

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia

Universidade Técnica de
Lisboa
Instituto Superior Técnico



Síntese de Derivados Spiro-oxindoles via Cicloadição 1,3-Dipolar

Carlos Jorge Azevedo Costa Ribeiro

Mestrado em Engenharia Farmacêutica

Lisboa

2010

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia

Universidade Técnica de
Lisboa
Instituto Superior Técnico



Síntese de Derivados Spiro-oxindoles via Cicloadição 1,3-Dipolar

Carlos Jorge Azevedo Costa Ribeiro

Dissertação orientada por:

Doutora Maria Manuel Duque Vieira Marques dos Santos
Professor Doutor Rui Ferreira Alves Moreira

Mestrado em Engenharia Farmacêutica

Lisboa

2010

Síntese de Derivados Spiro-oxindoles via Cicloadição 1,3-Dipolar

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Farmacêutica

O trabalho apresentado nesta dissertação foi realizado no Research Institute for Medicines and Pharmaceutical Sciences (iMed.UL), sob a orientação da Doutora Maria Manuel Duque Vieira Marques dos Santos e do Professor Doutor Rui Ferreira Alves Moreira da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Agradecimentos

À Doutora Maria Manuel Duque Vieira Marques dos Santos pela supervisão, orientação e inestimável apoio que foi prestando ao longo destes meses e acima de tudo por me ter ensinado a ler, escrever e contar química orgânica.

Ao Professor Doutor Rui Ferreira Alves Moreira por me ter dado a possibilidade de realizar esta tese e por todo o apoio prestado desde então.

Ao meu “chefe” de laboratório Doutor Paulo Glória por ter estado sempre prontamente disponível a esclarecer qualquer dúvida por mais trivial que fosse.

A todo pessoal da unidade de Química Medicinal do iMed-UL que directa ou indirectamente tornaram possível a realização deste trabalho.

Aos mártires da primeira edição do Mestrado em Engenharia Farmacêutica, que não sabiam bem para o que iam.

Aos meus amigos: grupinho, GJPS e ISCTOP por me darem um pouco de céu.

Ao meu núcleo familiar, especialmente aos meus pais por me apoiarem incondicionalmente a continuar a brincar aos cientistas quando já tenho idade para saber melhor.

Resumo

Desde a introdução do conceito de cicloadição 1,3-dipolar por Huisgen na década de 60, este tipo de reacções tem sido extensamente utilizado em síntese orgânica, constituindo um método importante para a obtenção de heterociclos de cinco membros. Estas cicloadições [$\pi 4_s + \pi 2_s$], termicamente permitidas pelas regras de Woodward-Hoffmann, envolvem a reacção de um dipolarófilo (e.g. alcenos, alcinos, carbonilos e nitrilos) com um composto 1,3-dipolar.

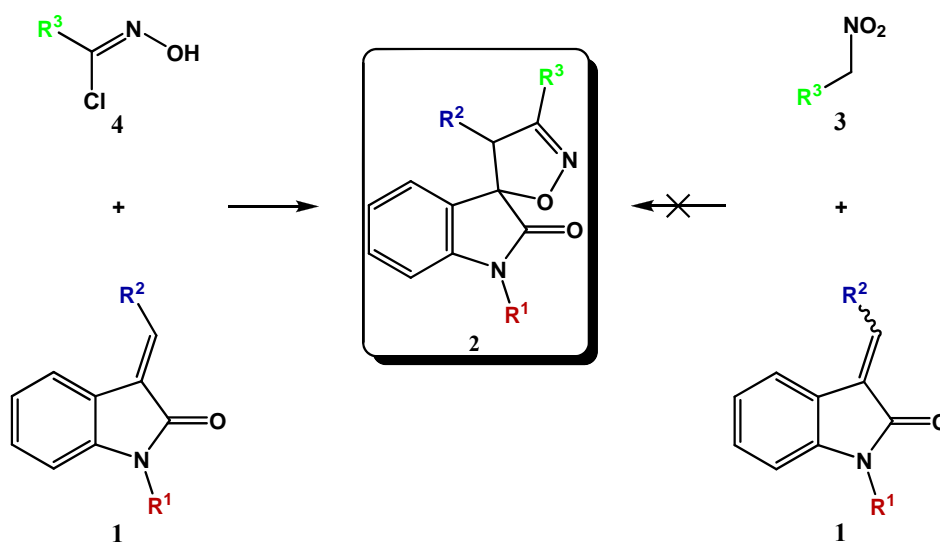
Os óxidos de nitrilo são dipolos 1,3 altamente reactivos do tipo propargilo-alenilo que, por cicloadição 1,3-dipolar com alcenos, dão origem a isoxazolininas. Os óxidos de nitrilo não são geralmente dipolos isoláveis, sendo normalmente preparados *in situ* na presença de um dipolarófilo. Existem duas vias principais para a preparação destes compostos: por desidrohalogenação de haletos de hidroximoílos e por desidratação de compostos nitro primários.

A presente dissertação descreve uma estratégia sintética para a obtenção de spiro[oxindole-isoxazolininas]. A síntese deste tipo de compostos teve por base uma recente metodologia desenvolvida no grupo aplicada à síntese de nafto[2,3-d]isoxazole-4,9-dionas. Devido ao interesse terapêutico dos compostos similares spiro[oxindole-3,3'-pirrolidinas] como inibidores da interacção p53-MDM2, este tipo de compostos spiro apresentam um elevado interesse farmacológico.

Na literatura, este tipo de spiro-oxindoles apenas aparecem mencionados em dois artigos, nos quais unicamente dois derivados são sintetizados. Consequentemente, existe interesse científico na síntese de novos compostos detentores deste núcleo.

Por cicloadição 1,3-dipolar da 3-metileno indolina-2-ona **1a** com óxidos de nitrilo, sintetizou-se três compostos spiro[oxindole-3,5'-isoxazolininas] **2a-c**. Inicialmente pretendia-se que os óxidos de nitrilo fossem gerados *in situ* e sofressem subsequente cicloadição por desidratação de compostos nitro primários **3a-b**. Contudo, devido ao insucesso desta metodologia, os óxidos de nitrilo foram preparados *in situ* por desidrohalogenação dos cloretos de hidroximoílos **4a-c** na presença de uma base. Os dipolarófilos intermediários foram preparados por condensação de indolina-2-onas com

aldeídos na presença de bases e por condensação de *N*-metilindolina-2,3-diona com um derivado fosforano.



| | R^1 | R^2 | | R^1 | R^2 | R^3 |
|-----------|-----------------|---|-----------|-----------------|--------------------|--------------------|
| 1a | CH ₃ | CO ₂ Et | 2a | CH ₃ | CO ₂ Et | CO ₂ Et |
| 1b | H | CO ₂ Et | 2b | CH ₃ | CO ₂ Et | CO ₂ Me |
| 1c | H | <i>p</i> -OCH ₃ Ph | 2c | CH ₃ | CO ₂ Et | Ph |
| 1d | H | <i>p</i> -N(CH ₃) ₂ Ph | 3a | - | - | COPh |
| 1e | H | Ph | 3b | - | - | CO ₂ Et |
| 1f | H | <i>p</i> -ClPh | 4a | - | - | CO ₂ Et |
| 1g | CH ₃ | <i>p</i> -N(CH ₃) ₂ Ph | 4b | - | - | CO ₂ Me |
| 1h | H | CH(CH ₂ CH ₃) ₂ | 4c | - | - | Ph |

Abstract

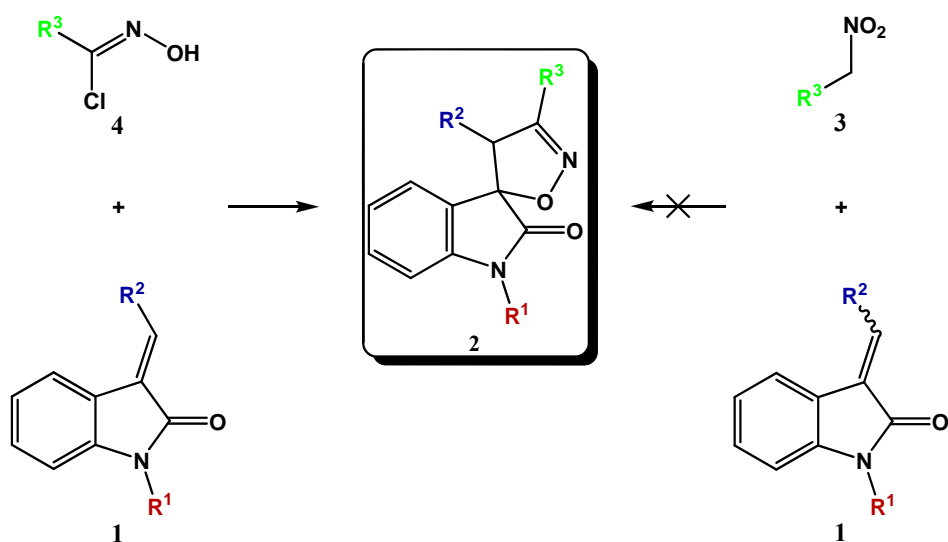
Since Huisgen's definition of the general concepts of 1,3-dipolar cycloadditions in the 1960s, this class of reactions has been extensively used in organic synthesis. 1,3-dipolar cycloadditions offer a very useful method for the preparation of five-membered ring heterocycles. This [$\pi 4_s + \pi 2_s$] cycloaddition, thermally allowed by the Woodward-Hoffmann rules, involves the reaction of a dipolarophile (e.g. alkenes, alkynes, carbonyls and nitriles) with a 1,3-dipolar compound.

Nitrile oxides are highly reactive 1,3-dipoles of the propargyl-allenyl type and undergo cycloadditions with alkenes to form isoxazolines. Nitrile oxides are generally not isolable dipoles but are prepared *in situ* in the presence of a dipolarophile. There are two important routes to these compounds: dehydrohalogenation of hydroximoyl halides and dehydration of primary nitroalkanes.

The present dissertation describes a synthetic strategy for the synthesis of spiro[oxindoles-isoxazolines]. This design was devised as a consequence of a recent methodology developed in our group applied to the synthesis of naphtho[2,3-d]isoxazole-4,9-diones. Due to the therapeutic value of the similar compound spiro[oxindole-3,3'-pyrrolidine] as p53-MDM2 interaction inhibitors, this type of spiro compounds is of potential pharmacologic value.

A thorough literature search shows only two articles in which this kind of spiro-oxindoles are mentioned. Furthermore only one derivative is described in each paper. Therefore there is still an open window of opportunity for the synthesis of different new compounds bearing this scaffold.

By 1,3-dipolar cycloaddition of 3-methylene indoline-2-one **1a** with nitrile oxides, three spiro[oxindole-3,5'-isoxazoline] compounds **2a-c** were synthesized. Although initially nitrile oxides and subsequent cycloaddition were meant to be achieved by dehydration of primary nitroalkanes **3a-b**, they were prepared *in situ* by dehydrohalogenation of hydroximoyl chlorides **4a-c** in the presence of a base, due to the inefficiency of the first method. These intermediate dipolarophiles were prepared by condensation of indoline-2-ones with aldehydes in the presence of bases and by condensing *N*-methylindoline-2,3-dione with a phosphorane derivative.



| | R^1 | R^2 | | R^1 | R^2 | R^3 |
|-----------|-----------------|---|----------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| 1a | CH ₃ | CO ₂ Et | 2^a | CH ₃ | CO ₂ Et | CO ₂ Et |
| 1b | H | CO ₂ Et | 2b | CH ₃ | CO ₂ Et | CO ₂ Me |
| 1c | H | <i>p</i> -OCH ₃ Ph | 2c | CH ₃ | CO ₂ Et | Ph |
| 1d | H | <i>p</i> -N(CH ₃) ₂ Ph | 3^a | - | - | COPh |
| 1e | H | Ph | 3b | - | - | CO ₂ Et |
| 1f | H | <i>p</i> -ClPh | 4^a | - | - | CO ₂ Et |
| 1g | CH ₃ | <i>p</i> -N(CH ₃) ₂ Ph | 4b | - | - | CO ₂ Me |
| 1h | H | CH(CH ₂ CH ₃) ₂ | 4c | - | - | Ph |

Abreviaturas e Simbologia

| | |
|-----------------------------|--|
| [bmin][BF ₄] | Tetrafluorborato metilimidazole de butilo |
| ¹³ C-RMN | Ressonância magnética nuclear de carbono-13 |
| 18-Crown-6 | 1,4,7,10,13,16-hexaoxaciclooctadecano |
| ¹ H-RMN | Ressonância magnética nuclear de próton |
| 1-NMI | <i>N</i> -metilimidazol |
| 5-HT ₂ | Receptor serotoninérgico subtipo 2 |
| Ac | Acetato |
| AcOEt | Acetato de etilo |
| ADAMTS-5 | Disintegrina e metaloproteinase com domínios trombospondina 5 |
| Ag. | Agentes |
| APT | “Attached Proton Test” |
| ArH | Protões arílicos |
| Boc | <i>t</i> -butoxicarbonilo |
| BTMA | Benziltrimetilamónia |
| Bu | Butilo |
| Burgess | <i>N</i> -(trietilamoniosulfonil)carbamato de metilo |
| CAN | Nitrato de amónia cérica |
| CAT | <i>N</i> -clorotosilamida de sódio |
| CCF | Cromatografia em camada fina |
| C _{HOMO} | Coefficiente das orbitais HOMO |
| C _{LUMO} | Coefficiente das orbitais LUMO |
| Comp. | Compostos |
| conc. | Concentrado |
| COSY | “Correlation spectroscopy” |
| d | Dupleto |
| DABCO | 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano |
| DAST | Trifluoreto de dimetiaminoenxofre |
| DIEA | <i>N,N'</i> -diisopropiletilamina |
| DMA | Dimetilacetamida |
| DMAP | 4-dimetilaminopiridina |
| DMDO | Dimetildioxirano |
| DMF | <i>N,N'</i> -dimetilformamida |
| DMSO- <i>d</i> ₆ | Dimetilsulfóxido hexadeuterado |
| DMTMM | Cloreto de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina-2-il)-4-metilmorfolina |
| e.g. | Exempli gratia (por exemplo) |
| E _{HOMO} | Energia das orbitais HOMO |
| E _{LUMO} | Energia das orbitais LUMO |
| EM | Espectrometria de massa |
| Entr. | Entrada |
| eq. | Equivalente molar |
| ESI | Ionização por electrospray |
| Et | Etilo |
| Exp. | Experimentais |
| f | Forte |

| | |
|------------------|--|
| h | Hora |
| Hal ⁺ | Catião halogénio |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana |
| HMBC | “Heteronuclear multiple bond coherence” |
| HMQC | “Heteronuclear multiple quantum coherence” |
| HOMO | Orbital molecular ocupada mais alta |
| int. rel. | Intensidade relativa |
| IV | Infravermelho |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento |
| l | Largo |
| Leu | Leucina |
| Lit. | Literatura |
| LUMO | Orbital molecular desocupada de energia mais baixa |
| m | Multiplete |
| M.C. | Método Convencional |
| M.O. | Micro-ondas |
| M.T. | Método em tubo fechado |
| M ₁ | Receptor muscarínico subtipo 1 |
| MDI | 4,4'-metilenobis(fenilisocianato) |
| MDM2 | Murine double minute-2 |
| Me | Metilo |
| min | Minutos |
| n.a. | Não aplicável |
| n.c. | Não calculado |
| n.d. | Não disponibilizado |
| NBS | <i>N</i> -bromosuccinimida |
| NCS | <i>N</i> -clorosuccinimida |
| NOESY | “Nuclear Overhauser effect spectroscopy” |
| η | Rendimento |
| <i>o</i> | Orto |
| OMF | Orbitais moleculares de fronteira |
| <i>p</i> | Para |
| P | Potência |
| p.f. | Ponto de fusão |
| pág. | página |
| Ph | Fenilo |
| Phe | Fenilalanina |
| ppm | Partes por milhão |
| Proc. | Procedimento |
| q | Quadruplete |
| Ref. | Referência bibliográfica |
| RMN | Ressonância Magnética Nuclear |
| s | Singuleto |
| Solv. | Solvente |
| t | Triplete |
| T | Temperatura |
| t.a. | Temperatura ambiente |
| TBA ⁺ | Tetrabutylamónio |
| TCCA | Ácido tricloroisocianúrico |
| TDI | Tolueno 2,4-diisocianato |

| | |
|------------------|--|
| THF | Tetra-hidrofurano |
| TMS | Tetrametilsilano |
| Trp | Triptofano |
| Ts | <i>p</i> -toluenossulfonilo |
| UV | Ultravioleta |
| V ₂ R | Receptor da vasopressina subtipo 2 |
| vs | Versus |
| W | Watts |
| δ | Desvio químico |
| ΔE | Varição de Energia |
| ν _{máx} | Frequência máxima de absorção (em infravermelho) |

Índice de Matérias

| | |
|--|----|
| I-Introdução Teórica | 1 |
| 1.1.CICLOADIÇÕES 1,3-DIPOLARES | 3 |
| 1.1.1.Dipolo 1,3..... | 3 |
| 1.1.1.1.Óxidos de nitrilo..... | 4 |
| 1.1.2.Dipolarófilo | 5 |
| 1.1.3.Mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar..... | 6 |
| 1.1.3.1.Mecanismo Concertado vs Intermediário birradicalar | 6 |
| 1.1.4.Reactividade..... | 8 |
| 1.1.4.1.Reactividade relativa de dipolarófilos com óxidos de nitrilo..... | 10 |
| 1.1.5.Regiosselectividade..... | 10 |
| 1.1.5.1.Regiosselectividade das cicloadições 1,3-dipolares com óxidos de nitrilo..... | 12 |
| 1.1.6.Estereosselectividade | 14 |
| 1.2.MÉTODOS DE GERAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITRILO | 16 |
| 1.2.1.Formação a partir de Aldoximas | 17 |
| 1.2.1.1.Halogenação de Oximas com formação do haleto de hidroximoílo..... | 17 |
| 1.2.1.2.Desidrohalogenação dos haletos de hidroximoílo..... | 18 |
| 1.2.1.3.Oxidação directa das oximas..... | 19 |
| 1.2.2.Desidratação de Nitroalcanos..... | 20 |
| 1.2.3.Termólise de Furoxanos..... | 22 |
| 1.3.SPIRO-OXINDOLES | 24 |
| 1.3.1.Spiro[oxindole-3,3'-pirrolidinas]..... | 25 |
| 1.3.1.1.Spiro[oxindole-3,3'-pirrolidinas], obtidas via cicloadição 1,3-dipolar | 25 |
| 1.3.2.Spiro[oxindole-isoxazolininas] | 27 |
| II-Discussão de Resultados | 29 |
| 2.1.Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (1a,c-h)..... | 31 |
| 2.1.1.Condensação de indolina-2-onas (35a-b) com aldeídos (10a-e). Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (1c-h)..... | 31 |
| 2.1.2.Condensação de <i>N</i> -metilindolina-2,3-diona (33b) com etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (36): Síntese da 3-metileno indolina-2-ona 1a..... | 34 |
| 2.2.Tentativas de síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidratação de compostos nitro primário | 37 |
| 2.3.Síntese de derivados spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] a partir da desidrohalogenação de cloretos de hidroximoílo. | 42 |

| | |
|--|----|
| 2.3.1. Síntese de cloretos de hidroximoilo | 42 |
| 2.3.2. Síntese de 1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de etilo (2a) | 44 |
| 2.3.3. Tentativa de síntese do derivado spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] 2f a partir de 3-metileno indolina-2-ona 1g e clorooximidoacetato de etilo (4a)..... | 50 |
| 2.3.4. Síntese de 1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de metilo (2b)..... | 51 |
| 2.3.5. Síntese de 3'-fenil-1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-4'-carbo-xilato de metilo (2c) | 53 |
| 2.4. Conclusões | 56 |
| III- Procedimento Experimental | 58 |
| 3.1. Preâmbulo | 61 |
| 3.2. Síntese de 3-metileno indolina-2-onas | 63 |
| 3.2.1. Síntese de <i>N</i> -metilindolina-2,3-diona (33b) | 63 |
| 3.2.2. Condensação de indolina-2-onas (35a-b) com aldeídos (10a-e). Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (1c-h)..... | 63 |
| 3.2.3. Condensação de <i>N</i> -metilindolina-2,3-diona (33b) com etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (36): Síntese de (<i>E</i>)-2-(1'-metil-2'-oxoindolina-3'-ilideno)acetato de etilo (1a).... | 67 |
| 3.3. Tentativas de síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidratação de compostos nitro primários..... | 69 |
| 3.3.1. Utilizando K ₂ CO ₃ como agente desidratante | 69 |
| 3.3.2. Utilizando DABCO como agente desidratante | 70 |
| 3.3.2.1. Método Convencional | 70 |
| 3.3.2.2. Em tubo fechado..... | 70 |
| 3.3.2.3. Em micro-ondas | 71 |
| 3.3.3. Utilizando DIEA como agente desidratante..... | 72 |
| 3.3.4. Utilizando 1-NMI como agente desidratante | 73 |
| 3.3.4.1. Método Convencional | 73 |
| 3.3.4.2. Em tubo fechado..... | 73 |
| 3.3.4.3. Em micro-ondas | 74 |
| 3.3.5. Utilizando Et ₃ N como agente desidratante..... | 74 |
| 3.3.6. Utilizando fenilisocianato como agente desidratante..... | 75 |
| 3.3.7. Utilizando dicarbonato de di- <i>terc</i> -butilo como agente desidratante..... | 75 |
| 3.3.7.1. Método Convencional | 75 |
| 3.3.7.2. Em micro-ondas | 76 |
| 3.3.8. Utilizando cloreto de fosforilo como agente desidratante..... | 77 |
| 3.4. Síntese de cloretos de hidroximoilo | 78 |

| | |
|---|-----|
| 3.4.1. Síntese de clorooximidoacetato de etilo (4a) | 78 |
| 3.4.2. Síntese de clorooximidoacetato de metilo (4b) | 78 |
| 3.4.3. Síntese de cloreto de <i>N</i> -hidroxibenzimidólio (4c)..... | 79 |
| 3.5. Síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidrohalogenação de cloretos de hidroximoílo. | 80 |
| 3.5.1. Tentativa de síntese de derivado spiro[oxindole-isoxazolina] 2f a partir da 3-metileno indolina-2-ona 1g e clorooximidoacetato de etilo (4a) | 80 |
| 3.5.2. Síntese de 1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de etilo (2a) | 80 |
| 3.5.2.1. Método Convencional | 80 |
| 3.5.2.1.1. Adição lenta da base..... | 80 |
| 3.5.2.1.2. Adição lenta de cloreto de hidroximoílo | 81 |
| 3.5.2.2. Em micro-ondas | 81 |
| 3.5.2.2.1. Adição lenta da base..... | 81 |
| 3.5.2.2.2. Adição inicial da base e do cloreto de hidroximoílo | 81 |
| 3.5.2.2.3. Adição lenta do cloreto de hidroximoílo | 82 |
| 3.5.3. Síntese de 1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de 3' metilo-4' etilo (2b)..... | 85 |
| 3.5.4. Síntese de 3'-fenil-1-metil-2-oxo-4' <i>H</i> -spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-4'-carboxilato de metilo (2c) | 86 |
| 3.5.4.1. Adição lenta do cloreto de hidroximoílo..... | 86 |
| 3.5.4.2. Adição lenta da base..... | 86 |
| IV-Referências Bibliográficas | 89 |
| V-Anexos | 107 |
| ANEXO A..... | 109 |
| ANEXO B..... | 111 |
| ANEXO C..... | 113 |
| ANEXO D..... | 114 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1.1- Efeito da presença de um ácido de Lewis na energia das orbitais fronteira. | 9 |
| Figura 1.2- Classificação de Sustmann das cicloadições 1,3-dipolares. | 11 |
| Figura 1.3- Influência dos substituintes nos coeficientes das OMF e, conseqüentemente, na regioselectividade. a) Estados de transição A e B; b) D: Electrodoador, C: Conjugado, A: Electrotractor | 12 |
| Figura 1.4- Exemplos de spiro-oxindoles com actividade biológica. 20- Antagonista V ₂ R; 21- Inibidores da ADAMTS-5 (agrecanase-2); 22- Inibidores da interacção p53-MDM2, 23- Inibidores da protease do HIV; 24- Bloqueadores dos canais de cálcio; 25- Acção anticonvulsiva | 24 |
| Figura 1.5- Inibidores da interacção p53-MDM2. | 27 |
| Figura 2.1- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ¹ H-RMN e ¹³ C-RMN aos hidrogénios e carbonos do composto 1a | 36 |
| Figura 2.2- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ¹ H-RMN e ¹³ C-RMN aos hidrogénios e carbonos do composto 2a | 48 |
| Figura 2.3- Cristalografia de raio-X do composto 2a | 49 |
| Figura 2.4- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ¹ H-RMN e ¹³ C-RMN aos hidrogénios e carbonos do composto 2b | 52 |
| Figura 2.5- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ¹ H-RMN e ¹³ C-RMN aos hidrogénios e carbonos do composto 2c | 54 |

Índice de Esquemas

| | |
|--|----|
| Esquema 1.1.1- Classificação dos dipolos 1,3. | 3 |
| Esquema 1.1.2- Cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo com alcenos e alcinos. | 5 |
| Esquema 1.1.3- Mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar. | 6 |
| Esquema 1.1.4- Mecanismos propostos para as cicloadições 1,3-dipolares: concertado e birradicalar. | 6 |
| Esquema 1.1.5- Especificidade da cicloadição 1,3-dipolar do óxido de <i>p</i> -nitrobenzonnitrilo ao <i>cis</i> e <i>trans</i> -dideuterioetileno. | 7 |
| Esquema 1.1.6- Representação dos dois regioisómeros possíveis resultantes da cicloadição 1,3-dipolar. | 12 |
| Esquema 1.1.7- Regiosselectividade preferencial observada aquando da presença de a) grupos electrodoadores (D) ou conjugados (C) e b) grupos electroattractores (A). | 13 |
| Esquema 1.1.8- Estereoselectividade observada nas cicloadições 1,3-dipolares. | 15 |
| Esquema 1.1.9- Formação do cicloadducto <i>endo</i> e/ou <i>exo</i> | 15 |
| Esquema 1.2.1- Principais métodos de geração de óxidos de nitrilo e de dimerização. | 16 |
| Esquema 1.2.2- Mecanismo provável da reacção de halogenação de oximas pelo cloro. | 17 |
| Esquema 1.2.3- Mecanismo provável da reacção de desidrohalogenação por acção da trietilamina. | 18 |
| Esquema 1.2.4- Mecanismo provável de desidratação de nitroalcanos por acção de isocianatos. | 20 |
| Esquema 1.2.5- Termólise de Furoxanos. | 23 |
| Esquema 1.3.1- Passo de cicloadição 1,3-dipolar na síntese de spirotriprostatina B proposta por Williams <i>et al.</i> | 26 |
| Esquema 1.3.2- Síntese do núcleo spiro-oxindole por Wang <i>et al.</i> | 27 |
| Esquema 1.3.3- Síntese de um derivado spiro[oxindole-isoxazolina] por El-Ahl. | 28 |
| Esquema 1.3.4- Síntese de um derivado spiro[oxindole-isoxazolina] por Franke. | 28 |
| Esquema 2.1- Síntese de 3-metileno indolina-2-onas. | 31 |
| Esquema 2.2- Mecanismo provável da reacção de síntese de 3-metileno indolina-2-onas. | 32 |
| Esquema 2.3- Síntese do composto 1a a partir da indolina-2,3-diona (33a). | 34 |
| Esquema 2.4- Mecanismo provável da reacção de síntese da <i>N</i> -metilindolina-2,3-diona (33b). | 34 |
| Esquema 2.5- Mecanismo de reacção de Wittig, com formação do composto 1a. | 35 |
| Esquema 2.6- Síntese de nafto[2,3- <i>d</i>]isoxazole-4,9-dionas 39. | 37 |
| Esquema 2.7- Efeito dos substituintes no dipolarófilo. | 38 |
| Esquema 2.8- Síntese de clorooximidoacetatos 4a-b. | 42 |

| | |
|---|----|
| Esquema 2.9- Síntese de <i>N</i> -hidroxibenzimidóilo (4c). | 42 |
| Esquema 2.10- Mecanismo provável da reacção de síntese do composto 4c. a) Síntese da aldoxima intermediária 9a; b) halogenação da oxima por acção do NCS, com formação com cloreto de hidroximoílo. | 43 |
| Esquema 2.11- Síntese do composto 2a. | 44 |
| Esquema 2.12- Mecanismo de geração do óxido de nitrilo 5b por desidrohalogenação | 46 |
| Esquema 2.13- Regioisómeros possíveis resultantes da cicloadição 1,3-dipolar..... | 47 |
| Esquema 2.14- Tentativa de reacção entre o composto 1h e o clorooximidoacetato de etilo (4c). | 50 |
| Esquema 2.15- Síntese do composto 2b..... | 51 |
| Esquema 2.16- Síntese do composto 2c. | 53 |
| Esquema 2.17- Representação esquemática do trabalho desenvolvido. | 56 |

Índice de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1.1- Possível efeito dos substituintes do dipolarófilo na regioselectividade..... | 12 |
| Tabela 1.2- Exemplos de condições experimentais para a síntese de cloretos de hidroximoílo, por halogenação com a) NCS; b) HCl, NaNO ₂ e subsequente desidrohalogenação..... | 19 |
| Tabela 1.3- Exemplos de condições experimentais para a geração de óxidos de nitrilo a partir de compostos nitro..... | 22 |
| Tabela 2.1- Comparação dos picos dos espectros de RMN obtidos com os da literatura..... | 33 |
| Tabela 2.2- Reacções de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários..... | 39 |
| Tabela 2.3- Características espectroscópicas dos compostos 4a-c..... | 43 |
| Tabela 2.4- Reacção da 3-metileno indolina-2-ona 1a com clorooximidoacetato de etilo (4a)..... | 45 |
| Tabela 2.5- Características físicas e espectroscópicas dos compostos 1a e 2a-c..... | 55 |
| Tabela 3.1- Reacção de indolina-2-onas com aldeídos..... | 64 |
| Tabela 3.2- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando K ₂ CO ₃ como agente desidratante..... | 69 |
| Tabela 3.3- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários, utilizando DABCO como agente desidratante..... | 72 |
| Tabela 3.4- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários, utilizando DIEA como agente desidratante..... | 73 |
| Tabela 3.5- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando 1-NMI como agente desidratante..... | 74 |
| Tabela 3.6- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando Boc ₂ O/DMAP como agente desidratante..... | 76 |
| Tabela 3.7- Reacção da 3-metileno indolina-2-ona 1a com clorooximidoacetato de etilo (4a)..... | 83 |
| Tabela 3.8- Reacção da 3-metilenoindolina-2-ona 1a com cloreto de <i>N</i> -hidroxibenzimidoílo (4c)..... | 87 |

I-Introdução Teórica

1.1.CICLOADIÇÕES 1,3-DIPOLARES

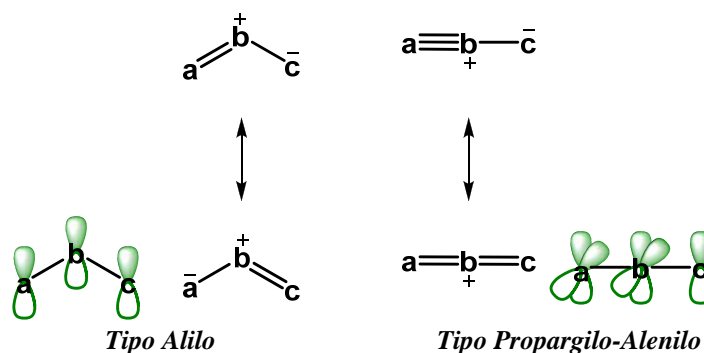
A adição de um dipolo 1,3 a um alceno com o intuito de se sintetizar heterociclos de cinco membros constitui uma reacção clássica em química orgânica [1]. As reacções de cicloadição são também de grande importância na geração estereoespecífica de novos centros quirais em moléculas orgânicas, devido ao seu carácter concertado [2].

Curtius em 1883 descobriu o primeiro composto diazo alifático - diazoacetato de etilo - e, embora nessa altura tenha descrito o grupo diazo como uma estrutura cíclica, corresponde ao primeiro dipolo 1,3 sintetizado descrito [3]. Cinco anos mais tarde o seu colaborador Buchner estudou a reacção deste composto diazo com ésteres α,β -insaturados, descrevendo a primeira reacção de cicloadição 1,3 [1]. Apesar de o interesse das adições 1,3-dipolares na síntese química ter sido sugerido por Smith em 1938, foi apenas após o meticuloso estudo levado a cabo por Huisgen na década de 60 que o seu uso se tornou generalizado.

As reacções de cicloadição 1,3-dipolar envolvem a reacção de um dipolarófilo (e.g. alcenos, alcinos, carbonilos e nitrilos) com um composto 1,3-dipolar [4].

1.1.1.Dipolo 1,3

O dipolo 1,3 consiste num sistema de quatro electrões π deslocalizados por três átomos. Podem ser classificados em dois tipos: tipo anião alilo e tipo anião propargilo-alenilo (Esquema 1.1.1).



Esquema 1.1.1- Classificação dos dipolos 1,3.

O *tipo anião alilo* é caracterizado por quatro electrões em três orbitais p_z paralelas entre si e perpendiculares ao plano do dipolo, fazendo com que estes apresentem uma geometria angular. Pode ser representado por quatro estruturas de ressonância, duas com os três centros detentores de octeto electrónico, nas quais a carga positiva se encontra localizada no átomo central e a carga negativa distribuída pelos dois átomos terminais; e as duas restantes com sexteto electrónico nos centros *a* ou *c*, em que dois dos quatro electrões π situam-se no átomo central [4]. A disposição em sexteto pouco contribui para a distribuição electrónica do híbrido de ressonância, mas ilustra a ambivalência de um dipolo 1,3 e que terá implicações no mecanismo, reactividade e regioquímica das cicloadições 1,3-dipolares.

Os dipolos 1,3 do *tipo anião propargilo-alenilo* possuem uma orbital π adicional localizada num plano ortogonal à orbital molecular do tipo anião alilo, fazendo com que não esteja directamente envolvida nas estruturas de ressonância e reacções do dipolo. Os dipolos 1,3 deste tipo são lineares [1].

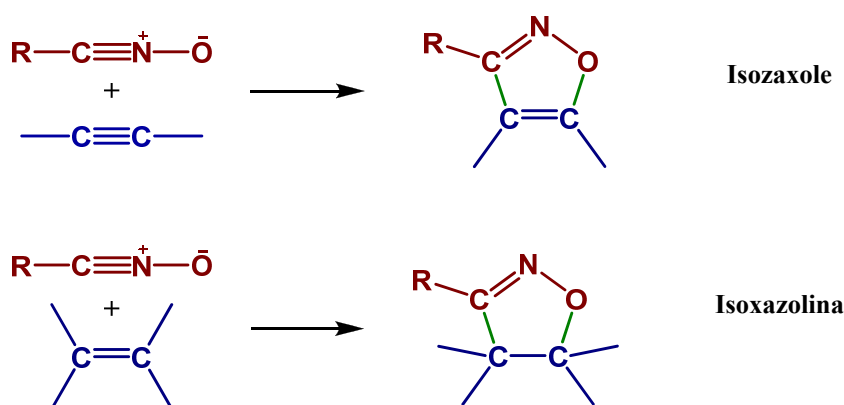
Para os dipolos do tipo alilo, o átomo central *b* pode ser um elemento do grupo 15 (e.g. N ou P) ou do grupo 16 (e.g. O ou S). Para o tipo propargilo-alenilo, o elemento *b* está restrito aos elementos do grupo 15, uma vez que só os elementos deste grupo podem sustentar uma carga positiva no estado tetravalente. Restringindo *a* e *c* a elementos do segundo período (C, N, O), podem ser formados seis dipolos do tipo propargilo-alenilo e doze do tipo alilo. É também possível a incorporação de elementos de períodos mais elevados, como o enxofre ou o fósforo, contudo tais dipolos não são frequentemente utilizados [4].

1.1.1.1. Óxidos de nitrilo

Apesar dos óxidos de nitrilo já serem conhecidos desde o final do século XIX, muito pouco se conhecia acerca do seu potencial uso sintético até 1946, quando Quilico *et al* começaram a estudar a formação de 1,2-oxazoles resultante das reacções entre estes dipolos e compostos insaturados. Este tipo de reacções só foi mais tarde classificado como cicloadição 1,3-dipolar por Huisgen e foi demonstrado ocorrer não apenas com olefinas e acetilenos, mas também com outros tipos de sistemas insaturados, abrindo assim, novas possibilidades na síntese de heterociclos. Outro factor

importante que contribuiu para a promoção do uso de óxidos de nitrilo como ferramenta em síntese orgânica foi o desenvolvimento de vários métodos para a sua geração *in situ* na presença de um dipolarófilo (Secção 1.2) [5].

Os óxidos de nitrilo (RCNO) são dipolos 1,3 altamente reactivos do tipo propargilo-alenilo. Dos heterociclos formados por cicloadição 1,3-dipolar com óxidos de nitrilo é de destacar a formação de isoxazoles e isoxazolininas por reacção com alcinos e alcenos, respectivamente (Esquema 1.1.2).



Esquema 1.1.2- Cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo com alcenos e alcinos.

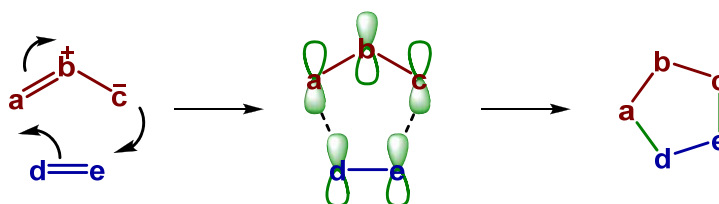
1.1.2. Dipolarófilo

O componente 2π das cicloadições 1,3-dipolares é normalmente designado de dipolarófilo e pode ser sensivelmente qualquer ligação dupla ou tripla, como $C\equiv C$, $C=C$, $C\equiv N$, $C=N$, $C=O$ e $C=S$. A ligação π pode ser única, fazer parte de um sistema conjugado ou ser $C=C=C$. Devido a esta diversidade de estruturas possíveis de dipolarófilos, as reacções de cicloadição 1,3-dipolar conferem uma grande versatilidade à síntese heterocíclica.

A presença de grupos electrodoadores ou electroattractores nos dipolarófilos tornam-nos mais reactivos com os dipolos 1,3. Contudo, estes ficam menos reactivos quando uma combinação dos dois tipos de substituintes surge na mesma molécula. Um segundo grupo electrotractor colocado numa posição simétrica no dipolarófilo ou a introdução de conjugação produz um efeito multiplicativo na velocidade da reacção [4].

1.1.3. Mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar

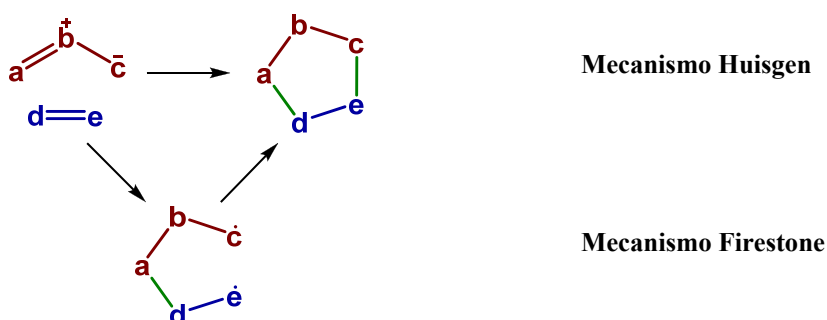
O processo de cicloadição pode ser representado através da passagem por um estado de transição de características aromáticas, no qual a componente electrónica 4π do dipolo interage com a componente electrónica 2π do dipolarófilo (Esquema 1.1.3). Se a reacção se proceder via mecanismo concertado será termicamente permitida com a descrição $[\pi 4_s + \pi 2_s]$ de acordo com as regras de Woodward-Hoffmann.



Esquema 1.1.3- Mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar.

1.1.3.1. Mecanismo Concertado vs Intermediário birradicalar

O mecanismo da cicloadição 1,3-dipolar foi sujeito a grande debate na década de 60. Um mecanismo concertado e sincronizado foi proposto por Huisgen, enquanto uma via birradicalar em etapas foi introduzida por Firestone (Esquema 1.1.4).

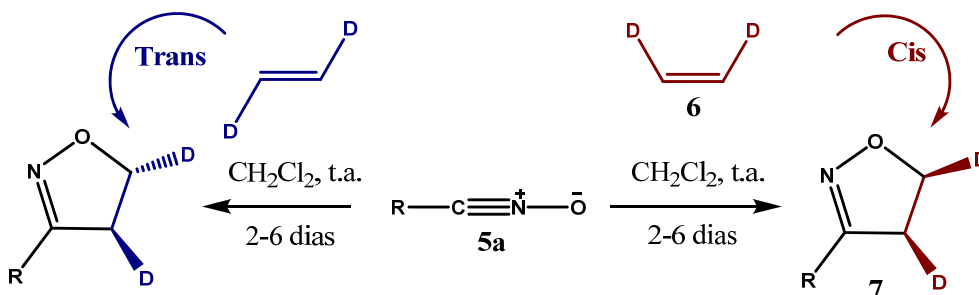


Esquema 1.1.4- Mecanismos propostos para as cicloadições 1,3-dipolares: concertado e birradicalar.

A proposta de Huisgen de um mecanismo concertado baseou-se em determinações cinéticas; na elevada entropia de activação negativa, que sugere uma necessidade de grande organização durante a cicloadição (alinhamento dos dois componentes para se formarem as duas ligações); na influência moderada da polaridade do solvente neste tipo de reacções (que exclui automaticamente um mecanismo por via iónica); no efeito dos substituintes e em resultados estereoquímicos [6-8].

Por sua vez Firestone baseou a sua teoria em determinados factos experimentais, tais como a pequena dependência deste tipo de reacções do solvente, alguns produtos secundários obtidos e considerações acerca dos factores que controlam a regioselectividade [9-11]. Segundo Firestone se o processo ocorresse num só passo, dever-se-ia observar um forte efeito de dependência inverso entre a polaridade do solvente e a velocidade reaccional, devido ao consumo do dipolo 1,3. Huisgen argumentou que a designação dipolo 1,3 não implica necessariamente um momento dipolar elevado, sendo essa polaridade mantida no estado de transição [7].

A evidência mais forte que suporta o mecanismo concertado é a natureza exclusivamente *cis* da adição, na qual as relações geométricas entre os constituintes nos dois reagentes são conservadas no produto. Num intermediário birradicalar a possibilidade de rotação da ligação terminal iria originar uma mistura de isómeros *cis* e *trans* [7]. Contudo, Firestone argumentou que no intermediário birradicalar a energia requerida para ocorrer rotação da ligação simples é maior que a energia de activação para o fecho do anel, justificando assim a estereoespecificidade *cis*. De modo a esclarecer este debate, Houk e colaboradores estudaram a especificidade da cicloadição 1,3-dipolar do óxido de *p*-nitrobenzonitrilo ao *cis* e *trans*-dideuterioetileno em cooperação com Firestone em 1985 (Esquema 1.1.5) [12]. A reacção do óxido de *p*-nitrobenzonitrilo **5a** com o *cis*-dideuterioetileno **6** formou exclusivamente a *cis*-isoxazolina **7** ($\geq 98\%$). Como a rotação de uma ligação simples de um centro radicalar primário dideuterado em birradicais é muito rápida em comparação à ciclização, esperar-se-ia a formação de aductos *cis* e *trans* num modelo reaccional com intermediário birradicalar. Os mesmos resultados foram obtidos para o *trans*-dideuterioetileno.



Esquema 1.1.5- Especificidade da cicloadição 1,3-dipolar do óxido de *p*-nitrobenzonitrilo ao *cis* e *trans*-dideuterioetileno. R= *p*-NO₂Ph.

Curiosamente após esta confirmação, Huisgen reportou o primeiro exemplo bem fundamentado de uma cicloadição 1,3-dipolar em etapas, envolvendo um intermediário [13].

Actualmente, a teoria mais universalmente aceite e aplicável à maioria das cicloadições 1,3-dipolares concerne o processo concertado, embora ocorra de um modo assíncrono, no qual a formação de uma das novas ligações σ ocorre mais rapidamente que a outra.

Em termos de orbitais moleculares, duas interacções π -HOMO-LUMO são responsáveis pelo estabelecimento de duas novas ligações σ . Um caso limite pode ser visualizado quando uma das interacções HOMO-LUMO é muito mais forte que a segunda. Assim, o segundo par HOMO-LUMO contribui tão pouco para a energia de ligação do estado de transição que não consegue superar os requisitos de elevada entropia inerentes ao processo concertado. Em consequência, um fluxo unilateral electrónico estabelece uma ligação entre os reagentes dando origem a um intermediário zwitteriónico. Para que tal ocorra há também necessidade de satisfação de uma segunda condição: grande impedimento estérico numa das extremidades do dipolo 1,3 [14].

1.1.4.Reactividade

A reactividade dos dipolos 1,3 com diferentes dipolarófilos varia imensamente e pode ser racionalizada em termos de orbitais moleculares de fronteira (OMF). Usando uma simplificação da teoria da perturbação de segunda ordem, é assumido que a interacção HOMO-LUMO determina a reactividade (Equação 1).

$$\Delta E \propto C_{\text{HOMO}}C_{\text{LUMO}}/(E_{\text{HOMO}}-E_{\text{LUMO}}) \quad \text{Equação 1}$$

Na equação 1, C_{HOMO} e C_{LUMO} são coeficientes das orbitais dos átomos que intervêm na HOMO e LUMO, respectivamente. O denominador desta expressão corresponde à diferença de energia entre a HOMO e a LUMO e indica que quanto mais semelhantes forem as energias das orbitais maior será a interacção. O numerador indica que se as orbitais forem da mesma simetria e se se sobrepuserem efectivamente, essa interacção será grande [15]. Assim, as reacções químicas ocorrerão na posição e na

direcção em que se verifique maximização da sobreposição da HOMO e da LUMO, de energias mais semelhantes, das espécies a reagir [16-18].

A presença de substituintes pode conduzir a um aumento ou diminuição da velocidade de reacção, consoante se verifique, respectivamente, uma diminuição ou um aumento da diferença energética das orbitais fronteira HOMO-LUMO. Substituintes electroattractores em ambos os reagentes diminuem o nível energético tanto da HOMO como da LUMO; substituintes electrodoadores aumentam a energia das duas orbitais fronteira, enquanto grupos conjugados aumentam a energia da HOMO, mas diminuem a energia da LUMO. A influência destes substituintes nos coeficientes das orbitais será discutida na regioselectividade.

As reacções serão favorecidas se um dos componentes for fortemente electrofilico e o outro for fortemente nucleofilico. Assim, a reactividade dos dipolos 1,3 irá diferir imensamente se o dipolarófilo for rico em electrões ou electro-deficiente e também irá depender do próprio dipolo, consoante a natureza deste ser electrofilica (e.g. ozono), nucleofilica (e.g. diazoalcanos) ou não ser particularmente nenhum dos dois casos (e.g. fenilazida) [4].

A presença de um ácido de Lewis na cicloadição 1,3-dipolar pode ter um efeito pronunciado na reactividade, pois estes podem alterar os coeficientes das orbitais, podendo diminuir a diferença energética entre a HOMO e a LUMO e, consequentemente aumentar a reactividade (Figura 1.1).

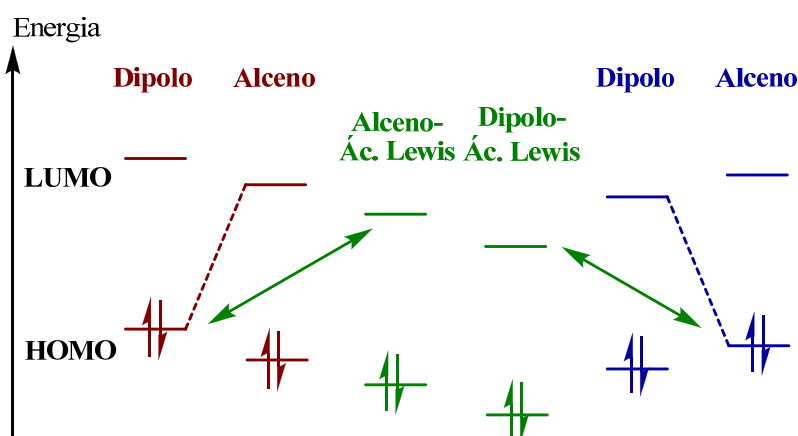


Figura 1.1- Efeito da presença de um ácido de Lewis na energia das orbitais fronteira.

Assim, a coordenação de um ácido de Lewis com um alceno, por exemplo, via um grupo carbonilo conjugado irá diminuir a energia das OMF relativamente ao alceno

não coordenado. A diminuição da energia da LUMO do alceno conduzirá a uma diminuição da diferença de energia entre a E_{HOMO} do dipolo e a E_{LUMO} do alceno e, conseqüentemente a reacção deverá ocorrer mais rapidamente. De um modo semelhante, a coordenação de um ácido de Lewis com o dipolo, irá diminuir a energia das OMF deste e, pelas mesmas razões acelerar a reacção [1].

1.1.4.1.Reactividade relativa de dipolarófilos com óxidos de nitrilo

Huigen e colaboradores, numa série de estudos, avaliaram a influência de diferentes substituintes olefinicos na cicloadição com óxido de benzonitrilo em éter etílico. Algumas ilações retiradas destes resultados foram: a reactividade do dipolarófilo é aumentada na presença de substituintes electrodoadores ou electroattractores; os efeitos conjugados parecem ser mais fortes que os indutivos; alcenos *trans* são mais reactivos que os correspondentes isómeros *cis*; 1,2-dissubstituição diminui a reactividade em maior extensão que a 1,1-substituição; em compostos cíclicos, a tensão do anel e os efeitos conformacionais afectam fortemente a reactividade dos dipolarófilos; em éteres alílicos e sistemas relacionados, a alteração para outros O-substituintes afecta pouco a reactividade; alcinos apresentam uma menor reactividade, com os substituintes a influenciarem de modo similar ao observado nos alcenos [19].

1.1.5.Regiosselectividade

A regiosselectividade das cicloadições 1,3-dipolares também pode ser explicada pela teoria das orbitais fronteira, uma vez que o estado de transição é controlado pelos coeficientes das orbitais fronteira dos substratos. Sustmann classificou estas cicloadições em três tipos, baseado na interacção das OMF dominante entre dipolo e dipolarófilo (Figura 1.2) [20]:

- **Tipo I.** A interacção das OMF dominante ocorre entre a LUMO do dipolarófilo e a HOMO do dipolo.

- **Tipo II.** A semelhança das energias das OMF implica que ambas as interacções HOMO-LUMO são importantes.

- **Tipo III.** A interacção entre a HOMO do dipolarófilo e a LUMO do dipolo constitui a interacção dominante das OMF.

As reacções de cicloadição 1,3-dipolares do tipo I são típicas para os dipolos iletos de azometina e iminas de azometina, enquanto as reacções que envolvem nitronas são normalmente classificadas como tipo II. As cicloadições que envolvem óxidos de nitrilo são também classificadas de tipo II, embora sejam mais correctamente classificadas como limítrofes do tipo III, uma vez que apresentam uma energia LUMO relativamente baixa. Exemplos de reacções de cicloadição do tipo III envolvem ozono ou óxido nitroso.

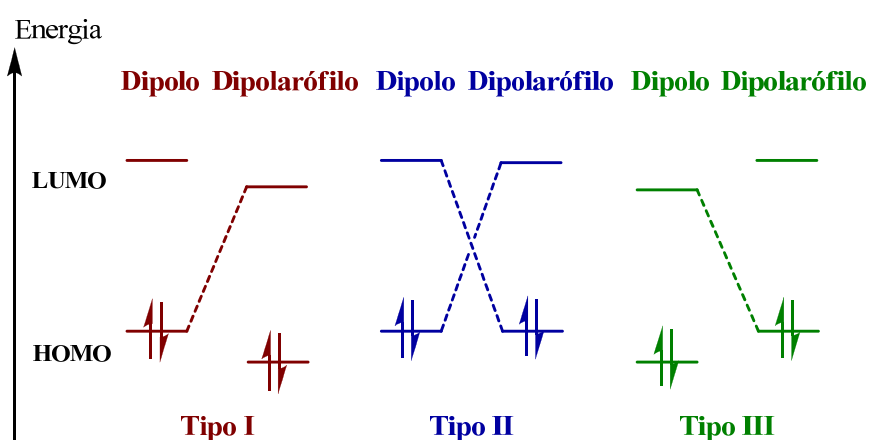


Figura 1.2- Classificação de Sustmann das cicloadições 1,3-dipolares.

Contudo, como já referido, a introdução de substituintes electrodoadores ou electroattractores no dipolo ou no dipolarófilo pode alterar significativamente as energias das OMF e, conseqüentemente o tipo de reacção, podendo fazer com que o dipolo 1,3 use a HOMO ou a LUMO consoante os substituintes do dipolarófilo (Tabela 1.1.) [21].

Uma vez identificada a interacção dominante das orbitais fronteira, a direcção mais favorável corresponderá à interacção dos dois átomos terminais detentores dos maiores coeficientes orbitales. Assim, na Figura 1.3a o estado de transição A é mais estável que o B. A contribuição dos substituintes do dipolarófilo nos coeficientes das orbitais de fronteira está esquematicamente representado na Figura 1.3b [22, 23].

Tabela 1.1- Possível efeito dos substituintes do dipolarófilo na regioselectividade.

| COM UM DIPOLARÓFILO RICO EM ELECTRÕES | COM UM DIPOLARÓFILO ELECTRO-DEFICIENTE |
|---------------------------------------|--|
| O dipolo usa a LUMO | O dipolo usa a HOMO |
| O dipolarófilo usa a HOMO | O dipolarófilo usa a LUMO |

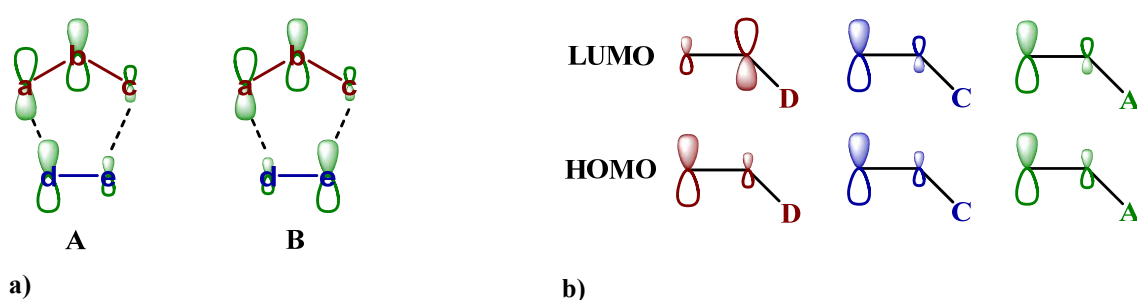
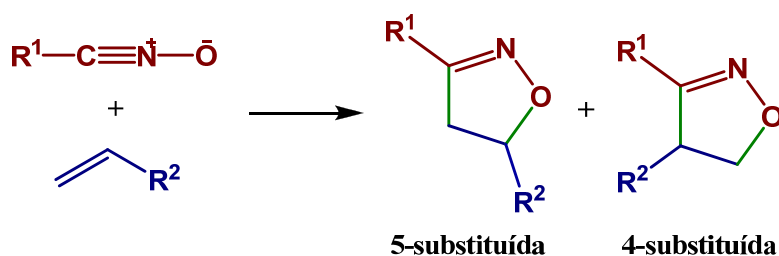


Figura 1.3- Influência dos substituintes nos coeficientes das OMF e, conseqüentemente, na regioselectividade. a) Estados de transição A e B; b) D: Electrodoador, C: Conjugado, A: Electroatractor

1.1.5.1.Regioselectividade das cicloadições 1,3-dipolares com óxidos de nitrilo

A cicloadição 1,3-dipolar de um óxido de nitrilo a um alceno monossustituído pode dar origem a dois regioisómeros, 2-isoxazolina 4- e/ou 5-sustituída, dependendo dos efeitos estéreos e electrónicos presentes (Esquema 1.1.6).

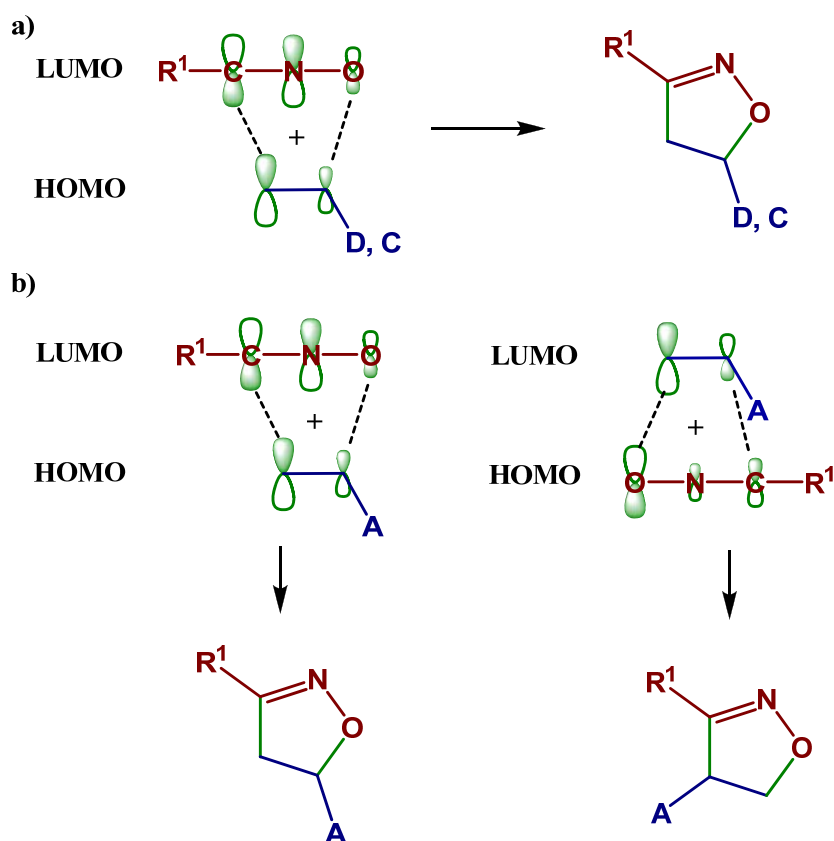


Esquema 1.1.6- Representação dos dois regioisómeros possíveis resultantes da cicloadição 1,3-dipolar.

Como já mencionado, dependendo do tipo de substituintes presentes no dipolarófilo, os dipolos 1,3 podem usar a HOMO ou a LUMO para estabelecerem as

novas ligações. A influência dos substituintes é particularmente importante nos óxidos de nitrilo, visto estes serem incluídos nas cicloadições 1,3-dipolares do tipo II na classificação de Sustmann.

A cicloadição de óxidos de nitrilo com alcenos monossustituídos ricos em electrões ou conjugados são dipolo-LUMO controlados, com o carbono do dipolo a estabelecer ligação com o carbono terminal do alceno, dando origem estereoespecificamente à isoxazolina 5-sustituída (Esquema 1.1.7a). No caso de alcenos monossustituídos electro-deficientes, tanto as interacções dipolo-HOMO como a dipolo-LUMO são significativas, resultando uma mistura de regioisómeros. Contudo, quando grupos fortemente electroattractores estão presentes, como o grupo sulfona, é favorecido a isoxazolina 4-sustituída (Esquema 1.1.7b). De um modo geral, nas reacções que envolvem alcenos monossustituídos, a alteração do substituinte do dipolo tem pouco efeito na regioselectividade.



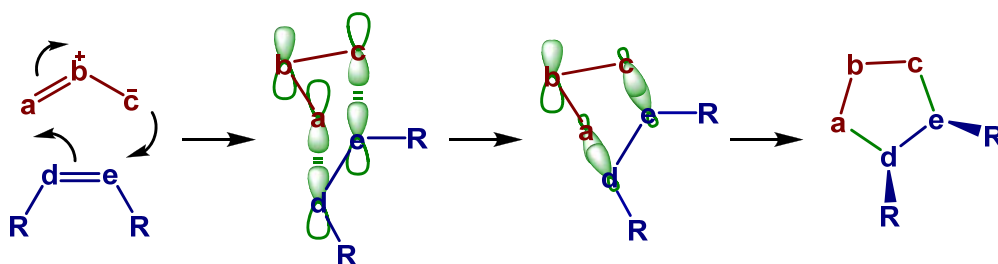
Esquema 1.1.7- Regioselectividade preferencial observada aquando da presença de **a)** grupos electrodoadores (D) ou conjugados (C) e **b)** grupos electroattractores (A).

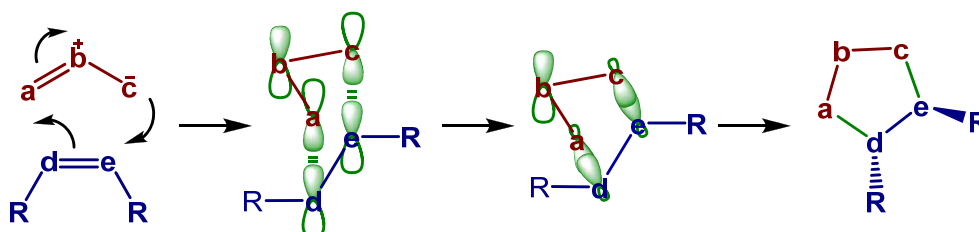
Para alcenos 1,1-dissubstituídos há uma preferência para o carbono mais substituído ficar na posição 5 no cicloaducto, ficando este ligado ao átomo de oxigénio do dipolo (controlo dipolo-LUMO da cicloadição) [4]. Nestes casos, esta elevada regioselectividade não parece depender do tipo de substituintes presentes no aleno [19]. Contudo, a presença de grupos fortemente electroattractores originam preferencialmente isoxazolinas 4-substituídas. Os efeitos estéreos e electroestáticos frequentemente contrapõem-se, contribuindo para a regioselectividade realmente observada, por vezes de difícil justificação tendo por base a teoria das OMF. Com alcenos trissubstituídos, a orientação da cicloadição é aparentemente dominada por este fenómeno. Contudo, a preferência continua a ser para o carbono mais substituído ficar na posição 5 do heterociclo final [4].

1.1.6. Estereoselectividade

As cicloadições 1,3-dipolares são estereoselectivas, mantendo-se a estereoquímica do dipolarófilo no aducto final, como consequência do mecanismo concertado da reacção (Esquema 1.1.8). Considerando que a reacção de cicloadição é significativamente mais rápida do que a isomerização do dipolo por rotação, verifica-se também uma estereoselectividade em relação ao dipolo [4]. Assim, quando dipolarófilos dissubstituídos reagem com dipolos 1,3, dois novos centros quirais podem ser formados de um modo estereoespecífico devido ao ataque *syn* dipolo-dipolarófilo. Consequentemente, a interacção dos dois componentes que intervêm nas cicloadições 1,3-dipolares é designada de suprafacial (a formação das novas ligações ocorre na mesma face em ambas as extremidades de cada componente).

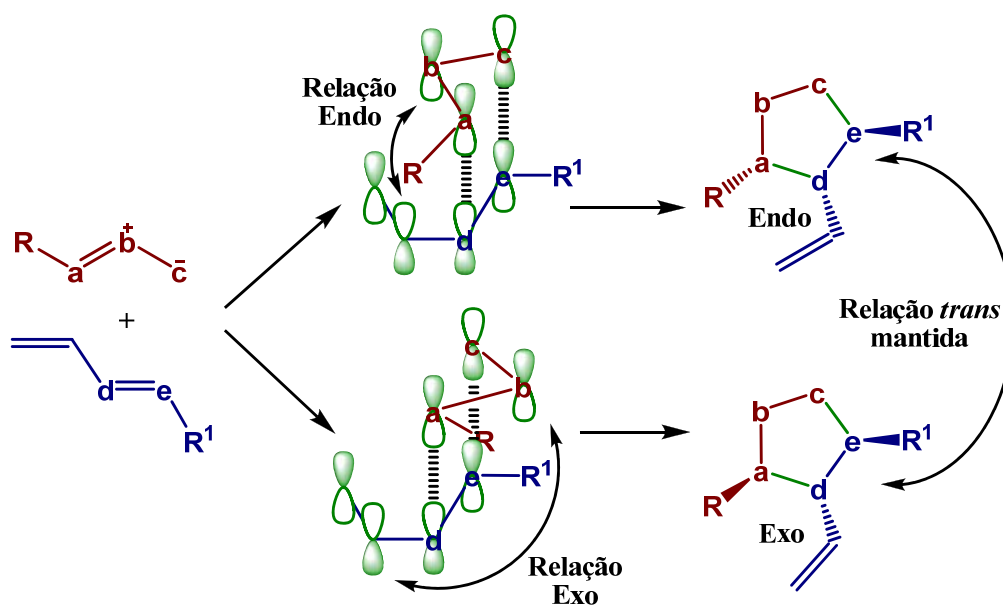
REACÇÃO COM *CIS*-DIPOLARÓFILOS



REACÇÃO COM *TRANS*-DIPOLARÓFILOS

Esquema 1.1.8- Estereosseletividade observada nas cicloadições 1,3-dipolares.

Adicionalmente, a formação de produtos diastereoméricos (*cis* e *trans*) pode ocorrer via estados de transição *endo* e *exo*, resultante do modo como o dipolo e o dipolarófilo se aproximam um do outro (Esquema 1.1.9). Interações de orbitais secundárias têm sido usadas para justificar este tipo de estereosseletividade das cicloadições 1,3-dipolares.

Esquema 1.1.9- Formação do cicloaducto *endo* e/ou *exo*.

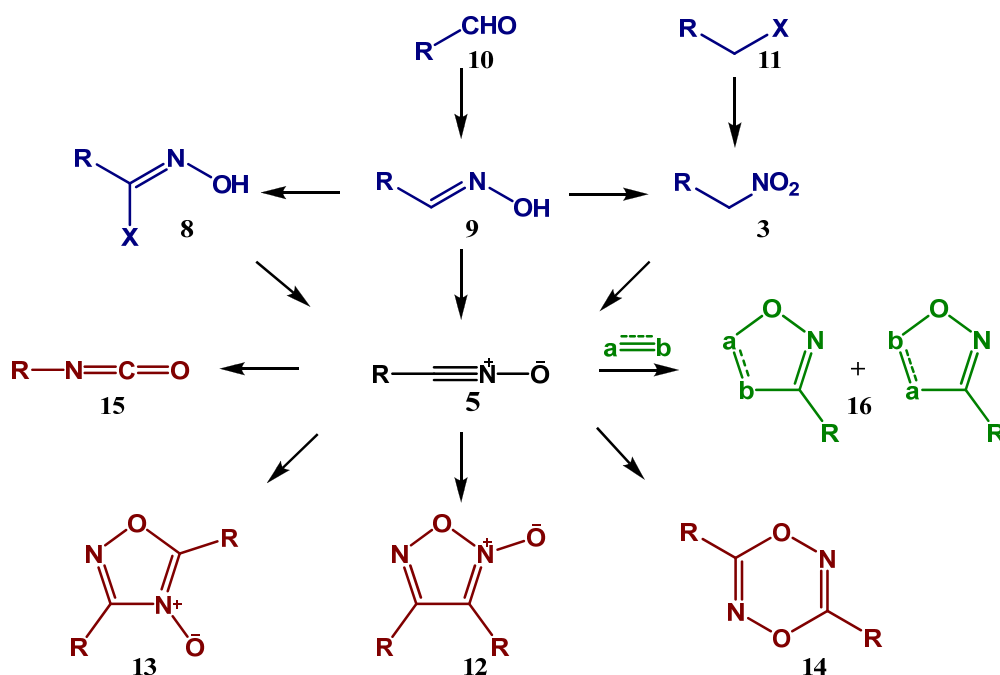
A extensão de formação de cada diastereómero depende primariamente de dois factores de características opostas: atração, resultante da sobreposição de orbitais π de substituintes insaturados que favorecem o estado de transição *endo*; repulsão, consequente de interações estéreas de Van der Waals que favorecem o estado de transição *exo*. Contudo a selectividade endo-exo é o produto da combinação de diversos factores, que incluem os efeitos do solvente, interações estéreas, pontes de hidrogénio e forças electrostáticas [4].

1.2.MÉTODOS DE GERAÇÃO DE ÓXIDOS DE NITRILÓ

Os óxidos de nitrilo (**5**) não são geralmente dipolos isoláveis, sendo normalmente preparados *in situ* na presença de dipolarófilos.

Existem duas vias principais para a preparação destes compostos: por desidrohalogenação de haletos de hidroximoilo (**8**) ou por desidratação de nitroalcanos primários (**3**). Os haletos de hidroximoilo são maioritariamente preparados a partir de oximas (**9**), que por sua vez são obtidas essencialmente a partir do aldeído (**10**) respectivo. Os nitroalcanos também podem ser obtidos a partir de oximas, mas são normalmente obtidos a partir do haleto alquílico (**11**) respectivo. Uma outra fonte menos importante de obtenção de óxidos de nitrilo corresponde à termólise de furoxanos.

Os óxidos de nitrilo têm tendência a dimerizar dando origem a furoxanos (**12**) ou em casos especiais dar origem a 1,2,4-oxadiazole-4-óxidos (**13**) ou 1,4,2,5-dioxadiazinas simétricas (**14**). Para evitar esta ocorrência, a geração do óxido de nitrilo é efectuada de um modo lento na presença do dipolarófilo. A temperaturas elevadas (110-140°C) os óxidos de nitrilo estáveis não dimerizáveis podem sofrer rearranjo, dando origem a isocianatos (**15**) (Esquema 1.2.1) [19, 24].



Esquema 1.2.1- Principais métodos de geração de óxidos de nitrilo e de dimerização.

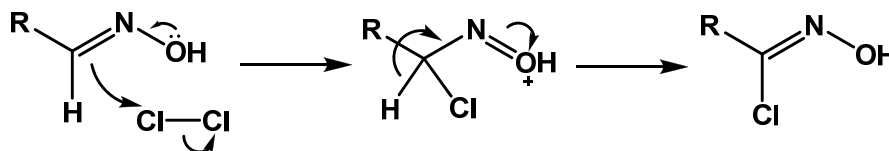
1.2.1. Formação a partir de Aldoximas

Os óxidos de nitrilo são obtidos a partir das oximas em dois passos: halogenação da aldoxima, dando origem ao haleto de hidroximoílo e subsequente desidrohalogenação por acção de uma base.

É possível combinar os dois passos numa só operação (operações “*one-pot*”), isolando-se, assim, apenas o cicloaducto. Contudo, para facilitar a análise do progresso da reacção e possibilitar o seu melhor controlo, pode ser vantajoso proceder-se ao isolamento e purificação do haleto de hidroximoílo [19]. Este método tanto pode ser aplicado para a geração de óxidos de nitrilo instáveis (na presença de um dipolarófilo) como na preparação de óxidos de nitrilo estáveis [24].

1.2.1.1. Halogenação de Oximas com formação do haleto de hidroximoílo

Os haletos de hidroximoílo são preparados por halogenação da respectiva aldoxima. Como agentes de halogenação têm sido usados: *N*-clorosuccinimida (NCS) (Tabela 1.2a), *N*-bromosuccinimida (NBS) [25, 26], cloro [27, 28], hipoclorito de sódio (NaOCl) [29-31], sistema ácido clorídrico/oxono (HCl/KHSO₅) [32], *tert*-butil hipoclorito (*t*-BuOCl) [30, 33-35], cloreto de nitrosilo (NOCl) [24], *N*-clorotosilamida de sódio (cloramina-T ou CAT) [36], ácido tricloroisocianúrico (TCCA) [37], *N*-(*t*-butil)-*N*-clorocianamida [38] e tetracloroiodato de benziltrimetilamónia (BTMA ICl₄) [39]. Um mecanismo plausível envolve a adição de Hal⁺, dando origem a um composto α -halonitroso, frequentemente observado como uma cor azul esverdeada transiente, como demonstrado para o caso do cloro no Esquema 1.2.2 [19].



Esquema 1.2.2- Mecanismo provável da reacção de halogenação de oximas pelo cloro.

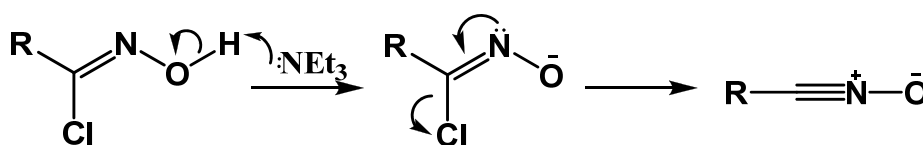
Em alternativa à halogenação de oximas, estão descritos métodos que envolvem a formação do haleto de hidroximoílo a partir da reacção de nitroalcanos ou nitroalcenos com tetracloreto de titânio (TiCl₄) [31, 40] ou a partir da reacção de β -nitrocetonas com

tetracloro de telúrio (TeCl_4) [19]. A reacção de β -nitroestirenos com reagentes de Grignard ou de organo-lítio também ocasionam a formação de clorooximas [19, 41, 42].

A formação de ésteres de clorooximidas (ROCOCCl=NOH) é conseguida a partir do cloridrato do éster da glicina na presença de ácido clorídrico e nitrito de sódio (Tabela 1.2b).

1.2.1.2.Desidrohalogenação dos haletos de hidroximoílo

O método mais frequentemente usado de desidrohalogenação envolve a adição lenta de uma base como a trietilamina ou piridina ao cloreto de hidroximoílo (Esquema 1.2.3).



Esquema 1.2.3- Mecanismo provável da reacção de desidrohalogenação por acção da trietilamina.

A geração lenta de óxidos de nitrilo também pode ser alcançada recorrendo a meios heterogéneos, e estão reportadas reacções deste tipo usando hidrogenocarbonato de potássio (KHCO_3), fluoretos de metais alcalinos [19] e alumina básica (Al_2O_3) [43].

Outros métodos de desidrohalogenação baseiam-se na utilização de compostos de organo-estanho, como o óxido de bistributilestanho $[(\text{SnBu})_2\text{O}]$ [34, 35, 44] ou tetrafenilestanho (SnPh_4) [34]; de organo-lítio, como o *n*-butillítio (*n*-BuLi) e reagentes de Grignard, como o brometo de etilmagnésio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{MgBr}$), via O-metalacção do cloreto de hidroximoílo (Tabela 1.2) [19, 24].

Quando estão presente grupos funcionais nos materiais de partida sensíveis a bases, há necessidade de recorrer a técnicas mais branda para a geração de óxidos de nitrilo. Como por exemplo, a termólise de cloretos de hidroximoílo em refluxo em tolueno sem adição de base, possibilita a obtenção de óxidos de nitrilo e subsequente formação do cicloadducto, sem formação de furoxanos. Neste método, o rendimento da reacção pode ainda ser aumentado se o ácido clorídrico gerado for removido por uma corrente de azoto [45]. Também está descrito o uso de sais de prata (I) ou o uso de

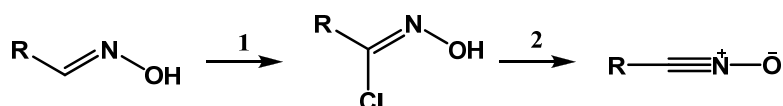
molecular sieves. Este último permite uma formação lenta dos óxidos de nitrilo e, embora os tempos reaccionais fiquem mais longos, acaba por dar origem a rendimentos elevados, com minimização da formação de furoxanos [19, 24].

1.2.1.3. Oxidação directa das oximas

Como alternativa aos métodos citados, estão descritos novos métodos de geração de óxidos de nitrilo que envolvem a oxidação directa das oximas pelos agentes oxidantes: acetato de mercúrio (II) [Hg(OAc)₂], dimetildioxirano (DMDO), nitrato de amónia cérica (CAN) [(NH₄)₂Ce(NO₃)₆], compostos de iodo hipervalentes e óxido de manganésio (IV) (MnO₂) [24].

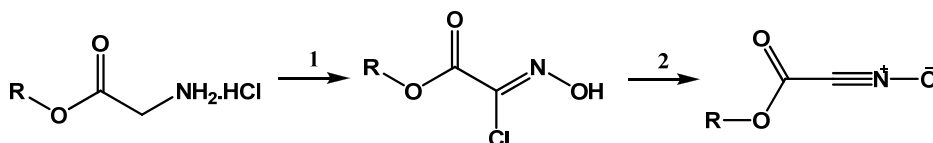
Tabela 1.2- Exemplos de condições experimentais para a síntese de cloretos de hidroximoilo, por halogenação com a) NCS; b) HCl, NaNO₂ e subsequente desidrohalogenação.

a)



| Condições Reaccionais | | Ref. |
|---|---|------------------|
| 1 | 2 | |
| NCS/ DMF | n.a. | [46] |
| NCS/ DMF | (Bu ₃ Sn) ₂ O ou Et ₃ N/ Benzeno, CH ₂ Cl ₂ ou CHCl ₃ | [44, 47] |
| NCS, Piridina/ CHCl ₃ ou CH ₂ Cl ₂ | Et ₃ N, NaHCO ₃ , Tetrametilpiperidina ou sem base | [29, 33, 48, 49] |
| NCS, Piridina/ CHCl ₃ | n.a. | [50, 51] |
| 1°-NCS/ CHCl ₃ ; 2°-KHCO ₃ | | [52] |
| 1°-NCS, HCl conc./ AcOEt; 2°-Na ₂ CO ₃ (aq.) | | [53] |
| NCS, Et ₃ N ou (tBu ₃ Sn) ₂ O/ CH ₂ Cl ₂ | | [30] |

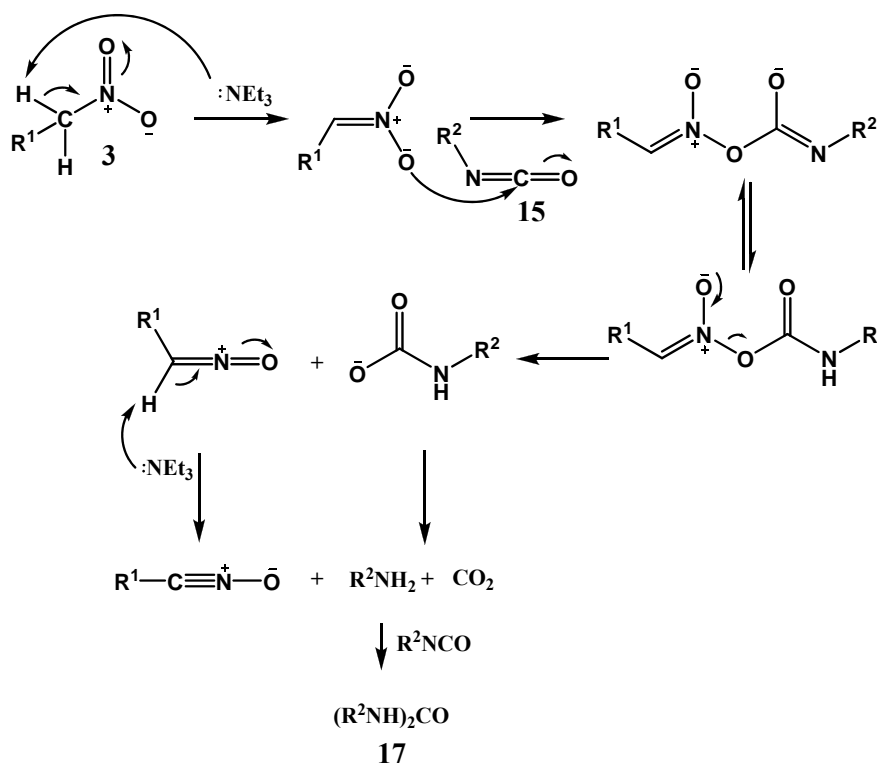
b)



| Condições Reaccionais | | Ref. |
|---|---|------|
| 1 | 2 | |
| HCl, NaNO ₂ | Et ₃ N/ Éter | [54] |
| HCl, NaNO ₂ / H ₂ O, MeOH | Na ₂ CO ₃ / H ₂ O, Éter | [55] |
| HCl, NaNO ₂ / H ₂ O | Et ₃ N ou Na ₂ CO ₃ aq./ Éter | [56] |
| HCl, NaNO ₂ / H ₂ O | Et ₃ N/ Et ₂ O ou KHCO ₃ / Líquido iónico [bmin][BF ₄] | [57] |
| n.d. | Et ₃ N/ CH ₂ Cl ₂ | [58] |
| HCl, NaNO ₂ / H ₂ O | (SnBu ₃) ₂ O/ Benzeno SnPh ₄ / Benzeno | [34] |

1.2.2.Desidratação de Nitroalcanos

Um dos métodos mais usado para a desidratação de nitroalcanos primários, introduzido em 1960 por Mukaiyama e Hoshino, envolve o seu tratamento com fenilisocianato (**15a**, R²=Ph) e Et₃N (Esquema 1.2.4). Embora de ampla aplicação, este método apresenta algumas limitações: a formação de *N,N'*-difenilureia (**17**) como produto secundário pode, por vezes, dificultar a purificação do cicloadducto; a reacção normalmente requer temperaturas elevadas e/ou tempos reaccionais longos e o uso de isocianatos é incompatível quando a reacção envolve compostos com grupos hidroxilos livres. Para contornar o problema da purificação, diisocianatos, tais como o 1,4-fenileno diisocianato, o tolueno 2,4-diisocianato (2,4-TDI) ou o 4,4'-metilenobis(fenilisocianato) (4,4'-MDI) são, por vezes, utilizados como agentes desidratantes. Nestes casos, como produto secundário, obtém-se uma ureia de natureza polimérica insolúvel na mistura reaccional e, conseqüentemente, de fácil remoção por filtração [59].



Esquema 1.2.4- Mecanismo provável de desidratação de nitroalcanos por acção de isocianatos.

Shimizu *et al.* introduziram, como agentes desidratantes alternativos, o cloroformato de etilo (ClCO₂Et) e o cloreto benzenossulfonilo (PhSO₂Cl) na presença de trietilamina, com formação de produtos secundários hidrossolúveis e, portanto, de

fácil remoção. Contudo, devido ao facto da reacção com o primeiro normalmente requerer aquecimento e, por vezes, dar origem a cicloadductos com baixo rendimento, Hassner e colaboradores, utilizaram a 4-dimetilaminopiridina (DMAP) em alternativa à trietilamina em condições mais brandas. Reportaram também que, quando o cloroformato de etilo é substituído por dicarbonato de di-*terc*-butilo (Boc_2O), substratos com grupos amina e hidroxilos livres podem ser usados sem protecção prévia, produzindo compostos protegidos com *N*- ou *O-terc*-butoxicarbonilos (Boc). Neste método os produtos secundários também são facilmente separáveis dos cicloadductos. Este método de geração de óxidos de nitrilo à temperatura ambiente ($\text{Boc}_2\text{O}/\text{DMAP}$) ganhou rapidamente popularidade e actualmente é um dos mais usados [19].

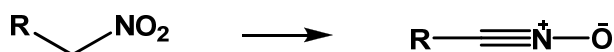
Outros agentes desidratantes usados são o trifluoreto de dimetilaminoenxofre (DAST), *N*-(trietilamoniosulfonil)carbamato de metilo (sal Burgess), anidrido acético (Ac_2O), cloreto de oxalilo [COCl_2], cloreto de tionilo (SOCl_2) e cloreto de fosforilo (POCl_3), cada um em combinação com trietilamina. Estão também descritos o recurso a cloreto de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina-2-il)-4-metilmorfolina (DMTMM), cloreto de *p*-toluenossulfonilo (TsCl), ácido *p*-toluenossulfónico (TsOH), cloreto de acetilo (CH_3COCl), cloreto de benzoílo (PhCOCl) e acetato de manganésio (III) [$\text{Mn}(\text{OAc})_3$] [19, 24, 59].

Alguns compostos nitro primários são activados por substituintes electroattractores na posição vicinal como o acetilnitrometano, benzoilnitrometano, nitroacetato de etilo e o nitro(fenilsulfonil)metano e podem ser desidratados por acção de amins terciárias como o 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano (DABCO) e o 1-metilimidazole (1-NMI) [24] (Tabela 1.3).

Os óxidos de nitrilo podem também ser gerados por termólise de compostos nitro ou nitro-derivados [60, 61]. Como por exemplo, o óxido de formonitrilo pode ser formado a partir da termólise do nitroacetato de etilo. A termólise de ácidos nítróxicos também produz óxidos de nitrilo [19, 62].

Outros métodos de geração de óxidos de nitrilo estão reportados. É de salientar a reacção de alguns alcinos terminais com ácido nítrico em nitrometano aquoso, na presença de quantidades catalíticas de tetracloroaurato de tetrabutylamónia ($\text{TBA}^+\text{AuCl}_4^-$). Nesta reacção, o mesmo material de partida funciona como precursor do óxido de nitrilo gerado *in situ* e como dipolarófilo para a subsequente cicloadição 1,3-dipolar [63].

Tabela 1.3- Exemplos de condições experimentais para a geração de óxidos de nitrilo a partir de compostos nitro.



| Ag. Desidratante | Condições Experimentais | | Ref. |
|--|---|---|--------------|
| | Base | Solvente | |
| PhNCO | Et ₃ N | Benzeno, DMF, Tolueno, THF, Éter ou CH ₂ Cl ₂ | [64-71] |
| <i>p</i> -ClPhNCO | Et ₃ N | Benzeno | [72-74] |
| 1,4-NCOPh | Et ₃ N | THF, CH ₂ Cl ₂ ou Benzeno | [75, 76] |
| 2,4-TDI | Et ₃ N | CH ₂ Cl ₂ | [77] |
| 4,4-MDI | Et ₃ N | Tolueno | [78] |
| ClCO ₂ Et | Et ₃ N | Benzeno | [79] |
| ClCO ₂ Et | Et ₃ N e DMAP | Tolueno | [71] |
| PhSO ₂ Cl | Et ₃ N | CHCl ₃ | [79] |
| BOC ₂ O | DMAP | Tolueno, CH ₃ CN ou CHCl ₃ | [71, 80-82] |
| POCl ₃ | Et ₃ N | CHCl ₃ | [65, 74, 83] |
| BURGESS | Et ₃ N | Tolueno | [74] |
| DAST | Et ₃ N | THF | [74] |
| AC ₂ O | Et ₃ N e DMAP | CH ₂ Cl ₂ | [74] |
| (COCl) ₂ | Et ₃ N | CH ₂ Cl ₂ | [74] |
| DMTMM | DMAP | CH ₃ CN | [84] |
| TsOH | n.a. | Mesitileno ou Xileno | [85] |
| TsCl | K ₂ CO ₃ / 18-crown-6 | Tolueno | [86] |
| Mn(OAc) ₃ .2H ₂ O | n.a. | CH ₃ COOH | [87] |
| CH ₃ COCl ou PhCOCl | CH ₃ ONa | DMA | [88, 89] |
| SOCl ₂ | Et ₃ N | CH ₂ Cl ₂ | [90] |
| DABCO ou 1-NMI | | CHCl ₃ ou EtOH | [91, 92] |
| DIEA, DABCO, K ₂ CO ₃ ou Et ₃ N | | CH ₃ CN ou EtOH | [93, 94] |

1.2.3. Termólise de Furoxanos

Como já referido, na ausência de um dipolarófilo, os óxidos de nitrilo normalmente dimerizam originando furoxanos (1,2,5-oxadiazole-2-óxidos). Embora inicialmente esta reacção tenha sido considerada como irreversível, a regeneração de certos óxidos de nitrilo é possível através de ciclo-reversão termolítica. Contudo existem algumas limitações que impedem a generalização deste método, nomeadamente o rearranjo de certos óxidos de nitrilo a isocianatos a altas temperaturas e a presença de grupos termossensíveis na molécula.

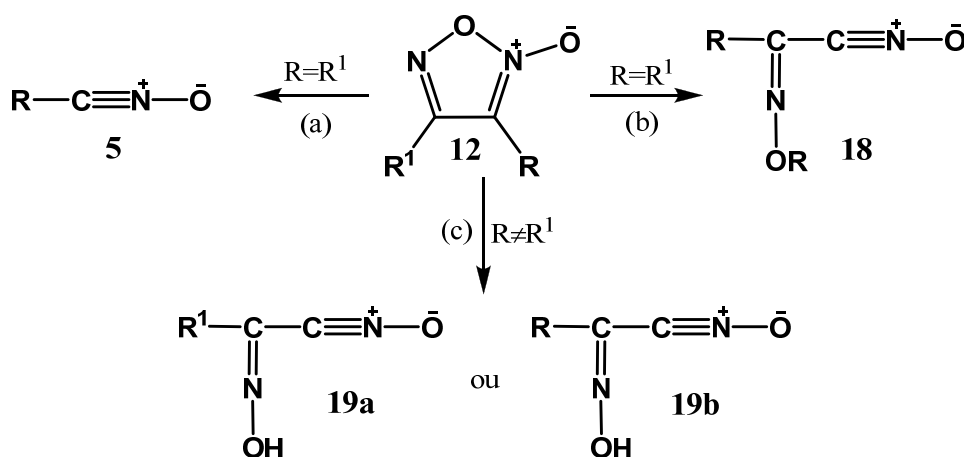
Já foram reportados três tipos de reacções quando furoxanos são submetidos a termólise (Esquema 1.2.5):

(a) Ciclo-reversão, dando origem a duas moles de óxido de nitrilo;

- (b) Interconversão, com formação de um óxido de nitrilo rearranjado;
- (c) Clivagem do anel com concomitante fragmentação, originando óxidos de nitrilo.

O tipo de reacção observado depende sobretudo da natureza dos substituintes. A reacção (a) ocorre quando o grupo R é um alquilo, arilo ou arilsulfonilo, e apenas furoxanos tensos e furoxanos com substituintes volumosos são revertidos a óxidos de nitrilo (5) a temperaturas moderadas. Nas reacções tipo (b) ocorre cisão da ligação N-O do anel oxadiazole com migração de um grupo R. Este tipo de reacção é observado, por exemplo, em alguns 3,4-diacilfuroxanos, dando origem à formação de óxidos de α -aciloximinonitrilos (18). Contudo, dependendo da natureza do grupo acilo, a termólise de 3,4-diacilfuroxanos pode também ocorrer via (a). O tipo de clivagem (c) pode ocorrer quando certos furoxanos contendo diferentes substituintes na posição 3 e 4 do anel são sujeitos a termólise, com formação de uma mistura de α -hidroximinonitrilos (19a,b) [19, 24].

A ciclo-reversão com formação de óxidos de nitrilo também pode ocorrer em outros heterociclos de cinco membros, como em isoxazolinias, 1,2,4-oxadiazoles e furazanos [24].



Esquema 1.2.5- Termólise de Furoxanos.

A fotólise de furoxanos, bem como de nitroetilenos 1,2-diaril substituídos pode também originar óxidos de nitrilo [24].

1.3.SPIRO-OXINDOLES

Os compostos contendo a unidade spiro-oxindole representam alvos de síntese atractivos, devido a serem detentores de um perfil de bioactividade elevado e, conseqüentemente, de potencial aplicação em química medicinal [95]. Vários compostos detentores deste núcleo já foram sintetizados com actividade biológica (Figura 1.4) [96-104]. Dos vários spiro-oxindoles descritos na literatura [96-114], irão ser abordados apenas os detentores do núcleo spiro[oxindole-isoxazolina], como os compostos sintetizados neste trabalho, e os spiro[oxindole-3,3'-pirrolidina], cuja actividade biológica inspirou a sua síntese. Serão abordados também apenas as suas sínteses por cicloadição 1,3-dipolar.

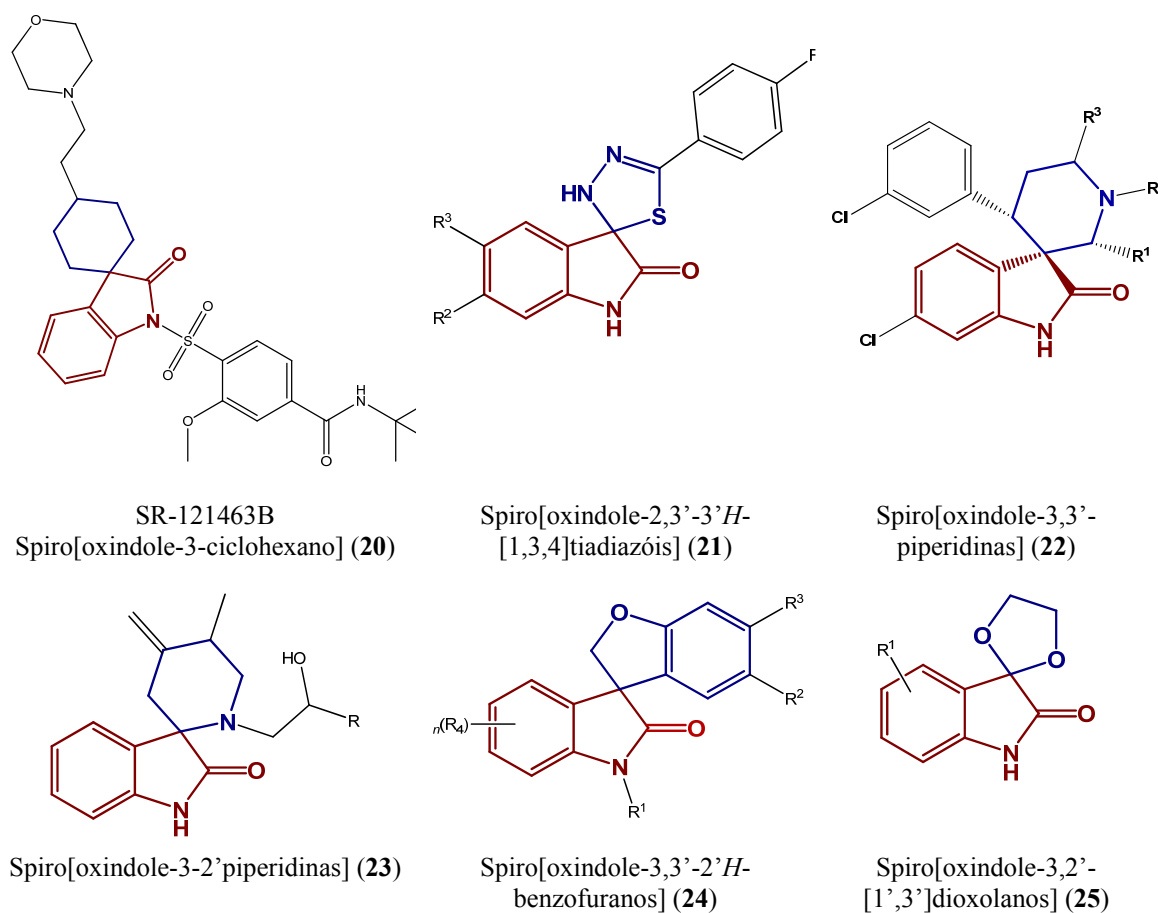


Figura 1.4- Exemplos de spiro-oxindoles com actividade biológica. **20-** Antagonista V₂R; **21-** Inibidores da ADAMTS-5 (agrecanase-2); **22-** Inibidores da interacção p53-MDM2, **23-** Inibidores da protease do HIV; **24-** Bloqueadores dos canais de cálcio; **25-** Acção anticonvulsiva.

1.3.1.Spiro[oxindole-3,3'-pirrolidinas]

Os spiro-oxindoles mais intensamente estudados contêm o núcleo spiro[oxindole-3,3'-pirrolidina]. O seu interesse surgiu após o isolamento de diversos alcalóides naturais contendo esta unidade e detentores de actividade biológica significativa [115, 116]. Por exemplo, as spirotriptostatinas A e B inibem a progressão do ciclo celular na fase G2/M em células de mamífero tsFT210 [117]; a stricnofolina inibe a mitose em várias linhas celulares [116] e a pteropodina e o seu isómero isopteridina apresentam uma acção modeladora dos receptores muscarínicos (M_1) e serotoninérgicos (5-HT₂) em ratos [118].

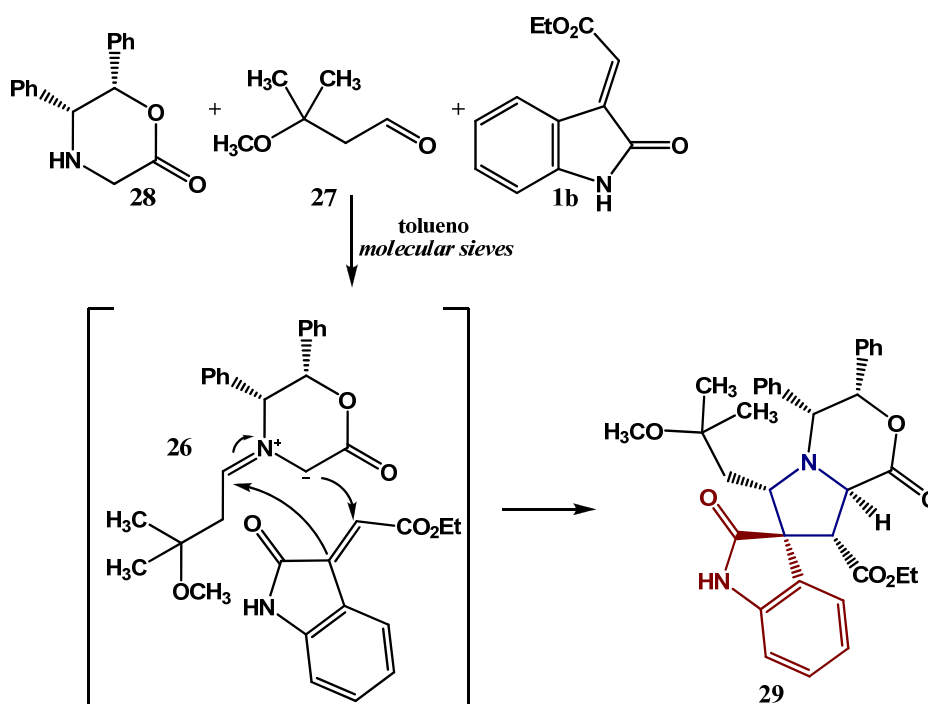
Com base nos compostos naturais isolados, várias estratégias surgiram para a síntese de análogos com potencial biológico. Vários métodos encontram-se reportados, como por exemplo, envolvendo: reacções de Mannich intramoleculares; sequências de rearranjos oxidativos; reacções de ciclização radicalar; reacções de Heck intramoleculares; reacções de nitro-olefinação; rearranjos de 3-[(aziridina-1-il)(metiltio)-metileno]-2-oxindoles, reacções de expansão do anel catalisadas por iodeto de magnésio e cicloadições 1,3-dipolares [115, 116].

1.3.1.1.Spiro[oxindole-3,3'-pirrolidinas], obtidas via cicloadição 1,3-dipolar

Grigg *et al* foram os primeiros a sintetizar o esqueleto spiro[oxindole-3,3'-pirrolidina] através de uma cicloadição 1,3-dipolar. Os autores reportaram que aminoácidos *N*-substituídos e α,α -dissubstituídos reagem com compostos carbonílicos, originando haletos de azometina (dipolo 1,3) por transaminação descarboxilativa. Este método de geração de haletos de azometina *in situ*, a partir de diversos precursores, e subsequente cicloadição 1,3-dipolar com dipolarófilos derivados da 3-metileno indolina-2-ona, encontra-se presente na síntese de diversos compostos contendo o núcleo spiro[oxindole-3,3'-pirrolidina] [115].

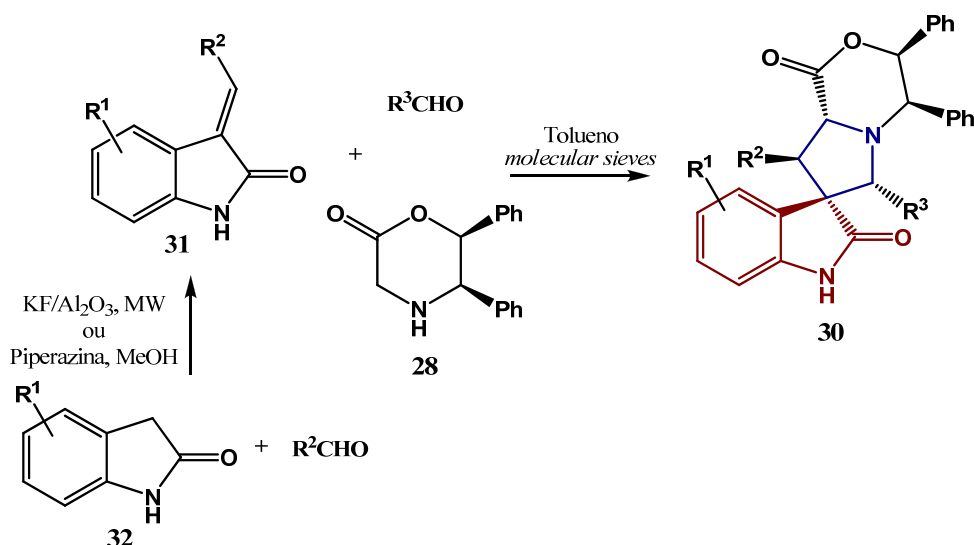
Este método também foi aplicado na síntese de alcalóides naturais contendo este cicloducto spiro. Por exemplo, para a síntese de spirotriptostatina B, Williams *et al* utilizaram um haleto de azometina quiral **26**, preparado *in situ* por reacção entre 3-metoxi-3-metil-1-butanal (**27**) e 5,6-difenilmorfolina-2-ona (**28**). A reacção deste dipolo

com a 3-metileno indolina-2-ona **1b** originou o cicloadducto **29**, completando-se a síntese do alcalóide em sete passos adicionais (Esquema 1.3.1) [119, 120].



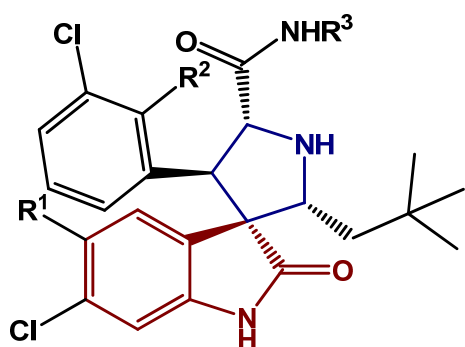
Esquema 1.3.1- Passo de cicloadição 1,3-dipolar na síntese de spirotriprostatina B proposta por Williams *et al.*

Tendo em consideração as propriedades anticancerígenas de vários alcalóides naturais como as spirotriprostatinas, Wang *et al.*, através de estudos de modelação, identificaram o núcleo spiro[oxindole-3,3'-pirrolidina] como o ponto de partida para o design de uma nova classe de inibidores da interacção entre o supressor p53 e a sua proteína reguladora MDM2. Como esta interacção envolve primariamente quatro resíduos hidrofóbicos (Phe-19, Trp-23, Leu-22 e Leu-26) da p53, o oxindole pode mimetizar a cadeia lateral do triptofano (interacção mais crítica) e o anel spiro-pirrolidina fornecer uma estrutura rígida da qual podem ser projectados grupos hidrofóbicos com o intuito de mimetizarem as cadeias laterais dos outros três resíduos [121-123]. Os autores basearam-se na cicloadição 1,3-dipolar assimétrica descrita por Williams para obterem o núcleo spiro-oxindole **30**. Assim, os derivados *E*-aromáticos da 3-metileno indolina-2-ona **31** foram sintetizados por condensação das indolinas-2-onas **32** com diferentes aldeídos aromáticos sob condições básicas em micro-ondas ou em refluxo em metanol. A cicloadição 1,3-dipolar assimétrica foi conseguida por aquecimento com aldeídos alquílicos e (5R,6S)-5,6-difenilmorfolina-2-ona (**28**) em tolueno na presença de um agente desidratante (Esquema 1.3.2) [124].



Esquema 1.3.2- Síntese do núcleo spiro-oxindole por Wang *et al.*

Vários compostos inibidores da interacção p53-MDM2 foram sintetizadas por este grupo de trabalho, sendo os mais activos os compostos MI-63, MI-147 e MI-219, apresentando os dois últimos um perfil farmacocinético melhorado (Figura 1.3.2) [125, 126].



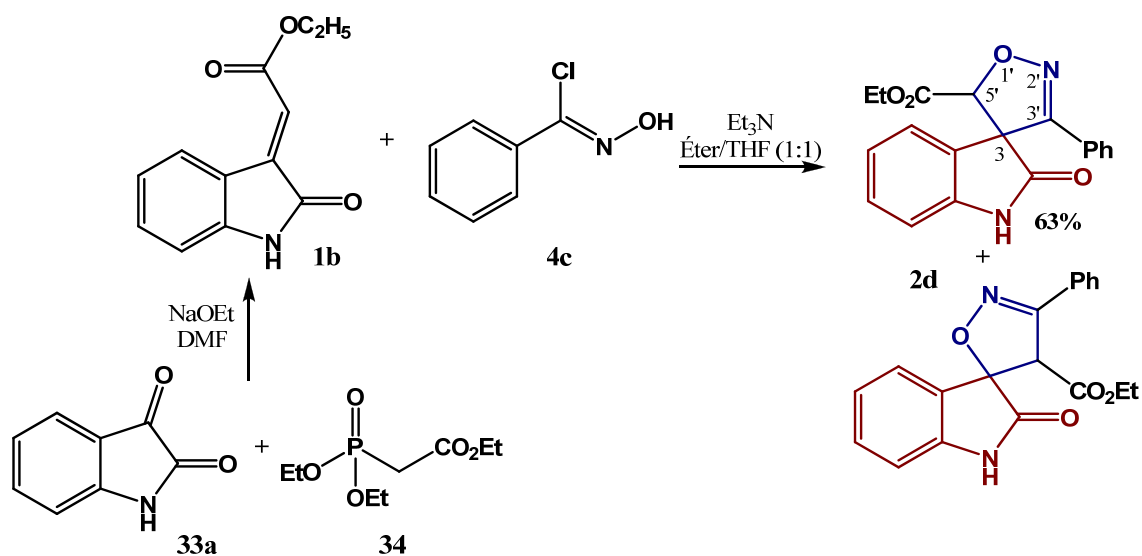
MI-63 ($\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{F}$; $\text{R}^3 = 3$ -morfolinopropano)
 MI-147 ($\text{R}^1 = \text{H}$, $\text{R}^2 = \text{F}$; $\text{R}^3 = (S)$ -butano-3,4-diol)
 MI-219 ($\text{R}^1 = \text{F}$, $\text{R}^2 = \text{H}$; $\text{R}^3 = (S)$ -butano-3,4-diol)

Figura 1.5- Inibidores da interacção p53-MDM2.

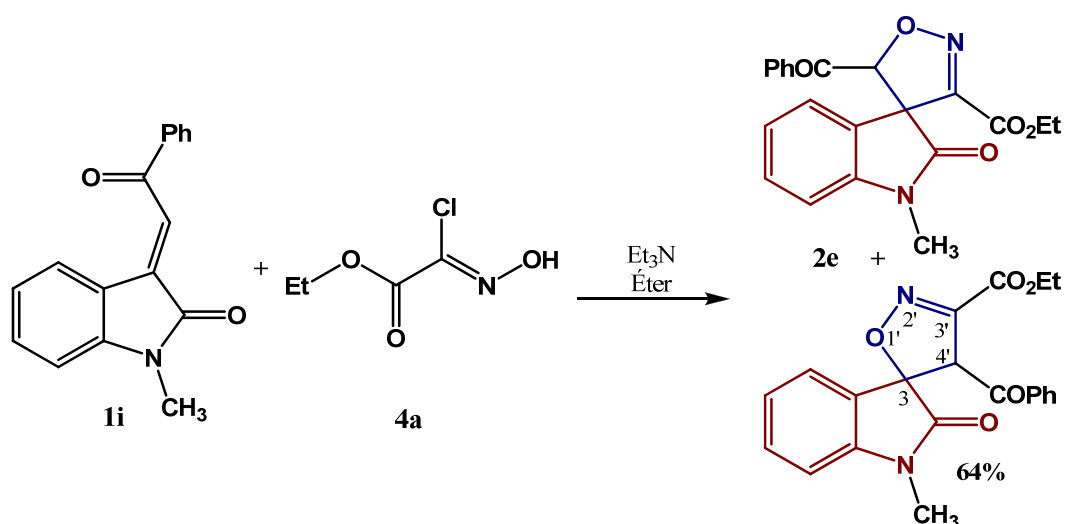
1.3.2.Spiro[oxindole-isoxazolinás]

Na literatura, este tipo de spiro-oxindoles apenas aparece mencionado em dois artigos, publicados em 1978 por Franke [127] e em 1996 por El-Ahl [128]. Franke sintetizou a 3-metileno indolina-2-ona **1b** por reacção da indolina-2,3-diona (**33a**) com 2-(dietoxifosforil)acetato de etilo (**34**). A cicloadição 1,3-dipolar foi alcançada por desidrohalogenação do cloreto de *N*-hidrobenzimidóilo (**4c**) por acção da trietilamina, com formação *in situ* do óxido de nitrilo respectivo, e subsequente reacção com o

composto **1b** (Esquema 1.3.3). O isômero spiro[oxindole-3,4'-isoxazolina] foi obtido com rendimento de 63%. El-Ahl obteve o composto spiro[oxindole-isoxazolina] **2e** por cicloadição 1,3-dipolar da 3-metileno indolina-2-ona **1i** com o dipolo 1,3 formado *in situ* por desidrohalogenação do cloroacetato de etilo (**4a**) na presença da trietilamina (Esquema 1.3.4). O isômero spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] foi obtido com rendimento de 64%. Estes dois compostos sintetizados não foram biologicamente avaliados.



Esquema 1.3.3- Síntese de um derivado spiro[oxindole-isoxazolina] por El-Ahl.

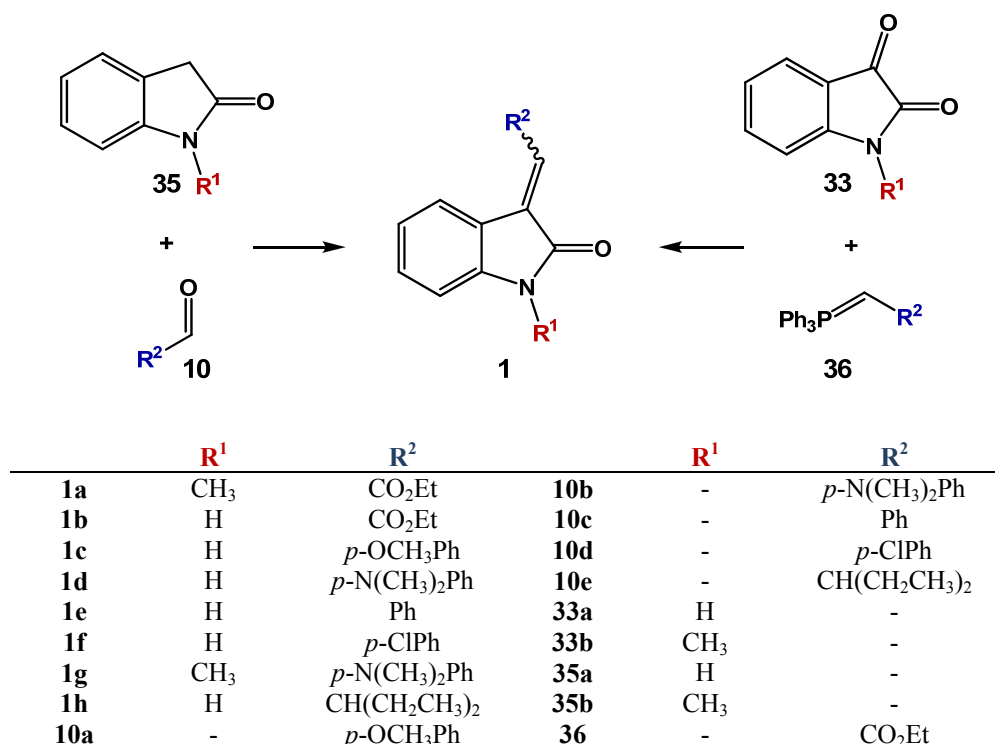


Esquema 1.3.4- Síntese de um derivado spiro[oxindole-isoxazolina] por Franke.

II-Discussão de Resultados

2.1. Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (1a,c-h)

As 3-metileno indolina-2-onas **1a,c-h** foram preparadas por dois métodos diferentes. O primeiro método envolveu a condensação de indolina-2-onas **35a-b** com diferentes aldeídos **10a-e** na presença de piperidina e o segundo método utilizou como materiais de partida a *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) e o etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosforano (**36**) (Esquema 2.1).



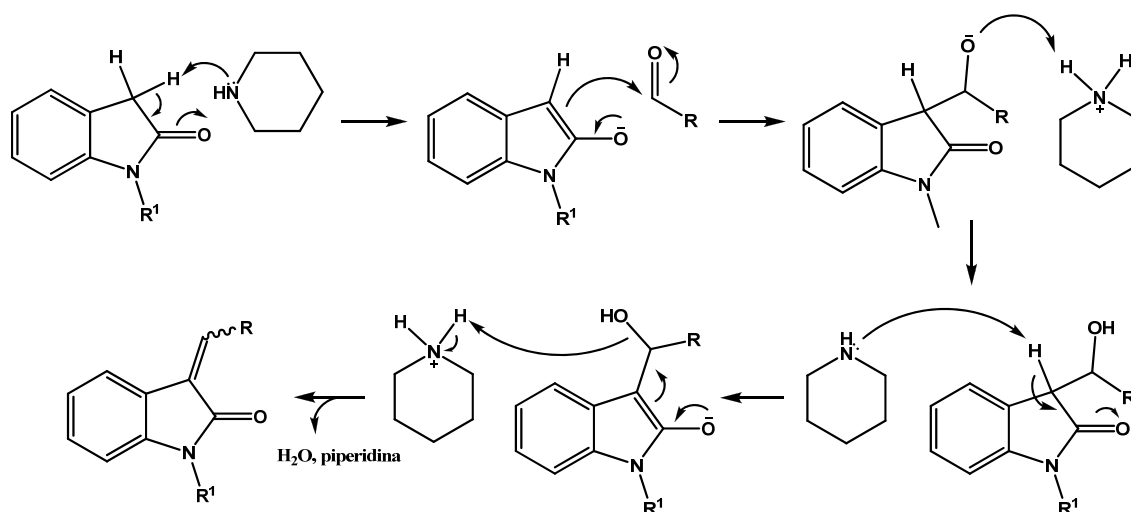
Esquema 2.1- Síntese de 3-metileno indolina-2-onas.

2.1.1. Condensação de indolina-2-onas (35a-b) com aldeídos (10a-e). Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (1c-h)

A síntese dos compostos **1c-h** foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por Sun *et al* [129] que consiste na condensação de indolina-2-onas (1.0 eq.) com aldeídos (1.2 eq.) em etanol (3-5 h, refluxo), na presença de piperidina.

Esta reacção corresponde a uma condensação aldólica, designada por vezes, de reacção de Knoevenagel. Por remoção de um H⁺ pela amina, gera-se o anião enolato que reage com o carbonilo do aldeído. A remoção de um segundo protão promove

novamente a formação do anião enolato que, por desidratação, dá origem ao composto insaturado final (Esquema 2.2) [21].

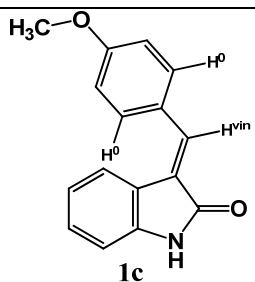
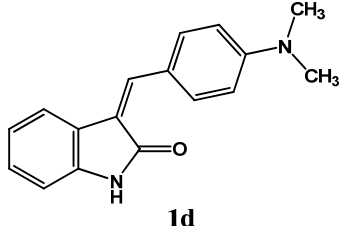
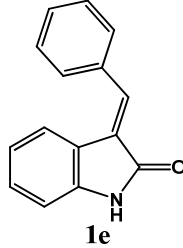
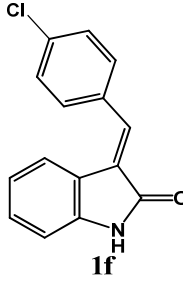
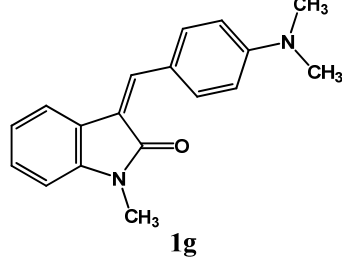
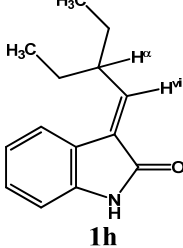


Esquema 2.2- Mecanismo provável da reação de síntese de 3-metileno indolina-2-onas.

As 3-metileno indolina-2-onas podem existir como isômeros *Z* ou *E* dependendo da disposição dos substituintes na ligação dupla da posição C-3.

A atribuição da estereoquímica dos compostos 3-benzilideno indolina-2-onas **1c-g** sintetizados teve por base os desvios químicos dos prótons vinílicos (H^{vin}) e *orto*-arilídenos (H^{o}) observados nos espectros de RMN. Os prótons vinílicos estão mais desblindados nos isômeros *E*, devido à influência do grupo carbonilo; pelo mesmo motivo, os prótons *orto* do grupo benzilideno estão mais desblindados nos isômeros *Z*. Para a 3-alkilideno indolina-2-ona **1h** sintetizada, a atribuição baseou-se nos desvios químicos dos prótons H^{vin} e H^{o} (Tabela 2.1).

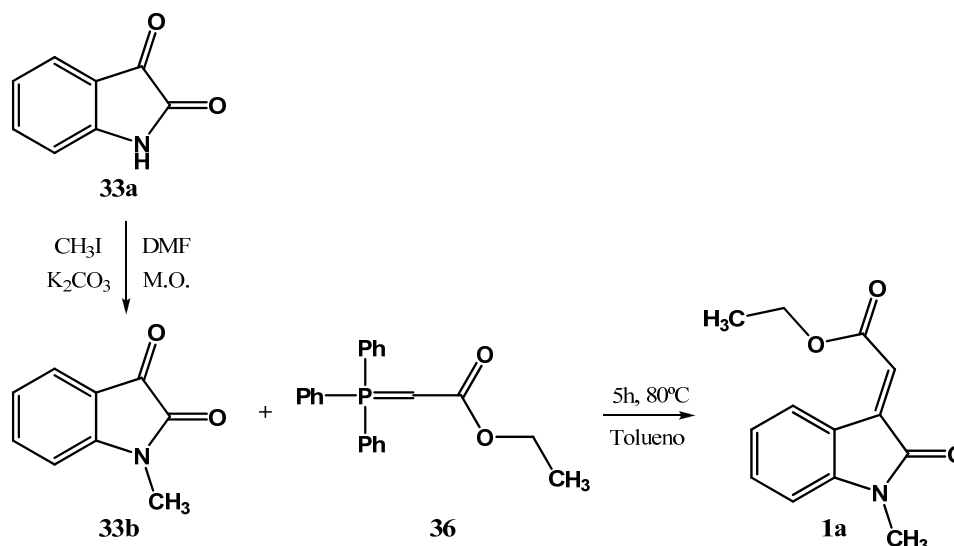
Por comparação e analogia dos picos dos espectros de RMN obtidos com os da literatura [129-133], conclui-se que, os compostos **1c**, **1e**, **1f** e **1h** correspondem ao isômero *E* e os compostos **1d** e **1g** ao isômero *Z*, como descrito na literatura (Tabela 2.1).

| Tabela 2.1- Comparação dos picos dos espectros de RMN obtidos com os da literatura. | | | | | | | | |
|--|---|----------------|----------------|----------|---|----------------|----------------|----------|
| | Literatura (δ ppm, CDCl ₃) | | | | Resultados obtidos (δ ppm, CDCl ₃) | | | |
| | H ^{vin} | H ^o | H ^a | Isômero | H ^{vin} | H ^o | H ^a | Isômero |
|  <p>1c</p> | 7.50 | 8.35 | - | <i>Z</i> | | | | |
| | 7.79 | 7.66 | - | <i>E</i> | 7.79 | 7.68 | - | <i>E</i> |
|  <p>1d</p> | 7.45 | 8.39 | - | <i>Z</i> | 7.47 | 8.39 | - | <i>Z</i> |
| | 7.77 | 7.70 | - | <i>E</i> | | | | |
|  <p>1e</p> | 7.55 | 8.28 | - | <i>Z</i> | | | | |
| | 7.84 | 7.62 | - | <i>E</i> | 7.85 | 7.67 | - | <i>E</i> |
|  <p>1f</p> | 7.45 | 8.25 | - | <i>Z</i> | | | | |
| | 7.74 | 7.53 | - | <i>E</i> | 7.75 | 7.61 | - | <i>E</i> |
|  <p>1g</p> | 7.67* | 8.47* | - | <i>Z</i> | 7.47 | 8.43 | - | <i>Z</i> |
| | n.d. | 7.83* | - | <i>E</i> | | | | |
|  <p>1h</p> | 6.59 | - | 3.85 | <i>Z</i> | | | | |
| | 6.86 | - | 2.90 | <i>E</i> | 6,83 | - | 2.90 | <i>E</i> |

*O solvente usado foi o DMSO-*d*₆

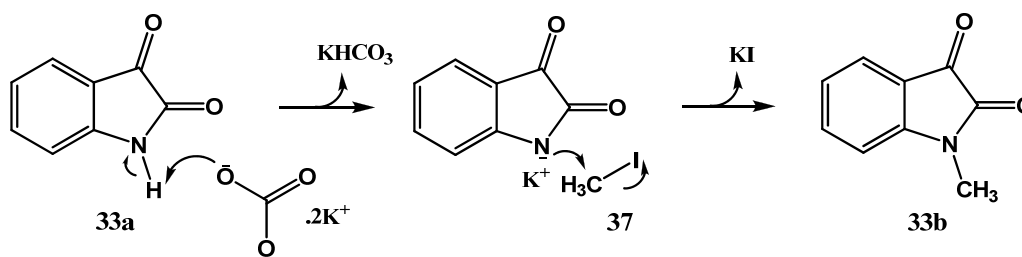
2.1.2. Condensação de *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) com etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (**36**): Síntese da 3-metileno indolina-2-ona **1a**

O composto **1a** foi sintetizado por reacção do etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosforano (**36**) com a *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**), que por sua vez foi sintetizada por metilação da indolina-2,3-diona (**33a**) com iodometano na presença de K_2CO_3 (Esquema 2.3).



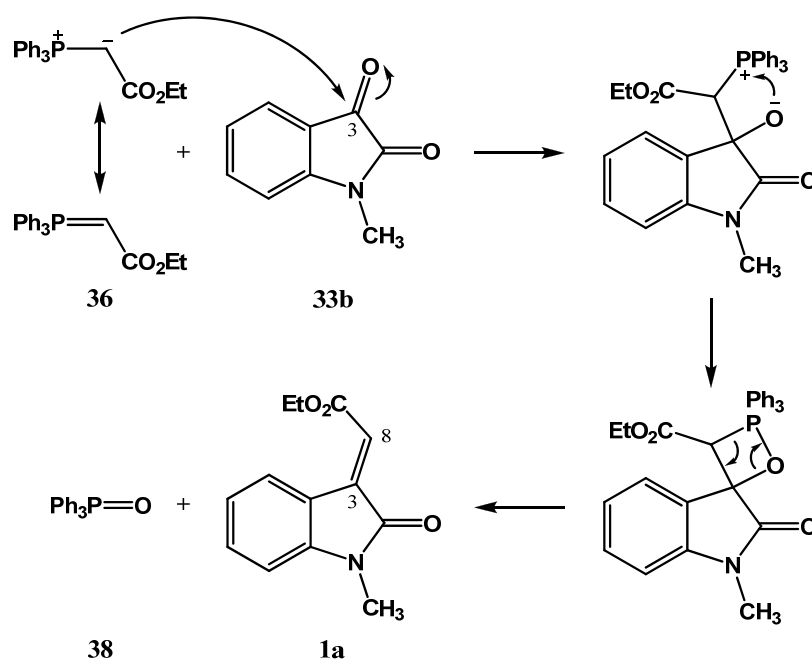
Esquema 2.3- Síntese do composto **1a** a partir da indolina-2,3-diona (**33a**).

A síntese do composto **33b** foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por Schmidt *et al* [134], na qual a mistura reaccional, contendo o composto **33a** (1.0 eq.), iodometano (4.0 eq.) e K_2CO_3 (1.3 eq.) em DMF, é sujeita a radiações micro-ondas. Assim, a metilação da indolina-2,3-diona (**33a**) foi conseguida por geração *in situ* do anião conjugado da indolina-2,3-diona pela acção do K_2CO_3 , seguido da metilação pelo iodometano (**37**) por S_N2 (Esquema 2.4). Para a caracterização do composto **33b** apenas foi efectuado 1H -RMN, estando os dados espectroscópicos de acordo com a literatura [135].



Esquema 2.4- Mecanismo provável da reacção de síntese da *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**).

A síntese do composto **1a** foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por Raunak *et al* [136], que consiste na reacção de Wittig entre a *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) e o etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (**36**), em quantidades equimolares, em tolueno a 80°C (Esquema 2.5). O íleto, em ressonância com o fosforano **36**, reage com o carbonilo em C-3 do composto **33b**, formando o intermediário oxafosfetano. Devido a este anel ser instável, forma-se, por eliminação, o alceno **1a** e como produto secundário o óxido de fosfina (**38**). Quando os íletos empregues numa reacção de Wittig são estabilizados, isto é, quando a sua carga negativa pode ser estabilizada por conjugação adicional, como por exemplo com um grupo carbonilo, normalmente forma-se selectivamente o isómero *E* [21]. Esta selectividade foi corroborada por análise do espectro bidimensional NOESY do composto **1a** (Anexo A), no qual não se verificou efeito NOE entre os prótons H-4 e H-vinílico (H-8).



Esquema 2.5- Mecanismo de reacção de Wittig, com formação do composto **1a**.

O composto **1a** foi caracterizado por IV, ^1H -RMN e ^{13}C -RMN (Figura 2.1 e Tabela 2.5 da pág. 55). Para a atribuição de todos os picos nos espectros de RMN aos carbonos e hidrogénios respectivos, recorreu-se à comparação com dados descritos na literatura para a *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) [135] e para 3-metileno indolina-2-onas [129, 137].

Por comparação com a material de partida **33b** pode observar-se, no espectro de ^1H -RMN (Anexo A), o aparecimento do sinal singuleto correspondente ao próton vinílico (C=C-H) a 6.89 ppm. A presença do grupo etilo é confirmada pelo aparecimento de dois novos sinais correspondentes aos prótons dos grupos CH_2 (q, 2H, 4.32 ppm) e CH_3 (t, 3H, 1.36 ppm). Os prótons do grupo N- CH_3 aparecem a 3.22 ppm (s, 3H).

No espectro de ^{13}C -RMN (Anexo A) pode observar-se a presença de cinco sinais correspondentes a cinco carbonos quaternários a 167.64 ppm (C=O da indolina-2-ona), 165.78 ppm (C=O do grupo éster), 146.06 ppm (C-7a), 137.97 ppm (C-3) e a 119.95 ppm (C-3a). Em concordância com o espectro de ^1H -RMN, aparecem três sinais correspondentes ao carbono secundário (61.29 ppm, CH_2) e aos carbonos primários (14.30 ppm, CH_3 e 26.34 ppm, N- CH_3). O sinal do carbono terciário ligado ao próton vinílico (C-8) aparece a 122.56 ppm.

O espectro de IV apresenta uma banda de absorção forte a 1714.89 cm^{-1} , referente ao carbonilo do grupo éster, e a 1612.77 cm^{-1} , referente ao grupo carbonilo do anel indolina-2-ona, o que confirma mais uma vez a presença do grupo etilo no composto.

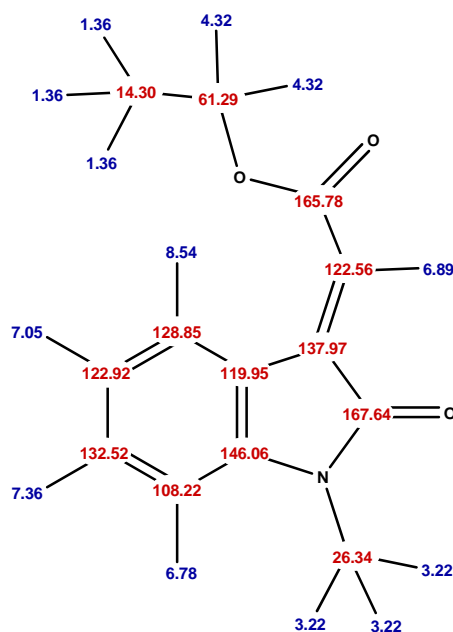
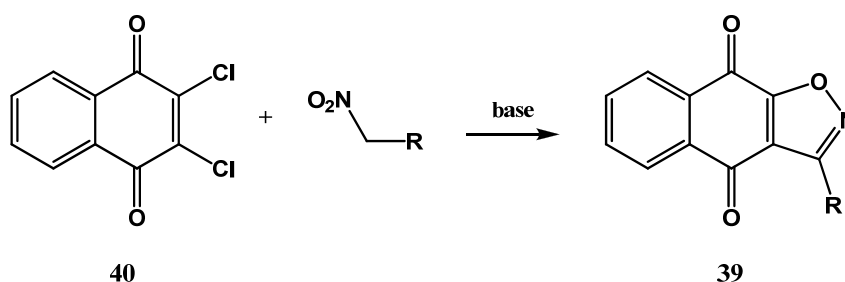


Figura 2.1- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ^1H -RMN e ^{13}C -RMN aos hidrogénios e carbonos do composto **1a**.

2.2. Tentativas de síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidratação de compostos nitro primário

A base do projecto desta tese de mestrado surgiu na sequência de um trabalho publicado recentemente no grupo [93, 94], no qual se sintetizou nafto[2,3-d]isoxazole-4,9-dionas **39** a partir do composto **40** e de óxidos de nitrilo formados *in situ* na presença de uma base (DIEA, Et₃N, DABCO ou K₂CO₃) (Esquema 2.6). O uso de bases com o intuito de promover a desidratação de compostos nitro primários e posterior reacção com dipolarófilos também foi utilizado com sucesso por Machetti *et al* [91, 92].



Esquema 2.6- Síntese de nafto[2,3-d]isoxazole-4,9-dionas **39**.
R (grupo electroattractor): CO₂Et, CO₂Me, SO₂Ph, COPh.

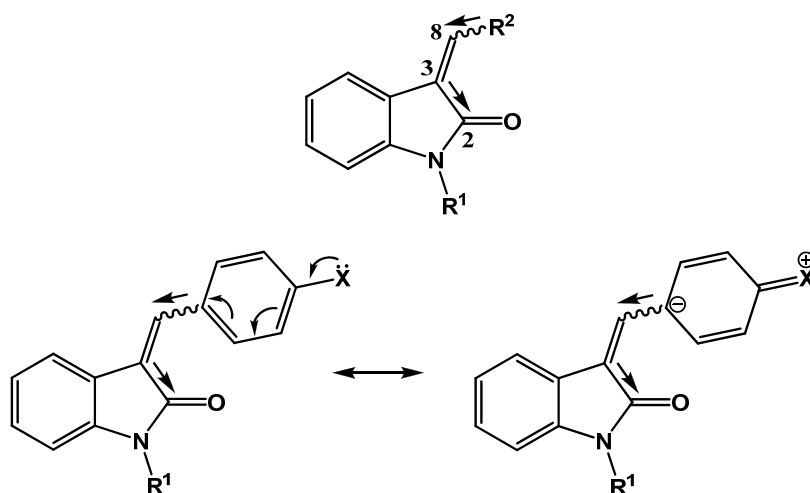
Tendo em consideração o elevado interesse farmacológico dos compostos spiro-oxindoles, o objectivo deste trabalho consistia inicialmente na síntese de compostos spiro[oxindole-isoxazolina] via cicloadição 1,3-dipolar de 3-metileno indolina-2-onas com óxidos de nitrilo, formados *in situ* a partir da desidratação de compostos nitro primários.

Na tentativa de sintetizar os derivados spiro, foram testadas várias condições experimentais, variando: a base (K₂CO₃, DABCO, DIEA, 1-NMI e Et₃N); o solvente (EtOH, CHCl₃, THF, tolueno, DMF e éter etílico); as proporções dos reagentes e da base; as ordens de adição; bem como o uso de ZnCl₂ e recurso a radiações micro-ondas (Entrada 1-21, Tabela 2.2) [91-94]. Os compostos nitro usados como materiais de partida foram o benzoilnitrometano (Entrada 1-11, 13-15, 17-20) e o nitroacetato de etilo (Entrada 12 e 16).

Da observação dos resultados experimentais em que se utilizou base como agente desidratante (Entradas 1-21) verificou-se que, independentemente das condições experimentais utilizadas: os compostos **1b-h** não reagem com os compostos nitros

utilizados, apenas isomerizando na mistura reaccional; e o composto **1a** origina um novo produto castanho-escuro por reacção com o benzoilnitrometano, não sofrendo isomerização.

Inicialmente as 3-metileno indolina-2-onas utilizadas possuíam grupos R^2 electrodoadores em C-8 [R^2 aromático (**1c-f**) ou alquilo (**1h**)] (Esquema 2.7). Em alguns destes compostos, este efeito electrodoador é potenciado, pelo facto do anel aromático possuir substituintes activantes na posição 4' [OCH_3 (**1c**), NMe_2 (**1d**)]. Embora o composto **1f** apresenta um substituinte desactivante do anel aromático (Cl) na posição 4', o seu efeito electrodoador por conjugação na posição *para* é mais efectivo do que o efeito electrotractor por indução nessa posição (Esquema 2.7).



Esquema 2.7- Efeito dos substituintes no dipolarófilo.
 R^2 : *p*-OMePh, *p*-NMe₂Ph, Ph, *p*-ClPh, CHEt₂. X: OCH₃, NMe₂, Cl.

Assim, estes alcenos intermediários (dipolarófilos) apresentam na ligação dupla um grupo com efeito electrodoador em C-8 e um grupo com efeito electrotractor em C-3 (carbonilo na posição C-2). Como discutido na introdução, a combinação dos dois tipos de substituintes no dipolarófilo diminui a sua reactividade com dipolos 1,3 [4], o que pode justificar a ausência de reactividade observada.

Como a reactividade dos dipolarófilos aumenta com a presença de apenas grupos electrotractores ou electrodoadores [4, 19], tentou-se a reacção de cicloadição com o composto **1b** (Tabela 2.2), o qual apresenta dois grupos electrotractores e, consequentemente, esperar-se-ia que a sua reactividade com dipolos 1,3 fosse aumentada. Contudo, novamente não se verificou a formação de novos produtos (Entrada 21). Como este composto apresenta o azoto livre, a diminuição do efeito

electroatractor do carbonilo da indolina-2-ona, como consequência do tautomerismo da função amida, pode ter contribuído para a ausência de reactividade observada. Para esclarecer se o efeito do azoto livre na reactividade da cicloadição era relevante, utilizou-se dois derivados *N*-metilados, um com substituinte electroatractor em C-8 ($R^2 = \text{CO}_2\text{Et}$, **1a**) e outro com substituinte electrodoador em C-8 ($R^2 = p\text{-NMe}_2\text{Ph}$, **1g**). Enquanto não houve cicloadição com o composto **1g** (Entrada 6, 8 e 17), como esperado, a reacção com o composto **1a** deu origem a um novo produto de cor castanha (Entrada 7, 9-10, 14, 18-20). Embora não se tenha chegado a nenhuma conclusão acerca da estrutura do produto obtido, através da análise dos espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, IV e EM, pode-se concluir que não se trata do composto spiro pretendido devido ao não aparecimento, nos espectros de RMN, do singuleto característico do único protão do anel isoxazolina e do sinal característico do carbono spiro. Contudo, verificou-se a existência de 9 protões na zona característica dos protões aromáticos, o que significa que de algum modo o composto nitro reagiu com o dipolarófilo.

De seguida, usando o dipolarófilo promissor **1a**, tentou-se utilizar outras condições reaccionais. Experimentou-se, sem êxito, as desidratações de compostos nitro mais utilizadas na literatura ($\text{PhNCO}/\text{Et}_3\text{N}$ [71]; $\text{Boc}_2\text{O}/\text{DMAP}$ [71] e $\text{POCl}_3/\text{Et}_3\text{N}$ [83]) (Entrada 22-26). O método de desidratação pelo $\text{Boc}_2\text{O}/\text{DMAP}$ também foi utilizado para o composto **1b** (Entrada 23), dando origem a uma mistura complexa. Neste caso, o material de partida foi consumido, devido provavelmente à protecção do grupo N-H pelo Boc.

| Tabela 2.2- Reacções de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários | | | | | | | |
|---|---------------------------|-------------|-------------------------|------------------------|----------|------|---------------------------------|
| <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p>1a, $R^1 = \text{CH}_3$; $R^2 = \text{CO}_2\text{Et}$ 1b, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{CO}_2\text{Et}$ 1c, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = p\text{-OCH}_3\text{Ph}$ 1d, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = p\text{-N}(\text{CH}_3)_2\text{Ph}$ 1e, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{Ph}$ 1f, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = p\text{-ClPh}$ 1g, $R^1 = \text{CH}_3$; $R^2 = p\text{-N}(\text{CH}_3)_2\text{Ph}$ 1h, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$</p> <p>3a, $R^3 = \text{COPh}$ 3b, $R^3 = \text{CO}_2\text{Et}$</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;"> </div> </div> | | | | | | | |
| Entr. | 3-metileno indolina-2-ona | Comp. Nitro | Ag. desidrante/Base | Proporção eq. (I:N:B)* | Solvente | M.O. | Resultados Experimentais |
| 1 | 1d | 3a | K_2CO_3 | 1:1:0.5x4 | EtOH | | Isomerização de 1d /M.P. |
| 2 | 1d | 3a | K_2CO_3 | 1:1:2 | EtOH | | Isomerização de 1d /M.P. |

| Entr. | 3-metileno indolina-2-ona | Comp. Nitro | Ag. desidratante/Base | Proporção eq. (I:N:B)* | Solvente | M.O. | Resultados Experimentais |
|-------|---------------------------|-------------|--|------------------------|-------------------|------|---------------------------------|
| 3 | 1d | 3a | K ₂ CO ₃ | 1:1:2 | THF | | Isomerização de 1d /M.P. |
| 4 | 1f | 3a | K ₂ CO ₃ | 1:1:2 | DMF | | Isomerização de 1f /M.P. |
| 5 | 1d | 3a | DABCO | 1:1:2 | EtOH | | Isomerização de 1d /M.P. |
| 6 | 1g | 3a | DABCO | 1:2.5:0.5 | CHCl ₃ | | Isomerização de 1g /M.P. |
| 7 | 1a | 3a | DABCO | 1:2:0.5 | CHCl ₃ | | Produto castanho-escuro |
| 8 | 1g | 3a | DABCO | 1:2.5:0.5 | CHCl ₃ | ✓ | Isomerização de 1g /M.P. |
| 9 | 1a | 3a | DABCO | 1:2:0.5 | CHCl ₃ | ✓ | Produto castanho-escuro |
| 10 | 1a | 3a | DABCO | 1:2:0.5 | Tolueno | ✓ | Produto castanho-escuro |
| 11 | 1a | 3b | DABCO | 1:2.1:0.5 | Tolueno | ✓ | M.P. 1a |
| 12 | 1h | 3a | DABCO | 1:2:2 | Tolueno | ✓ | Isomerização de 1h /M.P. |
| 13 | 1c | 3a | DABCO | 1:2:0.5 | Tolueno | ✓ | Isomerização de 1c /M.P. |
| 14 | 1a | 3a | DABCO | 1:2:0.5 | Tolueno | ✓ | Produto castanho-escuro |
| 15 | 1e | 3a | DIEA | 1:2:4.2 | EtOH | | Isomerização de 1e /M.P. |
| 16 | 1e | 3b | DIEA | 1:2:4.2 | EtOH | | Isomerização de 1e /M.P. |
| 17 | 1g | 3a | 1-NMI | 1:2:0.6 | CHCl ₃ | | Isomerização de 1g /M.P. |
| 18 | 1a | 3a | 1-NMI | 1:2:0.6 | CHCl ₃ | | Produto castanho-escuro |
| 19 | 1a | 3a | 1-NMI | 1:2:0.6 | CHCl ₃ | ✓ | Produto castanho-escuro |
| 20 | 1a | 3a | 1-NMI | 1:2:0.6 | Tolueno | ✓ | Produto castanho-escuro |
| 21 | 1b | 3b | Et ₃ N | 1:1.1:1.6 | Éter | ✓ | Isomerização de 1b /M.P. |
| 22 | 1a | 3a | PhNCO/ Et ₃ N | 1:1:0.3 | Tolueno | | M.P. 1a |
| 23 | 1b | 3a | Boc ₂ O/ DMAP | 1:1:0.2 | Tolueno | | Mistura complexa |
| 24 | 1a | 3a | Boc ₂ O/ DMAP | 1:1:0.2 | Tolueno | | M.P. 1a |
| 25 | 1a | 3a | Boc ₂ O/ DMAP | 1:2:0.4 | Tolueno | ✓ | M.P. 1a |
| 26 | 1a | 3a | POCl ₃ / Et ₃ N | 1:2:6.1 | CHCl ₃ | | M.P. 1a |

*I: 3-metilenoindolina-2-ona; N: composto nitro; B: base.

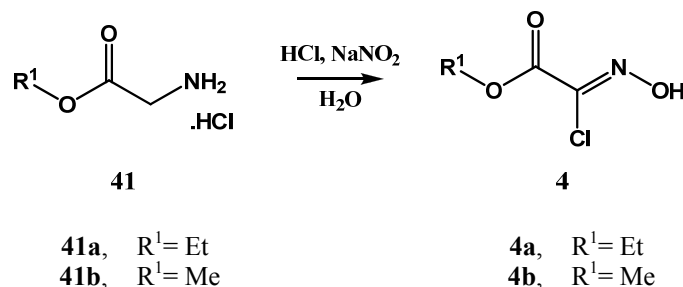
Face ao insucesso desta aproximação, decidiu-se utilizar cloretos de hidroximoilo, em vez de compostos nitro primários, para a geração de óxidos de nitrilo *in situ* e subsequente cicloadição 1,3-dipolar.

2.3. Síntese de derivados spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] a partir da desidrohalogenação de cloretos de hidroximoílo.

2.3.1. Síntese de cloretos de hidroximoílo

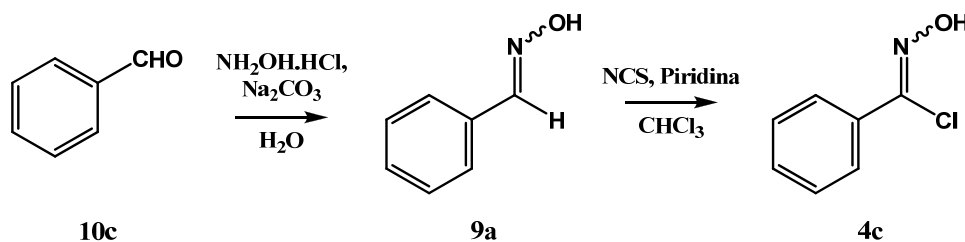
Foram sintetizados três cloretos de hidroximoílo: dois derivados éster e um derivado aromático.

A síntese dos clorooximidoacetatos **4a-b** (Esquema 2.8) foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por Kozikowski e Adamczyk [56], que consiste na adição de HCl (1 + 1 eq.) e NaNO₂ (1 + 1 eq.) a uma solução aquosa do éster da glicina respectivo **41a-b**. Os rendimentos das reacções foram de 44% (**4a**) e 37% (**4b**).

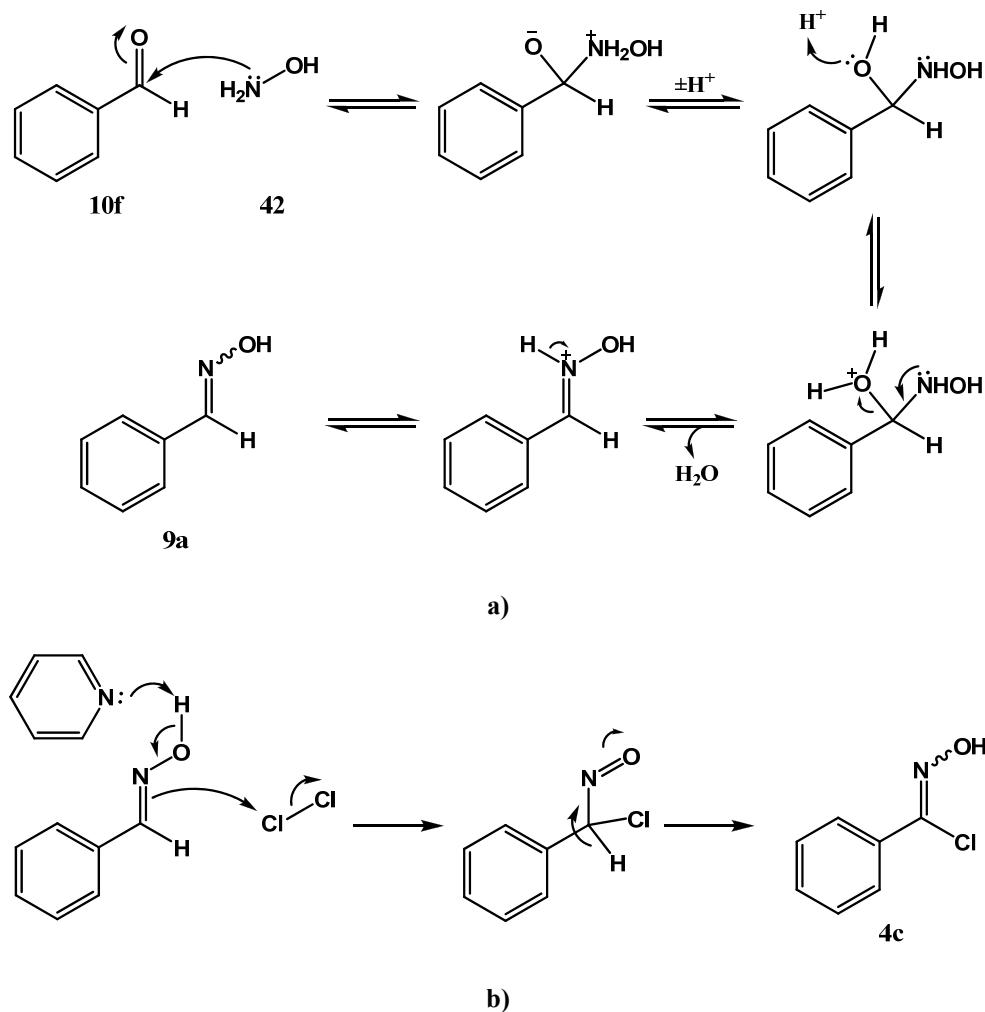


Esquema 2.8- Síntese de clorooximidoacetatos **4a-b**.

A síntese do cloreto de *N*-hidroxibenzimidoílo (**4c**) foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por Crossley e Browne [138], partindo de benzaldeído (**10c**) (Esquema 2.9). Inicialmente a hidroxilamina (**42**) ataca o carbonilo do benzaldeído (**10c**), formando um intermediário instável, que por desidratação origina a aldoxima **9a**. Esta, *in situ*, é halogenada pelo NCS na presença de piridina em quantidades catalíticas, dando origem ao composto **4c** (Esquema 2.10) [21]. O rendimento da reacção foi de 67%.



Esquema 2.9- Síntese de *N*-hidroxibenzimidoílo (**4c**).



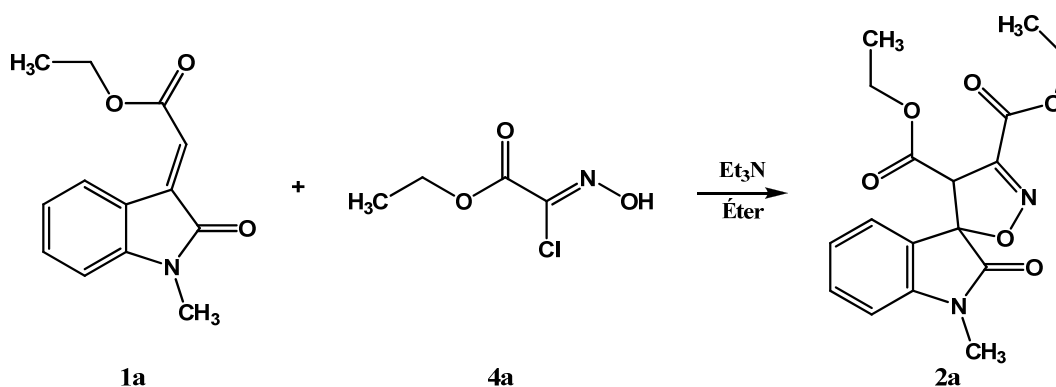
Esquema 2.10- Mecanismo provável da reacção de síntese do composto **4c**. **a)** Síntese da aldoxima intermediária **9a**; **b)** halogenação da oxima por acção do NCS, com formação com cloreto de hidroximoílo.

Os cloretos de hidroximoílo **4a-c** foram caracterizados através da determinação do ponto de fusão e $^1\text{H-RMN}$, estando os resultados de acordo com os descritos na literatura [55, 56, 138] (Tabela 2.3).

| Tabela 2.3- Características espectroscópicas dos compostos 4a-c. | | | |
|--|---|--|--|
| | | | |
| | 4a | 4b | 4c |
| $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm) | 9.44 (sl, 1H, OH) 4.40 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, CH_2) 1.39 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH_3) | 10.06 (sl, 1H, OH) 3.95 (s, 3H, CH_3) | 9.38 (sl, OH) 7.84 (d, $J=7.6$ Hz, 2H, ArH) 7.39-7.45 (m, 3H, ArH) |

2.3.2. Síntese de 1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de etilo (2a)

Inicialmente, a síntese do composto **2a** (Esquema 2.11) foi efectuada de acordo com a metodologia descrita por El-Ahl [128], que consiste na adição lenta de uma solução de Et₃N (1.0 eq.) em éter (durante 30 minutos) a uma solução contendo a 3-metileno indolina-2-ona **1a** (1.0 eq.) e o cloreto de hidroximoílo **4a** (1.0 eq.) em banho de gelo.



Esquema 2.11- Síntese do composto **2a**.

A evolução da reacção foi controlada por CCF, verificando-se a formação de um novo produto. Contudo, devido a ainda existir material de partida por reagir, novas condições experimentais foram testadas de modo a tentar aumentar a quantidade de produto formado (Tabela 2.4). Experimentou-se variar: o solvente (com diferentes polaridades e diferentes pontos de ebulição); a base; o número de equivalentes usados de base e de cloreto de hidroximoílo; a ordem de adição dos materiais de partida e da base; os tempos de adição e o recurso a radiação micro-ondas.

Nos ensaios realizados em micro-ondas em que se efectuou uma adição lenta da Et₃N (Entradas 3-5) fez-se variar o solvente utilizado. Verificou-se que em comparação com a utilização de éter etílico (Entrada 3) o uso de um solvente polar aprótico (THF) diminuiu o rendimento da reacção (Entrada 4) e que, por comparação das CCFs, a quantidade de produto formado parece ser similar aquando da utilização de clorofórmio (Entrada 5).

Quando se alterou a base de Et₃N para DABCO (Entrada 6-7 vs 3), observou-se uma diminuição do rendimento obtido (Entrada 6), não ocorrendo reacção quando se

variou também o solvente para tolueno (solvente mais apolar utilizado) (Entrada 7). Contudo esta diminuição do rendimento obtido é mais provável ser devida ao facto de tanto a base como o cloreto de hidroximoílo terem sido adicionados integralmente no início da reacção em detrimento de uma adição lenta da base.

Quando se alterou a base de Et₃N para DIEA (Entrada 8 vs 3) obteve-se o mesmo rendimento. Contudo, no ensaio com DIEA utilizou-se o dobro dos equivalentes de cloreto de hidroximoílo. Comparando as respectivas CCF correspondentes à mesma proporção dos materiais de partida, verificou-se que a quantidade de produto formado era maior com o uso de Et₃N. Assim, visto que a adição de um segundo equivalente de cloreto de hidroximoílo de um modo lento aumentou a quantidade de produto formado decidiu-se aplicar esta metodologia ao procedimento inicial (Et₃N e Éter).

Nesta nova experiência, obteve-se o rendimento mais elevado de todos os ensaios realizados (25%, Entrada 2): uma solução do cloreto de hidroximoílo **4a** (1.0 + 1.0 eq.) foi adicionada, gota a gota (durante 30 + 30 minutos), a uma solução contendo o composto **1a** (1.0 eq.) e a Et₃N (1.0 + 1.0 eq.) em banho de gelo. Por conseguinte, este procedimento foi usado na síntese dos outros compostos spiro (**2b-c**).

Tabela 2.4- Reacção da 3-metileno indolina-2-ona 1a com clorooximidoacetato de etilo (4a).

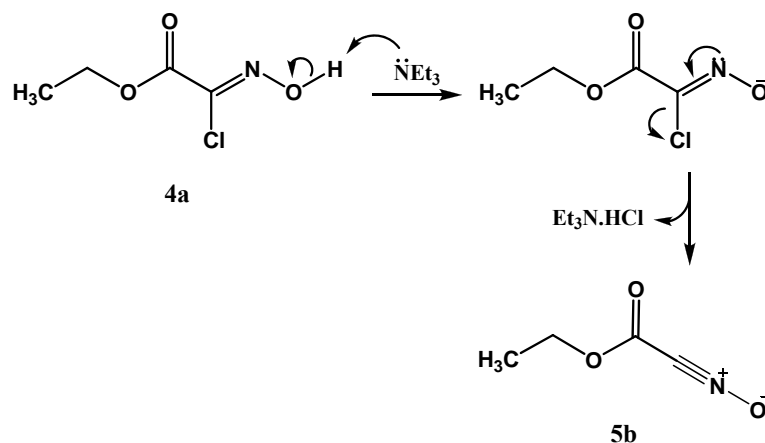
| Entrada | Proc. | Solvente | Cloro-oximida 4a eq. | Base eq. | Condições experimentais | | | Resultados experimentais (η%) |
|--------------|-------|-------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|------------|-----------|----------------------------------|
| | | | | | P (W) | T (°C) | t (min) | |
| 1 | M.C.a | Éter | 1.0 | Et ₃ N 1.1 | 23h a T.A. | | | 2a n.c. |
| 2 | M.C.b | Éter | 1.0+1.0 | Et ₃ N 1.0+1.0 | 0.5h+0.5h | | | 2a (25) |
| M.O.: | | | | | | | | |
| 3 | M.O.a | Éter | 1.0 | Et ₃ N 1.1 | 300 | 70 | 90 | 2a (20) |
| 4 | M.O.a | THF | 1.0 | Et ₃ N 1.1 | 300 | 90/ 120 | 38 | 2a (13) |
| 5 | M.O.a | CHCl ₃ | 1.0 | Et ₃ N 1.1 | 300 | 120 | 99 | 2a n.c. |
| 6 | M.O.c | Éter | 1.0+1.0 | DABCO 1.0+1.0 | 300 | 70/90 | 30/ 20 | 2a (7) |
| 7 | M.O.c | Tolueno | 1.0 | DABCO 1.0 | 300 | 160 | 54 | Não houve reacção/M.P. 1a |
| 8 | M.O.b | Éter | 1.0+1.0 | DIEA 1.0+1.0 | 300 | 70 | 20 | 2a (20) |

n.c.: rendimento não calculado. M.C.: método convencional; M.O.: em micro-ondas. a: adição lenta da base; b: adição lenta do cloreto de hidroximoílo; c: adição inicial da base e do cloreto de hidroximoílo.

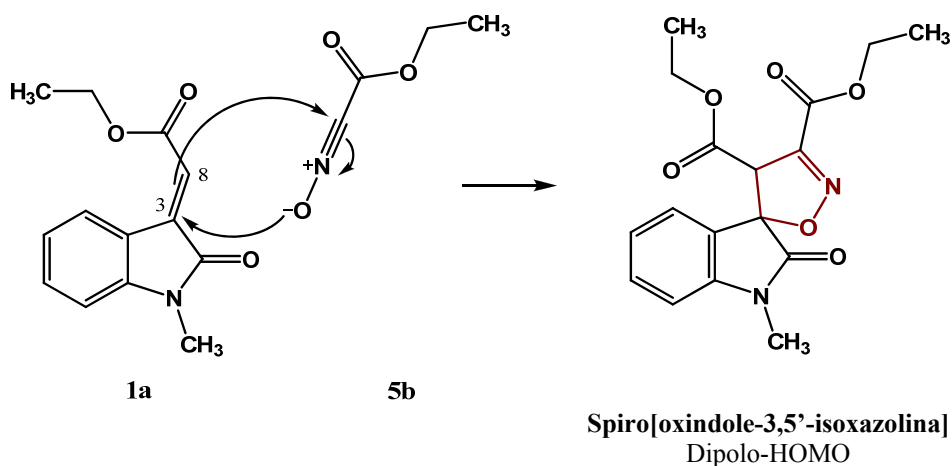
Destes resultados, conclui-se que muito provavelmente a reacção de dimerização do óxido de nitrilo é mais favorável que a reacção com o dipolarófilo, o que justifica os baixos rendimentos obtidos [19].

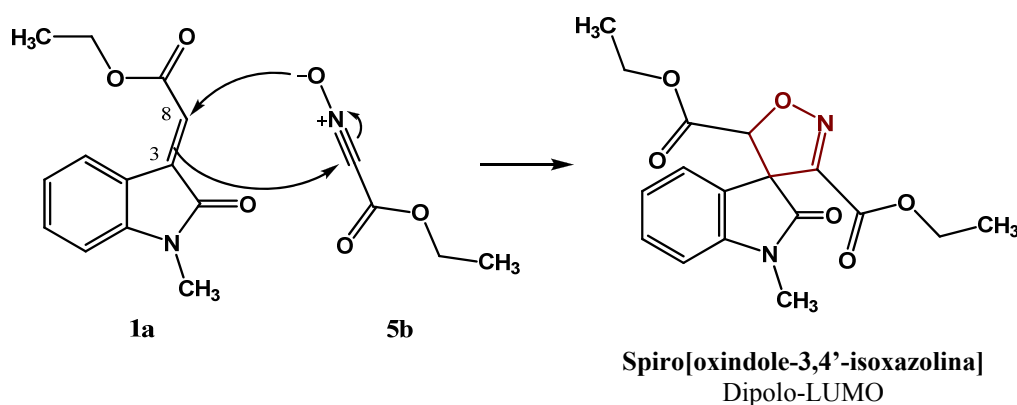
Por comparação das CCFs observou-se também que a quantidade de produto formado, após todos os reagentes terem sido adicionados, não parece aumentar com o tempo.

A síntese do composto **2a** corresponde a uma cicloadição 1,3-dipolar entre o composto **1a** e o óxido de nitrilo **5b**, formado por desidrohalogenação do composto **4a** pela acção da Et_3N (Esquema 2.12). Como resultado de uma cicloadição 1,3-dipolar, é possível formarem-se dois regioisómeros, consoante a reacção seja dipolo-LUMO controlada ou dipolo-HOMO controlada (Esquema 2.13) [4].



Esquema 2.12- Mecanismo de geração do óxido de nitrilo **5b** por desidrohalogenação do respectivo cloreto de hidroximoilo **4a**.





Esquema 2.13- Regioisómeros possíveis resultantes da cicloadição 1,3-dipolar.

Raunak *et al* [136], num estudo mecanístico acerca da síntese de compostos spiro[oxindole-isoxazolidina], resultantes da cicloadição 1,3-dipolar entre derivados da nitrona com o composto **1b**, verificaram que se formavam os dois isómeros, sendo o resultante do controlo dipolo-HOMO o maioritário. Segundo estes autores, esta preferência por um dos isómeros deve-se ao facto da carga negativa parcial no carbono C-8 ser maior do que no carbono C-3 e, conseqüentemente, ser favorecida a polarização dos electrões π em direcção ao grupo éster. Adicionalmente, o isómero resultante da adição dipolo-HOMO foi também calculado como o isómero termodinamicamente preferido.

Na figura 2.2 e na tabela 2.5 (pág. 55) encontram-se reunidos os dados espectroscópicos do composto **2a**.

No espectro de $^1\text{H-RMN}$ (Anexo B) pode observar-se o desaparecimento do sinal singuleto correspondente ao protão vinílico ($\text{C}=\text{C-H}$) do composto **4a** a 6.89 ppm e o aparecimento de um singuleto a 4.77 ppm correspondente ao C-H do anel isoxazolina. A presença do segundo grupo etilo é confirmada pelo aparecimento de dois novos sinais correspondentes aos protões dos grupos CH_2 (q, 2H, 4.40 ppm) e CH_3 (t, 3H, 1.39 ppm).

No espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ (Anexo B) pode observar-se a alteração do sinal correspondente ao carbono quaternário C-3, de 137.97 ppm no composto **1a** para 88.49 ppm, confirmando assim a presença do carbono spiro. Esta grande variação do sinal ocorre uma vez que o C-3 passa de uma ligação $\text{C}=\text{C}$ para um carbono spiro. Este sinal a 88.49 ppm é concordante com os valores encontrados na literatura para o carbono spiro de spiro[oxindoles-3,5'-isoxazolidinas] (82.9-83.67 ppm), em detrimento dos valores 66.34-68.87 ppm encontrados para o carbono C-3 de spiro[oxindole-3,4'-

isoxazolidinas]. Verifica-se também o aparecimento de dois novos sinais correspondentes a dois carbonos quaternários a 149.50 ppm (C=N) e a 159.29 ppm (C=O do novo grupo éster). Em concordância com o espectro de ^1H -RMN, aparecem dois novos sinais correspondentes a um carbono secundário (62.77 ppm, CH_2) e a um carbono primário (14.21 ppm, CH_3).

O espectro de IV apresenta uma banda de absorção forte e larga a 1740.43 cm^{-1} , referente a dois carbonilos. Tal como no material de partida **1a** observa-se a presença do grupo carbonilo do anel indolina-2-ona a 1612.77 cm^{-1} .

A estrutura do composto **2a** foi confirmada por espectroscopia de massa de baixa resolução.

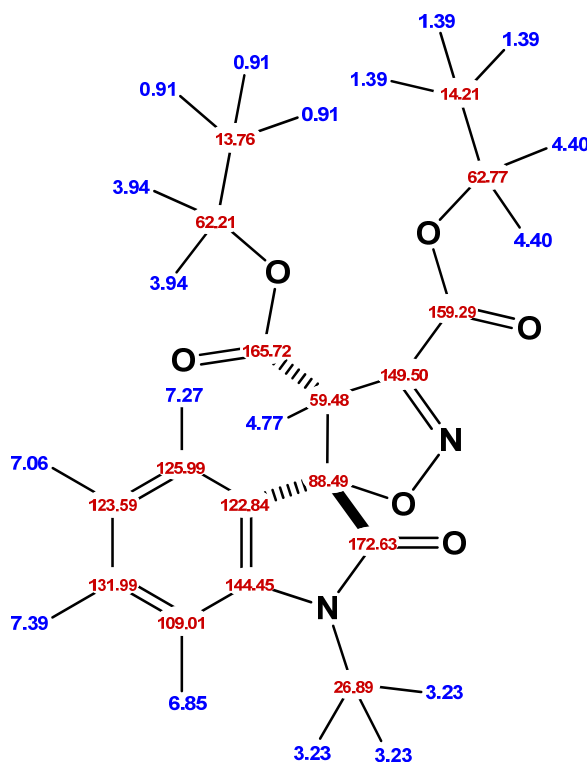


Figura 2.2- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ^1H -RMN e ^{13}C -RMN aos hidrogénios e carbonos do composto **2a**.

Por análise dos espectros de RMN do composto **2a**, verifica-se que um dos isómeros é maioritário (95%). De modo a clarificar qual dos isómeros se forma maioritariamente, realizaram-se estudos de cristalografia de raio-X (Figura 2.3, Anexo B). Tal como descrito por Renaulk *et al*, o maioritário corresponde ao isómero resultante da adição dipolo-HOMO, indo de encontro também ao discutido na

introdução: o oxigênio tem tendência a ligar-se ao carbono mais substituído do dipolarófilo [4]. O isômero spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] foi também o isômero maioritário encontrado na síntese do composto **2e** por Franke (Esquema 1.3.4, pág. 28) [127].

A obtenção do raio-X do composto **2a** permitiu também estabelecer a configuração relativa do carbono spiro (C-3) e do carbono C-4'.

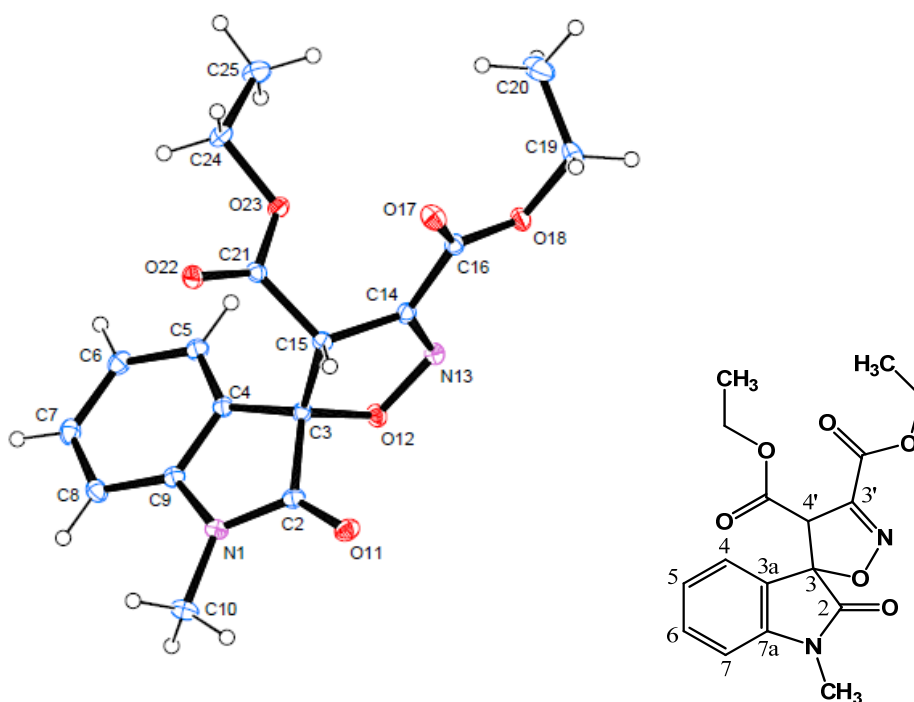
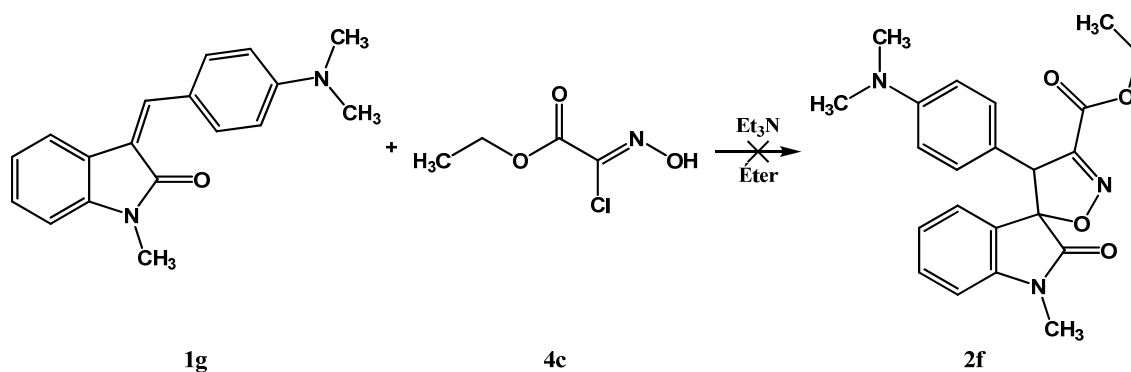


Figura 2.3- Cristalografia de raio-X do composto **2a**.

2.3.3. Tentativa de síntese do derivado spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina] **2f** a partir de 3-metileno indolina-2-ona **1g** e cloroóximidoacetato de etilo (**4a**)

Quando se conseguiu isolar pela primeira vez o composto **2a**, tentou-se reproduzir o mesmo protocolo com uma das 3-metileno indolina-2-onas detentoras de um grupo electrodoador no carbono C-8 (Esquema 2.14). Assim, baseado na metodologia de El-Ahl [128], descrita anteriormente, uma solução de Et₃N (1,0eq.) em éter foi adicionada, gota a gota, a uma solução contendo o composto **1g** (1,0eq.) e o cloroóximidoacetato de etilo (**4a**) (1.0 eq.) no mesmo solvente, em banho de gelo. De seguida a mistura reaccional foi submetida a radiação microondas (300 W, 70 °C, 24 min). Nestas condições não ocorreu reacção entre os materiais de partida.

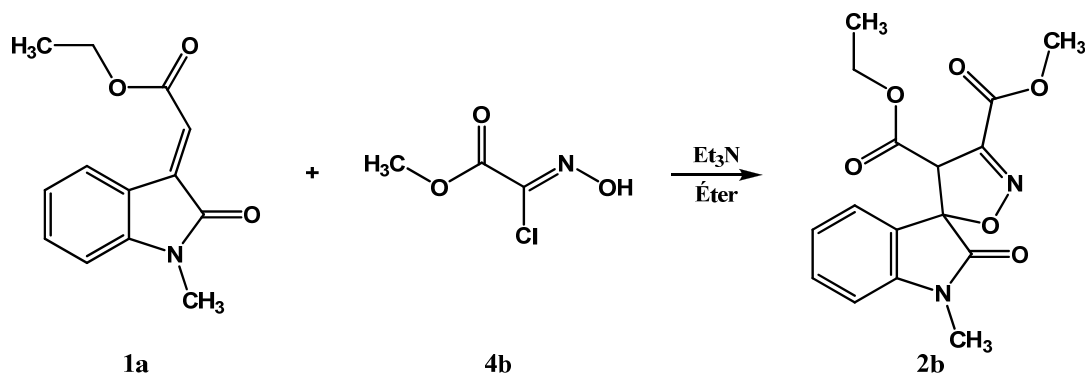


Esquema 2.14- Tentativa de reacção entre o composto **1h** e o cloroóximidoacetato de etilo (**4c**).

Assim pode-se concluir que, nas condições experimentais apresentadas, dipolarófilos com substituintes electrodoadores em C-8 não sofrem cicloadição 1,3-dipolar com os óxidos de nitrilo formados quer por desidratação de compostos nitro primários (benzoilnitrometano e nitroacetato de etilo), quer por desidrohalogenação do cloreto de hidroximoílo **4a**.

2.3.4. Síntese de 1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de metilo (**2b**)

A síntese do composto **2b** (Esquema 2.15) foi efectuada de acordo com a metodologia que originou o maior rendimento para o composto **2a**. O rendimento da reacção foi de 28%.



Esquema 2.15- Síntese do composto **2b**.

Na figura 2.4 e na tabela 2.5 (pág. 54) encontram-se reunidos os dados espectroscópicos do composto **2b**.

No espectro de ^1H -RMN (Anexo C) pode observar-se o desaparecimento do sinal singuleto correspondente ao protão vinílico ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$) do composto **1a** a 6.89 ppm e o aparecimento de um singuleto a 4.75 ppm correspondente ao C-H do anel isoxazolina. Neste espectro verifica-se também o aparecimento de um novo sinal correspondente aos prótons do grupo OCH_3 (s, 3H, 3.93 ppm).

No espectro de ^{13}C -RMN (Anexo C) pode observar-se a alteração do sinal correspondente ao carbono quaternário C-3, de 137.97 ppm no composto **1a** para 88.53 ppm, confirmando assim a presença do carbono spiro. Verifica-se também o aparecimento de dois novos sinais correspondentes a dois carbonos quaternários a 149.24 ppm ($\text{C}=\text{N}$) e a 159.72 ppm ($\text{C}=\text{O}$ do novo grupo éster). Em concordância com o espectro de ^1H -RMN, aparece um novo sinal correspondente ao carbono primário do grupo OCH_3 (53.33 ppm).

O espectro de IV apresenta duas bandas de absorção forte a 1727.66 cm^{-1} e a 1746.81 cm^{-1} , referente a dois carbonilos. Tal como no material de partida **1a** observa-se a presença do grupo carbonilo do anel indolina-2-ona a 1612.77 cm^{-1} .

A estrutura do composto **2b** foi confirmada por espectroscopia de massa de baixa resolução.

Como no composto **2a**, nos espectros de RMN observa-se a presença de um isômero maioritário (78%). Uma vez que o sinal do carbono spiro encontra-se a 88.53 ppm como no composto **2a** (88.49 ppm), conclui-se que também se trata do isômero spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina]. A configuração relativa do carbono C-3 e do carbono C-4' foi estabelecida por comparação com o composto **2a**.

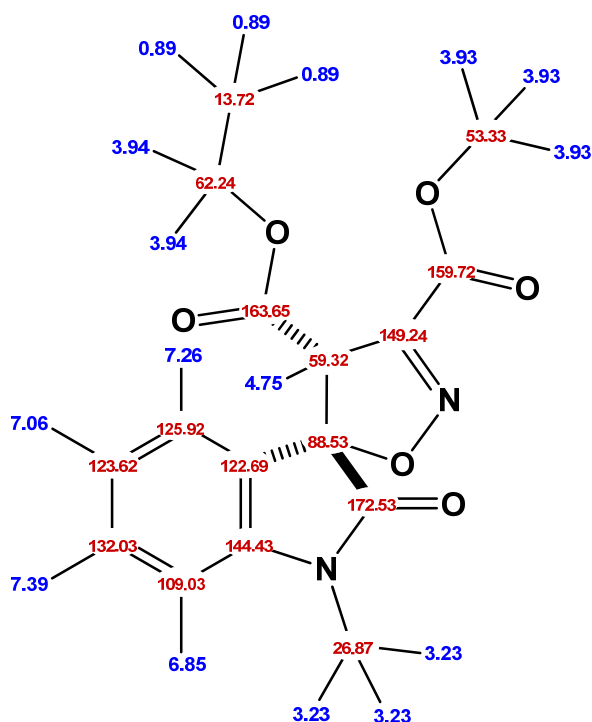
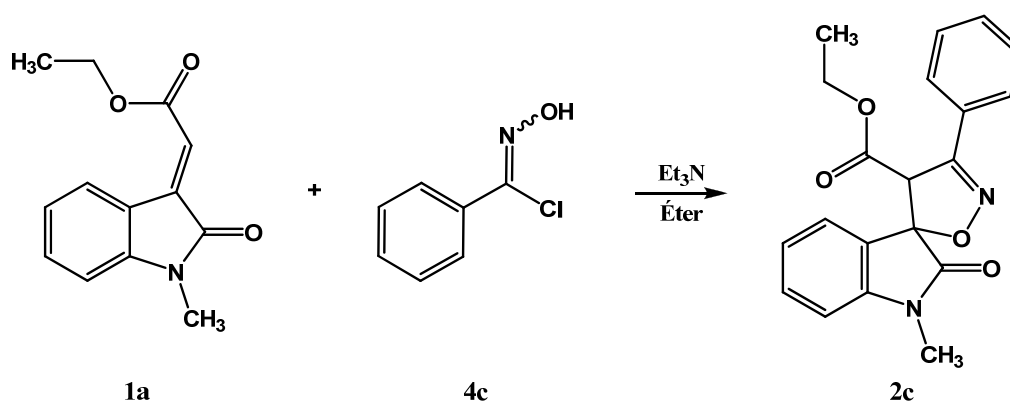


Figura 2.4- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ¹H-RMN e ¹³C-RMN aos hidrogénios e carbonos do composto **2b**.

2.3.5. Síntese de 3'-fenil-1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-4'-carboxilato de metilo (2c)

A síntese do composto **2c** (Esquema 2.16) foi efectuada de acordo com a metodologia que originou o composto **2a** com maior rendimento. Uma vez que o cloreto de *N*-hidroxibenzenzimidóilo **4c** está menos activado que os precursores do óxido de nitrilo usados previamente (grupo fenilo em vez do grupo éster), a mistura reaccional permaneceu mais duas horas à temperatura ambiente. O rendimento da reacção foi de 78%.



Esquema 2.16- Síntese do composto **2c**.

Foi também utilizada a metodologia mais usual nas cicloadições 1,3-dipolares com óxidos de nitrilo encontrada na literatura, que consiste na adição da base a uma solução contendo os dois materiais de partida [19]. Este método apresenta uma inversão da ordem da adição da base e do cloreto de hidroximoilo relativamente ao protocolo descrito anteriormente. O rendimento da reacção foi de 69%.

Na figura 2.5 e na tabela 2.5 encontram-se reunidos os dados espectroscópicos do composto **2c**.

No espectro de ^1H -RMN (Anexo D) pode observar-se o desaparecimento do sinal singuleto correspondente ao protão vinílico ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$) do composto **1a** a 6.89 ppm e o aparecimento de um singuleto a 4.90 ppm correspondente ao C-H do anel isoxazolina. Neste espectro verifica-se também o aparecimento de novos sinais correspondentes aos protões do grupo fenilo (d, 2H, 7.66 ppm; m, 3H, 7.41-7.45 ppm).

No espectro de ^{13}C -RMN (Anexo D) pode observar-se a alteração do sinal correspondente ao carbono quaternário C-3, de 137.97 ppm no composto **1a** para 86.97

ppm, confirmando assim a presença do carbono spiro. Verifica-se também o aparecimento de dois novos sinais correspondentes a dois carbonos quaternários a 154.76 ppm (C=N) e a 128.42 ppm (C-1'' do fenilo). Em concordância com o espectro de ^1H -RMN, aparecem três novos sinais correspondentes aos cinco carbonos terciários do grupo fenilo (1C, 130.66 ppm; 2C, 128.95 ppm; 2C, 127.16 ppm).

O espectro de IV, tal como no material de partida **1a**, apresenta uma banda de absorção forte a 1726.66 cm^{-1} , referente ao carbonilo do grupo éster, e a 1612.77 cm^{-1} , referente ao grupo carbonilo do anel indolina-2-ona.

A estrutura do composto **2c** foi confirmada por espectroscopia de massa de baixa resolução.

Como no composto **2a**, nos espectros de RMN observa-se a presença de um isómero maioritário (88%). Uma vez que o sinal do carbono spiro encontra-se a 86.97 ppm como no composto **2a** (88.49 ppm), conclui-se que também se trata do isómero spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina]. A configuração relativa do carbono C-3 e do carbono C-4' foi estabelecida por comparação com o composto **2a**.

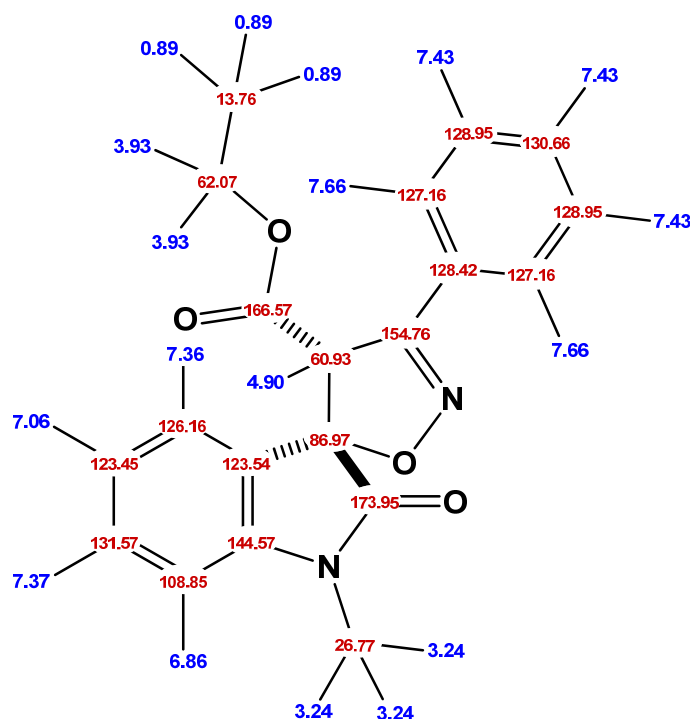
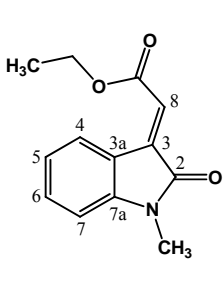
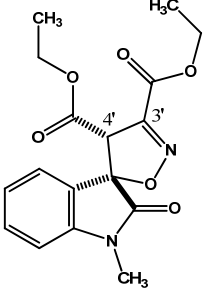
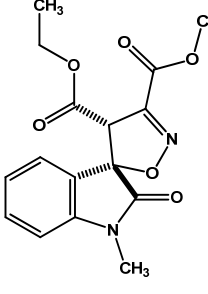
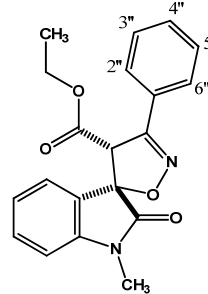


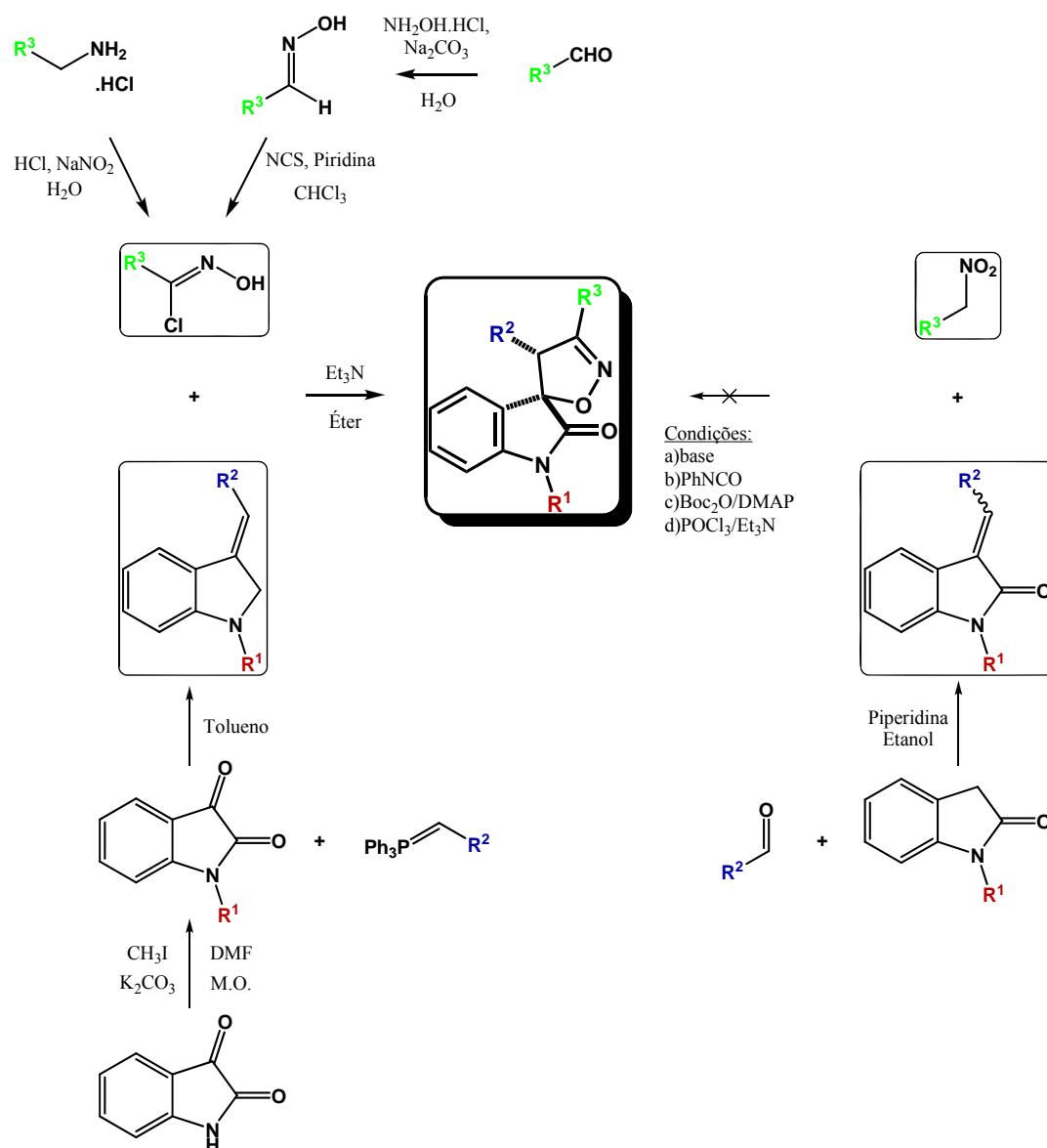
Figura 2.5- Atribuição dos δ (ppm) dos espectros ^1H -RMN e ^{13}C -RMN aos hidrogénios e carbonos do composto **2c**.

Tabela 2.5- Características físicas e espectroscópicas dos compostos 1a e 2a-c.

| |  |  |  |  |
|--|---|---|--|---|
| | 1a | 2a | 2b | 2c |
| p.f. (°C) | 90-91 | 117-118 | 106-107 | 137-138 |
| IV | | | | |
| C=O (Anel) | 1612.77 | 1612.77 | 1612.77 | 1612.77 |
| C=O (Éster) | 1714.89 | 1740.43 | 1727.66 1746.81 | 1726.66 |
| ¹H-RMN δ (CDCl ₃ , ppm) | | | | |
| H-4 | 8.54 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.27 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.26 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.36 (d, <i>J</i> =7.6Hz) |
| H-5 | 7.05 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.06 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.06 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.06 (t, <i>J</i> =7.6Hz) |
| H-6 | 7.36 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.39 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.39 (t, <i>J</i> =7.6Hz) | 7.37 (t, <i>J</i> =7.6Hz) |
| H-7 | 6.78 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 6.85 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 6.85 (d, <i>J</i> =7.6Hz) | 6.86 (d, <i>J</i> =7.6Hz) |
| H-8/H-4' | 6.89 (s) | 4.77 (s) | 4.75 (s) | 4.90 (s) |
| CH ₂ | 4.32 (q, <i>J</i> =7.1Hz) | 3.94 (q, <i>J</i> =7.2Hz) 4.40 (q, <i>J</i> =7.0Hz) | 3.91-3.97 (m) | 3.93 (q, <i>J</i> =7.2Hz) |
| CH ₃ | 1.36 (t, <i>J</i> =7.2Hz) | 0.91 (t, <i>J</i> =7.2Hz) 1.39 (t, <i>J</i> =7.0Hz) | 0.89 (t, <i>J</i> =7.0Hz) | 0.89 (t, <i>J</i> =7.2Hz) |
| NMe ₂ | 3.22 (s) | 3.23 (s) | 3.23 (s) | 3.24 (s) |
| OCH ₃ | - | - | 3.93 (s) | - |
| H-2'', 6'' | - | - | - | 7.66 (d, <i>J</i> =7.0Hz) |
| H-3'', 4'', 5'' | - | - | - | 7.41-7.45 (m) |
| ¹³C-RMN δ (CDCl ₃ , ppm) | | | | |
| C-2 | 167.64 | 172.63 | 172.53 | 173.95 |
| C-3 | 137.97 | 88.49 | 88.53 | 86.97 |
| C-4 | 128.85 | 125.99 | 125.92 | 126.16 |
| C-5 | 122.92 | 123.63 | 123.62 | 123.45 |
| C-6 | 132.52 | 131.99 | 132.03 | 131.57 |
| C-7 | 108.22 | 109.01 | 109.03 | 108.85 |
| C-3a | 119.95 | 122.84 | 122.69 | 123.54 |
| C-7a | 146.06 | 144.45 | 144.43 | 144.57 |
| C-3' | - | 149.50 | 149.24 | 154.76 |
| C-8/C-4' | 122.56 | 59.48 | 59.32 | 60.93 |
| CO ₂ Et | 165.78 | 165.72 159.29 | 163.65 | 166.57 |
| CO ₂ Me | - | - | 159.72 | - |
| CH ₂ | 61.29 | 62.21 62.77 | 62.24 | 62.07 |
| CH ₃ | 14.30 | 13.76 14.21 | 13.72 | 13.76 |
| NCH ₃ | 26.34 | 26.89 | 26.87 | 26.77 |
| OCH ₃ | - | - | 53.33 | - |
| C-1'' | - | - | - | 128.42 |
| C-2'', 6'' | - | - | - | 127.16 |
| C-3'', 5'' | - | - | - | 128.95 |
| C-4'' | - | - | - | 130.66 |

2.4.Conclusões

O estudo apresentado teve como objectivo a síntese de compostos spiro[oxindole-isoxazolinás] via cicloadição 1,3-dipolar a partir de 3-metileno indolina-2-onas (dipolarófilos) e óxidos de nitrilo (dipolos 1,3). Inicialmente pretendia-se que os dipolos fossem gerados *in situ*, e sofressem subsequente cicloadição, por desidratação de compostos nitro primários. Contudo, devido ao insucesso desta metodologia, procedeu-se à preparação dos óxidos de nitrilo por desidrohalogenação de cloretos de hidroximoilo, obtendo-se três compostos spiro (**2a**, 25%; **2b**, 28%; **2c**, 78%) (Esquema 2.17).



Esquema 2.17- Representação esquemática do trabalho desenvolvido.

Através de estudos de cristalografia de raio-X, confirmou-se que o isómero maioritário do composto **2a** e, por analogia, dos compostos **2b-c** corresponde ao resultante da adição dipolo-HOMO (spiro[oxindole-3,5'-isoxazolina]). Esta técnica permitiu também estabelecer a configuração relativa dos centros estereogénicos C-3 e C-5' do anel isoxazolina.

Este estudo desenvolvido representa o ponto de partida para a síntese de novos derivados spiro[oxindole-isoxazolininas] com potencial acção terapêutica. Para alcançar esse objectivo, diferentes derivados de 3-metileno indolina-2-onas e cloretos de hidroximoílo poderão ser utilizados de forma a obter-se uma biblioteca diversificada de spiro[oxindole-isoxazolininas].

III-Procedimento Experimental

3.1.Preâmbulo

Todo o trabalho experimental realizado envolveu vários procedimentos gerais, que seguidamente serão apresentados:

- Os solventes utilizados foram secos e purificados de acordo com métodos referidos na literatura [139].

- Os reagentes utilizados foram adquiridos comercialmente e utilizados sem purificação, à excepção de NaNO₂ (recristalizado em água [139]) e do composto **1b**, cedido pelo Doutor Praveen Kumar Siripuram do iMed-UL.

- Cromatografia em camada fina (CCF). As CCF foram utilizadas para seguir a evolução das reacções. Utilizaram-se folhas de alumínio com sílica gel F₂₅₄ (Merck). A revelação dos cromatogramas foi alcançada por irradiação de luz ultravioleta (UV) a 254 nm e/ou 366 nm. Aquando da sua utilização, o eluente é indicado, bem como a proporção volumétrica dos componentes que o constitui, nos casos de eluentes mistos.

- Cromatografia em coluna. A cromatografia em coluna foi utilizada para isolar e purificar alguns dos compostos sintetizados. Utilizou-se colunas de vidro de tamanho variável, com enchimento constituído por sílica Kieselgel 60 GF₂₅₄ (Merck) de granulometria 0,040-0,063 mm. Aquando da sua utilização, o eluente misto é indicado, bem como a proporção volumétrica dos componentes que o constitui.

- Cromatografia preparativa em camada fina. A cromatografia preparativa foi utilizada para isolar e purificar alguns dos compostos sintetizados. Utilizaram-se placas de vidro com sílica gel GF₂₅₄ (Merck) com 0,2 ou 0,5 mm de espessura. A revelação dos cromatogramas foi alcançada por irradiação de luz ultravioleta (UV) a 254 nm e/ou 366 nm. Aquando da sua utilização, o eluente misto é indicado, bem como a proporção volumétrica dos componentes que o constitui.

- Espectrometria de Difracção de Raios X. Os dados da estrutura cristalina do composto **2a** foram obtidos num difractómetro Bruker SMART 1000 CCD na Unidade de Raios X da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha.

- Espectrometria de Infravermelho (IV). Os espectros de IV foram registados num aparelho Impact 400, Nicolet Instrument corporation. São apresentadas apenas as frequências correspondentes às bandas características dos grupos carbonilo. Os dados obtidos encontram-se apresentados pela seguinte ordem: estado físico da amostra - KBr (em pastilha de brometo de potássio): frequência máxima de absorção ($\nu_{\text{máx}}$, em cm^{-1}); tipo de banda (f- forte ou l- larga); atribuição a um grupo de átomos na molécula.

- Espectrometria de Massa (EM). Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos num espectrómetro de massa triplo quadrupolo, efectuados no Laboratório de Cromatografia Líquida e Espectrometria de Massa da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Os dados obtidos encontram-se indicados pela seguinte ordem: razão massa/carga (m/z); atribuição do ião molecular $[M+Na]^+$; intensidade do pico relativa à do pico base (%).

- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os espectros de RMN foram obtidos num espectrómetro Bruker AMX-400 (400Hz) na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Os desvios são expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Utilizou-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os dados obtidos encontram-se indicados pela seguinte ordem: Núcleo (solvente): desvio químico (δ , ppm) [multiplicidade do sinal (s- singuleto, sl- singuleto largo, d- duplete, t- triplete, q- quadruplete, m- multiplete), constante de acoplamento (J , em Hertz), intensidade relativa (nH, como número de prótons), atribuição na molécula]. Foram obtidos espectros de ^1H , ^{13}C , ^{13}C APT, COSY, HMQC, HMBC e NOESY para a atribuição das estruturas dos compostos.

- Pontos de Fusão (p.f.). Os pontos de fusão foram determinados num aparelho de placa aquecida Bock monoscope M.

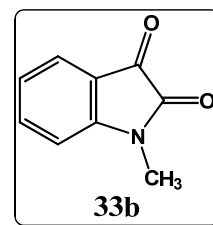
3.2.Síntese de 3-metileno indolina-2-onas

3.2.1.Síntese de *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**)

Um tubo fechado de microondas, contendo indolina-2,3-diona (**33a**) (153.0 mg, 1.04 mmol, 1.0 eq.), iodometano (260 μ L, 4.18 mmol, 4.0 eq.) e K_2CO_3 (183.6 mg, 1.32 mmol, 1.3 eq.) em DMF (2 mL), foi submetido a radiação microondas, nas condições operacionais: 300 W, 30 $^{\circ}C$, 50 minutos. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1), não se verificando consumo completo do material de partida. De seguida, adicionou-se água destilada e extraiu-se 4x com acetato de etilo. As fases orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. A purificação do resíduo obtido foi alcançada por cromatografia em coluna (sílica, diclorometano/acetato de etilo 12:1) [134]. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **33b** sob a forma de um sólido de cor laranja com um rendimento de 75%, apresentando:

p.f. 130-131 $^{\circ}C$ (p.f.lit. [134] 131 $^{\circ}C$; p.f.lit. [135] 129-130 $^{\circ}C$);

1H -RMN δ (400 MHz, $CDCl_3$): 7.61 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.60 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 7.13 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, ArH), 6.89 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, ArH), 3.25 (s, 3H, NCH_3) ppm.

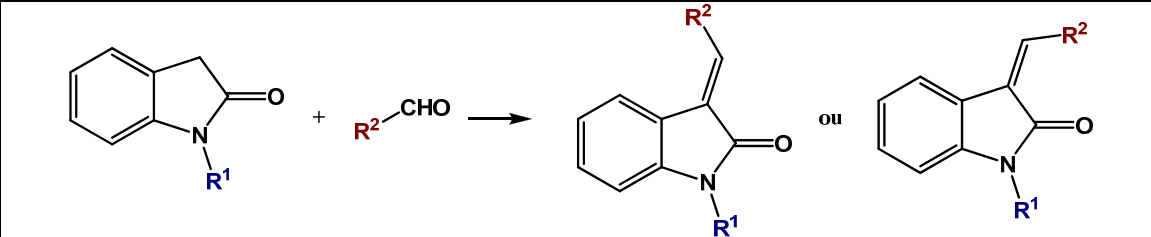


Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [135].

3.2.2.Condensação de indolina-2-onas (**35a-b**) com aldeídos (**10a-e**). Síntese de 3-metileno indolina-2-onas (**1c-h**)

Método Geral: A mistura reaccional constituída pelo derivado indolina-2-ona (1.0 eq.), aldeído (1.2 eq.) e piperidina (0.1 eq.) em solvente adequado foi agitada em refluxo, por um período de 3-5 horas, em atmosfera inerte de azoto. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1), até se verificar o consumo completo do material de partida (Tabela 3.1) [129].

Tabela 3.1- Reacção de indolina-2-onas com aldeídos.

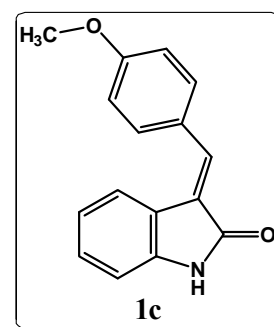


| Entr. | R ¹ | R ² | Indolina-2-ona (mg) | Solv. (mL) | Aldeído eq.(mg) | Piperidina eq.(μL) | Condições experimentais | Resultados experimentais (η%) |
|-------|-----------------|---|---------------------|------------|-----------------|--------------------|-------------------------|-------------------------------|
| 1 | H | 4-CH ₃ OPh | 100.3 | EtOH (1.0) | 1.2 (110μL) | 0.1 (7.5) | 3h a 90°C | 1c (50) |
| 2 | H | 4-N(CH ₃) ₂ Ph | 100.1 | EtOH (1.0) | 1.2 (134.4) | 0.1 (7.5) | 4h a 90°C | 1d (87) |
| 3 | H | Ph | 103.8 | EtOH (1.0) | 1.2 (95μL) | 0.1 (7.5) | 5h a 90°C | 1e (64) |
| 4 | H | 4-ClPh | 103.0 | MeOH (1.0) | 1.2 (128.7) | 0.1 (7.5) | 3h a 80°C | 1f (91) |
| 5 | CH ₃ | 4-N(CH ₃) ₂ Ph | 100.5 | EtOH (1.0) | 1.2 (122.3) | 0.1 (7.0) | 4h a 90°C | 1g (69) |
| 6 | H | CH(C ₂ H ₅) ₂ | 100.4 | EtOH (1.0) | 1.2 (110μL) | 0.1 (7.5) | 5h a 90°C | 1h (90) |

- (*E*)-3-(4'-metoxibenzilidenil)indolina-2-ona (**1c**): Após arrefecimento da mistura reaccional, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol frio. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1c** sob a forma de um sólido de cor amarela com um rendimento de 50%, apresentando:

p.f. 157-159 °C (p.f. lit. [130] 156-157°C);

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.36 (sl, 1H, NH-1), 7.79 (s, 1H, H-vinílico), 7.76 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-4), 7.68 (d, *J*=8.6 Hz, 2H, H-2',6'), 7.21 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-6), 7.00 (d, *J*=8.6 Hz, 2H, H-3',5'), 6.91 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-7), 6.90 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-5), 3.89 (s, 3H, OCH₃) ppm.



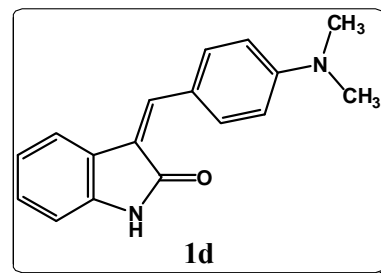
Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [129, 130].

- (*Z*)-3-(4'-dimetilaminobenzilidenil)indolina-2-ona (**1d**): Após arrefecimento da mistura reaccional, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol frio. Após

evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1d** sob a forma de um sólido de cor laranja com um rendimento de 87%, apresentando:

p.f. 231-233°C (p.f.lit. [130] 233-234°C);

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.39 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, H-2',6'), 7.73 (sl, 1H, NH-1), 7.48 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.47 (s, 1H, H-vinílico), 7.15 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.01 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-5), 6.83 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-7), 6.74 (d, $J=9.0$ Hz, 2H, H-3',5'), 3.08 (s, 6H, NMe₂) ppm.

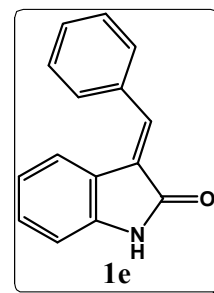


Os dados espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [129, 130].

- **(E)-3-benzilidenilindolina-2-ona (1e)**: Após arrefecimento da mistura reaccional, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol frio. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1e** sob a forma de um sólido de cor amarela com um rendimento de 64%, apresentando:

p.f. 180-182°C (p.f.lit. [130] 175-176 °C; p.f.lit. [131] 181-183°C)

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.40 (sl, 1H, NH-1), 7.85 (s, 1H, H-vinílico), 7.67 (d, $J=7.2$ Hz, 2H, H-2',6'), 7.64 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.48 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, H-3',5'), 7.44 (t, $J=7.2$ Hz, 1H, H-4'), 7.22 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 6.90 (d, $J=7.8$ Hz, 1H, H-7), 6.87 (t, $J=7.8$ Hz, 1H, H-5) ppm.

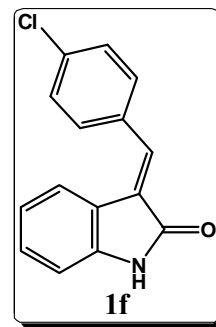


Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [130, 131].

- **(E)-3-(4'-clorobenzilidenil)indolina-2-ona (1f)**: Após arrefecimento da mistura reaccional, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol frio. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1f** sob a forma de um sólido de cor amarela com um rendimento de 91%, apresentando:

p.f. 190-192°C (p.f.lit. 188-189°C [130]; p.f.lit. [132] 191-193°C,

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.71 (sl, 1H, NH-1) 7.75 (s, 1H, H-vinílico), 7.61 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, H-2',6'), 7.58 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-4), 7.45 (t, *J*=8.4 Hz, 2H, H-3',5'), 7.23 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-6), 6.92 (d, *J*=7.8 Hz, 1H, H-7), 6.88 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-5) ppm.

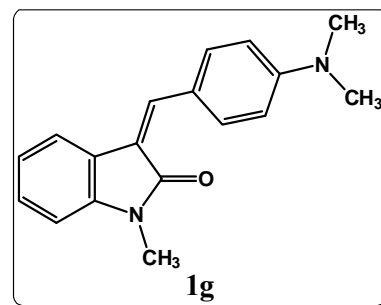


Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [130, 132].

- **(Z)-3-(4'-dimetilaminobenzilidenil)-1-metilindolina-2-ona (1g):** Após reacção completa, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). Após recristalização em acetato de etilo, obteve-se o composto **1g** sob a forma de um sólido de cor laranja com um rendimento de 69%, apresentando:

p.f. 130-132°C

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.43 (d, *J*=9.0 Hz, 2H, H-2',6'), 7.50 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-4), 7.47 (s, 1H, H-vinílico), 7.22 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-6), 7.03 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-5), 6.81 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-7), 6.73 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, H-3',5'), 3.31 (s, 3H, NCH₃), 3.08 (s, 6H, NMe₂) ppm.

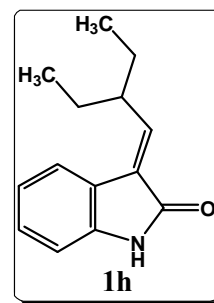


Os dados espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [129].

- **(E)-3-(2'-etilbutilidenil)indolina-2-ona (1h):** Após arrefecimento da mistura reaccional, o precipitado foi filtrado e lavado com etanol frio. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1h** sob a forma de um sólido de cor amarela-pálida com um rendimento de 90%, apresentando:

p.f. 134-135°C (p.f.lit. [133] 135-136°C);

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.85 (sl, 1H, NH-1) 7.62 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.21 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.01 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-5), 6.92 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-7), 6.83 (d, $J=10.8$ Hz, 1H, H-vinílico), 2.86-2.96 (m, 1H, CHEt₂), 1.64-1.72 (m, 2H, CH₂), 1.46-1.55 (m, 2H, CH₂), 0.93 (t, $J=8$ Hz, 6H, 2CH₃) ppm.



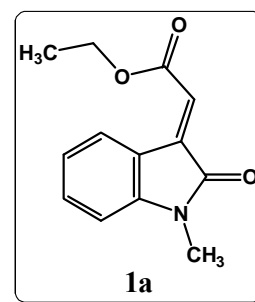
Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [133].

3.2.3. Condensação de *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) com etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (**36**): Síntese da (*E*)-2-(1'-metil-2'-oxoindolina-3'-ilideno)acetato de etilo (**1a**)

A mistura reaccional constituída por *N*-metilindolina-2,3-diona (**33b**) (250.8 mg, 1.56 mmol, 1.0 eq.) e etoxicarbonilmetileno-trifenil-fosfonato (**36**) (540.6 mg, 1.55 mmol, 1.0 eq.) em tolueno (4.0 mL) foi agitada a 80°C por um período de 5 horas, em atmosfera inerte de azoto. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1), até se verificar o consumo completo do material de partida. Após evaporação do solvente a pressão reduzida e subsequente adição de acetato de etilo ao resíduo, procedeu-se à lavagem com solução saturada de NaCl (*brine*) (2x). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 4:1) [136]. Após evaporação do solvente a pressão reduzida, obteve-se o composto **1a** sob a forma de um sólido de cor laranja com um rendimento de 94%, apresentando:

p.f. 90-91°C;

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 8.54 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.36 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.05 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-5), 6.89 (s, 1H, H-vinílico), 6.78 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-7), 4.32 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, CH₂), 3.22 (s, 3H, NCH₃), 1.36 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃) ppm;



¹³C-RMN δ (100 MHz, CDCl₃): 167.64 (C=O, indolina), 165.78 (C=O, éster), 146.06 (C-7a), 137.97 (C-3), 132.52 (C-6), 128.85 (C-4), 122.92 (C-5), 122.56 (C-8), 119.95 (C-3a), 108.22 (C-7), 61.29 (CH₂), 26.34 (NCH₃), 14.30 (CH₃) ppm;

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 1714.89 (f, C=O), 1612.77 (f, C=O) cm⁻¹.

3.3. Tentativas de síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidratação de compostos nitro primários

3.3.1. Utilizando K₂CO₃ como agente desidratante

Método Geral:

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona (1.0 eq.), em solvente apropriado contendo *molecular sieves*, adicionou-se benzoilnitrometano (1.0 eq.) e K₂CO₃ (2.0 eq.). A mistura reaccional foi deixada em refluxo, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida (Tabela 3.2) [91, 94].

Na entrada 1, o resíduo foi sujeito a cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:2), obtendo-se um sólido de cor laranja.

Na entrada 4, como o solvente reaccional foi o DMF, adicionou-se acetato de etilo e lavou-se 5x com água destilada. Após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida.

Tabela 3.2- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando K₂CO₃ como agente desidratante.

| Entrada | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solvente (mL) | Comp. nitro eq.(mg) | K ₂ CO ₃ eq.(mg) | Condições experimentais | Resultados experimentais |
|---------|--------------------------------|---------------|---------------------|--|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | 1d (29.8) | EtOH (3.5) | 1.0 (19.0) | 0.5x4* (31.8) | 21h a 90°C | Isomerização de 1d / M.P. |
| 2 | 1d (31.0) | EtOH (2.0) | 1.0 (19.0) | 2.0 (32.0) | 4h a 90°C | Isomerização de 1d / M.P. |
| 3 | 1d (30.1) | THF (2.0) | 1.0 (18.8) | 2.0 (31.4) | 5h a 80°C | Isomerização de 1d / M.P. |
| 4 | 1f (30.6) | DMF (2.0) | 1.0 (19.9) | 2.0 (32.8) | 20h a 165°C | Isomerização de 1f / M.P. |

* cada porção de 0.5 eq. de base foi adicionada de 2 em 2 horas.

3.3.2.Utilizando DABCO como agente desidratante

3.3.2.1.Método Convencional

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1d** (30.4 mg, 0.115 mmol, 1.0 eq.), em etanol (2.0 mL) contendo *molecular sieves*, adicionou-se benzoilnitrometano (19.1 mg, 0.116 mmol, 1.0eq.) e DABCO (25.6 mg, 0.228 mmol, 2.0 eq.). A mistura reaccional permaneceu em refluxo, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto, durante 4 horas. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 1:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida (Entrada 1, Tabela 3.3) [91, 94].

3.3.2.2.Em tubo fechado

Método Geral:

Num tubo fechado, adicionou-se benzoilnitrometano (2.0 ou 2.5 eq.) e DABCO (0.5 eq.) a uma solução de 3-metileno indolina-2-ona (1.0 eq.) em clorofórmio. A mistura reaccional permaneceu em agitação a 60°C, sob atmosfera inerte de azoto (Entrada 2 e 3, Tabela 3.3).

Na entrada 2, a evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, éter etílico). De seguida o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em éter etílico. A solução foi lavada, inicialmente, com *brine* (3x), depois com uma solução de NaOH 1N (3x), e depois novamente com *brine* (3x). Após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtração e lavagem com diclorometano, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:2), obtendo-se um sólido de cor laranja.

Na entrada 3, a evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida lavou-se 3x com *brine* e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida [91, 94].

3.3.2.3.Em micro-ondas

a) Método Geral:

Um tubo fechado para microondas, contendo a 3-metileno indolina-2-ona (1.0 eq.), composto nitro primário (2.0-2.5 eq.) e DABCO (0,5-2.0 eq.) em solvente apropriado, foi submetido a radiação microondas, em diversas condições operacionais. A evolução da reação foi controlada por CCF. O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida lavou-se 3x com *brine*. Após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entrada 4-9, Tabela 3.3) [91, 94].

Na entrada 4 o resíduo foi purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:2), obtendo-se um sólido de cor laranja.

Na entrada 6, o resíduo foi purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/éter 3:2), obtendo-se um sólido castanho-escuro.

b) A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.0 mg, 0.086 mmol, 1 eq.) e ZnCl₂ (12.0 mg, 0.088 mmol, 1.0 eq.) em tolueno (2.0 mL), em banho de gelo, adicionou-se, após 30 minutos, sob agitação e em atmosfera inerte de azoto, benzoilnitrometano (28.5 mg, 0.173 mmol, 2.0 eq.) e DABCO (4.9 mg, 0.04 mmol, 0.5 eq.). O tubo fechado foi submetido a radiação microondas (300 w, 160 °C e 12 min). O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida lavou-se 3x com *brine*. Após secagem da fase orgânica com sulfato de sódio anidro, filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/éter 3:2), obtendo-se um sólido castanho-escuro (Entrada 10, Tabela 3.3) [91, 94].

Tabela 3.3- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários, utilizando DABCO como agente desidratante.

| Entr. | Proc. | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solvente (mL) | Comp. Nitro eq.(mg) | DABCO eq.(mg) | Condições experimentais | | | Resultados experimentais |
|-------|-----------|--------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------|--------|---------|----------------------------------|
| | | | | | | P (W) | T (°C) | t (min) | |
| 1 | M.C. | 1d (30.4) | EtOH (2.0) | 1.0 (19.1) | 2.0 (25.6) | 4h a 90°C | | | Isomerização de 1d / M.P. |
| 2 | T.F. | 1g (20.0) | CHCl ₃ (1.0) | 2.5 (29.8) | 0.5 (4.1) | 27h a 60°C | | | Isomerização de 1g / M.P. |
| 3 | T.F. | 1a (20.3) | CHCl ₃ (1.0) | 2.0 (28.5) | 0.5 (5.3) | 9h a 60°C | | | Produto castanho-escuro |
| | | | | | | M.O.: | | | |
| | | | | | | P (W) | T (°C) | t (min) | |
| 4 | M.O. a | 1g (19.8) | CHCl ₃ (1.0) | 2.5 (29.7)* | 0.5 (3.9) | 100 | 120 | 9 | Isomerização de 1g / M.P. |
| 5 | M.O. a | 1a (20.4) | CHCl ₃ (2.0) | 2.0 (28.6)* | 0.5 (5.0) | 300 | 120 | 28 | Produto castanho-escuro |
| 6 | M.O. a | 1a (20.2) | Tolueno (2.0) | 2.0 (28.6)* | 0.5 (5.1) | 300 | 160 | 9 | Produto castanho-escuro |
| 7 | M.O. a | 1a (20.0) | Tolueno (2.0) | 2.1 (20µL)** | 0.5 (5.0) | 300 | 160 | 27 | M.P. 1a |
| 8 | M.O. a | 1h (20.1) | Tolueno (2.0) | 2.0 (30.8)* | 0.5+1.5 [‡] (21) | 300 | 160 | 54 | Isomerização de 1h / M.P. |
| 9 | M.O. a | 1c (20.1) | Tolueno (2.0) | 2.0 (23.6)* | 0.5 (4.1) | 300 | 160 | 36 | Isomerização de 1c / M.P. |
| 10 | M.O. b | 1a (20.0) | Tolueno (2.0) | 2.0 (28.5)* | 0.5 (4.9) | 300 | 160 | 12 | Produto castanho-escuro |

*Composto nitro utilizado: benzoilnitrometano; **composto nitro utilizado: nitroacetato de etilo; ‡: A base foi adicionada em duas porções aos 0 e 9 min. M.C.: método convencional; T.F.: em tubo fechado; M.O.: em micro-ondas; a: sem adição de ZnCl₂; b: com adição de ZnCl₂.

3.3.3.Utilizando DIEA como agente desidratante

Método Geral:

A uma solução de composto nitro (1.0 eq.) em etanol contendo *molecular sieves*, foi adicionado, gota a gota, DIEA (2.1 eq.). A solução foi mantida em refluxo, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto, durante 30 minutos. De seguida, adicionou-se a 3-metileno indolina-2-ona **1e** (1.0 eq.), mantendo-se as condições previamente estabelecidas. Passado 22.5 h de reacção adicionou-se novamente DIEA (2.1 eq.), gota a gota, e etanol. Como não houve qualquer reacção, às 24.5 h adicionou-se mais composto nitro (1.0 eq.). A mistura reaccional permaneceu em refluxo, num total de 42h. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida (Tabela 3.4) [91, 94].

Na entrada 1, o resíduo foi ainda purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 6:1), dando origem a um sólido de cor amarela.

Tabela 3.4- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com compostos nitro primários, utilizando DIEA como agente desidratante.

| Entrada | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solvente (mL) | Comp. Nitro eq.(mg) | DIEA eq.(µL) | Condições experimentais | Resultados experimentais |
|---------|--------------------------------|---------------|-----------------------|-----------------|-------------------------|----------------------------------|
| 1 | 1e (29.8) | EtOH (2.5) | 1.0+1.0 (22.0+22.5)* | 2.1+2.1 (50+50) | 42h a 90°C | Isomerização de 1e / M.P. |
| 2 | 1e (30.0) | EtOH (2.5) | 1.0+1.0 (19.0+18.0)** | 2.1+2.1 (50+50) | 42h a 90°C | Isomerização de 1e / M.P. |

*Composto nitro utilizado: benzoilnitrometano; **composto nitro utilizado: nitroacetato de etilo

3.3.4.Utilizando 1-NMI como agente desidratante

3.3.4.1.Método Convencional

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1g** (30.6 mg, 0.110 mmol, 1.0 eq.), em clorofórmio (1.0 mL) contendo *molecular sieves*, adicionou-se benzoilnitrometano (36.3 mg, 0.220 mmol, 2.0 eq.) e 1-NMI (5 µL, 0.063 mmol, 0.6 eq.). A mistura reaccional permaneceu em refluxo, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto, durante 43 horas. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 1:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida (Entrada 1, Tabela 3.5) [91, 94].

3.3.4.2.Em tubo fechado

Num tubo fechado, adicionou-se benzoilnitrometano (28.5 mg, 0.173 mmol, 2.0 eq.) e 1-NMI (4 µL, 0.050 mmol, 0.6 eq.) a uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (19.9 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.), em clorofórmio (1.0 mL). A mistura reaccional permaneceu em agitação a 60°C, sob atmosfera inerte de azoto, por um período de 21.5 horas. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida lavou-se 3x com *brine* e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entrada 2, Tabela 3.5) [91, 94].

3.3.4.3. Em micro-ondas

Método Geral:

Um tubo fechado para microondas, contendo a 3-metileno indolina-2-ona **1a** (1.0 eq.), benzoilnitrometano (2.0 eq.) e 1-NMI (0.6 eq.) em solvente apropriado foi submetido a radiação microondas, em diversas condições operacionais. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/éter 1:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida, lavou-se 3x com *brine* e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entradas 3 e 4, Tabela 3.5) [91, 94].

Na entrada 4, o resíduo foi ainda purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/éter 3:2), obtendo-se um sólido castanho-escuro.

Tabela 3.5- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando 1-NMI como agente desidratante.

| Entr. | Proc. | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solvente (mL) | Comp. Nitro eq.(mg) | 1-NMI eq.(μ L) | Condições experimentais | | | Resultados experimentais |
|-------|-------|--------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------|-------|----------------------------------|
| 1 | M.C. | 1g (30.6) | CHCl ₃ (1.0) | 2.0 (36.3) | 0.6 (5) | 43h a 70°C | | | Isomerização de 1g / M.P. |
| 2 | T.F. | 1a (19.9) | CHCl ₃ (1.0) | 2.0 (19.9) | 0,6 (4) | 21.5h a 60°C | | | Produto castanho-escuro |
| | | | | | | M.O.: | | | |
| | | | | | | P | T | t | |
| | | | | | | (W) | (°C) | (min) | |
| 3 | M.O. | 1a (20.3) | CHCl ₃ (2.0) | 2.0 (28.6) | 0.6 (4) | 300 | 120 | 58 | Produto castanho-escuro |
| 4 | M.O. | 1a (20.0) | Tolueno (2.0) | 2.0 (28.6) | 0.6 (4) | 300 | 160 | 24 | Produto castanho-escuro |

M.C.: método convencional; T.F.: em tubo fechado; M.O.: em micro-ondas.

3.3.5. Utilizando Et₃N como agente desidratante

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1b** (10.0 mg, 0.050 mmol, 1.0 eq.) e nitroacetato de etilo (6 μ L, 0.054 mmol, 1.1 eq.) em éter etílico (1.0 mL) foi colocada em banho de gelo, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto. A esta solução, foi adicionada, gota a gota, uma solução de Et₃N (7 μ L, 0.050 mmol, 1.0 eq.) em éter

etílico (1 mL). De seguida, o tubo fechado, contendo a mistura reaccional, foi submetido a radiação microondas (300 W, 25 °C, 18 min.). Aos 12 minutos, adicionou-se Et₃N (4 µL, 0.029 mmol, 0.6 eq.). A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 1:1). De seguida, lavou-se 3x com *brine* e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida [128]. Não ocorreu reacção.

3.3.6.Utilizando fenilisocianato como agente desidratante

Uma solução de trietilamina (4 µL, 0.029 mmol, 0.3 eq.) e fenilisocianato (24 µL, 0.221 mmol, 2.6 eq.) em tolueno (1.0 mL) foi adicionada, gota a gota, a uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.0 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.) e benzoilnitrometano (14.4 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq.) em tolueno (1.0 mL), a 90°C, com agitação, em atmosfera inerte de azoto. A mistura reaccional foi deixada em agitação durante 49h. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/éteretílico 1:1). Após evaporação do solvente a pressão reduzida e adição de acetato de etilo, procedeu-se a uma lavagem com *brine* (3x). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, o solvente foi evaporado a pressão reduzida [71]. Não ocorreu reacção.

3.3.7.Utilizando dicarbonato de di-*terc*-butilo como agente desidratante

3.3.7.1.Método Convencional

Método Geral:

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona (1.0 eq.), benzoilnitrometano (1.0 eq.) e DMAP (0.2 eq.) em tolueno a 90°C, em atmosfera inerte de azoto, foi adicionado, gota a gota, com agitação, uma solução de Boc₂O (2.5 eq.) em tolueno. A mistura reaccional foi deixada em agitação durante 19h. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/éteretílico 1:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e adicionou-se acetato de etilo. Após lavagem com *brine* (3x) e secagem da fase

orgânica com sulfato de sódio anidro, procedeu-se a uma filtração e lavagem com acetato de etilo. O solvente foi evaporado a pressão reduzida (Entrada 1 e 2, Tabela 3.6) [71].

3.3.7.2. Em micro-ondas

Um tubo fechado para microondas, contendo a 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.0 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.), benzoilnitrometano (14.5 mg, 0.088 mmol, 1.0 eq.), DMAP (2.2 mg, 0.018 mmol, 0.2 eq.) e Boc₂O (50 µL, 0.218 mmol, 2.5 eq.) em tolueno (2.0 mL) foi submetido a radiação microondas (1º: 300 W, 25 °C, 9 min; 2º: 300 W, 90 °C, 9 min; 3º: 300 W, 160 °C, 24 min). Aos 27 minutos foi adicionado novamente benzoilnitrometano (14.3 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq.), DMAP (2.2 mg, 0.018 mmol, 0.2 eq.) e Boc₂O (50 µL, 0.218 mmol, 2.5 eq.). A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/éter etílico 1:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. De seguida lavou-se 3x com *brine* e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entrada 3, Tabela 3.6) [71].

Tabela 3.6- Reacção de 3-metileno indolina-2-onas com benzoilnitrometano, utilizando Boc₂O/DMAP como agente desidratante.

| Entr. | Proc. | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Comp. Nitro eq.(mg) | Boc ₂ O eq.(µL) | DMAP eq. (mg) | Condições experimentais | | | Resultados experimentais |
|-------|-------|--------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------|-------------------------|--------|---------|--------------------------|
| | | | | | | P (W) | T (°C) | t (min) | |
| 1 | M.C. | 1b (20.0) | 1.0 (16.4) | 2.5 (57) | 0.2 (2.5) | 19h a 90°C | | | Mistura complexa |
| 2 | M.C. | 1a (20.0) | 1.0 (14.3) | 2.5 (50) | 0.2 (2.2) | 19h a 90°C | | | M.P. 1a |
| | | | | | | M.O.: | | | |
| | | | | | | P | T | t | |
| | | | | | | (W) | (°C) | (min) | |
| 3 | M.O. | 1a (20.0) | 1.0+1.0 (28.8) | 2.5+2.5 (100) | 0.2+0.2 (4.4) | 300 | 120 | 58 | M.P. 1a |

M.C.: método convencional; M.O.: em micro-ondas.

3.3.8. Utilizando cloreto de fosforilo como agente desidratante

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.1 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq.), benzoilnitrometano (14.3 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq.) e Et₃N (50 µL, 0.360 mmol, 4.1 eq.) em clorofórmio (0.3 mL), sob atmosfera inerte de azoto, foi adicionada, gota a gota, com agitação, uma solução de POCl₃ (12 µL, 0.131 mmol, 1.5 eq.) em clorofórmio (0.3 mL). Após 30 minutos, adicionou-se novamente Et₃N (24 µL, 0.171 mmol, 2.0 eq.) e uma solução de POCl₃ (4 µL, 0.044 mmol, 0.5 eq.) em clorofórmio (0.2 mL). Após 18 horas, adicionou-se benzoilnitrometano (14.3 mg, 0.087 mmol, 1.0 eq.). A mistura reaccional permaneceu nestas condições num total de 22h. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/éter etílico 1:1). A mistura reaccional foi lavada com *brine* (3x) e a fase orgânica seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com diclorometano, o solvente foi evaporado a pressão reduzida [83]. Não ocorreu reacção.

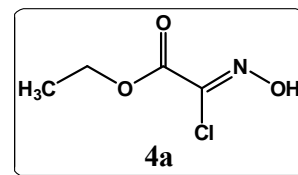
3.4.Síntese de cloretos de hidroximoílo

3.4.1.Síntese de clorooximidoacetato de etilo (4a)

Uma solução de cloridrato de 2-aminoacetato de etilo (**41a**) (1000.1 mg, 7.16 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1.5 mL) foi arrefecida a uma temperatura de -5°C . Sob agitação, adicionou-se HCl a 37% (600 μL , 7.25 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de nitrito de sódio (494.6 mg, 7.17 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1 mL), gota a gota. De seguida, voltou-se a adicionar HCl a 37% (600 μL , 7.25 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de nitrito de sódio (494.7 mg, 7.17 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1.0 mL), gota a gota. A clorooximida formada foi extraída com éter etílico (3x). As fases orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com éter etílico, o solvente foi evaporado e o resíduo recristalizado em éter etílico [56], obtendo-se o composto **4a** sob a forma de um sólido de cor branca com um rendimento de 44%, apresentando:

p.f.: 77-78 $^{\circ}\text{C}$ (p.f. lit. [56] 80 $^{\circ}\text{C}$);

$^1\text{H-RMN}$ δ (400 MHz, CDCl_3): 9.44 (sl, 1H, O-H), 4.40 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, CH_2), 1.39 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH_3) ppm.



Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [56].

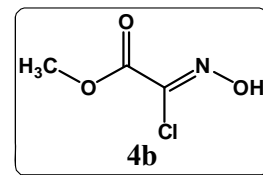
3.4.2.Síntese de clorooximidoacetato de metilo (4b)

Uma solução de cloridrato de 2-aminoacetato de metilo (**41b**) (1000.1 mg, 7.97 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1.5 mL) foi arrefecida a uma temperatura de -5°C . Sob agitação, adicionou-se HCl a 37% (660 μL , 7.97 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de nitrito de sódio (549.7 mg, 7.97 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1.0 mL), gota a gota. De seguida, voltou-se a adicionar HCl a 37% (660 μL , 7.97 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de nitrito de sódio (549.6 mg, 7.97 mmol, 1.0 eq.) em água destilada (1.0 mL), gota a gota. A clorooximida formada foi extraída com éter etílico (3x). As fases

orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com éter etílico, o solvente foi evaporado e o resíduo recristalizado em éter etílico [56], obtendo-se o composto **4b** sob a forma de um sólido de cor branca com um rendimento de 37%, apresentando:

p.f.: 51-52°C (p.f. lit. [55] 61-63°C);

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 10.06 (sl, 1H, O-H), 3.95 (s, 3H, CH₃) ppm.

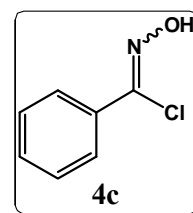


Os dados físicos e espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [55].

3.4.3. Síntese de cloreto de *N*-hidroxibenzimidóilo (**4c**)

A uma solução de cloridrato de hidroxilamina (**42**) (170.3 mg, 2.45 mmol, 1.3 eq.) em água destilada (5.5 mL), adicionou-se Na₂CO₃ (131.8 mg, 1.24 mmol, 0.7eq.) e benzaldeído (**10c**) (190 μ L, 1.88 mmol, 1.0 eq.). A mistura reaccional foi aquecida, com agitação, a 100°C, permanecendo em refluxo por 2 horas. Após arrefecimento à temperatura ambiente, extraiu-se a oxima formada com diclorometano (3x). As fases orgânicas foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com diclorometano, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em clorofórmio (7.0 mL). Sob atmosfera inerte de azoto e agitação, adicionou-se 1 gota de piridina e, após 5 minutos, NCS (251.6 mg, 1.88 mmol, 1.0 eq.) às porções. Após 19 horas, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo submetido a purificação por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 10:1) [49], obtendo-se o composto **4c**, sob a forma de um óleo acastanhado com um rendimento de 67%, apresentando:

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 9,38 (s, 1H, O-H), 7.84 (d, *J*=7.6 Hz, 2H, Ar-H), 7.39-7.45 (m, 3H, Ar-H) ppm.



Os dados espectroscópicos deste composto estão de acordo com os referidos na literatura [138].

3.5.Síntese de derivados spiro[oxindole-isoxazolina] a partir da desidrohalogenação de cloretos de hidroximoílo.

3.5.1.Tentativa de síntese de derivado spiro[oxindole-isoxazolina] 2f a partir da 3-metileno indolina-2-ona 1g e clorooximidoacetato de etilo (4a)

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1g** (20.0 mg, 0.072 mmol, 1.0 eq.) e clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (11.0 mg, 0.073 mmol, 1.0 eq.), em éter etílico (2.0 mL), foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. De seguida, adicionou-se, com agitação, uma solução de Et₃N (10 µL, 0.072 mmol, 1.0 eq.) no mesmo solvente (0.3 mL), gota a gota. O tubo fechado foi submetido a radiação microondas (300 W, 70 °C, 24 min.). A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 1:1). A mistura reaccional foi lavada 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio. Após filtração e lavagem com éter etílico, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida [128]. Não ocorreu reacção.

3.5.2.Síntese de 1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de etilo (2a)

3.5.2.1.Método Convencional

3.5.2.1.1.Adicção lenta da base

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.0 mg, 0.086 mmol, 1.0eq.) e clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (13.1 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (1.0 mL), foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. De seguida, adicionou-se, com agitação, uma solução de Et₃N (13 µL, 0.093 mmol, 1.1 eq.) em éter etílico (0.3 mL), gota a gota. A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente, durante 23h. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, éter de petróleo/acetato de etilo 2:1). A mistura foi lavada 3x com água destilada e a fase

orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com éter etílico, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entrada 1, Tabela 3.7) [128].

3.5.2.1.2. Adição lenta de cloreto de hidroximoilo

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (100.1 mg, 0.433 mmol, 1.0 eq.) e Et₃N (60 µL, 0.430 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. Adicionou-se, com agitação, uma solução de clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (65.5 mg, 0.432 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico, gota a gota, por um período de 30 minutos. De seguida, adicionou-se novamente Et₃N (60 µL, 0.430 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (65.5 mg, 0.432 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico, gota a gota, por um período de 30 minutos. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1). Após recristalização em éter, obteve-se um sólido de cor branca (Entrada 2, Tabela 3.7).

3.5.2.2. Em micro-ondas

3.5.2.2.1. Adição lenta da base

Método Geral:

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (1.0 eq.) e clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (1.0 eq.), em solvente apropriado, foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. De seguida, adicionou-se, com agitação, uma solução de base (1.0 eq.) no mesmo solvente, gota a gota. O tubo fechado foi submetido a radiação microondas, em diversas condições operacionais. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). A mistura reaccional foi lavada 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (no caso do solvente da reacção ter sido o THF, este foi previamente evaporado a pressão reduzida e substituído por éter etílico). Após filtração e lavagem com éter etílico, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida (Entrada 3-5, Tabela 3.7).

Na entrada 3 o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se um sólido de cor branca.

Na entrada 5, o resíduo foi purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se um sólido de cor branca.

3.5.2.2.2. Adição inicial da base e do cloreto de hidroximoilo

Um tubo fechado para microondas, contendo a 3-metileno indolina-2-ona **1a** (1.0 eq.), clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (1.0 eq.) e DABCO (1.0 eq.) em solvente apropriado, foi submetido a radiação microondas, em diversas condições operacionais. A evolução da reação foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1) (Entrada 6 e 7, Tabela 3.7).

Na entrada 6, aos 20 minutos, adicionou-se novamente clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (1.0 eq.) e DABCO (1.0 eq.). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se um sólido de cor branca.

Na entrada 7, o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. A mistura reaccional foi lavada 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com acetato de etilo, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida.

3.5.2.2.3. Adição lenta do cloreto de hidroximoilo

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (20.0 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.) e DIEA (15 µL, 0.086 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico, foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. Adicionou-se, com agitação, uma solução de clorooximidoacetato de etilo (**4a**) (13.1 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.) no mesmo solvente, gota a gota, por um período de 30 minutos. O tubo fechado foi submetido a radiação microondas (300 W; 70 °C; 10 min.). De seguida, arrefeceu-se novamente o tubo a 0°C e, em atmosfera inerte de azoto, adicionou-se, com agitação, DIEA (15 µL, 0.086 mmol,

1.0 eq.) e uma solução de cloroóximidoacetato de etilo (**4a**) (13.1 mg, 0.086 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico, gota a gota, por um período de 30 minutos. A mistura reaccional foi submetida a radiação microondas (300 W; 70 °C; 10 min.). A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia preparativa (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1). Após recristalização em éter etílico, obteve-se um sólido de cor branco (Entrada 8, Tabela 3.7)

Tabela 3.7- Reacção da 3-metileno indolina-2-ona **1a com cloroóximidoacetato de etilo (**4a**).**

| Entr. | Proc. | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solv. (mL) | Cloro-oximida 4a eq.(mg) | Base eq.(μ L) | Condições experimentais | | | Resultados experimentais (η %) |
|--------------|-----------|--------------------------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------|------------|-----------|--------------------------------------|
| | | | | | | P (W) | T (°C) | t (min) | |
| 1 | M.C. a | 1a (20.0) | Éter (1.3) | 1.0 (13.1) | Et ₃ N 1.1 (13) | 23h a T.A. | | | 2a n.c. |
| 2 | M.C. b | 1a (100.1) | Éter (5.0) | 1.0+1.0 (131) | Et ₃ N 1.0+1.0 (120) | 0.5h+0.5h | | | 2a (25) |
| M.O.: | | | | | | P | T | t | |
| | | | | | | (W) | (°C) | (min) | |
| 3 | M.O. a | 1a (20.0) | Éter (2.3) | 1.0 (13.1) | Et ₃ N 1.1 (13) | 300 | 70 | 90 | 2a (20) |
| 4 | M.O. a | 1a (20.1) | CHCl ₃ (2.3) | 1.0 (13.3) | Et ₃ N 1.1 (13) | 300 | 120 | 99 | 2a n.c. |
| 5 | M.O. a | 1a (20.0) | THF (2.3) | 1.0 (13.1) | Et ₃ N 1.1 (13) | 300 | 90/ 120 | 38 | 2a (13) |
| 6 | M.O. c | 1a (20.1) | Éter (2.0) | 1.0+1.0 (26.3) | DABCO 1.0+1.0 (19.6mg) | 300 | 70/ 90 | 30/ 20 | 2a (7) |
| 7 | M.O. c | 1a (20.0) | Tolueno (2.0) | 1.0 (13.1) | DABCO 1.0 (9.8mg) | 300 | 160 | 54 | Não houve reacção/M.P. 1a |
| 8 | M.O. b | 1a (20.1) | Éter (4.5) | 1.0+1.0 (26.2) | DIEA 1.0+1.0 (30) | 300 | 70 | 20 | 2a (20) |

n.c.: rendimento não calculado. M.C.: método convencional; M.O.: em micro-ondas. a: adição lenta da base; b: adição lenta do cloreto de hidroximoilo; c: adição inicial da base e do cloreto de hidroximoilo.

1-metil-2-oxo-4'-H-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de etilo (2a):

sólido de cor branca, apresentando:

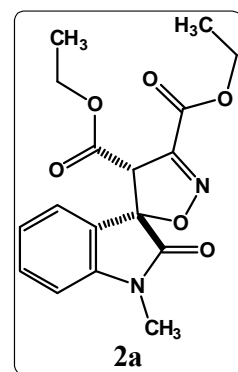
p.f. 117-118°C;

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 7.39 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.27 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.06 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-5), 6.85 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-7), 4.77 (s, 1H, H-4'), 4.40 (q, $J=7.0$ Hz, 2H, CH₂), 3.94 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH₂), 3.23 (s, 3H, NCH₃), 1.39 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃), 0.91 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃) ppm;

¹³C-RMN δ (100 MHz, CDCl₃): 172.63 (C=O, indolina), 165.72 (C=O, éster), 159.29 (C=O, éster), 149.50 (C=N), 144.45 (C-7a), 131.99 (C-6), 125.99 (C-4), 123.63 (C-5), 122.84 (C-3a), 109.01 (C-7), 88.49 (C-3), 62.77 (CH₂), 62.21 (CH₂), 59.48 (C-4'), 26.89 (NCH₃), 14.21 (CH₃), 13.76 (CH₃) ppm;

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 1740.43 (f, 1 2C=O), 1612.77 (f, C=O) cm⁻¹;

EM-ESI m/z (int. rel., %): 369.21 [M + Na]⁺ (100).



3.5.3. Síntese de 1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-3',4'-dicarboxilato de 3'metilo-4'etilo (**2b**)

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (99.9 mg, 0.432 mmol, 1.0 eq.) e Et₃N (60 μL, 0.430 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (3.0 mL) foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. Adicionou-se, com agitação, uma solução de cloroóximidoacetato de metilo (**4b**) (59.5 mg, 0.434 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (1.0 mL), gota a gota, por um período de 30 minutos. De seguida, adicionou-se novamente Et₃N (60 μL, 0.430 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de cloroóximidoacetato de metilo (**4b**) (59.5 mg, 0.434 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (1.0 mL), gota a gota, por um período de 30 minutos. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 2:1). De seguida, lavou-se a mistura reaccional 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com éter etílico, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se o composto **2b** sob a forma de um sólido de cor branca com um rendimento de 28%, apresentando:

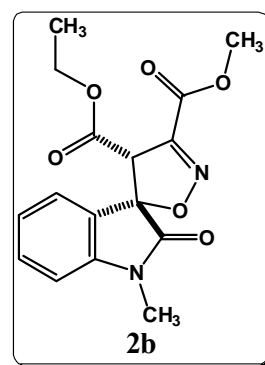
p.f. 106-107°C;

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 7.39 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-6), 7.26 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-4), 7.06 (t, *J*=7.6 Hz, 1H, H-5), 6.85 (d, *J*=7.6 Hz, 1H, H-7), 4.75 (s, 1H, H-4'), 3.91-3.97 (m, 2H, CH₂), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.23 (s, 3H, NCH₃), 0.89 (t, *J*=7.0 Hz, 3H, CH₃) ppm;

¹³C-RMN δ (100 MHz, CDCl₃): 172.53 (C=O, indolina), 163.65 (C=O, éster), 159.72 (C=O, éster), 149.24 (C=N), 144.43 (C-7a), 132.03 (C-6), 125.92 (C-4), 123.62 (C-5), 122.69 (C-3a), 109.03 (C-7), 88.53 (C-3), 62.24 (CH₂), 59.32 (C-4'), 53.33 (OCH₃), 26.87 (NCH₃), 13.72 (CH₃) ppm;

IV ν_{máx} (KBr): 1746.81 (f, C=O), 1727.66 (f, C=O), 1612.77 (f, C=O) cm⁻¹;

EM-ESI m/z (int. rel., %): 354.96 [M + Na]⁺ (100).



3.5.4.Síntese de 3'-fenil-1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-4'-carboxilato de metilo (2c)

3.5.4.1.Adição lenta do cloreto de hidroximoílo

Uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (50.0 mg, 0.216 mmol, 1.0 eq.) e Et₃N (30 µL, 0.215 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (1.5 mL), foi arrefecida a 0°C, em banho de gelo e em atmosfera inerte de azoto. Adicionou-se, com agitação, uma solução de cloreto de *N*-hidroxibenzimidoílo (**4c**) (33.6 mg, 0.216 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (0.5 mL), gota a gota, por um período de 30 minutos. De seguida, adicionou-se novamente Et₃N (30 µL, 0.215 mmol, 1.0 eq.) e uma solução de cloreto de *N*-hidroxibenzimidoílo (**4c**) (33.6 mg, 0.216 mmol, 1.0 eq.) em éter etílico (0.5 mL), gota a gota, por um período de 30 minutos. A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente durante 2 horas. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1). De seguida, lavou-se a mistura reaccional 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com éter etílico, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se um sólido de cor branca (Entrada 1, Tabela 3.8).

3.5.4.2.Adição lenta da base

A uma solução de 3-metileno indolina-2-ona **1a** (99.9 mg, 0.432 mmol, 1.0 eq.) e cloreto de *N*-hidroxibenzimidoílo (**4c**) (67.0 mg, 0.431 mmol, 1.0 eq.) em clorofórmio (3.0 mL), adicionou-se, gota a gota, com agitação, sob atmosfera inerte de azoto, uma solução de Et₃N (60 µL, 0.430 mmol, 1.0eq.) em clorofórmio. A mistura reaccional permaneceu à temperatura ambiente durante 90 minutos. A evolução da reacção foi controlada por CCF (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1). De seguida lavou-se a mistura reaccional 3x com água destilada e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após filtração e lavagem com diclorometano, procedeu-se à evaporação do solvente a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica, *n*-hexano/acetato de etilo 3:1) e recristalizado em éter etílico, obtendo-se um sólido de cor branca (Entrada 2, Tabela 3.8).

Tabela 3.8- Reacção da 3-metilenoindolina-2-ona **1a** com cloreto de *N*-hidroxi benzimidol (4c).

| Entr. | Proc. | 3-metileno indolina-2-ona (mg) | Solv. (mL) | Cloro-oximida 4c eq.(mg) | Base eq.(μ L) | Condições experimentais | Resultados experimentais (η %) |
|-------|-------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| 1 | b | 1a (50.0) | Éter (2.5) | 1.0+1.0 (67.2) | Et ₃ N 1.0+1.0 (60) | 2h a T.A. | 2c (78) |
| 2 | a | 1a (99.9) | CHCl ₃ (3.0) | 1.0 (67) | Et ₃ N 1.0 (60) | 1.5h a T.A. | 2c (65) |

a: adição lenta da base; b: adição lenta do cloreto de hidroximoilo

- **3'-fenil-1-metil-2-oxo-4'*H*-spiro[indolina-3,5'-isoxazole]-4'-carboxilato de metilo (2c)**: sólido de cor branca, apresentando:

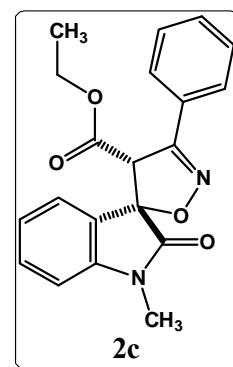
p.f. 137-138°C;

¹H-RMN δ (400 MHz, CDCl₃): 7.66 (d, $J=7.0$ Hz, 2H, H-2',6'), 7.41-7.45 (m, 3H, H-3',4',5'), 7.37 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-6), 7.36 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-4), 7.06 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, H-5), 6.86 (d, $J=7.6$ Hz, 1H, H-7), 4.90 (s, 1H, H-4'), 3.93 (q, $J=7.2$ Hz, 2H, CH₂), 3.24 (s, 3H, NCH₃), 0.89 (t, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃) ppm;

¹³C-RMN δ (100 MHz, CDCl₃): 173.95 (C=O, indolina), 166.57 (C=O, éster), 154.76 (C=N), 144.57 (C-7a), 131.57 (C-6), 130.66 (C-4''), 128.95 (C-3'',C-5''), 128.42 (C-1''), 127.16 (C-2'',5''), 126.16 (C-4), 123.54 (C-3a), 123.45 (C-5), 108.85 (C-7), 86.97 (C-3), 62.07 (CH₂), 60.93 (C-4'), 26.77 (NCH₃), 13.76 (CH₃) ppm;

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 1726.66 (f, C=O), 1612.77 (f, C=O) cm⁻¹;

EM-ESI m/z (int. rel., %): 373.24 [M + Na]⁺ (100).



IV-Referências Bibliográficas

1. Gothelf, K.V. Jorgensen, K.A. Asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition reactions. *Chem. Rev.* **1998**. 98(2): 863-909.
2. Gothelf, K.V. Asymmetric metal-catalyzed 1,3-dipolar cycloaddition reactions, em *Cycloaddition reactions in organic synthesis*, S. Kobayashi K.A. Jorgensen, Editores. **2001**, Wiley-VCH Verlag GmbH.
3. Smith, L.I. Aliphatic diazo compounds, nitrones, and structurally analogous compounds. Systems capable of undergoing 1,3-additions. *Chem. Rev.* **1938**. 23(2): 193-285.
4. Kissane, M. Maguire, A.R. Asymmetric 1,3-dipolar cycloadditions of acrylamides. *Chem. Soc. Rev.* **2010**. 39(2): 845-883.
5. Grundmann, C. Synthesis of heterocyclic compounds with the aid of nitrile oxides. *Synthesis*. **1970**. (7): 344-359.
6. Huisgen, R. Centenary Lecture - 1,3-dipolar cycloadditions. *Proc. Chem. Soc. (London)*. **1961**. (Out): 357-369.
7. Huisgen, R. On the mechanism of 1,3-dipolar cycloadditions. A reply. *J. Org. Chem.* **1968**. 33(6): 2291-2297.
8. Huisgen, R. The concerted nature of 1,3-dipolar cycloadditions and the question of diradical intermediates. *J. Org. Chem.* **1976**. 41(3): 403-419.
9. Firestone, R.A. On the mechanism of 1,3-dipolar cycloadditions. *J. Org. Chem.* **1968**. 33(6): 2285-2290.
10. Firestone, R.A. Applications of the Linnett electronic theory to organic chemistry. Part III. Linnett structures for 1,3-dipoles and for diradical intermediates in 1,3-dipolar cycloadditions. *J. Chem. Soc. A* **1970**. (9): 1570-1575.
11. Firestone, R.A. Orientation in 1,3-dipolar cycloadditions according to diradical mechanism. Partial formal charges in Linnett structures of diradical intermediates. *J. Org. Chem.* **1972**. 37(13): 2181-2191.

12. Houk, K.N., Firestone, R.A., Munchausen, L.L., Mueller, P.H., Arison, B.H., Garcia, L.A. Stereospecificity of 1,3-dipolar cycloadditions of *p*-nitrobenzoxirone to *cis*- and *trans*-dideuterioethylene. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**. 107(24): 7227-7228.
13. Huisgen, R., Mloston, G., Langhals, E. The first two-step 1,3-dipolar cycloaddition: interception of an intermediate. *J. Org. Chem.* **1986**. 51(21): 4085-4087.
14. Huisgen, R. Adventures with heterocycles. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**. 48(6): 757-765.
15. Houk, K.N. The frontier molecular orbital theory of cycloaddition reactions. *Acc. Chem. Res.* **1975**. 8(11): 361-369.
16. Fukui, K. Recognition of stereochemical paths by orbital interaction. *Acc. Chem. Res.* **1971**. 4(2): 57-64.
17. Houk, K.N., Sims, J., Watts, C.R., Luskus, L.J. The origin of reactivity, regioselectivity, and periselectivity in 1,3-dipolar cycloadditions. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**. 95(22): 7301-7315.
18. Houk, K.N., Gonzalez, J., Li, Y. Pericyclic reaction transition-states: passions and punctilios, 1935-1995. *Acc. Chem. Res.* **1995**. 28(2): 81-90.
19. Jager, V. Colinas, P.A. Nitrile Oxides, em *Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry towards heterocycles and natural products*, A. Padwa W.H. Pearson, Editores. **2002**, John Wiley & Sons, Inc.
20. Sustmann, R. Orbital energy control of cycloaddition reactivity. *Pure Appl. Chem.* **1974**. 40(4): 569-593.
21. Clayden, J., Greeves, N., Warren, S. *Organic chemistry*. **2000**: Oxford University Press.
22. Houk, K.N., Sims, J., Duke, R.E., Strozier, R.W., George, J.K. Frontier molecular orbitals of 1,3 dipoles and dipolarophiles. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**. 95(22): 7287-7301.

23. Fleming, I. *Frontier orbitals and organic chemical reactions*. **1976**, London: Wiley-Interscience.
24. Belen'kii, L.I. Nitrile oxides, em *Nitrile oxides, nitrones, and nitronates in organic synthesis: novel strategies in synthesis*, H. Feuer, Editor. **2008**, John Wiley & Sons, Inc. 1-127.
25. Tsuge, O., Kanemasa, S., Suga, H. Synthesis of a new phosphorus-functionalized nitrile oxide, alpha-(diethylphosphono)acetonitrile oxide, and cycloaddition leading to 3-(diethylphosphonomethyl)-delta-2-isoxazolines. *Chem. Lett.* **1986**. (2): 183-186.
26. Grundmann, C. Richter, R. Nitrile oxides. X. An improved method for the preparation of nitrile oxides from aldoximes. *J. Org. Chem.* **1968**. 33(1): 476-478.
27. Corbett, D.F. 1,3-dipolar addition reactions of 6-ethylideneolivanic acid derivatives with diazomethane and acetonitrile oxide. *J. Chem. Soc.-Perkin Trans. 1.* **1986**. (3): 421-428.
28. Baker, K.W.J., Gibb, A., March, A.R., Paton, R.M. Generation and cycloaddition reactions of pyranose-1-carbonitrile oxides. *Tetrahedron Lett.* **2001**. 42(24): 4065-4068.
29. Gromov, A., Enev, V., Mulzer, J. Remarkable temperature effect on intramolecular 3+2 cyclization. *Tetrahedron Lett.* **2009**. 50(37): 5283-5284.
30. McGarvey, G.J., Mathys, J.A., Wilson, K.J. Convergent assembly of aldol linkages. A study of the stereoselective nitrile oxide cycloaddition reaction. *Tetrahedron Lett.* **2000**. 41(32): 6011-6015.
31. Kumaran, G. Kulkarni, G.H. Synthesis of alpha-functionalized and nonfunctionalized hydroximoyl chlorides from conjugated nitroalkenes and nitroalkanes. *J. Org. Chem.* **1997**. 62(5): 1516-1520.

32. Kim, J.N. Ryu, E.K. A convenient synthesis of benzohydroximoyl chlorides as nitrile oxide precursors by HCL/ N,N-dimethylformamide/ oxone system. *J. Org. Chem.* **1992**. 57(24): 6649-6650.
33. Mulzer, J., Castagnolo, D., Felzmann, W., Marchart, S., Pilger, C., Enev, V.S. Toward the synthesis of the antibiotic branimycin: novel approaches to highly substituted cis-decalin systems. *Chem.-Eur. J.* **2006**. 12(23): 5992-6001.
34. Moriya, O., Urata, Y., Endo, T. Dehydrochlorination of hydroximic acid chlorides by the use of organotin compounds: an application for synthesis of isoxazolines and isoxazoles. *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1991**. (1): 17-18.
35. Moriya, O., Takenaka, H., Urata, Y., Endo, T. Synthesis of isoxazolines and isoxazoles via generation of nitrile oxides from O-stannyl aldoximes. *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1991**. (23): 1671-1673.
36. Rai, K.M.L. Hassner, A. Intermolecular 1,3-dipolar cycloadditions of preformed nitrile oxides with phenyl vinyl sulphone. *Synth. Commun.* **1997**. 27(3): 467-472.
37. Rodrigues, R.D. de Aguiar, A.P. A simple and efficient method for the synthesis of nitrile oxide from aldoxime using trichloroisocyanuric acid. *Synth. Commun.* **2001**. 31(20): 3075-3080.
38. Kumar, V. Kaushik, M.P. A novel one-pot synthesis of hydroximoyl chlorides and 2-isoxazolines using N-tert-butyl-N-chlorocyanamide. *Tetrahedron Lett.* **2006**. 47(9): 1457-1460.
39. Kanemasa, S., Matsuda, H., Kamimura, A., Kakinami, T. Synthesis of hydroximoyl chlorides from aldoximes and benzyltrimethylammonium tetrachloroiodate (BTMA ICl₄). *Tetrahedron.* **2000**. 56(8): 1057-1064.
40. Kumaran, G. A novel one pot conversion of primary nitroalkanes to hydroximoyl chlorides. *Tetrahedron Lett.* **1996**. 37(35): 6407-6408.
41. Yao, C.F., Chen, W.C., Lin, Y.M. Reactions of beta-nitrostyrenes with Grignard reagents. *Tetrahedron Lett.* **1996**. 37(35): 6339-6342.

42. Yao, C.F., Kao, K.H., Liu, J.T., Chu, C.M., Wang, Y., Chen, W.C., Lin, Y.M., Lin, W.W., Yan, M.C., Liu, J.Y., Chuang, M.C., Shiue, J.L. Generation of nitroalkanes, hydroximoyl halides and nitrile oxides from the reactions of beta-nitrostyrenes with Grignard or organolithium reagents. *Tetrahedron*. **1998**. 54(5-6): 791-822.
43. Syassi, B., Bougrin, K., Soufiaoui, M. Addition dipolaire-1,3 des arylnitroxydes avec quelques dipolarophiles oléfiniques sur alumine en milieu sec et sous micro-ondes. *Tetrahedron Lett*. **1997**. 38(51): 8855-8858.
44. Patrick, D.A., Bakunov, S.A., Bakunova, S.M., Kumar, E., Lombardy, R.J., Jones, S.K., Bridges, A.S., Zhirnov, O., Hall, J.E., Wenzler, T., Brun, R., Tidwell, R.R. Synthesis and in vitro antiprotozoal activities of dicationic 3,5-diphenylisoxazoles. *J. Med. Chem*. **2007**. 50(10): 2468-2485.
45. Kim, J.N. Ryu, E.K. Reactivity of nitrile oxides towards the 5,6-double bond of uracil derivatives: synthesis of some 5-arylpurimidine nucleoside oximes. *J. Org. Chem*. **1992**. 57(4): 1088-1092.
46. Liu, K.C., Shelton, B.R., Howe, R.K. A particularly convenient preparation of benzohydroximinoyl chlorides (nitrile oxide precursors). *J. Org. Chem*. **1980**. 45(19): 3916-3918.
47. Sandanayaka, V.P. Yang, Y.J. Dipolar cycloaddition of novel 6-(nitrileoxidomethyl) penam sulfone: an efficient route to a new class of beta-lactamase inhibitors. *Org. Lett*. **2000**. 2(20): 3087-3090.
48. Yamauchi, M. Reactivity of 2-methylene-1,3-dicarbonyl compounds. 1,3-dipolar cycloaddition reaction with nitrile oxide. *J. Heterocycl. Chem*. **2002**. 39(5): 1013-1018.
49. Dubrovskiy, A.V. Larock, R.C. Synthesis of benzisoxazoles by the [3+2] cycloaddition of in situ generated nitrile oxides and arynes. *Org. Lett*. **2010**. 12(6): 1180-1183.

50. Davidson, N.E., Rutherford, T.J., Botting, N.P. Synthesis, analysis and rearrangement of novel unnatural glucosinolates. *Carbohydr. Res.* **2001**. 330(3): 295-307.
51. Pradere, U., Kumamoto, H., Roy, V., Agrofoglio, L.A. Preparation of carbocyclic C-nucleosides from alpha-chlorooxime precursor. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**. (4): 749-754.
52. Romanski, J., Chapuis, C., Jurczak, J. 1,3-dipolar cycloadditions of a 2-oxoethanenitrile oxide derived from (2R)-bornane-10,2-sultam to electronically modified 4,4'-disubstituted stilbenes. *Helv. Chim. Acta.* **2009**. 92(6): 1056-1069.
53. Hansen, E.C., Levent, M., Connolly, T.J. Safe and scaleable oxidation of benzaldoximes to benzohydroximinoyl chlorides. *Org. Process Res. Dev.* **2010**. 14(3): 574-578.
54. Ahmed, M.A., Mustafa, J., Osman, S.M. 1,3-cycloaddition of nitrile oxide to olefinic fatty-acid esters: synthesis of isoxazolines. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1991**. 68(11): 886-887.
55. Abbott, S.D., Lanebell, P., Sidhu, K.P.S., Vederas, J.C. Synthesis and testing of heterocyclic analogs of diaminopimelic acid (DAP) as inhibitors of DAP dehydrogenase and DAP epimerase. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**. 116(15): 6513-6520.
56. Kozikowski, A.P. Adamczyk, M. Methods for the stereoselective cis cyanohydroxylation and carboxyhydroxylation of olefins. *J. Org. Chem.* **1983**. 48(3): 366-372.
57. Conti, D., Rodriguez, M., Sega, A., Taddei, M. 1,3-cycloaddition of nitrile oxides in ionic liquids. An easier route to 3-carboxy isoxazolines, potential constrained glutamic acid analogues. *Tetrahedron Lett.* **2003**. 44(28): 5327-5330.
58. Quadrelli, P., Bovio, B., Piccinini, A., Caramella, P., De Sarlo, F., Machetti, F. Conversion of a nitrosocarbonyl hetero Diels-Alder cycloadduct to useful isoxazoline-carbocyclic aminols. *Tetrahedron.* **2009**. 65(51): 10679-10684.

59. Escolano, C. Vazquez, S. N-substituted nitriles and other heteroanalogs of nitriles of the type RCZ, em *Comprehensive organic functional group transformations II*, K. Jones, Editor. **2005**, Elsevier. 685-704.
60. Shimizu, T., Hayashi, Y., Teramura, K. A new synthetic method of alkyl carbonocyanidate N-oxides. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1985**. 58(9): 2519-2522.
61. Shimizu, T., Hayashi, Y., Shibafuchi, H., Teramura, K. Preparation of isoxazolines by thermolysis of ethyl 2-nitroalkanoates in the presence of dipolarophiles. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**. 60(5): 1948-1950.
62. Matt, C., Gissot, A., Wagner, A., Mioskowski, C. Nitrolic acids: efficient precursors of nitrile oxides under neutral conditions. *Tetrahedron Lett.* **2000**. 41(8): 1191-1194.
63. Gasparrini, F., Giovannoli, M., Misiti, D., Natile, G., Palmieri, G., Maresca, L. Gold(III)-catalyzed one-pot synthesis of isoxazoles from terminal alkynes and nitric acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**. 115(10): 4401-4402.
64. Mukaiyama, T. Hoshino, T. The reactions of primary nitroparaffins with isocyanates. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**. 82(20): 5339-5342.
65. Bachman, G.B. Strom, L.E. Derivatives of primary nitroalkanes. Preparation of isoxazolines. *J. Org. Chem.* **1963**. 28(4): 1150-1152.
66. Rosenau, T., Adelwohrer, C., Hofinger, A., Mereiter, K., Kosma, P. 3-tocopherylisoxazolines by [2+3] cycloaddition. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**. (6): 1323-1329.
67. Prakesch, M., Gree, D., Gree, R., Carter, J., Washington, I., Houk, K.N. Stereoselectivity of nitrile oxide cycloadditions to chiral allylic fluorides: experiment and theory. *Chem.-Eur. J.* **2003**. 9(22): 5664-5672.
68. Park, K.H., Olmstead, M.M., Kurth, M.J. Synthesis of isoxazoline-substituted symmetrical diketopiperazines. *Synlett.* **2003**. (9): 1267-1270.

69. Kadowaki, A., Nagata, Y., Uno, H., Kamimura, A. Stereoselective intramolecular 1,3-dipolar nitrile oxide cycloaddition reaction of N-formyl-beta-nitroamides. *Tetrahedron Lett.* **2007**. 48(10): 1823-1825.
70. Spyroudis, S. Xanthopoulou, N. Triptycene quinones in synthesis: preparation of triptycene cyclopentenedione and its reactivity as a dienophile. *J. Org. Chem.* **2002**. 67(13): 4612-4614.
71. Ramachandiran, K., Karthikeyan, K., Muralidharan, D., Perumal, P.T. Synthesis of isoxazolobenzoxepanes via Michael addition of indoles to nitroalkenes and sequential intramolecular nitrile oxide cycloaddition. *Tetrahedron Lett.* **2010**. 51(22): 3006-3009.
72. Kozikowski, A.P. Stein, P.D. INOC route to carbocyclics: a formal total synthesis of (\pm)-sarkomycin. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**. 104(14): 4023-4024.
73. Sekine, A., Kumagai, N., Uotsu, K., Ohshima, T., Shibasaki, M. An efficient method for the synthesis of versatile intermediates leading to 13-deoxy- and 9,13-dideoxyphorbols. *Tetrahedron Lett.* **2000**. 41(4): 509-513.
74. Maugein, N., Wagner, A., Mioskowski, C. New conditions for the generation of nitrile oxides from primary nitroalkanes. *Tetrahedron Lett.* **1997**. 38(9): 1547-1550.
75. Kantorowski, E.J., Brown, S.P., Kurth, M.J. Use of diisocyanates for in situ preparation of nitrile oxides: preparation of isoxazoles and isoxazolines. *J. Org. Chem.* **1998**. 63(15): 5272-5274.
76. Huang, K.S.L., Lee, E.H., Olmstead, M.M., Kurth, M.J. Sequential 1,3-dipolar cycloadditions in the synthesis of bis-isoxazolo substituted piperidinones. *J. Org. Chem.* **2000**. 65(2): 499-503.
77. Dawson, I.M., Johnson, T., Paton, R.M., Rennie, R.A.C. Synthesis of C-disaccharides using nitrile oxide cycloaddition chemistry. *J. Chem. Soc.-Chem. Commun.* **1988**. (19): 1339-1340.

78. Fenk, C.J. Synthesis and 1,3-dipolar cycloaddition reactions of 4-methyl-1-nitromethyl-2,6,7-trioxabicyclo[2.2.2]octane. *Tetrahedron Lett.* **1999**. 40(45): 7955-7959.
79. Shimizu, T., Hayashi, Y., Shibafuchi, H., Teramura, K. A convenient preparative method of nitrile oxides by the dehydration of primary nitro compounds with ethyl chloroformate or benzenesulfonyl chloride in the presence of triethylamine. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**. 59(9): 2827-2831.
80. Enders, D., Haertwig, A., Runsink, J. Diastereo- and enantioselective synthesis of N-protected 2-amino 1,4-diols by an oxa Michael addition/1,3-dipolar cycloaddition protocol. *Eur. J. Org. Chem.* **1998**. (9): 1793-1802.
81. Mayo, P., Hecnar, T., Tam, W. 1,3-Dipolar cycloaddition of nitrile oxides with unsymmetrically substituted norbornenes. *Tetrahedron*. **2001**. 57(28): 5931-5941.
82. Zagozda, M. Plenkiewicz, J. Optically active nitrile oxides: synthesis and 1,3-dipolar cycloaddition reactions. *Tetrahedron: Asymmetry*. **2007**. 18(12): 1457-1464.
83. Akritopoulou-Zanze, I., Gracias, V., Moore, J.D., Djuric, S.W. Synthesis of novel fused isoxazoles and isoxazolines by sequential Ugi/INOC reactions. *Tetrahedron Lett.* **2004**. 45(17): 3421-3423.
84. Giacomelli, G., De Luca, L., Porcheddu, A. A method for generating nitrile oxides from nitroalkanes: a microwave assisted route for isoxazoles. *Tetrahedron*. **2003**. 59(29): 5437-5440.
85. Shimizu, T., Hayashi, Y., Teramura, K. The reaction of primary nitro compounds with dipolarophiles in the presence of p-toluenesulfonic acid. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**. 57(9): 2531-2534.
86. Kwiatkowski, S. Langwald, M. A new convenient synthesis of delta-2-isoxazolines. *Mon. Chem.* **1986**. 117(8-9): 1091-1093.

87. Snider, B.B. Che, Q. Oxidative and dehydrative cyclizations of nitroacetate esters with $Mn(OAc)_3$. *Tetrahedron*. **2002**. 58(39): 7821-7827.
88. Kaji, E., Harada, K., Zen, S. Synthesis of isoxazole derivatives by means of O-acylation of aliphatic nitro compounds in presence of acetylenic compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **1978**. 26(10): 3254-3256.
89. Harada, K., Kaji, E., Zen, S. Synthesis of five-membered heterocycles containing a nitrogen-oxygen bond via O-acylation of aliphatic nitro compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **1980**. 28(11): 3296-3303.
90. Chen, Y.J. Li, C.N. An alternative method to prepare nitrile oxides from primary nitro compounds by using thionyl chloride and triethylamine. *J. Chin. Chem. Soc.* **1993**. 40(2): 203-207.
91. Cecchi, L., De Sarlo, F., Machetti, F. 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO) as an efficient reagent for the synthesis of isoxazole derivatives from primary nitro compounds and dipolarophiles: the role of the base. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**. (21): 4852-4860.
92. Machetti, F., Cecchi, L., Trogu, E., De Sarlo, F. Isoxazoles and isoxazolines by 1,3-dipolar cycloaddition: base-catalysed condensation of primary nitro compounds with dipolarophiles. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**. (26): 4352-4359.
93. Santos, D.M., Santos, M.M.M., Viana, R.J.S., Castro, R.E., Moreira, R., Rodrigues, C.M.R. Naphtho[2,3-d]isoxazole-4,9-dione-3-carboxylates: potent, non-cytotoxic, antiapoptotic agents. *Chem.-Biol. Interact.* **2009**. 180(2): 175-182.
94. Santos, M.M.M., Faria, N., Iley, J., Coles, S.J., Hursthouse, M.B., Martins, M.L., Moreira, R. Reaction of naphthoquinones with substituted nitromethanes. Facile synthesis and antifungal activity of naphtho[2,3-d]isoxazole-4,9-diones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**. 20(1): 193-195.
95. Ammetto, I., Gasperi, T., Loreto, M.A., Migliorini, A., Palmarelli, F., Tardella, P.A. Synthesis of functionalized spiroaziridine-oxindoles from 3-

- ylideneoxindoles: an easy route to 3-(aminoalkyl)oxindoles. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**. (35): 6189-6197.
96. Macion-Dazard, R., Callahan, N., Xu, Z., Wu, N., Thibonnier, M., Shoham, M. Mapping the binding site of six nonpeptide antagonists to the human V₂-renal vasopressin receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**. 316(2): 564-571.
97. Rajopadhye, M. Popp, F.D. Potential anticonvulsants. 11. Synthesis and anticonvulsant activity of spiro[1,3-dioxolane-2,3'-indolin]-2'-ones and structural analogs. *J. Med. Chem.* **1988**. 31(5): 1001-1005.
98. Bursavich, M.G., Gilbert, A.M., Lombardi, S., Georgiadis, K.E., Reifenberg, E., Flannery, C.R., Morris, E.A. 5'-Phenyl-3'H-spiro[indoline-3,2'-[1,3,4]thiadiazol]-2-one inhibitors of ADAMTS-5 (aggrecanase-2). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**. 17(20): 5630-5633.
99. Ali, S. Alam, M. Potential antimicrobial agents-I: structural modifications and antimicrobial activity of some isatin derivatives. *Arch Pharm Res.* **1994**. 17(2): 131-133.
100. Dandia, A., Singh, R., Khaturia, S., Merienne, C., Morgant, G., Loupy, A. Efficient microwave enhanced regioselective synthesis of a series of benzimidazolyl/triazolyl spiro[indole-thiazolidinones] as potent antifungal agents and crystal structure of spiro[3H-indole-3,2'-thiazolidine]-3'(1,2,4-triazol-3-yl)-2,4'(1H)-dione. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**. 14(7): 2409-2417.
101. Weber, L. Patented inhibitors of p53-Mdm2 interaction (2006-2008). *Expert Opin. Ther. Patents.* **2010**. 20(2): 179-191.
102. Lesma, G., Landoni, N., Sacchetti, A., Silvani, A. The spiro piperidine-3,3'-oxindole scaffold: a type II beta-turn peptide isostere. *Tetrahedron.* **2010**. 66(25): 4474-4478.
103. US 2010/0099728 A1. Chafeev, M., Chowdhury, S., Fraser, L., Fu, J., Langille, J., Liu, S., Sun, J., Sun, S., Sviridov, S., Wood, M., Zenova, A. Spiro-oxindole compounds and their use as therapeutic agents. **2010**.

104. Kornet, M.J. Thio, A.P. Oxindole-3-spiropyrrolidines and oxindole-3-piperidines: synthesis and local anesthetic activity. *J. Med. Chem.* **1976**. 19(7): 892-898.
105. Chen, W.B., Wu, Z.J., Pei, Q.L., Cun, L.F., Zhang, X.M., Yuan, W.C. Highly enantioselective construction of spiro[4H-pyran-3,3'-oxindoles] through a domino Knoevenagel/Michael/cyclization sequence catalyzed by cupreine. *Org. Lett.* **2010**. 12(14): 3132-3135.
106. Nandakumar, A., Thirumurugan, P., Perumal, P.T., Vembu, P., Ponnuswamy, M.N., Ramesh, P. One-pot multicomponent synthesis and anti-microbial evaluation of 2'-(indol-3-yl)-2-oxospiro(indoline-3,4'-pyran) derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**. 20(14): 4252-4258.
107. Ruck, R.T., Huffman, M.A., Kim, M.M., Shevlin, M., Kandur, W.V., Davies, I.W. Palladium-catalyzed tandem Heck reaction/C-H functionalization - Preparation of spiro-indane-oxindoles. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**. 47(25): 4711-4714.
108. Basavaiah, D. Reddy, K.R. Simple and one-pot protocol for synthesis of indene-spiro-oxindoles involving tandem Prins and Friedel-Crafts reactions. *Org. Lett.* **2007**. 9: 56-60.
109. England, D.B., Merey, G., Padwa, A. Utilization of the antiaromatic 2H-indol-2-one ring system for the synthesis of substituted spiro-oxindoles. *Heterocycles*. **2007**. 74: 491-506.
110. Grigg, R., Putnikovic, B., Urch, C.J. Palladium catalysed ter- and tetramolecular queuing processes. One-pot routes to 3-spiro-2-oxindoles and 3-spiro-2(3H)-benzofuranones. *Tetrahedron Lett.* **1996**. 37(5): 695-698.
111. Selvakumar, K., Vaithyanathan, V., Shanmugam, P. An efficient stereoselective synthesis of 3-spirocyclopentene- and 3-spiropyrazole-2-oxindoles via 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *Chem. Commun.* **2010**. 46(16): 2826-2828.

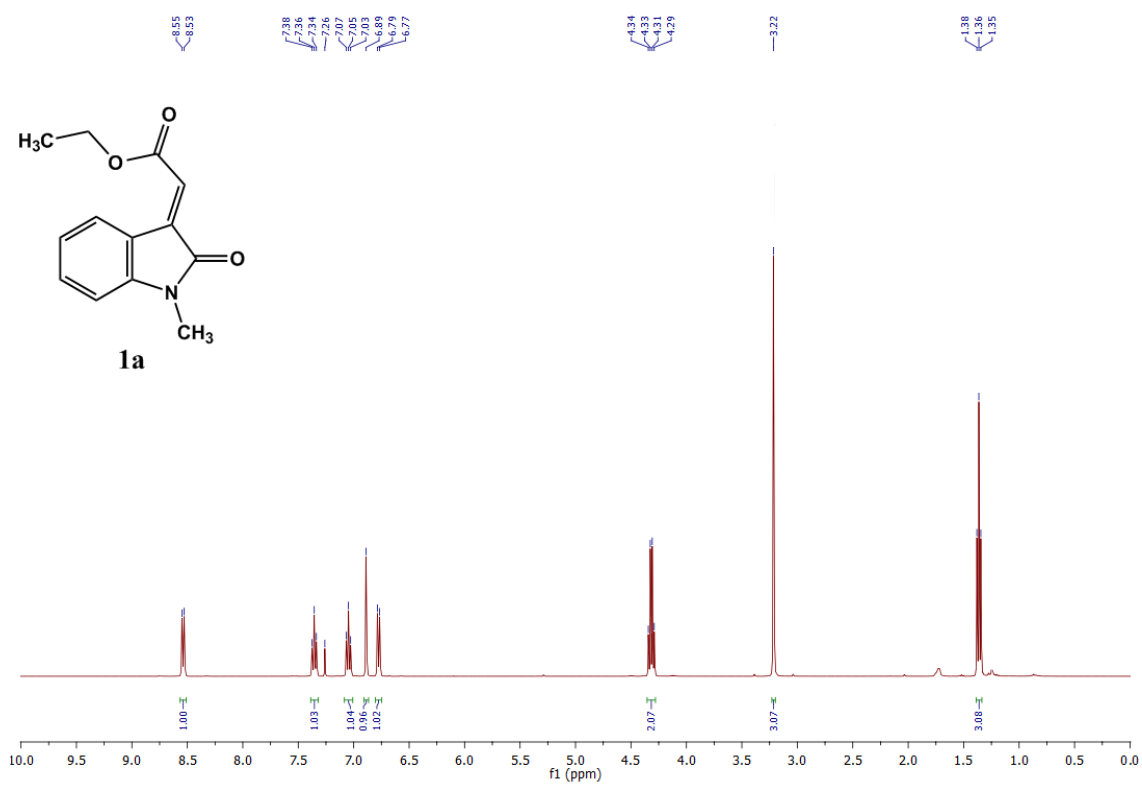
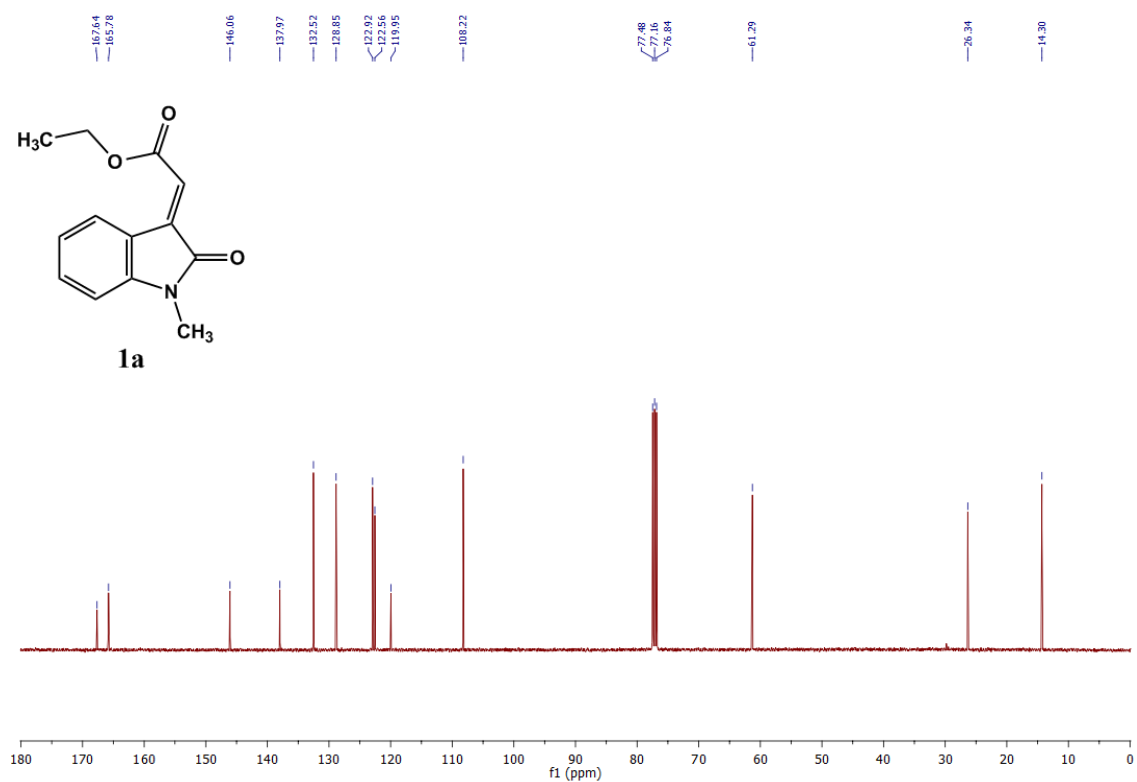
112. Dutton, J.K., Pleyne, D.P.M., Johnson, A.P. Synthesis of hindered spiro-oxindoles by photolysis of 1-(1-alkenyl)benzotriazoles. *Tetrahedron*. **1999**. 55(40): 11927-11942.
113. Shanmugam, P. Vaithyanathan, V. Stereoselective synthesis of 3-spiro-alpha-methylene-gamma-butyrolactone oxindoles from Morita-Baylis-Hillman adducts of isatin. *Tetrahedron*. **2008**. 64(15): 3322-3330.
114. Basavaiah, D., Rao, J.S., Reddy, R.J., Rao, A.J. TiCl₄ catalyzed tandem construction of C-C and C-O bonds: a simple and one-pot atom-economical stereoselective synthesis of spiro-oxindoles. *Chem. Commun.* **2005**. (20): 2621-2623.
115. Marti, C. Carreira, E.M. Construction of spiro[pyrrolidine-3,3'-oxindoles] - Recent applications to the synthesis of oxindole alkaloids. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**. (12): 2209-2219.
116. Galliford, C.V. Scheidt, K.A. Pyrrolidinyl-spirooxindole natural products as inspirations for the development of potential therapeutic agents. *Angew. Chem.-Int. Edit.* **2007**. 46(46): 8748-8758.
117. Cui, C.B., Kakeya, H., Osada, H. Novel mammalian cell cycle inhibitors, spirotryprostatins A and B, produced by *Aspergillus fumigatus*, which inhibit mammalian cell cycle at G₂/M phase. *Tetrahedron*. **1996**. 52(39): 12651-12666.
118. Kang, T.H., Matsumoto, K., Tohda, M., Murakami, Y., Takayama, H., Kitajima, M., Aimi, N., Watanabe, H. Pteropodine and isopteropodine positively modulate the function of rat muscarinic M-1 and 5-HT₂ receptors expressed in *Xenopus* oocyte. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**. 444(1-2): 39-45.
119. Sebahar, P.R. Williams, R.M. The asymmetric total synthesis of (+)- and (-)-spirotryprostatin B. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**. 122(23): 5666-5667.
120. Sebahar, P.R., Osada, H., Usui, T., Williams, R.M. Asymmetric, stereocontrolled total synthesis of (+) and (-)-spirotryprostatin B via a diastereoselective azomethine ylide [1,3]-dipolar cycloaddition reaction. *Tetrahedron*. **2002**. 58(32): 6311-6322.

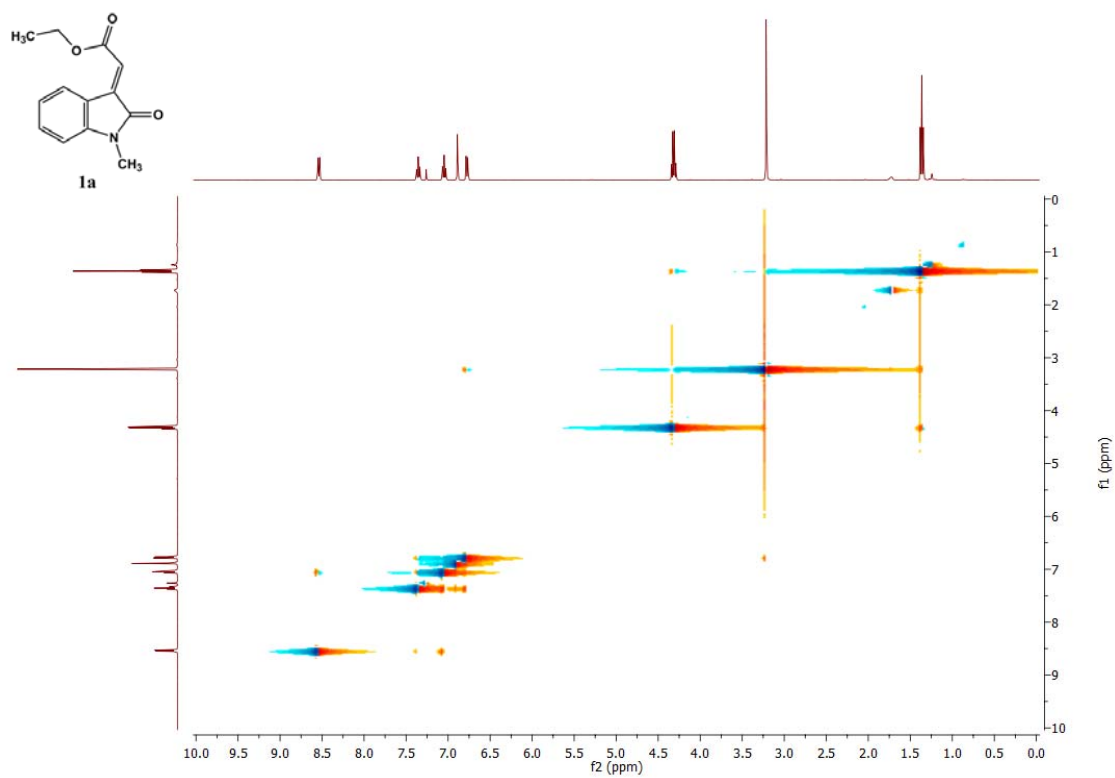
121. Ding, K., Lu, Y., Nikolovska-Coleska, Z., Qiu, S., Ding, Y.S., Gao, W., Stuckey, J., Krajewski, K., Roller, P.P., Tomita, Y., Parrish, D.A., Deschamps, J.R., Wang, S.M. Structure-based design of potent non-peptide MDM2 inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**. 127(29): 10130-10131.
122. Ding, K., Lu, Y.P., Nikolovska-Coleska, Z., Wang, G.P., Qiu, S., Shangary, S., Gao, W., Qin, D.G., Stuckey, J., Krajewski, K., Roller, P.P., Wang, S.M. Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 interaction. *J. Med. Chem.* **2006**. 49(12): 3432-3435.
123. Shangary, S. Wang, S.M. Targeting the MDM2-p53 interaction for cancer therapy. *Clin. Cancer Res.* **2008**. 14(17): 5318-5324.
124. Ding, K., Wang, G.P., Deschamps, J.R., Parrish, D.A., Wang, S.M. Synthesis of spirooxindoles via asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition. *Tetrahedron Lett.* **2005**. 46(35): 5949-5951.
125. Shangary, S., Qin, D.G., McEachern, D., Liu, M.L., Miller, R.S., Qiu, S., Nikolovska-Coleska, Z., Ding, K., Wang, G.P., Chen, J.Y., Bernard, D., Zhang, J., Lu, Y.P., Gu, Q.Y., Shah, R.B., Pienta, K.J., Ling, X.L., Kang, S.M., Guo, M., Sun, Y., Yang, D.J., Wang, S.M. Temporal activation of p53 by a specific MDM2 inhibitor is selectively toxic to tumors and leads to complete tumor growth inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**. 105(10): 3933-3938.
126. Yu, S.H., Qin, D.G., Shangary, S., Chen, J.Y., Wang, G.P., Ding, K., McEachern, D., Qiu, S., Nikolovska-Coleska, Z., Miller, R., Kang, S.M., Yang, D.J., Wang, S.M. Potent and Orally Active Small-Molecule Inhibitors of the MDM2-p53 Interaction. *J. Med. Chem.* **2009**. 52(24): 7970-7973.
127. Franke, A. Spirocyclische 2-indolinone durch 1,3-dipolare cycloaddition. *Liebigs Ann. Chem.* **1978**. (5): 717-725.
128. ElAhl, A.A.S. 1,3-dipolar cycloaddition reactions in synthesis of spiro 2-oxoindoline derivatives. *Pol. J. Chem.* **1997**. 71(1): 27-31.

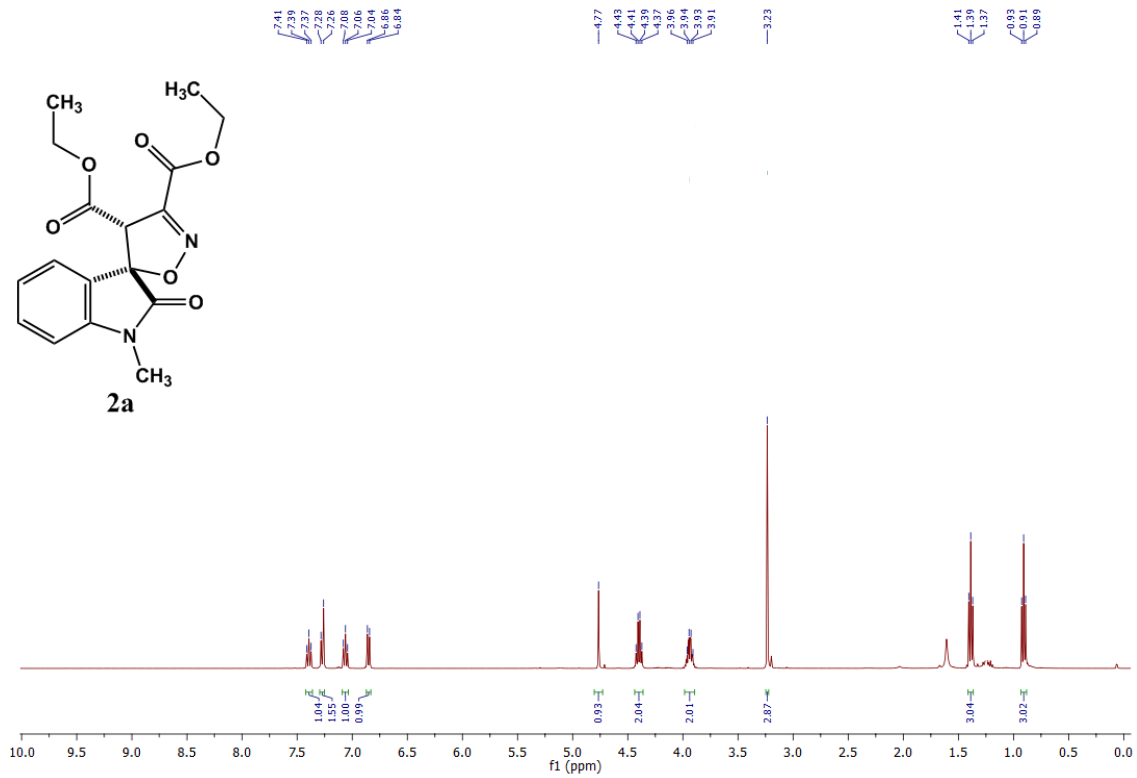
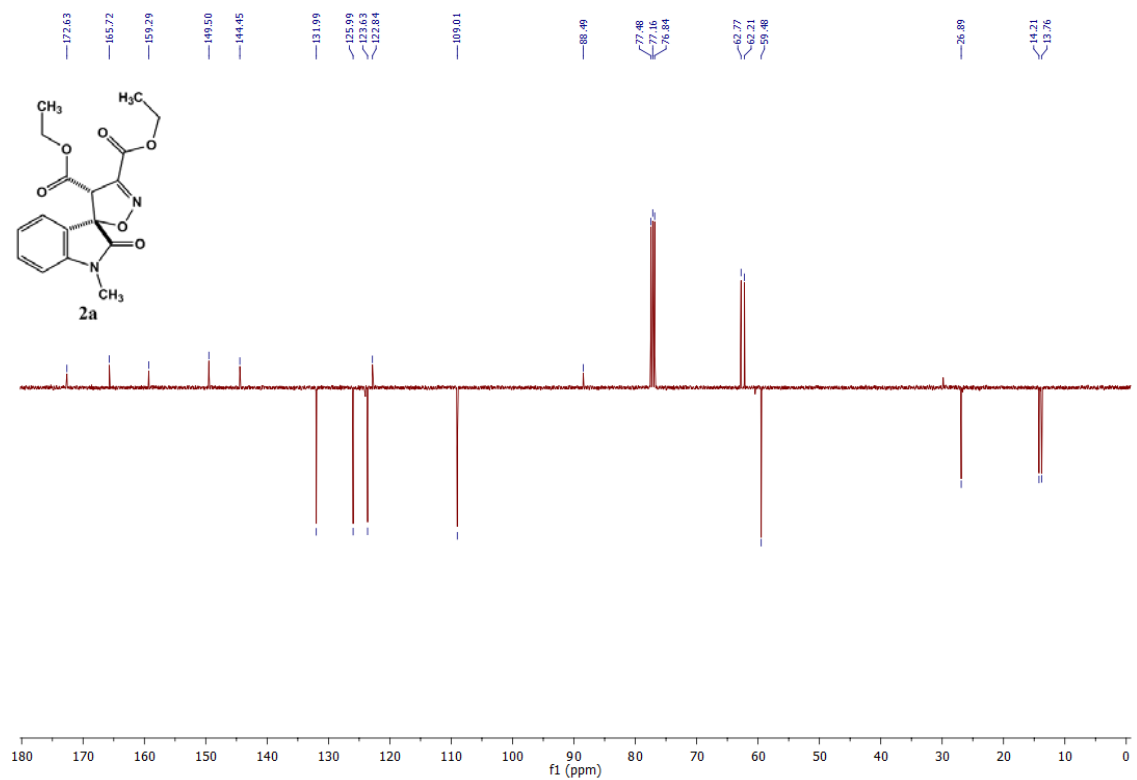
129. Sun, L., Tran, N., Tang, F., App, H., Hirth, P., McMahon, G., Tang, C. Synthesis and biological evaluations of 3-substituted indolin-2-ones: a novel class of tyrosine kinase inhibitors that exhibit selectivity toward particular receptor tyrosine kinases. *J. Med. Chem.* **1998**. 41(14): 2588-2603.
130. Coda, A.C., Invernizzi, A.G., Righetti, P.P., Tacconi, G., Gatti, G. (Z)- and (E)-arylidene-1,3-dihydroindol-2-ones: configuration, conformation, and infrared carbonyl stretching frequencies. *J. Chem. Soc.-Perkin Trans. 2.* **1984**. (4): 615-619.
131. Daisley, R.W. Walker, J. Substituted oxindoles. 5. Synthesis and stereochemistry of some substituted 3-benzylidene-1-methylindol-2(3H)-ones. *J. Chem. Soc. C.* **1971**. (20): 3357-3363.
132. Olgen, S., Gotz, C., Jose, J. Synthesis and biological evaluation of 3-(substituted-benzylidene)-1,3-dihydro-indolin derivatives as human protein kinase CK2 and p60(c-Src) tyrosine kinase inhibitors. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**. 30(4): 715-718.
133. Tacconi, G., Maggi, L.D., Righetti, P., Desimoni, G., Azzolina, O., Ghislandi, V. (Z)- and (E)-3-alkylidene-1,3-dihydroindol-2-ones: influence of configuration on the transmission of inductive effect to carbonyl group. *J. Chem. Soc.-Perkin Trans. 2.* **1976**. (2): 150-154.
134. Shmidt, M.S., Reverdito, A.M., Kremenchuzky, L., Perillo, I.A., Blanco, M.M. Simple and efficient microwave assisted *N*-alkylation of isatin. *Molecules.* **2008**. 13(4): 831-840.
135. Esmaili, A.A. Bodaghi, A. New and efficient one-pot synthesis of functionalized gamma-spirolactones mediated by vinyltriphenylphosphonium salts. *Tetrahedron.* **2003**. 59(8): 1169-1171.
136. Raunak, Kumar, V., Mukherjee, S., Poonam, Prasad, A.K., Olsen, C.E., Schaffer, S.J.C., Sharma, S.K., Watterson, A.C., Errington, W., Parmar, V.S. Microwave mediated synthesis of spiro-(indoline-isoxazolidines): mechanistic study and biological activity evaluation. *Tetrahedron.* **2005**. 61(23): 5687-5697.

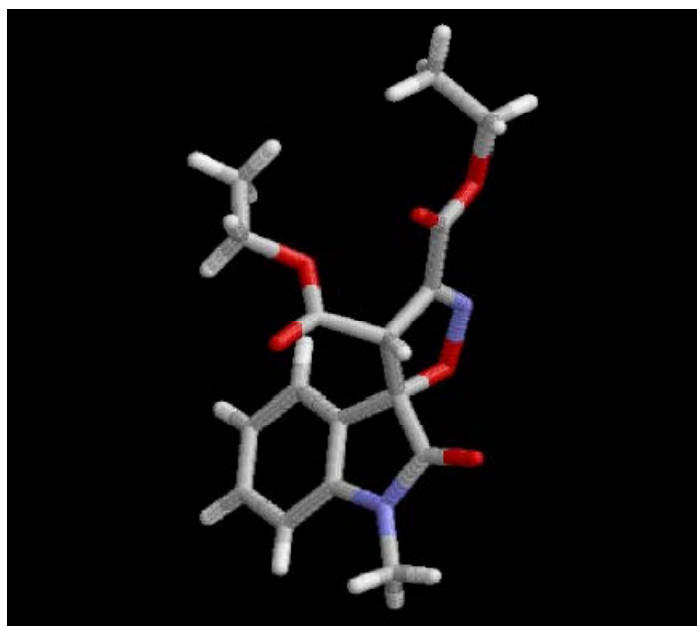
137. Morales-Rios, M.S., Garcia-Velgara, M., Cervantes-Cuevas, H., Alvarez-Cisneros, C., Joseph-Nathan, P. Push-pull and pull-push effects in isatylidenes. *Magn. Reson. Chem.* **2000**. 38(3): 172-176.
138. Crossley, J.A. Browne, D.L. Cycloaddition of benzyne and nitrile oxides: synthesis of benzisoxazoles. *Tetrahedron Lett.* **2010**. 51(17): 2271-2273.
139. Armarego, W.L.F. Chai, C.L.L. *Purification of Laboratory Chemicals*. 6^a ed. **2009**, Oxford: Elsevier Inc.

V-Anexos

ANEXO A- Espectro de ^1H -RMN do composto **1a**ANEXO A- Espectro de ^{13}C -RMN do composto **1a**

ANEXO A- Espectro bidimensional NOESY do composto **1a**

ANEXO B- Espectro de ^1H -RMN do composto **2a**ANEXO B- Espectro de ^{13}C -RMN APT do composto **2a**

ANEXO B- Cristalografia de raio-X do composto **2a****Crystal data**

$C_{17}H_{18}N_2O_6$
 $M_r = 346.33$
 Triclinic, $P1$
 $a = 8.8597 (15) \text{ \AA}$
 $b = 9.4928 (16) \text{ \AA}$
 $c = 11.6015 (19) \text{ \AA}$
 $\alpha = 106.318 (2)^\circ$
 $\beta = 92.647 (2)^\circ$

$\gamma = 114.210 (2)^\circ$
 $V = 839.4 (2) \text{ \AA}^3$
 $Z = 2$
 Mo $K\alpha$ radiation, $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$
 $\mu = 0.11 \text{ mm}^{-1}$
 $T = 100 \text{ K}$
 $0.41 \times 0.34 \times 0.18 \text{ mm}$

Data collection

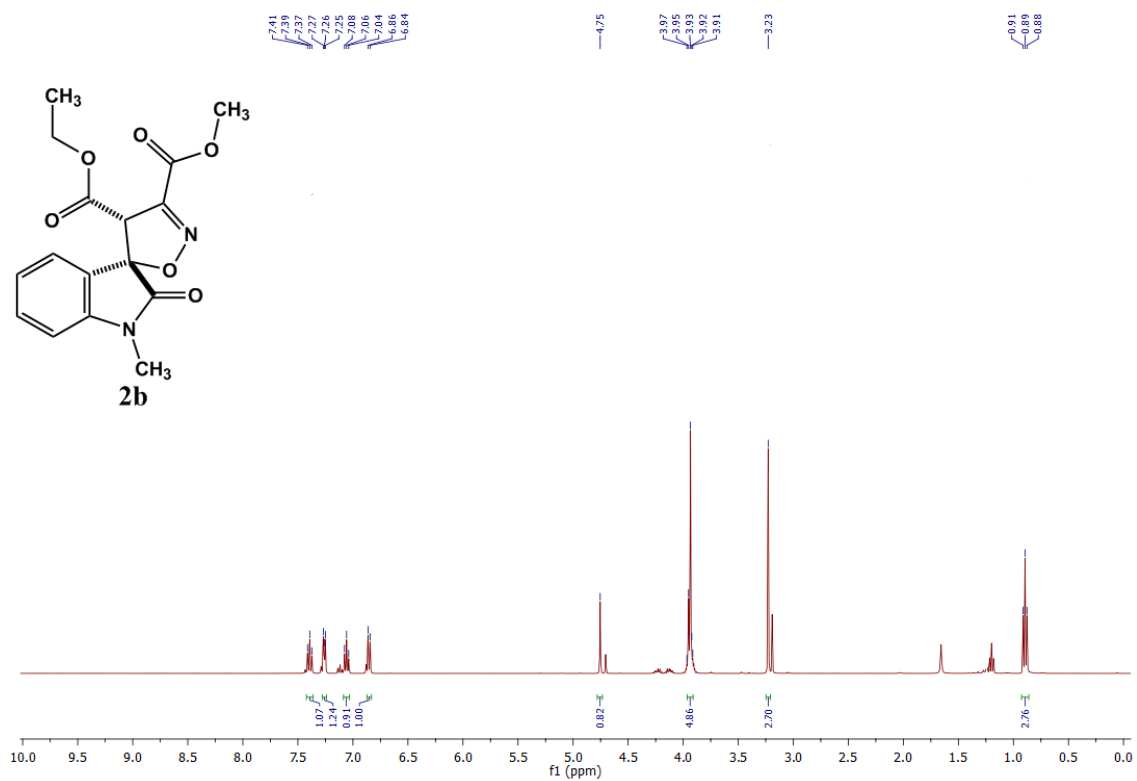
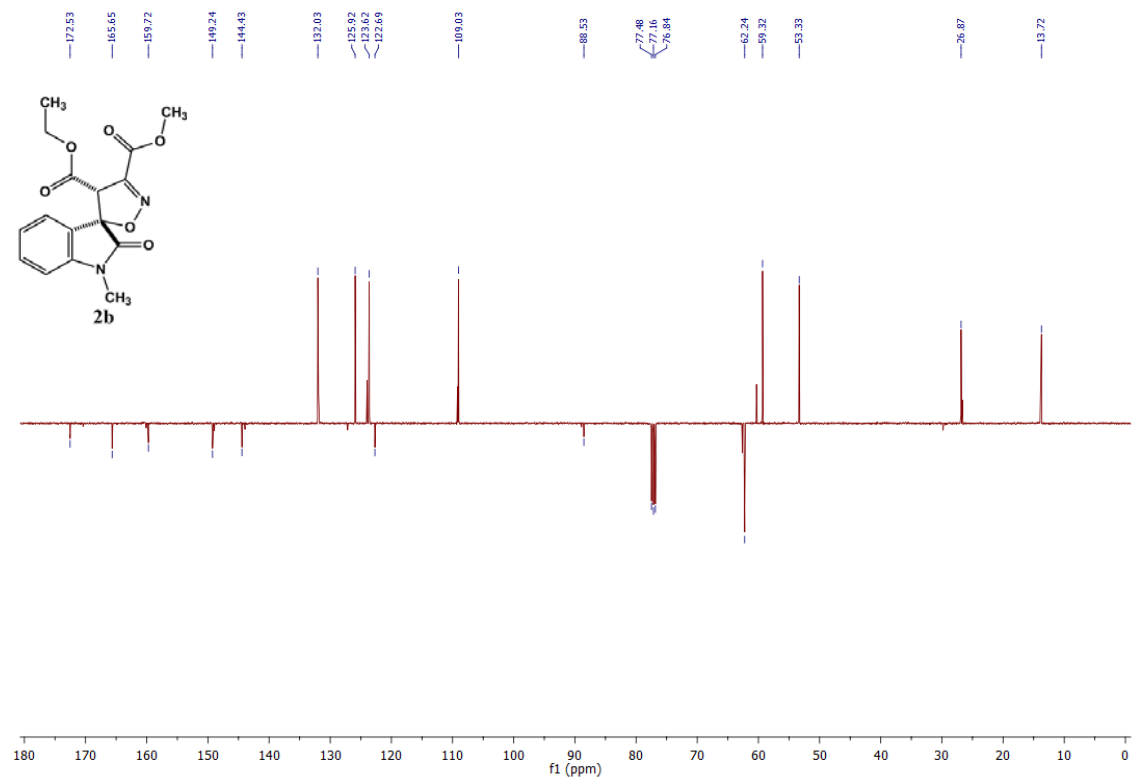
Bruker SMART 1000 CCD
 diffractometer
 Absorption correction: Multi-scan
 BRUKER AXS - *SADABS*
 $T_{\min} = 0.888$, $T_{\max} = 0.974$
 10283 measured reflections

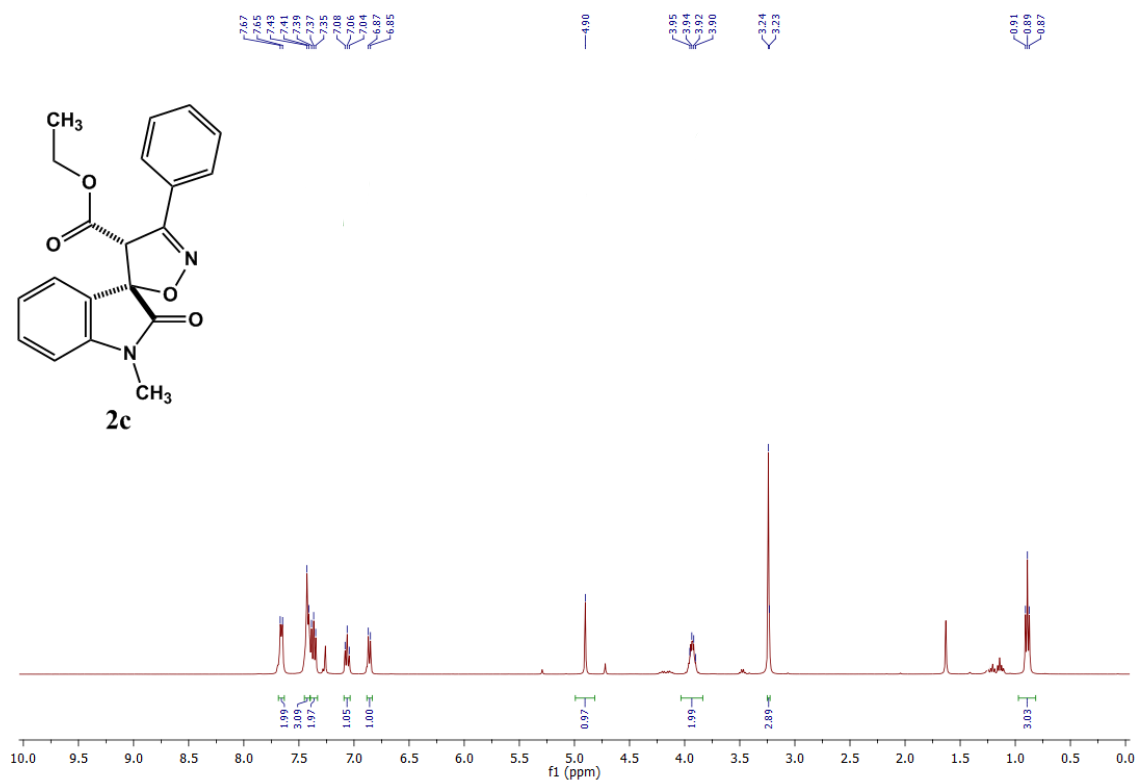
3687 independent reflections
 3195 reflections with $I > 2\sigma(I)$
 $R_{\text{int}} = 0.024$

Refinement

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.035$
 $wR(F^2) = 0.093$
 $S = 1.05$
 3687 reflections
 229 parameters

0 restraints
 H-atom parameters constrained
 $\Delta\rho_{\text{max}} = 0.30 \text{ e \AA}^{-3}$
 $\Delta\rho_{\text{min}} = -0.21 \text{ e \AA}^{-3}$

ANEXO C- Espectro de ^1H -RMN do composto **2b**ANEXO C- Espectro de ^{13}C -RMN APT do composto **2b**

ANEXO D- Espectro de ^1H -RMN do composto **2c**ANEXO D- Espectro de ^{13}C -RMN APT do composto **2c**