



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS
(PPGMQ-MG)

VINÍCIUS GUARIZO

**SÍNTESE DE DERIVADOS *N*-ARIL-1-FENIL-1*H*-PIRAZOL-
CARBOXAMIDAS E HÍBRIDOS 4-(METILTIO)FENOXI-PIRAZOL-
IMIDAZOLINA COM POTENCIAL AÇÃO TRIPANOCIDA**

Itajubá

11 de março de 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS
(PPGMQ-MG)

VINÍCIUS GUARIZO

**SÍNTESE DE DERIVADOS *N*-ARIL-1-FENIL-1*H*-PIRAZOL-
CARBOXAMIDAS E HÍBRIDOS 4-(METILTIO)FENOXI-PIRAZOL-
IMIDAZOLINA COM POTENCIAL AÇÃO TRIPANOCIDA**

Defesa de Mestrado apresentado 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
11 de março de 2025

SUMÁRIO

1.	Introdução	1
1.1.	Pirazóis	1
1.1.1.	Características estruturais	1
1.1.2.	Reatividade	2
1.1.3.	Métodos de obtenção	3
1.1.4.	Aplicações na Química Medicinal	5
1.2.	Doença de Chagas	7
1.3.	Pesquisa por potenciais fármacos para a Doença de Chagas	12
2.	Justificativa e Planejamentos Estruturais	16
3.	Objetivos	19
3.1.	Objetivo geral	19
3.2.	Objetivos específicos	19
4.	Metodologias	20
4.1.	Rota sintética dos derivados <i>N</i> -aril-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamidas 1(a-t)	20
4.1.1.	Síntese do intermediário 4	21
4.1.2.	Síntese do intermediário 3	21
4.1.3.	Síntese dos produtos finais 1(a-t)	21
4.2.	Rota sintética dos híbridos 4-(1-(2-(4-(metiltio)fenoxi)etil)-4,5-di-hidro-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 2(a-k)	22
4.2.1.	Síntese do intermediário 6	23
4.2.2.	Síntese dos intermediários 8(a-k)	24
4.2.3.	Síntese dos intermediários 7(a-k)	24
4.2.4.	Tentativa de síntese dos compostos 2(a-k)	25
4.3.	Caracterização das substâncias	25
4.3.1.	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)	25
4.3.2.	Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS)	25
4.3.3.	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	26
4.3.4.	Ponto de fusão (PF)	26
4.4.	Ensaio biológicos <i>in vitro</i>	26
5.	Resultados e Discussão	27
5.1.	Síntese do intermediário 4	27
5.2.	Síntese do intermediário 3	29
5.3.	Síntese dos produtos finais 1(a-t)	31
5.4.	Atividade anti-T. cruzi e citotoxicidade dos produtos finais 1(a-t)	42
5.5.	Síntese do intermediário 6	43
5.6.	Obtenção dos intermediários 8(a-k)	53
5.7.	Síntese dos intermediários 7(a-k)	55
5.8.	Tentativas de síntese do produto final 2a	59
6.	Conclusão e Perspectivas	68
7.	Referências Bibliográficas	70

Agradecimentos

Agradeço à Deus pelos dons de seu Espírito Santo a mim concedidos e por todas as coisas, pois são d'Ele, por Ele e para Ele.

Aos meus pais, Alcir Guarizo e Mary Aparecida da Silva Guarizo, pela vida, pelos valores morais e virtudes ensinadas, e por se fazerem de alicerce durante toda a minha vida.

Ao meu irmão e melhor amigo, Michael Felipe Guarizo, e sua esposa Giuliam Maria Marchiori Guarizo, pelo seu apoio e por terem confiado seu maior tesouro a mim.

À minha sobrinha e afilhada, Liz Marchiori Guarizo, por ter me aproximado de Deus.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos, pela dedicação e o cuidado para com meu trabalho. Sempre orientando, de forma que este seja o mais coerente e completo possível, e compartilhando suas vivências em laboratório para maior segurança e proveito desta pesquisa.

À Universidade Federal de Itajubá pela concessão da bolsa de estudos, pela infraestrutura e pela oportunidade de realização do estágio fora do país.

À Universidade de Santiago de Compostela e à Profa. Dra. Maria João Correia Pinto Carvalho de Matos também pela oportunidade de realização do estágio fora do país.

Ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais (PPGMQ-MG) pela oportunidade de cursar uma pós-graduação.

Ao Instituto de Física e Química da UNIFEI, ao CNPq e à FAPEMIG pelo financiamento de materiais de consumo e de capital utilizados nessa pesquisa.

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) da FIOCRUZ/RJ pelos testes biológicos, em especial à Dra. Mirian Claudia de Souza Pereira, e à Plataforma de Metodologias Analíticas (PMA) da FIOCRUZ/RJ pelas caracterizações por HRMS e RMN dos compostos sintetizados nesse trabalho, em especial à Cristiane França Costa, à Eliane Gonçalves de Carvalho, ao Alexandre Xavier e ao Vinicius Vaz Cabral Nery.

Aos colegas do Laboratório de Síntese de Sistemas Heterocíclicos (LaSSH) por toda a ajuda durante a minha pesquisa de mestrado. Em especial, à Dra. Cynthia Nathalia Pereira, à Dra. Byanca Silva Ferreira, à Dra. Rafaela Côrrea Silva e ao Msc. Leonardo Censi Lemos.

Aos colegas do Laboratório de Síntese de Moléculas Bioativas (LaSiMBio) e ao Prof. Dr. Maurício Frota Saraiva por permitir a utilização de alguns equipamentos essenciais para o desenvolvimento da minha pesquisa.

À minha psicóloga, Caren Vian Cerezer, por sua contribuição para uma melhor tomada de decisão em pontos de inflexão durante minha jornada acadêmica e vida pessoal.

Resumo

O pirazol é um heterociclo nitrogenado de cinco membros presente em compostos com amplo espectro de atividade biológica, como por exemplo anti-inflamatória e antiparasitária. Muitos trabalhos têm sido publicados envolvendo derivados pirazólicos com ação contra o *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), o agente causador da Doença de Chagas (DC) que afeta majoritariamente países subdesenvolvidos da América Latina, sendo uma das 20 doenças tropicais negligenciadas (DTNs), segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). A quimioterapia emprega benznidazol (Bz) e nifurtimox (NF), fármacos que não são capazes de curar a doença na fase crônica, assim como possuem diversos efeitos colaterais. Nesse contexto, nosso grupo de pesquisa tem sintetizado diversos derivados pirazólicos e os testados contra as formas infectantes do *T. cruzi*. O objetivo deste trabalho foi sintetizar e avaliar a ação tripanocida de 20 derivados *N*-aril-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **1(a-t)** e 11 híbridos 4-(1-(2-(4-(metiltio)fenoxi)etil)-4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1-fenil-1*H*-pirazóis **2(a-k)**. Os 20 produtos finais **1(a-t)** foram sintetizados com 27-98% de rendimento, em 4 etapas passando pela síntese dos seguintes intermediários: 1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila **4** (60% de rendimento), 1-fenil-1*H*-pirazol-4-ácido carboxílico **3** (90% de rendimento). Além disso, foram obtidos os compostos necessários para a síntese de **2(a-k)**: 1-aril-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **8(a,e,f,i)** com 76-98% de rendimento, 1-aril-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazóis **7(a,b,e-k)** com 49-85% de rendimento e 4-(metilsulfinil)fenoxi-1-(2-bromoetano) com 38% de rendimento. Este último substituindo o composto análogo planejado inicialmente, 4-(metiltio)fenoxi-1-(2-dibromoetano) **6**. Diversas metodologias para a obtenção do produto **2a** foram avaliadas, a fim de otimizar a síntese para obter os demais produtos da série **2(b-k)**. Todavia, após 13 tentativas, o produto não foi obtido. Os testes de atividade anti-*T. cruzi* e citotoxicidade envolvendo **1(a-s)** foram realizados. O melhor resultado obtido foi para o derivado *N*-(3,5-diclorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxamida **1d**, cujos valores de IC₅₀ contra as formas tripomastigota e amastigota do protozoário foram 9,54 ± 0,25 e 7,74 ± 2,21 µM, respectivamente. Os produtos não mostraram toxicidade para células Vero, pois todos os valores de CC₅₀ foram maiores do que 500 µM.

Abstract

Pyrazole is a five-membered nitrogenous heterocycle present in compounds with a broad spectrum of biological activity, such as anti-inflammatory and antiparasitic. Many studies have been published involving pyrazole derivatives with action against *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), the causative agent of Chagas Disease (CD) that mainly affects underdeveloped countries in Latin America and it is one of the 20 neglected tropical diseases (NTDs), according to the World Health Organization (WHO). Chemotherapy consists of benznidazole (Bz) and nifurtimox (NF), drugs that are not capable of curing the disease in the chronic phase and have several side effects. In this context, our research group has synthesized several pyrazole derivatives and tested them against the infecting forms of *T. cruzi*. The aim of this work was to synthesize and evaluate the trypanocidal action of 20 *N*-aryl-1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide derivatives **1(a-t)** and 11 hybrids 4-(1-(2-(4-(methylthio)phenoxy)ethyl)-4,5-dihydro-1*H*-imidazol-2-yl)-1-phenyl-1*H*-pyrazole **2(a-k)**. In this work, 20 final products **1(a-t)** were synthesized in 27-98% yield in 4 steps passing through the synthesis of the following intermediates: ethyl 1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxylate **4** (60% yield), 1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxylic acid **3** (90% yield). In addition, the compounds required for the synthesis of **2(a-k)** were obtained: 1-aryl-1*H*-pyrazole-4-carbonitriles **8(a,e,f,i)** in 76-98% yield, 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1*H*-imidazol-2-yl)-1*H*-pyrazoles **7(a,b,e-k)** in 49-85% yield and 4-(methylsulfinyl)phenoxy-1-(2-bromoethane) in 38% yield. The latter replacing the initially planned analogous compound, 4-(methylthio)phenoxy-1-(2-dibromoethane) **6**. Several methodologies for obtaining product **2a** were evaluated in order to optimize the synthesis to obtain the other products of series **2(b-k)**. However, after 13 attempts, the product was not obtained. Anti-*T. cruzi* activity and cytotoxicity tests involving **1(a-s)** were performed. The best result was obtained for the *N*-(3,5-dichlorophenyl)-1-phenyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide derivative **1d**, whose IC₅₀ values against the trypomastigote and amastigote forms of the protozoan were 9.54 ± 0.25 and 7.74 ± 2.21 µM, respectively. The products showed no toxicity to Vero cells, since all CC₅₀ values were greater than 500 µM.

Lista de Figuras

<i>Figura 1: Representação estrutural do pirazol.</i>	1
<i>Figura 2: Tautomerismo prototrópico do pirazol.</i>	2
<i>Figura 3: Estruturas de ressonância do pirazol.</i>	2
<i>Figura 4: Representação estrutural do híbrido de ressonância do pirazol.</i>	2
<i>Figura 5: Reação de nitração do composto 3,5-dinitro-1H-pirazol.</i>	3
<i>Figura 6: Síntese de S_NAr utilizando 1H-pirazol como nucleófilo.</i>	3
<i>Figura 7: Esquema geral da síntese de Knorr.</i>	4
<i>Figura 8: Síntese de Knorr para a obtenção de derivados pirazólicos.</i>	4
<i>Figura 9: Esquema geral da síntese de Pechmann.</i>	5
<i>Figura 10: Síntese de Pechmann para a obtenção de derivados pirazólicos.</i>	5
<i>Figura 11: Representações estruturais dos principais fármacos derivados do pirazol.</i>	6
<i>Figura 12: Representações estruturais dos derivados pirazólicos tetrassubstituídos com melhores atividades anti-T. cruzi e anti-L. amazonensis.</i>	7
<i>Figura 13: Mapa global do número de indivíduos que necessitavam de alguma intervenção contra DTNs em 2022 com destaque para a distribuição nas Américas.</i>	8
<i>Figura 14: Mapa da prevalência estimada da DCC por região brasileira.</i>	9
<i>Figura 15: Microscopia das formas tripomastigota, amastigota e epimastigota do T. cruzi.</i>	10
<i>Figura 16: Representações estruturais dos antiparasitários disponíveis para a DC.</i>	11
<i>Figura 17: Representação estrutural do antifúngico fosravuconazol.</i>	11
<i>Figura 18: Representação estrutural do antiparasitário fexinidazol.</i>	12
<i>Figura 19: Representações estruturais dos híbridos pirazol-imidazolina A e pirazol-tetra-hidropirimidina B.</i>	14
<i>Figura 20: Estratégias para o desenvolvimento dos análogos C e D.</i>	14
<i>Figura 21: Representação estrutural dos híbridos pirazol-tiazolina E.</i>	15
<i>Figura 22: Representação estrutural dos derivados 1(a-t).</i>	19
<i>Figura 23: Representação estrutural dos produtos 2(a-k).</i>	19
<i>Figura 24: Espectro FT-IR do intermediário 4.</i>	27
<i>Figura 25: Espectro FT-IR do intermediário 3.</i>	30
<i>Figura 26: Representação estrutural do dímero do ácido carboxílico.</i>	30
<i>Figura 27: Espectro FT-IR do produto 1a.</i>	33
<i>Figura 28: Espectro HRMS de 1a.</i>	34
<i>Figura 29: Espectro de RMN de 1H de 1a (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, DMSO-d_6).</i>	37
<i>Figura 30: Estruturas de ressonância que mostram a desblindagem do núcleo H-5 na molécula 1a.</i>	37
<i>Figura 31: Estruturas de ressonância que mostram a blindagem dos núcleos H-2'', H-4'' e H-6'' na molécula 1a.</i>	37
<i>Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C de 1a (100 MHz, δ em ppm, DMSO-d_6).</i>	40
<i>Figura 33: Espectro de FT-IR do intermediário 6.</i>	46

<i>Figura 34: Espectro de HRMS do intermediário 6.</i>	48
<i>Figura 35: Representações estruturais dos compostos sugeridos.</i>	48
<i>Figura 36: Espectro de RMN de ^1H de 6 (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, DMSO-d_6).</i>	50
<i>Figura 37: Representações estruturais dos enantiômeros do composto 6.</i>	50
<i>Figura 38: Espectro de RMN de ^{13}C de 6 (100 MHz, δ em ppm, DMSO-d_6).</i>	51
<i>Figura 39: Espectro de FT-IR de 8a.</i>	54
<i>Figura 40: Espectro de FT-IR de 7a.</i>	56
<i>Figura 41: CCD da tentativa de síntese 4.</i>	60
<i>Figura 42: Espectro de FT-IR do produto da tentativa de síntese 7.</i>	61
<i>Figura 43: Espectro de HRMS do produto da tentativa de síntese 7.</i>	62
<i>Figura 44: Espectro de RMN de ^1H do produto da tentativa de síntese 7 (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, DMSO-d_6).</i>	63
<i>Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C do produto da tentativa de síntese 7 (100 MHz, δ em ppm, DMSO-d_6).</i>	64
<i>Figura 46: Espectro de FT-IR do produto da tentativa de síntese 13.</i>	66
<i>Figura 47: Espectro de HRMS do produto da tentativa de síntese 13.</i>	66
<i>Figura 48: Espectro de RMN de ^1H do produto da tentativa de síntese 13 (400 MHz, δ em ppm, DMSO-d_6).</i>	67
<i>Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C do produto da tentativa de síntese 13 (100 MHz, δ em ppm, DMSO-d_6).</i>	67

Lista de Esquemas

<i>Esquema 1: Planejamento da série de compostos 1(a-t).</i>	17
<i>Esquema 2: Planejamento da série de compostos 2(a-k).</i>	17
<i>Esquema 3: Análise retrossintética dos derivados 1(a-t).</i>	18
<i>Esquema 4: Análise retrossintética dos derivados 2(a-k).</i>	18
<i>Esquema 5: Rota sintética para a obtenção do intermediário 3.</i>	20
<i>Esquema 6: Rota sintética para a obtenção dos produtos finais 1(a-t).</i>	20
<i>Esquema 7: Reação para a obtenção do intermediário 6.</i>	23
<i>Esquema 8: Rota sintética para a obtenção de 2(a-k).</i>	23
<i>Esquema 9: Reação para a obtenção de 4.</i>	27
<i>Esquema 10: Proposta mecanística para a obtenção do intermediário 4.</i>	29
<i>Esquema 11: Reação para a obtenção de 3.</i>	30
<i>Esquema 12: Mecanismo para a obtenção do intermediário 3.</i>	31
<i>Esquema 13: Reações para a obtenção de 1(a-t).</i>	31
<i>Esquema 14: Primeira parte do mecanismo proposto da reação para a obtenção de 1(a-t).</i>	42
<i>Esquema 15: Segunda parte do mecanismo proposto da reação para a obtenção de 1(a-t).</i>	42
<i>Esquema 16: Reação para a obtenção de 6.</i>	44
<i>Esquema 17: Relação de equilíbrio entre os isômeros cis e trans na ressonância de 6.</i>	46
<i>Esquema 18: Primeira parte do mecanismo proposto para a obtenção de 6.</i>	52
<i>Esquema 19: Segunda parte do mecanismo proposto para a obtenção de 6.</i>	52
<i>Esquema 20: Proposta mecanística para a oxidação de 6.</i>	53
<i>Esquema 21: Reação para a obtenção dos intermediários 8(a-k).</i>	53
<i>Esquema 22: Reação para a obtenção dos intermediários 7(a-k).</i>	55
<i>Esquema 23: Primeira parte do mecanismo proposto para a obtenção de 7(a-k).</i>	58
<i>Esquema 24: Segunda parte do mecanismo proposto para a obtenção de 7(a-k).</i>	58

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1: Resultados dos diferentes regimes para o tratamento da DC.</i>	12
<i>Tabela 2: Dados de FT-IR do intermediário 4.</i>	28
<i>Tabela 3: Dados de FT-IR do intermediário 3.</i>	30
<i>Tabela 4: Rendimentos e características macroscópicas de 1(a-t).</i>	32
<i>Tabela 5: Dados de FT-IR dos derivados 1(a-t). *</i>	33
<i>Tabela 6: Valores teóricos e experimentais da razão m/z obtidos dos espectros HRMS das substâncias 1(a-t) e os respectivos erros relativos.</i>	35
<i>Tabela 7: Dados de RMN de ^1H dos produtos meta-substituídos.</i>	38
<i>Tabela 8: Dados de RMN de ^1H dos produtos para-substituídos.</i>	39
<i>Tabela 9: Dados de RMN de ^1H dos produtos com dois ou três substituintes.</i>	39
<i>Tabela 10: Dados de acoplamento heteronuclear dos espectros de RMN de ^{13}C.</i>	41
<i>Tabela 11: Resultados biológicos dos compostos 1(a-s).</i>	43
<i>Tabela 12: Condições reacionais e rendimentos das tentativas de síntese com K_2CO_3.</i>	44
<i>Tabela 13: Condições reacionais e rendimentos das tentativas de síntese com NaOH.</i>	44
<i>Tabela 14: Dados de FT-IR do intermediário 6.</i>	47
<i>Tabela 15: Coloração e rendimento de 8a, 8e, 8f e 8i.</i>	53
<i>Tabela 16: Dados de FT-IR de 8a, 8e, 8f e 8i. *</i>	54
<i>Tabela 17: Coloração, rendimento e faixas de fusão de 7(a,b,e-k).</i>	55
<i>Tabela 18: Dados de FT-IR de 7(a,b,e-k). *</i>	57
<i>Tabela 19: Tentativas de síntese do derivado 2a.</i>	59

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

AGF – Adição de grupo funcional

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BENDITA – Novas Doses de Benznidazol, Tratamento Otimizado e Associações Terapêuticas, do inglês *Benznidazole New Doses, Improved Treatment and Therapeutic Associations*

Bn – Benzil

Bu – Butil

Bz – Benznidazol

CC – Cardiomiopatia chagásica

CC₅₀ – Concentração para redução de 50% da viabilidade celular

CCD – Cromatografia em camada delgada

d – Dupleto

DC – Doença de Chagas

DCC – Doença de Chagas crônica

DCM – Diclorometano

DMF – *N,N*-dimetilformamida

DMSO-*d*₆ – Dimetilsulfóxido hexadeuterado

DNDi – Iniciativa de Fármacos para Doenças Negligenciadas, do inglês *Drugs for Neglected Diseases initiative*

DTNs – Doenças tropicais negligenciadas

EDA – Etilenodiamina

ERO – Espécies reativas de oxigênio

ESI – Ionização por eletrospray, do inglês *Electrospray Ionization*

Et – Etil

EtOH – Etanol

FT-IR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

HRMS – Espectrometria de Massas de Alta Resolução, do inglês *High Resolution Mass Spectrometry*

i – Iso

IC₅₀ – Concentração inibitória média para uma substância inibir em 50% a função biológica de um micro-organismo

IGF – Interconversão de grupo funcional

IMO – Irradiação por micro-ondas

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*

J – Constante de acoplamento

L. – *Leishmania*

LAFEPE – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

NF – Nifurtimox

OMS – Organização Mundial da Saúde

OTf – Triflato

PDB – Banco de Dados de Proteínas, do inglês *Protein Data Bank*

PF – Ponto de fusão

Ph – Fenil

Pr – Propil

Py – Piridina

qd – Quadrupletto

qt – Quintupletto

rf – Refluxo

RMN – Ressonância magnética nuclear

s – Simpleto

SEAr – Substituição eletrofílica aromática

IS – Índice de seletividade

S_N2 – Substituição nucleofílica bimolecular

S_NAr – Substituição nucleofílica aromática

t – Tripleto

t – *Terc*

t. a. – Temperatura ambiente

TBAI – Iodeto de tetrabutilamônio

T. cruzi – *Trypanosoma cruzi*

THF – Tetra-hidrofurano

TMS – Tetrametilsilano

UV – Ultravioleta

δ – Deslocamento químico

γ – Deformação angular fora do plano

ν – Estiramento

$\bar{\nu}$ – Número de onda

ν_{as} – Estiramento assimétrico

ν_s – Estiramento simétrico

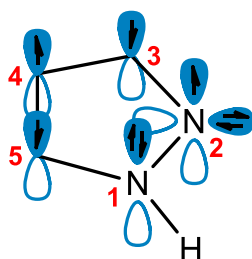
1. Introdução

1.1. Pirazóis

1.1.1. Características estruturais

O pirazol é um heterociclo nitrogenado de cinco membros, formado por dois átomos de nitrogênio adjacentes (posições 1,2) e três átomos de carbono (Figura 1). A presença de dois átomos de nitrogênio com características completamente distintas, confere ao pirazol um caráter anfótero, isto é, pode atuar como base ou ácido dependendo do meio em que está inserido. Tal caráter se deve a presença de um nitrogênio do tipo “piridínico” (N2) e de um nitrogênio “pirrólico” (N1), destacados na figura 1 (Poudyal et al., 2021; Rue et al., 2023).

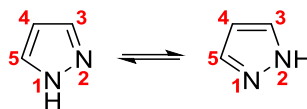
Figura 1: Representação estrutural do pirazol.



Fonte: próprio autor.

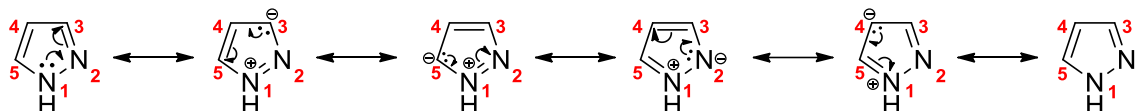
O átomo de nitrogênio N2 possui um par de elétrons não ligante que não está comprometido com a ressonância do anel. Isto confere a ele um caráter básico e também permite atuar como aceptor de ligação de hidrogênio. Por outro lado, no átomo de nitrogênio N1, o par de elétrons está comprometido com a ressonância. Desse modo, o átomo de hidrogênio ligado a N1 possui um caráter ácido e pode atuar como doador de ligação de hidrogênio (Nitulescu et al., 2023).

A estrutura molecular do pirazol permite a ocorrência de um tautomerismo, que por definição da União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês “*International Union of Pure and Applied Chemistry*” (IUPAC), os isômeros são prontamente interconvertíveis. O chamado tautomerismo prototrópico ocorre quando há um rearranjo nas posições de ligações simples e duplas com migração de um próton (Figura 2). Tal isomerismo é importante para a química medicinal por permitir a conversão de um centro aceptor de ligação de hidrogênio em um centro doador de ligação de hidrogênio, de modo que favoreça a interação com receptores biológicos (Bharatam et al., 2023).

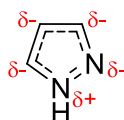
Figura 2: Tautomerismo prototrópico do pirazol.

Fonte: próprio autor.

Além disso, o pirazol é um sistema aromático com dois pares de elétrons que formam as ligações π e um par de elétrons não ligante em N1 que participa da ressonância (Figura 3) (Kumar et al., 2022). Aliado ao fato de que o anel pirazólico possui cinco membros, seu sistema aromático é nomeado π excessivo devido a carga negativa se encontrar deslocalizada em diferentes posições no híbrido de ressonância (Figura 4) (Rusu et al., 2023; Rue et al., 2023).

Figura 3: Estruturas de ressonância do pirazol.

Fonte: próprio autor.

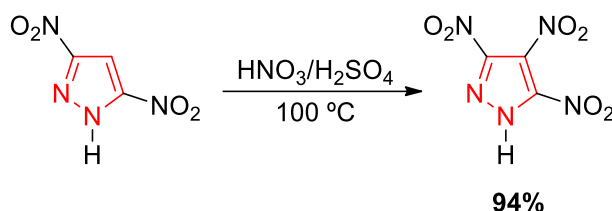
Figura 4: Representação estrutural do híbrido de ressonância do pirazol.

Fonte: próprio autor.

1.1.2. Reatividade

Os heterociclos π excessivos são passíveis de reações de substituição eletrofílica aromática (SEAr). No caso do pirazol esse tipo de reação pode acontecer a princípio, nas posições 3, 4 e 5 do anel, conforme mostrado nas estruturas de ressonância da figura 3. Todavia, é mais favorável a ocorrência na posição 4, em razão das outras estarem sob um forte efeito indutivo retirador de elétrons proveniente dos átomos de nitrogênio vicinais (Poudyal et al., 2021; Nitulescu et al., 2023). Em um artigo publicado por Hervé e colaboradores em 2010, foi feita a nitração do composto 3,5-dinitro-1H-pirazol utilizando uma solução de ácido sulfúrico fumegante (20-30%) em ácido nítrico, cuja reação ocorreu mesmo sendo desfavorecida pela presença de dois grupos nitro (NO_2) retiradores de elétrons, resultando na obtenção de 3,4,5-trinitro-1H-pirazol com 94% de rendimento (Figura 5) (Hervé et al., 2010).

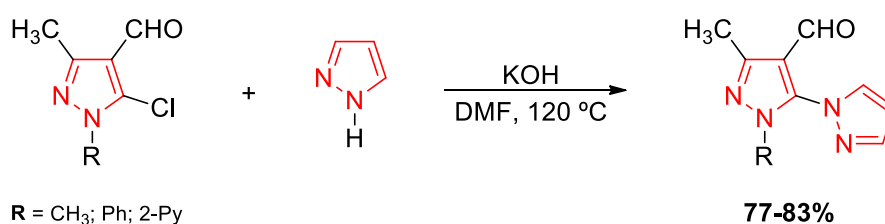
Figura 5: Reação de nitração do composto 3,5-dinitro-1*H*-pirazol.



Adaptado de: Hervé et al., 2010.

Apesar de reações de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) serem pouco comuns no anel pirazólico, por causa da sua natureza rica em elétrons, essas reações podem ocorrer em pirazóis substituídos com bons grupos de saída, como os halogênios (Park et al., 2004). Do mesmo modo, o núcleo pirazol pode atuar como nucleófilo em meio básico devido à presença de um hidrogênio ácido em N1 que pode ser desprotonado e gerar um ânion pirazol nucleofílico (Rue et al., 2023). No trabalho publicado em 2004 por Park e colaboradores, foram exploradas sínteses de introdução de heterociclos nitrogenados, incluindo o 1*H*-pirazol, em derivados de 5-cloro-4-formil-3-metil-1*H*-pirazol a partir de reações de S_NAr . As sínteses envolvendo o 1*H*-pirazol como nucleófilo para a obtenção dos compostos desejados, ocorreram empregando hidróxido de potássio (KOH) como base e *N,N*-dimetilformamida (DMF) como solvente, sob aquecimento a temperatura de 120 °C, conforme apresentado na figura 6 (Park et al., 2004).

Figura 6: Síntese de S_NAr utilizando 1*H*-pirazol como nucleófilo.



Adaptado de: Park et al., 2004.

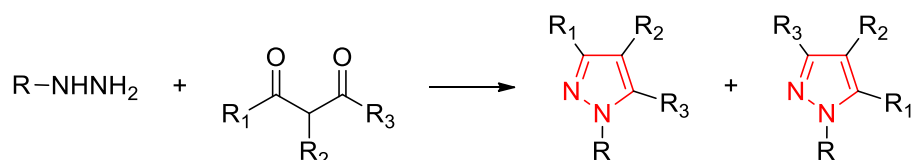
1.1.3. Métodos de obtenção

Os derivados contendo o núcleo pirazol são comumente obtidos a partir de reações de ciclocondensação ou de 1,3-cicloadição dipolar (Ebenezer et al., 2022). O primeiro a sintetizar um composto pirazólico foi Ludwig Knorr em 1883, a partir de uma reação entre fenilhidrazina e acetoacetato de etila. Tal composto foi posteriormente utilizado na síntese do fármaco antipirético precursor da aspirina, a antipirina. Em 1898, Hans von Pechmann desenvolveu um método para a síntese direta do 1*H*-

pirazol que consistia na reação entre acetileno e diazometano em éter (Mert et al., 2022).

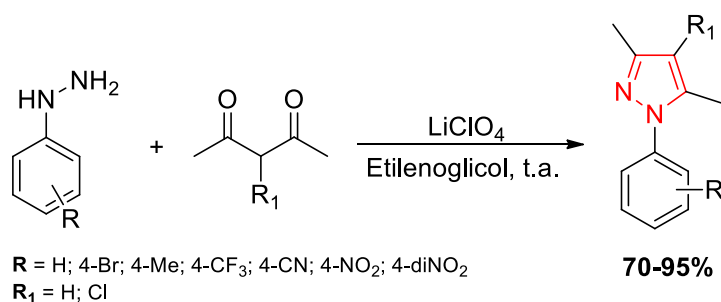
A síntese de Knorr é uma reação de ciclocondensação entre hidrazinas e compostos 1,3-dicarbonílicos para a produção de pirazóis substituídos (Figura 7). Tal síntese pode ser realizada em temperatura ambiente reagindo arilhidrazina e acetilacetona 3-substituída, com perclorato de lítio (LiClO_4) como catalisador e etilenoglicol como solvente, para a obtenção de compostos pirazólicos 1,3,5-substituídos com rendimentos variando de 70 a 95% (Figura 8) (El Hassani et al., 2023).

Figura 7: Esquema geral da síntese de Knorr.



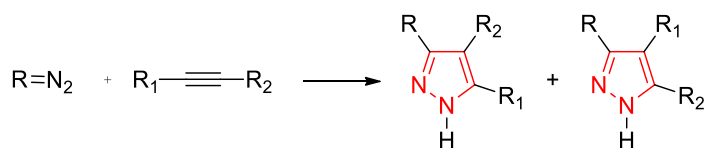
Fonte: próprio autor.

Figura 8: Síntese de Knorr para a obtenção de derivados pirazólicos.

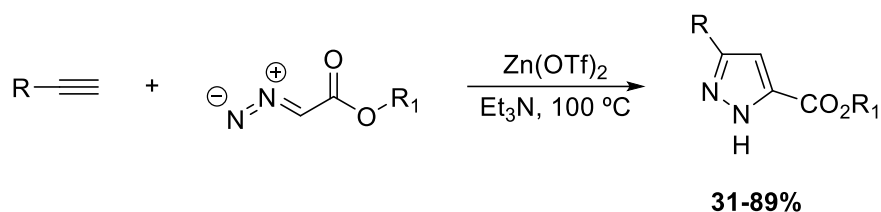


Adaptado de: El Hassani et al., 2023.

A síntese de Pechmann é uma reação de 1,3-cicloadição dipolar entre diazocompostos e alcinos (Figura 9). Em um artigo publicado em 2009 por He e colaboradores, derivados pirazólicos foram sintetizados a partir de uma síntese de Pechmann, livre de solventes e catalisada por triflato de zinco anidro em trietilamina, empregando diferentes alcinos terminais e diazoesteres sob agitação e aquecimento a 100 °C por 8 horas, para a obtenção dos compostos com rendimentos de 31-89% (Figura 10) (He et al., 2009).

Figura 9: Esquema geral da síntese de Pechmann.

Fonte: próprio autor.

Figura 10: Síntese de Pechmann para a obtenção de derivados pirazólicos.

R = Si(CH₃)₃; 4-H₃CPh; 4-BrPh; 4-O₂NPh; 2-etinilpiridina; Ph; Pr; *i*-Bu; H₂COEt; H₂CO₂CPh; C(CH₃)₂OH

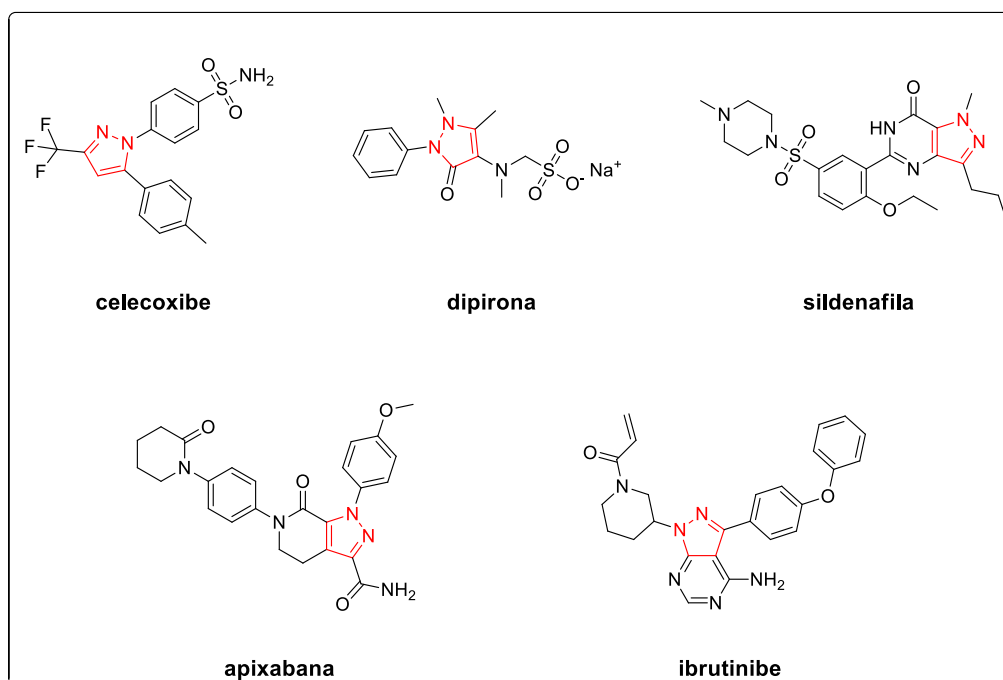
R₁ = Et; *t*-Bu; Bn

Adaptado de: He et al., 2009.

1.1.4. Aplicações na Química Medicinal

Os derivados pirazólicos apresentam diversas aplicações biológicas e estão presentes em antibacterianos, antifúngicos, antivirais, anti-inflamatórios, antiprotozoários e antineoplásicos (Kamble et al., 2023). Alguns exemplos de fármacos amplamente conhecidos, derivados do pirazol, são apresentados na figura 11 e incluem os anti-inflamatórios não esteroidais, celecoxibe e dipirona; a sildenafil, utilizada no tratamento da disfunção erétil e da hipertensão pulmonar; o anticoagulante apixabana e o antineoplásico ibrutinibe, esses dois últimos presentes na lista dos 50 fármacos mais vendidos no mundo em 2023 (Zhang et al., 2023; Buntz et al., 2024).

Figura 11: Representações estruturais dos principais fármacos derivados do pirazol.

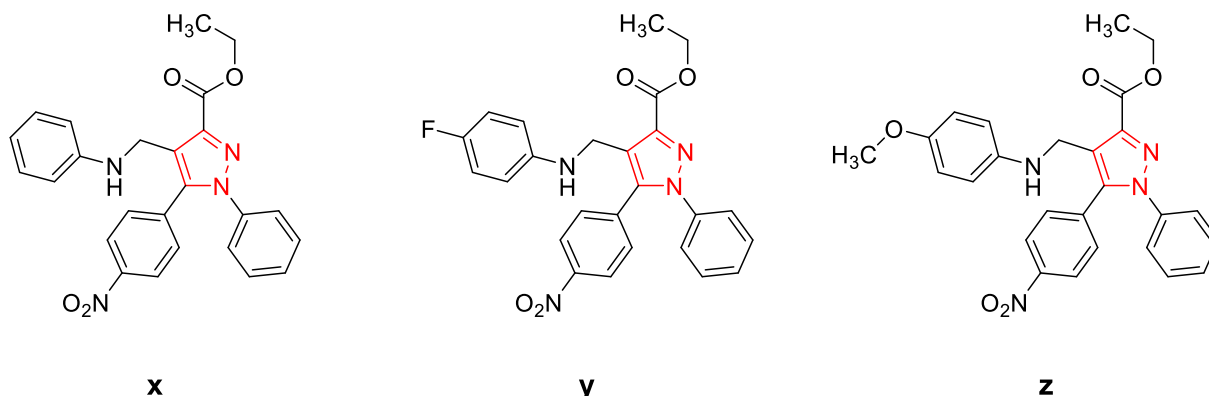


Fonte: próprio autor.

Nesse contexto, compostos contendo o núcleo pirazol têm demonstrado atividade contra certos fungos via inibição da biossíntese de esteróis, como o ergosterol. Tais estruturas são comumente encontradas na membrana plasmática dos fungos e de outros organismos eucariontes, como *Leishmania sp.* e *Trypanosoma sp.* (Desai et al., 2023; Fidalgo et al., 2011).

No trabalho publicado por da Silva e colaboradores, três derivados pirazólicos tetrassubstituídos 5-(4-nitrofenil)-1-fenil-4-((arilamino)metil)-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etila **x**, **y** e **z** (Figura 12) apresentaram atividade mútua contra as formas epimastigota do *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) e promastigota de *Leishmania amazonensis* (*L. amazonensis*), parasitas da família *Trypanosomatidae*, com valores de concentração inibitória média (IC_{50}) contra epimastigotas do *T. cruzi* $IC_{50} = 9,7 \pm 1,1 \mu M$, $4,5 \pm 0,7 \mu M$ e $17,1 \pm 2,4 \mu M$, respectivamente, e contra promastigotas de *L. amazonensis* $IC_{50} = 7,4 \pm 0,7 \mu M$, $3,8 \pm 0,1 \mu M$ e $7,3 \pm 2,1 \mu M$, respectivamente. Tais protozoários possuem um sistema antioxidante subdesenvolvido e alguns desses compostos foram capazes de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) em promastigotas de *L. amazonensis*, além do dano estrutural ao flagelo do parasita apresentado por um dos derivados (da Silva et al., 2021).

Figura 12: Representações estruturais dos derivados pirazólicos tetrassubstituídos com melhores atividades anti-*T. cruzi* e anti-*L. amazonensis*.

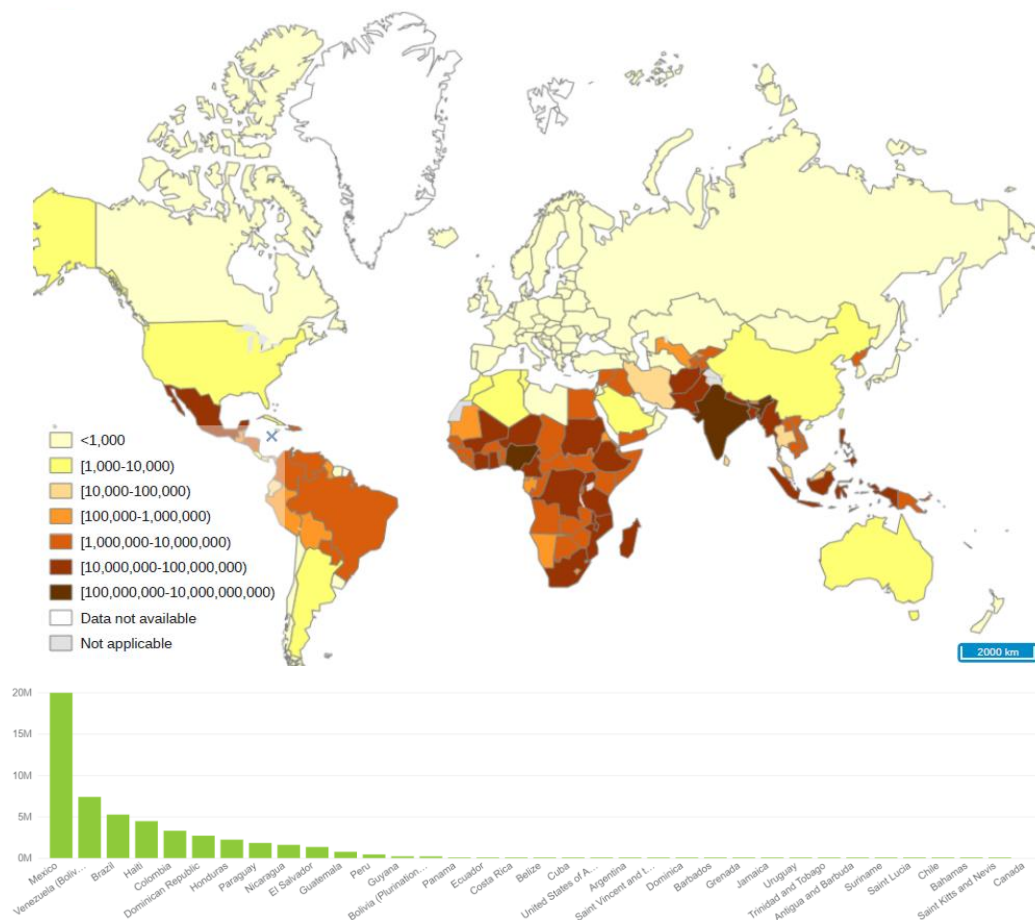


Adaptado de: da Silva et al., 2021.

1.2. Doença de Chagas

A Doença de Chagas (DC) é uma patologia causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* presente nas fezes ou urina do inseto vetor da subfamília *Triatominae* (da Silva Filho et al., 2023). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a DC é uma das 20 doenças tropicais negligenciadas (DTNs), que são classificadas dessa forma por acometer majoritariamente populações de países subdesenvolvidos localizados na região dos trópicos (OMS, 2024). Dados da OMS apontam que o número de indivíduos que necessitavam de algum tipo de intervenção contra DTNs no mundo era de 1,62 bilhão em 2022. Nas Américas, o Brasil figurava na terceira posição com cerca de 5,24 milhões de casos (Figura 13).

Figura 13: Mapa global do número de indivíduos que necessitavam de alguma intervenção contra DTNs em 2022 com destaque para a distribuição nas Américas.

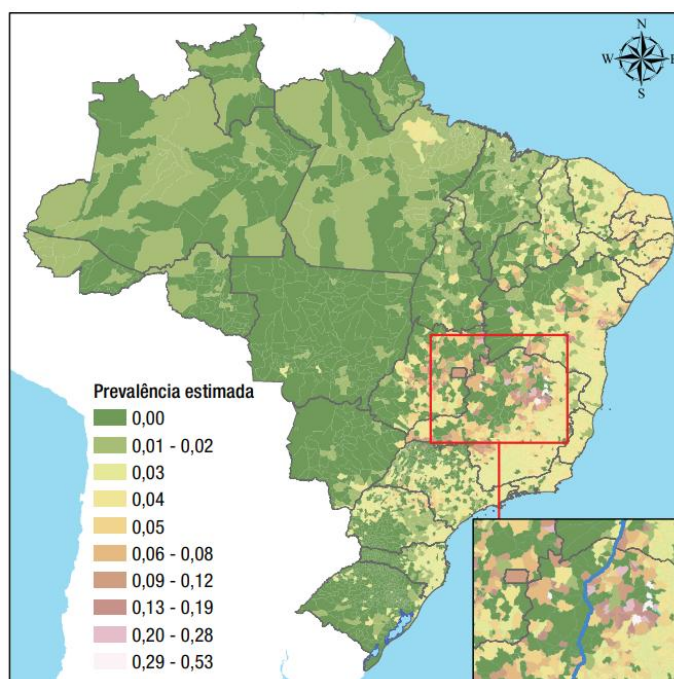


Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/reported-number-of-people-requiring-interventions-against-ntds>. Acessado em: 28 de janeiro de 2025.

A DC é endêmica nos países da América Latina e nos Estados Unidos da América, afetando entre 6 a 7 milhões de pessoas no mundo. Sua principal rota de transmissão ocorre via vetorial, todavia, infecção congênita, por transfusão sanguínea e consumo de alimentos contaminados são outras vias de contaminação (Layne-Roldán et al., 2023). Devido aos movimentos de globalização e de migração, a infecção por *T. cruzi* a partir das rotas alternativas de transmissão tem aumentado a incidência da DC em países não autóctones para o inseto vetor triatomíneo. Na Europa, por exemplo, é estimado que a infecção tenha alcançado aproximadamente 100 mil pessoas (Fesser et al., 2021). Nos últimos anos, o contágio pela ingestão de alimentos contaminados tem se tornado mais comum no Brasil, sendo relatado como a principal via de infecção no Estado do Pará, principalmente por meio do consumo de açaí impróprio contendo os parasitas (Vasconcelos et al., 2022).

Um estudo de metanálise publicado em 2024 por Laporta e colaboradores, estimou a prevalência da Doença de Chagas crônica (DCC) na população brasileira, em mulheres e em mulheres no período fértil com base nos dados obtidos de 3778 municípios, entre os anos de 2015 e 2016, pesquisados em 23 artigos criteriosamente selecionados. Tal estudo decidiu incluir estimativas do número de mulheres no período fértil com o intuito de oferecer informações valiosas para o combate da transmissão via congênita da doença, que nos últimos anos tem se mostrado a via mais recorrente nos 21 países endêmicos das Américas. Os resultados indicaram que cerca de 3,7 milhões de brasileiros são acometidos pela enfermidade, dos quais 2,1 milhões são mulheres e 590 mil são mulheres no período fértil. O estudo ainda forneceu outros dados relevantes como a prevalência da DCC no Brasil por região, bem como destacou os altos índices observados nos arredores do rio São Francisco (Figura 14) (Laporta et al., 2024).

Figura 14: Mapa da prevalência estimada da DCC por região brasileira.

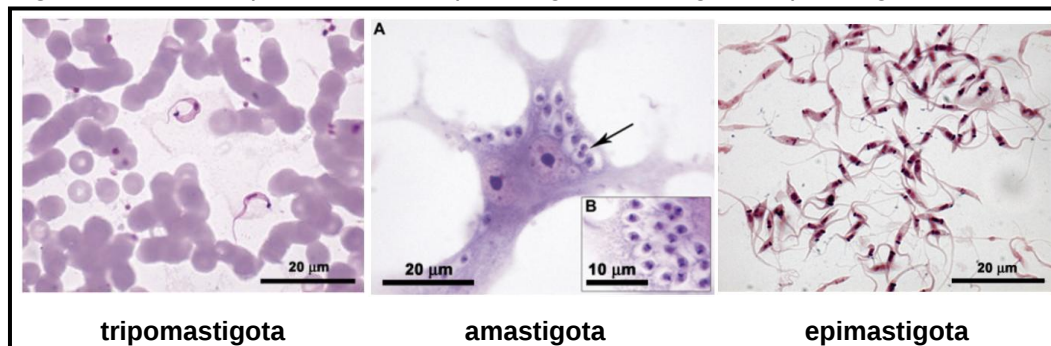


Fonte: Laporta et al., 2024.

O *T. cruzi* pode se diferenciar em três formas morfológicas clássicas, são elas: epimastigota, tripomastigota e amastigota (Figura 15). As epimastigotas são formas alongadas, flageladas, replicativas e não infectantes do protozoário que estão presentes no intestino médio do inseto vetor. De maneira análoga, as tripomastigotas são alongadas e flageladas, contudo não sem replicam e são altamente infectantes. Elas estão presentes na corrente sanguínea do hospedeiro, tal qual no intestino

posterior do inseto triatomíneo na configuração de tripomastigotas metacíclicas. Por fim, as amastigotas são formas arredondadas, intracelulares, replicantes e infectantes que estão presentes nas células do hospedeiro (Ferreira et al., 2024).

Figura 15: Microscopia das formas tripomastigota, amastigota e epimastigota do *T. cruzi*.

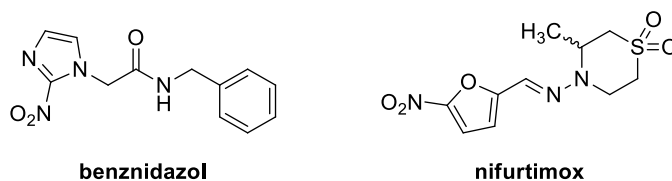


Disponível em: <https://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural/>. Acessado em: 28 de janeiro de 2025.

Na chamada fase aguda da DC, que perdura por até dois meses após a infecção, cerca de 10 a 30% dos infectados apresentam sintomas como dor abdominal, anorexia, febre, mal-estar, linfadenopatia, hipertrofia do fígado, rins e linfonodos, e edemas subcutâneos (Macaluso et al., 2023). A evolução da doença para a fase crônica pode ocorrer depois de meses ou anos após a infecção, acometendo principalmente os sistemas cardíaco e digestivo. Aproximadamente 20 a 40% dos portadores da DCC desenvolvem a chamada cardiomiopatia chagásica (CC) que conduz a danos cardíacos irreversíveis que podem culminar em óbito (Lu et al., 2022; Echavarría et al., 2021).

A farmacoterapia para o tratamento da DC consiste em dois principais antiparasitários desenvolvidos na década de 1960 (Figura 16): o benznidazol (Bz) e o nifurtimox (NF) (Crespillo-Andújar et al., 2022). No Brasil, o Bz é o único fármaco autorizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para tratamento da DC, em razão do perfil de maior segurança e eficácia ante ao NF, sendo produzido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) (Sangenito et al., 2022). Ainda assim, o NF pode ser disponibilizado pelo Ministério da Saúde como quimioterapia alternativa em casos de resistência ao Bz (Ministério da Saúde, 2024). Ambos os fármacos possuem alta eficácia na fase aguda da patologia, porém apresentam efeitos colaterais que induzem a descontinuidade do tratamento na fase crônica, assim como não podem reverter os problemas associados à CC (Jones et al., 2023).

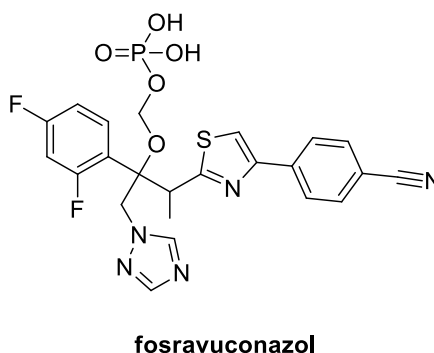
Figura 16: Representações estruturais dos antiparasitários disponíveis para a DC.



Fonte: próprio autor.

Um estudo duplo-cego chamado Benznidazol Novas Doses, Tratamento Otimizado e Associações Terapêuticas, do inglês *Benznidazole New Doses, Improved Treatment and Therapeutic Associations* (BENDITA), realizado na Bolívia entre 2016-2017 e publicado em 2021 por Torrico e colaboradores, em parceria com a organização de pesquisa sem fins lucrativos Iniciativa de Fármacos para Doenças Negligenciadas, do inglês *Drugs for Neglected Diseases initiative* (DNDi), avaliou diferentes regimes da monoterapia com Bz e da quimioterapia de Bz combinada com o antifúngico fosravuconazol (Figura 17) em pacientes acometidos pela DCC. Os dados mais relevantes obtidos pelo estudo foram organizados na tabela 1. De acordo com a tabela, o Bz é efetivo e seguro no tratamento da patologia, independente dos regimes de dose, tempo ou associação terapêutica com fosravuconazol, tendo em vista a eficácia na redução efetiva da parasitemia em 78 a 89% dos pacientes após 12 meses do final do tratamento e a baixa quantidade de eventos adversos graves (0-13%). Todavia, a monoterapia de 300 mg/dia de Bz pelo período de 2 semanas se mostrou a melhor, conduzindo ao fim da parasitemia em 79% dos pacientes, mesmo após 12 meses do final do tratamento, com um intervalo de tempo significativamente menor do que o regime padrão e não apresentando eventos adversos graves (Torrico et al., 2021).

Figura 17: Representação estrutural do antifúngico fosravuconazol.



Fonte: próprio autor.

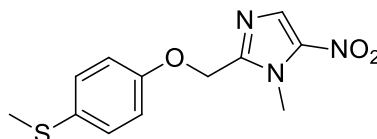
Tabela 1: Resultados dos diferentes regimes para o tratamento da DC.

Grupos	Bz 300 mg/dia por 8 semanas	Bz 300 mg/dia por 4 semanas	Bz 300 mg/dia por 2 semanas	Bz 150 mg/dia por 4 semanas	Bz 150 mg/dia por 4 semanas + fosravuconazol	Bz 300 mg/dia por 8 semanas + fosravuconazol	Placebo
Pacientes com redução de carga parasitária efetiva após 6 meses (%)	86	89	82	86	83	84	3
Pacientes com redução de carga parasitária efetiva após 12 meses (%)	78	89	79	83	83	84	3
Pacientes com efeitos adversos relacionados ao tratamento (%)	73	63	70	63	73	63	47
Pacientes com efeitos adversos graves (%)	7	0	0	0	7	13	0

Adaptado de: Torrico et al., 2021.

1.3. Pesquisa por potenciais fármacos para a Doença de Chagas

Buscando alternativas terapêuticas para o tratamento da DC, o fármaco fexinidazol (Figura 18), utilizado na quimioterapia da Doença do Sono, foi cogitado como um potencial agente anti-*T. cruzi*. Foram realizados testes *in vivo*, em camundongos, cujos resultados indicaram melhores taxas de cura do que a farmacoterapia usual, bem como uma redução na inflamação do miocárdio (Bahia et al., 2012).

Figura 18: Representação estrutural do antiparasitário fexinidazol.**fexinidazol**

Fonte: próprio autor.

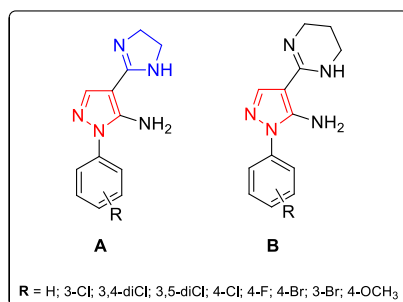
Baseado nos resultados observados em modelos animais, um estudo duplo-cego publicado em 2023 por Torrico e colaboradores, buscou determinar a eficácia do tratamento da DC com fexinidazol em humanos. Nessa pesquisa, foram aplicados diferentes regimes de dose e tempo na terapia com fexinidazol. Tal trabalho concluiu que o potencial fármaco foi eficaz na redução da parasitemia de forma dose-dependente com o regime de 1800 mg/dia, pelo período de duas semanas, alcançando 100% de redução da parasitemia mesmo após 12 meses do final do tratamento. Todavia, o fexinidazol não se mostrou seguro para os indivíduos testados

nas doses definidas pelo estudo com 32% dos pacientes apresentando algum tipo de efeito adverso grave, como neutropenia (Torrico et al., 2023).

Diante desse cenário, um novo estudo duplo-cego publicado em 2024 por Pinazo e colaboradores avaliou o efeito de menores doses e tempo de administração na monoterapia com fexinidazol, a fim de preencher a lacuna deixada pelo trabalho anterior. Tal estudo aplicou três regimes diferentes no tratamento da DC: 600 mg/dia por 10 dias; 1200 mg/dia por 3 dias; 600 mg/dia por 3 dias, seguido de 1200 mg/dia por 4 dias. Apesar dos resultados indicarem um perfil aceitável de segurança nos regimes estudados, o fexinidazol não se provou efetivo e apenas 14% dos pacientes não apresentaram remissão da carga parasitária (Pinazo et al., 2024).

Conforme já mencionado no item **1.1.4**, derivados pirazólicos apresentam amplo espectro de ação biológica, incluindo antiprotozoária. Nesse contexto, nosso grupo de pesquisa tem planejado e sintetizado diversos derivados pirazólicos para a avaliação da ação anti-*T. cruzi*. Os planejamentos têm sido feitos a partir de ferramentas clássicas da química medicinal, como por exemplo, hibridação molecular e bioisosterismo. A hibridação molecular consiste na junção de grupos farmacofóricos distintos em uma mesma molécula e, foi utilizando esta estratégia, que no trabalho publicado por Monteiro e colaboradores em 2019, foram sintetizados 9 híbridos pirazol-imidazolina **A** e 9 derivados pirazol-tetra-hidropirimidina **B** (Figura 19). Os compostos sintetizados passaram por testes de citotoxicidade e de atividade contra as formas tripomastigota e amastigota do protozoário *T. cruzi*. Nenhum derivado se mostrou citotóxico contra células Vero, com valores de concentração para redução de 50% da viabilidade celular (CC_{50}) maiores que 190 μ M. Os produtos **B** não apresentaram ação tripanocida com resultados de concentração inibitória média (IC_{50}) maiores que 100 μ M. Por outro lado, 2 derivados **A**, R= 3,4-diCl e R= 3,5-diCl, se mostraram promissores contra a forma tripomastigota exibindo valores de IC_{50} = 10,5 $\pm$ 1,1 e 9,5 $\pm$ 1,2 μ M, respectivamente, menores que do fármaco benznidazol (IC_{50} = 19,1 $\pm$ 3,3 μ M) utilizado como referência no estudo. Além disso, foram calculados os índices de seletividade (IS) desses derivados para a forma tripomastigota, obtendo-se valores de IS= 23,3 e 27,1, respectivamente (Monteiro et al., 2019).

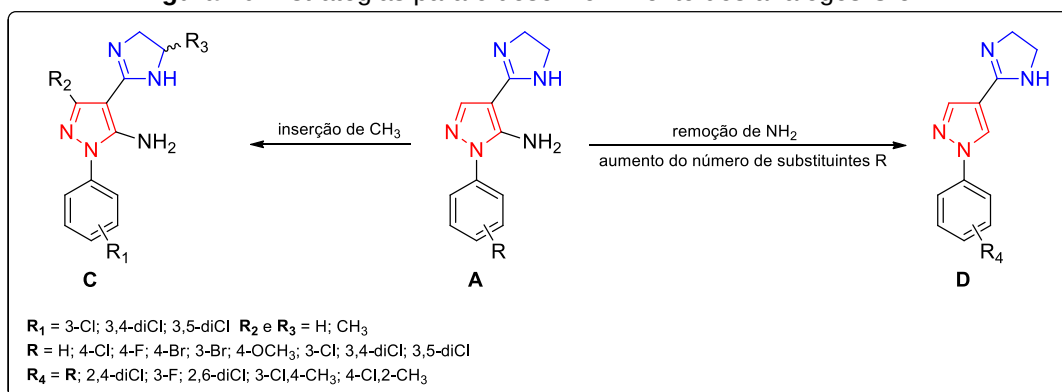
Figura 19: Representações estruturais dos híbridos pirazol-imidazolina **A** e pirazol-tetra-hidropirimidina **B**.



Adaptado de: Monteiro et al., 2019.

No trabalho seguinte, utilizou-se estratégias de desenvolvimento de análogos dos compostos *hit* **A** para a obtenção de 20 híbridos pirazol-imidazolina. Tais estratégias consistiram na inserção do grupo metil (CH_3) em alguns derivados **A** para a obtenção de 6 produtos **C** e na retirada do grupo amino (NH_2) do sistema **A** com o aumento do número de substituintes (R_4) no anel benzênico para a obtenção dos híbridos **D** (Figura 20). Todos os produtos foram submetidos à testes biológicos e nenhum se mostrou citotóxico contra células Vero ($\text{CC}_{50} > 160 \mu\text{M}$). Dentre os produtos testados, 3 derivados **D** apresentaram bons resultados de atividade contra as amastigotas intracelulares do *T. cruzi*, $R_4 = 4\text{-Cl}$, $R_4 = 4\text{-Br}$ e $R_4 = 3\text{-Cl}, 4\text{-CH}_3$, com $\text{IC}_{50} = 6,09 \pm 0,52$, $2,75 \pm 0,62$ e $3,58 \pm 0,25 \mu\text{M}$, respectivamente, valores menores do que Bz ($\text{IC}_{50} = 4,67 \pm 0,22 \mu\text{M}$) e IS = 45,52, 112,48 e 44,83 para a forma amastigota, respectivamente. Estes derivados mais promissores foram submetidos a testes de *washout* em células Vero infectadas com *T. cruzi*, a fim de avaliar a recrudescência da infecção. Neste teste, o produto **D** com $R_4 = 3\text{-Cl}, 4\text{-CH}_3$ na concentração de $50 \mu\text{M}$ mostrou o mesmo perfil de atividade que o Bz, mantendo o fim da parasitemia após o ensaio. Atualmente, tal derivado está em fase de testes *in vivo* (Orlando et al., 2021).

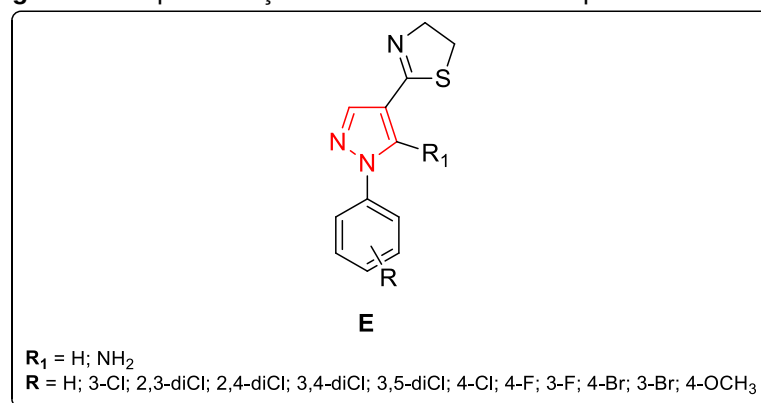
Figura 20: Estratégias para o desenvolvimento dos análogos **C** e **D**.



Adaptado de: Orlando et al., 2021.

No estudo publicado por Lara e colaboradores em 2022, foram sintetizados 24 híbridos pirazol-tiazolina **E** mantendo o sistema pirazólico substituído com o grupo aril dos trabalhos anteriores (Figura 21). Dentre todos os compostos, 11 derivados apresentaram boa atividade contra tripomastigotas do *T. cruzi* em testes realizados *in vitro*. Os valores obtidos de IC₅₀ para estes derivados foram menores do que o valor de Bz, contudo, parte deles não demonstraram um bom perfil de toxicidade e/ou não mostraram resultados de IC₅₀ melhores que o Bz contra amastigotas. Ainda assim, 3 derivados **E** sem o grupo amino, R= 2,4-diCl, R= 3,4-diCl e R= 4-Br, apresentaram boa atividade contra tripomastigotas com IC₅₀= 0,4 ± 0,02, 1,9 ± 0,4 e 2,1 ± 0,9 µM, respectivamente, valores menores do que Bz (IC₅₀= 19,6 ± 2,3 µM), bem como não mostraram citotoxicidade contra células Vero (CC₅₀ > 100 µM). O produto **E** com R= 2,4-diCl se mostrou o mais promissor por demonstrar boa atividade contra amastigotas apresentando um valor de IC₅₀= 1,4 ± 0,4 µM, menor do que Bz (IC₅₀= 3,3 ± 1,1 µM), assim como IS= 76,2 (Lara et al., 2022).

Figura 21: Representação estrutural dos híbridos pirazol-tiazolina **E**.



Adaptado de: Lara et al., 2022.

Diante do exposto, o núcleo pirazol se mostra extremamente versátil e pode ser explorado a fim de buscar novos fármacos com atividade anti-*T. cruzi* e/ou com atividade anti-inflamatória para o tratamento da DC e dos sintomas associados às formas mais graves da doença, como a CC.

2. Justificativa e Planejamentos Estruturais

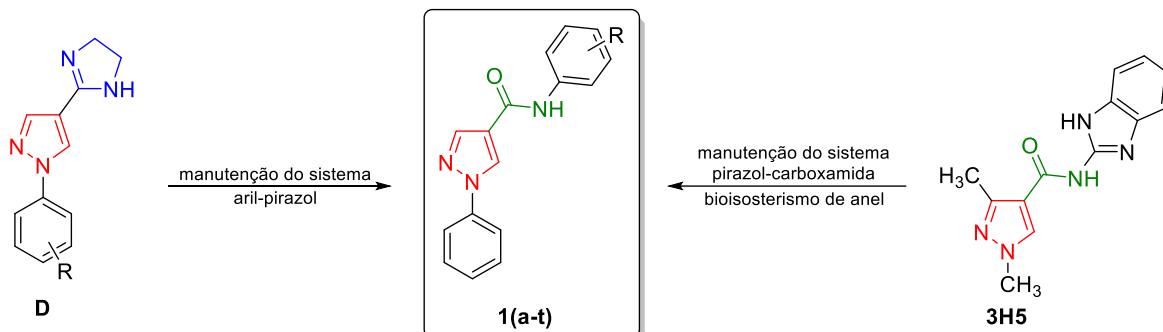
O presente trabalho busca investigar potenciais fármacos com ação anti-*T. cruzi*, visto que a farmacoterapia disponível para o tratamento da DC possui algumas limitações como mencionado no item **1.2**. Apesar do fexinidazol não demonstrar resultados promissores para o tratamento da DC em humanos, vide item **1.3**, é fato observável que o composto possui potencial atividade anti-*T. cruzi* e o planejamento de fármacos análogos pode implicar em alternativas terapêuticas viáveis a longo prazo. Ademais, heterociclos nitrogenados estão presentes em mais de 75% dos fármacos aprovados atualmente e, portanto, são uma classe de compostos com extrema importância para a química medicinal (Silva et al., 2024). Neste contexto, destaca-se o pirazol pela sua variedade de aplicações biológicas (item **1.1.4**), incluindo ações anti-inflamatórias e antiparasitárias, o que torna interessante para o desenvolvimento de novos quimioterápicos que possam ser empregados na fase crônica da DC.

Portanto, neste trabalho foram planejadas 2 séries de compostos, **1(a-t)** e **2(a-k)**, com base nos estudos do grupo de pesquisa (Esquemas 1 e 2). Os derivados **1(a-t)** foram elaborados por meio da manutenção do sistema aril-pirazol dos *hits D* publicados pelo grupo de pesquisa (Orlando et al., 2021) e da manutenção do sistema pirazol-carboxamida, aliado a um bioisosterismo de anel entre os aromáticos fenil e benzoimidazol, da estrutura *N*-(1*H*-benzimidazol-2-il)-1,3-dimetil-pirazol-4-carboxamida (**3H5**) (Esquema 1), apontado pelo Banco de Dados de Proteínas, do inglês *Protein Data Bank* (PDB) como um forte inibidor da cruzipaina (Tochowicz et al., 2014). Tais modificações nos *hits D* preservam a relação de grupos aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, assim como, mimetizam parte da estrutura de **3H5** para maior interação com sítios ativos de enzimas cruciais para a sobrevivência do *T. cruzi*, como a cruzipaina.

A estratégia aplicada no planejamento de **2(a-k)** consistiu na manutenção integral dos *hits D* combinando com o substituinte 4-(metiltio)fenoxi presente na estrutura do antiprotozoário fexinidazol (Esquema 2). Tal substituinte é importante por ser metabolizado em derivados de sulfona que irão participar ativamente do mecanismo de ação antiprotozoária do fármaco (Bahia et al., 2014). Além disso, a adição de um átomo de carbono como espaçador confere maior flexibilidade à

molécula, assim, permitindo interação com diferentes receptores biológicos do *T. cruzi*.

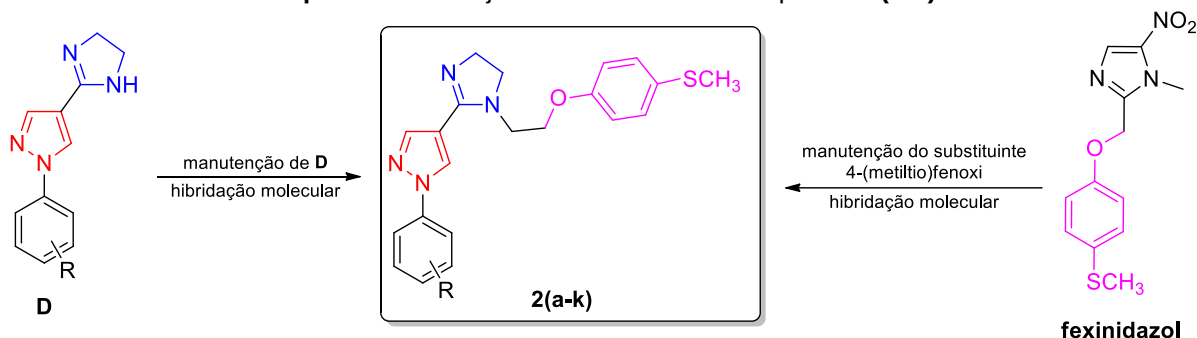
Esquema 1: Planejamento da série de compostos **1(a-t)**.



R = a: H; b: 3-Cl; c: 2,4-diCl; d: 3,5-diCl; e: 3,4-diCl; f: 4-Cl; g: 4-F; h: 3-F; i: 4-Br; j: 3-Br; k: 4-CH₃; l: 4-NO₂; m: 4-OCH₃; n: 2,3-diCl; o: 3-CH₃; p: 3-CF₃; q: 4-CF₃; r: 3,5-diCF₃; s: 2,5-diCl; t: 2,4,5-triCl.

Fonte: próprio autor.

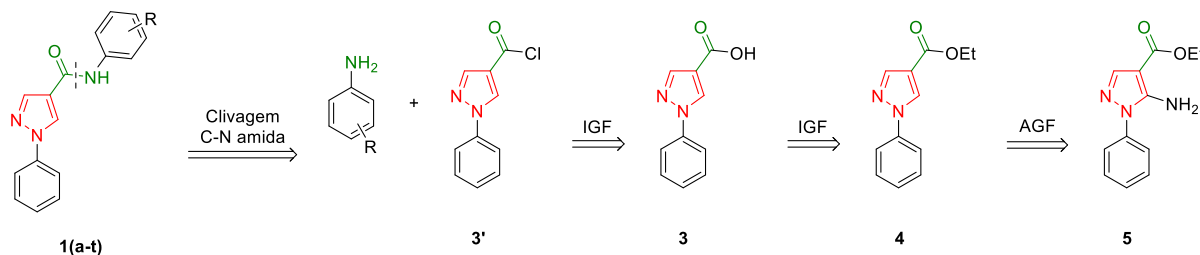
Esquema 2: Planejamento da série de compostos **2(a-k)**.



R = a: H; b: 3-Cl; c: 2,4-diCl; d: 3,5-diCl; e: 3,4-diCl; f: 4-Cl; g: 4-F; h: 3-F; i: 4-Br; j: 3-Br; k: 4-OCH₃.

Fonte: próprio autor.

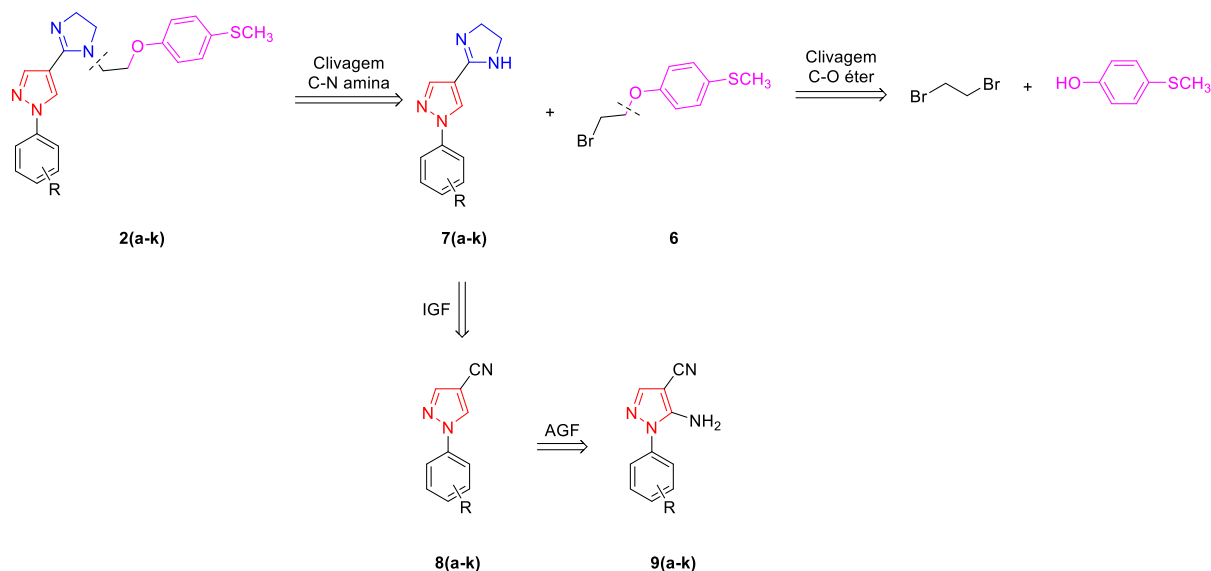
Conforme mostrado no esquema 3, foi realizada uma análise retrossintética das moléculas-alvo **1(a-t)**. Tal análise levou a quatro etapas. Inicialmente, a clivagem da ligação C-N da amida de **1(a-t)** gera a anilina substituída, adquirida comercialmente, e o derivado de cloreto de ácido **3'**. Em seguida, a interconversão de grupo funcional (IGF) de **3'** gera o derivado ácido carboxílico **3** que, a partir de outra IGF, origina o derivado éster **4**. Por fim, a adição de grupo funcional (AGF) à **4**, remonta à matéria-prima 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila **5**, sintetizada previamente pelo nosso grupo de pesquisa.

Esquema 3: Análise retrossintética dos derivados **1(a-t)**.

R = **a**: H; **b**: 3-Cl; **c**: 2,4-diCl; **d**: 3,5-diCl; **e**: 3,4-diCl; **f**: 4-Cl; **g**: 4-F; **h**: 3-F; **i**: 4-Br; **j**: 3-Br; **k**: 4-CH₃; **l**: 4-NO₂; **m**: 4-OCH₃; **n**: 2,3-diCl; **o**: 3-CH₃; **p**: 3-CF₃; **q**: 4-CF₃; **r**: 3,5-diCF₃; **s**: 2,5-diCl; **t**: 2,4,5-triCl.

Fonte: próprio autor.

A mesma abordagem foi adotada para as moléculas-alvo **2(a-k)**. Primeiramente, a clivagem da ligação C-N da amina de **2(a-k)** gera os intermediários-chave **7(a-k)** e **6**. Em seguida, a desconexão da ligação C-O do éter de **6** origina os reagentes comerciais 1,2-dibromoetano e 4-(metilmercapto)fenol, enquanto a IGF de **7(a-k)** gera os intermediários **8(a-k)**. Por fim, a AGF de **8(a-k)** remonta às matérias-primas 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **9(a-k)**, sintetizadas previamente pelo nosso grupo de pesquisa.

Esquema 4: Análise retrossintética dos derivados **2(a-k)**.

R = **a**: H; **b**: 3-Cl; **c**: 2,4-diCl; **d**: 3,5-diCl; **e**: 3,4-diCl; **f**: 4-Cl; **g**: 4-F; **h**: 3-F; **i**: 4-Br; **j**: 3-Br; **k**: 4-OCH₃.

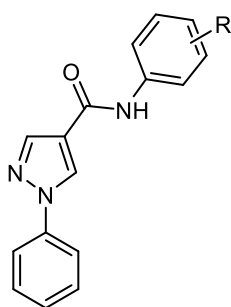
Fonte: próprio autor.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade anti-*T. cruzi* de 20 derivados *N*-aril-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **1(a-t)** (figura 22) e 11 produtos 4-(1-(2-(4-(metiltio)fenoxi)etil)-4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1-fenil-1*H*-pirazóis **2(a-k)** (figura 23).

Figura 22: Representação estrutural dos derivados **1(a-t)**.

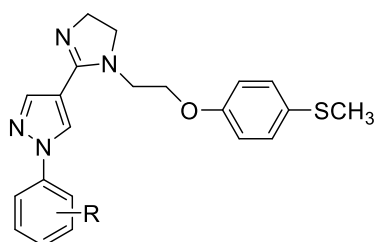


1(a-t)

R = a: H; **b:** 3-Cl; **c:** 2,4-diCl; **d:** 3,5-diCl; **e:** 3,4-diCl; **f:** 4-Cl; **g:** 4-F; **h:** 3-F; **i:** 4-Br; **j:** 3-Br; **k:** 4-CH₃; **l:** 4-NO₂; **m:** 4-OCH₃; **n:** 2,3-diCl; **o:** 3-CH₃; **p:** 3-CF₃; **q:** 4-CF₃; **r:** 3,5-diCF₃; **s:** 2,5-diCl; **t:** 2,4,5-triCl.

Fonte: próprio autor.

Figura 23: Representação estrutural dos produtos **2(a-k)**.



2(a-k)

R = a: H; **b:** 3-Cl; **c:** 2,4-diCl; **d:** 3,5-diCl; **e:** 3,4-diCl; **f:** 4-Cl; **g:** 4-F; **h:** 3-F; **i:** 4-Br; **j:** 3-Br; **k:** 4-OCH₃.

Fonte: próprio autor.

3.2. Objetivos específicos

Caracterizar os produtos finais **1(a-t)** e **2(a-k)** por Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR), Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e ponto de fusão (PF).

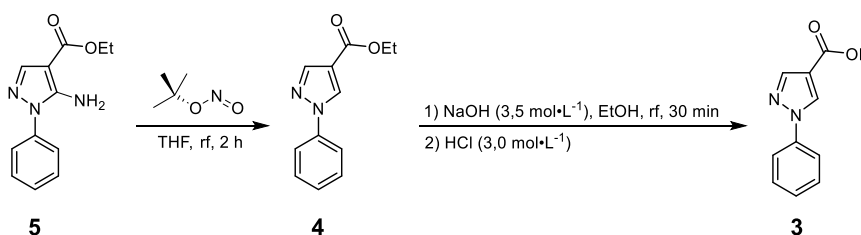
4. Metodologias

4.1. Rota sintética dos derivados *N*-aril-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **1(a-t)**

A rota sintética utilizada para a obtenção dos produtos planejados *N*-aril-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **1(a-t)** foi dividida em duas partes. Primeiramente, o reagente 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila **5** foi submetido a uma reação de desaminação aprótica, utilizando nitrito de *t*-butila e tetra-hidrofurano (THF), gerando o intermediário 1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila **4**. Em seguida, o intermediário **4** sofreu uma reação de hidrólise em meio básico, empregando hidróxido de sódio (NaOH) e etanol (EtOH) e, logo após, o meio foi neutralizado com ácido clorídrico (HCl) gerando o composto 1-fenil-1*H*-pirazol-4-ácido carboxílico **3** (Esquema 5).

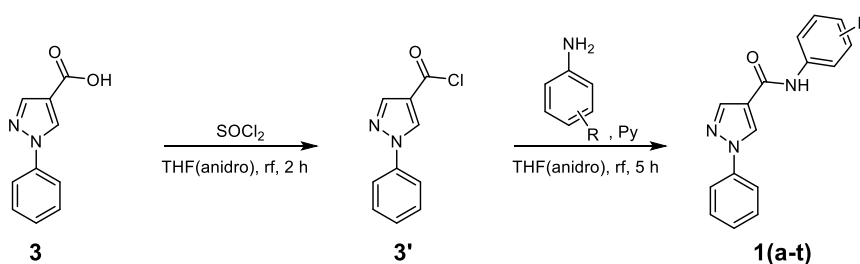
Na segunda parte, primeiramente ocorreu uma reação de substituição nucleofílica acíclica, na qual o derivado ácido carboxílico **3** reagiu com cloreto de tionila (SOCl₂), em THF anidro, produzindo 1-fenil-1*H*-pirazol-4-cloreto de carbonila **3'**. Subsequentemente, o derivado **3'** foi convertido a **1(a-t)**, novamente por meio de uma reação de substituição nucleofílica acíclica, usando anilinas substituídas como reagentes, piridina como catalisador e THF anidro como solvente (Esquema 6).

Esquema 5: Rota sintética para a obtenção do intermediário **3**.



Fonte: próprio autor.

Esquema 6: Rota sintética para a obtenção dos produtos finais **1(a-t)**.



R = a: H; b: 3-Cl; c: 2,4-diCl; d: 3,5-diCl; e: 3,4-diCl; f: 4-Cl; g: 4-F; h: 3-F; i: 4-Br; j: 3-Br; k: 4-CH₃; l: 4-NO₂; m: 4-OCH₃; n: 2,3-diCl; o: 3-CH₃; p: 3-CF₃; q: 4-CF₃; r: 3,5-diCF₃; s: 2,5-diCl; t: 2,4,5-triCl.

Fonte: próprio autor.

4.1.1. Síntese do intermediário 4

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se 7,5 mL de nitrito de *t*-butila e 20 mL de THF. Subsequentemente, preparou-se um sistema de refluxo, adaptando ao balão um condensador de Allihn, e a mistura reacional foi colocada sob aquecimento e agitação com barra magnética até atingir o refluxo (66 °C no banho de aquecimento). Após 30 minutos de refluxo foram adicionados 2,6477 g (11,45 mmol) do reagente 5-amino-1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila e a reação permaneceu em refluxo por mais 2 h (Ferreira et al., 2021). Concentrou-se a solução resultante em rotaevaporador, sob pressão reduzida e aquecimento. Em seguida, solubilizou-se o concentrado do balão em 10 mL de etanol e verteu-se em um bquer de 250 mL contendo cerca de 120 mL de água destilada e gelo, sob agitação vigorosa com um bastão de vidro, observando a formação de precipitado. O sólido obtido foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada gelada. Finalmente, o produto foi deixado no dessecador. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando sílica gel como fase estacionária e diclorometano (DCM) como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

4.1.2. Síntese do intermediário 3

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se 3,1311 g (14,48 mmol) de 1-fenil-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etila e 30 mL de etanol. Sequencialmente, foi colocado no balão um condensador de refluxo tipo Allihn e a mistura reacional foi submetida ao aquecimento e agitação com uma barra magnética. Após alcançada a temperatura de 80 °C no banho de aquecimento, acrescentou-se 17 mL de uma solução de NaOH $3,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (0,06 mol de NaOH) e manteve-se a reação por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se uma solução de HCl $3,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ até pH aproximadamente 6, observando a formação de um precipitado branco (Silva et al., 2024). O sólido foi filtrado sob vácuo e lavado com água destilada gelada. Por fim, o produto foi reservado no dessecador. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando sílica gel como fase estacionária e uma mistura de heptano/acetato de etila (3:7) como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$).

4.1.3. Síntese dos produtos finais 1(a-t)

Em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 0,1500 g (0,80 mmol) de 1-fenil-1*H*-pirazol-4-ácido carboxílico **3**, seguido de aproximadamente 2,5 mL de THF anidro e 0,2 mL (2,74 mmol) de cloreto de tionila (SOCl_2). Em seguida, acoplou-

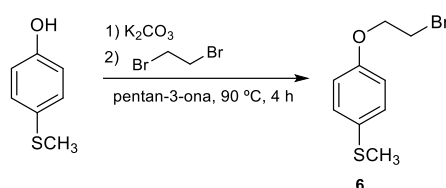
se ao balão um sistema integrado por um condensador de refluxo e uma junta de redução 14/20 contendo algodão e cloreto de cálcio anidro (CaCl_2) no topo do condensador. A mistura reacional foi então colocada sob aquecimento e agitação com barra magnética e, após atingir a temperatura de refluxo ($66\text{ }^\circ\text{C}$ no banho de aquecimento), foi mantida por 2 h (Silva et al., 2024). Ao final do tempo, concentrou-se o conteúdo do balão em rotaevaporador sob pressão reduzida e aquecimento. Devido à instabilidade do cloreto de ácido **3'**, decidiu-se prosseguir para a outra etapa de síntese sem a caracterização deste composto. Nesta outra etapa, foram adicionados cerca de 3,0 mL de THF anidro ao balão contendo o intermediário **3'**, seguido de 1,27 mmol da anilina substituída com os respectivos grupos da figura 22 e 0,1 mL de piridina. Sequencialmente, acoplou-se o sistema de refluxo descrito na primeira parte da síntese. A reação foi levada novamente ao aquecimento e agitação com barra magnética, na qual foi mantida pelo período de 5 h em refluxo (Cascioferro et al., 2016). Verteu-se a solução resultante, sob agitação vigorosa com um bastão de vidro, em um béquer de 50 mL com aproximadamente 20 mL de água destilada e gelo para a precipitação dos produtos **1(a-t)**. O precipitado foi filtrado sob vácuo e lavado com água destilada gelada. Por fim, o sólido obtido foi reservado no dessecador. Algumas reações foram acompanhadas por CCD, utilizando sílica gel ou alumina como fase estacionária e uma mistura de heptano/acetato de etila (3:2) como fase móvel. A revelação das placas de CCD foram realizadas na câmara UV ($\lambda = 254\text{ nm}$). Os derivados **1c**, **1d**, **1i**, **1(k-t)** foram recristalizados utilizando uma mistura de água/etanol. Os demais produtos **1a**, **1b**, **1e**, **1f**, **1g**, **1h**, **1j** não precisaram passar por esse processo de purificação.

4.2. Rota sintética dos híbridos 4-(1-(2-(4-(metiltio)fenoxi)etil)-4,5-di-hidro-1H-imidazol-2-il)-1-fenil-1H-pirazol 2(a-k)

A rota sintética utilizada para a obtenção dos híbridos planejados 4-(1-(2-(4-(metiltio)fenoxi)etil)-4,5-di-hidro-1H-imidazol-2-il)-1-fenil-1H-pirazóis **2(a-k)** foi dividida em duas partes. A primeira consistiu em uma reação ácido-base seguida de uma substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$), na qual o derivado 4-(metilmercapto)fenol reagiu com carbonato de potássio (K_2CO_3) e 1,2-dibromoetano, em pentan-3-ona como solvente, produzindo o intermediário 4-(metiltio)fenoxi-1-(2-bromoetano) **6** (Esquema 7).

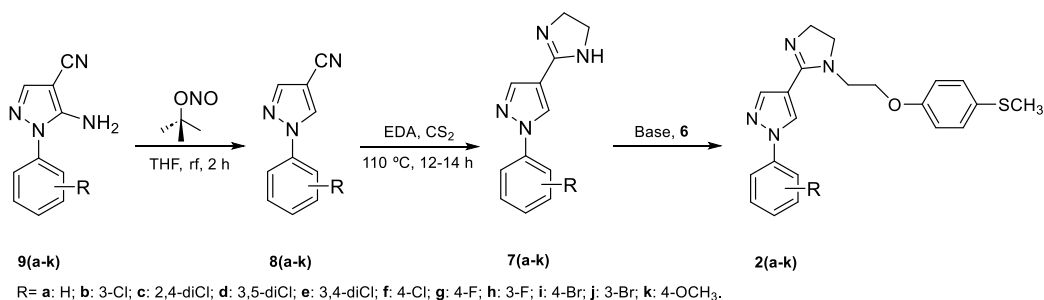
Na segunda parte (Esquema 8), inicialmente ocorreu uma reação de desaminação aprótica entre 5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **9(a-k)**, nitrito de *t*-butila e THF, para a formação de 1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **8(a-k)**. Em seguida, o intermediário **8(a-k)** foi submetido a uma reação de ciclocondensação com etilenodiamina (EDA) e dissulfeto de carbono (CS₂), gerando 1-*aryl*-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazóis **7(a-k)**. Por fim, os compostos **7(a-k)** seriam convertidos aos produtos finais **2(a-k)**, a partir de uma reação ácido-base acompanhado de uma S_N2, utilizando uma base e o intermediário **6**.

Esquema 7: Reação para a obtenção do intermediário **6**.



Fonte: próprio autor.

Esquema 8: Rota sintética para a obtenção de **2(a-k)**.



Fonte: próprio autor.

4.2.1. Síntese do intermediário **6**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, adicionou-se 1,0000 g (6,99 mmol) de 4-(metilmercapto)fenol 98% e 5,0 mL de pentan-3-ona. Em sequência, foi adicionado 1,1593 g (8,39 mmol) de K₂CO₃ ao balão e, após acoplado um condensador de refluxo tipo Allihn, a mistura reacional foi submetida ao aquecimento e agitação com uma barra magnética. Posteriormente, acrescentou-se aproximadamente 0,5 mL de água destilada para a completa solubilização de K₂CO₃. Logo após o sistema atingir a temperatura de 90 °C no banho de aquecimento, adicionou-se 2,4 mL (27,96 mmol) de 1,2-dibromoetano e a reação foi mantida por 4 h (Holson et al., 2016). Ao final desse período, foi separado o excesso de K₂CO₃ observado no fundo do balão, por decantação, e a solução obtida foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida e aquecimento. Por fim, purificou-se o

concentrado por cromatografia em coluna, para tal foi utilizada uma coluna cromatográfica de 30 x 300mm empacotada com cerca de 50 mL de uma mistura de sílica gel (230-400 mesh) e heptano, até atingir 15 cm de altura na coluna. Durante o procedimento foram empregados 160 mL de DCM como fase móvel e as frações coletadas foram concentradas em rotaevaporador sob aquecimento e pressão reduzida. As frações 6-19 foram correspondentes ao produto desejado. A reação e o procedimento de purificação foram acompanhados por CCD, utilizando sílica em gel como fase estacionária e DCM como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254$ nm).

4.2.2. Síntese dos intermediários 8(a-k)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se 11,8 mL de nitrito de *t*-butila e 30 mL de THF. Subsequentemente, preparou-se um sistema de refluxo, adaptando ao balão um condensador de Allihn, e a mistura reacional foi colocada sob aquecimento e agitação com barra magnética até atingir o refluxo (66 °C no banho de aquecimento). Após 30 minutos de refluxo foi adicionado 16,89 mmol do reagente 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carbonitrila **9(a-k)** e a reação permaneceu em refluxo por mais 2 h (Ferreira et al., 2021). Concentrou-se a solução resultante em rotaevaporador, sob pressão reduzida e aquecimento. Em seguida, solubilizou-se o concentrado do balão em 15 mL de etanol e verteu-se em um bquer de 600 mL contendo cerca de 400 mL de água destilada e gelo, sob agitação vigorosa com um bastão de vidro, observando a formação de um precipitado. O sólido obtido foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada gelada. Finalmente, o produto foi deixado no dessecador. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando sílica gel como fase estacionária e DCM como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254$ nm).

4.2.3. Síntese dos intermediários 7(a-k)

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, adicionou-se 16,20 mmol de **8(a-k)** e 30 mL de EDA. Em seguida, acoplou-se ao balão um condensador de refluxo tipo Allihn, e a mistura reacional foi colocada sob agitação com barra magnética. Subsequentemente, foram adicionados 4,1 mL (68,17 mmol) de CS₂ e iniciou-se o aquecimento do banho até a temperatura de 110 °C, na qual a reação foi mantida pelo período de 12-14 h (Dos Santos et al., 2011). Após esse tempo, verteu-se o conteúdo do balão em um bquer de 500 mL contendo cerca de 300 mL de água destilada e

gelo, sob agitação vigorosa com um bastão de vidro, verificando a formação de precipitado. O sólido obtido foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada gelada. Finalmente, o produto foi deixado no dessecador. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando sílica gel como fase estacionária e DCM como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254$ nm).

4.2.4. Tentativa de síntese dos compostos 2(a-k)

A metodologia para a síntese de **2(a-k)** foi fundamentada no trabalho publicado por Yamaguchi e colaboradores em 1993, no qual foram realizadas reações de alquilação em ftalazinonas, empregando DMF como solvente e K_2CO_3 como base (Yamaguchi et al., 1993). Foram realizadas algumas tentativas de síntese alterando as condições reacionais, conforme será discutido na seção **5.8**.

Em um balão de fundo redondo de 10 mL, adicionou-se 0,0663 g (0,27 mmol) de **6**, 0,27 mmol de **7(a-k)** e 0,0371 g (0,27 mmol) de K_2CO_3 . Subsequentemente, foram adicionados 4,00 mL do solvente DMF e o balão foi acoplado a um condensador de refluxo tipo Allihn. Posteriormente, a mistura reacional foi colocada sob agitação com barra magnética e aquecimento até a temperatura de 100 °C, na qual a reação foi mantida por 30 horas (Yamaguchi et al., 1993). Por fim, concentrou-se a solução resultante em rotaevaporador. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando sílica gel como fase estacionária e DCM como fase móvel. As placas de CCD foram reveladas na câmara UV ($\lambda = 254$ nm).

4.3. Caracterização das substâncias

4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros na região do infravermelho foram adquiridos no equipamento modelo Spectrum 100 PerkinElmer, utilizando a técnica ATR com diamante-ZnSe, 16 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} , no Laboratório de Espectroscopia J2204 do prédio J2 (Biomateriais), no Instituto de Física e Química (IFQ) da UNIFEI.

4.3.2. Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS)

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas Q-TOF da marca Micromass/Waters de alta resolução, com ionização por eletrospray (ESI), na Central Analítica da Fiocruz-RJ.

4.3.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

As análises de RMN, tanto de ^1H quanto ^{13}C , foram realizadas na Central Analítica da FIOCRUZ-RJ, sendo utilizados os instrumentos BRUKER Avance III HD 400 MHz e BRUKER Avance Neo 500 MHz, ambos com criossonda de N_2 líquido. O solvente usado foi dimetilsulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO-}d_6$) e como padrão interno tetrametilsilano ($\text{TMS} - \text{Si}(\text{CH}_3)_4$).

4.3.4. Ponto de fusão (PF)

As caracterizações por ponto de fusão foram realizadas no equipamento Allerbest com termômetro analógico, em duplicata, no Laboratório de Síntese de Sistemas Heterocíclicos (LaSSH) da UNIFEI.

4.4. Ensaios biológicos *in vitro*

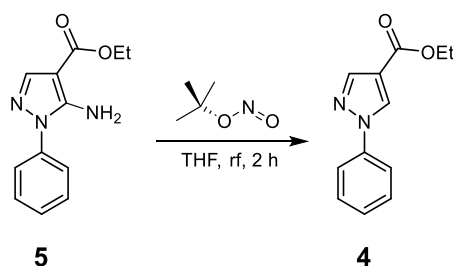
As análises de IC_{50} frente às formas tripomastigota e amastigota do protozoário *T. cruzi*, assim como os ensaios de CC_{50} foram realizados em colaboração com o Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) da Fiocruz no Rio de Janeiro, sob coordenação da Dra. Mirian Claudia de Souza Pereira.

5. Resultados e Discussão

5.1. Síntese do intermediário 4

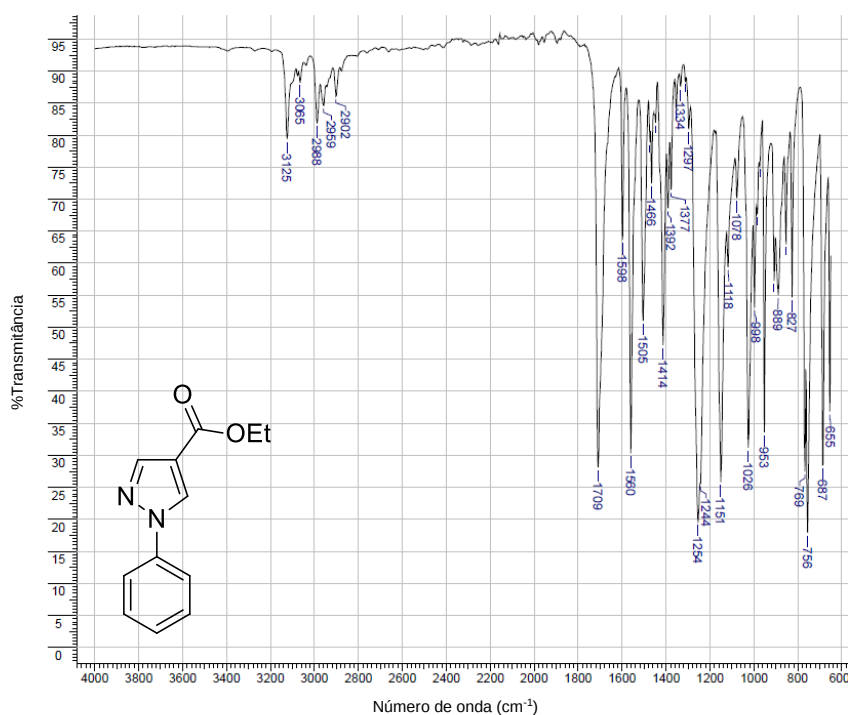
O intermediário **4** foi isolado com rendimento de 60% e obtido conforme a metodologia descrita no item **4.1.1** (Esquema 9). O produto apresentou coloração amarela. Foi feita a caracterização por FT-IR e o espectro pode ser visualizado na figura 24. No espectro é observada uma banda em 1709 cm^{-1} relativa ao estiramento da carbonila do éster e outras duas bandas, em 1254 e 1151 cm^{-1} , referentes aos estiramentos das ligações C-CO-O e O-C-C, respectivamente. Não foram identificadas bandas relacionadas ao grupo amino (NH_2), indicando que a reação de desaminação ocorreu conforme o planejado. As principais bandas com os respectivos movimentos vibracionais e os números de onda estão organizados na tabela 2.

Esquema 9: Reação para a obtenção de **4**.



Fonte: próprio autor.

Figura 24: Espectro FT-IR do intermediário **4**.



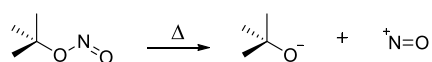
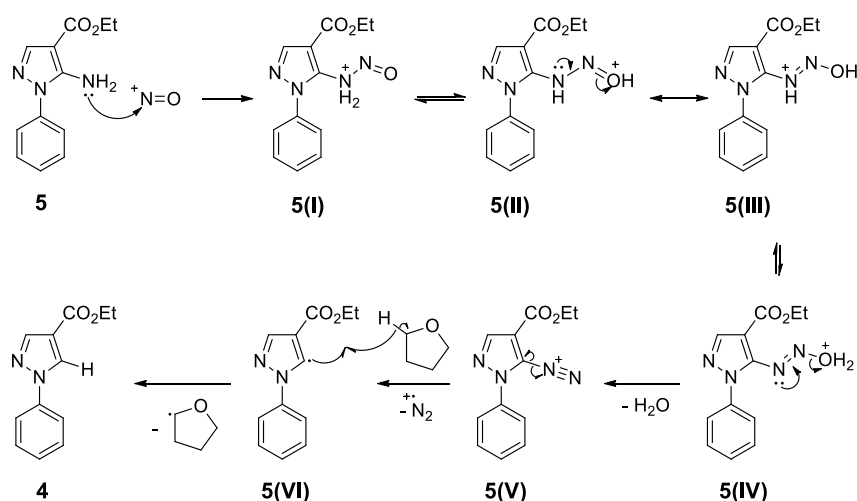
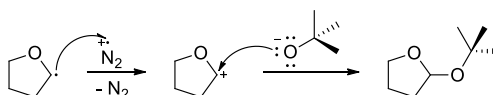
Fonte: próprio autor.

Tabela 2: Dados de FT-IR do intermediário **4**.

Ligação Química	Movimento vibracional	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
C _{sp2} -H	ν	3125-3065
C _{sp3} -H	ν_{as} e ν_s	2988-2902
C=O (éster)	ν	1709
C=C/C=N (aromático)	ν	1598-1466
C-CO-O (éster)	ν	1254
O-C-C (éster)	ν	1151
C _{sp2} -H	γ	756 e 687

Fonte: próprio autor.

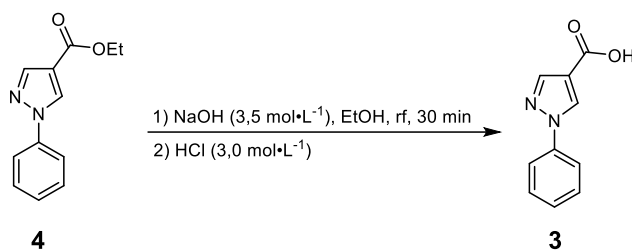
O mecanismo de reação para a síntese de **4** está exposto no esquema 10 e se baseia em trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa (Pereira, 2017). Inicialmente, o nitrito de *t*-butila sob aquecimento passa por uma clivagem heterolítica e libera o íon nitrosônio. No início da desaminação aprótica, o par de elétrons não ligante do grupo amino (NH₂) do reagente **5** adiciona o nitrosônio, gerando o intermediário **5(I)**. Sequencialmente, ocorre um tautomerismo prototrópico passando para **5(II)** que por ressonância gera **5(III)**. Subsequentemente, acontece um novo tautomerismo que forma **5(IV)** e segue com a eliminação de uma molécula de água, formando o sal de diazônio **5(V)**. O mecanismo sucede com a saída de um cátion radical N₂⁺ e a formação de um radical na molécula representado por **5(VI)**. Posteriormente, acontece uma reação radicalar entre um hidrogênio oriundo do THF e o radical **5(VI)**, gerando o produto desaminado **4**. Na fase terminal da cadeia de reação radicalar, N₂⁺ e o radical do THF reagem entre si, formando nitrogênio molecular e THF catiônico. Finalmente, ocorre uma adição nucleofílica de 2-metilpropan-2-olato, outro produto da heterólise do nitrito de *t*-butila, ao cátion do THF, originando 2-(*t*-butoxi)tetra-hidrofurano.

Esquema 10: Proposta mecanística para a obtenção do intermediário 4.**Clivagem heterolítica do nitrito de *t*-butila****Desaminação aprótica****Reação de terminação**

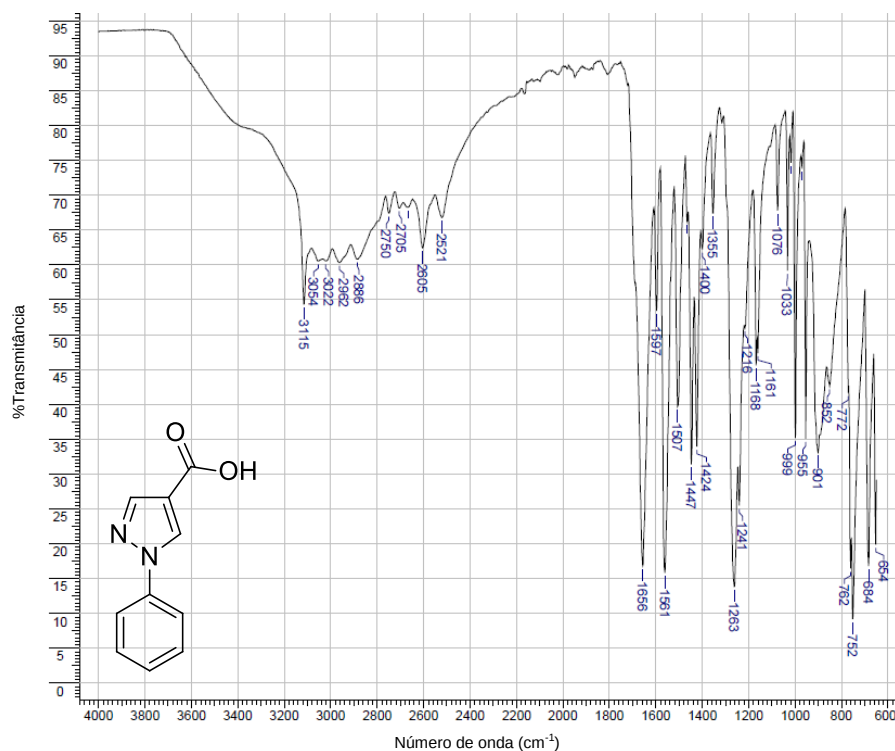
Fonte: próprio autor.

5.2. Síntese do intermediário 3

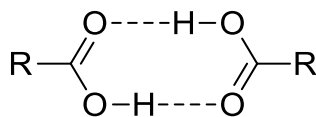
O intermediário **3** foi isolado com 90% de rendimento e obtido conforme a metodologia descrita no item **4.1.2** (Esquema 11). O produto apresentou coloração branca acinzentada. Foi feita a caracterização por FT-IR e o espectro pode ser visualizado na figura 25. No espectro pode-se observar uma banda serrilhada na região de 3115-2521 cm^{-1} que foi atribuída ao estiramento da hidroxila do ácido carboxílico, influenciada pela formação de dímeros do ácido a partir de interações intermoleculares do tipo ligação de hidrogênio (Figura 26) (Pavia et al., 2015). Além disso, observa-se duas bandas, em 1656 e 1263 cm^{-1} , relativas ao estiramento da carbonila e da ligação C-O, respectivamente. Não foram evidenciadas bandas relacionadas ao grupo éster, demonstrando que a reação de hidrólise foi bem-sucedida. As principais bandas com os respectivos movimentos vibracionais e os números de onda estão organizados na tabela 3.

Esquema 11: Reação para a obtenção de **3**.

Fonte: próprio autor.

Figura 25: Espectro FT-IR do intermediário **3**.

Fonte: próprio autor.

Figura 26: Representação estrutural do dímero do ácido carboxílico.

Fonte: próprio autor.

Tabela 3: Dados de FT-IR do intermediário **3**.

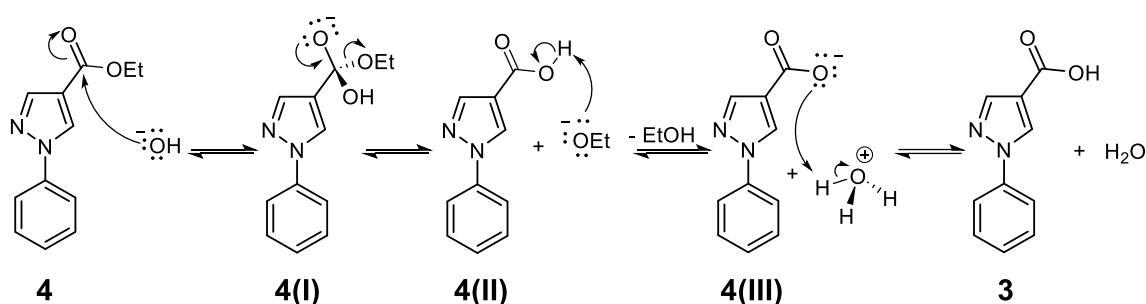
Ligação Química	Movimento vibracional	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
O-H (ácido carboxílico) *	v	3115-2521
C=O (ácido carboxílico)	v	1656
C=C/C=N (aromático)	v	1597-1447
C-O (ácido carboxílico)	v	1263
C _{sp2} -H	γ	752 e 684

* OH associado de dímeros do ácido carboxílico.

Fonte: próprio autor.

O mecanismo da reação para a obtenção do intermediário **3** é apresentado no esquema 12. Primeiramente, ocorre a adição nucleofílica da hidroxila ao carbono carbonílico do reagente **4**, gerando um intermediário tetraédrico **4(I)**. Em seguida, tem-se a saída de etóxido com a formação de **4(II)**. Logo após, o etóxido abstrai o hidrogênio, produzindo um carboxilato **4(III)**. Finalmente, ocorre uma reação ácido-base gerando o produto desejado **3** (Solomons et al., 2024).

Esquema 12: Mecanismo para a obtenção do intermediário **3**.

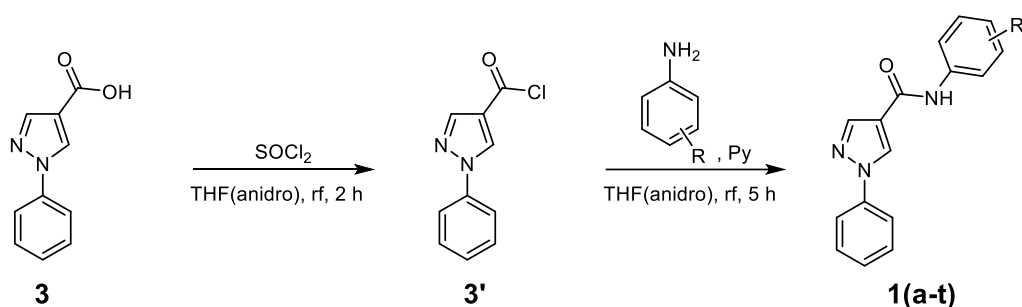


Fonte: próprio autor.

5.3. Síntese dos produtos finais **1(a-t)**

Os produtos finais **1(a-t)** foram obtidos conforme a metodologia descrita no item **4.1.3** (Esquema 13). Todos os 20 compostos foram caracterizados por PF, cujos valores das faixas de fusão, assim como os rendimentos das reações (27 a 98%) e as respectivas colorações estão contidos na tabela 4. Todos os 20 derivados são inéditos, exceto **1a**. Todavia, nas referências consultadas não há valores de faixas de fusão para que seja feita uma comparação.

Esquema 13: Reações para a obtenção de **1(a-t)**.



R = a: H; b: 3-Cl; c: 2,4-diCl; d: 3,5-diCl; e: 3,4-diCl; f: 4-Cl; g: 4-F; h: 3-F; i: 4-Br; j: 3-Br; k: 4-CH₃; l: 4-NO₂; m: 4-OCH₃; n: 2,3-diCl; o: 3-CH₃; p: 3-CF₃; q: 4-CF₃; r: 3,5-diCF₃; s: 2,5-diCl; t: 2,4,5-triCl.

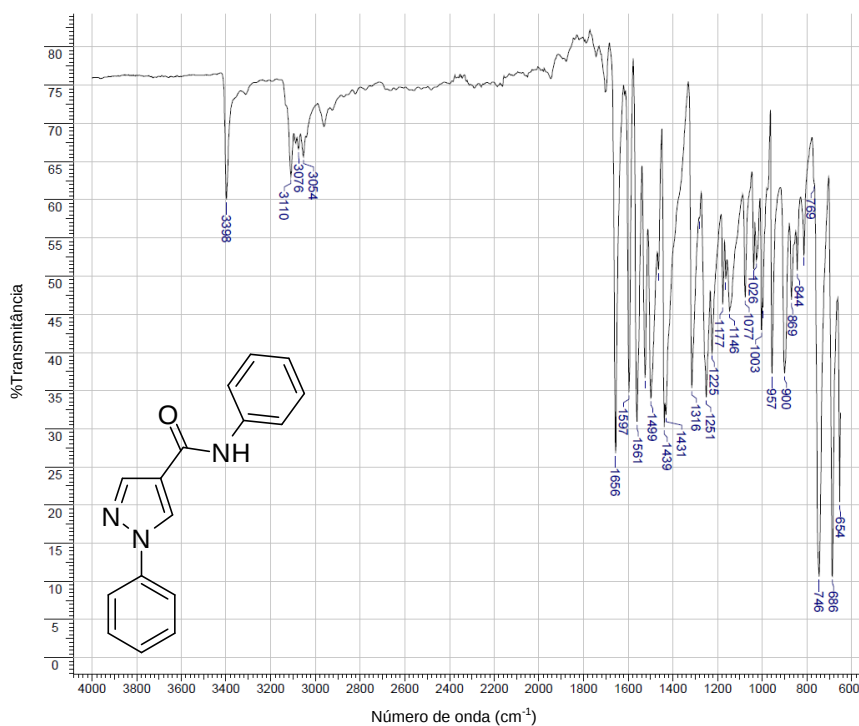
Fonte: próprio autor.

Tabela 4: Rendimentos e características macroscópicas de **1(a-t)**.

Composto	Coloração	Rendimento (%)	PF Experimental (°C)
1a H	Bege	83	251-255
1b 3-Cl	Bege	82	205-208
1c 2,4-diCl	Bege	57	195-198
1d 3,5-diCl	Castanho	70	220-225
1e 3,4-diCl	Castanho	98	211-214
1f 4-Cl	Bege	72	284-287
1g 4-F	Cinza	85	260-270
1h 3-F	Bege	79	210-212
1i 4-Br	Castanho	45	290-293
1j 3-Br	Bege	79	208-212
1k 4-CH ₃	Castanho	61	235-238
1l 4-NO ₂	Bege	62	305-308
1m 4-OCH ₃	Cinza	56	230-233
1n 2,3-diCl	Bege	58	215-218
1o 3-CH ₃	Castanho	64	193-195
1p 3-CF ₃	Bege	82	180-182
1q 4-CF ₃	Bege	27	232-240
1r 3,5-diCF ₃	Crema	29	217-218
1s 2,5-diCl	Crema	64	209-211
1t 2,4,5-triCl	Bege	87	220-223

Fonte: próprio autor.

Os produtos foram analisados por FT-IR. Todos os espectros estão no anexo A (espectros 01 a 20) e os principais dados constam na tabela 5. A fim de exemplificação o espectro de **1a** é apresentado na figura 27. A banda em 3398 cm⁻¹ é relativa ao estiramento da ligação N-H da amida secundária, enquanto em 1656 cm⁻¹ é referente ao estiramento da carbonila. Outras bandas relevantes são: 3110-3054 cm⁻¹ e 1597-1439 cm⁻¹, relativas aos estiramentos das ligações C_{sp2}-H e C=C/C=N, respectivamente. A presença das bandas mencionadas confirma a ocorrência da reação.

Figura 27: Espectro FT-IR do produto **1a**.

Fonte: próprio autor.

Tabela 5: Dados de FT-IR dos derivados **1(a-t)**. *

Ligação Química	N-H	C _{sp2} -H	C=O	C=C/C=N (aromático)
Movimento vibracional	v	v	v	v
1a H	3398	3110-3054	1656	1597-1439
1b 3-Cl	3382	3116-3067	1645	1591-1482
1c 2,4-diCl	3418	3162-3069	1694	1638-1465
1d 3,5-diCl	3327	3110-3082	1651	1587-1467
1e 3,4-diCl	3393	3133-3053	1624	1624-1476
1f 4-Cl	3397	3106-3080	1655	1593-1464
1g 4-F	3401	3112-3076	1655	1612-1466
1h 3-F	3402	3111-3074	1660	1597-1490
1i 4-Br	3396	3106-3079	1655	1655-1464
1j 3-Br	3393	3115-3066	1644	1586-1478
1k 4-CH ₃	3397	3109-3033	1654	1654-1465
1l 4-NO ₂	3398	3109-3076	1665	1612-1466
1m 4-OCH ₃	3396	3110-3016	1652	1650-1464
1n 2,3-diCl	3387	3110-3081	1664	1599-1466
1o 3-CH ₃	3395	3156-3077	1668	1598-1488
1p 3-CF ₃	3416	3157-3082	1627	1627-1466
1q 4-CF ₃	3398	3114-3081	1659	1659-1468
1r 3,5-diCF ₃	3331	3124-3081	1650	1628-1471
1s 2,5-diCl	3407	3124-3073	1692	1668-1459
1t 2,4,5-triCl	3418	3119-3057	1695	1650-1466

* Números de onda ($\bar{\nu}$) expressos em cm⁻¹.

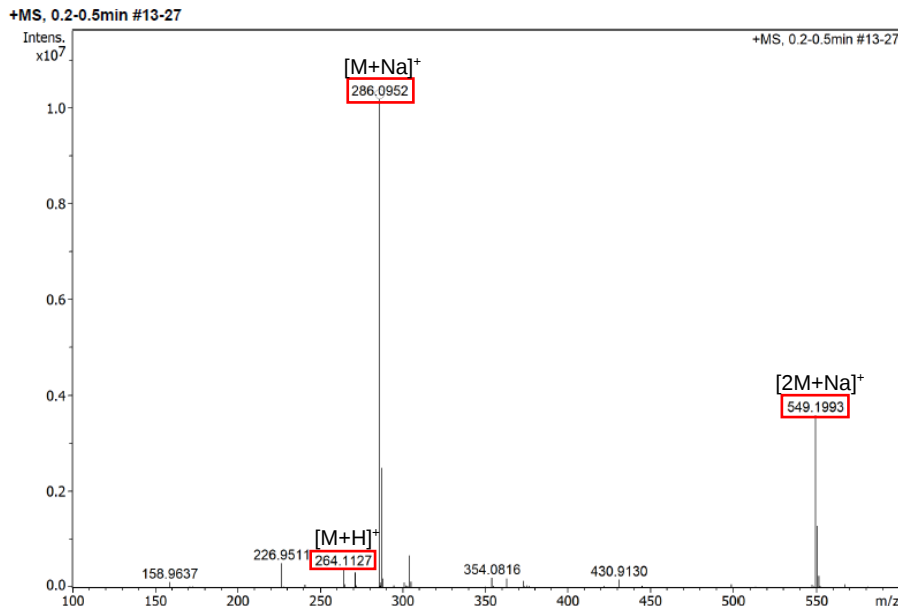
Fonte: próprio autor.

Os produtos foram analisados por HRMS. Todos os espectros estão no anexo B (espectros 21 a 40). Na figura 28 é mostrado o espectro de **1a**. O pico em 264,1127 é referente a massa da molécula protonada $[M+H]^+$, enquanto o pico em 286,0952 é relativo a massa da molécula cationizada com sódio $[M+Na]^+$. Além disso, foi identificada a massa do dímero do íon molecular com sódio $[2M+Na]^+$ em 549,1993. Os erros relativos foram calculados de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Erro relativo (ppm)} = \frac{|\text{Valor teórico} - \text{Valor experimental}|}{\text{Valor teórico}} \cdot 10^6 \quad (1)$$

Para todos os compostos, as massas experimentais $[M+Na]^+$ foram muito próximas aos valores teóricos, com erros variando de 0,3 a 6,0 ppm. Nos espectros dos derivados **1c**, **1h**, **1k**, **1m**, **1r** e **1t** também foram identificadas massas experimentais $[M+H]^+$ que apresentaram erros relativos aos valores teóricos com uma variação de 0,4 a 6,1 ppm. Os valores teóricos e experimentais das razões m/z , $[M+Na]^+$ e $[M+H]^+$, de cada substância sintetizada, assim como os respectivos erros relativos calculados conforme a equação (1), estão organizados na tabela 6.

Figura 28: Espectro HRMS de **1a**.



Fonte: próprio autor.

Tabela 6: Valores teóricos e experimentais da razão m/z obtidos dos espectros HRMS das substâncias **1(a-t)** e os respectivos erros relativos.

Substância	m/z teórico [M+Na] ⁺	m/z experimental [M+Na] ⁺	Erro [M+Na] ⁺ (ppm)	m/z teórico [M+H] ⁺	m/z experimental [M+H] ⁺	Erro [M+H] ⁺ (ppm)
1a H	286,0956	286,0952	1,4	264,1137	264,1127	3,8
1b 3-Cl	320,0567	320,0563	1,2	-	-	-
1c 2,4-diCl	354,0177	354,0181	1,1	332,0357	332,0362	1,5
1d 3,5-diCl	354,0177	354,0180	0,8	-	-	-
1e 3,4-diCl	354,0177	354,0178	0,3	-	-	-
1f 4-Cl	320,0567	320,0568	0,3	-	-	-
1g 4-F	304,0862	304,0864	0,7	-	-	-
1h 3-F	304,0862	304,0861	0,3	282,1043	282,1042	0,4
1i 4-Br	366,0041	366,0030	3,0	-	-	-
1j 3-Br	364,0061	364,0046	4,1	-	-	-
1k 4-CH ₃	300,1113	300,1103	3,3	278,1293	278,1283	3,6
1l 4-NO ₂	331,0807	331,0791	4,8	-	-	-
1m 4-OCH ₃	316,1062	316,1043	6,0	294,1243	294,1225	6,1
1n 2,3-diCl	354,0177	354,0171	1,7	-	-	-
1o 3-CH ₃	300,1113	300,1111	0,7	-	-	-
1p 3-CF ₃	354,0830	354,0823	2,0	-	-	-
1q 4-CF ₃	354,0830	354,0815	4,2	-	-	-
1r 3,5-diCF ₃	422,0704	422,0687	4,0	400,0885	400,0870	3,7
1s 2,5-diCl	354,0177	354,0171	1,7	-	-	-
1t 2,4,5-triCl	387,9787	387,9777	2,6	365,9968	365,9956	3,3

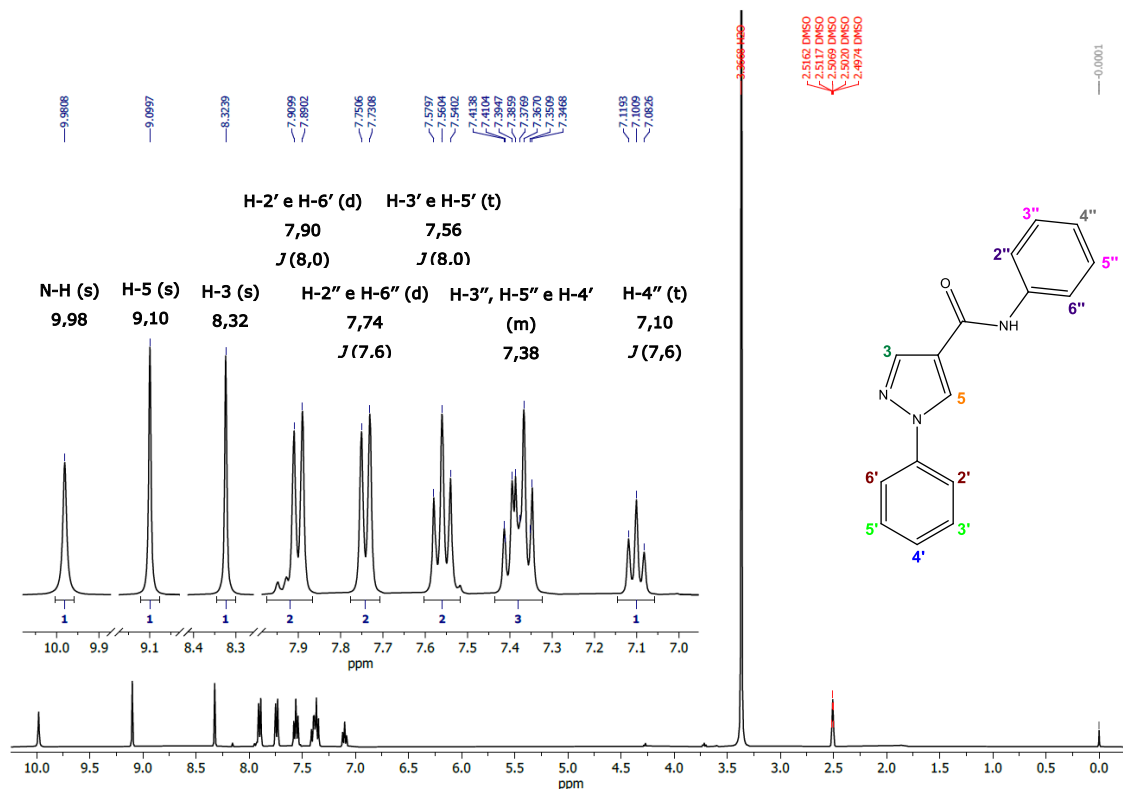
Fonte: próprio autor.

As substâncias contendo substituintes cloro e bromo apresentam outros picos próximos ao do íon molecular que podem ser utilizados para identificar a presença desses átomos e as respectivas quantidades na molécula analisada. Nos espectros dos derivados monobromados, **1i** e **1j**, é possível identificar a massa experimental do íon molecular com o isótopo ⁸¹Br e sódio [M+2+Na]⁺ com 97,7% da intensidade de [M+Na]⁺. Nos casos dos compostos monoclorados, **1b** e **1f**, há um pico relativo a massa do íon molecular com o isótopo ³⁷Cl e sódio [M+2+Na]⁺ com 32,6% da intensidade de [M+Na]⁺. Os espectros dos produtos diclorados **1c**, **1d**, **1e**, **1n** e **1s** mostram, além do pico de [M+2+Na]⁺ com 65,3% da intensidade de [M+Na]⁺, um outro pico referente a massa da molécula cationizada com dois isótopos ³⁷Cl e sódio [M+4+Na]⁺ com 10,6 % da intensidade de [M+Na]⁺. A análise do espectro da substância triclorada **1t** fornece picos de [M+2+Na]⁺, [M+4+Na]⁺ e [M+6+Na]⁺ com

intensidades de 97,8%, 31,9% e 3,47% de $[M+Na]^+$, respectivamente, além de alguns picos não identificados que sugerem impurezas na amostra.

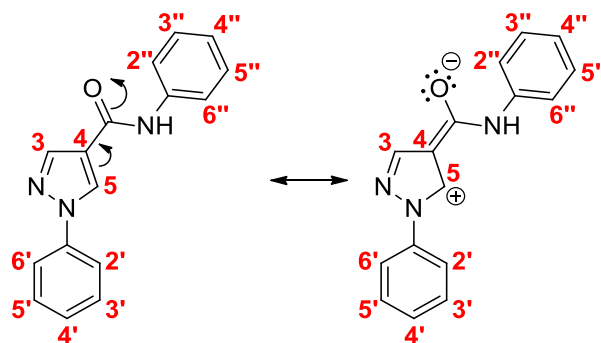
Todos os produtos foram analisados por RMN de 1H e de ^{13}C , cujos espectros constam nos anexos C (espectros 41 a 60) e D (espectros 61 a 80), respectivamente. As análises mostraram que as estruturas propostas foram obtidas. A título de exemplificação, no espectro de RMN de 1H de **1a** (Figura 29), são observados 3 sinais simples (s) com integração igual a 1, indicativo do envolvimento de um único átomo de hidrogênio na atribuição dos sinais. O simpleto em δ 9,98 ppm é referente ao hidrogênio da ligação N-H, enquanto os simpletos em δ 9,10 e 8,32 ppm são relativos a H-5 e H-3, respectivamente. Apesar de possuírem ambientes químicos muito similares, H-5 aparece em uma região de maior deslocamento químico pelo efeito de ressonância, entre a dupla ligação C4/C5 e a carbonila, que promove a desblindagem do núcleo (Figura 30). Continuando a análise do espectro, pode-se visualizar dois sinais dupletos (d), em δ 7,90 e 7,74 ppm, com integração igual a 2 para cada sinal. Tais dados revelam o envolvimento de dois átomos de hidrogênio equivalentes em cada sinal e o acoplamento desses átomos com um outro átomo de hidrogênio vicinal. Foram calculadas as constantes de acoplamento (J) para esses dupletos, sendo obtidos J^3 8,0 Hz e J^3 7,6 Hz, respectivamente, indicando acoplamento *orto* entre os hidrogênios. Assim sendo, o primeiro duplete mencionado foi atribuído aos átomos H-2' e H-6' equivalentes, enquanto o segundo duplete é referente a H-2'' e H-6'' equivalentes. A diferença de deslocamento químico desses sinais se deve a ressonância do anel aromático ligado ao átomo de nitrogênio da amida que blinda as posições 2'', 4'' e 6'' (Figura 31). O sinal tripleto (t) em δ 7,56 ppm com integração igual a 2 e acoplamento *orto* (J^3 8,0 Hz), foi atribuído a H-3' e H-5', enquanto o sinal tripleto em δ 7,10 ppm com integração igual a 1 e acoplamento *orto* (J^3 7,6 Hz), foi relacionado a H-4'' cujo núcleo é mais blindado como explicado anteriormente. Por fim, o sinal multipletto em δ 7,38 ppm com integração igual a 3 é relativo aos átomos de hidrogênio, H-3''/H-5'' e H-4'.

Figura 29: Espectro de RMN de ^1H de **1a** (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



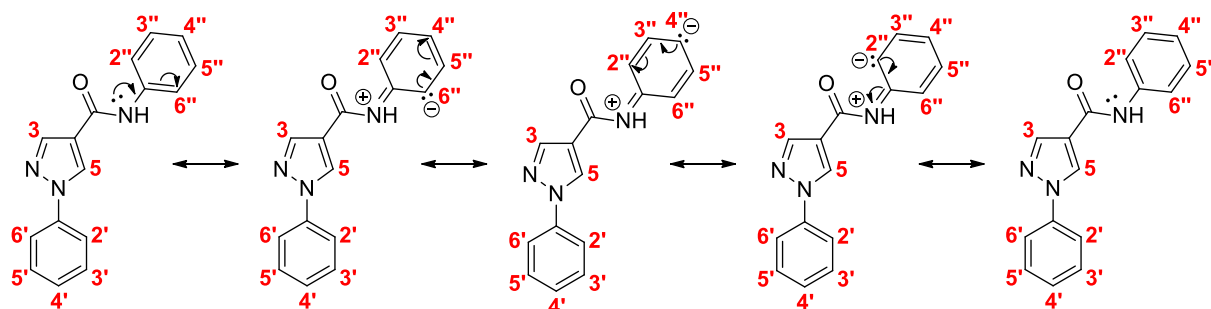
Fonte: próprio autor.

Figura 30: Estruturas de ressonância que mostram a desblindagem do núcleo H-5 na molécula **1a**.



Fonte: próprio autor.

Figura 31: Estruturas de ressonância que mostram a blindagem dos núcleos H-2'', H-4'' e H-6'' na molécula **1a**.



Fonte: próprio autor.

Os dados de RMN de ^1H de todos os produtos estão organizados conforme o respectivo padrão de substituição do anel aromático nas tabelas 7, 8 e 9. O sinal relativo ao N-H foi identificado como simpleto em δ 10,56-9,87 ppm. Aos átomos de hidrogênio do anel pirazólico, H-5 e H-3, foram atribuídos os simpletos em δ 9,17-9,06 e 8,37-8,30 ppm, respectivamente. Com relação aos prótons dos dois anéis benzênicos, os sinais foram identificados na região típica de aromáticos, em δ 8,45-6,92 ppm.

Tabela 7: Dados de RMN de ^1H dos produtos *meta*-substituídos.

Prótons	δ ppm (multiplicidade; J Hz; integração)				
	1b (R= 3-Cl)	1h (R= 3-F)	1j (R= 3-Br)	1o (R= 3-CH ₃)	1p (R= 3-CF ₃)
N-H	10,14 (s; 1H)	10,16 (s; 1H)	10,12 (s; 1H)	9,89 (s; 1H)	10,28 (s; 1H)
H-3	8,33 (s; 1H)	8,33 (s; 1H)	8,32 (s; 1H)	8,31 (s; 1H)	8,34 (s; 1H)
H-5	9,10 (s; 1H)	9,11 (s; 1H)	9,10 (s; 1H)	9,08 (s; 1H)	9,12 (s; 1H)
H-2'	7,91 (m; 4H)	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,5 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-3'	7,40 (t; J^3 8,0 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,55 (m; 4H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-4'	7,56 (t; J^3 8,0 Hz; 1H)	7,40 (m; 2H)	7,40 (t; J^3 7,8 Hz; 1H)	7,39 (t; J^3 7,5 Hz; 1H)	7,40 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)
H-5'	7,40 (t; J^3 8,0 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,55 (m; 4H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-6'	7,91 (m; 4H)	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,5 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-2''	7,91 (m; 4H)	7,74 (dt; J^3 8,7 Hz, J^4 2,3 Hz; 1H)	8,06 (t; J^4 1,7 Hz; 1H)	7,55 (m; 4H)	8,18 (s; 1H)
H-3''	-	-	-	-	-
H-4''	7,66 (dd; J^3 8,2 Hz, J^4 1,2 Hz; 1H)	7,40 (m; 2H)	7,72 (dt; J^3 8,0 Hz, J^4 1,7 Hz; 1H)	6,92 (d; J^3 7,8 Hz; 1H)	8,03 (d; J^3 8,1 Hz; 1H)
H-5''	7,91 (m; 4H)	6,93 (tdd; J^3 8,7 Hz, J^4 2,3 Hz, J^5 1,0 Hz; 1H)	7,34 (t; J^3 8,0 Hz; 1H)	7,24 (t; J^3 7,8 Hz; 1H)	7,62 (t; J^3 8,1 Hz; 1H)
H-6''	7,16 (dd; J^3 8,2 Hz, J^4 1,2 Hz; 1H)	7,49 (ddd; J^3 8,7 Hz, J^4 2,3 Hz, J^5 1,0 Hz; 1H)	7,29 (dt; J^3 8,0 Hz, J^4 1,7 Hz; 1H)	7,55 (m; 4H)	7,45 (d; J^3 8,1 Hz; 1H)
CH ₃	-	-	-	2,32 (s; 3H)	-

Fonte: próprio autor.

Tabela 8: Dados de RMN de ^1H dos produtos *para*-substituídos.

Prótons	δ ppm (multiplicidade; J Hz; integração)						
	1f (R= 4-Cl)	1g (R= 4-F)	1i (R= 4-Br)	1k (R= 4-CH ₃)	1l (R= 4-NO ₂)	1m (R= 4-OCH ₃)	1q (R= 4-CF ₃)
N-H	10,10 (s; 1H)	10,04 (s; 1H)	10,10 (s; 1H)	9,90 (s; 1H)	10,52 (s; 1H)	9,87 (s; 1H)	10,31 (s; 1H)
H-3	8,32 (s; 1H)	8,31 (s; 1H)	8,32 (s; 1H)	8,30 (s; 1H)	8,37 (s; 1H)	8,30 (s; 1H)	8,35 (s; 1H)
H-5	9,10 (s; 1H)	9,09 (s; 1H)	9,10 (s; 1H)	9,08 (s; 1H)	9,17 (s; 1H)	9,06 (s; 1H)	9,14 (s; 1H)
H-2'	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,6 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,5 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-3'	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,6 Hz; 2H)	7,56 (m; 4H)	7,55 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,54 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-4'	7,42 (m; 3H)	7,39 (t; J^3 7,6 Hz; 1H)	7,39 (t; J^3 7,5 Hz; 1H)	7,39 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,41 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,39 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,41 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)
H-5'	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,6 Hz; 2H)	7,56 (m; 4H)	7,55 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,54 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-6'	7,90 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,6 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,5 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,89 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-2''	7,42 (m; 3H)	7,75 (dd; J^3 9,0 Hz, J^4 2,9 Hz; 2H)	7,56 (m; 4H)	7,16 (d; J^3 8,4 Hz; 2H)	8,03 (d; J^3 9,3 Hz; 2H)	6,94 (d; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,74 (d; J^3 8,6 Hz; 2H)
H-3''	7,78 (d; J^3 8,9 Hz; 2H)	7,21 (t; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,73 (d; J^3 8,9 Hz; 2H)	7,61 (d; J^3 8,4 Hz; 2H)	8,29 (d; J^3 9,3 Hz; 2H)	7,63 (d; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,98 (d; J^3 8,6 Hz; 2H)
H-4''	-	-	-	-	-	-	-
H-5''	7,78 (d; J^3 8,9 Hz; 2H)	7,21 (t; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,73 (d; J^3 8,9 Hz; 2H)	7,61 (d; J^3 8,4 Hz; 2H)	8,29 (d; J^3 9,3 Hz; 2H)	7,63 (d; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,98 (d; J^3 8,6 Hz; 2H)
H-6''	7,42 (m; 3H)	7,75 (dd; J^3 9,0 Hz, J^4 2,9 Hz; 2H)	7,56 (m; 4H)	7,16 (d; J^3 8,4 Hz; 2H)	8,03 (d; J^3 9,3 Hz; 2H)	6,94 (d; J^3 9,0 Hz; 2H)	7,74 (d; J^3 8,6 Hz; 2H)
CH ₃	-	-	-	2,28 (s; 3H)	-	3,75 (s; 3H)	-

Fonte: próprio autor.

Tabela 9: Dados de RMN de ^1H dos produtos com dois ou três substituintes.

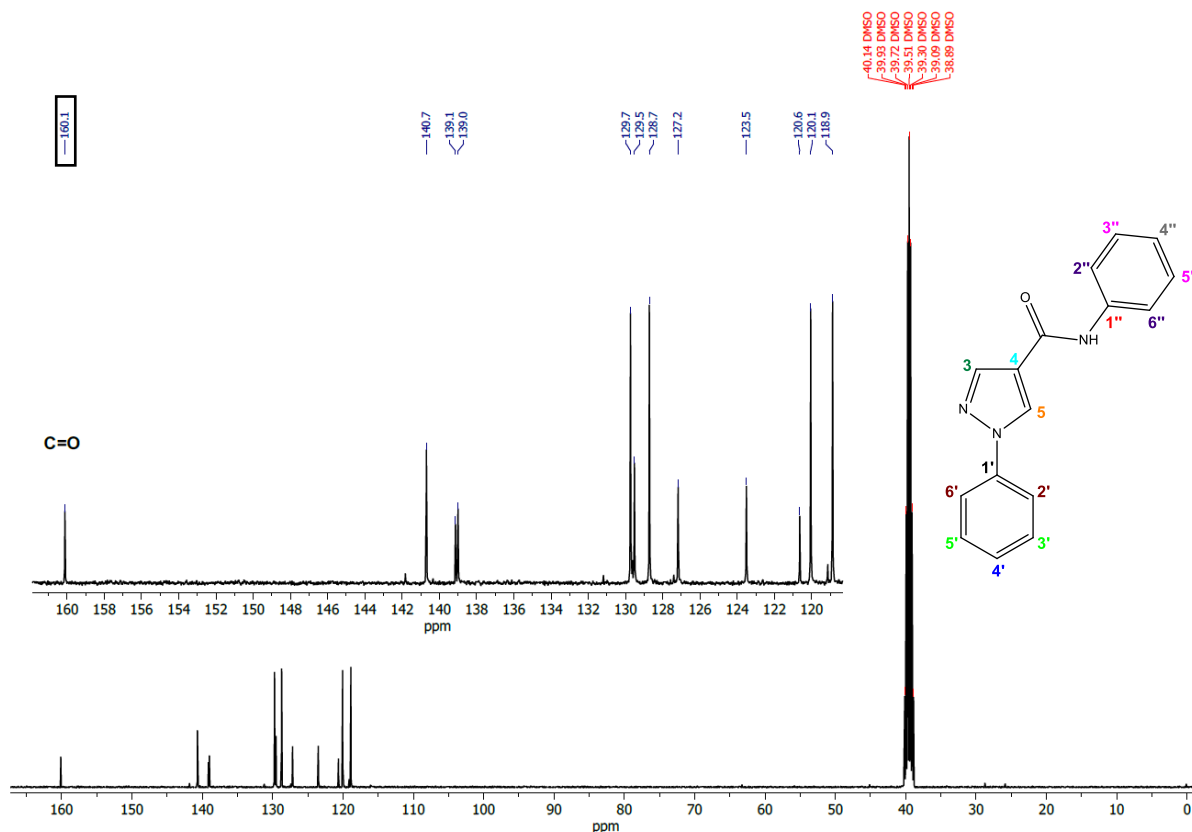
Prótons	δ ppm (multiplicidade; J Hz; integração)						
	1c (R= 2,4-diCl)	1d (R= 3,5-diCl)	1e (R= 3,4-diCl)	1n (R= 2,3-diCl)	1r (R= 3,5-diCF ₃)	1s (R= 2,5-diCl)	1t (R= 2,4,5-triCl)
N-H	9,88 (s; 1H)	10,25 (s; 1H)	10,23 (s; 1H)	9,98 (s; 1H)	10,56 (s; 1H)	9,88 (s; 1H)	9,96 (s; 1H)
H-3	8,33 (s; 1H)	8,32 (s; 1H)	8,32 (s; 1H)	8,33 (s; 1H)	8,35 (s; 1H)	8,33 (s; 1H)	8,33 (s; 1H)
H-5	9,13 (s; 1H)	9,10 (s; 1H)	9,10 (s; 1H)	9,13 (s; 1H)	9,13 (s; 1H)	9,15 (s; 1H)	9,15 (s; 1H)
H-2'	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-3'	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (m; 3H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-4'	7,40 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,41 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,40 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,43 (t; J^3 7,8 Hz; 1H)	7,41 (t; J^3 7,7 Hz; 1H)	7,39 (m; 2H)	7,40 (s; 1H)
H-5'	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (m; 3H)	7,57 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,56 (t; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-6'	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)	7,91 (d; J^3 7,8 Hz; 2H)	7,90 (d; J^3 7,7 Hz; 2H)
H-2''	-	7,85 (d; J^4 1,8 Hz; 2H)	8,11 (d; J^4 2,4 Hz; 1H)	-	8,45 (s; 2H)	-	-
H-3''	7,74 (d; J^4 2,4 Hz; 1H)	-	-	-	-	7,61 (d; J^3 8,6 Hz; 1H)	7,49 (s; 1H)
H-4''	-	7,32 (t; J^4 1,8 Hz; 1H)	-	7,61 (dd; J^3 7,7 Hz, J^4 1,7 Hz; 1H)	7,80 (s; 1H)	7,39 (m; 2H)	-
H-5''	7,48 (dd; J^3 8,6 Hz, J^4 2,4 Hz; 1H)	-	7,63 (d; J^3 8,8 Hz; 1H)	7,56 (m; 3H)	-	-	-
H-6''	7,65 (d; J^3 8,6 Hz; 1H)	7,85 (d; J^4 1,8 Hz; 2H)	7,71 (dd; J^3 8,8 Hz, J^4 2,4 Hz; 1H)	7,39 (dd; J^3 7,7 Hz, J^4 1,7 Hz; 1H)	8,45 (s; 2H)	7,78 (d; J^4 2,5 Hz; 1H)	6,98 (s; 1H)

Fonte: próprio autor.

No espectro de RMN de ^{13}C de **1a** (Figura 32) há um sinal na região de maior deslocamento químico, em δ 160,1 ppm, referente ao carbono carbonílico, além de 11

sinais, na faixa de δ 140,7 e 118,8 ppm, relativos aos átomos de carbono dos anéis aromáticos.

Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C de **1a** (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: próprio autor.

Todos os espectros de RMN de ^{13}C de **1(a-t)** apresentaram um sinal na região típica de carbonila de amida, em δ 161,0-159,3 ppm, e diversos sinais em δ 155,9-114,3 ppm, faixa característica de carbonos de anéis aromáticos. Todavia, os produtos fluorados, **1g** e **1h**, apresentaram sinais dupletos em seus espectros. Tal fato se deve ao acoplamento heteronuclear entre o núcleo do átomo de flúor e os núcleos dos átomos de carbono em sua vizinhança molecular. No caso dos compostos trifluorometil (CF_3) substituídos, **1p**, **1q** e **1r**, esses sinais se desdobraram em quadrupletos (qd) por causa da presença de três átomos de flúor em suas estruturas (regra $n+1$). No espectro de **1r** era esperado um sinal septeto relativo a C-4'', devido a presença de dois grupos CF_3 vicinais. Todavia, não foi observada tal multiplicidade e sim, um sinal quintupletto (qt) em δ 116,2 ppm com J^3 3,7 Hz. Os dados obtidos dos sinais de acoplamento heteronuclear de cada um desses derivados estão organizados na tabela 10. Além disso, nos espectros dos derivados que contêm o grupo CH_3

(carbono híbrido sp^3) **1k**, **1m** e **1o**, há um sinal referente ao átomo de carbono em δ 19,9, 55,6 e 21,7 ppm, respectivamente.

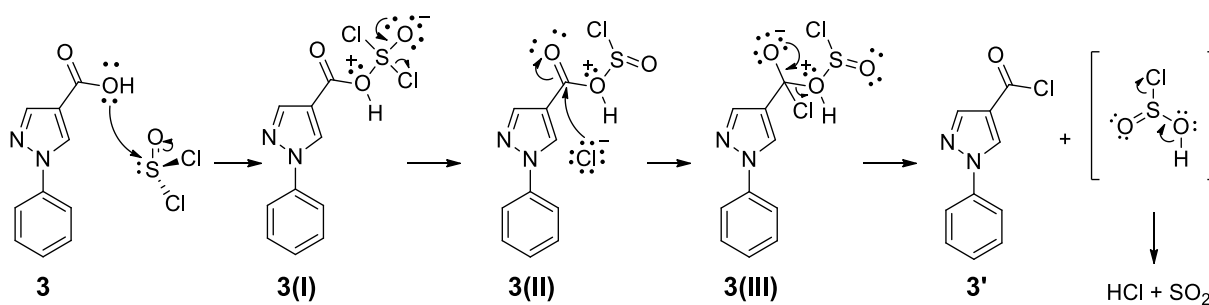
Tabela 10: Dados de acoplamento heteronuclear dos espectros de RMN de ^{13}C .

Carbonos	δ ppm (multiplicidade; J Hz)				
	1g (R= 4-F)	1h (R= 3-F)	1p (R= 3-CF ₃)	1q (R= 4-CF ₃)	1r (R= 3,5-diCF ₃)
C-1''	135,2 (d; J^4 2,5 Hz)	140,7 (d; J^3 11,1 Hz)	-	-	-
C-2''	121,7 (d; J^3 7,8 Hz)	106,6 (d; J^2 26,4 Hz)	120,2 (qd; J^3 3,9 Hz)	-	119,4 (qd; J^3 4,3 Hz)
C-3''	115,2 (d; J^2 22,3 Hz)	162,0 (d; J^1 241,2 Hz)	129,9 (qd; J^2 31,5 Hz)	125,4 (qd; J^3 3,9 Hz)	130,7 (qd; J^2 32,6 Hz)
C-4''	158,1 (d; J^1 240,0 Hz)	109,8 (d; J^2 21,0 Hz)	116,4 (qd; J^3 4,3 Hz)	122,8 (qd; J^2 31,9 Hz)	116,2 (qt; J^3 3,7 Hz)
C-5''	115,2 (d; J^2 22,3 Hz)	130,2 (d; J^3 9,3 Hz)	-	125,4 (qd; J^3 3,9 Hz)	130,7 (qd; J^2 32,6 Hz)
C-6''	121,7 (d; J^3 7,8 Hz)	115,5 (d; J^4 2,7 Hz)	-	-	119,4 (qd; J^3 4,3 Hz)
CF₃	-	-	124,6 (qd; J^1 272,3 Hz)	126,5 (qd; J^1 270,0 Hz)	123,3 (qd; J^1 272,8 Hz)

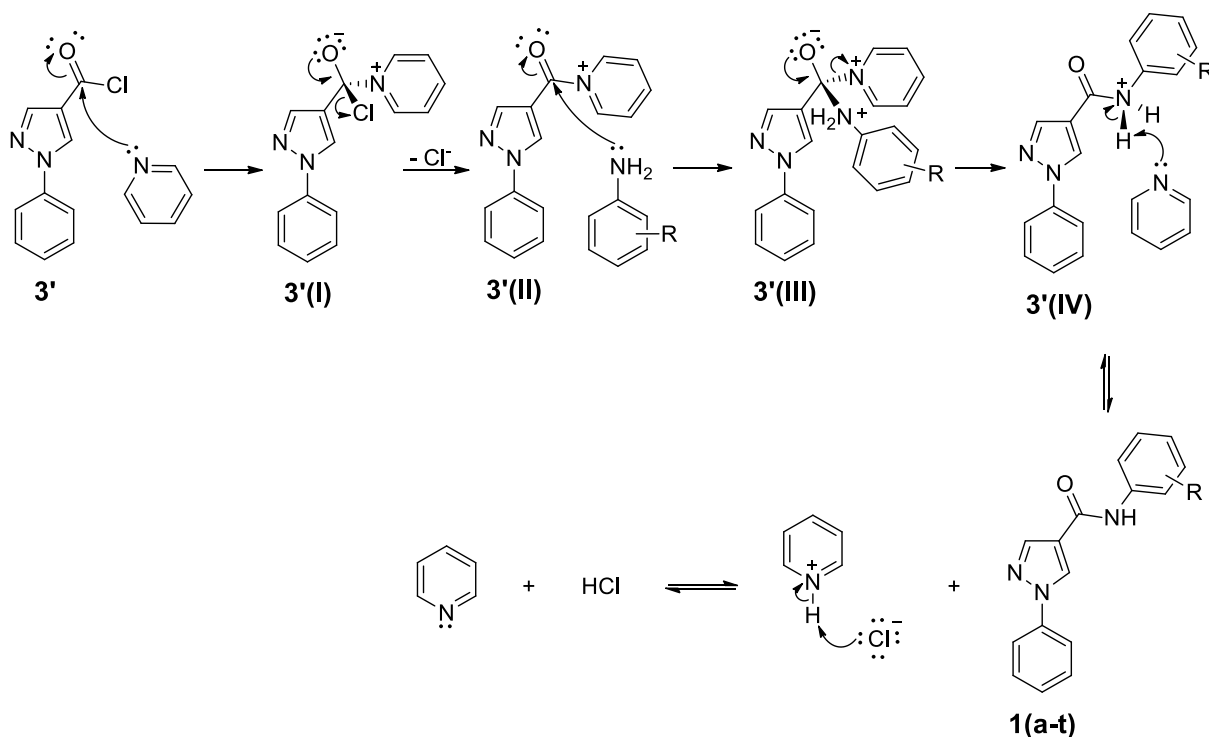
Fonte: próprio autor.

Os mecanismos de obtenção de **1(a-t)** são mecanismos clássicos da química orgânica. A primeira parte (Esquema 14) consiste na formação do cloreto de ácido **3'**. Inicialmente, ocorre uma adição nucleofílica do par de elétrons não-ligante da hidroxila do reagente **3** ao átomo de enxofre do $SOCl_2$, gerando o intermediário **3(I)** que, posteriormente, sofre uma reação de eliminação com a saída de cloreto e formação do intermediário **3(II)**. Em seguida, a carbonila sofre uma adição nucleofílica do ânion cloreto, formando **3(III)** que, após a eliminação do ácido clorossulfônico, com subsequente decomposição em HCl e SO_2 , produz o intermediário **3'** (Solomons et al., 2024).

A segunda parte do mecanismo é mostrada no esquema 15 e compreende a obtenção dos produtos finais **1(a-t)** a partir do cloreto de ácido produzido na etapa anterior. Primeiramente, tem-se uma reação de adição nucleofílica do par de elétrons não-ligante da piridina ao carbono carbonílico de **3'**, gerando o intermediário tetraédrico **3'(I)**. Logo após, ocorre uma reação de eliminação com a saída de cloreto da molécula e formação de **3'(II)**. Sequencialmente, o par de elétrons não-ligante da anilina substituída adiciona-se ao carbono carbonílico de **3'(II)**, por meio de uma reação de adição nucleofílica, e o intermediário tetraédrico **3'(III)** é produzido. Subsequentemente, o intermediário **3'(III)** sofre uma reação de eliminação com a saída de piridina e tem-se a geração de **3'(IV)**. Posteriormente, a piridina abstrai um próton de **3'(IV)**, formando o produto final **1(a-t)** e sal de piridínio, que está em equilíbrio com piridina e ácido clorídrico (Clayden et al., 2012).

Esquema 14: Primeira parte do mecanismo proposto da reação para a obtenção de **1(a-t)**.

Fonte: próprio autor.

Esquema 15: Segunda parte do mecanismo proposto da reação para a obtenção de **1(a-t)**.

Fonte: próprio autor.

5.4. Atividade anti-*T. cruzi* e citotoxicidade dos produtos finais **1(a-t)**

Dentre os 20 compostos **1(a-t)** obtidos, 19 derivados **1(a-s)** passaram por ensaios de atividade anti-*T. cruzi* contra as formas tripomastigota e amastigota, assim como citotoxicidade em células Vero. Os resultados dos testes estão organizados na tabela 11. Nenhum dos compostos testados foi citotóxico para células Vero, apresentando valores de $\text{CC}_{50} > 500 \mu\text{M}$. Nos ensaios de atividade anti-*T. cruzi* frente às formas tripomastigota e amastigota, apenas o derivado **1d** apresentou boa atividade com valores de $\text{IC}_{50} = 9,54 \pm 0,25 \mu\text{M}$ e $7,74 \pm 2,21 \mu\text{M}$, respectivamente. Os índices de seletividade (IS) calculados para tal composto foram: 52 contra tripomastigota e 64,5 contra amastigota. Comparando os resultados de **1d** com aqueles observados para o fármaco de referência Bz, torna-se claro o potencial do

composto, uma vez que o Bz apresentou atividade anti-*T. cruzi* similar com valores de $IC_{50} = 9,44 \pm 0,06 \mu M$ e $4,67 \pm 0,22 \mu M$ contra tripomastigota e amastigota, respectivamente. Por esse motivo, foi realizado um estudo adicional da citotoxicidade de **1d** contra cardiomiócitos (CMC). Este ensaio revelou que o composto não foi citotóxico para tais células, apresentando $CC_{50} > 500 \mu M$. A próxima etapa será a realização do teste de *washout*, a fim de avaliar a recrudescência parasitária.

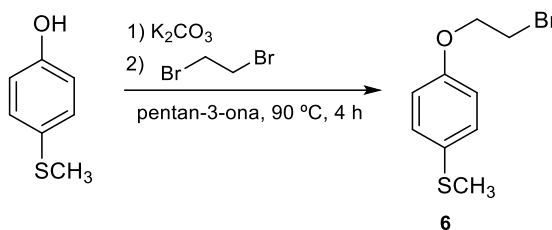
Tabela 11: Resultados biológicos dos compostos **1(a-s)**.

Compostos	Atividade anti- <i>T. cruzi</i> (Média $\pm$ DP μM)		Citotoxicidade (μM)
	Tripomastigota	Amastigota	Células Vero
	IC_{50}	IC_{50}	CC_{50}
1a	> 100	> 100	> 500
1b	> 100	$37,4 \pm 4,53$	> 500
1c	> 100	> 100	> 500
1d	$9,54 \pm 0,25$	$7,74 \pm 2,21$	> 500
1e	$21,28 \pm 2,82$	$66,49 \pm 1,13$	> 500
1f	> 100	> 100	> 500
1g	> 100	$96,76 \pm 1,19$	> 500
1h	> 100	> 100	> 500
1i	> 100	> 100	> 500
1j	$50,86 \pm 3,14$	$92,34 \pm 7,23$	> 500
1k	Nd	> 100	> 500
1l	> 100	> 100	> 500
1m	> 100	> 100	> 500
1n	> 100	Nd	Nd
1o	$21,17 \pm 0,34$	$61,18 \pm 0,86$	> 500
1p	> 100	> 100	> 500
1q	> 100	> 100	> 500
1r	Nd	Nd	> 500
1s	> 100	Nd	Nd
Bz	$9,44 \pm 0,06$	$4,67 \pm 0,22$	> 500

Fonte: próprio autor.

5.5. Síntese do intermediário 6

A síntese do intermediário **6** foi realizada conforme a metodologia descrita em **4.2.1** (Esquema 16). Durante o processo de otimização do procedimento experimental, foram feitas 11 tentativas de síntese com pequenas alterações nas condições reacionais a fim de avaliar a influência de diferentes bases, solventes, temperaturas e quantidades equivalentes dos reagentes. As tabelas 12 e 13 mostram as tentativas de síntese utilizando as bases K_2CO_3 e NaOH, respectivamente, e as condições reacionais empregadas nos procedimentos.

Esquema 16: Reação para a obtenção de **6**.

Fonte: próprio autor.

Tabela 12: Condições reacionais e rendimentos das tentativas de síntese com K_2CO_3 .

Tentativa	4-(metiltio)fenol (mmol)	1,2-dibromoetano (mmol)	K_2CO_3 (mmol)	Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	0,6990	1,3980	0,6990	DMF	100	18	NA
2	0,6990	1,3980	0,6990	DMF	100	66	NA
3	0,6990	1,3980	0,6990	propanona	60	26,5	19
4	0,6990	2,7960	0,6990	pentan-3-ona	90	43	15
5	0,6990	2,7960	0,6990	pentan-3-ona	90	5,5	38

NA: não aplicável.

Fonte: próprio autor.

Tabela 13: Condições reacionais e rendimentos das tentativas de síntese com NaOH.

Tentativa	4-(metiltio)fenol (mmol)	1,2-dibromoetano (mmol)	NaOH (mmol)	Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
6	0,6990	1,3980	0,6990	DMF	100	48	NA
7	0,6990	1,3980	0,6990	propanona	55	45,5	NA
8	0,6990	1,3980	0,6990	pentan-3-ona	90	7	10

NA: não aplicável.

Fonte: próprio autor.

Na tentativa 1, na qual foram utilizados K_2CO_3 e *N,N*-dimetilformamida (DMF), como base e solvente, respectivamente, observou-se uma baixa solubilização dos reagentes e não houve indício de formação de produto nas CCDs realizadas ao longo das 18 h de reação. Devido à dificuldade de solubilização apresentada, na tentativa 2 foi adicionada uma pequena quantidade de água destilada (0,2 mL) para melhor solubilização dos reagentes. As horas iniciais de reação mostraram evolução pelas análises de CCD, porém à medida que a reação avançava, a formação de produto era prejudicada e a geração de subproduto era acentuada. Baseado no trabalho publicado por Holson e colaboradores em 2016, onde além de DMF foi usada propanona (acetona) como solvente, na entrada 3 utilizou-se as mesmas condições reacionais das entradas 1 e 2, substituindo DMF pela propanona. A substituição do solvente permitiu a obtenção do produto purificado, por cromatografia em coluna, com 19% de rendimento. Porém, em razão do baixo rendimento e da dificuldade de manter a acetona no meio reacional, decidiu-se usar uma outra cetona com um maior ponto de ebulição na tentativa 4. Nessa entrada, além da alteração do solvente, foi

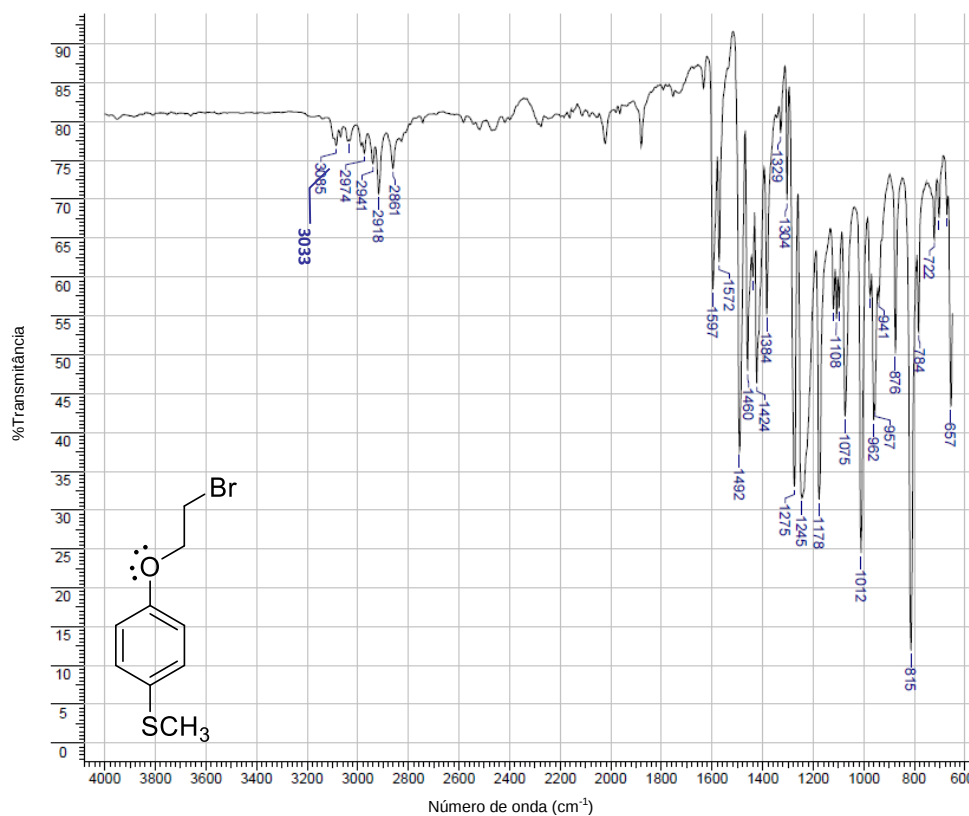
acrescentado 1,3980 mmol de 1,2-dibromoetano após 24 h de reação e o produto foi purificado após 43 h com um rendimento de 15%. Diante dos dados obtidos até o momento, na tentativa 5 foram replicadas as condições reacionais da entrada 4, porém foi utilizado excesso de 1,2-dibromoetano desde o início da reação e o produto foi purificado após 5,5 h de reação. Tal tentativa permitiu um rendimento de 38%. Todavia, optou-se por realizar mais 3 tentativas, empregando NaOH como base, as quais apresentaram maior formação de subprodutos, de acordo com análises de CCD (entradas 6 e 7), ou baixo rendimento (entrada 8).

Os dados das tabelas 12 e 13 indicam que maiores temperaturas contribuíram para uma maior conversão dos reagentes, ao comparar as tentativas de síntese envolvendo os solventes acetona e pentan-3-ona, cujas estruturas são semelhantes, porém seus pontos de ebulição são diferentes. Enquanto isso, para a variável tempo de reação foi observado o oposto com intervalos menores de reação aumentando o rendimento da síntese, indicando uma possível reversibilidade da reação S_N2 , uma vez que o grupo fenolato pode atuar como um bom grupo de saída. Foi observado que períodos muito grandes de tempo promoveram a formação de subprodutos. Além disso, a utilização de um excesso quatro vezes maior do reagente 1,2-dibromoetano favoreceu a reação. Por fim, as tentativas de síntese empregando K_2CO_3 se revelaram mais eficientes quando comparadas àquelas com NaOH. Apesar do carbonato de potássio ser uma base mais fraca do que o hidróxido de sódio, a melhor eficiência do primeiro pode ser explicada pelo aumento da entropia, proporcionada pela liberação de gases de dióxido de carbono (CO_2) oriundo da decomposição do ácido carbônico (H_2CO_3) gerado na etapa de reação ácido-base. Diante do exposto, a síntese que inclui todas as modificações mencionadas, e que apresentou o melhor rendimento, foi a tentativa 5.

O produto obtido na tentativa 5 se apresentou como um sólido branco. Foi feita a caracterização por FT-IR e o espectro é apresentado na figura 33. No espectro, as bandas visualizadas na região dos estiramentos assimétrico e simétrico das ligações $C_{sp^3}-H$, em $2974-2861\text{ cm}^{-1}$, demonstra a presença dos grupos metil (CH_3) e metilenos (CH_2). Ademais, pode-se observar uma banda em 1245 cm^{-1} e uma banda em 1012 cm^{-1} que foram atribuídas aos estiramentos assimétrico e simétrico da ligação $=C-O-C$ de ariléter, respectivamente. Além disso, foram visualizadas bandas em 1597 a 1460 cm^{-1} relativas aos estiramentos das ligações $C=C$, intensificadas pela

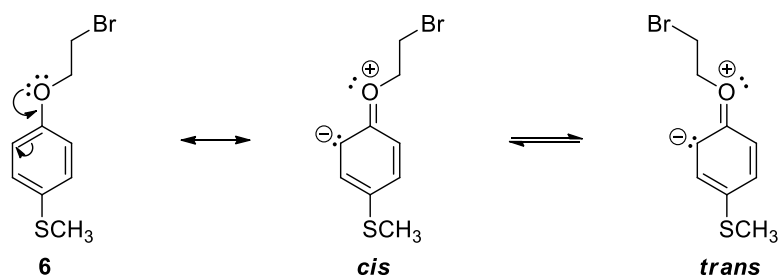
ressonância com o oxigênio que aumenta o caráter polar da ligação dupla (Pavia et al., 2015). O duplete em 1597 e 1572 cm^{-1} ocorre devido a relação de equilíbrio dos isômeros *cis* e *trans* na ressonância dos éteres conjugados (Esquema 17). Por fim, a banda em 815 cm^{-1} é referente à deformação angular fora do plano da ligação $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ do anel aromático e confirma o padrão de substituição *para* da estrutura planejada. Não foram evidenciadas bandas relacionadas à hidroxila fenólica, demonstrando que a conversão do fenol em éter foi bem-sucedida. As principais bandas com os respectivos movimentos vibracionais e os números de onda estão organizados na tabela 14.

Figura 33: Espectro de FT-IR do intermediário **6**.



Fonte: próprio autor.

Esquema 17: Relação de equilíbrio entre os isômeros *cis* e *trans* na ressonância de **6**.



Fonte: próprio autor.

Tabela 14: Dados de FT-IR do intermediário **6**.

Ligação Química	Movimento vibracional	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)
C _{sp2} -H	ν	3085-3033
C _{sp3} -H	ν_{as} e ν_s	2974-2861
C=C (anel aromático)	ν	1597-1460
=C-O-C	ν_{as}	1245
=C-O-C	ν_s	1012
C _{sp2} -H	γ	815

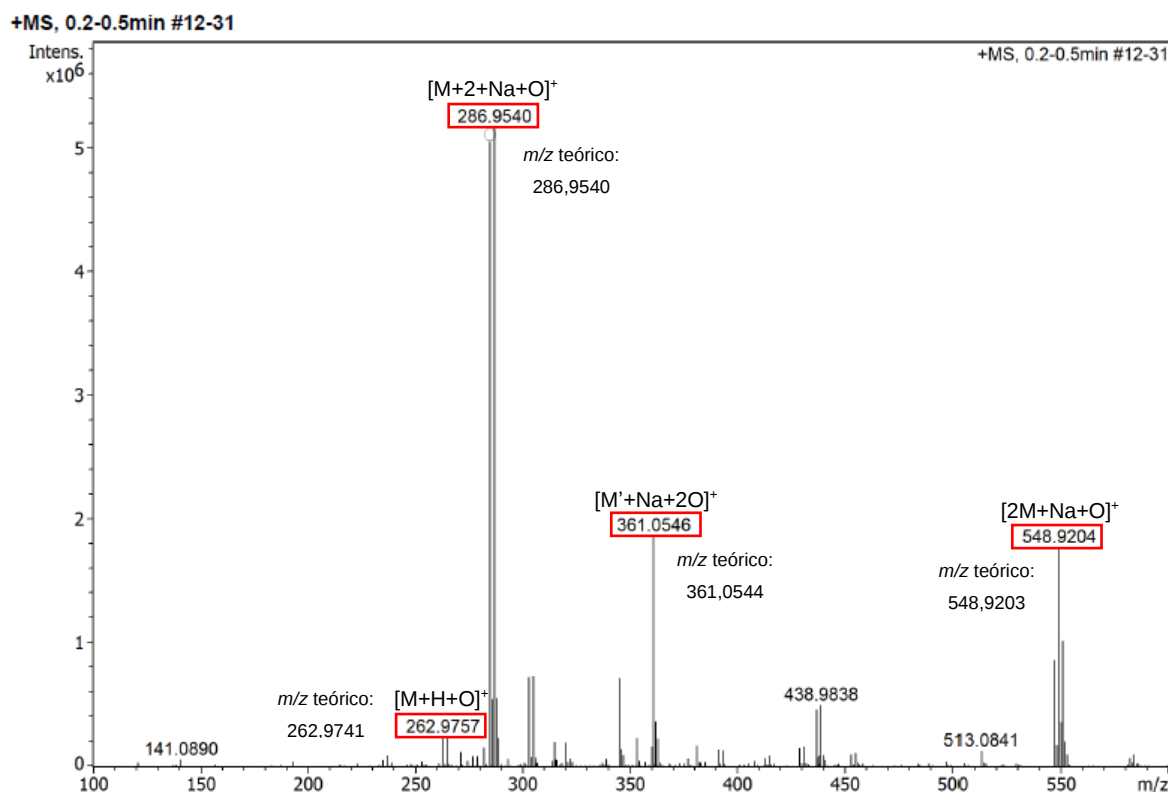
Fonte: próprio autor.

O composto foi analisado por HRMS e o espectro pode ser visualizado na figura 34. O pico em 286,9540 com 97,7% de intensidade confirma a presença do bromo na estrutura do composto e se refere a massa do íon molecular com o isótopo ⁸¹Br, sódio e oxigênio [M+2+Na+O]⁺, apresentando um erro relativo de 0,0 ppm do valor teórico. O pico em 262,9757 é relativo a massa da molécula protonada e oxidada [M+H+O]⁺, cujo erro relativo foi de 6,1 ppm. Além disso, foi identificada a massa do dímero do íon molecular com sódio e oxigênio [2M+Na+O]⁺ em 548,9204 com erro calculado igual a 0,2 ppm. Por fim, observou-se resquícios do subproduto da reação, 1,2-bis(4-(metiltio)fenoxi)etano, pelo pico em 361,0546 com erro de 0,6 ppm, relacionado a massa da molécula do subproduto cationizada com sódio e oxidada com dois átomos de oxigênio [M'+Na+2O]⁺. Os erros relativos foram calculados conforme a equação (1), mostrada anteriormente.

A oxidação de tioéteres em sulfóxidos ou sulfonas é algo comum na presença de um agente oxidante. Nesse contexto, compostos halogenados, como o bromito de sódio (NaBrO₂), são conhecidos agentes oxidantes seletivos na produção de sulfóxidos (Roy, 2000). Embora a análise do espectro de HRMS do produto sugiram a ocorrência de oxidação, a ausência aparente de tal agente torna essa possibilidade improvável. Todavia, o bromo quando dissolvido em solução aquosa gera brometo (Br⁻), além de hipobromito (OBr⁻) que pode atuar como agente oxidante pelo estado de oxidação +1 do átomo de bromo. O hipobromito, por sua vez, sofre dismutação quando em solução aquecida, assim, produzindo quantitativamente o ânion bromato (BrO₃⁻) que é conhecido pelo seu forte poder oxidante (Ropp, 2013). Portanto, uma possível explicação para a oxidação do intermediário **6** pode ser a formação *in situ* de hipobromito favorecida pelo excesso de 1,2-dibromoetano utilizado na reação, bem como a geração de bromato *in situ* pode trazer esclarecimentos quanto a origem dos

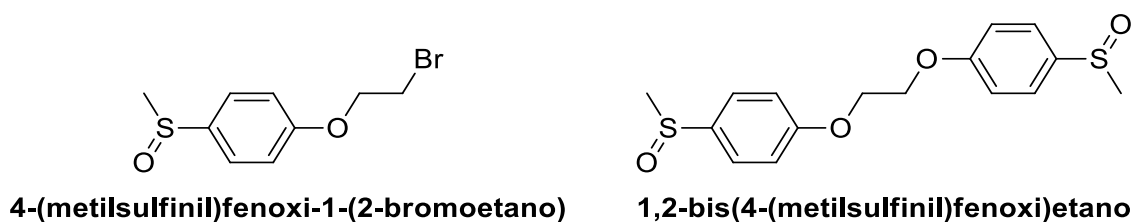
subprodutos observados após longos períodos de reação com aquecimento. Diante do exposto, os dados de HRMS sugerem a obtenção do produto 4-(metilsulfinil)fenoxi-1-(2-bromoetano) e do subproduto 1,2-bis(4-(metilsulfinil)fenoxi)etano em menor quantidade (Figura 35).

Figura 34: Espectro de HRMS do intermediário 6.



Fonte: próprio autor.

Figura 35: Representações estruturais dos compostos sugeridos.

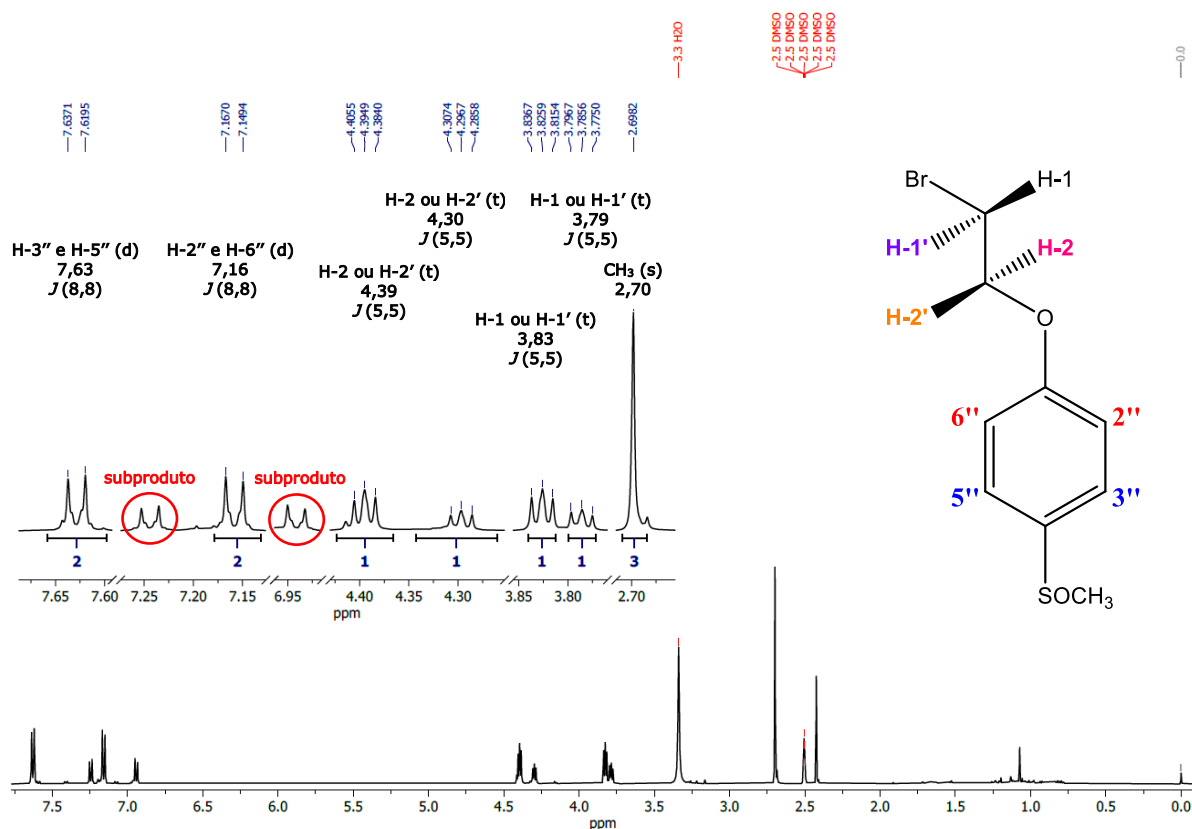


Fonte: próprio autor.

O produto foi caracterizado por RMN de ¹H e de ¹³C, cujos espectros são mostrados nas figuras 36 e 38, respectivamente. No espectro de RMN de ¹H, são observados 2 sinais dupletos com integração igual a 2 e acoplamento *orto* (*J*³ 8,8 Hz), em δ 7,63 e 7,16 ppm, que foram atribuídos aos átomos de hidrogênio do anel aromático. O sinal na região de maior deslocamento químico é referente aos átomos de hidrogênio H-3'' e H-5'' que possuem seus núcleos mais desblindados pela

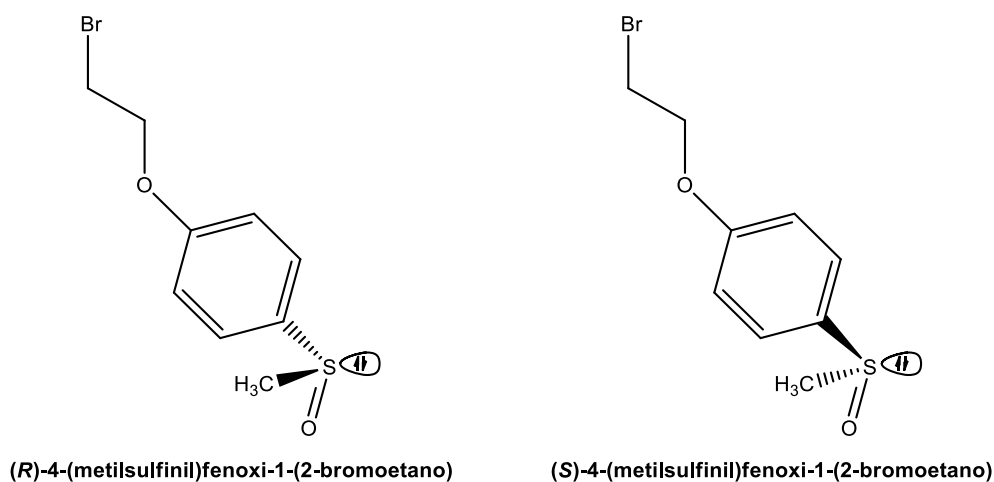
ressonância do anel com a sulfonila (S=O). Além disso, o efeito doador de elétrons por ressonância do grupo metoxi blindava os núcleos dos hidrogênios nas posições 2'' e 6'' do anel, assim sendo, o sinal em menor deslocamento químico foi relacionado a H-2'' e H-6''. Ademais, pode-se visualizar 4 sinais tripletos em δ 4,39, 4,30, 3,83 e 3,79 ppm, cada um com integração igual a 1, e constante de acoplamento J^3 5,5 Hz. Esses sinais são relativos aos átomos de hidrogênio diastereotópicos da molécula, tal relação de isomeria ocorre devido a presença de um estereocentro no átomo de enxofre (Figura 37) e outro estereocentro, nos átomos de carbono metilênicos, gerado pela substituição de um dos átomos de hidrogênio próton (^1H) por deutério (^2H). Os hidrogênios diastereotópicos não são equivalentes entre si e por isso fornecem sinais distintos. Portanto, os 2 sinais tripletos na região de maior deslocamento químico foram atribuídos a H-2 ou H-2' pela sua proximidade com o átomo de oxigênio que promove a desblindagem desses núcleos pelo efeito retirador de elétrons por indução. Tal efeito também se faz presente nos hidrogênios, H-1 e H-1', mais próximos ao átomo de bromo. Todavia, o bromo é menos eletronegativo do que o oxigênio e por esse motivo os sinais referentes a esses átomos de hidrogênio aparecem em região de menor deslocamento químico. Por fim, o sinal simpleto em δ 2,70 ppm com integração igual a 3 é relativo aos hidrogênios do grupo metil. Ademais, foram notados sinais adicionais no espectro, provavelmente oriundo de resquícios do subproduto, mencionado anteriormente, na amostra.

Figura 36: Espectro de RMN de ^1H de **6** (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: próprio autor.

Figura 37: Representações estruturais dos enantiômeros do composto **6**.

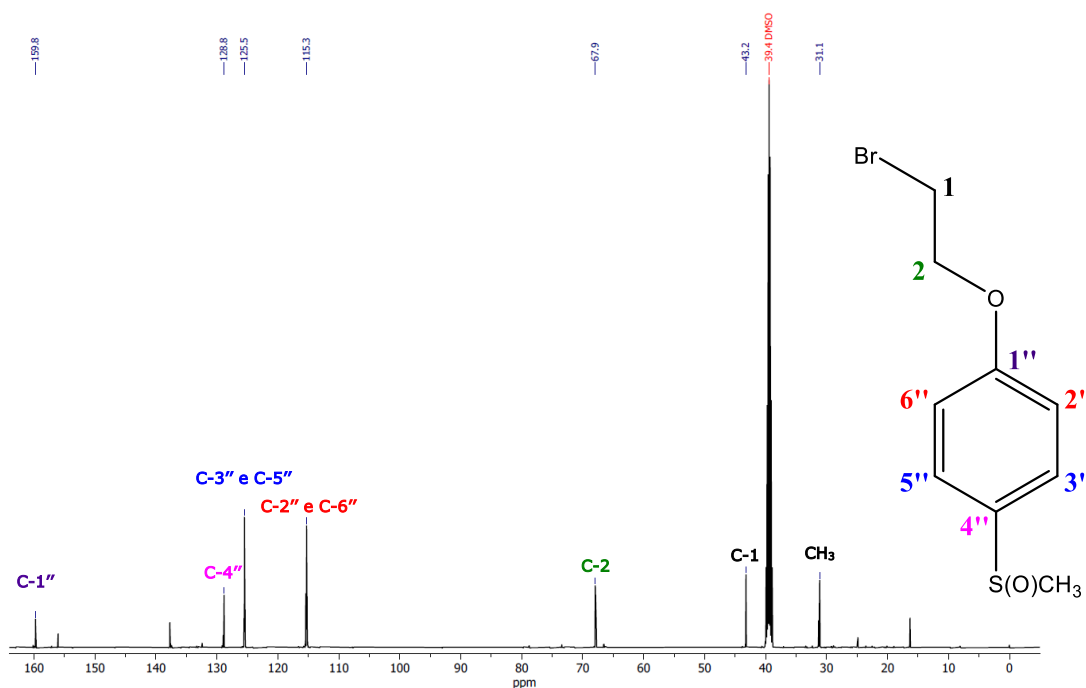


Fonte: próprio autor

O espectro de RMN de ^{13}C revelou 4 sinais na região típica de átomos de carbono em anéis aromáticos, em δ 159,8, 128,8, 125,5 e 115,3 ppm. Estes sinais foram atribuídos, inicialmente, considerando o Efeito Overhauser Nuclear (NOE) que promove o aumento da intensidade do sinal observado para átomos de carbono

diretamente ligados a átomos de hidrogênio. Dessa forma, os dois primeiros sinais menos intensos foram atribuídos aos átomos de carbono quaternário C-1'' e C-4'', respectivamente. Ambos possuem seus núcleos desblindados pelo efeito retirador de elétrons por indução dos átomos eletronegativos adjacentes, todavia a maior eletronegatividade do átomo de oxigênio em relação ao de enxofre, faz com que o sinal relativo a C-1'' apareça em uma região de maior desblindagem quando comparado a C-4''. De maneira análoga, os dois últimos sinais mais intensos são referentes aos átomos de carbono que estão diretamente ligados a um átomo de hidrogênio, C-3''/C-5'' e C-2''/C-6'', respectivamente. Os núcleos de C-3''/C-5'' são desblindados pela ressonância com a sulfonila, enquanto os núcleos de C-2''/C-6'' apresentam maior blindagem devido à ressonância com o grupo metoxi. Ademais, há 2 sinais na região característica de átomos de carbono saturados ligados a átomos eletronegativos, em δ 67,9 e 43,2 ppm, que são relativos a C-2 e C-1, respectivamente. Por fim, foi observado 1 sinal na região de menor deslocamento químico, em δ 31,1 ppm, relacionado ao átomo de carbono do grupo CH₃. Tais dados corroboram com as evidências da obtenção do produto 4-(metilsulfinil)fenoxi-1-(2-bromoetano).

Figura 38: Espectro de RMN de ¹³C de **6** (100 MHz, δ em ppm, DMSO-*d*₆).

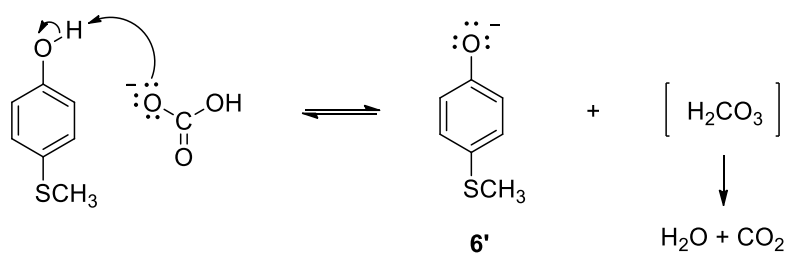


Fonte: próprio autor.

Os mecanismos de obtenção de **6** são conhecidos da química orgânica. A primeira parte (Esquema 18) consiste na formação do 4-(metiltio)fenolato **6'**. Nessa etapa, o par de elétrons não ligante do íon bicarbonato abstrai um próton do 4-(metiltio)fenol, gerando **6'** e H_2CO_3 que devido a sua instabilidade se decompõe em água e dióxido de carbono (Solomons et al., 2018). Na segunda parte (Esquema 19), acontece uma $\text{S}_{\text{N}}2$ a partir do par de elétrons não ligante do fenolato **6'** a um dos átomos de carbono do 1,2-dibromoetano, com a saída de brometo para a produção de **6** (Carey et al., 2007).

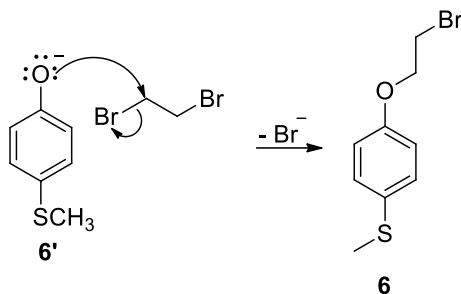
A proposta de mecanismo para a oxidação observada do composto **6** é apresentada no esquema 20. Primeiramente, o par de elétrons não ligante do átomo de oxigênio do hipobromito se liga ao átomo de enxofre, formando **6(I)**. Em seguida, ocorre uma ressonância entre o par de elétrons não ligante do átomo de enxofre com o oxigênio, resultando na saída do íon brometo e na produção da molécula de 4-(metilsulfinil)fenoxi-1-(2-bromoetano).

Esquema 18: Primeira parte do mecanismo proposto para a obtenção de **6**.

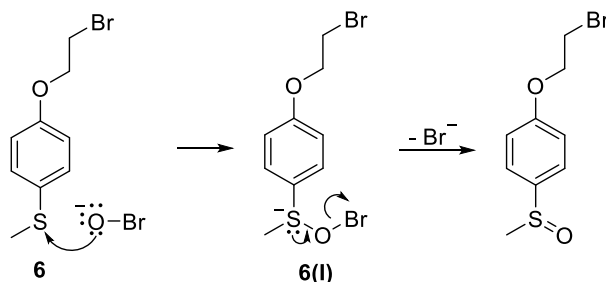


Fonte: próprio autor.

Esquema 19: Segunda parte do mecanismo proposto para a obtenção de **6**.



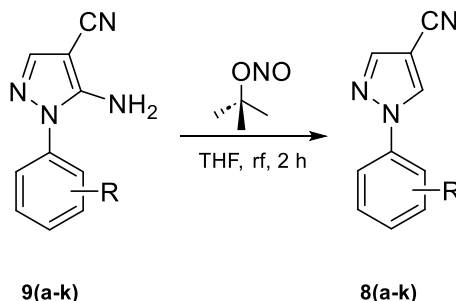
Fonte: próprio autor.

Esquema 20: Proposta mecanística para a oxidação de **6**.

Fonte: próprio autor.

5.6. Obtenção dos intermediários **8(a-k)**

A obtenção dos intermediários **8(a-k)** foi realizada conforme a metodologia descrita em **4.2.2** (Esquema 21). Os compostos **8a**, **8e**, **8f** e **8i** se apresentaram como sólidos e foram sintetizados com rendimentos que variaram de 76-98%. A tabela 15 apresenta a relação de coloração e rendimento de cada um desses derivados. Enquanto isso, os produtos **8(b-d,g,h,j e k)** haviam sido previamente sintetizados e caracterizados pelo grupo de pesquisa, servindo de matéria-prima na próxima etapa da rota sintética.

Esquema 21: Reação para a obtenção dos intermediários **8(a-k)**.

R= **a**: H; **b**: 3-Cl; **c**: 2,4-diCl; **d**: 3,5-diCl; **e**: 3,4-diCl; **f**: 4-Cl; **g**: 4-F; **h**: 3-F; **i**: 4-Br; **j**: 3-Br; **k**: 4- OCH_3 .

Fonte: próprio autor.

Tabela 15: Coloração e rendimento de **8a**, **8e**, **8f** e **8i**.

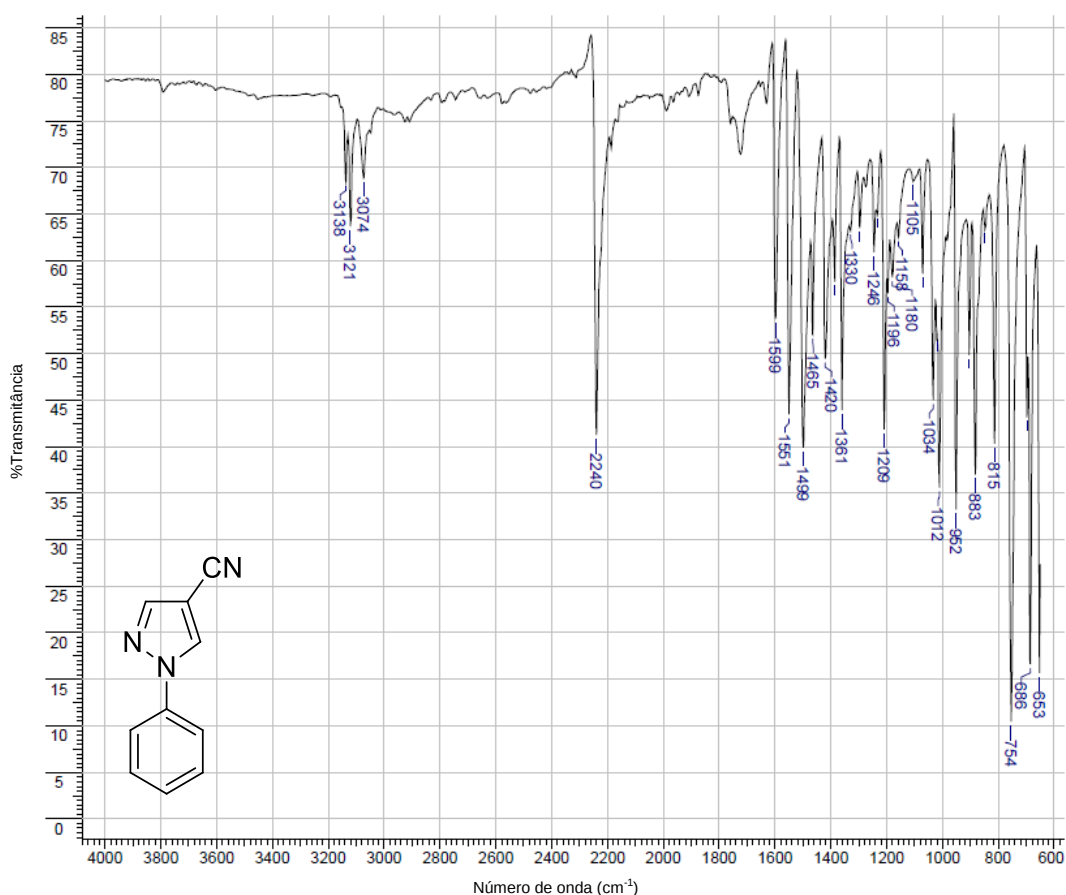
Composto	Coloração	Rendimento (%)
8a H	Amarelo	98
8e 3,4-diCl	Amarelo claro	86
8f 4-Cl	Amarelo	76
8i 4-Br	Amarelo claro	81

Fonte: próprio autor.

Os intermediários **8a**, **8e**, **8f** e **8i** foram caracterizados por FT-IR. Todos os espectros constam no anexo E (espectros 81 a 84) e os principais dados estão na tabela 16. A fim de exemplificação, o espectro de **8a** é mostrado na figura 39. No

espectro podem ser visualizadas bandas em 3138-3074 cm^{-1} relativas aos estiramentos das ligações $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$, e uma banda em 2240 cm^{-1} referente ao estiramento da nitrila. As bandas na região de 1599-1465 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}=\text{N}$ de aromáticos. Por fim, foram observadas duas bandas em 754 e 686 cm^{-1} relacionadas ao padrão de substituição mono substituído do anel benzênico, geradas pela deformação angular fora do plano (γ) da ligação $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$. A ausência de bandas relativas ao grupo NH_2 indica que a reação de desaminação ocorreu com sucesso.

Figura 39: Espectro de FT-IR de **8a**.



Fonte: próprio autor.

Tabela 16: Dados de FT-IR de **8a**, **8e**, **8f** e **8i**.*

Ligação Química	$\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$	$\text{C}\equiv\text{N}$	$\text{C}=\text{C}/\text{C}=\text{N}$ (aromático)	$\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$
Movimento vibracional	ν	ν	ν	γ
8a H	3138-3074	2240	1599-1465	754 e 686
8e 3,4-diCl	3157-3098	2240	1581-1484	879 e 804
8f 4-Cl	3155-3072	2240	1548-1498	819
8i 4-Br	3154-3100	2239	1547-1494	818

* Números de onda ($\bar{\nu}$) expressos em cm^{-1} .

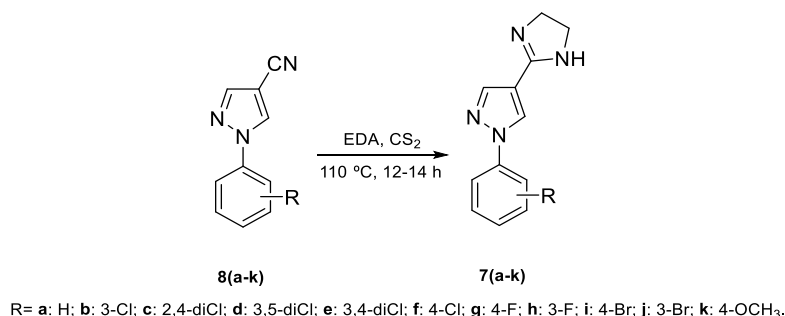
Fonte: próprio autor.

O mecanismo da reação para a síntese de **8(a-k)** é similar ao discutido no item **5.1** e envolve uma desaminação aprótica por vias radicalares.

5.7. Síntese dos intermediários 7(a-k)

A síntese dos intermediários **7(a-k)** foi realizada conforme a metodologia descrita em **4.2.3** (Esquema 22). Nove dos onze derivados propostos foram sintetizados, **7(a,b,e-k)**, com rendimentos de 49 a 85%. A tabela 17 apresenta a relação de coloração e rendimento, assim como as faixas de temperatura de fusão experimentais e da literatura dos derivados sintetizados. Os resultados obtidos da análise de PF apontam para um alto grau de pureza devido à baixa variação de temperatura entre os extremos das faixas experimentais de fusão, todavia tais resultados diferiram daqueles observados na literatura, fato este que pode ser atribuído as diferentes formas possíveis de cristalização do composto.

Esquema 22: Reação para a obtenção dos intermediários **7(a-k)**.



Fonte: próprio autor.

Tabela 17: Coloração, rendimento e faixas de fusão de **7(a,b,e-k)**.

Composto	Coloração	Rendimento (%)	PF Experimental (°C)	PF Literatura (°C)
7a H	Branco	69%	255-257	149-150* 185-186 [†]
7b 3-Cl	Castanho escuro	85%	165-168	120-124* 175-177 [†]
7e 3,4-diCl	Castanho	49%	240-245	185-186* 187-188 [†]
7f 4-Cl	Bege	67%	262-265	214-216*
7g 4-F	Bege	71%	252-255	210-212*
7h 3-F	Castanho	74%	213-217	164-167* 155-156 [†]
7i 4-Br	Bege	83%	277-280	228-230* 222-223 [†]
7j 3-Br	Castanho	80%	145-150	116-120* 180-181 [†]
7k 4-OCH ₃	Bege	66%	230-232	196-197*

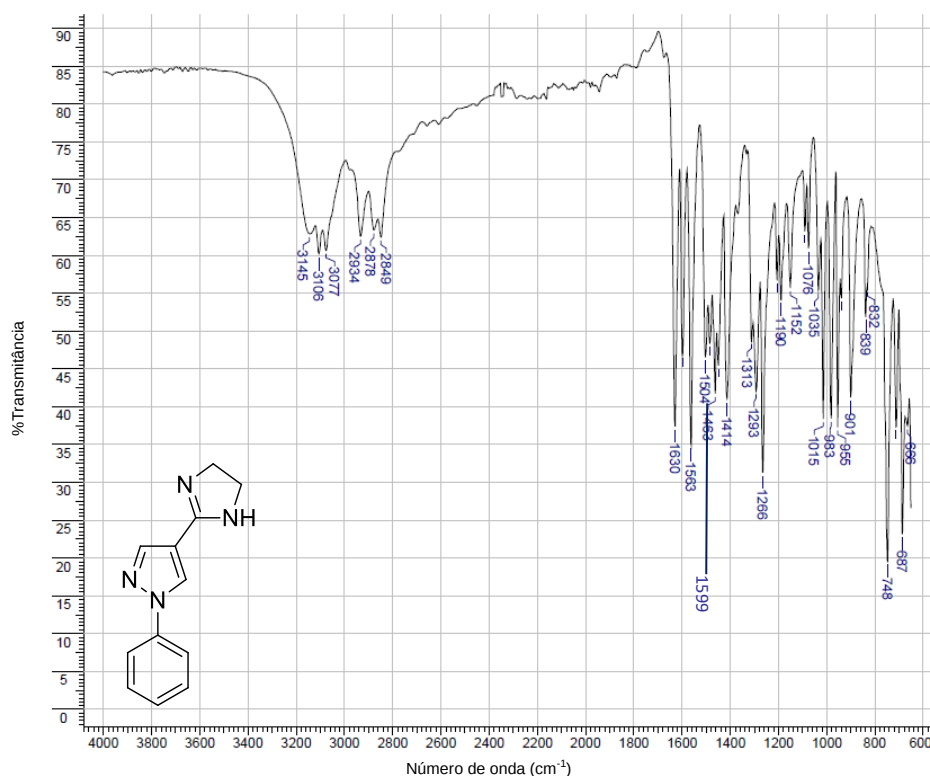
*Orlando et al., 2021

[†]dos Santos et al., 2012

Fonte: próprio autor.

Os intermediários **7(a,b,e-k)** foram caracterizados por FT-IR. Os espectros constam no anexo F (espectros 85 a 93) e os principais dados estão na tabela 18. A fim de exemplificação, o espectro de **7a** é mostrado na figura 40. No espectro pode ser visualizada uma banda em 3145 cm^{-1} associada ao estiramento da ligação N-H, bandas em $3106\text{-}3077\text{ cm}^{-1}$ relativas aos estiramentos das ligações $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$, além de bandas em $2934\text{-}2849\text{ cm}^{-1}$ referentes aos estiramentos assimétricos e simétricos das ligações $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$. A banda em 1630 cm^{-1} é relacionada ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{N}$ da imidazolina, enquanto as bandas na região de $1599\text{-}1463\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas aos estiramentos das ligações $\text{C}=\text{C}/\text{C}=\text{N}$ dos anéis aromáticos. Por fim, foram observadas duas bandas em 748 e 687 cm^{-1} relacionadas ao padrão de substituição mono substituído do anel benzênico, gerado pela deformação angular fora do plano da ligação $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$. A ausência de bandas relativas ao grupo carbonitrila ($\text{C}\equiv\text{N}$) e a presença de bandas relacionadas aos grupos metilenos indicam que a reação de ciclocondensação ocorreu com sucesso.

Figura 40: Espectro de FT-IR de **7a**.



Fonte: próprio autor.

Tabela 18: Dados de FT-IR de **7(a,b,e-k)**.*

Ligação Química	N-H	C _{sp2} -H	C _{sp3} -H	C=N (imidazolina)	C=C/C=N (aromático)	C _{sp2} -H
Movimento vibracional	v	v	v _{as} e v _s	v	v	γ
7a H	3145	3106-3077	2934-2849	1630	1599-1463	748 e 687
7b 3-Cl	3188	3114	2934-2871	1634	1590-1454	875, 770 e 708
7e 3,4-diCl	3197	3100	2942-2883	1627	1582-1483	876 e 802
7f 4-Cl	3148	3111-3075	2935-2876	1628	1567-1472	821
7g 4-F	3146	3106	2933-2848	1632	1563-1466	828
7h 3-F	3196	3113	2936-2858	1634	1615-1456	862, 773 e 708
7i 4-Br	3147	3111-3076	2931-2864	1633	1566-1455	818
7j 3-Br	3222	3103-3043	2936-2878	1638	1584-1458	871, 774 e 710
7k 4-OCH ₃	3137	3107-3010	2935-2847	1631	1563-1452	814

* Números de onda ($\tilde{\nu}$) expressos em cm⁻¹.

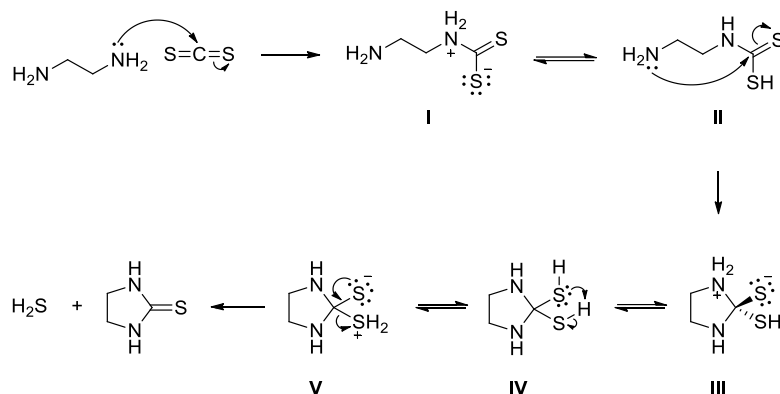
Fonte: próprio autor.

O mecanismo de síntese dos intermediários **7(a-k)** está dividido em duas partes, baseado no mecanismo já proposto pelo nosso grupo de pesquisa (Pereira, 2017). A primeira parte (Esquema 23) consiste na formação de sulfeto de hidrogênio (H₂S). Inicialmente, o dissulfeto de carbono sofre uma adição nucleofílica de um dos pares de elétrons não ligante da EDA, gerando **I**. Subsequentemente, ocorre um tautomerismo prototrópico e o intermediário **II** é formado. Em seguida, o par de elétrons não ligante do NH₂ se liga ao átomo de carbono da ligação C=S, produzindo **III** que, por meio de um tautomerismo prototrópico, se converte em **IV**. Posteriormente, um dos pares de elétrons não ligantes do tiol (SH) abstrai um próton do outro grupo SH, formando **V**. Por fim, ocorre um equilíbrio ácido-base intramolecular com a eliminação de H₂S e a produção de imidazolidina-2-tiona.

A segunda parte do mecanismo é apresentada no esquema 24 e envolve a conversão de **8(a-k)**, em **7(a-k)**, a partir do sulfeto de hidrogênio gerado na etapa anterior. Primeiramente, o átomo de carbono da carbonitrila do composto **8(a-k)**, sofre uma adição nucleofílica de um dos pares de elétrons não ligante do H₂S, obtendo **7(a-k)(I)**. Subsequentemente, ocorre uma série de tautomerismos prototrópicos, transcorrendo por **7(a-k)(II)** que está em equilíbrio com **7(a-k)(III)**. Em sequência, o par de elétrons não ligante do grupo amino se liga ao átomo de carbono da tioamida e **7(a-k)(IV)** é produzido, logo após, acontece um tautomerismo prototrópico que resulta em **7(a-k)(V)**. Posteriormente, o par de elétrons não ligante do grupo NH₂ abstrai um próton do tiol para a geração de **7(a-k)(VI)**. Em seguida, ocorre um equilíbrio ácido-base intramolecular, resultando na eliminação de NH₃ e obtenção de **7(a-k)(VII)**. Então, ocorre uma ciclização a partir do grupo amino e do átomo de

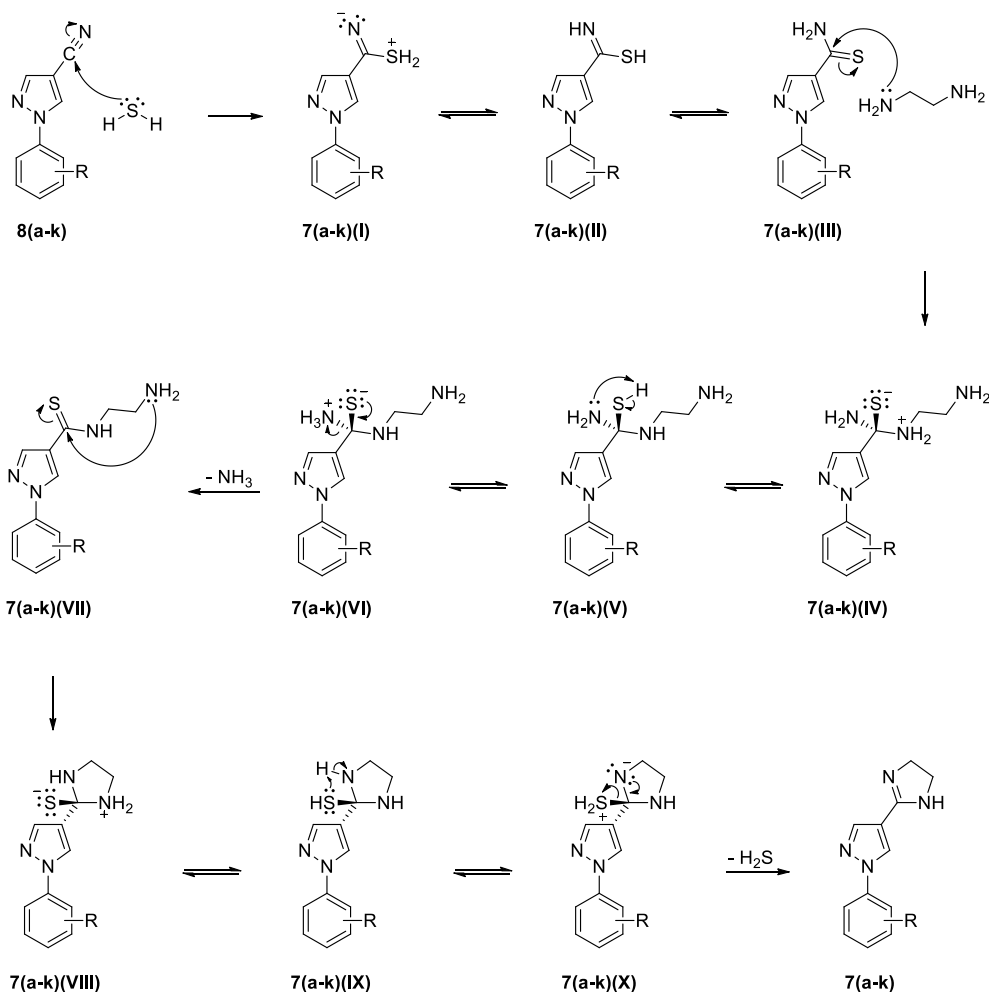
carbono da ligação C=S, formando **7(a-k)(VIII)** que, por meio de um tautomerismo prototrópico, gera **7(a-k)(IX)**. Por fim, o par de elétrons não ligante do tiol abstrai um próton da ligação N-H, obtendo **7(a-k)(X)** que a partir de um equilíbrio ácido-base intramolecular, elimina sulfeto de hidrogênio e resulta no produto **7(a-k)**.

Esquema 23: Primeira parte do mecanismo proposto para a obtenção de **7(a-k)**.



Fonte: próprio autor.

Esquema 24: Segunda parte do mecanismo proposto para a obtenção de **7(a-k)**.



Fonte: próprio autor.

5.8. Tentativas de síntese do produto final 2a

As tentativas de síntese do produto final **2a** foram realizadas com base na metodologia descrita em **4.2.4**. Durante o processo de otimização do procedimento experimental, foram feitas 13 tentativas de síntese com pequenas alterações nas condições reacionais, a fim de avaliar a influência de diferentes bases, solventes, temperaturas e quantidades equivalentes dos reagentes. A tabela 19 mostra cada uma das tentativas e as respectivas condições reacionais aplicadas.

Tabela 19: Tentativas de síntese do derivado **2a**.

Tentativa	Reagente 6 (mmol)	Reagente 7a (mmol)	Base (mmol)	TBAI (mmol)	Solvente (mL)	Potência (W)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
1	0,27	0,27	K ₂ CO ₃ (0,27)	-	DMF (4,0)	-	100	30
2	0,32	0,32	NaH (0,64)	-	THF (4,0)	-	60	44
3	0,32	0,32	NaH (1,92)	-	THF (4,0)	-	60	144
4	0,32	0,27	DBU (0,32)	-	THF (4,0)	-	60	96
5	0,32	0,32	DBU (0,38)	-	1,4-dioxano (4,0)	-	100	24
6	0,32	0,32	DBU (0,77)	-	1,4-dioxano (4,0)	-	100	24
7	0,40	0,40	DBU (0,97)	-	1,4-dioxano (4,0)	-	100	48
8	0,32	0,32	DBU (0,77)	-	1,4-dioxano (4,0)	70	200*	1'
9	0,32	0,32	DBU (0,77)	-	1,4-dioxano (4,0)	100	200*	1'
10	0,32	0,32	DBU (0,77)	-	1,4-dioxano (4,0)	150	200*	1'
11	0,32	0,32	DBU (0,77)	-	1,4-dioxano (4,0)	200	200*	1'
12	0,32	0,21	K ₂ CO ₃ (0,32)	0,06	DMF (4,0)		150	24
13	0,61	0,61	Cs ₂ CO ₃ (0,98)	0,06	DMF (4,0)		150	72

* Temperatura máxima no reator de micro-ondas.

† Pulsos de 10 minutos.

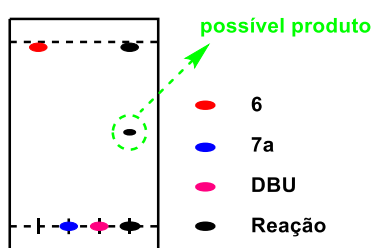
Fonte: próprio autor.

Na tentativa 1, na qual foram utilizados K₂CO₃ e DMF, como base e solvente, respectivamente, observou-se uma baixa solubilização da base e não houve indício de formação de produto nas CCDs realizadas ao longo das 30 h de reação. A hipótese inicial para a não obtenção do produto foi a baixa basicidade do K₂CO₃ para a desprotonação da imidazolina. Por esse motivo, optou-se pela utilização do hidreto de sódio (NaH) em excesso, com 2 e 6 equivalentes molares nas tentativas 2 e 3, respectivamente, e THF como solvente. Também não foram observados indícios de obtenção do produto nas CCDs feitas. Todavia, vale ressaltar que o NaH utilizado aparentava estar úmido, o que pode ter influenciado na ineficácia dessas reações. Um novo NaH foi comprado em maio de 2024, porém houve um problema de logística no processamento do pedido e na entrega do reagente.

As entradas 4 a 11 foram fundamentadas no trabalho de Koech e colaboradores, publicado em 2013, no qual foram utilizados 1,8-

diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) como base e THF como solvente, na alquilação de derivados imidazolínicos com 3-bromo-1-propanol e 6-bromo-1-hexanol. O DBU atua como sequestrante (*scavenger*) de HBr, neutralizando o ácido e prevenindo reações de protonação indesejadas (Koech et al., 2013). Na tentativa 4, em que foram empregados 1,2 equivalentes molares de **6** e DBU, embora a CCD indicasse, presumivelmente, uma leve evidência da ocorrência da reação (Figura 41), optou-se por não dar seguimento ao procedimento de purificação devido à grande intensidade das manchas relativas aos reagentes.

Figura 41: CCD da tentativa de síntese 4.



Eluente: heptano + acetato de etila (2:3)

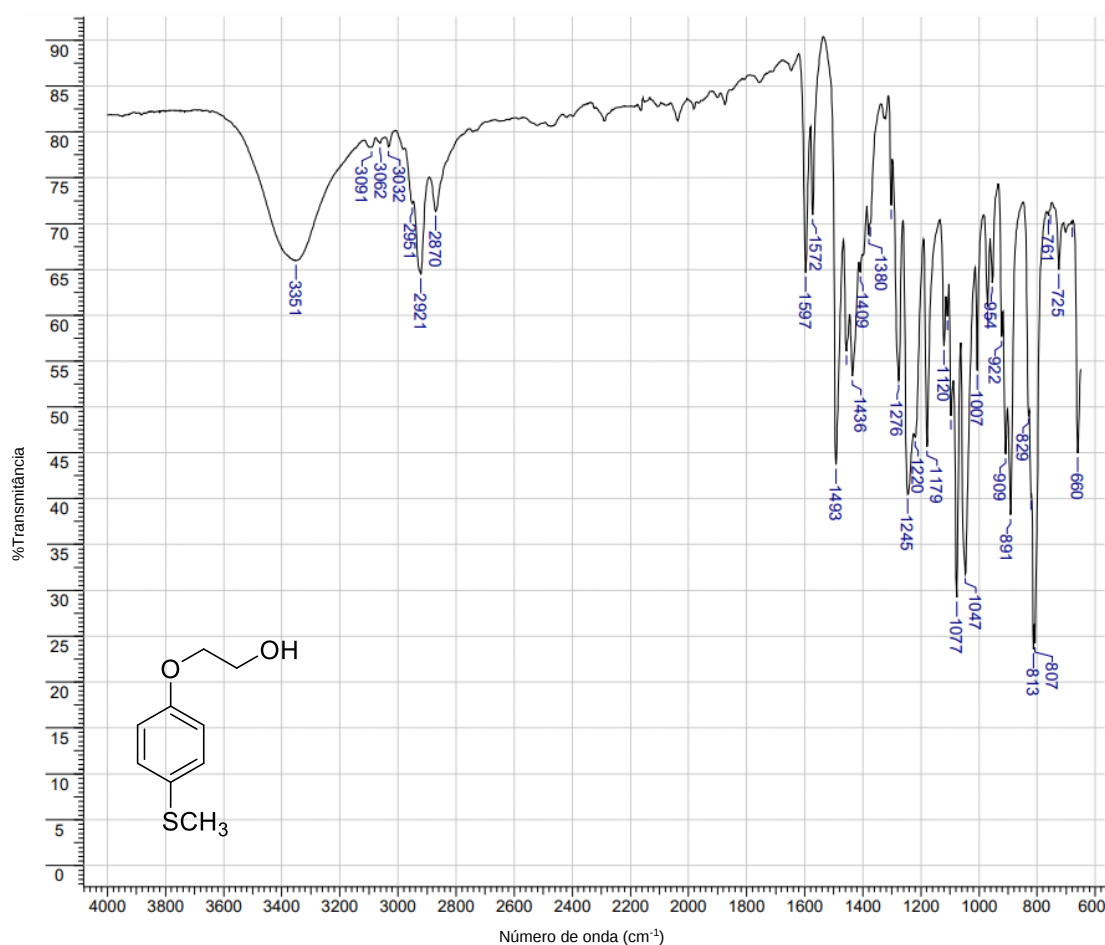
Fonte: próprio autor.

As entradas 5, 6 e 7 envolveram a utilização de 1,4-dioxano como solvente e DBU com 1,2, 2,4 e 3,0 equivalentes molares, respectivamente. Tais tentativas foram pautadas no pressuposto de que o aumento da entropia da reação, promovido pelo aumento da temperatura de refluxo do 1,4-dioxano em relação ao THF, permitiria uma maior conversão dos reagentes. Assim como maiores quantidades de DBU no meio reacional poderiam facilitar a etapa de desprotonação e aumentar o efeito sequestrante de HBr. A princípio, as alterações surtiram o efeito desejado e a mancha de interesse se intensificou, por esse motivo na entrada 7 foi realizada uma purificação por cromatografia em coluna, a partir do mesmo procedimento utilizado no item **4.2.1**, e as frações 6 a 8 foram coletadas e caracterizadas por FT-IR, HRMS e RMN.

O espectro de FT-IR do produto obtido na tentativa 7 é mostrado na figura 42. Todavia, não foram visualizadas bandas referentes a **2a**, como a banda esperada para o estiramento da ligação C=N da imidazolina. No espectro foi observada uma banda larga inesperada, em 3351 cm^{-1} , típica do estiramento de hidroxila (O-H), assim como duas regiões com diversas bandas, em $3091\text{-}3032\text{ cm}^{-1}$ e $2951\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$, que foram atribuídas aos estiramentos de Csp²-H e de Csp³-H, respectivamente. As bandas em $1597\text{-}1493\text{ cm}^{-1}$ são relativas aos estiramentos das ligações C=C de aromáticos e,

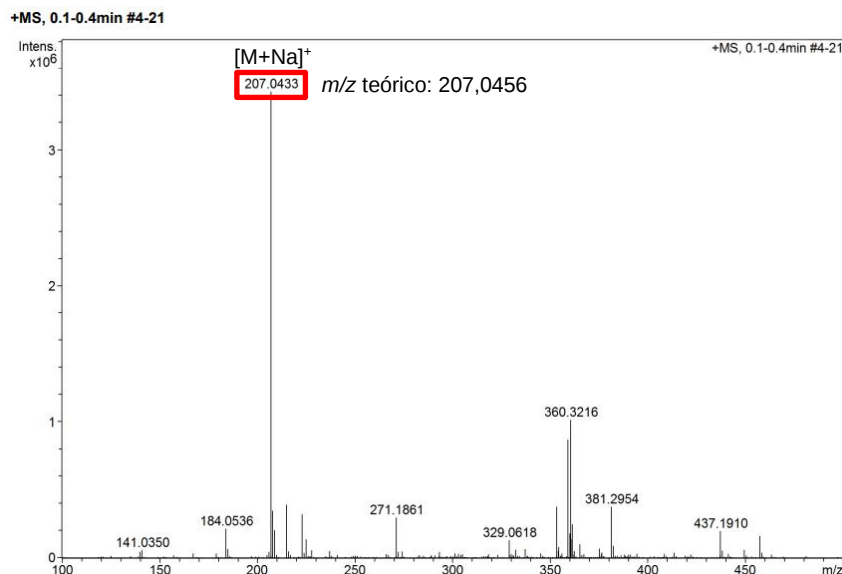
novamente, o duplete em 1597 e 1572 cm^{-1} ocorre devido a relação de equilíbrio dos isômeros *cis* e *trans* na ressonância dos éteres conjugados, conforme explicado na seção 5.5. Por fim, as bandas em 1245 e 1077 cm^{-1} foram relacionadas aos estiramentos assimétrico e simétrico de $=\text{C}-\text{O}-\text{C}$ de éter, respectivamente. Os resultados da análise de FT-IR sugeriam a obtenção do composto 2-(4-(metiltio)fenoxi)etan-1-ol.

Figura 42: Espectro de FT-IR do produto da tentativa de síntese 7.



Fonte: próprio autor.

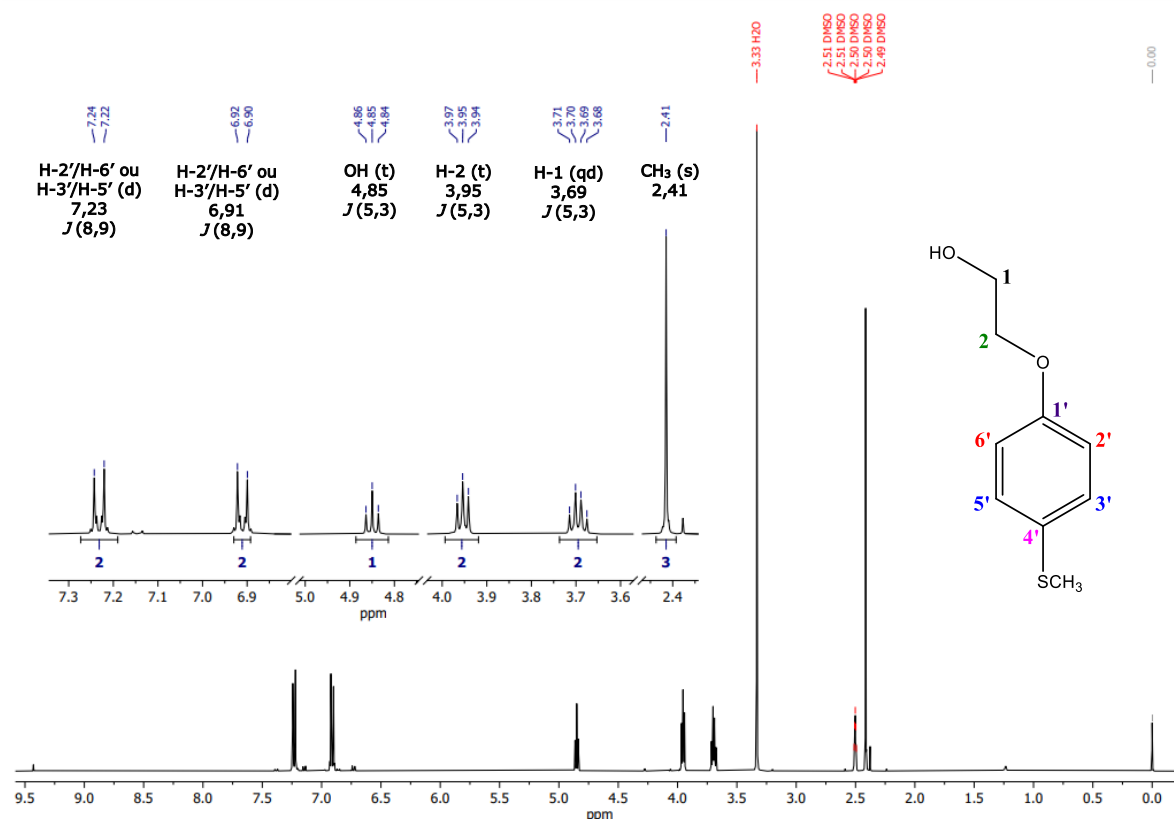
O espectro de HRMS do produto da entrada 7 pode ser visualizado na figura 43. No espectro foi observado o pico em 207,0433 m/z , referente a massa do íon molecular de 2-(4-(metiltio)fenoxi)etan-1-ol cationizado com sódio $[\text{M}+\text{Na}]^+$, com erro igual a 11 ppm. Tal resultado fortaleceu a evidência da obtenção do produto inesperado.

Figura 43: Espectro de HRMS do produto da tentativa de síntese 7.

Fonte: próprio autor.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C confirmaram a estrutura de 2-(4-(metiltio)fenoxi)etan-1-ol e são apresentados nas figuras 44 e 45, respectivamente. No espectro de RMN de ¹H, são observados 2 sinais dupletos com integração igual a 2 e acoplamento *orto* (J^3 8,9 Hz), em δ 7,23 e 6,91 ppm, que foram atribuídos aos átomos de hidrogênio do anel aromático, H-2'/H-6' e H-3'/H-5'. Ademais, pode-se visualizar 2 sinais tripletos com acoplamento J^3 5,3 Hz, em δ 4,85 e 3,95 ppm. O primeiro sinal com integração igual a 1 é relativo ao único átomo de hidrogênio da hidroxila que acopla com os dois átomos de hidrogênio H-1, enquanto o segundo sinal, cuja integração é igual a 2, refere-se aos dois átomos equivalentes de hidrogênio H-2 que acoplam com os dois átomos de hidrogênio H-1. Diante do elucidado, infere-se que estes últimos (H-1) são relacionados ao sinal quadrupeto em δ 3,69 ppm, também com acoplamento J^3 5,3 Hz e integração igual a 2. Por fim, o sinal simpleto em δ 2,41 ppm com integração igual a 3 é relativo aos hidrogênios do grupo metil.

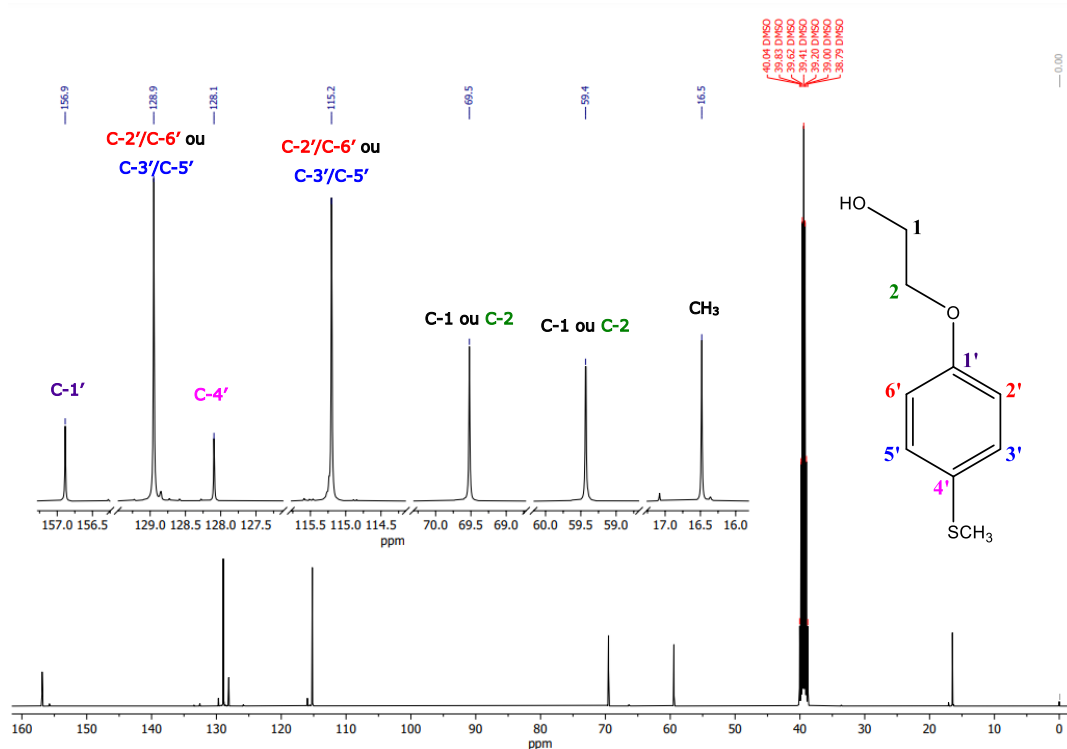
Figura 44: Espectro de RMN de ^1H do produto da tentativa de síntese 7 (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: próprio autor.

O espectro de RMN de ^{13}C revelou 4 sinais na região típica de átomos de carbono em anéis aromáticos, em δ 156,9, 128,9, 128,1 e 115,2 ppm. Novamente foi considerado o efeito NOE para a atribuição dos sinais. Desse modo, os sinais de menor intensidade, em δ 156,9 e 128,1 ppm, foram atribuídos aos átomos de carbono quaternário C-1' e C-4', respectivamente. Ambos possuem seus núcleos desblindados pelo efeito retirador de elétrons por indução dos átomos eletronegativos adjacentes, todavia a maior eletronegatividade do átomo de oxigênio em relação ao de enxofre, faz com que o sinal relativo a C-1' apareça em uma região de maior desblindagem quando comparado a C-4'. De maneira análoga, os dois sinais mais intensos, em δ 128,9 e 115,2 ppm, são referentes aos átomos de carbono que estão diretamente ligados a um átomo de hidrogênio, C-2'/C-6' e C-3'/C-5'. Ademais, há 2 sinais na região característica de átomos de carbono saturados ligados a átomos eletronegativos, em δ 69,5 e 59,4 ppm, que são relativos a C-1 e C-2. Por fim, foi observado 1 sinal na região de menor deslocamento químico, em δ 16,5 ppm, relacionado ao átomo de carbono do grupo CH_3 .

Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C do produto da tentativa de síntese 7 (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: próprio autor.

As tentativas de síntese 8, 9, 10 e 11 foram realizadas em um reator de micro-ondas, utilizando 2,4 equivalentes molares de DBU e 1,4-dioxano como solvente. Tal reator foi configurado para uma temperatura máxima de 200 °C, pulsos de 10 minutos e potências de 70, 100, 150 e 200 W, respectivamente. Essas tentativas foram fundamentadas na hipótese de que a irradiação por micro-ondas (IMO) promove efeitos térmicos e não-térmicos específicos em reações orgânicas, reduzindo a obtenção de produtos indesejados e podendo aumentar a seletividade de uma reação (de Souza et al., 2011). Apesar de ser notado um aumento considerável na velocidade da reação, as CCDs mostravam os mesmos resultados obtidos com o aquecimento convencional, sugerindo a obtenção de 2-(4-(metiltio)fenoxi)etan-1-ol. Por esse motivo, os experimentos utilizando DBU foram descontinuados.

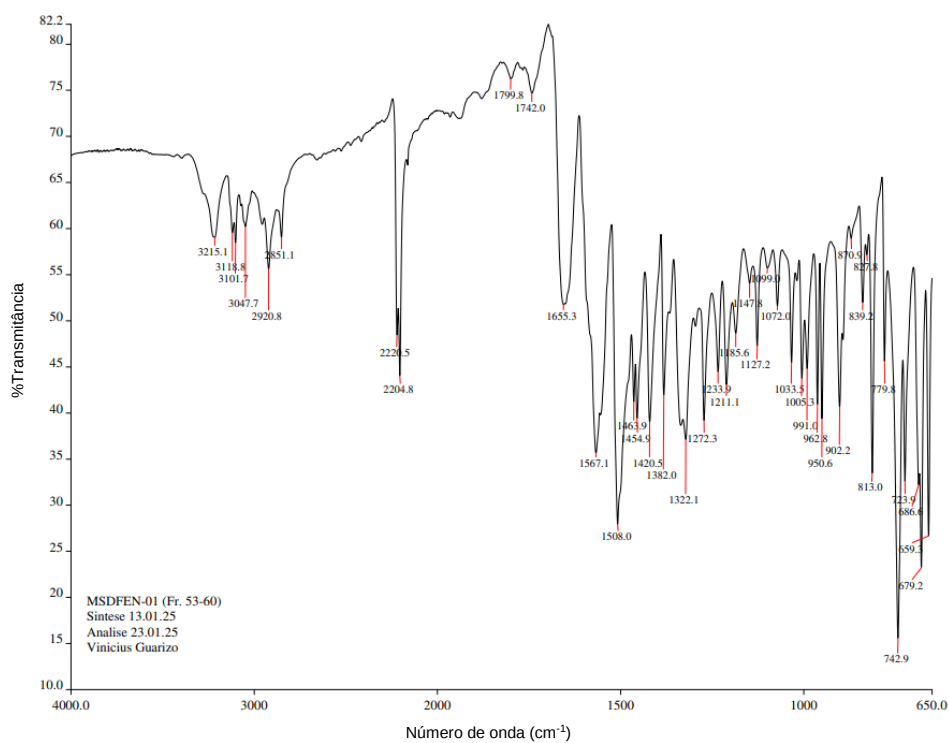
Nas entradas 12 e 13, decidiu-se retomar a metodologia inicial, porém dessa vez os experimentos foram conduzidos em temperaturas mais elevadas (150 °C) e acrescentou-se iodeto de tetrabutilamônio (TBAI) em quantidade catalítica. A adição de TBAI teve como objetivo verificar se a etapa de $\text{S}_{\text{N}}2$ estaria sendo comprometida pelo fato de o bromo não ser um grupo de saída suficientemente bom, de modo que a sua substituição por iodo resultasse na ocorrência da reação. A tentativa 12, em que

foram empregados 1,5 equivalentes molares de K_2CO_3 e **6**, aparentava-se promissora devido a uma mudança perceptível na coloração, de amarelo para um castanho intenso, que não foi observada nos outros experimentos. No entanto, após a purificação do composto por cromatografia em coluna e caracterização por FT-IR, constatou-se que novamente foi obtido o produto indesejado (Espectro 94). Na entrada 13, utilizou-se 1,6 equivalentes molares de Cs_2CO_3 com o intuito de verificar se uma melhor solubilização da base em DMF poderia conduzir ao produto de interesse, vale ressaltar que o Cs_2CO_3 utilizado no experimento aparentava estar úmido. Dessa vez, observou-se uma mancha adicional na CCD e por esse motivo foi realizado uma purificação por cromatografia em coluna. Nesse procedimento empacotou-se sílica gel com heptano até atingir a altura de 20 cm na coluna e foram utilizados como fase móvel: 100 mL de heptano + acetato de etila (9:1), 100 mL de heptano + acetato de etila (8:2) e 100 mL de heptano + acetato de etila (7:3), nesta ordem. As frações 53-60 foram coletadas e analisadas por FT-IR, HRMS e RMN, enquanto as outras frações foram descartadas por não possuir quantidade suficiente para as análises ou por se tratar de compostos previamente caracterizados nas outras tentativas de síntese.

A análise do espectro de FT-IR (Figura 46) revelou duas bandas distintas daquelas esperadas para o produto de interesse, em 2220 e 2205 cm^{-1} , região típica de estiramentos de ligações envolvendo carbono e/ou nitrogênio com hibridização sp . Outra banda relevante pode ser visualizada em 3215 cm^{-1} , podendo estar associada ao estiramento da ligação O-H de álcoois ou fenóis, ou ainda, ao estiramento da ligação N-H de aminas. Além disso, há uma banda em 1655 cm^{-1} que pode ser relacionada aos estiramentos de C=N de iminas ou C=C de alcenos. Ademais, existem três regiões com diversas bandas em 3119 - 3047 , 2921 - 2851 e 1567 - 1455 cm^{-1} , regiões típicas dos estiramentos de $Csp_2\text{-H}$, $Csp_3\text{-H}$ e C=C (aromáticos), respectivamente.

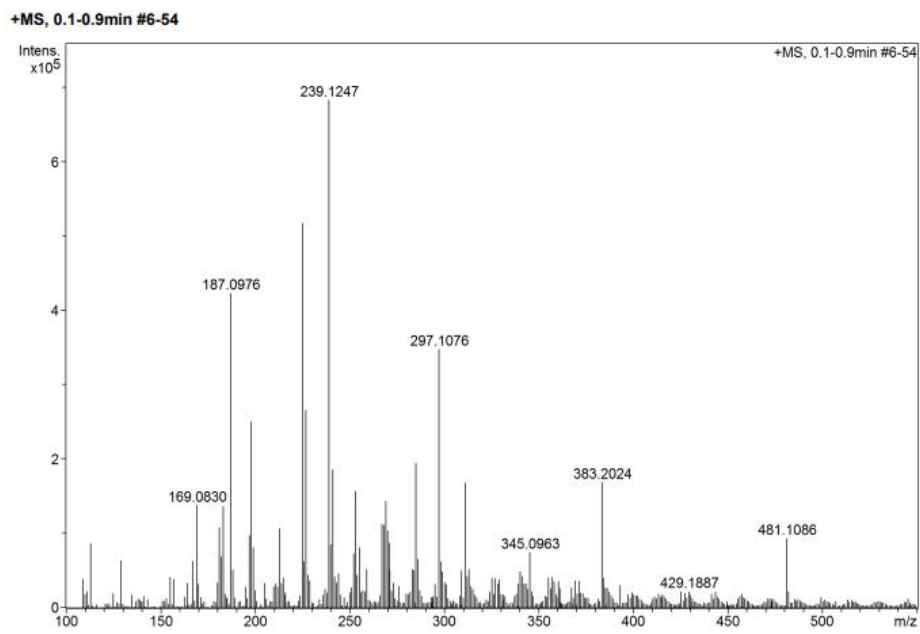
No espectro de HRMS da figura 47 são observados diversos picos, porém nenhum relativo à massa do íon molecular de **2a**, cujos valores teóricos são: $[M+H]^+ = 379,1593\text{ m/z}$ e $[M+Na]^+ = 401,1412\text{ m/z}$. Tampouco foi possível propor uma estrutura que explicasse os resultados das análises, uma vez que os espectros de RMN de 1H e ^{13}C das figuras 48 e 49, respectivamente, são igualmente inconclusivos.

Figura 46: Espectro de FT-IR do produto da tentativa de síntese 13.



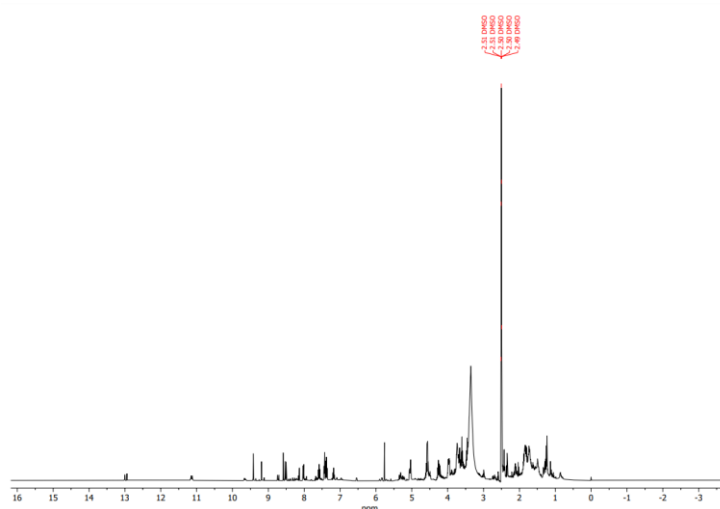
Fonte: próprio autor.

Figura 47: Espectro de HRMS do produto da tentativa de síntese 13.



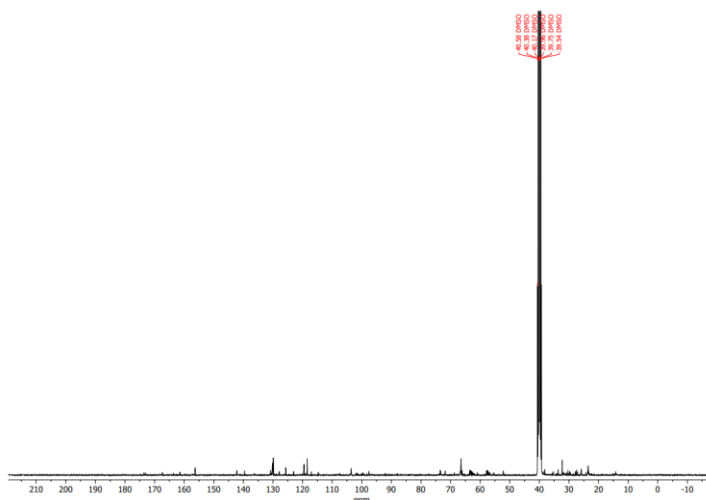
Fonte: próprio autor.

Figura 48: Espectro de RMN de ^1H do produto da tentativa de síntese 13 (400 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: próprio autor.

Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C do produto da tentativa de síntese 13 (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).



6. Conclusão e Perspectivas

Ao todo foram sintetizados e caracterizados 36 compostos, dos quais 20 são produtos finais **1(a-t)**, sendo 19 inéditos **1(b-t)**, e 16 são intermediários de síntese (**4**, **3**, **8a**, **8e**, **8f**, **8i**, **7(a,b,e-k)** e **6**). Os compostos **4** e **3**, necessários para a síntese de **1(a-t)**, foram obtidos com rendimentos de 60% e 90%, respectivamente, enquanto os derivados **8a**, **8e**, **8f**, **8i** e **7(a,b,e-k)**, essenciais para a produção de **2(a-k)**, foram sintetizados com rendimentos variando de 49 a 98%. Todos os produtos intermediários foram caracterizados por FT-IR, exceto **6** que além da análise de FT-IR, foi submetido às caracterizações por HRMS e RMN, cujos espectros indicaram a obtenção do composto 4-(metilsulfinil)fenoxi-1-(2-bromoetano) com 38% de rendimento. Os intermediários **7(a,b,e-k)** foram caracterizados por PF e os resultados indicaram um alto grau de pureza.

Os produtos finais **1(a-t)** foram sintetizados com rendimentos variando de 27 a 98%. As caracterizações desses derivados por FT-IR, HRMS e RMN confirmaram as estruturas propostas, entretanto, os espectros de **1t** mostraram a presença de impurezas na amostra. Além disso, foram realizadas análises de PF, contudo, não existem referências na literatura pesquisada para fins de comparação. Os 19 compostos isolados **1(a-s)** foram submetidos à avaliação biológica e não se apresentaram citotóxicos para células Vero, $CC_{50} > 500 \mu M$, em ensaios realizados na FIOCRUZ. Com relação à anti-*T. cruzi*, o derivado **1d** demonstrou melhor resultado frente à ambas as formas, tripomastigota e amastigota, com $IC_{50} = 9,54 \pm 0,25 \mu M$ e $7,74 \pm 2,21 \mu M$, respectivamente. Além de nenhum efeito citotóxico em cardiomiócitos $CC_{50} > 500 \mu M$.

Os híbridos **2(a-k)** não foram sintetizados com sucesso, embora foram testadas diversas metodologias e condições reacionais na síntese do derivado **2a**. Em uma dessas tentativas, foi isolado o composto não planejado 2-(4-(metiltio)fenoxi)etan-1-ol. Apesar das abordagens utilizadas não culminarem na obtenção de **2(a-k)**, elas forneceram impressões valiosas acerca da reatividade do sistema.

Com relação às perspectivas deste trabalho, testes de *washout* do composto promissor **1d** estão em andamento na FIOCRUZ, enquanto **1t** deve ser purificado antes de prosseguir para os testes biológicos. Além disso, novas tentativas de síntese

dos híbridos **2(a-k)** serão realizadas por membros do grupo de pesquisa, utilizando este trabalho como base para o desenvolvimento de uma metodologia sintética eficaz.

7. Referências Bibliográficas

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.

BAHIA, M. T. et al. Fexinidazole: A Potential New Drug Candidate for Chagas Disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 11, p. e1870, 2012.

BHARATAM, P. V. et al. Importance of tautomerism in drugs. **Drug Discovery Today**. v. 28, n. 4, p. 103494, 2023.

BUNTZ, B. **Best-selling pharmaceuticals of 2023 reveal a shift in pharma landscape**. Disponível em: <https://www.drugdiscoverytrends.com/best-selling-pharmaceuticals-2023/>. Acesso em 31 de julho de 2024.

CABRAL, C. R. N. S. et al. Desenvolvimento do método de Dissolução da forma farmacêutica comprimido do Benznidazol 12,5 mg Lafepe Development method of dissolution of the tablet pharmaceutical form of Benznidazole 12.5 mg Lafepe. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 2, p. 2185-2194, 2019.

CAREY, F. A. et al. **Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms**. 5^a ed. New York, NY: Springer Science, 2007.

CASCIOFERRO, S. et al. Synthesis and biofilm formation reduction of pyrazole-4-carboxamide derivatives in some Staphylococcus aureus strains. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 58-68, 2016.

CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry**. 2^a ed. New York, NY: Oxford University Press, 2012.

CRESPILLO-ANDÚJAR, C. et al. Use of benznidazole to treat chronic Chagas disease: An updated systematic review with a meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 16, n. 5, p. e0010386 2022.

DA SILVA FILHO, A. L. D. et al. Diagnóstico da Doença de Chagas no paciente assintomático. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 21, n. 8, p. 9006-9017, 2023.

- DA SILVA, M. J. V. et al. Discovery of 1,3,4,5-tetrasubstituted pyrazoles as anti-trypansomatid agents: Identification of alterations in flagellar structure of *L. amazonensis*. **Bioorganic Chemistry**, v. 114, p. 105082, 2021.
- DESAI, N. C. et al. Synthesis, Antifungal Ergosterol Inhibition, Antibiofilm Activities, and Molecular Docking on β -Tubulin and Sterol 14-Alpha Demethylase along with DFT-Based Quantum Mechanical Calculation of Pyrazole Containing Fused Pyridine-Pyrimidine Derivatives. **ACS Omega**, v. 8, n. 41, p. 37781-37797, 2023.
- DE SOUZA, R. O. M. A. et al. Irradiação de micro-ondas aplicada à síntese orgânica: uma história de sucesso no brasil. **Quim. Nova**, v. 34, n. 3, p. 497-506, 2011.
- DOS SANTOS, M. S. et al. Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 24, p. 7451-7454, 2011.
- EBENEZER, O. et al. A Review of the Recent Development in the Synthesis and Biological Evaluations of Pyrazole Derivatives. **Biomedicines**. v. 10, n. 5, p. 1124, 2022.
- ECHAVARRÍA N. G. et al. Chagas Disease: Chronic Chagas Cardiomyopathy. **Current Problems in Cardiology** v. 46(3), n. 100507, 2021.
- EL HASSANI, I. A. et al. Recent Advances in the Synthesis of Pyrazole Derivatives: A Review. **Reactions**. v. 4, n. 3, p. 478-504, 2023.
- FERREIRA, A. Z. L. et al. Metacyclogenesis as the Starting Point of Chagas Disease. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 25, p. 117, 2024.
- 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, 2020.
- FESSER, A. et al., Neue Parameter für die Wirkstofftestung gegen *Trypanosoma cruzi*. **Biospektrum**, v. 27, p. 168-170, 2021.
- FIDALGO, L. M. et al. Mitochondria and trypanosomatids: Targets and drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 28, p. 2758-2770, 2011.
- GLADYSHKIN, A. G. et al. Nitration of N-(fluorodinitroethyl)pyrazoles*Izvestiya Akademii Nauk. **Russian Chemical Bulletin**, v. 71, n. 8, p. 1701-1709, 2022.

- HAJDIN, I. et al. Regioselective synthesis of 3H-Pyrazoles bearing difluoromethyl phosphonate group. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 273, p. 110218, 2024.
- HE, S. et al. 1,3-Dipolar cycloaddition of diazoacetate compounds to terminal alkynes promoted by Zn(OTf)₂: an efficient way to the preparation of pyrazoles. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 20, p. 2443-2445, 2009.
- HERVÉ, G. et al. Selective preparation of 3,4,5-Trinitro-1H-Pyrazole: A stable all Carbon-nitrated arene. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 49, n. 18, p. 3177-3181, 2010.
- HOLSON E. et al. substituted pyrrolidines and piperidines as dopamine d2 receptor ligands and their preparation. **World Intellectual Property Organization**, WO2016100940 A1, 2016.
- JONES, K. M. et al. Vaccine-linked chemotherapy improves cardiac structure and function in a mouse model of chronic Chagas disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, 2023.
- KAMBLE, B. S. et al. JOURNAL, I. Exploring the Pharmacological Potential of Pyrazole Derivatives: A Comprehensive Review of Diverse Biological Activities. **International Journal of Scientific Research in Engineering and Management**, v. 7, n. 9, 2023.
- KOECH, P. K. et al. Low viscosity alkanolguanidine and alkanolamidine liquids for CO₂ capture. **RSC Advances**, v. 3, n. 2, p. 566-572, 2013.
- KUMAR, M. et al. Pyrazole and Its Derivatives: An Excellent N-Hetrocycle with Wide Range of Biological Applications (A Review). **Oriental Journal of Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 568-592, 2022.
- LAPORTA, G. Z. et al. Estimation of prevalence of chronic Chagas disease in Brazilian municipalities. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 48, p. e282024, 2024.
- LARA, L. DA S. et al. Bioactivity of Novel Pyrazole-Thiazolines Scaffolds against Trypanosoma cruzi: Computational Approaches and 3D Spheroid Model on Drug Discovery for Chagas Disease. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 5, p. 995, 2022.
- LAYNEZ-ROLDÁN, P. et al. Characterization of Latin American migrants at risk for Trypanosoma cruzi infection in a non-endemic setting. Insights into initial evaluation

of cardiac and digestive involvement. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 17, n. 7, p. e0011330, 2023.

LU, N. et al. Successful treatment of suspected early form of chronic Chagas cardiomyopathy: a case report. **European Heart Journal - Case Reports**, v. 6, n. 10, p. 1-8, 2022.

MACALUSO, G. et al. A Review on the Immunological Response against *Trypanosoma cruzi*. **Pathogens**, v. 12, p. 282, 2023.

MERT, S. et al. 2.7. PYRAZOLE COMPOUNDS: CHEMICAL PROPERTIES, SYNTHETIC METHODS AND BIOLOGICAL SIGNIFICANCE. **New Developments in Science and Mathematics**, p. 266, 2022.

Ministério da Saúde. **Doença de Chagas**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas>. Acesso em: 01 jul. 2024.

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. 111610, 2019.

NITULESCU, G. M. et al. The Importance of the Pyrazole Scaffold in the Design of Protein Kinases Inhibitors as Targeted Anticancer Therapies. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5359, 2023.

OMS. **Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals A rationale for continued investment in tackling neglected tropical diseases 2021-2030**. Geneva: World Health Organization, 2022.

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, 2021.

PARK, M. S. et al. Introduction of N-containing heterocycles into pyrazole by nucleophilic aromatic substitution. **Synthetic Communications**, v. 34, n. 9, p. 1541-1550, 2004.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 2ª ed. São Paulo, SP: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA, C. N. **Síntese e Avaliação da Atividade Antileishmania de Novos Híbridos Tiofeno-Imidazolínicos e Pirazol-Imidazolínicos**. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais – Universidade Federal de Itajubá, 2017.

PINAZO, M. J. et al. Efficacy and safety of fexinidazole for treatment of chronic indeterminate Chagas disease (FEXI-12): a multicentre, randomised, double-blind, phase 2 trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 24, n. 4, p. 395-403, 2024.

POUDYAL, B. A review of pyrazole an its derivative. ~ **34** ~ **National Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 34-41, 2021.

ROPP, R. C. Group 17 (H, F, Cl, Br, I) Alkaline Earth Compounds. In: **Encyclopedia of the Alkaline Earth Compounds**. Elsevier, p. 25-104, 2013.

ROY, K.-M. Sulfones and Sulfoxides. In: **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, v. 34, p. 705-720, 2000.

RUE, K. L. et al. Completion of Crystallographic Data for the Series of 4-Halogenated-1H-pyrazoles: Crystal Structure Determination of 4-Iodo-1H-pyrazole and Spectroscopic Comparison. **Crystals**, v. 13, n. 7, p. 1101, 2023.

RUSU, A. et al. The Role of Five-Membered Heterocycles in the Molecular Structure of Antibacterial Drugs Used in Therapy. **Pharmaceutics**. v. 15, p. 2554, 2023.

SANGENITO, L. S. et al. Repositioning drug strategy against Trypanosoma cruzi: Lessons learned from HIV aspartyl peptidase inhibitors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 117, p. e210386, 2021.

SILVA, R. C. et al. Exploring novel pyrazole-nitroimidazole hybrids: Synthesis and antiprotozoal activity against the human pathogen trichomonas vaginalis. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 102, p. 117679, 2024.

SOLOMONS, T. W. G. et al. **Química Orgânica**. v. 1 e 2, 13ª ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC - Livros Técnicos e Científicos, 2024.

Tochowicz A. et al. **Crystal structure analysis of cruzain with fragmente 1 (N-(1H-benimidazole-2-yl)-1,3-dimethyl-pyrazole-4-carboxamide)**. Initial deposition on: 17 August 2014, Latest revision on: 27 September 2023. Doi: 10.2210/pdb4w5b/pdb

TORRICO, F. et al. A Phase 2, Randomized, Multicenter, Placebo-Controlled, Proof-of-Concept Trial of Oral Fexinidazole in Adults with Chronic Indeterminate Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 76, n. 3, p. E1186–E1194, 2023.

TORRICO, F. et al. New regimens of benznidazole monotherapy and in combination with fosravuconazole for treatment of Chagas disease (BENDITA): a phase 2, double-blind, randomised trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 8, p. 1129-1140, 2021.

VASCONCELOS, A. C. et al. Açaí e a transmissão da doença de Chagas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, p. e532111638638, 2022.

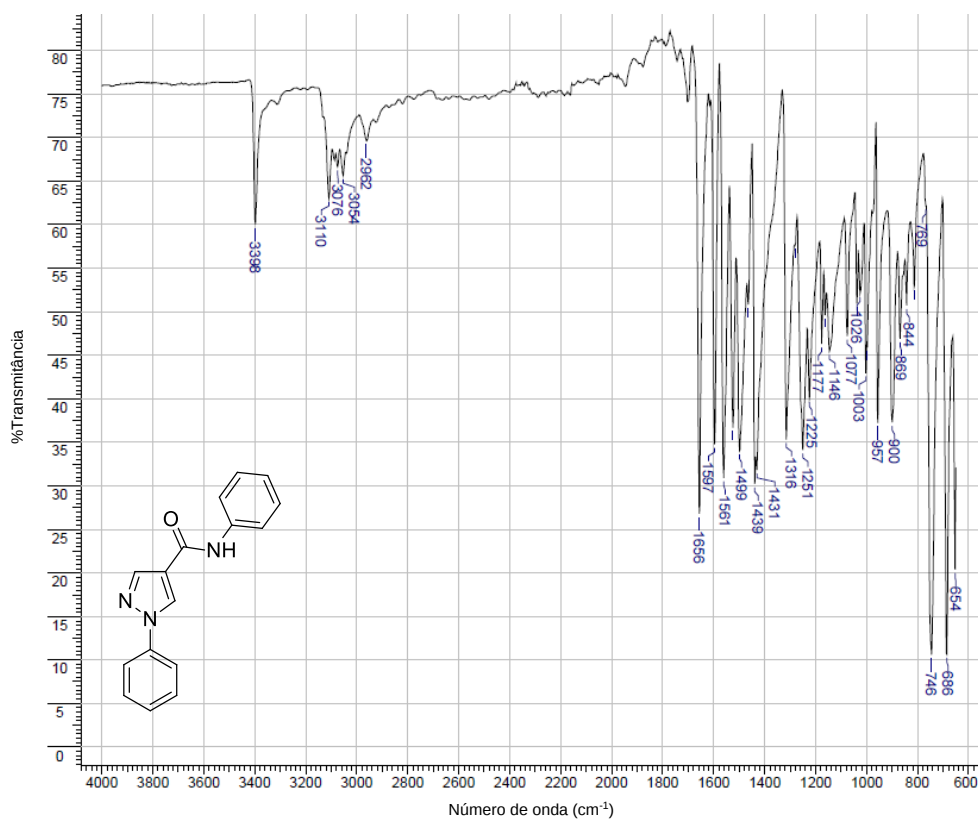
WEEKS, N. J. et al. Mild synthesis of 2,3,5,6-tetrafluoropyridine ethers and their reactivity toward imidazole and pyrazole. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 276, p. 10280, 2024.

YAMAGUCHI, M. et al. Novel Antiasthmatic Agents with Dual Activities of Thromboxane A₂ Synthetase Inhibition and Bronchodilation. 1. 2-[2-(1-imidazolyl)alkyl]-1(2*H*)-phthalazinones. **J. Med. Chem.**, v. 36, p. 4052-4060, 1993.

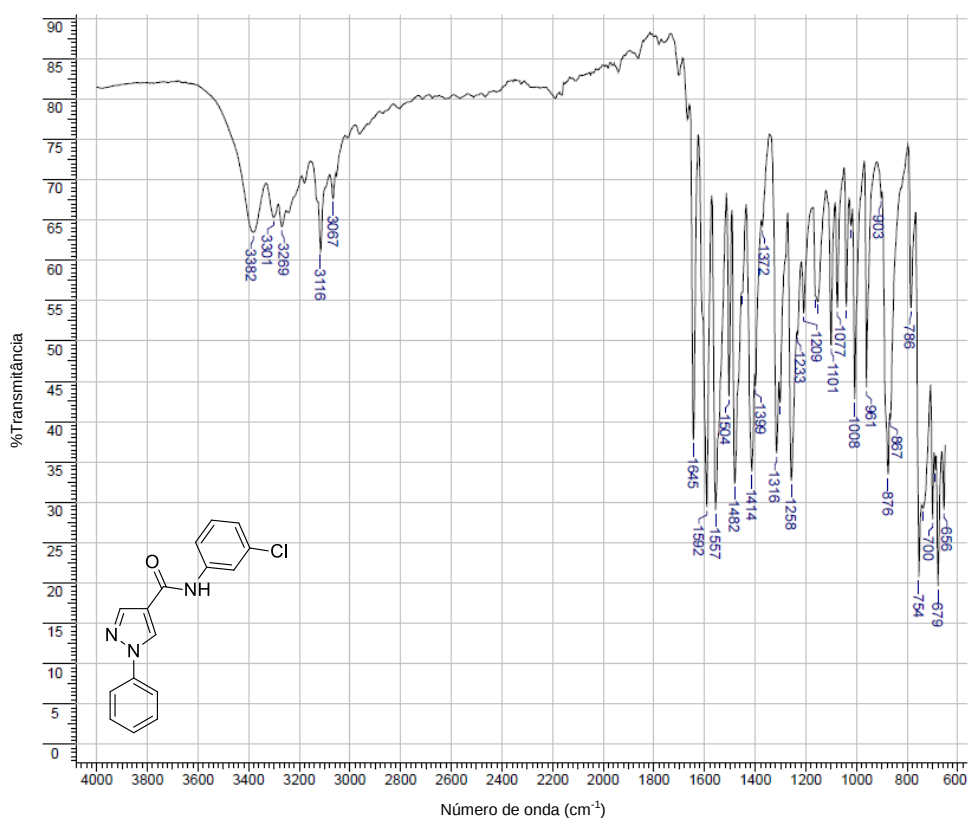
ZHANG, Y. et al. Recent Advances in the Development of Pyrazole Derivatives as Anticancer Agents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 12724, 2023.

Anexo A – Espectros de FT-IR dos produtos 1(a-t)

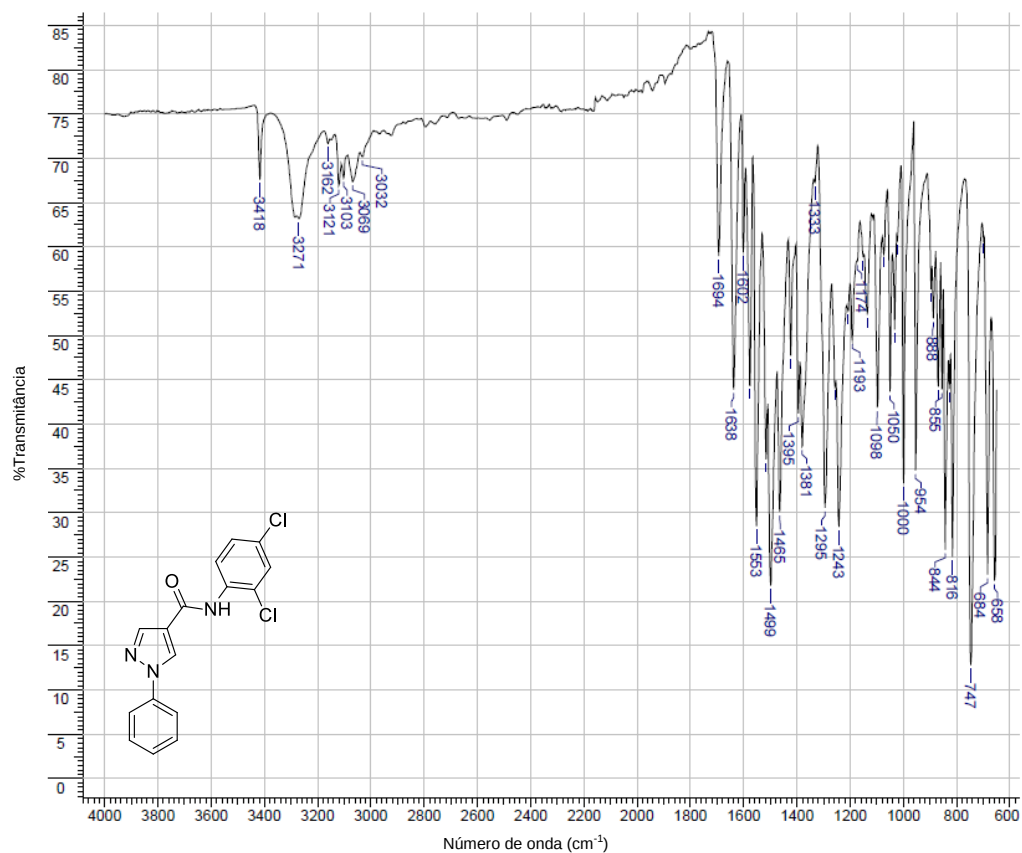
Espectro 1. Espectro de FT-IR de 1a.



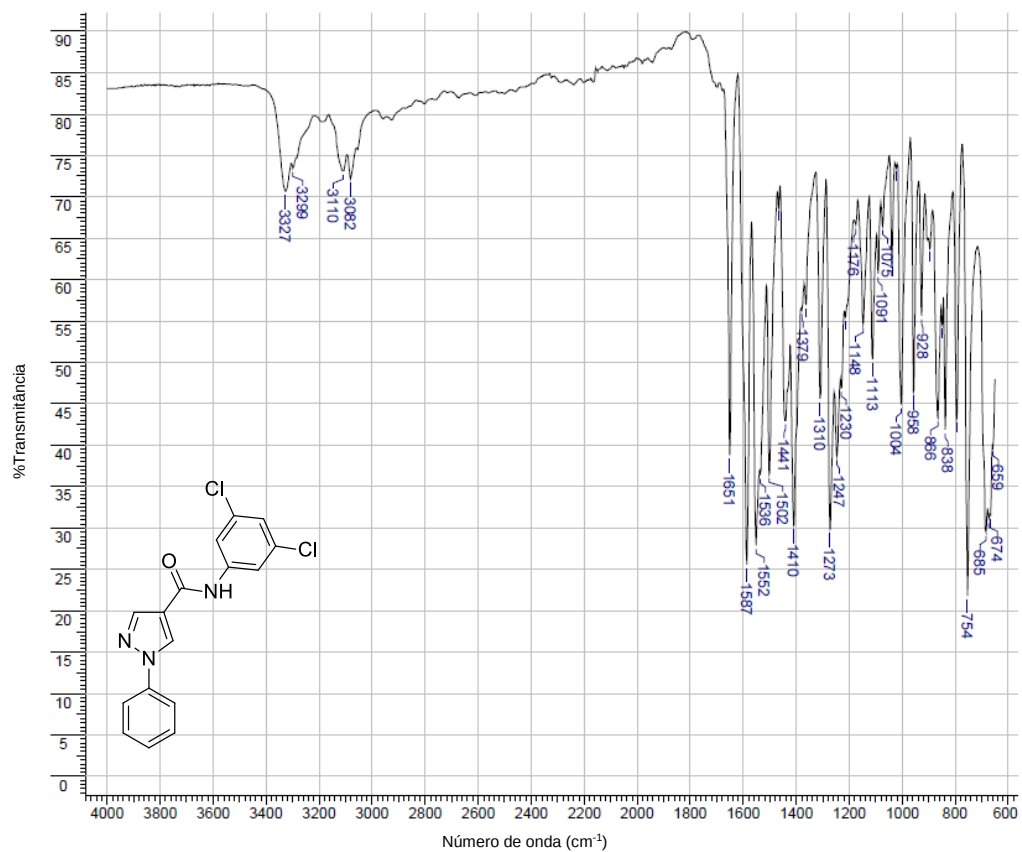
Espectro 2. Espectro de FT-IR de 1b.



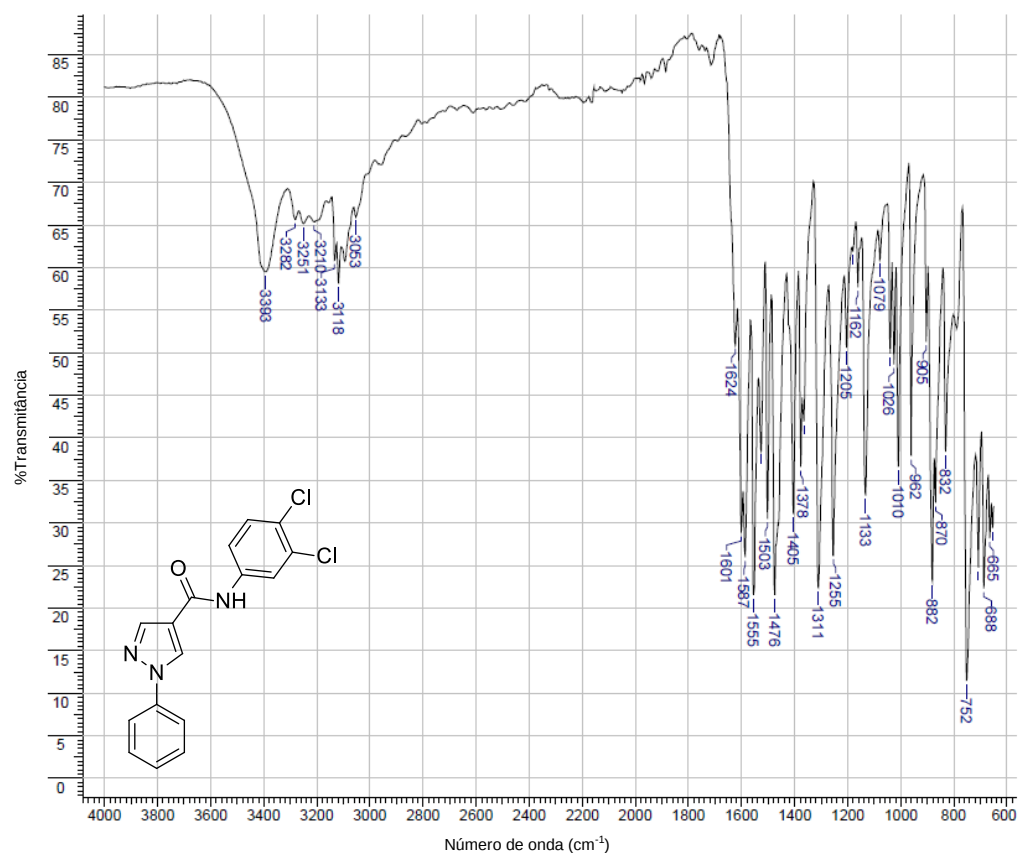
Espectro 3. Espectro de FT-IR de 1c.



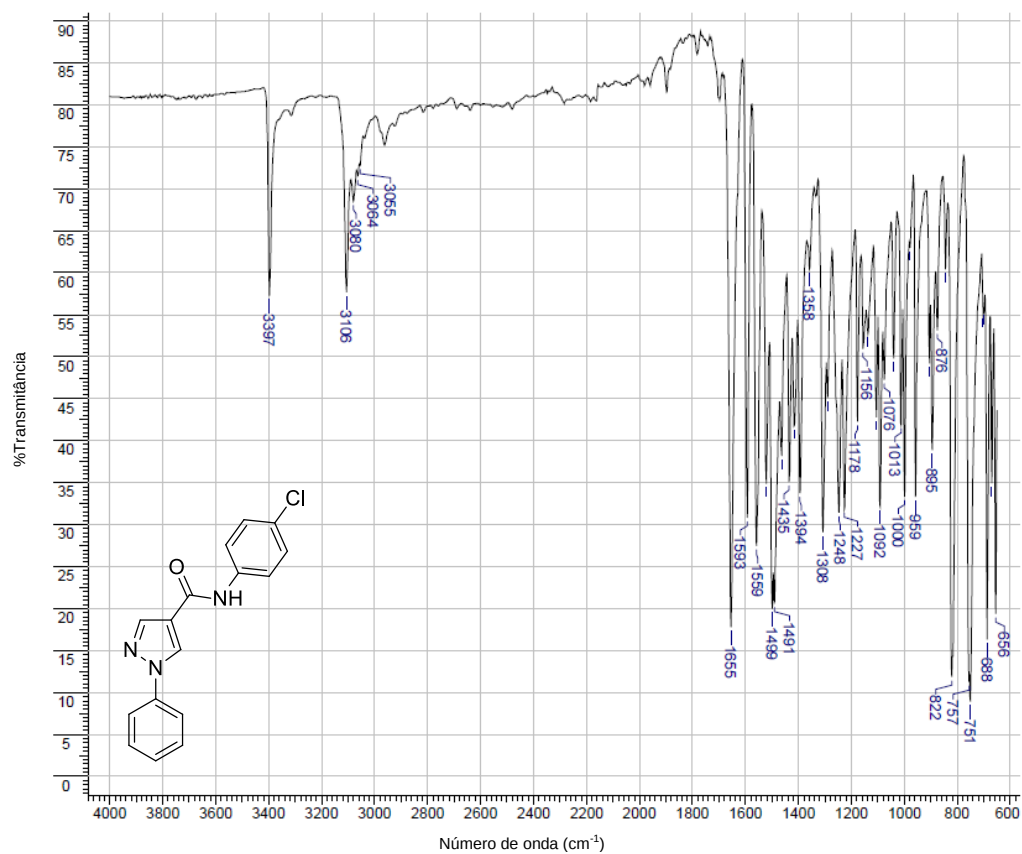
Espectro 4. Espectro de FT-IR de 1d.



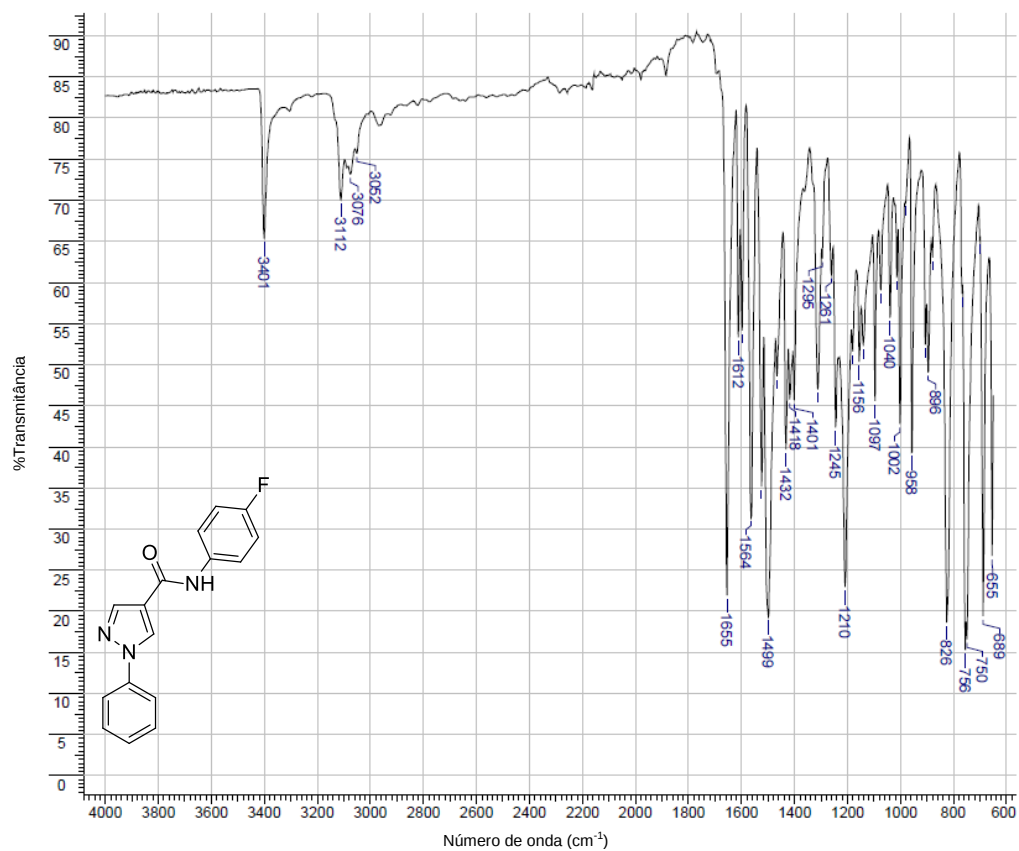
Espectro 5. Espectro de FT-IR de 1e.



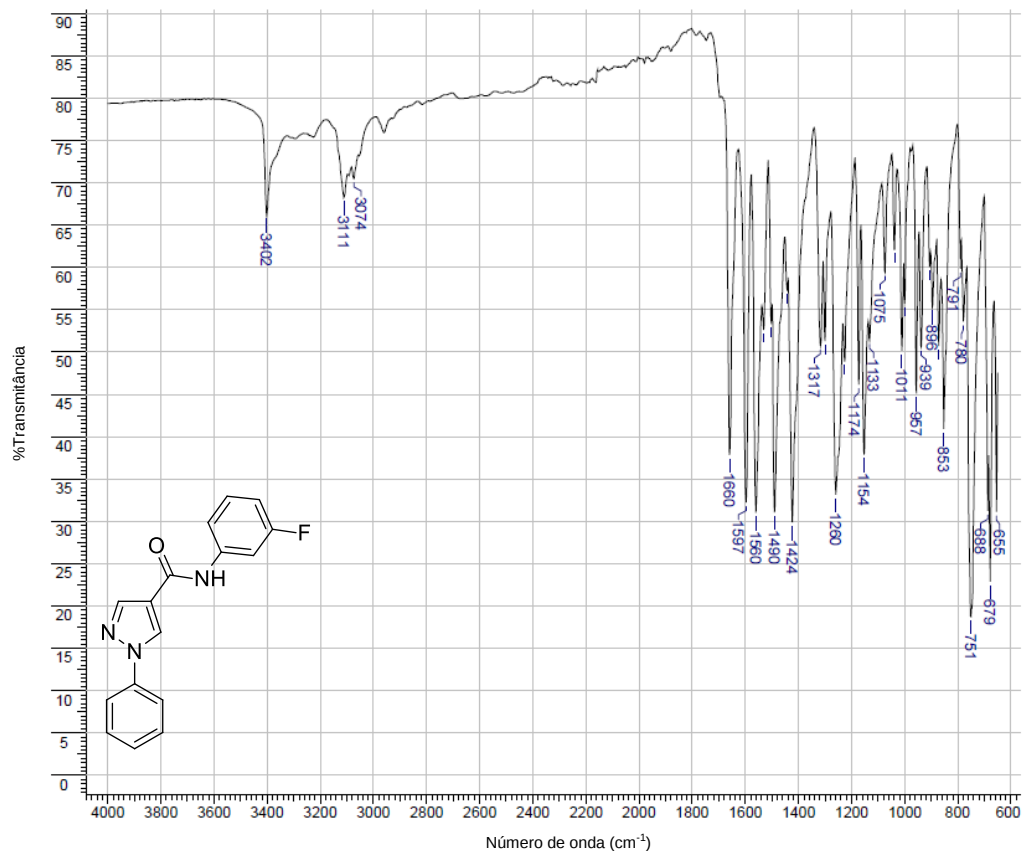
Espectro 6. Espectro de FT-IR de 1f.



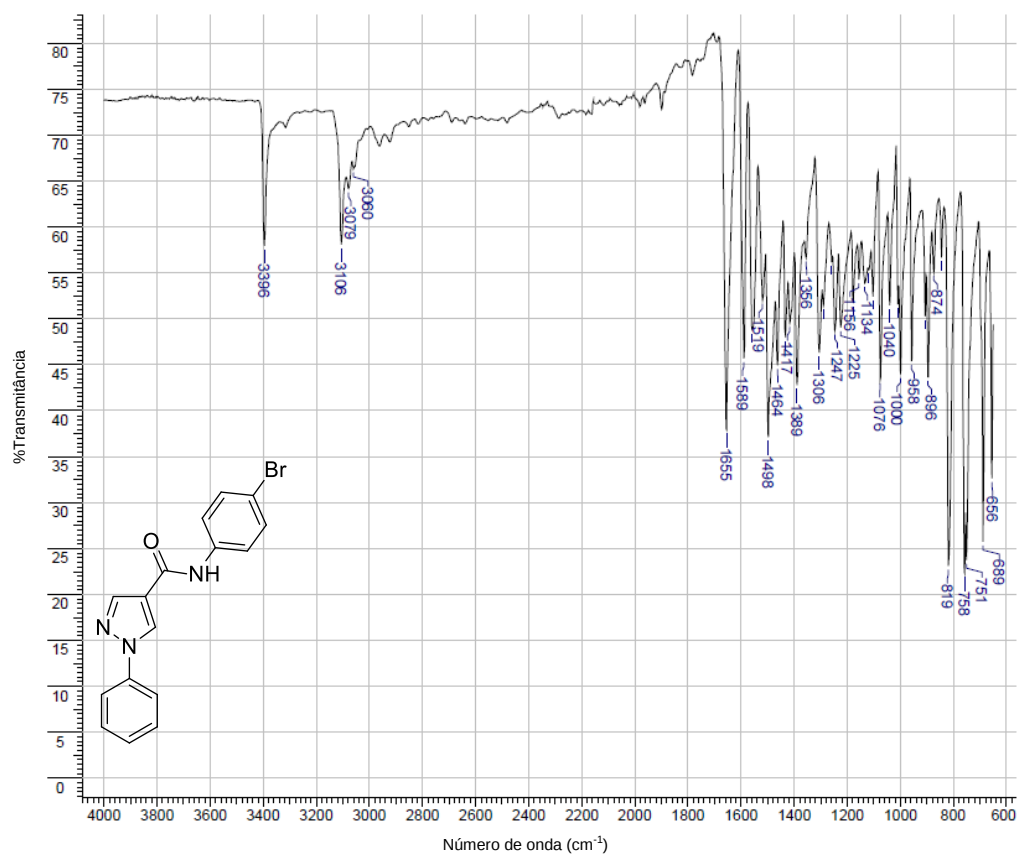
Espectro 7. Espectro de FT-IR de 1g.



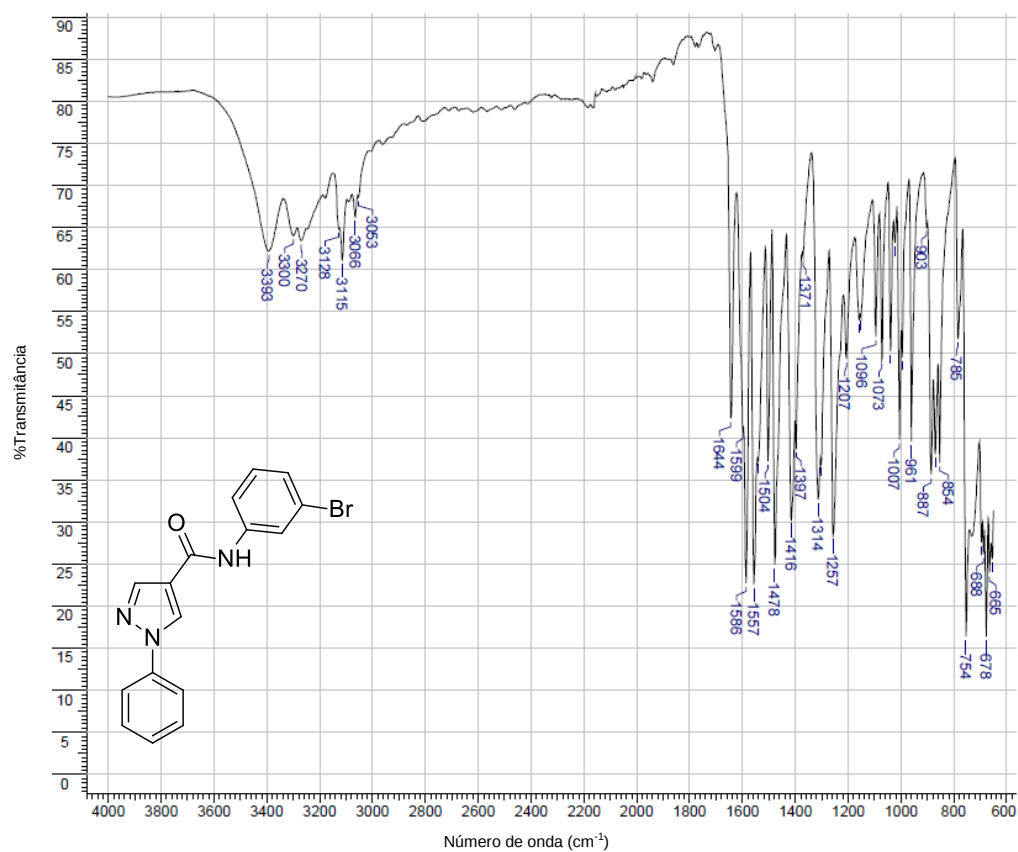
Espectro 8. Espectro de FT-IR de 1h.



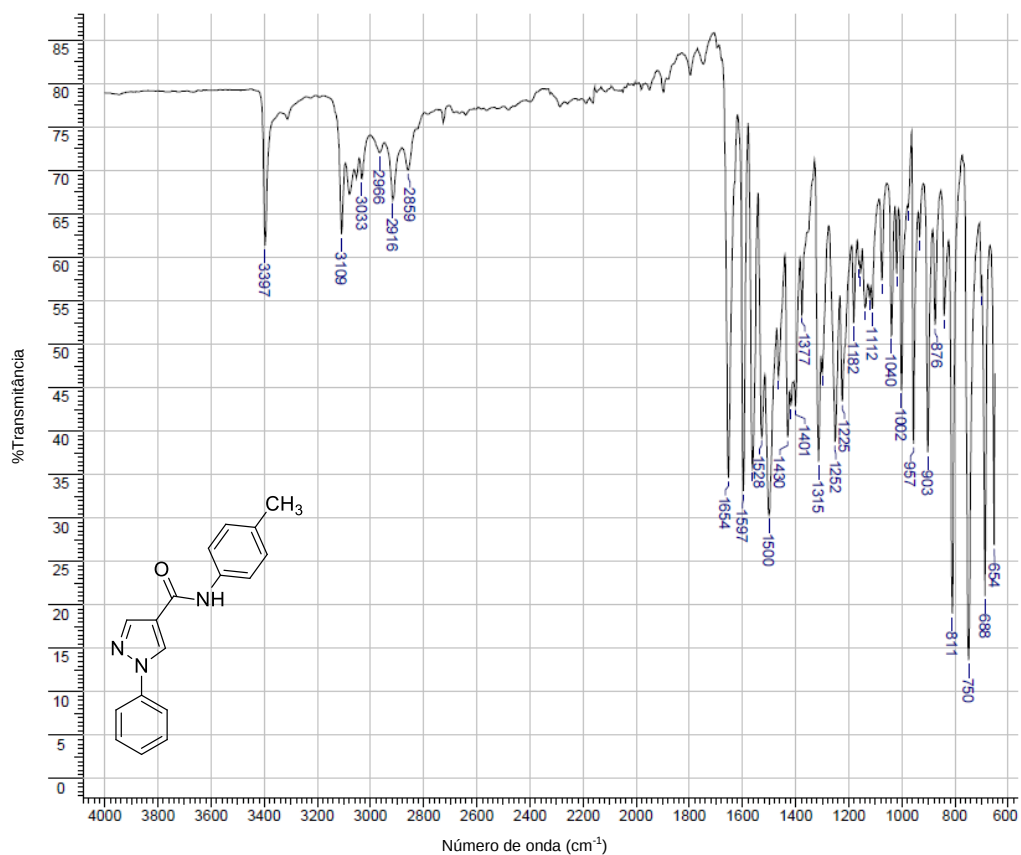
Espectro 9. Espectro de FT-IR de 1i.



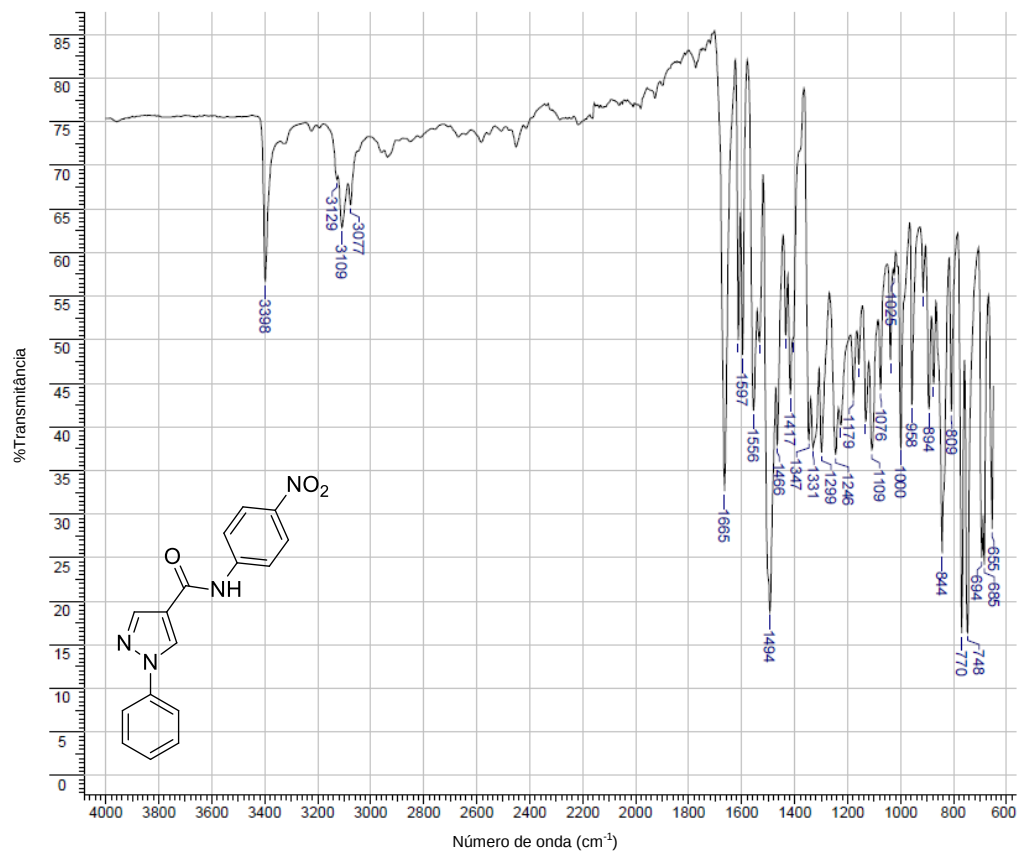
Espectro 10. Espectro de FT-IR de 1j.



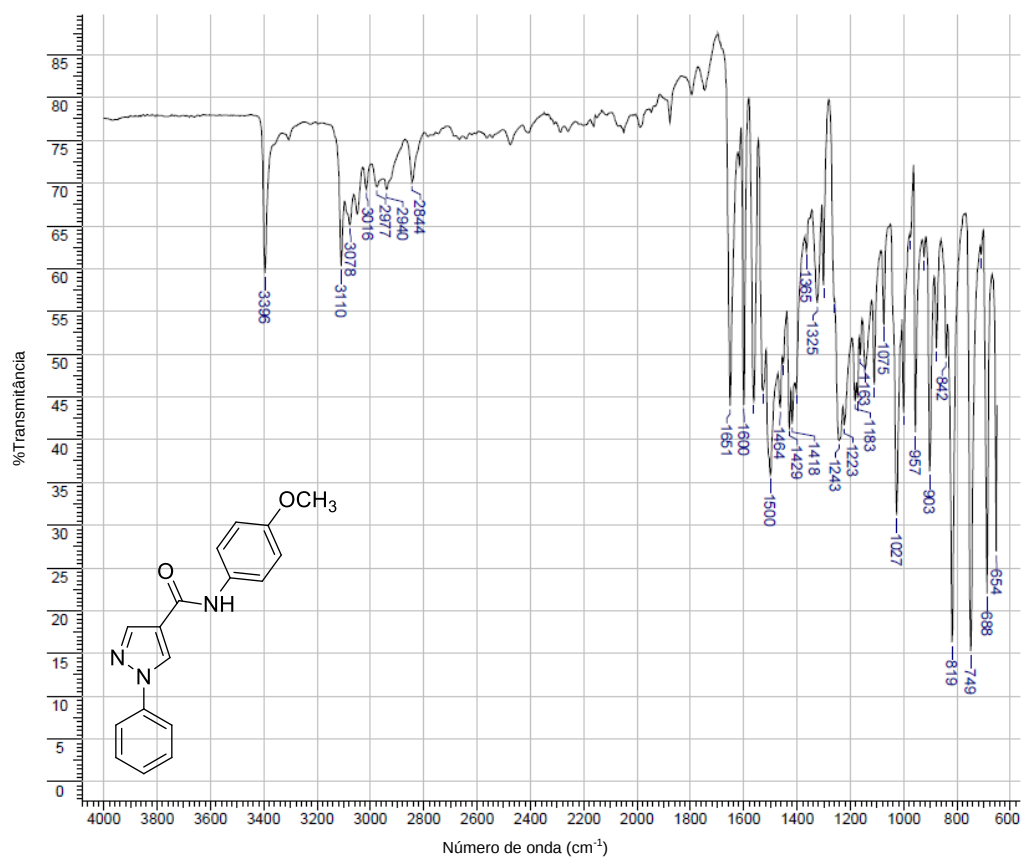
Espectro 11. Espectro de FT-IR de 1k.



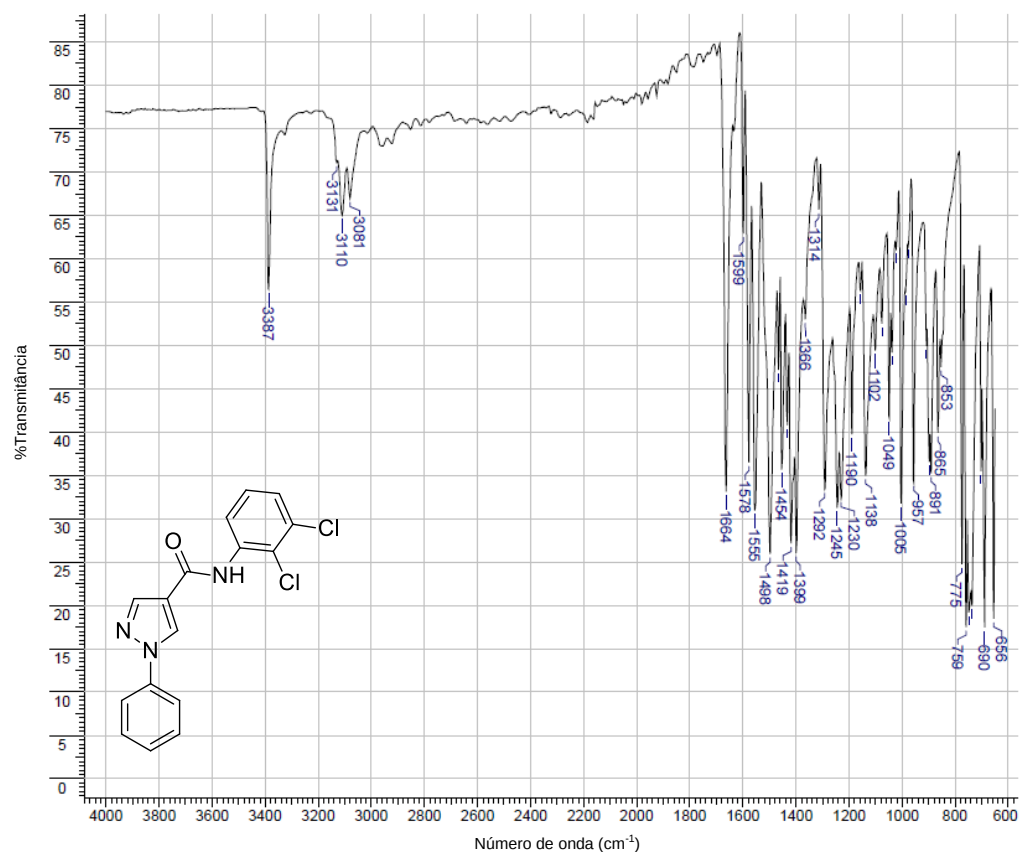
Espectro 12. Espectro de FT-IR de 1l.



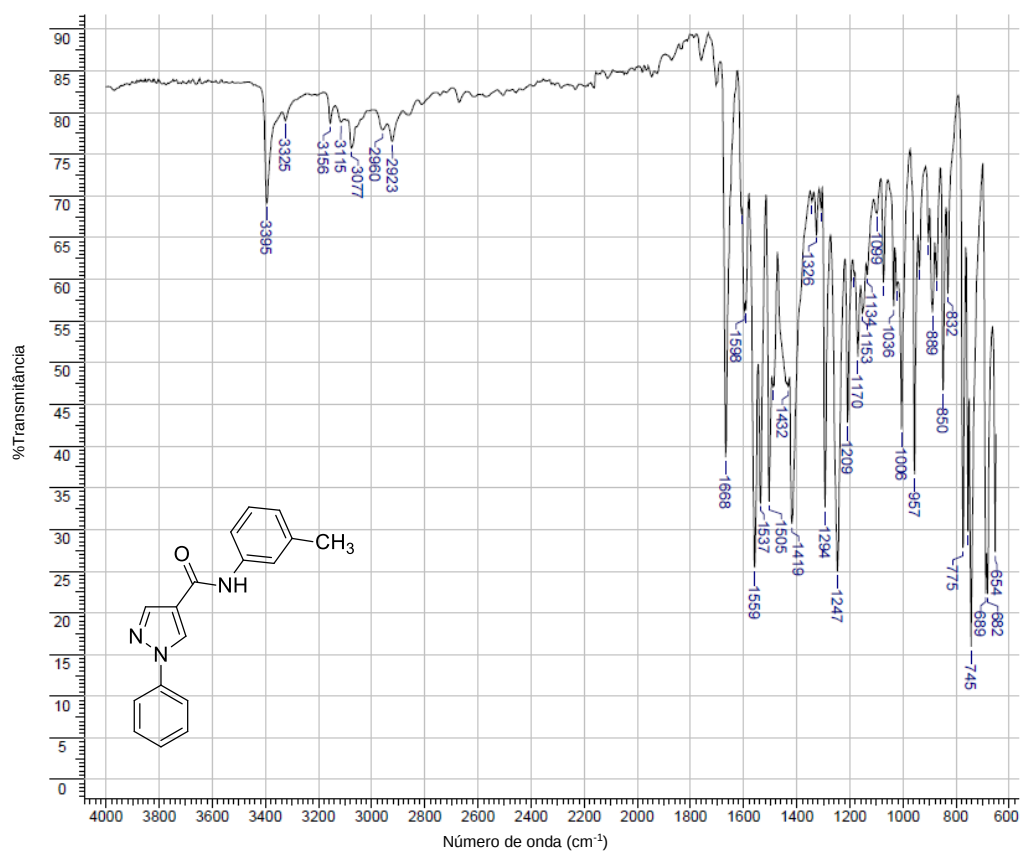
Espectro 13. Espectro de FT-IR de 1m.



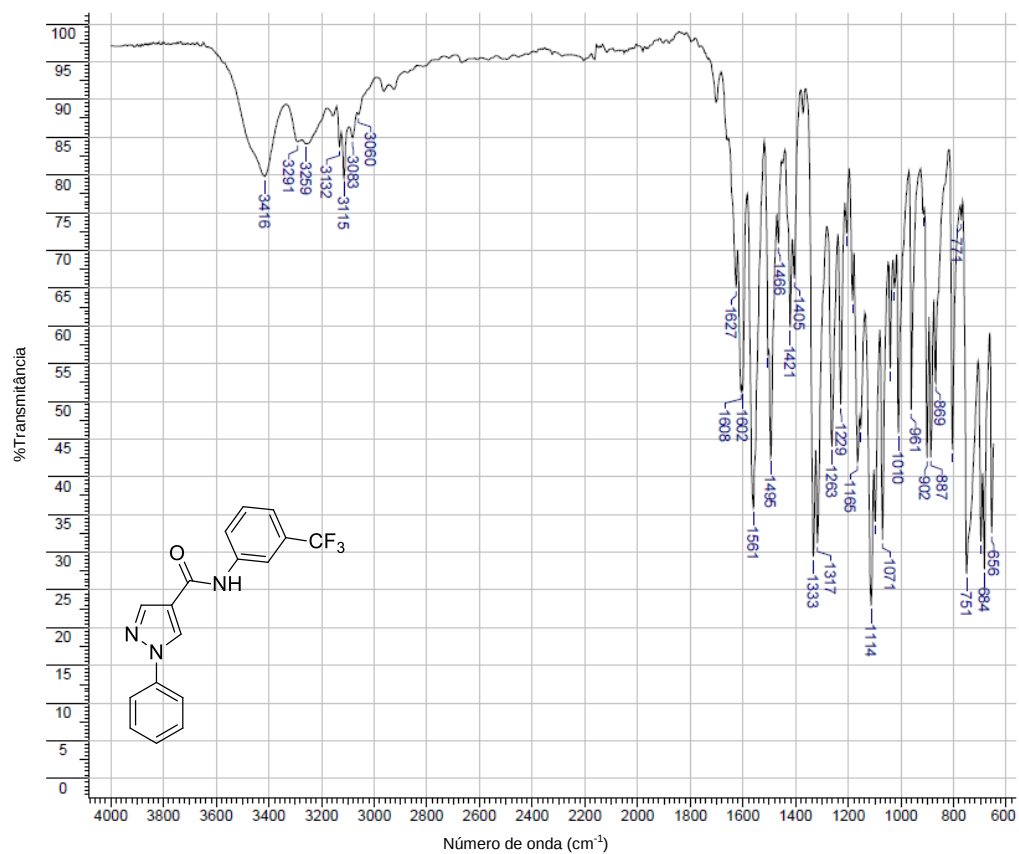
Espectro 14. Espectro de FT-IR de 1n.



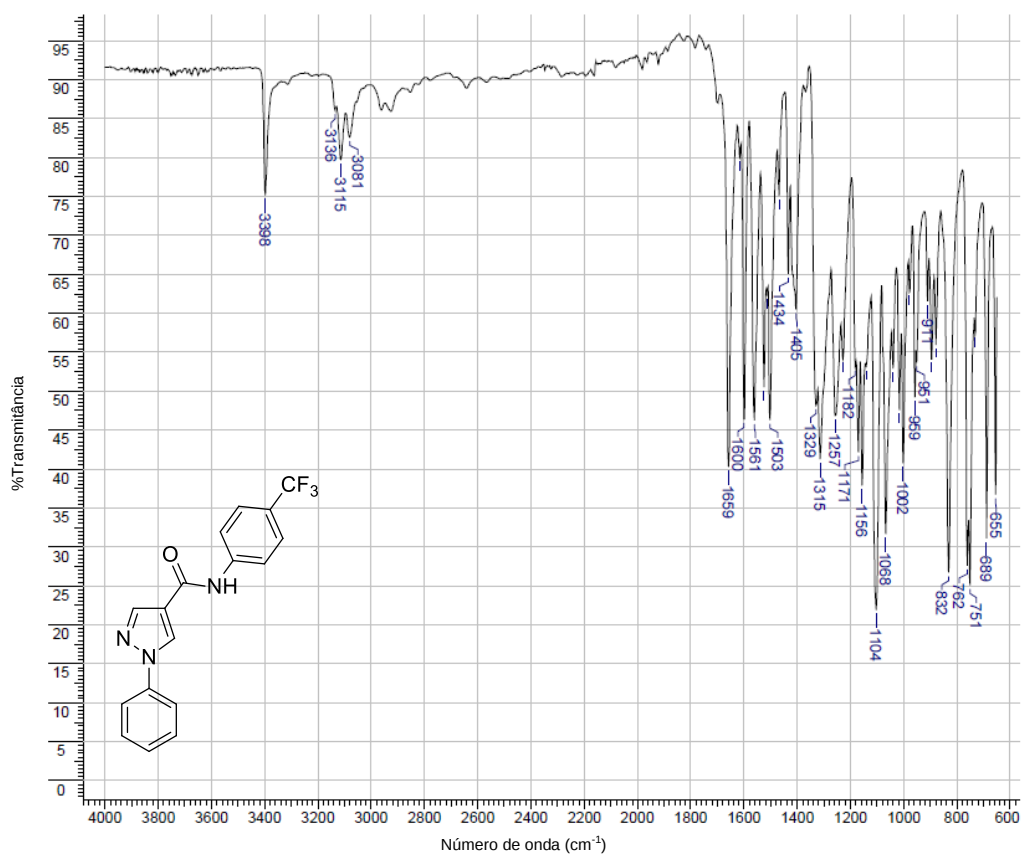
Espectro 15. Espectro de FT-IR de 1o.



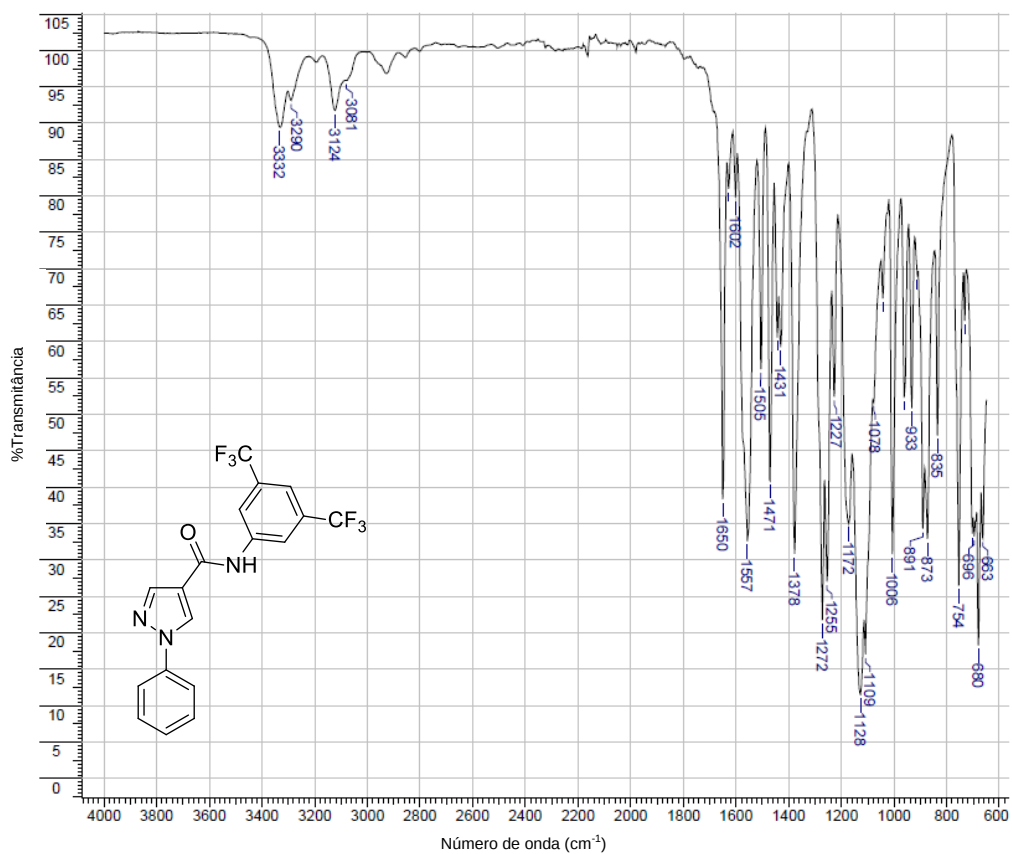
Espectro 16. Espectro de FT-IR de 1p.



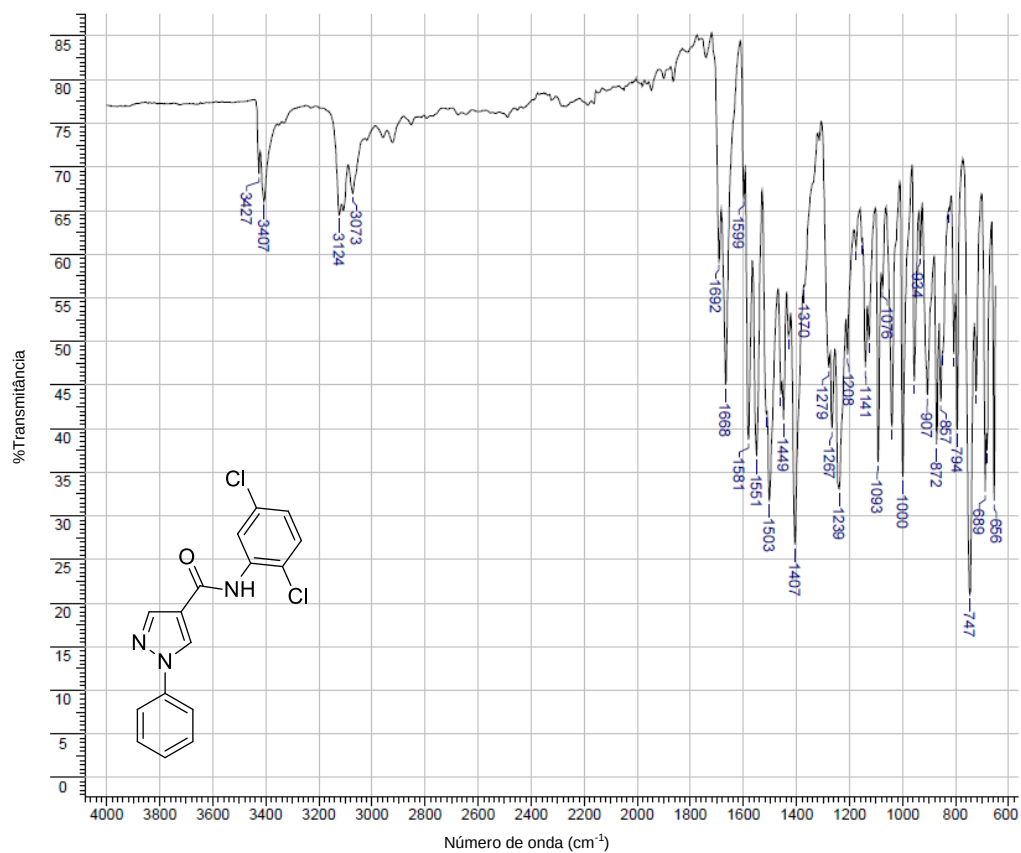
Espectro 17. Espectro de FT-IR de 1q.



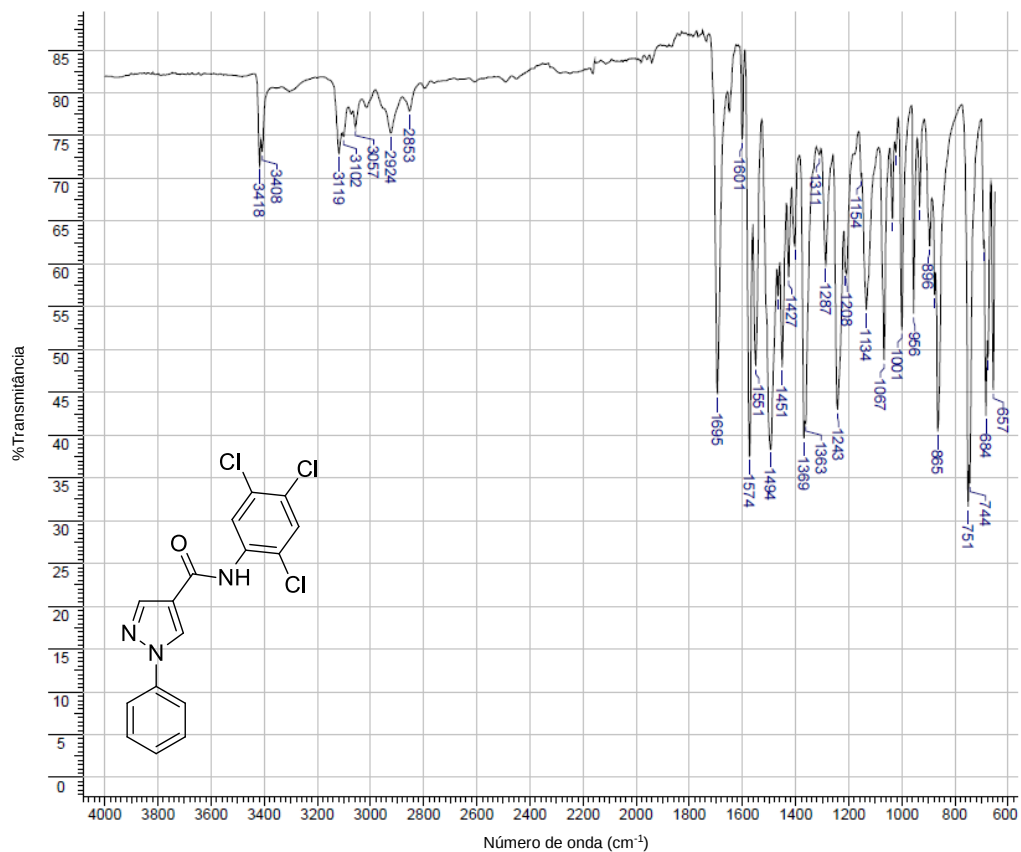
Espectro 18. Espectro de FT-IR de 1r.



Espectro 19. Espectro de FT-IR de 1s.

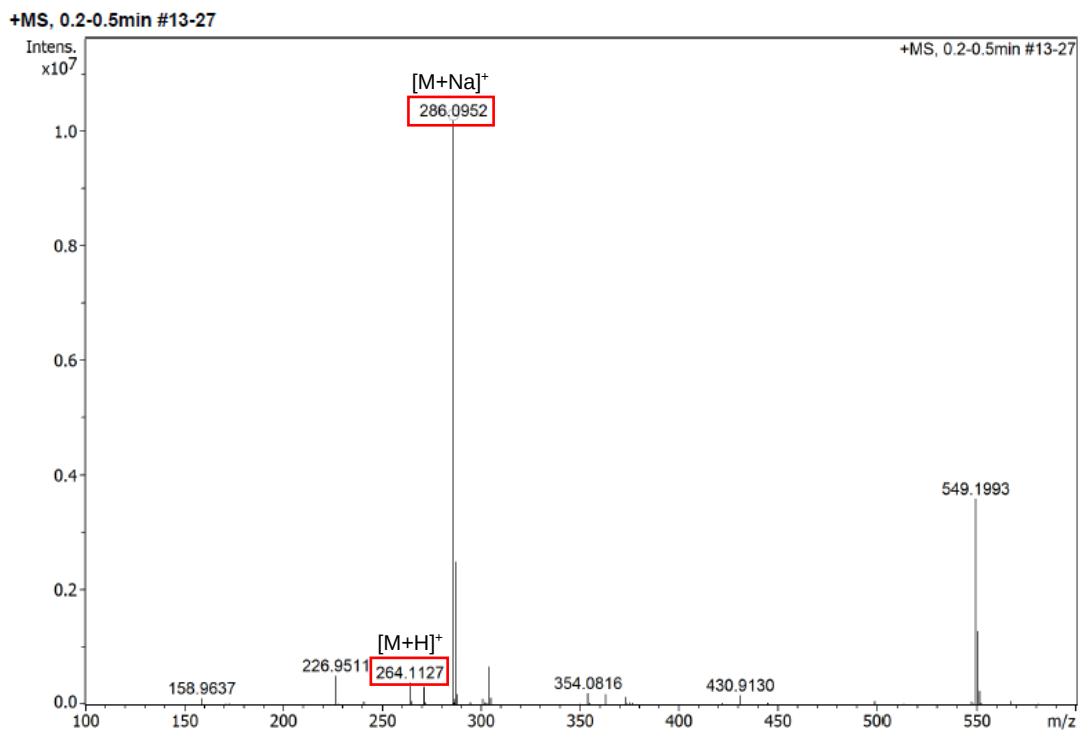


Espectro 20. Espectro de FT-IR de 1t.

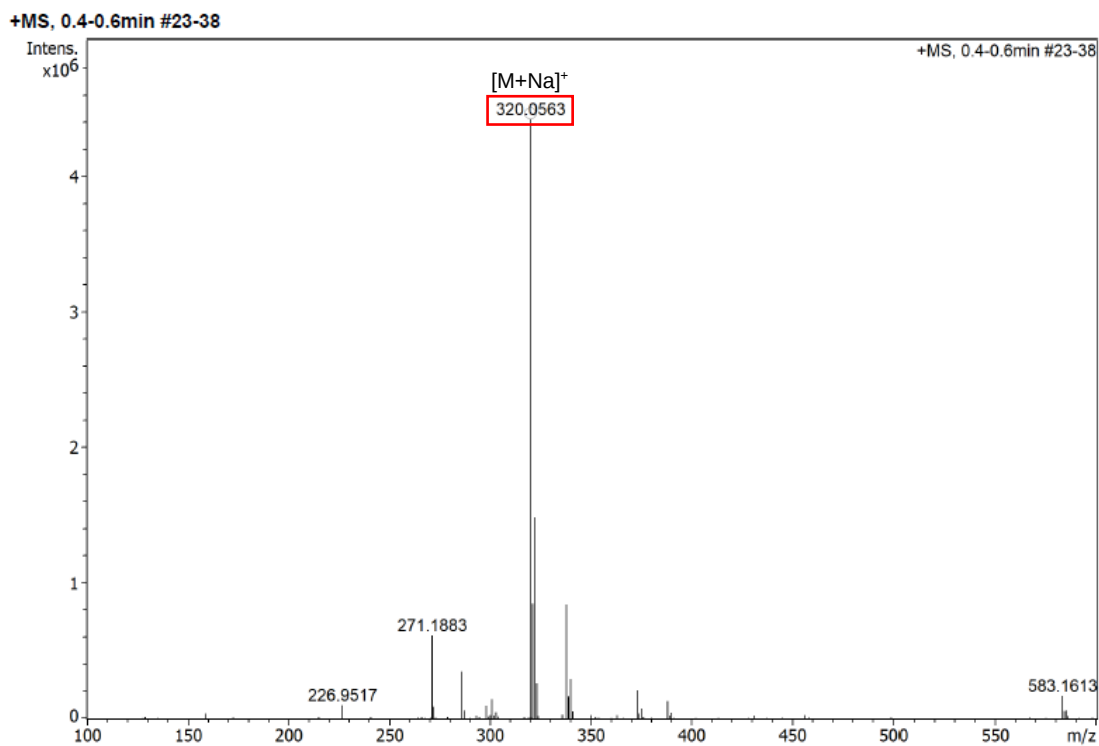


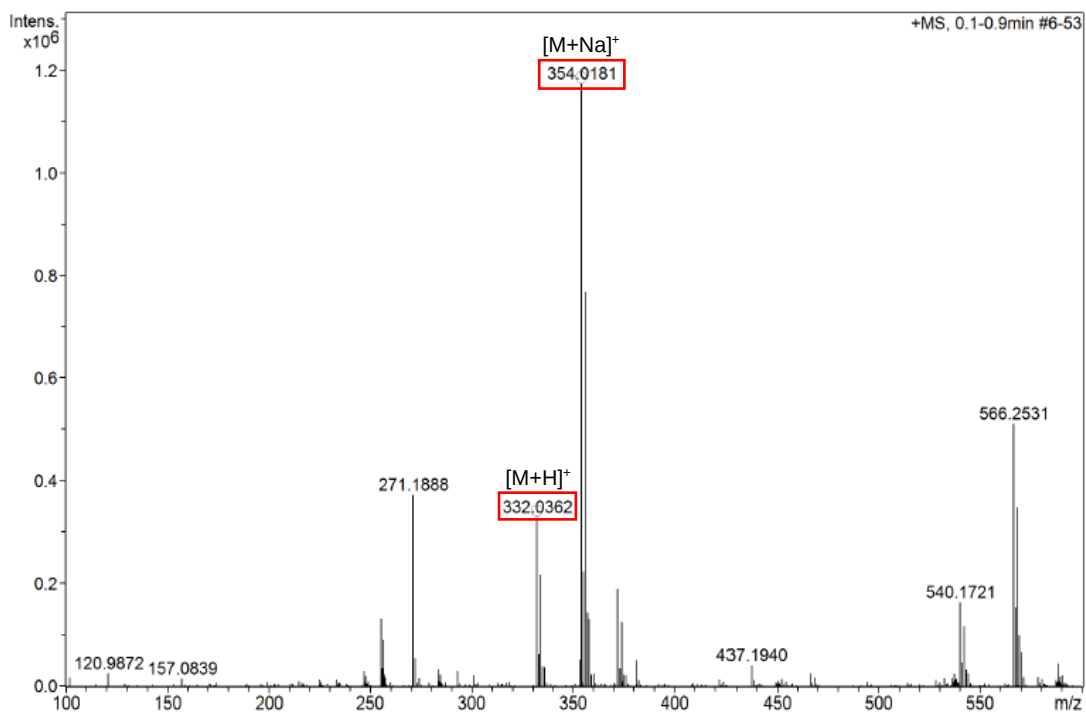
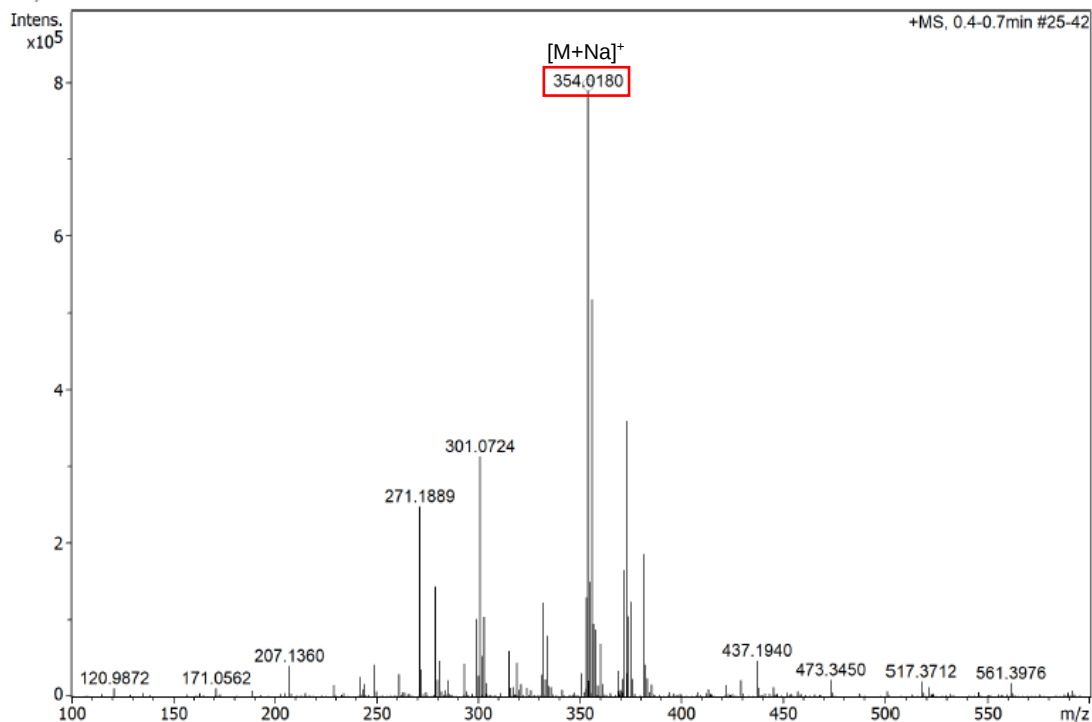
Anexo B - Espectros de HRMS dos produtos 1(a-t)

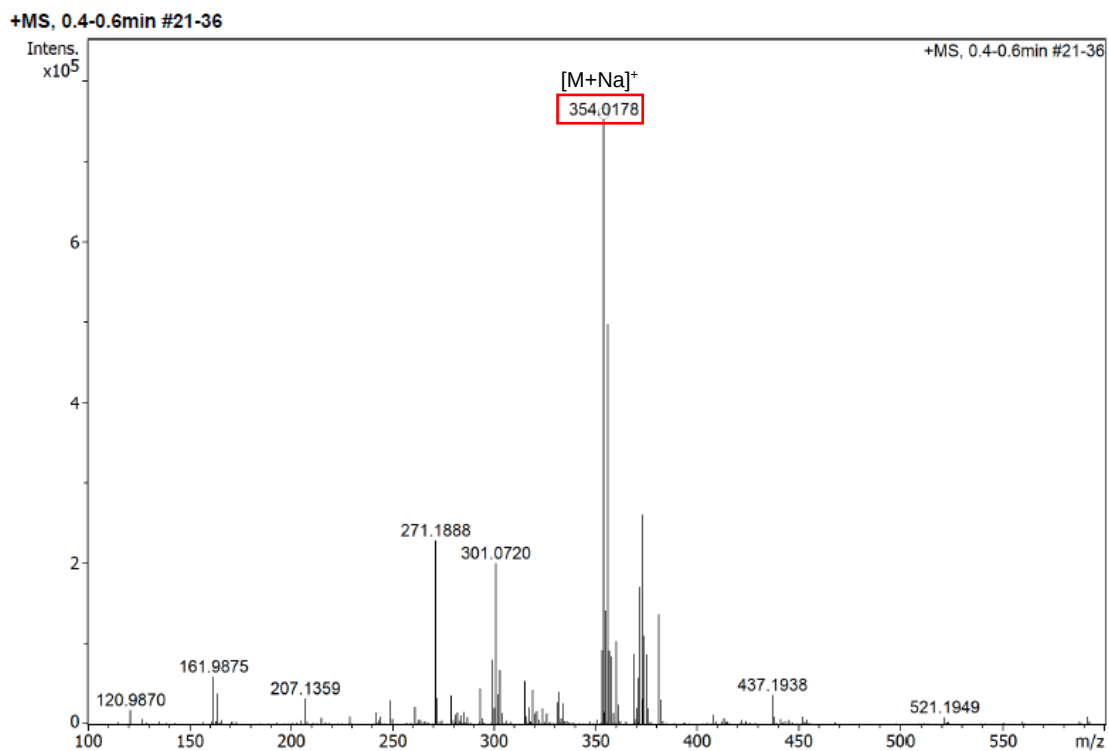
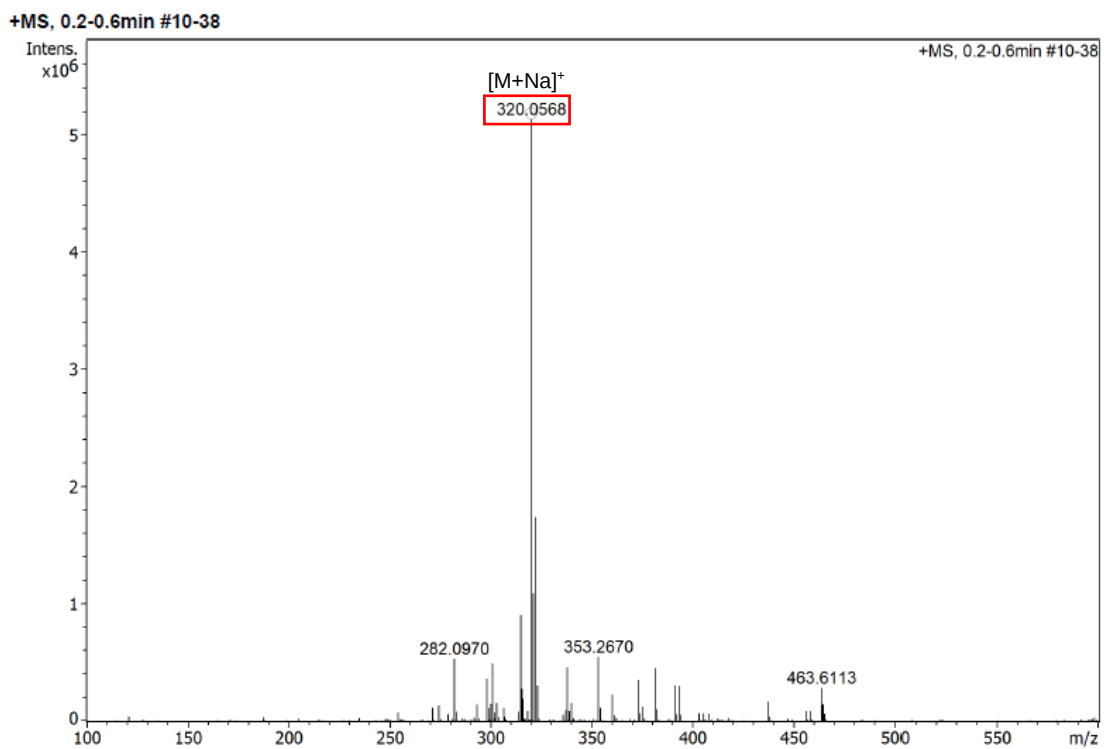
Espectro 21. Espectro de HRMS de 1a.



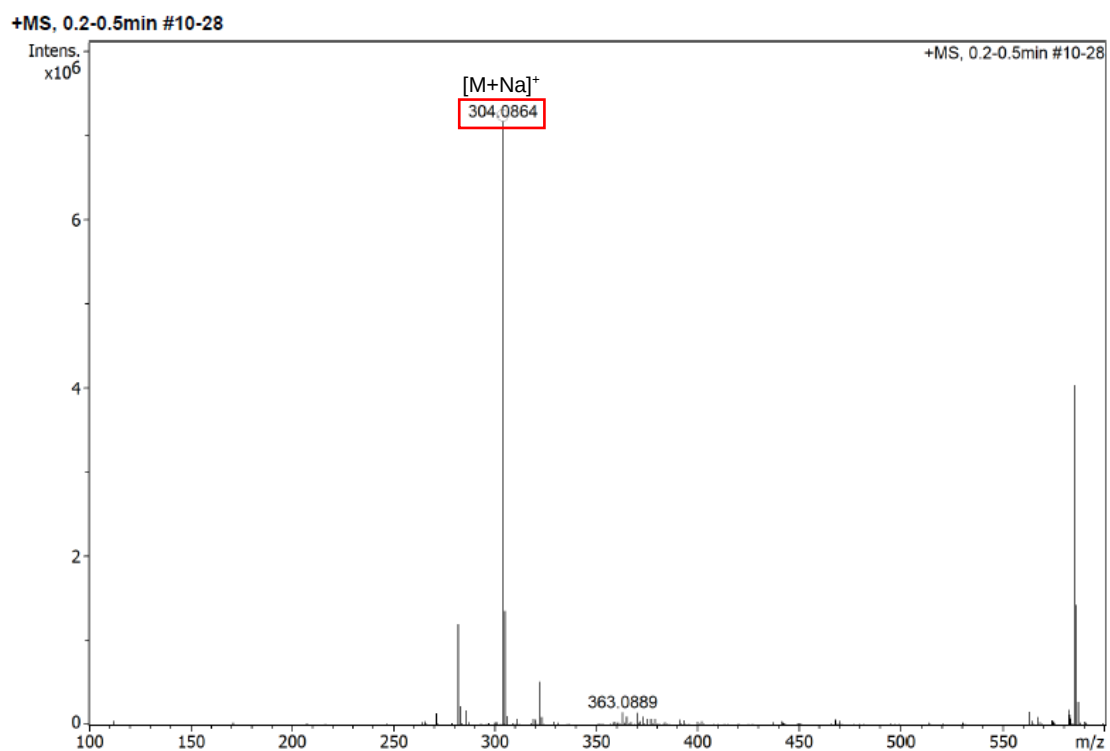
Espectro 22. Espectro de HRMS de 1b.



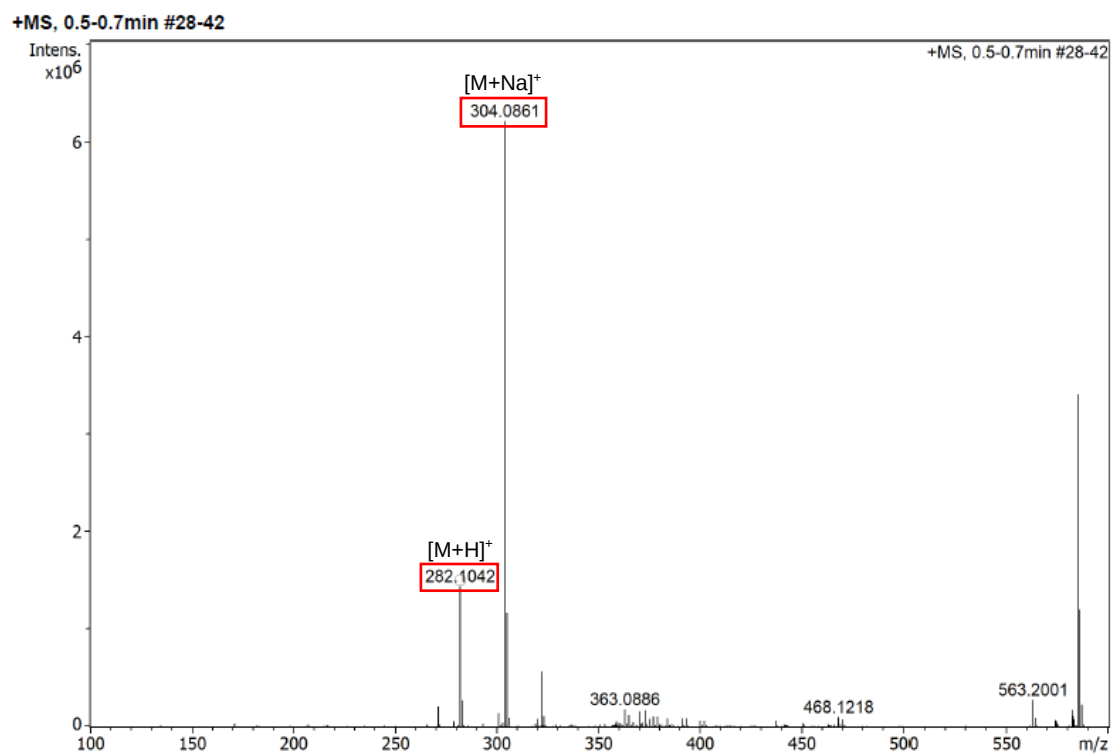
Espectro 23. Espectro de HRMS de 1c.**+MS, 0.1-0.9min #6-53****Espectro 24. Espectro de HRMS de 1d.****+MS, 0.4-0.7min #25-42**

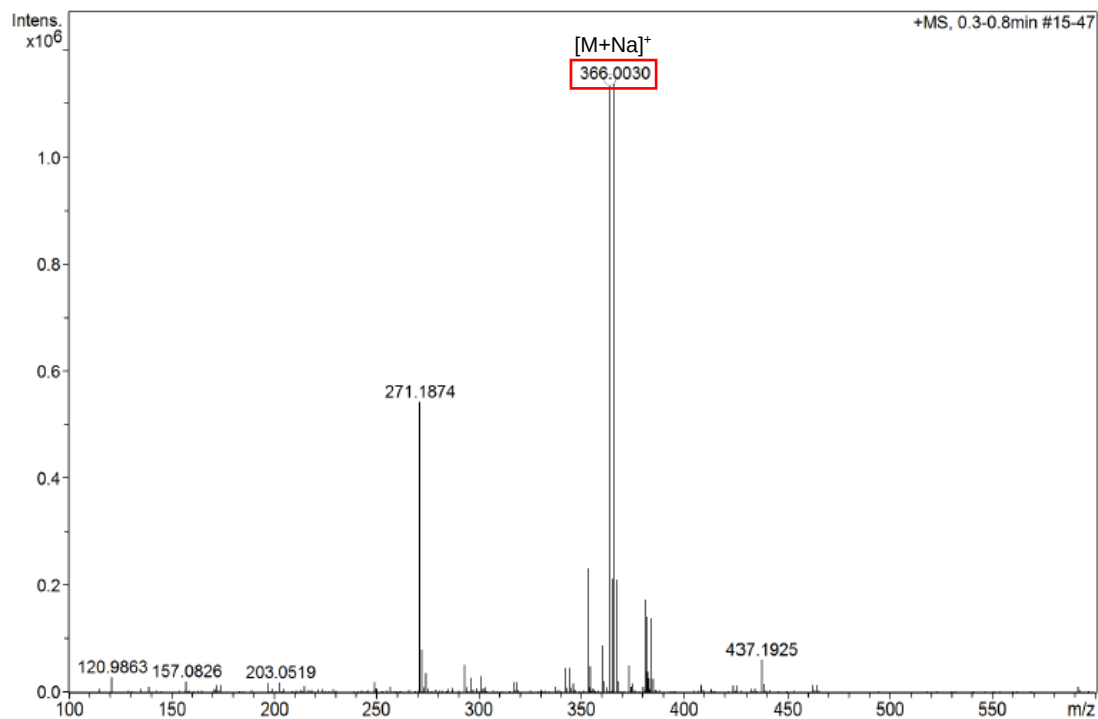
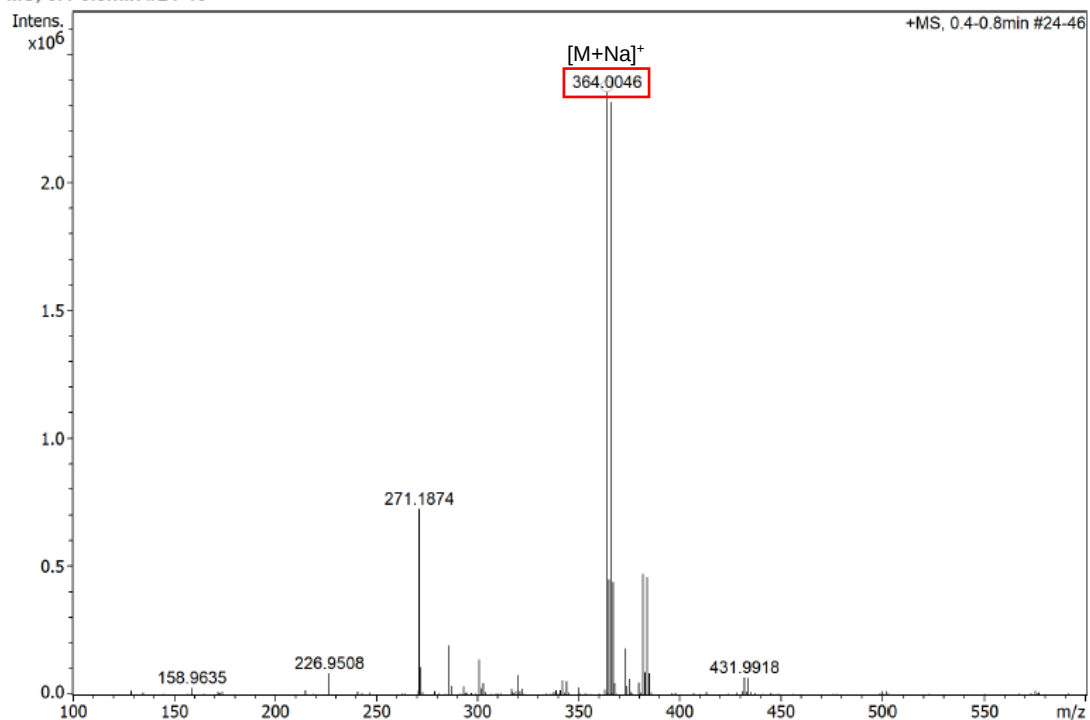
Espectro 25. Espectro de HRMS de 1e.**Espectro 26. Espectro de HRMS de 1f.**

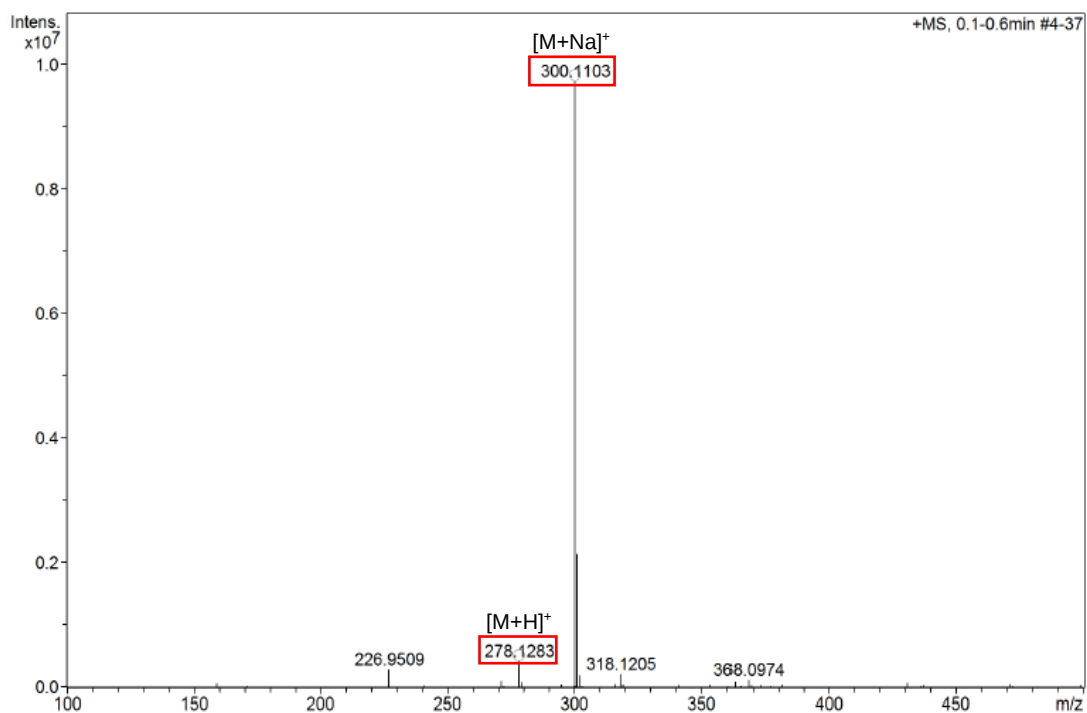
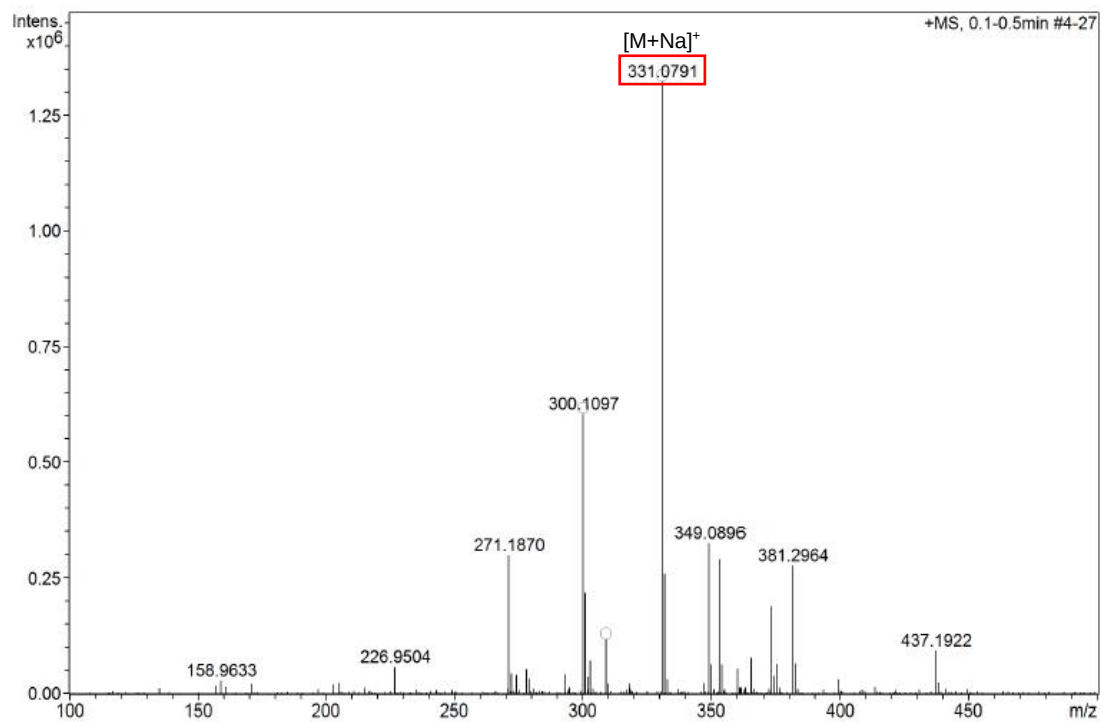
Espectro 27. Espectro de HRMS de 1g.

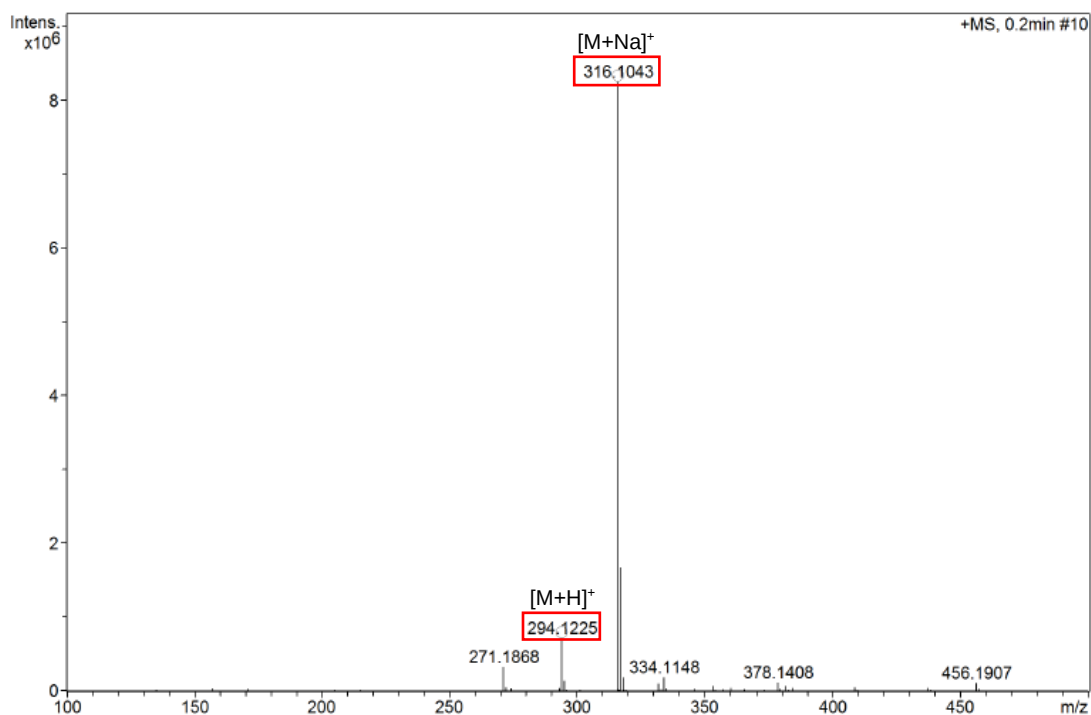
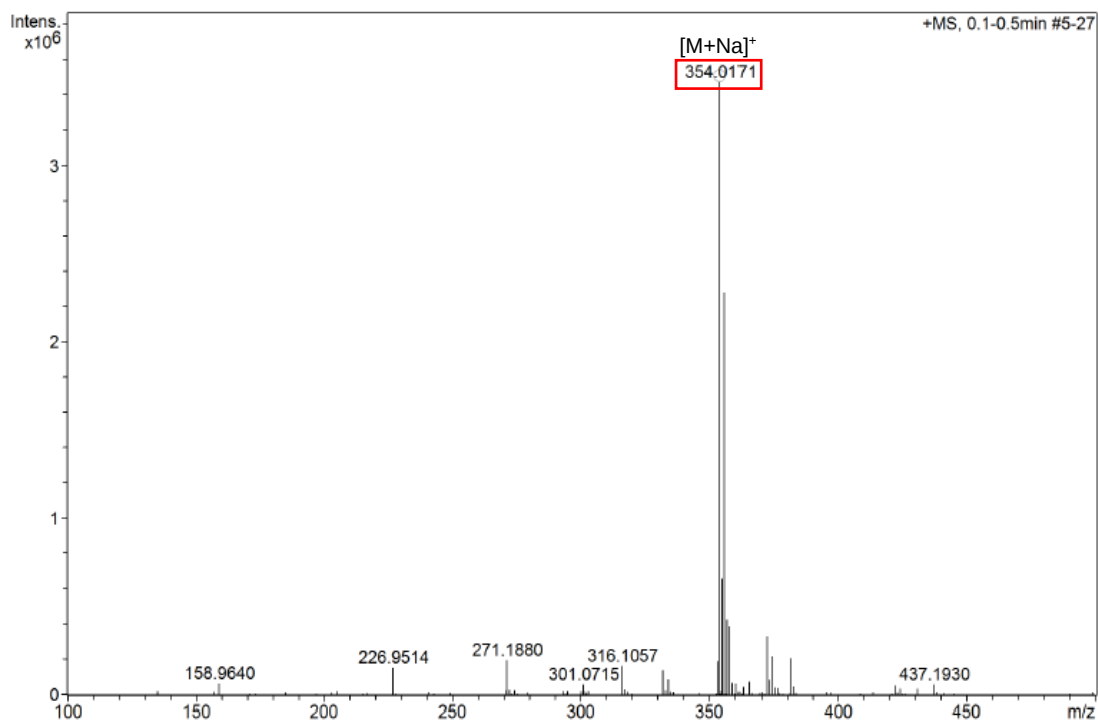


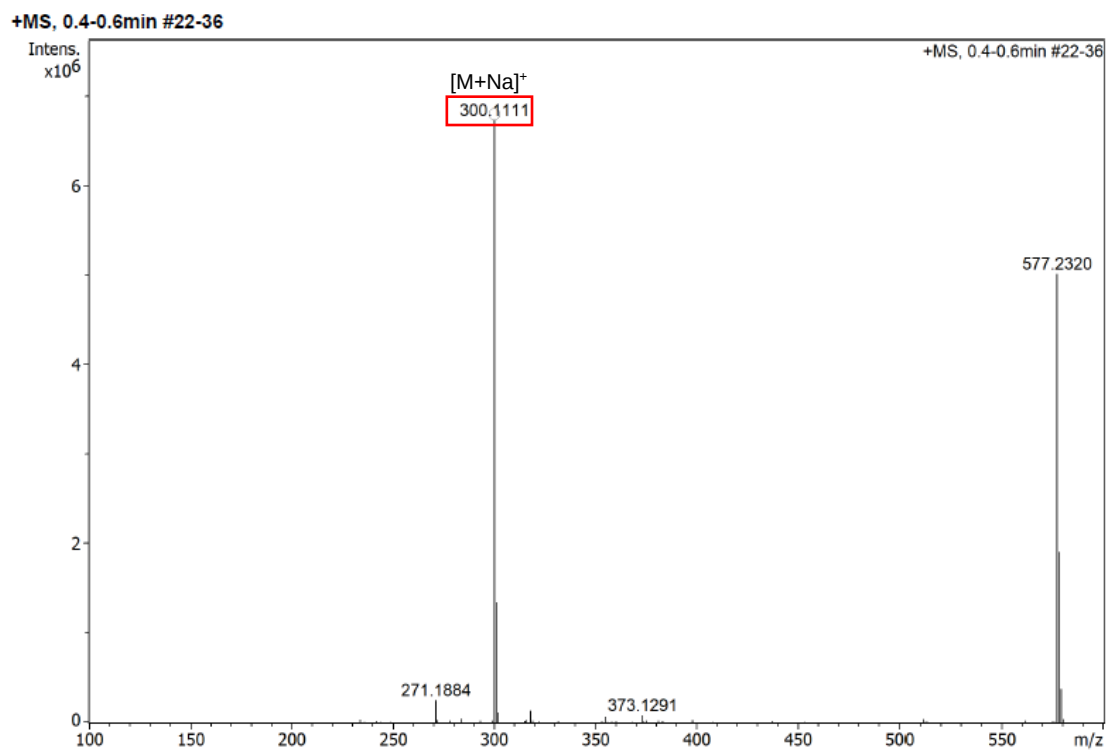
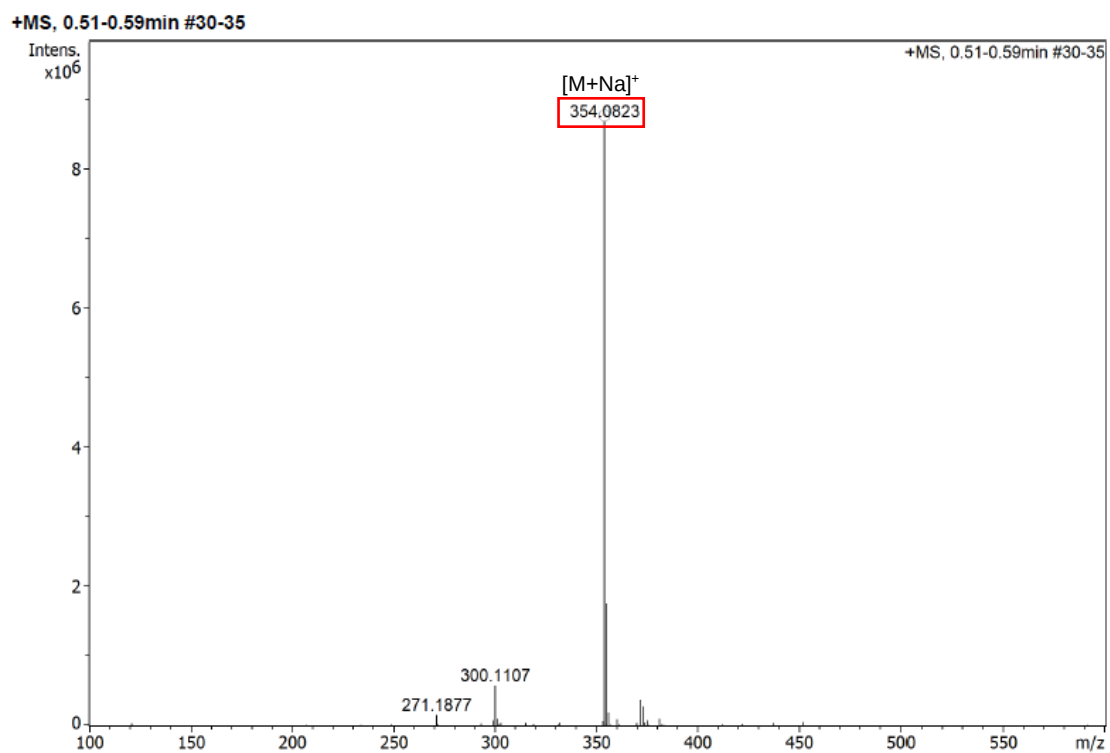
Espectro 28. Espectro de HRMS de 1h.

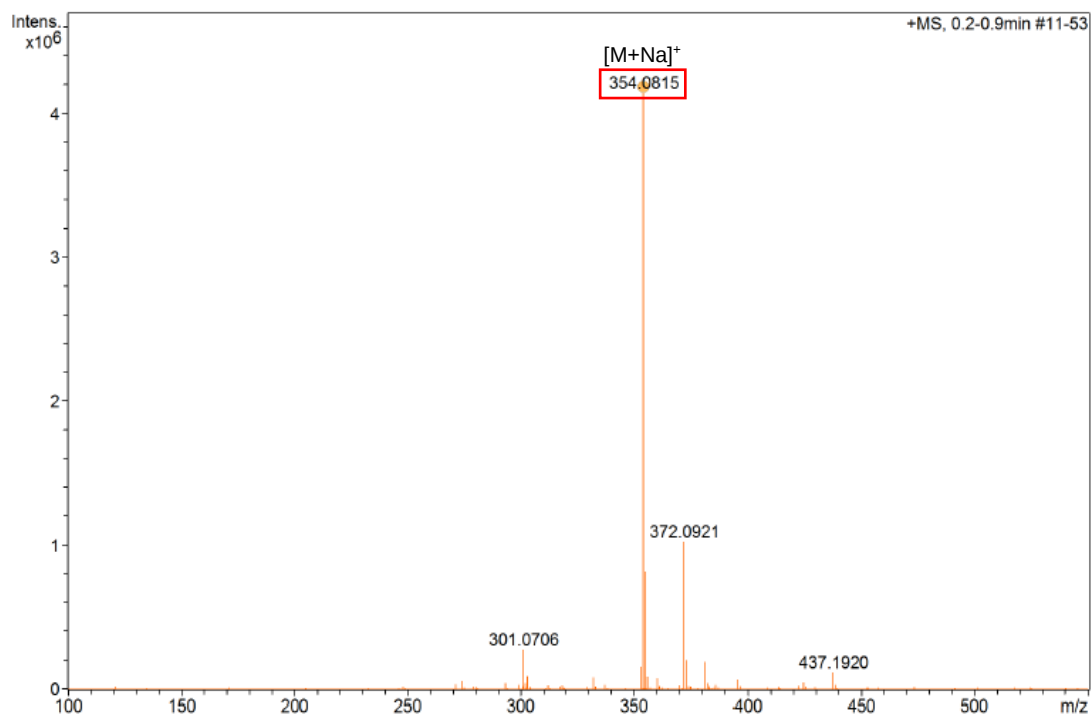
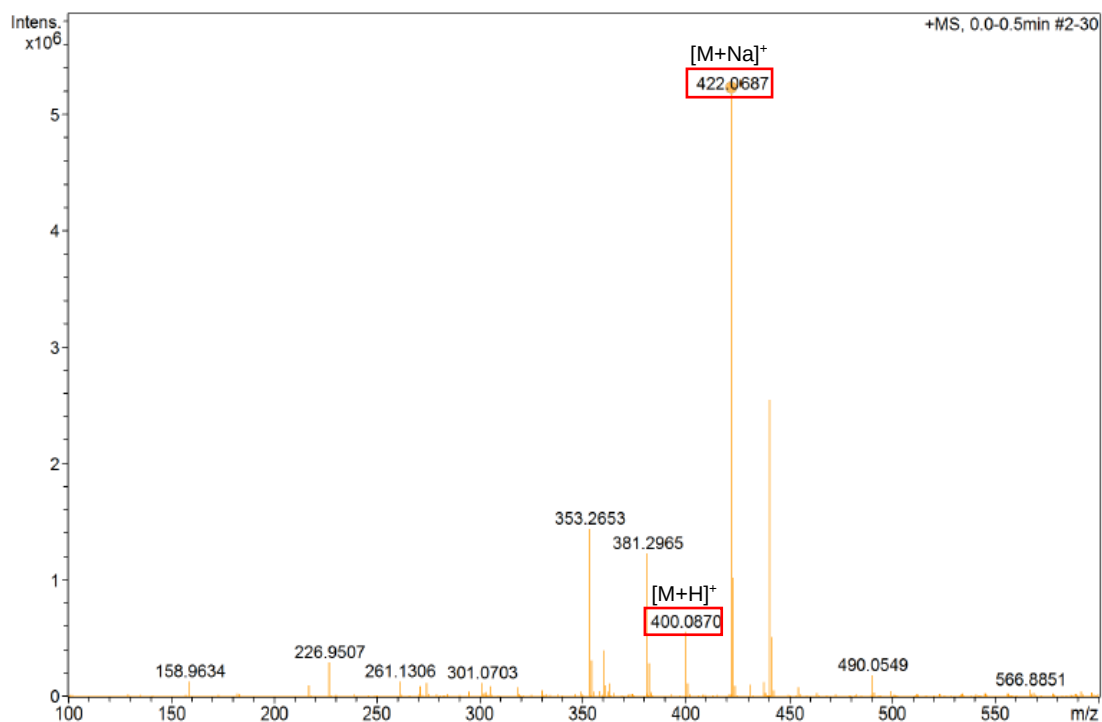


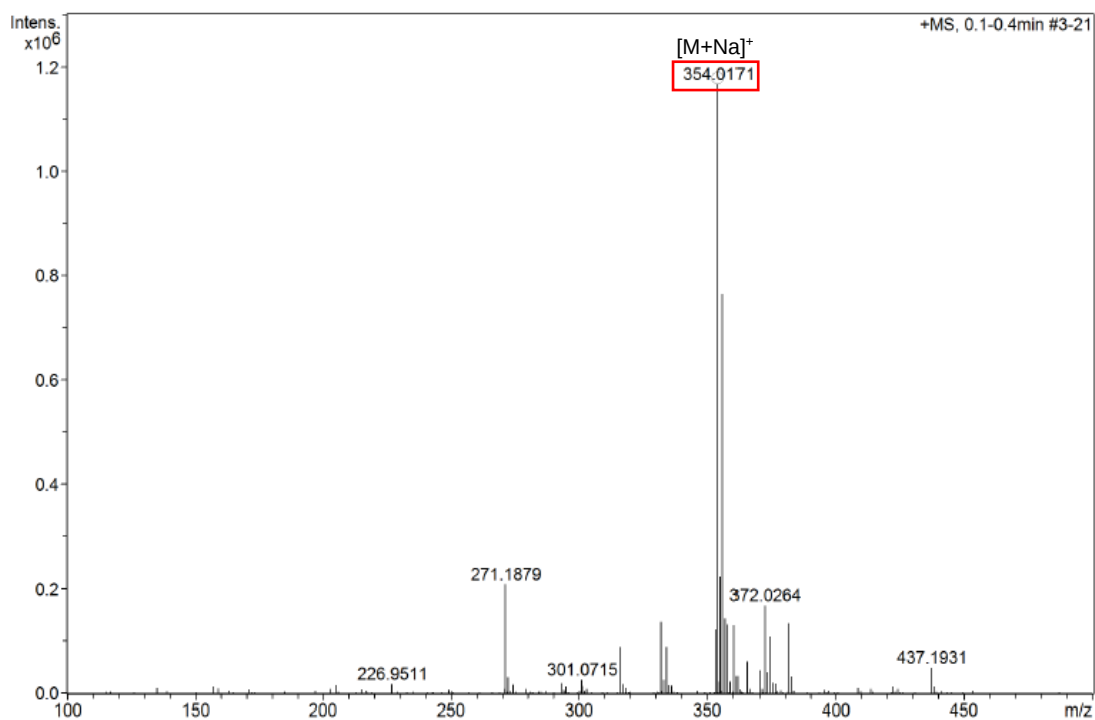
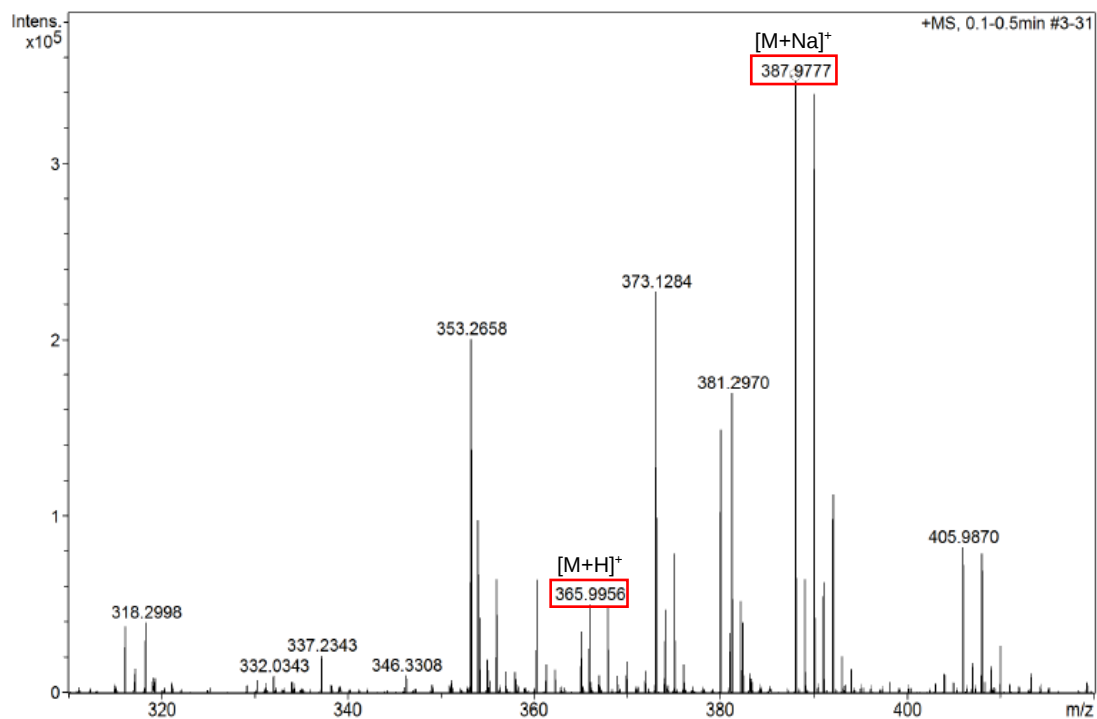
Espectro 29. Espectro de HRMS de 1i.**+MS, 0.3-0.8min #15-47****Espectro 30. Espectro de HRMS de 1j.****+MS, 0.4-0.8min #24-46**

Espectro 31. Espectro de HRMS de 1k.**+MS, 0.1-0.6min #4-37****Espectro 32. Espectro de HRMS de 1l.****+MS, 0.1-0.5min #4-27**

Espectro 33. Espectro de HRMS de 1m.**+MS, 0.2min #10****Espectro 34. Espectro de HRMS de 1n.****+MS, 0.1-0.5min #5-27**

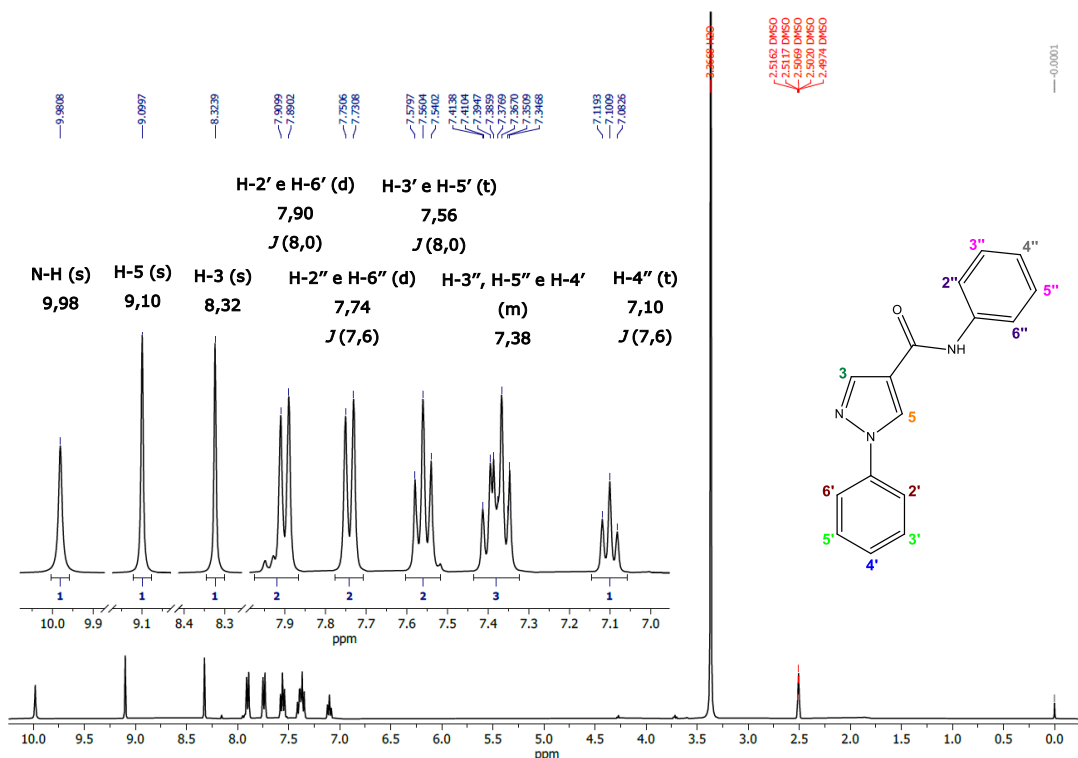
Espectro 35. Espectro de HRMS de 1o.**Espectro 36. Espectro de HRMS de 1p.**

Espectro 37. Espectro de HRMS de 1q.**+MS, 0.2-0.9min #11-53****Espectro 38. Espectro de HRMS de 1r.****+MS, 0.0-0.5min #2-30**

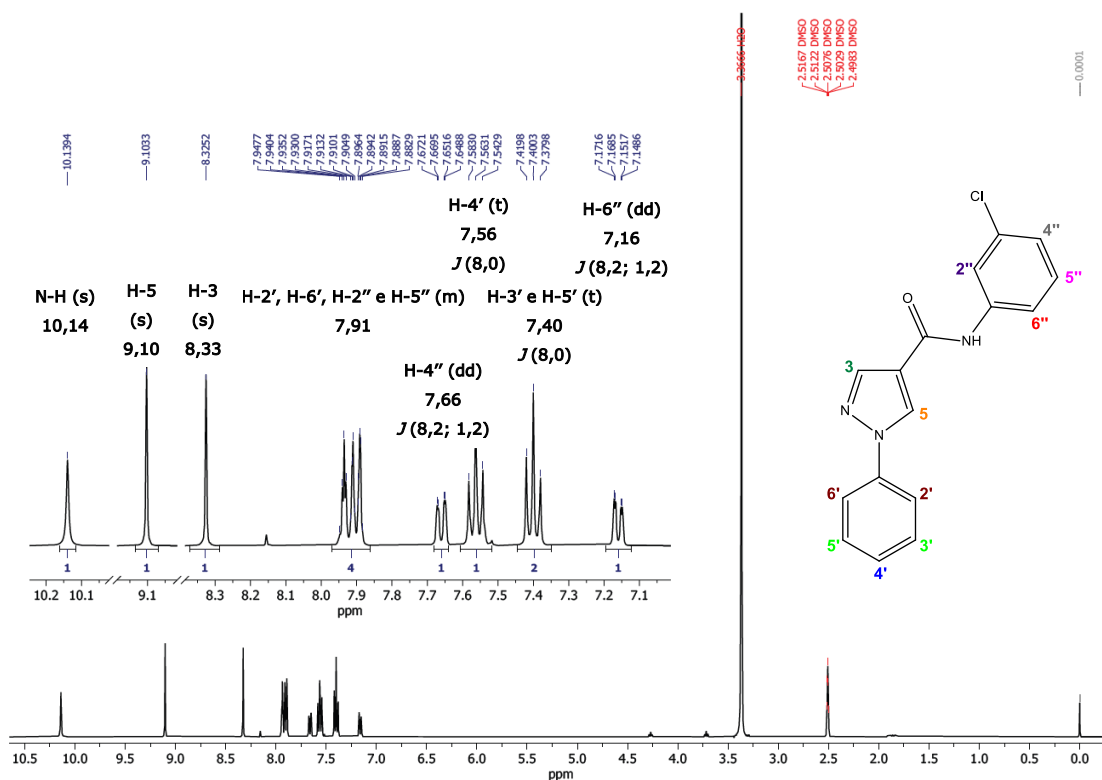
Espectro 39. Espectro de HRMS de 1s.**+MS, 0.1-0.4min #3-21****Espectro 40. Espectro de HRMS de 1t.****+MS, 0.1-0.5min #3-31**

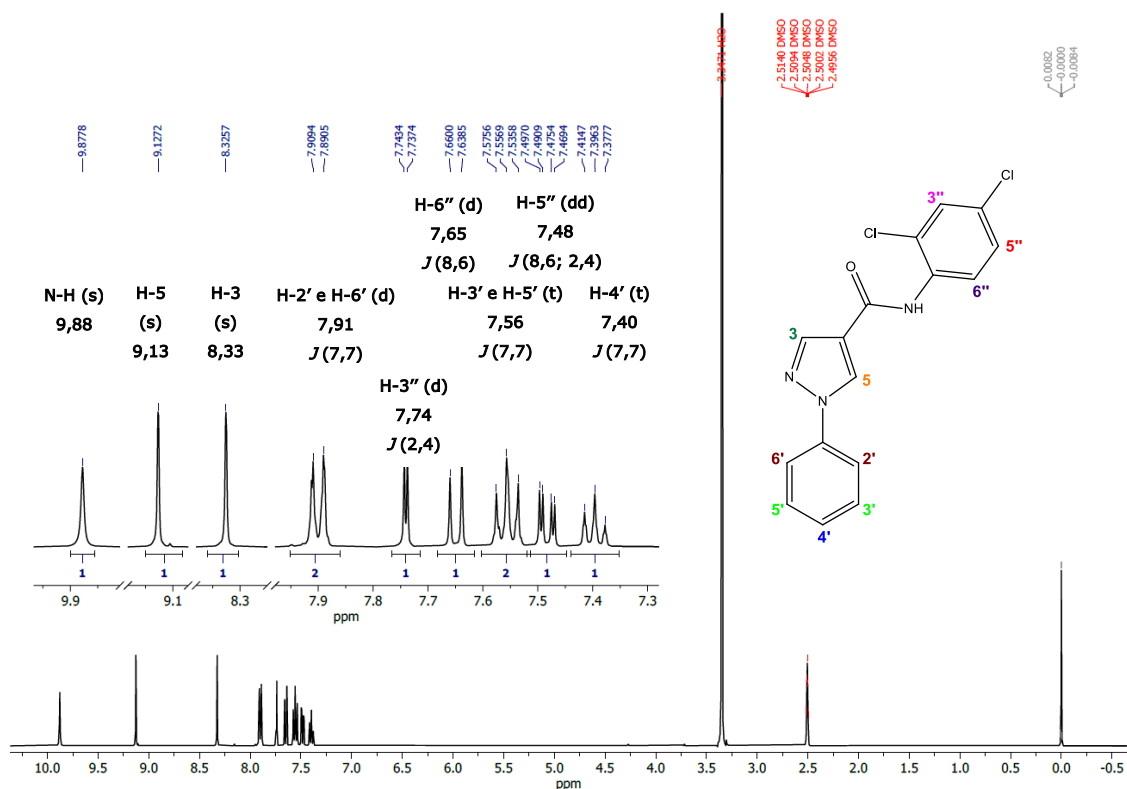
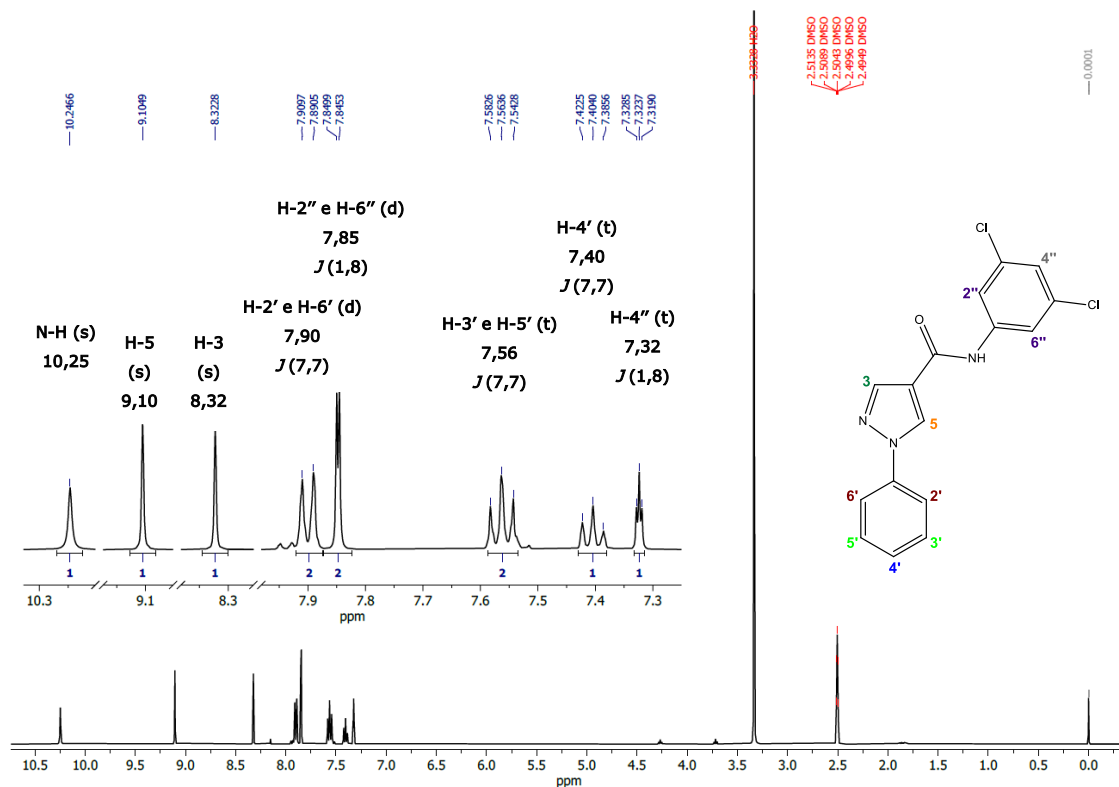
Anexo C - Espectros de RMN de ^1H dos produtos 1(a-t)

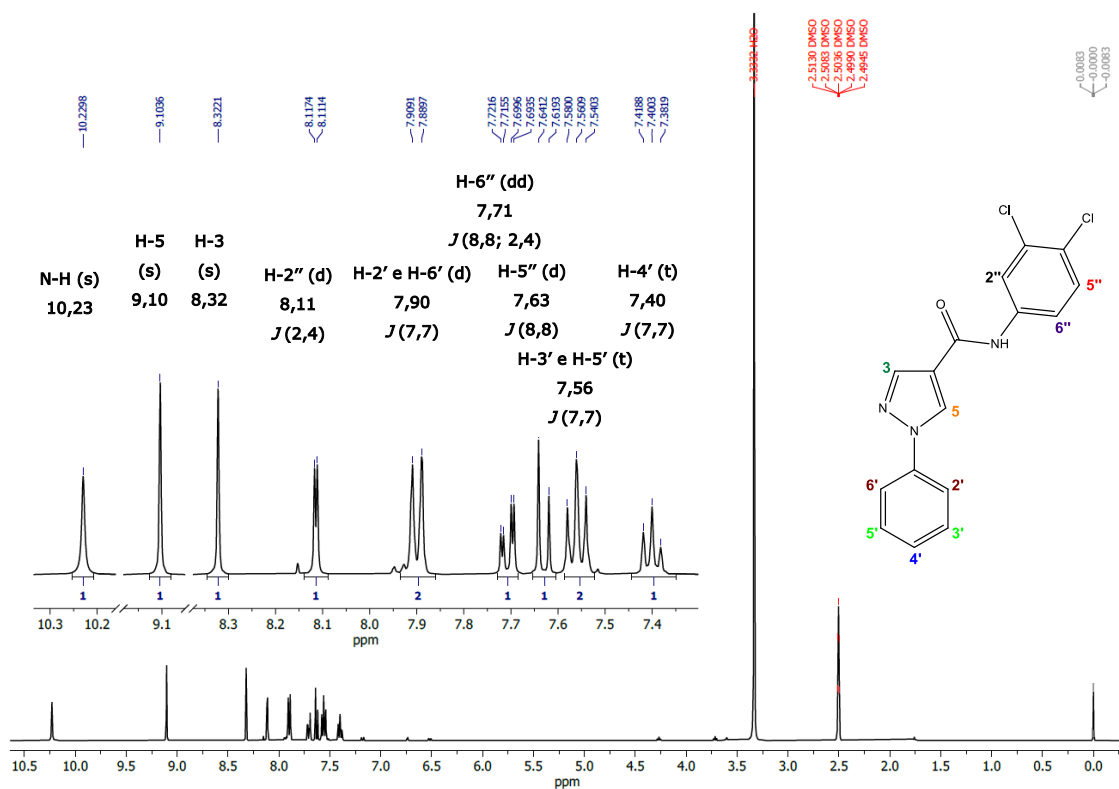
Espectro 41. Espectro de RMN de ^1H de 1a (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



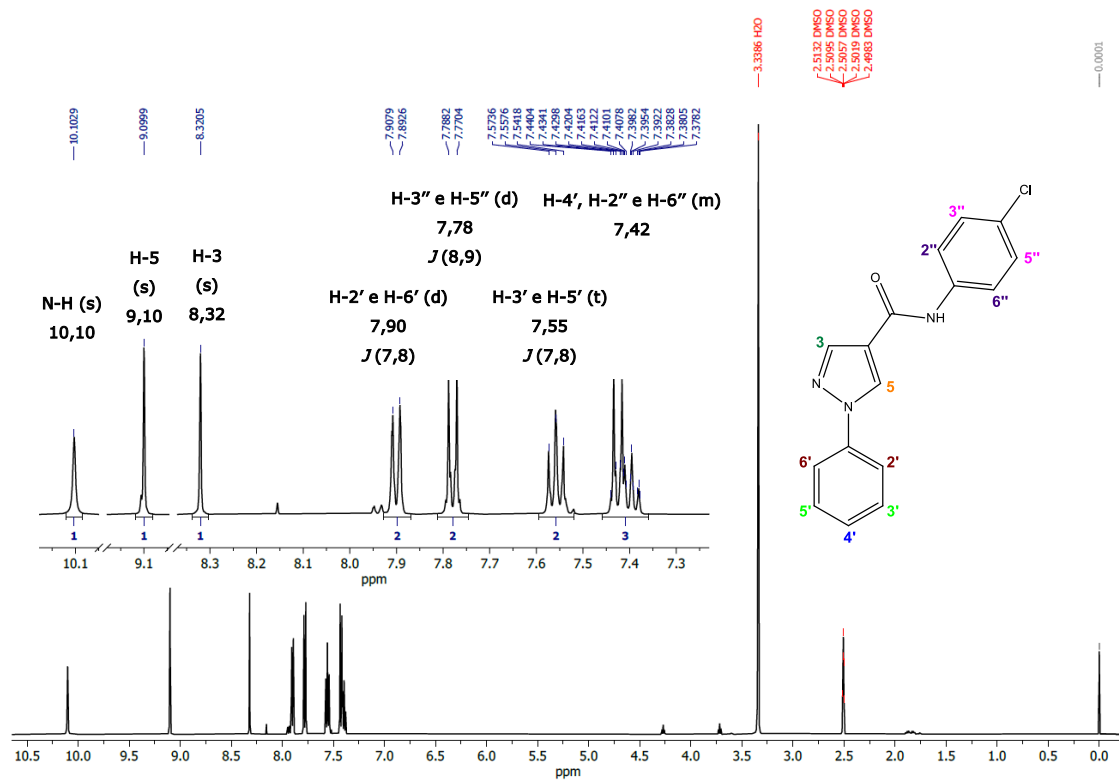
Espectro 42. Espectro de RMN de ^1H de 1b (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



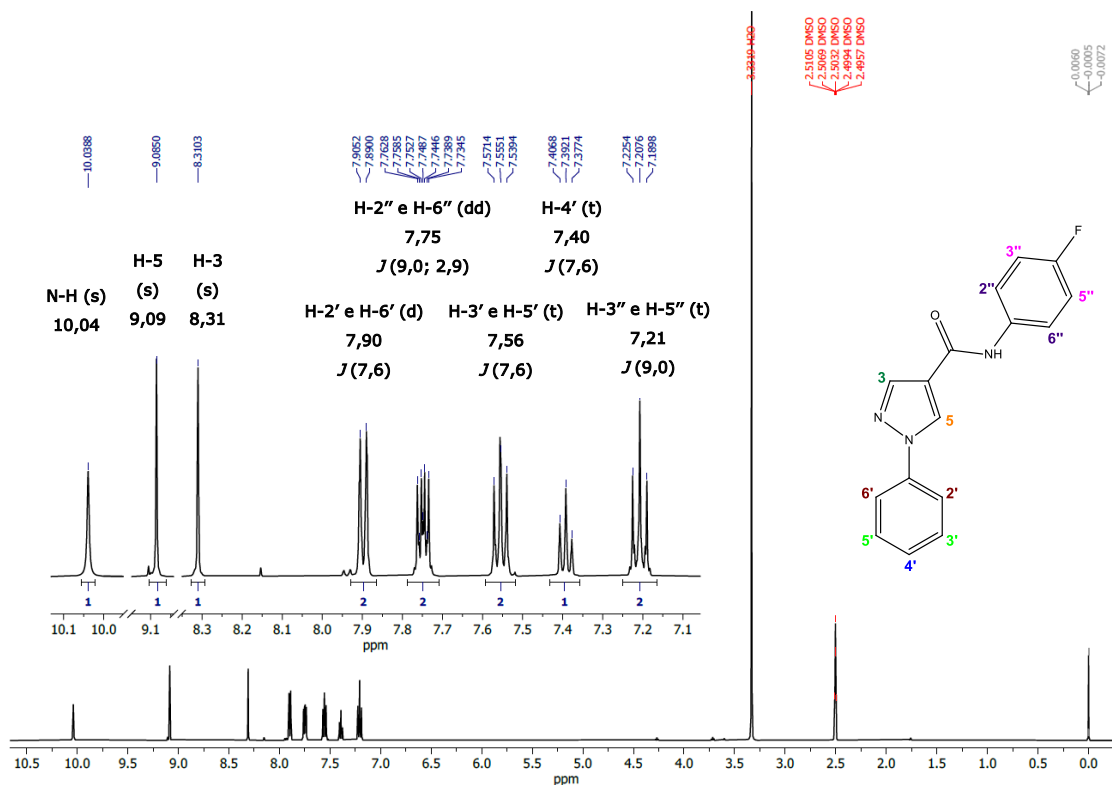
Espectro 43. Espectro de RMN de ^1H de 1c (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 44. Espectro de RMN de ^1H de 1d (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 45. Espectro de RMN de ^1H de 1e (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



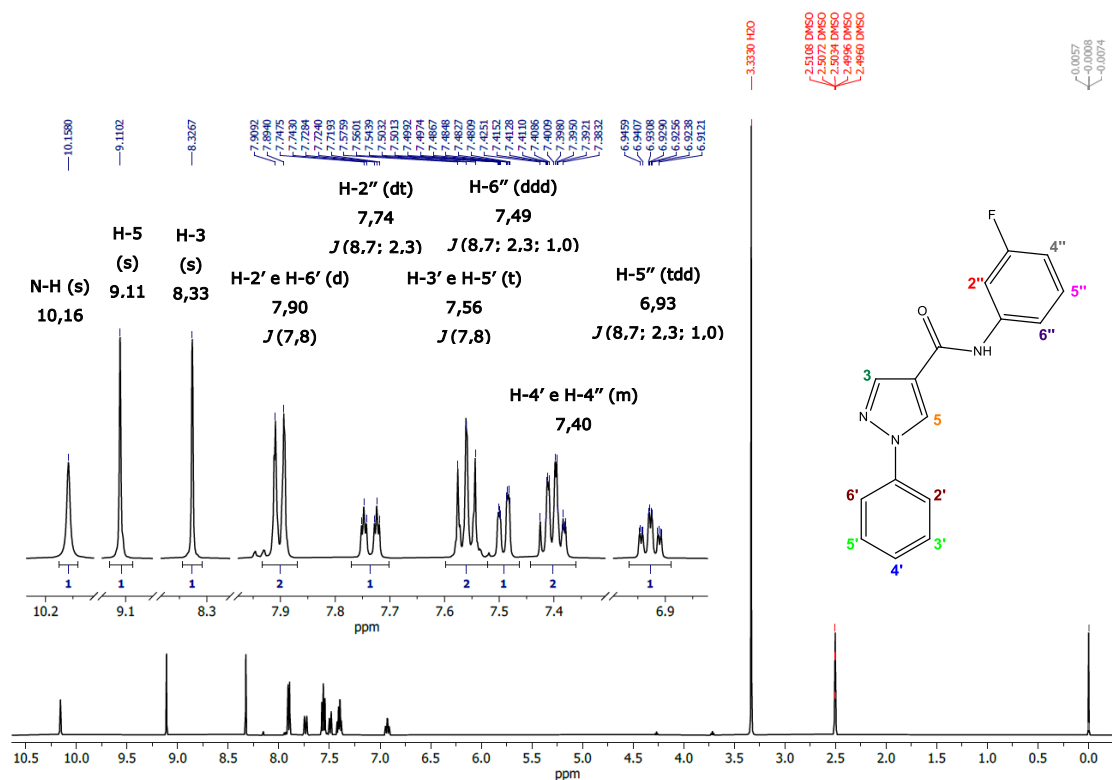
Espectro 46. Espectro de RMN de ^1H de 1f (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



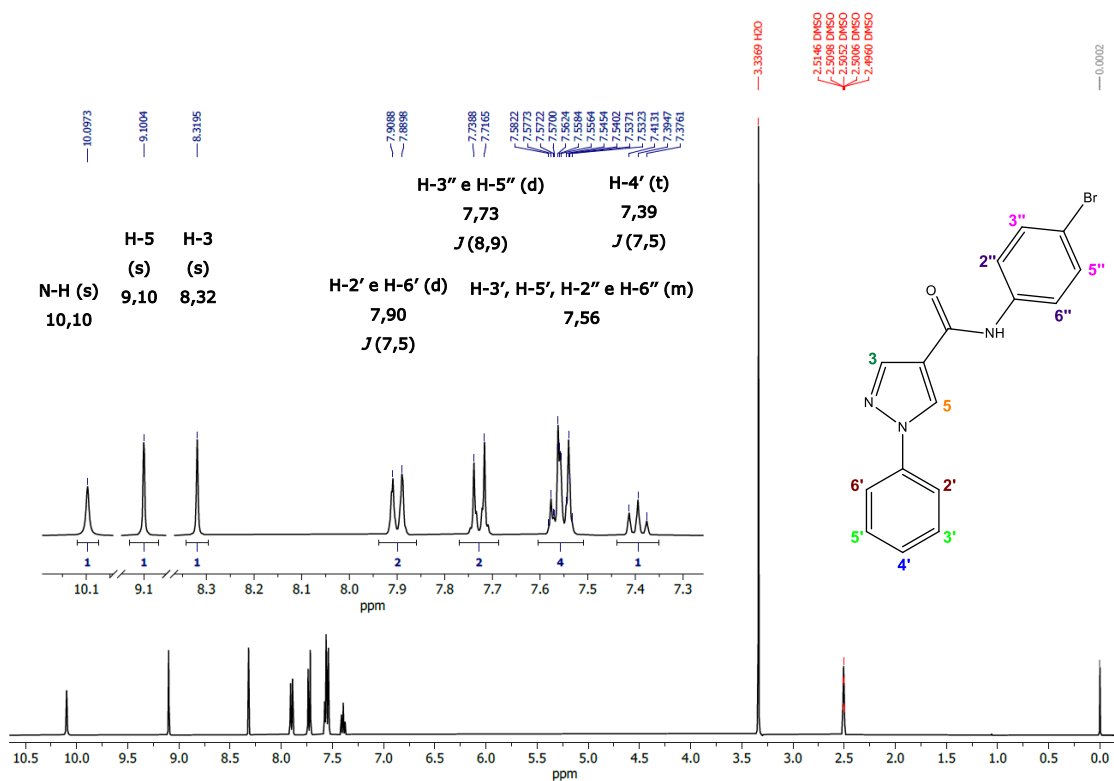
Espectro 47. Espectro de RMN de ^1H de 1g (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



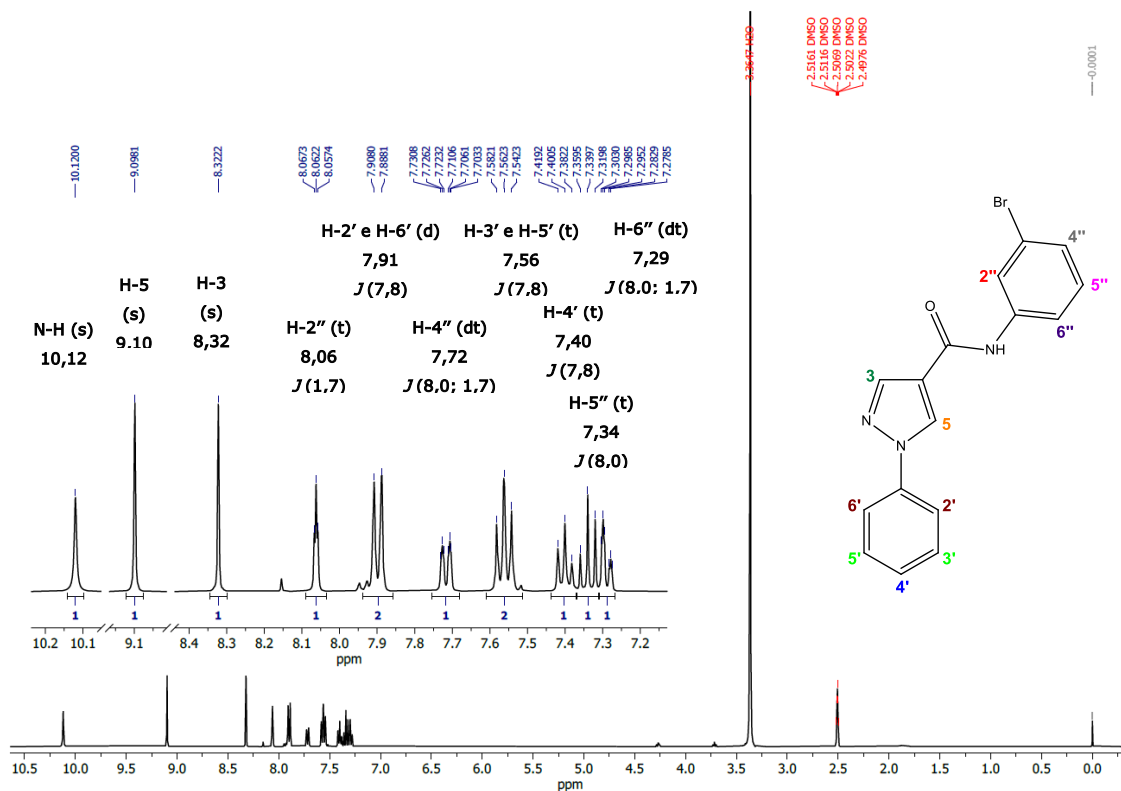
Espectro 48. Espectro de RMN de ^1H de 1h (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



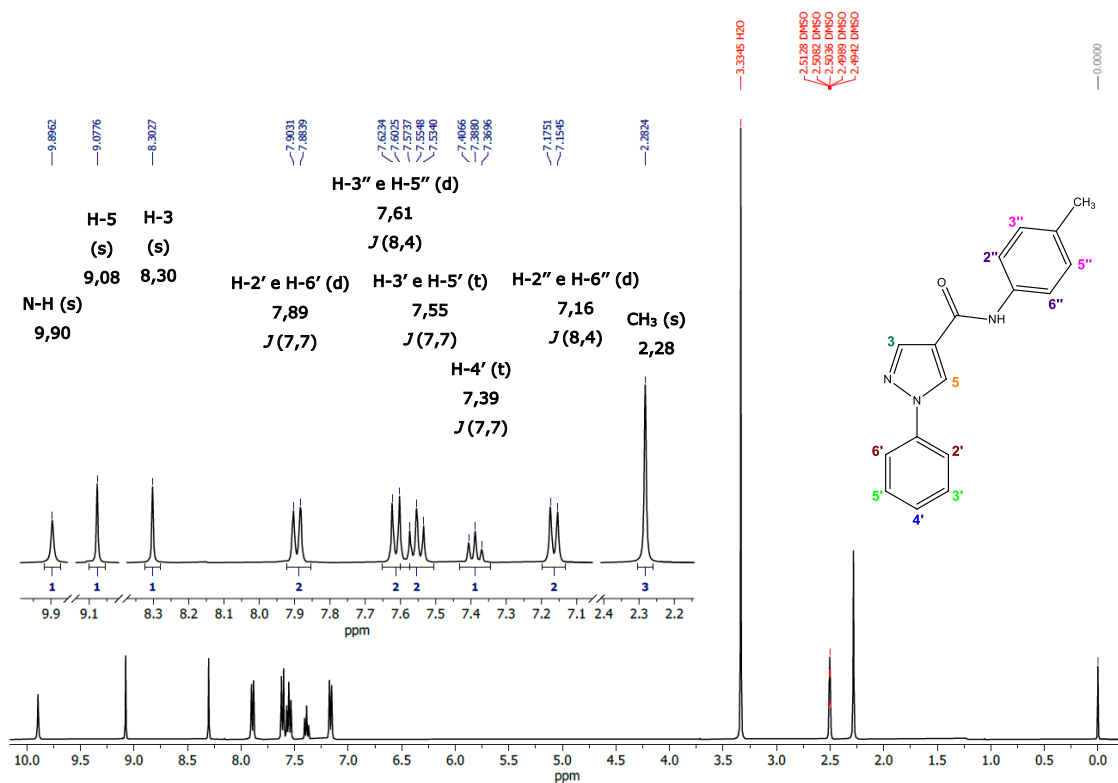
Espectro 49. Espectro de RMN de ^1H de 1i (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



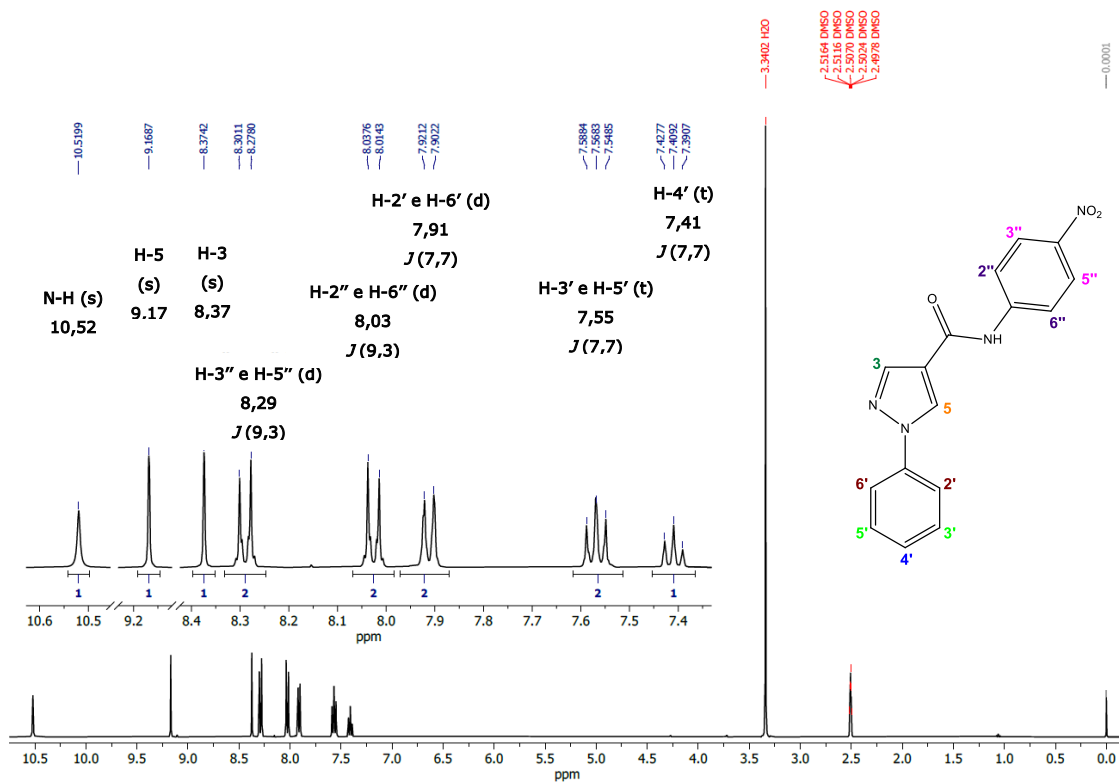
Espectro 50. Espectro de RMN de ^1H de 1j (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



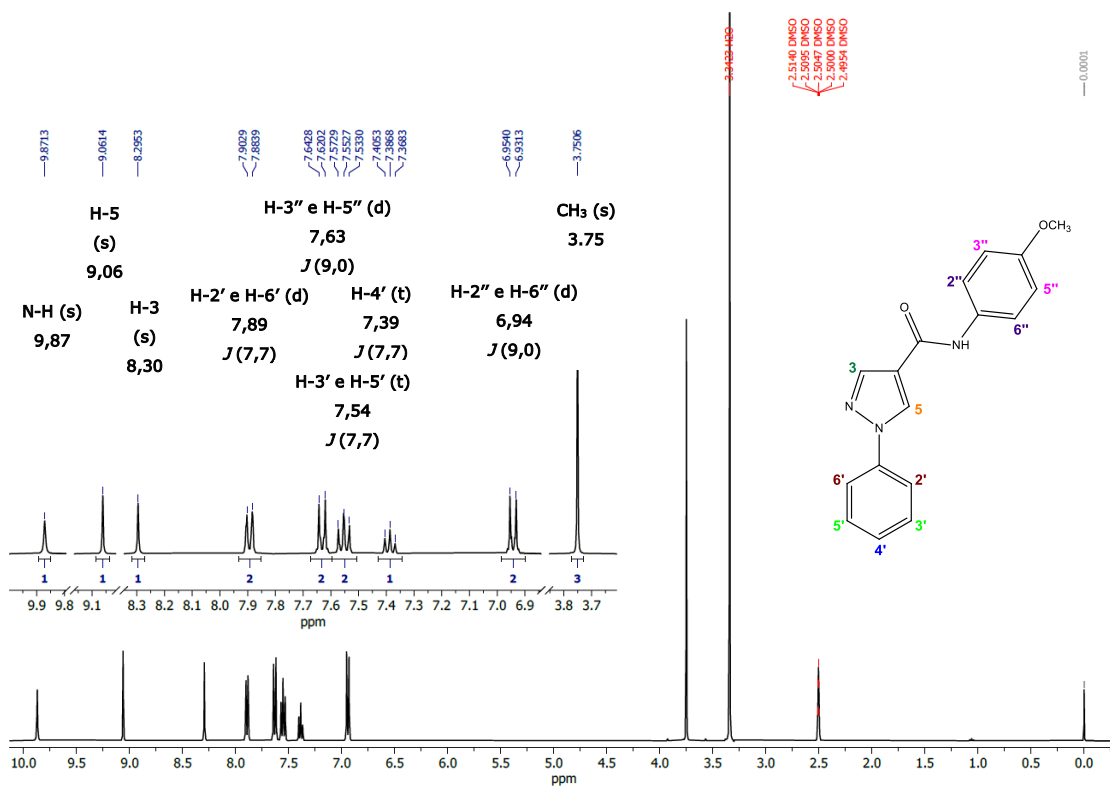
Espectro 51. Espectro de RMN de ^1H de 1k (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



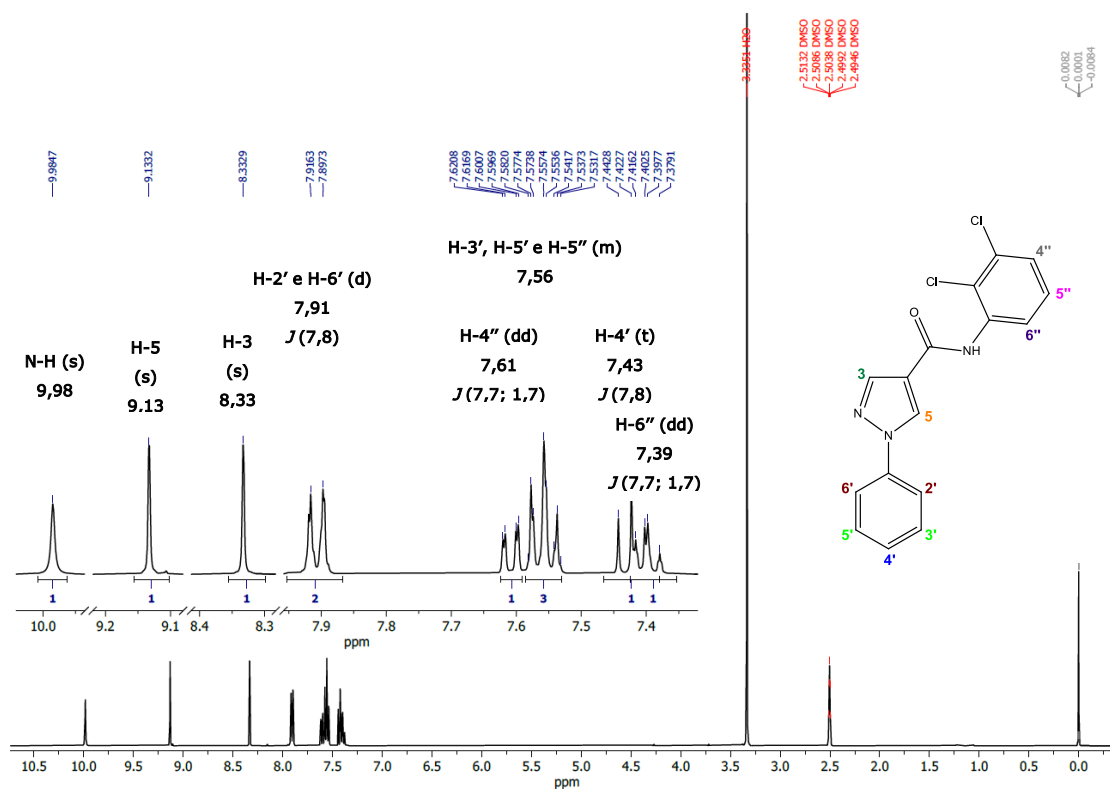
Espectro 52. Espectro de RMN de ^1H de 1l (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

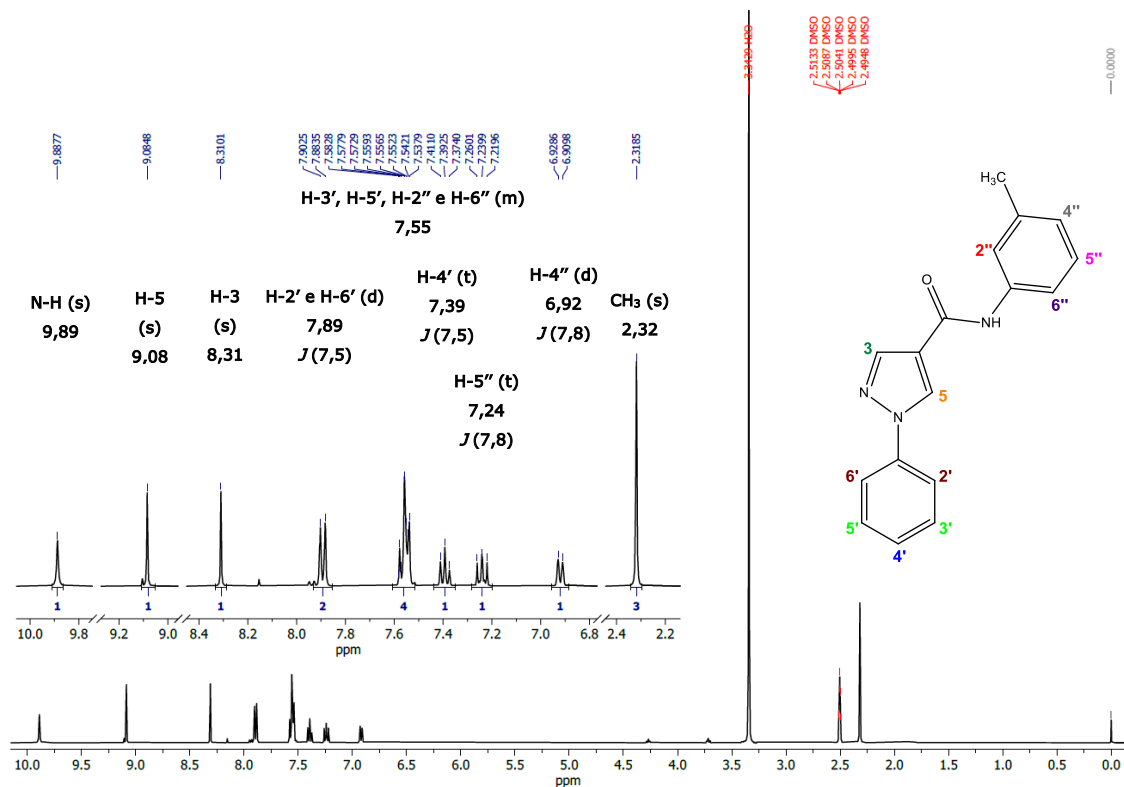
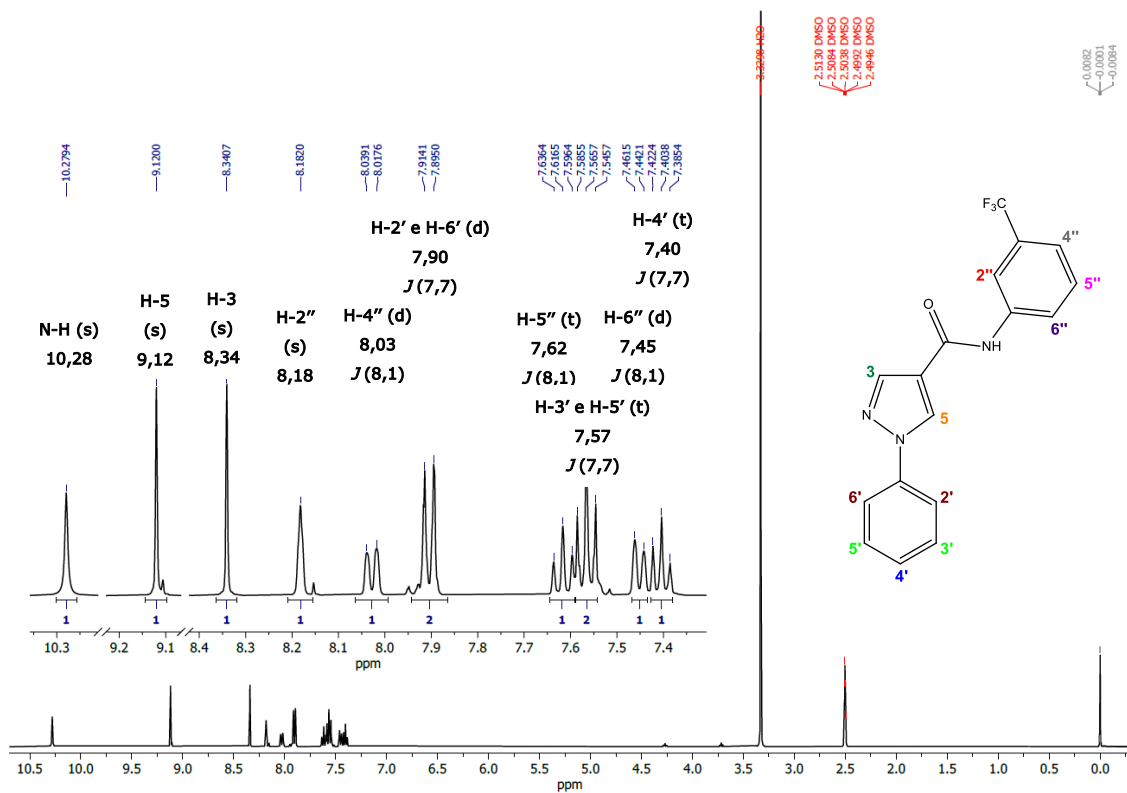


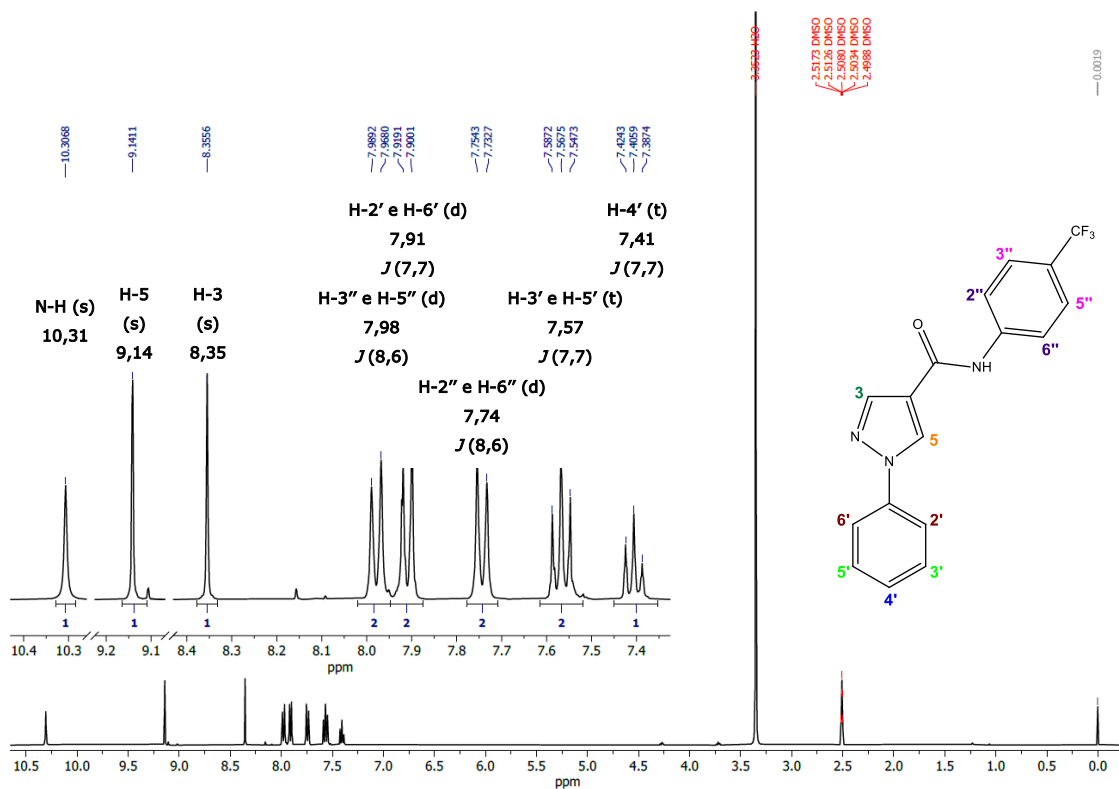
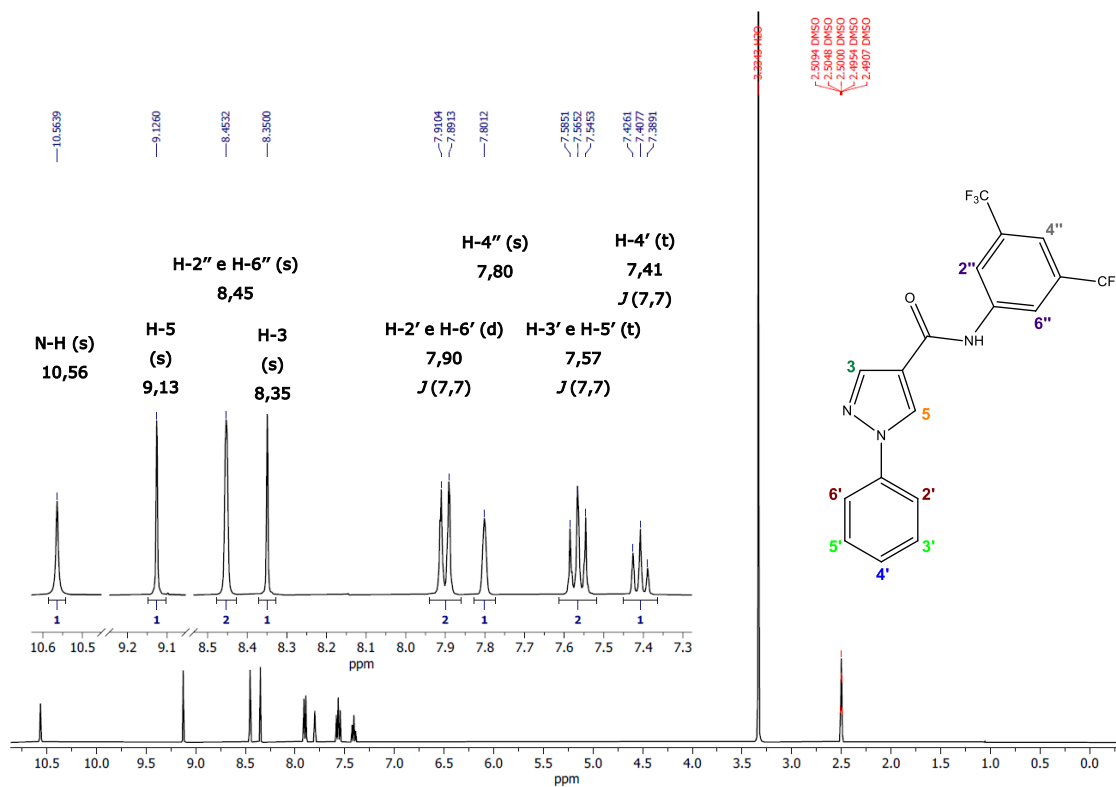
Espectro 53. Espectro de RMN de ^1H de 1m (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



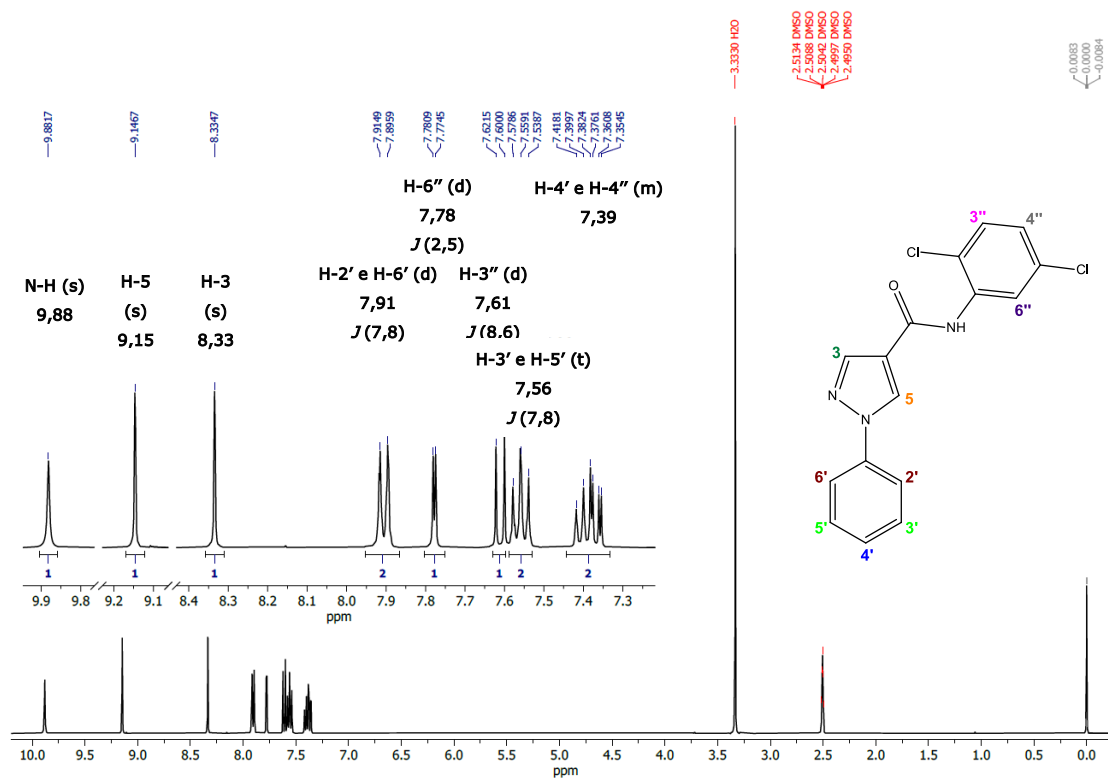
Espectro 54. Espectro de RMN de ^1H de 1n (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).



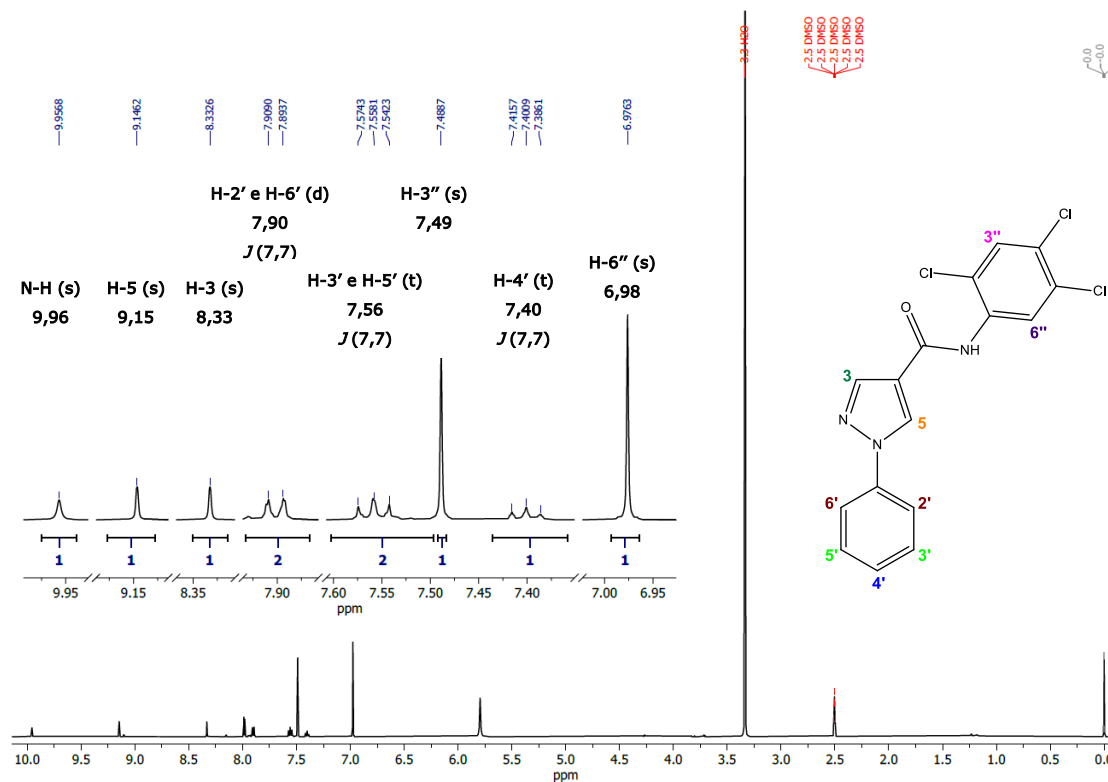
Espectro 55. Espectro de RMN de ^1H de 1o (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 56. Espectro de RMN de ^1H de 1p (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

Espectro 57. Espectro de RMN de ^1H de 1q (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 58. Espectro de RMN de ^1H de 1r (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

Espectro 59. Espectro de RMN de ^1H de 1s (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

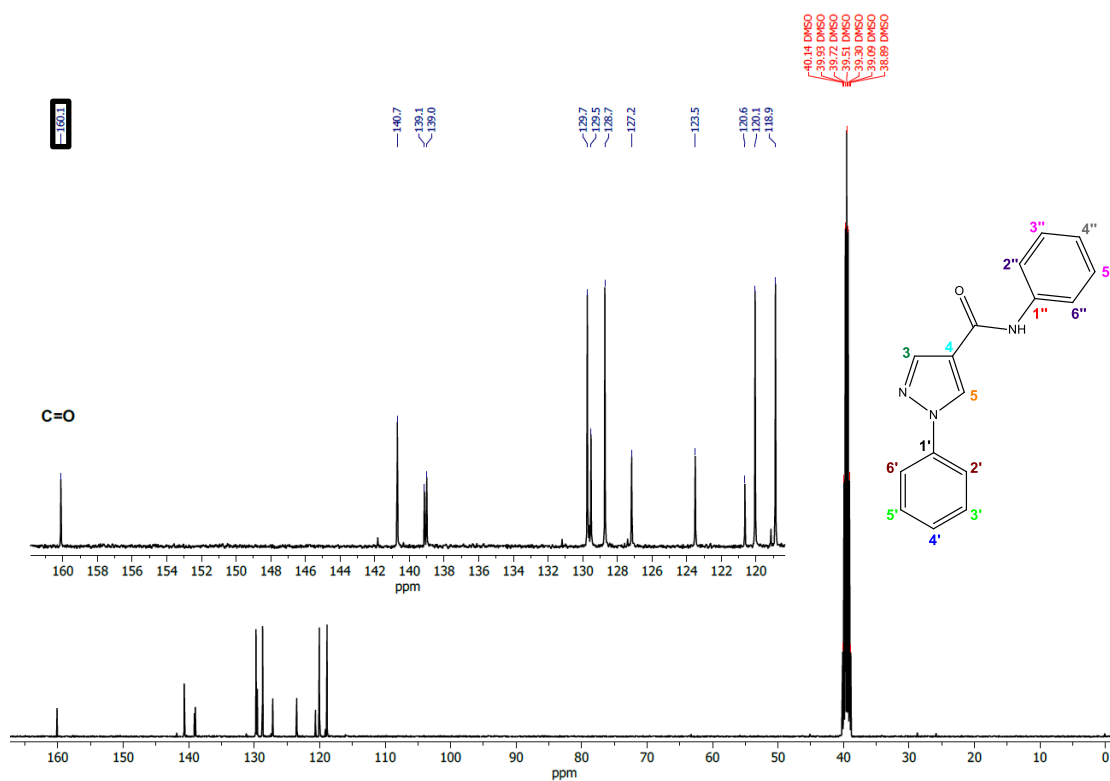


Espectro 60. Espectro de RMN de ^1H de 1t (400 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

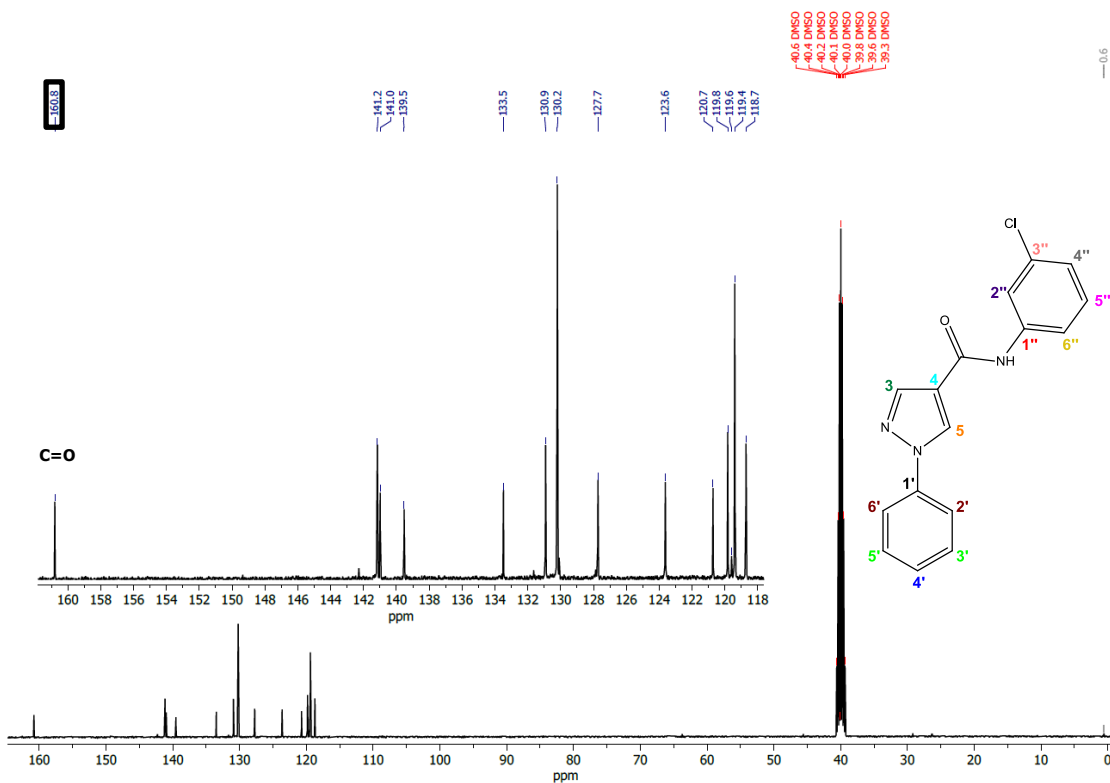


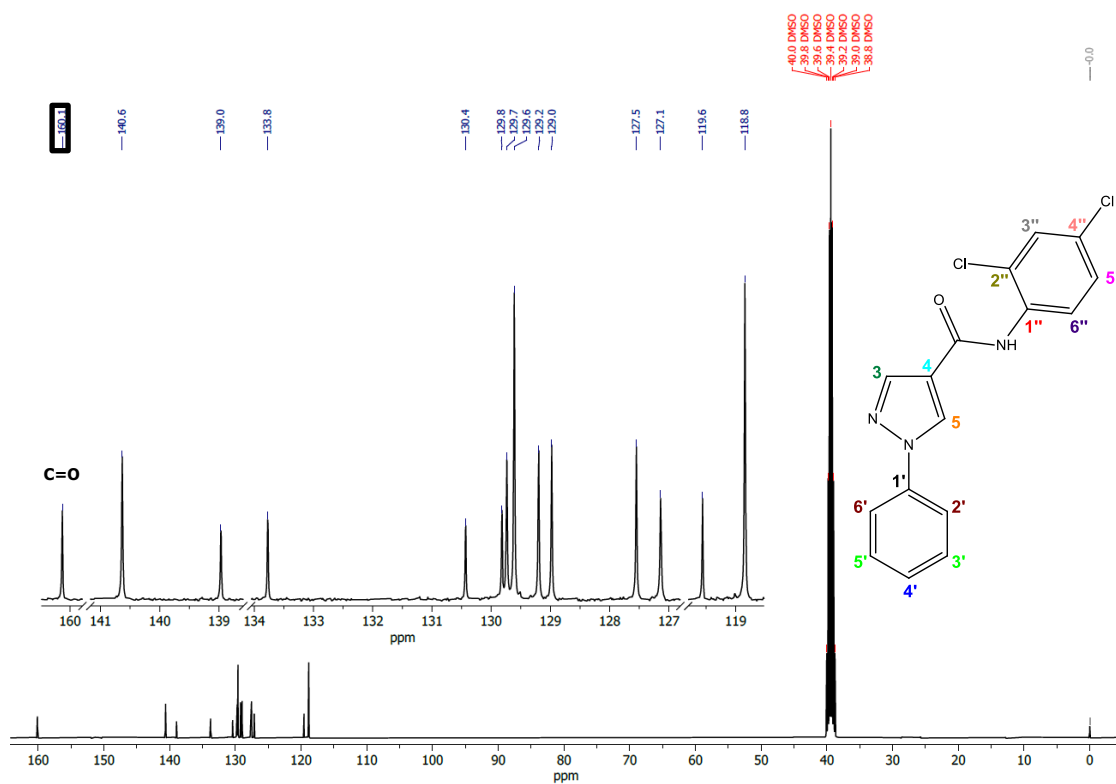
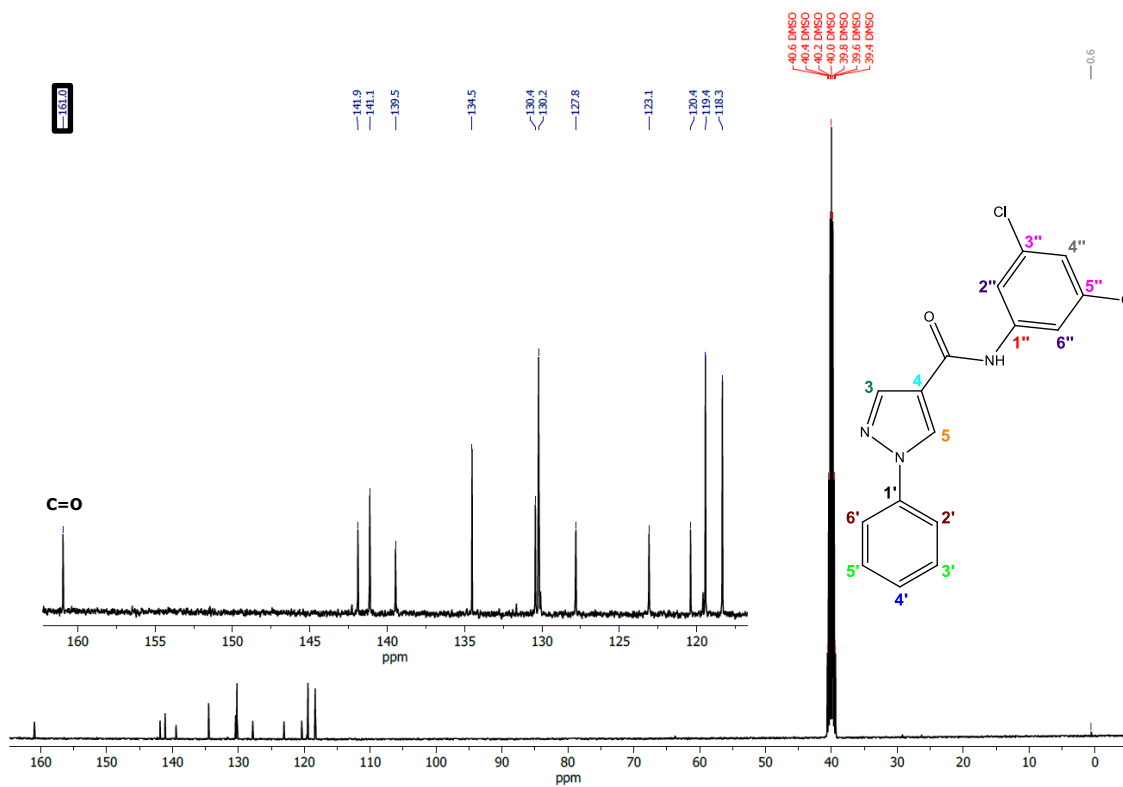
Anexo D - Espectros de RMN de ^{13}C dos produtos 1(a-t)

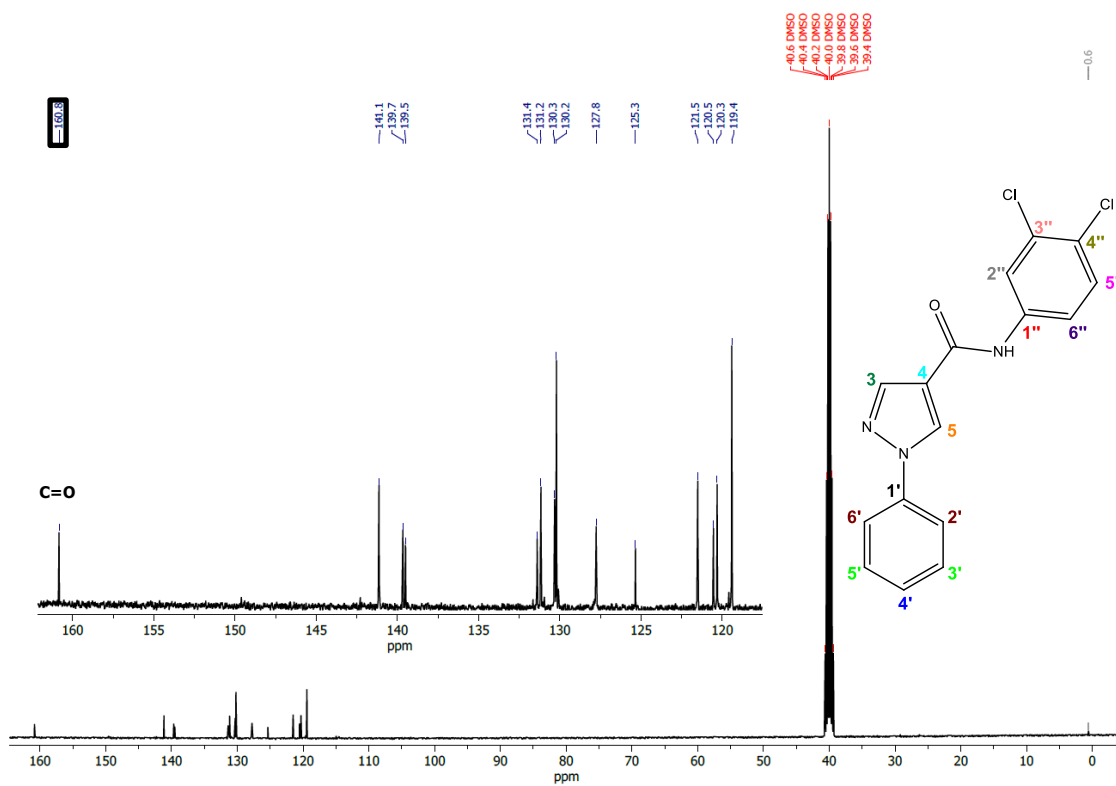
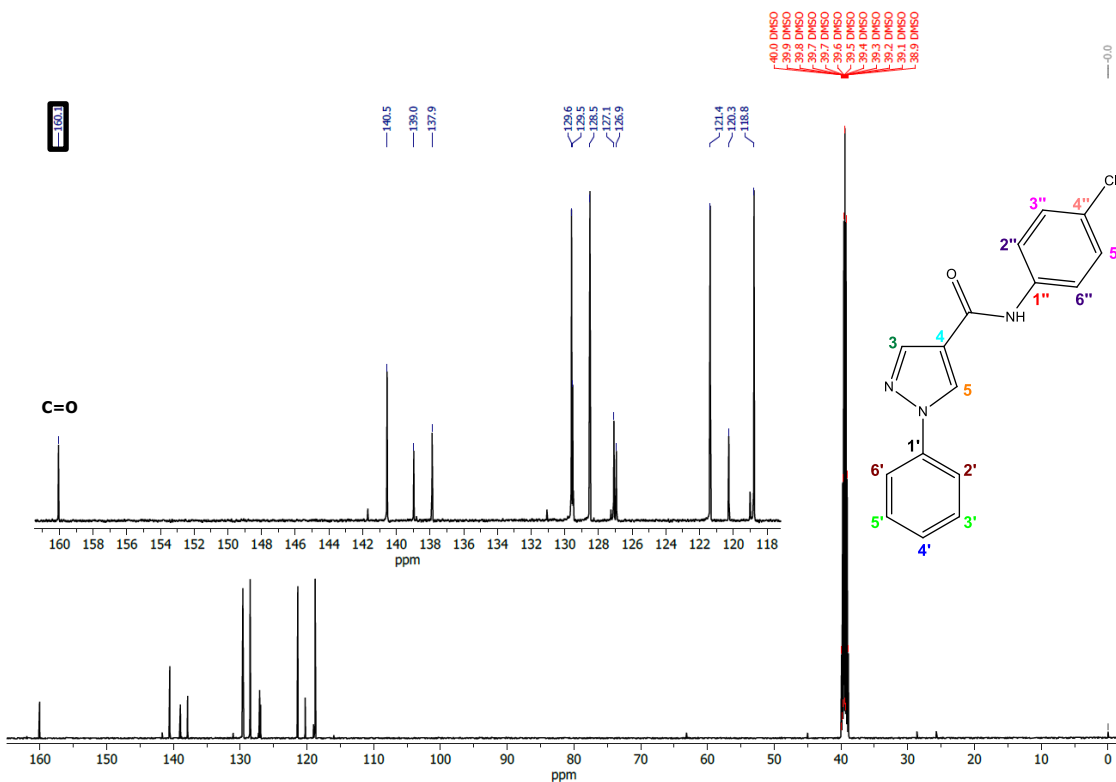
Espectro 61. Espectro de RMN de ^{13}C de 1a (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

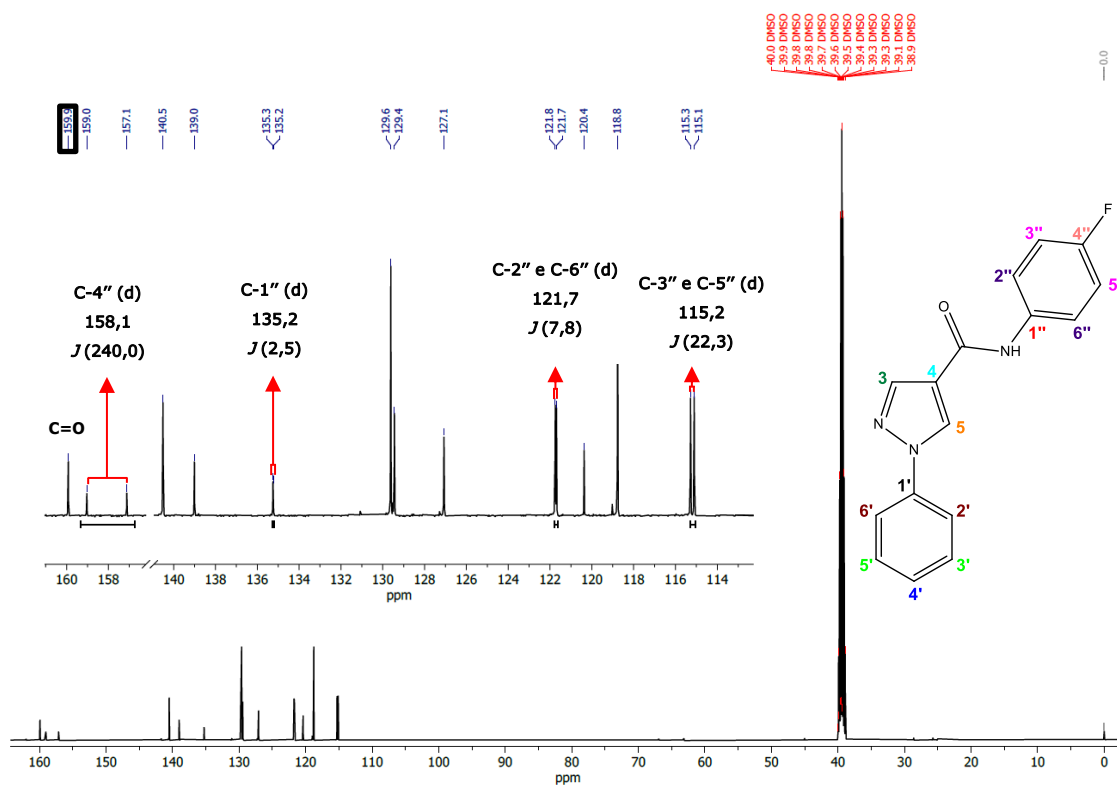
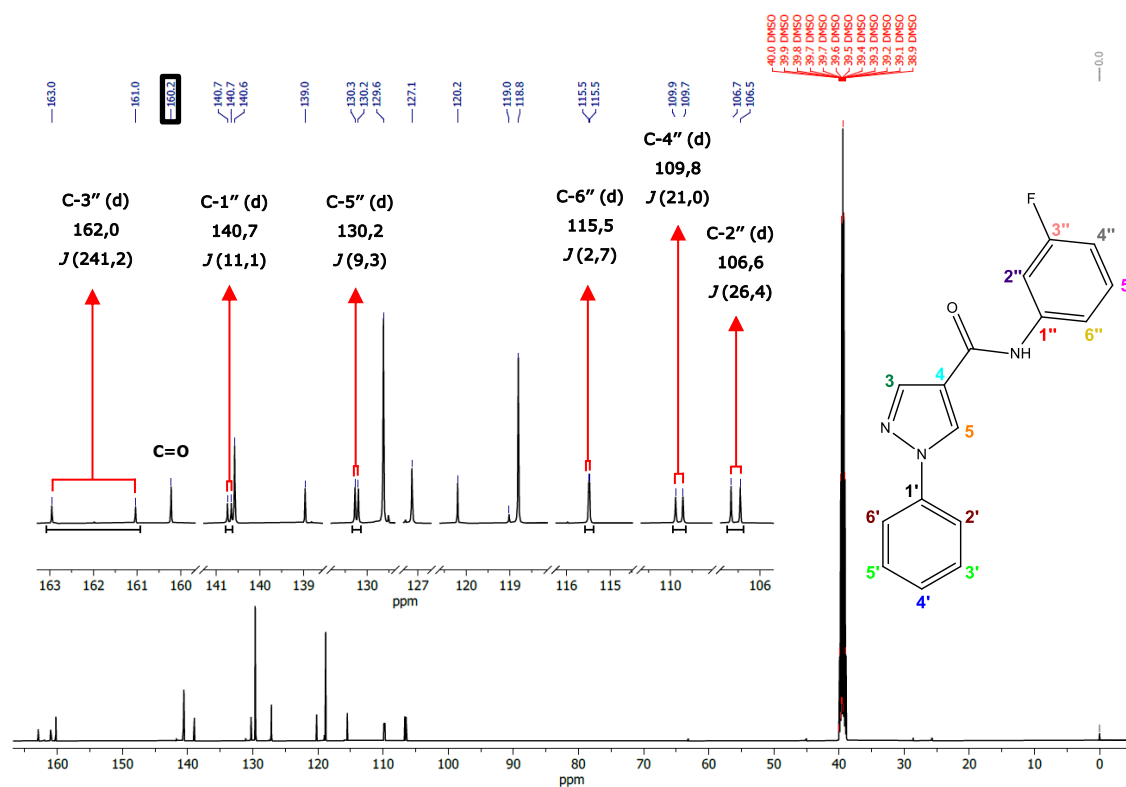


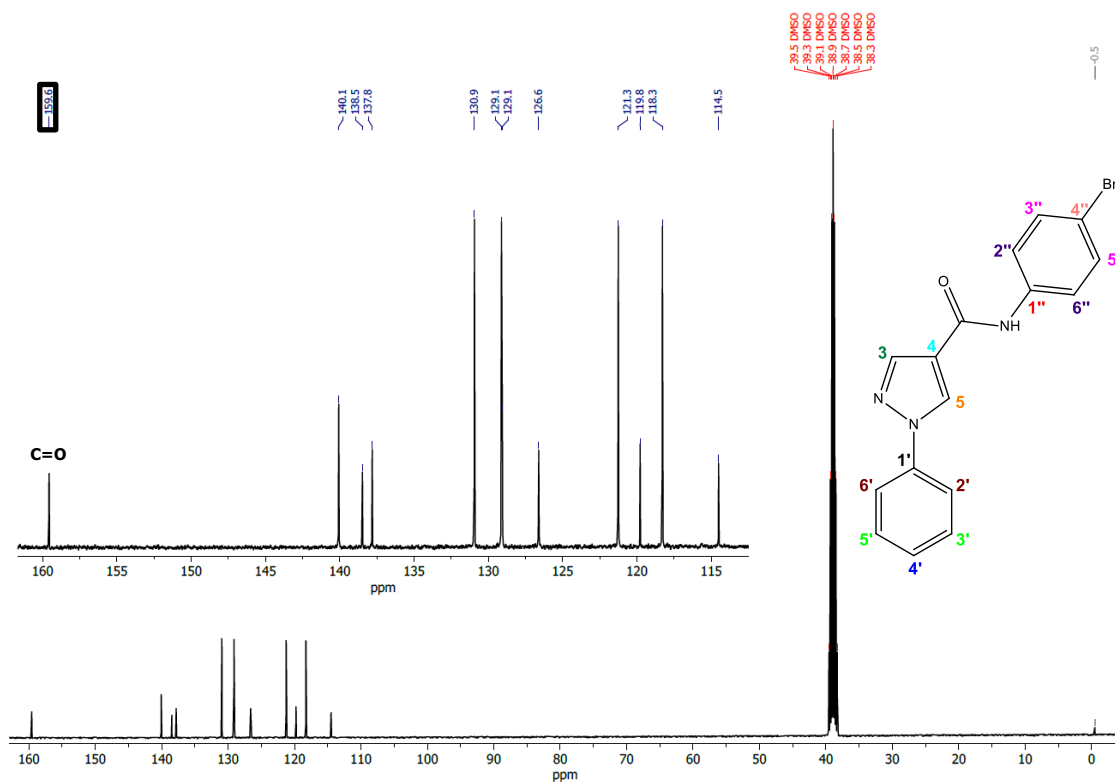
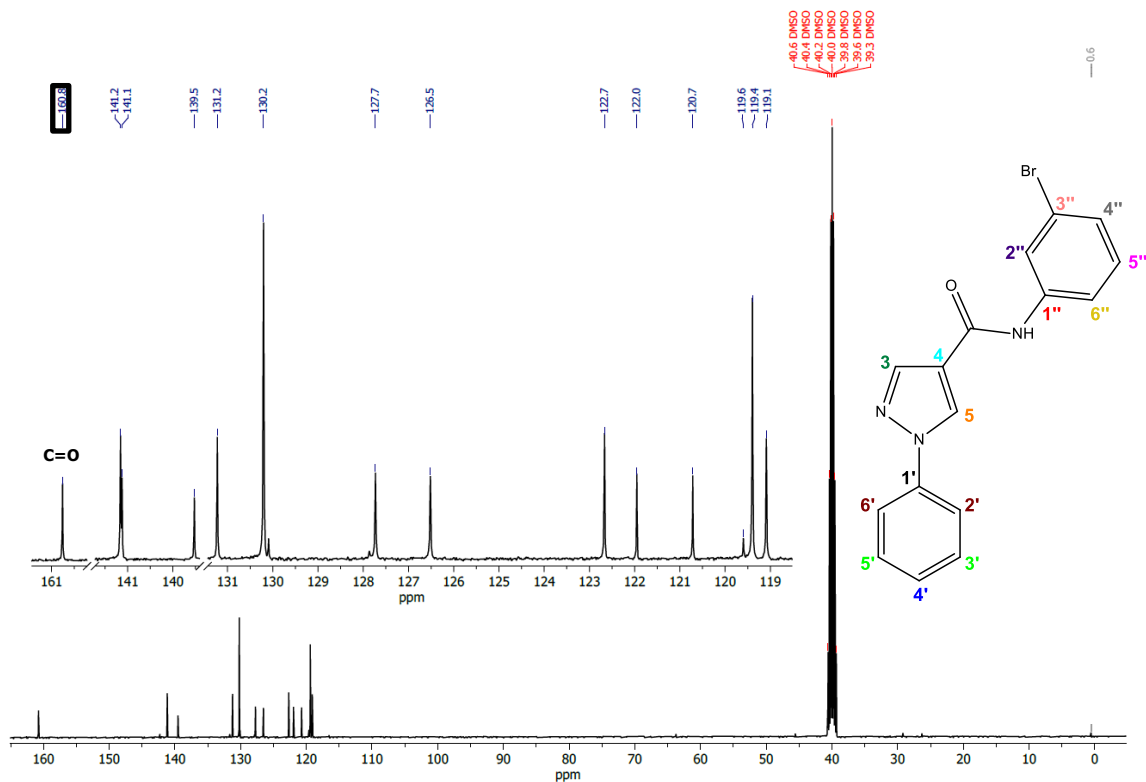
Espectro 62. Espectro de RMN de ^{13}C de 1b (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

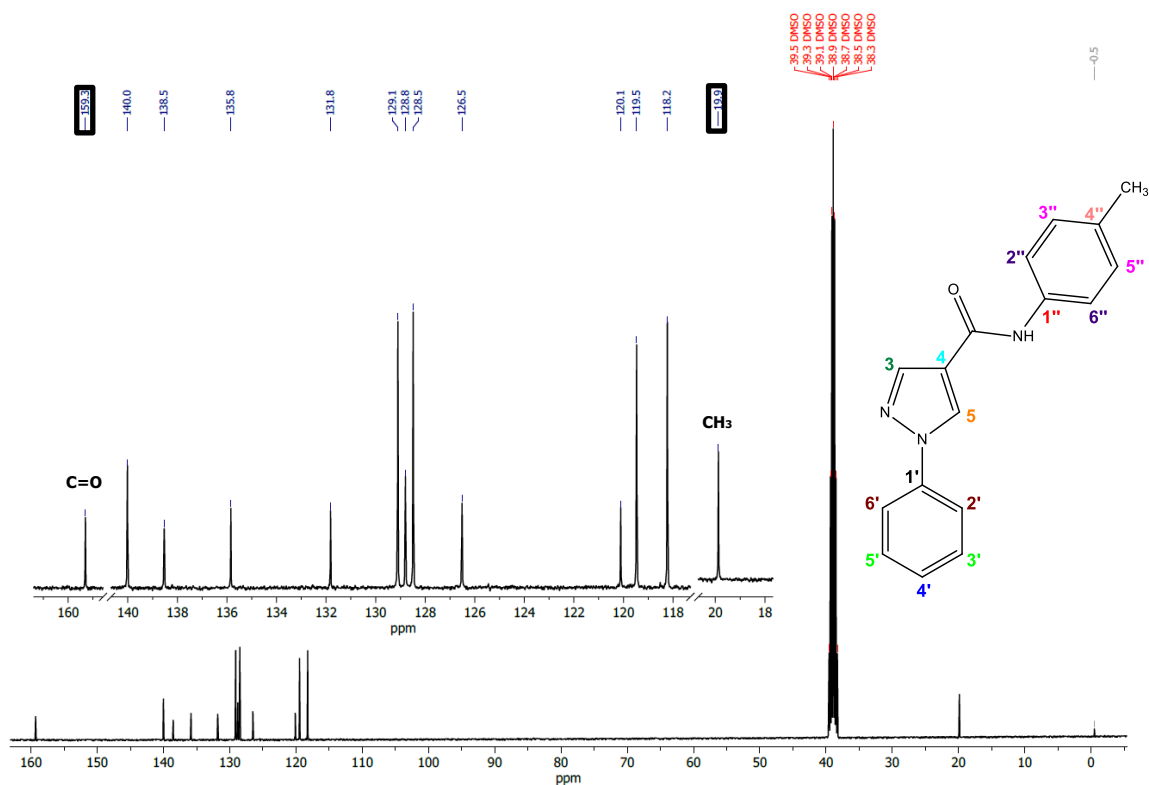
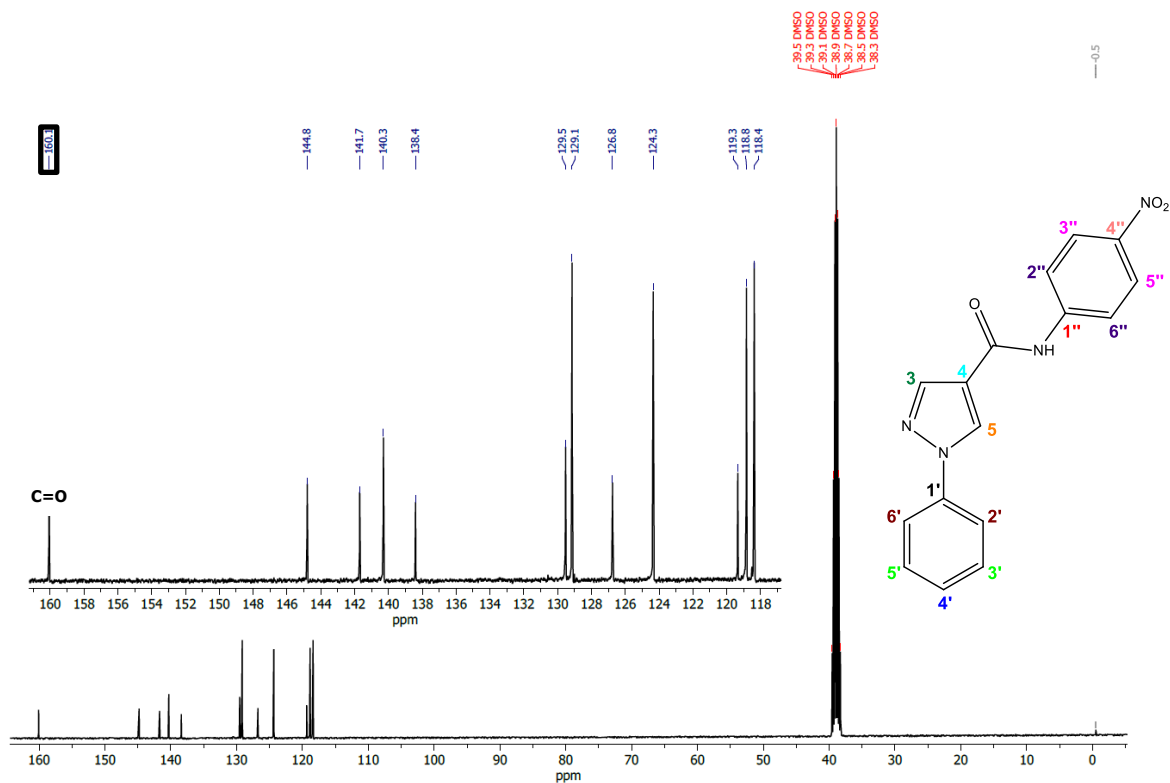


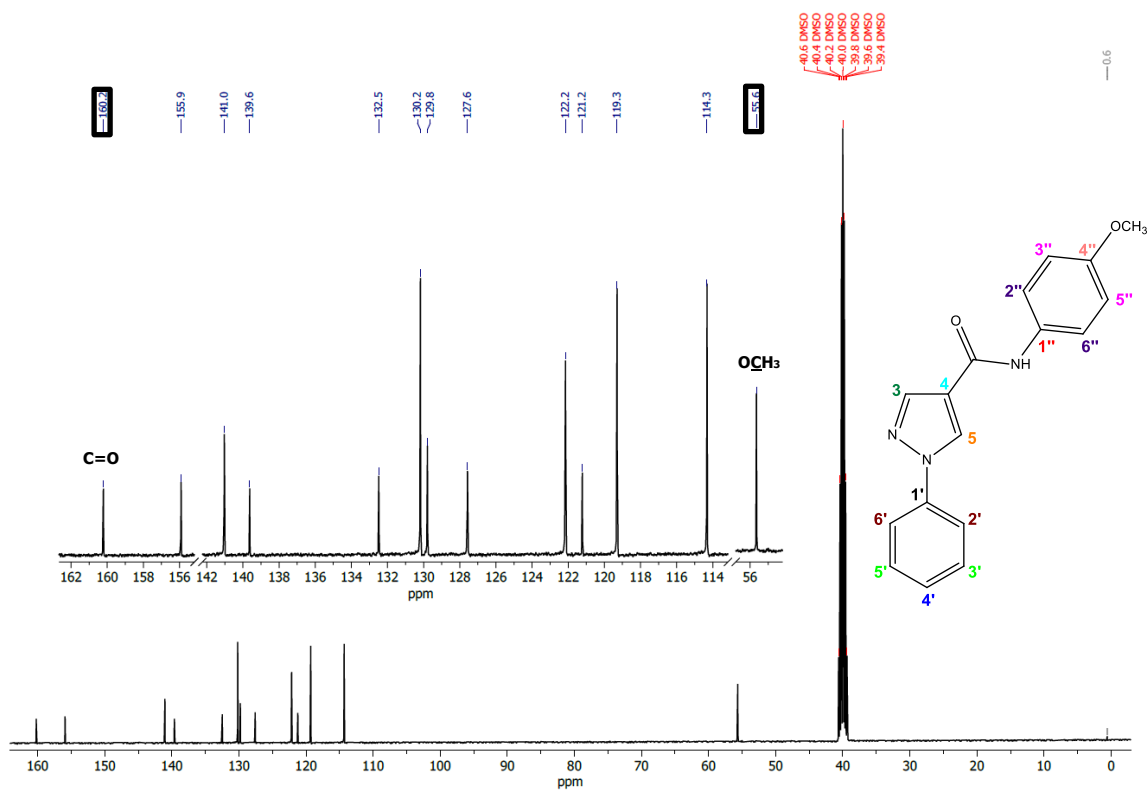
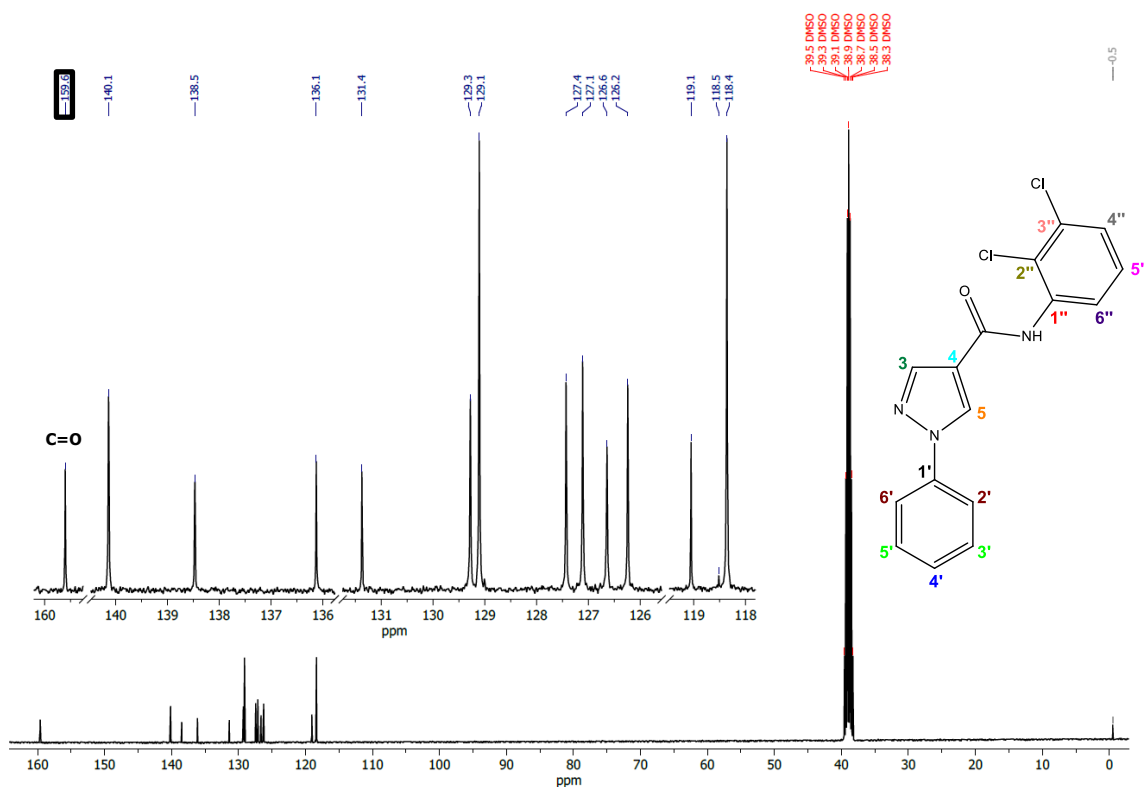
Espectro 63. Espectro de RMN de ^{13}C de 1c (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO-}d_6$).Espectro 64. Espectro de RMN de ^{13}C de 1d (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO-}d_6$).

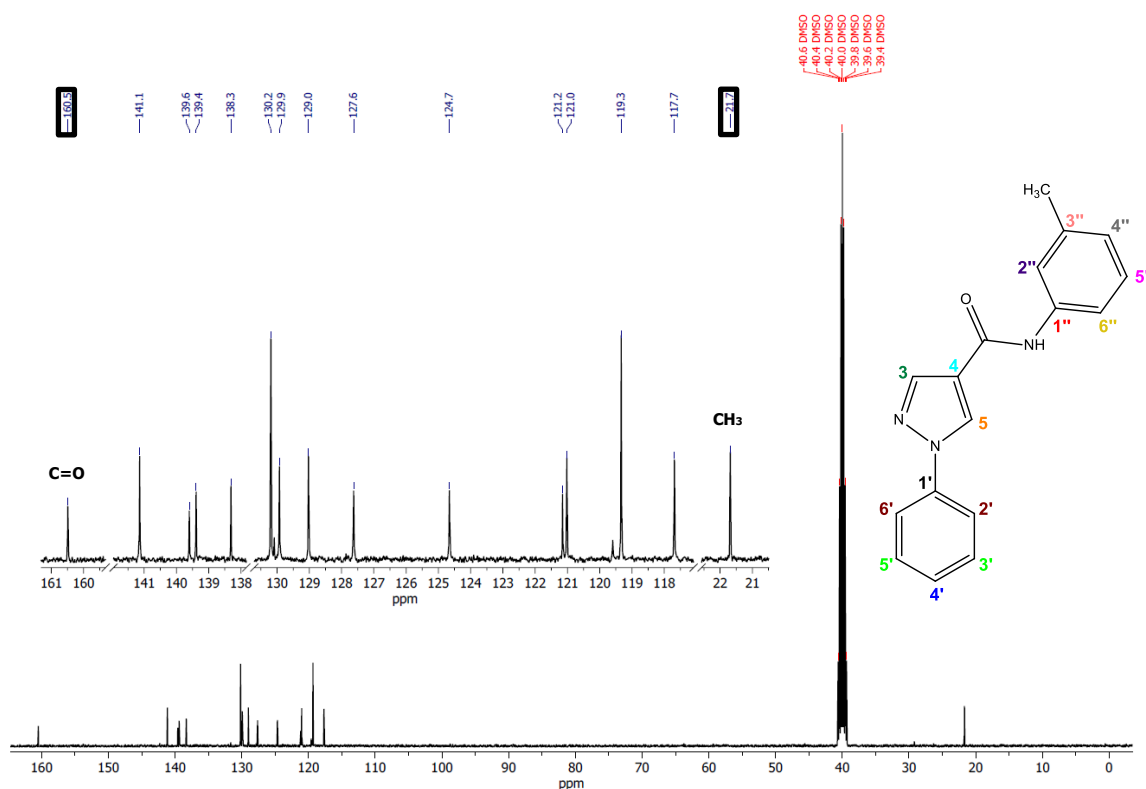
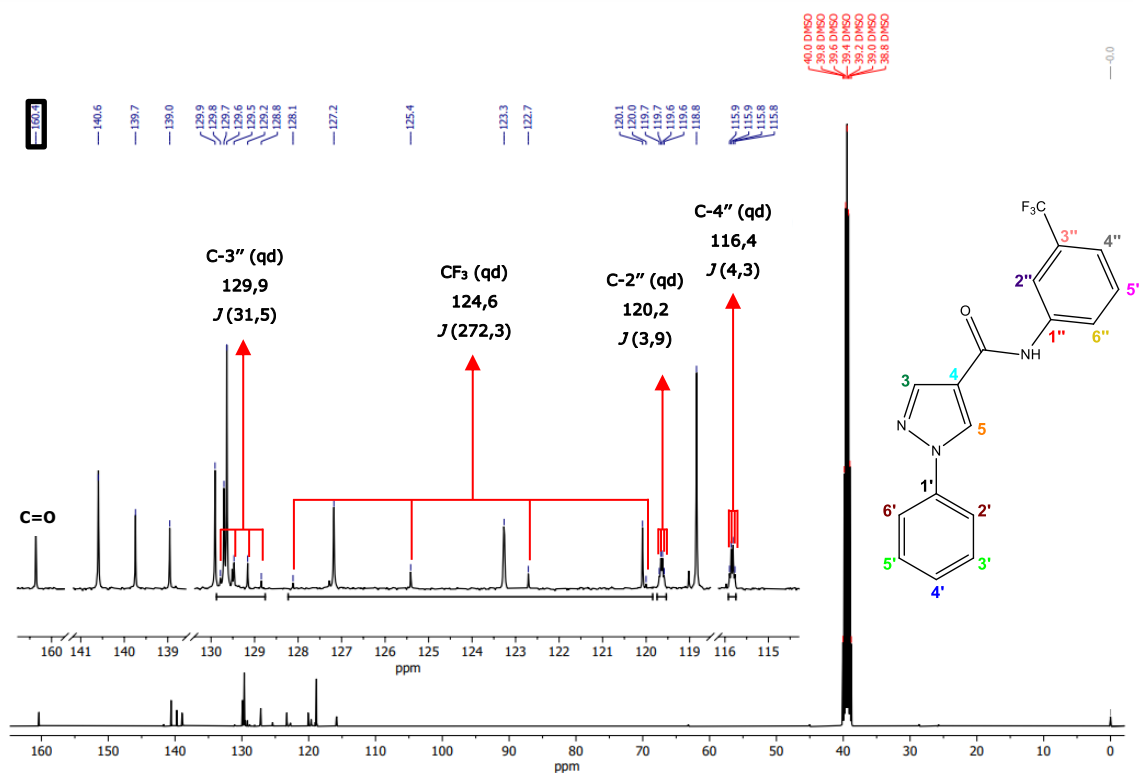
Espectro 65. Espectro de RMN de ^{13}C de 1e (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 66. Espectro de RMN de ^{13}C de 1f (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

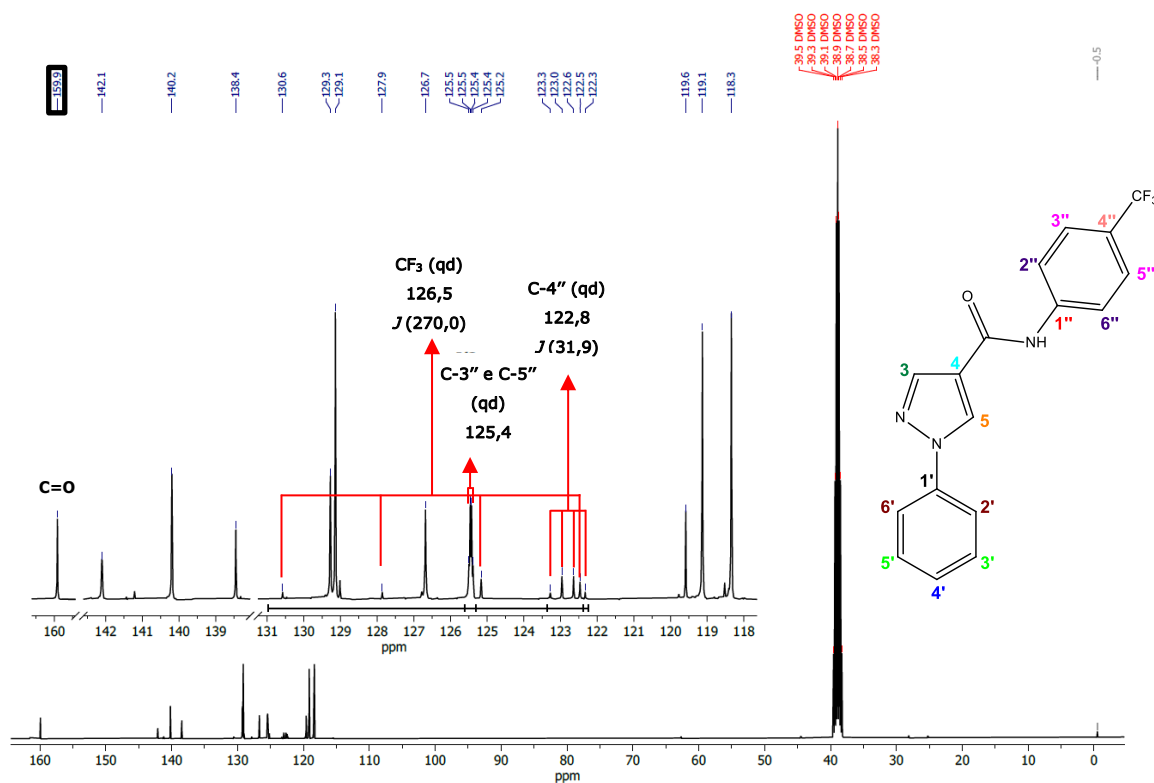
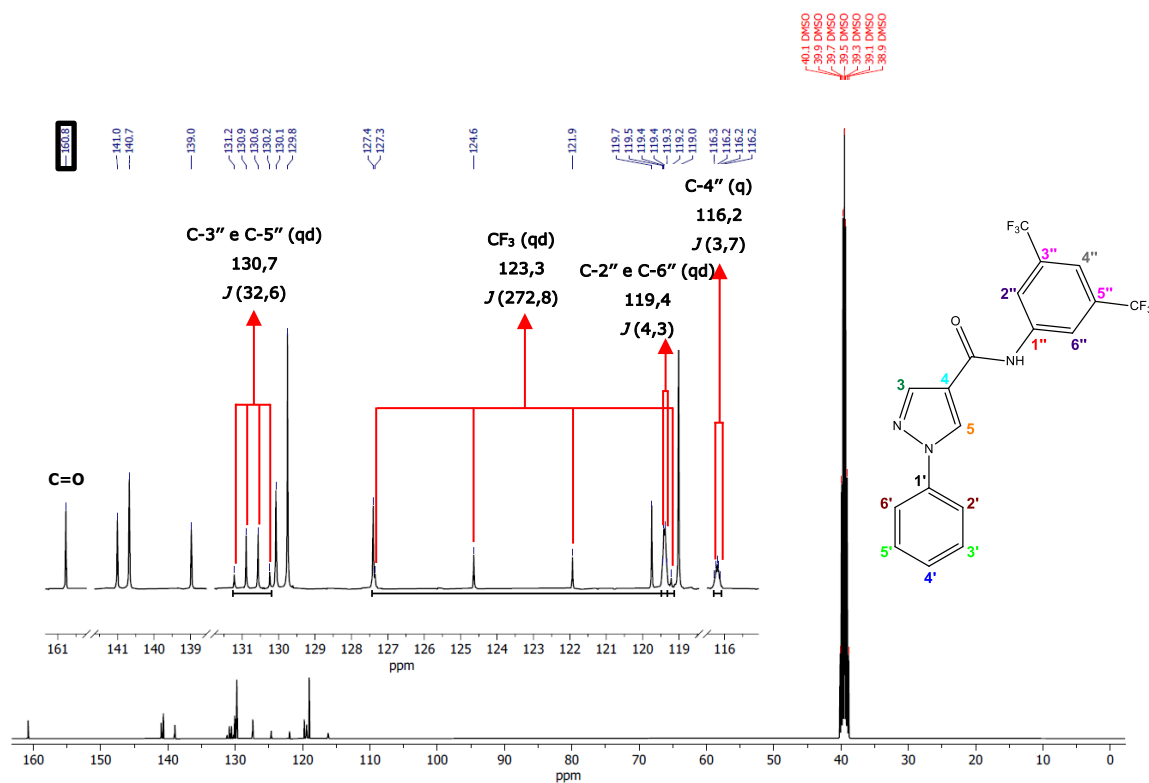
Espectro 67. Espectro de RMN de ^{13}C de 1g (100 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 68. Espectro de RMN de ^{13}C de 1h (100 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

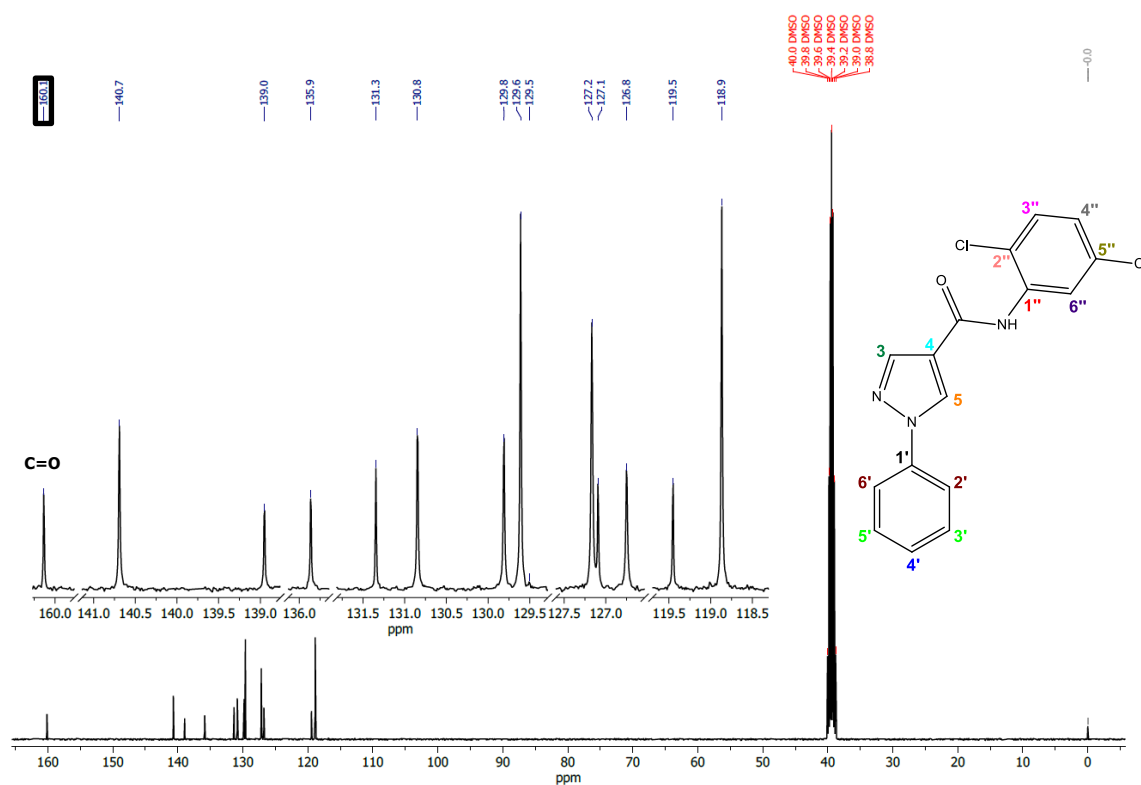
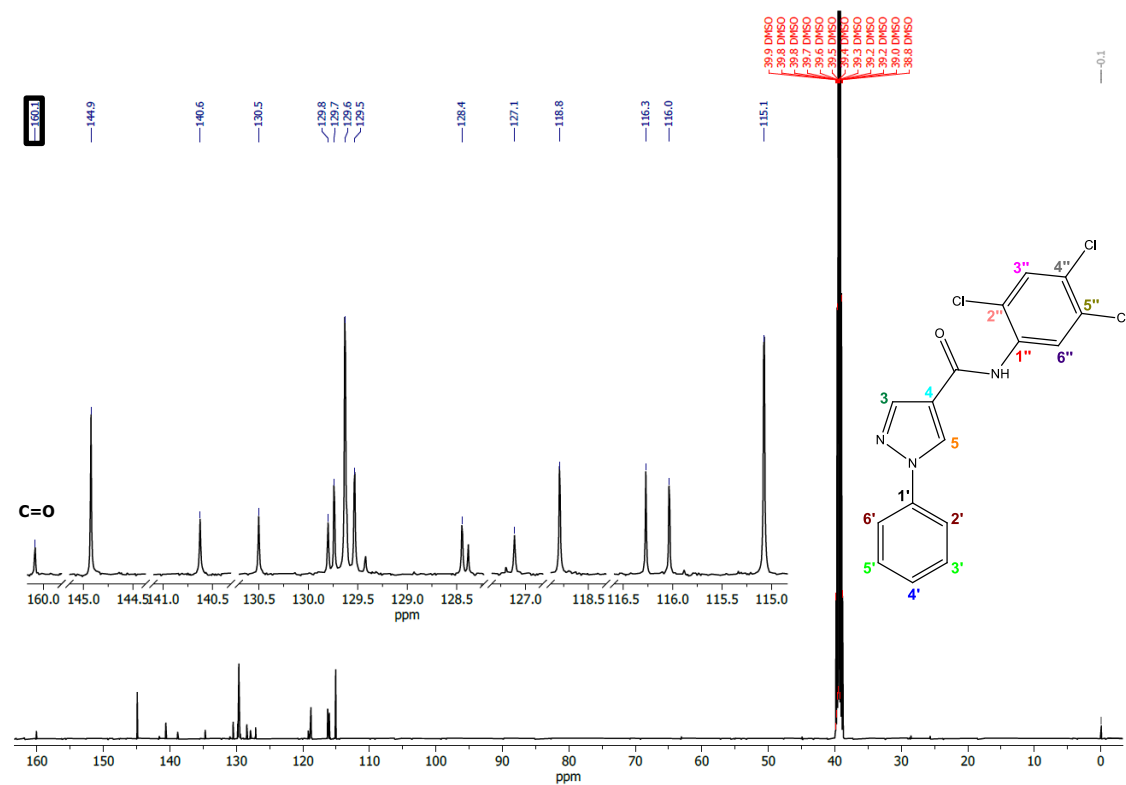
Espectro 69. Espectro de RMN de ^{13}C de 1i (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 70. Espectro de RMN de ^{13}C de 1j (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

Espectro 71. Espectro de RMN de ^{13}C de 1k (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 72. Espectro de RMN de ^{13}C de 1l (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

Espectro 73. Espectro de RMN de ^{13}C de 1m (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO-}d_6$).Espectro 74. Espectro de RMN de ^{13}C de 1n (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO-}d_6$).

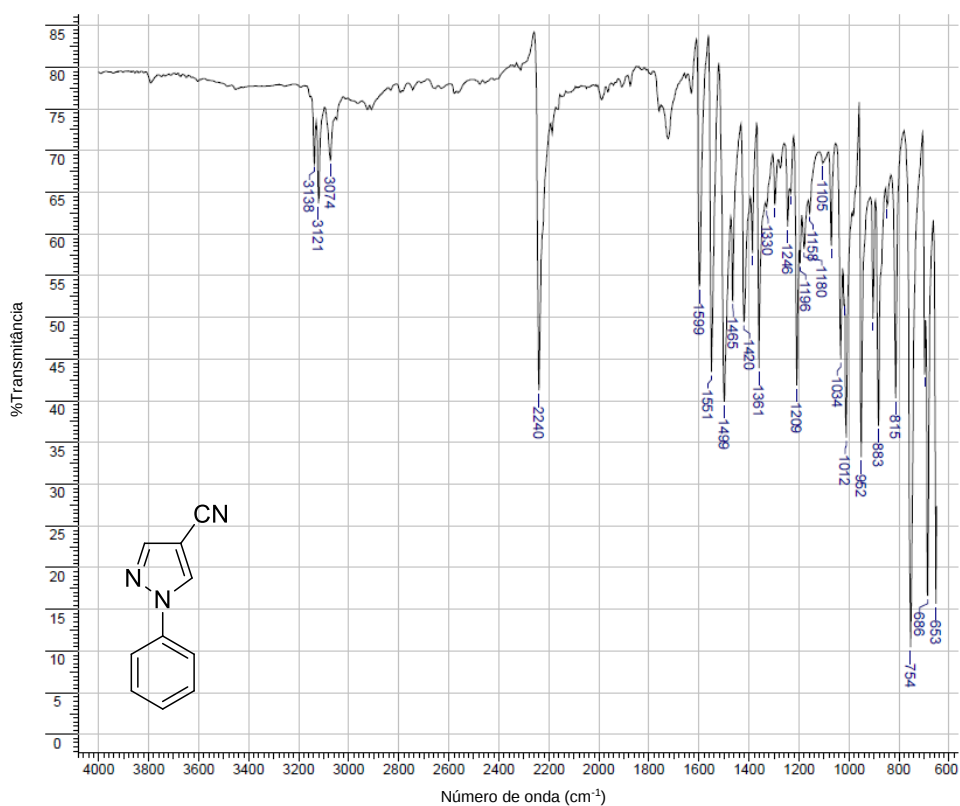
Espectro 75. Espectro de RMN de ^{13}C de 1o (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 76. Espectro de RMN de ^{13}C de 1p (100 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

Espectro 77. Espectro de RMN de ^{13}C de 1q (100 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 78. Espectro de RMN de ^{13}C de 1r (100 MHz, δ em ppm, J em Hz, $\text{DMSO}-d_6$).

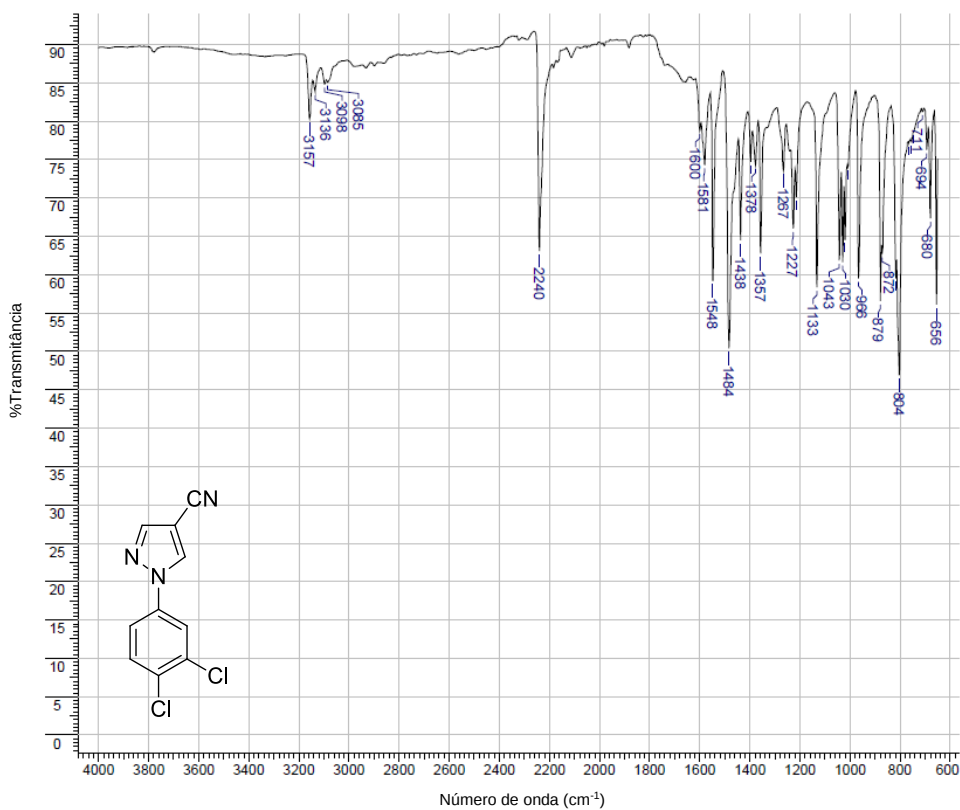
Espectro 79. Espectro de RMN de ^{13}C de 1s (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).Espectro 80. Espectro de RMN de ^{13}C de 1t (100 MHz, δ em ppm, $\text{DMSO}-d_6$).

Anexo D - Espectros de FT-IR dos intermediários 8a, 8e, 8f e 8i

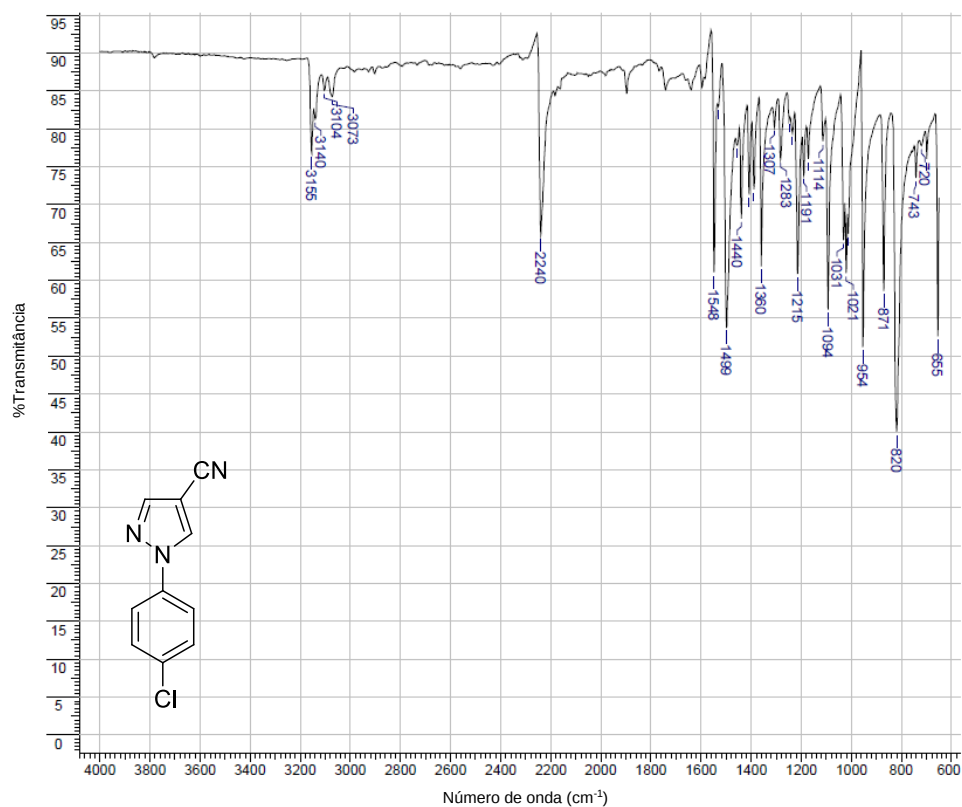
Espectro 81. Espectro de FT-IR de 8a.



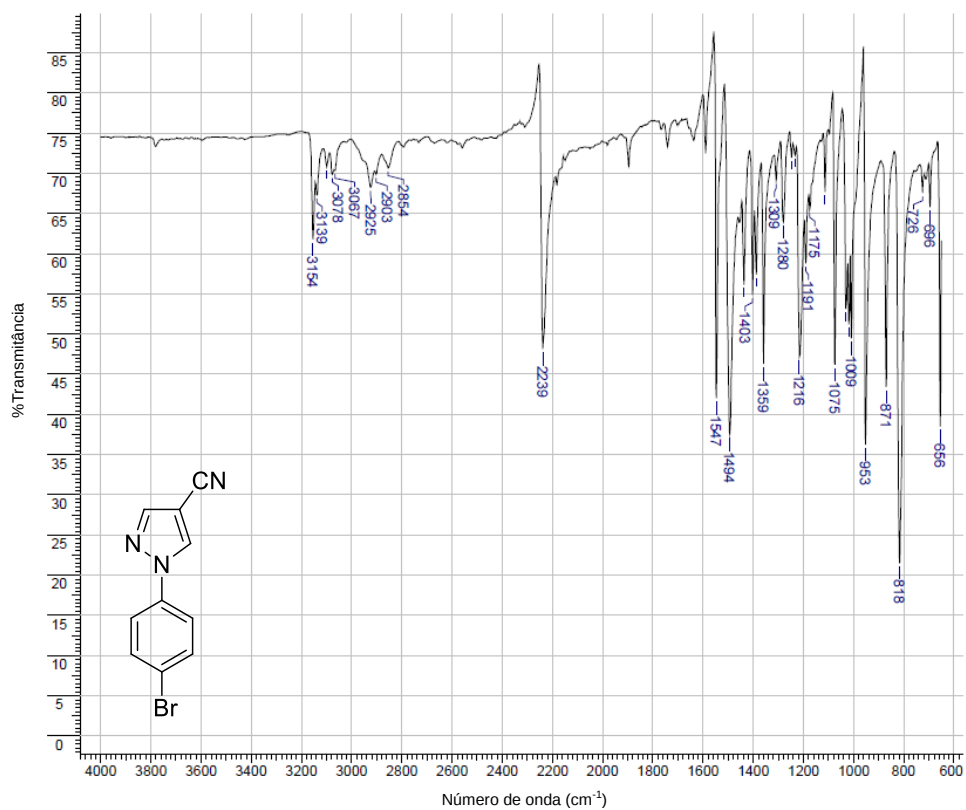
Espectro 82. Espectro de FT-IR de 8e.



Espectro 83. Espectro de FT-IR de 8f.

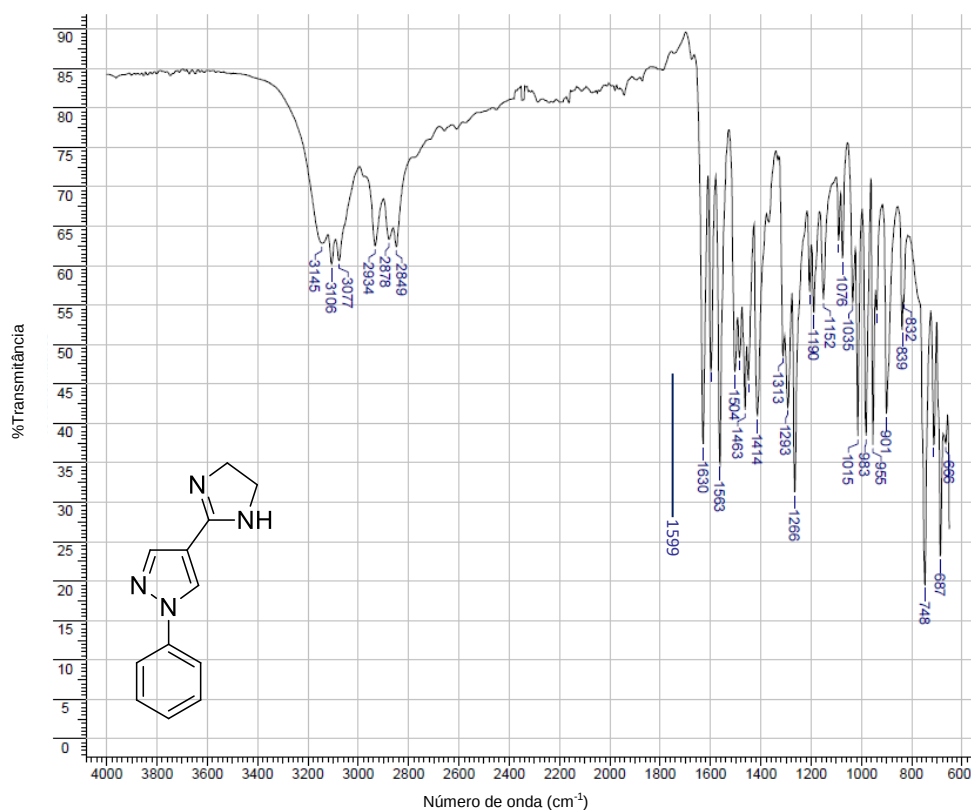


Espectro 84. Espectro de FT-IR de 8i.

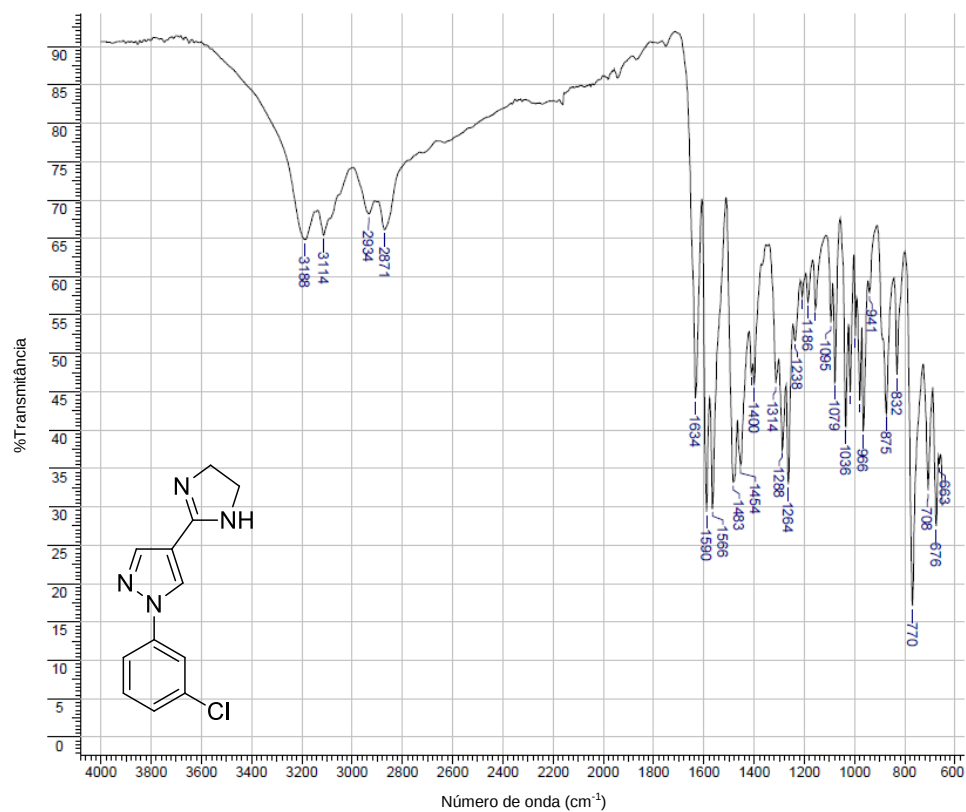


Anexo E - Espectros de FT-IR dos intermediários 7(a, b, e-k)

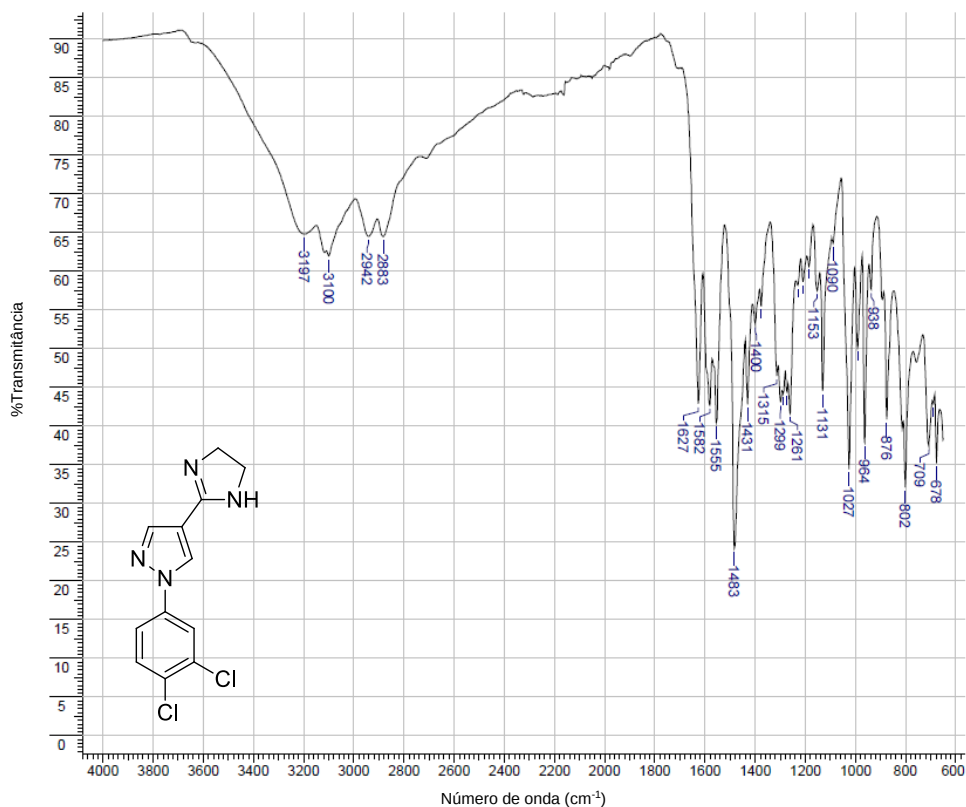
Espectro 85. Espectro de FT-IR de 7a.



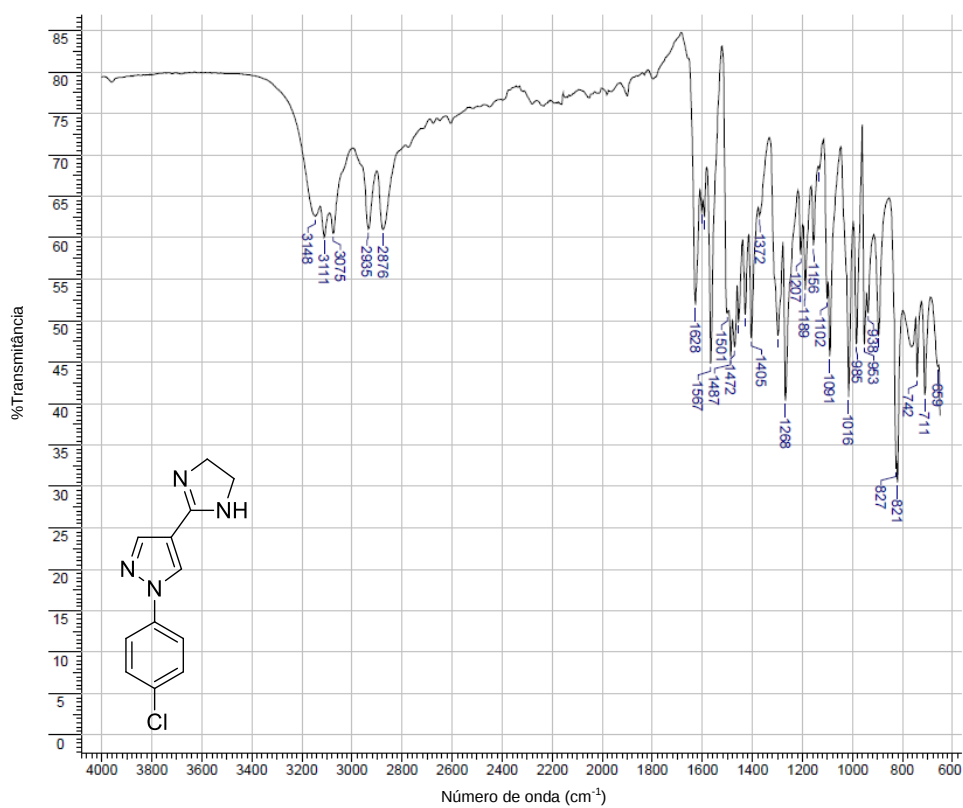
Espectro 86. Espectro de FT-IR de 7b.



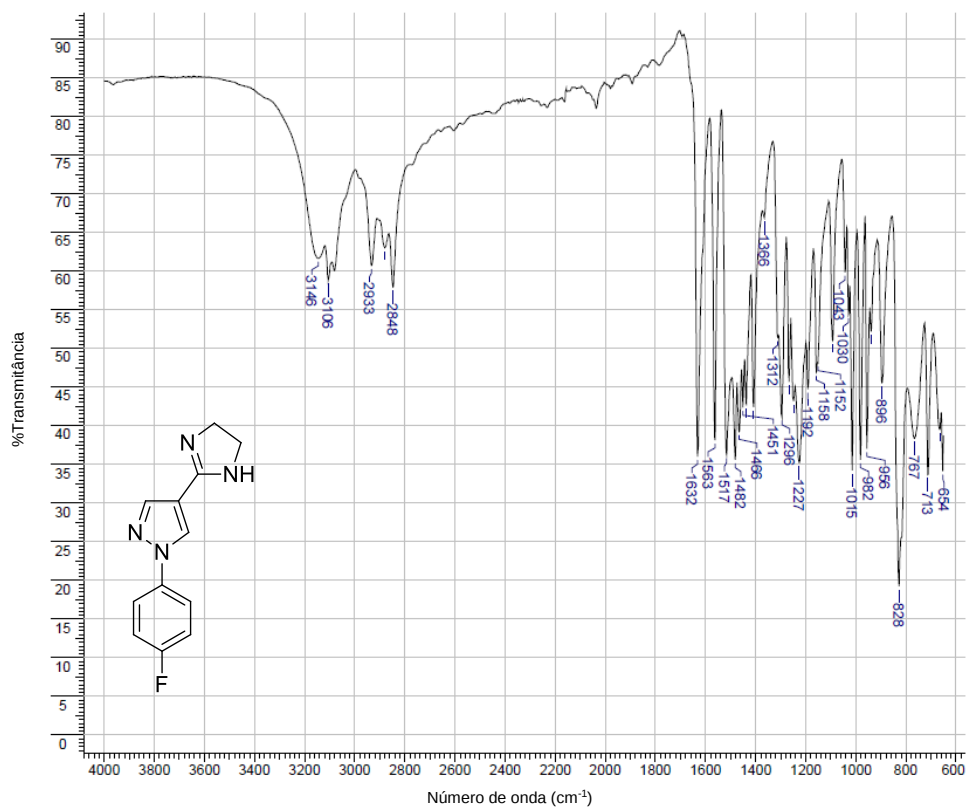
Espectro 87. Espectro de FT-IR de 7e.



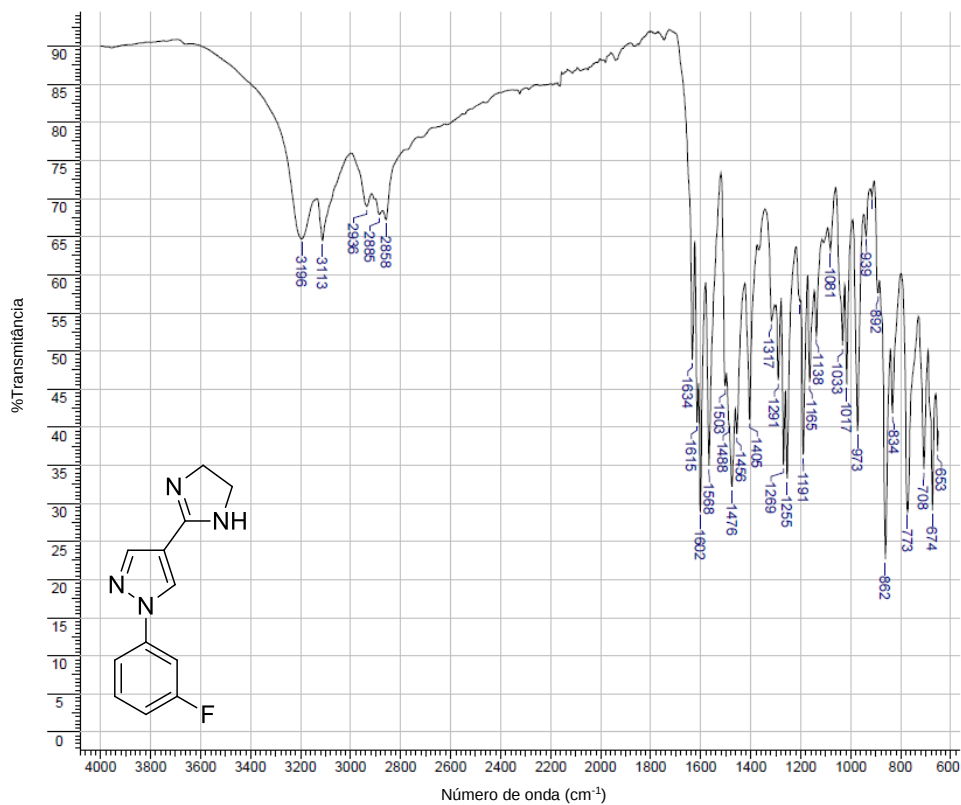
Espectro 88. Espectro de FT-IR de 7f.



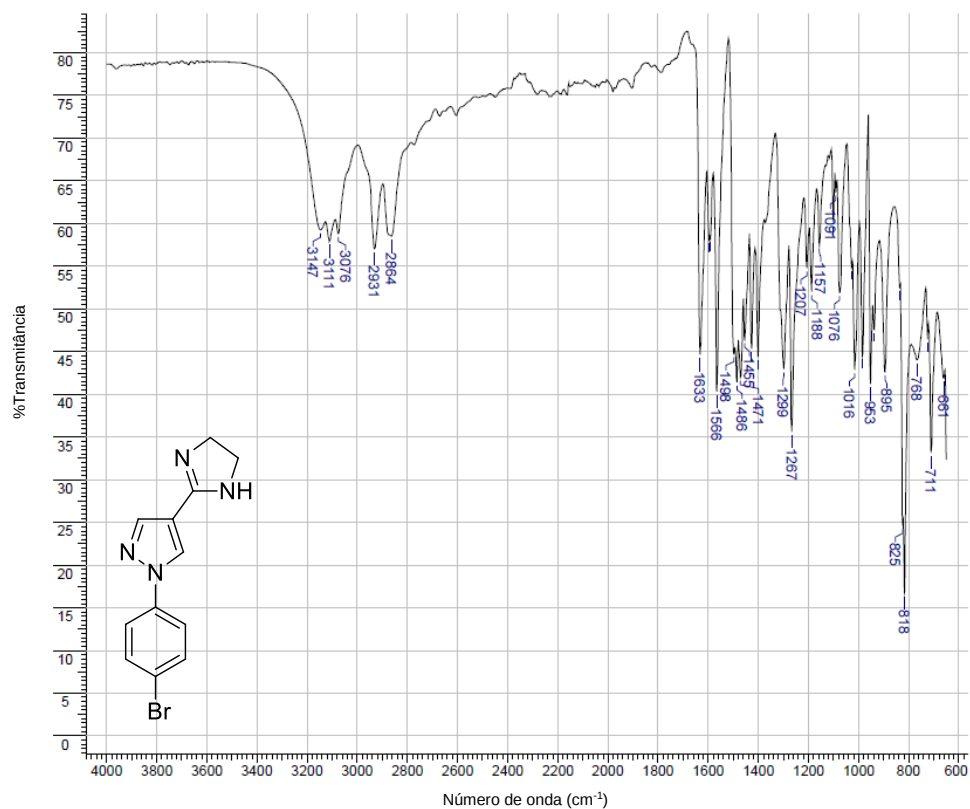
Espectro 89. Espectro de FT-IR de 7g.



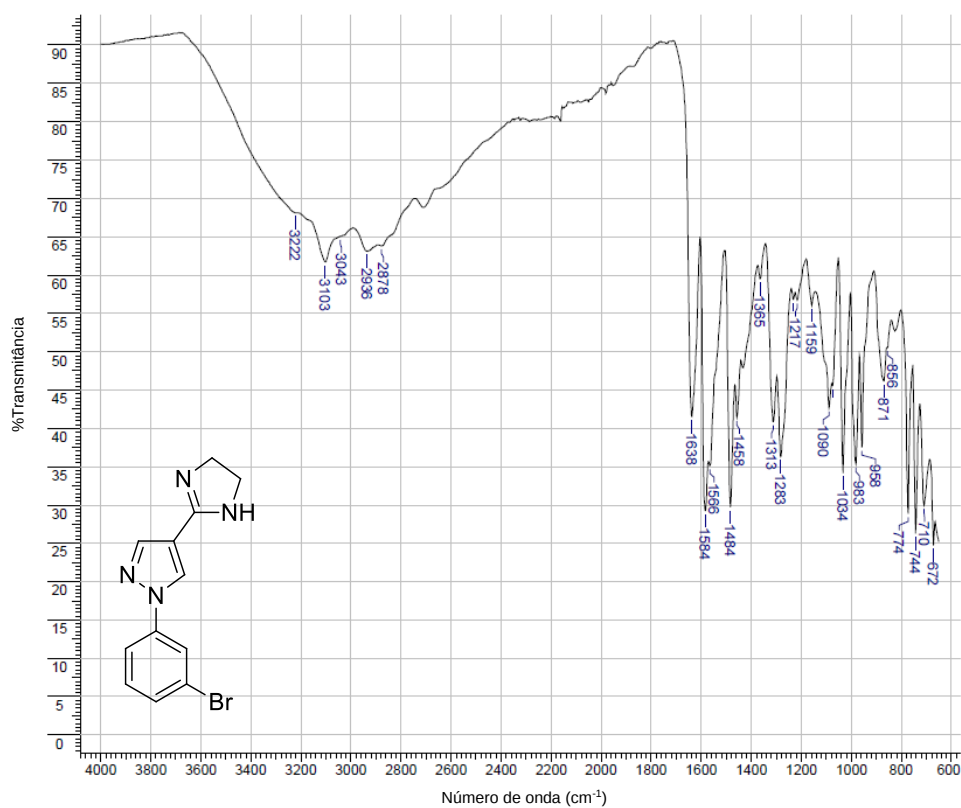
Espectro 90. Espectro de FT-IR de 7h.



Espectro 91. Espectro de FT-IR de 7i.



Espectro 92. Espectro de FT-IR de 7j.



Espectro 93. Espectro de FT-IR de 7k.

