



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA E ESTUDO DO ALVO
BIOLÓGICO DE PROTÓTIPOS MOLECULARES CONTENDO ANÉIS DO
1,2,4-OXADIAZOL E DO ISOXAZOL**

DIANA CAROLINA BARBOSA DA SILVA ALVES

**ORIENTADOR:
PROF. DR. RAJENDRA MOHAN SRIVASTAVA**

**CO-ORIENTADORA:
PROFA. DRA. JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS**

RECIFE, 2011

DIANA CAROLINA BARBOSA DA SILVA ALVES

**SÍNTESE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA E ESTUDO DO ALVO
BIOLÓGICO DE PROTÓTIPOS MOLECULARES CONTENDO ANÉIS DO
1,2,4-OXADIAZOL E DO ISOXAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como requisito final à obtenção do título de Mestre em Química.

ORIENTADOR:

PROF. DR. RAJENDRA MOHAN SRIVASTAVA

CO-ORIENTADORA:

PROFA. DRA. JANAÍNA VERSIANI DOS ANJOS

Recife, 2011

Catalogação na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Alves, Diana Carolina Barbosa da Silva.

Síntese, avaliação da atividade larvicida e estudo do alvo biológico de protótipos moleculares contendo anéis do 1,2,4-Oxadiazol e do Isoxazol / Diana Carolina Barbosa da Silva Alves. - Recife: O Autor, 2011.

xvii, 87 f.: fig. tab.

Orientador: Prof. Rajendra Mohan Srivastava.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química, 2011.

Inclui bibliografia e anexo.

1.Síntese orgânica. 2.Compostos heterocíclicos.
3.Aedes aegypti. 4.Inseto – controle. I. Srivastava, Rajendra Mohan (orientador). II. Título.

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:

Prof^a. Jandira Versioni dos Anjos (Orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Daniela Maria do Amaral Ferroz Novarro
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Ronaldo Nascimento de Oliveira
Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

"Síntese, avaliação da atividade larvicida e estudo do alvo biológico de protótipos moleculares contendo anéis do 1,2,4-oxadiazol e do isoxazol"

Por

Diana Carolina Barbosa da Silva Alves

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
29 de agosto de 2011

Dedico este trabalho a meu amado esposo, René Araújo Alves, pelo amor, companheirismo e incentivo que contribuíram para realização de mais uma etapa da minha vida.

Dedico também a meus pais, Daniel e Conceição, a meus irmãos e a todos os meus amigos, pelo amor, carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Rajendra Mohan Srivastava, por ter me aceitado como sua orientanda, pelos ensinamentos e pelos exemplos de um bom pesquisador.

À Professora Janaína Versiani dos Anjos, por todo ensinamento, pela paciência, pelo exemplo de pesquisadora e professora que é, pelos bons conselhos e pelo total apoio na realização deste trabalho.

À Professora Daniela Navarro, pela colaboração na realização dos bioensaios dos testes de atividades larvicidas e por ter me recebido em seu laboratório durante o período de reforma do Laboratório de Síntese Orgânica.

À técnica Geanne, pela realização dos testes de atividade larvícida.

Ao Professor Ricardo Oliveira, pelo auxílio com os espectros de RMN.

A todos que fazem parte do Laboratório de Síntese Orgânica: Nery, Rebeca, Júlio, Augusto e Laís.

Aos técnicos da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental: Eliete, Abene, Elaine, Lúcio, Severino e Conceição.

Aos secretários da Pós-Graduação, Maurílio e Patrícia.

À FACEPE, pela bolsa de estudos concedida.

SUMÁRIO

LISTA DE ANEXOS	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	x
LISTA DE ESQUEMAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABELAS	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	1
1.1. Dengue	2
1.2. Aedes aegypti	2
1.3. Larvicidas no combate ao <i>Aedes aegypti</i>	4
1.4. Via das quinureninas	6
1.5. Compostos heterocíclicos de cinco membros	10
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	16
2.1. Objetivos Gerais	17
2.2. Objetivos Específicos	17
CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
3.1. Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis potencialmente larvicidas	19
3.2. Síntese dos isoxazóis potencialmente larvicidas	22
3.2.1. Síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis	22
3.2.2. Síntese dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos	24
3.2.3. Síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoatos de metila	25
3.3. Caracterização dos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanoato de metila	25
3.4. Caracterização do 1,2,4-oxadiazol contendo a porção hidroxila terminal (30)	25

3.5. Caracterização dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis	27
3.6. Caracterização dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos	30
3.7. Caracterização dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoato de metila	35
3.8. Avaliação da atividade larvicida	38
3.8.1. Avaliação da atividade larvicida para os 1,2,4-oxadiazóis	38
3.8.2. Avaliação da atividade larvicida para os isoxazóis 3,5-disubstituídos	41
CAPÍTULO 4: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	48
4.1. Conclusões	49
4.2. Perspectivas	50
CAPÍTULO 5: PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	51
5.1. Procedimentos gerais	52
5.2. Equipamentos utilizados	52
5.3. Síntese dos ácidos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóicos	53
5.4. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanoatos de metila	57
5.5. Procedimento geral para a síntese do composto 3-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-1-ol	62
5.6. Procedimento geral para a síntese do composto 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona	63
5.7. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis	63
5.8. Procedimento geral para a síntese dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos	68
5.9. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoatos de metila	71
5.10. Procedimento experimental para os bioensaios larvicidas	72
5.11. Procedimento experimental para quantificação da 3-hidróxiquinurenina e do ácido xanturênico	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-1,2,4,-oxadiazol-5-il]propanoato de metila **29d**

ANEXO 2: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-1,2,4,-oxadiazol-5-il]propanoato de metila **29d**

ANEXO 3: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol **38b**

ANEXO 4: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol **38b**

ANEXO 5: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) do ácido 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanóico **40b**

ANEXO 6: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) do ácido 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanóico **40b**

ANEXO 7: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanoato de metila **41b**

ANEXO 8: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanoato de metila **41b**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SIGLA OU ABREVIATURA	SIGNIFICADO
3-HK	3-Hidróxi-quinurenina
AChE	Acetilcolinesterase
AeAGT	<i>Aedes aegypti</i> alanina gioxilato aminotransferase
AeHKT	<i>Aedes aegypti</i> 3-hidróxi-quinurenina transaminase
AGT	Alanina gioxilato aminotransferase
AnHKT	<i>Anopheles</i> 3-hidróxi-quinurenina transaminase
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDI	<i>N,N'</i> -Carbonildiimidazol
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
d	Duplo
DCC	Dicicloexilcarbodiimida
dd	Duplo duplo
ddd	Duplo duplo duplo
DDT	1,1,1-Tricloro-2,2-di-(4-clorofenil)etano
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
dt	Duplo tripleto
GABA	Ácido gama-aminobutírico
HCB	Hexaclorobenzeno
HCH	Hexaclorociclohexano
HKT	3-Hidróxi-quinurenina transaminase
HMBC	Correlação Heteronuclear de Longa Distância (Heterocuclear Multiple Bond Coherence)
IMAO	Inibidor da monoamino-oxidase

I.V.	Infravermelho
Ln	Ligante
m	Multipleto
NCS	<i>N</i> -Clorossuccinimida
OMS	Organização Mundial da Saúde
P.F.	Ponto de fusão
ppm	Parte por milhão
q	Quinteto
QSAR	Relação quantitativa estrutura-atividade
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TBTU	Tetrafluorborato de 2-(1- <i>H</i> -benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio
Trp	Triptofano
δ	Deslocamento químico

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: A via das quinureninas.....	7
Esquema 2: Formação de isoxazol a partir de β -dicetonas e hidroxilamina.....	14
Esquema 3: Estrutura do N-óxido de nitrila e suas formas de ressonância	14
Esquema 4: Reação de óxido de nitrila com alcino monosubstituído	15
Esquema 5: Síntese dos ésteres 29a-p a partir dos ácidos propanóicos 28a-p	19
Esquema 6: Síntese do 3-(3-(tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanoato de metila 29q	19
Esquema 7: Síntese do 3-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-1-ol 30	21
Esquema 8: Síntese de 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona 33	21
Esquema 9: Mecanismo de formação do 1,2,4-oxadiazóis a partir de arilamidoximas	22
Esquema 10: Síntese dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos contendo uma porção hidroxila terminal na posição 5 do anel heterocíclico 38a-j	23
Esquema 11: Síntese dos isoxazóis 3,5-disubstituídos contendo uma porção ácido propanóico em C-5 da cadeia lateral (40a-h).	24
Esquema 12: Síntese dos isoxazóis 3,5-disubstituídos contendo uma porção éster metílico na cadeia em C-5 (41a-b).	25
Esquema 13: Ciclo catalítico para a reação de cicloadição [3 + 2] mediada por Cu(I)..	
.....	37
Esquema 14: Outra sugestão de mecanismo para a formação dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos	38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: O mosquito <i>Aedes aegypti</i>	3
Figura 2: Inseticidas no Combate a Dengue	6
Figura 3: Alinhamento da seqüência Ser43-Asn44-Phe45 (seta azul), envolvida no reconhecimento enzima substrato 3-HK – HKT.	8
Figura 4: Estrutura 3D da AnHKT (A) e visão esquemática (B) do sítio ativo contendo uma molécula do substrato natural 3-HK.	9
Figura 5: Estruturas de antagonistas (1, 2 e 3) dos receptores enzimáticos HKT	9
Figura 6: Interações existentes entre a 3-HK e o sítio ativo da HKT (A) e possíveis interações entre o ácido 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propiônico e o mesmo receptor (B)	10
Figura 7: Fármacos que contem heterociclos de cinco membros em suas estruturas ...	11
Figura 8: Heterociclos aromáticos de cinco membros farmacologicamente importantes	11
Figura 9: Exemplos de 1,2,4-oxadiazóis que apresentam atividade biológica	12
Figura 10: Exemplos de Isoxazóis que apresentam atividade biológica	13
Figura 11: Substâncias contendo os anéis do 1,2,4-oxadiazol e do isoxazol.....	17
Figura 12: Estrutura da 3-Hidróxi-quinurenina e do Ácido Xanturênico.....	17
Figura 13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto 30	26
Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto 30	26
Figura 15: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 30	27
Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 38a	28
Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 38a	29
Figura 18: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 38a	30

Figura 19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto 40a	30
Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto 40a	31
Figura 21: Estruturas dos isoxazóis 3,5-dissubstituído e 3,4-dissubstituído	32
Figura 22: Espectro HMBC do composto 40a	33
Figura 23: Espectro HMBC do composto 40a	33
Figura 24: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 40a	34
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto 41a	35
Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto 41a	36
Figura 27: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto 41a	36
Figura 28: Estrutura do ácido 2-amino-4-(2-amino-3-hidroxifenil)-4-oxobutanóico (4-OB), 42	44
Figura 29: Estrutura cristalográfica da enzima AgHKT (PDB ID 2CH2). Representação do sítio ativo que é indicado pela presença do cofator piridoxal fosfato e resíduos do sítio ativo que interagem com 42	45
Figura 30: Detalhe do sítio ativo da estrutura cristalográfica da enzima AgHKT (PDB ID 2CH2). Representação da interação do inibidor 42 com os resíduos Arg ³⁵⁶ , Asn44 e Gly25.....	45

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Dados experimentais para os compostos 29a-q	20
Tabela 2: Dados experimentais para os compostos 38a-j	23
Tabela 3: Dados experimentais para os compostos 40a-h	24
Tabela 4: Atividade larvicida dos 1,2,4-oxadiazóis.....	39
Tabela 5: Atividade larvicida dos compostos 38a-j	41
Tabela 6: Atividade larvicida dos compostos 40a-h	42
Tabela 7: Atividades larvicidas dos ácidos do isoxazol e do 1,2,4-oxadiazol	43
Tabela 8: Atividade larvicida dos compostos 41a e 41b	44
Tabela 9: Dados experimentais para a quantificação da 3-HK e do ácido xanturênico em larvas do <i>A. aegypti</i>	46

RESUMO

Nesta dissertação, duas séries de compostos, uma contendo um anel 1,2,4-oxadiazol e outra contendo um anel isoxazol, foram sintetizadas. Em ambos os casos, foram feitas modificações na cadeia lateral em C-5, com o objetivo de avaliar a sua atividade larvicida. Em um primeiro momento, foram preparados ácidos 3-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônicos que, mais tarde, foram transformados em seus ésteres metílicos. Posteriormente foram sintetizados os compostos contendo o anel isoxazol através de cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de arilnitrilas e alcinos terminais, o que forneceu os produtos desejados com rendimentos que variaram de 19% a 79%.

Um estudo comparativo da atividade larvicida entre os ácidos 3-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônicos e seus respectivos ésteres metílicos também foram feitas no presente trabalho. Os testes revelaram que os ésteres possuem atividade muito melhor do que seus ácidos antecessores. Entre os ésteres, o 3-[3-(3,4-diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila exibiu a melhor atividade. Uma comparação similar entre os ácidos 3-[3-(fenil)] e [4-(clorofenil)-isoxazol-5-il] propiônicos e seus ésteres metílicos demonstrou claramente que estes últimos possuem atividade larvicida muito melhor do que seus ácidos.

Fortes indícios mostram que os compostos sintetizados podem atuar de fato na via das quinureninas. Além dos estudos de docking molecular realizados em trabalhos anteriores, a quantificação dos metabólitos via CLAE mostrou que as substâncias geram um acúmulo da 3-HK no organismo dos insetos.

Palavras-chave: 1,2,4-oxadiazol, isoxazol, *Aedes aegypti*, atividade larvicida.

ABSTRACT

In this dissertation, two series of compounds, one containing a 1,2,4-oxadiazole ring and the other having a isoxazole ring, have been synthesized. In both cases, modifications were made in the side-chain at C-5 with a view to test their larvicidal activity. First, we prepared 3-[3-(aryl)-1,2,4-oxadiazol-5yl]propionic acids and later these were transformed to their methyl esters, respectively. Second, the compounds having the isoxazole ring have been obtained by 1,3-dipolar cycloaddition of aryl nitrile oxides to terminal alkynes which furnished the desired products in 19% to 79% yields.

A comparative study of the larvicidal activity between 3-[3-(aryl)-1,2,4-oxadiazol-5yl] propionic acids and their methyl esters have been made in the present work. The tests revealed that the esters possess much better activity than their predecessor acids. Among the esters, methyl 3-[3-(3,4-dichlorophenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]propionate displayed the best activity. A similar comparison between 3-[3-(phenyl)] and [(4-chlorophenyl)-isoxazol-5-yl]propionic acids and their methyl esters clearly demonstrated that the latter possesses much better larvicidal activity than the acids. Thus, methyl 3-[3-(4-chlorophenyl)isoxazole-5-yl] propionate presented an excellent larvicidal profile.

Strong evidence shows that the synthesized compounds may act on the kynurenone pathway. In addition to previous studies that have showed such correlation, the quantification of metabolites through HPLC showed that the synthesized substances cause an accumulation of 3-HK in the insects.

Keywords: 1,2,4-oxadiazole, isoxazole, *Aedes aegypti*, larvicidal activity.

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1.1. Dengue

A dengue é uma doença infecciosa aguda que ocorre em regiões tropicais e subtropicais, transmitida pela fêmea do mosquito *Aedes aegypti*.¹ Cerca de 80 milhões de pessoas se infectam anualmente por um dos quatro tipos do vírus causador da doença, o que a torna um dos principais problemas de saúde pública do mundo, já que o mosquito vetor está presente em mais de 100 países.²

O agente etiológico da dengue é um arbovírus da família Flaviviridae, que pode se apresentar como quatro diferentes sorotipos: 1, 2, 3, e 4. No Brasil, já foram encontrados os quatro tipos de vírus da dengue, porém há 28 anos o vírus tipo 4 não era notificado até sua reaparição no Amazonas e em Roraima em 2010.³ É importante ressaltar que quando um indivíduo é infectado por um dos sorotipos da dengue ele adquire imunidade a este sorotipo, mas não fica imune aos demais. Assim, um indivíduo pode desenvolver a doença até quatro vezes. A reincidência da doença no mesmo indivíduo leva a manifestações mais severas dos sintomas e aumenta a probabilidade de o indivíduo desenvolver formas clínicas mais graves da dengue, tais como a Dengue Hemorrágica e a Síndrome de Choque da Dengue.⁴

A primeira epidemia de dengue confirmada ocorreu em Roraima em 1981/1982 com a circulação dos sorotipos 1 e 4. Outro surto de epidemia ocorreu no Rio de Janeiro em 1986 com a introdução do sorotipo 1 neste estado. Desde então, ocorrências de dengue têm sido registradas anualmente no Brasil.⁵ Atualmente, a dengue está presente nos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal, sendo as regiões Nordeste e Sudeste responsáveis por cerca de 86 % das notificações.⁶ Nos últimos 20 anos, quatro grandes epidemias foram registradas no Brasil: em 1998, com a predominância do sorotipo 1; em 2002, com a predominância do sorotipo 3; em 2008, com a predominância do sorotipo 2 e, por fim em 2010 com a predominância do sorotipo 1,⁷ chegando a quase 1 milhão de casos notificados.⁸

1.2. *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti* é um mosquito pertencente à família Culicidae, originário da África. A adaptação deste vetor a ambientes domésticos facilita sua dispersão, tendo em

vista que o mosquito faz uso para sua reprodução de recipientes contendo água potável ou mesmo de pequenas poças contendo água de chuva.⁶ Os ovos são bastante resistentes, podendo resistir meses na ausência de água. Quando submersos em água, eclodem dando origem às larvas, que se transformam em pupas e originam o mosquito adulto.⁹

O mosquito adulto tem pouco mais de 0,5 cm, é preto e apresenta pequenas manchas branca na cabeça, nas pernas e no dorso (Figura 1). Tem hábitos diurnos, picando suas vítimas principalmente nas primeiras horas da manhã e nas últimas horas da tarde. É no momento da alimentação que a fêmea, quando contaminada, transmite o vírus da dengue para o ser humano. Como a fêmea é inquieta, ao menor movimento ela interrompe a alimentação. Assim, em um curto período de tempo ela pica várias pessoas para uma única alimentação de sangue. Além disso, a fêmea realiza mais de uma refeição de sangue antes de colocar os ovos. Essas características nos faz entender a relação direta entre a distribuição do *Aedes aegypti* com o número de pessoas infectadas pelo vírus da dengue.



Figura 1: O mosquito *Aedes aegypti*

Embora vacinas estejam sendo desenvolvidas para combater o vírus da dengue, a única maneira que tem se mostrado realmente eficaz no controle da doença é a erradicação do mosquito vetor.⁶ Isto se deve a uma série de fatores.^{10,11} O primeiro deles diz respeito ao tempo de desenvolvimento de uma vacina, que é, em média, de 15 anos. Para o desenvolvimento de uma vacina eficaz, é necessário conhecer os reais mecanismos de proteção imunológica contra a infecção a ser evitada. No caso da dengue, ainda há controvérsias em relação a estes mecanismos. Uma outra informação importante é que são conhecidos 4 tipos de vírus da dengue. Como o sistema imunológico humano reconhece cada vírus como uma nova cepa infectante, seriam necessários 4 imunógenos para o combate da infecção. O último fator, e não menos importante, está relacionado com o modelo animal para os testes da suposta nova vacina

antes dos testes em humanos. Dos modelos animais existentes (macacos e ratos) para o teste de vacinas, nenhum deles exibe os sintomas observados no homem.¹⁰⁻¹² Diante dos fatores listados no tocante do desenvolvimento de vacinas que evitem a infecção pelo vírus da dengue, fica evidente que o desenvolvimento de larvicidas seria uma potente arma no controle da dengue. Ao contrário das vacinas, a pesquisa e o desenvolvimento de larvicidas não demandam longos períodos de tempo, tampouco os mesmos altos custos para sua introdução na terapêutica. Como seu uso fica restrito às áreas de reprodução do mosquito, não sendo administrado ao ser humano diretamente, e sendo a ingestão destas substâncias, por humanos e animais domésticos, de natureza accidental, a quantidade de testes pré-clínicos a serem realizados em relação a sua toxicidade é bastante reduzido. Isto torna os inseticidas larvais economicamente mais viáveis que as vacinas.¹³

1.3. Larvicidas no combate ao *Aedes aegypti*

Uma das formas de se combater os mosquitos vetores em Saúde Pública é através do uso de inseticidas químicos. O primeiro inseticida químico de efeito prolongado foi dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), pertencente à classe dos organoclorados. Outros inseticidas que têm sido empregados no controle de vetores de doenças são os inseticidas organofosforados, carbamatos, piretrinas e piretróides.¹⁴

Os organoclorados são divididos em quatro grupos: difenil-alifáticos, hexaclorocicloexanos, ciclodienos e policloroterpenos. Destes, o mais antigo é o grupo difenil-alifáticos, do qual o DDT faz parte, o inseticida mais conhecido do século passado. Sabe-se que ele atua no sistema nervoso central dos insetos. O uso agrícola dos organoclorados foi suspenso e estes inseticidas chegaram a ser proibidos em alguns países devido a sua persistência no ambiente e seu acúmulo nos organismos de animais e humanos. Ainda assim, o DDT ainda é indicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como inseticida para uso no controle de vetores. O inseticida hexaclorobenzeno (HCB) conhecido comercialmente como lindano, pertence ao grupo dos hexaclorocicloexanos (HCH) e atuam de maneira semelhante ao DDT. Já os inseticidas pertencentes ao grupo dos ciclodienos são persistentes e estáveis no solo, por esta razão foram muito utilizados no controle de térmitas e larvas que se alimentam nas raízes de plantas. Eles agem inibindo os receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA). Os policloroterpenos, estrobane e toxafeno, foram muito utilizados como inseticidas agrícolas. Eles possuem mecanismo de ação semelhante aos ciclodienos.¹⁴

Ao contrário dos organoclorados, os organofosforados são biodegradáveis e não se acumulam em tecidos de animais e humanos e por esta razão, são muito utilizados em Programas de Saúde Pública. Dois exemplos são, o temephos, que possui ação larvicida e o fenitroton que possui ação inseticida e larvicida. Estes inseticidas foram introduzidos no controle químico de vetores na década de 80. O fenitroton foi utilizado até 1999 e o temephos é utilizado até os dias atuais, sendo o único larvicida pertencente ao grupo dos organofosforados recomendado pela OMS para uso em água potável. Porém, os organofosforados são quimicamente instáveis e isso faz com que seja necessária a aplicação periódica desses inseticidas. Os organofosforados atuam no sistema nervoso central, inibindo a acetilcolinesterase (AChE) de forma irreversível, causando a paralisia e morte do inseto.^{14,15}

O fenitroton foi substituído pela cipermetrina, da classe dos piretróides sintéticos. Eles possuem a vantagem de serem biodegradáveis e não cumulativos. E ainda são muito ativos, apresentando ação em pequenas quantidades. No entanto, apresentam a desvantagem de possuírem um custo muito elevado. Os piretróides atuam no sistema nervoso periférico e central dos insetos, fazendo com que as células nervosas produzam descargas repetidas causando a paralisia e morte do inseto. Este mecanismo de ação dos piretróides é semelhante ao do DDT, no entanto o efeito estimulante dos piretróides é mais intenso.¹⁴

Os inseticidas da classe dos carbamatos tem ação letal rápida sobre os insetos, inibindo a acetilcolinaesterase de forma reversível, diferentemente dos organofosforados.¹⁴ O propoxur é um exemplo de carbamato usado como inseticida.¹⁶

A utilização desses inseticidas ao longo dos anos tem provocado o surgimento de populações de insetos resistentes. Esta resistência tem se apresentado para todas as classes de inseticidas, causando um problema para o controle de vetores. Assim, doenças que são transmitidas por esses vetores estão reaparecendo. Desta forma faz-se necessário o desenvolvimento de novos larvicidas e inseticidas para o controle de insetos vetores.^{15,16}

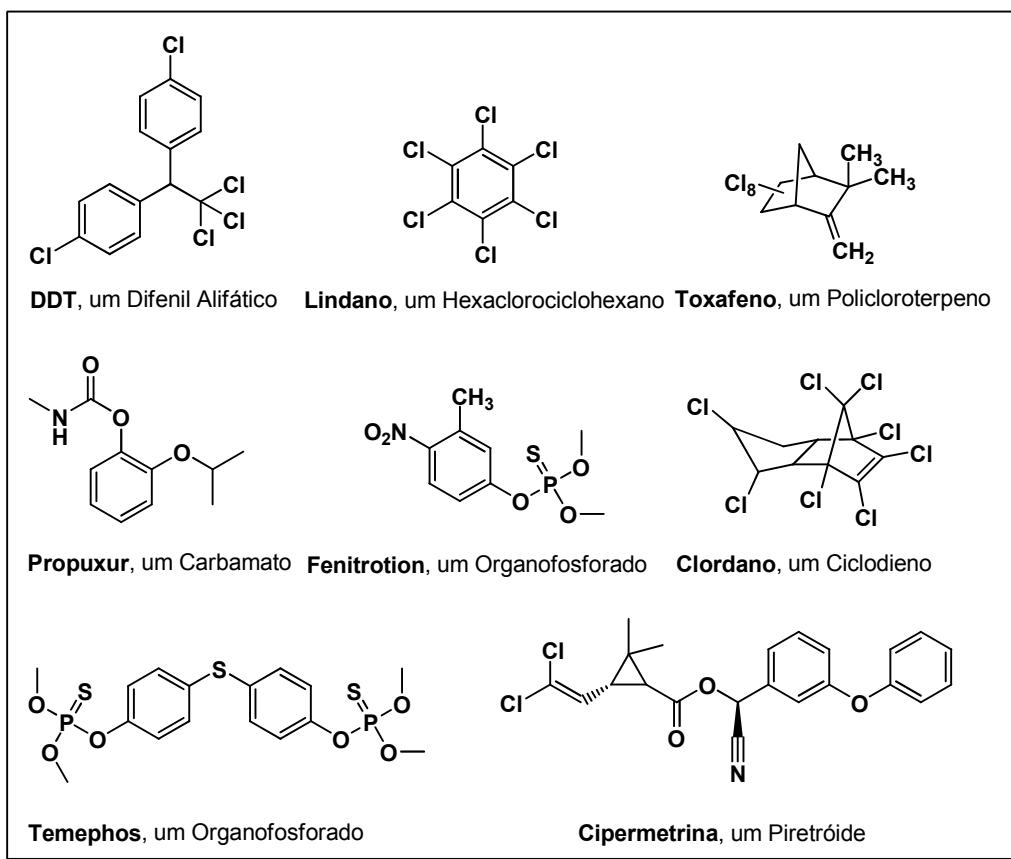


Figura 2: Inseticidas no Combate a Dengue

1.4. Via das quinureninas

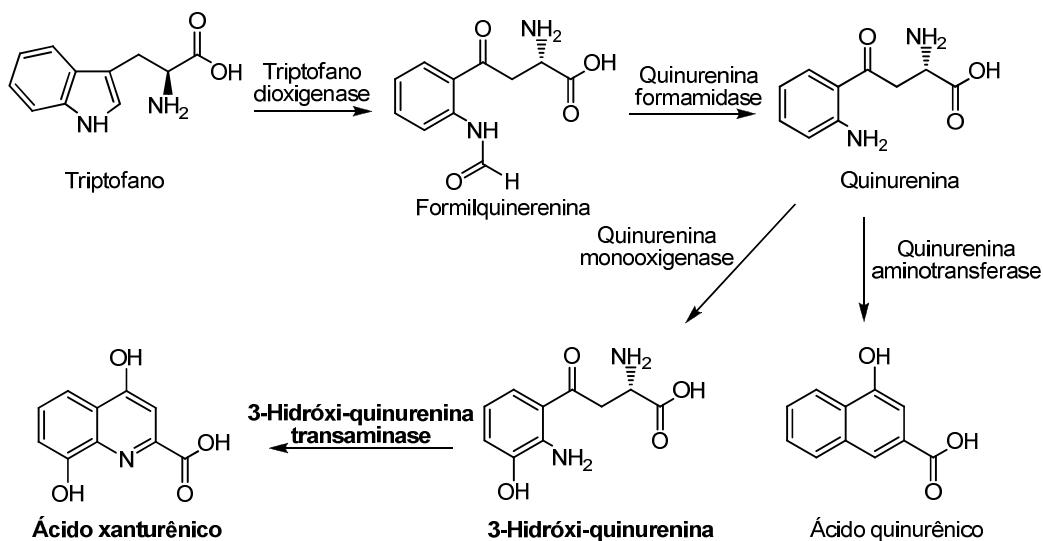
Os insetos não são dotados de memória imunológica, sendo sua defesa advinda da neutralização de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio.¹⁷⁻²⁰ Estas espécies são continuamente geradas e expelidas durante o metabolismo destes seres. No entanto, quando radicais superóxido, hidroxila e o peróxido de hidrogênio estão em quantidades maiores que as usuais, estas espécies podem ser bastante nocivas ao inseto, causando apoptose (morte celular programada) e diversos efeitos neurotóxicos.^{21,22}

Assim sendo, mecanismos que levem a um acúmulo de tais espécies no organismo dos insetos constituem numa poderosa arma terapêutica no combate a mosquitos como o *A. aegypti*. Uma das vias metabólicas mais importantes na desintoxicação de espécies reativas de oxigênio é a chamada “via das quinureninas”, a maior via de metabolização do triptofano (Trp) nos organismos vivos. Nesta via, o triptofano é oxidado a ácido quinolínico ou quinurênico ou ainda a ácido xanturênico, dependendo do organismo vivo estudado.²³⁻²⁷ Estes ácidos endógenos podem ser

totalmente oxidados a CO_2 e água ou serem utilizados na biossíntese de outras substâncias, como a nicotinamida.²³

Este trabalho, no entanto, está focado em um dos intermediários da via das quinureninas, a 3-hidróxi-quinurenina. Esta substância, quando presente em quantidades maiores que as normais em humanos, está relacionada à demência e doenças como o mal de Parkinson e Alzheimer e à síndrome de Down.²³⁻²⁵ Em insetos tratados com a 3-hidróxi-quinurenina, os efeitos mais proeminentes foram a apoptose das células neuronais e distúrbios motores.^{21,22} Outros estudos indicam que o acúmulo deste intermediário metabólico nos insetos leva à sua oxidação espontânea a espécies reativas de oxigênio, corroborando com a hipótese de que os danos observados estão relacionados com o acúmulo destes radicais tóxicos, o chamado estresse oxidativo.^{27,28}

Uma visão simplificada da via das quinureninas (metabolismo do triptofano) é mostrada no esquema abaixo (Esquema 1). Como pode ser observado, a 3-hidróxi-quinurenina (3-HK) provém da quinurenina e leva à formação do ácido xanturênico. Este último metabólito é atóxico para o inseto, provando que a reação que leva à sua formação consiste numa via de desintoxicação da 3-HK nos mosquitos.^{23,27} Outra constatação interessante é o que o ácido xanturênico é essencial na reprodução sexual do *Plasmodium falciparum* dentro do mosquito vetor *Anopheles spp.*²⁷ Logo, o impedimento nesta via do metabolismo do Trp, gerando acúmulo de 3-HK e evitando a formação do ácido xanturênico, não somente seria interessante no combate aos mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, mas também aos mosquitos do gênero *Anopheles*, mosquitos vetores da malária.



Esquema 1: A via das quinureninas

O uso de antagonistas competitivos da enzima 3-hidróxi-quinurenina transaminase (HKT) evitariam a conversão da 3-HK a ácido xanturênico, gerando acúmulo da 3-HK, potente agente neurotóxico para o *A. aegypti*. A HKT não está presente em mamíferos e consiste em um tipo de alanina glioxilato aminotransferase (AGT). Este grupo de enzimas (AGTs), realiza a interconversão entre o glioxilato à glicina.²⁹ Desta forma, é possível que se tenha uma inibição enzimática da HKT dos mosquitos, diferentemente sem prejuízos para o organismo humano.

Foi reportado na literatura que a AeHKT (*Aedes aegypti* 3-hidróxi-quinurenina transaminase) tem duas funções: a primeira é realizar a transaminação entre a 3-HK e o ácido xanturênico. A segunda é realizar a interconversão entre o glioxilato à glicina.²⁷ Ainda, já foi demonstrado que mosquito possui duas AGTs (AeHKT e AeAGT), sendo que somente a AeHKT tem a função de degradar a 3-HK.³⁰ A AeHKT já foi caracterizada e sua seqüência já é conhecida.³¹ No entanto, ainda não se tem relatos quanto à sua estrutura cristalográfica.

A AeHKT é homóloga à AnHKT (*Anopheles* HKT) e à AeAGT (*A. aegypti* AGT). Alguns estudos confirmam que a seqüência de aminoácidos no sítio ativo das enzimas AnHKT e AeHKT é a mesma, sugerindo que a tríade Ser⁴³-Asn⁴⁴-Phe⁴⁵ está envolvida no reconhecimento entre substrato natural (3-HK) e a enzima HKT (Figura 3).²⁹



Figura 3: Alinhamento da seqüência Ser43-Asn44-Phe45 (seta azul), envolvida no reconhecimento enzima substrato 3-HK – HKT. Adaptado da Referência 28.

A estrutura tridimensional da HKT de *Anopheles gambiae* é conhecida (códigos no Protein Data Bank 2CH1 e 2CH2) e uma visão esquemática do sítio ativo contendo uma molécula de 3-HK pode ser observada na figura 3.^{32,33} As HKTs do gênero *Anopheles* e do *A. aegypti* têm similaridade de 73% na seqüência dos aminoácidos,²⁹ possibilitando estudos de modelagem molecular através de modelos de homologia (Figura 4).

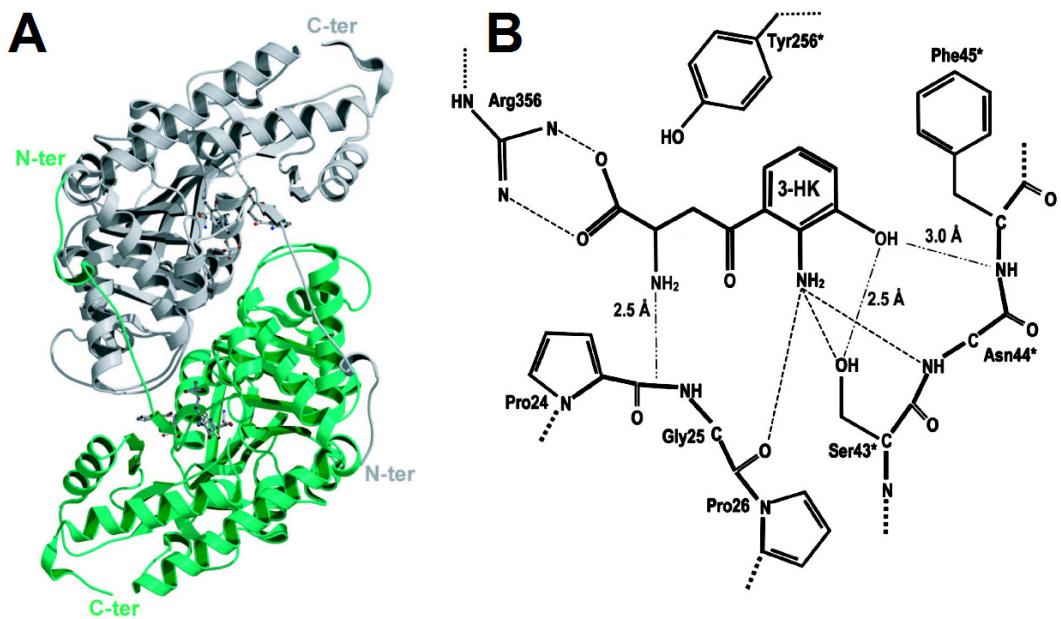


Figura 4: Estrutura 3D da AnHKT (A) e visão esquemática (B) do sítio ativo contendo uma molécula do substrato natural 3-HK. Adaptado da Referência 33.

Alguns inibidores da AGT já são conhecidos como o ácido 4-(2-aminofenil)-4-oxobutírico (**1**),³³ o ácido (+)-(1S,2S)-2-(3,4-diclorobenzoyl)-ciclopropil-1-carboxílico (**2**)³⁴ e o ácido amino-oxiacético (**3**),³⁵ sendo que estas substâncias atuam como antagonistas competitivos deste receptor. Levando em consideração que a HKT é um tipo de AGT, observa-se que há homologia estrutural das substâncias **1** e **2** (Figura 5) com a estrutura do agonista natural da HKT, a 3-HK (vide esquema 1). Entretanto, nenhuma destas substâncias foi testada contra larvas ou mosquitos adultos de *A. aegypti*, ressaltando a importância de realizar tais tipos de testes com drogas inibidoras da HKT (Figura 5).

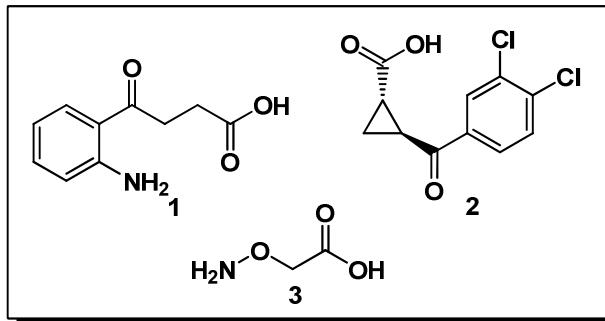


Figura 5: Estruturas de antagonistas (1, 2 e 3) dos receptores enzimáticos HKT

Nosso grupo de pesquisa sintetizou diversos 1,2,4-oxadiazóis contendo um grupo ácido propiônico na cadeia lateral que demonstraram excelente atividade inseticida em larvas de *A. aegypti*.³⁶ Não se sabe qual o mecanismo de ação responsável por esta atividade. Ao se observar as estruturas destas substâncias e dos antagonistas competitivos, verifica-se que várias das interações fármaco-receptor também são factíveis de ocorrer entre os oxadiazóis ácidos e a HKT (Figura 6).³³ Isto mostra que não somente estes oxadiazóis, mas outras substâncias podem ser sintetizadas com o objetivo de se obter inibidores da enzima HKT e, como consequência desta inibição, haveria acúmulo da toxina 3-HK, resultando na morte do inseto.

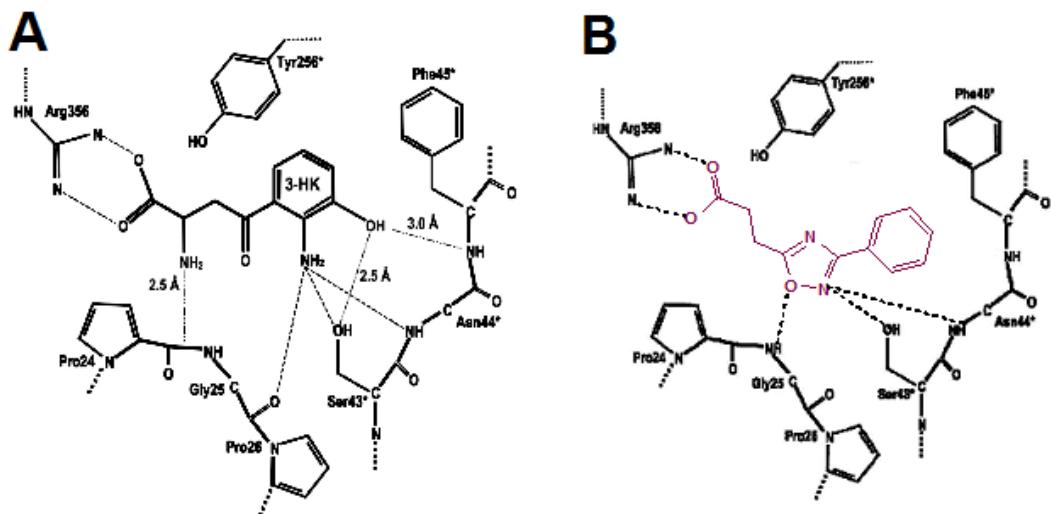


Figura 6: Interações existentes entre a 3-HK e o sítio ativo da HKT (A)³³ e possíveis interações entre o ácido 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)-propiônico e o mesmo receptor (B)

1.5. Compostos heterocíclicos de cinco membros

Compostos heterocíclicos de cinco membros têm sido bastante estudados, devido as suas diversificadas aplicações biológicas. Alguns são comercializados como fármacos, tais como: losartana (anti-hipertensivo)³⁷; fluconazol (antifúngico)³⁷; dipirona (antiinflamatório e analgésico)³⁷; oxolamina (antiinflamatório)³⁸ e a acivicina (antitumoral)³⁹.

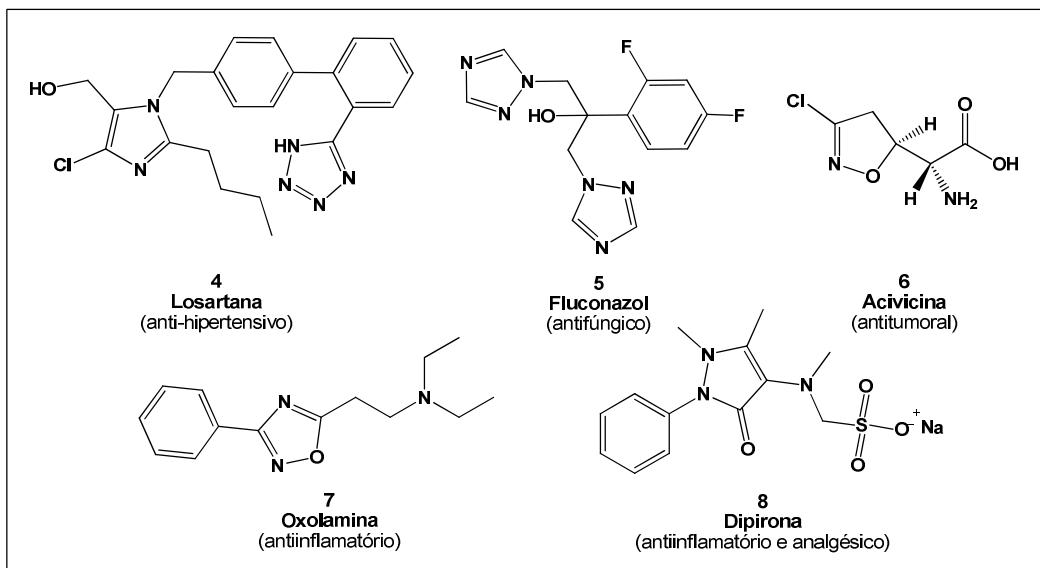


Figura 7: Fármacos que contêm heterociclos de cinco membros em suas estruturas

Heterociclos aromáticos de cinco membros contendo um ou mais átomos de nitrogênios são denominados genericamente de azóis. Quando apresentam um átomo de oxigênio adicionalmente ao átomo de nitrogênio são chamados de oxazóis.³⁷

Dentro desta grande classe, alguns dos anéis de heterociclos de cinco membros mais estudados são os triazóis, isoxazóis e oxadiazóis. Estas classes de compostos têm despertado bastante interesse por apresentarem uma vasta aplicabilidade na indústria farmacêutica e na agroindústria.^{37,39} A figura abaixo mostra alguns exemplos de heterociclos pertencentes a essas classes.

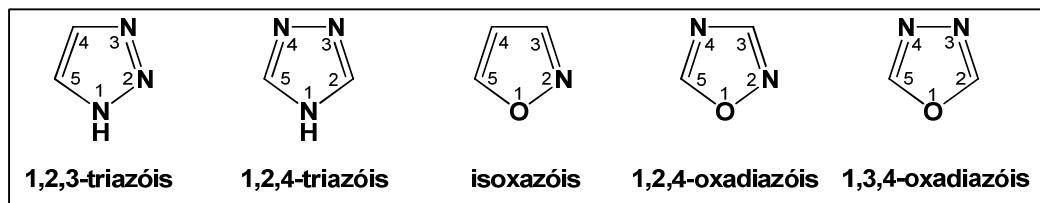


Figura 8: Heterociclos aromáticos de cinco membros farmacologicamente importantes

O núcleo do 1,2,4-oxadiazóis está presente em diversas moléculas bioativas. Uma característica importante deste anel é sua comparação com grupos ésteres e amidas, sendo considerado um bioisôsteros destas funções. Muitas vezes, esta troca pelo anel oxadiazólico torna a molécula farmacologicamente superior, uma vez que este heterociclo é mais resistente a hidrólise. Em consequência, a molécula adquire estabilidade em meio aquoso, melhorando o desempenho farmacocinético *in vivo*.⁴⁰

Algumas substâncias bioativas contendo o anel 1,2,4-oxadiazol são mostrados na Figura 9.

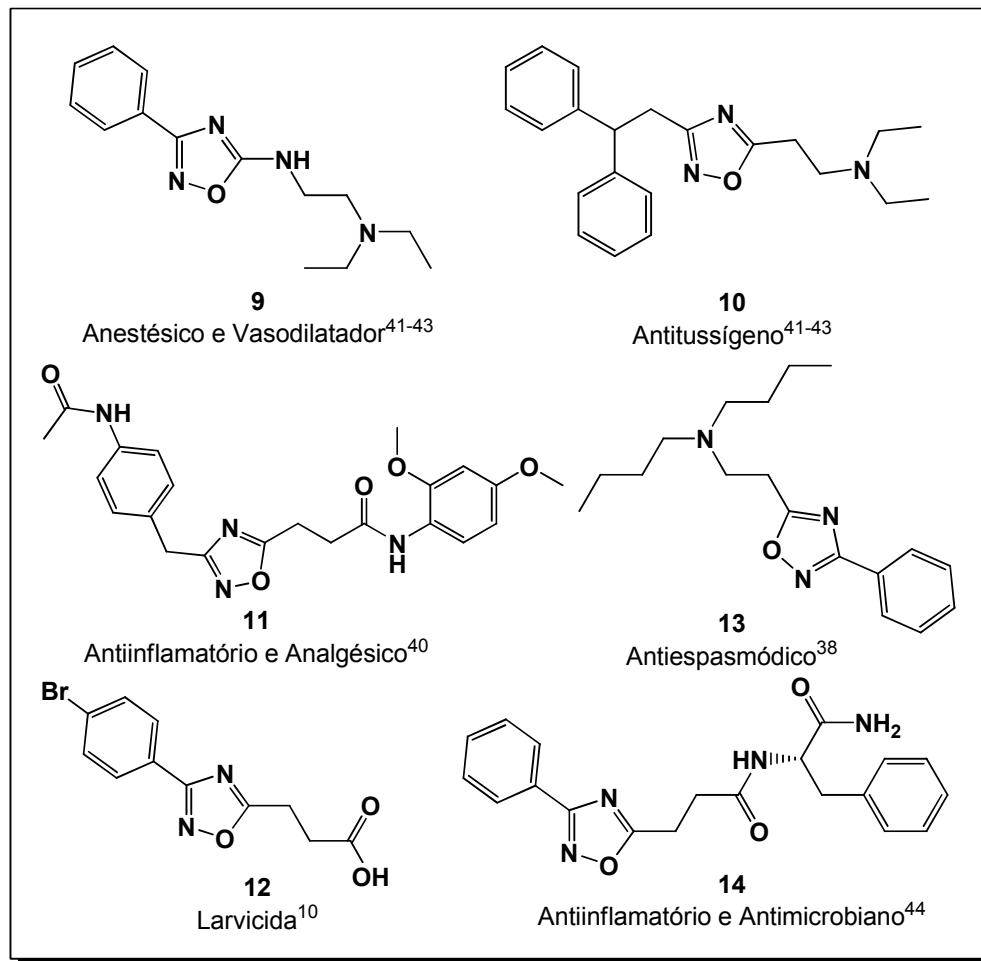


Figura 9: Exemplos de 1,2,4-oxadiazóis que apresentam atividade biológica

Existem vários métodos para sintetizar 1,2,4-oxadiazóis, o mais comum deles é a *O*-acilação de amidoximas seguido de ciclodesidratação térmica.³⁹ Para acilar amidoximas, geralmente são utilizados derivados de ácidos carboxílicos ou ainda ácidos carboxílicos na presença de agentes ativadores tais como dicicloexilcarbodiimida (DCC), *N,N'*-carbonildiimidazol (CDI) ou tetrafluorborato de 2-(1-*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio (TBTU).³⁹

Outro método para sintetizar 1,2,4-oxadiazóis é através da cicloadição 1,3-dipolar de *N*-óxidos de nitrila a nitrilas. Os óxidos de nitrila alifáticos podem ser gerados *in situ* a partir da desidratação de nitroalcanos. Já os óxidos de nitrila

aromáticos são menos reativos e podem ser isolados, sendo formados a partir das respectivas oximas.³⁹

Os isoxazóis são heterociclos análogos aos já citados 1,2,4-oxadiazóis. Igualmente aromático, a diferença estrutural reside na troca do N-3 do oxadiazol por um grupo CH no isoxazol. Alguns fármacos contendo o anel isoxazólico são mostrados na Figura 10.

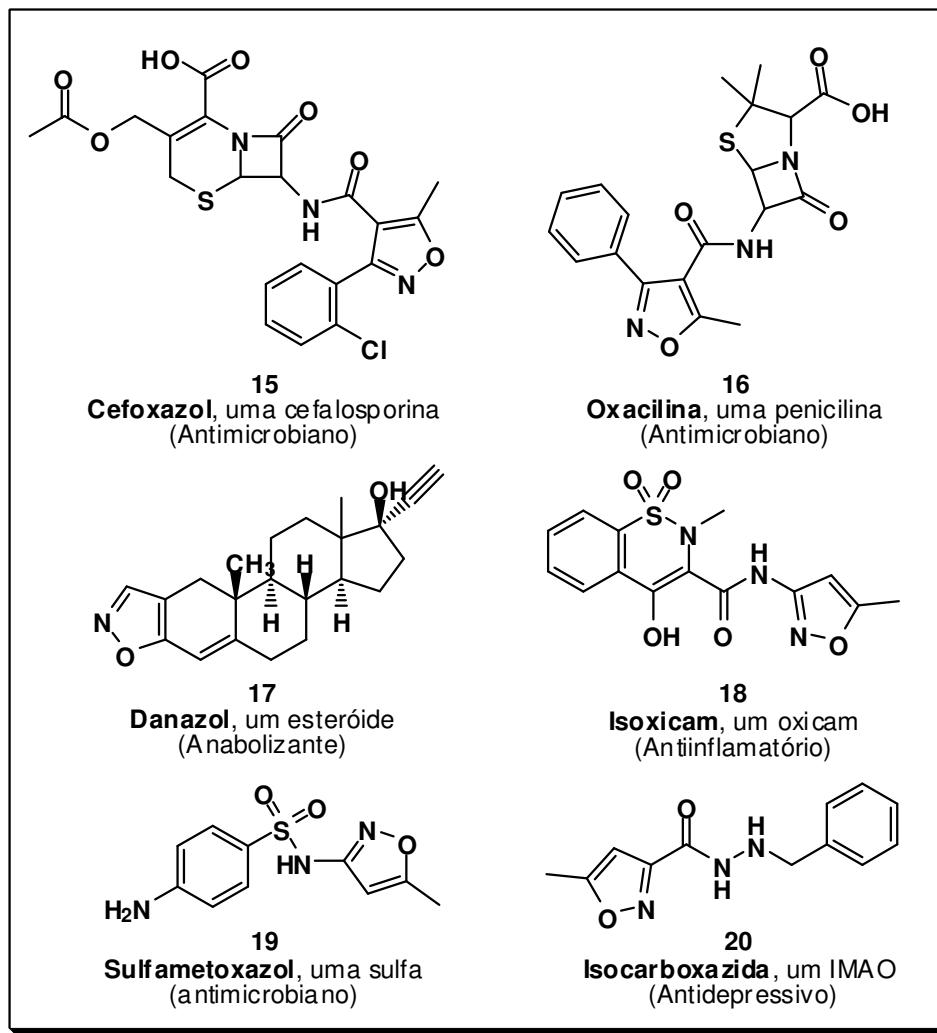
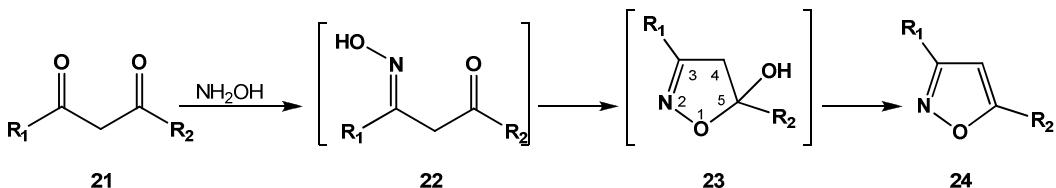


Figura 10: Exemplos de Isoxazóis que apresentam atividade biológica^{45,39}

O primeiro método descrito na literatura para a formação de isoxazóis foi descrito por Claisen e Lowmann em 1888⁴⁶, que consiste na reação de ciclocondensação entre uma β -dicetona com a hidroxilamina. Posteriormente, em 1946, Quilico descreveu a formação de isoxazóis a partir de *N*-óxidos de nitrila e compostos insaturados. Esses dois métodos são atualmente as principais rotas para a obtenção de isoxazóis.⁴⁷

Para o método descrito por Claisen, o mecanismo aceito é a formação de monoxima **22**, seguido da formação da 5-hidróxi-isoxazolina **23**. Esta última é convertida no isoxazol através de tratamento com ácido ou base tendo-se a supressão de uma molécula de água (Esquema 2).⁴⁶

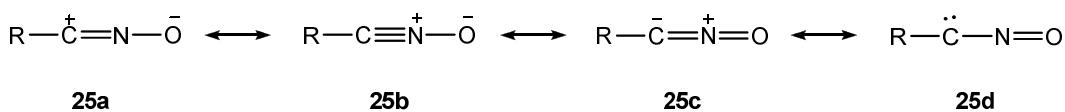


Esquema 2: Formação de isoxazol a partir de β -dicetonas e hidroxilamina

Este método é conveniente quando se deseja preparar isoxazóis substituídos na posição 5, ou ainda substituídos nas posições 3 e 5 por substituintes idênticos. Quando a β -dicetona é assimétrica, a reação com hidroxilamina produz uma mistura isomérica de isoxazóis, o que causa uma redução no rendimento reacional do produto desejado, além do processo de purificação tornar-se mais complicado.³⁹

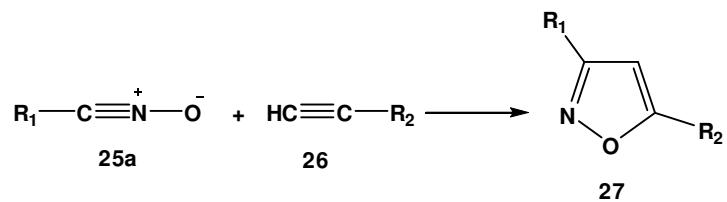
O método descrito por Quilico para a formação de isoxazóis a partir de *N*-óxidos de nitrila foi classificada por Huisgen como sendo uma típica cicloadição 1,3-dipolar.⁴⁸

A forma mais comum de se representar a estrutura do *N*-óxido de nitrila é através da estrutura **25b** mostrada no esquema abaixo, que apresenta também algumas formas de ressonância (**25a**, **25c** e **25d**).³⁹



Esquema 3: Estrutura do *N*-óxido de nitrila e suas formas de ressonância

A síntese de isoxazol a partir de um *N*-óxido de nitrila e um alcino é uma reação simples que geralmente ocorre apenas deixando os reagentes em solução de éter, sob agitação, em temperatura ambiente. O tamanho do substituinte ligado ao alcino pode influenciar na reação, neste caso, o problema pode ser solucionando quando o *N*-óxido de nitrila é gerado *in situ* e sua concentração é mantida baixa ao longo da reação.⁴⁹ Ao se utilizar um alcino monossubstituído (**26**), a reação pode ser regiosseletiva, produzindo exclusivamente o isoxazol 3,5-dissubstituído **27** (Esquema 4).³⁹



Esquema 4: Reação de óxido de nitrila com alcino monosubstituído

Diante das informações supracitadas, fica claro que o desenvolvimento de novos larvicidas contendo os núcleos oxadiazol ou isoxazol é um campo bastante promissor. Sendo assim, a finalidade deste trabalho é sintetizar novos compostos aril-heterocíclicos potencialmente larvicidas e capazes de inibir seletivamente a enzima HKT presente nas larvas de *A. aegypti*.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Pretende-se com este trabalho, realizar a síntese de novas moléculas contendo anéis heterocíclicos capazes de agir como antagonistas da HKT presentes nas larvas de *A. aegypti* tendo, por conseguinte, ação inseticida sobre estes indivíduos.

2.2. Objetivos Específicos

- Síntese de novas substâncias contendo um grupamento aromático, uma unidade de heterociclo e um grupo hidroxila, ácido ou derivado na cadeia lateral do heterociclo;

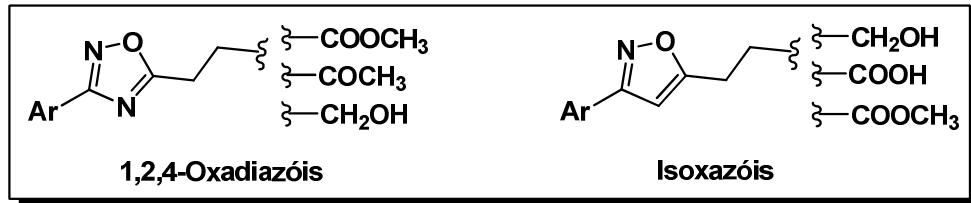


Figura 11: Substâncias contendo os anéis do 1,2,4-oxadiazol e do isoxazol

- Avaliação da atividade larvicida das substâncias sintetizadas frente às larvas de *Aedes aegypti*;
- Quantificação das substâncias 3-hidróxi-quinurenina e ácido xanturênico presentes nas larvas, através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

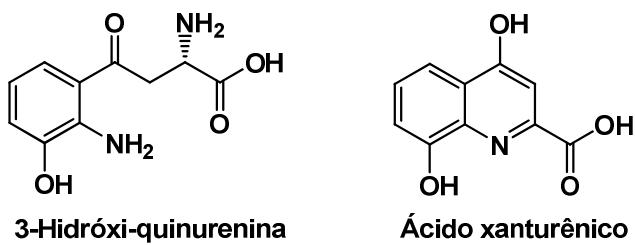


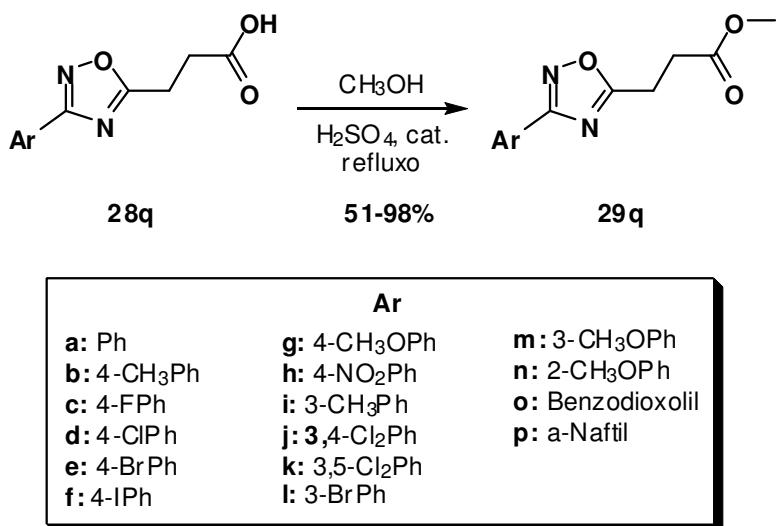
Figura 12: Estrutura da 3-Hidróxi-quinurenina e do Ácido Xanturênico

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO

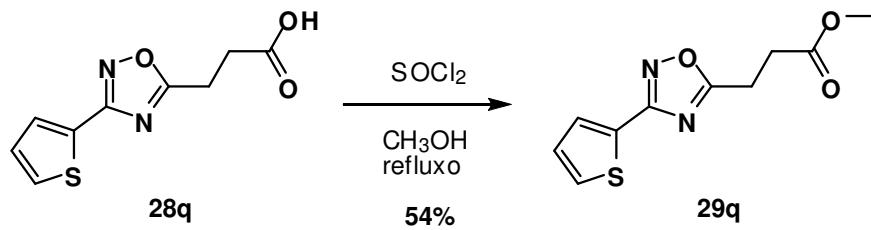
3.1. Síntese dos 1,2,4-oxadiazóis potencialmente larvicidas

Como parte da busca por substâncias larvicidas mais potentes que os protótipos ácidos 3-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóicos (**28a-q**), anteriormente sintetizados por nosso grupo de pesquisa,⁹ resolveu-se funcionalizar a função ácido terminal, derivatizando os ácidos a ésteres metílicos. Para tal, os ácidos foram submetidos às condições de esterificação em meio ácido, fornecendo os novos larvicidas **29a-q**, conforme mostrado no Esquema 5 e Esquema 6.



Esquema 5: Síntese dos ésteres **29a-p** a partir dos ácidos propanóicos **28a-p**.

O método acima não funcionou para o composto **29q**, logo partiu-se para a síntese utilizando cloreto de tionila em metanol sob fluxo, obtendo-se o composto **29q** com rendimento de 54 % (Esquema 6).



Esquema 6: Síntese do 3-(thiophen-2-yl)-1,2,4-oxadiazol-5-ilpropanoato de metila **29q**

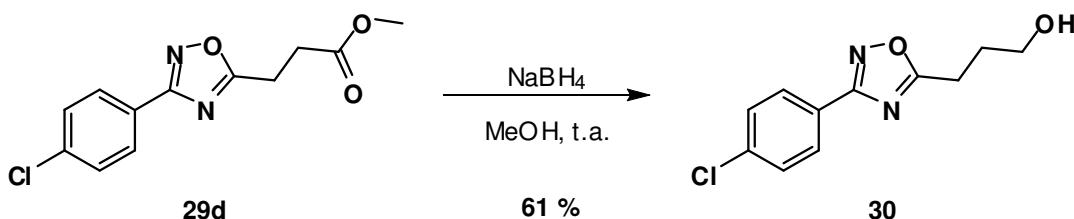
Os ésteres foram obtidos em rendimentos de moderados a bons (51% a 98%), conforme pode ser verificado na Tabela 1.

Tabela 1: Dados experimentais dos compostos **29a-q**.

Substância	Rendimento (%)	P.F (°C)	P.F(°C) Lit	Solvente de Recristalização
29a	98	45-46	49 ⁵⁰	CHCl ₃ : hexano
29b	91	63-65	63-64 ⁵⁰	CHCl ₃ : hexano
29c	59	67-68	^a	CHCl ₃ : hexano
29d	94	88-89	92 ⁵⁰	CHCl ₃ : hexano
29e	91	98-99	100 ⁵⁰	CHCl ₃ : hexano
29f	73	106-107	^a	CHCl ₃ : hexano
29g	92	58-59	59,5 ⁵⁰	CHCl ₃ : hexano
29h	69	85-86	^a	CH ₃ OH: H ₂ O
29i	51	-	^a	-
29j	77	111-112	^a	EtOH: H ₂ O
29k	86	67-69	^a	EtOH: H ₂ O
29l	75	-	^a	-
29m	59	39-41	^a	CHCl ₃ : hexano
29n	94	43-45	^a	CHCl ₃ : hexano
29o	57	83-84	^a	EtOH: H ₂ O
29p	81	84-85	^a	EtOH: H ₂ O
29q	54	66-68	^a	EtOH: H ₂ O

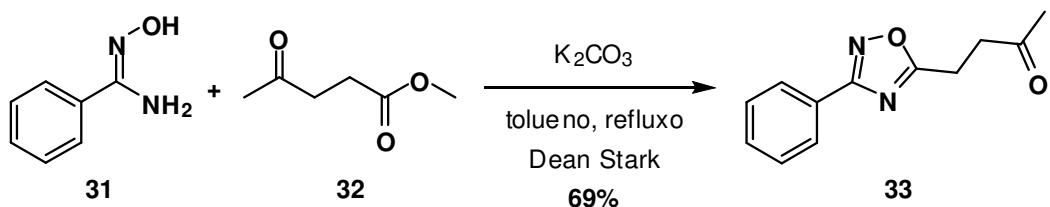
^a Substância inédita

No intuito de investigar mais a fundo a influência na atividade larvicida da funcionalização na cadeia lateral da posição 5 do anel 1,2,4-oxadiazol, resolveu-se transformar a função éster terminal, reduzindo o éster metílico a álcool primário. Para tal, utilizou-se boroidreto de sódio como agente redutor e metanol como solvente. A reação foi realizada em temperatura ambiente, conforme mostrado no Esquema 7. O álcool primário **30** foi obtido em 61% de rendimento.



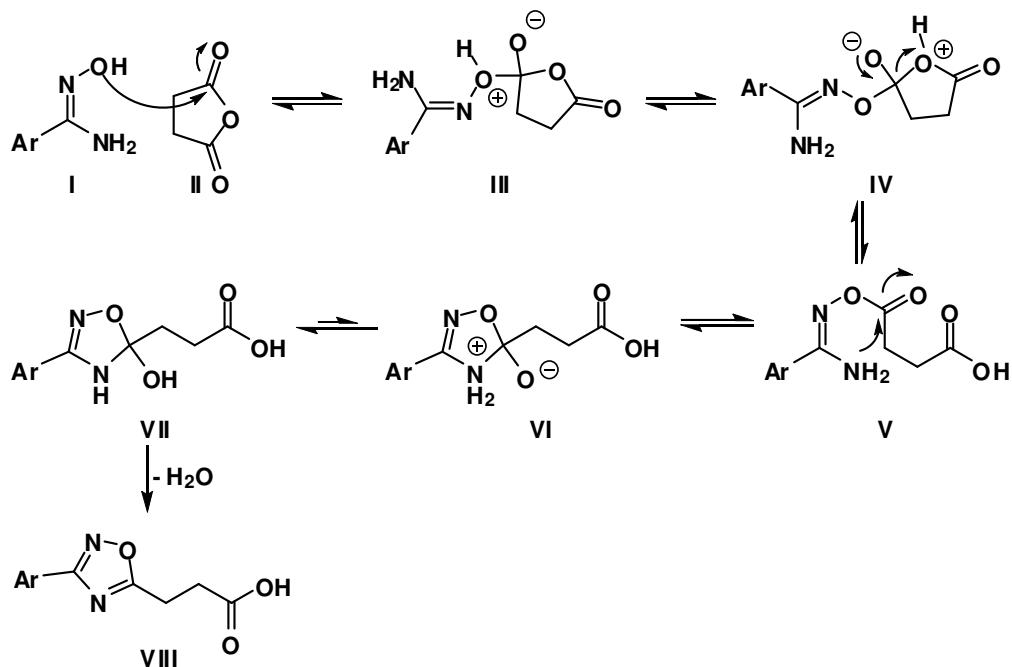
Esquema 7: Síntese do 3-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-1-ol **30**.

Ainda com o objetivo de avaliar a influência da funcionalização da cadeia lateral na posição 5 do anel oxadiazol sobre a atividade larvicida, realizou-se a reação entre a benzoamidoxima **31** e o 4-oxopentanoato de metila **32**, utilizando como base carbonato de potássio. A reação forneceu a cetona **33** em 69 % de rendimento.



Esquema 8: Síntese de 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona 33.

O mecanismo das reações para a formação de 1,2,4-oxadiazóis a partir de arilamidoximas é mostrado no esquema 12. A primeira etapa consiste no ataque da arilamidoxima (**I**) ao anidrido succínico (**II**) para formar o intermediário **III** que, através da abertura do anel de cinco membros e transferência de próton, resulta no intermediário *O*-acilamidoxima (**V**). Há o ataque do grupo amino à carbonila para formar o anel de cinco membros (**VI**) e nova transferência de próton para formar o intermediário **VII**. Este intermediário é convertido ao 1,2,4-oxadiazol **VIII** através da saída de uma molécula de água.



Esquema 9: Mecanismo de formação do 1,2,4-oxadiazóis a partir de arilamidoximas

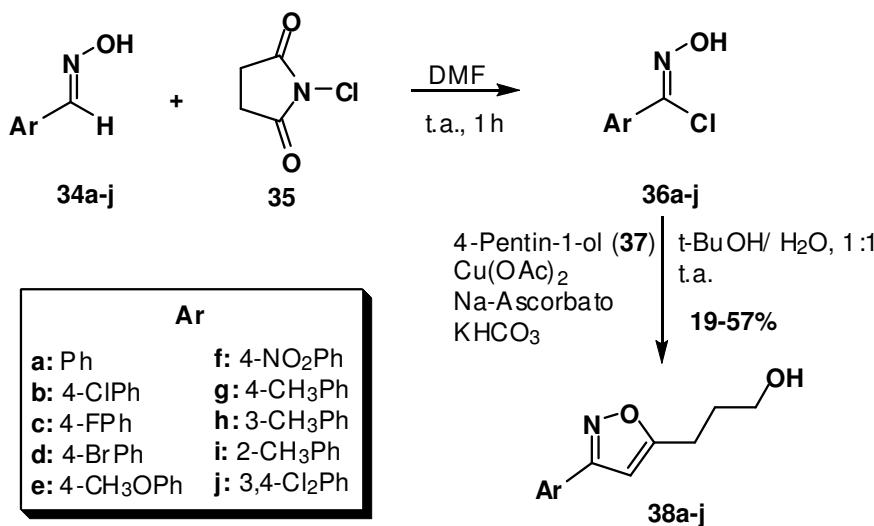
3.2. Síntese dos isoxazóis potencialmente larvicidas

Buscando decobrir a estrutura do farmacóforo das substâncias larvicidas aqui sintetizadas, resolveu-se sintetizar isoxazóis 3,5-dissubstituídos. É interessante notar que a diferença que existe entre os dois anéis de heterociclos, 1,2,4-oxadiazol e o isoxazol, é que nos primeiros há dois átomos de nitrogênio no anel, já no segundo heterociclo há um grupo CH no lugar do N-3. A influência desta troca será investigada na análise dos resultados larvicidas.

Foram sintetizados isoxazóis contendo um grupo hidroxila terminal, além dos compostos contendo um grupo ácido propiônico. Desta forma, a influência do grupo carbonila também será avaliada na estrutura do protótipo final.

3.2.1. Síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis

Para a síntese dos isoxazóis **38a-j**, fez-se necessário preparar os cloretos de imidoíla, que liberariam os óxidos de nitrila correspondentes *in situ*. Por sua vez, para obter os cloretos de imidoíla (**36a-j**), ariloximas (**34a-j**) precisaram reagir com a *N*-clorossuccinimida (NCS), utilizando como solvente *N,N*-dimetilformamida (DMF). Em seguida, os compostos **36a-j** reagiram com o 4-pentin-1-ol (**37**), na presença de acetato de cobre e ascorbato de sódio como sistema catalítico e bicarbonato de potássio como base, via cicloadição 1,3-dipolar (Esquema 10).



Esquema 10: Síntese dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos contendo uma porção hidroxila terminal na posição 5 do anel heterocíclico **38a-j**.

Os isoxazóis **38a-j** foram obtidos em rendimentos moderados (19% a 57%). A reação funcionou tanto com cloretos de imidoíla contendo grupos doadores, quanto com grupos retiradores de elétrons ligados no anel aromático. A Tabela 2 compila alguns dados experimentais obtidos para os compostos desta série.

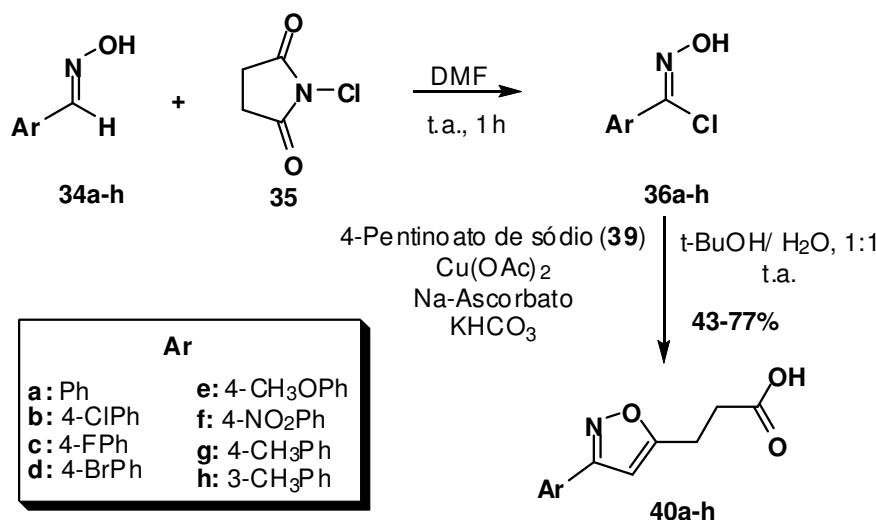
Tabela 2: Dados experimentais para os compostos **38a-j**.

Substância	Rendimento (%)	P.F (°C)	P.F (°C) Lit
38a	54	49-51	51
38b	19	71-72	a
38c	33	74-75	51
38d	57	80-81	51
38e	19	60-62	a
38f	44	80-82	a
38g	52	48-50	a
38h	57	-	a
38i	22	-	a
38j	27	-	a

^a Substância inédita

3.2.2. Síntese dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos

A síntese dos isoxazóis **40a-h** é análoga à síntese das substâncias **38a-j**, em que cloretos de imidoila geram os dipolos, os *N*-óxidos de nitrila, no meio reacional. Os compostos **36a-h** reagiram com o sal sódico do ácido 4-pentinóico (**39**) como dipolarófilo, na presença de acetato de cobre e ascorbato de sódio como sistema catalítico e bicarbonato de potássio como base para gerar os dipolos, fornecendo os ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos (Esquema 11).



Esquema 11: Síntese dos isoxazóis 3,5-disubstituídos contendo uma porção ácida propanóico em C-5 da cadeia lateral (**40a-h**).

Os isoxazóis **40a-h** foram obtidos em rendimentos considerados moderados a bons (43% a 77%). A Tabela 3 compila alguns dados experimentais obtidos para os compostos desta série.

Tabela 3: Dados experimentais dos compostos **40a-h**.

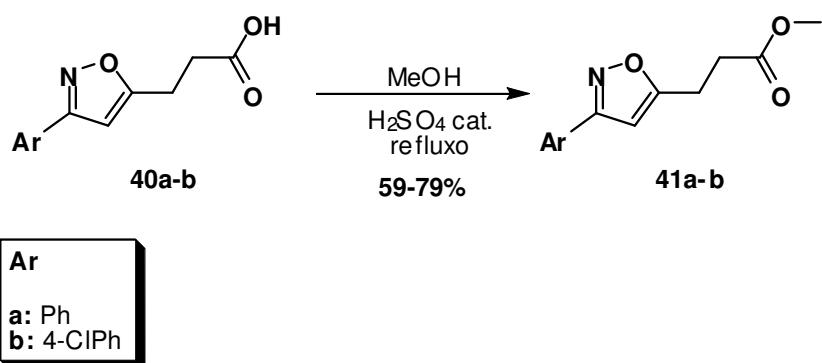
Substância	Rendimento (%)	P.F (°C)	P.F (°C) Lit
40a	63	148-150	52
40b	50	189-190	a
40c	77	165-168	a
40d	45	152-153	a
40e	43	159-161	a
40f	76	-	a

40g	48	168-169	^a
40h	52	-	^a

^a Substância inédita

3.2.3. Síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoatos de metila

Visando protótipos moleculares ainda mais ativos frente às larvas de *Aedes aegypti*, resolveu-se sintetizar 2 ésteres derivados de isoxazóis. Assim, semelhante a síntese dos compostos **29a-q**, os ácidos **40a-b** foram submetidos à reação de esterificação de Fisher em meio ácido, fornecendo os novos candidatos a larvicidas **41a-b**, conforme mostrado no Esquema 12.



Esquema 12: Síntese dos isoxazóis 3,5-disubstituídos contendo uma porção éster metílico na cadeia em C-5 (**41a-b**).

3.3. Caracterização dos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanoatos de metila

Os compostos desta série mostraram padrão espectroscópico semelhantes aos já descritos na literatura⁵³ e, por esta razão, não serão discutidos aqui em detalhes.

3.4. Caracterização do 1,2,4-oxadiazol contendo a porção hidroxila terminal (30)

No espectro de RMN de ¹H obtido para o composto **30** (Figura 13) observa-se um quinteto em 1,96 ppm com *J* = 7,6 Hz e *J* = 6,0 Hz referente aos hidrogênios do grupo CH₂ que está no centro da cadeia lateral. Em seguida é possível perceber dois triplets, um em 3,05 ppm com *J* = 7,6 Hz referente ao grupo CH₂ ligado ao anel oxadiazol e outro em 3,54 ppm com *J* = 6,0 Hz referente aos hidrogênios do grupo CH₂ ligado a hidroxila. Em 4,67 ppm observa-se um simpleto referente ao grupo OH. Já na

região característica de hidrogênios aromáticos observam-se os dois conjuntos de prótons do anel *p*-clorofenila (AA'XX') presente na posição C-3 do oxadiazol.

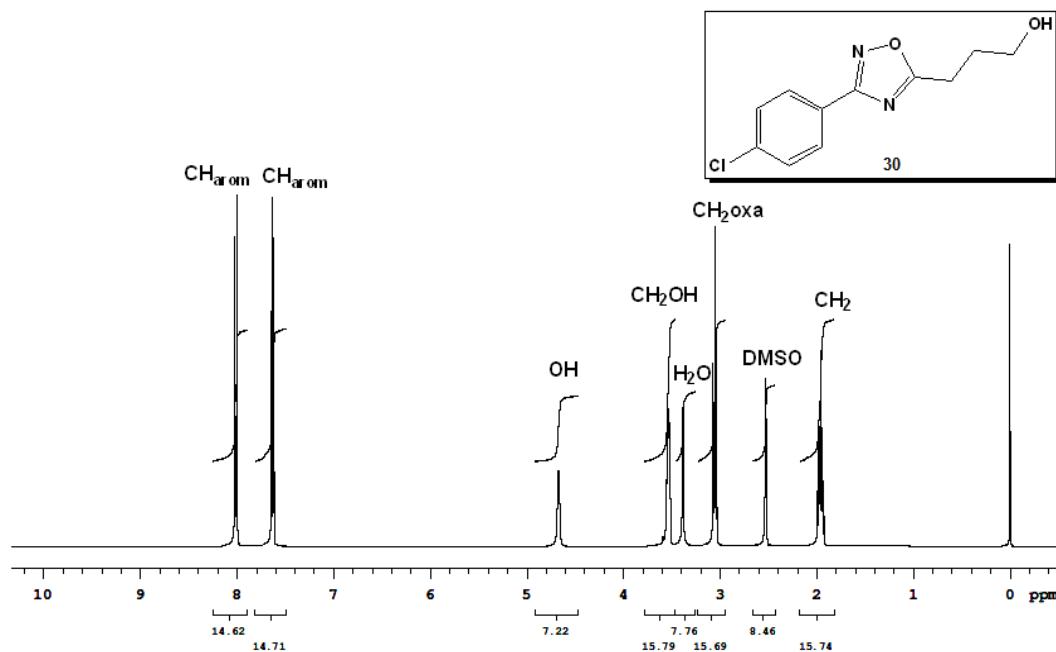


Figura 13: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto **30**

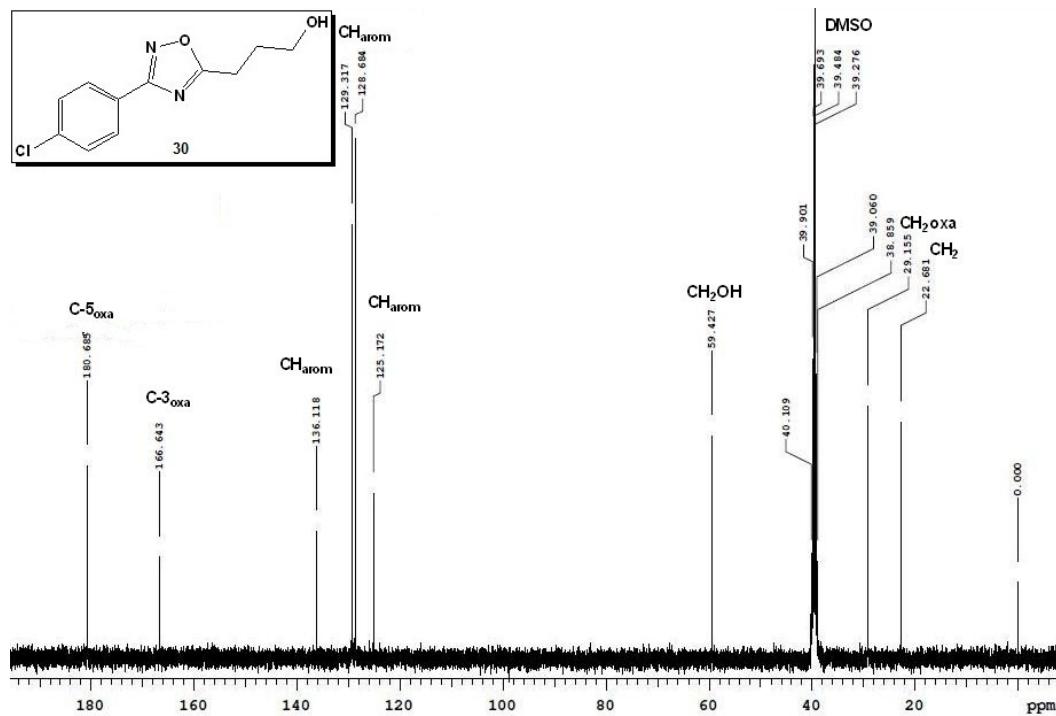


Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto **30**

A Figura 14 mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para o composto **30**. Observa-se na região típica de carbonos alquílicos dois sinais, um em 22,7 ppm e outro em 29,1 ppm que são referentes aos carbonos dos grupos metilenos, já o sinal que é observado em 59,4 ppm é referente ao grupo metileno ligado a hidroxila, por esta razão este sinal aparece em campo mais baixo. Na região aromática é possível notar quatro sinais referentes aos carbonos do anel *p*-clorofenila. Em seguida, nota-se dois sinais, um em 166,6 ppm e outro em 180,7 ppm que correspondem aos carbonos C-3 e C-5 do anel oxadiazol, respectivamente.

A Figura 15 mostra o espectro de infravermelho obtido para o composto **30**.

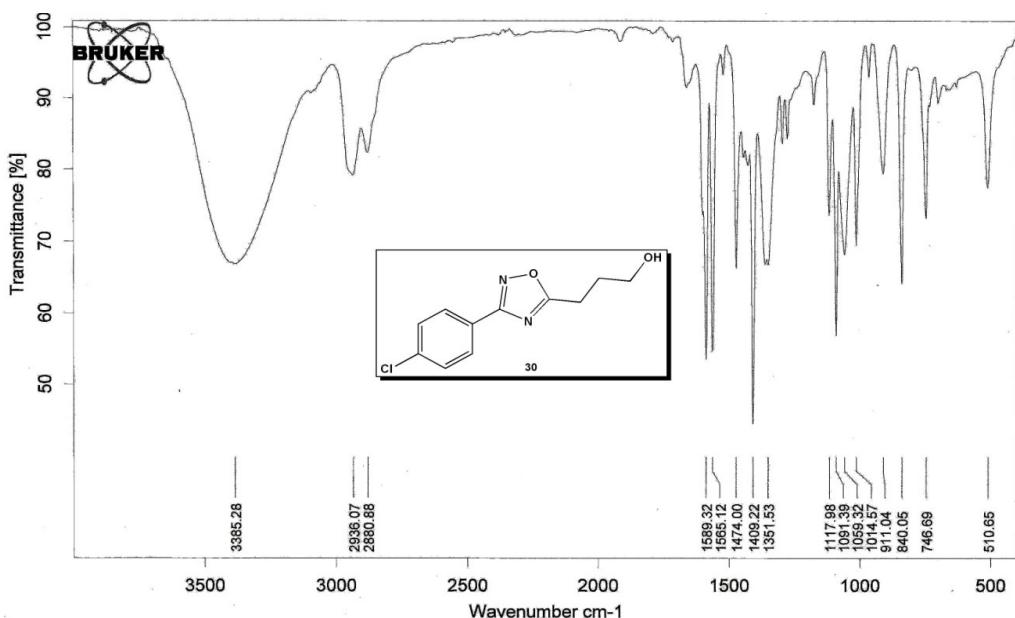


Figura 15: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **30**

No espectro é possível ver uma banda de absorção larga em 3385 cm^{-1} , característica do grupo hidroxila. Em 2936 cm^{-1} e 2881 cm^{-1} nota-se bandas de absorção características de estiramento das ligações C-H_{arom}. Também é possível notar uma banda intensa em 1589 cm^{-1} referente a ligação C=N e uma banda de absorção em 1471 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação N-O.

3.5. Caracterização dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis

A Figura 16 mostra o espectro de RMN de ^1H obtido para o composto **38a**. Os demais compostos desta série mostraram padrão espectroscópico semelhante e não serão discutidos aqui em detalhes.

Observando o espectro é possível ver um singuleto largo em 1,80 ppm referente ao sinal do grupo OH. A posição desse sinal, bem como a sua integração pode variar dependendo da concentração, solvente e temperatura na qual o espectro foi realizado.⁵⁴ Em seguida, observa-se um quinteto em 2,01 ppm com $J = 7,5$ Hz e 6,3 Hz, referente aos hidrogênios alquílicos do grupo CH_2 que está no centro da cadeia lateral. Pode-se também verificar dois triplets um em 2,93 ppm com $J = 7,5$ Hz e outro em 3,75 ppm com $J = 6,3$ Hz, referentes aos grupos CH_2 . O mais desblindado deles é referente aos prótons que estão próximos a hidroxila. Em seguida, observa-se um singuleto em 6,33 ppm referente ao próton presente no C-4 do anel isoxazol. Conforme pode ser analisado no espectro, somente há um sinal referente ao próton do anel isoxazólico, mostrando que somente um regioisômero foi obtido. Provavelmente, este regioisômero é o isoxazol 3,5-dissubstituído, de acordo com dados já relatados na literatura.⁵⁵ Já na região dos hidrogênios aromáticos, observam-se os cinco prótons entre 7,4 ppm e 7,8 ppm do anel aromático ligado na posição C-3 do isoxazol.

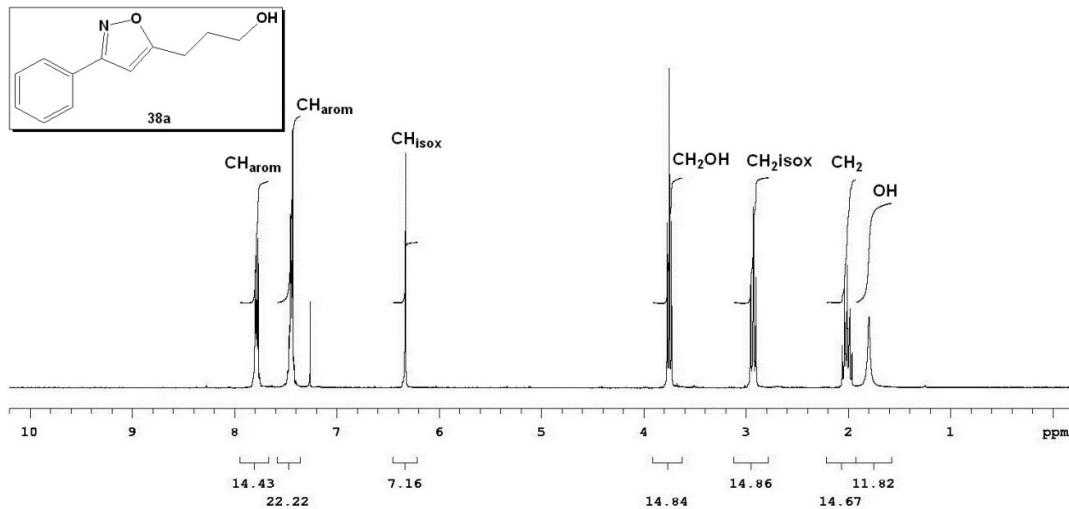


Figura 16: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **38a**

A Figura 17 mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para o composto **38a**.

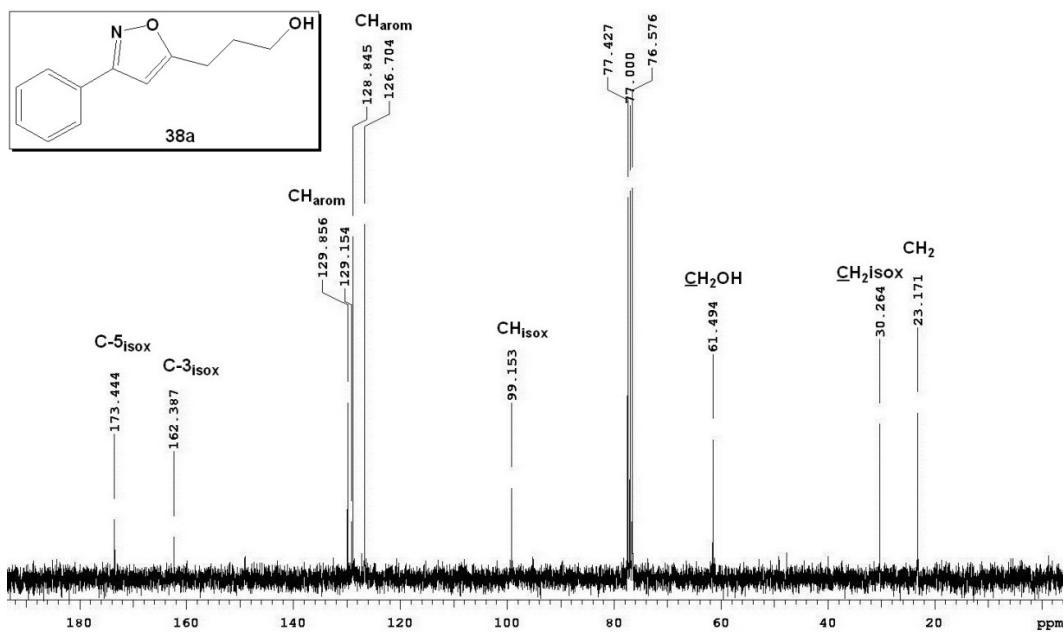


Figura 17: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **38a**

De acordo com a estrutura do composto **38a**, pode-se ver que os sinais que aparece em 23,2 e 30,3 ppm são referentes a dois dos grupos metilenos da molécula, encontrando-se na região típica de carbonos alquílicos. Já o sinal em 61,5 ppm é do carbono referente ao CH_2 ligado à hidroxila, sendo este carbono mais desblindado que os anteriores, aparecendo em campo mais baixo. O sinal que aparece em 99,2 ppm é referente ao CH do anel isoxazólico. Em seguida, é possível observar na região aromática 4 sinais, sendo o mais desblindado deles o carbono ligado ao anel isoxazol por sofrer o efeito retirador de elétrons do heterociclo. Os sinais que aparecem em 162,4 ppm e 173,4 ppm são referentes aos carbonos C-3 e C-5 do anel do isoxazol. Provavelmente o mais desblindado deles é o C-5 por estar ligado ao oxigênio e o outro, em campo mais alto, parece ser C-3 por estar ligado ao nitrogênio do referido heterociclo.

A Figura 18 mostra o espectro de infravermelho obtido para o composto **38a**. No espectro possível ver uma banda de absorção larga em 3259 cm^{-1} , característica de grupo hidroxila. Uma banda fraca em 3124 cm^{-1} referente ao estiramento das ligações C-H_{aromático} e uma banda intensa em 1610 cm^{-1} referente a ligação C=N também são facilmente identificadas. Outra banda de absorção que pode ser observada é aquela em 1471 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação N-O.

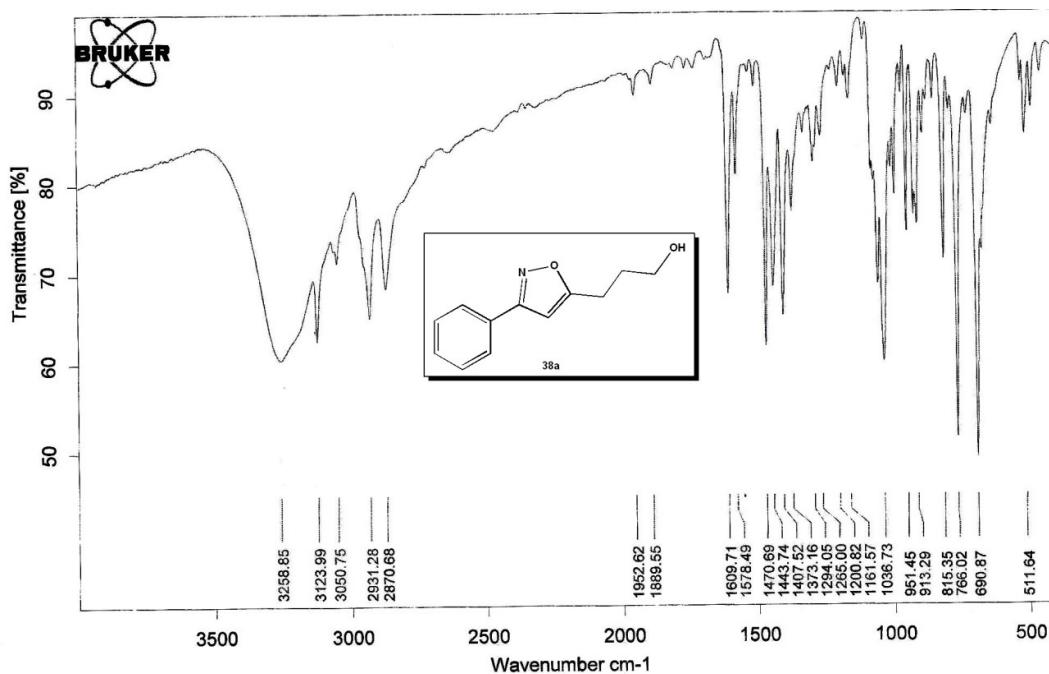


Figura 18: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **38a**

3.6. Caracterização dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos

A Figura 19 mostra o espectro de RMN de ^1H obtido para o composto **40a**.

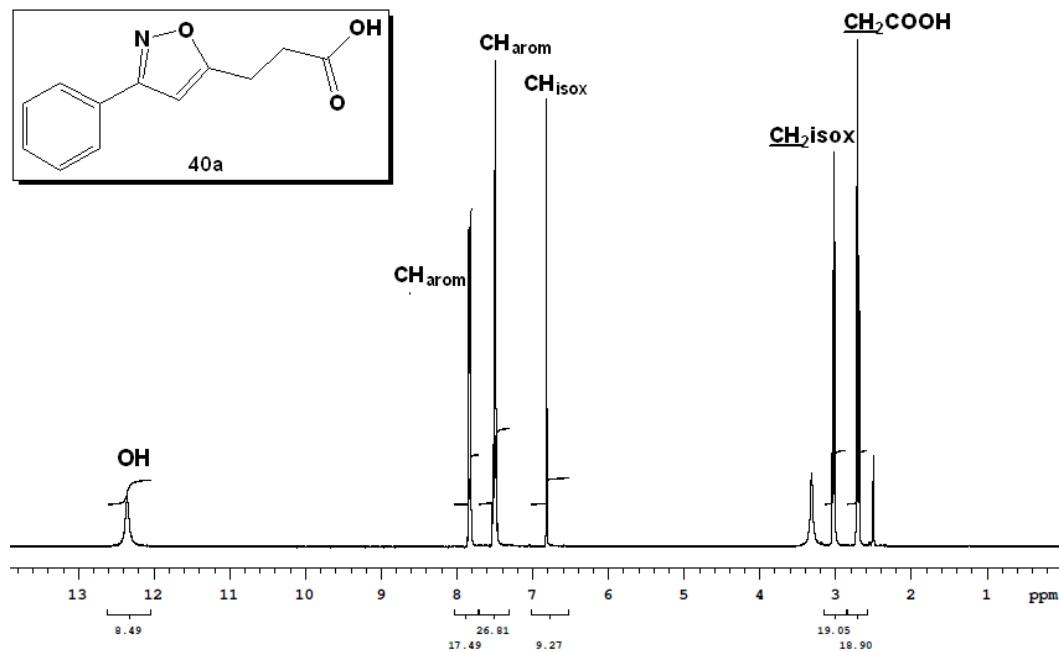


Figura 19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto **40a**

No espectro mostrado, é possível observar dois tripletos: um em 2,70 ppm com $J = 7,2$ Hz e o outro em 3,02 ppm com $J = 7,2$ Hz referente aos hidrogênios dos grupos CH_2 , sendo o mais desblindado deles o que está próximo ao anel isoxazol. Em seguida, observa-se um simpleto em 6,82 ppm referente ao próton presente no C-4 do anel isoxazol. Conforme pode ser analisado no espectro, somente há um sinal referente ao próton do anel isoxazólico, mostrando que, analogamente à série dos isoxazóis propanóis, somente um regioisômero foi obtido. Já na região característica de hidrogênios aromáticos observam-se os dois conjuntos de prótons do anel fenila presente na posição C-3 do isoxazol.

Já a Figura 20 mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para o composto **40a**, sendo este espectro representativo para esta série de substâncias. Observando a estrutura do composto **40a**, pode-se notar que os sinais em 21,8 e 31,1 ppm são referentes aos carbonos de dois grupos metilenos da cadeia alquílica lateral. Já o sinal que aparece em 99,3 ppm é referente ao CH do anel isoxazólico. Em seguida, é possível observar na região aromática cerca de quatro sinais, referentes aos carbonos do anel fenila. Os sinais que aparecem em 161,8 ppm e 172,9 ppm são referentes aos carbonos C-3 e C-5 do anel do isoxazol. Destes, o mais desblindado seria o C-5 por estar ligado ao oxigênio do heterociclo. Finalmente, o sinal em 173,0 ppm é referente ao carbono da carbonila.

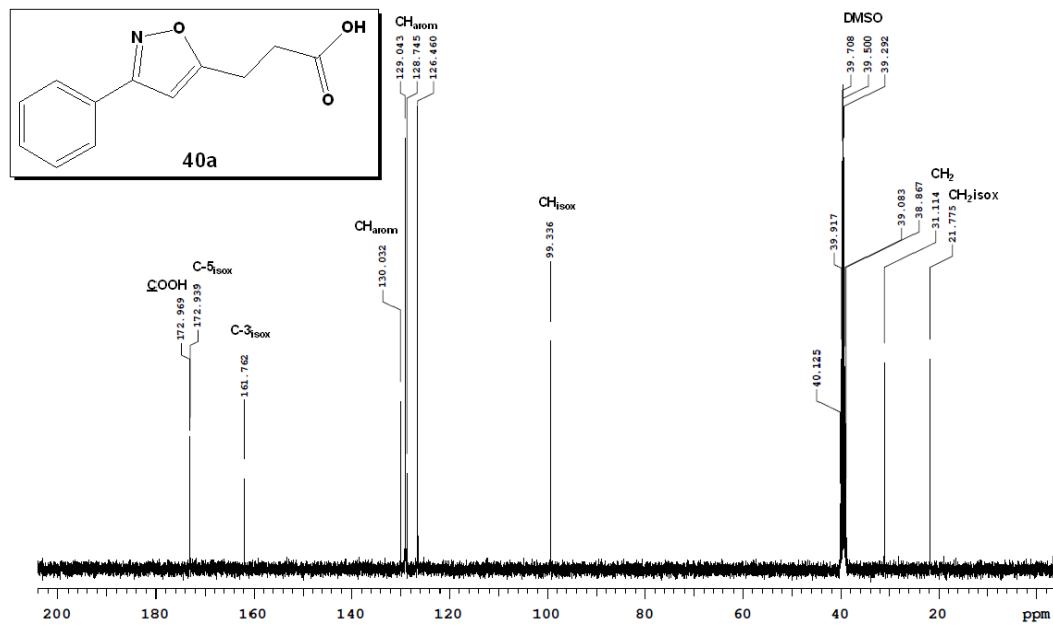


Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto **40a**

Dois regioisômeros podem ser obtidos, em tese, nesta reação (Figura 21). Apesar dos achados da literatura reportarem que isoxazóis sintetizados por esta rota sintética são exclusivamente 3,5-dissustituídos, uma confirmação é necessária para que se saiba que se trata realmente deste regioisômero. Esta confirmação pode ser dada ao se realizar a análise do espectro bidimensional via HMBC (Correlação Heteronuclear de Longa Distância) para o composto **40a** (Figura 22). Em um espectro deste tipo, observam-se interações C-H distantes até 3 ligações. Neste espectro, usaremos o eixo dos carbonos como ponto de partida por apresentar menos superposição. Assim, uma linha em 99,3 ppm, paralela ao eixo dos hidrogênios, pode ser traçada e esta interceptará três picos cruzados. O primeiro deles, o que corta o eixo dos hidrogênios em 3,02 ppm, corresponde ao grupo metíleno vizinho ao anel isoxazólico, representando um acoplamento $^3J_{CH}$. Os outros dois picos correspondem a um único duplo, mostrando que esta correlação corresponde ao hidrogênio (6,82 ppm) que está diretamente ligado a este carbono ($^1J_{CH}$), ou seja, ao próton do CH isoxazólico. Outra linha paralela ao eixo dos hidrogênios em 161,8 ppm intercepta dois picos cruzados; o que aparece em 6,82 ppm no eixo dos hidrogênios representa um acoplamento $^2J_{CH}$. Já o que aparece em 8,00 ppm no eixo dos hidrogênios, na região típica de prótons aromáticos, corresponde a um acoplamento $^3J_{CH}$. Esta interação confirma que o sinal em 161,8 ppm no eixo dos carbonos é referente ao C-3 do anel do isoxazol. Afirmado isto, uma evidência mostra que a substância sintetizada é, de fato, o regioisômero 3,5-dissubstituído: a interação do tipo $^3J_{CH}$ entre o carbono C-3 do anel isoxazol (161,8 ppm) e o hidrogênio isoxazólico (6,82 ppm). No isômero 3,4-dissubstituído, esta interação não ocorreria.

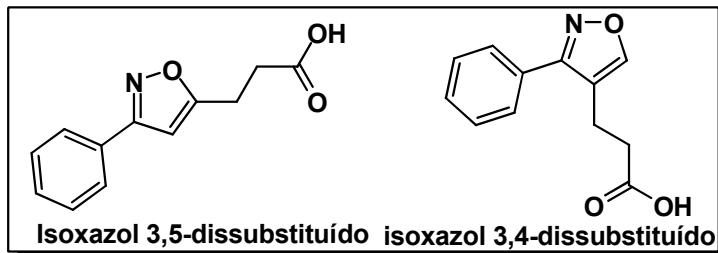


Figura 21: Estruturas dos isoxazóis 3,5-dissubstituído e 3,4-dissubstituído

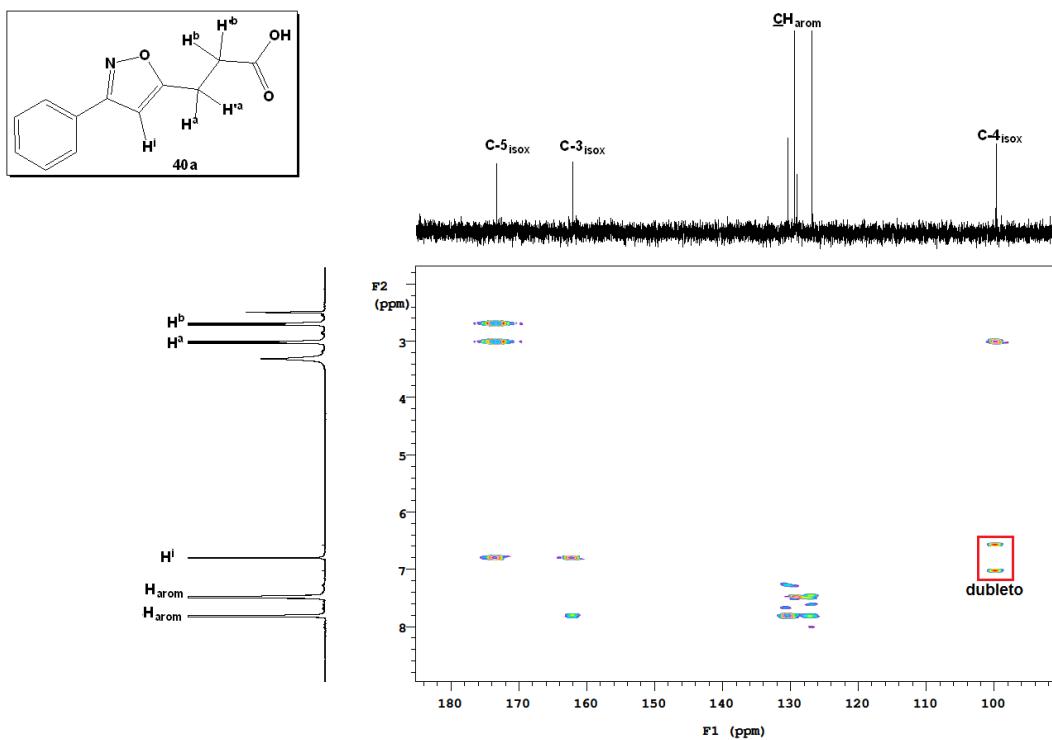


Figura 22: Espectro HMBC do composto 40a

A fFigura 23 mostra a segunda parte do espectro HMBC para o composto 40a.

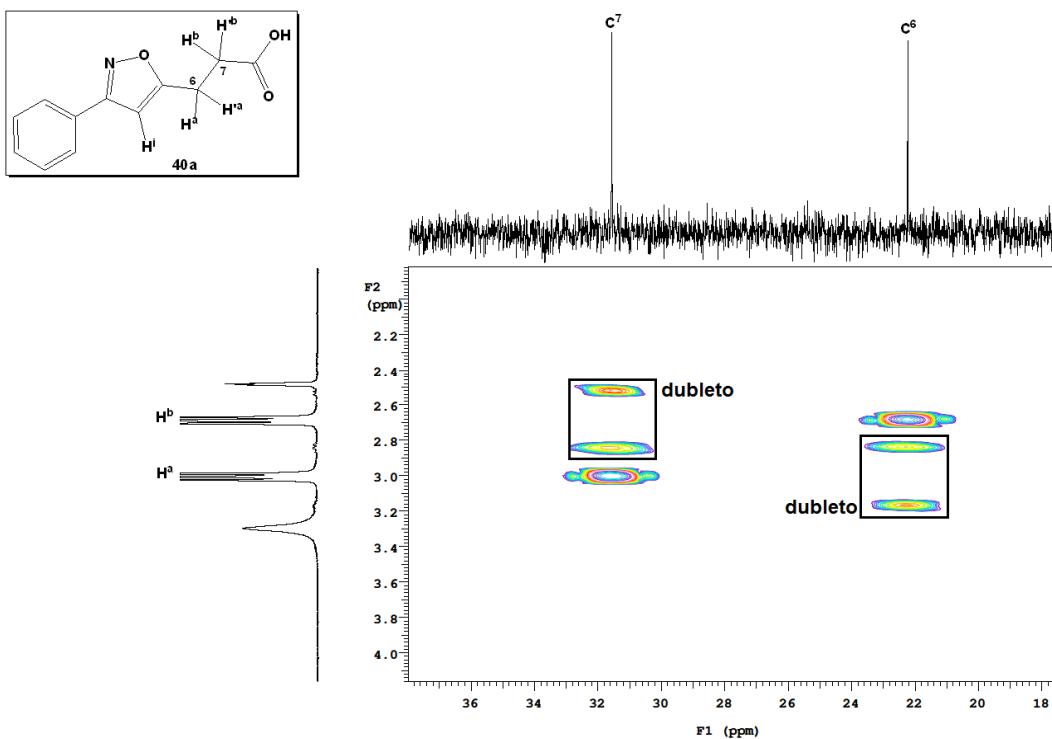


Figura 23: Espectro HMBC do composto 40a

Uma linha paralela ao eixo dos hidrogênios partindo de 21,8 ppm no eixo dos carbonos mostra duas interações. A primeira delas representa um acoplamento $^2J_{\text{CH}}$ entre este carbono e os prótons de outro grupo metíleno, mostrando que os dois grupos metílenos são vizinhos. A segunda interação, representada por um duplo, mostra que os prótons H-6^a estão ligados diretamente a este carbono ($^1J_{\text{CH}}$). Outra linha paralela ao eixo dos hidrogênios, em 31,1 ppm mostra, de maneira análoga, duas interações: a primeira está representada por um duplo, indicando que os prótons H-7^b estão ligados ao carbono C-7. A segunda interação corresponde a um acoplamento $^2J_{\text{CH}}$ entre este carbono e os prótons H-6^a (Figura 23).

A Figura 24 mostra o espectro de infravermelho obtido para o composto **40a**. Nota-se bandas de absorção fracas em 3116 cm^{-1} referente ao estiramento O-H de ácido carboxílico e em 2934 cm^{-1} referente ao estiramento das ligações C-H aromáticos. Também pode ser observada uma banda intensa em 1695 cm^{-1} referente à carbonila de ácido carboxílico e uma outra banda intensa em 1601 cm^{-1} referente a ligação C=N do isoxazol. Outra banda de absorção que pode ser observada é aquela em 1441 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação N-O.

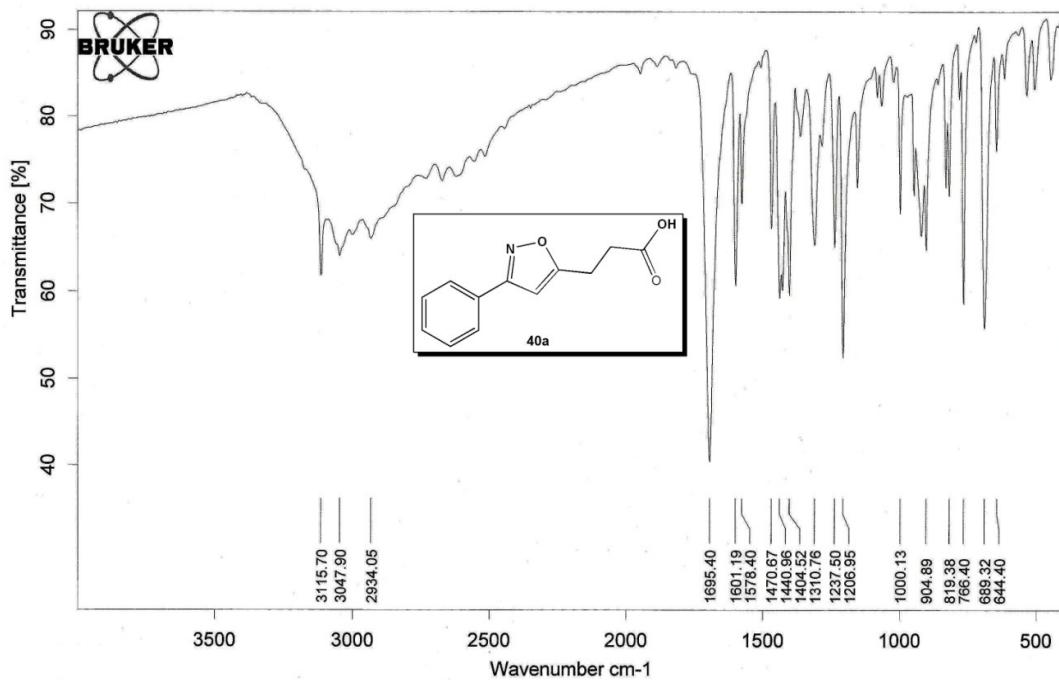


Figura 24: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **40a**

3.7. Caracterização dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoato de metila

A Figura 25 mostra o espectro de RMN de ^1H obtido para o composto **41a**. O composto **41b** mostrou padrão espectroscópico semelhante e não será discutido aqui em detalhes.

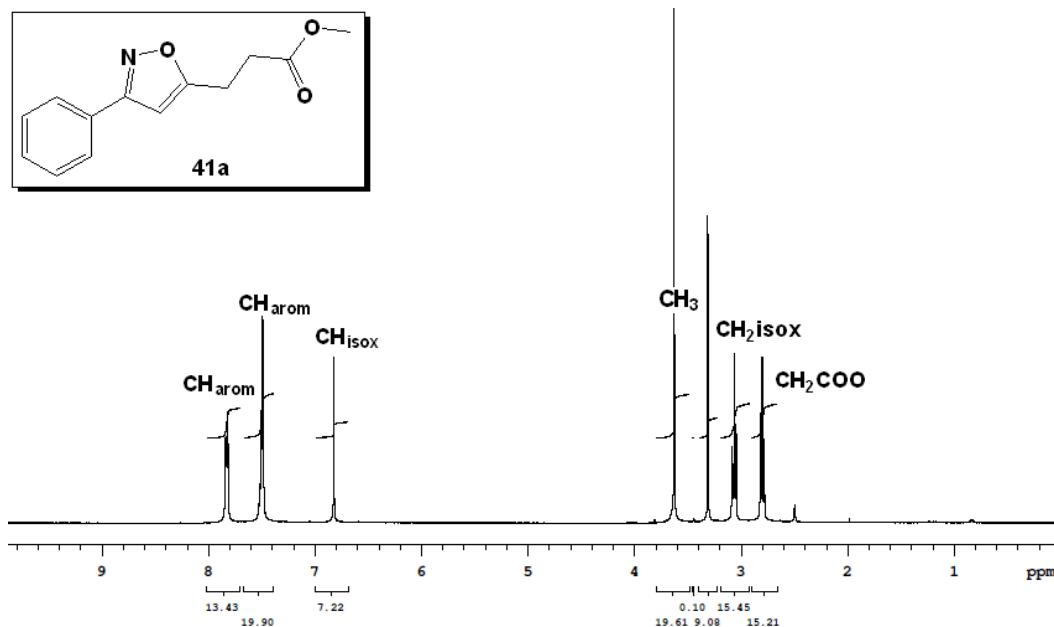


Figura 25: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) do composto **41a**

Observando-se o espectro acima percebe-se dois tripletos: um em 2,80 ppm com J igual a 7,2 Hz e o outro em 3,07 ppm com J igual a 7,2 Hz referente aos hidrogênios dos grupos CH_2 , sendo o mais blindado deles referente aos prótons que estão próximos ao grupo carbonila. Em seguida, observa-se dois simpletos: um em 3,63 ppm referente aos hidrogênios do grupo CH_3 e outro 6,82 ppm referente ao próton presente no C-4 do anel isoxazol. Já na região característica de hidrogênios aromáticos observam-se os dois conjuntos de prótons: um em 7,50 ppm (correspondendo a três hidrogênios) e 7,83 ppm (dois hidrogênios), sendo o mais desblindado deles referente aos prótons mais próximo do anel isoxazol.

A Figura 26 mostra o espectro de RMN de ^{13}C obtido para o composto **41a**. Observando-se o espectro abaixo, verifica-se os sinais que em 21,6 ppm e 30,8 ppm são referentes aos carbonos dos grupos CH_2 da cadeia alquílica lateral, sendo o mais desblindado deles o que está vizinho a carbonila. O sinal que aparece em 51,5 ppm é referente ao carbono do grupo CH_3 e o que aparece em 99,4 ppm é referente ao CH do anel isoxazólico. Em seguida, observam-se quatro sinais na região aromática referente

aos carbonos do anel fenila. Os sinais que aparecem em 161,8 ppm e 171,9 ppm são referentes aos carbonos C-3 e C-5 do anel do isoxazol. Destes, o mais desblindado seria o C-5 por estar ligado ao oxigênio do heterociclo. Já o sinal em 172,6 ppm é referente ao carbono da carbonila.

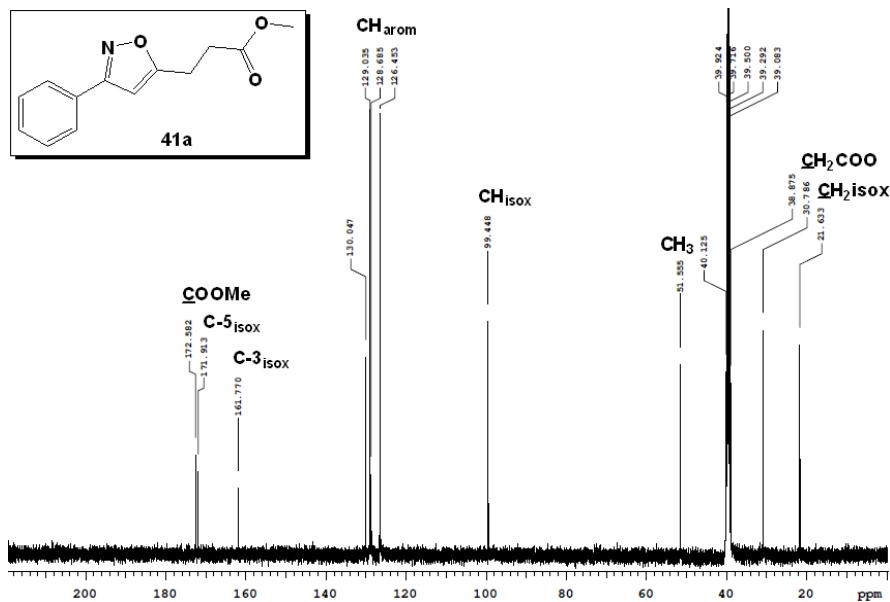


Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) do composto **41a**

A Figura 27 mostra o espectro de infravermelho obtido para o composto **41a**.

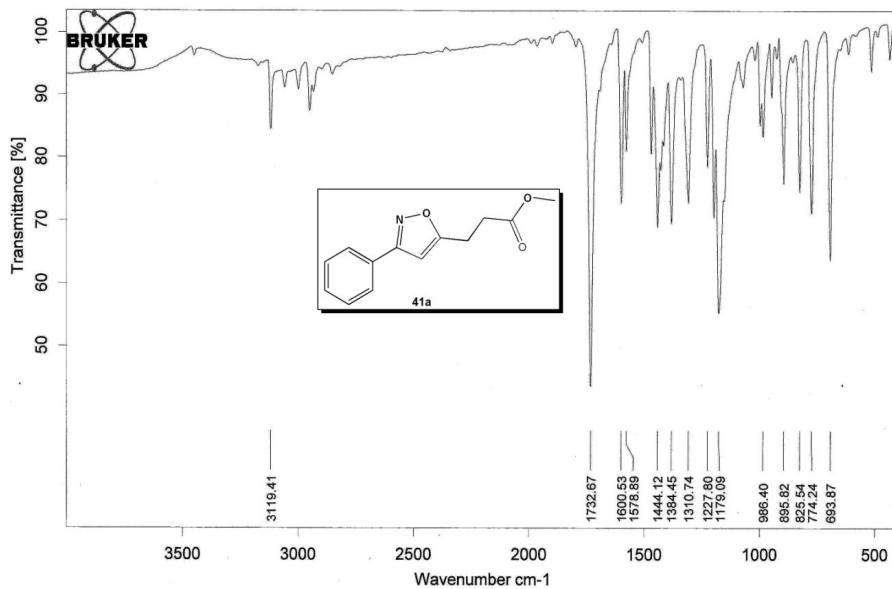
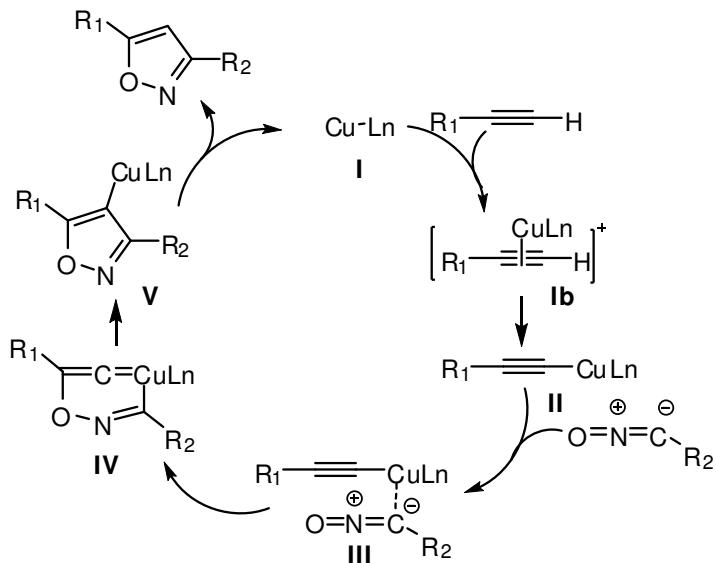


Figura 27: Espectro de IV (pastilha de KBr) do composto **41a**

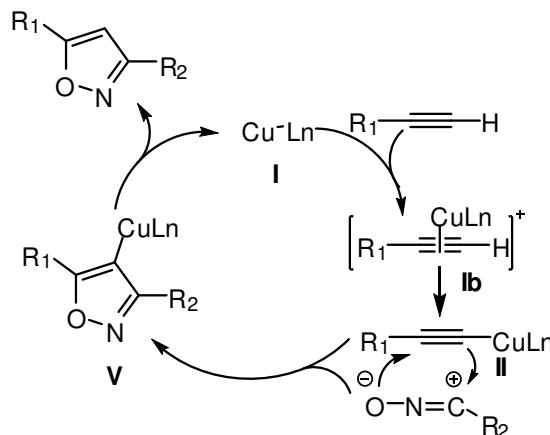
Observando o espectro é possível ver uma banda de absorção fraca em 3119 cm^{-1} , referente ao estiramento das ligações C-H aromático. É facilmente identificada uma banda intensa em 1733 cm^{-1} , referente a carbonila de éster. Também é possível perceber um banda em 1600 referente a ligação C=N. Outra banda de absorção que pode ser observada é aquela em 1444 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação N-O.

O ciclo catalítico das reações de cicloadição 1,3-dipolar entre alcinos terminais e *N*-óxidos de nitrila é mostrado no Esquema 13. A primeira etapa deste ciclo consiste na formação do acetilídeo de Cu(I) **II**, que passa pela formação do complexo- π **Ib**. A interação entre a espécie **II** e o *N*-óxido de nitrila resulta na formação da espécie **III**, que é rapidamente convertida no metalaciclo de seis membros **IV**. O anel de seis membros sofre contração para formar o isoxasolídeo de cobre **V**, 3,5-dissubstituído intermediário de menor energia e maior estabilidade que o intermediário 3,4-dissubstituído. A espécie catalítica **I** é finalmente regenerada e o isoxazol é formado.⁵⁵



Esquema 13: Ciclo catalítico para a reação de cicloadição [3 + 2] mediada por Cu(I)⁵⁵

Outra sugestão para a formação do isoxazol 3,5-dissubstituído seria através da formação do acetilídeo de Cu(I) **II**, seguida da reação concertada com o *N*-óxido de nitrila fornecendo o isoxasolídeo de cobre **V**, não passando pela formação do complexo **IV** como mostrado no esquema 14.



Esquema 14: Outra sugestão de mecanismo para a formação dos isoxazóis 3,5-dissubstituídos

3.8. Avaliação da atividade larvicida

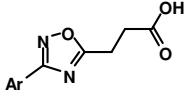
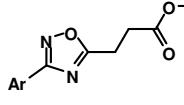
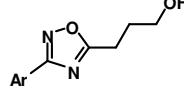
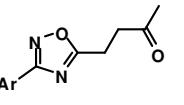
De posse das substâncias potencialmente larvicidas, procedeu-se aos bioensaios com as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Para os testes de atividade, foram utilizadas larvas no estágio de crescimento L₄ em volume apropriado de água destilada, dispostas em recipientes contendo diferentes concentrações da droga-teste dissolvida em quantidade mínima de: etanol, dimetilsulfóxido (DMSO) ou de soluções destes solventes com o tensoativo Tween 80. Os testes foram realizados em triplicata. Em cada replicata, foram utilizadas 20 larvas de *A. aegypti* e a atividade larvicida foi verificada 48 horas após o início do teste. Os ensaios foram realizados na ausência de luz, na temperatura de 25-27°C, em pH 5,0. As larvas, alimentadas com ração animal no início do teste, foram observadas decorridas 24 e 48 horas após o início do teste e foram consideradas mortas caso não respondessem ao estímulo ou quando não emergissem a superfície da solução. Controles negativo (solução contendo o veículo) e positivo (Temephos ®, 3 mg/mL) foram realizados concomitantemente aos testes com as drogas sintetizadas. Os resultados foram analisados utilizando o software Probit com o programa estatístico Statplus 2008 a um nível de confiança de 95%.

3.8.1. Avaliação da atividade larvicida para os 1,2,4-oxadiazóis

Os resultados destes testes realizados para os compostos 1,2,4-oxadiazóis estão resumidos na tabela abaixo (Tabela 4), que compila os valores de CL₅₀ (concentração

letal para 50% da população larval, em partes por milhão) para cada 1,2,4-oxadiazol testado.

Tabela 4: Atividade larvicida dos 1,2,4-oxadiazóis

			
Substância	Ar	CL ₅₀ (µg/mL)	
29a	Ph	30,65	
29b	<i>p</i> -Toluil	18,68	
29c	4-FPh	27,55	
29d	4-ClPh	6,29	
29e	4-BrPh	5,08	
29f	4-IPh	2,68	
29g	4-CH ₃ OPh	21,26	
29h	4-NO ₂ Ph	23,73	
29i	<i>m</i> -Toluil	14,39	
29j	3,4-diCl ₂ Ph	2,54	
29k	3,5-diCl ₂ Ph	5,81	
29l	3-BrPh	15,91	
29m	3-CH ₃ OPh	>100	
29n	2-CH ₃ OPh	>100	
29o	Benzodioxolil	>100	
29p	Naftil	27,51	
29q	2-Tiofenil	15,36	
28j	3,4-diCl ₂ Ph	49,61	
30	4-ClPh	27,76	
33	Ph	>100	

Comparando estes resultados com resultados anteriores obtidos por nosso grupo de pesquisa,⁹ pode-se observar um decréscimo significativo nos valores de CL₅₀, indicando que houve melhora na estrutura do nosso protótipo com a derivatização do

grupo ácido original para éster metílico. Por exemplo, para a substância **29a**, sem substituições no anel arila lateral, houve um decréscimo de 98,6 ppm (ácido) para 30,6 ppm (éster correspondente). Já para a substância contendo um átomo de bromo no anel fenila, que foi a mais ativa nos ensaios anteriores, houve uma diminuição no valor da CL_{50} de 15,2 ppm (ácido) para 5,08 ppm (éster metílico). É interessante notar que a substituição por átomos de halogênios no anel arila lateral fornece decréscimos importantes nos valores das CL_{50} em relação ao éster de oxadiazol com um grupo fenila. Também pode-se notar que a substituição na posição *para* do anel arila fornece compostos mais ativos que aqueles com substituições em *meta* (5,08 ppm para **29e** contra 15,91 ppm para **29l**). Observa-se ainda uma relação entre a eletronegatividade do substituinte e o valor da CL_{50} , ou seja, à medida que a eletronegatividade diminui, o valor da CL_{50} também diminui: CL_{50} de **2c** (*p*-FPh) > CL_{50} de **29d** (*p*-ClPh) > CL_{50} de **29e** (*p*-BrPh) > CL_{50} de **29f** (*p*-IPh). Na verdade, esta diminuição na atividade pode decorrer também pelo aumento do tamanho do átomo do halogênio, aumentando a interação com resíduos hidrofóbicos no sítio ativo da HKT. Sendo assim, os fatores estéricos seriam mais importantes que os fatores eletrônicos para a manutenção da atividade. Esta hipótese é corroborada pelo fato de que não há grande diferença entre **29a** (fenila) e **29c** (*p*-FPh). Considerando que os raios atômicos de H e F são semelhantes, não observa-se diferença na atividade destas substâncias, desprezando-se os efeitos meramente eletrônicos. Seguindo esta tendência, a substância que apresentou o menor valor de CL_{50} foi **29j**, o éster contendo o grupo 3,4-diclorofenila na cadeia lateral do heterociclo, com dois átomos de cloro, volumosos e eletronegativos como substituintes ($CL_{50} = 2,54$ ppm).

Avaliando a cadeia lateral em C-5 do anel oxadiazólico percebe-se que para os 1,2,4-oxadiazóis com o grupo fenila (**28a**, **29a** e **33**) houve um decréscimo no valor da CL_{50} de 98,6 ppm (1,2,4-oxadiazol ácido)⁹ para 30,6 ppm (1,2,4-oxadiazol éster) e o composto **33** (1,2,4-oxadiazol cetona) apresentou CL_{50} acima de 100 ppm. Já para os 1,2,4-oxadiazóis contendo um substituinte *p*-Cl-fenila (**28d**⁹, **29d** e **30**) percebe-se que as substâncias **28d** e **30** apresentaram valores de CL_{50} muito próximos, 28,1 ppm e 27,76 ppm, enquanto que para a substância **29d** houve um decréscimo para 6,29 ppm. Desta forma, é notório que, dos compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazol, os que possuem uma porção éster na cadeia lateral apresentam melhor atividade larvicida.

3.8.2. Avaliação da atividade larvicida para os isoxazóis 3,5-disubstituídos

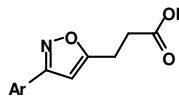
Na busca por larvicidas ainda mais potentes, sintetizou-se isoxazóis 3,5-disubstituídos. Como já citado anteriormente, resolveu-se sintetizar estes heterociclos por serem bastante semelhantes aos 1,2,4-oxadiazóis. A diferença entre os 2 núcleos é que no isoxazol tem-se um CH em lugar do nitrogênio na posição 4 presente nos 1,2,4-oxadiazóis. Sendo assim, nas tabelas 5, 6 e 7, estão compilados os dados para a atividade larvicida dos isoxazóis contendo um grupo álcool (Tabela 5); ácido (Tabela 6); e éster (Tabela 8). A Tabela 5 descreve a avaliação da atividade larvicida dos compostos **38a-j**. Como pode-se observar para os compostos desta série, apenas os compostos **38b**, **38e**, **38g** e **38i**, apresentaram atividade larvicida significativa (valores de CL₅₀ menores que 100 ppm). Analogamente à série contendo o anel do 1,2,4-oxadiazol, o isoxazol substituído com o grupo 3,4-diclorofenila **38j** que apresentou o melhor perfil larvicida desta gama de compostos (CL₅₀ = 17,15 ppm), indicando que este grupo ou algum equivalente deve estar presente no protótipo final.

Tabela 5: Atividade larvicida dos compostos **38a-j**

Substância	Ar	CL ₅₀ (μg/mL)
38a	Fenil	>100
38b	4-ClPh	28,86
38c	4-FPh	>100
38d	4-BrPh	33,35
38e	4-CH ₃ OPh	>100
38f	4-NO ₂ Ph	82
38g	<i>p</i> -Toluil	>100
38h	<i>m</i> -Toluil	>100
38i	<i>o</i> -Toluil	>100
38j	3,4-Cl ₂ Ph	17,15

A Tabela 6 descreve a avaliação da atividade larvicida dos compostos **40a-h**. Dos compostos desta série o único que não apresentou atividade larvicida significativa foi o isoxazol **40h**. Em virtude disto, pode-se constatar que para o isoxazol **38e** (álcool) o valor de CL_{50} é acima de 100 ppm, enquanto que para o isoxazol **40e** (ácido) o valor do CL_{50} decresceu para 35,67 ppm.

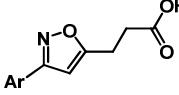
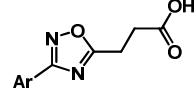
Tabela 6: Atividade larvicida dos compostos **40a-h**

 40a-h		
Substância	Ar	CL_{50} (μg/mL)
40a	Ph	82,78
40b	4-ClPh	37,66
40c	4-FPh	33,73
40d	4-BrPh	13,85
40e	4-CH ₃ OPh	35,67
40f	4-NO ₂ Ph	73,14
40g	4-CH ₃ Ph	38,79
40h	3-CH ₃ Ph	>100

A mesma relação entre os compostos que apresentam substituição de átomos eletronegativos no anel fenila e a atividade larvicida que foi observada para os 1,2,4-oxadiazóis não foi observada para os isoxazóis: CL_{50} de **40b** (*p*-ClPh) > CL_{50} de **40c** (*p*-FPh) > CL_{50} de **40d** (*p*-BrPh). Percebe-se que para a série dos isoxazóis, os efeitos eletrônicos são tão importantes quanto os efeitos estéricos, já que há bastante diferença entre **40a** (Ph) e **40c** (*p*-FPh). Entretanto, a substância que apresentou o menor valor de CL_{50} foi **40d**, o isoxazol contendo o átomo de bromo, volumoso e eletronegativo, como substituinte ($CL_{50} = 13,85$ ppm).

Comparando com os resultados obtidos para os ácidos **28a-q**⁹ com os ácidos de isoxazóis **40a-h**, observa-se na Tabela 7 a uma diminuição nos valores de CL_{50} .

Tabela 7: Atividades larvicidas para os ácidos do isoxazol e do 1,2,4-oxadiazol

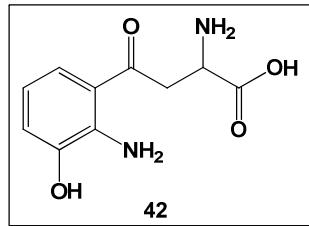
		Substância	Ar	CL₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Substância	Ar	CL₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
40a	Ph	82,78	28a	Ph	98,6		
40b	4-ClPh	37,66	28d	4-ClPh	28,1		
40c	4-FPh	33,73	28c	4-FPh	81,2		
40d	4-BrPh	13,85	28e	4-BrPh	15,2		
40e	4-CH ₃ OPh	35,67	28g	4-CH ₃ OPh	71,5		
40f	4-NO ₂ Ph	73,14	28h	4-NO ₂ Ph	50,5		
40g	4-CH ₃ Ph	38,79	28b	4-CH ₃ Ph	65,8		
40h	3-CH ₃ Ph	>100	28i	3-CH ₃ Ph	63,8		

Por exemplo, o ácido do oxadiazol contendo um grupo *p*-FPh teve valor de CL₅₀ na ordem de 81,2 ppm,⁹ enquanto que o ácido de isoxazol inibiu o crescimento de metade das larvas na concentração de 33,73 ppm (**40c**). Da mesma maneira, para heterociclos sem substituições no anel arila (**28a** e **40a**), o ácido do oxadiazol (**28a**) apresentou valor de CL₅₀ na ordem de 100 ppm enquanto que o ácido de isoxazol (**40a**) apresentou valor de CL₅ igual a 82,78 ppm. Seguindo esta tendência a maioria dos ácidos de isoxazol apresentou valor de CL₅₀ menor que o ácido do oxadiazol contendo o mesmo substituinte. De posse desta informação, resolveu-se derivatizar o grupo ácido do isoxazol a éster metílico nos compostos **40a** e **40b**. Assim, comparando os resultados da avaliação da atividade larvícida dos compostos **41a-b** com **40a-b**, pode-se perceber que para os isoxazóis com grupo fenila (**40a** e **41a**) houve um decréscimo no valor da CL₅₀ de 82,78 ppm (isoxazol ácido) para 13,17 ppm (isoxazol éster). Já para o isoxazol contendo um substituinte *p*-Cl-fenila o decréscimo foi de 27,66 ppm (isoxazol ácido) para 3,39 ppm (isoxazol éster).

Tabela 8: Atividade larvicida dos compostos **41a** e **41b**

41a-b		
Substância	Ar	CL₅₀ (μg/mL)
41a	Fenil	13,17
41b	4-ClPh	3,39

Trabalhos anteriores realizados com outros grupos de pesquisa mostraram que os ácidos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanóicos se encaixam no sítio ativo da HKT de *Anopheles gambiae*, corroborando com nossa hipótese de mecanismo de ação.⁵⁶ Nestes cálculos de docking molecular foi utilizado o modelo da enzima AgHKT cristalizada com o ligante ácido 2-amino-4-(2-amino-3-hidroxifenil)-4-oxobutanóico (**42**), depositada no PDB sob o código 2CH2.

**Figura 28:** Estrutura do ácido 2-amino-4-(2-amino-3-hidroxifenil)-4-oxobutanóico (4-OB), **42**

Como pode ser observado na Figura 29, o ligante 42 interage com os resíduos Arg³⁵⁶, Asn⁴⁴ e Gly²⁵, além da forte interação do grupo ácido com a porção guanidina do resíduo Arg³⁵⁶. Apesar dos ácidos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanóicos não adotarem preferencialmente a mesma configuração do ligante, os estudos de docking forneceram fortes subsídios de que há interação dos compostos testados com a enzima em questão.

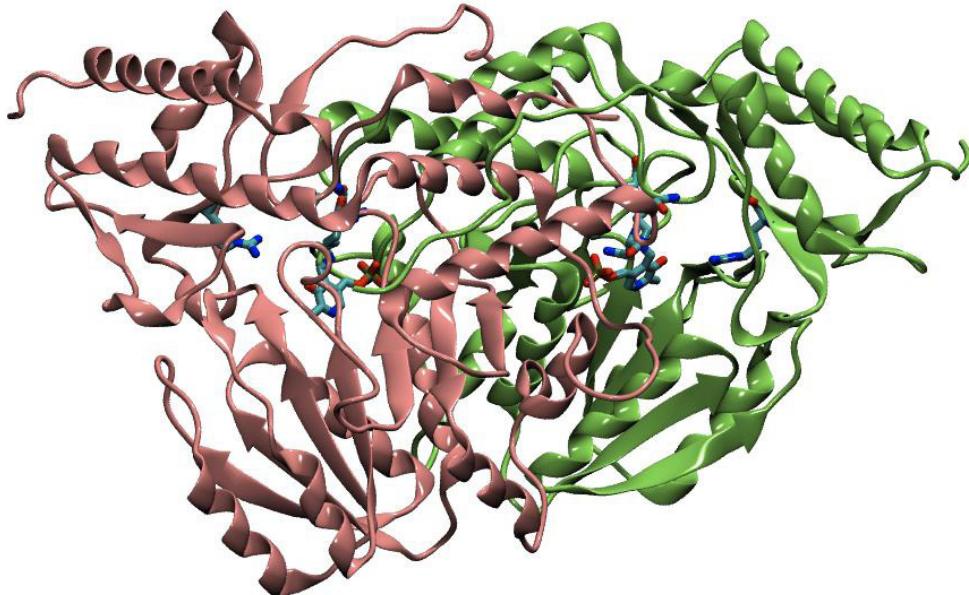


Figura 29: Estrutura cristalográfica da enzima AgHKT (PDB ID 2CH2). Representação do sítio ativo que é indicado pela presença do cofator piridoxal fosfato e resíduos do sítio ativo que interagem com **42**.

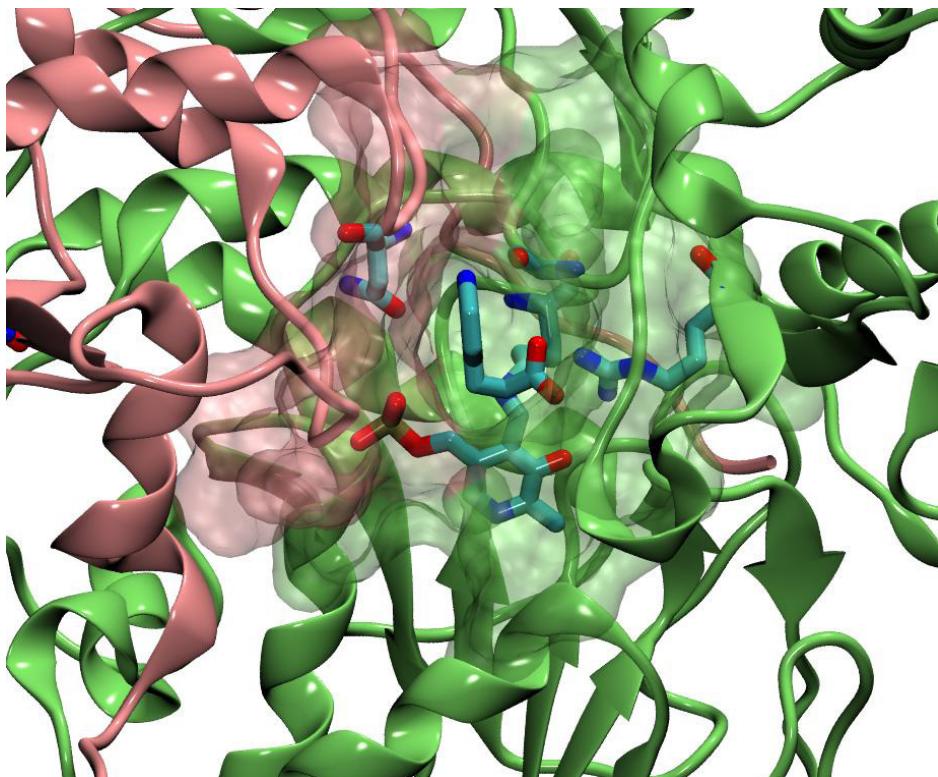


Figura 30: Detalhe do sítio ativo da estrutura cristalográfica da enzima AgHKT (PDB ID 2CH2). Representação da interação do inibidor **42** com os resíduos Arg356, Asn44 e Gly25.

Ainda que os cálculos de docking tenham sido realizados com a enzima HKT da espécie *Anopheles gambiae*, as enzimas são homólogas. Através de estudos de homologia estrutural comparativa, foi obtido o alinhamento dos sequências das HKTs de *Aedes sp.* (AeHKT) e *Anopheles sp.* (AgHKT), resultando em 78,9 % de identidade entre as sequências de aminoácidos. Outra informação importante é que os sítios ativos estão preservados, ou seja, é possível que os compostos sintetizados neste trabalho também se liguem ao sítio da AeHKT.

A via das quinurenimas mostrada no Esquema 1 mostra que a substância tóxica 3-hidróxi-quinurenina é convertida a ácido xanturênico através da ação da enzima 3-hidróxi-quinurenina-transaminase (HKT). Ou seja, para que haja o acúmulo de 3-HK e posterior morte do inseto, é necessário que se bloqueie a ação da enzima HKT. Caso este bloqueio seja efetuado, um acúmulo de 3-HK seria esperado nos organismos dos insetos tratados com as drogas sintetizadas. Analogamente, as taxas de ácido xanturênico deveriam decrescer, quando comparadas a insetos não-tratados. Para realizar tais estudos de confirmação do alvo biológico das drogas sintetizadas, foram utilizados padrões comerciais da 3-HK e do AX. As larvas tratadas com as drogas testes **29d** e **29h**, foram coletadas logo após o bioensaio larvicida, liofilizadas e pulverizadas. O pó foi tratado com ácido fórmico 0,4 M e a mistura foi sonicada, refrigerada e centrifugada. O sobrenadante foi analisado no CLAE e os picos observados foram comparados aos padrões comerciais. Estes resultados foram comparados com os extratos de larvas não-submetidas ao tratamento com as drogas-teste, sendo este considerado o grupo controle negativo. Os resultados obtidos para a quantificação da 3-HK e do AX estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9: Dados experimentais para a quantificação da 3-HK e do ácido xanturênico em larvas do *A. aegypti*.

Amostra	Dose utilizada(ppm)	% 3-HK	% AX
Controle	-	36,15	2,56
Tratada com 29d	10	40,11	1,29
Tratada com 29h	100	71	1,15

Os dados mostrados na Tabela 9 indicam que a percentagem de 3-HK aumentou para as amostras tratadas com os compostos **29d** e **29h** em relação à amostra controle, indicando um acúmulo da 3-HK nas larvas tratadas. O percentual obtido para o ácido

xanturônico mostra que esta espécie é diminuída com o tratamento com os compostos **29d** e **29h** em relação à amostra controle. Como o composto **29d** apresenta melhor atividade larvicida que o composto **29h**, era esperado que os valores do percentual de 3-HK fossem maiores para a amostra tratada com o composto **29d**. Isto pode ter sido devido à alta concentração utilizada para **29h** (100 ppm), mostrando que provavelmente o acúmulo de 3-HK decorrente da inibição da HKT seja dose-dependente.

Em suma, embora ensaios de inibição da HKT não pudessem ter sido realizados, ensaios indiretos de quantificação dos metabólitos envolvidos nesta inibição fornecem subsídios para a hipótese de que os compostos sintetizados neste trabalho podem atuar na via das quinureninas, acarretando a morte por apoptose de células neuronais de larvas de *Aedes aegypti*.

CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 4: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

4.1. Conclusões

Com o intuito de sintetizar compostos potencialmente larvicidas, foi realizada a modificação molecular dos ácidos 3-[3-(aril)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propiônicos, já conhecidos por apresentar atividade larvícida para indivíduos da espécie *Aedes aegypti*. Os compostos **28a-q** foram submetidos à esterificação com metanol em meio ácido e esta rota forneceu bons rendimentos, fornecendo os produtos desejados **29a-q** (51% a 98%). Estes compostos apresentaram melhor atividade larvícida, com valores de CL₅₀ abaixo de 50 ppm para a maioria das substâncias testadas. O éster metílico do ácido 3-[3-(3,4-diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]propanóico (**29j**) apresentou o excelente perfil larvícida, com uma CL₅₀ na ordem de 2,54 ppm, valor este bem menor que resultados obtidos anteriormente por nosso grupo de pesquisa (de 15,2 a 98,6 ppm).⁹

Outra série de compostos sintetizados foi à série dos 3-(3-(aril)-isoxazol-5-il)propan-1-óis (**38a-j**), obtidos através da cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrilas aromáticos (gerada por cloreto de imidoíla **36a-j**) ao 4-pentin-1-ol (**37**) mediada por Cu(I). A reação forneceu os produtos com rendimentos moderados (19% a 57%). Estes compostos apresentaram atividade larvícida pouco significativa, tendo a maioria dos compostos valores de CL₅₀ acima de 100 ppm. No entanto, os compostos **38b**, **38d**, **38f** e **38j**, apresentaram boa atividade (CL₅₀ abaixo de 50 ppm), sendo o composto **38j** (substituído com o grupo 3,4-diCl₂Ph), aquele que apresentou a melhor atividade (CL₅₀ = 17,15 ppm).

Já os ácidos 3-(3-(aril)-isoxazol-5-il)propanóicos (**40a-h**) foram obtidos com rendimentos variando de 43% a 77%. Estes compostos apresentaram boa atividade larvícida, sendo o composto **40d** (substituído com o grupo *p*-BrPh) aquele que apresentou a melhor atividade (CL₅₀ = 13,85 ppm). Os ácidos contendo o anel isoxazol apresentam melhor atividade larvícida que os ácidos contendo o anel 1,2,4-oxadiazol, em sua maioria.

Os 3-(3-(aril)-isoxazol-5-il)propanoatos de metila (**41a-b**) foram obtidos com rendimentos bons (59% e 79%) e apresentaram melhor atividade larvícida que seus ácidos correspondentes, com valores de CL₅₀ igual a 13,17 ppm e 3,39 ppm, respectivamente. Estes ésteres metílicos apresentaram melhor atividade que os ésteres metílicos contendo o anel 1,2,4-oxadiazol contendo o mesmo substituinte, o composto

substituinte com o anel fenila (**29a**) apresentou valor de CL₅₀ igual a 30,65 ppm e o composto substituído com o *p*-ClPh (**29d**) apresentou valor de CL₅₀ igual a 6,29 ppm.

Com o intuito de investigar a possível inibição da enzima HKT das larvas de *Aedes aegypti*, quantificou-se as substâncias 3-hidróxi-quinurenina e ácido xanturênico presentes nas larvas de *Aedes aegypti* tratadas com os compostos **29d** e **29h**. Os resultados mostraram que a quantidade de AX nos extratos larvais decresce para o tratamento com os dois compostos em relação ao grupo controle, enquanto que a quantidade de 3-HK aumenta. Estes resultados fornecem fortes indícios de que os compostos aqui sintetizados podem ser capazes de inibir a enzima HKT.

4.2. Perspectivas

- Finalizar os estudos de confirmação do alvo biológico.
- Realizar testes com cepas resistentes ao Temephos® (inseticida usual para *Aedes aegypti*).
- Realizar estudos de QSAR.
- Realizar estudos de docking molecular destes compostos no modelo de homologia para o AeHKT.
- Realizar a síntese de isoxazóis e oxadiazóis com grupos volumosos na cadeia lateral em C-3 e com uma função éster em C-5.

CAPÍTULO 5

CAPÍTULO 5: PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1. Procedimentos gerais

Todos os solventes e reagentes utilizados foram obtidos através dos fornecedores Aldrich, Sigma, Acros, Merck e Vetec. A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada utilizando-se placas de sílica em suporte de alumínio contendo indicador fluorescente F₂₅₄ da marca Fluka. Para a revelação das manchas utilizou-se lâmpada ultravioleta. Para a cromatografia em coluna foi utilizada sílica-gel 60 (70-230 mesh) da marca Macherey-Nagel (Alemanha).

5.2. Equipamentos utilizados

Para a determinação dos pontos de fusão, foi utilizado o aparelho Electro-thermal modelo Mel-Temp analógico e os pontos de fusão dos compostos obtidos não são corrigidos.

Para a obtenção dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C foi utilizado o instrumento Varian modelo Unity Plus 300 MHz ou Varian UNMRS 400 MHz, utilizando como solvente clorofórmio deuterado, dimetilsufóxido deuterado, metanol deuterado.

Para a obtenção dos espectros de infravermelho foi utilizado o espectrofotômetro da marca Brucker, modelo IFS66 FT-IR, em pastilhas de KBr.

Para a obtenção dos espectros de massa foi utilizado o instrumento LCMS – IT – TOF- Shimadzu.

Para a obtenção dos percentuais de análise elementar foi utilizado o analisador elementar (CHNS-O), da marca CE instruments, modelo EA 1110.

Para os ensaios de quantificação dos metabólitos foi utilizada a lavadora ultrassônica da marca Unique, a 40 kHz, modelo USC-1800A. Para a decantação das larvas foi utilizada a centrífuga modelo Sigma 6-15, da Laboratory Centrifuges. Já para a quantificação dos metabólitos foi utilizado o cromatógrafo LCMS – IT – TOF- Shimadzu.

5.3. Síntese dos ácidos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóicos

As arilamidoximas foram sintetizadas seguindo o método descrito por Tiemman, a partir das nitrilas aromáticas correspondentes.⁵⁷ O demais reagentes foram obtidos a partir de fontes comerciais.

Procedimento geral para a síntese dos ácidos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóicos

Em um balão de 100 mL adicionou-se 10 mmoles da arilamidoxima correspondente e 15 mmoles (1,5 g) de anidrido succínico. Colocou-se a mistura sob agitação em banho de óleo a 200 °C, até verificar por CCD o consumo completo da arilamidoxima de partida. Neste momento adicionou-se 30 mL de acetato de etila e 30 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio ao balão e esta mistura foi colocada sob agitação em temperatura ambiente durante 12 horas. A fase aquosa foi então separada e acidificada com ácido cítrico. Em seguida foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de recristalização utilizando uma mistura de solventes contendo clorofórmio e hexano.

Ácido 3-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóico (28a): cristais incolores; rendimento: 80 %; R_f: 0,37 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 118-119 °C; PF_{Lit}⁵³: 119-120 °C, rendimento_{Lit}⁵³: 70,2 %

Ácido 3-(3-para-toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóico (28b): cristais incolores; rendimento: 63 %; R_f: 0,26 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 143-145 °C; PF_{Lit}⁵³: 145 °C; rendimento_{Lit}⁵³: 74,8 %

Ácido 3-[3-(4-fluorfenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28c): cristais incolores; rendimento: 69 %; R_f: 0,41 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 143-145 °C; PF_{Lit}⁹: 146-147 °C; rendimento_{Lit}⁹: 78 %.

Ácido 3-[3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28d): cristais incolores; rendimento: 79 %; R_f: 0,28 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 152-153 °C; PF_{Lit}⁵³: 153-154 °C; rendimento_{Lit}⁵³: 72,5 %

Ácido 3-[3-(4-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28e): cristais incolores; rendimento: 61 %; R_f : 0,11 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 145-146 °C; PF_{Lit}^{53} : 157-158 °C; rendimento_{Lit}⁵³: 73,6 %

Ácido 3-[3-(4-iodofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28f): cristais incolores; rendimento: 68 %; R_f : 0,17 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 185-187 °C.

RMN de 1H (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm): 2,92 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 3,11 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 7,79 (d, 2H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,88 (d, 2H, J = 8,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CD₃OD, 100 MHz) δ (ppm): 22,9; 31,0; 98,5; 127,7; 129,9; 139,4; 168,9; 175,0; 181,1.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{máx}/cm^{-1}$: 2974 (C-H_{arom}); 1710 (C=O); 1592 e 1559 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₁H₈IN₂O₃ [M - H]⁺: 342,9580; encontrado: 342,9438.

Ácido 3-[3-(4-metóxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28g): cristais incolores; rendimento: 70 %; R_f : 0,20 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 137-139 °C; PF_{Lit}^{58} : 138-139 °C.

Ácido 3-[3-(4-nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28h): cristais amarelos; rendimento: 76 %; R_f : 0,12 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 134-135 °C; PF_{Lit}^9 : 134-135 °C, rendimento_{Lit}⁹: 84 %

Ácido 3-(3-meta-toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanóico (28i): cristais incolores; rendimento: 74 %; R_f : 0,19 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 100-101 °C; PF_{Lit}^{53} : 101-102 °C; rendimento_{Lit}⁵³: 74,5 %

Ácido 3-[3-(3,4-diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28j): cristais incolores; rendimento: 70 %; R_f : 0,22 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 133-135 °C.

RMN de 1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,65 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,12 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 7,79 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,91 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 8,07 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 22,7; 31,7; 126,8; 126,9; 128,4; 131,6; 132,1; 134,1; 165,7; 173,6; 181,2.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{máx}/cm^{-1}$: 3070 e 2971 (C-H_{arom}); 1713 (C=O); 1591 e 1559 (C=N).

Ácido 3-[3-(3,5-diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28k): cristais incolores; rendimento: 71 %; R_f : 0,33 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 119-120 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 3,02 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH_2); 3,26 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH_2); 7,26 (s, 1H, H_{arom}); 7,48 (s, 1H, H_{arom}); 7,95 (s, 1H, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): 21,7; 30,0; 125,8; 129,4; 131,1; 135,7; 166,5; 176,4; 178,7.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3082 (C- H_{arom}); 1704 (C=O); 1587 e 1565 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 286,9990; encontrado: 286,9669.

Ácido 3-[3-(3-bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28l): cristais incolores; rendimento: 82 %; R_f : 0,28 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 133-134 °C.

RMN de ^1H ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, 400 MHz) δ (ppm): 3,64 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH_2); 4,00 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH_2); 7,54 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 8,0 Hz, H_{arom}); 7,81 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,80 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 8,10 (s, 1H, H_{arom}).

RMN de ^{13}C ($\text{DMSO}_{\text{d}6}$, 100 MHz) δ (ppm): 21,7; 29,8; 122,3; 125,9; 128,4; 129,3; 131,6; 134,3; 166,3; 172,7; 180,1.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2939 (C- H_{arom}); 1710 (C=O); 1595 e 1563 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 318,9694; encontrado: 318,9575.

Ácido 3-[3-(3-metóxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28m): cristais incolores; rendimento: 71 %; R_f : 0,11 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 113-115 °C.

RMN de ^1H (CD_3OD , 400 MHz) δ (ppm): 2,92 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH_2); 3,23 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH_2); 3,91 (s, 3H, CH_3); 7,6,99 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,11 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,50 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,93 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom});

RMN de ^{13}C (CD_3OD , 100 MHz) δ (ppm): 22,8; 31,0; 56,2; 113,0; 116,6; 121,6; 132,1; 133,8; 159,5; 167,8; 175,0; 179,6.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3170 (C- H_{arom}); 1738 (C=O); 1599 e 1574 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 271,0695; encontrado: 271,0584.

Ácido 3-[3-(2-metóxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28n): cristais incolores; rendimento: 48 %; R_f : 0,24 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 128-130 °C.

RMN de ^1H (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm): 2,92 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,23 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,91 (s, 3H, CH₃); 7,07 (dd, 1H, J = 7,6 Hz, 7,6 Hz, H_{arom}); 7,16 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,51 (dd, 1H, J = 7,2 Hz, 8,4 Hz, H_{arom}); 7,93 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom});

RMN de ^{13}C (CD₃OD, 100 MHz) δ (ppm): 22,8; 32,4; 56,2; 113,0; 116,6; 121,7; 132,2; 133,8; 159,6; 167,8; 175,1; 179,6.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3300 (C-H_{arom}); 1743 (C=O); 1599 e 1574 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₁₂N₂O₄Na [M + Na]⁺: 271,0695; encontrado: 271,0589.

Ácido 3-[3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28o): cristais incolores; rendimento: 51 %; R_f: 0,24 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 126-128 °C.

RMN de ^1H (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm): 2,91 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,19 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 6,02 (s, 2H, CH₂); 6,92 (d, 2H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 7,43 (s, 1H, H_{arom}); 7,58 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CD₃OD, 100 MHz) δ (ppm): 22,9; 32,2; 102,5; 109,6; 114,3; 123,3; 149,7; 151,7; 169,1; 175,0; 180,6.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2928 (C-H_{arom}); 1699 (C=O); 1583 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₉N₂O₅ [M - H]⁺: 261,0512; encontrado: 261,0406.

Ácido 3-[3-(naftil-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28p): cristais incolores; rendimento: 65%; R_f: 0,28 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 110-112 °C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,89 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 3,27 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 7,66 (dd, 3H, J = 8,0 Hz, 9,6 Hz, H_{arom}); 8,07 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 8,18 (dd, 2H, J = 7,2 Hz, 8,4 Hz, H_{arom}); 8,77 (d, 1H, J = 8,0 Hz, H_{arom}); 12,43 (s, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 21,6; 29,9; 125,4; 126,5; 127,7; 128,8; 129,1; 129,8; 131,9; 133,5.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3054 (C-H_{arom}); 1706 (C=O); 1584 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₅H₁₂N₂O₃Na [M + Na]⁺: 291,0746; encontrado: 291,0638.

Ácido 3-[3-(tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanóico (28q): cristais incolores; rendimento: 49 %; R_f: 0,26 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 95 °C.

5.4. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanoatos de metila

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 5 mmoles do ácido propanóico (**1a-q**) correspondente em 40 mL de metanol e a esta mistura adicionou-se 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Colocou-se a mistura sob agitação e refluxo até verificar-se por CCD o consumo completo do ácido propanóico de partida. Foram então adicionados cerca de 20 mL de água à solução reacional e evaporou-se o metanol sob pressão reduzida. Neste momento, foram adicionados cerca de 20 mL de solução de bicarbonato de sódio ao meio e foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. O resíduo foi purificado através de recristalização utilizando-se um sistema de solventes contendo clorofórmio e hexano.

3-(3-Fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanoato de metila (29a): cristais incolores; rendimento: 98%; R_f : 0,91 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 45-46 °C; $PF_{Lit}^{50,53}$: 49 °C.

RMN de 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 2,95 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,27 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,73 (s, 3H, CH_3O); 7,45 - 7,52 (m, 3H, H_{arom}) 8,04 - 8,07 (dd, 2H, J = 7,8 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

3-[3-(*para*-Toluil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29b): cristais incolores; rendimento: 91%; R_f : 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 63-65 °C; $PF_{Lit}^{50,53}$ 63-64 °C

RMN de 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 2,37 (s, 3H, CH_3Ph); 2,91 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,22 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,69 (s, 3H, CH_3O); 7,24 (d, 2H, J = 8,1 Hz, H_{arom}); 7,91 (d, 2H, J = 8,1 Hz, H_{arom}).

3-[3-(4-Fluorfenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29c): cristais incolores; rendimento: 60%; R_f : 0,50 (hexano: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 67-68 °C.

RMN de 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2); 3,26 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2); 3,73 (s, 3H, CH_3O); 7,15 (ddd, 2H, J = 8,70 Hz, 5,1 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 8,06 (ddd, 2H, J = 8,7 Hz, 5,1 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 75 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,2; 52,1; 115,8 ($^2J_{C-F}$ = 22,3 Hz); 122,9; 129,5 ($^3J_{C-F}$ = 8,5 Hz); 162,9 ($^1J_{C-F}$ = 250,1 Hz); 167,5; 171,7; 178,4.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3008 e 2954 (C-H_{arom}); 1737 (C=O); 1605 e 1580 (C=N); 1203 (C-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₁₁FN₂O₃Na [M + Na]⁺: 273,2155; encontrado: 274,2669.

3-[3-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29d): cristais incolores; rendimento: 94%; R_f: 0,90 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 88-90 °C; PF_{Lit.}^{50,53} 92 °C.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,73 (s, 3H, CH₃O); 7,44 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H_{arom}); 7,99 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H_{arom}).

3-[3-(4-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29e): cristais incolores; rendimento: 91%; R_f: 0,90 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 98-99 °C; PF_{Lit.}^{50,53} 100 °C.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,73 (s, 3H, CH₃O); 7,61 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 7,93 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

3-[3-(4-Iodofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29f): cristais incolores; rendimento: 73%; R_f: 0,83 (hexano: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 106-107 °C.

RMN de ¹H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 3,25 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂); 3,63 (s, 3H, CH₃); 7,76 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,95 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ¹³C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 21,5; 29,5; 51,6; 98,8; 125,5; 128,6; 138,1; 166,9; 171,7; 179,5.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3002 e 2954 (C-H_{arom}); 1720 (C=O); 1591 e 1561 (C=N); 1200 (C-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₁₁IN₂O₃ [M - H₃O⁺]⁺: 339,1091; encontrado: 339,1853.

3-[3-(4-Metóxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29g): cristais incolores; rendimento: 92%; R_f: 0,85 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 58-59 °C; PF_{Lit.}^{50,53}: 59,5°C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,93 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₂); 3,22 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₂); 3,63 (s, 3H, OCH₃); 3,84 (s, 3H, CH₃OPh); 7,10 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz, 2,4 Hz, H_{arom}); 7,92 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz, 2,4 Hz, H_{arom}).

3-[3-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29h): cristais amarelos; rendimento: 69%; R_f: 0,85 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 79-82 °C;

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,97 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 3,29 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 3,74 (s, 3H, CH₃O); 8,25 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 8,33 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,1; 52,2; 124,1; 128,4; 132,6; 149,4; 166,7; 171,6; 179,2.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2955 e 3005 (C-H_{arom}); 1732 (C=O); 1611 e 1577 (C=N); 1533 (N-O).

Análise Elementar Calculada: C, 51.99; H, 4.00; N, 15.16;

Análise Elementar Encontrada: C, 51,79; H, 4,43; N, 15,58.

3-(3-*m*-Toluil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propanoato de metila (29i): óleo incolor; rendimento: 51%; Lit⁵³: óleo incolor; R_f: 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,40 (s, 3H, CH₃); 2,94 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₂); 3,25 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₂); 3,64 (s, 3H, OCH₃); 7,39-7,47 (m, 2H, H_{arom}); 7,78-7,81 (m, 2H, H_{arom}).

3-[3-(3,4-Diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29j): cristais incolores; rendimento: 77 %; R_f: 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 111-112 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, CH₂); 3,73 (s, 3H, CH₃O); 7,54 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}); 7,89 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}); 8,16 (s, 1H, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,2; 52,1; 126,4; 126,7; 129,3; 130,9; 133,3; 135,4; 166,7; 171,6; 178,8.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3082 e 2958 (C-H_{arom}); 1731 (C=O); 1591 (C=N).

3-[3-(3,5-Diclorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29k): cristais incolores; rendimento: 86 %; R_f: 0,96 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 67 - 69 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,2Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,73 (s, 3H, COOCH₃); 7,47 (s, 1H, H_{arom}); 7,95 (d, 2H, J = 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 100 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,1; 52,1; 125,8; 129,5; 131,0; 135,6; 166,5; 171,6; 179,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3067 e 2957 (C-H_{arom}); 1734 (C=O); 1590 (C=N); 1438 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₁₀Cl₂N₂O₃K [M + K]⁺: 338,9706; encontrado: 339,1900.

3-[3-(3-Bromofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29i): Óleo amarelo; rendimento: 75 %; R_f: 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,0 Hz, CH₂); 3,26 (t, 2H, J = 7,0 Hz, CH₂); 3,63 (s, 3H, OCH₃); 7,55 (dd, 1H, J = 8,0Hz, 8,0 Hz, H_{arom}); 7,82 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 8,00 (dd, 1H, J = 8,0 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 8,10 (dd, 1H, J = 2,0, 1,6 Hz).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 21,5; 29,5; 51,6; 122,2; 125,9; 128,2; 129,2; 131,5; 134,2; 166,2; 171,7; 179,7.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2999 e 2952 (C-H_{arom}); 1740 (C=O); 1590 e 1564 (C=N).

Análise Elementar Calculada: C, 46,32; H, 3,56; N, 9,00

Análise Elementar Encontrada: C, 46,30; H, 4,03; N, 8,95.

3-[3-(3-Metóxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29m): cristais incolores; rendimento: 59 %; R_f: 0,74 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 39 - 41 °C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,92 (t, 2H, J = 7,0 Hz, CH₂); 3,23 (t, 2H, J = 7,0 Hz, CH₂); 3,63 (s, 3H, OCH₃); 3,86 (s, 3H, CH₃OPh); 7,10 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 7,22 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,55 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 7,80 (dd, 1H, J = 2,0 Hz, 1,6 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 21,3; 29,6; 51,6; 55,7; 112,3; 115,1; 120,4; 130,6; 132,5; 157,6; 165,8; 171,7 177,7.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3015 e 2955 (C-H_{arom}); 1734 (C=O); 1603 e 1576 (C=N).

3-[3-(2-Metoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29n): cristais incolores; rendimento: 94 %; R_f : 0,85 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 43-45 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2,94 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,27 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,72 (s, 3H, COOCH_3); 3,96 (s, 3H, PhOCH_3); 7,06 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 7,46 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 7,97 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,4; 52,0; 55,9; 111,6; 115,7; 120,6; 131,3; 132,3; 158,1; 166,8; 171,7; 177,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3015 e 2954 (C-H_{arom}); 1734 (C=O); 1604 e 1577 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 263,1032; encontrado: 263,0951

3-[3-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29o): cristais incolores; rendimento: 60 %; R_f : 0,89 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 83-84 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 2,92 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH_2); 3,23 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH_2); 3,73 (s, 3H, CH_3O); 6,03 (s, 2H, CH_2); 6,88 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,50 (s, 1H, H_{arom}); 7,61 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,3; 52,1; 101,5; 107,4; 108,6; 120,6; 122,3; 148,1; 150,1; 167,9; 171,7; 178,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2959 e 2915 (C-H_{arom}); 1730 (C=O); 1586 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M} - \text{H}]^+$: 275,0668; encontrado: 274,2672.

3-[3-(α -Naftalen-1-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29p): cristais incolores; rendimento: 81 %; R_f : 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 84-85 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm): 3,00 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH_2); 3,34 (t, 2H, J = 7,4 Hz, CH_2); 3,75 (s, 3H, CH_3O); 7,55 – 7,65 (m, 3H, H_{arom}); 7,92 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 8,00 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 8,24 (d, 1H, J = 7,2 Hz, H_{arom}); 8,90 (d, 1H, J = 8,8 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,3; 52,1; 123,7; 125,0; 126,2; 126,3; 127,5; 128,6; 129,3; 130,6; 131,8; 133,8; 168,7; 171,7; 177,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2952 e 2936 (C-H_{arom}); 1736 (C=O); 1587 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 283,1083; encontrado: 283,1009

Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-(tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanoato de metila

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 2 mmoles (448 mg) do ácido 3-(3-(tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propanóico em 30 mL de metanol, esta mistura foi colocada em banho de gelo, em seguida foram adicionados 10 mmoles (1,18 g) de cloreto de tionila. Colocou-se a mistura sob agitação e refluxo durante 2h. Evaporou-se o solvente em evaporador rotativo e adicionou-se ao meio reacional 20 mL de solução saturada bicarbonato de sódio e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. O resíduo foi purificado através de cromatografia em coluna usando sílica-gel como fase estacionária e o sistema hexano: acetato de etila como eluente.

3-[3-(Tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il] propanoato de metila (29q): cristais incolores; rendimento: 54 %; R_f : 0,91 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 66-68 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2,93 (t, 2H, J = 7,5Hz, CH_2); 3,24 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH_2); 3,72 (s, 3H, CH_3O); 7,14 (dd, 1H, J = 5,1 Hz, 5,1 Hz; H_{tiof}); 7,47 (dd, 1H, J = 5,1 Hz, 1,5 Hz, H_{tiof}); (dd, 1H, J = 4,8 Hz, 1,5 Hz, H_{tiof}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 22,0; 30,2; 52,1; 127,9; 128,3; 129,2; 129,5; 164,4; 171,6; 178,2.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2950 (C-H_{arom}); 1728 (C=O); 1583 (C=N); 1167 (C=O).

Análise Elementar Calculada: C, 50,41; H, 4,23; N, 11,76, S, 13,46

Análise Elementar Encontrada: C, 51,21; H, 4,19; N, 11,68, S, 13,02.

5.5. Procedimento geral para a síntese do 3-(3-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-1-ol

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 1 mmol (266 mg) do éster correspondente em 40 mL de metanol, esta mistura foi colocada em banho de gelo, em seguida foram adicionados 5 mmoles (190 mg) de borohidreto de sódio. Colocou-se a mistura sob agitação a temperatura ambiente até verificar-se por CCD o consumo completo do propanoato de metila de partida. Adicionou-se ao meio 20 mL de solução saturada de cloreto de amônio e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em

evaporador rotativo. O resíduo foi purificado através de cromatografia em coluna usando sílica-gel como fase estacionária e o sistema hexano: acetato de etila como eluente.

3-(3-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-1-ol (30): Óleo amarelo; rendimento: 71 %; R_f : 0,92 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v).

RMN de ^1H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm): 1,96 (q, 2H, J = 7,6 Hz, 6,0 Hz, CH_2); 3,05 (t, 2H, J = 7,6 Hz, CH_2); 3,54 (t, 2H, J = 6,0 Hz, CH_2); 4,67 (s, 1H, OH); 7,63 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}); 8,01 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO, 100 MHz) δ (ppm): 22,7; 29,1; 59,4; 125,2; 128,7; 129,3; 136,1; 166,6; 180,7.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3385 (O-H); 2936 e 2881 (C-H_{arom}); 1730 (C=O); 1589 e 1565 (C=N); 1409 (N-O).

5.6. Procedimento geral para a síntese 4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 3 mmoles (408 mg) da arilamodoxima correspondente em 15 mL de tolueno, adicionou-se 7,5 mmoles (975 mg) do 4-oxopentanoato de metila e 3,6 mmoles (496,8 mg) de carbonato de potássio ao balão. Colocou-se a mistura sob agitação e refluxo com Dean-Stark até verificar-se por CCD o consumo completo da arilamodoxima de partida. Adicionou-se brine e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL), secou-se com sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente em evaporador rotativo. O resíduo foi purificado através de cromatografia em coluna usando sílica-gel como fase estacionária e o sistema hexano: acetato de etila como eluente.⁵⁹

4-(3-Fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona (33): óleo amarelo; rendimento: 81 %; Lit⁵⁹: óleo amarelo; rendimento: 93 %; R_f : 0,70 (dicloro metano: acetato de etila, 9:1, v/v)

RMN de ^1H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm): 2,18 (s, 3H, CH_3); 3,09 (t, 2H, 6,4 Hz, CH_2); 3,14 (t, 2H, J = 6,4 Hz, CH_2); 7,59-7,54 (m, 3H, H_{arom}); 8,00-7,98 (m, 2H, H_{arom}).

5.7. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propan-1-óis

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 50 mL dissolveu-se 4 mmoles da oxima apropriada e 4,8 mmoles (638,4 mg) de *N*-clorossuccinimida (NCS) em 20 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF) e deixou-se a mistura sob agitação em

temperatura ambiente durante uma hora. Após verificar por CCD o consumo completo da oxima, adicionou-se água e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se o cloreto de imidoíla correspondente. O produto desta reação foi usado sem purificação adicional na próxima etapa. Em um balão de fundo redondo com capacidade para 25 mL contendo o cloreto de imidoíla (4 mmoles), adicionou-se 4,8 mmoles (403,2 mg) de 4-pentin-1-ol e dissolveu-se a mistura em 5 mL de *terc*-butanol. Em outro balão, dissolveu-se 0,2 mmoles (40 mg) de Cu(OAc)₂ e 0,6 mmoles (118,8 mg) de ascorbato de sódio em 5 mL de água e agitou-se a mistura até coloração laranja. Em seguida, o conteúdo do balão contendo o sistema catalítico foi adicionado ao balão contendo o cloreto de imidoíla e o alcino. Adicionou-se então 18 mmoles (1,8 g) de bicarbonato de potássio, aos poucos, deixando-se a mistura sob agitação em temperatura ambiente até verificar-se por CCD o consumo completo do cloreto de imidoíla (cerca de 24 horas). Neste momento, foram adicionados 20 mL de água ao meio reacional e foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de cromatografia em coluna usando sílica-gel como fase estacionária e o sistema hexano: acetato de etila como eluente.

3-(3-Fenil-isoxazol-5-il)propan-1-ol (38a): cristais incolores; rendimento: 54 %; R_f : 0,40 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 49-51 °C.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1,80 (s, 1H, OH); 2,01 (q, 2H, J = 7,5 Hz, 6,3 Hz, CH₂); 2,93 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂); 3,75 (t, 2H, J = 6,3 Hz, CH₂OH); 6,33 (s, 1H, H_{isox}), 7,42-7,46 (m, 3H, H_{arom}); 7,78 (dd, 2H, J = 9,0 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 23,2; 30,3; 61,5; 99,2; 126,7; 128,8; 129,1; 129,9; 162,4; 173,4.

I.V. (pastilha de KBr) ν máx/cm⁻¹: 3259 (O-H); 3124 (C-H_{arom}); 1610 (C=N); 1471 (N-O).

Análise Elementar Calculada: C, 70,92; H, 6,45; N, 6,89

Análise Elementar Encontrada: C, 71,19; H, 6,89; N, 6,99

3-[3-(4-Clorofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38b): cristais incolores; rendimento: 19 %; R_f : 0,74 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 71-72 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ: 1,99 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, 6,3 Hz, CH₂), 2,08 (s, 1H, OH); 2,91 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH₂), 3,73 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, CH₂OH), 6,29 (s, 1H, H_{isox}); 7,40 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}), 7,70 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 23,1; 30,2; 61,3; 99,0; 127,6; 127,9; 128,8; 129,1; 135,8; 161,4; 173,8

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3260 (O-H); 2939 2873(C-H_{arom}); 1658 (C=N); 1430 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₁₃ClNO₂ [M + H]⁺: 238,0635; encontrado: 238,0757.

3-[3-(4-Fluorfenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38c): cristais incolores; rendimento: 33 %; R_f: 0,40 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 74-75 °C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 1,81 (q, 2H, $J = 7,6$ Hz, 6,0 Hz, CH₂); 2,81 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, CH₂); 3,35 (s, 1H, OH); 3,47 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz, CH₂OH); 6,77 (s, 1H, H_{isox}), 7,30 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz, 6,8 Hz, H_{arom}); 7,87 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz, 6,8 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ: 22,8; 30,3; 59,6; 99,2; 115,9 ($^2J_{\text{C-F}} = 21,6$ Hz); 125,4 ($^4J_{\text{C-F}} = 3,0$ Hz); 128,7 ($^3J_{\text{C-F}} = 8,9$ Hz); 160,9; 161,8 ($^1J_{\text{C-F}} = 245,6$ Hz); 174,2.

I.V. (Janela de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3252 (O-H); 2932 e 2870 (C-H_{arom}); 1613 e 1594 (C=N); 1434 (N-O); 1243 (C-F)

Análise Elementar Calculada: C, 65,15; H, 5,47; N, 6,33

Análise Elementar Encontrada: C, 65,35; H, 5,82; N, 6,39

3-[3-(4-Bromofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38d): cristais incolores; rendimento: 19 %; R_f: 0,74 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 71-72 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1,68 (s, 1H, OH); 2,00 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, 6,3 Hz, CH₂); 2,93 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH₂); 3,74 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, CH₂OH); 6,30 (s, 1H, H_{isox}); 7,57 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 7,65 (dd, 2H, $J = 8,7$ Hz, 2,1 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 23,2; 30,2; 61,5; 99,0; 124,1; 128,2; 132,1; 153,5; 161,5; 173,8; 176,0.

I.V. (Pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3252 (O-H); 2931 (C-H_{arom}); 1613 (C=N); 1434 (N-O).

Análise Elementar Calculada: C, 51,09; H, 4,29; N, 4,96

Análise Elementar Encontrada: C, 51,62; H, 4,37; N, 4,97

3-[3-(4-Metóxifenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38e): cristais incolores; rendimento: 19 %; R_f: 0,60 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 60-62 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ: 1,94-2,03 (m, 2H, CH₂), 2,89 (t, 2H, J =7,5 Hz, CH₂), 3,72 (t, 2H, J = 6,3 Hz, CH₂OH), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 3,93 (s, 1H, OH), 6,94 (dd, 2H, J = 9,0 Hz, 2,1 Hz, H_{arom}); 7,70 (dd, 2H, J = 9,0 Hz, 2,1 Hz, H_{arom});

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 23,1; 30,3; 55,3; 61,4; 98,9; 112,0; 114,2; 121,6; 126,2; 128,0; 128,5; 160,8; 162,0; 173,2;

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3257 (O-H); 3123 (C-H_{arom}); 1610 (C=N); 1431 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₃H₁₅NO₃Na [M + Na]⁺: 256,2529; encontrado: 256,1184.

3-[3-(4-Nitrofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38f): cristais amarelos; rendimento: 44 %; R_f: 0,63 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 80-82 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 400 MHz) δ (ppm): 1,67 (s, 1H, OH); 2,03 (q, 2H, J = 7,6 Hz, 6,4 Hz, CH₂); 2,97 (t, 2H, J = 7,6 Hz, CH₂); 3,76 (t, 2H, J = 6,4 Hz, CH₂OH); 6,41 (s, 1H, H_{isox}), 7,96 (dd, 2H, J = 8,8 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 8,30 (dd, 2H, J = 8,8 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 100 MHz) δ: 23,2; 30,2; 61,4; 99,3; 124,1; 127,6; 135,4; 148,6; 160,6; 174,6.

I.V. (Pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3462 (O-H); 3358 (C-H_{arom}); 1662 (C=N); 1516 (N-O).

3-[3-(*para*-Toluil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38g): cristais incolores; rendimento: 52 %; R_f: 0,78 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v); PF: 48-50 °C.

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 1,59 (sl, 1H, OH); 2,01 (q, 2H, J = 7,5 Hz, 6,0 Hz; CH₂); 2,39 (s, 3H, CH₃Ph); 2,92 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂); 3,75 (t, 2H, J = 6,0 Hz, CH₂OH); 6,30 (s, 1H, H_{isox}), 7,25 (dd, 2H, J = 8,1Hz, 0,6 Hz, H_{arom}); 7,68 (dd, 2H, J = 8,1Hz, 0,6 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO, 100 MHz) δ: 21,3; 23,2; 30,3; 61,5; 99,0; 126,3; 126,6; 129,5; 139,9; 162,3; 173,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3264 (O-H); 2931 e 2872 (C-H_{arom}); 1608 (C=N); 1433 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₃H₁₅NO₂Na [M + Na]⁺: 240,1000; encontrado: 240,0951.

3-[3-(*meta*-Toluil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38h): Óleo amarelo; rendimento: 57 %; R_f: 0,73 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ: 1,95-2,04 (m, 3H, CH₂, OH); 2,39 (s, 3H, CH₃); 2,91 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂); 3,73 (t, 2H, J = 6,3 Hz, CH₂); 6,30 (s, 1H, H_{isox}); 7,22-7,35 (m, 2H, H_{arom}); 7,54-7,61 (m, 2H, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 21,3; 23,1; 30,2; 61,4; 99,2; 123,8; 127,3; 128,7; 129,0; 130,6; 138,5; 162,5; 173,4.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3285 (O-H); 2940 e 2872 (C-H_{arom}); 1604 (C=N); 1420 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₃H₁₅NO₂K [M + K]⁺: 256,3620; encontrado: 256,0904.

3-[3-(*orto*-Toluil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol (38i): Óleo amarelo; rendimento: 22 %; R_f: 0,48 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ: 1,98 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, 6,3 Hz; CH₂); 2,22 (s, 1H, OH); 2,43 (s, 3H, CH₃Ph); 2,89 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH₂); 3,71 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, CH₂OH); 6,16 (s, 1H, H_{isox}), 7,20-7,30 (m, 3H, H_{arom}); 7,45 (dl, 1H, $J = 7,2$ Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ: 21,0; 23,1; 30,2; 61,4; 101,8; 125,9; 128,9; 129,3; 130,9; 136,7; 163,0; 172,5.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3383 (O-H); 2951 e 2876 (C-H_{arom}); 1597 (C=N); 1403 (N-O).

EMAR[IES] calculado para C₁₃H₁₅NO₂Na [M + Na]⁺: 240,1000; encontrado: 240,0927.

3-[3-(3,4-Diclorofenil)isoxazol-5-il]propan-1-ol (38j): Óleo incolor; rendimento: 27 %; R_f: 0,70 (hexano: acetato de etila, 1:1 v/v).

RMN de ^1H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) : 1,86 (s, 1H, OH); 2,01 (q, 2H, $J = 7,5$ Hz, 6,3 Hz, CH₂); 2,93 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, CH₂); 3,74 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, CH₂OH); 6,30 (s, 1H, H_{isox}); 7,51 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}); 7,61 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom}); 7,86 (s, 1H, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm): 23,2; 30,2; 61,4; 99,0; 125,8; 128,5; 129,1; 130,9; 133,1; 133,9; 160,5; 174,2.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3382 (O-H); 2938 (C-H_{arom}); 1604 (C=N); 1421 (N-O).

Análise Elementar Calculada: C, 52,96; H, 4,07; N, 5,15.

Análise Elementar Encontrada: C, 52,48; H, 4,43; N, 5,19.

Procedimento geral para a síntese do sal de sódio do ácido pentinóico

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 50 mL dissolveu-se o 7 mmoles (280 mg) de hidróxido de sódio em 25 mL de metanol e a esta mistura adicinou-se 7 mmoles (686 mg) do ácido pentinóico. Deixou-se a mistura em agitação a temperatura ambiente durante 30 minutos. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O sal de sódio obtido foi armazenado em dessecador.

5.8. Procedimento geral para a síntese dos ácidos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóicos

Em um balão de fundo redondo com capacidade para 50 mL dissolveu-se 4 mmoles da oxima apropriada e 4,8 mmoles (638,4 mg) de *N*-clorossuccinimida (NCS) em 20 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF) e deixou-se a mistura sob agitação em temperatura ambiente durante uma hora. Após verificar por CCD o consumo completo da oxima, adicionou-se água e extraiu-se com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se o cloreto de imidoíla correspondente. O produto desta reação foi usado sem purificação adicional na próxima etapa. Ao balão de fundo redondo com capacidade para 25 mL contendo o cloreto de imidoíla (4 mmoles), adicionou-se 4,8 mmoles (576 mg) de 4-pentinoato de sódio e dissolveu-se a mistura em 5 mL de *terc*-butanol. Em outro balão, dissolveu-se 0,2 mmoles (40 mg) de Cu(OAc)₂ e 0,6 mmoles (118,8 mg) de ascorbato de sódio em 5 mL de água e agitou-se a mistura até coloração laranja. Em seguida, o conteúdo do balão contendo o sistema catalítico foi adicionado ao balão contendo o cloreto de imidoíla e o alcino. Adicionou-se então 18 mmoles (1,8 g) de bicarbonato de potássio, aos poucos, deixando-se a mistura sob agitação em temperatura ambiente até verificar-se por CCD o consumo completo do cloreto de imidoíla (cerca de 24 horas). Neste momento, foram adicionados 20 mL de água ao meio reacional e foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e colocadas em um balão de 125 mL e adicionado 40 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio e a esta mistura foi colocada sob agitação a temperatura ambiente durante a noite, a fase aquosa foi separada e acidificada com ácido cítrico, em seguida foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado através de recristalização utilizando uma mistura de solventes contendo etanol e água.

Ácido 3-(3-fenil-isoxazol-5-il)propanóico (40a): cristais incolores; rendimento: 63 %; R_f: 0,32 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 148-150 °C.

RMN de ¹H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,70 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 3,02 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 6,82 (s, 1H, H_{isox}); 7,46-7,53 (m, 3H, H_{arom}); 7,82-7,84 (m, 2H, H_{arom}).

RMN de ¹³C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ(ppm): 21,8; 31,1; 99,3; 126,5; 128,7; 129,0; 130,0; 161,8; 172,9; 173,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3116 (C-H_{arom}); 3048-2934 (O-H); 1695 (C=O); 1601 e 1578 (C=N); 1441 (N-O).

Análise Elementar Calculada: C, 66,35; H, 5,10; N, 6,45.

Análise Elementar Encontrada: C, 66,12; H, 5,60; N, 6,63

Ácido 3-[3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il]propanóico (40b): cristais incolores; rendimento: 50 %; R_f : 0,30 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 189-190 °C.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,70 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,02 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 6,85 (s, 1H, H_{isox}); 7,57 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 7,87 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 12,40 (sl, 1H, OH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ(ppm): 22,8; 32,1; 100,5; 128,6; 129,3; 130,2; 135,8; 161,9; 174,0; 174,4.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3120 (C-H_{arom}); 2935 (O-H); 1706 (C=O), 1602 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₉ClNO₃ [M - H]⁺: 250,0270; encontrado: 250,0192.

Ácido 3-[3-(4-fluorfenil)isoxazol-5-il]propanóico (40c): cristais incolores; rendimento: 77 %; R_f : 0,37 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 165-168 °C.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm): 2,70 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,01 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,34 (s, 1H, OH); 6,84 (s, 1H, H_{isox}); 7,35 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}); 7,89 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ(ppm): 22,5; 31,8; 100,1; 116,7; 117,0; 126,0; 129,6; 161,6; 165,4; 173,8.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3115 (C-H_{arom}); 2936 (O-H); 1696 (C=O); 1607 1527 (C=N).

EMAR[IES] calculado para C₁₂H₉FNO₃ [M - H]⁺: 234,0567; encontrado: 234,0501.

Ácido 3-[3-(4-bromofenil)isoxazol-5-il]propanóico (40d): cristais incolores; rendimento: 45 %; R_f : 0,17 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 152-153 °C.

RMN de ¹H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm): 2,70 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,02 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 6,84 (s, 1H, H_{isox}); 7,69 (dd, 2H, J = 8,8 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}); 7,81 (dd, 2H, J = 8,8 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ¹³C (DMSO, 100 MHz) δ(ppm): 21,7; 31,1; 99,3; 123,4; 127,9; 128,5; 132,1; 160,9; 166,9; 173,3.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3119(C-H_{arom}); 1706 (C=O); 1600 (C=N).

Ácido 3-[3-(4-metóxifenil)isoxazol-5-il]propanóico (40e): cristais incolores; rendimento: 43 %; R_f : 0,14 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 159-161 °C.

RMN de ^1H (DMSO, 400 MHz) δ (ppm): 2,69 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH_2); 3,00 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH_2); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 6,73 (s, 1H, H_{isox}); 7,04 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,76 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO, 100 MHz) δ (ppm): 21,8; 31,1; 55,2; 56,3; 99,1; 113,2; 114,4; 121,1; 126,6; 127,7; 127,9; 160,6; 161,4; 172,6; 173,0.

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 2936 e 2839 (C-H_{arom}); 1696 (C=O); 1612 (C=N); 1435 (N-O).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 248,0923 encontrado: 248,0860.

Ácido 3-[3-(4-nitrofenil)isoxazol-5-il]propanóico (40f): Óleo amarelo; rendimento: 46 %; R_f : 0,38 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2,97 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH_2); 3,76 (t, 2H, J = 6,3 Hz, CH_2); 6,41 (s, 1H, H_{isox}); 7,96 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}); 8,30 (dd, 2H, J = 8,7 Hz, 1,8 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 23,2; 30,2; 61,4; 99,3; 124,1; 127,5; 135,3; 148,5; 160,6; 174,6;

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3133 (C-H_{arom}); 2874 (O-H); 1706 (C=O), 1602 (C=N).

Ácido 3-[3-(*para*-toluil)isoxazol-5-il]propanóico (40g): cristais incolores; rendimento: 48 %; R_f : 0,36 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 168-169 °C.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) δ (ppm): 2,39 (s, 3H, CH_3); 2,84 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 3,14 (t, 2H, J = 7,3 Hz, CH_2); 6,33 (s, 1H, H_{isox}); 7,25 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}); 7,67 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) δ (ppm): 21,4; 21,9; 31,3; 45,7; 99,5; 126,1; 126,6; 129,6; 162,4; 176,0

I.V. (pastilha de KBr) $\nu_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$: 3122 (C-H_{arom}); 2944 (O-H); 1696 (C=O). 1602 e 1571 (C=N).

EMAR[IES] calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{NO}_3$ $[\text{M} - \text{H}]^+$: 230,0817; encontrado: 230,0768.

Ácido 3-[3-(*meta*-toluil)isoxazol-5-il]propanóico (40h): cristais amarelos; rendimento: 52 %; R_f : 0,19 (clorofórmio: metanol, 9:1 v/v); PF: 148-150 °C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,71 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,02 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,33 (s, 3H, CH₃); 6,81 (s, 1H, H_{isox}); 7,50 (d, 2H, J = 5,2 Hz, H_{arom}); 7,83 (dd, 2H, J = 5,2 Hz, 2,4 Hz, H_{arom}); 12,36 (sl, 1H, OH).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ (ppm): 21,8; 31,1; 99,3; 126,4; 128,7; 129,0; 130,0; 161,8; 172,9; 173,0.

5.9. Procedimento geral para a síntese dos 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanoatos de metila

Em um balão de 50 mL dissolveu-se 5 mmoles do ácido 3-(3-aryl-isoxazol-5-il)propanóico correspondente em 40 mL de metanol e a esta mistura adicionou-se 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Colocou-se a mistura sob agitação e refluxo até verificar-se por CCD o consumo completo do ácido propanóico de partida. Foram então adicionados cerca de 20 mL de água ao meio reacional e evaporou-se o metanol sob pressão reduzida. Neste momento, foram adicionados cerca de 20 mL de solução de bicarbonato de sódio ao meio reacional e foi realizada extração com acetato de etila (2 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secas com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado em evaporador rotativo. O resíduo foi purificado através de recristalização utilizando-se um sistema de solventes contendo metanol e água.

3-(3-Fenil-isoxazol-5-il)propanoato de metila (41a): cristais incolores; rendimento: 59 %; R_f: 0,85 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 94-95 °C.

RMN de ^1H (DMSO_{d6}, 400 MHz) δ (ppm): 2,80 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,07 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,63 (s, 3H, CH₃); 6,82 (s, 1H, H_{isox}), 7,49-7,51 (m, 3H, H_{arom}); 7,83 (dd, 2H, J = 8,0 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (DMSO_{d6}, 100 MHz) δ : 21,6; 30,8; 51,5; 99,4; 126,4; 128,7; 129,0; 130,0; 161,8; 171,9; 172,6.

I.V. (pastilha de KBr) ν máx/cm⁻¹: 3119 (C-H_{arom}); 1733 (C=O); 1600 (C=N); 1444 (N-O).

3-(3-(4-Clorofenil)-isoxazol-5-il)propanoato de metila (41b): cristais incolores; rendimento: 79 %; R_f: 0,94 (clorofórmio: acetato de etila, 7:3 v/v); PF: 103-104 °C.

RMN de ^1H (CD₃OD, 400 MHz) δ (ppm): 2,77 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,12 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH₂); 3,66 (s, 3H, CH₃); 6,58 (s, 1H, H_{isox}), 7,45 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}); 7,76 (dd, 2H, J = 8,4 Hz, 2,0 Hz, H_{arom}).

RMN de ^{13}C (CD₃OD, 100 MHz) δ : 23,0; 32,3; 52,3; 100,4; 129,1; 129,3; 130,2; 137,1; 162,9; 173,9; 174,4.

I.V. (pastilha de KBr) ν máx/cm⁻¹: 3117 (C-H_{arom}); 1732 (C=O); 1605 (C=N); 1439 (N-O).

Análise elementar calculada: C, 58,77; H, 4,55; N, 5,27

Análise elementar encontrada: C, 59,06; H, 4,65; N, 5,16

5.10. Procedimento experimental para os bioensaios larvicidas

Anteriormente ao teste propriamente dito, foi realizado um teste de solubilidade com cada droga a ser testada com a finalidade de determinar qual o co-solvente era o mais adequado: etanol, DMSO ou soluções contendo o tensoativo Tween 80. Preparou-se então 50 mL de solução-estoque de concentração 100 ppm para cada droga, utilizando-se 0,7 mL de etanol ou DMSO ou 3 gotas de Tween 80 como co-solvente e completando-se o volume até 50 mL com água destilada. Realizou-se os bioensaios preliminares nas concentrações 10 ppm, 50 ppm e 100 ppm, com a finalidade de determinar a faixa de concentração que cada droga atua. Vinte larvas do mosquito *A. aegypti* no estágio de crescimento L₄ foram colocadas em bêqueres contendo 20 mL de solução a 10 ppm, 50 ppm e 100 ppm cada e solução controle contendo apenas o co-solvente diluído em água destilada. Após 24 horas e 48 horas contou-se o número de larvas mortas. De acordo com a faixa de concentração obtida nos bioensaios preliminares, foram realizados bioensaios subseqüentes seguindo a mesma metodologia. Os bioensaios foram realizados em triplicata e a concentração letal para 50 % das larvas (CL₅₀) foi calculada utilizando o software Probit com o programa estatístico Statplus 2008 a um nível de confiança de 95%.

5.11. Procedimento experimental para quantificação da 3-hidróxi-quinurenina e do ácido xanturênico

Preparou-se três soluções, a primeira contendo o composto **29d** na concentração de 10 ppm, a segunda contendo o composto **29h** na concentração de 100 ppm e a solução controle contendo apenas etanol e água destilada. As soluções foram colocadas em bêqueres separados e a cada bêquer foram adicionadas 20 larvas do mosquito *A. aegypti*. Após 24 horas, filtraram-se as soluções-teste e as larvas coletadas foram liofilizadas e pulverizadas usando gral e pistilo. Cerca de cinco miligramas do pó das larvas pulverizadas foram adicionadas a 1 mL de ácido fórmico 0,4 M. Esta mistura foi

sonicada em lavadora ultrassônica durante 2 minutos e armazenada no freezer a 0 °C. As larvas foram então centrifugadas a 3500 rpm, durante 20 minutos, e o sobrenadante foi analizado em CLAE em coluna ODS 25 cm, utilizando como fase móvel um sistema metanol: água (1:1, v/v) adicionado de 1 % de ácido acético, com fluxo de 0,2 mL/min.⁶⁰ Os padrões foram analisados nas mesmas condições de rampa. Os extratos larvais das drogas e do controle foram injetados com (co-injeção) e sem os padrões de 3-HK e AX, para que se determinasse qual pico correspondia a qual metabólito nos cromatogramas obtidos. As análises cromatográficas foram realizadas em triplicata.

REFERÊNCIAS

- (1) Vezzani, D.; Carbajo, A. E. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2008**, *103*, 66-74.
- (2) Omena, M. C. D.; Navarro, D. M. A. F.; Paula, J. E. D.; Luna, J. S.; Lima, M. R. F. D.; Ana, A. E. G. S. *Biores. Technol.* **2007**, *98*, 2549-2556.
- (3) Ministério da Saúde Combate a Dengue.
<http://www.combateadengue.com.br/mosquito-da-dengue> 07-04-11.
- (4) Ministério da Saúde Dengue. <http://www.dengue.org.br/dengue.html> 07-04-11.
- (5) Ministério da Saúde In *Guia de Vigilância Epidemiológica*; 2002; Vol. I, pp. 203-303.
- (6) Câmara, F. P.; Lúcia, R.; Theophilo, G.; Teixeira, G.; Regina, S.; Gonçalves, F.; Câmara, D. C. P.; Matos, R. C. D. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2007**, *40*, 192-196.
- (7) Ministério da Saúde Cartilha da Dengue.
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/flash/cartilha_dengue.html 12-04-11.
- (8) República Federativa do Brasil Portal Brasil.
<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2010/11/11/saude-divulga-novo-mapa-de-infestacao-pelo-mosquito-da-dengue> 12-04-11.
- (9) Neves Filho, R. A. W.; Silva, C. A.; Silva, C. S. B.; Brustein, V. P.; Navarro, D. M. A. F.; Santos, F. A. B.; Alves, L. C.; Cavalcanti, M. G. S.; Srivastava, R. M.; Carneiro-da-Cunha, M. G. *Chem. Pharm. Bull* **2009**, *57*, 819-825.
- (10) Webster, D. P.; Farrar, J.; Rowland-Jones, S. *Lancet Infect. Dis.* **2009**, *9*, 678-687.
- (11) Whitehead, S. S.; Blaney, J. E.; Durbin, A. P.; Murphy, B. R. *Nature* **2007**, *5*, 518-528.
- (12) Barrett, A. D. T.; Hombach, J. Oportunities in the development of dengue vaccines. *Geneva: World Health Organization* **2006**, 61-65.

(13) Zaim, M.; Guillet, P. *Trends Parasitol.* **2002**, *18*, 2001-2003.

(14) Braga, I. aparecida; Valle, D. *Epidemiol. Serv. Saúde* **2007**, *16*, 279-293.

(15) Macoris, M. de L. da G. Tese de Doutorado em Biologia, Universidade Federal Paulista, 2011.

(16) Brogdon, W.; McAllister, J. *Emerg. Infect. Dis.* **1998**, *4*, 605-613.

(17) Niere, M.; Meisslitzer, C.; Dettloff, M.; Weise, C.; Ziegler, M.; Wiesner, A. *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1433*, 16-26.

(18) Kumar, S.; Christophides, G. K.; Cantera, R.; Charles, B.; Han, Y. S.; Meister, S.; Dimopoulos, G.; Kafatos, F. C.; Barillas-mury, C. *PNAS* **2003**, *100*.

(19) Vass, E.; Nappi, A. J. *BioScience* **2001**, *51*, 529-536.

(20) Rivero, A. *Trends Parasitol.* **2006**, *22*, 219-225.

(21) Okuda, S.; Nishiyama, N.; Saito, H.; Katsuki, H. *J. Neurochem.* **1998**, *70*, 299-307.

(22) Cerstiaens, A.; Huybrechts, J.; Kotanen, S.; Lebeau, I.; Meylaers, K.; Loof, A. D.; Schoofs, L. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *312*, 1171-1177.

(23) Stone, T. W.; Darlington, L. G. *Nature Rev.* **2002**, *1*, 609-620.

(24) Stone, T. W. *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 149-154.

(25) Stone, T. W. *Toxicon* **2001**, *39*, 61-73.

(26) Li, J.; Li, G. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* **1997**, *27*, 859-867.

(27) Han, Q.; Beerntsen, B. T.; Li, J. J. *Insect Physiol.* **2007**, *53*, 254-263.

(28) Lima, S.; Khristoforov, R.; Momany, C.; Phillips, R. S. *Biochem.* **2007**, *46*, 2735-2744.

(29) Han, Q.; Robinson, H.; Gao, Y. G.; Vogelaar, N.; Wilson, S. R.; Rizzi, M.; Li, J. *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 37175-37182.

(30) Han, Q.; Kim, S. R.; Ding, H.; Li, J. *Biochem. J.* **2006**, 397, 473-481.

(31) Han, Q.; Li, J. *FEBS Lett.* **2002**, 527, 199-204.

(32) Rossi, F.; Lombardo, F.; Paglino, A.; Cassani, C.; Miglio, G.; Arca, B. *FEBS Journal* **2005**, 272, 5653-5662.

(33) Rossi, F.; Garavaglia, S.; Giovenzana, G. B.; Arca, B.; Li, J.; Rizzi, M.; Arca, B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 5711-5716.

(34) Sapko, M. T.; Guidetti, P.; Yu, P.; Tagle, D. A.; Pellicciari, R.; Schwarcz, R. *Exp. Neurol.* **2006**, 197, 31 - 40.

(35) Horvrlth, V. A. P.; Wanders, R. J. A. *Clin. Chim. Acta* **1995**, 243, 105-114.

(36) Neves Filho, R. A. W.; Srivastava, R. M.; Navarro, D. M. A. F. Novo larvicida para Aedes aegypti derivado de ácidos de 1,2,4-oxadiazol **2008**.

(37) Melo, J. O. F.; Donnici, C. L.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V. de; Ferreira, M. L. G.; Cunha, A. C. *Quím Nova* **2006**, 29, 569-579.

(38) Wattney, J. W. H.; Desai, M.; Rutledge, R.; Dotson, R. *J. Med. Chem.* **1980**, 23, 690.

(39) Katritzky, A. R.; Rees, C. W. Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press, 1984.

(40) Farooqui, M.; Bora, R.; Patil, C. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 794-799.

(41) Gregório, M. *Panminerva Med.* **1962**, 4, 90.

(42) Eloy, F.; Lenaers, R. *Bull. Chem. Therap.* **1966**, 347.

(43) Sterne, J.; Hirsch, C. *Therapie* **1965**, 20, 89-95.

(44) Leite, A. C. L.; Vieira, R. F.; Faria, A. R. de; Wanderley, A. G.; Afiatpour, P.; Ximenes, E. C. P. A. Srivastava, R. M.; Oliveira, C. F.; Medeiros, M. V.; Antunes, E.; Brondani, D. J. *Il Farmaco* **2000**, *55*, 719-724.

(45) Katritzky, A. R.; Rees, C. W. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Potts, K. T., Ed.; Pergamon Press: New York, 1984; pp. 365-391.

(46) Claisen, L.; Lowmann, O. *Ber.* **1888**, *21*, 3-61.

(47) Quilico, A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1962**, *17*, 1-120.

(48) Huisgen, R. *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 66.

(49) Quilico, A. *Experientia* **1970**, *26*, 66-68.

(50) Srivastava, R. M.; Oliveira, M. L.; Albuquerque, J. F. C. *J. Braz. Chem. Soc.* **1992**, *3*, 117-119.

(51) De, D.; Seth, M.; P., B. A. *Ind. J. Chem. Sec. B. Org. Chem. Including Med. Chem.* **1990**, *29B*, 231.

(52) D'Alcontres, G. S.; Caristi, C.; Ferlazzo, A.; Gattuso, M. *J. Chem. Soc.* **1976**, *1*, 1694.

(53) Srivastava, R. M.; Seabra, G. M. *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, *8*, 397-405.

(54) Silverstein, R. M.; Wester, F. X.; Kiemle, D. J. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*; 7th ed.; LTC: Rio de Janeiro, 2007.

(55) Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noddleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. chem. soc.* **2005**, *127*, 210-216.

(56) Nascimento, C. P. M. do Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Paraíba, 2010.

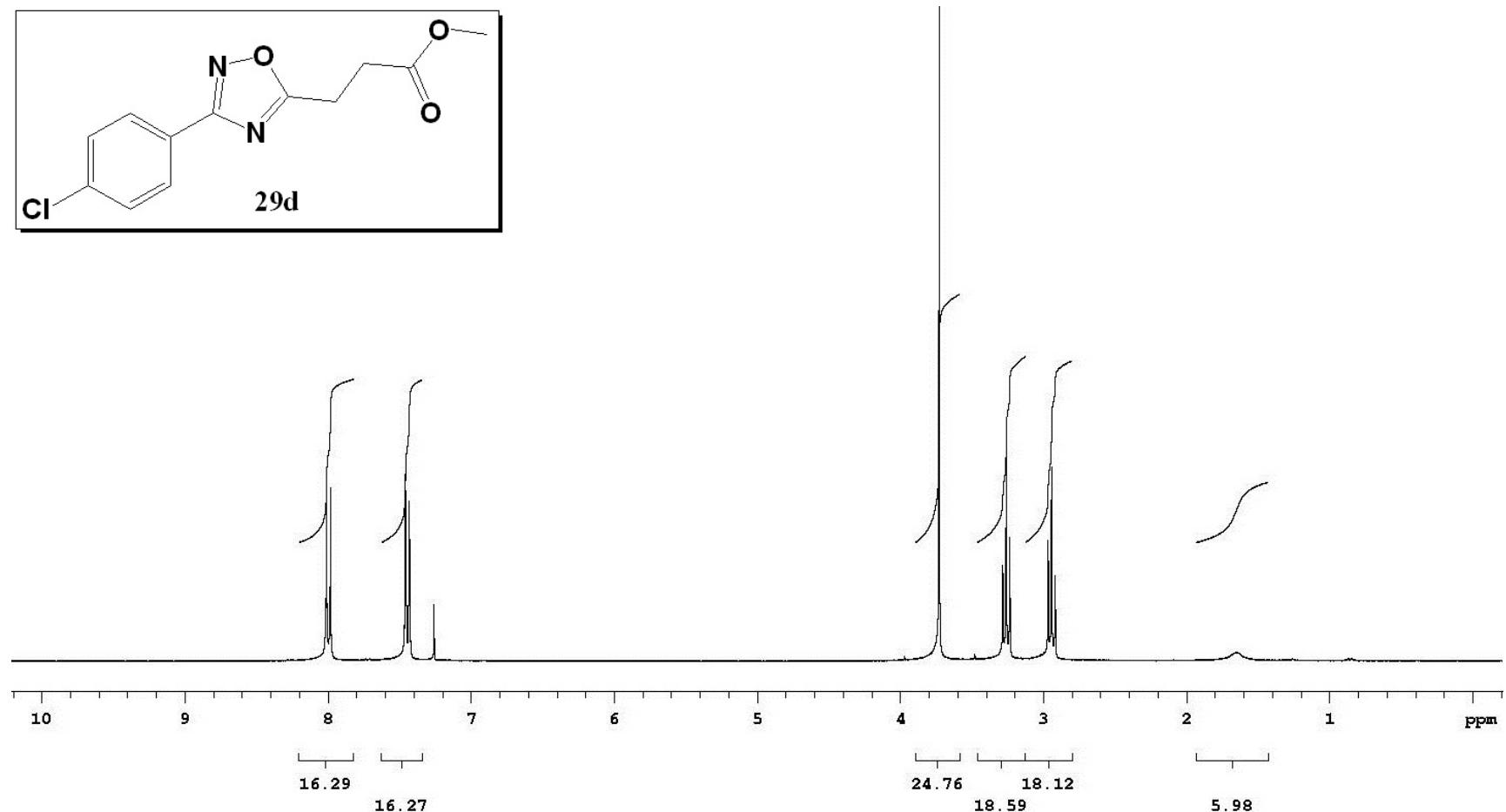
(57) Tiemann, F. *Chem. Ber.* **1884**, *17*, 126-129.

(58) Srivastava, R. M.; Viana, M. B. A. B.; Bieber, L. *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, *21*, 1193.

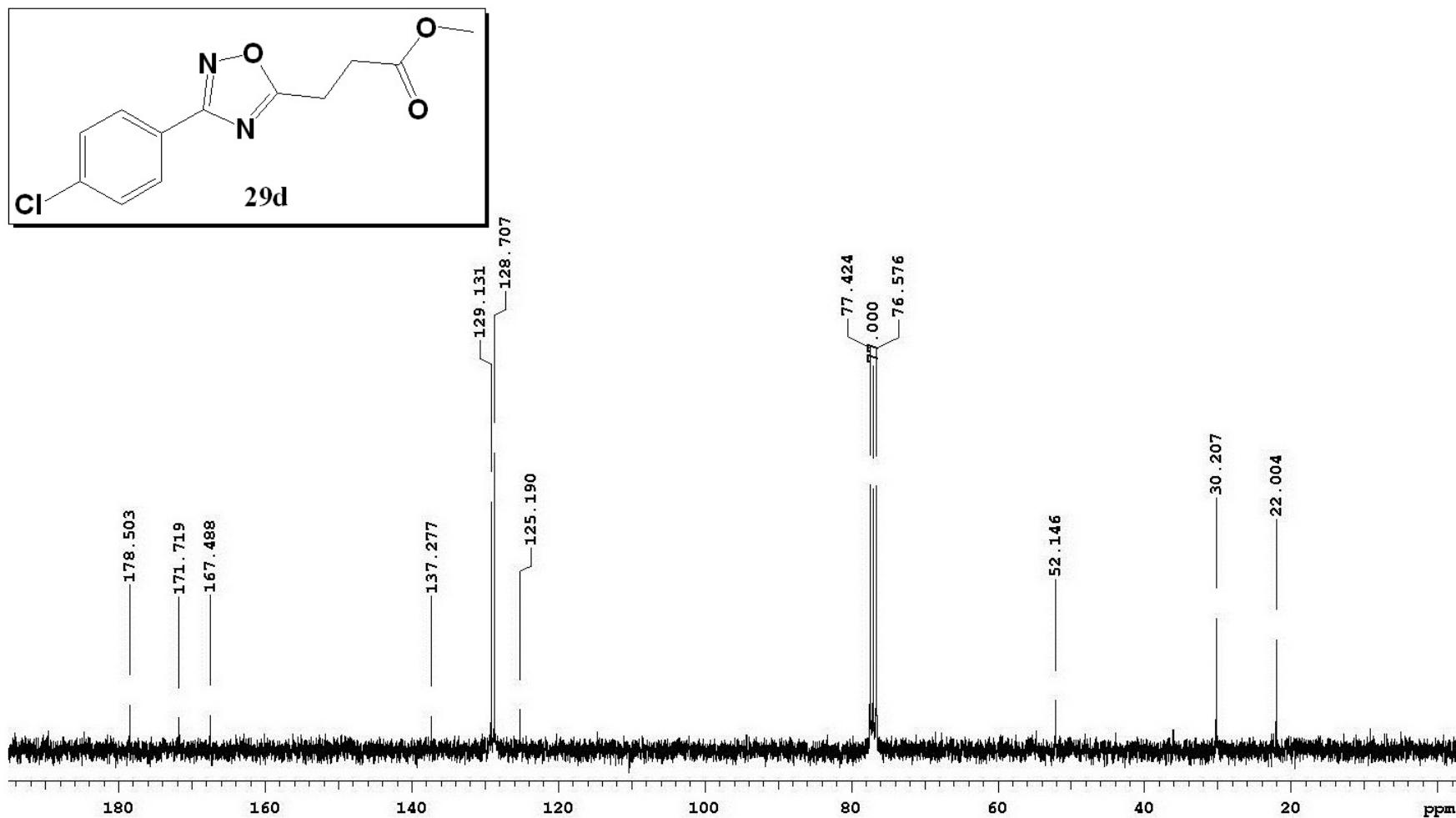
(59) De Freitas, J. J. R.; De Freitas, J. C. R.; Da Silva, L. P.; De Freitas Filho, J. R.; Kimura, G. Y. V.; Srivastava, R. M. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6195-6198.

(60) Li, J.; Li, G. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* **1998**, *21*, 1511-1525.

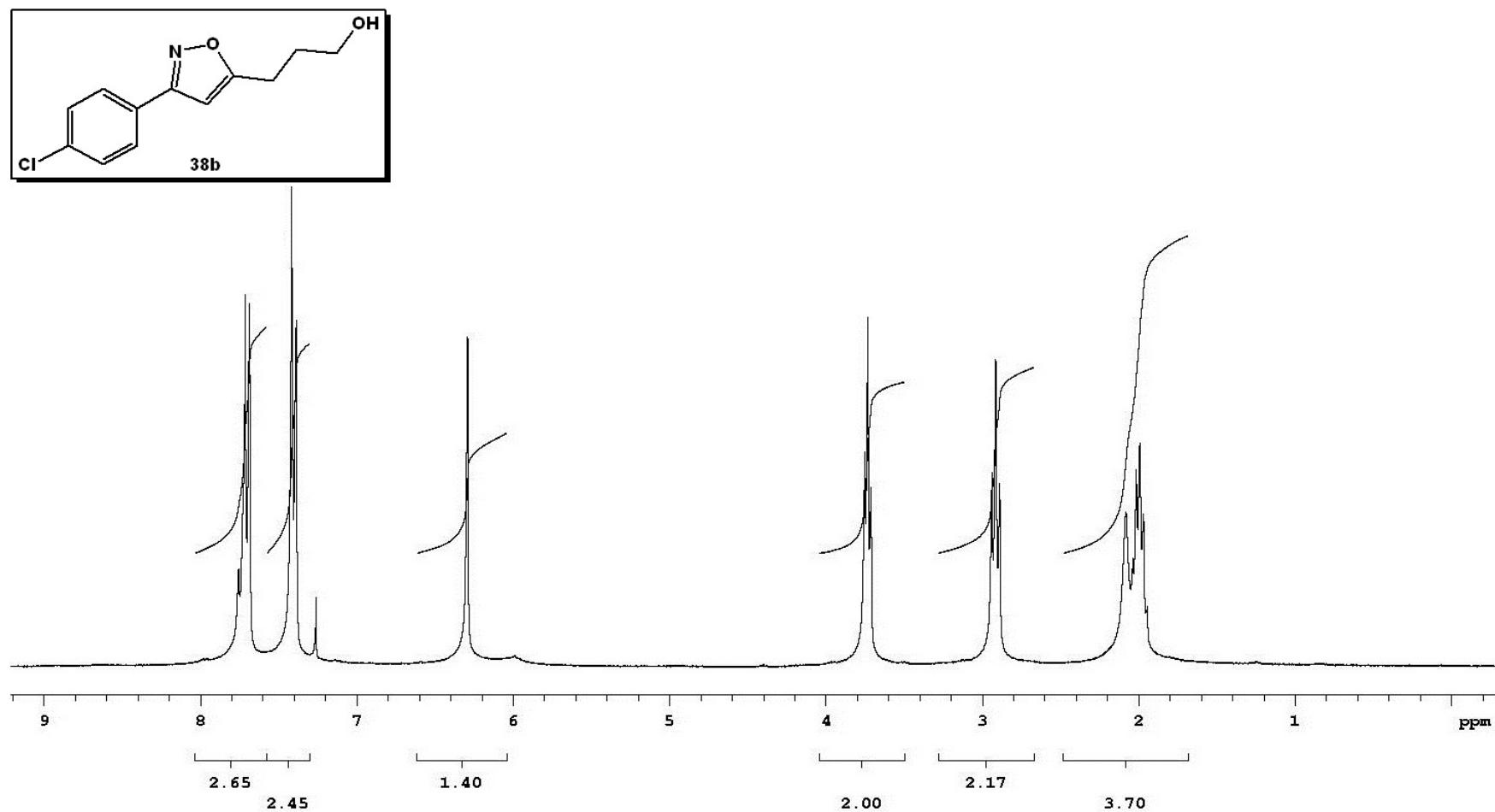
ANEXOS



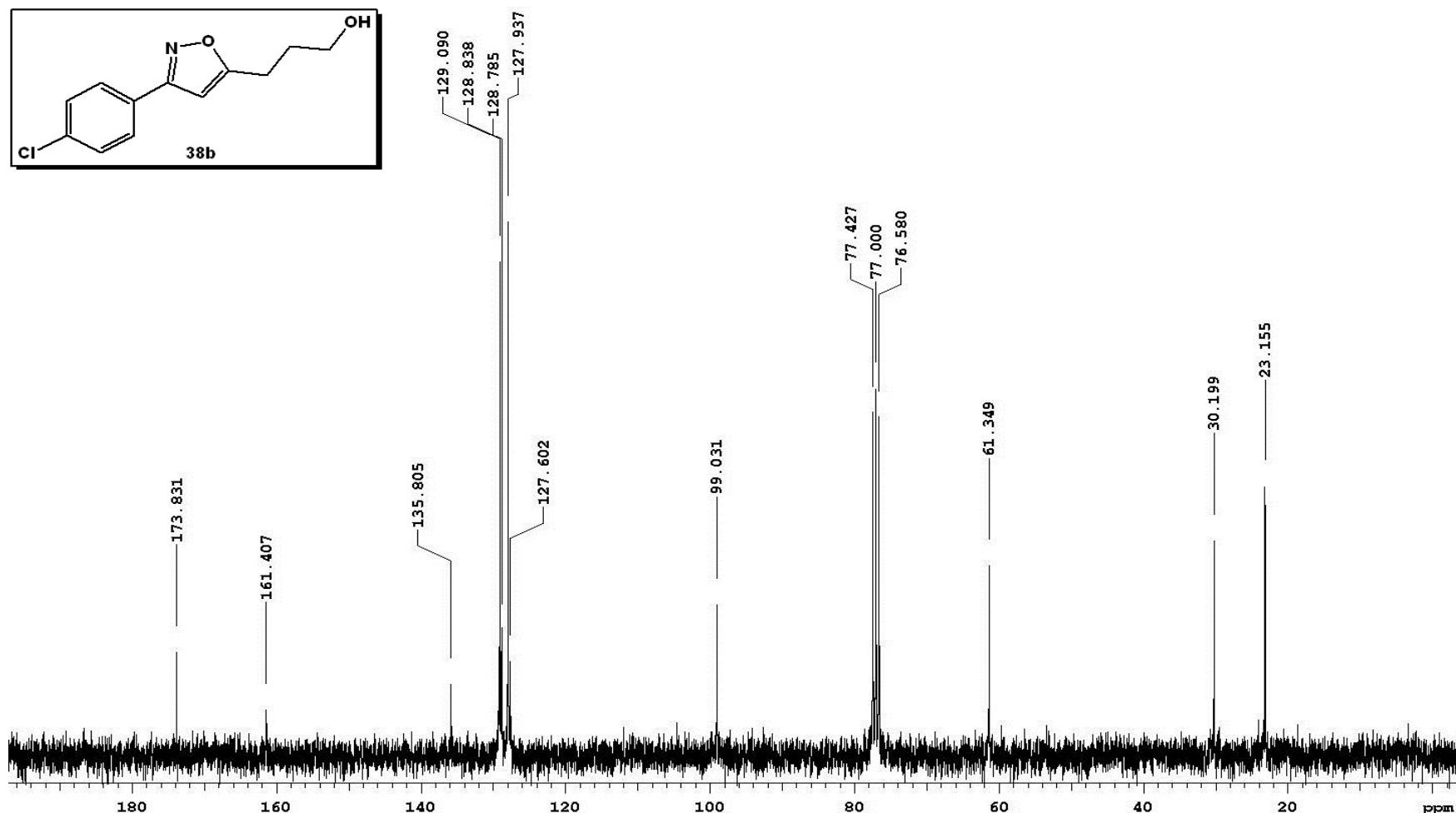
ANEXO 1: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do 3-[3-(4-clorofenil)-1,2,4,-oxadiazol-5-il]propanoato de metila **29d**



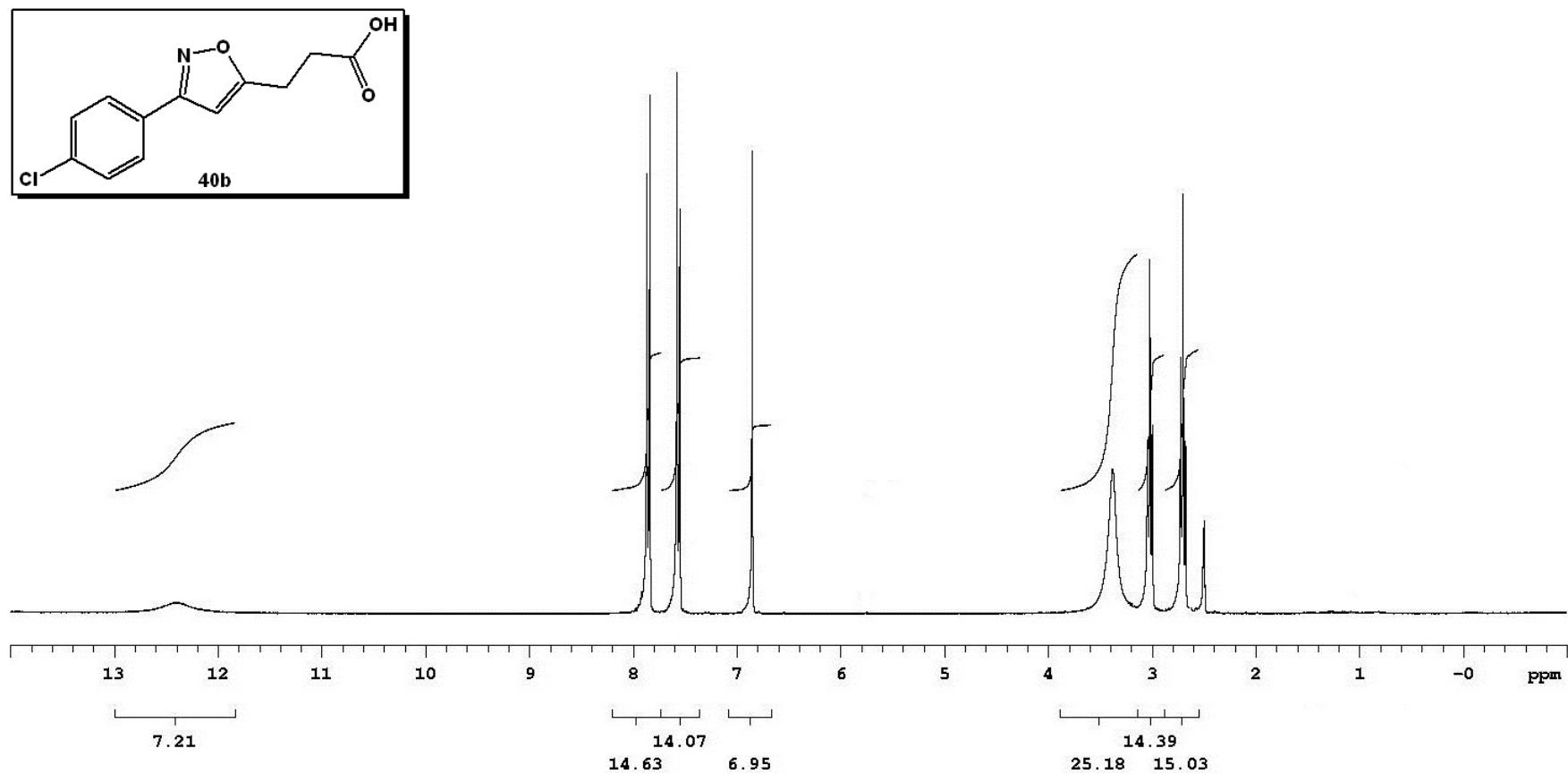
ANEXO 2: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-1,2,4,-oxadiazol-5-il]propanoato de metila **29d**



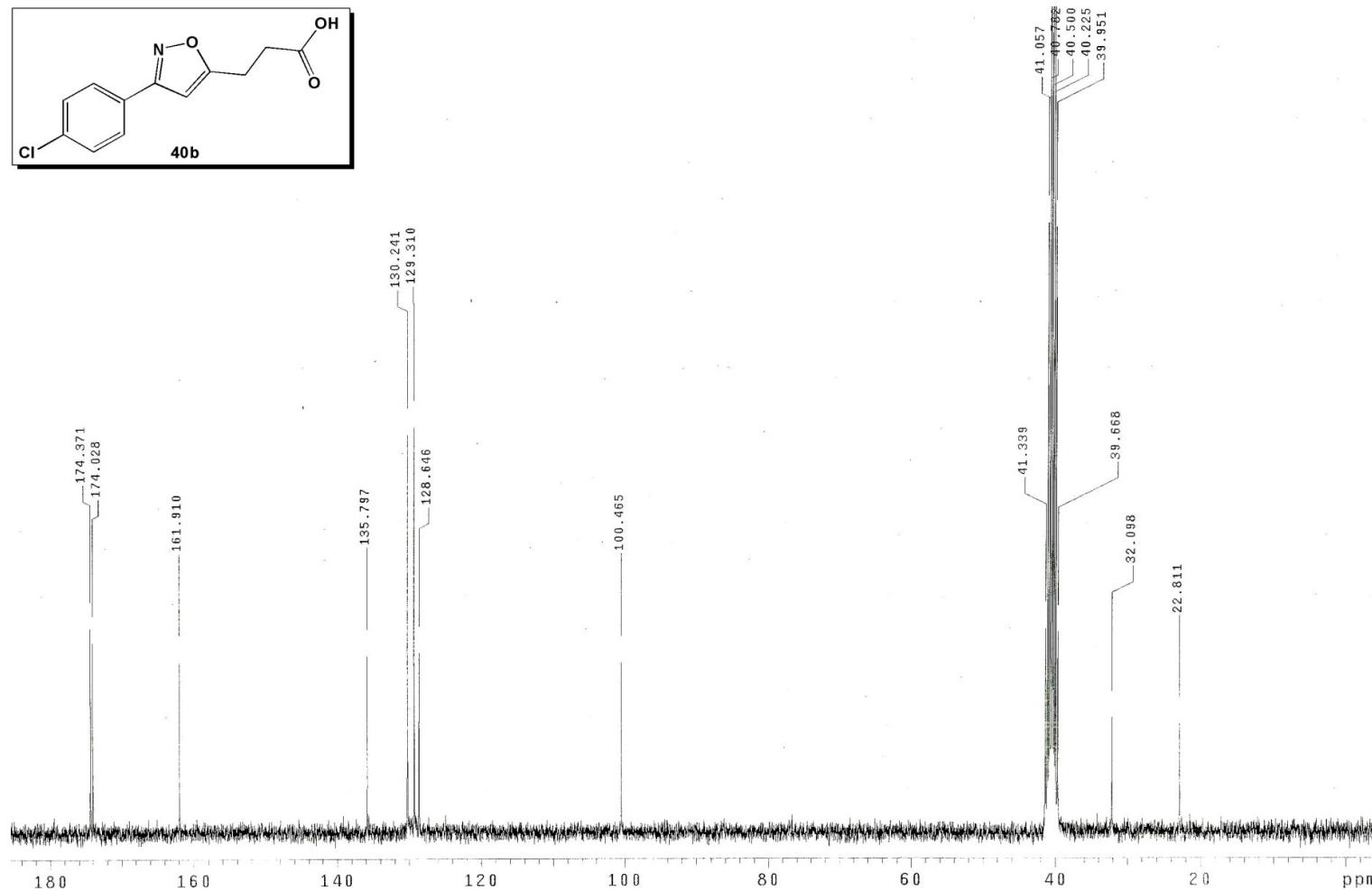
ANEXO 3: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol **38b**



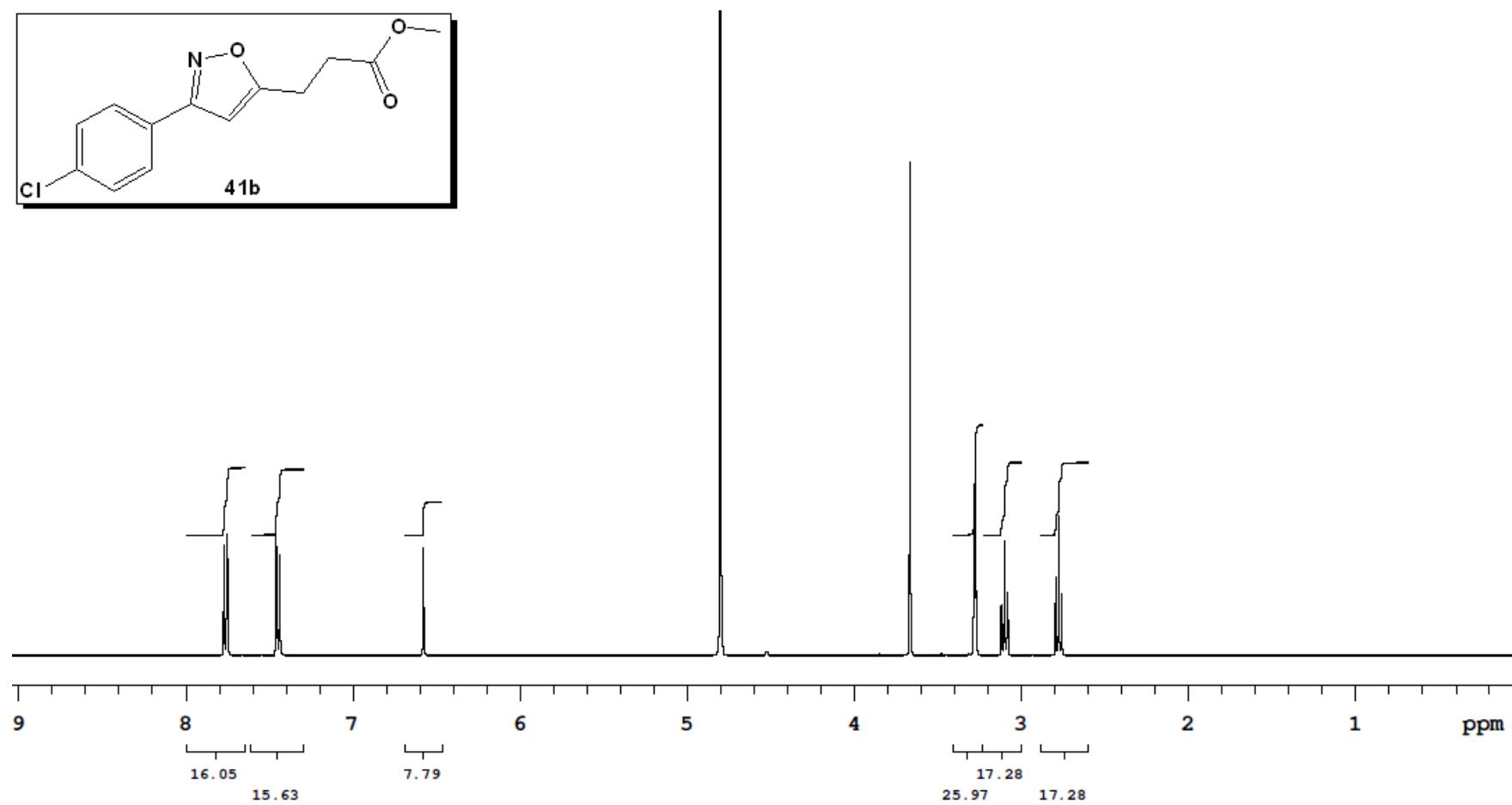
ANEXO 4: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propan-1-ol **38b**



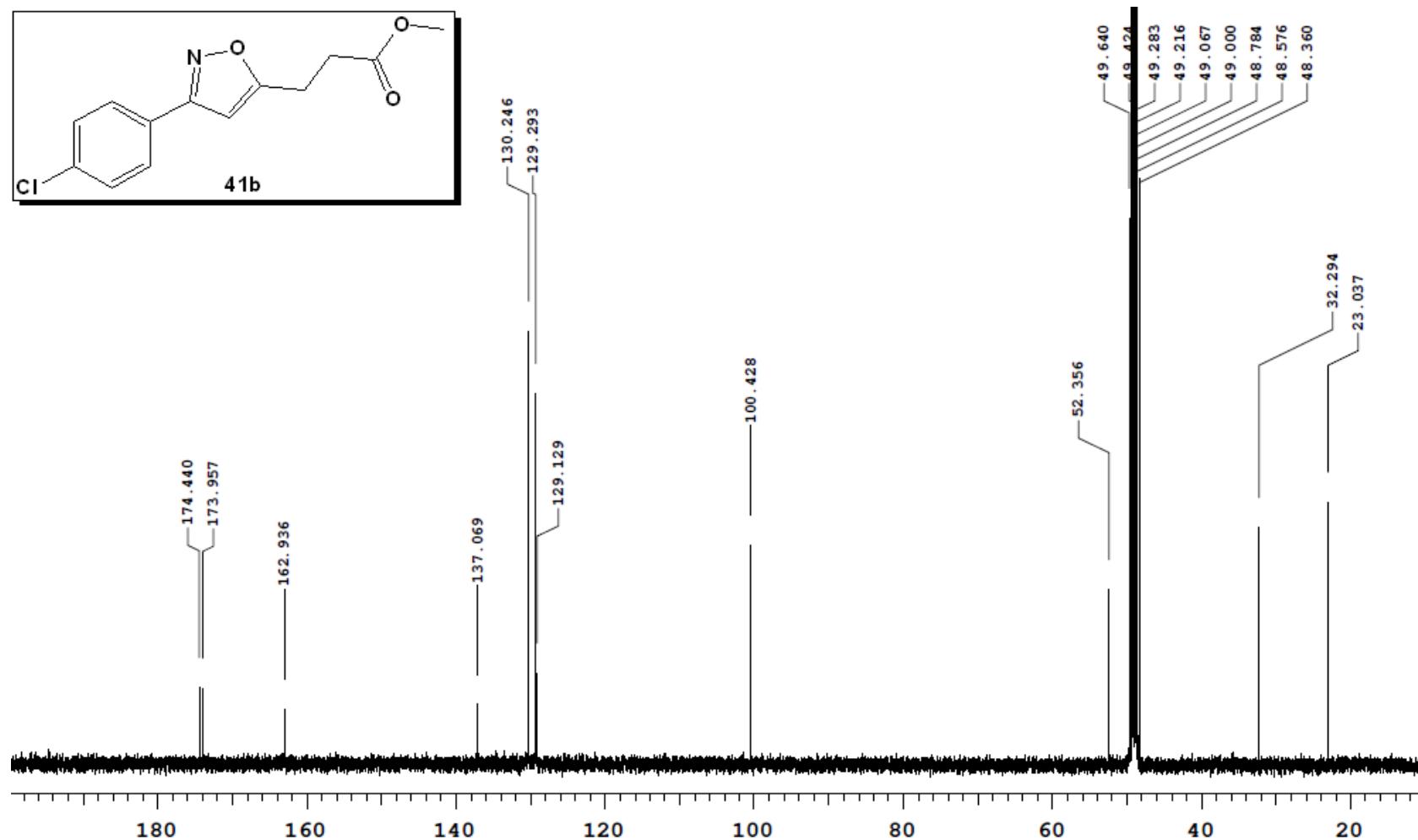
ANEXO 5: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) do ácido 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanóico **40b**



ANEXO 6: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) do ácido 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanóico **40b**



ANEXO 7: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD₃OD) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanoato de metila **41b**



ANEXO 8: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CD₃OD) do 3-[3-(4-clorofenil)-isoxazol-5-il]propanoato de metila **41b**