. pylori*, cujo tratamento normalmente é realizado com uma terapia de primeira linha que consiste na associação de um inibidor da bomba de prótons (IBP) associado a dois antibióticos, como a claritromicina e amoxicilina ou metronidazol, administrados concomitantemente ou sequencialmente. Entretanto, um fator determinante

para o sucesso da abordagem é o desenvolvimento de possíveis novos fármacos para o tratamento das infecções causadas pela *H. pylori*.

No Brasil, estudos reportam taxas de resistência em torno de 15 %. Uma vez que índices de resistência próximos a 20 % já comprometem significativamente a eficácia terapêutica, esse valor é considerado um limiar crítico, a partir do qual a utilização desse regime medicamentoso deve ser descontinuada (Katelaris *et al.*, 2021). Logo, o uso da urease como um novo alvo terapêutico para o combate a essa bactéria pode trazer novas perspectivas para o tratamento de condições associadas a ela (Song *et al.*, 2022; Kunkalienkar *et al.*, 2025).

Vale lembrar que, em 2017, a bactéria *H. pylori*, foi classificada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um organismo de prioridade alta na pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos. A resistência antibiótica, principalmente aos compostos claritromina (WHO; 2017), levofloraxina e metronidazol vem aumentando mundialmente e se mostra como o principal fator determinante que impede a erradicação do *H. pylori*. Há evidências do decréscimo da eficácia ao longo do presente século para valores na ordem dos 80 %, devido ao aumento de resistências a antibióticos por *H. pylori* (Canhoto; 2021).

A prevalência de infecções por *Helicobacter pylori* varia entre diferentes populações ao redor do mundo, sendo consistentemente mais elevada em países em desenvolvimento quando comparada às taxas observadas em países desenvolvidos. Essa disparidade está frequentemente associada a fatores socioeconômicos e de infraestrutura, como condições de saneamento, acesso à água potável e serviços de saúde. Cerca de 71 % de indivíduos são afetados pela bactéria no Brasil (Hooi *et al.*, 2017) e o impacto da doença incide de forma desproporcional sobre as populações em maior vulnerabilidade socioeconômica. Assim como ocorre com a maioria das doenças infecciosas, a redução significativa desse impacto está diretamente associada a melhorias nas condições sociais e econômicas que interrompam os ciclos de transmissão (Katelaris *et al.*, 2021).

## 1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: INIBIDORES DA UREASE

No que diz respeito à descoberta de novos inibidores da urease, a de *Canavalia ensiformis* (*Jack Bean Urease*, JBU – conhecida como feijão-de-porco) consolidou-se como um dos principais modelos experimentais para o estudo dessa classe de enzimas. Desde sua cristalização pioneira por Sumner (1926), isoforma da urease, a JBU tem sido amplamente empregada em pesquisas voltadas à compreensão da catálise ureolítica e no desenvolvimento de inibidores, tanto para aplicações agrícolas, relacionadas à redução das perdas de nitrogênio provenientes da ureia no solo, quanto para aplicações médicas, devido ao seu papel como modelo estrutural de ureases bacterianas associadas a processos patológicos (Rego *et al.*, 2018). Essa ampla utilização se justifica pelo elevado grau de conservação entre as sequências primárias das ureases de diferentes espécies, que confere à JBU grande representatividade em estudos comparativos. Além do sítio ativo altamente conservado, essa enzima também apresenta evidências da presença de um sítio alostérico menos conservado, o que pode explicar a ação de inibidores de cinética mista descritos na literatura (Rego *et al.*, 20218; Brito *et al.*, 2015).

Conforme comentado anteriormente, o ciclo catalítico da urease envolve a ativação da molécula de ureia por meio da coordenação com dois íons  $\text{Ni}^{2+}$  presentes no centro ativo da enzima. A hidrólise ocorre em duas etapas: inicialmente, a ureia sofre ataque nucleofílico por uma hidroxila ativada coordenada aos íons metálicos, formando um intermediário carbamato. Na etapa seguinte, esse intermediário é rapidamente hidrolisado, liberando amônia e dióxido de carbono. A arquitetura do sítio ativo e os resíduos de aminoácidos que participam da catálise tem sido extensivamente estudada para o desenvolvimento de inibidores seletivos (Mazzei *et al.*, 2019; 2020).

Os avanços recentes na identificação de inibidores de urease, abrangendo o período de 2016 a 2024, demonstram um foco contínuo na descoberta de agentes mais potentes e seguros para aplicações médicas e agrícolas (Babaei *et al.*, 2025; Song *et al.*, 2022).

Milhares de compostos sintetizados ou isolados foram avaliados, resultando na identificação de inibidores com valores de  $\text{CI}_{50}$  na faixa nanomolar, alguns exibindo potências até 10.000 vezes superiores ao controle positivo tioureia. Exemplos notáveis incluem alguns derivados de tioureia, tiossemicarbazidas, sulfonamidas, triazóis, cumarinas e derivados de medicamentos clinicamente utilizado (Song *et al.*, 2022).

Apesar desses avanços significativos na identificação de compostos potentes, nenhum deles atingiu a fase de ensaios clínicos para uso humano ou se tornou um agroquímico

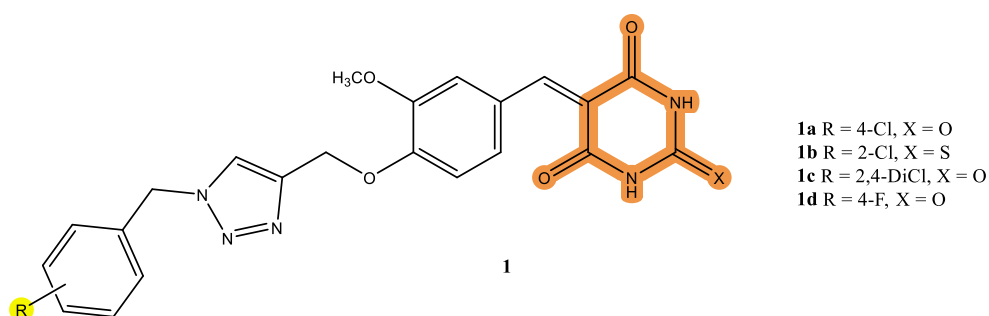
comercial. Assim, a busca por inibidores de urease com alta potência e segurança continua sendo uma área de pesquisa crucial (Babaei *et al.*, 2025).

Conforme descrito em uma revisão recentemente publicada por Babaei *et al.*, (2025) diferentes classes de inibidores da urease são descritos na literatura. A seguir são apresentadas aquelas que estão dentre as mais relevantes.

### 1.2.1 Derivados de Ácido Barbitúrico e Tiobarbitúrico

Os derivados de barbituratos e tiobarbituratos têm se mostrado promissores como inibidores da enzima urease ( $CI_{50} = 8,30 \mu M$ ), apresentando atividades superiores à hidroxiureia ( $CI_{50} = 100 \mu M$ ), frequentemente utilizada como padrão de comparação. A presença de substituintes halogenados, em especial o 4-cloro ligado na porção do anel fenil terminal demonstrou exercer grande influência sobre a atividade, sugerindo efeitos eletrônicos significativos no processo de inibição (**Figura 1**). Estudos de docagem molecular revelaram que esses compostos são capazes de se ancorar de forma estável no sítio ativo da enzima, estabelecendo interações relevantes com os íons níquel do sítio catalítico (Asgari *et al.*, 2020 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

**Figura 1** – Estrutura química de derivados de Ácido Barbitúrico e Tiobarbitúrico.

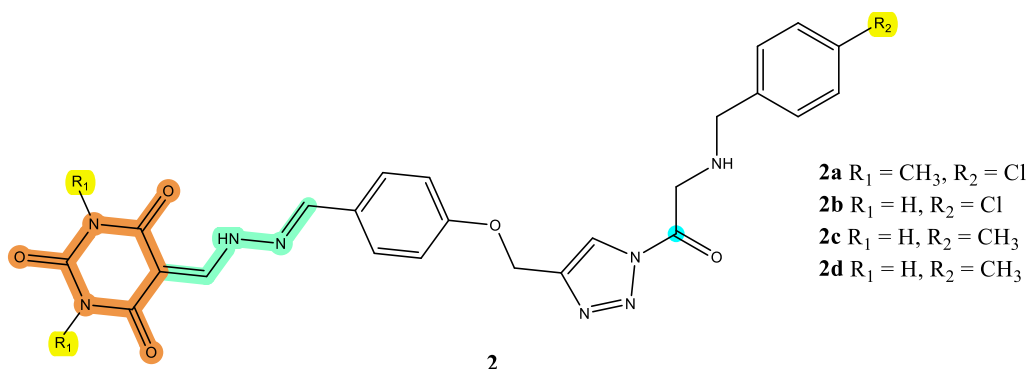


### 1.2.2 Híbridos de Barbiturato-Hidrazona

Podemos destacar a eficácia dos híbridos de barbiturato-hidrazona (**Figura 2**) como inibidores da urease, com vários compostos exibindo atividades inibitórias notavelmente mais altas do que os padrões da tioureia referência ( $CI_{50} = 22 \mu M$ ). Essa classe apresentou valores de  $CI_{50}$  variando de 0,73 a 2,17  $\mu M$ . As modificações estruturais, como a presença de grupos halogênicos (particularmente cloro) na porção  $R_2$  da fenilacetamida e grupos aril hidrazona,

são cruciais para a potência inibitória, influenciando as interações com os íons níquel e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima (Hosseinzadeh *et al.*, 2023; Mollazadeh *et al.*, 2023 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

**Figura 2** - Estrutura química de derivados de Barbiturato-Hidrazona.

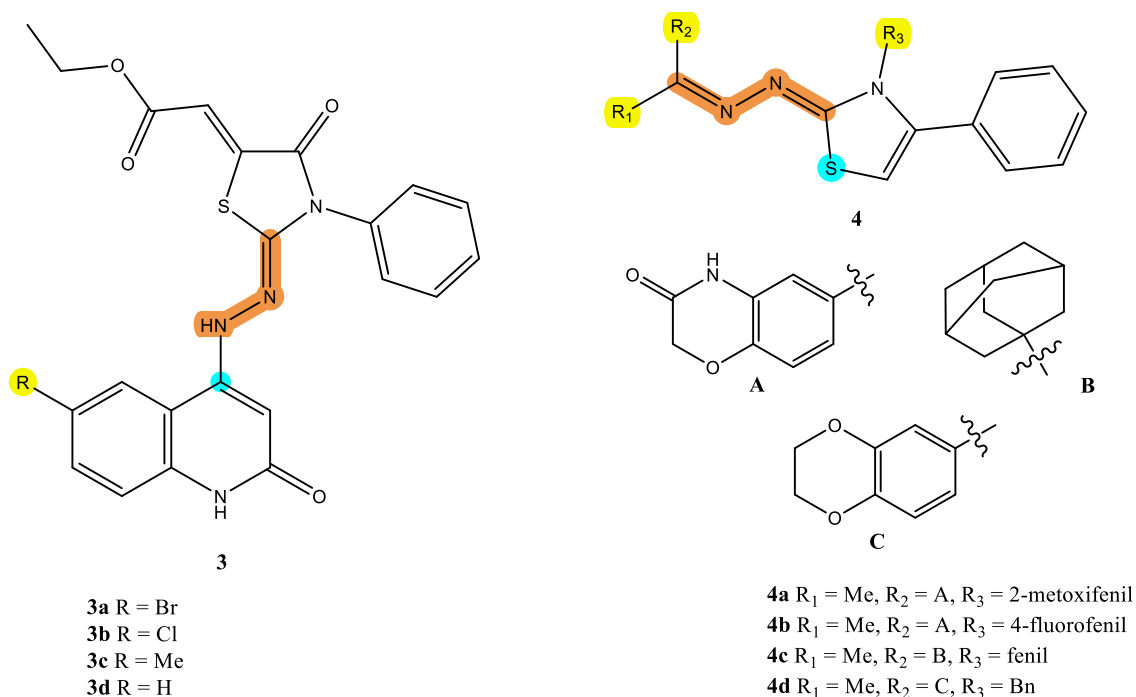


### 1.2.3 Derivados de Hidrazona

Os derivados hidrazona (**Figura 3**) destacam-se como potentes inibidores de urease, apresentando valores de  $\text{CI}_{50}$  frequentemente na faixa micromolar, variando de 0,46 a 0,92  $\mu\text{M}$ , indicando uma maior atividade que a tioureia ( $\text{CI}_{50} = 21,9 \mu\text{M}$ ). Modificações estruturais, como a presença de grupos retiradores de elétrons (R) em anéis quinolona (**3**) aumentaram significativamente a atividade. Além disso, estudos de *docking* (PDB ID 4UBP) mostraram que alguns dos compostos dessa classe se ligam de forma bastante semelhante à tioureia ao sítio ativo da enzima. A diversidade estrutural dessa classe, aliada à sua capacidade de formar múltiplas ligações de hidrogênio e interações  $\pi$ - $\pi$ , reforça seu potencial como arcabouço versátil para o desenvolvimento de inibidores seletivos e eficazes de urease (Elbastawesy *et al.*, 2021 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

Já os compostos hidrazonotiazolinas (**4**) também exibiram atividade inibitória significativa da urease, com valores de  $\text{CI}_{50}$  variando de 1,73 a 12,6  $\mu\text{M}$ . O anel tiazol desse composto, que é o fragmento molecular que interage com os átomos de níquel no sítio ativo da enzima, é o responsável por suas potentes atividades inibitórias. Estudos de docagem molecular indicaram que o nitrogênio da hidrazina atua como aceitador de ligação de hidrogênio, interagindo com o grupo imidazol da cadeia lateral do resíduo da histidina presente no sítio ativo da enzima. (Shehzad *et al.*, 2020 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

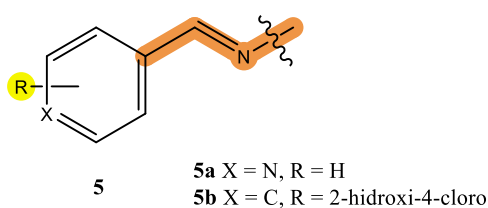
**Figura 3** - Estrutura química de derivados de Tiazolidinona e Hidrazonotiazolinas.



#### 1.2.4 Derivados de Imina

Outra família de compostos estudada inclui as iminas (bases de *Schiff*) (**5**). Esses inibidores apresentam resultados encorajadores, especialmente quando substituintes hidroxila e halogênios estão presentes em posições *orto* e *para* do anel aromático (**Figura 4**), o que aumenta a eficiência inibitória com valores de  $CI_{50}$  variando de 2,48 a 3,78  $\mu M$ , na presença de tiureia como padrão ( $CI_{50} = 20,03 \mu M$ ). Ensaio de docagem indicaram que tais modificações estruturais permitem o estabelecimento de interações chave com resíduos de histidina e arginina no sítio ativo, reforçando seu potencial como arcabouços para o desenvolvimento de novos inibidores (Hamad *et al.*, 2020 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

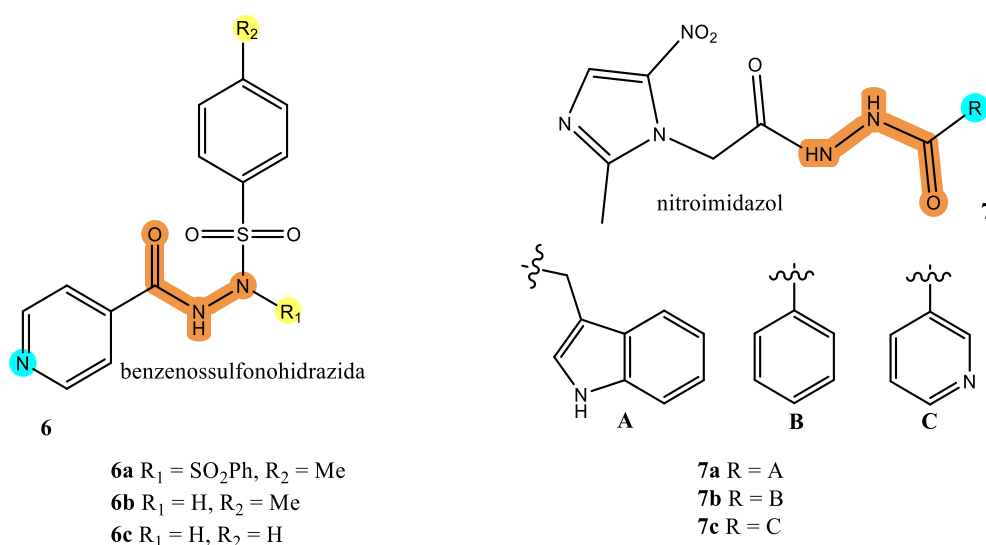
**Figura 4** - Estrutura química de derivados de Base de *Schiff*.



### 1.2.5 Derivados de Hidrazida

Os derivados de hidrazidas e nitroimidazóis (**Figura 5**) também ganharam destaque nos últimos anos, exibindo valores de  $CI_{50}$  entre 1,11 a 2,86  $\mu M$ , menores que a tioureia padrão ( $CI_{50} = 15,51 \mu M$ ). Estruturalmente, a presença do grupo benzenossulfonohidrazida (**6**) mostrou-se decisiva para o aumento da atividade. Estudos de docagem molecular mostraram que há uma interação eletrostática entre o anel de piridina e o íon níquel onde ele também forma uma interação  $\pi-\pi$  com o resíduo de histidina. Já na estrutura com nitroimidazol (**7**), o indol ( $R = A$ ) mostrou-se a maior atividade com o sítio ativo da enzima, sua substituição por outros anéis aromáticos resultou em uma perda da atividade. A modelagem molecular indicou que ligações de hidrogênio foram formadas entre o anel indol e resíduos como glicina e glutamina, além de interações hidrofóbicas observadas (Ahmed *et al.*, 2020; Talebi *et al.*, 2021 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

**Figura 5** - Estrutura química de derivados de Hidrazida.

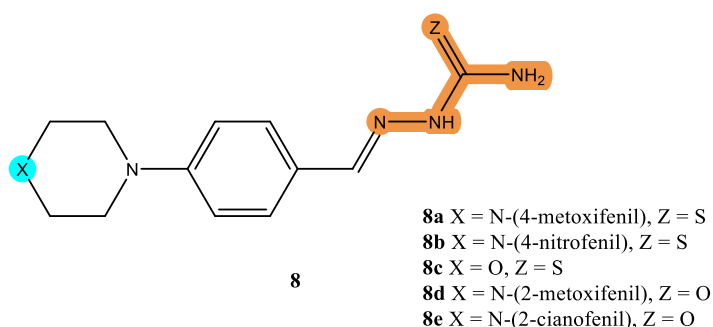


### 1.2.6 Tiossemicarbazidas e Semicarbazidas

As tiossemicarbazidas e semicarbazidas constituem outra classe de inibidores avaliados, caracterizados por uma citotoxicidade relativamente branda e potência significativa, demonstrando mais potência do que a tioureia padrão ( $CI_{50} = 22 \mu M$ ), valores de  $CI_{50}$  na faixa dos 4,08 a 11,31  $\mu M$ . Compostos contendo grupos doadores de elétrons, como o

metoxi na posição *para* do anel fenil ligado a piperazina (**8a**) (**Figura 6**), apresentaram maior atividade, evidenciando a importância de substituintes doadores de elétrons no aumento da afinidade pela urease. Estudos de docagem sugerem que múltiplas interações de van der Waals participam da estabilização desses ligantes no sítio ativo (Moghadam *et al.*, 2022 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

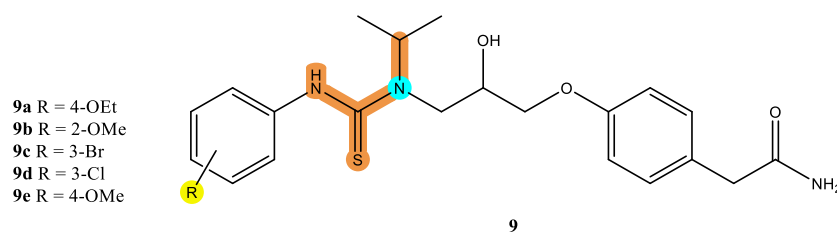
**Figura 6** - Estrutura química de derivados de Tiossemicarbazidas e Semicarbazidas.



### 1.2.7 Derivados de Tiourea

Os derivados de tiourea (**9**) continuam sendo uma das classes mais exploradas como inibidores de urease, apresentando resultados consistentes em diversos estudos recentes. Novos análogos derivados do atenolol, característico por um anel benzênico ligado a um grupo acetamida, um grupo propoxi, grupo OH e uma isopropilamina (**Figura 7**), exibiram  $CI_{50}$  na faixa micromolar (11,73 a 53,43  $\mu M$ ), superando em alguns resultados a tiourea padrão ( $CI_{50}$  = 21,74  $\mu M$ ). Substituições no anel aromático R com grupos doadores de elétrons, como *orto* metoxi e *para* etoxi, resultaram em compostos com maior atividade ( $CI_{50}$  = 16,73 e 11, 73 respectivamente) frente a inibição da enzima urease, evidenciando o efeito positivo dessas funções na interação com o sítio ativo da enzima. Entre os grupos retiradores de elétrons, apenas 3-bromo e 3-cloro mostraram desempenho superior ao da tiourea de referência ( $CI_{50}$  = 19,26 e 21,65 respectivamente), porém menos efetivos que os grupos doadores, sugerindo que sua contribuição eletrônica e estérica favoreça a coordenação com os íons níquel catalíticos. Esses resultados reforçam o potencial das tioureas como estruturas versáteis e promissoras para o desenvolvimento de novos inibidores de urease (Wahid *et al.*, 2020 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

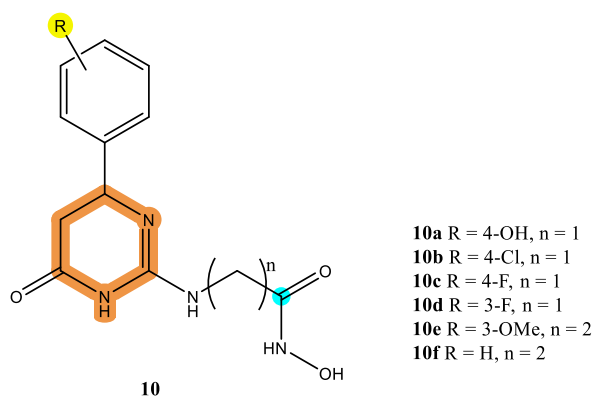


**Figura 7** - Estrutura química de derivados de Tioureia.

### 1.2.8 Derivados de Azina

De uma forma geral, os derivados de azina (**10**) revelam a eficácia de arcabouços heterocíclicos nitrogenados na inibição da urease. Compostos como os híbridos do ácido hidroxâmico-dihidropirimidina (**Figura 8**) demonstraram potências altas, estando dentre os mais potentes entre os derivados preparados na atualidade com valores de  $CI_{50}$  iguais a 0,014, 0,082 e 0,14  $\mu$ M para os substituintes 4-OH, 4-Cl, e 3-OMe no anel aromático R respectivamente em comparação com o ácido acetohidroxâmico padrão (AHA) ( $CI_{50}$  = 27,4  $\mu$ M). Estudos de *docking* molecular mostraram perfis de interação estabilizada por ressonância envolvendo o íon fenóxido na posição *para* e o anel da dihidropirimidina, e a atividade na capacidade inibitória não é observada quando o grupo hidroxila é movido para as posições *orto* ou *meta*. Além disso, várias ligações de hidrogênio foram formadas entre os átomos de oxigênio e nitrogênio e os resíduos de histidina e arginina do sítio ativo.

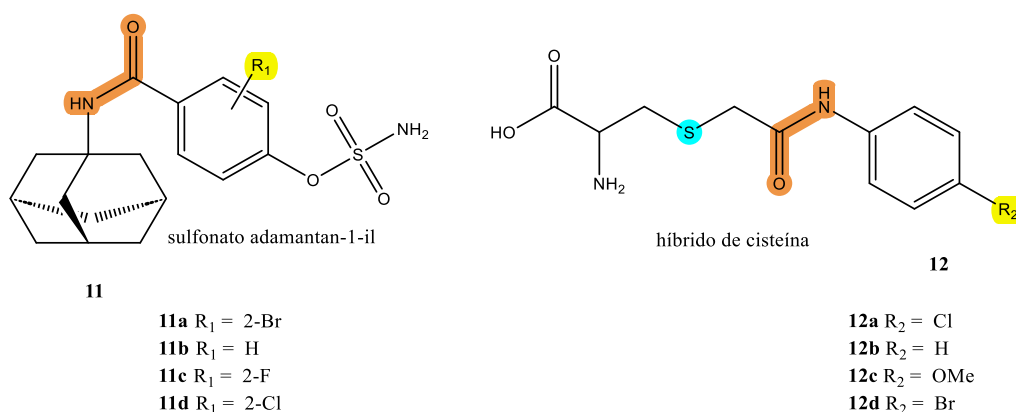
Esses achados reforçam o potencial das azinas como arcabouços versáteis para o *design* de novos inibidores seletivos de urease (Mamidala *et al.*, 2021 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

**Figura 8** - Estrutura química de derivados de Azina.

### 1.2.9 Derivados contendo Amida

Essa classe de compostos demonstrou elevada atividade, com  $CI_{50}$  em alguns casos na faixa submicromolar (0,062 a 2,12  $\mu M$ ), em comparação com a tioureia padrão ( $CI_{50} = 22,31 \mu M$ ). O composto mais favorável foi com  $R_2 = Br$  na posição 2 do anel (**11a**) (**Figura 9**), onde a estrutura possui uma fração adamantila conectada ao nitrogênio do grupo carboxamida. Outro derivado promissor foi o composto contendo cisteína com substituinte 4-cloro fenil (**12a**). Estudos de interação enzimática revelaram que esses compostos formam ligações de hidrogênio estáveis com resíduos fundamentais para a catálise. (Zaib *et al.*, 2022; Montazer *et al.*, 2024 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

**Figura 9** - Estrutura química de derivados contendo Amida.



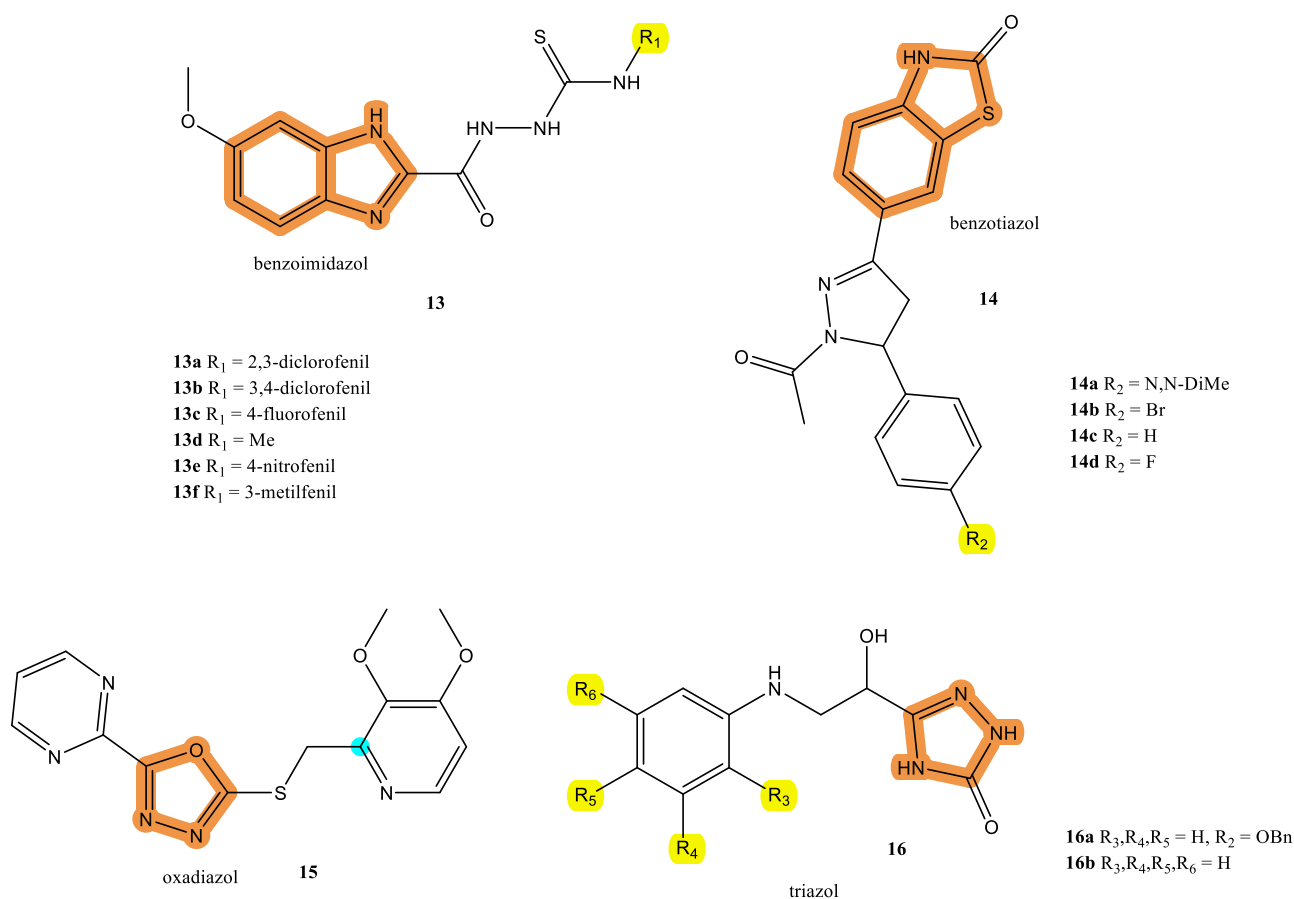
### 1.2.10 Derivados de Azol

A classe dos azóis compreende uma ampla variedade de estruturas, incluindo benzimidazóis ( $CI_{50} = 2,40$  a  $22,6 \mu M$ ), oxadiazóis ( $CI_{50} = 25,85 \mu M$ ), triazóis ( $CI_{50} = 6,31$  a  $85,19 \mu M$ ) e benzotiazóis ( $CI_{50} = 12,76$  a  $75,28 \mu M$ ). Muitos desses compostos apresentaram atividade superior ao ácido acetohidroxâmico ( $CI_{50} = 100 \mu M$ ) e à tioureia ( $CI_{50} = 21,60 \mu M$ ), frequentemente utilizados como controle positivo. A introdução de substituintes com grupos retiradores de elétrons na porção  $R_1$  (**13**) ligada à tiossemicarbazina do composto contendo o benzimidazol, o grupo N,N-diMe na porção  $R_2$  (**14a**) do derivado benzotiazol, assim como a porção dimetoxipiridina no derivado de oxadiazol (**15**) e também os derivados de tiazol (**16**) (**Figura 10**) foram determinantes para a modulação da atividade, evidenciando o aumento da potência inibitória ao favorecer ligações de hidrogênio e interações  $\pi-\pi$  no sítio

ativo da enzima. Estudos de docagem confirmaram que esses derivados interagem fortemente com os íons níquel catalíticos e resíduos essenciais (Arg439, His492, His593), explicando o desempenho superior. Assim, os azóis se consolidam como uma das classes mais promissoras, oferecendo arcabouços estruturais diversificados e ajustáveis para o desenvolvimento racional de novos inibidores seletivos de urease (Alzahrani *et al.*, 2024; Azizian *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2024; Tok *et al.*, 2022 *apud* Babaei *et al.*, 2025).

Vale ressaltar que essa classe de compostos serviu como base para o desenvolvimento do presente trabalho, direcionando o *design* e a síntese dos derivados de isoxazol 3,5-dissubstituídos investigados nesta pesquisa.

**Figura 10** - Estrutura química de derivados de Azol.



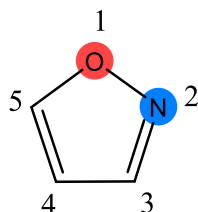
Nesse contexto, considerando o potencial da urease como alvo terapêutico e a importância que a síntese e avaliação biológica de novas substâncias apresenta para o desenvolvimento dessa área, a presente pesquisa propõe a síntese, caracterização e avaliação da inibição enzimática frente a urease de novos compostos contendo o núcleo isoxazol.

## 2 O HETEROCICLO ISOXAZOL

Compostos heterocíclicos são agentes terapêuticos promissores e peças-chave no desenvolvimento de novos fármacos. Essas moléculas, que contêm heteroátomos como oxigênio, nitrogênio e enxofre em suas estruturas, apresentam um longo histórico na química medicinal devido à sua notável diversidade, o amplo espectro de metodologias para prepará-las e a vasta possibilidade de modificações que podem ser realizadas em suas estruturas.

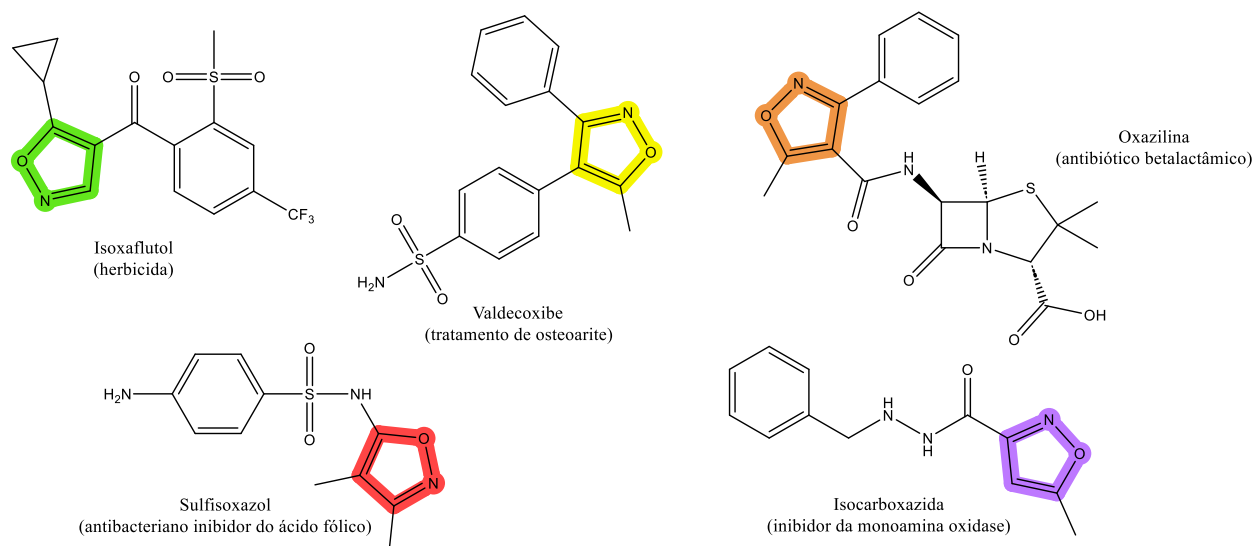
Uma classe de heterociclos que tem sido extensivamente explorada são os isoxazóis. Eles são compostos heterocíclicos com três átomos de C, um de O (na posição 1) e um de N (na posição 2) (**Figura 11**), que seguem a regra Hückel para compostos aromáticos. Dentre os compostos dessa classe, podemos encontrar aqueles com atividades antitumorais, antibacterianas, antifúngicas, antituberculose, além de potenciais pesticidas (Rani *et al.*, 2025).

**Figura 11** – Estrutura geral do isoxazol.



Exemplos importantes de substâncias bioativas contendo esse núcleo são: a isocarboxazida, que atua como um inibidor da monoamina oxidase, o isoxaflutol que tem sido amplamente utilizado como herbicida, juntamente com fármacos que estão disponíveis como o sulfisoxazol usado em medicina veterinária para tratamento de gado mais comumente conhecido por sua estrutura amino benzenossulfônico. A oxacilina é usada principalmente contra cepas de cocos gram-positivos produtoras de penicilinase, particularmente espécies estafilocócicas. Fármacos contendo o núcleo isoxazol também incluem inibidores de COX-2 (classe das ciclooxigenases), como o valdecoxibe usado principalmente no tratamento de osteoarite, artrite reumatoide e dor aguda (**Figura 12**).

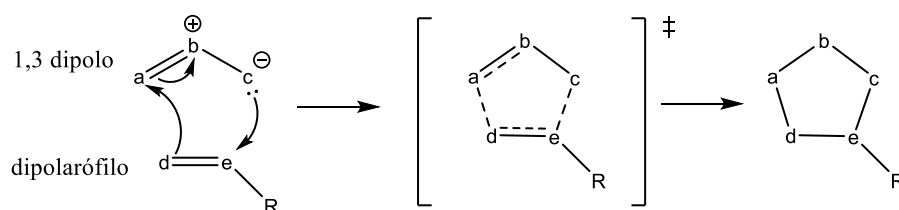
**Figura 12** - Exemplos de alguns compostos químicos comercialmente usados contendo o heterociclo do isoxazol.



As características estruturais dos isoxazóis permitem múltiplas interações não covalentes, como ligações de hidrogênio (átomos de N e O atuam como receptores de ligações de hidrogênio), empilhamento  $\pi - \pi$  (anel insaturado) e interações hidrofóbicas. Sua incorporação em compostos oferece redução da toxicidade, aumento da eficácia e melhor espectro farmacocinético, atuando, portanto, como um recurso atraente no *design* de novas moléculas (Pandey *et al.*, 2024).

Para a construção do anel isoxazol, a cicloadição 1,3-dipolar é apresentada como um método amplamente utilizado e eficiente. Nessa reação, ocorre a combinação de um dipolarófilo (compostos com ligações duplas ou triplas, como alcenos, alcinos, carbonilas ou nitrilas) com um 1,3-dipolo (como óxidos de nitrila, nitronas, azidas, nitriliminas, diazoalcanos, entre outros) (Kiss; Nonn; Fülöp; 2012) (**Esquema 2**).

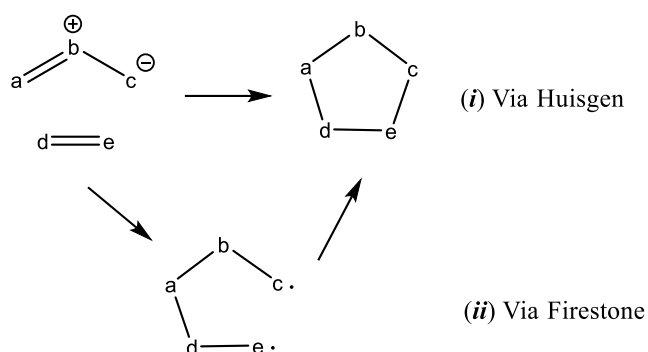
**Esquema 2** - Esquema geral da cicloadição [3+2] 1,3-dipolar, representando espécies envolvidas e o estado de transição.



Adaptado de Kiss; Nonn; Fülöp; 2012.

O mecanismo pode seguir dois caminhos: *(i)* como proposto por Huisgen, em que a cicloadição ocorre de forma síncrona (mecanismo concertado) ou *(ii)* via Firestone, num processo em etapas (mecanismo dirradicalar) (**Esquema 3**).

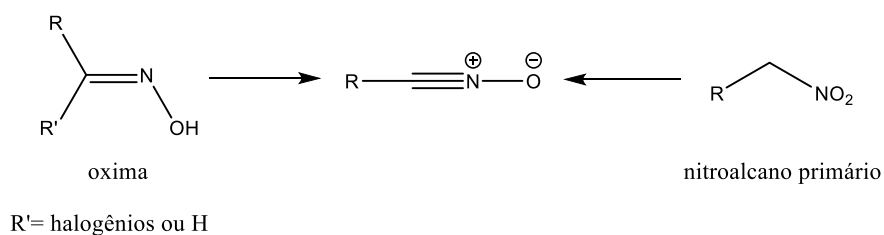
**Esquema 3** - Mecanismos da cicloadição 1,3 dipolar.



Adaptado de Kiss; Nonn; Fülöp; 2012.

Os óxidos de nitrila, geralmente são gerados *in situ*, devido à sua instabilidade, podendo ser obtidos pelo método de Huisgen (a partir de oximas halogenadas ou não halogenadas) ou pelo método de Mukaiyama (desidratação de nitroalcanos primários) (**Esquema 4**).

**Esquema 4** - Formação do óxido de nitrila.



Adaptado de Kiss; Nonn; Fülöp; 2012.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Planejar, sintetizar, purificar e caracterizar novos derivados isoxazólicos 3,5-dissubstituídos e avaliar o seu potencial de inibição frente à urease de *Canavalia ensiformis* (*Jack Bean Urease*).

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar 2-etinilanol através da reação de acoplamento Sonogashira entre 2-iodoanol e TMS-acetileno;
- Sintetizar uma série de oximas a partir da reação entre a hidroxilamina e aldeídos variados;
- Síntese de derivados isoxazólicos a partir da reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o 2-etinilanol e óxidos de nitrila gerados *in situ* a partir da oxidação de oximas mediada por PIFA;
- Purificar e caracterizar os compostos a partir de técnicas como RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY, HRMS e IV;
- Testar a atividade inibitória dos compostos isoxazólicos frente à enzima urease de *Canavalia ensiformis*;

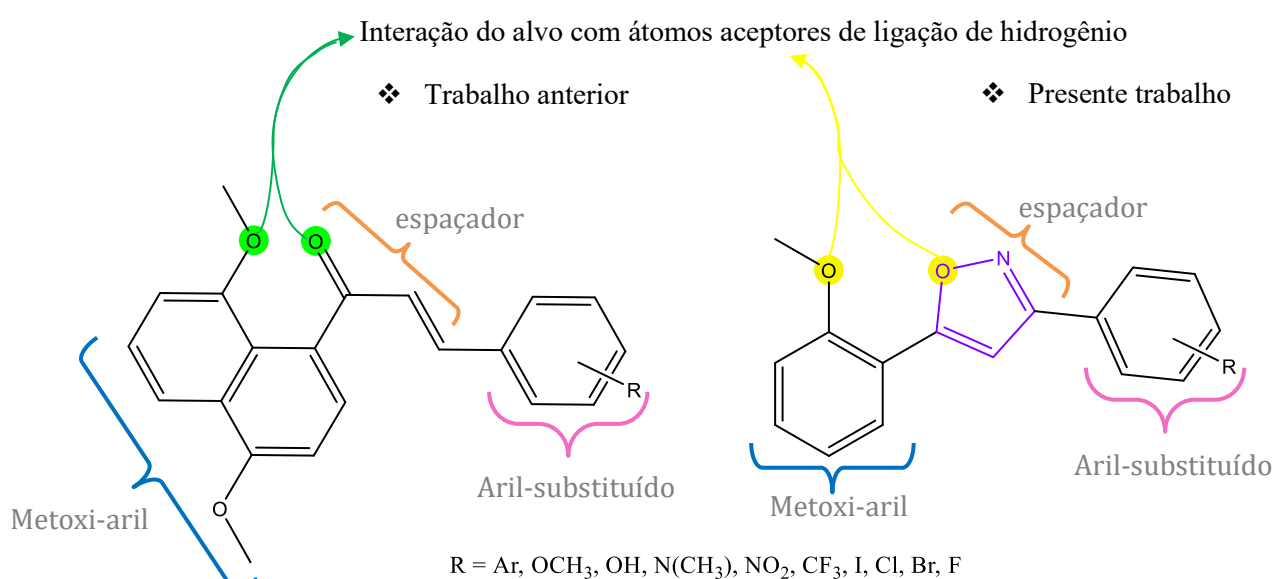
## 4 PLANEJAMENTO DOS NOVOS INIBIDORES

### 4.1 MODELAGEM MOLECULAR

O presente trabalho tem como ponto de partida uma série de chalconas contendo um núcleo  $\alpha$ -metoxi-naftaleno, preparadas anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa (**Esquema 5**), as quais mostraram-se estruturas privilegiadas, apresentando atividade biológica frente a protozoários (Santiago-Silva *et al.*, 2022) e bactérias (Oliveira; 2020). Estudos de *docking* mostraram que os átomos de oxigênio adjacentes podem funcionar como “pinças” aceptoras de ligação de hidrogênio ou como grupos quelantes, capazes de promover a coordenação com íons metálicos (Santiago-Silva *et al.*, 2022). Entretanto, os compostos demonstraram baixa solubilidade em meio aquoso, o que pode impactar de forma negativa em suas propriedades farmacocinéticas.

Com base nesses estudos e com o objetivo de obter compostos com propriedades farmacológicas potencialmente aprimoradas, projetamos uma nova série de derivados contendo o anel isoxazol, visando explorar modos de interação análogos aos observados anteriormente, agora com o alvo da enzima urease de *C. ensiformis* (JBU).

**Esquema 5** – Design de novos potenciais inibidores.

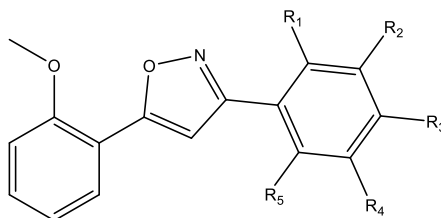


Fonte: A autora.



A fim de investigar o potencial de novos isoxazóis frente à urease, realizou-se estudos de docagem molecular em parceria com o laboratório LABMMOL (IQ/UFRJ), efetuados durante a dissertação de mestrado do aluno de mestrado Endrew Amaral (IQ/UFRJ) (Amaral; 2025). Para isso, utilizou-se a estrutura cristalográfica da urease majoritária de *Canavalia ensiformis* (PDB ID: 3LA4). As moléculas foram submetidas ao programa *DockThor*, considerando o sítio ativo contendo dois íons  $\text{Ni}^{2+}$  como cofatores catalíticos. O **Esquema 6** apresenta a o planejamento dos substituintes da série dos 23 derivados isoxazólicos.

**Esquema 6** - Série de derivados contendo núcleo isoxazol com diferentes substituintes no anel aromático (**17a-x**).



<b>17a</b> ( $\text{R}_2 = \text{OCH}_3$ )	<b>17m</b> ( $\text{R}_3 = \text{CF}_3$ )
<b>17b</b> ( $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ )	<b>17n</b> ( $\text{R}_3 = \text{Ph}$ )
<b>17c</b> ( $\text{R}_3 = \text{CH}_3$ )	<b>17o</b> ( $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4, \text{R}_5 = \text{F}$ )
<b>17d</b> ( $\text{R}_1 = \text{OH}$ )	<b>17p</b> ( $\text{R}_2, \text{R}_4 = \text{CF}_3$ )
<b>17e</b> ( $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ )	<b>17q</b> ( $\text{R}_2 = \text{NO}_2$ )
<b>17f</b> ( $\text{R}_1 = \text{NO}_2$ )	<b>17r</b> ( $\text{R}_3 = \text{OCH}_3$ )
<b>17g</b> ( $\text{R}_3 = \text{I}$ )	<b>17s</b> ( $\text{R}_2, \text{R}_3 = \text{OCH}_3$ )
<b>17h</b> ( $\text{R}_3 = \text{Cl}$ )	<b>17t</b> ( $\text{R}_2, \text{R}_4 = \text{OCH}_3$ )
<b>17i</b> ( $\text{R}_1 = \text{Br}$ )	<b>17u</b> ( $\text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4 = \text{OCH}_3$ )
<b>17j</b> ( $\text{R}_3 = \text{Br}$ )	<b>17v</b> ( $\text{R}_3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ )
<b>17k</b> ( $\text{R}_1 = \text{F}$ )	<b>17x</b> ( $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3, \text{R}_4, \text{R}_5 = \text{H}$ )
<b>17l</b> ( $\text{R}_3 = \text{F}$ )	

A inserção de diferentes substituintes visa explorar a influência eletrônica e estérica sobre a interação com o centro ativo da enzima, buscando-se estruturas com maior afinidade e seletividade. Além disso, a versatilidade sintética dos isoxazóis permite a construção de bibliotecas moleculares com potencial otimização da atividade biológica. Dessa forma, esta investigação contribui para o desenvolvimento racional de novos inibidores de urease, aliando

abordagens sintéticas, espectroscópicas e computacionais (Ahmed *et al.*, 2017; Abbas *et al.*, 2019).

#### 4.1.1 Análise das cavidades da proteína-alvo

Ao usar o módulo *Cavity*, foram encontradas, ao todo, 22 cavidades possíveis para interações com ligantes. Os resultados estão organizados no **Tabela 1**.

**Tabela 1** - Resultado da busca por cavidades na enzima urease de *C. ensiformis* que sejam potenciais sítios de ligação para moléculas com atividade frente a essa enzima.

Cavidade	Predição de afinidade máxima	Predição de afinidade média	<i>DrugScore</i>	Drogabilidade ( <i>Druggability</i> )
1	10,10	6,91	205,00	Média ( <i>Medium</i> )
2	11,04	6,97	1352,00	Forte ( <i>Strong</i> )
3	11,40	6,99	312,00	Média ( <i>Medium</i> )
4	11,17	6,45	-38,00	Média ( <i>Medium</i> )
5	10,58	6,24	-388,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
6	9,88	6,01	-257,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
7	9,51	5,88	-795,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
8	9,47	5,86	-644,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
9	8,46	5,52	-749,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
10	8,14	5,41	-688,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
11	7,63	5,23	-1053,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
12	7,53	5,20	-1014,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
13	7,07	5,04	-527,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
14	6,84	4,96	-1080,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
15	6,53	4,86	-1109,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
16	6,48	4,84	-1425,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
17	6,43	4,82	-993,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
18	6,30	4,78	-1577,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
19	6,14	4,72	-990,00	Fraca ( <i>Weak</i> )

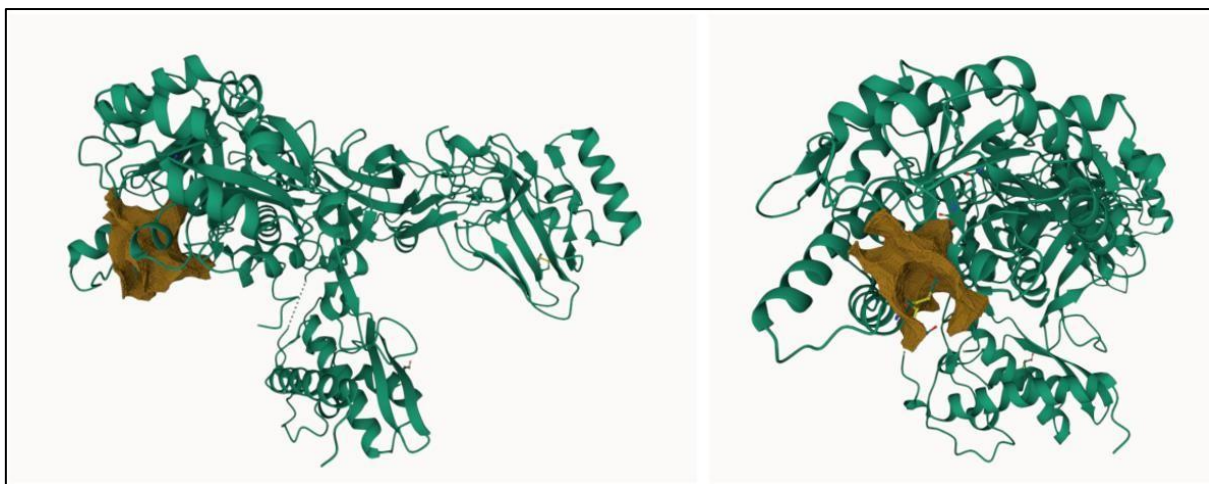
20	5,90	4,64	-884,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
21	5,53	4,52	-1258,00	Fraca ( <i>Weak</i> )
22	5,53	4,51	-1380,00	Fraca ( <i>Weak</i> )

Neste trabalho, o principal objetivo foi avaliar a interação das moléculas de interesse no sítio ortostérico da enzima *C. ensiformis*. Ao traçar as coordenadas dos íons níquel na estrutura da urease e relacionar com as posições das cavidades encontradas, concluiu-se que a cavidade numerada como cavidade 6 na lista de resultados seria a que mais se relacionaria com o sítio ativo que desejou-se estudar. Com isso, mesmo tendo uma baixa drogabilidade ela foi a cavidade de interesse. As seguintes informações (**Tabela 2**) foram obtidas sobre essa cavidade (**Figura 13**).

**Tabela 2** - Informações a respeito da cavidade correspondente ao sítio ativo da JBU encontradas pelos cálculos do módulo *Cavity* do servidor *CavityPlus*.

<b>Área superficial (Å<sup>2</sup>)</b>	610,25
<b>Volume (Å<sup>3</sup>)</b>	1005,62
<b>Tamanho da caixa (Å)</b>	18,5; 15,0; 15,5
<b>Centro da caixa (Å)</b>	-41,75; -49,00; 80,75
<b>Resíduos de aminoácidos</b>	GLY-437, GLU-493, THR-522, SER-634, HIS- 593, ALA-435, HIS-492, THR-441, GLY-550, PHE-605, ARG-609, ALA-636, HIS-519, THR- 571, GLY-638, TYR-544, LEU-589, MET-590, ALA-436, ALA-440, GLN-635, HIS-407, PRO- 434, HIS-585, ARG-439, GLU-584, PRO-573, HIS-594, ASP-633, VAL-591, MET-637, ASP- 494, HIS-545, ASP-521, MET-588, LEU-595, HIS-409, LEU-523, GLY-551, ARG-639, ASP- 587, THR-438, VAL-640, ALA-549, ILE-411, TRP-495, THR-442, THR-520-A

**Figura 13** - Vista da modelagem de superfície para a cavidade equivalente ao sítio ativo da JBU (cavidade **6**) por duas perspectivas diferentes, destacando sua posição em meio a diversos domínios  $\alpha$ -hélice (à esquerda) e sua abertura para a entrada do substrato ou do ligante (à direita).



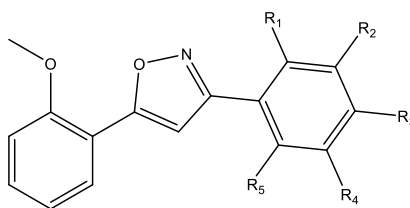
Fonte: Amaral; 2025.

Outras cavidades não foram avaliadas neste trabalho, uma vez que a investigação se concentrou no sítio ativo da enzima. Essa escolha justifica-se pelo fato de que os resíduos que compõem e circundam o sítio ativo são altamente conservados entre as diferentes ureases. Dessa forma, um inibidor capaz de se ligar a essa região apresenta maior potencial de atuar como inibidor de ureases de maneira geral.

### 4.1.2 Análise da docagem molecular

A **Tabela 3** apresenta os dados de energia para as poses com melhor classificação (pontuação) obtida por docagem para cada ligante, onde são listados os valores de afinidade de ligação (*binding affinity*) calculados pela função de pontuação *DockTScore* (*Score*) (Guedes *et al.*, 2021) e os termos de energia calculados com o campo de forças MMFF94S, ou seja, energia total ( $E_{total}$ ), energia intermolecular ( $E_{inter}$ ), energia de *vander Waals* ( $E_{vdW}$ ) e energia eletrostática ( $E_{elec}$ ).

**Tabela 3** - Pose com melhor classificação de cada ligante e os respectivos valores de pontuação (*Score*) de afinidade de ligação (*binding affinity*) calculados pelo programa *DockTScore* e dos termos de energia do campo de forças MMFF94S. Todos os valores são dados em kcal/mol.



Código	<i>Score</i>	$E_{total}$	$E_{inter}$	$E_{vdW}$	$E_{elec}$	Fórmula estrutural
<b>17a</b>	-8,251	24,660	-28,411	-24,741	-3,670	(R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub> )
<b>17b</b>	-8,027	27,545	-25,745	-21,677	-4,068	(R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub> )
<b>17c</b>	-7,983	27,104	-25,211	-20,561	-4,650	(R <sub>3</sub> = CH <sub>3</sub> )
<b>17d</b>	-7,609	22,940	-29,751	-15,798	-13,953	(R <sub>1</sub> = OH)
<b>17e</b>	-7,663	35,554	-26,534	-17,695	-8,839	(R <sub>3</sub> = NO <sub>2</sub> )
<b>17f</b>	-7,684	40,530	-27,687	-19,344	-8,343	(R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> )
<b>17g</b>	-8,115	24,867	-26,402	-23,484	-2,918	(R <sub>3</sub> = I)
<b>17h</b>	-8,411	24,569	-24,668	-22,952	-1,716	(R <sub>3</sub> = Cl)
<b>17i</b>	-8,209	27,556	-26,266	-22,231	-4,035	(R <sub>1</sub> = Br)
<b>17j</b>	-8,091	24,897	-26,469	-23,418	-3,051	(R <sub>3</sub> = Br)
<b>17k</b>	-7,828	26,378	-23,536	-21,070	-2,466	(R <sub>1</sub> = F)
<b>17l</b>	-7,859	24,493	-23,865	-20,787	-3,078	(R <sub>3</sub> = F)
<b>17m</b>	-7,773	45,895	-25,912	-20,283	-5,629	(R <sub>3</sub> = CF <sub>3</sub> )
<b>17n</b>	-8,641	42,436	-29,979	-25,361	-4,618	(R <sub>3</sub> = Ph)
<b>17o</b>	-8,280	21,437	-27,185	-22,313	-4,872	(R <sub>1</sub> , R <sub>2</sub> , R <sub>3</sub> , R <sub>4</sub> , R <sub>5</sub> = F)

<b>17p</b>	-8,103	65,530	-26,374	-23,645	-2,729	(R <sub>2</sub> ,R <sub>4</sub> = CF <sub>3</sub> )
<b>17q</b>	-7,914	33,269	-27,624	-19,609	-8,015	(R <sub>2</sub> = NO <sub>2</sub> )
<b>17r</b>	-8,245	27,291	-26,502	-23,097	-3,405	(R <sub>3</sub> = OCH <sub>3</sub> )
<b>17s</b>	-8,079	36,135	-27,565	-20,659	-6,906	(R <sub>2</sub> ,R <sub>3</sub> = OCH <sub>3</sub> )
<b>17t</b>	-8,300	28,814	-26,854	-20,656	-6,198	(R <sub>2</sub> ,R <sub>4</sub> , = OCH <sub>3</sub> )
<b>17u</b>	-8,302	48,583	-29,044	-24,509	-4,535	(R <sub>2</sub> ,R <sub>3</sub> ,R <sub>4</sub> , = OCH <sub>3</sub> )
<b>17v</b>	-7,838	32,731	-25,794	-21,827	-3,967	(R <sub>3</sub> = N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )
<b>17x</b>	-7,888	25,544	-24,267	-19,414	-4,853	(R <sub>1</sub> ,R <sub>2</sub> ,R <sub>3</sub> ,R <sub>4</sub> ,R <sub>5</sub> = H)

---

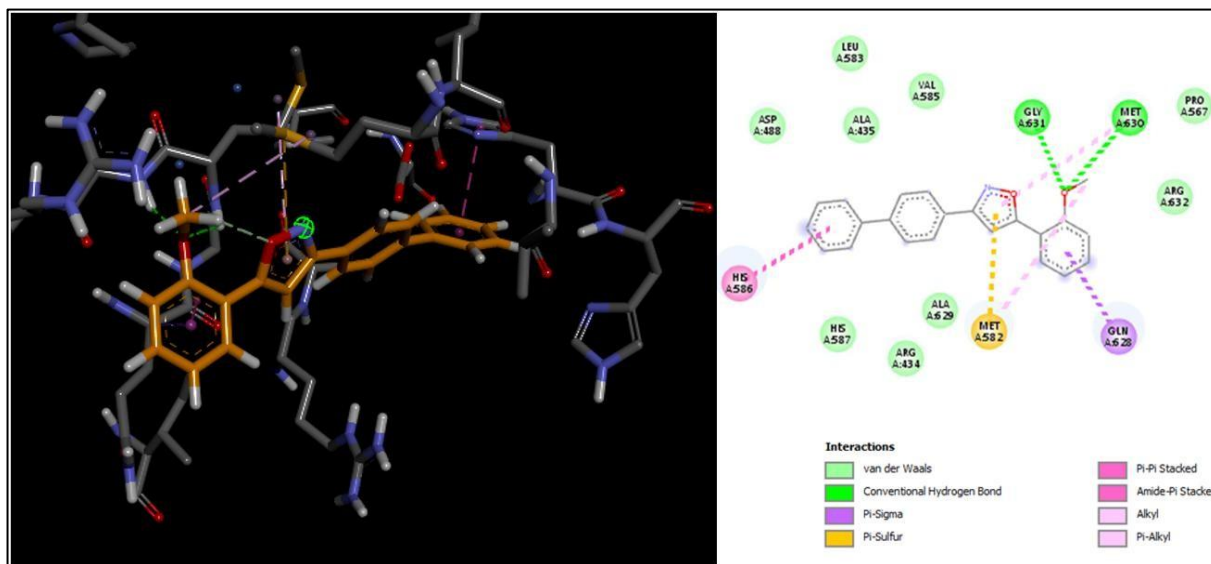
Os resultados de docagem indicaram valores de energia de ligação variando entre -7,609 e -8641 kcal/mol, sugerindo afinidade significativa das moléculas pelo sítio catalítico, sendo os ligantes que apresentam melhor pontuação nos cálculos de docagem – e, portanto, tem maior afinidade – foi a molécula **17n** contendo o substituinte (1,1'-bifenil)-4-il na posição 3 do anel isoxazol. Esse resultado pode ser um indício da importância das interações intermoleculares hidrofóbicas que os anéis aromáticos são capazes de realizar com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo. Outra interpretação também pode se dar do ponto de vista de esses ligantes serem mais volumosos, preenchendo melhor a cavidade do sítio de ligação e interagindo com mais resíduos de aminoácidos, sendo apontados, portanto, como tendo interações mais favoráveis contribuindo para um maior potencial inibitório, reforçando sua relevância como possível candidato a inibidor de urease.

### 4.1.3 Análise das interações proteína-ligante

A partir das indicações trazidas pelos resultados de pontuação dos ligantes e das energias associadas à estabilização decorrente das interações intermoleculares entre o ligante e o receptor, é possível investigar a relação entre as estruturas dos candidatos a inibidores e a maneira que isso afeta seus modos de ligação com a enzima.

Analisando a molécula **17n** com maior *Score* da série pode-se destacar as interações que esse candidato a inibidor realiza com os resíduos de aminoácidos no sítio de ligação da docagem molecular (**Figura 14**), temos que o maior número de núcleos aromáticos desse ligante o torna maior dentre todos os outros. A presença de um anel aromático extra favorece também a formação de uma ligação do tipo empilhamento pi com a Histidina<sup>586</sup>.

**Figura 14** - Ampliação da melhor pose de docagem do ligante **17n** (à esquerda, destacado em laranja) acompanhada de diagrama bidimensional de interações do ligante com os resíduos de aminoácidos correspondentes da JBU (à direita). Imagens obtidas a partir do BIOVIA DSV.

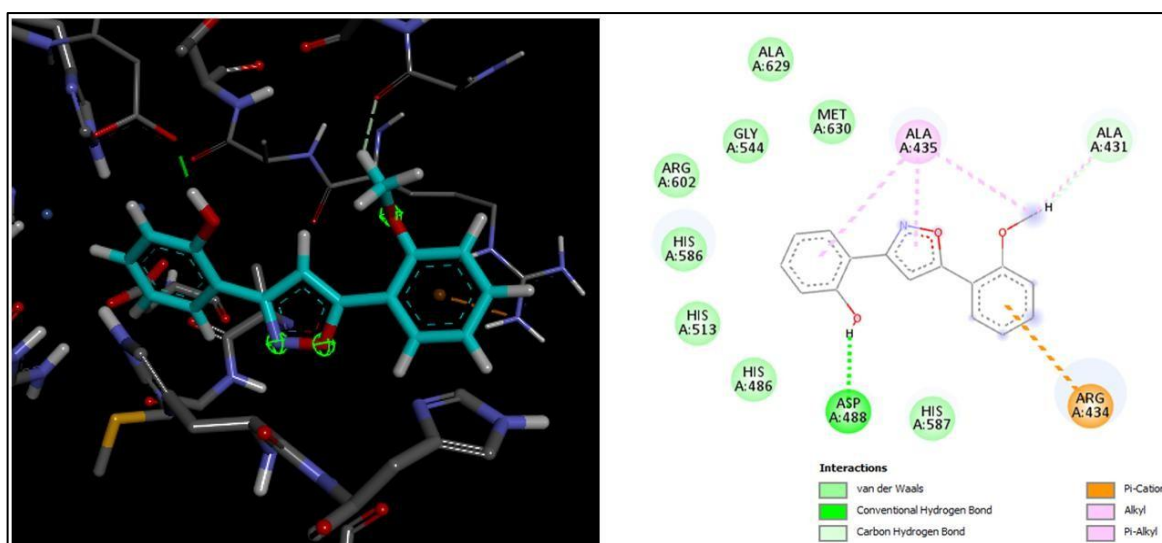


Fonte: Amaral; 2025.

Outro aspecto possível de ser discutido é a pontuação do derivado **17d** que apresenta um grupo hidroxifenil ligado à posição 3 do isoxazol. Entretanto, apesar de apresentar valor de *Score* não tão proeminente dentre os derivados da sua série, esse ligante indica melhor energia de estabilização por interações intermoleculares (*Einter*). Pode-se atribuir essa

observação à ideia de que o ligante tem pouca interação com os resíduos dos aminoácidos no grupamento hidroxifenil sendo observada apenas uma ligação de hidrogênio entre a hidroxila Aspartato<sup>488</sup> (**Figura 15**) da cadeia peptídica da JBU. Porém, como essa interação é intensa, há geralmente alto valor de energia associado a ela, justificando o resultado para o cálculo de energia intermolecular. Este resultado aponta para a importância de termos grupamentos em nossos candidatos a inibidores que sejam doadores de ligações de hidrogênio para a realização de interações com os resíduos de aminoácidos do sítio de ligação, como a hidroxila presente nessa estrutura.

**Figura 15** - Ampliação da melhor pose de docagem do ligante **17d** (à esquerda, destacado em azul ciano) acompanhada de diagrama bidimensional de interações do ligante com os resíduos de aminoácidos correspondentes da JBU (à direita). Imagens obtidas a partir do BIOVIA DSV.



Fonte: Amaral; 2025.

Com isso, tais estudos demonstraram o potencial dos isoxazóis propostos e motivaram a síntese desses derivados, uma vez que os resultados de modelagem molecular apontaram interações estáveis e energeticamente favoráveis com resíduos críticos do sítio ativo da urease. Esses estudos forneceram embasamento teórico sólido para a síntese, justificando a escolha do núcleo isoxazólico como arcabouço promissor e orientando a construção da biblioteca de compostos desenvolvida no presente trabalho.

Entretanto apesar de termos estudado 23 compostos na etapa de modelagem molecular, para este trabalho sintetizamos 14 compostos, sendo eles **17a-n**.



## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 SÍNTESE

As reações foram monitoradas por cromatografia em camada fina (CCF) usando sílica gel (cromatofolhas de alumínio *KieselGel* 60 F245 *Merck*) como fase estacionária, e como fase móvel, hexano/acetato de etila em gradientes de 5 %, 10 % e 15 %. As placas de CCF foram visualizadas utilizando luz ultravioleta nos comprimentos de onda 254 e 365 nm.

A separação e purificação dos produtos foi realizada por cromatografia em coluna, utilizando sílica gel (230-400 *flash/Merck*) como fase estacionária, e como fase móvel, hexano/acetato de etila em gradientes de 5 %, 10 % e 15 %.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos com os espectrômetros *Bruker* DRX-300 (7,05 T), *Bruker* AVHD400 (9,4T) e *Bruker* AVIII500 (11,7 T), operando a 300, 400 e 500 MHz respectivamente (IQ/UFRJ). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são dados em partes por milhão (ppm) a partir do tretametilsilano (TMS) como padrão interno, e os valores da constante de acoplamento ( $J$ ) são dados em Hertz (Hz). O solvente deuterado utilizado para obtenção dos espectros foi o clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), utilizando tubos de vidro próprios para RMN de 5 mm de diâmetro e no mínimo com 16 cm de comprimento. As áreas dos picos dos espectros de RMN foram obtidas por integração eletrônica e as multiplicidades foram descritas do seguinte modo: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), m (multiplete), dd (duplo duplete), td (triplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), dtd (duplo triplo duplete), e ddt (duplo duplo triplete).

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro de IV por transformada de *Fourier* (*Nicolet* 6700 FT-IR) (IQ-UFRJ) usando pastilhas de brometo de potássio (KBr).

Os pontos de fusão foram determinados no aparelho no aparelho *Fisatom*, modelo: 431, série: 1498905, 110 V, 60 Hz, 50 W.

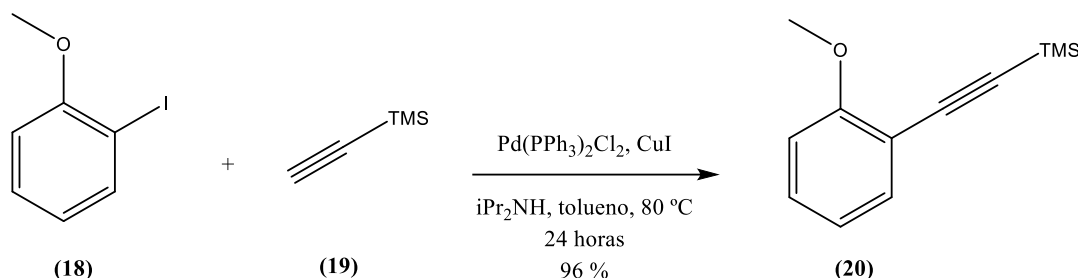
Para os resultados de massas de alta resolução os produtos foram dissolvidos em uma solução composta por 50 % (v/v) de acetonitrila de grau cromatográfico (*Tedia*, *Fairfield*, OH, EUA) e 50 % (v/v) de água deionizada, contendo 0,1 % de ácido fórmico para análise em modo positivo ESI(+) ou 0,1 % de formiato de amônio para o modo negativo ESI(-). As soluções foram individualmente introduzidas diretamente na fonte de ionização por *electrospray* (ESI) por meio de uma bomba de seringa (*Harvard Apparatus*) a uma vazão de

150  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Os espectros de massas ESI(+)-MS, ESI(-)-MS e ESI(+)-MS/MS (*tandem*) foram adquiridos em um espectrômetro de massas híbrido de alta resolução e alta exatidão (5  $\mu\text{L}/\text{L}$ ) microTOF (Q-TOF) (*Bruker® Scientific*), sob as seguintes condições instrumentais: voltagens do capilar e do cone ajustadas para + 3500 V e + 40 V, respectivamente, com temperatura de dessolvatação de 100 °C.

Para as análises de ESI(+)-MS/MS, a energia de colisão dissociada (CID, *collision induced dissociation*) foi otimizada individualmente para cada componente. Os íons diagnósticos das diferentes frações foram identificados pela comparação de sua massa exata ( $m/z$ ), razão isotópica e padrões de dissociação em ESI(+)-MS/MS com os compostos previamente descritos na literatura. A aquisição e o processamento dos dados foram realizados utilizando o *software* QTOF-Control Data Analysis (*Bruker® Scientific*). Os dados foram coletados na faixa de  $m/z$  70–2000, a uma taxa de duas varreduras por segundo, com resolução de 50.000 (FWHM) em  $m/z$  200. Como não foram observados íons relevantes abaixo de  $m/z$  50 nem acima de  $m/z$  850, os espectros apresentados de ESI(+)-MS referem-se ao intervalo  $m/z$  50–850.

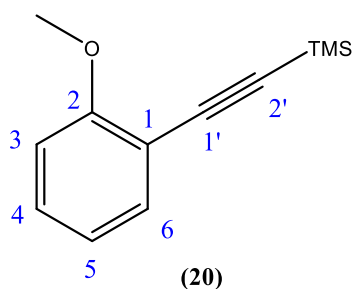
### 5.1.1 Síntese do trimetilsilil alquino (20) (Smela; Hoye; 2018)

**Esquema 7** - Acoplamento Sonogashira.



Foram adicionados em um reator selado com tampa de teflon de 40 mL, 2,0 g de 2-iodoanisol **(18)** (8,54 mmol), TMS-acetileno **(19)** (1,15 equivalentes), trifenilfosfina (0,001 equivalentes), bis(trifenilfosfina) cloreto de paládio II (0,003 equivalentes), iodeto do cobre I (0,01 equivalentes), di-isopropilamina 8,125 mL e tolueno 16,25 mL. A reação foi aquecida até 80 °C e mantida sob agitação por 24 horas.

A mistura reacional foi filtrada e o sólido foi lavado com acetato de etila. Na extração o filtrado foi lavado com 1 x 25 mL de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturado e 2 x 40 mL de água e a fase orgânica foi seca com agente dessecante  $\text{NaSO}_4$ , e concentrada sob pressão reduzida no rota evaporador. Obteve-se 1,846 g de um óleo marrom, que foi utilizado na etapa seguinte sem purificação.



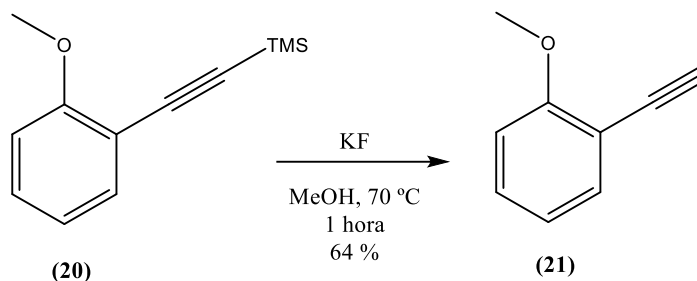
**Rendimento:** 106 % (1,846 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,25 (H-6, dd,  $J = 7,6, 1,8$  Hz, 1H), 7,08 (H-4, td,  $J = 7,5, 1,8$  Hz, 1H), 6,69 (H-5, td,  $J = 7,5, 1,0$  Hz, 1H), 6,66 (H-3, d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 3,69 (OMe s, 3H), 0,08 (TMS).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160,33, 134,20, 129,98, 120,35, 112,31, 110,68, 101,27, 98,48, 55,84.

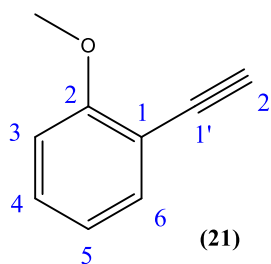
### 5.1.2 Síntese 2-etinilanisol (21) (Smela; Hoye; 2018).

**Esquema 8** - Desproteção do trimetilsilil alquino.



Em um balão de 100 mL de fundo redondo bifurcado foi transferido o alquino protegido (20) e foram adicionados uma solução de fluoreto de potássio di-hidratado em metanol (0,8M KF, 2 equivalentes por grupo TMS). Adicionou à mistura 3 mL de THF (tetrahydrofurano). A solução foi agitada a temperatura de 70 °C e atmosfera de argônio por 1 hora em refluxo com condensador de bolas acoplado ao balão.

Em seguida, a reação foi levada ao rota evaporador para remover todo o metanol. Ao bruto, adicionou-se diclorometano e a fase orgânica foi extraída com água. A fase orgânica foi seca com agente dessecante  $\text{NaSO}_4$ , em seguida o produto (21) foi evaporado sob pressão reduzida no rota evaporador obtendo-se 0,724 g de produto.



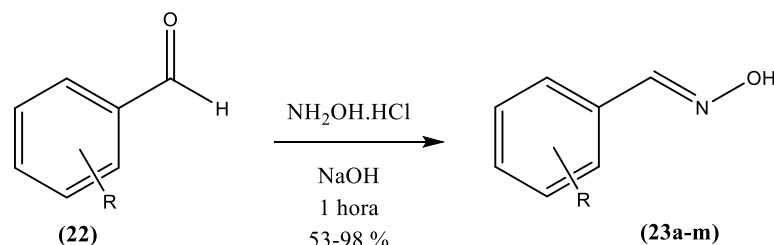
**Rendimento:** 64 % (0,724 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,46 (H-6, dd,  $J = 7,5, 1,8$  Hz, 1H), 7,32 (H-4, ddd,  $J = 8,2, 7,5, 1,8$  Hz, 1H), 6,91 (H-5, td,  $J = 7,0, 1,0$  Hz, 1H), 6,89 (H-3, d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 3,90 (OMe, s, 3H), 3,31 (H-2', s, 1H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160,60, 134,19, 130,31, 120,46, 111,18, 110,62, 81,12, 80,11, 55,84.

## 5.2 SÍNTESE DAS ALDOXIMAS (**23a-m**) (Himo *et al.*, 2005).

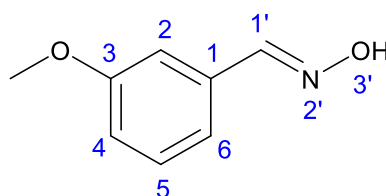
**Esquema 9** – Substituição nucleofílica para formação da oxima.



Para o procedimento geral das aldoximas, em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 0,500 g de benzaldeído (**22**) (4,71 mmol), cloridrato de hidroxilamina (1,2 equivalentes), solução de NaOH (2,5 equivalentes) em uma proporção de 1:1:2 de água/etanol/gelo (4,71 ml). A reação foi mantida sob agitação magnética e banho de gelo mantendo à temperatura abaixo de 25 °C por 1 hora.

Em seguida a reação foi acidificada até pH 6 adicionando HCl concentrado e extraída com diclorometano. A fase orgânica foi seca com agente dessecante NaSO<sub>4</sub> e, o bruto (**23a-m**) foi evaporado sob pressão no rota evaporador obtendo-se 0,317 g de produto.

### 5.2.1 (**23a**) (*E*)-3-metoxibenzaldeído oxima



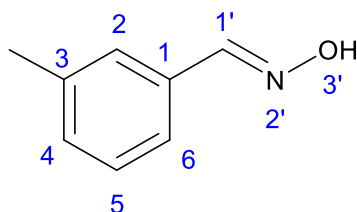
Para a reação utilizou-se 3,672 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 57 % (0,319 g).

**RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,90 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,30 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,14 (td, *J* = 7,7, 2,4 Hz, 1H), 6,95 (ddd, *J* = 8,3, 2,6, 1,0 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H).

**RMN <sup>13</sup>C** (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 159,84, 150,38, 133,26, 129,84, 120,16, 116,45, 111,27, 55,34.

### 5.2.2 (23b) (*E*)-3-metilbenzaldeído oxima



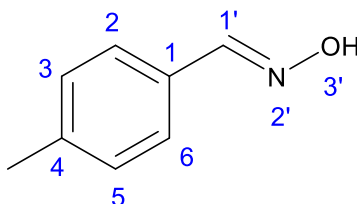
Para a reação utilizou-se 4,16 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 86 % (0,482 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,51 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,38 (d,  $J = 7,7$  Hz, 1H), 7,28 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,21 (d,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 2,38 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  150,54, 138,53, 131,87, 130,92, 128,70, 127,56, 124,34, 21,33.

### 5.2.3 (23c) (*E*)-4-metilbenzaldeído oxima



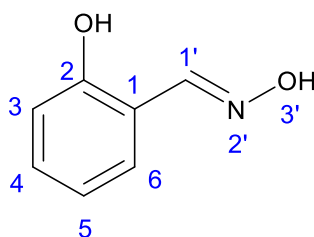
Para a reação utilizou-se 4,16 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 86 % (0,489 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,55 (s, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,48 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,20 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 2,37 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  150,35, 140,32, 129,53, 129,18, 127,01, 21,47.

### 5.2.4 (23d) (*E*)-2-hidroxibenzaldeído oxima



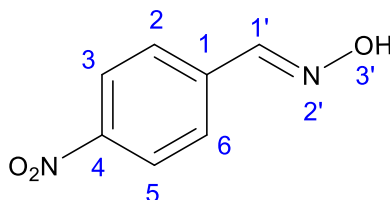
Para a reação utilizou-se 4,094 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 38 % (0,216 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,15 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,30 (ddd,  $J = 8,5, 7,4, 1,7$  Hz, 1H), 7,19 (dd,  $J = 7,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,01 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 6,94 (td,  $J = 7,0, 1,1$  Hz, 1H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  156,92, 152,93, 131,33, 130,83, 119,99, 116,70, 116,49, 1,11.

### 5.2.5 (23e) (*E*)-4-nitrobenzaldeído oxima



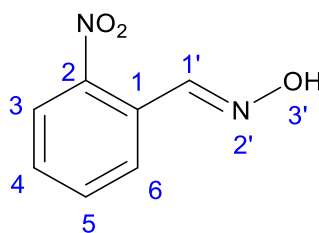
Para a reação utilizou-se 3,309 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 81 % (0,447 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,25 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 8,21 (s, 1H), 7,75 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  148,52, 148,36, 138,16, 127,68, 124,08.

### 5.2.6 (23f) (*E*)-2-nitrobenzaldeído oxima



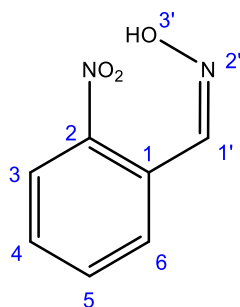
Para a reação utilizou-se 3,309 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 53 % (0,293 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,68 (s, 1H), 8,06 (dd,  $J = 8,2, 1,2$  Hz, 1H), 7,92 (dd,  $J = 7,8, 1,4$  Hz, 1H), 7,64 (t,  $J = 7,6$ , 1H), 7,55 (td,  $J = 7,2, 1,3$  Hz, 1H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147,90, 146,98, 136,71, 134,18, 133,53, 130,38, 130,07, 128,81, 128,56, 127,22, 125,05, 124,86, 62,60.

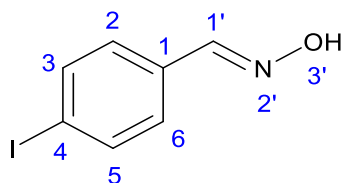
#### 5.2.6.1 (*Z*)-2-nitrobenzaldeído oxima



**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,10 (dd,  $J = 8,2, 1,2$  Hz, 1H), 7,74 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,67 (td,  $J = 7,0, 1,2$  Hz, 1H), 7,48 (td,  $J = 7,2, 1,4$  Hz, 1H), 7,26 (s, 1H).



### 5.2.7 (23g) (*E*)-4-iodobenzaldeído oxima



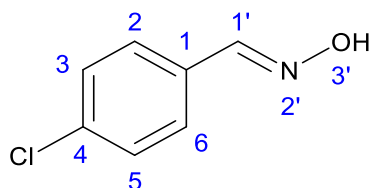
Para a reação utilizou-se 2,155 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 82 % (0,438 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,07 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,73 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,30 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H),

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,56, 137,99, 131,49, 128,53, 96,18.

### 5.2.8 (23h) (*E*)-4-clorobenzaldeído oxima



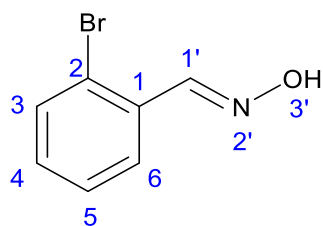
Para a reação utilizou-se 3,557 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 92 % (0,507 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,11 (s, 2H), 7,51 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,36 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,31, 135,98, 130,48, 129,10, 128,22.

### 5.2.9 (23i) (*E*)-2-bromobenzaldeído oxima



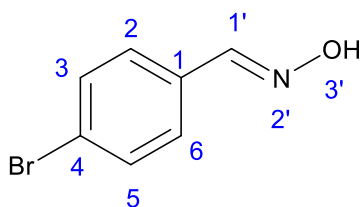
Para a reação utilizou-se 2,718 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 94 % (0,513 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,54 (s, 1H), 7,81 (dd,  $J = 7,8$ , 1,8 Hz, 1H), 7,58 (dd,  $J = 8,1$ , 1,4 Hz, 1H), 7,32 (td,  $J = 7,5$ , 1,2 Hz, 1H), 7,24 (td,  $J = 7,6$ , 1,8 Hz, 1H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,87, 133,21, 131,40 (d,  $J = 3,5$  Hz), 131,26 (d,  $J = 2,8$  Hz), 127,64 (d,  $J = 1,8$  Hz), 127,50, 123,88.

### 5.2.10 (23j) (*E*)-4-bromobenzaldeído oxima



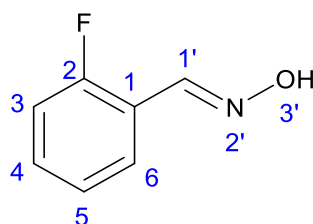
Para a reação utilizou-se 2,718 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 94 % (0,509 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,10 (s, 1H), 7,52 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H), 7,44 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,41, 132,05, 130,92, 128,45, 124,28.

### 5.2.11 (23k) (*E*)-2-fluorobenzaldeído oxima



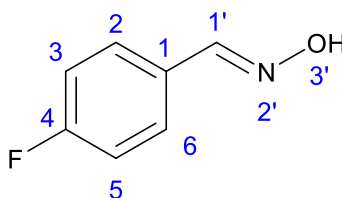
Para a reação utilizou-se 4,031 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 94 % (0,528 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,38 (s, 1H), 7,73 (td,  $J = 7,5, 1,8$  Hz, 1H), 7,37 (dddd,  $J = 8,8, 7,3, 5,3, 1,8$  Hz, 1H), 7,16 (td,  $J = 7,5, 1,1$  Hz, 1H), 7,10 (ddd,  $J = 9,8, 8,3, 1,1$  Hz, 1H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  160,82 (d,  $J = 252,6$  Hz), 144,43 (d,  $J = 3,5$  Hz), 131,59 (d,  $J = 8,5$  Hz), 127,19 (d,  $J = 2,7$  Hz), 124,45 (d,  $J = 3,6$  Hz), 119,85 (d,  $J = 10,7$  Hz), 116,05 (d,  $J = 21,2$  Hz).

### 5.2.12 (23l) (*E*)-4-fluorobenzaldeído oxima



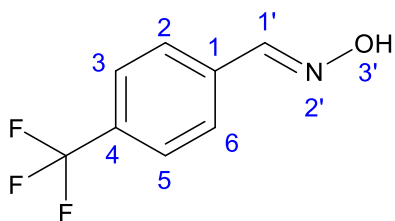
Para a reação utilizou-se 4,031 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 90 % (0,505 g).

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,13 (s, 1H), 7,56 (dd,  $J = 8,6, 5,5$  Hz, 2H), 7,09 (t,  $J = 8,7$  Hz, 2H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,15, 132,87 (d,  $J = 9,5$  Hz), 128,89 (d,  $J = 8,5$  Hz), 115,99 (d,  $J = 22,0$  Hz), 115,70 (d,  $J = 22,2$  Hz).

### 5.2.13 (23m) (*E*)-4-(trifluorometil)benzaldeído oxima



Para a reação utilizou-se 2,871 mmol de aldeído.

**Rendimento:** 98 % (0,531 g).

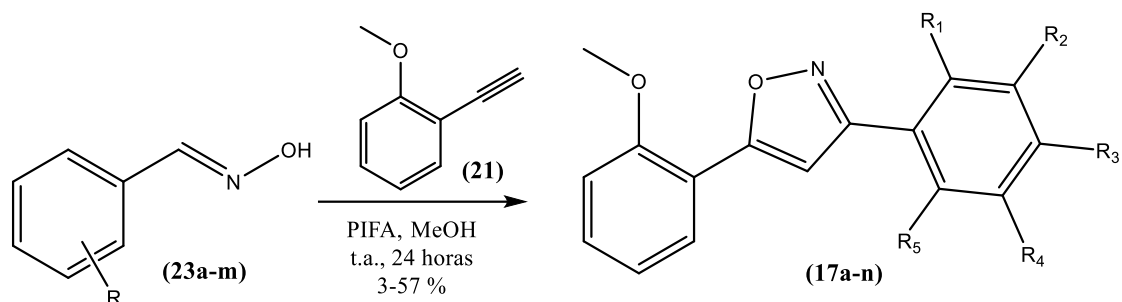
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,19 (s, 1H), 7,69 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,65 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149,02, 135,33, 131,91, 131,65, 130,64, 127,25, 126,89, 125,84, 125,81, 125,78, 125,75, 125,59, 125,56, 124,93, 122,77.

### 5.3 SÍNTESE DO 5-(2-METOXFENIL)-3-ISOXAZOL E DERIVADOS (**17a-n**)

(Jawalekar *et al.*, 2011).

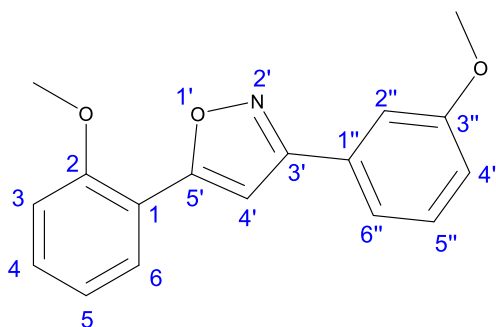
**Esquema 10** - Ciclo adição de óxidos de nitrila e alcino.



Foram adicionados em um balão de 25 mL de fundo redondo 0,100 g de 2-etinilanisol (**21**) (0,756 mmol), aldoxima (**23a-m**) (1,5 equivalentes) em 1,85 mL de metanol, usando [bis(trifluoroacetoxi)iodo]benzeno (PIFA) (1,5 equivalente) como agente oxidante que fora adicionado em 5 porções de 1 equivalente cada, durante 5 horas, sendo 1 porção por hora. A mistura reacional ficou sob agitação magnética por 24 horas.

Após o tempo de reação, foi feita uma extração com diclorometano e a fase orgânica foi seca com agente dessecante  $\text{NaSO}_4$ , e o bruto (**17a-n**) foi evaporado sob pressão reduzida em um rota evaporador. Foram obtidos sólidos em rendimentos variados, após a purificação em coluna cromatográfica com sílica gel, utilizando-se como eluente hexano/acetato de etila 5 %, com alguns gradientes em casos necessários.

### 5.3.1 (17a) 5-(2-metoxifenil)-3-(3-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,135 mmol de oxima.

**Rendimento:** 50 % (0,107 g), sólido amarelado, P.F. não determinado.

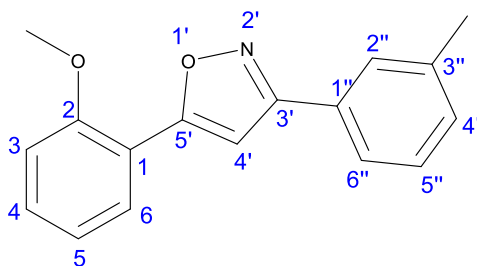
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,91 (dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, 1H), 7,38 – 7,34 (m, 2H), 7,33 – 7,26 (m, 2H), 7,00 – 6,96 (m, 2H), 6,93 – 6,88 (m, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,77 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,39, 162,94, 159,94, 156,24, 131,28, 130,80, 129,91, 127,75, 120,92, 119,44, 116,42, 115,86, 111,90, 111,27, 101,69, 55,59, 55,42.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1610 e 1474 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1495 ( $\text{O}-\text{N}$ ), 1441 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1258 e 1023 ( $\text{OCH}_3$ ), 1054 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 752 e 683 ( $\text{C}-\text{H}$  *meta*-dissubstituição e monossubstituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 282,113$  (teórico); 282,113  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.2 (17b) 5-(2-metoxifenil)-3-(m-toil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,135 mmol de oxima.

**Rendimento:** 23 % (0,046 g), sólido brando, P.F. não determinado.

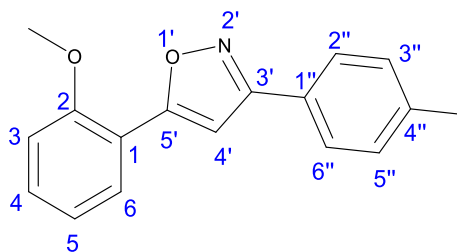
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,70 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 7,42 (td,  $J = 7,1, 1,8$  Hz, 1H), 7,37 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,27 (d,  $J = 6,81$  Hz, 1H), 7,09 (td,  $J = 8,0, 1,1$  Hz, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,03 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165,20, 162,06, 155,17, 137,51, 130,14, 129,52, 128,40, 127,69, 126,74, 126,41, 122,97, 119,87, 115,48, 110,19, 100,57, 76,21, 54,55, 20,38.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 2840 (m- $\text{CH}_3$ ), 1682 e 1587 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1513 ( $\text{O}-\text{N}$ ), 1453 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1269 e 1023 ( $\text{OCH}_3$ ), 1040 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 788, 751 e 618 ( $\text{C}-\text{H}$  *meta*-dissubstituição e monossubstituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 266,118$  (teórico); 266,117  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.3 (17c) 5-(2-metoxifenil)-3-(m-toil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,135 mmol de oxima.

**Rendimento:** 23 % (0,045 g), sólido amarelado, P.F. não determinado.

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, 1H), 7,80 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H), 7,41 (ddd,  $J = 8,8, 7,4, 1,8$  Hz, 1H), 7,28 (d,  $J = 7,9$  Hz, 2H), 7,09 (td,  $J = 7,6, 1,1$  Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,03 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 2,42 (s, 3H).

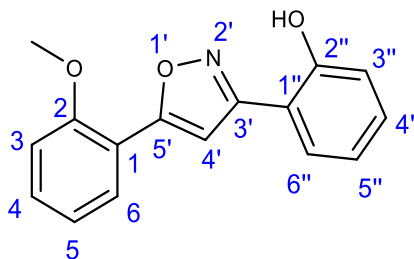
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165,12, 161,91, 155,16, 138,82, 130,11, 128,49, 126,73, 125,70, 125,68, 119,86, 115,50, 110,18, 100,45, 54,54, 20,39.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 2844 (p- $\text{CH}_3$ ), 1610 e 1497 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1566 (O-N), 1422 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1261 e 1022 ( $\text{OCH}_3$ ), 1052 (C-O), 825, 800, 754 (C-H *para*-dissubstituição e monossubstituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 266,118$  (teórico); 266,117  $[\text{M}+\text{H}]^+$



### 5.3.4 (17d) 5-(2-metoxifenil)-3-(hidroxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,135 mmol de oxima.

**Rendimento:** 23 % (0,047 g), sólido branco, P.F. não determinado.

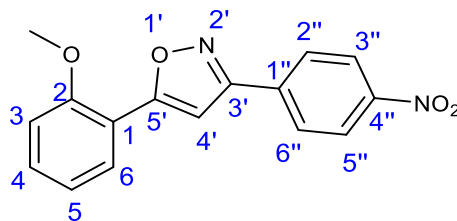
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,66 (s, 1H), 8,01 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,64 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,46 (ddd,  $J = 8,8, 7,3, 1,7$  Hz, 1H), 7,36 (ddd,  $J = 8,7, 7,2, 1,7$  Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,11 (td,  $J = 7,1, 1,0$  Hz, 1H), 7,10 (d,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,06 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 7,00 (td,  $J = 7,5, 1,2$  Hz, 1H), 4,02 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165,43, 163,02, 156,66, 156,54, 131,76, 131,42, 128,02, 127,87, 121,01, 119,67, 117,45, 115,82, 113,74, 111,36, 100,95, 55,69.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 3151 (o-OH), 1609 e 1446 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1566 (O-N), 1497 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1255 e 1021 ( $\text{OCH}_3$ ), 1122 (C-O), 750 e 649 (C-H *orto*-dissubstituição e monossubstituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 268,097$  (teórico); 268,096  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.5 (17e) 5-(2-metoxifenil)-3-(4-nitrofenil)isoxazol



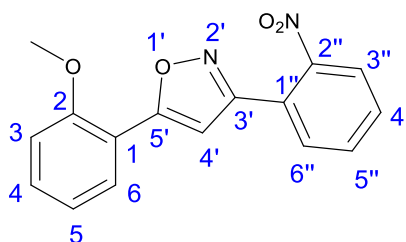
Para a reação utilizou-se 0,602 mmol de oxima.

**Rendimento:** 3 % (0,003 g), sólido amarelo, P.F. não determinado.

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,42 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 8,29 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H), 7,57 (dd,  $J = 7,6, 1,7$  Hz, 1H), 7,44 (td,  $J = 9,0, 7,5, 1,8$  Hz, 1H), 7,19 (s, 1H), 6,95 (td,  $J = 7,6, 1,0$  Hz, 1H), 6,92 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 3,94 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175,94, 162,19, 141,40, 135,25, 133,39, 130,67, 123,75, 120,92, 110,95, 108,78, 93,20, 91,02, 56,04.

### 5.3.6 (17f) 5-(2-metoxifenil)-3-(2-nitrofenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,703 mmol de oxima.

**Rendimento:** 9 % (0,031 g), sólido amarelo, P.F. não determinado.

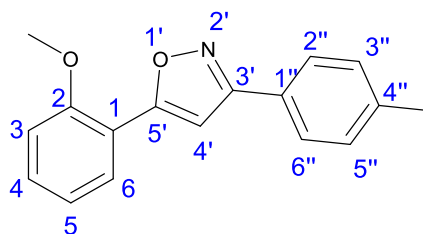
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, 1H), 8,00 (dd,  $J = 8,1, 1,3$  Hz, 1H), 7,76 (dd,  $J = 7,6, 1,5$  Hz, 1H), 7,71 (td,  $J = 7,5, 1,3$  Hz, 1H), 7,62 (ddd,  $J = 9,0, 7,5, 1,6$  Hz, 1H), 7,43 (ddd,  $J = 8,3, 7,4, 1,7$  Hz, 1H), 7,10 (td,  $J = 7,5, 1,1$  Hz, 1H), 7,02 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 3,96 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,46, 160,36, 156,29, 148,81, 132,85, 131,68, 131,51, 130,43, 127,81, 124,80, 124,44, 120,95, 116,12, 111,26, 103,50, 55,60.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1610 e 1493 (C=C aromático), 1574 (O-N), 1527 e 1349 (o- $\text{NO}_2$ ), 1449 (C=N), 1256 e 1026 ( $\text{OCH}_3$ ), 1052 (C-O), 768, 747 e 710 (C-H *orto*-disubstituição e monossubstituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 297,087$  (teórico); 297,085  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.7 (17g) 3-(4-iodofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,732 mmol de oxima.

**Rendimento:** 33 % (0,143 g), sólido branco, P.F. = 97,5 °C.

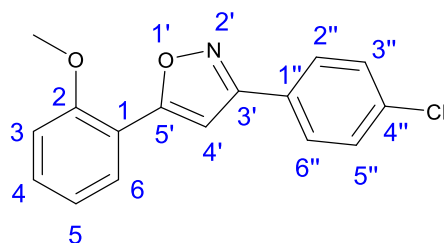
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,02 (dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, 1H), 7,82 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,64 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,43 (td,  $J = 8,8, 7,4, 1,7$  Hz, 1H), 7,10 (td,  $J = 7,6, 1,0$  Hz, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,04 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H), 4,01 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,71, 162,21, 156,24, 138,04, 131,40, 129,11, 128,49, 127,82, 120,99, 116,30, 111,26, 101,27, 95,91, 55,64.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1611 e 1491 (C=C aromático), 1556 (O-N), 1419 (C=N), 1257 e 1018 ( $\text{OCH}_3$ ), 1051 (C-O), 803, 743 e 715 (C-H *para*-disubstituição e monossustituição do anel aromático), 503 (*p*-I).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 377,998$  (teórico); 377,996  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.8 (17h) 3-(4-clorofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 3,194 mmol de oxima.

**Rendimento:** 27 % (0,165 g), sólido branco, P.F. = 92,7 °C.

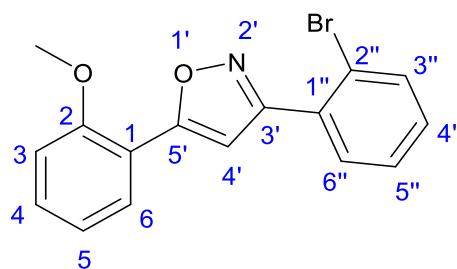
**RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,02 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,84 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,45 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,43 (td,  $J = 7,5, 1,7$  Hz, 1H), 7,10 (td,  $J = 7,6, 1,0$  Hz, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,04 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,00 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,68, 162,04, 156,24, 135,79, 131,39, 129,12, 128,15, 128,09, 127,81, 120,98, 116,31, 111,27, 101,36, 55,63.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1611 e 1493 (C=C aromático), 1563 (O-N), 1420 (C=N), 1254 e 1025 ( $\text{OCH}_3$ ), 1051 (C-O), 947 (p-Cl), 839, 804 e 755 (C-H *para*-disubstituição e monossustituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 286,063$  (teórico); 296,063  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.9 (17i) 3-(2-bromofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,553 mmol de oxima.

**Rendimento:** 57 % (0,195 g), sólido branco, P.F. = 87,2 °C.

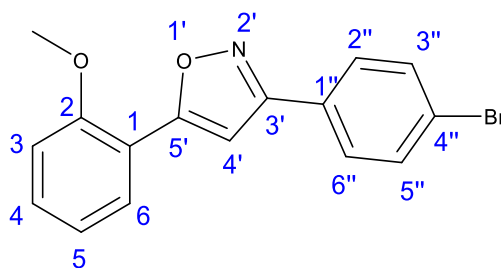
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,04 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,71 (dd,  $J = 7,9, 1,3$  Hz, 1H), 7,68 (dd,  $J = 7,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,42 (dtd,  $J = 7,6, 6,3, 1,5$  Hz, 2H), 7,31 (td,  $J = 7,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,10 (td,  $J = 7,1, 1,1$  Hz, 1H), 7,03 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 3,97 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165,66, 163,07, 156,25, 133,57, 131,41, 131,28, 131,10, 130,81, 127,81, 127,56, 122,42, 120,96, 116,48, 111,29, 104,91, 55,64.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1609 e 1491 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1565 ( $\text{O}-\text{N}$ ), 1440 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1251 e 1025 ( $\text{OCH}_3$ ), 1050 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 803 ( $\text{C}-\text{H}$  *orto*-dissubstituição), 756 (*o*-Br).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 330, 013$  (teórico); 330,010  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.10 (17j) 3-(4-bromofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 1,541 mmol de oxima.

**Rendimento:** 22 % (0,073 g), sólido branco, P.F. = 94,0 °C.

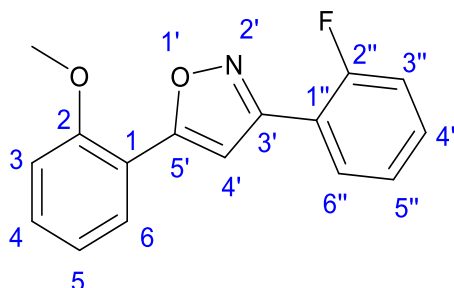
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,02 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,77 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,61 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,43 (ddd,  $J = 8,7, 7,3, 1,7$  Hz, 1H), 7,10 (td,  $J = 7,1, 1,0$  Hz, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,04 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,00 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,71, 162,10, 156,24, 132,08, 131,40, 128,55, 128,40, 127,82, 124,07, 120,99, 116,30, 111,27, 101,31, 55,64.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1611 e 1492 (C=C aromático), 1441 (O-N), 1421 (C=N), 1252 e 1016 ( $\text{OCH}_3$ ), 1052 (C-O), 947 (p-Br), 834, 806 e 749 (C-H *para*-disubstituição e monossustituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 330,013$  (teórico); 330,011  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.11 (17k) 3-(2-fluorofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 3,795 mmol de oxima.

**Rendimento:** 40 % (0,273 g), sólido branco, P.F. = 100,2 °C.

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (d,  $J = 7,05$  Hz, 1H), 8,02 (td,  $J = 5,5, 1,9$  Hz, 1H), 7,42 (td,  $J = 6,7, 1,7$  Hz, 1H), 7,42 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 7,26 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,20 (t,  $J = 9,5$  Hz, 1H), 7,10 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,04 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 3,99 (s, 3H).

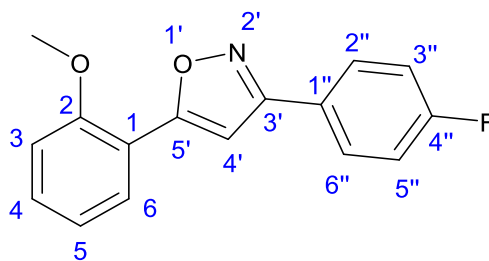
**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,37, 166,35, 161,34, 159,34, 158,54, 158,52, 156,28, 131,40 (d,  $J = 8,5$  Hz), 131,27, 129,32 (d,  $J = 3,1$  Hz), 127,82, 124,53 (d,  $J = 3,6$  Hz), 120,91, 117,66 (d,  $J = 12,2$  Hz), 116,36 (d,  $J = 21,9$  Hz), 111,27, 103,98 (d,  $J = 8,7$  Hz), 55,61.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1612 e 1495 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1570 ( $\text{O}-\text{N}$ ), 1470 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1292 ( $\text{o}-\text{F}$ ), 1264 e 1020 ( $\text{OCH}_3$ ), 1053 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 746 e 680 ( $\text{C}-\text{H}$  *orto*-dissubstituição e monossustituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 270,099$  (teórico); 270, 091  $[\text{M}+\text{H}]^+$



### 5.3.12 (17l) 3-(4-fluorofenil)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 3,629 mmol de oxima.

**Rendimento:** 22 % (0,143 g), sólido branco, P.F. = 94,7 °C.

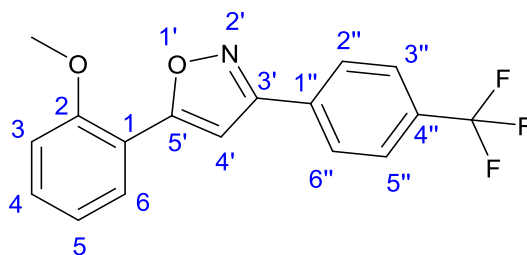
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,02 (dd,  $J = 7,8, 1,8$  Hz, 1H), 7,92 – 7,85 (m, 2H), 7,43 (ddd,  $J = 8,9, 7,4, 1,7$  Hz, 1H), 7,17 (t,  $J = 8,7$  Hz, 2H), 7,10 (td,  $J = 7,2, 1,0$  Hz, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,04 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,00 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,54, 164,73, 162,75, 162,11, 156,23, 131,34, 128,78 (d,  $J = 8,3$  Hz), 127,81, 125,81 (d,  $J = 3,2$  Hz), 120,98, 116,38, 115,93 (d,  $J = 21,8$  Hz), 111,26, 101,39, 55,62.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1610 e 1497 (C=C aromático), 1525 (O-N), 1447 (C=N), 1254 (p-F), 1228 e 1023 ( $\text{OCH}_3$ ), 1054 (C-O), 836, 758 e 673 (C-H *para*-dissubstituição e monossustituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 270, 099$  (teórico); 270, 092  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.13 (17m) 5-(2-metoxifenil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 2,807 mmol de oxima.

**Rendimento:** 7 % (0,042 g), sólido branco, P.F. = não determinado.

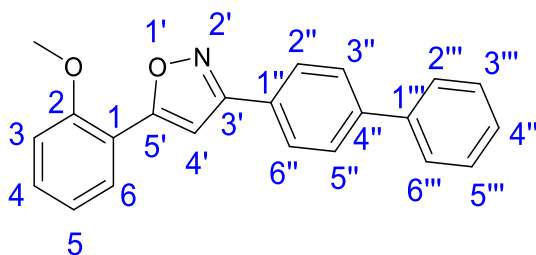
**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,03 (dd,  $J = 7,8$ , Hz, 1H), 8,01 (d,  $J = 8,0$  Hz, 2H), 7,74 (d,  $J = 8,1$  Hz, 2H), 7,45 (td,  $J = 7,0$ , 1,7 Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,11 (t,  $J = 7,7$  Hz, 1H), 7,05 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,02 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167,02, 161,88, 156,27, 133,07, 131,77, 131,53, 127,82, 127,19, 125,84 (q,  $J = 3,7$  Hz), 125,05, 122,88, 121,02, 116,19, 111,30, 101,46, 55,65.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1612 e 1496 ( $\text{C}=\text{C}$  aromático), 1568 ( $\text{O}-\text{N}$ ), 1444 ( $\text{C}=\text{N}$ ), 1328 ( $\text{p}-\text{CF}_3$ ), 1260 e 1018 ( $\text{OCH}_3$ ), 1083 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 851, 806 e 756 ( $\text{C}-\text{H}$  *para*-dissubstituição e monossustituição do anel aromático).

**HMMS (ESI):**  $m/z = 320, 085$  (teórico); 320,089  $[\text{M}+\text{H}]^+$

### 5.3.14 (17n) 3-([1,1'-bifenil]-4-il)-5-(2-metoxifenil)isoxazol



Para a reação utilizou-se 2,461 mmol de oxima.

**Rendimento:** 35 % (0,190 g), sólido branco, P.F. = 145,5 °C

**RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,05 (dd,  $J = 7,8, 1,7$  Hz, 1H), 7,98 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,72 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 7,66 (dd,  $J = 8,3, 1,2$  Hz, 2H), 7,48 (t,  $J = 7,7$  Hz, 2H), 7,44 (ddd,  $J = 8,7, 7,4, 1,8$  Hz, 1H), 7,39 (t,  $J = 7,4$  Hz, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,11 (td,  $J = 7,6, 1,1$  Hz, 1H), 7,05 (dd,  $J = 8,4, 1,0$  Hz, 1H), 4,02 (s, 3H).

**RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166,41, 162,71, 156,25, 142,60, 140,44, 131,26, 128,90, 128,49, 127,84, 127,72, 127,55, 127,30, 127,13, 120,97, 116,51, 111,27, 101,56, 55,64.

**IV (KBr) ( $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):** 1612 e 1493 (C=C aromático), 1556 (O-N), 1453 (C=N), 1251 e 1024 ( $\text{OCH}_3$ ), 1053 (C-O), 846, 806, 766, 748, 727, 696 e 674 (C-H *para*-dissubstituição e monossubstituição do anel aromático).

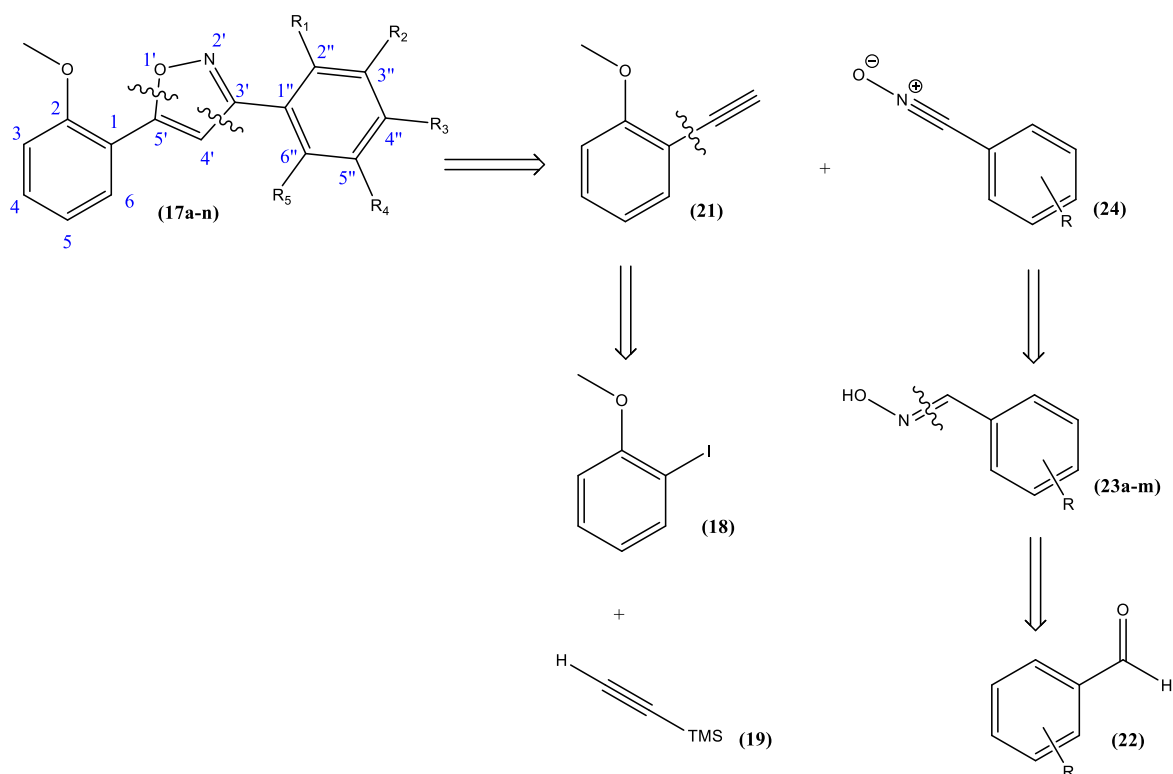
**HMMS (ESI):**  $m/z = 328,133$  (teórico); 328,131  $[\text{M}+\text{H}]^+$

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA PARA OBTENÇÃO DOS DERIVADOS DESEJADOS

A rota sintética para a obtenção dos derivados de interesse foi planejada com base na análise retrossintética das moléculas-alvo, partindo das desconexões da ligação C1'-C5' e C3'-C4' do anel isoxazólico. Essas desconexões levam à identificação de dois intermediários principais: um 1,3-dipolo, correspondente a um óxido de nitrila (**24**), e um dipolarófilo, representado por um alquino (**21**). O óxido de nitrila tem como precursor uma oxima (**23a-m**), responsável pela sua geração *in situ*. A oxima, por sua vez, deriva de diferentes aldeídos aromáticos (**22**). O alquino terminal (**21**) é obtido a partir do 2-iodoanisol (**18**) por acoplamento de Sonogashira com TMS-acetileno (**19**). A reação de ciclização entre o óxido de nitrila (**24**) e o alquino (**21**) ocorre por meio de uma cicloadição 1,3-dipolar [3+2], resultando na formação do anel isoxazólico (**17a-n**) conforme ilustrado no **Esquema 11**.

**Esquema 11** - Análise retrossintética cicloadição [3+2] para obtenção dos isoxazóis 3,5 dissustituídos.



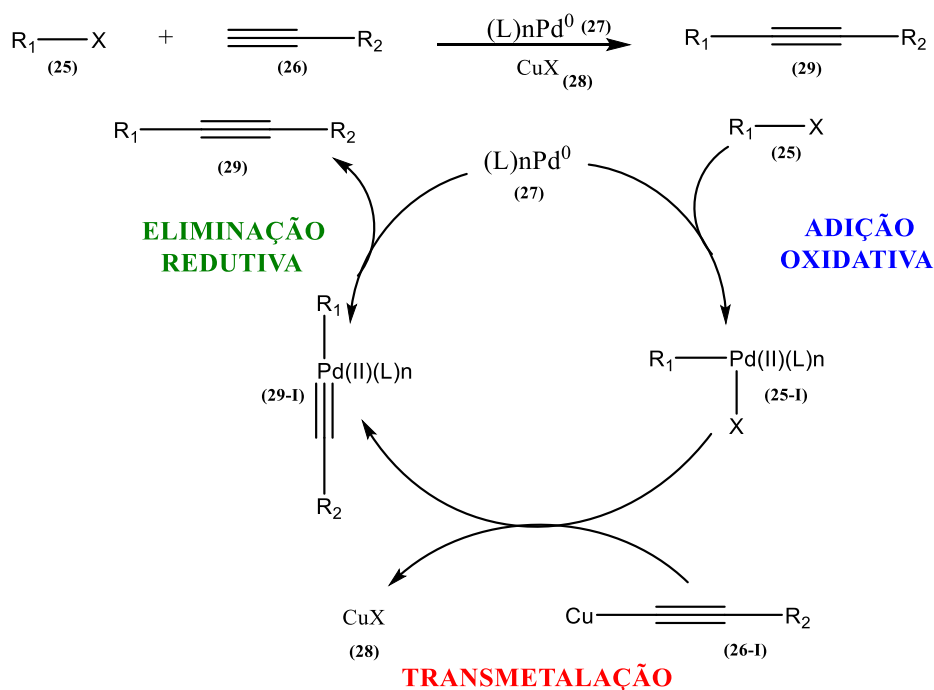
Fonte: A autora.

## 6.2 SÍNTESE DO ALQUINO TERMINAL POR MEIO DA REAÇÃO DE ACOPLAMENTO DE SONOGASHIRA

As reações de acoplamento cruzado representam um grande avanço na síntese orgânica e áreas correlatas, como a química de produtos naturais e a química medicinal. Essas reações possibilitam a construção eficiente e quimiosseletiva de novas ligações carbono-carbono (C-C), que são frequentemente difíceis de obter por outros meios. Isso permite a síntese de moléculas que antes eram sinteticamente inalcançáveis (Batalha; Sagrillo; Gama; 2014).

Uma das reações já descrita na literatura é a reação de Sonogashira, que envolve iodetos de arila como substrato eletrofílico utilizando catalisadores de Pd e Cu. O ciclo catalítico da reação de Sonogashira pode ser generalizado em três etapas: adição oxidativa, onde ocorre a inserção do catalisador de Pd(0), formando o organopaládio **(25-I)**, depois segue a transmetalção onde é definida como um processo de transferência do ligante de um organometálico **(26-I)** para um metal proveniente de um sal metálico. E por fim ocorre a eliminação redutiva **(29-I)**, estabelecendo a ligação C-C **(29)** e a recuperação da espécie catalítica fechando o ciclo, como mostrado na **Esquema 12**.

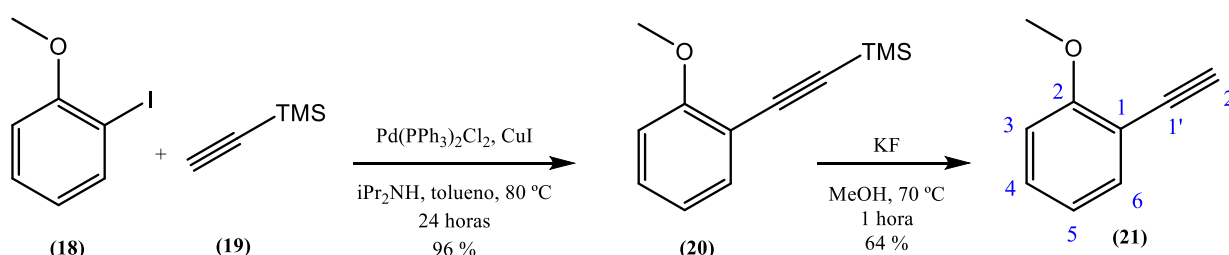
**Esquema 12** - Ciclo catalítico do mecanismo de reação de acoplamento Sonogashira.



Adaptado de Batalha; Sagrillo; Gama; 2014.

A reação de Sonogashira foi empregada para a síntese do alcino (**21**), conforme apresentado no **Esquema 13**. No mecanismo geral dos acoplamentos cruzados catalisados por complexo de paládio, a etapa de adição oxidativa costuma ser a etapa determinante da velocidade. Além disso, grupos doadores de elétrons, como o metoxi em posição *orto* ao iodo, aumentam a densidade eletrônica do carbono ligado ao halogênio e dificultam sua ativação pelo Pd(0), tornando a adição oxidativa energeticamente menos favorável (Lu *et al.*, 2024; Beletskaya; Cheprakov; 2000). Assim, no caso do reagente empregado, o 2-iodoanisol (**18**), o efeito eletrônico do substituinte pode impactar de forma significativa a eficiência da etapa inicial de adição oxidativa. Já do ponto de vista estérico, a proximidade espacial entre o substituinte metoxi e o halogênio pode gerar um certo impedimento estérico para o acesso do complexo de paládio ao centro reacional durante a etapa de adição oxidativa.

**Esquema 13** - Síntese do 2-etinilanisol (**21**).



Para a obtenção do 2-etinilanisol (**21**) utilizou-se como substrato 2-iodoanisol (**18**), TMS-acetileno (**19**), trifenilfosfina, bis(trifenilfosfina) cloreto de paládio II, iodeto do cobre I, di-isopropilamina e tolueno. A reação foi aquecida até  $80^\circ\text{C}$  e mantida sob agitação por 24 horas. Após esse período, a mistura reacional foi filtrada e o sólido foi lavado com acetato de etila. O filtrado foi lavado com solução aquosa de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturado e água. Por fim, a fase orgânica foi seca com agente dessecante  $\text{NaSO}_4$  e concentrada no evaporador rotatório, levando à formação do intermediário (**20**) obtendo-se 96 % de produto sem purificação prévia. Embora, do ponto de vista estérico, a proximidade entre o grupo metoxi e o átomo de iodo pudesse, em princípio, dificultar o acesso do complexo de paládio ao centro reacional durante a etapa de adição oxidativa, observou-se que essa limitação não comprometeu o desempenho da reação.

Para a desproteção do grupo TMS, utilizou-se uma solução de fluoreto de potássio (KF) di-hidratado 0,8M em metanol. A solução permaneceu sob agitação a  $70^\circ\text{C}$ , sob

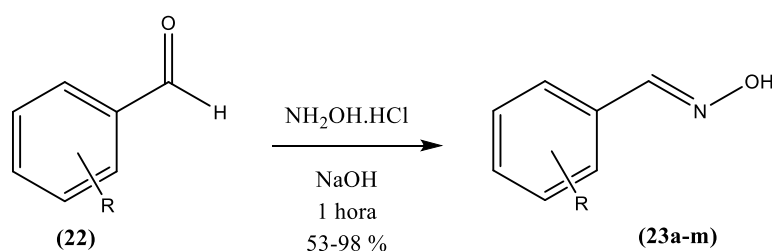
atmosfera de argônio, por 1 hora em refluxo com condensador de bolas acoplado ao balão de fundo redondo bifurcado. Em seguida, a reação foi levada ao rota evaporador para remover todo o metanol e adicionou-se diclorometano e a fase orgânica foi extraída com água. A fase orgânica foi seca com agente dessecante  $\text{NaSO}_4$ , em seguida, o alcino de interesse (**21**) foi evaporado sob pressão no rota evaporador obtendo-se o produto desejado com um rendimento de 64 %. O mesmo foi utilizado na etapa seguinte sem a realização de etapas adicionais de purificação.

A obtenção do alcino (**21**) foi confirmada através da caracterização por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN  $^{13}\text{C}$ ) (ANEXO II, Figura A3). Os dados de RMN foram consistentes com a obtenção do produto e estão de acordo com o que foi apresentado previamente na literatura (Smela; Hoyer; 2018).

As aldoximas (**23a-m**) foram obtidas através de uma reação de substituição nucleofílica na carbonila entre aldeídos aromáticos (**22**) e a hidroxilamina (Esquema 14) e foram obtidas com rendimentos variando entre 53 % e 98 % (Tabela 4) e os produtos foram obtidos em um grau de pureza satisfatório, não sendo necessária a purificação por coluna cromatográfica para a etapa seguinte.

De acordo com o mecanismo (Esquema 15) proposto por Jencks (1958) e tendo em vista as condições reacionais utilizadas, primeiramente o cloridrato de hidroxilamina é desprotonado pelo hidróxido, levando à formação da hidroxilamina base livre, que é nucleofílica. Esta, por sua vez, faz um ataque nucleofílico à carbonila e após uma sequência de transferências de prótons, obtêm-se o intermediário **22-III**. Com a adição de HCl ao meio reacional, o intermediário **22-III** pode ser protonado e, então, a oxima é formada após a eliminação de água. A reação leva à formação de ambos os estereoisômeros, *E* e *Z*. Entretanto, em meio ácido, o estereoisômero *Z* é convertido no *E*, termodinamicamente mais estável, conforme descrito por Hauser e Hoffenberg (1955).

**Esquema 14 – Síntese das aldoximas (23a-m).**



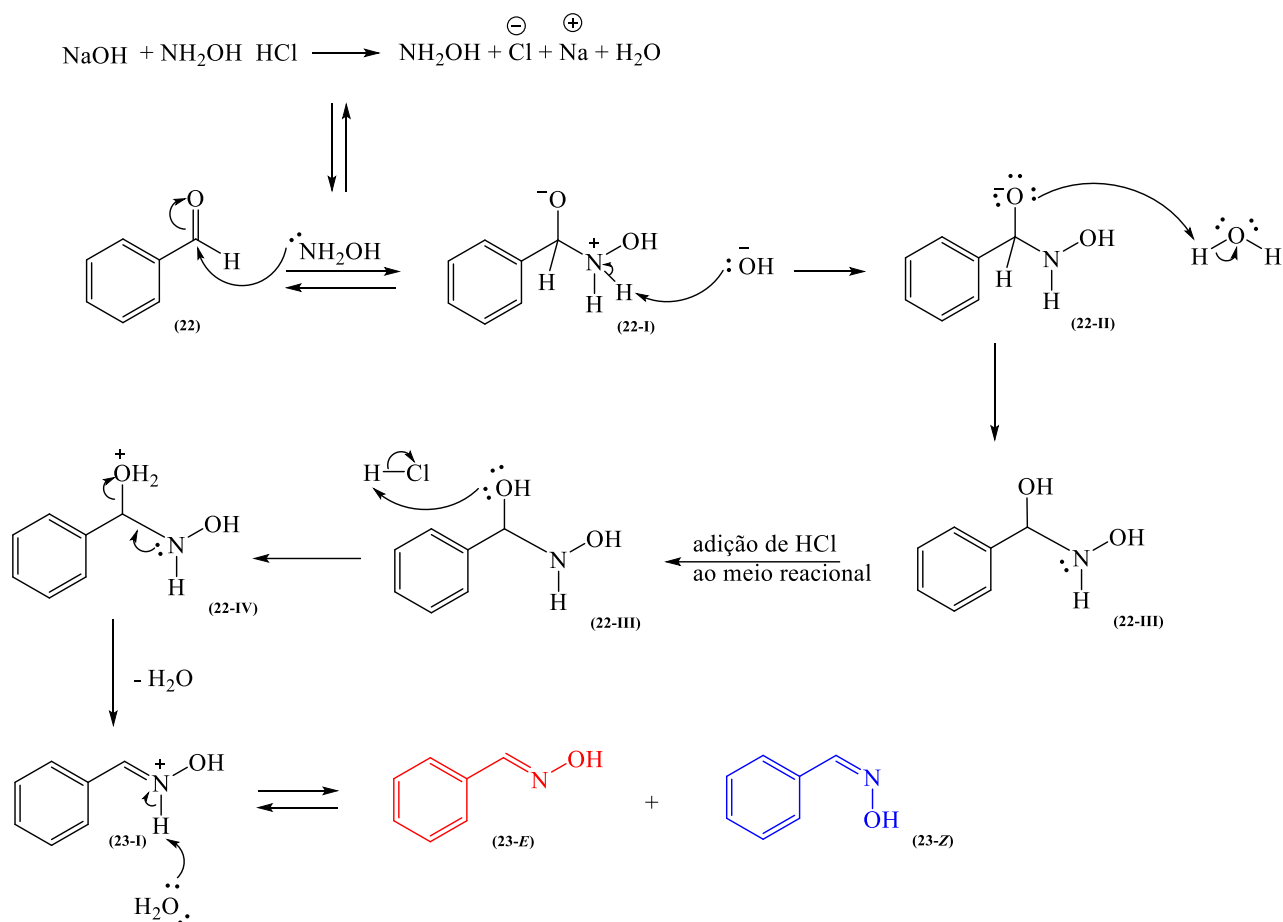
**Tabela 4** – Rendimento das oximas sintetizadas (**23a-m**).

Entrada	Rendimento (%)
<b>23a</b> ( $R_2 = \text{OCH}_3$ )	57
<b>23b</b> ( $R_2 = \text{CH}_3$ )	86
<b>23c</b> ( $R_3 = \text{CH}_3$ )	86
<b>23d</b> ( $R_1 = \text{OH}$ )	38
<b>23e</b> ( $R_3 = \text{NO}_2$ )	81
<b>23f</b> ( $R_1 = \text{NO}_2$ )	53
<b>23g</b> ( $R_3 = \text{I}$ )	82
<b>23h</b> ( $R_3 = \text{Cl}$ )	92
<b>23i</b> ( $R_1 = \text{Br}$ )	94
<b>23j</b> ( $R_3 = \text{Br}$ )	94
<b>23k</b> ( $R_1 = \text{F}$ )	94
<b>23l</b> ( $R_3 = \text{F}$ )	90
<b>23m</b> ( $R_3 = \text{CF}_3$ )	98

Os compostos foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e estão de acordo com o que foi relatado na literatura. Os dados espectrais obtidos e os resultados da literatura estão apresentados no **ANEXO I, Tabela A1**.

A **Tabela A1** apresenta a comparação entre os deslocamentos químicos obtidos para as oximas sintetizadas neste trabalho e os valores relatados na literatura. Como não foi encontrada uma única publicação contendo os dados espectroscópicos de todas as oximas, a comparação foi realizada com base em informações extraídas de diferentes artigos e as respectivas referências são citadas na **Tabela A1**. De uma forma geral, os valores experimentais obtidos mostraram-se compatíveis com os descritos na literatura, com variações dentro da margem esperada para diferenças de solvente, equipamentos e condições experimentais. Além disso, a análise detalhada de cada espectro indica que eles estão de acordo com as estruturas propostas.

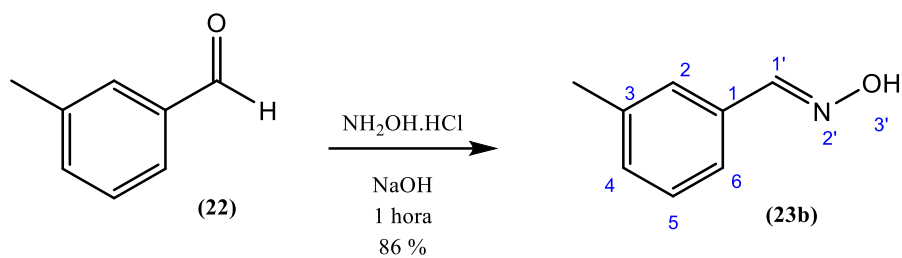


**Esquema 15** – Esquema mecanístico para formação dos isômeros *E* e *Z* da oxima.

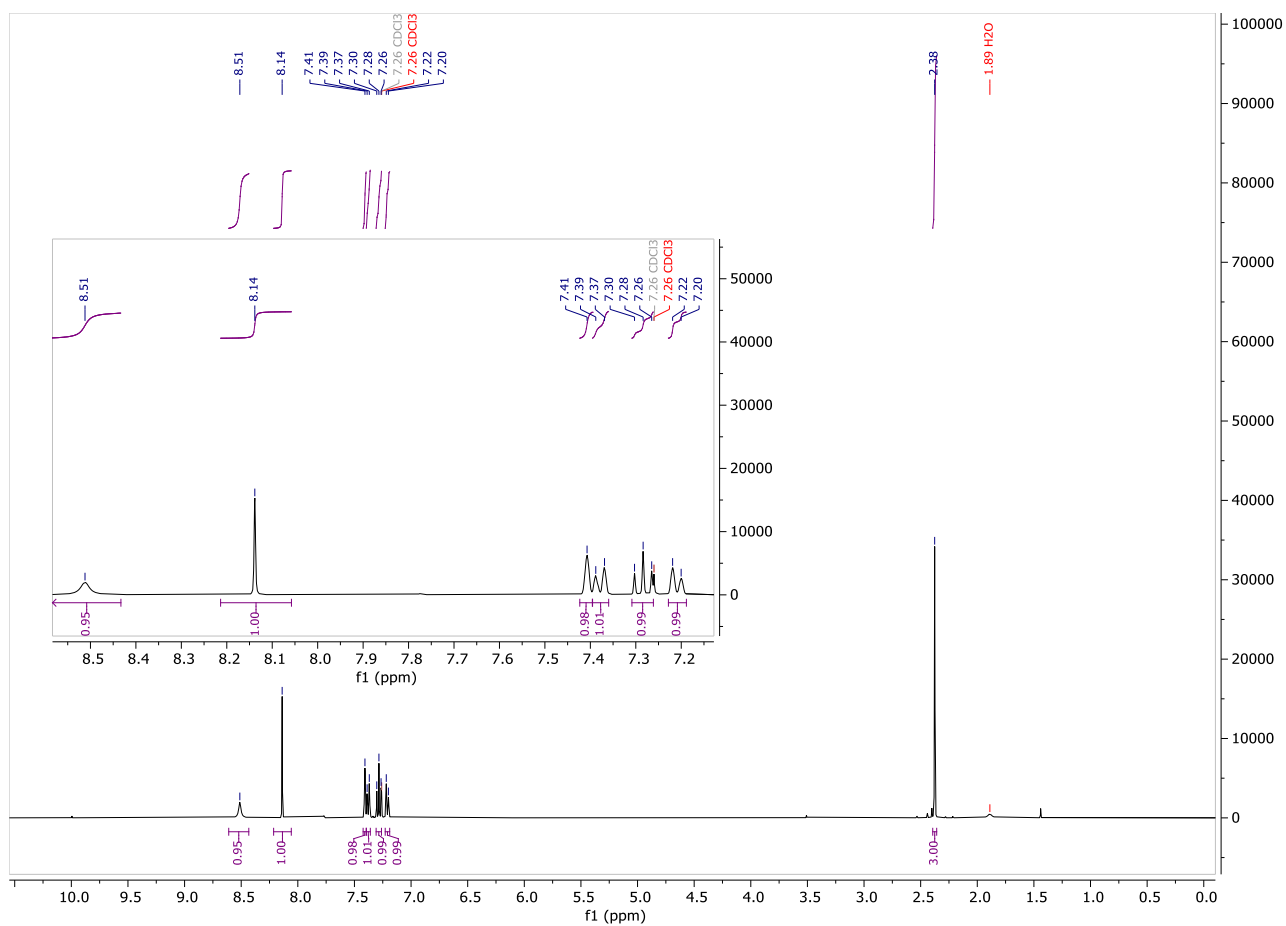
Fonte: A autora.

Para exemplificar a caracterização das oximas, abaixo é descrita a caracterização do composto **23b** e sua síntese é mostrada no **Esquema 16**. A obtenção do (*E*)-3-metilbenzaldeído oxima (**23b**) foi confirmada pela análise do composto por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ . No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 16**), foi possível observar um simpleto largo de integral 1 em 8,51 ppm referente ao hidrogênio da hidroxila, um simpleto de integral 1 em 8,14 ppm referente ao hidrogênio H-1', um simpleto de integral 1 em 7,41 ppm referente ao H-2, um duplete de integral 1 em 7,38 ppm ( $J = 7,7 \text{ Hz}$ ) referente ao H-6, um tripleto de integral 1 em 7,28 ppm ( $J = 7,6 \text{ Hz}$ ) referente ao H-5, um duplete de integral 1 em 7,21 ppm ( $J = 7,5 \text{ Hz}$ ) referente ao H-4, e um simpleto de integral 3 em 2,38 ppm referente aos hidrogênios do substituinte metila.

**Esquema 16 - Síntese (*E*)-3-metilbenzaldeído oxima (23b).**



**Figura 16 – Espectro com expansão de RMN de  $^1\text{H}$  da oxima **23b**.**



### 6.3 OTIMIZAÇÃO DA REAÇÃO PARA OBTENÇÃO DOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS

As condições para as reações de cicloadição seguiram as reportadas por Jawalekar *et al.*, (2011) que usa como agente oxidante o [bis(trifluoroacetoxi)iodo]benzeno (PIFA) pertencente à classe dos compostos de iodo hipervalente, utilizado para formação do óxido de nitrila a partir da oxidação da oxima.

A metodologia descrita pelo autor segue a adição de 1 equivalente de alquino, 1,5 equivalente da oxima correspondente em metanol/água (5:1) e 1,5 equivalente de PIFA, adicionado em 3 porções de 0,5 equivalentes durante 2 horas. De acordo com os autores, a adição do oxidante em pequenas porções leva a um aumento do rendimento na formação do isoxazol.

Entretanto, ao reproduzir as condições relatadas, observou-se, além da formação parcial do produto de cicloadição, a presença de sinais compatíveis com o aldeído correspondente, em torno de  $\delta$  10,0 ppm, além de outros subprodutos (**Figura 17**). A fim de mitigar essa limitação e favorecer a formação seletiva do anel isoxazólico, foram realizados testes variando-se os solventes utilizados, buscando-se condições que reduzissem a extensão da hidrólise.

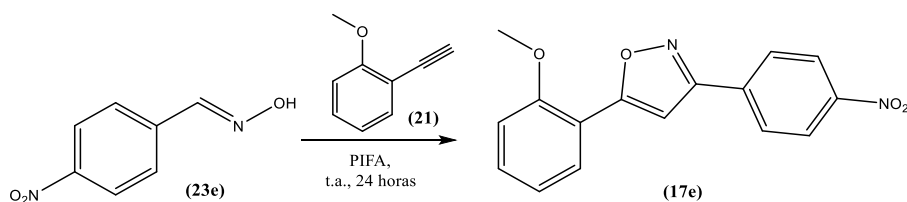
Foi selecionado a (*E*)-4-nitrobenzaldeído oxima (**23e**) como modelo para a otimização da metodologia e a reação foi investigada em 3 diferentes solventes: metanol, metanol/água e diclorometano (**Tabela 5**).

Na **Entrada 1** na **Tabela 5** temos a oxima (**23e**) sendo tratada com metanol como solvente, 2-etinilanol (**21**) e PIFA como agente oxidante que foi adicionado em 5 porções de 1 equivalente cada durante 5 horas, sendo 1 porção cada hora. Após isso, a mistura reacional ficou sob agitação magnética por 24 horas para conversão completa do alquino. Através do espectro obtido (**Figura 17**) usando metanol como único solvente, o mesmo apresentou uma conversão completa e foi considerado o melhor solvente, o sinal correspondente ao produto de hidrólise estava em uma intensidade muito baixa. Isso indica que nesse solvente a oxima foi mais estável, e não sofreu hidrólise. Por consequência, metanol foi o mais adequado para ser aplicado nas demais reações, já que maximiza a conversão do produto desejado.

O isoxazol (**17e**) também foi formado usando metanol/água e diclorometano (**Entrada 2** e **3** respectivamente, **Tabela 5**) sob as mesmas condições e temperatura, porém o resultado da **Entrada 2** na presença de água formou mais aldeído (10,0 ppm), logo, teve mais hidrólise da oxima como mostra o espectro da **Figura 17**. Já na **Entrada 3** que não houve conversão

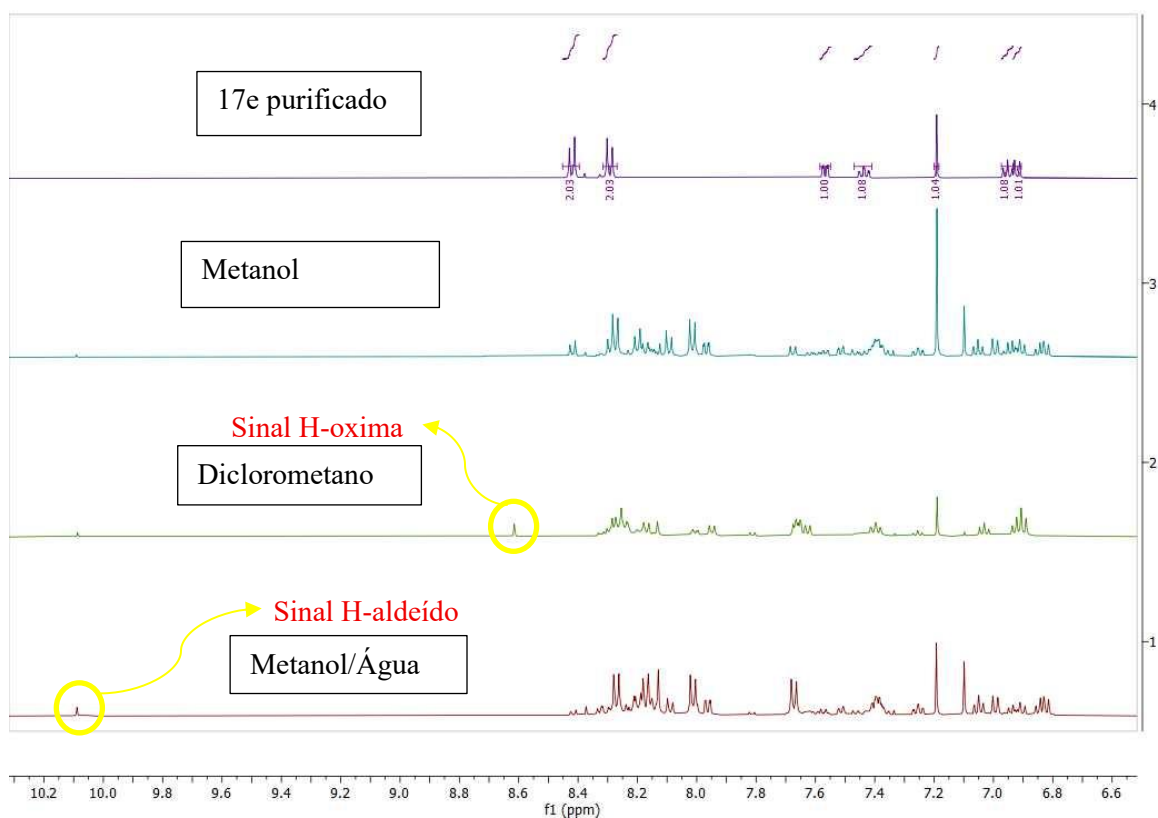
completa da oxima, pois observa-se seu sinal em 8,6 ppm, mostrando que a conversão da oxima no respectivo óxido de nitrila é lenta nessas condições. Nesse contexto, optou-se pela utilização de metanol como solvente para o preparo dos isoxazóis.

**Tabela 5:** Efeito do solvente nas condições reacionais para a síntese de isoxazóis 3,5-dissubstituídos.



Entrada	Solvente	Condição	Tempo (hr)
1	Metanol	t.a	24
2	Metanol/Água	t.a	24
3	Diclorometano	t.a	24

**Figura 17** - Efeito do solvente na estabilidade da oxima: comparação do sinal de aldeído nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para reação do isoxazol **17e**.

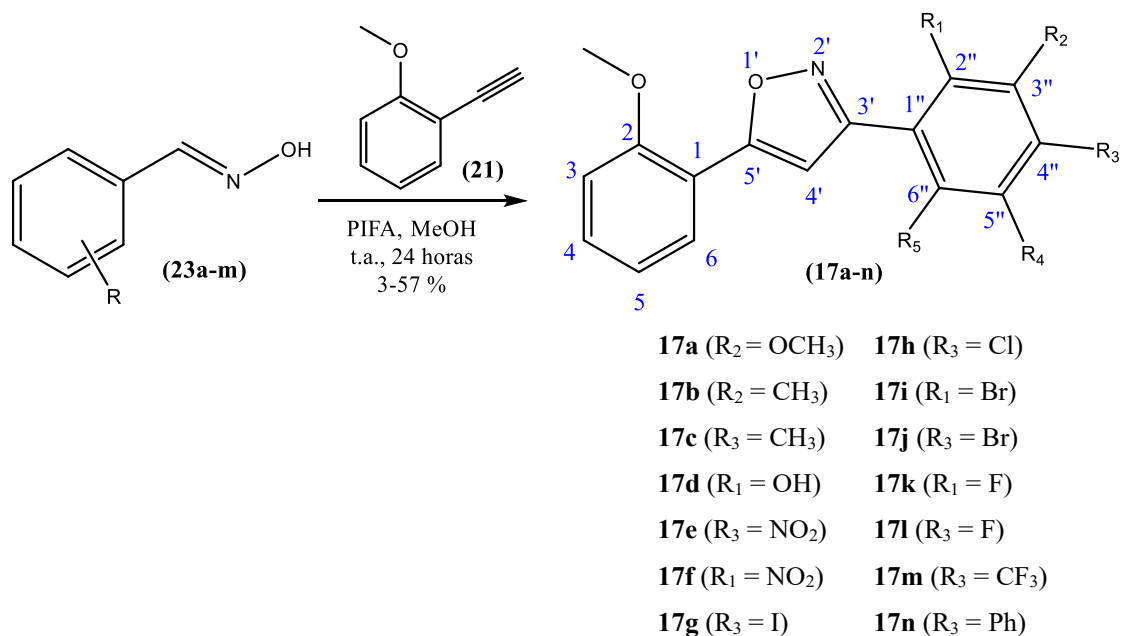


## 6.4 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS ISOXAZÓIS 3,5-DISSUBSTITUÍDOS

### 6.4.1 Síntese dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos

Após a etapa da otimização, buscou-se a síntese de 23 isoxazóis (**Esquema 17**). Porém, 9 desses compostos (**17o-x**) foram obtidos na forma de uma mistura complexa onde não foi possível a purificação, mesmo após sucessivas tentativas por coluna cromatográfica. Assim, obtivemos 14 compostos que foram devidamente purificados (**17a-n**), com rendimentos variando de 3 % a 57 %. Desses, 13 são inéditos na literatura: **17a**, **17b**, **17c**, **17e**, **17f**, **17g**, **17h**, **17i**, **17j**, **17k**, **17l**, **17m**, **17n**. O isoxazol desse trabalho já descrito na literatura (**17d**) foi relatado por Gaikwad (2021) através do método da desidrogenação oxidativa de di-hidroisoxazolininas correspondente que parte da chalcona como substrato. Apesar de já ser descrito, este isoxazol, nesse trabalho, foi preparado por um método diferente, mais eficiente pelo menor número de etapas.

**Esquema 17** - Reação de cicloadição [3+2] 1,3 dipolar para síntese dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos.



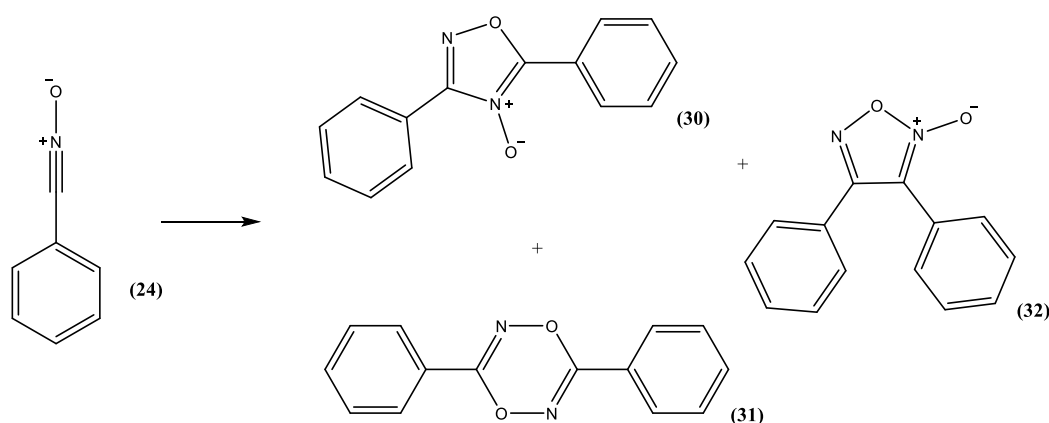
### 6.4.2 Desafios na purificação

A reação de cicloadição entre óxidos de nitrila (1,3-dipolos) e alquinos pode, em princípio, gerar diferentes regioisômeros (isoxazóis 3,4- ou 3,5-dissubstituídos), em decorrência das distintas possibilidades de interação entre o dipolo e o dipolarófilo no processo de cicloadição [3+2]. No entanto, nas condições empregadas neste trabalho, não foi possível identificar claramente a formação de uma mistura de isômeros por RMN antes da purificação (**Figura 18**), possivelmente devido à baixa seletividade do isoxazol 3,4-dissubstituído ou, à sobreposição de sinais. Além disso, conforme descrito por Jawalekar *et al.*, (2011), nas condições empregando PIFA ocorre preferencialmente a formação do regioisômero 3,5-dissubstituído.

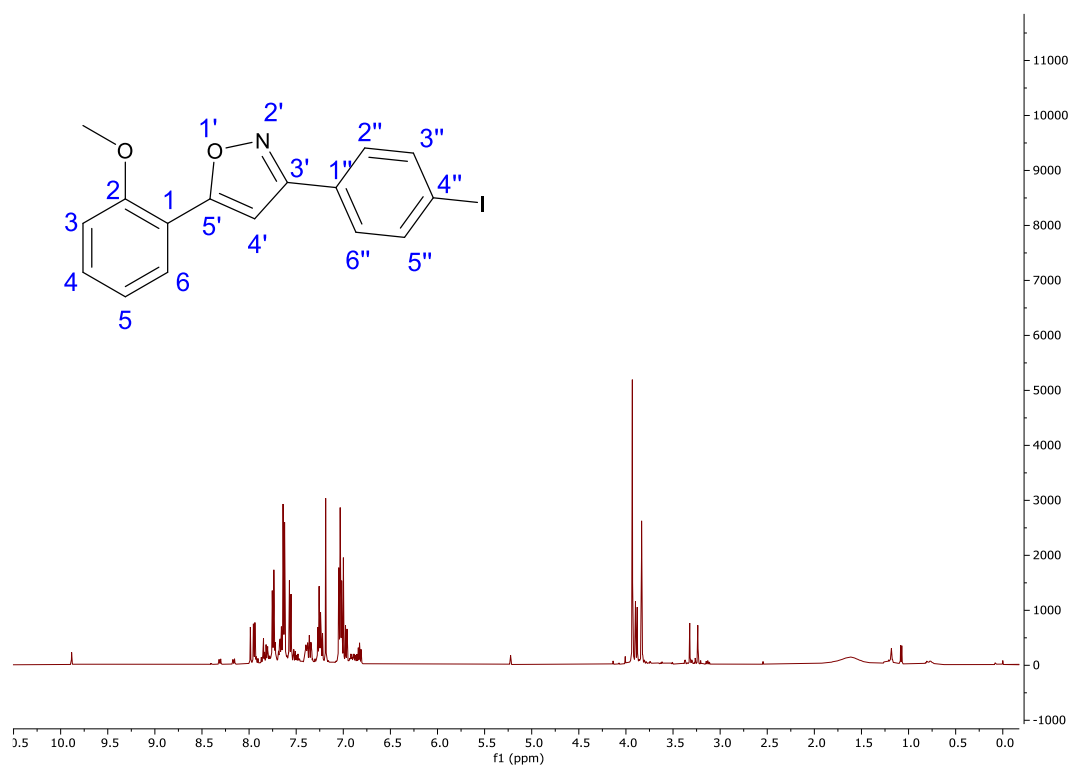
Entretanto, durante o monitoramento das reações por cromatografia em camada fina (CCF), observou-se a formação de diversas manchas (**Figura 19a**), o que sugere a presença de subprodutos. Conforme descrito na literatura (Carloni; Mohnani; Bonifazi; 2019), são comuns reações de dimerização do óxido de nitrila, levando à formação de produtos indesejados (**Esquema 18**).

A separação foi dificultada pela semelhança dos valores de  $R_f$  (fator de retenção) entre os componentes da mistura, tornando a purificação por coluna cromatográfica em fase normal particularmente desafiadora. Ainda assim, foi possível a obtenção dos produtos desejados com grau de pureza satisfatório para a realização dos testes biológicos, mesmo com baixos rendimentos, em alguns casos, onde apenas poucas frações da coluna foram obtidas com o produto puro. As **Figuras 19b e 19c** mostram respectivamente a CCF do produto purificado e o aspecto do composto **17g** após a purificação.

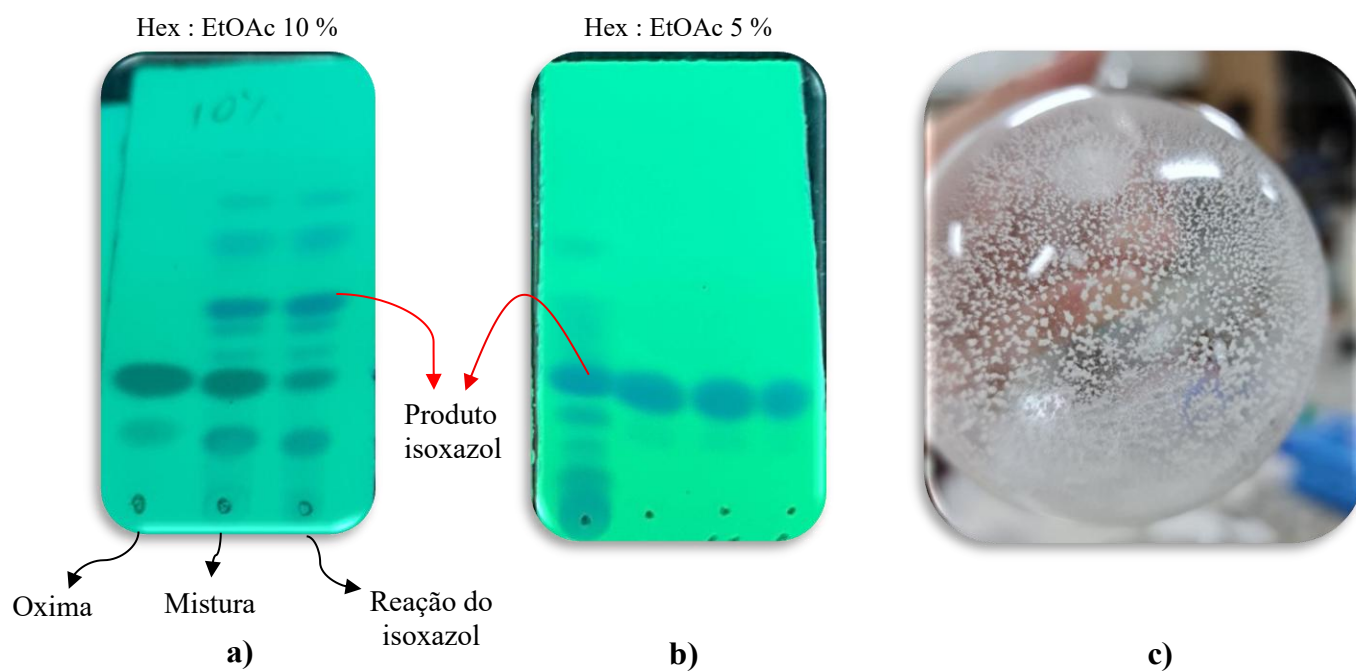
**Esquema 18:** Subprodutos da reação de dimerização do óxido de nitrila.



**Figura 18** - Espectro RMN  $^1\text{H}$  do produto bruto do **17g** antes da purificação (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura 19** - a) Imagem de CCF à esquerda do produto bruto **17g**. b) Imagem de CCF ao centro do produto **17g** após coluna cromatográfica c) Imagem à direita do produto sólido **17g** após sua purificação.



Fonte: A autora.

As propriedades físicas dos compostos sintetizados estão reunidas na **Tabela 6**, onde são apresentados o rendimento, o ponto de fusão e o aspecto físico dos derivados isoxazólicos (**17a–n**). Observa-se que a maioria dos compostos foi obtida como sólidos brancos, com exceção de alguns derivados contendo grupos metoxi, metil e nitro, que apresentaram coloração amarelada. Os pontos de fusão determinados variaram de 87 a 145 °C, refletindo diferenças no empacotamento cristalino e nas interações intermoleculares influenciadas pela natureza dos substituintes.

De modo geral, os derivados halogenados (Cl, Br, F, I) apresentaram pontos de fusão próximos entre si, indicando que o tamanho e a polarizabilidade dos halogênios não alteraram de forma significativa a estabilidade térmica dos sólidos. O composto **17n**, contendo um grupo bifenila ligada ao anel isoxazólico, apresentou o ponto de fusão mais elevado (145 °C), possivelmente em razão da maior rigidez e planaridade dessa estrutura aromática estendida, que favorece interações  $\pi$ – $\pi$  e um empacotamento mais denso no estado sólido.

**Tabela 6** - Propriedades físicas dos isoxazóis sintetizados (**17a–n**).

Entrada	Rendimento <sup>1</sup> (%)	P.F. <sup>2</sup> (° C)	Aspecto Físico
<b>17a</b> (R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub> )	50	ND <sup>3</sup>	Sólido amarelado
<b>17b</b> (R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub> )	23	ND	Sólido branco
<b>17c</b> (R <sub>3</sub> = CH <sub>3</sub> )	23	ND	Sólido amarelado
<b>17d</b> (R <sub>1</sub> = OH)	23	ND	Sólido branco
<b>17e</b> (R <sub>3</sub> = NO <sub>2</sub> )	3	ND	Sólido amarelo
<b>17f</b> (R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> )	9	ND	Sólido amarelo
<b>17g</b> (R <sub>3</sub> = I)	33	97	Sólido branco
<b>17h</b> (R <sub>3</sub> = Cl)	27	92	Sólido branco
<b>17i</b> (R <sub>1</sub> = Br)	57	87	Sólido branco
<b>17j</b> (R <sub>3</sub> = Br)	22	94	Sólido branco
<b>17k</b> (R <sub>1</sub> = F)	40	100	Sólido branco
<b>17l</b> (R <sub>3</sub> = F)	22	94	Sólido branco
<b>17m</b> (R <sub>3</sub> = CF <sub>3</sub> )	7	ND	Sólido branco
<b>17n</b> (R <sub>3</sub> = Ph)	35	145	Sólido branco

<sup>1</sup>Rendimento da reação purificada. <sup>2</sup>Ponto de fusão. <sup>3</sup>ND = não determinado.



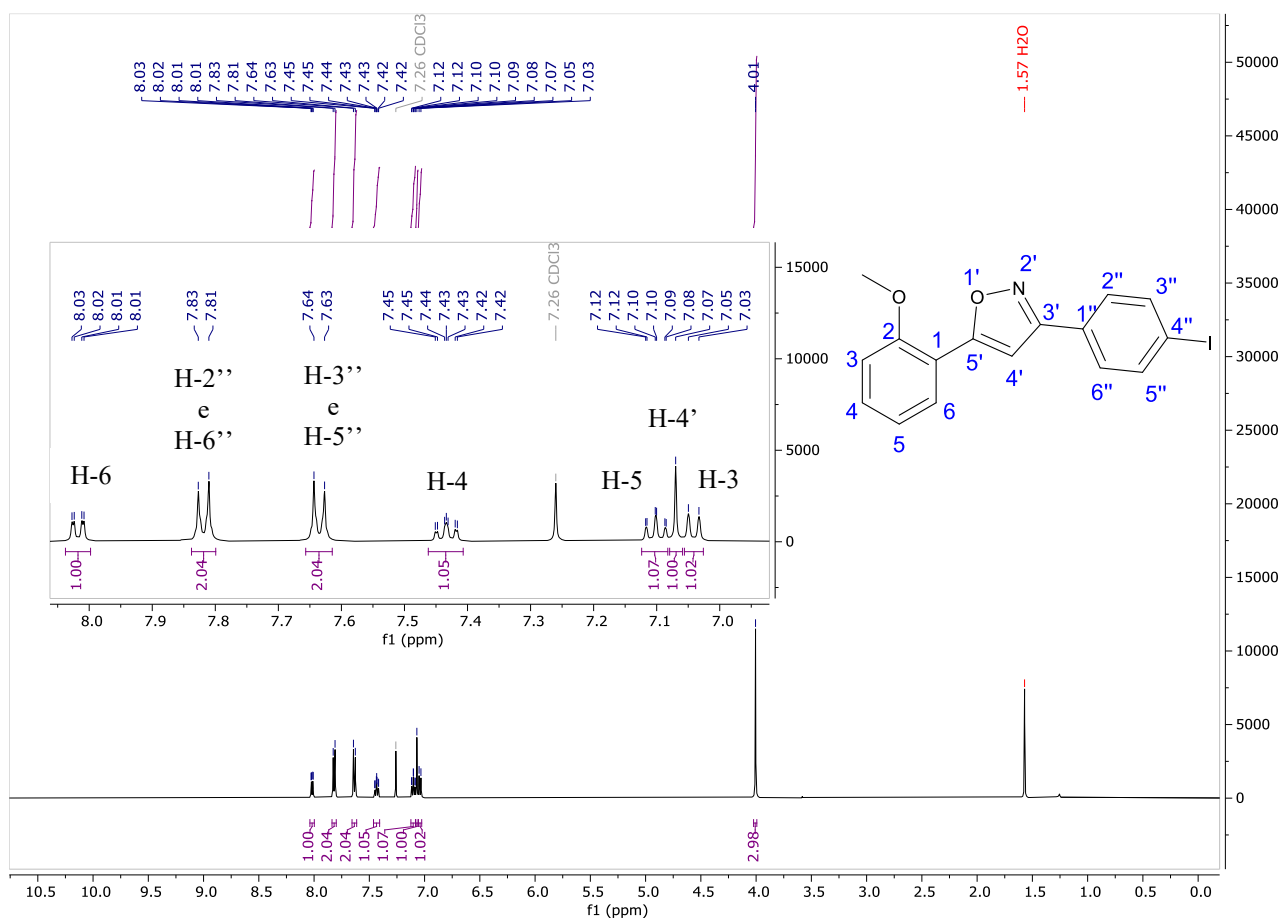
Para alguns compostos (**17a–7f**, **7m**), o ponto de fusão foi não determinado. De maneira geral, os rendimentos das reações variaram entre bons e moderados, o que pode estar relacionado à formação de subprodutos indesejados e à dificuldade de purificação decorrente da presença de compostos com polaridades semelhantes, conforme observado durante o monitoramento por CCF.

#### 6.4.3 Caracterização dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos

Para exemplificar a caracterização estrutural dos isoxazóis, foi selecionado o produto **17g** ( $R_3 = I$ ), cuja obtenção foi confirmada pela análise do composto por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1H$ ) e carbono (RMN  $^{13}C$ ), IV e HRMS.

Os espectros de RMN de  $^1H$  (**ANEXO II, Figura A1-A73**) dos compostos isoxazólicos sintetizados revelam sinais característicos do anel aromático substituído, que contém diferentes grupos R como doadores e retiradores de densidade eletrônica e em diferentes posições *orto*, *meta* ou *para*. Como exemplo será apresentada a caracterização do isoxazol **17g**, onde os hidrogênios H-2'', 6'' e H-3'', 5'' apresentam dois dupletos de integral 2 em 7,82 ppm ( $J = 8,4$  Hz) e 7,64 ppm (d,  $J = 8,4$  Hz), respectivamente, característicos de substituintes na posição *para*. Um sinal característico de anel isoxazólico é o H-4' cujo sinal é um simpleto de integral 1 em 7,07 ppm. Por fim, foi possível observar outros sinais como um duplo duplete de integral 1 em 8,02 ppm ( $J = 7,8, 1,8$  Hz) referente ao hidrogênio H-6, um tripleto de duplete de integral 1 em 7,43 ppm ( $J = 8,8, 7,4, 1,7$  Hz) referente ao H-4, um triplo duplete de integral 1 em 7,10 ppm ( $J = 7,6, 1,0$  Hz) referente ao H-5, um duplete de integral 1 em 7,04 ppm ( $J = 8,3$  Hz) referente ao H-3 e um simpleto de integral 3 em 4,01 ppm referente aos hidrogênios da metoxila como mostrado na **Figura 20**.

**Figura 20** – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) com expansão do isoxazol **17g**.



Para uma melhor visualização dos deslocamentos dos hidrogênios dos isoxazóis, foi apresentado a **Tabela 7**.

A análise dos dados de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos isoxazólicos (**Tabela 7**) revelou que o grupo metoxila presente de forma constante no anel aromático exerce influência significativa sobre os deslocamentos químicos dos hidrogênios H-3 à H-6. A metoxila, por ser um grupo doador de elétrons via efeito de ressonância (+M) e retirador por efeito indutivo (–I), provoca um aumento da densidade eletrônica nas posições *orto* e *para*, resultando em maior blindagem nos hidrogênios ligados aos carbonos nessas posições e, consequentemente, deslocamentos para campos mais altos (valores menores de  $\delta$ ). Assim, observa-se que os hidrogênios H-3 e H-5, *orto* e *para* à metoxila respectivamente, apresentam deslocamentos no intervalo de 6,89 a 7,06 ppm e 6,95 a 7,30 ppm, sendo estes os mais blindados da série. Como a variação estrutural está presente apenas nos substituintes presentes no anel fenila ligado à posição 3 do isoxazol, as diferenças observadas nos deslocamentos do anel aromático portador da metoxila se devem principalmente a efeitos eletrônicos indiretos e variações

conformacionais mínimas.

Já o hidrogênio H-4, com deslocamentos entre 7,27 e 7,46 ppm, e principalmente o H-6, com variação de 7,57 a 8,05 ppm, estão mais desblindados. Isso ocorre porque essas posições estão *meta* em relação à metoxila, e não se beneficia do efeito de ressonância, prevalecendo o efeito retirador por efeito indutivo. O H-6, em especial, é o mais desblindado, com os maiores valores de  $\delta$ .

Esses padrões reforçam o comportamento esperado de um grupo metoxi em sistemas aromáticos: blindagem dos hidrogênios *orto* e *para* (H-3 e H-5) e desblindagem dos hidrogênios *meta* (H-4 e H-6), fornecendo evidências consistentes com a estrutura proposta dos compostos.

Ademais, o hidrogênio H-4' característico do anel isoxazólico apresentou deslocamentos químicos variando de 6,90 a 7,22 ppm. A variação relativamente discreta sugere que o ambiente eletrônico ao redor desse hidrogênio permanece pouco afetado pelas modificações nos substituintes fora do núcleo isoxazólico. Isso é coerente com sua posição estrutural isolada, onde não há conjugação direta com os substituintes variáveis da molécula. Dessa forma, o H-4' funciona como um bom marcador estrutural do núcleo heterocíclico, sendo útil na confirmação da formação do anel isoxazólico nos compostos sintetizados. Além disso, os valores de deslocamento químico são condizentes com o anel isoxazólico substituído nas posições 3 e 5, visto que, nos regioisômeros 3,4-dissubstituídos, o hidrogênio do núcleo isoxazólico costuma ser mais desblindado, com valores de deslocamento químico acima de 8,5 ppm (Grecian; Fokin; 2008).

**Tabela 7** - Dados do RMN de  $^1\text{H}$  dos deslocamentos químicos ( $\delta$ , ppm) dos hidrogênios aromáticos e isoxazólicos nos compostos **17a–n**.

Entrada	H-4' (ppm) <sup>1</sup>	H-3 (ppm) <sup>1</sup>	H-4 (ppm) <sup>1</sup>	H-5 (ppm) <sup>1</sup>	H-6 (ppm) <sup>1</sup>	OCH <sub>3</sub> (ppm) <sup>1</sup>
<b>17a</b> (R <sub>2</sub> = OCH <sub>3</sub> )	6,98 (m)	6,89 (m)	7,27 (m)	7,30 (m)	7,91 (dd)	3,87 (s)
<b>17b</b> (R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub> )	7,09 (s)	7,03 (d)	7,42 (td)	7,09 (td)	8,03 (dd)	4,00 (s)
<b>17c</b> (R <sub>3</sub> = CH <sub>3</sub> )	7,08 (s)	7,03 (d)	7,41 (ddd)	7,09 (td)	8,03 (dd)	3,99 (s)
<b>17d</b> (R <sub>1</sub> = OH)	7,20 (s)	7,06 (d)	7,46 (ddd)	7,11 (td)	8,01 (dd)	4,02 (s)
<b>17e</b> (R <sub>3</sub> = NO <sub>2</sub> )	7,19 (s)	6,92 (d)	7,44 (td)	6,95 (td)	7,57 (dd)	3,94 (s)
<b>17f</b> (R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> )	6,90 (s)	7,02 (d)	7,43 (ddd)	7,10 (td)	8,03 (dd)	3,96 (s)

<b>17g</b> ( $R_3 = I$ )	7,07 (s)	7,04 (d)	7,43 (ddd)	7,10 (td)	8,02 (dd)	4,01 (s)
<b>17h</b> ( $R_3 = Cl$ )	7,07 (s)	7,04 (d)	7,43 (td)	7,10 (td)	8,02 (dd)	4,00 (s)
<b>17i</b> ( $R_1 = Br$ )	7,19 (s)	7,03 (d)	7,31 (td)	7,10 (td)	8,04 (dd)	3,97 (s)
<b>17j</b> ( $R_3 = Br$ )	7,07 (s)	7,04 (d)	7,43 (ddd)	7,10 (td)	8,02 (dd)	4,00 (s)
<b>17k</b> ( $R_1 = F$ )	7,22 (s)	7,04 (d)	7,42 (td)	7,10 (t)	8,03 (d)	3,99 (s)
<b>17l</b> ( $R_3 = F$ )	7,06 (s)	7,04 (d)	7,43 (ddd)	7,10 (td)	8,02 (dd)	4,00 (s)
<b>17m</b> ( $R_3 = CF_3$ )	7,13 (s)	7,05 (d)	7,45 (td)	7,11 (t)	8,03 (dd)	4,02 (s)
<b>17n</b> ( $R_3 = Ph$ )	7,15 (s)	7,05 (dd)	7,44 (ddd)	7,11 (td)	8,05 (dd)	4,02 (s)

<sup>1</sup>Sinais apresentados no RMN de <sup>1</sup>H (Fonte: A autora).

A caracterização dos compostos 3,5-isoxazólicos (**17a-n**) foi realizada também por espectroscopia na região do infravermelho (4000–400  $cm^{-1}$ ), cujas principais bandas de absorção estão apresentadas na **Tabela 8**. Todos os derivados isoxazólicos exibiram uma banda de estiramento assimétrico atribuída à ligação C=N, com variações entre 1421 e 1497  $cm^{-1}$ . A vibração correspondente à ligação O–N do núcleo isoxazólico foi observada em torno de 1542  $cm^{-1}$ , enquanto a banda de estiramento C–O apareceu próxima de 1059  $cm^{-1}$ , ambos consistentes com a estrutura heterocíclica esperada. As absorções associadas a ligações C=C dos anéis fenila foram registradas com maior intensidade nas regiões de 1682  $cm^{-1}$  e 1446  $cm^{-1}$ .

**Tabela 8** - Atribuições das principais absorções na região do infravermelho dos compostos isoxazólicos **17a–n** ( $cm^{-1}$ , pastilha KBr).

<b>Entrada</b>	$\nu(C=N)$	$\nu(O-N)$	$\nu(C-O)$	$\nu(R)$	$\nu(OCH_3)$	$\nu(C-H)^1$	$\nu(C=C)^2$
<b>17a</b> ( $R_2 = OCH_3$ )	1441(m)	1495(m)	1054(f)	-	1258, 1023	752, 683	1610, 1474
<b>17b</b> ( $R_2 = CH_3$ )	1453(f)	1513(m)	1040(f)	2840	1269, 1023	788, 751, 618	1682, 1587
<b>17c</b> ( $R_3 = CH_3$ )	1422(f)	1566(m)	1052(f)	2844	1261, 1022	825, 800, 754	1610, 1497
<b>17d</b> ( $R_1 = OH$ )	1497(m)	1566(m)	1122(f)	3151	1255, 1021	750, 649	1609, 1446
<b>17e</b> ( $R_3 = NO_2$ )	-	-	-	-	-	-	-
<b>17f</b> ( $R_1 = NO_2$ )	1449(m)	1574(f)	1052(f)	1527, 1349	1256, 1026	768, 747, 710	1610, 1493
<b>17g</b> ( $R_3 = I$ )	1419(m)	1556(m)	1051(m)	503	1257, 1018	803, 743, 715	1611, 1491
<b>17h</b> ( $R_3 = Cl$ )	1420(F)	1563(m)	1051(m)	947	1254, 1025	839, 804, 755	1611, 1493
<b>17i</b> ( $R_1 = Br$ )	1440(m)	1565(f)	1050(f)	756	1251, 1025	803	1609, 1491

<b>17j</b> ( $R_3 = \text{Br}$ )	1421(m)	1441(f)	1052(f)	947	1252, 1016	834, 806, 749	1611, 1492
<b>17k</b> ( $R_1 = \text{F}$ )	1470(F)	1570(m)	1053(f)	1292	1264, 1020	746, 680	1612, 1495
<b>17l</b> ( $R_3 = \text{F}$ )	1447(F)	1525(F)	1054(f)	1254	1228, 1023	836, 758, 673	1610, 1497
<b>17m</b> ( $R_3 = \text{CF}_3$ )	1444(F)	1568(m)	1083(f)	1328	1260, 1018	851, 806, 756	1612, 1496
<b>17n</b> ( $R_3 = \text{Ph}$ )	1453(F)	1556(m)	1053(m)	-	1251, 1024	846, 806, 766, 748, 727, 696, 674	1612, 1493

---

<sup>1</sup>*orto*, *meta* ou *para* dissustituição e monossustituição do anel aromático; <sup>2</sup>Aromático; Intensidade das bandas: (F) = forte; (m) = média; (f) = fraca;

Caracterização do composto **17d** ( $R_1 = \text{OH}$ ) através do espectro de IV, evidenciando as bandas características dos produtos sintetizados. A banda larga de estiramento em  $3151 \text{ cm}^{-1}$  é atribuída ao grupo hidroxila (O–H). A banda de estiramento de média intensidade em  $1497 \text{ cm}^{-1}$  corresponde ao grupo imina (C=N), indicando a formação do anel isoxazólico, em conjunto com a banda em  $1566 \text{ cm}^{-1}$  atribuída à ligação O–N e a banda em  $1122 \text{ cm}^{-1}$  referente à vibração C–O. O grupo metoxila é identificado pelas bandas em  $1255 \text{ cm}^{-1}$  e  $1021 \text{ cm}^{-1}$ . As bandas características dos anéis aromáticos (C=C) são observadas em  $1609 \text{ cm}^{-1}$  e  $1446 \text{ cm}^{-1}$ . Por fim, as bandas em  $750 \text{ cm}^{-1}$  e  $649 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às deformações de ligação C–H associadas à *orto*-dissustituição e monossustituição do anel aromático, respectivamente.

As análises de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foram realizadas com o objetivo de confirmar a identidade molecular dos compostos isoxazólicos sintetizados. Os espectros obtidos apresentaram picos de íon molecular compatíveis com valores de massa experimental em excelente concordância com as massas teóricas para cada composto. Como exemplo, o composto **17d** apresentou um pico em  $m/z = 268,096$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  e  $290,098$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , em excelente concordância com o valor teórico esperado de  $m/z = 268,097$ . Esses resultados, em conjunto com os dados de RMN e IV, corroboram a formação dos produtos desejados e a correta caracterização estrutural dos derivados isoxazólicos desenvolvidos. Os espectros de massas completos podem ser consultados no **Anexo II, Figura A1-A73**.

## 6.5 RACIONALIZANDO OS RESULTADOS: ASPECTOS MECANÍSTICOS DAS REAÇÕES DE CICLOADIÇÃO 1,3 DIPOLAR

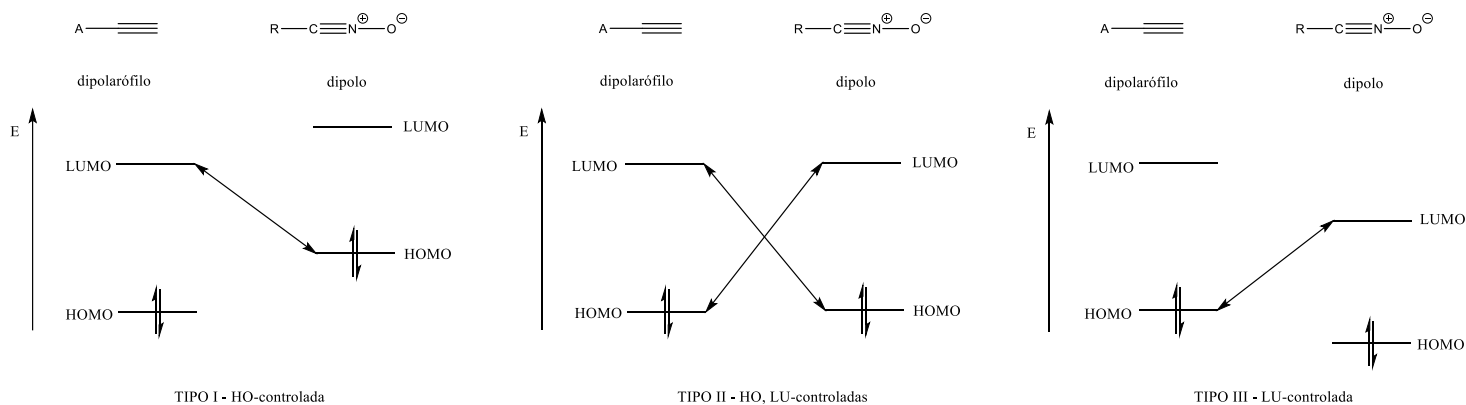
As reações de cicloadição 1,3-dipolar constituem uma importante classe de reações pericíclicas, permitindo a formação seletiva de heterociclos de cinco membros a partir da interação entre um 1,3-dipolo e um dipolarófilo. O termo 1,3-dipolo refere-se a espécies que apresentam um arranjo de átomos com três centros e quatro elétrons  $\pi$ , estabilizados por ressonância, e que possuem carga formal separada (por exemplo, óxidos de nitrila, azidas orgânicas e ilídios). Já o dipolarófilo é geralmente um composto insaturado (alceno ou alcino) que contém um sistema  $\pi$  deficiente em elétrons, capaz de reagir com o 1,3-dipolo por meio das interações orbitais adequadas (Padwa; Pearson; 2002).

O mecanismo de cicloadição [3+2] pode ser descrito em termos da teoria de orbitais moleculares de fronteira (TOMF), proposta por Fukui (1982), que considera as interações entre os orbitais moleculares de fronteira (OMF).

Sustmann (1971) classificou as cicloadições 1,3-dipolares em três tipos, com base nas diferenças relativas de energias entre os OMF dos substratos, conforme está representado na **Figura 21**. Quando o HOMO do 1,3-dipolo interage com o LUMO do dipolarófilo, a reação é denominada HO-controlada (Tipo I), inversamente, quando o HOMO pertence ao dipolarófilo e o LUMO ao 1,3-dipolo, a reação é LU-controlada (Tipo III). Para as reações do Tipo II, a similaridade das energias dos OMF do dipolo e do dipolarófilo implica que ambas as interações HOMO-LUMO são importantes sendo HO, LU-controladas (Sustmann; 1971, Firestone; 1968).

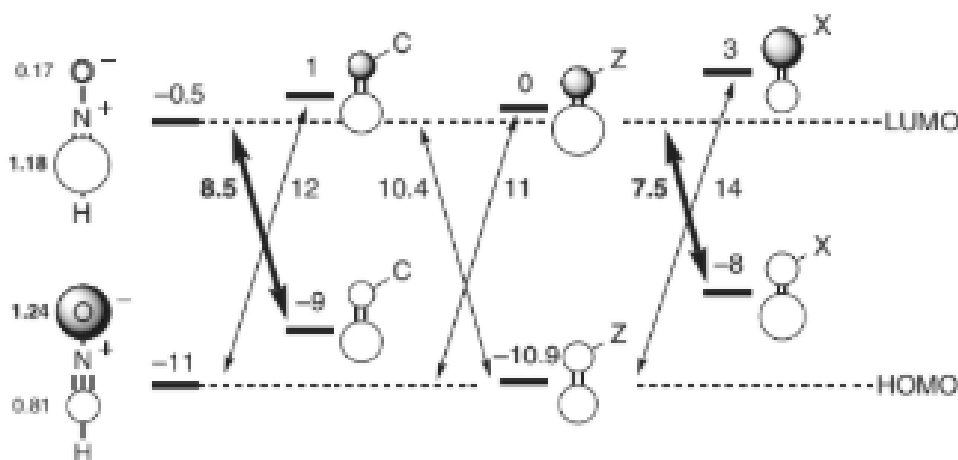
A **Figura 22** apresenta os orbitais de fronteira para o óxido de nitrila e para alcenos substituídos, destacando o efeito eletrônico de diferentes grupos ligantes sobre as energias do HOMO e do LUMO. Substituintes conjugados (C), como vinil e fenil, tendem a estabilizar o LUMO e desestabilizar o HOMO, diminuindo o gap energético e favorecendo interações eletrônicas com dipolos cujo HOMO esteja em alta energia. Substituintes retiradores de elétrons (Z), como CHO, CN e NO<sub>2</sub>, reduzem a energia de ambos os orbitais de fronteira, tornando o dipolarófilo mais eletrofílico e, portanto, mais reativo com dipolos de HOMO de energia elevada. Já substituintes doadores de elétrons (X), como grupos alcoxi (OMe), amino (Me<sub>2</sub>N) e alquila, aumentam a energia de ambos os orbitais, elevando a nucleofilicidade do dipolarófilo (Fleming; 2009).

**Figura 21** - Classificação de Sustmann (1971) para as reações de cicloadição 1,3 dipolar.



Adaptado de Sustmann (1971) pela autora.

**Figura 22** - Orbitais de fronteira para um óxido de nitrila e dipolarófilos representativos.



Fonte: Fleming; 2009, p. 250.

A partir dessa análise, observa-se que a presença de um grupo doador de elétrons no dipolarófilo favorece uma reação do Tipo III — controlada pelo HOMO do dipolarófilo e pelo LUMO do dipolo, pois o gap de energia é menor — enquanto a introdução de substituintes retiradores de elétrons ou conjugados no dipolo, reduz a energia do LUMO do 1,3-dipolo, potencializando ainda mais o tipo III de interação. Essa tendência é consistente com o modelo de orbitais de fronteira descrito por Fleming (2009) para óxidos de nitrila, no qual reações rápidas são previstas para sistemas C- e X-substituídos, resultando majoritariamente em

regioisômeros 3,5-dissubstituídos. No caso de dipolarófilos Z-substituídos, a diferença de energia entre HOMO e LUMO não favorece fortemente nenhum dos emparelhamentos, e a polarização das ligações fornece previsões opostas — com o controle LUMO do dipolo levemente favorecendo um isômero e o controle HOMO do dipolo favorecendo fortemente o outro. Nestas situações, a regioseletividade torna-se sensível a efeitos estéricos resultando em uma mistura de 3,4 e 3,5 regioisômeros.

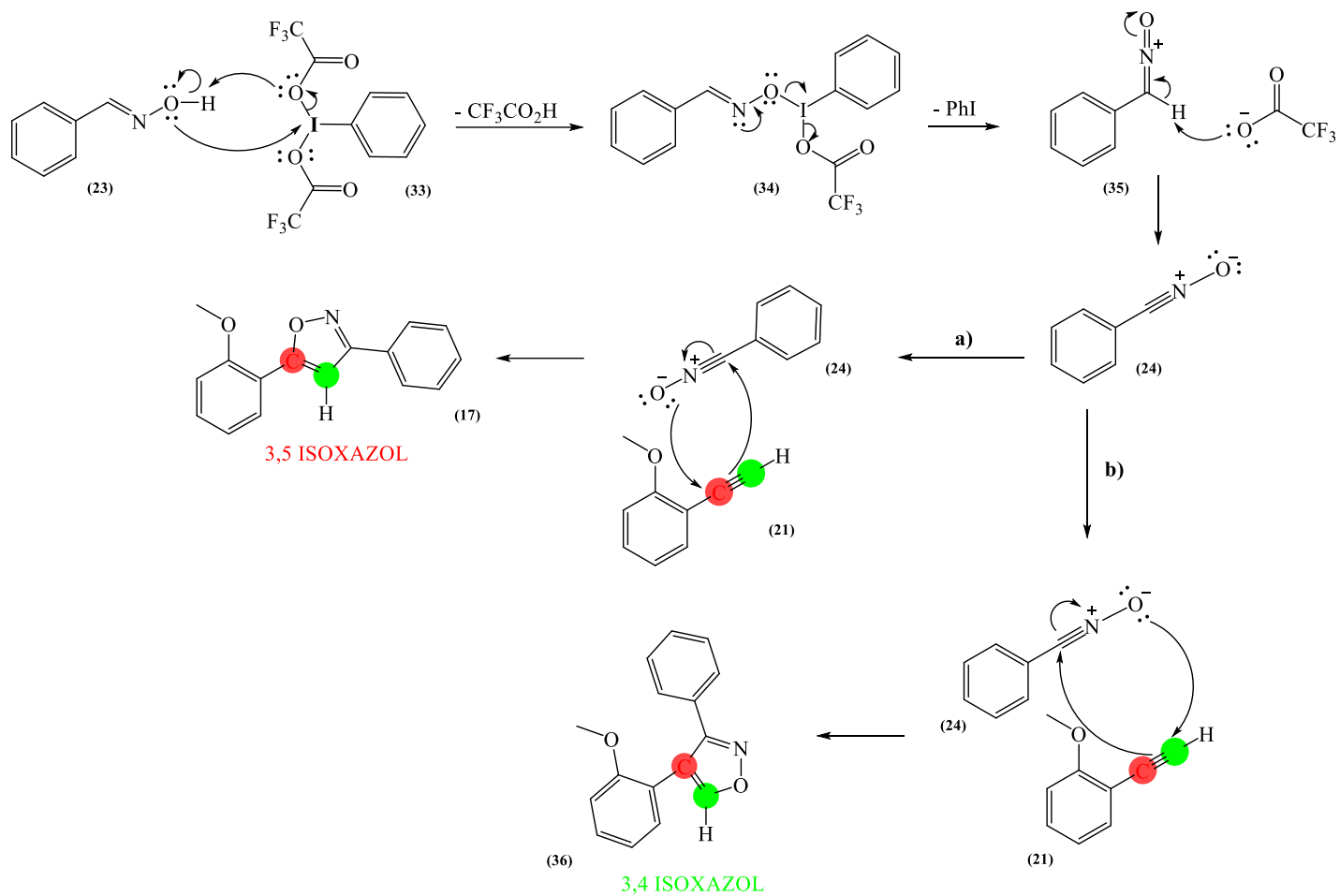
No que diz respeito à regioseletividade da reação, em relação aos substratos em questão, sabe-se que existe a possibilidade de formação de dois regioisômeros, o 3,4- e o 3,5-dissubstituído. A interação entre átomos do dipolo e do dipolarófilo que possuem os maiores valores de coeficiente dos OMF pode favorecer a formação de um dos regioisômeros. No entanto, fatores estéricos apresentam forte influência, o que favorece a formação do composto 3,5-dissubstituído (Gonçalves *et al.*, 2013).

Sabe-se, também, que o uso de metais como Cu(I) e Ru(II) pode favorecer a formação do regioisômero 3,4- ou 3,5-dissubstituído, respectivamente. Entretanto, optamos pela utilização de uma metodologia livre de metais, onde a estratégia-chave é a geração instantânea, no meio reacional, do óxido de nitrila pela oxidação de oximas com o uso do PIFA e a formação do produto 3,5-dissubstituído, devido a efeitos estéricos.

Um esquema mecanístico para formação do anel isoxazólico é mostrado no **Esquema 19**. A oxima é convertida em óxido de nitrila através de uma substituição nucleofílica do iodo hipervalente, formando o intermediário que antecede a desprotonação para formação do óxido de nitrila e a espécie reage com o alcino através da cicloadição [3+2] gerando o isoxazol.



**Esquema 19** – Esquema mecanístico proposto para formação do isoxazol através de uma cicloadição [3+2] 1,3 dipolar. **a)** Ataque do óxido de nitrila ao carbono mais substituído para formação do isoxazol 3,5-dissubstituído. **b)** Ataque do óxido de nitrila ao carbono menos substituído para formação do isoxazol 3,4-dissubstituído.



Fonte: A autora.

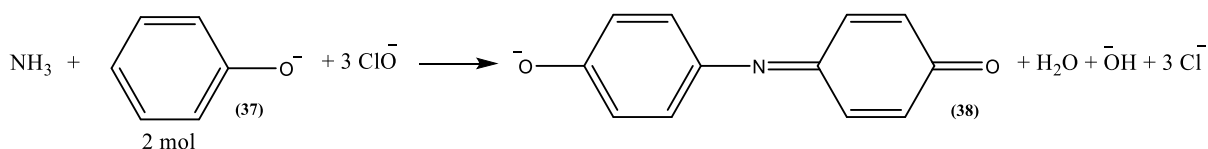
## 6.6 TESTES ENZIMÁTICOS

### 6.6.1 Inibição Enzimática com Urease de *Canavalia ensiformis*

A atividade inibitória *in vitro* frente à urease de *Canavalia ensiformis* (Jack Bean) foi avaliada por meio do ensaio colorimétrico da reação do indofenol (*phenol–hypochlorite reaction*). A avaliação foi realizada em colaboração com o grupo da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marcelle Bispo (Universidade Estadual de Londrina) e seguiu a metodologia originalmente descrita por Weatherburn (1967).

O método do indofenol é usado para a determinação do íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) e se baseia na formação de um composto azul intenso de indofenol (**38**), resultante da reação da amônia ( $\text{NH}_3$ ) com o fenol (**37**) e o hipoclorito de sódio ( $\text{NaClO}$ ), sendo catalisada pela adição de nitroprussiato de sódio ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ ) e tendo o pH da reação corrigido pela adição do hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ), como mostra o **Esquema 20**.

**Esquema 20** - Reação de formação do indofenol.



Fonte: Pontes *et al.*, 2004.

Portanto, para confirmar a atividade catalítica da urease e a consequente decomposição da ureia, empregou-se o ensaio colorimétrico baseado na formação do complexo indofenol, cuja coloração azul indica a liberação de amônia no meio reacional. Esse processo reflete o mecanismo fundamental da urease, que hidrolisa a ureia em amônia e dióxido de carbono, promovendo a alcalinização do ambiente pela formação de carbonato de amônio. Em sistemas biológicos, como no trato gastrointestinal infectado por *Helicobacter pylori*, esse aumento local de pH constitui um fator de virulência essencial, pois neutraliza a acidez gástrica e favorece a colonização bacteriana. Assim, o monitoramento da formação de indofenol no ensaio colorimétrico permite avaliar diretamente a atividade da urease e, consequentemente, o potencial inibitório das moléculas capazes de bloquear essa reação enzimática.

A urease comercial (*Sigma-Aldrich, Jack Bean*, tipo III, CAS 9002-13-5) foi empregada nos ensaios. Os experimentos foram conduzidos em placas de 96 poços, em triplicata, e os dados apresentados referem-se à média das três réplicas (desvios-padrão apresentados na **Tabela 9**). A porcentagem de inibição enzimática (% IE) foi calculada em relação ao controle positivo (enzima mais substrato sem inibidor) conforme equação habitual. A reação permaneceu em repouso por 15 minutos e, então, fez-se a leitura da absorbância da mistura reacional, registrada a 630 nm, com um leitor de microplacas UV-visível marca *Loccus* modelo LMR-96i (**Equação 1**).

A porcentagem de inibição (% IE) foi determinada pela equação:

$$\% IE = 100 - \left( \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \times 100 \right) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde  $Abs_{amostra}$  é a absorbância observada para as amostras, e  $Abs_{controle}$  é a absorbância observada para o controle positivo. O padrão de inibidor utilizado foi a tiourea (2,00 mM).

Os resultados preliminares de inibição enzimática (**Tabela 9**) indicam variações substanciais na capacidade inibitória dos compostos testados. Os derivados **17k** ( $R_1 = F$ ) e **17l** ( $R_3 = F$ ) destacaram-se com as maiores porcentagens de inibição, 97,5 % e 88,3 %, respectivamente. Em contraste, o composto **17n** ( $R_3 = Ph$ ) não apresentou atividade inibitória significativa, exibindo inclusive valor negativo no ensaio.

De uma forma geral, observa-se que os estudos de *docking* foram capazes de prever de maneira correta o potencial dos derivados isoxazólicos em inibir a atividade da urease.

Ao correlacionarmos os resultados do teste de inibição com os *Scores* do *docking* (**Tabela 9**), observa-se que alguns compostos com valores de energia mais favoráveis (mais negativos) também apresentaram elevada inibição enzimática, como o **17i**, que mostrou 80,4 % de inibição e *Score* de -8,209 kcal/mol. Entretanto, casos como a entrada **17n**, que apresentou o *Score* mais favorável dentre todos os derivados, mas nenhuma inibição observável, evidenciam que a correlação não é tão direta. Vale lembrar que os estudos de docagem molecular baseiam-se em modelos, que por definição são aproximados, logo terão limitações.

Nesse contexto, em trabalhos futuros, pretende-se reavaliar as ferramentas de modelagem molecular adotadas, testando diferentes sítios e orientações de ligação da proteína-alvo, bem como o uso de outros *softwares* e protocolos de *docking* que possam

fornecer predições mais robustas e condizentes com os resultados experimentais.

**Tabela 9** - Porcentagem de inibição (%) da urease de *Canavalia ensiformis* em compostos da série **17** (ponto de teste: 2,00 mM).

Entrada	Inibição (%)	Score (docking) <sup>1</sup> (kcal/mol)
<b>17f</b> (R <sub>1</sub> = NO <sub>2</sub> )	51,52	-7,684
<b>17g</b> (R <sub>3</sub> = I)	64,67	-8,115
<b>17h</b> (R <sub>3</sub> = Cl)	66,99	-8,411
<b>17i</b> (R <sub>1</sub> = Br)	80,41	-8,209
<b>17j</b> (R <sub>3</sub> = Br)	70,57	-8,091
<b>17k</b> (R <sub>1</sub> = F)	97,50	-7,828
<b>17l</b> (R <sub>3</sub> = F)	88,28	-7,859
<b>17m</b> (R <sub>3</sub> = CF <sub>3</sub> )	42,49	-7,773
<b>17n</b> (R <sub>3</sub> = Ph)	-4,29	-8,641

<sup>1</sup>Amaral (2025), sessão 4.1.2.

Em síntese, os resultados apontam claramente para **17i**, **17k** e **17l** como candidatos com elevada atividade inibitória frente à urease de *Canavalia ensiformis* e promissores hits para o desenvolvimento de fármacos que possam atuar nesse alvo. A correlação parcial observada entre os percentuais de inibição e os Scores de docking reforça a importância da revalidação experimental dos resultados *in silico* e aponta para investigações adicionais como estudos de solubilidade/estabilidade, ensaios de dose-resposta, verificação de reversibilidade/cinética de inibição como passos necessários para a seleção final de candidatos.

## 7 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram sintetizados 14 derivados isoxazólicos 3,5-dissubstituídos, dos quais 13 representam novas estruturas químicas nunca antes descritas na literatura, reforçando o caráter inédito e a originalidade da pesquisa. As rotas sintéticas empregadas mostraram-se eficientes e versáteis, permitindo a construção de uma biblioteca molecular baseada no anel isoxazol, cujas estruturas foram confirmadas por análises espectroscópicas de RMN, IV e HRMS, assegurando a identidade e pureza dos compostos obtidos.

Os estudos de inibição enzimática realizados frente à urease de *Canavalia ensiformis* (JBU) revelaram que parte dos derivados apresentou atividade promissora, destacando-se especialmente os compostos **17k** ( $R_1 = F$ ), **17l** ( $R_3 = F$ ) e **17i** ( $R_1 = Br$ ) que exibiram os maiores percentuais de inibição. Embora alguns compostos com *Scores* de *docking* mais favoráveis também tenham mostrado resposta biológica promissora, outros não apresentaram correlação direta entre predição e atividade experimental, indicando a necessidade de aprimorar os modelos computacionais utilizados. Assim, os testes *in vitro* confirmaram o potencial da série isoxazólica como ponto de partida para o desenvolvimento de novos inibidores de urease, ainda que ajustes estruturais sejam necessários para melhorar sua eficácia.

Do ponto de vista aplicado, os resultados obtidos reforçam a relevância da urease como alvo estratégico, tanto no combate a infecções relacionadas a *Helicobacter pylori* e outros patógenos urease-positivos, quanto na agricultura, visando reduzir as perdas de nitrogênio associadas à hidrólise da ureia em solos fertilizados. Assim, os compostos isoxazólicos sintetizados neste estudo representam, portanto, moléculas candidatas iniciais que, embora ainda demandem otimização, contribuem para o avanço do conhecimento sobre o potencial farmacológico e agroquímico de derivados isoxazólicos como inibidores de urease.

Em síntese, a presente dissertação integra abordagens sintéticas, espectroscópicas e computacionais para investigar novas moléculas com potencial de aplicação em química medicinal e agrícola. Os resultados alcançados destacam a importância de estratégias multidisciplinares na busca por inibidores mais seletivos, estáveis e eficazes, consolidando a contribuição deste trabalho para o desenvolvimento de compostos bioativos baseados em sistemas isoxazólicos.

## 8 PERSPECTIVAS

Embora os resultados obtidos neste trabalho tenham demonstrado o potencial de derivados isoxazólicos como inibidores de urease, várias direções podem ser exploradas em estudos futuros, de modo a aprofundar e ampliar as contribuições aqui apresentadas.

Em primeiro lugar, a expansão da biblioteca molecular, com a introdução de diferentes grupos substituintes no núcleo isoxazólico, e a posição da metoxila no anel aromático pode fornecer informações adicionais sobre a relação proteína-ligante, permitindo a identificação de padrões eletrônicos e estéricos que favoreçam a inibição. Estratégias de *design* racional, apoiadas por modelagem molecular pode ser aplicada para refinar o planejamento de novos derivados.

Além disso, a avaliação experimental dos compostos em sistemas biológicos mais complexos representa um passo fundamental. Ensaio *in vitro* utilizando cepas bacterianas produtoras de urease, como *Helicobacter pylori* e *Proteus mirabilis*, permitirão validar a atividade observada contra a urease vegetal, ampliando a relevância clínica dos resultados. De forma complementar, testes em condições simuladas de solo e fertilização poderiam elucidar a aplicabilidade agrícola dos derivados, verificando seu impacto na eficiência do uso da ureia e na redução da volatilização de amônia.

Outra perspectiva importante reside na avaliação de parâmetros de toxicidade, seletividade e estabilidade química, de modo a garantir que futuros candidatos a fármacos apresentem não apenas potência enzimática, mas também perfil de segurança compatível com aplicações clínicas ou ambientais. Nesse contexto, métodos de predição *in silico* associados a ensaios preliminares *in vitro* podem contribuir para a triagem inicial de compostos promissores.

Por fim, a integração de abordagens multidisciplinares envolvendo síntese orgânica, caracterização espectroscópica, estudos enzimáticos, modelagem computacional e ensaios biológicos deverá orientar a otimização dos derivados isoxazólicos e aproximar sua aplicação prática, tanto em agentes terapêuticos quanto em aditivos agroquímicos.

## 9 REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.; ALI, B.; KANWAL; KHAN, K. M.; IQBAL, J.; RAHMAN, S. U. R.; ZAIB, S.; PERVEEN, S.; **Synthesis and in vitro urease inhibitory activity of benzohydrazide derivatives, in silico and kinetic studies.** *Bioorg Chem.* **2019**, v. 82, p. 163-177.
- AHMED, M.; QADIR, M. A.; HAMEED, A.; ARSHAD, M. N.; ASIRI, A. M.; MUDDASSAR, M.; **Azomethines, isoxazole, N-substituted pyrazoles and pyrimidine containing curcumin derivatives: Urease inhibition and molecular modeling studies.** *Biochem Biophys Res Commun.* **2017**, v. 490, n. 2, p. 434-440.
- AMARAL, E. M.; **Modelagem molecular de inibidores de urease.** *Dissertação (Mestrado em Ciências – Química).* **2025**, PGQu, IQ, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- BABAEI, D.; MOGHADAM, E. S.; NAVIDPOUR, L.; AMINI, M.; **The Most Up-to-Date Advancements in the Design and Development of Urease Inhibitors** (January 2020–March 2024). *J. Agric. Food Chem.* **2025**, v. 73, n. 7, p. 3795–3815.
- BATALHA, P. N.; SAGRILLO, F. S.; GAMA, I. L.; **Acoplamento Cruzado C-C: Novas Metodologias, Aplicações e Descobertas ao Longo dos Últimos Anos.** *Rev. Virtual Quim.* **2014**, v. 6, n. 2, p. 494-550.
- BELETSKAYA, I. P.; CHEPRAKOV, A. V.; **The Heck Reaction as a Sharpening Stone of Palladium Catalysis.** *American Chemical Society.* **2000**, v. 100, p. 3009–3066.
- BRITO, T. O.; SOUZA, A. X.; MOTA, Y. C. C.; MORAIS, V. S. S.; SOUZA, L. T.; FÁTIMA, A.; JUNIOR, M. F.; MODOLO, L. V.; **Design, syntheses and evaluation of benzoylthioureas as urease inhibitors of agricultural interest.** *RSC Advances.* **2015**, v. 5 n. 55, p. 44507–44515.
- CANHOTO, A. R.; **Novos antibióticos para bactérias patogénicas multirresistentes: O caso da bactéria *Helicobacter pylori*.** *Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas).* **2021**. UAlg, FCT, Algavre, Portugal.
- CARLONI, L. E.; MOHNANI, S.; BONIFAZI, D.; **Synthesis of 3,5-Disubstituted Isoxazoles through a 1,3-Dipolar Cycloaddition Reaction between Alkynes and Nitrile Oxides Generated from *O*-Silylated Hydroxamic Acids.** *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, v. 44, p.

7322-7334.

FENG, Q.; CHEN, D.; HONG, M.; WANG, F.; HUANG, S.; **Phenyl iodine(III) Bis(trifluoroacetate) (PIFA)-Mediated Synthesis of Aryl Sulfides in Water**. *J. Org. Chem.* **2018**, v. 83, p. 7553–7558.

FIRESTONE, R. A.; **Theory of 1,3-Dipolar Cycloadditions**. *Journal of Organic Chemistry*. **1968**, v. 33 n. 6, p. 2285–2290.

FLEMING, I.; **Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions**. Chichester: John Wiley & Sons, **2009**.

FRYE, S. V.; CROSBY, M. D.; EDWARDS, T. P.; JULIANO, R. L.; **Academic Drug Discovery in the US: A Survey and Analysis**. *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2011**, v. 10, n. 6, p. 409-410.

FUKUI, K.; **Role of frontier orbitals in chemical reactions**. *Science*. **1982**, v. 218 n. 4574, p. 747–754.

GAIKWAD, M. V.; **Regioselective one-pot transformation of 2'-hydroxy chalcones to 3,5-diphenylisoxazole via dehydrogenation of dihydroisoxazolines using copper salt in DMF**. *Journal of Applied Organometallic Chemistry*. **2021**, v. 1, n. 2, p. 59-65.

GONÇALVES, R. S. B.; SANTOS, M.; BERNADAT, G.; BONNET-DELPON, D.; CROUSSE, B.; **A one-pot synthesis of 3-trifluoromethyl-2-isoxazolines from trifluoromethyl aldoxime**. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, v. 9, p. 2387-2394.

GRANATO, A. S.; CARVALHO, G. S. G.; FONSECA, C. G.; ADRIO, J.; LEITÃO, A. A.; AMARANTE, G. W.; **On the mixed oxides-supported niobium catalyst towards enzyamine oxidation**. *Catalysis Today*. **2021**. v. 381, p. 118-125.

GRECIAN, S.; FOKIN, V. V.; **Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Nitrile Oxides and Alkynes: Practical Synthesis of Isoxazoles**. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, v. 47, p.8285 –8287.

GUEDES, I.A.; BARRETO, A.M.S.; MARINHO, D.; KREMPSE, E.; KUENEMANN, M. A.; SPERANDIO, O.; DARDENNE, L. E.; **New machine learning and physics-based scoring functions for drug discovery**. *Scientific Reports*. **2021**, v. 11, n. 1, p. 3198.

HAUSER, C. R.; HOFFENBERG, D. S.; **Syn-Anti Isomerism of *p*-Chlorobenzaldoxime**



**with Boron Fluoride.** *Contribution from the Department of Chemistry, Duke University.* **1955**, v. 20, p. 1491-1495.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V.; **Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles.** DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, v. 127, n. 1, p. 210–216.

HOOI, J. K.Y.; LAI, W. Y.; NG, W. K.; SUEN, M. M. Y.; UNDERWOOD, F. E.; TANYINGOH, D.; MALFERTHEINER, P.; GRAHAM, D. Y.; WONG, V. W. S.; WU, J. C. Y.; CHAN, F. K. L.; SUNG, J. J. Y.; KAPLAN, G. G.; NG, S. C.; **Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis.** *Gastroenterology.* **2017**, v. 153, n. 2, p. 420-429.

HUANG, P.; FU, X.; LIANG, Y.; ZHANG, R.; DONG, D.; **Divergent synthesis of benzo [d] thiazoles by PIFA-mediated cyclization of  $\beta$ -oxo thioamides.** *Australian Journal of Chemistry.* **2012**, v. 65, p. 121-128.

JABRI, E.; CARR, M. B.; HAUSINGER, R. P.; KARPLUS, P. A.; **The crystal structure of urease from *Klebsiella aerogenes*.** *Science.* **1995**, v. 268, n. 5213, p. 998–1004.

JARMILA, P.; VERONIKA, M.; PETER, M.; **Advances in the delivery of anticancer drugs by nanoparticles and chitosan-based nanoparticles.** *Int. J. Pharm. X.* **2024**, v. 8.

JAWALEKAR, A. M.; REUBSAET, E.; RUTJES, F. P. J.; VAN DELFT, F. L.; **Synthesis of isoxazoles by hypervalent iodine-induced cycloaddition of nitrile oxides to alkynes.** *Chem. Commun.* **2011**, v. 47, p. 3198-3200.

JENCKS, W. P.; **Studies on the Mechanism of Oxime and Semicarbazone Formation.** *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, v. 81, p. 475-481.

JIANG, X.; XU, X.; LIN, Y.; YAN, Y.; LI, P.; BAI, R.; XIE, Y.; **A mild system for synthesis of aldoximes and ketoximes in the presence of *N*-hydroxyphthalimide in aqueous system.** *Tetrahedron.* **2018**, v. 74, n. 40, p. 5879-5885.

KATELARIS, P.; HUNT, R.; BAZZOLI, F.; COHEN, H.; FOCK, K. M.; GEMILYAN, M.; MALFERTHEINER, P.; MÉGRAUD, F.; PISCOYA, A.; QUACH, D.; VAKIL, N.; COELHO, L. G. V.; LEMAIR, A.; **Diretrizes mundiais da *Organización Mundial de***

**Gastroenterologia.** *World Gastroenterology Organisation.* **2021.**

KISS, L.; NONN, M.; FÜLÖP, F.; **Syntheses of Isoxazoline-Based Amino Acids by Cycloaddition of Nitrile Oxides and Their Conversion into Highly Functionalized Bioactive Amino Acid Derivatives.** *Synthesis.* **2012**, v. 44, p. 1951–1963.

KUNKALIENKAR, S.; GANDHI, N. S.; GUPTA, A.; SAHA, M.; PAI, A.; SHETTY, S.; GUPTA, A.; DHAS, N.; HARIHARAPURA, R. C.; NANDAKUMAR, K.; NARASIMHASWAMY, N.; MOORKOTH, S.; **Targeting Urease: A Promising Adjuvant Strategy for Effective *Helicobacter pylori* Eradication.** **2025**, v. 10, n. 27, p. 28643–28669.

LI, B.; YUAN, J.; YE, X.; ZHANG, R.; LI, J.; WANG, Y.; HU, J.; DONG, D.; **PIFA-Mediated Tandem Hofmann-Type Rearrangement and Cyclization Reaction of  $\alpha$ -Acyl- $\beta$ -aminoacrylamides: Access to Polysubstituted Oxazol-2(3H)-ones.** *J. Org. Chem.* **2021**, v. 86, n. 24, p. 17944–17954.

LU, J.; CELUSZAK, H.; PACI, I.; LEITCH, D. C.; **Quantitative Reactivity Models for Oxidative Addition to  $L_2Pd(0)$ : Additional Substrate Classes, Solvents, and Mechanistic Insights.** *Chem. Eur. J.* **2024**, v. 30.

MARYANOFF, B. E.; WIPF, P.; **Medicinal Chemistry: From Targets to Therapies.** *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, v. 10, p. 1014–1014.

MAZZEI, L.; CIANCI, M.; BENINI, S.; CIURLI, S.; **The Structure of the Elusive Urease-Urea Complex Unveils the Mechanism of a Paradigmatic Nickel-Dependent Enzyme.** *Angew Chem Int Ed Engl.* **2019**, v. 58, n. 22, p. 7415–7419.

MAZZEI, L.; MUSIANI, F.; CIURLI, S.; **The structure-based reaction mechanism of urease, a nickel dependent enzyme: tale of a long debate.** *Journal of Biological Inorganic Chemistry.* **2020**, v. 25, n. 6, p. 829–845.

MOBLEY, H. L.; HAUSINGER, R. P.; **Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization.** *Microbiological Reviews.* **1989**, v. 53, n. 1, p. 85–108.

MOBLEY, H. L.; ISLAND, M. D.; HAUSINGER, R. P.; **Molecular biology of microbial ureases.** *Microbiological Reviews.* **1995**, v. 59, n.3, p. 451–480.

OLIVEIRA, L. N.; **Docagem de Chalconas na enoil-ACP redutase do *Mycobacterium***

*tuberculosis*, **Síntese e Avaliação Biológica**. *Dissertação (Mestrado em Ciências – Química)*. 2020, PGQu, IQ, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

PADWA, A.; PEARSON, W. H.; **Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry Toward Heterocycles and Natural Products**. *Wiley: New York, Chichester*. 2002.

PANDEY, S.; NAGPAL, R.; THAKUR, A.; BARI, S.S.; NANDA, P.K.; THAPAR, R.; **Synthesis of novel isoxazole/dihydroisoxazole tethered  $\beta$ -lactam hybrids via regiospecific 1,3-dipolar cycloaddition methodology on 3-phenylthio- $\beta$ -lactams**. *Journal of Sulfur Chemistry*. 2024, v. 45, n. 6, p. 950–971.

PARK, C.; HA, M. W.; KIM, B.; HONG, S.; KIM, D.; PARK, Y.; KIM, M.; LEE, J. K.; LEE, J.; PARK, H.; **Enantioselective  $\alpha$ -Alkylation of Benzyldieneamino *tert*-Butyl Malonates by Phase-Transfer Catalysis**. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2015, v. 357, n. 13, p. 2841-2848.

PONTES, F. V. M.; MONTEIRO, M. I. C.; SILVA, L. I. D.; CARNEIRO, M. C.; **Método do indofenol para determinação de nitrogênio em amostras de solo**. *Jornada de Iniciação Científica*. 2004, v. 12, Rio de Janeiro: CETEM/MCT.

RANI, A.; KHAN, J.; ASLAM, M.; ALI A.; KAMTHAN M.; PANDEY G.; NAND, B.; **Design, synthesis, and biological evaluation of Schiff-Base Isoxazole hybrids: Exploring novel antimicrobial agents**. *Bioorganic Chemistry*. 2025, v. 159.

REGO, Y. F.; QUEIROZ, M. P.; BRITO, T. O.; CARVALHO, P. G.; QUEIROZ, V. T.; FÁTIMA, A.; JUNIOR, F. M.; **A review on the development of urease inhibitors as antimicrobial agents against pathogenic bacteria**. *Journal of Advanced Research*. 2018, v. 13, p. 69–100.

SANTIAGO-SILVA, K. M.; BORTOLETI, B. T. S.; OLIVEIRA, L. N.; MAIA, F. L. A.; CASTRO, J. C.; COSTA, I. C.; LAZARIN, D. B.; WARDELL, J. L.; WARDELL, S. M. S. V.; ALBUQUERQUE, M. G.; LIMA, C. H. S.; PAVANELLI, W. R.; BISPO, M. L. F. GONÇALVES, R. S. B.; **Antileishmanial Activity of 4,8-Dimethoxynaphthalenyl Chalcones on *Leishmania amazonensis***. *Antibiotics*. 2022, v. 11, n. 1402.

SMELA, M. P.; HOYE, T. R.; **A Traceless Tether Strategy for Achieving Formal**

**Intermolecular Hexadehydro-Diels–Alder Reactions.** *Org. Lett.* **2018**, v. 20, n. 17, p. 5502–5505.

SONG, W.; LIU, M.; LI, S.; XIAO, Z.; **Recent Efforts in the Discovery of Urease Inhibitor Identifications.** *Current Topics in Medicinal Chemistry.* **2022**, v. 22, n. 2, p. 95 – 107.

SUMNER, J. B.; **The isolation and crystallization of the enzyme urease.** *Journal of Biological Chemistry.* **1926**, v. 69, n. 2, p. 435–441.

SUSTMANN, R.; **A simple model for substituent effects in cycloaddition reactions. I. 1,3-dipolar cycloadditions.** *Tetrahedron Letter.* **1971**, v. 12, n. 29, p. 2717-2720.

TELLITU, I.; SERNA, S.; HERRERO, M. T.; MORENO, I.; DOMÍNGUEZ, E.; SANMARTIN, R.; **Intramolecular PIFA-mediated alkyne amidation and carboxylation reaction.** *J. Org. Chem.* **2007**, v. 72, p. 1526-1529.

XUE, Y.; WANG, S.; **Generation of Carbonyl Compounds from Oximes through Electrooxidative Deoximation.** *J. Org. Chem.* **2024**, v. 89, n. 6, p. 4199–4204.

ZHU, J.; YE, Y.; NING, M.; MÁNDI, A.; FENG, Y.; ZOU, Q.; KURTÁN, T.; LENG, Y.; SHEN, J.; **Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationships of 3,4,5-Trisubstituted 4,5-Dihydro-1,2,4-oxadiazoles as TGR5 Agonists.** *ChemMedChem.* **2013**, v. 8, p. 1210-1223.

WANG, E.; HUANG, K.; CHEN, H.; WU, C.; LIN, G.; **An Efficient Method for the Preparation of Nitriles via the Dehydration of Aldoximes with Phthalic Anhydride.** *Journal of the Chinese Chemical Society.* **2004**, v. 51, n. 3, p. 619-627.

WEATHERBURN, M. W.; **Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia.** *Analytical Chemistry.* **1967**, v. 39, n. 8, p. 971–974.

*World Health Organization.*; **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.** 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Acesso: 08 de setembro de 2025.

YANG, S.; WANG, Y.; XU, W.; TIAN, X.; BAO, M. YU, X.; **Visible-Light-Driven Iron-Catalyzed Decarboxylative C–N Coupling Reaction of Alkyl Carboxylic Acids with**

**NaNO<sub>2</sub>**. *Org. Lett.* **2023**, v. 25, n. 49, p. 8834–8838.

## ANEXO I

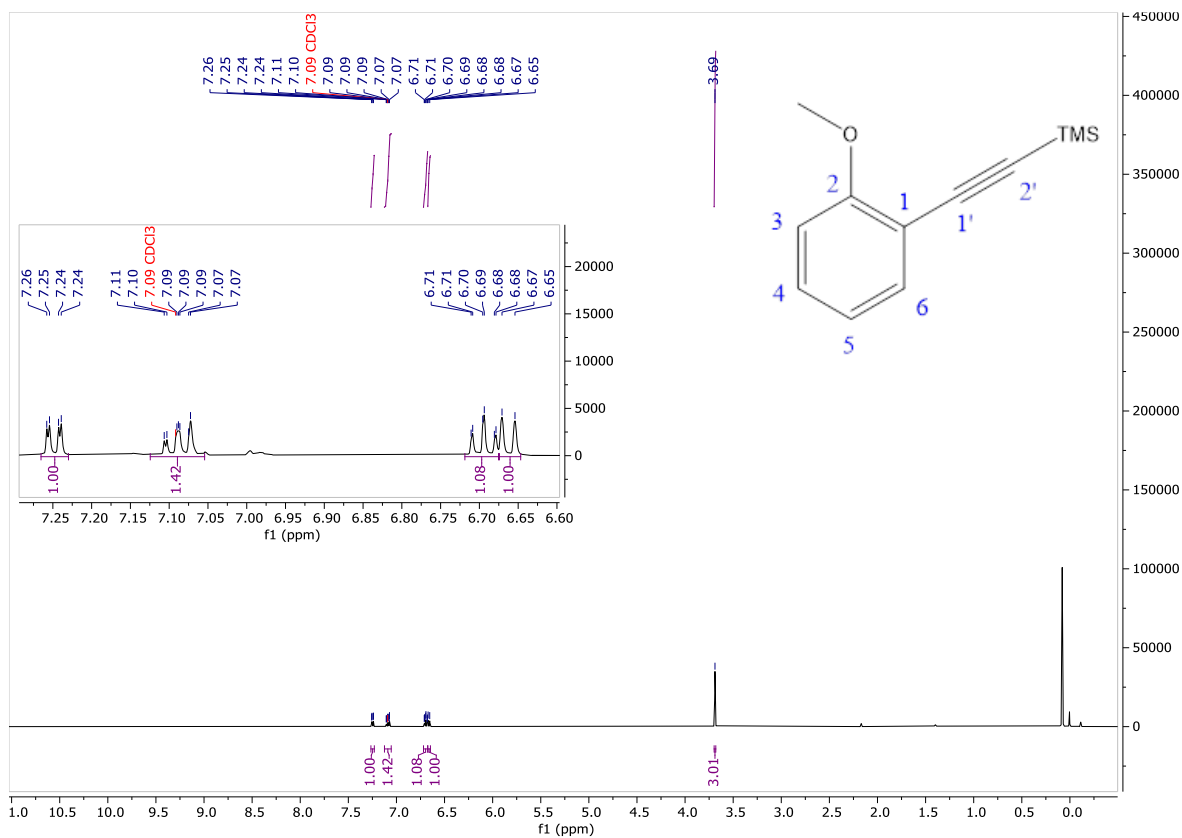
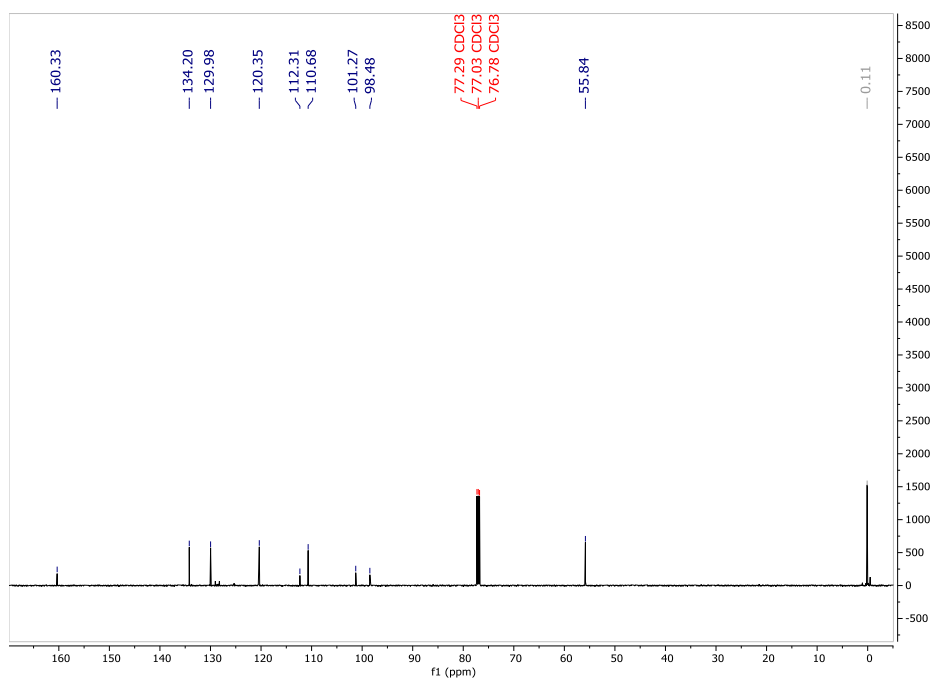
**Tabela A1** - Análise comparativa dos deslocamentos químicos de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , ppm) das oximas sintetizadas (**23a-m**) com os valores reportados na literatura.

Oximas Código	Caracterização RMN <sup>1</sup>	Caracterização RMN <sup>2</sup>	Referência
<b>23a</b> ( $\text{R}_2 = \text{OCH}_3$ )	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.90 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.30 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.14 (td, $J = 7.7$ , 2.4 Hz, 1H), 6.95 (ddd, $J = 8.3$ , 2.6, 1.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) $\delta$ 8.72 (brs, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.32- 7.28 (m, 1H), 7.17-7.12 (m, 2H), 6.97-6.94 (m, 1H), 3.83 (s, 3H);	Yang <i>et al.</i> , 2023.
<b>23b</b> ( $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ )	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.51 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.28 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 2.38 (s, 3H).	$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.80 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.31 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 2.30 (s, 3H)	Granato <i>et al.</i> , 2021.
<b>23c</b> ( $\text{R}_3 = \text{CH}_3$ )	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.55 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.48 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 2.37 (s, 3H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) $\delta$ 9.00 (brs, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 2.38 (s, 3H);	Yang <i>et al.</i> , 2023.
<b>23d</b> ( $\text{R}_1 = \text{OH}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 10.15 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.30 (ddd, $J = 8.5$ , 7.4, 1.7 Hz, 1H), 7.19 (dd, $J = 7.7$ , 1.7 Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.94 (td, $J = 7.0$ , 1.1 Hz, 1H)	$^1\text{H}$ NMR (300 MHz, DMSO) $\delta$ 10.73 (brs, 2H), 8.33 (s, 1H), 7.47 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.85 (m, 2H);	Zhu <i>et al.</i> , 2013.
<b>23e</b> ( $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.21 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ 11.84 (br, 1H), 8.30 (s, 1H), 8.25 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H).	Jiang <i>et al.</i> , 2018.
<b>23f</b> ( $\text{R}_1 = \text{NO}_2$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.68 (s, 1H), 8.06 (dd, $J = 8.2$ , 1.2 Hz, 1H), 7.92 (dd, $J = 7.8$ , 1.4 Hz, 1H), 7.64 (t, $J = 7.6$ , 1H), 7.55 (td, $J = 7.2$ , 1.3 Hz, 1H)	$^1\text{H}$ -NMR (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) d 7.47 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.54 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.91 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 7.92 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H, ArH), 8.56 (s, 1H, ArCH=N-OH), 10.52 (br s, 1H, OH)	Wang <i>et al.</i> , 2004.
<b>23g</b> ( $\text{R}_3 = \text{I}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.07 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ -NMR (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 7.99 (s, 1H), 7.85~7.82 (m, 1H), 7.65 (dt, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 2H), 7.23 (dt, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz, 2H) ppm	Park <i>et al.</i> , 2015.

<b>23h</b> ( $R_3 = \text{Cl}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.11 (s, 2H), 7.51 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) $\delta$ 8.12 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H);	Yang <i>et al.</i> , 2023.
<b>23i</b> ( $R_1 = \text{Br}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.54 (s, 1H), 7.81 (dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J = 8.1, 1.4$ Hz, 1H), 7.32 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.24 (td, 7.6, 1.8 Hz, 1H)	$^1\text{H}$ NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.53 (s, 1H), 7.82 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz, 1H), 7.58 (dd, $J_1 = 8.0$ Hz, $J_2 = 1.2$ Hz, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.26-7.21 (m, 1H) ppm.	Xue <i>et al.</i> , 2024.
<b>23j</b> ( $R_3 = \text{Br}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.10 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz) $\delta$ 8.28 (brs, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.45 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H)	Yang <i>et al.</i> , 2023.
<b>23k</b> ( $R_1 = \text{F}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.38 (s, 1H), 7.73 (td, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.37 (dddd, $J = 8.8, 7.3, 5.3, 1.8$ Hz, 1H), 7.16 (td, 7.5, 1.1 Hz, 1H), 7.10 (ddd, $J = 9.8, 8.3, 1.1$ Hz, 1H).	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 9.02 (br, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.76-7.72 (m, 1H), 7.41-7.37 (m, 1H), 7.18 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.14-7.10 (m, 1H).	Jiang <i>et al.</i> , 2018.
<b>23l</b> ( $R_3 = \text{F}$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.13 (s, 1H), 7.56 (dd, $J = 8.6, 5.5$ Hz, 2H), 7.09 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) $\delta$ 8.60 (brs, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.59- 7.55 (m, 2H), 7.11-7.06 (m, 2H);	Yang <i>et al.</i> , 2023.
<b>23m</b> ( $R_3 = \text{CF}_3$ )	$^1\text{H}$ NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ 8.19 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H).	$^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) $\delta$ 8.20 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H);	Yang <i>et al.</i> , 2023.

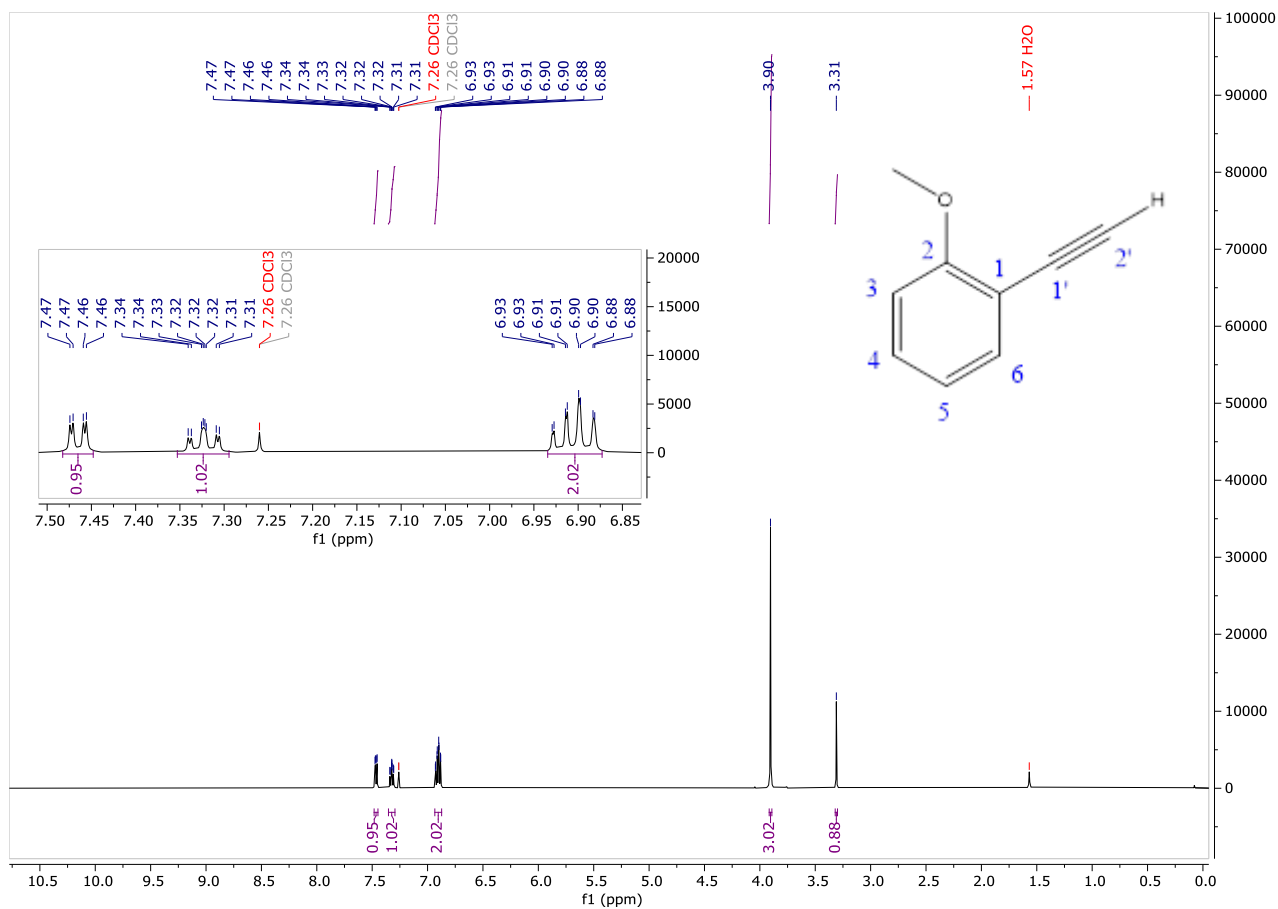
<sup>1</sup>Caracterização realizado pela autora. <sup>2</sup>Caracterização disponível na literatura.

## ANEXO II – ESPECTROS

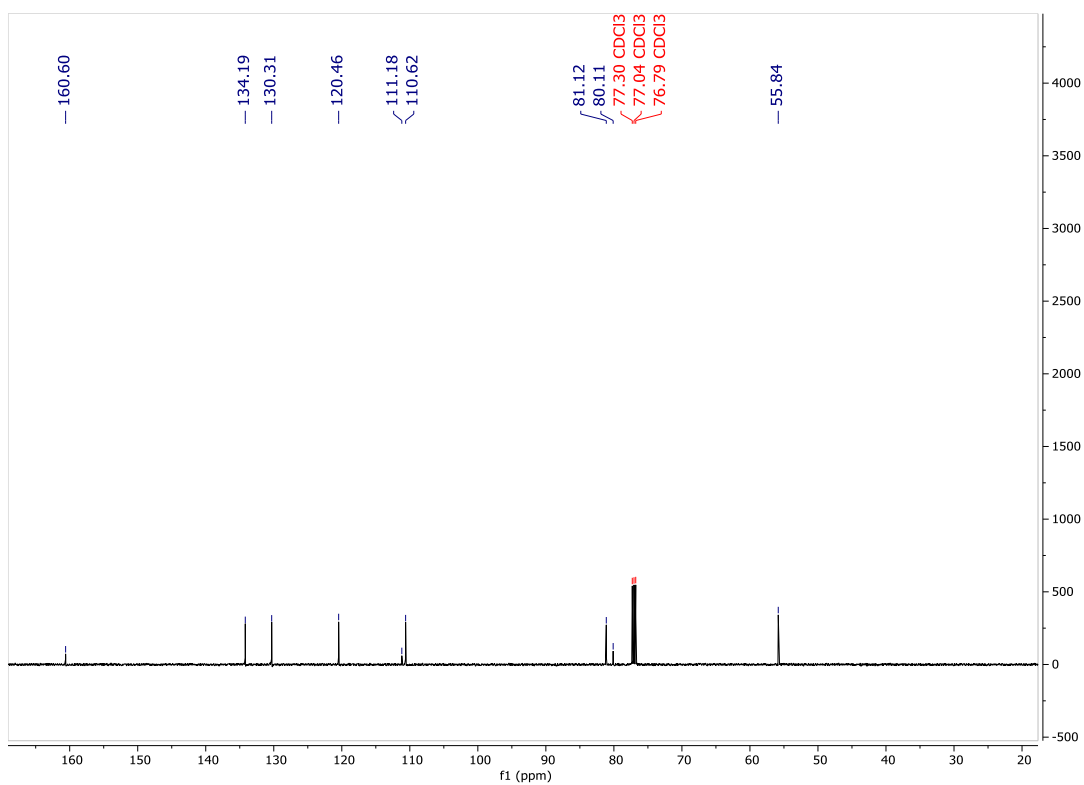
Figura A1 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (20). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).Figura A2 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (20). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



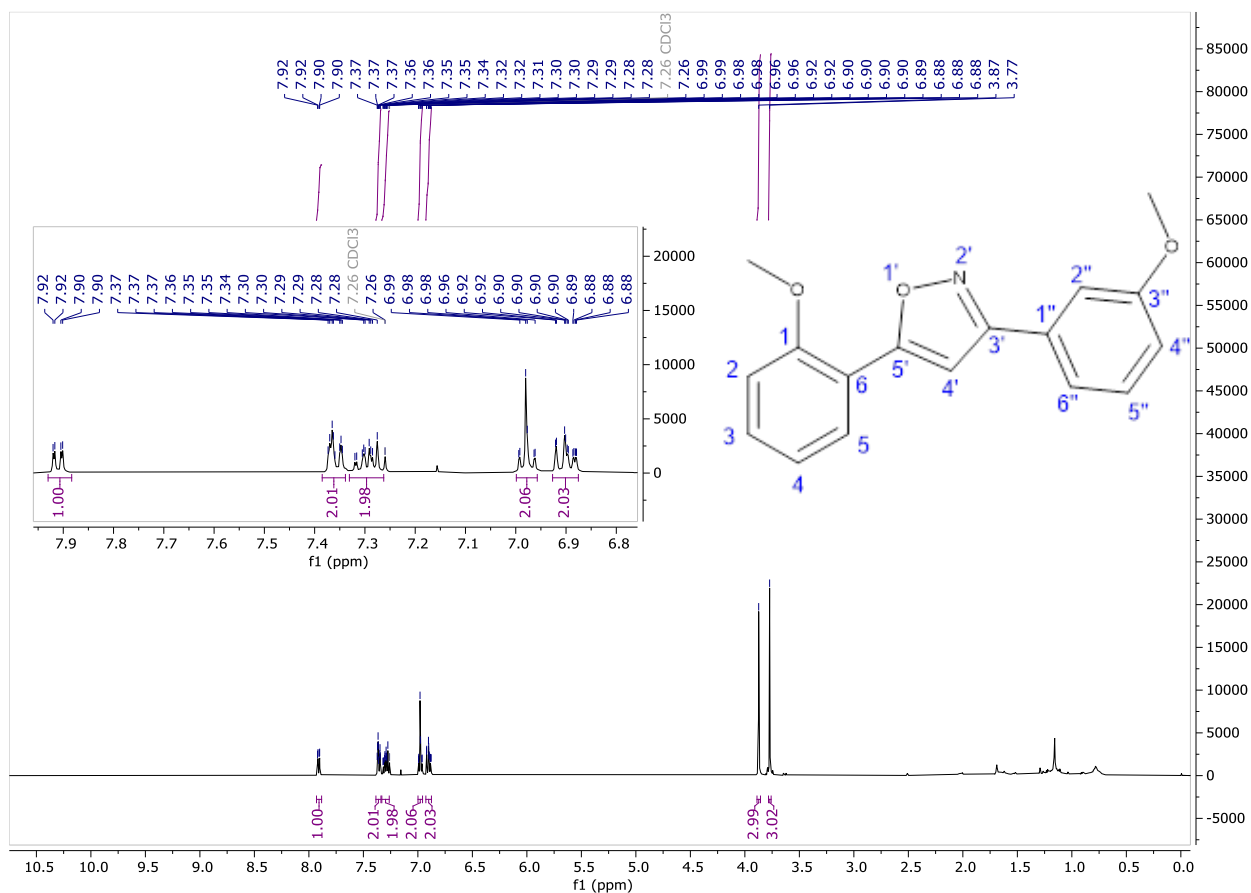
**Figura A3 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (21).** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



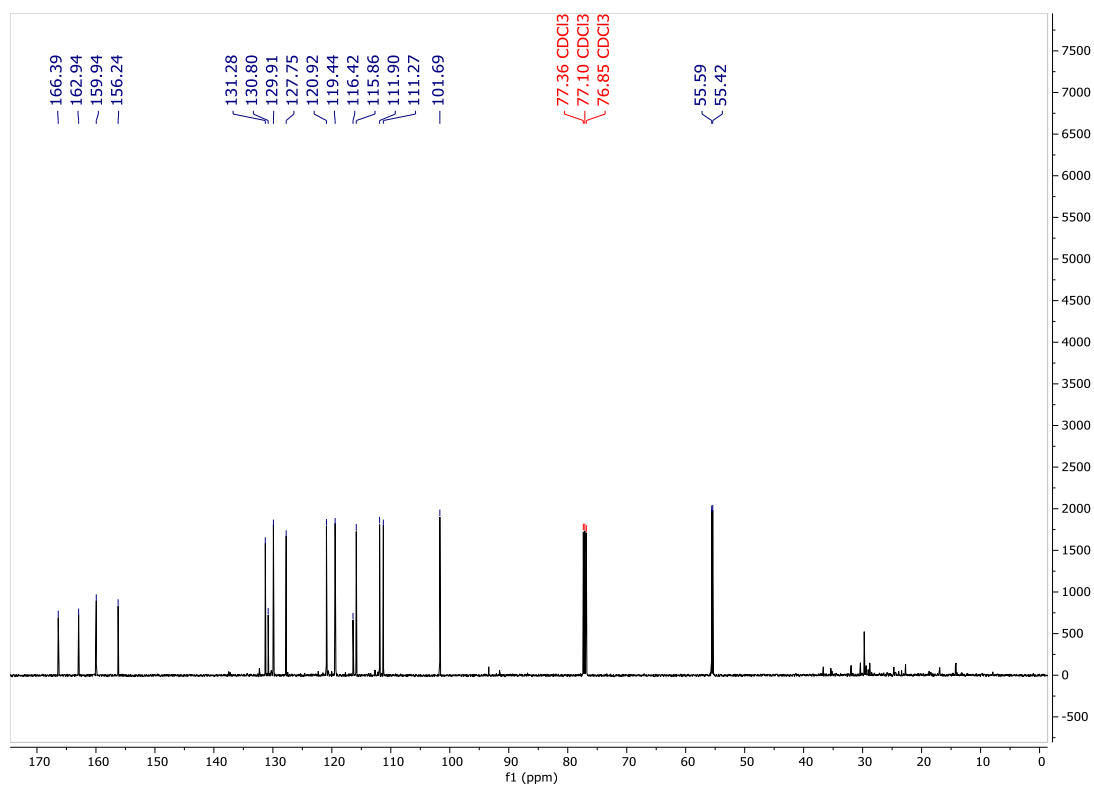
**Figura A4 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (21).** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



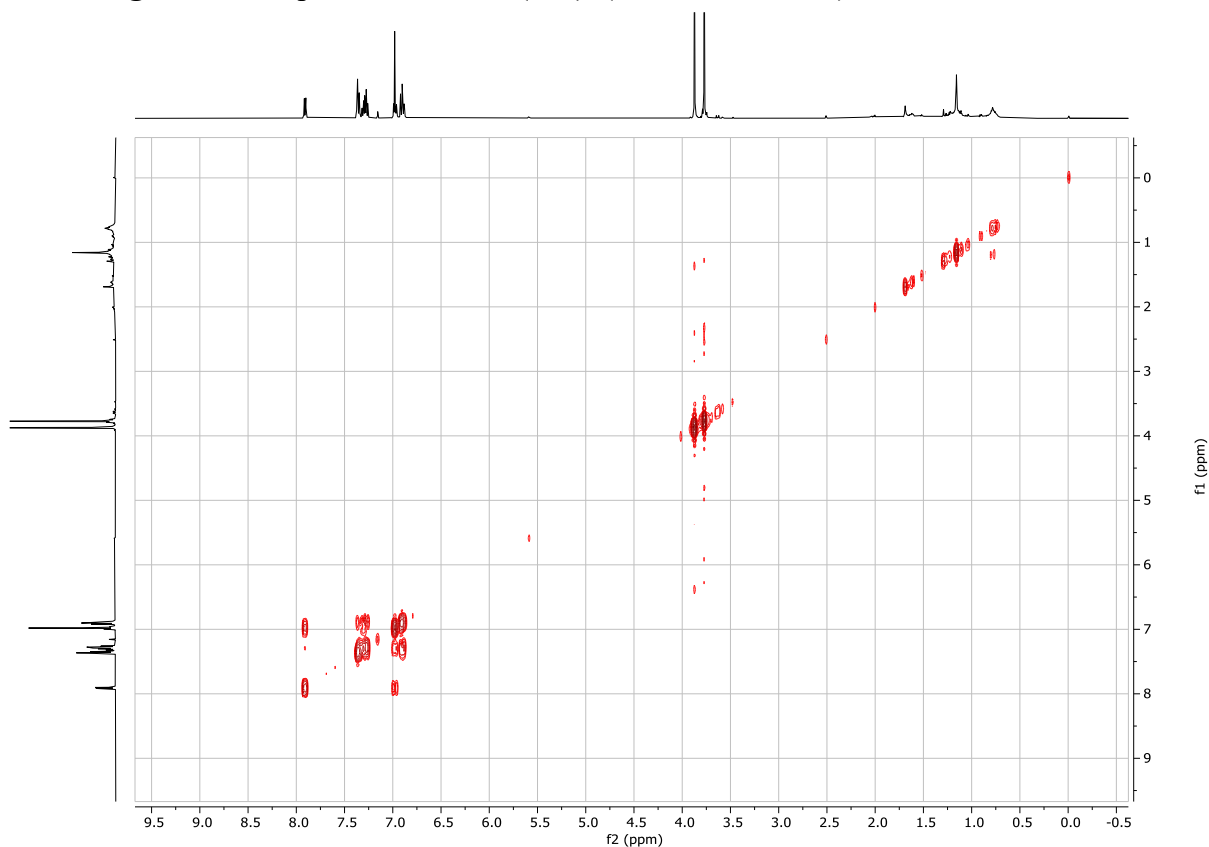
**Figura A5 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17a). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



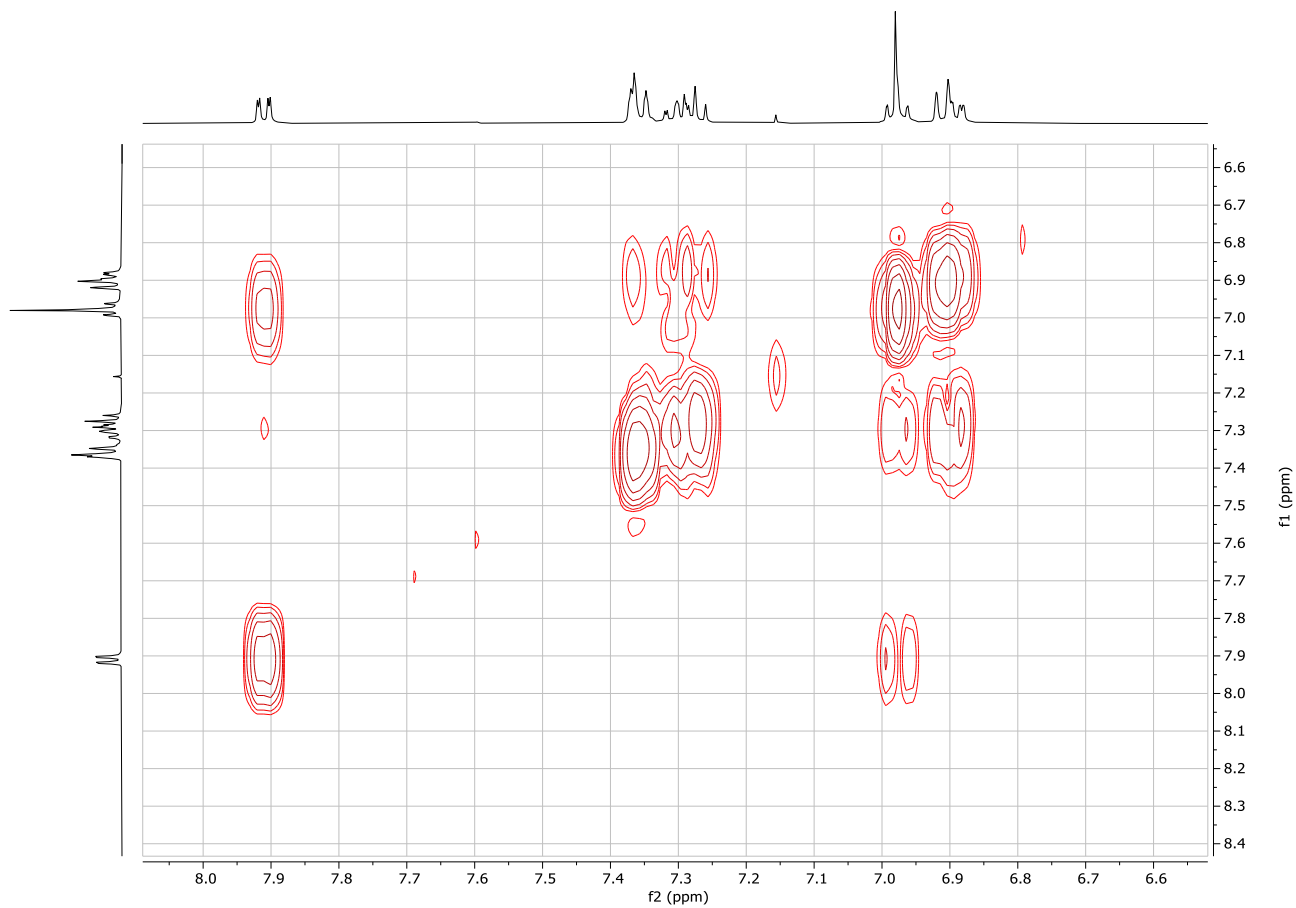
**Figura A6 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17a). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

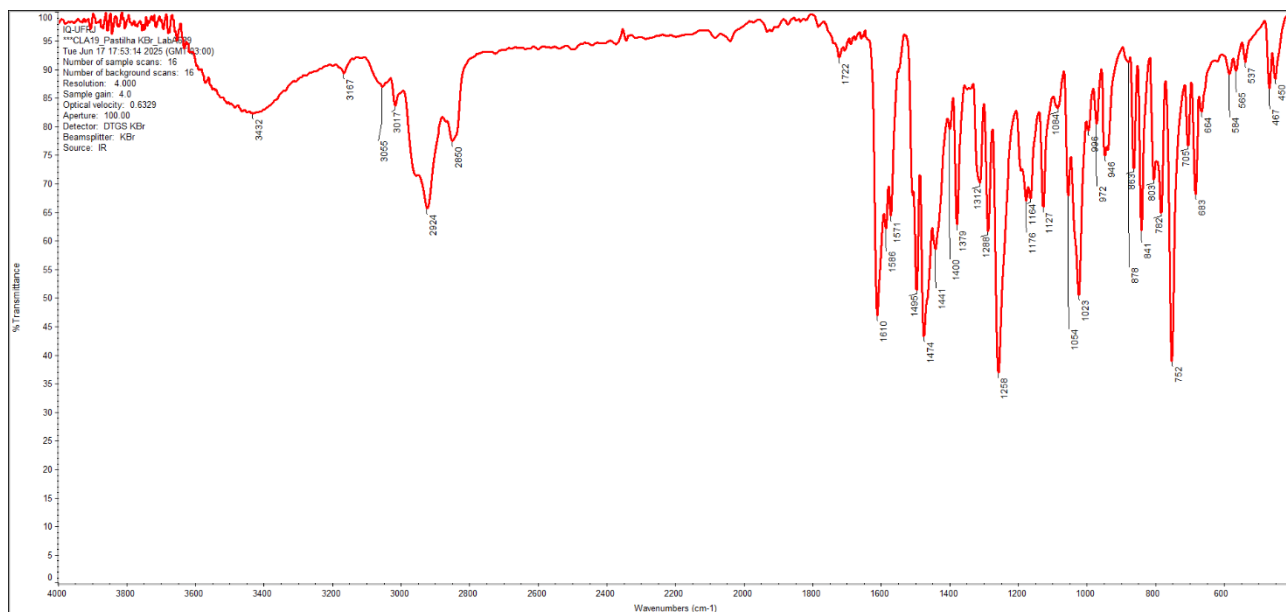
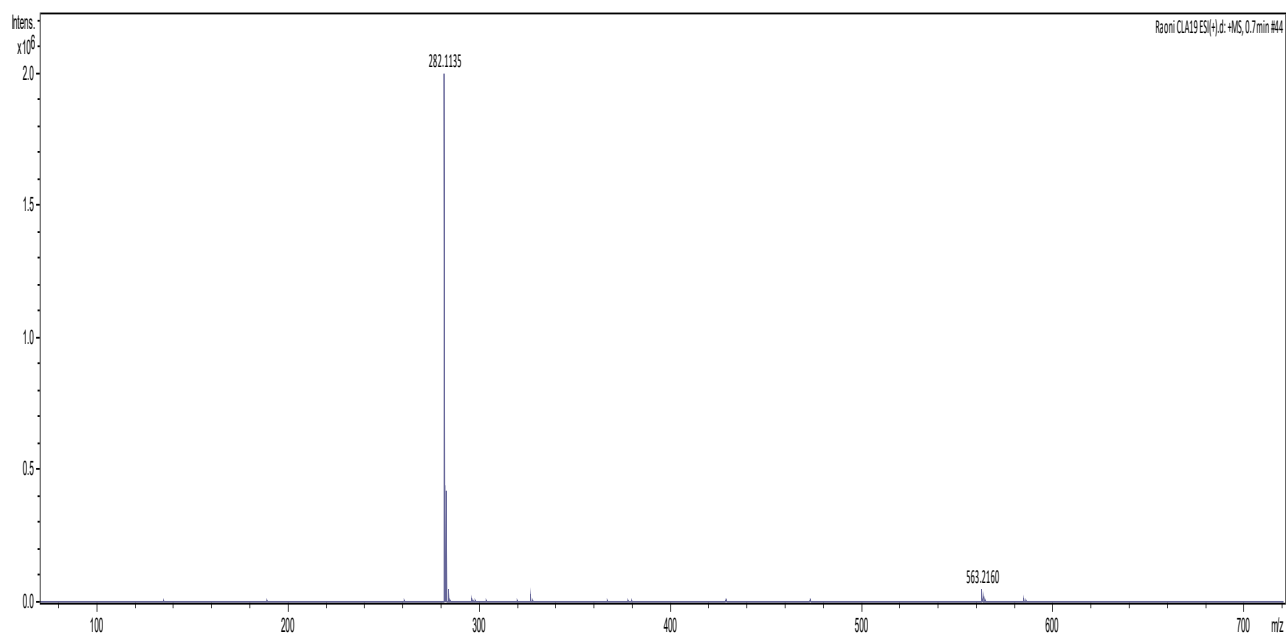


**Figura A7 - Espectro COSY de (17a).** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

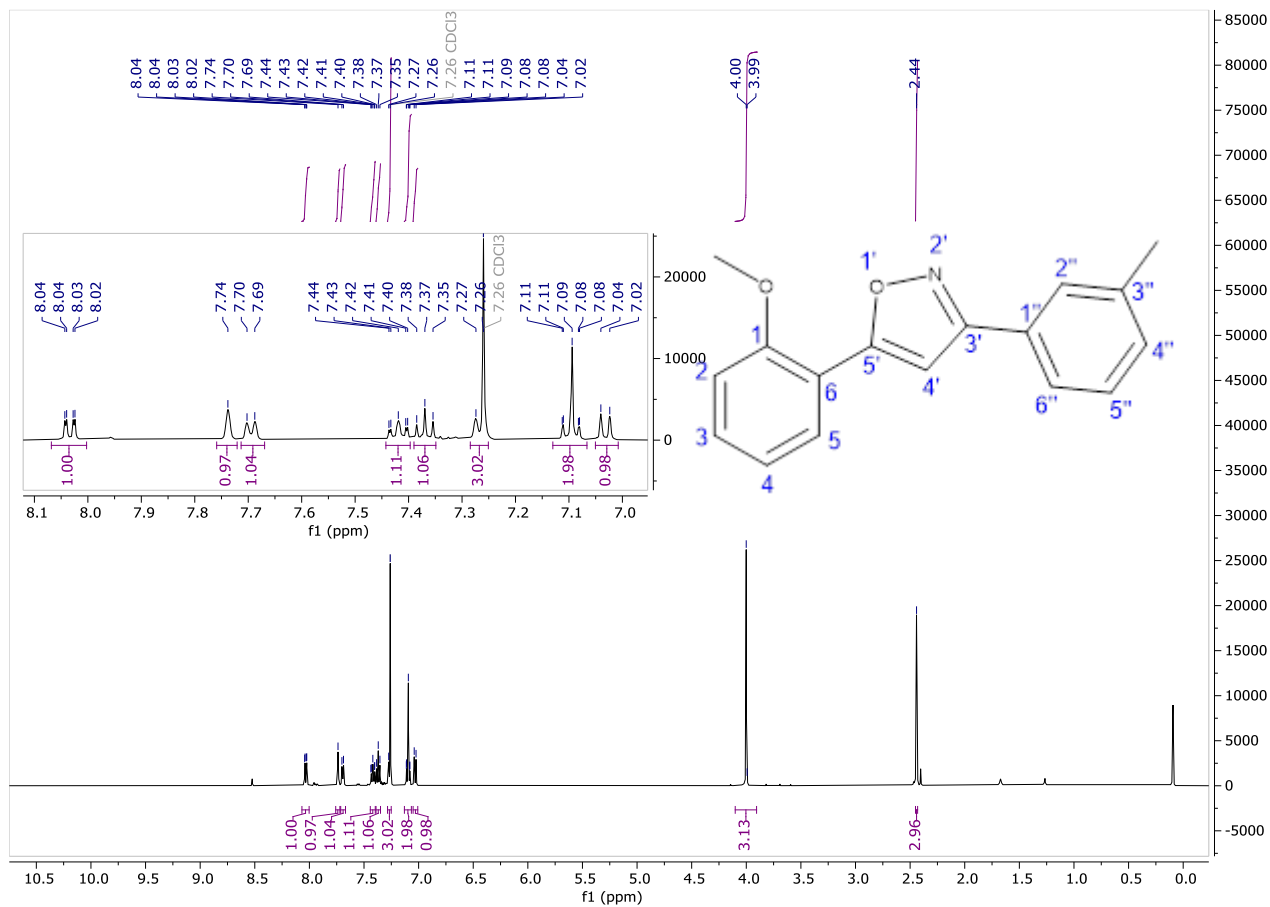


**Ampliação do Espectro COSY de (17a).** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura A8 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17a).****Figura A9 - Espectro de Massas do composto (17a).**

**Figura A10 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17b). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



**Figura A11 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17b). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

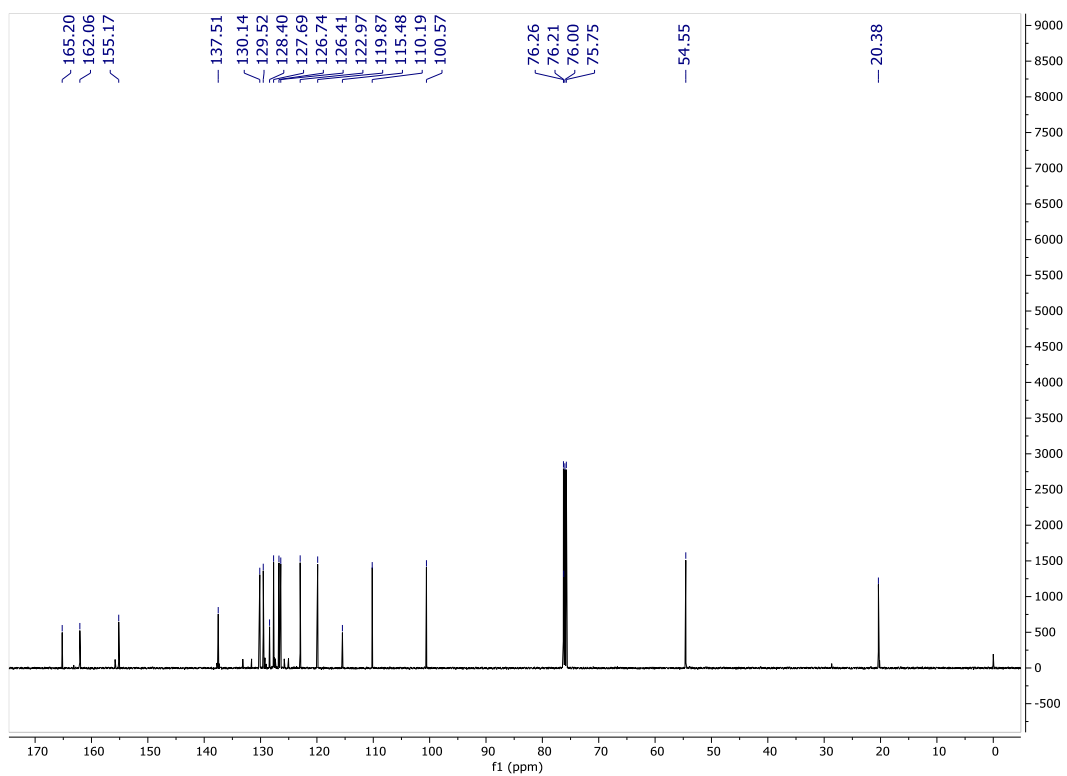
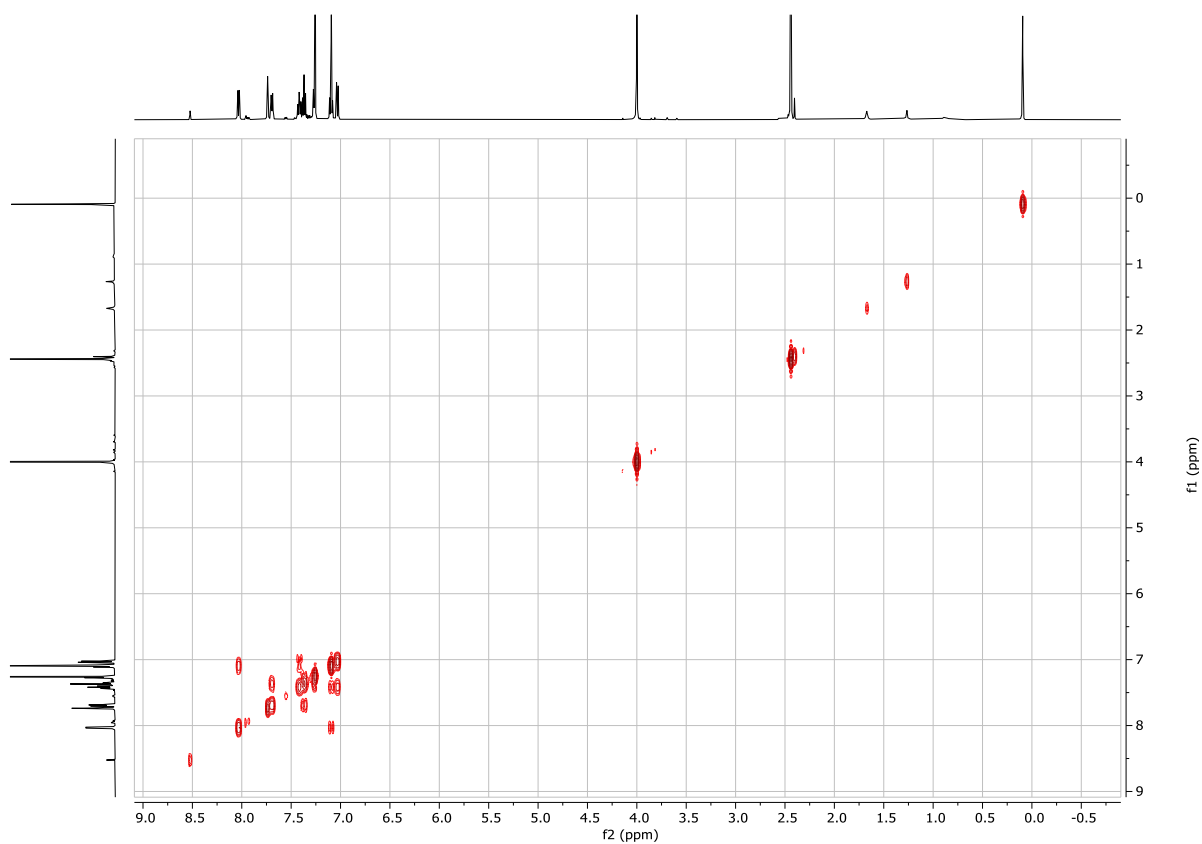
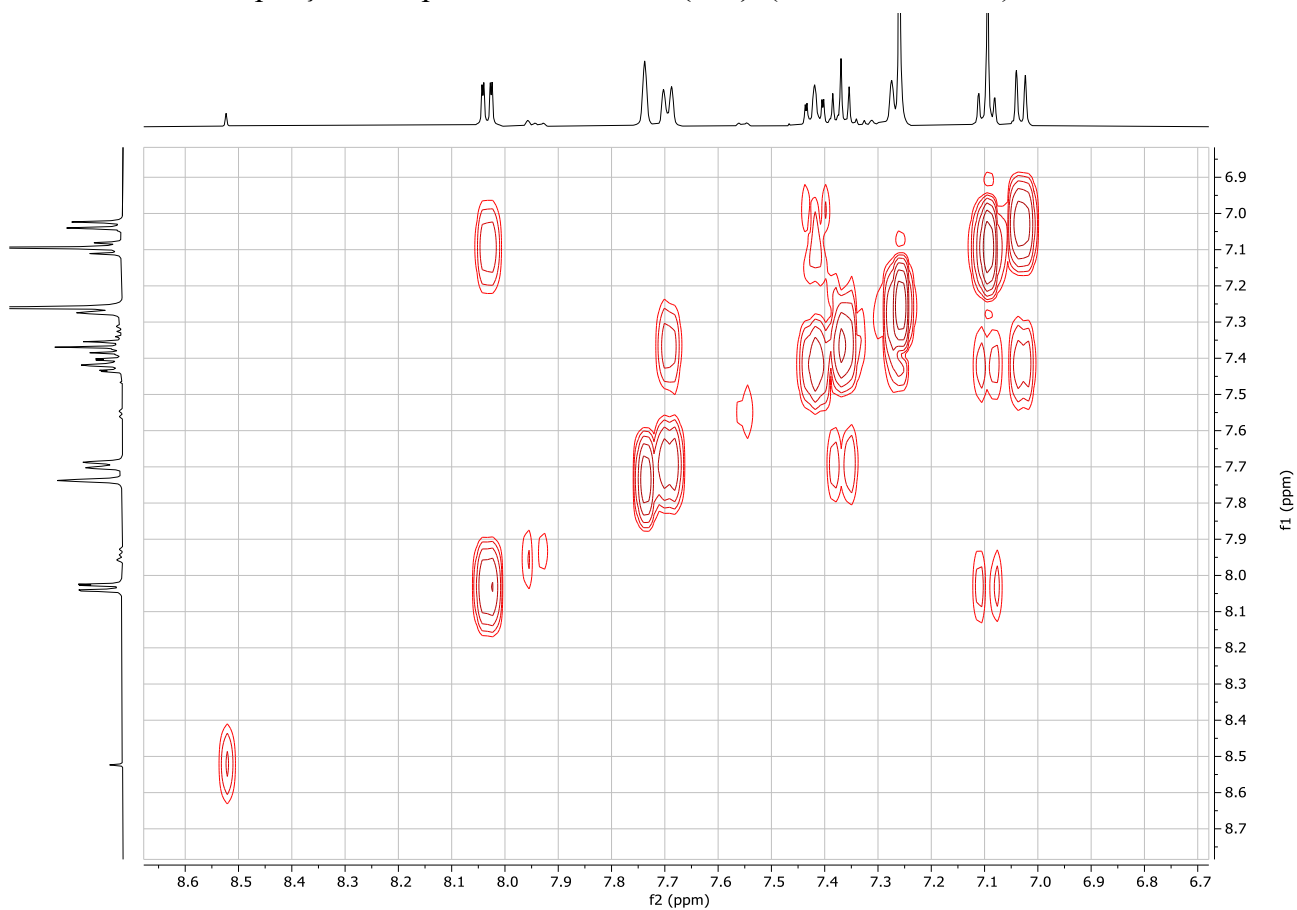
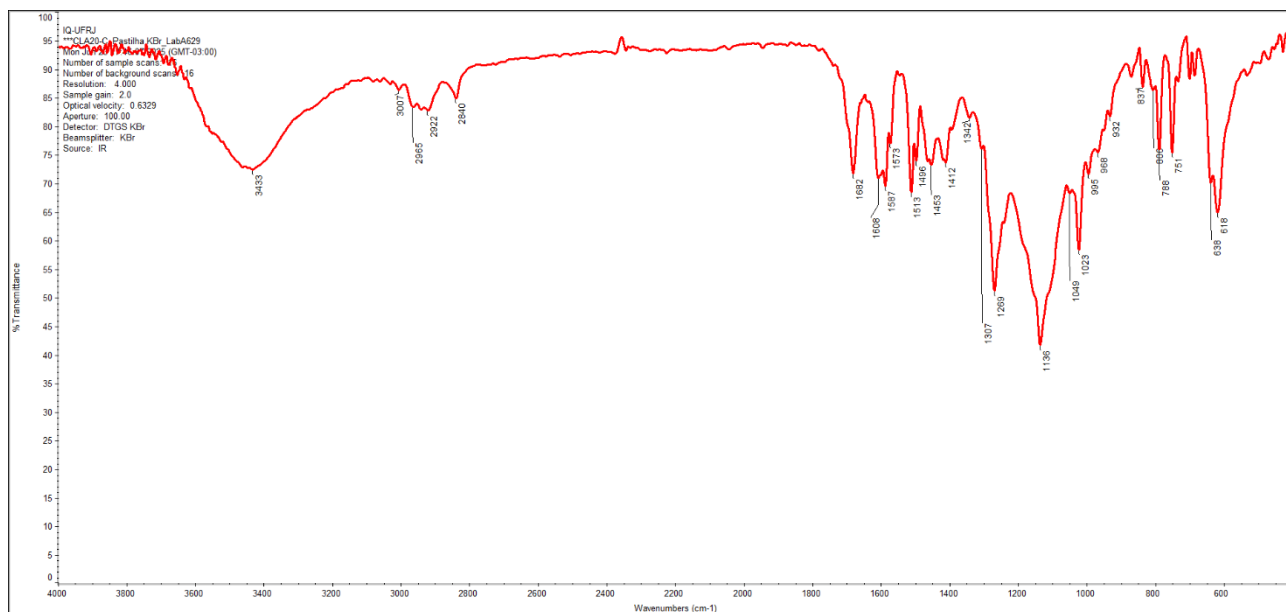
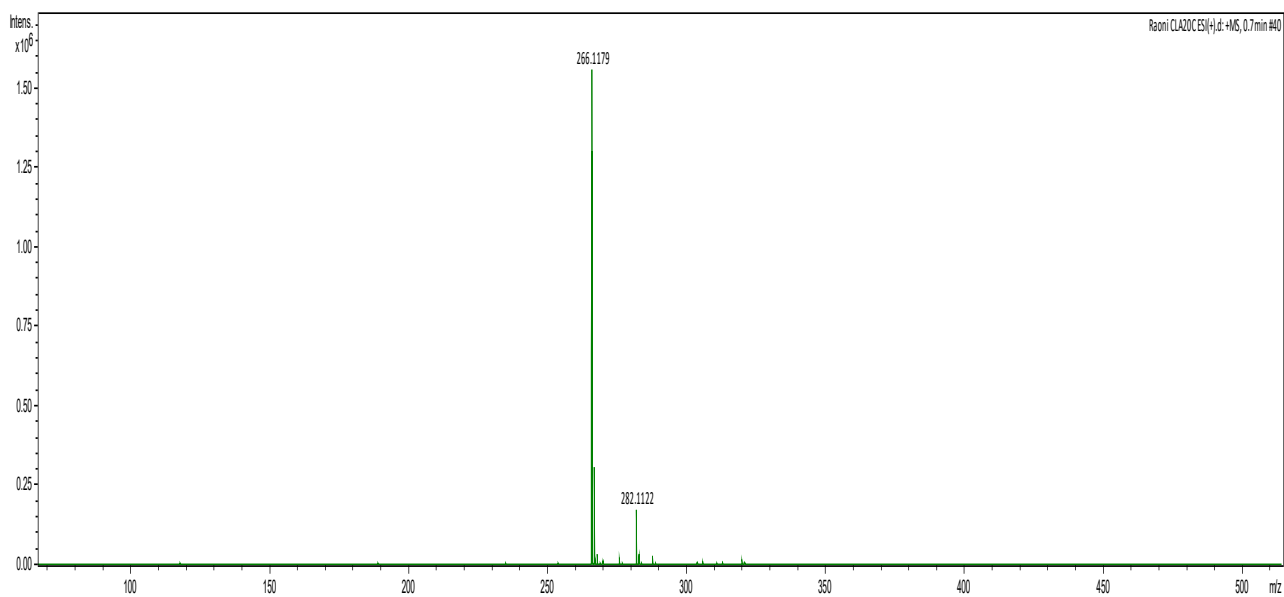


Figura A12 - Espectro COSY de (17b). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

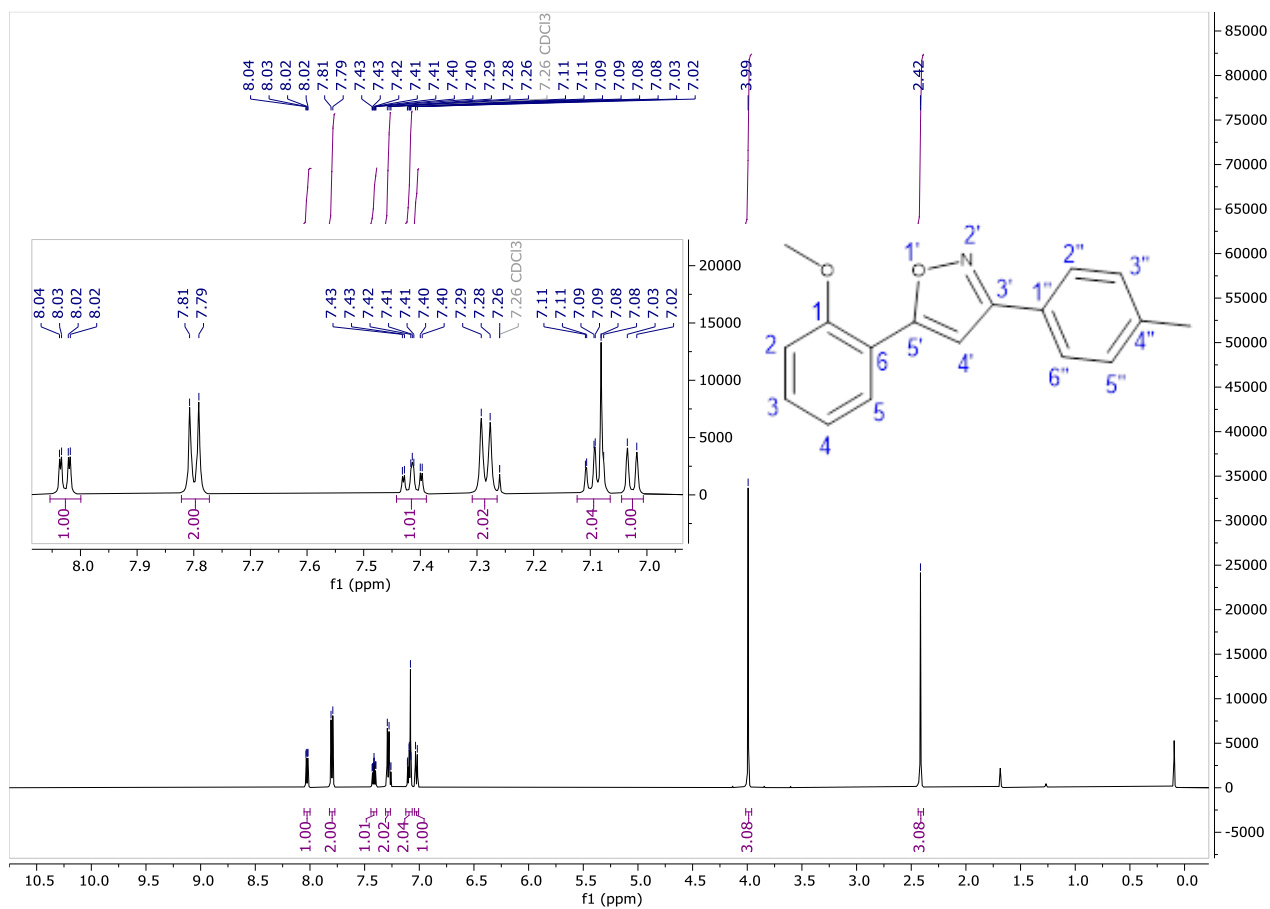


Ampliação do espectro de COSY de (17b). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

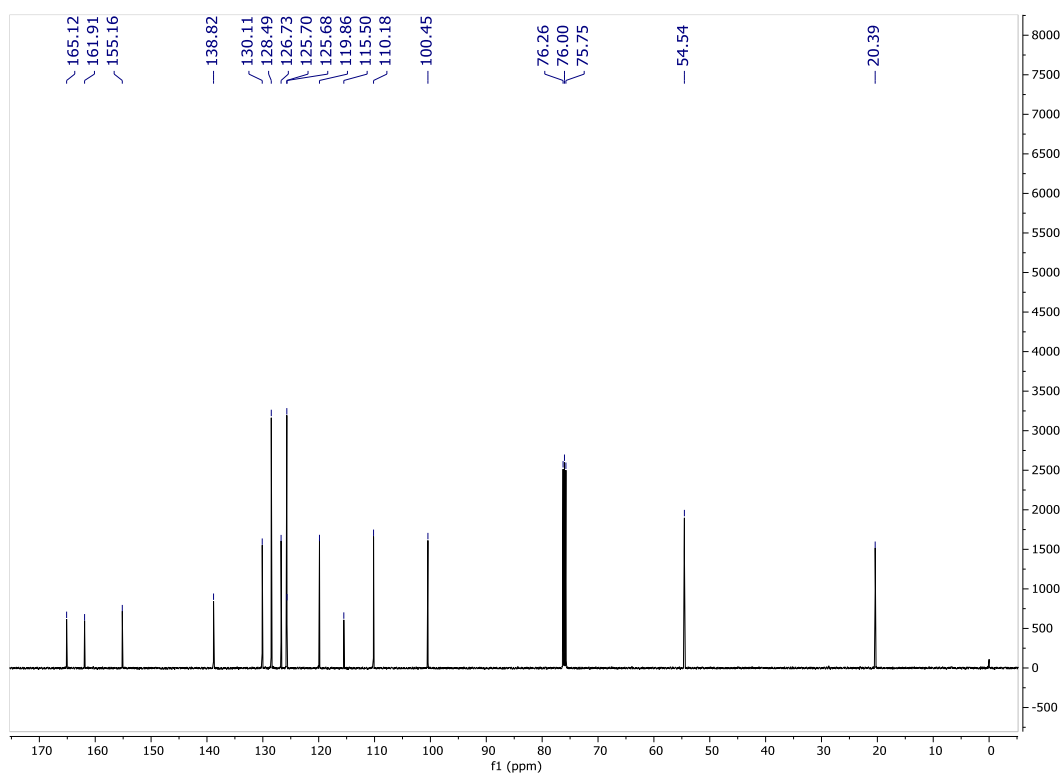


**Figura A13 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17b).****Figura A14 - Espectro de Massas do composto (17b).**

**Figura A15 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17c). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

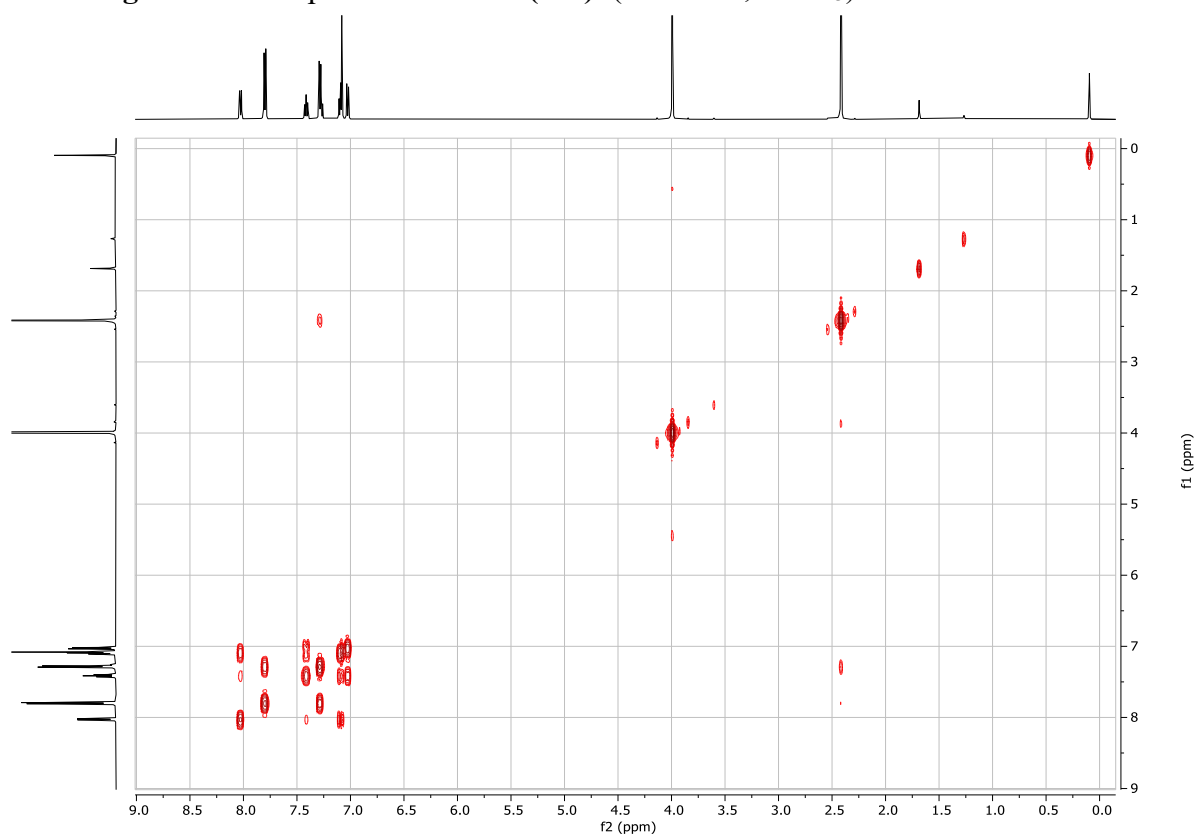


**Figura A16 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17c). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

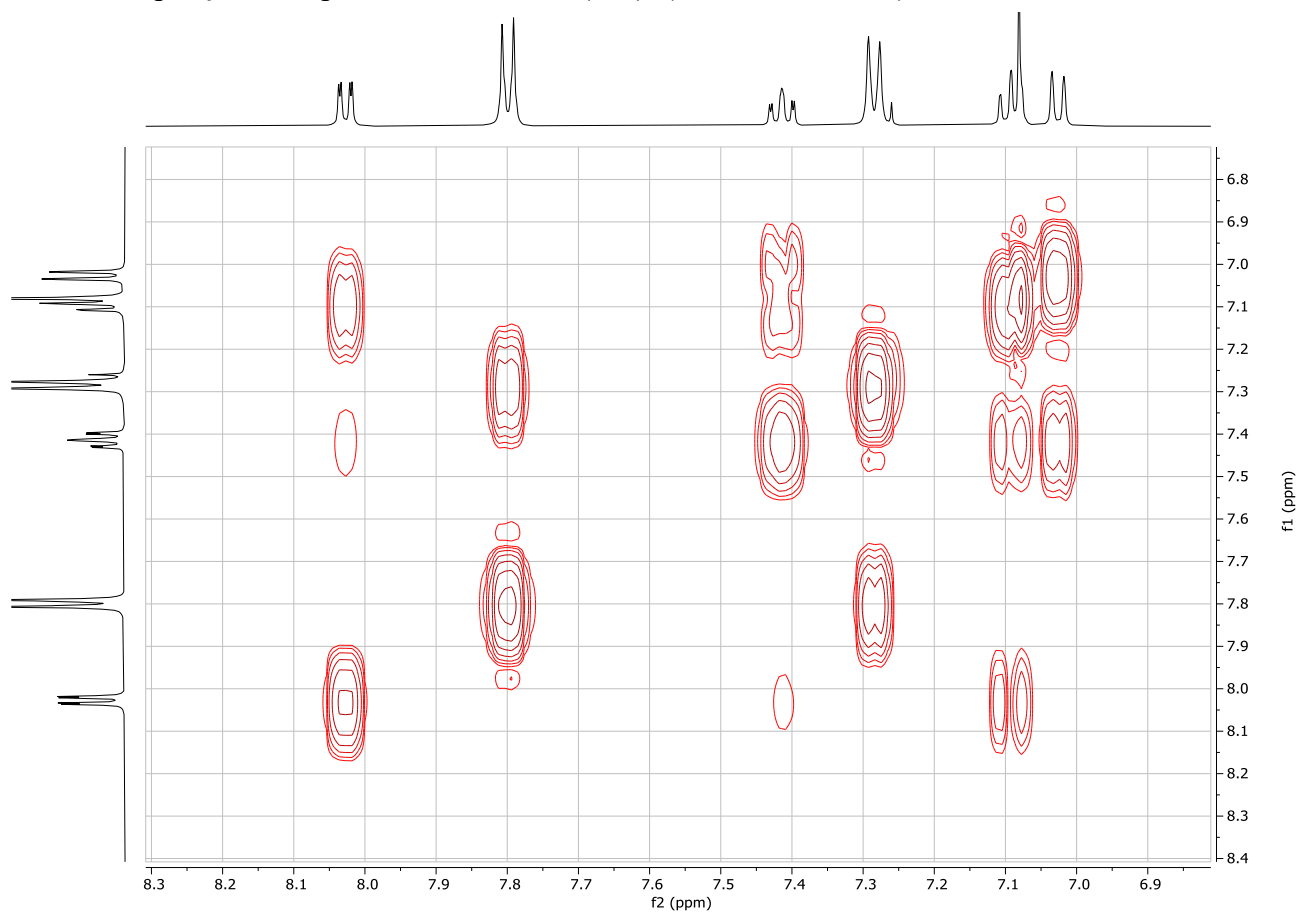


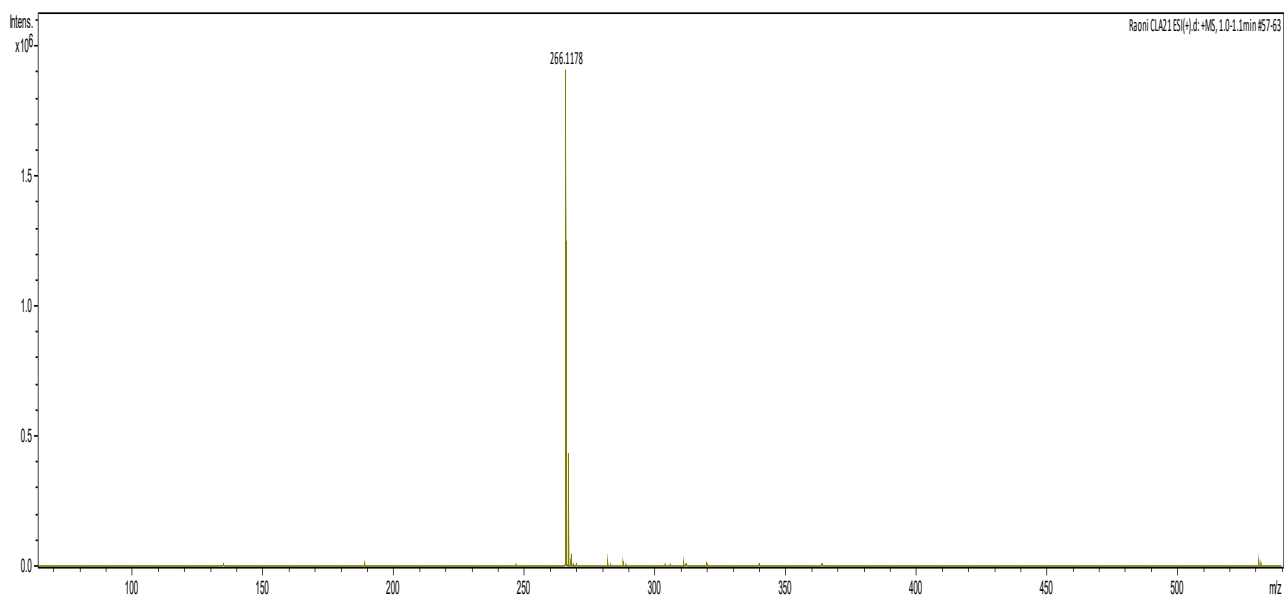


**Figura A17 - Espectro COSY de (17c). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**

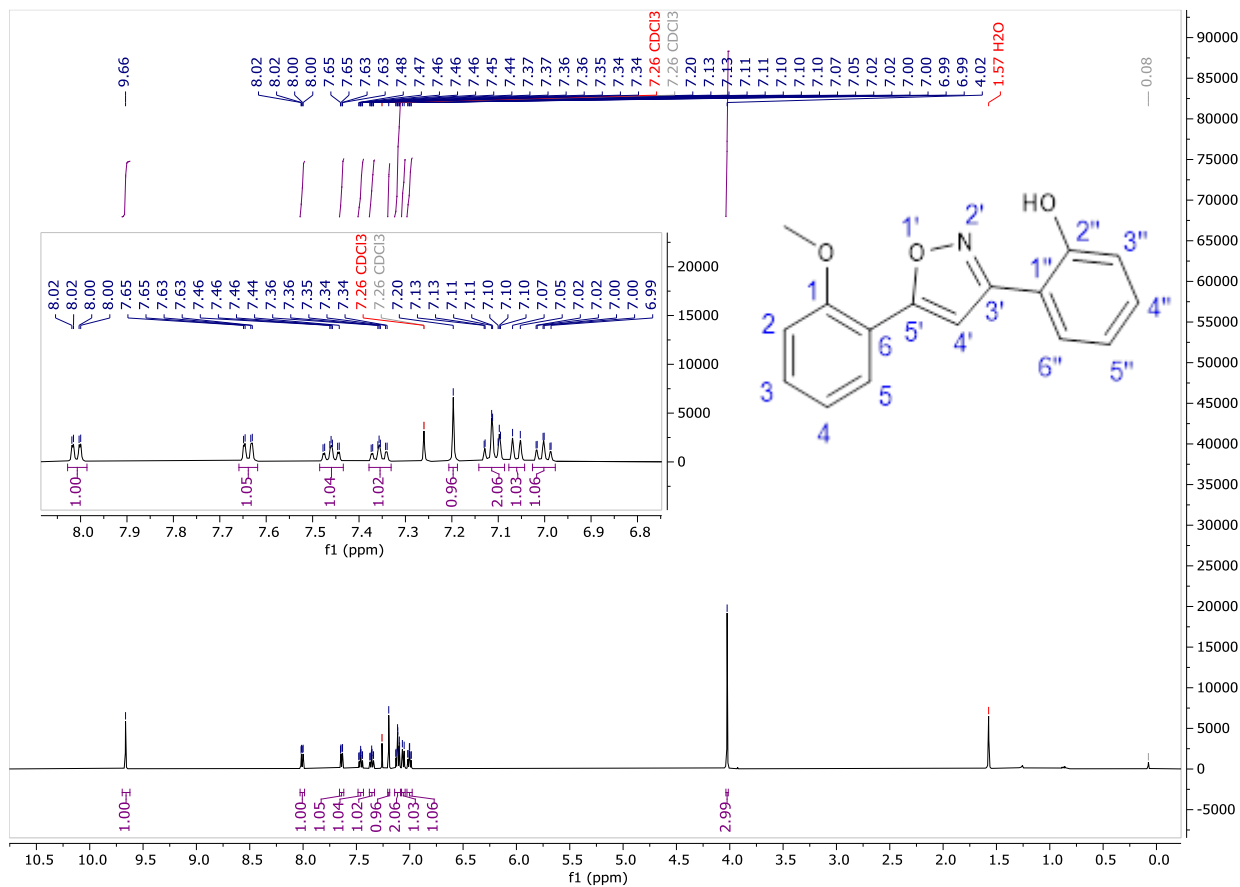


**Ampliação do espectro de COSY de (17c). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**

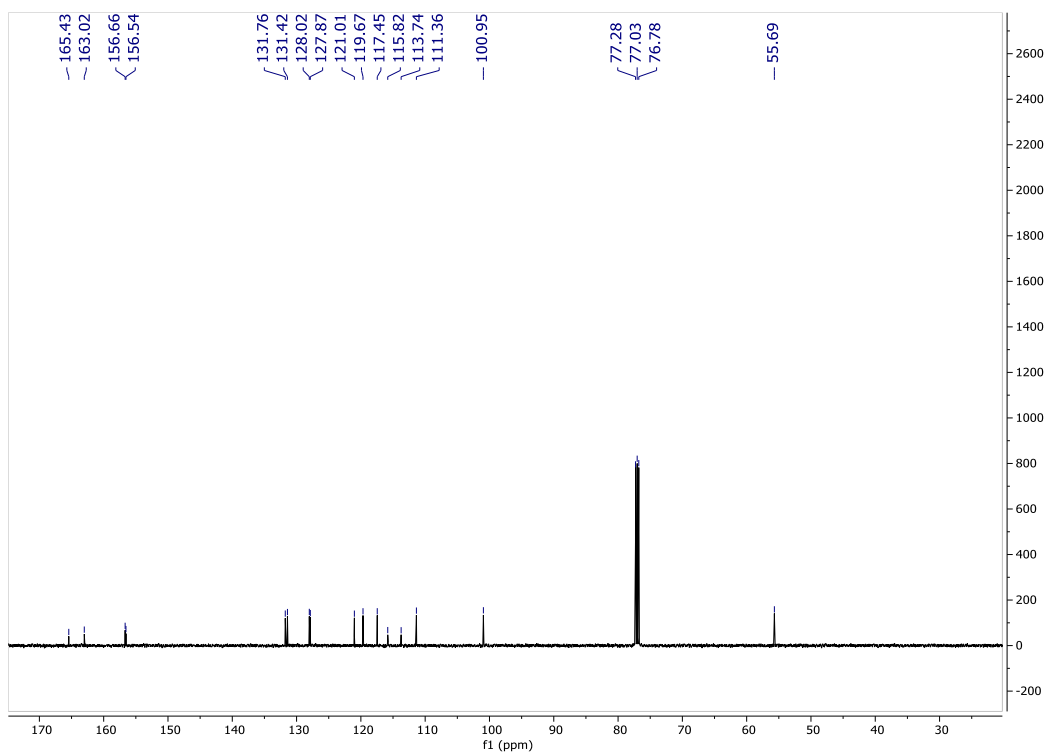




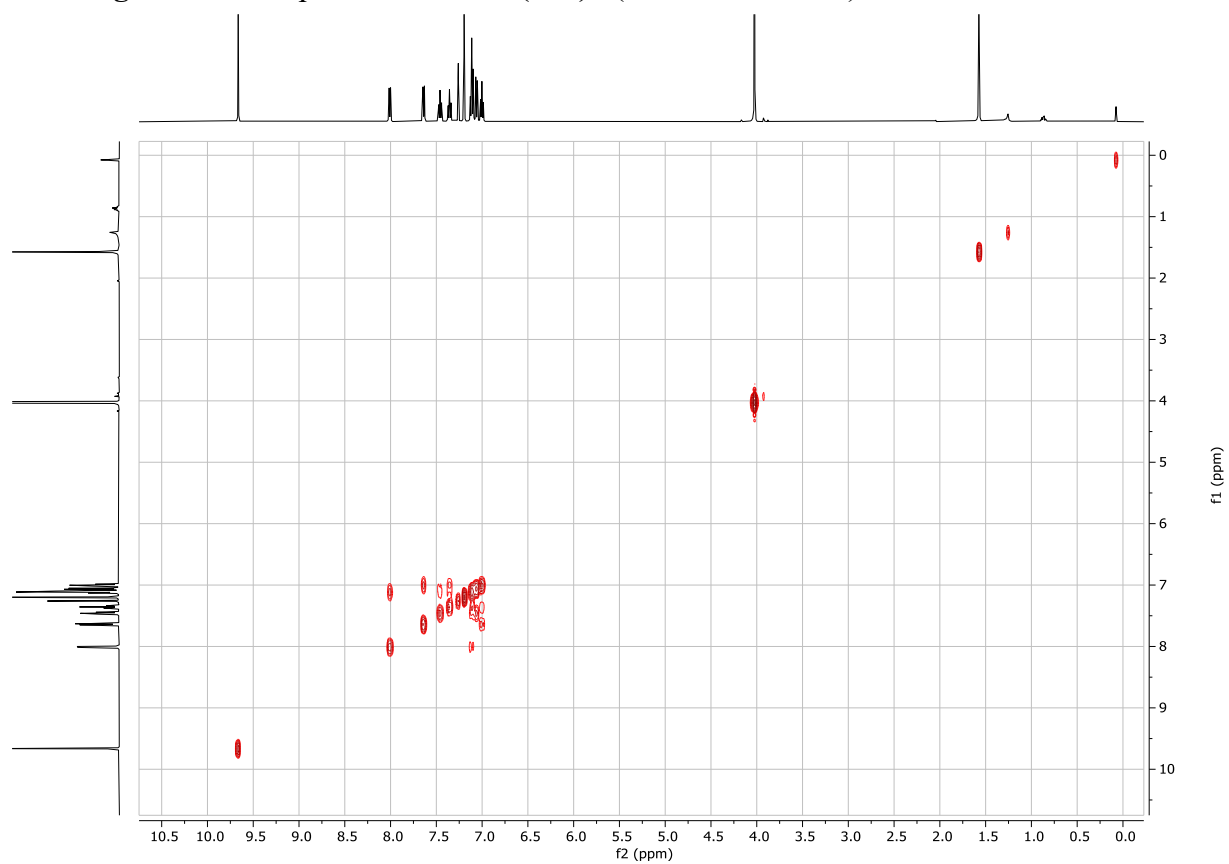
**Figura A20 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17d). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



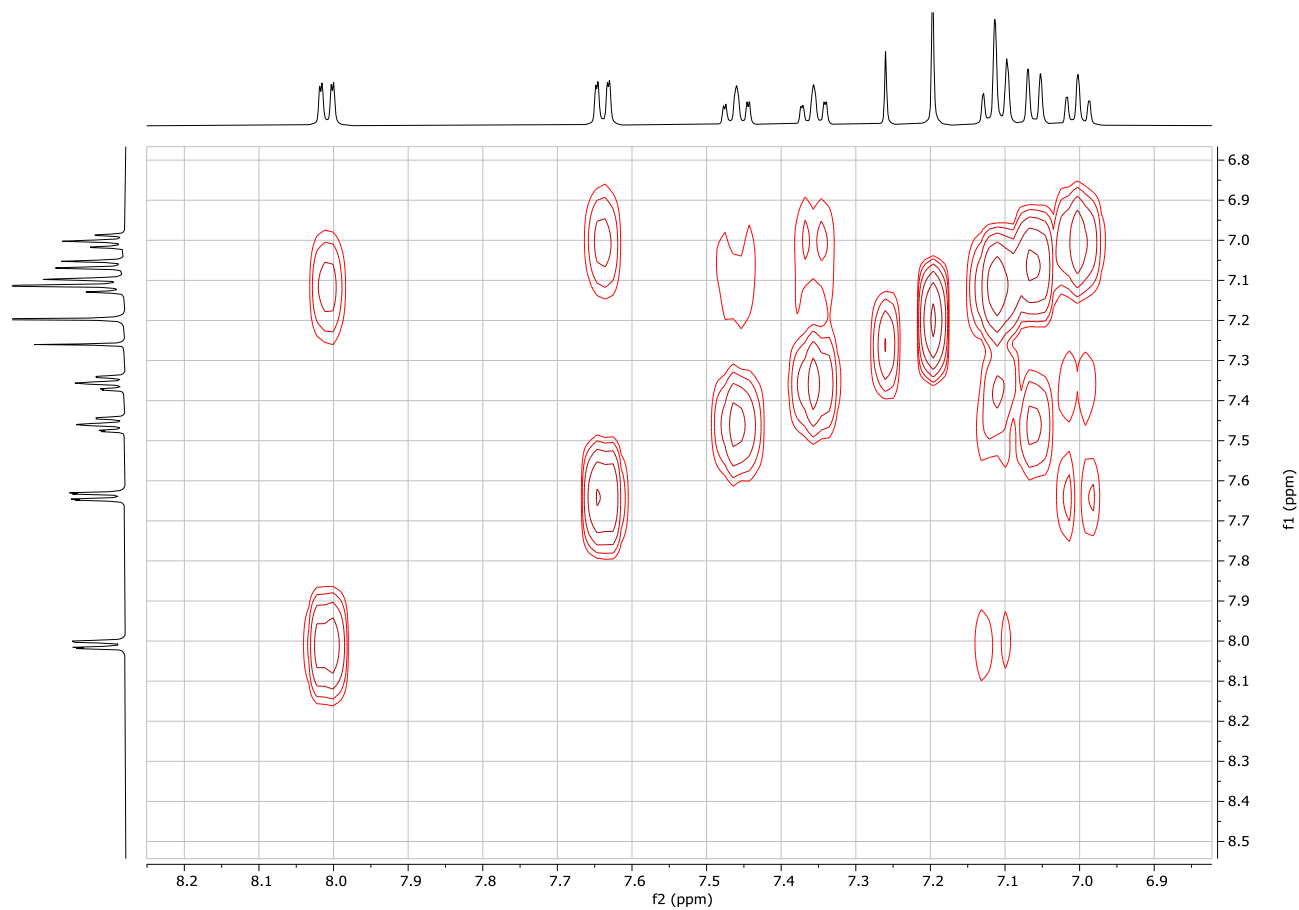
**Figura A21 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17d). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

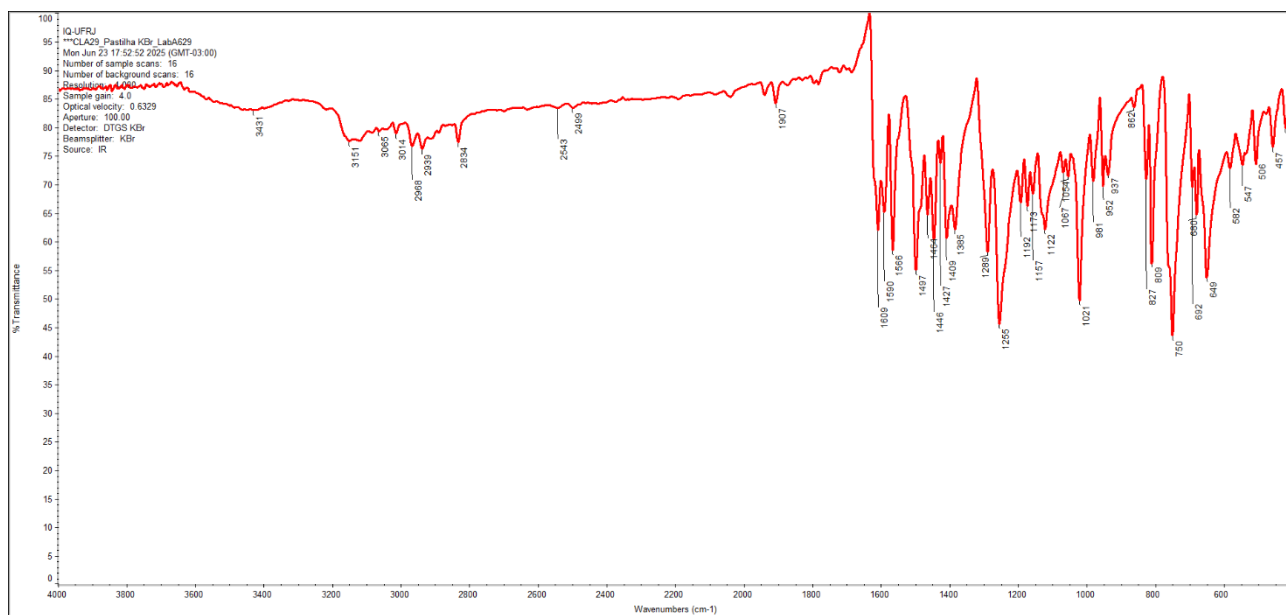
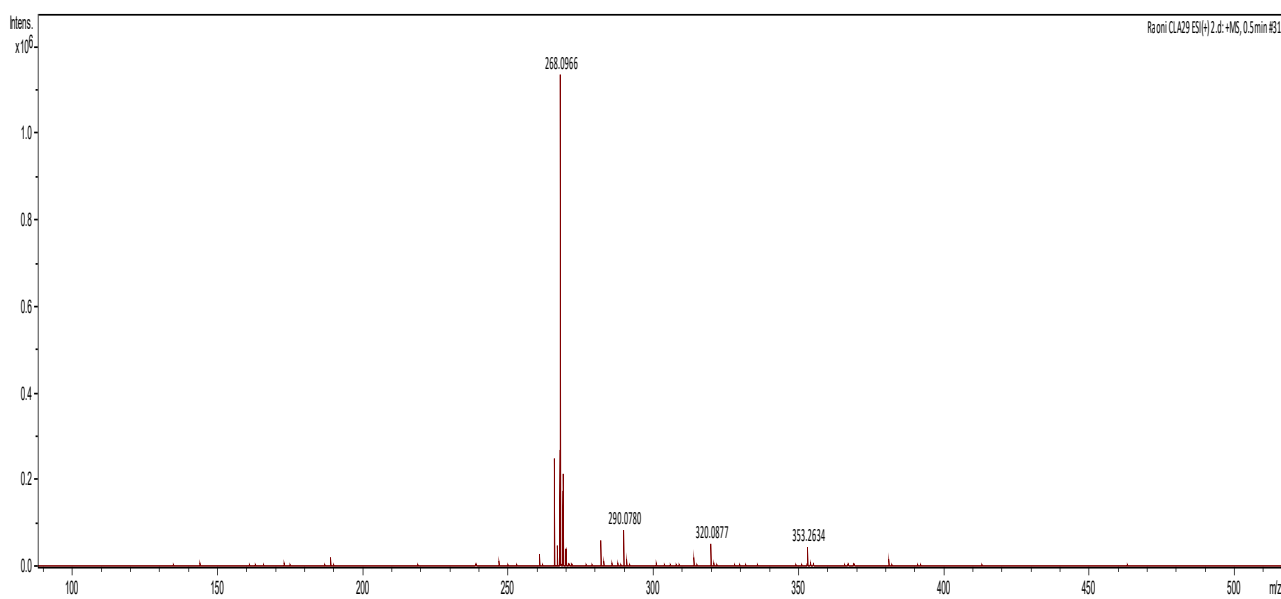


**Figura A22 - Espectro COSY de (17d). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**

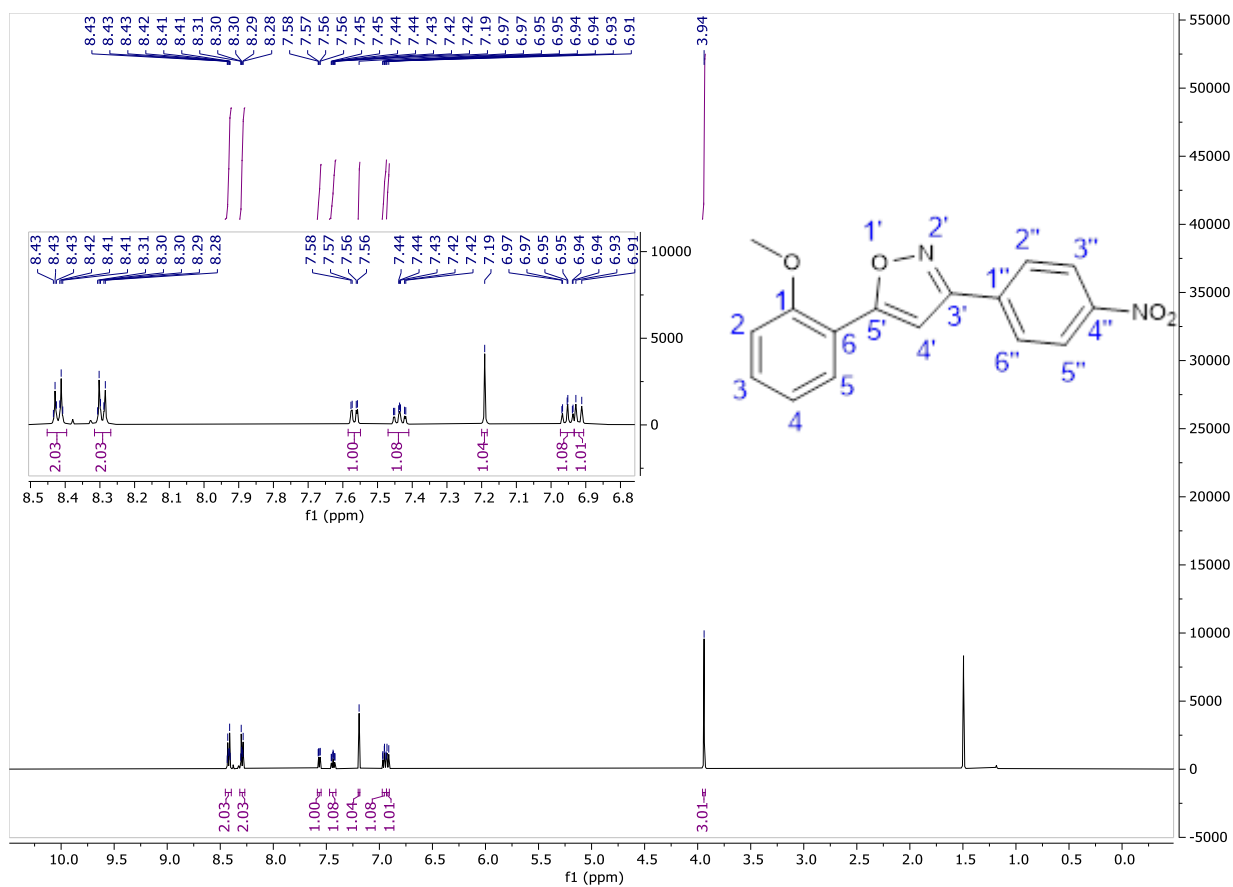


**Ampliação do espectro de COSY de (17d). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**

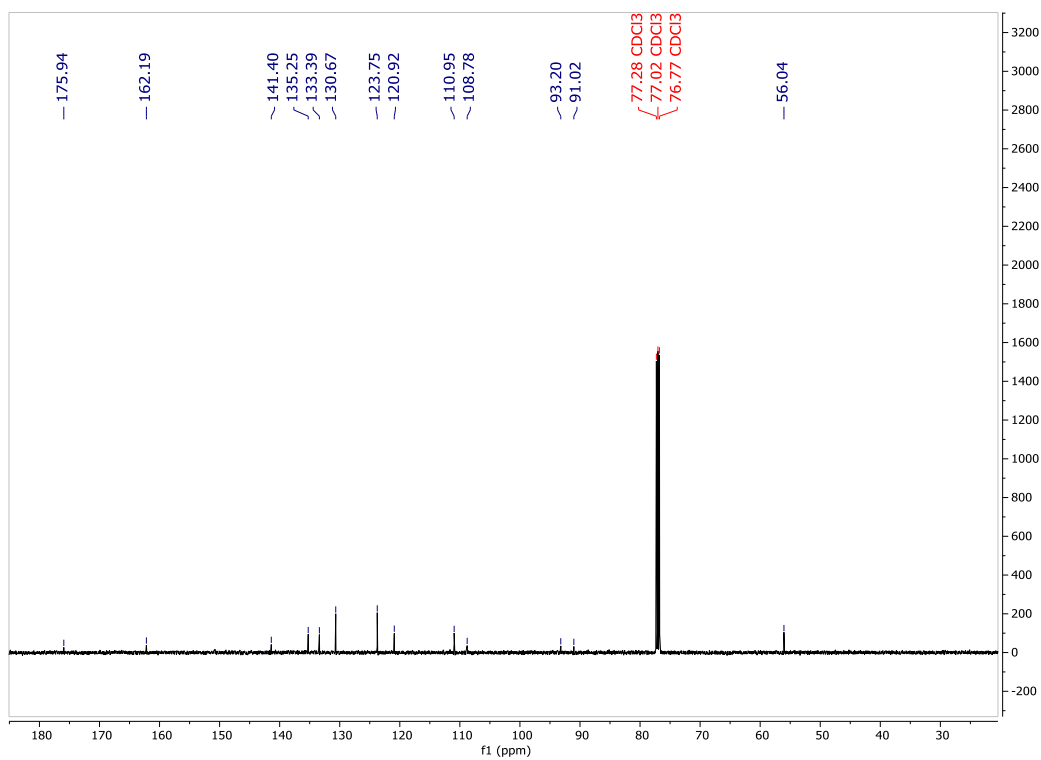


**Figura A23 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17d).****Figura A24 - Espectro de Massas do composto (17d).**

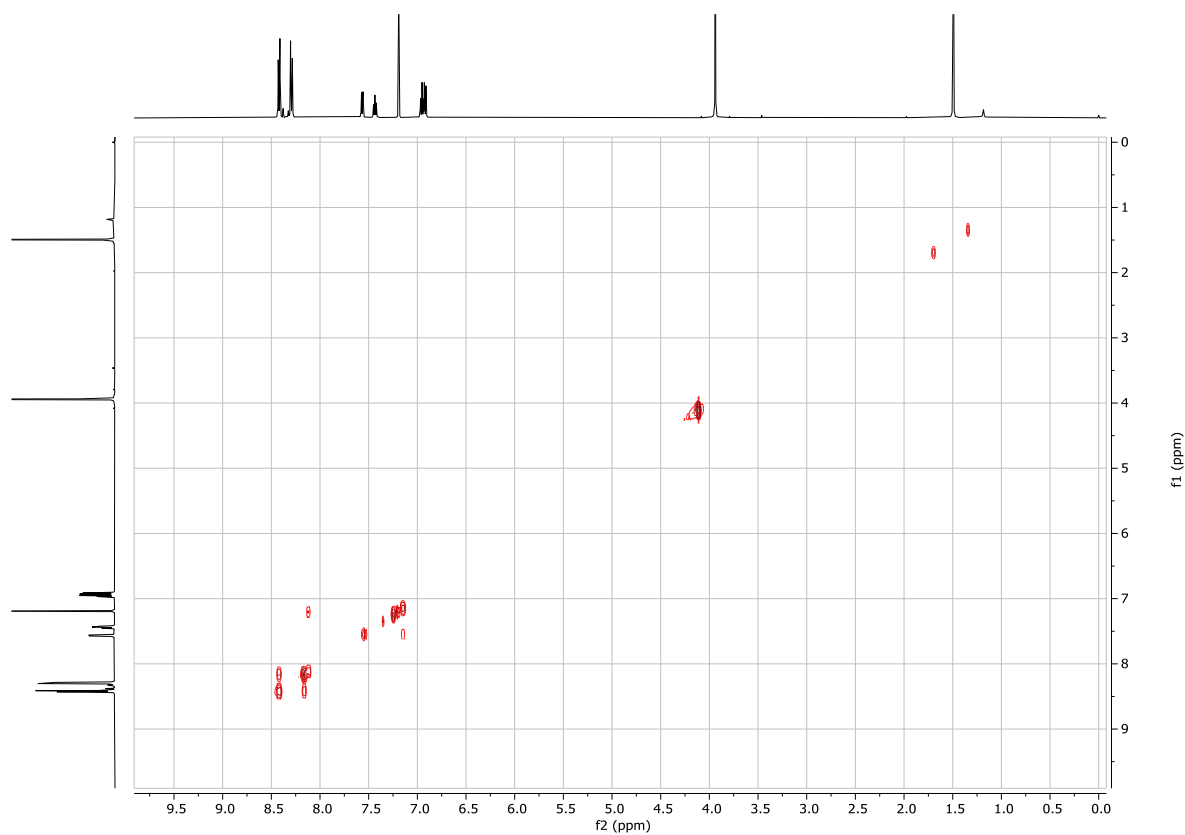
**Figura A25 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17e).** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



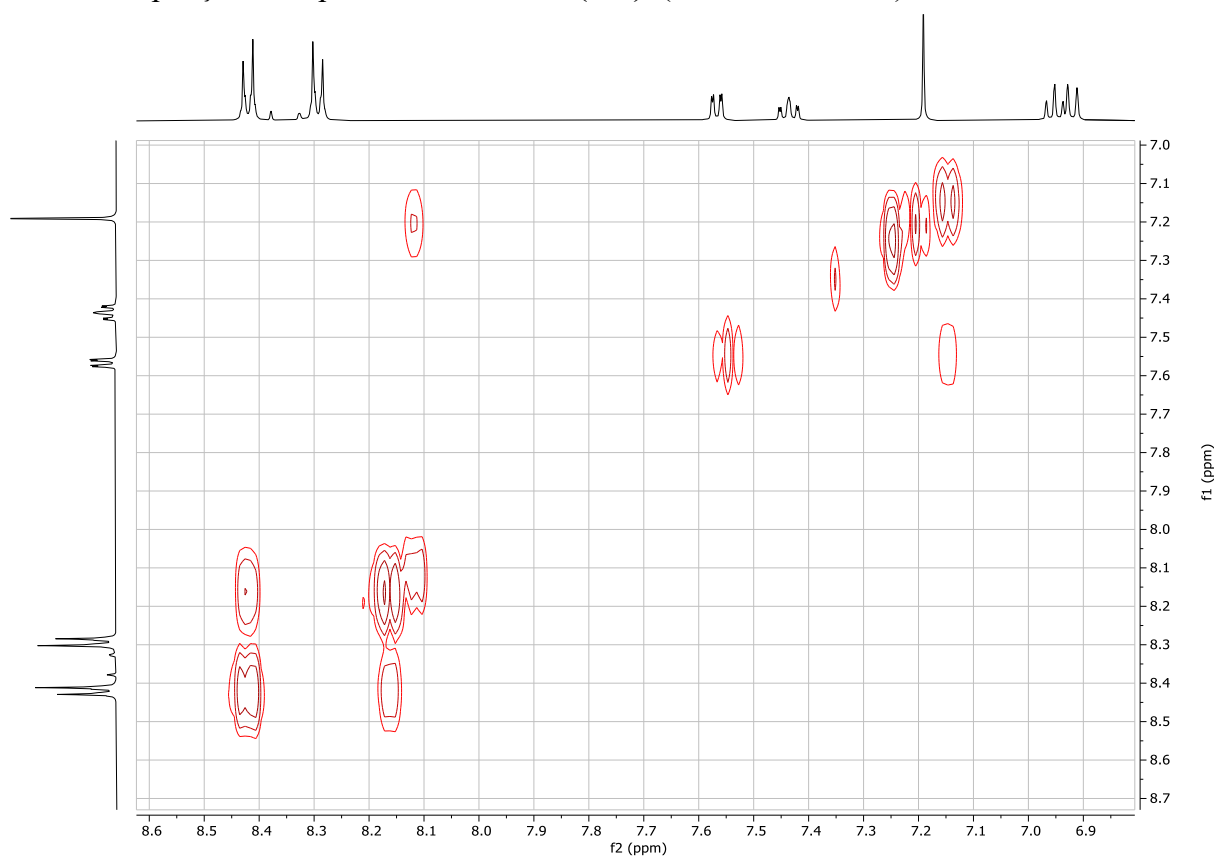
**Figura A26 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17e).** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



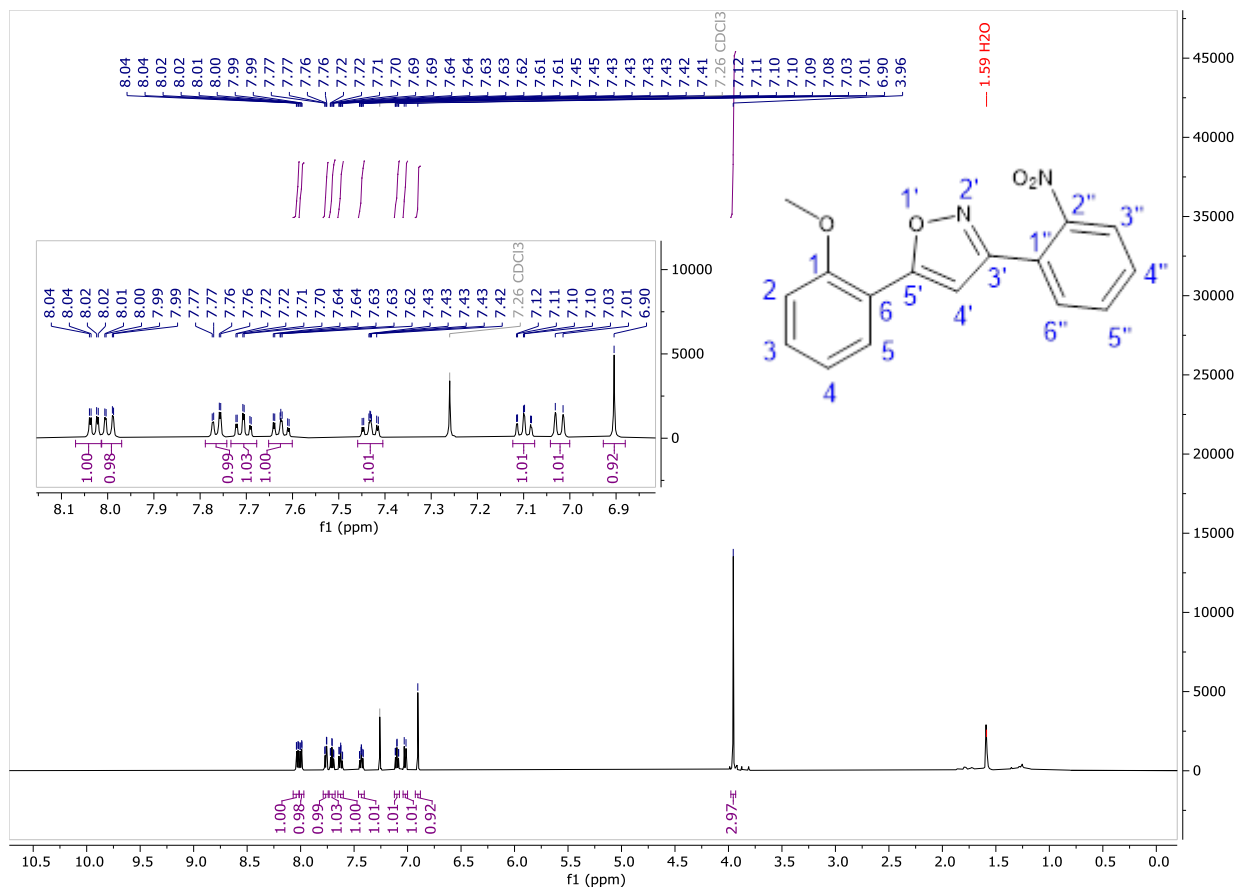
**Figura A27 - Espectro COSY de (17e). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**



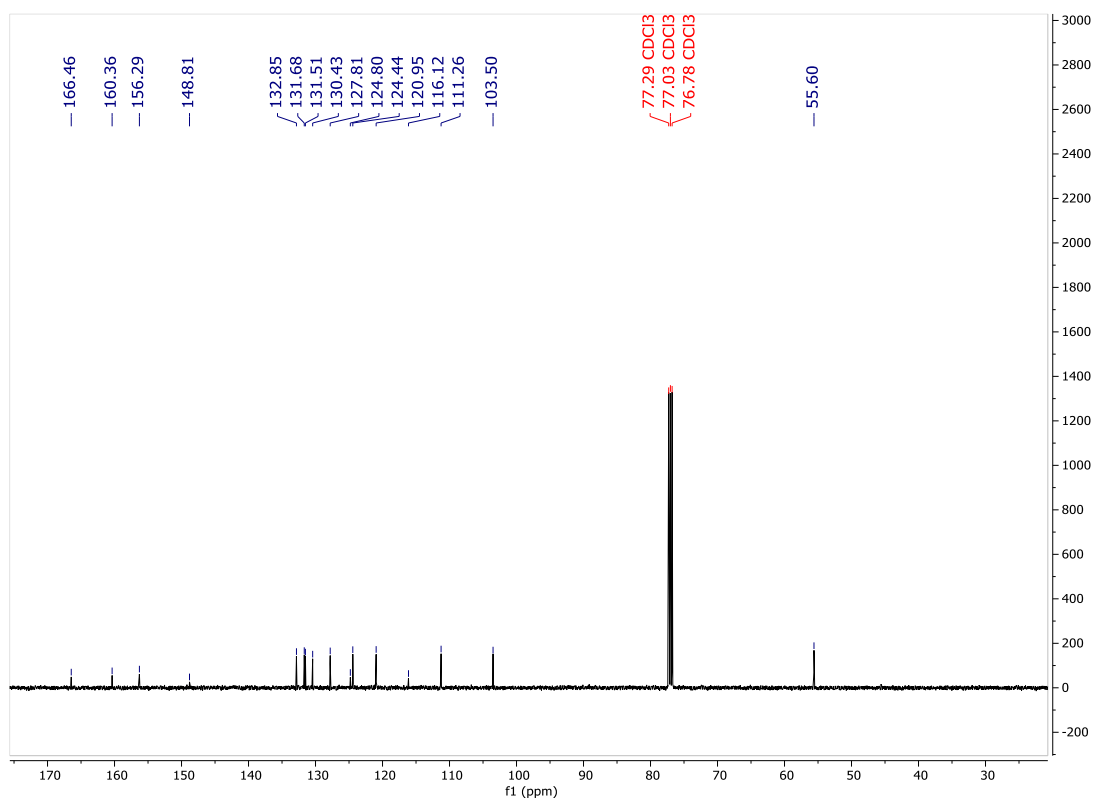
**Ampliação do espectro de COSY de (17e). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**



**Figura A28 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17f). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

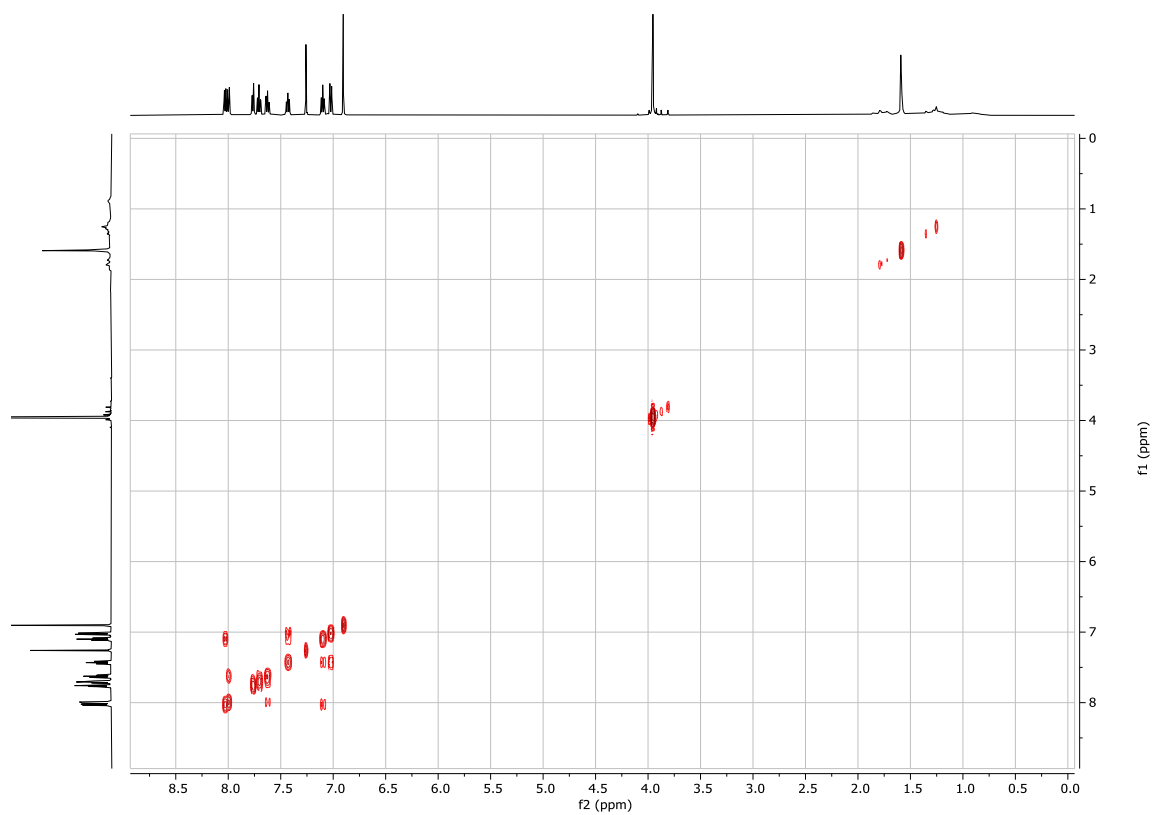


**Figura A29 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17f). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

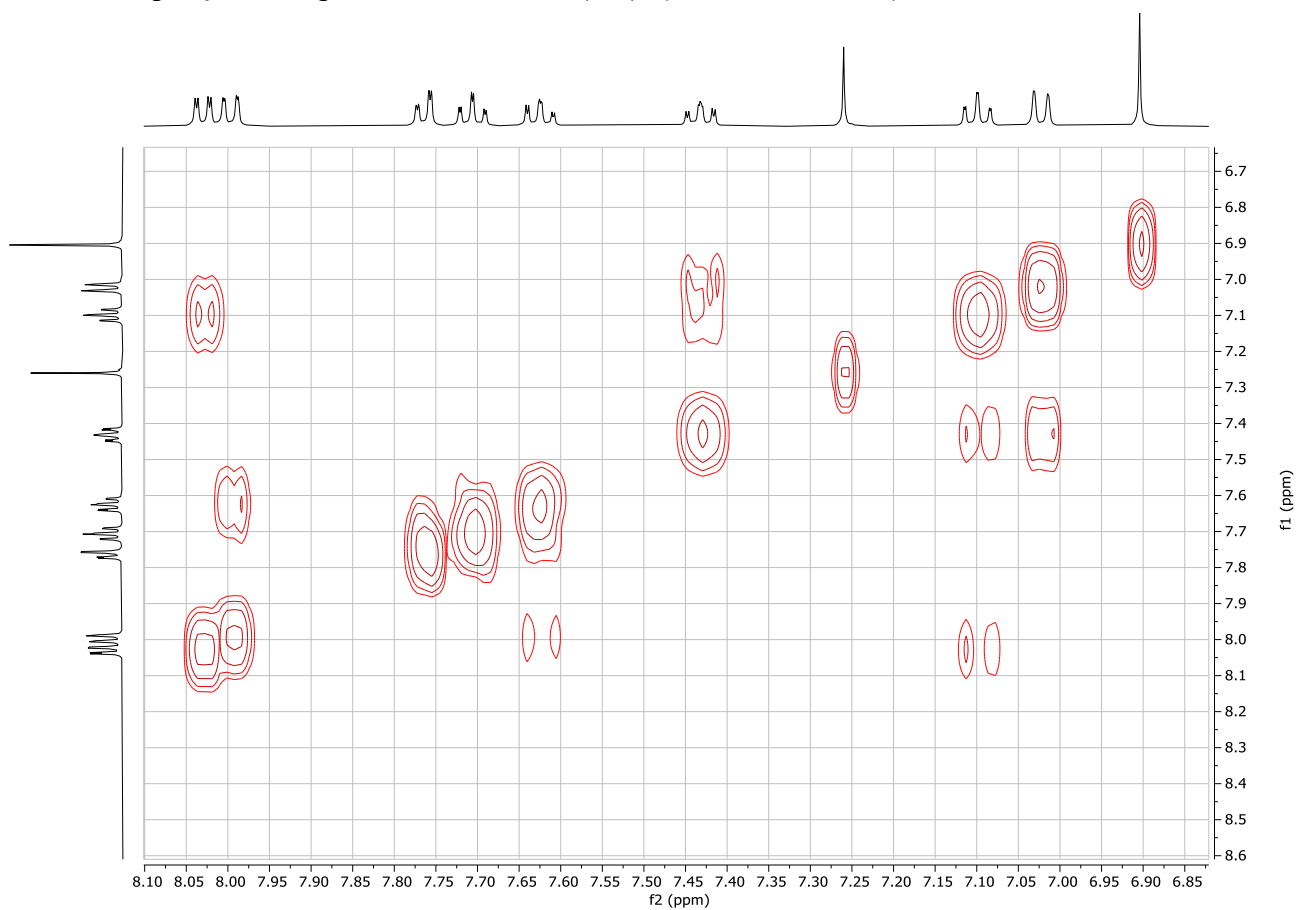




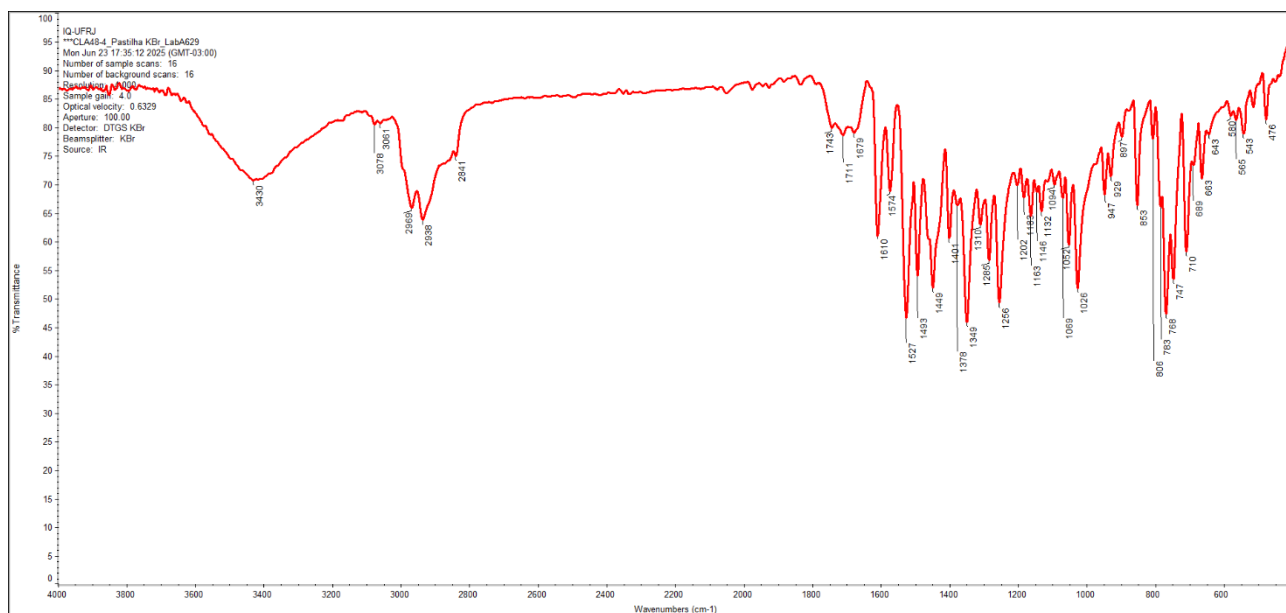
**Figura A30** - Espectro COSY de **(17f)**. (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



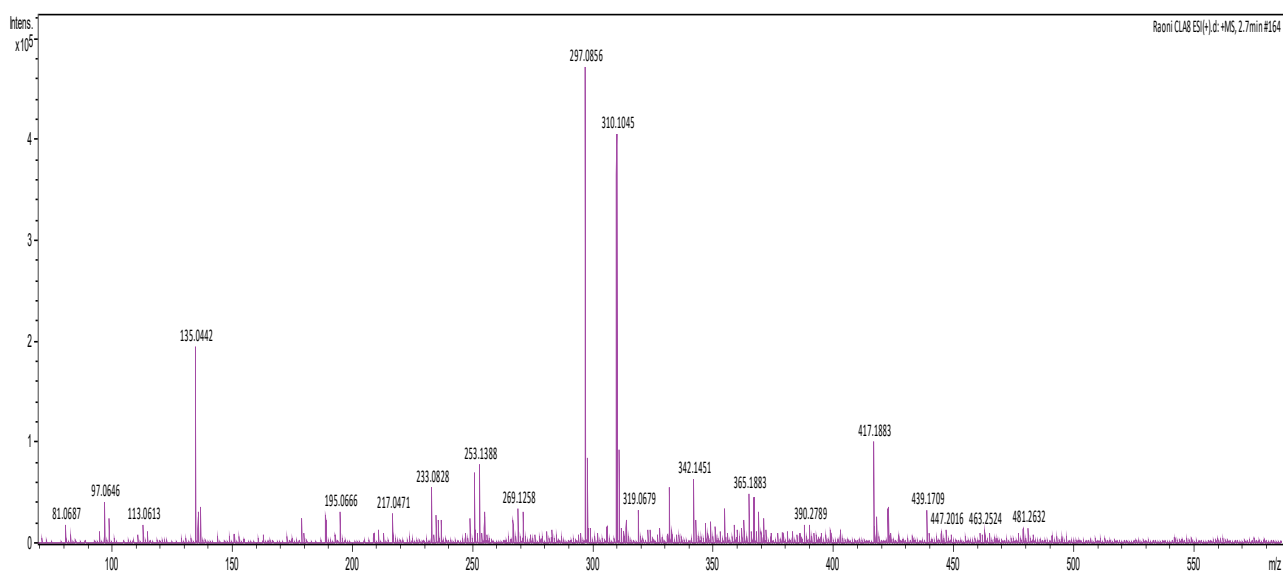
Ampliação do espectro de COSY de **(17f)**. (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



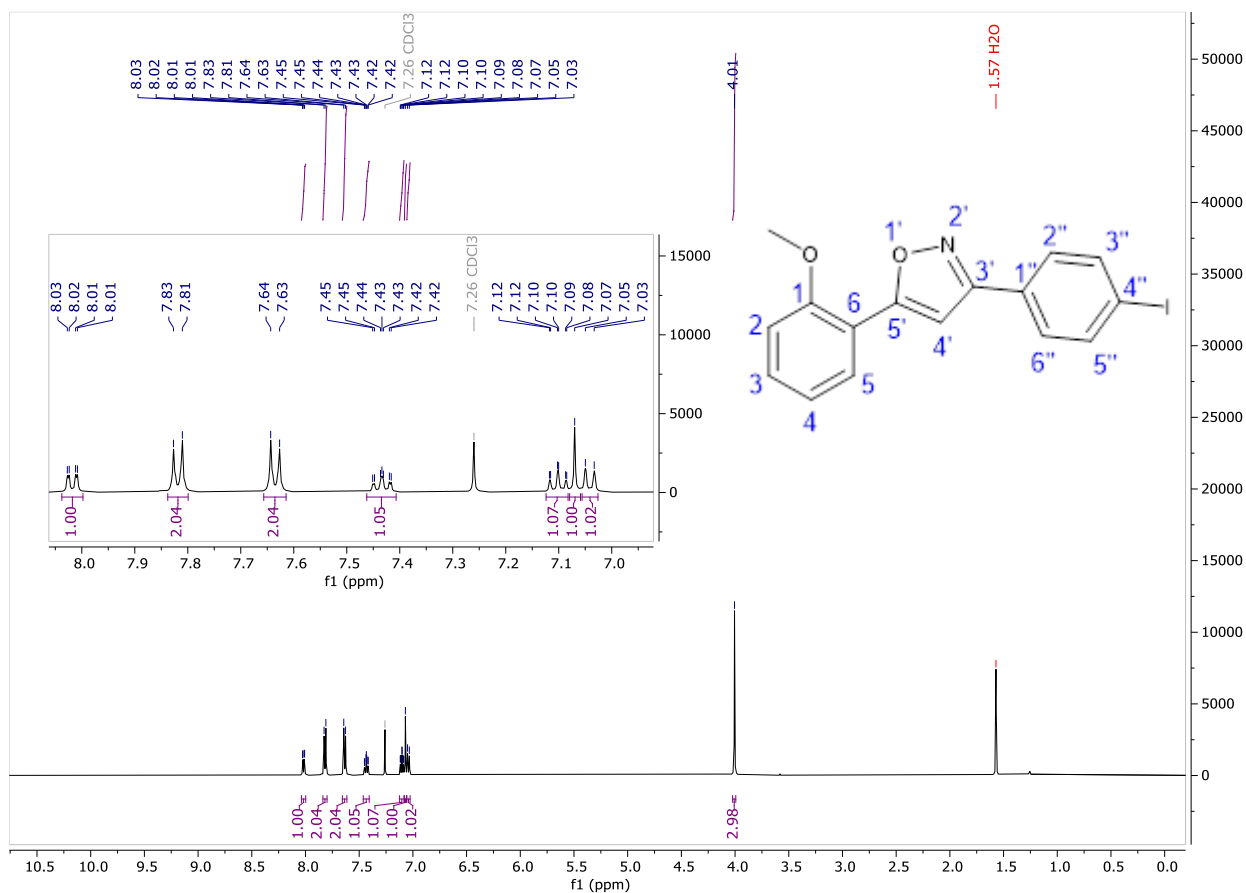
**Figura A31 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17f).**



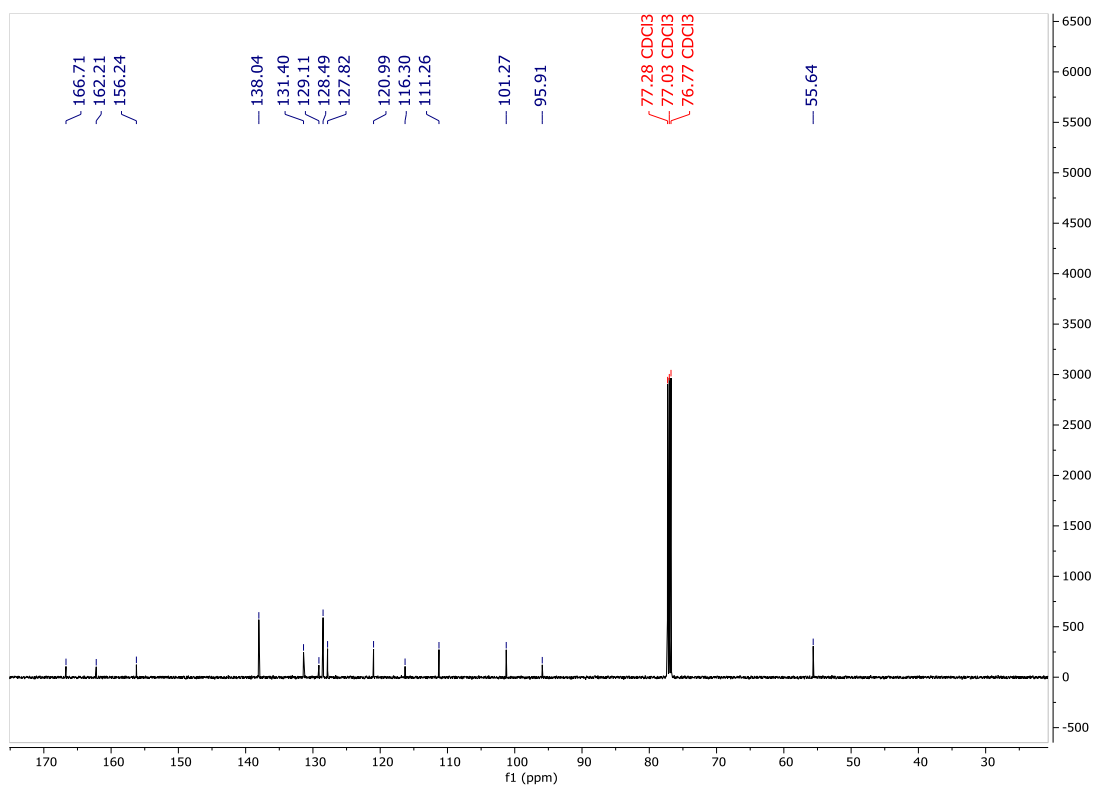
**Figura A32 - Espectro de Massas do composto (17f).**



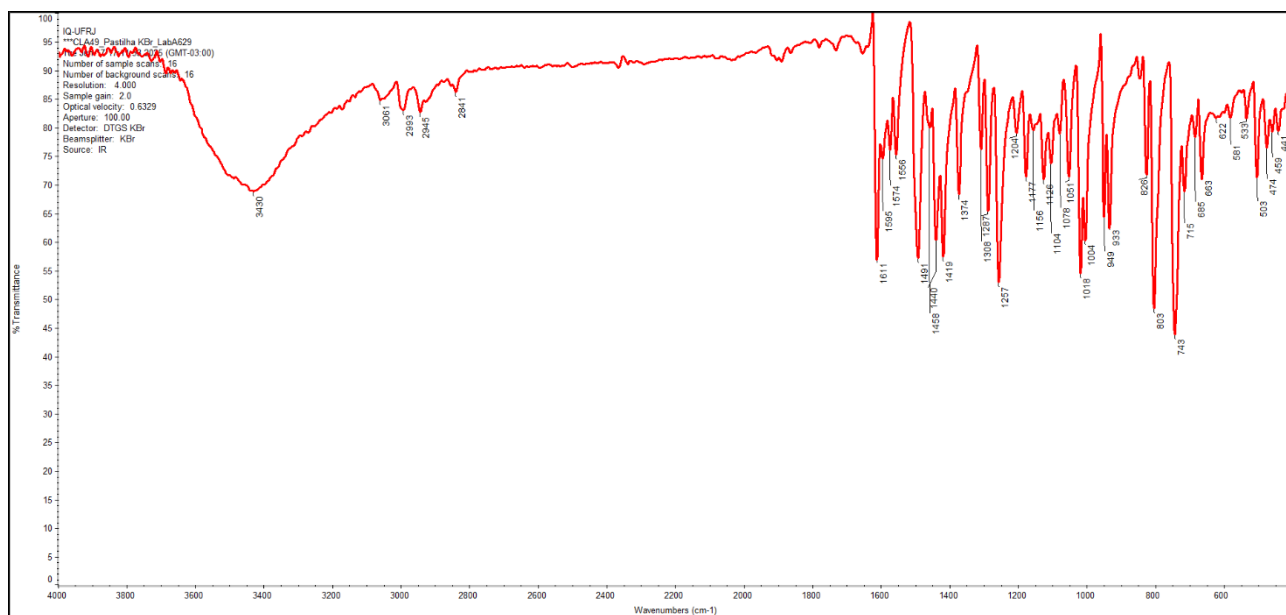
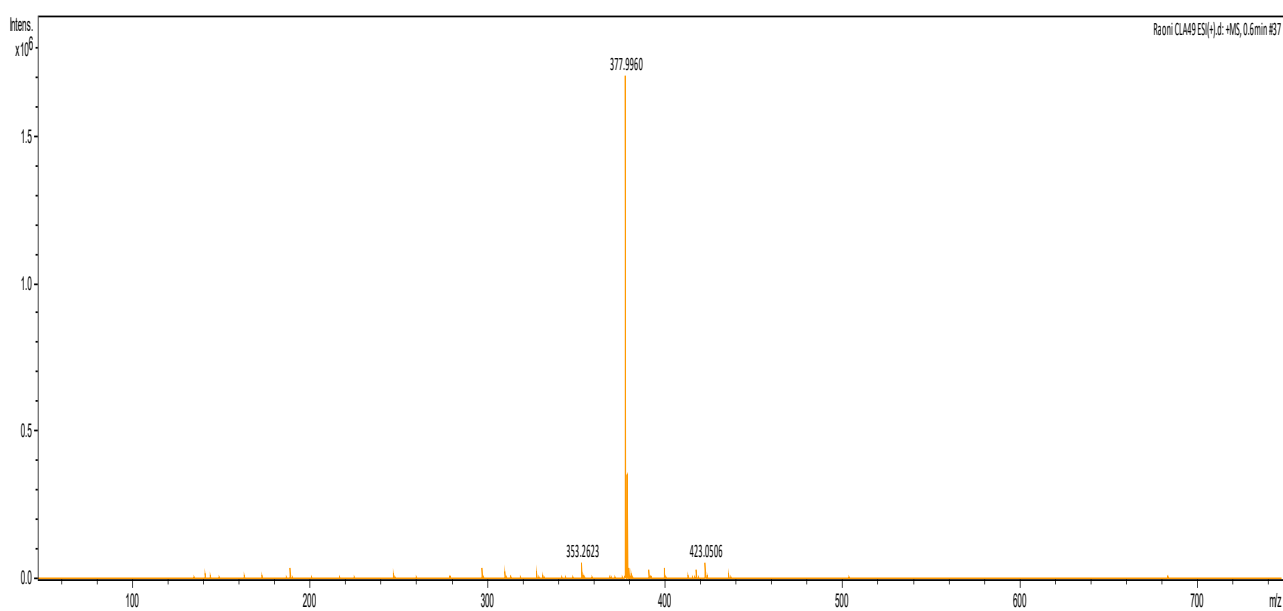
**Figura A33 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17g). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



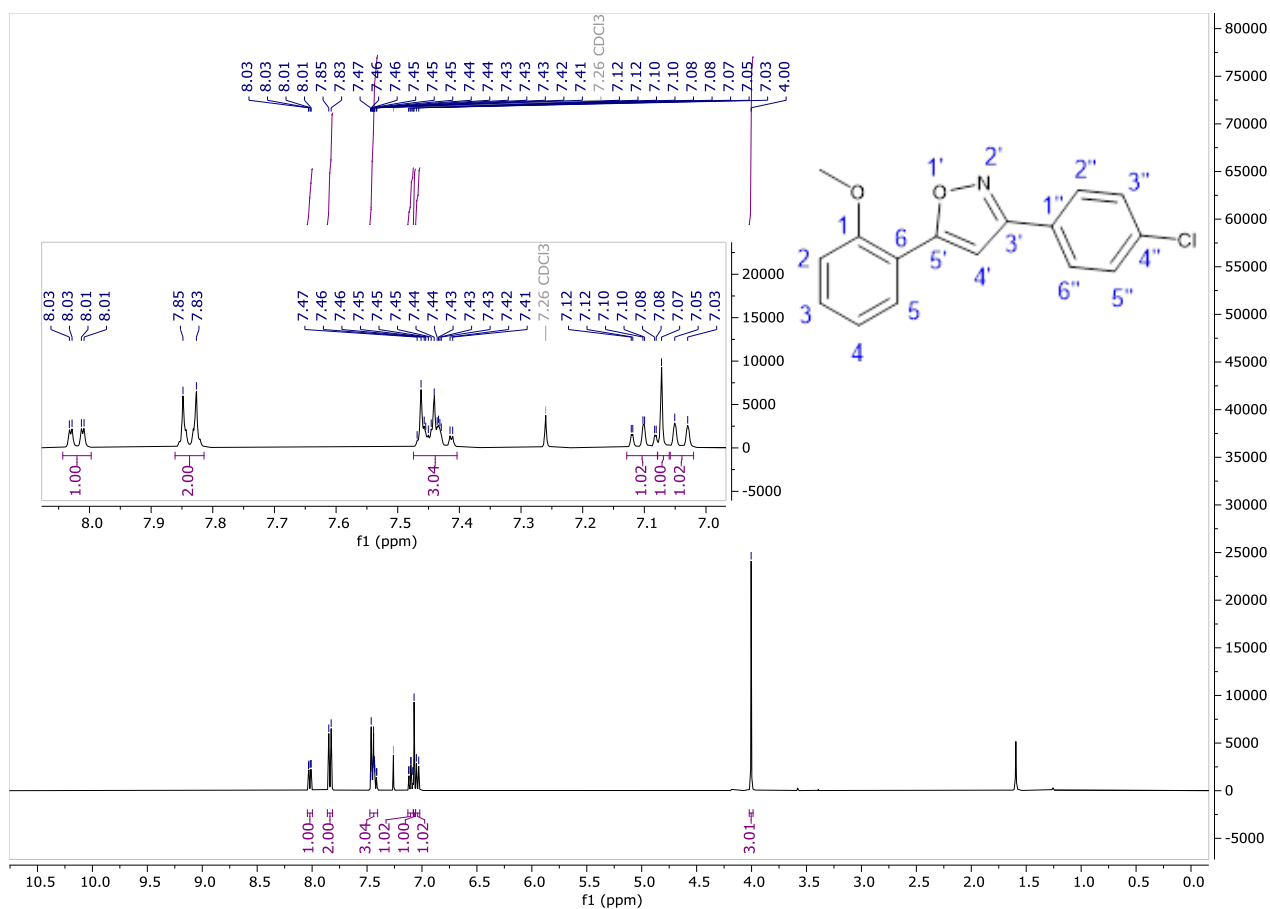
**Figura A34 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17g). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



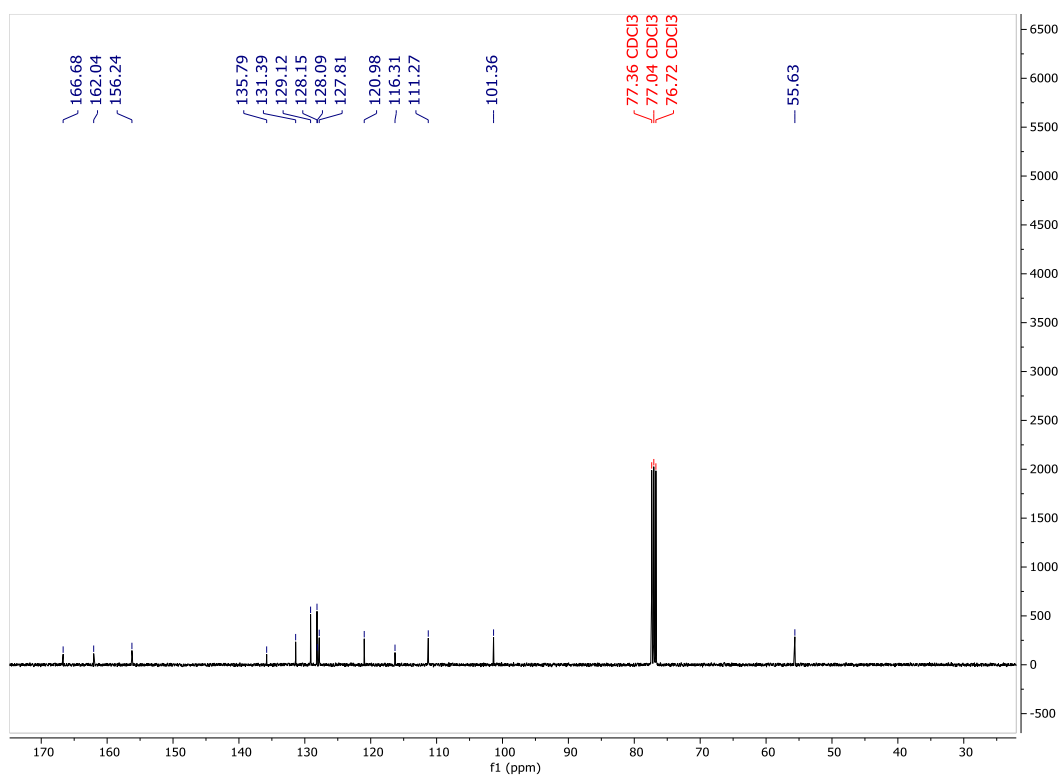


**Figura A36 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17g).****Figura A37 - Espectro de Massas do composto (17g).**

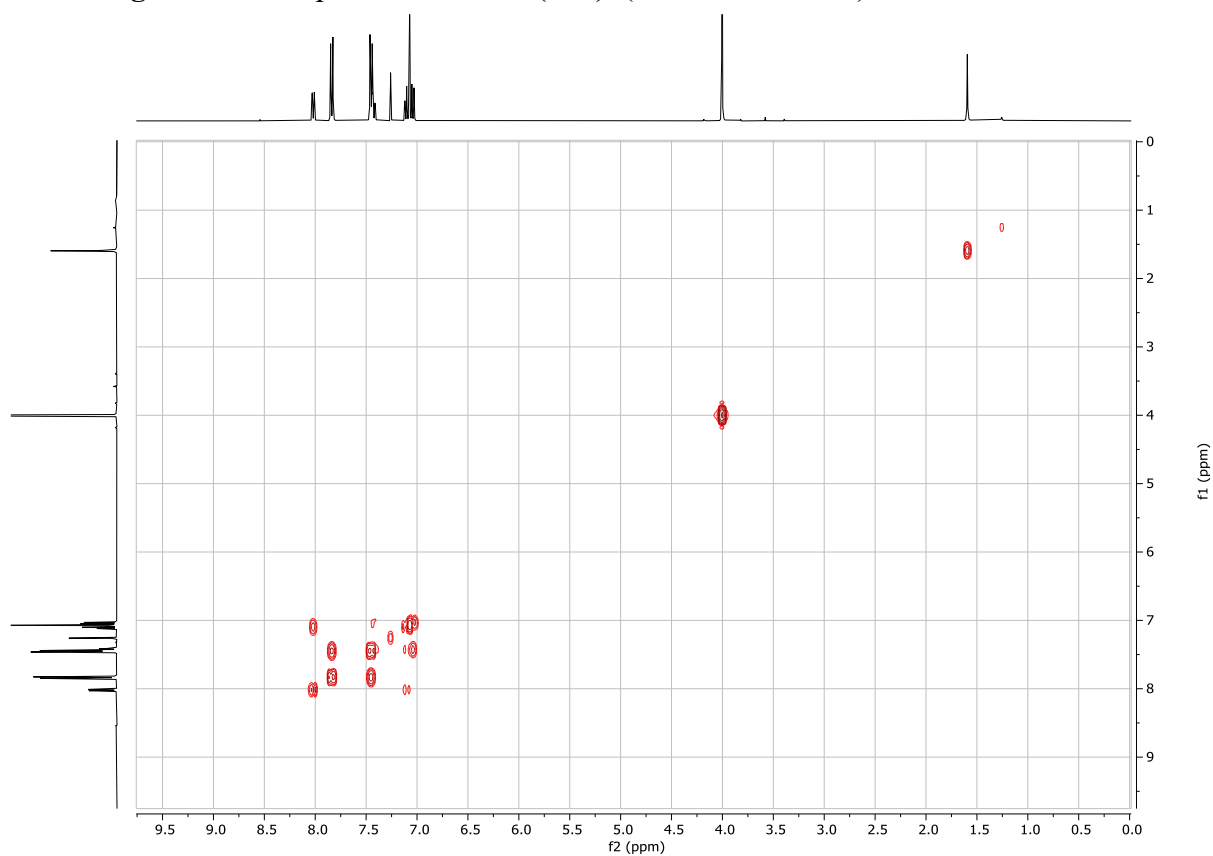
**Figura A38 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17h). (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



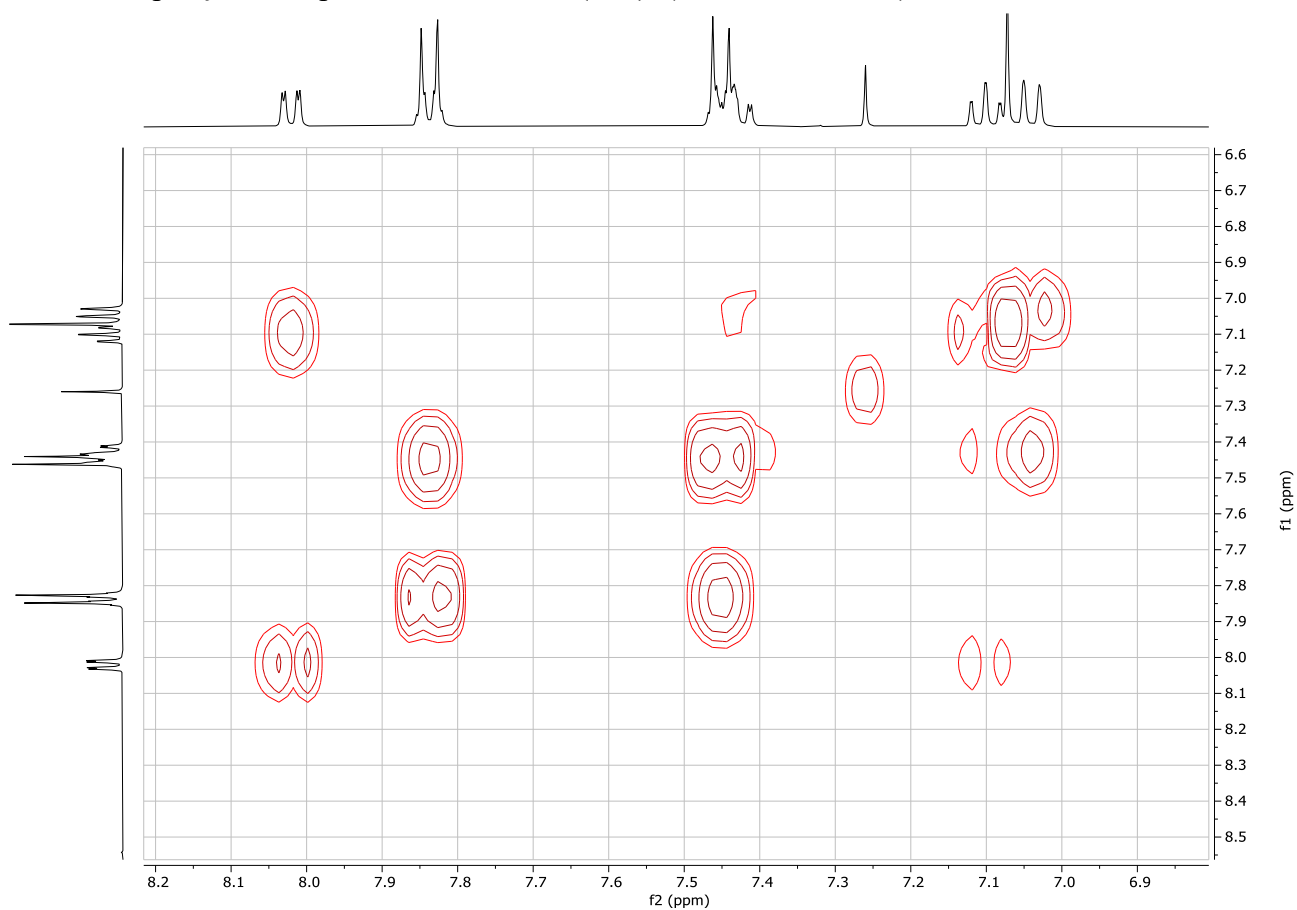
**Figura A39 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17h). (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



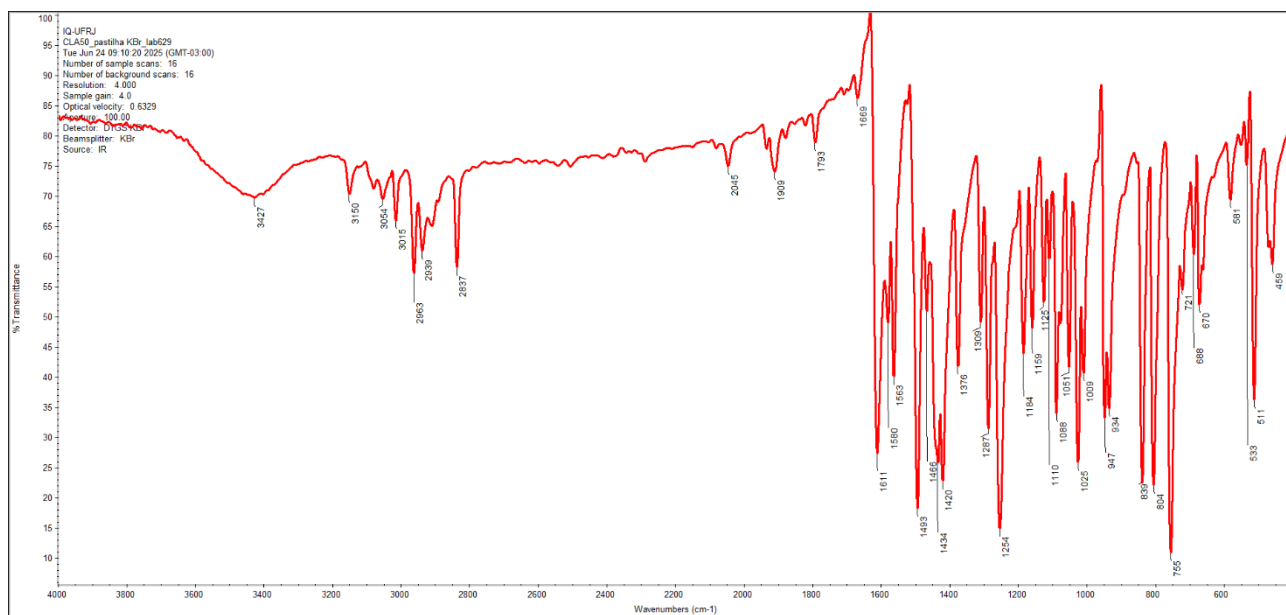
**Figura A40 - Espectro COSY de (17h).** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



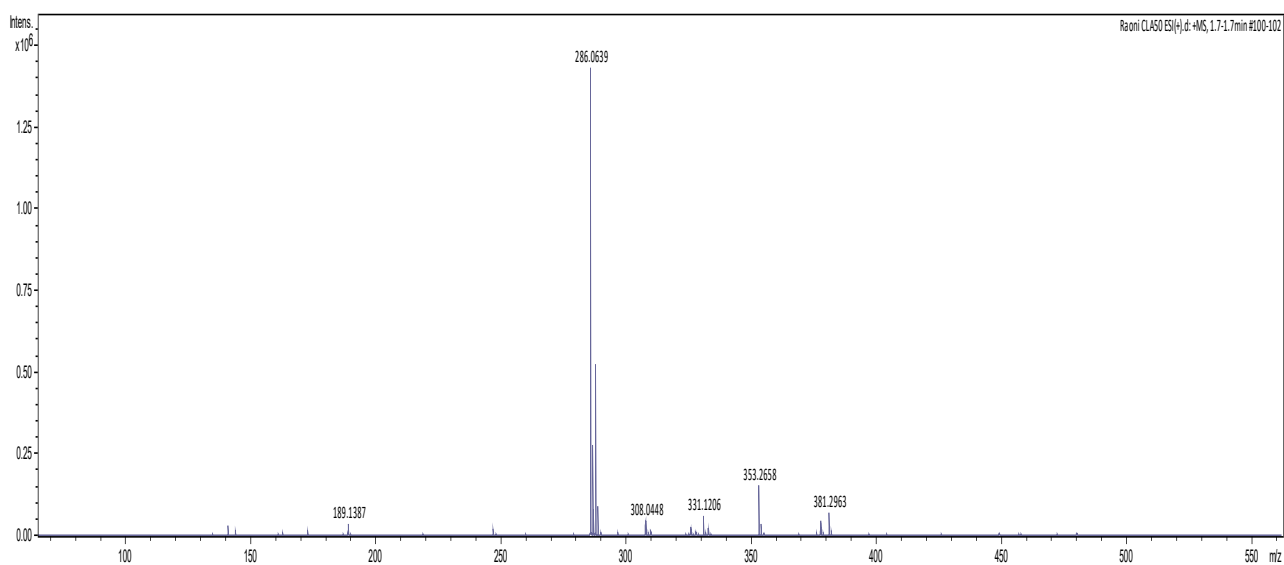
**Ampliação do espectro de COSY de (17h).** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Figura A41 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17h).**

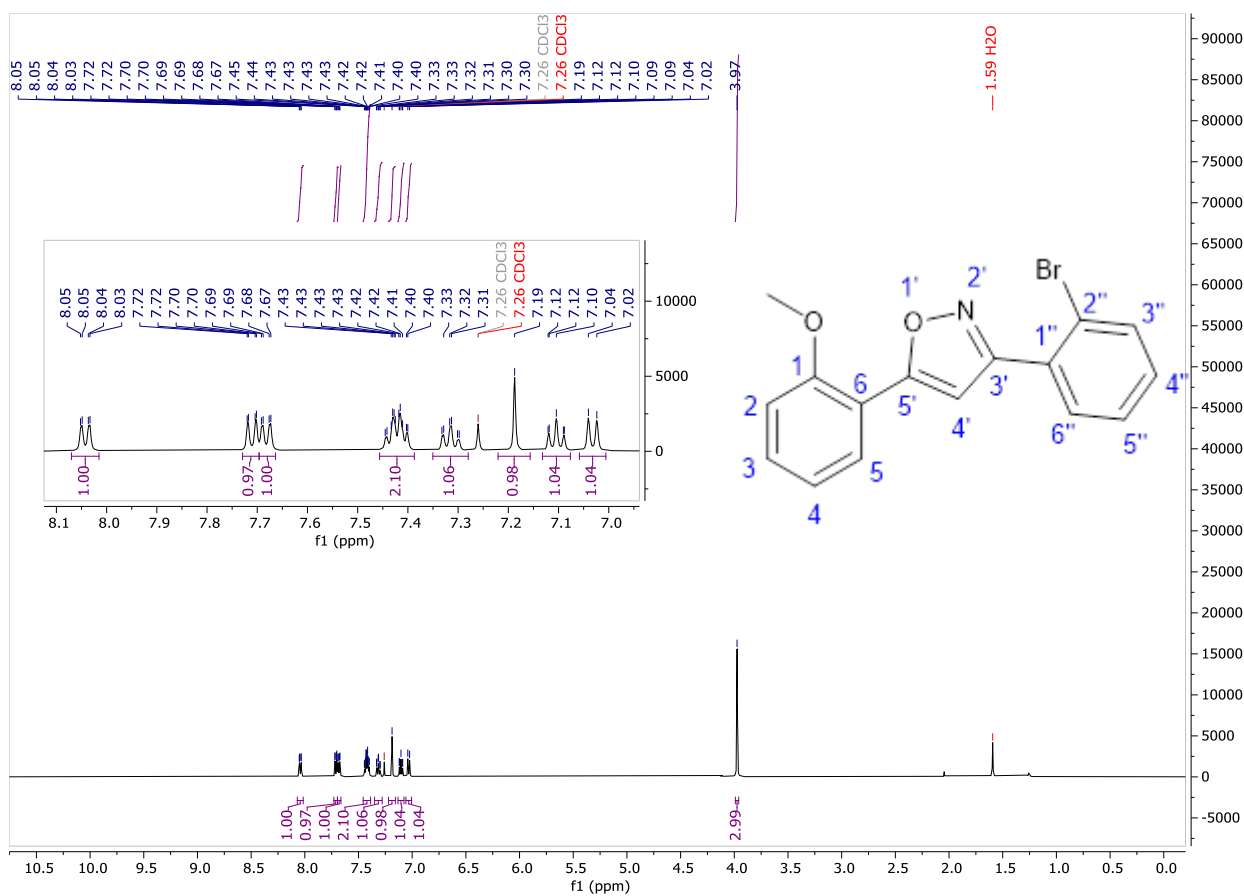


**Figura A42 - Espectro de Massas do composto (17h).**

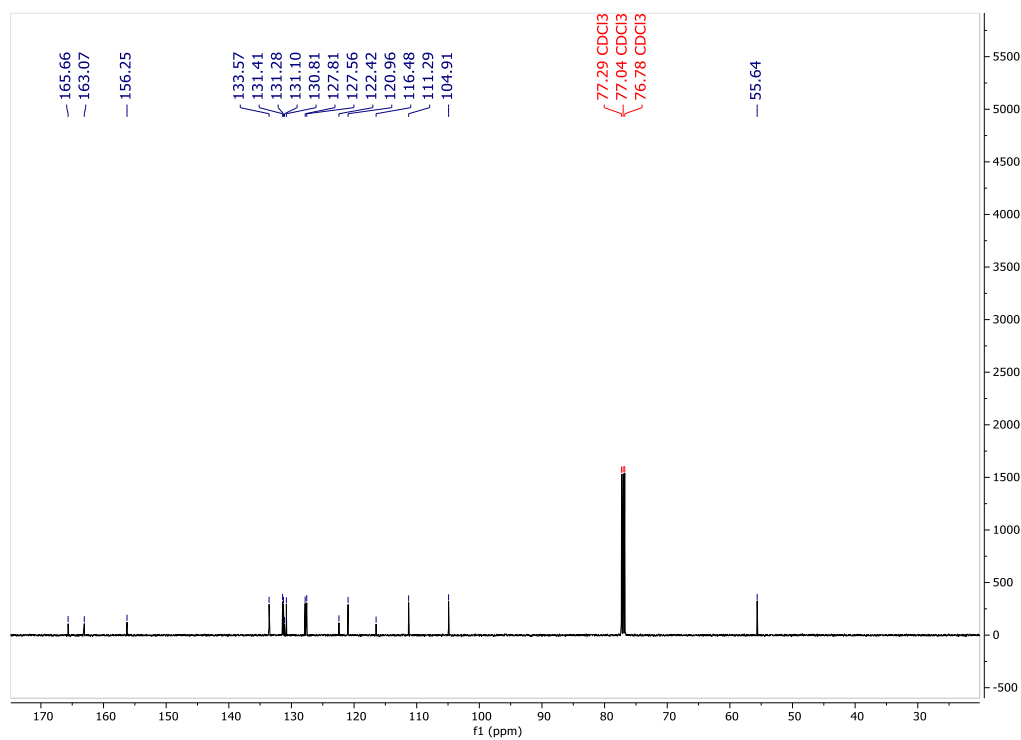




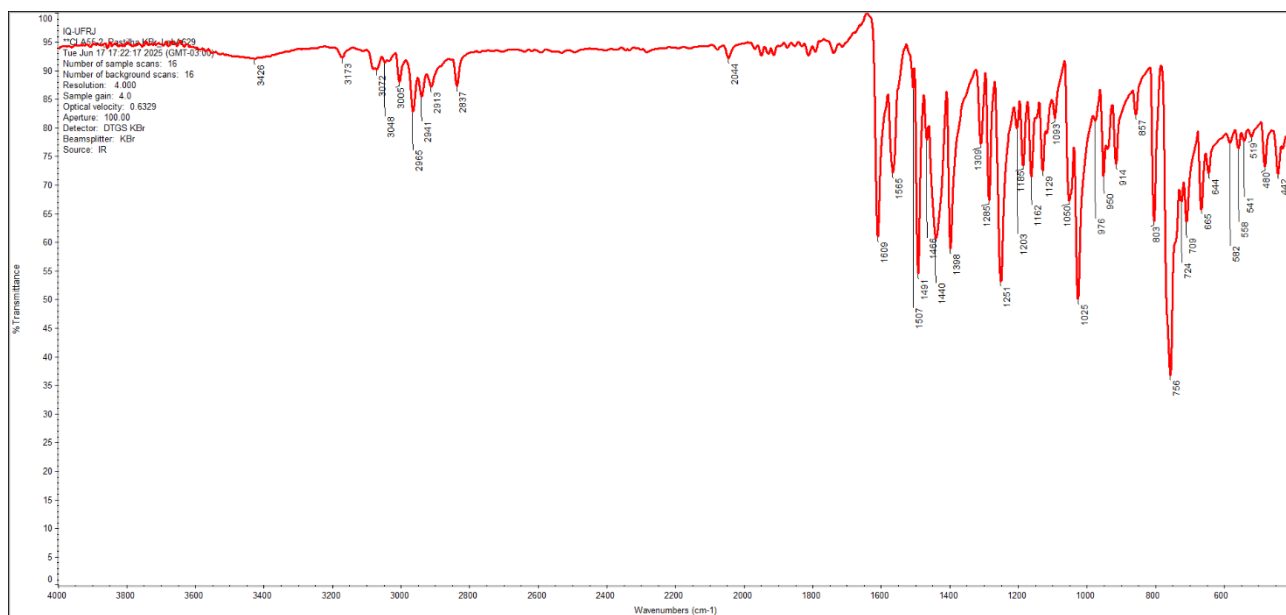
**Figura A43 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17i). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



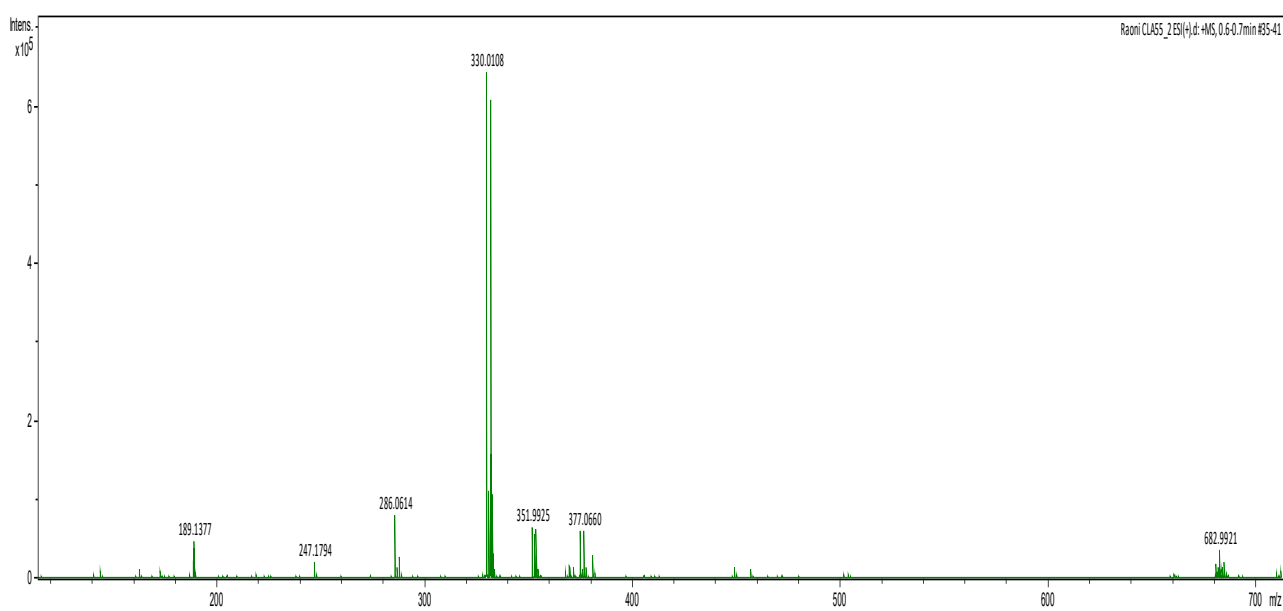
**Figura A44 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17i). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



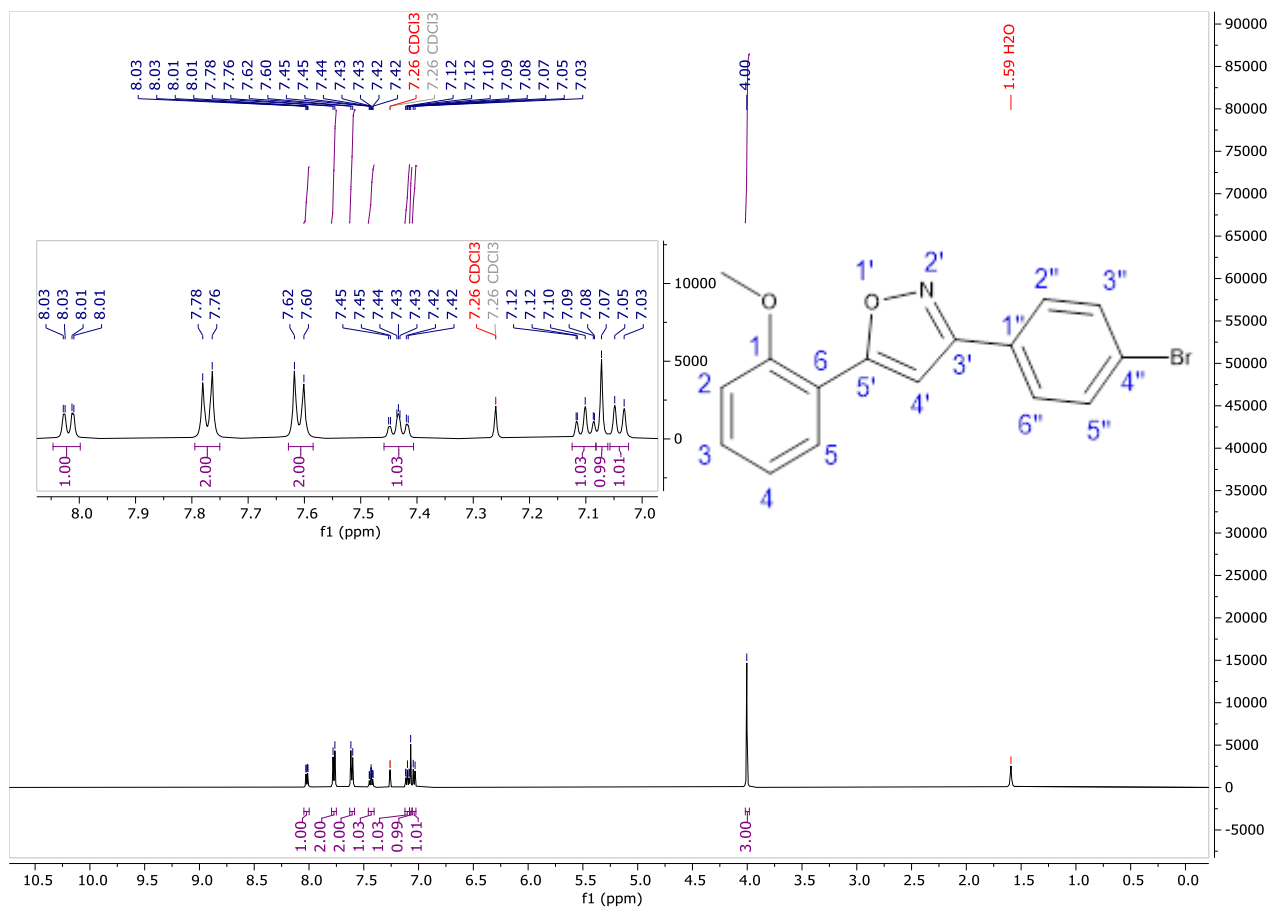
**Figura A45 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17i).**



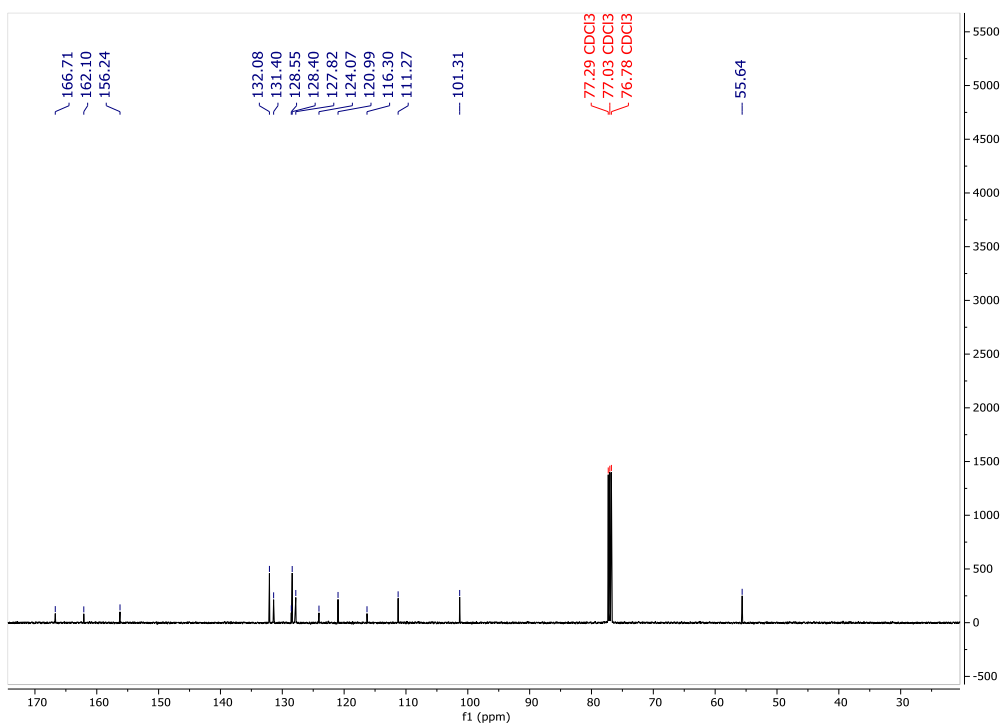
**Figura A46 - Espectro de Massas do composto (17i).**



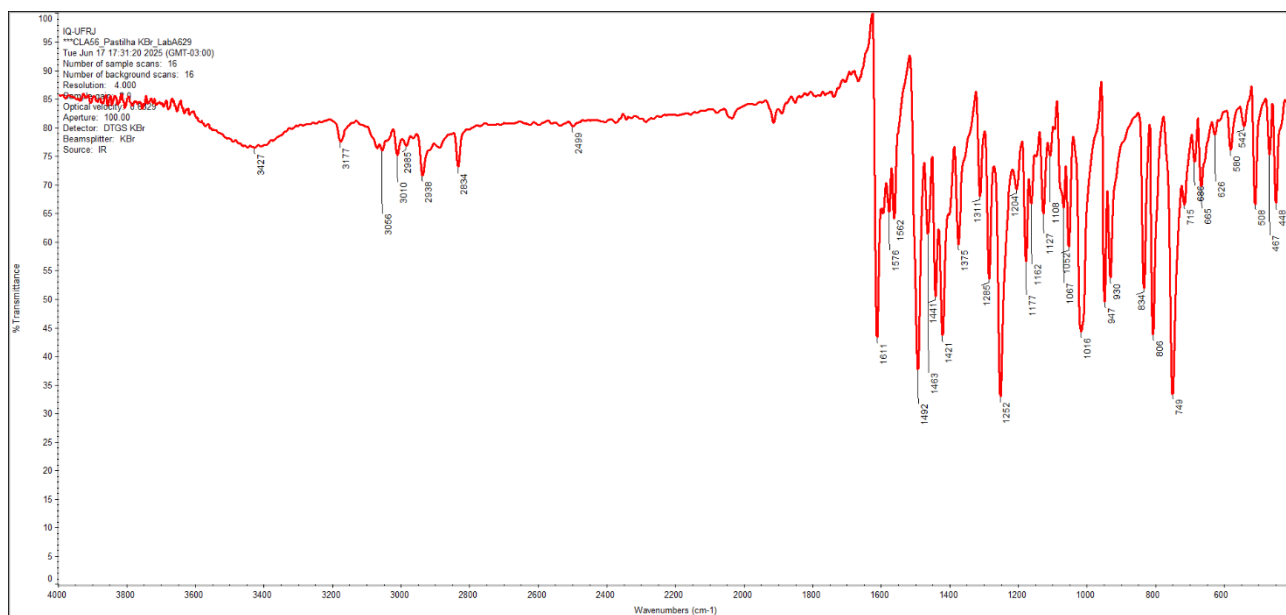
**Figura A47 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17j).** (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



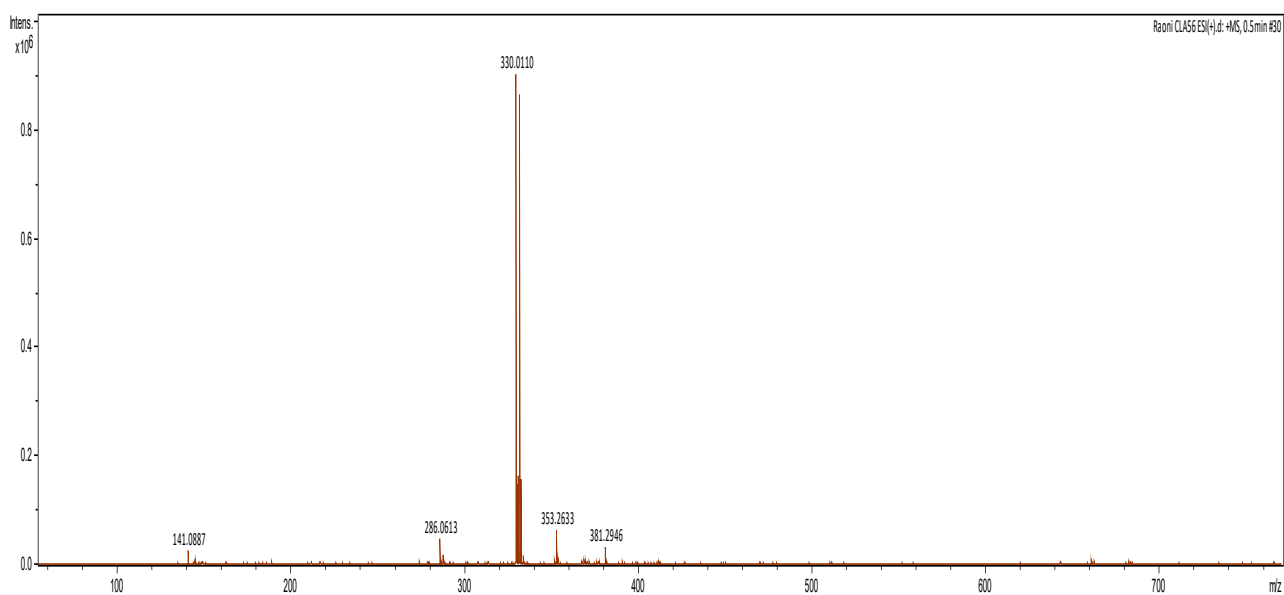
**Figura A48 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17j).** (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



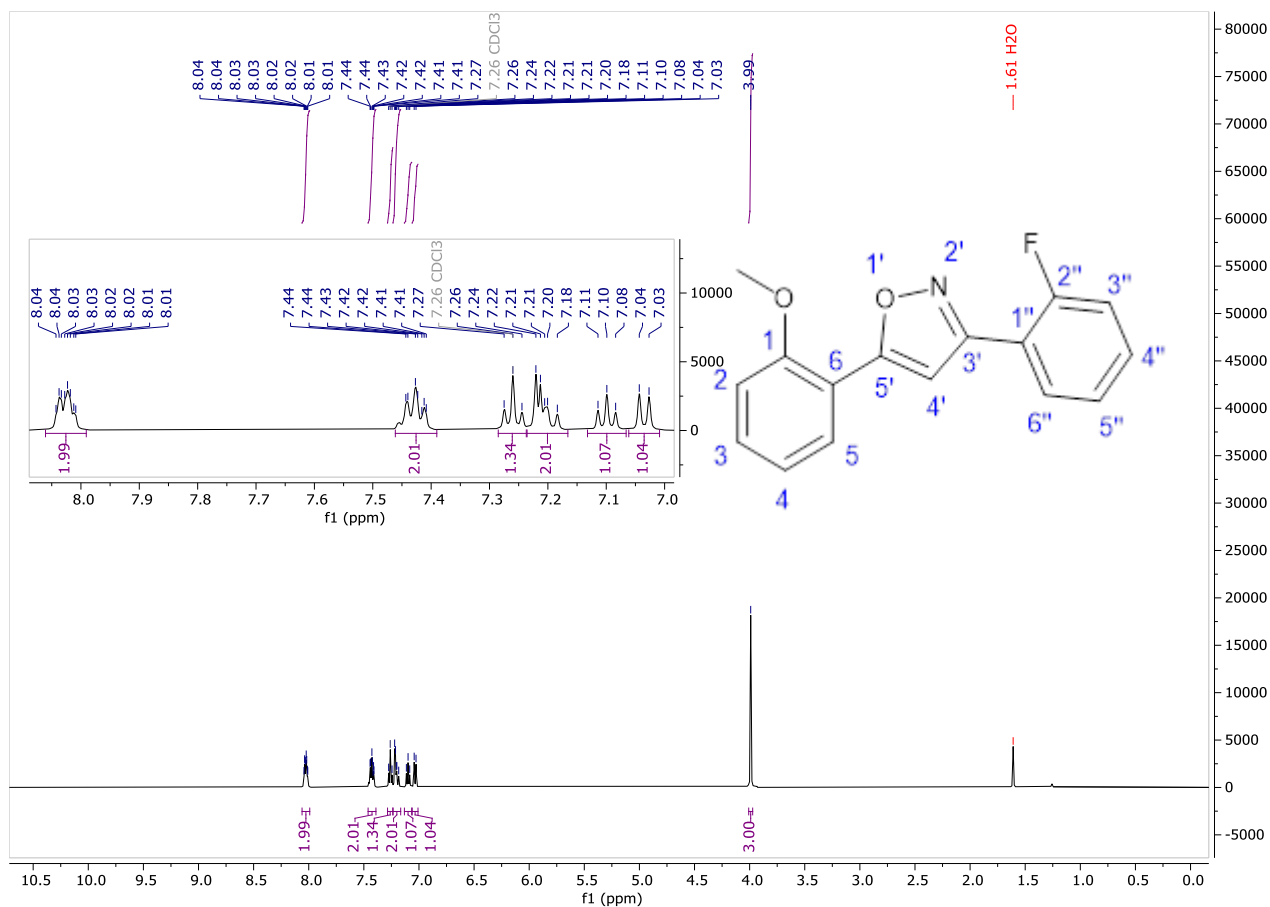
**Figura A49 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17j).**



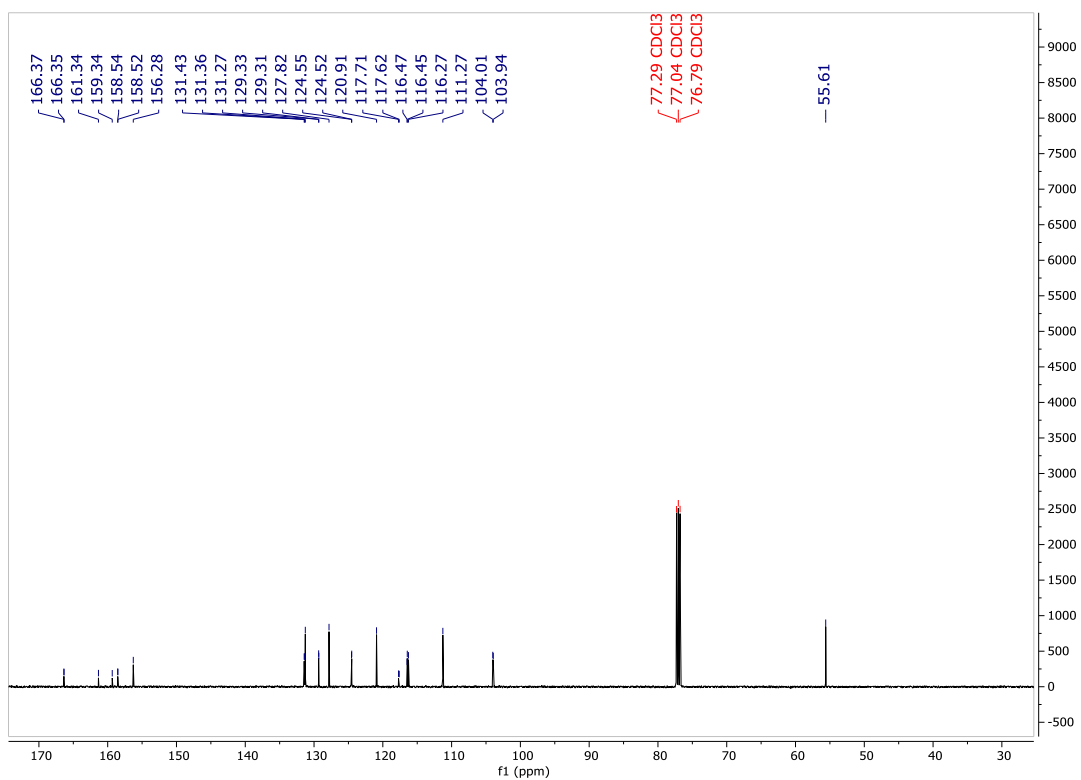
**Figura A50 - Espectro de Massas do composto (17j).**



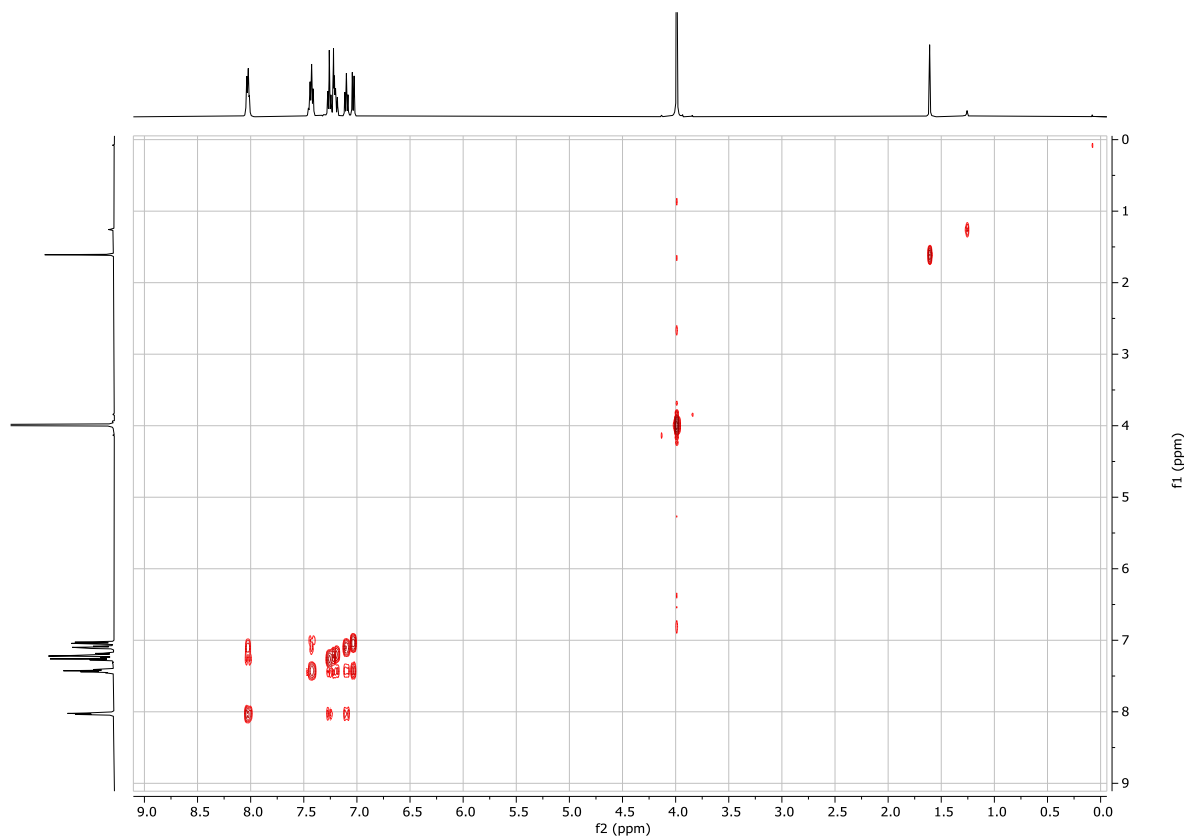
**Figura A51 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17k). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



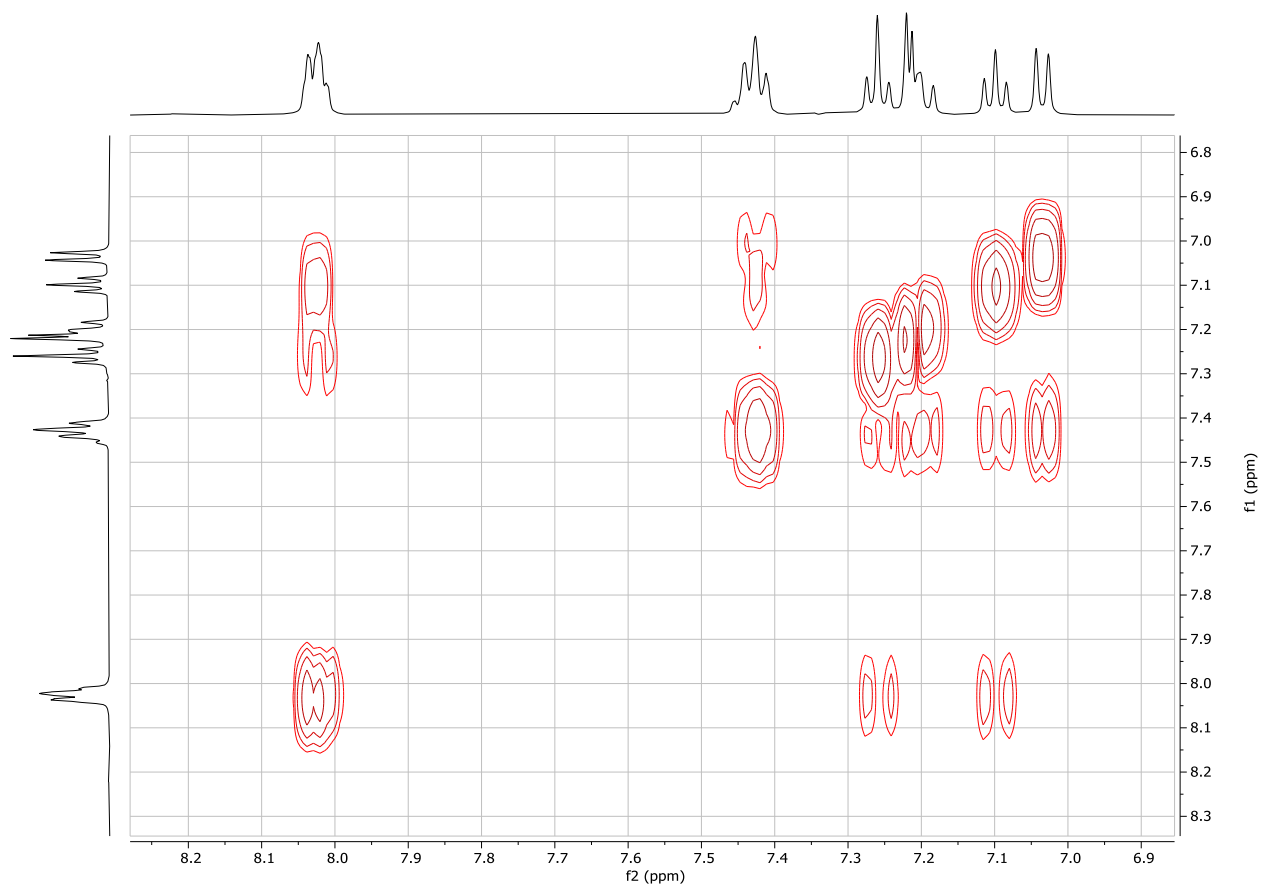
**Figura A52 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17k). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



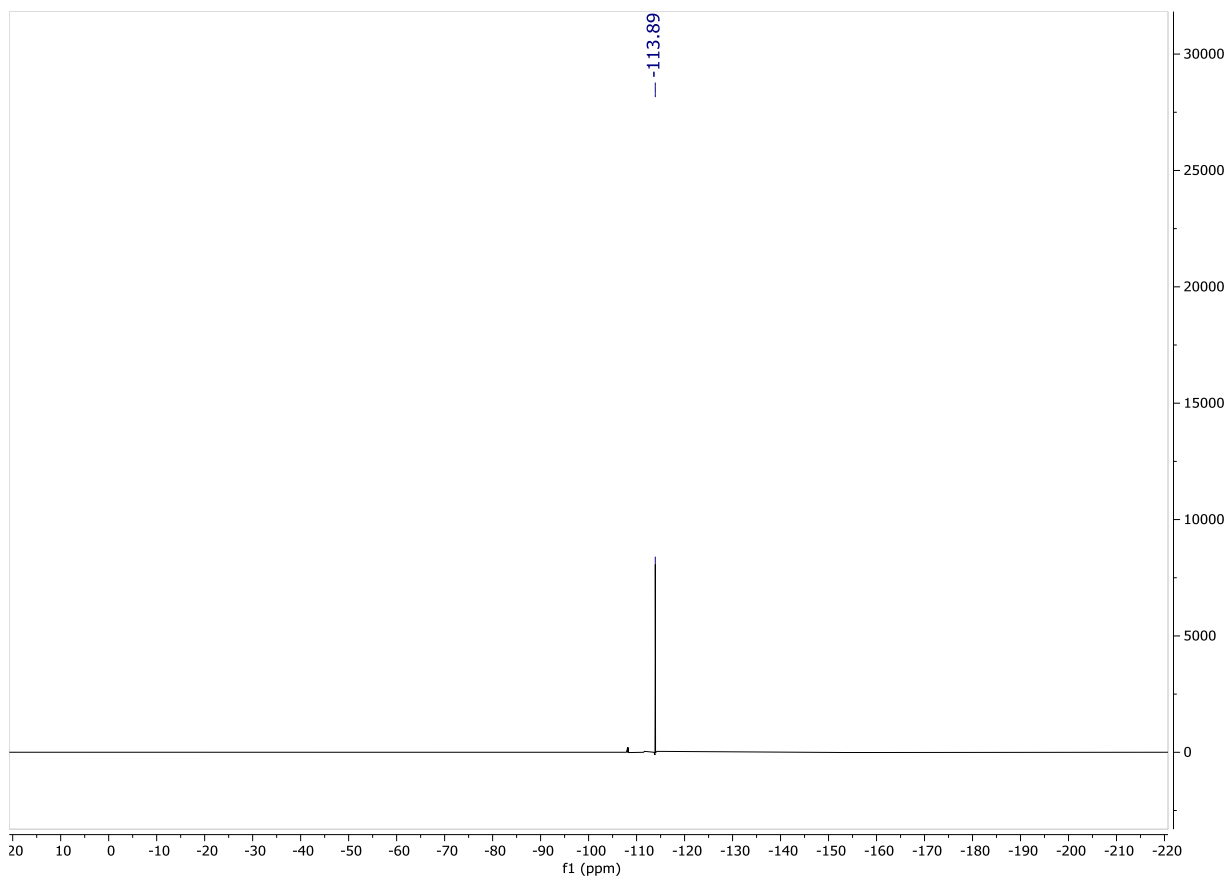
**Figura A53 - Espectro COSY de (17k). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



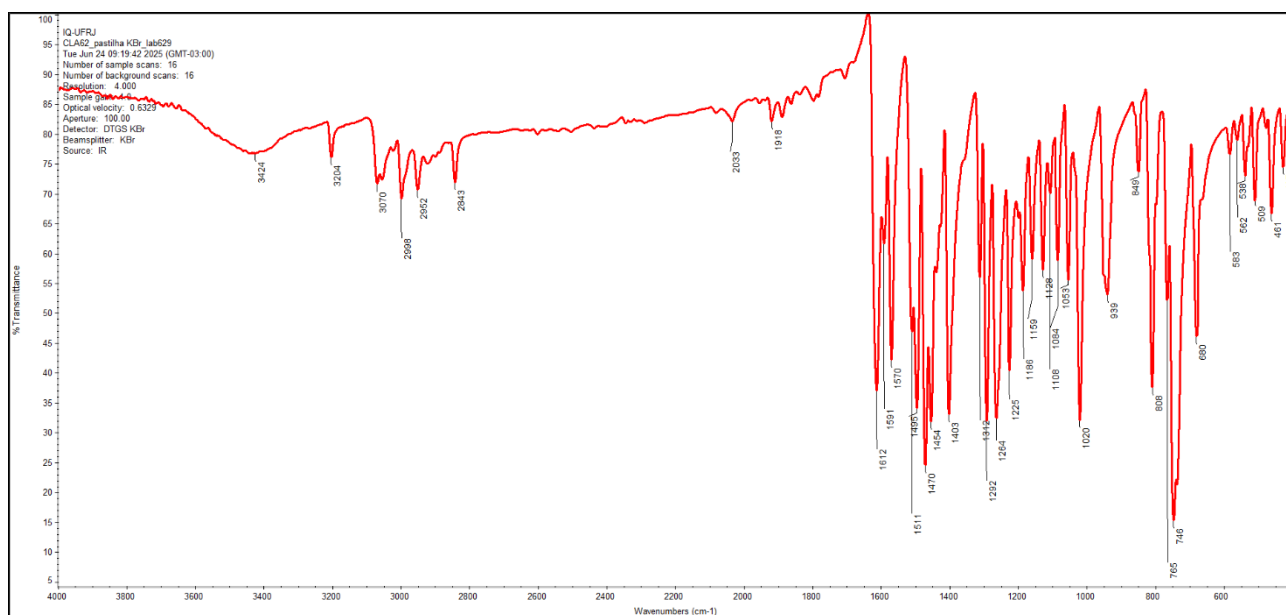
**Ampliação do espectro de COSY de (17k). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

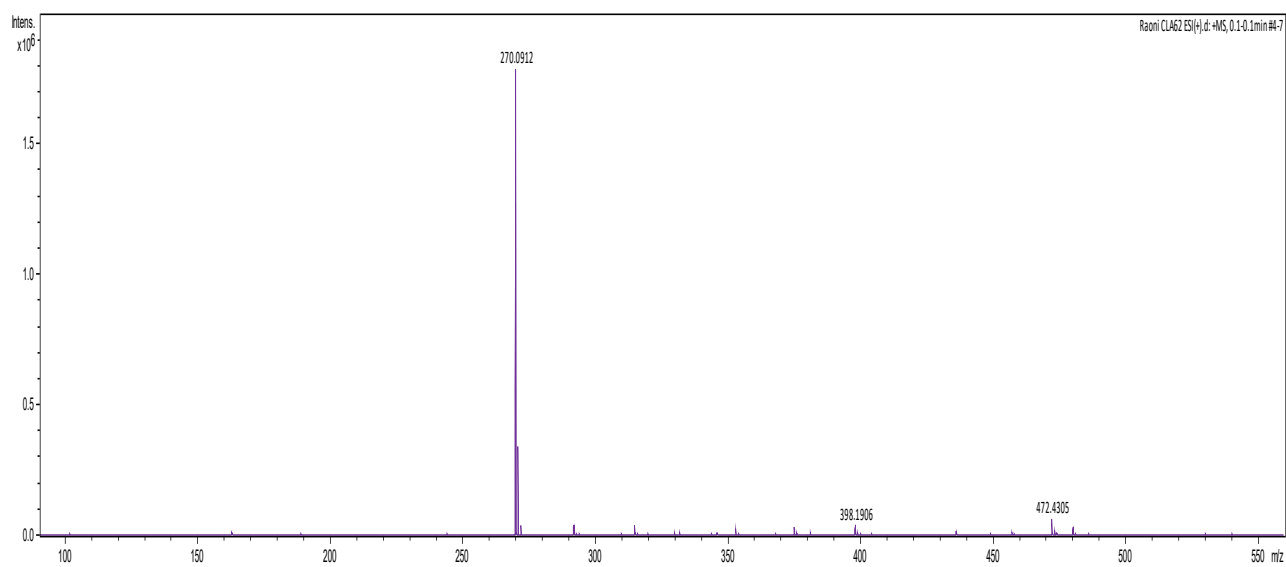


**Figura A54** - Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  de **(17k)**. (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



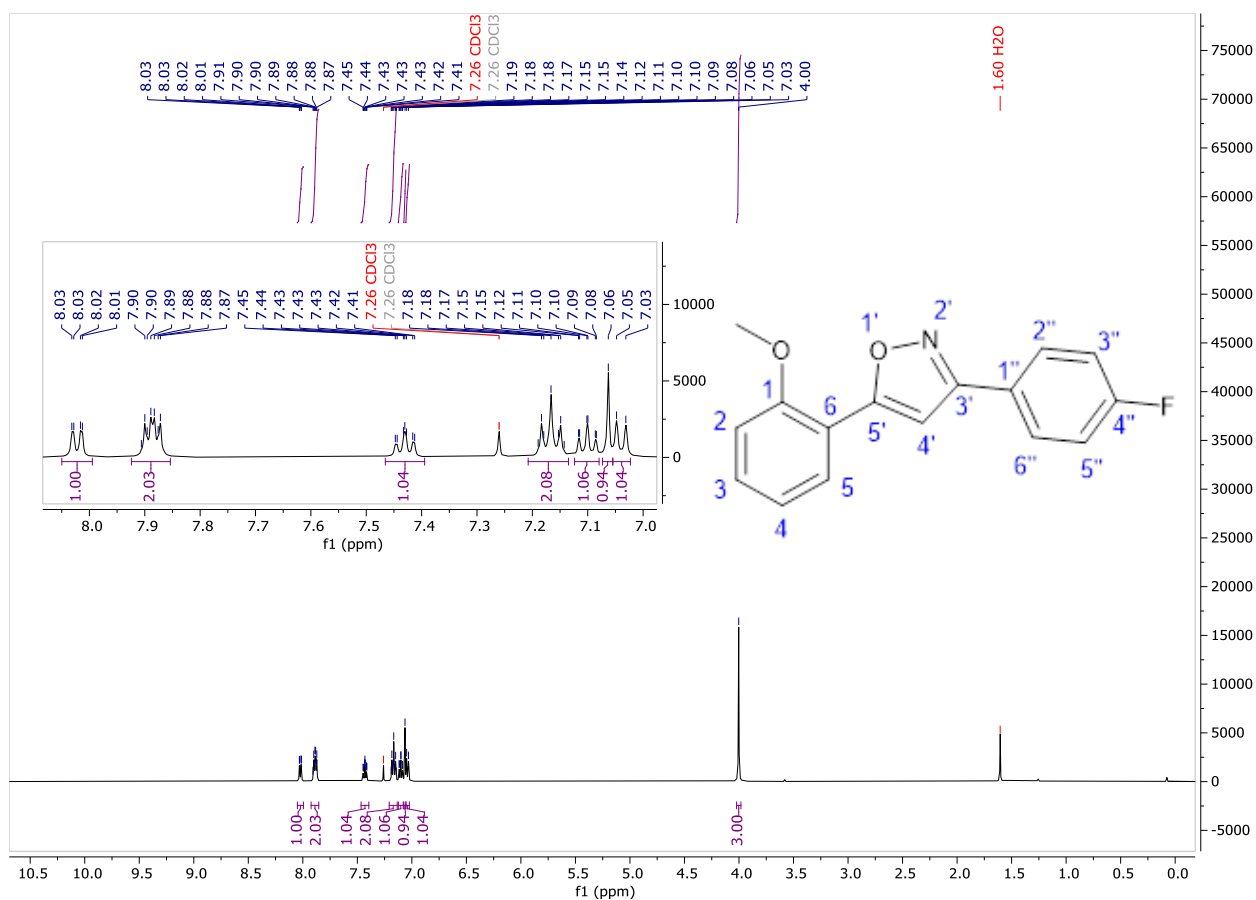
**Figura A55** - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto **(17k)**.



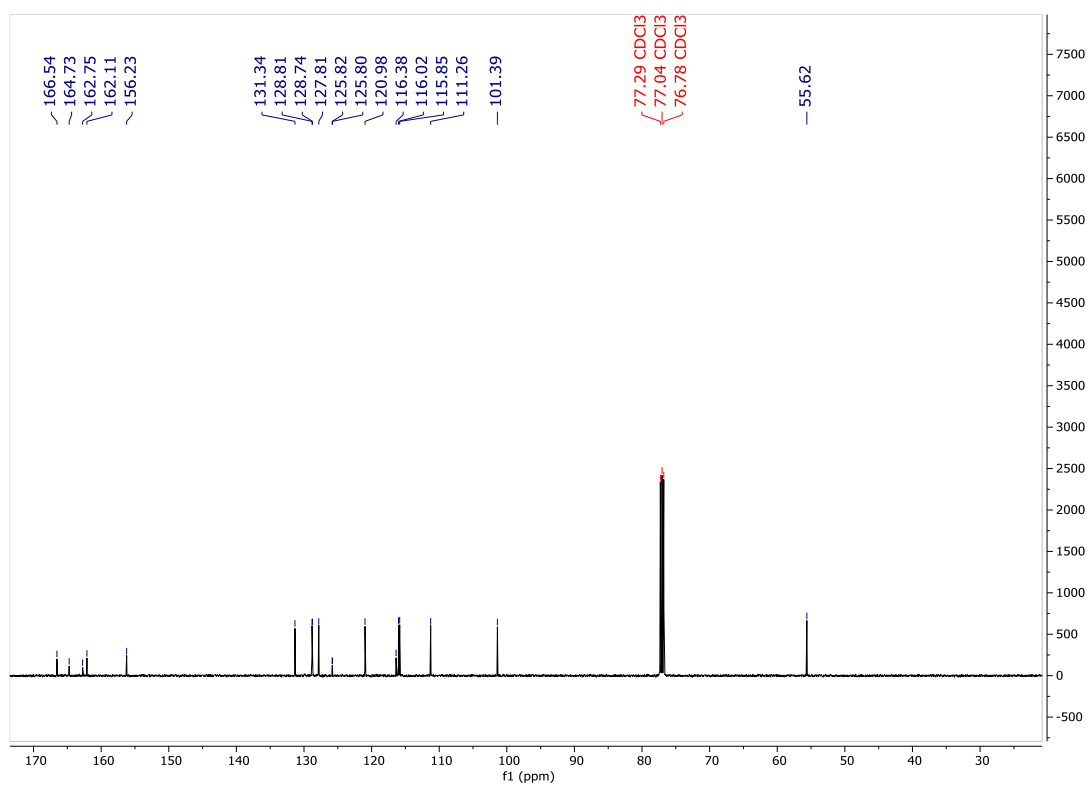
**Figura A56 - Espectro de Massas do composto (17k).**



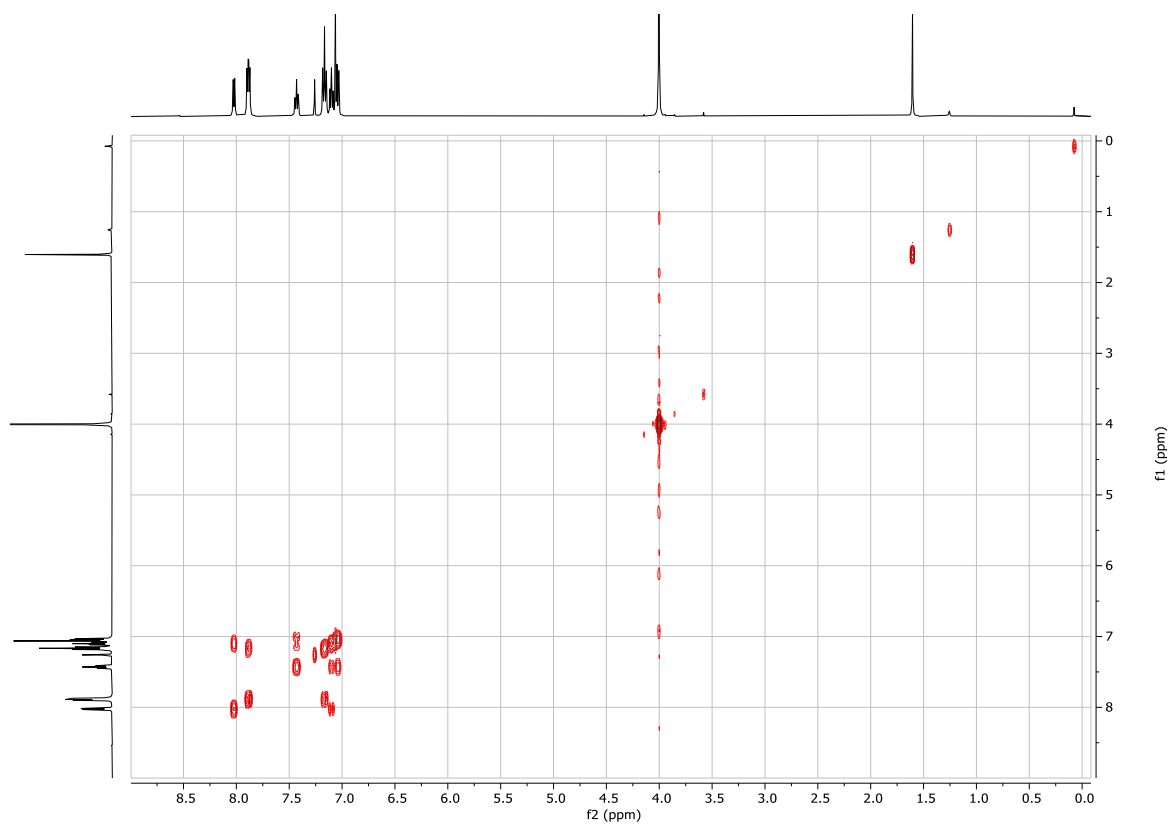
**Figura A57 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17l). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



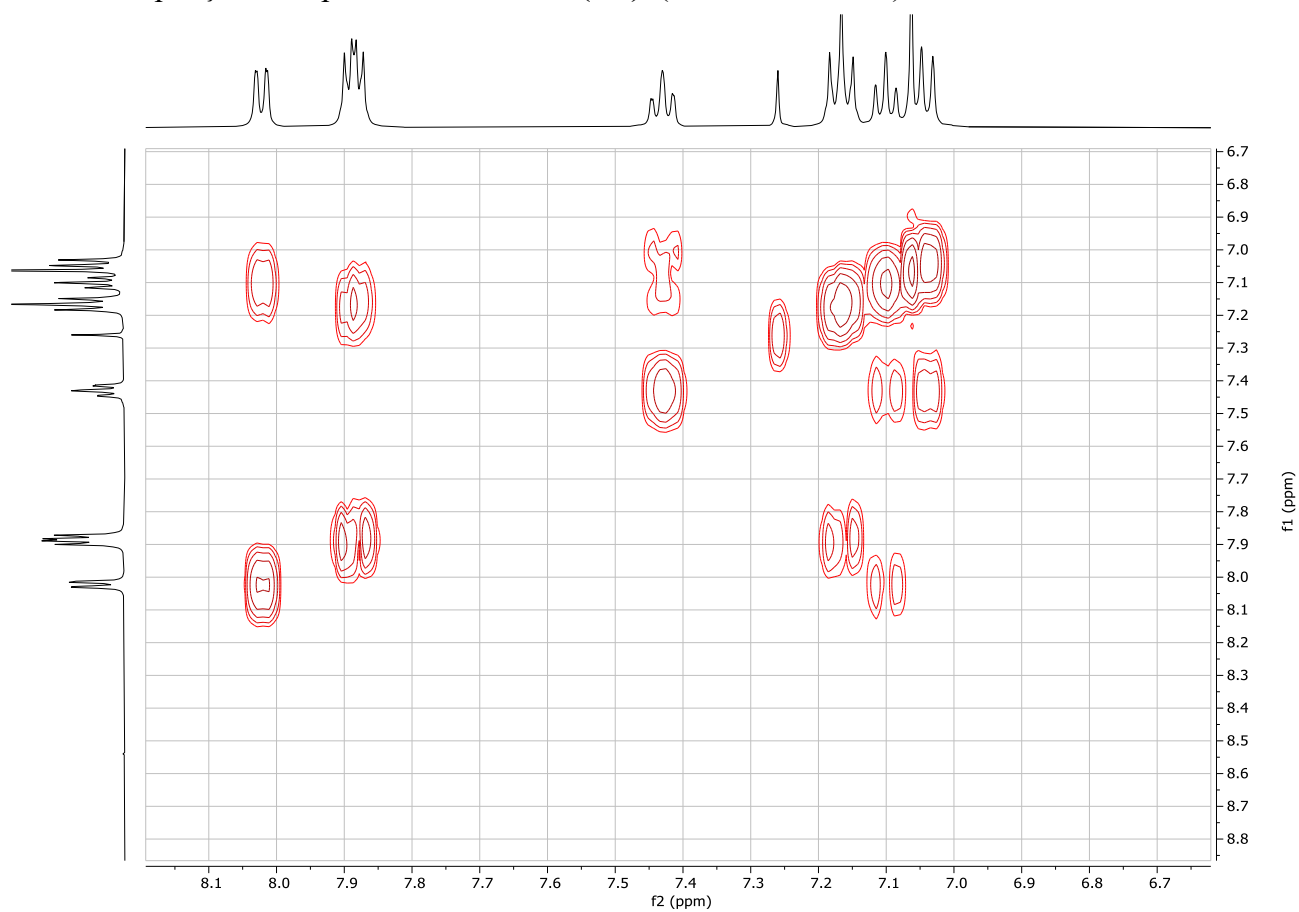
**Figura A58 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17l). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



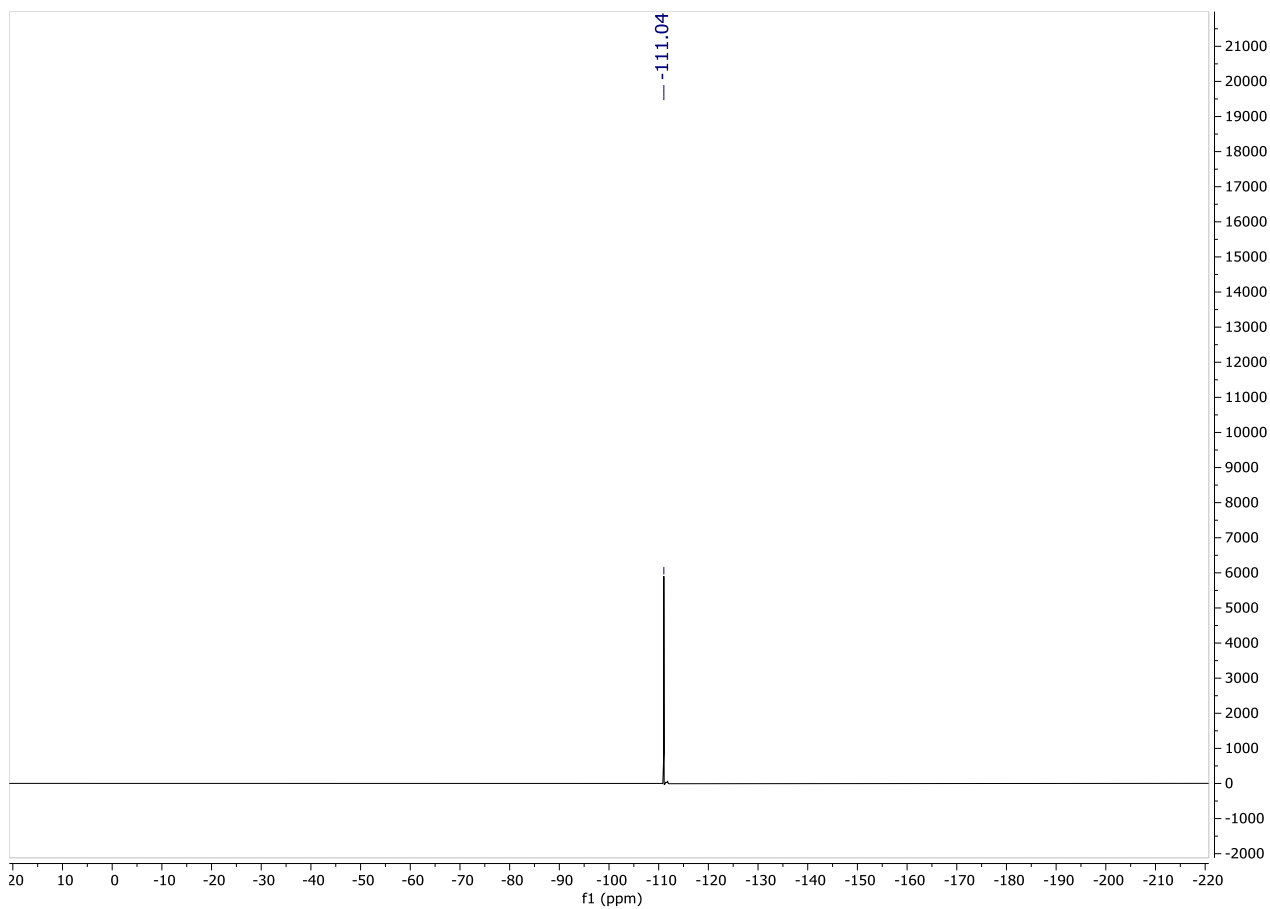
**Figura A59** - Espectro COSY de **(17I)**. (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



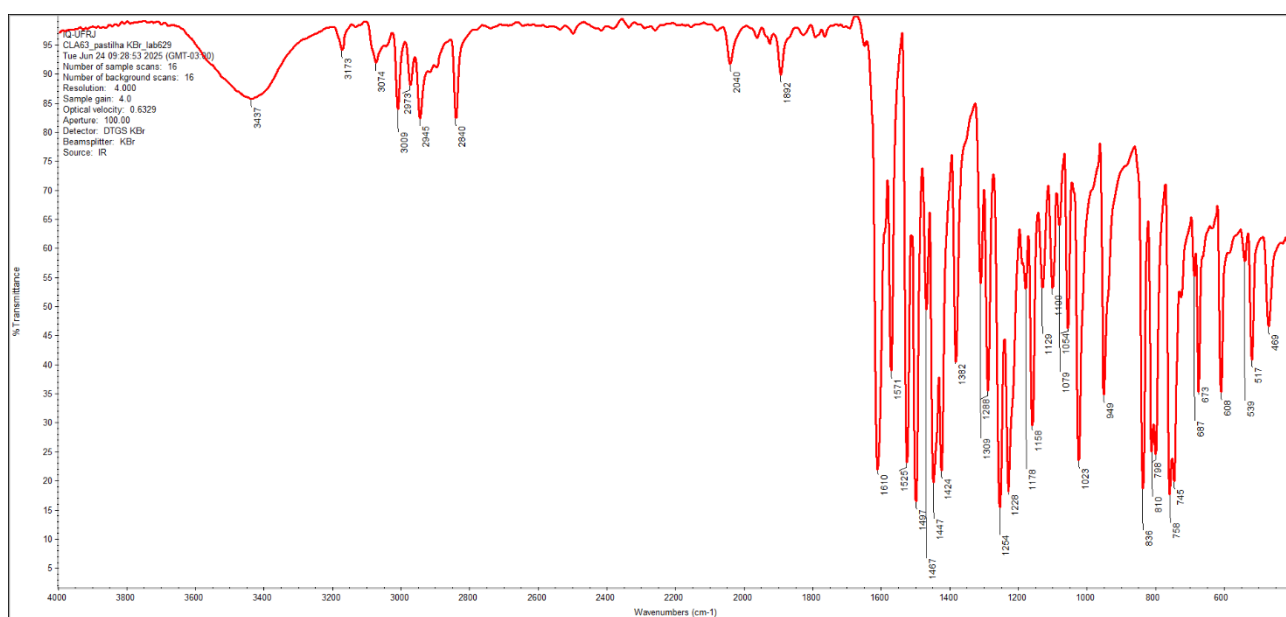
**Ampliação do espectro de COSY de (17I).** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

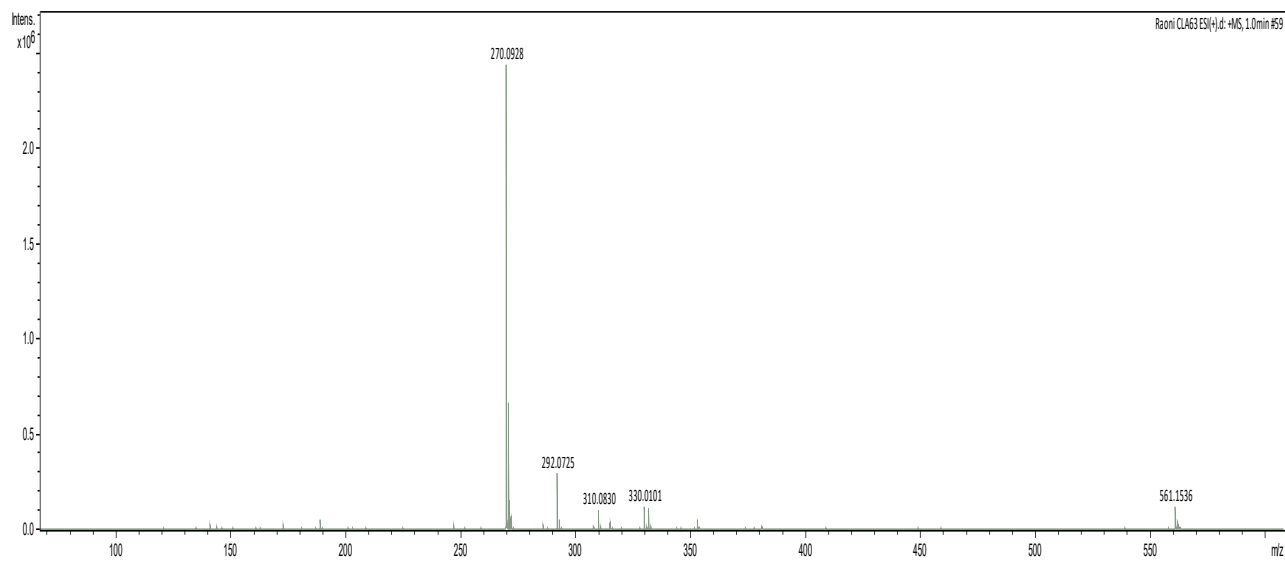


**Figura A60** - Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  de **(17I)**. (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

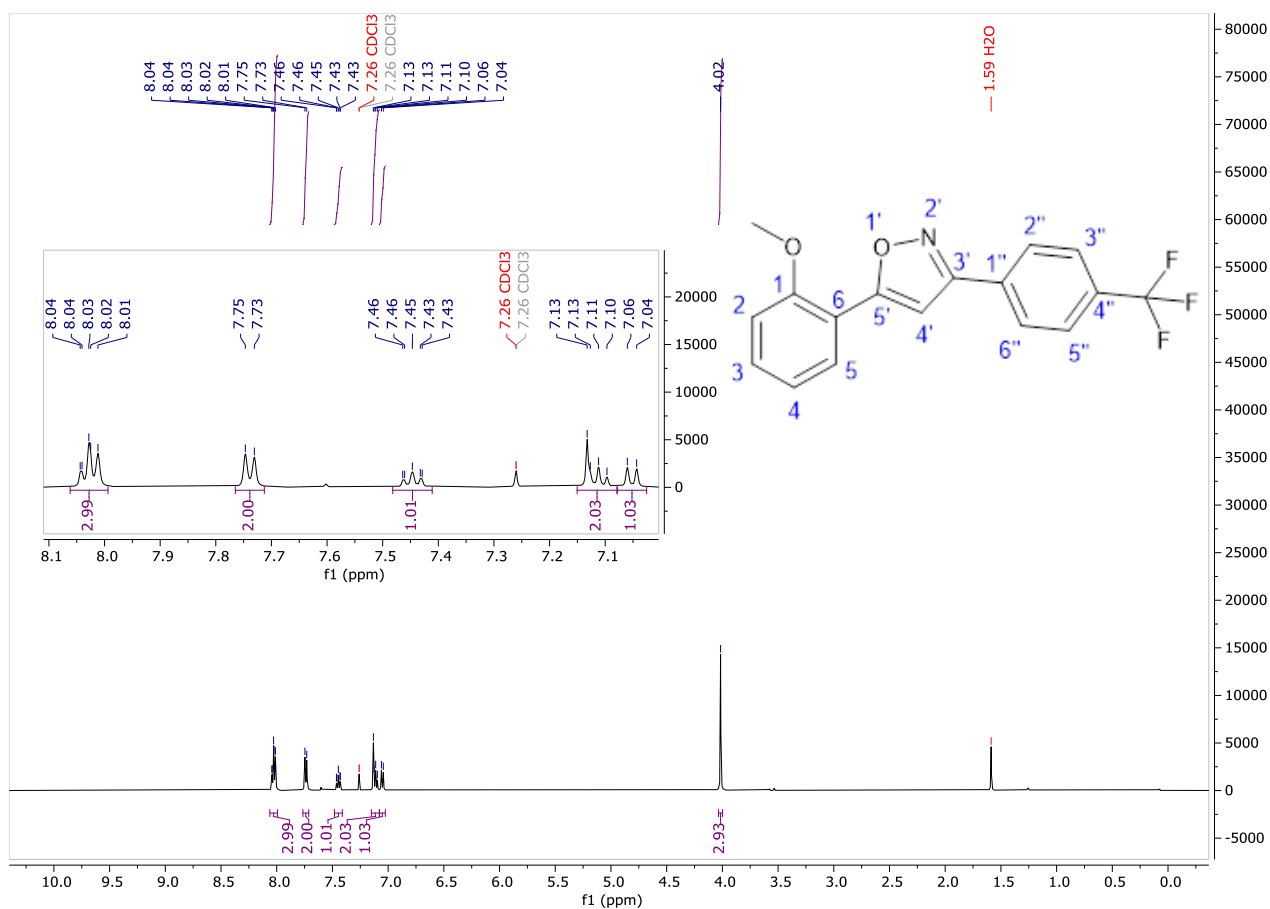


**Figura A61** - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto **(17I)**.

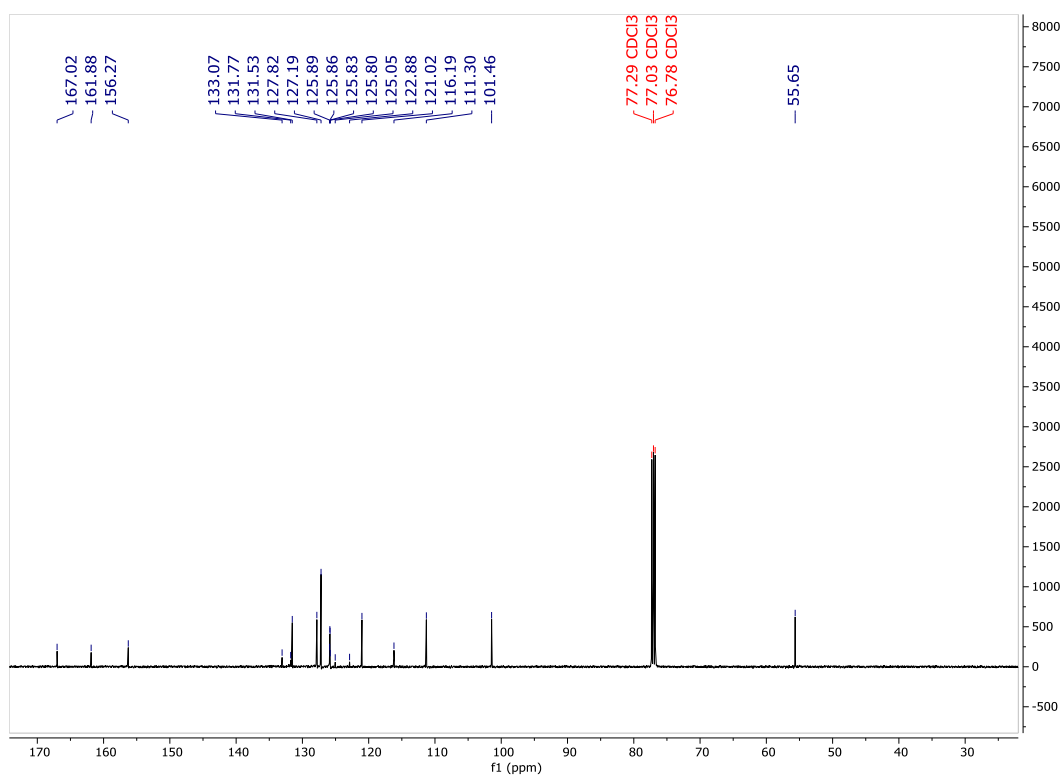


**Figura A62 - Espectro de Massas do composto (171).**

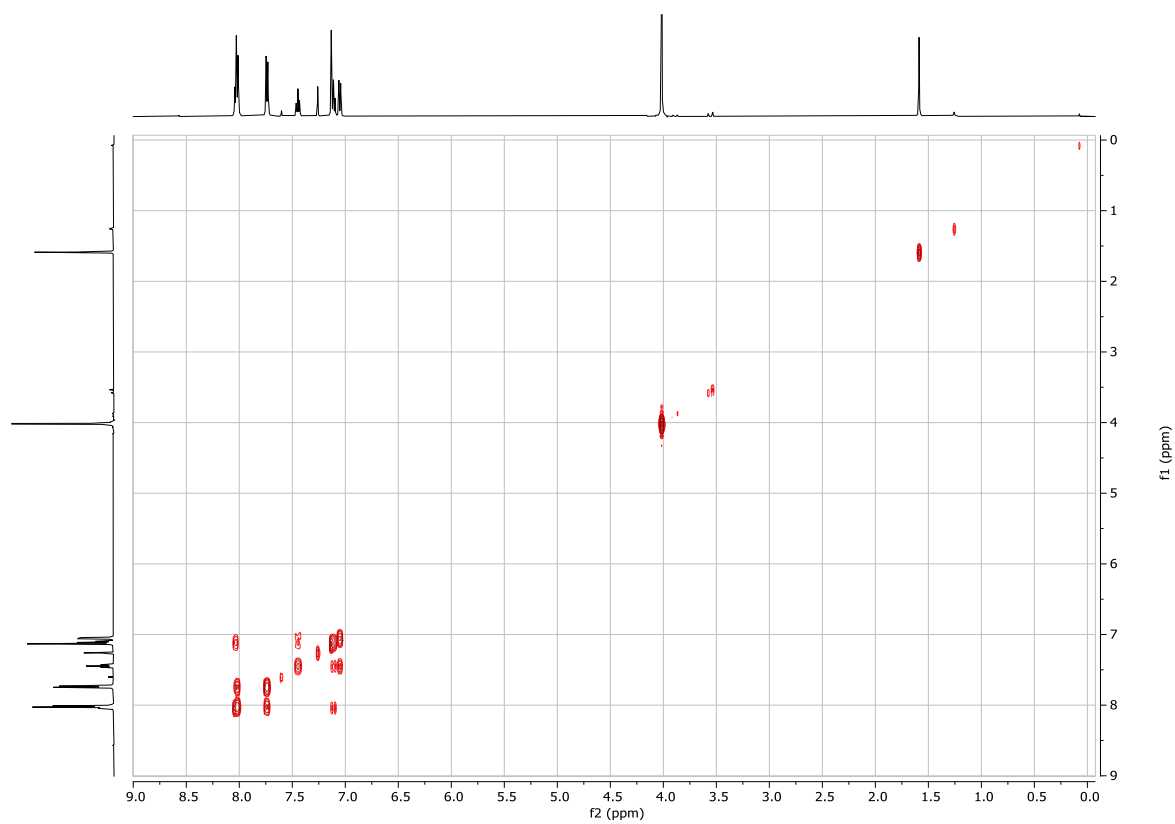
**Figura A63 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17m). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



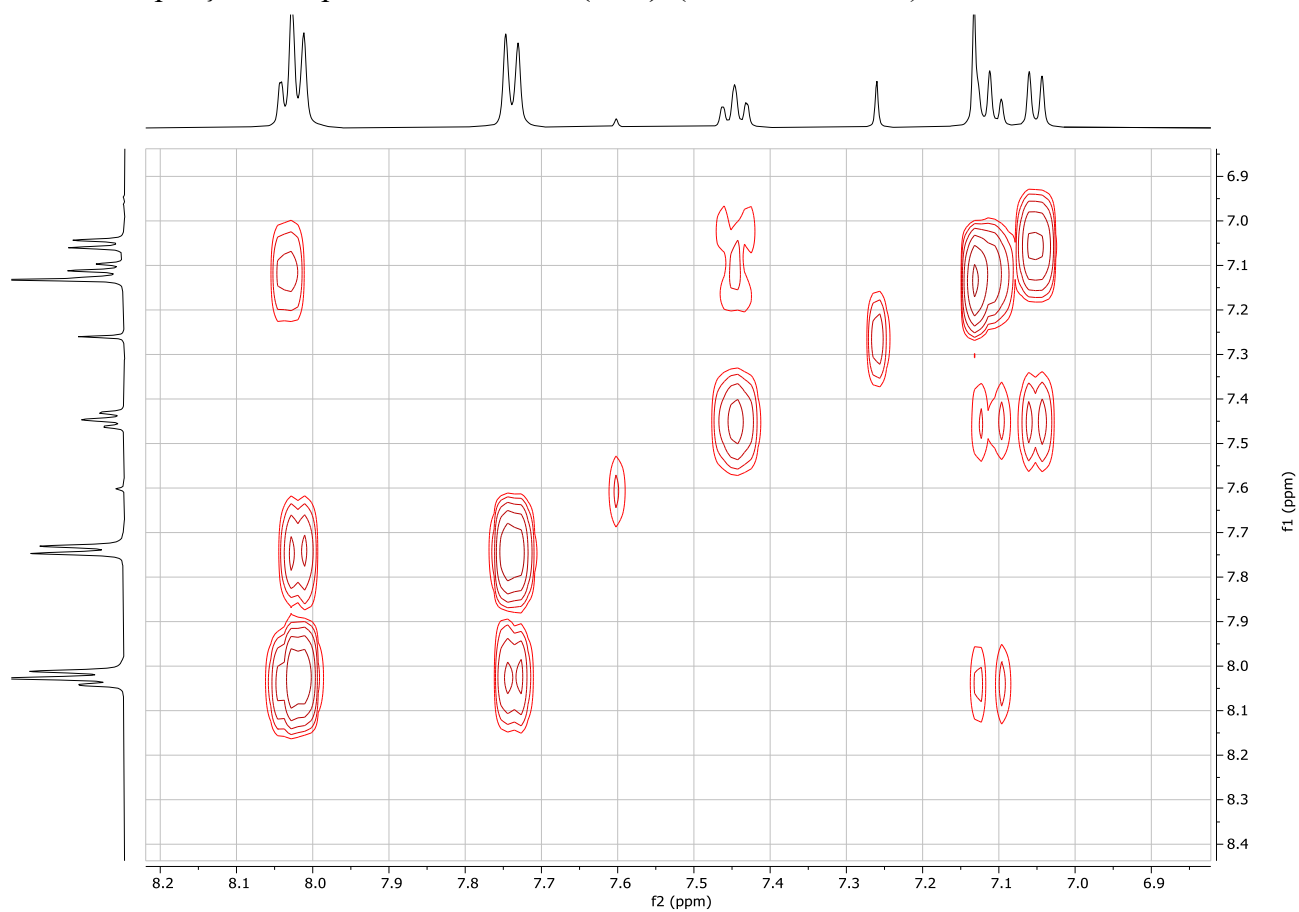
**Figura A64 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17m). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



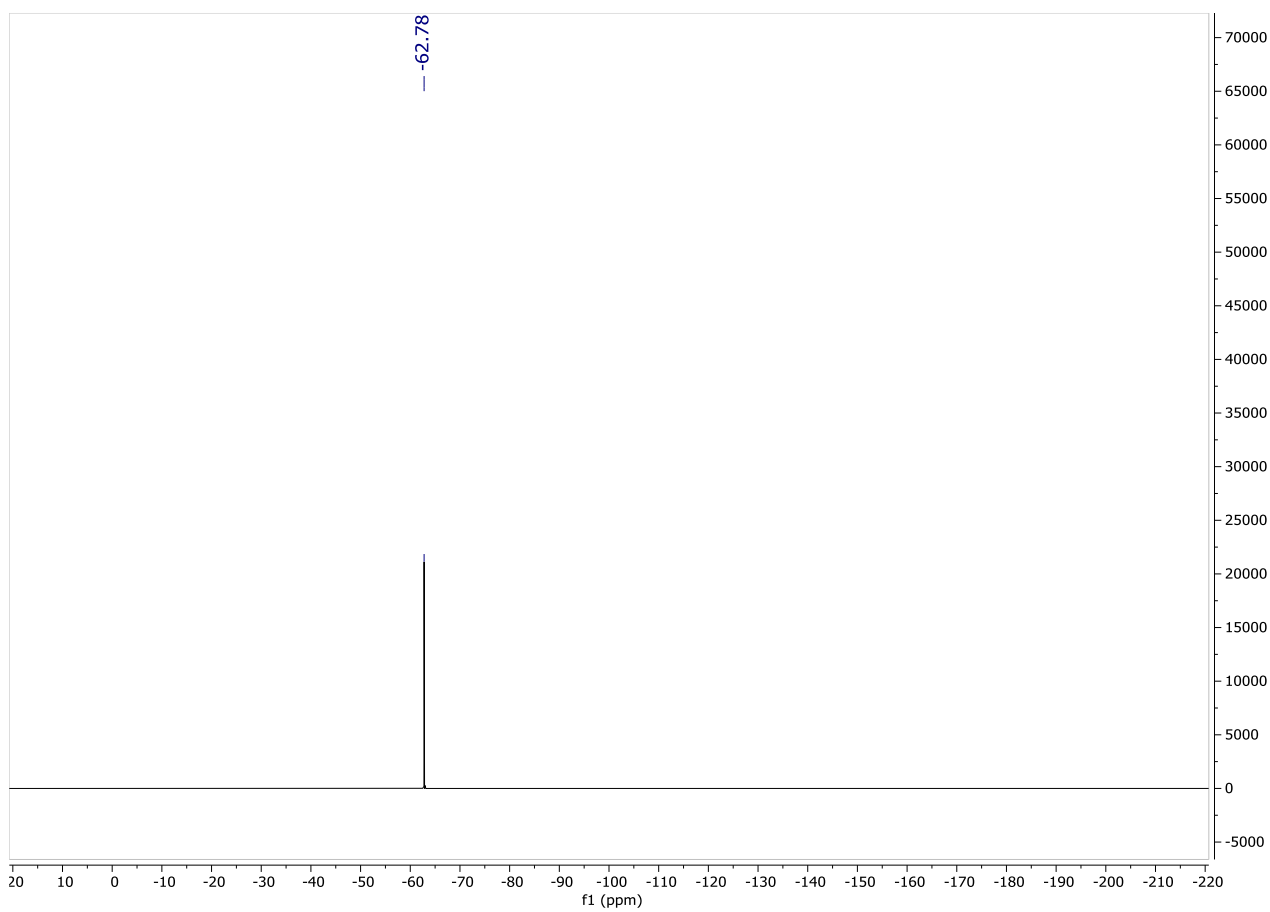
**Figura A65 - Espectro COSY de (17m). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**



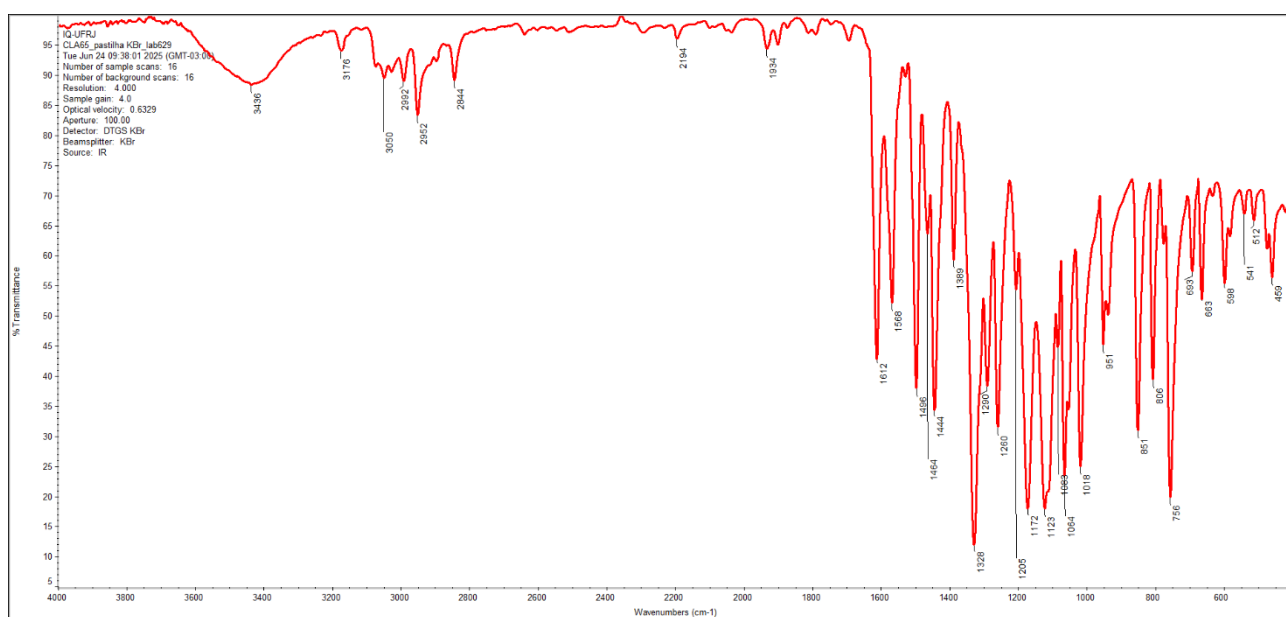
**Ampliação do espectro de COSY de (17m). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**

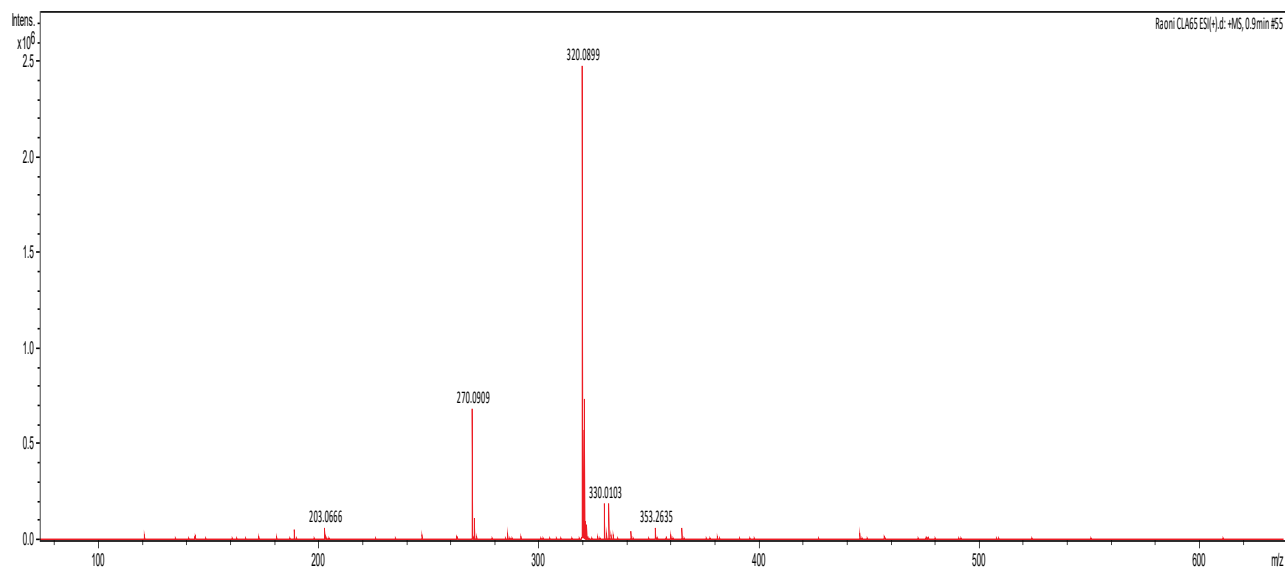


**Figura A66 - Espectro de RMN  $^{19}\text{F}$  de (17m). (471 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



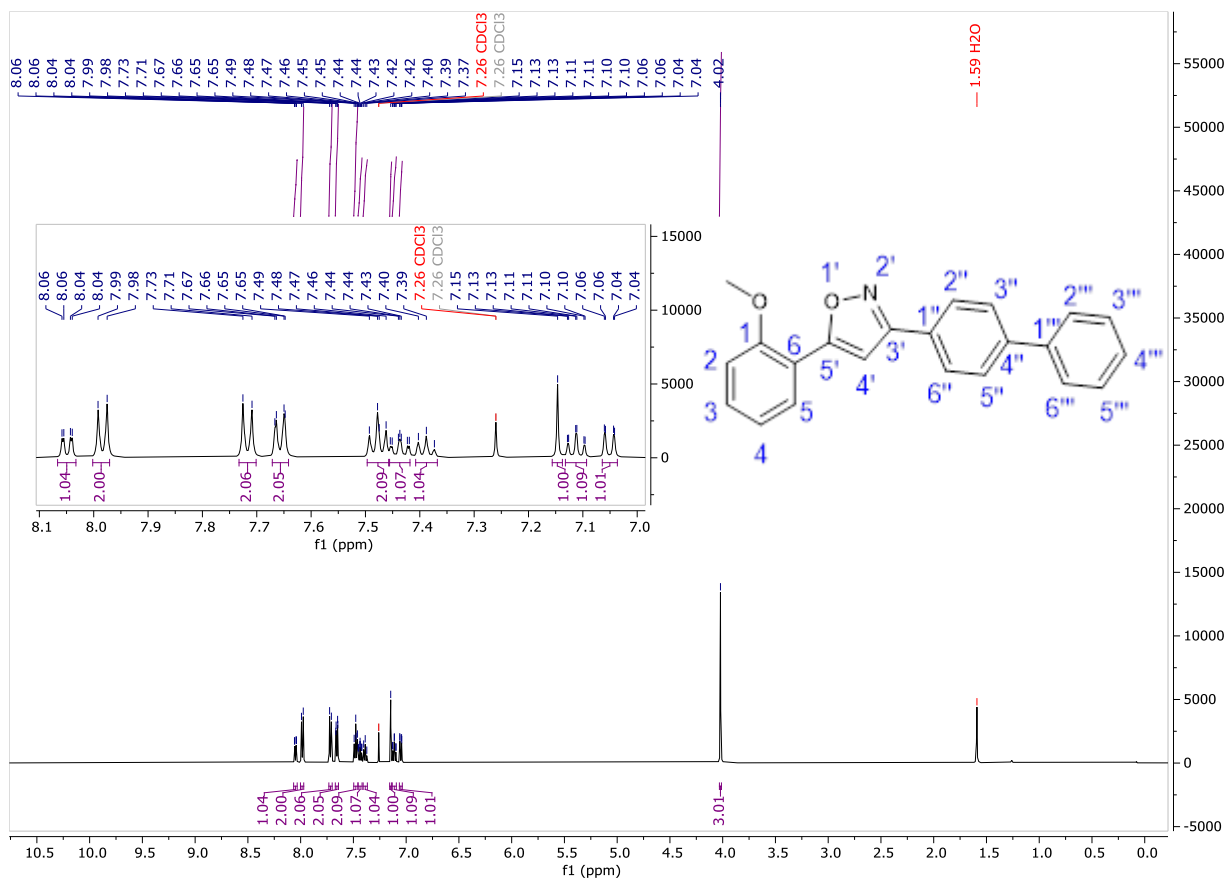
**Figura A67 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17m).**



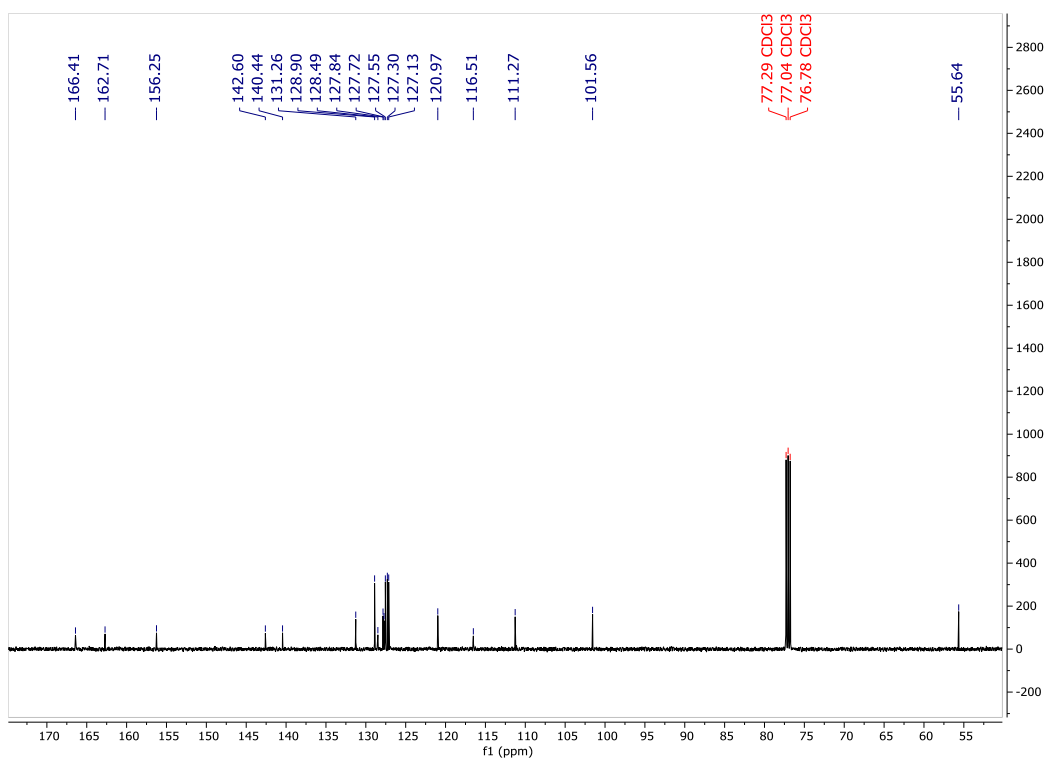
**Figura A68 - Espectro de Massas do composto (17m).**



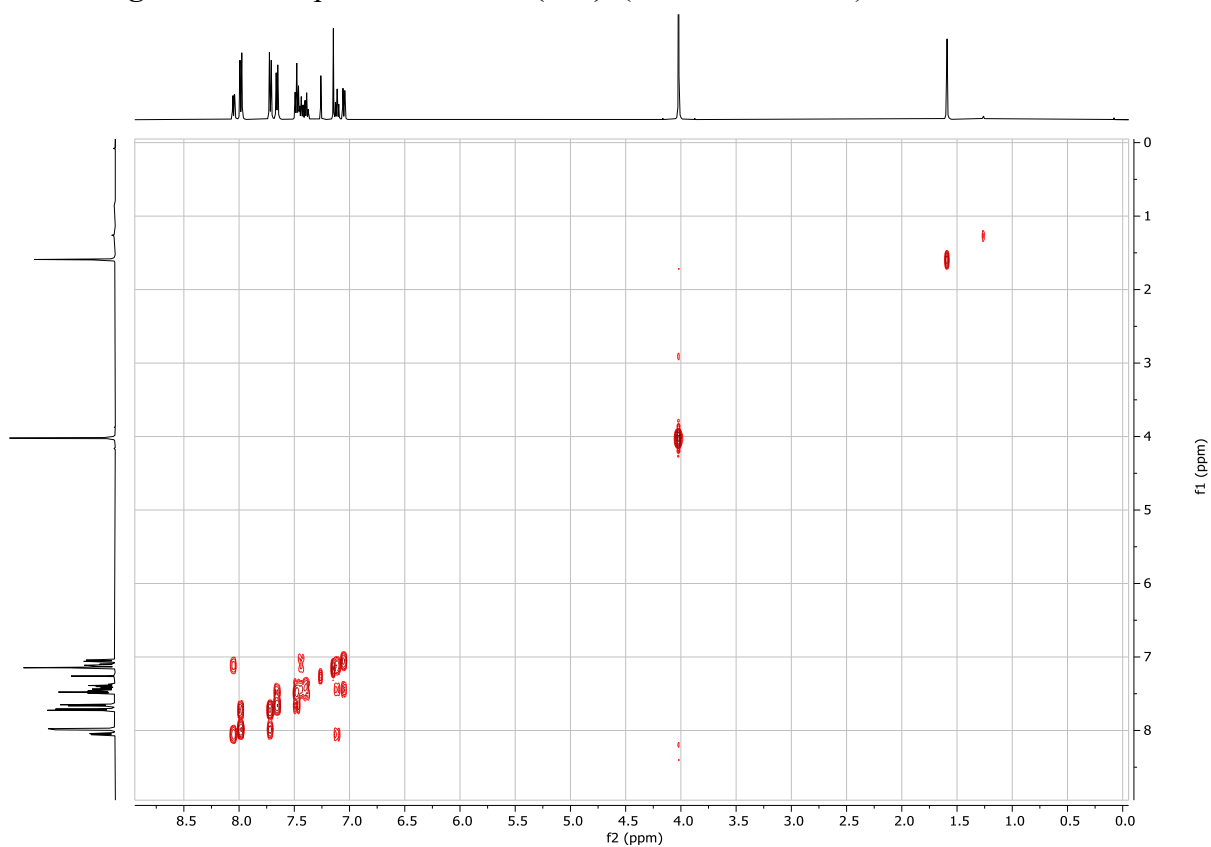
**Figura A69 - Espectro RMN  $^1\text{H}$  de (17n). (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**



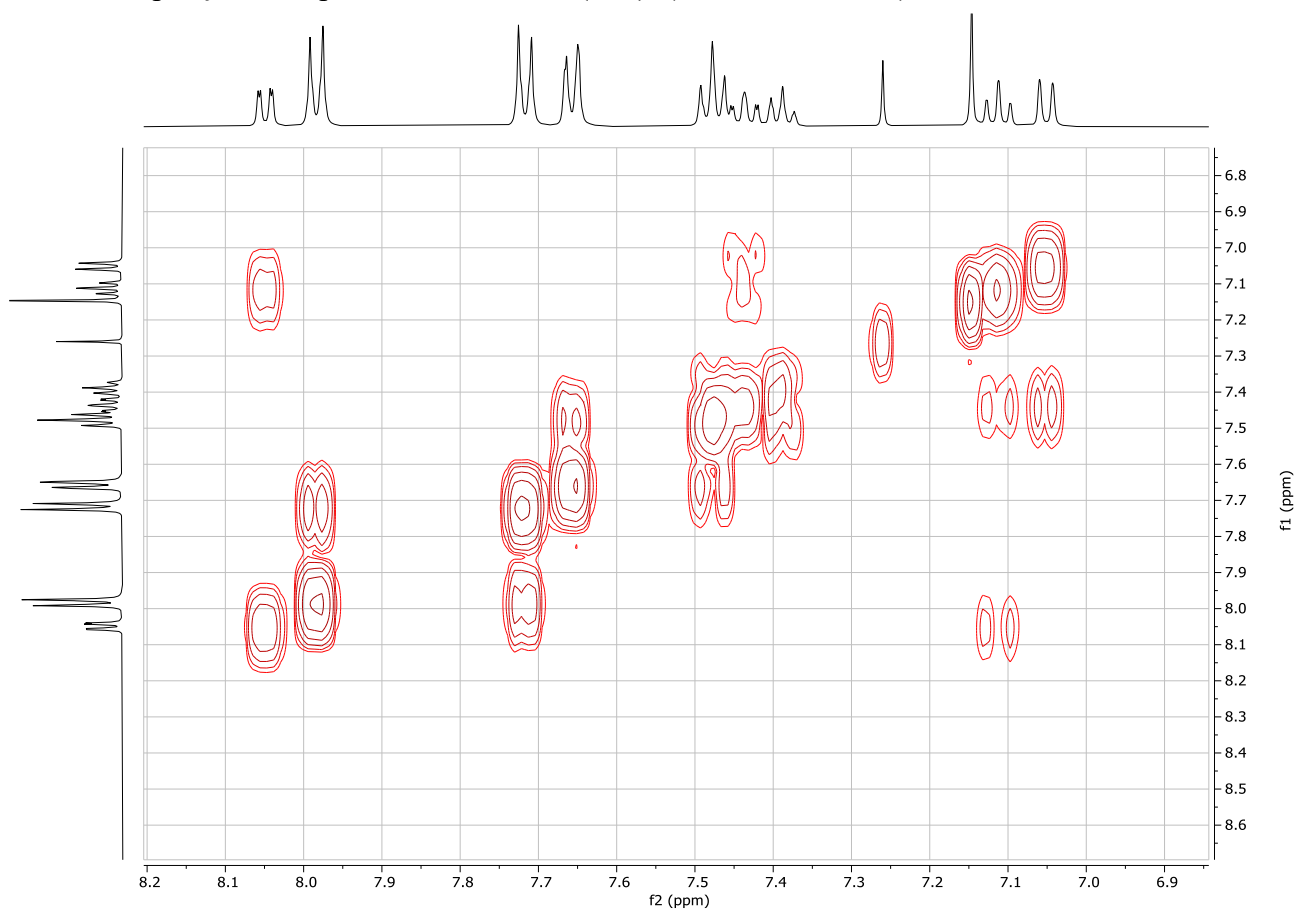
**Figura A70 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (17n). (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).**

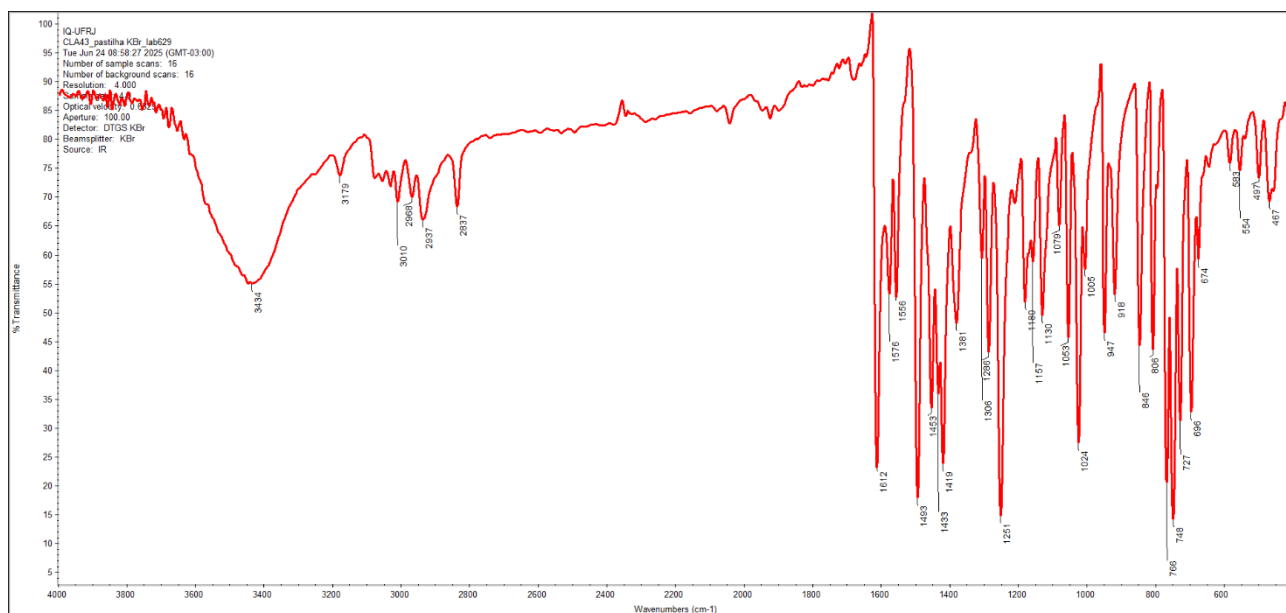


**Figura A71 - Espectro COSY de (17n). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**



**Ampliação do espectro de COSY de (17n). (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).**



**Figura A72 - Espectro de absorção na região do infravermelho do composto (17n).****Figura A73 - Espectro de Massas do composto (17n).**