



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ (UNIFEI)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO
EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS (PPGMQ-MG)



LUCAS PENHA DUTRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍBRIDOS
PIRAZOL-TIADIAZOL COM POTENCIAL ATIVIDADE TRIPANOCIDA**

Itajubá

22 de fevereiro de 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ (UNIFEI)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO
EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS (PPGMQ-MG)



LUCAS PENHA DUTRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SISTEMA HÍBRIDO
PIRAZOL-TIADIAZOL COM POTENCIAL ATIVIDADE TRIPANOCIDA**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos

Itajubá

22 de fevereiro de 2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, Alaor Candido Dutra e Cleusa Oliveira Penha Dutra, por terem contribuído para a minha formação pessoal e acadêmica. Pelo apoio emocional e financeiro, pelo incentivo e por terem sempre acreditado no meu potencial.

Aos demais familiares e amigos, pelos laços afetivos, que me deram suporte para concluir este trabalho.

À minha orientadora de iniciação científica, Profa. Dra. Juliana Fedoce Lopes, que, com todo o carinho e paciência, ensinou-me os princípios de uma pesquisa, o que me motivou a seguir a carreira acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos pelo tempo disponibilizado à minha formação acadêmica e pela sua dedicação e compromisso, que tornaram possível a realização deste trabalho. E, ainda, por todos os ensinamentos e instruções, que facilitaram e tornaram prazeroso o trabalho dentro do seu laboratório.

Aos meus amigos do Laboratório de Síntese de Sistemas Heterocíclicos (LaSSH) pelas relações pessoais e profissionais.

À UNIFEI, ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais e às agências de fomento, CAPES, FAPEMIG e CNPq, pela oportunidade, infraestrutura, recursos humanos e pelos bens de consumo e custeio.

À FAPEMIG, em especial, pela bolsa.

Aos técnicos da Central Analítica da FIOCRUZ/RJ pela realização das análises de RMN, HRMS e GC-MS, que constam neste trabalho.

Ao Gabriel Santos e à profa. Dra. Marisi Gomes Soares pelas análises de RMN na Universidade Federal de Alfenas.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Maurício Frota Saraiva e Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior, pelo tempo disponibilizado para ler e avaliar este trabalho e pelas contribuições.

RESUMO

A Doença de Chagas (DC) foi descoberta em 1909 pelo médico brasileiro Dr. Carlos Chagas e, até os dias de hoje, é considerada como um problema de saúde pública. De acordo com a OMS, a DC está classificada entre as 20 Doenças Tropicais Negligenciadas, afetando sobretudo as classes sociais mais baixas dos países da América Latina, onde é endêmica. A doença é causada pelo *Trypanossoma cruzi*, transmitido para os seres humanos pelos insetos triatomíneos. O tratamento da DC conta apenas com dois fármacos, o benznidazol e o nifurtimox, ambos desenvolvidos há mais de 50 anos. Esses compostos possuem menor eficácia na fase crônica e causam diversos efeitos colaterais. Portanto, há uma urgente necessidade de se desenvolver novos compostos mais ativos contra o *T. cruzi* e que causam menos efeitos colaterais. Nesse sentido, os heterociclos são atrativos para o planejamento de novos fármacos, pois estão presentes em diversos compostos bioativos. Em especial, os heterociclos azólicos 1*H*-pirazol e 1,3,4-tiadiazol têm se destacado no desenvolvimento de agentes antiparasitários. Dessa forma, neste trabalho planejou-se duas novas séries de híbridos pirazol-tiadiazol, **1(a-l)** e **2(a-l)**, com potencial atividade tripanocida. Os produtos finais foram sintetizados a partir dos intermediários-chave **3(a-l)** e **4(a-l)**. Investigou-se duas metodologias alternativas para a síntese dos produtos finais, uma delas partindo-se das carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)** e a outra das carboxamidas **5(a,f,j)**, porém em nenhum dos dois casos foi possível obter os compostos desejados. Em vez disso, na primeira tentativa obteve-se os produtos carboxamidas **5(a,c,g,i,j)** e na segunda as bisamidas **6(a,f,j)**, as quais são inéditas. Por fim, utilizando-se ácido trifluoroacético e tiossemicarbazida, os intermediários **3(a-l)** e **4(a-l)** foram convertidos com sucesso em **1(a-l)** e **2(a-l)**, respectivamente, com rendimentos de 26 a 72% e 20 a 91%, nessa ordem. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por FT-IR e os produtos **6(a,f,j)**, **1(a-l)** e **2(a-l)** também foram analisados por HRMS e RMN de ¹H e ¹³C. A maioria dos compostos testados até o momento, **1(a-k)** e **2(a,b,d,f-l)**, não foram tóxicos frente às células Vero, com um CC₅₀ >500 µM, com exceção de **1(c,d)** que geraram um CC₅₀ de 118,77 e 341,65 µM, respectivamente.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Quimioterapia, Heterociclos, 1*H*-pirazol, 1,3,4-tiadiazol.

ABSTRACT

Chagas Disease (CD) was discovered in 1909 by Dr. Carlos Chagas and it is, until today, a public health problem. According to WHO, CD is one of the 20 Neglected Tropical Disease and affects the poorest people who live in Latin American, where the disease is endemic. It is caused by *Trypanosoma cruzi*, transmitted to humans by the triatomine bugs. The treatment of CD is based on two drugs, benznidazole and nifurtimox, both were developed more than 50 years ago. They have limited efficacy on chronic phase and cause many side effects. Thus, there is an urgent need to develop new compounds more active against *T. cruzi*, in both phases of the disease, and with less side effects. In this sense, heterocycles are an attractive class to design new drugs, because they are present in a plethora of bioactive compounds. Especially, azolic heterocycles 1*H*-pyrazole and 1,3,4-thiadiazole have gained considerable attention in the development of antiparasitic agents. Thus, in this work two new series of pyrazole-thiadiazole hybrids **1(a-l)** and **2(a-l)** have been planned with potential trypanocidal activity. The final products were synthesized using the key intermediates **3(a-l)** and **4(a-l)**. Initially, two alternative methodologies to the final products synthesis were investigated. The carbonitriles **4(a,c,g,i,j)** and the carboxamides **5(a,f,j)** were used as raw materials in the first and second attempt, respectively. However, the desired products could not be obtained and the unexpected products **5(a,c,g,i,j)** were formed in the first case and **6(a,f,j)** in the second one. Finally, employing thiosemicarbazide and trifluoroacetic acid, the intermediates **3(a-l)** and **4(a-l)** were successfully converted into **1(a-l)** and **2(a-l)**, respectively, in yields of 26 to 72% and 20 to 91%, in this order. All the compounds were characterized by FT-IR and the **6(a,f,j)**, **1(a-l)** and **2(a-l)** were also analyzed by HRMS, ¹H and ¹³C NMR. So far, the majority of the tested derivatives, **1(a-k)** e **2(a,b,d,f-l)**, did not exhibit toxicity against Vero cells, with CC₅₀ >500 μM, except for **1(c,d)**, which presented a CC₅₀ in 118,77 and 341,65 μM, respectively.

Keywords: Chagas Disease, Chemotherapy, Heterocycles, 1*H*-pyrazole, 1,3,4-thiadiazole.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição global da Doença de Chagas.	4
Figura 2: Distribuição da Doença de Chagas aguda no Brasil de 2012 a 2016.	6
Figura 3: Formas evolucionárias do <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
Figura 4: Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i>	8
Figura 5: Representações estruturais do benznidazol e do nifurtimox.	10
Figura 6: Representações estruturais do itraconazol, ravuconazol e fosravuconazol (E1224).	13
Figura 7: Representação estrutural do fexinidazol.	15
Figura 8: Representações estruturais do megazol e dos seus análogos MZ1 e MZ2.	15
Figura 9: Representações estruturais do GNF6702 e do AN4169.	16
Figura 10: Representações estruturais de biomoléculas que possuem heterociclos.	18
Figura 11: Representações estruturais de produtos naturais que possuem heterociclos.	18
Figura 12: Representações estruturais da penicilina G, do AZT e do PF-07321332.	19
Figura 13: Representações estruturais da morfina, da camptotecina e da quinina.	20
Figura 14: Representações estruturais de fármacos que contêm heterociclos.	20
Figura 15: Representações estruturais de alguns azóis.	21
Figura 16: Isômeros do tiadiazol.	21
Figura 17: Estruturas de ressonância do 1,3,4-tiadiazol.	22
Figura 18: Representações estruturais de fármacos que contêm um núcleo 1,3,4-tiadiazólico.	23
Figura 19: Representação estrutural do 1 <i>H</i> -pirazol.	26
Figura 20: Representações estruturais de produtos naturais que contêm um núcleo pirazólico.	30
Figura 21: Representações estruturais de fármacos que contêm um núcleo pirazólico.	31
Figura 22: Derivados pirazólicos com atividade tripanocida.	31
Figura 23: Representações estruturais dos derivados das séries 1(a-l) , 2(a-l) , 3(a-l) e 4(a-l)	32
Figura 24: Representações estruturais de dois derivados amino-pirazol-imidazolina e os resultados de ensaios biológicos.	34
Figura 25: Representações estruturais de dois híbridos pirazol-imidazolina e os resultados de ensaios biológicos.	35
Figura 26: Representações estruturais e rendimentos dos cloridratos de arilhidrazina.	55
Figura 27: Representações estruturais e rendimentos dos derivados 3(a-l)	56
Figura 28: Representações estruturais e rendimentos dos derivados da série 4(a-l)	59
Figura 29: Representações estruturais e rendimentos dos derivados 5(a,f,j)	62
Figura 30: Representações estruturais e rendimentos dos produtos das reações descritas nas entradas 01 a 06 (Tabela 02).	65
Figura 31: Espectros de infravermelho dos derivados 5aNaOMe e 5aH₂SO₄	67
Figura 32: Espectro de infravermelho do subproduto 7 (entrada 01).	68
Figura 33: Representações estruturais e rendimentos das bisamidas 6(a,f,j)	70
Figura 34: Espectro de RMN de ¹ H do derivado 6a	74
Figura 35: Espectro de RMN de ¹³ C do derivado 6a	75
Figura 36: Representações estruturais, rendimentos e faixas de fusão dos derivados 1(a-l)	77

Figura 37: Espectro de infravermelho do derivado 1a	79
Figura 38: Espectro de massas de alta resolução do derivado 1a	82
Figura 39: Espectro de RMN de ^1H do derivado 1a	83
Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado 1a	84
Figura 41: Representações estruturais, rendimentos e faixas de fusão dos derivados 2(a-l)	88
Figura 42: Espectro de infravermelho do derivado 2a	90
Figura 43: Espectro de massas de alta resolução do derivado 2a	92
Figura 44: Espectro de RMN de ^1H do derivado 2a	93
Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado 2a	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados gerais do estudo BENDITA.	14
Tabela 2: Condições reacionais para a tentativa de síntese dos produtos finais 2(a,c,g,i,j) , utilizando ácido acético ou uma solução 30% de metóxido de sódio em metanol.	45
Tabela 3: Condições reacionais para a tentativa de síntese dos produtos finais 2(a,f,j) a partir de uma reação de transamidação.	46
Tabela 4: Principais dados das análises de FT-IR dos cloridratos de arilhidrazina.	55
Tabela 5: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 3(a-l)	58
Tabela 6: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 4(a-l)	61
Tabela 7: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 5(a,f,j)	63
Tabela 8: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 6(a,f,j)	72
Tabela 9: Principais dados das análises de HRMS dos derivados 6(a,f,j)	73
Tabela 10: Dados das análises de ¹ H RMN dos derivados 6(f,j)	76
Tabela 11: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 1(a-l)	80
Tabela 12: Principais dados das análises de HRMS dos derivados 1(a-l)	81
Tabela 13: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 1(b-d)	85
Tabela 14: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 1(e-g)	86
Tabela 15: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 1(h-l)	87
Tabela 16: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados 2(a-l)	89
Tabela 17: Principais dados das análises de HRMS dos derivados 2(a-l)	91
Tabela 18: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 2(b-d)	95
Tabela 19: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 2(e-g)	96
Tabela 20: Dados das análises de RMN de ¹ H dos derivados 2(h-l)	97
Tabela 21: Resultados dos testes de citotoxicidade frente às células Vero de 1(a-l) e 2(a-l)	98

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese de um derivado piridina-tiadiazólio.....	22
Esquema 2: Síntese dos híbridos pirazol-tiadiazol.....	23
Esquema 3: Síntese dos antibacterianos <i>N</i> -tiadiazol-4-hidroxi-2-quinolina-3-carboxamidas.....	24
Esquema 4: Síntese de derivados 5-amino-1,3,4-tiadiazóis via ciclocondensação oxidativa.....	25
Esquema 5: Síntese dos tiadiazóis-terpênicos e representação estrutural do composto mais ativo das séries.....	25
Esquema 6: Estruturas de ressonância do 1 <i>H</i> -pirazol.....	26
Esquema 7: Reações do 1 <i>H</i> -pirazol com base e ácido.....	27
Esquema 8: Equilíbrio tautomérico de um 1 <i>H</i> -pirazol monossustituído.....	27
Esquema 9: Síntese de Knorr.....	28
Esquema 10: Síntese de derivados 5-amino-1-aril-1 <i>H</i> -pirazóis.....	28
Esquema 11: Síntese do 1 <i>H</i> -pirazol e do celecoxib a partir de enaminonas.....	29
Esquema 12: Síntese de Pechmann.....	29
Esquema 13: Síntese multicomponente de 1 <i>H</i> -pirazóis via complexos de titânio.....	30
Esquema 14: Planejamento molecular dos derivados das séries 1(a-l) e 2(a-l)	35
Esquema 15: Síntese dos intermediários-chave 3(a-l) e 4(a-l)	36
Esquema 16: Tentativa de síntese dos produtos 2(a,c,g,i,j) partindo-se de 4(a,c,g,i,j)	37
Esquema 17: Reação de transamidação para obtenção de 2(a,f,j)	38
Esquema 18: Tentativa de síntese dos produtos 2(a,f,j) partindo-se de 5(a,f,j)	38
Esquema 19: Síntese dos produtos finais 1(a-l) e 2(a-l)	39
Esquema 20: Síntese dos cloridratos de arilhidrazina.....	40
Esquema 21: Síntese dos intermediários-chave 3(a-l)	41
Esquema 22: Síntese dos intermediários-chave 4(a-l)	42
Esquema 23: Síntese dos intermediários-chave 5(a,f,j)	44
Esquema 24: Representações das sínteses descritas nas entradas 01 a 06.....	45
Esquema 25: Tentativa de síntese dos derivados 2(a,f,j) a partir de 5(a,f,j)	47
Esquema 26: Síntese dos produtos finais 1(a-l) e 2(a-l)	48
Esquema 27: Mecanismo da reação de formação dos derivados 3(a-l)	57
Esquema 28: Proposta mecanística da reação de formação dos derivados 4(a-l)	60
Esquema 29: Mecanismo da reação de formação dos derivados 5(a,f,j)	62
Esquema 30: Mecanismo da reação de formação do subproduto <i>N</i> -(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida 7	66
Esquema 31: Rearranjo do tipo McLafferty do subproduto 7	69
Esquema 32: Proposta mecanística da reação de formação dos derivados 6(a,f,j)	71
Esquema 33: Mecanismo da reação de formação dos produtos finais 1(a-l) e 2(a-l)	78

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS e SÍMBOLOS

^{13}C	Carbono 13
^1H	Hidrogênio 1
AcOH	Ácido Acético
AcOEt	Acetato de Etila
ATR	Refletância Total Atenuada, do inglês: <i>Attenuated Total Reflectance</i>
BZ	Benznidazol
BENDITA	Novas Dosagens Aprimoradas de Benznidazol e em Associação, do inglês: <i>Benznidazole New Doses Improved Treatment & Associations</i>
CC ₅₀	50% da Concentração Citotóxica
CCC	Cardiomiopatia Chagásica Crônica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DC	Doença de Chagas
DCM	Diclorometano
DEPT-135	Potencialização sem Distorção por Transferência de Polarização, do inglês: <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico, do inglês: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DNDi	Iniciativa para o Desenvolvimento de Medicamentos para Doenças Negligenciadas, do inglês: <i>Drug for Neglected Disease</i>
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
DTU	Unidades Discretas de Descrição, do inglês: <i>Discrete Typing Units</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido Hexadeuterado
d	Dupleto
dd	Dupleto de Dupleto
dt	Dupleto de Tripleto

E1224	Fosravuconazol
EC ₅₀	50% da Concentração de Eficiência Máxima
ESI	Ionização por Eletrospray, do inglês: <i>Electrospray Ionization</i>
ECG	Eletrocardiograma
EDC.HCl	Cloridrato de Etil-(<i>N,N'</i> -dimetilamino)propilcarbodiimida, do inglês: <i>Ethyl-(N',N'-dimethylamino)propylcarbodiimide Hydrochloride</i>
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês: <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EM	Equivalente Molar
FIOCRUZ/RJ	Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês: <i>Food and Drug Administration</i>
FX	Fexinidazol
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier, do inglês: <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
GC-MS	Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês: <i>Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPTB	Hidroperóxido de <i>t</i> -butila
HRMS	Espectrometria de Massas de Alta Resolução, do inglês: <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol, do inglês: <i>1-Hydroxybenzotriazole</i>
IC ₅₀	50% da Concentração Inibitória Máxima
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
LAFEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade, do inglês: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LUC	Laboratório de Ultraestrutura Celular
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico, do inglês: <i>meta-Chloroperbenzoic Acid</i>
MeONa	Metóxido de Sódio

MZ	Megazol
m	Multiplete
NF	Nifurtimox
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PCR	Reação em Cadeia Polimerase, do inglês: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PDD	Descobrimto de Medicamentos Baseado no Fenótipo, do inglês: <i>Phenotype-based Drug Discovery</i>
pt	Pseudotripleto
Q-TOF	Quadrupolo – Tempo de Voo, do inglês: <i>Quadrupole – Time of Flight</i>
R	Rendimento
RL	Reagente de Lawesson
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RNA	Ácido Ribonucleico, do inglês: <i>Ribonucleic Acid</i>
SI	Índice de Seletividade, do inglês: <i>Selective Index</i>
s	Simpleto
T. A.	Temperatura Ambiente
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TFA	Ácido Trifluoroacético, do inglês: <i>Trifluoroacetic Acid</i>
THF	Tetra-hidrofurano
<i>T. infestans</i>	<i>Triatoma Infestans</i>
<i>t</i>	<i>tert</i>
TMS	Tetrametilsilano
t_r	Tempo de Retenção
TSCZ	Tiossemicarbazida

t	Tripleto
td	Tripleto de Dupletos
m/z	Razão Massa Carga
v_{as}	Estiramento Assimétrico ou Deformação Axial Assimétrica
v_s	Estiramento Simétrico ou Deformação Axial Simétrica
v	Estiramento ou Deformação Axial
δ	Deslocamento Químico
δ	Deformação Angular no Plano
γ	Deformação Angular Fora do Plano

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. DOENÇA DE CHAGAS	1
1.1.1. <i>Epidemiologia</i>	3
1.1.2. <i>Agente etiológico</i>	6
1.1.3. <i>Manifestações clínicas</i>	9
1.1.4. <i>Quimioterapia</i>	10
1.2. HETEROCICLOS	18
1.2.1. <i>1,3,4-tiadiazol</i>	21
1.2.2. <i>1H-pirazol</i>	26
2. OBJETIVOS	32
2.1. OBJETIVOS GERAIS	32
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
3. JUSTIFICATIVAS	33
4. METODOLOGIAS	36
4.1. SÍNTESES	36
4.1.1. <i>Síntese dos cloridratos de arilhidrazina</i>	39
4.1.2. <i>Síntese dos intermediários-chave 3(a-l)</i>	40
4.1.3. <i>Síntese dos intermediários-chave 4(a-l)</i>	42
4.1.4. <i>Síntese dos intermediários-chave 5(a,f,j)</i>	43
4.1.5. <i>Investigação de metodologias para a síntese de 2(a,c,g,i,j) a partir das carbonitrilas 4(a,c,g,i,j)</i>	44
4.1.6. <i>Investigação de metodologias para a síntese de 2(a,f,j) a partir das carboxamidas 5(a,f,j)</i>	46
4.1.7. <i>Síntese dos produtos finais 1(a-l) e 2(a-l) utilizando-se ácido trifluoroacético</i>	48
4.2. CARACTERIZAÇÕES	52
4.2.1. <i>Determinação das faixas de fusão</i>	53
4.2.2. <i>Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)</i>	53
4.2.3. <i>Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)</i>	53
4.2.4. <i>Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)</i>	53
4.2.5. <i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	54
4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	54
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1. SÍNTESE DOS CLORIDRATOS DE ARILHIDRAZINA	55
5.2. SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS-CHAVE	56
5.2.1. <i>5-amino-1-aril-1H-pirazol-4-carbonitrilas 3(a-l)</i>	56
5.2.2. <i>1-aril-1H-pirazol-4-carbonitrilas 4(a-l)</i>	59
5.2.3. <i>1-aril-1H-pirazol-4-carboxamidas 5(a,f,j)</i>	62

5.3. INVESTIGAÇÃO DE METODOLOGIAS PARA A SÍNTESE DOS PRODUTOS FINAIS.....	64
5.3.1. <i>Partindo-se dos derivados 4(a,c,g,i,j)</i>	64
5.3.2. <i>Partindo-se dos derivados 5(a,f,j)</i>	69
5.4. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS FINAIS	77
5.4.1. <i>5-amino-2-(5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-yl)-1,3,4-thiadiazol 1(a-l)</i>	77
5.4.2. <i>5-amino-2-(1-aryl-1H-pirazol-4-yl)-1,3,4-thiadiazol 2(a-l)</i>	88
5.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	98
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	99
REFERÊNCIAS.....	100

1. INTRODUÇÃO

1.1. DOENÇA DE CHAGAS

A Doença de Chagas (DC) foi descoberta em 1909 pelo médico brasileiro Dr. Carlos Chagas. Trata-se de uma doença parasitária causada pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), um protozoário flagelado da família Trypanosomatidae. Sua transmissão ocorre principalmente por meio do contato com as fezes contaminadas dos insetos triatomíneos, encontrados essencialmente na América Latina, onde a doença é endêmica. No Brasil esses insetos são popularmente conhecidos como “barbeiros” (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; LIDANI et al., 2019).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a DC como uma das 20 Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), uma vez que ela acomete, sobretudo, as populações mais pobres, que vivem em zonas rurais, em situações precárias de higiene e com difícil acesso aos serviços de saúde (ENGELS; ZHOU, 2020; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017). Além disso, a doença recebe pouca atenção das empresas farmacêuticas, pois não há um retorno lucrativo dos investimentos para o desenvolvimento de novos fármacos, devido ao perfil socioeconômico dos indivíduos afetados (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020).

Essa negligência tem impacto direto no tratamento da doença e no bem-estar das pessoas infectadas. Atualmente apenas dois fármacos estão disponíveis no mercado, o benznidazol e o nifurtimox, sendo que ambos possuem menor eficácia na fase crônica e causam diversos efeitos colaterais (SCARIM et al., 2018; VENTURA-GARCIA et al., 2013).

A DC também contribui diretamente para o agravamento da desigualdade social e para a manutenção da pobreza, pois os indivíduos infectados geralmente não conseguem empregos formais, devido ao estigma que a doença provoca e à incapacidade causada pelos sintomas. Dessa forma, eles são obrigados a se sujeitar às condições precárias do trabalho informal, o que leva a uma deterioração da sua qualidade de vida (VENTURA-GARCIA et al., 2013).

Do ponto de vista clínico, a dificuldade de acesso aos serviços de saúde e, portanto, a ausência de diagnóstico, constitui-se como outro obstáculo para o enfrentamento da DC. Estima-se que cerca de 95% dos indivíduos infectados não são diagnosticados e apenas 1% da população em risco de contaminação é submetida a testes de diagnóstico (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

De acordo com os últimos dados divulgados, no Brasil, apenas os casos de Chagas aguda são notificados ao Ministério da Saúde, sendo que tais notificações representam de 10 a 20% do número total de casos (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017). A Secretaria de Vigilância e Saúde (Brasil, 2019) também aponta como um dos grandes problemas no combate à doença a demora do diagnóstico dos casos suspeitos, o que causa um atraso no tratamento, podendo levar ao agravamento do quadro clínico do paciente.

A naturalização e normalização da doença pela população afetada configuram-se como outro agravante do cenário socioeconômico e sanitário da DC. As pessoas infectadas geralmente não apresentam sintomas graves logo após a contaminação, o que faz com que elas continuem a exercer suas atividades normalmente. Dessa forma, a população negligencia o risco de contaminação e não tomam nenhuma providência para combater o inseto vetor. Além do mais, quando apresentam sintomas característicos da doença não buscam por ajuda médica (VENTURA-GARCIA et al., 2013).

No Brasil, a DC faz parte das sete doenças negligenciadas destacadas na Agenda de Prioridade de Pesquisa em Saúde do Ministério da Saúde. No entanto, uma pesquisa realizada por Fonseca et. al (2020) mostrou que, dentre as sete, ela possui o menor investimento em pesquisa em relação ao seu impacto socioeconômico e sanitário.

Dessa forma, pode-se afirmar que a DC é um grande problema de saúde pública, que gera, anualmente, cerca de USD\$627,5 milhões em custos com serviços de saúde. Além disso, diversos obstáculos políticos e sociais têm dificultado seu enfrentamento. Portanto, há uma evidente necessidade de se desenvolver pesquisas que auxiliem na criação de estratégias como: campanhas de conscientização e instrução sobre a doença; programas de controle vetorial; desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e, principalmente, o desenvolvimento de novos fármacos. (LIDANI et al., 2019).

Nas seções que se seguem serão detalhados os aspectos epidemiológicos, etiológicos e clínicos da doença. Também será apresentada uma revisão da literatura sobre a quimioterapia e os principais compostos com atividade tripanocida desenvolvidos nos últimos anos.

1.1.1. Epidemiologia

O *Trypanosoma cruzi* está presente na história da humanidade muito antes de sua descoberta em 1908. Recentemente seu DNA foi encontrado em uma múmia de nove mil anos de idade no Deserto de Atacama. Em tais circunstâncias o ser humano estava inserido no ciclo silvestre de transmissão da doença, juntamente com outros mamíferos, considerados como reservatórios naturais do parasito (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; LIDANI et al., 2019). Com a criação das civilizações, a expansão da agricultura e a domesticação de animais silvestres, o homem foi, acidentalmente, inserido no ciclo doméstico de transmissão do *T. cruzi*, processo conhecido como *spillover* (GUHL; RAMÍREZ, 2021).

Nesse novo cenário, os insetos-vetores que conseguiram se adaptar ao ambiente doméstico hoje desempenham um papel fundamental na transmissão da doença. No Brasil, Argentina, Bolívia, Chile, Paraguai, Uruguai e Peru o *Triatoma infestans* é a espécie que apresenta maior importância epidemiológica. Nos demais países da América Latina esse papel é desenvolvido pelo *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata* e *Rhodnius pallescens* (LIDANI et al., 2019). No entanto, todas as 150 espécies de insetos da subfamília Triatominae são capazes de transmitir o *T. cruzi*, sendo que os indivíduos do gênero *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* são protagonistas na transmissão da doença. Esses insetos possuem hábitos noturnos, se alimentam do sangue de mamíferos e são encontrados nos ambientes domésticos, peridomésticos e silvestres de toda a América Latina (GUHL; RAMÍREZ, 2021).

Atualmente a DC é endêmica em 21 países da América Latina, incluindo o Brasil (Figura 1). Estima-se que há cerca de seis milhões de pessoas infectadas no mundo, sendo que mais de 65 milhões encontram-se em risco de contaminação e 12 mil morrem anualmente devido à doença. No Brasil, estima-se que há de 1,2 a 4,6 milhões de pessoas infectadas e cerca de seis mil mortes anualmente (GUARNER, 2019; GUHL; RAMÍREZ, 2021; MARTINS-MELO et al., 2019).

Em áreas endêmicas a contaminação vetorial é a principal via de transmissão da doença, devido à maior exposição ao inseto vetor, que geralmente é encontrado dentro de casas mais pobres em zonas rurais. No entanto, as espécies que ocupam os habitats silvestres também proporcionam certo risco, principalmente para os indivíduos que trabalham em lavouras ou em atividades de pesca ou caça (GUHL; RAMÍREZ, 2021; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

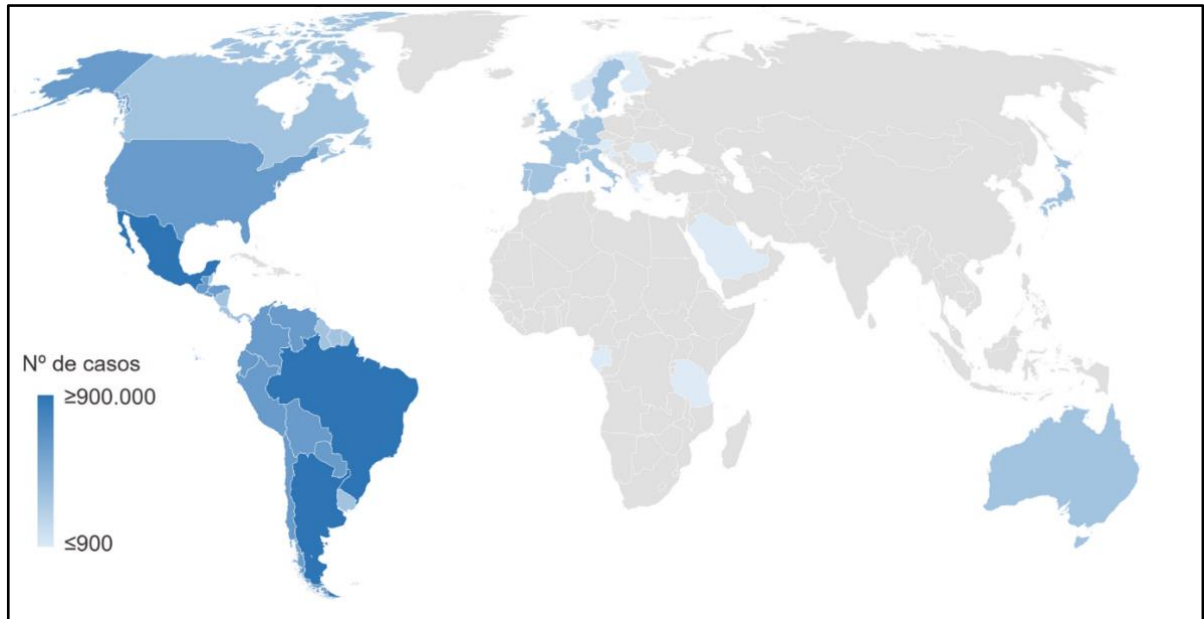


Figura 1: Distribuição global da Doença de Chagas.

Fonte: OMS, 2018 (adaptado).

O êxodo rural, promovido pela industrialização e urbanização, possibilitou que a doença se espalhasse para os grandes centros urbanos, principalmente nas regiões periféricas, onde se instalava as famílias vindas das regiões endêmicas e que geralmente traziam consigo o patógeno. Com isso, outros meios de transmissão ganharam destaque, como através da transfusão de sangue, transplante de órgãos e transmissão congênita, (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

A globalização fez com que a DC se difundisse também para áreas não-endêmicas como Estados Unidos da América (EUA), Canadá, alguns países da Europa, Japão e Austrália, em decorrência da migração de latino-americanos. Nessas regiões a doença é transmitida a partir da transfusão de sangue/transplante de órgãos de indivíduos infectados e por meio da transmissão congênita (LIDANI et al., 2019). Estudos indicam que há cerca de 123 mil pessoas infectadas com o *T. cruzi* vivendo na Europa. Nos EUA a estimativa é de 300 mil pessoas e no Japão de quatro mil. Dessa forma, a DC tem se tornado um problema mundial de saúde pública (GUARNER, 2019; LIDANI et al., 2019).

Em 2007, os EUA implementaram um novo critério para doação de sangue, o qual incluía testes para detecção do *T. cruzi* e questionários sobre situações de risco ao qual o doador possa ter sido exposto. No Brasil, um programa semelhante foi implementado, sendo responsável pela diminuição da taxa de doadores de sangue portadores da DC de 4,4% em 1980 para 0,2% em 2005. Já em alguns países da

Europa, os programas criados preveem testes apenas para aqueles que foram expostos ao risco de contaminação (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; LIDANI et al., 2019).

Entre 1991 e 2002 os países da América Latina promoveram diversas conferências multinacionais, como a Iniciativa do Cone Sul, a Iniciativa dos Países Andinos, a Iniciativa da América Central e México e a Iniciativa dos Países Amazônicos. O principal objetivo era propor metas para eliminar as principais espécies de insetos-vetores dos ambientes domésticos de cada região (COURA; VIÑAS; JUNQUEIRA, 2014; LIDANI et al., 2019).

Nos anos subsequentes, a Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) certificou a erradicação do *T. infestans* no Brasil, Chile e Uruguai, sendo que esses países também obtiveram sucesso nos programas de controle da transmissão da doença através da doação de sangue (COURA; VIÑAS; JUNQUEIRA, 2014; LIDANI et al., 2019).

Em decorrência dessas iniciativas, houve uma redução de 32% no número de novos casos registrados em 2010 quando comparado aos dados de 2006. No entanto, o desmatamento e as queimadas têm agravado o risco de reinfestações, devido à migração de espécies silvestres dos insetos-vetores para o ambiente doméstico (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; SÁNCHEZ-SANCHO; CAMPILLO; PÁEZ, 2010).

Com a erradicação dos insetos-vetores e, conseqüentemente, a diminuição da transmissão vetorial, a contaminação oral tem emergido como uma das principais formas de transmissão da DC nos últimos anos. Esse tipo de contaminação ocorre quando uma pessoa ingere alimentos contaminados com o vetor infectado ou suas fezes (LIDANI et al., 2019).

A contaminação oral é a principal rota de transmissão da doença na região amazônica, por exemplo, onde não há espécies do vetor nos ambientes doméstico e as atividades de extração do açaí são intensas. A palmeira dessa fruta geralmente está infestada com os insetos-vetores, o que expõe os extratores ao risco de contaminação vetorial e os consumidores ao risco de contaminação oral. Essa via de transmissão é intensificada na região devido ao consumo *in natura* da fruta, sem higienização adequada (COURA; VIÑAS; JUNQUEIRA, 2014; FUJITA; NASCIMENTO; JÚNIOR, 2019).

De 2000 a 2011 estima-se que 70% dos casos registrados de Chagas aguda no mundo foram adquiridos através da ingestão de alimentos contaminados, sendo

que o Brasil foi o que apresentou o maior número de infectados no período. Esse tipo de transmissão é especialmente preocupante, pois gera um quadro clínico mais grave, com uma taxa de letalidade que varia de 8 a 35% (GUHL; RAMÍREZ, 2021).

No Brasil, entre 2012 a 2016, cerca de 73% dos casos notificados de Chagas aguda foram adquiridos a partir da ingestão de alimentos contaminados. Como mostrado na Figura 2, a região norte possui a maior incidência da doença, sendo que no estado do Pará foram registrados 86% (1.026 infectados) de todos os casos do período. A maior prevalência da DC na região norte está relacionada não só aos hábitos de consumo do açaí, mas também aos maiores índices de pobreza, o que potencializa a transmissão vetorial (BRASIL, 2019; MARTINS-MELO et al., 2019).

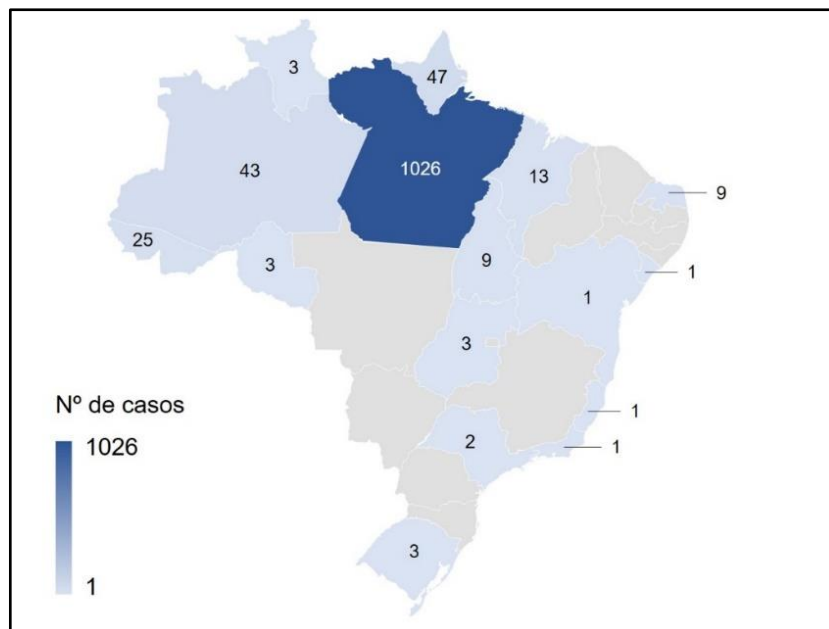


Figura 2: Distribuição da Doença de Chagas aguda no Brasil de 2012 a 2016.

Fonte: Brasil, 2019 (adaptado).

1.1.2. Agente etiológico

O *Trypanosoma cruzi* foi identificado pela primeira vez em 1908, no Laboratório Nacional de Terapia do Serum. Ele foi encontrado no intestino de um inseto triatomíneo, capturado pelo Dr. Chagas durante uma investigação sobre surtos de malária que acontecia na região onde estava sendo construída uma ferrovia que ligaria Belo Horizonte ao Rio de Janeiro. Após a sua identificação, o parasito foi submetido a diversos experimentos, sendo capaz de infectar com sucesso os macacos estudados. Os resultados desses estudos sustentaram a hipótese de que o *T. cruzi* era um potencial patógeno para os seres humanos. Em 1909, essa hipótese

foi confirmada, quando o parasito foi encontrado no sangue de uma menina de dois anos, examinada por Chagas na cidade de Lassence em Minas Gerais (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020).

O *T. cruzi* é um organismo eucarioto unicelular que existe em quatro formas evolucionárias: tripomastigota metacíclica, epimastigota, tripomastigota e amastigota (Figura 3), sendo que as duas primeiras estão presentes no inseto vetor e as duas últimas no mamífero-hospedeiro. As formas epimastigota e amastigota são intracelulares e replicáveis, enquanto que as formas tripomastigotas são extracelulares e infecciosas (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

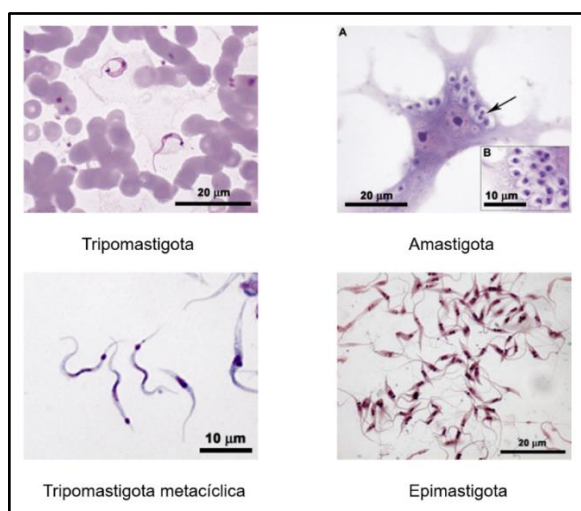


Figura 3: Formas evolucionárias do *Trypanosoma cruzi*.

Fonte: DE CARVALHO, 2017.

O ciclo de vida do *T. cruzi* (Figura 4) possui dois estágios: um nos insetos vetores e outro nos mamíferos-hospedeiros. O inseto, ao se alimentar do sangue do mamífero infectado, ingere também o *T. cruzi* na forma tripomastigota, que se instala no seu trato gastrointestinal (etapas 5 e 6). Uma vez dentro das células, o parasito sofre uma diferenciação para a forma epimastigota, que replica por divisão binária e na sequência sofre uma nova diferenciação para a forma tripomastigota metacíclica, a qual migra para o reto do inseto (etapas 7 e 8) (MARTINS et al., 2012; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Após se alimentar do sangue do mamífero-hospedeiro, o inseto vetor defeca no local da picada. Suas fezes, contaminadas com a forma tripomastigota metacíclica do *T. cruzi*, penetram na pele através dos poros, mucosas ou ao coçar a região da picada. Dentro do organismo do hospedeiro, o *T. cruzi* evade do seu sistema

imunológico e infecta suas células (etapa 2) (MARTINS et al., 2012; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Nas células, o *T. cruzi* sofre uma diferenciação para a forma amastigota, que se replica através de divisão binária. Na sequência, o parasito sofre uma nova diferenciação para a forma tripomastigota, que rompe a célula e cai na corrente sanguínea, podendo infectar outras células ou ser ingerida pelo inseto vetor (etapa 4) (MARTINS et al., 2012; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

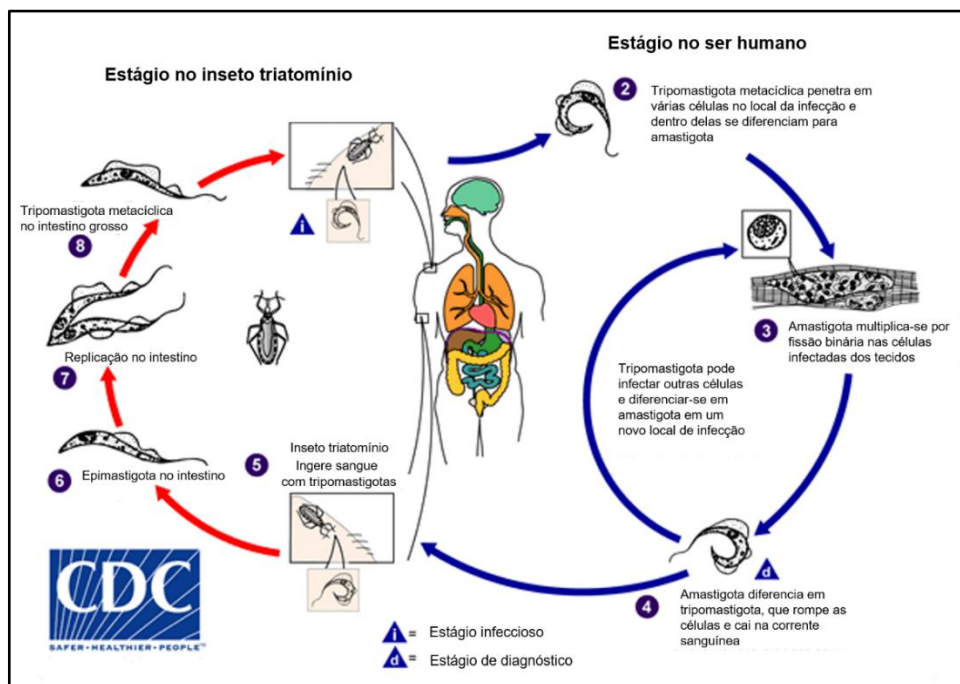


Figura 4: Ciclo de vida do *T. cruzi*.

Fonte: CDC, ©2019 (Adaptado).

A estrutura populacional do *T. cruzi* é essencialmente clonal, porém o parasito apresenta grande diversidade genética e, por isso, está classificado em seis unidades discretas de descrição (DTU, do inglês: *discrete typing units*) (SÁNCHEZ-SANCHO; CAMPILLO; PÁEZ, 2010; ZINGALES et al., 2012). Essa diversidade genética é um dos grandes empecilhos para o desenvolvimento de novos fármacos, pois a susceptibilidade do parasito aos agentes tripanocidas varia entre: (i) cepas de diferentes DTUs; (ii) clones da mesma DTU e (iii) diferentes estágios evolutivos do parasito. Portanto, para um composto ser considerado promissor para o tratamento da DC ele deve ser eficaz contra todas as variantes genéticas do parasito em todos os seus estágios evolutivos e apresentar pequena variação na atividade contra cepas e clones diferentes (MORAES et al., 2014).

1.1.3. Manifestações clínicas

A DC possui duas fases clínicas, uma aguda, que ocorre logo após a contaminação, e outra crônica, que pode manifestar-se de 10 a 30 anos depois do contágio. Na fase aguda a maior parte dos indivíduos não apresenta quaisquer sintomas, no entanto, alguns podem ter febre prolongada, dores de cabeça e no corpo, infecção dos gânglios linfáticos, aumento do fígado e do baço. Quando a transmissão ocorre por via vetorial ainda é possível observar uma ferida no local de entrada do parasito: se for pela pele aparece uma ferida conhecida como chagoma; se for na região ocular surge-se um sinal de Romaña, caracterizado por um inchaço palpebral uni ou bilateral (LIDANI et al., 2019; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

A contaminação oral causa sintomas mais graves durante a fase aguda, dentre eles pode ocorrer vômito, diarreia, dor abdominal, hemorragia gastrointestinal, miocardite e aumento da produção de bilirrubina, que causa uma amarelamento da pele e/ou olhos. Sendo que a taxa de letalidade nesses casos é maior e varia de 8 a 35% (GUARNER, 2019; GUHL; RAMÍREZ, 2021).

O diagnóstico da DC durante a fase aguda é realizado a partir de testes parasitológicos, os quais consistem em identificar o *T. cruzi* em amostras de sangue recém-coletados. Quando necessário os métodos de concentração do parasito também podem ser utilizados como, por exemplo, o método de Strout. Além disso, ainda podem ser empregados os testes moleculares, como o PCR (Reação em Cadeia Polimerase, do inglês: *Polymerase Chain Reaction*) a fim de detectar o DNA do parasito (GOMES; LORENA; LUQUETTI, 2009; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

A fase aguda da DC dura cerca de quatro a oito semanas, sendo que depois desse período a parasitemia decresce, os sintomas desaparecem e, se a doença não for tratada, ela progride para a fase crônica. Nessa fase a maior parte dos indivíduos não apresenta quaisquer sintomas pelo resto de suas vidas e permanece na fase crônica indeterminada da doença. No entanto, cerca de 30 a 40% deles podem desenvolver problemas cardíacos e/ou gastrointestinais, e em menor grau pode haver complicações neurológicas (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Os problemas cardíacos causados pela DC, também conhecidos como Cardiomiopatias Chagásicas Crônicas (CCCs), acometem de 14 a 45% dos pacientes e causam os seguintes sintomas: anormalidade no sistema de condução sanguíneo, problemas de movimento da parede do coração, arritmias, bradicardia, taquicardia,

inchaço do coração e formação de coágulo nos vasos sanguíneos. As causas de mortes mais comuns em pacientes que apresentam CCCs são: insuficiência e parada cardíaca e tromboembolismo. No Brasil cerca de 20% dos casos de insuficiência cardíaca devem-se à DC (GUARNER, 2019; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

A forma gastrointestinal da doença ocorre entre cerca de 10 a 20% dos pacientes crônicos, os quais podem desenvolver os seguintes sintomas: disfagia, desordem de motilidade, dor ao engolir, refluxo esofágico, perda de peso, tosse, regurgitação, constipação, aumento do esôfago ou cólon. Além disso, cerca de 5 a 20% dos pacientes também podem apresentar, concomitantemente, complicações cardíacas (GUARNER, 2019; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Durante a fase crônica o nível de parasitos no sangue é baixo, portanto, o diagnóstico deve ser realizado com base em testes sorológicos, como o ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*), a imunofluorescência indireta e a hemaglutinação indireta, os quais detectam a presença de anticorpos anti-*T. cruzi*. No entanto, nenhum desses métodos possui sensibilidade de 100%, dessa forma, é necessário realizar pelo menos dois tipos de testes para comprovação da infecção por *T. cruzi* em pacientes crônicos (GUARNER, 2019; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

1.1.4. Quimioterapia

O benznidazol (BZ) e o nifurtimox (NF) são dois nitro-heterociclos (Figura 5) que foram lançados na década de 1970 para o tratamento da DC. Ainda hoje, cerca de 50 anos depois, os dois fármacos são os únicos disponíveis no mercado, o que evidencia a negligência das empresas farmacêuticas em relação à doença e reforça a necessidade de se desenvolver novos compostos que sejam mais eficazes e que causem menos efeitos colaterais (LASCANO; BOURNISSEN; ALTCHER, 2020).

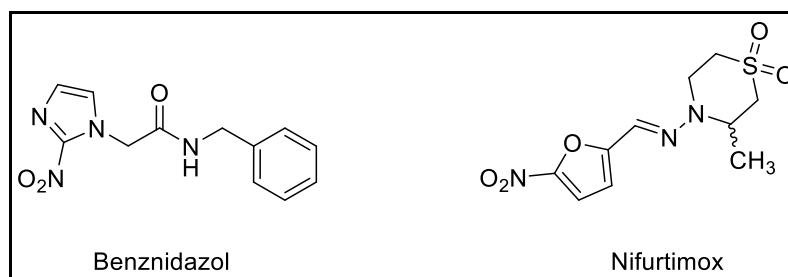


Figura 5: Representações estruturais do benznidazol e do nifurtimox.

Ambos os fármacos são eficazes durante a fase aguda da doença, porém apresentam eficácia limitada na fase crônica e podem causar diversos efeitos colaterais, sendo que os mais comuns são: dores musculares e de cabeça, desconforto gastrointestinal, erupções cutâneas, sonolência, anorexia e perda de peso (LASCANO; BOURNISSEN; ALTCHÉH, 2020; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

O BZ é o fármaco de escolha na maioria dos países latino-americanos, incluindo o Brasil, sendo o único aprovado pelo FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês: *Food and Drug Administration*) para o tratamento da DC em crianças de dois a doze anos de idade que residem nos EUA. Estudos indicam que o BZ é mais tolerável, menos tóxico e possivelmente mais eficaz do que o NF, além de apresentar uma melhor permeabilidade nos tecidos. O NF tem sido usado como segunda opção em casos cujo paciente apresenta intolerância severa ao BZ (LASCANO; BOURNISSEN; ALTCHÉH, 2020; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017; RIBEIRO et al., 2020).

Até os anos 2000 o BZ era produzido e vendido pela Roche como Rochagan® ou Radanil®. Atualmente ele é fabricado e comercializado pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) e na Argentina pelo Laboratório Elea como Abarax®. A taxa de cura do BZ é de 76% durante a fase aguda e varia de 60 a 93% em crianças menores de 13 anos que possuem Chagas crônica na fase indeterminada (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017; RIBEIRO et al., 2020).

Para o tratamento de adultos na fase crônica o BZ apresenta algumas desvantagens, dentre elas: baixo índice de cura, que varia de 2 a 40%; maior probabilidade de causar efeitos colaterais quando comparado ao tratamento em crianças; ação limitada no estágio crônico avançado, não sendo capaz de reverter os danos cardíacos (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017; RIBEIRO et al., 2020).

O mecanismo de ação do BZ ainda não está completamente elucidado. Alguns estudos atribuem sua atividade tripanocida à formação de espécies reativas, como o glioxal, que interrompem alguns processos biológicos do *T. cruzi*, levando-o à morte. Essas espécies são formadas a partir da metabolização do fármaco por meio de enzimas nitrorredutases tripanossomais do tipo I. Outros estudos mostram que a toxicidade do BZ deve-se à ligação covalente do composto aos tióis de baixa massa

molar e à proteínas tiólicas, causando uma desregulação dos processos biológicos vitais para o parasito (LASCANO; BOURNISSEN; ALTICHEH, 2020).

Já o NF foi desenvolvido e comercializado pela Bayer como Lampit®. Sua ação tripanocida deve-se a formação de radicais livres que danificam o DNA, o RNA e outros componentes celulares do *T. cruzi*, levando-o a morte. Esses radicais são liberados durante a metabolização do fármaco pela ação de enzimas nitrorredutases tripanossomais do tipo I encontradas no parasito (LASCANO; BOURNISSEN; ALTICHEH, 2020; RIBEIRO et al., 2020).

A taxa de cura do NF é de 86% para o tratamento de crianças menores de 14 anos que possuem Chagas crônica. No entanto, esse índice cai drasticamente para o tratamento em adultos, com uma taxa de sucesso que varia de 7 a 8%. Além disso, devido aos efeitos colaterais, a descontinuidade do tratamento é alta, ocorrendo em até 75% dos casos (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Dessa forma, os dois fármacos disponíveis para o tratamento da DC possuem diversas limitações, incluindo baixo índice de cura no estágio crônico e efeitos colaterais que provocam uma alta taxa de descontinuidade. Portanto, há uma evidente necessidade de se desenvolver novos compostos mais eficazes e com menos efeitos colaterais para garantir uma melhor qualidade de vida para as pessoas infectadas.

Sendo assim, diversos grupos de pesquisa têm investido em estratégias para encontrar ou desenvolver novos compostos ativos contra o *T. cruzi*. O reposicionamento de fármacos se constitui como uma dessas estratégias e sua principal vantagem é a agilidade do processo de aprovação do medicamento, uma vez que os perfis de segurança e tolerabilidade já estão descritos na literatura (RIBEIRO et al., 2020).

Nesse sentido, os azóis antifúngicos, como o itraconazol (Figura 6) e, principalmente, o ravuconazol (Figura 6), têm sido amplamente avaliados quanto às suas atividades tripanocidas. Esses compostos são promissores para o tratamento da DC porque são inibidores da biossíntese de ergosterol, o principal esterol presente nos fungos e que também está presente no *T. cruzi* (RIBEIRO et al., 2020).

Em 2013 foi publicado um estudo que acompanhou por 20 anos 46 indivíduos com Chagas crônica, os quais foram tratados com itraconazol e submetidos periodicamente a exames de eletrocardiograma (ECG). Os resultados desse trabalho mostraram que o medicamento foi capaz de retardar e até mesmo interromper o desenvolvimento de problemas cardíacos graves. No entanto, o fármaco não induziu

a cura, sendo que mesmo após o tratamento todos os indivíduos apresentaram testes sorológicos positivos (APT et al., 2013).

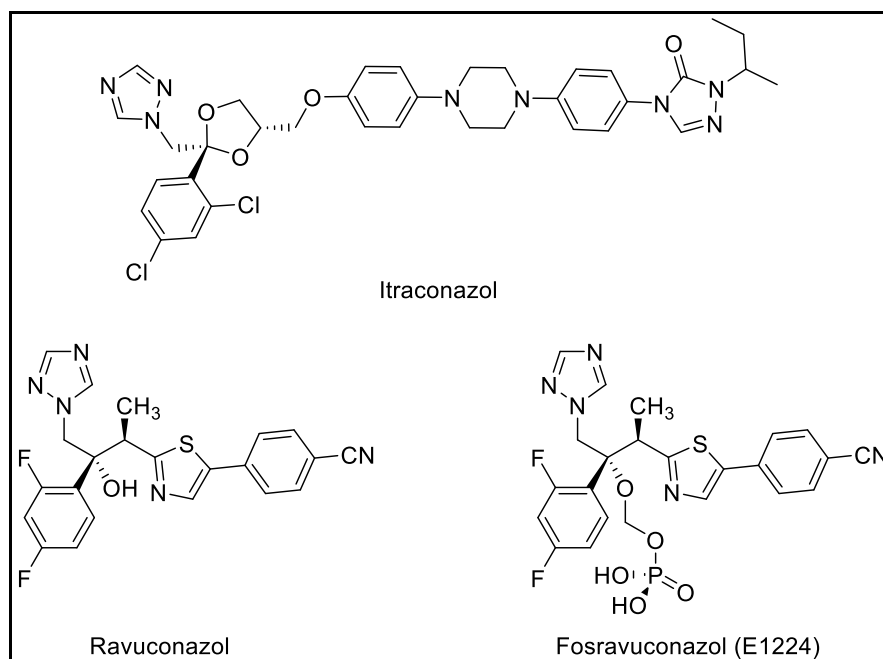


Figura 6: Representações estruturais do itraconazol, ravuconazol e fosravuconazol (E1224).

O ravuconazol, outro azol antifúngico, também teve sua atividade tripanocida testada, sendo ativo contra o *T. cruzi* em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Porém, devido às suas propriedades farmacocinéticas e baixa biodisponibilidade, os estudos clínicos foram conduzidos utilizando-se o seu pró-fármaco fosravuconazol E1224 (Figura 6). Os resultados desse estudo evidenciaram que o composto não foi capaz de curar os pacientes crônicos em monoterapia, mas que ele poderia ser eficaz em combinação com o BZ ou NF, como foi explorado no estudo BENDITA (Novas Dosagens Aprimoradas de Benznidazol e em Associação, do inglês: *Benznidazole New Doses Improved Treatment & Associations*) (BUCKNER; URBINA, 2012; TORRICO et al., 2018).

A descontinuidade do tratamento é um grande empecilho para o enfrentamento da DC, sendo que cerca de 20% dos pacientes que são tratados com BZ têm que interromper o tratamento devido aos efeitos colaterais. Por isso, a DNDi (Iniciativa para o Desenvolvimento de Medicamentos para Doenças Negligenciadas, do inglês: *Drugs for Neglected Disease initiative*) criou o BENDITA, um estudo que buscou novas abordagens terapêuticas de BZ em monoterapia ou em associação com o fosravuconazol, avaliando-se o tempo de duração do tratamento e a dosagem, com o objetivo de encontrar regimes mais toleráveis com menores índices de

descontinuidade. Os resultados gerais desse estudo estão dispostos na Tabela 1 (DNDi, 2019).

Tabela 1: Resultados gerais do estudo BENDITA.

Terapia	BZ em monoterapia	BZ em monoterapia	BZ em associação com E1224
Duração	8 semanas	4 semanas	4 semanas
Dosagem	300 mg	300 mg	BZ - 150 mg, E1224 - 300 mg
Índice de cura	82,8%	89,3%	85,2%
Índice de descontinuidade	20%	3,3%	10%

Atualmente não há um consenso científico sobre o método que deve ser empregado para avaliar a taxa de cura do tratamento da DC. A OMS considera como curado o paciente que apresente resultado negativo em pelo menos dois testes sorológicos com princípios distintos. No entanto, no BENDITA utilizou-se como critério de cura a ausência de DNA do parasito no sangue do paciente 12 meses após o término do tratamento, utilizando-se o PCR como método de análise (CHAO; LEONE; VIGLIANO, 2020; DNDi, 2019).

Como esperado o regime usual do BZ, de 60 dias, se mostrou efetivo, com uma taxa de cura de 82,8%. No entanto, o índice de descontinuidade foi alto, sendo que 20% dos pacientes precisaram abandonar o tratamento devido aos efeitos colaterais. Os tratamentos mais curtos, de duas ou quatro semanas, se mostraram tão eficientes quanto o regime usual, porém com menor índice de descontinuidade, o que os tornam mais vantajosos, podendo assim serem empregados com segurança e eficácia. Além disso, o regime do BZ associado ao E1224 também foi eficiente, como uma taxa de cura de 85,2%, no entanto com um índice de descontinuidade de 10% (DNDi, 2019).

A DNDi também tem investido em iniciativas para o enfrentamento de outras DTNs, como a doença do sono, causada pelo *Trypanosoma Brucei*. O órgão conduziu estudos que comprovaram a atividade antiparasitária do fexinidazol (Figura 7), um derivado nitroimidazólico desenvolvido na década de 1980. O composto foi submetido aos testes clínicos para o tratamento da doença e gerou resultados promissores, de

modo que o seu uso foi aprovado recentemente pela Agência Europeia de Medicamentos (BAHIA et al., 2014; RIBEIRO et al., 2020).

O fexinidazol (FX) também se mostrou efetivo contra o *T. cruzi*, com uma taxa de cura de até 80% em experimentos *in vivo*, sendo ativo mesmo contra cepas resistentes ao BZ. Além disso, os estudos em modelo murino demonstraram que o composto também foi capaz de prevenir ou reduzir o desenvolvimento de miocardites durante na fase crônica da doença. Atualmente o FX está em fase II de testes clínicos contra a DC (ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ et al., 2020; BAHIA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2020).

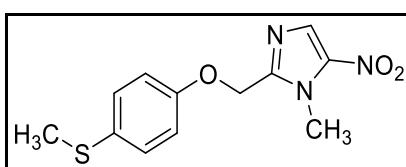


Figura 7: Representação estrutural do fexinidazol.

Outro nitro-heterociclo que merece destaque é o megazol (MZ – Figura 8), um híbrido imidazol-tiadiazol que foi sintetizado em 1968 e posteriormente estudado pelo grupo de pesquisa de Brener como potencial agente tripanocida. Os testes biológicos mostraram que o megazol foi ativo contra o *T. cruzi*, tanto em experimentos *in vitro* quanto em *in vivo*, entretanto, ele não prosseguiu para testes clínicos devido ao seu potencial efeito mutagênico e genotóxico. Desde então, alguns grupos de pesquisa têm feito modificações moleculares na sua estrutura a fim de diminuir sua toxicidade e aumentar ou manter sua atividade biológica (CARVALHO et al., 2004; SERBAN, 2020).

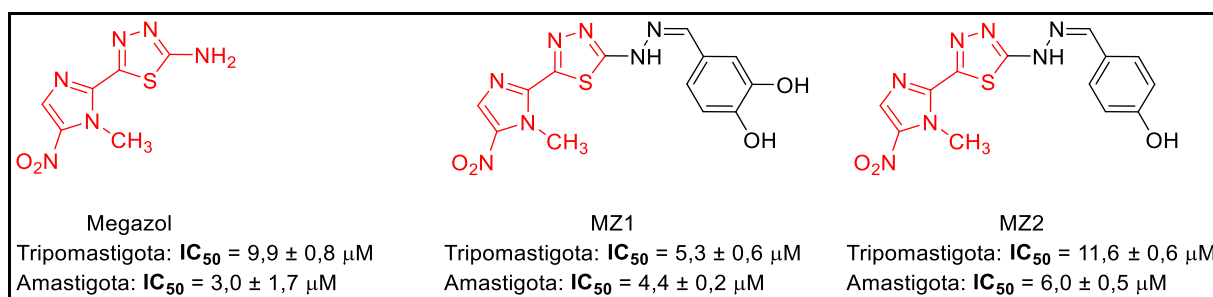


Figura 8: Representações estruturais do megazol e dos seus análogos MZ1 e MZ2.

Os derivados MZ1 e MZ2 (Figura 8), por exemplo, foram planejados com base em uma hibridação molecular entre o megazol e guanil-hidrazonas, as quais apresentaram ação tripanocida em estudos anteriores. Nos testes *in vitro* o MZ1 foi o composto mais ativo, com um IC_{50} cerca de duas vezes menor do que o encontrado

para o MZ contra a forma tripomastigota do *T. cruzi*. Entretanto, nos testes *in vivo* o MZ1 não gerou resultados satisfatórios, não sendo capaz de conter a infecção. Já o derivado MZ2, embora tenha sido menos ativo nos testes *in vitro*, foi o composto mais promissor nos testes *in vivo*, pois reduziu os níveis de parasitemia em 50% e preveniu a morte de todos os indivíduos tratados por 40 dias após a infecção (CARVALHO et al., 2004; SALOMÃO et al., 2010).

Outra importante estratégia para o desenvolvimento de novos fármacos é a descoberta de medicamentos baseado no fenótipo (PDD, do inglês: *Phenotype-based Drug Discovery*), que consiste em avaliar a atividade de um grande número de compostos contra um patógeno sem um conhecimento prévio do seu alvo biológico. Essa abordagem tem sido amplamente utilizada para descobrir novas substâncias ativas contra o *T. cruzi*, como por exemplo, o GNF6702 e o AN4169 (Figura 9), que se mostraram promissores em testes *in vitro* e *in vivo* e atualmente estão na fase pré-clínica (MARTÍN-ESCOLANO; MEDINA-CARMONA; MARTÍN-ESCOLANO, 2020).

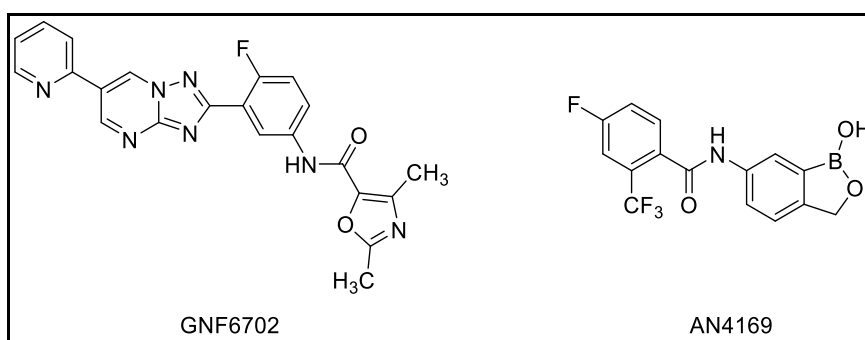


Figura 9: Representações estruturais do GNF6702 e do AN4169.

O GNF6702 é um derivado triazolopirimidina-oxazol capaz de inibir a atividade da enzima proteassoma de protozoários da ordem Kinetoplastida, sendo, portanto, um candidato promissor para o tratamento da DC, da doença do sono e das Leishmanioses. Nos testes *in vitro* o composto apresentou um EC_{50} de $120 \pm 2,6$ nM contra a forma amastigota do *T. cruzi* e nos testes *in vivo*, simulando a fase crônica da doença em modelo murino, o GNF6702 foi capaz de curar sete dos oito indivíduos infectados (KHARE et al., 2016).

O AN4169 é um derivado benzoxaborol que gerou bons resultados contra o *T. cruzi*, com um IC_{50} de $1,15$ μ M. Nos experimentos *in vitro*, o composto foi ativo contra todas as variantes genéticas do parasito e sua atividade foi dependente do tempo e da concentração. No entanto, ele foi menos eficaz do que o BZ e o NF. Nos experimentos *in vivo*, utilizando modelo murino para simular a fase aguda da DC, o

AN4169 foi capaz de curar 100% dos indivíduos infectados, porém, nos experimentos simulando a fase crônica, alguns camundongos tiveram novos picos de parasitemia após imunossupressão (JACOBS; PLATTNER; KEENAN, 2011; MORAES et al., 2014).

Dessa forma, pode-se afirmar que diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo têm se dedicado a desenvolver novos candidatos para o tratamento da DC. Contudo, apesar dos esforços, poucos compostos têm prosseguido para testes clínicos, sendo que o mais promissor dentre eles é o fexinidazol, o qual faz parte da classe dos nitro-heterociclos, assim como o benznidazol e o nifurtimox. Portanto, há uma urgente necessidade de se desenvolver novos agentes tripanocidas, que sejam mais eficazes e menos tóxicos do que os disponíveis atualmente (MARTÍN-ESCOLANO; MEDINA-CARMONA; MARTÍN-ESCOLANO, 2020).

No decorrer desta seção foram apresentados diversos compostos que têm sido promissores contra o *T. cruzi*, sendo que todos eles possuem uma característica em comum: contêm pelo menos um núcleo heterocíclico em sua estrutura. Sendo assim, os heterociclos se constituem como importantes pontos de partida para o planejamento de novos compostos bioativos, portanto a seção seguinte será dedicada a uma discussão geral sobre esses sistemas e, nas seções seguintes, dar-se-á enfoque a dois heterociclos azólicos que foram sintetizados neste trabalho.

1.2. HETEROCICLOS

Os heterociclos são sistemas cíclicos que possuem em sua estrutura átomos de carbono e pelo menos um heteroátomo. Eles são amplamente encontrados em sistemas biológicos, como por exemplo, nas bases nitrogenadas do DNA e RNA (citossina, timina, uracila, adenina e guanina), nos aminoácidos prolina, histidina e triptofano e nos carboidratos, dentre eles a α -D-glicose e β -D-frutose (Figura 10) (POZHARSKII; SOLDATENKOV; KATRITZKY, 2011).

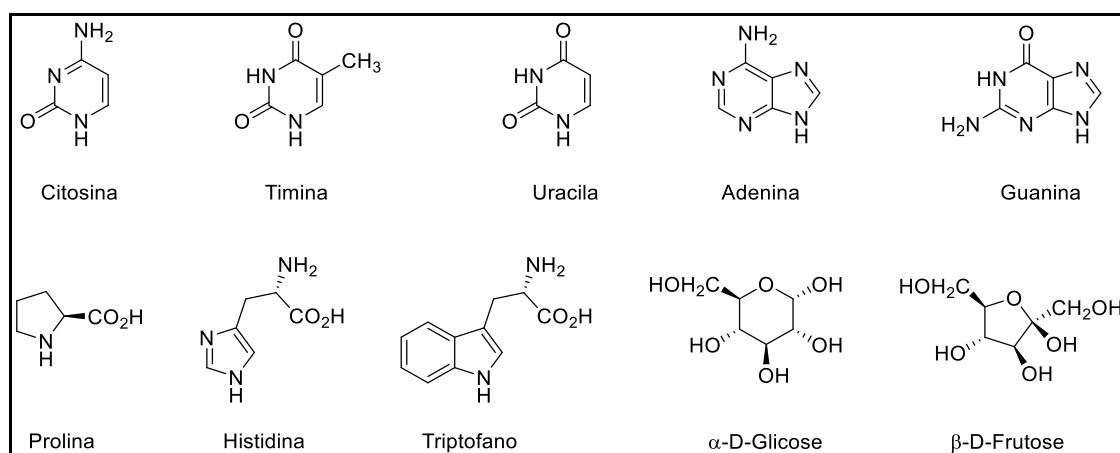


Figura 10: Representações estruturais de biomoléculas que possuem heterociclos.

Como mostrado na Figura 11, os heterociclos também estão presentes nos produtos naturais. O isobutirato de oficinalina, por exemplo, é um derivado cumarínico, extraído de *Peucedanum luxurians*, que possui atividade antibacteriana (WIDELSKI et al., 2018). Já o herbacetin é um flavonol que contém em sua estrutura um núcleo cromênico. Esse composto foi recentemente identificado como um inibidor da cisteína protease de coronavírus (JO et al., 2020). Outro importante composto de origem natural é o nimbolido, extraído da folha de *Azadirachta indica*, o qual tem gerado bons resultados de atividade biológica contra diversas linhagens de câncer. O nimbolido possui em sua estrutura uma γ -lactona, um núcleo furânico e um derivado tetra-hidrofurânico (SPRADLIN et al., 2019).

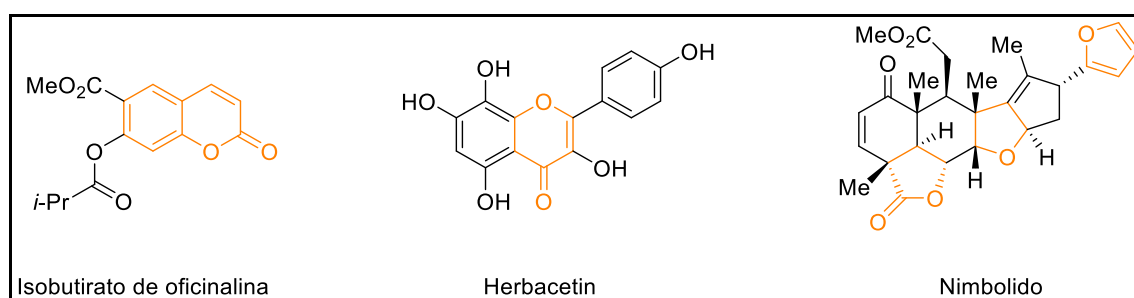


Figura 11: Representações estruturais de produtos naturais que possuem heterociclos.

Nesse sentido, pode-se afirmar que os heterociclos são atrativos para a química medicinal, uma vez que 85% das moléculas com atividade biológica possuem pelo menos um núcleo heterocíclico em sua estrutura (JAMPILEK, 2019). Esses núcleos estão presentes no benznidazol, no nifurtimox, no fexinidazol e em todos os compostos apresentados até o momento (Figuras 5 a 11). Além disso, diversos fármacos que revolucionaram a medicina contêm heterociclos, incluindo a penicilina G (Figura 12), o composto precursor da classe dos antibióticos beta-lactâmicos (SYKES, 2001); o AZT (Figura 12), o primeiro antiviral utilizado no tratamento do HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês: *Human Immunodeficiency Virus*) (BOZZI; D'ANDREA; BRISDELLI, 2008) e, mais recentemente, o PF-07321332 (Figura 12), um dos princípios ativos do Paxlovid, um fármaco desenvolvido pela Pfizer para tratar a Covid-19 (BAI et al., 2021).

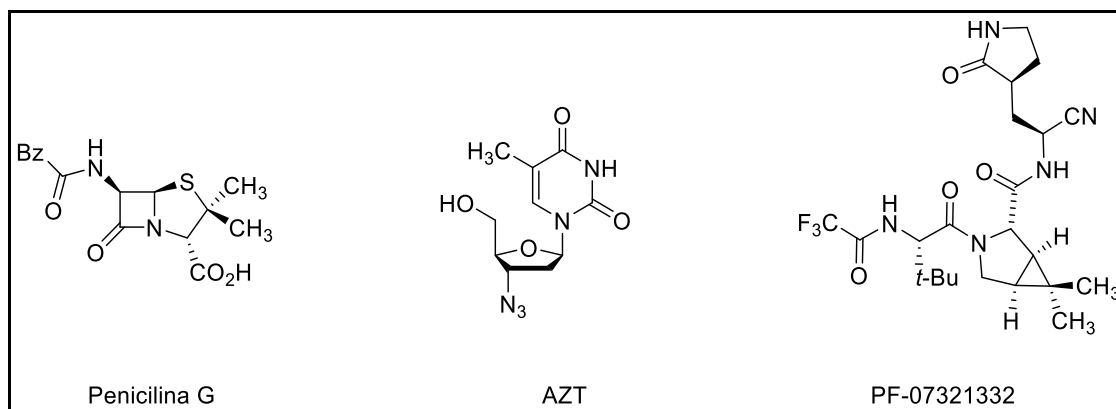


Figura 12: Representações estruturais da penicilina G, do AZT e do PF-07321332.

A classe dos heterociclos nitrogenados, em específico, é de grande relevância para o desenvolvimento de novos fármacos, pois esses sistemas estão presentes em diversos compostos bioativos, de origem natural ou sintética. Os alcalóides, por exemplo, são uma classe de produtos naturais, com propriedades farmacológicas, que possuem em sua estrutura pelo menos núcleo N-heterocíclico. A morfina (Figura 13) é um opioide com potente atividade analgésica e anestésica, extraída da *Papaver somniferum*. A camptotecina (Figura 13), encontrada no caule da *Camptotheca acuminata*, é um derivado quinolínicos que possui atividade antineoplásica. Já a quinina (Figura 13) é um antimalarial extraída da casca das árvores da espécie *Cinchona ledgeriana* (FUNAYAMA; CORDELL, 2015).

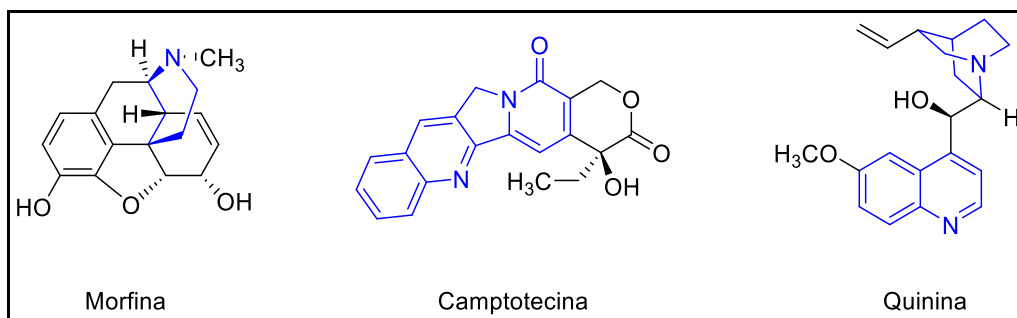


Figura 13: Representações estruturais da morfina, da camptotecina e da quinina.

Os heterociclos nitrogenados também são encontrados em diversos fármacos sintéticos, como por exemplo, nos três representados abaixo (Figura 14), os quais estão entre os *top 10* dos 200 mais prescritos nos EUA em 2019 (SERBAN, 2020):

- Atorvastatina (Lípitor®, Pfizer, Wyeth): redutor do LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade, do inglês: *Low Density Lipoprotein*), usado para tratar doenças cardiovasculares;
- Omeprazol (Losec®, AstraZeneca): inibidor da bomba de hidrogênio, utilizado para o tratamento de problemas gástricos, como úlceras e gastrites;
- Losartana (Cozaar®, Merck Sharp & Dohme): regulador da pressão arterial, indicado para o tratamento da hipertensão.

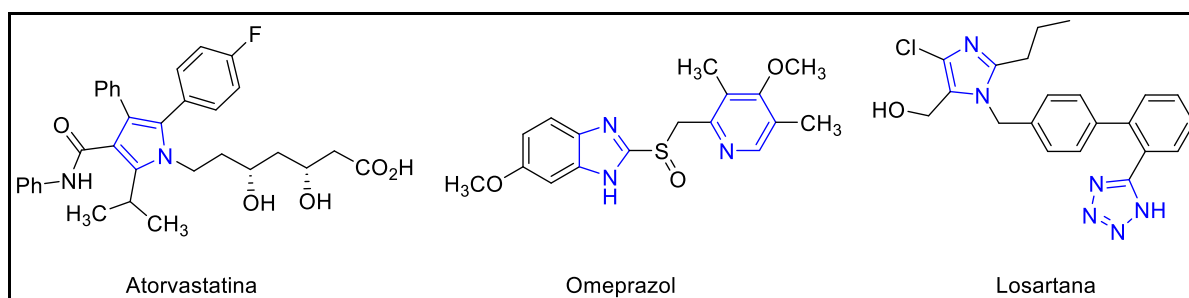


Figura 14: Representações estruturais de fármacos que contêm heterociclos.

Dentre os heterociclos nitrogenados, merece destaque a classe dos azóis, a qual compreende os anéis aromáticos de cinco membros. A Figura 15 contém os principais representantes dessa classe. Esses núcleos estão presentes em vários compostos já mencionados anteriormente. O pirrol, por exemplo, faz parte da estrutura do triptofano e da atorvastatina. O imidazol é encontrado nas bases púricas (adenina e guanina), na histidina, no benznidazol, no fexinidazol, no omeprazol e no losartana, sendo que este último também contém um anel tetrazólico. Já o triazol está presente no itraconazol e no ravuconazol, os quais também possuem um núcleo tiazólico.

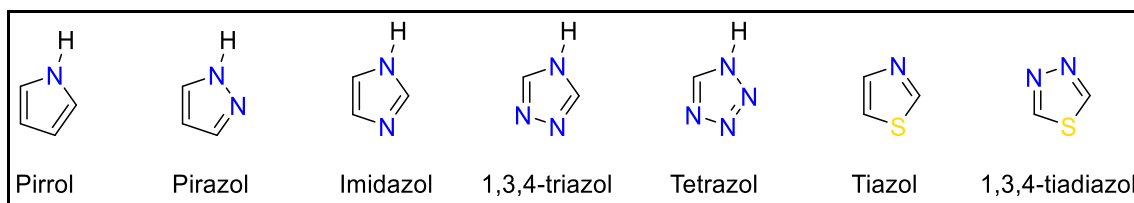


Figura 15: Representações estruturais de alguns azóis.

Neste trabalho será dado enfoque a dois núcleos azólicos, o 1,3,4-tiadiazol e o pirazol, devido às suas promissoras propriedades biológicas. Nosso grupo de pesquisa tem sintetizado derivados pirazólicos que tem gerado bons resultados de atividade biológica contra diversos patógenos, incluindo o *T. cruzi*.

O núcleo 1,3,4-tiadiazólico é outro heterociclo de interesse biológico, ele está presente em vários compostos bioativos, como, por exemplo, no megazol e nos seus análogos MZ1 e MZ2. Portanto, pode-se afirmar que esses dois núcleos são atrativos para o planejamento de novos agentes tripanocidas, sendo assim as próximas seções serão dedicadas a cada um deles.

1.2.1. 1,3,4-tiadiazol

Os tiadiazóis são heterociclos insaturados de cinco membros formados por dois átomos de nitrogênio, um átomo de enxofre e dois átomos de carbono. Eles existem como quatro isômeros (Figura 16), que se diferenciam pelas posições dos átomos de enxofre e nitrogênio, sendo que neste trabalho será destacado apenas o isômero 1,3,4-tiadiazol, o qual tem sido mais estudado (HU et al., 2014).

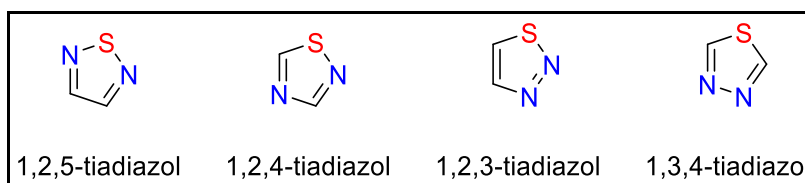


Figura 16: Isômeros do tiadiazol.

Assim como os demais azóis, o tiadiazol é aromático, pois um dos pares de elétrons não ligantes do átomo de enxofre encontra-se em um orbital coplanar aos orbitais p, o que possibilita a deslocalização dos elétrons π por todo o anel, como mostrado na Figura 17. Além disso, ele é plano e obedece a regra de Hückel. (SERBAN, 2020).

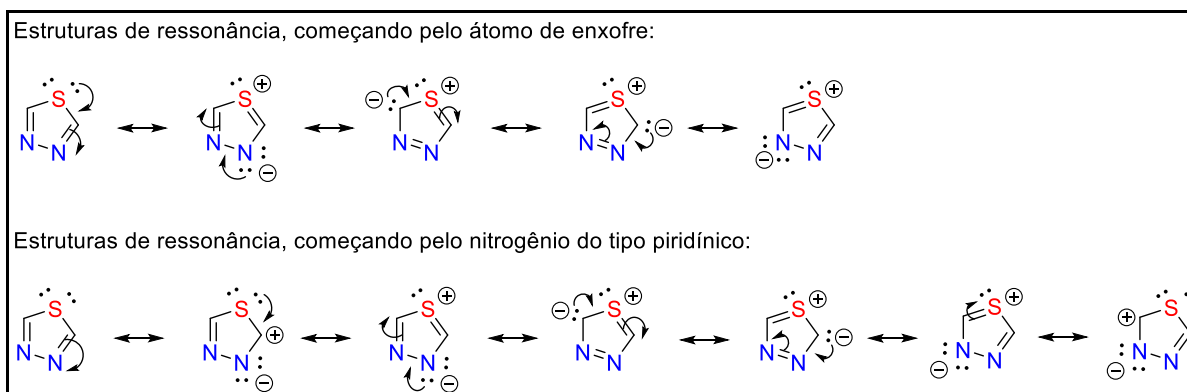
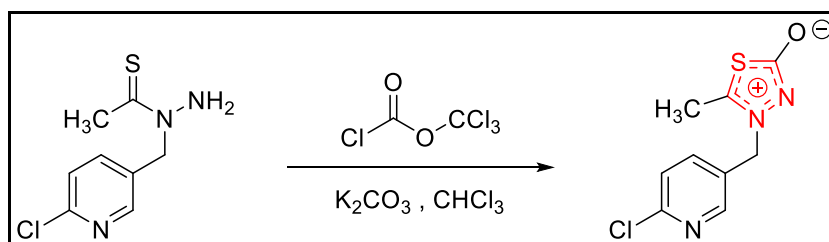


Figura 17: Estruturas de ressonância do 1,3,4-tiadiazol.

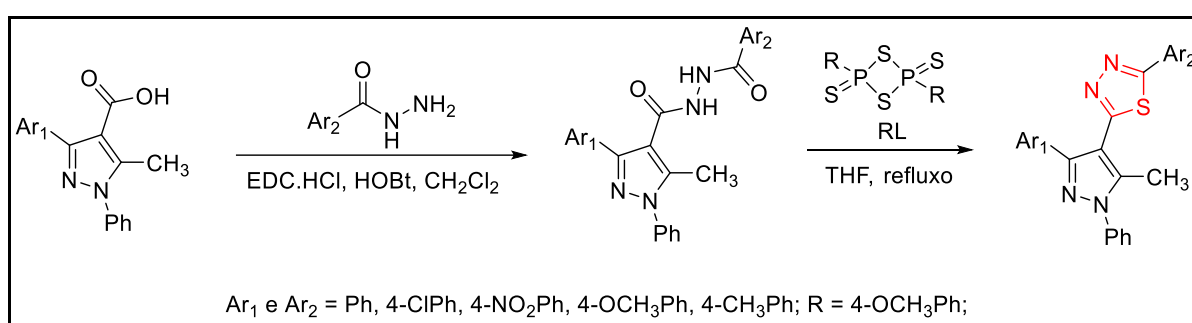
Uma característica importante dos 1,3,4-tiadiazóis é a capacidade de formar compostos mesoiônicos, que são sistemas heterocíclicos com seis elétrons π deslocalizados por todo o anel, sendo que nenhuma estrutura, covalente ou polar, pode representa-los satisfatoriamente. Eles são eletricamente neutros, porém possuem regiões com cargas elétricas opostas. Esses sistemas são importantes para a química medicinal, pois são capazes de passar facilmente pela membrana celular e interagem favoravelmente com biomoléculas. O derivado piridina-tiadiazólio (Esquema 1), por exemplo, sintetizado por meio da tio-hidrazida e difosgênio em meio básico, possui potencial atividade inseticida contra *Aphis gossypii* e *Bemisia argentifolii* (HU et al., 2014; LIU; LI; SONG, 2020; NEWTON; RAMSDEN, 1982).



Esquema 1: Síntese de um derivado piridina-tiadiazólio.

Os 1,3,4-tiadiazóis vêm se destacando na química medicinal, devido as suas propriedades farmacológicas, como boa biodisponibilidade e lipofilicidade (SERBAN, 2020). Portanto, diversas metodologias sintéticas têm sido desenvolvidas para obtenção desse núcleo, sendo que as mais comuns utilizam tio-hidrazidas, ditioacilhidrazinas ou tiossemicarbazidas como materiais de partida. Uma alternativa útil é a utilização dos análogos oxigenados desses compostos, os quais são convertidos, no meio reacional, nos respectivos compostos sulfurados por meio de agentes de sulfuração, como o reagente de Lawesson (RL) e o pentassulfeto de fósforo (HU et al., 2014).

Ningaiyah e colaboradores (2020) desenvolveram um método para a síntese de híbridos pirazol-tiadiazol (Esquema 2) utilizando-se o ácido 1*H*-pirazol-4-carboxílico como substrato. Inicialmente o ácido reagiu com uma arilhidrazida na presença de cloridrato de etil-(*N,N'*-dimetilamino)propilcarbodiimida (EDC.HCl) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) em diclorometano sob atmosfera de nitrogênio, para formar uma acilhidrazida. Empregando-se o reagente de Lawesson, a acilhidrazida foi convertida em uma ditioacilhidrazina, que, a partir de uma ciclização intramolecular, deu origem ao derivado tiazólico, com liberação de sulfeto de hidrogênio (NINGAIAH et al., 2020).



Esquema 2: Síntese dos híbridos pirazol-tiadiazol.

O núcleo 1,3,4-tiadiazol tem se tornado atrativo para o planejamento de novos fármacos, pois diversos compostos que possuem esse núcleo em sua estrutura apresentam amplo espectro de atividade biológica, dentre elas antimicrobiana, antituberculose, anti-inflamatória, antiviral, ansiolítica, antidepressiva, anti-hipertensiva e antineoplásica. Alguns fármacos que contêm esse núcleo são: acetazolamida: utilizado para o tratamento da epilepsia e do glaucoma; cefazolina: antibacteriano da classe das cefalosporinas e sulfametizol: antibacteriano da classe das sulfonamidas (Figura 18) (SERBAN, 2020).

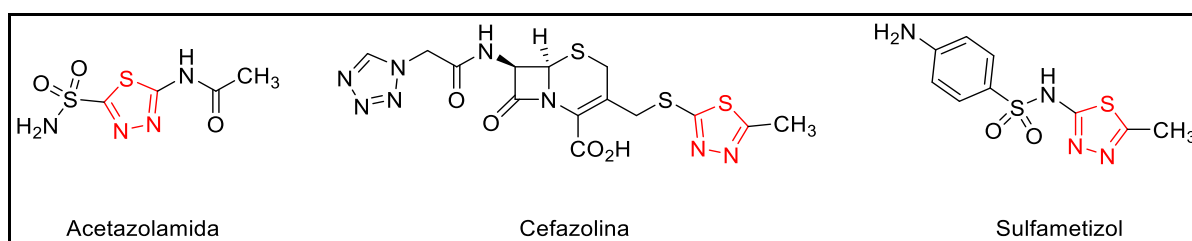


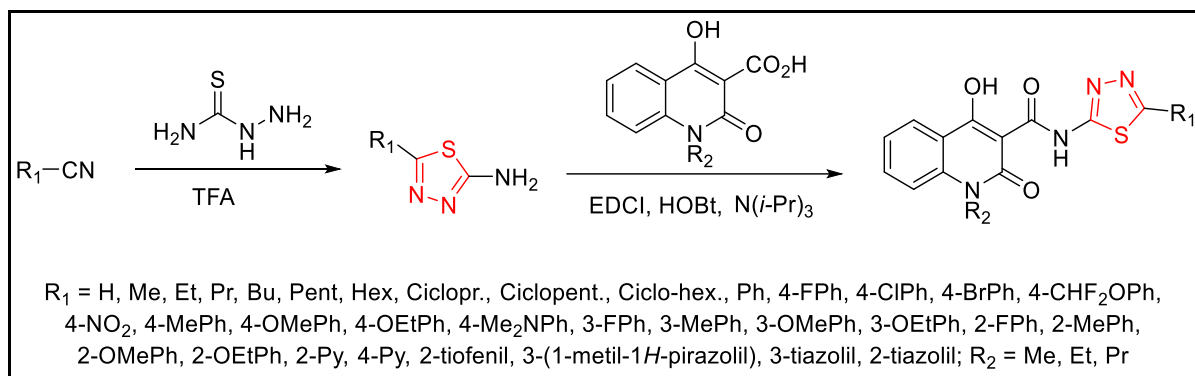
Figura 18: Representações estruturais de fármacos que contêm um núcleo 1,3,4-tiadiazólico.

Em especial, o núcleo 5-amino-1,3,4-tiadiazol tem se destacado na química medicinal, pois está presente em diversos compostos bioativos, incluindo

antibacterianos, antifúngicos, antineoplásicos, agentes leishmanicidas e tripanocidas (SERBAN, 2020). Esses núcleos são facilmente sintetizados a partir de reações entre tiossemicarbazidas e nitrilas, aldeídos, ácidos carboxílicos ou análogos (HU et al., 2014).

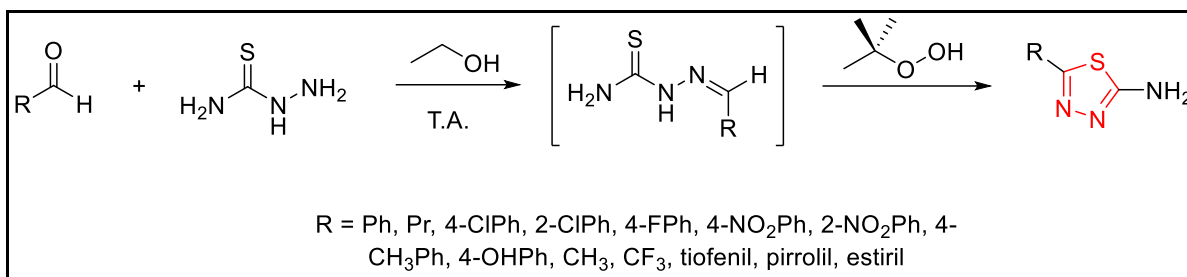
O ácido trifluoroacético (TFA) é o reagente mais comum para a síntese de 5-amino-1,3,4-tiadiazóis a partir de nitrilas (ISHANKHODZHAEVA et al., 2001). Os aspectos químicos dessa reação são pouco explorados na literatura, contudo ela tem sido amplamente utilizada para a obtenção de derivados tiadiazólicos com potenciais atividades biológicas (DAGLI et al., 2020; FAHIM et al., 2021; SAKTHIVEL; ILANGO VAN; KAUSHIK, 2016) .

Xue e colaboradores (2020) sintetizaram 37 compostos *N*-tiadiazol-4-hidroxi-2-quinolina-3-carboxamidas (Esquema 3), que exibiram atividade antibacteriana, inibindo a ação da enzima DNA girase B. Os núcleos 5-amino-1,3,4-tiadiazóis desses derivados foram obtidos a partir das respectivas carbonitrilas, tiossemicarbazida e TFA. Os compostos sintetizados reagiram, na sequência, com os ácidos 4-hidroxi-2-oxo-1,2-di-hidroquinolina-3-carboxílicos na presença de tri-isopropilamina, EDCI e HOBt para dar origem aos produtos finais (XUE et al., 2020).



Esquema 3: Síntese dos antibacterianos *N*-tiadiazol-4-hidroxi-2-quinolina-3-carboxamidas.

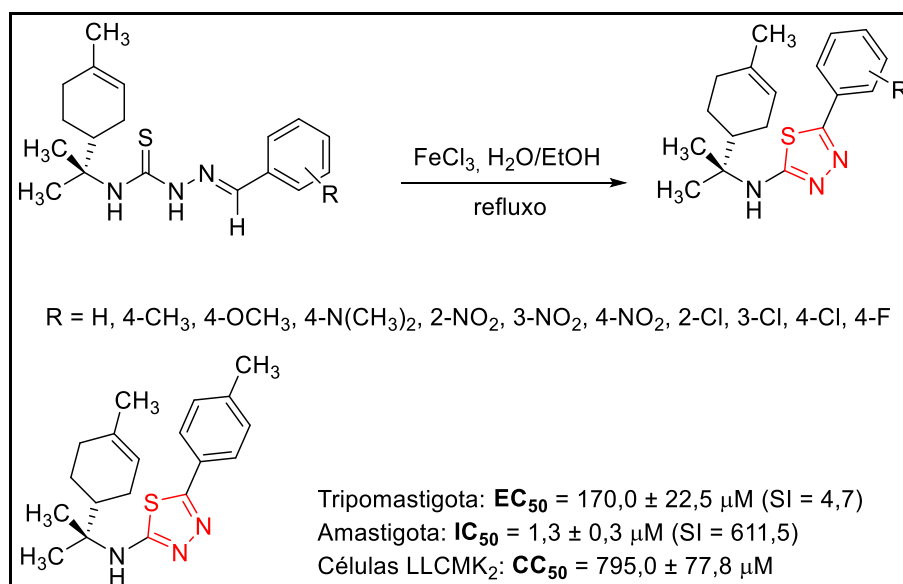
Hatvate, Ghodse e Telvekar (2018) publicaram um novo método para a obtenção de derivados 5-amino-1,3,4-tiadiazóis partindo-se de tiossemicarbazida, aldeído e hidroperóxido de *t*-butila (HPTB). Os tiadiazóis foram obtidos a partir de uma reação de condensação entre a tiossemicarbazida e o aldeído, seguida de ciclização oxidativa promovida pelo hidroperóxido de *t*-butila (Esquema 4) (HATVATE; GHODSE; TELVEKAR, 2018).



Esquema 4: Síntese de derivados 5-amino-1,3,4-tiadiazóis via ciclocondensação oxidativa.

O núcleo 5-amino-1,3,4-tiadiazol é relevante para o planejamento de novos agentes tripanocidas, pois está presente em diversos compostos ativos contra o *T. cruzi*, incluindo o megazol e os derivados terpênicos (Esquema 5), sintetizados por Martins e colaboradores (2016) (SERBAN, 2020).

Esses tiadiazóis terpênicos foram obtidos por meio de uma ciclicização oxidativa, partindo-se das respectivas tiossermicarbazonas, utilizando cloreto de ferro(III) como agente oxidante (Esquema 5). O derivado 4-metil foi o mais promissor da série contra a forma amastigota do *T. cruzi*, com um IC₅₀ de 1,3 µM e um SI de 611,5. Esse derivado também gerou bons resultados nos testes *in vivo*, de modo que os camundongos tratados tiveram uma redução significativa nos níveis de parasitemia durante o período de infecção (MARTINS et al., 2016a, 2016b).



Esquema 5: Síntese dos tiadiazóis-terpênicos e representação estrutural do composto mais ativo das séries.

1.2.2. 1H-pirazol

O 1H-pirazol (Figura 19) é um heterociclo aromático de cinco membros formado por dois átomos de nitrogênio vicinais e três átomos de carbono. Os átomos de nitrogênio em sua estrutura possuem propriedades eletrônicas distintas: o N₁ é chamado de *N do tipo pirrólico*, pois se assemelha ao átomo de nitrogênio do pirrol, cujo par de elétrons não ligante está conjugado aos elétrons π do anel e, portanto, participa da ressonância. Já N₂ é chamado de *N do tipo piridínico*, pois se assemelha ao átomo de nitrogênio da piridina, cujo par de elétrons não ligante encontra-se em um orbital que está perpendicular aos orbitais p do anel, ou seja, não participa da ressonância (FARIA et al., 2017).

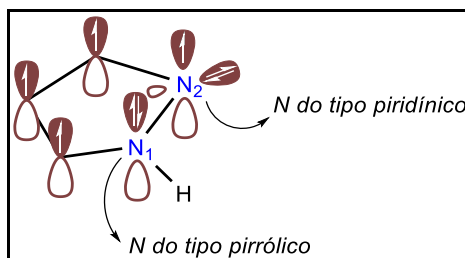
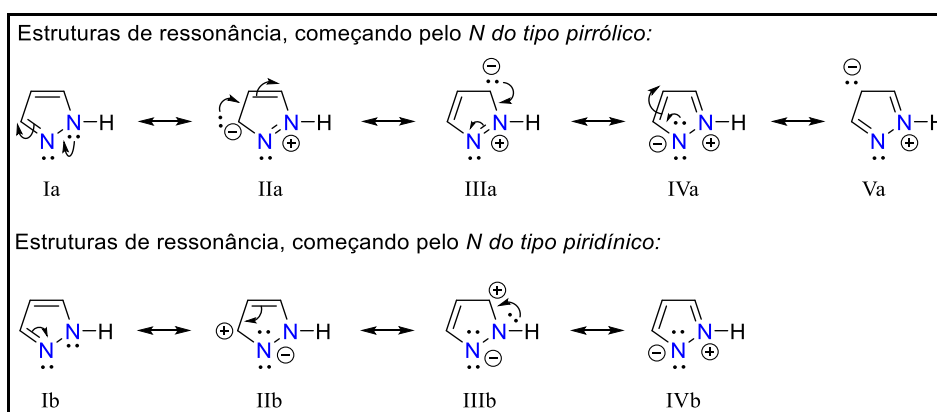


Figura 19: Representação estruturação do 1H-pirazol.

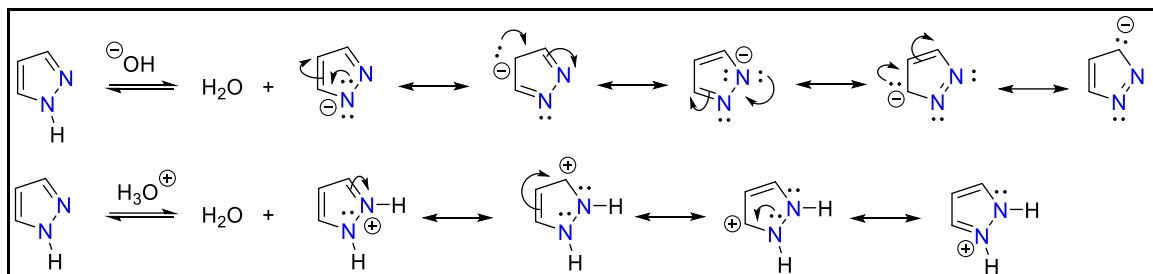
A aromaticidade do pirazol deve-se a conjugação do par de elétrons não ligante do *N-pirrólico* com os elétrons π do anel, o que possibilita a deslocalização eletrônica por todo o ciclo (Esquema 6). Além disso, trata-se de uma molécula plana que obedece a regra de Hückel, $4n + 2 = 6 e^- \pi$, sendo $n = 1$ (FARIA et al., 2017).



Esquema 6: Estruturas de ressonância do 1H-pirazol.

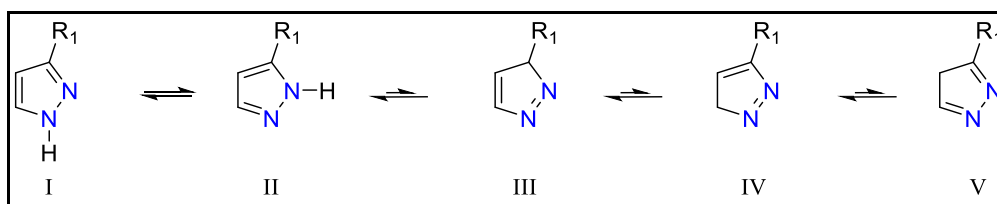
O pirazol é classificado como anfótero, pois o hidrogênio ligado ao *N do tipo pirrólico* é moderadamente ácido e a sua base conjugada, o ânion pirazolídio, é estabilizada por ressonância, de modo que a sua carga negativa está deslocalizada por todo o anel (Esquema 7). O caráter básico do pirazol deve-se ao *N do tipo*

piridínico, que possui, conforme mencionado anteriormente, um par de elétrons que não participa da ressonância e, conseqüentemente, está disponível para protonação. Seu ácido conjugado, o cátion pirazólio, também é estabilizado por ressonância (Esquema 7) (FARIA et al., 2017).



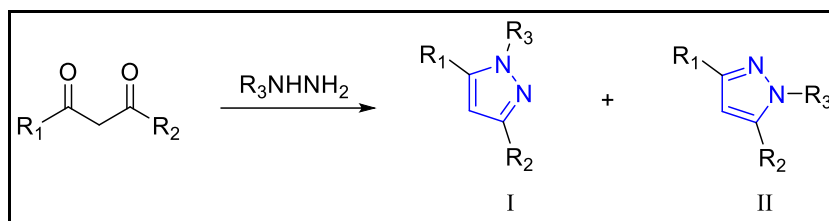
Esquema 7: Reações do 1*H*-pirazol com base e ácido.

Outra importante propriedade do 1*H*-pirazol é o tautomerismo prototrópico, observado em derivados sem substituinte no nitrogênio (Esquema 8). Nesse caso, considerando-se um anel monossustituído, é possível que haja cinco isômeros (I-V), porém apenas I e II são relevantes, pois são os únicos que preservam a aromaticidade do sistema. No entanto, os demais (III-V) podem ser obtidos como intermediários de reação, que rapidamente se interconvertem em seus tautômeros aromáticos. Além disso, alguns grupos, como amino, duplas exocíclicas, acila e hidroxila, quando estão diretamente ligados ao anel pirazólico podem contribuir para que haja estruturas tautoméricas adicionais (FARIA et al., 2017).



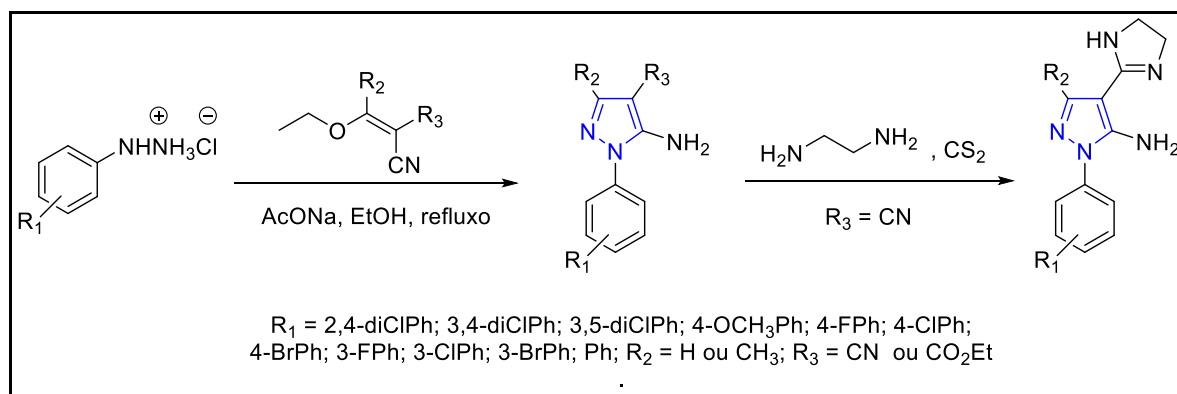
Esquema 8: Equilíbrio tautomérico de um 1*H*-pirazol monossustituído.

Assim como os demais azóis, o 1*H*-pirazol possui diversas aplicações na química medicinal e está presente em vários compostos bioativos, o que tem motivado o desenvolvimento de diversos métodos para sua síntese. O primeiro deles foi criado por Knorr e baseia-se em uma reação entre hidrazinas e compostos 1,3-dicarbonílicos (Esquema 9). Uma das desvantagens desse método é a sua baixa regioseletividade, pois se R_1 e R_2 são diferentes há a formação de dois regioisômeros (I e II) (FARIA et al., 2017; KNORR, 1883).



Esquema 9: Síntese de Knorr.

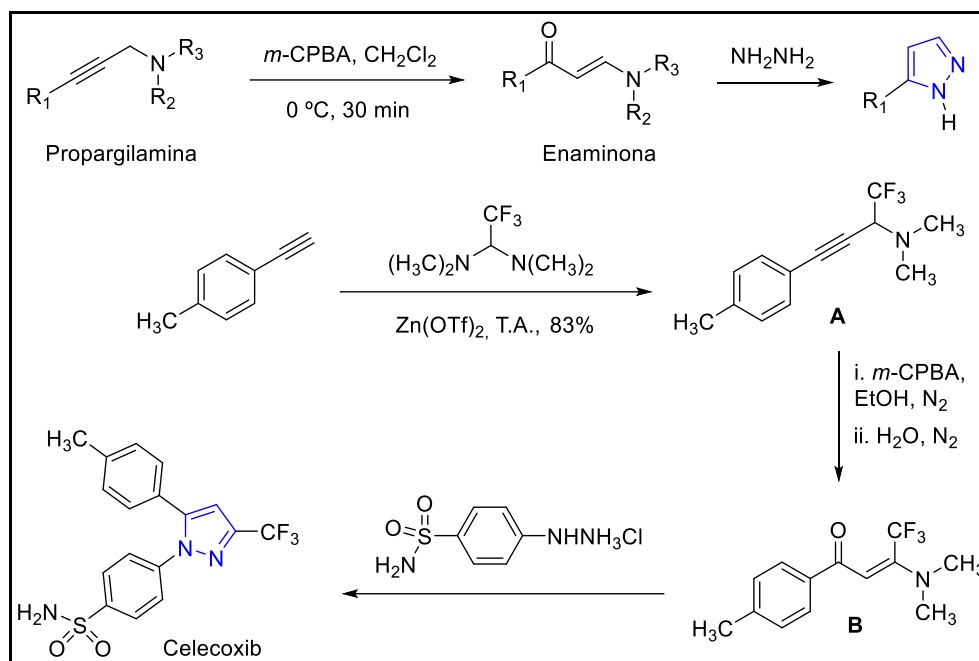
A síntese de Knorr pode ser modificada empregando-se compostos carbonílicos α,β -insaturados ou análogos, os quais reagem de modo regioselectivo com hidrazinas. Nosso grupo de pesquisa utiliza derivados malônicos α,β -insaturados e arilhidrazinas para sintetizar 5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazóis funcionalizados na posição 4 com um carboxilato de etila ou uma nitrila (Esquema 10) (FERREIRA et al., 2021; LOURENÇO et al., 2019; ROSA et al., 2019). Os derivados 5-amino-1-*aryl*-3-metil-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas são potenciais fungicidas, enquanto que os demais derivados têm sido utilizados como intermediários-chave para acessar híbridos pirazol-imidazolina, que possuem atividades leishmanicida e tripanocida (FERREIRA et al., 2021; LEON; BERNARDINO, 2014; MONTEIRO et al., 2019; ORLANDO et al., 2021; SANTOS et al., 2011; TERRA et al., 2020).



Esquema 10: Síntese de derivados 5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazóis.

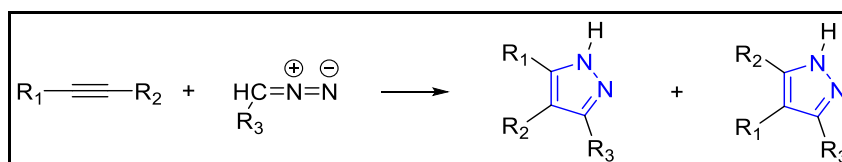
Chen e colaboradores (2014) desenvolveram um método para a síntese de pirazóis a partir de uma reação entre enaminonas e hidrazinas (Esquema 11). As enaminonas são sistemas carbonílicos α,β -insaturados que possuem dois sítios eletrofílicos, um no carbono β e o outro no carbono carbonílico, portanto são úteis para reações de ciclização. No trabalho desenvolvido, esses compostos foram produzidos *in situ*, por meio da oxidação de propargilaminas, empregando-se o ácido *meta*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA, do inglês: *meta-chloroperbenzoic acid*). A oxidação da propargilamina gera um *N*-óxido, o qual sofre um rearranjo para formar a enaminona.

Utilizando-se a metodologia desenvolvida, os autores sintetizaram em *one pot* o Celecoxib, um anti-inflamatório não esteroideal inibidor da ciclooxigenase 2. O composto foi produzido por meio da enaminona **B**, gerada *in situ* a partir de **A**, e utilizando-se a 4-hidrazinilbenzenossulfonamida (Esquema 11) (CHEN et al., 2014).



Esquema 11: Síntese do 1H-pirazol e do celecoxib a partir de enaminonas.

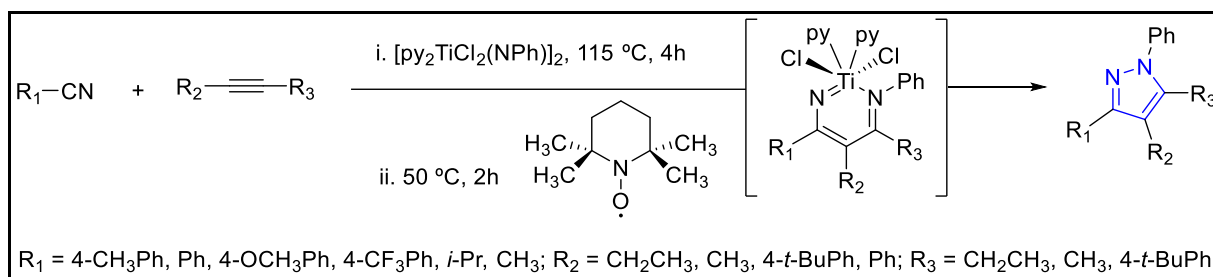
O 1H-pirazol também pode ser obtido de forma clássica a partir do método de Pechmann, partindo-se de diazometanos e alquinos, que reagem via cicloadição [3+2] (Esquema 12). Uma das desvantagens desse método é a utilização do diazometano, um reagente de difícil manuseio e, além disso, assim como o método de Knorr, dependendo dos substituintes dos materiais de partida, a síntese de Pechmann pode proceder com baixa regioseletividade (FARIA et al., 2017; PECHMANN, 1898).



Esquema 12: Síntese de Pechmann.

Recentemente, Pearce e colaboradores (2020) publicaram um novo método para a síntese de pirazóis, baseado na formação da ligação N–N. Os autores desenvolveram uma reação multicomponente utilizando-se carbonitrilas, alquinos, complexos de imido titânio e um agente oxidante, como o (2,2,6,6-tetrametil-piperidil-1-yl)óxido. Nessa reação, os derivados pirazólicos foram obtidos a partir do

intermediário diazatitanociclo-hexadieno, o qual sofreu uma eliminação redutiva para dar origem a ligação N–N (Esquema 13) (PEARCE et al., 2020).



Esquema 13: Síntese multicomponente de 1H-pirazóis via complexos de titânio.

O núcleo pirazólico não é tão encontrado na natureza, pois a presença da ligação N–N em sua estrutura pode ser um obstáculo para sua biossíntese. No entanto, ele está presente na estrutura molecular dos produtos naturais representados na Figura 20, sendo eles: o ácido L- α -amino- β -(N-pirazolil)propanoico, um antibacteriano extraído do fruto da *Citrullus vulgaris* (melancia); a pirazofurina, um composto com atividade antineoplásica e antiviral, extraído de cepas de *Streptomyces candidus*; E o fluviol A, identificado no extrato de *Pseudomonas fluorescenes* (KUMAR et al., 2013).

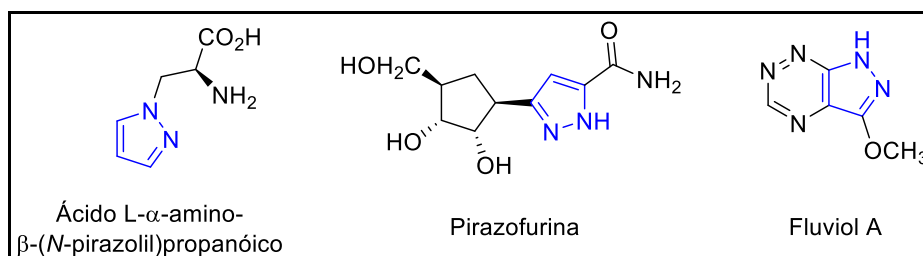


Figura 20: Representações estruturais de produtos naturais que contêm um núcleo pirazólico.

O pirazol está presente na estrutura de vários compostos bioativos, incluindo antimicrobianos, antifúngicos, leishmanicidas, antivirais, anti-inflamatórios e antitumorais. Além disso, ele faz parte de diversas drogas sintéticas, como: dipirona, um antipirético e analgésico; tepoxalin, um anti-inflamatório; sildenafil, usado para tratar disfunção erétil; lersivirina, um anti-HIV; crizotinib, um antineoplásico (Figura 21) (FARIA et al., 2017; GANGULY; JACOB, 2017).

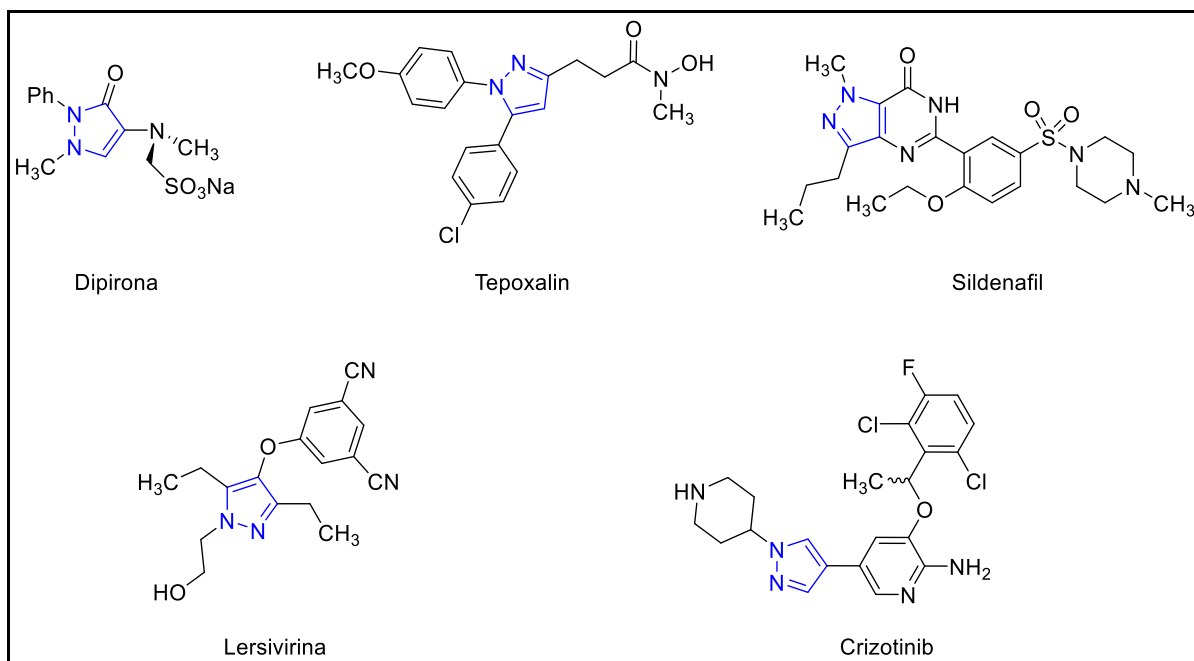


Figura 21: Representações estruturais de fármacos que contêm um núcleo pirazólico.

O núcleo pirazólico também é encontrado em alguns compostos com atividade tripanocida, incluindo a poliamina macrobíclica (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2012) e o *N*-etilureia pirazol (VARGHESE et al., 2020) (Figura 22). Esses derivados geraram bons resultados de atividade biológica contra o *T. cruzi*, tanto nos experimentos *in vitro* quanto nos testes *in vivo*. Porém, no caso do *N*-etilureia pirazol, os camundongos tratados com o composto apresentaram perda de peso e letargia. Já a poliamina macrobíclica se mostrou mais efetiva, pois foi capaz de inibir, de modo seletivo, a ação da enzima superperóxido dismutase, a qual atua como antioxidante e protege o parasito de estresses oxidativos.

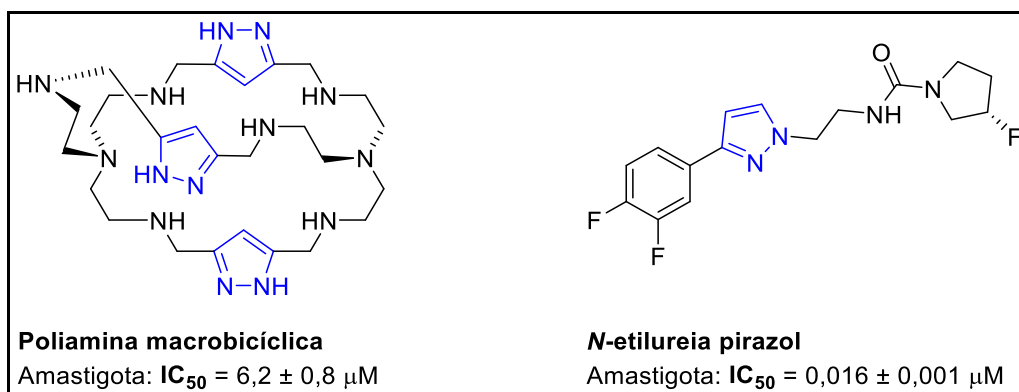


Figura 22: Derivados pirazólicos com atividade tripanocida.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade tripanocida de 24 compostos inéditos, sendo 12 derivados 5-amino-2-(5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-*yl*)-1,3,4-tiadiazóis **1(a-l)** e 12 derivados 5-amino-2-(1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-*yl*)-1,3,4-tiadiazóis **2(a-l)** (Figura 23).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os seguintes intermediários-chave (Figura 23):
 - ✓ 12 derivados 5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **3(a-l)**;
 - ✓ 12 derivados 1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**;
- Caracterizar todos os compostos sintetizados por espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR);
- Medir o ponto de fusão dos produtos inéditos;
- Caracterizar os produtos finais por ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas de alta resolução (HRMS);
- Avaliar a atividade tripanocida e citotoxicidade dos derivados **1(a-l)** e **2(a-l)**.

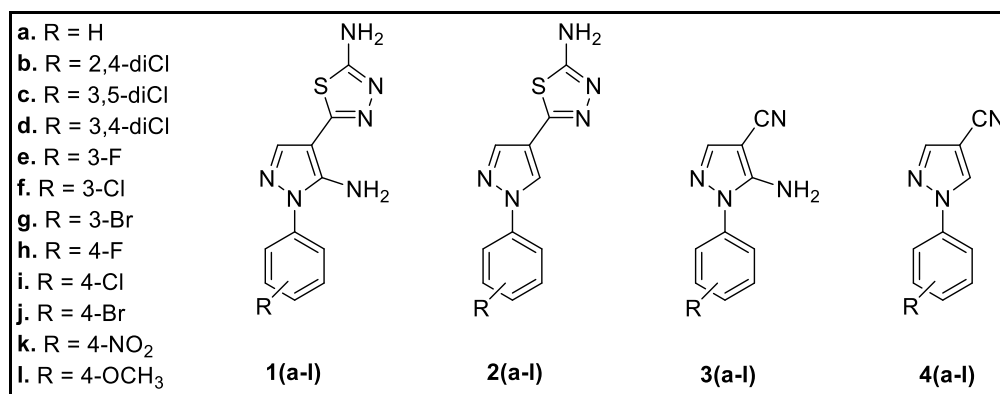


Figura 23: Representações estruturais dos derivados das séries **1(a-l)**, **2(a-l)**, **3(a-l)** e **4(a-l)**.

3. JUSTIFICATIVAS

Como exposto nas seções anteriores, a Doença de Chagas (DC) é uma das 20 Doenças Tropicais Negligenciadas, considerada como um problema mundial de saúde pública, que afeta milhões de pessoas, sendo responsável por milhares de mortes todos os anos. Ela é endêmica na América Latina, devido à distribuição geográfica do inseto vetor, entretanto, a intensificação do fluxo migratório fez com que ela se espelhasse para regiões não-endêmicas, onde a transmissão ocorre indiretamente (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Por se tratar de uma doença silenciosa, que permanece assintomática por décadas, o indivíduo infectado é geralmente diagnosticado quando os sintomas da fase crônica aparecem ou se intensificam. No entanto, os dois fármacos disponíveis no mercado, o benznidazol e o nifurtimox, possuem eficácia limitada para conter o avanço da doença nessa fase. Além disso, eles causam diversos efeitos colaterais e há um alto índice de descontinuidade do tratamento (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2017).

Portanto, a busca por novos fármacos é imprescindível, principalmente por grupos de pesquisa que estão localizados em países endêmicos, dentre eles o Brasil. Nesse sentido, muitas substâncias têm sido desenvolvidas, porém poucas têm prosseguido para os testes clínicos, sendo que nenhuma delas foi aprovada nos últimos 50 anos. Essa dificuldade é explicada, em partes, pela complexidade da doença, pois o *T. cruzi* é um protozoário com diversas variantes genéticas que reagem de forma diferente frente a uma mesma substância. Além disso, recentemente foi descoberto que a forma amastigota do *T. cruzi* é capaz de permanecer dormente dentro de uma célula por um determinado período de tempo, de modo que ela pode ser menos susceptível a determinados fármacos, podendo ser reativada mesmo após a cura parasitológica, o que dá início a um novo ciclo de infecção (MARTÍN-ESCOLANO; MEDINA-CARMONA; MARTÍN-ESCOLANO, 2020).

Os azóis antifúngicos, que se mostraram potentes agentes tripanocidas em experimentos *in vitro* e *in vivo*, falharam nos testes clínicos, de forma que eles não foram capazes de curar os pacientes em monoterapia. Atualmente, o candidato mais promissor é o fexinidazol, que está na fase II de testes clínicos. Contudo, esse composto faz parte da classe dos nitro-heterociclos, a mesma do benznidazol e do

nifurtimox (MARTÍN-ESCOLANO; MEDINA-CARMONA; MARTÍN-ESCOLANO, 2020).

Como discutido anteriormente, os heterociclos, sobretudo os azólicos, são de grande importância para a química medicinal, pois estão presentes na estrutura de diversos compostos bioativos, o que os tornam atrativos para o planejamento de novos fármacos. Nosso grupo de pesquisa tem sintetizado vários derivados azólicos para avaliação da atividade biológica contra diversos patógenos (SANTOS et al., 2011; TERRA et al., 2020).

Dentre os compostos sintetizados merecem destaque nove híbridos amino-pirazol-imidazolina, os quais foram testados contra o *T. cruzi*. Os derivados 3,4- e 3,5-diclorados foram os mais ativos da série, principalmente contra a forma tripomastigota, com um IC_{50} cerca de duas vezes menor do que o encontrado para o BZ, usado como referência. Esses compostos não foram tóxicos frente aos cardiomiócitos e às células Vero. No entanto, eles apresentaram menor atividade contra a forma amastigota do parasito, com um IC_{50} cerca de sete vezes maior do que o do BZ (Figura 24) (MONTEIRO et al., 2019).

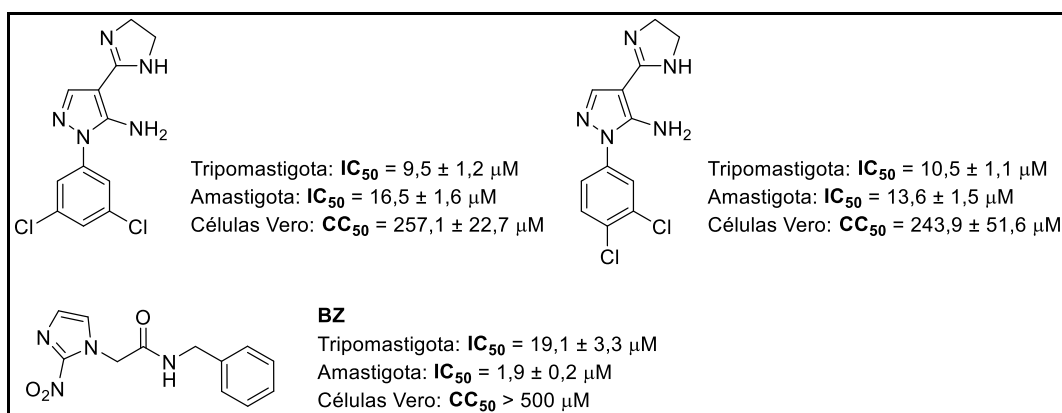


Figura 24: Representações estruturais de dois derivados amino-pirazol-imidazolina e os resultados de ensaios biológicos.

Em continuidade a esses estudos, nosso grupo de pesquisa publicou recentemente um trabalho sobre a síntese e a avaliação da atividade tripanocida de 14 derivados pirazol-imidazolina. Os compostos 3-cloro-4-metil e 4-bromo foram os mais promissores da série, pois, apesar de serem menos ativos contra a forma tripomastigota, apresentaram um IC_{50} menor do que o do BZ contra a forma amastigota. No entanto, o derivado 3-cloro-4-metil exibiu considerável citotoxicidade frente às células Vero (Figura 25) (ORLANDO et al., 2021).

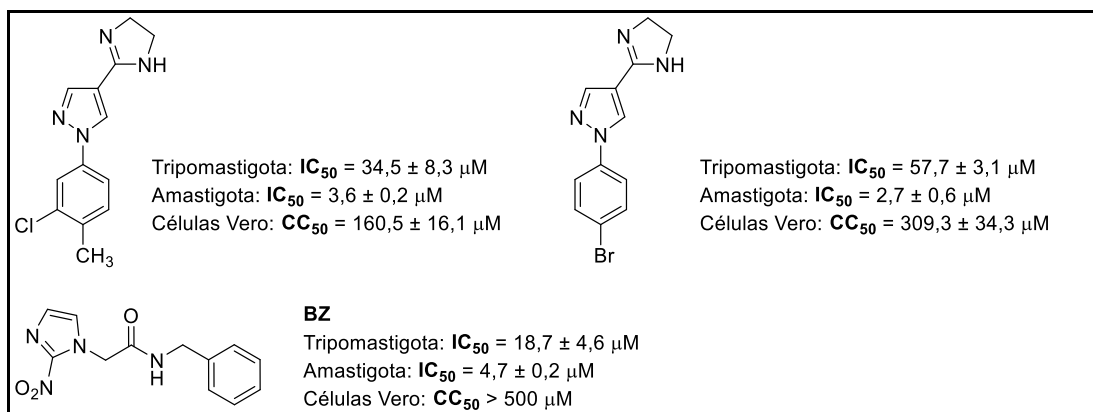
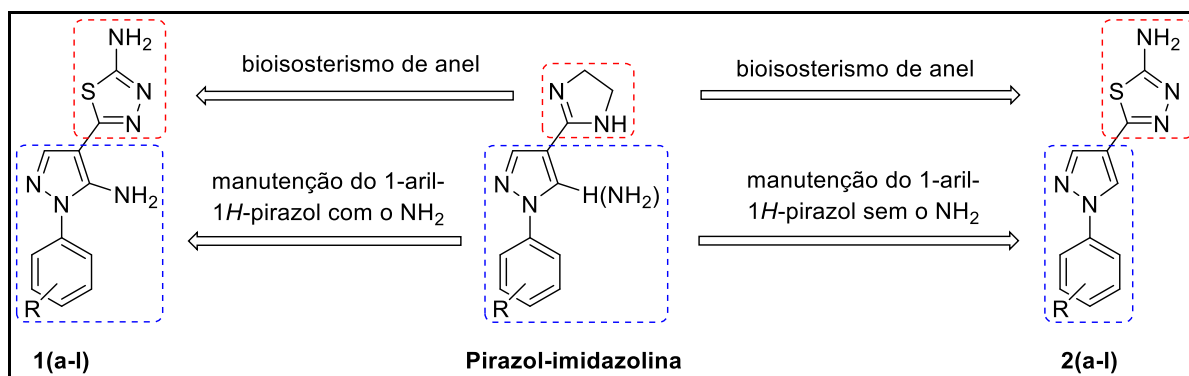


Figura 25: Representações estruturais de dois híbridos pirazol-imidazolina e os resultados de ensaios biológicos.

Portanto, tendo em vista a atividade tripanocida dos derivados pirazólicos citados anteriormente e a promissora atividade biológica do núcleo tiadiazólico, foram planejados, neste trabalho, duas novas séries de híbridos pirazol-tiadiazol, **1(a-l)** e **2(a-l)** (Esquema 14).

Os compostos propostos foram planejados com base em um bioisosterismo de anel entre a imidazolina e o tiadiazol, que, como exposto anteriormente, está presente na estrutura de diversos compostos com atividade tripanocida. Em ambas as séries, o grupo 1-*aril-1H*-pirazol foi preservado, sendo que nos derivados **1(a-l)** o grupo amino foi mantido e os híbridos da série **2(a-l)** foram planejados sem o grupo amino no anel pirazólico (Esquema 14).

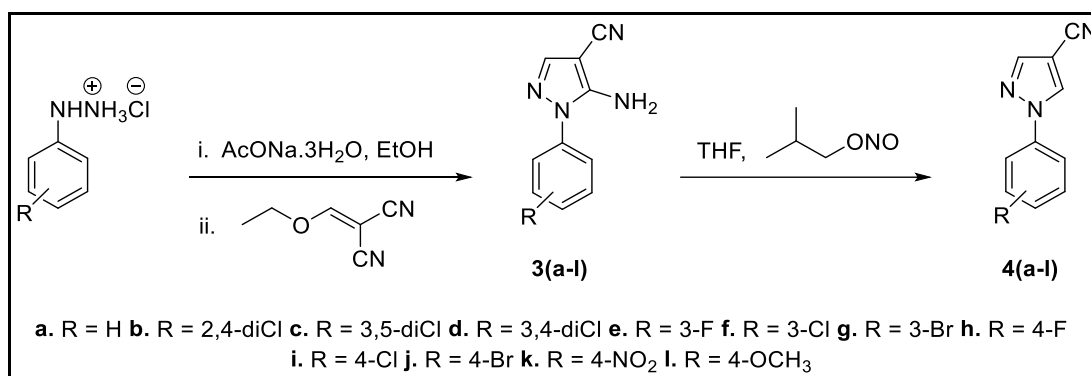


Esquema 14: Planejamento molecular dos derivados das séries **1(a-l)** e **2(a-l)**.

4. METODOLOGIAS

4.1. SÍNTESES

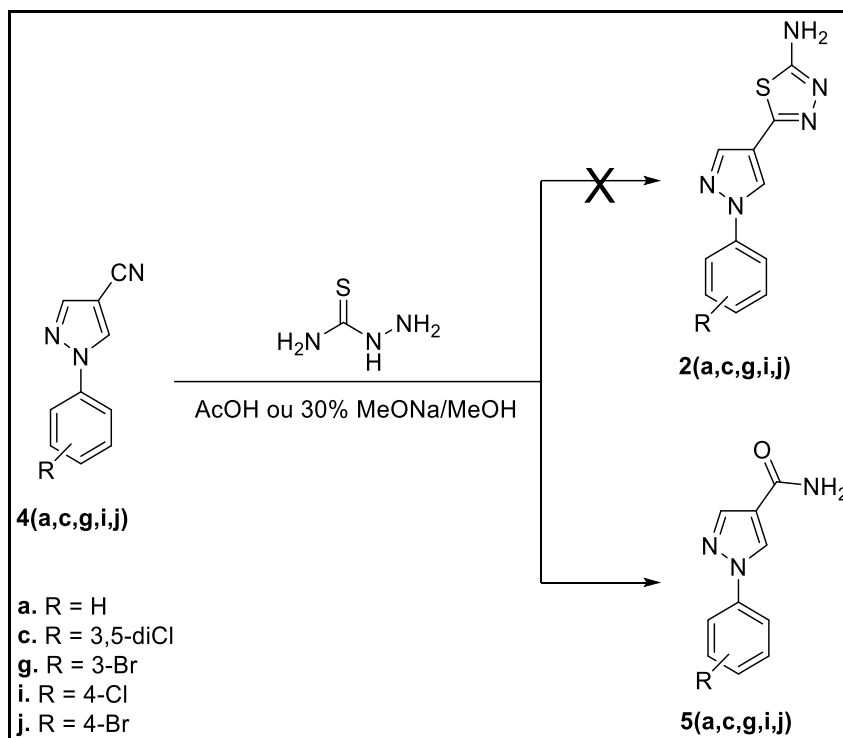
Os derivados **3(a-l)** e **4(a-l)** foram utilizados neste trabalho como intermediários-chave para a obtenção dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)**, respectivamente. Como disposto no Esquema 15, os compostos da série **3(a-l)** foram obtidos a partir dos respectivos cloridratos de arilhidrazinas, que reagiram, em um primeiro momento, com acetato de sódio tri-hidratado em etanol e, em seguida, com etoximetilenomalononitrila. Os intermediários **4(a-l)** foram sintetizados a partir de uma desaminação aprótica de **3(a-l)**, empregando-se tetra-hidrofurano (THF) e nitrito de isobutila. Os procedimentos experimentais empregados em cada síntese estão descritos nos itens 4.1.2 e 4.1.3.



Esquema 15: Síntese dos intermediários-chave **3(a-l)** e **4(a-l)**.

O ácido trifluoroacético, reagente necessário para obter os produtos finais, foi solicitado à Unifei em maio de 2020, porém até maio de 2021 ele ainda não havia sido comprado. Dessa forma, durante esse período, investigou-se a síntese do núcleo tiadiazólico por meio de metodologias alternativas, as quais serão descritas a seguir.

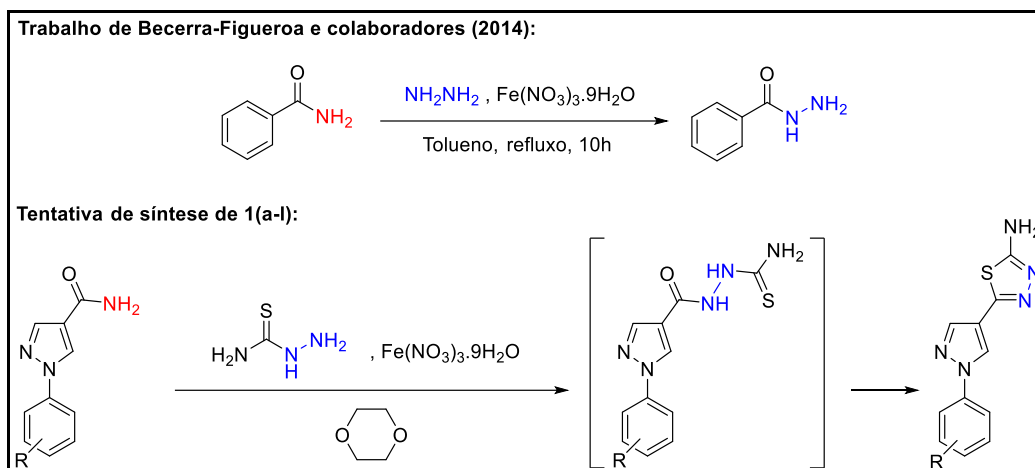
Inicialmente, investigou-se a obtenção desse núcleo utilizando-se como material de partida as carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)**, em uma reação com tiossemicarbazida em ácido acético ou em uma solução 30% de metóxido de sódio em metanol, conforme mostrado no item 4.1.5. Em todas essas reações os produtos desejados, **2(a,c,g,i,j)**, não foram obtidos, em vez disso, houve a formação das carboxamidas **5(a,c,g,i,j)** (Esquema 16).



Esquema 16: Tentativa de síntese dos produtos **2(a,c,g,i,j)** partindo-se de **4(a,c,g,i,j)**.

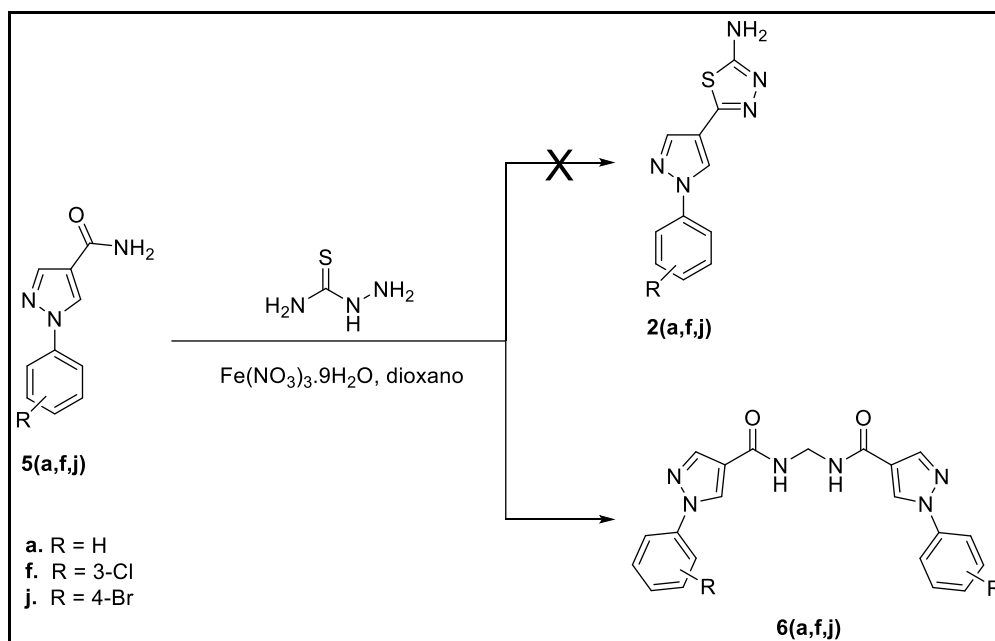
Na segunda tentativa, avaliou-se a síntese do anel tiadiazólico a partir de carboxamidas **5(a,f,j)**, preparadas por meio da hidrólise de **4(a,f,j)** em ácido sulfúrico concentrado, como descrito na seção 4.1.4.

O método desenvolvido por Becerra-Figueroa motivou a utilização dessa metodologia, pois, no trabalho publicado, os autores sintetizaram, via transamidação, a fenilhidrazida, partindo-se da benzamida e da hidrazina, utilizando como catalisador o nitrato férrico nona-hidratado (BECERRA-FIGUEROA; OJEDA-PORRAS; GAMBA-SÁNCHEZ, 2014). Dessa forma, esperava-se substituir o NH_2 das carboxamidas **5(a,f,j)** pela tiossemicarbazida, que possui uma porção hidrazina. O produto dessa reação seria uma aciltiossemicarbazida, que sofreria uma ciclização seguida de desidratação, para dar origem ao núcleo tidiazólico (Esquema 17).



Esquema 17: Reação de transamidação para obtenção de **2(a,f,j)**.

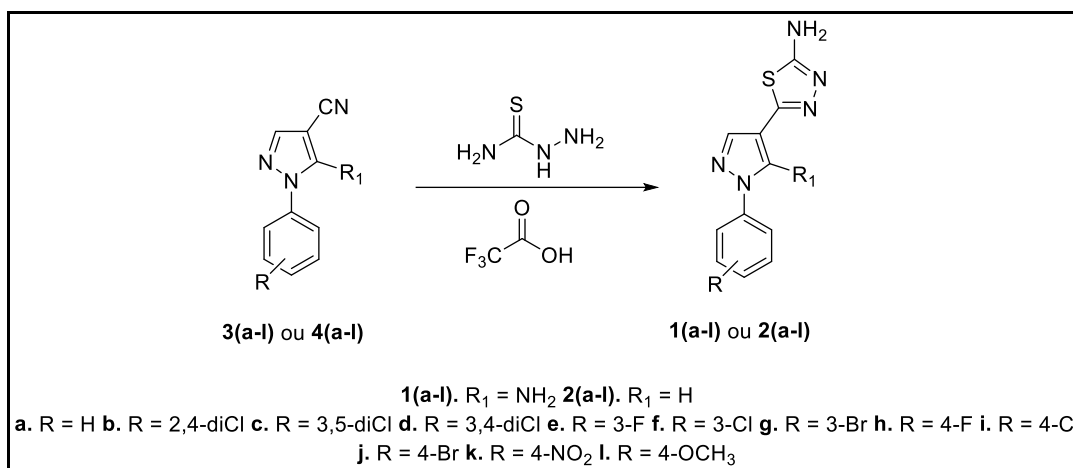
Sendo assim, os derivados **5(a,f,j)** reagiram com tiossemicarbazida em dioxano na presença de nitrato férrico nona-hidratado, porém, em vez de se obter os compostos desejados, **2(a,f,j)**, identificou-se a formação das bisamidas **6(a,f,j)** como produtos inesperados dessas reações (Esquema 18). Os detalhes do procedimento experimental constam no item 4.1.6.



Esquema 18: Tentativa de síntese dos produtos **2(a,f,j)** partindo-se de **5(a,f,j)**.

Como não foi possível obter os produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)** por metodologias alternativas, em junho de 2021 buscou-se recursos junto à FIOCRUZ/RJ e o ácido trifluoroacético foi adquirido, via compra direta, em julho desse mesmo ano. Desse modo, empregando-se o ácido em questão e a tiossemicarbazida, os intermediários-

chave **3(a-l)** e **4(a-l)** foram convertidos com sucesso em **1(a-l)** e **2(a-l)**, respectivamente, cuja metodologia está descrita no item 4.1.7 (Esquema 19).



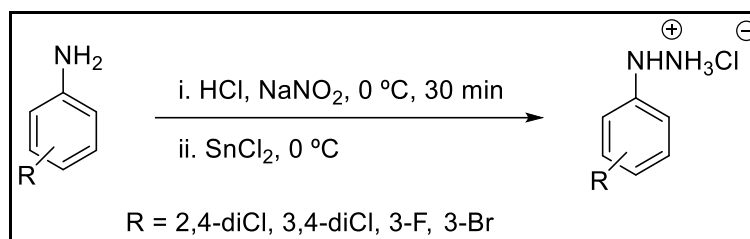
Esquema 19: Síntese dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)**.

Vale ressaltar que todos os reagentes utilizados nas sínteses foram adquiridos comercialmente, com exceção dos seguintes cloridratos de arilhidrazina: 2,4-diclorofenilhidrazina, 3,4-diclorofenilhidrazina, 3-fluorofenilhidrazina, 3-bromofenilhidrazina. Essas hidrazinas foram sintetizadas a partir das respectivas anilinas, como descrito na seção 4.1.1. A seguir, serão descritos os procedimentos experimentais empregados em cada síntese.

4.1.1. Síntese dos cloridratos de arilhidrazina

Adicionou-se a um balão de duas vias de fundo redondo 170 mL de ácido clorídrico 37% (m/v) e 3,0294 g (18 mmol) de 2,4-dicloroanilina. Em seguida, o balão foi colocado em banho de gelo e mantido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação magnética. Preparou-se uma solução de nitrito de sódio $1,35\text{ mol.L}^{-1}$, adicionando-se 1,8661 g (27 mmol) do soluto em 20 mL de água gelada. Essa solução foi adicionada ao balão lentamente, controlando a temperatura da reação para que não ultrapassasse $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após o término da adição, a reação adquiriu uma coloração laranja e o sistema foi mantido sob agitação no banho de gelo por 30 minutos. Na sequência, preparou-se uma solução de cloreto de estanho(II), dissolvendo-se 10,4842 g (54 mmol) do sal em 35 mL de ácido clorídrico 37% (m/v). A solução preparada foi adicionada gota a gota à reação, mantendo-se a temperatura do sistema abaixo de $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Houve a formação de um precipitado, que após o término da adição, foi filtrado a vácuo e deixado ao ar para

secar (WANG et al., 2016). Os demais cloridratos de arilhidrazina foram sintetizados de maneira análoga (Esquema 20).



Esquema 20: Síntese dos cloridratos de arilhidrazina.

Rendimentos e dados espectroscópicos dos cloridratos de arilhidrazina

Cloridrato de 2,4-diclorofenilhidrazina: R: 99%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3209-2625 (N-H), 1528-1467 (C=C);

Cloridrato de 3,4-diclorofenilhidrazina: R: 72%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3210-2682 (N-H), 1600-1449 (C=C);

Cloridrato de 3-fluorofenilhidrazina: R: 96%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3208-2691 (N-H), 1591-1440 (C=C);

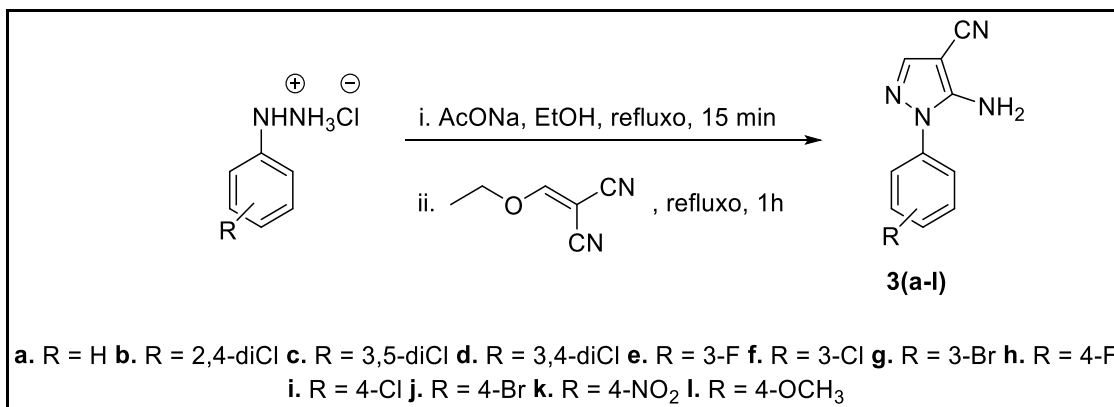
Cloridrato de 3-bromofenilhidrazina: R: 33%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3229-2675 (N-H), 1599-1481 (C=C).

4.1.2. Síntese dos intermediários-chave 3(a-l)

Em um balão de fundo redondo adicionou-se 2,0000 g (14 mmol) de cloridrato de fenilhidrazina, 2,8577 g (21 mmol) de acetato de sódio tri-hidratado e 75 mL de etanol. O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e o sistema foi mantido sob aquecimento e agitação magnética. Após 15 minutos em refluxo, adicionou-se ao balão 1,7098 g (14 mmol) de etoximetilenomalononitrila. A reação foi acompanhada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e depois de 1 hora constatou-se a completa conversão da fenilhidrazina ao produto **3a** (Esquema 21). O composto formado foi precipitado vertendo-se a solução em água gelada sob agitação. O sólido foi filtrado a vácuo, lavado com água gelada e levado para o dessecador (FERREIRA et al., 2021; ROBINS, 1956). Os derivados **3(b-l)** foram sintetizados de maneira semelhante.

O derivado **3k** foi obtido diretamente a partir da hidrazina e não do seu cloridrato, portanto não foi necessário utilizar o acetato de sódio tri-hidratado, de modo que etoximetilenomalononitrila foi adicionado diretamente ao balão, juntamente com a 4-nitrofenilhidrazina e o etanol. Depois de 1 hora e 40 minutos de reação constatou-

se a formação do derivado **3k**, o qual foi isolado de maneira análoga à descrita anteriormente.



Esquema 21: Síntese dos intermediários-chave **3(a-l)**.

Rendimentos e dados espectroscópicos dos derivados 3(a-l)

5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carbonitrila 3a: R: 38%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3322, 3224 (N–H), 2224 (C≡N), 1639 (NH₂), 1600-1455 (C=C/C=N);

5-amino-1-(2,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3b: R: 80%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3321, 3190 (N–H), 2223 (C≡N), 1646 (NH₂), 1572-1487 (C=C/C=N);

5-amino-1-(3,5-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3c: R: 42%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3333, 3230 (N–H), 2222 (C≡N), 1647 (NH₂), 1579-1458 (C=C/C=N);

5-amino-1-(3,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3d: R: 76%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3336, 3203 (N–H), 2230 (C≡N), 1656 (NH₂), 1580-1479 (C=C/C=N);

5-amino-1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3e: R: 56%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3304, 3186 (N–H), 2222 (C≡N), 1663 (NH₂), 1599-1460 (C=C/C=N);

5-amino-1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3f: R: 66%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3312, 3216 (N–H), 2239 (C≡N), 1638 (NH₂), 1595-1444 (C=C/C=N);

5-amino-1-(3-bromofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3g: R: 76%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3300, 3183 (N–H), 2240 (C≡N), 1637 (NH₂), 1580-1479 (C=C/C=N);

5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3h: R: 56%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3299, 3181 (N–H), 2226 (C≡N), 1663 (NH₂), 1569-1506 (C=C/C=N);

5-amino-1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 3i: R: 64%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3296, 3172 (N–H), 2230 (C≡N), 1664 (NH₂), 1588-1492 (C=C/C=N);

5-amino-1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila **3j**: R: 63%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3303, 3190 (N–H), 2230 (C≡N), 1662 (NH₂), 1585-1488 (C=C/C=N);

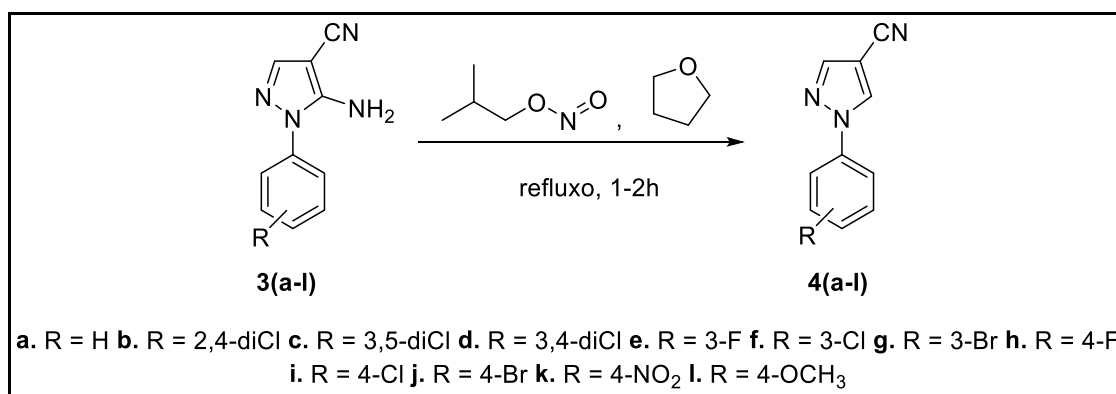
5-amino-1-(4-nitrofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila **3k**: R: 53%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3319, 3233 (N–H), 2231 (C≡N), 1648 (NH₂), 1597-1464 (C=C/C=N);

5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila **3l**: R: 52%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3355, 3166 (N–H), 2217 (C≡N), 1662 (NH₂), 1565-1446 (C=C/C=N).

4.1.3. Síntese dos intermediários-chave **4(a-l)**

Adicionou-se 1,2 mL (10 mmol) de nitrito de isobutila e 4 mL de THF a um balão de fundo redondo, o qual foi acoplado a um condensador de refluxo e mantido sob aquecimento e agitação magnética durante 30 minutos. Em seguida, adicionou-se ao sistema 0,5055 g (2,0 mmol) do 5-amino-1-(2,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila **3b** (Esquema 20), mantendo o refluxo e a agitação por mais uma hora, até o término da reação, evidenciado por CCD. O balão foi levado ao rotaevaporador e o produto **4b** foi obtido como um sólido laranja escuro, o qual foi solubilizado em etanol a quente e vertido em água gelada sob agitação vigorosa. O precipitado formado foi filtrado à vácuo, lavado com água gelada e levado para o dessecador (CADOGAN; MOLINA, 1973; FERREIRA et al., 2021). Os derivados **4(c-l)** foram obtidos de maneira análoga (Esquema 22).

O 1-fenil-1H-pirazol-4-carbonitrila **4a** foi produzido de maneira semelhante, porém após concentrar o produto no rotaevaporador, formou-se um líquido viscoso, o qual foi dissolvido em etanol e precipitado em água gelada. O sólido foi posteriormente recristalizado em uma mistura etanol/água. Após a recristalização o produto foi filtrado a vácuo, lavado com água gelada e levado ao dessecador.



Esquema 22: Síntese dos intermediários-chave **4(a-l)**.

Rendimentos e dados espectroscópicos dos derivados 4(a-l)

1-fenil-1H-pirazol-4-carbonitrila 4a: R: 54%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3156-3056 (Csp²-H), 2239 (C≡N), 1599-1470 (C=C/C=N);

1-(2,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4b: R: 94%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3140-3049 (Csp²-H), 2244 (C≡N), 1549-1491 (C=C/C=N);

1-(3,5-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4c: R: 26%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3128-3077 (Csp²-H), 2240 (C≡N), 1590 -1473 (C=C/C=N);

1-(3,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4d: R: 96%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3156-3084 (Csp²-H), 2241 (C≡N), 1581-1484 (C=C/C=N);

1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4e: R: 67%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3156-3080 (Csp²-H), 2236 (C≡N), 1606-1488 (C=C/C=N);

1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4f: R: 93%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3153-3084 (Csp²-H), 2241 (C≡N), 1594-1467 (C=C/C=N);

1-(3-bromofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4g: R: 70%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3151-3079 (Csp²-H), 2240 (C≡N), 1586-1462 (C=C/C=N);

1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4h: R: 80%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3156-3080 (Csp²-H), 2241 (C≡N), 1550-1451 (C=C/C=N);

1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4i: R: 82%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3155-3074 (Csp²-H), 2240 (C≡N), 1548-1499 (C=C/C=N);

1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4j: R: 83%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3154-3078 (Csp²-H), 2240 (C≡N), 1590-1495 (C=C/C=N);

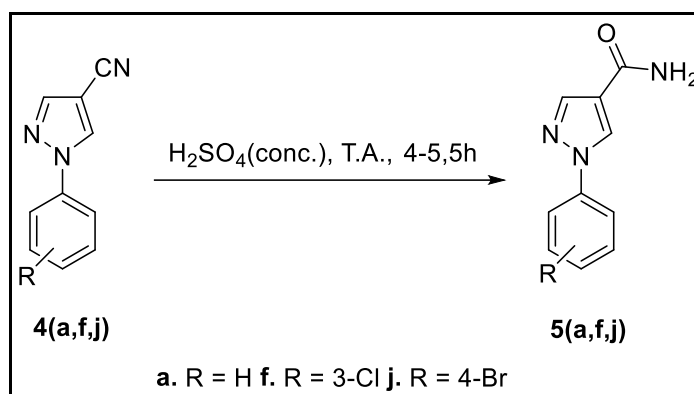
1-(4-nitrofenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4k: R: 80%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3137-3077 (Csp²-H), 2238 (C≡N), 1616 -1490 (C=C/C=N);

1-(4-metoxifenil)-1H-pirazol-4-carbonitrila 4l: R: 79%; FT-IR ν (cm⁻¹): 3151-3078 (Csp²-H), 2240 (C≡N), 1548 -1445 (C=C/C=N).

4.1.4. Síntese dos intermediários-chave 5(a,f,j)

Adicionou-se 4,2 mL de ácido sulfúrico concentrado a um balão de fundo redondo, que foi colocado em um banho de gelo. Ao constatar que a temperatura do sistema atingiu - 5°C, adicionou-se lentamente 0,3514 g (2,1 mmol) da 1-aril-1H-

pirazol-4-carbonitrila **4a**. Ao finalizar a adição, o balão foi retirado do banho de gelo e mantido em temperatura ambiente (T.A.) por 5h30min. Ao constatar, por CCD, que o produto **5a** havia sido completamente formado, a reação foi vertida em água gelada sob agitação (Esquema 23). O precipitado foi filtrado a vácuo, lavado abundantemente com água gelada e levado para o dessecador (FERREIRA et al., 2021). Os compostos **5(f,j)** foram obtidos de modo semelhante.



Esquema 23: Síntese dos intermediários-chave **5(a,f,j)**.

Rendimentos e dados espectroscópicos dos derivados **5(a,f,j)**

1-fenil-1H-pirazol-4-carboxamida **5a**: R: 88%; FT-IR ν (cm^{-1}): 3391, 3185 (N–H), 1646 (C=O), 1616-1465 (C=C/C=N);

1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-carboxamida **5f**: R: 78%; FT-IR ν (cm^{-1}): 3401, 3190 (N–H), 1648 (C=O), 1593-1492 (C=C/C=N);

1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-carboxamida **5j**: R: 85%; FT-IR ν (cm^{-1}): 3390, 3182 (N–H), 1645 (C=O), 1617-1500 (C=C/C=N).

4.1.5. Investigação de metodologias para a síntese de **2(a,c,g,i,j) a partir das carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)****

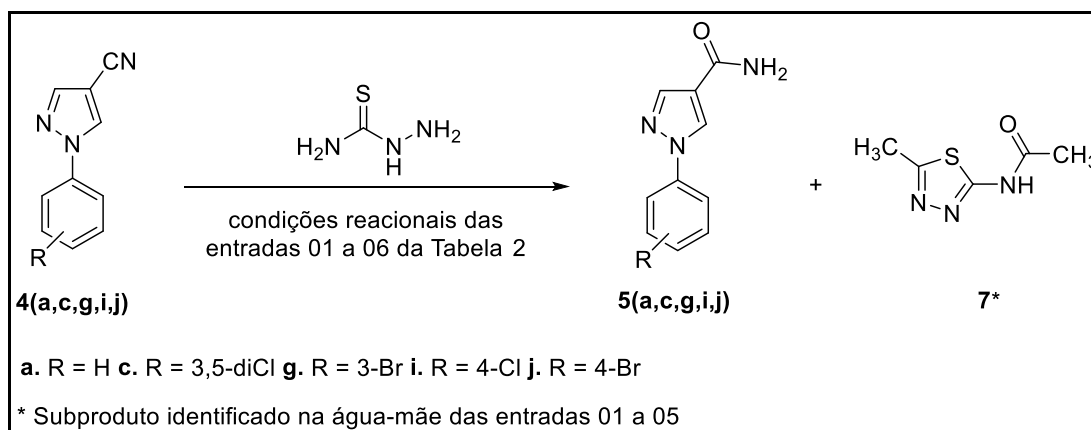
Inicialmente, investigou-se a síntese de **2(a,c,g,i,j)** partindo-se dos carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)**, com 1,5 ou 2,0 equivalentes molares (EM) de tiossemicarbazida em ácido acético ou em uma solução 30% de metóxido de sódio em metanol, como disposto na Tabela 2.

Tabela 2: Condições reacionais para a tentativa de síntese dos produtos finais **2(a,c,g,i,j)**, utilizando ácido acético ou uma solução 30% de metóxido de sódio em metanol.

Entrada	Material de partida	TSCZ	Solvente	Tempo	Produto
01	4c (0,84 mmol)	1,5 EM (1,26 mmol)	AcOH (4 mL)	65h	5c
02	4g (0,80 mmol)	1,5 EM (1,20 mmol)	AcOH (4 mL)	160h	5g
03	4i (1,50 mmol)	1,5 EM (2,25 mmol)	AcOH (6 mL)	96h	5i
04	4j (0,51 mmol)	1,5 EM (0,76 mmol)	AcOH (2 mL)	96h	5j
05	4g (0,80 mmol)	2,0 EM (1,60 mmol)	AcOH (4 mL)	72h	5g
06	4a (0,30 mmol)	1,5 EM (0,45 mmol)	MeONa/ MeOH-30% (3 mL)	3h	5a

Legenda: TSCZ - Tiossemicarbazida; EM - Equivalente Molar

De modo geral, as reações das cinco primeiras entradas foram feitas da seguinte maneira: adicionou-se a um balão de fundo redondo o ácido acético, a tiossemicarbazida e os derivados **4(c,g,i,j)**. O balão foi acoplado a um condensador de refluxo, mantido sob agitação magnética e com aquecimento a aproximadamente 115 °C. As reações foram acompanhadas por CCD e os produtos foram isolados entre 65 e 160h após o início do refluxo, vertendo-se a solução em água gelada sob agitação. Os sólidos formados foram filtrados a vácuo, lavados com água gelada e levados para o dessecador. Não obteve-se os produtos planejados **2(c,g,i,j)** e sim as carboxamidas **5(c,g,i,j)** foram formadas como produtos principais da reação (Esquema 24).



Esquema 24: Representações das sínteses descritas nas entradas 01 a 06.

As águas-mães dos produtos **4(c,g,i,j)** (entradas 01 a 05) foram neutralizadas com uma solução de 10% NaOH e, posteriormente, extraídas com três porções de 10 mL de acetato de etila (AcOEt) ou diclorometano (DCM). Os extratos foram concentrados no rotaevaporador e, após a eliminação do solvente, formou-se um sólido na parede do balão, identificado como subproduto *N*-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida **7** (Esquema 24).

A reação da entrada 06 foi realizada adicionando-se a solução de metóxido de sódio e a tiossemicarbazida em um balão de fundo redondo, o qual foi levado para um banho de ultrassom sob aquecimento por 40 min. Em seguida, o sistema foi acoplado a um condensador de refluxo e mantido sob aquecimento e agitação magnética. Após 30 minutos adicionou-se ao balão o derivado **4a** e acompanhou-se a reação por CCD. Depois de 3h o produto formado foi precipitado em água gelada sob agitação. O sólido foi filtrado, lavado com água gelada e levado para o dessecador. As análises espectroscópicas indicaram a obtenção de **5a** como produto principal da reação.

4.1.6. Investigação de metodologias para a síntese de **2(a,f,j)** a partir das carboxamidas **5(a,f,j)**

A Tabela 3 contém as condições reacionais empregadas para a tentativa de síntese dos produtos **2(a,f,j)** partindo-se das carboxamidas **5(a,f,j)** e utilizando-se 1,0 equivalente molar de tiossemicarbazida. O dioxano foi escolhido como solvente, pois foi o que melhor solubilizou os reagentes. O nitrato férrico nona-hidratado foi usado como catalisador na quantidade de 20% em mol de **5(a,f,j)**.

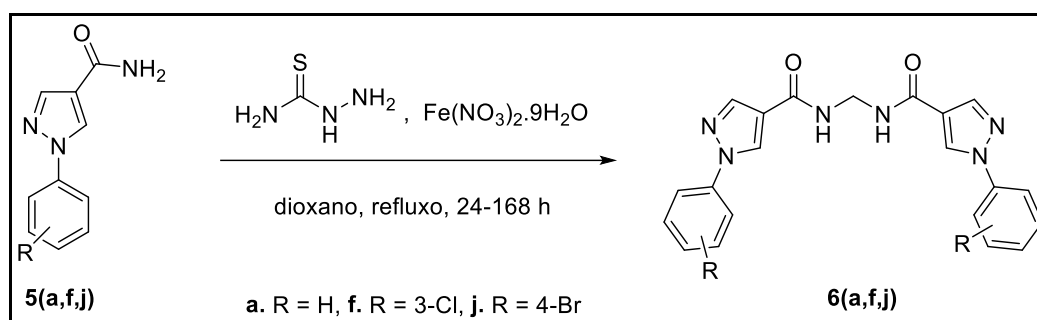
Tabela 3: Condições reacionais para a tentativa de síntese dos produtos finais **2(a,f,j)** a partir de uma reação de transamidação.

Entradas	Material de partida	TSCZ	Solvente	Tempo	Catalisador	Produto
01	5a (0,53 mmol)	1,0 EM (0,53 mmol)	Dioxano (5 mL)	24h	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (20%mol)	6a
02	5f (0,47 mmol)	1,0 EM (0,46 mmol)	Dioxano (6 mL)	24h	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (20%mol)	6f
03	5j (0,55 mmol)	1,0 EM (0,55 mmol)	Dioxano (6 mL)	168h	Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (20%mol)	6j

Legenda: TSCZ - Tiossemicarbazida; EM - Equivalente Molar

A reação da entrada 01 foi feita da seguinte forma: adicionou-se a um balão de fundo redondo o composto **5a**, o nitrato férrico nona-hidratado, a tiossemicarbazida e

o dioxano. O sistema foi acoplado a um condensador de refluxo, mantido sob aquecimento e agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD e, após 24h, constatou-se que o material de partida **5a** havia sido completamente consumido. A solução foi vertida em água gelada sob agitação. Houve a formação de um precipitado, que foi filtrado a vácuo, lavado com água gelada e levado para o dessecador. O sólido obtido foi identificado como sendo o produto inesperado **6a**. Os compostos **6(f,j)** foram sintetizados de maneira análoga, porém no caso do derivado **6j** a matéria-prima, **5j**, não havia sido completamente consumida, mesmo após 168h de reação (7 dias). Dessa forma, o produto foi isolado vertendo-se a solução em metanol gelado, o que possibilitou a precipitação seletiva do produto. O sólido obtido foi filtrado a vácuo, lavado com metanol gelado e levado ao dessecador (Esquema 25).



Esquema 25: Tentativa de síntese dos derivados **2(a,f,j)** a partir de **5(a,f,j)**.

Rendimentos, faixas de fusão, dados das análises de FT-IR, RMN de ^1H e ^{13}C e HRMS dos derivados **6(a,f,j)**

N,N'-metilenobis(1-fenil-1H-pirazol-4-carboxamida) **6a**: R: 62%; P.F.: 322-324 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3332 (N–H), 2971 ($\text{Csp}^3\text{--H}$), 1628 (C=O), 1567-1464 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,03 (s, 2H), 8,90 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 8,22 (s, 2H), 7,84 (d, $J = 7,6$ Hz, 4H), 7,53 (t, $J = 7,6$ Hz, 4H), 7,37 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 4,82 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 162,2, 141,1, 139,6, 130,1, 129,6, 127,5, 120,5, 119,2, 43,9; HRMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 409,1389$ (encontrado), 409,1389 (calculado), erro = 0 ppm;

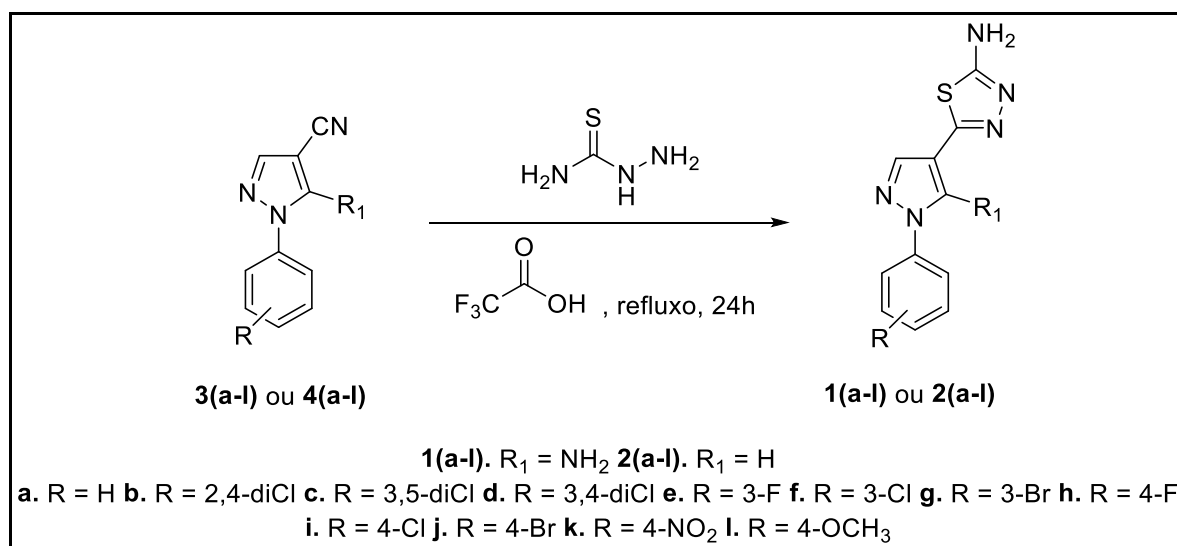
N,N'-metilenobis(1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-carboxamida) **6f**: R: 46%; P.F.: 310-312 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3322 (N–H), 2965 ($\text{Csp}^3\text{--H}$), 1629 (C=O), 1564-1462 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,10 (s, 2H), 8,91 (s, 2H), 8,25 (s, 2H), 7,95 (s, 2H), 7,84 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 7,55 (pt, $J = 7,0$ Hz, 2H), 7,43 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 4,81 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 162,1, 141,4, 140,7, 134,6, 131,91, 130,2, 127,2, 120,9, 119,0, 117,7, 43,9; HRMS m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 477,0601$ (encontrado), 477,0609 (calculado), erro = 1,68 ppm.

N,N'-metilenobis(1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-carboxamida) **6j**: R: 24%; P.F.: >350 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3311 (N–H), 2968 ($\text{Csp}^3\text{--H}$), 1617 (C=O), 1570-1496 (C=C/C=N); RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ

9,01 (s, 2H), 8,88 (s, 2H), 8,20 (s, 2H), 7,78-7,69 (m, 8H), 4,77 (s, 2H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ 162,1, 141,3, 138,8, 133,0, 129,9, 121,2, 120,8, 119,9, 43,9; HRMS m/z : $[\text{M}+2+\text{Na}]^+ = 566,9589$ (encontrado), 566,9579 (calculado), erro = 1,76 ppm.

4.1.7. Síntese dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)** utilizando-se ácido trifluoroacético

Foi adicionado a um balão de fundo redondo 0,1008 g (0,54 mmol) de **3a**, 0,0544 g (0,59 mmol) de tiossemicarbazida e 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA). O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e o sistema foi mantido sob aquecimento e agitação magnética. Constatou-se por CCD que 24 horas após o início do refluxo a matéria-prima havia sido completamente consumida. Dessa forma, foi adicionado ao balão 3 mL de etanol, em seguida, a solução foi vertida em água gelada sob agitação. Houve a formação de um precipitado, o qual foi recristalizado utilizando-se uma mistura adequada de etanol e água. O sólido recristalizado foi filtrado, lavado com água gelada e levado ao dessecador. O sólido obtido foi identificado, por métodos espectroscópicos e espectrométricos, como sendo o produto esperado **1a** (ISHANKHODZHAIEVA et al., 2001). Os demais derivados da série, **1(b-l)**, foram sintetizados de modo semelhante, assim como os compostos **2(a-l)**, porém nesse caso, os intermediários-chave **4(a-l)** foram utilizados como matérias-primas (Esquema 26).



Esquema 26: Síntese dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)**.

Rendimentos, faixas de fusão, dados das análises de FT-IR, RMN de ^1H e ^{13}C e HRMS dos derivados 1(a-l)

5-amino-2-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1a: R: 65%; P.F.: 130-133 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3413-2633 (N–H), 1608-1459 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,68 (1H), 7,61 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,54 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 7,8, 1H), 7,11 (s, 2H), 6,28 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,4, 152,1, 145,1, 139,2, 138,7, 129,8, 127,6, 123,5, 96,2; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 259,0773 (encontrado), 259,0760 (calculado), erro = 5,01 ppm;

5-amino-2-(5-amino-1-(2,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1b: R: 61%; P.F.: 165-167 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3287-2650 (N–H), 1611-1470 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,89 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,66 (1H), 7,60 (dd, J = 8,5, 2,0 Hz, 1H), 7,56 (d, 8,5 Hz, 1H), 7,06 (s, 2H), 6,23 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,3, 152,0, 146,7, 139,5, 135,2, 134,7, 133,5, 132,1, 130,4, 128,9, 94,4; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 326,9971 (encontrado), 326,9981 (calculado), erro = 3,06 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(3,5-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1c: R: 72%; P.F.: 299-304 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3435-2668 (N–H), 1612-1455 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,76 (s, 1H), 7,69 (d, J = 1,7 Hz, 2H), 7,64 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,14 (s, 2H), 6,53 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,7, 151,7, 145,6, 140,8, 140,3, 135,1, 126,97, 121,8, 96,8; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 326,9997 (encontrado), 326,9981 (calculado), erro = 4,89 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(3,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1d: R: 69%; P.F.: 257-260 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3436-2637 (N–H), 1611-1470 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,88 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,79 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,64 (dd, J = 8,7, 2,4 Hz, 1H), 7,14 (s, 2H), 6,46 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,8, 151,8, 145,5, 140,0, 138,5, 132,1, 131,7, 129,8, 125,1, 123,6, 96,6; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 326,9987 (encontrado), 326,9981 (calculado), erro = 1,83 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1e: R: 26%; P.F.: 285-288 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3412-2643 (N–H), 1611-1448 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,72 (s, 1H), 7,61-7,46 (m, 3H), 7,24 (td, J = 8,7, 2,2 Hz, 1H), 7,12 (s, 2H), 6,42 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 164,5 (s), 161,6 (d, J = 244,3 Hz), 150,8 (s), 144,3 (s), 139,1 (d, J = 10,4 Hz), 138,6 (s), 130,5 (d, J = 9,3 Hz), 118,2 (d, J = 3,0 Hz), 113,2 (d, J = 21,0 Hz), 109,5 (d, J = 25,1 Hz), 95,4 (s); HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 277,0675 (encontrado), 277,0666 (calculado), erro = 3,25 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1f: R: 52%; P.F.: 289-291 °C; FT-IR ν (cm $^{-1}$): 3447-2643 (N–H), 1618-1443 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,72 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,62 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,56 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,12 (s, 2H), 6,41 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 165,6, 151,9, 145,4, 140,0, 139,8, 134,0, 131,5, 127,4, 123,1, 121,9, 96,5; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ = 293,0369 (encontrado), 293,0371 (calculado), erro = 0,68 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(3-bromofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1g: R: 63%; P.F.: 243-246 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3443-2657 (N–H), 1614-1469 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,81 (t, *J* = 1,9 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,67-7,64 (m, 1H), 7,61-7,59 (m, 1H), 7,50 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,41 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,5, 150,8, 144,31, 139,1, 138,7, 130,7, 129,2, 124,8, 121,3, 121,2, 95,4; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 338,9827 (M+2 encontrado), 338,9845 (M+2 calculado), erro = 5,31 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1h: R: 56%; P.F.: 251-253 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3458-2645 (N–H), 1668-1479 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,67 (s, 1H), 7,63 (dd, *J* = 8,8, 4,9 Hz, 2H), 7,38 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,10 (s, 2H), 6,27 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,42 (s), 160,2 (d, *J* = 244,4 Hz), 151,0 (s), 144,2 (s), 138,1 (s), 134,0 (d, *J* = 2,8 Hz), 125,0 (d, *J* = 8,8 Hz), 115,6 (d, *J* = 22,9 Hz), 95,1 (s); HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 277,0653 (encontrado), 277,0666 (calculado), erro = 4,69 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1i: R: 65%; P.F.: 237-242 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3389-2642 (N–H), 1680-1475 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,78 (s, 1H), 7,66-7,59 (m, 4H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165,0, 150,6, 144,5, 138,5, 136,4, 130,9, 128,8, 124,4, 94,8; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 293,0365 (encontrado), 293,0371 (calculado), erro = 2,05 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1j: R: 71%; P.F.: 285-289 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3382-2645 (N–H), 1655-1490 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,76 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,57 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,9, 150,6, 144,4, 138,6, 136,9, 131,7, 124,6, 119,2, 95,0; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 338,9836 (M+2 encontrado), 338,9845 (M+2 calculado), erro = 2,65 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(4-nitrofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1k: R: 45%; P.F.: 321-323 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3467-2639 (N–H), 1638-1502 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,39 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,16 (s, 2H), 6,62 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165,8, 151,6, 145,8, 145,5, 144,1, 140,9, 125,5, 123,1, 97,2; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 304,0616 (encontrado), 304,0611 (calculado), erro = 1,64 ppm.

5-amino-2-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 1l: R: 66%; P.F.: 302-306 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3376-2688 (N–H), 1651-1444 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,62 (s, 1H), 7,48 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,10-7,08 (m, 4H), 6,13 (s, 2H), 3,82 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,3, 157,7, 151,2, 144,0, 137,5, 130,5, 124,5, 113,9, 94,8, 54,9; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 289,0867 (encontrado), 289,0866 (calculado), erro = 0,34 ppm.

Rendimentos, faixas de fusão, dados das análises de FT-IR, RMN de ¹H e ¹³C e HRMS dos derivados 2(a-l)

5-amino-2-(1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2a: R: 77%; P.F.: 289-292 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3089-2647 (N–H), 1635-1467 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (1H), 8,17 (s, 1H), 7,90

(d, $J = 7,5$, 2H), 7,55 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,38 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 168,1, 148,7, 139,2, 139,0, 129,9, 127,2, 126,8, 118,8, 115,6; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 244,0656$ (encontrado), 244,0651 (calculado), erro = 2,05 ppm;

5-amino-2-(1-(2,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2b: R: 31%; P.F.: 283-286 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3255-2670 (N-H), 1617-1464 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,61 (1H), 8,16 (1H), 7,91 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 7,69 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,63 (dd, $J = 8,5$, 2,2 Hz, 1H), 7,30 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 168,0, 148,5, 139,1, 136,5, 134,3, 131,0, 130,2, 129,6, 129,6, 128,7, 115,3; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 311,9865$ (encontrado), 311,9872 (calculado), erro = 2,24 ppm.

5-amino-2-(1-(3,5-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2c: R: 79%; P.F.: 283-289 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3291-2666 (N-H), 1651-1468 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,08 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,97 (d, $J = 1,3$ Hz, 2H), 7,54 (pt, $J = 1,3$ Hz, 1H), 7,31 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 168,4, 148,4, 141,2, 140,0, 135,6, 127,6, 126,4, 117,4, 117,0; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 311,9853$ (encontrado), 311,9872 (calculado), erro = 6,09 ppm.

5-amino-2-(1-(3,4-diclorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2d: R: 91%; P.F.: 312-317 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3278-2658 (N-H), 1631-1481 (C=C/C=N); RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9,12 (s, 1H), 8,20 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,91 (dd, $J = 8,8$, 2,6 Hz, 1H), 7,78 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ 168,4, 148,3, 139,9, 139,1, 132,6, 132,0, 129,4, 127,7, 120,5, 119,0, 116,6; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 311,9880$ (encontrado), 311,9872 (calculado), erro = 2,56 ppm.

5-amino-2-(1-(3-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2e: R: 47%; P.F.: 301-305 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3385-2652 (N-H), 1638-1461 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,08 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 7,82-7,79 (m, 2H), 7,58 (dd, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,49 (s, 2H), 7,20 (t, $J = 8,5$ Hz); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 168,3, 163,0, 148,5, 140,9, 139,6, 132,0, 127,3, 116,5, 114,8, 113,8, 106,3; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 262,0570$ (encontrado), 262,0557 (calculado), erro = 4,96 ppm.

5-amino-2-(1-(3-clorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2f: R: 83%; P.F.: 309-313 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3381-2657 (N-H), 1649-1487 (C=C/C=N); RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,07 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,02 (t, $J = 1,5$ Hz, 1H), 7,90 (dd, $J = 8,2$, 1,5 Hz, 1H), 7,55 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,41 (dd, $J = 8,2$, 1,5 Hz, 1H), 7,35 (s, 2H); RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ 167,9, 148,1, 140,3, 139,2, 134,1, 131,4, 126,8, 126,5, 118,2, 117,1, 116,2; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 278,0263$ (encontrado), 278,0262 (calculado), erro = 0,36

5-amino-2-(1-(3-bromofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2g: R: 82%; P.F.: 301-305 °C; FT-IR ν (cm^{-1}): 3385-2661 (N-H), 1622-1466 (C=C/C=N); RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9,06 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,13 (t, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,46 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,34 (s, 2H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6): δ 168,3, 148,5, 140,8, 139,6, 132,05, 129,9, 127,3, 122,9, 121,4, 117,9, 116,7; HRMS (ESI) m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 323,9742$ (M+2 encontrado), 323,9736 (M+2 calculado), erro = 1,85 ppm.

5-amino-2-(1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2h: R: 58%; P.F.: 335-337 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3267-2692 (N-H), 1635-1509 (C=C/C=N); RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,94 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,91 (dd, *J* = 8,8 Hz, 4,7 Hz, 2H), 7,35 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,28 (s, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,1 (s), 161,0 (d, *J* = 243,6 Hz), 148,7 (s), 139,3 (s), 136,2 (s), 127,0 (s), 121,1 (d, *J* = 8,5 Hz), 116,80 (d, *J* = 23,0 Hz), 116,38 (s); HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 262,0567 (encontrado), 262,0557 (calculado), erro = 3,81 ppm.

5-amino-2-(1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2i: R: 74%; P.F.: 328-335 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3272-2680 (N-H), 1627-1499 (C=C/C=N); RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,57 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,29 (s, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,2, 148,5, 139,5, 138,4, 131,4, 130,0, 127,0, 120,6, 116,6; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 278,0272 (encontrado), 278,0262 (calculado), erro = 3,60 ppm.

5-amino-2-(1-(4-bromofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2j: R: 76%; P.F.: 339-342 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3273-2677 (N-H), 1626-1467 (C=C/C=N); RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,02 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,86 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 7,70 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,3, 148,5, 139,5, 138,8, 132,9, 127,1, 120,9, 119,7, 116,4; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 323,9748 (M+2 encontrado), 323,9736 (M+2 calculado), erro = 3,70 ppm.

5-amino-2-(1-(4-nitrofenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2k: R: 20%; P.F.: 330-333 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3267-2690 (N-H), 1632-1505 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,14 (s, 1H), 8,37 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 8,26 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 7,35 (s, 2H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,3, 148,1, 145,4, 143,7, 140,6, 127,4, 125,7, 119,1, 117,3; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 289,0500 (encontrado), 289,0502 (calculado), erro = 0,69 ppm.

5-amino-2-(1-(4-metoxifenil)-1H-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazol 2l: R: 56%; P.F.: 287-301 °C; FT-IR ν (cm⁻¹): 3402-2651 (N-H), 1611-1459 (C=C/C=N); RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,86 (1H), 8,10 (1H), 7,80 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 7,08 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,1, 158,5, 149,0, 138,7, 133,2, 126,7, 120,7, 115,5, 115,1, 55,9; HRMS (ESI) *m/z*: [M+H]⁺ = 274,0752 (encontrado), 274,0757 (calculado), erro = 1,82 ppm.

4.2. CARACTERIZAÇÕES

Todos os produtos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho. Analisou-se por cromatografia a gás acoplado à espectrometria de massas os compostos obtidos nas entradas 01 a 05 da Tabela 2 (seções 4.1.5). Determinou-se as faixas de fusão dos produtos inéditos **6(a,f,j)**, **1(a-l)** e **2(a-l)**, os quais também foram caracterizados por espectrometria de massas de alta resolução e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C e DEPT-135. A seguir serão apresentadas as metodologias referentes a cada análise.

4.2.1. *Determinação das faixas de fusão*

Determinou-se as faixas de fusão em duplicata em um aparelho da marca Allerbest, sem correção da temperatura, no Laboratório de Síntese de Sistemas Heterocíclicos (LaSSH).

4.2.2. *Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)*

As análises de espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR) foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia da UNIFEI, em um espectrofotômetro da marca PerkinElmer modelo Spectrum 100, com sistema ATR com cristal de diamante/ZnSe. Utilizou-se 16 varreduras para a aquisição dos espectros com resolução de 4 cm⁻¹.

4.2.3. *Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)*

As análises de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) foram realizadas na Central Analítica da FIOCRUZ em um cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas da marca Agilent. Utilizou-se uma coluna modelo HP-5 da marca Agilent com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura de filme. As amostras foram diluídas em 1 µL do solvente e injetadas na coluna a 20°C com split de 20:1. O forno foi aquecido da temperatura inicial de 60°C até 300°C, com uma taxa de aquecimento de 13 °C/min.

4.2.4. *Espectrometria de massas de alta resolução (HRMS)*

As análises de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foram feitas na Central Analítica da FIOCRUZ/RJ, em um espectrômetro de massas de alta resolução da marca Micromass/Waters com detector híbrido Q-TOF, modelo ZQ-4000, com ionização por eletrospray (ESI). A temperatura da fonte foi ajustada para 150°C e aplicou-se uma temperatura de 300°C para o processo de dessolvatação, utilizando-se um capilar de 3,0 kV, um cone de 30,0 V, um extrator de 1 V e uma lente RF de 1,0 V.

4.2.5. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

As análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135) foram realizadas no Laboratório de RMN da UNIFAL (Campus Alfenas) ou na Central Analítica da FIOCRUZ/RJ em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear da marca Bruker Avance de 300 ou 400 MHz. Empregou-se como padrão interno o tetrametilsilano e utilizou-se como solvente o dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO-}d_6$).

4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

A avaliação da atividade tripanocida e a citotoxicidade dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)** está sendo realizada no Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC), localizado na FIOCRUZ/RJ, sob coordenação da Dra. Mirian Cláudia Souza Pereira.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SÍNTESE DOS CLORIDRATOS DE ARILHIDRAZINA

Os cloridratos de arilhidrazina foram obtidos conforme a metodologia descrita na seção 4.1.1. Inicialmente, as anilinas reagiram com o nitrito de sódio em ácido clorídrico para formar um sal de diazônio, o qual foi reduzido com cloreto estanoso aos respectivos cloridratos de arilhidrazina, isolados com rendimentos de 33 a 99% (Figura 26). Confirmou-se a obtenção dos compostos desejados por meio das análises de FT-IR, comparando-se os espectros de infravermelho dos produtos sintetizados com os espectros dos cloridratos de arilhidrazina disponíveis comercialmente.

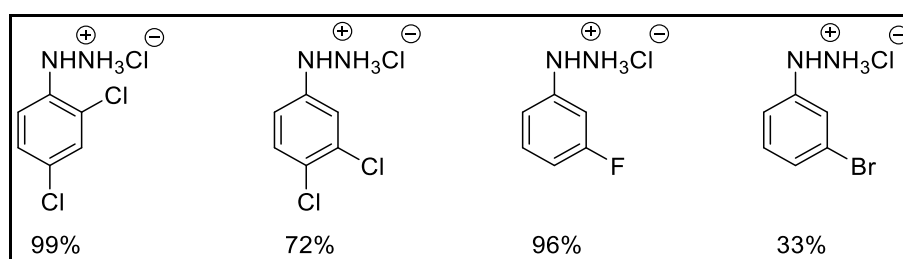


Figura 26: Representações estruturais e rendimentos dos cloridratos de arilhidrazina.

Os espectros de infravermelho dos cloridratos de arilhidrazinas (Espectros 1 a 4, Anexo A), continham bandas serrilhadas entre 3229 e 2625 cm^{-1} , típicas de um sal orgânico. As bandas referentes aos estiramentos das ligações C–C do anel benzênico foram identificadas no espectro na região de 1600 a 1440 cm^{-1} (Tabela 4).

Tabela 4: Principais dados das análises de FT-IR dos cloridratos de arilhidrazina.

Ligação química	N–H	C=C
Modo vibracional	ν	ν
R = 2,4-diCl	3209 - 2625	1528 - 1467
R = 3,4-diCl	3210 - 2682	1600 - 1449
R = 3-F	3208 - 2691	1591 - 1440
R = 3-Br	3229 - 2675	1599 - 1481

5.2. SÍNTESE DOS INTERMEDIÁRIOS-CHAVE

5.2.1. 5-amino-1-*aryl*-1H-pirazol-4-carbonitrilas **3(a-l)**

Os intermediários-chave **3(a-l)** foram produzidos a partir dos cloridratos de arilhidrazina, acetato de sódio tri-hidratado e etoximetilenomalononitrila, como descrito na seção 4.1.2. Obteve-se os produtos desejados com rendimentos que variaram entre 38 a 80%, sendo que o derivado **3l** foi preparado por outro membro do grupo. A Figura 27 contém as representações estruturais dos derivados obtidos com seus respectivos rendimentos.

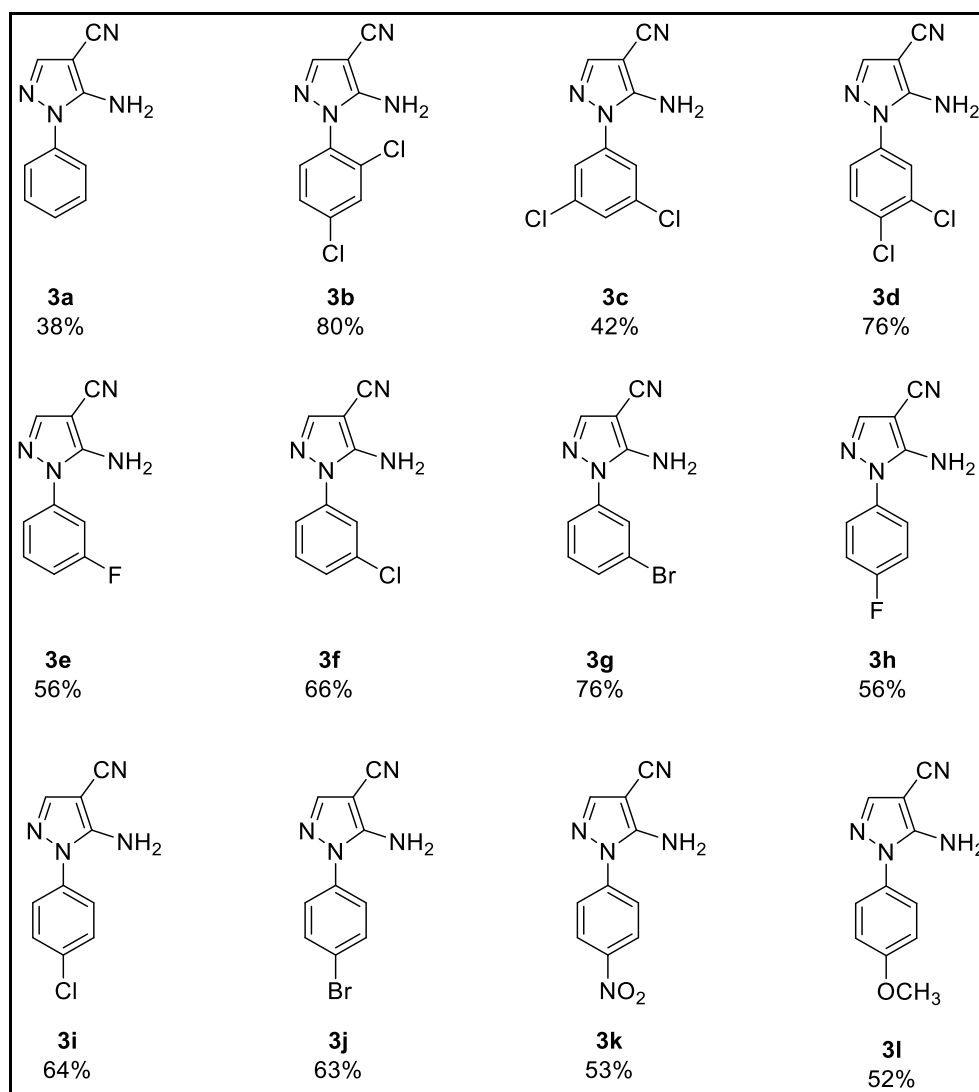
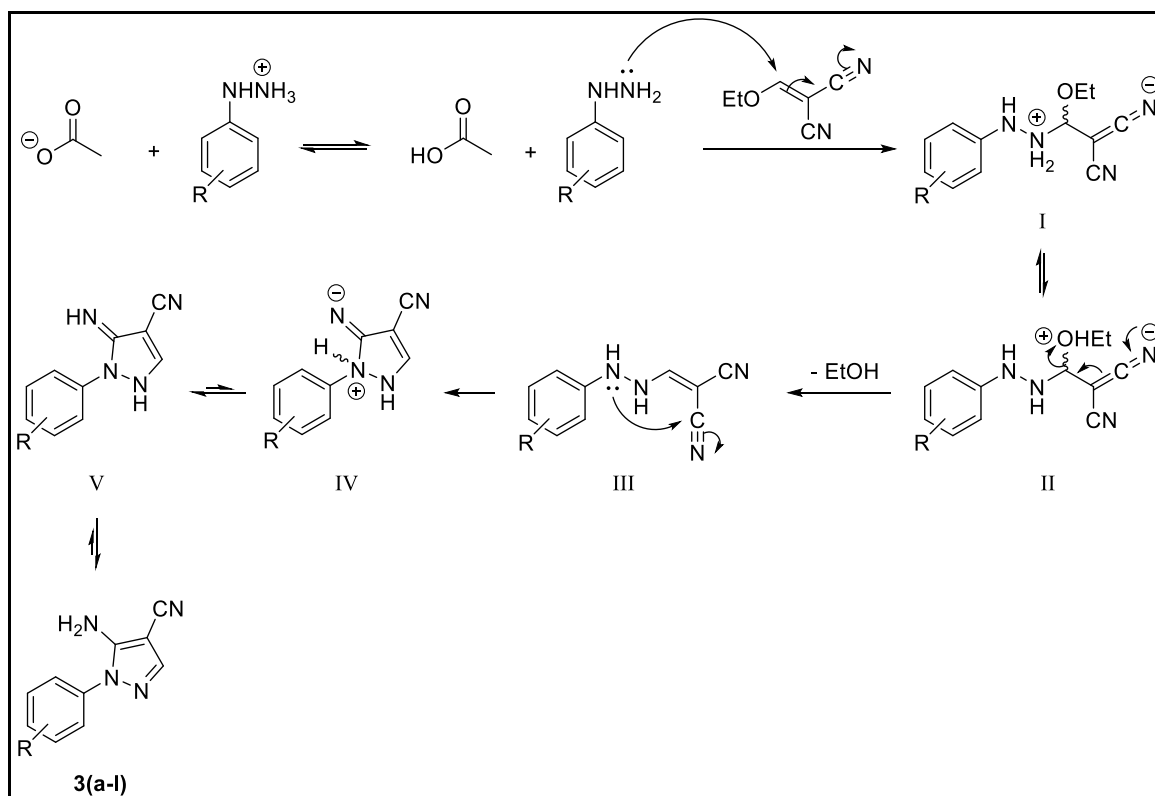


Figura 27: Representações estruturais e rendimentos dos derivados **3(a-l)**.

O mecanismo da reação de síntese dos derivados **3(a-l)** consiste, inicialmente, em uma reação ácido-base entre o cloridrato de arilhidrazina e o acetato de sódio, que dá origem à arilhidrazina e ao ácido acético. Na etapa seguinte, a arilhidrazina reage

com o etoximetilenomalononitrila, por meio de uma adição do tipo Michael, formando o intermediário I. Em seguida, ocorre a protonação do átomo de oxigênio do grupo etoxi, gerando II e há a eliminação de etanol, formando o produto de condensação III. Subsequentemente, III sofre uma ciclização intramolecular dando origem ao intermediário cíclico IV, que passa por um prototropismo para produzir o núcleo pirazólico na forma imina V. Nesse ponto, há um equilíbrio imina-enamina, sendo que a forma enamina é favorecida, pois preserva a aromaticidade do núcleo pirazólico dos derivados **3(a-I)** (Esquema 27).



Esquema 27: Mecanismo da reação de formação dos derivados **3(a-I)**.

A caracterização dos derivados **3(a-I)** foi realizada a partir das análises de espectroscopia na região do infravermelho (Espectros 5 a 16, Anexo B). Nos espectros dos derivados **3(a-I)** observou-se duas bandas entre 3355 e 3166 cm^{-1} , que foram atribuídas aos estiramentos assimétrico (ν_{as}) e simétrico (ν_{s}) da ligação N–H do grupo amino. Esse grupo também possui um modo vibracional de deformação angular no plano (δ) que foi identificado na região de 1664 a 1637 cm^{-1} . A banda referente ao estiramento (ν) da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ da nitrila foi identificada na faixa de 2240 a 2217 cm^{-1} . Além disso, foi possível observar múltiplas bandas na região de 1600 a

1446 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de sistemas aromáticos (Tabela 5).

Tabela 5: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **3(a-l)**.

Ligação química ou grupo funcional	N–H		C≡N	NH ₂	C=C / C=N
Modo vibracional	ν_{as}	ν_s	ν	δ	ν
3a (H)	3322	3224	2224	1639	1600 - 1455
3b (2,4-diCl)	3321	3190	2223	1646	1572 - 1487
3c (3,5-diCl)	3333	3230	2222	1647	1579 - 1458
3d (3,4-diCl)	3336	3203	2230	1656	1580 - 1479
3e (3-F)	3304	3186	2222	1663	1599 - 1460
3f (3-Cl)	3312	3216	2239	1638	1595 - 1482
3g (3-Br)	3300	3183	2240	1637	1580 - 1479
3h (4-F)	3299	3181	2226	1663	1569 - 1506
3i (4-Cl)	3296	3172	2230	1664	1588 - 1492
3j (4-Br)	3303	3190	2230	1662	1585 - 1488
3k (4-NO ₂)	3319	3233	2231	1648	1597 - 1464
3l (4-OCH ₃)	3355	3166	2217	1662	1565 - 1446

5.2.2. 1-*aril*-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**

Os derivados **4(a-l)** foram sintetizados por meio de uma desaminação aprótica, partindo de **3(a-l)**, nitrito de isobutila e THF, de acordo com o procedimento descrito na seção 4.1.3. Obteve-se os compostos desejados com rendimentos que variaram de 26 a 96%. As representações estruturais de cada um deles e seus respectivos rendimentos estão apresentados na Figura 28.

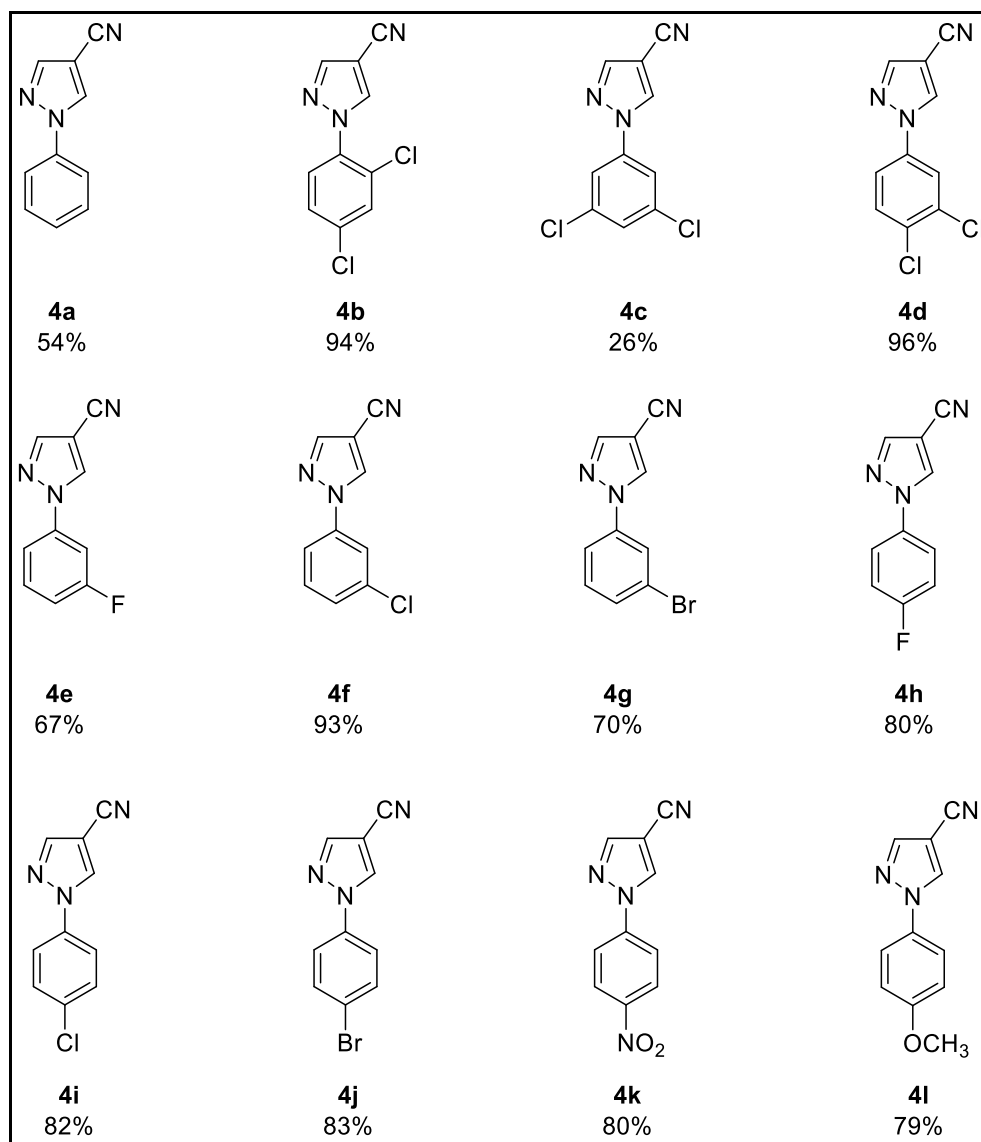
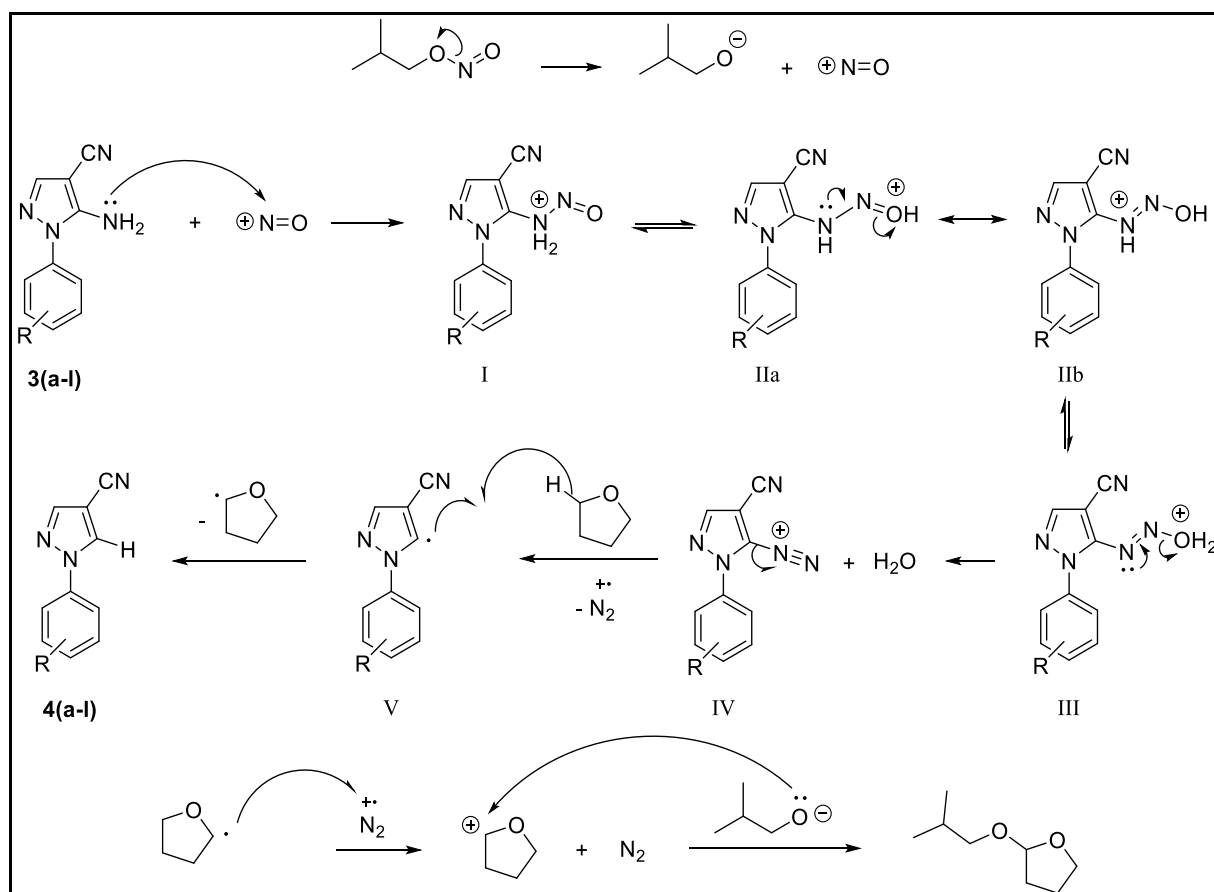


Figura 28: Representações estruturais e rendimentos dos derivados da série **4(a-l)**.

A proposta mecanística para a formação de **4(a-l)** foi feita com base nos trabalhos do grupo de pesquisa (FERREIRA, 2020). A reação de desaminação aprótica inicia-se com a cisão heterolítica da ligação N–O do nitrito de isobutila, o que dá origem ao ânion isobutóxido e ao íon nitrosônio. Na etapa seguinte, o intermediário I é formado quando o íon nitrosônio se liga ao átomo de nitrogênio do grupo amino

dos derivados **3(a-l)**. Esse intermediário passa por um prototropismo gerando o composto IIa, que pode ser representado pela estrutura de ressonância IIb. A protonação do átomo de oxigênio dessa estrutura dá origem ao intermediário III, que, ao liberar uma molécula de água, forma o íon diazônio IV. Esse íon sofre uma decomposição gerando um radical pirazolil V e um cátion-radical N_2 . Na etapa seguinte, o radical V se liga a um dos hidrogênios do THF, produzindo os derivados desaminados **4(a-l)** e o radical tetra-hidrofuranil, que doa um elétron ao cátion-radical N_2 . Há então a liberação de nitrogênio gasoso e a formação do cátion tetra-hidrofuran-2-ílio, que reage com o ânion isobutoxido para gerar o 2-isobutoxitetra-hidrofurano.



Esquema 28: Proposta mecanística da reação de formação dos derivados **4(a-l)**.

A obtenção dos intermediários-chave **4(a-l)** foi confirmada por meio da análise dos espectros de infravermelho dos compostos sintetizados (Espectros 17 a 28, Anexo C). A maior evidência de formação dos produtos desejados foi o fato de não se observar bandas características do grupo amino nos espectros obtidos. Os estiramentos das ligações C–H dos sistemas aromáticos geraram bandas entre 3156 e 3015 cm^{-1} . Observou-se na região de 2244 a 2236 cm^{-1} uma banda devido ao

estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ da nitrila. As bandas identificadas na faixa de 1616 a 1445 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações de estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ dos anéis benzênico e pirazólico (Tabela 6).

Tabela 6: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **4(a-l)**.

Ligação química	$\text{C}(\text{sp}^2)\text{--H}$	$\text{C}\equiv\text{N}$	$\text{C}=\text{C} / \text{C}=\text{N}$
Modo vibracional	ν	ν	ν
4a (H)	3156 - 3056	2239	1599 - 1470
4b (2,4-diCl)	3140 - 3049	2244	1549 - 1491
4c (3,5-diCl)	3128 - 3077	2240	1590 - 1473
4d (3,4-diCl)	3156 - 3084	2241	1560 - 1484
4e (3-F)	3156 - 3080	2236	1606 - 1488
4f (3-Cl)	3153 - 3084	2241	1594 - 1467
4g (3-Br)	3151 - 3079	2240	1586 - 1462
4h (4-F)	3156 - 3080	2241	1550 - 1451
4i (4-Cl)	3155 - 3074	2240	1548 - 1499
4j (4-Br)	3154 - 3078	2240	1590 - 1495
4k (4- NO_2)	3137 - 3077	2238	1616 - 1490
4l (4- OCH_3)	3151 - 3015	2240	1548 - 1445

5.2.3. 1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **5(a,f,j)**

Os derivados **4(a,f,j)** foram convertidos nos intermediários-chave **5(a,f,j)** utilizando-se ácido sulfúrico concentrado, como descrito na seção 4.1.4. Os produtos foram obtidos com rendimentos que variaram de 78 a 88%. Na Figura 29 são mostradas as representações estruturais e os rendimentos dos compostos sintetizados.

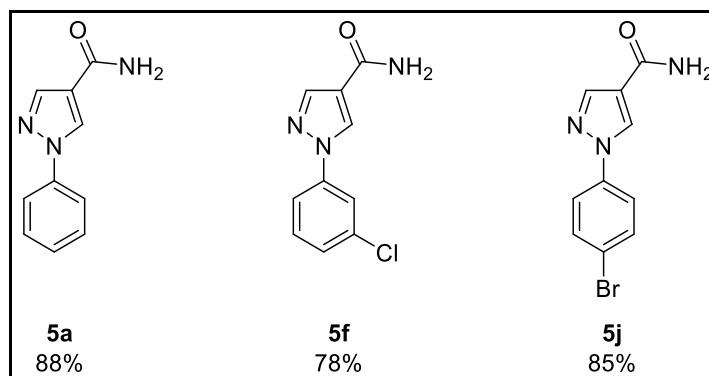
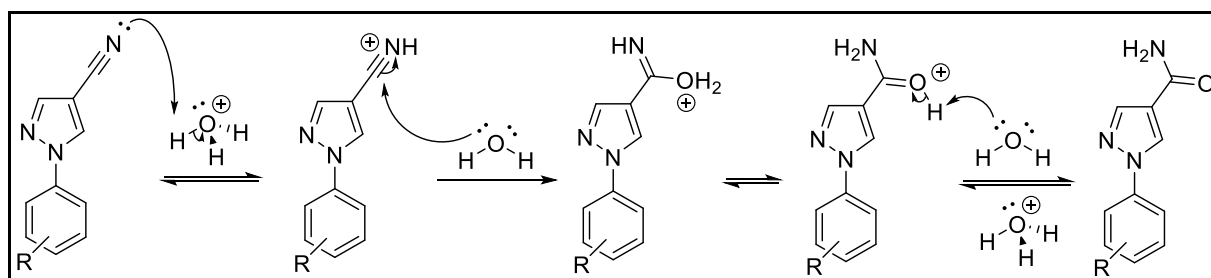


Figura 29: Representações estruturais e rendimentos dos derivados **5(a,f,j)**.

A primeira etapa do mecanismo de hidrólise ácida dos derivados **4(a,f,j)** consiste na protonação do átomo de nitrogênio da nitrila pelo íon hidrônio. A água liberada na primeira etapa faz um ataque nucleofílico ao átomo de carbono da nitrila, dando origem às carboxamidas **5(a,f,j)**, após um prototropismo e um equilíbrio ácido-base (Esquema 29).



Esquema 29: Mecanismo da reação de formação dos derivados **5(a,f,j)**.

Confirmou-se a obtenção dos compostos **5(a,f,j)** pelas análises dos espectros de infravermelho dos produtos sintetizados (Espectros 29 a 31, Anexo D). Todos eles continham bandas típicas de amida primária: uma na região de 1648 a 1645 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação C=O, e outras duas entre 3401 cm^{-1} e 3182 cm^{-1} , referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico da ligação N–H. Identificou-se ainda as vibrações das ligações C=C e C=N dos sistemas aromáticos como bandas na região de 1617 a 1465 cm^{-1} (Tabela 7). Vale ressaltar

que a banda característica da nitrila, próxima a 2240 cm^{-1} , não foi observada em nenhum dos espectros.

Tabela 7: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **5(a,f,j)**.

Ligação química	N–H		C=O	C=C / C=N
Modo vibracional	ν_{as}	ν_s	ν	ν
5a (H)	3391	3185	1646	1616 -1465
5f (3-Cl)	3401	3190	1648	1593 - 1492
5j (4-Br)	3390	3182	1645	1617 - 1500

5.3. INVESTIGAÇÃO DE METODOLOGIAS PARA A SÍNTESE DOS PRODUTOS FINAIS

5.3.1. *Partindo-se dos derivados 4(a,c,g,i,j)*

Como já mencionado, a primeira tentativa de síntese dos produtos **2(a,c,g,i,j)** foi realizada partindo-se das carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)** que reagiram com 1,5 ou 2,0 equivalentes molares de tiossemicarbazida em ácido acético ou em uma solução 30% de metóxido de sódio em metanol. Os procedimentos experimentais empregados estão descritos em detalhes na seção 4.1.5.

Como já mencionado empregando-se as condições reacionais das entradas 01 a 06 (Tabela 02, seção 4.1.5) não foram obtidos os produtos propostos **2(a,c,g,i,j)** de modo que os materiais de partida **4(a,c,g,i,j)** foram hidrolisados, tanto em meio ácido quanto em meio básico, gerando as carboxamidas **5(a,c,g,i,j)**, isoladas com rendimentos de 53 a 98%, sem purificação. Além disso, no caso das reações em ácido acético identificou-se também a formação do subproduto *N*-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida **7** (Figura 30).

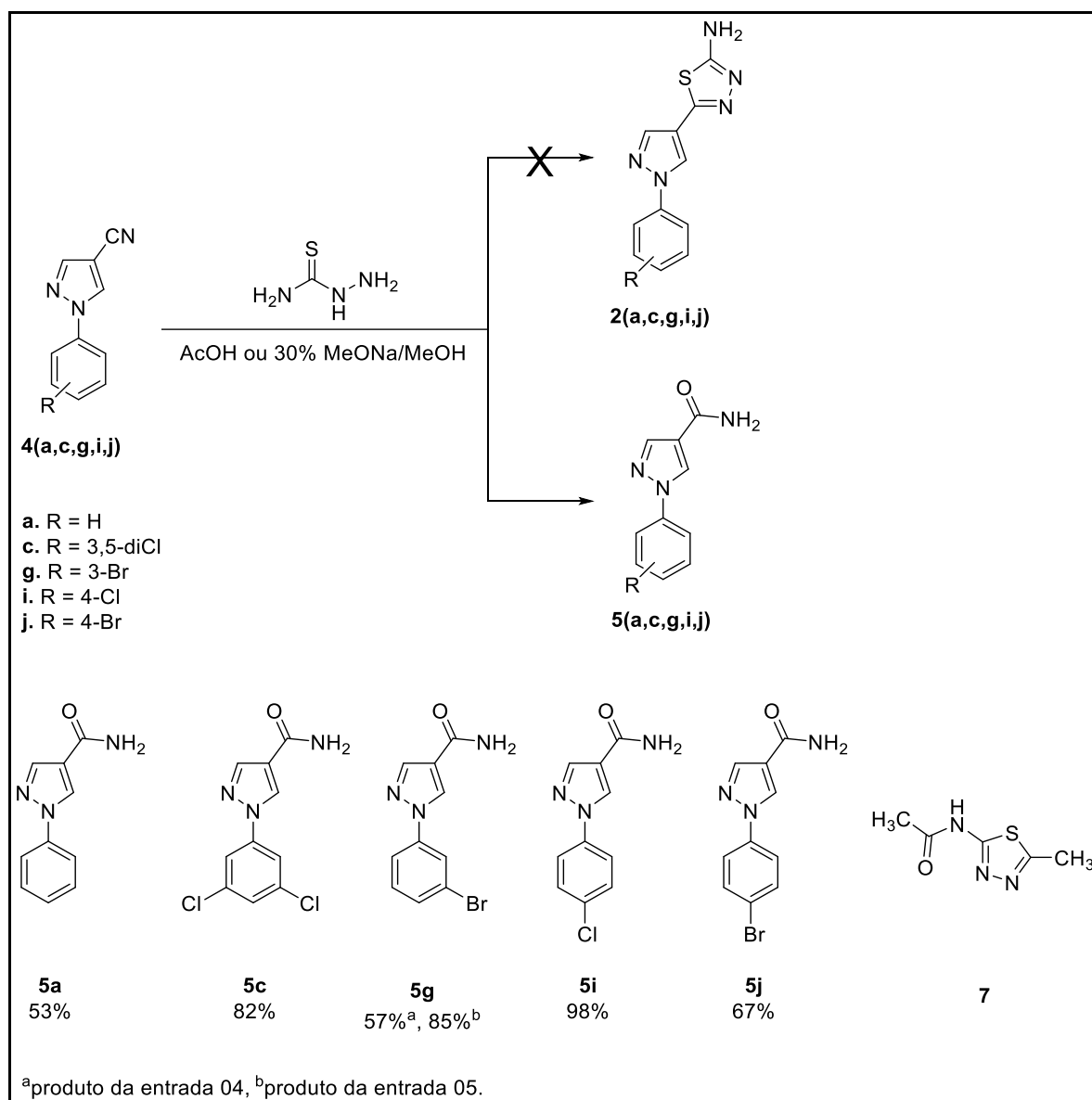
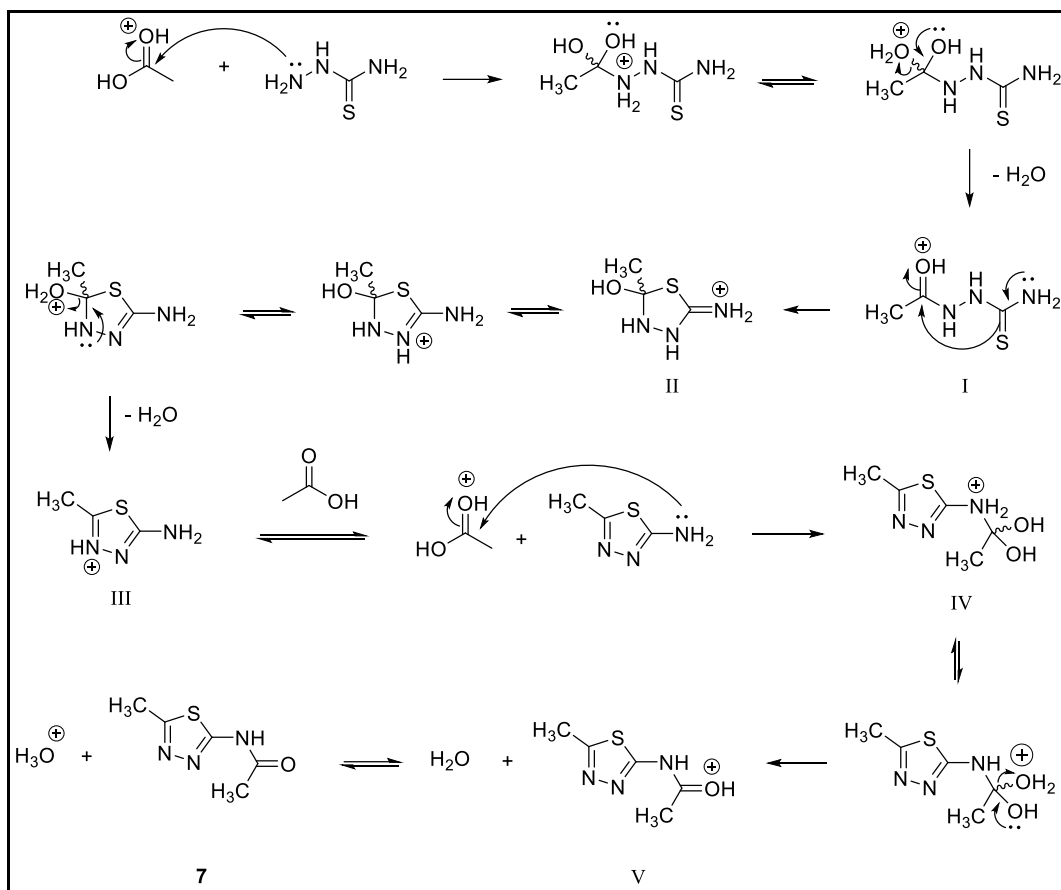


Figura 30: Representações estruturais e rendimentos dos produtos das reações descritas nas entradas 01 a 06 (Tabela 02).

O mecanismo que justifica a formação do subproduto **7** está representado no Esquema 30. Na primeira etapa, a tiossemicarbazida reage com o ácido acético protonado, via substituição nucleofílica acíclica, para formar uma aciltiossemicarbazida I. Na sequência, esse intermediário sofre uma ciclização intramolecular, gerando II, que após subseqüentes prototropismos, sofre desidratação, produzindo o núcleo amino-tiadiazólico III. Esse núcleo reage com um segundo equivalente molar do ácido acético protonado, gerando IV, que, após um prototropismo e eliminação de água produz V e, posteriormente, a partir de um equilíbrio ácido-base gera o subproduto **7**.



Esquema 30: Mecanismo da reação de formação do subproduto *N*-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida **7**.

Confirmou-se a obtenção dos derivados **5(a,c,g,i,j)** analisando seus espectros de infravermelho, os quais continham bandas características de amidas primárias (Espectros 32 a 37, Anexo E). A Figura 31, por exemplo, contém o espectro do produto obtido na entrada 06 (**5aNaOMe**) e o espectro da carboxamida **5a**, produzida com ácido sulfúrico (**5aH₂SO₄**). As bandas em ambos os casos possuem o mesmo perfil, sendo que esse padrão também foi observado para os demais derivados da série. No entanto, nos espectros dos produtos das entradas 02 a 05, foi possível observar ainda uma banda próximo à região de 2240 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$, o que indicou a presença das matérias-primas **4(g,i,j)**, as quais não foram completamente consumidas nas reações.

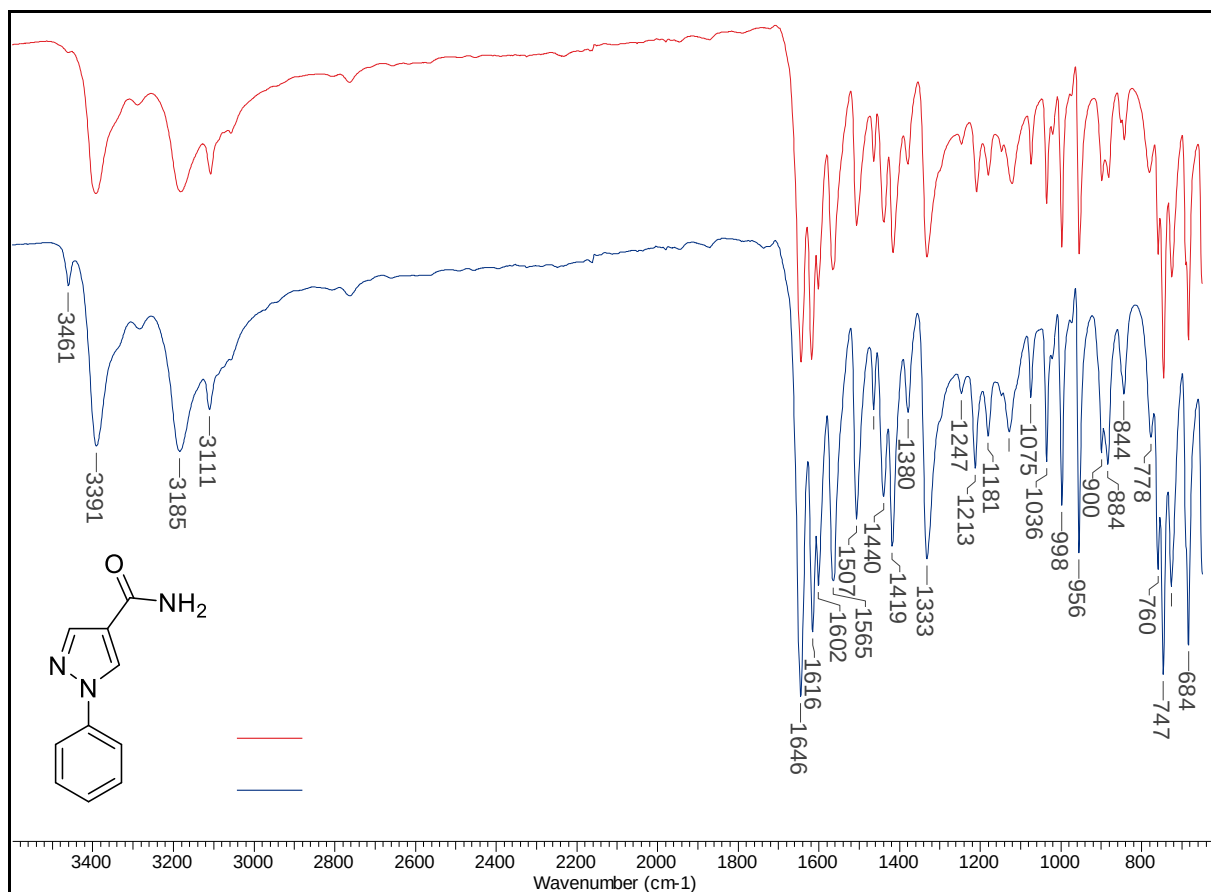


Figura 31: Espectros de infravermelho dos derivados **5aNaOMe** e **5aH₂SO₄**.

As análises de FT-IR também confirmaram a obtenção de **7** como subproduto das entradas 01 a 05 (Tabela 2). Todos os sólidos obtidos a partir da extração das águas-mães dos produtos **5(c,g,i,j)** geraram espectros de infravermelho semelhantes (Espectro 38, Anexo E). O espectro do subproduto **7** (Figura 32), isolado da reação da entrada 01, por exemplo, contém bandas, na faixa de 2920 a 2796 cm⁻¹, atribuídas ao estiramento da ligação C–H dos grupos metila. Esses grupos também possuem vibrações de deformação angular no plano que foram observadas como bandas em 1422 e 1370 cm⁻¹. O estiramento da ligação N–H da amida secundária gerou uma banda em 3174 cm⁻¹ e a vibração ligação C=O da carbonila produziu uma banda em 1695 cm⁻¹. Além disso, observou-se na região de 1650 a 1475 cm⁻¹ bandas referentes aos estiramentos das ligações C=N do anel tiadiazólico.

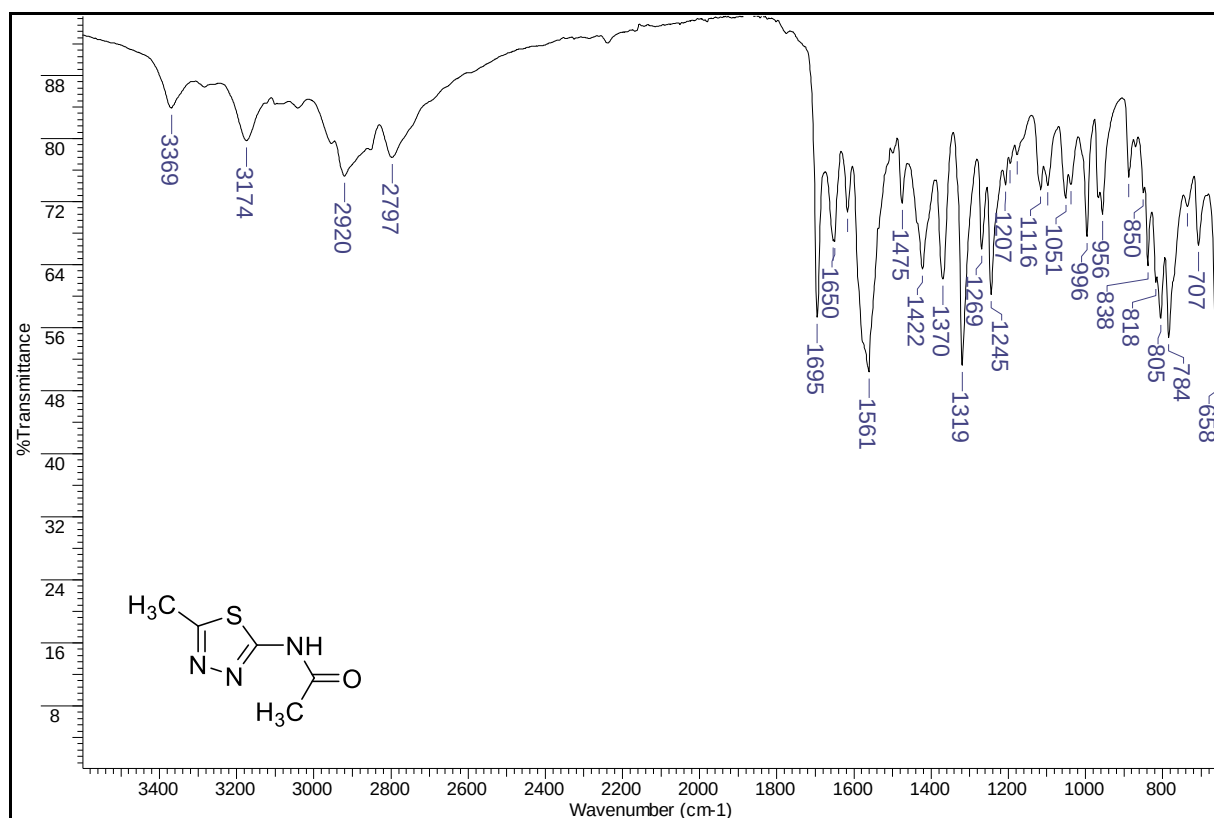


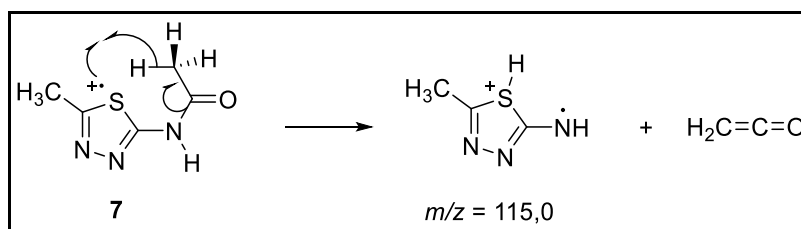
Figura 32: Espectro de infravermelho do subproduto **7** (entrada 01).

Para certificar de que se tratava das carboxamidas, os produtos obtidos nas entradas 01, 03 e 05, ou seja, **5(c,g,i)**, foram analisados por GC-MS. O cromatograma do composto da entrada 01 (Cromatograma 1, Anexo F) continha apenas um pico relevante, com tempo de retenção igual a 38,80 min, referente à 3,5-diclorofenil-1*H*-pirazol-4-carboxamida **5c**. Identificou-se no espectro de massas o íon molecular desse composto com m/z igual a 254,8, o qual está de acordo com o valor teórico de 255,0 (Espectro 39, Anexo F).

O cromatograma do produto da entrada 03 (Cromatograma 2, Anexo F) apresentou três picos, o mais intenso, em 29,20 min, foi atribuído à matéria-prima **4i**, com m/z do íon molecular igual a 202,8 (m/z teórico = 203,0). Com os dados espectroscópicos disponíveis, não foi possível caracterizar a substância com tempo de retenção igual 33,22 min. O último pico, em 36,38 min, foi atribuído à carboxamida **5i**, que gerou um íon molecular com m/z de aproximadamente 221, sendo que o valor teórico é de 221,0, porém no espectro está marcado o íon fragmento com m/z 204,8, referente ao íon acílio, formado por meio de uma fragmentação α (perda de NH_2) (Espectros 40 a 42, Anexo F).

Para o produto da entrada 05, o pico principal foi referente ao derivado **5g**, com tempo de retenção igual a 38,12 min (Cromatograma 3, Anexo F). No espectro de massas, o íon molecular foi labelado no M+2, com m/z igual a 266,7, sendo que o M+2 do derivado **5g** possui um valor de m/z teórico igual a 267,0 (Espectro 43, Anexo F).

O subproduto **7**, extraído da água mãe de **5c** (entrada 01), também foi caracterizado por GC-MS (Cromatograma 4, Espectro 44, Anexo F). Analisando-se o cromatograma, identificou-se apenas um pico, com tempo de retenção igual a 24,45 min, atribuído à *N*-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)acetamida **7**. No espectro de massas, observou-se o íon molecular de baixa intensidade com m/z igual a 156,8, que corrobora com o m/z teórico: 157,0. O íon fragmento com $m/z = 114,9$ foi formado devido a um rearranjo do tipo McLafferty. Nesse rearranjo o elétron desemparelhado do átomo de enxofre se liga ao átomo de hidrogênio α -carbonílico por um dos elétrons da ligação σ C–H. O outro elétron dessa ligação combina-se a um dos elétrons da ligação σ C–N do grupo acila. Com isso, forma-se uma ligação π C=C, que resulta na liberação do ceteno e do íon fragmento 2-amino-5-metil-1,3,4-tiadiazolil (m/z teórico = 115,0) (Esquema 31).



Esquema 31: Rearranjo do tipo McLafferty do subproduto **7**.

5.3.2. Partindo-se dos derivados **5(a,f,j)**

Uma outra tentativa de síntese dos compostos planejados, **2(a,f,j)**, consistiu em uma reação de transamidação, como já descrito na seção 4.1.6. Ao reagir as carboxamidas **5(a,f,j)** com a tiossemicarbazida, na presença de nitrato férrico nona-hidratado em dioxano, não obteve-se os derivados propostos. Em vez disso, identificou-se a formação das bisamidas **6(a,f,j)** como produtos inesperados dessas reações, sendo todas elas inéditas, isoladas com rendimentos de 62%, 46% e 24%, respectivamente (Figura 33). O derivado **6a** possui uma faixa de fusão de 322-324 °C, o **6f** de 310-312 °C e o **6j** possui um ponto de fusão acima de 350 °C.

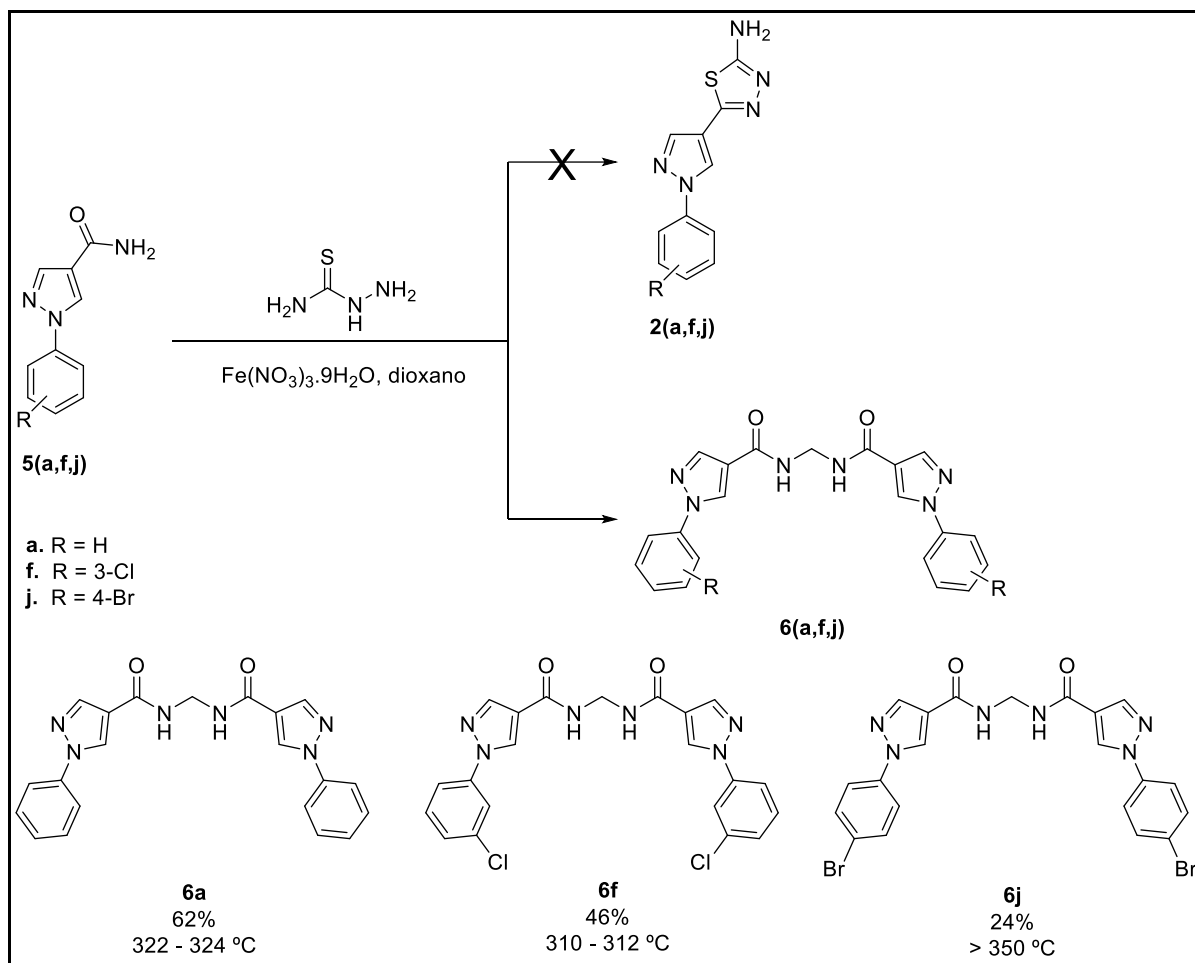
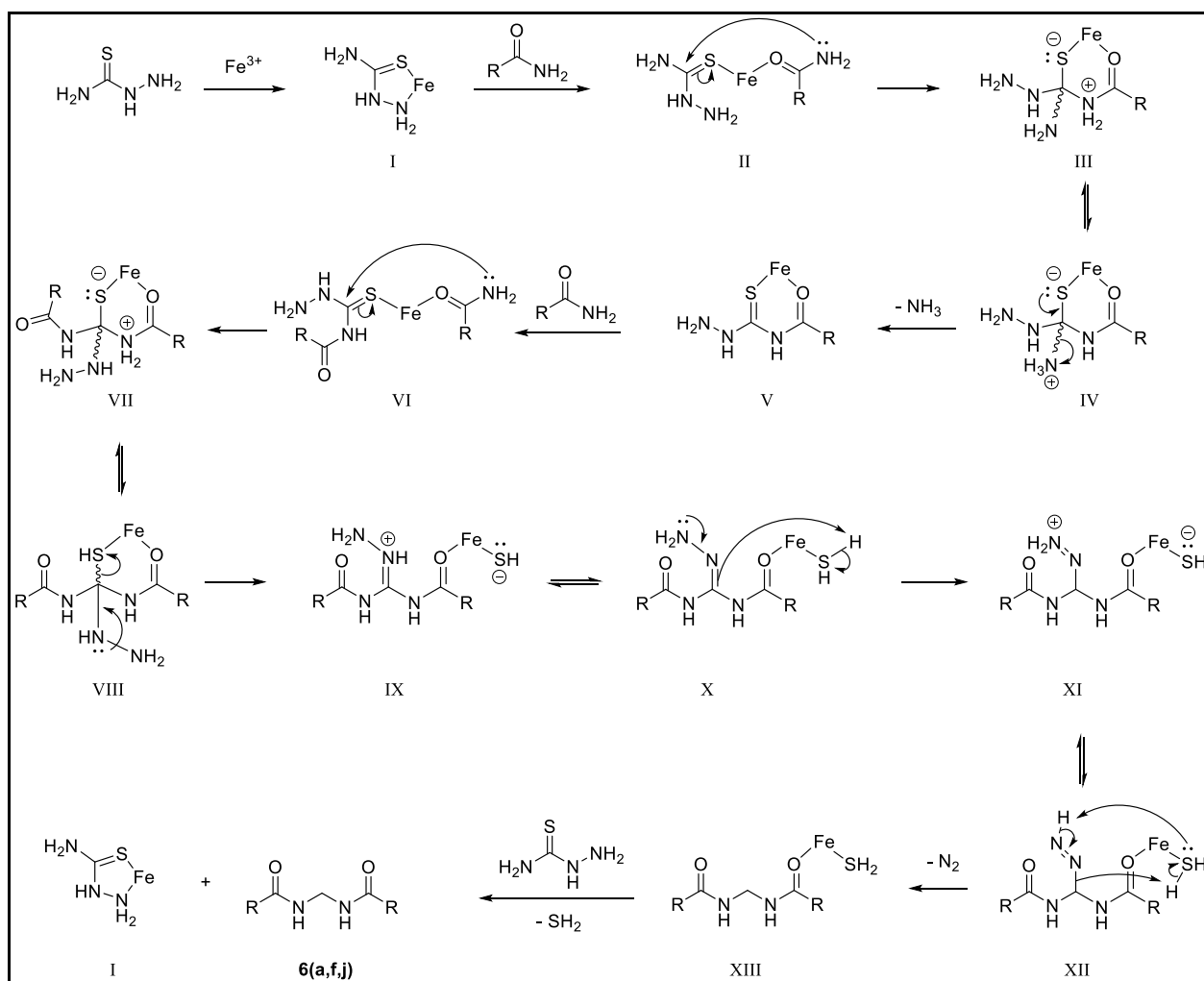


Figura 33: Representações estruturais e rendimentos das bisamidas **6(a,f,j)**.

A primeira etapa do mecanismo proposto para a formação de **6(a,f,j)** consiste em duas subsequentes substituições nucleofílicas à tioacila da tiossemicarbazida, cujo grupo amino e a porção hidrazina são substituídos pela amida. Na segunda etapa, a hidrazina liberada no meio reage com a tiocarbonila, por meio de uma redução do tipo Wolff-Kischner, para dar origem às bisamidas.

Como representado no Esquema 32, inicialmente a tiossemicarbazida se coordena ao íon de ferro(III) pelos átomos de enxofre e nitrogênio da porção hidrazina, formando o complexo I. Em seguida, há uma troca de ligante e a amida se coordena ao ferro(III) pelo átomo de oxigênio, produzindo II. O nitrogênio da porção amida faz um ataque nucleofílico à tioacila, gerando III, que passa por um prototropismo, para formar IV. A ligação $\pi \text{C}=\text{S}$ é regenerada e há a liberação de amônia, o que dá origem ao intermediário V, que na sequência reage com um segundo equivalente molar da amida para produzir VI. Há um ataque nucleofílico do átomo de nitrogênio da amida à tiocarbonila, o que resulta em VII. Há um prototropismo e o átomo de enxofre é

protonado, formando VIII. A etapa seguinte assemelha-se a uma redução de Wolff-Kishner, cujo par de elétrons não ligante do átomo de nitrogênio da porção hidrazina sofre uma deslocalização para formar uma ligação π C=N, o que promove a eliminação de sulfeto de hidrogênio, dando origem a IX. Esse intermediário passa por um prototropismo produzindo o X, o qual é subsequentemente convertido em XI quando o par de elétrons não ligante do átomo de nitrogênio do grupo amino sofre uma deslocalização para formar uma ligação π N=N. Há a concomitante hidrogenação da ligação C=N da porção imina. Em seguida, ocorre novamente um prototropismo, o que resulta em XII, que sofre uma decomposição, liberando gás nitrogênio com a formação da ligação C-H, produzindo XIII. O ciclo catalítico é reiniciado quando esse intermediário reage com um segundo equivalente molar de tiossemicarbazida, o que resulta na liberação de sulfeto de hidrogênio e na formação de **6(a,f,j)** e I.



Esquema 32: Proposta mecanística da reação de formação dos derivados **6(a,f,j)**.

A elucidação estrutural dos derivados **6(a,f,j)** foi realizada a partir das análises de FT-IR, HRMS e RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135. A seguir serão discutidas cada uma dessas análises.

Os espectros de infravermelho dos compostos **6(a,f,j)** (Espectros 45 a 47, Anexo G) contêm bandas características de uma amida secundária, sendo uma na faixa de 3332 a 3311 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação N–H, e outra entre 1629 e 1617 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C=O. Identificou-se também a presença de bandas na região de 2971 a 2965 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos das ligações C–H do grupo metileno. As vibrações das ligações C=C e C=N dos sistemas aromáticos geraram bandas entre 1570 e 1462 cm^{-1} (Tabela 8).

Tabela 8: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **6(a,f,j)**.

Ligação química	N–H	C=O	C–H	C=C / C=N
Modo vibracional	ν	ν	ν	ν
6a (H)	3332	1628	2971	1567 - 1464
6f (3-Cl)	3322	1629	2965	1564 - 1462
6j (4-Br)	3311	1617	2968	1570 - 1496

As análises de espectrometria de massas de alta resolução confirmaram as fórmulas moleculares propostas para os derivados **6(a,f,j)** (Espectros 48 a 50, Anexo H). Os íons moleculares de **6(a,f)** foram identificados associados a um átomo de sódio, com m/z iguais a 409,1389 e 477,0601, respectivamente. No caso de **6j**, foi observado no espectro o pico referente ao $[\text{M}+2+\text{Na}]^+$, com m/z igual a 566,9589. Dessa forma o erro variou de 0 a 1,76 ppm (Tabela 9).

Vale ressaltar que nessas análises foram identificados vários contaminantes do equipamento, dentre eles o plastificante diisooctil ftalato, presente no espectro de **6f**, com m/z de 413,2660 (m/z teórico: 413,2662, erro: 0,48 ppm). O espectro do **6j** contém os seguintes contaminantes: amida *cis*-13-docosenoica, com m/z de 360,3249 (m/z teórico: 360,3237, erro: 3,33 ppm) e triton, proveniente do detergente, com m/z de 381,2988 (m/z teórico: 381,2975, erro: 3,41 ppm) (KELLER et al., 2008).

Tabela 9: Principais dados das análises de HRMS dos derivados **6(a,f,j)**.

Derivado	Teórico	Experimental	Erro (ppm)
	<i>m/z</i> [M+Na] ⁺		
6a (H)	409,1389	409,1389	0
6f (3-Cl)	477,0609	477,0601	1,68
6j (4-Br)	566,9579	566,9589	1,76

Confirmou-se as estruturas moleculares dos derivados **6(a,f,j)** por meio das análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H, ¹³C e DEPT-135 (Espectros 51 a 59, Anexo I). Em todos os espectros foi possível observar sinais na região característica de prótons e carbonos aromáticos e metilênicos. Vale ressaltar que nos espectros de RMN de ¹H, para chegar ao número correto de hidrogênio, foi necessário multiplicar a integração de todos os sinais por dois, devido à simetria das bisamidas.

No espectro de RMN de ¹H do derivado **6a** (Figura 34), os hidrogênios *orto* (H₂'/H₆') foram identificados com δ 7,84 como um duplete com ³J 7,6 Hz. O sinal tripleto com δ 7,53 e ³J 7,6 Hz foi atribuído aos hidrogênios *meta* (H₃'/H₅'). O sinal referente ao hidrogênio *para* (H₄') foi identificado como um tripleto com δ 7,37 e ³J 7,6 Hz. Os prótons do pirazol geraram sinais simpletos com δ 9,03 (H₅) e δ 8,22 (H₃). Os hidrogênios da amida (H₂'') foram identificados como um sinal tripleto em 8,90 ppm e ³J 5,2 Hz. Os metilênicos (H₁''), por sua vez, geraram um tripleto com δ 4,82 e ³J 5,2 Hz. Os sinais observados com δ 3,35 e 2,50 foram atribuídos, respectivamente, aos hidrogênios da água, presente no solvente, e ao próton do DMSO.

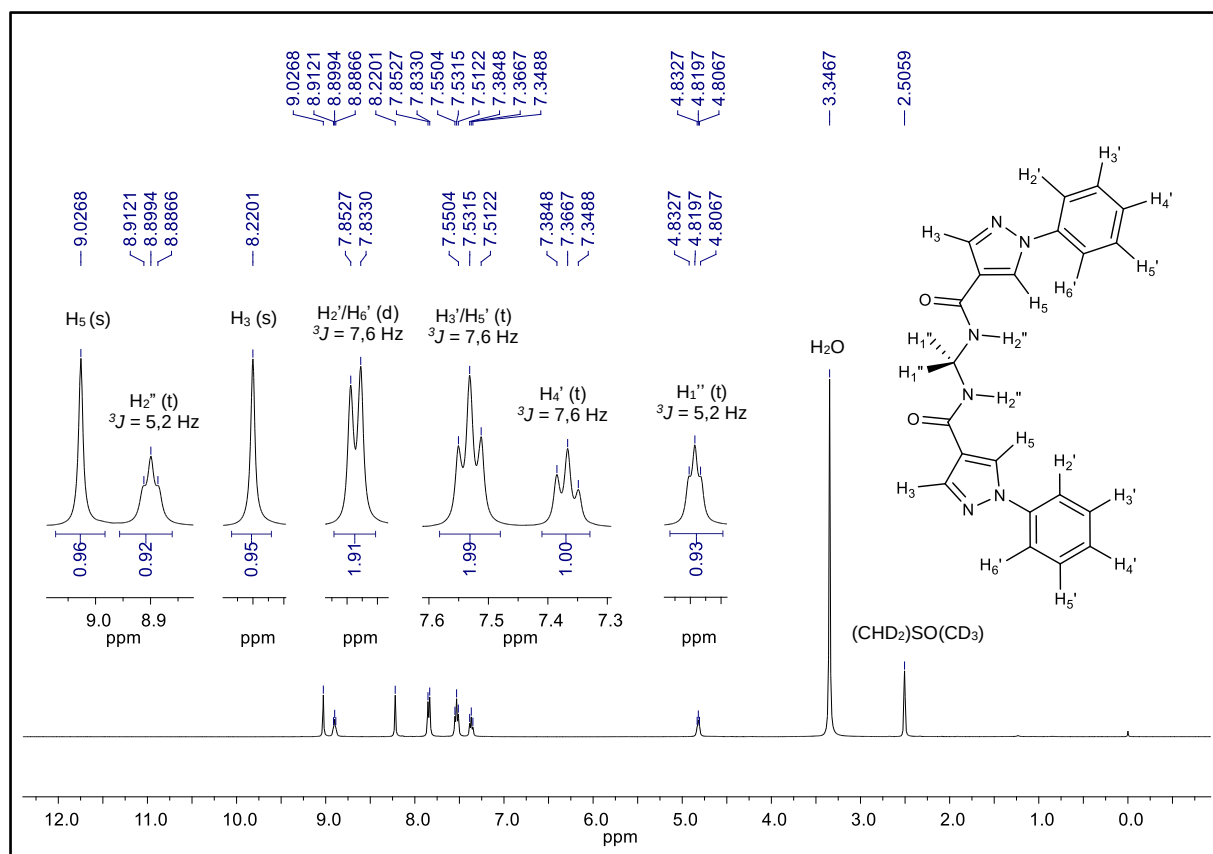


Figura 34: Espectro de RMN de ^1H do derivado **6a**.

No espectro de RMN de ^{13}C do derivado **6a** (Figura 35), os sinais relativos ao carbono carbonílico (C_1'') e o carbono metilênico (C_2'') foram identificados com δ 162,2 e 43,9, respectivamente. Os carbonos dos anéis pirazólico e benzênico (C_3 a C_5 e C_1' a C_6') geraram sete sinais na região típica de aromático, com δ 141,1 a 119,2. Os dados do espectro de DEPT-135 corroboram com essas atribuições, sendo que o sinal com δ 43,9 foi observado com fase negativa, o que confirmou a presença do grupo CH_2 na molécula. Além disso, os sinais com δ 162,2, 139,6 e 120,5, identificados no espectro de RMN de ^{13}C , não estão presentes no espectro de DEPT-135, o que está de acordo com o número de carbonos sem hidrogênios ligados (C_1'' , C_4 e C_1').

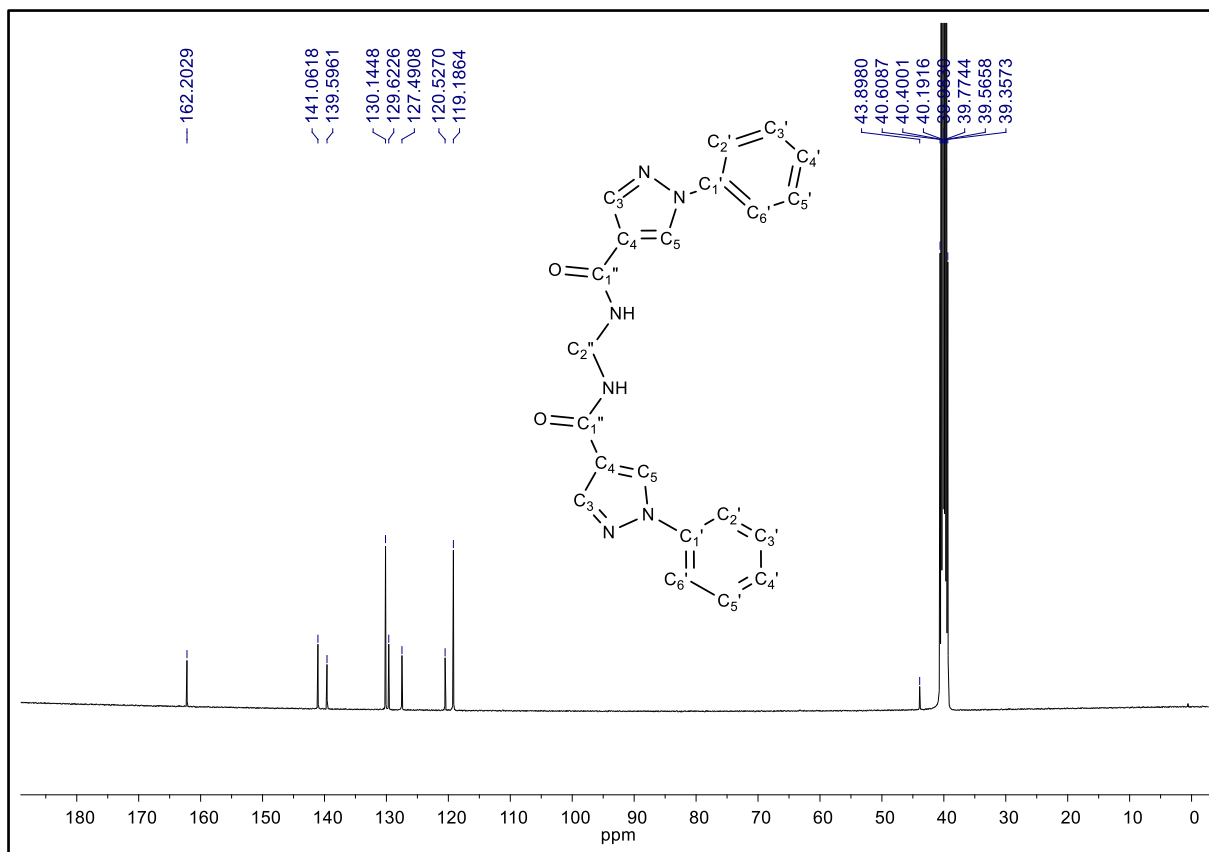


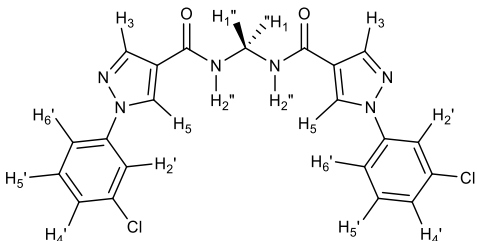
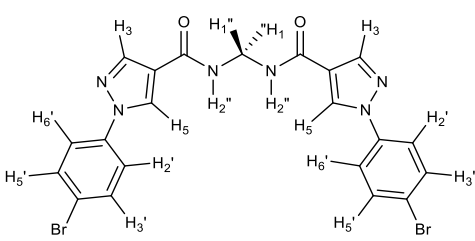
Figura 35: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **6a**.

Conforme disposto na Tabela 10, os prótons metilênicos (H_1'') dos derivados **6(f,j)** foram identificados nos espectros de RMN de ^1H como sinais simples com δ 4,81 e 4,77, respectivamente. O próton da amida (H_2'') gerou um sinal simples com δ 8,91 e 8,88 nos espectros de **6(f,j)**, nessa ordem.

Os prótons do núcleo pirazólico de **6f** geraram sinais simples com δ 9,10 (H_5) e 8,25 (H_3), enquanto que os átomos de hidrogênio dos anéis benzênicos foram identificados como: um sinal simples com δ 7,95 (H_2'); dois sinais dupletos com δ 7,84 (H_4' , ^3J 7,0 Hz) e 7,43 (H_6' , ^3J 7,0 Hz). O H_5' deveria gerar um tripeto, devido ao acoplamento com H_6' e H_4' , porém foi identificado um pseudotripeto (pt), com δ 7,55 e ^3J 7,0 Hz (Tabela 10).

No espectro de RMN de ^1H do derivado **6j** o sinal multipeto com δ 7,78-7,69 foi atribuído à ressonância dos prótons H_2' , H_3' , H_5' e H_6' do anel benzênico. Enquanto que os prótons do pirazol, (H_5 e H_3) foram identificados como sinais simples com δ 9,01 e 8,20, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10: Dados das análises de ^1H RMN dos derivados **6(f,j)**.

 6f  6j		
δ (multiplicidade, J, integração)		
H _{2'}	7,95 (s, 2H)	7,78-7,69 (m, 8H)
H _{3'}	-	7,78-7,69 (m, 8H)
H _{4'}	7,84 (d, 7,0 Hz, 2H)	-
H _{5'}	7,55 (pt, 7,0 Hz, 2H)	7,78-7,69 (m, 8H)
H _{6'}	7,43 (d, 7,0 Hz, 2H)	7,78-7,69 (m, 8H)
H ₃	8,25 (s, 2H)	8,20 (s, 2H)
H ₅	9,10 (s, 2H)	9,01 (s, 2H)
H _{1''}	4,81 (s, 2H)	4,77 (s, 2H)
H _{2''}	8,91 (s, 2H)	8,88 (s, 2H)

Os sinais referentes aos carbonos carbonílicos de **6(f,j)** foram identificados nos espectros de RMN de ^{13}C com δ 162,0 e 162,1, respectivamente, enquanto que os carbonos metilênicos geraram sinais com δ 43,9. Além disso, observou-se nesses espectros sinais na região na característica de sistemas aromáticos, com δ entre 141,4 e 117,7. Os sinais presentes nos espectros de DEPT-135 estão de acordo com o número de átomos de carbono com hidrogênios ligados em cada estrutura, sendo que em ambos os casos o sinal relativo ao carbono metilênico foi observado com fase negativa.

5.4. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS FINAIS

5.4.1. 5-amino-2-(5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-*yl*)-1,3,4-tiadiazol **1(a-l)**

Os produtos finais **1(a-l)** foram sintetizados a partir dos derivados **3(a-l)**, empregando-se tiossemicarbazida e ácido trifluoroacético, conforme o procedimento descrito na seção 4.1.7. Os compostos desejados foram obtidos com rendimentos de 26 a 72% e apresentaram faixas de fusão entre 130 e 323 °C (Figura 36).

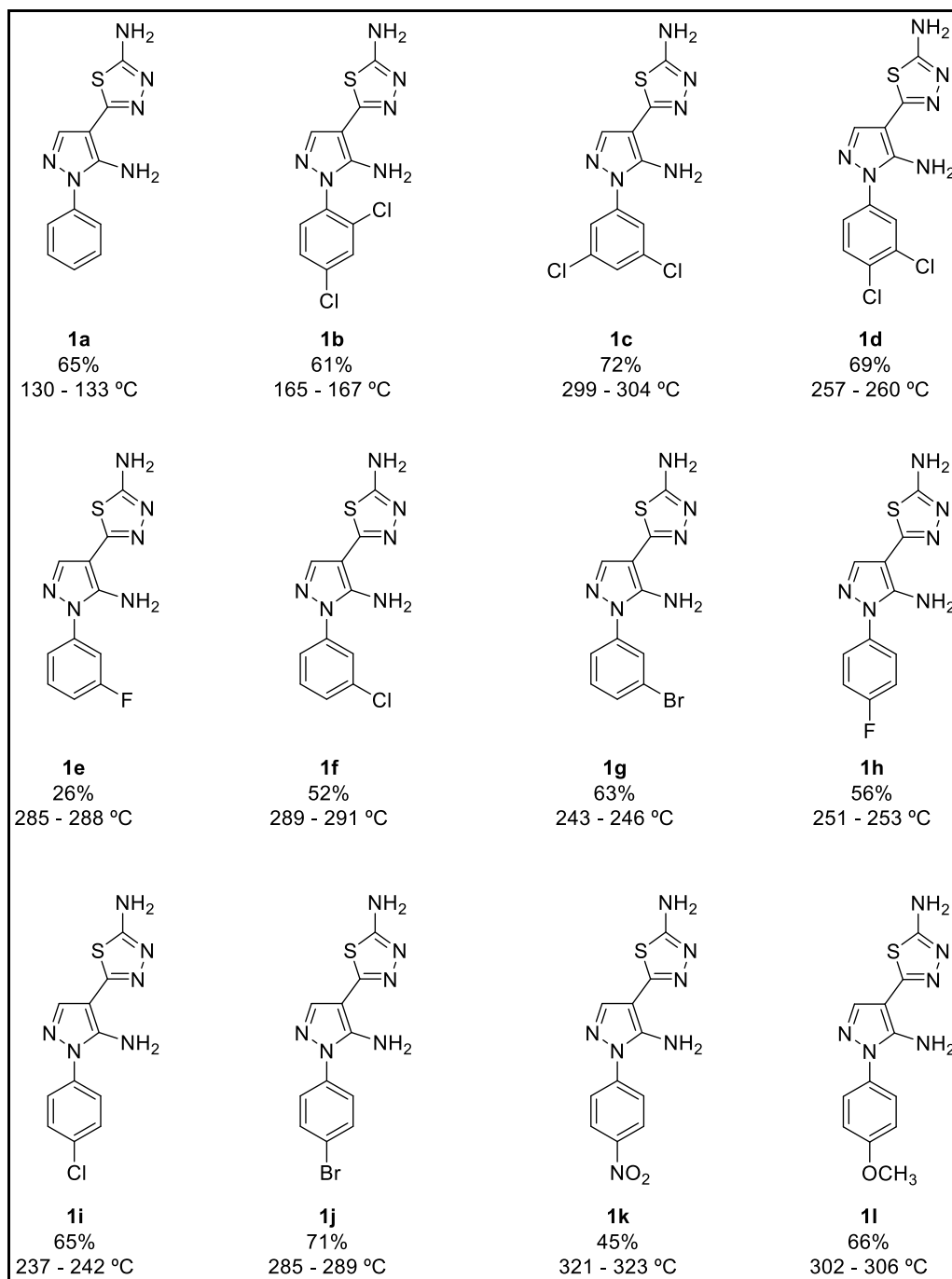
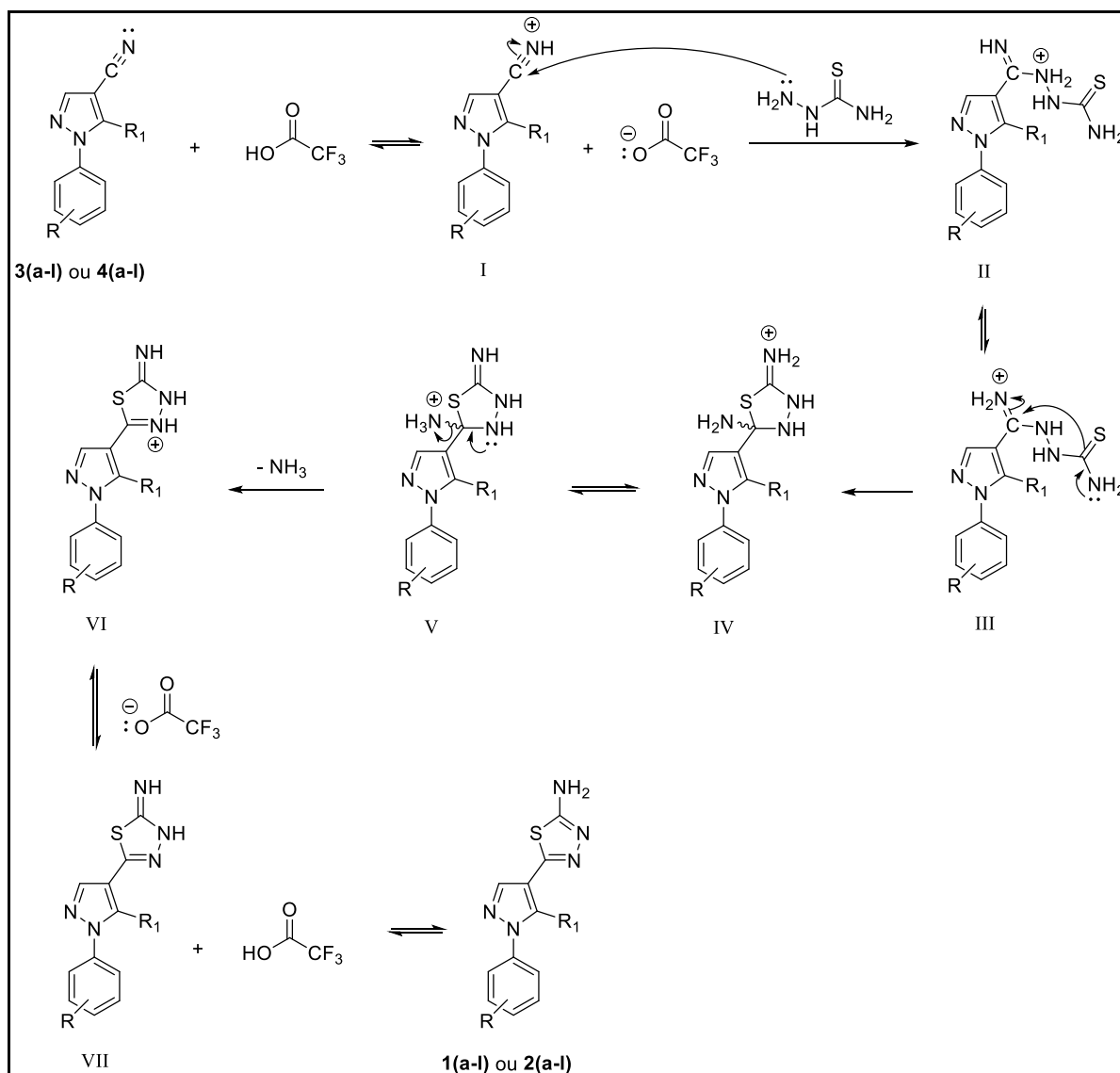


Figura 36: Representações estruturais, rendimentos e faixas de fusão dos derivados **1(a-l)**.

O mecanismo proposto para a formação de **1(a-l)** e **2(a-l)** inicia-se com a protonação da nitrila dos derivados **3(a-l)** ou **4(a-l)** pelo ácido trifluoroacético. Em seguida, o átomo de nitrogênio da tiossemicarbazida faz um ataque nucleofílico ao átomo de carbono nitrílico de I, dando origem ao intermediário II, que passa por um prototropismo para formar III. Esse intermediário sofre uma ciclização intramolecular, por meio de um ataque nucleofílico do átomo de enxofre ao átomo de carbono do tipo amidínico, o que dá origem a IV. Há um prototropismo e o átomo de nitrogênio do grupo amino é protonado, produzindo V, e, em seguida ocorre a eliminação de amônia, gerando o intermediário VI. Na sequência, há uma reação ácido-base, que regenera o ácido trifluoroacético e dá origem ao núcleo tiadiazólico na forma imina. Os produtos **1(a-l)** ou **2(a-l)** são formados por meio de um tautomerismo imina-enamina, em que a forma enamina é predominante (Esquema 33).



Esquema 33: Mecanismo da reação de formação dos produtos finais **1(a-l)** e **2(a-l)**.

As análises de FT-IR, HRMS e RMN de ^1H e ^{13}C confirmaram a obtenção dos produtos planejados **1(a-l)**. A seguir, será feita uma discussão dos principais resultados obtidos em cada uma dessas análises.

Constatou-se a ocorrência das reações analisando-se os espectros de infravermelho dos compostos obtidos (Espectros 60 a 71, Anexo J). O espectro do composto **1a** (Figura 37), por exemplo, não contém banda próxima a 2225 cm^{-1} , referente à nitrila, presente na matéria-prima **3a**. Esse padrão foi observado nos espectros dos demais compostos da série.

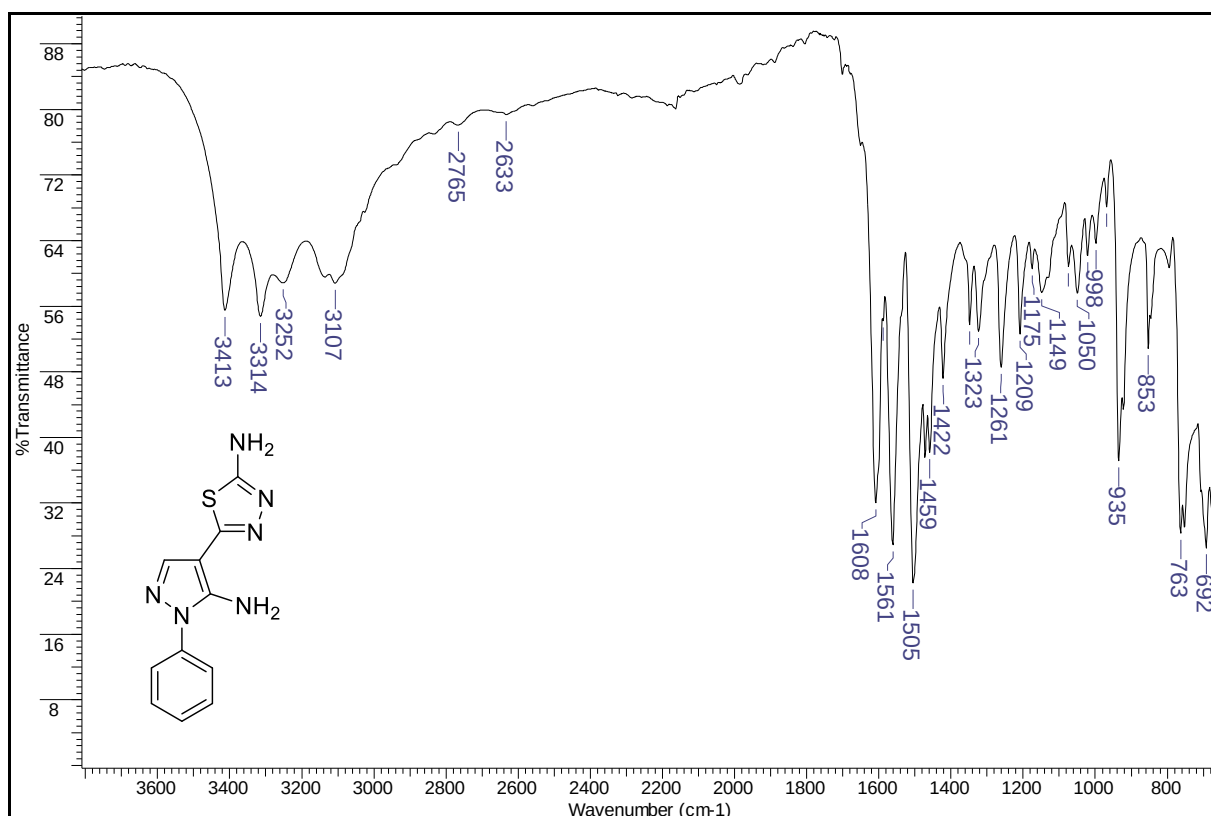
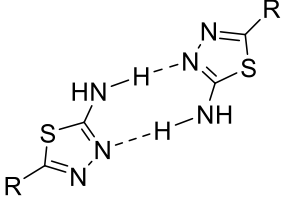


Figura 37: Espectro de infravermelho do derivado **1a**.

Além disso, nos espectros de infravermelho dos compostos **1(a-l)** foi possível identificar bandas na região de 1680 a 1443 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ dos anéis aromáticos (Tabela 11). O estiramento da ligação $\text{N}-\text{H}$ do grupo amino do anel tiadiazólico gerou uma banda larga e serrilhada entre 3467 a 2633 cm^{-1} , o que pode ser explicado pela disposição das moléculas no estado sólido. A formação do dímero representado na Tabela 11 é favorecida devido às ligações de hidrogênio que existem entre os átomos de hidrogênio do grupo amino de uma molécula com o átomo de nitrogênio do tipo imínico da outra. Esse tipo de interação é semelhante a que ocorre nos ácidos carboxílicos e devido a essas ligações

de hidrogênio o estiramento da ligação N–H aparece no espectro como uma banda larga e serrilhada.

Tabela 11: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **1(a-l)**.

		
Ligação química	N–H	C=C / C=N
Modo vibracional	ν	ν
1a (H)	3413 - 2633	1608 - 1459
1b (2,4-diCl)	3287 - 2650	1611 - 1470
1c (3,5-diCl)	3435 - 2668	1612 - 1455
1d (3,4-diCl)	3436 - 2637	1611 - 1470
1e (3-F)	3412 - 2643	1611 - 1448
1f (3-Cl)	3447 - 2643	1618 - 1443
1g (3-Br)	3443 - 2657	1614 - 1469
1h (4-F)	3458 - 2645	1668 - 1479
1i (4-Cl)	3389 - 2642	1680 - 1475
1j (4-Br)	3382 - 2645	1655 - 1490
1k (4-NO ₂)	3467 - 2639	1638 - 1502
1l (4-OCH ₃)	3376 - 2688	1651 - 1444

Por meio das análises de HRMS foi possível confirmar a obtenção dos produtos **1(a-l)**, sendo que nos espectros de massas os íons moleculares foram identificados como $[M+H]^+$ e $[M+Na]^+$ (Espectros 72 a 83, Anexo K). No caso dos compostos bromados, **1(g,j)**, o valor labelado no espectro é referente ao isótopo $M+2$. Como disposto na Tabela 12, os valores experimentais de m/z para o íon $[M+H]^+$ variam de 259,0773 a 338,9836, com erros de 0,34 a 5,31 ppm. Os íons $[M+Na]^+$ foram identificados com m/z entre 281,0592 e 360,9654, sendo que os erros variaram de 0,32 a 5,54 ppm.

Tabela 12: Principais dados das análises de HRMS dos derivados **1(a-l)**.

Derivado	Teórico	Experimental	Erro (ppm)	Teórico	Experimental	Erro (ppm)
	<i>m/z</i> [M+H] ⁺			<i>m/z</i> [M+Na] ⁺		
1a (H)	259,0760	259,0773	5,01	281,0580	281,0592	4,26
1b (2,4-diCl)	326,9981	326,9971	3,06	348,9800	348,9790	2,86
1c (3,5-diCl)	326,9981	326,9997	4,89	348,9800	348,9817	4,87
1d (3,4-diCl)	326,9981	326,9987	1,83	348,9800	348,9804	1,15
1e (3-F)	277,0666	277,0675	3,25	299,0486	299,0493	2,34
1f (3-Cl)	293,0371	293,0369	0,68	315,0190	315,0187	0,95
1g (3-Br)	338,9845 (M+2)	338,9827	5,31	360,9665 (M+2)	360,9645	5,54
1h (4-F)	277,0666	277,0653	4,69	299,0486	299,0471	5,01
1i (4-Cl)	293,0371	293,0365	2,05	315,0190	315,0183	2,22
1j (4-Br)	338,9845 (M+2)	338,9836	2,65	360,9665 (M+2)	360,9654	3,05
1k (4-NO ₂)	304,0611	304,0616	1,64	326,0431	326,0433	0,61
1l (4-OCH ₃)	289,0866	289,0867	0,34	311,0686	311,0685	0,32

Além disso, nos espectros de HRMS dos compostos diclorados **1(b-d)**, a intensidade do pico referente ao M+2 está de acordo com o esperado, com cerca de 2/3 da intensidade do pico do íon molecular. Nos espectros dos derivados monoclorados **1(f,i)** o pico do íon M+2 possui cerca de 1/3 da intensidade do pico do íon molecular, o que comprova a presença de um átomo de cloro nessas estruturas. O pico do íon M+2 no espectro dos compostos bromados **1(g,j)** foi identificado com intensidade aproximadamente igual a do pico referente ao íon molecular, o que corrobora com a abundância isotópica esperada para um composto monobromado.

No espectro de massas de alta resolução do composto **1a** (Figura 38) o íon molecular, $[M+H]^+$, gerou um pico com m/z igual a 259,0773, o que corrobora com o valor teórico, de 259,0760, com um erro de 5,01 ppm. Também foi possível identificar no espectro o íon molecular associado a um átomo de sódio, $[M+Na]^+$, com m/z 281,0592. O valor teórico de m/z para esse íon é de 281,0580, sendo assim o erro calculado foi de 4,26 ppm. Além disso, ainda foi possível observar nesse espectro um pico com m/z igual 539,1286, atribuído ao dímero do composto **1a** associado a um

átomo de sódio, ou seja, $[M_2Na]^+$, que possui um m/z teórico de 539,1268. O erro nesse caso foi de 3,34 ppm.

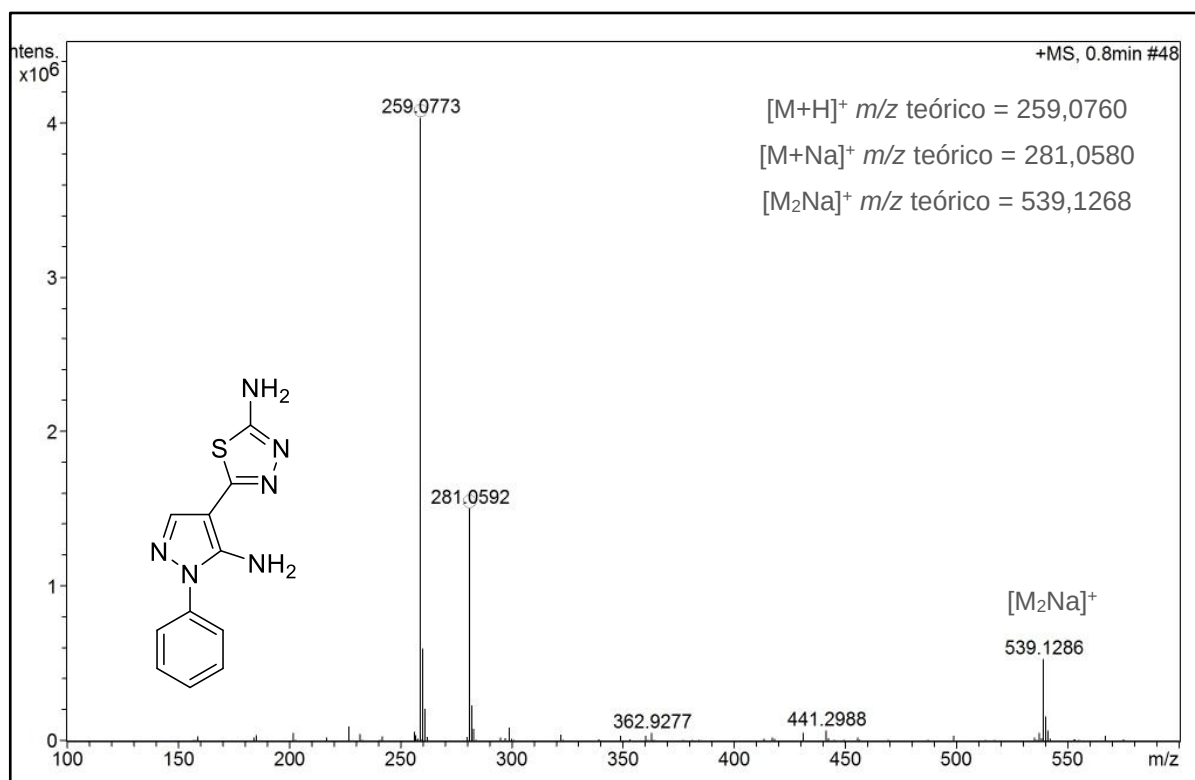


Figura 38: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1a**.

Os dados das análises de RMN de ^1H e ^{13}C estão de acordo com as estruturas propostas para os derivados **1(a-l)** (Espectros 84 a 107, Anexo L). O espectro de RMN de ^1H do derivado **1a** (Figura 39), por exemplo, contém sinais na região característica de prótons aromáticos, com multiplicidades típicas de um anel monossustituído. Nesse espectro, o sinal relativo aos prótons $H_{3'}$ e $H_{5'}$ foi observado como um tripleto com δ 7,54 (^3J 7,8 Hz), enquanto que $H_{2'}$ e $H_{6'}$ geraram um sinal duplete com δ 7,61 (^3J 7,8 Hz) e o sinal tripleto com δ 7,40 (^3J 7,8 Hz) foi atribuído ao $H_{4'}$. O próton do pirazol, H_3 , foi identificado no espectro como um sinal duplicado, com δ 7,68. Nesse caso, não há a possibilidade de acoplamento, portanto essa duplicação do sinal pode ser explicada por uma ligação de hidrogênio não clássica que ocorre entre H_3 e o átomo de nitrogênio do anel tiadiazólico. Essa interação causa uma pequena mudança na estrutura eletrônica de **1a**, o que acarreta em uma frequência de ressonância diferente para os prótons dessa estrutura, representada na Figura 40. Dessa forma, um dos sinais é relativo ao H_3 da conformação onde há a ligação de hidrogênio e o outro referente ao H_3 da estrutura que não possui essa interação. Vale ressaltar que essa hipótese está sendo investigada por meio de experimentos de ^1H

RMN, realizados em diferentes temperaturas. Serão realizados experimentos de correlação caso esse aparente desdobramento seja identificado nos espectros adquiridos em maiores temperaturas. Além disso, esse fenômeno também foi observado no espectro do derivado **1b**.

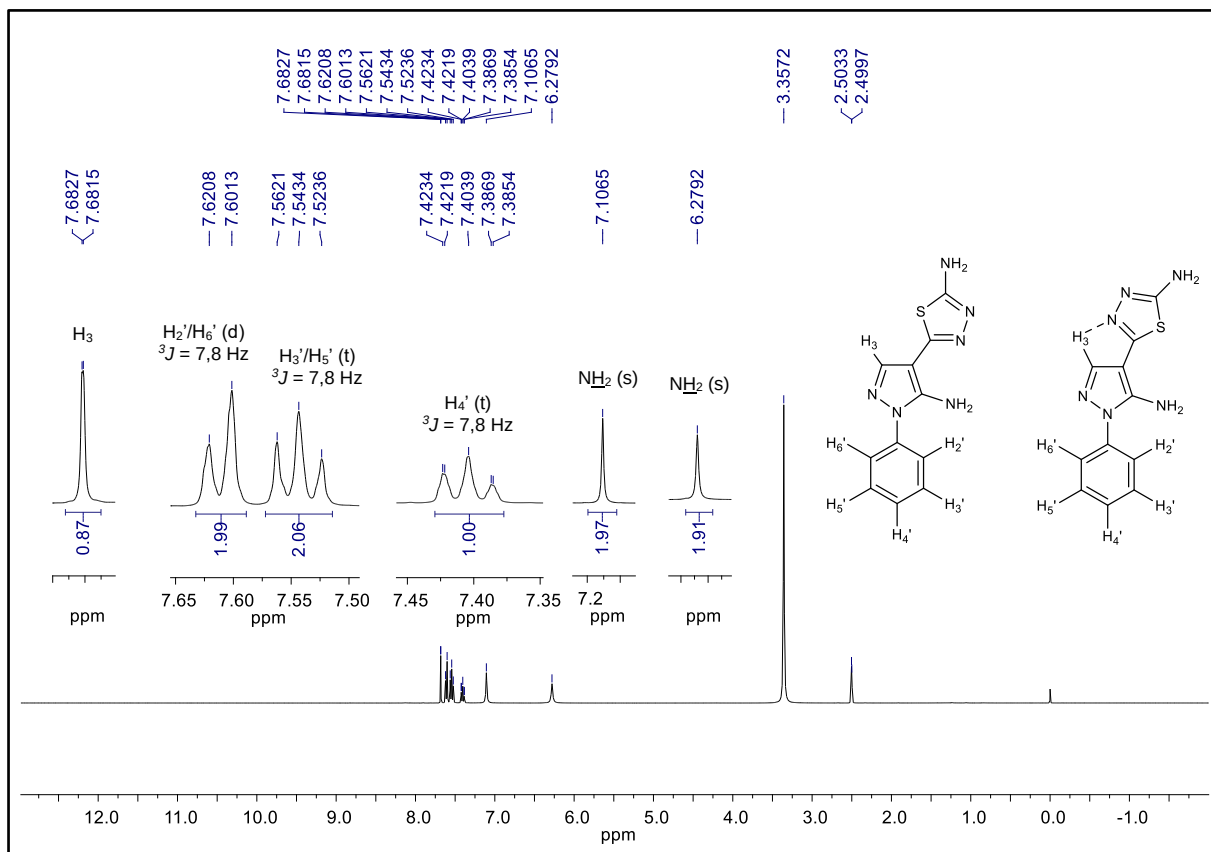


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H do derivado **1a**.

Foram observados no espectro de RMN de ^{13}C do derivado **1a** (Figura 40) nove sinais na região típica de sistemas aromáticos, com δ entre 165,4 a 96,2. No espectro dos demais derivados, **1(b-l)**, esses sinais foram identificados com δ na região de 165,8 a 94,4. Além disso, nos espectros dos compostos **1(i,j)** ainda foi possível observar sinais quartetos com δ 157,7 e 115,0 de baixa intensidade, os quais foram atribuídos aos átomos de carbono do ácido trifluoroacético, sendo que o primeiro sinal é referente ao carbono carbonílico e o segundo ao carbono do grupo trifluorometil. Portanto, ambos os produtos serão purificados e reanalisados.

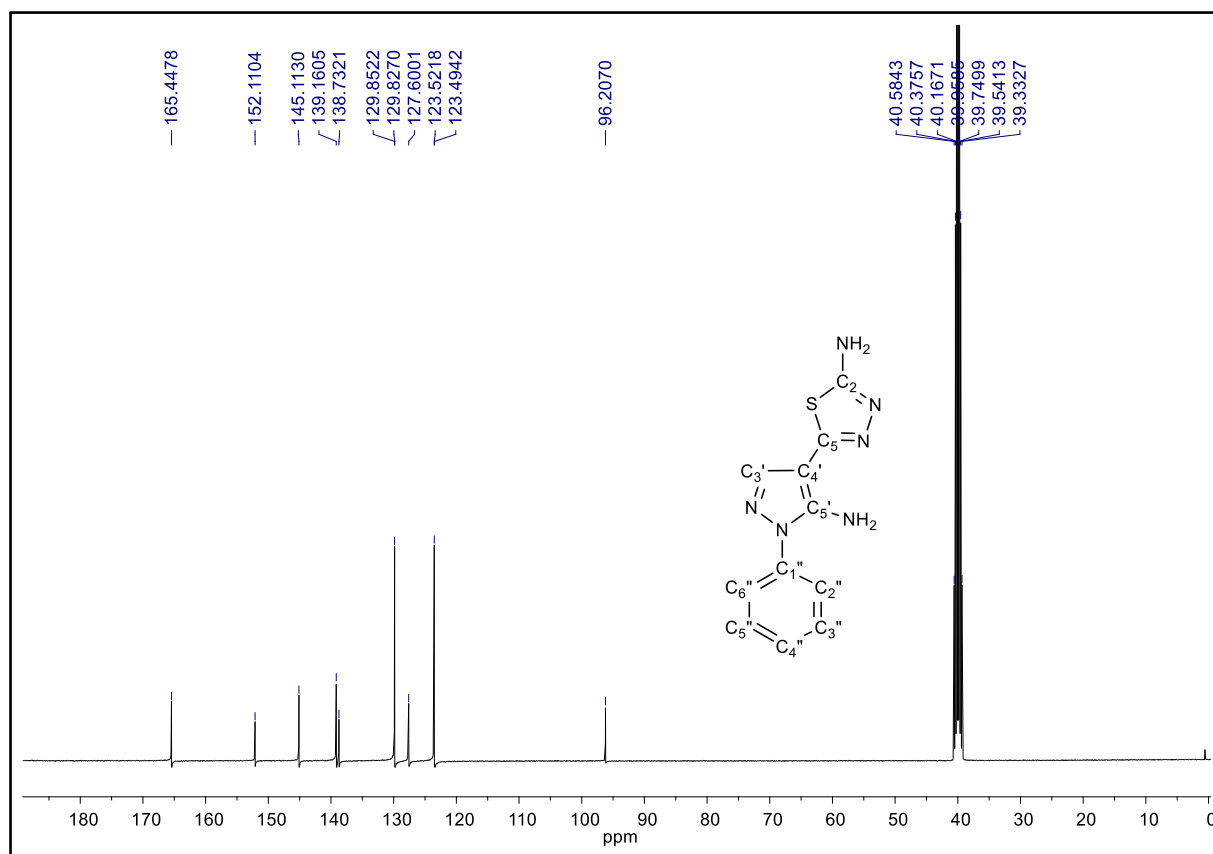


Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **1a**.

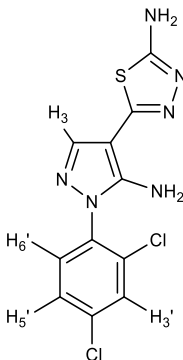
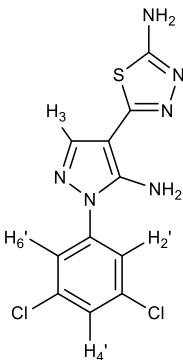
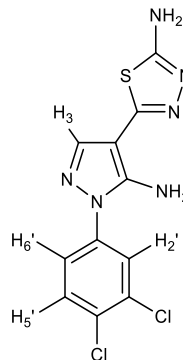
As Tabelas 13 a 15 contêm os deslocamentos químicos, as multiplicidades, as constantes de acoplamento e as integrações dos sinais encontrados nos espectros de ^1H RMN dos derivados diclorados **1(b-d)**, *meta*-substituídos **1(e-g)** e *para*-substituídos **1(h-l)**, respectivamente. O sinal simpleto referente ao próton do pirazol, H₃, foi identificado nesses espectros com δ na região de 7,84 a 7,62. Já os sinais dos prótons dos grupos amino do tiadiazol e do pirazol dos derivados **1(a-h,k,l)** foram identificados nos espectros como simpletos com δ na faixa de 7,16 a 7,06 e 6,62 a 6,13, respectivamente. Nos espectros dos derivados **1(i,j)** tais sinais não foram observados. A discussão dos dados referentes aos sinais dos prótons benzênicos será feita a seguir.

Discussão dos dados de RMN de ^1H dos prótons benzênicos dos derivados diclorados 1(b-d)

No espectro de RMN de ^1H do derivado **1b** o sinal relativo aos prótons H_{5'} e H_{6'} foram identificados como um multipletto com δ 7,62 a 7,55. O próton H_{3'} gerou um sinal com δ 7,89. No espectro do composto **1c**, o sinal referente ao H_{4'} foi observado como

um tripleto com δ 7,64 (^4J 1,7 Hz) e os prótons H_2' e H_6' geraram um sinal duplete com δ 7,69 (^4J 1,7 Hz). Os sinais relativos ao H_2' e ao H_5' do derivado **1d** foram identificados como dupletos com δ 7,88 (^4J 2,4 Hz) e 7,79 (^3J 8,7 Hz), respectivamente, e o duplete de dupletos com δ 7,64 (^3J 8,7 Hz e ^4J 2,4 Hz) foi atribuído ao H_6' (Tabela 13). Vale ressaltar que as análises de RMN de ^1H dos compostos **1(b-d)** revelaram pequenas contaminações, de modo que o grau de impureza desses derivados não excedeu o valor de 10%.

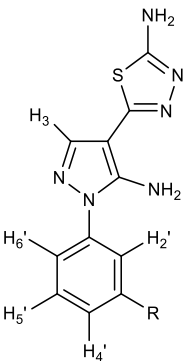
Tabela 13: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **1(b-d)**.

			
1b	1c	1d	
δ (multiplicidade, J, integração)			
H ₂ '	-	7,69 (d, 1,7 Hz, 2H)	7,88 (d, 2,4 Hz, 1H)
H ₃ '	7,89 (1H)	-	-
H ₄ '	-	7,64 (t, 1,7 Hz, 1H)	-
H ₅ '	7,62-7,55 (m, 2H)	-	7,79 (d, 8,7 Hz, 1H)
H ₆ '	7,62-7,55 (m, 2H)	7,69 (d, 1,7 Hz, 2H)	7,64 (dd, 8,7 Hz, 2,4 Hz, 1H)
H ₃	7,66 (1H)	7,76 (s, 1H)	7,74 (s, 1H)
NH ₂	7,06 (s, 2H)	7,14 (s, 2H)	7,14 (s, 2H)
NH ₂	6,23 (s, 2H)	6,53 (s, 2H)	6,46 (s, 2H)

*Discussão dos dados de RMN de ^1H dos prótons benzênicos dos derivados meta-substituídos **1(e-g)***

O sinal referente ao próton H_2' dos compostos **1(e-g)** foi identificado nos espectros com δ na faixa de 7,81 a 7,46, enquanto H_4' gerou um sinal com δ que variou de 7,67 a 7,46. O sinal referente ao H_5' foi observado com δ entre 7,56 e 7,24 e H_6' foi identificado na região com δ de 7,62 a 7,46. Conforme consta na Tabela 14, as multiplicidades dos sinais foram diversificadas. Além disso, constatou-se que o composto **1g** continha uma pequena contaminação, com um grau de impureza de aproximadamente 5%.

Tabela 14: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **1(e-g)**.

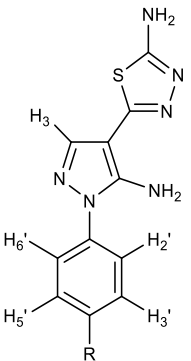
			
H	1e (R = F)	1f (R = Cl)	1g (R = Br)
δ (multiplicidade, J, integração)			
H_2'	7,61-7,46 (m, 3H)	7,68 (s, 1H)	7,81 (t, 1,9 Hz, 1H)
H_4'	7,61-7,46 (m, 3H)	7,46 (d, 8,0 Hz, 1H)	7,67-7,64 (m, 1H)
H_5'	7,24 (td, 8,7 Hz, 2,2 Hz, 1H)	7,56 (t, 8,0 Hz, 1H)	7,50 (t, 8,0 Hz, 1H)
H_6'	7,61-7,46 (m, 3H)	7,62 (d, 8,0 Hz, 1H)	7,61-7,59 (m, 1H)
H_3	7,72 (s, 1H)	7,72 (s, 1H)	7,72 (s, 1H)
NH_2	7,12 (s, 2H)	7,12 (s, 2H)	7,13 (s, 2H)
NH_2	6,42 (s, 2H)	6,41 (s, 2H)	6,41 (s, 2H)

*Discussão dos dados de RMN de ^1H dos prótons benzênicos dos derivados para-substituídos **1(h-l)***

Nos derivados *para*-substituídos **1(h-l)** a ressonância dos prótons H_2' e H_6' gerou um sinal com δ de 7,96 a 7,48, enquanto que os prótons H_3' e H_5' foram

identificados nos espectros com δ entre 8,39 e 7,08 (Tabela 15). No espectro do composto **1l** ainda foi possível observar um sinal com δ 3,82, o qual foi atribuído à ressonância dos prótons do grupo metoxi. Por meio dessas análises confirmou-se a presença de contaminantes nos compostos **1(k,l)**, na proporção de 5 e 11%, respectivamente. Além disso, vale destacar, que as multiplicidades dos sinais em cada espectro não possuem o mesmo perfil.

Tabela 15: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **1(h-l)**.

					
H	1h (R = F)	1i (R = Cl)	1j (R = Br)	1k (R = NO ₂)	1l (R = OCH ₃)
δ (multiplicidade, J, integração)					
H ₂ '/H ₆ '	7,63 (dd, 8,8 Hz, 4,9 Hz, 2H)	7,65-7,59 (m, 4H)	7,73 (d, 8,8 Hz, 2H)	7,96 (d, 9,0 Hz, 2H)	7,48 (d, 8,8 Hz, 2H)
H ₃ '/H ₅ '	7,38 (t, 8,8 Hz, 2H)	7,65-7,59 (m, 4H)	7,57 (d, 8,8 Hz, 2H)	8,39 (d, 9,0 Hz, 2H)	7,10-7,08 (m, 4H)
H ₃	7,67 (s, 1H)	7,78 (s, 1H)	7,76 (s, 1H)	7,84 (s, 1H)	7,62 (s, 1H)
NH ₂	7,10 (s, 2H)	-	-	7,16 (s, 2H)	7,10-7,08 (m, 4H)

5.4.2. 5-amino-2-(1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-*il*)-1,3,4-tiadiazol **2(a-l)**

Como descrito na seção 4.1.7, os produtos finais **2(a-l)** foram sintetizados a partir da reação entre os intermediários-chave **4(a-l)**, a tiossemicarbazida e o ácido trifluoroacético. Os compostos desejados foram obtidos com rendimentos de 20 a 91% e apresentaram faixas de fusão entre 283 e 342 °C (Figura 41). O mecanismo proposto para a formação desses derivados está representado no Esquema 33 (página 78).

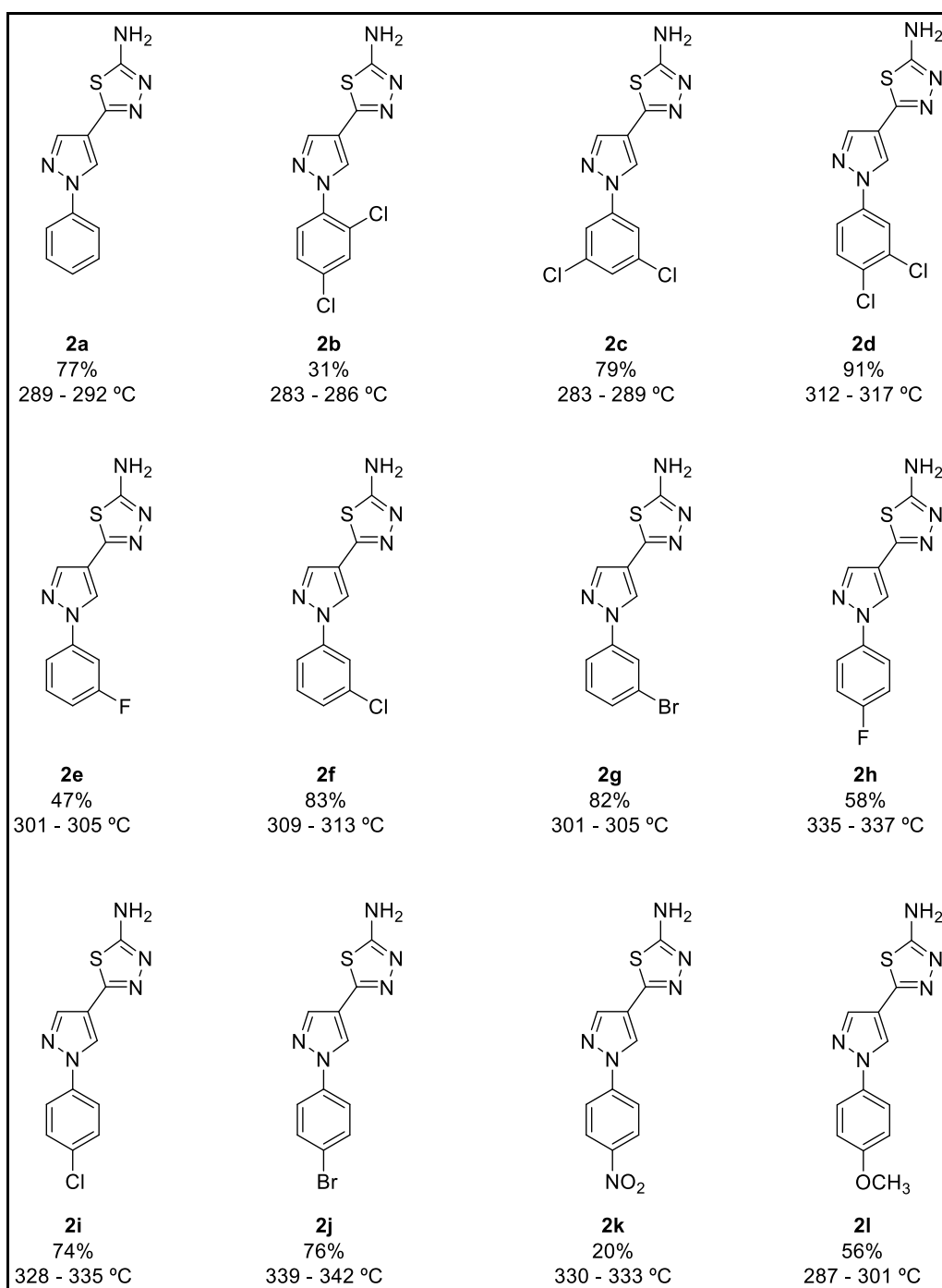


Figura 41: Representações estruturais, rendimentos e faixas de fusão dos derivados **2(a-l)**.

Os produtos finais **2(a-l)** foram caracterizados por FT-IR, HRMS e RMN de ^1H e ^{13}C . A seguir será feita uma discussão dos resultados obtidos em cada uma dessas análises.

As análises de FT-IR comprovaram a ocorrência das reações, pois nos espectros dos compostos sintetizados não foi possível observar nenhuma banda próxima a 2240 cm^{-1} , referente à nitrila (Espectros 108 a 119, Anexo M). Além disso, identificou-se nesses espectros uma banda larga e serrilhada na faixa de 3402 a 2647 cm^{-1} , a qual pode ser atribuída ao estiramento da ligação N–H do grupo amino do anel tiadiazólico, como já discutido anteriormente para os derivados **1(a-l)**. As bandas referentes às vibrações das ligações C=C e C=N dos anéis aromáticos foram observadas na região entre 1651 e 1459 cm^{-1} (Tabela 16).

Tabela 16: Principais dados das análises de FT-IR dos derivados **2(a-l)**.

Ligação química	N–H	C=C / C=N
Modo vibracional	ν	ν
2a (H)	3089 - 2647	1635 - 1467
2b (2,4-diCl)	3255 - 2670	1617 - 1464
2c (3,5-diCl)	3291 - 2666	1651 - 1468
2d (3,4-diCl)	3278 - 2658	1631 - 1481
2e (3-F)	3385 - 2652	1638 - 1461
2f (3-Cl)	3381 - 2657	1649 - 1487
2g (3-Br)	3385 - 2661	1622 - 1466
2h (4-F)	3267 - 2692	1635 - 1509
2i (4-Cl)	3272 - 2680	1627 - 1499
2j (4-Br)	3273 - 2677	1626 - 1467
2k (4-NO ₂)	3267 - 2690	1632 - 1505
2l (4-OCH ₃)	3402 - 2651	1611 - 1459

Diferentemente dos compostos **1(a-l)**, os derivados **2(a-l)** não possuem o grupo amino no anel pirazólico. Portanto, as bandas observadas na região de 3402 a 2647 cm^{-1} não possuem interferências do estiramento de outras ligações N–H, o que sustenta a hipótese de que esses derivados amino-tiadiazólicos organizam-se, no estado sólido, como dímeros, por meio de interações por ligação de hidrogênio. Essas

interações ocorrem entre o grupo amino de uma molécula com o átomo de nitrogênio do anel tiadiazólico de outra, como representado na Figura 43. Como pode ser observado no espectro do composto **2a** (Figura 42), essas interações por ligação de hidrogênio causam o alargamento e serrilhamento da banda entre 3089 a 2647 cm^{-1} , referente à vibração da ligação N–H.

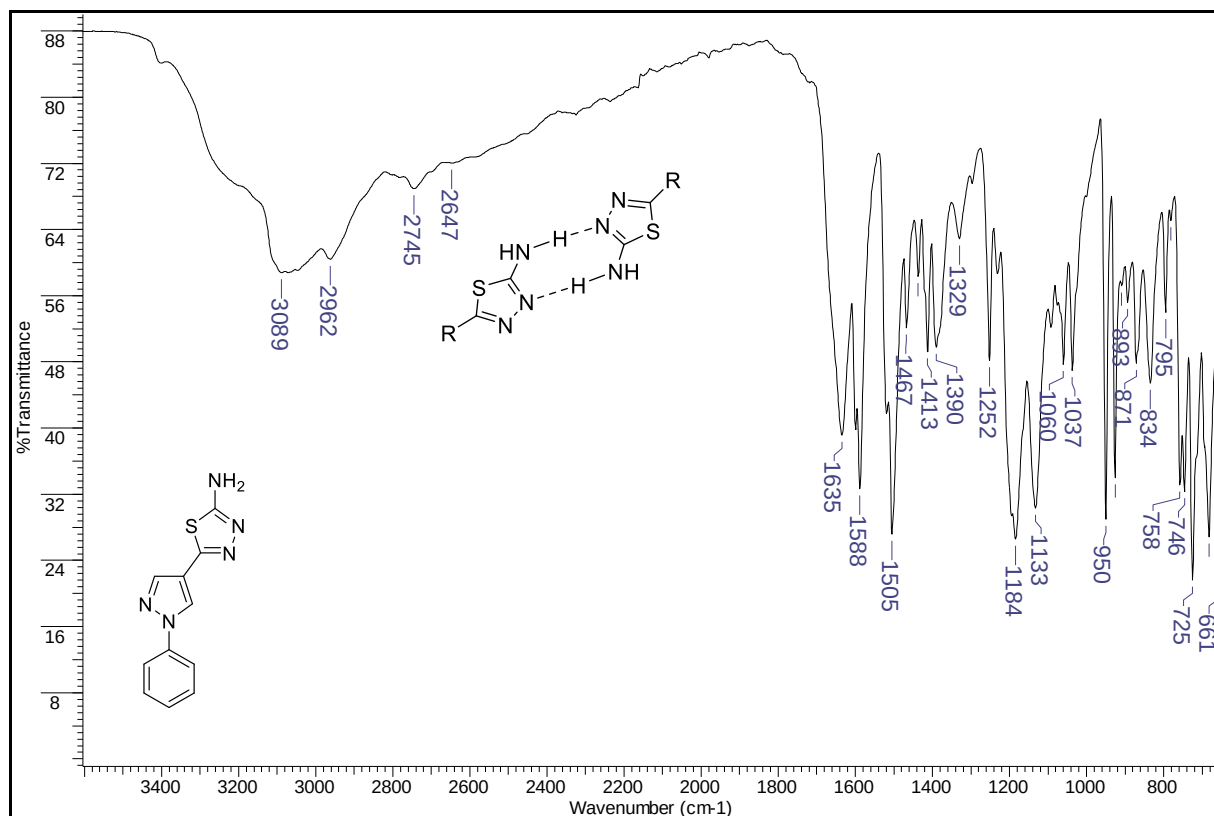


Figura 42: Espectro de infravermelho do derivado **2a**.

As análises de HRMS confirmaram a obtenção dos derivados propostos, sendo que nos espectros de massas de **2(a-l)** os íons moleculares foram identificados como $[M+H]^+$, com m/z variando de 244,0656 a 323,9748 e com erros entre 0,36 e 6,09 ppm (Espectros 120 a 131, Anexo N). Todos os demais espectros também continham um pico referente ao íon molecular associado a um átomo de sódio, com exceção do espectro do derivado **2d**. O pico referente ao $[M+Na]^+$ foi observado com m/z na faixa de 266,0473 a 345,9566, sendo que os erros encontrados variam de 0,67 a 5,09 ppm (Tabela 17).

Vale ressaltar que nos espectros de HRMS dos compostos diclorados **2(b-d)** o pico referente ao íon $M+2$ foi observado com 2/3 da intensidade do pico do íon molecular, o que está de acordo com o esperado. O pico do íon $M+2$ dos derivados monoclorados **2(f,i)** foi identificado nos espectros com 1/3 da intensidade relativa do

pico do íon molecular, o que comprovou a presença de um átomo de cloro nessa estrutura. Confirmou-se a presença de um átomo de bromo nas estruturas de **2(g,i)** analisando-se o pico do íon $M+2$, que, como previsto, possui aproximadamente a mesma intensidade do íon molecular.

Tabela 17: Principais dados das análises de HRMS dos derivados **2(a-l)**.

Derivado	Teórico	Experimental	Erro (ppm)	Teórico	Experimental	Erro (ppm)
	m/z $[M+H]^+$			m/z $[M+Na]^+$		
2a (H)	244,0651	244,0656	2,05	266,0471	266,0473	0,75
2b (2,4-diCl)	311,9872	311,9865	2,24	333,9691	333,9683	2,39
2c (3,5-diCl)	311,9872	311,9853	6,09	333,9691	333,9674	5,09
2d (3,4-diCl)	311,9872	311,9880	2,56	333,9691	-	-
2e (3-F)	262,0557	262,0570	4,96	284,0377	284,0388	3,87
2f (3-Cl)	278,0262	278,0263	0,36	300,0081	300,0083	0,67
2g (3-Br)	323,9736 ($M+2$)	323,9742	1,85	345,9576 ($M+2$)	345,9561	4,33
2h (4-F)	262,0557	262,0567	3,81	284,0377	284,0385	2,82
2i (4-Cl)	278,0262	278,0272	3,60	300,0081	300,0093	4,00
2j (4-Br)	323,9736 ($M+2$)	323,9748	3,70	345,9576 ($M+2$)	345,9566	2,89
2k (4-NO ₂)	289,0502	289,0500	0,69	311,0322	311,0317	1,61
2l (4-OCH ₃)	274,0757	274,0752	1,82	296,0577	296,0570	2,36

A Figura 43 contém o espectro de massas de alta resolução do derivado **2a**, nele é possível observar o íon $[M+H]^+$ com m/z igual a 244,0656, sendo que o valor teórico é de 244,0651, dessa forma o erro experimental é de 2,05 ppm. Também é possível identificar no espectro o pico referente ao íon $[M+Na]^+$ com m/z de 266,0473, de modo que o valor teórico de m/z para esse íon é de 266,0471, sendo assim o erro é igual a 0,75 ppm. O pico com m/z igual a 509,1058 pode ser atribuído ao dímero do íon molecular associado a um átomo de sódio ($[M_2Na]^+$) que possui um valor de m/z teórico de 509,1050, portanto o erro entre os valores experimental e teórico é de 1,57 ppm.

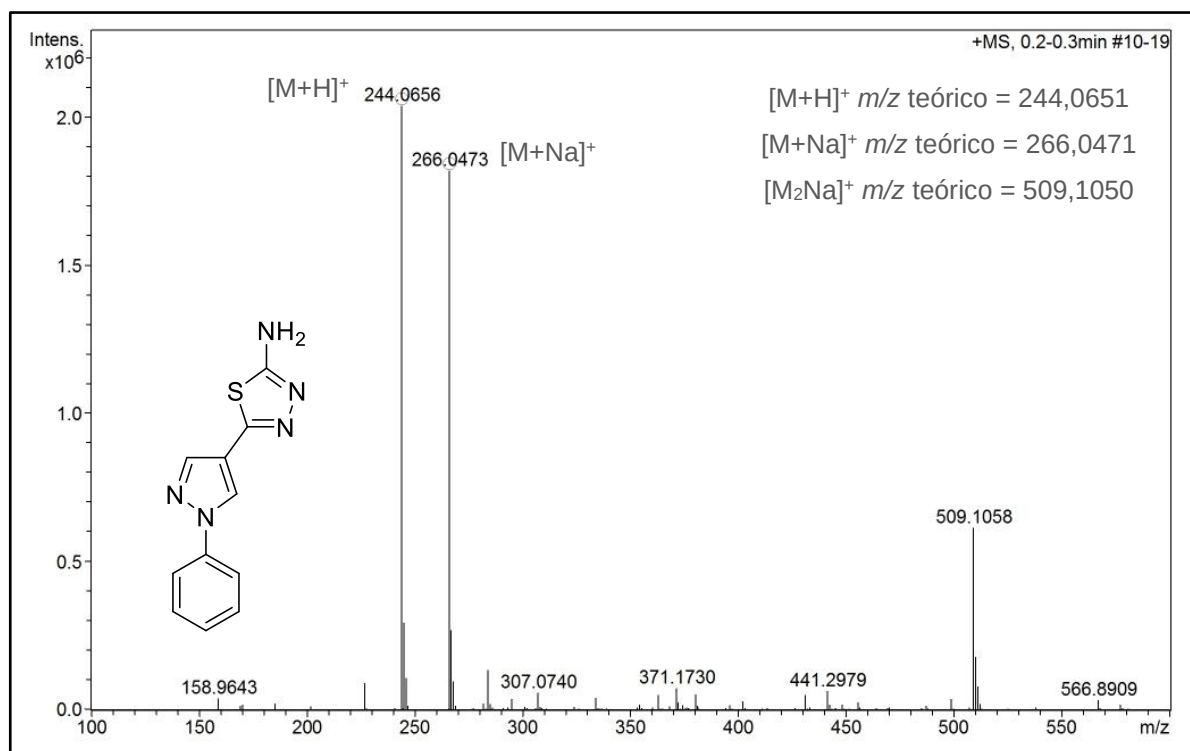


Figura 43: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2a**.

Confirmou-se as estruturas propostas para os compostos sintetizados por meio das análises de RMN de ¹H e ¹³C, sendo que nos espectros dos derivados **2(a-l)** foi possível identificar sinais na região típica de prótons e carbonos aromáticos (Espectros 132 a 155, Anexo O). A seguir será feita uma discussão sobre os principais resultados obtidos em cada análise.

Como disposto na Figura 44, o espectro de RMN de ¹H do derivado **2a** contém um sinal simpleto com δ 8,17, referente ao H₃ do núcleo pirazólico, e um sinal triplete com δ 7,38 (³J 7,5 Hz), atribuído ao H_{4'} do anel benzênico. Além disso, o sinal relativo ao H_{2'} e ao H_{6'} foi identificado nesse espectro como um duplete com δ 7,90 e ³J 7,5 Hz, enquanto que os prótons H_{3'} e H_{5'} geraram um sinal triplete com δ 7,55 e ³J 7,5 Hz. A ressonância de H₅ do pirazol resultou em um sinal duplicado, como no caso do derivado **1a**. Como já mencionado, esse fenômeno pode ser explicado pela ligação de hidrogênio não clássica que acontece entre esse átomo de hidrogênio e o átomo de nitrogênio do anel tiadiazólico. Vale ressaltar que essa interação pode ocorrer em H₅ e H₃, como observado nos espectros dos compostos **2(b,l)**, cujos sinais de ambos os prótons pirazólicos aparecem duplicados.

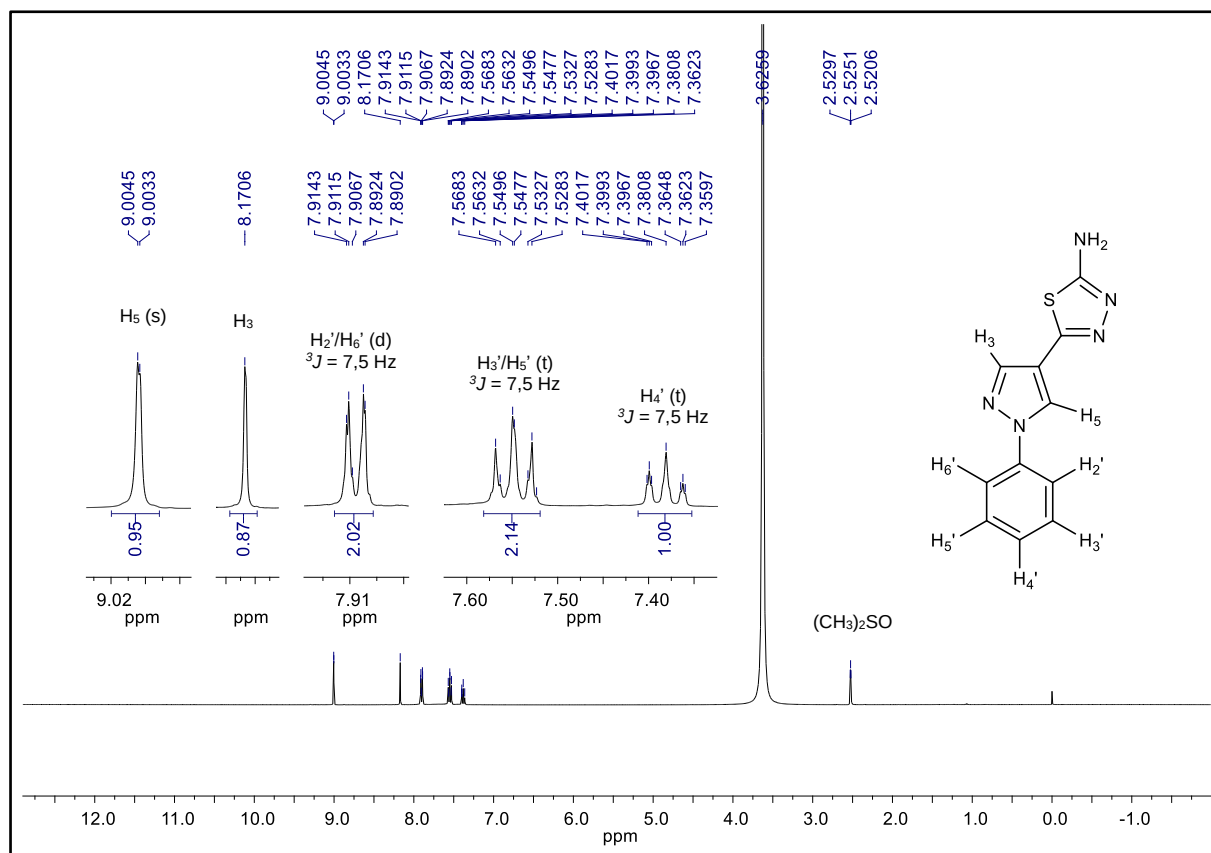


Figura 44: Espectro de RMN de ^1H do derivado **2a**.

No espectro de RMN de ^{13}C do derivado **2a** (Figura 45) é possível observar os sinais referentes aos carbonos dos anéis pirazólico, benzênico e tiadiazólico com δ na faixa de 168,1 a 115,6. Também é possível observar no espectro sinais com δ próximo de 160, os quais podem ser atribuídos ao carbono carbonílico do ácido trifluoroacético. No espectro dos demais compostos, **2(b-l)**, os sinais relativos aos carbonos aromáticos foram observados com δ de 168,4 a 115,3. Além disso, foi observado no espectro do derivado **2l** um sinal com δ 55,9, atribuído ao carbono do grupo metóxi

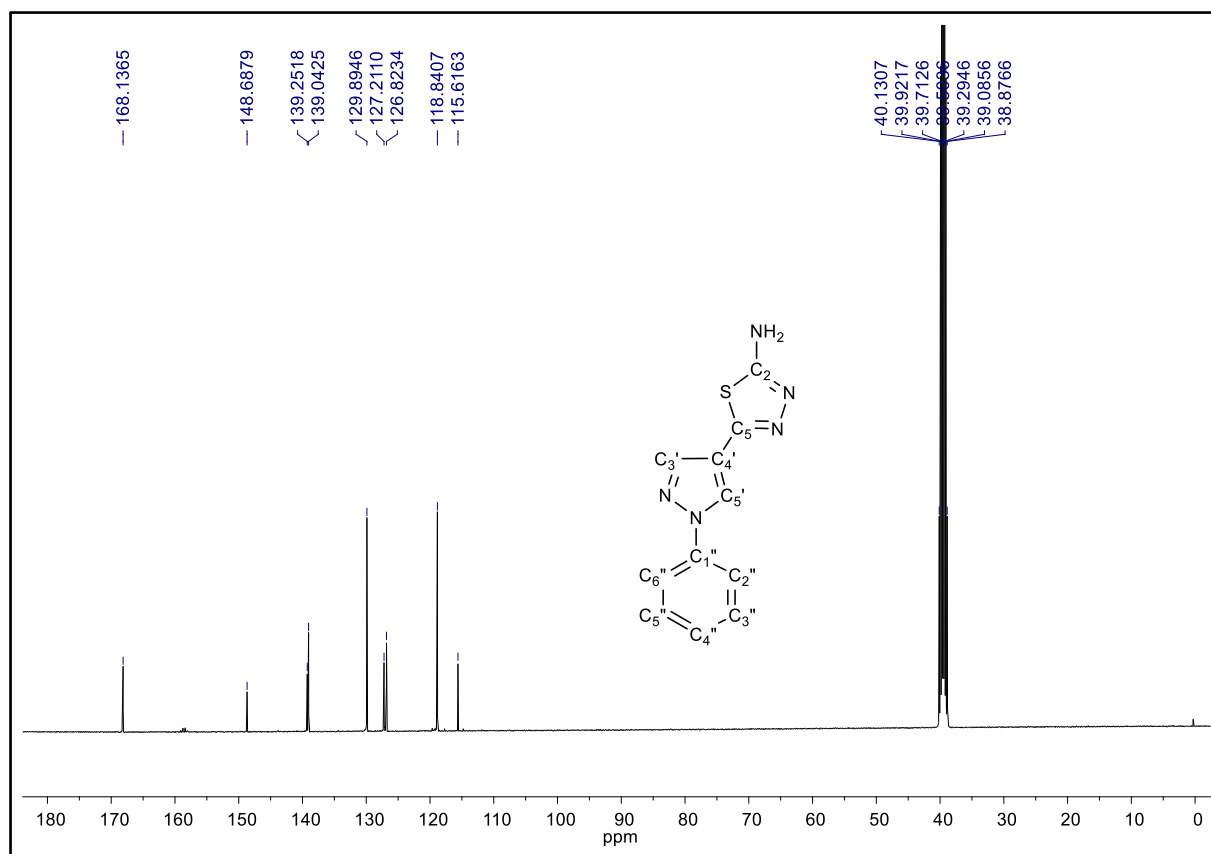


Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C do derivado **2a**.

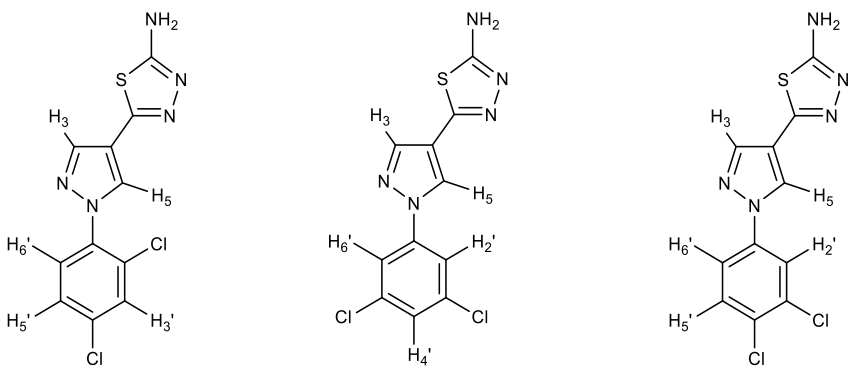
Para os demais derivados, **2(b-l)**, os sinais referentes aos prótons do pirazol, H₃ e H₅, foram identificados nos espectros de RMN de ^1H com δ na faixa de 8,26 a 8,10 e 9,14 a 8,61, respectivamente. O sinal dos prótons do grupo amino não foram observados nos espectros de **2(d,e,j,l)**, no entanto nos espectros de **2(b,c,f-i,k)** eles geraram sinais com δ entre 7,35 e 7,28. A seguir será discutido os resultados dos sinais referentes aos prótons dos anéis benzênicos dos compostos diclorados **2(b-d)**, *meta*-substituídos **2(g,f)** e *para*-substituídos **2(h-l)**, os quais estão dispostos nas Tabelas 18 a 20.

Discussão dos dados de RMN ^1H dos prótons benzênicos dos derivados diclorados 2(b-d)

No espectro do derivado **2b** o sinal referente ao próton H₃' foi identificado como um duplete com δ 7,91 (^4J 2,2 Hz), enquanto que a ressonância do próton H₅' gerou um duplete de dupletos com δ 7,63 (^3J 8,5 Hz e ^4J 2,2 Hz). O sinal do próton H₆' foi observado como um duplete com δ 7,69 (^3J 8,5 Hz). Os prótons H₂' e H₆' do derivado **2c** foram identificados no espectro como um sinal duplete com δ 7,97 (^4J 1,3 Hz) e o

H₄' gerou um sinal pseudotripleto com δ 7,54 e ^4J 1,3 Hz. No espectro do derivado **2d** o duplete com δ 8,20 (^4J 2,6 Hz) foi atribuído ao próton H₂', enquanto que o sinal referente ao H₅' foi observado como um duplete com δ 7,78 (^3J 8,8 Hz). O sinal do próton H₆' foi identificado no espectro como um duplete de dupletos com δ 7,91 (^3J 8,8 Hz e ^4J 2,6 Hz) (Tabela 18). Por meio dessas análises constatou-se que todos os três derivados continham pequenas contaminações, sendo que o grau de impureza não excedeu 13%.

Tabela 18: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **2(b-d)**.

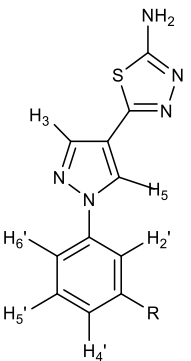
H			
	2b	2c	2d
δ (multiplicidade, J , integração)			
H ₂ '	-	7,97 (d, 1,3 Hz, 2H)	8,20 (d, 2,6 Hz, 1H)
H ₃ '	7,91 (d, 2,2 Hz, 1H)	-	-
H ₄ '	-	7,54 (pt, 1,3 Hz, 1H)	-
H ₅ '	7,63 (dd, 8,5 Hz, 2,2 Hz, 1H)	-	7,78 (d, 8,8 Hz, 1H)
H ₆ '	7,69 (d, 8,5 Hz, 1H)	7,97 (d, 1,3 Hz, 2H)	7,91 (dd, 8,8 Hz, 2,6 Hz, 1H)
H ₃	8,16 (1H)	8,18 (s, 1H)	8,19 (s, 1H)
H ₅	8,61 (1H)	9,08 (s, 1H)	9,12 (s, 1H)
NH ₂	7,30 (s, 2H)	7,31 (s, 2H)	-

*Discussão dos dados de RMN de ^1H dos prótons benzênicos dos derivados meta-substituídos **2(e-g)***

Nos espectros de RMN de ^1H dos derivados **2(e-g)**, o sinal relativo ao próton H₂' foi identificado com δ na faixa de 8,13 a 7,79. O sinal do próton H₄' foi observado

com δ entre 7,58 e 7,41 e o próton H_6' gerou um sinal com δ que variou de 7,92 a 7,79. Vale ressaltar que esses sinais apresentaram multiplicidades diversificadas. A ressonância do próton H_5' gerou sinais tripletos com δ de 7,55 a 7,21 (^3J 8,0 a 8,4 Hz) (Tabela 19). Além disso, com base nessas análises constatou-se que o composto **2f** possui 5%.

Tabela 19: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **2(e-g)**.

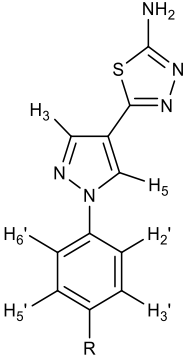
H			
	2e (R = F)	2f (R = Cl)	2g (R = Br)
	δ (multiplicidade, J, integração)		
H_2'	7,82-7,79 (m, 2H)	8,02 (t, 1,5 Hz, 1H)	8,13 (t, 1,7 Hz, 1H)
H_4'	7,58 (q, 8,4 Hz, 7,9 Hz, 1H)	7,41 (dd, 8,2 Hz, 1,5 Hz, 1H)	7,52 (d, 8,0 Hz, 1H)
H_5'	7,21 (t, 8,4 Hz, 1H)	7,55 (t, 8,2 Hz, 1H)	7,46 (t, 8,0 Hz, 1H)
H_6'	7,82-7,79 (m, 2H)	7,90 (dd, 8,2 Hz, 1,5 Hz, 1H)	7,92 (d, 8,0 Hz, 1H)
H_3	8,19 (s, 1H)	8,17 (s, 1H)	8,15 (s, 1H)
H_5	9,08 (s, 1H)	9,07 (s, 1H)	9,06 (s, 1H)
NH_2	7,49 (s, 2H)	7,35 (s, 2H)	7,34 (s, 2H)

*Discussão dos dados de RMN de ^1H dos prótons benzênicos dos derivados para-substituídos **2(h-l)***

Nos espectros de **2(i-l)** os sinais referentes aos prótons H_2' e H_6' foram identificados como dupletos com δ na faixa de 8,15 a 7,80 (^3J 8,7 a 9,2 Hz), enquanto que os sinais de H_3' e H_5' foram observados com δ entre 8,37 e 7,08 (^3J 8,7 a 9,2). No espectro de **1h** os prótons H_2' e H_6' geraram um duplete de dupletos com δ 7,91 (^3J 8,8 Hz e J 4,7 Hz) e o sinal tripleto com δ 7,35 (^3J 8,8 Hz) foi atribuído ao H_3' e ao H_5' (Tabela 20). Além disso, os prótons do grupo metoxi do derivado **2l** foram observados

no espectro como um sinal simpleto com δ 3,81. Como pode ser observados nos espectros, os derivados **2(j,k)** estavam levemente contaminados, com um grau de impureza de 8 e 5%, respectivamente.

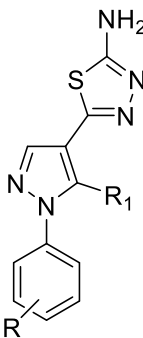
Tabela 20: Dados das análises de RMN de ^1H dos derivados **2(h-l)**.

					
H	2h (R = F)	2i (R = Cl)	2j (R = Br)	2k (R = NO ₂)	2l (R = OCH ₃)
	δ (multiplicidade, J, integração)				
H ₂ '/H ₆ '	7,91 (dd, 8,8 Hz, 4,7 Hz, 2H)	7,92 (d, 8,7 Hz, 2H)	7,86 (d, 8,9 Hz, 2H)	8,15 (d, 9,2 Hz, 2H)	7,80 (d, 9,1 Hz, 2H)
H ₃ '/H ₅ '	7,35 (t, 8,8 Hz, 2H)	7,57 (d, 8,7 Hz, 2H)	7,70 (d, 8,9 Hz, 2H)	8,37 (d, 9,2 Hz, 2H)	7,08 (d, 9,1 Hz, 2H)
H ₃	8,11 (s, 1H)	8,13 (s, 1H)	8,15 (s, 1H)	8,26 (s, 1H)	8,10 (1H)
H ₅	8,94 (s, 1H)	9,00 (s, 1H)	9,02 (s, 1H)	9,14 (s, 1H)	8,86 (1H)
NH ₂	7,28 (s, 2H)	7,29 (s, 2H)	-	7,35 (s, 2H)	-

5.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Até o momento foi avaliada a citotoxicidade de **1(a-k)** e **2(a,b,d,f-l)** frente às células Vero. Os resultados parciais estão resumidos na Tabela 21 e como pode ser observado todos os compostos testados geraram um $CC_{50} > 500 \mu M$, com exceção de **1(c,d)**, os quais apresentaram um CC_{50} de 118,77 e 341,65 μM , respectivamente. Portanto, pode-se concluir que, com exceção desses dois derivados, todos os demais não são tóxicos. Vale ressaltar que esses compostos também serão testados contra as formas tripomastigota e amastigota do *T. cruzi*.

Tabela 21: Resultados dos testes de citotoxicidade frente às células Vero de **1(a-l)** e **2(a-l)**.



R	1(a-l) R₁ = NH₂		2(a-l) R₁ = H	
	CC₅₀ (μM)			
	1ª análise	2ª análise	1ª análise	2ª análise
a (H)	>500	Em análise	>500	
b (2,4-diCl)	>500		>500	Em análise
c (3,5-diCl)	118,77		Em análise	
d (3,4-diCl)	341,65		>500	>500
e (3-F)	>500		Em análise	
f (3-Cl)	>500		>500	>500
g (3-Br)	>500		>500	>500
h (4-F)	>500		>500	Em análise
i (4-Cl)	>500		>500	>500
j (4-Br)	>500		>500	>500
k (4-NO ₂)	>500		>500	Em análise
l (4-OCH ₃)	Em análise		>500	

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Foram sintetizados neste trabalho os seguintes compostos: quatro cloridratos de arilhidrazina, com rendimentos de 33 a 99%; 27 intermediários-chave, sendo, 11 derivados 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **3(a-k)**, com rendimentos de 38 a 80%, 12 derivados 1-aryl-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**, com rendimentos que variaram de 26 a 96% e três derivados 1-aryl-1*H*-pirazol-4-carboxamidas, com rendimentos de 78 a 88%. Todos esses compostos foram caracterizados por FT-IR.

Inicialmente, investigou-se duas metodologias alternativas para a síntese dos produtos finais, uma delas partindo-se das carbonitrilas **4(a,c,g,i,j)** e outra utilizando carboxamidas **5(a,f,j)** como matérias-primas. Em nenhum dos dois casos foi possível obter os compostos desejados, em vez disso identificou-se a formação dos produtos inesperados **5(a,c,g,i,j)** na primeira tentativa e **6(a,f,j)** na segunda, sendo esses três últimos inéditos.

Finalmente, obteve-se os produtos finais 5-amino-2-(5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis, **1(a-l)** e 5-amino-2-(1-aryl-1*H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis **2(a-l)**, com rendimentos na faixa de 26-72% e 20-91%, respectivamente. Os resultados parciais de atividade biológica referentes à citotoxicidade frente às células Vero revelaram que a maioria dos compostos testados, **1(a-k)** e **2(a,b,d,f-l)**, não são tóxicos, com um CC₅₀ >500 µM, com exceção de **1(c,d)** que geraram um CC₅₀ abaixo de 500 µM.

Este trabalho possui como perspectiva avaliar a atividade biológica dos 24 produtos finais, **1(a-l)** e **2(a-l)**, contra as formas tripomastigota e amastigota do *T. cruzi*. Além disso, pretende-se realizar análises de Difração de Raios-X de alguns compostos das séries **1(a-l)** e **2(a-l)**, a fim de avaliar a hipótese de organizações estruturais no estado sólido que sejam diferentes da forma monomérica. Pretende-se também investigar com mais detalhes o mecanismo de formação das bisamidas **6(a,f,j)** e de outros análogos.

REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, D.-A. et al. Current Treatment of Chagas Disease. **Current Treatment Options in Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 438–457, 2020.

APT, W. et al. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow-up. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, p. 2164–2169, 2013.

BAHIA, M. T. et al. Fexinidazole: a potential new drug candidate for Chagas Disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 11, p. 1–9, 2012.

BAHIA, M. T. et al. Antitrypanosomal activity of fexinidazole metabolites, potential new drug candidates for Chagas Disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4362–4370, 2014.

BAI, B. et al. Peptidomimetic nitrile warheads as SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 1722–1730, 2021.

BECERRA-FIGUEROA, L.; OJEDA-PORRAS, A.; GAMBA-SÁNCHEZ, D. Transamidation of carboxamides catalyzed by Fe(III) and water. **Journal of organic chemistry**, v. 79, n. 10, p. 4544–4552, 2014.

BOZZI, A.; D'ANDREA, G.; BRISDELLI, F. AZT: An old drug with new perspectives. **Current Clinical Pharmacology**, v. 3, n. 1, p. 20–37, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico: Doença de Chagas Aguda e distribuição espacial dos triatomíneos de importância epidemiológica, Brasil 2012 a 2016**, v. 50, n. 2. 2019.

BUCKNER, F. S.; URBINA, J. A. Recent developments in sterol 14-demethylase inhibitors for Chagas disease. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 236–242, 2012.

CADOGAN, J. I. G.; MOLINA, G. A. A Simple and Convenient Deamination of Aromatic Amines. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 541–542, 1973.

CARVALHO, S. A. et al. Synthesis and antitrypanosomal profile of new functionalized non-mutagenic megazol analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 24, p. 5967–5970, 2004.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Parasites – American Trypanosomiasis, c2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acesso em: 15 de jul. de 2021.

CHAO, C.; LEONE, J. L.; VIGLIANO, C. A. Chagas disease: historic perspective. **Molecular basis of disease**, v. 1866, n. January, 2020.

CHEN, J. et al. One-pot oxidation and rearrangement of propargylamines and in situ pyrazole synthesis. **Organic Letters**, v. 16, n. 16, p. 4146–4149, 2014.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A.; JUNQUEIRA, A. C. V. Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. **Memorias do instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 7, p. 856–862, 2014.

DAGLI, M. et al. Synthesis, characterization, antimicrobial evaluation, and computational investigation of substituted imidazo[2,1- b][1,3,4]thiadiazole derivatives. **Medicinal Chemistry & Drug Discovery**, v. 5, p. 11753–11763, 2020.

DE CARVALHO, T. U. Organização estrutural. **Portal da Doença de Chagas**, c2017. Disponível em: <<http://chagas.fiocruz.br/organizacao-estrutural/#>>. Acesso em: 20 de abr. de 2021.

DNDi. O estudo BENDITA: Um estudo de fase II para avaliar a segurança, tolerabilidade e eficácia de diversos regimes com benzonidazol, ministrado sozinho e em combinação com fosravuconazol. 2019.

ENGELS, D.; ZHOU, X. N. Neglected tropical diseases: An effective global response to local poverty-related disease priorities. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2020.

FAHIM, A. M. et al. Synthesis of novel β -lactams: antioxidant activity, acetylcholinesterase inhibition and computational studies. **Journal of Molecular**

Structure, v. 1233, p. 30108, 2021.

FARIA, J. V. et al. Recently reported biological activities of pyrazole compounds. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 21, p. 5891–5903, 2017.

FERREIRA, B. S. **Síntese de sistemas híbridos pirazol-tetrazólicos, pirazol-tiazolínicos e pirazol-carboxamídicos com potencial atividade biológica**. Orientador: Maurício Silva dos Santos. 2020. 272 f. Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2020.

FERREIRA, B. S. et al. Synthesis of pyrazole-carboxamides and pyrazole-carboxylic acids derivatives: simple methods to access powerful building blocks. **Letters in Organic Chemistry**, v. 18, n. 5, p. 335–343, 2021.

FONSECA, B. P.; ALBUQUERQUE, P. C.; ZICKER, F. Neglected tropical diseases in Brazil: lack of correlation between disease burden, research funding and output. **Tropical Medicine and International Health**, v.25, n. 2, p. 1373-1384, 2020.

FUJITA, D. M.; NASCIMENTO, M. S.; JÚNIOR, H. F. DE A. The oral transmission of chagas disease in Brazil: new food supplies and travel experience. **Acta tropica**, v. 197, p. 1–2, 2019.

FUNAYAMA, S.; CORDELL, G. A.; Alkaloids: A treasury of poisons and medicines. London: Elsevier, 2015.

GANGULY, S.; JACOB, S. K. Therapeutic outlook of pyrazole analogs: a mini review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 959–983, 2017.

GOMES, Y. M.; LORENA, V. M. B.; LUQUETTI, A. O. Diagnosis of Chagas Disease: what has been achieved? what remains to be done with regard to diagnosis and follow up studies? **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 115–121, 2009.

GUARNER, J. Chagas disease as example of a reemerging parasite. **Seminars in diagnostic pathology**, v. 36, n. 3, p. 164–169, 2019.

GUHL, F.; RAMÍREZ, J. D. Poverty, migration, and Chagas disease. **Current tropical medicine reports**, v. 8, n. 3, p. 52–58, 2021.

HATVATE, N. T.; GHODSE, S. M.; TELVEKAR, V. N. Metal-free synthesis of 2-aminothiadiazoles via TBHP-mediated oxidative C-S bond formation. **Synthetic Communications**, v. 48, n. 3, p. 285–290, 2018.

HU, Y. et al. 1,3,4-Thiadiazole: synthesis, reactions and applications in medicinal, agricultural, and materials chemistry. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 5572–5610, 2014.

ISHANKHODZHAIEVA, M. M. et al. Crystalline and Molecular Structure of 2-amino-5-phenyl-1,3,4-thiadiazole. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 721–723, 2001.

JACOBS, R. T.; PLATTNER, J. J.; KEENAN, M. Boron-based drugs as antiprotozoals. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 586–592, 2011.

JAMPILEK, J. Heterocycles in medicinal chemistry. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 10–13, 2019.

JO, S. et al. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 145–151, 2020.

KELLER, B. O. et al. Interferences and contaminants encountered in modern mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 627, n. 1, p. 71–81, 2008.

KHARE, S. et al. Proteasome inhibition for treatment of leishmaniasis, Chagas disease and sleeping sickness. **Nature**, v. 537, n. 7619, p. 229–233, 2016.

KNORR, L. Einwirkung von Acetessigester auf Phenylhydrazin. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 16, p. 2597–2599, 1883.

KUMAR, V. et al. Pyrazole containing natural products: synthetic preview and biological significance. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 69, p. 735–753, 2013.

LASCANO, F.; BOURNISSEN, F. G.; ALTCHER, J. Review of pharmacological options for the treatment of Chagas Disease. **British Journal of Clinical Pharmacology**, p. 1–20, 2020.

LEON, L. L.; BERNARDINO, A. M. R. Effectiveness of novel 5-(5-amino-1-aryl-1H-

pyrazol-4-yl) -1H-tetrazole derivatives against promastigotes and amastigotes of *Leishmania amazonensis*. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 83, n. 3, p. 272–277, 2014.

LIDANI, K. C. F. et al. Chagas disease: from discovery to a worldwide health problem. **Frontiers in public health**, v. 7, p. 1–13, 2019.

LIU, Z.; LI, Q. X.; SONG, B. Recent research progress in and perspectives of mesoionic insecticides: nicotinic acetylcholine receptor inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, p. 11039–11053, 2020.

LOURENÇO, A. L. P. G. et al. Pyrazolyl-tetrazoles and imidazolyl-pyrazoles as potential anticoagulants and their integrated multiplex analysis virtual screening. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 1, p. 33–47, 2019.

MARTÍN-ESCOLANO, J.; MEDINA-CARMONA, E.; MARTÍN-ESCOLANO, R. Chagas Disease: current view of an ancient and global chemotherapy challenge. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 11, p. 2830–2843, 2020.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Burden of Chagas disease in Brazil, 1990-2016: findings from the global burden of disease study 2016. **International journal for parasitology**, v. 49, p. 301–310, 2019.

MARTINS, A. et al. Biology of *Trypanosoma cruzi*: an update. **Infectio**, v. 16, n. 1, p. 45–58, 2012.

MARTINS, S. C. et al. Synthesis and evaluation of the trypanocidal activity of a series thiosemicarbazones. **Medicinal Chemistry Research**, v. 25, p. 1193–1203, 2016a.

MARTINS, S. C. et al. 1,3,4-Thiadiazole derivatives of R-(+)-limonene benzaldehyde-thiosemicarbazones cause death in *Trypanosoma cruzi* through oxidative stress. **Microbes and Infection**, v. 18, n. 12, p. 787–797, 2016b.

MONTEIRO, M. E. et al. Synthesis , structure-activity relationship and trypanocidal activity of pyrazole-imidazoline and new pyrazole-tetrahydropyrimidine hybrids as promising chemotherapeutic agents for Chagas Disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 182, p. 1–13, 2019.

MORAES, C. B. et al. Nitroheterocyclic compounds are more efficacious than CYP51 inhibitors against *Trypanosoma cruzi*: implications for Chagas disease drug discovery and development. **Scientific Reports**, v. 4, n. 4073, p. 1–11, 2014.

NEWTON, C. G.; RAMSDEN, C. A. Meso-Ionic Heterocycles. **Tetrahedron**, v. 38, n. 20, p. 2965 to 3011, 1982.

NINGAIAH, S. et al. Synthesis of novel pyrazolyl-1,3,4-thiadiazole analogues. **Polycyclic Aromatic Compounds**, p. 1–11, 2020.

ORLANDO, L. M. R. et al. Structural optimization and biological activity of pyrazole derivatives: virtual computational analysis , recovery assay and 3D culture model as potential predictive tools of effectiveness against *Trypanosoma cruzi*. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6742–6765, 2021.

PEARCE, A. J. et al. Multicomponent pyrazole synthesis from alkynes, nitriles, and titanium imido complexes via oxidatively induced N-N bond coupling. **Journal of the American Chemical Society**, v. 142, n. 9, p. 4390–4399, 2020.

PECHMANN H. V. Pyrazol aus acetylen und diazomethan. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 31, p. 2950–2951, 1898.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The lancet**, v. 391, p. 82–94, 2017.

POZHARSKII, A. F.; SOLDATENKOV, A. T.; KATRITZKY, A. R. Heterocycles in life and society: An introduction to heterocyclic chemistry, biochemistry and applications. 2 ed. John Wiley & Sons, 2011.

RIBEIRO, V. et al. Current trends in the pharmacological management of Chagas disease. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 12, p. 7–17, 2020.

ROBINS, R. K. Potential Purine Antagonists. I. Synthesis of Some 4,6-Substituted Pyrazolo [3,4-d] pyrimidines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 78, n. 4, p. 784–790, 1956.

ROSA, G. D. S. et al. A convenient synthesis of pyrazole-imidazoline derivatives by

microwave irradiation. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 56, p. 1825–1830, 2019.

SAKTHIVEL, P.; ILANGO VAN, A.; KAUSHIK, M. P. Natural product-inspired rational design, synthesis and biological evaluation of 2,3-dihydropyrano[2,3-f]chromen-4(8H)-one based hybrids as potential mitochondrial apoptosis inducers. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 122, p. 302–318, 2016.

SALOMÃO, K. et al. In vitro and in vivo activities of 1, 3, 4-thiadiazole-2-arylhydrazone derivatives of megazol against *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 5, p. 2023–2031, 2010.

SÁNCHEZ-MORENO, M. et al. In vitro and in vivo trypanosomicidal activity of pyrazole-containing macrocyclic and macrobicyclic polyamines: their action on acute and chronic phases of Chagas Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 4231–4243, 2012.

SÁNCHEZ-SANCHO, F.; CAMPILLO, N. E.; PÁEZ, J. A. Chagas disease: progress and new perspectives. **Current medicinal chemistry**, v. 17, n. 5, p. 423–452, 2010.

SANTOS, M. S. DOS et al. Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 7451–7454, 2011.

SCARIM, C. B. et al. Current advances in drug discovery for Chagas disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 824–838, 2018.

SERBAN, G. 2-Amino-1,3,4-thiadiazoles as prospective agents in trypanosomiasis and other parasitoses. **Acta Pharmaceutica**, v. 70, p. 259–290, 2020.

SPRADLIN, J. N. et al. Harnessing the anti-cancer natural product nimbolide for targeted protein degradation. **Nature Chemical Biology**, v. 15, n. 7, p. 747–755, 2019.

SYKES, R. Penicillin: from discovery to product. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 79, n. 8, p. 778–779, 2001.

TERRA, L. et al. Synthesis of 5-amino-1-aryl-3-methyl-1H-pyrazole-4-carbonitriles, antifungal activity and in silico analysis. **Letters in Organic Chemistry**, v. 17, n. 10,

p. 779–787, 2020.

TORRICO, F. et al. Treatment of adult chronic indeterminate Chagas disease with benznidazole and three E1224 dosing regimens: a proof-of-concept, randomised, placebo-controlled trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 419–430, 2018.

VARGHESE, S. et al. Discovery of Potent N-ethylurea pyrazole derivatives as dual inhibitors of *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. **Medicinal Chemistry Letters**, v. 11, p. 278–285, 2020.

VENTURA-GARCIA, L. et al. Socio-Cultural aspects of Chagas disease: a systematic review of qualitative research. **PLOS Neglected tropical diseases**, v. 7, n. 9, p. 1–8, 2013.

WANG, X. et al. Synthesis and biological evaluation of benzimidazole phenylhydrazone derivatives as antifungal agents against phytopathogenic fungi. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1574–1588, 2016.

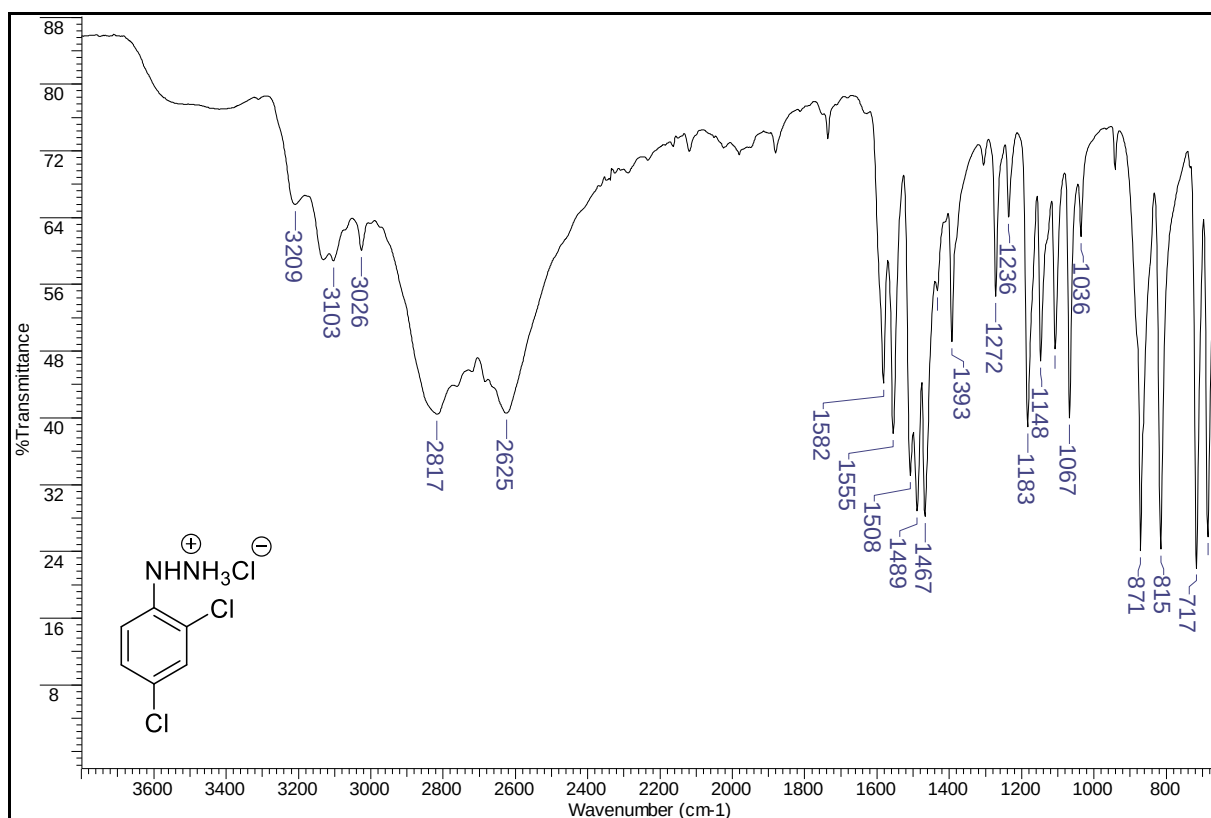
WHO. Chagas Disease (American Trypanosomiasis). Global distribution of cases of Chagas disease, based on official estimates, 2018. Acessado em 24 ago 2020. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1>

WIDELSKI, J. et al. Isolation and antimicrobial activity of coumarin derivatives from fruits of *peucedanum luxurians tamamsch*. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1222–1234, 2018.

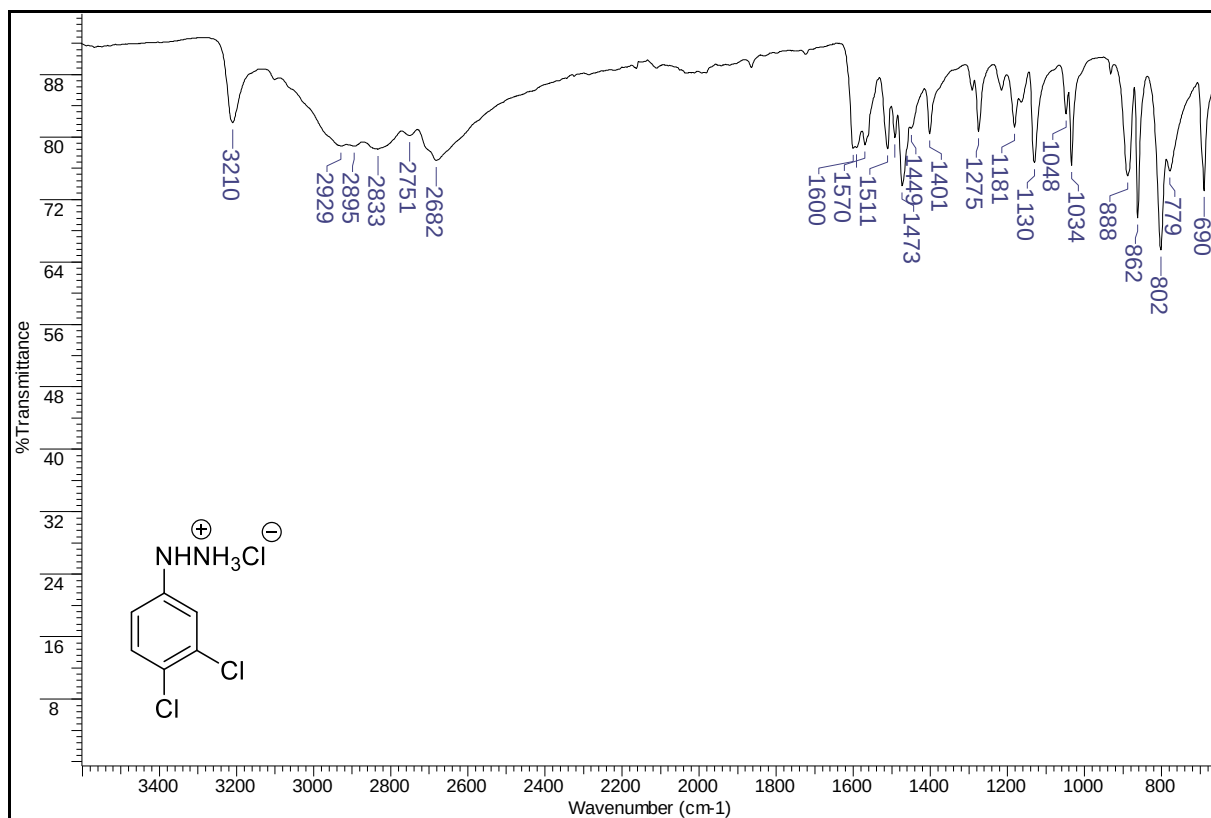
XUE, W. et al. *N*-thiadiazole-4-hydroxy-2-quinolone-3-carboxamides bearing heteroaromatic rings as novel antibacterial agents: design, synthesis, biological evaluation and target identification. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 188, n. 15, p. 112022–112030, 2020.

ZINGALES, B. et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, genetics and evolution**, v. 12, n. 2, p. 240–253, 2012.

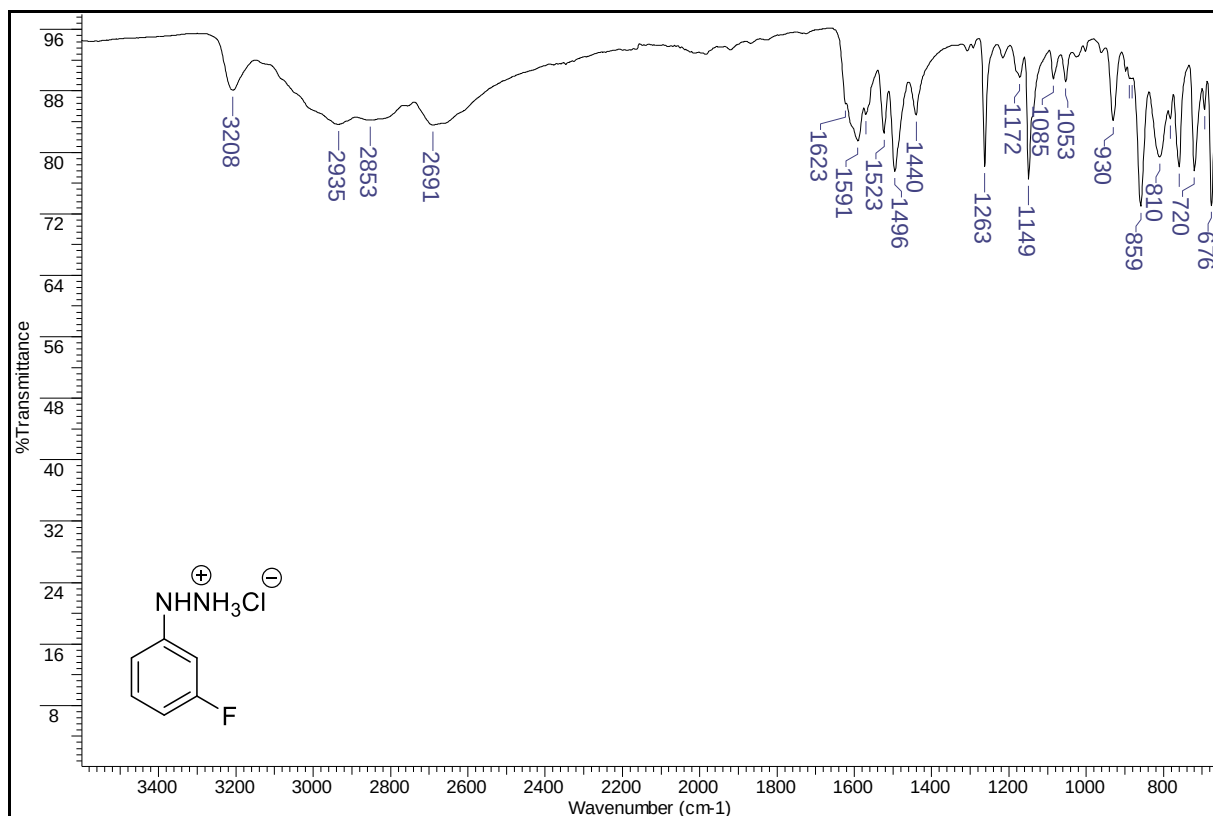
**ANEXO A – Espectros de infravermelho dos cloridratos de
arilhidrazinas**



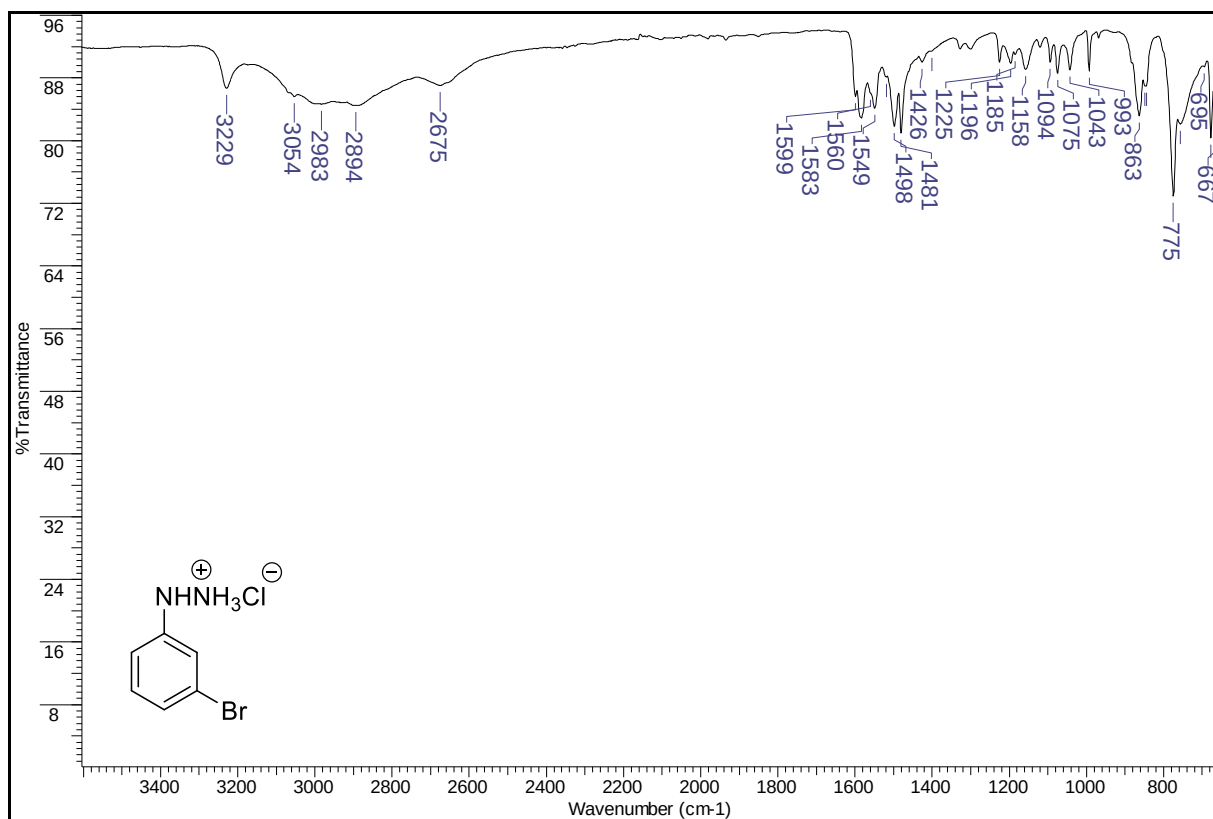
Espectro 1: Espectro de infravermelho do cloridrato de 2,4-diclorofenilhidrazina.



Espectro 2: Espectro de infravermelho do cloridrato de 3,4-diclorofenilhidrazina.

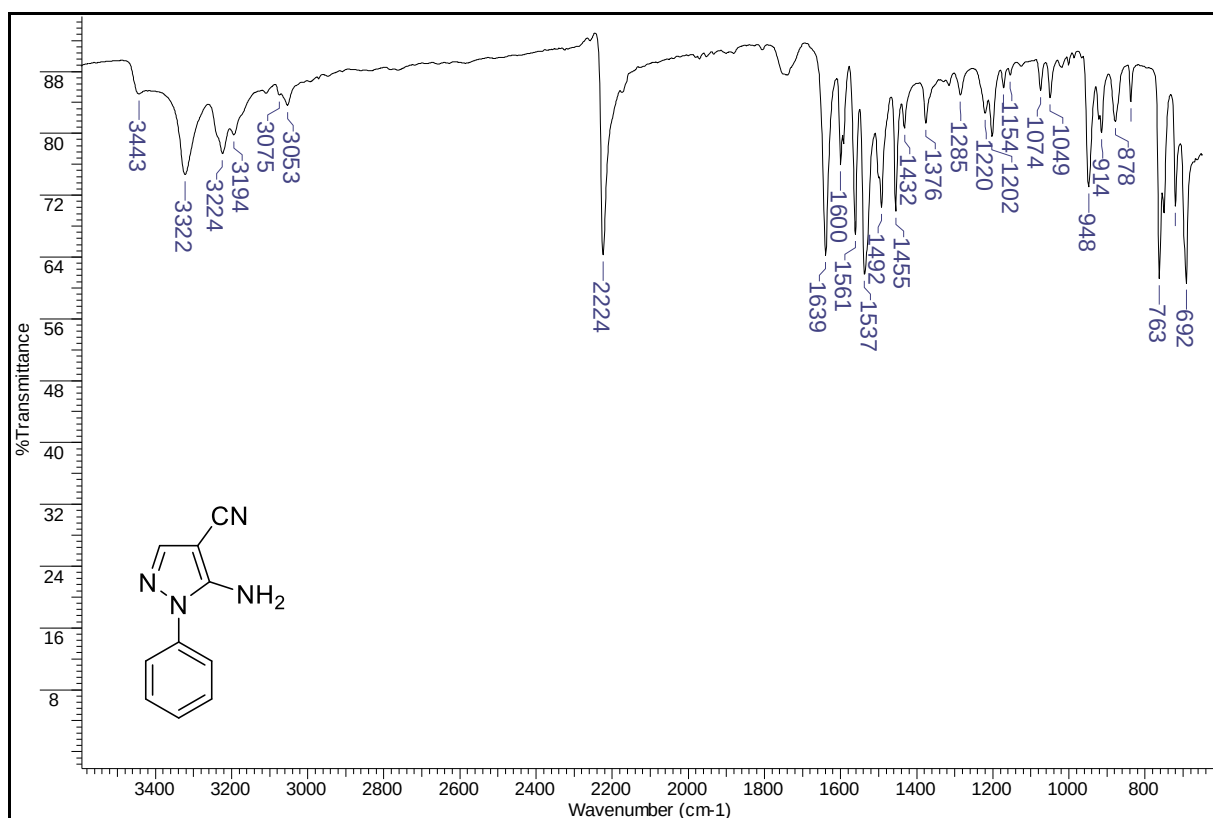


Espectro 3: Espectro de infravermelho do cloridrato de 3-fluorofenilhidrazina.

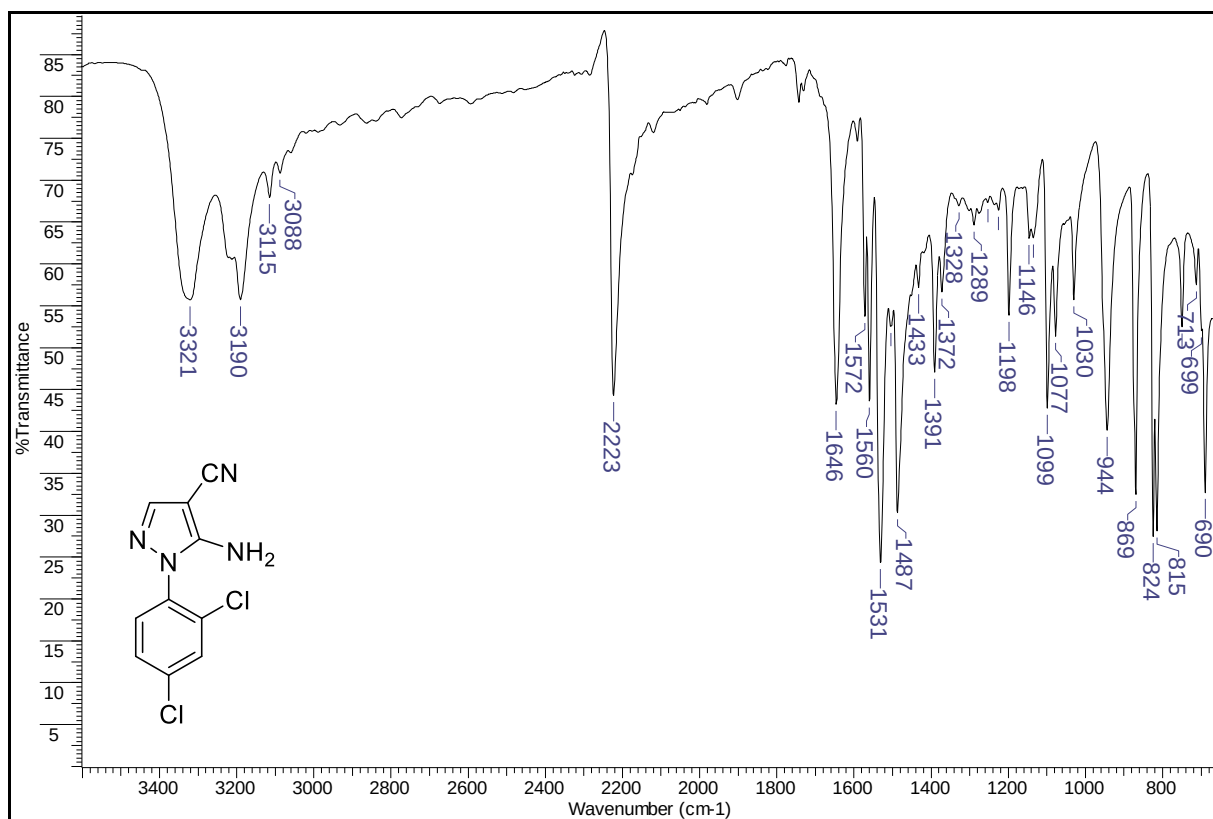


Espectro 4: Espectro de infravermelho do cloridrato de 3-bromofenilhidrazina.

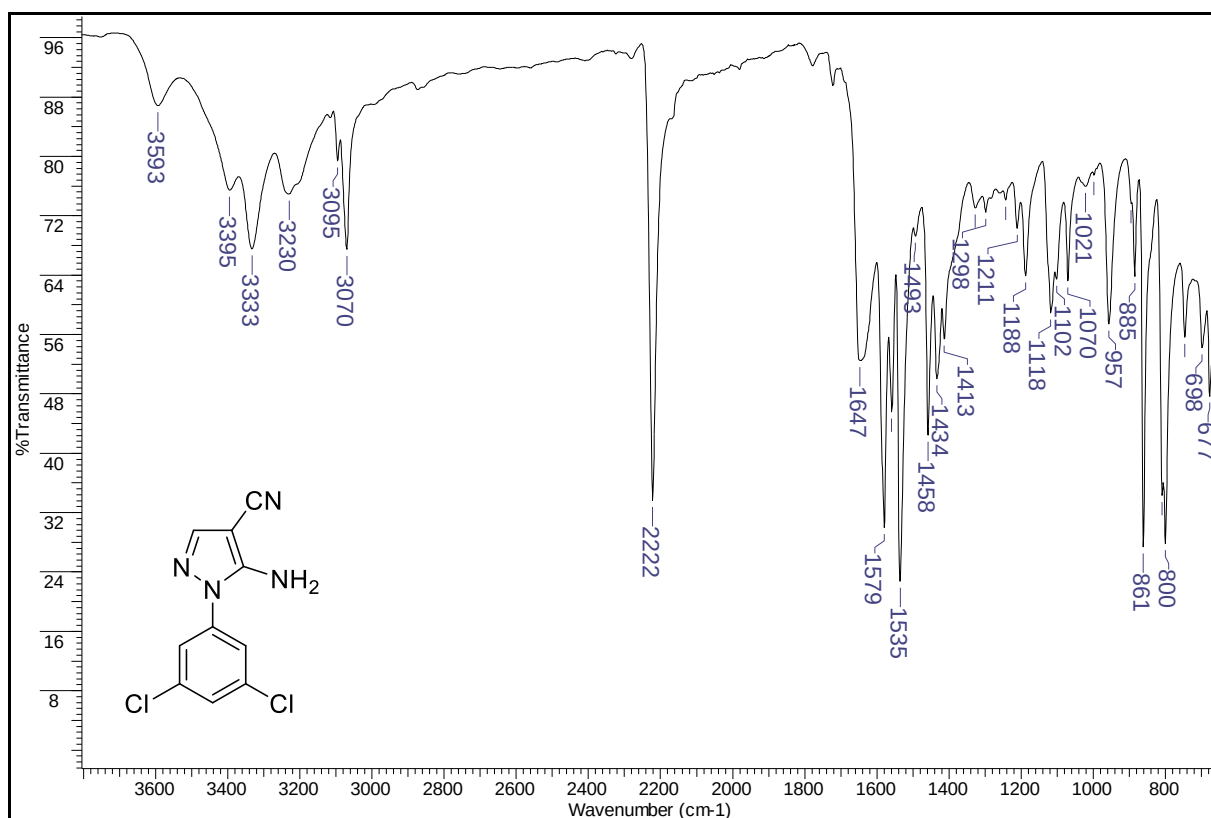
**ANEXO B – Espectros de infravermelho dos derivados
5-amino-1-*aril-1H*-pirazol-4-carbonitrilas 3(a-l)**



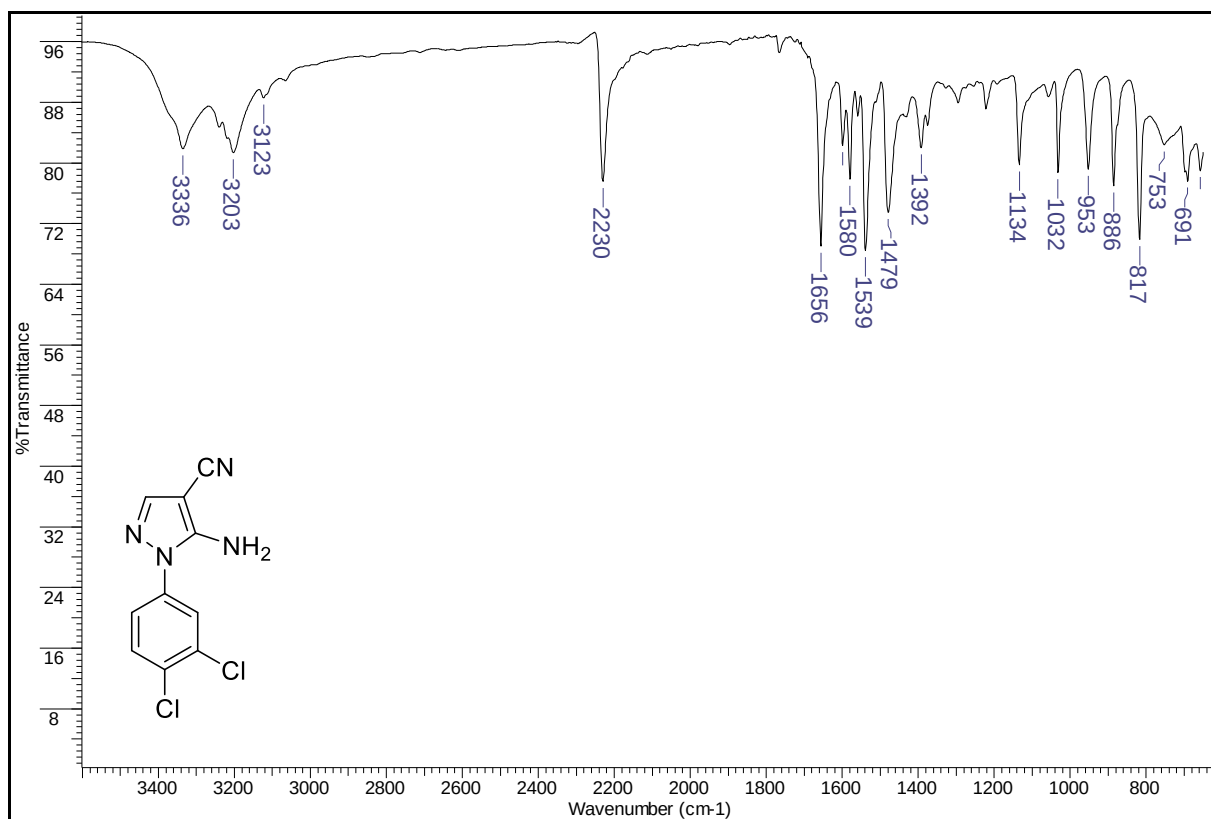
Espectro 5: Espectro de infravermelho do derivado **3a**.



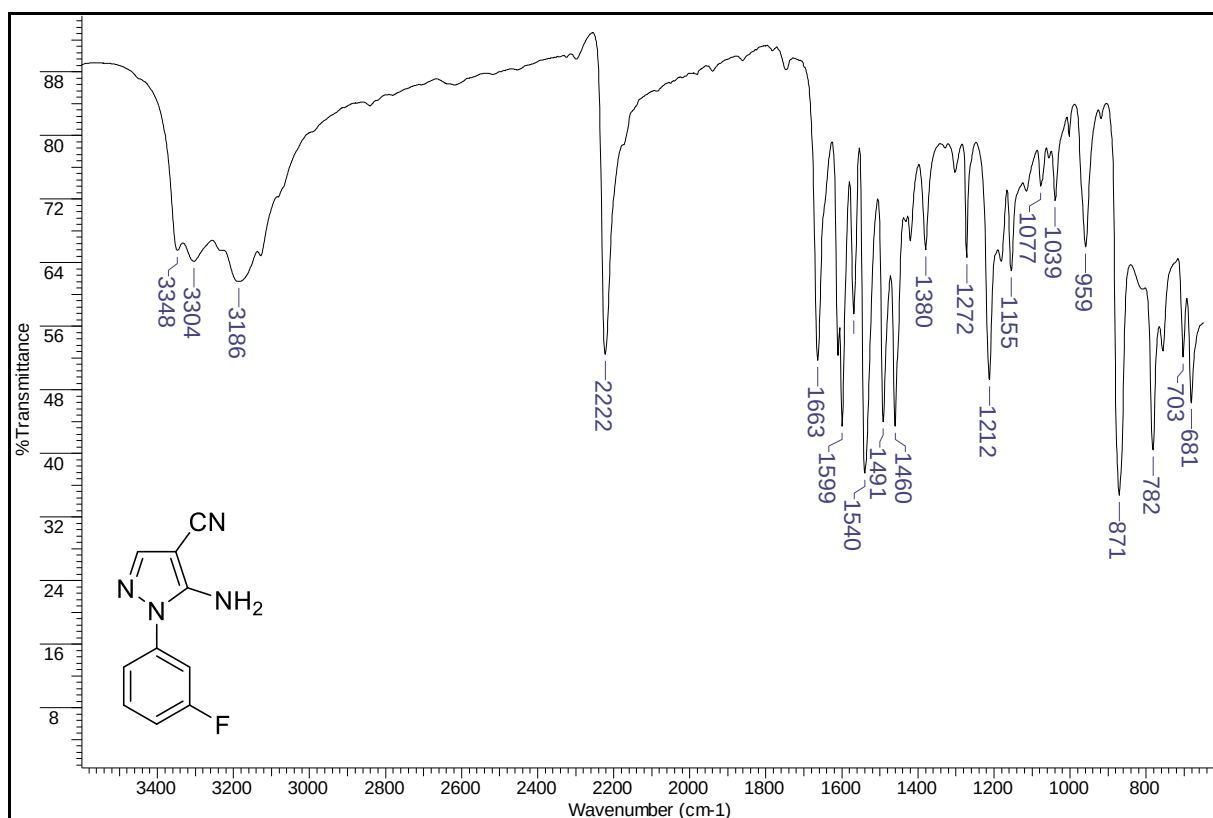
Espectro 6: Espectro de infravermelho do derivado **3b**.



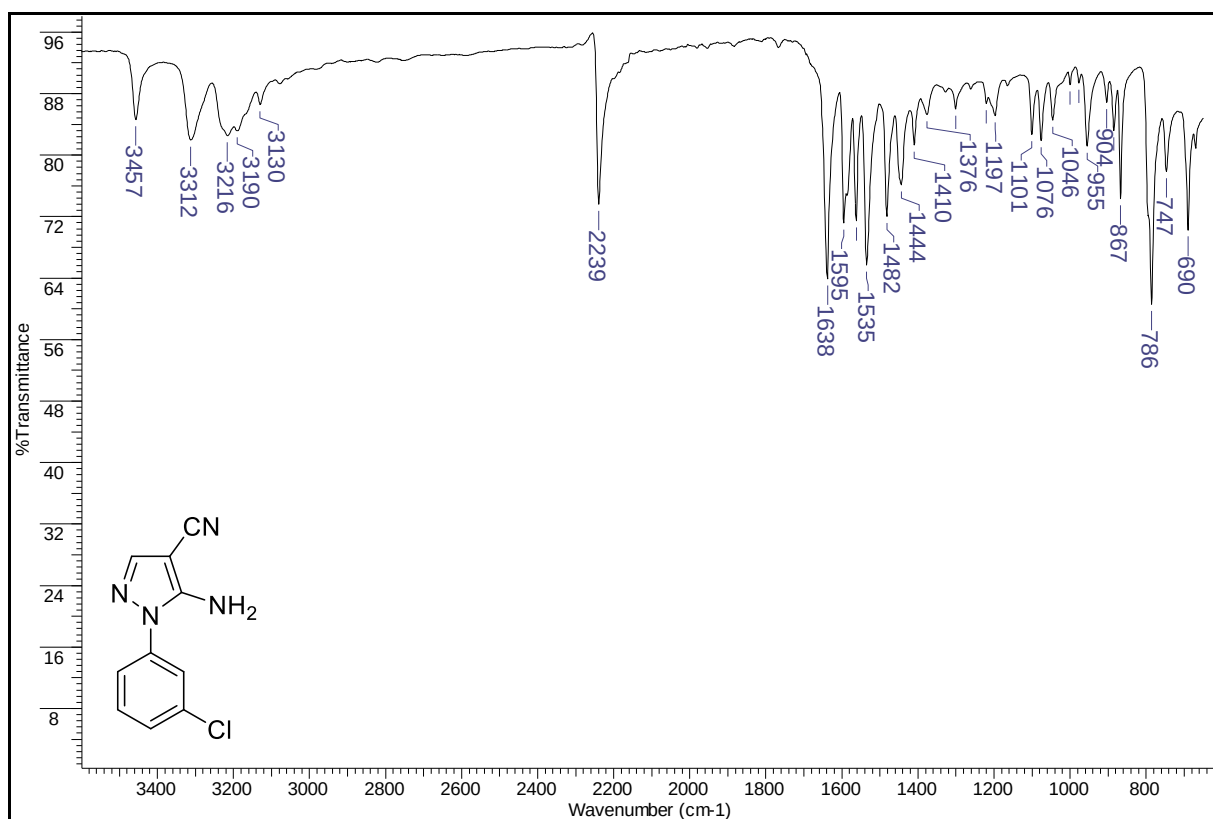
Espectro 7: Espectro de infravermelho do derivado **3c**.



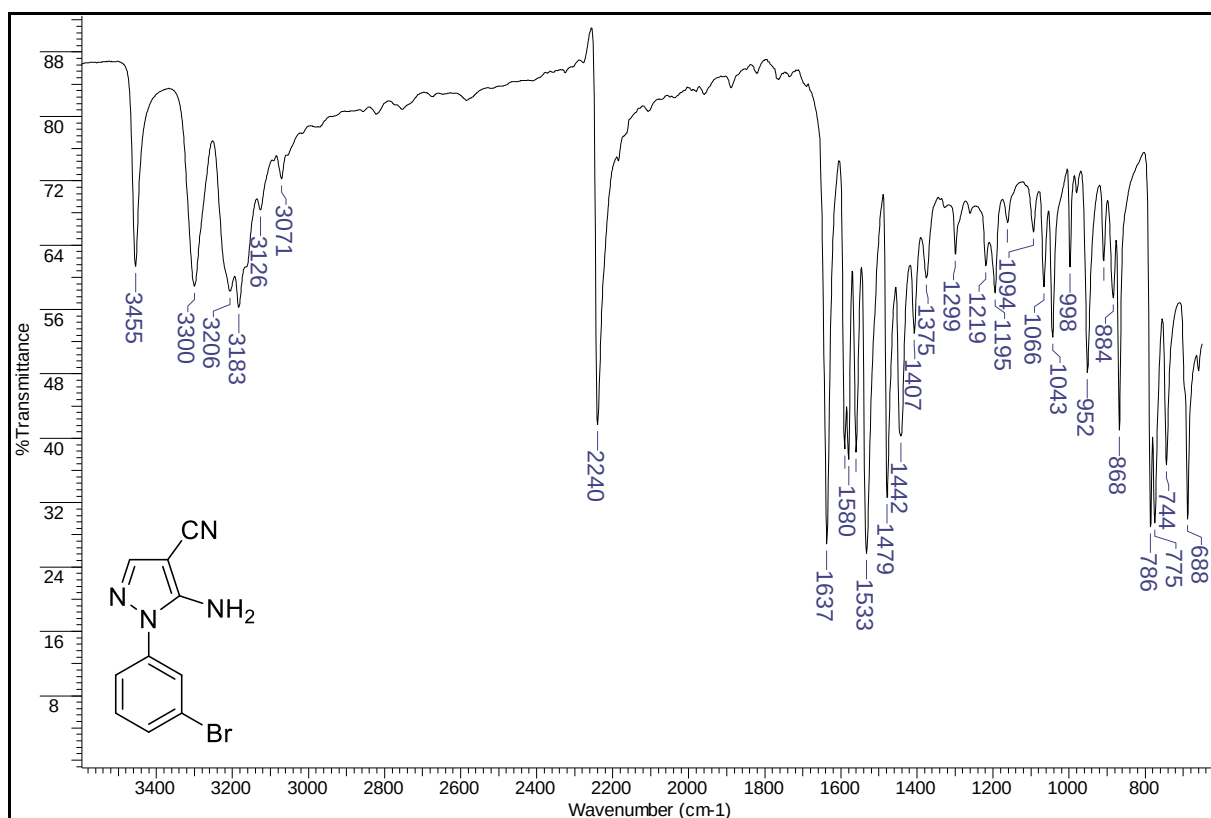
Espectro 8: Espectro de infravermelho do derivado **3d**.



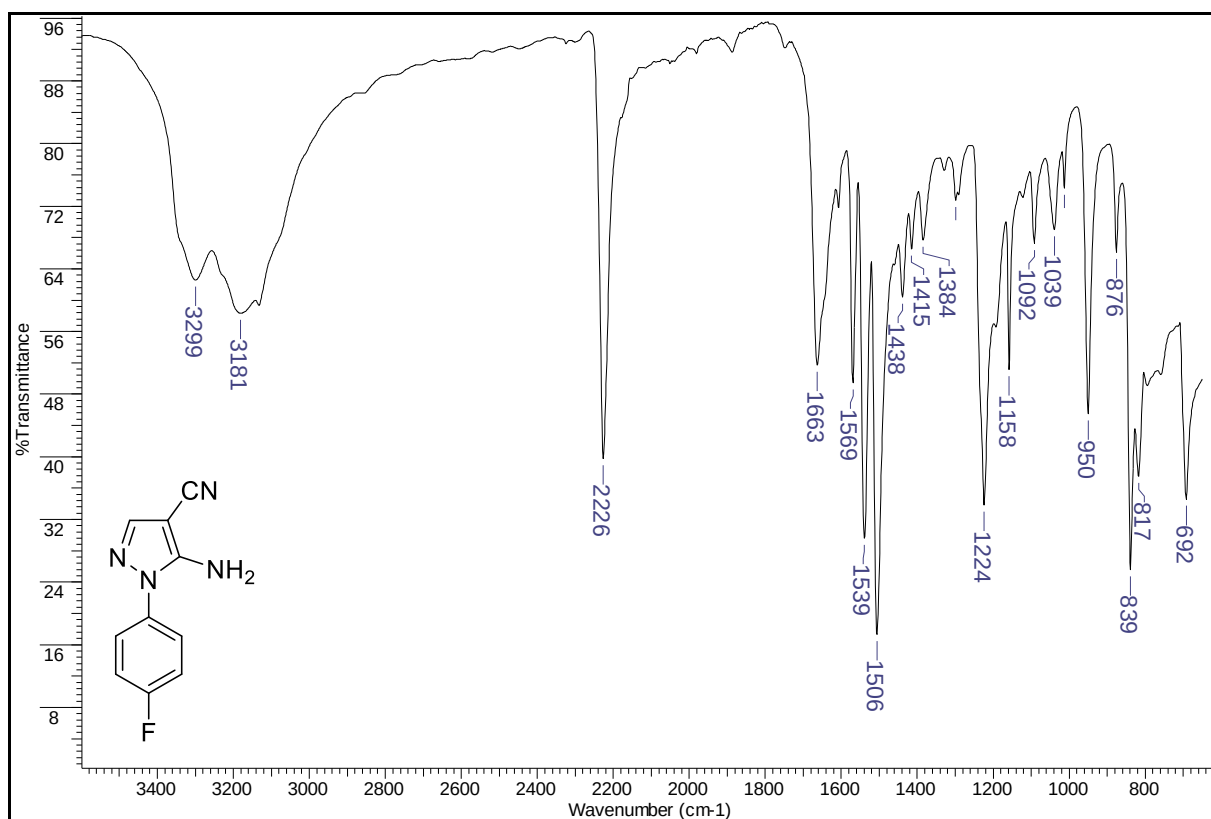
Espectro 9: Espectro de infravermelho do derivado **3e**.



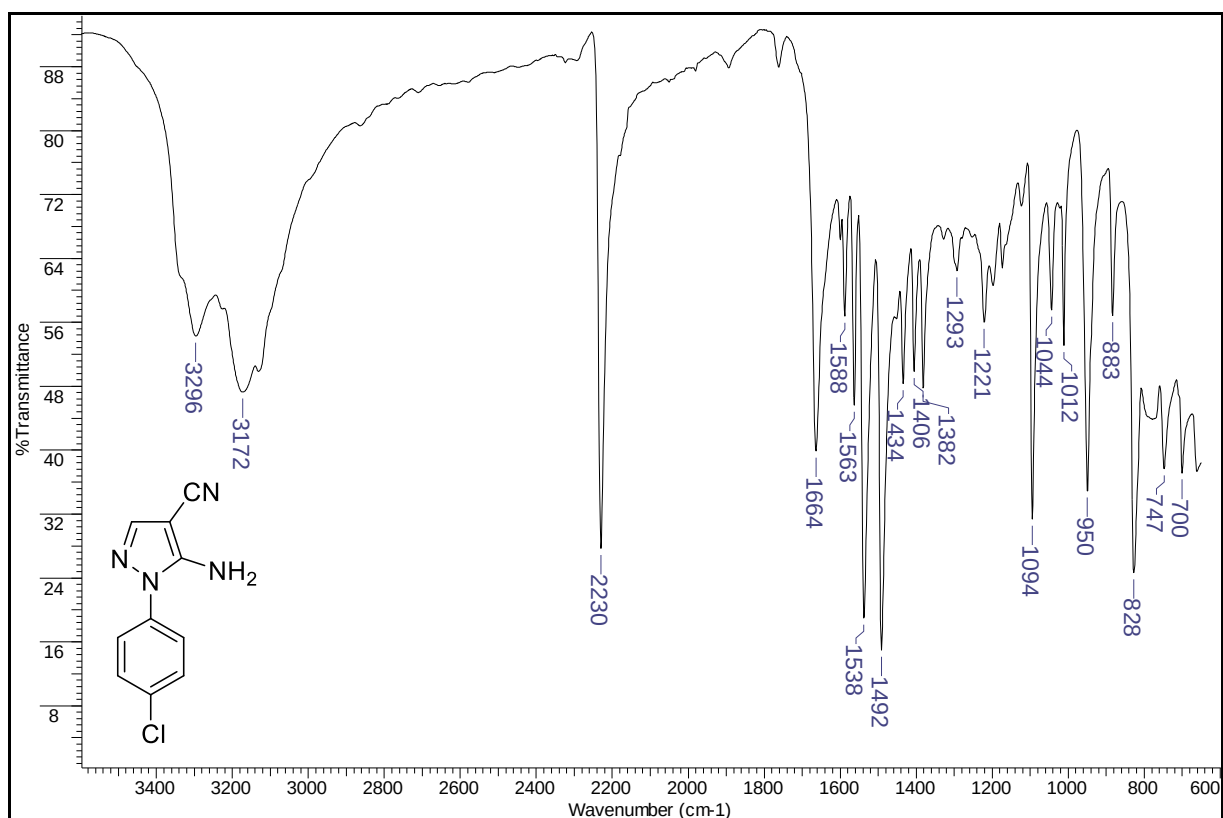
Espectro 10: Espectro de infravermelho do derivado **3f**.



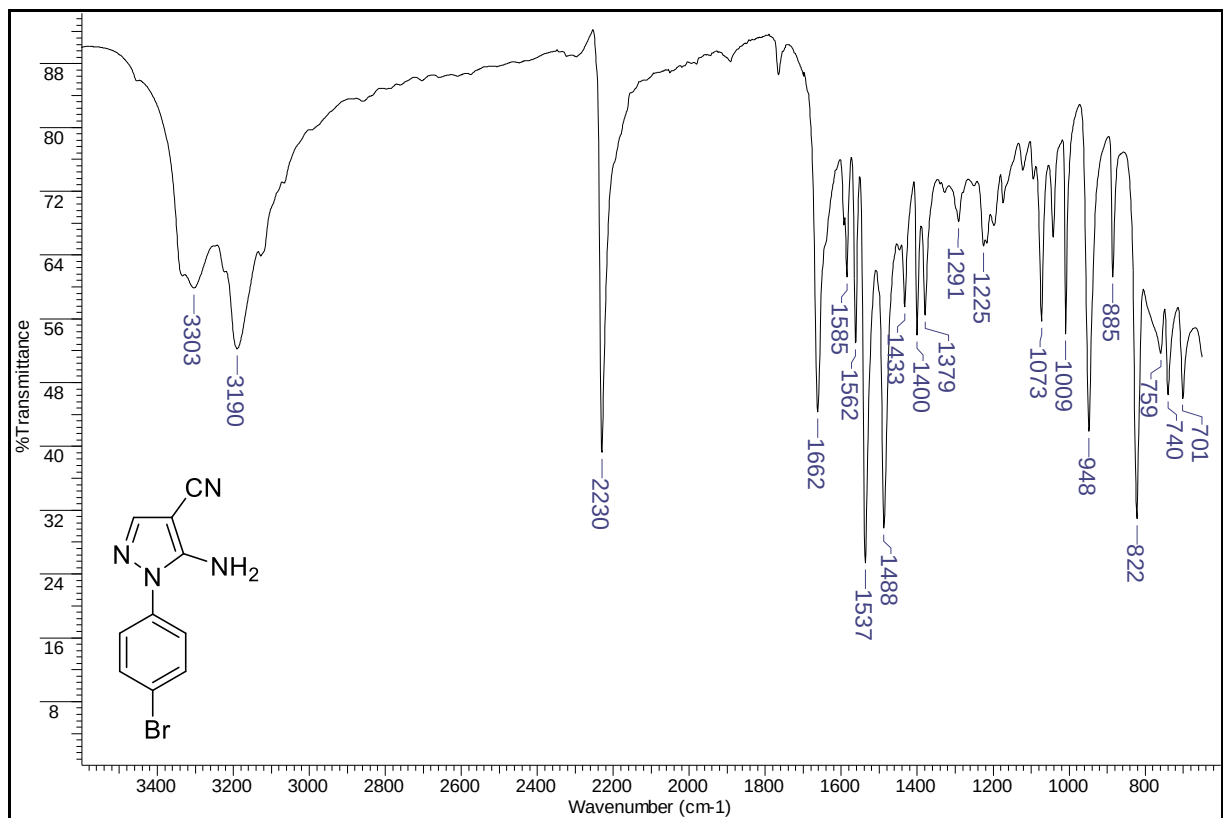
Espectro 11: Espectro de infravermelho do derivado **3g**.



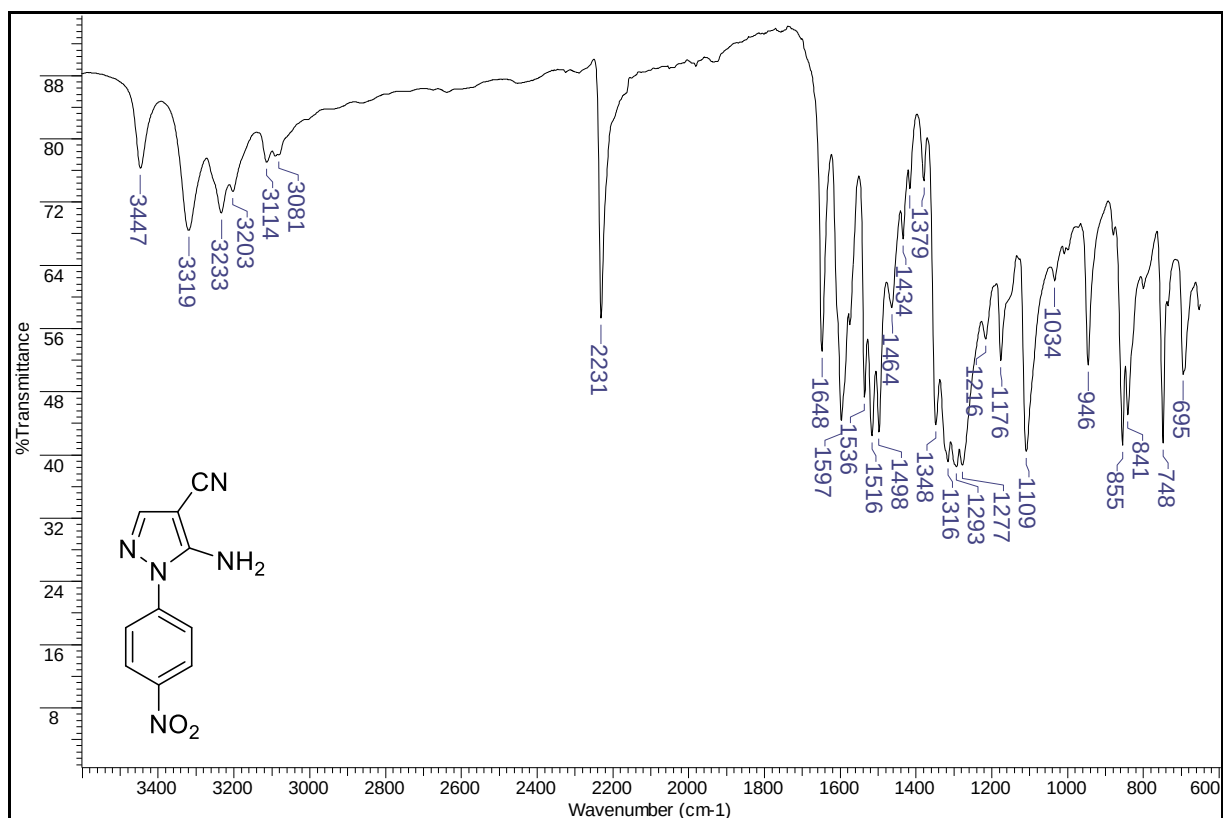
Espectro 12: Espectro de infravermelho do derivado **3h**.



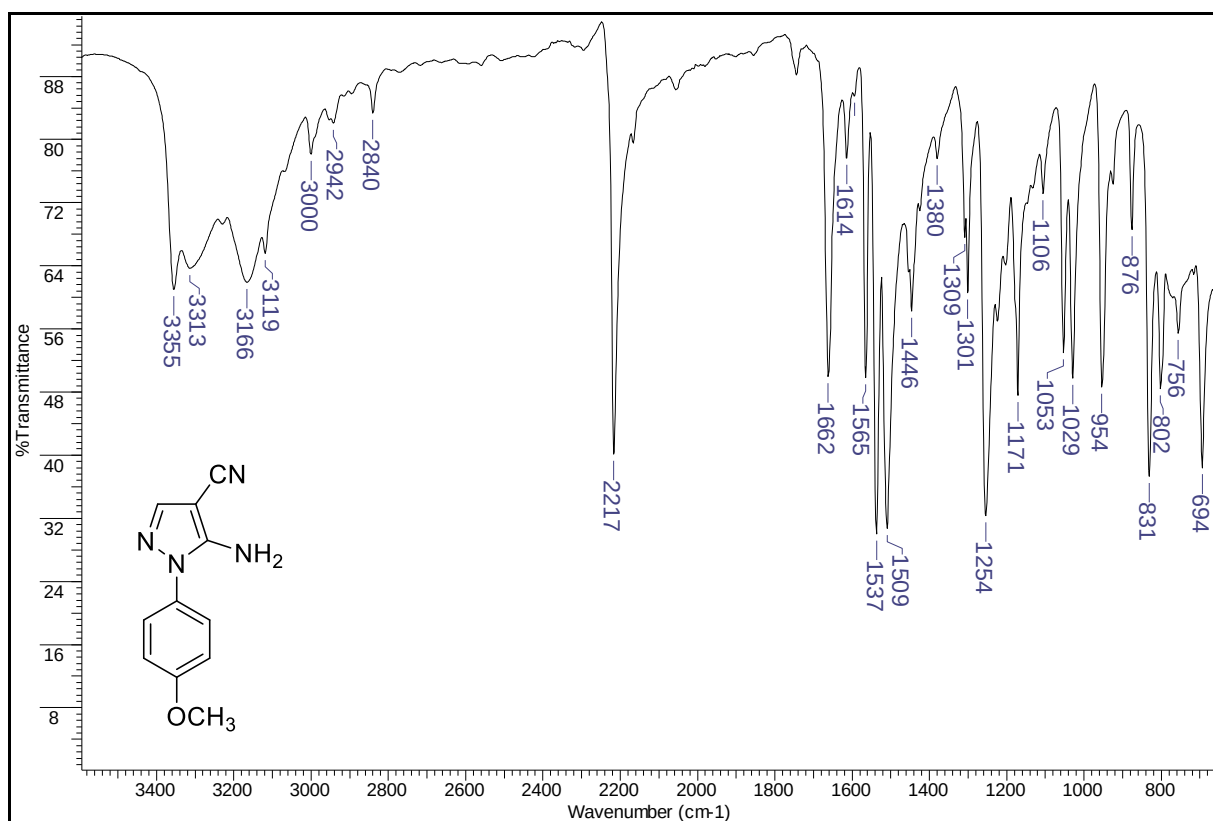
Espectro 13: Espectro de infravermelho do derivado **3i**.



Espectro 14: Espectro de infravermelho do derivado **3j**.

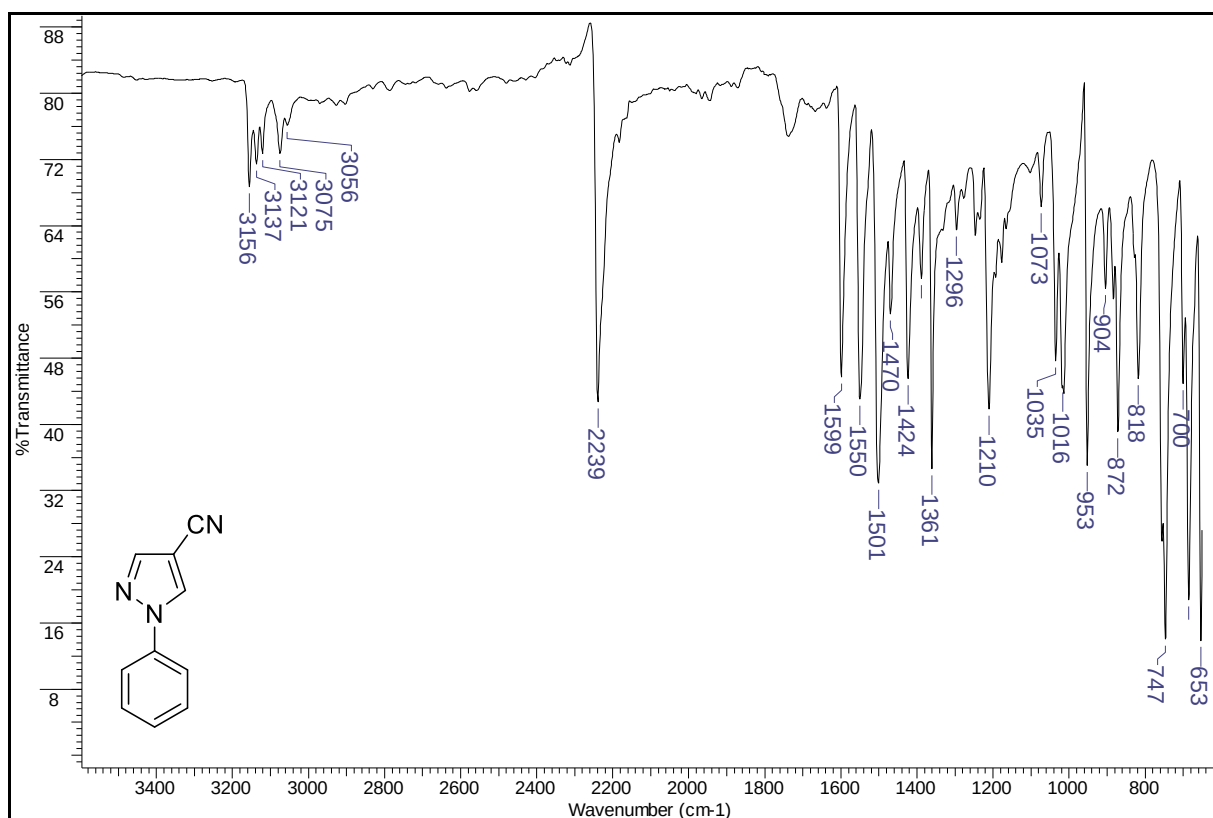


Espectro 15: Espectro de infravermelho do derivado **3k**.

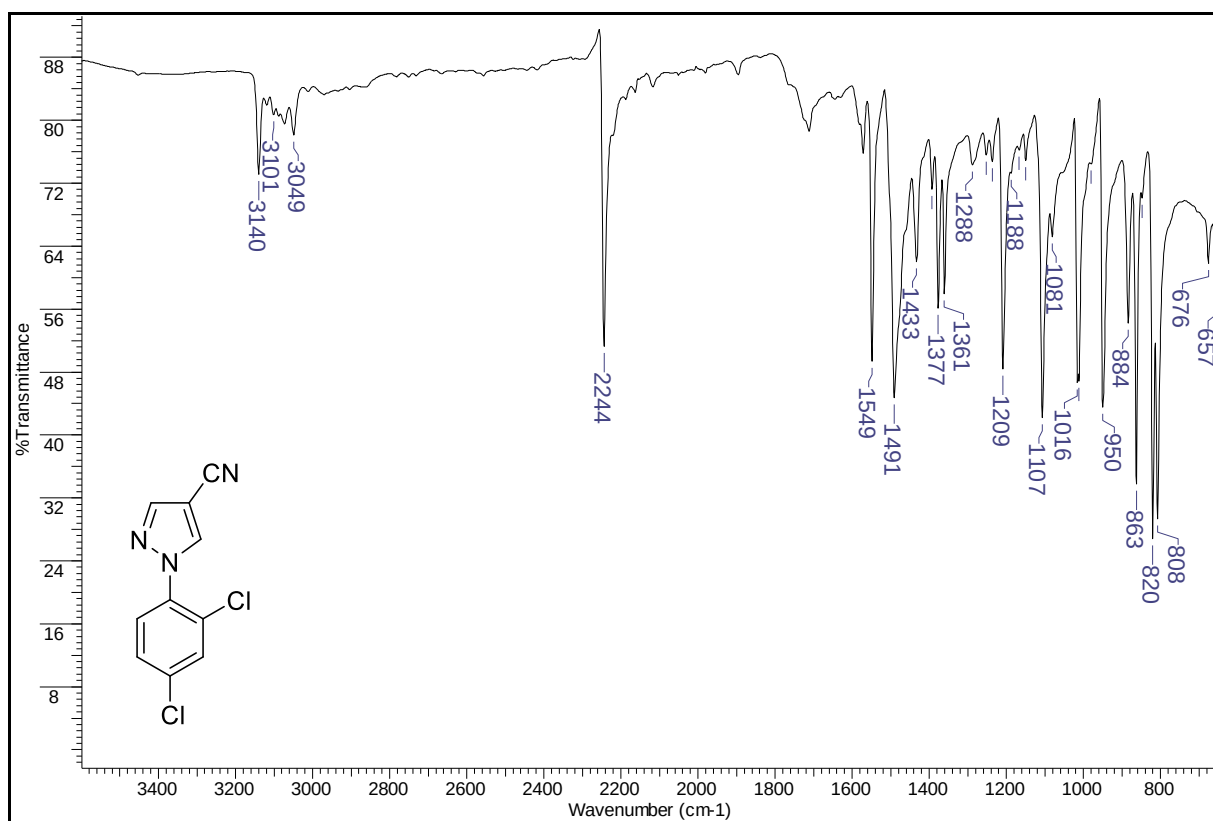


Espectro 16: Espectro de infravermelho do derivado **3l**.

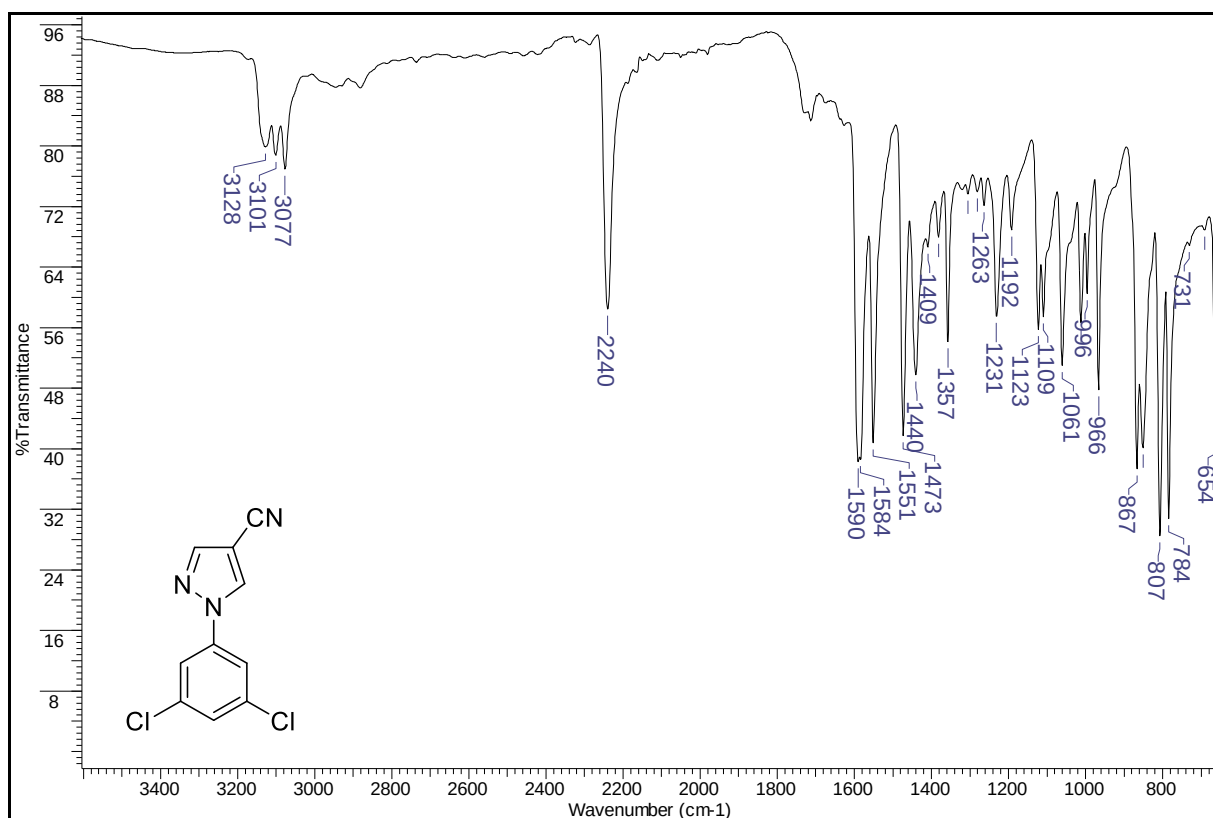
**ANEXO C – Espectros de infravermelho dos derivados
1-*aril-1H*-pirazol-4-carbonitrilas 4(a-l)**



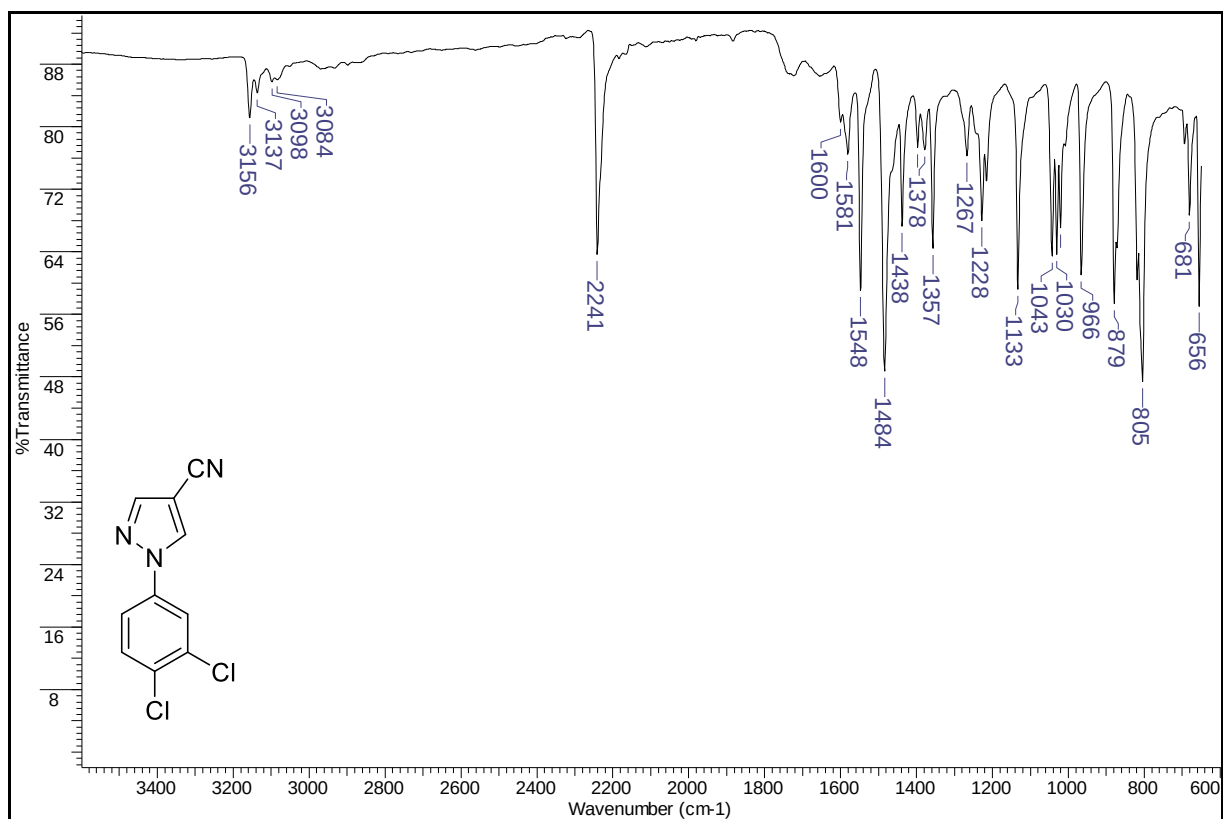
Espectro 17: Espectro de infravermelho do derivado **4a**.



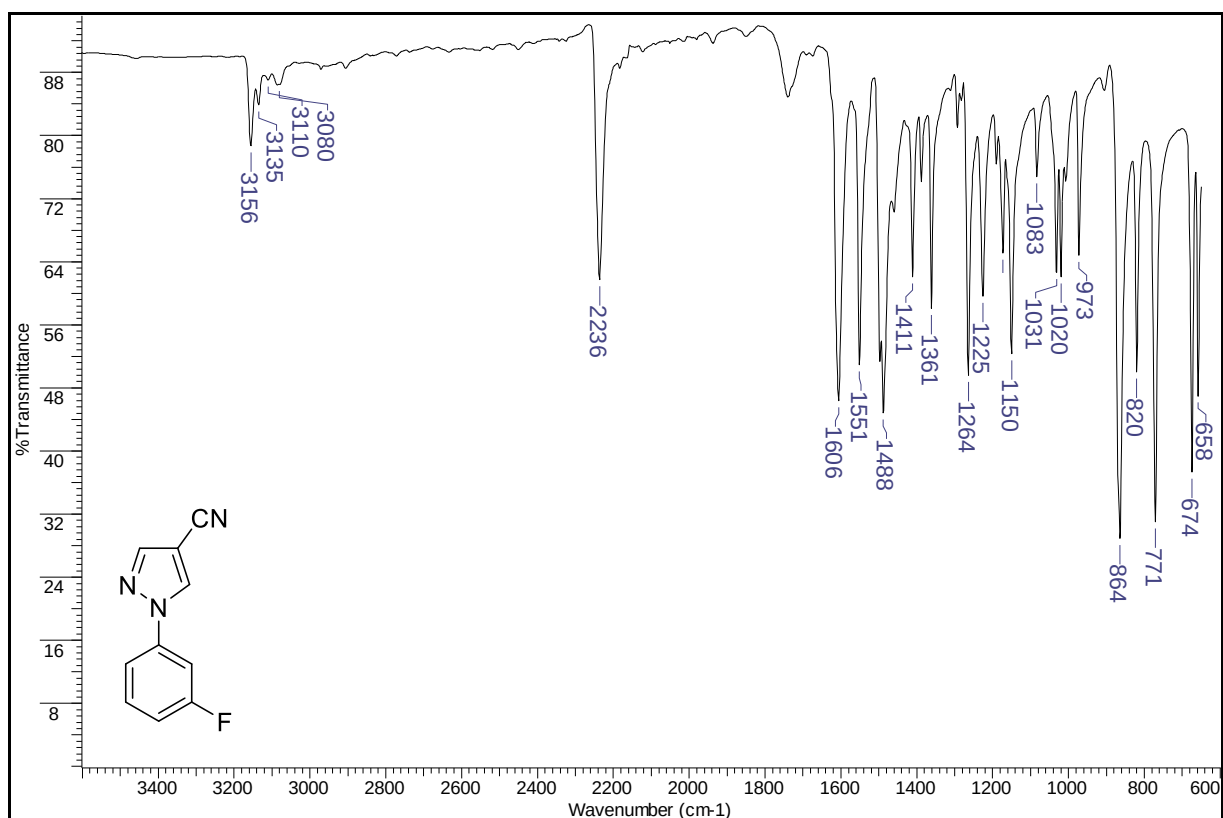
Espectro 18: Espectro de infravermelho do derivado **4b**.



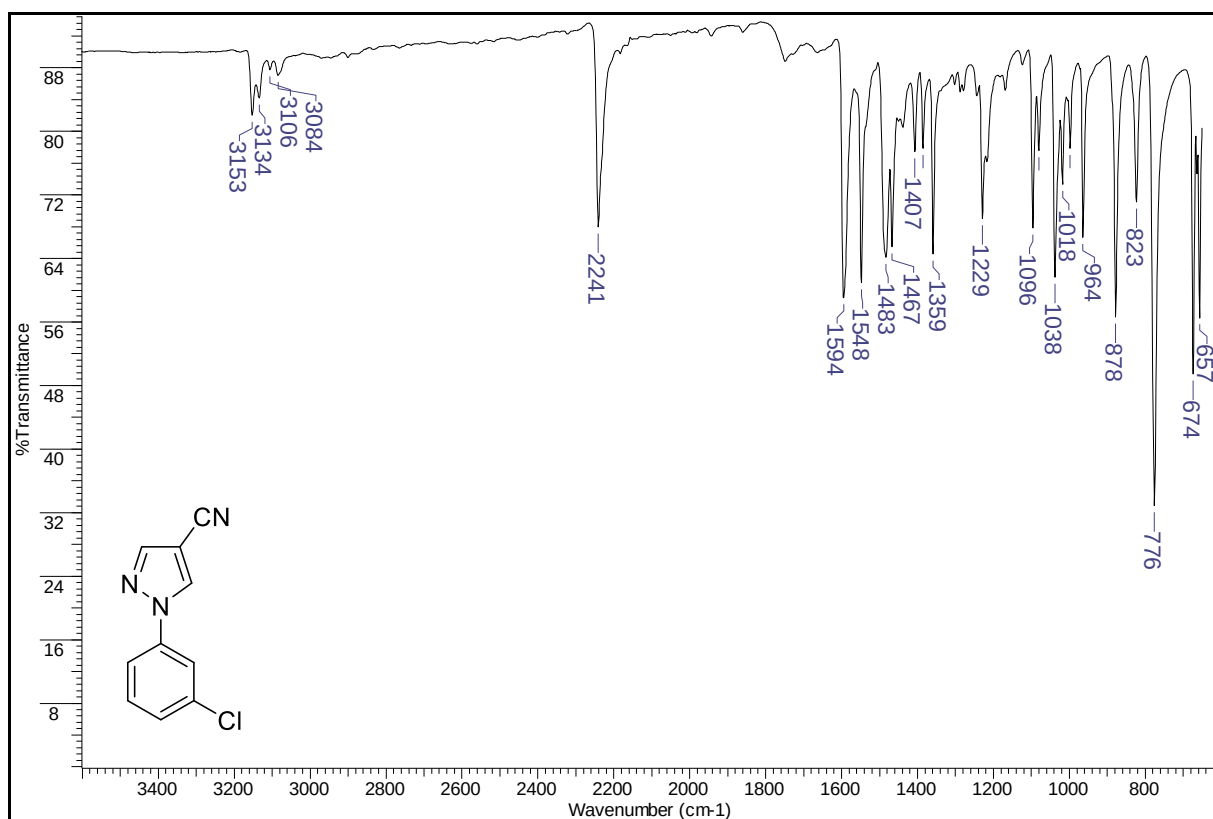
Espectro 19: Espectro de infravermelho do derivado **4c**.



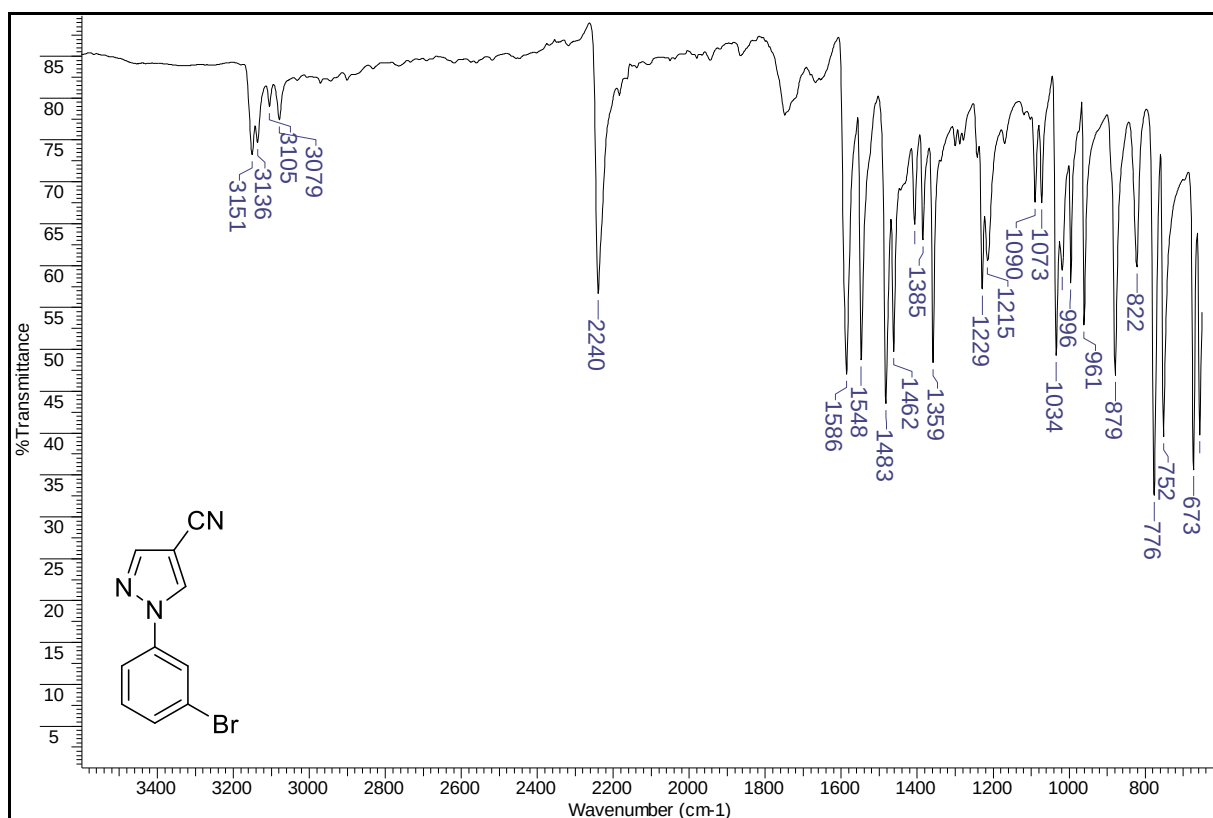
Espectro 20: Espectro de infravermelho do derivado **4d**.



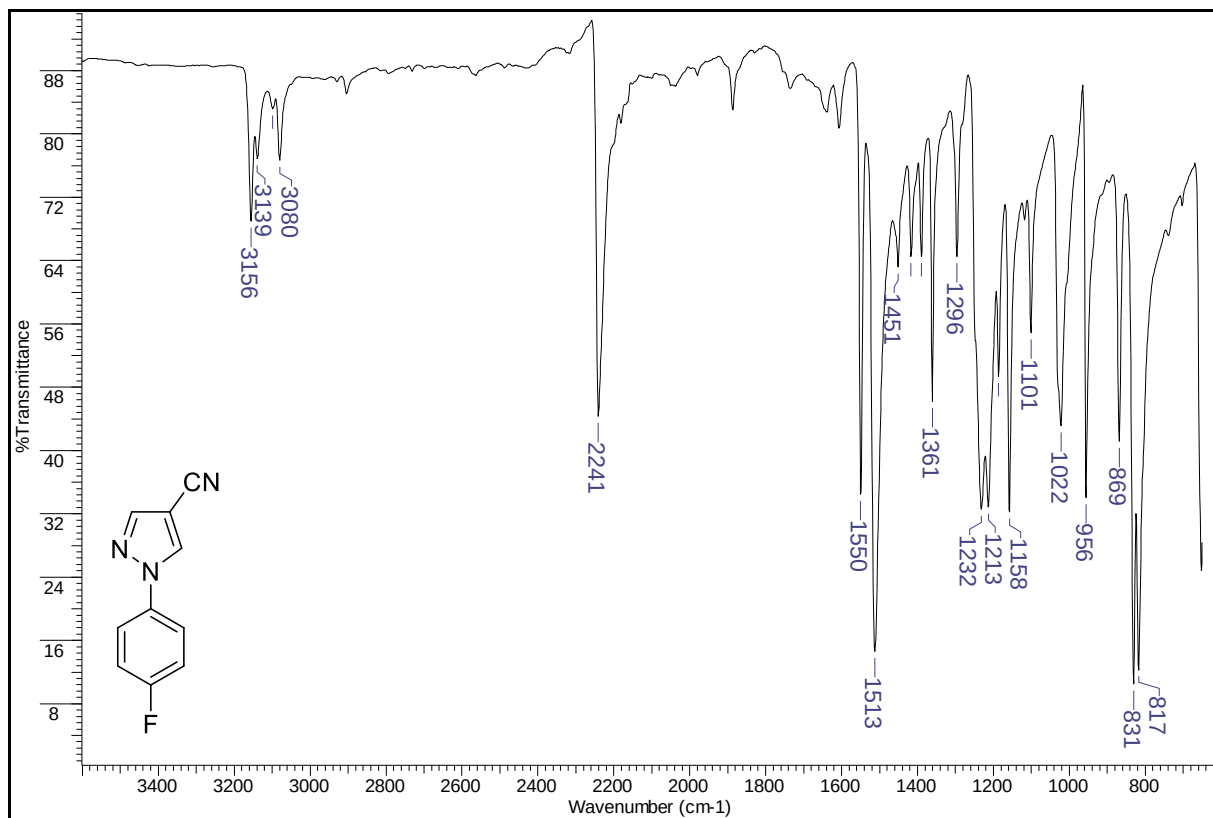
Espectro 21: Espectro de infravermelho do derivado **4e**.



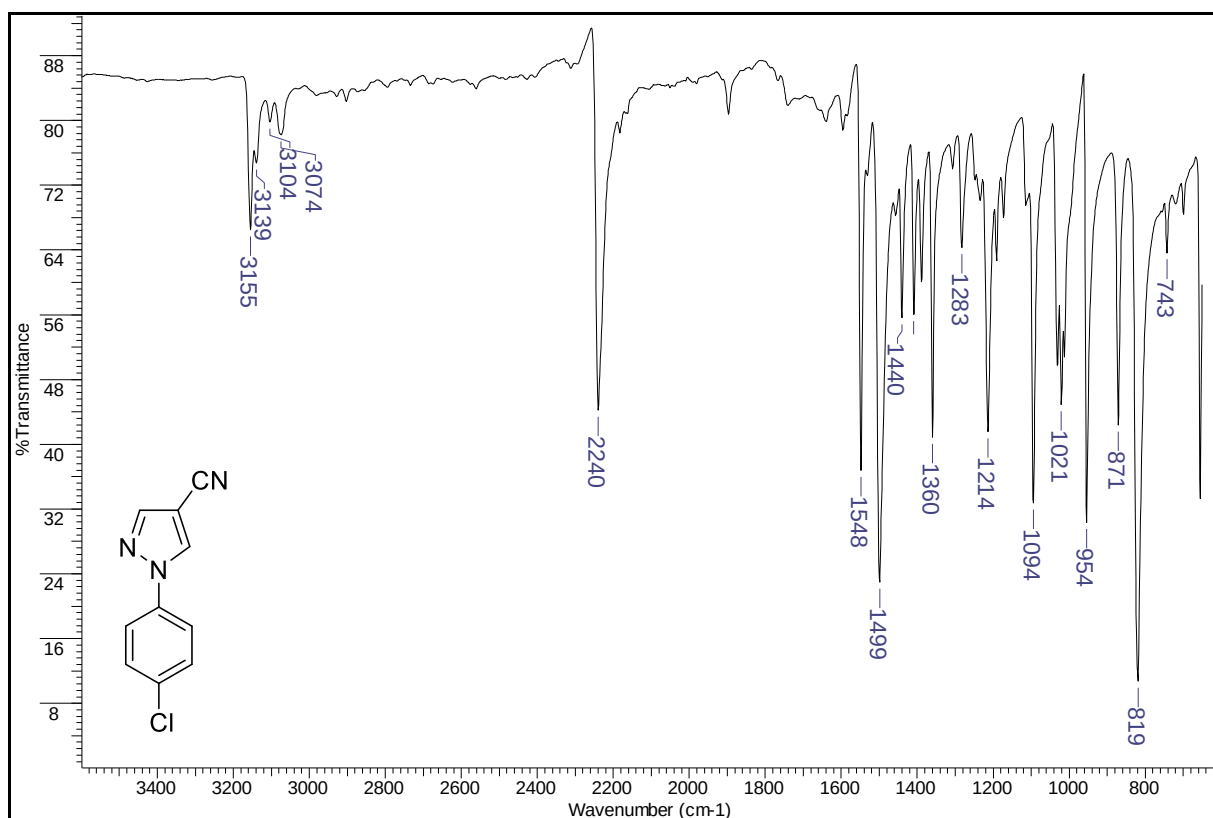
Espectro 22: Espectro de infravermelho do derivado **4f**.



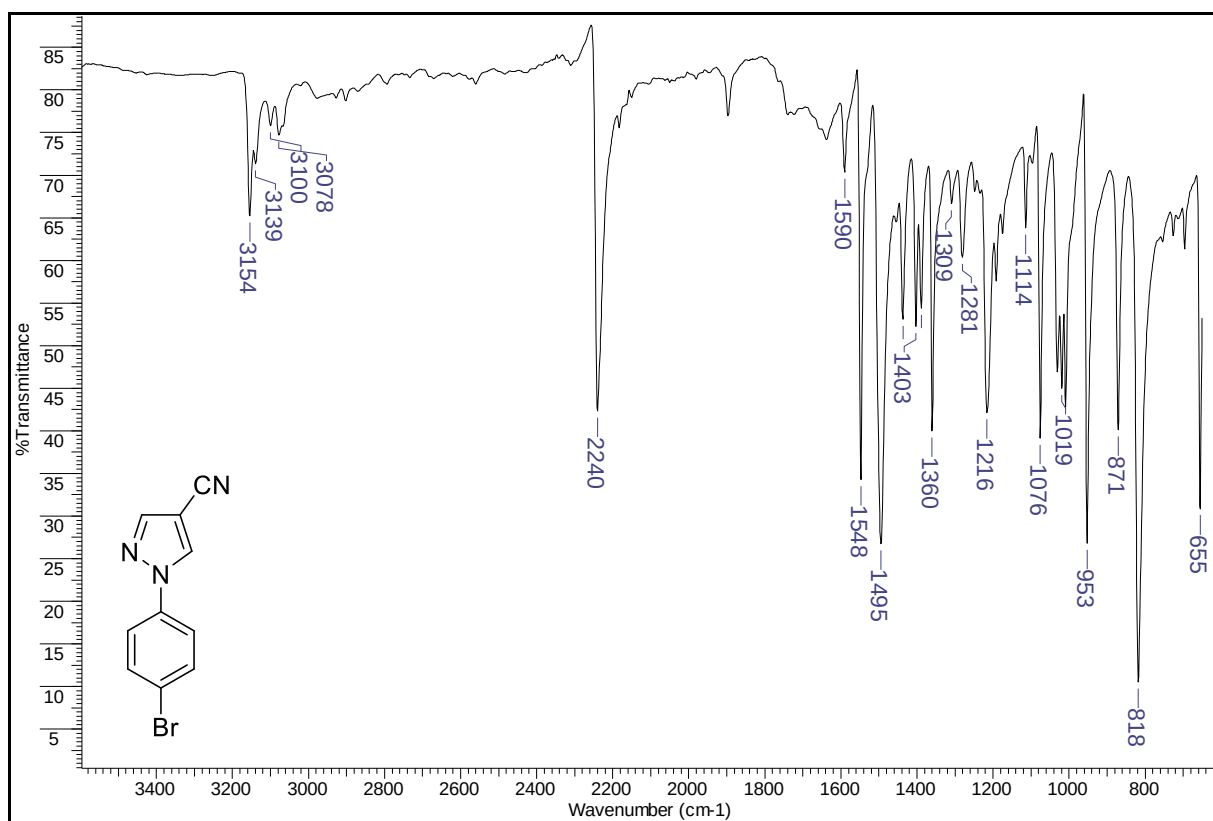
Espectro 23: Espectro de infravermelho do derivado **4g**.



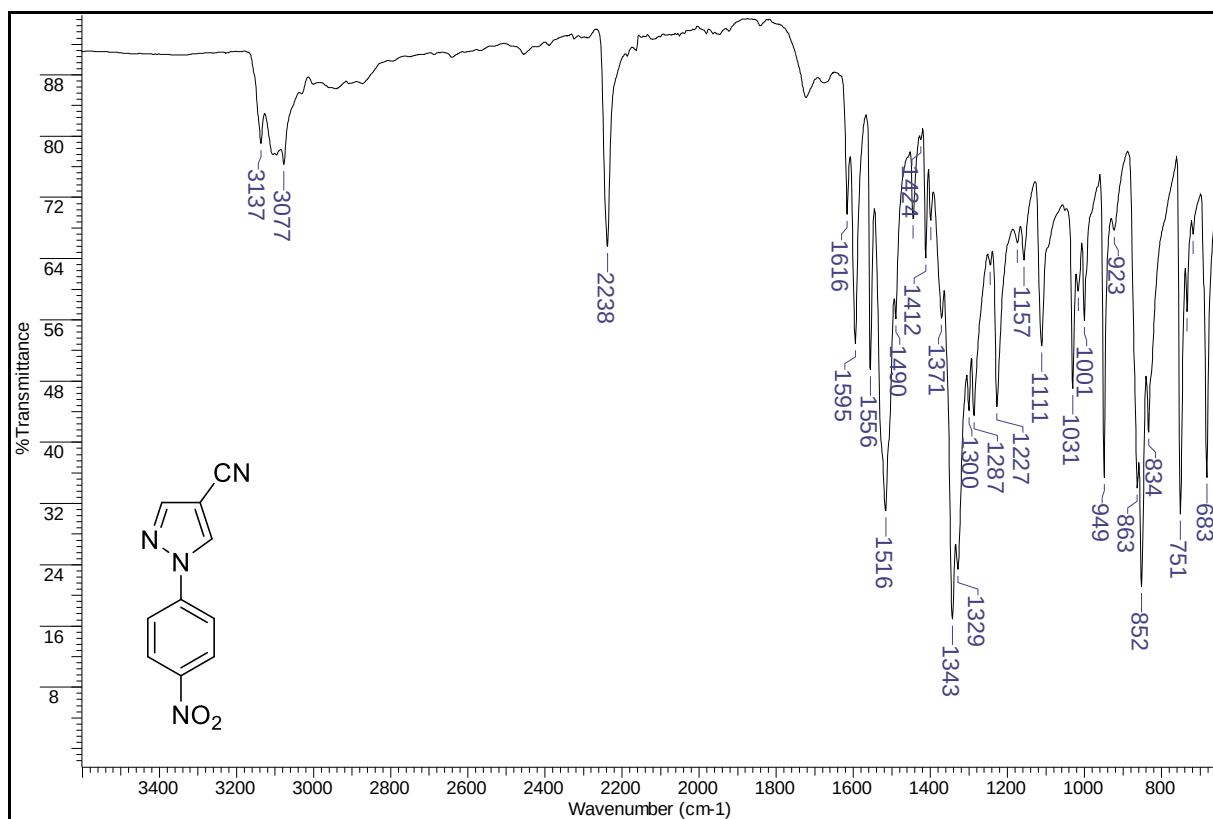
Espectro 24: Espectro de infravermelho do derivado **4h**.



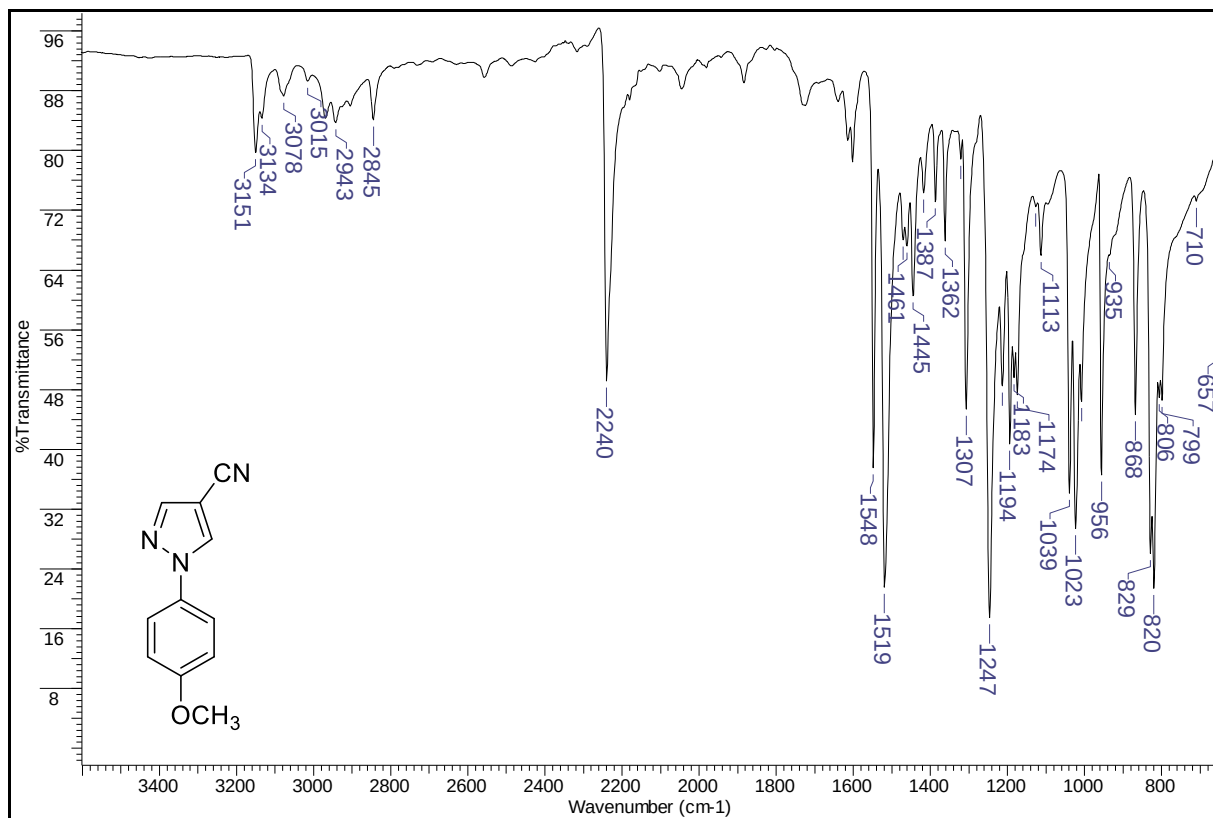
Espectro 25: Espectro de infravermelho do derivado 4i.



Espectro 26: Espectro de infravermelho do derivado 4j.

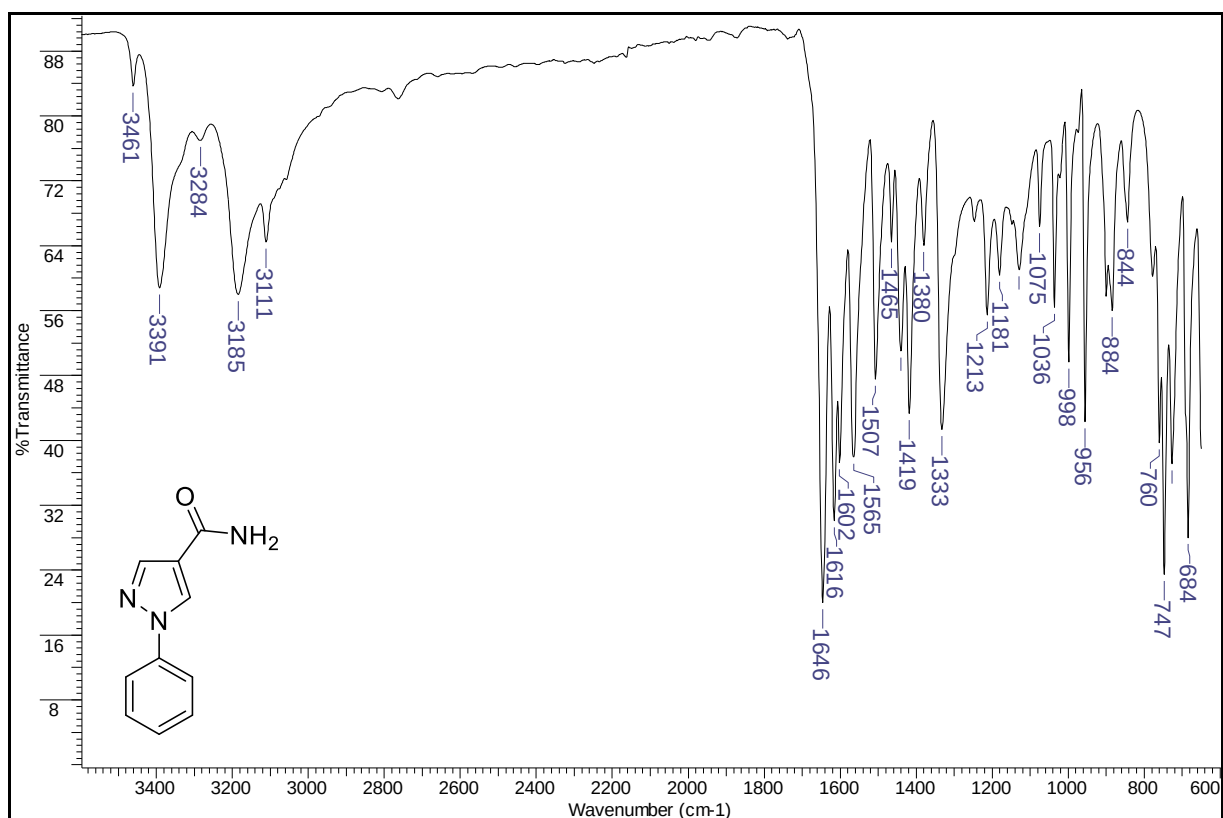


Espectro 27: Espectro de infravermelho do derivado **4k**.

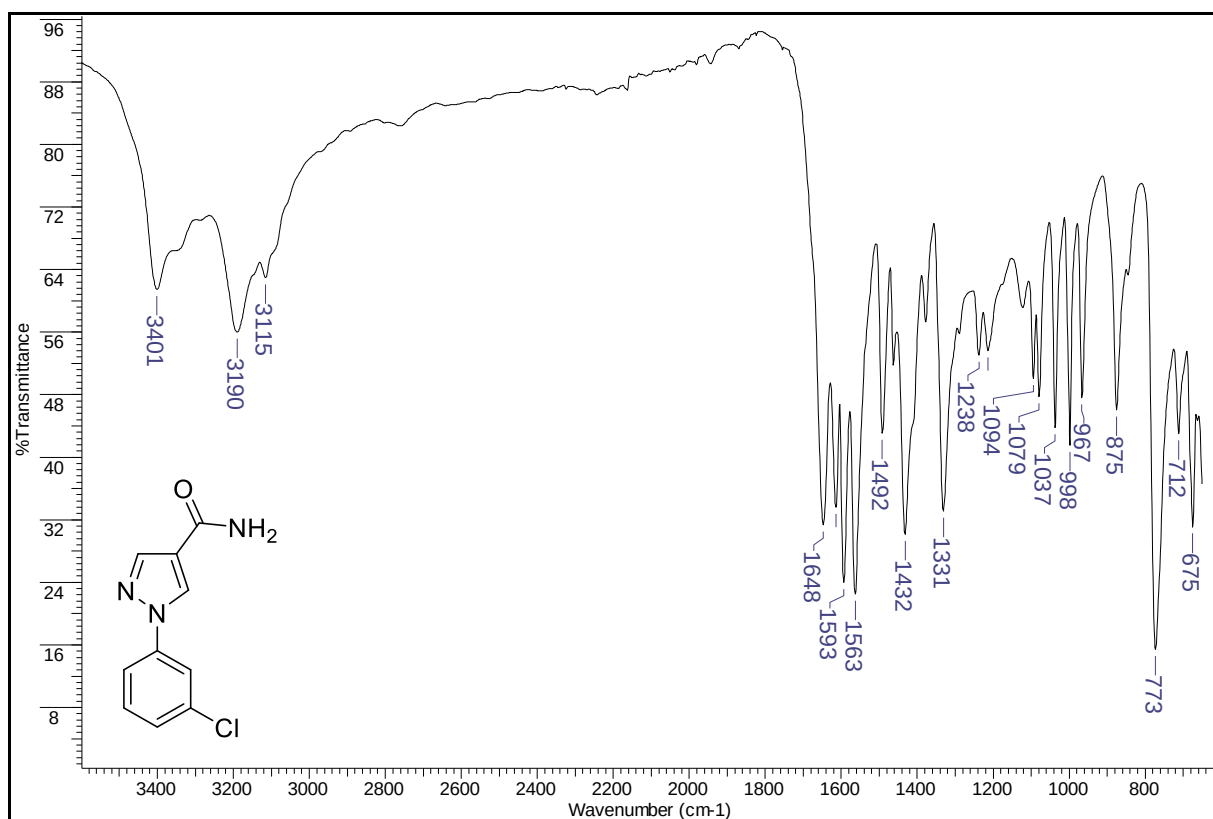


Espectro 28: Espectro de infravermelho do derivado **4l**.

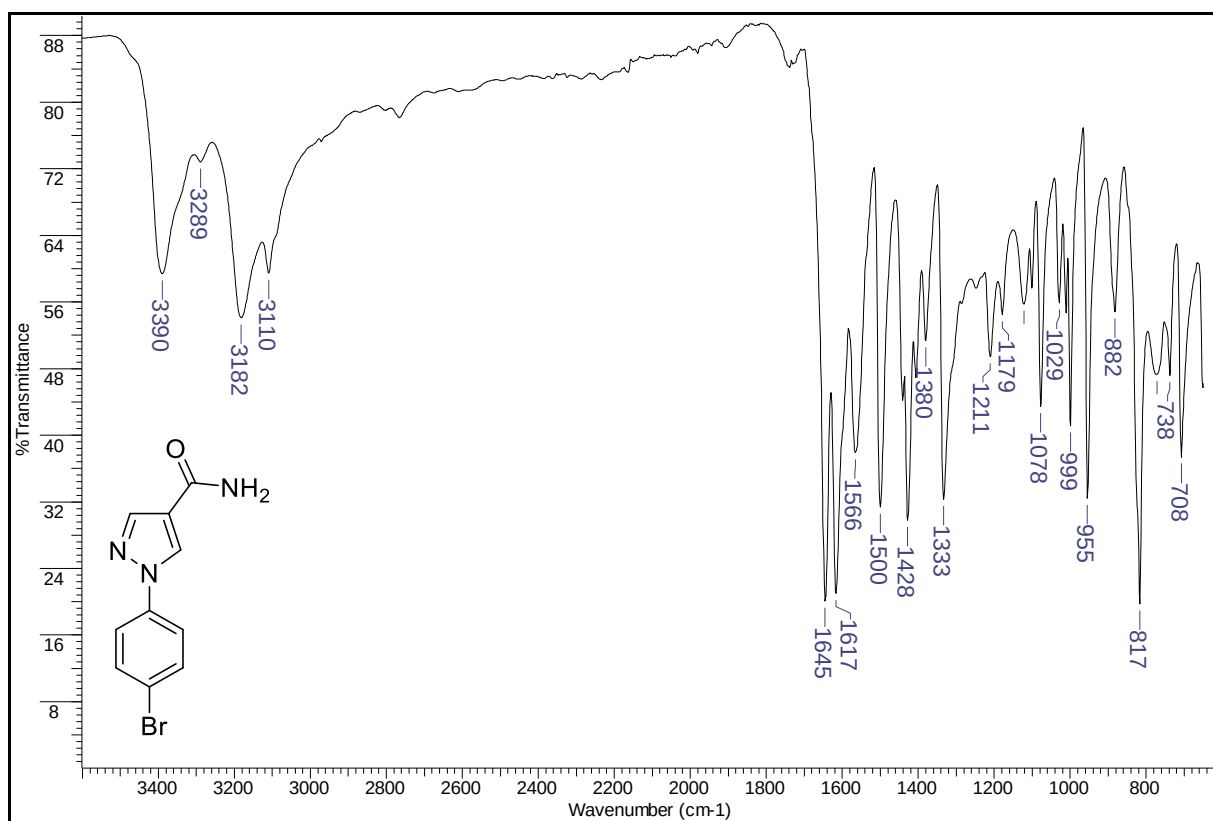
**ANEXO D – Espectros de infravermelho dos derivados
1-*aril-1H*-pirazol-4-carboxamidas 5(a,f,j)**



Espectro 29: Espectro de infravermelho do derivado 5a.

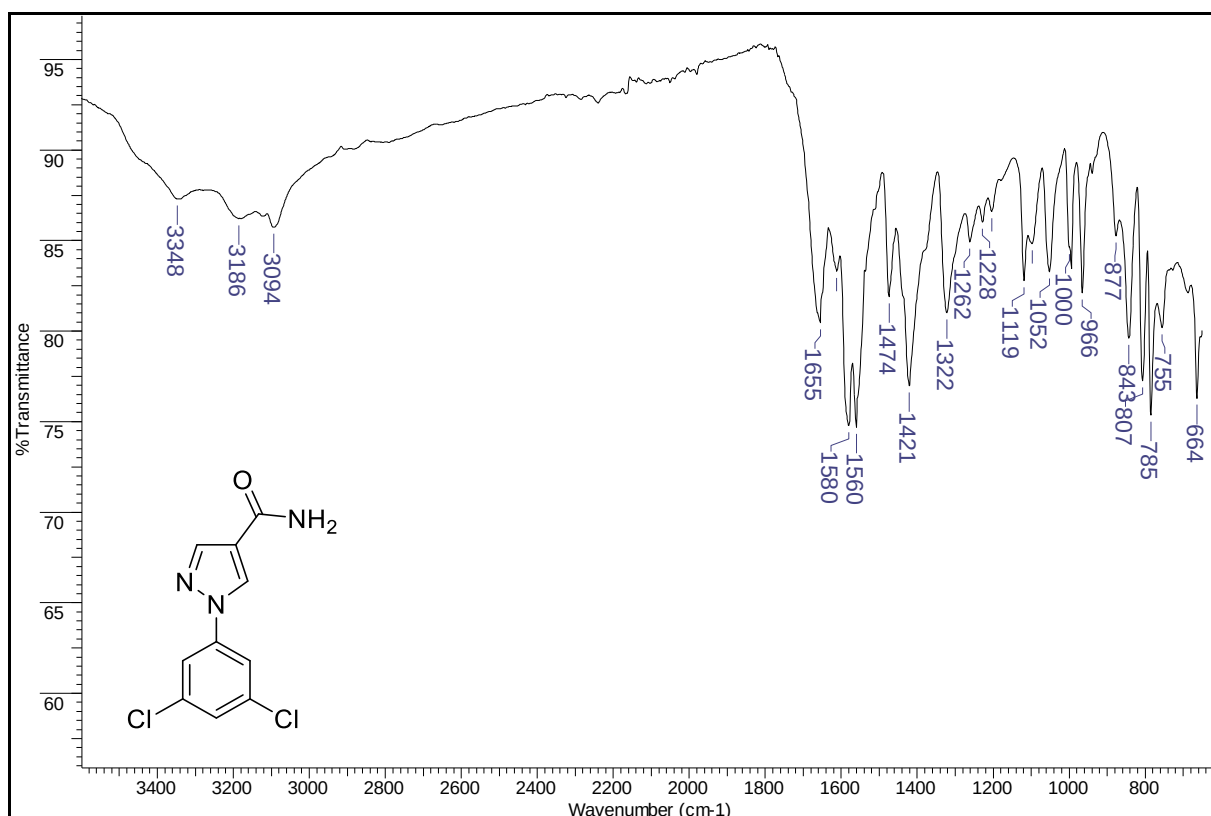


Espectro 30: Espectro de infravermelho do derivado 5f.

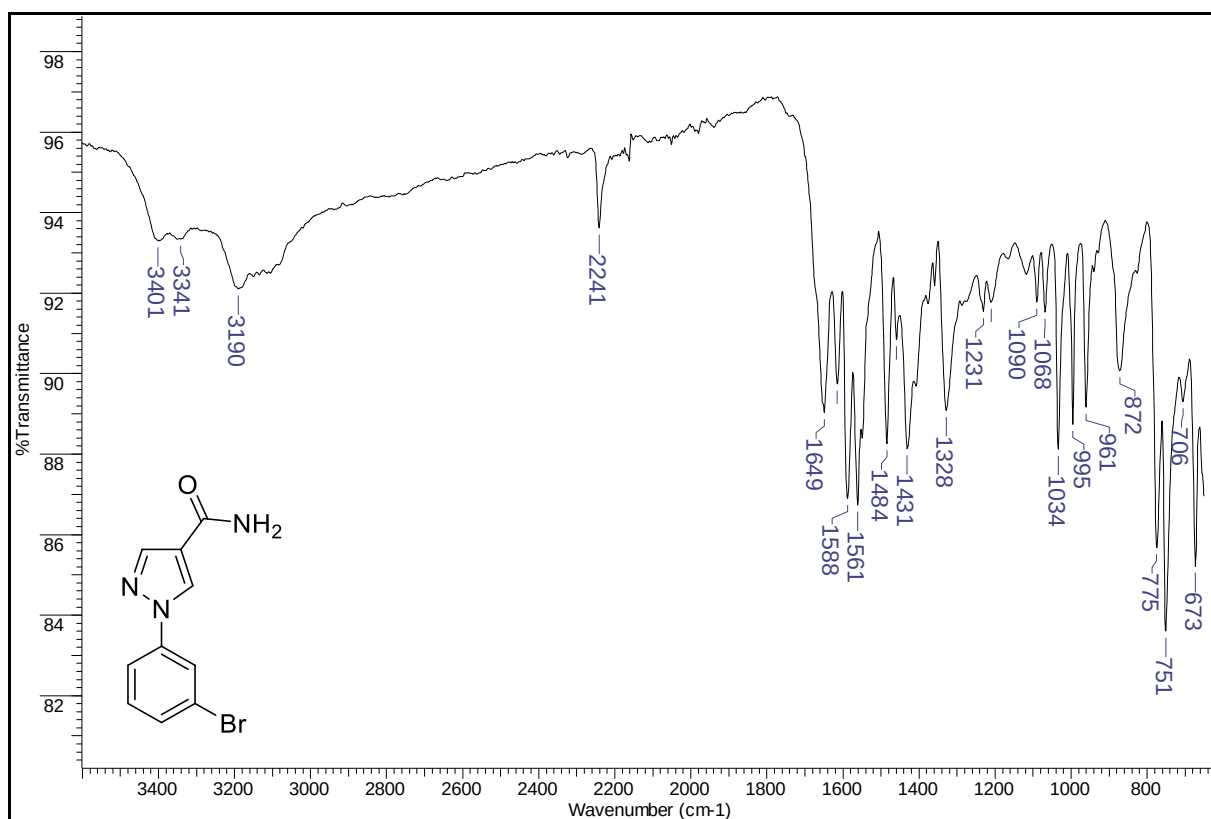


Espectro 31: Espectro de infravermelho do derivado **5j**.

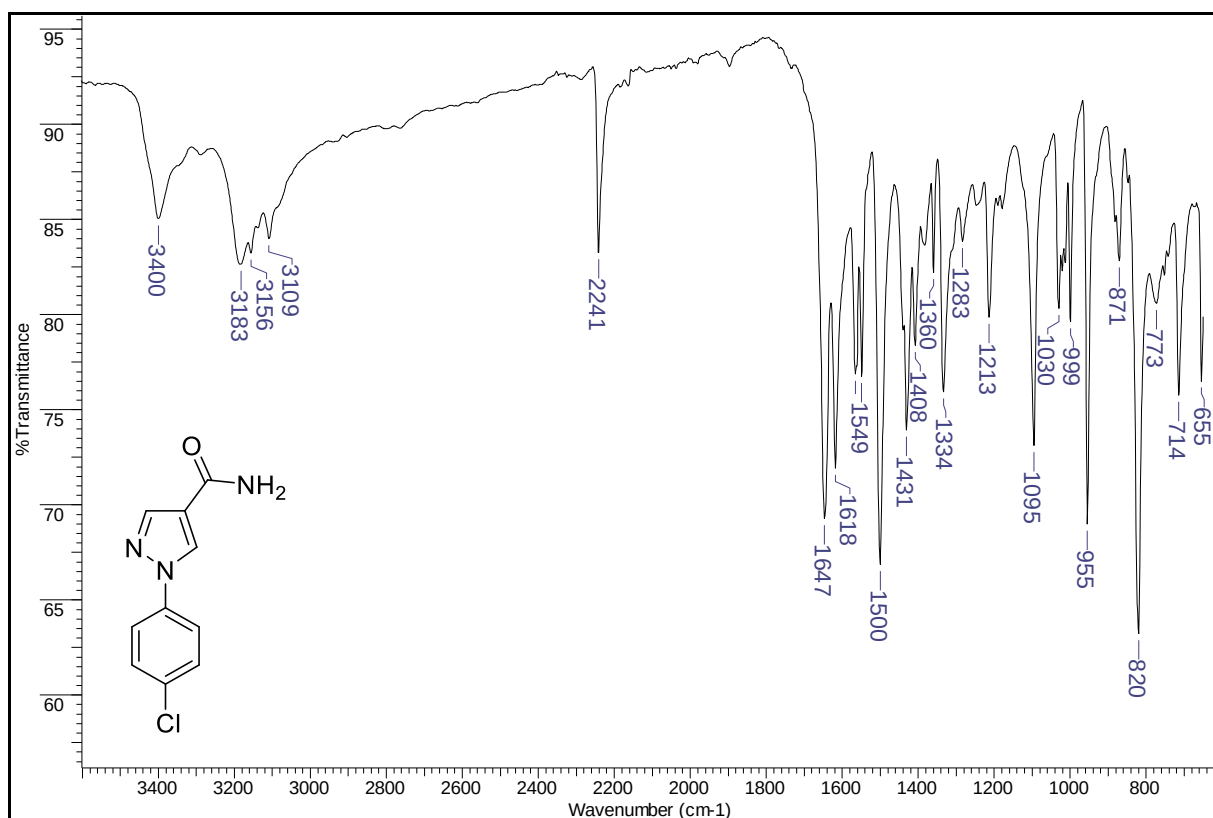
**ANEXO E – Espectros de infravermelho dos produtos das entradas
01 a 06 da Tabela 2**



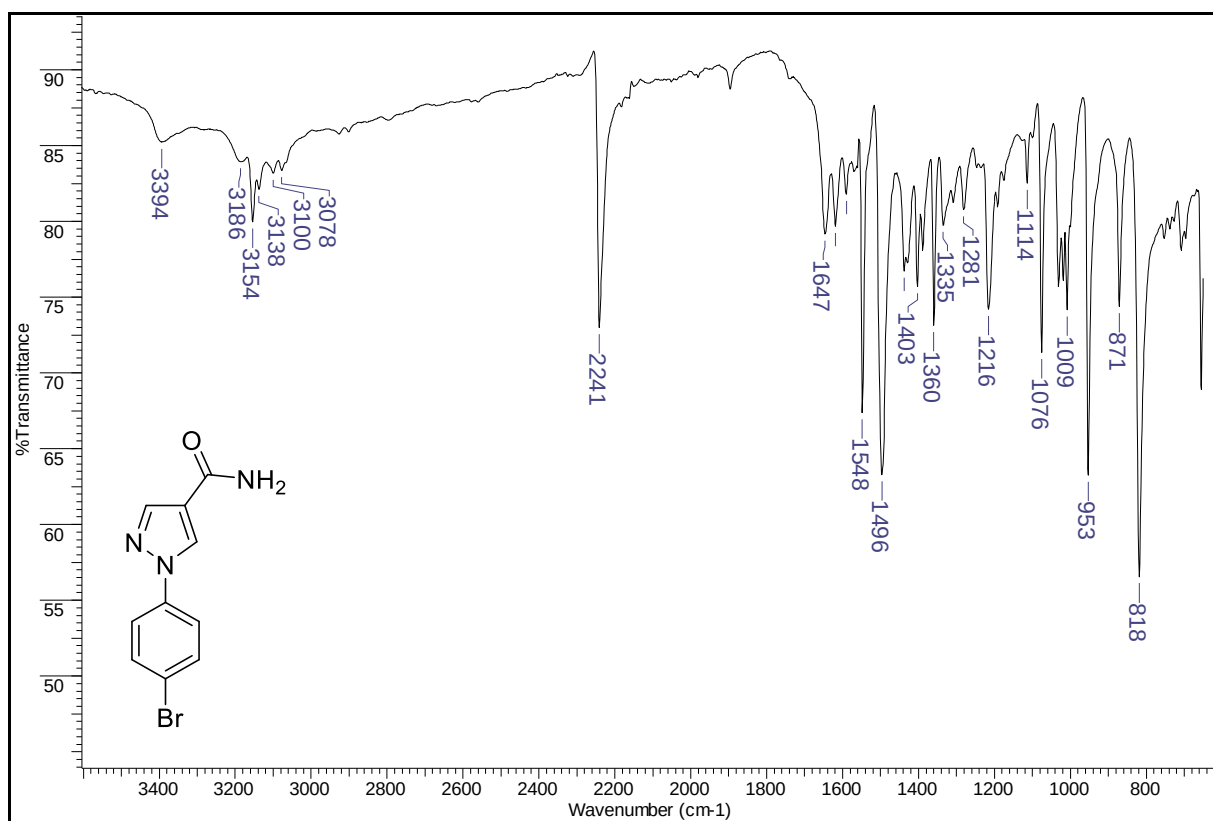
Espectro 32: Espectro de infravermelho do produto da entrada 01.



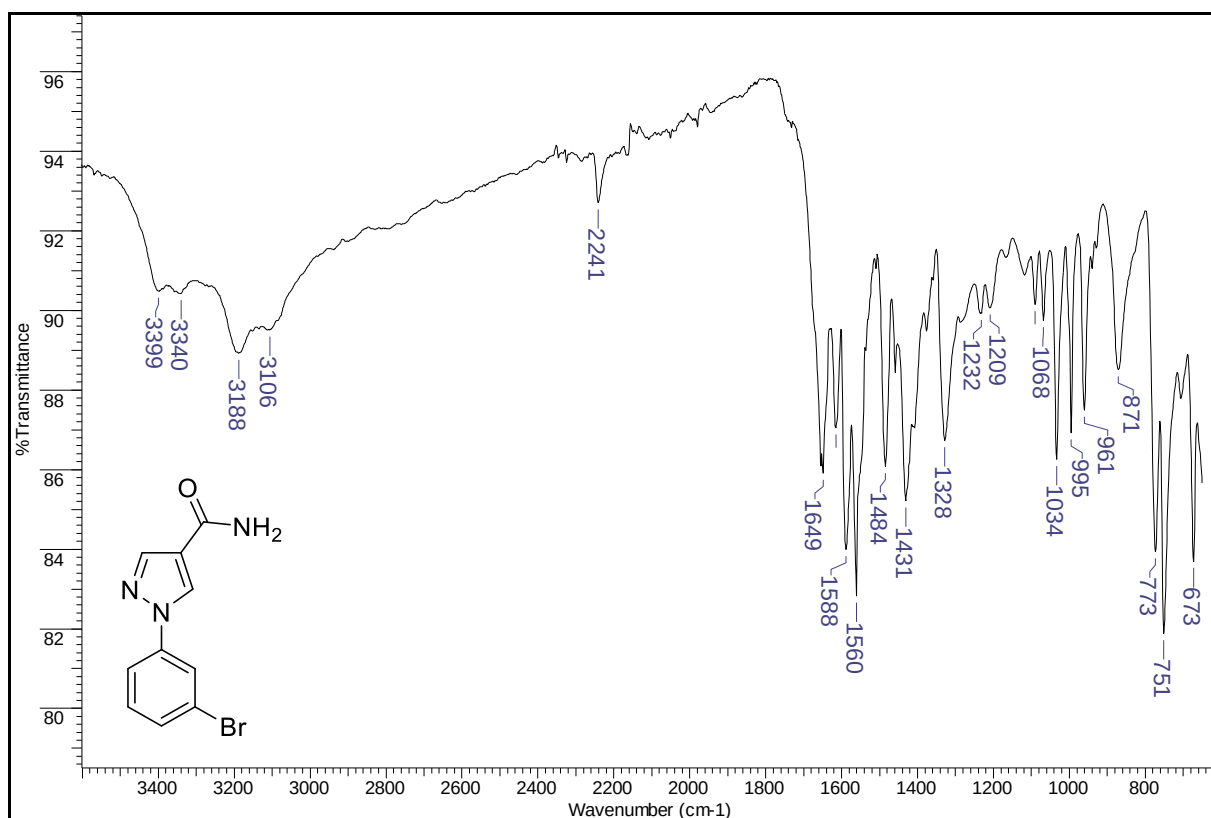
Espectro 33: Espectro de infravermelho do produto da entrada 02.



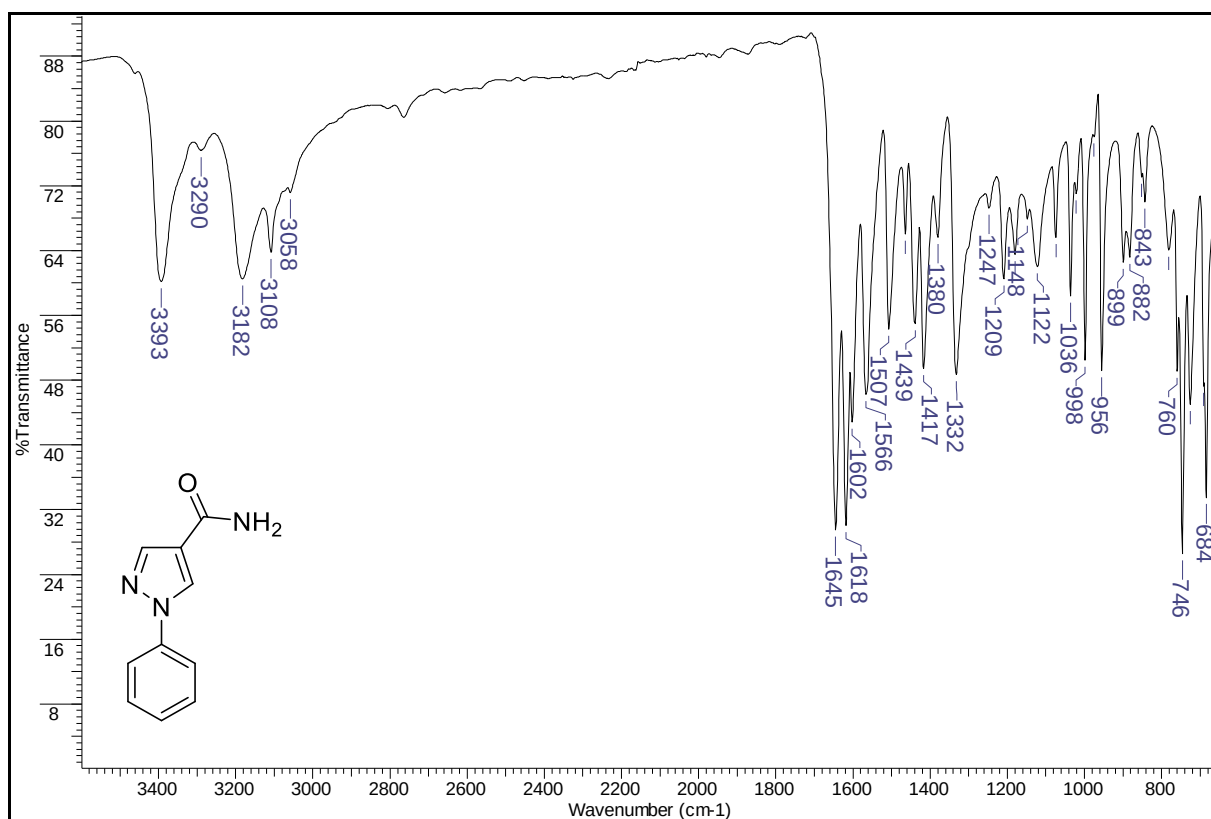
Espectro 34: Espectro de infravermelho do produto da entrada 03.



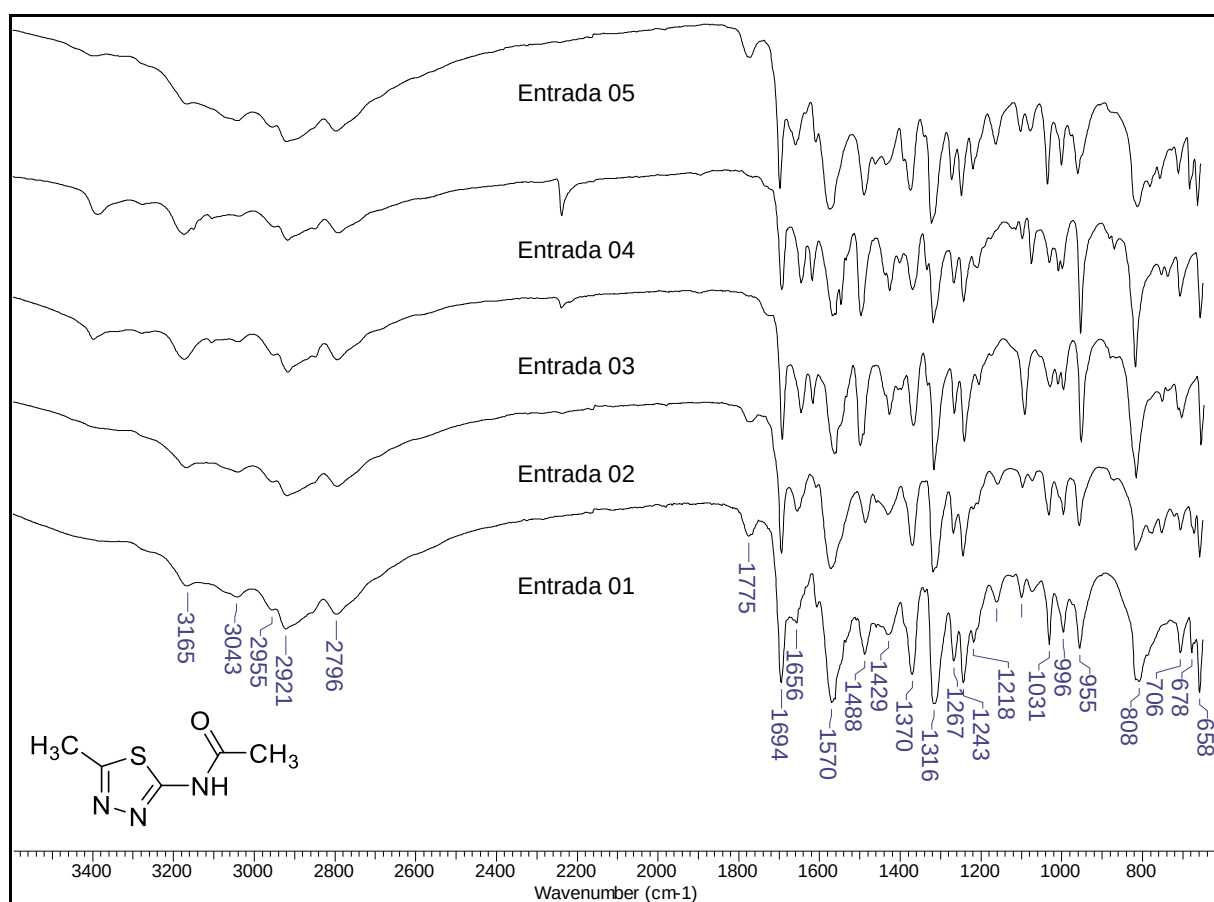
Espectro 35: Espectro de infravermelho do produto da entrada 04.



Espectro 36: Espectro de infravermelho do produto da entrada 05.

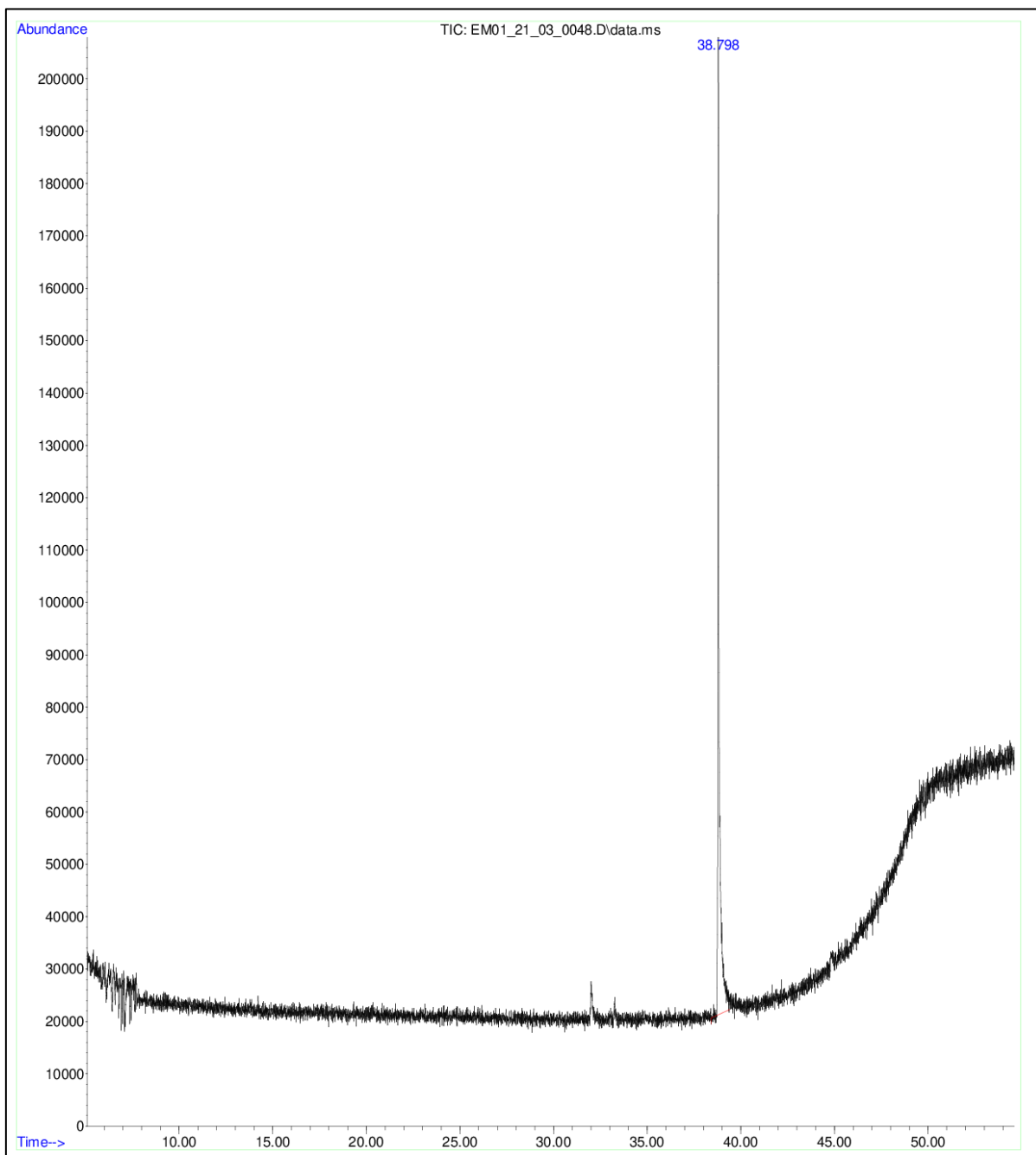


Espectro 37: Espectro de infravermelho do produto da entrada 06.

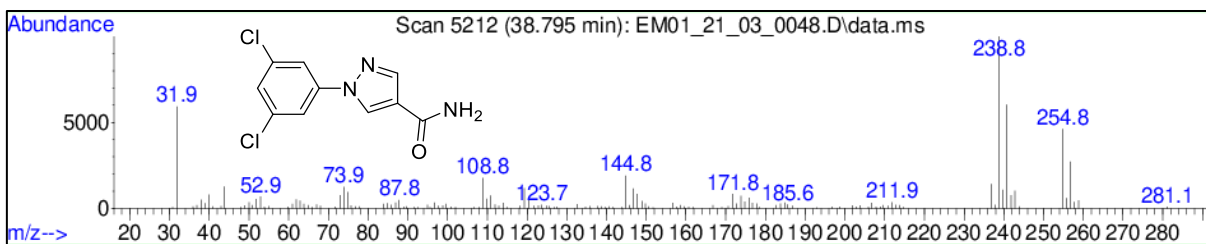


Espectro 38: Espectros de infravermelho do subproduto 7 das entradas 01 a 05.

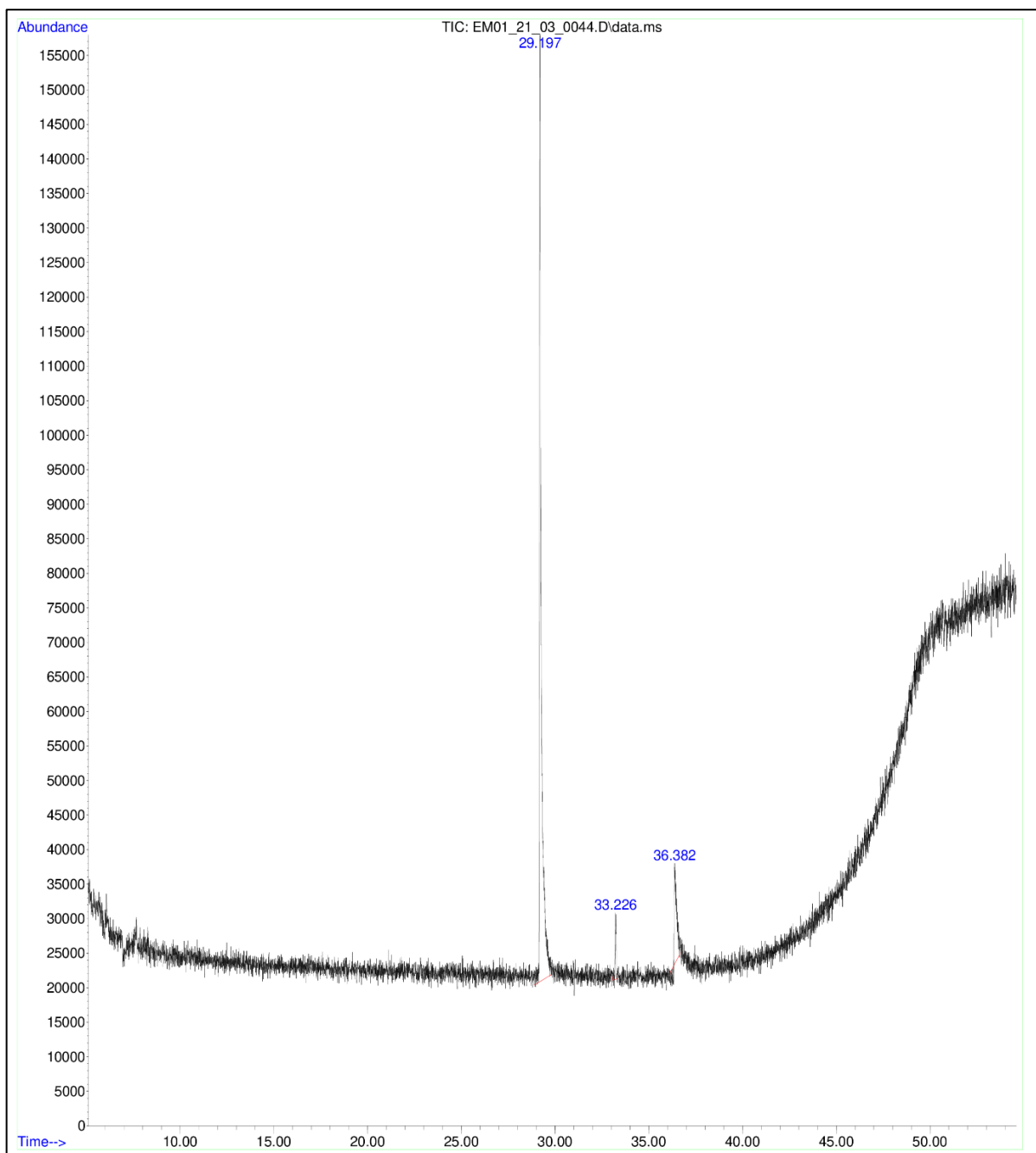
**ANEXO F – Cromatogramas e espectros de massas dos produtos
das entradas 01, 03 e 05 da Tabela 2**



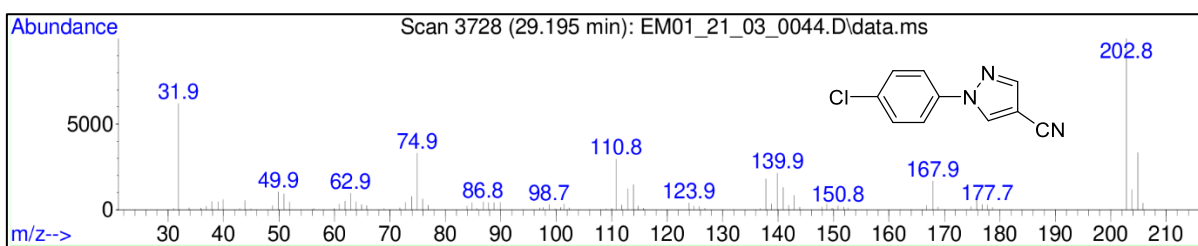
Cromatograma 1: Cromatograma do produto da entrada 01.



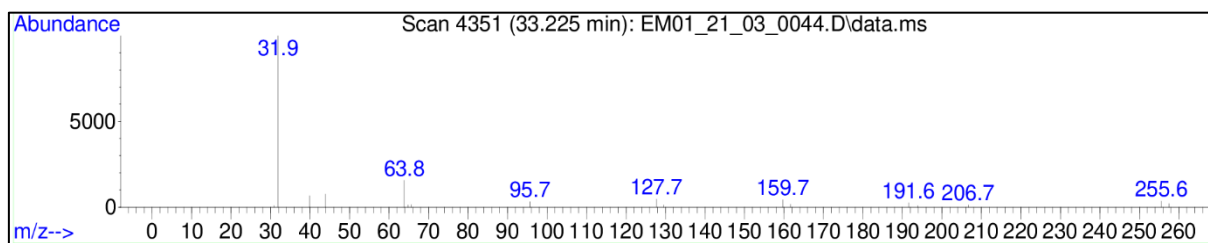
Espectro 39: Espectro de massas do composto com $t_r = 38,795$ min do cromatograma 01.



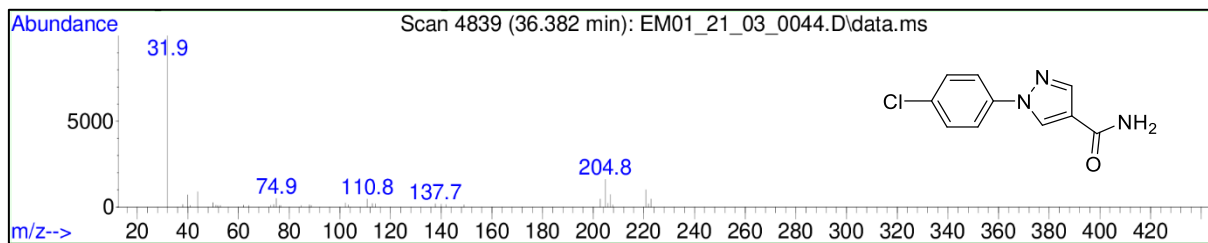
Cromatograma 2: Cromatograma do produto da entrada 03.



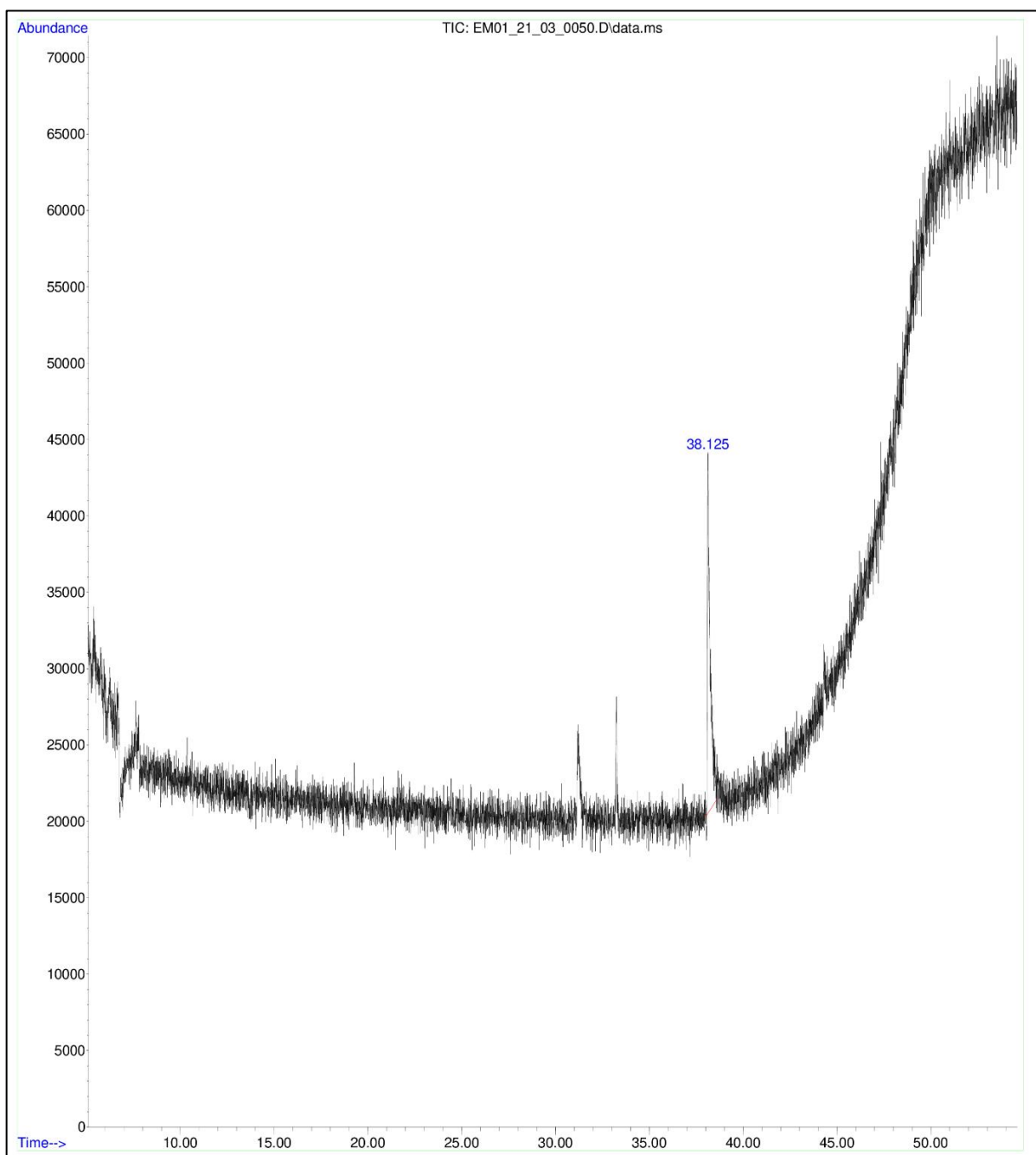
Espectro 40: Espectro de massas do composto com $t_r = 29,195$ min do Cromatograma 02.



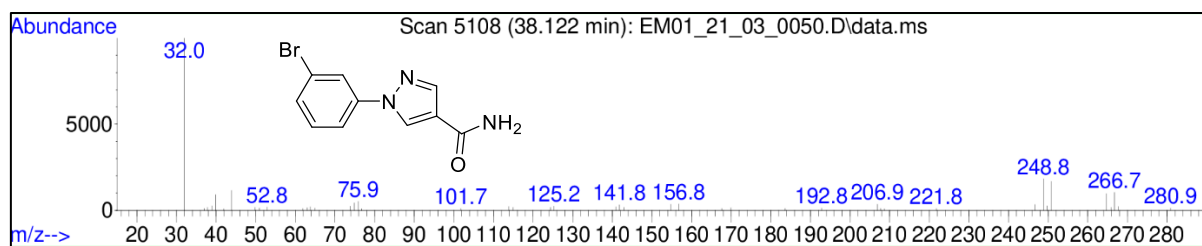
Espectro 41: Espectro de massas do composto com $t_r = 33,225$ min do Cromatograma 02.



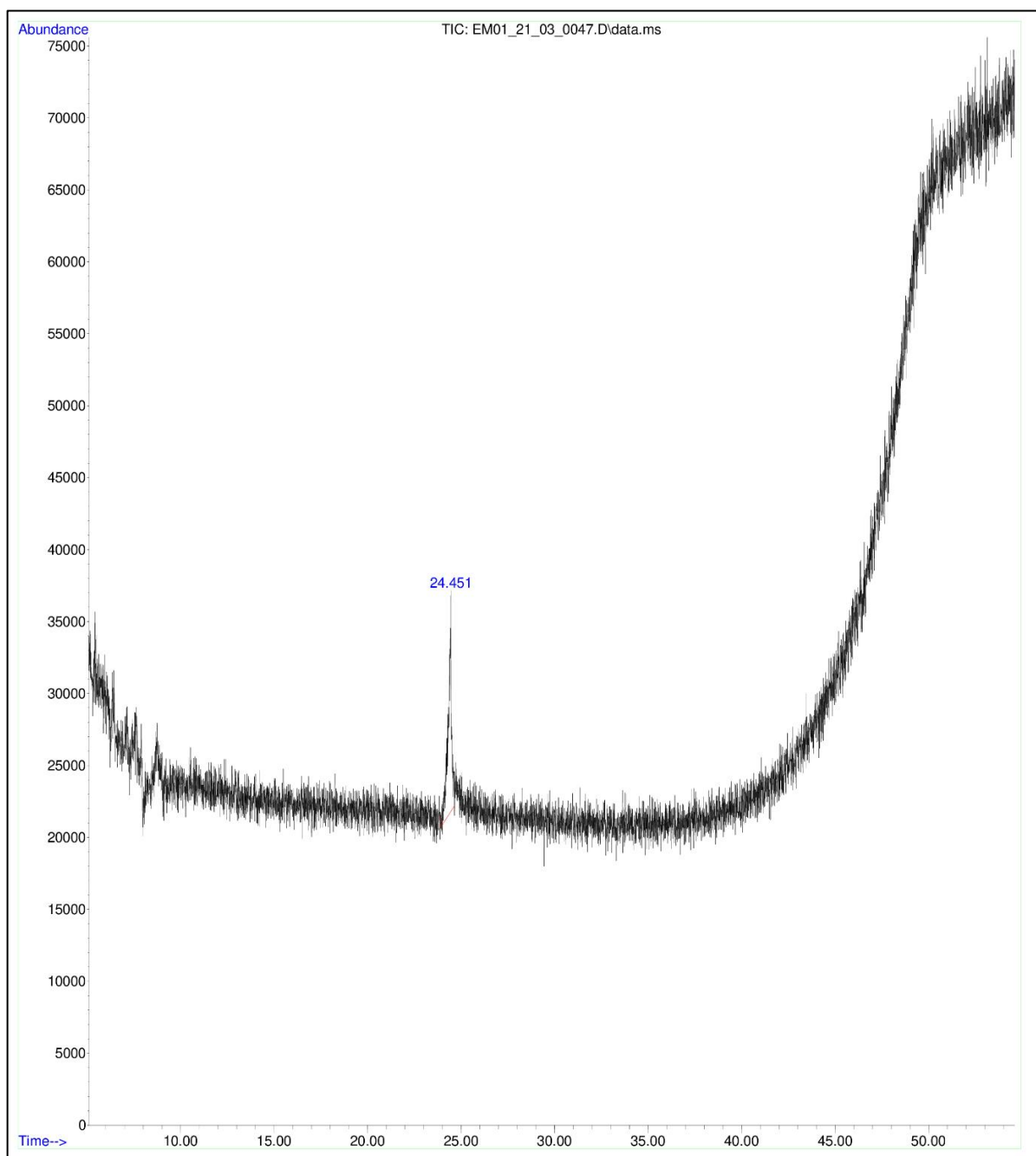
Espectro 42: Espectro de massas do composto com $t_r = 36,382$ min do Cromatograma 02.



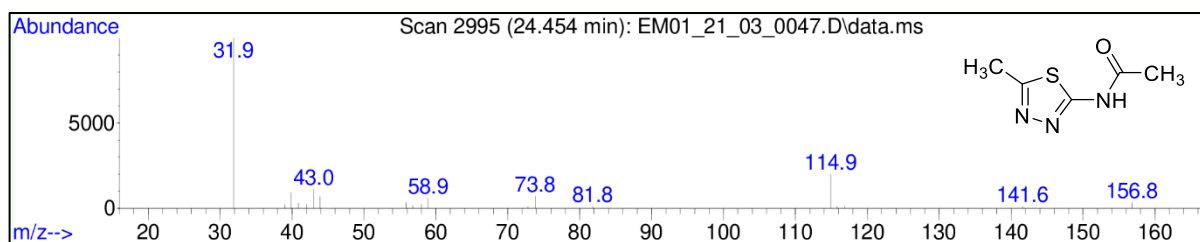
Cromatograma 3: Cromatograma do produto da entrada 05.



Espectro 43: Espectro de massas do composto com $t_r = 38,122$ min do Cromatograma 3.

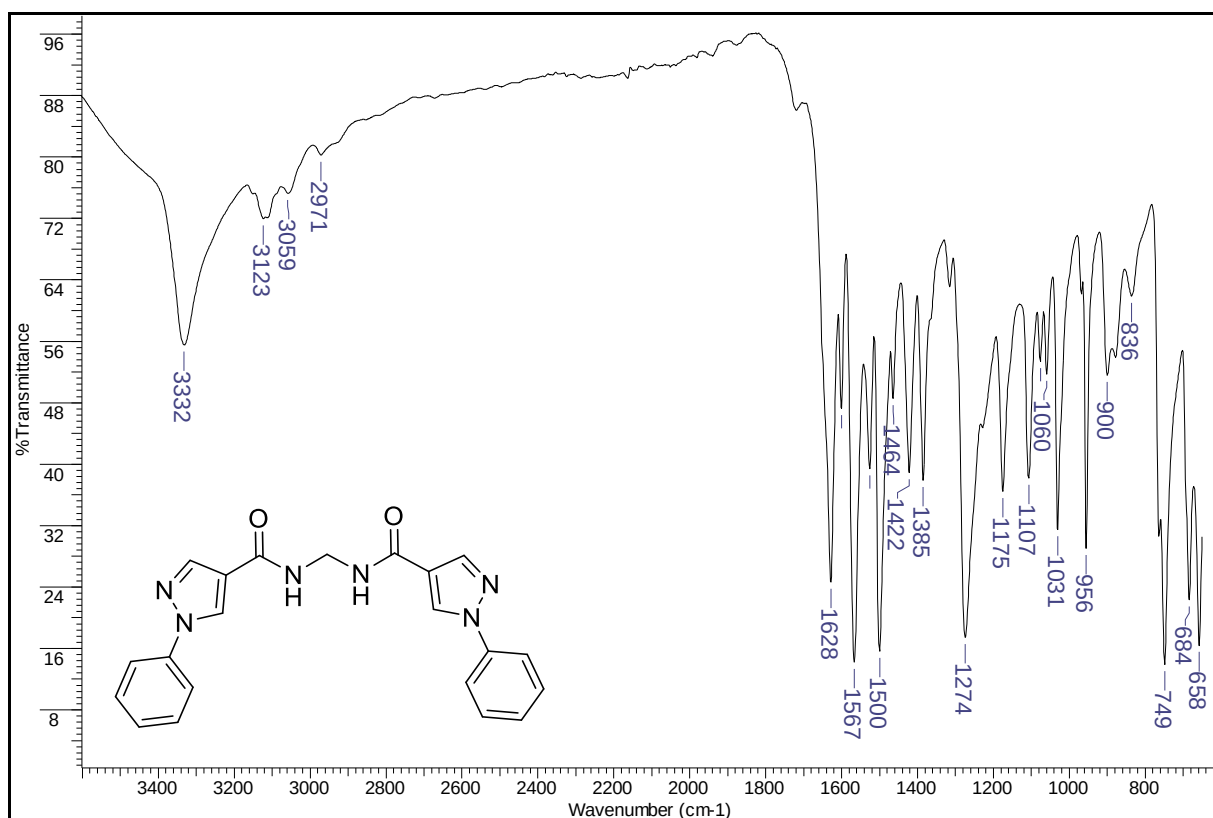


Cromatograma 4: Cromatograma do extrato da água-mãe da entrada 01.

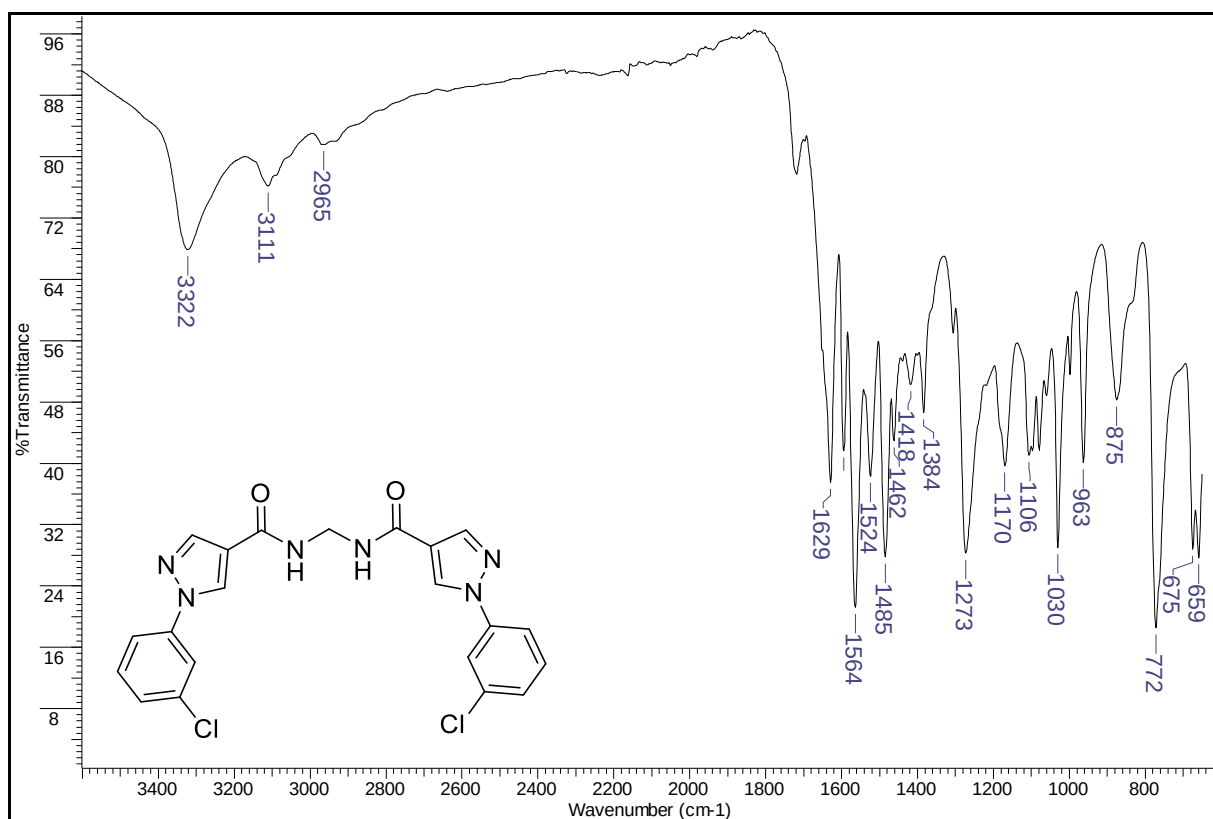


Espectro 44: Espectro de massas do composto com $t_r = 24,454$ min do Cromatograma 4.

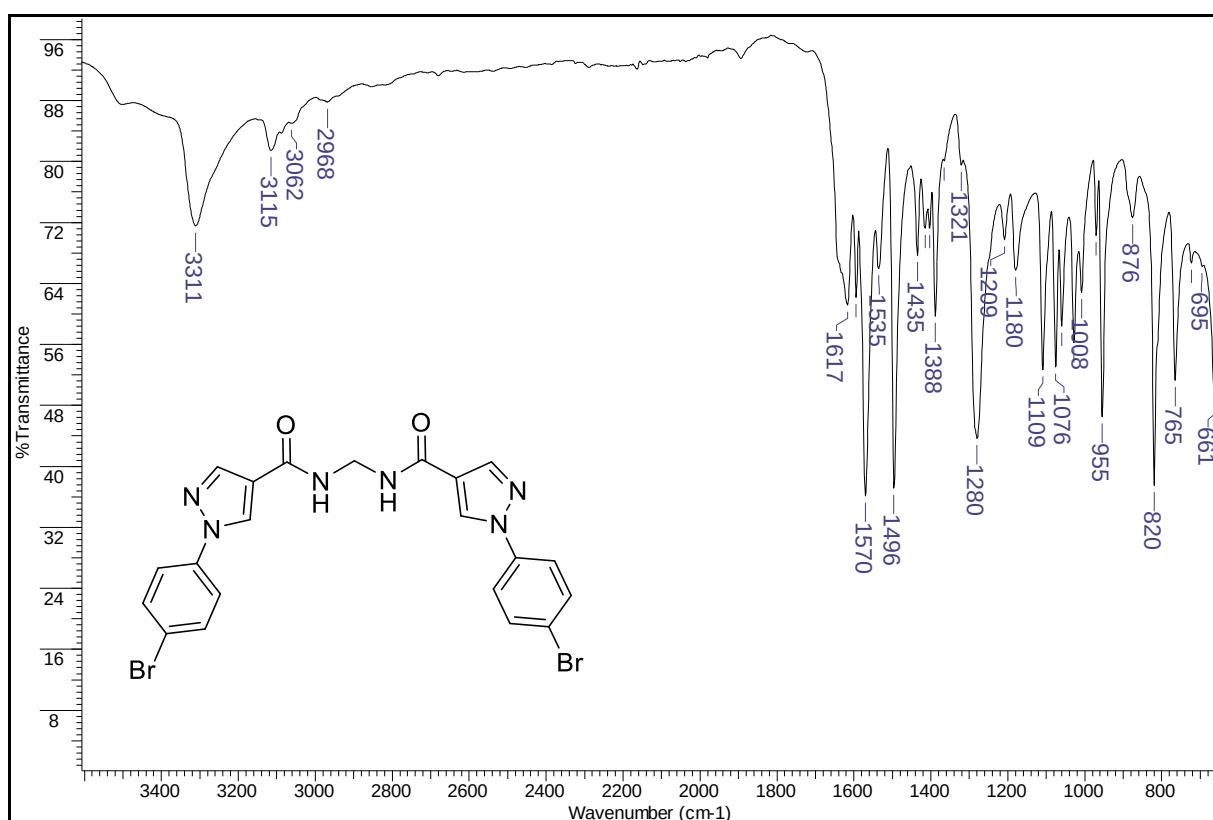
ANEXO G – Espectros de infravermelho dos derivados *N,N'*-metilenobis(1-*aril-1H*-pirazol-4-carboxamidas) 6(a,f,j)



Espectro 45: Espectro de infravermelho do derivado **6a**.

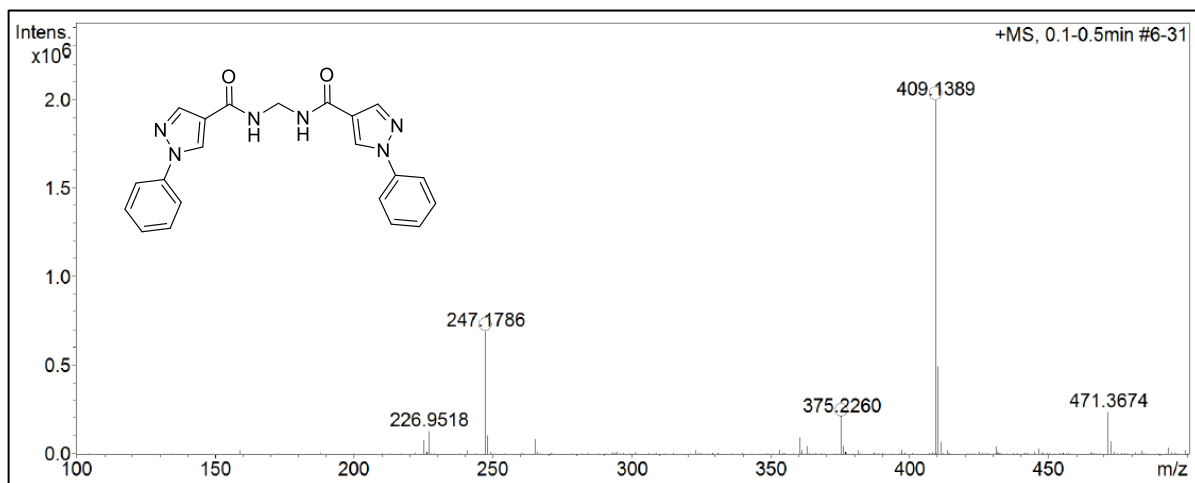


Espectro 46: Espectro de infravermelho do derivado **6f**.

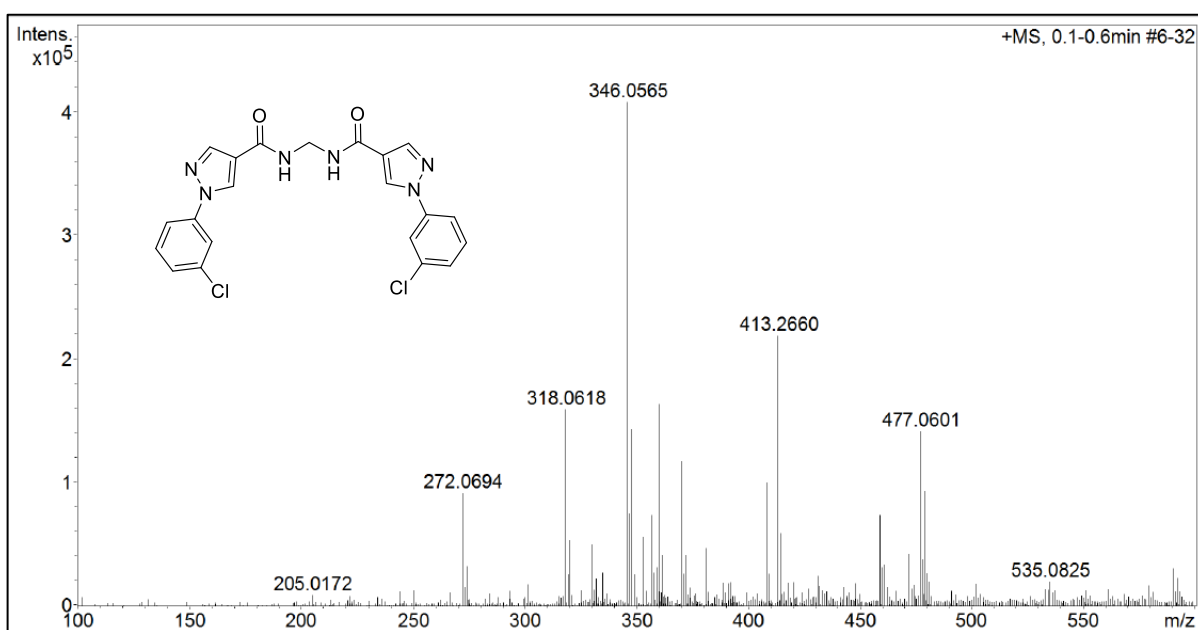


Espectro 47: Espectro de infravermelho do derivado **6j**.

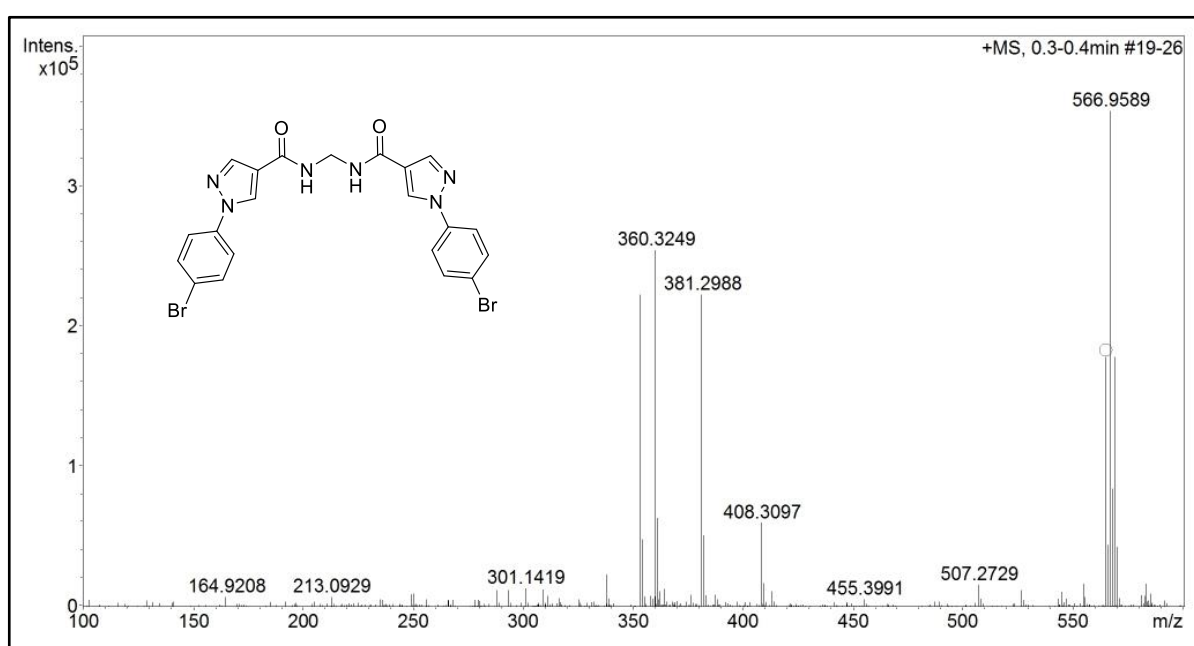
**ANEXO H – Espectros de massas de alta resolução dos derivados
N,N'-metilenobis(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas) 6(a,f,j)**



Espectro 48: Espectro de massas de alta resolução do derivado **6a**.

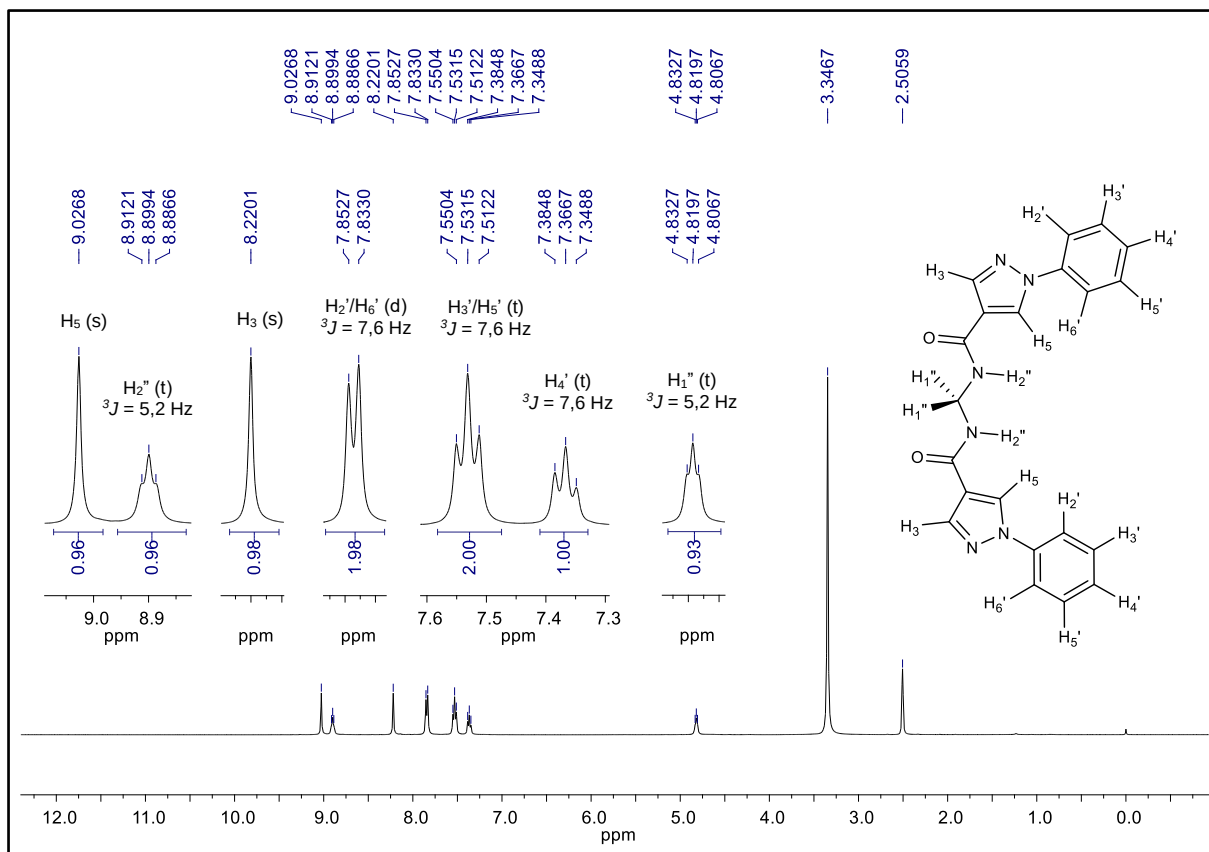


Espectro 49: Espectro de massas de alta resolução do derivado **6f**.

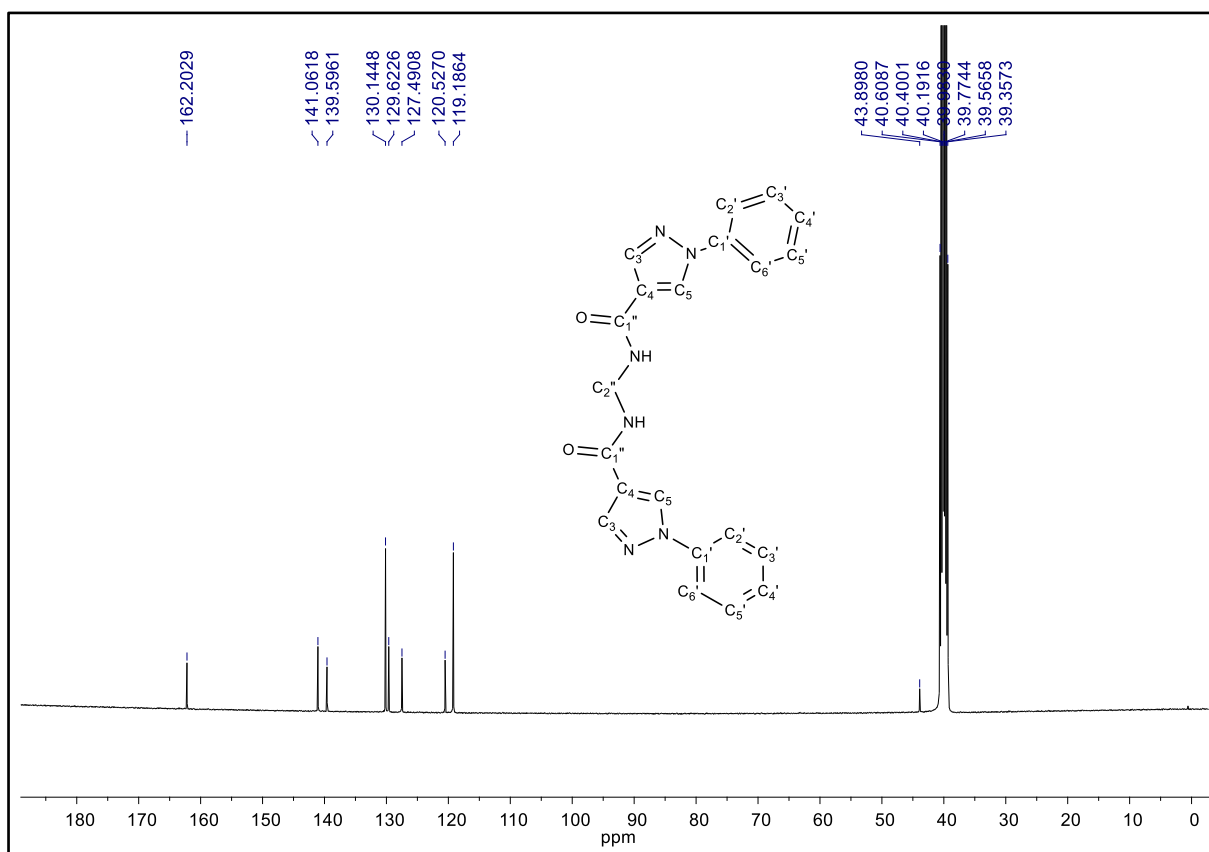


Espectro 50: Espectro de massas de alta resolução do derivado **6j**.

**ANEXO I – Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135 dos derivados
N,N'-metilenobis(1-aril-1*H*-pirazol-4-carboxamidas) 6(a,f,j)**



Espectro 51: Espectro de RMN de ¹H de 400 MHz do derivado **6a**.



Espectro 52: Espectro de RMN de ¹³C de 400 MHz do derivado **6a**.

¹H NMR spectrum of (S)-1,1'-bis(2-chloro-3,4,5-trimethylphenyl)-2,2'-bis(hydroxyimino)propane in CDCl₃.

Chemical structure: Cc1cc(C)c(C)c(C)c1N2C(=O)N(O)C2C3C(=O)N(O)C3c4cc(C)c(C)c(C)c4

Peak assignments and chemical shifts (ppm):

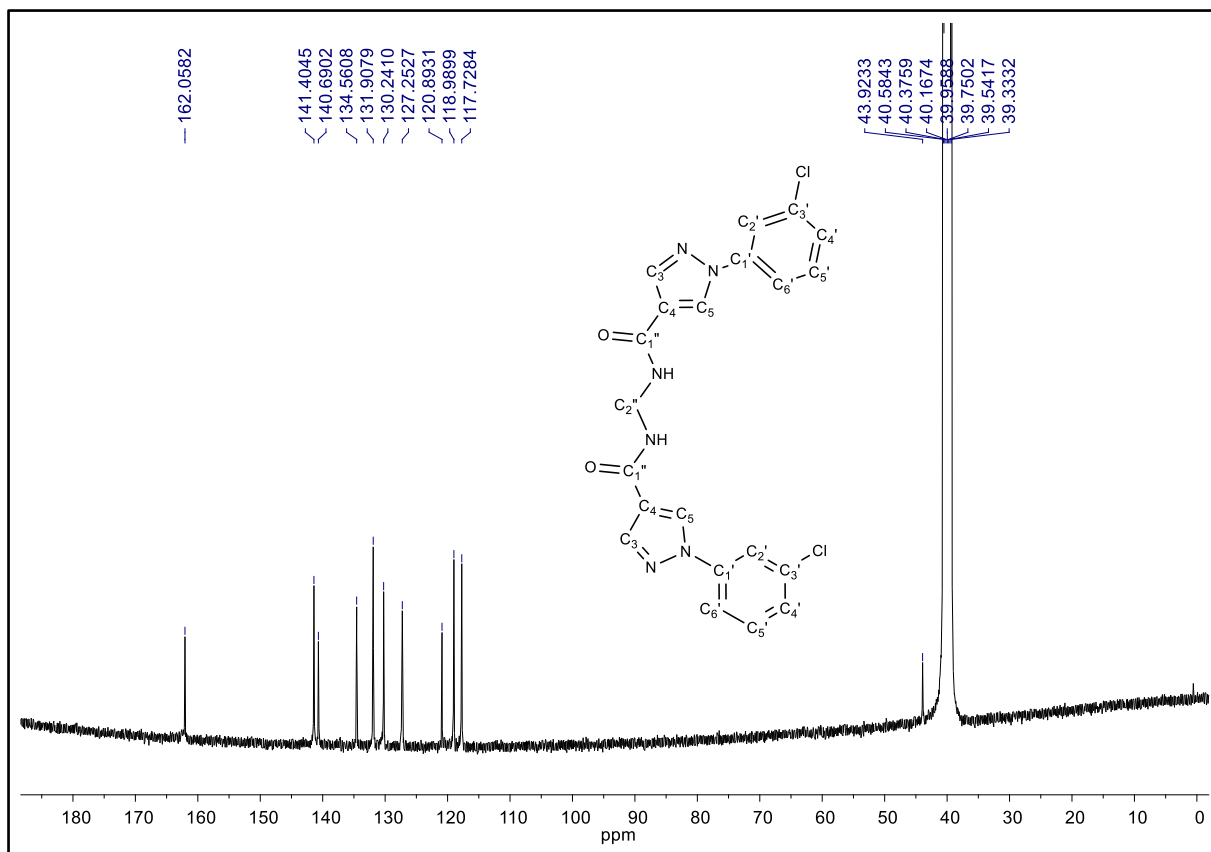
- H₅ (s): ~13.8 ppm
- H₂'' (s): ~13.5 ppm
- H₃ (s): ~8.2 ppm
- H₂' (s): ~7.9 ppm
- H₄' (d): ~7.8 ppm
- H₅' (pt): ~7.5 ppm
- H₆' (d): ~7.4 ppm
- H₁'' (s): ~4.9 ppm

Integration values:

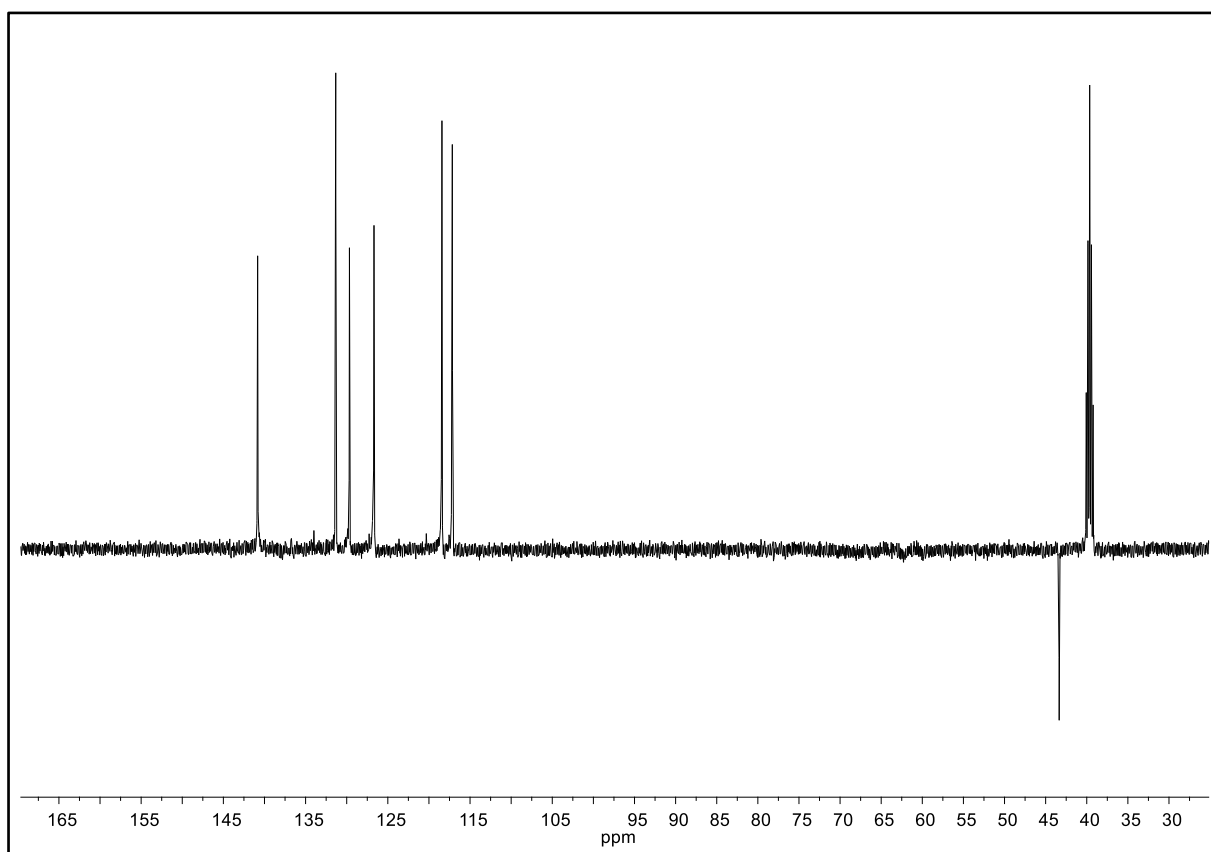
- H₅ (s): 1.00
- H₂'' (s): 0.86
- H₃ (s): 1.00
- H₂' (s): 1.00
- H₄' (d): 1.00
- H₅' (pt): 1.00
- H₆' (d): 1.01
- H₁'' (s): 1.00

Chemical shift range (ppm): 15 to -2

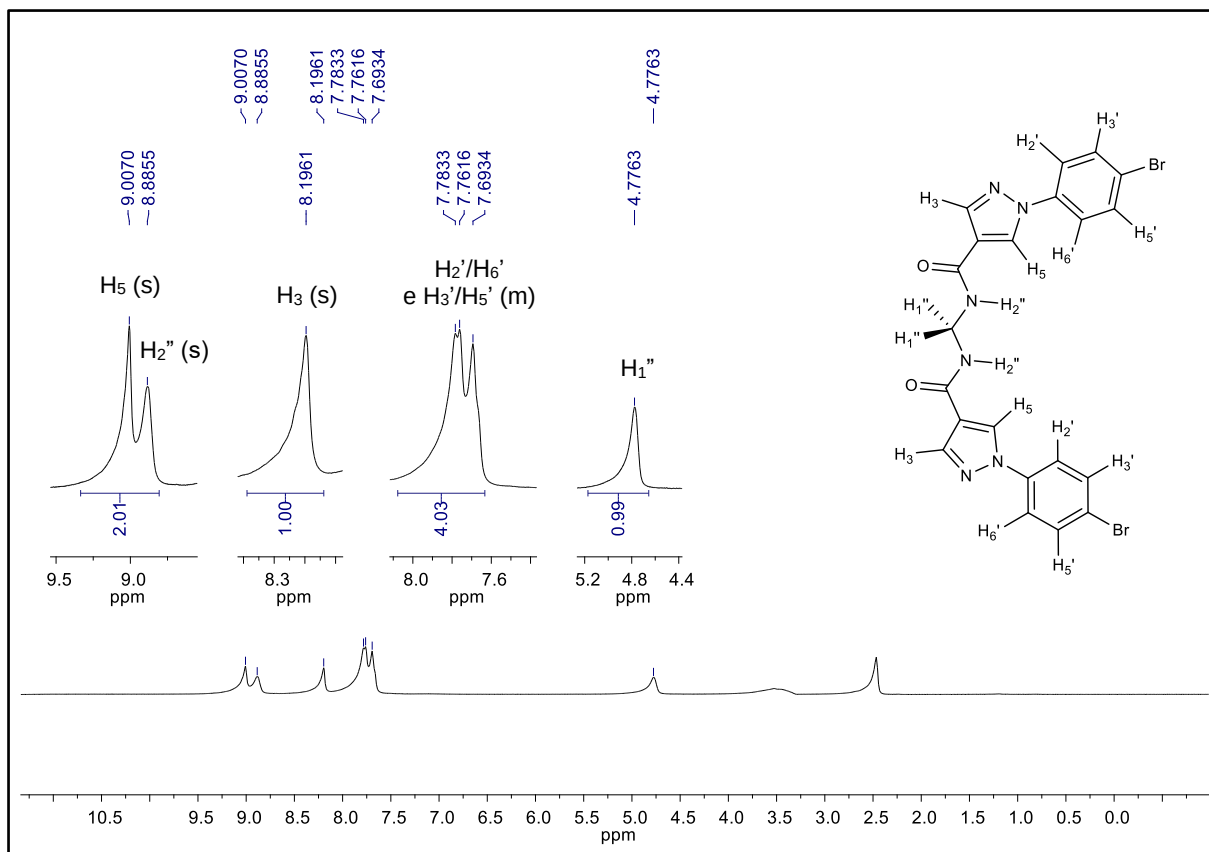
Espectro 54: Espectro de RMN de ^1H de 400 MHz do derivado **6f**.



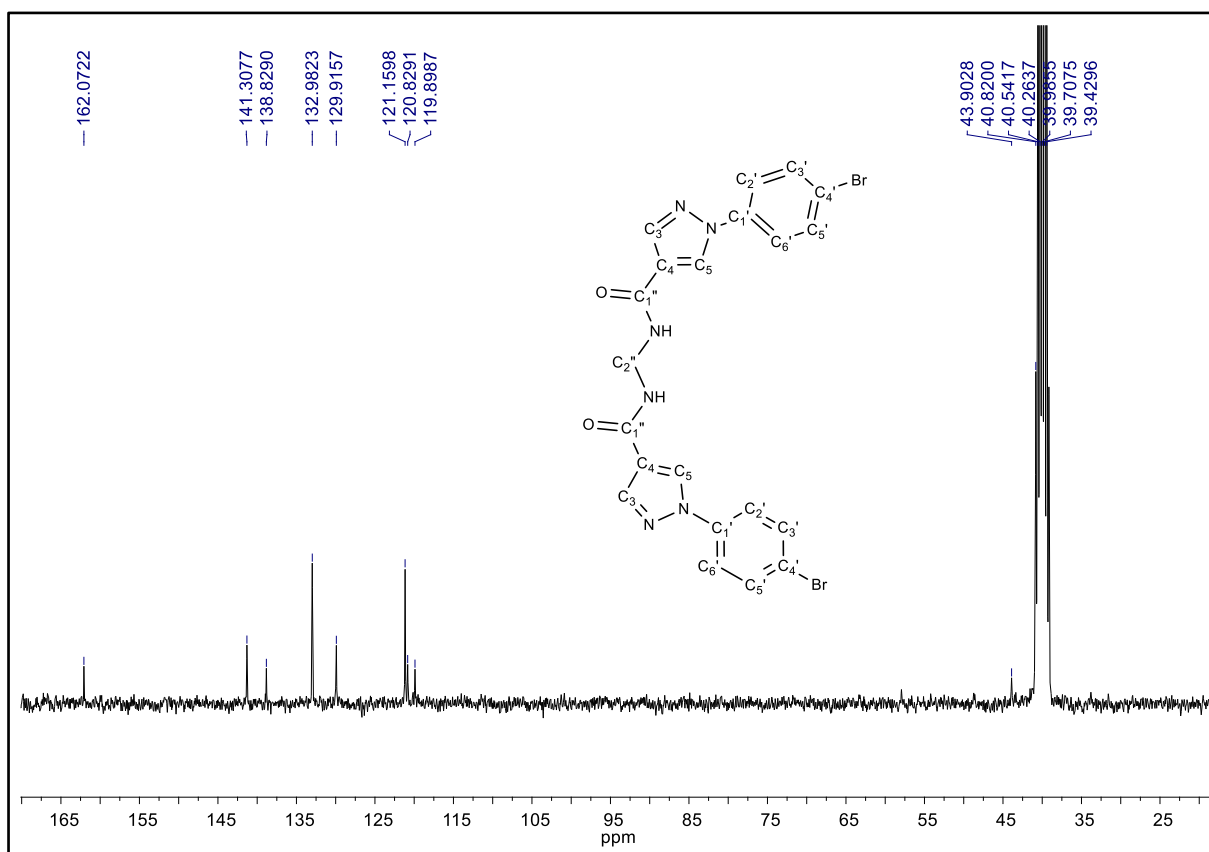
Espectro 55: Espectro de RMN de ^{13}C de 400 MHz do derivado 6f.



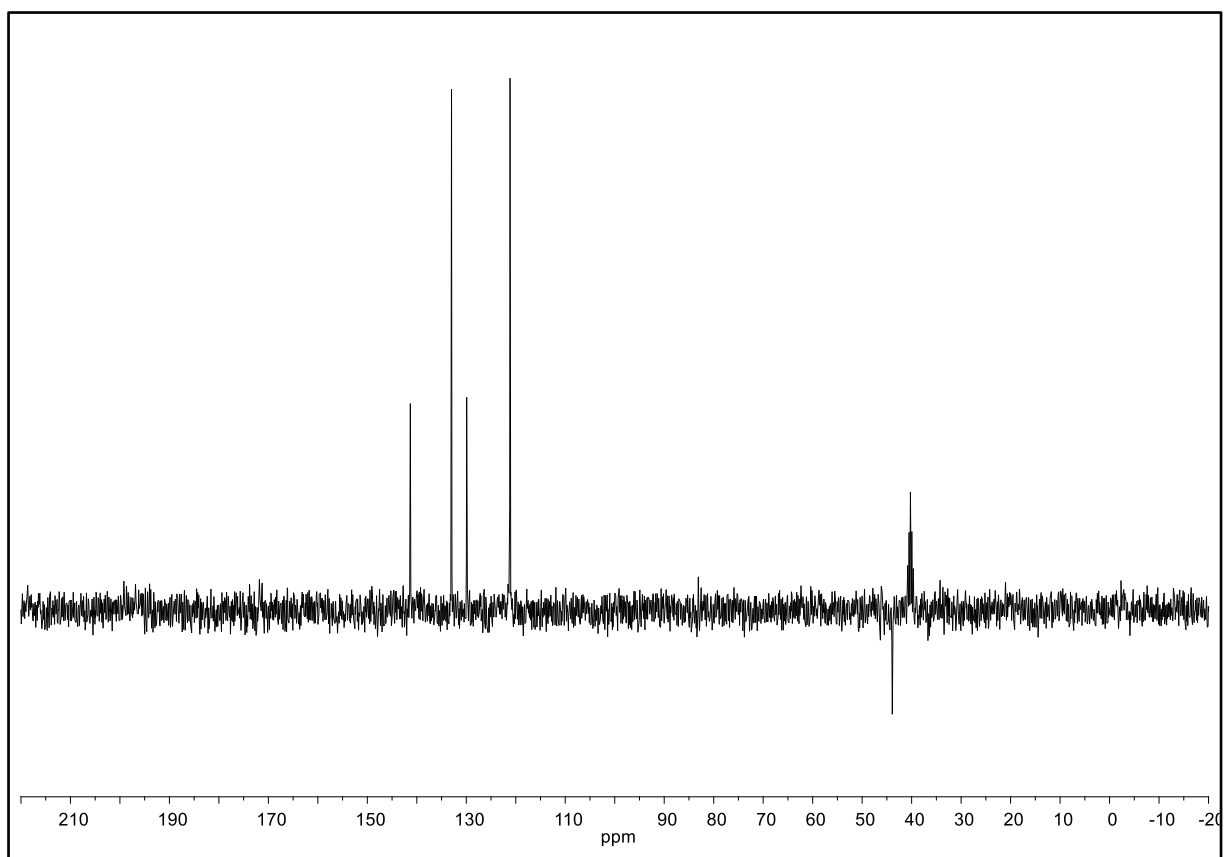
Espectro 56: Espectro de DEPT-135 de 100 MHz do derivado 6f.



Espectro 57: Espectro de RMN de ¹H de 300 MHz do derivado **6j**.

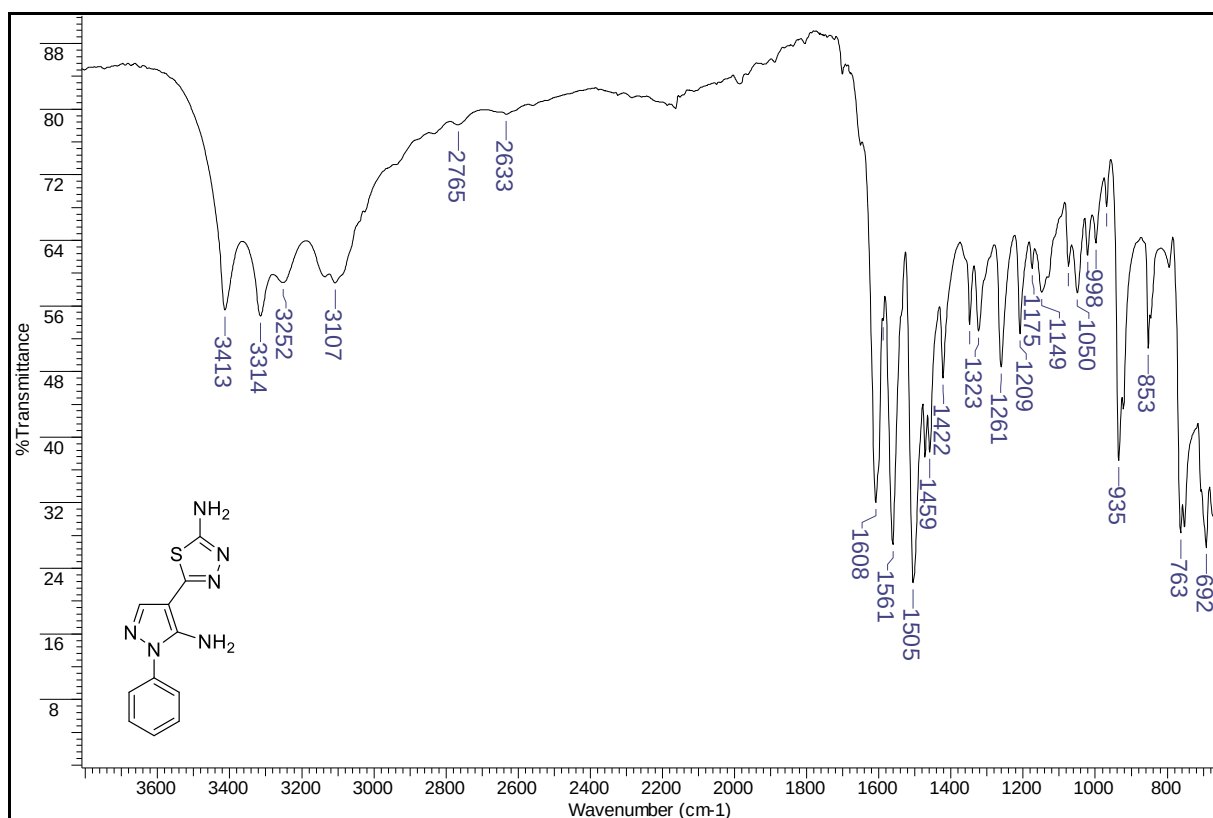


Espectro 58: Espectro de RMN de ¹³C de 75 MHz do derivado **6j**.

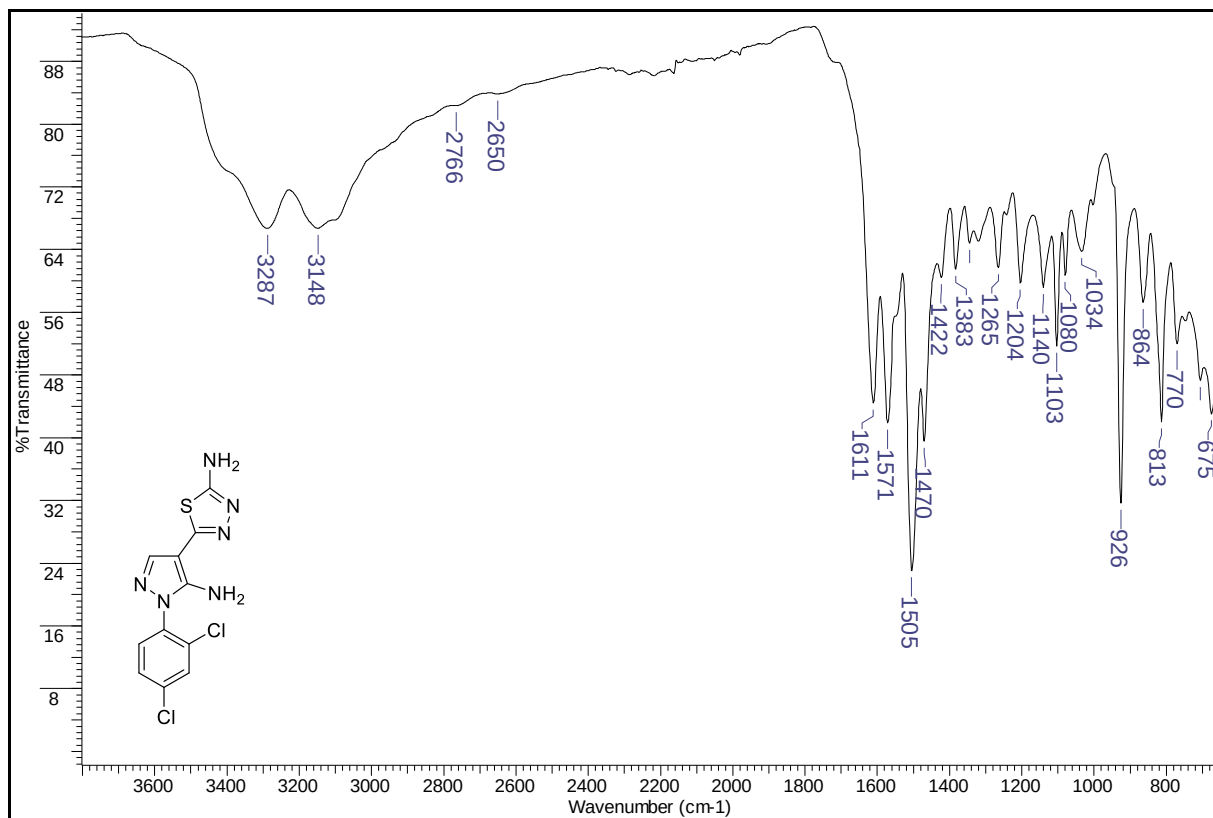


Espectro 59: Espectro de DEPT-135 de 75 MHz do derivado **6j**.

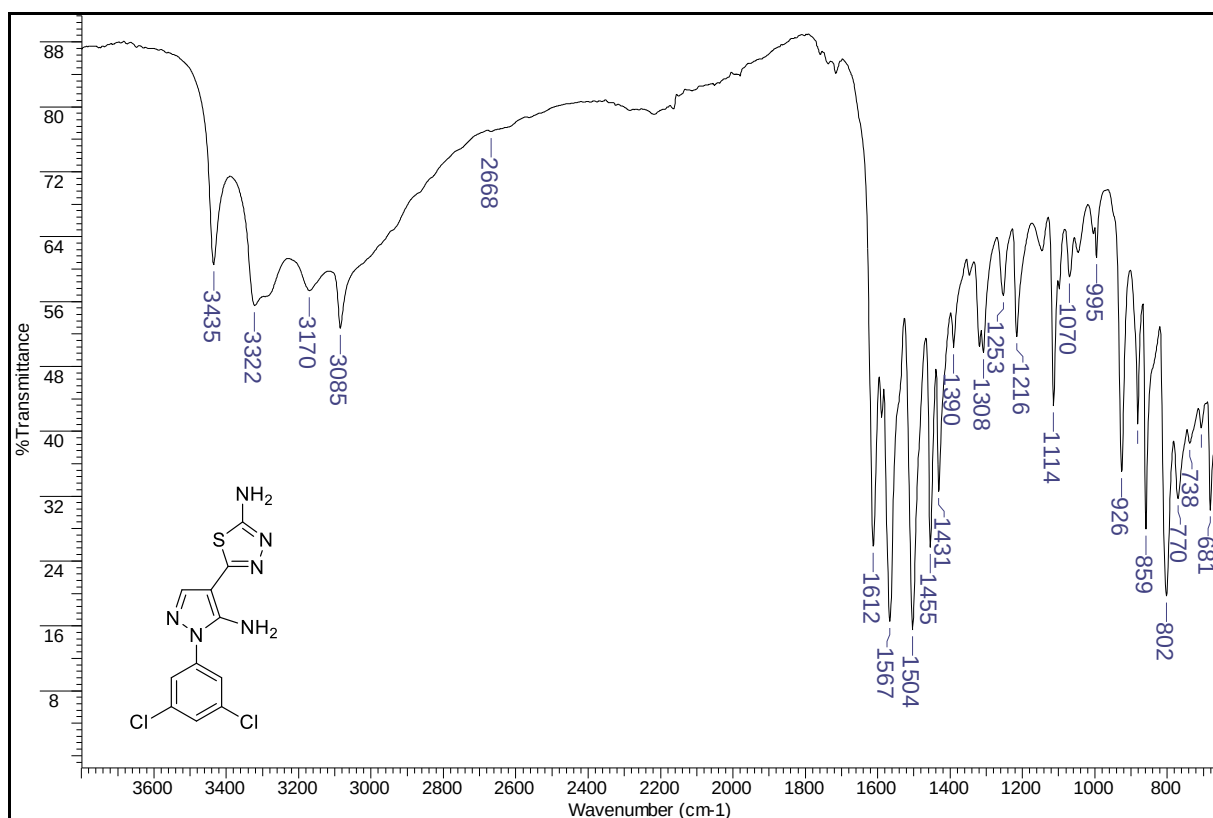
ANEXO J – Espectros de infravermelho dos derivados 5-amino-2-(5-amino-1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 1(a-l)



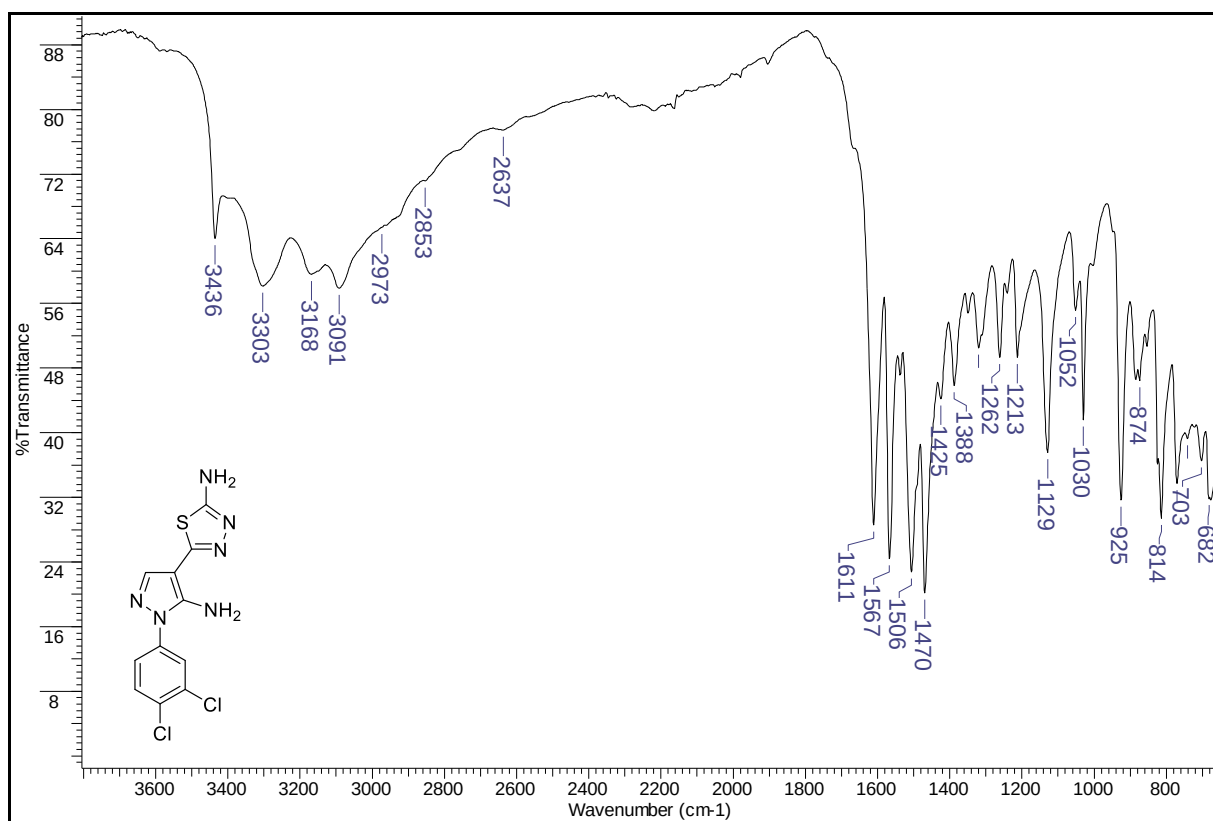
Espectro 60: Espectro de infravermelho do derivado **1a**.



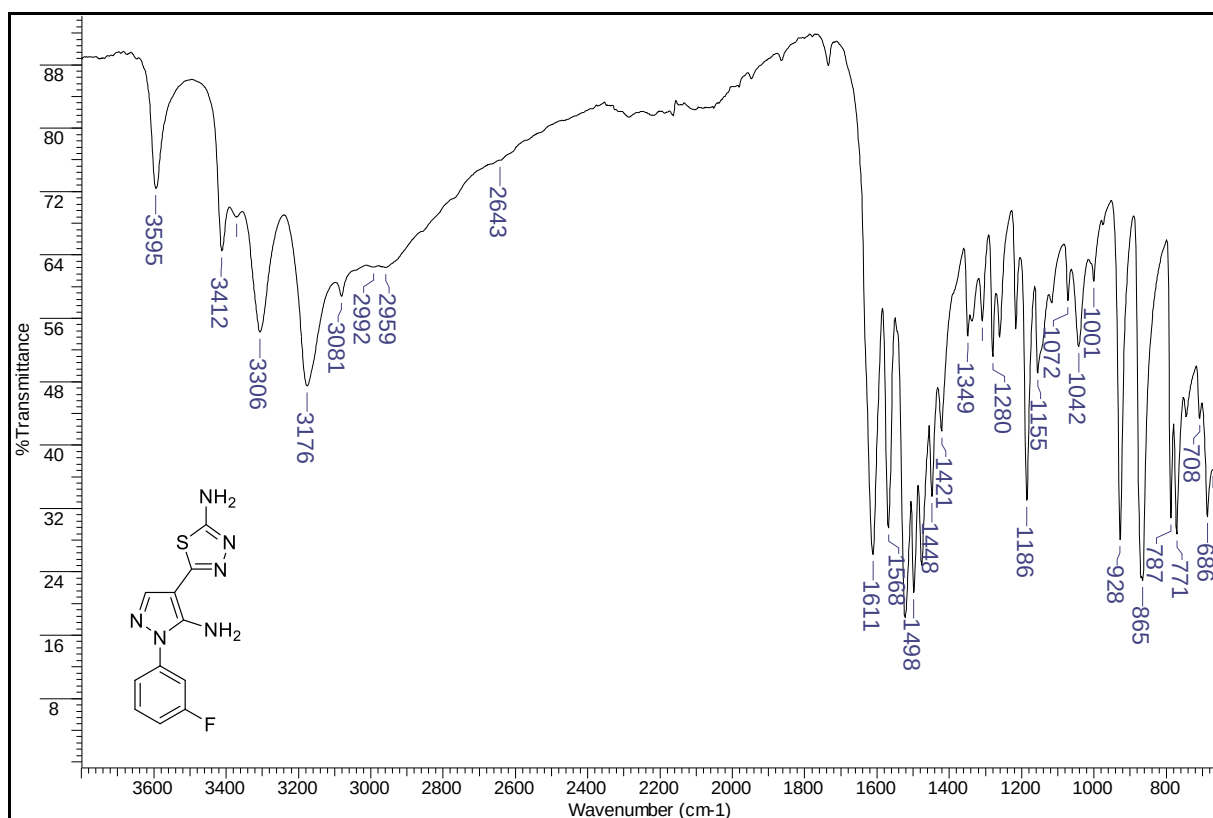
Espectro 61: Espectro de infravermelho do derivado **1b**.



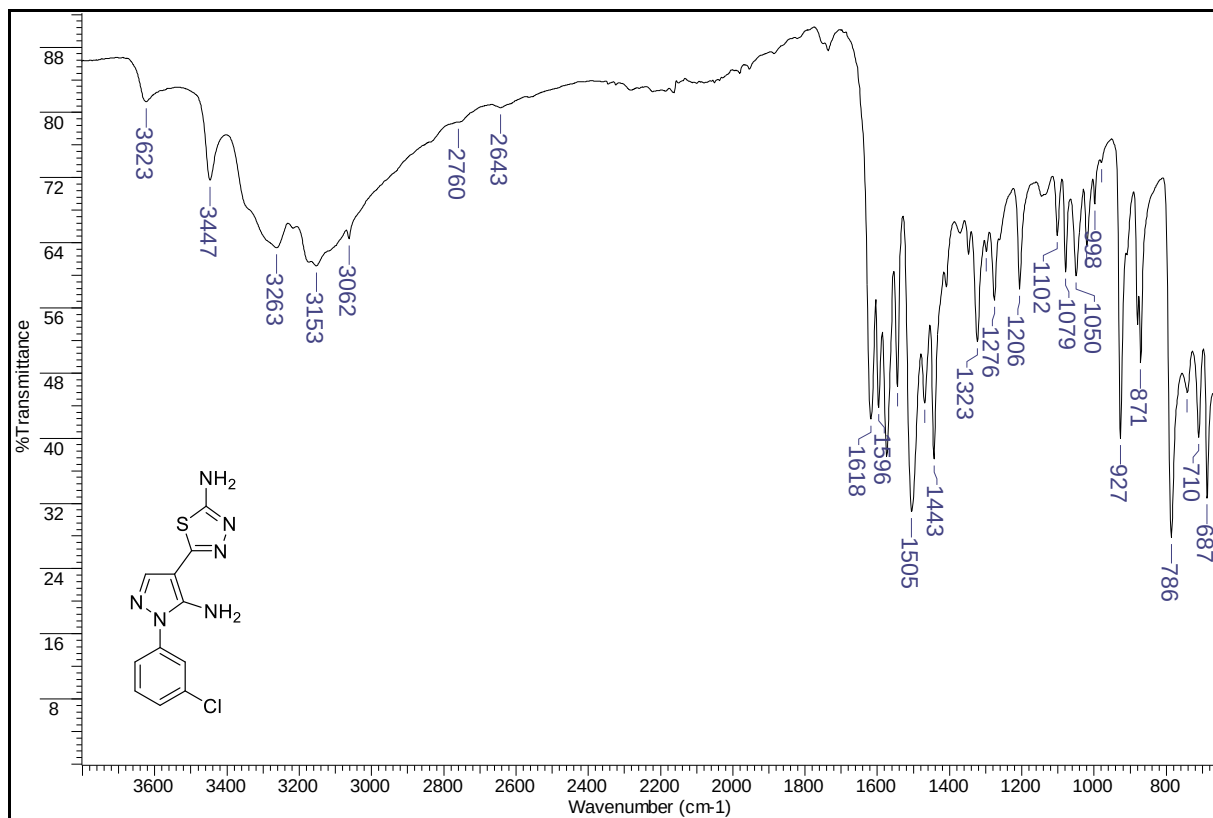
Espectro 62: Espectro de infravermelho do derivado **1c**.



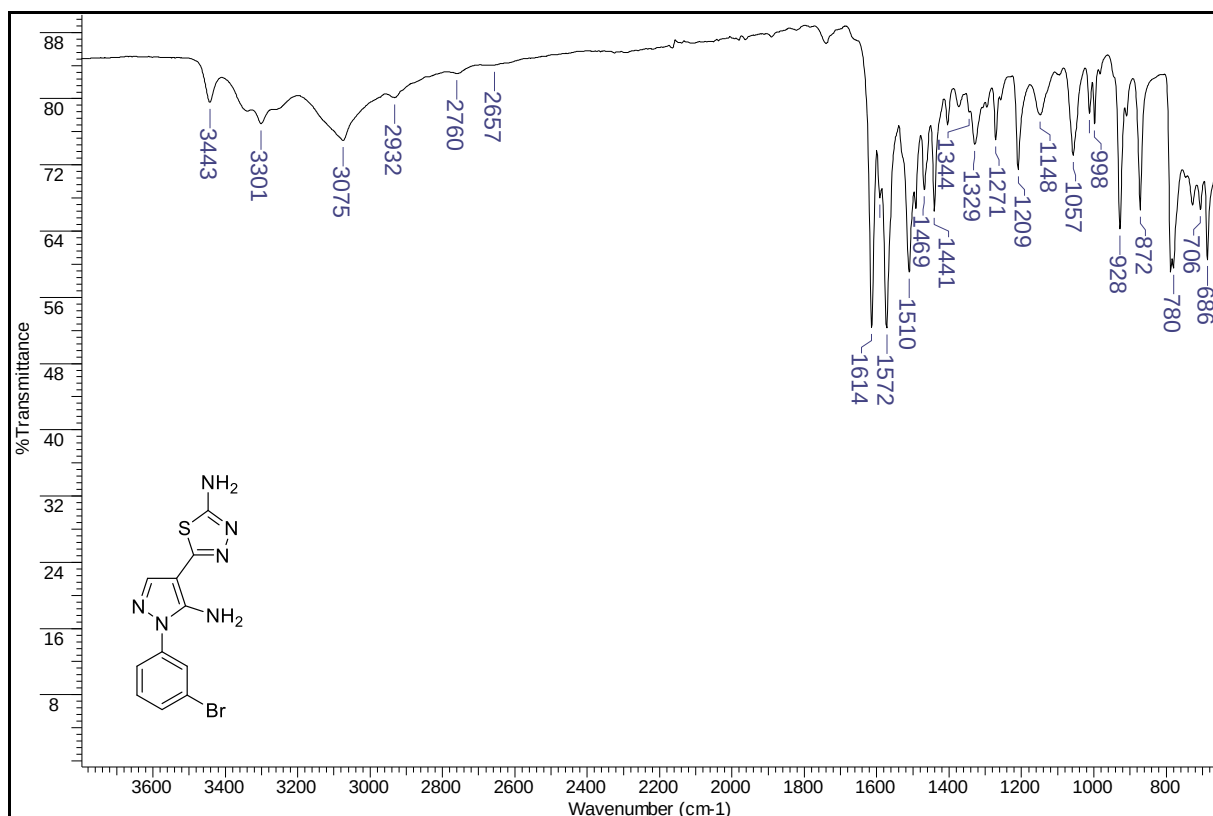
Espectro 63: Espectro de infravermelho do derivado **1d**.



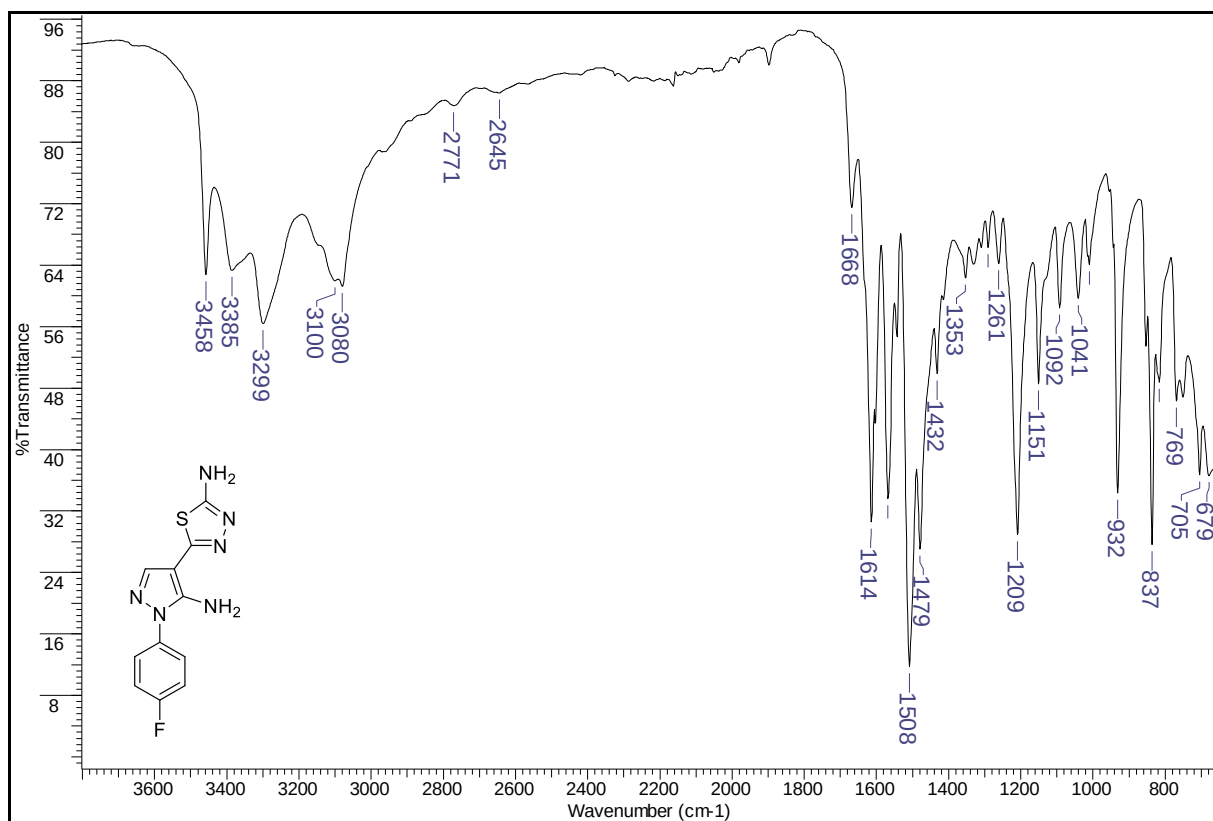
Espectro 64: Espectro de infravermelho do derivado **1e**.



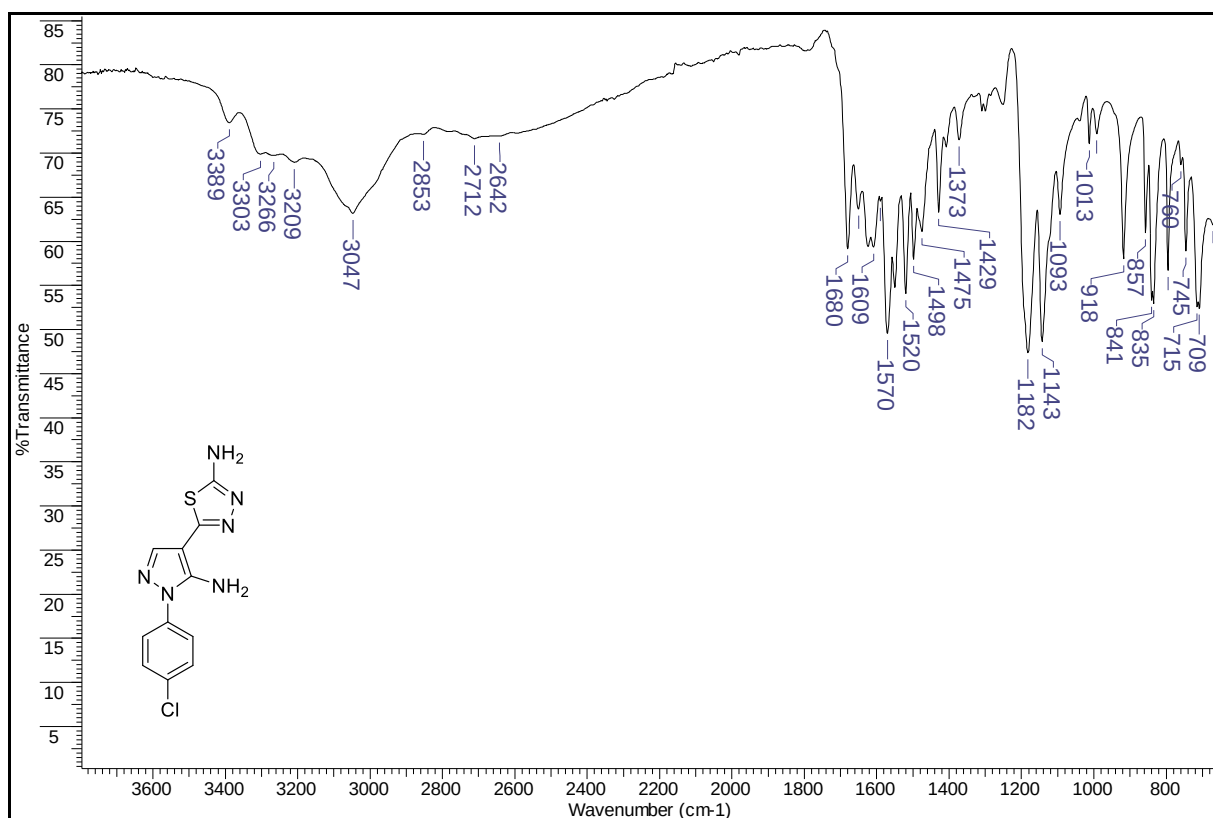
Espectro 65: Espectro de infravermelho do derivado **1f**.



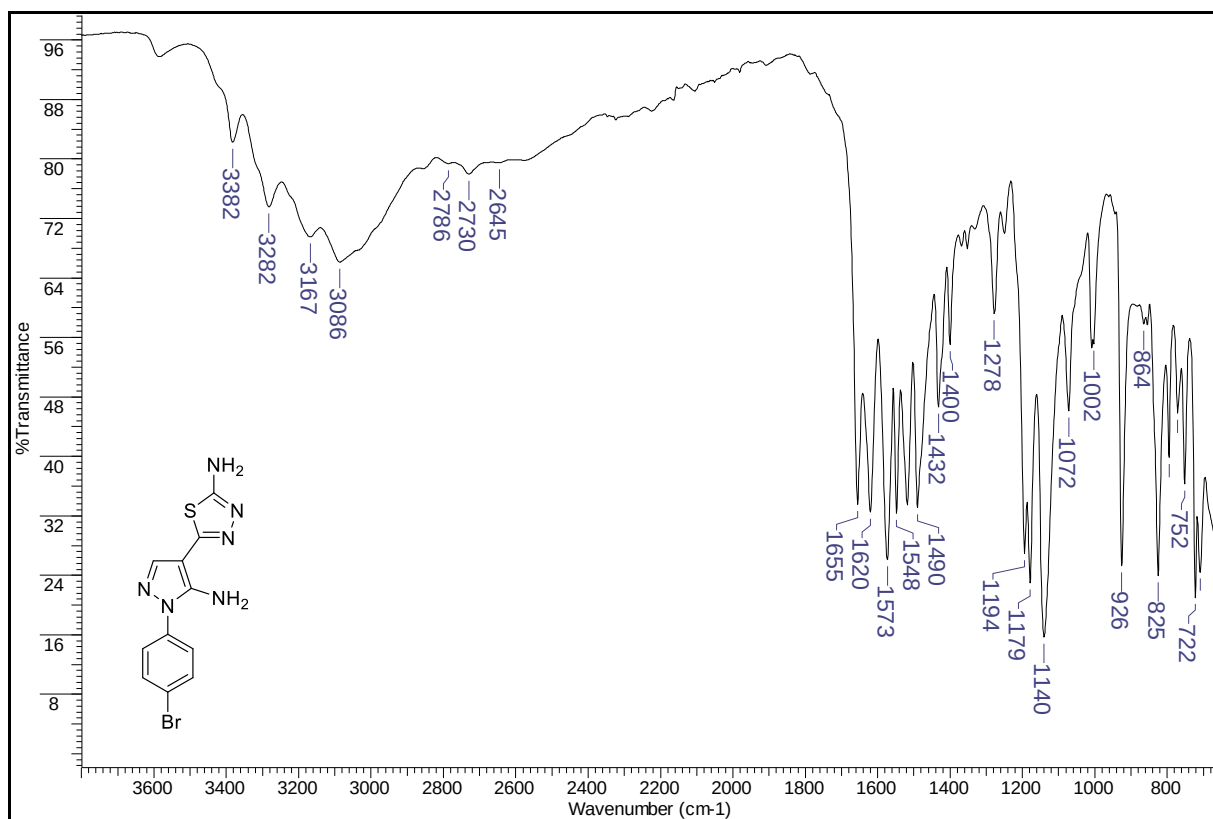
Espectro 66: Espectro de infravermelho do derivado **1g**.



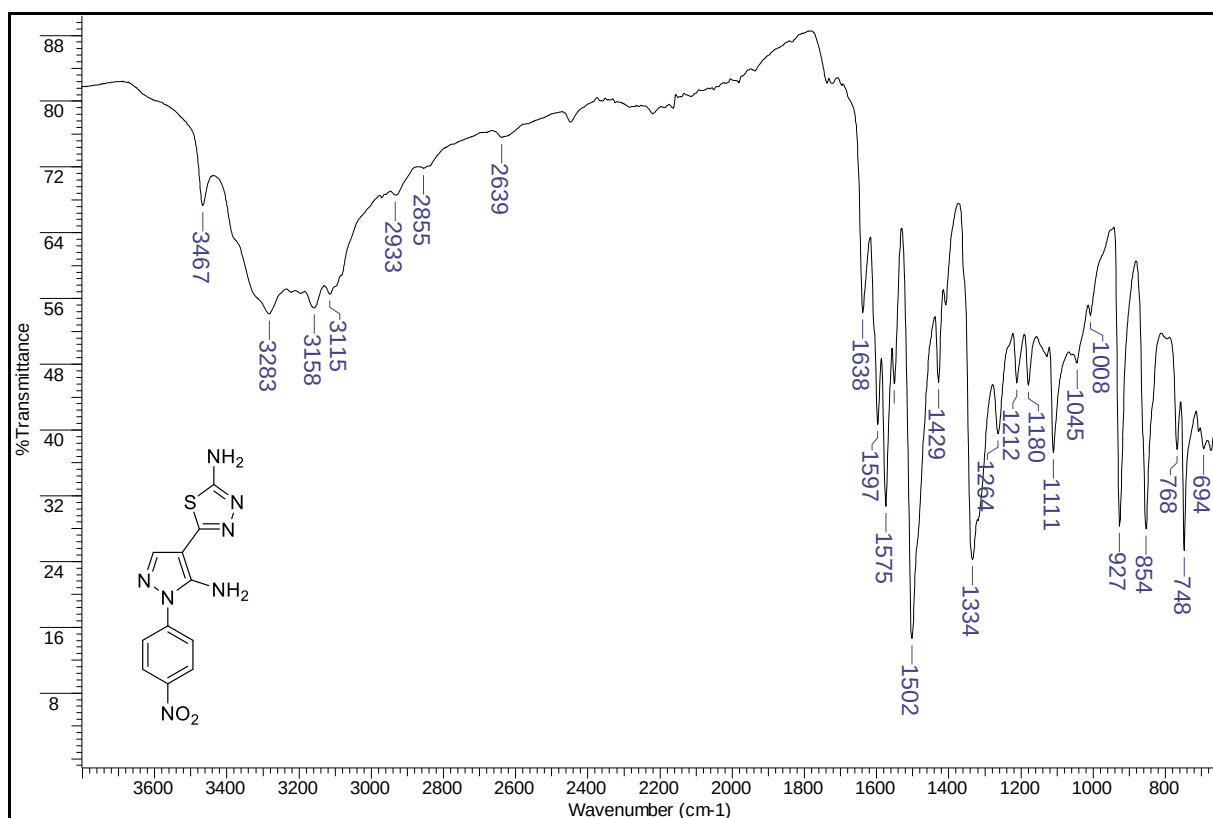
Espectro 67: Espectro de infravermelho do derivado **1h**.



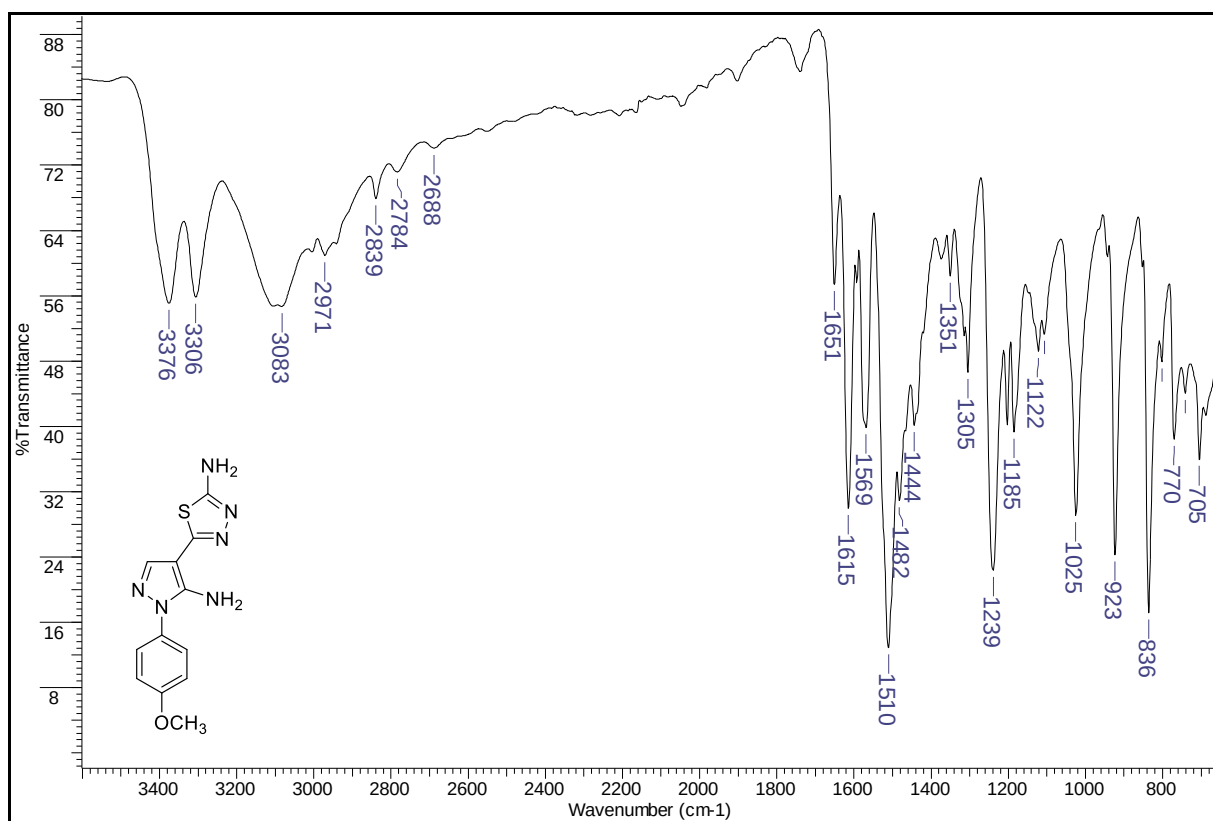
Espectro 68: Espectro de infravermelho do derivado **1i**.



Espectro 69: Espectro de infravermelho do derivado **1j**.

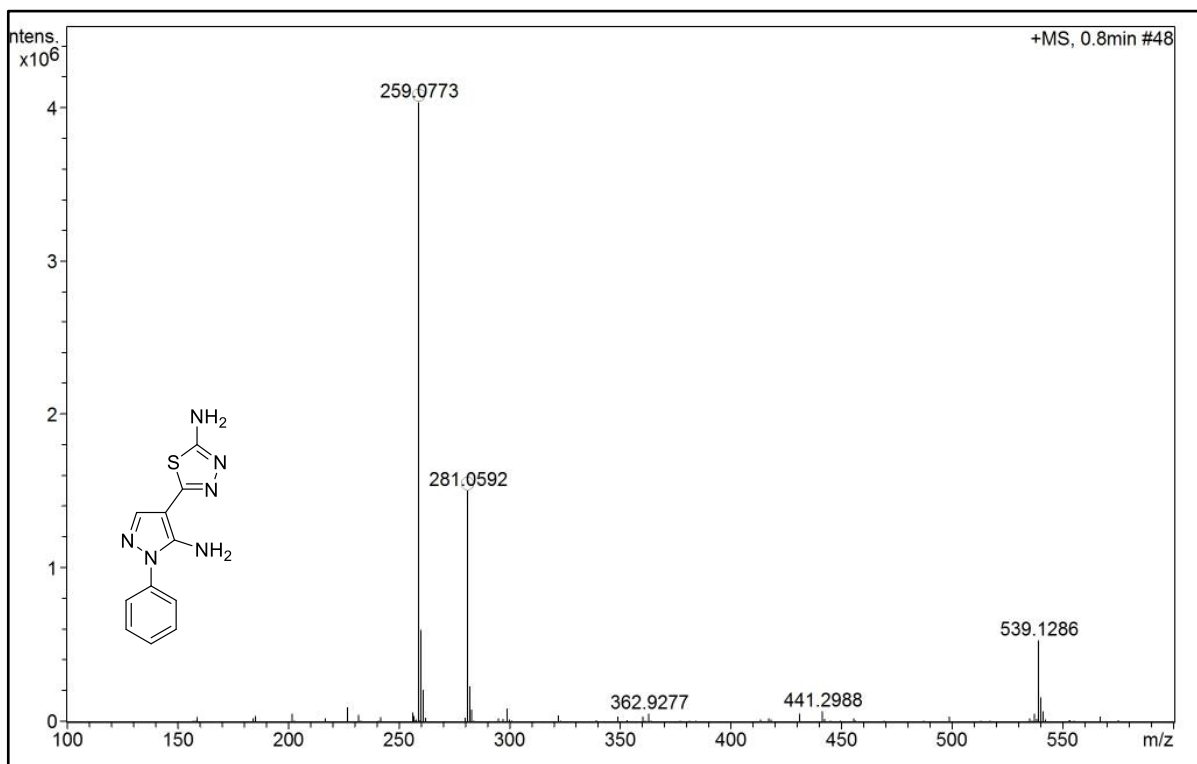


Espectro 70: Espectro de infravermelho do derivado 1k.

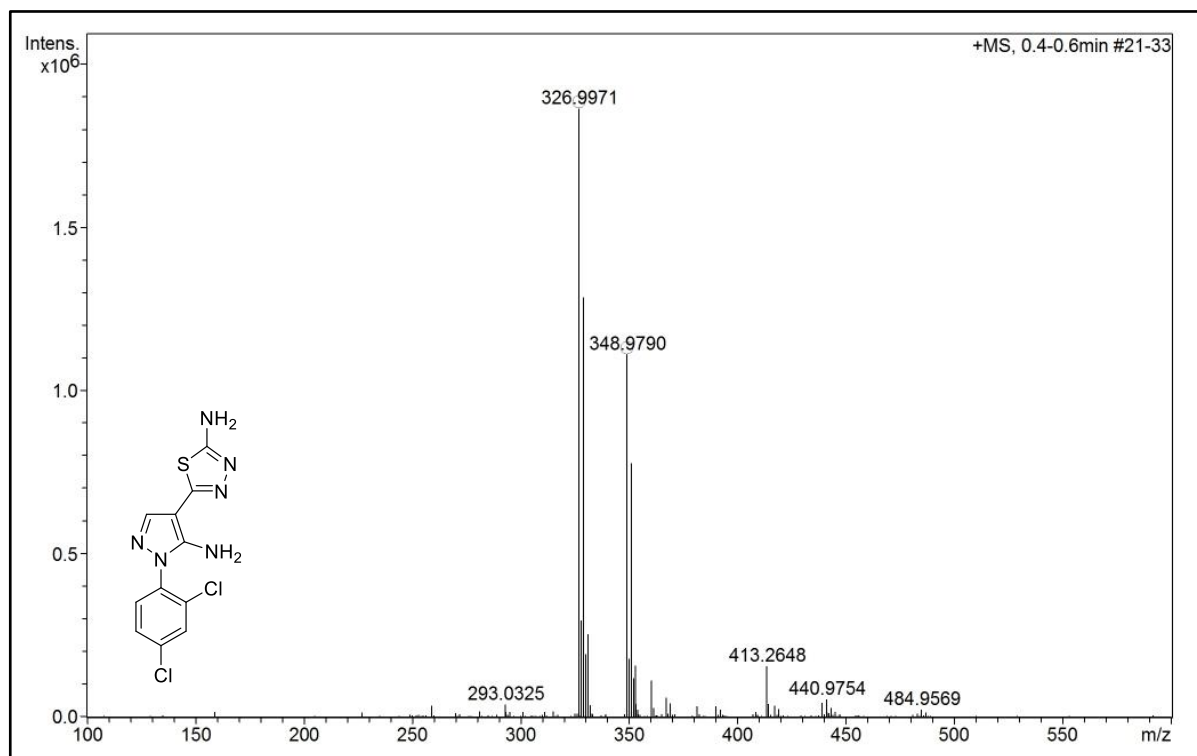


Espectro 71: Espectro de infravermelho do derivado 1l.

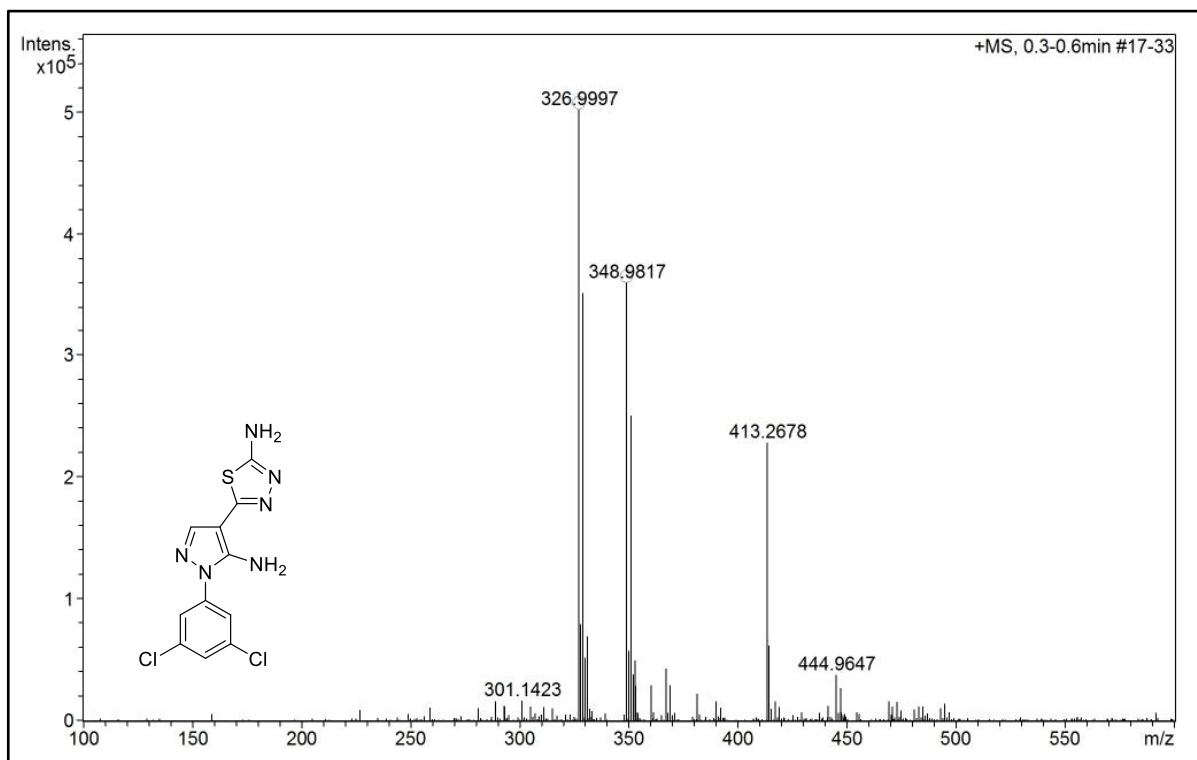
**ANEXO K – Espectros de massas de alta resolução dos derivados
5-amino-2-(5-amino-1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 1(a-l)**



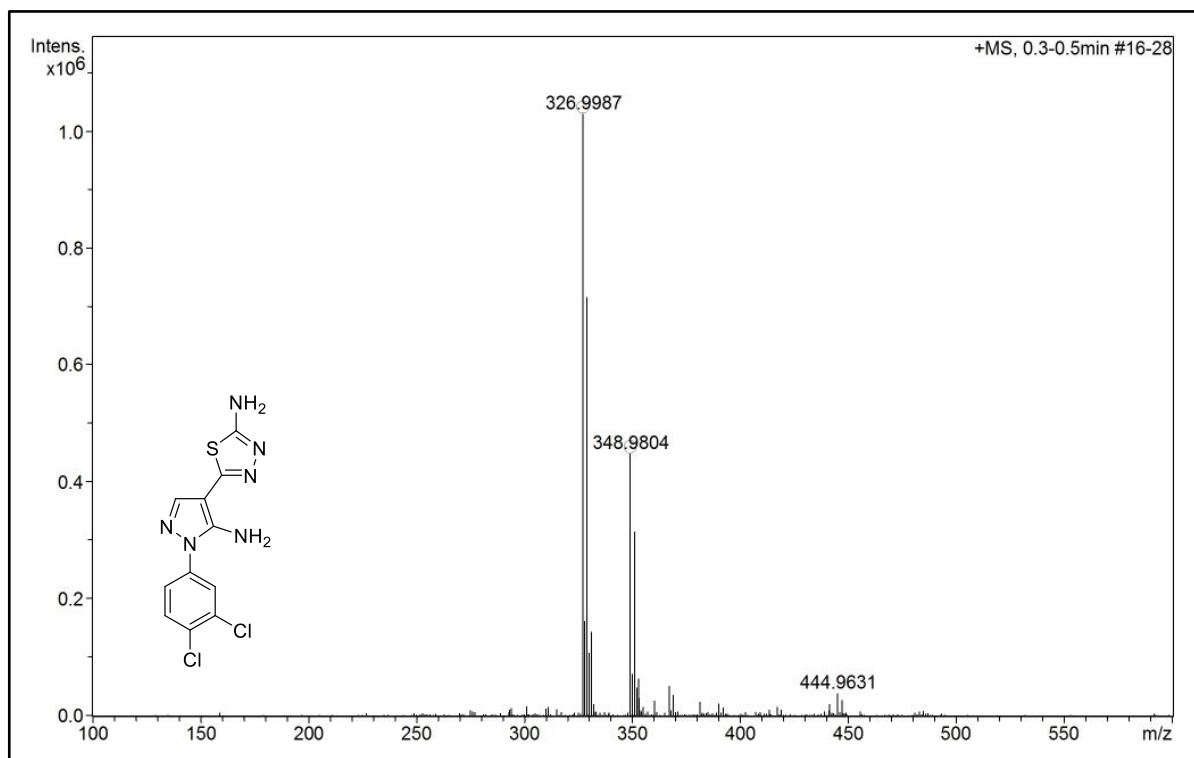
Espectro 72: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1a**.



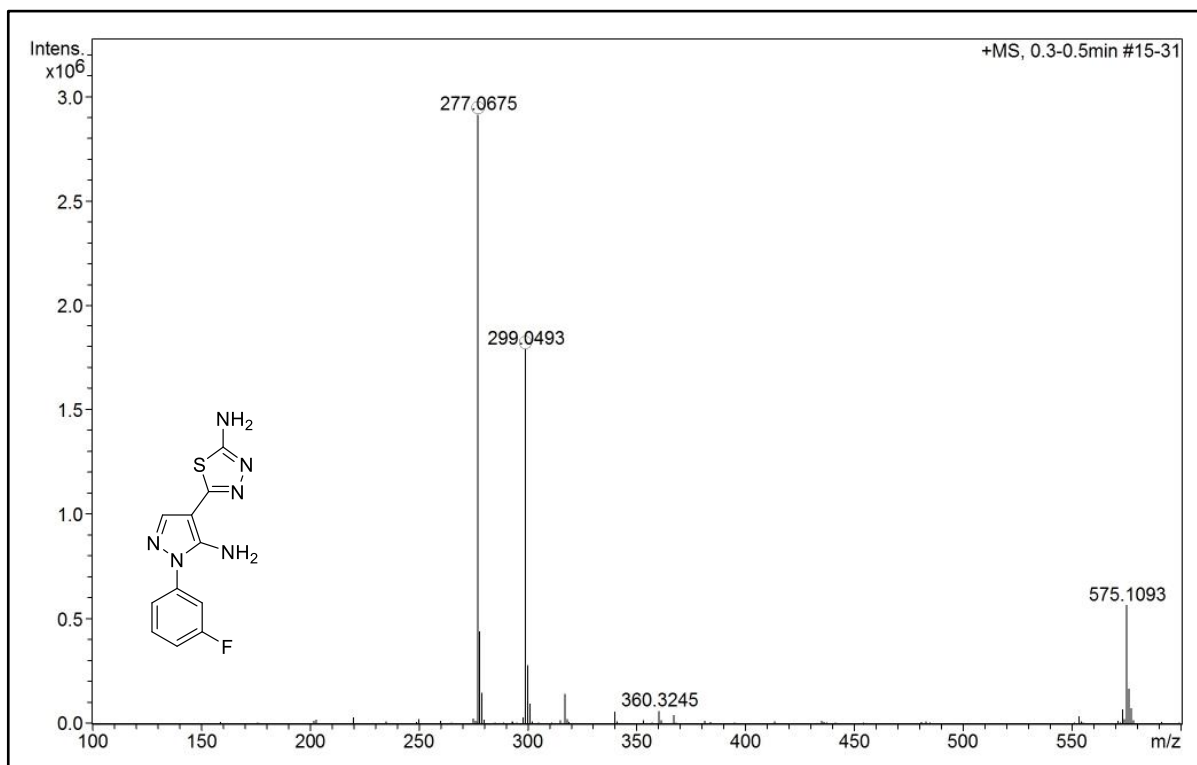
Espectro 73: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1b**.



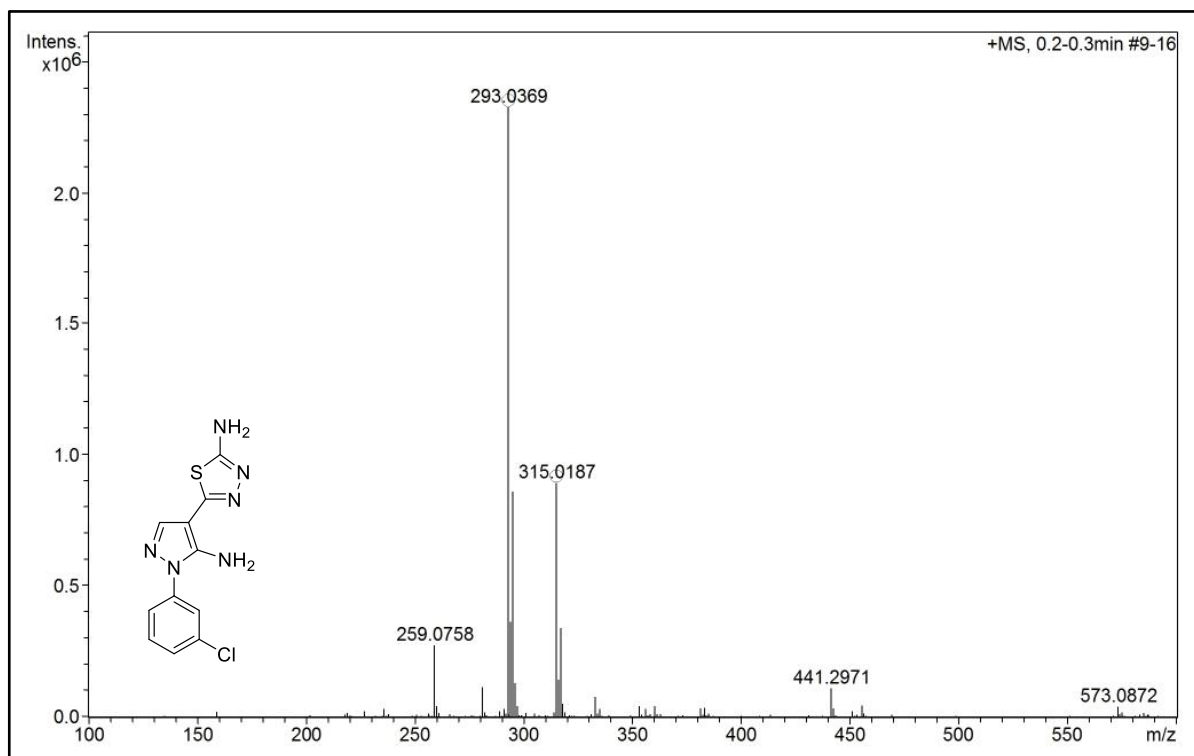
Espectro 74: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1c**.



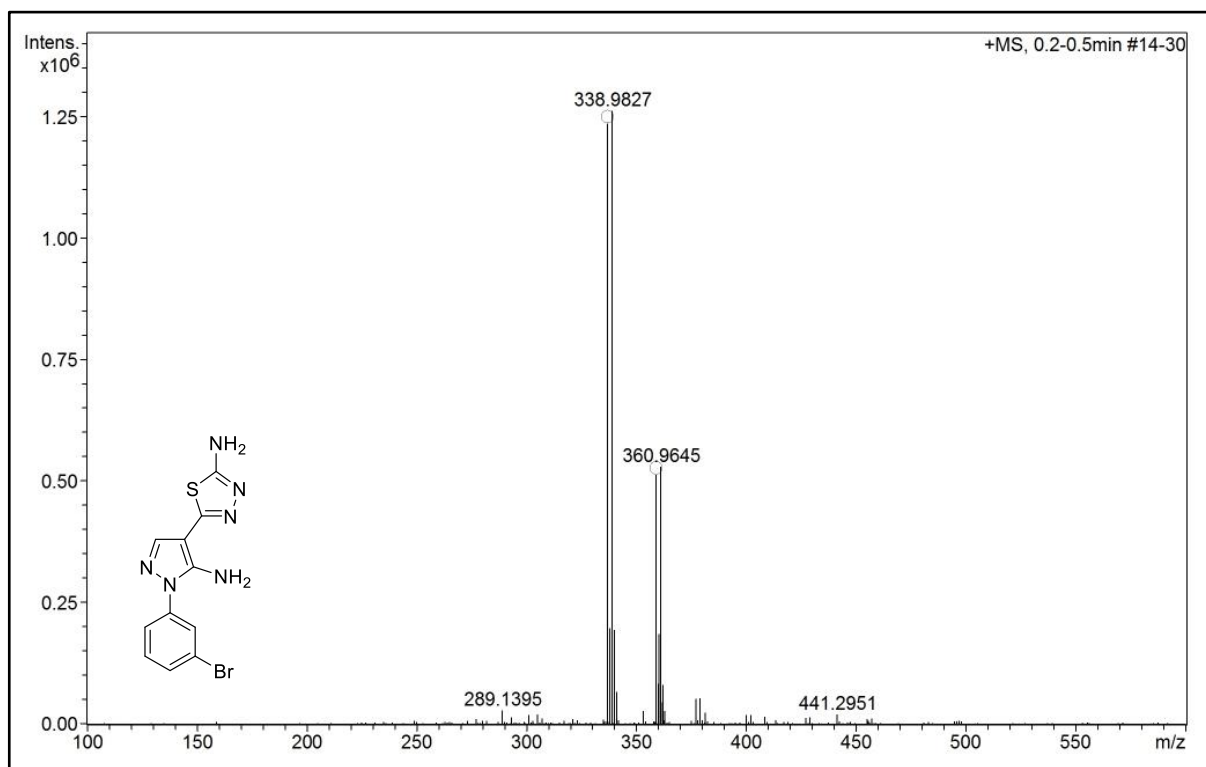
Espectro 75: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1d**.



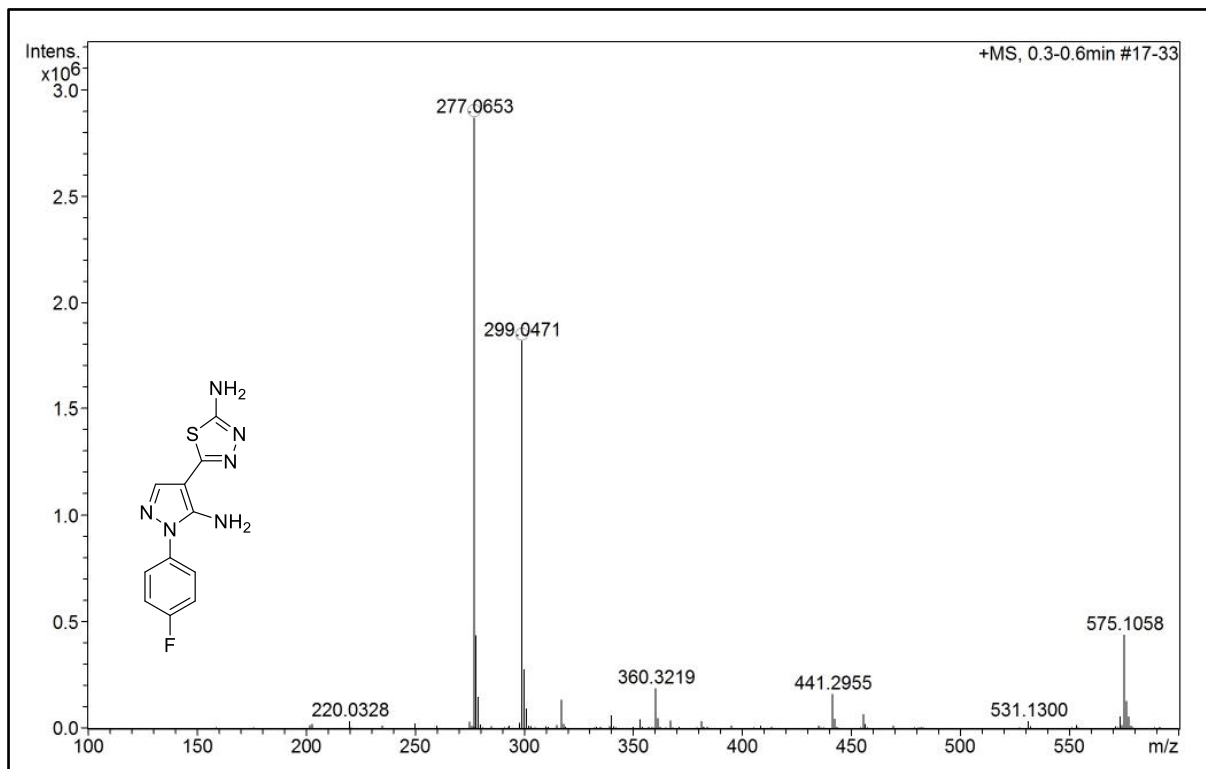
Espectro 76: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1e**.



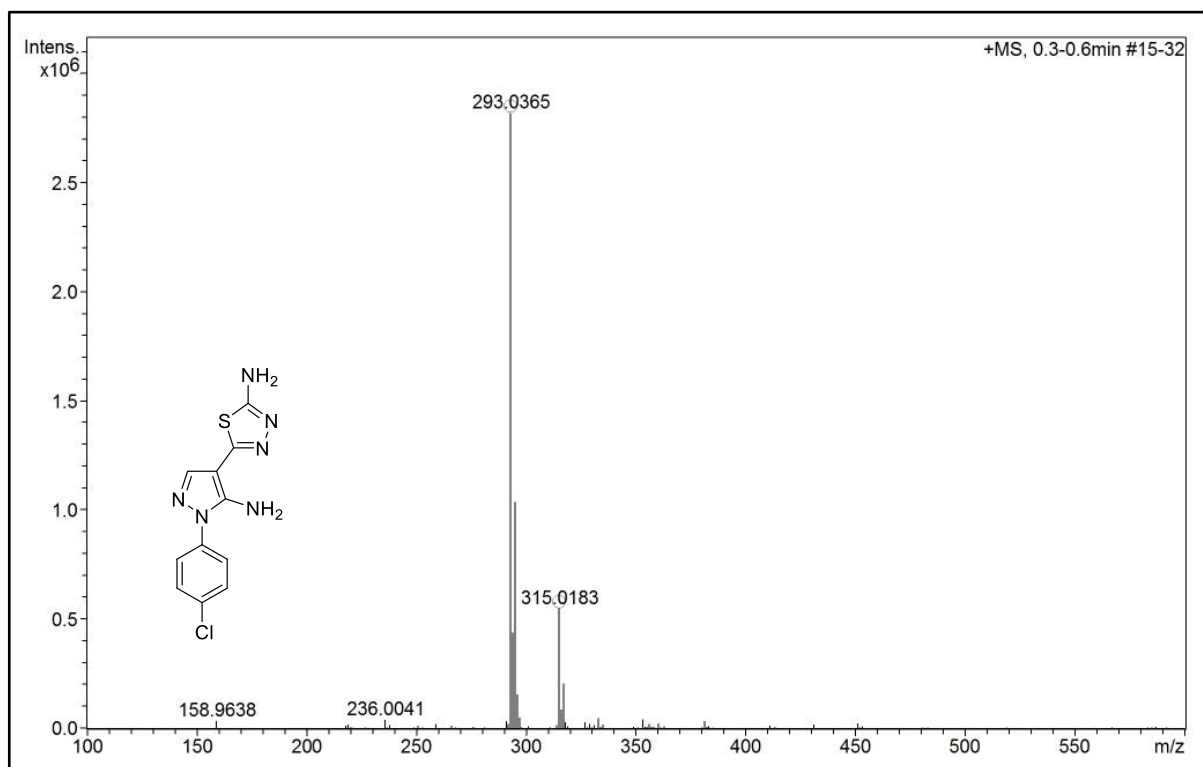
Espectro 77: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1f**.



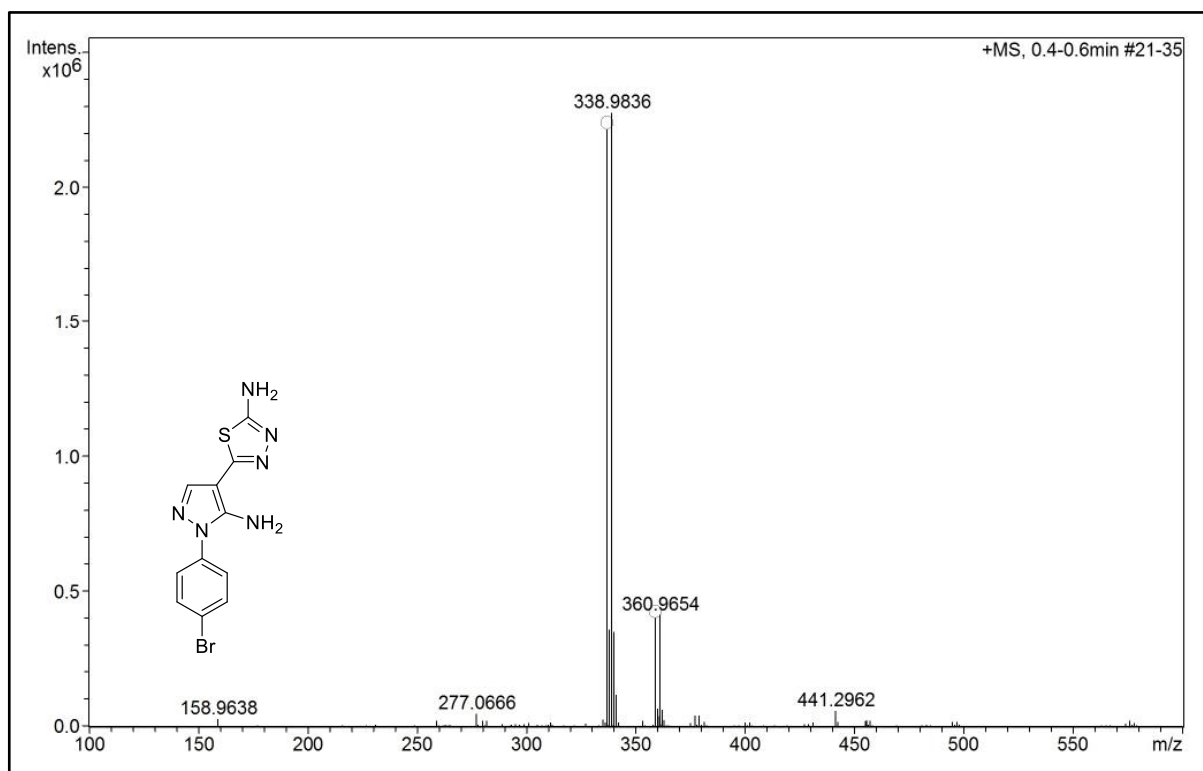
Espectro 78: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1g**.



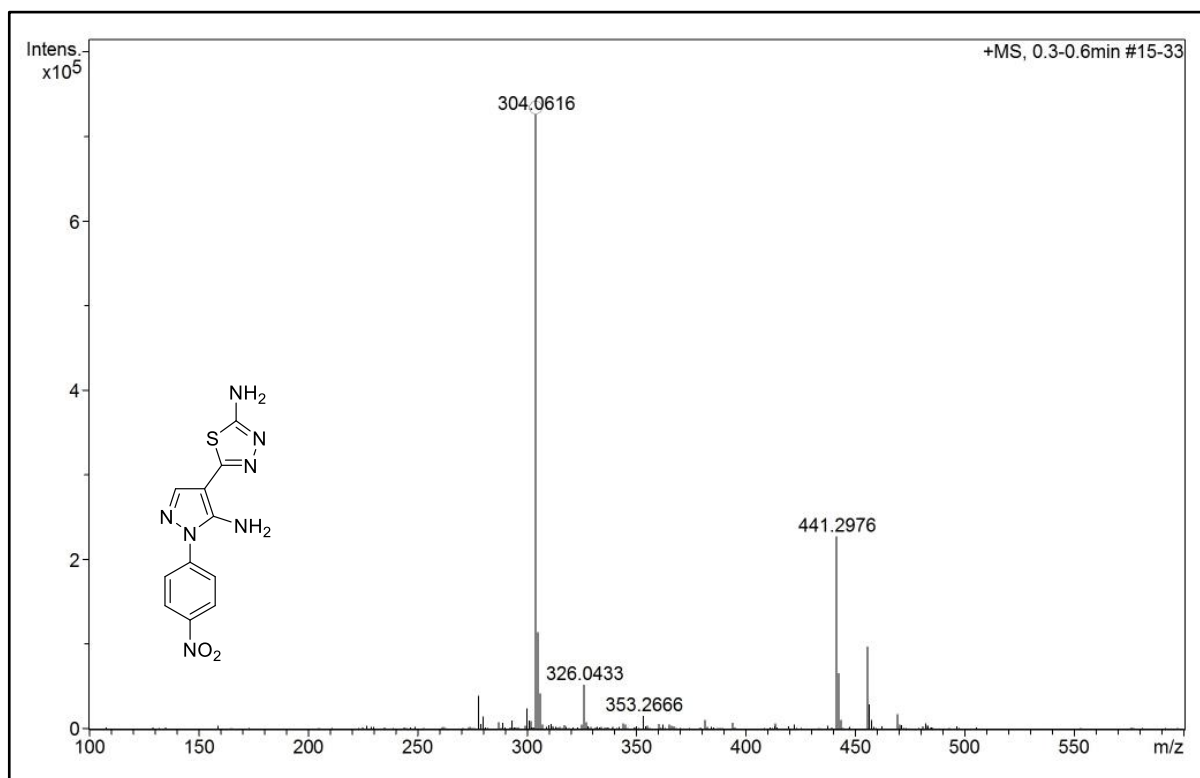
Espectro 79: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1h**.



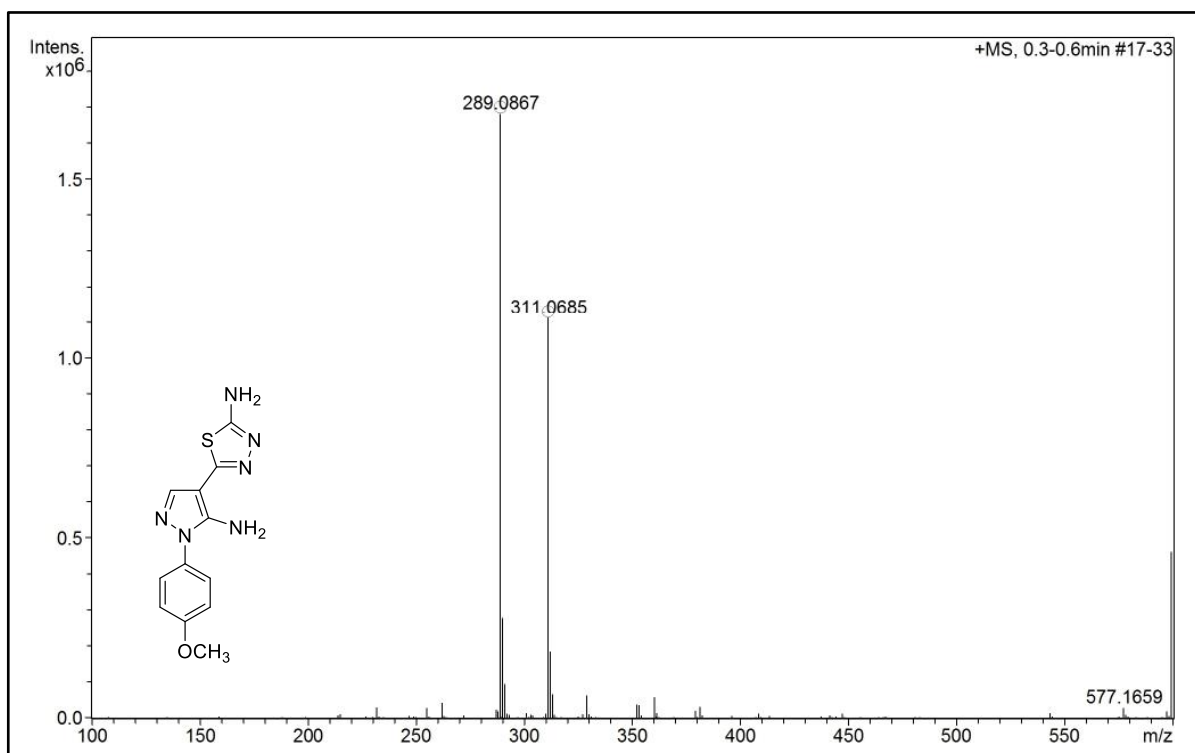
Espectro 80: Espectro de massas de alta resolução do derivado 1i.



Espectro 81: Espectro de massas de alta resolução do derivado 1j.

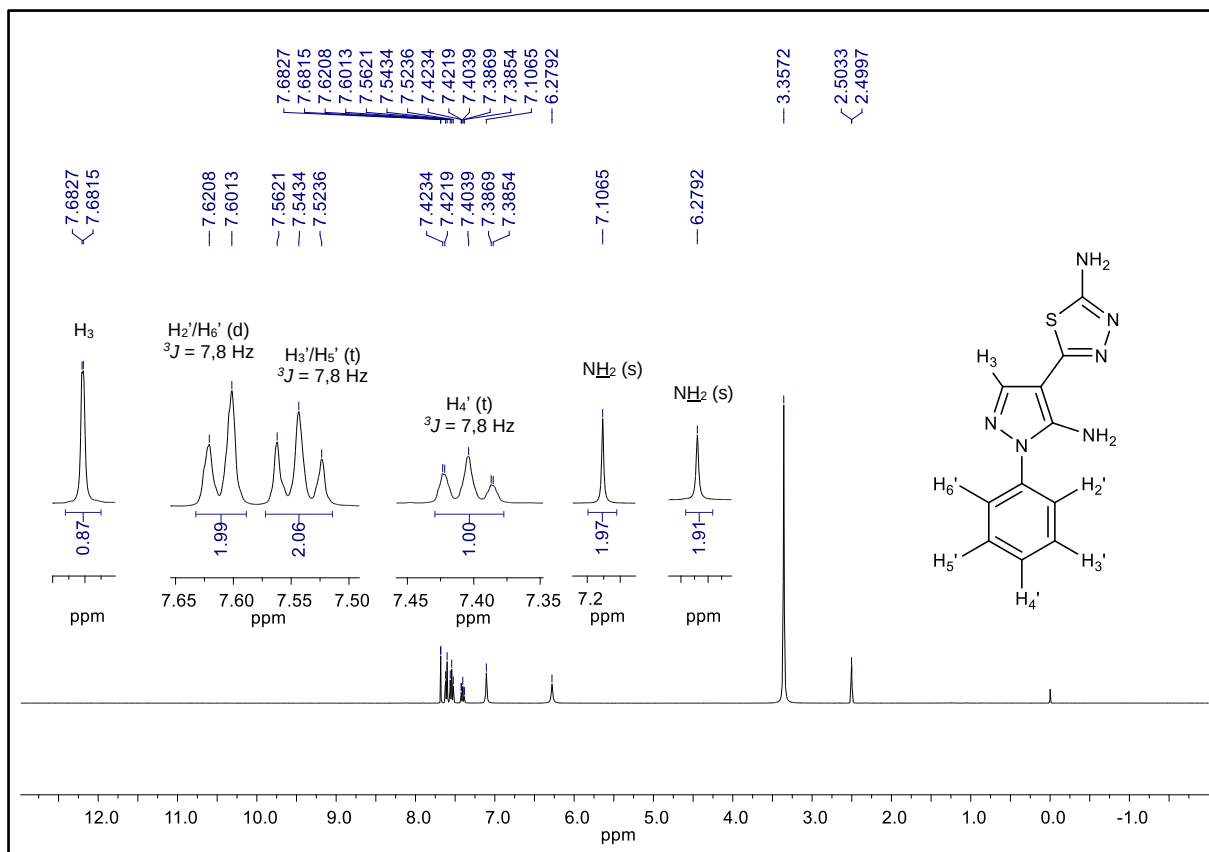


Espectro 82: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1k**.

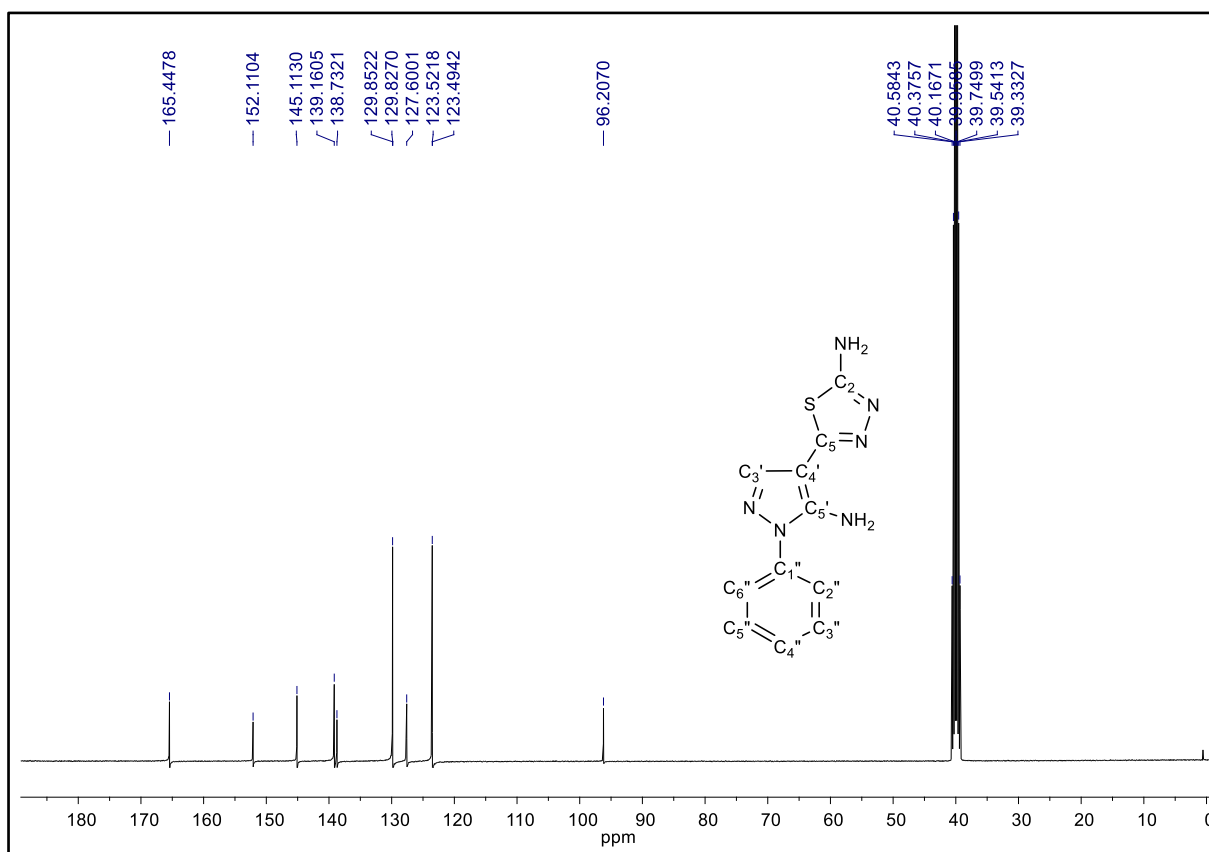


Espectro 83: Espectro de massas de alta resolução do derivado **1l**.

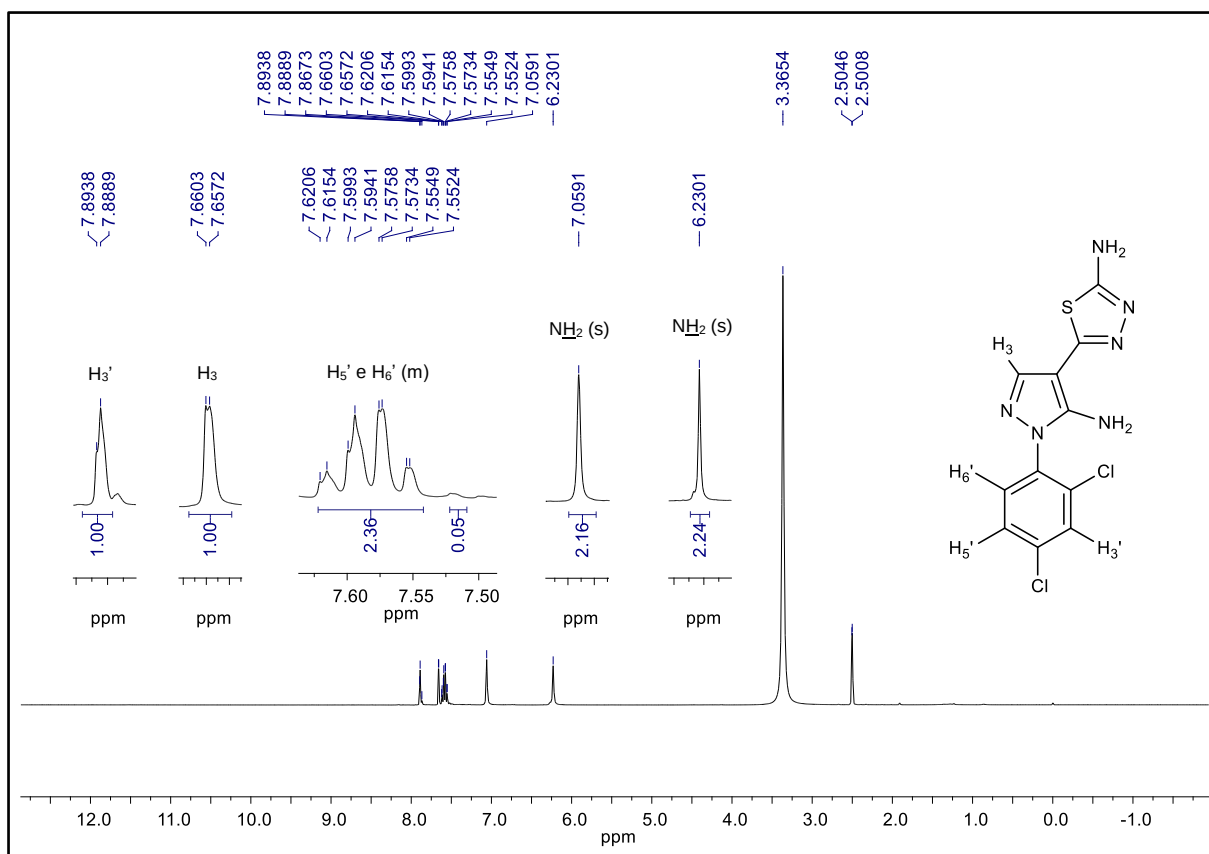
ANEXO L – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos derivados 5-amino-2-(5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 1(a-l)



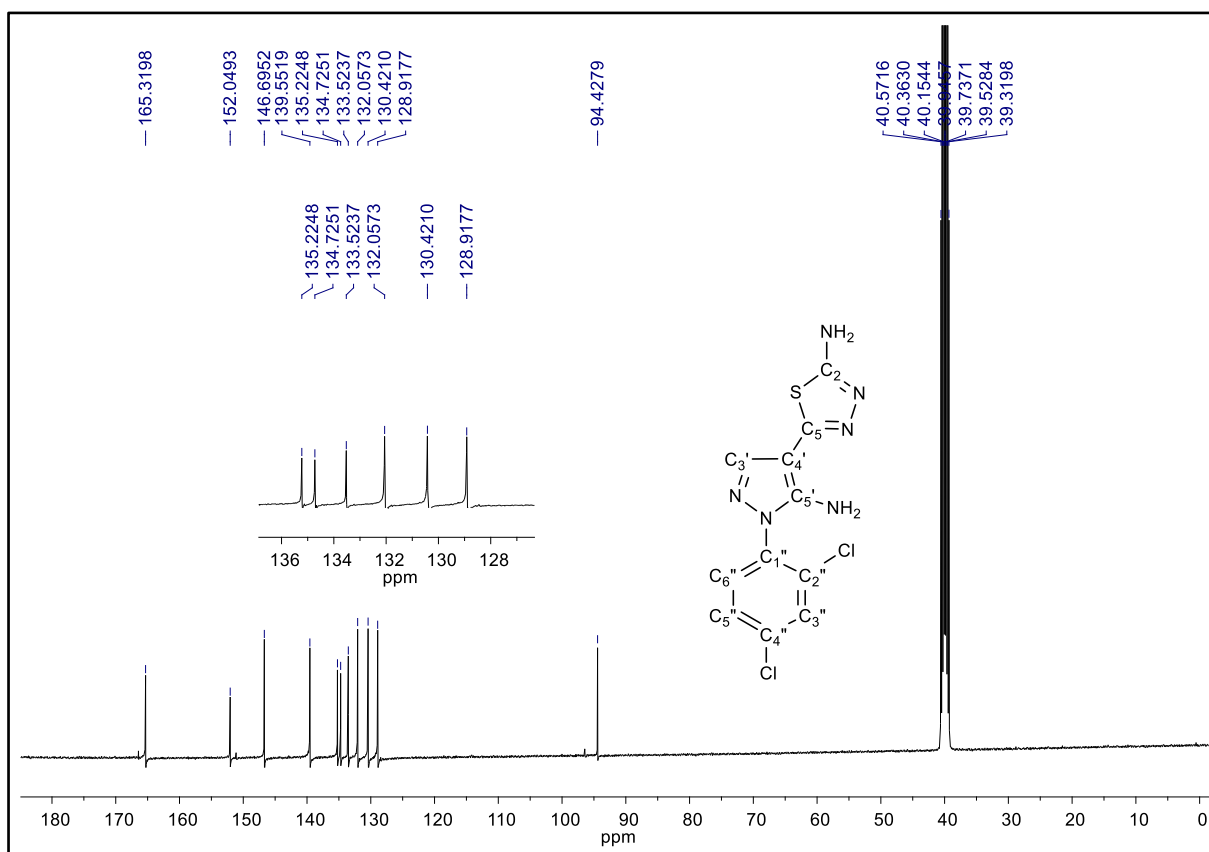
Espectro 84: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1a**.



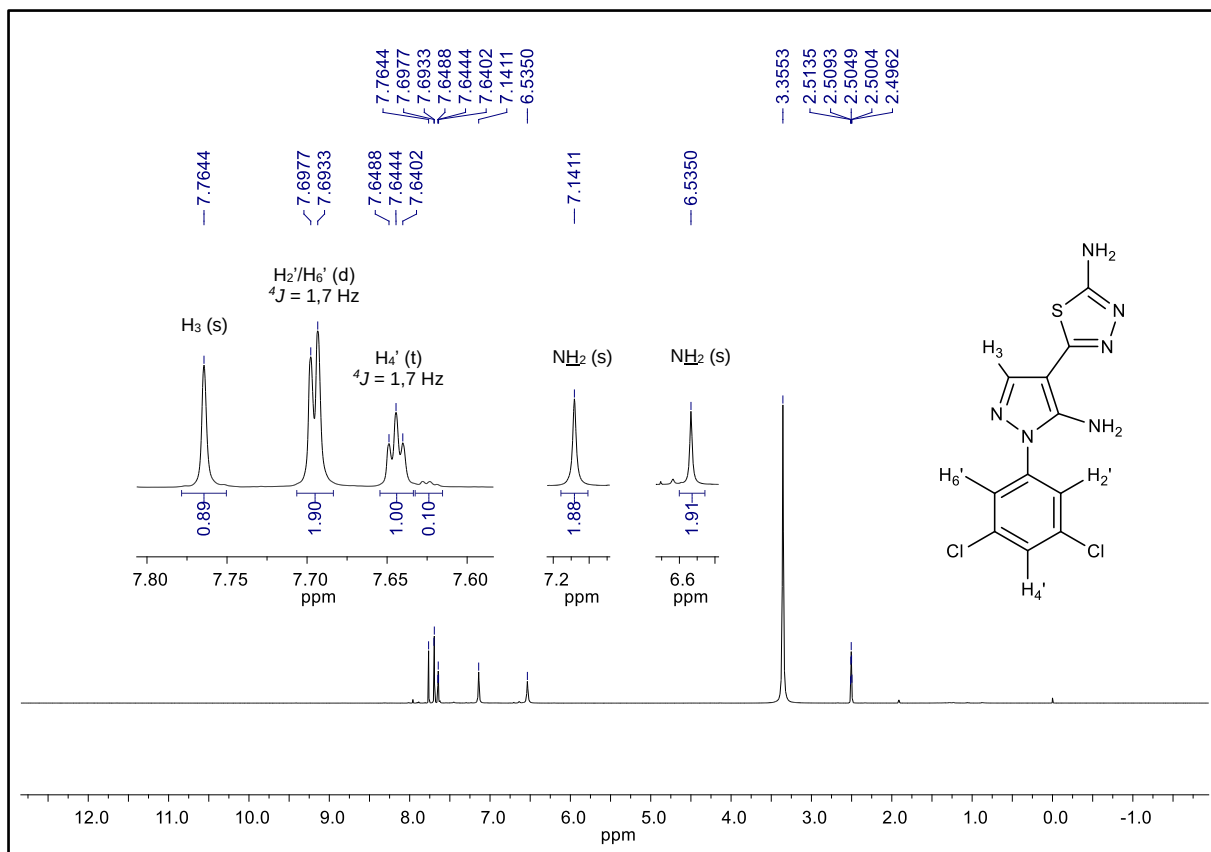
Espectro 85: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1a**.



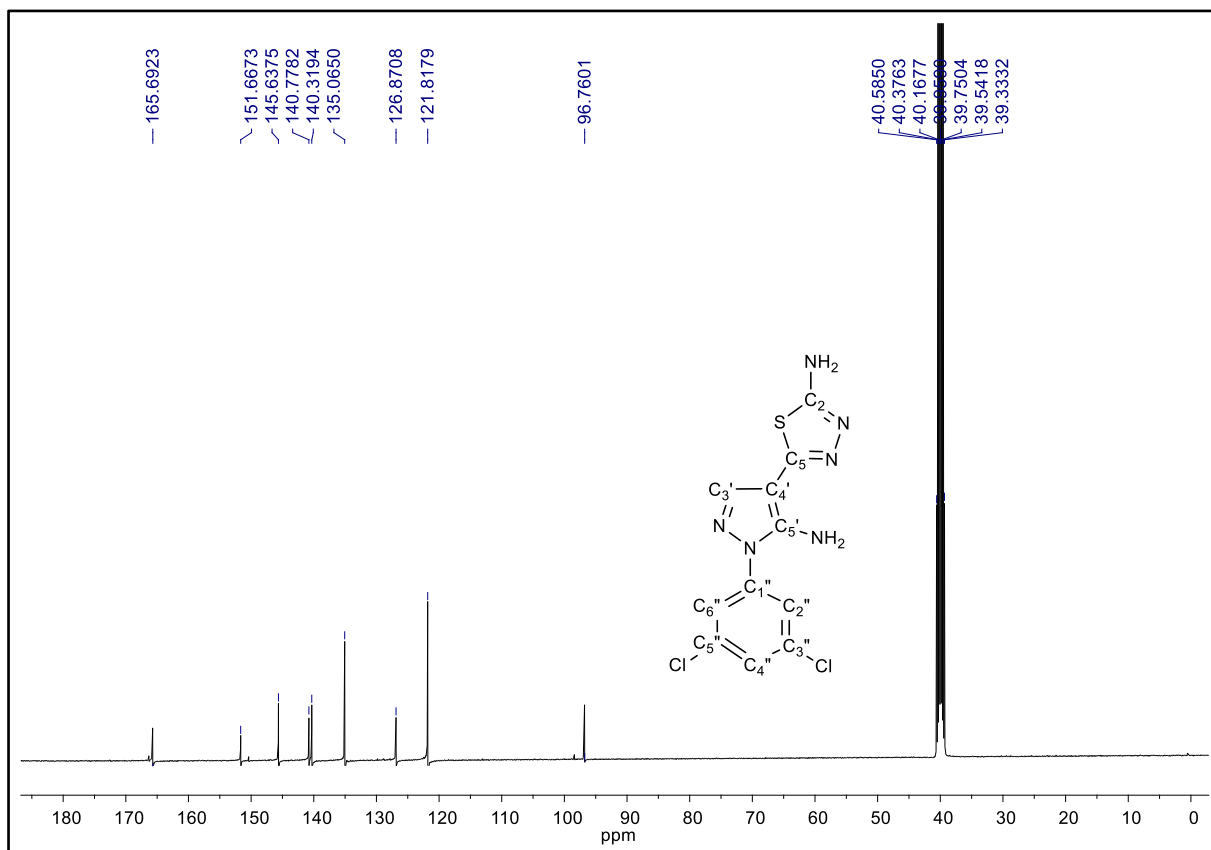
Espectro 86: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1b**.



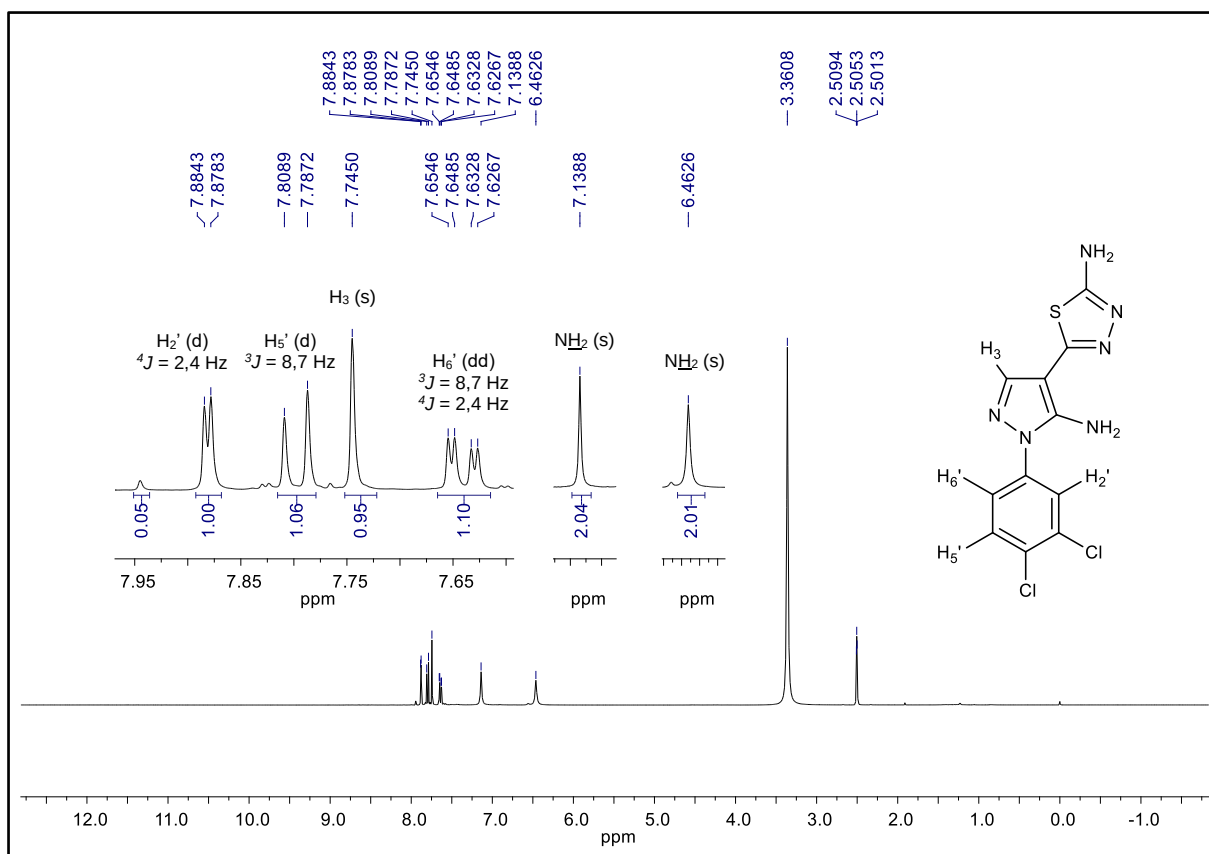
Espectro 87: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1b**.



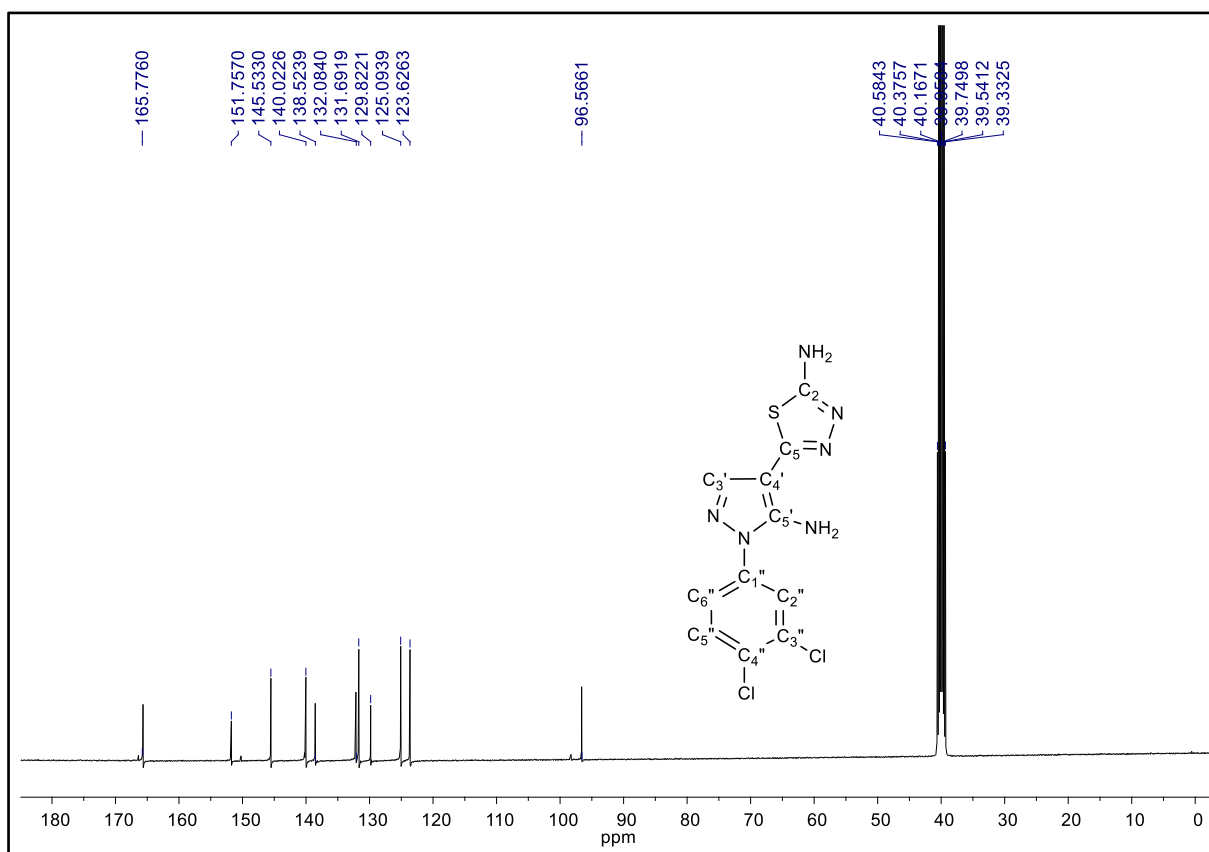
Espectro 88: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) do derivado **1c**.



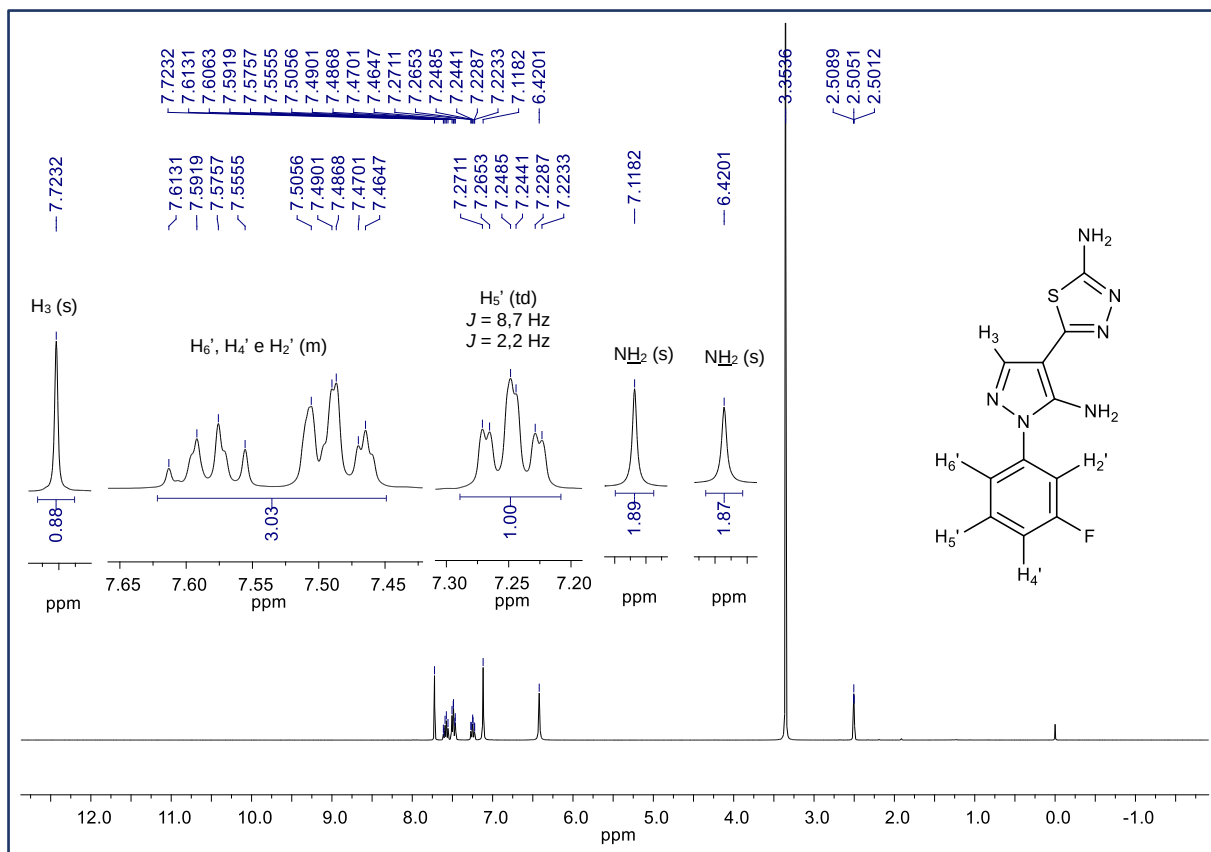
Espectro 89: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do derivado **1c**.



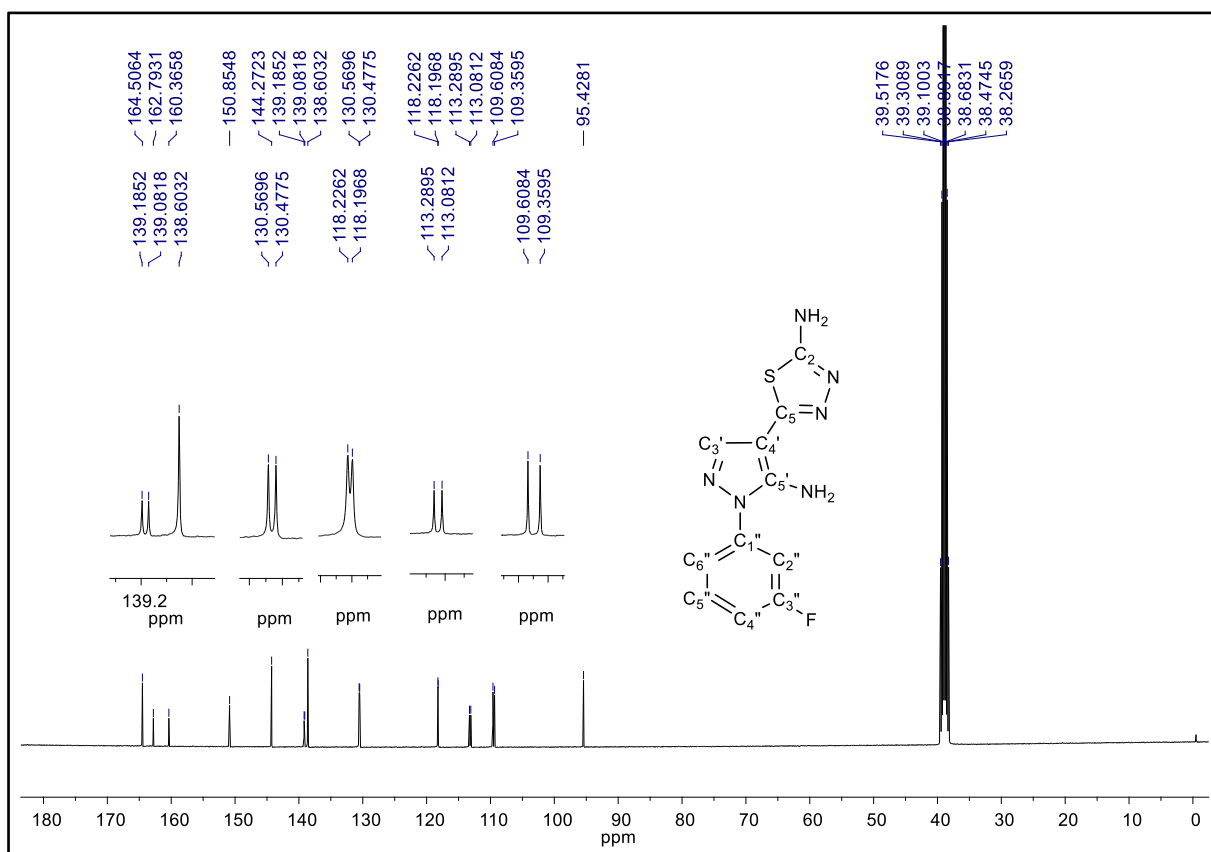
Espectro 90: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1d**.



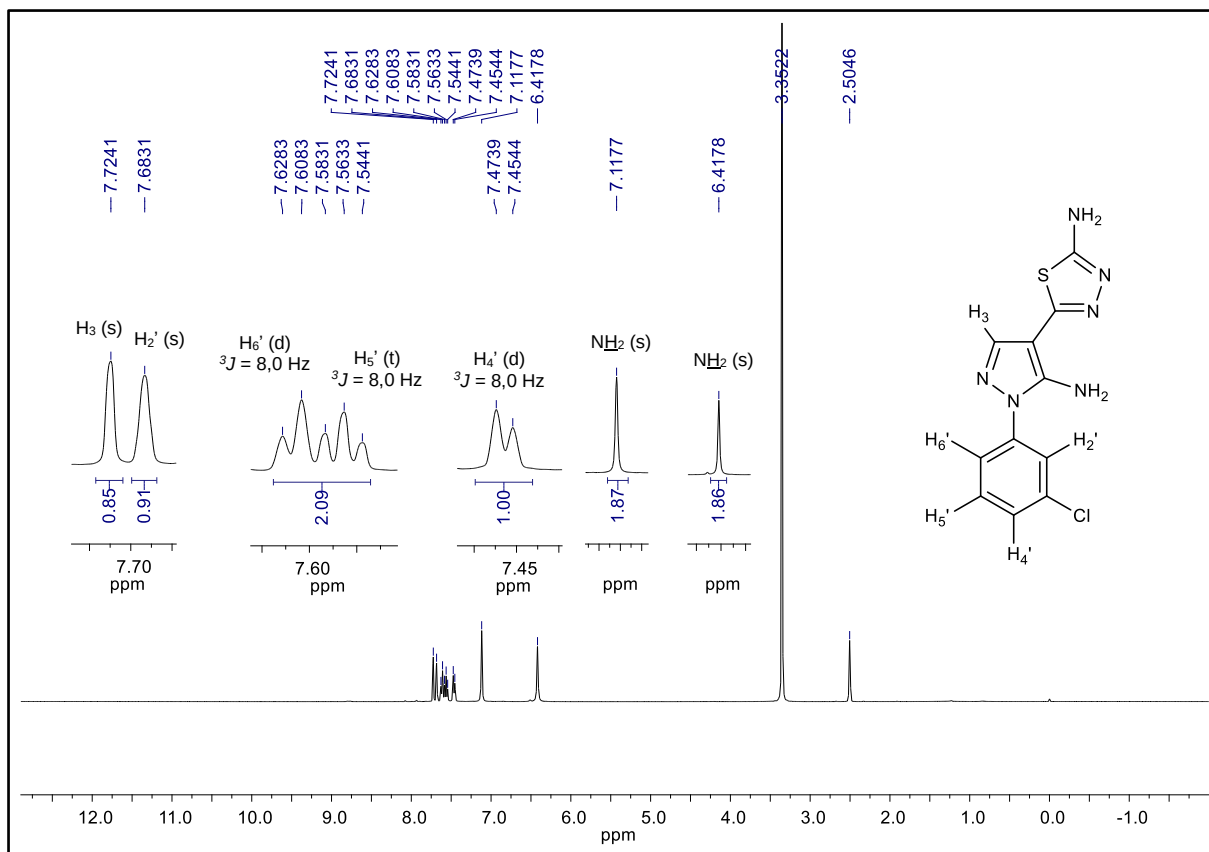
Espectro 91: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1d**.



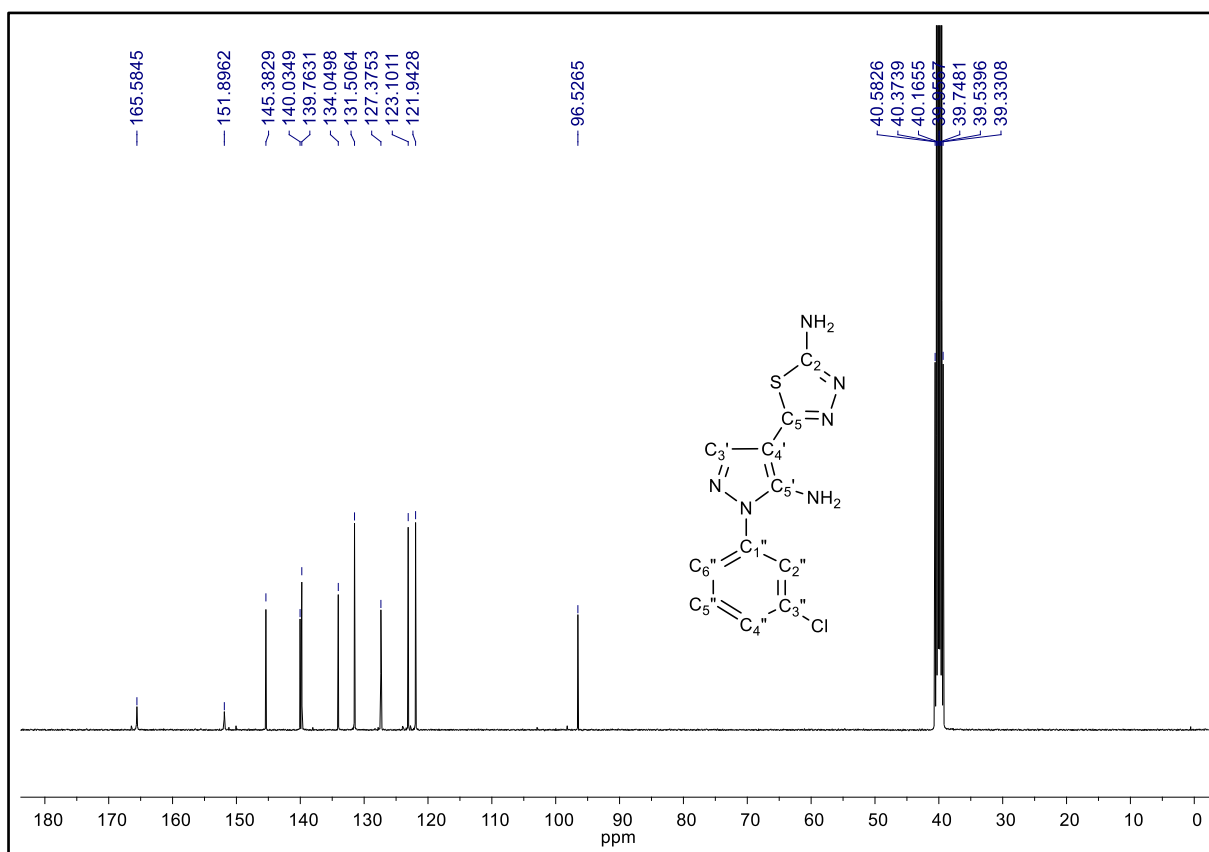
Espectro 92: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1e**.



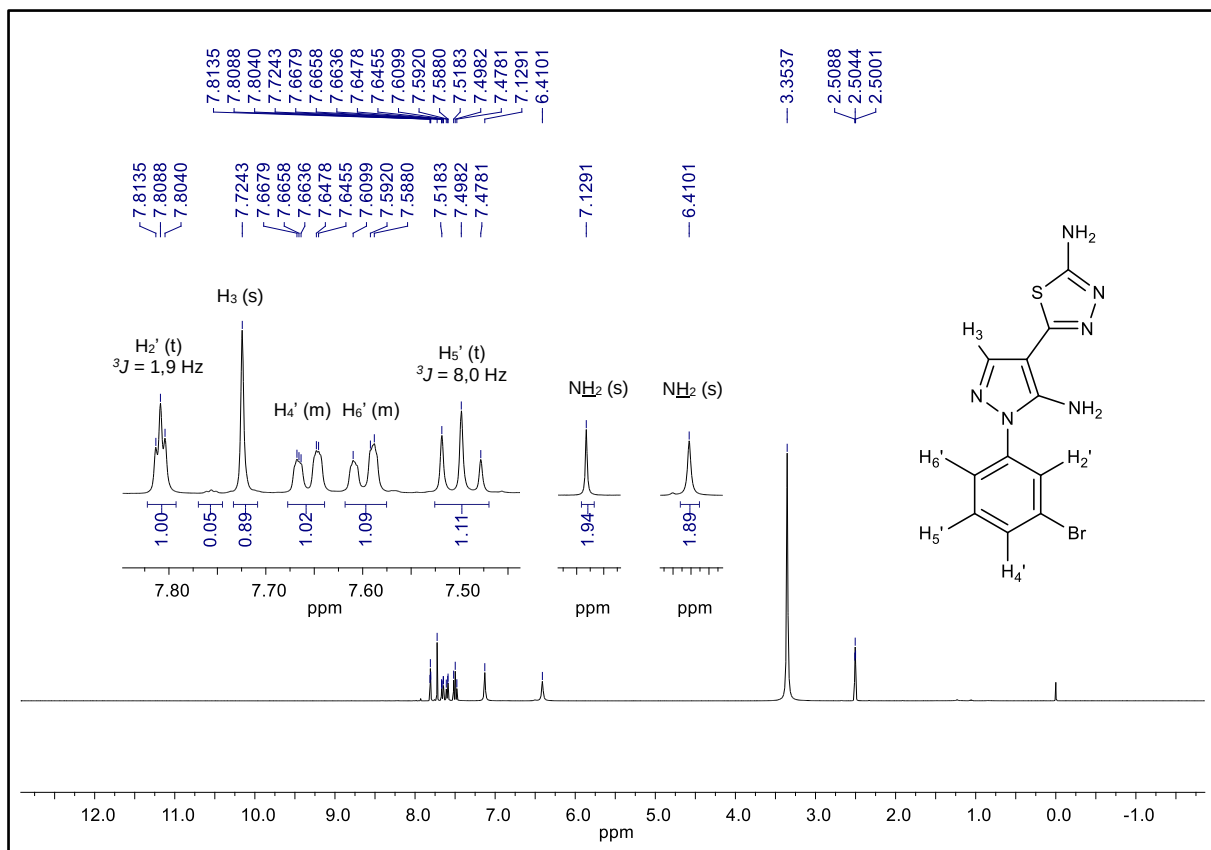
Espectro 93: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1e**.



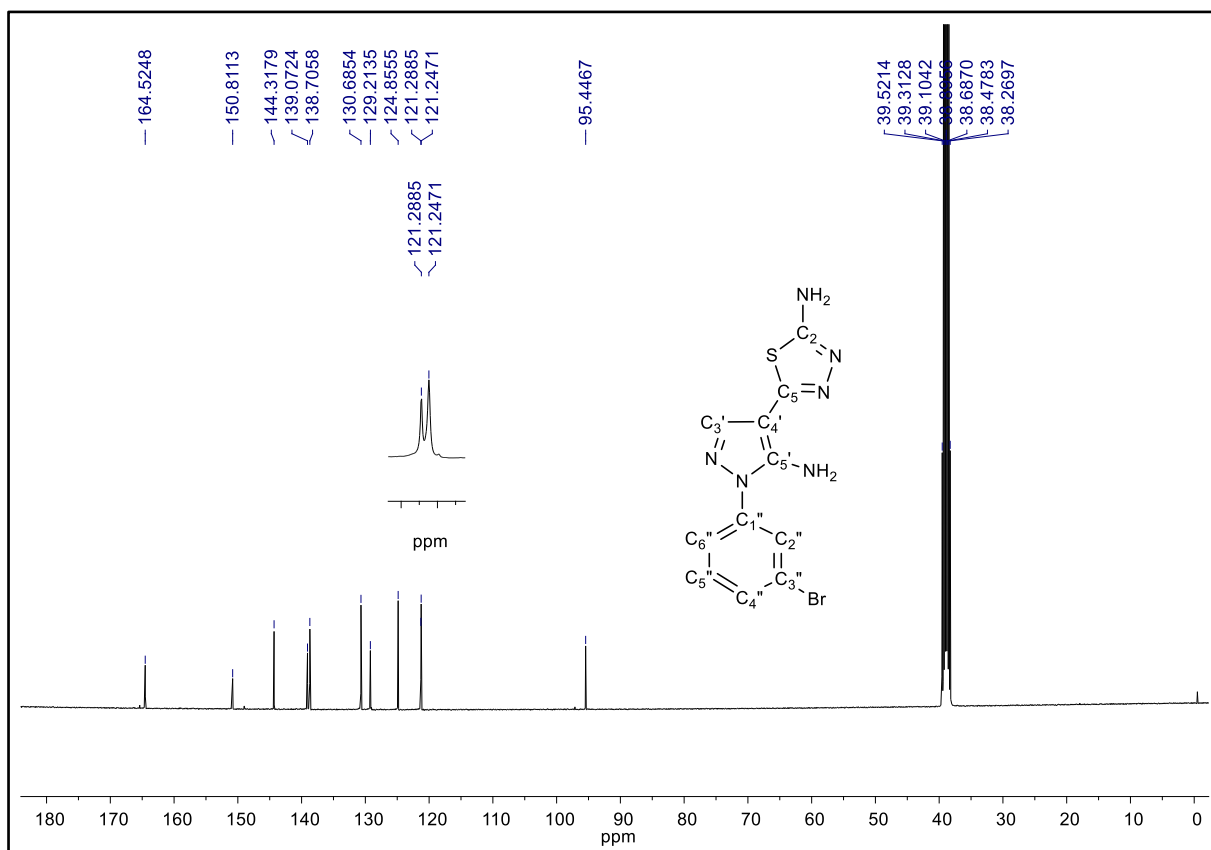
Espectro 94: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) do derivado **1f**.



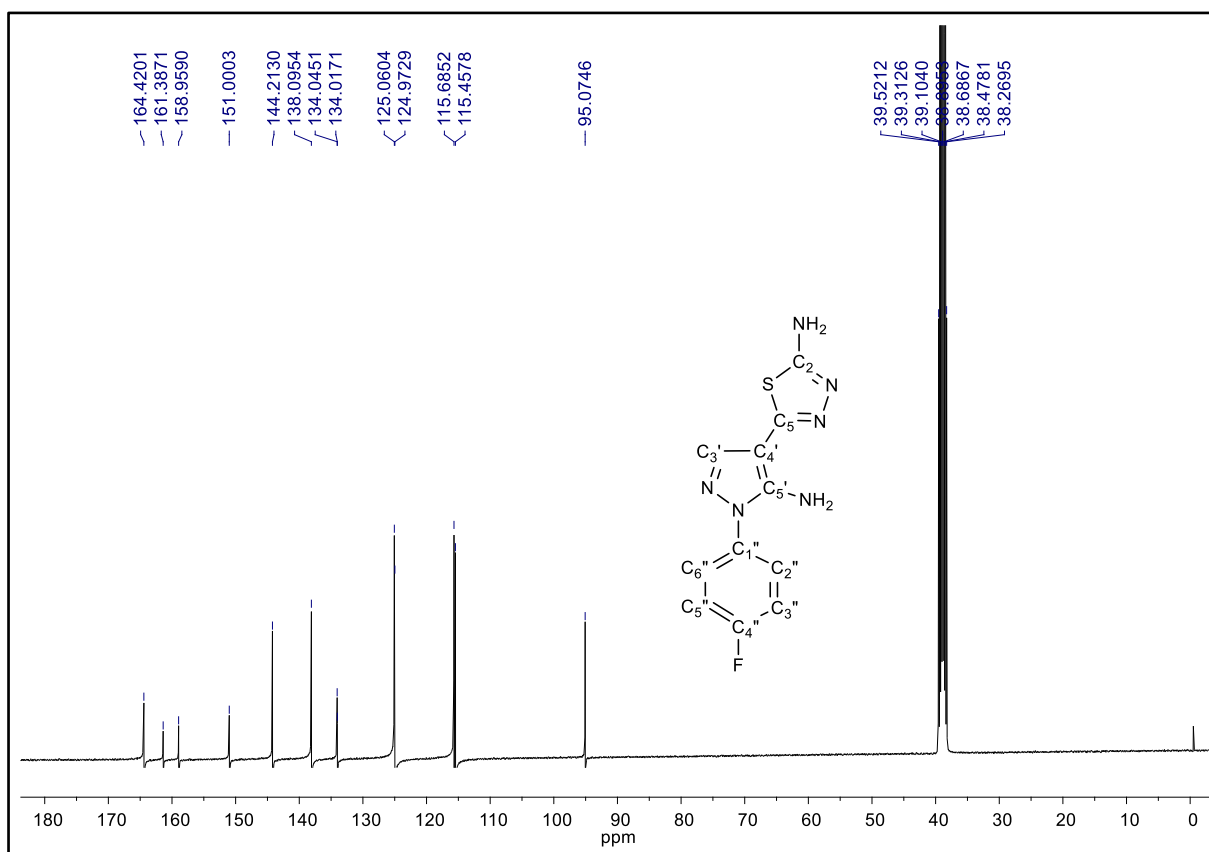
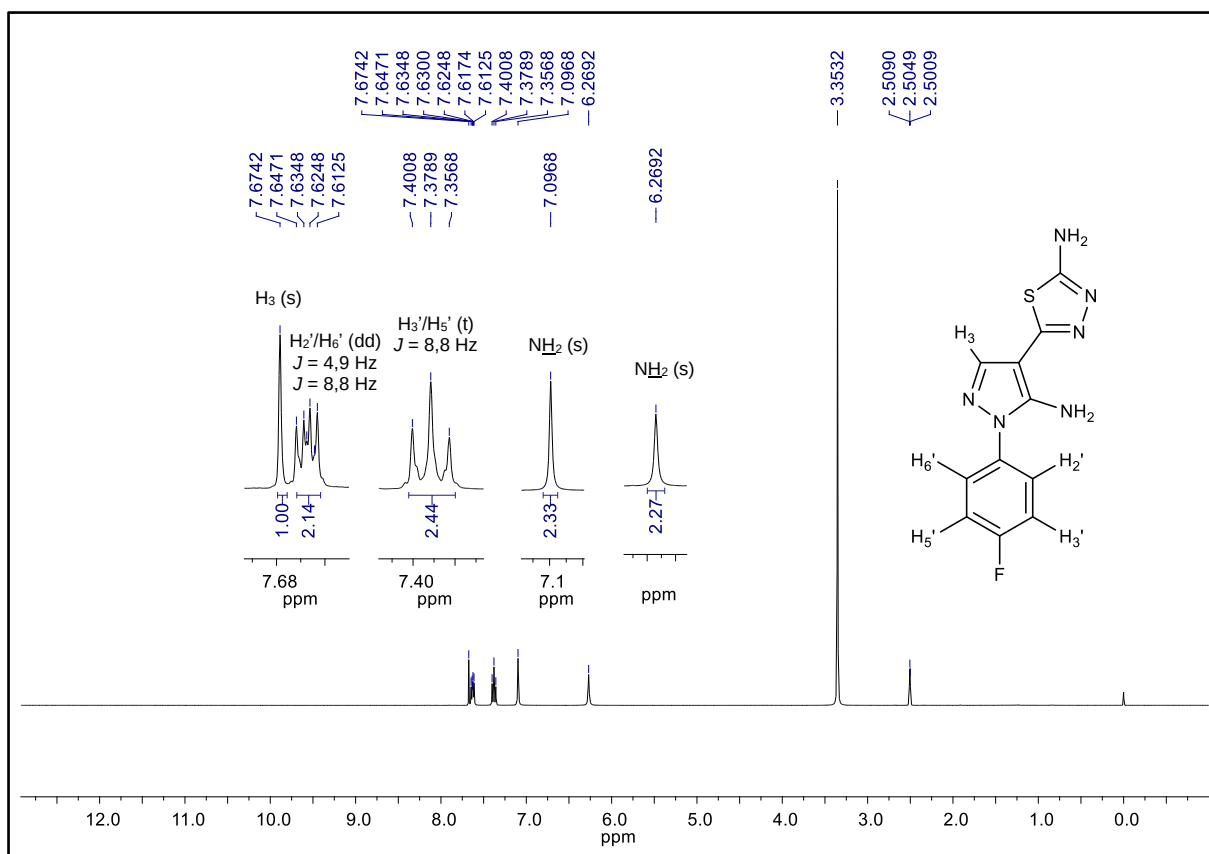
Espectro 95: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do derivado **1f**.

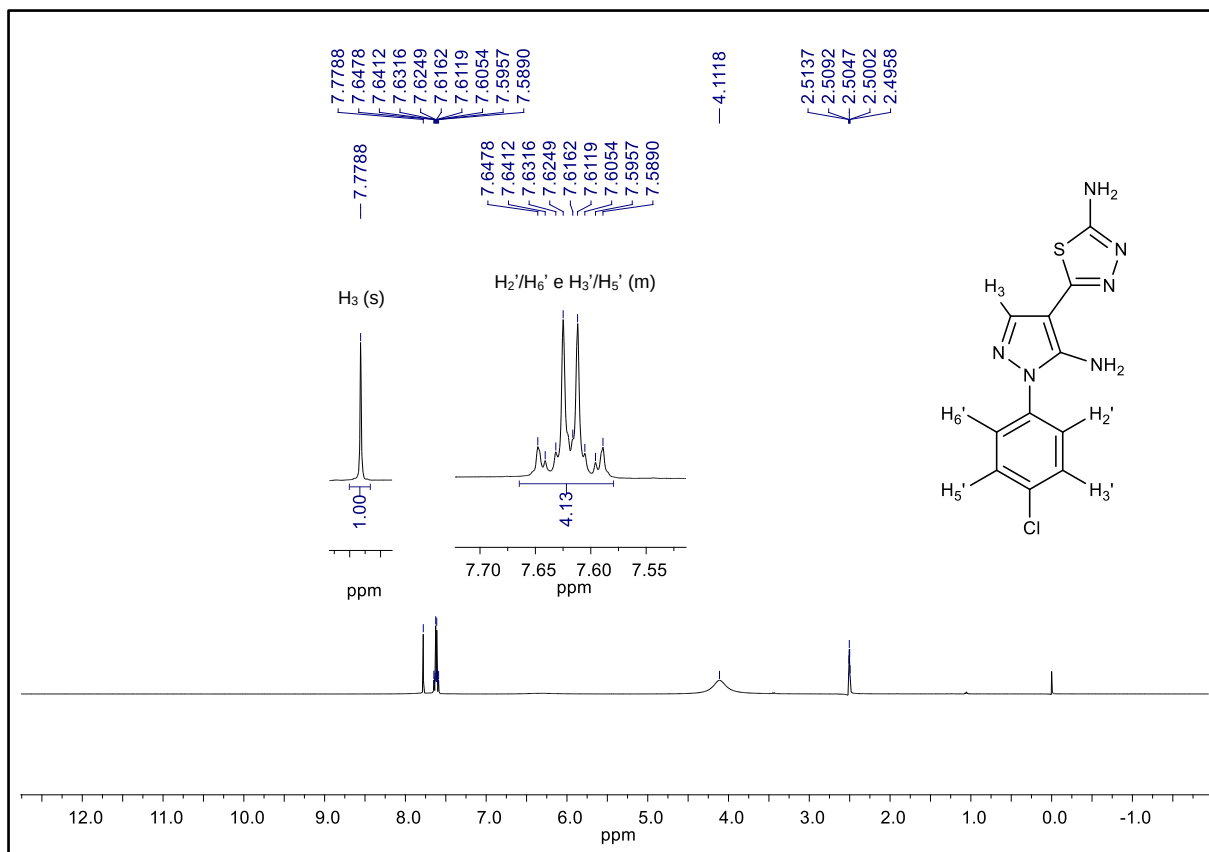


Espectro 96: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1g**.

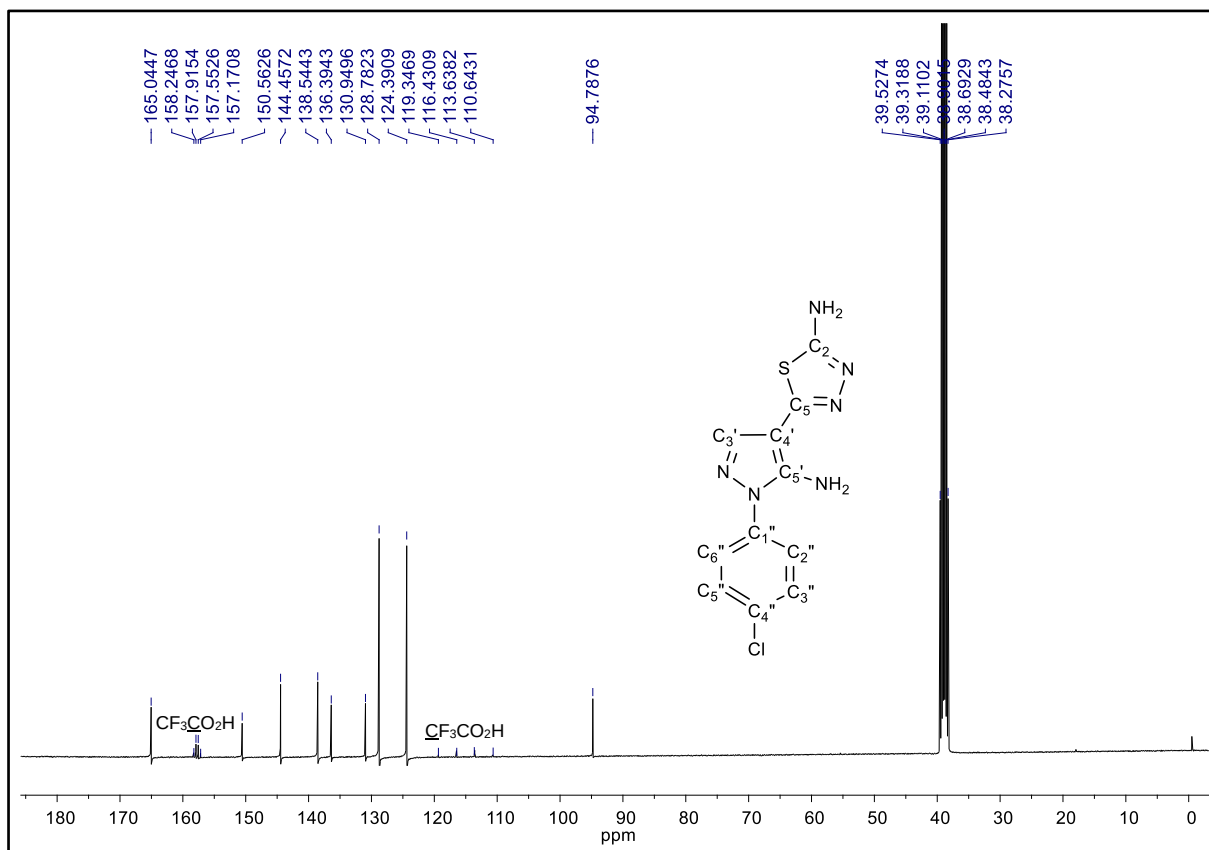


Espectro 97: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1g**.

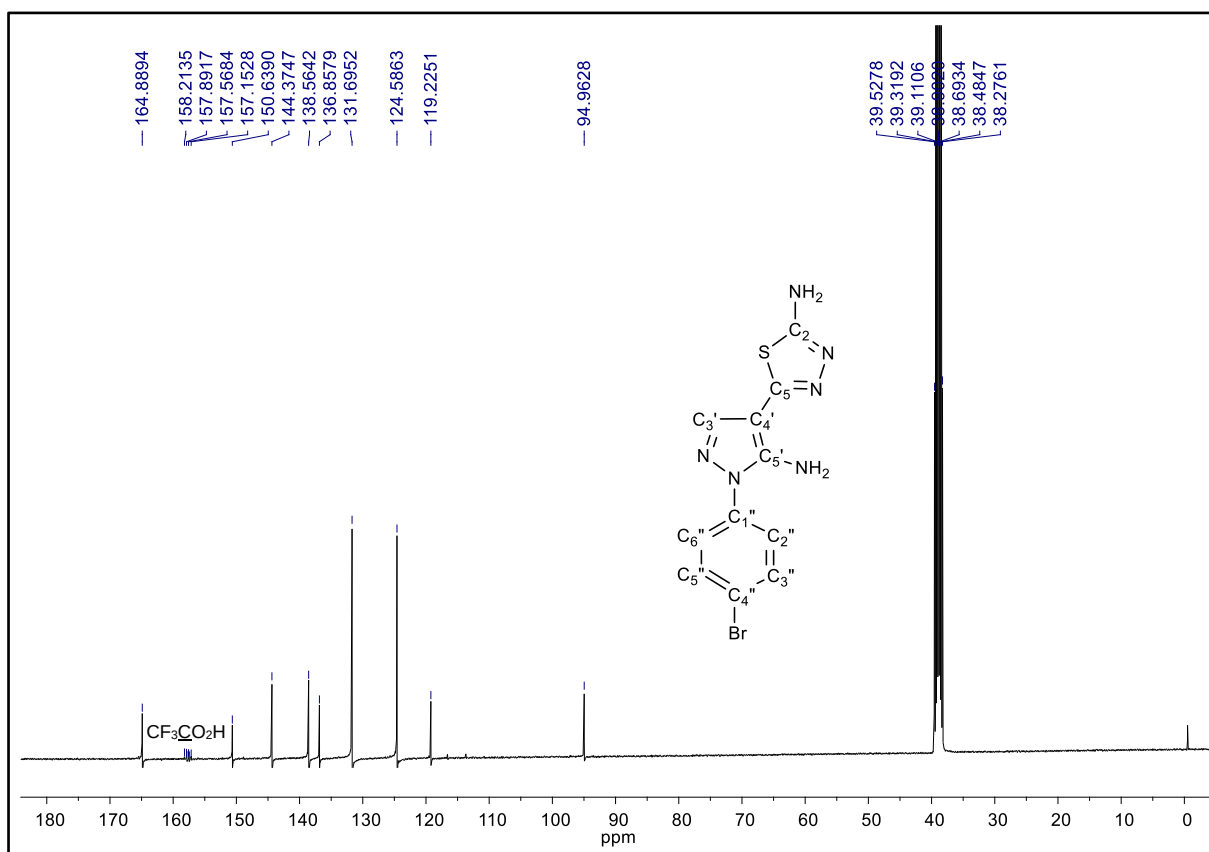
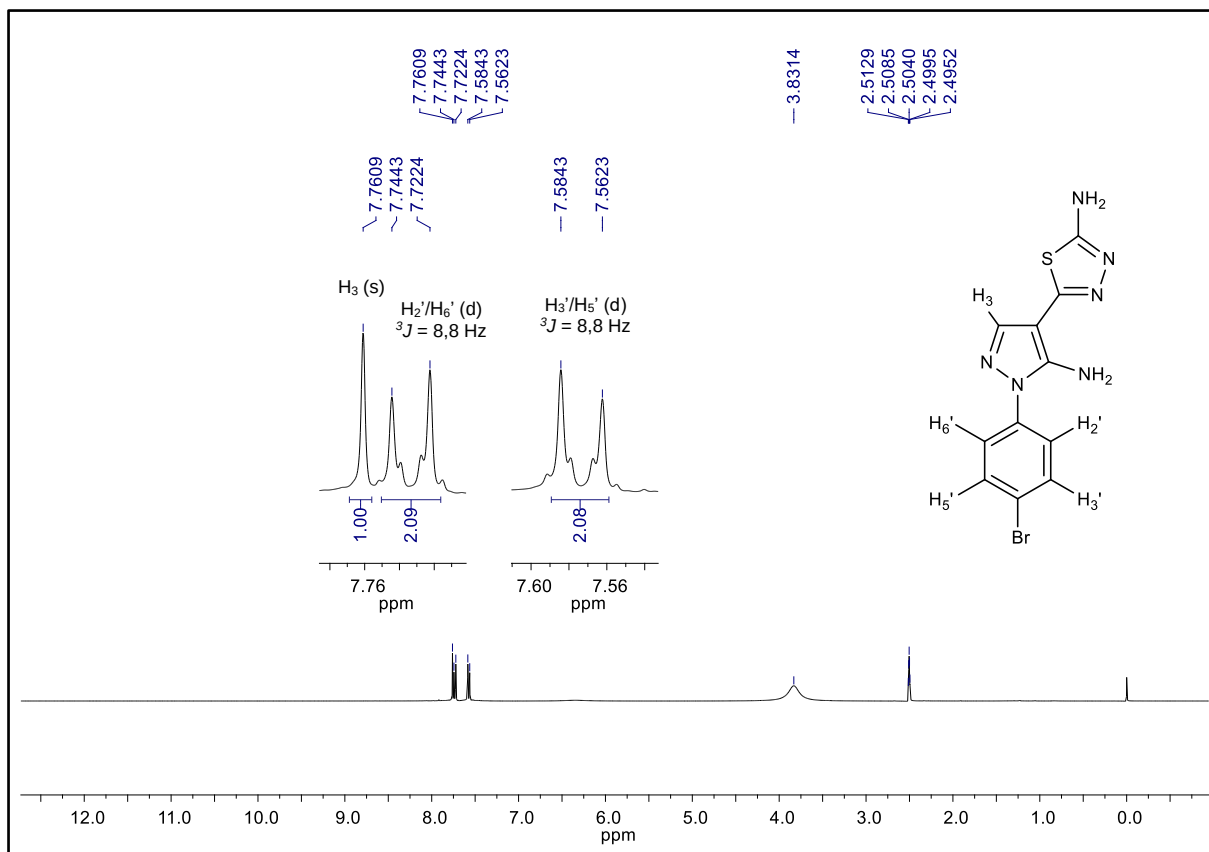


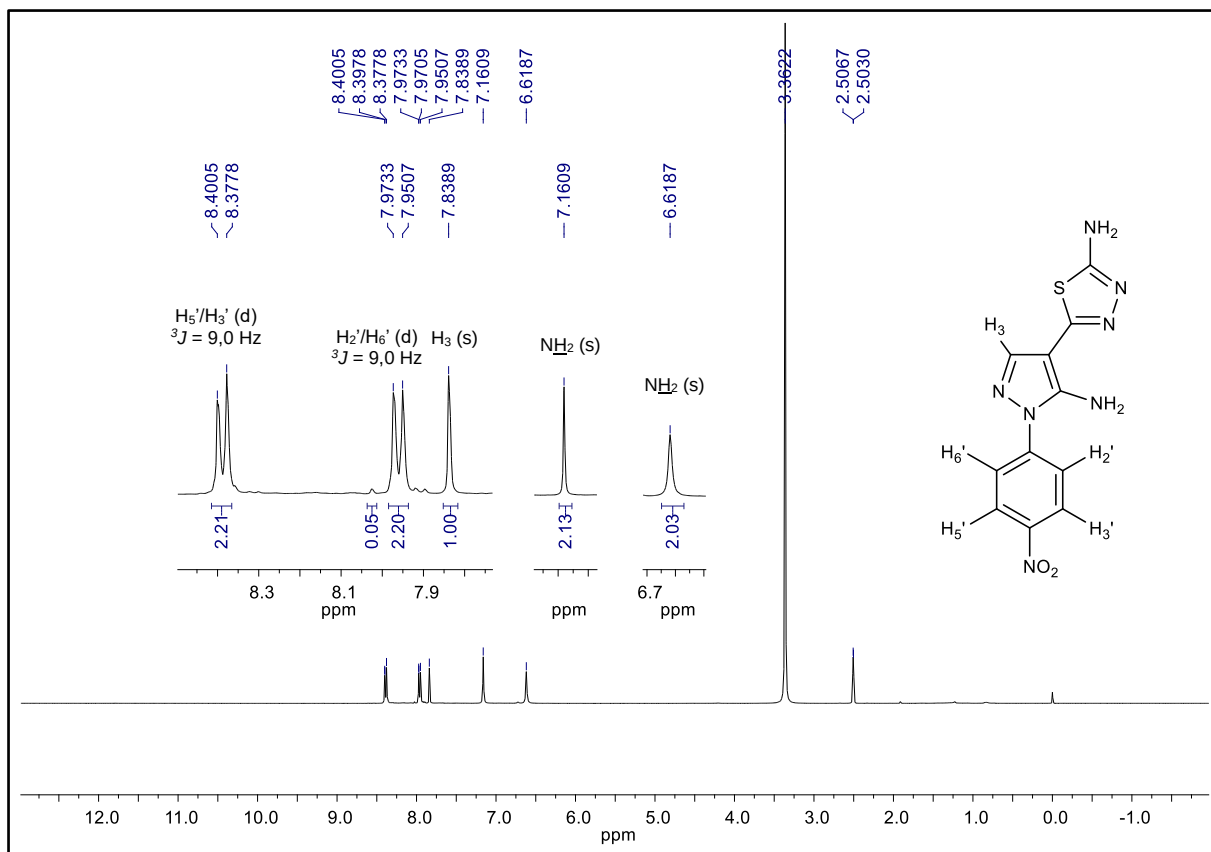


Espectro 100: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1i**.

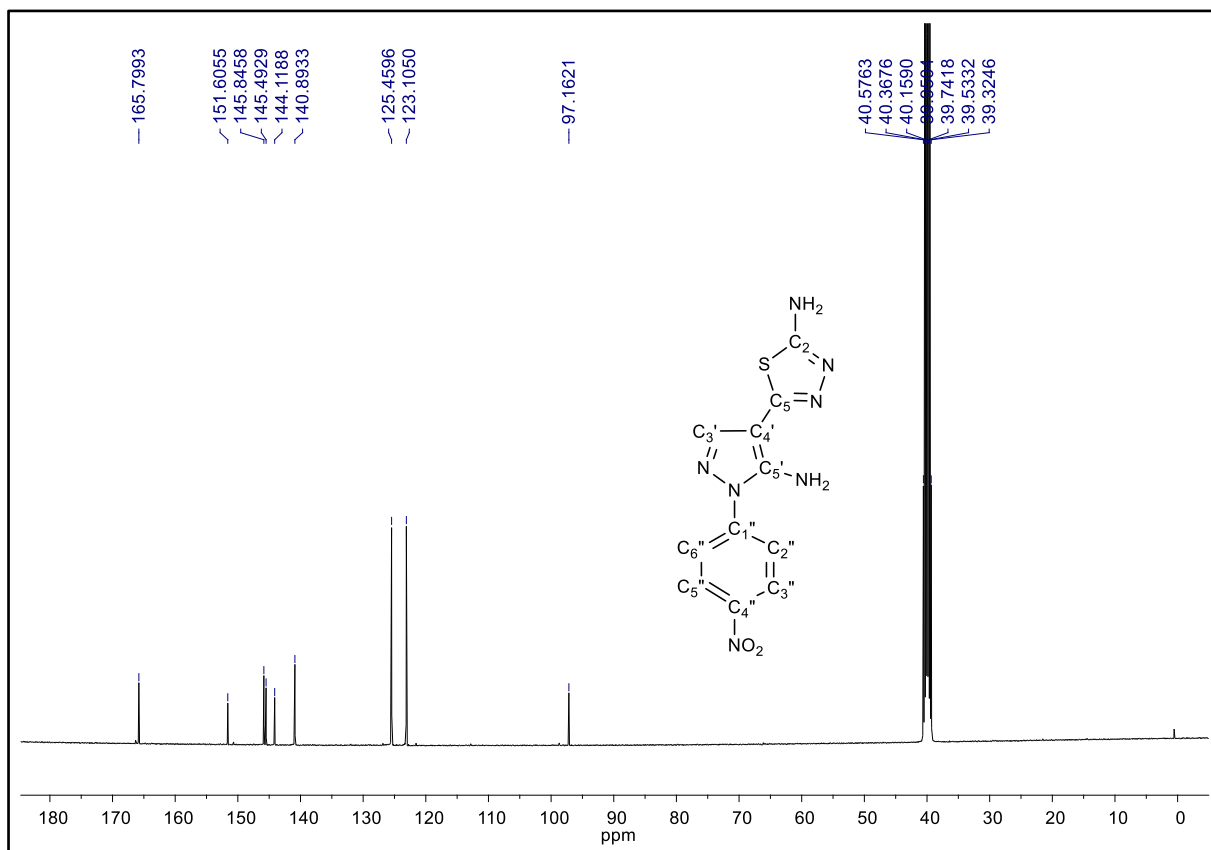


Espectro 101: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1i**.

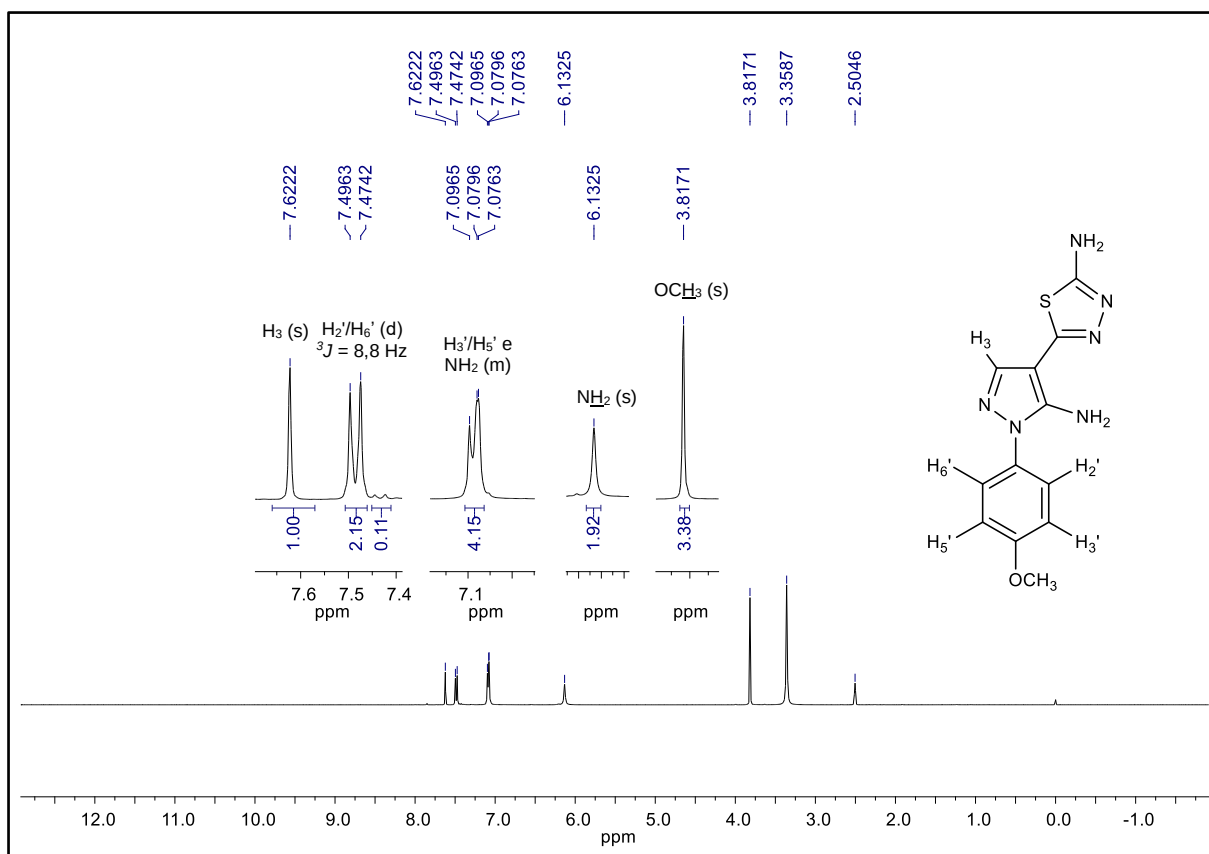




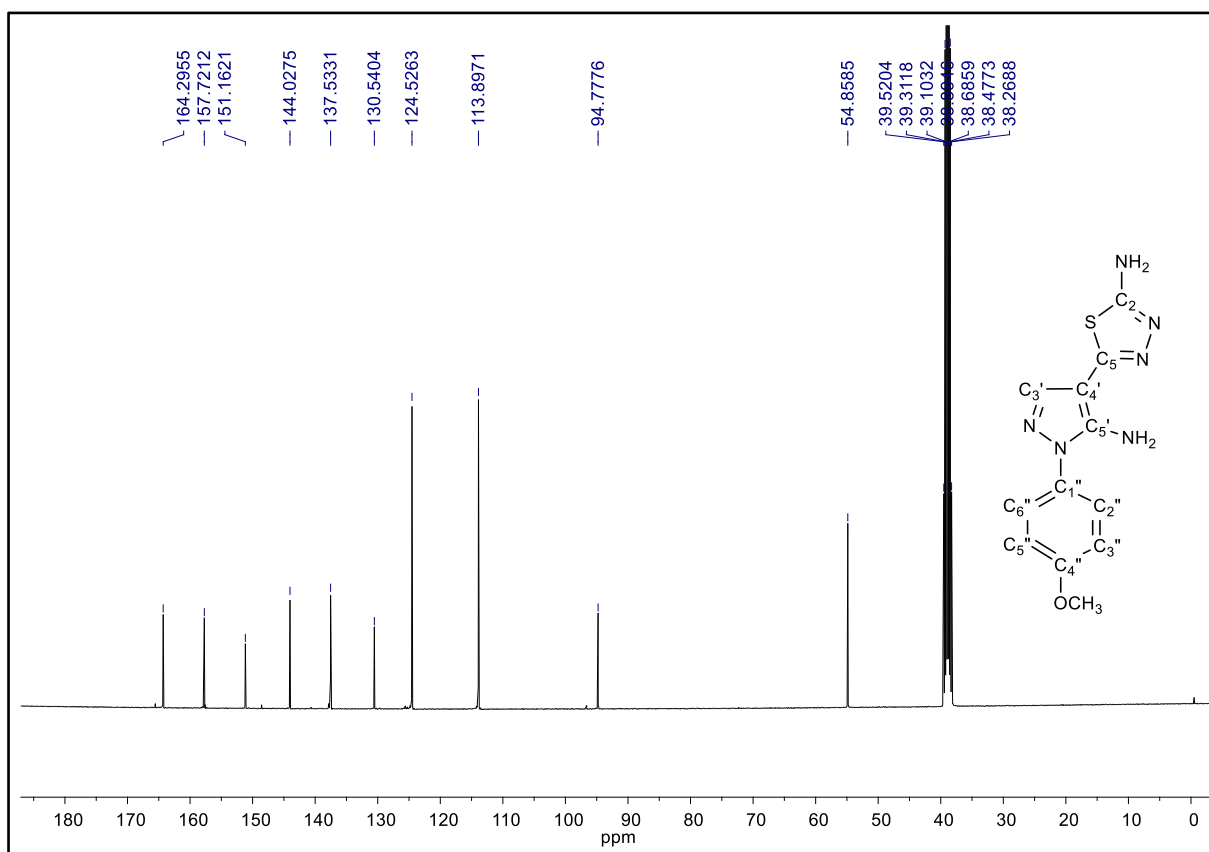
Espectro 104: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) do derivado **1k**.



Espectro 105: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) do derivado **1k**.

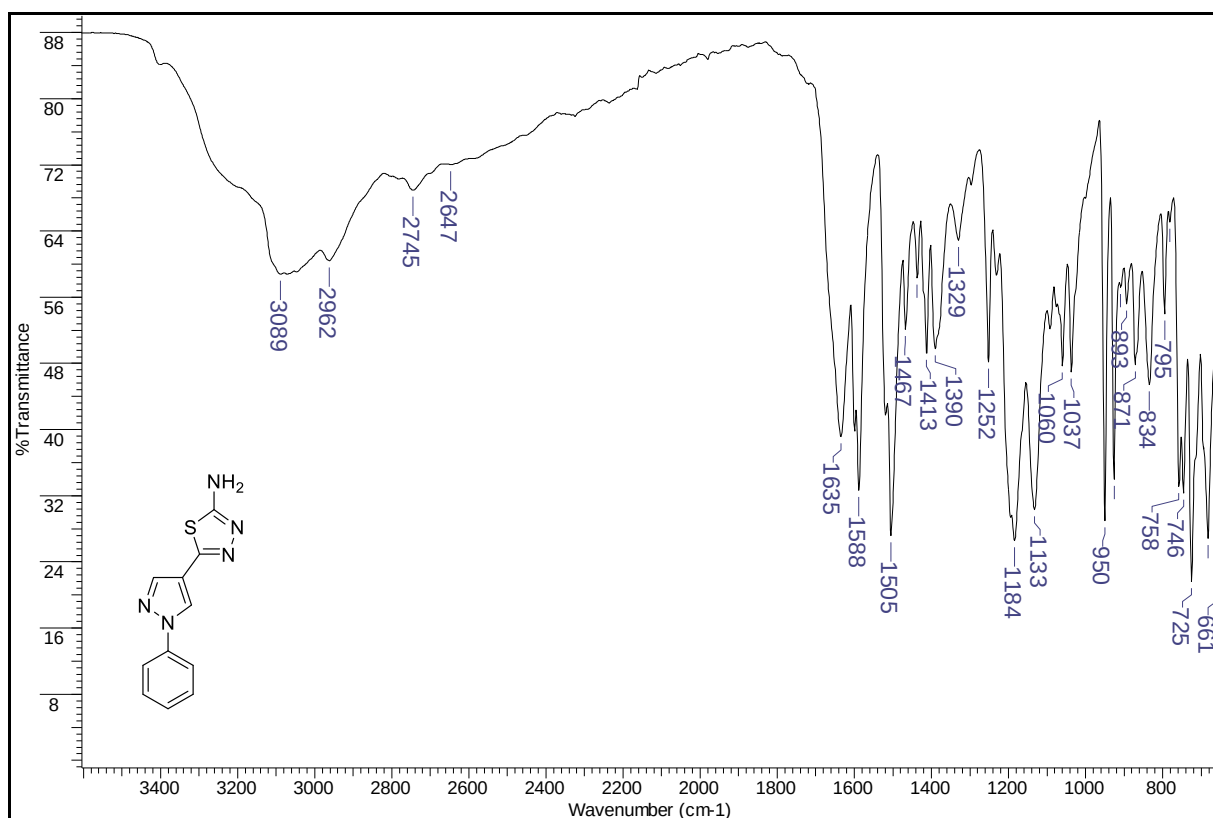


Espectro 106: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **1I**.

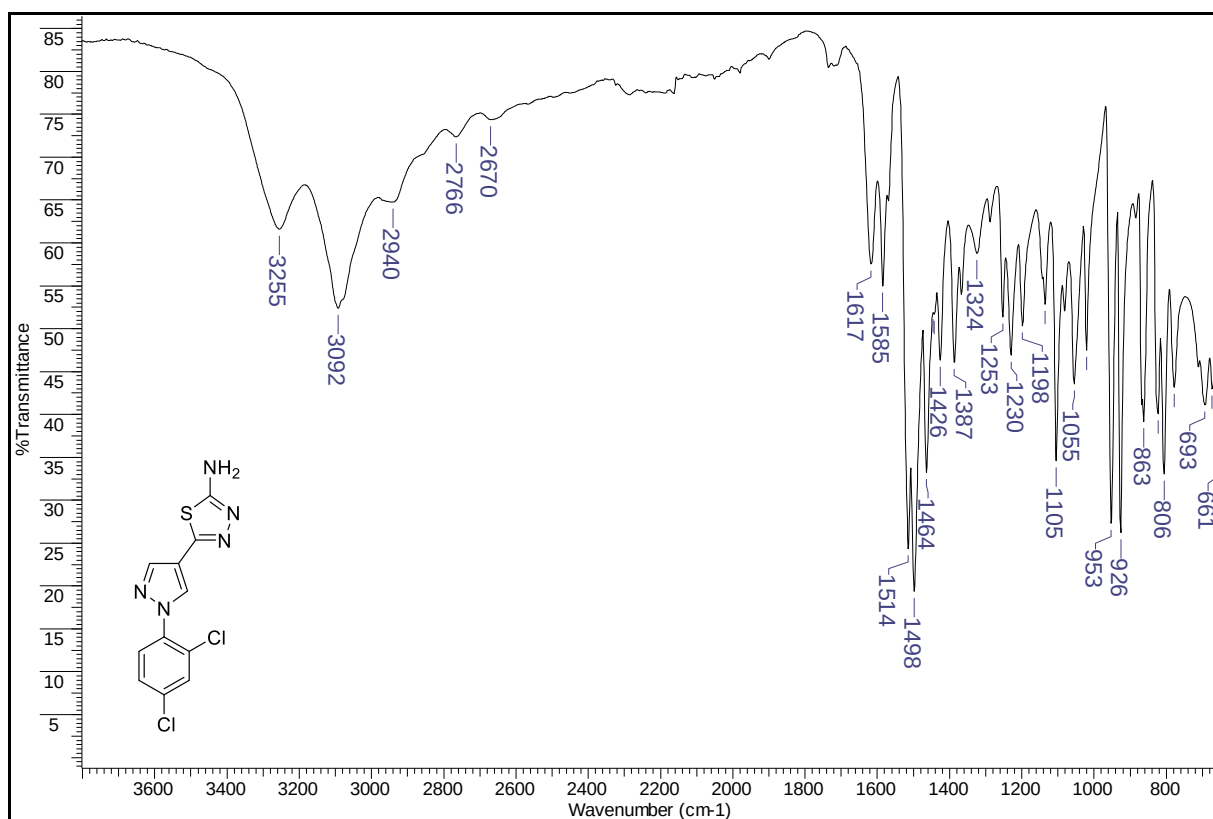


Espectro 107: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **1I**.

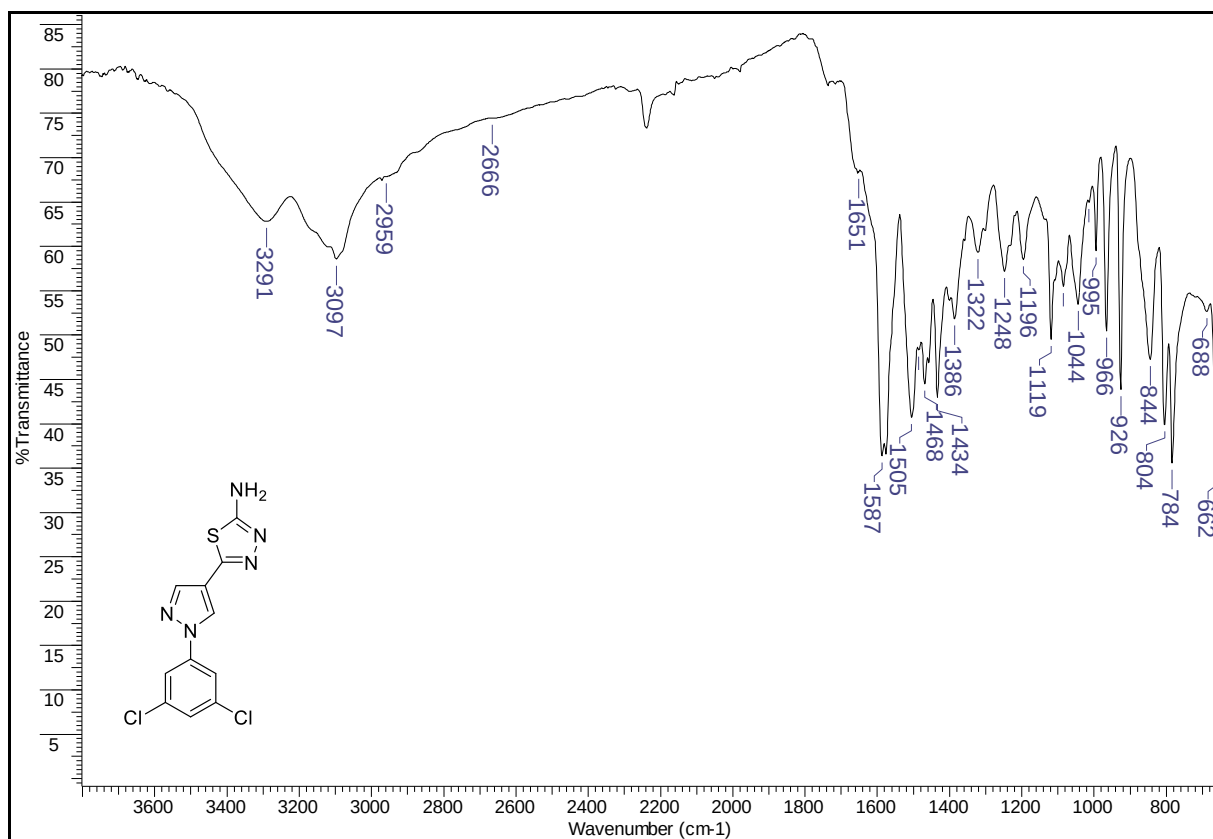
ANEXO M – Espectros de infravermelho dos derivados 5-amino-2-(1-aril-1*H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 2(a-l)



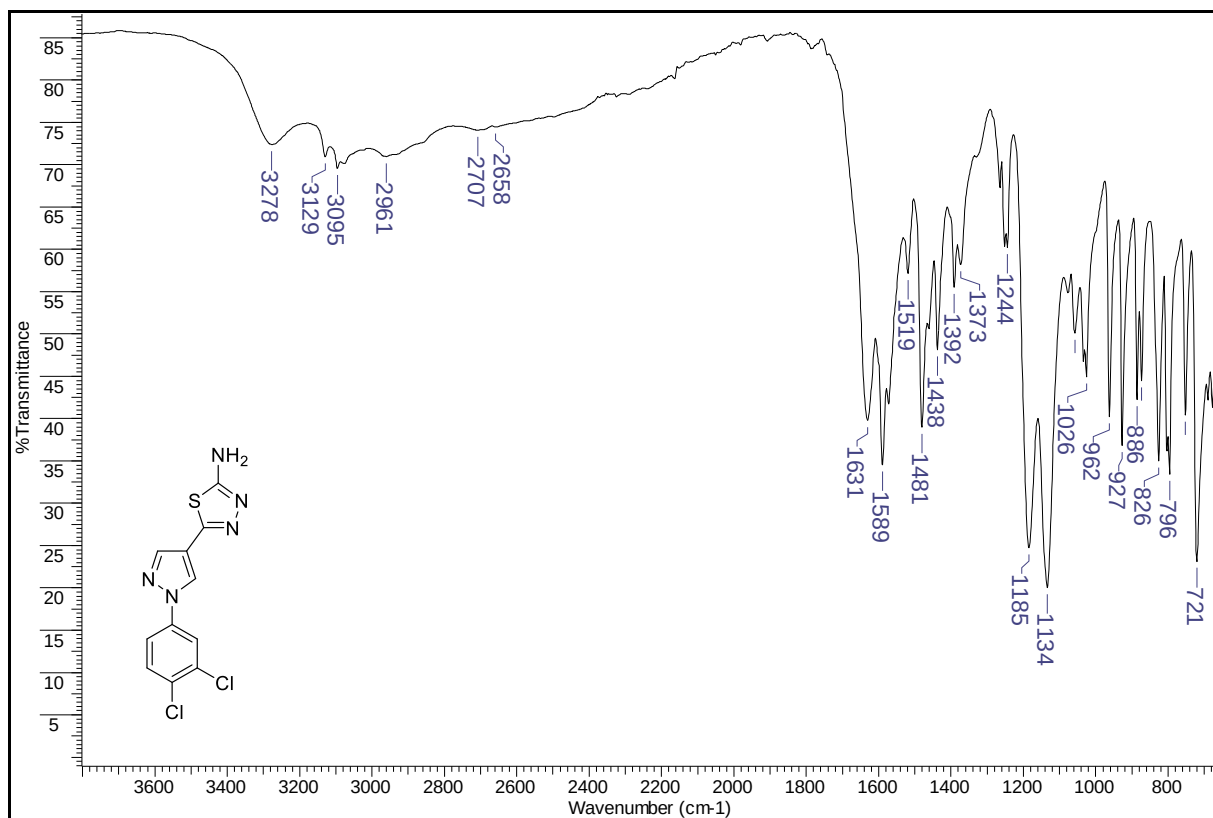
Espectro 108: Espectro de infravermelho do derivado **2a**.



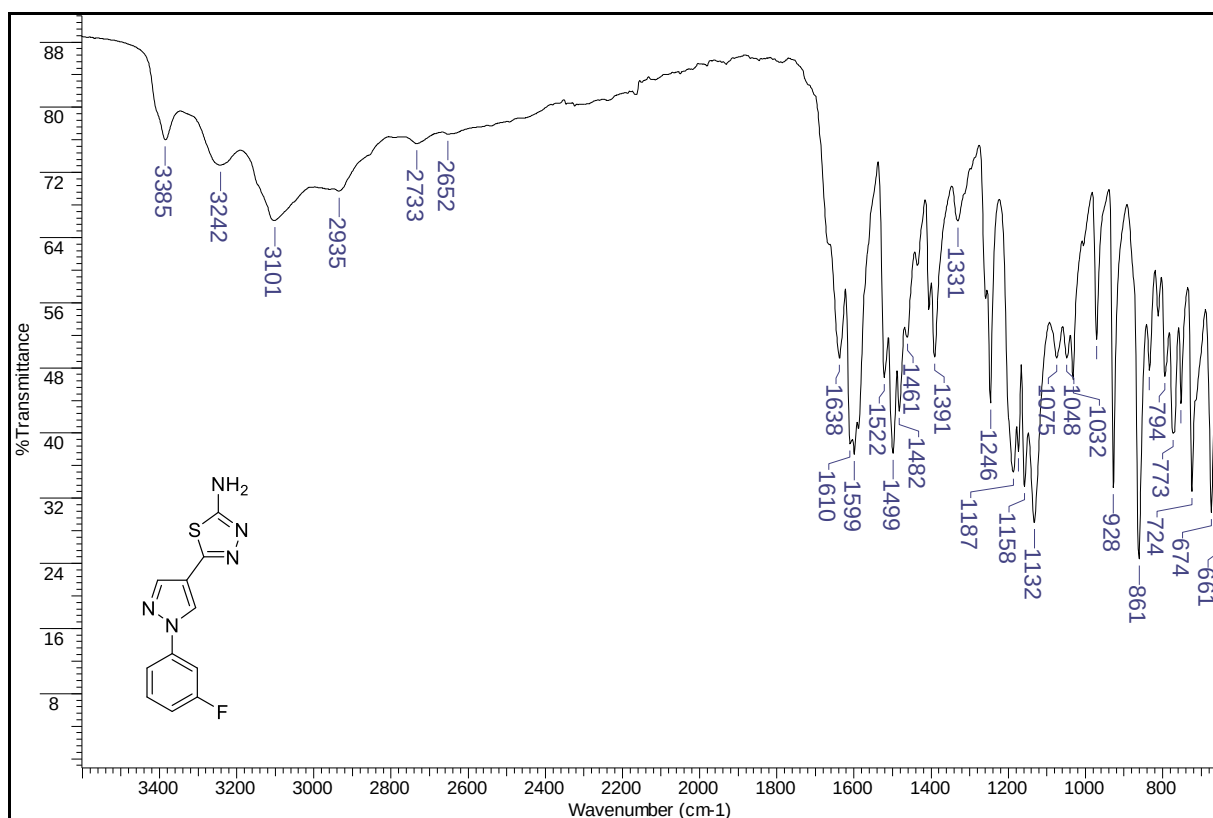
Espectro 109: Espectro de infravermelho do derivado **2b**.



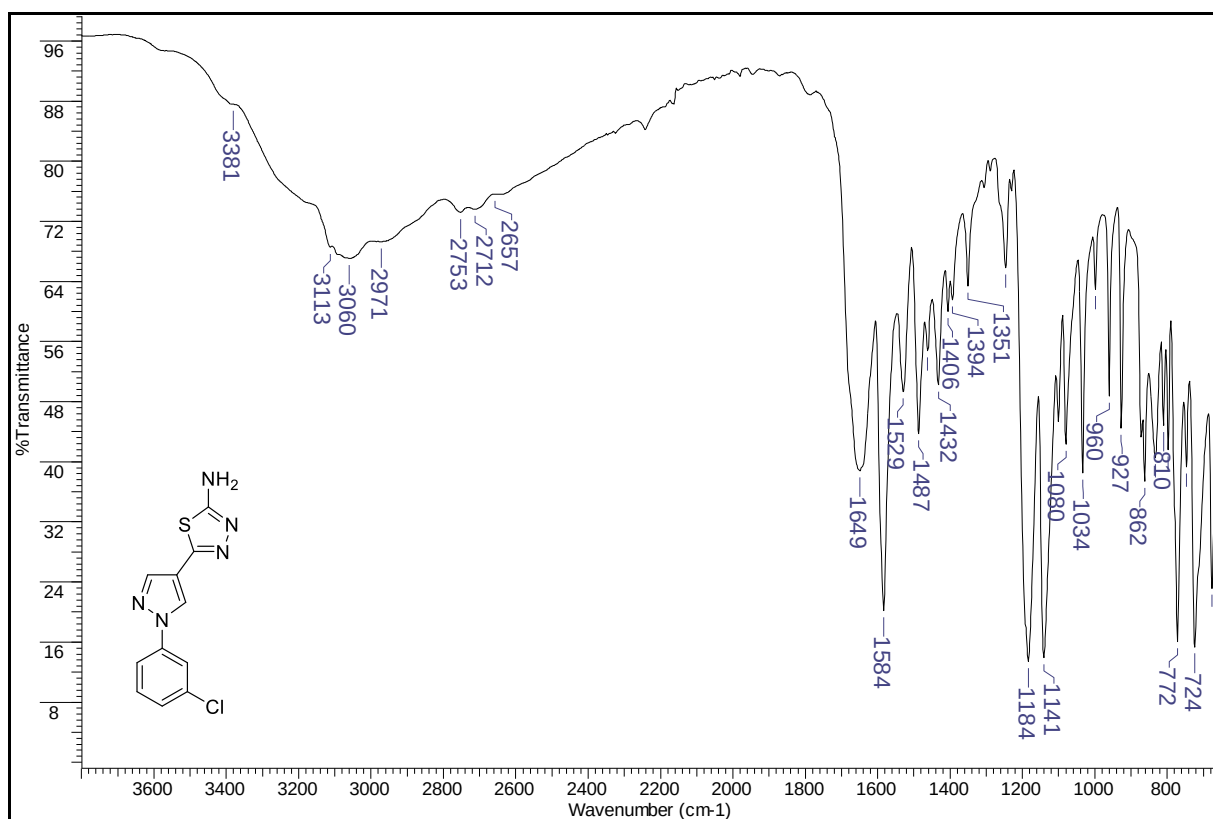
Espectro 110: Espectro de infravermelho do derivado 2c.



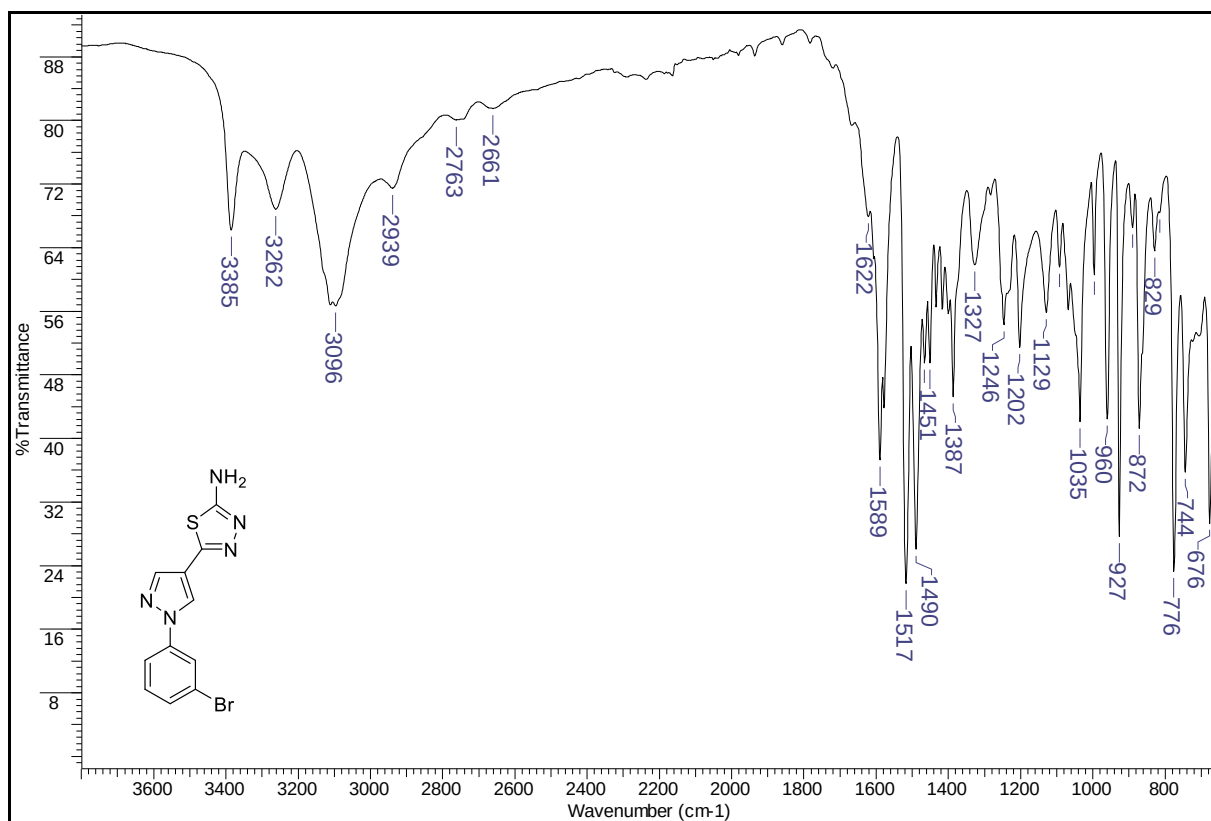
Espectro 111: Espectro de infravermelho do derivado 2d.



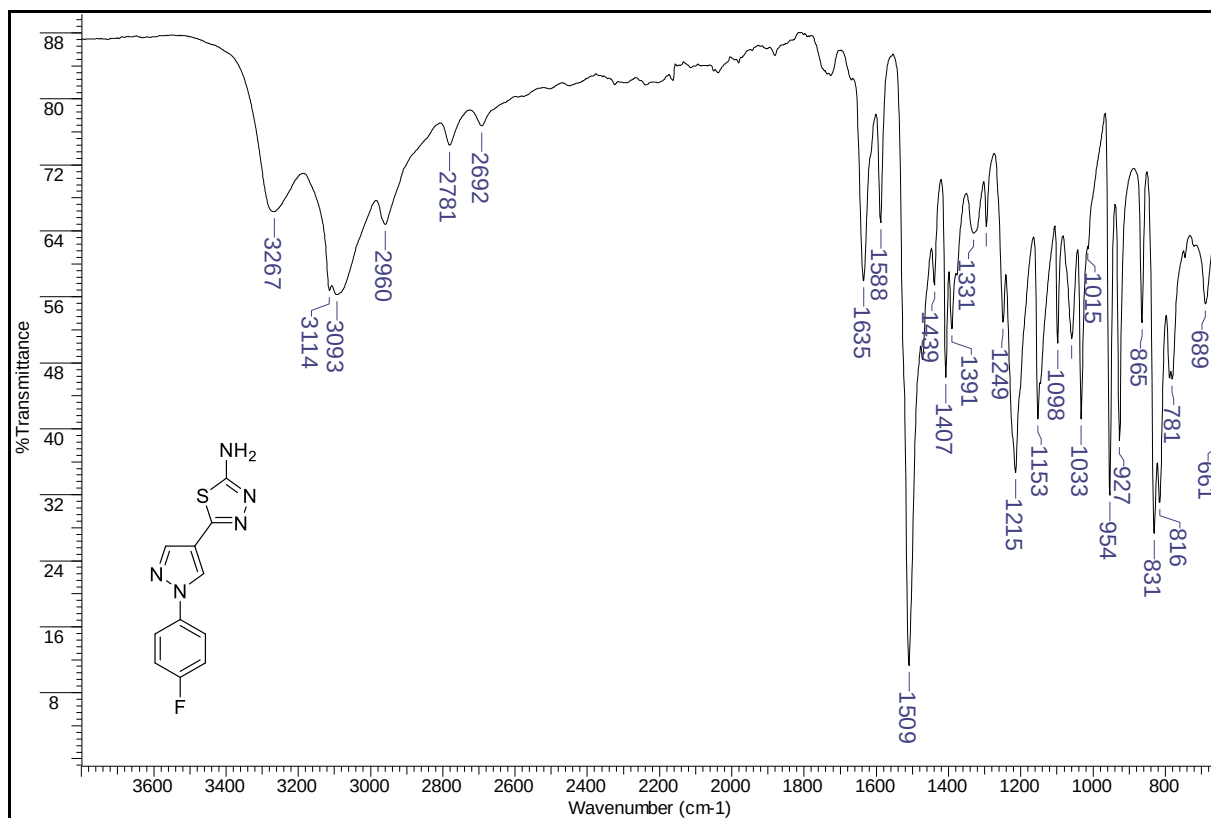
Espectro 112: Espectro de infravermelho do derivado **2e**.



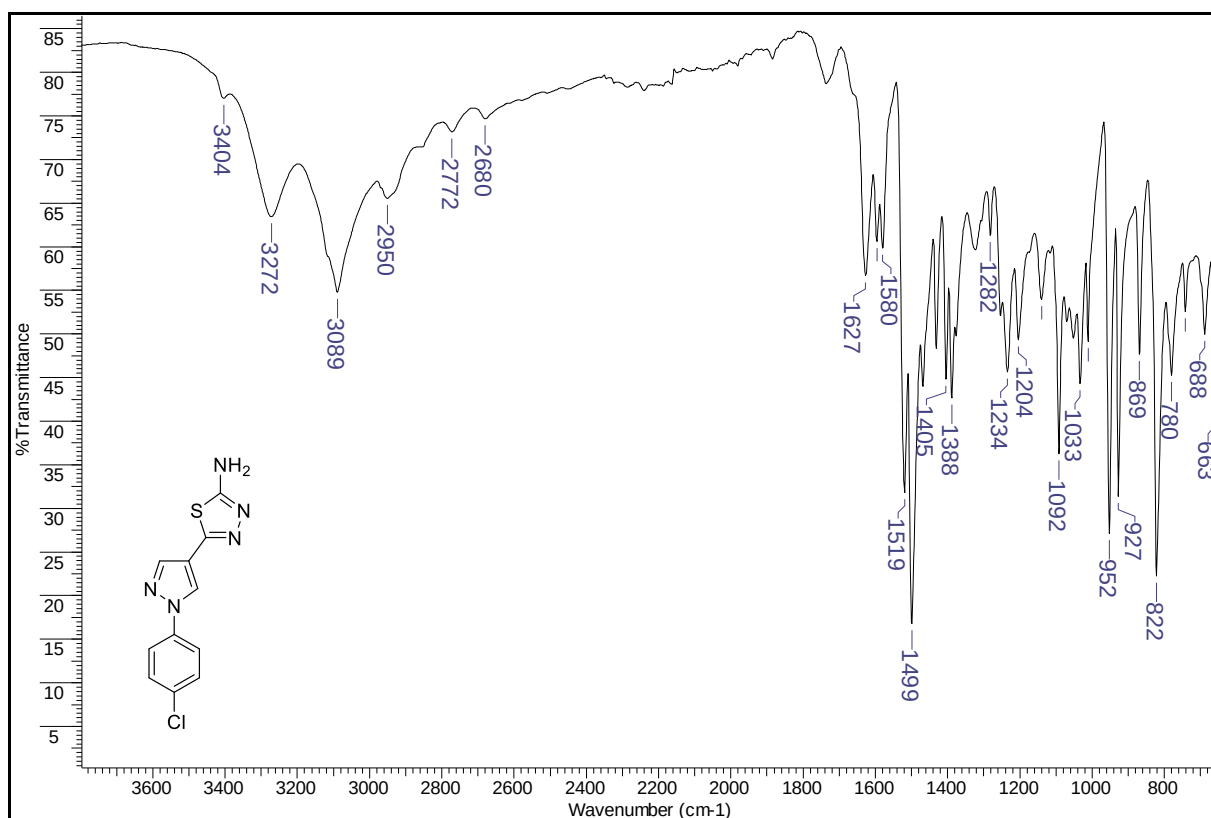
Espectro 113: Espectro de infravermelho do derivado **2f**.



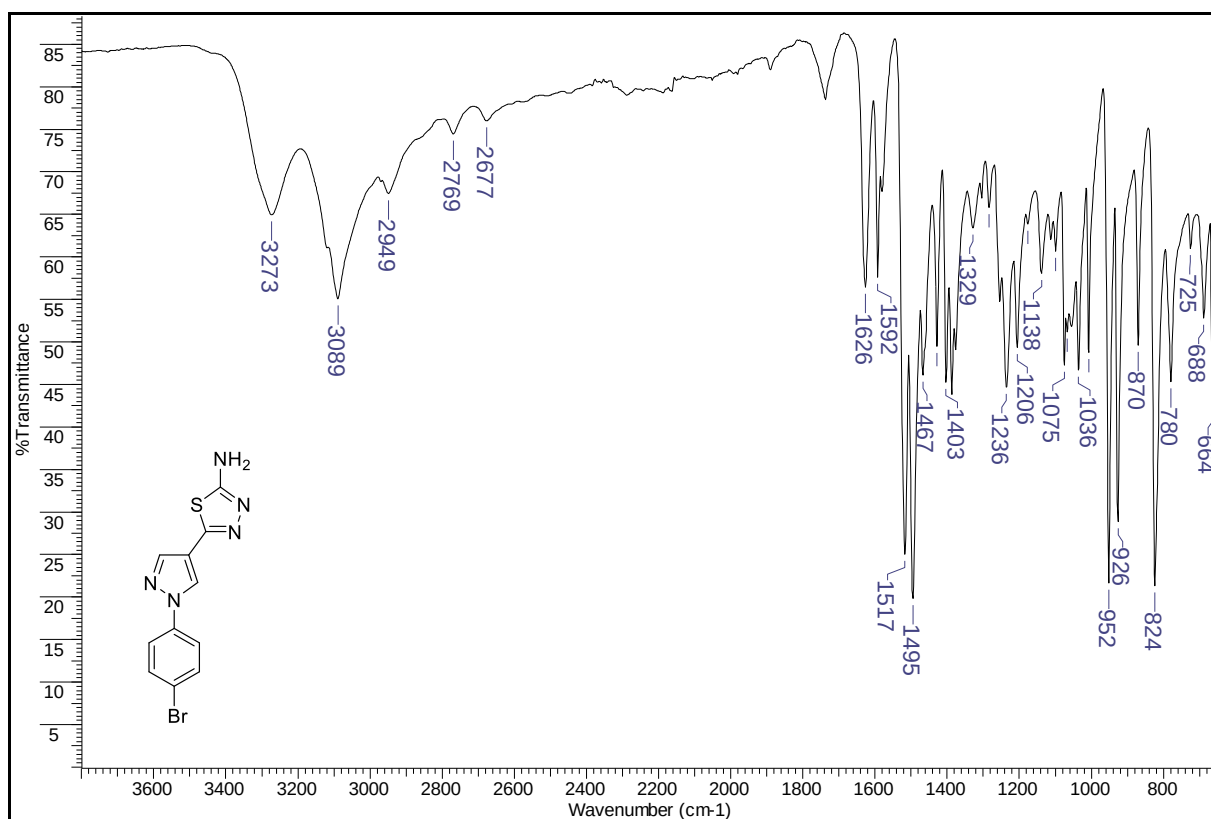
Espectro 114: Espectro de infravermelho do derivado 2g.



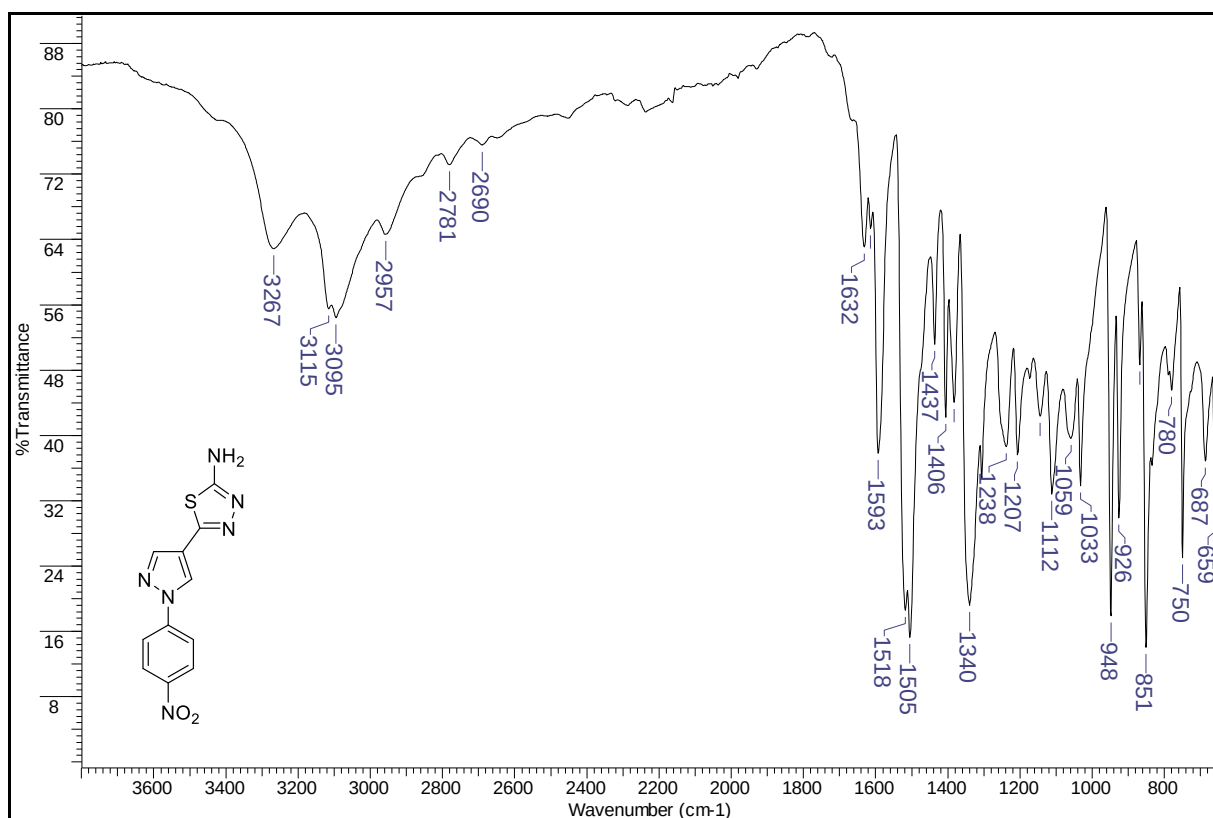
Espectro 115: Espectro de infravermelho do derivado 2h.



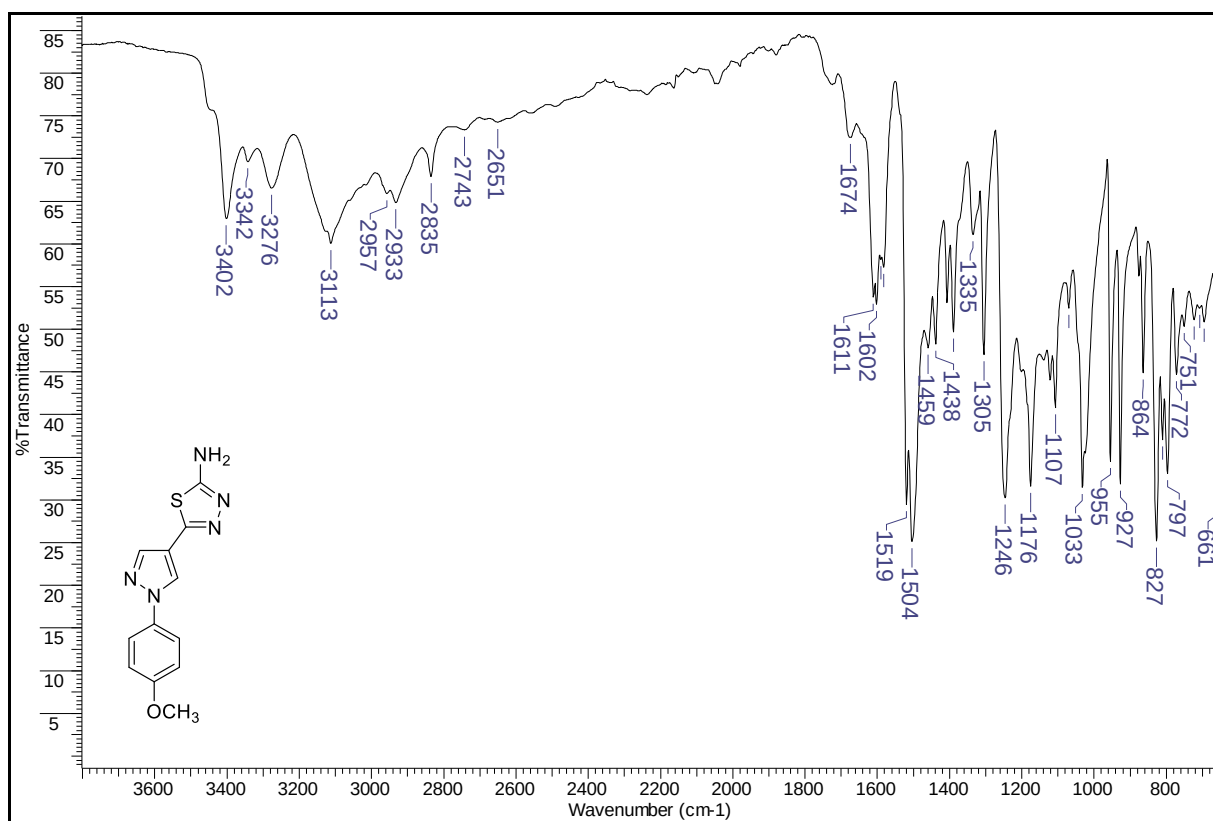
Espectro 116: Espectro de infravermelho do derivado 2i.



Espectro 117: Espectro de infravermelho do derivado 2j.

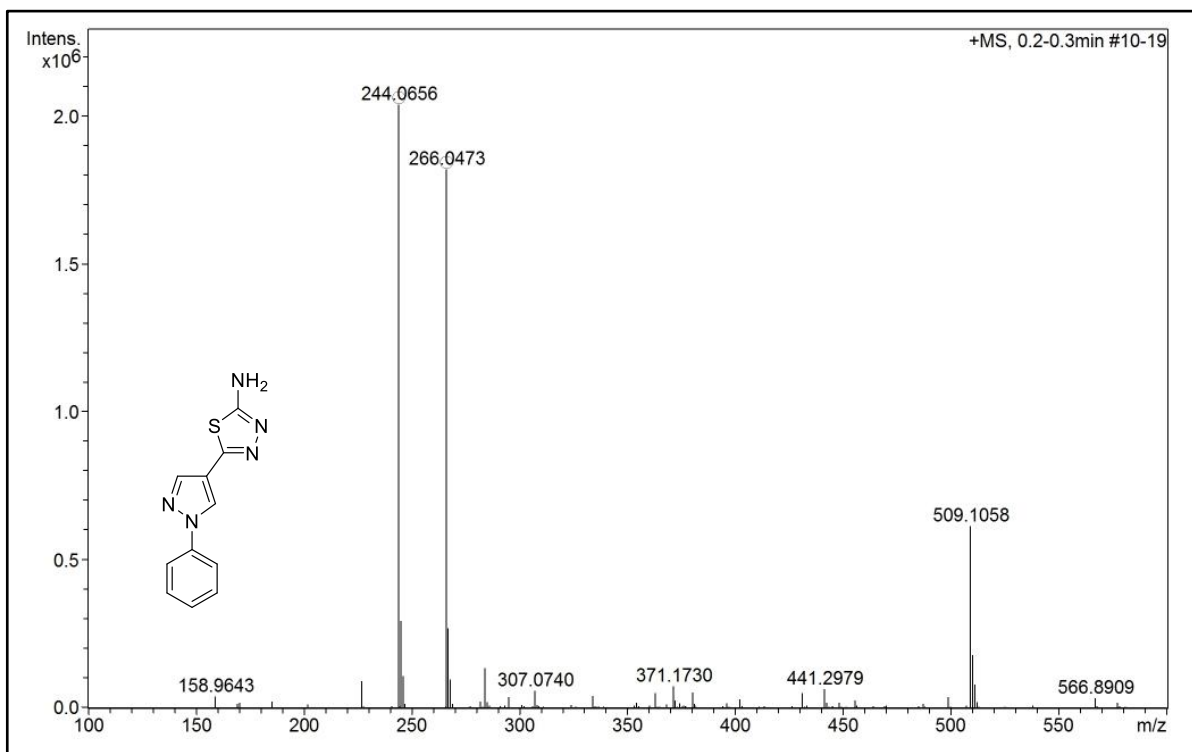


Espectro 118: Espectro de infravermelho do derivado 2k.

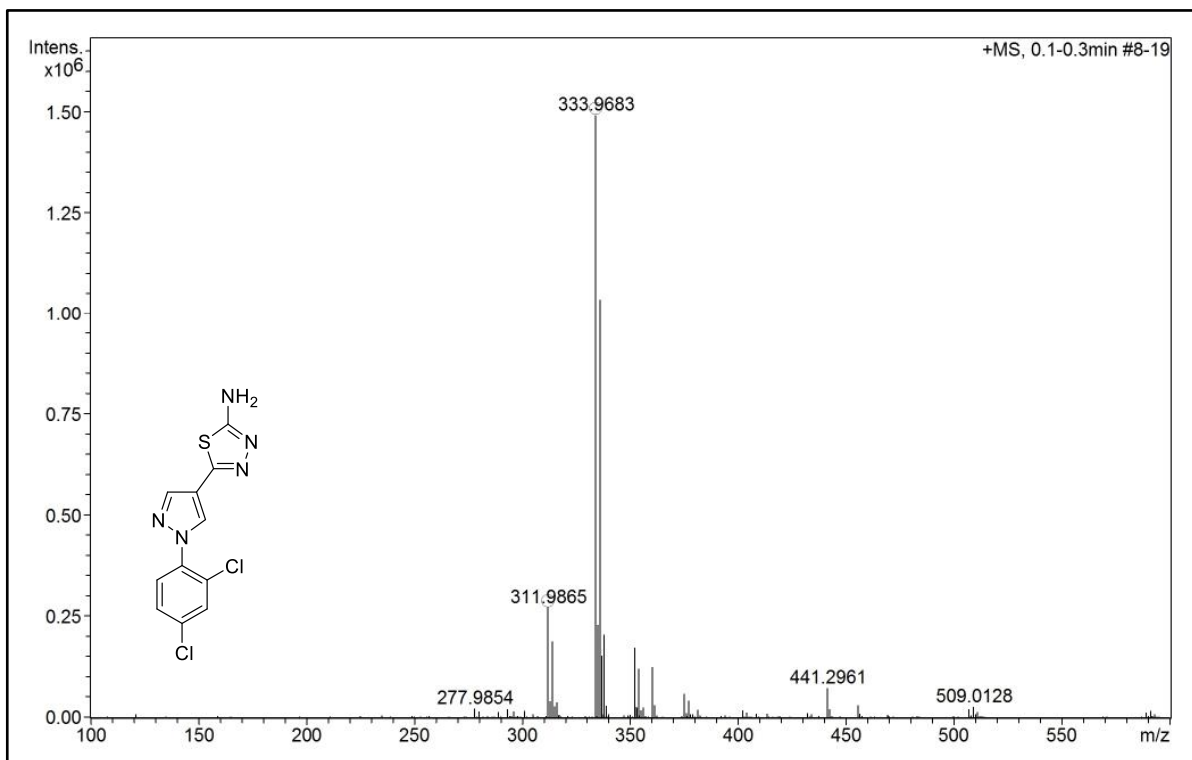


Espectro 119: Espectro de infravermelho do derivado 2l.

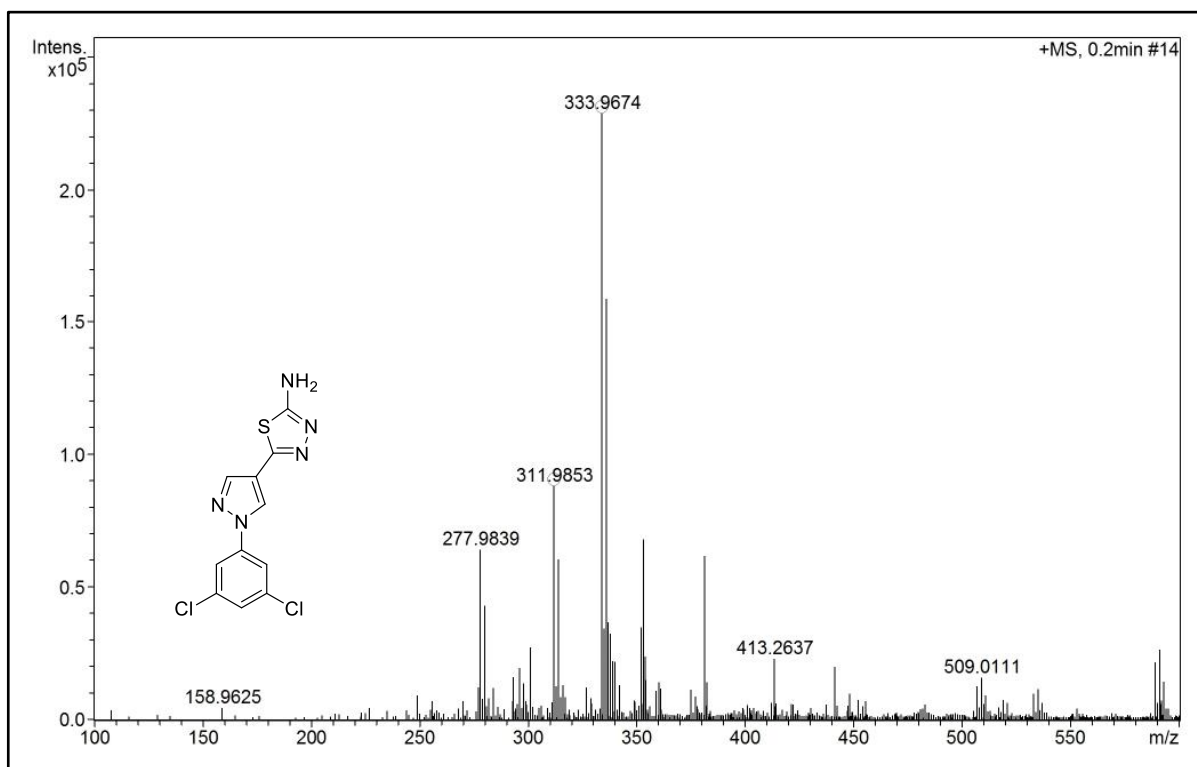
**ANEXO N – Espectros de massas de alta resolução dos derivados
5-amino-2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 2(a-l)**



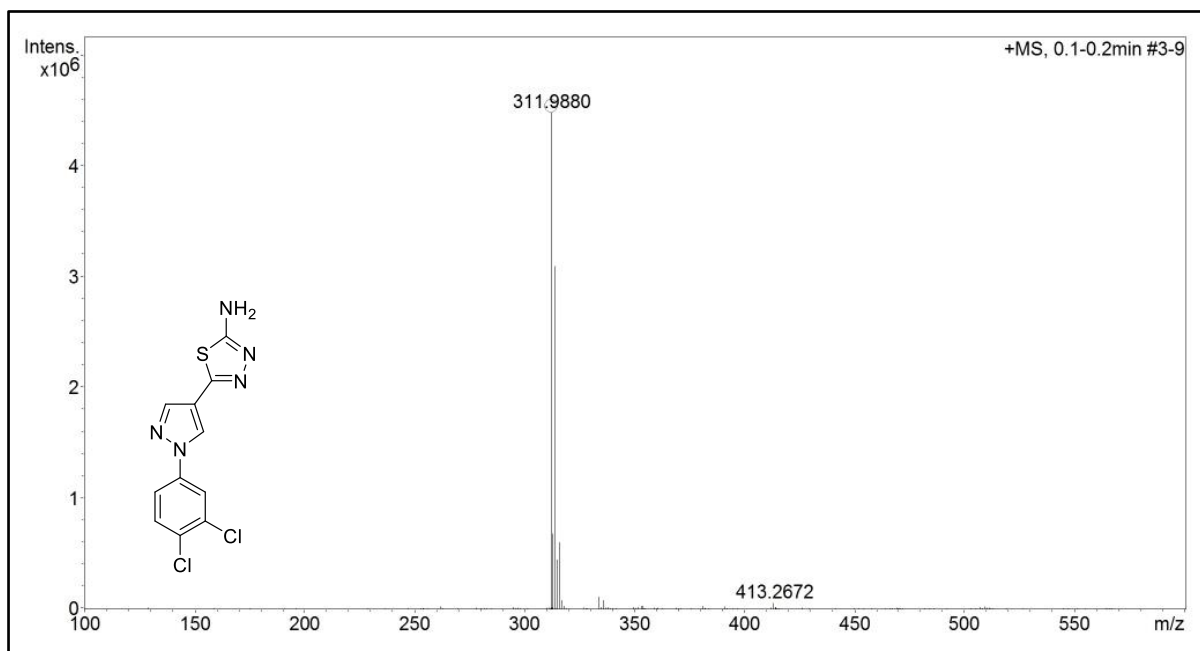
Espectro 120: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2a**.



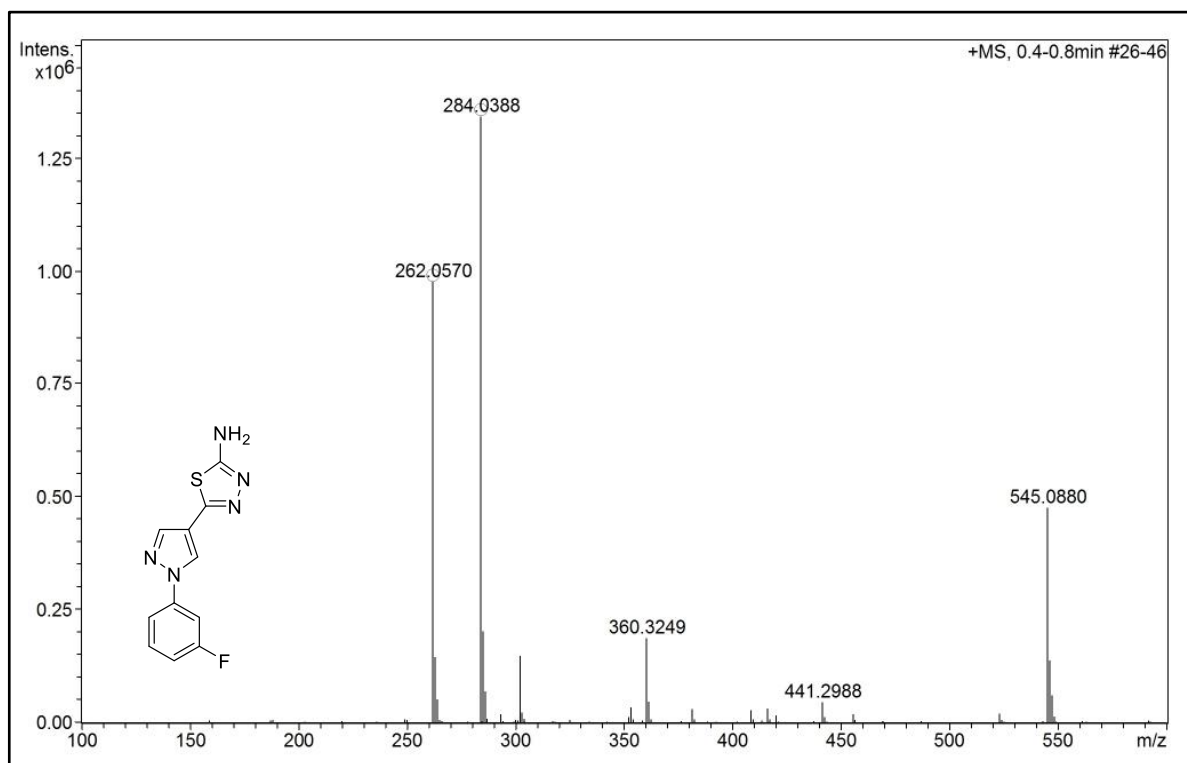
Espectro 121: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2b**.



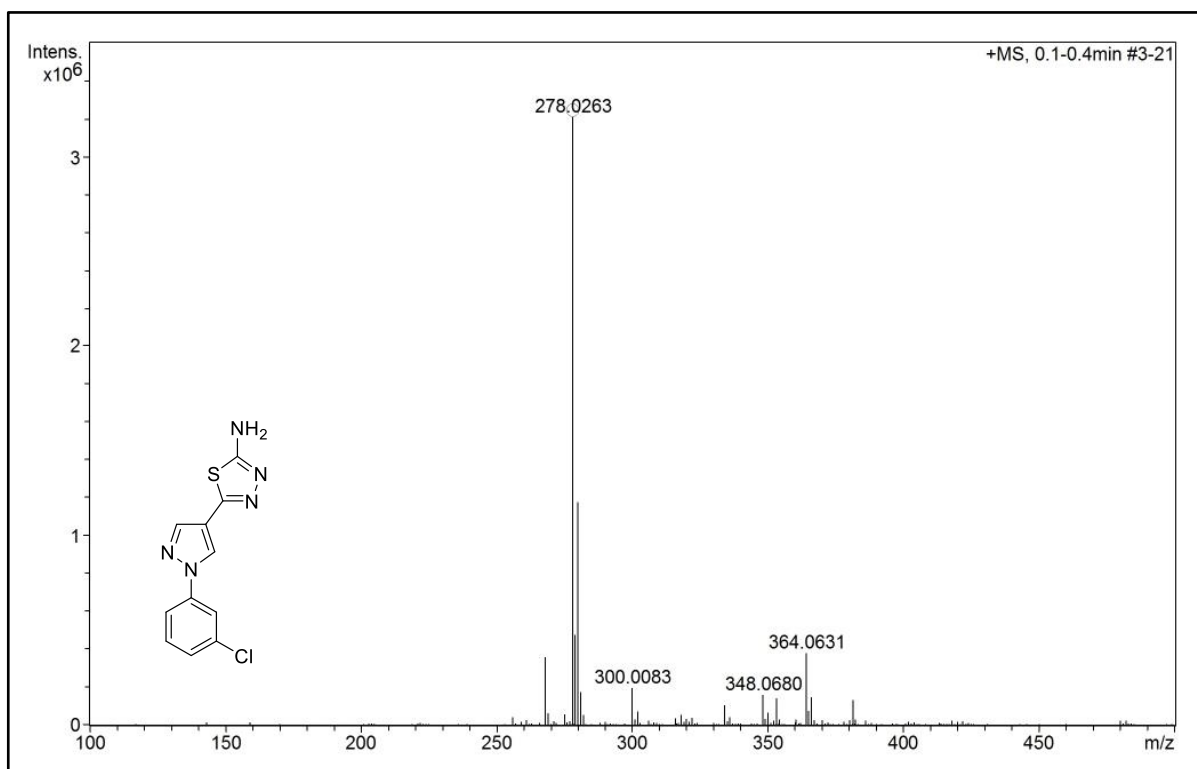
Espectro 122: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2c**.



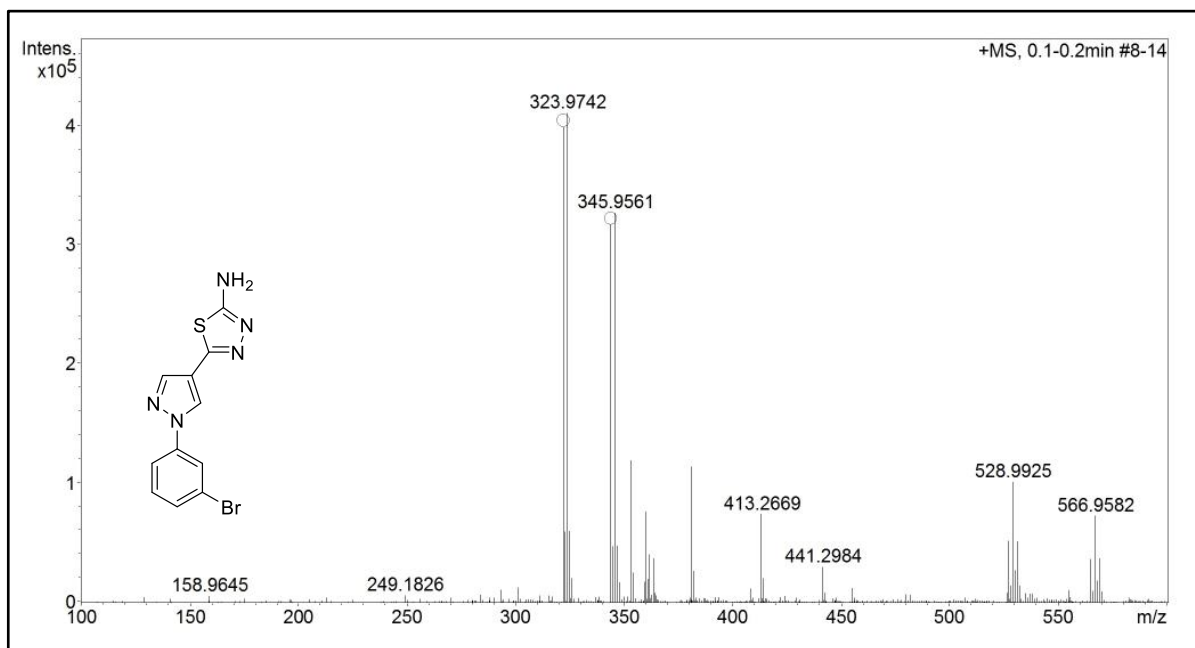
Espectro 123: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2d**.



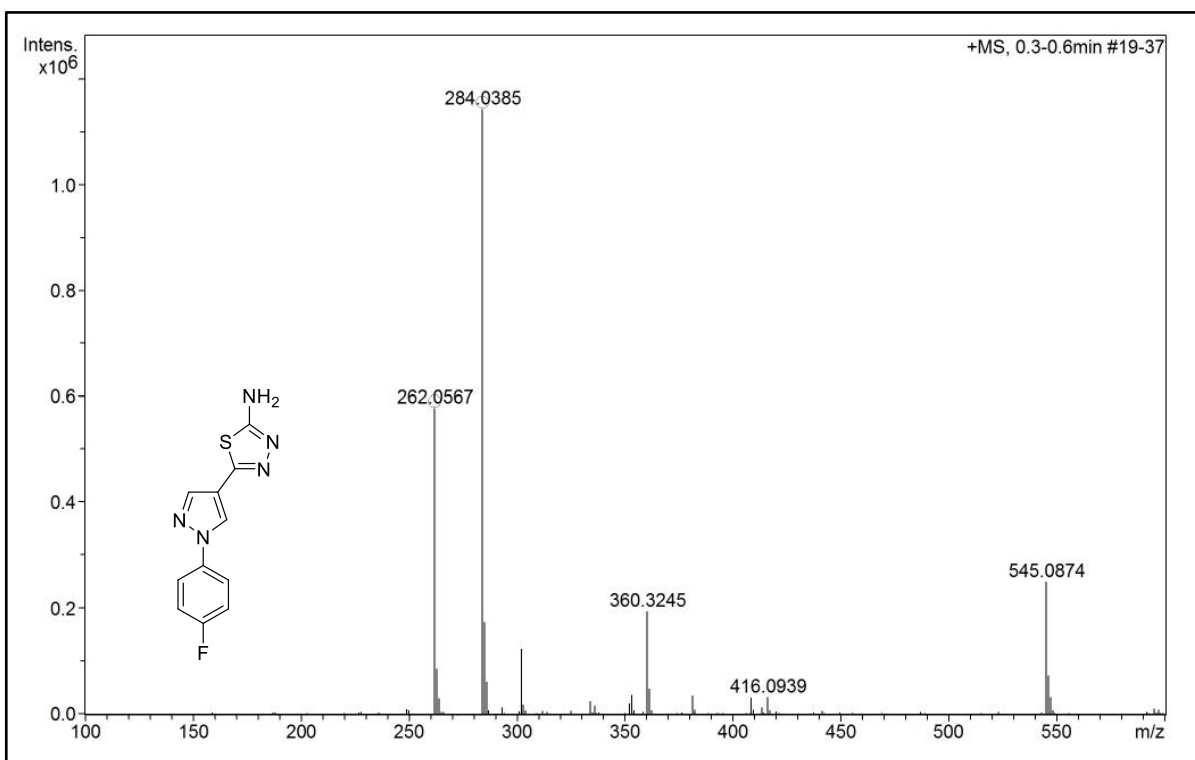
Espectro 124: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2e**.



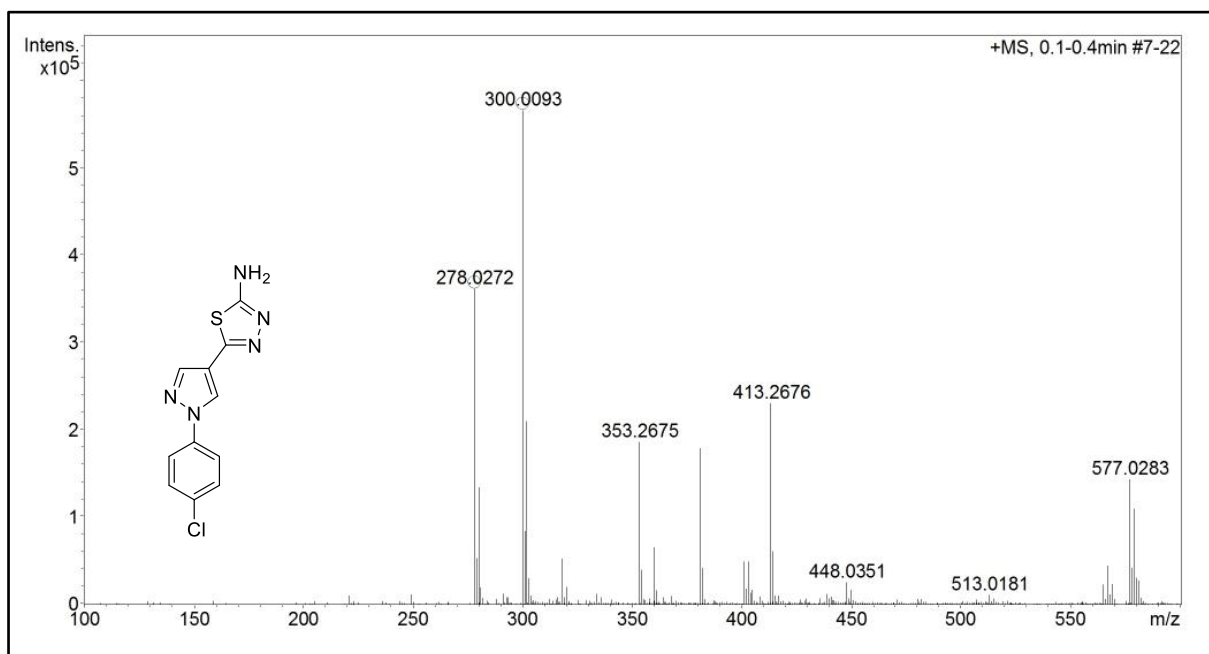
Espectro 125: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2f**.



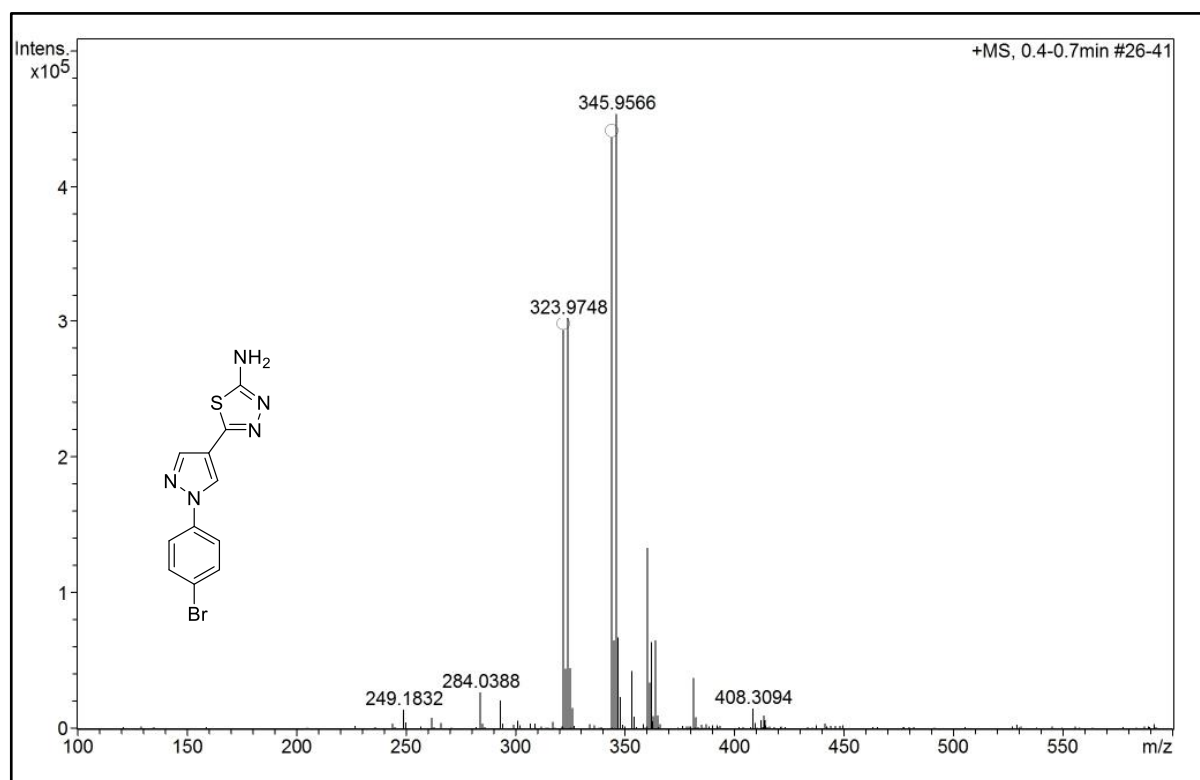
Espectro 126: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2g**.



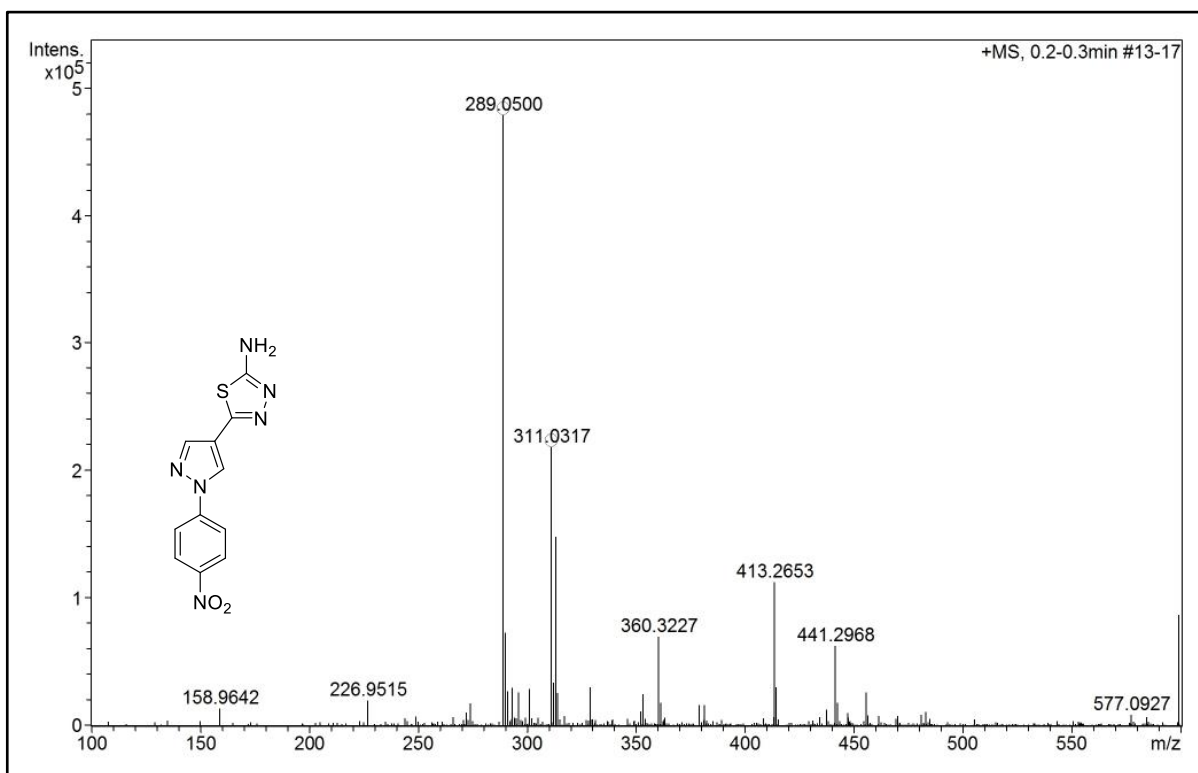
Espectro 127: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2h**.



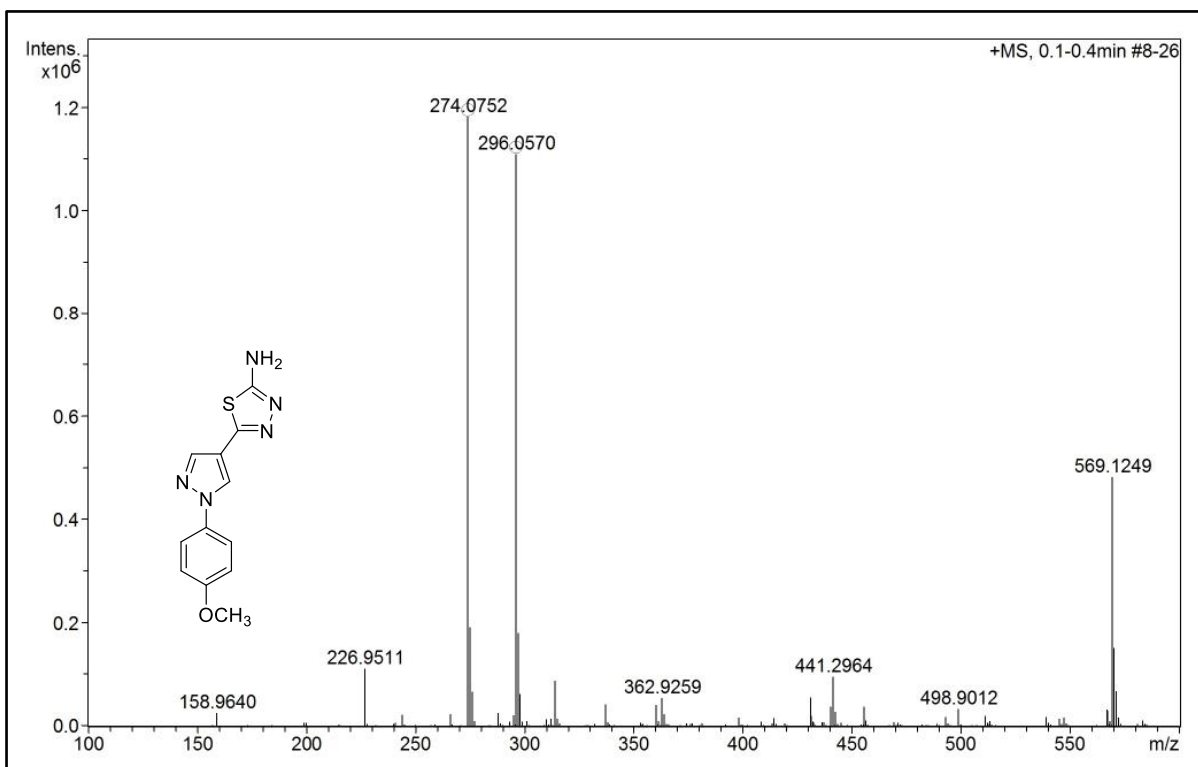
Espectro 128: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2i**.



Espectro 129: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2j**.

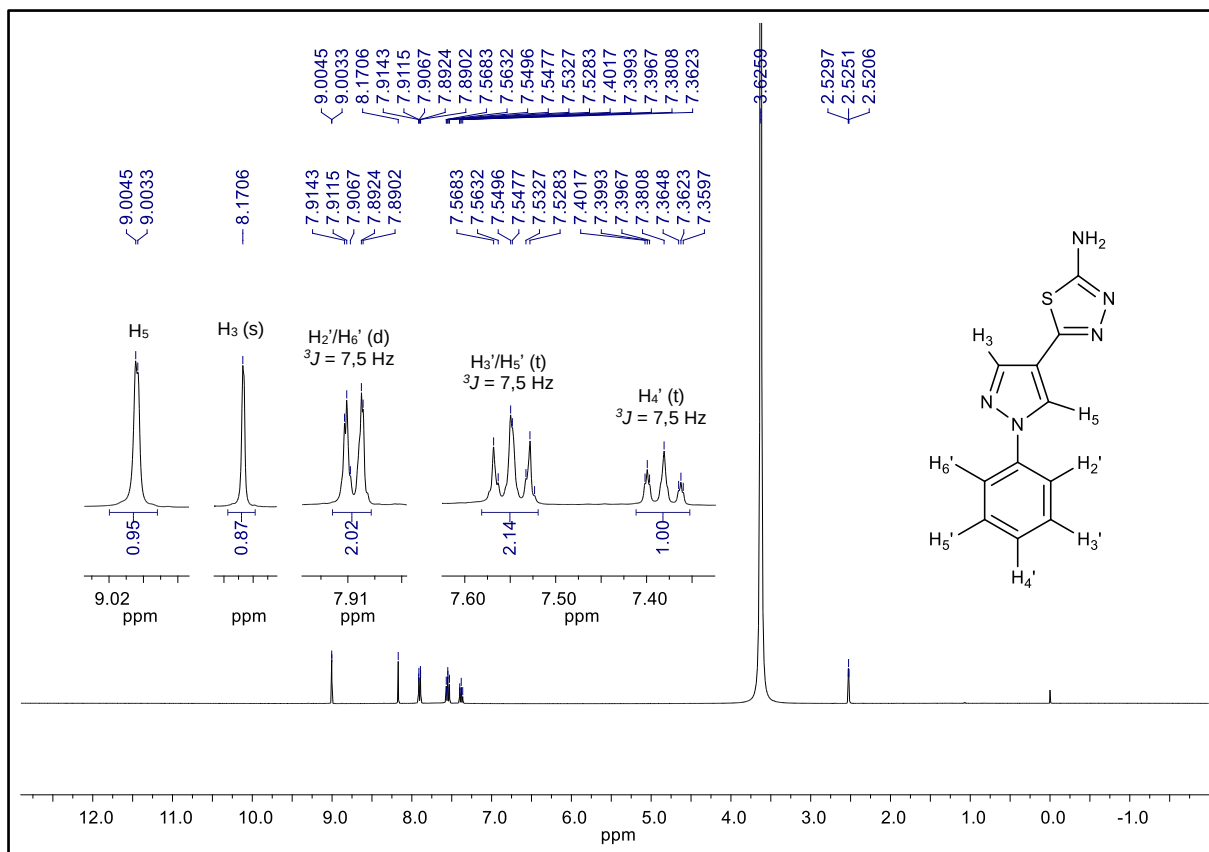


Espectro 130: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2k**.

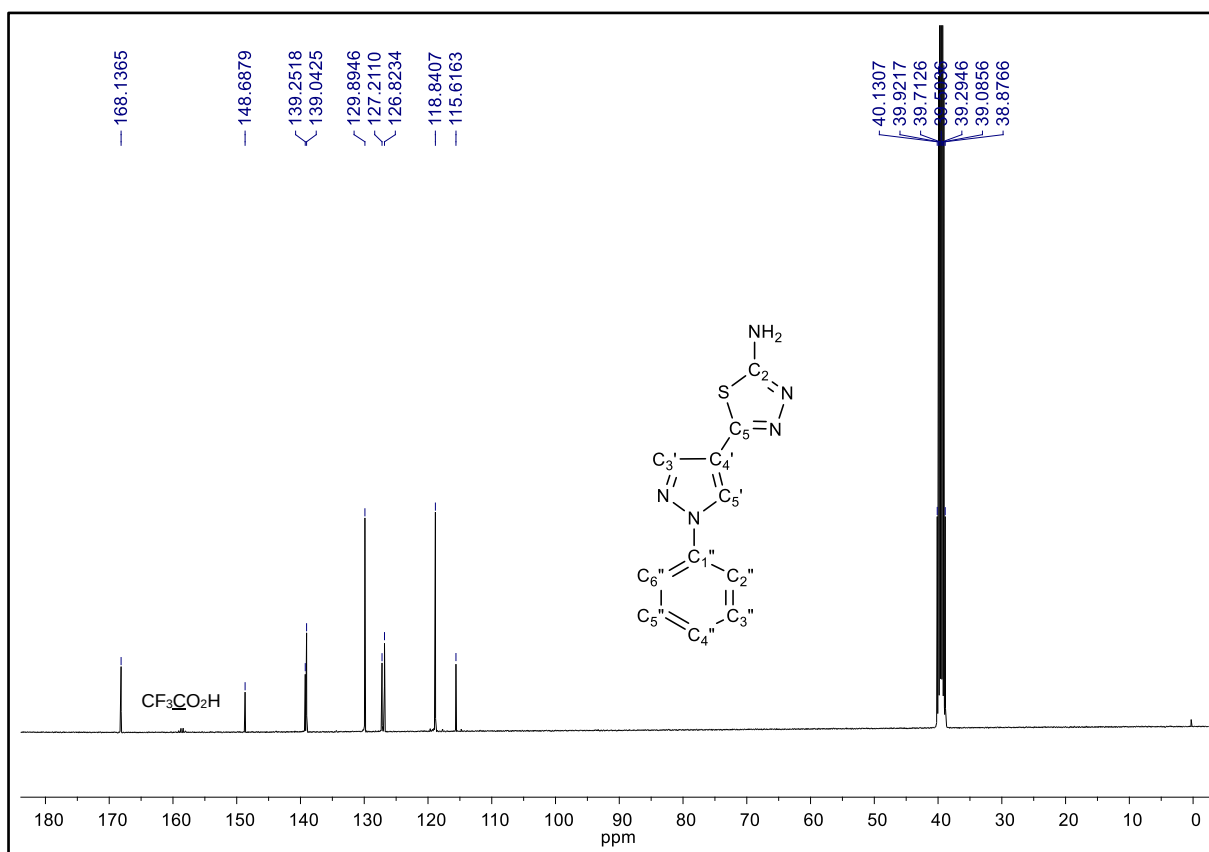


Espectro 131: Espectro de massas de alta resolução do derivado **2l**.

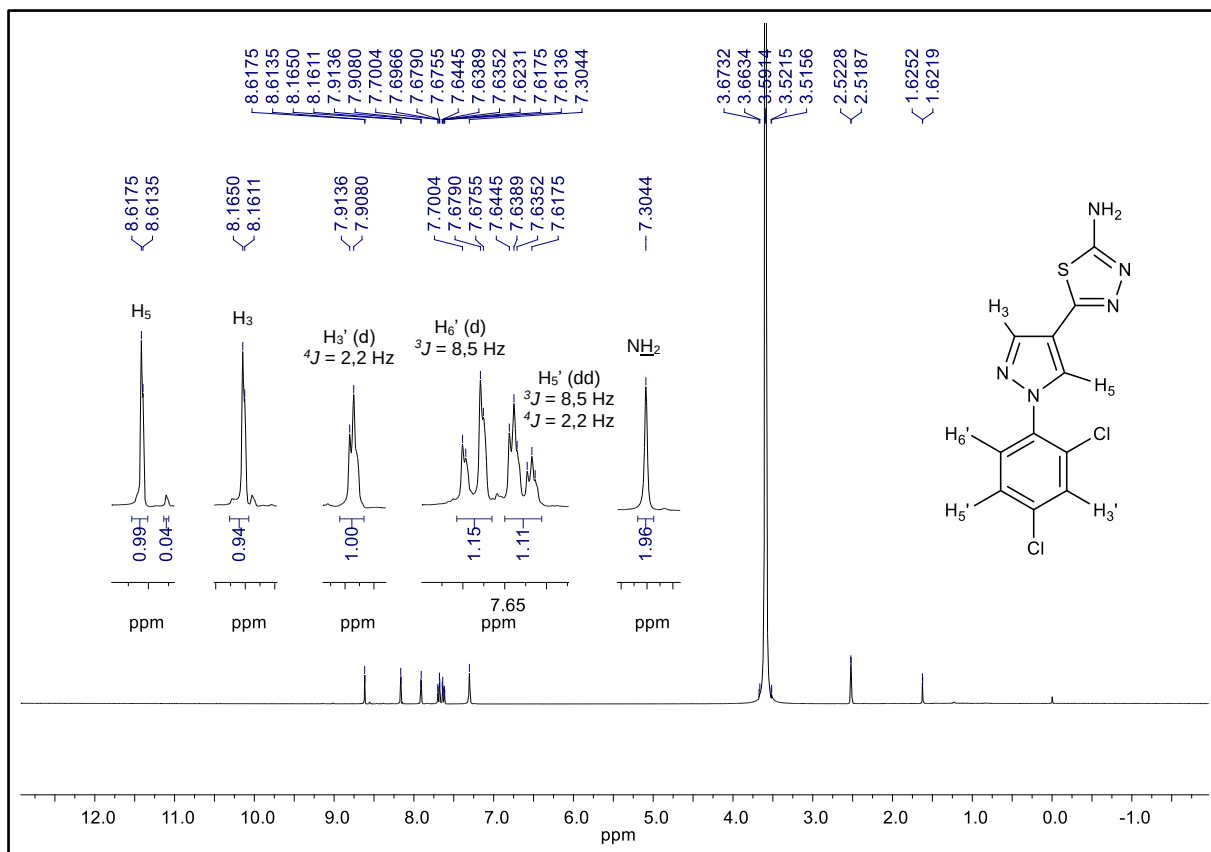
**ANEXO O – Espectros de ^1H e ^{13}C RMN dos derivados 5-amino-2-(1-
aril-1*H*-pirazol-4-il)-1,3,4-tiadiazóis 2(a-l)**



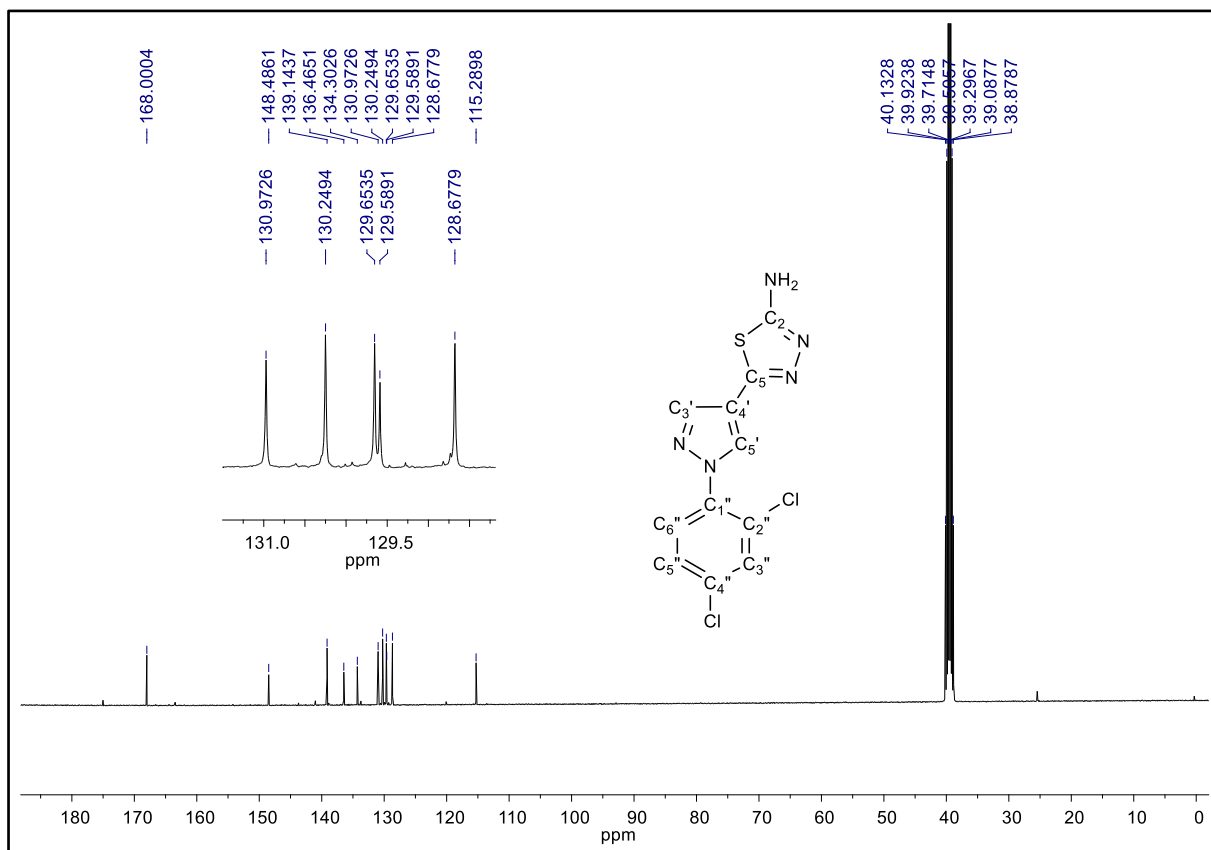
Espectro 132: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **2a**.



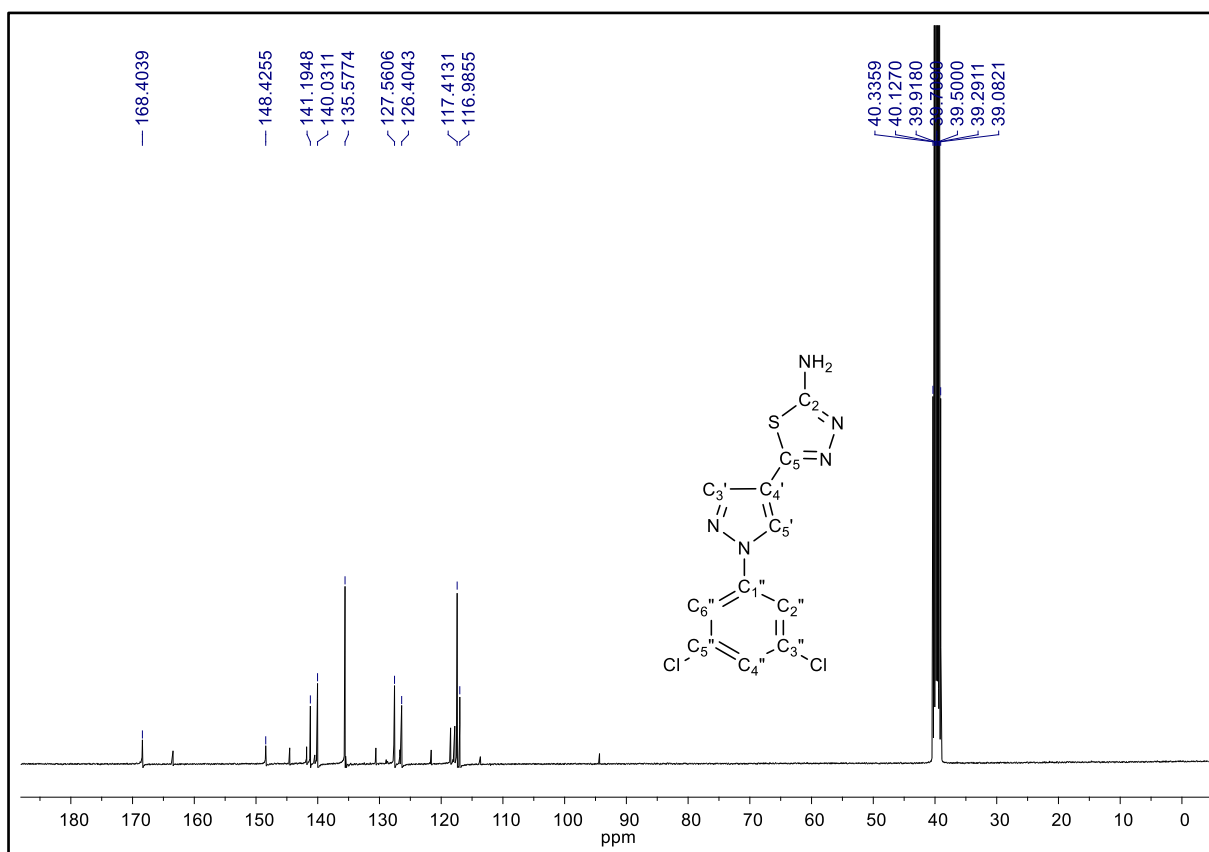
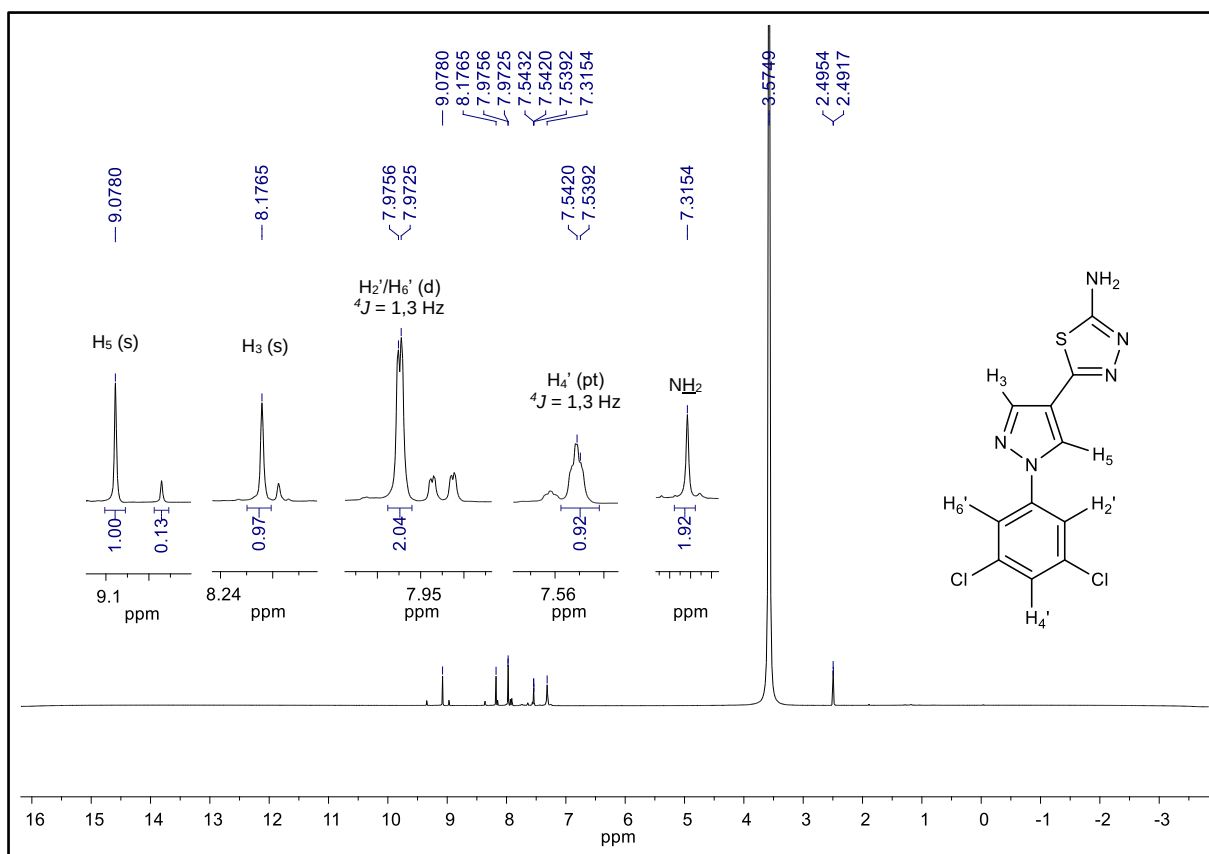
Espectro 133: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **2a**.

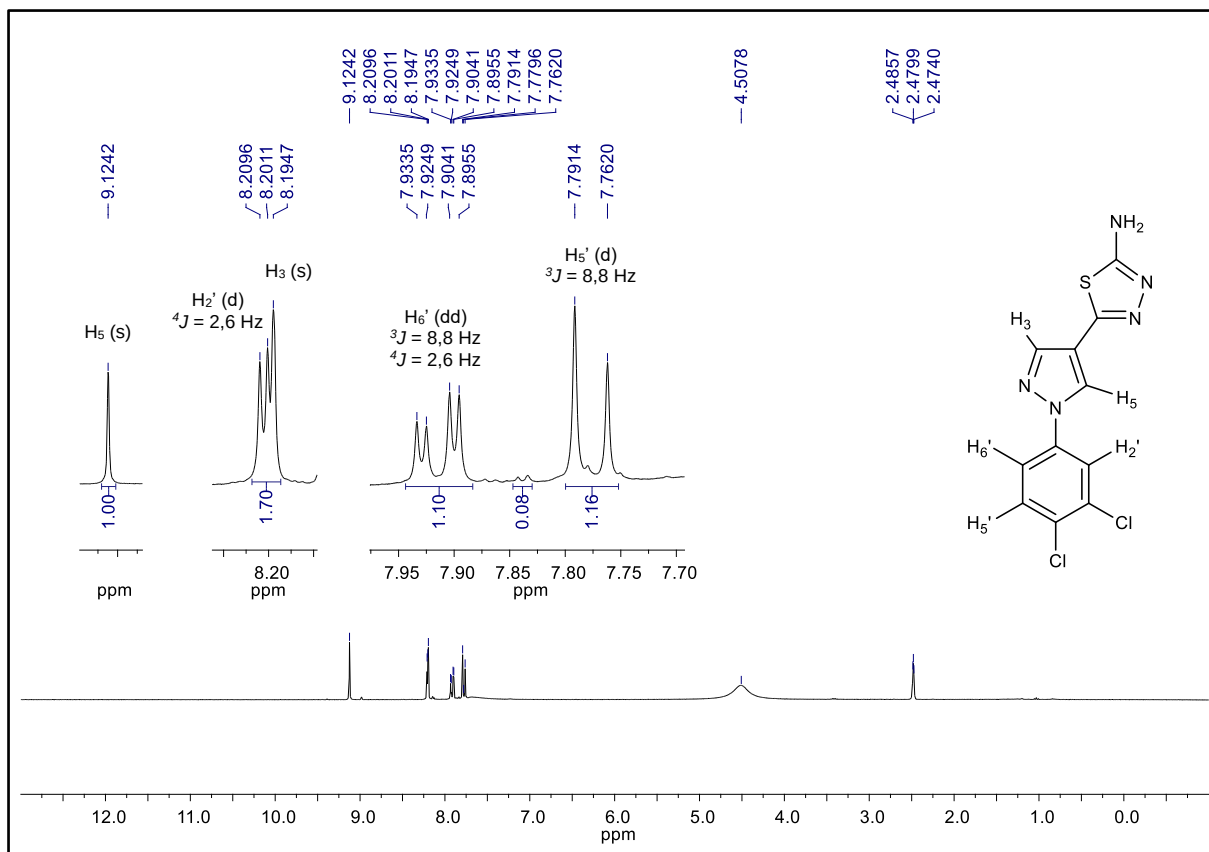


Espectro 134: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **2b**.

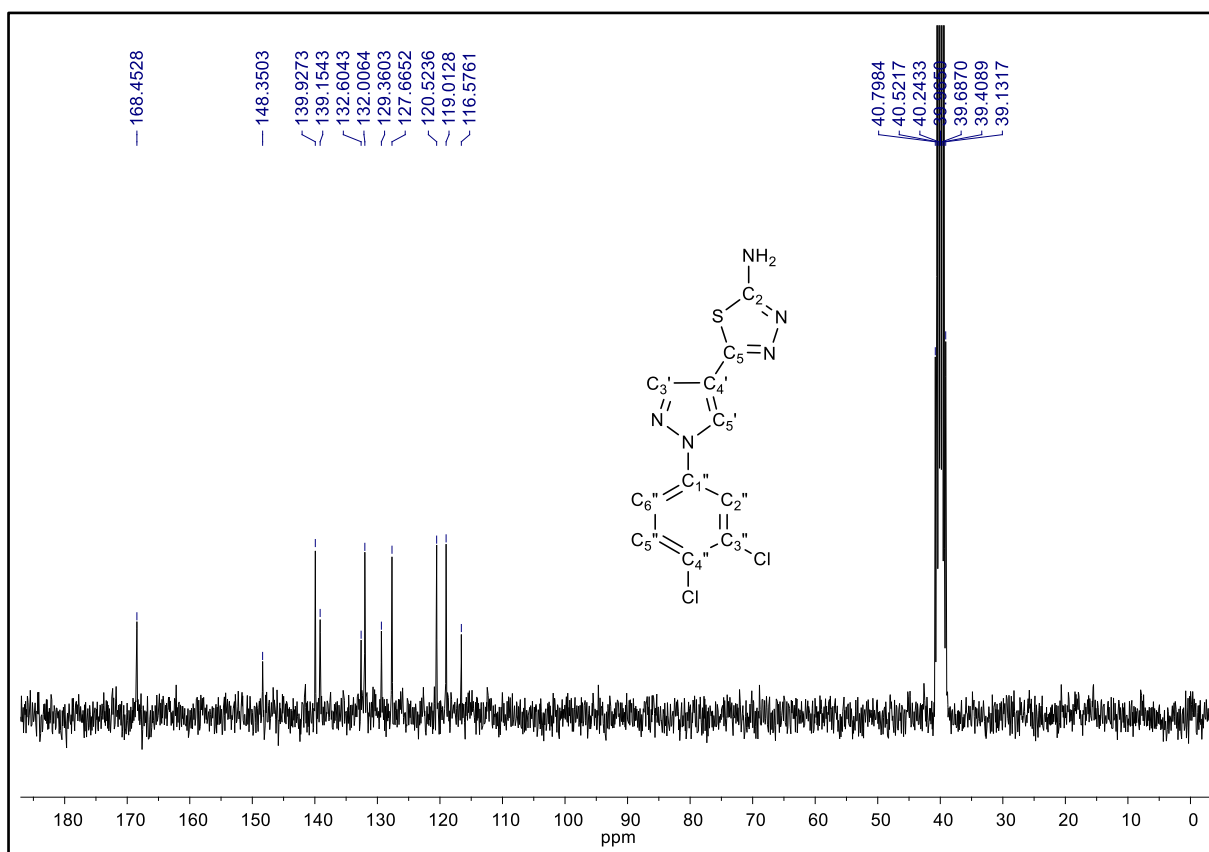


Espectro 135: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **2b**.

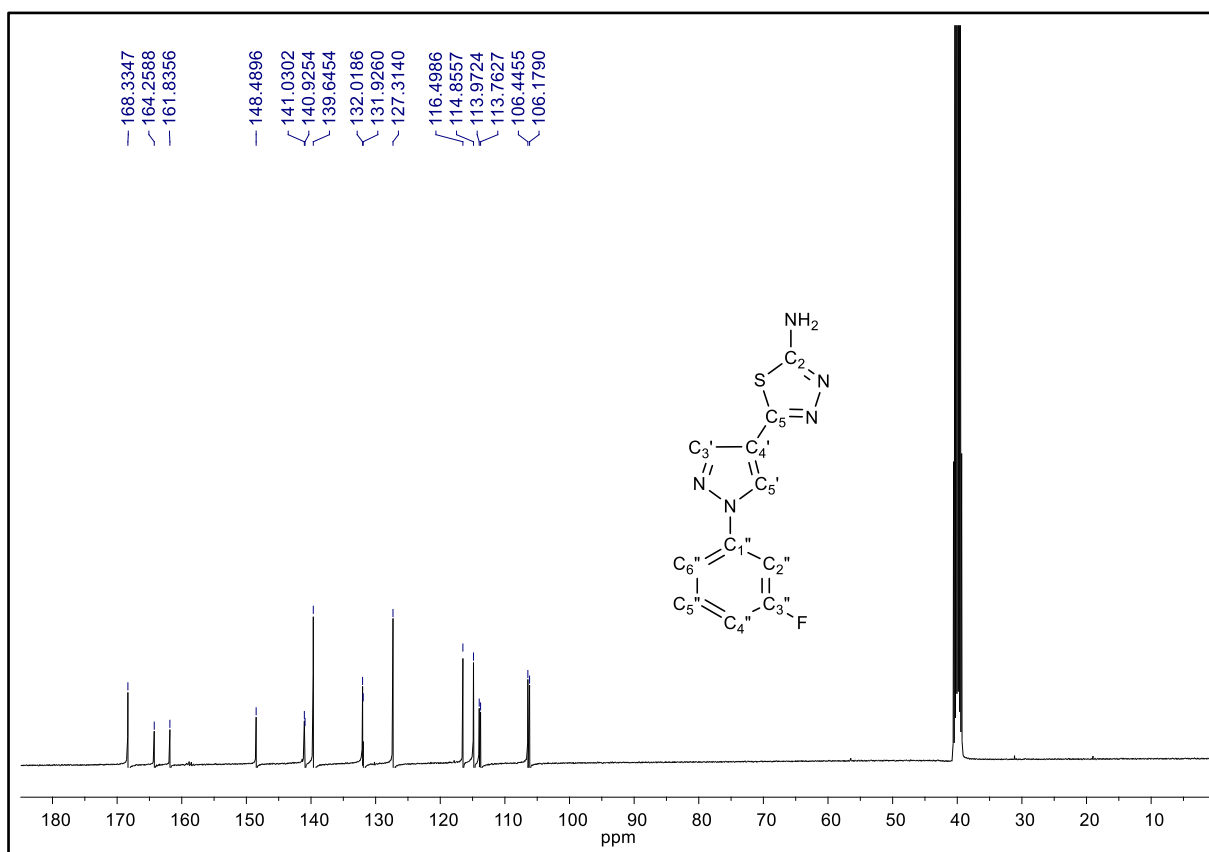
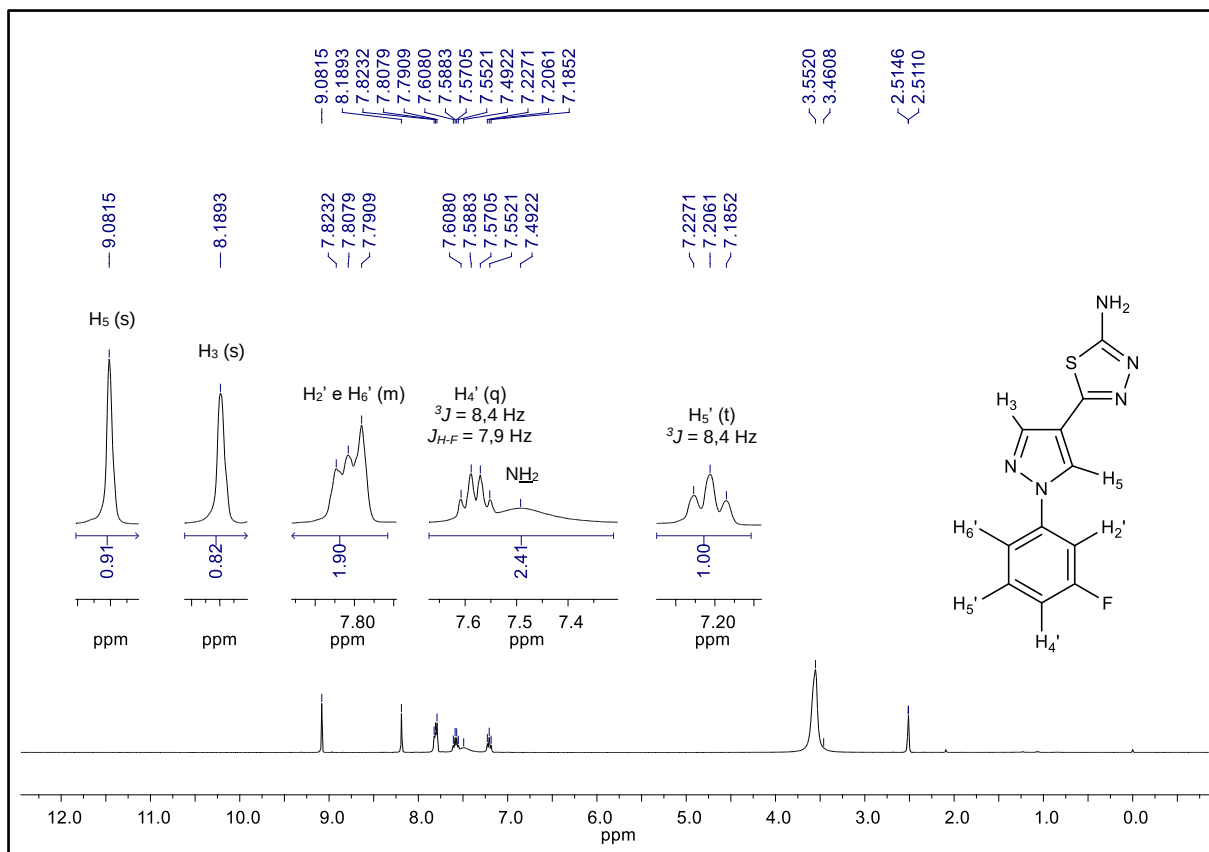


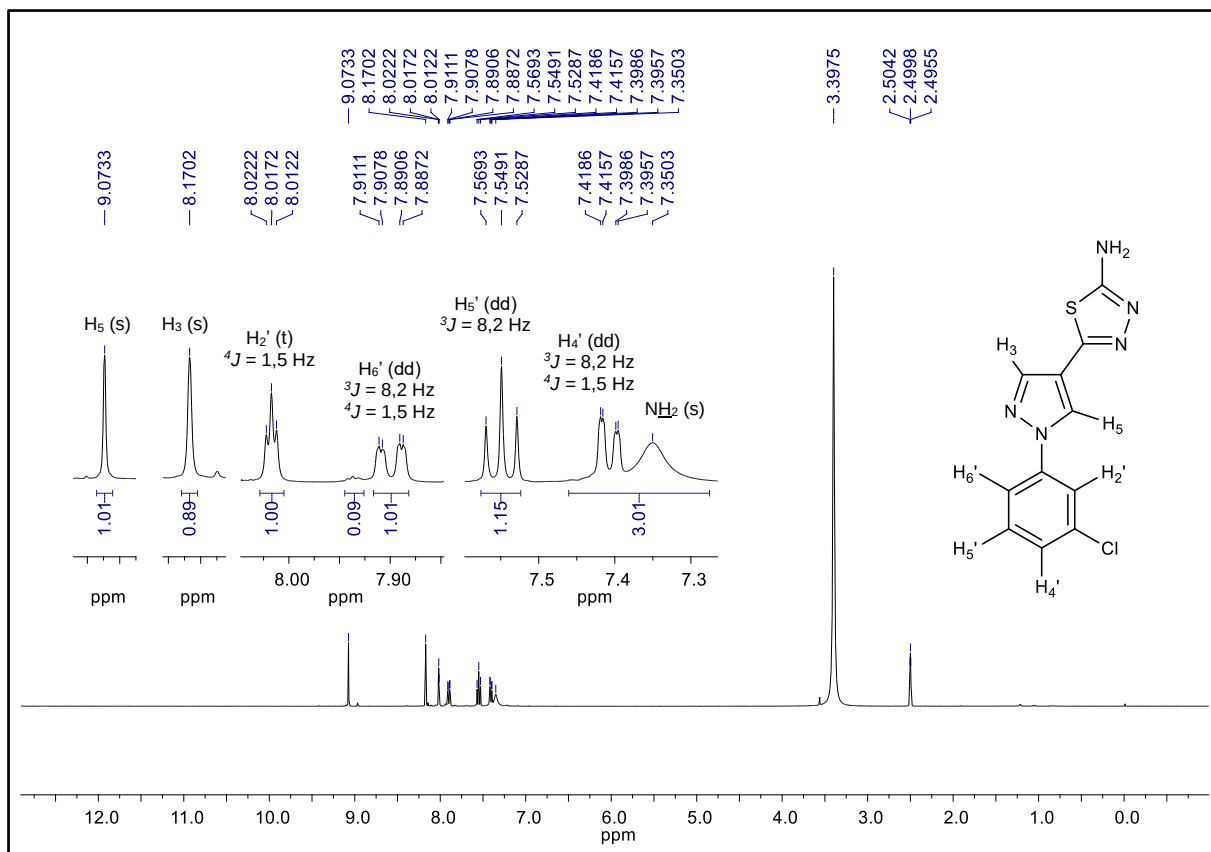


Espectro 138: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz) do derivado **2d**.

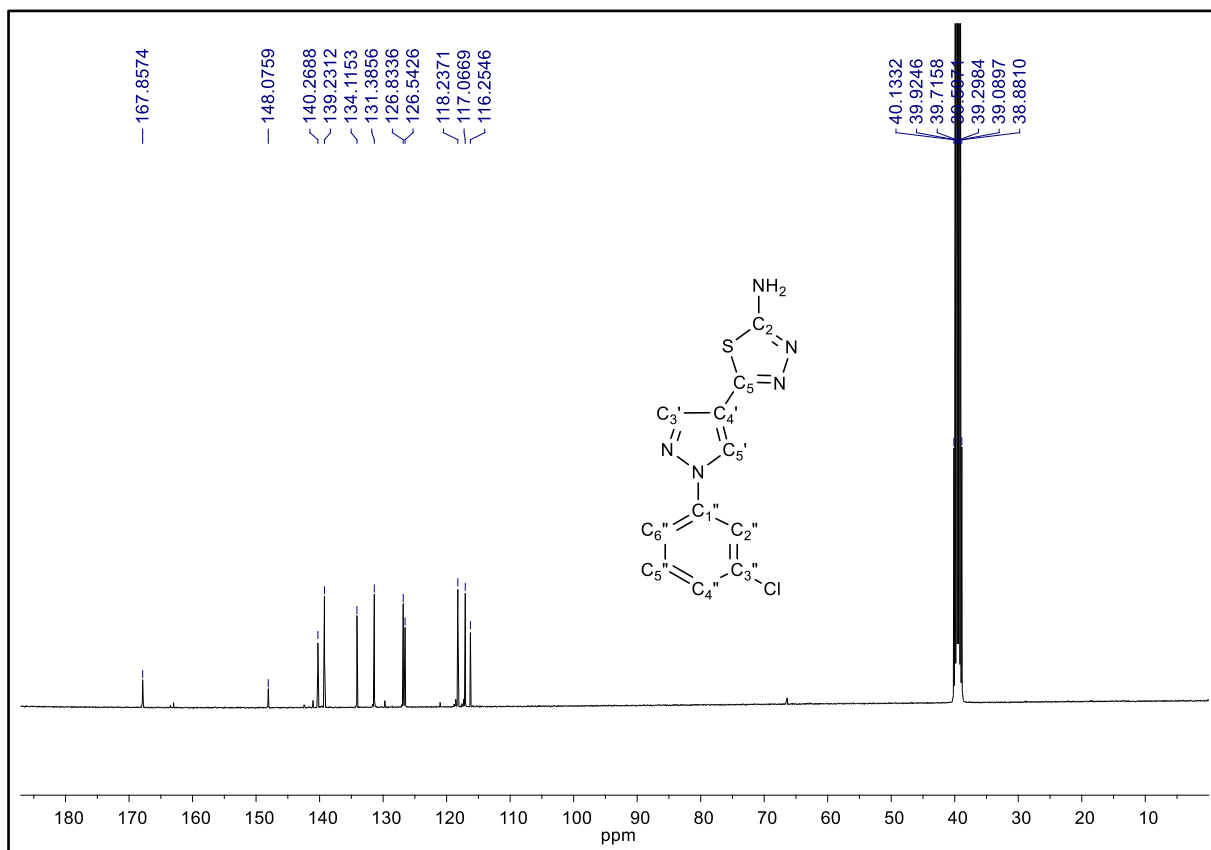


Espectro 139: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz) do derivado **2d**.

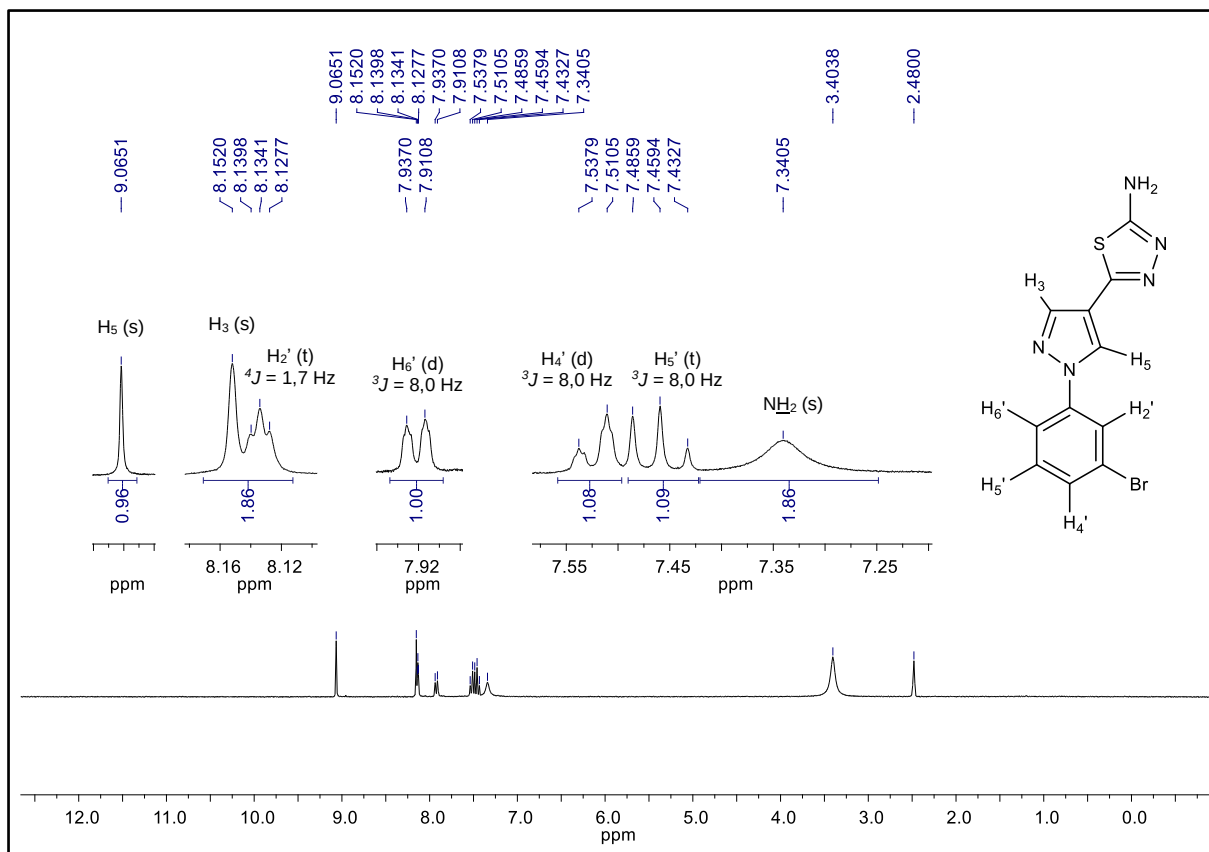




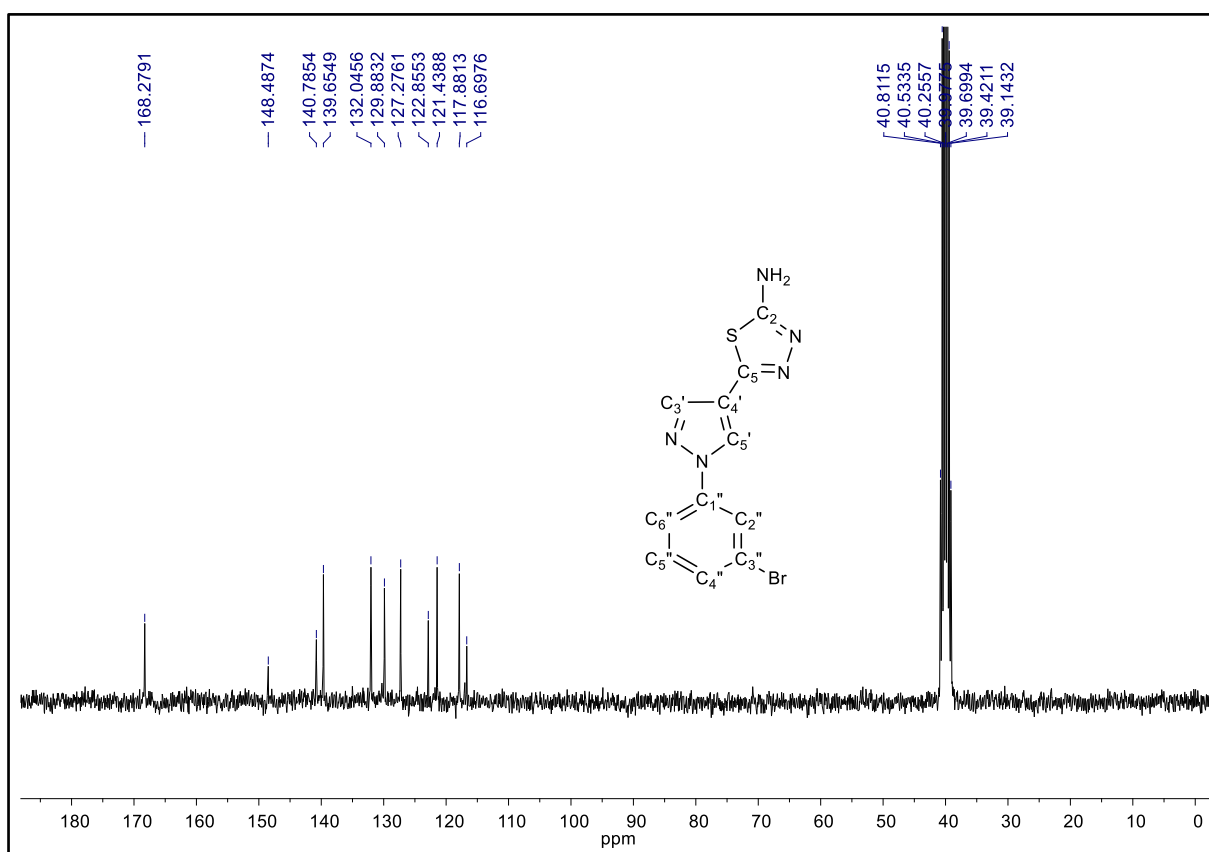
Espectro 142: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **2f**.



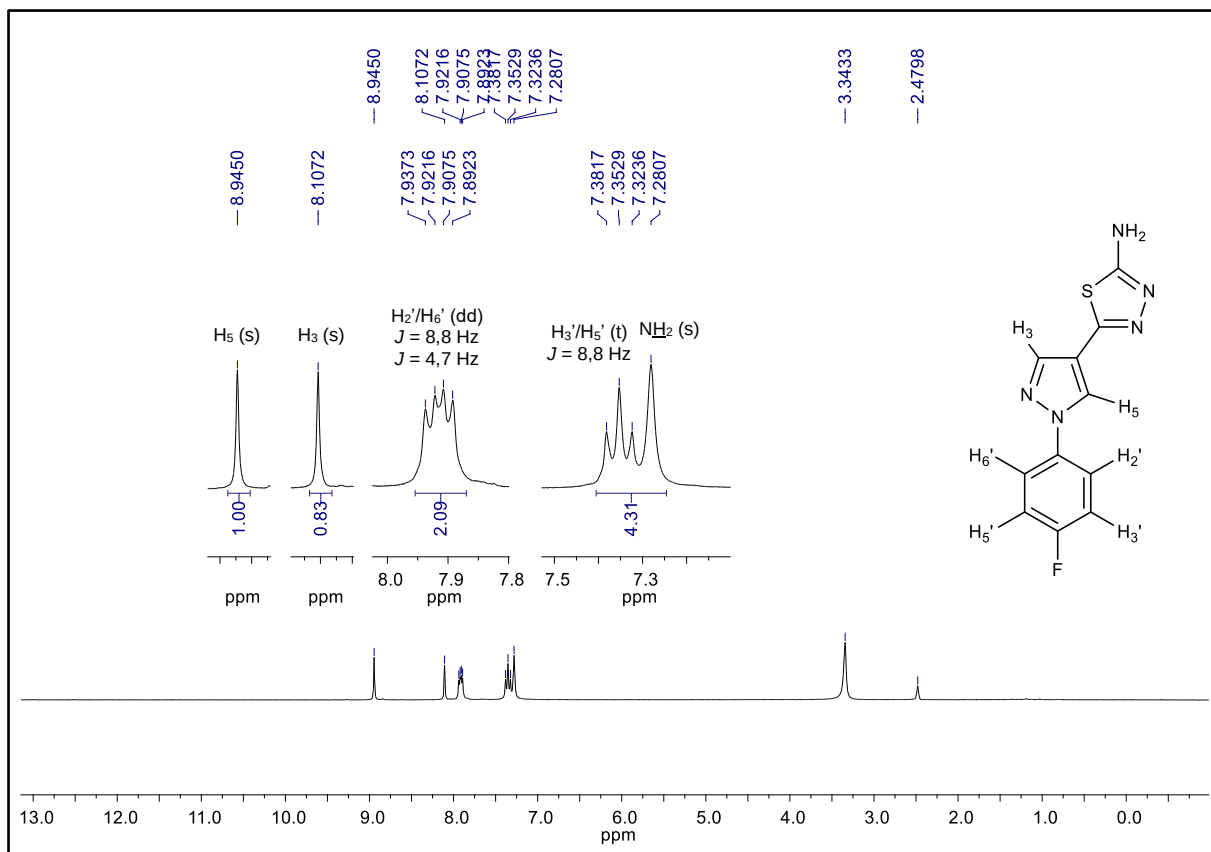
Espectro 143: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **2f**.



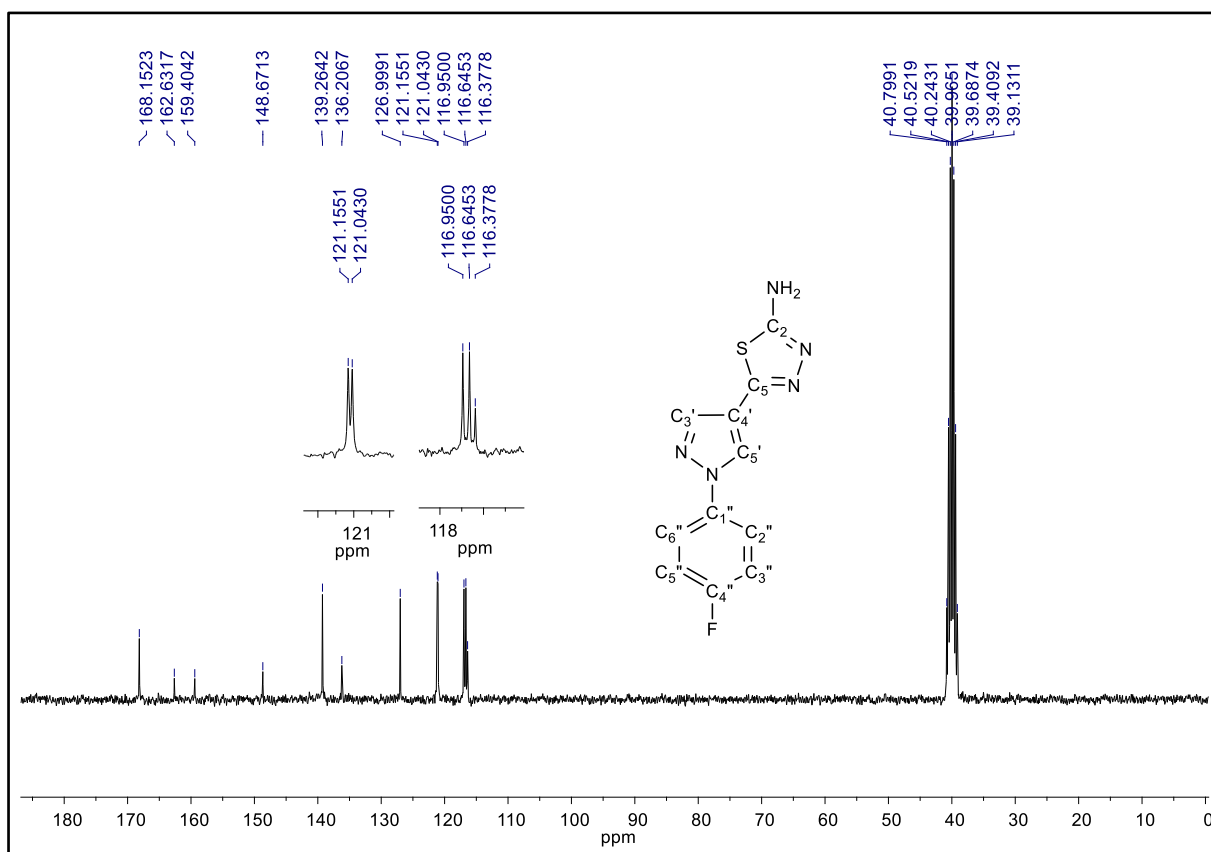
Espectro 144: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz) do derivado **2g**.



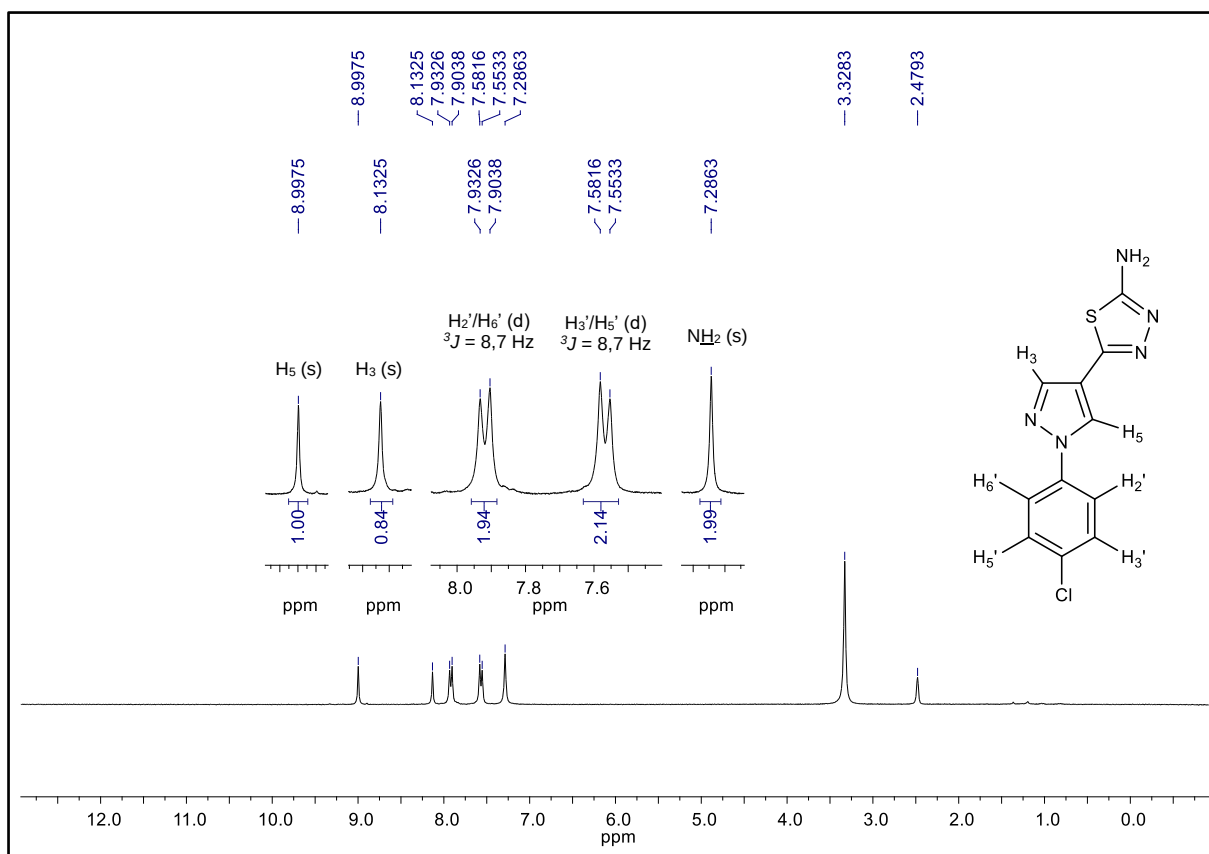
Espectro 145: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz) do derivado **2g**.



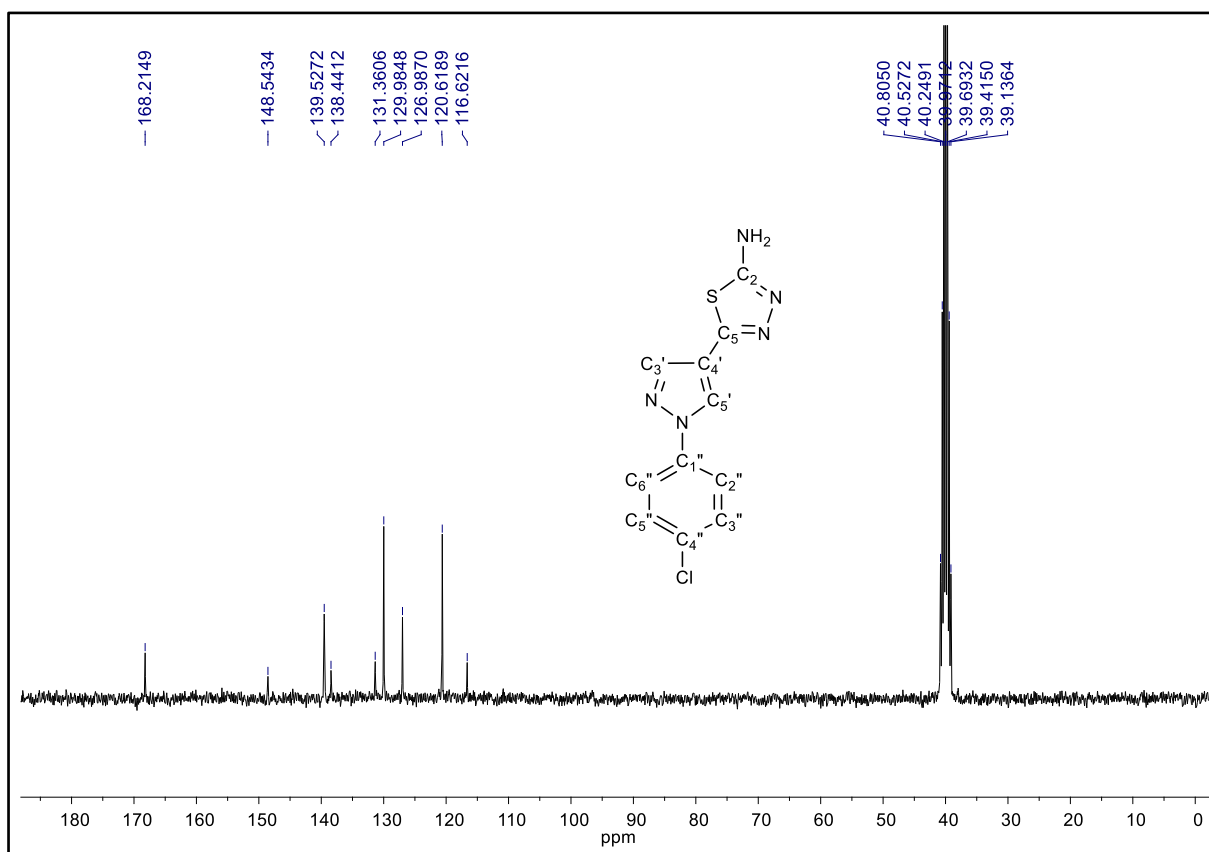
Espectro 146: Espectro do RMN de ¹H (300 MHz) do derivado 2h.



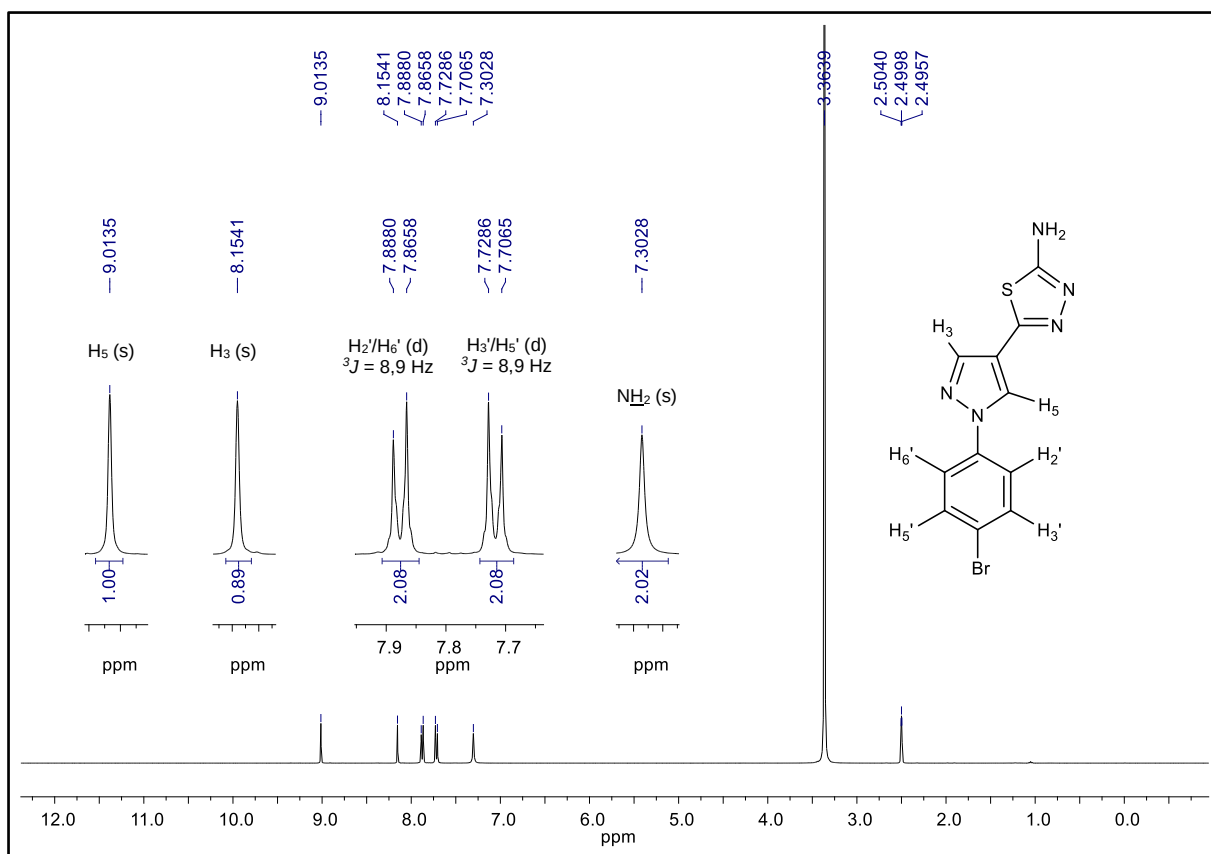
Espectro 147: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz) do derivado 2h.



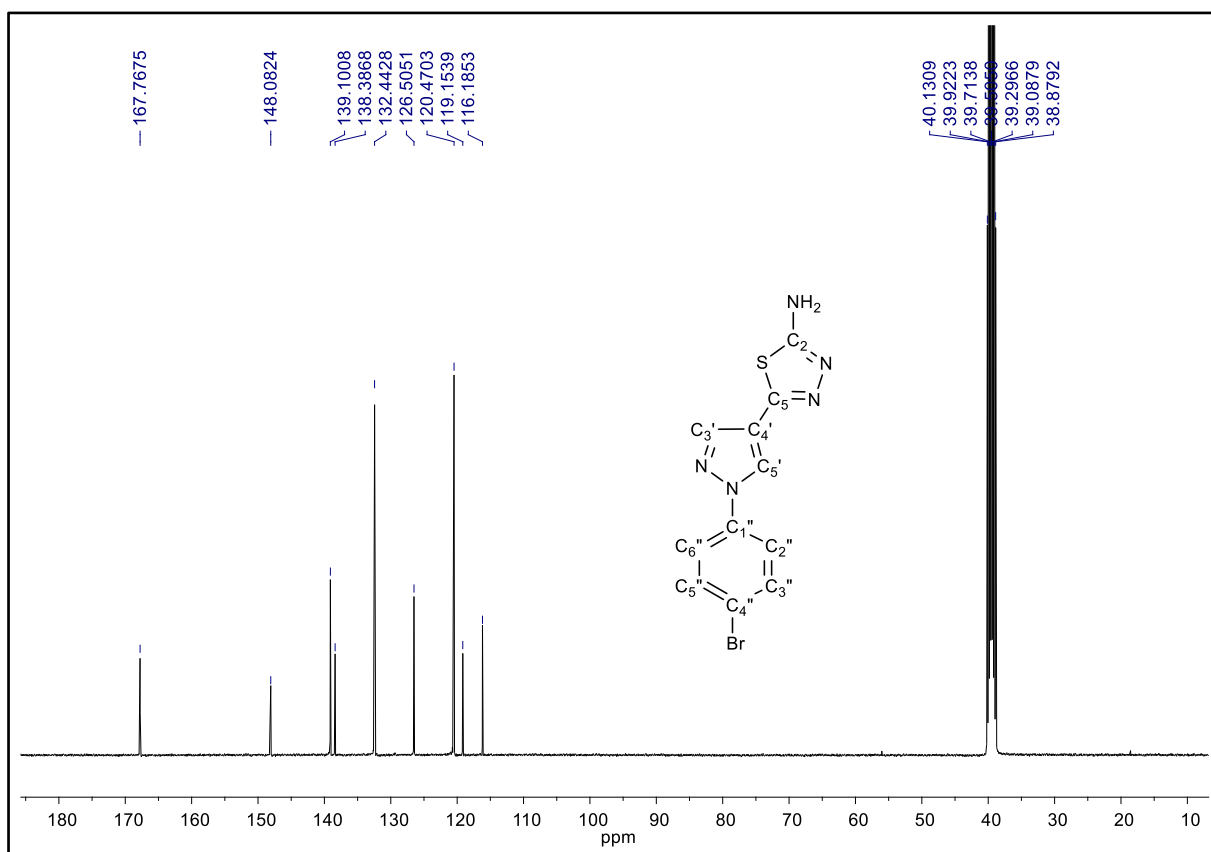
Espectro 148: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz) do derivado 2i.



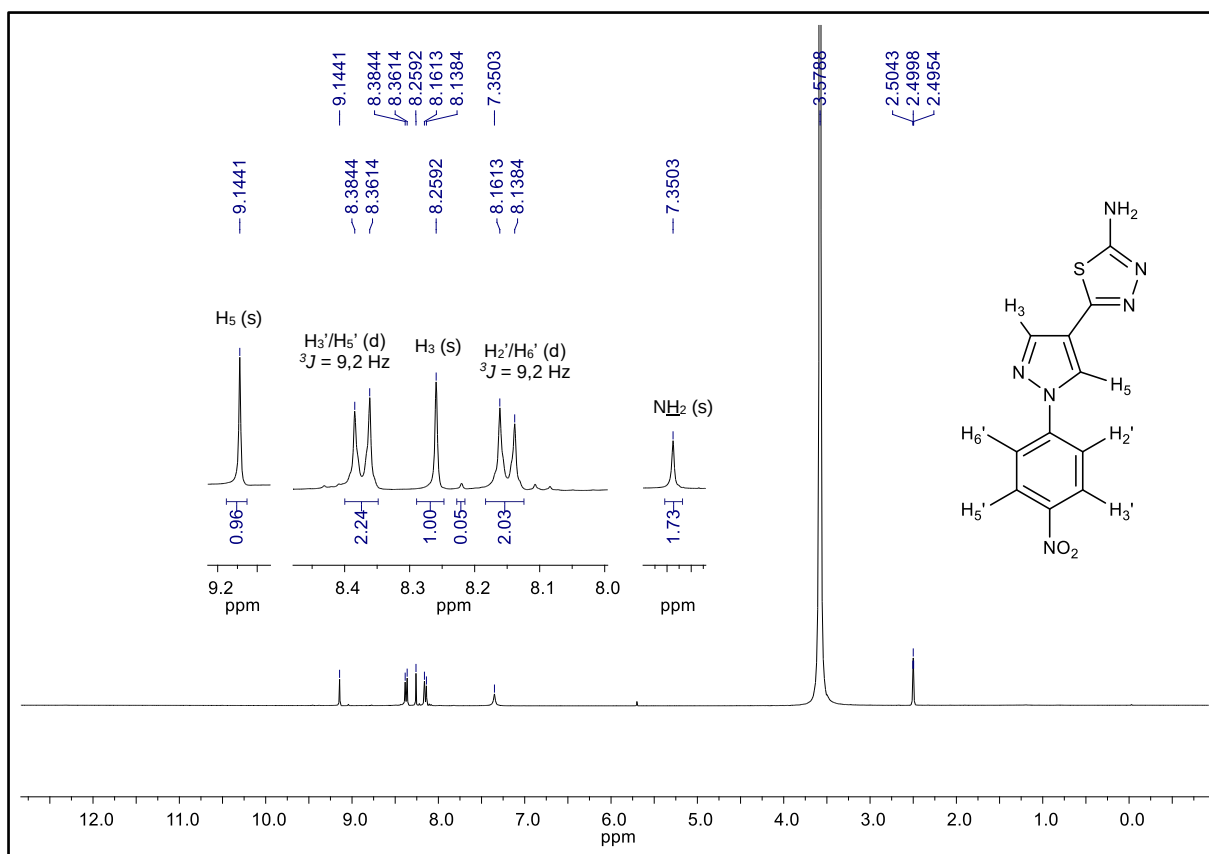
Espectro 149: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz) do derivado 2i.



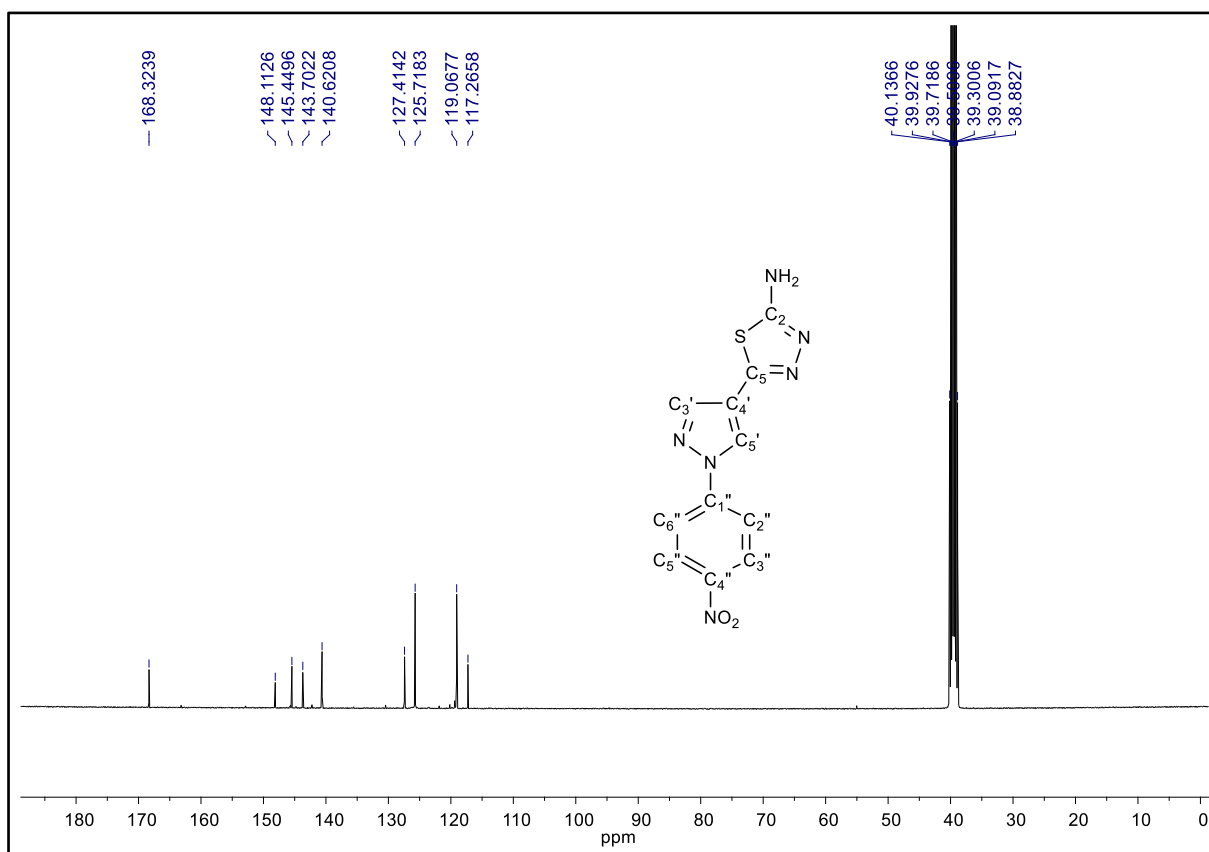
Espectro 150: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado 2j.



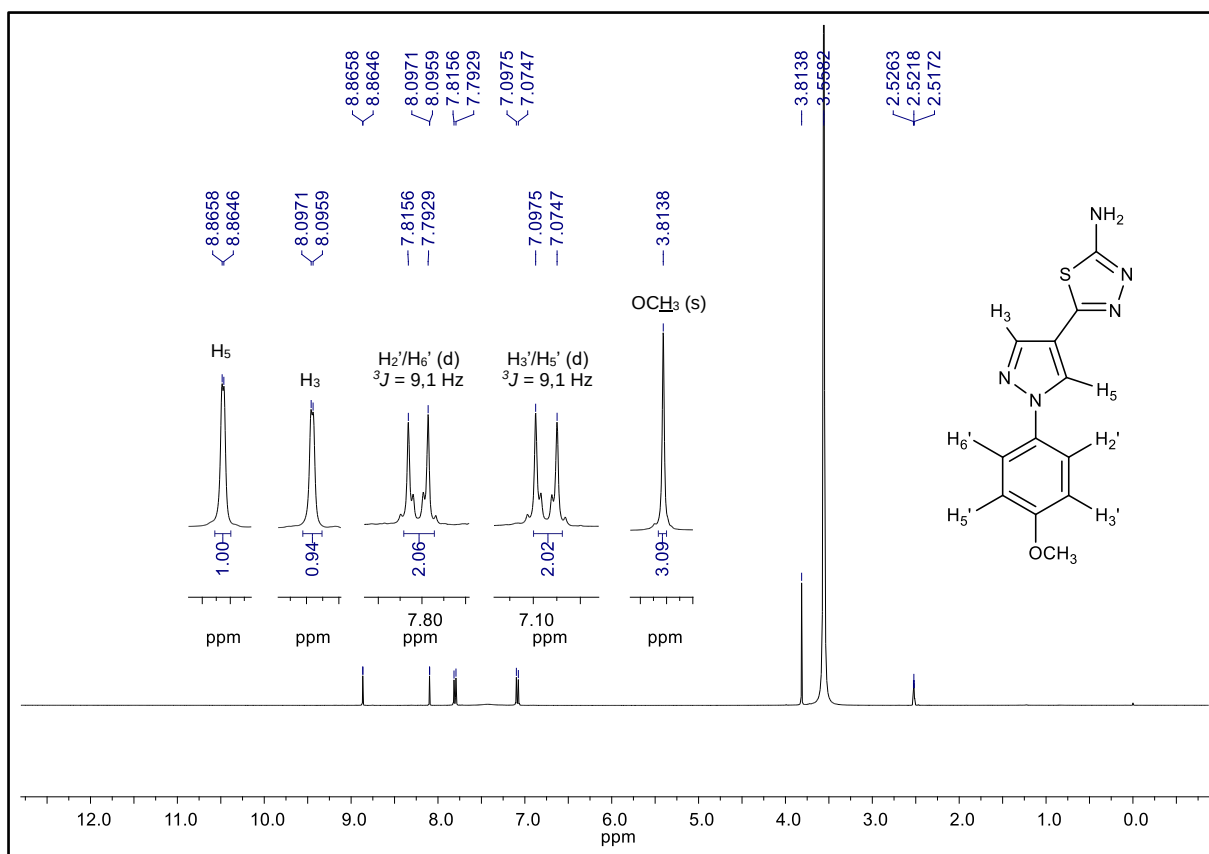
Espectro 151: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado 2j.



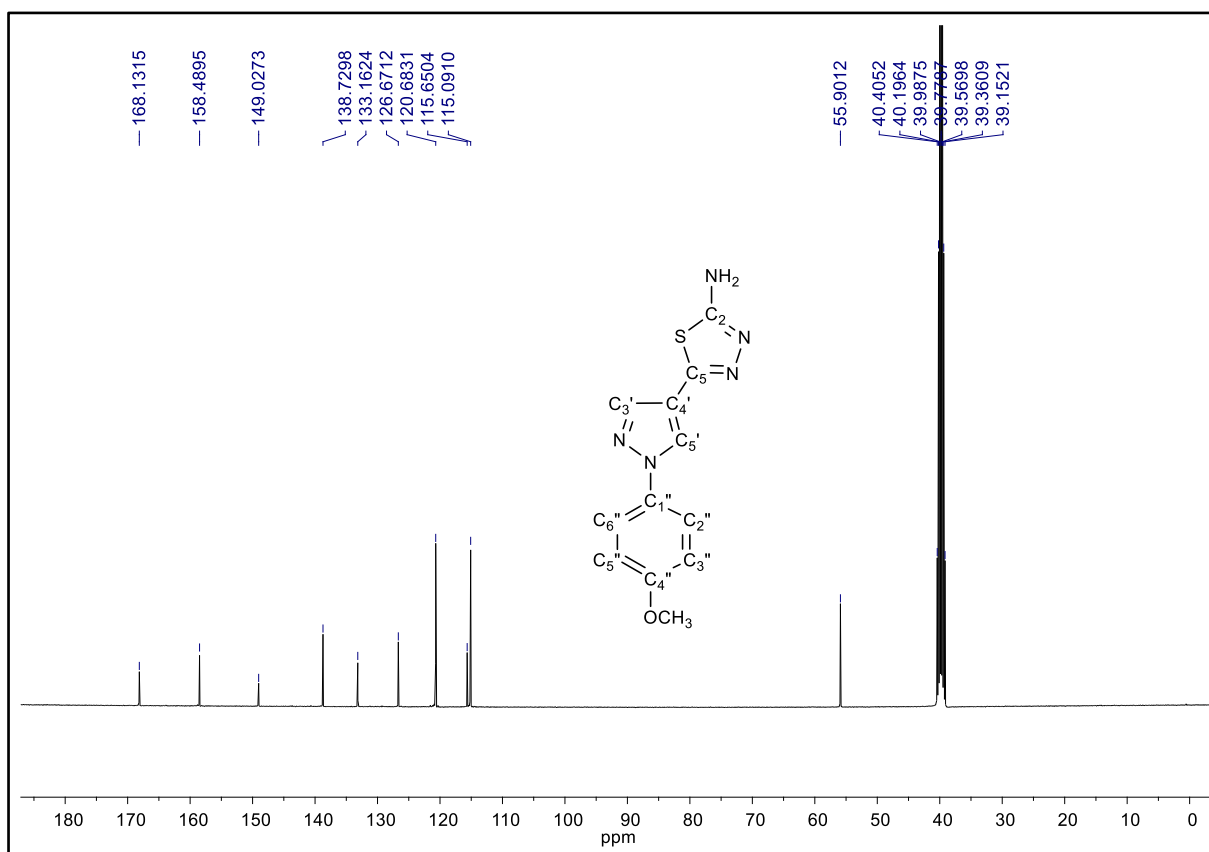
Espectro 152: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado **2k**.



Espectro 153: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado **2k**.



Espectro 154: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) do derivado 2I.



Espectro 155: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) do derivado 2I.