



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ



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

BYANCA SILVA FERREIRA

**SÍNTESE DE SISTEMAS HÍBRIDOS PIRAZOL-
TETRAZÓLICOS, PIRAZOL-TIAZOLÍNICOS E PIRAZOL-
CARBOXAMÍDICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

Itajubá
Fevereiro, 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ



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

BYANCA SILVA FERREIRA

**SÍNTESE DE SISTEMAS HÍBRIDOS PIRAZOL-
TETRAZÓLICOS, PIRAZOL-TIAZOLÍNICOS E PIRAZOL-
CARBOXAMÍDICOS COM POTENCIAL ATIVIDADE
BIOLÓGICA**

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

Orientador: Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos

Itajubá
Fevereiro, 2020

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e todas as bênçãos recebidas.

Aos meus pais Zélia e Valdivino, que me guiaram com tanta sabedoria, paciência, carinho e amor para ser quem sou hoje e pelo apoio incondicional para que eu realize meus sonhos.

Aos meus irmãos e sobrinhos pela compreensão em todas as vezes que precisei me ausentar e por serem refúgio quando tudo pareceu difícil demais.

Ao meu namorado Pedro, por todo o carinho e pela paciência para me ouvir contar cada detalhe desse trabalho, mesmo quando não conseguia entender o que eu estava falando, por comemorar cada pequeno avanço, acolher todas as angústias que surgiram pelo caminho e me incentivar a continuar quando desistir parecia mais fácil.

Aos meus amigos, que se tornaram minha família em Itajubá, com os quais posso contar a qualquer hora e tornam a caminhada mais leve.

Ao meu orientador prof. Dr. Maurício Silva dos Santos, por acreditar no meu trabalho e pela liberdade para que fizesse meu melhor. Sua disponibilidade para orientar, aconselhar e guiar foi fundamental para o desenvolvimento desse trabalho, principalmente nos momentos em que deixei de acreditar em minha capacidade.

Aos colegas do LABSINTO, em especial à Rafaela Corrêa, que acompanhou de perto cada etapa deste trabalho e compartilhou das alegrias e angústias do caminho percorrido durante esses dois anos, e ao Bernardo Souto sempre disposto a auxiliar e incentivar a continuação do trabalho, vocês foram essenciais para o dia a dia no laboratório.

Ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais e a Universidade Federal de Itajubá, pela oportunidade de formação.

Às agências de fomento FAPEMIG e CAPES, a primeira pelo financiamento dos equipamentos do laboratório e pelos bens de consumo, a segunda pela bolsa.

À FIOCRUZ-RJ, em particular à Rede de Plataformas Analíticas (PMA), pelas análises de RMN, HRMS e CG-EM e à Dr^a. Mirian Claudia de Souza Pereira e seu grupo de pesquisa, do Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) pelos testes de atividade tripanocida e de citotoxicidade e também pelas análises das propriedades físico-químicas de alguns compostos.

Ao prof. Dr. Fábio Aguiar Alves e seu grupo de pesquisa, do Laboratório de Epidemiologia Molecular e Biotecnologia (LEMB) e à Universidade Federal Fluminense, pelos testes de atividade antibacteriana.

Aos membros da banca avaliadora, Prof^a. Dr^a. Amanda Danuello Pivatto e Prof. Dr. Eder do Couto Tavares, pela disponibilidade para avaliar este trabalho.

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma Doença Tropical Negligenciada endêmica da América Latina, que atinge mais de 6 milhões de pessoas em todo o mundo e causa em torno de 14 mil mortes anualmente. Causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, a quimioterapia da DC consiste em apenas dois fármacos: benznidazol e nifurtimox, que apresentam diversos efeitos colaterais e não são eficientes na fase crônica, mostrando a relevância do desenvolvimento de novos fármacos que apresentem menos efeitos colaterais e que sejam mais ativos. Além da DC, doenças causadas por bactérias têm sido destacadas devido ao grande número de morte em todo o mundo. Dados indicam que infecções por bactérias resistentes são responsáveis por cerca de 700 mil mortes/ano, com previsão que esse número atinja 10 milhões/ano em 2050. Portanto, é de grande importância o desenvolvimento de novas classes de antibacterianos que sejam capazes de combater as espécies resistentes. Diante desse quadro, um dos objetivos deste trabalho foi sintetizar doze derivados 5-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-*1H*-tetrazóis **1(a-l)**, planejados devido à importância biológica dos heterociclos pirazol e tetrazol, para serem avaliados quanto à atividade antibacteriana frente à *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Tendo em vista os resultados promissores de atividade antiprotozoária, inclusive tripanocida, obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, este trabalho também teve como objetivo sintetizar doze derivados inéditos 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-dihidrotiazóis **2(a-l)** e doze derivados 5-amino-1-*aril-1H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)**, sendo os derivados **3(h-k)** inéditos, para avaliação quanto à atividade tripanocida. Os intermediários-chave 5-amino-1-*aril-1H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)** e 1-*aril-1H*-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)** foram obtidos com rendimentos de 69 a 98% e 80 a 98%, respectivamente. Os produtos finais **1(a-l)** foram obtidos com rendimentos de 10 a 78% e os resultados obtidos até o momento, para **1b**, **1c**, **1e**, **1g** e **1j**, frente à *S. aureus* indicam baixa atividade contra tal espécie. Os derivados **2(a-l)** foram obtidos com 71 a 91% de rendimento, enquanto **3(a-l)** foram obtidos com rendimentos de 26 a 84%. Os derivados **3(a-l)** foram avaliados contra a forma tripomastigota do protozoário *T. cruzi* e os resultados de IC₅₀ foram maiores que 100 µM. Com relação à citotoxicidade, todos os valores de CC₅₀ foram maiores que 500 µM. Os produtos **2(a-l)** foram transformados em cloridratos devido à baixa solubilidade no meio utilizado na avaliação da atividade biológica e os testes de atividade tripanocida estão em andamento.

Palavras-chave: Doença de Chagas. Antibacteriano. Pirazol. Tetrazol. Tiazolina. Carboxamidas.

ABSTRACT

Chagas' disease (CD) is a Neglected Tropical Disease that is endemic in Latin America and affects more than 6 million people worldwide, causing about 14 thousand deaths each year. This disease is caused by the protozoa *Trypanosoma cruzi* and only two drugs are available to treat CD: benznidazole and nifurtimox, which both have several side effects and inefficiency in the chronic phase, showing the relevance of developing safer and more potent drugs. Besides CD, diseases caused by bacteria have been highlighted since there are responsible for many deaths around the world. Infections by resistant bacteria cause almost 700 thousand deaths/year and will reach 10 million deaths/year by 2050. Therefore, the development of new substances against resistant strains is extremely important. In this context, the first objective of this work was to synthesize twelve 5-(1-aryl-1*H*-pyrazole-4-yl)-1*H*-tetrazoles **1(a-l)**, planned due to biological importance of pyrazole and tetrazole rings to evaluate them against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Since good results of protozoal activity have been obtained by our research group, including trypanocidal activity, the second objective was to synthesize new twelve 2-(1-aryl-1*H*-pyrazole-4-yl)-4,5-dihydrothiazoles **2(a-l)** and twelve 5-amino-1-aryl-1*H*-pyrazole-4-carboxamides **3(a-l)**, being **3(h-k)** published for the first time. All of compounds **2(a-l)** and **3(a-l)** are being evaluated for their trypanocidal activity. The key-intermediates 5-amino-1-aryl-1*H*-pyrazole-4-carbonitriles **4(a-l)** and 1-aryl-1*H*-pyrazole-4-carbonitriles **5(a-l)** were obtained in 69-98% and 80-98% yields, respectively. The final products **1(a-l)** were synthesized in 10-78% yields and preliminary results, for **1b**, **1c**, **1e**, **1g** and **1j**, showed poor activity against *S. aureus*. The desired products **2(a-l)** were isolated in 71-91% while **3(a-l)** were obtained in 26-84% yields. The compounds **3(a-l)** were evaluate against trypomastigotes of *T. cruzi* and the IC₅₀ results were more than 100 μM. Regarding the cytotoxicity, were found CC₅₀ > 500 μM for all products. The corresponding hydrochlorides of **2(a-l)** were obtained due to low solubility during the biologic tests and the trypanocidal activity has been investigated.

Keywords: Chagas' disease. Antibacterial. Pyrazole. Tetrazole. Thiazoline. Carboxamides.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica das DTNs.	1
Figura 2. Algumas espécies de barbeiros que ocorrem no Brasil.	2
Figura 3. Distribuição geográfica da Doença de Chagas.	3
Figura 4. Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i>	5
Figura 5. Estruturas dos fármacos utilizados no tratamento da DC: benznidazol e nifurtimox.	5
Figura 6. Estruturas dos fármacos posaconazol, ravuconazol e pró-ravuconazol E1224.	6
Figura 7. Estrutura do fexinidazol.	7
Figura 8. Estrutura geral simplificada da célula bacteriana.	7
Figura 9. Morfologia de algumas bactérias patogênicas.	9
Figura 10. Micrografia de bactérias coradas pelo método de Gram.	10
Figura 11. Estruturas dos antibióticos salvarsan e penicilina G.	10
Figura 12. Estruturas de alguns derivados penicilínicos; em destaque a estrutura geral.	12
Figura 13. Estruturas de alguns derivados das cefalosporinas; em destaque a estrutura geral.	13
Figura 14. Estruturas de derivados β -lactâmicos não penicilínicos e não cefalosporínicos.	14
Figura 15. Estruturas do ácido nalidíxico e de algumas quinolonas.	15
Figura 16. Estruturas de derivados sulfonamídicos e do trimetoprim.	16
Figura 17. Estruturas dos fármacos vancomicina, daptomicina, azitromicina, linezolida e tedizolida.	17
Figura 18. Previsão das mortes causadas por infecções por bactérias resistentes, em 2050.	18
Figura 19. Fármacos que contêm heterociclos em suas estruturas.	20
Figura 20. Estrutura do pirazol.	21
Figura 21. Estrutura do pirazol apresentando os elétrons que participam das ligações π e o par de elétrons não-ligante do nitrogênio “piridínico”.	21
Figura 22. Estruturas de ressonância do pirazol.	22
Figura 23. Estruturas tautoméricas do pirazol (a) pirazol 3(5)-substituído; (b) pirazol 4-substituído.	22
Figura 24. Estrutura da β -(1-pirazolil)alanina.	25
Figura 25. Estruturas do rimonabant e do sildenafil.	26
Figura 26. Estruturas do celecoxib, da antipirina e da dipirona.	26
Figura 27. Estratégia de modificação molecular para obtenção dos derivados 1-aril-4-(4,5-dihidro-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)-1 <i>H</i> -pirazóis.	27
Figura 28. Estrutura geral dos derivados avaliados como tripanocida.	27

Figura 29. Estruturas dos derivados com melhor atividade tripanocida.	28
Figura 30. Estruturas dos isômeros di-hidrotiazóis.	29
Figura 31. Estruturas do tiazol, 2-tiazolina e tiazolidina.	29
Figura 32. Estruturas de ressonância do 4,5-di-hidrotiazol.	29
Figura 33. Estrutura da bacitracina A.	31
Figura 34. Estruturas da curacina A e do largazol.	32
Figura 35. Estrutura do tetrazol.	32
Figura 36. Estruturas de ressonância do tetrazol.	33
Figura 37. Estruturas dos fármacos losatan e valsartan.	36
Figura 38. Estruturas dos derivados cefalosporínicos ceforanida e cefamandol.	36
Figura 39. Estruturas do alfentanil e do pemirolast.	36
Figura 40. Estruturas dos derivados 1(a-I) , 2(a-I) e 3(a-I)	37
Figura 41. Estruturas dos intermediários-chave 4(a-I) e 5(a-I)	38
Figura 42. Estratégia para obtenção dos derivados 2(a-I)	39
Figura 43. Estratégia para obtenção dos derivados 3(a-I)	40
Figura 44. Estrutura dos híbridos pirazol-tetrazol planejados 1(a-I)	41
Figura 45. Análise retrossintética dos derivados propostos.	42
Figura 46. Estruturas dos derivados 5-amino-1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-carbonitrilas 4(a-I)	51
Figura 47. Estruturas dos derivados 1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-carbonitrilas 5(a-I)	54
Figura 48. Cromatograma e espectro de massas obtidos para o derivado 5I	58
Figura 49. Estruturas dos derivados 5-(1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-1 <i>H</i> -tetrazóis 1(a-I)	59
Figura 50. Estrutura-base dos derivados 1(a-I) com os átomos de hidrogênio numerados.	62
Figura 51. Estrutura-base dos derivados 1(a-I) com os átomos de carbono numerados.	65
Figura 52. Estruturas dos derivados 2-(1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis 2(a-I)	67
Figura 53. Estrutura-base dos derivados 2(a-I) com os átomos de hidrogênio numerados.	71
Figura 54. Estrutura-base dos derivados 2(a-I) com os átomos de carbono numerados.	73
Figura 55. Estabilização da carga positiva gerada pela protonação.	77
Figura 56. Possíveis estruturas dos derivados 2(a-I).HCl	78
Figura 57. Estruturas dos derivados 5-amino-1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamidas 3(a-I)	79
Figura 58. Estrutura-base dos derivados 3(a-I) , com os átomos de hidrogênio numerados.	82
Figura 59. Estruturas de ressonância no grupo amida dos derivados 5-amino-1-aryl-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamidas 3(a-I)	83
Figura 60. Estrutura-base dos derivados 3(a-I) com os átomos de carbono numerados.	85

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Representação geral da síntese de Knorr.	23
Esquema 2. Rota sintética para obtenção do celecoxib.	23
Esquema 3. Reação de obtenção de 1-substituído-5-amino-4-cianopirazóis.	24
Esquema 4. Reação de obtenção do pirazol desenvolvida por Pechmann.	24
Esquema 5. Reação de obtenção de derivados pirazólicos 3,5-substituídos.....	25
Esquema 6. Reação de obtenção de derivados 2-ariltiazolinas.....	30
Esquema 7. Obtenção de derivados tiazolínicos a partir de aminoálcoois.	30
Esquema 8. Rota sintética para obtenção de derivados <i>N,N</i> -dissubstituídos-2-aminotiazolinas.	31
Esquema 9. Reação de formação do primeiro tetrazol reportado na literatura.	33
Esquema 10. Síntese dos derivados 5-(1-aril-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-1 <i>H</i> -tetrazóis.....	34
Esquema 11. Rota sintética para obtenção dos derivados 1,5-diariltetrazóis.	35
Esquema 12. Reação de obtenção de derivados tetrazólicos a partir de isonitrila.....	35
Esquema 13. Síntese dos derivados 5-amino-1-aril-1 <i>H</i> -pirazol-4-carbonitrilas 4(a-l)	43
Esquema 14. Síntese dos derivados 1-aril-1 <i>H</i> -pirazol-4-carbonitrilas 5(a-l)	44
Esquema 15. Síntese do nitrito de <i>t</i> -butila.....	44
Esquema 16. Síntese dos derivados 2-(1-aril-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis 2(a-l)	46
Esquema 17. Síntese dos derivados 5-amino-1-aril-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxamidas 1(a-l)	47
Esquema 18. Mecanismo para a obtenção dos derivados 4(a-l)	52
Esquema 19. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados 5(a-l)	55
Esquema 20. Mecanismo da reação de obtenção dos derivados 1(a-l)	60
Esquema 21. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados 2(a-l)	68
Esquema 22. Mecanismo para obtenção dos derivados 3(a-l)	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados 4(a,c-i)	53
Tabela 2. Principais absorções na região do Infravermelho para os derivados 4(a,c-i)	53
Tabela 3. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados 5(a-j,l)	56
Tabela 4. Principais absorções na região do Infravermelho para os derivados 5(a-j,l)	57
Tabela 5. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados 1(a-l)	60
Tabela 6. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados 1(a-l)	61
Tabela 7. Resultados de espectrometria de massas de alta resolução para os derivados 1(a-l)	62
Tabela 8. Dados de RMN- ¹ H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) obtidos para os derivados 1(a-l)	63
Tabela 9. Dados de RMN- ¹³ C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) obtidos para os derivados 1(a-l)	66
Tabela 10. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados 2(a-l)	69
Tabela 11. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados 2(a-l)	69
Tabela 12. Resultados da espectrometria de massas para os derivados 2(a-l)	70
Tabela 13. Dados de RMN- ¹ H (400 MHz ou 500 MHz, CDCl ₃ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) para os derivados 2(a-l)	72
Tabela 14. Dados de RMN- ¹³ C (100 MHz ou 125 MHz, CDCl ₃ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) para os derivados 2(a-l)	74
Tabela 15. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados 2(a-l).HCl	75
Tabela 16. Dados de RMN- ¹ H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) para os derivados 2(a-l).HCl	76
Tabela 17. Dados de RMN- ¹³ C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ , δ ppm, <i>J</i> Hz) para os derivados 2(a-l).HCl	78
Tabela 18. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados 3(a-l)	80
Tabela 19. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados 3(a-l)	81
Tabela 20. Resultados da espectrometria de massas de alta resolução para os derivados 3(a-l)	82
Tabela 21. Dados de RMN- ¹ H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ ou CDCl ₃ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) para os derivados 3(a-l)	84
Tabela 22. Dados de RMN- ¹³ C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆ ou CDCl ₃ , δ em ppm, <i>J</i> em Hz) para os derivados 3(a-l)	86
Tabela 23. Parâmetros físico-químicos <i>in silico</i> dos derivados pirazol-carboxamidas 3(a-l) .88	

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AET	2-aminoetanotiol
AGF	Adição de grupo funcional
ATR	Reflexão Total Atenuada, do inglês <i>Attenuated Total Reflectance</i>
BENDITA	Novas dosagens de benznidazol, tratamento aprimorado e associações terapêuticas, do inglês <i>BEznidazole New Doses Improved Treatment Associations</i>
BHI	Infusão cérebro coração, do inglês <i>Brain Heart Infusion</i>
BZ	Benznidazol
CB1	Receptor canabinoide 1
CC ₅₀	50% da concentração citotóxica
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CD	<i>Chagas disease</i>
CDI	1,1'-carbonildi-imidazol
CG-EM	Cromatografia a gás acoplada à Espectrometria de Massas
CMB	Concentração Mínima Bactericida
CMI	Concentração Mínima Inibitória
COXs	Ciclo-oxigenases
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio, do inglês <i>Cetiltrimethylammonium Bromide</i>
d	Dupleto
DC	Doença de Chagas
dd	Dupleto de dupletos
ddd	Dupleto de dupletos de dupletos
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DND _i	Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas, do inglês <i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>

DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
EDTA	Ácido etilenodiaminotetra-acético, do inglês <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por eletrospray, do inglês <i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i>
FDA	Agência regulatória de alimentos e medicamentos, do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FT-IR	Infravermelho com Transformada de Fourier, do inglês <i>Fourier Transformed Infrared</i>
GABA	Ácido gama-aminobutírico, do inglês <i>Gama-Aminobutyric Acid</i>
GP	Grau de pureza
HBA	Aceptores de hidrogênio, do inglês <i>Hydrogen Bond Acceptor</i>
HBD	Doadores de hidrogênio, do inglês <i>Hydrogen Bond Donator</i>
HDAC	Histona deacetilase, do inglês <i>Histone Deacetylase</i>
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade, do inglês <i>High Density Lipoprotein</i>
HRMS	Espectrometria de Massas de Alta Resolução, do inglês <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
IC ₅₀	50% da concentração inibitória máxima
IGF	Interconversão de grupo funcional
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i>
logD	logP em pH fisiológico
logP	Logaritmo do coeficiente de partição <i>n</i> -octanol/água
logSw	Logaritmo da solubilidade em água dos compostos
<i>m</i>	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
MSRA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina, do inglês <i>Methicilin-resistant Staphylococcus aureus</i>
NFX	Nifurtimox
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>P.</i>	<i>Pseudomonas</i>

Q-TOF	Quadrupolo tempo de voo, do inglês <i>Quadruple-Time of flight</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN- ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RMN- ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio 1
RNAr	Ácido ribonucleico ribossômico, do inglês <i>ribosomal Ribonucleic Acid</i>
s	Simpleto
S.	<i>Staphylococcus</i>
SAR	Relação estrutura-atividade, do inglês <i>Structure-Activity Relationship</i>
SEA	Substituição Eletrofílica Aromática
SI	Índice de seletividade, do inglês <i>Selectivity Index</i>
t	<i>tert</i>
t	Tripleto
T.	<i>Trypanosoma</i>
td	Tripleto de dupletos
THF	Tetra-hidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TSA	Agar triptona de soja, do inglês <i>Tryptic Soy Agar</i>
tPSA	Área de superfície polar topológica, do inglês <i>Topological Polar Surface Area</i>
UFC	Unidades formadoras de colônia
VRE	<i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina, do inglês <i>Vancomycin-resistance Enterococcus</i>
δ	Deslocamento químico
δ	Dobramento no plano
v	Estiramento
v _{as}	Estiramento assimétrico
v _s	Estiramento simétrico

SUMÁRIO

1	Introdução	1
1.1	Doenças Tropicais Negligenciadas	1
1.1.1	A doença de Chagas	2
1.2	Doenças de origem bacteriana	7
1.2.1	Classificação das bactérias	7
1.2.2	Quimioterapia	10
1.2.3	A resistência bacteriana	17
1.3	Heterociclos	19
1.3.1	Pirazol	21
1.3.2	Tiazolina	28
1.3.3	Tetrazol	32
2	Objetivos	37
2.1	Objetivos Gerais	37
2.2	Objetivos Específicos	38
3	Justificativas	39
3.1	Doença de Chagas	39
3.1.1	Planejamento dos derivados híbridos pirazol-tiazolinas 2(a-l)	39
3.1.2	Planejamento dos derivados híbridos pirazol-carboxamidas 3(a-l)	40
3.2	Doenças de origem bacteriana	40
3.2.1	Planejamento dos derivados híbridos pirazol-tetrazóis 1(a-l)	41
4	Metodologias	42
4.1	Análise retrossintética	42
4.2	Metodologias de síntese	43
4.2.1	Síntese dos derivados 5-(1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-il)-1 <i>H</i> -tetrazóis 1(a-l)	43
4.2.2	Síntese dos derivados 2-(1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis 2(a-l)	45
4.2.3	Síntese dos derivados 5-amino-1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-carboxamidas 3(a-l)	46
4.3	Caracterização das Substâncias e Elucidação Estrutural	47
4.3.1	Determinação das faixas de fusão	47
4.3.2	Espectroscopia na região do Infravermelho	47
4.3.3	Espectrometria de massas de alta resolução	47

4.3.4	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	47
4.3.5	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	48
4.4	Avaliação da Atividade Biológica.....	48
4.4.1	Atividade antibacteriana	48
4.4.2	Atividade tripanocida	49
4.4.3	Estudos <i>in silico</i>	50
5	Resultados e Discussão	51
5.1	Síntese e Caracterização das Substâncias	51
5.1.1	Síntese dos derivados 5-(1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-il)-1 <i>H</i> -tetrazóis 1(a-l)	51
5.1.2	Síntese dos derivados 2-(1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis 2(a-l)	67
5.1.3	Síntese dos derivados 5-amino-1- <i>aril-1H</i> -pirazol-4-carboxamidas 3(a-l)	79
5.2	Avaliação da Atividade Biológica.....	87
5.2.1	Atividade antibacteriana	87
5.2.2	Atividade tripanocida	87
5.2.3	Estudos <i>in silico</i>	87
6	Conclusão e Perspectivas	89
	Referências Bibliográficas.....	90

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) são doenças infecciosas predominantemente encontrada nos trópicos, que afetam, principalmente, pessoas que vivem em situação de pobreza, sem saneamento básico e em contato com vetores transmissores, em áreas rurais e semiurbanas (COHEN; STURGEON; COHEN, 2014; WHO, 2015). O termo “negligenciadas” está relacionado ao fato de o desenvolvimento de medicamentos para DTNs não atrair a atenção das indústrias farmacêuticas devido ao baixo retorno financeiro, quando comparado aos medicamentos utilizados no tratamento de outras doenças. Além disso, a falta de políticas públicas para melhoria do local onde ocorrem as DTNs, também é um agravante para que continuem sendo negligenciadas (AERTS *et al.*, 2017).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera 20 doenças como DTNs, dentre elas as leishmanioses, a dengue, a hanseníase e a doença de Chagas; estima-se que atinjam mais de um 1,6 bilhão de pessoas em 149 países (UCNTD, 2019). O mapa da Figura 1 apresenta a distribuição das DTNs pelo mundo, com destaque para maiores ocorrências em países em desenvolvimento. Como pode ser observado, na maioria dos países, há mais de um tipo de DTN registrada, com destaque para países como Índia, China, Mongólia, Zimbábue e Venezuela, que apresentam 5 DTNs, diversos países da África, como Angola, Congo, Costa do Marfim, Guiné e Senegal, que apresentam 6 DTNs, chegando a números exorbitantes, como por exemplo, no Brasil, na Nigéria, no Sudão e em outros países da África onde são registradas sete ou mais DTNs distintas.

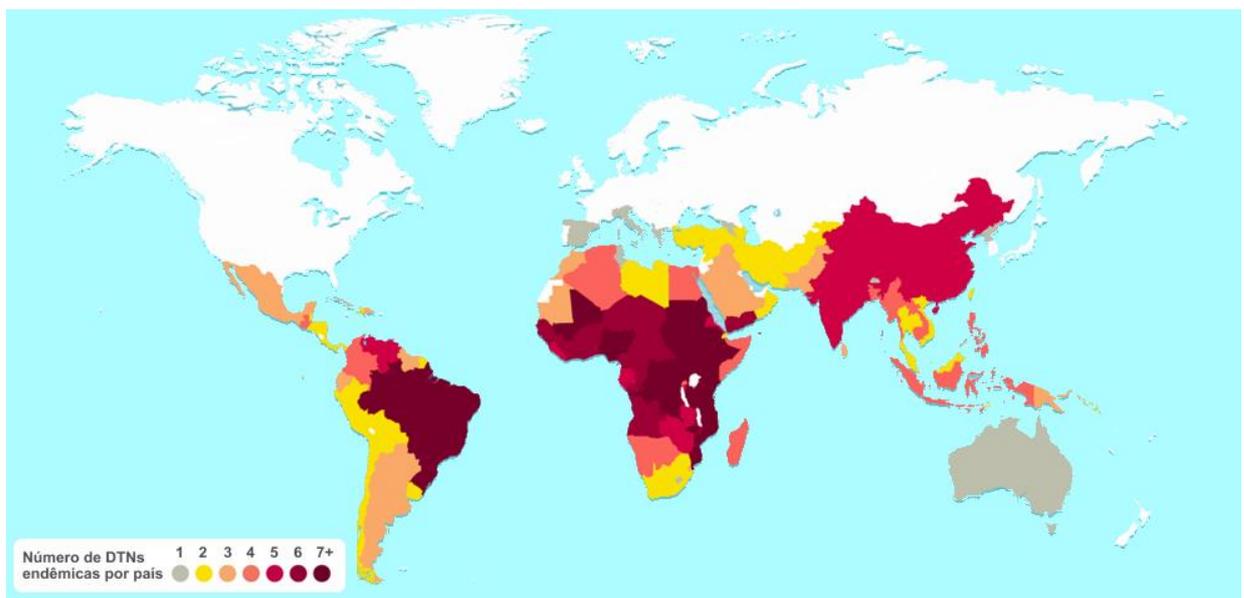


Figura 1. Distribuição geográfica das DTNs.

Adaptado de <https://unitingtocombatntds.org/resources/burden-map-neglected-tropical-diseases/> (Acesso em 07/12/2019).

1.1.1 A DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas (DC), uma das 20 DTNs destacadas pela OMS, foi descoberta em 1909 pelo médico brasileiro Carlos Chagas. Também conhecida por tripanossomíase americana, trata-se de uma doença infecciosa parasitária causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, transmitida por insetos triatomíneos popularmente conhecidos como “barbeiros” (Figura 2), principalmente dos gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius*. A transmissão também pode ocorrer pela ingestão de alimentos e bebidas contaminados, transfusão de sangue e/ou transplante de órgãos contaminados ou de forma congênita (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014; WHO, 2015).

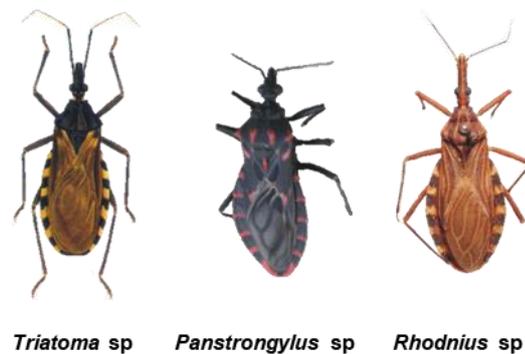


Figura 2. Algumas espécies de barbeiros que ocorrem no Brasil.
Adaptado de Jurberg *et al.*(2014).

A DC apresenta dois estágios de manifestações clínicas: (i) uma fase aguda, que dura entre 4 a 8 semanas, com sintomas que incluem febre, mal-estar, infecção no local da picada, edema em uma das pálpebras, entre outros, entretanto, a maior parte dos casos é assintomática; e (ii) uma fase crônica que pode ser indeterminada (assintomática) ou com o desenvolvimento de problemas cardíacos e/ou gastrointestinais, manifestados em 20 a 30% dos casos (BERN, 2015; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014).

1.1.1.1 Situação epidemiológica

A DC é um grave problema de saúde pública na América Latina uma vez que, segundo dados da DNDi (Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas, do inglês *Drugs for Neglected Diseases Initiative*), atinge cerca de 6 milhões de pessoas no mundo, principalmente na América Latina continental, causando em torno de 14 mil mortes anualmente. Estima-se ainda que cerca de 70 milhões de pessoas correm risco de serem infectadas (BERN, 2015; DNDI, 2018; WHO, 2015).

Com relação a sua distribuição geográfica, que pode ser observada na Figura 3, a DC é endêmica nos 21 países continentais da América Latina, onde são encontrados os insetos vetores. Todavia, casos autóctones estão sendo registrados em países da América do Norte, Europa, Oceania e Ásia, em pacientes de origem latino-americana que chegam a esses países sem ter consciência da infecção. Os dados mais recentes com relação ao número de casos, apresentados na Figura 3, disponíveis na literatura são de 2009 e mostram que, entre 2006 e 2009, países como Brasil, Argentina e México registraram mais de 1 milhão de novos casos da DC (BERN, 2015; PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016; WHO, 2015).



Figura 3. Distribuição geográfica da Doença de Chagas.

Adaptado de <https://www.dndi.org/diseases-projects/chagas/> e https://www.who.int/chagas/Global_distribution_Chagas_disease_2006_2010.pdf?ua=1 (Acesso em 09/12/2019).

No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, há entre 1,9 a 4,6 milhões de pessoas infectadas por *T. cruzi*. Apesar dos esforços para reduzir a transmissão vetorial, essa ainda é uma das principais formas de transmissão da DC no país, em conjunto com o surto de transmissão via oral. Entre 2012 e 2016, dos novos casos de DC aguda registrados, em 73% a transmissão ocorreu via oral, em 8,9% via vetorial, em 1% de forma congênita ou acidental e em 17,1% dos casos foram encerrados sem registros do meio de transmissão (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; SVS - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

É importante ressaltar que 95% dos casos reportados são na região Norte do país, onde há maior incidência de transmissão oral, com destaque para o grande número de novos casos registrados no estado do Pará (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; SVS - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Recentemente, um surto da DC foi registrado no estado de Pernambuco, considerado o maior registro da DC no estado, com a confirmação de 30 casos de infecção pelo protozoário *T. cruzi*, a partir do exame laboratorial, e outras 10 pessoas apresentaram os sintomas. Os quarenta pacientes iniciaram o tratamento com fármaco benznidazol (DIÁRIO DE PERNAMBUCO, 2019).

Todas as pessoas infectadas participaram de um retiro religioso na cidade de Ibimirim, interior do estado, durante a semana Santa, em abril de 2019 e o primeiro caso foi notificado no dia 20 de maio de 2019. Ao todo 77 pessoas participaram do evento e ainda não se sabe a origem da transmissão da doença. Contudo, a principal suspeita é que tenha ocorrido transmissão via oral (DIÁRIO DE PERNAMBUCO, 2019; G1 PE, 2019a, 2019b; SOUZA, 2019).

1.1.1.2 *Ciclo de vida*

O ciclo de vida do *T. cruzi* é complexo e passa por vários estados de desenvolvimento (Figura 4). (1) O vetor é infectado ingerindo sangue contaminado de um hospedeiro vertebrado, (2) as células tripomastigotas ingeridas passam a epimastigota no sistema digestivo do inseto e (3) se multiplicam por cissiparidade (divisão binária), (4) passando a tripomastigotas metacíclicas no fim do intestino do inseto, sendo expelidas junto com as fezes. (5) A contaminação do novo hospedeiro vertebrado ocorre com o contato entre as fezes contaminadas e ferimentos na pele ou através das mucosas; uma vez na corrente sanguínea, (6) os protozoários na forma tripomastigotas entram em células próximas ao sítio de infecção e passam para a forma amastigota, que (7) se multiplicam por divisão binária e (8) diferenciam em amastigotas e tripomastigotas, sendo que as últimas voltam à corrente sanguínea e infectam órgãos e tecidos. O ciclo se completa com a ingestão do sangue contaminado pelo inseto (BERN, 2015; PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SILVA-JARDIM; THIEMANN; ANIBAL, 2014; WHO, 2015).

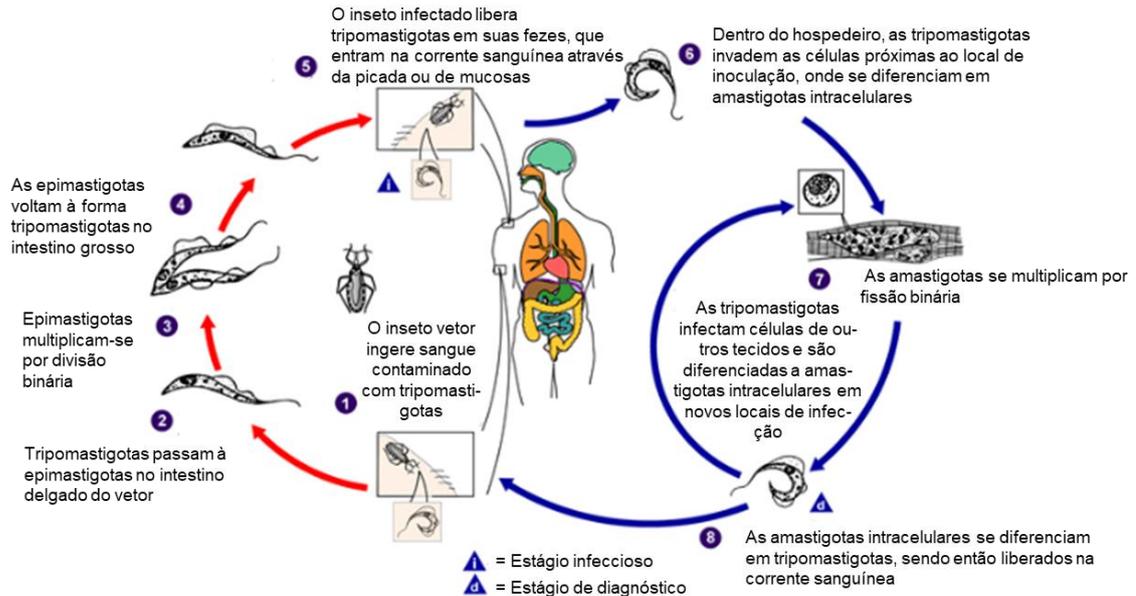


Figura 4. Ciclo de vida do *T. cruzi*.

Adaptado de <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html> (Acesso em 07/12/2019).

1.1.1.3 Quimioterapia

A quimioterapia da DC consiste em apenas dois fármacos (Figura 5): benznidazol (BZ), desenvolvido pela Roche sob a marca Rochagan[®] (EUA) na década de 1960, transferido para o LAFEPE (Brasil) e atualmente produzido também pelo ELEA (Argentina), que o comercializa sob a marca Abarax[®]; e nifurtimox (NFX), desenvolvido pela Bayer, sob a marca de Lampit[®] no início da década de 1970. As duas substâncias são eficientes na redução da parasitemia durante a fase aguda da doença, com taxa de sucesso de 65 a 80% (PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

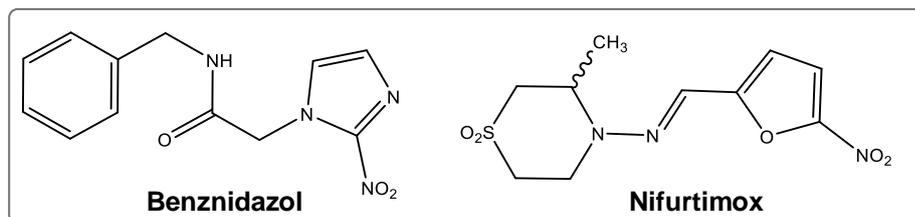


Figura 5. Estruturas dos fármacos utilizados no tratamento da DC: benznidazol e nifurtimox.

Contudo, tanto o BZ quanto o NFX não apresentam boa performance no combate ao *T. cruzi* durante a fase crônica e apresentam diversos efeitos colaterais, como por exemplo, o surgimento de problemas dermatológicos e gastrointestinais, perda de peso, anorexia, febre, entre outros, fazendo com que o tratamento seja descontinuado em 9 a 29% dos casos tratados com BZ e em 15 a 75% dos casos quando o tratamento é realizado com NFX (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). O BZ é utilizado como fármaco de primeira linha em muitos países devido à sua maior tolerabilidade e maior eficácia em relação ao NFX (BERN,

2015; PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

Nos últimos anos, muito tem se investido na busca de novos fármacos que possam ser utilizados no tratamento da DC, principalmente na fase crônica. Alguns antifúngicos azólicos como o posaconazol e o ravuconazol (Figura 6), sendo o ravuconazol disponibilizado na forma do pró-fármaco solúvel em água E1224 (Figura 6), tiveram sua atividade tripanocida avaliada e apresentaram bons resultados *in vitro*. No trabalho desenvolvido por Botero *et al.* (2017), o posaconazol apresentou $IC_{50} = 6,147 \pm 0,154 \mu M$ contra a forma epimastigota do protozoário e o ravuconazol, segundo os estudos de Urbina *et al.* (2003), apresentou $IC_{50} = 0,1 nM$ também contra a forma epimastigota. Entretanto, como monoterapias não foram mais eficazes do que o BZ no tratamento da infecção crônica, havendo reincidência parasitária após 12 meses do fim do tratamento (BERN, 2015; HOTEZ *et al.*, 2016; PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; SCARIM *et al.*, 2018).

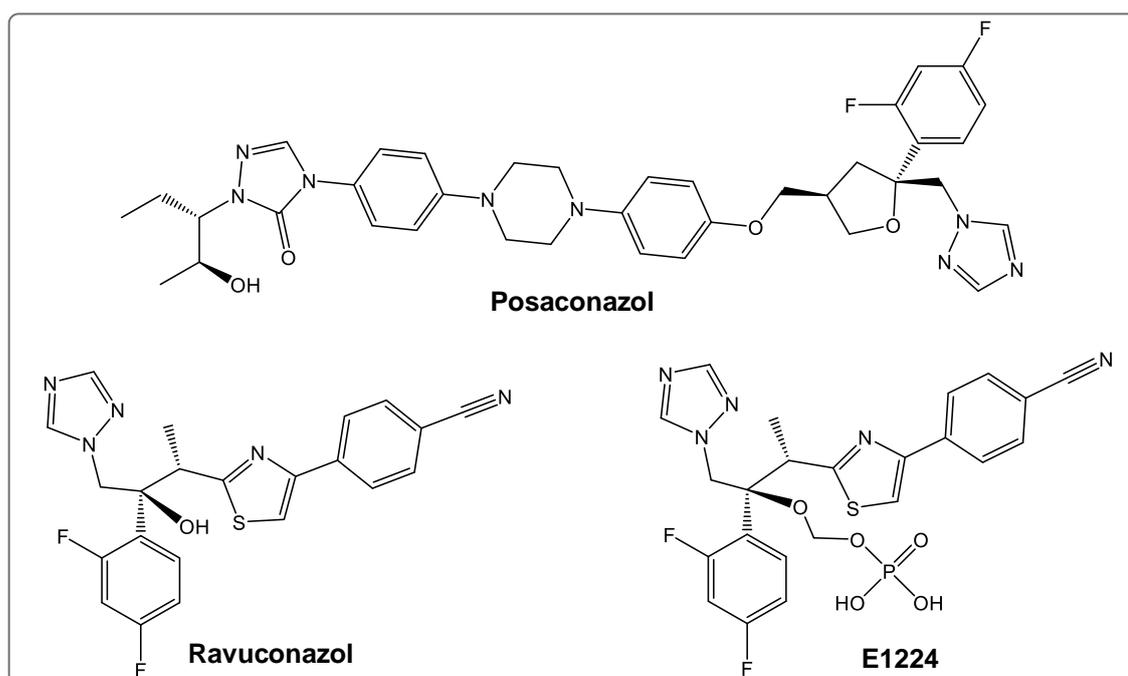


Figura 6. Estruturas dos fármacos posaconazol, ravuconazol e pró-ravuconazol E1224.

O fexinidazol (Figura 7) é um fármaco que tem sido avaliado quanto a atividade tripanocida pela DNDi e tem se mostrado promissor desde os estudos pré-clínicos. O estudo clínico de fase 2 mostrou sua eficácia na eliminação da carga parasitária, sem reincidência e, atualmente, esse fármaco encontra-se em estudo na Espanha, no projeto chamado FEXI 12, para avaliar períodos curtos de tratamento. Outro estudo clínico da DNDi em andamento é o BENDITA (do inglês *BEnznidazole New Doses Improved Treatment Associations*), que tem avaliado diferentes regimes de administração de BZ combinado com E1224 (BARREIRA; BLUM, 2018; DNDI, 2019; PAUCAR; MORENO-VIGURI; PÉREZ-SILANES, 2016).

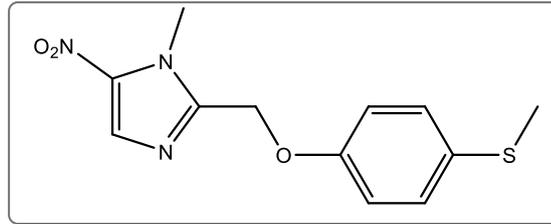


Figura 7. Estrutura do fexinidazol.

1.2 DOENÇAS DE ORIGEM BACTERIANA

Diferente das DTNs, como a Doença de Chagas, as doenças provocadas por bactérias não são consideradas negligenciadas, apesar da redução significativa em pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novas classes de antibacterianos, conforme será discutido a diante.

As bactérias são seres unicelulares procariontes pertencentes ao reino Monera. Nas células procarióticas, em geral, o DNA não está envolto em uma membrana e consiste em um único cromossomo, não apresentam organelas como núcleo, mitocôndria e cloroplastos. Suas paredes celulares quase sempre contêm o polissacarídeo peptidoglicano e, normalmente, se dividem por fissão binária (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). A Figura 8 mostra a composição básica de uma célula bacteriana.

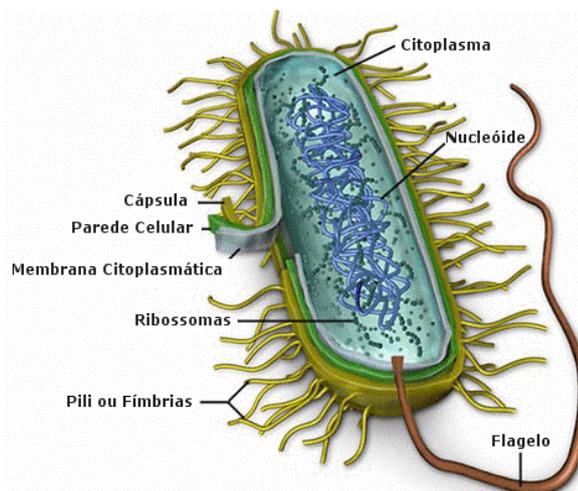


Figura 8. Estrutura geral simplificada da célula bacteriana.
Adaptado de <https://micro.magnet.fsu.edu/cells/bacteriacell.html> (Acesso em 07/12/2019).

1.2.1 CLASSIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

As bactérias podem ser classificadas de diversas maneiras: quanto à demanda de oxigênio; meio de obtenção de energia; morfologia; e quanto ao tipo de parede celular (ARWYN-JONES; DE, 2019; SEHMEN, 2015; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

1.2.1.1 Quanto à demanda de oxigênio

Com relação à demanda de oxigênio, as bactérias podem ser divididas em:

- a. Aeróbias: requerem presença de oxigênio para sobreviver.
- b. Anaeróbias estritas: requerem condições sem a presença de oxigênio.
- c. Anaeróbias não-estritas: não precisam de oxigênio para sobreviver, mas não morem na presença deste.
- d. Anaeróbias facultativas: preferem a presença de oxigênio, mas conseguem sobreviver sem.

1.2.1.2 Quanto à obtenção de energia

No que se refere à fonte de obtenção de energia as bactérias são divididas em:

- a. Autótrofas: produzem a própria energia através de fotossíntese.
- b. Heterótrofas: oxidam compostos orgânicos ou inorgânicos para obtenção de energia.

1.2.1.3 Quanto à morfologia

No que diz respeito à forma, as bactérias se dividem em três grandes grupos:

- a. Cocos: tem forma esférica ou oval. Podem ser encontradas isoladas, mas geralmente estão associadas na forma de diplococos, estreptococos, estafilococos, tétrades ou sarcinas, sendo as duas últimas formas menos comum.
- b. Bacilos: tem a forma de bastonetes e são comumente encontrados na forma isolada, entretanto podem ser encontrados na forma de estreptobacilos, diplobacilos ou cocobacilos.
- c. Espiraladas: podem ter uma ou mais espirais.
 - i. Vibriões: tem forma de bastões curvos, são rígidas.
 - ii. Espirilos: tem forma rígida, se assemelham a um saca-rolhas.
 - iii. Espiroquetas: tem forma espiralada e são mais flexíveis.

A Figura 9 traz alguns exemplos de bactérias causadoras de patologias ao ser humano com diferentes morfologias. As bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* são estafilococos que podem causar infecções cutâneas, pneumonia, gastrite, dentre outras; a espécie *Streptococcus pyogenes* são estreptococos causadoras, dentre outras doenças, de faringite e erisipelas; *Neisseria gonorrhoeae* são diplococos que causam gonorreia.

Treponema palladium têm o formato de espiroquetas e causam sífilis; a espécie *Vibrio cholerae* é o agente causador da cólera e tem a forma de vibrião; *Helicobacter pylori* é uma espécie de espirilos que podem causar gastrites, úlceras e câncer no estômago.

Bordetella pertussis, espécie no formato de cocobacilos, é responsável pela coqueluche; os estreptobacilos *Bacillus cereus* podem causar intoxicação alimentar; a espécie em forma de bacilo *Escherichia coli* é responsável por infecções urinárias, gastrointestinais e meningite.

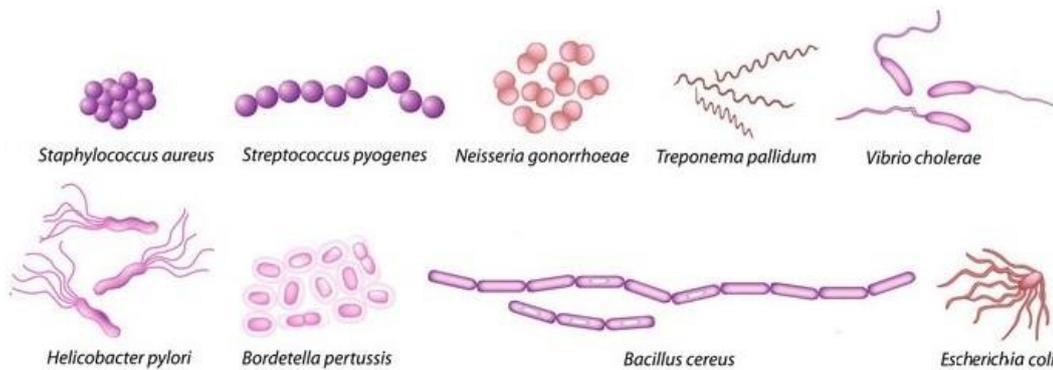


Figura 9. Morfologia de algumas bactérias patogênicas. Adaptado de Sehmen (2015).

1.2.1.4 Quanto ao tipo de parede celular

As bactérias podem ser classificadas em relação a composição de suas paredes celulares com base no método desenvolvido por Hans Christian Gram, em 1884, que as divide em dois grandes grupos: as Gram-positivas e as Gram-negativas (ARWYN-JONES; DE, 2019). O método consiste em tratar um esfregaço de bactérias com cristal de violeta, um corante básico de cor púrpura, que colore todas as células e é chamado corante primário. O corante é então lavado e é aplicado iodo como fixador. Ao remover a solução de iodo, tanto as células Gram-positivas quanto Gram-negativas ficam com coloração violeta.

Em seguida, o esfregaço é lavado com etanol ou uma solução etanol/acetona, uma solução descorante, que faz com que algumas células percam a coloração violeta, mas outras retêm essa coloração. Após lavar o etanol com água destilada, é aplicado um corante vermelho, a safranina, sobre a lâmina, que é então lavada novamente com água, seca e observada microscopicamente, onde são encontradas células com duas colorações distintas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015):

- a. **Gram-positivas**: adquirem coloração violeta/púrpura, pois apresentam parede celular espessa, formada por múltiplas camadas de peptidoglicanos e são capazes de reter o corante violeta fixado pelo iodo (SEHMEN, 2015; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).
- b. **Gram-negativas**: adquirem coloração rósea/avermelhada, uma vez que apresentam uma camada fina de peptidoglicanos e uma camada externa a esta formada por lipopolissacarídeos, lipoproteínas e fosfolípídeos, não conseguem reter a coloração roxa,

adquirindo então a cor do segundo corante (SEHMEN, 2015; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Na Figura 10 é possível observar uma lâmina contendo bactérias com coloração púrpura e bactérias com coloração rosa, coloridas a partir do método de Gram.

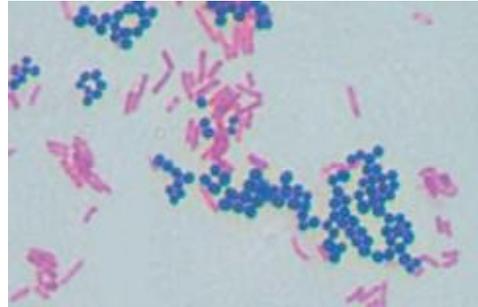


Figura 10. Micrografia de bactérias coradas pelo método de Gram. Os cocos (púrpura) são Gram-positivos e os bacilos (rosa) são Gram-negativos. Adaptado de Tortora, Funke e Case (2017).

1.2.2 QUIMIOTERAPIA

Um dos marcos na quimioterapia de combate das doenças bacterianas foi a introdução do salvarsan (Figura 11), por Paul Ehrlich, em 1910, utilizado no tratamento de sífilis. Outro grande marco no desenvolvimento de agentes antibacterianos foi a descoberta, em 1928, da penicilina G (benzilpenicilina) (Figura 11), isolada do fungo *Penicillium chrysogenum* por Alexander Flemming (PATRICK, 2013; ZAFFIRI; GARDNER; TOLEDO-PEREYRA, 2012).

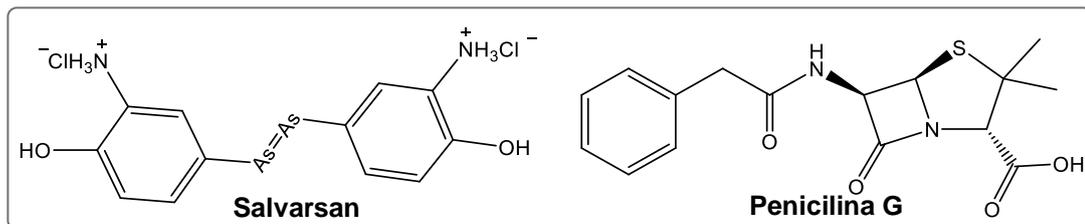


Figura 11. Estruturas dos antibióticos salvarsan e penicilina G.

Diversas classes de antibióticos, tanto naturais, sintéticas ou semissintéticas, foram descobertas ou desenvolvidas durante o século XX e utilizadas no combate das mais diversas doenças de origem bacteriana, o que levou ao aumento da expectativa de vida da população em geral (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; PATRICK, 2013; SEHMEN, 2015). Os antibióticos com maior número de representantes utilizados como agentes terapêuticos são os β-lactâmicos e os quinolônicos, contudo derivados pertencentes a outras classes também são utilizados.

1.2.2.1 Antibióticos β -lactâmicos

Os antibióticos dessa classe são naturais ou semissintéticos e têm como grupo farmacofórico em comum o anel β -lactâmico, uma lactona de quatro membros, que age na parede celular bacteriana inibindo a ação da enzima transpeptidase, responsável pela manutenção dos peptidoglicanos e leva a lise celular. As substâncias pertencentes a essa classe apresentam amplo espectro de ação frente às bactérias anaeróbias e aeróbias, Gram-positivas e Gram-negativas e, devido à baixa toxicidade, são muito utilizados como tratamento de primeira linha, sendo uma das classes mais importantes (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013).

As substâncias desse grupo podem ser inativadas por enzimas conhecidas por β -lactamases, que são capazes de abrir o anel β -lactâmico antes deste entrar em contato com a célula bacteriana (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013). Os principais representantes dessa classe são as penicilinas e as cefalosporinas, entretanto alguns derivados que não pertencem a essas subclasses também apresentam grande importância quimioterápica.

a. Penicilinas

A estrutura das penicilinas é composta por um anel β -lactâmico fundido com um anel tiazolidínico (Figura 12). Apesar de descoberta em 1928, foi somente nos anos 1940, que a penicilina G começou a ser utilizada clinicamente. Diversas modificações têm sido feitas na estrutura da penicilina, inicialmente para melhorar a estabilidade frente ao ataque das β -lactamases, com a inserção de grupos volumosos nas cadeias laterais, obtendo os derivados de primeira geração: oxacilina e meticilina (Figura 12) (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

Também foram realizadas modificações a fim de ampliar o espectro de ação dessa subclasse, principalmente contra bactérias Gram-negativas (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015). A inserção de um grupo amino na cadeia lateral, levou a síntese de derivados aminopenicilínicos como a amoxicilina e a ampicilina (Figura 12). Já a transformação do grupo amino em ureído deu origem aos derivados ureidopenicilínicos, como por exemplo, a piperacilina (Figura 12) (FAIR; TOR, 2014).

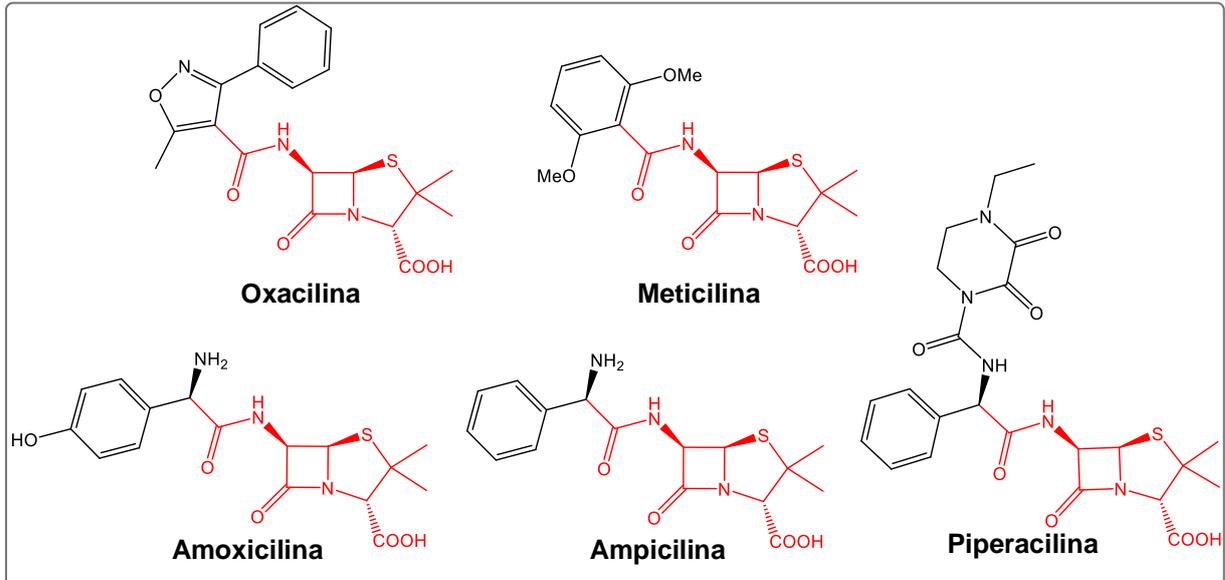


Figura 12. Estruturas de alguns derivados penicínicos; em destaque a estrutura geral.

b. Cefalosporinas

Na estrutura das cefalosporinas, fundido ao anel β -lactâmico, tem-se um anel dihidrotiazínico. A primeira substância identificada dessa classe foi a cefalosporina C (Figura 13) em 1948, produzidas por um fungo do gênero *Acremonium chrysogenum* (anteriormente denominado *Cephalosporium acremonium*). As primeiras modificações estruturais visavam melhorar a permeabilidade celular, as propriedades farmacocinéticas e ampliar o espectro de ação dessas substâncias. As mais recentes visam também combater a resistência ao anel β -lactâmico (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013).

As cefalosporinas de primeira geração, por exemplo a cefazolina (Figura 13), apresentavam atividade menor do que as penicilinas e eram pouco permeáveis à parede intestinal, sendo administradas via intravenosa. Na segunda geração, o aumento do impedimento estérico, com a inserção do grupo metóxi na posição 6 do anel β -lactâmico, como na cefoxitina (Figura 13), levou a maior resistência frente às β -lactamases e ao aumento da atividade em relação à geração anterior (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013).

A terceira geração é caracterizada pela inserção de um grupo iminometoxi na posição α -acil e de um anel aminotiazolidínico, que levou ao aumento da permeabilidade à membrana das bactérias Gram-negativas, melhorando a atividade antibacteriana. Um exemplo de substância dessa geração é a cefotaxima (Figura 13) (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013).

Já a quarta geração teve a atividade aumentada frente às bactérias Gram-negativas devido ao aumento da permeabilidade a membrana celular, com a inserção de um substituinte carregado positivamente na posição 3 e um carboxilato na posição 4, como na cefepima (Figura 13). As modificações nas cefalosporinas para produzir os derivados da quinta geração

fizeram com que essas substâncias, como por exemplo a ceftarolina (Figura 13), apresentassem atividade frente a cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*. A atividade frente às cepas resistentes tem sido atribuída à presença do anel tiazólico (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013).

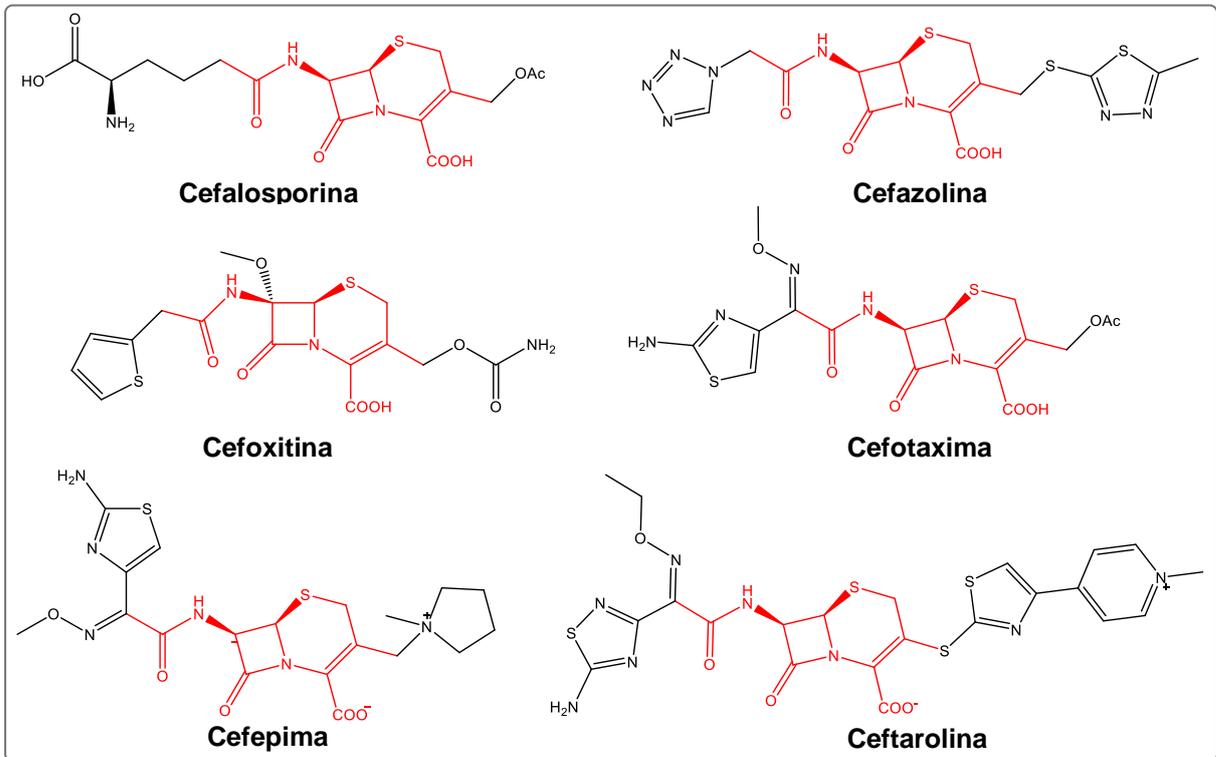


Figura 13. Estruturas de alguns derivados das cefalosporinas; em destaque a estrutura geral.

c. Outros derivados β -lactâmicos

Conforme relatado anteriormente, os principais derivados β -lactâmicos utilizados são as penicilinas e as cefalosporinas, contudo, outras substâncias contendo o anel β -lactâmico também apresentam grande importância terapêutica, como o imipenem (Figura 14), que foi o primeiro representante das carbapenemas aprovado para uso clínico e apresenta, assim como outros integrantes dessa subclasse, maior atividade em relação a outros derivados β -lactâmicos, frente a muitas bactérias aeróbias e Gram-negativas (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

O aztreonam (Figura 14), o único representante da classe dos monobactâmicos registrado pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*), ao contrário dos outros derivados β -lactâmicos, não contém um biciclo em sua estrutura, mas apenas o anel que dá nome à classe e apresenta atividade somente contra espécies Gram-negativas (FAIR; TOR, 2014; TRABULSI; ALTERTHUM, 2015).

O ácido clavulânico (Figura 14), descoberto em 1976, foi o primeiro derivado β -lactâmico capaz de inibir a ação das enzimas β -lactamases e é utilizado em associação com a amoxicilina (Clavulin® - GSK), sendo um dos medicamentos antibacterianos mais utilizados. Outra associação frequente é entre a piperacilina e a tazobactama (Figura 14) (Tazocin® - Pfizer), que também inibe a ação das β -lactamases, muito utilizada no tratamento de infecção por *Pseudomonas aeruginosa*, inclusive contra cepas resistentes (FAIR; TOR, 2014).

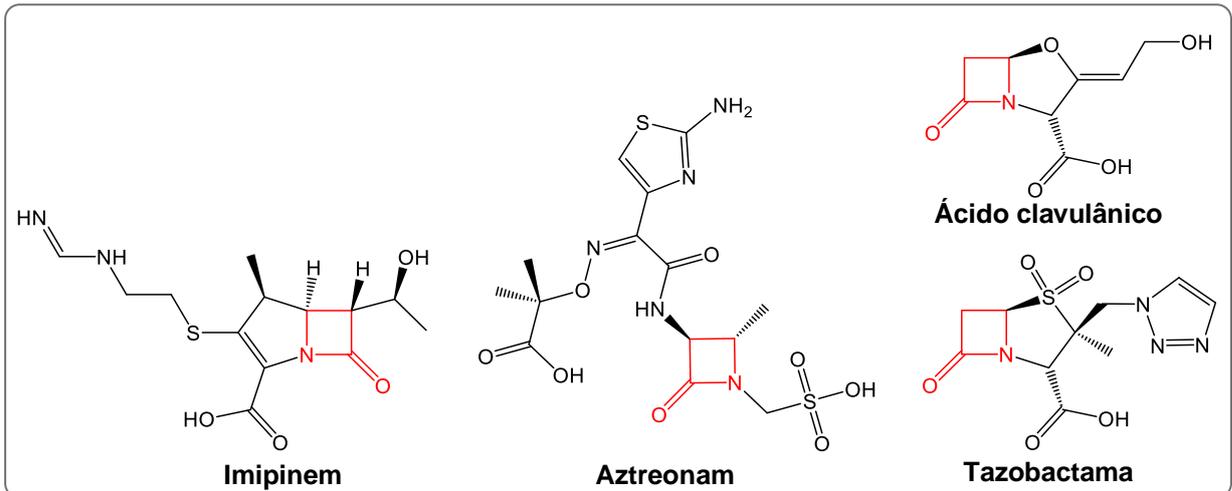


Figura 14. Estruturas de derivados β -lactâmicos não penicilínicos e não cefalosporínicos.

1.2.2.2 Antibióticos quinolônicos

No início da década de 1960, o ácido nalidíxico foi sintetizado como subproduto da síntese de cloroquina, um fármaco antimalarial, e foi introduzido no final da mesma década para o tratamento de infecções urinárias. O ácido nalidíxico (Figura 15) tem como grupo farmacofórico a naftiridina e sua síntese foi precursora de uma das classes mais importantes de antibióticos sintéticos: as quinolonas. Os fármacos dessa classe atuam impedindo a síntese do DNA, através da inibição das enzimas topoisomerase II (DNA girase) e IV e apresentam amplo espectro de ação, sendo os derivados quinolônicos eficientes contra bactérias anaeróbias e aeróbias, Gram-positivas e Gram-negativas (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014; FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

A primeira geração de quinolonas obtidas a partir de alterações na estrutura do ácido nalidíxico, como o ácido oxolínico (Figura 15), apresentava espectro de ação reduzido e baixa biodisponibilidade, tornando-a pouco popular. A segunda geração, conhecida como fluoroquinolonas, sintetizadas nos anos 1980, deu início a popularização do uso terapêutico dessa classe (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014; FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

A introdução de um átomo de flúor no átomo de carbono C6 do anel quinolônico ampliou o espectro de ação dos derivados dessa classe, principalmente contra bactérias Gram-negativas aeróbias. A ciprofloxacina (Figura 15) é uma das substâncias dessa classe mais ativa contra *Pseudomonas aeruginosa* e foi a primeira a apresentar resultados no tratamento de infecções fora do trato urinário. Além disso, chama atenção devido à atividade contra a bactéria causadora de antraz, *Bacillus anthracis*, e contra a bactéria causadora da peste bubônica, *Yersinia pestis* (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014; FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

As modificações estruturais que levaram a terceira geração das quinolonas aumentaram a atividade frente a bactérias Gram-positivas, como por exemplo, a levofloxacina (Figura 15) que apresenta elevada atividade contra bactérias do gênero *Streptococcus* e apresenta boa atividade no tratamento de infecções respiratórias (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014; FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

As quinolonas da quarta geração têm maior atividade frente a bactérias anaeróbias e contra espécies que desenvolveram resistência aos fármacos dessa classe, contudo há mais relatos de toxicidade em relação às gerações anteriores. A clinafloxacina (Figura 15) é uma quinolona de quarta geração com atividade frente à *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* e *Neisseria gonorrhoeae* (FAIR; TOR, 2014).

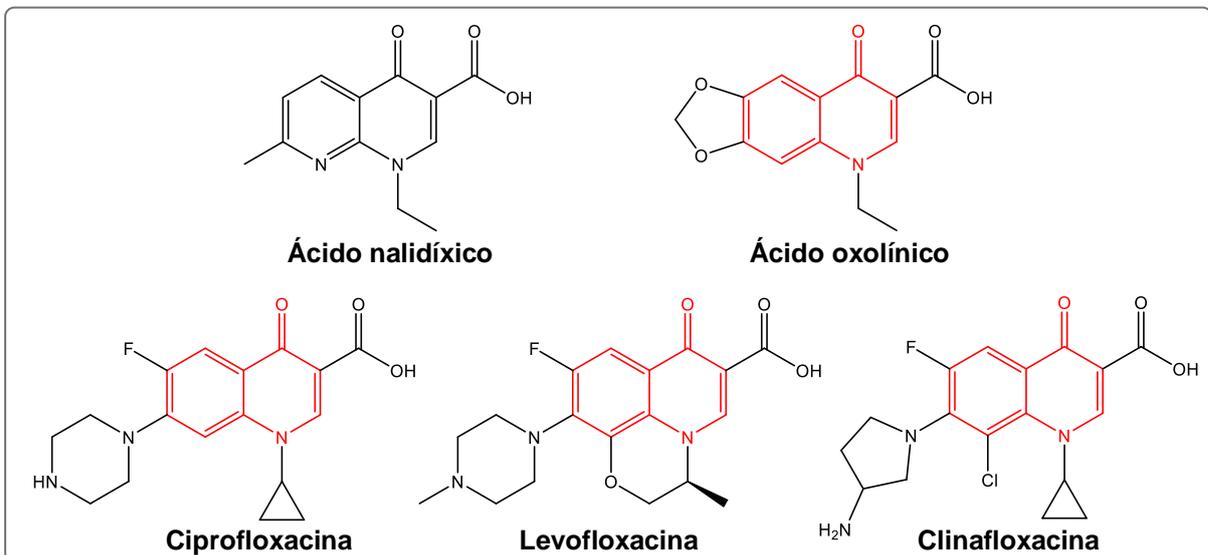


Figura 15. Estruturas do ácido nalidíxico e de algumas quinolonas.

1.2.2.3 Antibióticos sulfonamídicos

As sulfonamidas, ou drogas sulfa, foram a primeira classe de antibióticos utilizada clinicamente no tratamento de doenças bacterianas e possui em sua estrutura o grupo sulfonamida, que dá nome a classe. A sulfonamina (Figura 16) é um corante vermelho que,

em 1932, foi descoberto como agente antibacteriano e foi a primeira substância dessa classe a ser clinicamente empregada. Foi amplamente utilizada até a inserção das penicilinas para uso clínico. As substâncias dessa classe inibem a síntese da enzima di-hidropteroato sintetase, que faz parte do metabolismo de ácido fólico, e leva a repressão da duplicação do DNA. Devido ao aumento da resistência e os efeitos colaterais causados, o uso das substâncias desta classe diminuiu consideravelmente. Atualmente, o sulfametoxazol (Figura 16), em associação com o trimetoprim (Figura 16) (Bactrim® - Roche), é utilizado no combate de algumas cepas de MSRA (*Staphylococcus aureus* resistentes à metilina, do inglês *methicilin-resistant Staphylococcus aureus*). A diminuição da resistência a essa classe tem sido observada e vem sendo associada a menor frequência de uso desses fármacos (FAIR; TOR, 2014; PATRICK, 2013; ZAFFIRI; GARDNER; TOLEDO-PEREYRA, 2012).

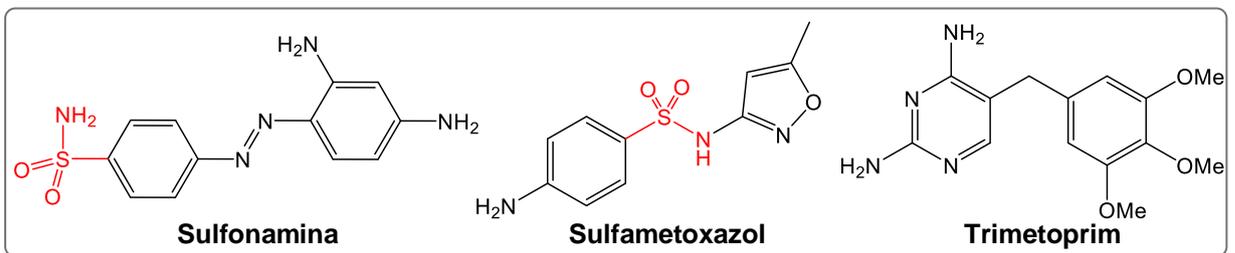


Figura 16. Estruturas de derivados sulfonamídicos e do trimetoprim.

1.2.2.4 Outros agentes terapêuticos

A maioria dos antibióticos utilizados pertencem às classes citadas anteriormente, no entanto, alguns fármacos de outras classes se destacam no combate de infecções bacterianas. A vancomicina (Figura 17) é um glicopeptídeo de origem natural, descoberto em 1952, que é usada ainda hoje como último recurso no tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas, incluindo cepas de MRSA. O mecanismo de ação deste fármaco consiste na inibição da síntese de lipídeos precursores da cadeia de peptidoglicano, impedindo a síntese da parede celular (FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

A daptomicina (Figura 17) é um lipopeptídeo de origem natural com amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas. Quando interage com a parede celular, a daptomicina causa uma despolarização, levando a abertura de espaços por onde saem íons e ocasionando a ruptura da célula bacteriana. É utilizada via intravenosa no tratamento de infecção hospitalar causada por bactérias Gram-positivas, incluindo MRSA e VRE (*Enterococcus* resistentes à vancomicina, do inglês *vancomycin resistant Enterococcus*) (FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

Outra classe com poucos representantes, mas com importância terapêutica, é a dos macrolídeos, antibióticos de origem natural, que são utilizados principalmente contra

infecções respiratórias. Um representante da classe é a azitromicina (Figura 17), que age inibindo a síntese proteica devido a ligação reversível ao RNAr 23S da subunidade ribossômica 50S, que bloqueia a elongação do peptídeo (FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

A classe de antibióticos sintéticos mais recente é a das oxazolidinonas, com a primeira representante, a linezolida (Figura 17), registrada pela FDA em 2000. A linezolida inibe a síntese proteica da mesma maneira que a azitromicina e é indicada para o tratamento de infecções sérias causadas por bactérias Gram-positivas, incluindo MSRA. Todavia, deve ser usada por curtos períodos, uma vez que leva a supressão da medula óssea devido a inibição da síntese proteica mitocondrial. A tedizolida (Figura 17), aprovada em 2014, é uma oxazolidinona de segunda geração que apresenta melhor perfil de atividade que a linezolida, além de não interagir com a célula eucariótica, o que a torna mais segura (FAIR; TOR, 2014; SINGH; YOUNG; SILVER, 2017).

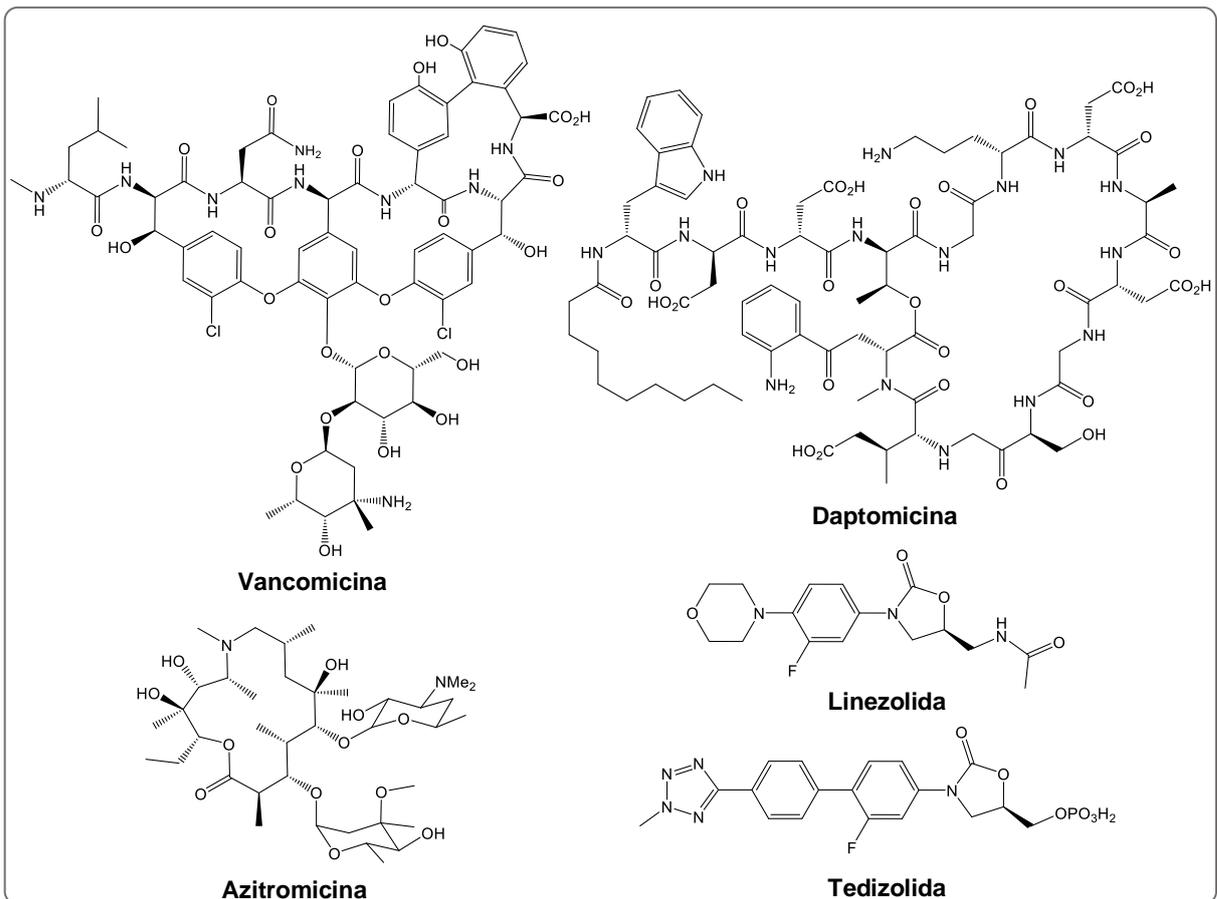


Figura 17. Estruturas dos fármacos vancomicina, daptomicina, azitromicina, linezolida e tedizolida.

1.2.3 A RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência bacteriana, embora seja um processo evolutivo de seleção natural, tem se tornando um problema mundial devido ao aumento do número de bactérias resistentes aos

antibacterianos comuns e ao surgimento de diversas cepas multirresistentes, levando alguns pesquisadores a sugerirem que estamos entrando em uma “nova era pré-antibióticos” (FAIR; TOR, 2014; FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; RIOS *et al.*, 2016).

Além do processo evolutivo natural, outro fator relevante que contribui para o aumento da resistência é a automedicação, que gera um consumo excessivo de antibióticos muitas vezes para o tratamento de doenças que não são causadas por bactérias. A prescrição inadequada, o abandono do tratamento indicado e o uso na agropecuária também são responsáveis para o desenvolvimento de mecanismos de resistência (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; RIOS *et al.*, 2016).

A resistência está associada à alta morbidade e mortalidade (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017). Em todo o mundo, ocorrem cerca de 700 mil mortes anuais decorrentes de infecções causadas por bactérias resistentes (O’NEILL, 2016). Estima-se que a resistência bacteriana será responsável por mais de 10 milhões de mortes em 2050, como mostra a Figura 18, podendo-se destacar a Ásia e África, com mais de 4 milhões de mortes em cada continente e a América Latina com quase 400 mil mortes (O’NEILL, 2014).

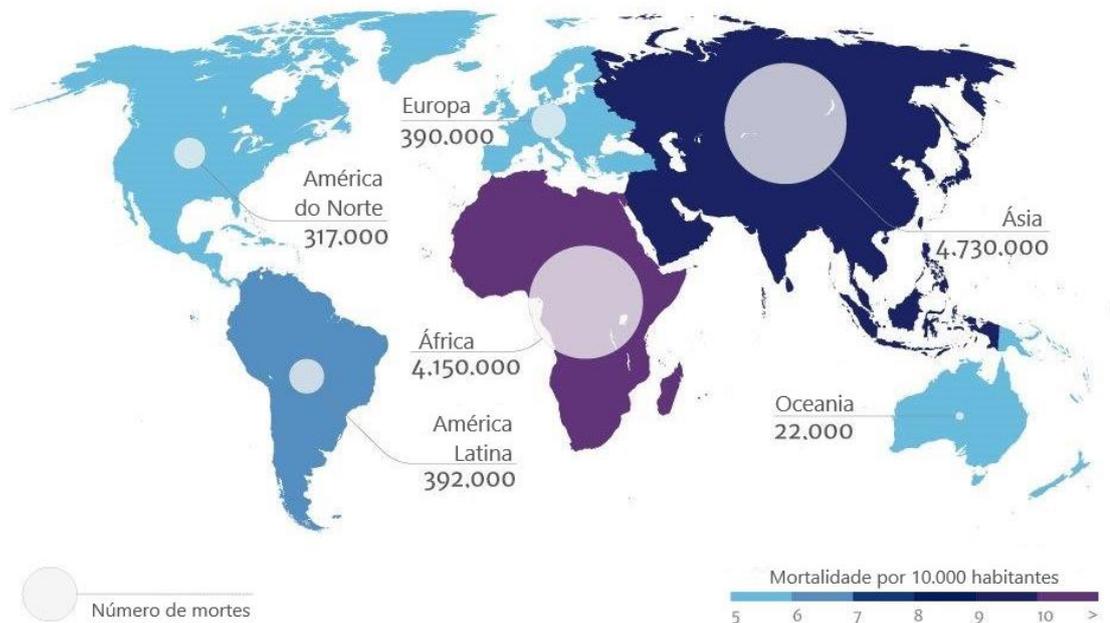


Figura 18. Previsão das mortes causadas por infecções por bactérias resistentes, em 2050.

Embora o aumento da resistência em taxas alarmantes deixe claro a necessidade mundial de desenvolver novos fármacos, não é este o movimento que tem sido observado na indústria farmacêutica. O baixo retorno financeiro quando comparado a fármacos utilizados no tratamento de doenças crônicas, o uso de novos antibióticos apenas como recurso alternativo quando os fármacos mais antigos falham e o mercado saturado de medicamentos

genéricos fizeram com que o investimento nessa área fosse reduzido drasticamente (FAIR; TOR, 2014; MACGOWAN; MACNAUGHTON, 2017).

Diante desse contexto, existe uma grande demanda para o desenvolvimento de novas substâncias que apresentem atividade antibacteriana, e que sejam eficazes contra cepas já resistentes, para que o problema da resistência possa ser controlado (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; MACGOWAN; MACNAUGHTON, 2017; RIOS *et al.*, 2016).

1.3 HETEROCICLOS

Os heterociclos são compostos com um ou mais ciclos que contêm, pelo menos, um átomo diferente de carbono e hidrogênio na sua composição. Os heteroátomos mais comuns são: nitrogênio, oxigênio e enxofre contudo, outros átomos também são encontrados como fósforo, arsênio, antimônio, silício, selênio, boro e estanho (HAIDER, 2017; QUIN; TYRELL, 2010).

Os compostos heterocíclicos são amplamente utilizados na química medicinal, nas indústrias de agroquímicos, de corantes, de polímeros e são utilizados para diversas outras aplicações tecnológicas (DUA *et al.*, 2011; HAIDER, 2017; QUIN; TYRELL, 2010). Dentre os compostos heterocíclicos, os nitrogenados representam aproximadamente 60% dos heterociclos utilizados nas mais diversas aplicações (HAIDER, 2017).

Com relação a aplicação desses compostos na química medicinal, cerca de 87% dos fármacos utilizados atualmente contêm heterociclos em suas estruturas e apresentam diversificada atividade biológica, como antiprotozoária, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antifúngica, antineoplásica, dentre outras (HAIDER, 2017; MARTINS *et al.*, 2015; QUIN; TYRELL, 2010; ZHANG, 2017).

A Figura 19 apresenta alguns dos fármacos comerciais mais vendidos nos últimos anos que apresentam heterociclos (DUA *et al.*, 2011; GOMTSYAN, 2012; HAIDER, 2017; MARTINS *et al.*, 2015):

- a atorvastatina (Lipitor® - Pfizer) é um regulador do colesterol HDL (do inglês *High Density Lipoprotein*) que contém um núcleo pirrólico em sua estrutura;
- o sofosbuvir (Sovaldi® - Gilead), um fármaco antiviral, apresenta dois heterociclos em sua estrutura: o tetra-hidrofurano e um derivado pirimidínico;
- o anastrozol (Arimidex® - AstraZeneca), utilizado no tratamento de câncer de mama em mulheres na pós-menopausa, tem em sua estrutura o heterociclo 1,2,4-triazol;
- o antiulcerante esomeprazol (Nexium® - AstraZeneca) contém uma piridina e um benzimidazol;

- o anticoagulante clopidogrel (Plavix[®] - Sanofi) empregado no tratamento e prevenção de trombose arterial, contém dois heterociclos fundidos: o tiofeno e a piperidina, formando o bicyclo 4,5,6,7-tetra-hidrotieno[3,2-c]píridina;
- o aripiprazol (Abilify[®] - Bristol-Myers), utilizado como antipsicótico, apresenta uma piperazina e o ciclo 1*H*-3,4-di-hidroquinolin-2-ona;
- o pioglitazona (Actos[®] - Abbott), utilizado no tratamento da diabetes, contém um anel piridínico e um tiazolidínico.

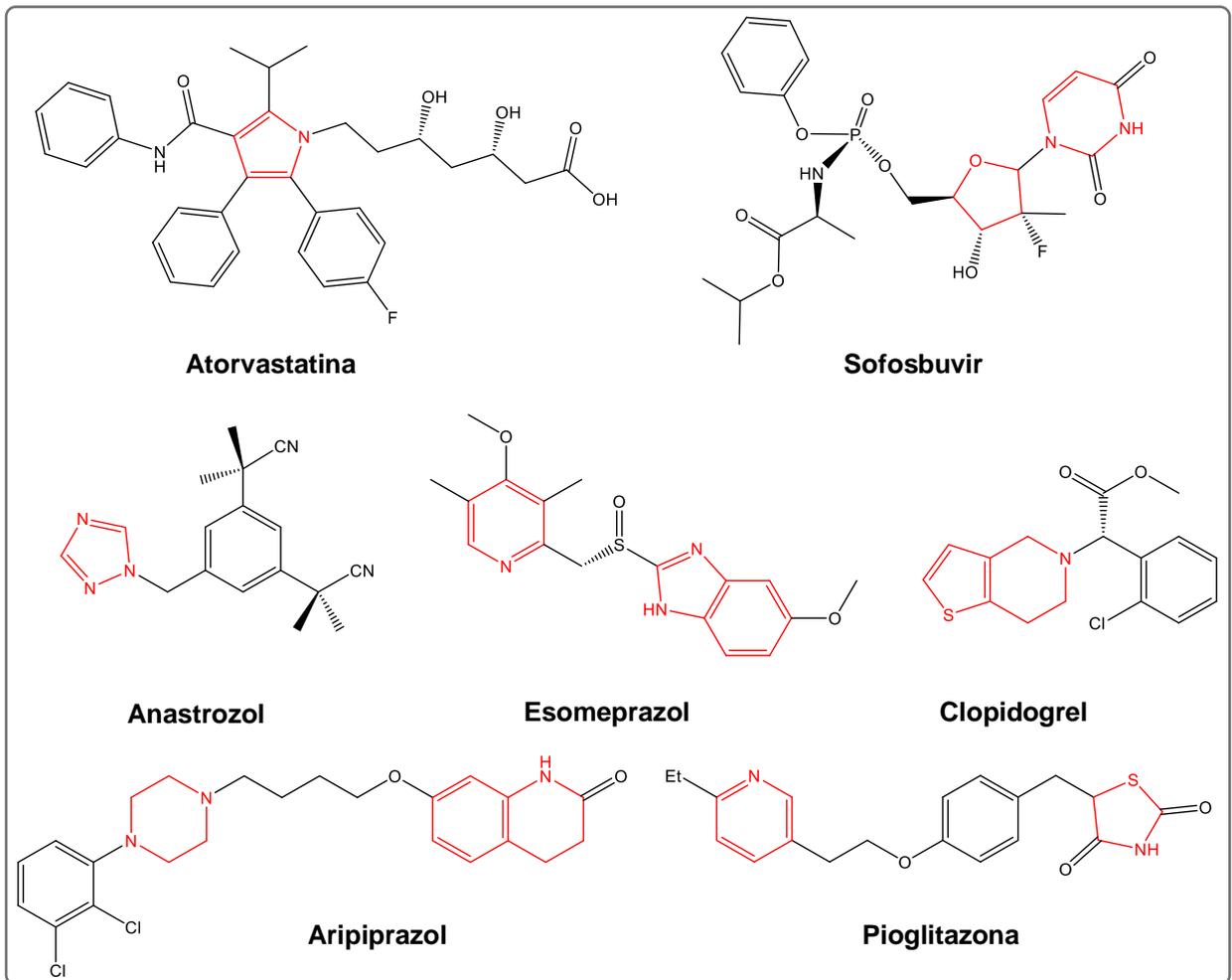


Figura 19. Fármacos que contêm heterociclos em suas estruturas.

Além dos fármacos citados na Figura 19, todos os fármacos apresentados anteriormente, com exceção do salvarsan (Figura 11) e da sulfonamina (Figura 16), apresentam ao menos um heterociclo em suas estruturas, a maioria nitrogenados, mostrando a importância dessa classe de compostos na química medicinal.

1.3.1 PIRAZOL

1.3.1.1 Características gerais

O pirazol (Figura 20) é um dos compostos heterocíclicos nitrogenados mais conhecidos e estudados, presente em diversas substâncias naturais e sintéticas. É um ciclo de cinco membros que contém dois átomos de nitrogênio nas posições 1 e 2, pertencente a classe dos azóis, sistemas aromáticos de cinco membros composto por pelo menos um átomo de nitrogênio (ANSARI *et al.*, 2017; KARROUCHI *et al.*, 2018).

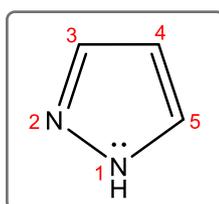


Figura 20. Estrutura do pirazol.

Os átomos de nitrogênio que compõem o pirazol apresentam características distintas. O átomo de nitrogênio 1 (N1) é chamado de “pirrólico” devido à semelhança com o átomo de nitrogênio presente no pirrol, uma vez que, assim como no pirrol, o par de elétrons do orbital não-ligante desse átomo participa da ressonância do heterociclo (ALAM *et al.*, 2015; JOULE; MILLS, 2010).

O átomo de nitrogênio 2 (N2) é chamado “piridínico”, pois assim como acontece na piridina, seu par de elétrons do orbital não-ligante não participa da deslocalização eletrônica, uma vez que se encontra em um orbital perpendicular ao plano dos orbitais p (Figura 21). Além disso, o pirazol apresenta caráter anfótero, sendo uma base fraca (pK_a 2,5 com relação ao N2) e também um ácido fraco (pK_a 14,2 com relação ao N1) (ALAM *et al.*, 2015; JOULE; MILLS, 2010).

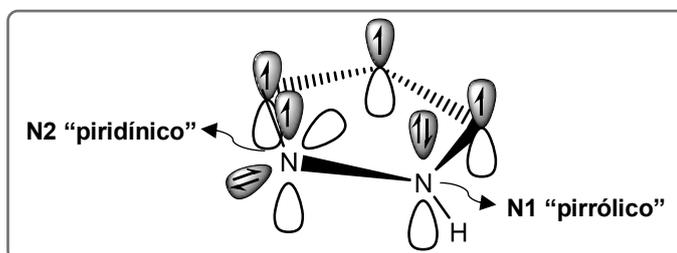


Figura 21. Estrutura do pirazol apresentando os elétrons que participam das ligações π e o par de elétrons não-ligante do nitrogênio “piridínico”.

O pirazol é um sistema π -excessivo, com 6 elétrons π deslocalizados em todo o anel e segue a regra de Hückel: $4n + 2 = e^- \pi$, $n = 1$. Sofre reação de substituição eletrofílica

aromática (SEA) principalmente na posição 4, devido ao fato de ser o átomo com maior densidade eletrônica (KARROUCHI *et al.*, 2018).

A ressonância (Figura 22) pode ser iniciada pelo átomo de nitrogênio “pirrólico” (N1), obtendo cinco formas canônicas distintas, com carga parcial positiva na posição 1 e carga parcial negativa nas demais posições. Já a ressonância iniciada pelo átomo de nitrogênio “piridínico” (N2) gera outras três formas canônicas, com carga parcial positiva nos átomos 1, 3 e 5, e carga parcial negativa no átomo 2.

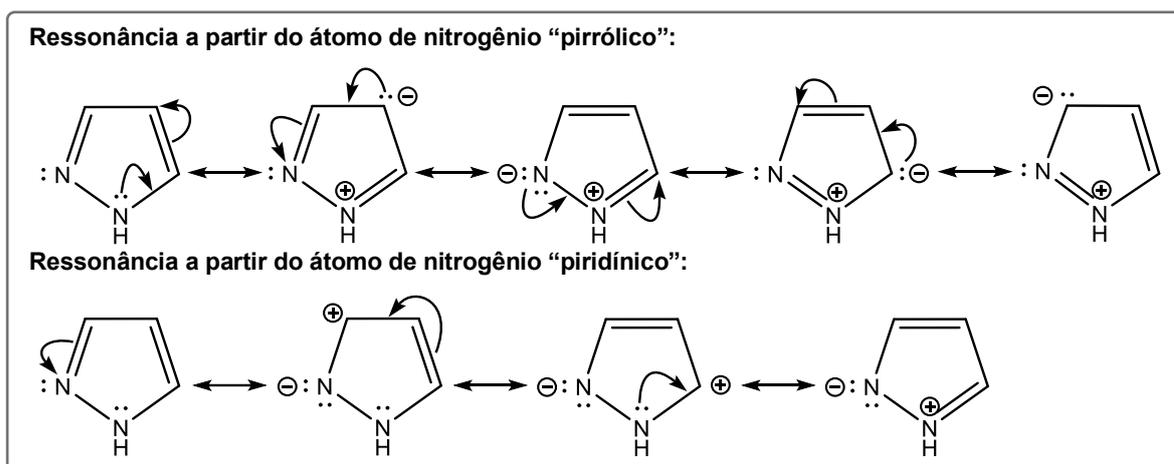


Figura 22. Estruturas de ressonância do pirazol.

Quando o anel pirazólico é substituído assimetricamente, a substância formada é obtida na forma de uma mistura de dois produtos, representadas na Figura 23a, devido ao tautomerismo prototrópico, ou prototropismo, presente na molécula. A troca rápida do átomo de hidrogênio entre os dois átomos de nitrogênio permite o equilíbrio entre as duas estruturas, não sendo possível separá-las. O fenômeno também ocorre em pirazóis não-substituídos ou substituído simetricamente (Figura 23b), mas leva a formação de substâncias equivalentes (ALAM *et al.*, 2015; JOULE; MILLS, 2010).

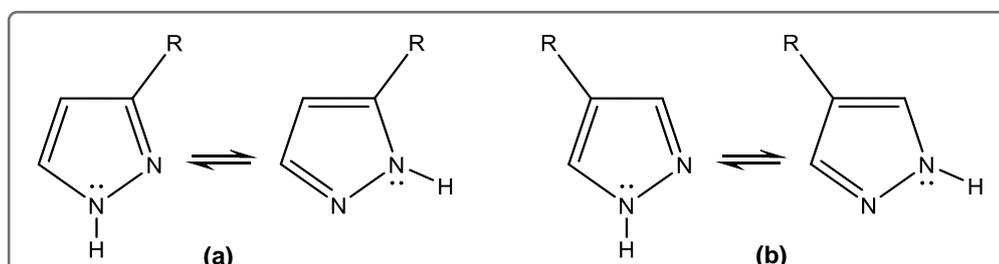
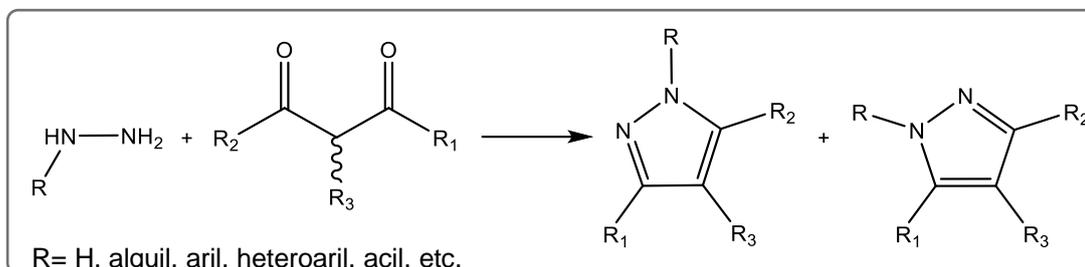


Figura 23. Estruturas tautoméricas do pirazol (a) pirazol 3(5)-substituído; (b) pirazol 4-substituído.

1.3.1.2 Métodos de obtenção

A primeira síntese de pirazol foi descrita em 1883 por Knorr e consiste na reação de ciclocondensação entre um composto 1,3-dicarbonílico e uma hidrazina, havendo a

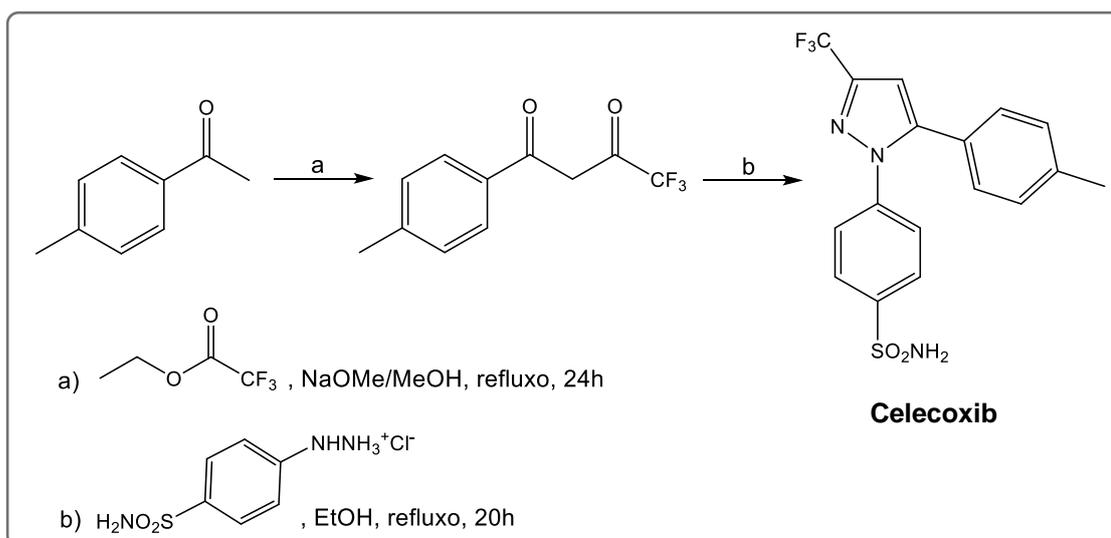
possibilidade de formação de dois produtos distintos, caso o composto 1,3-dicarbonílico não seja simétrico ($R_2 \neq R_1$), conforme mostra o Esquema 1 (KARROUCHI *et al.*, 2018; KNORR, 1883; LI, 2014).



Esquema 1. Representação geral da síntese de Knorr.

A obtenção de pirazóis a partir da síntese proposta por Knorr continua sendo uma rota sintética viável, apesar da mistura de produtos obtida. Em 1997, Penning e colaboradores obtiveram diversos derivados pirazólicos obtidos por esta metodologia, dentre eles o celecoxib, um anti-inflamatório não esteroideal (LI, 2014; PENNING *et al.*, 1997).

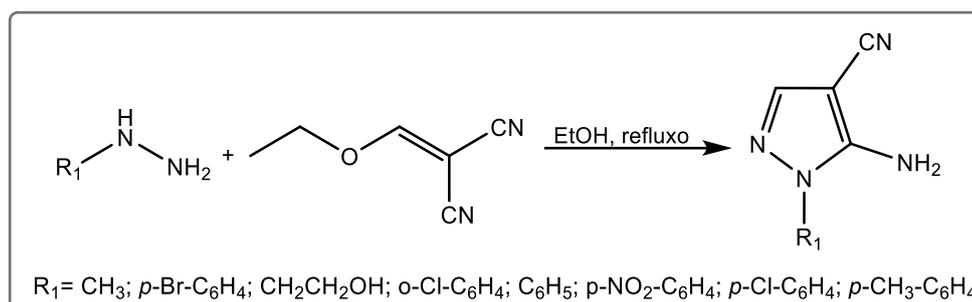
A reação de obtenção do celecoxib é apresentada no Esquema 2. O aduto 1,3-dicarbonílico, obtido da condensação de Claisen entre a 4-metilacetofenona com trifluoroacetato de etila, isolado com 94% de rendimento, reage com cloridrato de 4-sulfonamifenil hidrazina obtendo, quase que exclusivamente, o derivado 1,5-diarilpirazólico com 46% de rendimento. Uma mistura de produtos 1,3-diarilpirazol e 1-5-diarilpirazol foi obtida quando se utilizou hidrazina na forma neutra, ou seja, sem reagir com ácido clorídrico para formar o cloridrato (AHLSTRÖM *et al.*, 2007; PENNING *et al.*, 1997).



Esquema 2. Rota sintética para obtenção do celecoxib.

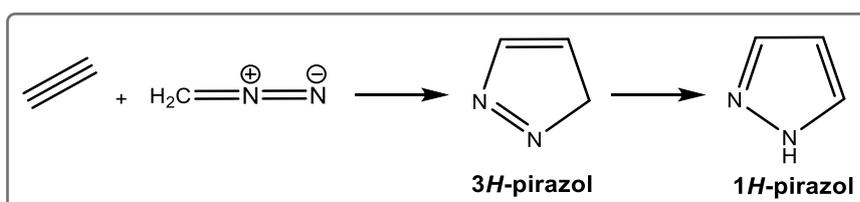
Nosso grupo de pesquisa tem obtido derivados pirazólicos baseados na síntese descrita por Cheng e Robins em 1956, que pode ser considerada uma variação da rota sintética proposta por Knorr (CHENG; ROBINS, 1956; DOS SANTOS *et al.*, 2011a, 2011b).

Em seu trabalho, Cheng e Robins reagiram hidrazinas monossubstituídas com etoximetilenomalônitrila em etanol, sob refluxo por 30 minutos, obtendo diversos derivados 1-substituído-5-amino-4-cianopirazol (Esquema 3) com bons rendimentos: 40 a 86% (CHENG; ROBINS, 1956). Nessa reação, o derivado malônico reage de maneira análoga ao aduto 1,3-dicarbonílico utilizado na rota proposta por Knorr.



Esquema 3. Reação de obtenção de 1-substituído-5-amino-4-cianopirazóis.

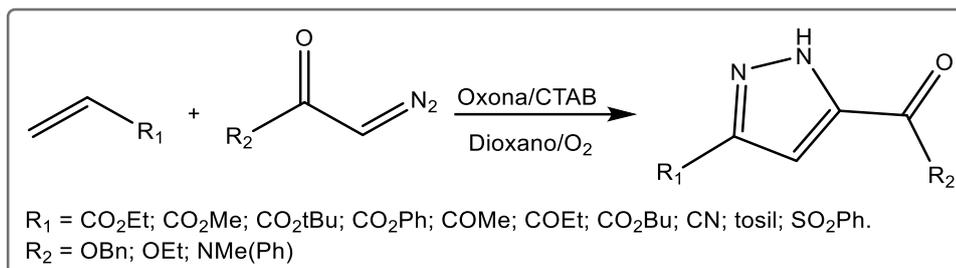
O pirazol também pode ser obtido a partir da reação descrita por Pechmann em 1898 (Esquema 4). Nessa reação, a formação do pirazol ocorre via cicloadição [3+2] 1,3-dipolar entre o acetileno e o diazometano (LI, 2003; PECHMANN, 1898; WANG, 2010). Inicialmente, é obtido o 3*H*-pirazol, um isômero não-aromático, que sofre isomerização para a forma aromática 1*H*-pirazol, devido à alta estabilidade adquirida com a aromatização do sistema.



Esquema 4. Reação de obtenção do pirazol desenvolvida por Pechmann.

A obtenção de pirazóis a partir de cicloadição [3+2] de diazocompostos com alquenos ou alquinos, baseadas na rota descrita por Pechmann, é uma estratégia sintética muito utilizada (FUSTERO *et al.*, 2011; FUSTERO; SIMÓN-FUENTES; SANZ-CERVERA, 2009; KARROUCHI *et al.*, 2018).

Em 2018, Paul Raj e colaboradores obtiveram uma série de pirazóis 3,5-substituídos (Esquema 5) a partir de cicloadição [3+2] de olefinas com diazoésteres ou diazoamidas, utilizando oxona (peroximonossulfato de potássio – 2KHSO₅·KHSO₄·K₂SO₄) como oxidante e CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) como catalisador, 1,4-dioxano como solvente em atmosfera de oxigênio, sob agitação a temperatura ambiente, durante 3h. Os produtos foram obtidos com bons rendimentos: 41 a 87% (PAUL RAJ *et al.*, 2018).



Esquema 5. Reação de obtenção de derivados pirazólicos 3,5-substituídos.

1.3.1.3 Aplicações de derivados pirazólicos

Compostos contendo o núcleo pirazólico apresentam uma grande variedade de aplicações na química medicinal como atividade antineoplásica, anti-inflamatória, analgésica, anticoagulante, antiobesidade, antibacteriana, antiprotozoária, dentre outras (ALAM *et al.*, 2015; ANSARI *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2017; KARROUCHI *et al.*, 2018; KHAN *et al.*, 2016). Um dos primeiros derivados pirazólicos de origem natural isolado foi a β -(1-pirazolil)alanina (Figura 24), obtido de sementes de melancia (*Citrullus vulgaris*) e é utilizado no tratamento da diabetes (ANSARI *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2017).

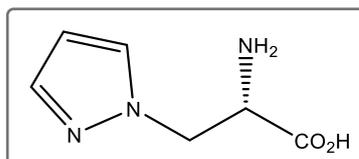


Figura 24. Estrutura da β -(1-pirazolil)alanina.

Diversos fármacos contendo pirazol em suas estruturas já foram aprovados e são comercializados, além de uma grande quantidade em fase de testes clínicos. Dentre os fármacos comerciais, o rimonabant (Acomplia[®] - Sanofi) (Figura 25) é um fármaco utilizado no tratamento da obesidade que atua como um receptor canabinoide CB1, reduzindo o apetite, contudo sua comercialização está suspensa devido aos efeitos colaterais. O sildenafil (Viagra[®] - Pfizer) (Figura 25) é empregado no tratamento de disfunção erétil, uma vez que inibe a enzima fosfodiesterase, provocando o relaxamento da musculatura lisa do pênis e tem efeito vasodilatador, que favorece a ereção (ANSARI *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2017; KARROUCHI *et al.*, 2018).

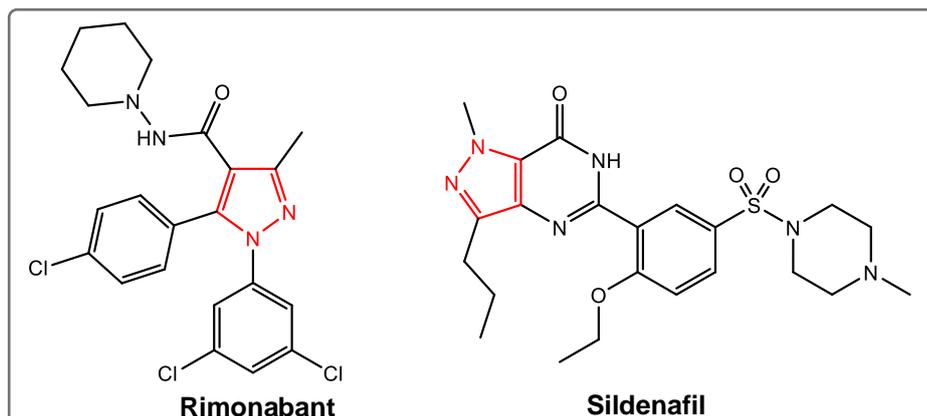


Figura 25. Estruturas do rimonabant e do sildenafil.

O celecoxib (Celebra[®] - Pfizer) (Figura 26) e a antipirina (Figura 26) são anti-inflamatórios não-esteroidais que agem inibindo as enzimas ciclo-oxigenases (COXs); no caso do primeiro apenas a COX-2 é inibida, enquanto o segundo inibe as enzimas COX-1, COX-2 e COX-3. A dipirona (Novalgina[®] - Sanofi) (Figura 25) é um fármaco com efeitos antipirético, analgésico e antiespasmódico, cuja ação ocorre pela inibição da síntese de prostaglandina (ANSARI *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2017; KARROUCHI *et al.*, 2018; KHAN *et al.*, 2016).

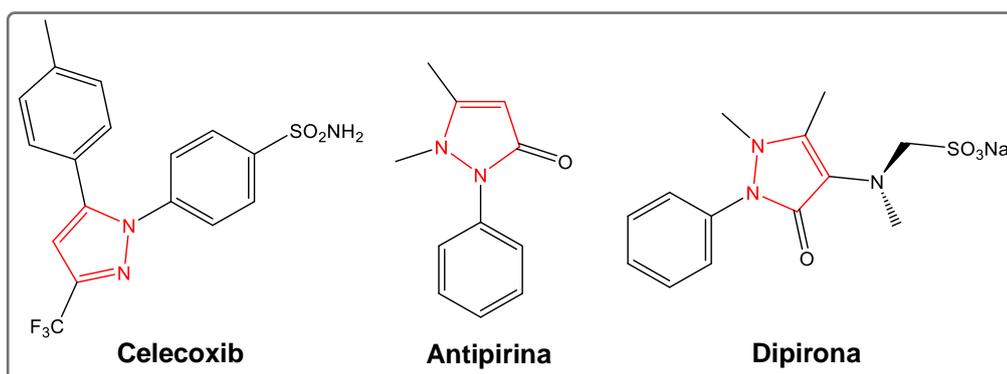


Figura 26. Estruturas do celecoxib, da antipirina e da dipirona.

Nosso grupo de pesquisa tem sintetizado e avaliado a atividade antiprotozoária de diversos derivados contendo o núcleo pirazólico, dentre eles sistemas híbridos pirazol-amidina. No primeiro trabalho, cinco derivados 1-aryl-1*H*-pirazol-4-carboximidamidas (Figura 27) foram testados frente a forma promastigota do protozoário *Leishmania amazonensis*, que apresentaram valores de IC₅₀ > 100 μM (DOS SANTOS *et al.*, 2011a).

Visando melhorar os resultados de atividade, no segundo trabalho foram planejados híbridos pirazol-imidazolina (4,5-di-hidro-1*H*-imidazol) (Figura 27), uma amidina cíclica, e avaliar o resultado dessa modificação estrutural frente a três protozoários do gênero *Leishmania*: *L. amazonensis*, *L. brasiliensis* e *L. infantum*.

Dentre os quatorze derivados 1-aryl-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazóis testados, o melhor resultado de atividade *in vitro*, frente a forma promastigota da espécie *L.*

amazonensis, foi obtido para o derivado 5-amino-1-(3,5-diclorofenil)-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazol, com $IC_{50} = 15,5 \pm 6,8 \mu M$. Tal derivado mostrou uma redução significativa de diminuição da infecção na pata de camundongo infectado pela mesma espécie de *Leishmania* (DOS SANTOS *et al.*, 2011b).

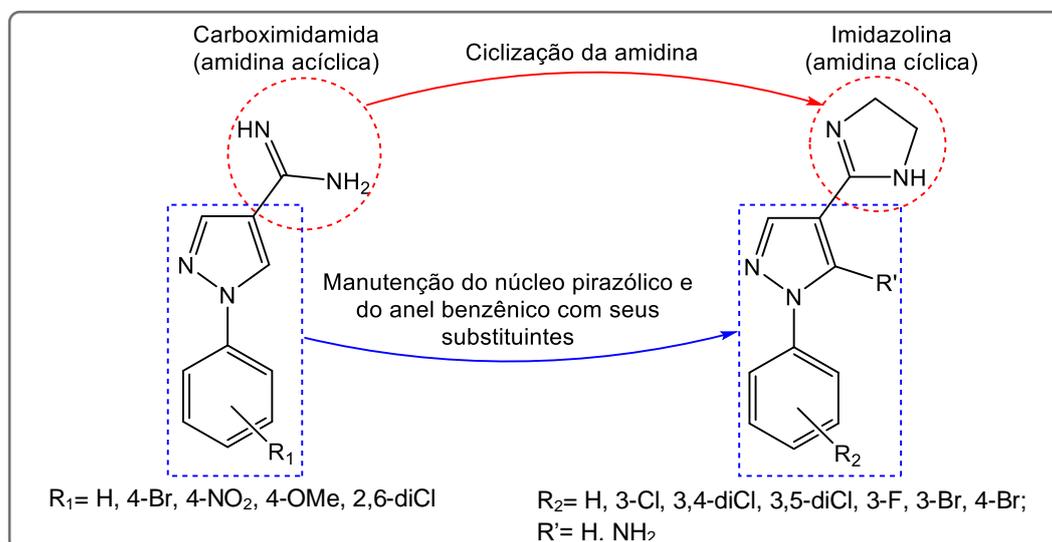


Figura 27. Estratégia de modificação molecular para obtenção dos derivados 1-aryl-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazóis.

Os protozoários do gênero *Leishmania* e o protozoário *T. cruzi* pertencem a classe *Kinetoplastida* e apresentam organização celular semelhante, o que possibilita que uma mesma substância possa ser ativa contra os dois gêneros (CASTILLO *et al.*, 2010). Devido a essas semelhanças, os derivados 5-amino-1-aryl-4-(4,5-di-hidro-1*H*-imidazol-2-il)-1*H*-pirazóis foram avaliados quanto à atividade tripanocida contra as formas tripomastigota e amastigota do protozoário *T. cruzi*. Além dos substituintes que foram obtidos para avaliação antileishmania, novos derivados com outros substituintes também foram sintetizados e testados (Figura 28).

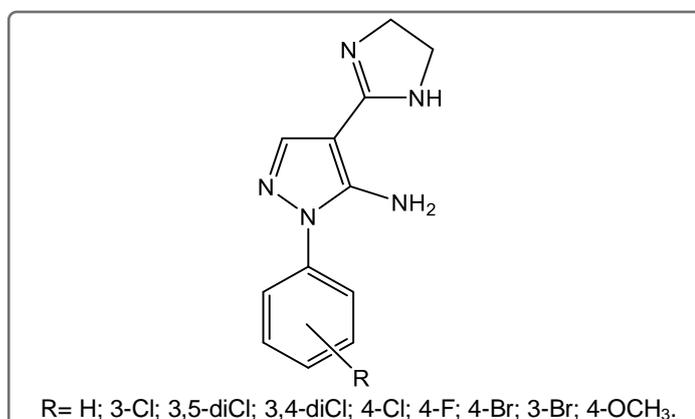


Figura 28. Estrutura geral dos derivados avaliados como tripanocida.

Os melhores resultados para ambas as formas foram para os derivados diclorados 5-amino-1-(3,4-diclorofenil)-4-(4,5-di-hidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol (**A**) e 5-amino-1-(3,5-diclorofenil)-4-(4,5-di-hidro-1H-imidazol-2-il)-1H-pirazol (**B**) (Figura 29) (DOS SANTOS *et al.*, 2011b).

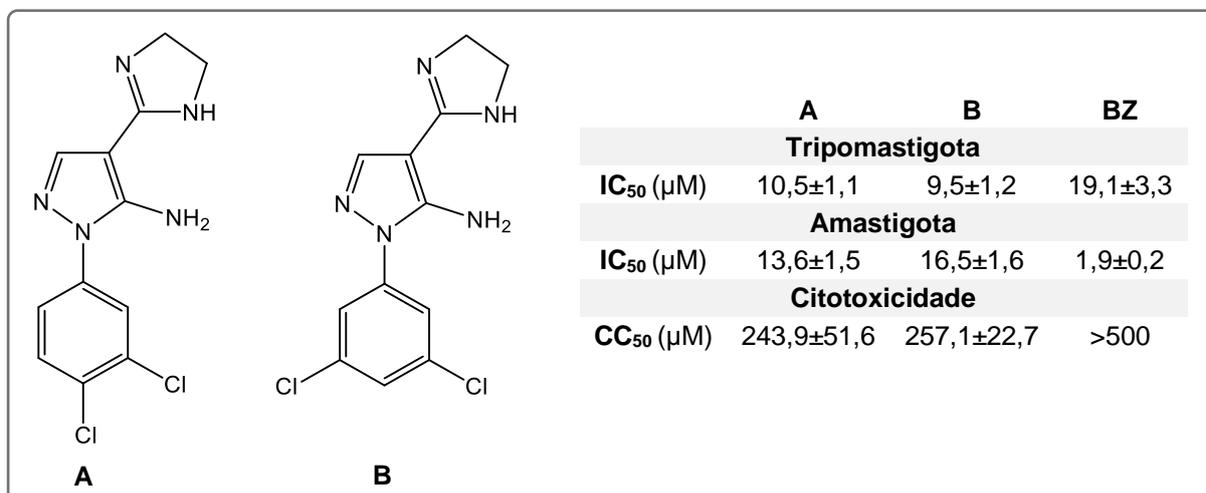


Figura 29. Estruturas dos derivados com melhor atividade tripanocida.

Frente a forma tripomastigota, os derivados **A** e **B** apresentaram valores menores que o IC₅₀ encontrado para o fármaco de referência, o BZ (IC₅₀ = 19,1 ± 3.3 μM), com IC₅₀ = 10,5 ± 1,1 e 9,5 ± 1,2 μM, respectivamente. Com relação aos resultados contra a forma amastigota, o IC₅₀ dos derivados **A** e **B**, 13,6 ± 1,5 e 16,5 ± 1,6 μM, respectivamente, foram maiores do que os valor encontrado para o BZ, cujo IC₅₀ foi igual a 1,9 ± 0,2 μM (MONTEIRO *et al.*, 2019).

A citotoxicidade também foi avaliada utilizando células Vero e foram obtidos os valores de CC₅₀ = 243,9±51,6 μM para o composto **A** e CC₅₀ = 257,1 ± 22,7 μM para o composto **B**, que podem ser considerados relativamente baixos. O índice de seletividade (SI) para os compostos foi de 17,9 para **A** e 15,6 para **B**, ambos acima do recomendado pela DNDi (SI>10) para avançar para as próximas fases de testes (MONTEIRO *et al.*, 2019).

1.3.2 TIAZOLINA

1.3.2.1 Características gerais

Os di-hidrotiazóis, ou tiazolinas, são heterociclos não aromáticos de cinco membros contendo três átomos de carbono, um átomo de nitrogênio na posição 1 e um átomo de enxofre na posição 3. Existem três isômeros para esse heterociclo, que diferenciam entre si pela posição da ligação dupla (Figura 30).

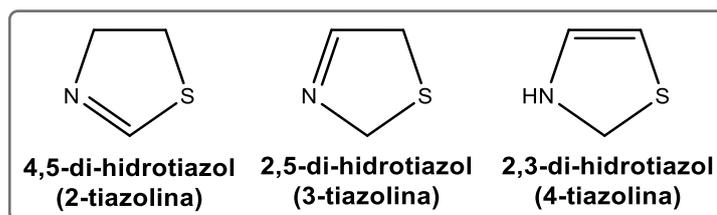


Figura 30. Estruturas dos isômeros di-hidrotiazóis.

Na literatura existem poucos relatos sobre as tiazolinas, sendo seu análogo aromático tiazol (Figura 31) encontrado em diversos compostos, principalmente em fármacos (ALSHARIF; ALAM, 2017). O análogo saturado tiazolidina (2,3,4,5-tetra-hidrotiazol) (Figura 31) também é mais facilmente encontrado na literatura, principalmente fundido ao anel β -lactâmico nas penicilinas. A reação de oxidação da 2-tiazolina leva a formação do tiazol e a reação de hidrogenação leva a formação da tiazolidina.

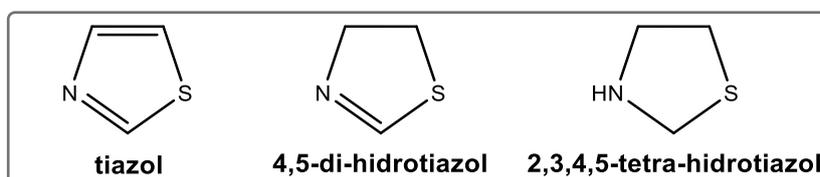


Figura 31. Estruturas do tiazol, 2-tiazolina e tiazolidina.

Os relatos mais frequentes na literatura são do isômero 4,5-di-hidrotiazol, que apresenta três estruturas de ressonância (Figura 32).

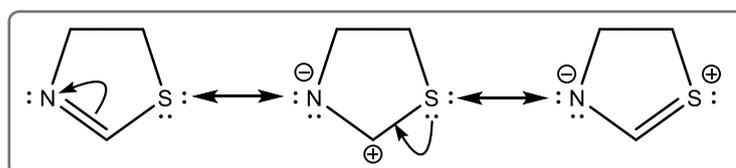
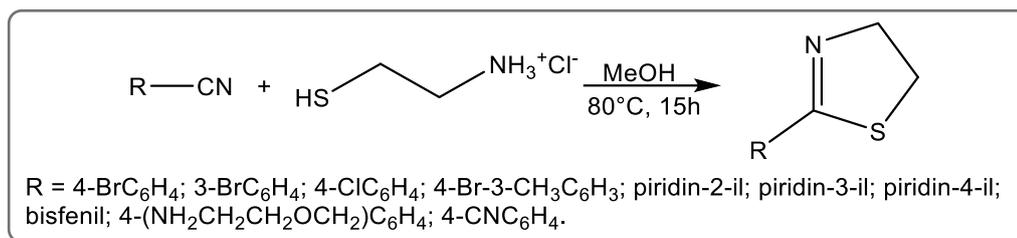


Figura 32. Estruturas de ressonância do 4,5-di-hidrotiazol.

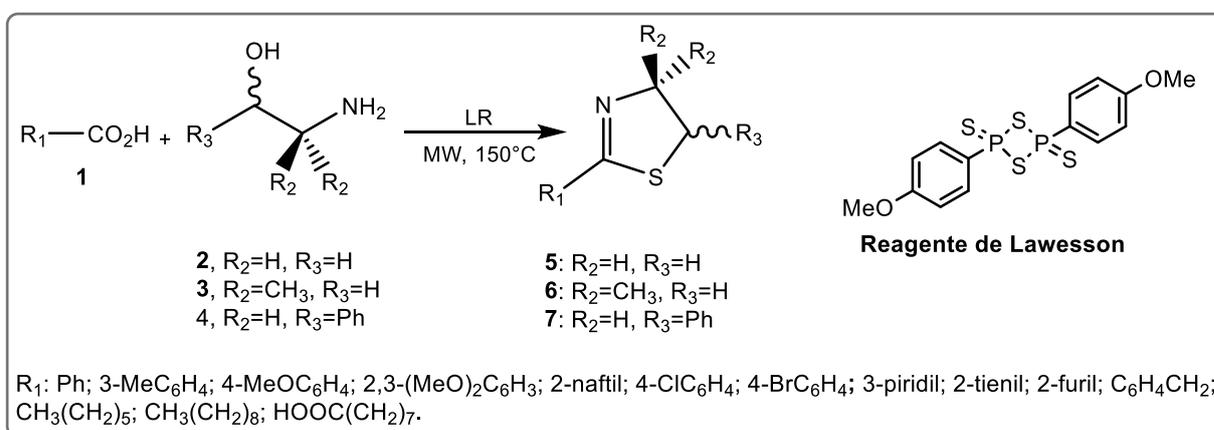
1.3.2.2 Métodos de obtenção

Os principais métodos de obtenção de tiazolinas são via β -aminotiois ou β -aminoálcoois com uma fonte externa de enxofre (GAUMONT; GULEA; LEVILLAIN, 2009). Chaudhary e colaboradores obtiveram diversos derivados 2-aryl/heteroariltiazolinas (Esquema 6) em um protocolo sem uso de base ou metal como catalisador, a partir da reação de arilnitrilas com cloridrato de 2-aminoetanotiol em metanol, a 80°C, durante 15h, com rendimentos de 33 a 99% (CHAUDHARY; MILTON; GARG, 2017).



Esquema 6. Reação de obtenção de derivados 2-ariltiazolinas.

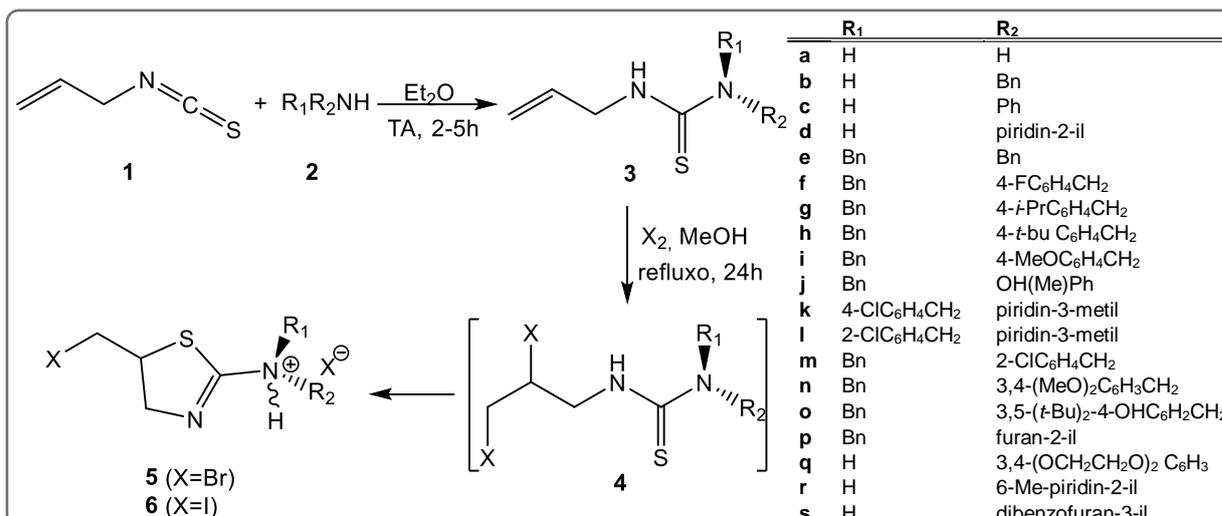
Seijas e colaboradores sintetizaram uma série de derivados 2-tiazolínicos (Esquema 7), usando irradiação de micro-ondas. Os derivados foram obtidos da reação entre ácidos carboxílicos e aminoálcoois, na presença de reagente de Lawesson como fonte de enxofre, a 150°C e 300W, durante 8 min (SEIJAS; VÁZQUEZ-TATO; CRECENTE-CAMPO, 2008).



Esquema 7. Obtenção de derivados tiazolínicos a partir de aminoálcoois.

Quando 2-aminoetanol foi utilizado, os derivados **5** foram obtidos com rendimentos de 50 a 86%; os derivados **6**, obtidos a partir do 2-amino-2-metilpropan-1-ol, foram isolados com rendimentos entre 22 a 82%; já os derivados sintetizados a partir do 2-amino-1-feniletanol **7** apresentaram rendimentos entre 28-71% (SEIJAS; VÁZQUEZ-TATO; CRECENTE-CAMPO, 2008).

Makhaeva e colaboradores reportaram a síntese de diversos derivados *N,N*-dissubstituídos-2-aminotiazolinas (Esquema 8). Os hidro-halogênios de 2-amino-substituídos-5-halometil-2-tiazolinas foram obtidos a partir reação de alilisotiocianato com a amina correspondente, em éter etílico de 2 a 5h, a temperatura ambiente (TA). As *N*-aliltioureia formadas são então halogenadas, usando Br₂ ou I₂, em metanol por 24h, a temperatura ambiente, formando intermediários que sofrem ciclização, obtendo os produtos desejados. Foram obtidos 12 derivados bromados (**5a-m**), com bons rendimentos: 77-90%; e 19 derivados iodados (**6a-s**), também com bons rendimentos: 77-88% (MAKHAEVA *et al.*, 2016).



Esquema 8. Rota sintética para obtenção de derivados *N,N*-dissubstituídos-2-aminotiazolinas.

1.3.2.3 Aplicações dos derivados tiazolínicos

O anel tiazolínico, principalmente 2-tiazolina (4,5-di-hidrotiazol), pode ser encontrado em diversas substâncias, muitas de origem natural, com potencial atividade biológica, incluindo atividades antibacteriana, antiviral, antifúngica, antineoplásica, dentre outras (GAUMONT; GULEA; LEVILLAIN, 2009; MALTSEV *et al.*, 2013; SEIJAS; VÁZQUEZ-TATO; CRECENTE-CAMPO, 2008).

A bacitracina A (Figura 33) é um dodecapeptídeo com ação antibiótica produzida por bactérias da espécie *Bacillus subtilis*. É encontrada em pomadas com ação antibacteriana na versão com um íon metálico divalente, como o zinco, e age inibindo a síntese da parede antibacteriana através do sequestro de lipídeos essenciais para a formação da parede celular. (GAUMONT; GULEA; LEVILLAIN, 2009; LEMERCIER; PIERCE, 2014).

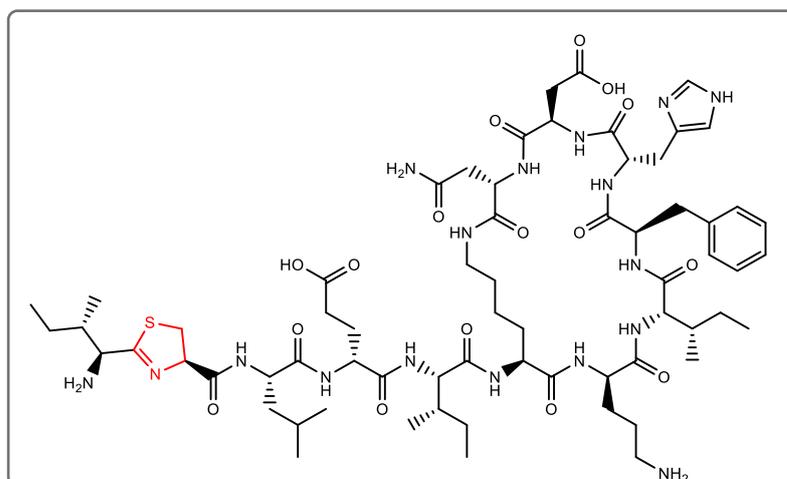


Figura 33. Estrutura da bacitracina A.

A curacina A (Figura 34) é outro produto de origem natural que contém o heterociclo 2-tiazolina. É um lipídeo isolado da cianobactéria *Lyngbya majuscula* e é um poderoso agente

antimitótico, sendo tóxica para células cancerígenas (GAUMONT; GULEA; LEVILLAIN, 2009; LEMERCIER; PIERCE, 2014; LI *et al.*, 2012; TIDGEWELL; CLARK; GERWICK, 2010). O largazol (Figura 34) é um derivado também de origem natural, isolado da cianobactéria *Symploca* sp. que apresenta atividade antineoplásica, uma vez que inibe a enzima HDAC (histonas deacetilase, do inglês *histone deacetylase*) impedindo a proliferação de células tumorais (LEMERCIER; PIERCE, 2014; LIU *et al.*, 2010; MALTSEV *et al.*, 2013; TIDGEWELL; CLARK; GERWICK, 2010).

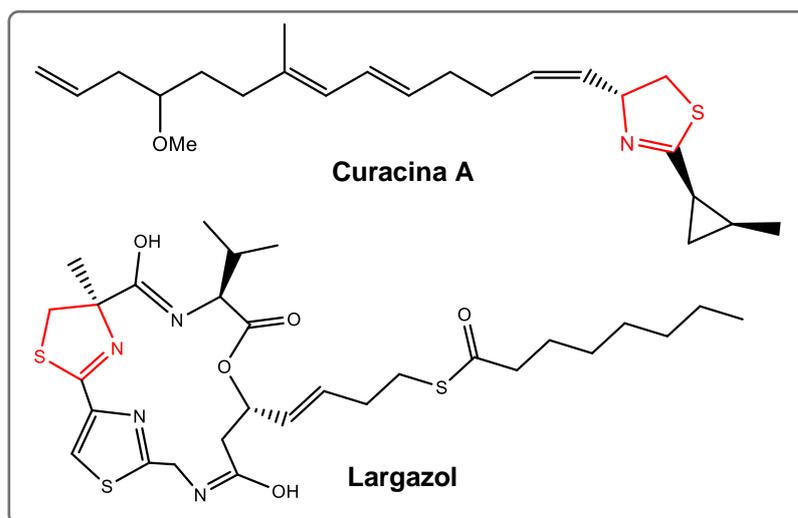


Figura 34. Estruturas da curacina A e do largazol.

1.3.3 TETRAZOL

1.3.3.1 Características gerais

Outro derivado azólico com grande interesse na química medicinal é o tetrazol (Figura 35), um heterociclo sintético composto por quatro átomos de nitrogênio, um átomo de carbono e dois átomos de hidrogênio; é o heterociclo estável com maior número de átomos de nitrogênio (BHATT, 2011; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

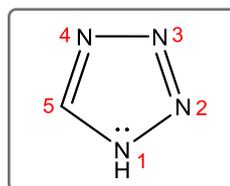


Figura 35. Estrutura do tetrazol.

O tetrazol é o derivado azólico de maior caráter ácido, cujo pK_a é 4,89. Sua acidez é similar à do ácido acético, pK_a 4,76, fazendo com que o heterociclo apresente características similares às do ácido carboxílico, uma vez que, além do pK_a equivalente, o tamanho e o arranjo espacial também são semelhantes, bem como o potencial eletrostático. Tais

características fazem com que o tetrazol seja um bioisóster não-clássico do ácido carboxílico, fator muito explorado na química medicinal, principalmente, devido a maior estabilidade metabólica do tetrazol e maior lipofilicidade, o que aumenta a permeabilidade à membrana celular (BHATT, 2011; CARLO; DONNA; SMITH III, 2013; JOULE; MILLS, 2010; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019; POZHARSKII; SOLDATENKOV; KATRITZKY, 2011).

O tetrazol, assim como todos os derivados azólicos, é aromático, com 6 elétrons π deslocalizados sobre a molécula e segue a regra de Hückel: $4n + 2 = e^- \pi$, $n = 1$. O átomo de nitrogênio ligado ao átomo de hidrogênio é do tipo “pirrólico” e os demais átomos de nitrogênio são do tipo “piridínico”. Contudo, o caráter básico dos átomos de nitrogênio piridínicos é pouco pronunciado, tendo em vista que o tetrazol é uma base fraca, com pK_a -3 do ácido conjugado da base em questão, sendo a mais fraca entre os azóis (EICHER; HAUPTMANN; SPEICHER, 2013).

Na Figura 36 são apresentadas as principais estruturas de ressonância do tetrazol, iniciada pelo átomo de nitrogênio saturado, com carga parcial positiva no átomo 1 e carga parcial negativa nos demais átomos do ciclo.

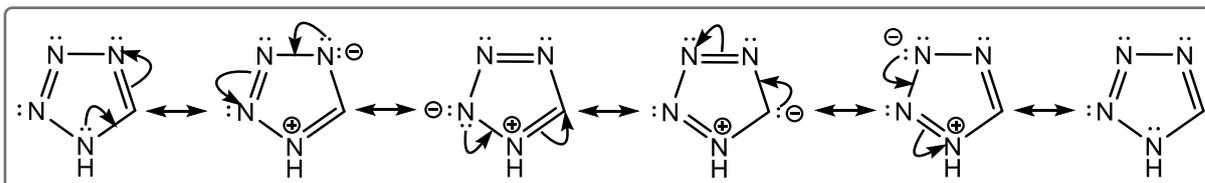
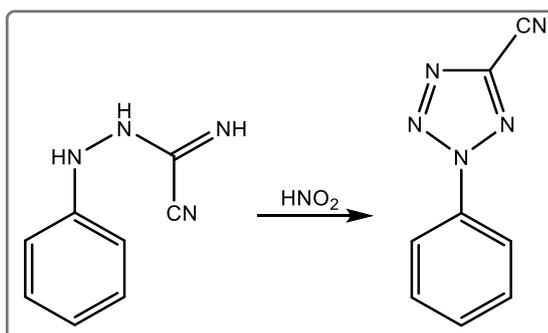


Figura 36. Estruturas de ressonância do tetrazol.

1.3.3.2 Métodos de obtenção

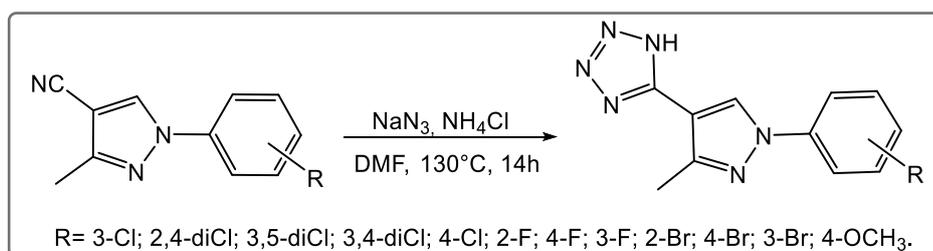
A primeira síntese de tetrazol foi reportada no ano de 1885 por J. A. Bladin (Esquema 9), que reagindo dicianofenilhidrazina com ácido nitroso observou a formação de um produto com a fórmula molecular $C_8H_5N_5$, que mais tarde nomeou de tetrazol (BENSON, 1947; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).



Esquema 9. Reação de formação do primeiro tetrazol reportado na literatura.

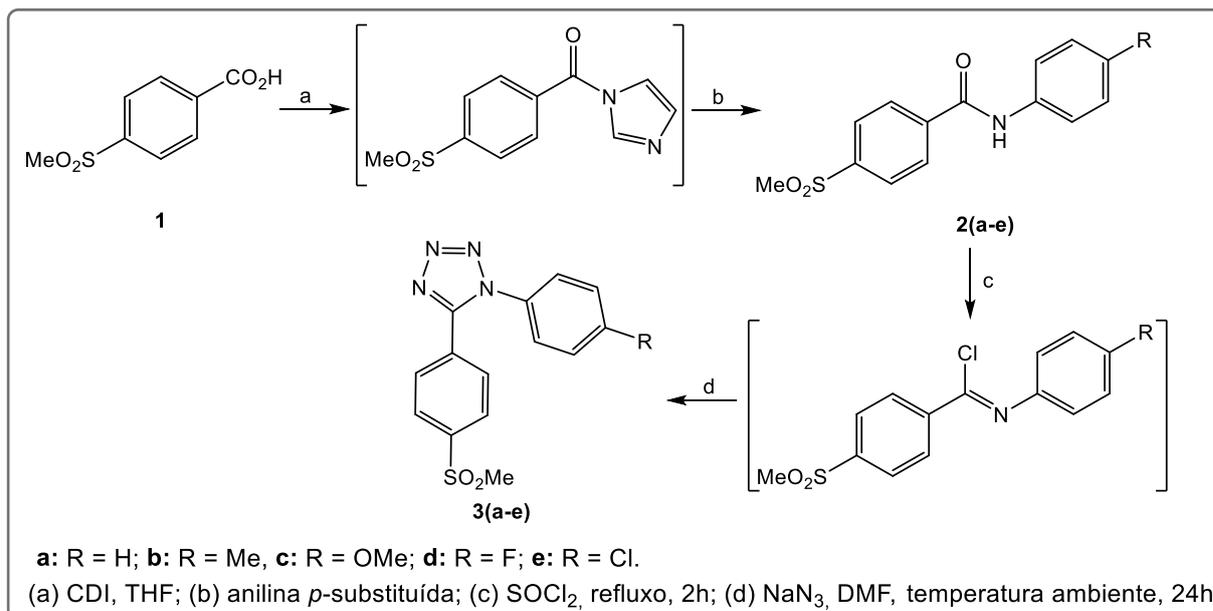
Os métodos de obtenção de derivados tetrazólicos utilizam, principalmente, azida como meio de obtenção de três dos quatro átomos de nitrogênio da molécula, reagindo com outros grupos funcionais que contêm nitrogênio, como por exemplo, amidas, amidinas, carbodiimidas, iminas, isocianatos, isotiocianatos e nitrilas. A cicloadição [3+2] 1,3-dipolar entre nitrila e azida, principalmente de azida sódica em suspensão de *N,N*-dimetilformamida (DMF), é o método mais comum utilizado e foi descrito pela primeira vez por Hantzsch e Vagt em 1901 (BHATT, 2011; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

A obtenção de tetrazóis a partir da reação descrita acima tem sido o método utilizado por nosso grupo de pesquisa para obter derivados com potencial atividade antileishmania. No trabalho publicado por Faria *et al.*, os derivados 5-(1-*aril*-3-metil-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis foram sintetizados a partir da reação dos intermediários 1-*aril*-3-metil-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas com azida de sódio e cloreto de amônio, em DMF a 130°C, com rendimentos entre 50-76% (Esquema 10) (FARIA *et al.*, 2013).



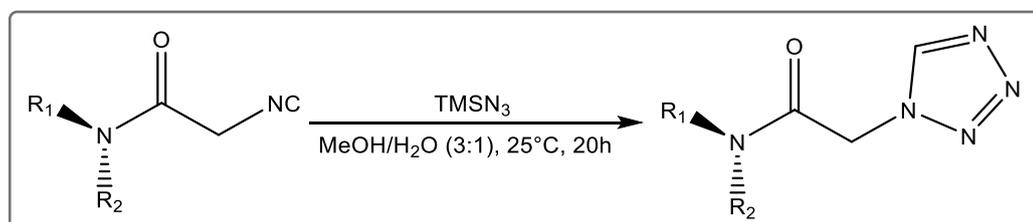
Esquema 10. Síntese dos derivados 5-(1-*aril*-3-metil-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis.

A síntese de inibidores de COX-2 1,5-diaril-tetrazóis, análogos do celecoxib (Figura 26), a partir de diarilamidas com azida de sódio foi reportada por Al-Hourani e colaboradores (Esquema 11). Os intermediários diarilamidas foram obtidas a partir da reação de ácido (4-metilsulfonyl)benzoico com 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), formando a imidazolidina correspondente *in situ*, que então reage com anilina *p*-substituída, formando as amidas **2(a-e)** com altos rendimentos: 79-90%. Os produtos finais **3(a-e)** foram obtidos a partir da reação das amidas correspondentes com cloreto de tionila, sob refluxo, por 2h. Os cloretos de imidoila formados reagiram com azida de sódio em DMF por 24h, obtendo os produtos desejados com 70 a 87% de rendimento (AL-HOURANI *et al.*, 2011, 2016; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).



Esquema 11. Rota sintética para obtenção dos derivados 1,5-diariltetrazóis.

Wang, Patil e Dömling obtiveram *N*-substituído-2(1*H*-tetrazol-1-il)acetamidas (Esquema 12) a partir da reação de *N*-alquil-2-isocianoacetamida com azida de trimetilsilila em metanol:água (3:1) durante 20h à temperatura ambiente, obtendo derivados com rendimentos bons a excelentes: 70-97% (NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019; WANG; PATIL; DÖMLING, 2016).



Esquema 12. Reação de obtenção de derivados tetrazólicos a partir de isonitrila.

1.3.3.3 Aplicações de derivados tetrazólicos

A aplicação de derivados tetrazólicos na química medicinal é amplamente difundida, principalmente devido as propriedades similares as do ácido carboxílico, já citadas na seção **1.3.3.1**. Compostos contendo tetrazol apresentam um amplo espectro de atividade biológica, como por exemplo, antibacteriana, antifúngica, antineoplásica, analgésica, anti-inflamatória, antituberculose, propriedades hormonais (DOFE *et al.*, 2018; GAO *et al.*, 2019; KAUSHIK *et al.*, 2018; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

Diversos fármacos contendo tetrazol já foram aprovados por agências de regulamentação e são comercializados. O losartan (Cozaar[®] - MDS) e o valsartan (Diovan[®] -

Novartis) (Figura 37) são antagonistas do receptor de angiotensina II utilizados como anti-hipertensivos (KAUSHIK *et al.*, 2018; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

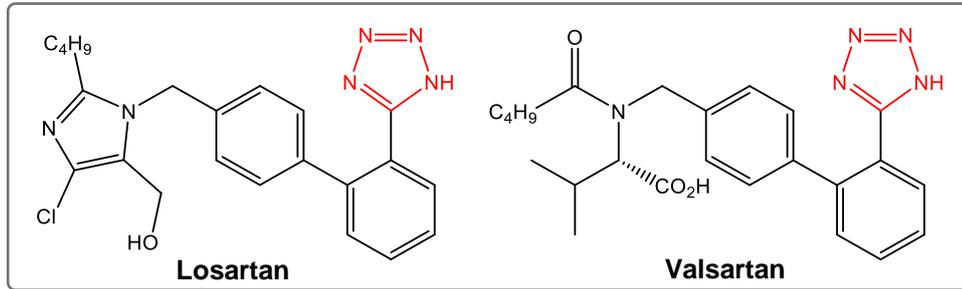


Figura 37. Estruturas dos fármacos losartan e valsartan.

Diversos antibióticos cefalosporínicos, onze no total, apresentam em sua estrutura o anel tetrazólico como por exemplo, a ceforanida e o cefamandol (Figura 38), que são utilizados no combate de diversas infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (GAO *et al.*, 2019; NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

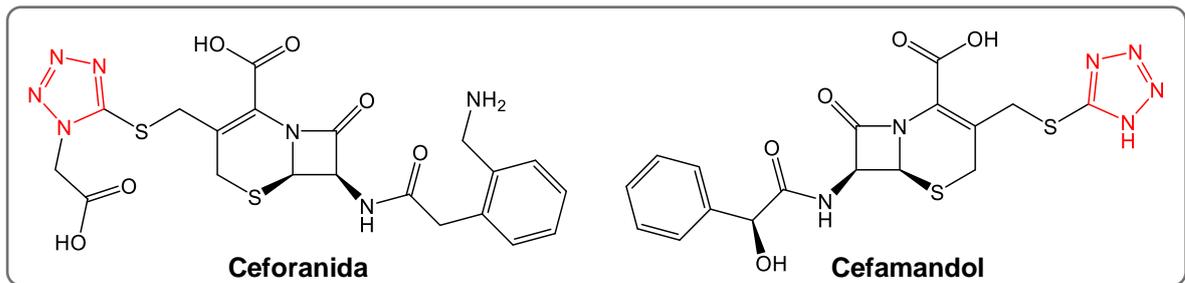


Figura 38. Estruturas dos derivados cefalosporínicos ceforanida e cefamandol.

O alfentanil (Figura 39) é um anestésico opioide de curta ação e analgésico, administrado via intravenosa, na aplicação de anestesia geral. O antialérgico pemirolast (Alegysal®/Alamast® - Santem) (Figura 39) é utilizado no tratamento de conjuntivite alérgica (NEOCHORITIS; ZHAO; DÖMLING, 2019).

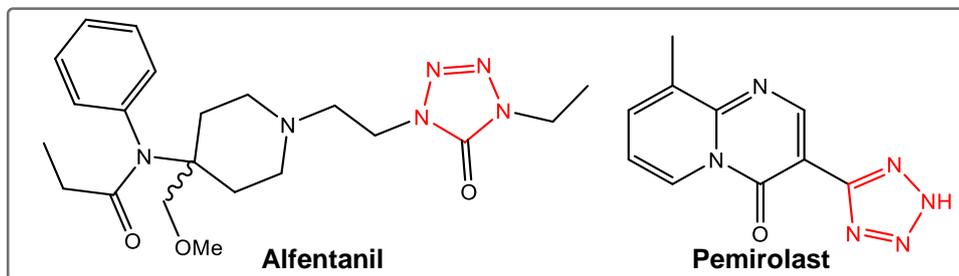


Figura 39. Estruturas do alfentanil e do pemirolast.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Sintetizar doze derivados 5-(1-*aryl-1H*-pirazol-4-*il*)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)** (Figura 40);
- Sintetizar doze derivados inéditos 2-(1-*aryl-1H*-pirazol-4-*il*)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)** (Figura 40);
- Sintetizar doze derivados 5-amino-1-*aryl-1H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)** (Figura 40), sendo quatro derivados **3(h-k)** inéditos;

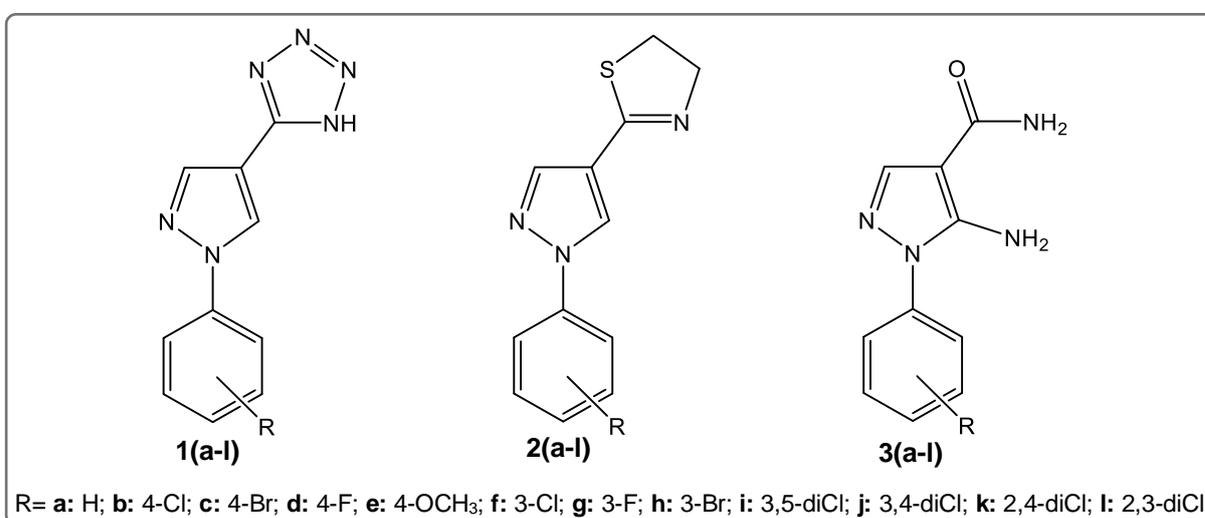


Figura 40. Estruturas dos derivados **1(a-l)**, **2(a-l)** e **3(a-l)**.

- Avaliar a atividade antibacteriana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* dos derivados **1(a-l)**;
- Avaliar a atividade tripanocida e a citotoxicidade dos derivados **2(a-l)** e **3(a-l)**.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os intermediários-chave 5-amino-1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)** (Figura 41) e 1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)** (Figura 41);

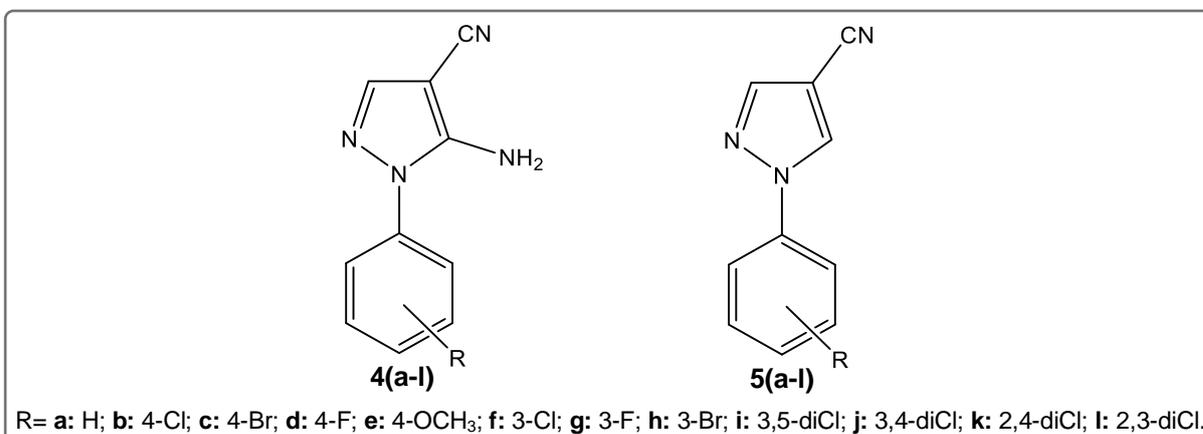


Figura 41. Estruturas dos intermediários-chave **4(a-l)** e **5(a-l)**.

- Caracterizar os intermediários-chave **4(a-l)** e **5(a-l)** a partir de determinação do ponto de fusão e da Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR);
- Caracterizar os produtos finais **1(a-l)**, **2(a-l)** e **3(a-l)** a partir da determinação do faixa de fusão e por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de Hidrogênio (RMN-¹H) e de Carbono (RMN-¹³C);
- Analisar os resultados dos estudos *in silico* das propriedade físico-químicas dos derivados **2(a-l)** e **3(a-l)**;
- Analisar a relação estrutura-atividade (SAR) dos compostos **2(a-l)** e **3(a-l)**.

3 JUSTIFICATIVAS

3.1 DOENÇA DE CHAGAS

Como apresentado no item 1.1.1.1, a doença de Chagas ainda é um grave problema de saúde pública, inclusive no Brasil, onde se tem registrado um aumento no número casos na fase aguda da doença, principalmente na região Norte do país (SVS - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

A quimioterapia da DC, como mencionado no item 1.1.1.3, consiste em apenas dois fármacos: o benznidazol, único disponível no Brasil, e o nifurtimox, que apresentam diversos efeitos colaterais, além de não apresentarem grande eficácia durante a fase crônica (BERN, 2015; DNDI, 2018; WHO, 2015), o que torna necessário o desenvolvimento de fármacos mais ativos, com menos efeitos colaterais e que sejam eficazes também na fase crônica da DC.

3.1.1 PLANEJAMENTO DOS DERIVADOS HÍBRIDOS PIRAZOL-TIAZOLINAS **2(a-l)**

Nosso grupo de pesquisa avaliou a atividade tripanocida de sistemas híbridos pirazol-imidazolina, obtendo resultados promissores, já apresentados no item 1.3.1.3. Devido ao grupo tiazolina ser um potencial grupo farmacofórico com atividades antibacteriana, antiviral, antifúngica, antineoplásica, dentre outras comprovadas, neste trabalho planejou-se obter os derivados 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)**, utilizando a seguinte estratégia (Figura 42): o bioisosterismo de anel, substituindo o anel imidazolina (amidina cíclica) por tiazolina; manutenção do núcleo pirazólico, o anel benzênico e os respectivos substituintes; e remoção do grupo amino. Os produtos obtidos serão avaliados frente ao *T. cruzi*.

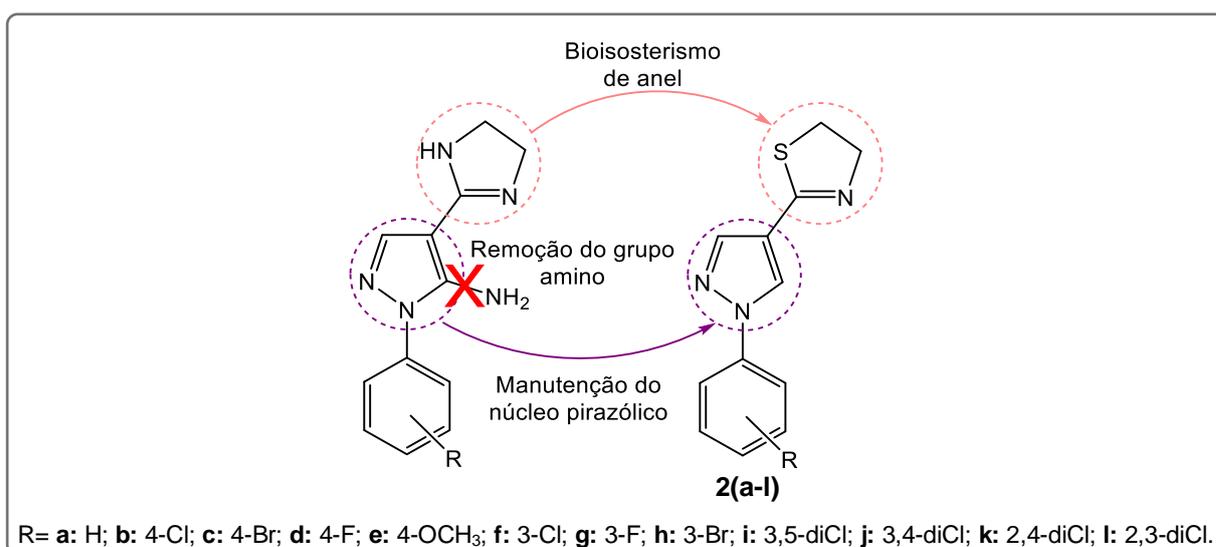


Figura 42. Estratégia para obtenção dos derivados **2(a-l)**.

3.1.2 PLANEJAMENTO DOS DERIVADOS HÍBRIDOS PIRAZOL-CARBOXAMIDAS **3(a-l)**

De acordo com os resultados de análise de estruturas obtidos em colaboração com o Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) da FIOCRUZ-RJ, coordenado pela Dr^a. Mirian Claudia de Souza Pereira, carboxamida ligada à posição 4 do anel pirazólico, presente no composto *N*-(1*H*-benzimidazol-2-il)-1,3-dimetilpirazol-4-carboxamida (**3H5**), apresenta forte interação com a cruzipáina, uma importante enzima para sobrevivência e metabolismo do protozoário *T. cruzi*.

Baseado nesses resultados, os derivados 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)** foram concebidos como uma simplificação do composto **3H5** (Figura 43), removendo o anel benzoimidazólico e o grupo metila da posição 3 do pirazol. Optou-se pela manutenção do núcleo pirazólico do composto **3H5** com a carboxamida na posição 4, trocando o grupo metila da posição 1 do pirazol por um anel benzênico com diferentes substituintes, além da adição do grupo amino (NH₂). Assim como para os derivados **2(a-l)**, a atividade dos derivados **3(a-l)** será avaliada frente ao *T. cruzi*.

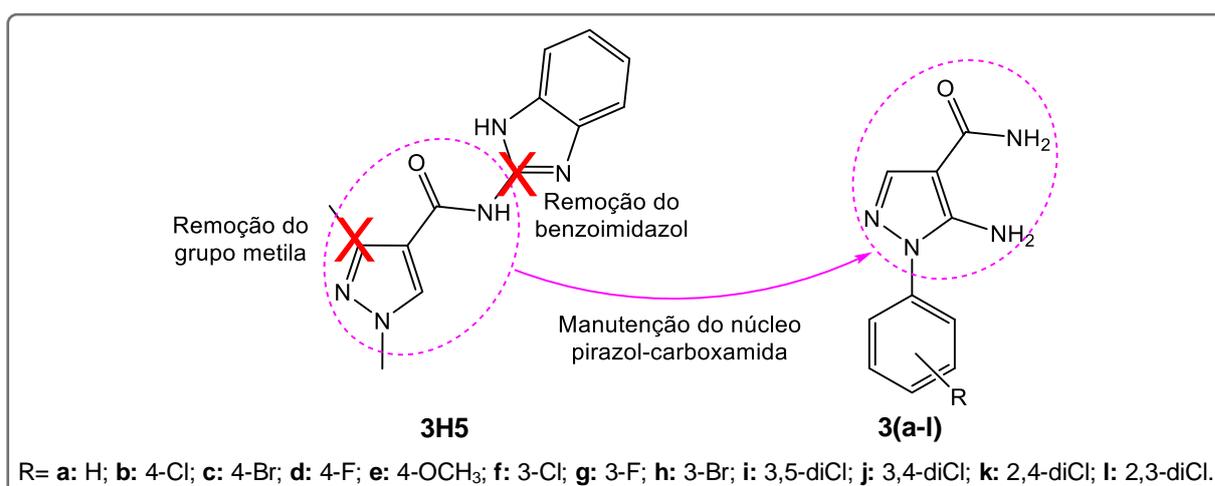


Figura 43. Estratégia para obtenção dos derivados **3(a-l)**.

3.2 DOENÇAS DE ORIGEM BACTERIANA

Infecções de origem bacteriana têm se tornado um grave problema de saúde pública, como apresentado no item **1.2.3**, principalmente devido ao aumento da resistência e pela escassez de novos antibacterianos sendo disponibilizados clinicamente, o que mostra a importância de pesquisas para o desenvolvimento de novas substâncias com atividade antibacteriana.

3.2.1 PLANEJAMENTO DOS DERIVADOS HÍBRIDOS PIRAZOL-TETRAZÓIS **1(a-l)**

O pirazol é um heterociclo com grande importância biológica, uma vez que apresenta um amplo espectro de ação, como atividades antiprotozoária, anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, dentre outras. Em se tratando da atividade antibacteriana, diversos autores têm investido no desenvolvimento de moléculas contendo o núcleo pirazólico que vem se mostrando promissoras frente a algumas espécies de bactérias, como por exemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis* (FARIA *et al.*, 2017).

O tetrazol é um dos bioisósteres mais importantes do ácido carboxílico, principalmente devido às propriedades físico-químicas similares, como o pKa. Contudo, o tetrazol apresenta como principal vantagem o fato de ser mais lipofílico, tendo maior permeabilidade à membrana celular (CARLO; DONNA; SMITH III, 2013). Ao longo dos anos, muito se tem estudado sobre a atividade biológica dos tetrazóis, que apresentam propriedades antineoplásica, anti-inflamatória, antiviral e antibacteriana (DOFE *et al.*, 2018; MOHITE; BHASKAR, 2011; SHAN *et al.*, 2014).

Diante das características dos dois heterociclos, pirazol e tetrazol, neste trabalho foi delineada a síntese de híbridos pirazol-tetrazol (Figura 44), a fim de verificar a eficácia dos derivados 5-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazólicos **1(a-l)** contra infecções bacterianas.

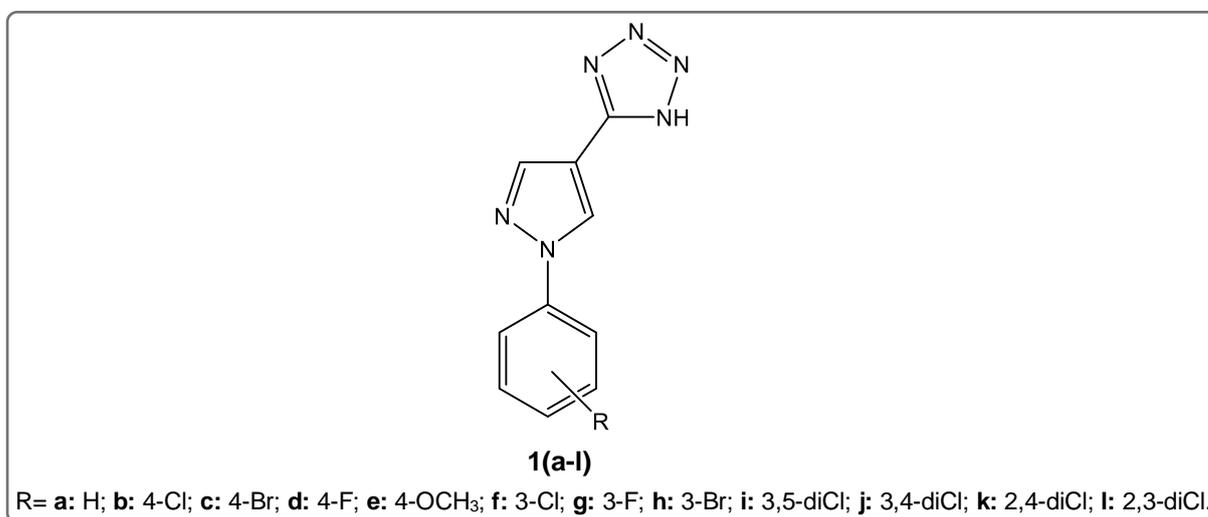


Figura 44. Estrutura dos híbridos pirazol-tetrazol planejados **1(a-l)**.

4 METODOLOGIAS

4.1 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA

Os derivados 5-(1-*aryl-1H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)** e 2-(1-*aryl-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)** foram planejados a partir da interconversão de grupo funcional (IGF) dos intermediários 1-*aryl-1H*-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)**; os produtos 5-amino-1-*aryl-1H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)** foram concebidos a partir da IGF dos intermediários 5-amino-1-*aryl-1H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**, que por sua vez foram idealizados a partir da adição de grupo funcional (AGF) aos intermediários **5(a-l)**. A desconexão das ligações N₂-C₃ e N₁-C₅ nos intermediários **4(a-l)** originam as arilhidrazinas **6(a-l)** utilizadas como matérias-primas (Figura 45).

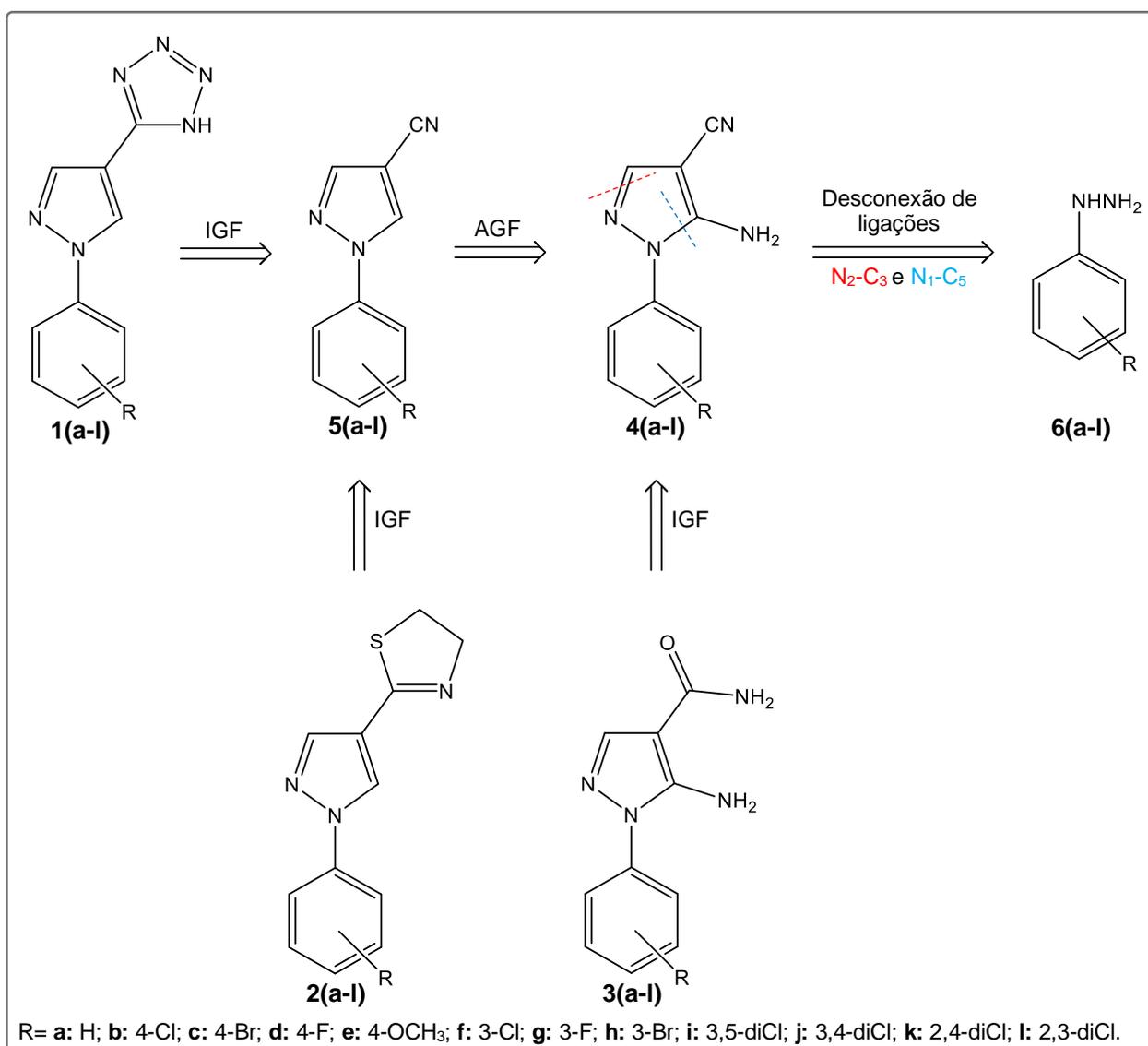


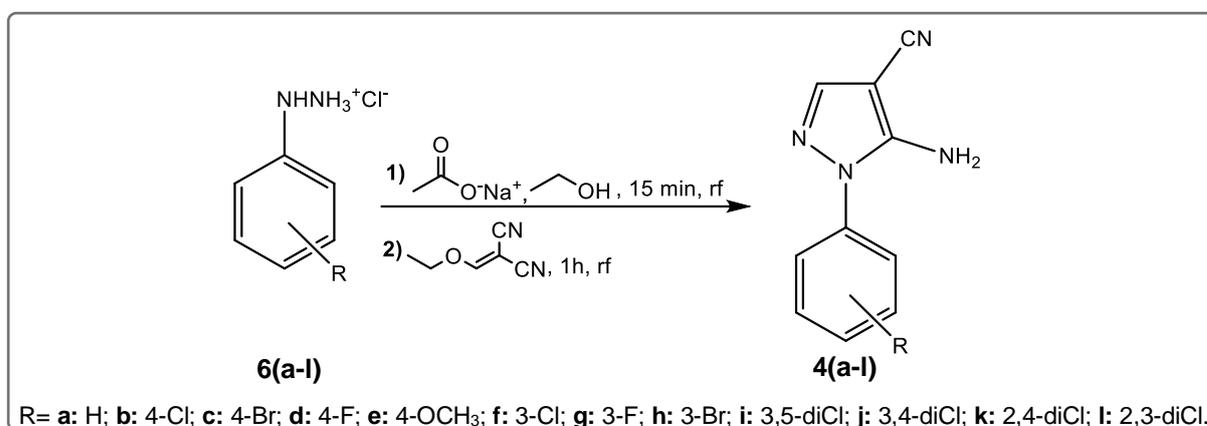
Figura 45. Análise retróssintética dos derivados propostos.

4.2 METODOLOGIAS DE SÍNTESE

4.2.1 SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-(1-ARIL-1H-PIRAZOL-4-IL)-1H-TETRAZÓIS **1(a-l)**

4.2.1.1 Primeira etapa: Síntese dos intermediários-chave 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**

A um balão de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, adicionou-se 2,0010 g (0,014 mol; GP: 99%) de cloridrato de fenilhidrazina, 3,7285 g (0,028 mol) de acetato de sódio tri-hidratado e 20 mL de etanol (Esquema 13), que foram aquecidos até o refluxo, sob agitação magnética. Após 15 min, adicionou-se 1,7717g (0,014 mol; GP: 94%) de etoximetilnomalonitrila e o refluxo foi mantido. O final da reação foi evidenciado, após 1h, por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando diclorometano como eluente. O produto **4a** foi vertido em água destilada gelada e o precipitado obtido foi filtrado a vácuo e lavado com cerca de 250 mL de água destilada gelada (DOS SANTOS *et al.*, 2011b). Os derivados **4(c-i)** foram obtidos de maneira análoga, partindo do cloridrato de arilhidrazina correspondente, sendo que os derivados **4b**, **4j**, **4k** e **4l** foram sintetizados por outros integrantes do grupo de pesquisa.

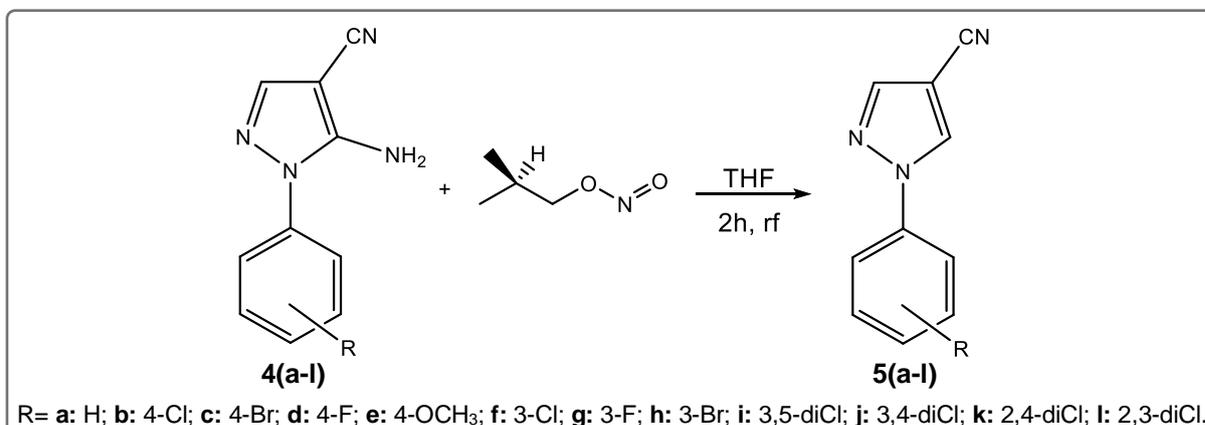


Esquema 13. Síntese dos derivados 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**.

4.2.1.2 Segunda etapa: Síntese dos intermediários-chave 1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)**

A um balão de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foram adicionados 7,2 mL de nitrito de 2-metilpropila (nitrito de isobutila) e 20 mL de tetra-hidrofurano (THF). Em seguida, a mistura foi aquecida até o refluxo, sob agitação magnética, durante 15 min (Esquema 14). Adicionou-se 1,7771 g (0,01 mol) de **4a**, obtido conforme a metodologia descrita no item **4.2.1.1**. A reação foi acompanhada por CCD (DOS SANTOS *et al.*, 2011b). Ao fim da reação, os voláteis foram removidos a pressão reduzida e o sólido obtido foi

solubilizado com etanol e reprecipitado em água destilada gelada. O produto **5a** obtido foi filtrado à vácuo e lavado com água destilada gelada. Os derivados **5(b-j, l)** foram obtidos de maneira análoga, partindo dos intermediários-chave **4(b-j, l)** correspondentes. O derivado **5k** foi obtido por outro integrante do grupo.

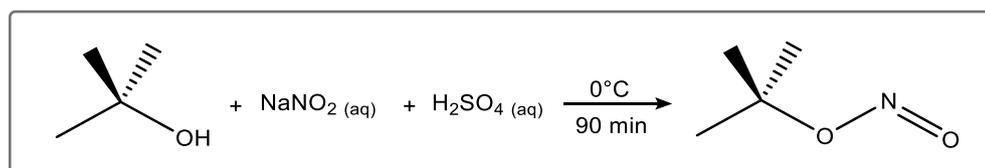


Esquema 14. Síntese dos derivados 1-*aryl*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)**.

Para a obtenção dos derivados **5d**, **5h**, **5i** e **5l** foi utilizado nitrito de *t*-butila, pois não havia mais nitrito de isobutila disponível. Assim, como havia *t*-butanol (2-metilpropan-2-ol), o nitrito de *t*-butila foi sintetizado seguindo a metodologia descrita a seguir.

Síntese do nitrito de dimetiletila (nitrito de *t*-butila)

O nitrito de dimetiletila (nitrito de *t*-butila) foi obtido baseado na metodologia descrita por Meng e colaboradores (Esquema 15). A um balão de 250 mL bitubulado, adicionou-se 21,6280 g (0,3 mol) de 2-metilpropan-2-ol (*t*-butanol), 35,2216g (0,51 mol) de nitrito de sódio em 150 mL de água destilada gelada. Em seguida, 40 mL de solução de ácido sulfúrico 35% v/v foram adicionados lentamente, mantendo a temperatura da reação a 0°C. Ao fim da adição da solução de ácido, que durou 90 min, as fases aquosa e orgânica foram separadas no funil de separação. A fase orgânica foi lavada com 150 mL de água, 50 mL de solução de NaHCO₃ 5% m/v e a água residual foi removida com cloreto de cálcio anidro. A fase aquosa foi descartada adequadamente (MENG; YANG; LIU, 2011).



Esquema 15. Síntese do nitrito de *t*-butila.

4.2.1.3 Terceira etapa: Síntese dos derivados 5-(1-*aril*-1H-pirazol-4-il)-1H-tetrazóis **1(a-I)**

Para a síntese do derivado **1a**, a um balão de 50 mL, acoplado ao condensador de refluxo, foram adicionados 0,2003 g (1,18 mmol) de **5a**, 0,3847 g (5,92 mmol) de azida de sódio, 0,3169 g (5,92 mmol) de cloreto de amônio e 10 mL de DMF. A temperatura da reação foi mantida entre 148-155°C, por 25h e o fim da reação foi evidenciada por CCD. A reação foi então vertida em cerca de 30 mL de água destilada gelada e o sólido obtido foi filtrado a vácuo e lavado com cerca de 50 mL de água destilada gelada. Os derivados **1(b-I)** foram obtidos de maneira análoga.

4.2.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS 2-(1-*ARIL*-1H-PIRAZOL-4-IL)-4,5-DI-HIDROTHIAZÓIS **2(a-I)**

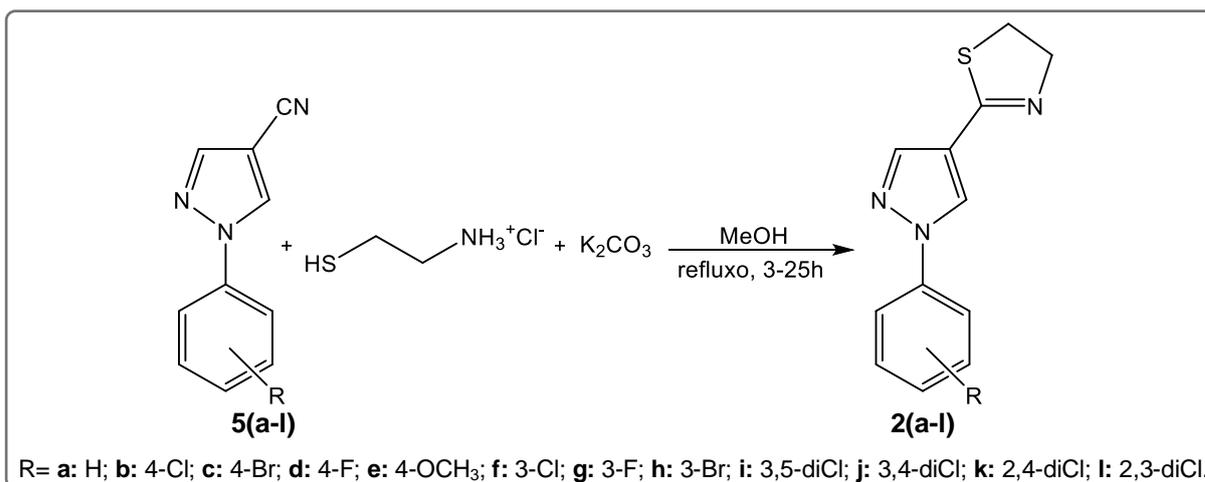
4.2.2.1 Primeira etapa: Síntese dos intermediários-chave 1-*aril*-1H-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-I)**

Os derivados **5(a-I)** foram obtidos conforme a metodologia descrita no item **4.2.1.2**.

4.2.2.2 Segunda etapa: Síntese dos derivados 2-(1-*aril*-1H-pirazol-4-il)-4,5-dihidrotiazóis **2(a-I)**

A um balão de 10 mL, acoplado ao condensador de refluxo, foram adicionados 0,2019 g (1,8 mmol) de cloridrato de 2-aminoetanotiol (AET) e 0,1228 g (0,9 mmol) de carbonato de potássio em metanol. Após atingida a temperatura de refluxo, a mistura foi mantida sob agitação magnética por 30 min, então adicionou-se de 0,1507 g (0,9 mmol) de **5a** (Esquema 16). O progresso da reação foi acompanhado por CCD (CHAUDHARY; MILTON; GARG, 2017; TROSE *et al.*, 2015).

Ao término da reação, após 3,5h, o produto **2a** foi isolado em cerca de 20 mL de água destilada gelada, o precipitado formado foi filtrado à vácuo e lavado com aproximadamente 50 mL de água destilada gelada. Os derivados **2(b-I)** foram obtidos seguindo a mesma metodologia.



Esquema 16. Síntese dos derivados 2-(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)**.

4.2.2.3 Terceira etapa: Síntese dos cloridratos de 2-(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l).HCl**

O respectivo derivado **2(a-l)** foi solubilizado em acetona PA, utilizando o volume mínimo necessário para solubilização. Em seguida, borbulhou-se cloreto de hidrogênio, obtido da reação entre ácido sulfúrico concentrado e cloreto de sódio PA até que fosse observada a formação de precipitado. O precipitado obtido foi filtrado à vácuo e lavado com acetona gelada.

4.2.3 SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-AMINO-1-ARIL-1*H*-PIRAZOL-4-CARBOXAMIDAS **3(a-l)**

4.2.3.1 Primeira etapa: Síntese dos intermediários-chave 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**

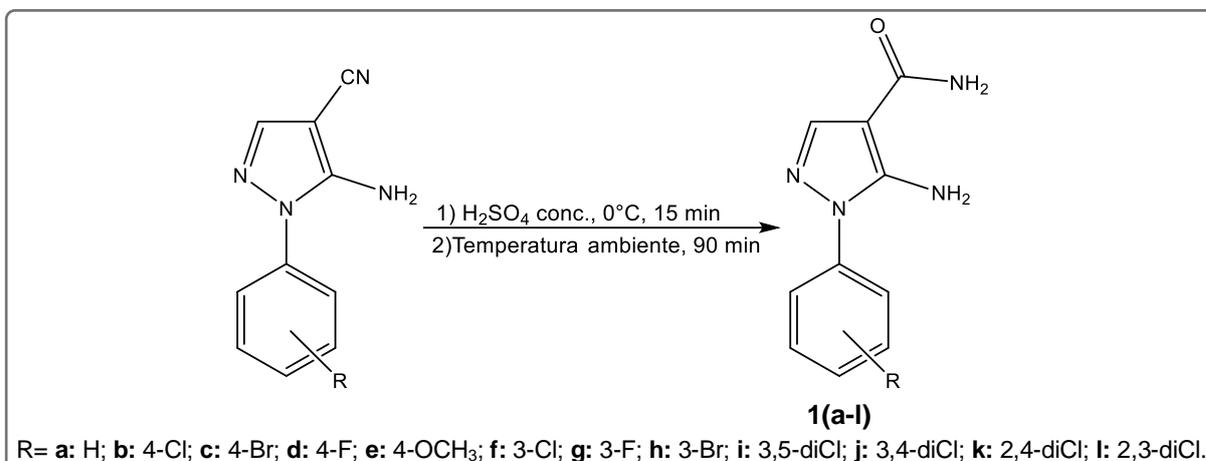
Os derivados **4(a-l)** foram obtidos conforme a metodologia descrita no item **4.2.1.1**.

4.2.3.2 Segunda etapa: Síntese dos derivados 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)**

A um balão de 10 mL foram adicionados 2 mL de ácido sulfúrico concentrado (95-98%), que foi mantido em banho de gelo e cloreto de sódio a 0°C por 15 min, sob agitação magnética (Esquema 17). Adicionou-se então, 0,1999 g (0,001 mol) de **4a** lentamente, durante 20 min, mantendo a temperatura máxima de 0°C durante a adição. Ao término da adição, o banho de resfriamento foi removido e a reação foi mantida a temperatura ambiente por 90 min e o término foi evidenciado por CCD (CHENG; ROBINS, 1956).

A mistura foi tratada com solução de hidróxido de sódio 2 mol.L⁻¹, até que se observou a formação de precipitado. O produto **3a** obtido foi filtrado a vácuo e lavado com água

destilada gelada até atingir pH neutro. Os derivados **3(b-l)** foram obtidos utilizando a mesma metodologia.



Esquema 17. Síntese dos derivados 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **1(a-l)**.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS E ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

4.3.1 DETERMINAÇÃO DAS FAIXAS DE FUSÃO

As faixas de fusão foram mensuradas em duplicata no aparelho Fisatom modelo 431 no Laboratório de Síntese Orgânica (LABSINTO/UNIFEI) ou no aparelho Marte modelo PFD III no Laboratório de Química Orgânica (LQO/UNUFEI), sem correção da temperatura.

4.3.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros na região do Infravermelho foram adquiridos no aparelho modelo Spectrum 100 PerkinElmer, utilizando a técnica ATR com diamante-ZnSe, 16 varreduras, resolução de 4 cm⁻¹, no laboratório de Espectroscopia (UNIFEI).

4.3.3 ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas Q-TOF ZQ-4000 da marca Micromass/Waters de alta resolução (HRMS), utilizando capilar 3,0 kV, cone 30,0 V, extrator 1 V, lente RF 1,0 V, temperatura da fonte 150° C, temperatura de dessolvatação 300°C, com ionização por eletrospray (ESI-MS), na Central Analítica (FIOCRUZ-RJ).

4.3.4 CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Os cromatogramas foram obtidos em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) da marca Agilent. A coluna utilizada nas análises é a HP-5 da Agilent, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura de

filme de 0,25 µm. A injeção da amostra foi de 1 µL, à temperatura de 20°C e split na razão 20:1. A temperatura inicial do forno no primeiro minuto foi de 60°C, com rampa de 13°C/minuto até atingir 300°C. As análises foram realizadas na Central Analítica (FIOCRUZ-RJ).

4.3.5 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

As análises de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C estão sendo realizadas utilizando um instrumento BRUKER Avance 400MHz ou 500MHz, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$) como solvente e tetrametilsilano ($\text{TMS} - \text{Si}(\text{CH}_3)_4$) como padrão interno, na Central Analítica (FIOCRUZ-RJ).

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.4.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os testes de atividade antibacteriana de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e de Concentração Mínima Bactericida (CMB) foram realizados no Laboratório de Epidemiologia Molecular e Biotecnologia (LEMB) da Universidade Federal Fluminense (UFF), sob coordenação do Prof. Dr. Fábio Aguiar Alves.

4.4.1.1 Amostras bacterianas

As amostras bacterianas (*Staphylococcus aureus* HU25 e *Pseudomonas aeruginosa*) utilizadas são do acervo de bactérias do Laboratório de Epidemiologia Molecular e Biotecnologia (LEMB).

4.4.1.2 Ensaios *in vitro*

a. Concentração Mínima Inibitória (CMI)

As amostras bacterianas foram semeadas em *Tryptic Soy Agar* (TSA) por esgotamento e a placa foi incubada a 37°C por 24h. Os derivados **1(a-l)** foram solubilizados na concentração 10 mg/mL em DMSO, e foi realizada uma diluição seriada em placa de microtitulação utilizando *Brain Heart Infusion* (BHI) como meio.

Foram adicionados 180 µL de meio BHI nos primeiros poços das colunas e 100 µL nos demais poços. Em seguida foram aplicados 20 µL do composto a ser testado nos poços contendo 180 µL. O conteúdo foi ressuspensão e uma alíquota de 100 µL será retirada e aplicada no poço seguinte contendo 100 µL de meio. Ao final, os últimos 100 µL foram

descartados. Sendo assim, até essa etapa os compostos estarão na maior concentração com 1024 µg/mL, decrescendo pela metade a cada poço subsequente.

Para o controle positivo do teste para a bactéria Gram-positiva (*S. aureus*) foi utilizada a vancomicina, enquanto para o controle positivo do teste com a bactéria Gram-negativa (*P. aeruginosa*) foi utilizada a polimixina B.

De 3 a 5 colônias, da placa de Petri com meio TSA previamente preparada, foram inoculadas em 5 mL de solução salina estéril (escala de McFarland 0,5 - $1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e 100 µL dessa suspensão foram aplicados em todos os poços, exceto no branco. Após essa aplicação, o composto ficará na maior concentração com 512 µg/mL. A placa foi então incubada em estufa a 37°C por 24h.

Para a leitura da placa foi utilizado 20 µL do corante resazurina. A CMI é a menor concentração do derivado que inibir o crescimento visível da cultura bacteriana. A leitura é visual: a cor rosa indica crescimento bacteriano e a azul, ausência de crescimento.

b. Concentração Mínima Bactericida (CMB)

Em placa de Petri com meio TSA dividida em nove campos, foram aplicados 10 µL da respectiva diluição, as oito diluições dos derivados obtidas na placa para a observação da CMI e o controle positivo, em cada campo, seguindo incubação à 37°C por 24h.

Após esse intervalo, o campo em que não houve crescimento bacteriano foi determinado como sendo o valor da CMB, que é definido como a menor concentração capaz de eliminar 99,9% do inóculo bacteriano.

4.4.2 ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Os testes de atividade tripanocida de Concentração Inibitória média (IC₅₀) frente a células amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi* e de Citotoxicidade Celular (CC₅₀) estão sendo realizados no Laboratório de Ultraestrutura Celular (LUC) na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz-RJ), sob coordenação da Dr^a. Mirian Claudia de Souza Pereira.

4.4.2.1 *Cultivo celular*

Células Vero, células provenientes de rim de macaco verde (ATCC® CCL81™), são mantidas semanalmente no LUC por dissociação com tripsina e EDTA (ácido etilenodiaminotetra-acético) em solução tampão de fosfato. Em seguida, as células isoladas foram lavadas em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino e semeadas em frascos de cultura de 150 cm².

4.4.2.2 Ensaio de citotoxicidade

Células Vero, foram semeadas na densidade de $1,5 \times 10^4$ células/poço em placas de 96 poços. Após 24h de cultivo, as células Vero foram expostas a uma faixa de concentração dos derivados **2(a-I)** e **3(a-I)** (1,95-500 μM). Após 72 h de tratamento, a viabilidade celular foi medida com o Kit CellTiter Glo[®] (Promega). A leitura foi realizada no SpectraMax M2 utilizando o programa SoftMax Pro software versão 6.4 (Molecular Devices).

A concentração de composto que reduz 50% da viabilidade celular dos mamíferos (CC_{50}) foi determinado por regressão linear. O controle foi realizado em baixa concentração (1%) de dimetilsulfóxido (DMSO). Os ensaios foram realizados em duplicatas em pelo menos três ensaios independentes.

4.4.2.3 Avaliação da atividade tripanocida

A triagem de compostos ativos contra *T. cruzi* foi realizada em tripomastigotas (1×10^6 parasitas/poço) clone Dm28c-Luc, foram tratados por 24 h a 37°C com os derivados **2(a-I)** e **3(a-I)** e BZ em diferentes concentrações (0,41-100 μM).

Os parasitas viáveis do clone Dm28c-Luc do *T. cruzi* foi determinado pela atividade da enzima luciferase. O sinal luminescente foi detectado no leitor FlexStation 3. Os valores de IC_{50} , concentração capaz de reduzir o número de parasitas viáveis em 50%, foi calculado por regressão linear. BZ e DMSO (concentração de 1%) foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente.

4.4.3 ESTUDOS *IN SILICO*

As propriedades físico-químicas dos compostos **2(a-I)** e **3(a-I)** estão sendo avaliadas em parceria com o LUC utilizando o programa Datawarrior, onde foram avaliadas as regras de Lipinski, a solubilidade e a área de superfície polar.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS

5.1.1 SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-(1-ARIL-1H-PIRAZOL-4-IL)-1H-TETRAZÓIS **1(a-l)**

5.1.1.1 Primeira etapa: Síntese dos intermediários-chave 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**

Os derivados 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)** foram obtidos a partir da reação entre cloridatos de arilhidrazinas **6(a-l)**, acetato de sódio em etanol e posterior adição de etoximetilnomalononitrila, conforme a metodologia descrita no item **4.2.1.1**. Os derivados sintetizados são apresentados na Figura 46.

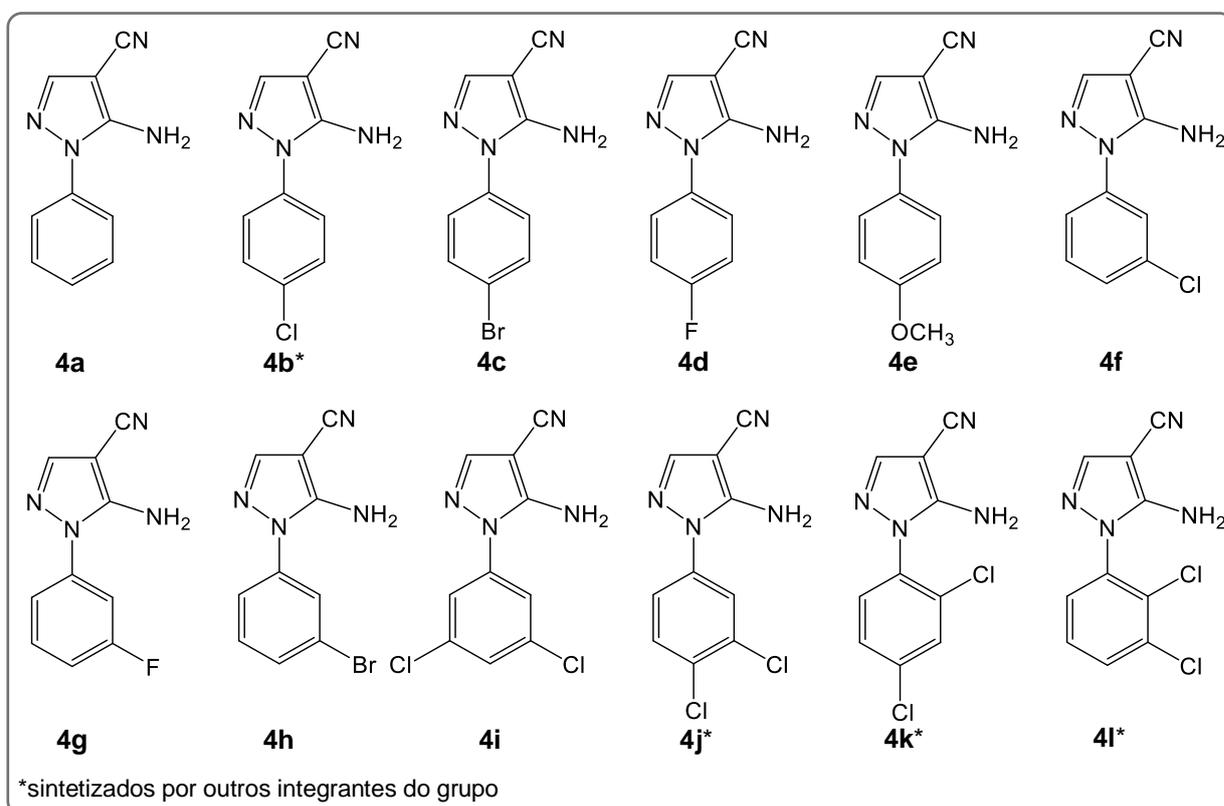
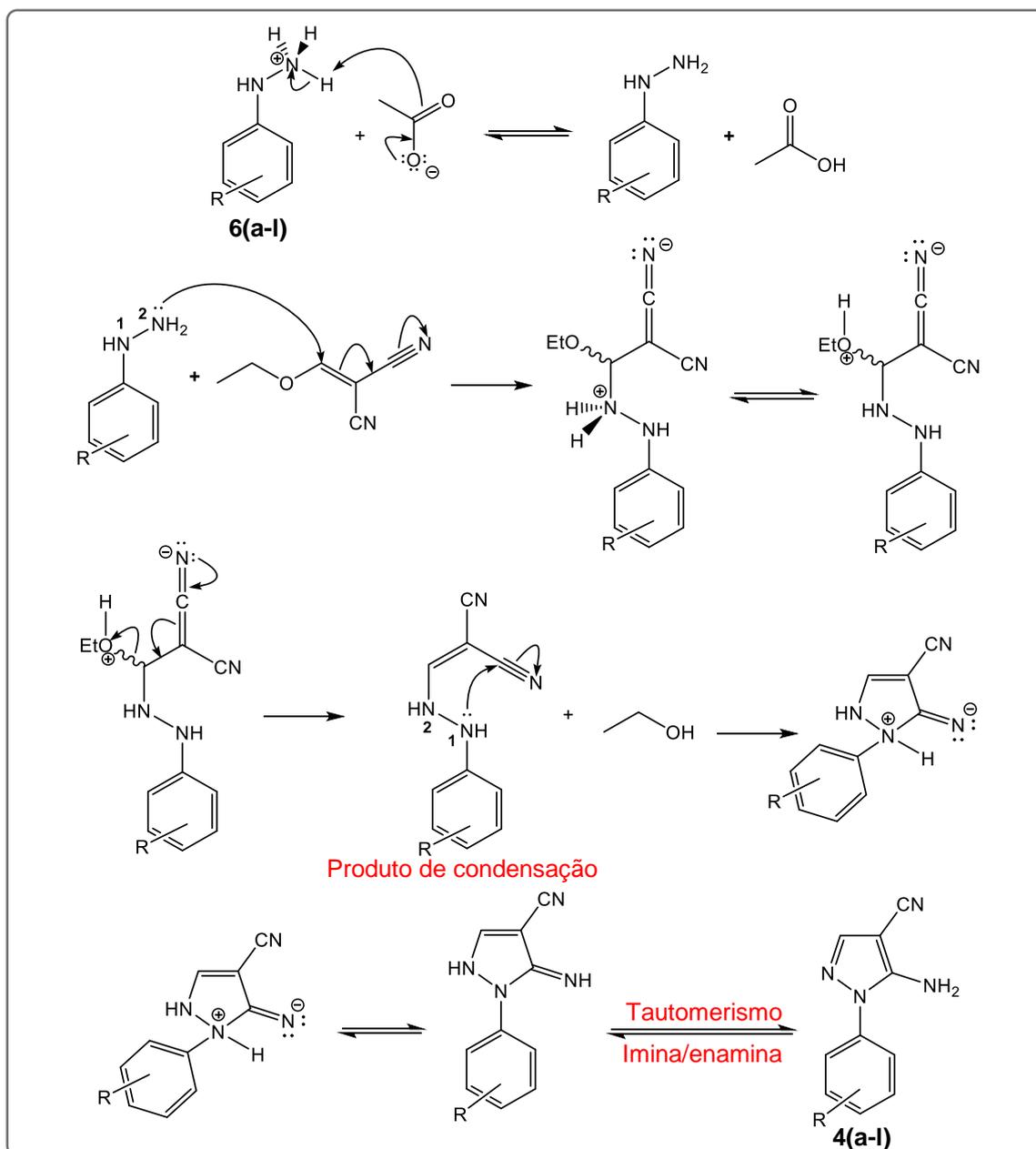


Figura 46. Estruturas dos derivados 5-amino-1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **4(a-l)**.

O mecanismo proposto para a formação dos intermediários-chave **4(a-l)** consiste em várias etapas. Inicialmente, ocorre uma reação ácido-base entre o cloridrato de arilhidrazina e o acetato de sódio, gerando arilhidrazina e ácido etanoico (ácido acético). O ácido acético e o excesso de acetato formam um sistema tampão. Quando etoximetilnomalononitrila é adicionado ao meio reacional, a arilhidrazina reage com este em uma adição tipo Michael, ou seja, ocorre a adição nucleofílica do átomo de nitrogênio 2 da hidrazina ao átomo de carbono

β do etoximetilomalnonitrila. Quando o produto de condensação é formado há liberação de etanol.

A ciclização ocorre com o ataque nucleofílico do par de elétrons não-ligante do átomo de nitrogênio 1 ao átomo de carbono de um dos grupos ciano. O pirazol é formado a partir do tautomerismo imina/enamina, sendo a forma enamina favorecida porque torna o sistema aromático (Esquema 18).



Esquema 18. Mecanismo para a obtenção dos derivados 4(a-i).

Os rendimentos e as faixas de fusão dos derivados 4(a-i) estão resumidos na Tabela 1. Os intermediários-chave 4(a-i) foram obtidos com rendimentos de bons a excelentes, na faixa de 69 a 98%. As faixas de fusão experimentais apresentaram variação de 1 a 2°C, indicando alto grau de pureza dos produtos obtidos, exceto para os derivados 4f e 4i, com

variações de 3°C e 4°C, respectivamente. Os valores experimentais obtidos para os derivados **4(f-h)** apresentaram grande diferença em relação aos valores já relatados na literatura, tal diferença pode estar relacionada à calibração do termômetro, falta de calibração do equipamento utilizado, a taxa de aquecimento utilizada e a diferenças no arranjo cristalino dos produtos obtidos.

Tabela 1. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados **4(a,c-i)**.

Derivado	R	Rendimento (%)	Faixa de fusão	
			Experimental	Literatura
4a	H	69	135-136	134-136 ^a
4c	4-Br	82	168-169	168-170 ^a
4d	4-F	76	172-174	172-174 ^b /177-178 ^c
4e	4-OCH ₃	80	134-136	135-136 ^b /128-131 ^d
4f	3-Cl	98	172-175	181-182 ^b /188-189 ^e
4g	3-F	80	148-150	157-158 ^b
4h	3-Br	79	158-160	180-182 ^b /185 ^f
4i	3,5-diCl	88	150-154	153-154 ^b

^aJAGATH REDDY *et al.*, 2005 ^bDOS SANTOS, 2009 ^cMOYANO *et al.*, 2008 ^dGUPTA *et al.*, 2008 ^eSOUTHWICK *et al.* 1975 ^fARCH *et al.*, 1979

Os intermediários-chave sintetizados neste trabalho, ou seja, **4(a,c-i)** foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (Anexo A – Espectros 1 a 8). Os dados obtidos das análises de todos os derivados sintetizados estão organizados na Tabela 2.

Tabela 2. Principais absorções na região do Infravermelho para os derivados **4(a,c-i)**.

Ligação química/grupo	NH ₂	NH ₂	NH ₂	C-H (C sp ²)	C≡N	NH ₂	C=C/C=N	
								Movimento vibracional
4a	H	3444	3322	3223	3194-3053	2223	1639	1600-1456
4c	4-Br	3455	3298	3201	3182-3062	2243	1637	1584-1488
4d	4-F	3434	3299	3230	3181-3133	2226	1663	1568-1438
4e	4-OCH ₃	3354	3312	3257	3167-3119	2216	1660	1615-1446
4f	3-Cl	3456	3310	3214	3189-3130	2239	1638	1594-1444
4g	3-F	3349	3304	3236	3180-3129	2223	1664	1611-1460
4h	3-Br	3455	3299	3206	3183-3071	2240	1637	1590-1442
4i	3,5-diCl	3399	3332	3238	3095-3070	2221	1648	1585-1433

As bandas relativas aos estiramentos assimétrico (v_{as}) e simétrico (v_s) do grupo amino (NH₂) para todos os derivados ficaram entre 3456-3349 cm⁻¹ e 3332-3298 cm⁻¹,

respectivamente. A presença do grupo amino pode ser confirmada pela presença das bandas na faixa de $1664\text{-}1637\text{ cm}^{-1}$ referentes a deformação angular no plano (δ) e das bandas harmônicas dessa deformação entre $3257\text{-}3201\text{ cm}^{-1}$. A banda associada ao estiramento (ν) da ligação $\text{C}\equiv\text{N}$ foi observada entre 2243 e 2221 cm^{-1} . As bandas referentes aos estiramentos (ν) das ligações C-H de átomos de carbono do tipo sp^2 foram observadas entre 3194 e 3053 cm^{-1} . As bandas entre $1615\text{-}1436\text{ cm}^{-1}$ foram associadas aos estiramentos (ν) das ligações $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{C}$ dos anéis aromáticos.

5.1.1.2 Segunda etapa: Síntese dos intermediários-chave 1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)**

Os intermediários-chave 1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)** foram obtidos a partir da reação entre os derivados **5(a-l)** com nitrito de isobutila, ou nitrito de *t*-butila, em THF, conforme a metodologia descrita em 4.2.1.2. Os produtos obtidos são apresentados na Figura 47.

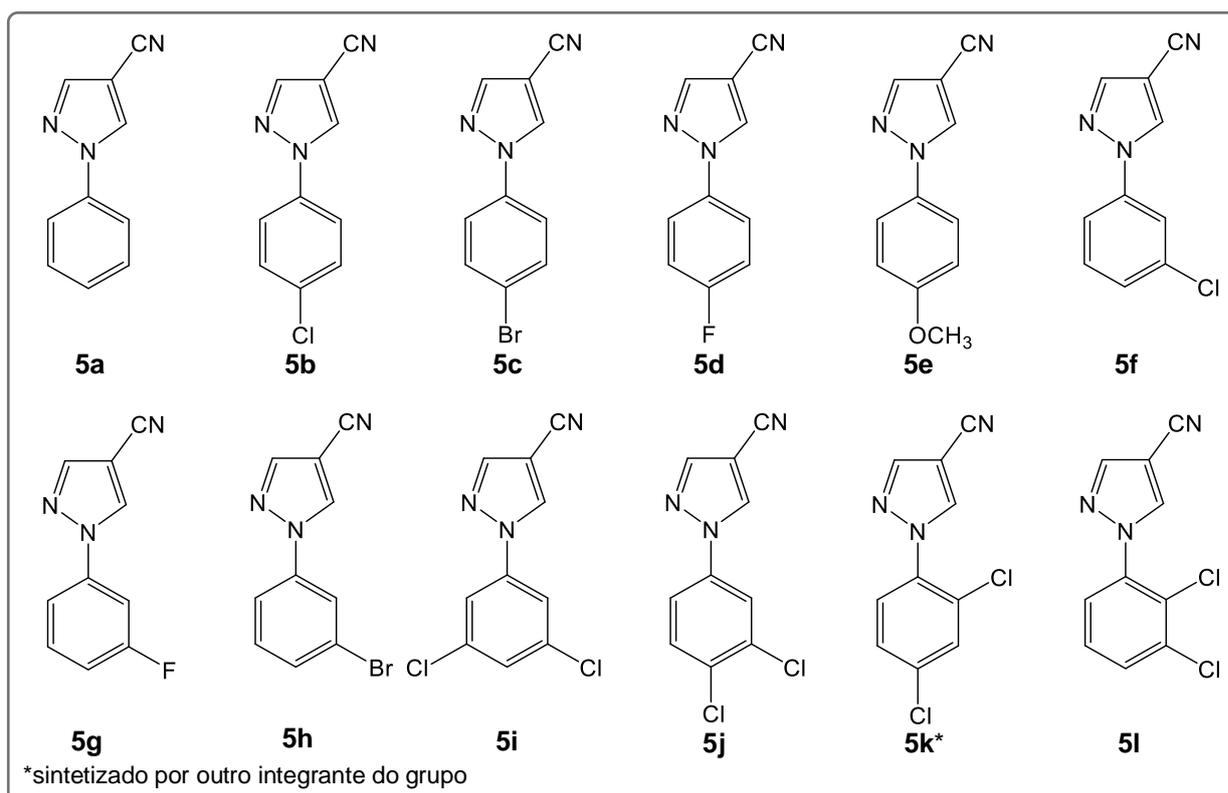
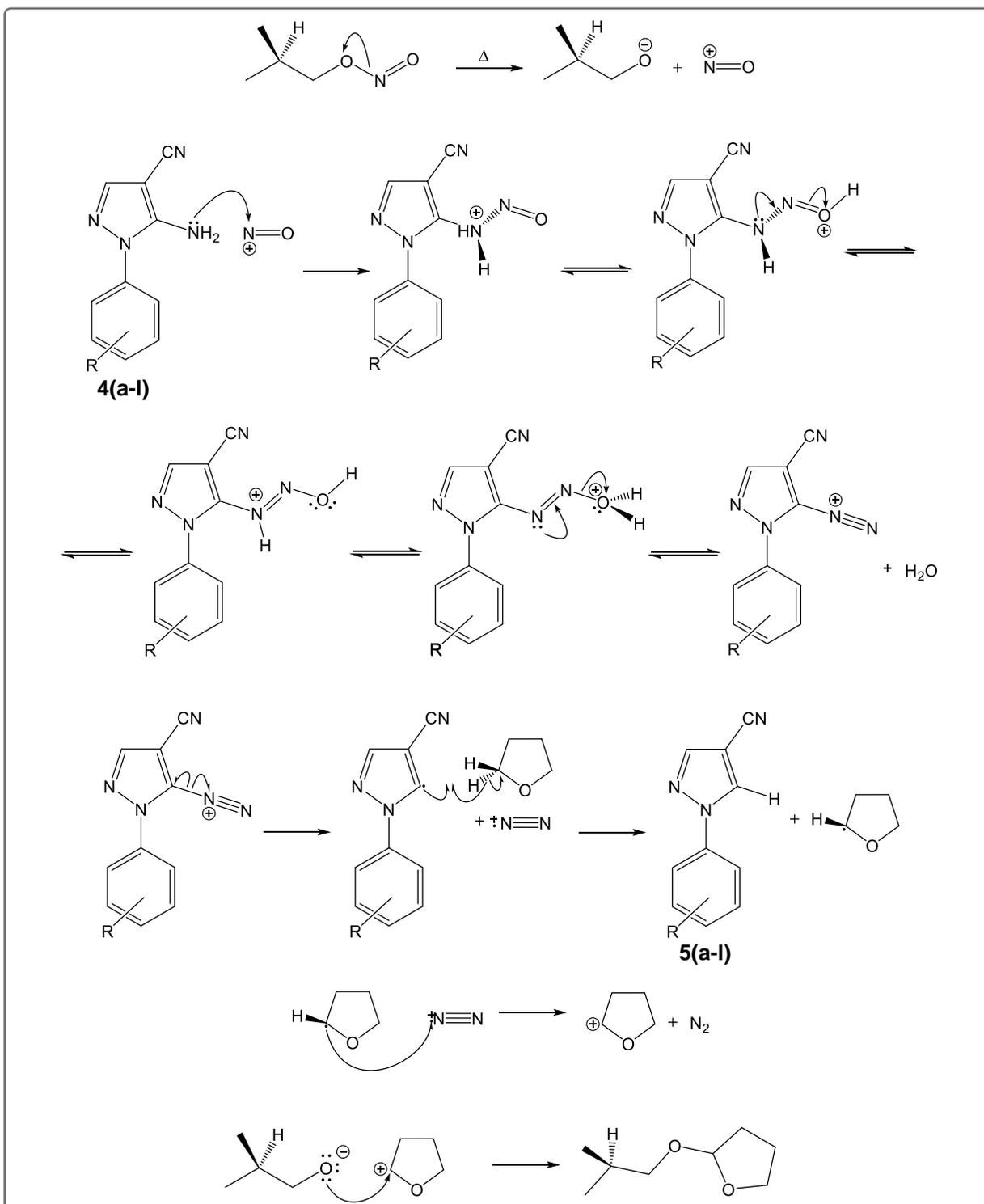


Figura 47. Estruturas dos derivados 1-aryl-1H-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-l)**.

O mecanismo proposto para a obtenção dos derivados consiste em várias etapas (Esquema 19). Primeiramente, o aquecimento do nitrito de isobutila libera o cátion nitrosônio ($^+\text{N}=\text{O}$) no meio reacional, que então sofre um ataque nucleofílico do par de elétrons não-

ligante do grupo amino dos derivados **4(a-l)**. Após sucessivos equilíbrios prototrópicos e deslocalização de elétrons, ocorre a formação do sal de diazônio e água.

Em seguida, ocorre a cisão homolítica da ligação C-N e o pirazol radicalar formado reage com o THF, adquirindo um hidrogênio radical, formando os derivados **5(a-l)** e THF radical. A reação entre o cátion-radical de nitrogênio e o radical formado pelo solvente leva a liberação de gás nitrogênio. O isobutóxido reage com o cátion do THF formando um acetal.



Esquema 19. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados **5(a-l)**.

Os rendimentos e as faixas de fusão obtidos para os intermediários-chave **5(a-l)** estão organizados na Tabela 5. Os derivados foram obtidos com rendimentos na faixa de 80 a 98%, sendo considerados de bons a excelentes. As faixas de fusão determinadas apresentaram variação de 2 a 7°C. Os valores obtidos diferem dos relatados na literatura e podem estar relacionados à diferença na forma como os sólidos foram cristalizados, à falta de calibração do aparelho utilizado para o aquecimento, bem como do termômetro utilizado.

Tabela 3. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados **5(a-j,l)**.

Derivado	R	Rendimento (%)	Faixa de fusão	
			Experimental	Literatura
5a	H	93	74-76	90-91 ^a
5b	4-Cl	96	174-176	184-185 ^b
5c	4-Br	96	182-189	198-200 ^a
5d	4-F	92	140-147	168-170 ^b /168-169 ^c
5e	4-OCH ₃	91	134-138	138-141 ^a
5f	3-Cl	83	124-132	138-139 ^b
5g	3-F	91	111-114	124-125 ^b
5h	3-Br	96	148-152	154-155 ^b
5i	3,5-diCl	93	176-178	180-181 ^b
5j	3,4-diCl	98	144-146	185-186 ^b
5l	2,3-diCl	80	136-138	Não relatado

^aDOS SANTOS *et al.*, 2011a ^bDOS SANTOS, 2009 ^cMOYANO *et al.*, 2008

Os produtos **5(a-j,l)** foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (Anexo B – Espectros 9 a 19). Na Tabela 6 constam as principais absorções analisadas.

O principal indicativo de ocorrência da reação foi a ausência de bandas relativas aos estiramentos e deformação angular no plano do grupo amino, nas regiões 3456-3298 cm⁻¹ e 1664-1637 cm⁻¹, respectivamente, presente nas matérias-primas **4(a-j,l)** correspondentes. Entre 2243 e 2233 cm⁻¹ foi observada a banda relativa ao estiramento da ligação C≡N.

As bandas referentes ao estiramento das ligações C-H foram observadas entre 3155 e 3051 cm⁻¹, enquanto as bandas relativas aos estiramentos das ligações C=C e C=N ficaram na faixa de 1605 a 1432 cm⁻¹.

Tabela 4. Principais absorções na região do Infravermelho para os derivados **5(a-j,l)**.

Ligação química		C-H (C sp ²)	C≡N	C=C/C=N
Movimento vibracional		v	v	v
5a	H	3155-3053	2239	1599-1470
5b	4-Cl	3155-3071	2240	1548-1440
5c	4-Br	3153-3067	2240	1548-1437
5d	4-F	3134-3068	2233	1549-1452
5e	4-OCH ₃	3151-3078	2239	1547-1444
5f	3-Cl	3153-3085	2241	1593-1466
5g	3-F	3155-3078	2236	1605-1460
5h	3-Br	3151-3078	2240	1586-1443
5i	3,5-diCl	3123-3075	2240	1589-1440
5j	3,4-diCl	3132-3051	2243	1581-1455
5l	2,3-diCl	3138-3077	2240	1584-1432

Para o derivado **5l** foram observadas duas bandas na região relativa à ligação C≡N em 2240 e 2231 cm⁻¹, deixando em dúvida se o produto não consistia em uma mistura. Portanto, o produto foi analisado por CG-EM. O cromatograma e o espectro de massas obtidos são apresentados na Figura 48. O único sinal obtido no cromatograma foi em 14,216 min com integração de 100%, indicando que não se tratava de uma mistura de produtos. O espectro de massas apresentou um pico com *m/z* 237, relação esperada para íon molecular do composto **5l**, e ainda pode ser observado o pico M+2 com intensidade de 2/3 em relação ao pico do íon molecular, típico de derivados diclorados, indicando que, provavelmente, o produto obtido consistia em apenas uma substância.

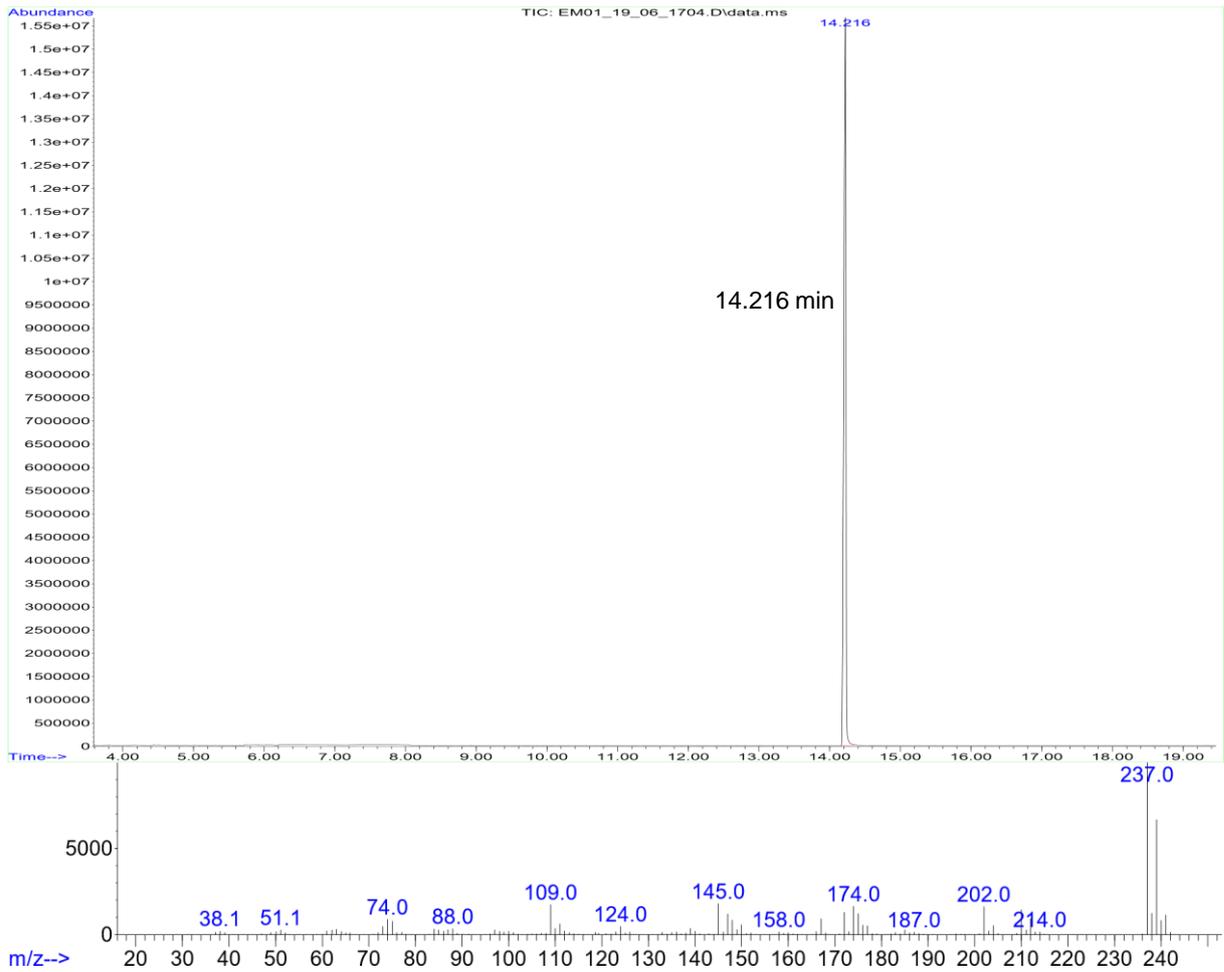


Figura 48. Cromatograma e espectro de massas obtidos para o derivado 5I.

5.1.1.3 Terceira etapa: Síntese dos derivados 5-(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)**

Os derivados 5-(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)**, apresentados na Figura 49, foram obtidos a partir da reação dos intermediários **5(a-l)** com azida de sódio e cloreto de amônio em DMF, conforme a metodologia apresentada no item **4.2.1.3**.

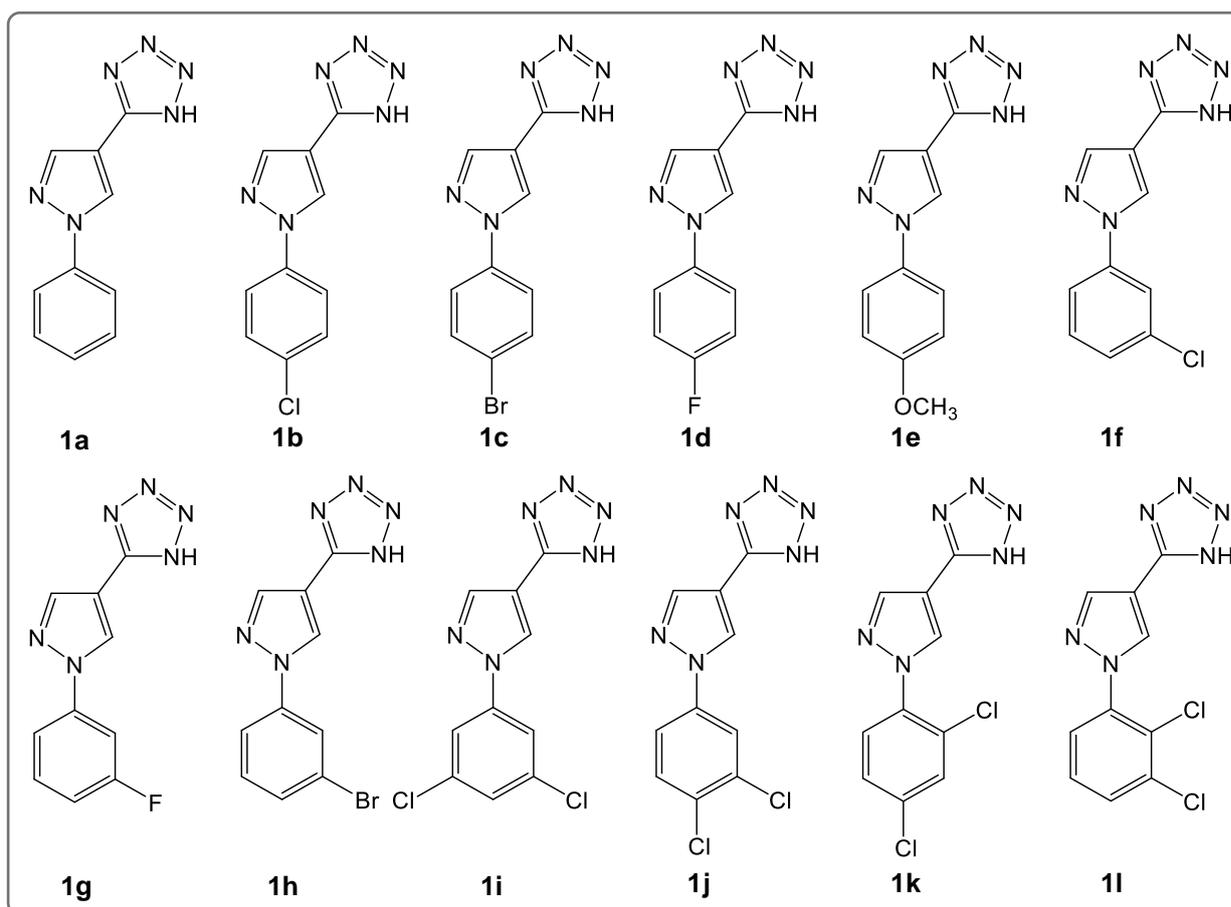
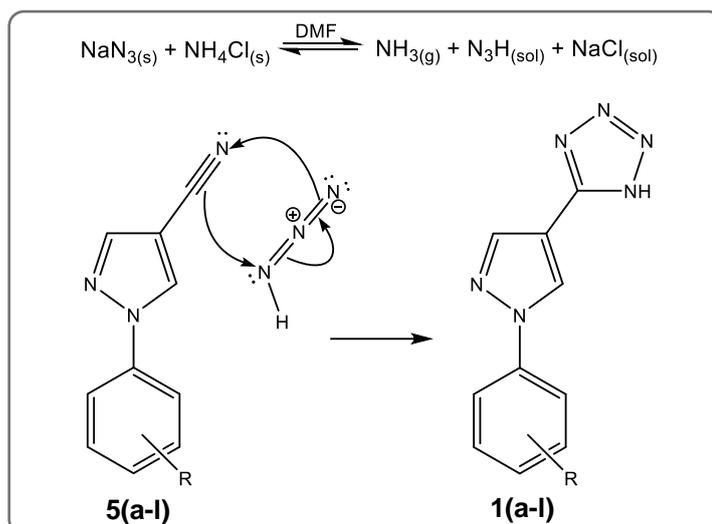


Figura 49. Estruturas dos derivados 5-(1-*aril*-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)**.

O mecanismo para a obtenção dos derivados tetrazólicos consiste na reação ácido-base entre a azida e o íon amônio, formando amônia e a azida protonada. Em seguida, ocorre a cicloadição 1,3-dipolar entre a nitrila dos derivados **5(a-l)** com o íon azida protonada, formando então os derivados **1(a-l)** (Esquema 20).



Esquema 20. Mecanismo da reação de obtenção dos derivados **1(a-l)**.

Os derivados **1(a-l)** apresentaram rendimentos de ruins a bons, com faixa entre 10 e 85%. Já as faixas de fusão apresentaram faixa de 2°C para a maioria dos derivados obtidos até o momento, exceto para os derivados **1e**, **1f** e **1j** que apresentaram faixa de 4°C e o derivado **1a** que apresentou faixa de 6°C (Tabela 5). Os valores experimentais obtidos foram distintos dos valores já relatados na literatura, diferenças que podem ser associadas a taxa de aquecimento empregada, diferenças no arranjo cristalino dos sólidos obtidos e calibração do termômetro.

Tabela 5. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados **1(a-l)**.

Derivado	R	Rendimento (%)	Faixa de fusão	
			Experimental	Literatura
1a	H	46	200-206	217 ^a
1b	4-Cl	62	242-244	239-240 ^a
1c	4-Br	53	214-216	249-250 ^a
1d	4-F	10	222-224	258-259 ^a
1e	4-OCH ₃	46	194-198	255-256 ^a
1f	3-Cl	44	222-228	238-239 ^a
1g	3-F	73	208-210	205 ^b
1h	3-Br	60	214-216	255-256 ^a
1i	3,5-diCl	78	244-246	258-260 ^a
1j	3,4-diCl	71	218-222	243-245 ^a
1k	2,4-diCl	75	ND	*
1l	2,3-diCl	85	ND	*

^aDOS SANTOS *et al.*, 2012; ^bRAMOS MARTINS *et al.*, 2013 *não relatado ND: não determinado

Os produtos **1(a-l)** foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (Anexo C – Espectros 20 a 31). Na Tabela 6 estão organizadas as principais absorções analisadas para os derivados tetrazólicos.

Tabela 6. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados **1(a-l)**.

	Ligação química	N-H (C sp ²)	C=N (tetrazol)	C=C/C=N
	Movimento vibracional	v	v	v
1a	H	3297-2532	1639	1598-1435
1b	4-Cl	3123-2492	1667/1634	1595-1503
1c	4-Br	3336-2492	1631	1608-1497
1d	4-F	3113-2501	1632	1611-1461
1e	4-OCH ₃	3385-2497	1632	1597-1453
1f	3-Cl	3118-2456	1638	1592-1430
1g	3-F	3320-2511	1633	1603-1428
1h	3-Br	3117-2489	1633	1589-1491
1i	3,5-diCl	3120-2494	1634	1579-1479
1j	3,4-diCl	3358-2491	1636	1598-1488
1k	2,4-diCl	3378-2481	1630	1492-1418
1l	2,3-diCl	3332-2496	1630	1581-1429

A principal evidência da ocorrência da reação foi a ausência da banda relativa ao estiramento da ligação C≡N entre 2243-2233 cm⁻¹. A formação do tetrazol foi confirmada pela presença da banda serrilhada entre 3385-2456 cm⁻¹ e da banda entre 1667-1630 cm⁻¹ relativas aos estiramentos das ligações N-H e C=N do tetrazol, respectivamente. As bandas referentes aos estiramentos das ligações C=C e C=N de aromático foram identificadas entre 1611 e 1418 cm⁻¹.

As análises por Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS) (Anexo D – Espectros 32 a 42), obtidas no modo negativo, exceto para **1f**, mostraram que os produtos propostos foram obtidos com relação *m/z* com erro variando de 0 a 5,0 ppm; os resultados obtidos estão resumidos na Tabela 7. O pico base detectado refere-se à molécula desprotonada [M-H]⁻, exceto para o derivado **1f**, para o qual o pico base detectado é referente à molécula cationizada com sódio [M+Na]⁺. Conforme esperado, para os derivados monoclorados **1b** e **1f** foram identificados picos com duas unidades de *m/z* a mais que o pico base com intensidade relativa de 1/3, devido à abundância isotópica do átomo de cloro.

No caso dos derivados diclorados **1j** e **1l** foram identificados picos com duas unidades de *m/z* a mais que o pico base com intensidade relativa 2/3 em relação ao pico base. Para os derivados bromados **1c** e **1h**, os picos com duas unidades de *m/z* a mais que o pico base apresentaram intensidade relativa de aproximadamente 97% da intensidade.

Para o derivado **1i** foi identificado um pico com relação *m/z* 324,9699, cerca de 45 unidades a mais que a esperada para o pico do íon molecular (*m/z* 280,0031) e não se chegou a uma conclusão de qual a espécie detectada, embora tenha sido observado um pico com

m/z duas unidades a mais que o pico identificado com intensidade cerca de 2/3 deste, típico de derivados diclorados. Para confirmar a massa do produto, a análise será realizada novamente.

Tabela 7. Resultados de espectrometria de massas de alta resolução para os derivados **1(a-l)**.

Derivado	R	Íon	m/z teórico	m/z experimental	Erro (ppm)
1a	H	$[M-H]^-$	211,0738	211,0741	1,42
1b	4-Cl	$[M-H]^-$	245,0348	245,0348	0,00
1c	4-Br	$[M-H]^-$	288,9843	288,9851	2,77
1d	4-F	$[M-H]^-$	229,0643	229,0653	4,37
1e	4-OCH ₃	$[M-H]^-$	241,0838	241,0849	4,56
1f	3-Cl	$[M+Na]^+$	269,0318	269,0307	4,09
1g	3-F	$[M-H]^-$	229,0643	229,0646	1,31
1h	3-Br	$[M-H]^-$	288,9843	288,9853	3,46
1i	3,5-diCl	-	-	324,9699	-
1j	3,4-diCl	$[M-H]^-$	278,9958	278,9966	2,87
1k	2,4-diCl			Em análise	
1l	2,3-diCl	$[M-H]^-$	278,9958	278,9972	5,02

Os derivados **1(a-l)** foram analisados por RMN de ¹H e ¹³C (Anexo E – Espectros 43 a 66).

Análises dos espectros de RMN-¹H

A Figura 50 mostra a estrutura-base dos derivados **1(a-l)** com os átomos de hidrogênio numerados para facilitar a discussão dos resultados obtidos. Os dados obtidos na análise dos espectros de RMN-¹H estão organizados na Tabela 8.

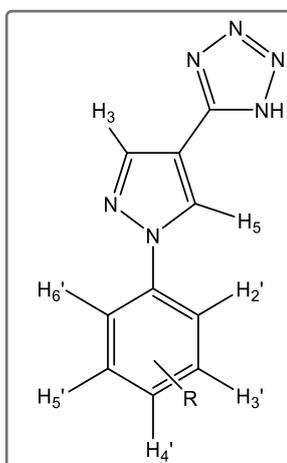


Figura 50. Estrutura-base dos derivados **1(a-l)** com os átomos de hidrogênio numerados.

Para todos os derivados analisados, aos átomos de hidrogênio do anel pirazólico H₃ e H₅ foram atribuídos sinais simpletos com δ na faixa de 8,24 a 8,33 e na faixa de 9,02 a 9,29, respectivamente. Para facilitar a análise dos átomos de hidrogênio benzênicos os produtos foram agrupados de acordo com o padrão de substituição:

Tabela 8. Dados de RMN-¹H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO-*d*₆, δ em ppm, *J* em Hz) obtidos para os derivados **1(a-l)**.

Derivado	H ₃	H ₅	H ₂ '	H ₃ '	H ₄ '	H ₅ '	H ₆ '
1a H	8,31 (s)	9,16 (s)	7,94 (d, 7,7)	7,57 (t, 7,7)	7,41 (t, 7,7)	7,57 (t, 7,7)	7,94 (d, 7,7)
1b 4-Cl	8,33 (s)	9,21 (s)	7,98 (d, 8,9)	7,63 (d, 8,9)	-	7,63 (d, 8,9)	7,98 (d, 8,9)
1c 4-Br	8,29 (s)	9,15 (s)	7,92 (d, 8,9)	7,75 (d, 8,9)	-	7,75 (d, 8,9)	7,92 (d, 8,9)
1d 4-F	8,29 (s)	9,13 (s)	7,98 (dd, 9,0; 4,7)	7,41 (t, 9,0)	-	7,41 (t, 9,0)	7,98 (dd, 9,0; 4,7)
1e* 4-OCH ₃	8,24 (s)	9,02 (s)	7,84 (d, 9,0)	7,10 (d, 9,0)	-	7,10 (d, 9,0)	7,84 (d, 9,0)
1f 3-Cl	8,32 (s)	9,26 (s)	8,07 (t, 1,7)	-	7,95 (dd, 7,9; 1,7)	7,59 (t, 7,9)	7,46 (dd, 7,9; 1,7)
1g 3-F	8,32 (s)	9,25 (s)	7,82-7,87 (m)	-	7,59-7,63 (m)	7,25 (td, 8,4; 2,3)	7,82-7,87 (m)
1h 3-Br	8,31 (s)	9,24 (s)	8,20 (t, 1,9)	-	7,97-7,99 (m)	7,52 (t, 8,0)	7,59 (pseudo- dd)
1i 3,5-diCl	8,30 (s)	9,29 (s)	8,08 (s)	-	7,63 (s)	-	8,08 (s)
1j 3,4-diCl	8,30 (s)	9,25 (s)	8,29 (d, 2,6)	-	-	7,82 (d, 8,8)	7,98 (dd, 8,8; 2,6)
1k 2,4-diCl	8,28 (s)	8,71 (s)	-	7,90 (d, 2,3)	-	7,62 (dd, 8,6; 2,3)	7,70 (d, 8,6)
1l 2,3-diCl	8,34 (s)	8,84 (s)	-	-	7,87 (dd, 8,1; 1,5)	7,59 (t, 8,1)	7,70 (dd, 8,1; 1,5)

*também identificado um sinal simpleto com δ 3,82 (OCH₃).

- *Derivado 1a (R=H)*

No espectro do produto **1a** foram identificados dois tripletos com δ 7,41 e 7,57 relativo aos átomos de hidrogênio H₄' e H₃'/H₅', respectivamente, com ³*J* 7,7 Hz, e um duplete com

δ 7,94 referente aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' , com 3J 7,7 Hz. Os valores de J encontrados são típicos de acoplamento *orto*.

- *Derivados para-substituídos 1b* ($R=4\text{-Cl}$), *1c* ($R=4\text{-Br}$), *1d* ($R=4\text{-F}$) e *1e* ($R=\text{OCH}_3$)

No espectro do produto *para*-substituído **1b** foi possível identificar dois dupletos referentes aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' e H_3'/H_5' com δ 7,98 e 7,63, respectivamente, com 3J 8,9 Hz, característico de acoplamento *orto*.

O mesmo padrão foi observado para os derivados *para*-substituídos **1c**, com δ 7,92 e 7,75 e 3J 8,9 Hz, e **1e**, com δ 7,84 e 7,10 e 3J 9,0 Hz. No espectro de **1e** ainda foi observado um sinal simpleto, com δ 3,82, referente aos átomos de hidrogênio do grupo metóxi (OCH_3).

No caso do derivado **1d**, devido ao acoplamento existente entre os átomos de hidrogênio do anel benzênico com o átomo de flúor, a multiplicidade foi diferente, apresentando um tripleto com δ 7,41 e 3J 9,0 Hz referente aos átomos de hidrogênio H_3'/H_5' e um duplete de dupletos com δ 7,98 relativo aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' com 3J 9,0 e 4J 4,7 Hz. Os valores de J encontrados são típicos de acoplamento *orto* e *meta*, respectivamente.

- *Derivados meta*-substituídos **1f** ($R=3\text{-Cl}$), **1g** ($R=3\text{-F}$) e **1h** ($R=3\text{-Br}$)

No espectro do derivado *meta*-substituído **1f** foram identificados dois tripletos com δ 8,07 e 7,59, com 4J 1,7 e 3J 7,9 Hz, referente aos átomos de hidrogênio H_2' e H_5' , respectivamente. Também foram identificados dois duplos dupletos com δ 7,46 (3J 7,9 e 4J 1,7 Hz) e δ 7,95 (3J 7,9 e 4J 1,7 Hz), referente aos átomos de hidrogênio H_6' e H_4' , respectivamente.

Para o espectro do derivado **1h** foram observados dois tripletos com δ 8,2 (4J 1,9 Hz) e δ 7,52 (3J 8,0 Hz) relativo aos átomos de hidrogênio H_2' e H_5' , um multipletto com δ 7,97-7,99 e um pseudo duplete de dupletos, que era a multiplicidade esperada, com δ 7,59 referente aos átomos de hidrogênio H_4' e H_6' , respectivamente.

O espectro **1g** apresentou um padrão totalmente distinto dos demais, devido ao acoplamento dos átomos de hidrogênio com o átomo de flúor, apresentando dois multipletos, um com δ 7,82-7,87 referente aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' e outro com δ 7,59-7,63 relativo ao átomo de hidrogênio H_4' , além de um tripleto de dupletos com δ 7,25 referente ao átomo de hidrogênio H_5' (3J 8,4 e 4J 2,3 Hz).

- *Derivados diclorados 1i* ($R=3,5\text{-diCl}$), **1j** ($R=3,4\text{-diCl}$), **1k** ($R=2,4\text{-diCl}$) e **1l** ($R=2,3\text{-diCl}$)

Para o derivado **1i** foram identificados dois simpletos com δ 8,08 e 7,63 relativos aos átomos H_2'/H_6' e H_4' , respectivamente. O espectro do derivado **1j** apresentou dois dupletos δ 8,29 e 7,82, com 3J 8,8 Hz, referente aos átomos de hidrogênio H_2' e H_5' , respectivamente.

Também foi identificado um dupletos de dupletos com $\delta 7,98$ (${}^3J 8,8$ e ${}^4J 2,6$ Hz) relativo ao átomo de hidrogênio H_6' .

O espectro do derivado **1k** apresentou dois sinais dupletos: um com $\delta 7,90$ (${}^4J 2,3$ Hz) e outro com $\delta 7,70$ (${}^3J 8,6$ Hz) referentes à H_3' e H_6' , respectivamente. Já para no espectro do derivado **1l** foram identificados dois dupletos de dupletos com $\delta 7,87$ e $7,70$ (${}^3J 8,1$ e ${}^4J 1,5$ Hz) relativos à H_4' e H_6' , respectivamente, e também um sinal tripleto, referente ao átomo H_5' , com $\delta 7,59$ (${}^3J 8,1$ e ${}^4J 2,6$ Hz).

Análises dos espectros de RMN- ^{13}C

A Figura 51 mostra a estrutura-base dos derivados **1(a-l)** com os átomos de carbono numerados para facilitar a discussão dos resultados obtidos. Os dados das análises de RMN- ^{13}C dos dez derivados **1(a-l)** estão organizados na Tabela 9.

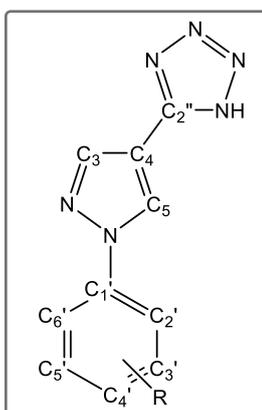


Figura 51. Estrutura-base dos derivados **1(a-l)** com os átomos de carbono numerados.

O sinal referente ao átomo de carbono do núcleo tetrazólico C_2'' foi observado com δ na faixa de 149,2 a 150,4. O sinal relativo a C_2'' não foi identificado no espectro de **1g**. Os sinais referentes aos átomos de carbono do anel pirazólico foram identificados entre $\delta 138,8$ a $140,7$ para C_3 , $\delta 108,4$ a $110,9$ para C_4 e $\delta 127,1$ a $130,3$ para C_5 .

Os sinais atribuídos aos átomos de carbono do anel benzênico foram observados na região típica de carbono aromático: 132,6 a 140,8 ppm (C_1'), 106,3 a 128,0 ppm (C_2'), 120,4 a 162,5 ppm (C_3'), 113,8 a 161,3 ppm (C_4'), 120,4 a 135,1 ppm (C_5') e 114,6 a 128,8 ppm (C_6'). Nos espectros dos derivados fluorados **1d** e **1g** foram identificados os acoplamentos entre os átomos de carbono do anel benzênico e o átomo de flúor: ${}^1J 244,1$ Hz (C_4'), ${}^2J 23,1$ Hz (C_3'/C_5'), ${}^3J 8,6$ Hz (C_2'/C_6'), ${}^4J 2,7$ Hz (C_1') para **1d** e ${}^1J 242,3$ Hz (C_3'), ${}^2J 26,6$ Hz (C_2'), ${}^2J 20,6$ Hz (C_4'), ${}^3J 9,9$ Hz (C_1'), ${}^3J 9,1$ Hz (C_5') para **1g**.

Tabela 9. Dados de RMN-¹³C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO-*d*₆, δ em ppm, *J* em Hz) obtidos para os derivados **1(a-l)**.

Derivado		C ₂ ''	C ₃	C ₄	C ₅	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '
1a	H	149,2	139,5	108,5	129,6	138,9	118,9	127,6	127,2	127,6	118,9
1b	4-Cl	149,7	140,3	109,5	128,4	138,3	121,1	130,1	131,9	130,1	121,1
1c	4-Br	150,4	138,8	110,7	127,9	140,3	121,3	133,0	120,0	133,0	121,3
1d	4-F	149,9	140,0	109,4	128,3	136,1 (d, 2,7)	116,9 (d, 8,6)	121,6 (d, 23,1)	161,3 (d, 244,1)	121,6 (d, 23,1)	116,9 (d, 8,6)
1e*	4-OCH ₃	149,5	139,0	108,7	127,1	132,6	114,6	120,4	158,2	120,4	114,6
1f	3-Cl	149,3	139,9	109,1	128,0	140,0	117,4	134,0	126,9	131,3	118,6
1g	3-F	-	140,2	108,9	128,1	140,3 (d, 9,9)	106,3 (d, 26,6)	162,5 (d, 242,3)	113,8 (d, 20,6)	131,5 (d, 9,1)	114,7
1h	3-Br	150,0	140,7	110,1	130,3	140,4	118,2	122,9	128,4	132,1	121,9
1i	3,5-diCl	150,1	140,4	110,9	128,1	140,8	117,4	135,1	126,3	135,1	117,4
1j	3,4-diCl	150,4	140,7	110,9	128,4	139,2	119,3	132,6	129,7	132,0	120,9
1k	2,4-diCl	150,2	139,8	109,5	129,7	136,4	134,5	130,3	131,9	129,5	128,8
1l	2,3-diCl	149,6	140,0	108,4	129,4	139,3	128,0	133,3	131,7	132,7	127,7

*também identificado um sinal com δ 55,4 (OCH₃).

5.1.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS 2-(1-ARIL-1H-PIRAZOL-4-IL)-4,5-DI-HIDROTHIAZÓIS **2(a-l)**

Os derivados 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)** foram obtidos a partir da reação entre os intermediários-chave **5(a-l)** com 2-aminoetanotiol e carbonato de potássio em metanol, conforme a metodologia descrita no item **4.2.2.2**. As estruturas dos derivados obtidos estão representadas na Figura 52.

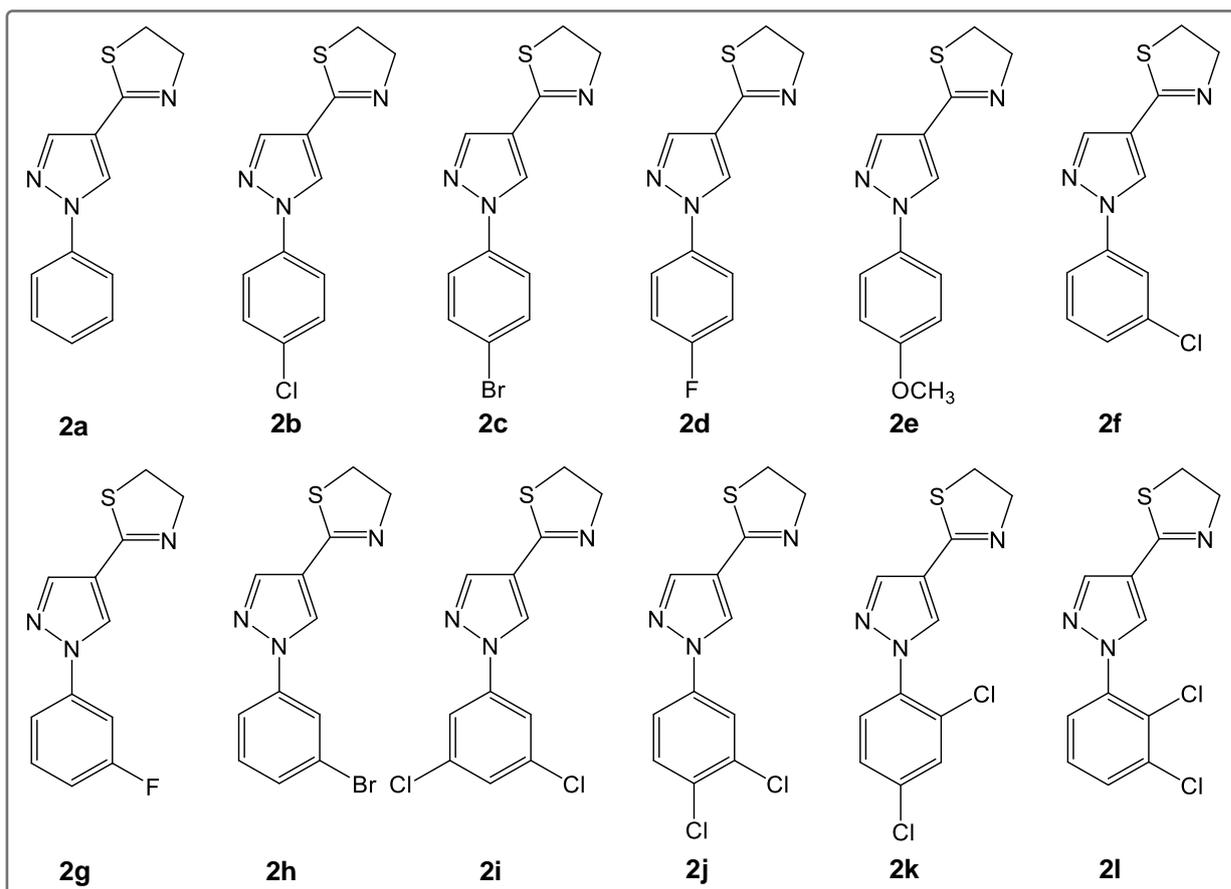
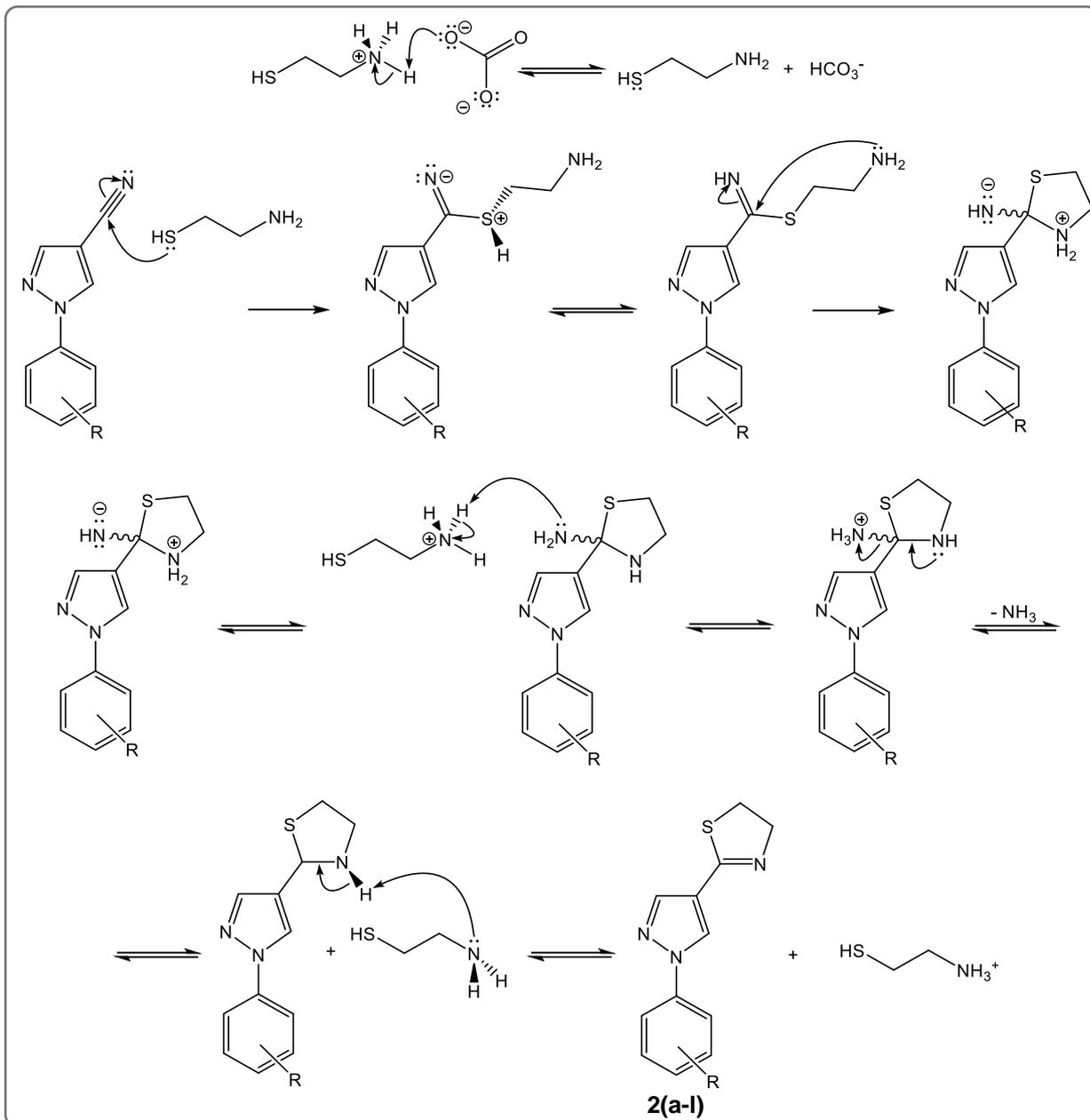


Figura 52. Estruturas dos derivados 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)**.

O mecanismo proposto para a obtenção dos derivados tiazolínicos é apresentado no Esquema 21. Inicialmente, o cloridrato de 2-aminoetanotiol reage com carbonato de potássio em uma reação ácido-base, formando o 2-aminoetanotiol (AET). Quando os intermediários **5(a-l)** são adicionados ao meio reacional, o átomo de carbono do grupo ciano sofre um ataque nucleofílico do átomo de enxofre do AET, formando um carbimidotiato.

O par de elétrons não-ligante do grupo amino realiza uma adição nucleofílica ao átomo de carbono do carbimidotiato, formando o anel de cinco membros e, após sucessivas transferências de prótons e reações ácido-base, o produto final é formado com a liberação de amônia.



Esquema 21. Mecanismo proposto para obtenção dos derivados **2(a-l)**.

Os derivados **2(a-l)** foram obtidos com rendimentos de bons a excelentes, com faixa de 71 a 91%. Já as faixas de fusão medidas apresentaram variação de 2°C, exceto para o derivado **2d** que apresentou faixa de 4°C. Como todos os produtos são inéditos, não existem registros de faixa de fusão na literatura. Os valores de rendimento e as faixas de fusão são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados **2(a-l)**.

Derivado	R	Rendimento (%)	Faixa de fusão Experimental*
2a	H	78	112-114
2b	4-Cl	85	130-133
2c	4-Br	78	124-126
2d	4-F	71	130-134
2e	4-OCH ₃	90	114-116
2f	3-Cl	91	88-90
2g	3-F	91	92-94
2h	3-Br	78	104-106
2i	3,5-diCl	83	134-136
2j	3,4-diCl	73	142-144
2k	2,4-diCl	73	96-98
2l	2,3-diCl	82	112-114

*todos os produtos são inéditos

Os produtos **2(a-l)** foram caracterizados por Espectroscopia na região do Infravermelho (Anexo F – Espectros 67 a 78). Os dados obtidos das análises de todos os produtos são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados **2(a-l)**.

Ligação química		C-H (C sp ²)	C-H (C sp ³)	C=N (tiazolina)	C=C/C=N
Movimento vibracional		v	v	v	v
2a	H	3135-3060	2955-2851	1618	1595-1500
2b	4-Cl	3130-3061	2936-2854	1623	1545-1500
2c	4-Br	3132-3060	2990-2844	1614	1545-1497
2d	4-F	3130-3059	2995-2850	1618	1543-1511
2e	4-OCH ₃	3128-3060	2957-2840	1617	1544-1458
2f	3-Cl	3136-3062	2958-2847	1616	1589-1463
2g	3-F	3136-3062	2952-2850	1610	1600-1479
2h	3-Br	3136-3062	2936-2845	1616	1582-1459
2i	3,5-diCl	3172-3071	2945-2853	1625	1583-1441
2j	3,4-diCl	3132-3065	2939-2853	1615	1596-1433
2k	2,4-diCl	3135-3044	2952-2849	1624	1545-1428
2l	2,3-diCl	3098-3068	2949-2856	1627	1583-1428

A principal evidência da ocorrência da reação foi a ausência da banda entre 2243 a 2233 cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação C≡N presente nos intermediários **5(a-l)** e a presença da banda entre 1627 e 1610 cm⁻¹ associada ao estiramento da ligação C=N do anel tiazolínico. Foram observadas duas regiões com bandas relacionadas aos estiramentos de

ligação C-H entre 3172-3044 cm^{-1} e entre 2990-2840 cm^{-1} referentes as ligações de átomos de carbono sp^2 e sp^3 , respectivamente. As bandas na região de 1600 a 1428 cm^{-1} correspondem aos estiramentos das ligações C=C e C=N de aromáticos.

Os dados obtidos na análise por Espectrometria de Massas (Anexo G – Espectros 79 a 90) dos derivados **2(a-l)**, no modo positivo, estão organizados na Tabela 12. Para todas as substâncias, o pico base foi identificada com a relação m/z referente à molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ com erro na faixa de 0 a 4 ppm.

Conforme esperado, foi possível identificar picos referentes a razão isotópica nos espectros das moléculas que contêm átomos de cloro e bromo com relação m/z duas unidades a mais que o pico base. Para os derivados **2b** e **2f**, que contêm um átomo de cloro, foi identificado um pico com intensidade relativa de 1/3, enquanto para os derivados diclorados **2(i-l)** foram identificados picos com intensidade relativa de 2/3. Nos espectros dos derivados bromados **2c** e **2h**, os picos identificados apresentam intensidade relativa de aproximadamente 97%.

Tabela 12. Resultados da espectrometria de massas para os derivados **2(a-l)**.

Derivado	R	Íon	m/z teórico	m/z experimental	Erro (ppm)
2a	H	$[\text{M}+\text{H}]^+$	230,0746	230,0747	0,43
2b	4-Cl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	264,0357	264,0349	3,03
2c	4-Br	$[\text{M}+\text{H}]^+$	307,9852	307,9848	1,30
2d	4-F	$[\text{M}+\text{H}]^+$	248,0652	248,0642	4,03
2e	4-OCH ₃	$[\text{M}+\text{H}]^+$	260,0858	260,0856	0,77
2f	3-Cl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	264,0357	264,0348	3,41
2g	3-F	$[\text{M}+\text{H}]^+$	248,0652	248,0653	0,40
2h	3-Br	$[\text{M}+\text{H}]^+$	307,9852	307,9842	3,25
2i	3,5-diCl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	297,9967	297,9962	1,68
2j	3,4-diCl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	297,9967	297,9967	0,00
2k	2,4-diCl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	297,9967	297,9966	0,34
2l	2,3-diCl	$[\text{M}+\text{H}]^+$	297,9967	297,9964	1,01

Os produtos **2(a-l)** tiveram suas estruturas confirmadas a partir da análise de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (Anexo H – Espectros 91 a 114).

Análises dos espectros de RMN- ^1H

Na Figura 53 tem-se a estrutura-base dos derivados **2(a-l)** com os átomos de hidrogênio numerados para facilitar a discussão dos resultados. Os dados obtidos nas análises dos espectros de RMN- ^1H estão organizados na Tabela 13.

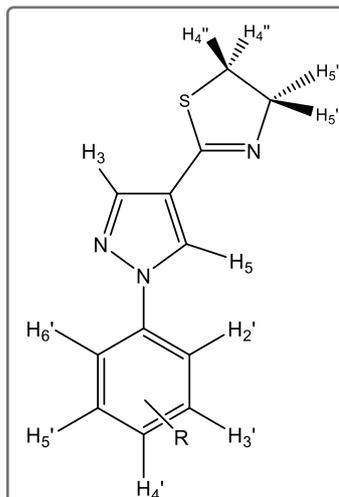


Figura 53. Estrutura-base dos derivados **2(a-l)** com os átomos de hidrogênio numerados.

Para todos os derivados analisados, os átomos de hidrogênio do anel pirazólico H_3 e H_5 foram identificados como sinais simpletos com δ 8,01 a 8,07 e δ 8,19 a 8,37, respectivamente. Os átomos de hidrogênio H_4'' e H_5'' do núcleo tiazolínico foram atribuídos aos dois sinais tripletos na faixa de δ 3,42 a 3,46 para H_4'' e δ 4,39 a 4,40 para H_5'' , região típica de hidrogênios metilênicos, 3J 8,2 ou 8,3 Hz.

Para melhor compreensão, a discussão dos resultados foi feita agrupando os derivados de acordo com o padrão de substituição no anel benzênico:

- *Derivado 2a* ($R=H$)

No espectro do derivado **2a** foram identificados dois tripletos: um com δ 7,34 referente ao átomo de hidrogênio H_4' (3J 8,0 Hz) e outro com δ 7,48 referente aos átomos de hidrogênio equivalentes H_3'/H_5' (3J 8,0 Hz) e um duplete de dupletos com δ 7,72 referente aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' (3J 8,0; 4J 1,0 Hz).

- *Derivados para-substituídos 2b* ($R=4-Cl$), **2c** ($R=4-Br$), **2d** ($R=4-F$) e **2e** ($R=OCH_3$)

No espectro do derivado **2b** foram identificados dois dupletos com δ 7,45 e 7,66 referentes aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' e H_3'/H_5' , respectivamente, com 3J 8,8 Hz.

O mesmo padrão foi observado no espectro de **2e**, com δ 6,98 e 7,60 com 3J 9,0 Hz, e ainda apresentou um sinal simpleto, com δ 3,85, referente aos átomos de hidrogênio do grupo metóxi. No espectro de **2c**, apenas um sinal simpleto foi identificado referente aos quatro átomos de hidrogênio (H_2'/H_6' , H_3'/H_5') com δ 7,60.

Para **2d**, devido ao acoplamento dos átomos de hidrogênio com o átomo de flúor, a multiplicidade dos sinais foi diferente daquelas observadas para os outros derivados *para*-substituídos. Foram identificados um duplete de dupletos com δ 7,68 (3J 8,4 e 4J 4,5 Hz) relativo aos átomos H_2'/H_6' e um tripleto δ 7,17 (3J 8,4 Hz) referente aos átomos H_3'/H_5' .

Tabela 13. Dados de RMN-¹H (400 MHz ou 500 MHz, CDCl₃, δ em ppm, J em Hz) para os derivados **2(a-l)**.

Derivado	H ₃	H ₅	H ₂ '	H ₃ '	H ₄ '	H ₅ '	H ₆ '	H ₄ ''	H ₅ ''	
2a	H	8,05 (s)	8,37 (s)	7,72 (dd, 8,0; 1,0)	7,48 (t, 8,0)	7,34 (t, 8,0)	7,48 (t, 8,0)	7,72 (dd, 8,0; 1,0)	3,44 (t, 8,2)	4,40 (t, 8,2)
2b	4-Cl	8,04 (s)	8,32 (s)	7,66 (d, 8,8)	7,45 (d, 8,8)	-	7,45 (d, 8,8)	7,66 (d, 8,8)	3,44 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)
2c	4-Br	8,04 (s)	8,25 (s)	7,60 (s)	7,60 (s)	-	7,60 (s)	7,60 (s)	3,43 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)
2d	4-F	8,03 (s)	8,28 (s)	7,68 (dd, 8,4; 4,5)	7,17 (t, 8,4)	-	7,17 (t, 8,4)	7,68 (dd, 8,4; 4,5)	3,43 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)
2e*	4-OCH ₃	8,01 (s)	8,19 (s)	7,60 (d, 9,0)	6,98 (d, 9,0)	-	6,98 (d, 9,0)	7,60 (d, 9,0)	3,42 (t, 8,2)	4,38 (t, 8,2)
2f	3-Cl	8,05 (s)	8,36 (s)	7,78 (t, 2,0)	-	7,60 (ddd, 8,0; 2,0; 1,0)	7,41 (t, 8,0)	7,31 (ddd, 8,0; 2,0; 1,0)	3,45 (t, 8,3)	4,40 (t, 8,3)
2g	3-F	8,05 (s)	8,35 (s)	7,41-7,51 (m)	-	7,41-7,51 (m)	7,04 (t, 7,5)	7,41-7,51 (m)	3,44 (t, 8,2)	4,40 (t, 8,2)
2h	3-Br	8,05 (s)	8,26 (s)	7,93 (t, 2,0)	-	7,64 (ddd, 8,0; 2,0; 1,0)	7,34 (t, 8,0)	7,46 (ddd, 8,0; 2,0; 1,0)	3,46 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)
2i	3,5-diCl	8,06 (s)	8,34 (s)	7,66 (s)	-	7,32 (s)	-	7,66 (s)	3,46 (t, 8,3)	4,40 (t, 8,3)
2j	3,4-diCl	8,05 (s)	8,32 (s)	7,89 (dd, 2,1; 0,5)	-	-	7,55-7,56 (m)	3,45 (t, 8,3)	4,40 (t, 8,3)	
2k	2,4-diCl	8,07 (s)	8,24 (s)	-	7,54- 7,56 (m)	-	7,38 (dd, 8,6; 2,3)	7,54-7,56 (m)	3,43 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)
2l	2,3-diCl	8,07 (s)	8,20 (s)	-	-	7,56 (dd, 8,0; 1,3)	7,34 (t, 8,0)	7,50 (dd, 8,0; 1,3)	3,43 (t, 8,2)	4,39 (t, 8,2)

*foi identificado um sinal simpleto com δ 3,85 (OCH₃).

- Derivados meta-substituídos **2f** ($R=3\text{-Cl}$), **2g** ($R=3\text{-F}$) e **2h** ($R=3\text{-Br}$)

No espectro de **2f** foram identificados dois dupletos de dupletos de dupletos com δ 7,31 e 7,60 (3J 8,0; 4J 2,0 e 4J 1,0 Hz) referentes aos átomos H₆' e H₄', respectivamente. Também foram observados dois tripletos com δ 7,41 (3J 8,0 Hz) e 7,78 (4J 2,0 Hz) relativos aos átomos H₅' e H₂', respectivamente.

O mesmo padrão foi observado para **2h**: dois dupletos de dupletos de dupletos com δ 7,46 e 7,64 (3J 8,0; 4J 2,0 e 4J 1,0 Hz) relativos aos átomos H₆' e H₄', respectivamente, e dois

tripleto com δ 7,34 (3J 8,0 Hz) e 7,93 (4J 2,0 Hz) referentes aos átomos H_5' e H_2' , respectivamente.

Para o derivado fluorado **2g** foram observados um multipeto com δ 7,40-7,54 relativo aos átomos H_2' , H_4' e H_6' e um tripleto com δ 7,04 (3J 7,5 Hz) referente ao átomo H_5' .

- *Derivados diclorados* **2i** (R=3,5-diCl), **2j** (R=3,4-diCl) **2k** (R=2,4-diCl) e **2l** (R=2,3-diCl)

No espectro do derivado **2i** foram observados dois simpletos: δ 7,32, referente a H_4' , e δ 7,66, referente aos átomos H_2'/H_6' . Já no espectro de **2j** foram identificados um multipeto com δ 7,54-7,55 e um dupeto de dupletos com δ 7,89 (4J 2,1; 5J 0,5 Hz) atribuídos aos átomos H_5'/H_6' e H_2' , respectivamente.

Para **2k** também foram identificados um dupeto de dupletos com δ 7,38 (3J 8,6; 4J 2,3 Hz) atribuído ao átomo H_5' e um multipeto com δ 7,54-7,56, referente à H_3'/H_6' . Por fim, no espectro de **2l** foram identificados dois dupletos de dupletos com δ 7,56 e 7,50 (3J 8,0; 4J 1,3 Hz) atribuídos aos átomos H_4' e H_6' , respectivamente, além de um tripleto com δ 7,32 (4J 8,0 Hz) referente a H_5' .

Análises dos espectros de RMN- ^{13}C

A Figura 54 mostra a estrutura-base dos derivados **2(a-l)** com os átomos de carbono numerados para facilitar a discussão dos resultados obtidos. Os dados das análises de RMN- ^{13}C para os doze derivados **2(a-l)** estão organizados na Tabela 14.

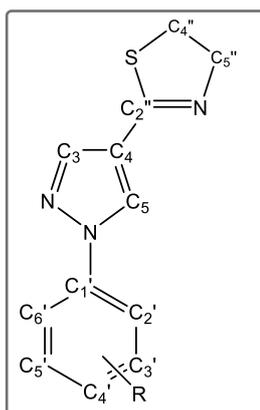


Figura 54. Estrutura-base dos derivados **2(a-l)** com os átomos de carbono numerados.

O sinal referente ao átomo de carbono ligado aos átomos de enxofre e nitrogênio do anel tiazolínico (C_2'') foi identificado na faixa de δ 155,3 a 160,6 enquanto os sinais relativos aos demais átomos de carbono da tiazolina C_4'' e C_5'' foram identificados com δ 29,0-34,1 e 59,4-64,9, respectivamente.

Tabela 14. Dados de RMN-¹³C (100 MHz ou 125 MHz, CDCl₃, δ em ppm, J em Hz) para os derivados **2(a-l)**.

Derivado		C ₂ ''	C ₄ ''	C ₅ ''	C ₃	C ₄	C ₅	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '
2a	H	160,6	33,7	64,0	140,6	118,7	127,5	139,5	119,4	129,6	127,3	129,6	119,4
2b	4-Cl	160,4	34,0	64,4	141,0	119,4	127,6	138,2	120,7	129,9	133,1	129,9	120,7
2c	4-Br	159,6	33,9	64,6	140,8	119,5	127,1	138,5	120,6	132,6	120,8	132,7	120,6
2d	4-F	160,4	34,0	64,5	140,8	119,2	127,7	136,1	121,5 (d, 8,4)	116,7 (d, 23,1)	161,8 (d, 247,3)	116,7 (d, 23,1)	121,5 (d, 8,4)
2e*	4-OCH ₃	159,9	33,8	64,6	140,1	118,7	127,2	133,2	114,6	121,1	158,8	121,1	114,6
2f	3-Cl	160,4	33,8	64,0	140,9	119,2	130,6	140,3	117,2	135,5	127,5	127,3	119,7
2g	3-F	160,5	34,0	64,4	140,1	119,4	127,7	140,9 (d, 10,3)	107,4 (d, 26,5)	163,4 (d, 247,5)	114,3 (d, 21,3)	131,1 (d, 9,1)	114,7 (d, 3,0)
2h	3-Br	159,5	33,9	64,6	140,8	119,5	130,9	140,5	117,6	123,3	130,2	127,3	122,6
2i	3,5-diCl	160,4	34,0	64,3	141,5	119,8	127,8	141,0	117,9	136,3	127,3	136,3	117,9
2j	3,4-diCl	155,3	29,0	59,4	136,3	114,7	126,5	133,8	113,4	129,0	126,4	122,6	116,5
2k	2,4-diCl	159,5	33,9	64,6	140,8	119,5	123,3	140,5	130,9	127,2	130,2	122,5	117,6
2l	2,3-diCl	159,8	34,1	64,9	140,7	118,9	127,9	139,4	130,8	134,7	128,2	132,1	126,3

*foi identificado um sinal com δ 55,6 (OCH₃).

Para os átomos de carbono do núcleo pirazólico, foram identificados os sinais relativos à C₃ na faixa de δ 136,3 a 141,5, os referentes à C₄ com δ 114,7-119,8 e os relativos à C₅ na faixa de δ 123,3 a 130,9. Os sinais atribuídos aos átomos de carbono do anel benzênico estão na região típica de carbono aromático: 133,8 a 141,0 ppm (C₁'), 107,4 a 130,9 ppm (C₂'), 121,0 a 163,4 ppm (C₃'), 114,3 a 161,8 ppm (C₄'), 121,1 a 136,3 ppm (C₅') e 114,6 a 126,3 ppm (C₆'). Nos espectros dos derivados fluorados **2d** e **2g** foram identificados o acoplamento entre os átomos de carbono do anel benzênico e o átomo de flúor: ¹J 247,3 Hz (C₄'), ²J 23,1 Hz (C₃'/C₅'), ³J 8,4 Hz (C₂'/C₆') para **2d** e ¹J 247,5 Hz (C₃'), ²J 26,5 Hz (C₂'), ²J 21,3 Hz (C₄'), ³J 10,3 Hz (C₁'), ³J 9,1 Hz (C₅'), ⁴J 3,0 Hz (C₆') para **2g**.

5.1.2.1 Síntese dos cloridratos de 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l).HCl**

Os cloridratos de 2-(1-*aril-1H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l).HCl** foram obtidos a partir da reação entre **2(a-l)** com cloreto de hidrogênio gasoso, conforme metodologia descrita no item 4.2.2.3. Esta etapa foi necessária a fim de aumentar a solubilidade dos compostos no meio de cultura utilizado nos testes de atividade tripanocida.

Os produtos obtidos foram caracterizados por FT-IR (Anexo I – Espectros 115 a 126) e os dados das análises estão organizados na Tabela 15.

Tabela 15. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados **2(a-l).HCl**.

Ligação química		N-H (sal)	C=N (tiazolina)	C=C/C=N
Movimento vibracional		v	v	v
2a.HCl	H	3384-2308	1617	1613-1429
2b.HCl	4-Cl	3480-2304	1606	1592-1422
2c.HCl	4-Br	3397-2309	1615	1600-1429
2d.HCl	4-F	3382-2306	1620	1607-1422
2e.HCl	4-OCH ₃	3663-2294	1611	1590-1421
2f.HCl	3-Cl	3365-2308	1615	1591-1434
2g.HCl	3-F	3076-2309	1620	1600-1422
2h.HCl	3-Br	3401-2362	1616	1586-1433
2i.HCl	3,5-diCl	3398-2296	1636	1586-1475
2j.HCl	3,4-diCl	3347-2306	1619	1600-1426
2k.HCl	2,4-diCl	3361-2293	1612	1537-1442
2l.HCl	2,3-diCl	3348-3032	1619	1579-1436

Para todos os produtos, foi observada uma banda serrilhada, que variou entre 3663 e 2293 cm⁻¹, característica de sistemas iônicos, indicando que um sal foi obtido. Nas regiões características de estiramentos da ligação C=N do anel tiazolínico, 1636-1608 cm⁻¹, e das ligações C=C/C=N dos sistemas aromáticos, 1613-1421 cm⁻¹, não foram identificadas uma variação significativa em relação aos produtos neutros **2(a-l)**, ou seja, mostrou fortes evidências de que não ocorreu decomposição pelo meio ácido utilizado.

A caracterização por RMN de ¹H e de ¹³C (Anexo J – Espectros 127 a 150) de **2(a-l).HCl** comprovou que as estruturas-base dos produtos neutros foram mantidas, uma vez que, os sinais obtidos apresentaram multiplicidades e integrações similares às dos espectros de **2(a-l)** correspondentes, embora as análises tenham sido feitas em solventes distintos por questão de solubilidade dos compostos. Os espectros de **2(a-l)** foram obtidos em CDCl₃ enquanto as análises de **2(a-l).HCl** foram realizadas em DMSO-*d*₆.

Contudo, foi observada uma mudança significativa nos deslocamentos químicos referentes aos átomos de hidrogênio H₃ e H₅ nos espectros de RMN de ¹H (Tabela 16); ambos foram identificados como sinais simpletos, com δ 9,17 a 9,55 para H₃ e δ 8,41 a 8,63 para H₅, valores maiores do que os observados para os produtos **2(a-l)**: δ 8,01 a 8,07 e δ 8,19 a 8,37, respectivamente (Tabela 13, página 72). Tal observação sugere que ocorreu protonação no átomo de nitrogênio do tipo “piridínico” do pirazol.

Tabela 16. Dados de RMN-¹H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO-*d*₆, δ em ppm, *J* em Hz) para os derivados **2(a-l).HCl**.

Derivado		H ₃	H ₅	H ₂ '	H ₃ '	H ₄ '	H ₅ '	H ₆ '	H ₄ ''	H ₅ ''
2a.HCl	H	9,55 (s)	8,63 (s)	7,93 (pseudo- dd)	7,59 (t, 8,0)	7,45 (t, 8,0)	7,59 (t, 8,0)	7,93 (pseudo- dd)	3,44 (t, 8,7)	4,40 (t, 8,7)
2b.HCl	4-Cl	9,34 (s)	8,43 (s)	7,96 (d, 9,0)	7,63 (d, 9,0)	-	7,63 (d, 9,0)	7,96 (d, 9,0)	3,67 (t, 8,6)	4,37 (t, 8,6)
2c.HCl	4-Br	9,43 (s)	8,51 (s)	7,90 (d, 9,0)	7,77 (d, 9,0)	-	7,77 (d, 9,0)	7,90 (d, 9,0)	3,70 (t, 8,6)	4,38 (t, 8,6)
2d.HCl	4-F	9,50 (s)	8,62 (s)	7,97 (dd, 8,8; 4,7)	7,44 (t, 8,8)	-	7,44 (t, 8,8)	7,97 (dd, 8,8; 4,7)	3,76 (t, 8,7)	4,39 (t, 8,7)
2e.HCl*	4-OCH ₃	9,42 (s)	8,57 (s)	7,82 (d, 9,1)	7,12 (d, 9,1)	-	7,12 (d, 9,1)	7,82 (d, 9,1)	3,76 (t, 8,7)	4,38 (t, 8,7)
2f.HCl	3-Cl	9,39 (s)	8,44 (s)	8,08 (t, 2,0)	-	7,93 (ddd, 8,1; 2,0; 0,9)	7,59 (t, 8,1)	7,49 (ddd, 8,1; 2,0; 0,9)	3,67 (pseudo- t)	4,38 (t, 8,6)
2g.HCl	3-F	9,34 (s)	8,41 (s)	7,76- 7,82 (m)	-	7,76- 7,82 (m)	7,27 (td, 8,6; 2,3)	7,25-7,29 (m)	**	4,36 (t, 8,6)
2h.HCl	3-Br	9,49 (s)	8,56 (s)	8,20 (t, 2,0)	-	7,97 (ddd, 8,1; 2,0; 0,9)	7,53 (t, 8,1)	7,63 (ddd, 8,1; 2,0; 0,9)	3,71 (t, 8,6)	4,39 (t, 8,6)
2i.HCl	3,5-diCl	9,47 (s)	8,51 (s)	8,07 (s)	-	7,68 (s)	-	8,07 (s)	3,68 (t, 8,6)	4,38 (t, 8,6)
2j.HCl***	3,4-diCl	9,13 (s)	8,22-8,23 (m)		-	-	7,78 (d, 8,8)	7,94 (dd, 8,8; 2,6)	3,55 (t, 8,4)	4,35 (t, 8,4)
2k.HCl	2,4-diCl	9,17 (s)	8,58 (s)	-	7,98 (d, 2,3)	-	7,67 (dd, 8,6; 2,3)	7,75 (d, 8,6)	3,72 (t, 8,7)	4,38 (t, 8,7)
2l.HCl	2,3-diCl	9,22 (s)	8,61 (s)	-	-	7,90 (dd, 8,0; 1,5)	7,60 (t, 8,0)	7,71 (dd, 8,0; 1,5)	3,74 (t, 8,7)	4,39 (t, 8,7)

*foi identificado um sinal simpleto com δ 3,82 (OCH₃).

sinal relativo aos átomos H₄'' do derivado **2g.HCl deve estar sobreposto pelo sinal intenso com δ 3,67. Um espectro de correlação ¹H x ¹³C será realizado para confirmar o sinal relativo à H₄''.

***amostra pouco solúvel em DMSO-*d*₆ a 25°C e a 50°C.

A maior desblindagem dos átomos de hidrogênio do núcleo pirazólico pode ser explicado pela ressonância mostrada na Figura 55. É possível observar que os átomos de carbono C₃ e C₅, ligados aos átomos de hidrogênio H₃ e H₅, apresentam uma carga positiva o que aumenta a desblindagem dos núcleos em questão.

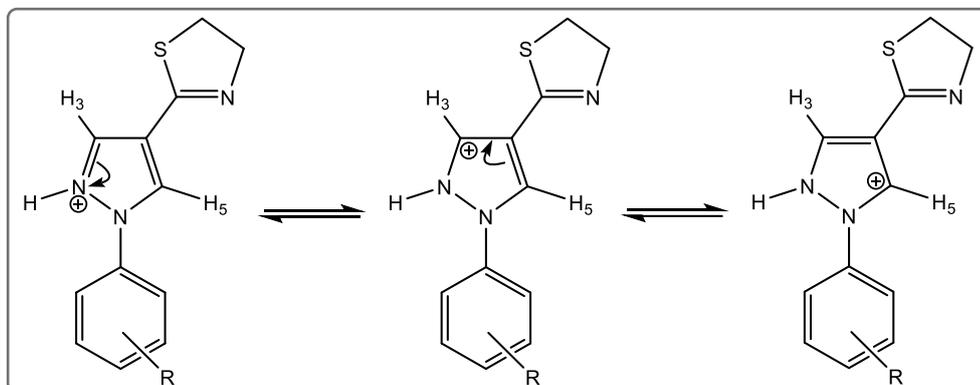


Figura 55. Estabilização da carga positiva gerada pela protonação.

Outra observação importante que reforça que a protonação ocorreu provavelmente em um átomo de nitrogênio é a presença de um sinal alargado, entre δ 3,50 e 4,50, típico de átomo de hidrogênio de ligações N-H.

Nos espectros de RMN de ¹³C a principal diferença analisada entre os produtos **2(a-I).HCl** e a forma neutra foi a região onde se identificou o sinal relativo à C₂'', átomo de carbono sp² do anel tiazolínico (Tabela 17). Nos derivados **2(a-I)** esse sinal apresentou δ 155,3 a 160,6 enquanto **2(a-I).HCl** foi observado com δ 170,8 e 173,2, uma região bem mais desblindada. Como houve uma diferença muito grande no deslocamento químico referente à C₂'', em relação à **2(a-I)**, acredita-se que a protonação também possa ter ocorrido no átomo de nitrogênio do anel tiazolínico.

O sinal referente à C₂'' não foi observado em todos os espectros, provavelmente devido ao alto tempo necessário para a relaxação do núcleo, uma vez que nos espectros em que o sinal foi identificado, este era de baixa intensidade.

Embora a análise por Ressonância Magnética Nuclear tenha permitido algumas suposições sobre a estrutura dos cloridratos obtidos, para comprovação das estruturas obtidas, se faz necessário, por exemplo, o uso de cálculos teóricos para predição de pKa, que sugeriria quais os sítios onde pode(m) ter ocorrido a(s) protonação(ões). Contudo, apenas pela caracterização dos produtos por Difração de Raios-X (DRX) será possível confirmar as estruturas dos derivados **2(a-I).HCl**. As três principais estruturas sugeridas para **2(a-I).HCl** são apresentadas na Figura 56.

Tabela 17. Dados de RMN-¹³C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO-*d*₆, δ ppm, J Hz) para os derivados **2(a-l).HCl**.

Derivado		C ₂ ''	C ₄ ''	C ₅ ''	C ₃	C ₄	C ₅	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '
2a.HCl	H	173,0	32,7	55,7	141,9	113,8	128,6	138,8	119,8	130,3	132,8	130,3	119,8
2b.HCl	4-Cl	-	33,0	58,5	141,5	115,6	131,1	131,9	121,4	130,1	132,4	130,1	121,4
2c.HCl	4-Br	-	32,9	57,4	141,7	115,0	132,3	138,2	121,7	133,1	120,9	133,1	121,7
2d.HCl	4-F	172,6	32,7	56,0	141,8	114,0	132,9	135,4 (d, 2,8)	122,1 (d, 8,8)	117,1 (d, 23,3)	161,7 (d, 245,1)	116,7 (d, 23,1)	122,1 (d, 8,8)
2e.HCl*	4-OCH ₃	173,2	32,6	55,6	141,6	113,4	132,3	132,4	115,3	121,4	159,3	121,4	115,3
2f.HCl	3-Cl	-	33,0	58,5	141,5	115,7	132,3	140,1	118,2	134,6	131,9	128,0	119,4
2g.HCl	3-F	170,8	32,9	57,4	141,5	-	132,5	140,2 (d, 10,5)	107,2 (d, 26,9)	162,9 (d, 244,7)	115,1 (d, 20,5)	132,2 (d, 9,2)	115,6 (d, 3,0)
2h.HCl	3-Br	-	32,9	57,2	141,7	115,0	132,8	140,1	118,7	122,9	132,2	131,0	122,2
2i.HCl	3,5-diCl	-	32,6	58,0	141,2	115,6	132,4	140,2	117,8	135,1	126,9	135,1	117,8
2j.HCl**	3,4-diCl	Inconclusivo devido à baixa solubilidade											
2k.HCl	2,4-diCl	-	32,2	56,0	141,2	113,1	129,6	136,4	135,5	130,0	134,8	129,5	128,5
2l.HCl	2,3-diCl	172,1	32,8	56,4	141,7	113,6	128,2	138,7	132,2	137,1	128,2	133,3	127,8

*foi identificado um sinal com δ 56,0 (OCH₃).

**amostra pouco solúvel em DMSO-*d*₆ a 25°C e a 50°C.

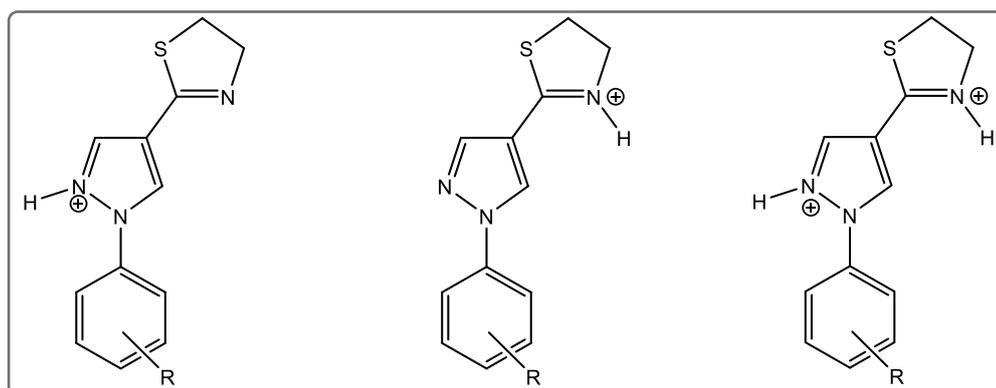


Figura 56. Possíveis estruturas dos derivados **2(a-l).HCl**.

5.1.3 SÍNTESE DOS DERIVADOS 5-AMINO-1-ARIL-1*H*-PIRAZOL-4-CARBOXAMIDAS **3(a-l)**

Os derivados 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)** foram obtidos a partir da reação dos intermediários-chave **4(a-l)** com ácido sulfúrico concentrado, conforme a metodologia descrita no item 4.2.3.2. Na Figura 57 estão representadas as estruturas dos doze derivados obtidos.

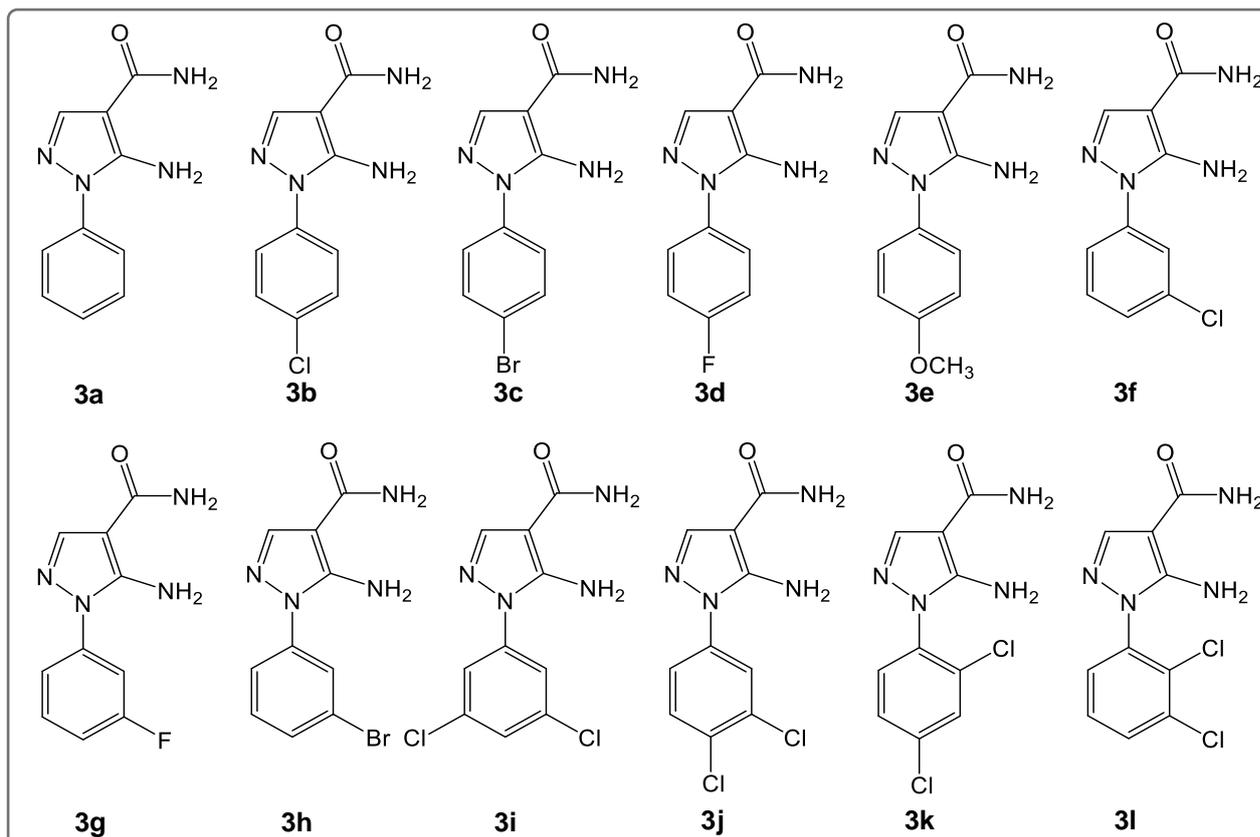
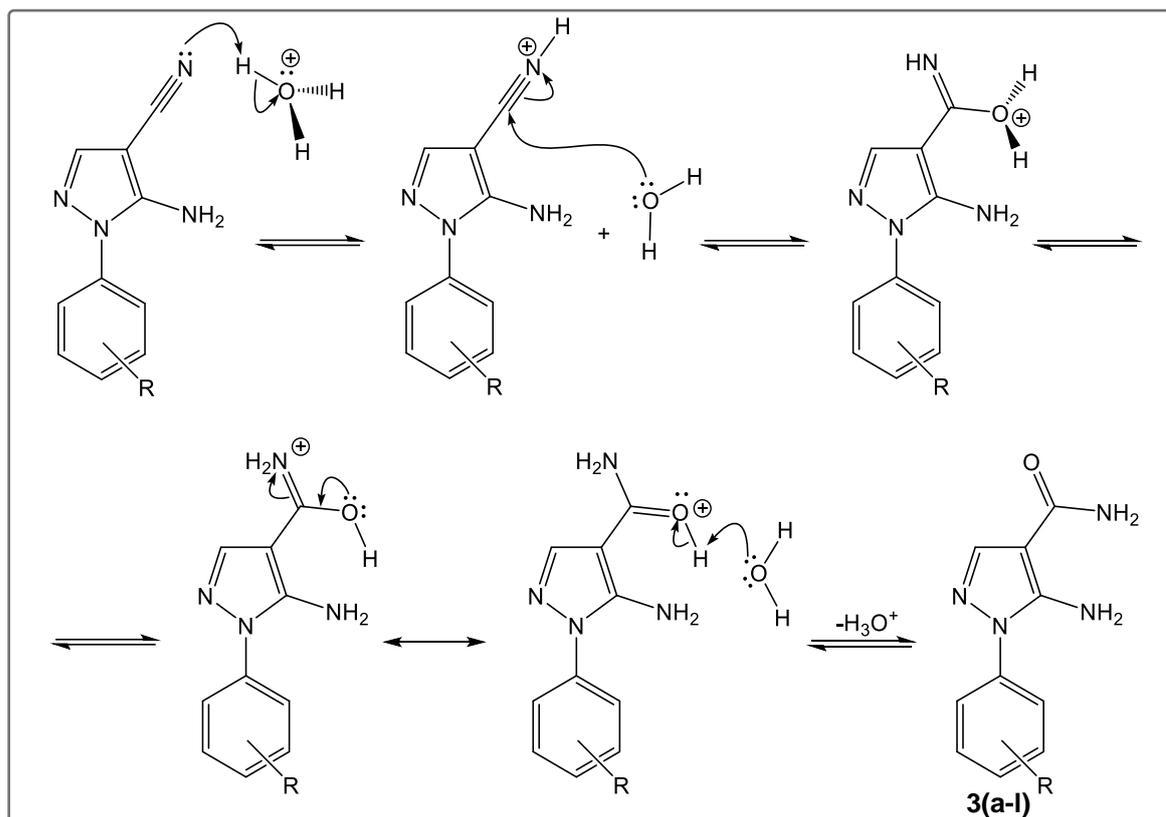


Figura 57. Estruturas dos derivados 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)**.

O mecanismo (Esquema 22) para a obtenção dos produtos **3(a-l)** consiste na hidrólise ácida da nitrila. Inicialmente, ocorre a protonação do átomo de nitrogênio do grupo ciano, liberando água no meio reacional. O átomo de oxigênio da água realiza uma adição nucleofílica no átomo de carbono do grupo ciano, formando o intermediário ácido imidínico protonado que, após transferências de prótons e deslocalização eletrônica, forma a carboxamida protonada.

A etapa final é a reação ácido-base entre a água e a carboxamida protonada, formando o produto desejado. O controle de temperatura é necessário para que o produto de hidrólise seja a carboxamida e não o ácido carboxílico correspondente.



Esquema 22. Mecanismo para obtenção dos derivados **3(a-l)**.

Os derivados **3(a-l)** foram obtidos com rendimentos variando de 26 a 84%, como mostra a Tabela 18. As faixas de fusão mensuradas apresentaram variação de 2 e 4°C para a maioria dos produtos, exceto para **3j** que apresentou faixa de 8°C. A diferença entre os valores obtidos e os relatados na literatura pode ser atribuída a diversos fatores como: a diferença no arranjo cristalino dos sólidos devido ao método utilizado para a cristalização, a calibração do termômetro e do equipamento.

Tabela 18. Rendimentos e faixas de fusão dos derivados **3(a-l)**.

Derivado	R	Rendimento (%)	Faixa de fusão	
			Experimental	Literatura
3a	H	27	148-150	172-173 ^a
3b	4-Cl	51	196-200	*
3c	4-Br	38	138-142	*
3d	4-F	69	232-234	*
3e	4-OCH ₃	26	214-218	*
3f	3-Cl	83	168-170	*
3g	3-F	51	178-182	*
3h	3-Br	84	138-142	**
3i	3,5-diCl	78	184-186	**
3j	3,4-diCl	74	204-212	**
3k	2,4-diCl	75	212-214	**
3l	2,3-diCl	84	160-164	*

^aCHENG; ROBINS, 1956 *não encontrado **produto inédito

A caracterização por Espectroscopia na região do Infravermelho (Anexo K – Espectros 151 a 162) evidenciou a formação dos produtos desejados. Os dados das análises dos espectros dos doze derivados estão relacionados na Tabela 19.

Tabela 19. Principais absorções na região do Infravermelho dos derivados **3(a-l)**.

Ligação química	N-H	C-H (C sp ²)	C=O	C=C/C=N
Movimento vibracional	v	v	v	v
3a H	3370-3168	3069	1653	1596-1440
3b 4-Cl	3467-3148	3091-3063	1654	1604-1490
3c 4-Br	3423-3172	3107	1653	1607-1440
3d 4-F	3482-3128	3078	1648	1610-1435
3e 4-OCH ₃	3423-3173	*	1635	1597-1458
3f 3-Cl	3415-3192	*	1656	1612-1447
3g 3-F	3346-3196	*	1656	1612-1461
3h 3-Br	3424-3188	*	1657	1587-1443
3i 3,5-diCl	3437-3236	3090	1641	1607-1444
3j 3,4-diCl	3430-3204	3097	1645	1607-1440
3k 2,4-diCl	3440-3173	3101	1636	1600-1438
3l 2,3-diCl	3356-3189	*	1667	1603-1435

*não identificadas devido à sobreposição das bandas de estiramento das ligações N-H.

A principal evidência da ocorrência da reação foi a ausência da banda entre 2243 e 2221 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação C≡N, presente nas matérias-primas, e a presença da banda relativa ao estiramento da ligação C=O, identificada na faixa de 1657 a 1635 cm⁻¹. Entre 3482 e 3128 cm⁻¹ foram observadas as bandas referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico das ligações N-H, e as bandas de estiramento da ligação C-H ficaram entre 3102 e 3063 cm⁻¹. Contudo, para alguns derivados não foram identificadas as bandas referentes aos estiramentos das ligações C-H devido à sobreposição com as bandas de estiramento das ligações N-H. Entre 1612 e 1435 cm⁻¹ estão presentes as bandas relativas aos estiramentos das ligações C=C e C=N de sistemas aromáticos.

Os dados obtidos na caracterização por Espectrometria de Massas de alta resolução (Anexo L – Espectros 163 a 174), em modo positivo, estão resumidos na Tabela 20. Para todos os derivados o pico base foi identificado com a relação *m/z* referente à molécula cationizada com sódio [M+Na]⁺, exceto para **3k**, o qual cuja *m/z* do pico base corresponde à molécula protonada [M+H]⁺.

Conforme esperado, nos derivados monoclорados **3b** e **3f** e para os derivados diclorados **3(i-l)** foi identificado pico com *m/z* duas unidades a mais que o pico base, com intensidade de 1/3 e 2/3, respectivamente. Já para os derivados bromados **3c** e **3h** foi

identificado o pico com m/z duas unidades a mais que o pico base com intensidade de aproximadamente 97%.

Tabela 20. Resultados da espectrometria de massas de alta resolução para os derivados **3(a-l)**.

Derivado	R	Íon	m/z teórico	m/z experimental	Erro (ppm)
3a	H	[M+Na] ⁺	225,0752	225,0741	4,89
3b	4-Cl	[M+Na] ⁺	259,0363	259,0337	10,0
3c	4-Br	[M+Na] ⁺	302,9857	302,9837	6,60
3d	4-F	[M+Na] ⁺	243,0658	243,0644	5,76
3e	4-OCH ₃	[M+Na] ⁺	255,0858	255,0856	0,78
3f	3-Cl	[M+Na] ⁺	259,0363	259,0346	6,56
3g	3-F	[M+Na] ⁺	243,0658	243,0631	11,1
3h	3-Br	[M+Na] ⁺	302,9857	302,9837	6,60
3i	3,5-diCl	[M+Na] ⁺	292,9973	292,9956	5,80
3j	3,4-diCl	[M+Na] ⁺	292,9973	292,9948	8,53
3k	2,4-diCl	[M+H] ⁺	271,0148	271,0155	2,58
3l	2,3-diCl	[M+Na] ⁺	292,9973	292,9962	3,75

Os produtos **3(a-l)** tiveram suas estruturas confirmadas através da análise de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C (Anexo M – Espectros 175 a 198).

Análises dos espectros de RMN-¹H

Na Figura 58 tem-se a estrutura-base dos derivados **3(a-l)** com os átomos de hidrogênio numerados para facilitar a discussão dos resultados obtidos. Os dados obtidos na análise dos espectros de RMN-¹H estão organizados na Tabela 21.

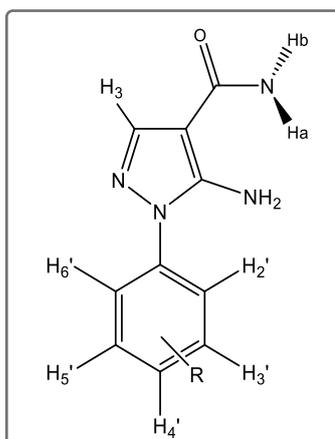


Figura 58. Estrutura-base dos derivados **3(a-l)**, com os átomos de hidrogênio numerados.

Para os doze derivados, o sinal referente ao átomo de hidrogênio pirazólico H₃ foi identificado com δ na faixa de 7,63 a 7,96 como um simpleto. Para os espectros obtidos em

DMSO- d_6 , foi observado um simpleto na faixa de δ 6,21 a 6,64 referente aos átomos de hidrogênio do grupo amino. Os átomos de hidrogênio da carboxamida são diferenciáveis no RMN- ^1H devido a ressonância no grupo amino (Figura 59). Para H_a e H_b os sinais observados foram simpletos ou do tipo “broad” sobreposto com outros sinais com δ 7,35 a 7,46 ou como simpletos alargados na faixa de δ 6,79 a 6,94.

Para os espectros para os derivados **3f**, **3h** e **3k** foram obtidos em CDCl_3 e não foi observada diferenciação dos sinais dos dois grupos NH_2 , aparecendo como sinais simpletos alargados com δ 5,35 a 5,50. No espectro de **3c** não foram observados os sinais referentes aos átomos de hidrogênio dos grupos NH_2 .

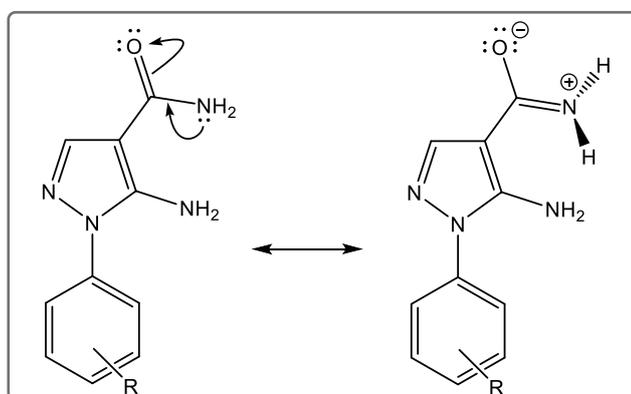


Figura 59. Estruturas de ressonância no grupo amida dos derivados 5-amino-1-*aril*-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)**.

Para facilitar a análise dos resultados, os derivados foram agrupados de acordo com o padrão de substituição no anel benzênico:

- Derivado **3a** ($R=H$)

No espectro do derivado **3a** foram identificados um tripleto com δ 7,38 e 3J 7,2 Hz referente a H_4' e um multipletto com δ 7,50-7,57 atribuído aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' e H_3'/H_5' .

- Derivados *para*-substituídos **3b** ($R=4\text{-Cl}$), **3c** ($R=4\text{-Br}$), **3d** ($R=4\text{-F}$) e **3e** ($R=\text{OCH}_3$)

Para o derivado **3b**, os átomos de hidrogênio H_2'/H_6' e H_3'/H_5' foram atribuídos ao sinal simpleto com δ 7,58. Para **3c**, foram observados dois dupletos com δ 7,71 e 7,53 com 3J 8,8 Hz referentes a H_2'/H_6' e H_3'/H_5' , respectivamente, mesmo padrão observado para o produto **3e**, com δ 7,43 e 7,06 com 3J 9,0 Hz, que ainda apresentou um simpleto, com δ 3,80, referente aos átomos de hidrogênio do grupo metóxi (OCH_3).

O derivado fluorado **3d** apresentou um tripleto com δ 7,36 (3J 8,9 Hz) referente aos átomos de hidrogênio equivalentes H_3'/H_5' e um dupletto de dupletos com δ 7,58 (3J 8,9; 4J 4,9 Hz) referente aos átomos de hidrogênio equivalentes H_2'/H_6' .

Tabela 21. Dados de RMN-¹H (400 MHz ou 500 MHz, DMSO-*d*₆ ou CDCl₃, δ em ppm, *J* em Hz) para os derivados **3(a-l)**.

Derivado	H ₃	H ₂ '	H ₃ '	H ₄ '	H ₅ '	H ₆ '	NH ₂	H _a /H _b	
3a	H	7,90 (s)	7,50-7,57 (m)	7,38 (t, 7,2)	7,50-7,57 (m)	6,36 (s)	7,38 [▲] 6,84 (s)		
3b	4-Cl	7,92 (s)	7,58 (s)	-	7,58 (s)	6,44 (s)	7,42 (s) 6,87 (s)		
3c	4-Br	7,92 (s)	7,71 (d, 8,8)	7,53 (d, 8,8)	-	7,53 (d, 8,8)	7,71 (d, 8,8)	-	
3d	4-F	7,89 (s)	7,58 (dd, 8,9; 4,9)	7,36 (t, 8,9)	-	7,36 (t, 8,9)	7,58 (dd, 8,9; 4,9)	6,35 (s)	7,36 [▲] 6,85 (s)
3e*	4-OCH ₃	7,85 (s)	7,43 (d, 9,0)	7,06 (d, 9,0)	-	7,06 (d, 9,0)	7,43 (d, 9,0)	6,21 (s)	7,43 [▲] 6,81 (s)
3f	3-Cl	7,64 (s)	7,61 (s)	-	7,43-7,48 (m)	7,39 (d, 7,3)	5,50 (s)		
3g	3-F	7,63 (s)	7,20-7,24 (m)	-	7,53-7,58 (m)	7,41-7,45 (m)	6,51 (s)	7,43 [▲] 6,88 (s)	
3h	3-Br	7,76 (s)	7,63 (s)	-	7,53 (t, 8,8)	7,39 (t, 8,8)	7,53 (t, 8,8)	5,50 (s)	
3i	3,5-diCl	7,96 (s)	7,64 (d, 1,8)	-	7,62 (d, 1,8)	-	7,64 (d, 1,8)	6,64 (s)	7,46 (s) 6,94 (s)
3j	3,4-diCl	7,94 (s)	7,83 (d, 2,5)	-	-	7,78 (d, 8,7)	7,59 (dd, 8,7; 2,5)	6,56 (s)	7,44 (s) 6,91 (s)
3k	2,4-diCl	7,64 (s)	-	7,60-7,61 (m)	-	7,42 (s)	5,35 (s)		
3l	2,3-diCl	7,88 (s)	-	-	7,81 (dd, 7,9; 1,5)	7,47-7,52 (m)	6,30 (s)	7,35 (s) 6,79 (s)	

[▲]sinal sobreposto com sinal de hidrogênios do anel benzênico.

*identificado sinal simpleto com δ 3,80 (OCH₃).

- Derivados meta-substituídos **3f** (R=3-Cl), **3g** (R=3-F) e **3h** (R=3-Br)

No espectro de **3f** foram observados um simpleto com δ 7,61 atribuído ao átomo H₂', um multipeto com δ 7,43-7,48 referente aos átomos H₄' e H₅' e um dupeto com δ 7,39 (³J 7,3 Hz). Para **3h**, os sinais identificados foram um simpleto relativo a H₂', com δ 7,63, dois tripletos com δ 7,53 e 7,39 atribuídos aos átomos H₄'/H₆' e H₅', respectivamente, com ³J 8,8 Hz. No espectro do derivado fluorado **3g** foram identificados três multipletos com δ 7,20-7,24; 7,53-7,58 e 7,41-7,45, atribuídos aos átomos H₂', H₄' e H₅'/H₆', respectivamente.

- *Derivados diclorados 3i* (R=3,5-diCl), **3j** (R=3,4-diCl) **3k** (R=2,4-diCl) e **3l** (R=2,3-diCl)

No espectro do derivado **3i** foram identificados dois dupletos, o primeiro com $\delta 7,63$ (4J 1,8 Hz) referente à H_4' e o segundo com $\delta 7,64$ (4J 1,8 Hz) referente aos átomos de hidrogênio H_2'/H_6' . No espectro de **3j** o sinal relativo a H_2' foi observado com $\delta 7,83$ (4J 2,5 Hz) como um duplete, assim como o sinal referente à H_5' com $\delta 7,78$ (3J 8,7 Hz) e o sinal relativo a H_6' foi observado como um duplete de dupletos com $\delta 7,59$ (3J 8,7; 4J 2,5 Hz).

No espectro de **3k** foram observados dois sinais: um multipletto com $\delta 7,60-7,61$ relativo à H_3' e um simpleto, com $\delta 7,42$, referente à H_5' e H_6' . Para o derivado **3l** também foram identificados dois sinais, um duplete de dupletos com $\delta 7,81$ (3J 7,9 Hz; 4J 1,5 Hz) relativo à H_4' e um multipletto com $\delta 7,46-7,54$ referente à H_5' e H_6' .

Análises dos espectros de RMN- ^{13}C

A Figura 60 mostra a estrutura-base dos derivados **3(a-l)** com os átomos de carbono numerados para facilitar a discussão dos resultados obtidos. Os dados das análises de RMN- ^{13}C estão organizados na Tabela 22.

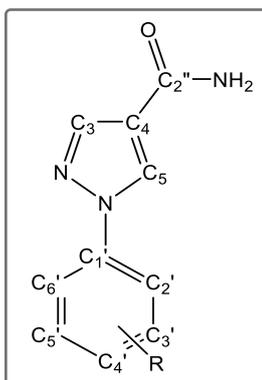


Figura 60. Estrutura-base dos derivados **3(a-l)** com os átomos de carbono numerados.

O sinal referente ao átomo de carbono da carboxamida (C_2'') foi identificado na faixa de 165,9 a 166,5 ppm. Os sinais referentes aos átomos de carbono do anel pirazólico foram identificados entre $\delta 138,5$ a $140,7$, $\delta 96,0$ a $98,4$ e $\delta 149,2$ a $150,6$ relativos à C_3 , C_4 e C_5 , respectivamente.

Os sinais atribuídos aos átomos de carbono do anel benzênico foram identificados na região típica de carbono aromático: 131,0 a 140,5 ppm (C_1'), 114,9 a 133,2 ppm (C_2'), 116,6 a 162,1 ppm (C_3'), 113,5 a 161,1 ppm (C_4'), 116,6 a 139,6 ppm (C_5') e 109,9 a 128,8 ppm (C_6'). Nos espectros dos derivados fluorados **3d** e **3g** foram identificados o acoplamento entre os átomos de carbono do anel benzênico e o átomo de flúor: 1J 242,6 Hz (C_4'), 2J 22,8 Hz (C_3'/C_5'), 3J 8,7 Hz (C_2'/C_6') para **3d** e 1J 242,8 Hz (C_3'), 2J 25,0 Hz (C_2'), 2J 20,8 Hz (C_4'), 3J 10,4 Hz (C_1'), 3J 9,2 Hz (C_5'), 4J 2,7 Hz (C_6') para **3g**.

Tabela 22. Dados de RMN-¹³C (100 MHz ou 125 MHz, DMSO-*d*₆ ou CDCl₃, δ em ppm, *J* em Hz) para os derivados **3(a-l)**.

Derivado		C ₂ ''	C ₃	C ₄	C ₅	C ₁ '	C ₂ '	C ₃ '	C ₄ '	C ₅ '	C ₆ '
3a	H	166,0	138,9	97,4	149,2	138,2	122,9	129,2	126,9	129,2	122,9
3b	4-Cl	166,5	139,8	96,1	149,9	137,6	125,2	129,7	131,7	129,8	125,2
3c	4-Br	166,5	139,8	98,1	149,9	138,0	125,5	132,7	120,0	132,7	125,5
3d	4-F	166,5	139,4	97,9	149,9	135,1	126,0 (d, 8,7)	116,6 (d, 22,8)	161,1 (d, 242,6)	116,6 (d, 22,8)	126,0 (d, 8,7)
3e*	4-OCH ₃	166,6	138,9	97,7	149,6	131,5	114,9	125,5	158,6	125,5	114,9
3f	3-Cl	166,4	138,9	97,6	149,5	138,4	121,7	135,8	128,5	131,0	124,2
3g	3-F	165,9	139,7	97,6	149,5	131,0 (d, 9,2)	109,9 (d, 25,0)	162,1 (d, 242,8)	113,5 (d, 20,8)	139,6 (d, 10,4)	109,9 (d, 2,7)
3h	3-Br	166,4	139,0	97,6	149,5	138,5	122,2	127,1	131,2	131,4	123,6
3i	3,5-diCl	166,3	140,7	98,4	150,4	140,5	121,8	135,0	126,7	135,0	121,8
3j	3,4-diCl	166,4	140,2	98,3	150,2	138,5	123,6	131,7	129,7	132,1	125,0
3k	2,4-diCl	166,1	138,5	96,6	150,4	136,6	133,2	130,7	133,2	130,7	128,5
3l	2,3-diCl	166,0	139,3	96,0	150,6	136,9	129,1	132,7	130,8	131,4	128,8

*identificado sinal com δ 55,9 (OCH₃).

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.2.1 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os derivados **1(a-l)** estão sendo avaliados quanto a atividade antibacteriana no LEMB, conforme a metodologia descrita no item **4.4.1**. Até o momento, foram obtidos os resultados de CMI de cinco compostos: **1b**, **1c**, **1e**, **1g** e **1j**. Todos apresentaram CMI > 1024 mg/mL frente a bactéria *Staphylococcus aureus* e não tiveram a CMB avaliada. Tais resultados indicam que os compostos não têm ação sobre essa espécie de bactérias.

Para os demais derivados, aguarda-se os resultados frente à *Staphylococcus aureus*. Ainda não foram realizados ensaios contra a espécie *Pseudomonas aeruginosa*.

5.2.2 ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Os derivados **2(a-l)** e **3(a-l)** estão sendo avaliados quanto à citotoxicidade e quanto à atividade tripanocida no LUC, conforma a metodologia descrita no item **4.4.2**.

Todos os derivados **2(a-l)** apresentaram problema de solubilidade no meio de cultura, precipitando no meio o que tornou inviável a avaliação tanto da citotoxicidade quanto da atividade tripanocida destes compostos. Para que fosse possível realizar a análise, foram obtidos os respectivos cloridratos dos derivados **2(a-l)**, denominados **2(a-l).HCl**, que estão sendo avaliados, ainda sem resultados.

Para todos os derivados **3(a-l)** obteve-se valores de $CC_{50} > 500 \mu\text{M}$, ou seja, os derivados mostraram baixa citotoxicidade. Todavia, os resultados de atividade tripanocida apresentaram $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$, contra a forma tripomastigotas, para todos os produtos avaliados.

5.2.3 ESTUDOS *IN SILICO*

Os parâmetros físico-químicos para os derivados **2(a-l)** estão sendo avaliados de acordo com a metodologia apresentada em **4.4.3** e ainda não foram obtidos. Para os derivados **3(a-l)**, os parâmetros físico-químicos já foram avaliados e os dados obtidos são apresentados na Tabela 23.

Os derivados **3(a-l)** não violam as regras de Lipinski uma vez que apresentam baixa massa molar ($MM \leq 281$), boa lipofilicidade ($\log P \leq 2,23$ e $\log D \leq 2,03$), ligações doadoras de hidrogênio (HBD) = 4, ligações acceptoras de hidrogênio (HBA) ≤ 6 . As regras de Lipinski são regras empíricas utilizadas para avaliar propriedades físico-químicas que são importantes para que a substância tenha disponibilidade de ser administrada via oral. Estas regras preveem que, para uma boa absorção, o número de HBD não pode ser maior do que 5 e o número de HBA não pode ultrapassar 10, enquanto o $\log P$ estimado deve ser menor do que

5 e a massa molar não deve ser superior a 500 Daltons (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2017).

Extensões dessas regras indicam ainda que a área superficial polar da molécula não deve ser superior a 140 Å² (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2017), para facilitar a permeabilização da membrana citoplasmática, e para todos os derivados **3(a-l)**, esses valores foram < 96 Å². Os derivados apresentam ainda boa solubilidade, com logSw ≤ -1,9.

Ainda segundo os estudos *in silico*, não há indícios de que os compostos sejam indutores de fosfolipidose, sugerindo riscos reduzidos de efeitos adversos. A fosfolipidose é caracterizada por uma sobrecarga nos lisossomos pelo acúmulo de fosfolipídeos, o que impede a excreção de metabólitos que acabam sendo acumulados no interior das células e podem levar a manifestação de efeitos nocivos.

Tabela 23. Parâmetros físico-químicos *in silico* dos derivados pirazol-carboxamidas **3(a-l)**.

Derivados		Propriedades físico-químicas								
		MM	logP	logD	logSw	tPSA	HBD	HBA	Lipinski	Fosfolipidose
3a	H	202,21	0,97	0,82	-1,9	86,93	4	5	0	Não indutor
3b	4-Cl	236,66	1,6	1,42	-2,51	86,93	4	5	0	Não indutor
3c	4-Br	281,11	1,66	1,59	-2,82	86,93	4	5	0	Não indutor
3d	4-F	220,20	1,07	0,96	-2,07	86,93	4	5	0	Não indutor
3e*	4-OCH ₃	232,24	0,94	0,66	-1,95	96,16	4	6	0	Não indutor
3f	3-Cl	236,66	1,6	1,42	-2,15	86,93	4	5	0	Não indutor
3g	3-F	220,20	1,07	0,96	-2,07	86,93	4	5	0	Não indutor
3h	3-Br	281,11	1,66	1,59	-2,82	86,93	4	5	0	Não indutor
3i	3,5-diCl	271,10	2,23	2,03	-3,12	86,93	4	5	0	Não indutor
3j	3,4-diCl	271,10	2,23	2,03	-3,12	86,93	4	5	0	Não indutor
3k	2,4-diCl	271,10	2,23	2,03	-3,12	86,93	4	5	0	Não indutor
3l	2,3-diCl	271,10	2,23	2,03	-3,12	86,93	4	5	0	Não indutor

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Foram obtidos dezenove intermediários-chave, sendo oito derivados 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **4(a,c-i)** com rendimentos de 69 a 98% e onze derivados 1-aryl-1*H*-pirazol-4-carbonitrilas **5(a-j,l)** obtidos com 80 a 98% de rendimento.

Os doze produtos finais 5-(1-aryl-1*H*-pirazol-4-il)-1*H*-tetrazóis **1(a-l)** foram sintetizados com rendimentos na faixa de 10 a 78%. Os resultados de CMI para os derivados **1b**, **1c**, **1e**, **1g** e **1j** frente à *S. aureus* foram maiores do que 1024 mg/mL, mostrando baixa atividade dos compostos frente a esta espécie.

Os doze produtos inéditos 2-(1-aryl-1*H*-pirazol-4-il)-4,5-di-hidrotiazóis **2(a-l)** foram obtidos com rendimentos variando de bons a excelentes, 71 a 91%, e não puderam ser avaliados quanto à atividade tripanocida nem quanto à citotoxicidade, devido à baixa solubilidade no meio de cultura utilizado. Foram então obtidos doze cloridratos **2(a-l).HCl** correspondentes.

Os doze derivados 5-amino-1-aryl-1*H*-pirazol-4-carboxamidas **3(a-l)**, sendo quatro derivados **3(h-k)** inéditos, foram sintetizados com rendimentos de 26 a 84% e apresentaram $CC_{50} > 500 \mu\text{M}$ e $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$. Os resultados *in silico* mostram que os derivados não violam as regras de Lipinski, apresentam boa solubilidade e não são indutores de fosfolipidose, o que sugere reduzidos riscos de efeitos colaterais.

Como perspectivas, espera-se obter os resultados de atividade frente a *S. aureus* dos derivados **1a**, **1d**, **1f**, **1h**, **1i**, **1k** e **1l** e os resultados de atividade frente a *P. aeruginosa* para todos os derivados **1(a-l)**. Espera-se ainda, obter todos os resultados *in silico* das propriedades físico-químicas dos derivados **2(a-l)**, caracterizar por DRX os produtos **2(a-l).HCl** para confirmar as estruturas dos compostos e obter os resultados dos testes de atividade tripanocida e de citotoxicidade para os derivados **2(a-l).HCl**.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, C.; SUNYOTO, T.; TEDIOSI, F.; SICURI, E. Are public-private partnerships the solution to tackle neglected tropical diseases? A systematic review of the literature. **Health Policy**, v. 121, n. 7, p. 745–754, 2017.
- AHLSTRÖM, M. M.; RIDDERSTRÖM, M.; ZAMORA, I.; LUTHMAN, K. CYP2C9 structure-metabolism relationships: Optimizing the metabolic stability of COX-2 inhibitors. **J. Med. Chem.**, v. 50, n. 18, p. 4444–4452, 2007.
- AL-HOURANI, B. J.; SHARMA, S. K.; MANE, J. Y.; TUSZYNSKI, J.; BARACOS, V.; KNISS, T.; SURESH, M.; PIETZSCH, J.; WUEST, F. Synthesis and evaluation of 1,5-diaryl-substituted tetrazoles as novel selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. **Bioorg Med. Chem. Lett.**, v. 21, n. 6, p. 1823–1826, 2011.
- AL-HOURANI, B. J.; AL-AWAIDA, W.; MATAKA, K. Z.; EL-BARGHOUTH, M. I.; ALSOUBANI, F.; WUEST, F. Structure–activity relationship of novel series of 1,5-disubstituted tetrazoles as cyclooxygenase-2 inhibitors: Design, synthesis, bioassay screening and molecular docking studies. **Bioorg Med. Chem. Lett.**, v. 26, n. 19, p. 4757–4762, 2016.
- ALAM, M. J.; ALAM, O.; ALAM, P.; NAIM, M. J. A Review on Pyrazole chemical entity and Biological Activity. **Int. J. Pharma Sci. Res.**, v. 6, n. 12, p. 1433–1442, 2015.
- ALDRED, K. J.; KERNS, R. J.; OSHEROFF, N. Mechanism of Quinolone Action and Resistance. **Biochemistry**, v. 53, n. 10, p. 1565–1574, 18 mar. 2014.
- ALSHARIF, Z. A.; ALAM, M. A. Modular synthesis of thiazoline and thiazole derivatives by using a cascade protocol. **RSC Adv.**, v. 7, n. 52, p. 32647–32651, 2017.
- ANSARI, A.; ALI, A.; ASIF, M.; SHAMSUZZAMAN. Review: biologically active pyrazole derivatives. **New J. Chem.**, v. 41, p. 16–41, 2017.
- ARCH, B.; KREUTZBERGER, A.; BERLIN, F. U. Halogenphenyl)substituierte 4,6-Diaminopyrazolo[3,4-d]pyrimidine. v. 614, p. 610–614, 1979.
- ARWYN-JONES, J.; DE, S. K. Microbiology as applied to surgical practice. **Surg.**, v. 37, n. 1, p. 9–18, jan. 2019.
- BARREIRA, F.; BLUM, B. Atualização dos estudos clínicos da DNDi: BENDITA e FEXI 012. **Inf. - Plataforma Pesqui. Clínica Doença Chagas**, n. 8, p. 8, jul. 2018.
- BENSON, F. R. The Chemistry of the Tetrazoles. **Chem. Rev.**, v. 41, n. 1, p. 1–61, 1947.
- BERN, C. Chagas' Disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 373, n. 5, p. 456–466, 2015.
- BHATT, U. Five-Membered Heterocycles with Four Heteroatoms: Tetrazoles. **Mod. Heterocycl. Chem.**, p. 1401–1430, 2011.
- BOTERO, A.; KEATLEY, S.; PEACOCK, C.; THOMPSON, R. C. A. In vitro drug susceptibility of two strains of the wildlife trypanosome, *Trypanosoma copemani*: A comparison with *Trypanosoma cruzi*. **Int. J. Parasitol.**, v. 7, p. 34–41, 2017.

CARLO, B.; DONNA, M. H.; SMITH III, A. B. Carboxylic Acid (Bio)Isosteres in Drug Design. **ChemMedChem**, v. 8, n. 3, p. 385–395, 2013.

CASTILLO, E.; A. DEA-AYUELA, M.; BOLAS-FERNANDEZ, F.; RANGEL, M.; E. GONZALEZ-ROSENDE, M. The Kinetoplastid Chemotherapy Revisited: Current Drugs, Recent Advances and Future Perspectives. **Curr. Med. Chem.**, v. 17, n. 33, p. 4027–4051, 2010.

CHAUDHARY, S.; MILTON, M. D.; GARG, P. A Base- and Metal-free Protocol for the Synthesis of 2-Aryl/heteroaryl Thiazolines. **ChemistrySelect**, v. 2, n. 2, p. 650–654, 2017.

CHENG, C. C.; ROBINS, R. K. Synthesis of 1-Alkyl- and 1-Aryl-4-substituted Pyrazolo[3,4-d]pyrimidin. **J. Org. Chem.**, v. 21, p. 1240–1256, 1956.

COHEN, J. P.; STURGEON, G.; COHEN, A. Measuring progress in neglected disease drug development. **Clin. Ther.**, v. 36, n. 7, p. 1037–1042, 2014.

DIÁRIO DE PERNAMBUCO. **Quarenta pessoas em tratamento após surto de doença de chagas em Pernambuco**. Disponível em:

<<https://www.diariodepernambuco.com.br/noticia/vidaurbana/2019/06/quarenta-pessoas-em-tratamento-apos-surto-de-doenca-de-chagas-em-perna.html>>. Acesso em: 9 dez. 2019.

DNDI. Disease Factsheet: Chagas Disease. 2018.

DNDI. **Chagas Disease - DNDi**. Disponível em: <<https://www.dndi.org/2016/clinical-trials/clinical-trials-chagas/>>. Acesso em: 19 jan. 2018.

DOFE, V. S.; SARKATE, A. P.; SHAIKH, Z. M.; GILL, C. H. Ultrasound-assisted synthesis and antimicrobial activity of tetrazole-based pyrazole and pyrimidine derivatives. **Heterocycl. Commun.**, v. 24, n. 1, p. 59–65, 2018.

DOS SANTOS, M. S. **Planejamento e síntese de derivados azólicos para avaliação das atividades leishmanicida e antibacteriana**. [s.l.] Universidade Federal Fluminense, 2009.

DOS SANTOS, M. S.; GOMES, A. O.; BERNARDINO, A. M. R.; DE SOUZA, M. C.; KHAN, M. A.; DE BRITO, M. A.; CASTRO, H. C.; ABREU, P. A.; RODRIGUES, C. R.; DE LÉO, R. M.; LEON, L. L.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M. Synthesis and Antileishmanial Activity of New 1-Aryl-1H-Pyrazole-4-Carboximidamides Derivatives Maurício. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 2, p. 352–358, 2011a.

DOS SANTOS, M. S.; OLIVEIRA, M. L. V.; BERNARDINO, A. M. R.; DE LÉO, R. M.; AMARAL, V. F.; DE CARVALHO, F. T.; LEON, L. L.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M. Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-1H-pyrazole derivatives. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 21, n. 24, p. 7451–7454, 2011b.

DOS SANTOS, M. S.; BERNARDINO, A. M. R.; PINHEIRO, L. C. S.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; LEON, L. L. An Efficient Synthesis of New 5-(1-Aryl-1 H -pyrazole-4-yl)-1 H -tetrazoles from 1-Aryl-1 H -pyrazole-4-carbonitriles via [3 + 2] Cycloaddition Reaction. **J. Heterocycl. Chem.**, v. 49, n. 6, p. 1425–1428, nov. 2012.

DUA, R.; SHRIVASTAVA, S.; SONWANE, S. K.; SRIVASTAVA, S. K. Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold : A Review. **Advan. Biol. Res.**, v. 5, n. 3, p. 120–144, 2011.

EICHER, T.; HAUPTMANN, S.; SPEICHER, A. **The Chemistry of Heterocycles**. 3rd. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2013.

FAIR, R. J.; TOR, Y. Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. **Perspect. Medicin. Chem.**, v. 6, p. 25–64, 2014.

FARIA, J. V.; VEGI, P. F.; MIGUITA, A. G. C.; DOS SANTOS, M. S.; BOECHAT, N.; BERNARDINO, A. M. R. Recently reported biological activities of pyrazole compounds. **Bioorganic Med. Chem.**, v. 25, n. 21, p. 5891–5903, 2017.

FARIA, J. V.; DOS SANTOS, M. S.; BERNARDINO, A. M. R.; BECKER, K. M.; MACHADO, G. M. C.; RODRIGUES, R. F.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; LEON, L. L. Synthesis and activity of novel tetrazole compounds and their pyrazole-4-carbonitrile precursors against *Leishmania* spp. **Bioorg Med. Chem. Lett.**, v. 23, n. 23, p. 6310–6312, 2013.

FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. **J. Infect. Public Health**, v. 10, n. 4, p. 369–378, jul. 2017.

FUSTERO, S.; SÁNCHEZ-ROSELLÓ, M.; BARRIO, P.; SIMÓN-FUENTES, A. From 2000 to Mid-2010: A Fruitful Decade for the Synthesis of Pyrazoles. **Chem. Rev.**, v. 111, n. 11, p. 6984–7034, 2011.

FUSTERO, S.; SIMÓN-FUENTES, A.; SANZ-CERVERA, J. F. Recent Advances in the Synthesis of Pyrazoles. A Review. **Org. Prep. Proced. Int.**, v. 41, n. 4, p. 253–290, 22 jul. 2009.

G1 PE. **Número de pacientes em tratamento devido a surto de doença de Chagas chega a 31**. Disponível em: <g1.globo.com/pe/paraná/noticia/2019/06/11/numero-de-pacientes-em-tratamento-devido-a-surto-de-doenca-de-chagas-chega-a-31.ghtml>. Acesso em: 9 dez. 2019a.

G1 PE. **Chega a 28 número de pacientes em tratamento devido a surto de doença de Chagas**. Disponível em: <<https://g1.globo.com/pe/paraná/noticia/2019/06/07/chega-a-28-numero-de-pacientes-em-tratamento-devido-a-surto-de-doenca-de-chagas.ghtml>>. Acesso em: 9 dez. 2019b.

GAO, C.; CHANG, L.; XU, Z.; YAN, X. F.; DING, C.; ZHAO, F.; WU, X.; FENG, L. S. Recent advances of tetrazole derivatives as potential anti-tubercular and anti-malarial agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 163, p. 404–412, 2019.

GAUMONT, A.-C.; GULEA, M.; LEVILLAIN, J. Overview of the Chemistry of 2-Thiazolines. **Chem. Rev.**, v. 109, n. 3, p. 1371–1401, 2009.

GOMTSYAN, A. Heterocycles in drugs and drug discovery. **Chem. Heterocycl. Com.**, v. 48, n. 1, p. 7–10, 2012.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. DA S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quim. Nova**, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010.

GUPTA, S.; RODRIGUES, L. M.; ESTEVES, A. P.; OLIVEIRA-CAMPOS, A. M. F.; NASCIMENTO, M. S. J.; NAZARETH, N.; CIDADE, H.; NEVES, M. P.; FERNANDES, E.; PINTO, M.; CERQUEIRA, N. M. F. S. A.; BRÁS, N. Synthesis of N-aryl-5-amino-4-

cyanopyrazole derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 43, n. 4, p. 771–780, 2008.

HAIDER, S. Heterocycles, Back Bone of Drug Design. **J. Phytochem. Biochem.**, v. 1, n. 1, p. e101, 2017.

HOTEZ, P. J.; PECOUL, B.; RIJAL, S.; BOEHME, C.; AKSOY, S.; MALECELA, M.; TAPIA-CONYER, R.; REEDER, J. C. Eliminating the Neglected Tropical Diseases: Translational Science and New Technologies. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 10, n. 3, p. 1–14, 2016.

JAGATH REDDY, G.; SAILAJA, S.; MANJULA, D.; SRINIVASA RAO, K.; KHALILULLAH, M.; LATHA, D. A clean and rapid synthesis of 5-aminopyrazole-4-carboxylic acid esters and nitriles using montmorillonite K10. **Heterocycl. Commun.**, v. 11, n. 5, p. 385–388, 2005.

JOULE, J. A.; MILLS, K. **Heterocyclic Chemistry**. 5th. ed. [s.l.] Wiley, 2010.

JURBERG, J.; RODRIGUES, J. M. S.; MOREIRA, F. F. F.; DALE, C.; CORDEIRO, I. R. S.; LAMAS JR, V. D.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. DA S. Atlas Iconográfico dos Triatomíneos do Brasil (Vetores da Doença de Chagas). **Instituto Oswaldo Cruz**, p. 58, 2014.

KARROUCHI, K.; RADI, S.; RAMLI, Y.; TAOUFIK, J.; MABKHOT, Y.; AL-AIZARI, F.; ANSAR, M. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives: A Review. **Molecules**, v. 23, p. 134–219, 12 jan. 2018.

KAUSHIK, N.; KUMAR, N.; KUMAR, A.; SINGH, U. K. Tetrazoles: Synthesis and Biological Activity. **Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.**, v. 18, n. 1, p. 3–21, 2018.

KHAN, M. F.; ALAM, M. M.; VERMA, G.; AKHTAR, W.; AKHTER, M.; SHAQUIQUZZAMAN, M. The therapeutic voyage of pyrazole and its analogs: A review. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 120, p. 170–201, 2016.

KNORR, L. Einwirkung substituierter Acetessigester auf Phenylhydrazin. **Ber. Dtsch. Chem. Ges.**, v. 16, n. 2, p. 2597–2599, jul. 1883.

LEMERCIER, B. C.; PIERCE, J. G. Synthesis of thiazolines by copper catalyzed aminobromination of thiohydroxamic acids. **Org. Lett.**, v. 16, n. 7, p. 2074–2076, 2014.

LI, J. J. Pechmann pyrazole synthesis. In: **Name Reactions**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2003. p. 304.

LI, J. J. Knorr pyrazole synthesis. In: **Name Reactions**. Cham: Springer International Publishing, 2014. p. 347–348.

LI, X.; ZHOU, B.; ZHANG, J.; SHE, M.; AN, S.; GE, H.; LI, C.; YIN, B.; LI, J.; SHI, Z. Solvent-free tandem synthesis of 2-thiazolines and 2-oxazolines catalyzed by a copper catalyst. **European J. Org. Chem.**, n. 8, p. 1626–1632, 2012.

LIU, Y.; SALVADOR, L. A.; BYEON, S.; YING, Y.; KWAN, J. C.; LAW, B. K.; HONG, J.; LUESCH, H. Anticancer Activity of Largazole, a Marine-Derived Tunable Histone Deacetylase Inhibitor. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 335, n. 2, p. 351–361, 2010.

MACGOWAN, A.; MACNAUGHTON, E. Antibiotic Resistance. **Medicine**, v. 45, n. 10, p. 622–628, 2017.

MAKHAEVA, G. F.; BOLTNEVA, N. P.; LUSHCHEKINA, S. V.; SEREBRYAKOVA, O. G.; STUPINA, T. S.; TERENTIEV, A. A.; SERKOV, I. V.; PROSHIN, A. N.; BACHURIN, S. O.; RICHARDSON, R. J. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of N,N-disubstituted 2-aminothiazolines as a new class of butyrylcholinesterase and carboxylesterase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 24, n. 5, p. 1050–1062, mar. 2016.

MALTSEV, O. V.; WALTER, V.; BRANDL, M. J.; HINTERMANN, L. Medium buffer effects on the condensation of L-cysteine and aryl nitriles to (R)-2-Aryl-4,5-dihydrothiazole-4-carboxylic acids. **Synthesis**, v. 45, n. 19, p. 2763–2767, 2013.

MARTINS, P.; JESUS, J.; SANTOS, S.; RAPOSO, L. R.; ROMA-RODRIGUES, C.; BAPTISTA, P. V.; FERNANDES, A. Heterocyclic Anticancer Compounds: Recent Advances and the Paradigm Shift towards the Use of Nanomedicine's Tool Box. **Molecules**, v. 20, n. 9, p. 16852–16891, 2015.

MENG, G.; YANG, T.; LIU, Y. An Improved Preparation of 4-Chloro-1 H -indazole . **Org. Prep. Proced. Int.**, v. 43, n. 4, p. 354–359, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doença de Chagas: o que é, causas, sintomas, tratamento e prevenção**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas#situacao>>. Acesso em: 19 jan. 2019.

MOHITE, P.; BHASKAR, V. Potential pharmacological activities of tetrazoles in the new millennium. **Int. J. PharmTech Res.**, v. 3, n. 3, p. 1557–1566, 2011.

MONTEIRO, M. E.; LECHUGA, G.; LARA, L. S.; SOUTO, B. A.; VIGANÓ, M. G.; BOURGUIGNON, S. C.; CALVET, C. M.; OLIVEIRA, F. O. R.; ALVES, C. R.; SOUZA-SILVA, F.; SANTOS, M. S.; PEREIRA, M. C. S. Synthesis, structure-activity relationship and trypanocidal activity of pyrazole-imidazoline and new pyrazole-tetrahydropyrimidine hybrids as promising chemotherapeutic agents for Chagas disease. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 182, p. 111610, nov. 2019.

MOYANO, E. L.; COLOMER, J. P.; YRANZO, G. I. New application of heterocyclic diazonium salts: Synthesis of new pyrazolo[3,4-d][1,2,3]triazin-4-ones. **European J. Org. Chem.**, n. 19, p. 3377–3381, 2008.

NEOCHORITIS, C. G.; ZHAO, T.; DÖMLING, A. Tetrazoles via Multicomponent Reactions. **Chem. Rev.**, 2019.

O'NEILL, J. Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations. **Rev. Antimicrob. Resist.**, p. 20, 2014.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally. **Rev. Antimicrob. Resist.**, p. 84, 2016.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 5th. ed. Oxford: Oxford University Press, 2013.

PAUCAR, R.; MORENO-VIGURI, E.; PÉREZ-SILANES, S. Challenges in Chagas Disease Drug Discovery: A Review. **Curr. Med. Chem.**, v. 23, n. 28, p. 3154–3170, 2016.

PAUL RAJ, J.; GANGAPRASAD, D.; KARTHIKEYAN, K.; RENGASAMY, R.; KESAVAN, M.; VENKATESWARULU, M.; VAJJIRAVEL, M.; ELANGO VAN, J. A new route to synthesis of

substituted pyrazoles through oxidative [3+2] cycloaddition of electron deficient alkenes and diazocarbonyl compounds. **Tetrahedron Lett.**, v. 59, n. 51, p. 4462–4465, 2018.

PECHMANN, H. VON. Pyrazol aus acetylen und diazomethan. **Ber. Dtsch. Chem. Ges.**, v. 31, p. 2950–2951, 1898.

PENNING, T. D. et al. Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: Identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3(trifluoromethyl)-1h-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (sc-58635, celecoxib). **J. Med. Chem.**, v. 40, n. 9, p. 1347–1365, 1997.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **Lancet**, v. 391, p. 82–94, jan. 2018.

POZHARSKII, A. F.; SOLDATENKOV, A. T.; KATRITZKY, A. R. **Heterocycles in Life and Society**. [s.l.: s.n.].

QUIN, L. D.; TYRELL, J. A. **Fundamentals of heterocyclic chemistry: importance in nature and in the synthesis of pharmaceuticals**. New Jersey: Wiley, 2010.

RAMOS MARTINS, D.; PAZINI, F.; DE MEDEIROS ALVES, V.; SANTANA DE MOURA, S.; MORAIS LIÃO, L.; TORQUATO QUEZADO DE MAGALHÃES, M.; CAMPOS VALADARES, M.; HORTA ANDRADE, C.; MENEGATTI, R.; LAVORENTI ROCHA, M. Synthesis, Docking Studies, Pharmacological Activity and Toxicity of a Novel Pyrazole Derivative (LQFM 021)—Possible Effects on Phosphodiesterase. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 61, n. 5, p. 524–531, 2013.

RIOS, A. C.; MOUTINHO, C. G.; PINTO, F. C.; DEL FIOLE, F. S.; JOZALA, A.; CHAUD, M. V.; VILA, M. M. D. C.; TEIXEIRA, J. A.; BALCÃO, V. M. Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. **Microbiol. Res.**, v. 191, p. 51–80, 2016.

SANTOS, V.; GONSALVES, A.; ARAÚJO, C. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de lipinski e preparação de heterociclo 1,3,4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Quim. Nova**, v. 41, n. 1, p. 110–115, 2017.

SCARIM, C. B.; JORNADA, D. H.; CHELUCCI, R. C.; DE ALMEIDA, L.; DOS SANTOS, J. L.; CHUNG, M. C. Current advances in drug discovery for Chagas disease. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 155, p. 824–838, 2018.

SEHMEN, N. T. (ED.). **Microbiologia e imunologia**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2015.

SEIJAS, J. A.; VÁZQUEZ-TATO, M. P.; CRECENTE-CAMPO, J. Straightforward microwave-assisted synthesis of 2-thiazolines using Lawesson's reagent under solvent-free conditions. **Tetrahedron**, v. 64, n. 39, p. 9280–9285, 2008.

SHAN, L. X.; SUN, P. H.; GUO, B. Q.; XU, X. J.; LI, Z. Q.; SUN, J. Z.; ZHOU, S. F.; CHEN, W. M. Synthesis and antibacterial activities of acylide derivatives bearing an aryl-tetrazolyl chain. **Drug Des. Devel. Ther.**, v. 8, p. 1515–1525, 2014.

SILVA-JARDIM, I.; THIEMANN, O. H.; ANIBAL, F. F. Leishmaniasis and Chagas disease chemotherapy: A critical review. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 25, n. 10, p. 1810–1823, 2014.

SINGH, S. B.; YOUNG, K.; SILVER, L. L. What is an “ideal” antibiotic? Discovery challenges and path forward. **Biochem. Pharmacol.**, v. 133, p. 63–73, jun. 2017.

SOUTHWICK, P. L.; DHAWAN, B. Preparation of 4,6-diaminopyrazolo[3,4-d] pyrimidines with variations in substitution at the 1- and 3-positions. **J. Heterocycl. Chem.**, v. 12, n. 6, p. 1199–1205, 1975.

SOUZA, A. DE. **Aumenta o número de pacientes com Doença de Chagas aguda confirmada em Pernambuco**. Disponível em:

<https://www.diariodepernambuco.com.br/app/noticia/vida-urbana/2019/06/04/interna_vidaurbana,789863/pernambuco-tem-22-pessoas-com-doenca-de-chagas-aguda-confirmada-em-lab.shtml>. Acesso em: 9 dez. 2019.

SVS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doença de Chagas Aguda e distribuição espacial dos triatomíneos de importância epidemiológica, Brasil 2012 a 2016. **Bol. Epidemiológico**, v. 50, n. 2, p. 10, 2019.

TIDGEWELL, K.; CLARK, B. R.; GERWICK, W. H. The Natural Products Chemistry of Cyanobacteria. In: LIU, H.-W. (BEN); MANDER, L. (Eds.). . **Compr. Nat. Prod. II**. [s.l.] Elsevier Science, 2010. p. 141–188.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (EDS.). **Microbiologia**. 6ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2015.

TROSE, M.; LAZREG, F.; LESIEUR, M.; CAZIN, C. S. J. A straightforward metal-free synthesis of 2-substituted thiazolines in air. **Green Chem.**, v. 17, n. 5, p. 3090–3092, 2015.

UCNTD. Briefing Document on Neglected Tropical Diseases. p. 8, 2019.

URBINA, J. A.; PAYARES, G.; SANOJA, C.; LIRA, R. In vitro and in vivo activities of ravuconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 21, p. 27–38, 2003.

WANG, Y.; PATIL, P.; DÖMLING, A. Easy Synthesis of Two Positional Isomeric Tetrazole Libraries. **Synthesis**, v. 48, n. 21, p. 3701–3712, 2016.

WANG, Z. Pechmann Pyrazole Synthesis. In: **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010. p. 2147–2150.

WHO. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases - Third WHO report on neglected tropical disease. p. 191, 2015.

ZAFFIRI, L.; GARDNER, J.; TOLEDO-PEREYRA, L. H. History of Antibiotics . From Salvarsan to Cephalosporins. **J. Investig. Surg.**, v. 25, p. 67–77, 2012.

ZHANG, T. Y. The Evolving Landscape of Heterocycles in Drugs and Drug Candidates. In: **Advances in Heterocyclic Chemistry**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2017. v. 121p. 1–12.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ



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

BYANCA SILVA FERREIRA

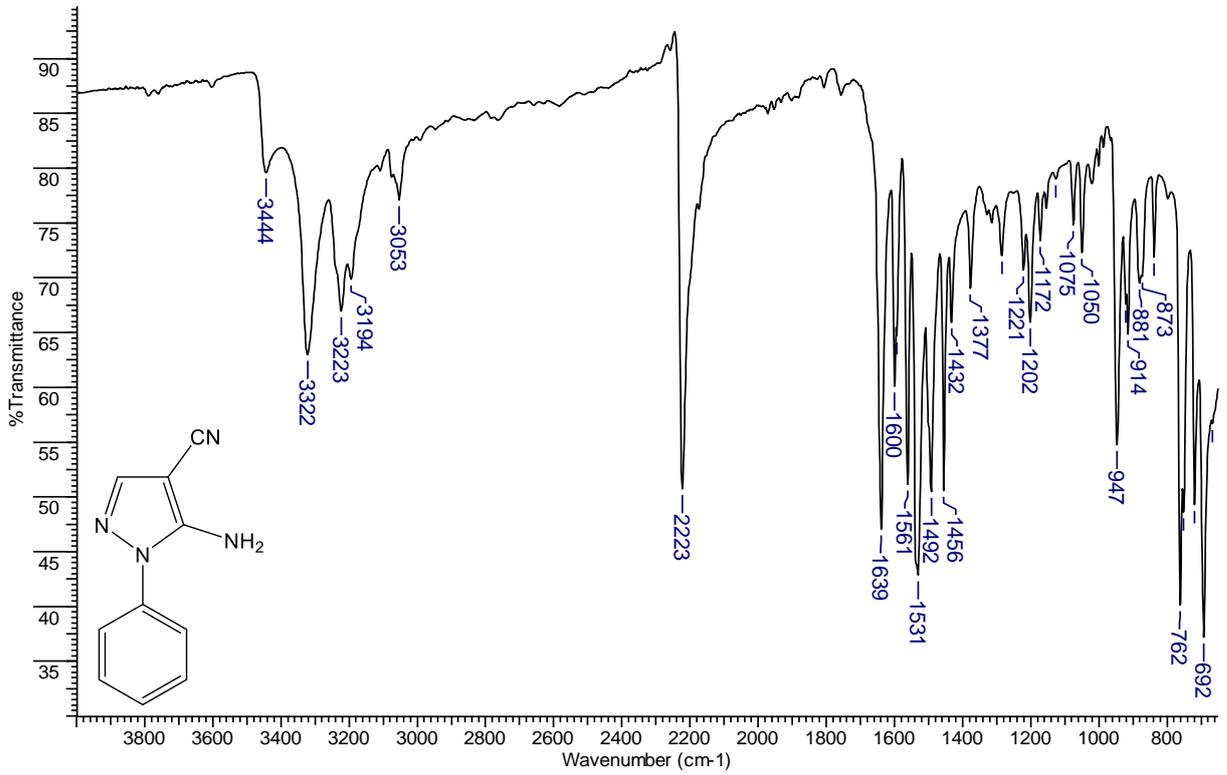
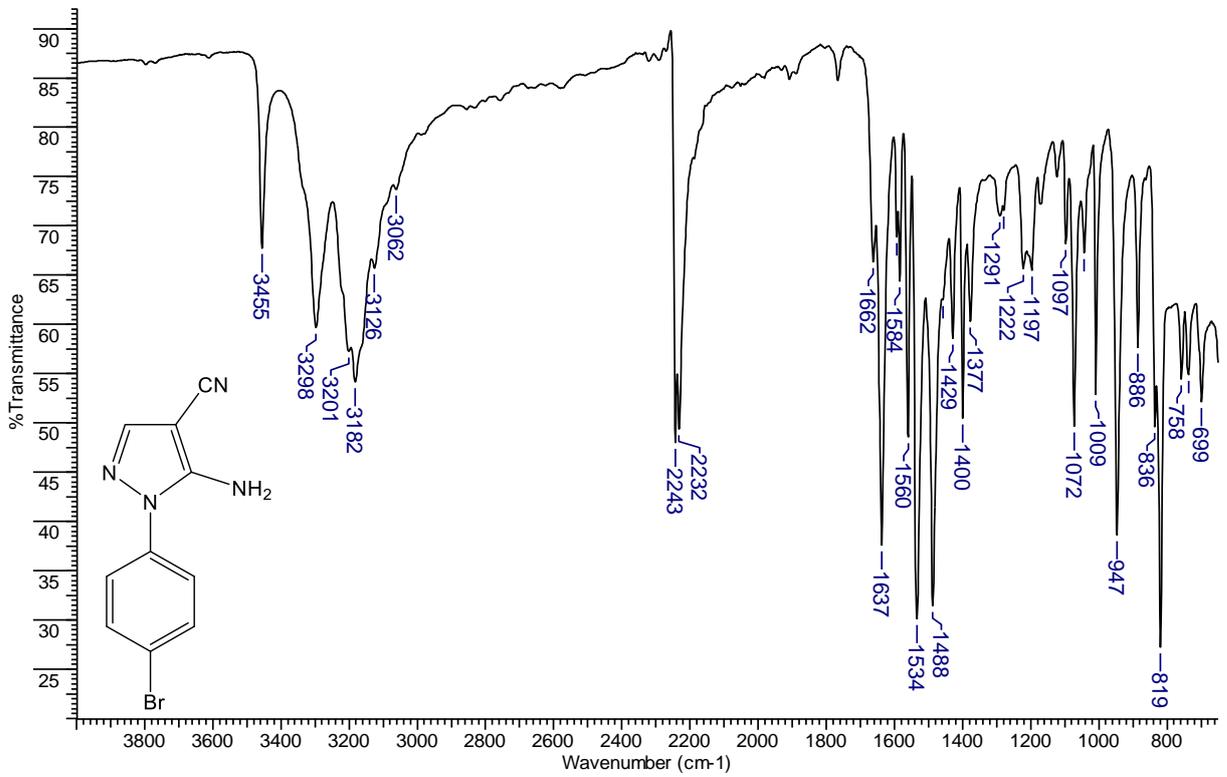
**SÍNTESE DE SISTEMAS HÍBRIDOS PIRAZOL-TETRAZÓLICOS,
PIRAZOL-TIAZOLÍNICOS E PIRAZOL-CARBOXAMÍDICOS COM
POTENCIAL ATIVIDADE BIOLÓGICA**

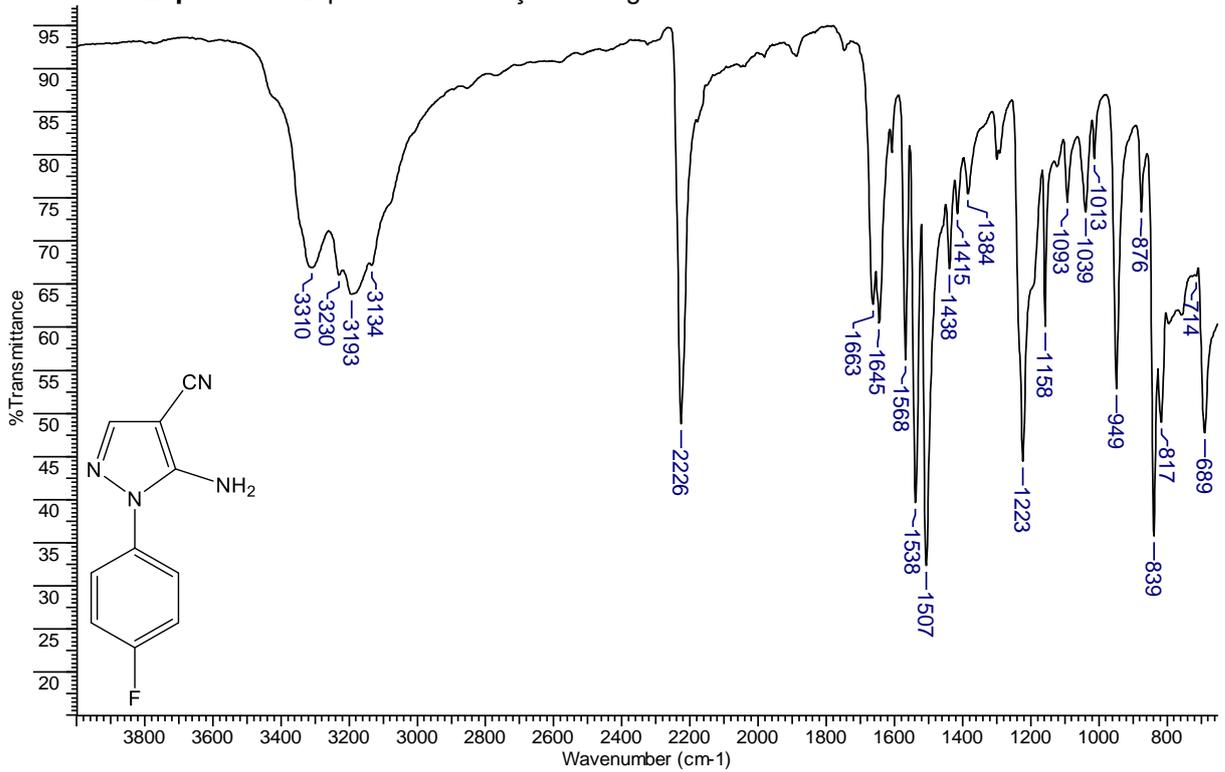
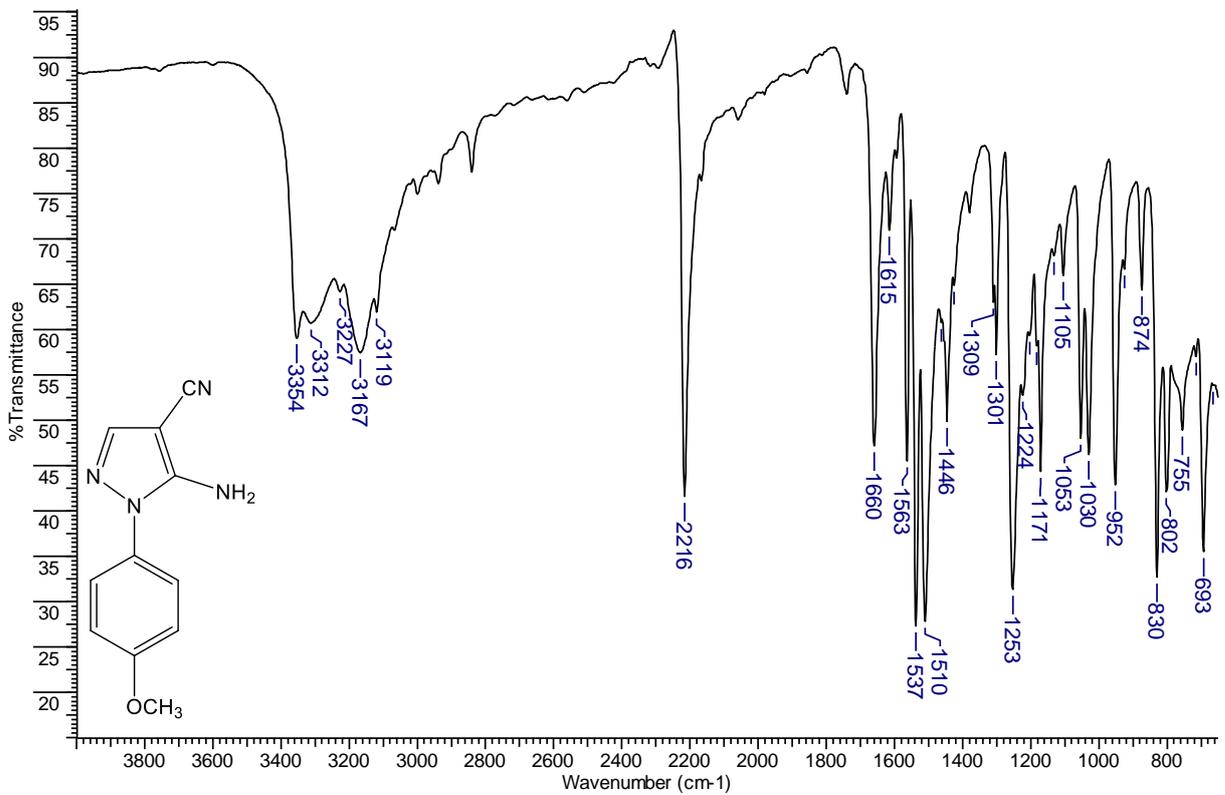
CADERNO DE ESPECTROS

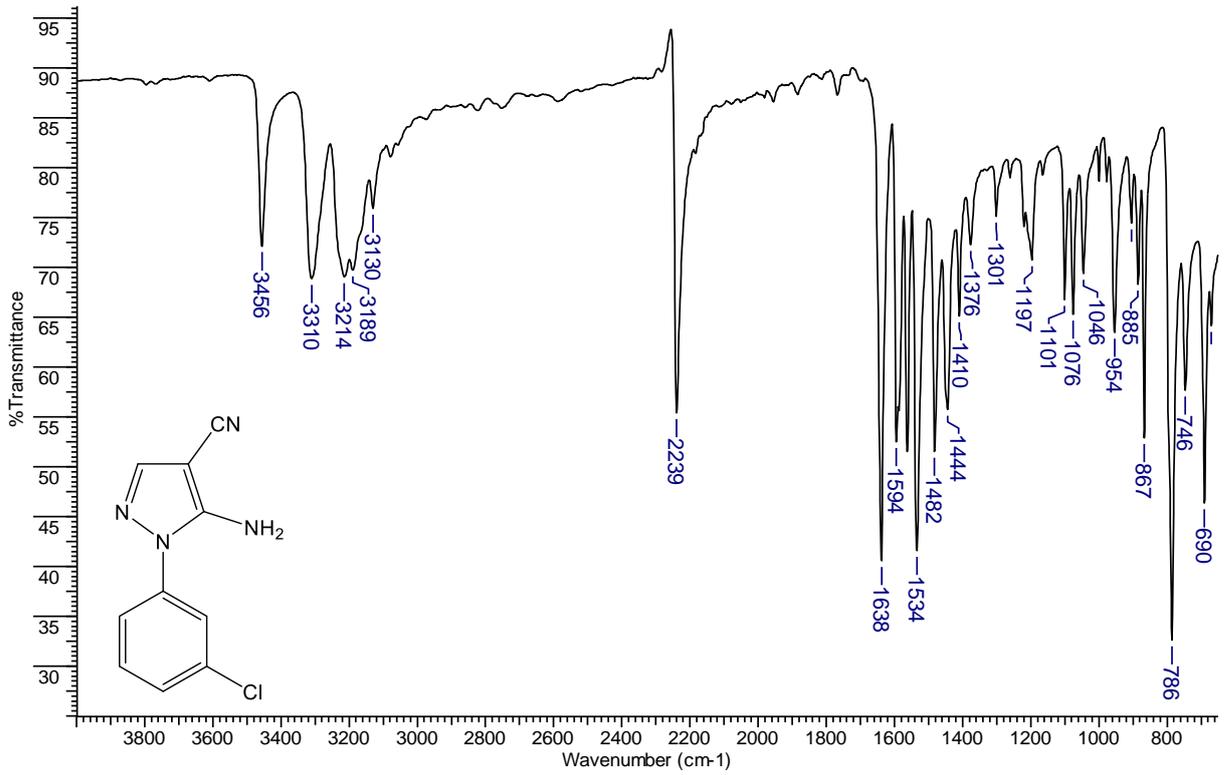
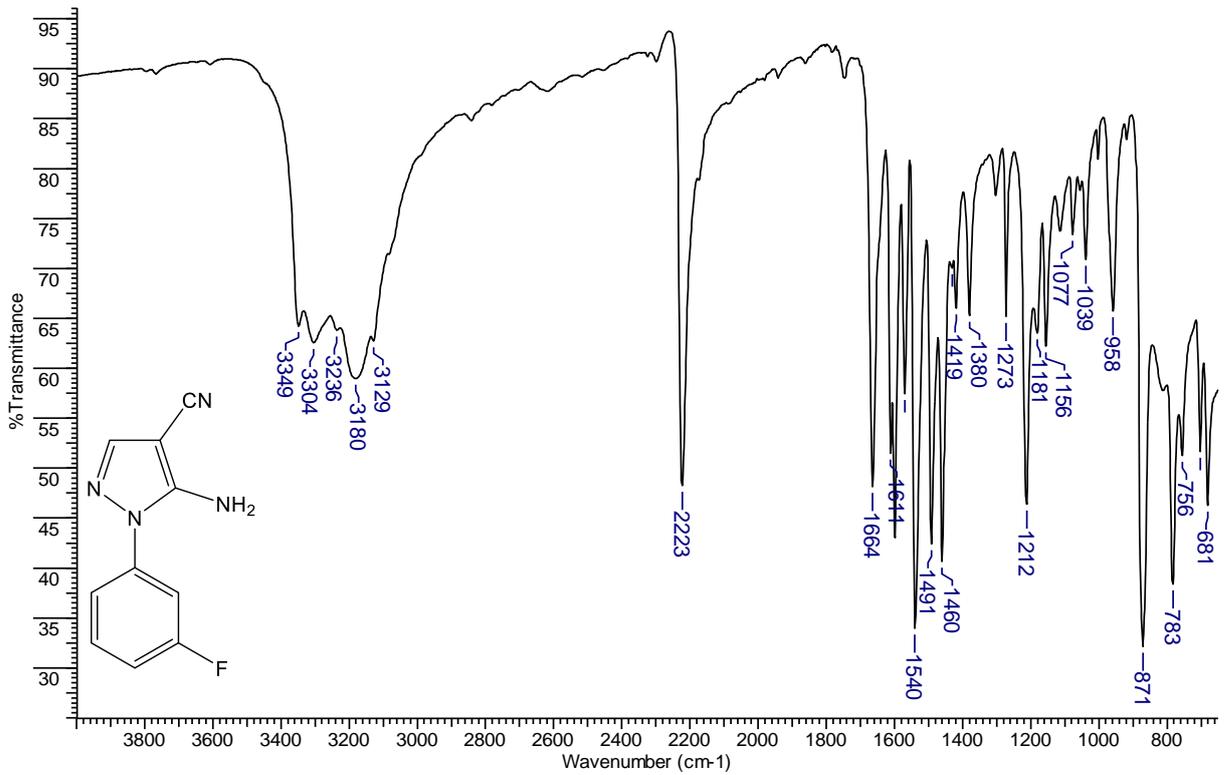
Itajubá

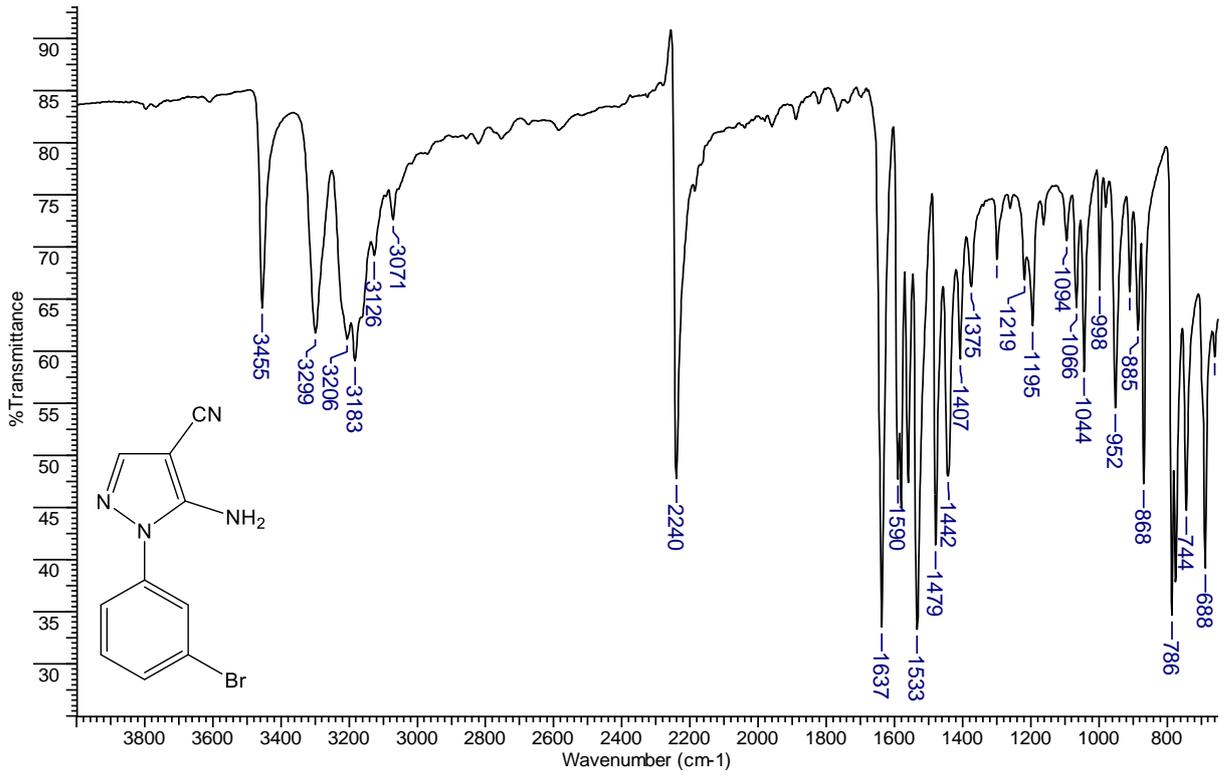
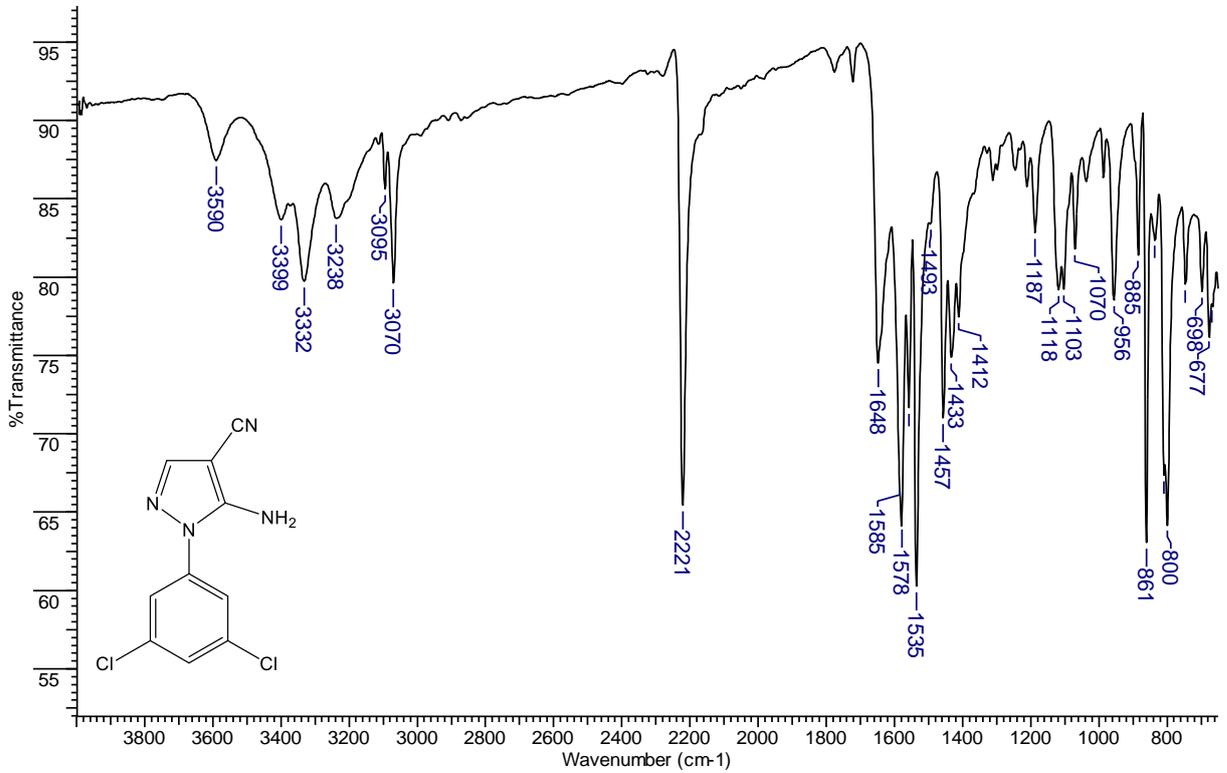
Fevereiro, 2020

ANEXO A – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 4(a-i)

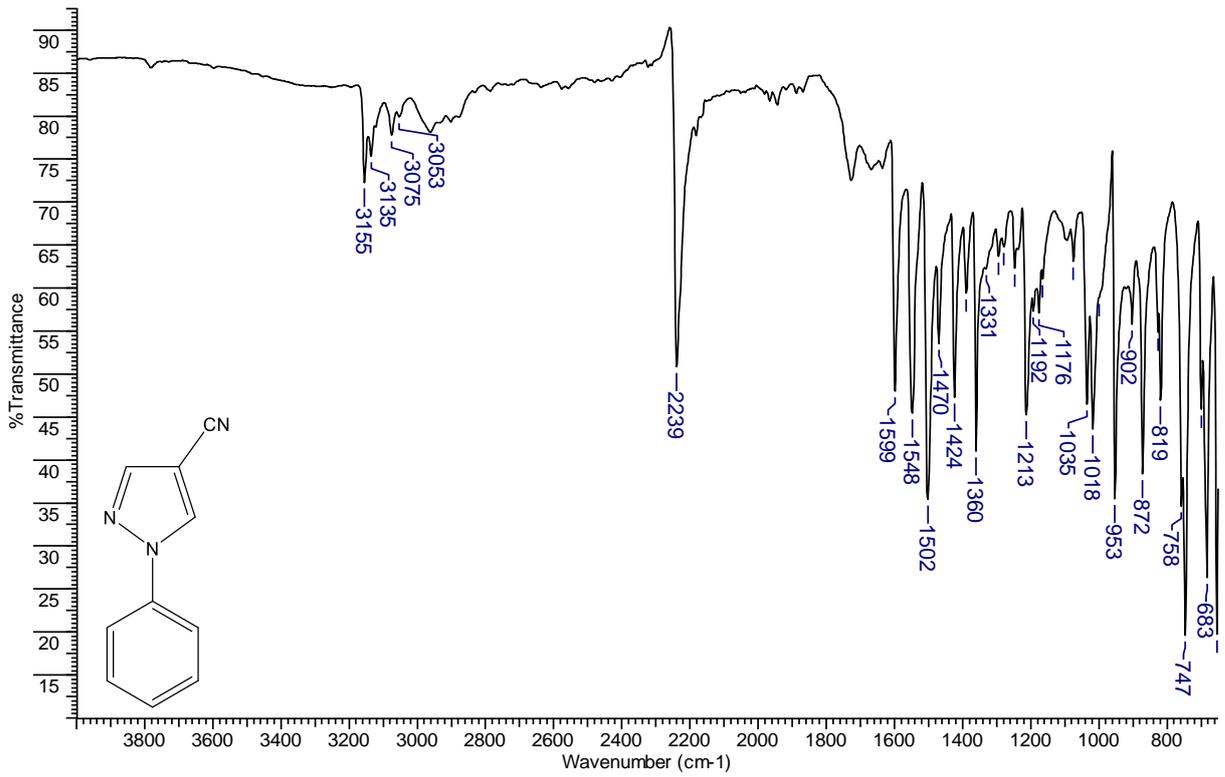
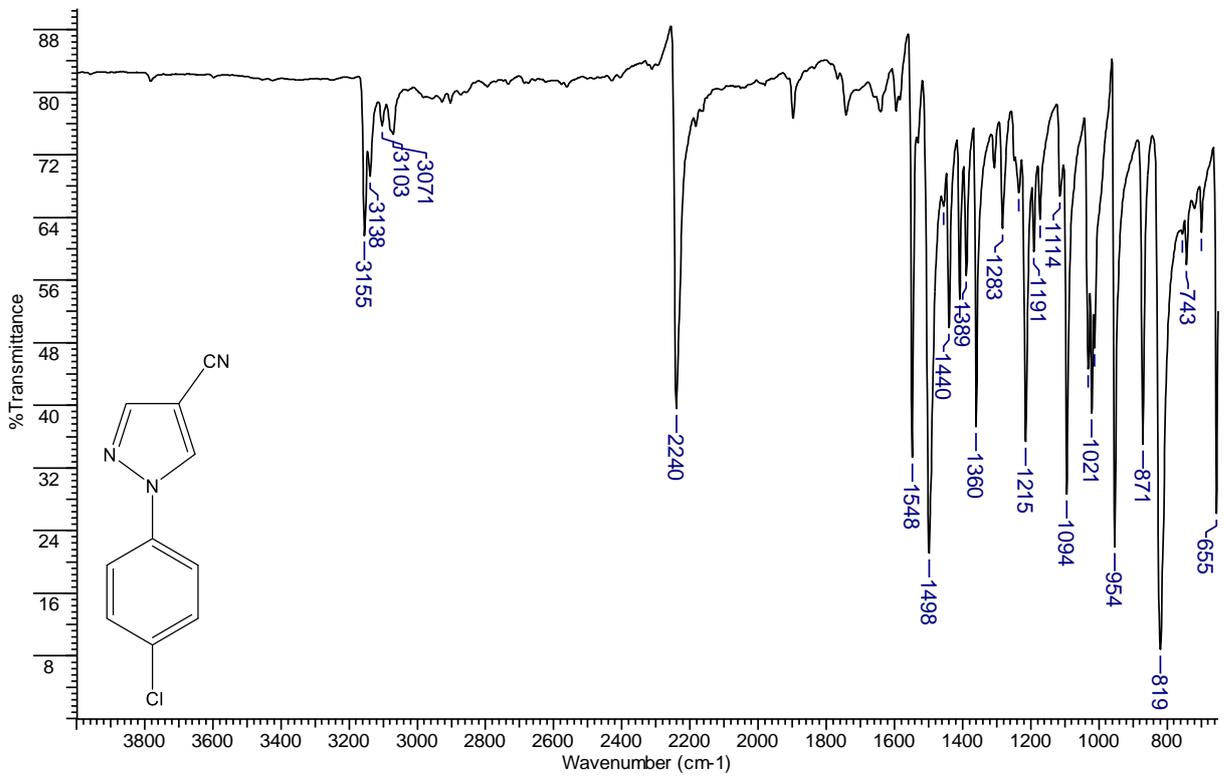
Espectro 1: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4a**.**Espectro 2:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4c**.

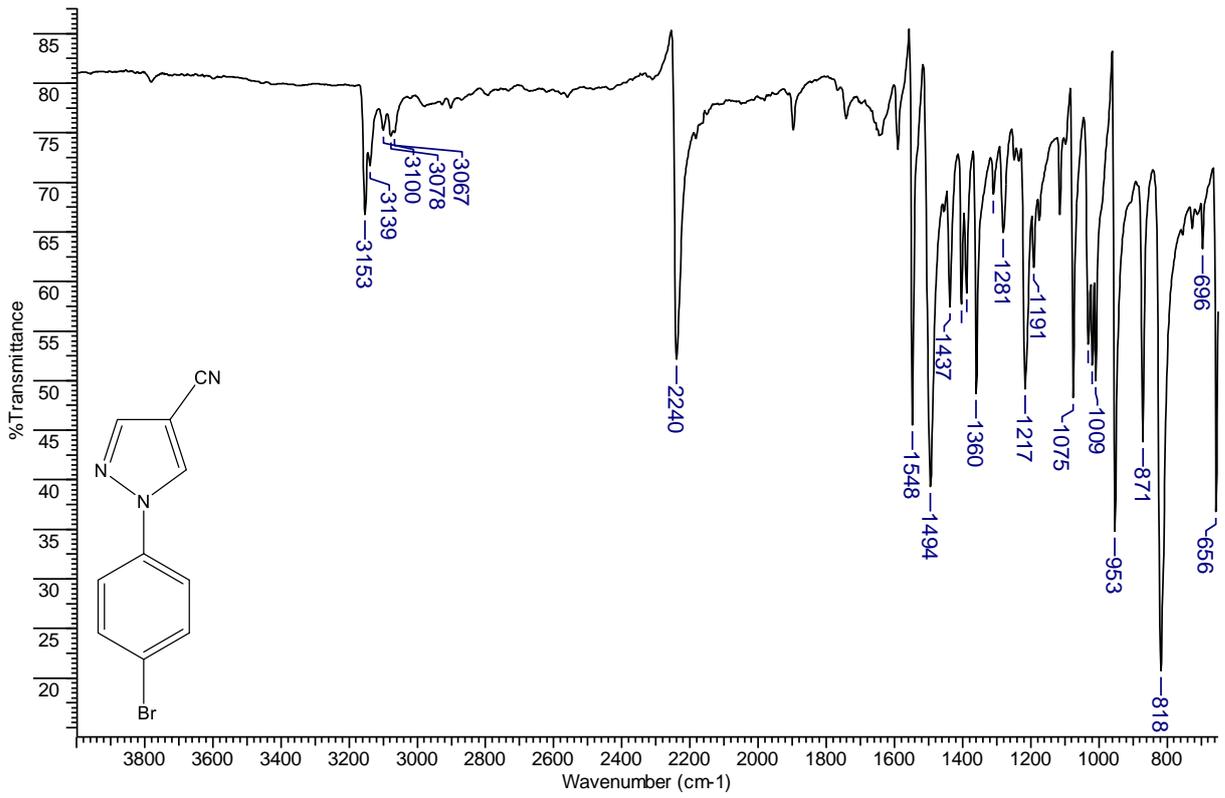
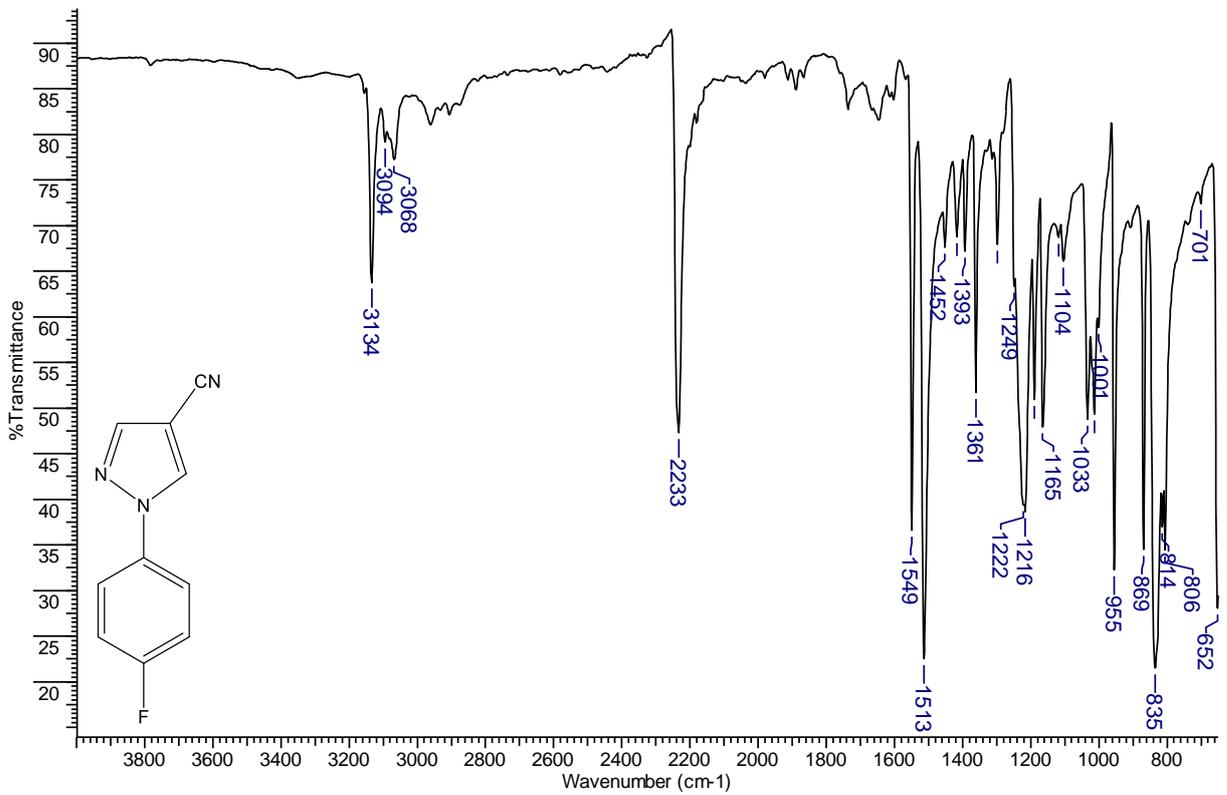
Espectro 3: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4d**.**Espectro 4:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4e**.

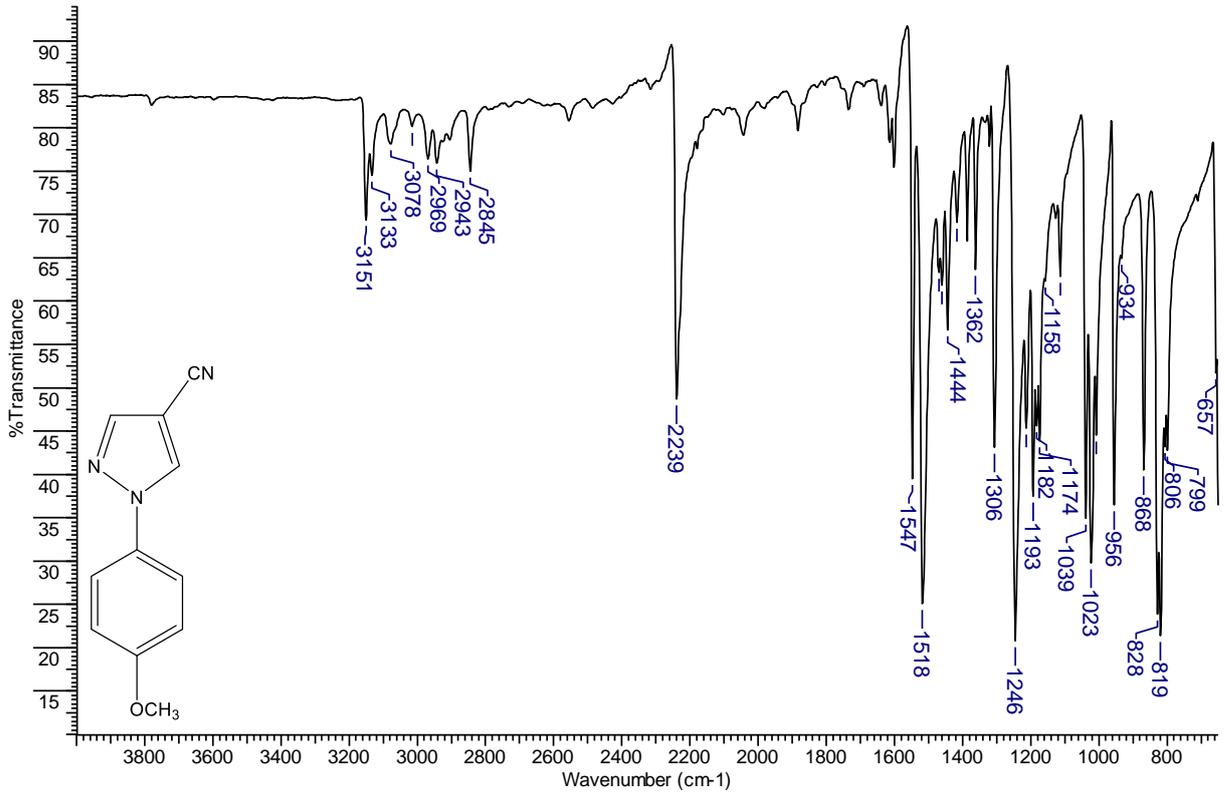
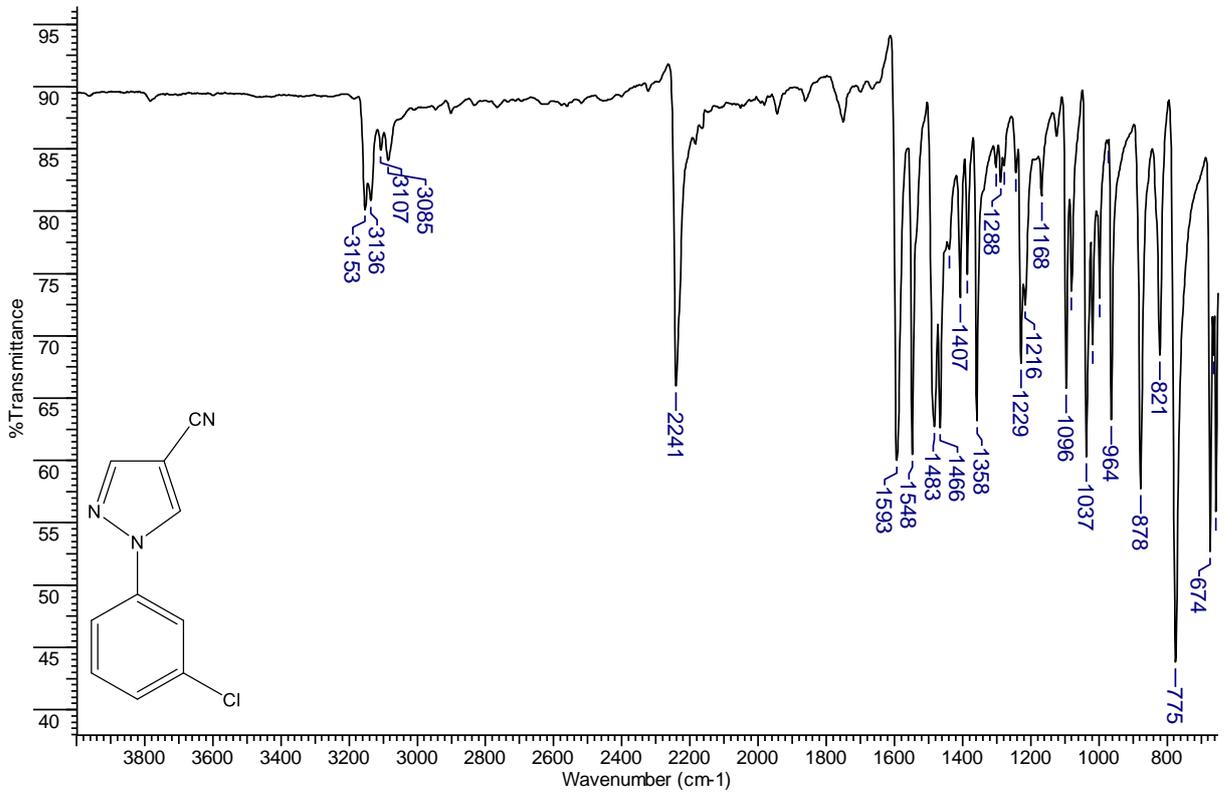
Espectro 5: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4f**.**Espectro 6:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4g**.

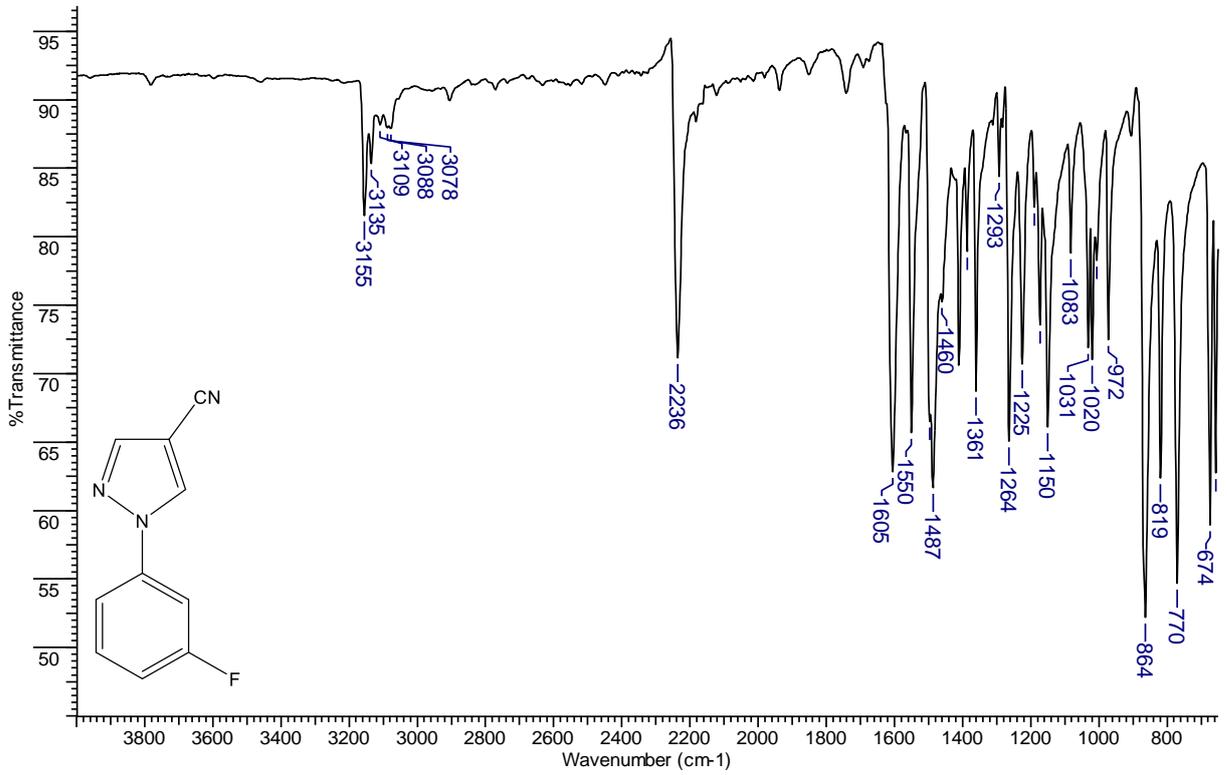
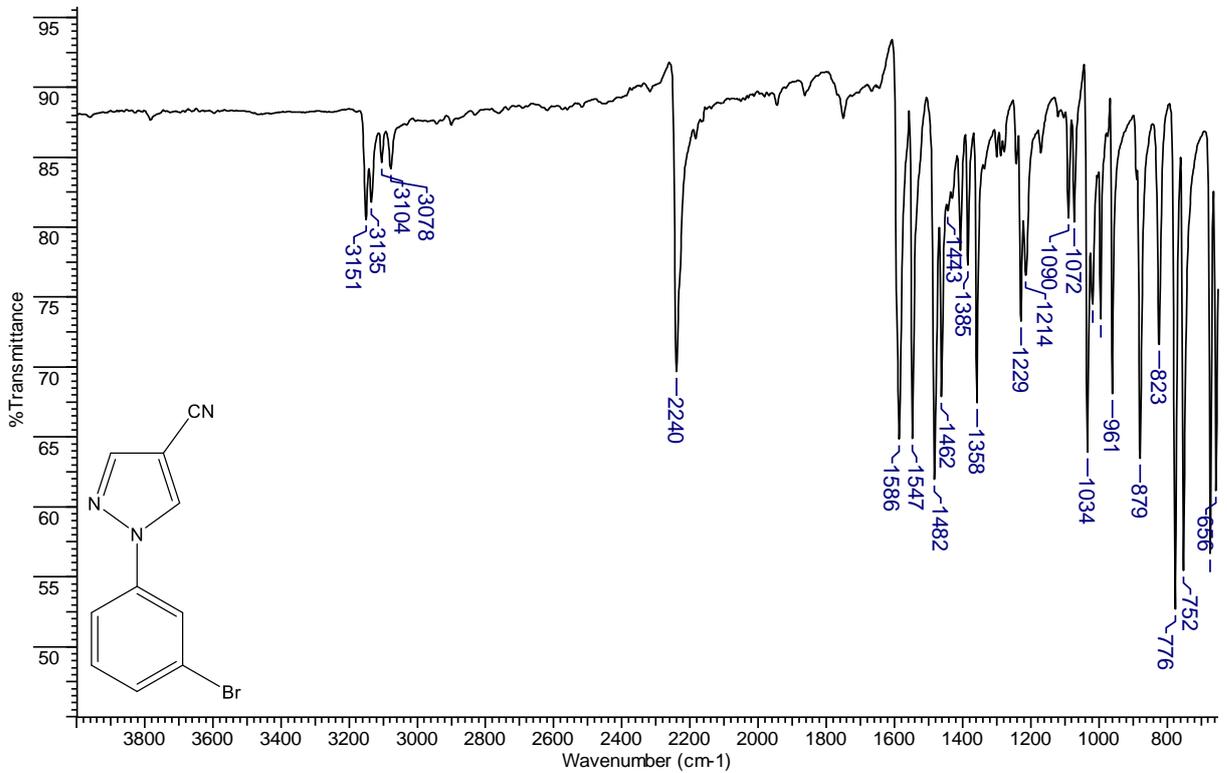
Espectro 7: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4h**.**Espectro 8:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **4i**.

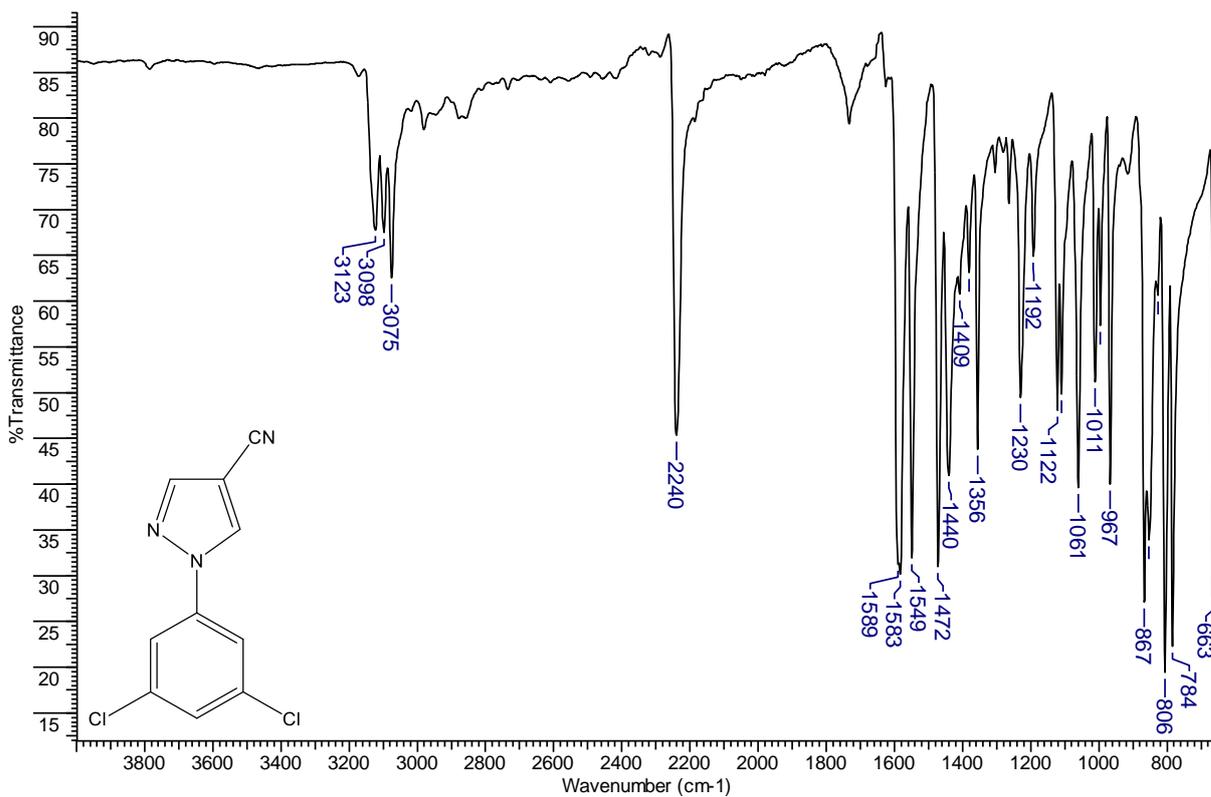
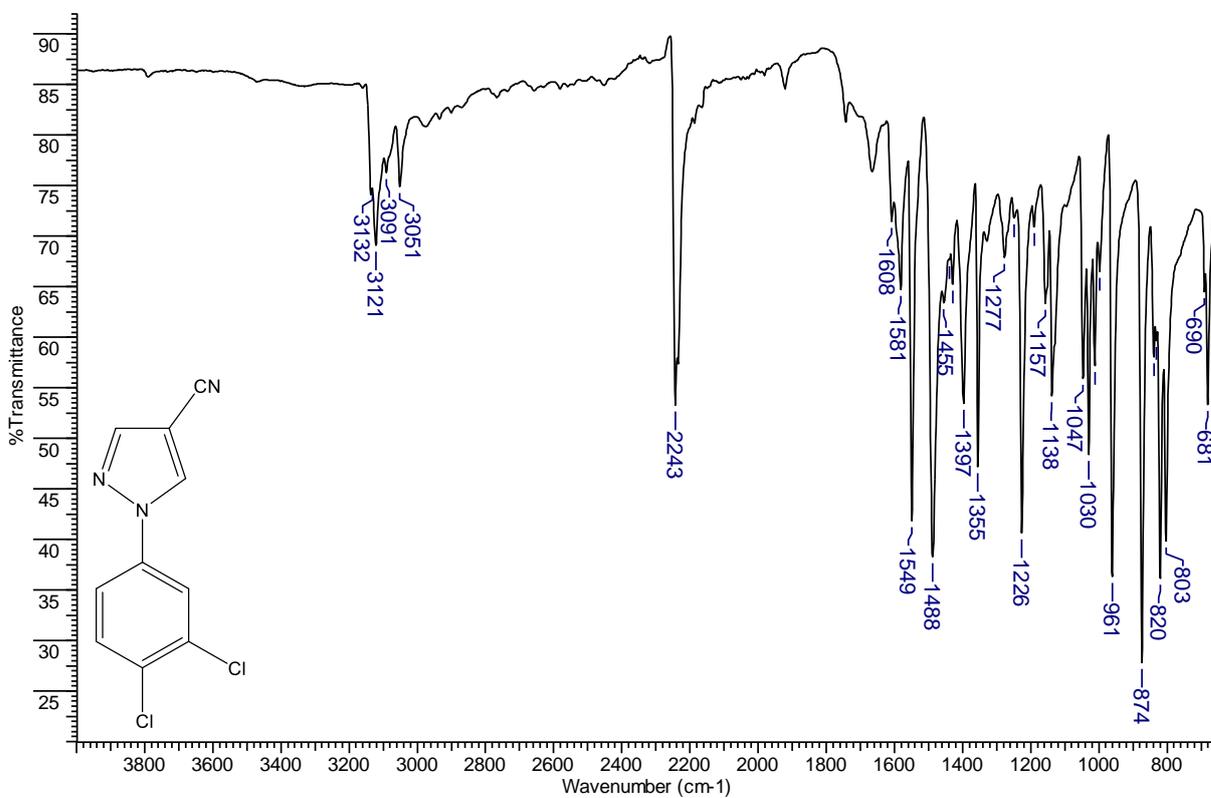
ANEXO B – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 5(a-l)

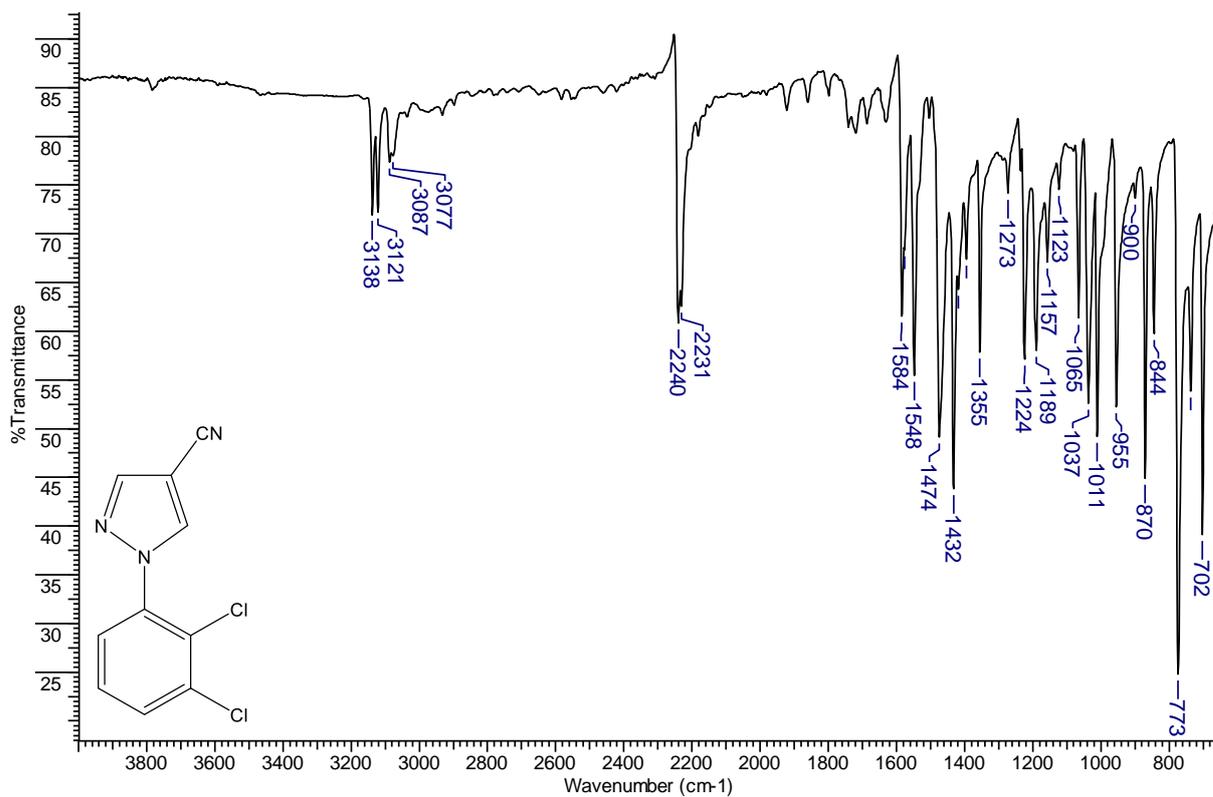
Espectro 9: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5a**.**Espectro 10:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5b**.

Espectro 11: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5c**.**Espectro 12:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5d**.

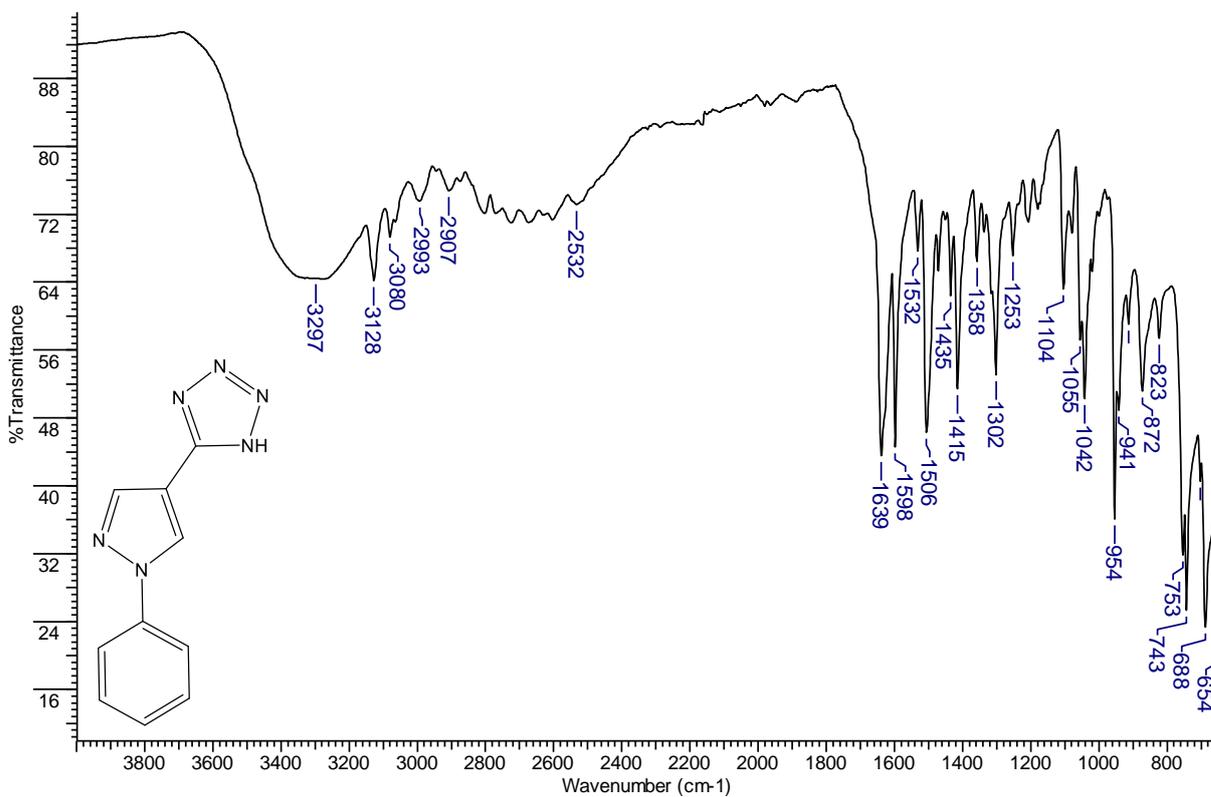
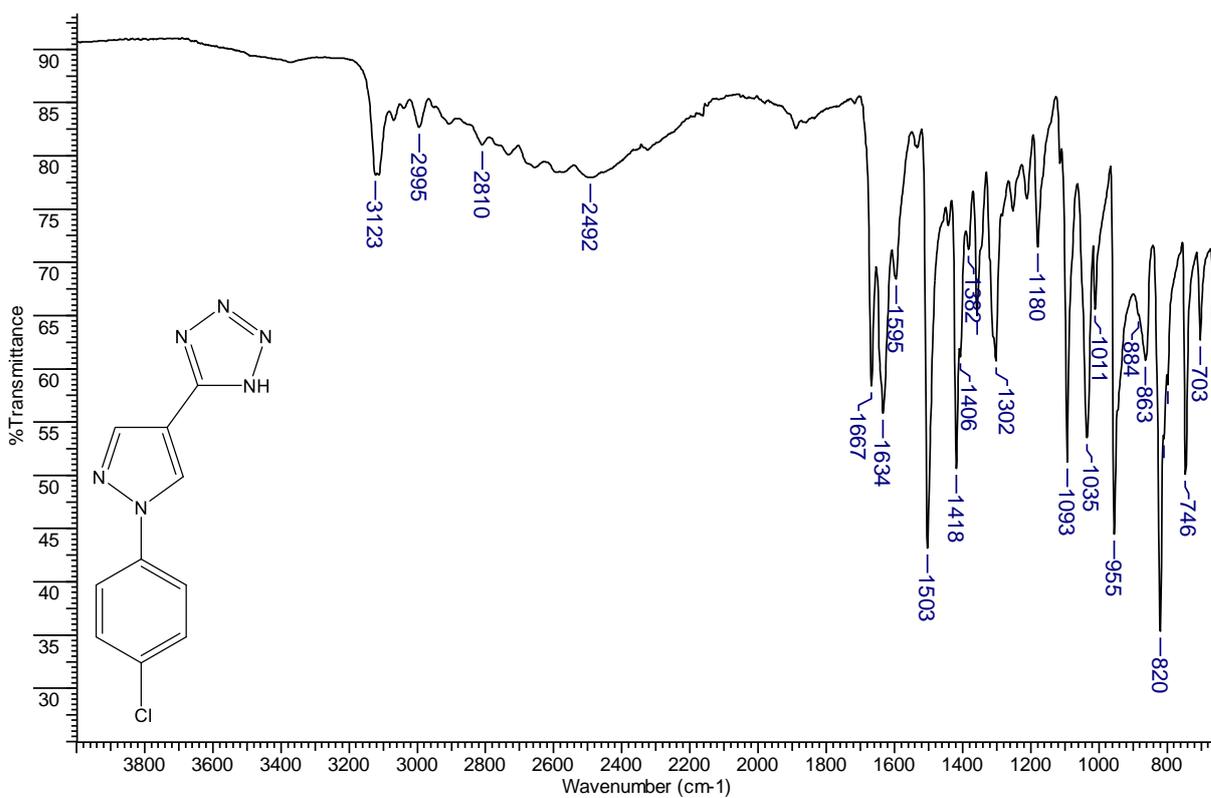
Espectro 13: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5e**.**Espectro 14:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5f**.

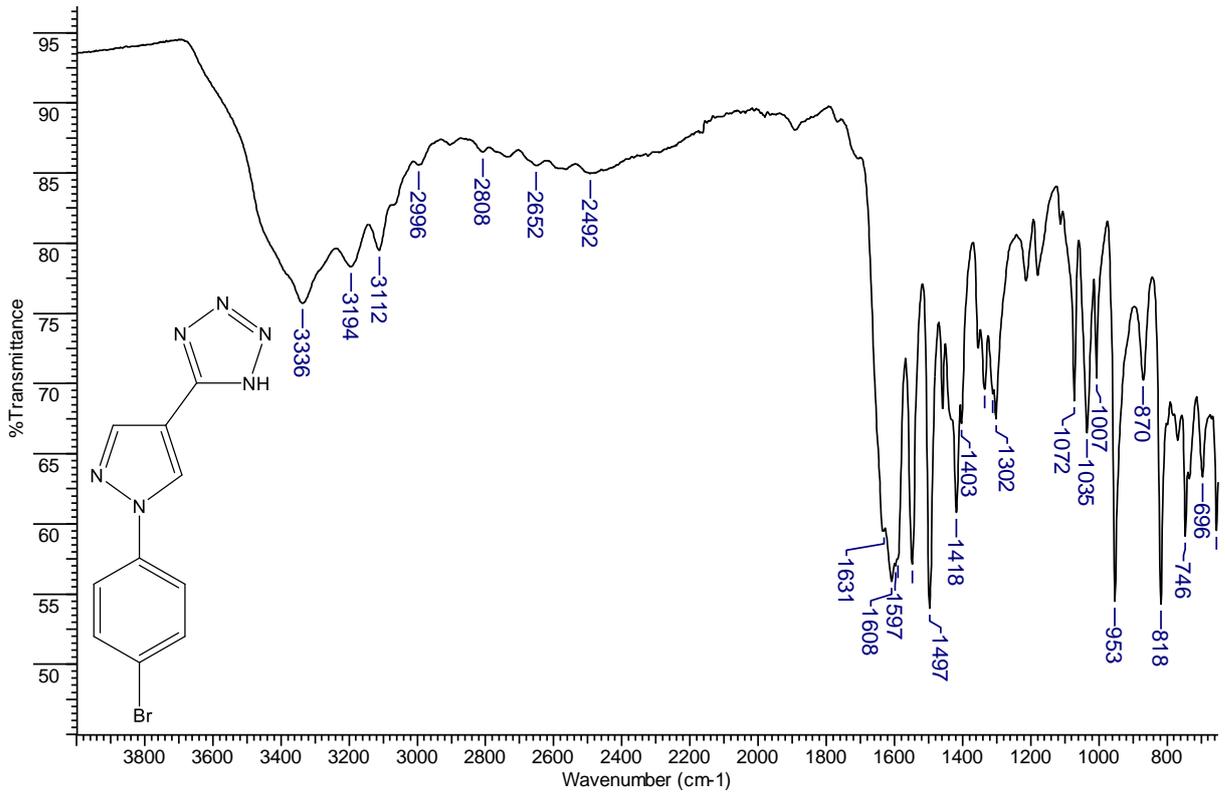
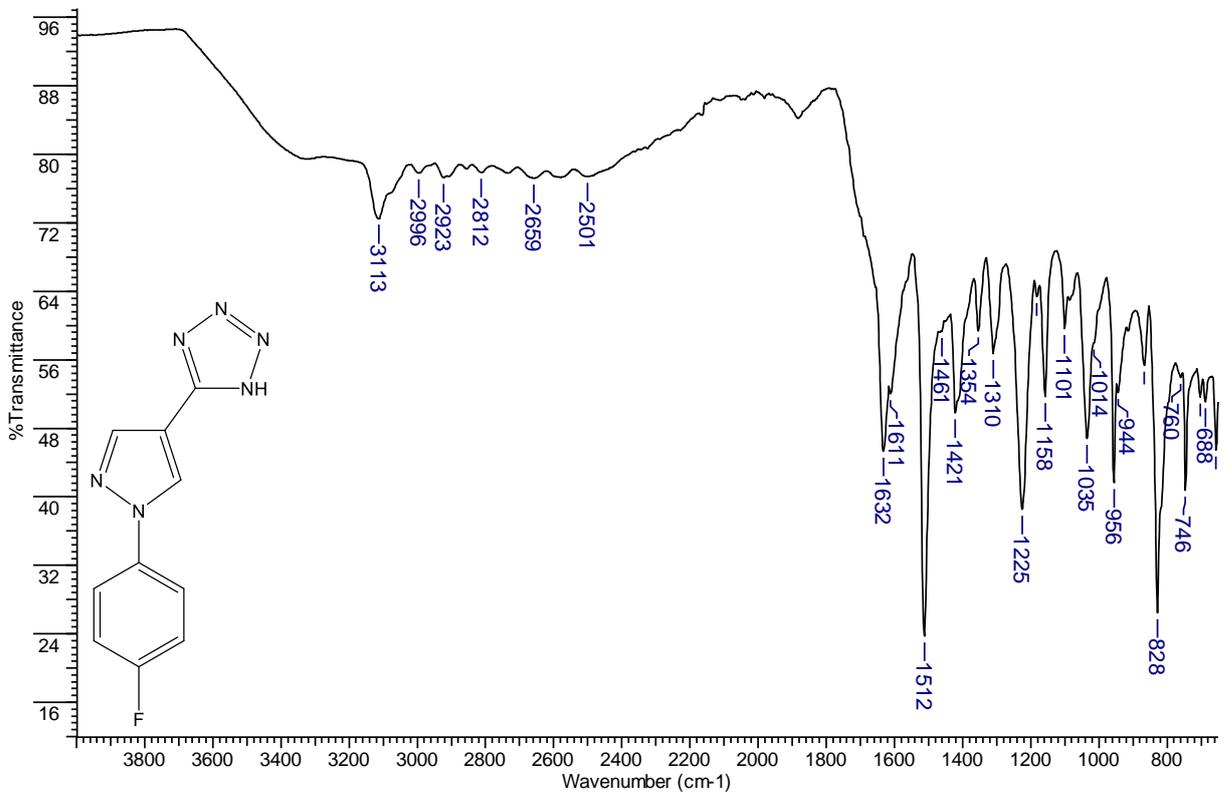
Espectro 15: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5g**.**Espectro 16:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **5h**.

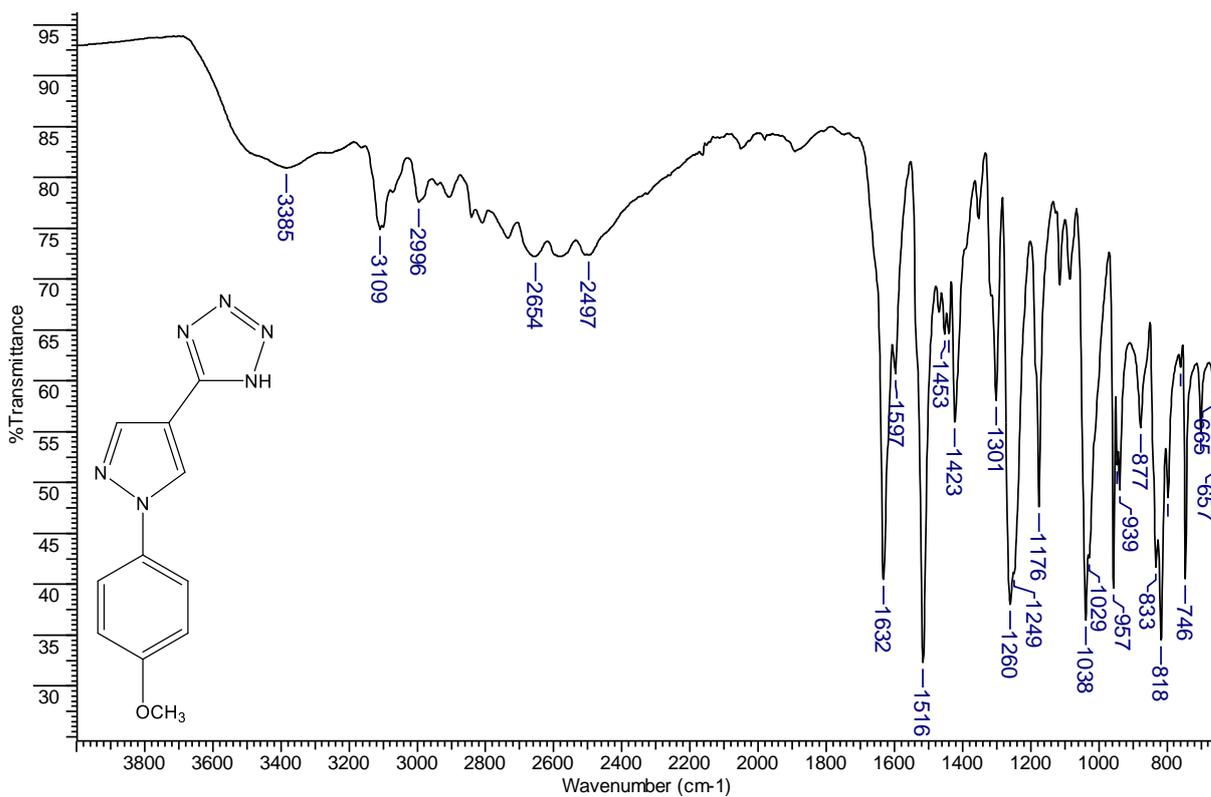
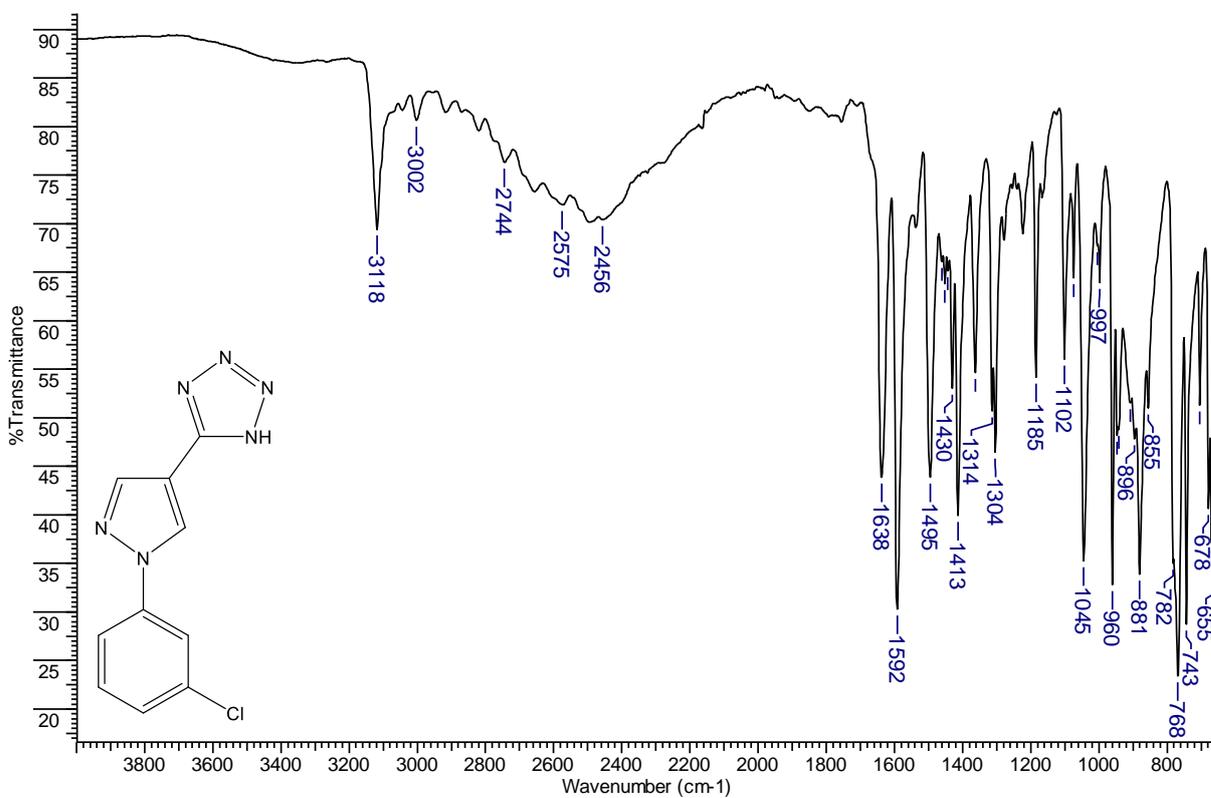
Espectro 17: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 5i.**Espectro 18:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 5j.

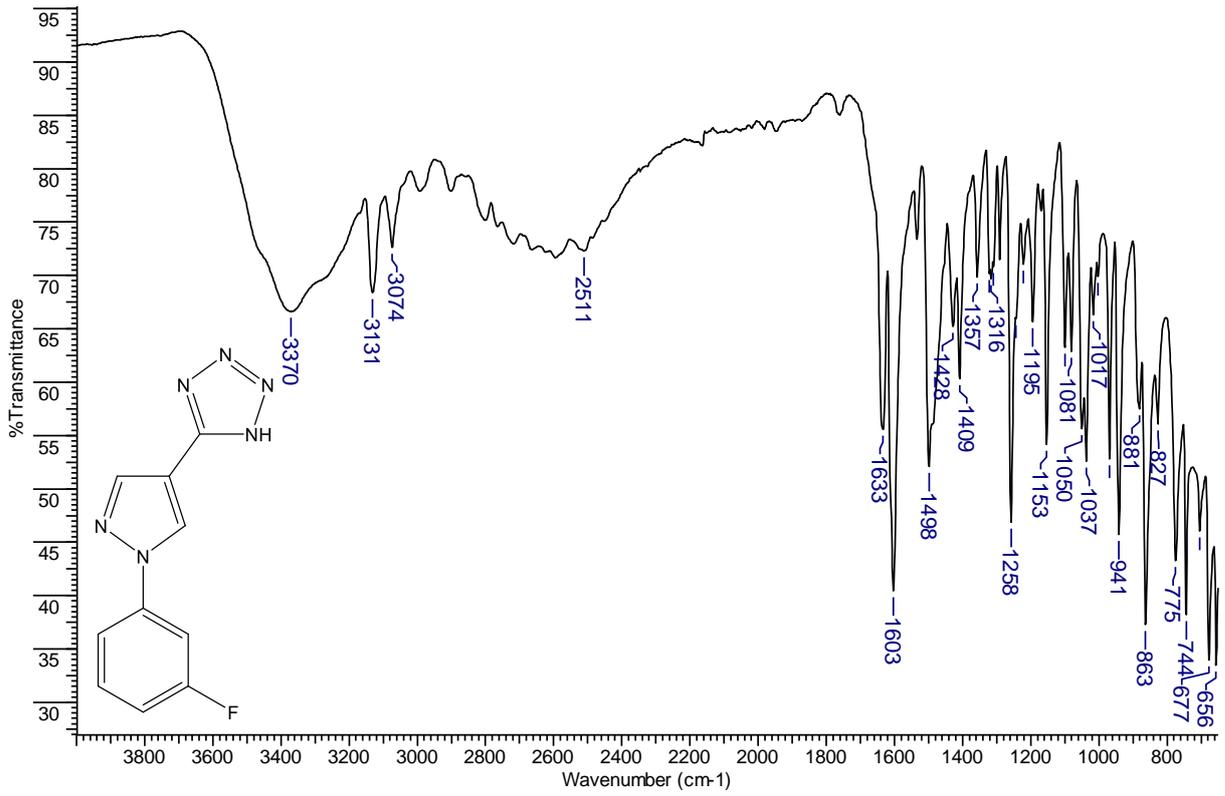
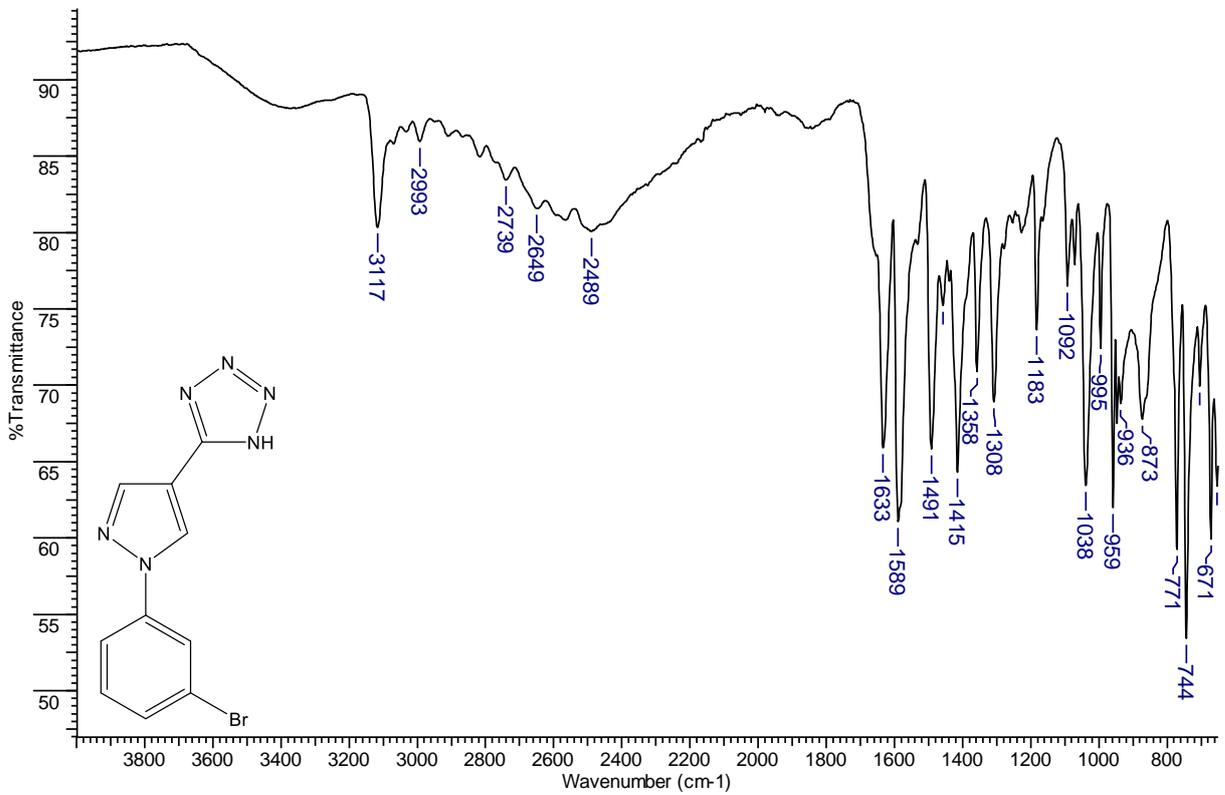
Espectro 19: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 5I.

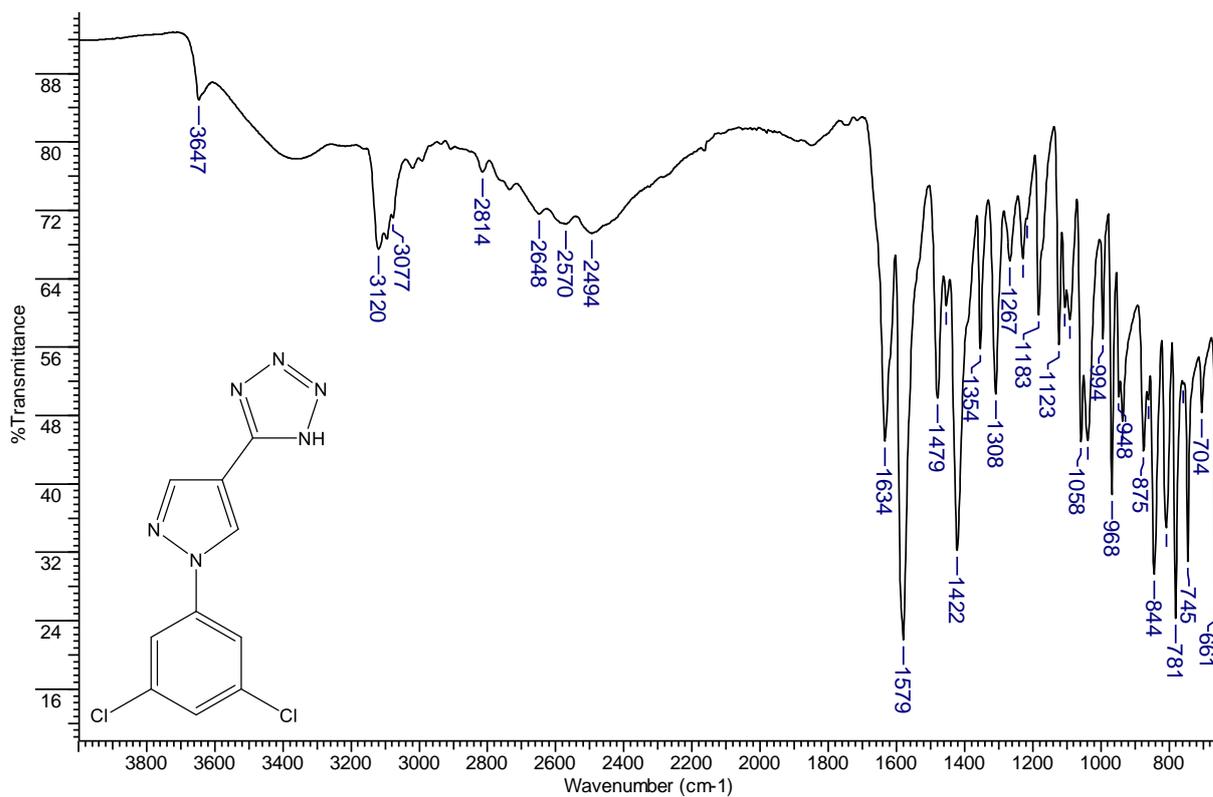
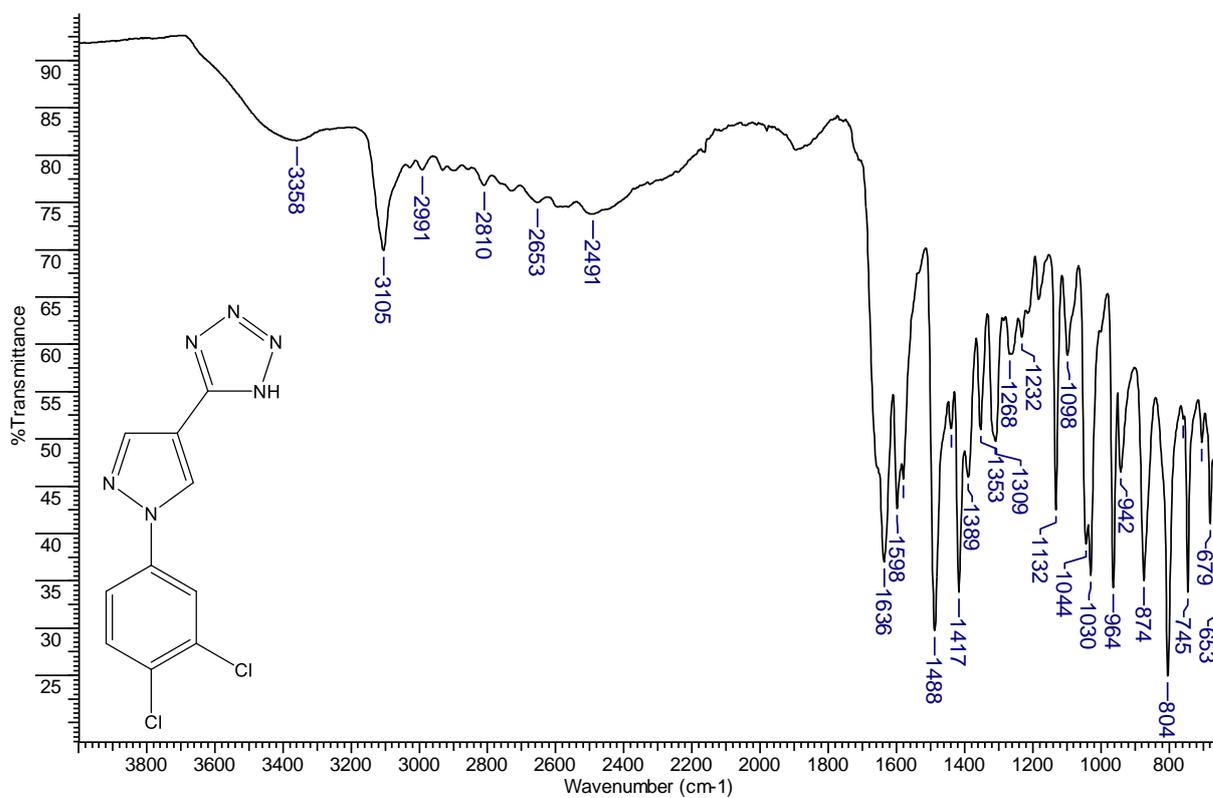
ANEXO C – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 1(a-l)

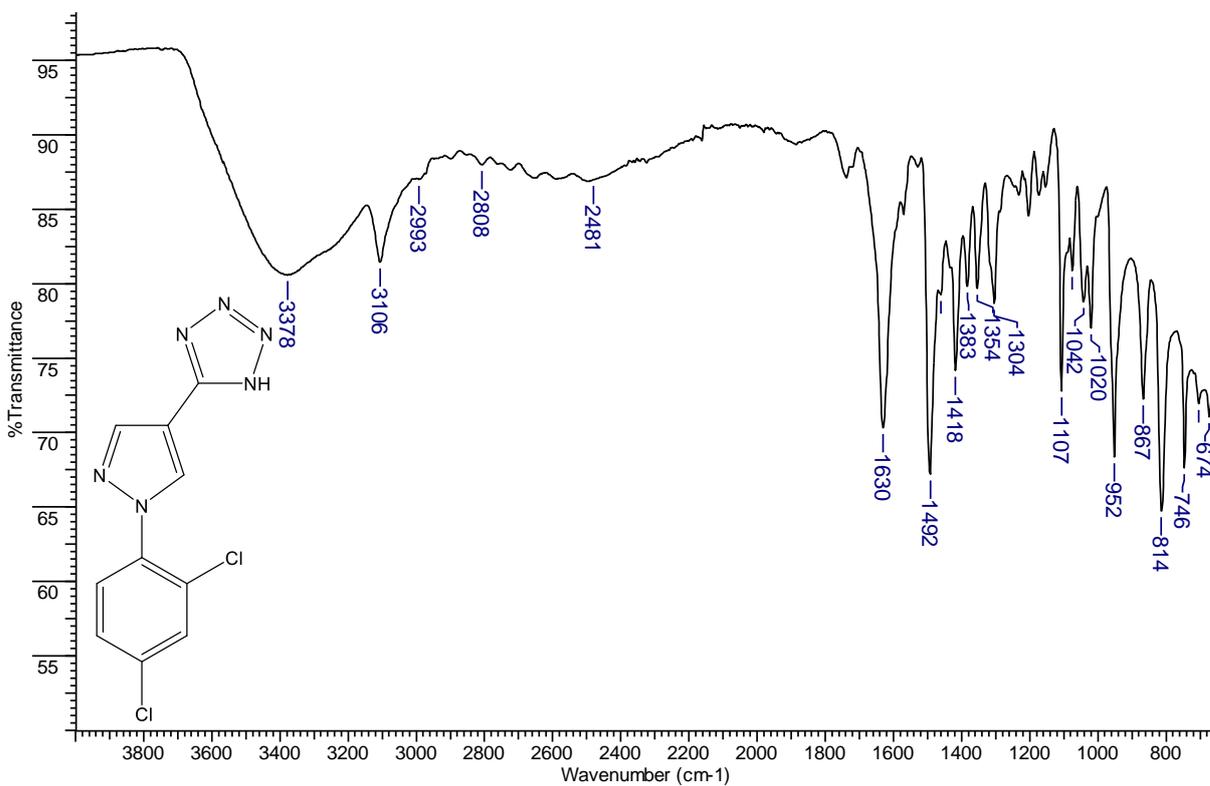
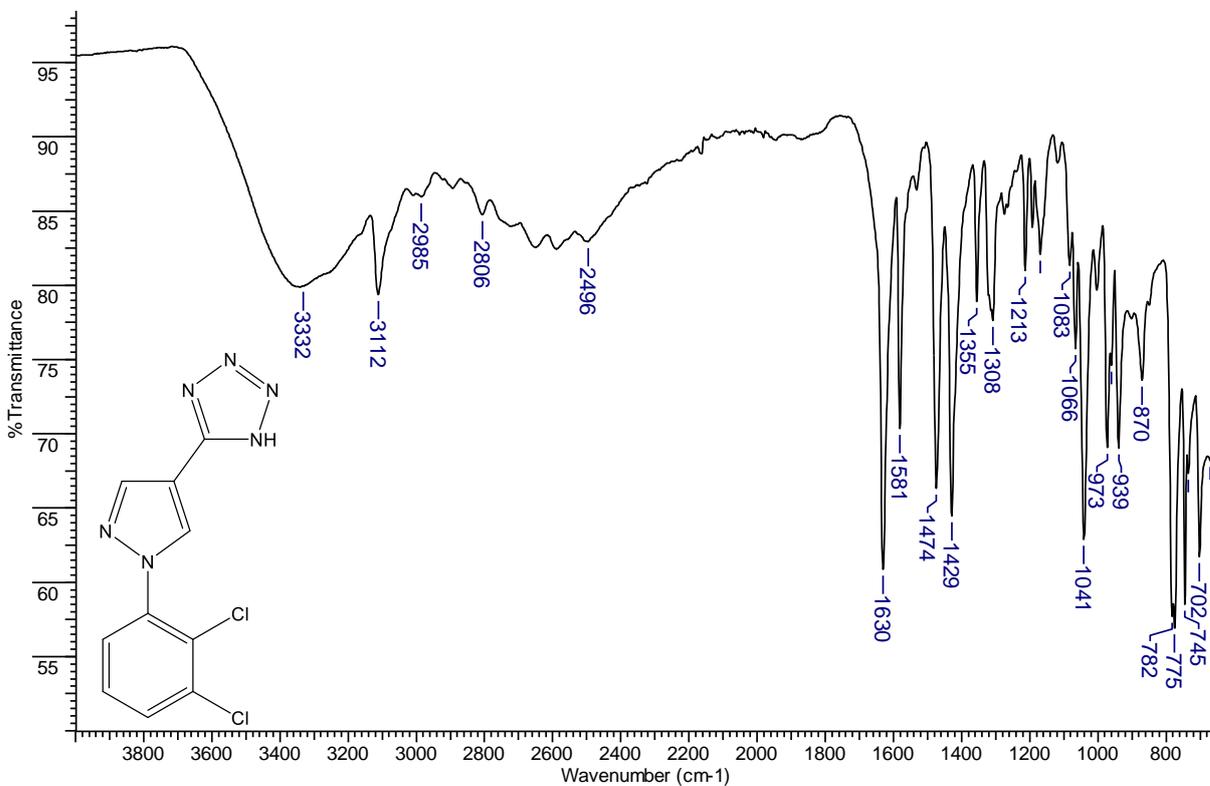
Espectro 20: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1a**.**Espectro 21:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1b**.

Espectro 22: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1c**.**Espectro 23:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1d**.

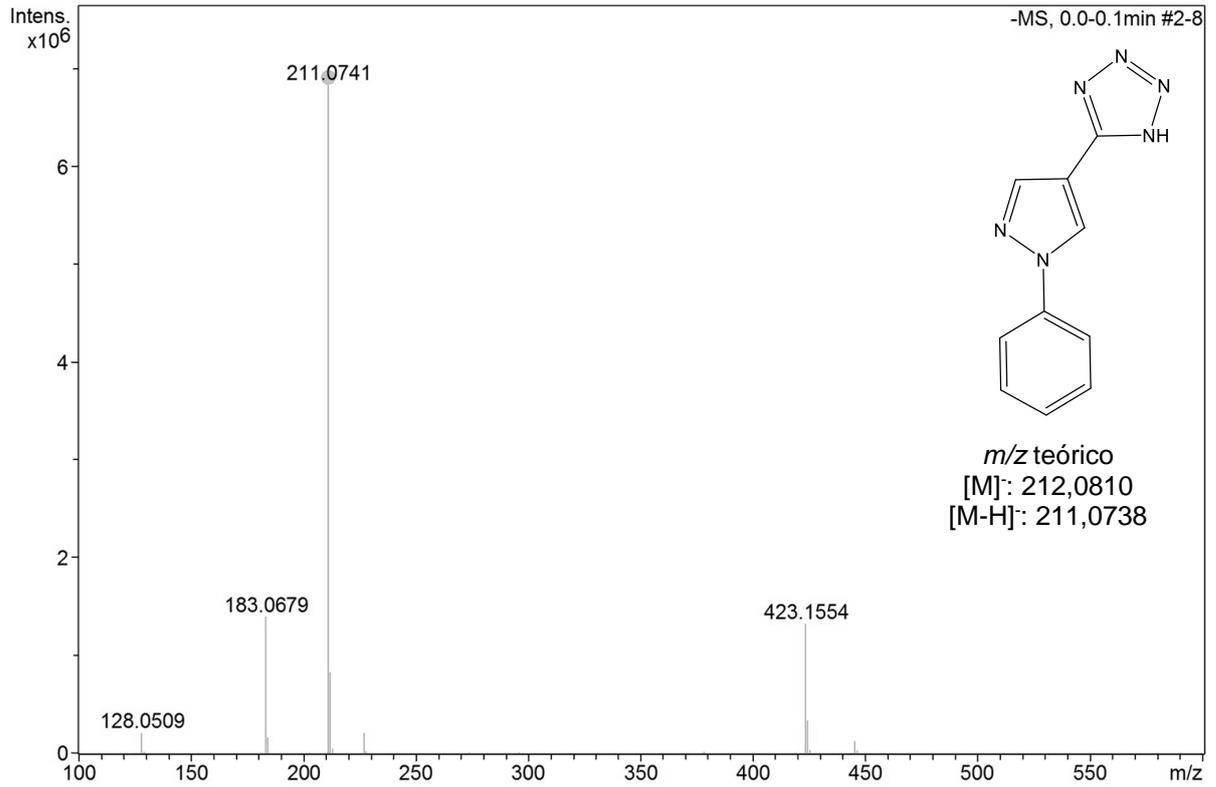
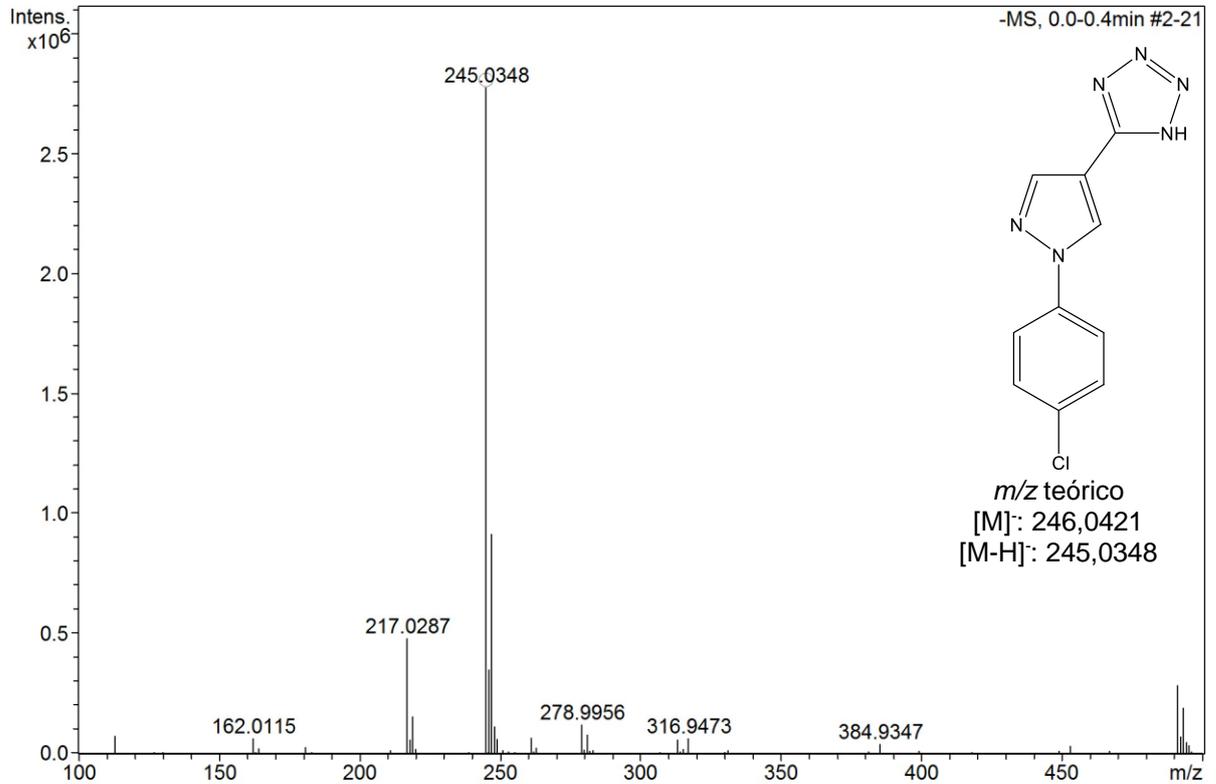
Espectro 24: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1e**.**Espectro 25:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1f**.

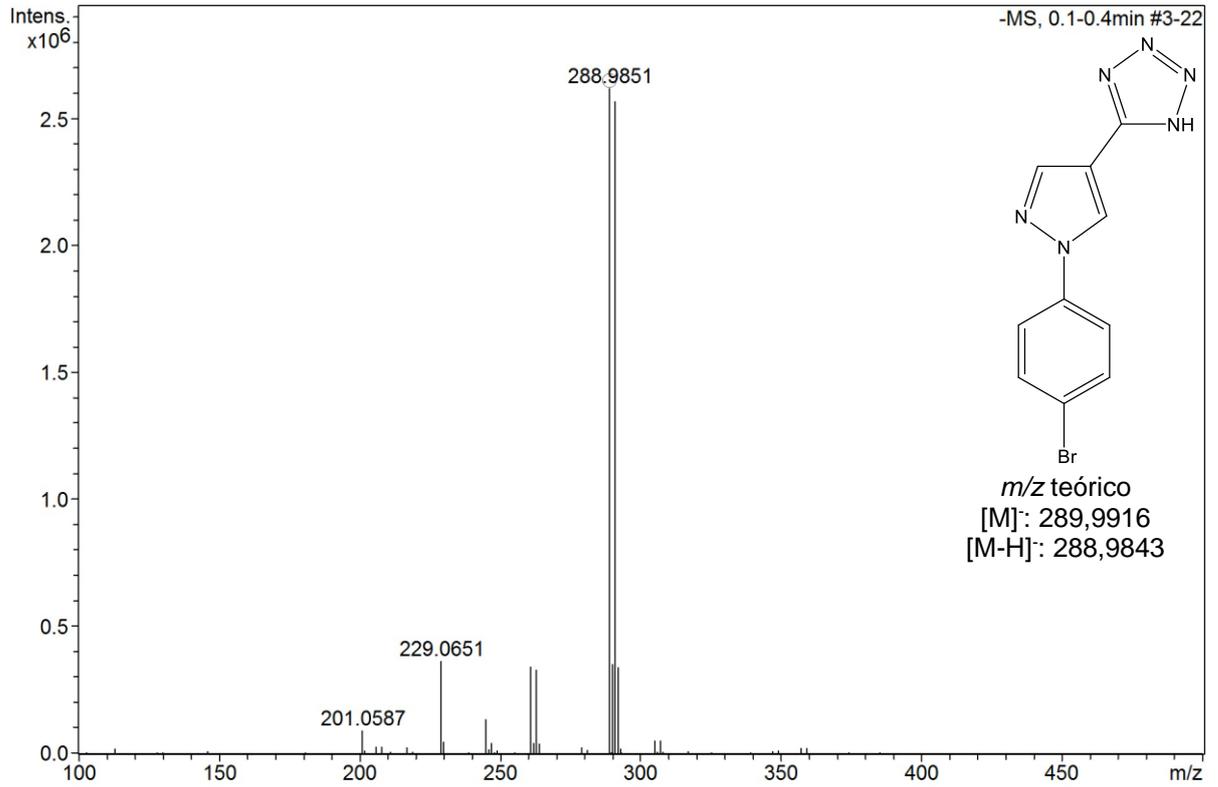
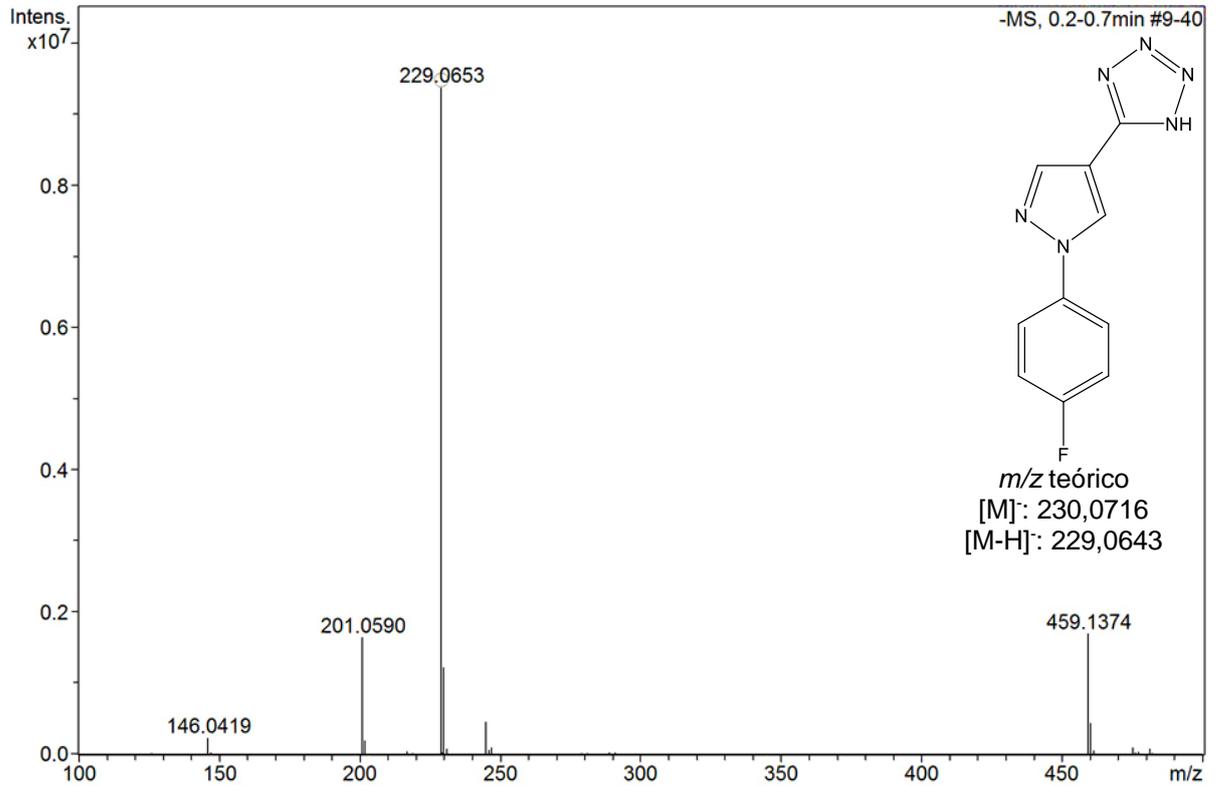
Espectro 26: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1g**.**Espectro 27:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1h**.

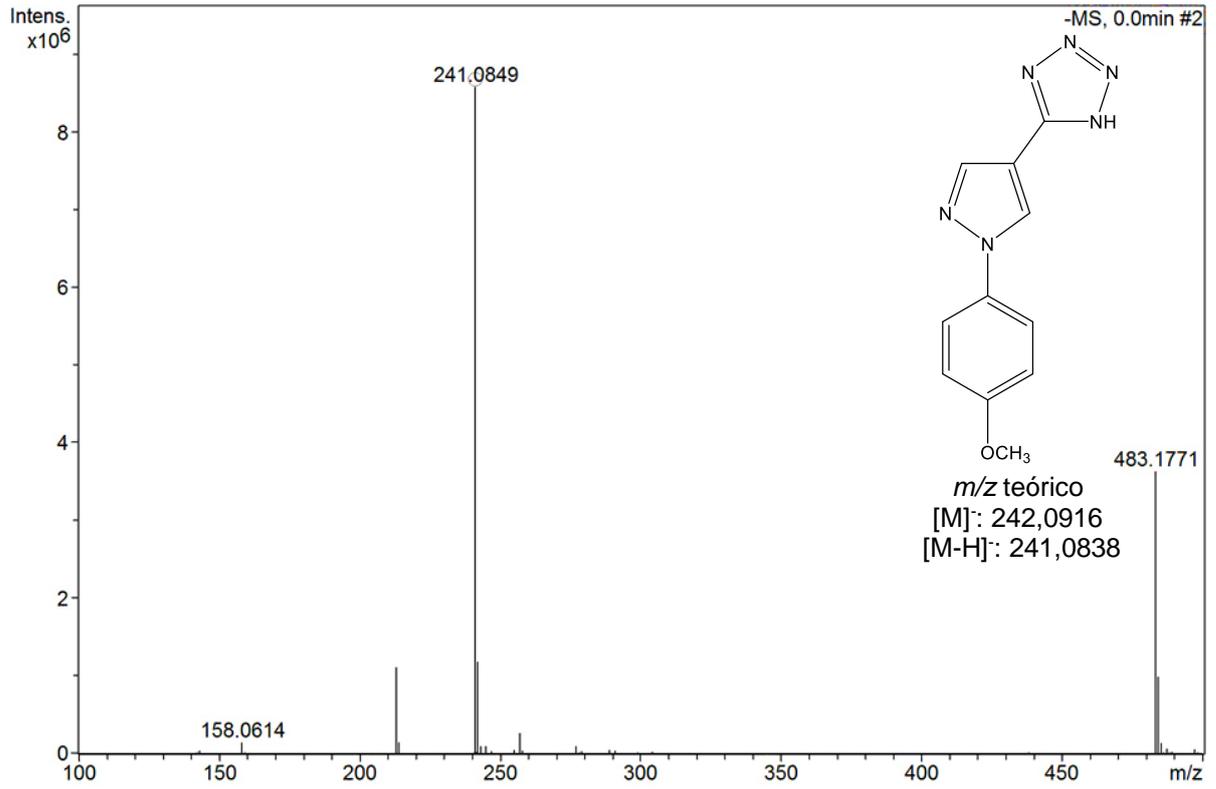
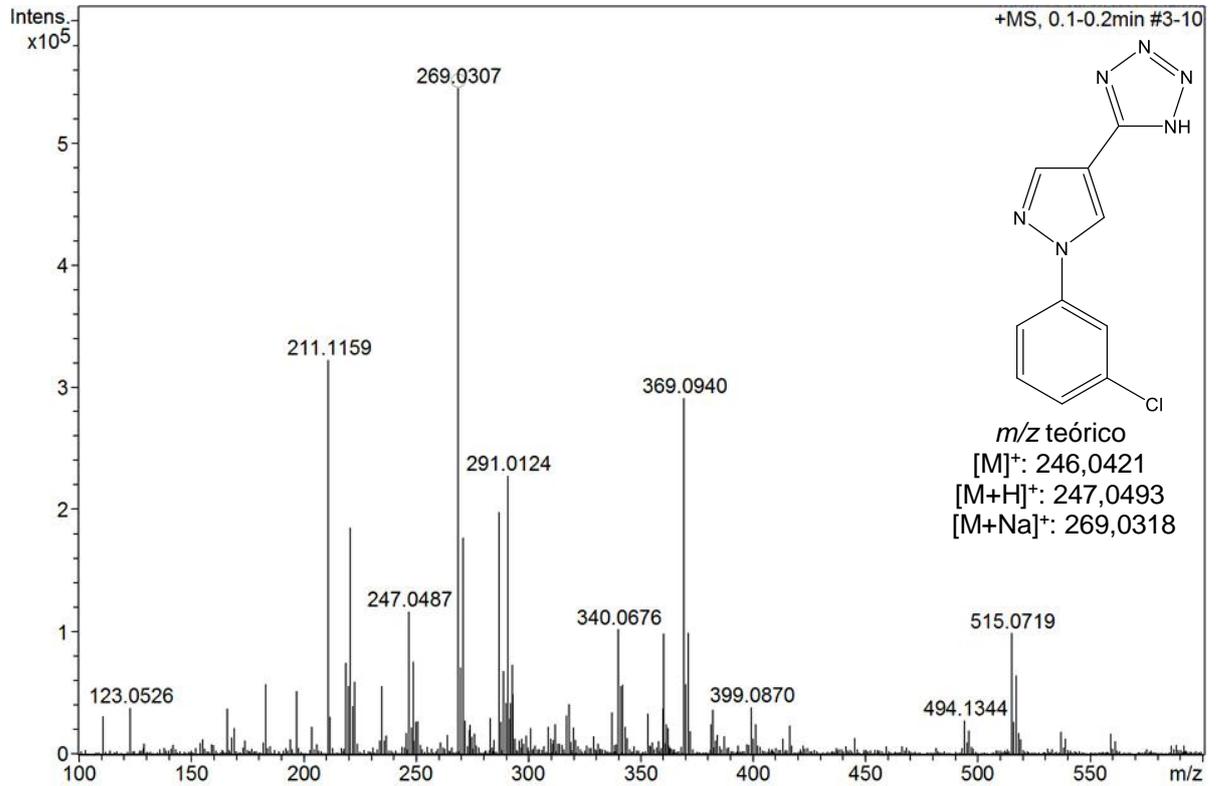
Espectro 28: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 1i.**Espectro 29:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 1j.

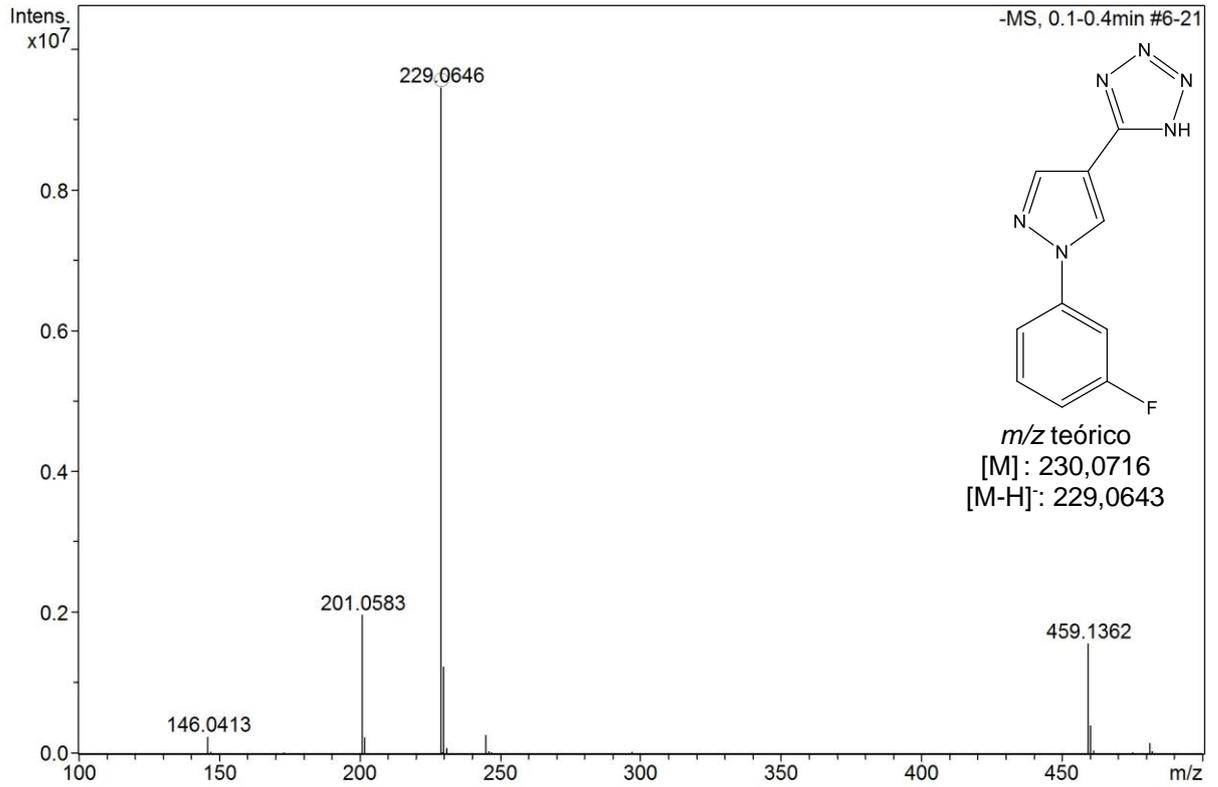
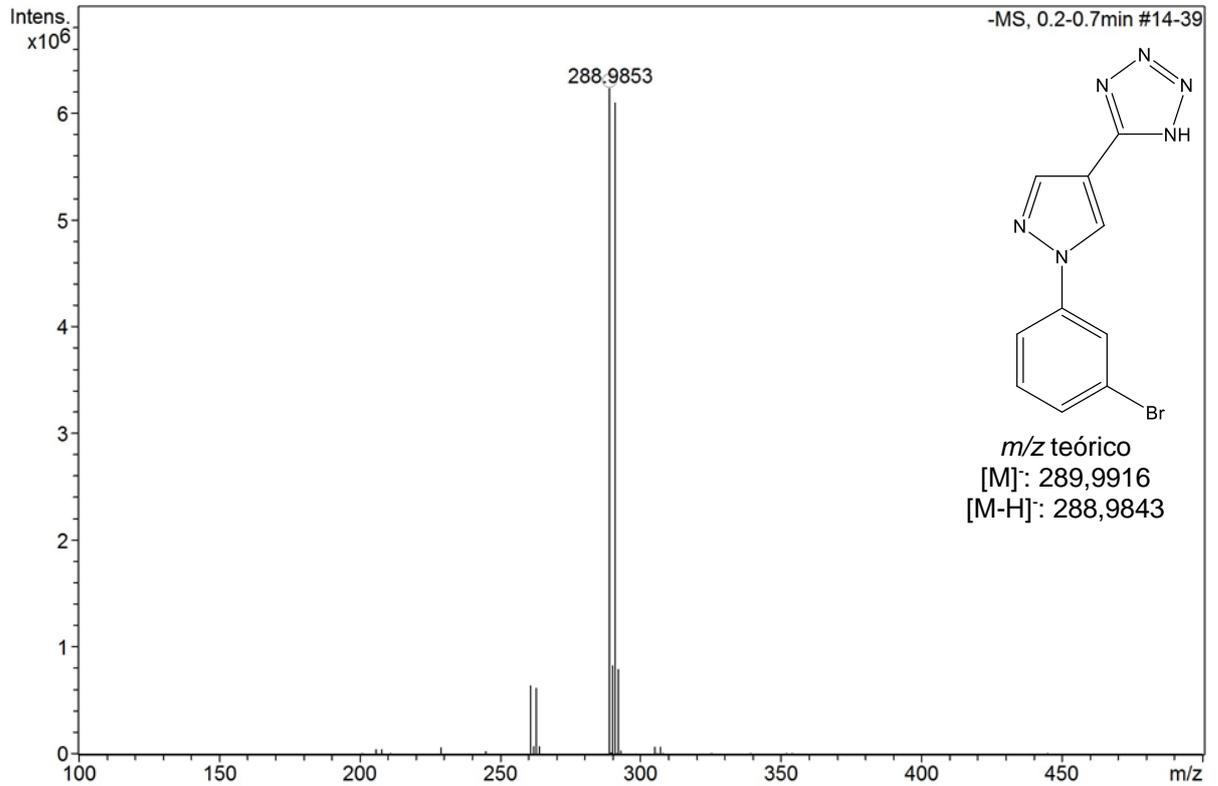
Espectro 30: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1k**.**Espectro 31:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **1l**.

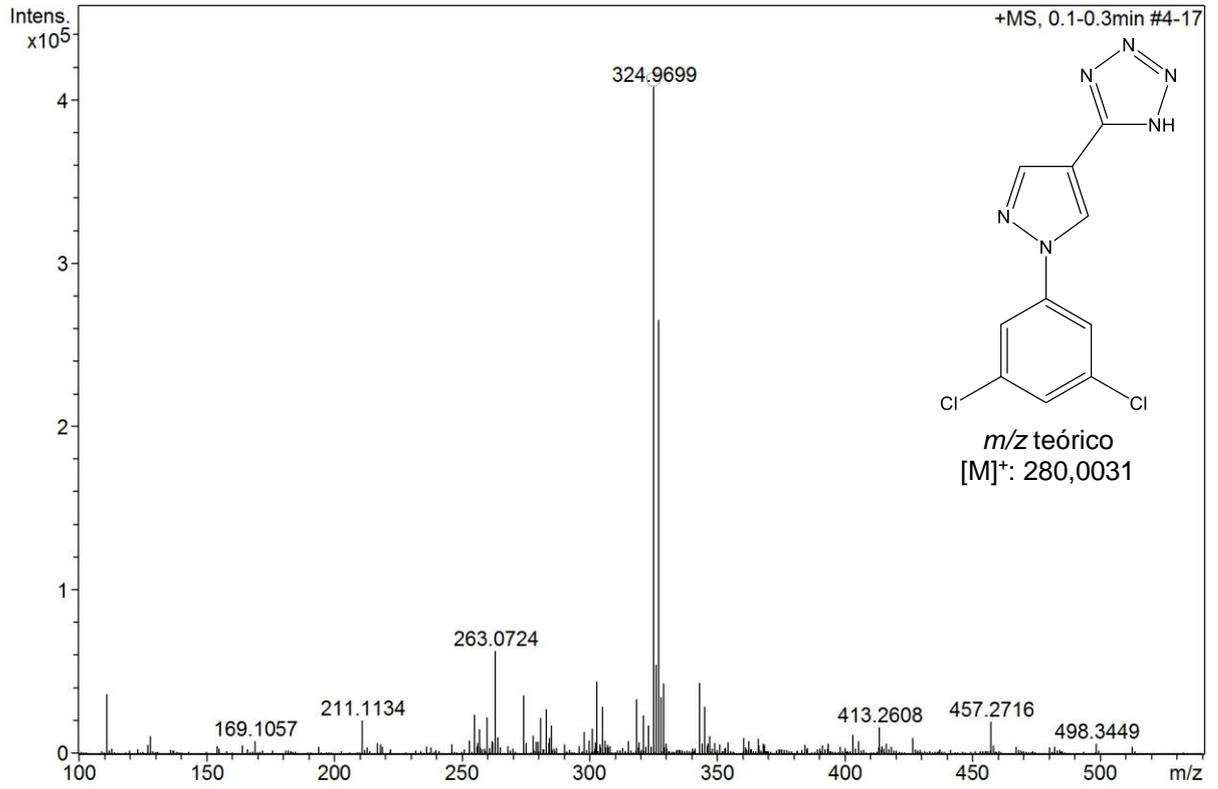
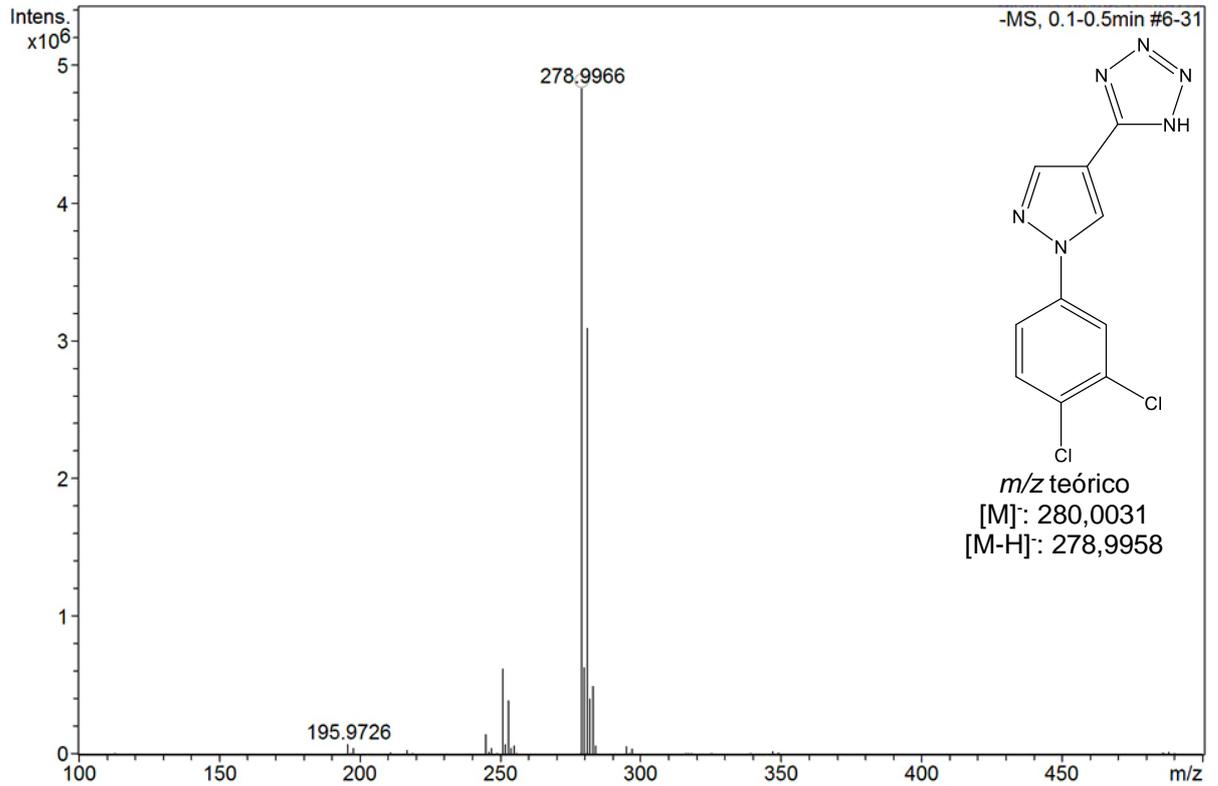
**ANEXO D – Espectros de Massas de Alta Resolução dos derivados
1(a-j)**

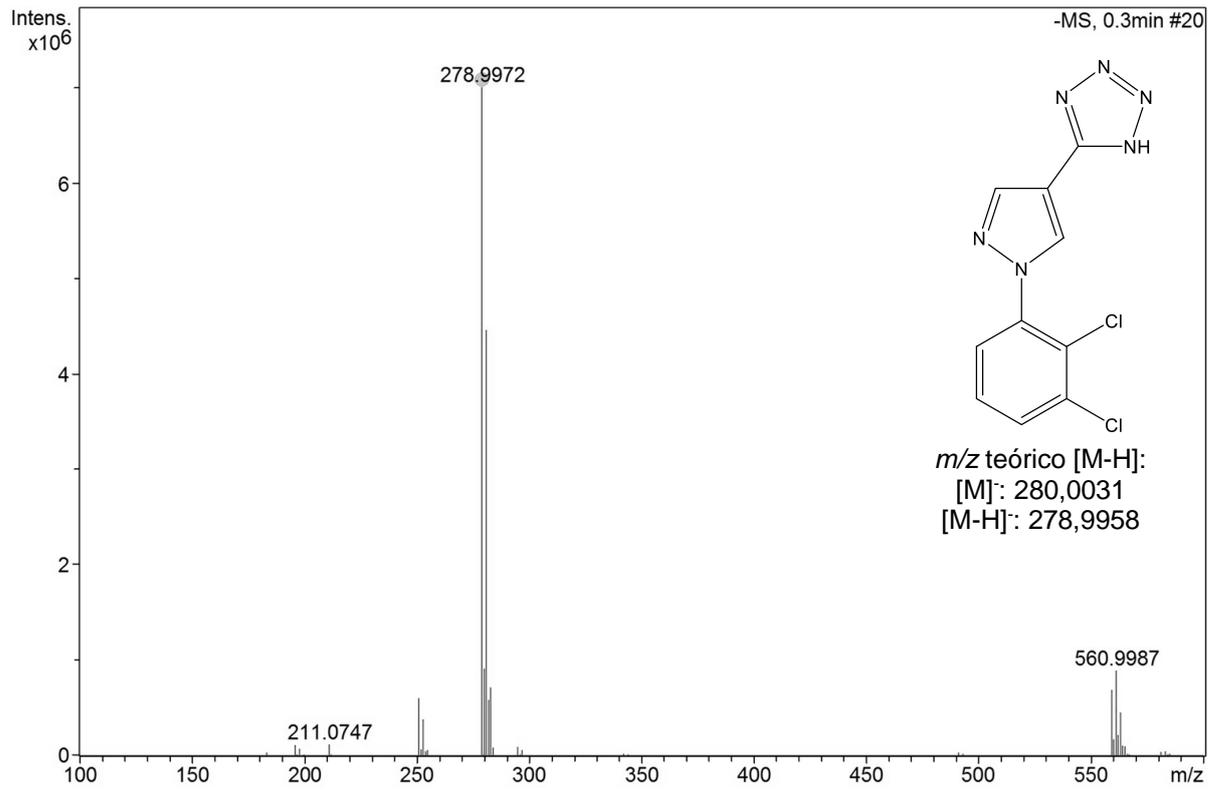
Espectro 32: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1a**.**Espectro 33:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1b**.

Espectro 34: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1c**.**Espectro 35:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1d**.

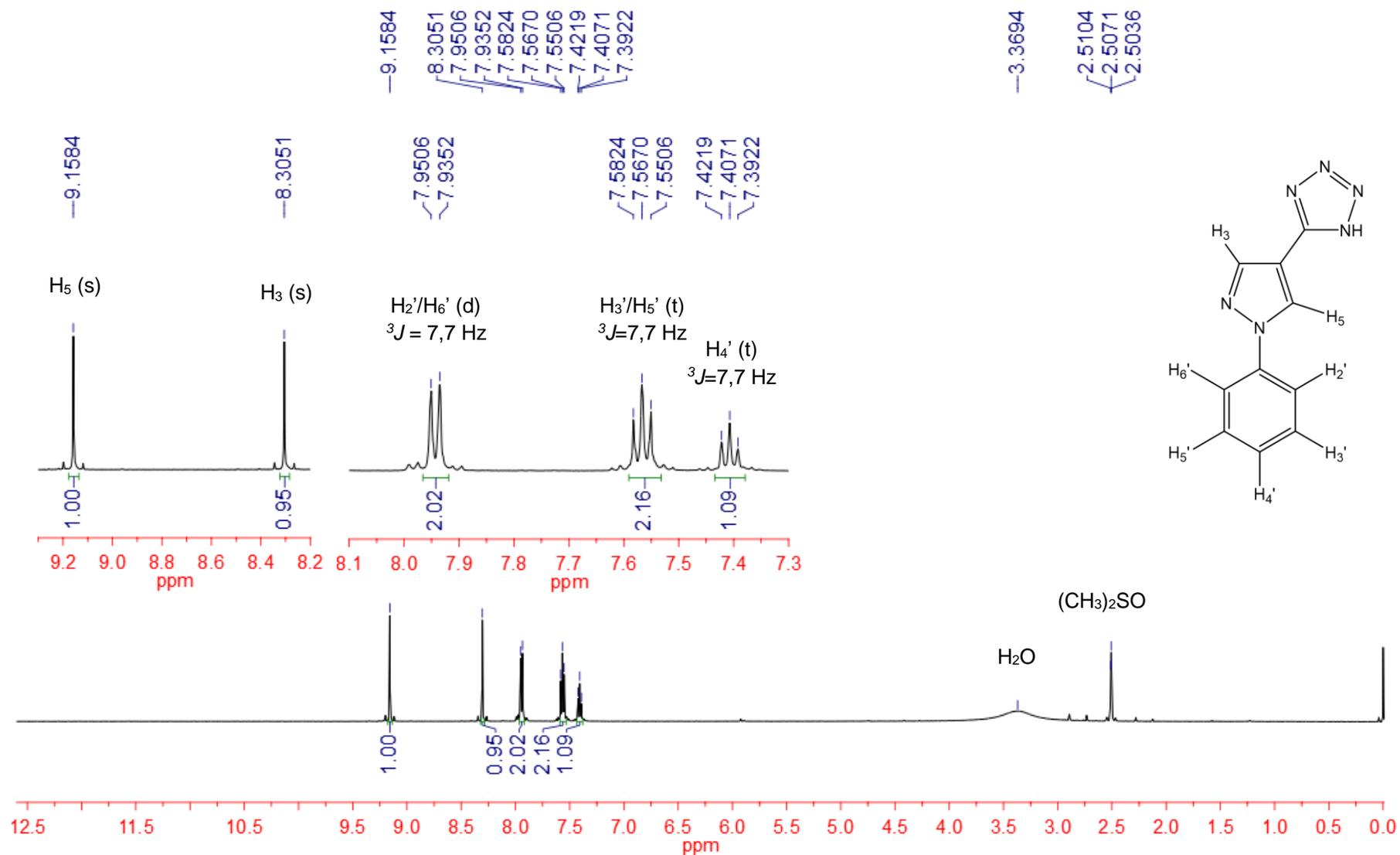
Espectro 36: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1e**.**Espectro 37:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1f**.

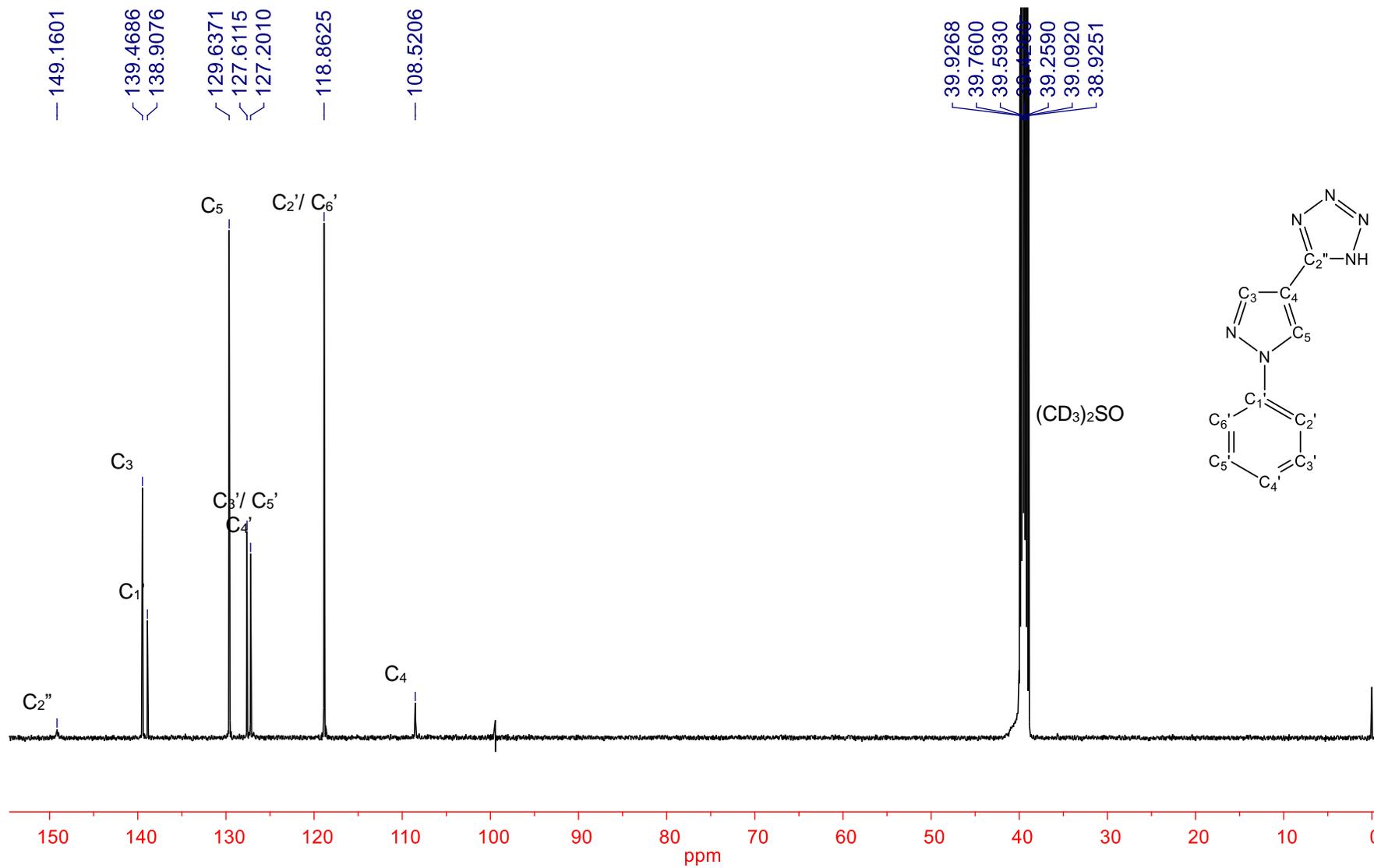
Espectro 38: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1g**.**Espectro 39:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1h**.

Espectro 40: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1i**.**Espectro 41:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **1j**.

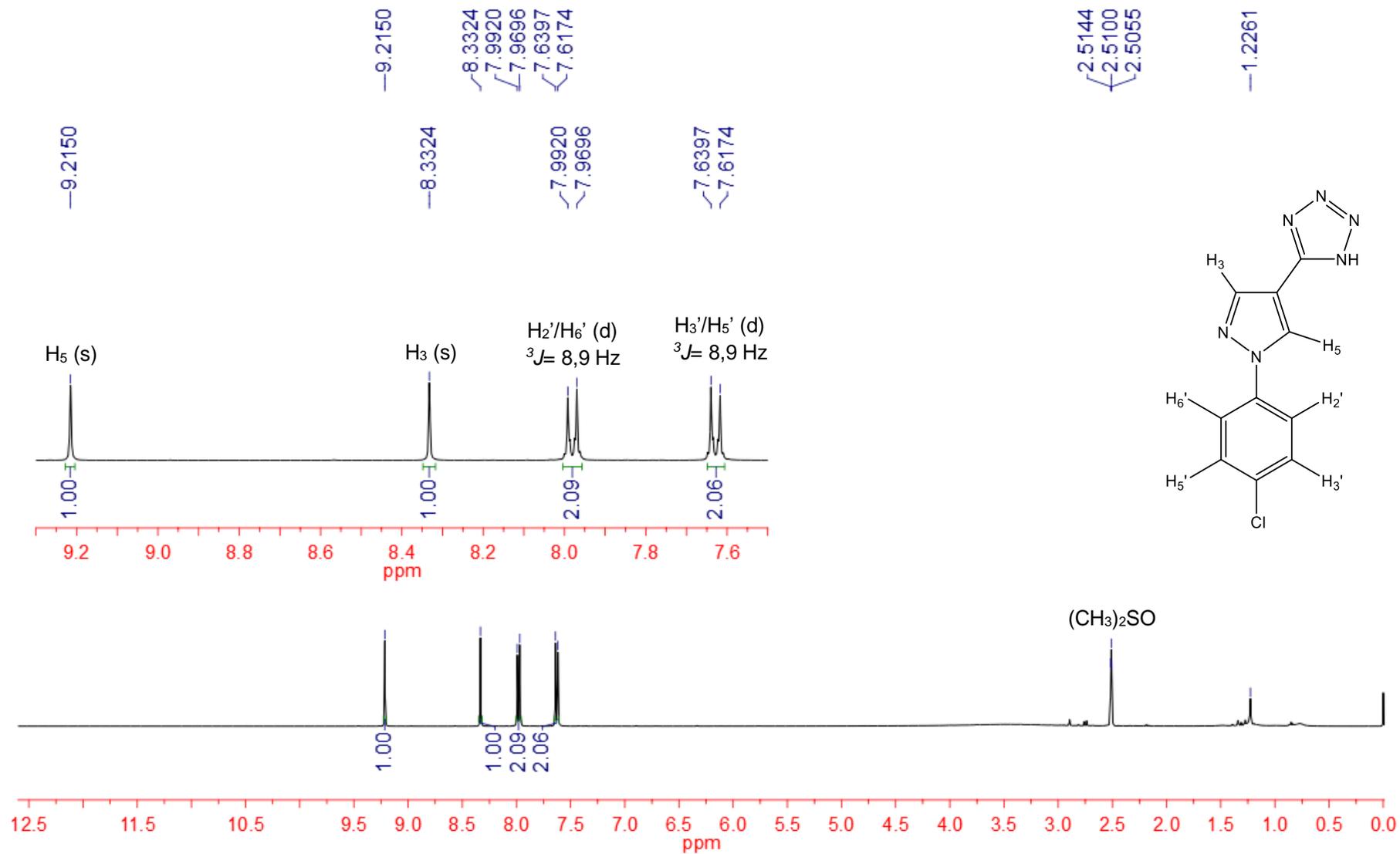
Espectro 42: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado 11.

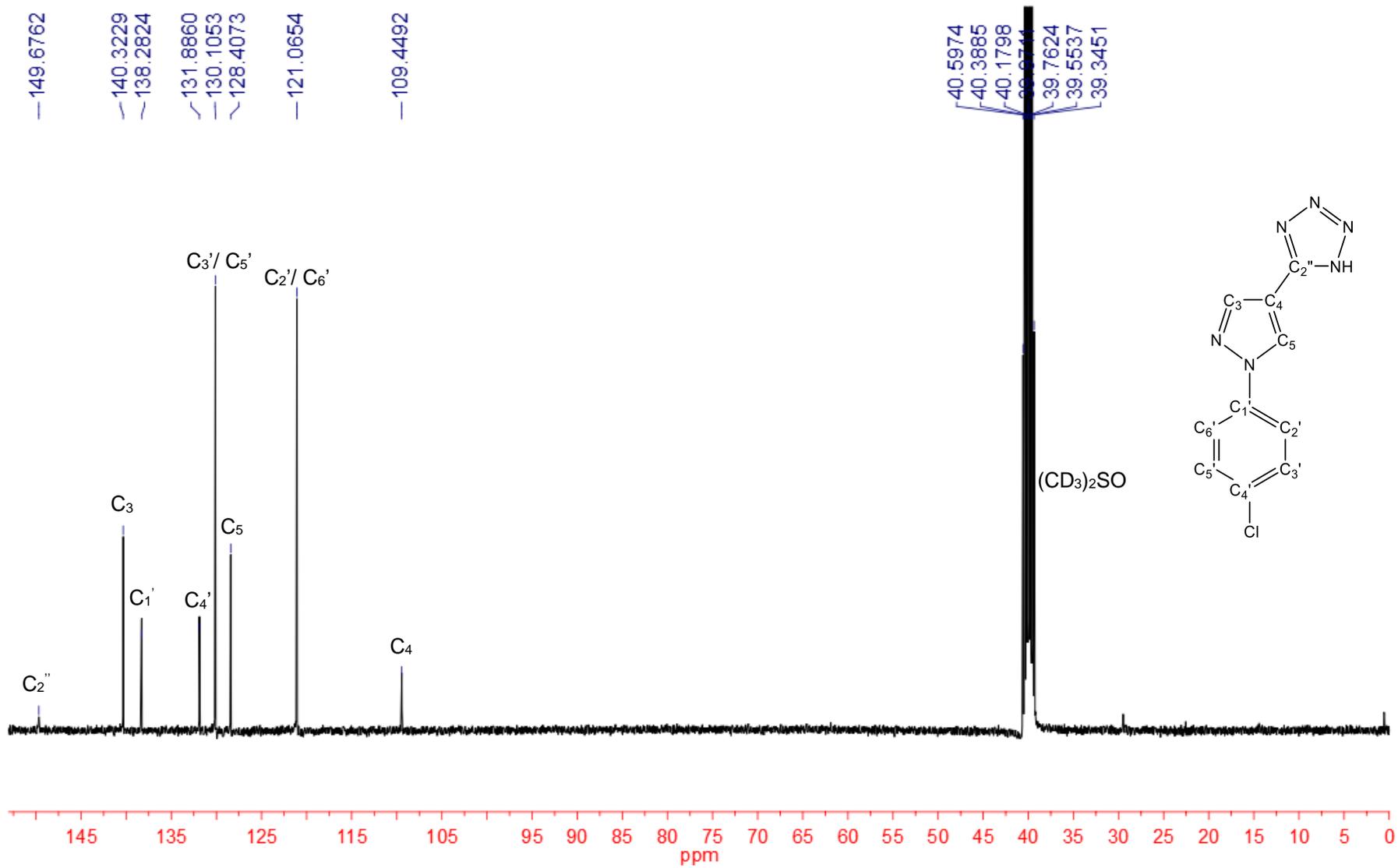
ANEXO E – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear dos derivados 1(a-j)

Espectro 43: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1a**.

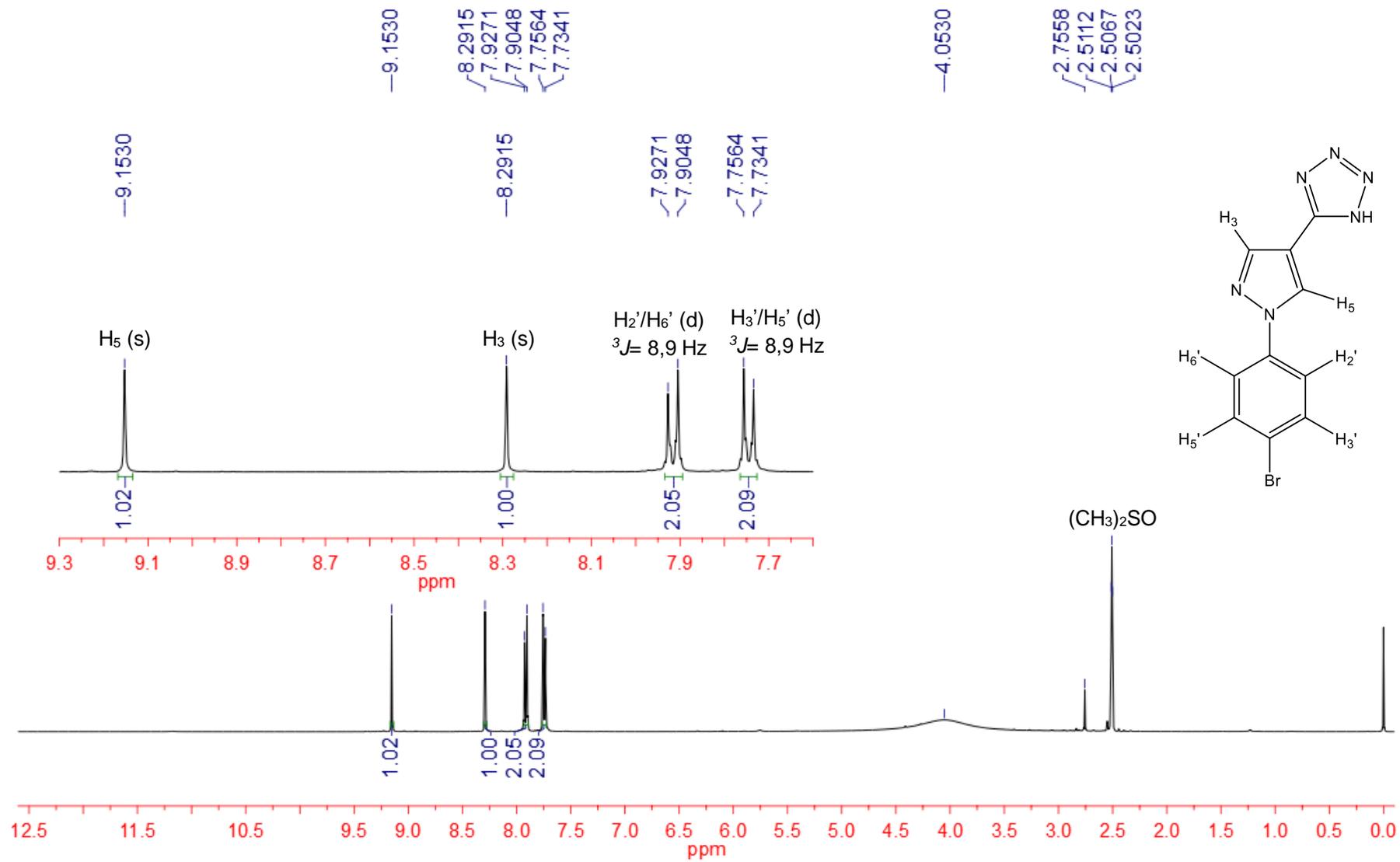
Espectro 44: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1a**.

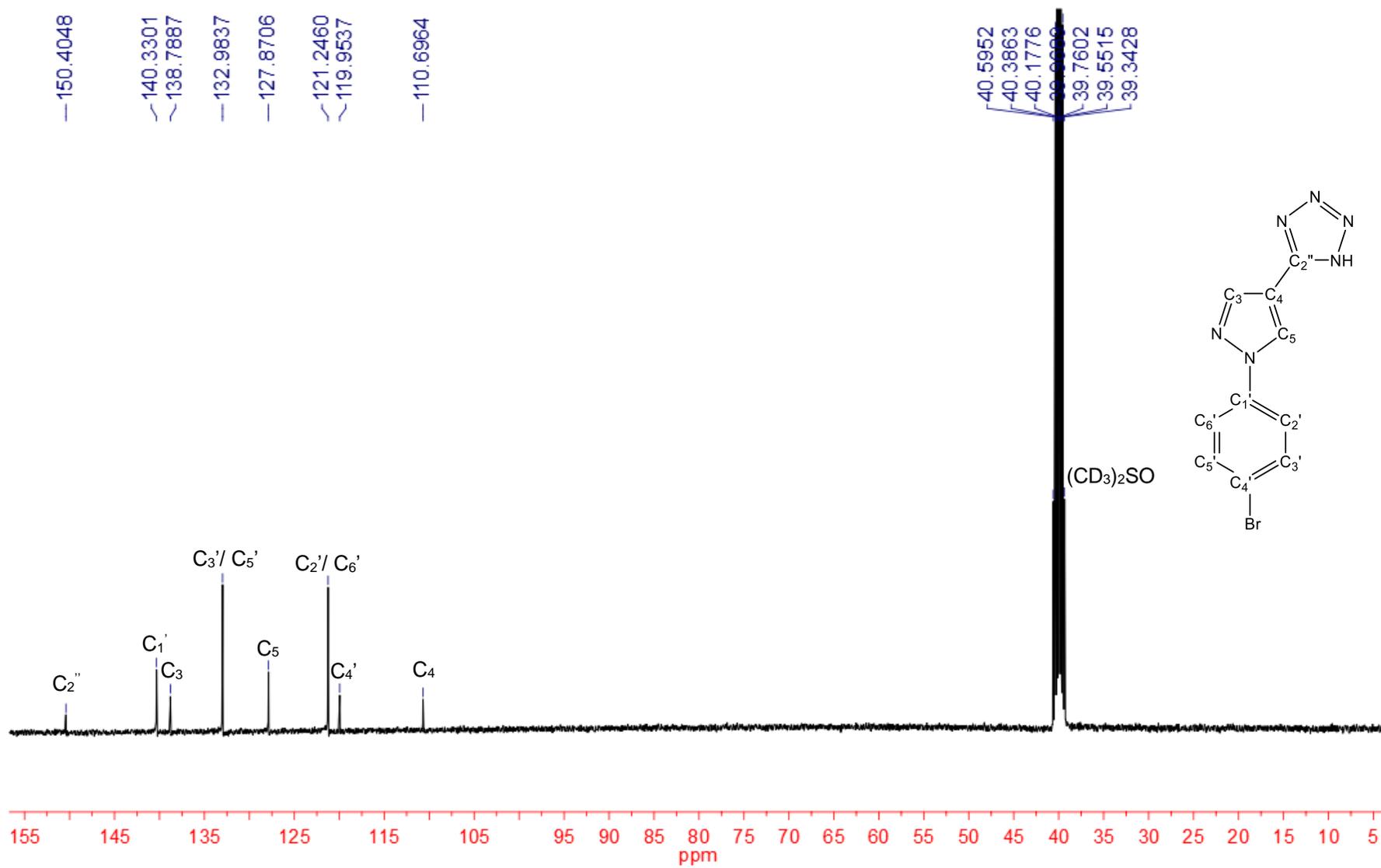
Espectro 45: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1b**.



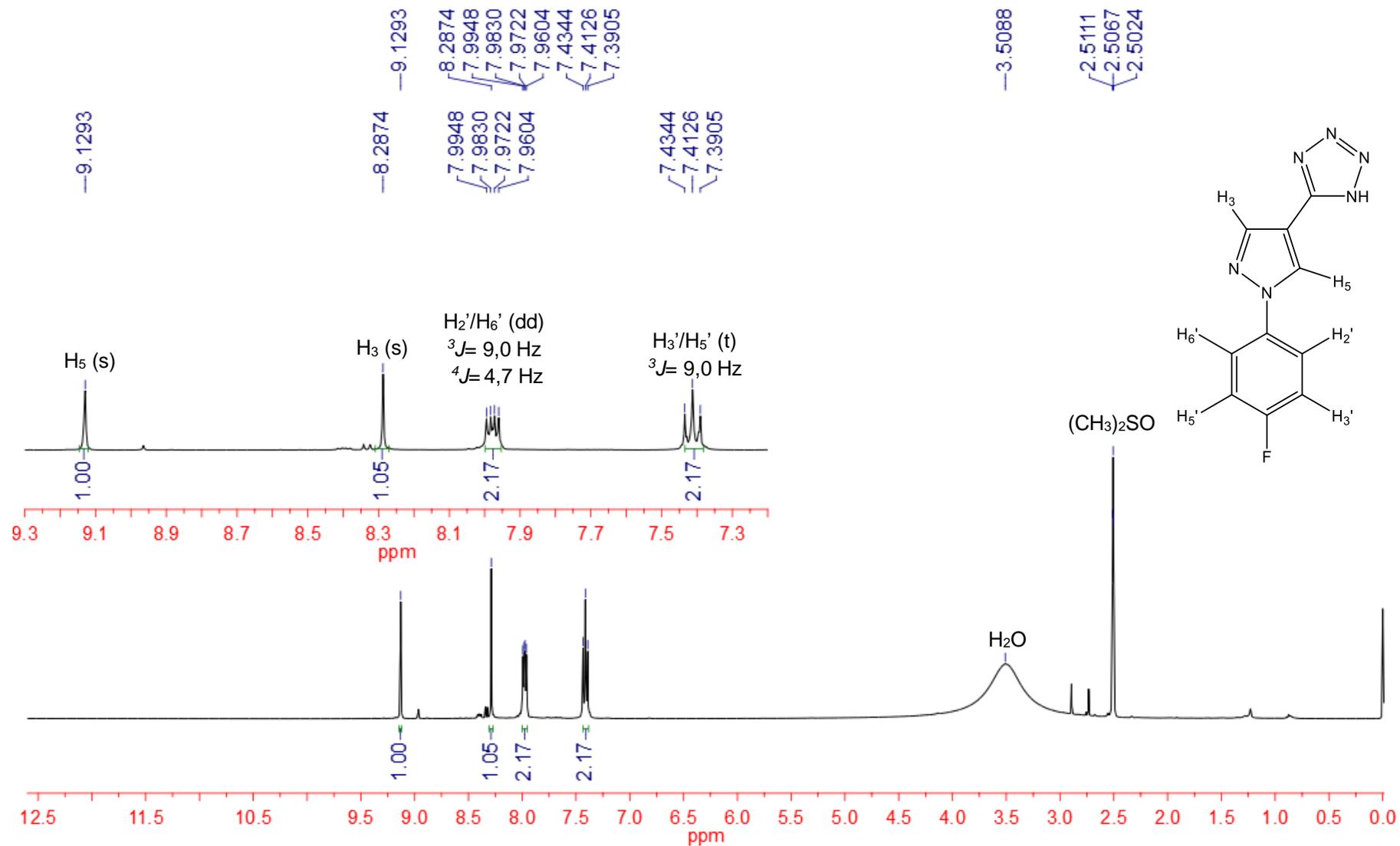
Espectro 46: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1b**.

Espectro 47: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1c**.

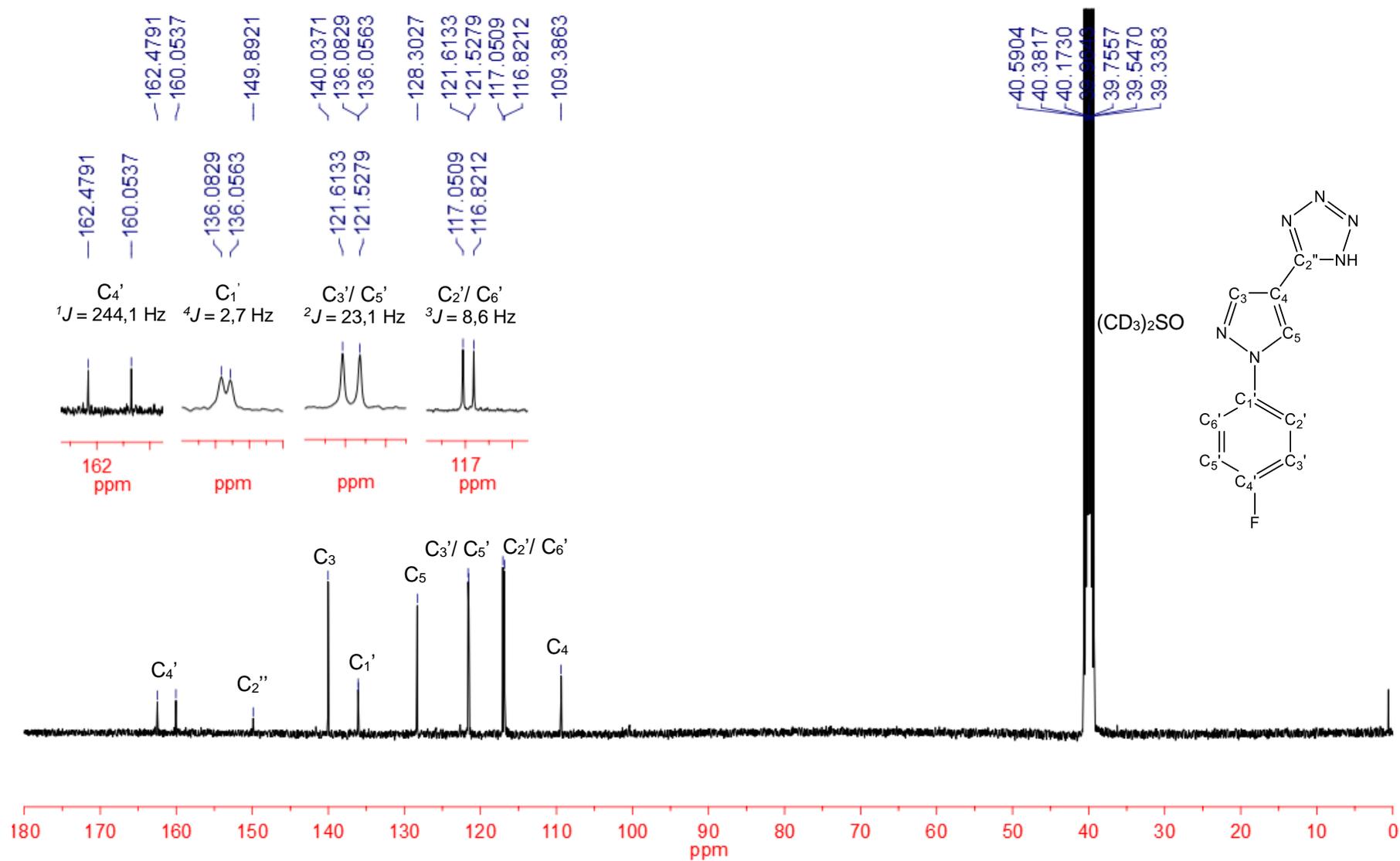


Espectro 48: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1c**.

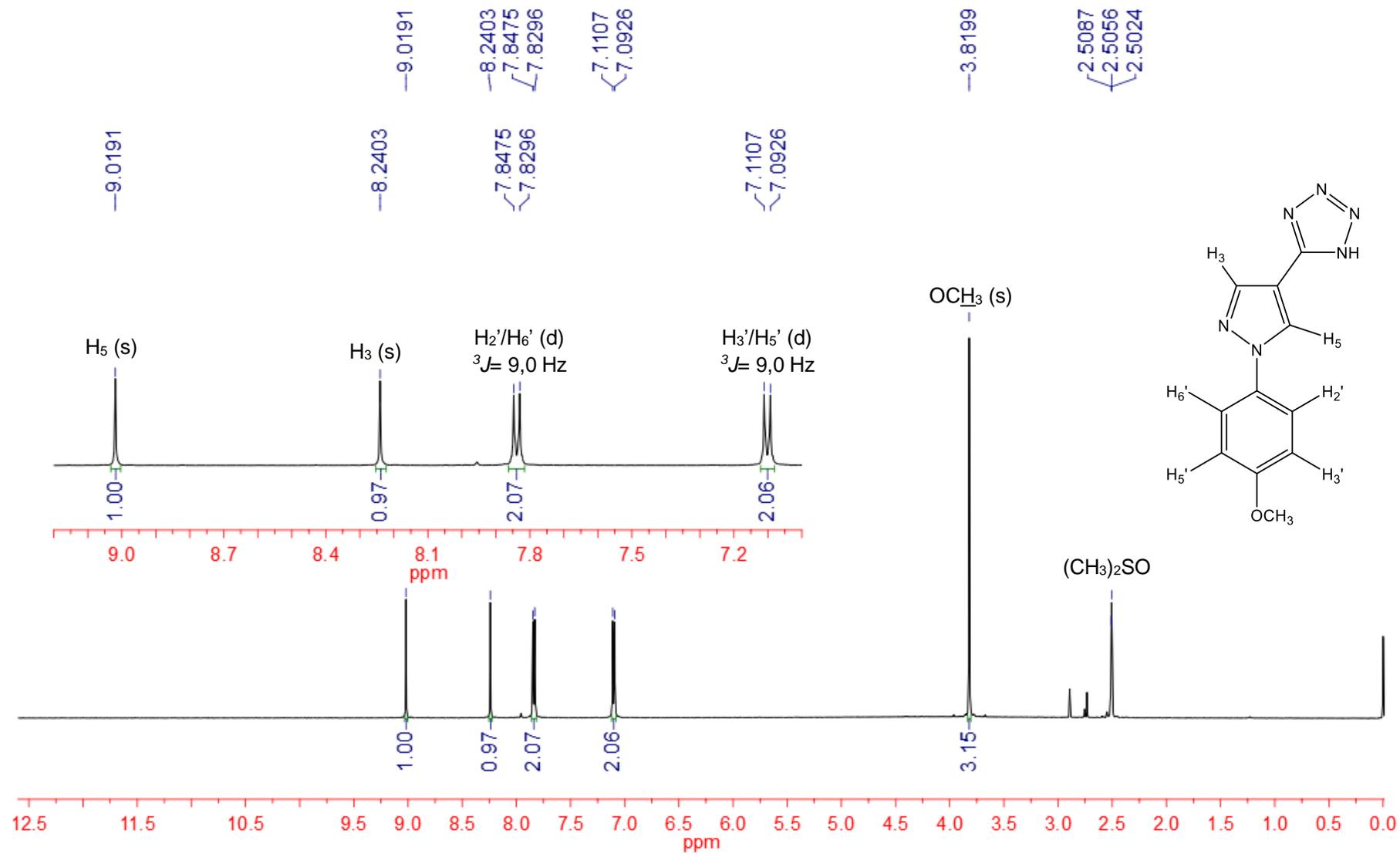
Espectro 49: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1d**.

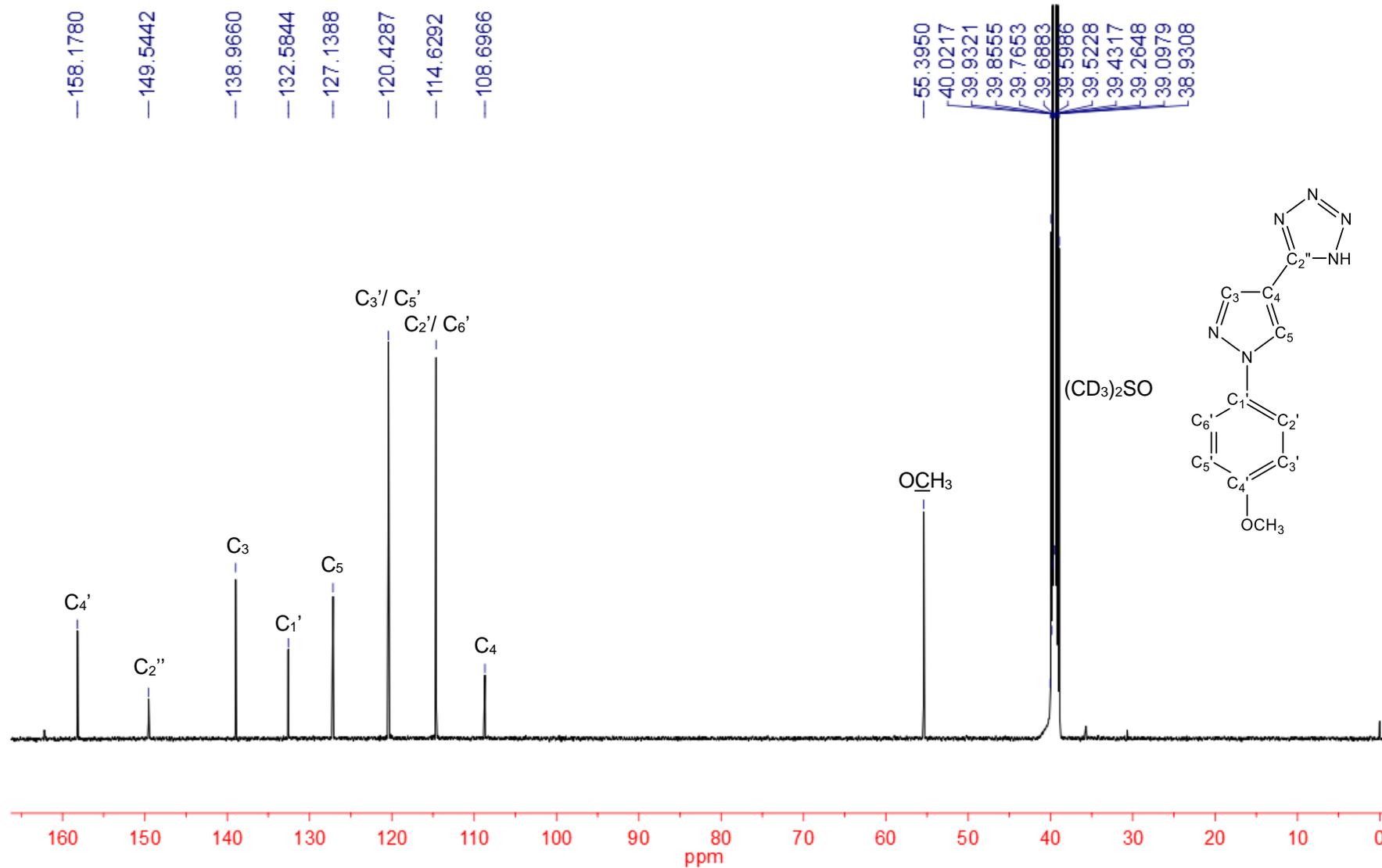


Espectro 50: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1d**.

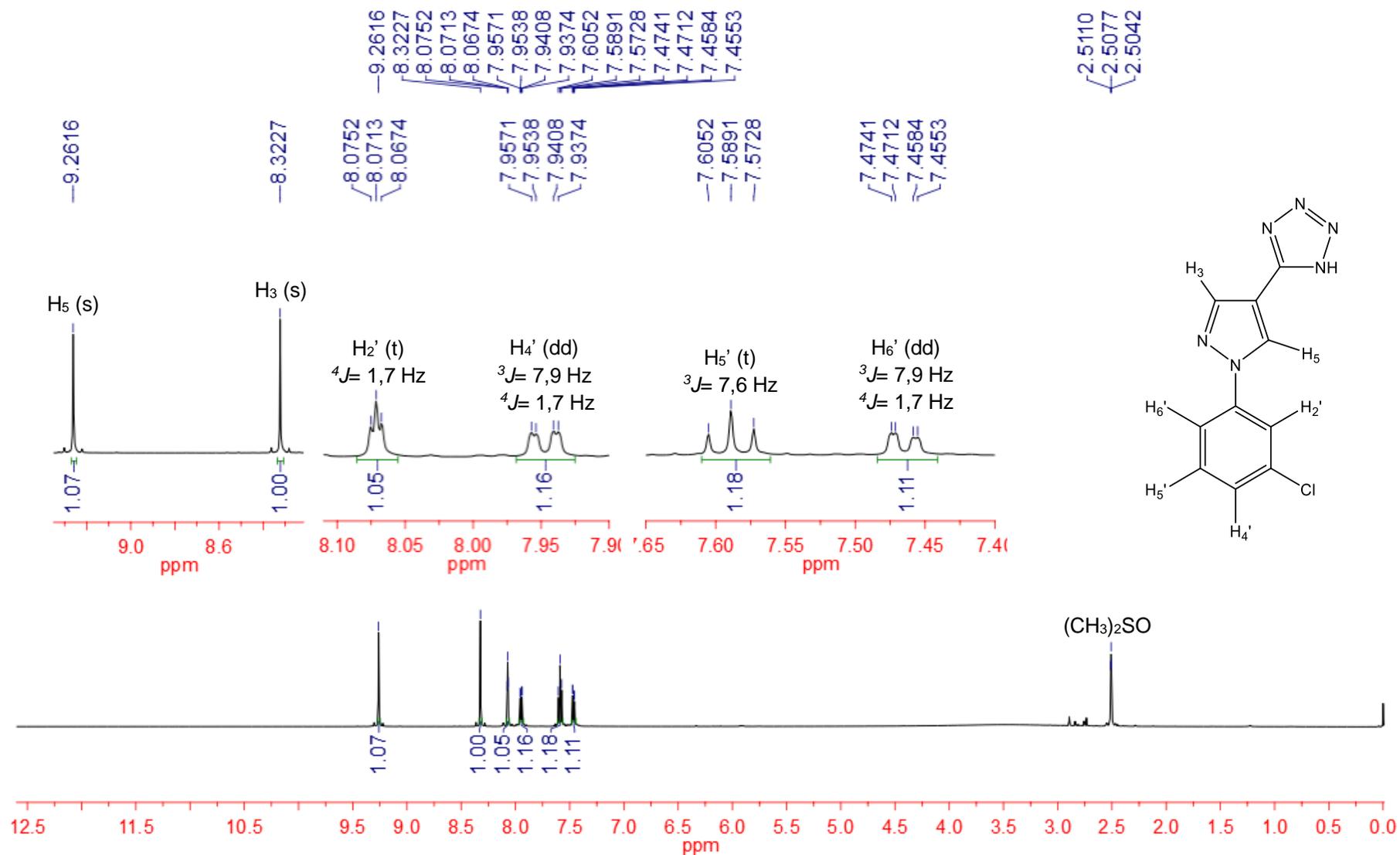


Espectro 51: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1e**.

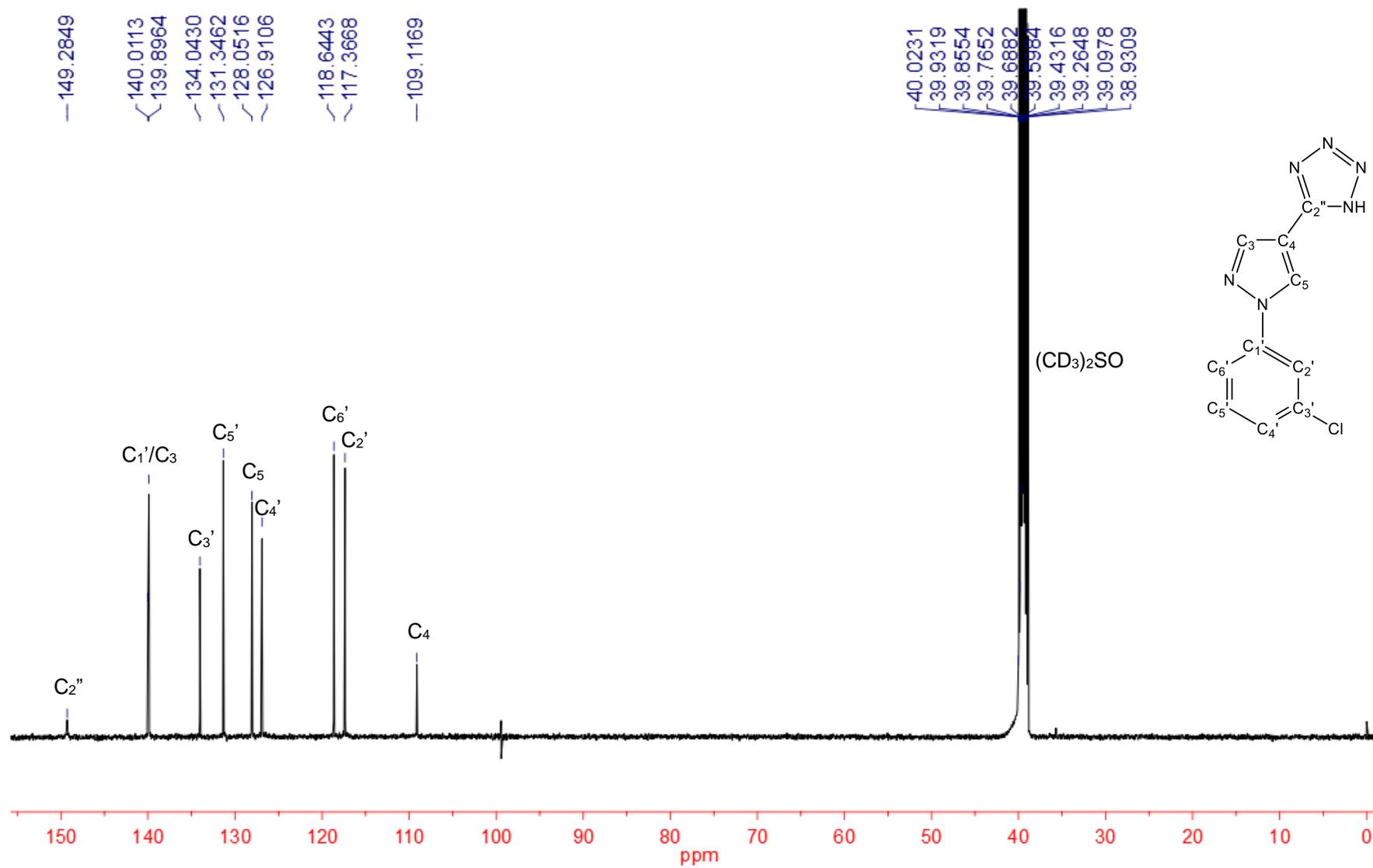


Espectro 52: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1e**.

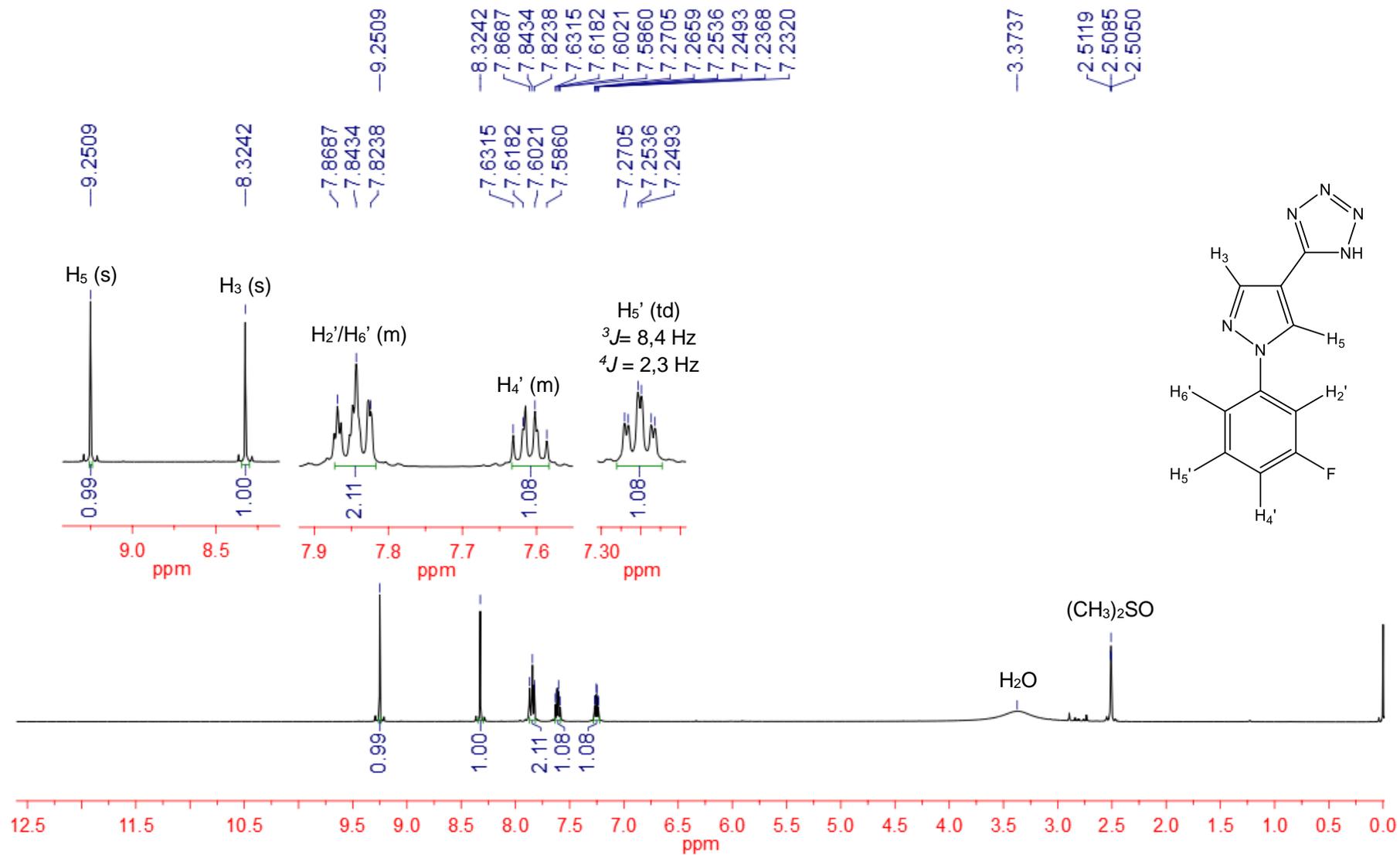
Espectro 53: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1f**.



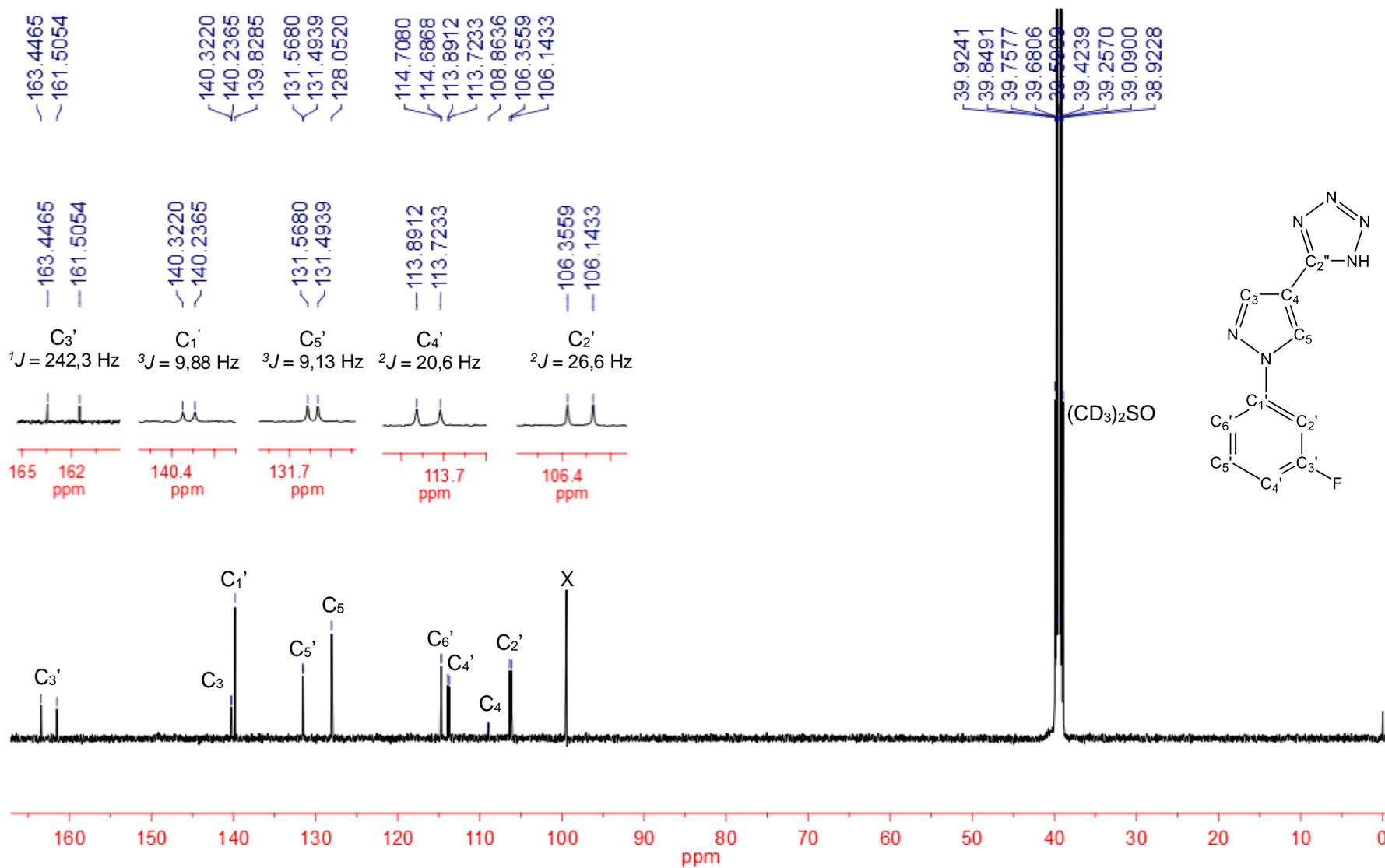
Espectro 54: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1f**.

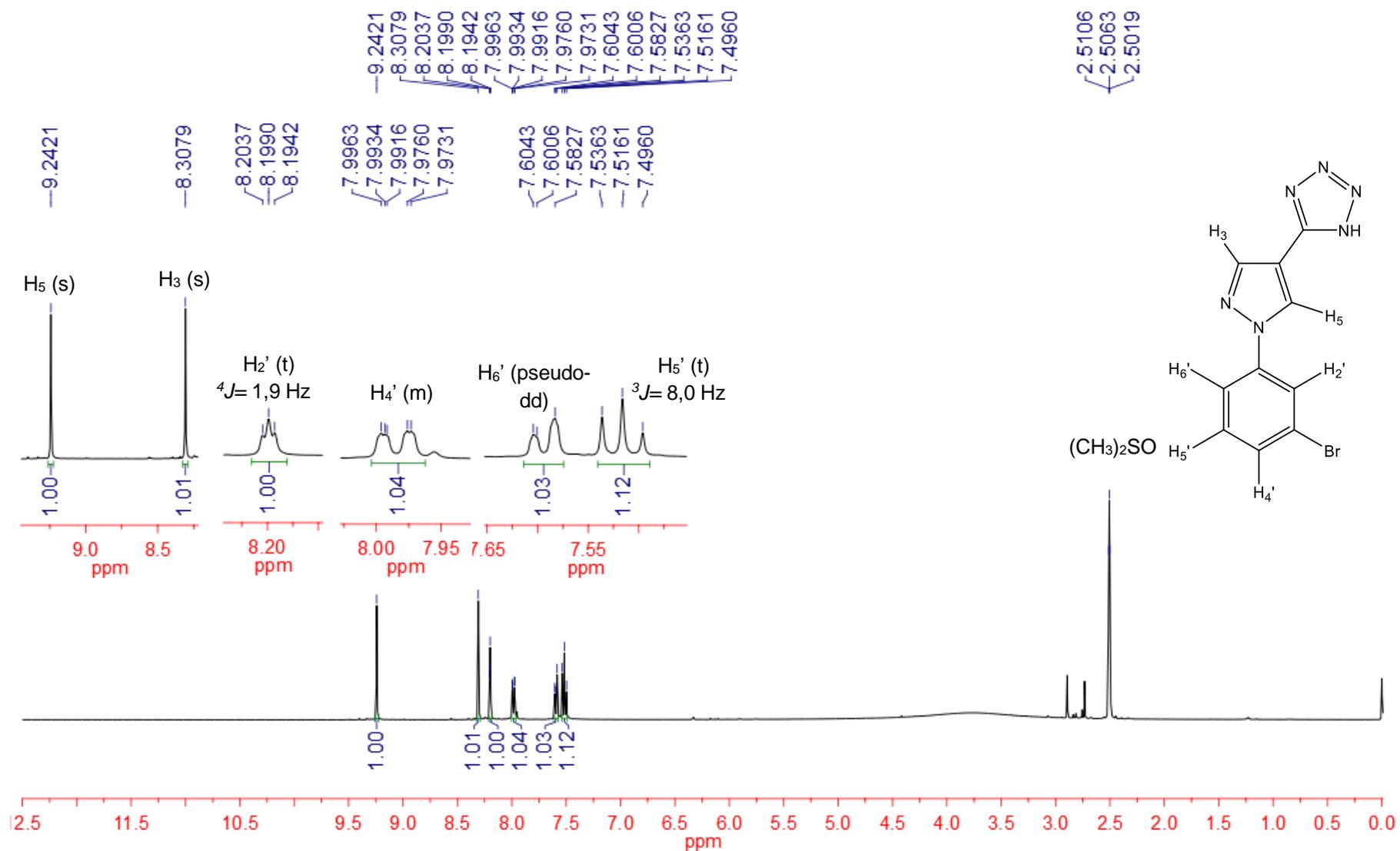


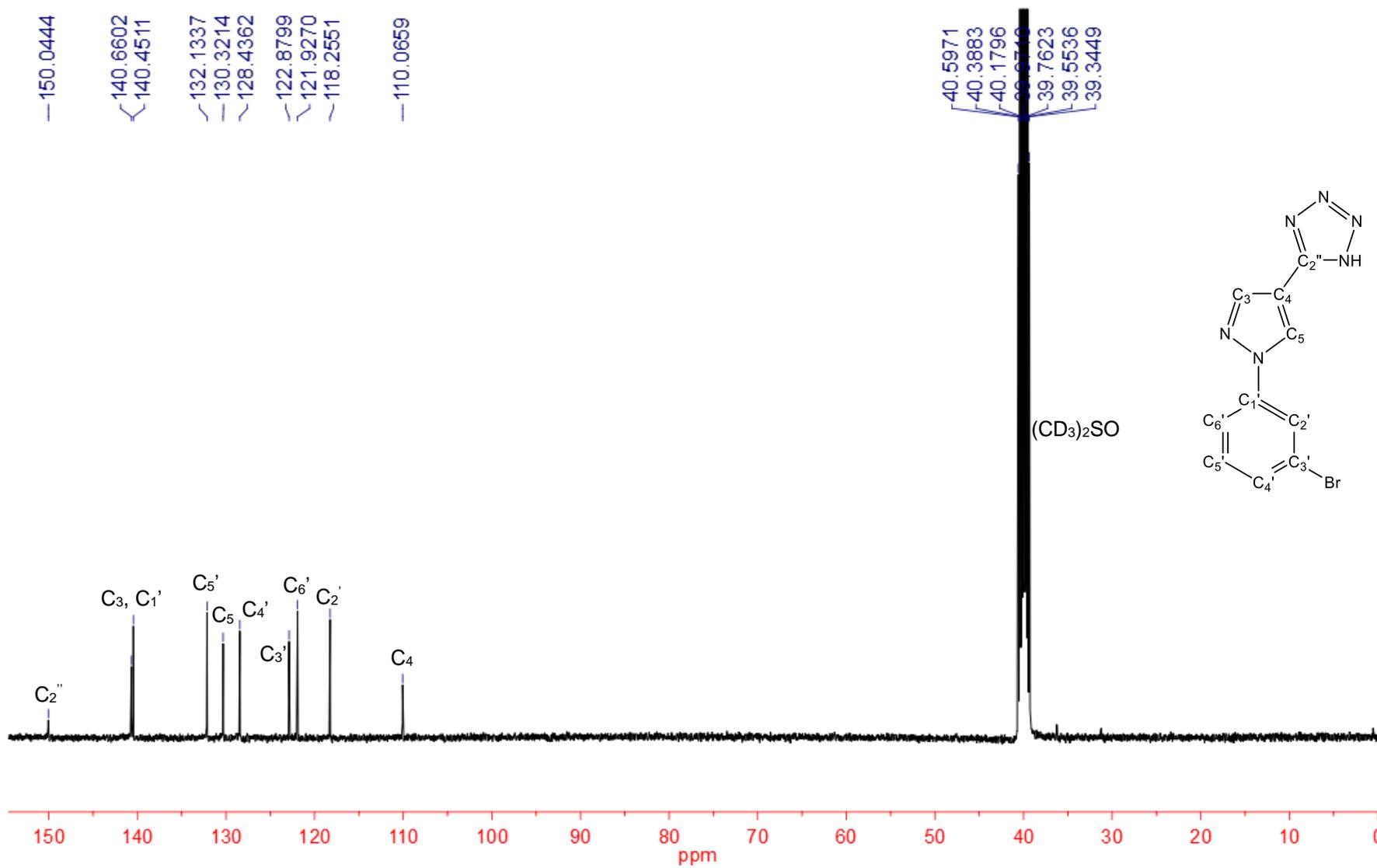
Espectro 55: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1g**.

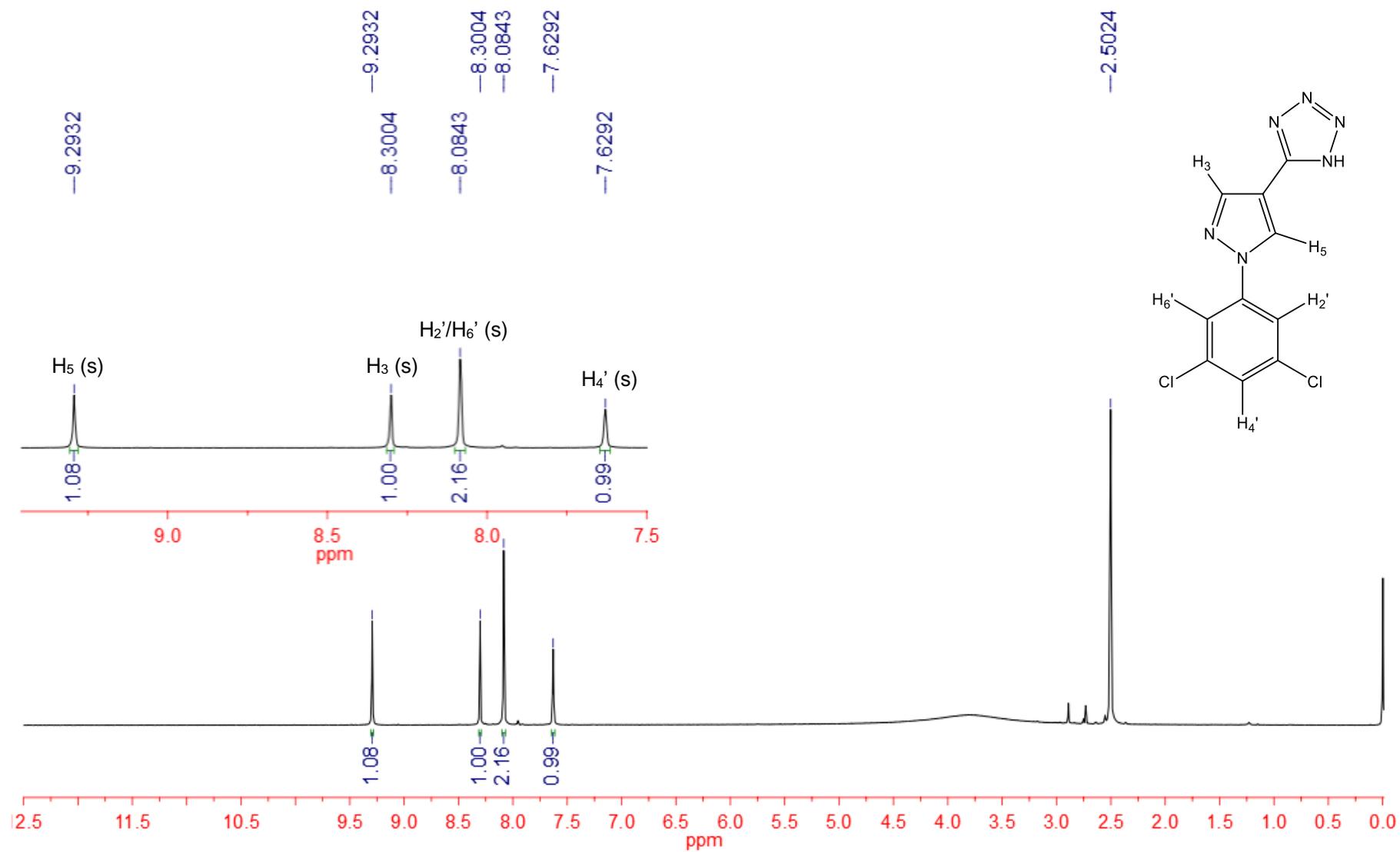


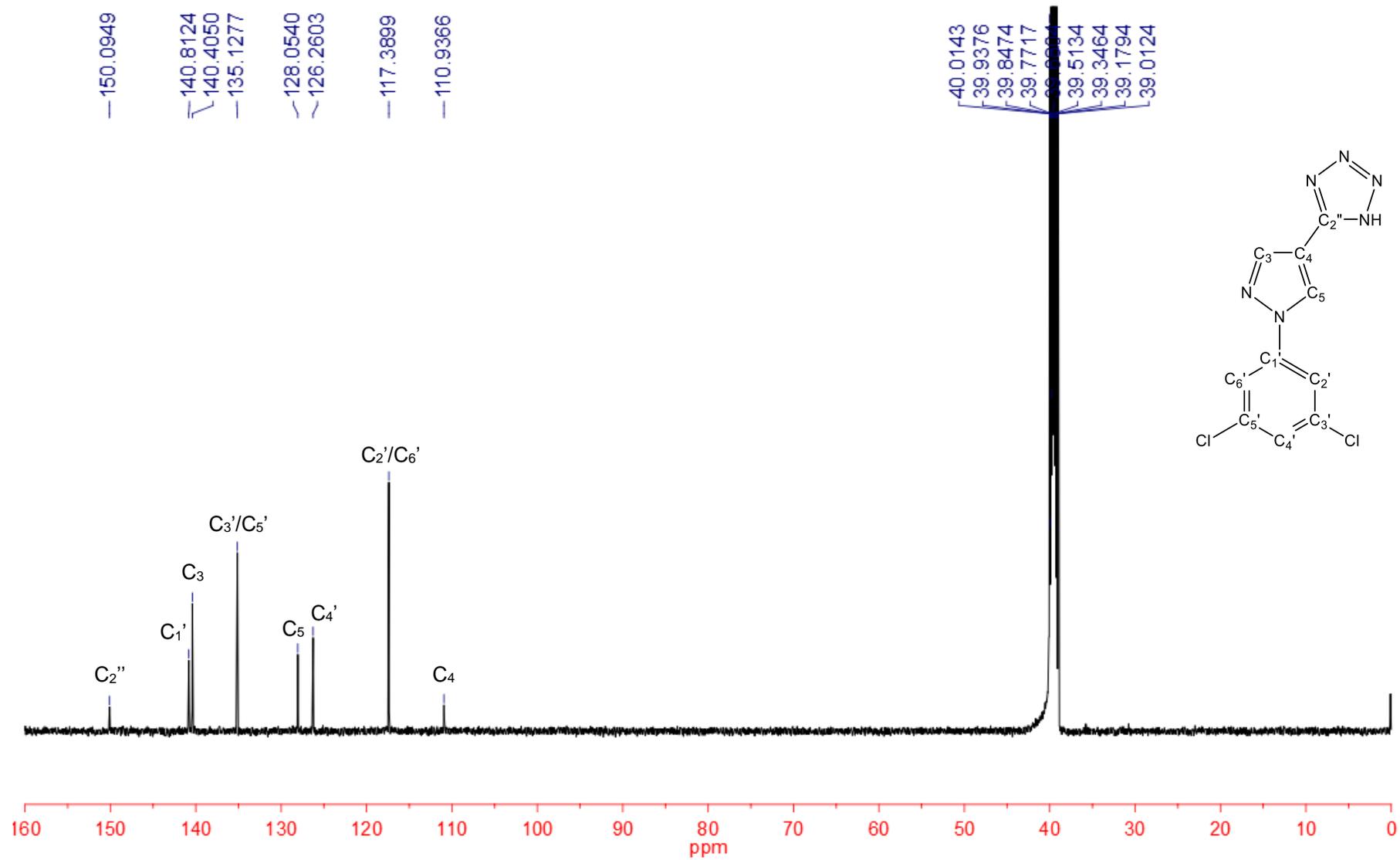
Espectro 56: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1g**.



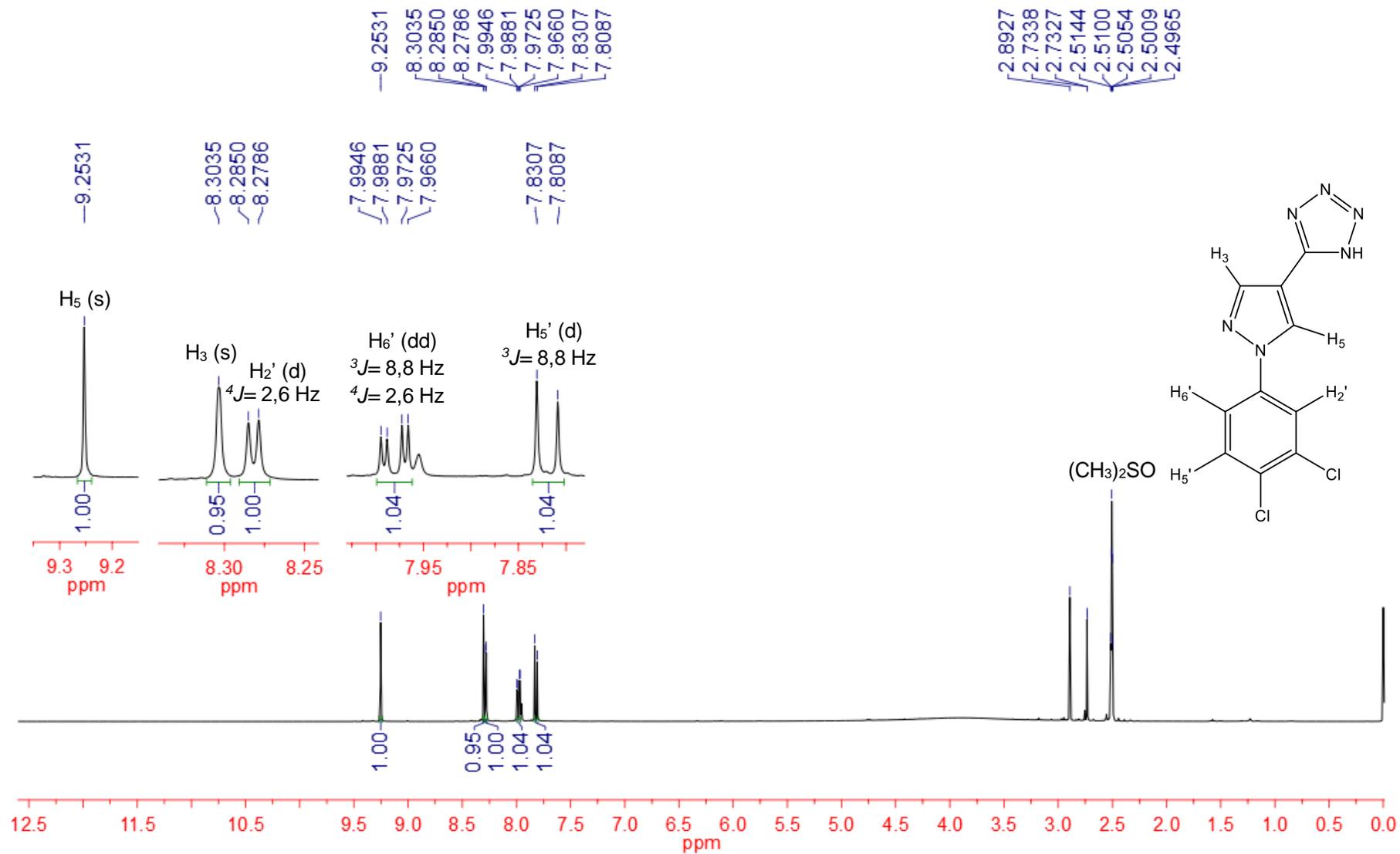
Espectro 57: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1h**.

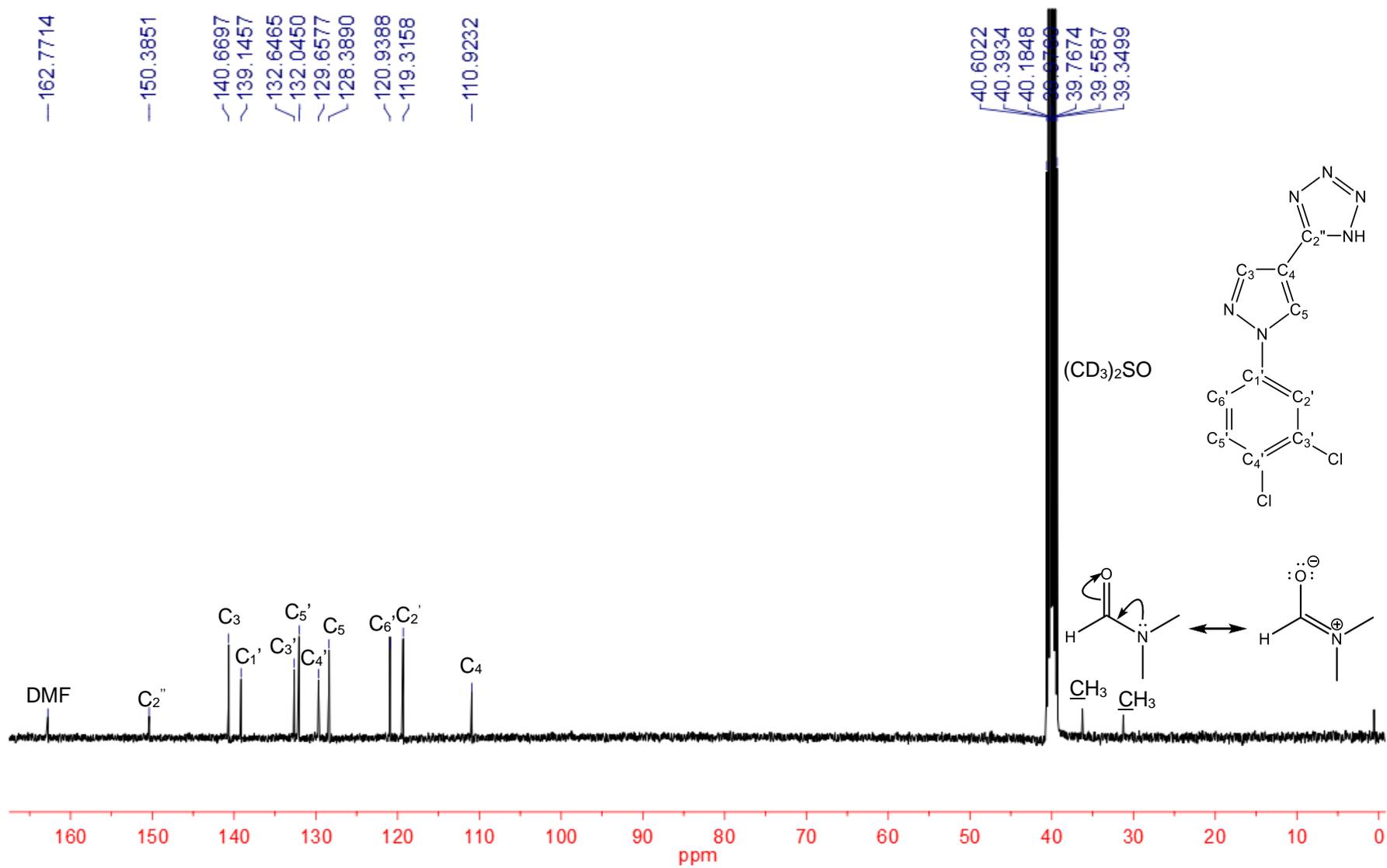
Espectro 58: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado 1h.

Espectro 59: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1i**.

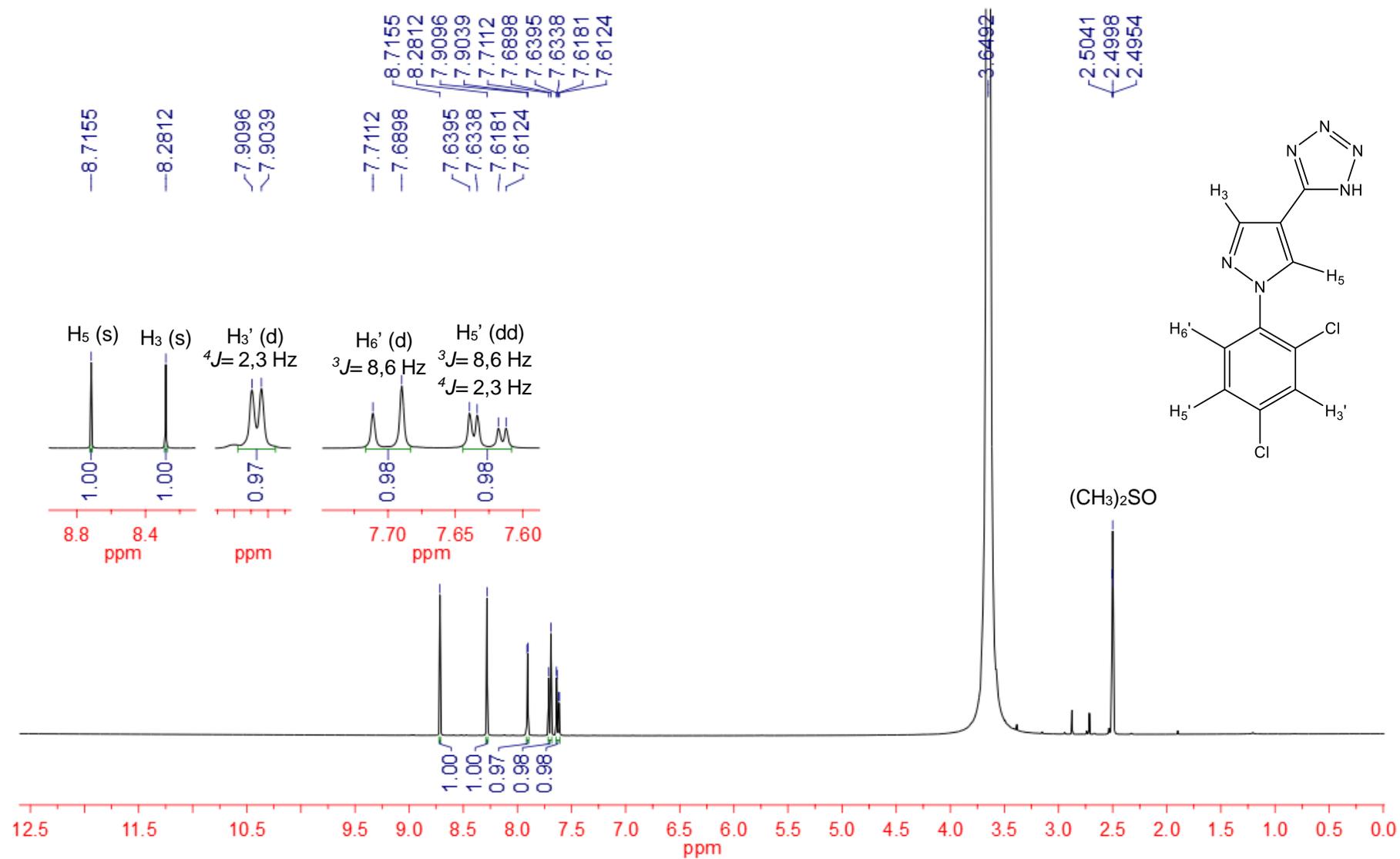
Espectro 60: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1i**.

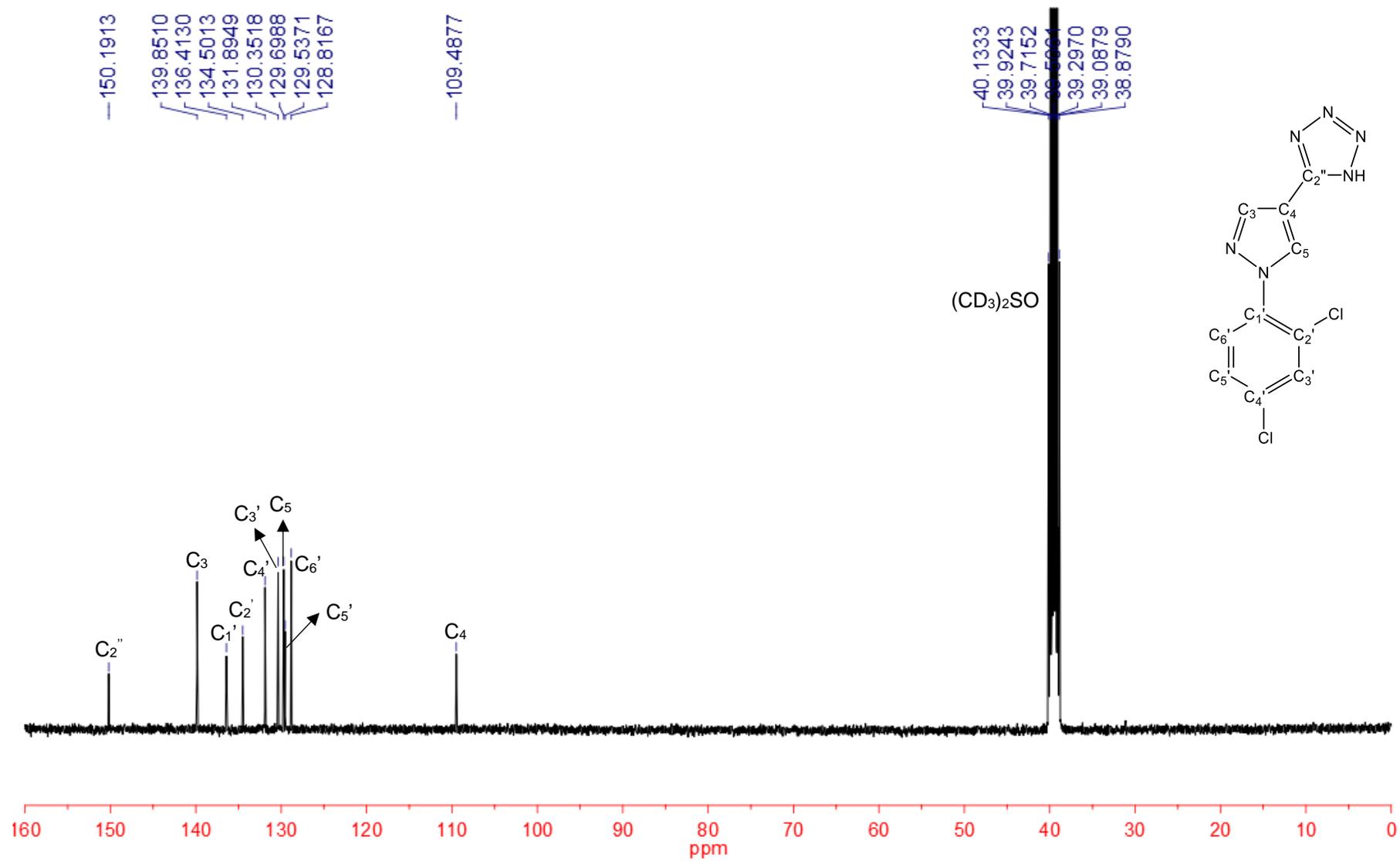
Espectro 61: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1j**.

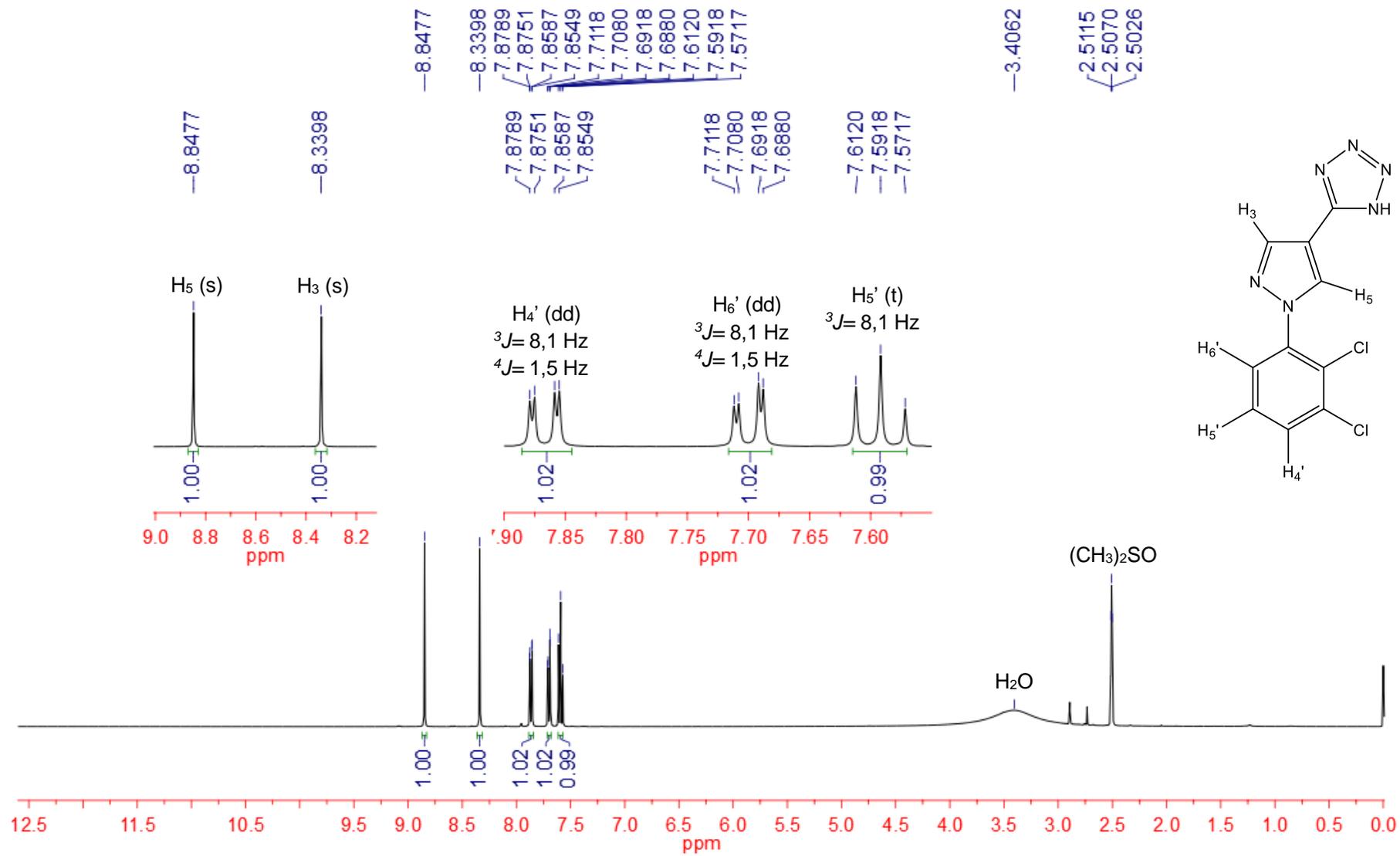


Espectro 62: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado 1j.

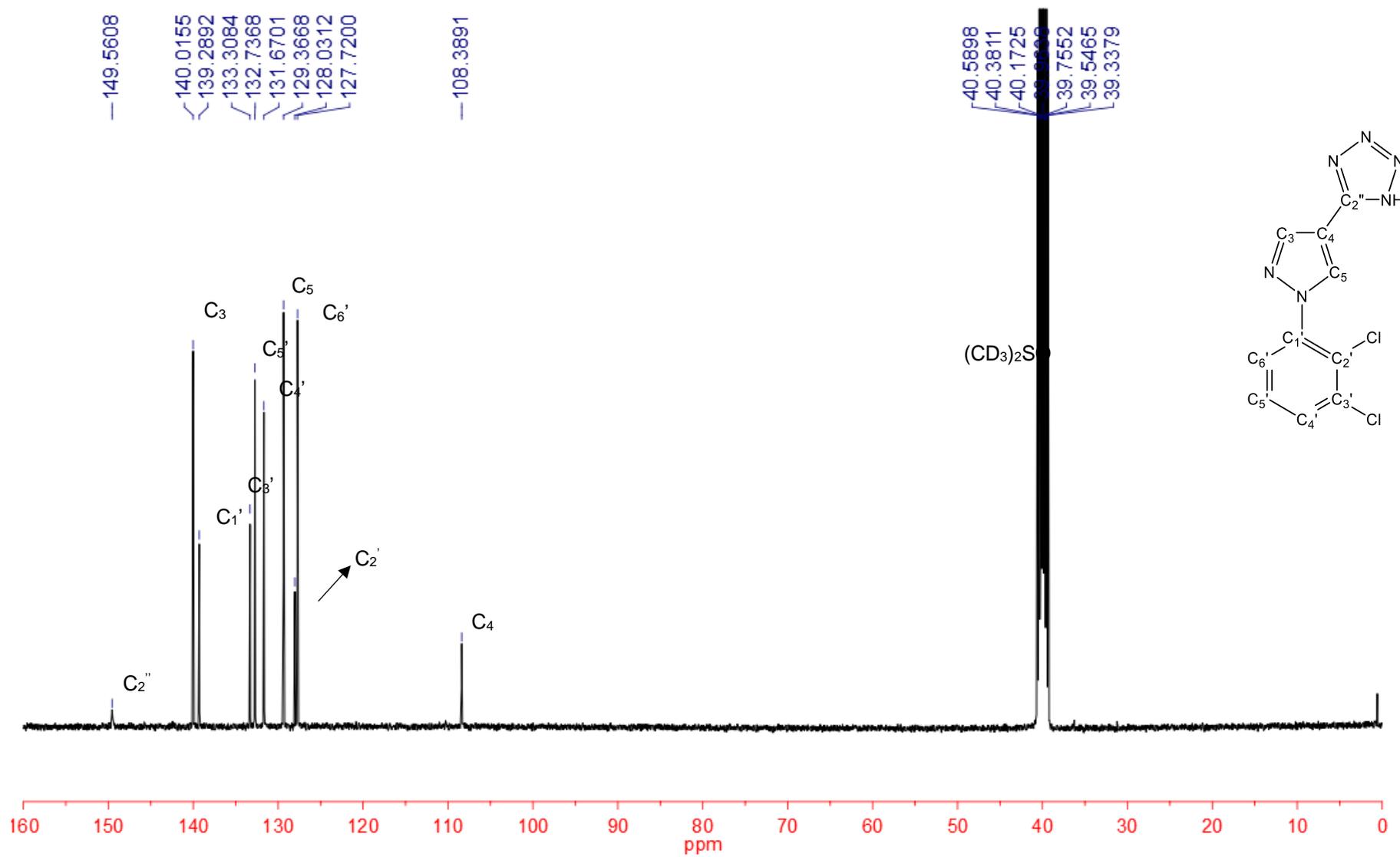
Espectro 63: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1k**.



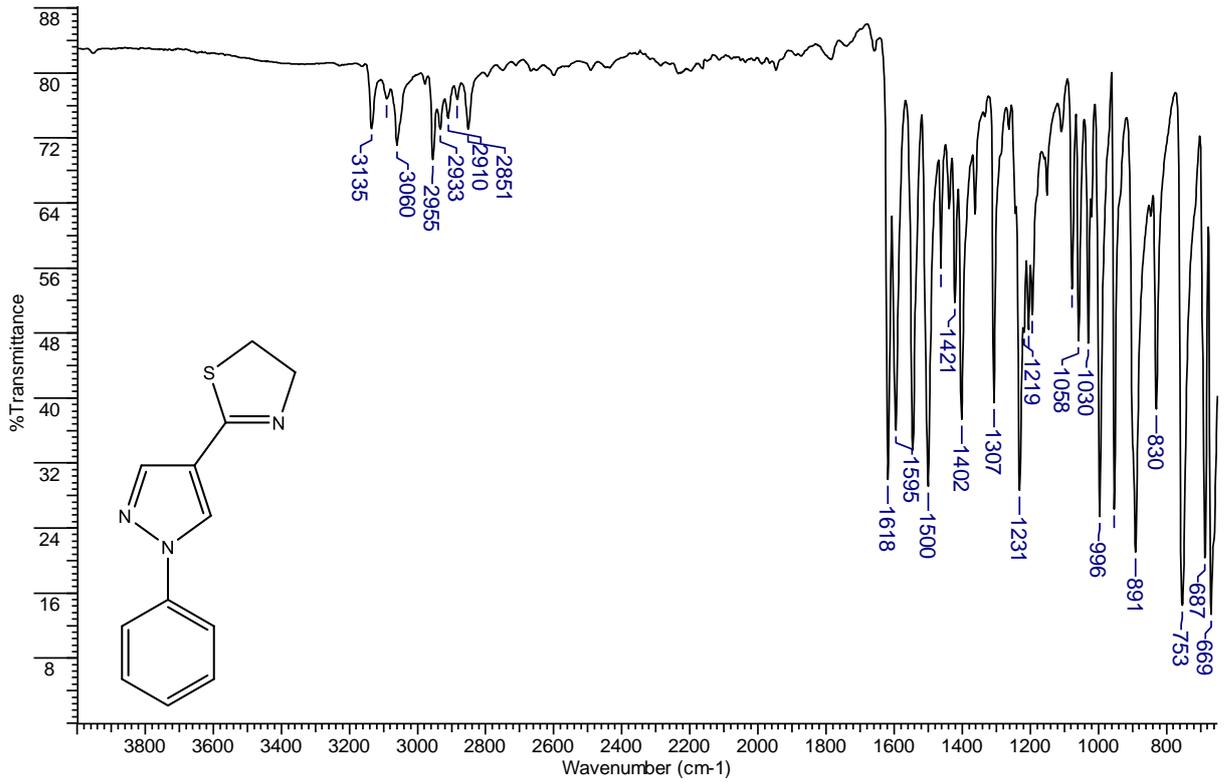
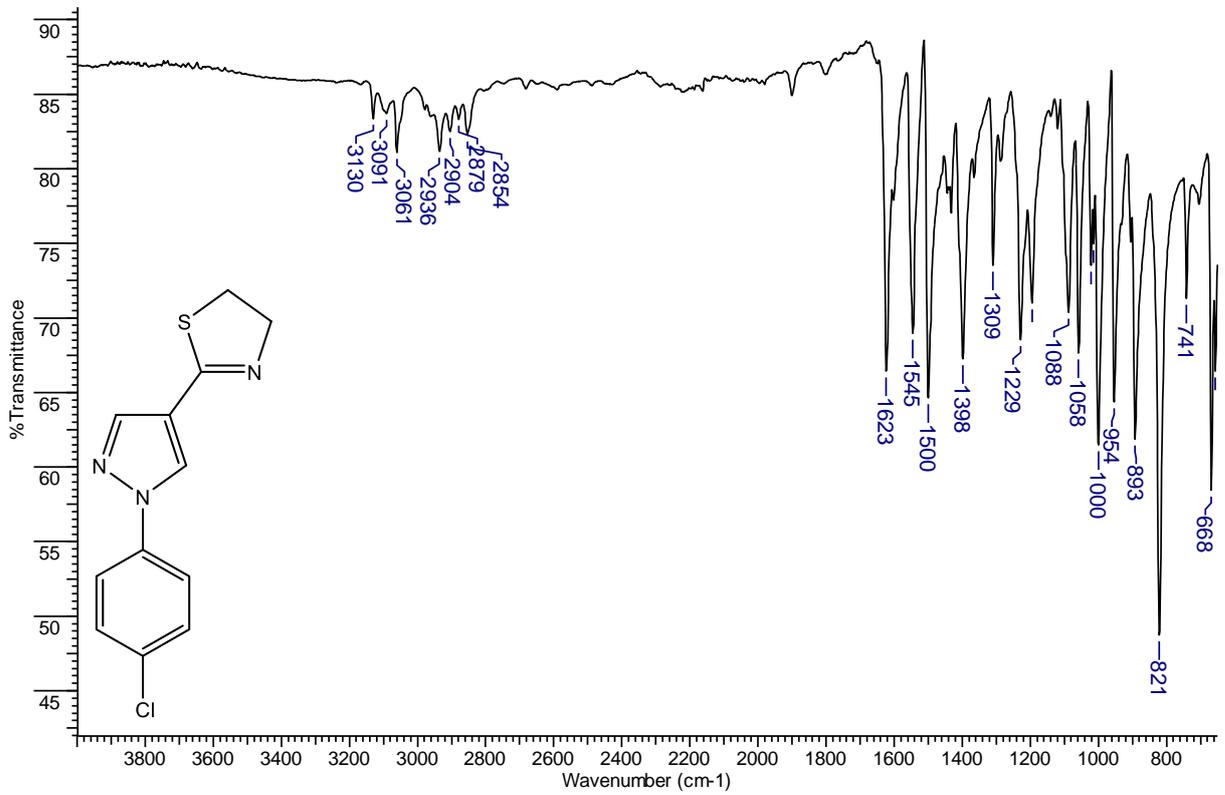
Espectro 64: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **1k**.

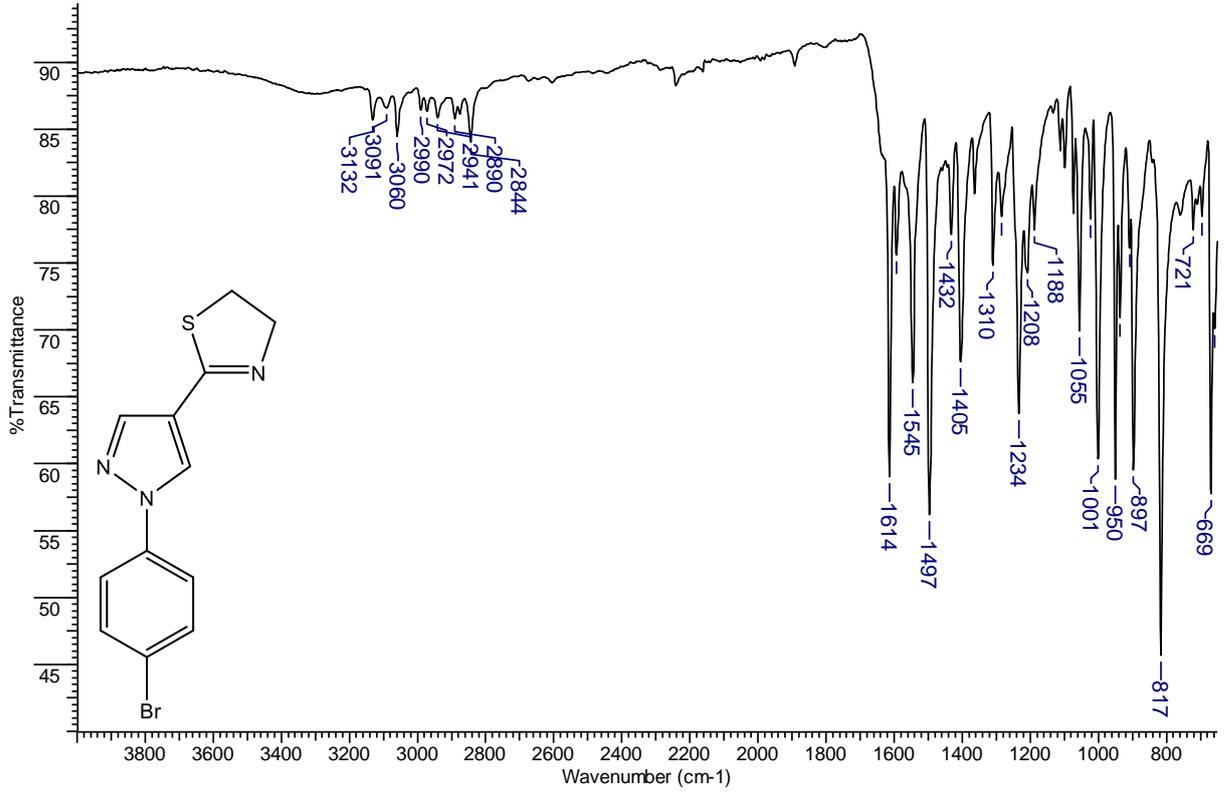
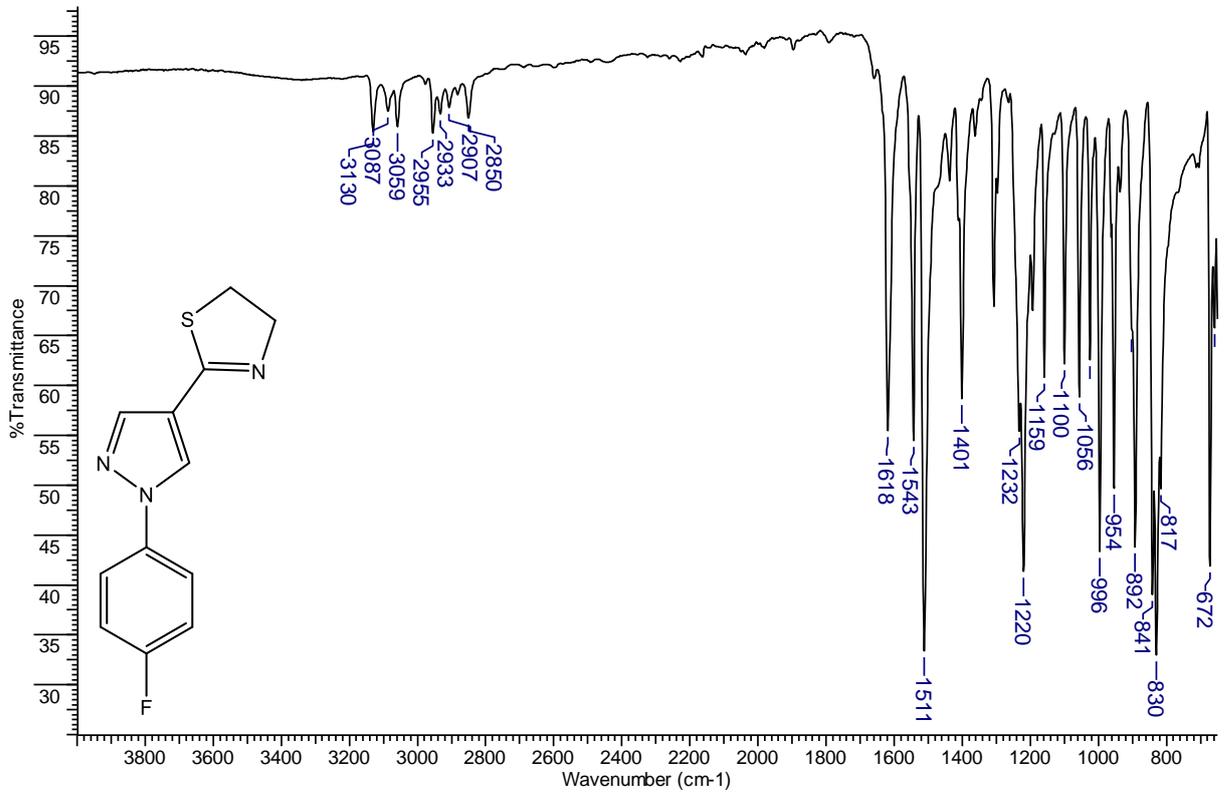
Espectro 65: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado 11.

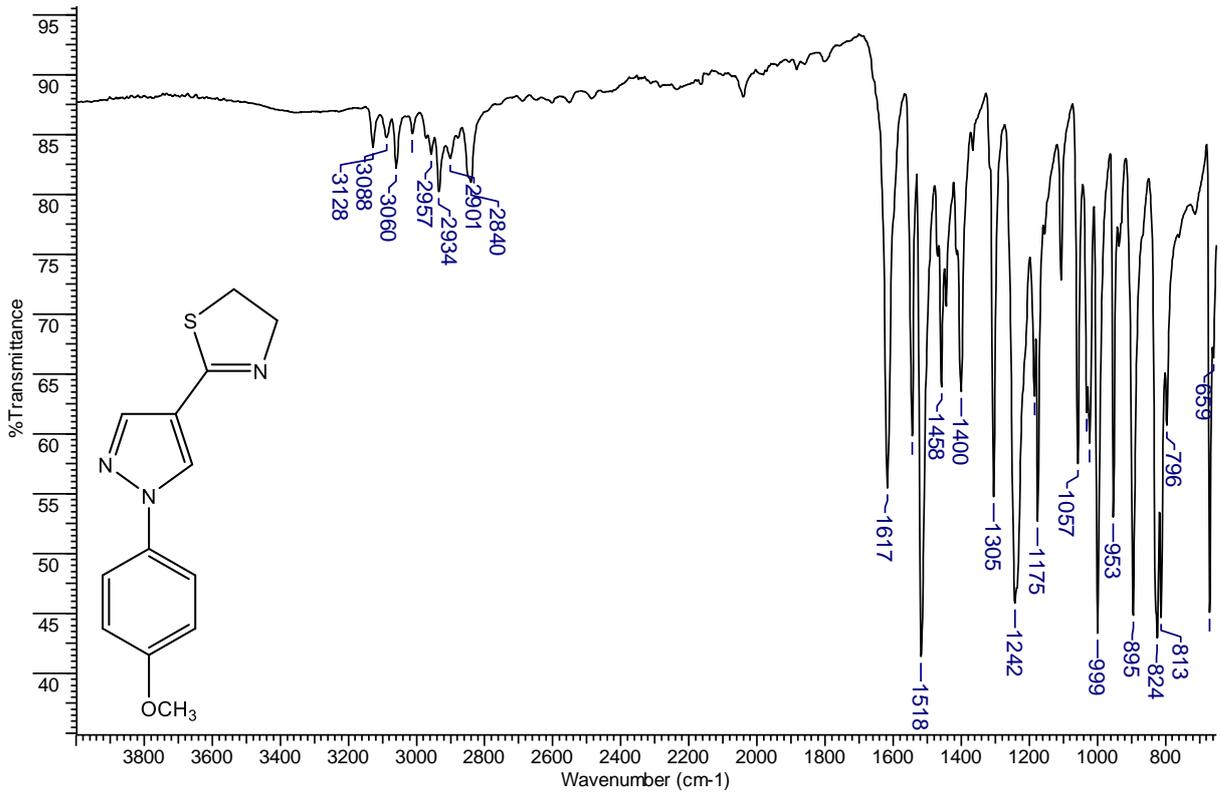
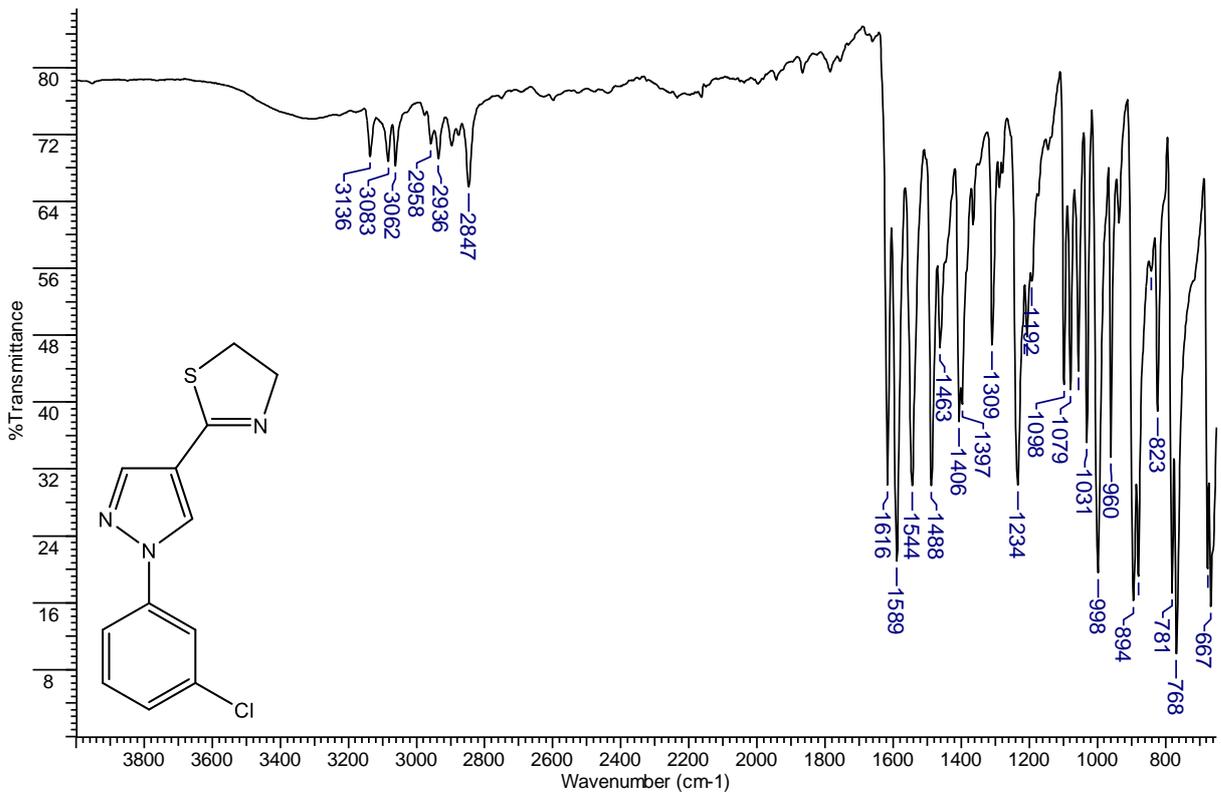
Espectro 66: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **11**.

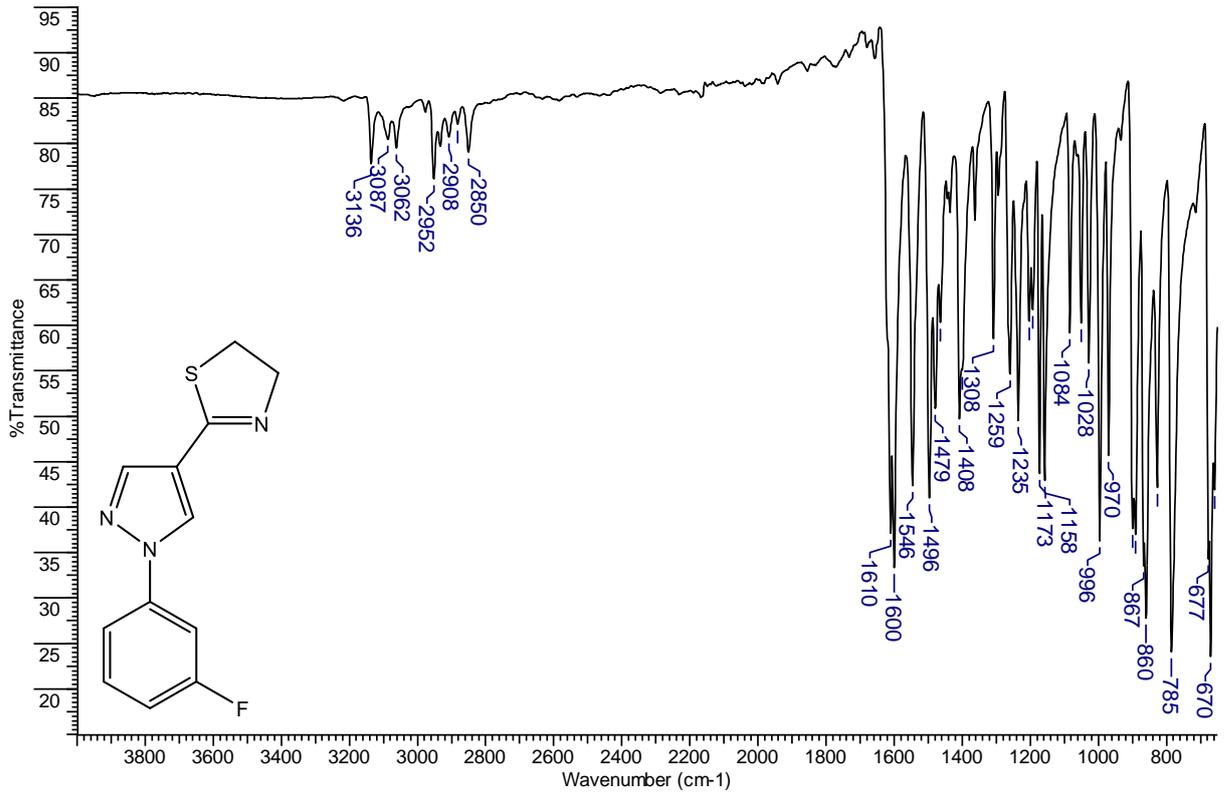
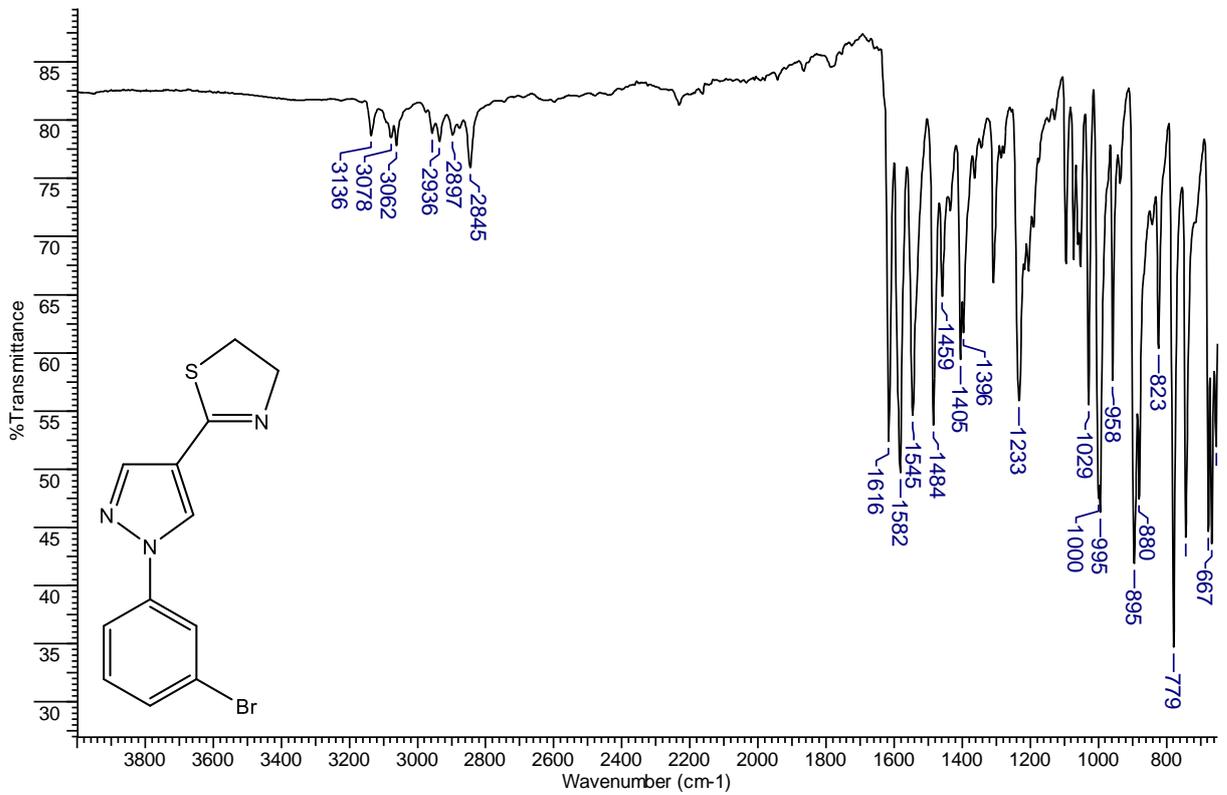


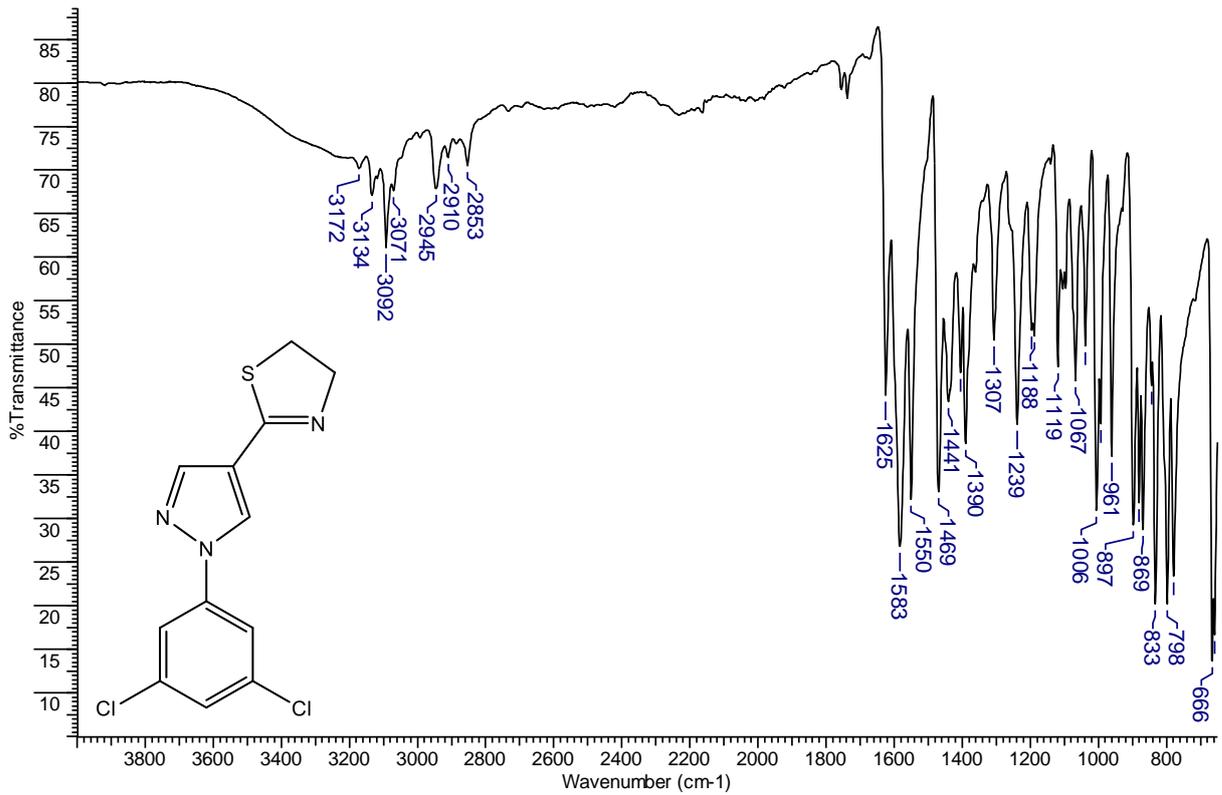
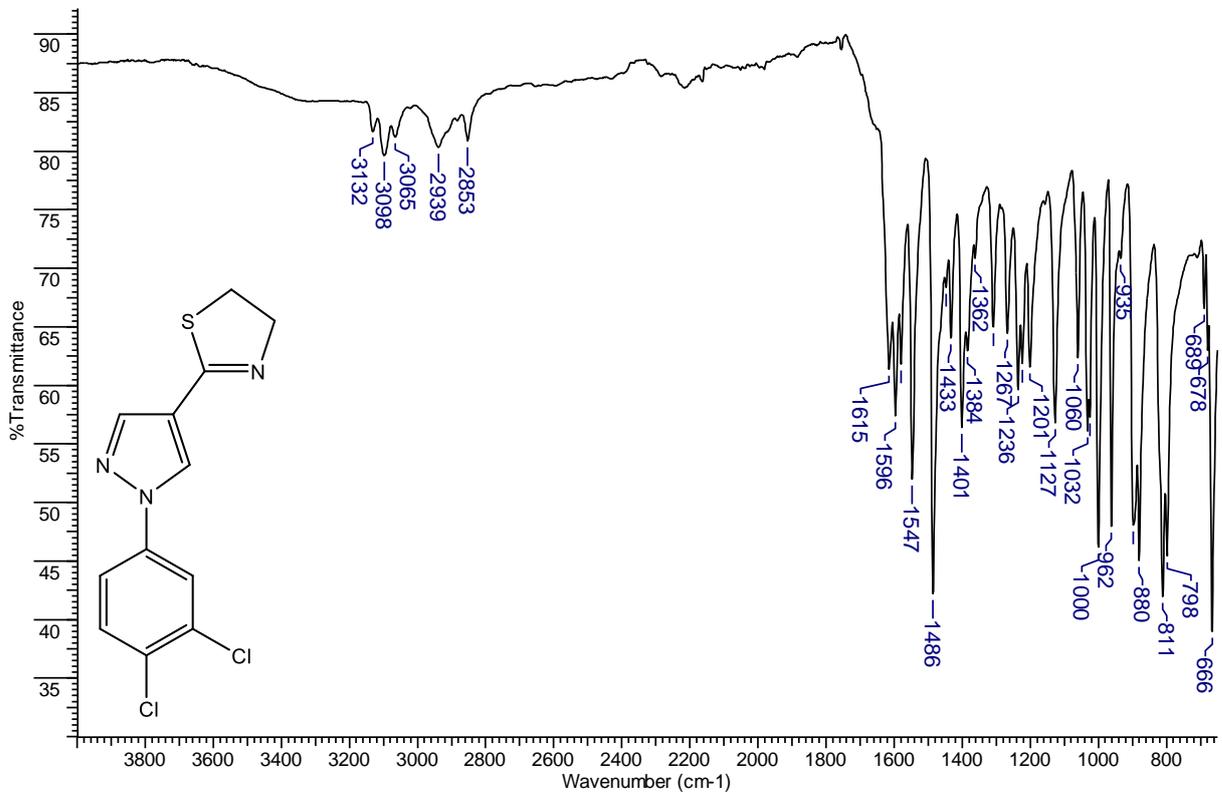
ANEXO F – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 2(a-l)

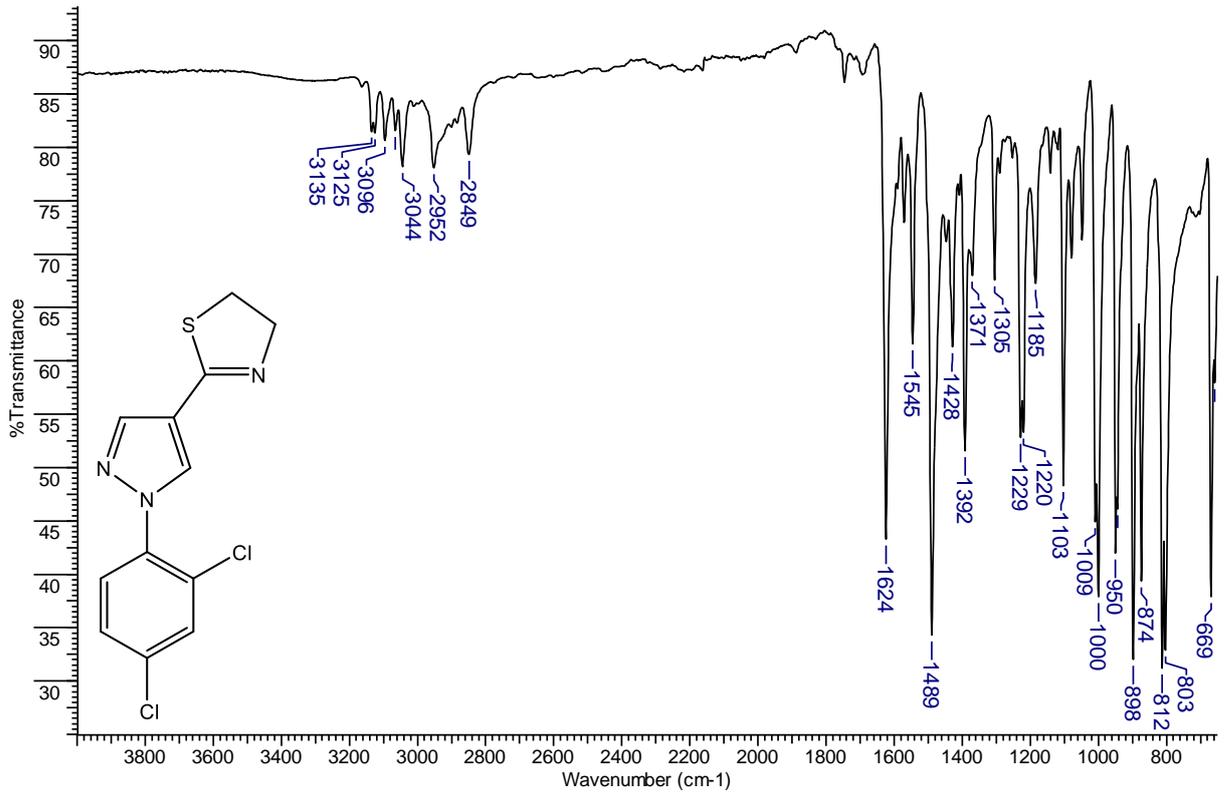
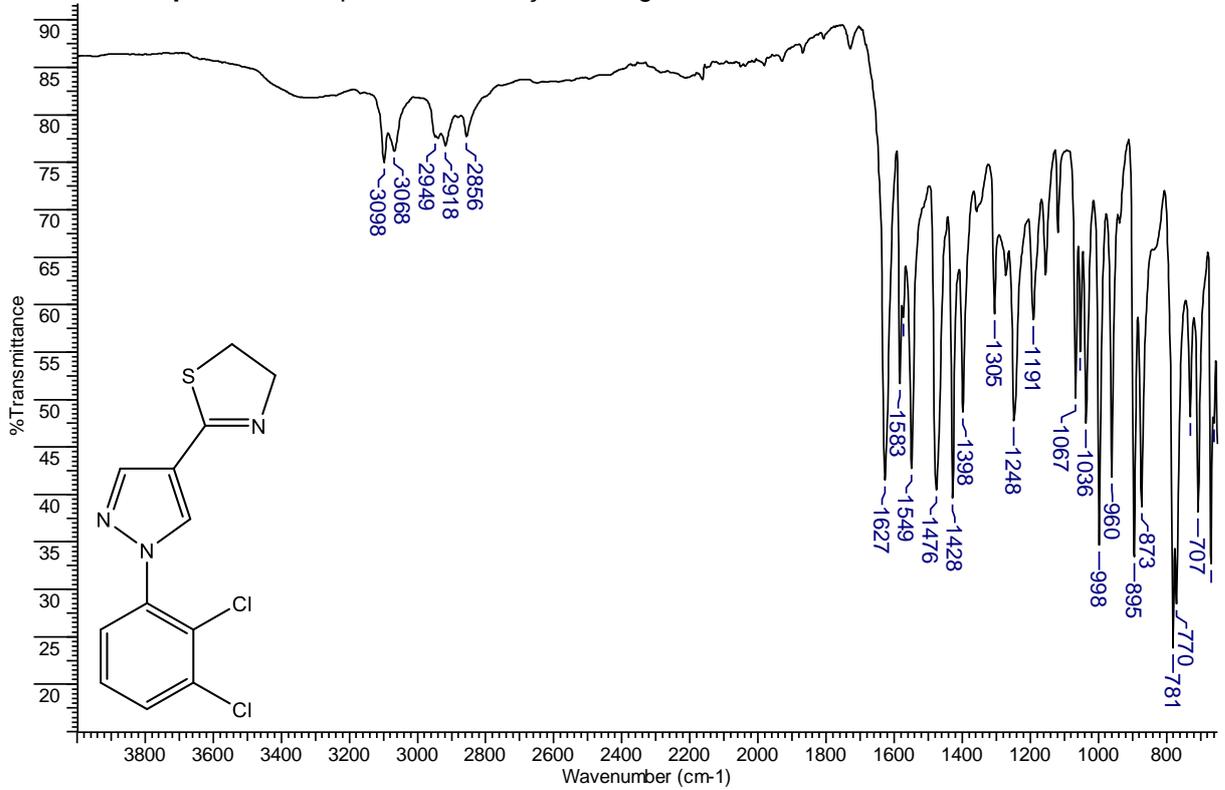
Espectro 67: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2a**.**Espectro 68:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2b**.

Espectro 69: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2c**.**Espectro 70:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2d**.

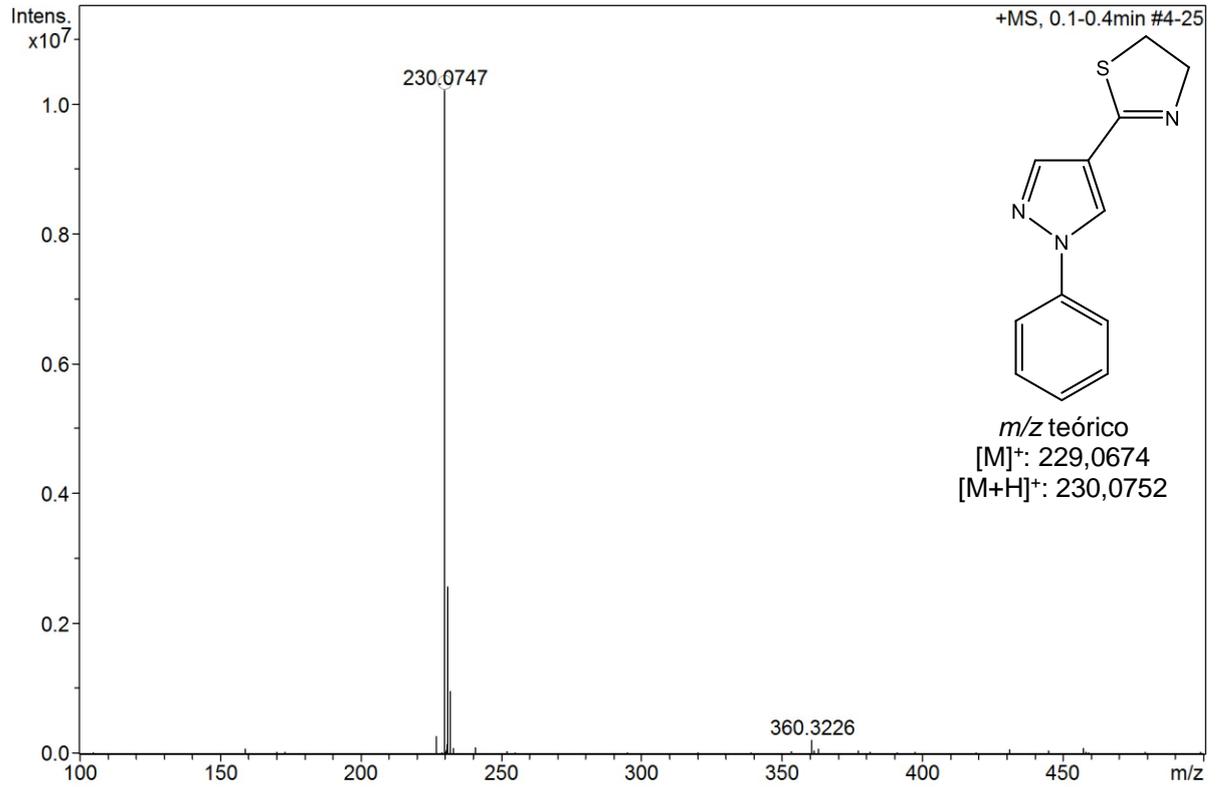
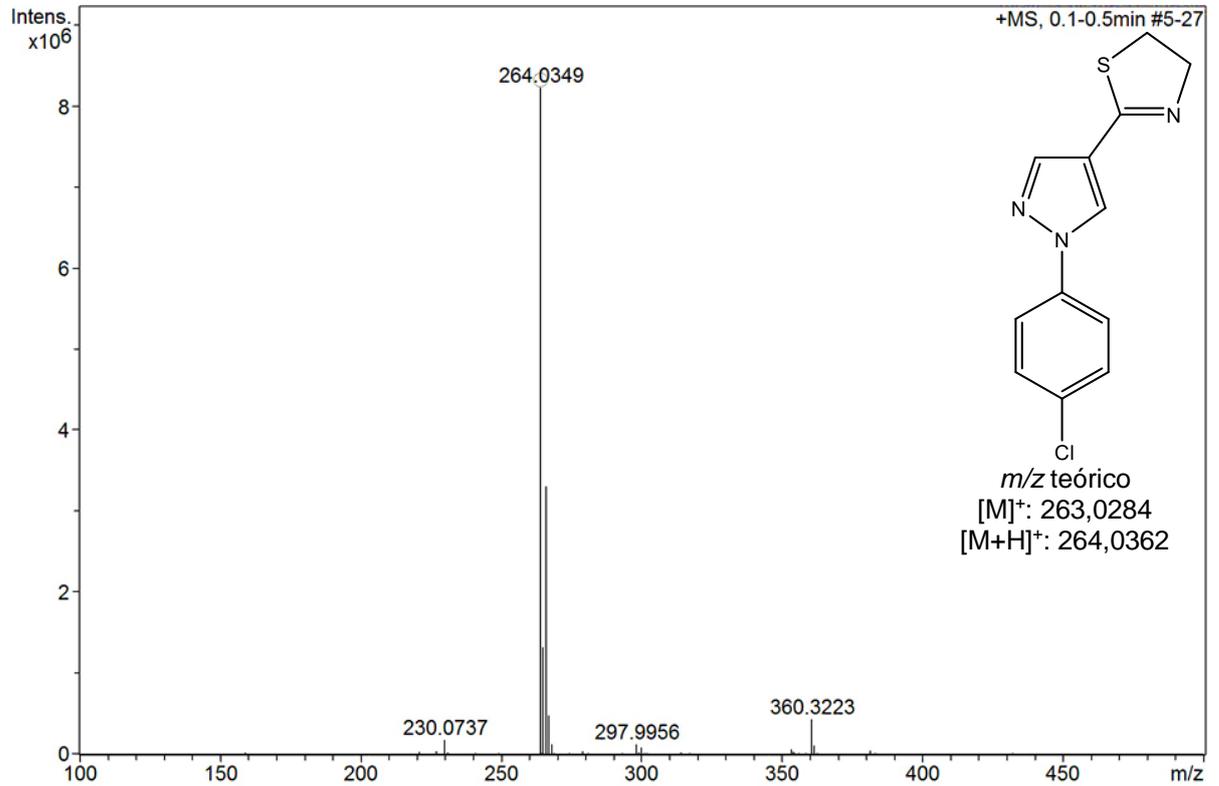
Espectro 71: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2e**.**Espectro 72:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2f**.

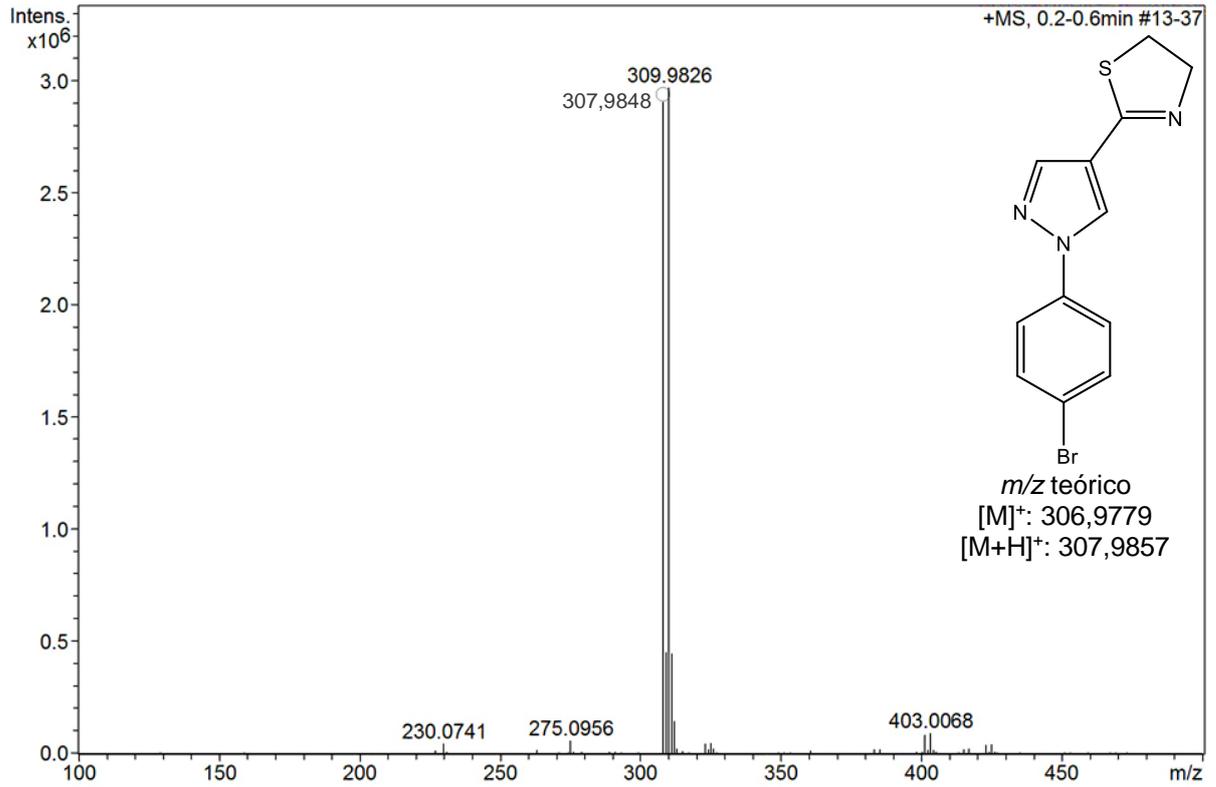
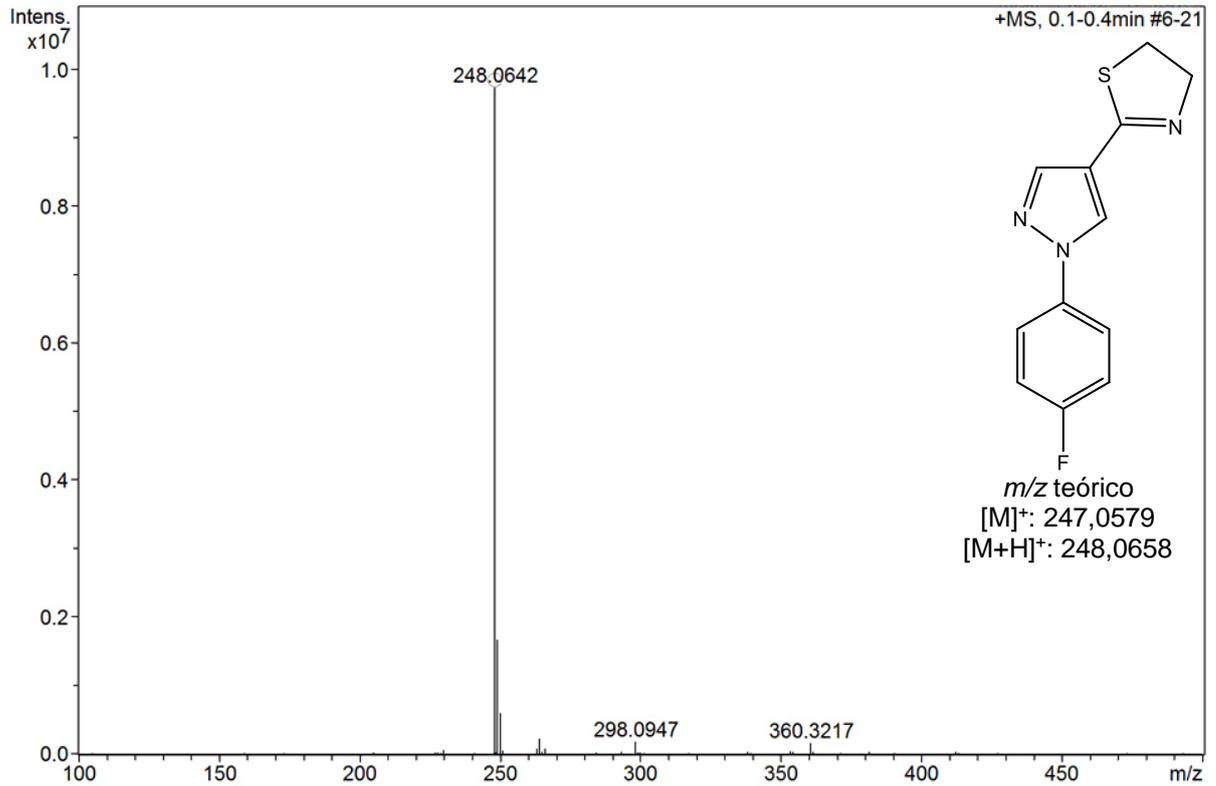
Espectro 73: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2g**.**Espectro 74:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2h**.

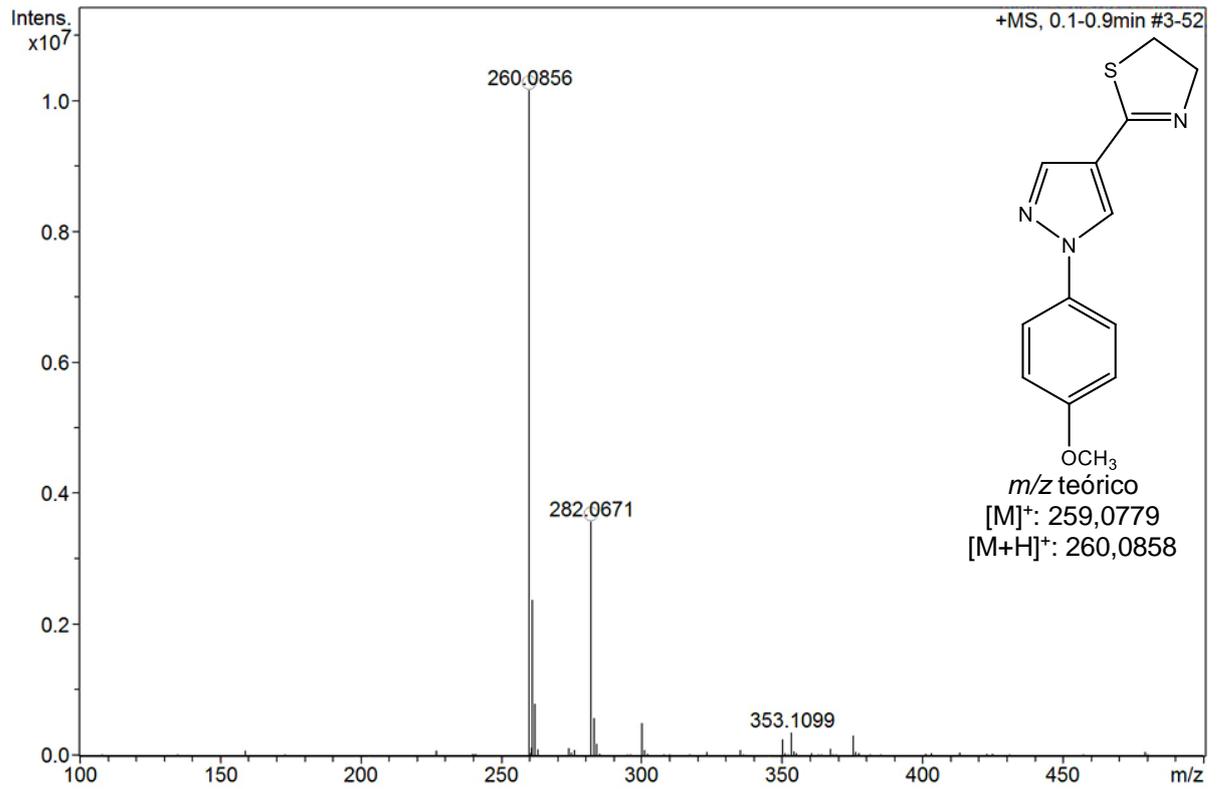
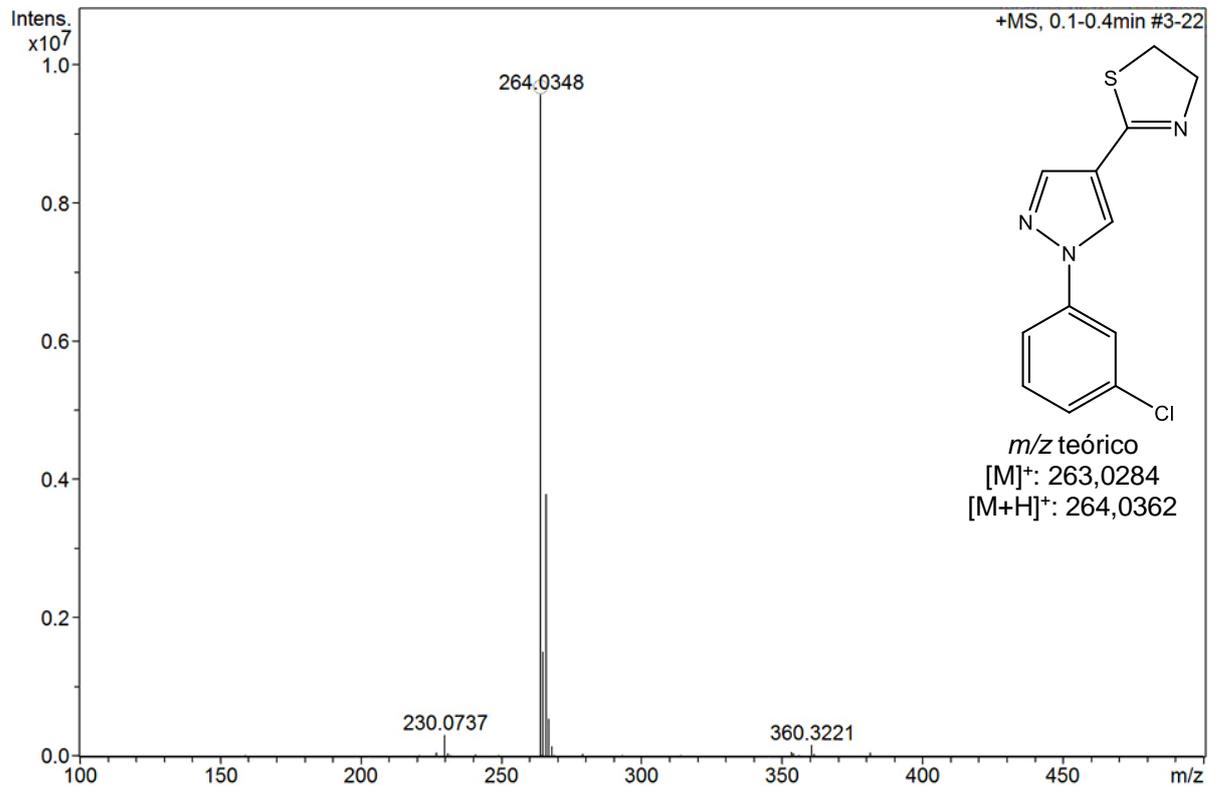
Espectro 75: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 2i.**Espectro 76:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado 2j.

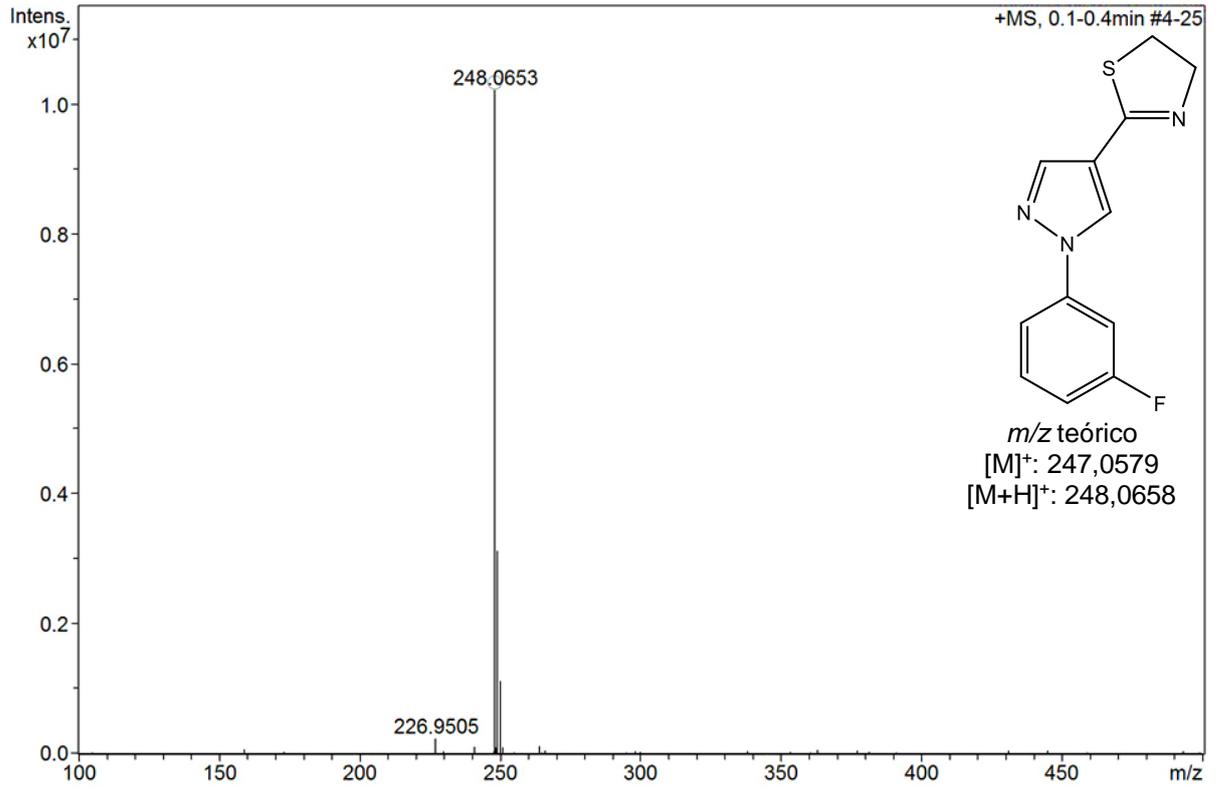
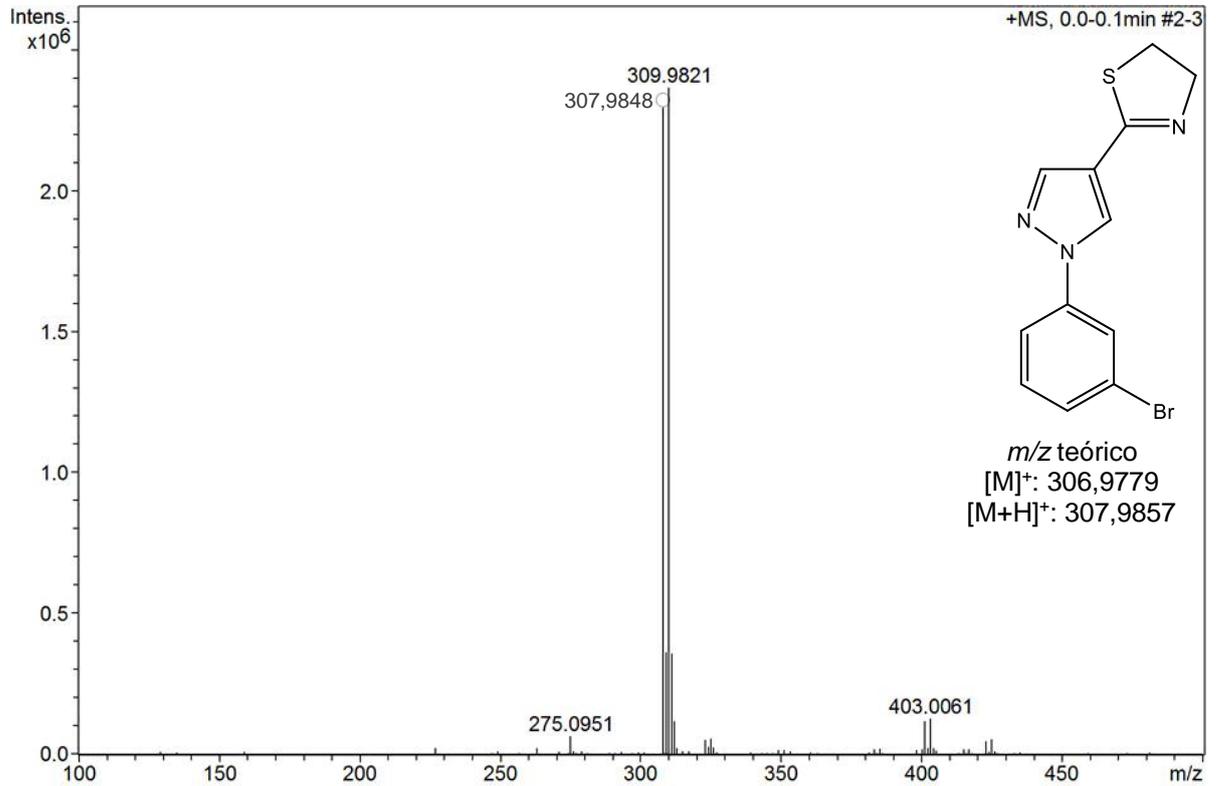
Espectro 77: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2k**.**Espectro 78:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2l**.

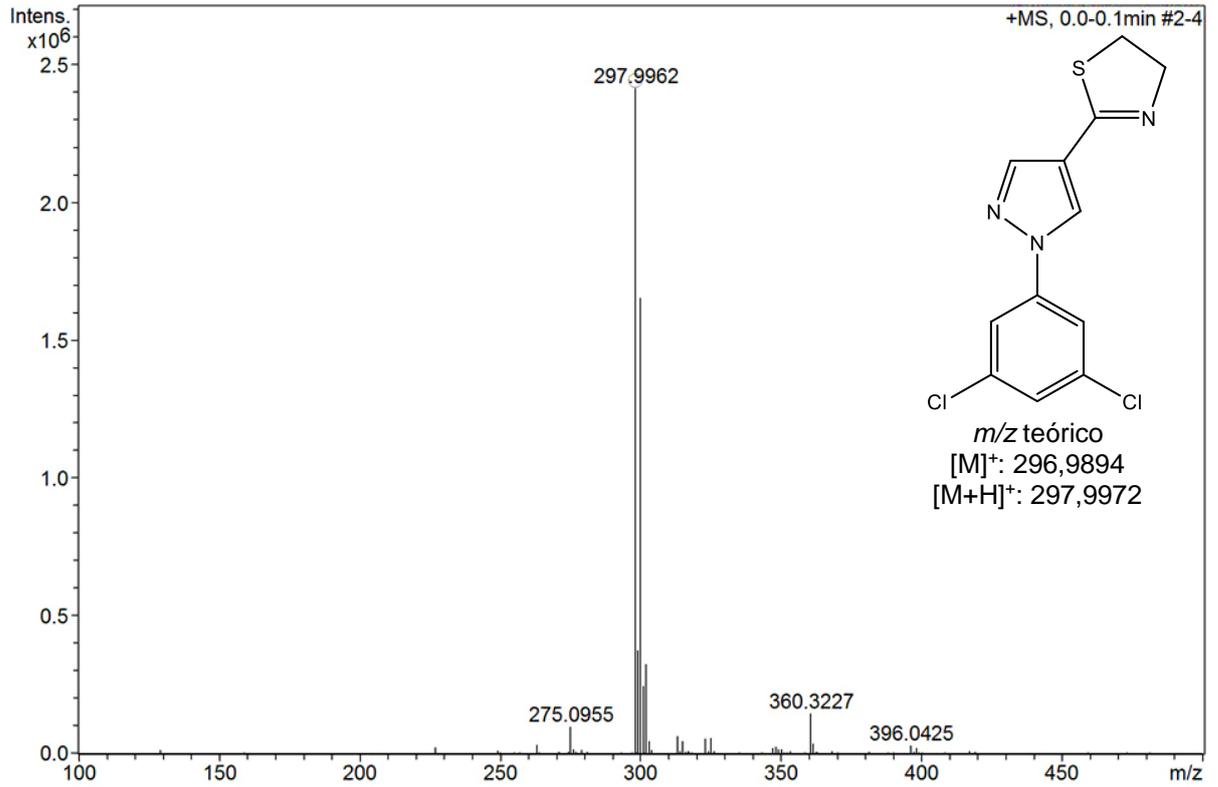
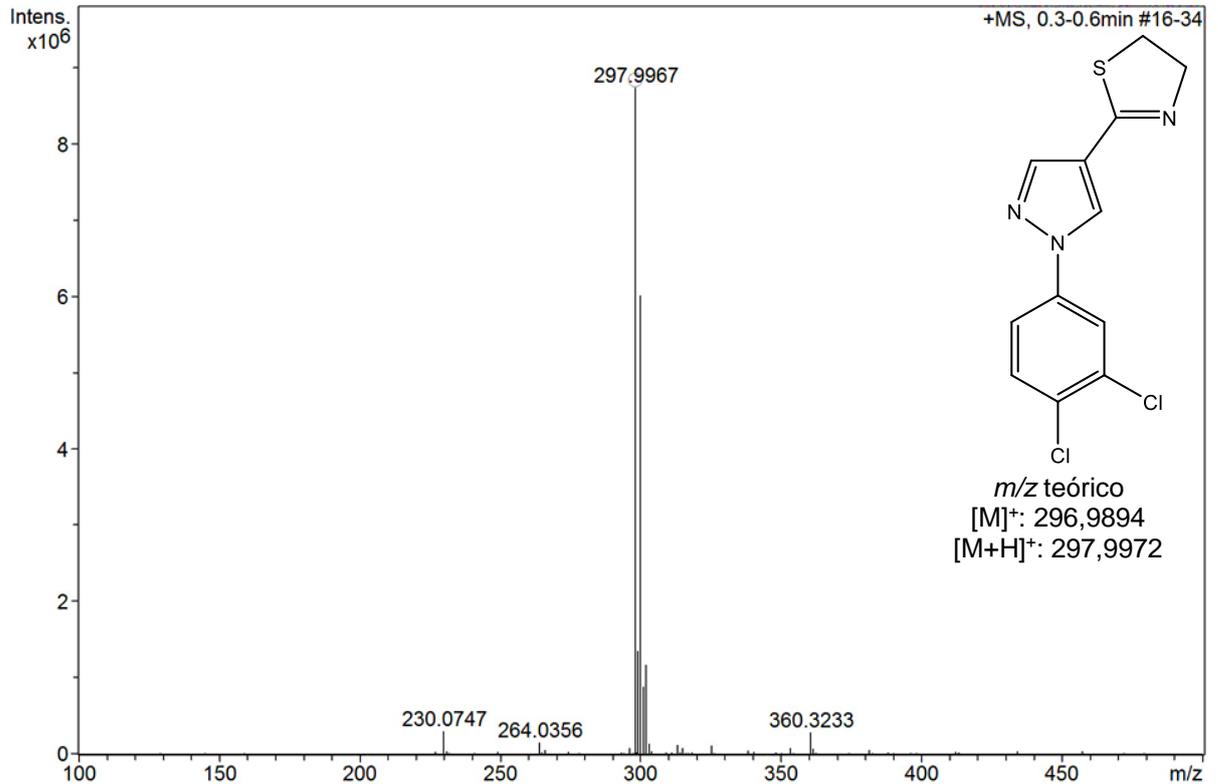
**ANEXO G – Espectros de Massas de Alta Resolução dos derivados
2(a-l)**

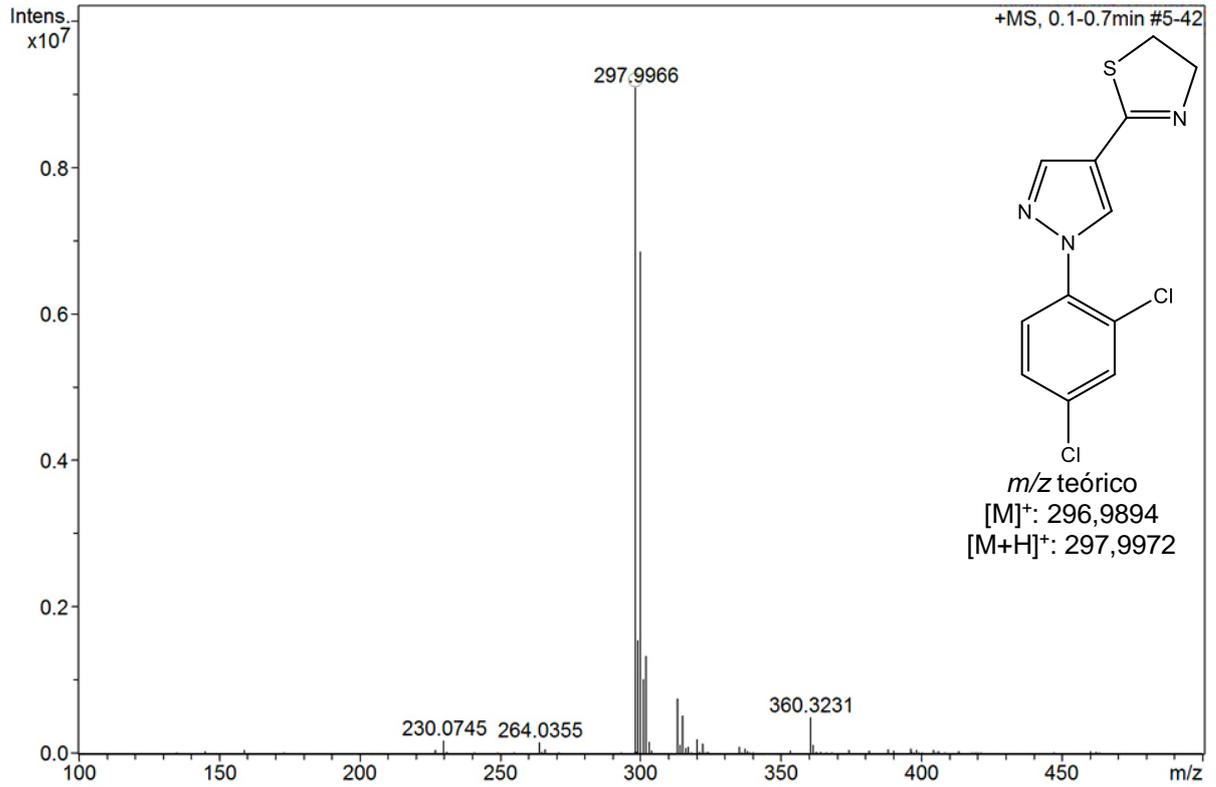
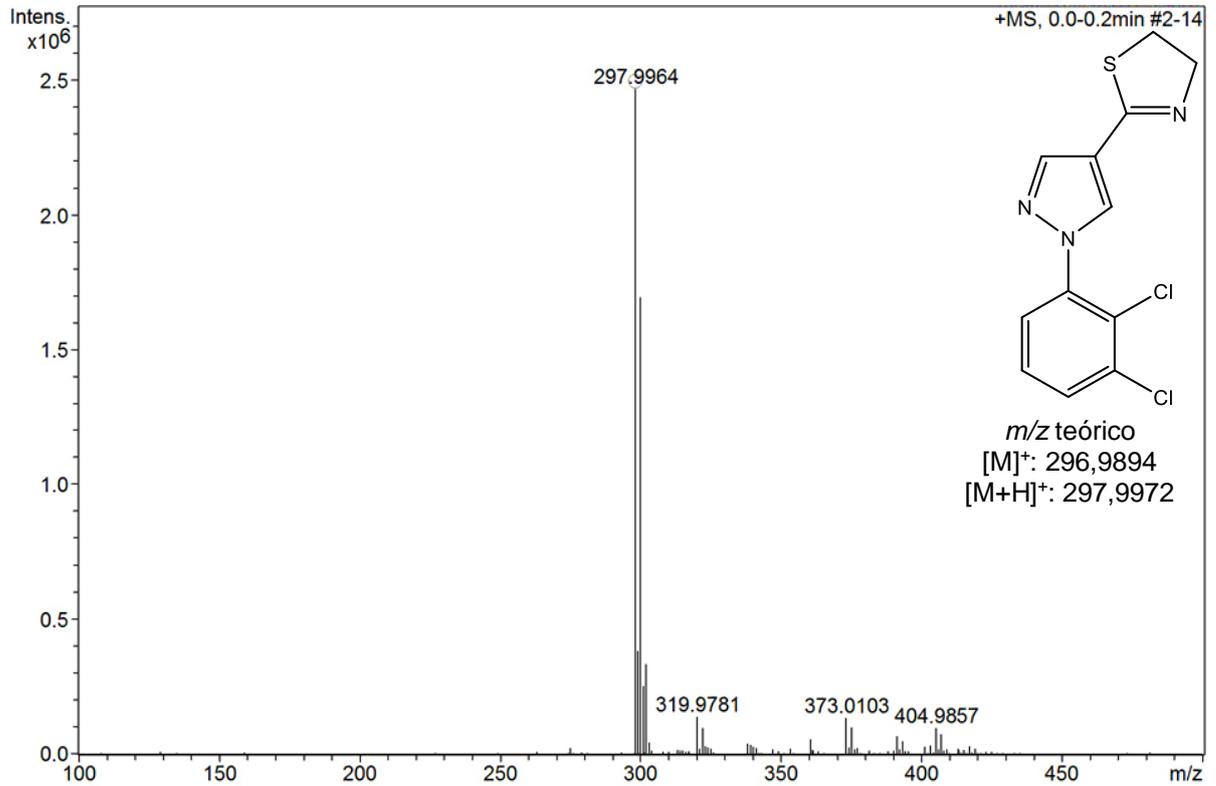
Espectro 79: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2a**.**Espectro 80:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2b**.

Espectro 81: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2c**.**Espectro 82:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2d**.

Espectro 83: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2e**.**Espectro 84:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2f**.

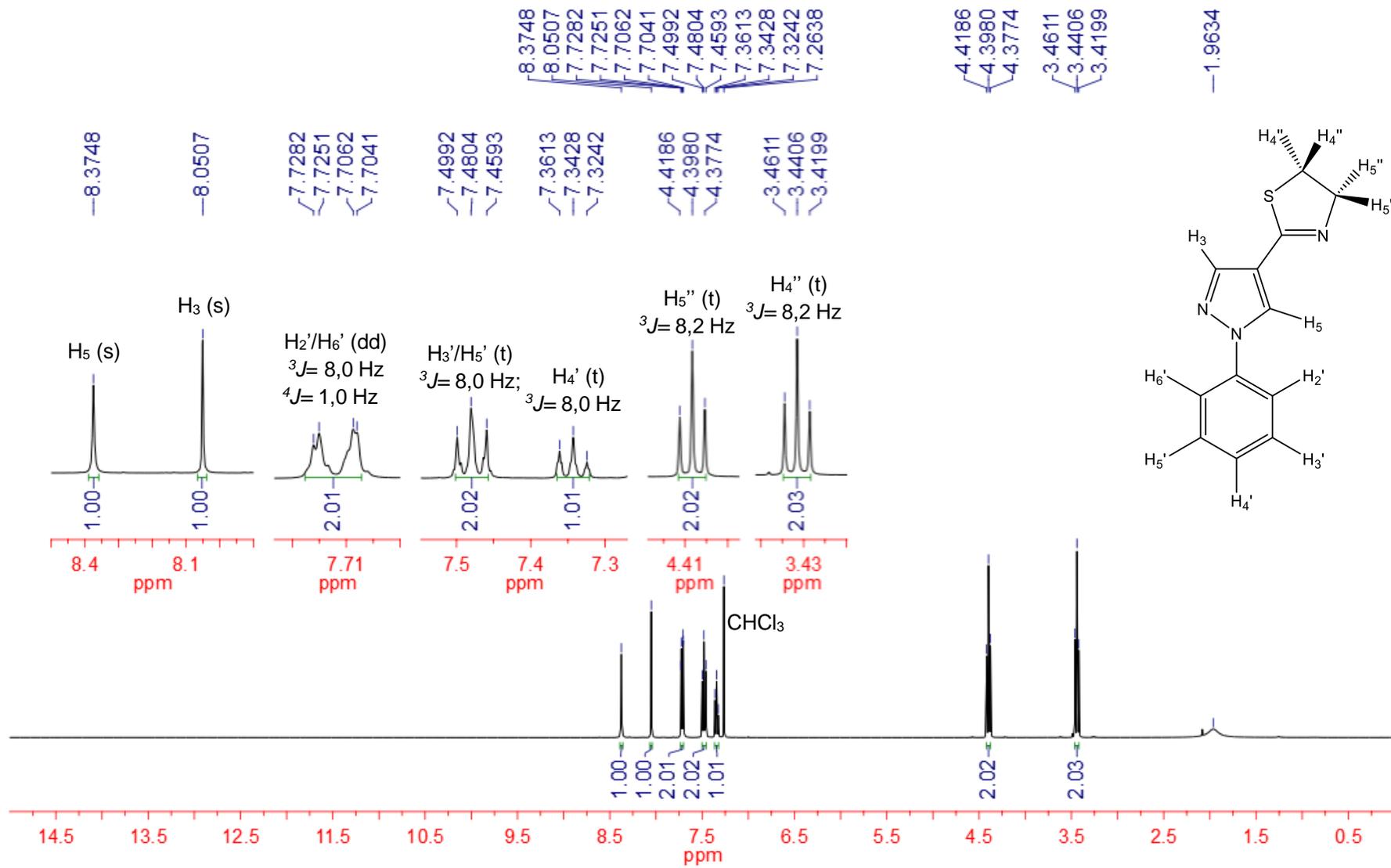
Espectro 85: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2g**.**Espectro 86:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2h**.

Espectro 87: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2i**.**Espectro 88:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2j**.

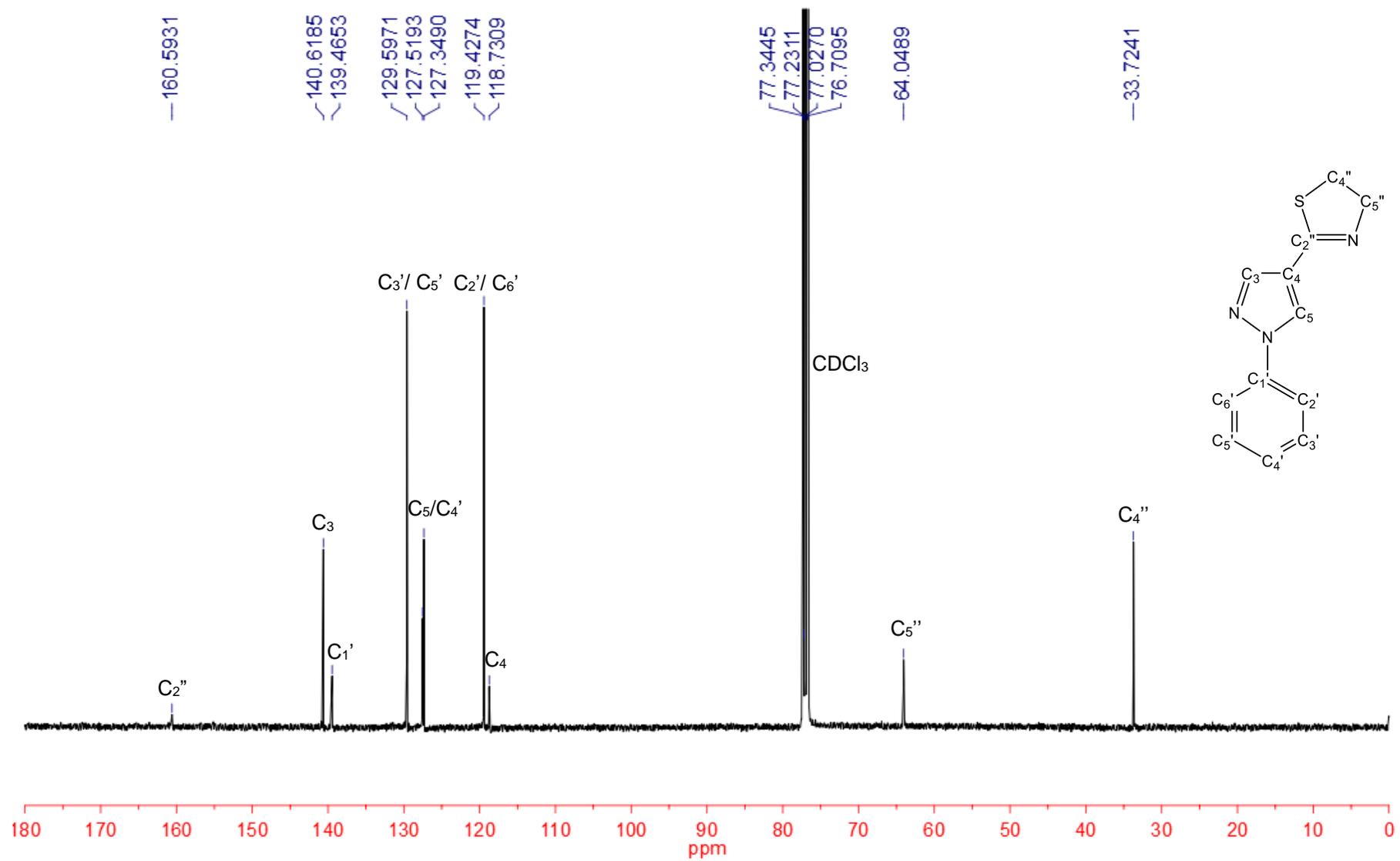
Espectro 89: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2k**.**Espectro 90:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **2l**.

**ANEXO H – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear dos
derivados 2(a-l)**

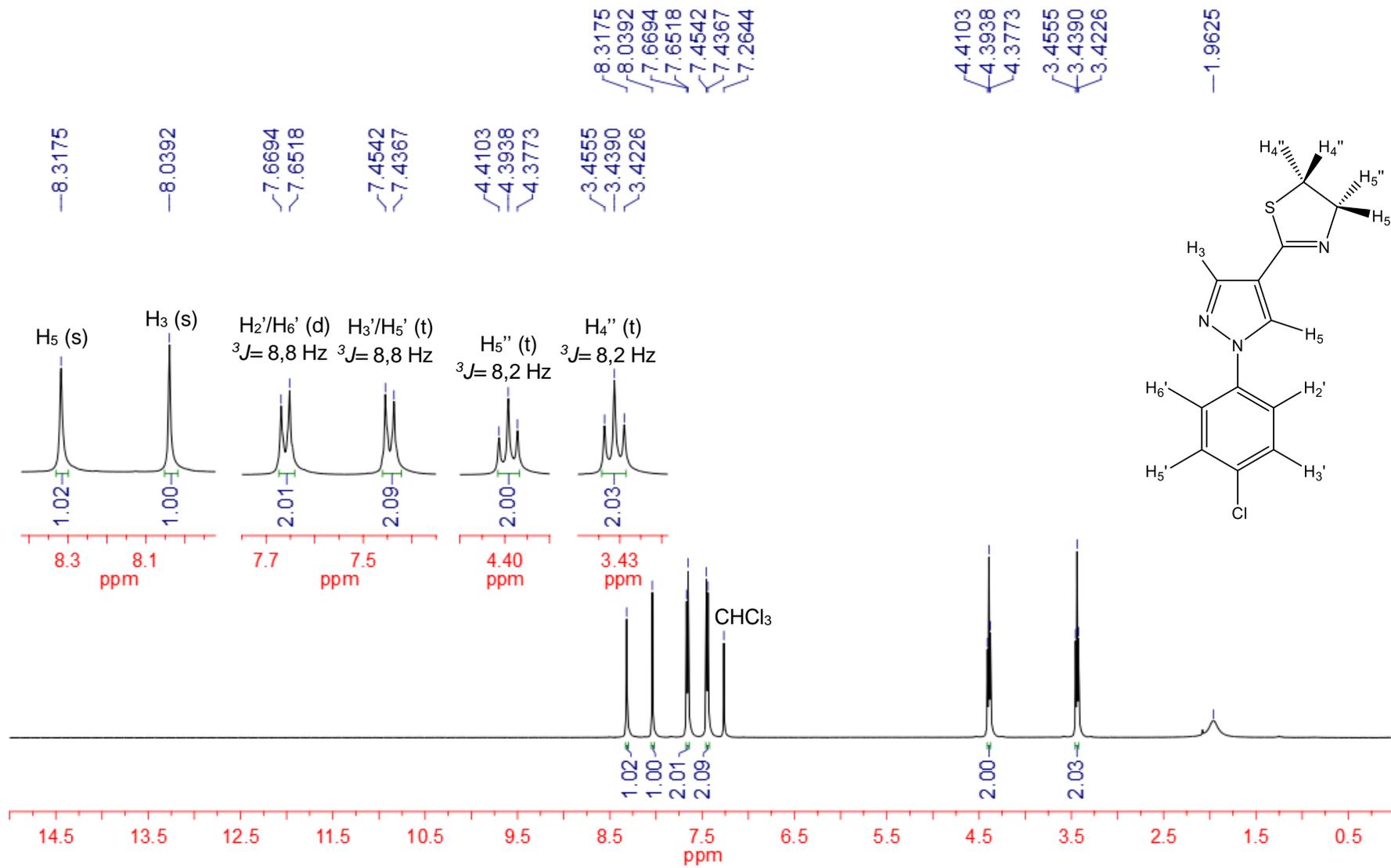
Espectro 91: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2a**.



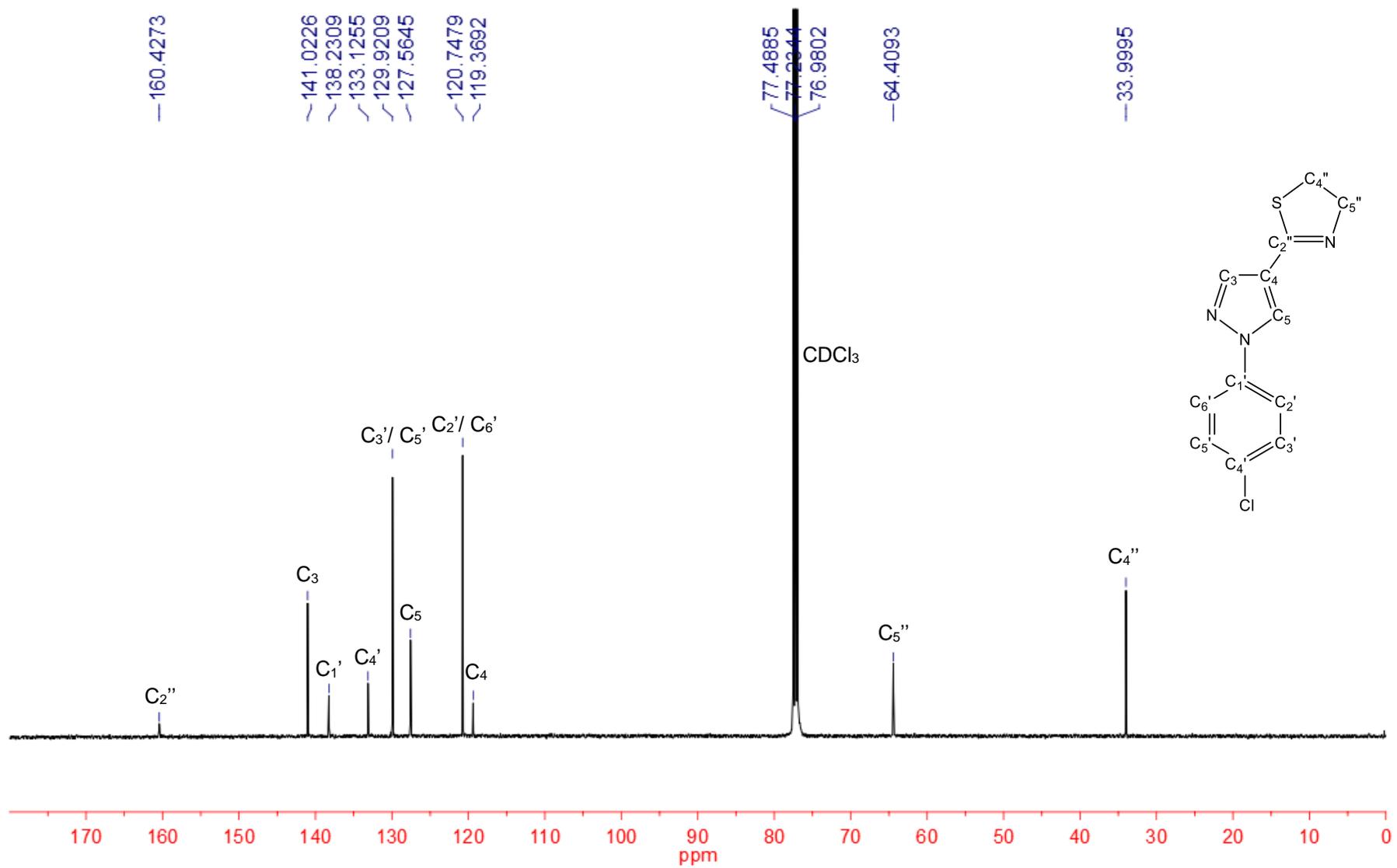
Espectro 92: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2a**.



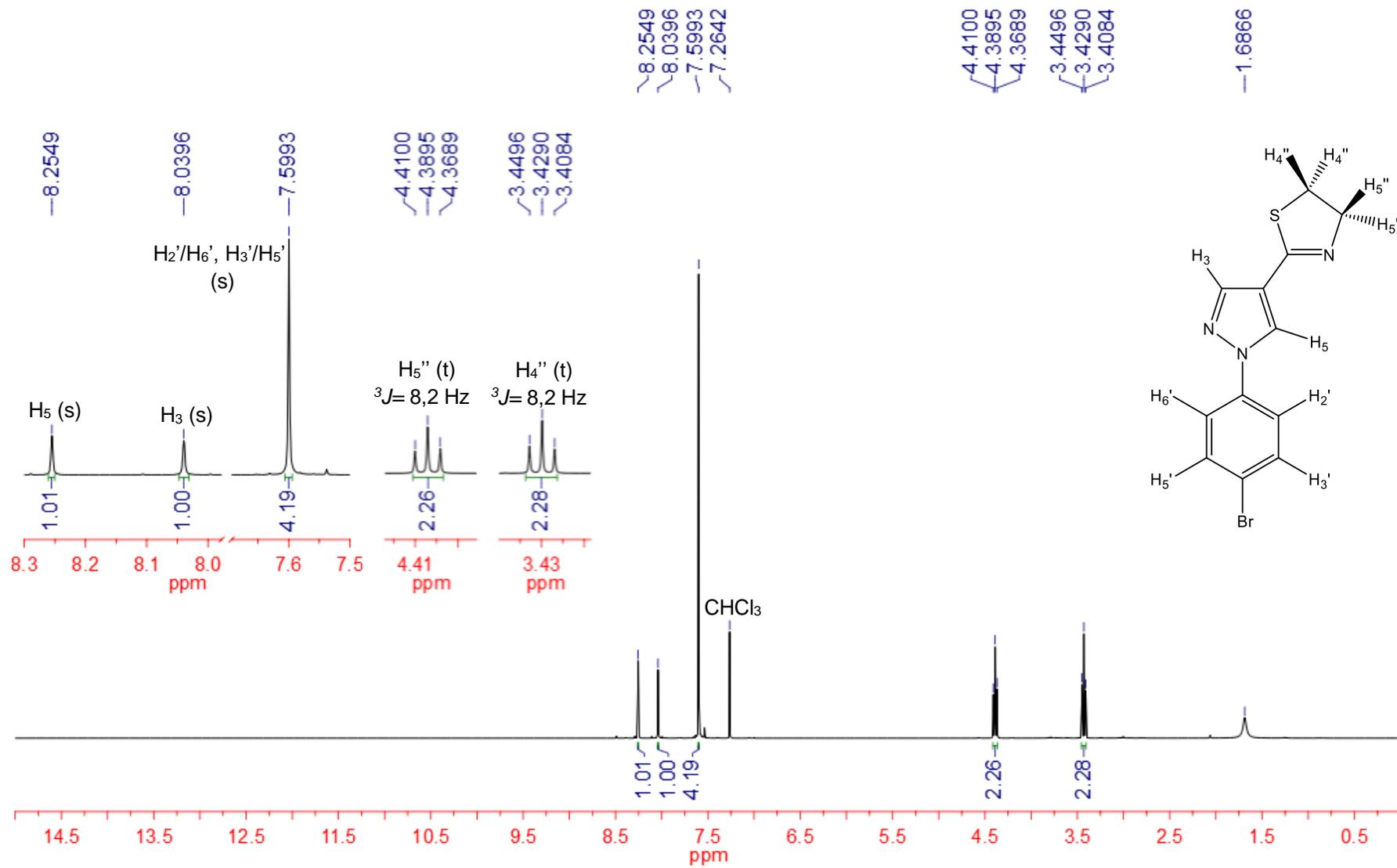
Espectro 93: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **2b**.



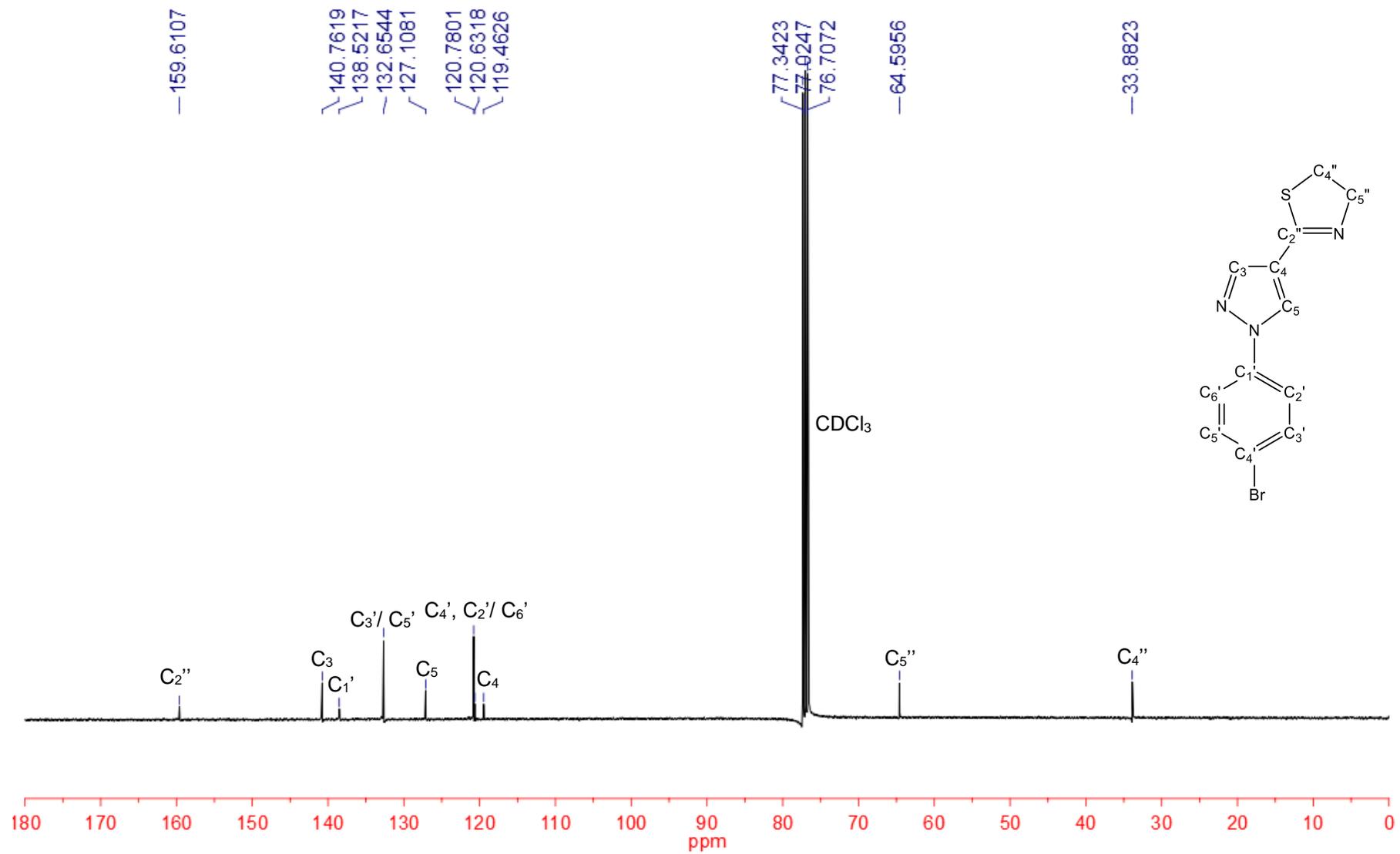
Espectro 94: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **2b**.



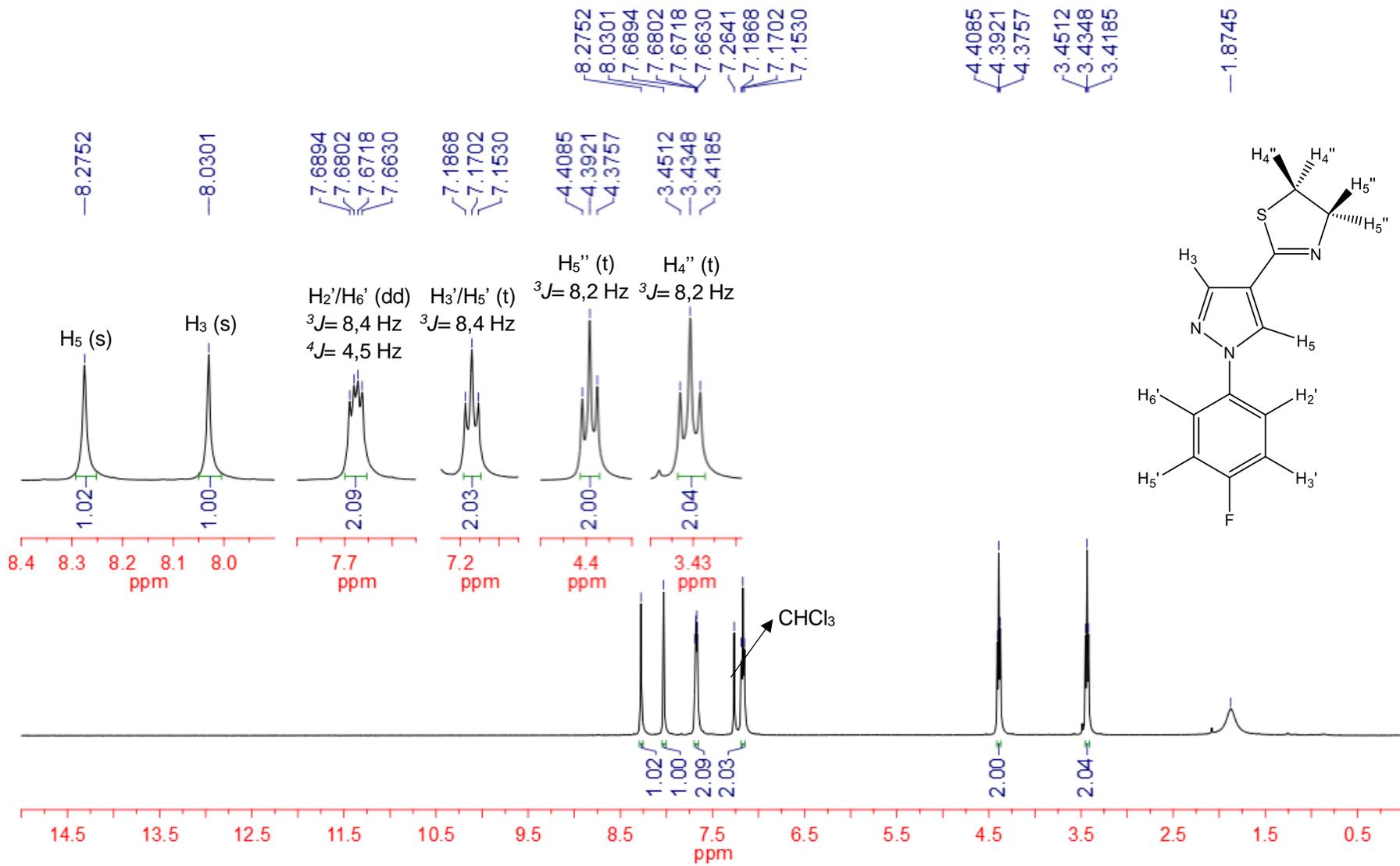
Espectro 95: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2c**.



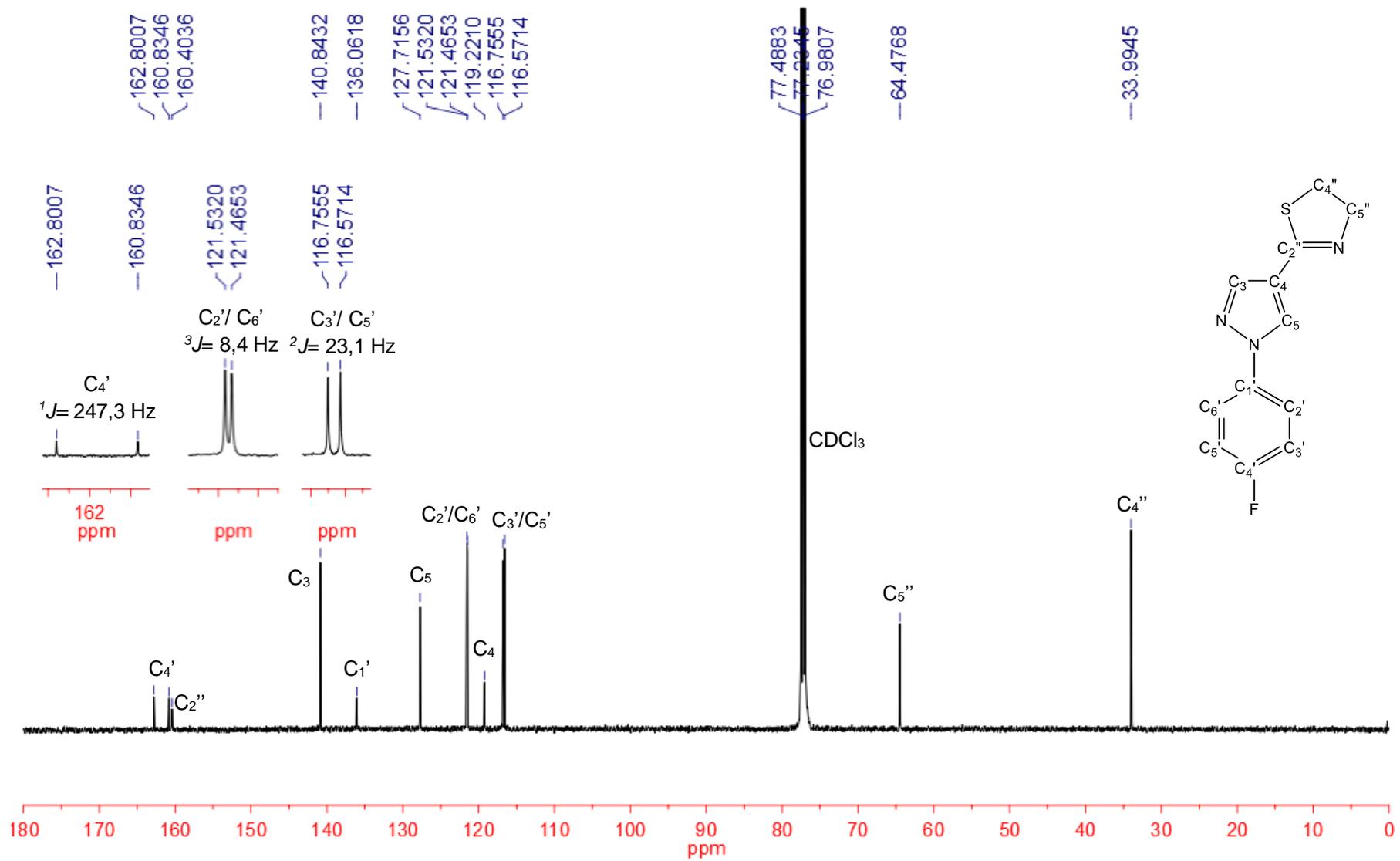
Espectro 96: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2c**.



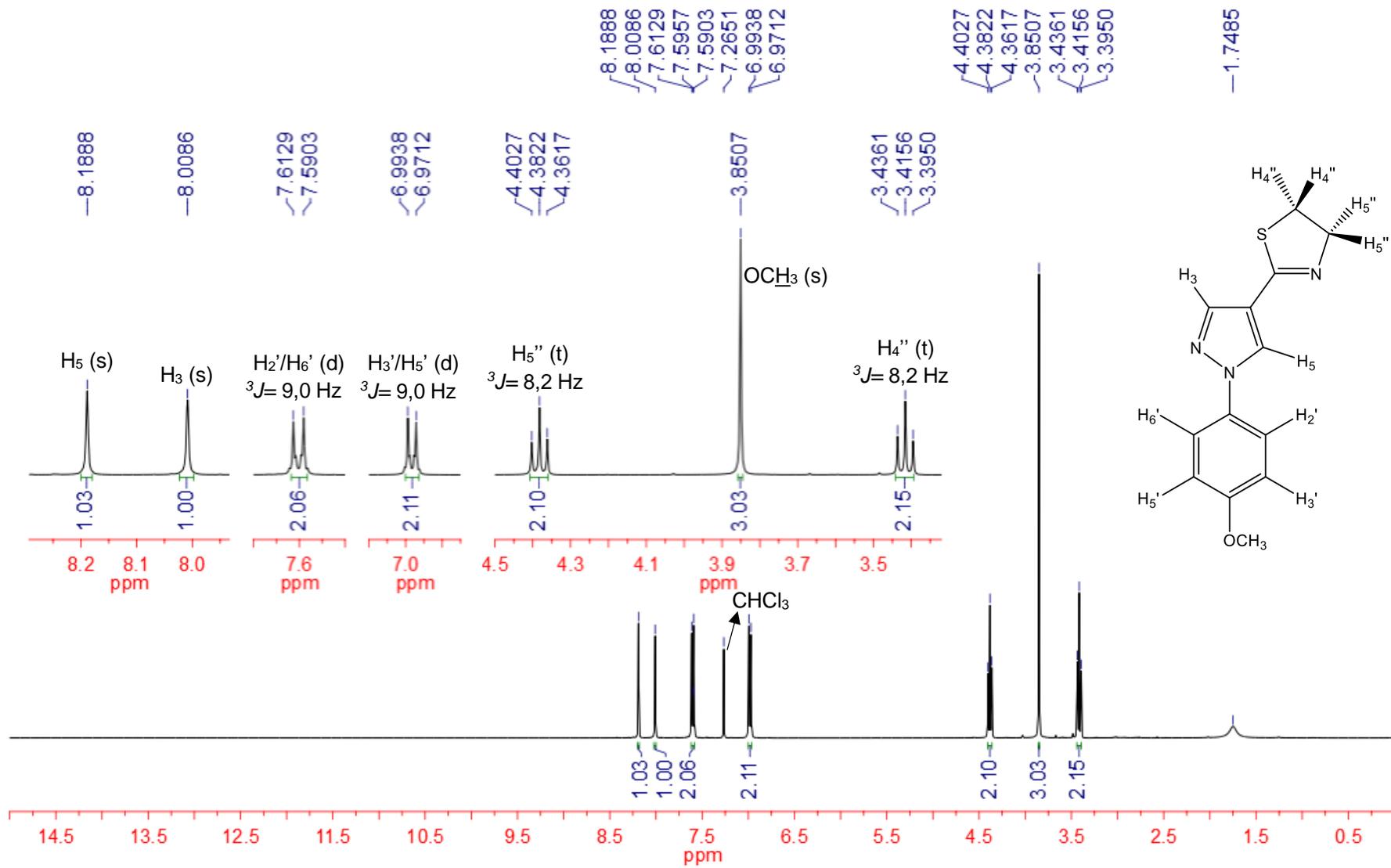
Espectro 97: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2d**.



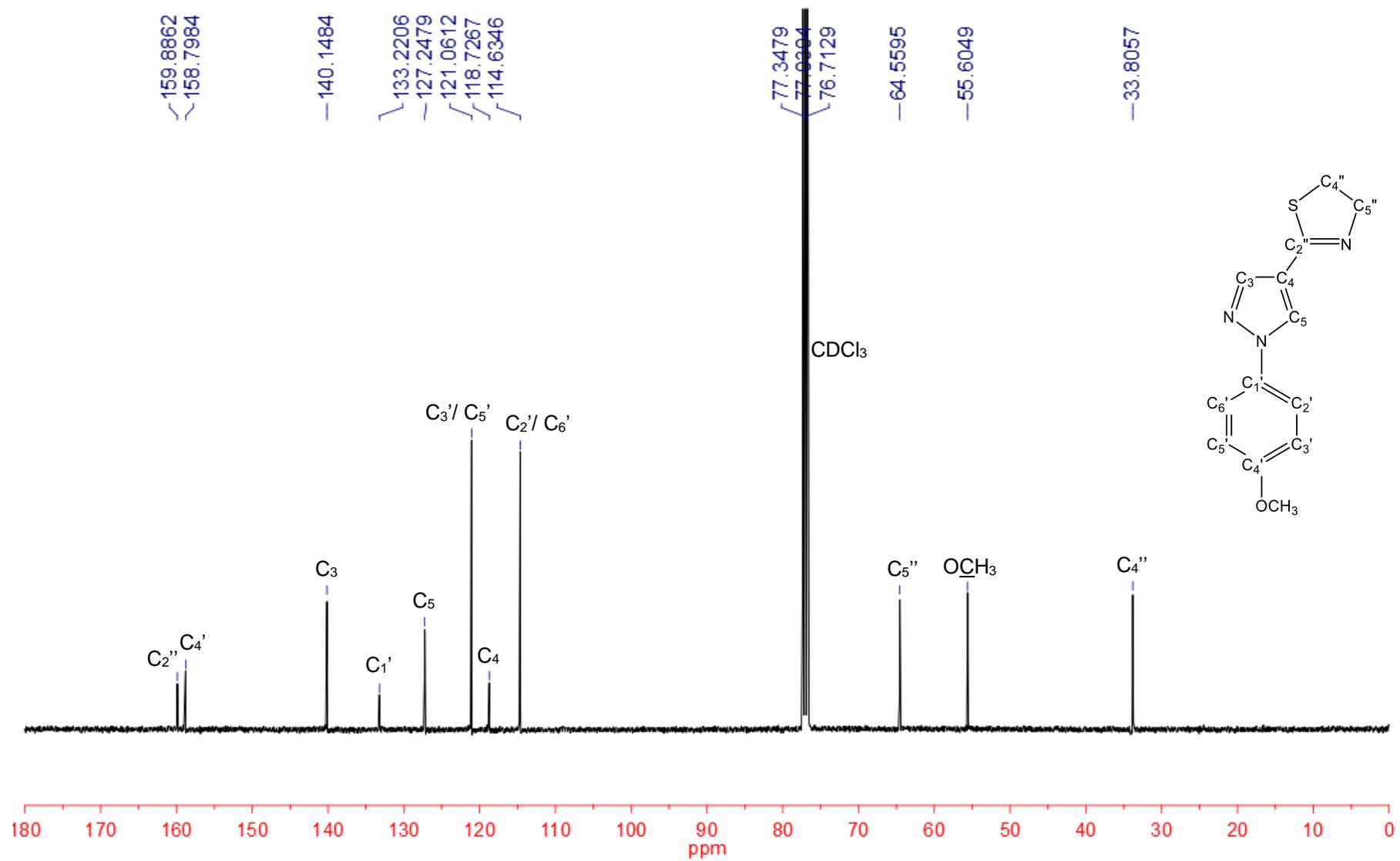
Espectro 98: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2d**.



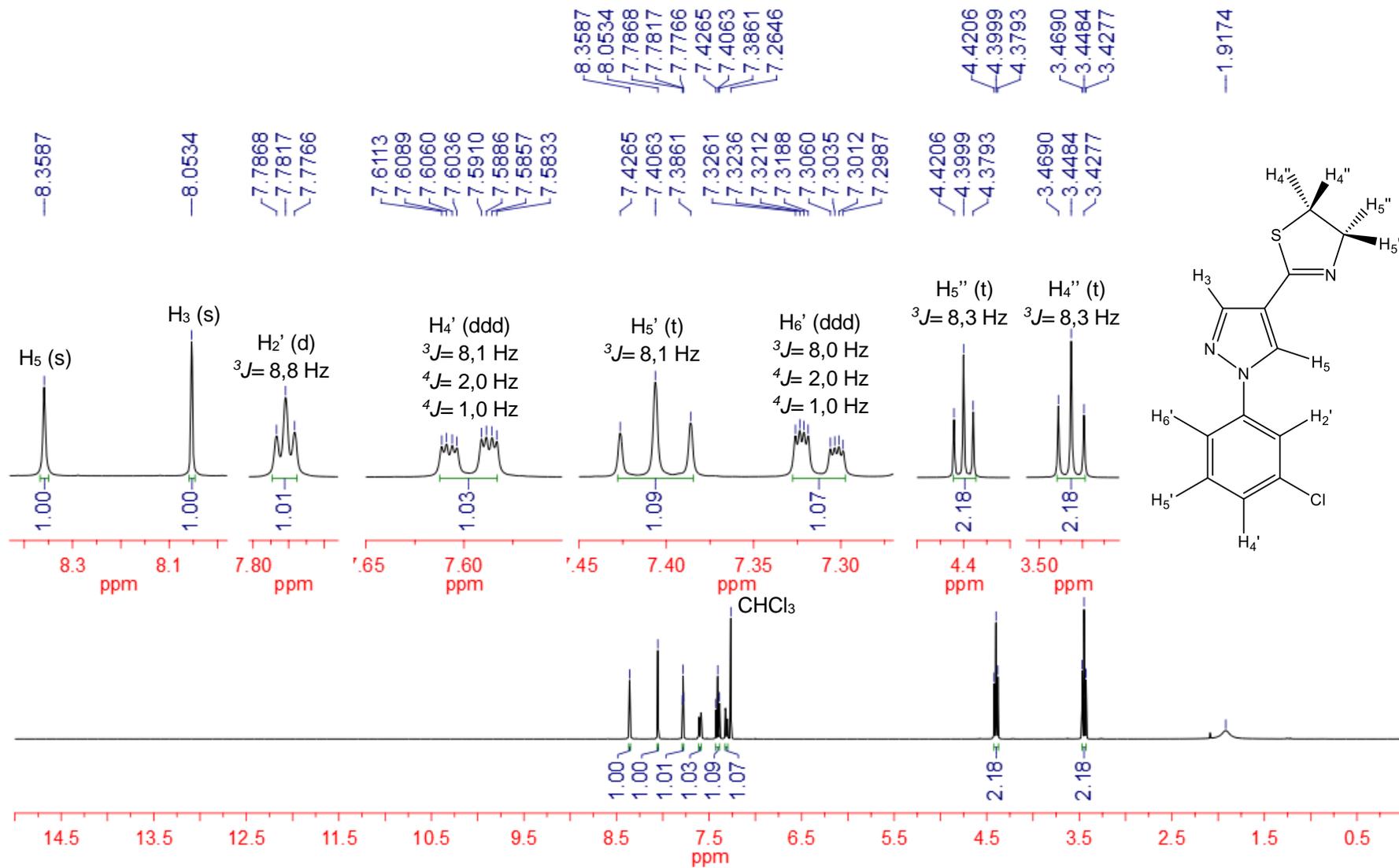
Espectro 99: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2e**.



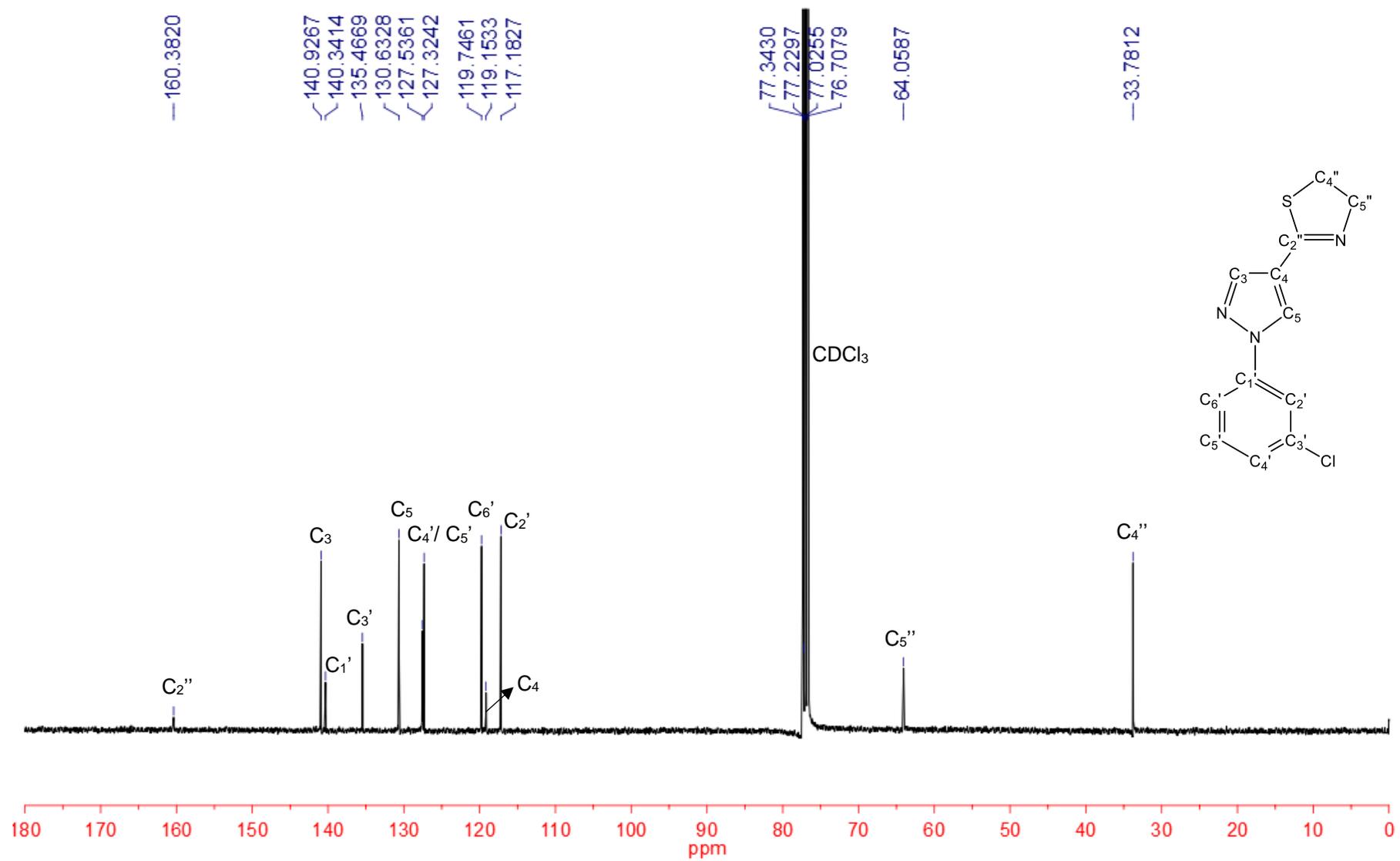
Espectro 100: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2e**.



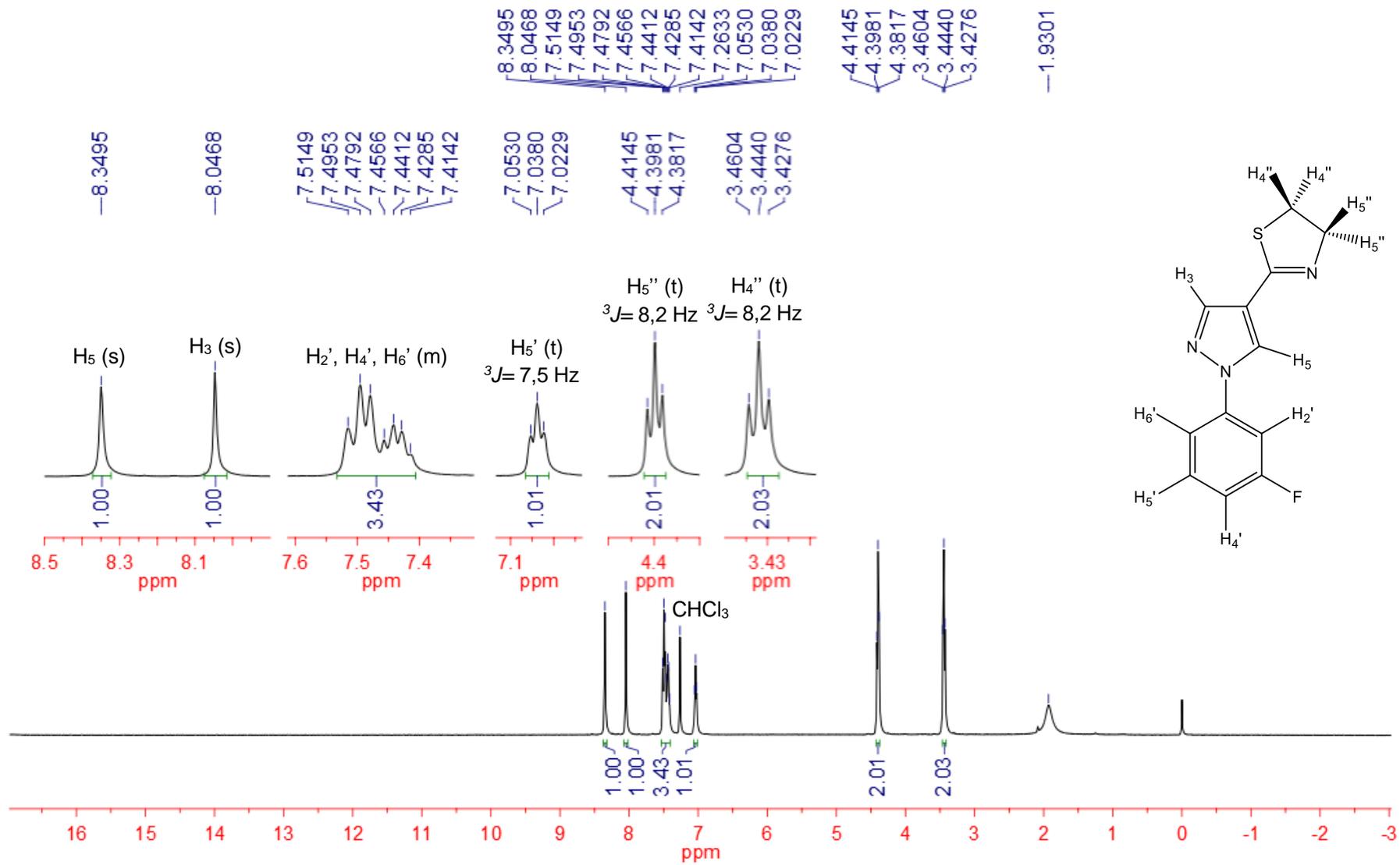
Espectro 101: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2f**.



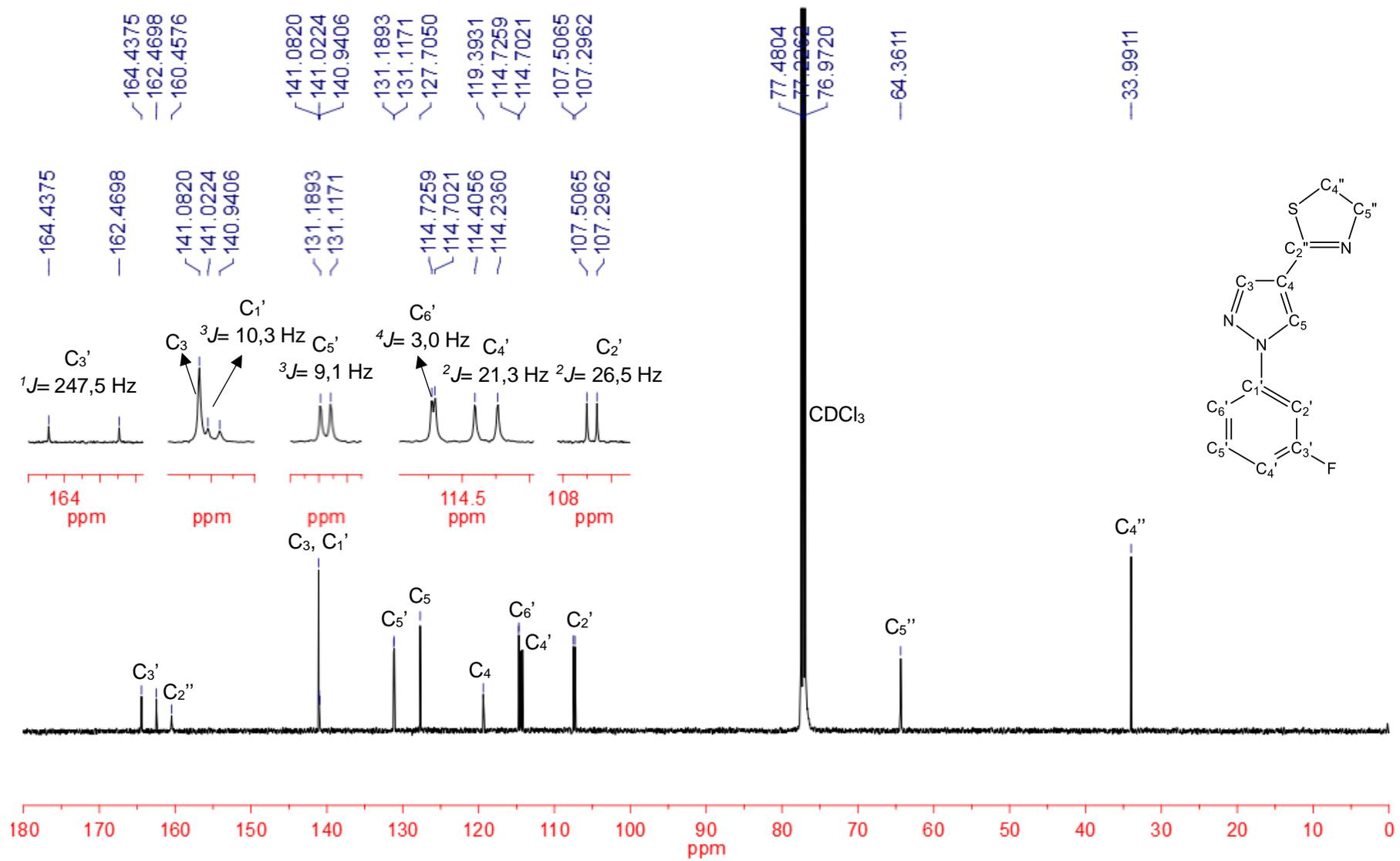
Espectro 102: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2f**.



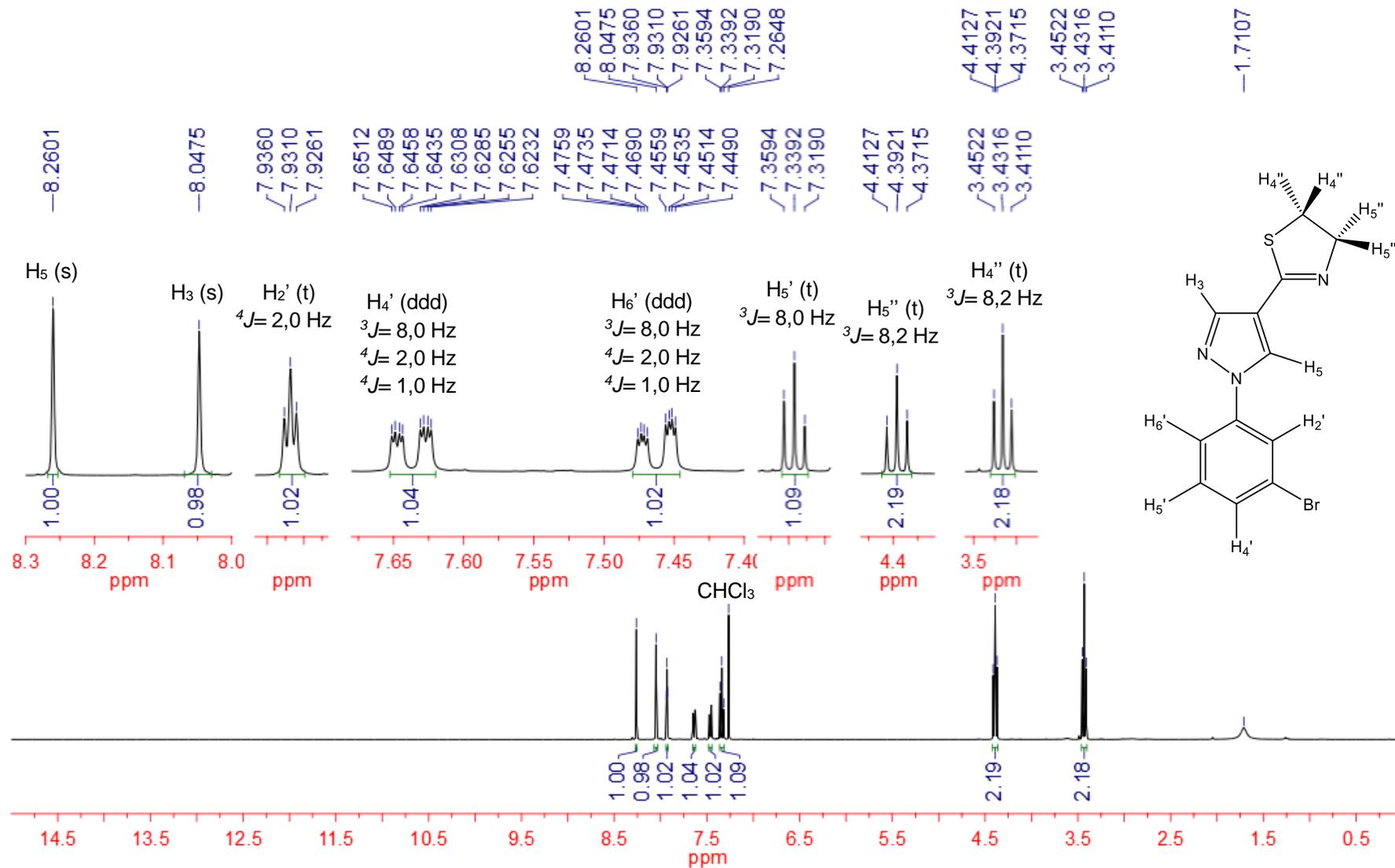
Espectro 103: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **2g**.



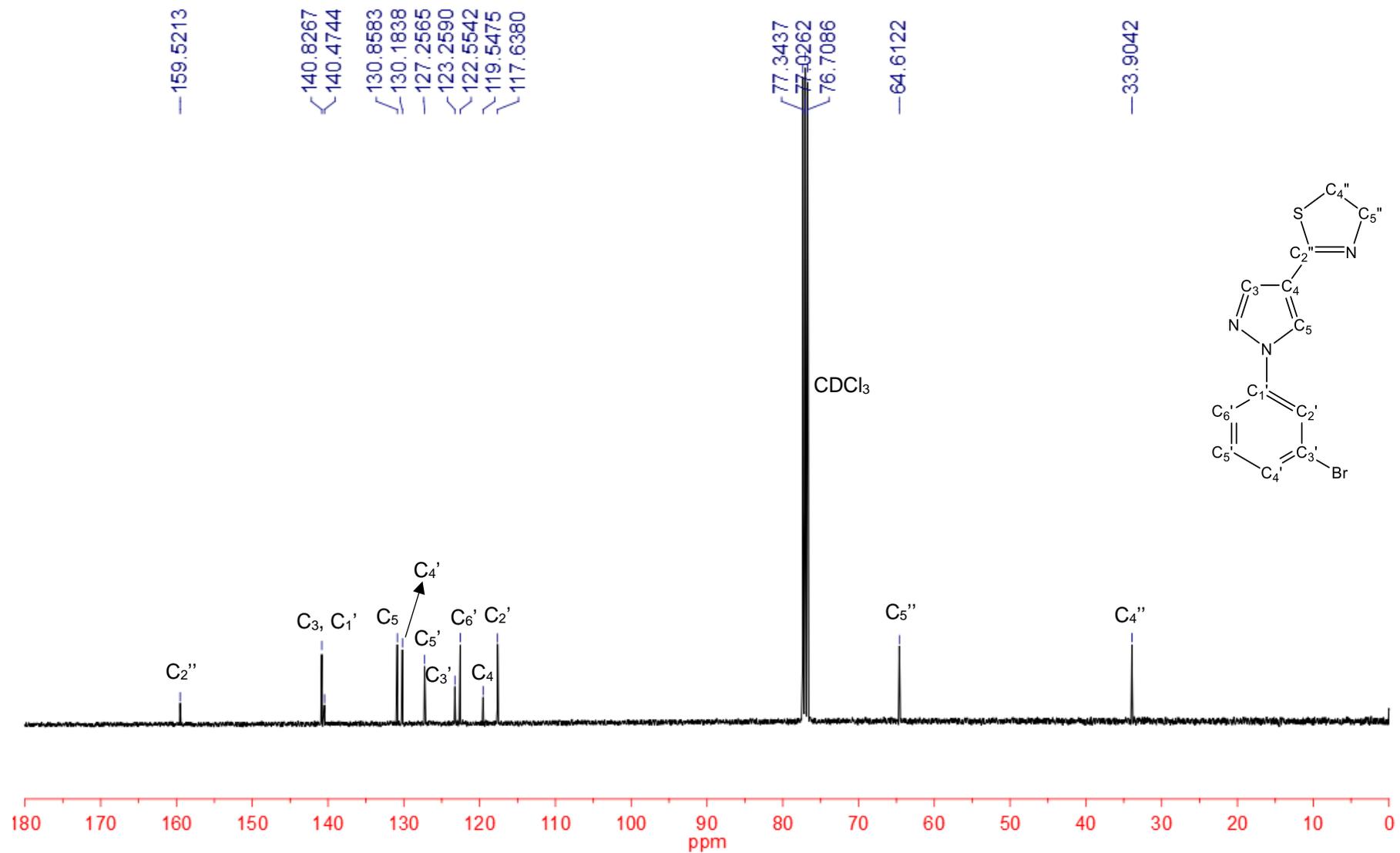
Espectro 104: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **2g**.



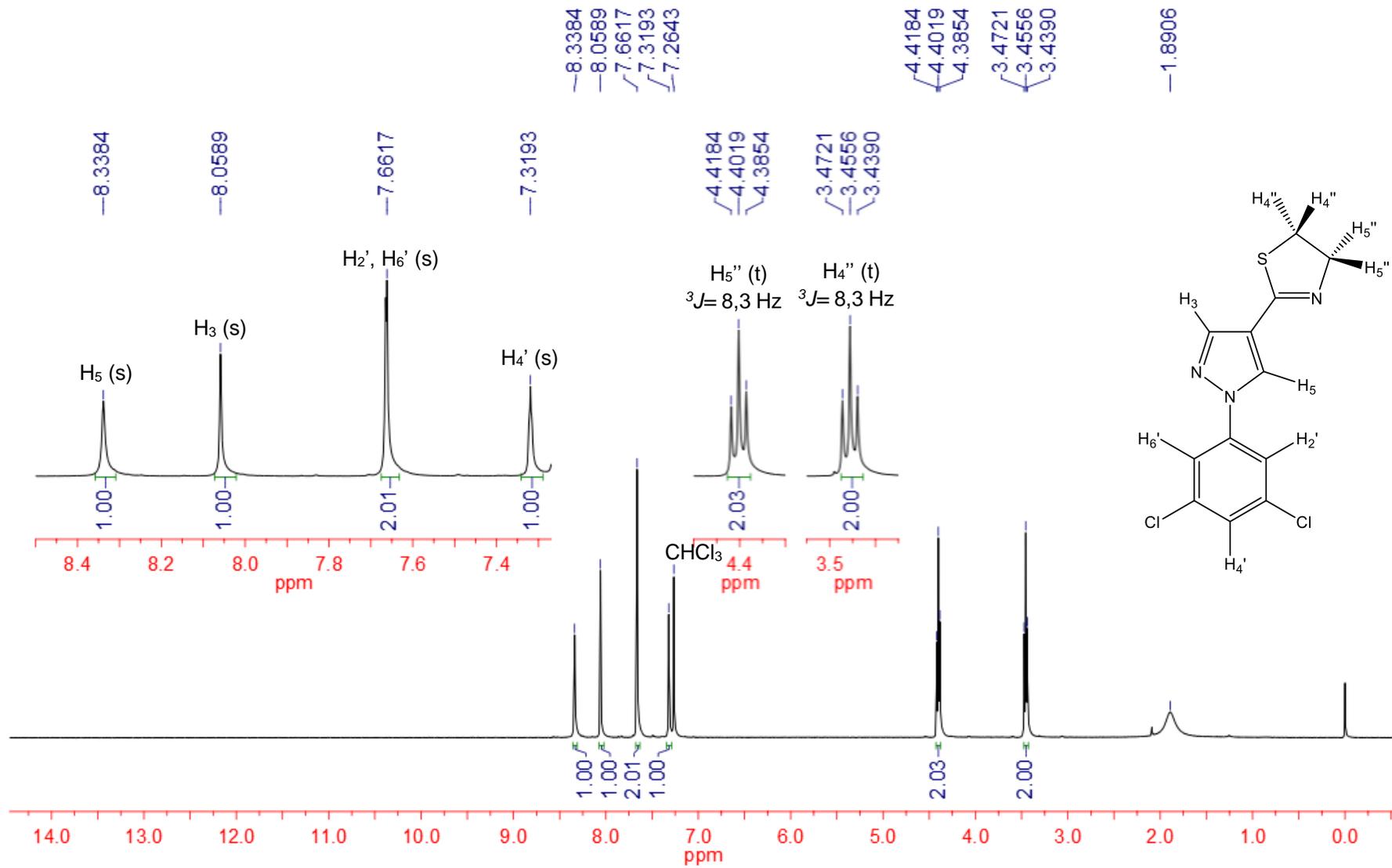
Espectro 105: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2h**.



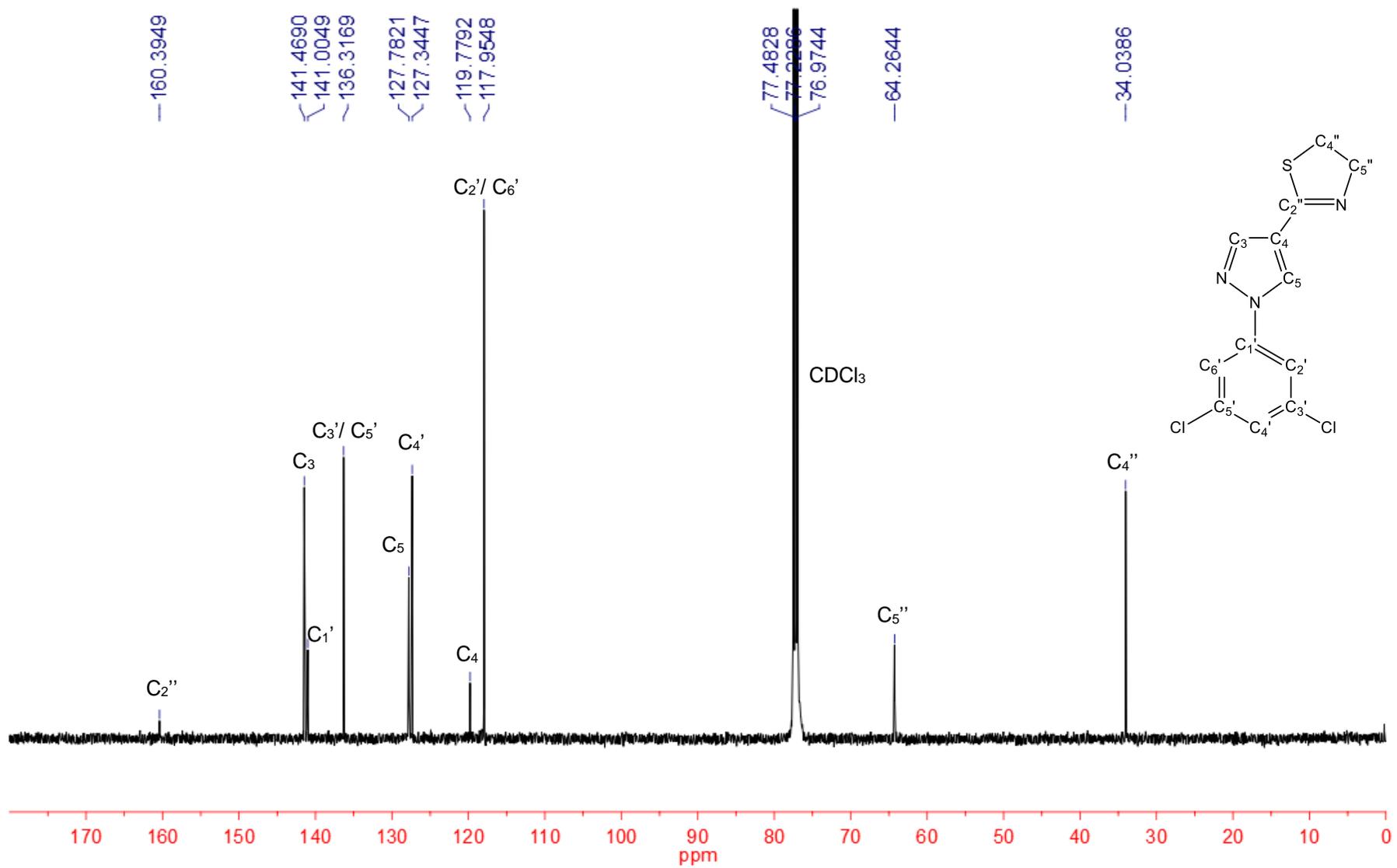
Espectro 106: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2h**.



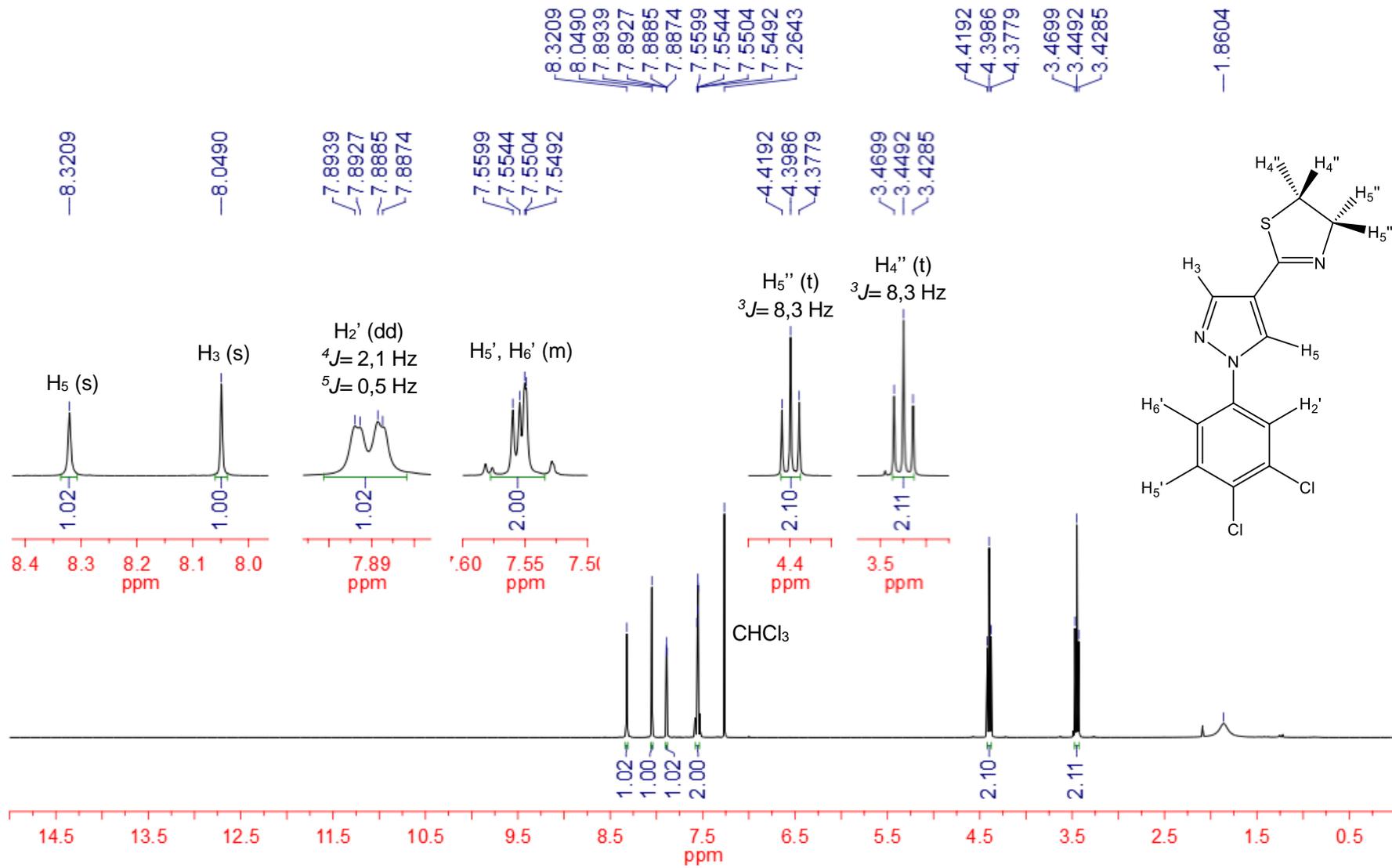
Espectro 107: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **2i**.



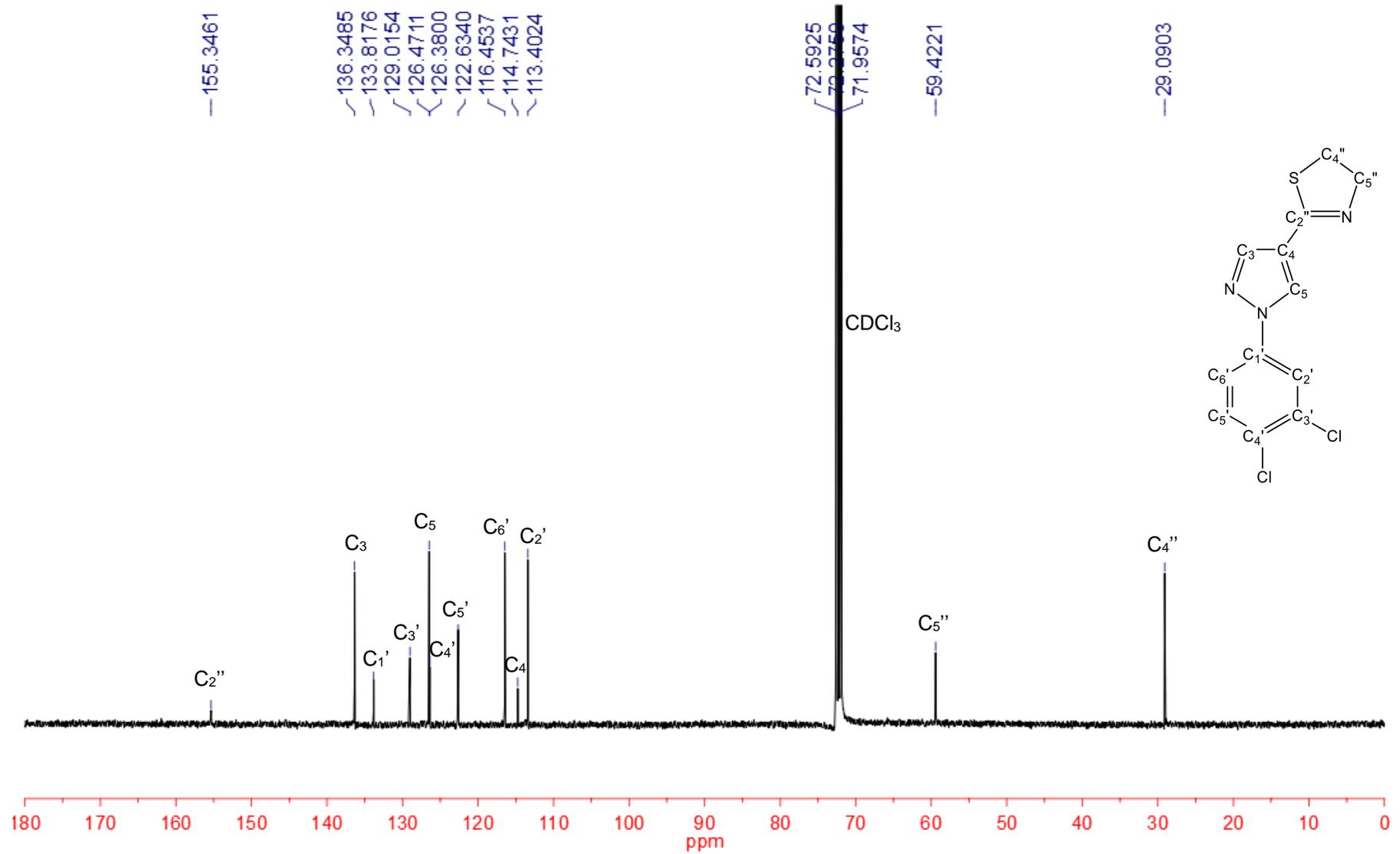
Espectro 108: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **2i**.



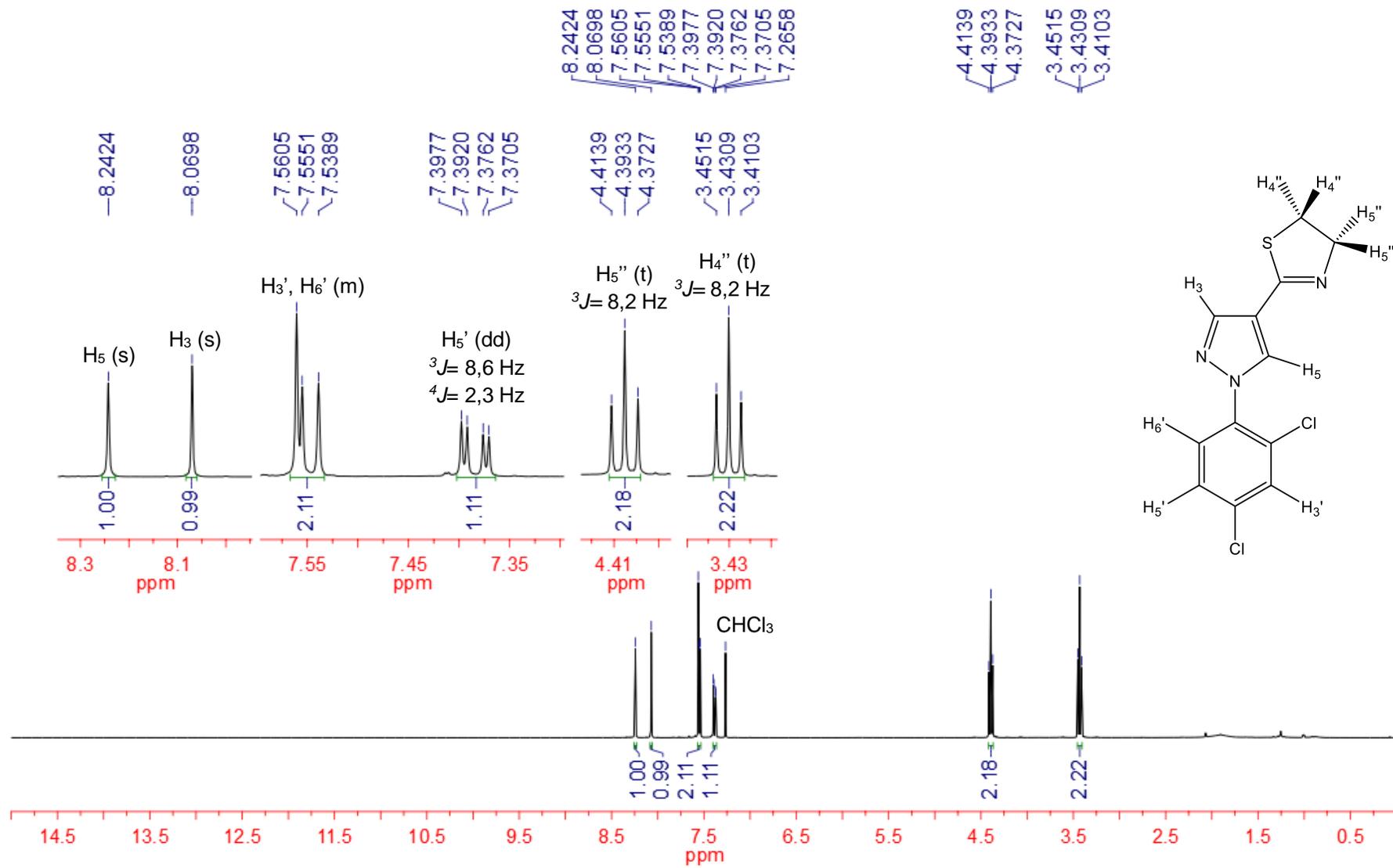
Espectro 109: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2j**.



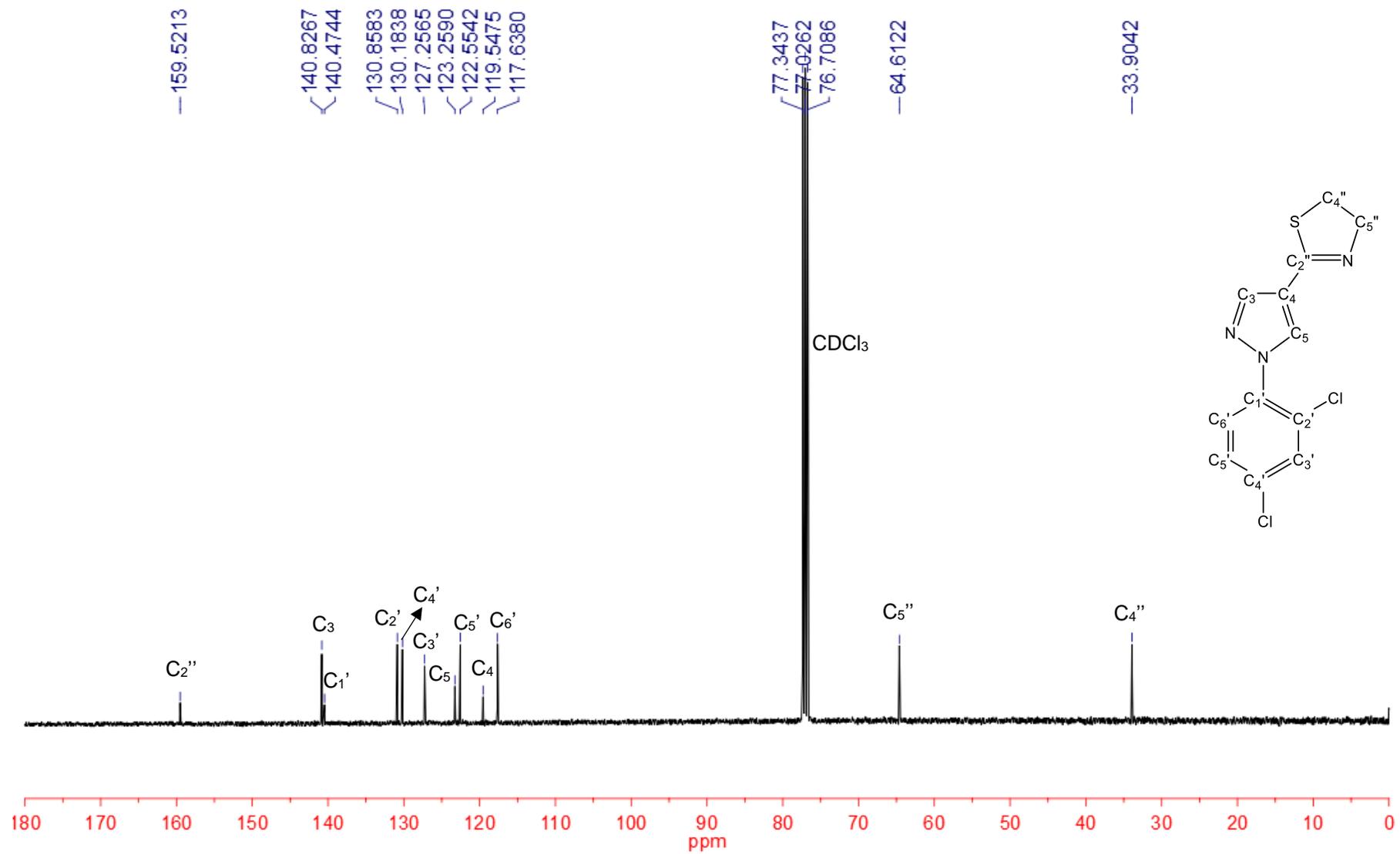
Espectro 110: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2j**.



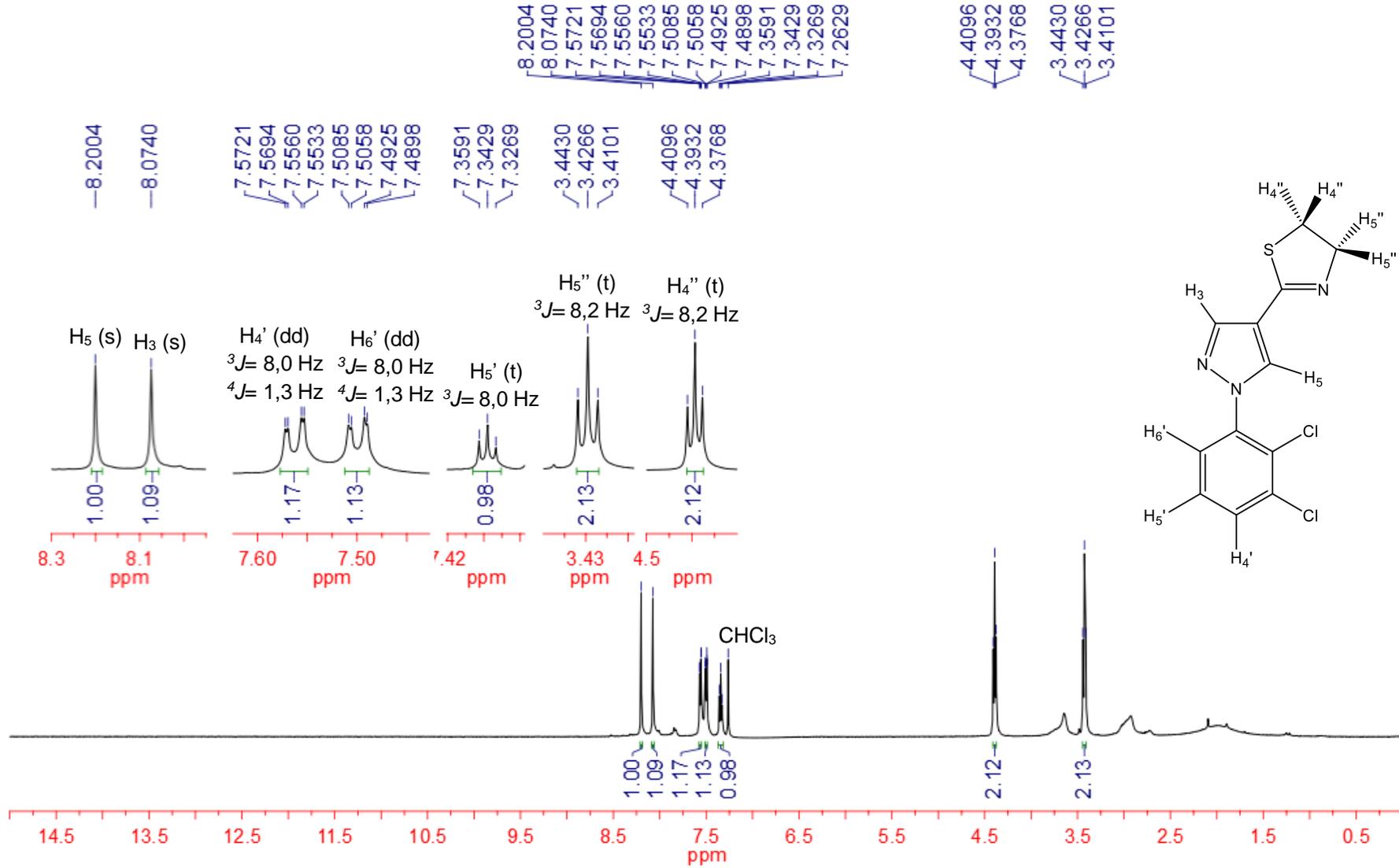
Espectro 111: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **2k**.



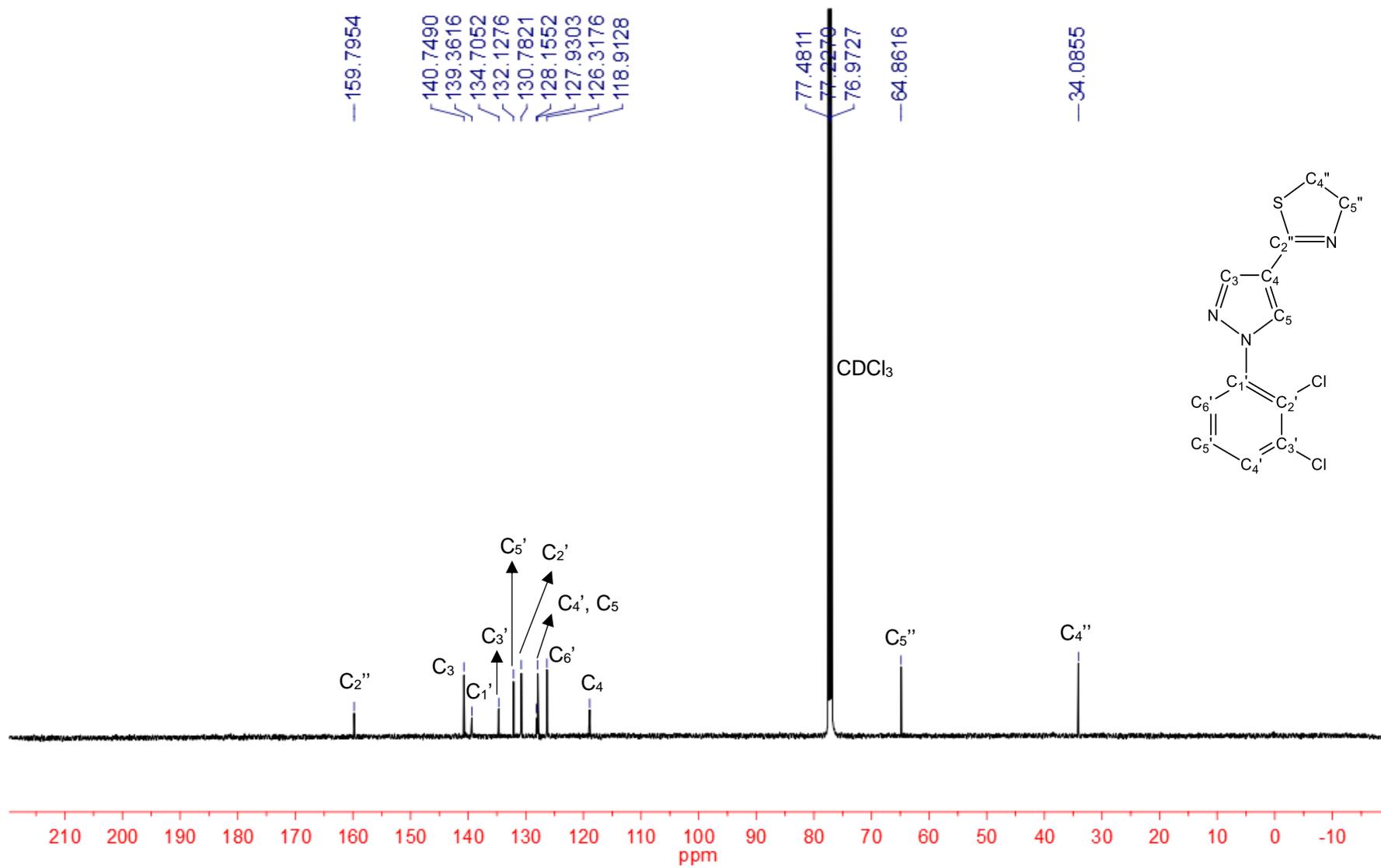
Espectro 112: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **2k**.



Espectro 113: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **2I**.



Espectro 114: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **2I**.

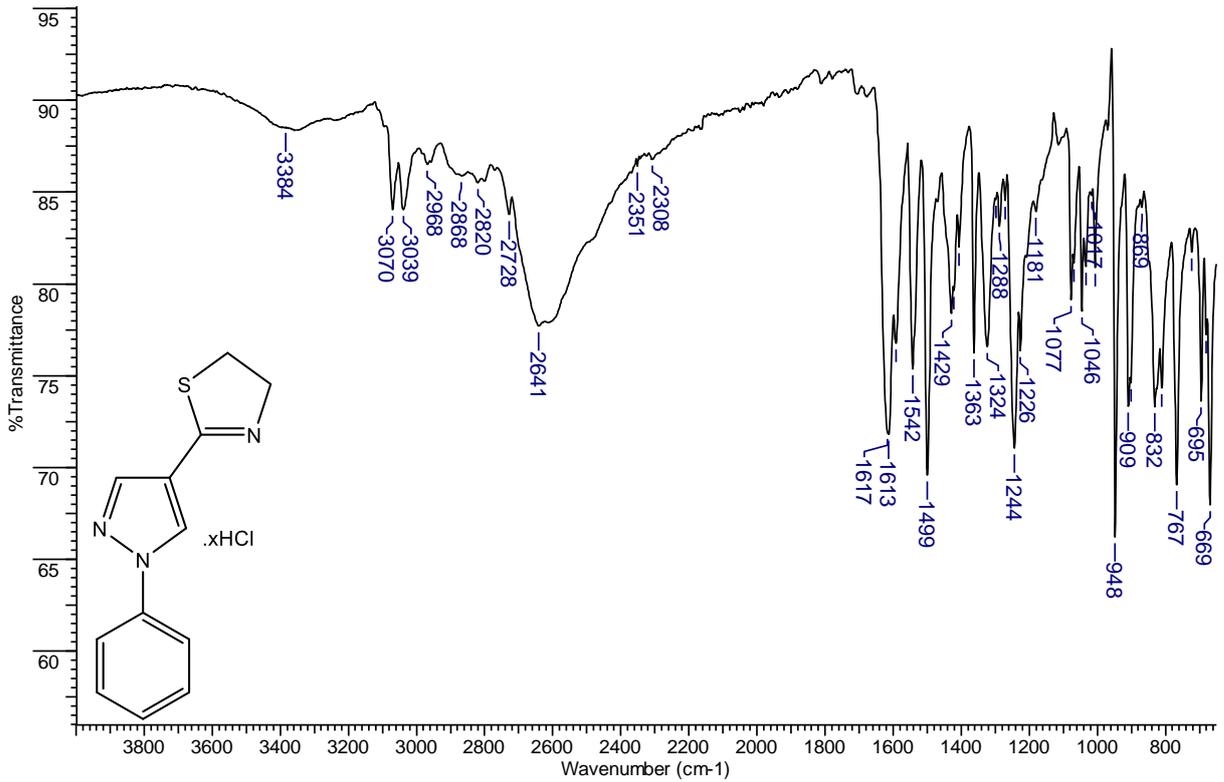
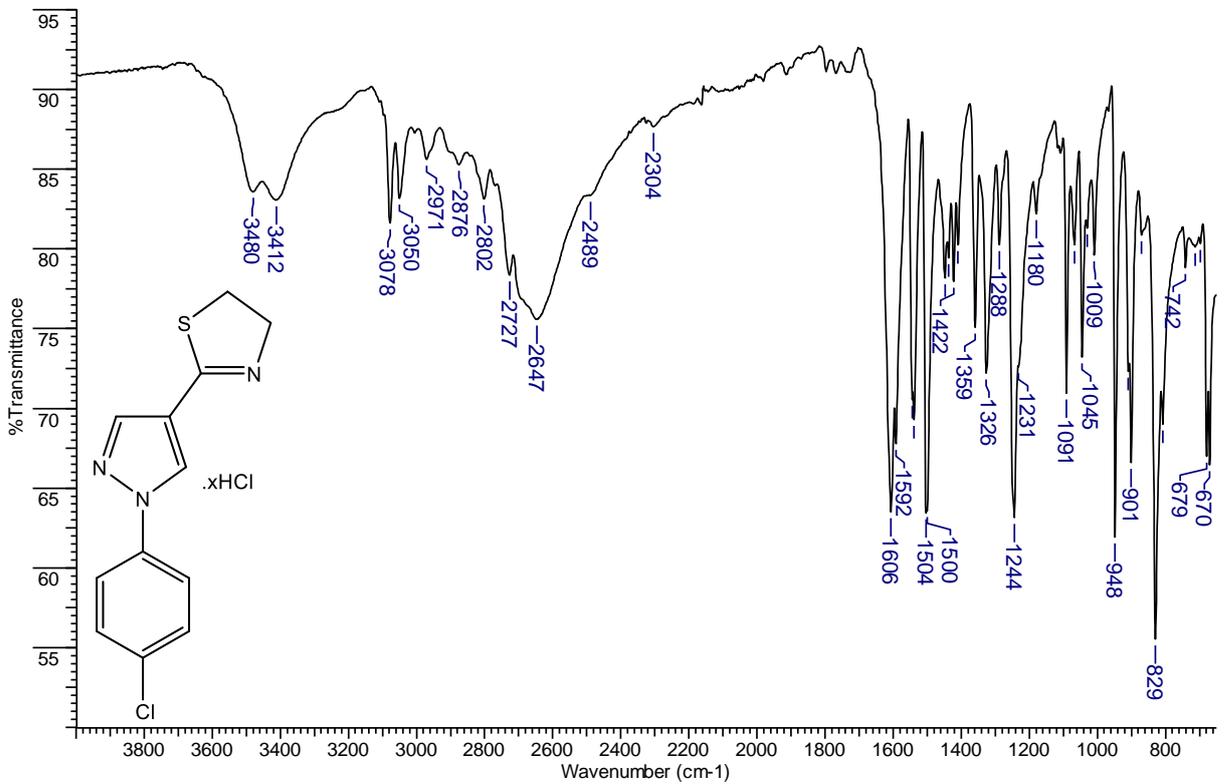


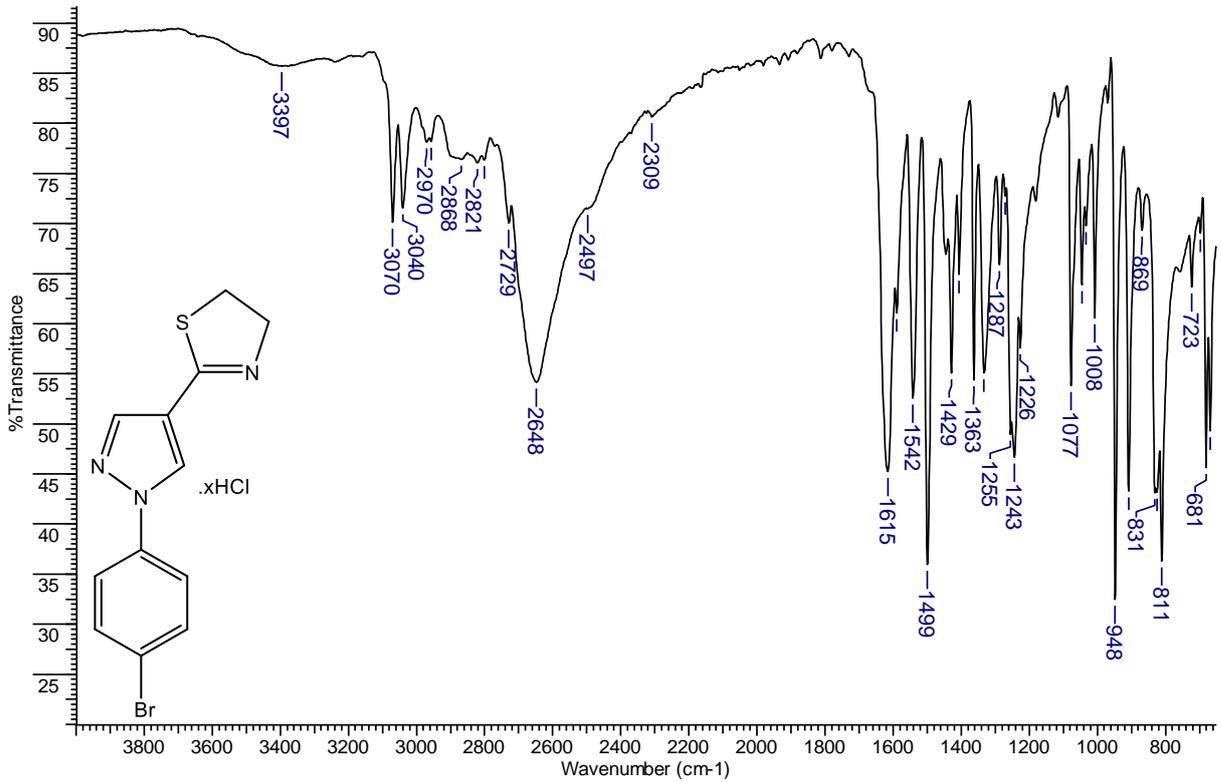
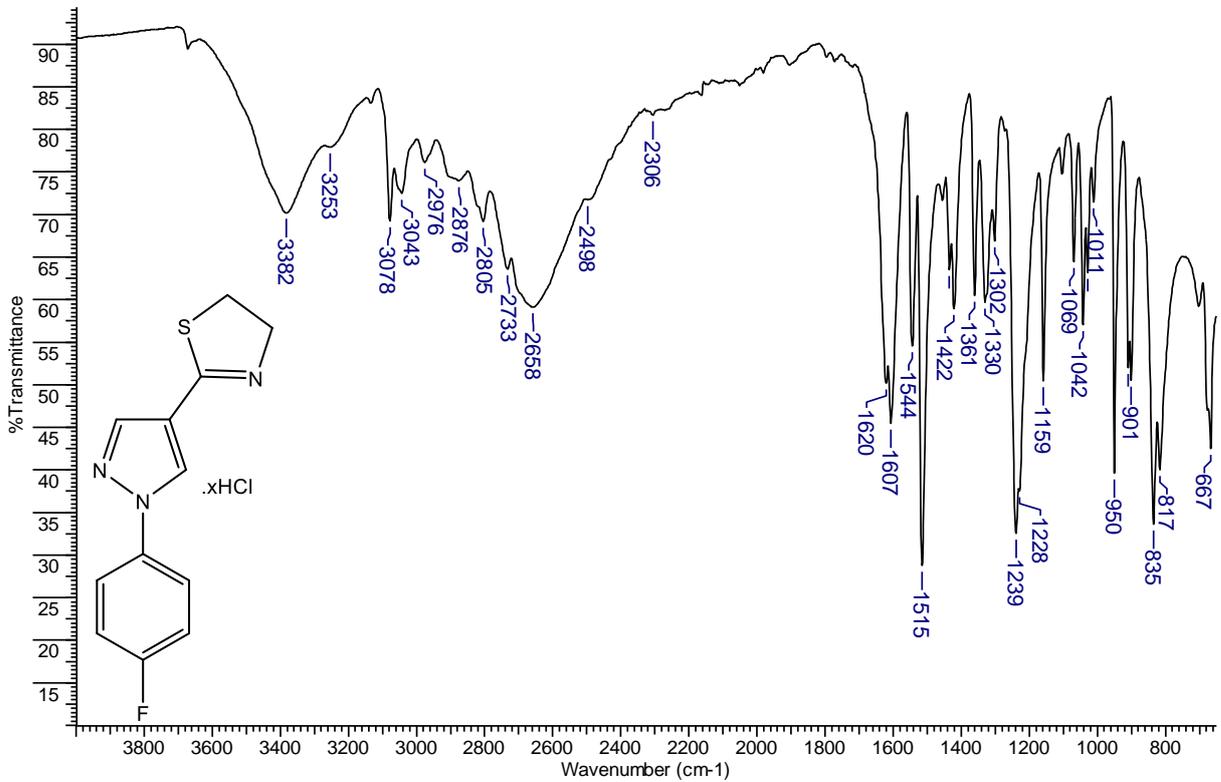
159.7954
140.7490
139.3616
134.7052
132.1276
130.7821
128.1552
127.9303
126.3176
118.9128
77.4811
77.2276
76.9727
64.8616
34.0855

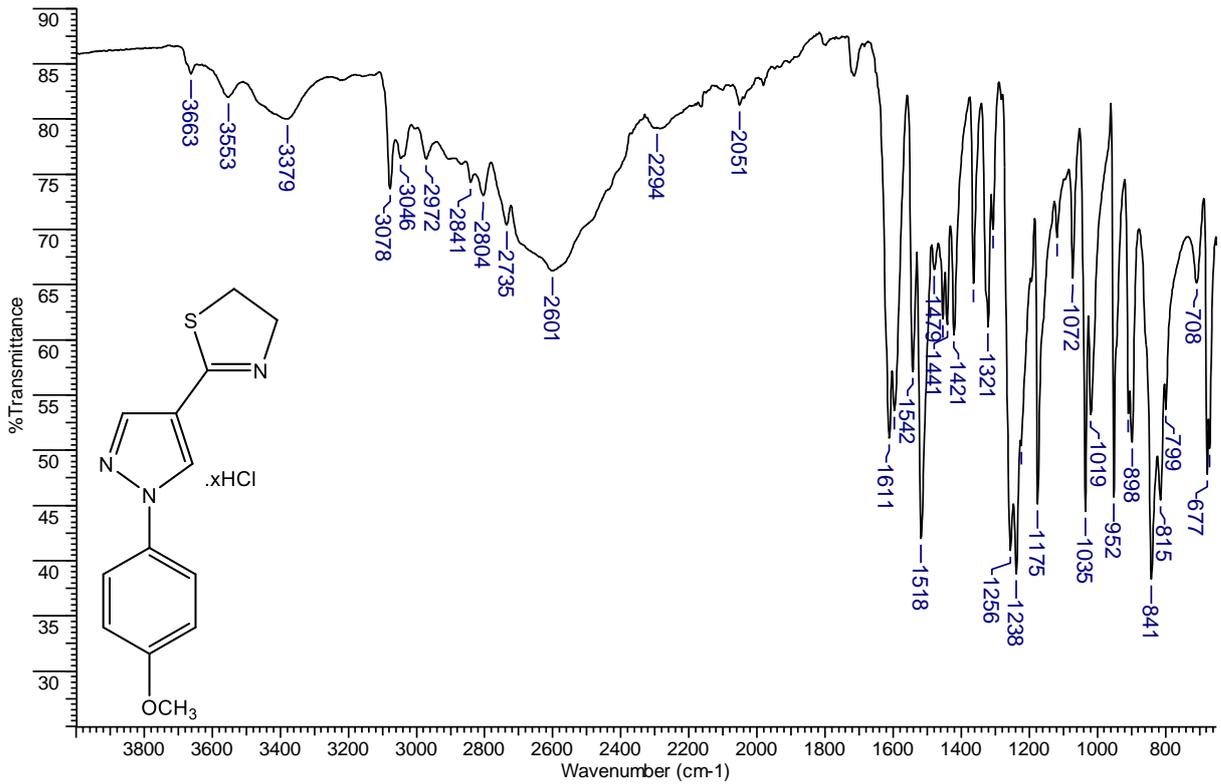
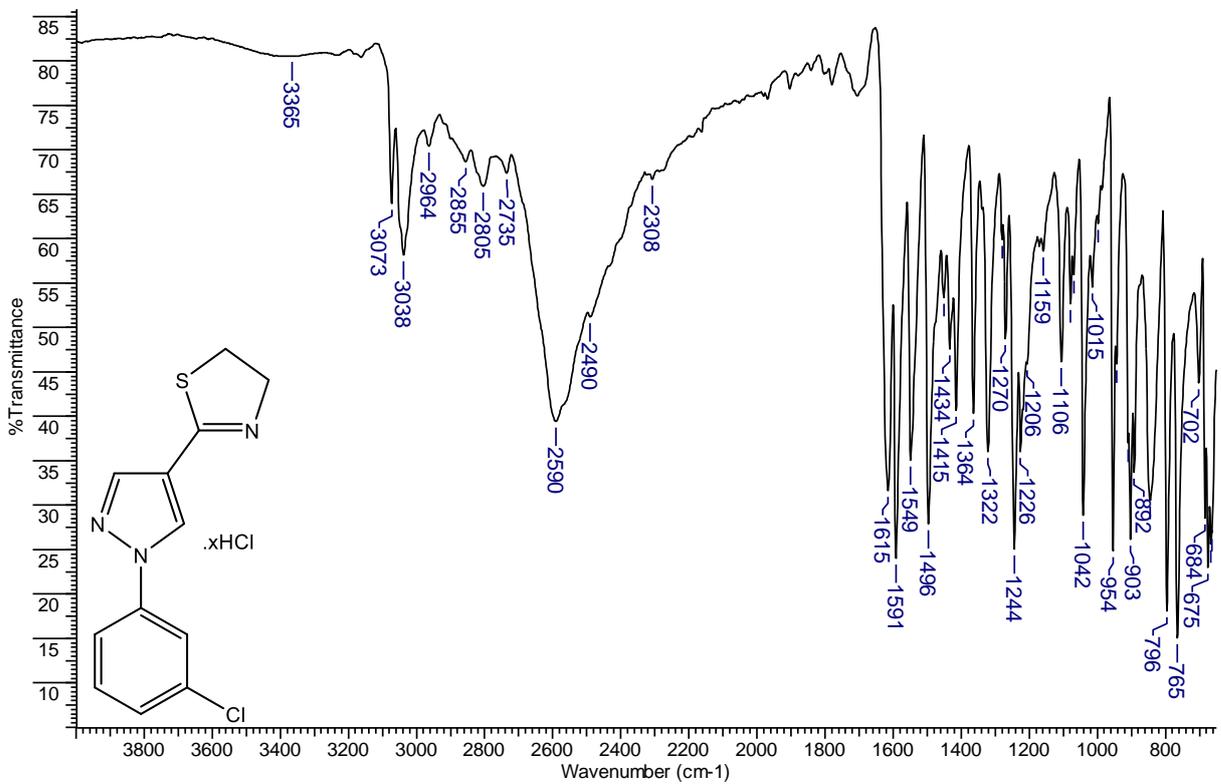
C₂''
C₃
C₁'
C₃'
C₅'
C₂'
C₄', C₅
C₆'
C₄
C₅''
C₄''

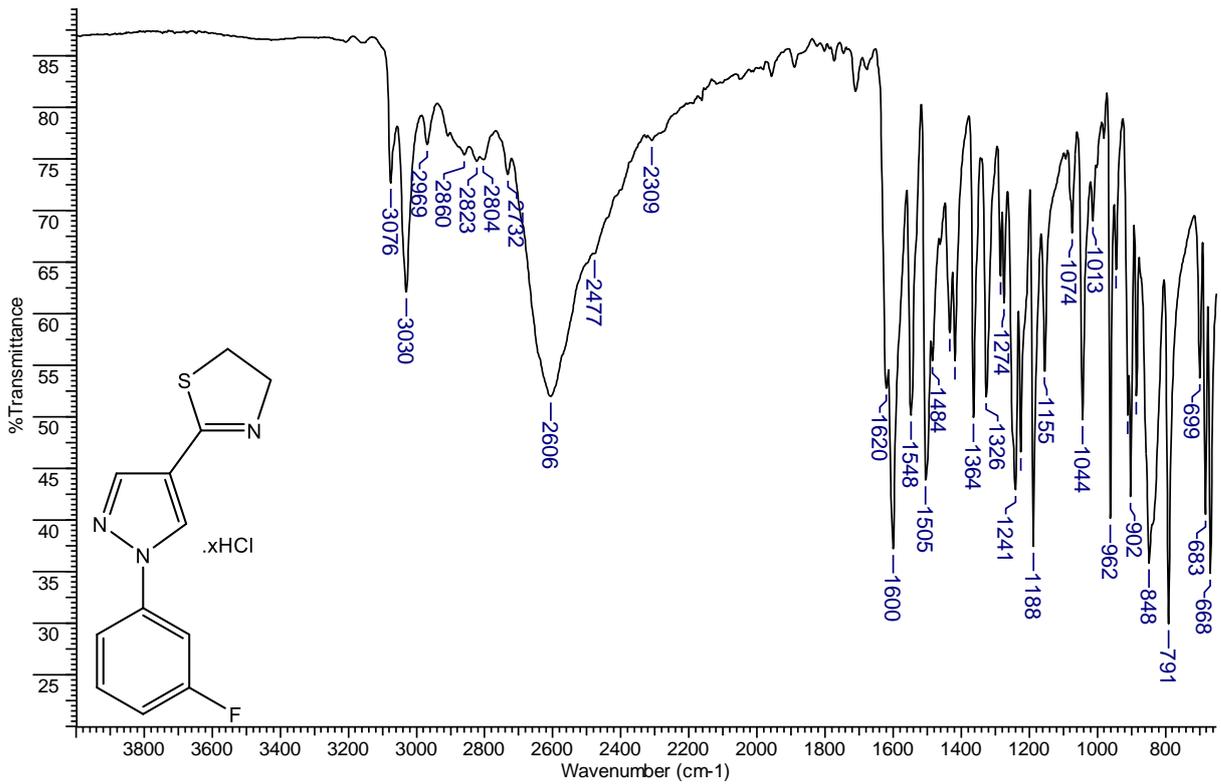
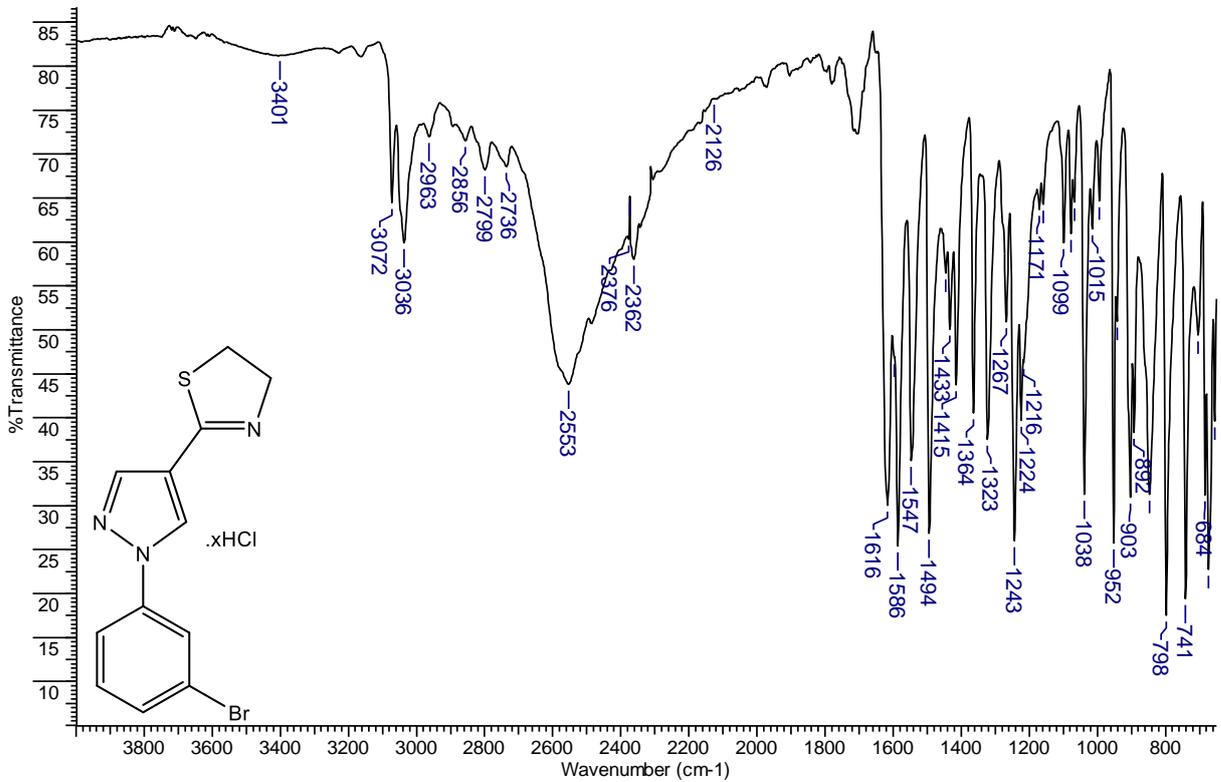
210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10 0 -10
ppm

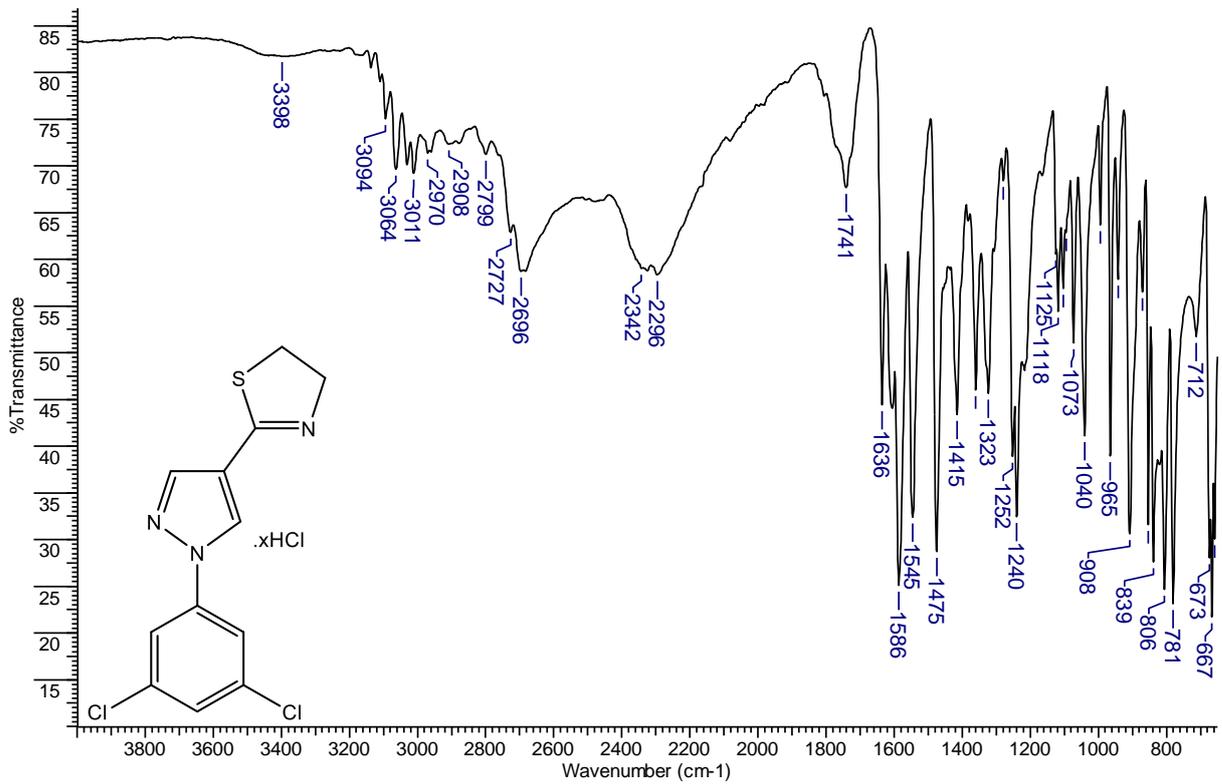
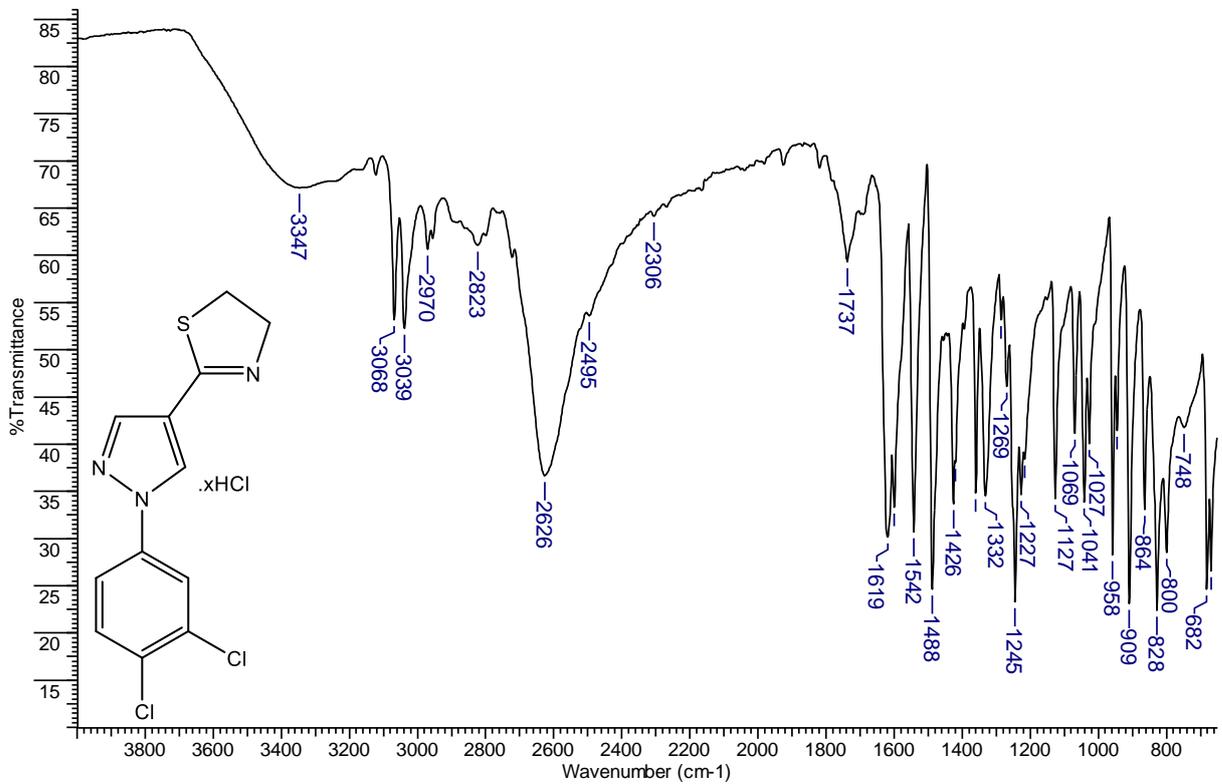
ANEXO I – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 2(a-I).HCl

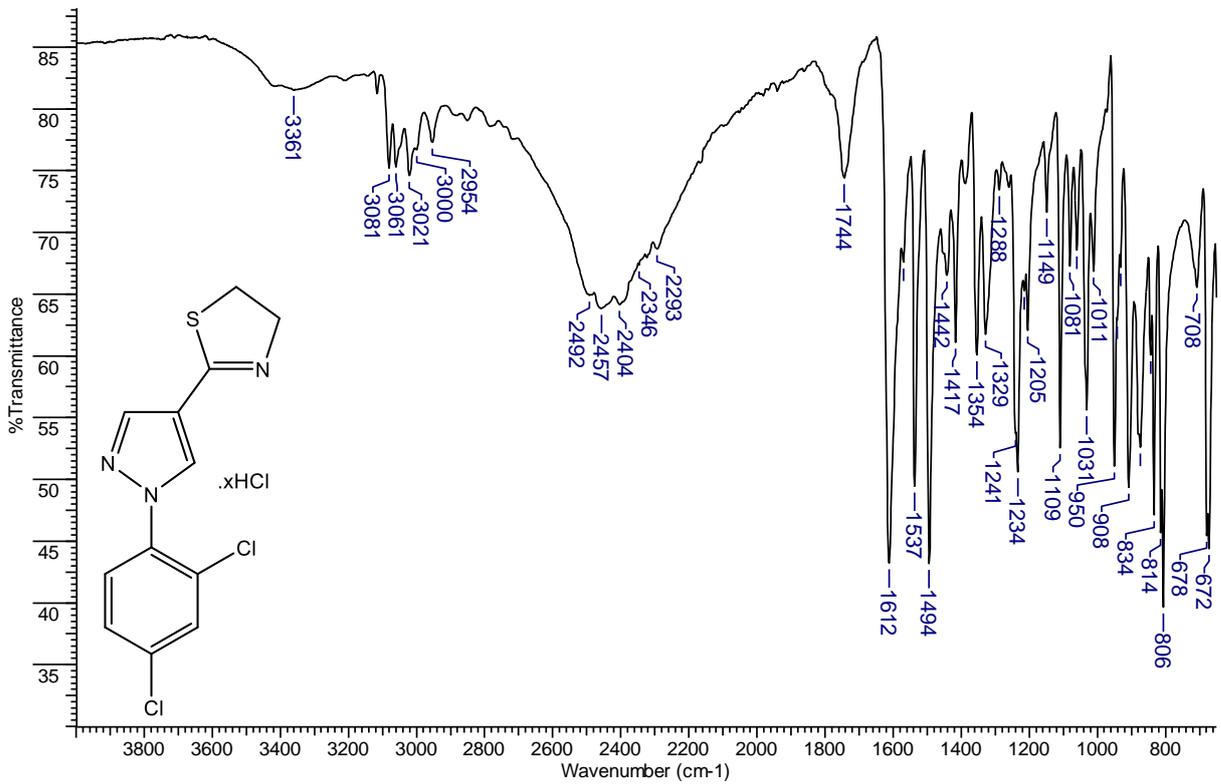
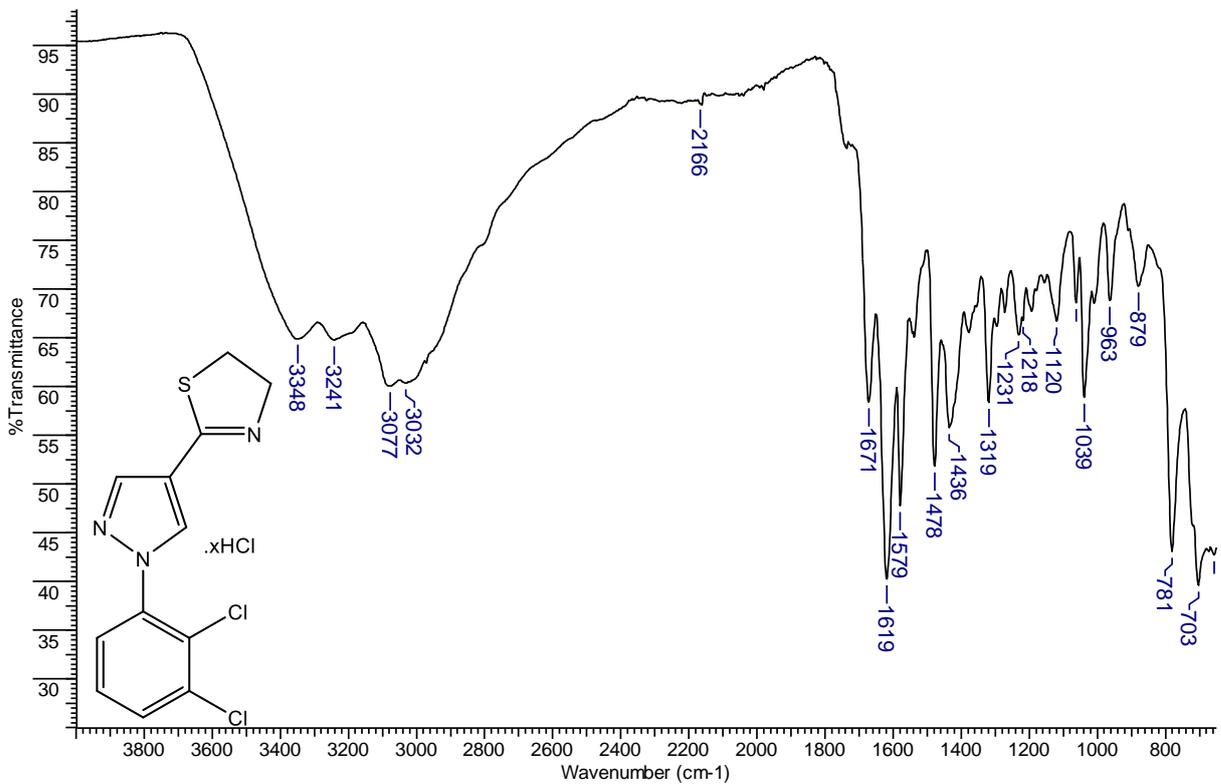
Espectro 115: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2a.HCl**.**Espectro 116:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2b.HCl**.

Espectro 117: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2c.HCl**.**Espectro 118:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2d.HCl**.

Espectro 119: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2e.HCl**.**Espectro 120:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2f.HCl**.

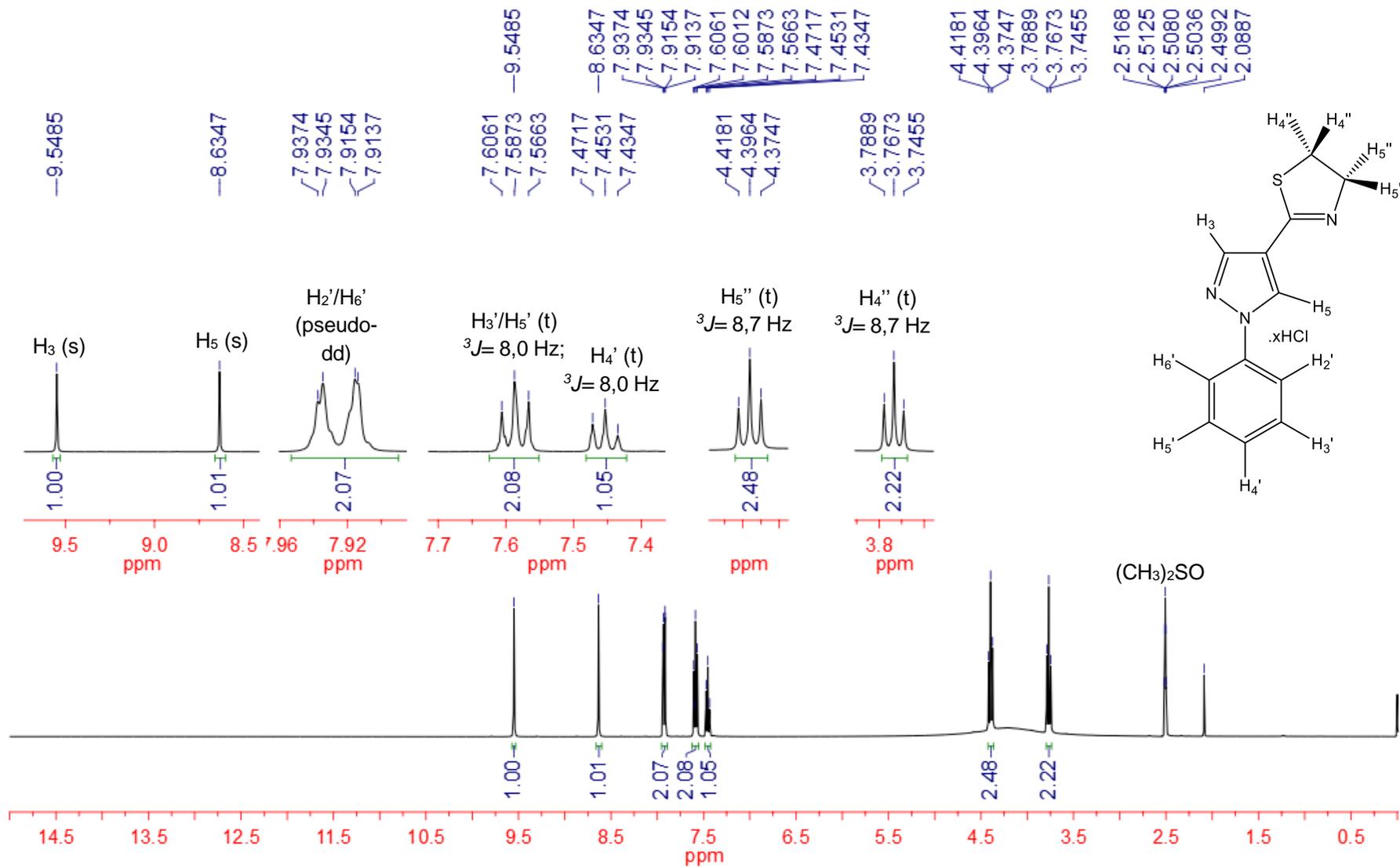
Espectro 121: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2g.HCl**.**Espectro 122:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2h.HCl**.

Espectro 123: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2i.HCl**.**Espectro 124:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2j.HCl**.

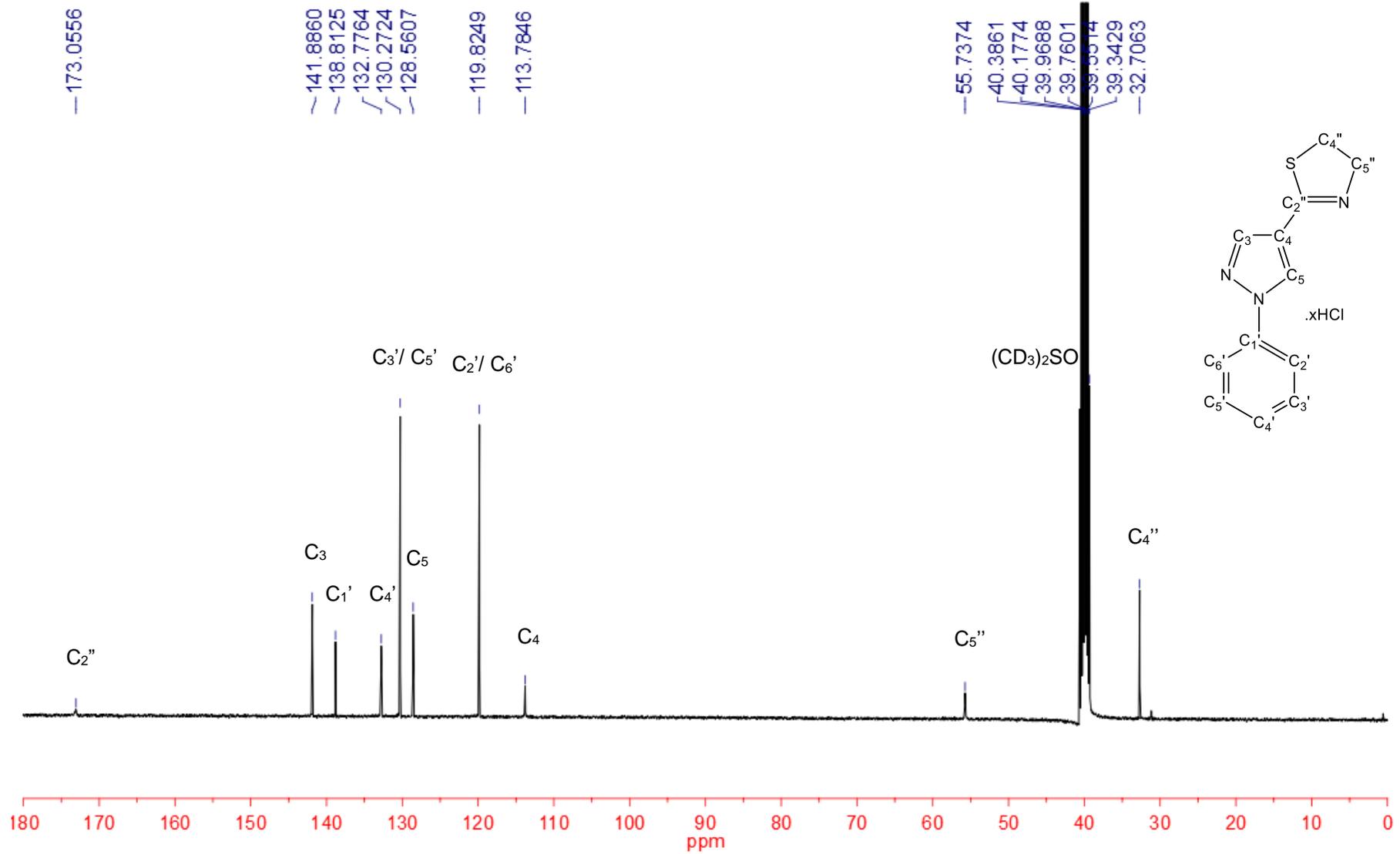
Espectro 125: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2k.HCl**.**Espectro 126:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **2l.HCl**.

**ANEXO J – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear dos
derivados 2(a-l).HCl**

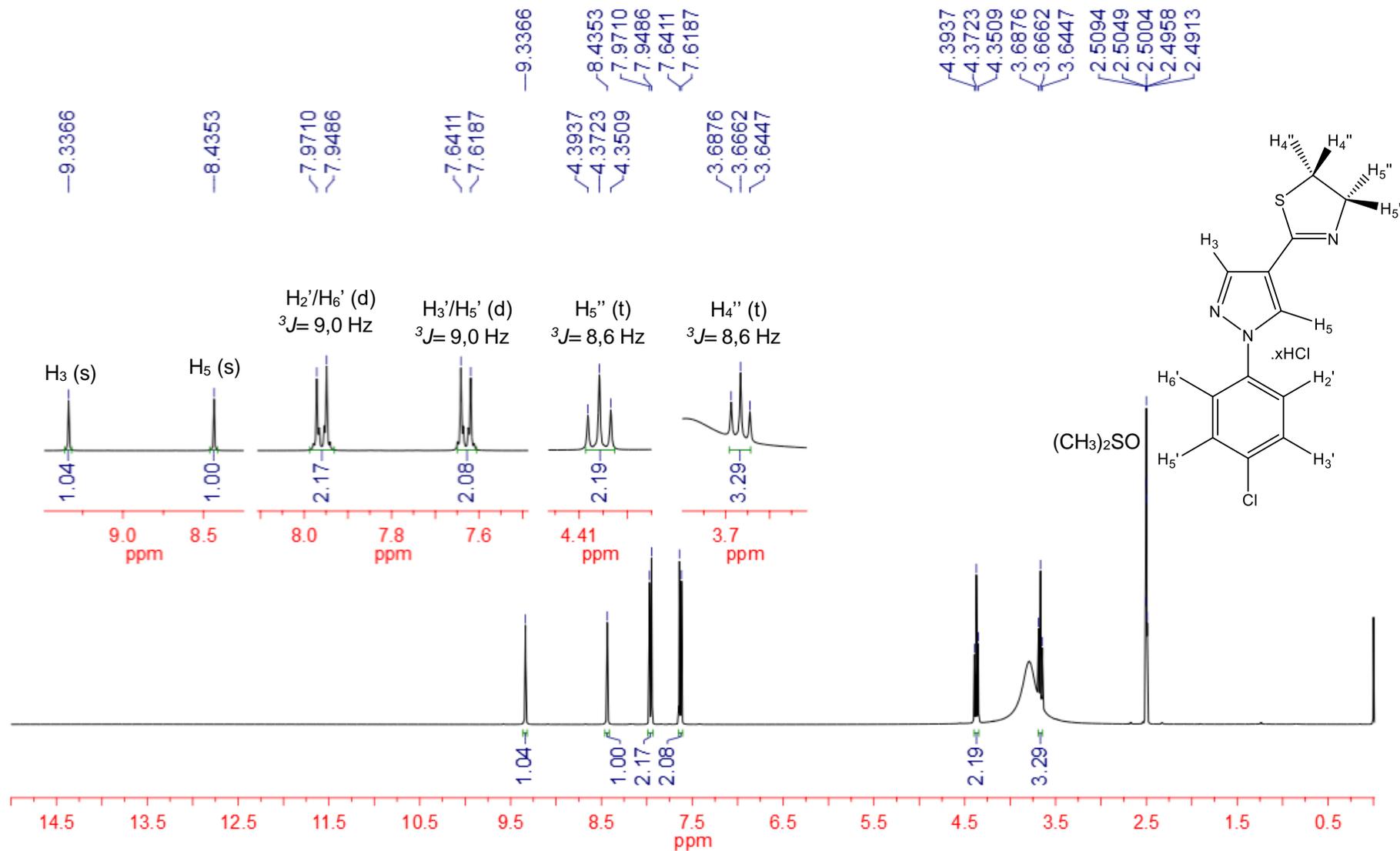
Espectro 127: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2a.HCl**.



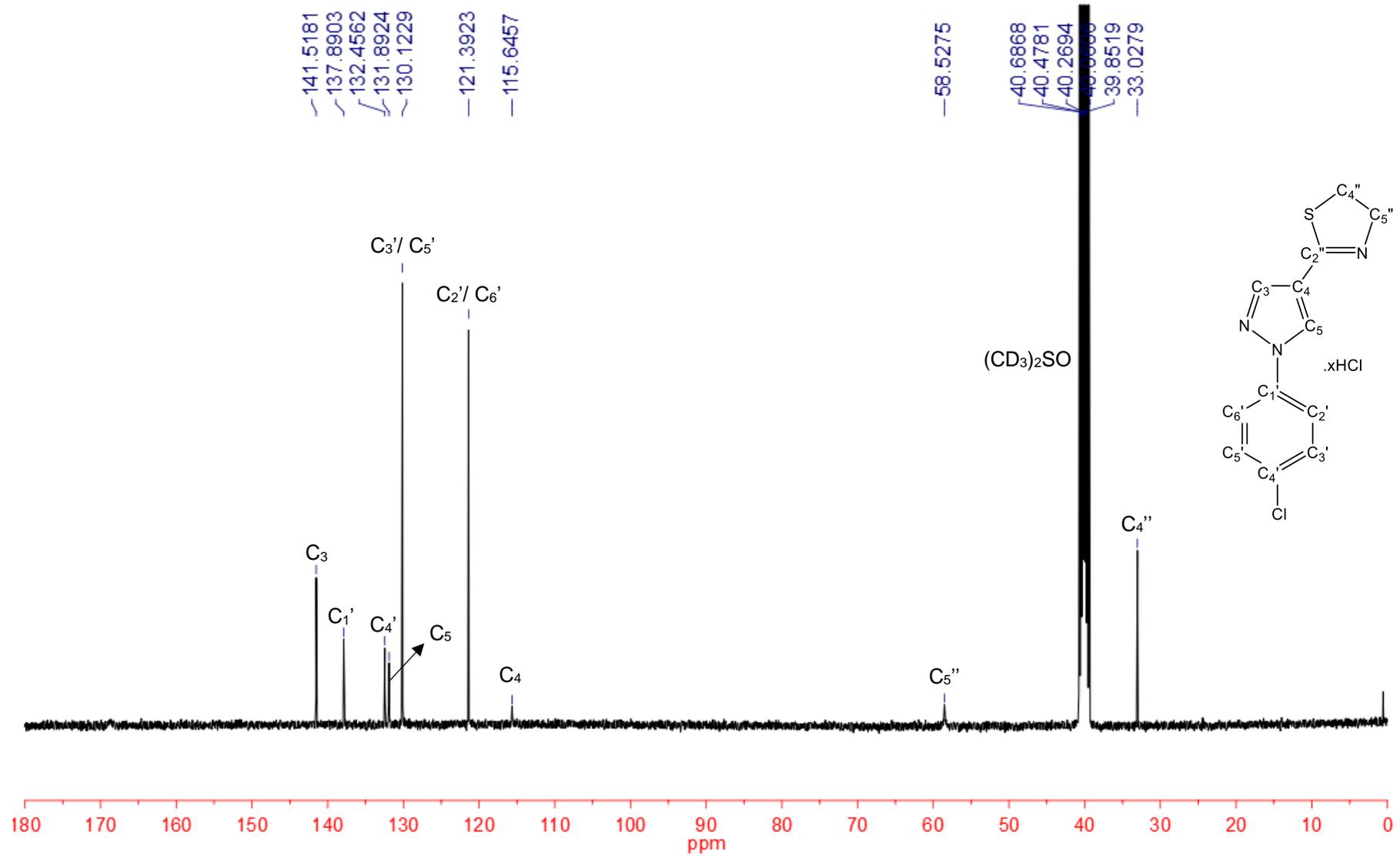
Espectro 128: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2a.HCl**.



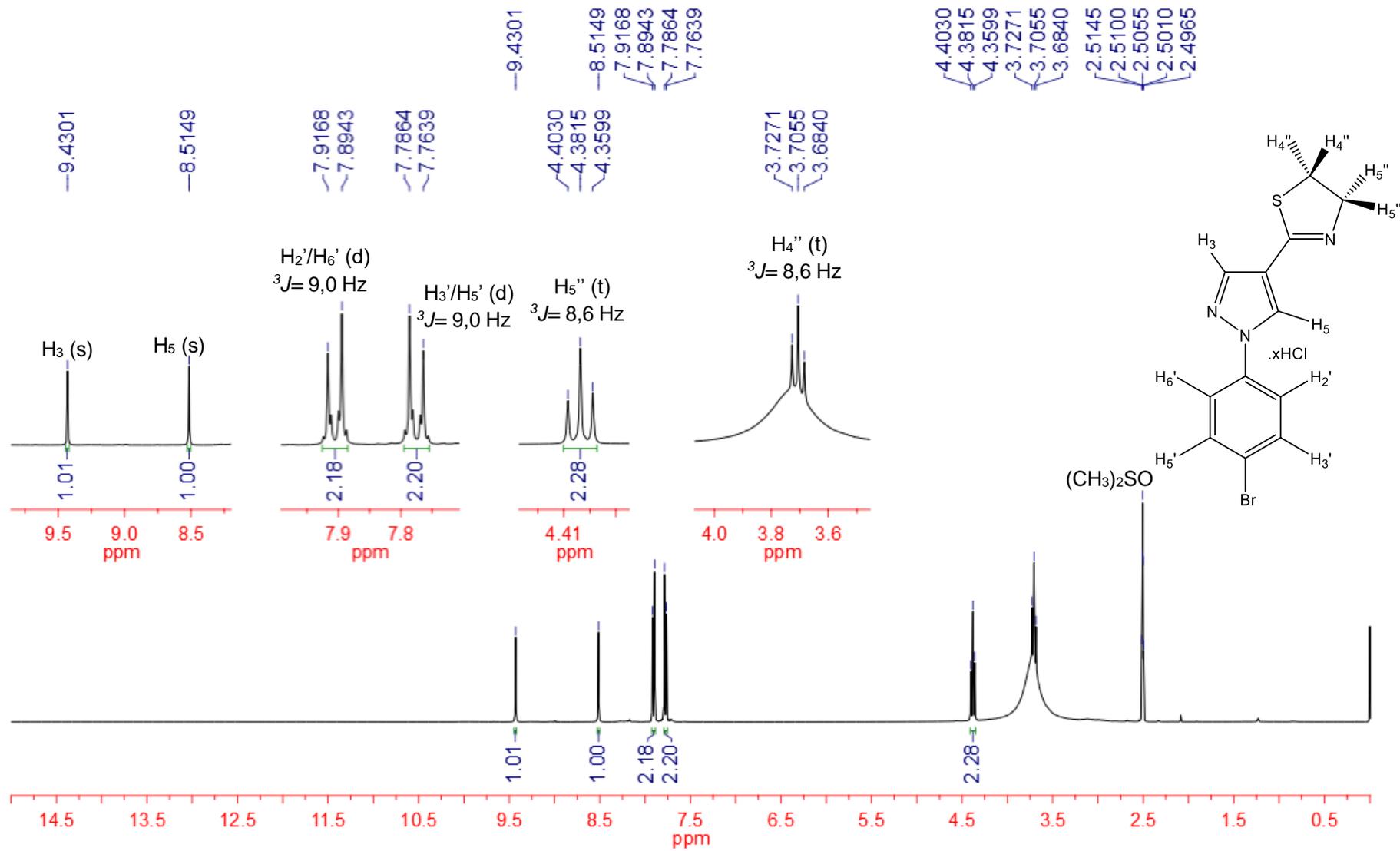
Espectro 129: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2b.HCl**.



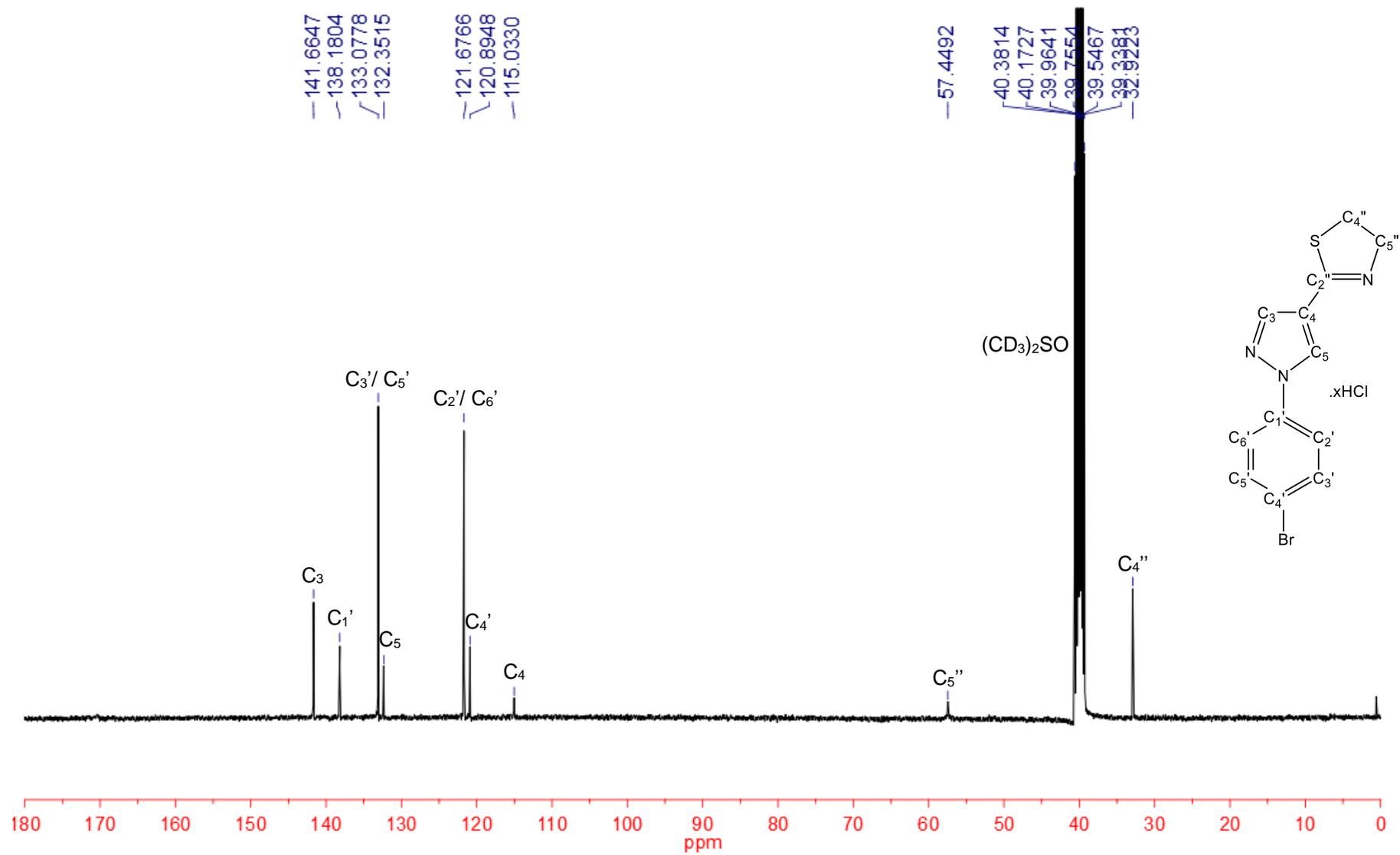
Espectro 130: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2b.HCl**.



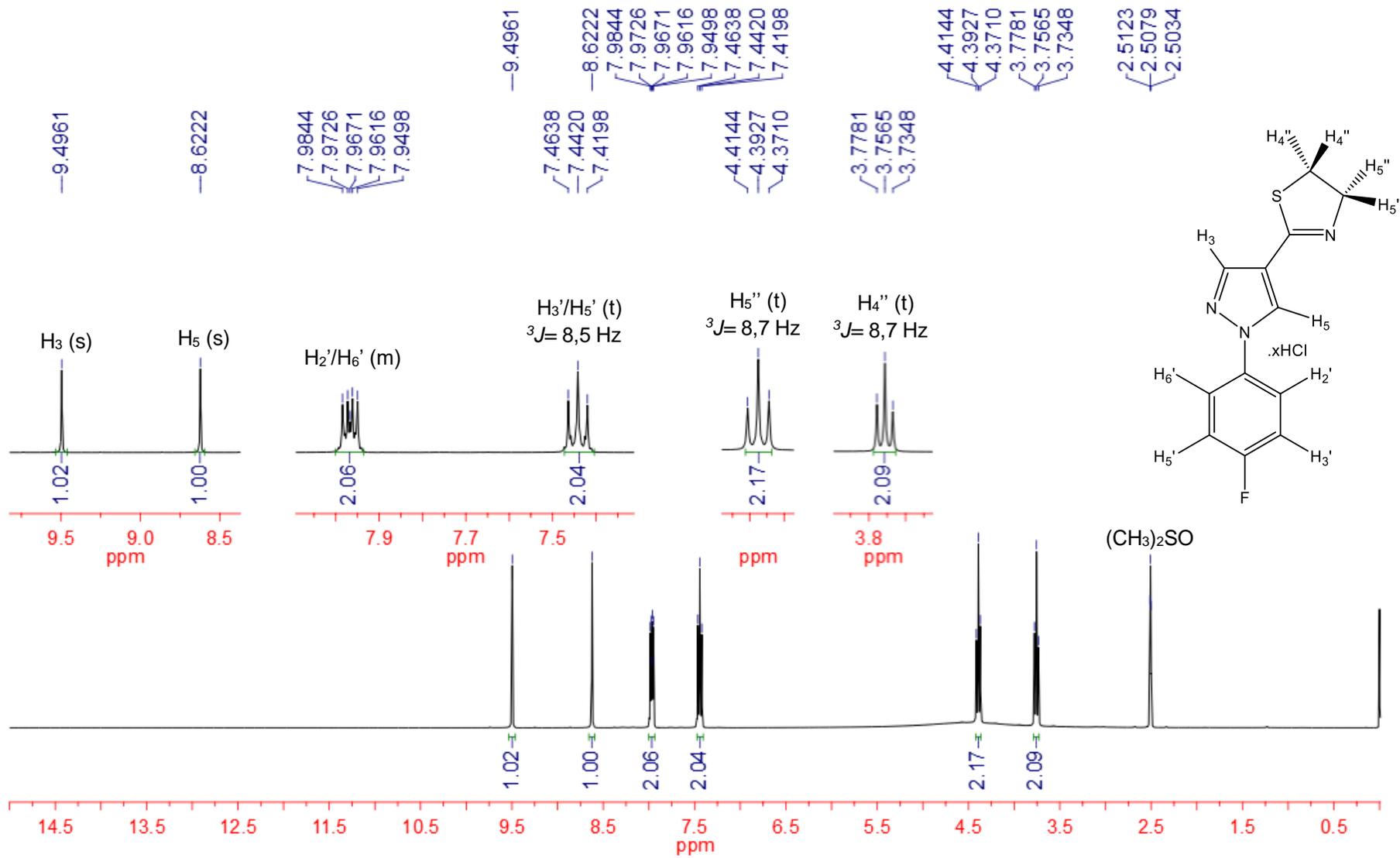
Espectro 131: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2c.HCl**.



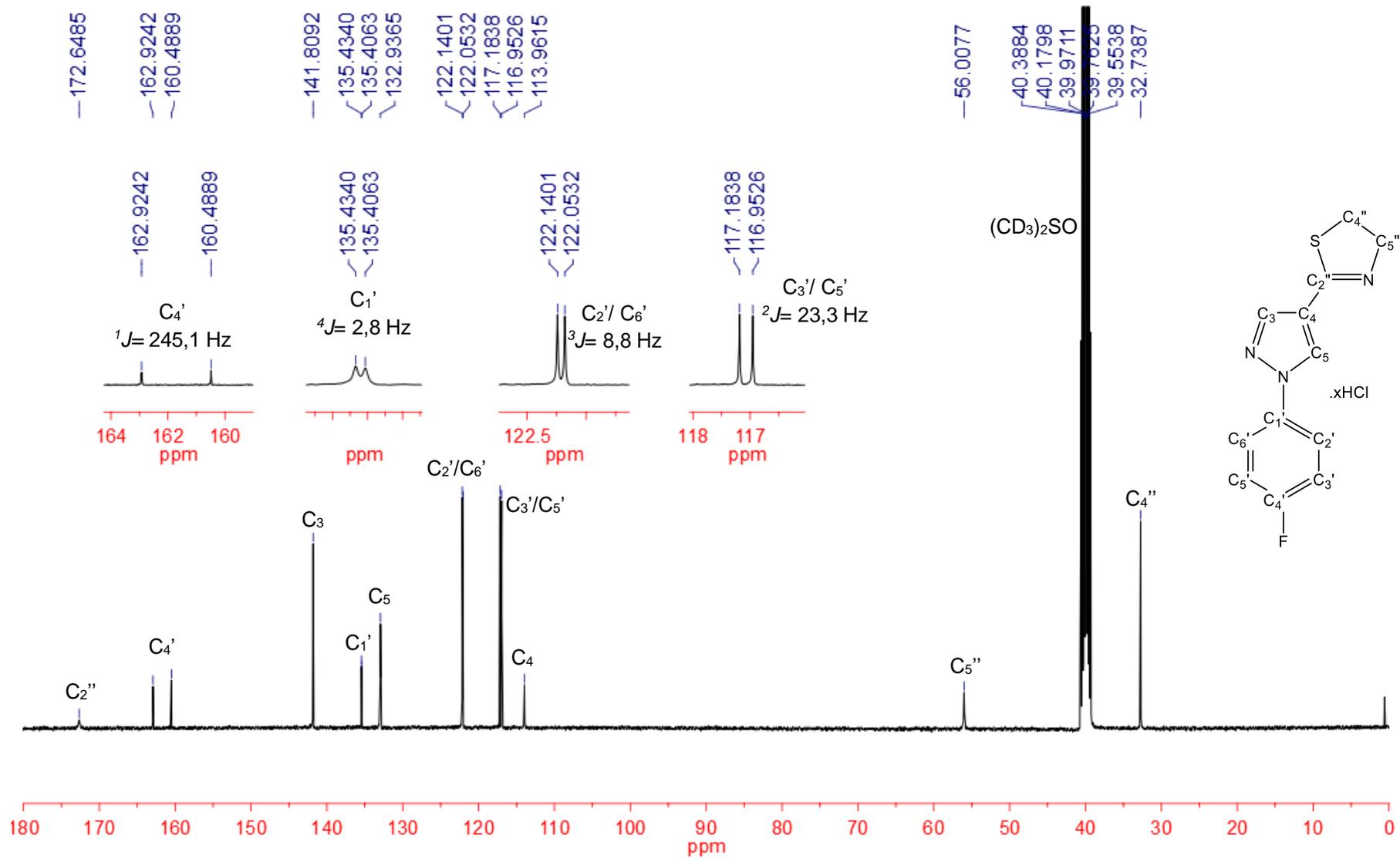
Espectro 132: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2c.HCl**.



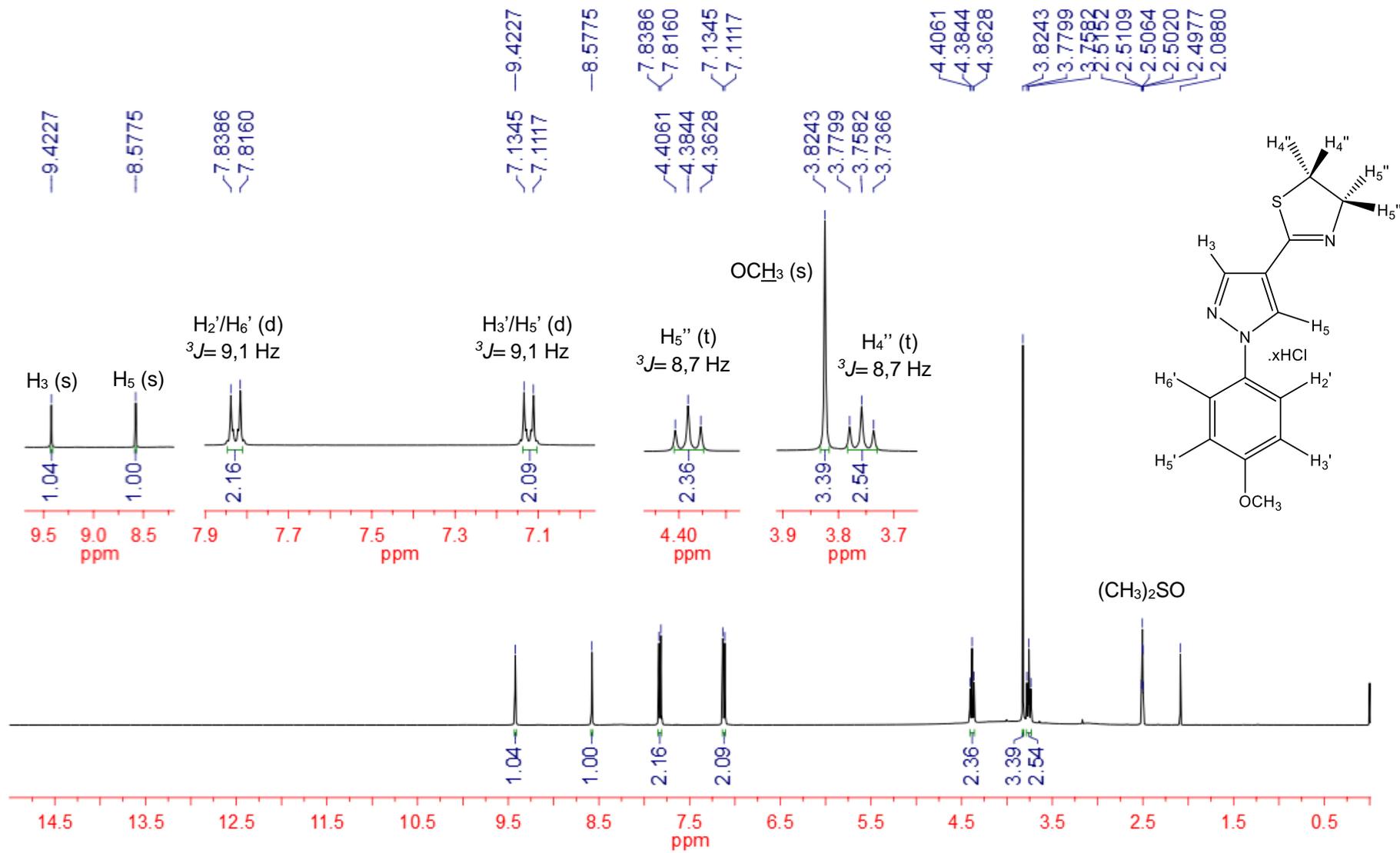
Espectro 133: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2d.HCl**.



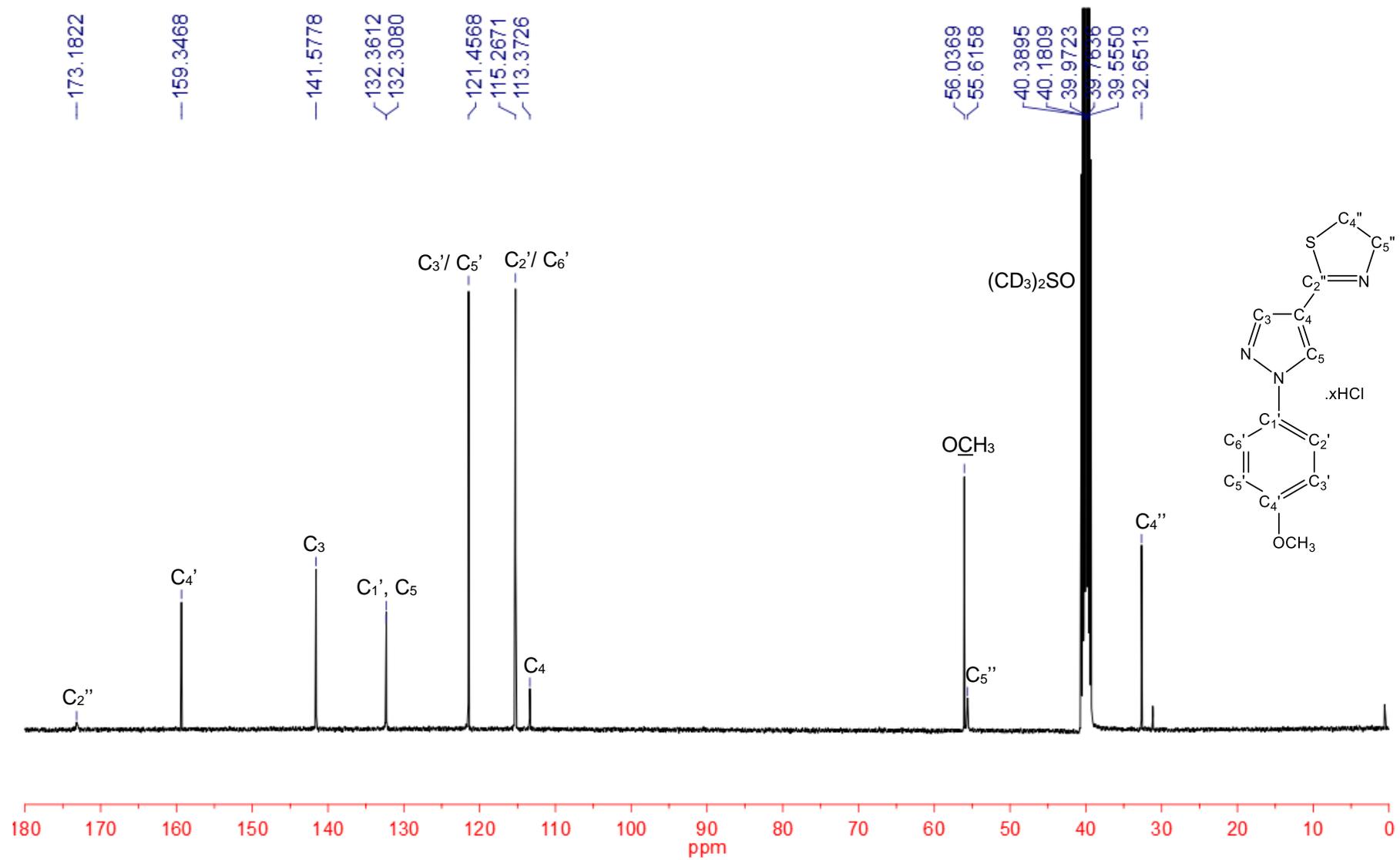
Espectro 134: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2d.HCl**.



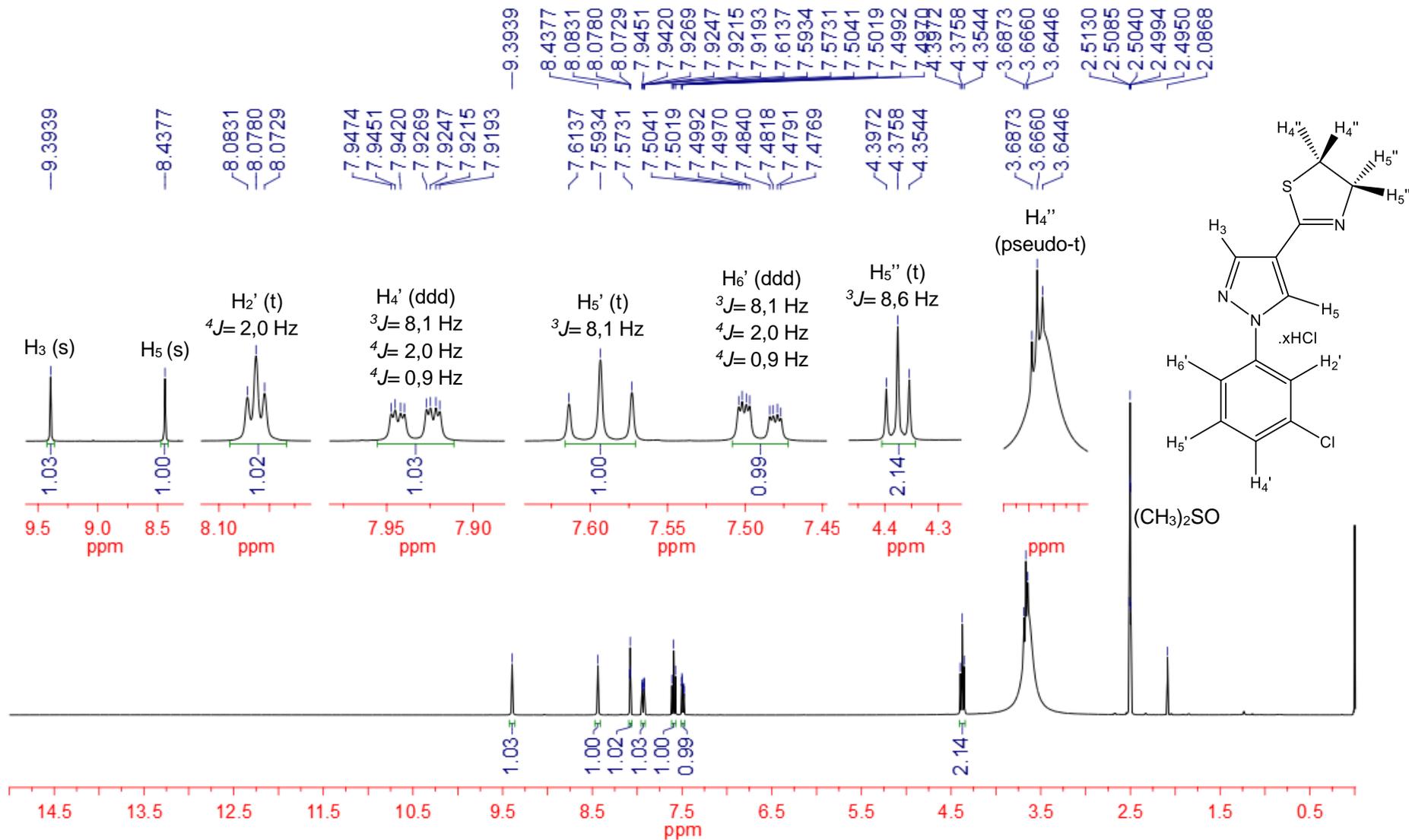
Espectro 135: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2e.HCl**.



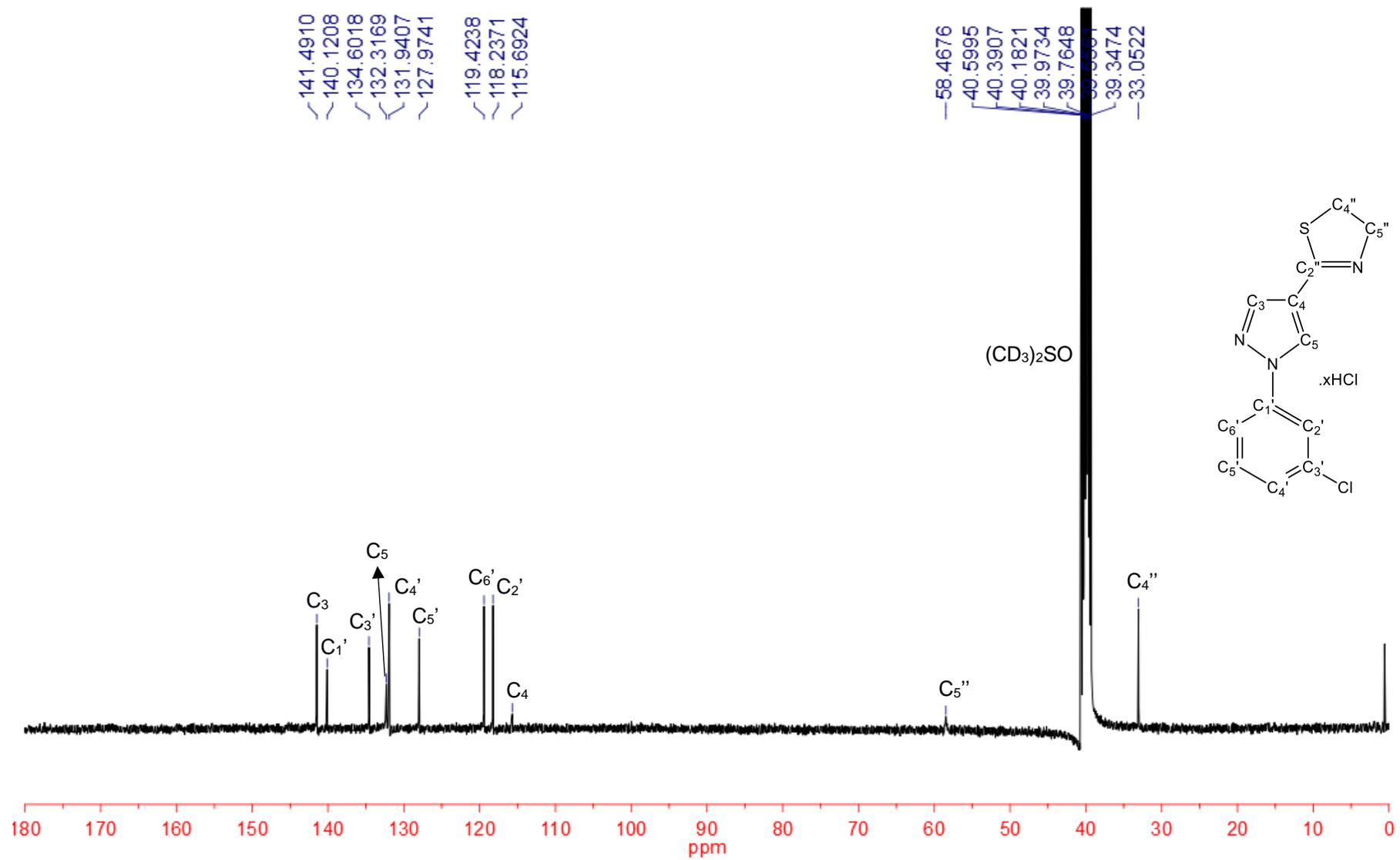
Espectro 136: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2e.HCl**.



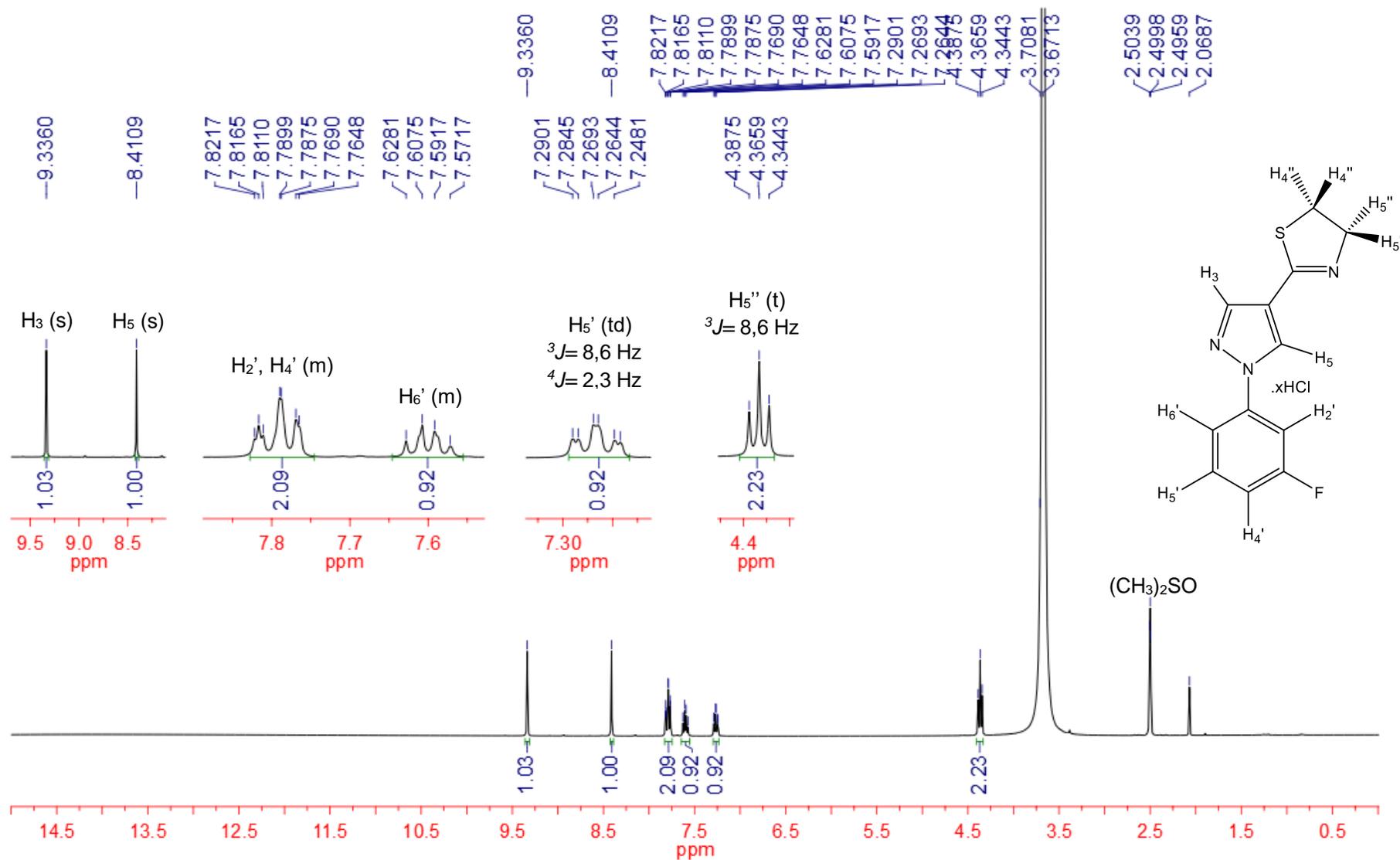
Espectro 137: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2f.HCl**.



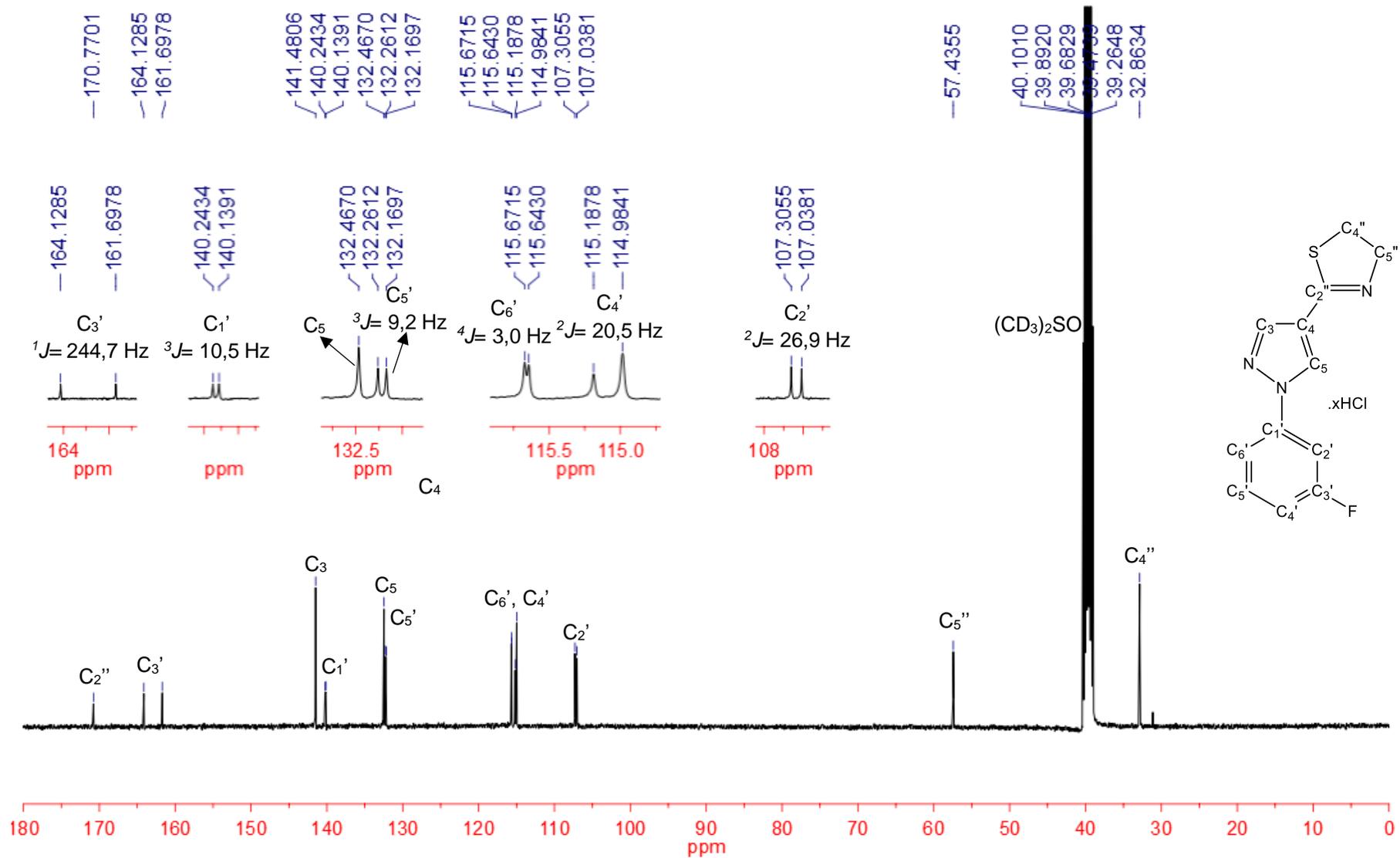
Espectro 138: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2f.HCl**.



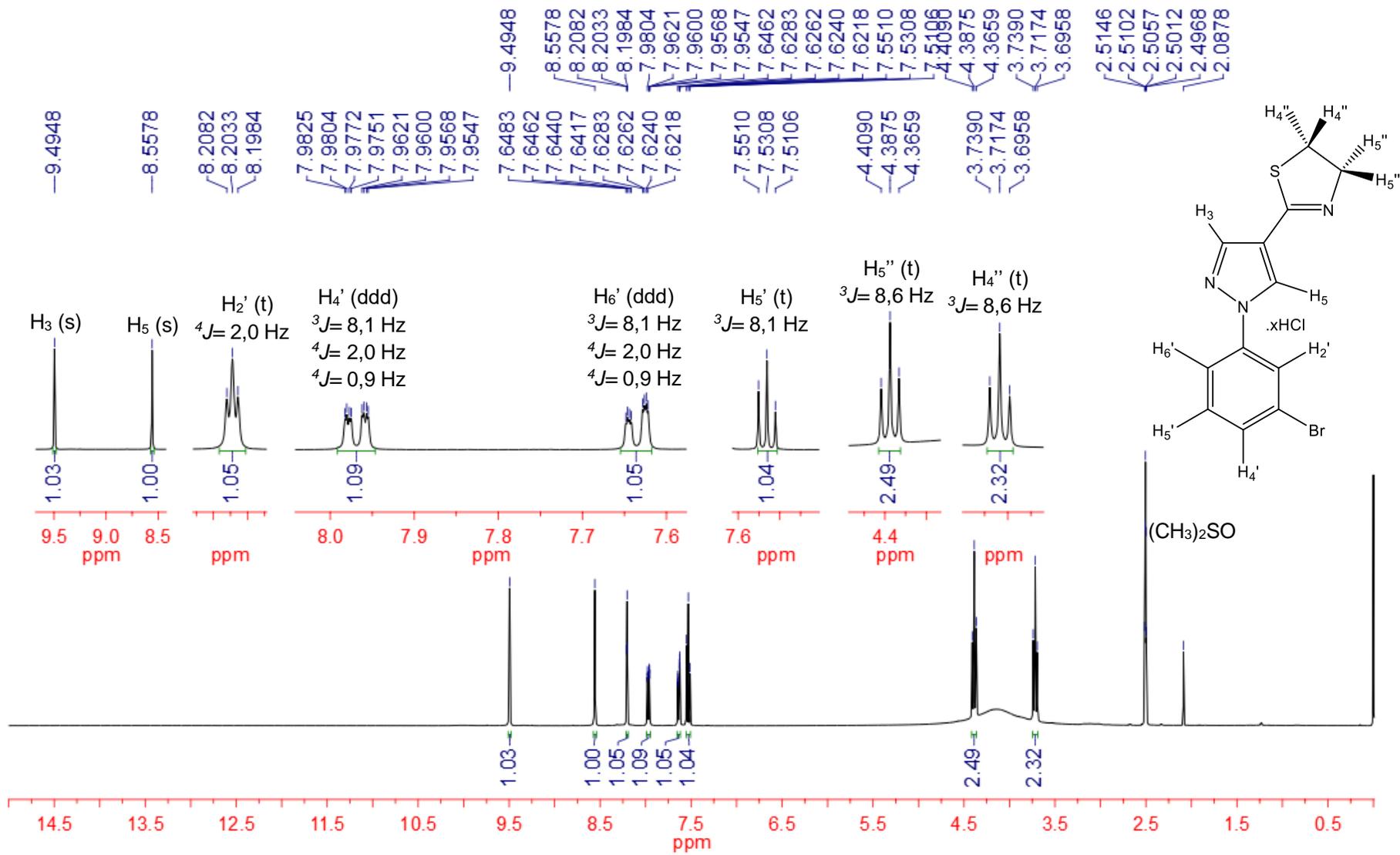
Espectro 139: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2g.HCl**.



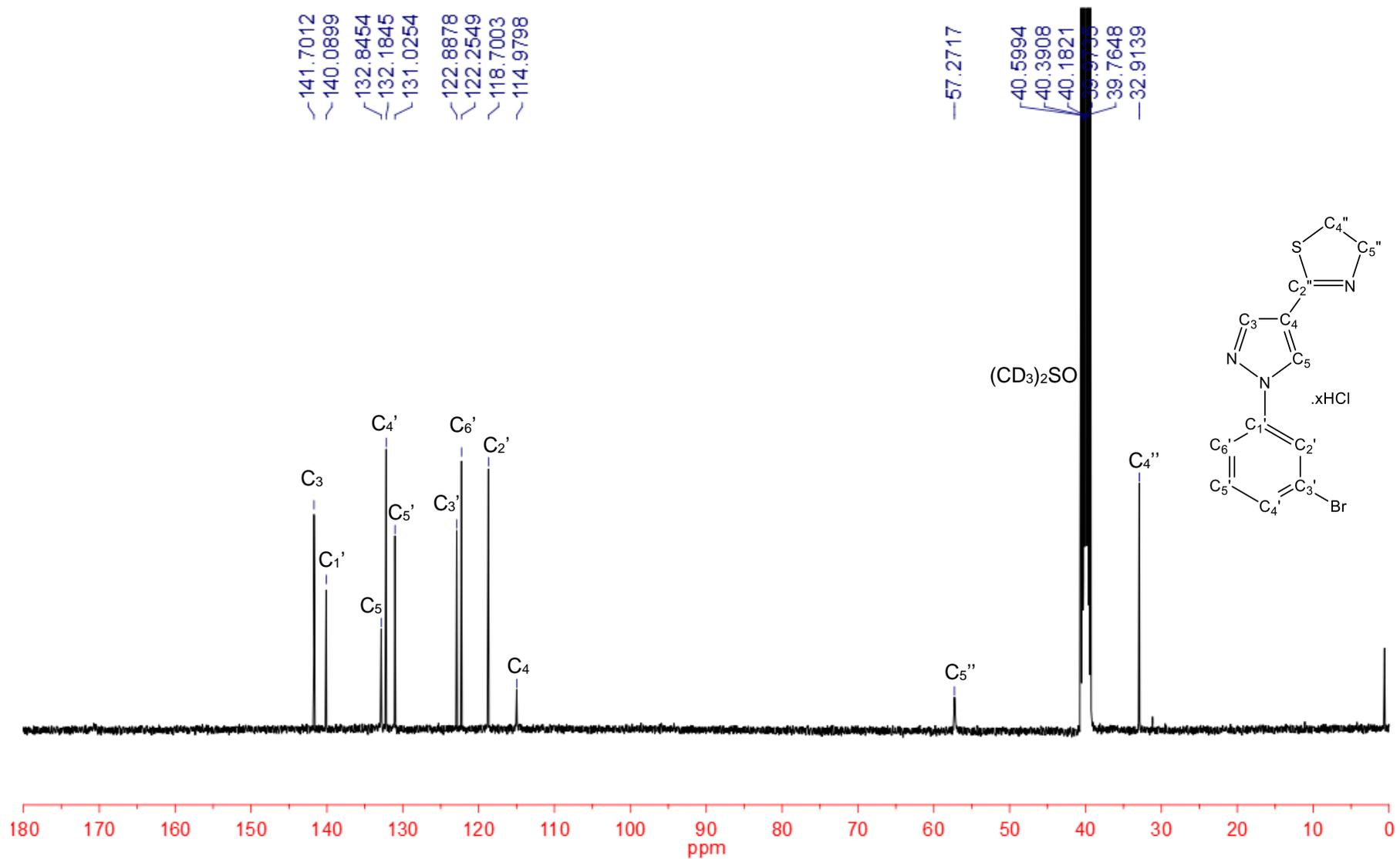
Espectro 140: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2g.HCl**.



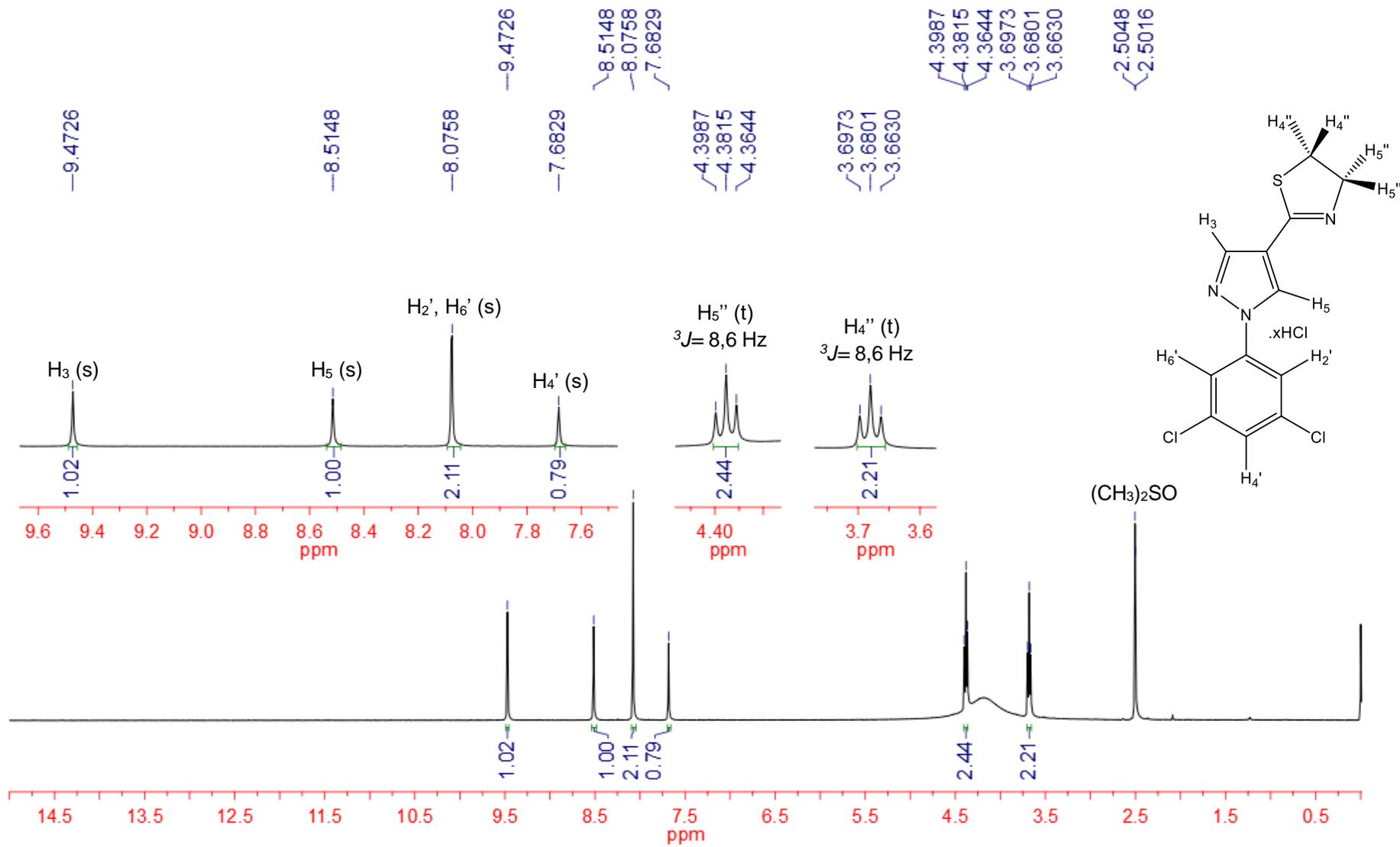
Espectro 141: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2h.HCl**.



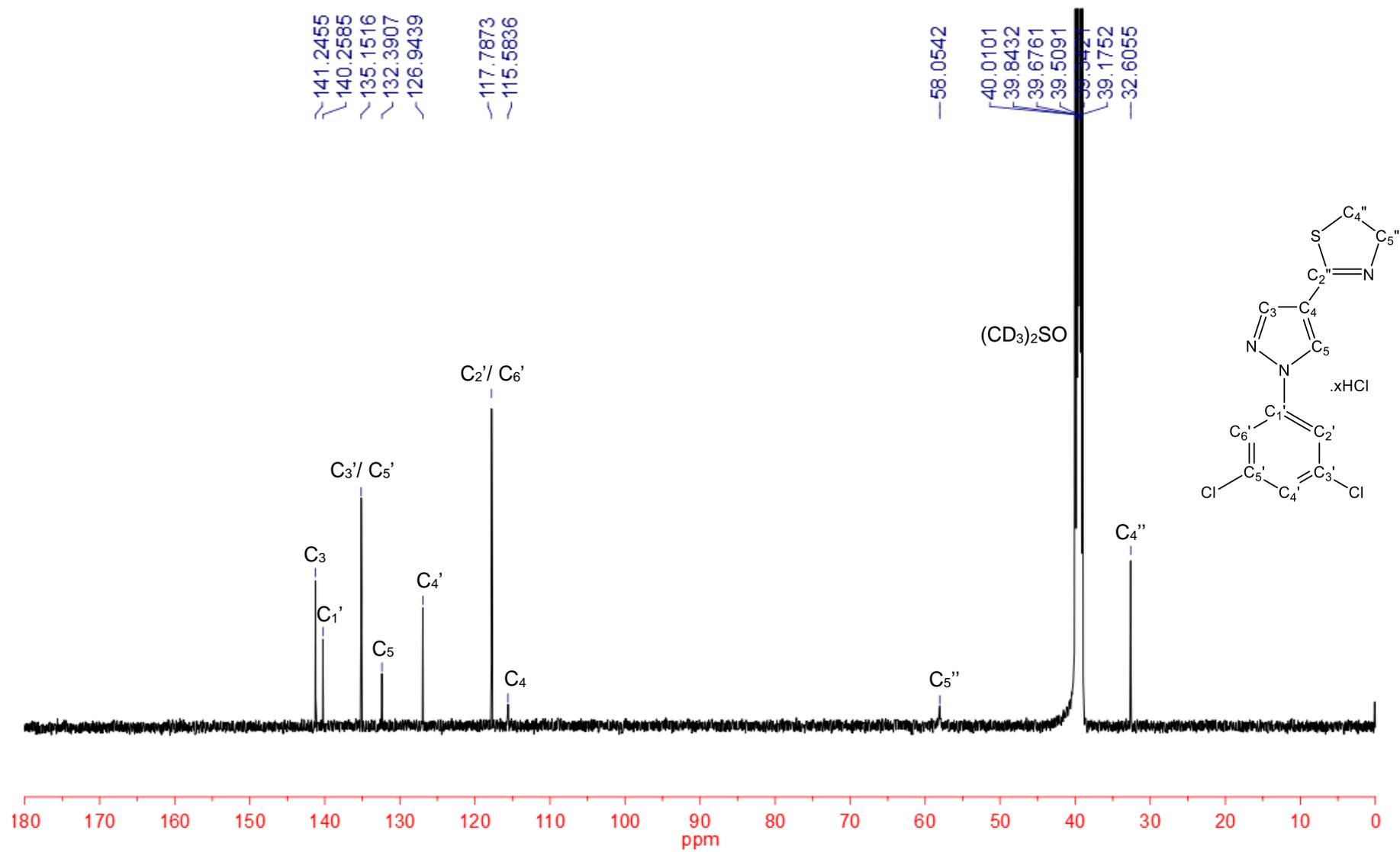
Espectro 142: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2h.HCl**.



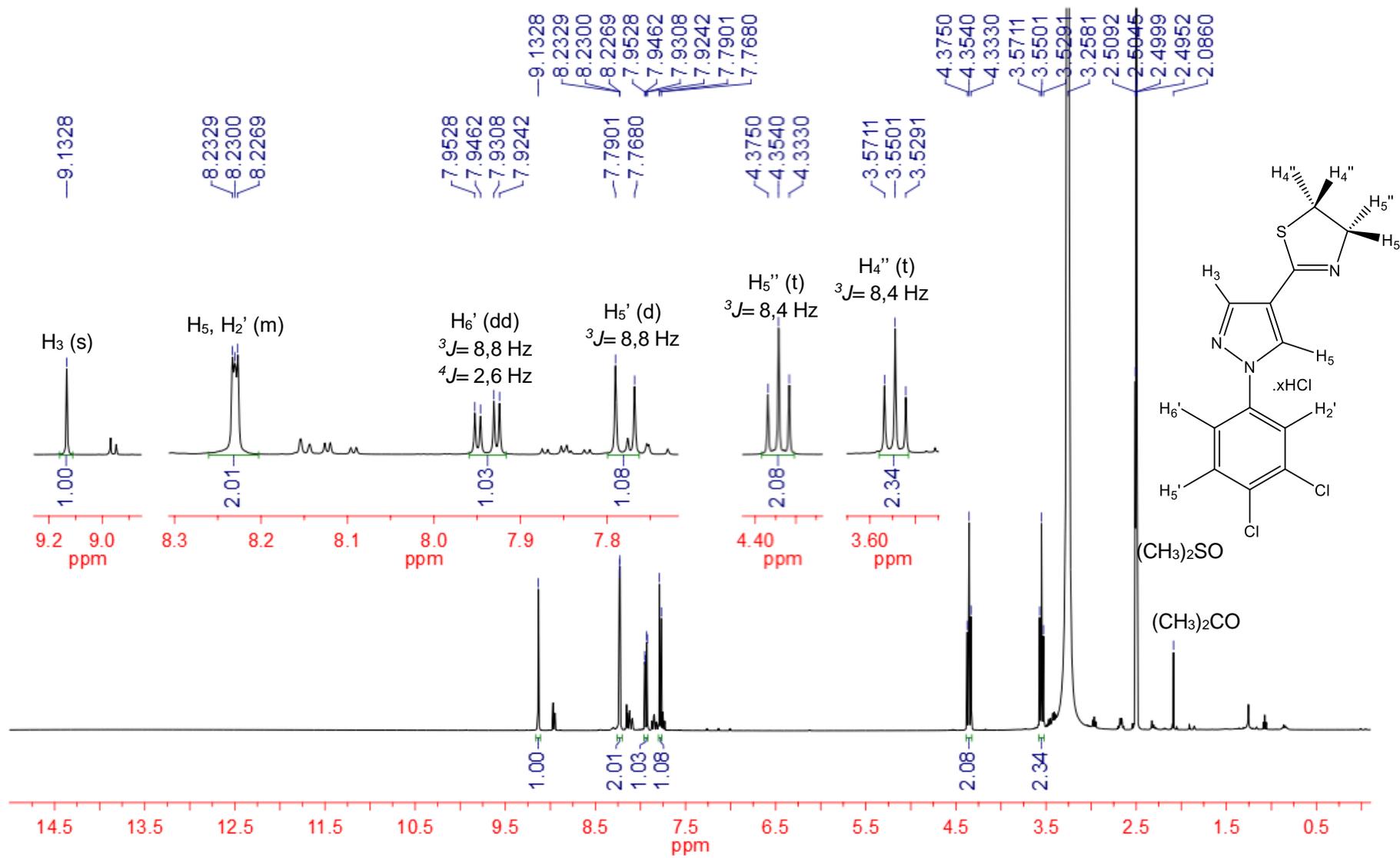
Espectro 143: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2i.HCl**.



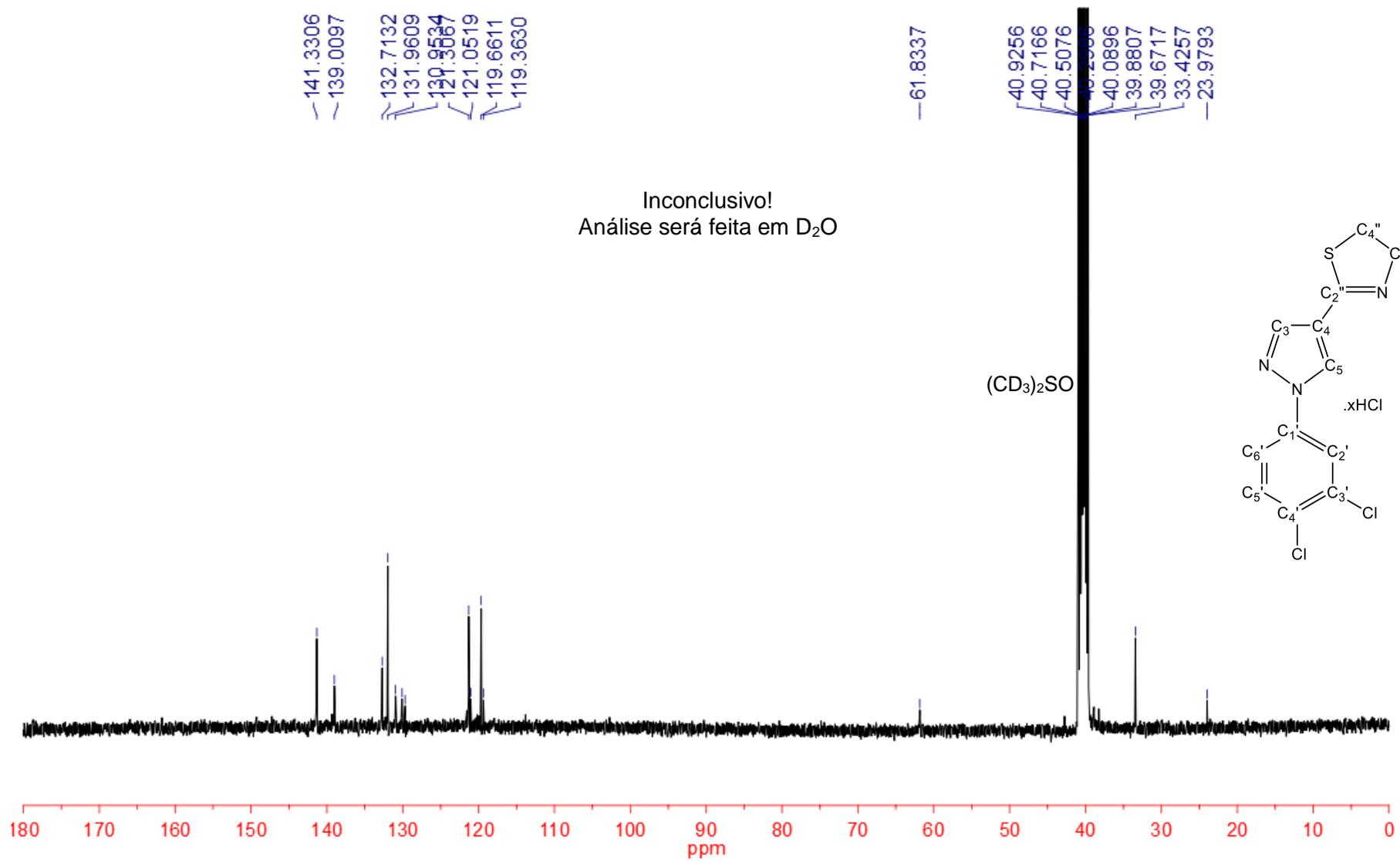
Espectro 144: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2i.HCl**.



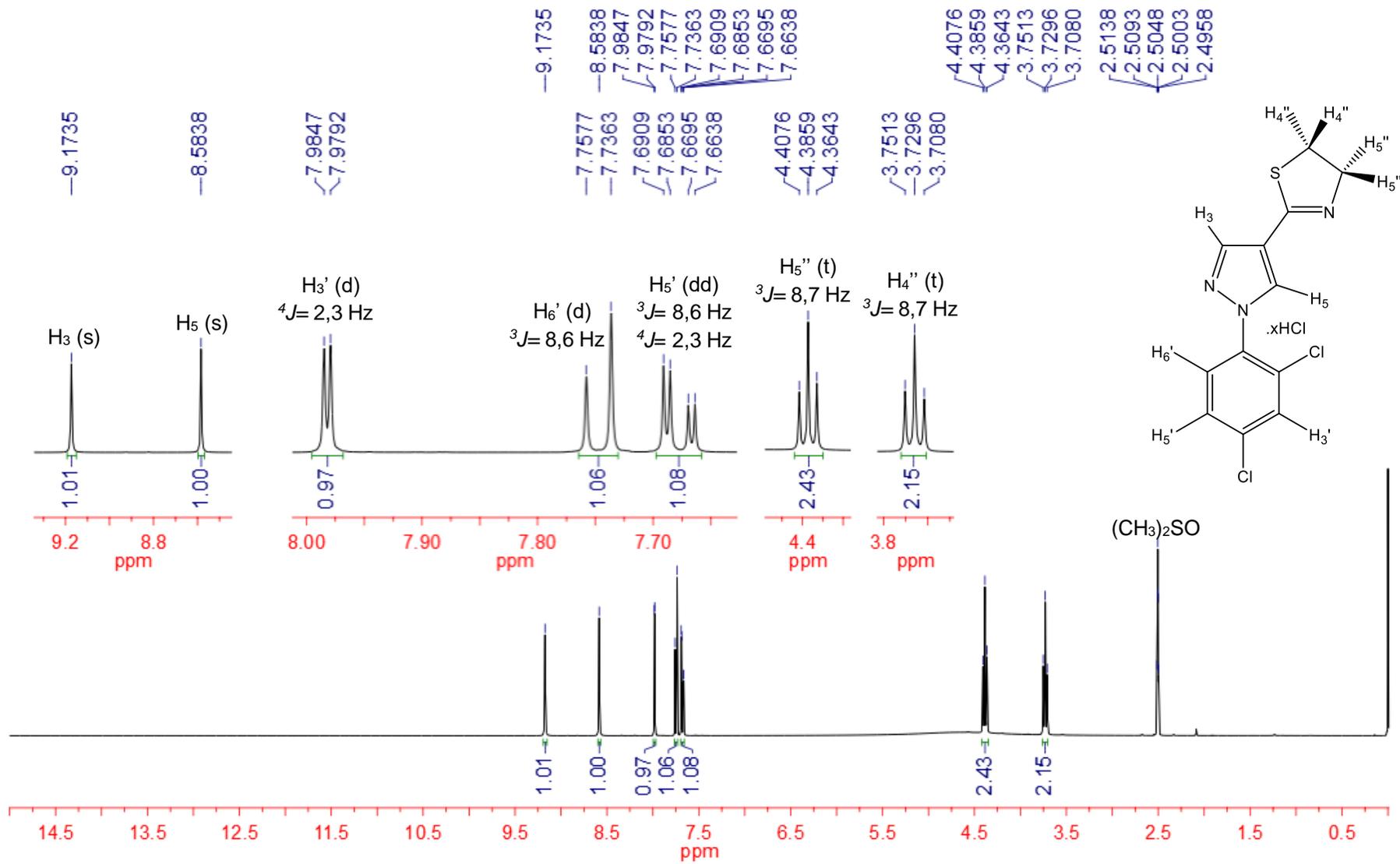
Espectro 145: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2j.HCl**.



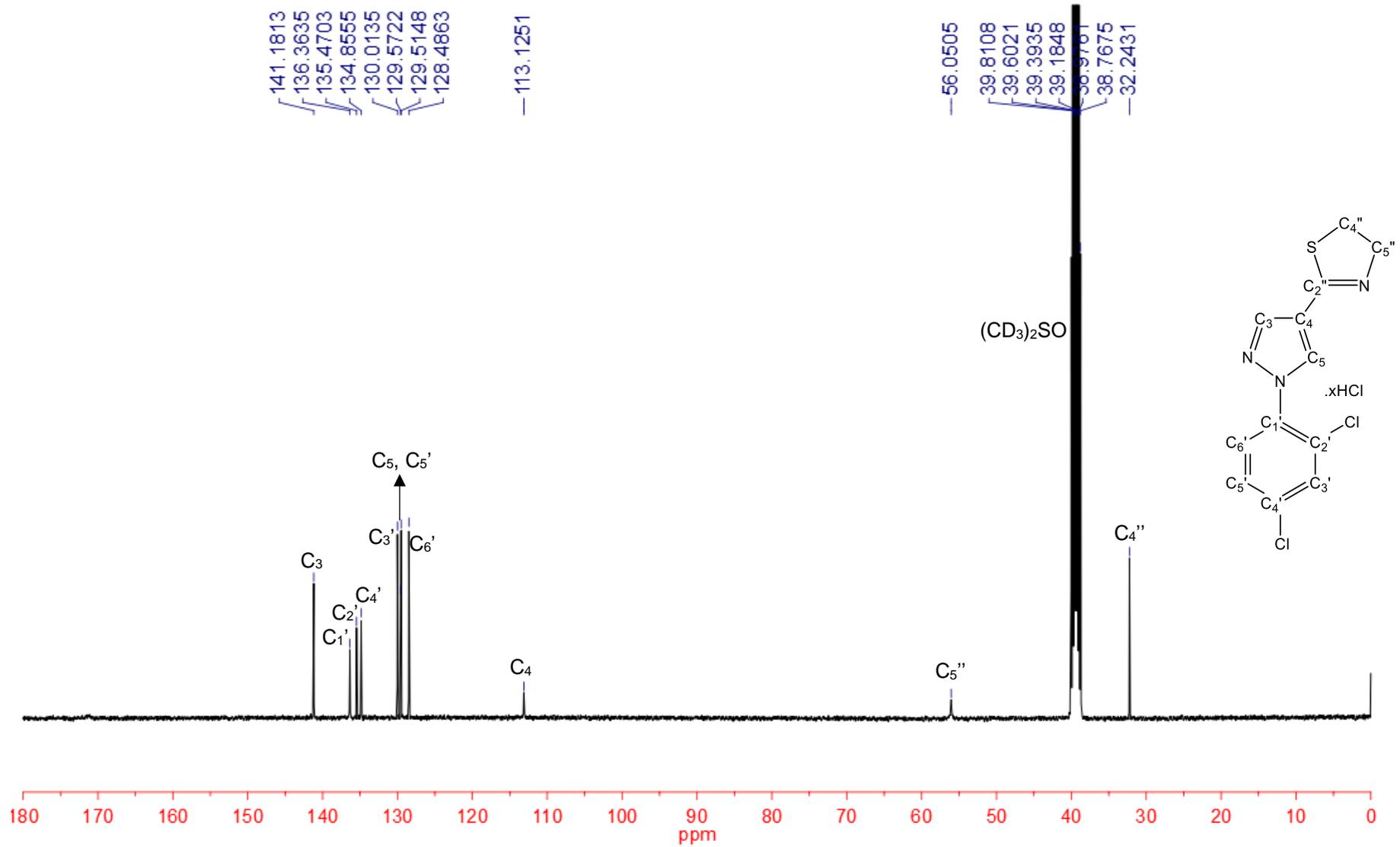
Espectro 146: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2j.HCl**.



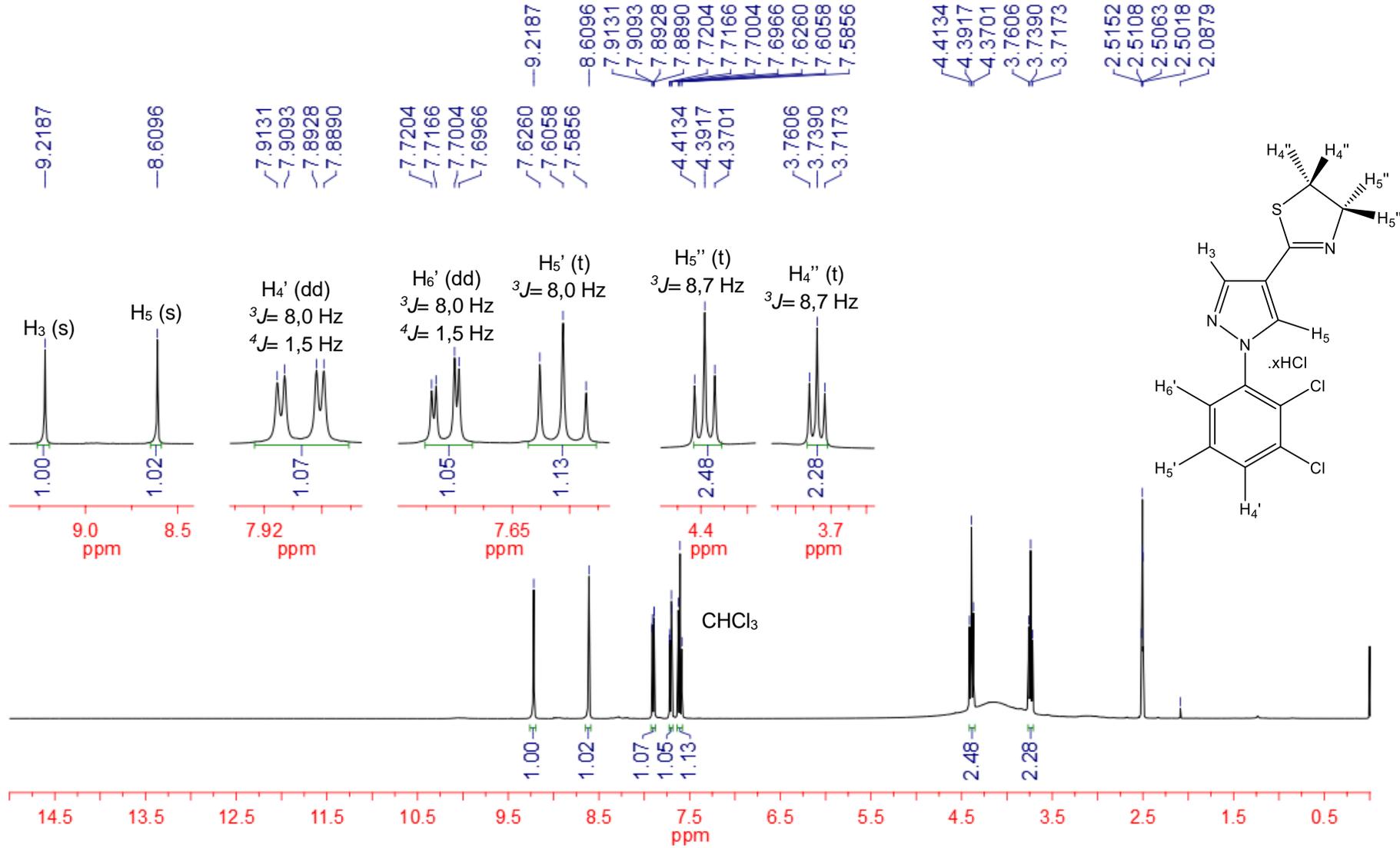
Espectro 147: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2k.HCl**.



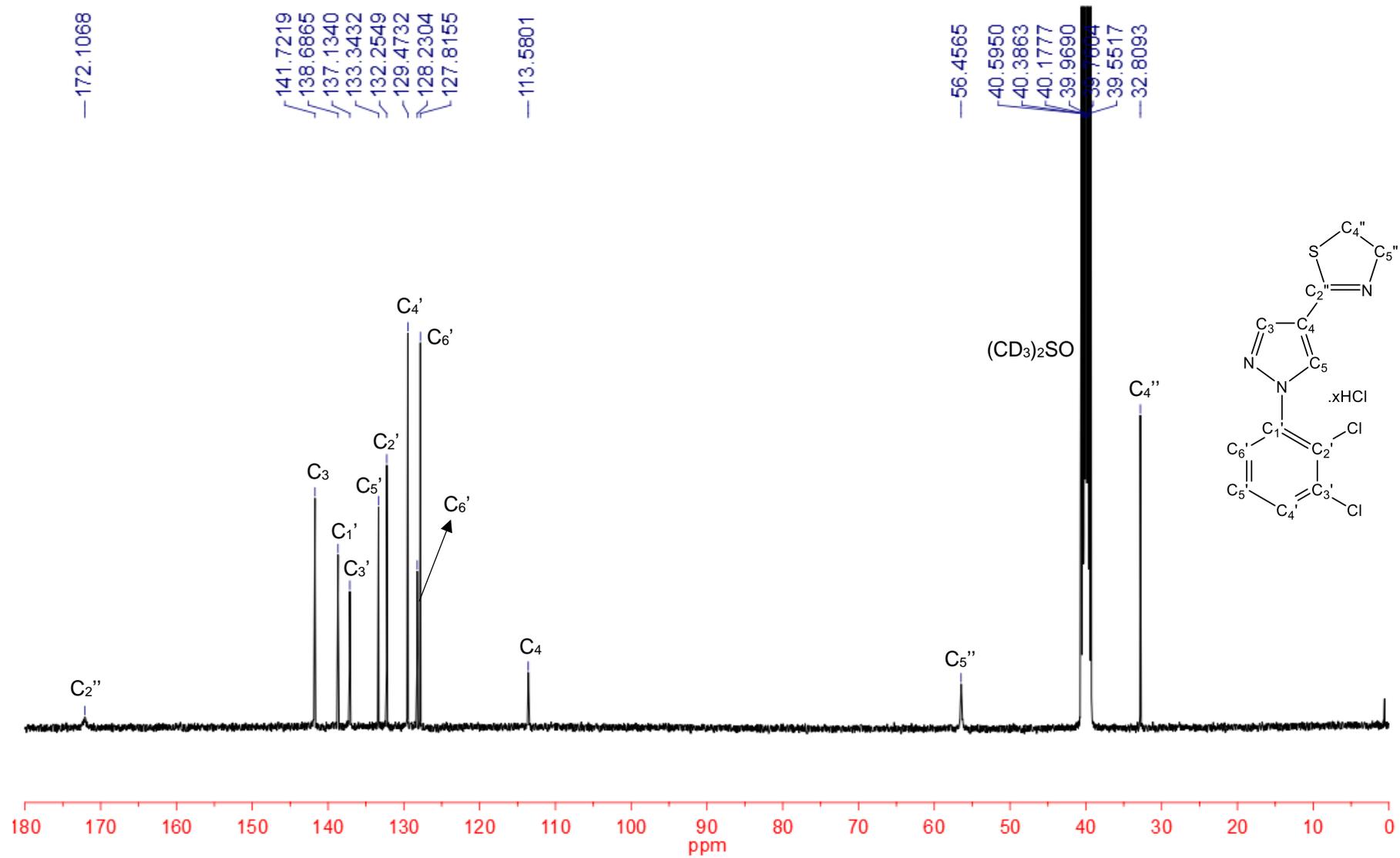
Espectro 148: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **2k.HCl**.



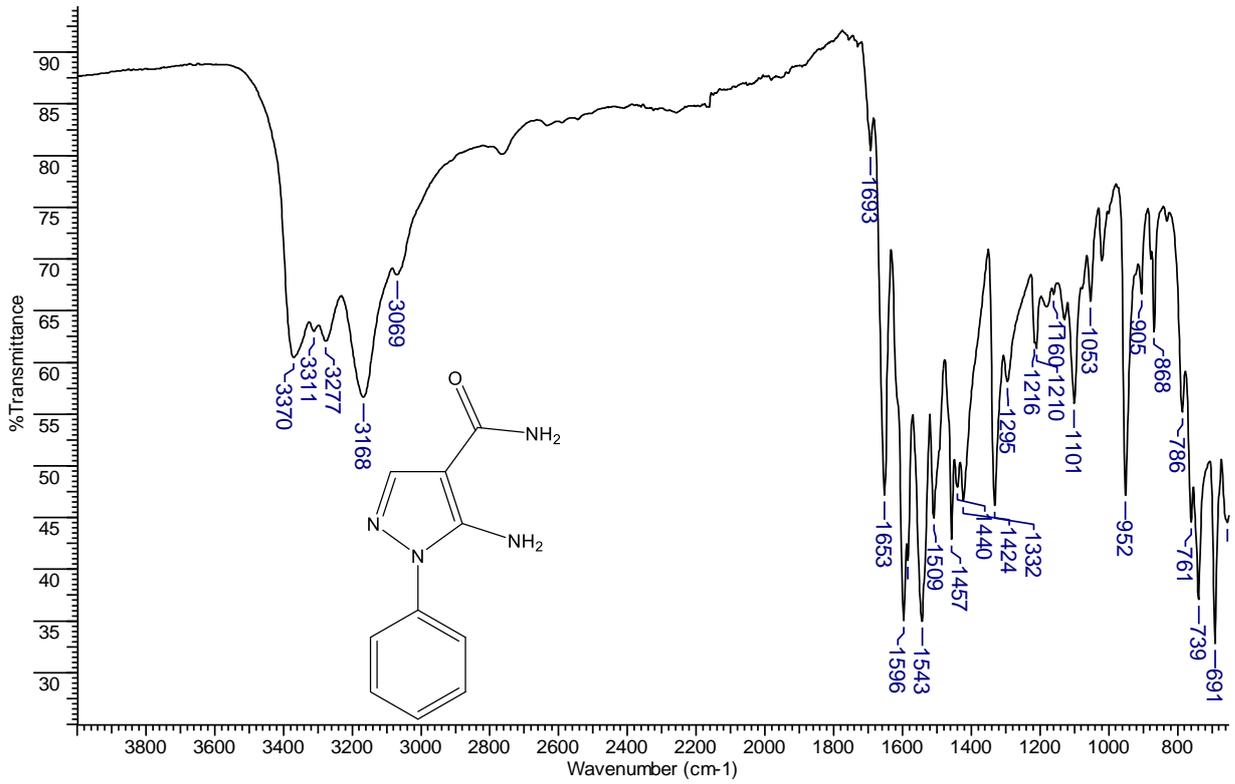
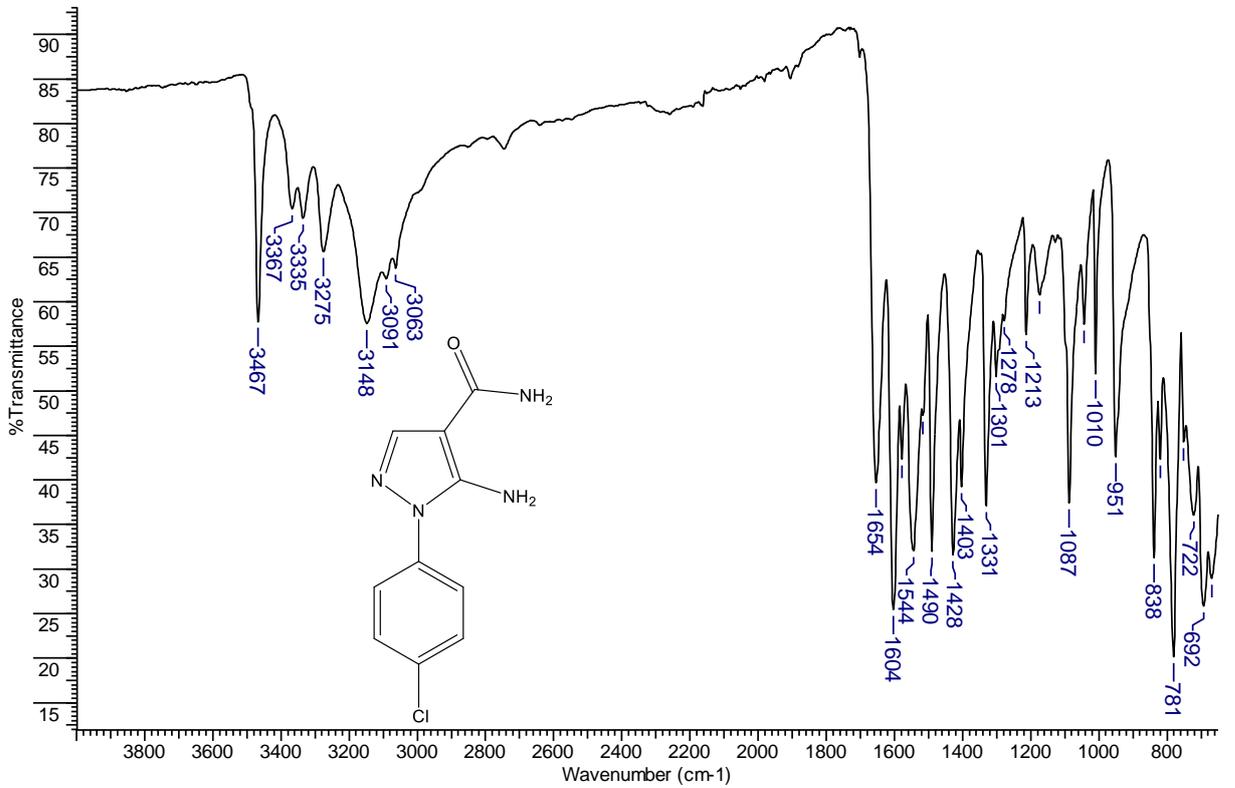
Espectro 149: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-d₆) do derivado **2I.HCl**

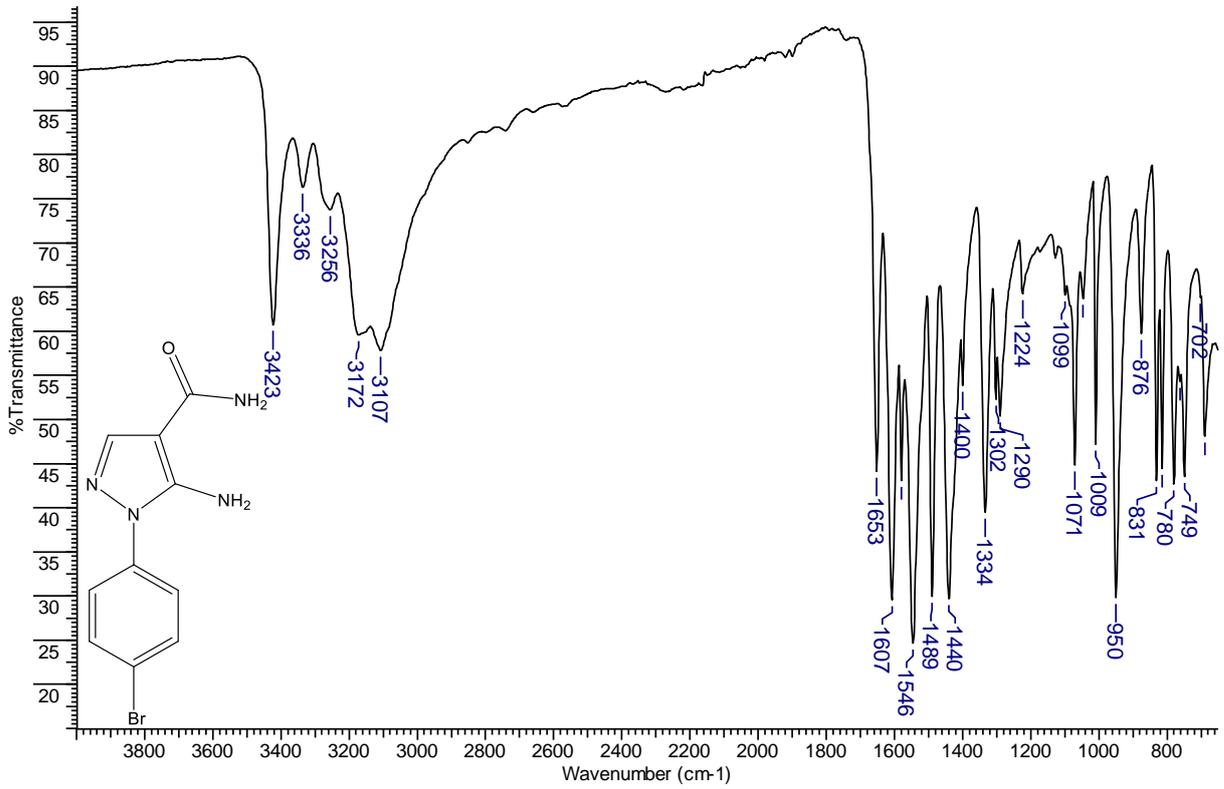
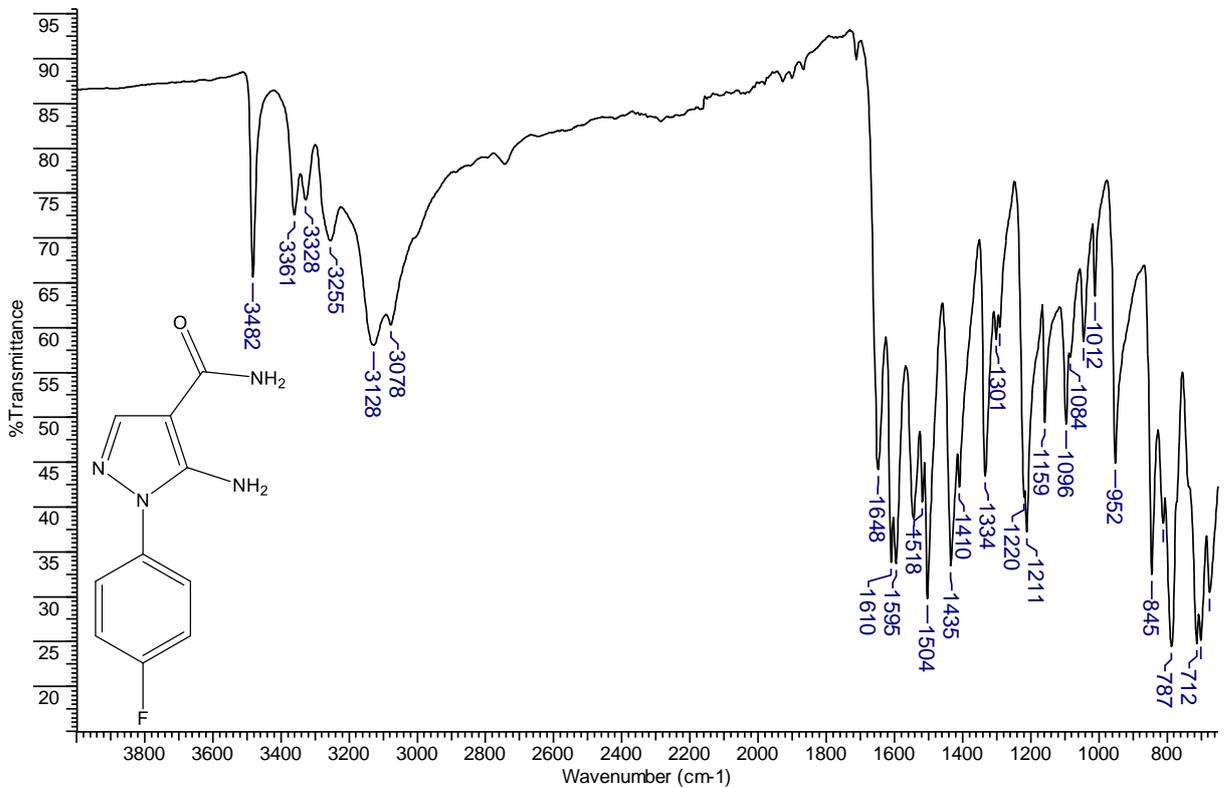


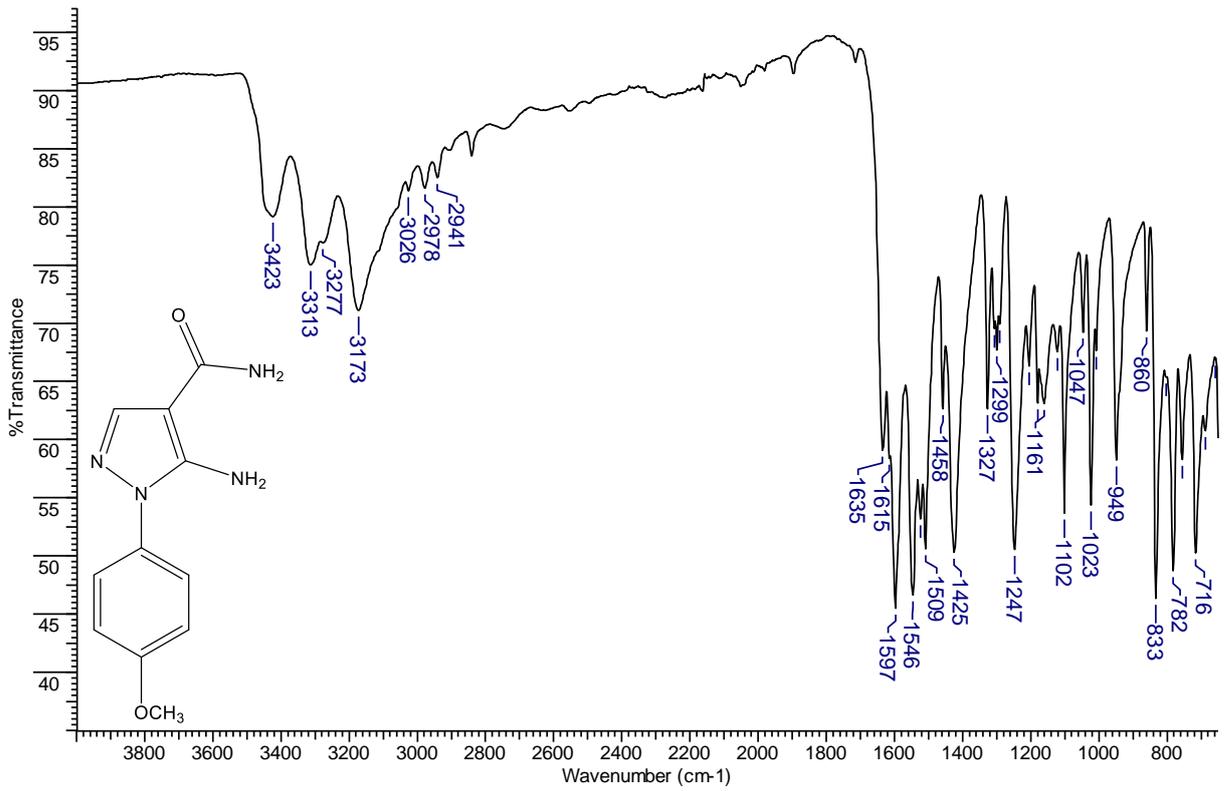
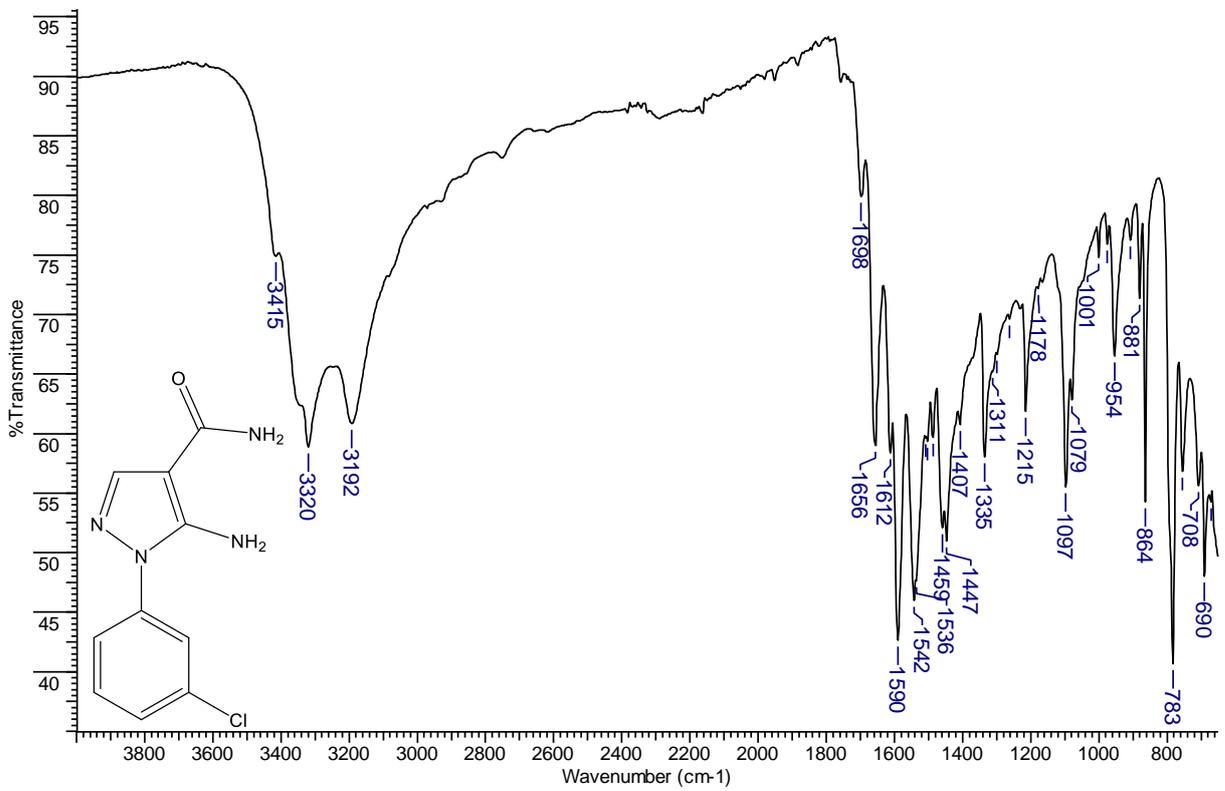
Espectro 150: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-d6) do derivado **2I.HCl**

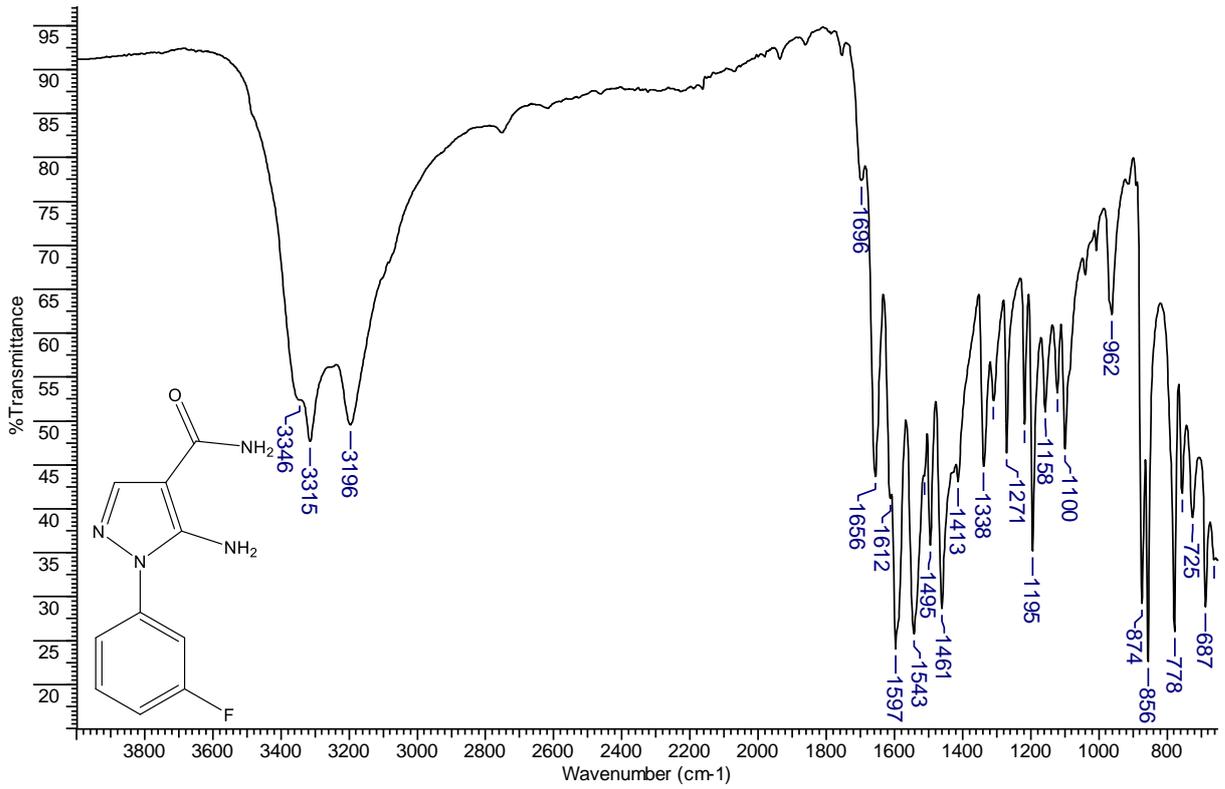
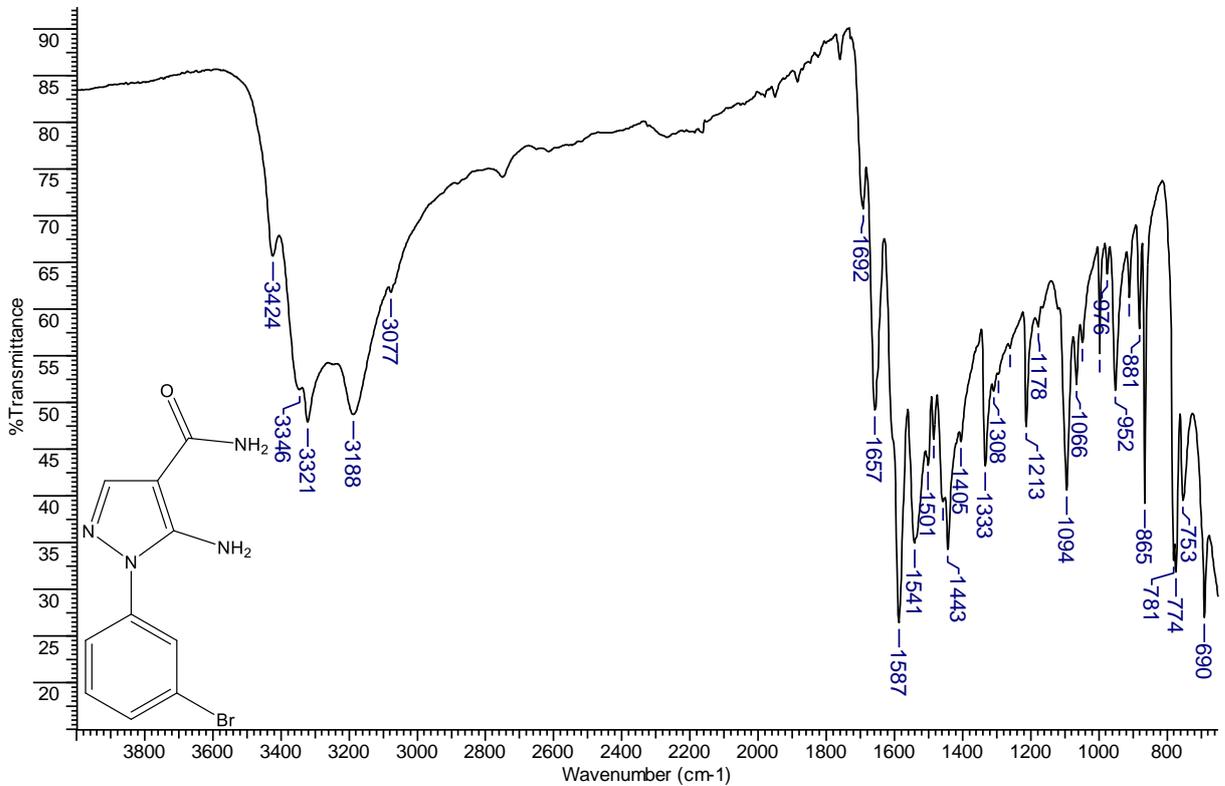


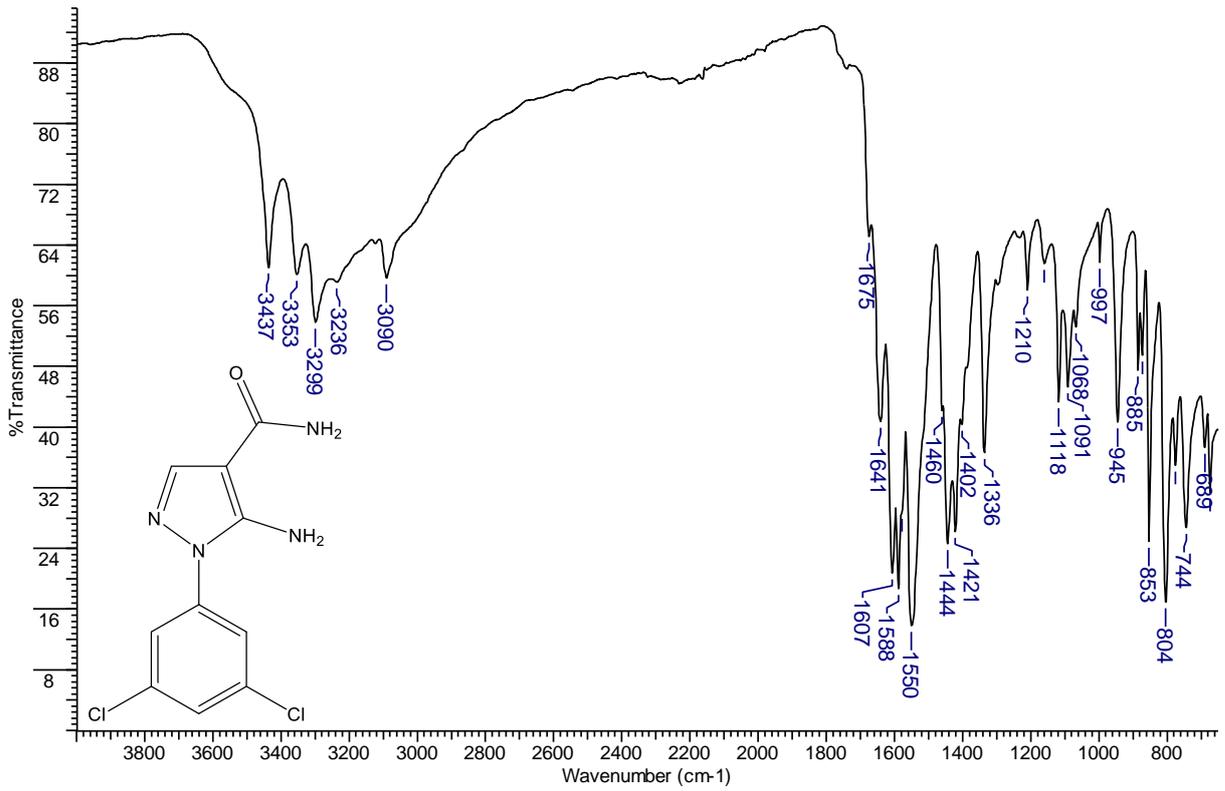
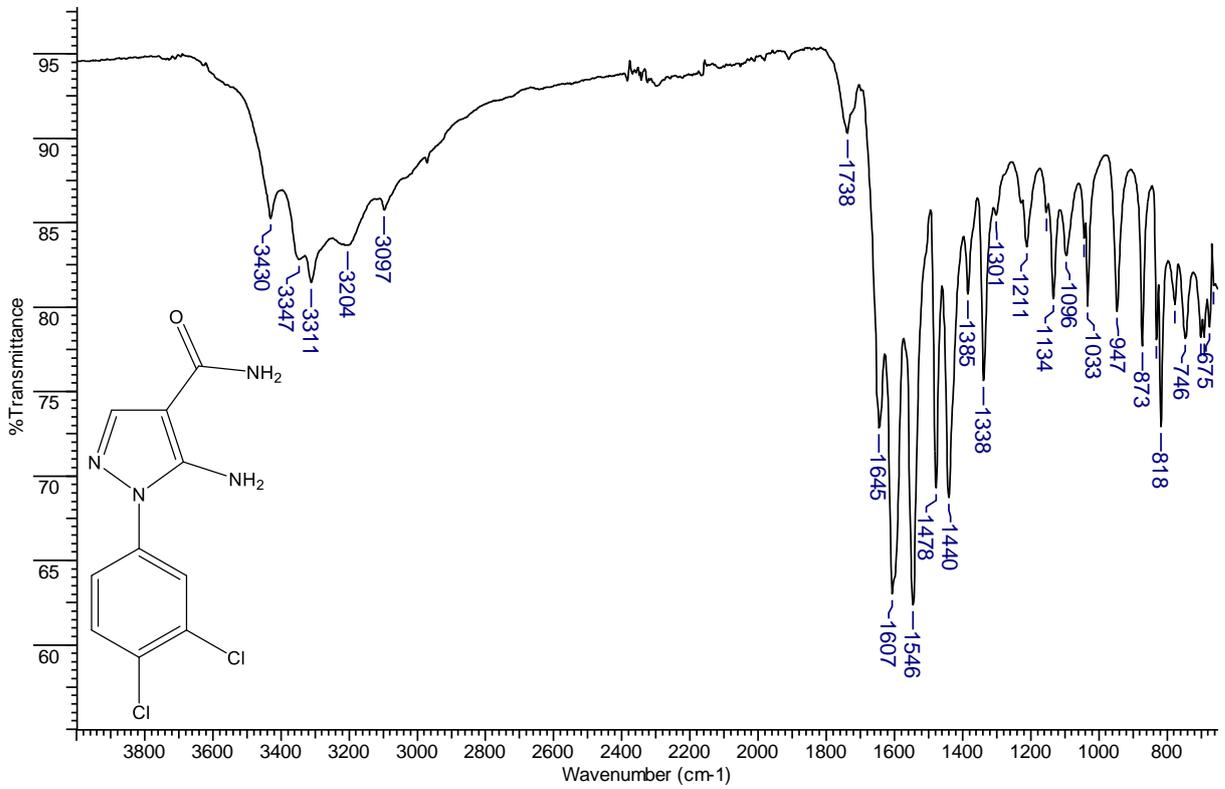
ANEXO K – Espectros de absorção na região do Infravermelho dos derivados 3(a-l)

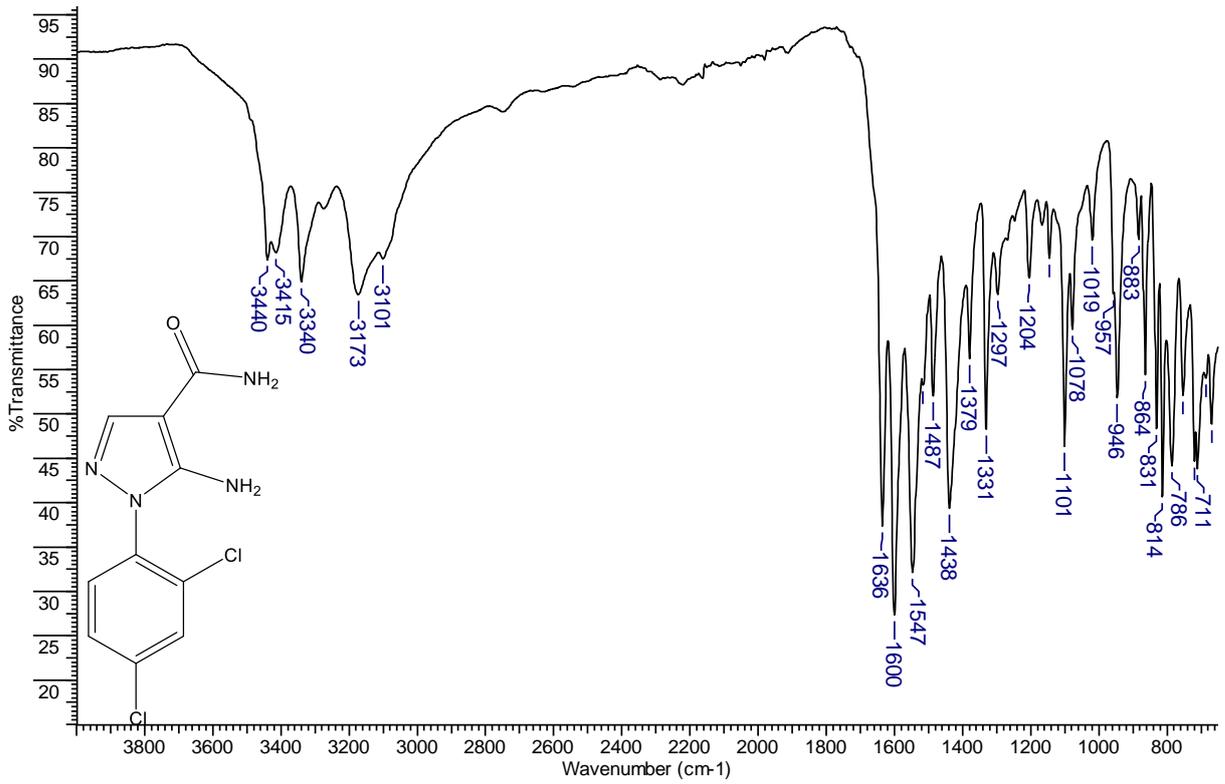
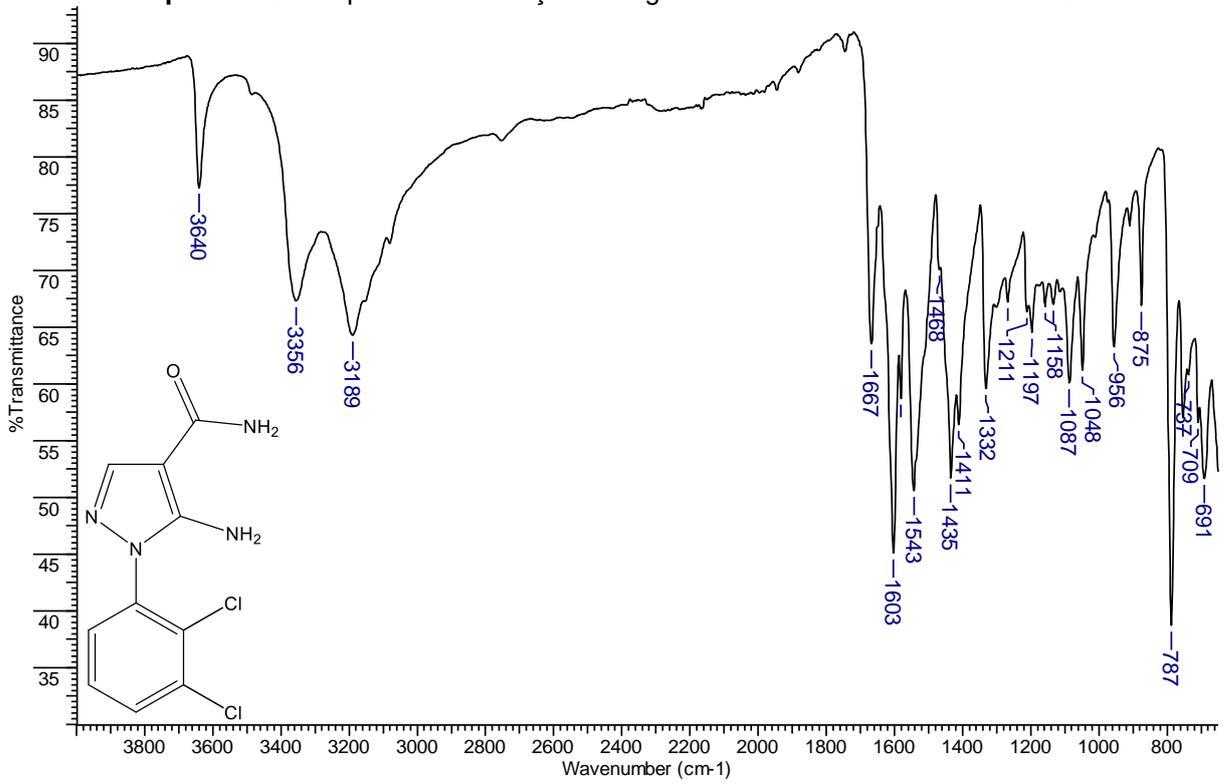
Espectro 151: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3a**.**Espectro 152:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3b**.

Espectro 153: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3c**.**Espectro 154:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3d**.

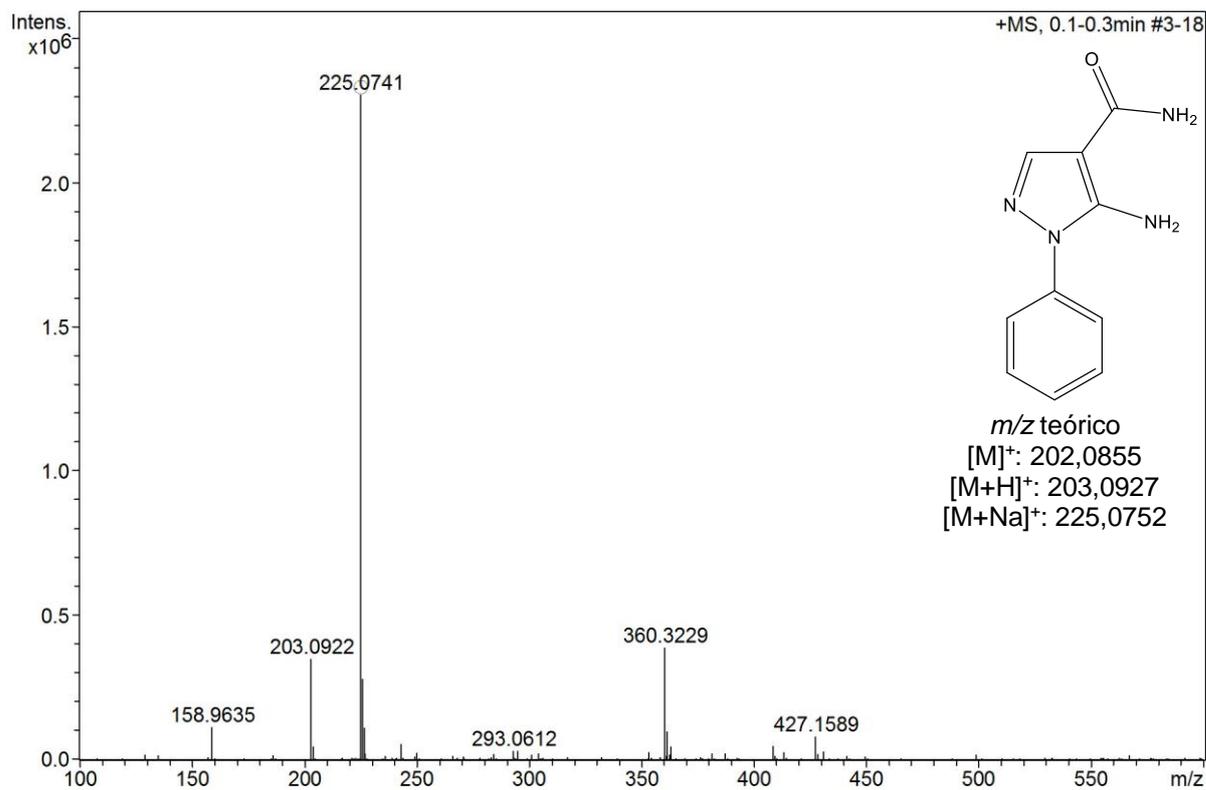
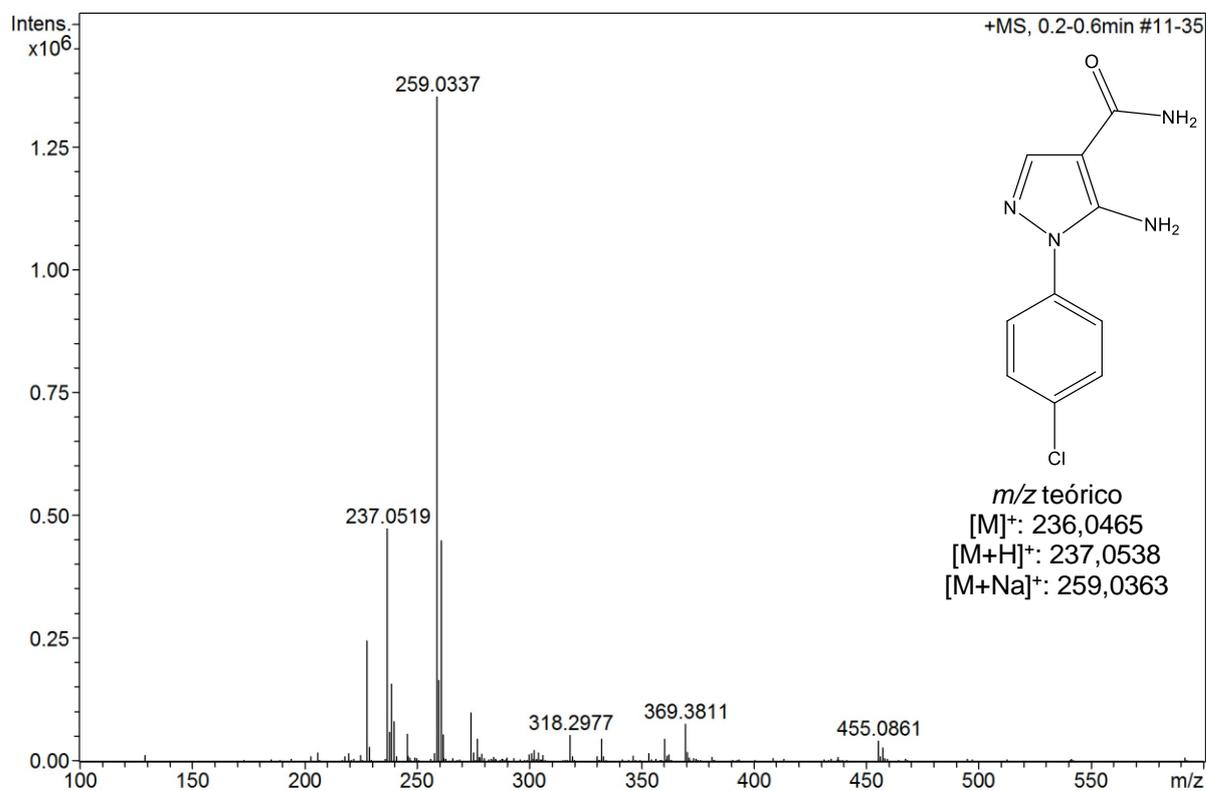
Espectro 155: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3e**.**Espectro 156:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3f**.

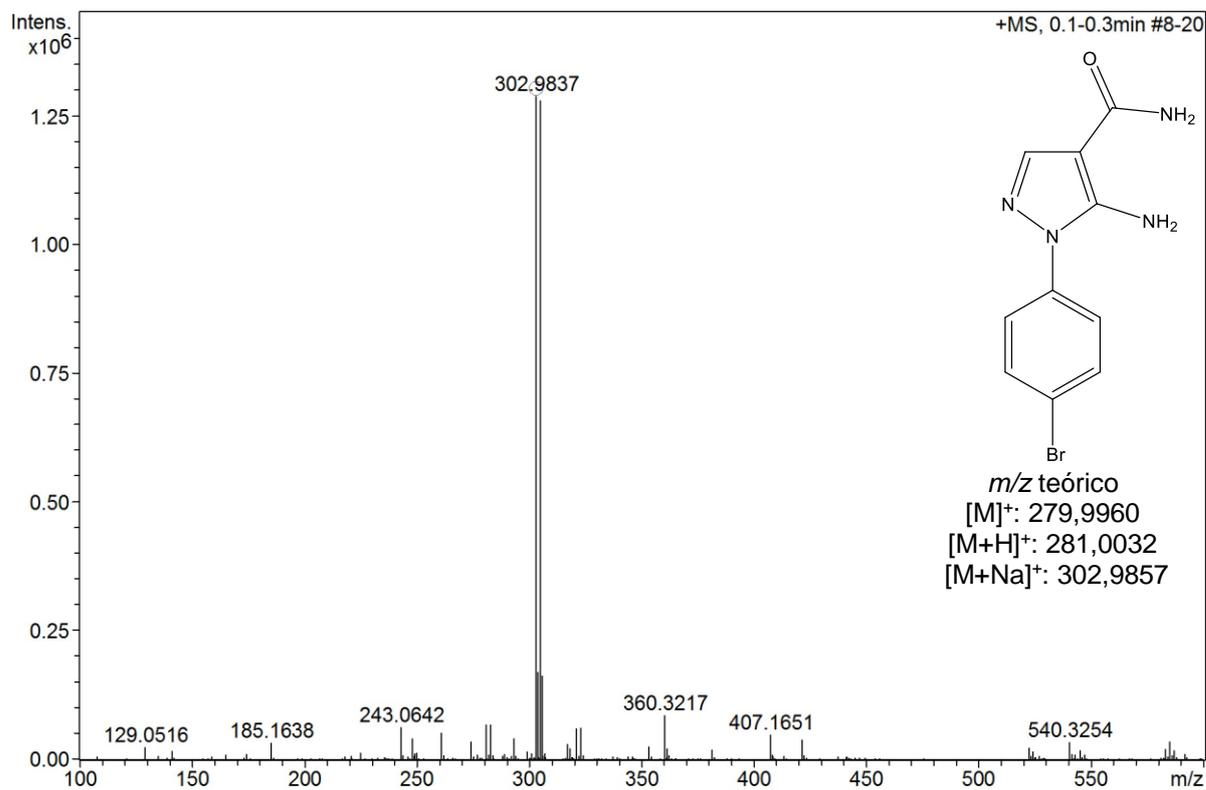
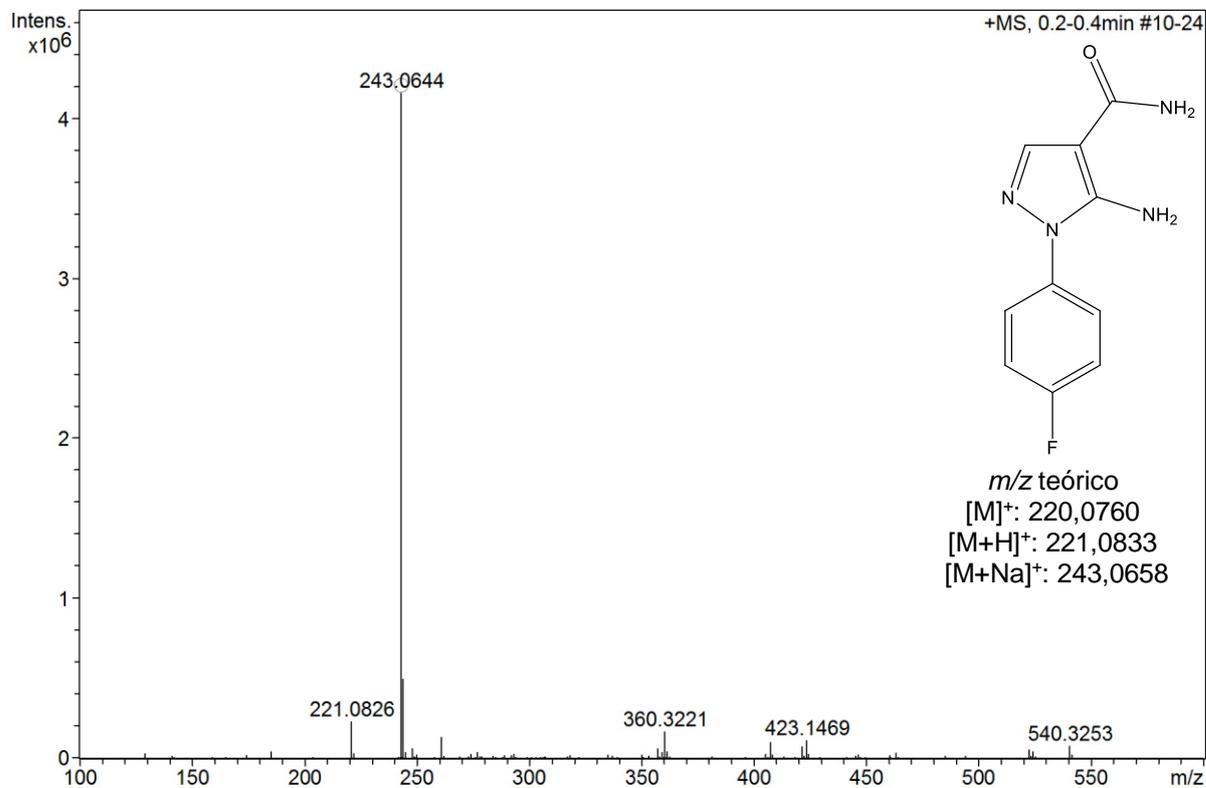
Espectro 157: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3g**.**Espectro 158:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3h**.

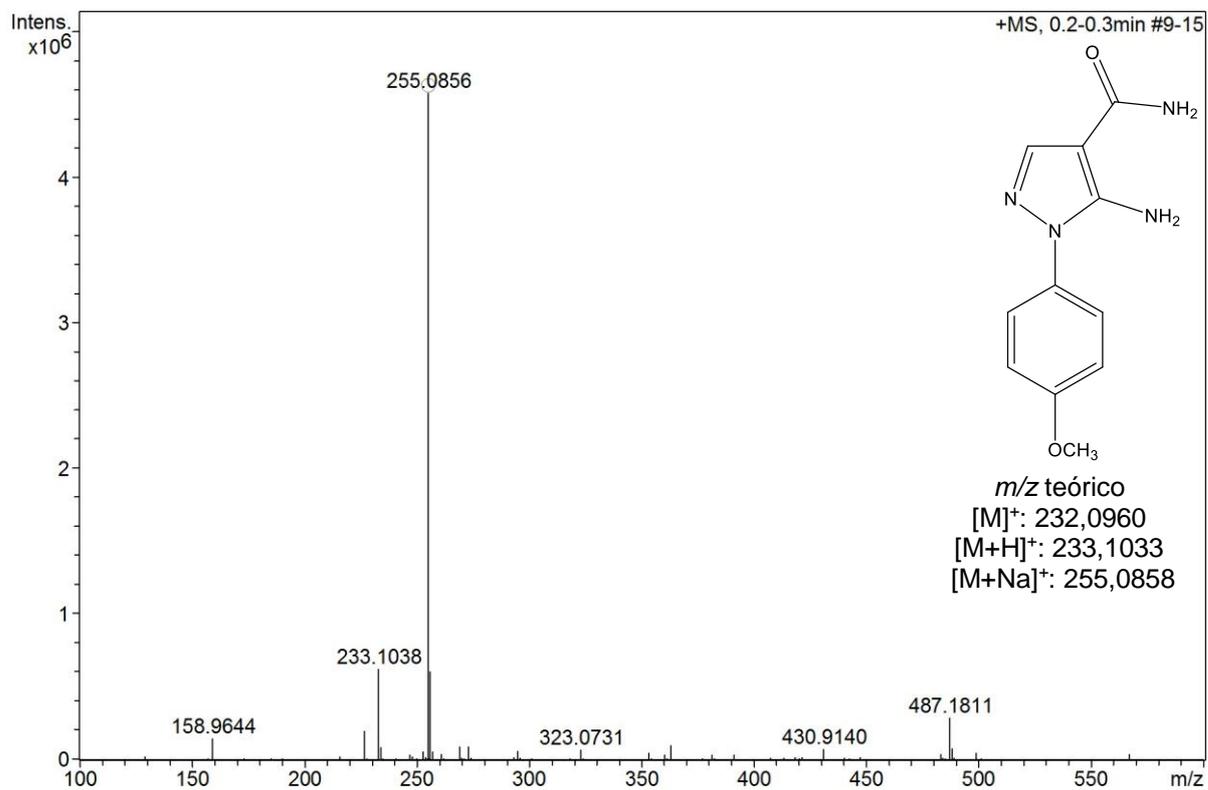
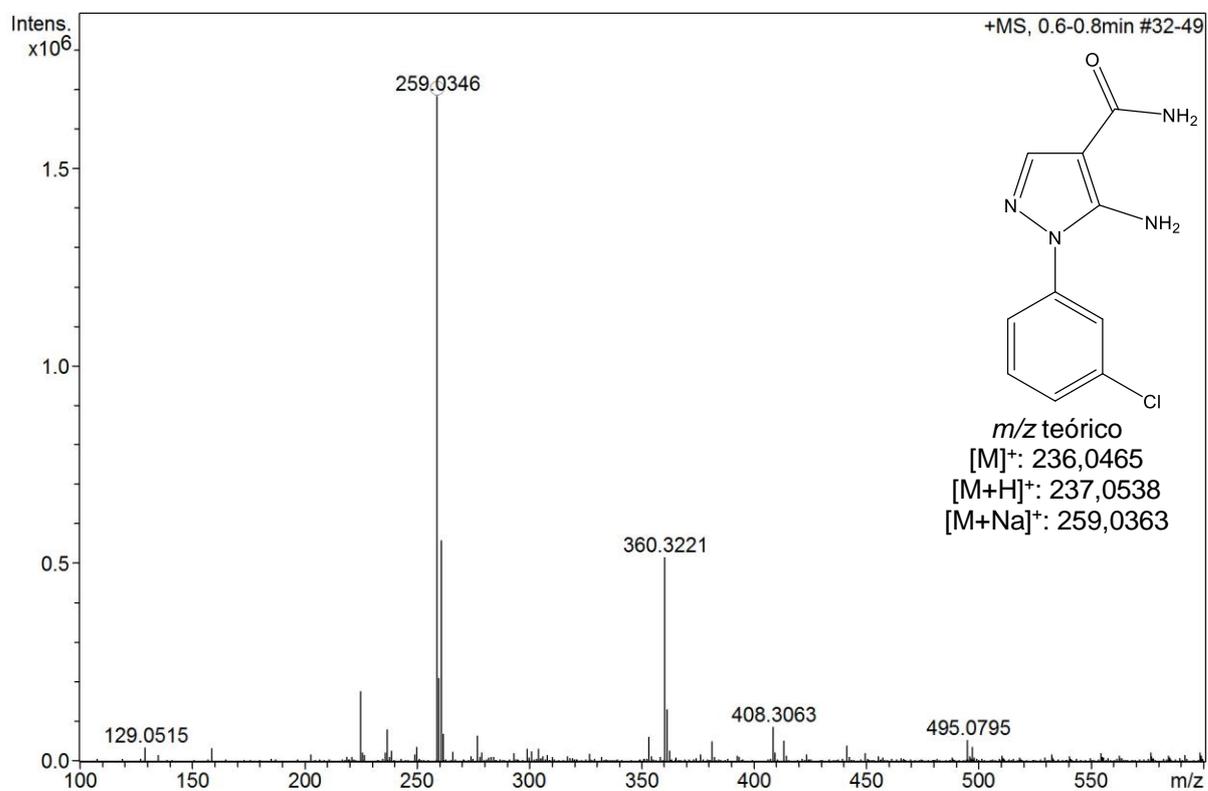
Espectro 159: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3i**.**Espectro 160:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3j**.

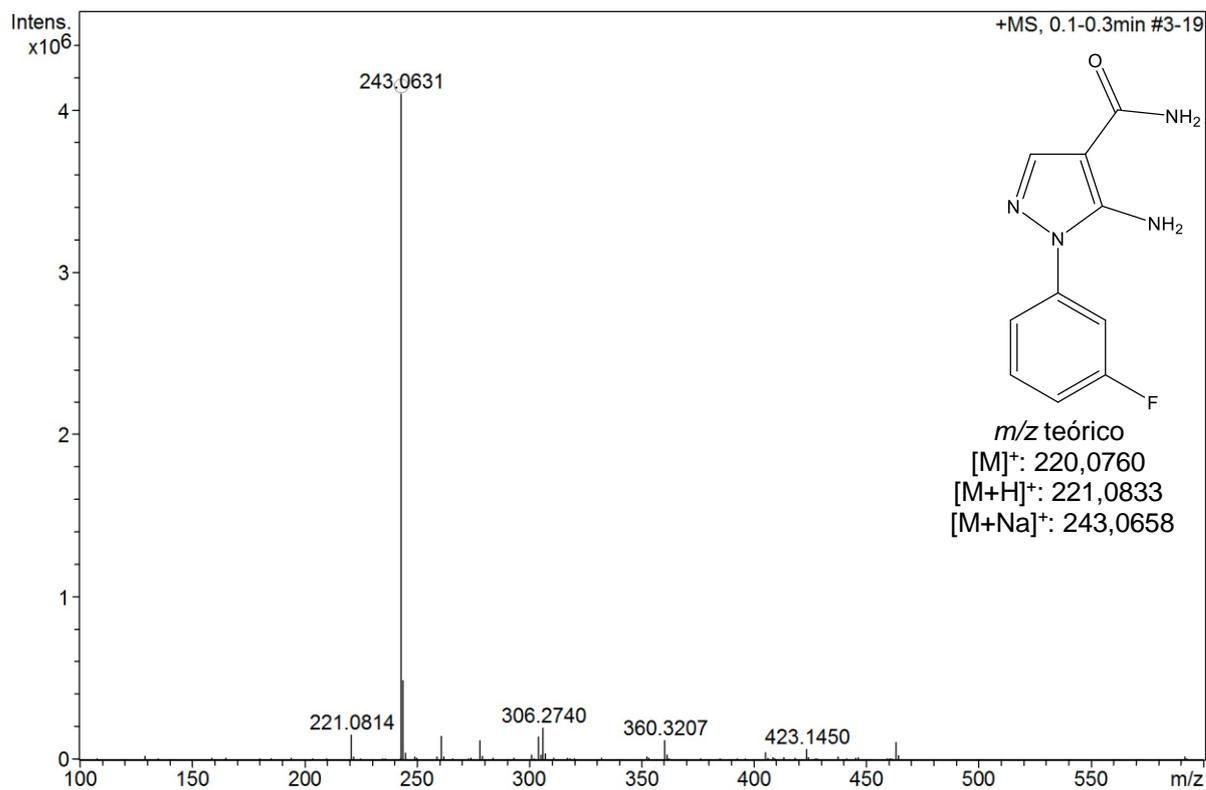
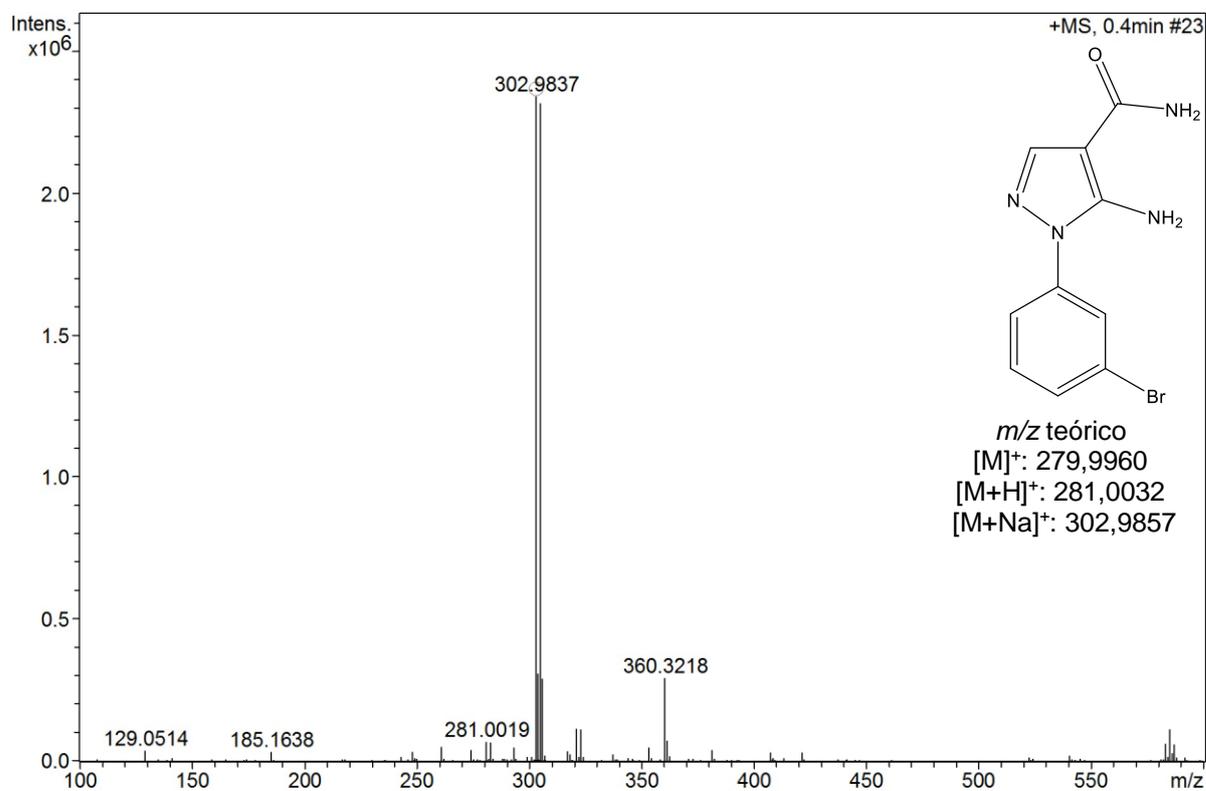
Espectro 161: Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3k**.**Espectro 162:** Espectro de absorção na região do Infravermelho do derivado **3l**.

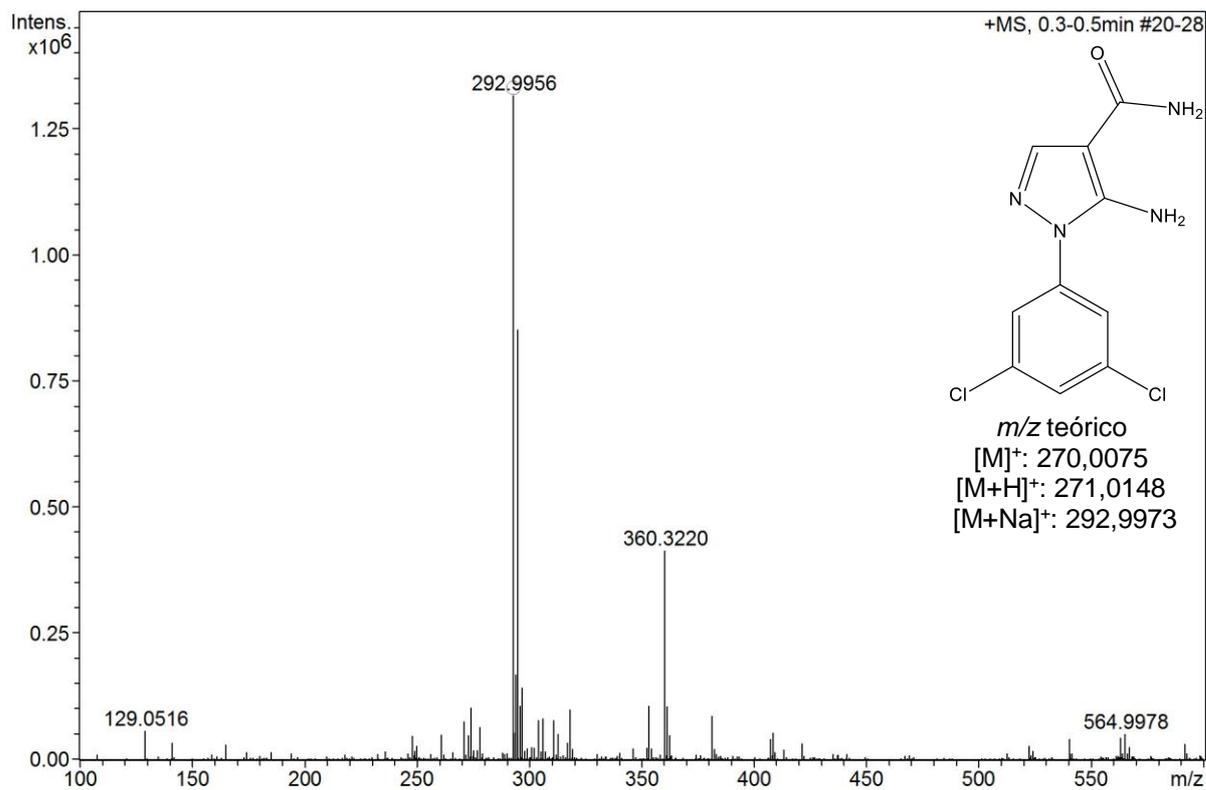
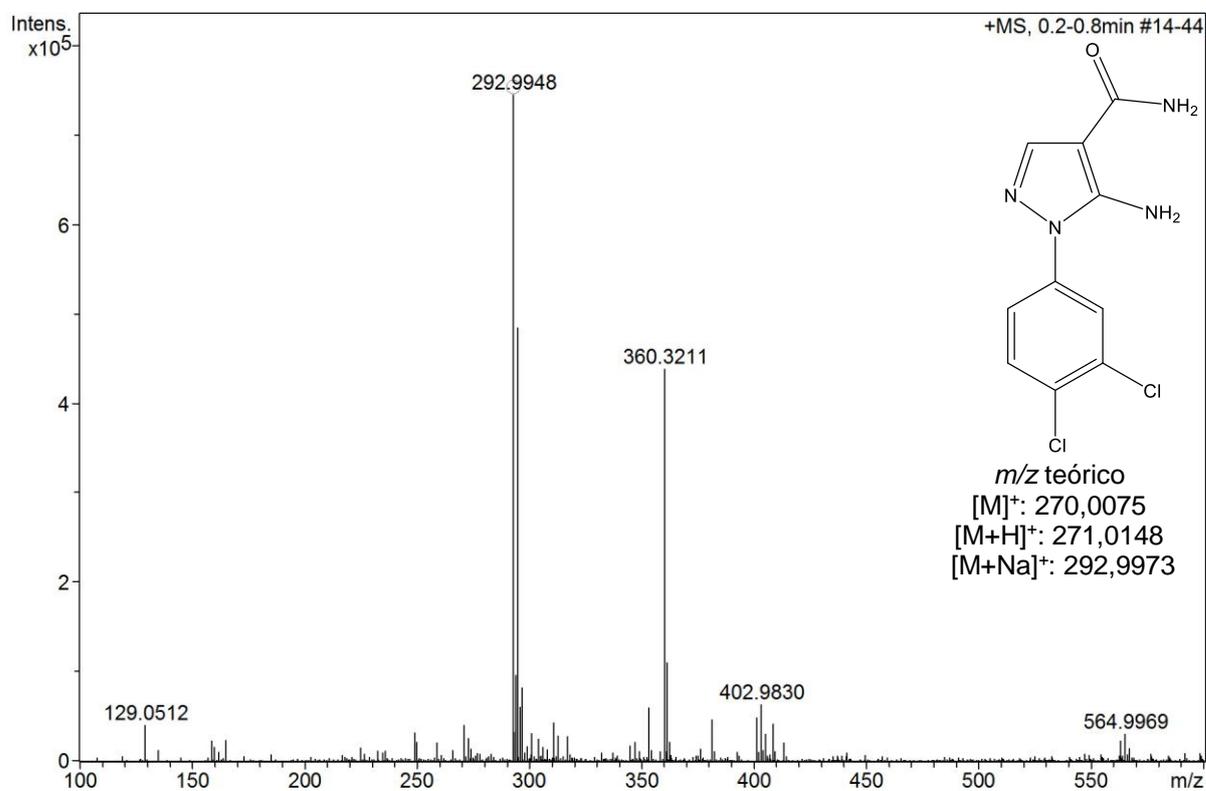
**ANEXO L – Espectros de Massas de Alta Resolução dos derivados
3(a-l)**

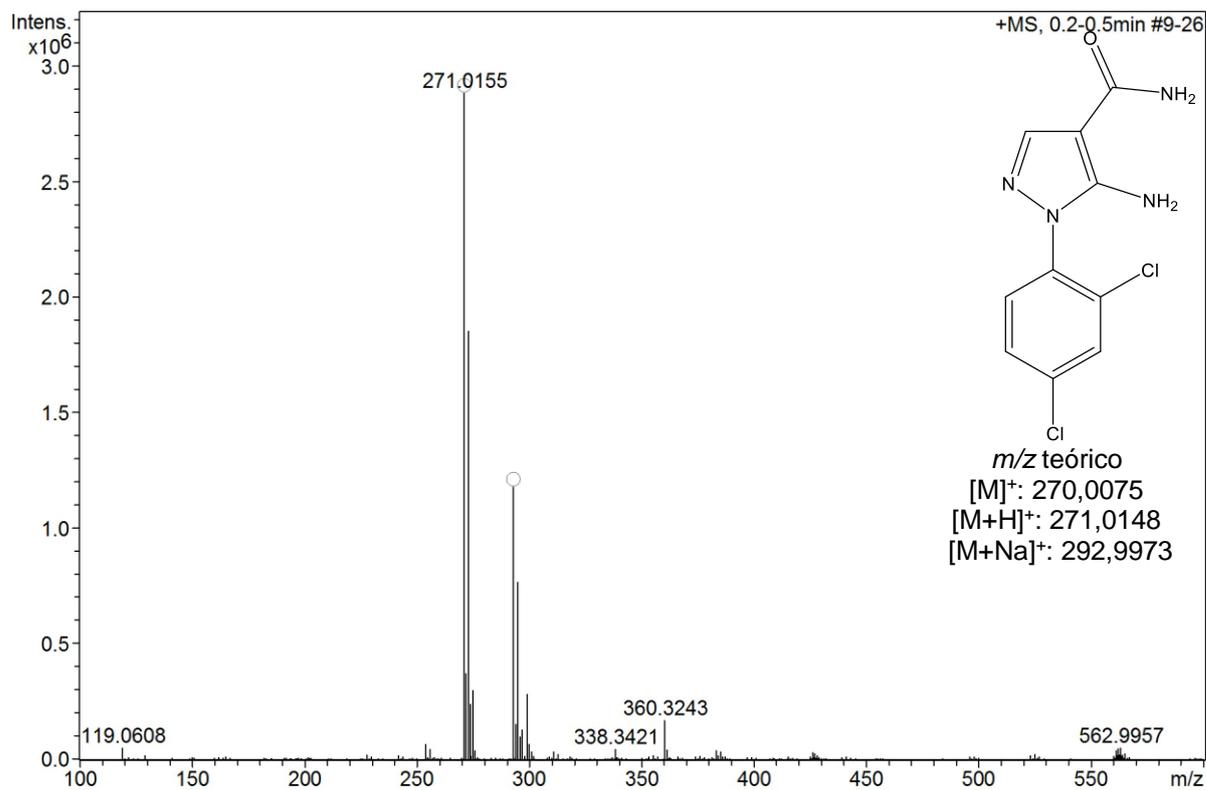
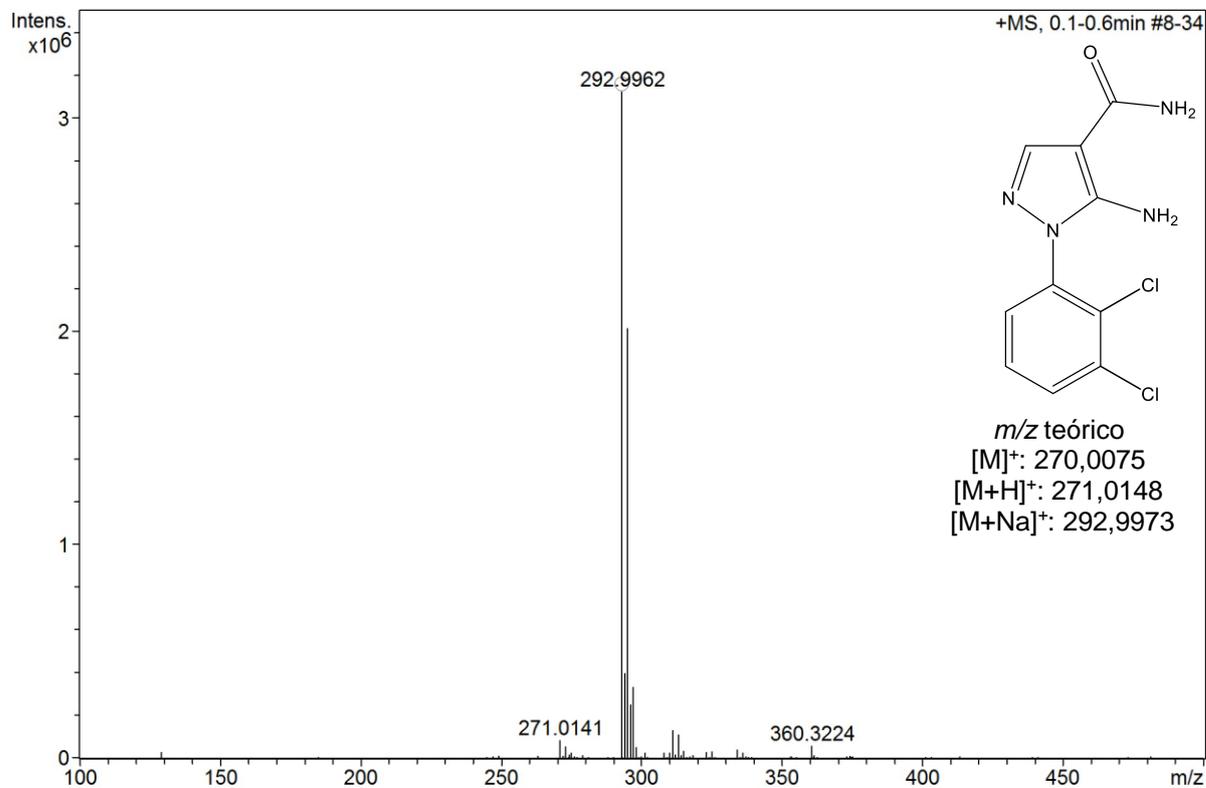
Espectro 163: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3a**.**Espectro 164:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3b**.

Espectro 165: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3c**.**Espectro 166:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3d**.

Espectro 167: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3e**.**Espectro 168:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3f**.

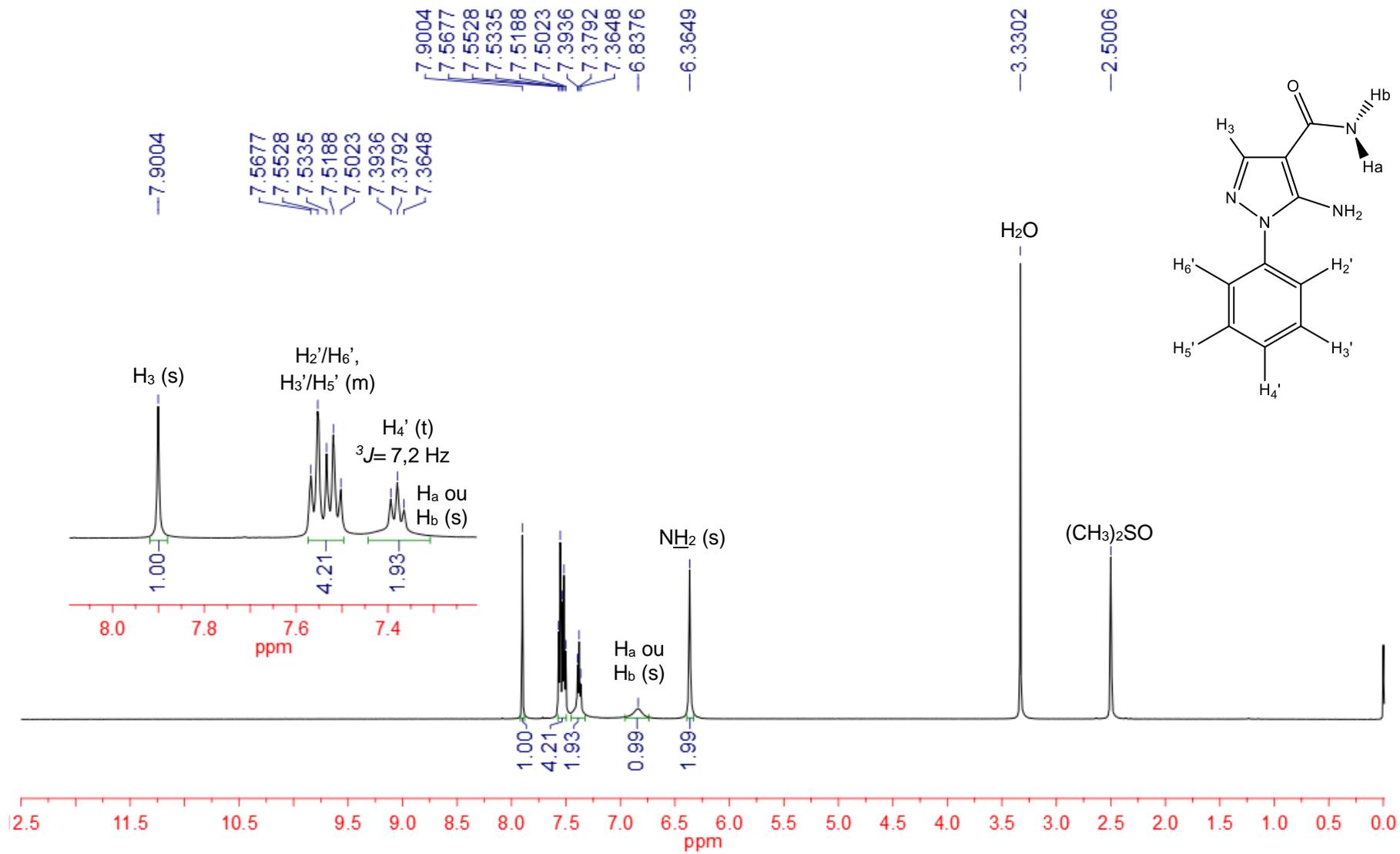
Espectro 169: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3g**.**Espectro 170:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3h**.

Espectro 171: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3i**.**Espectro 172:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3j**.

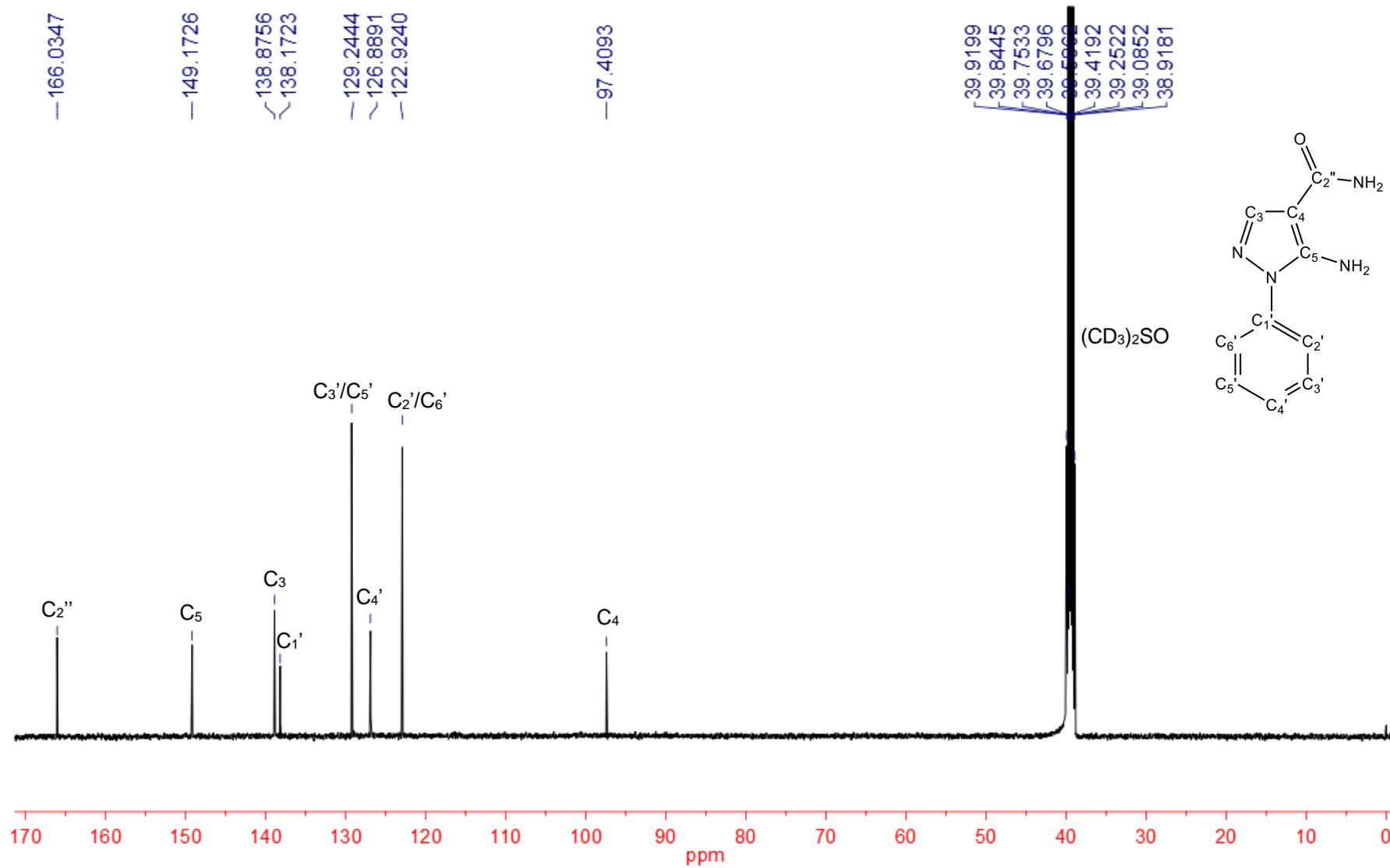
Espectro 173: Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3k**.**Espectro 174:** Espectro de Massas de Alta Resolução do derivado **3l**.

ANEXO M – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear dos derivados 3(a-l)

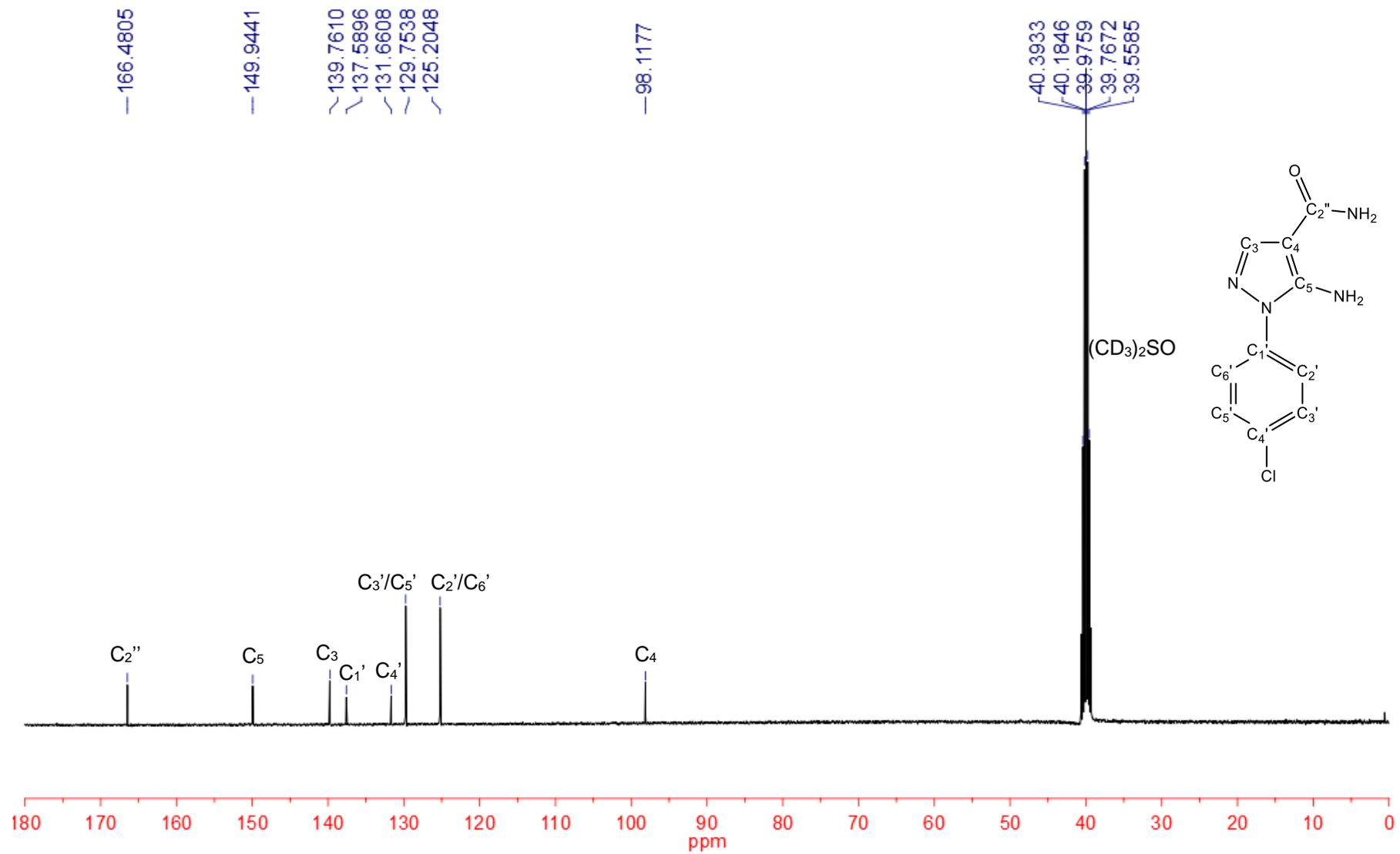
Espectro 175: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3a**.



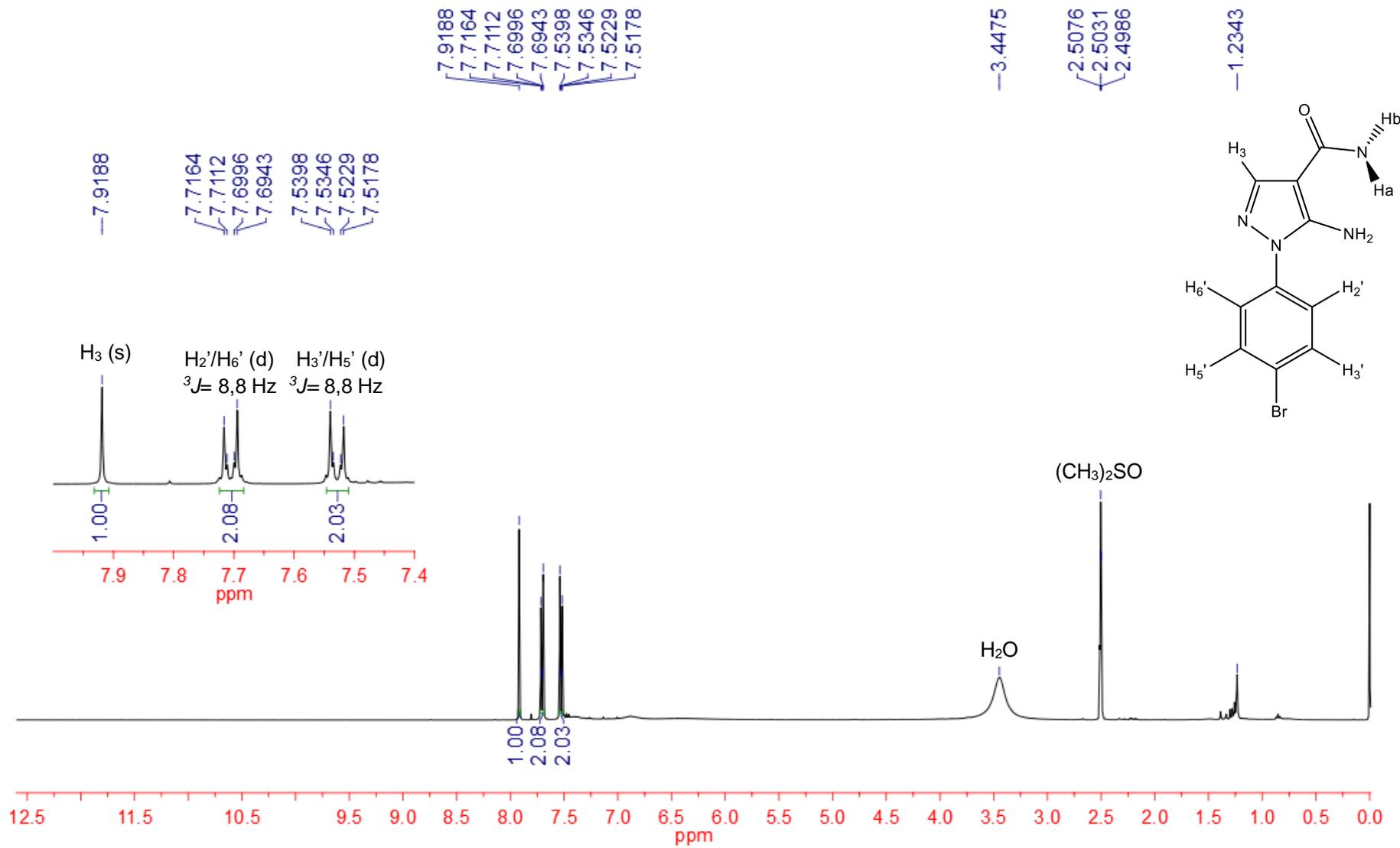
Espectro 176: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3a**.



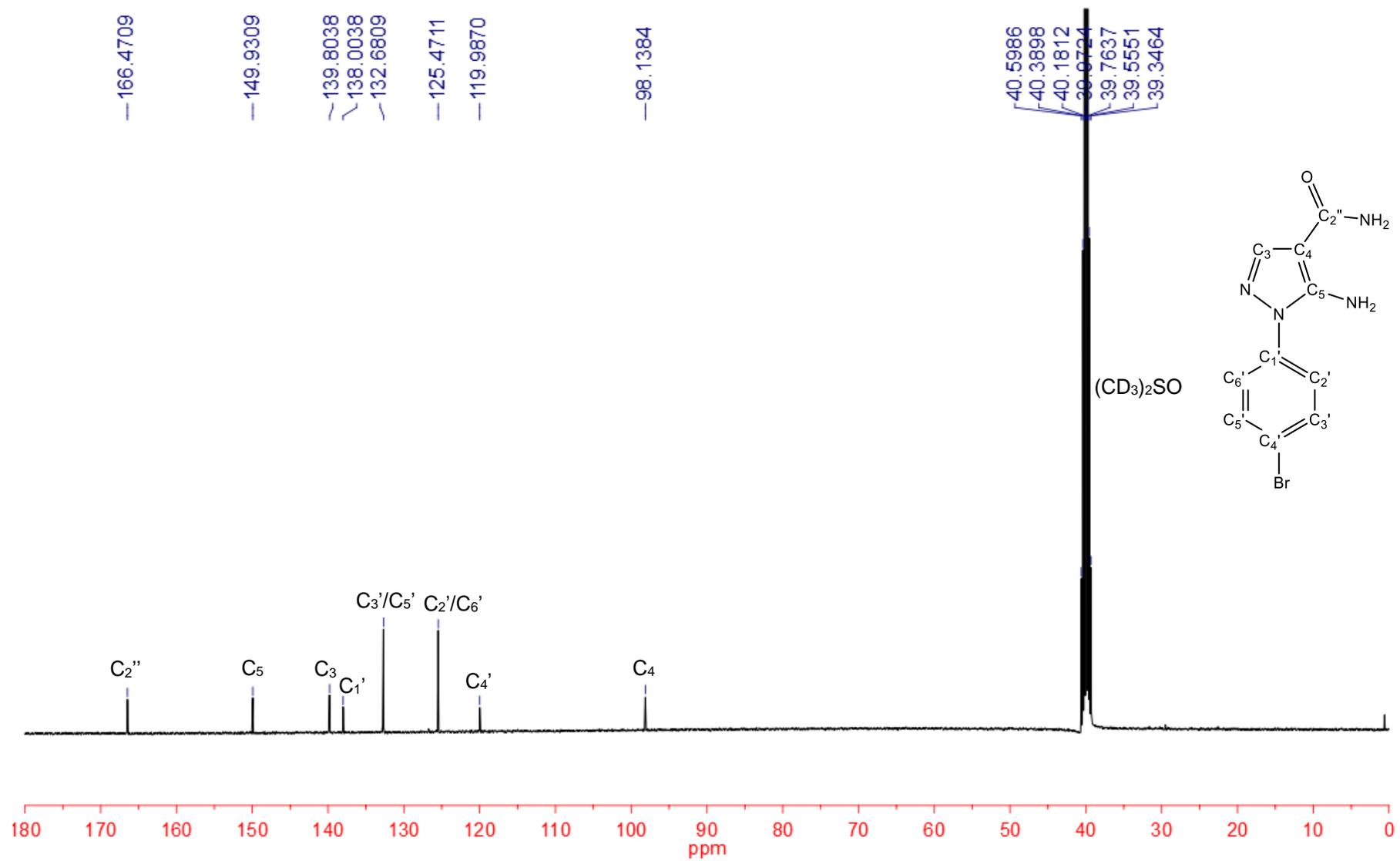
Espectro 178: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3b**.



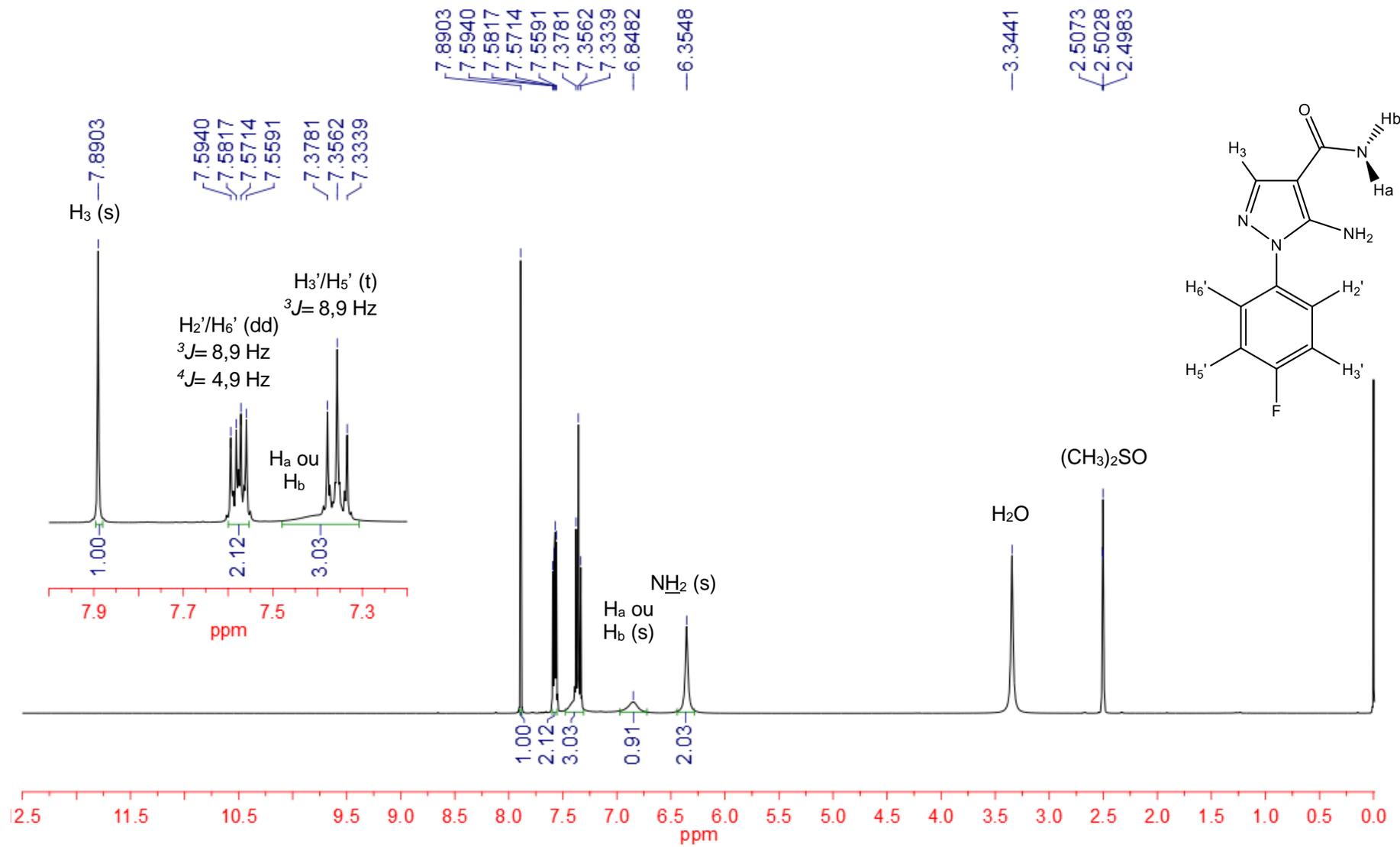
Espectro 179: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3c**.



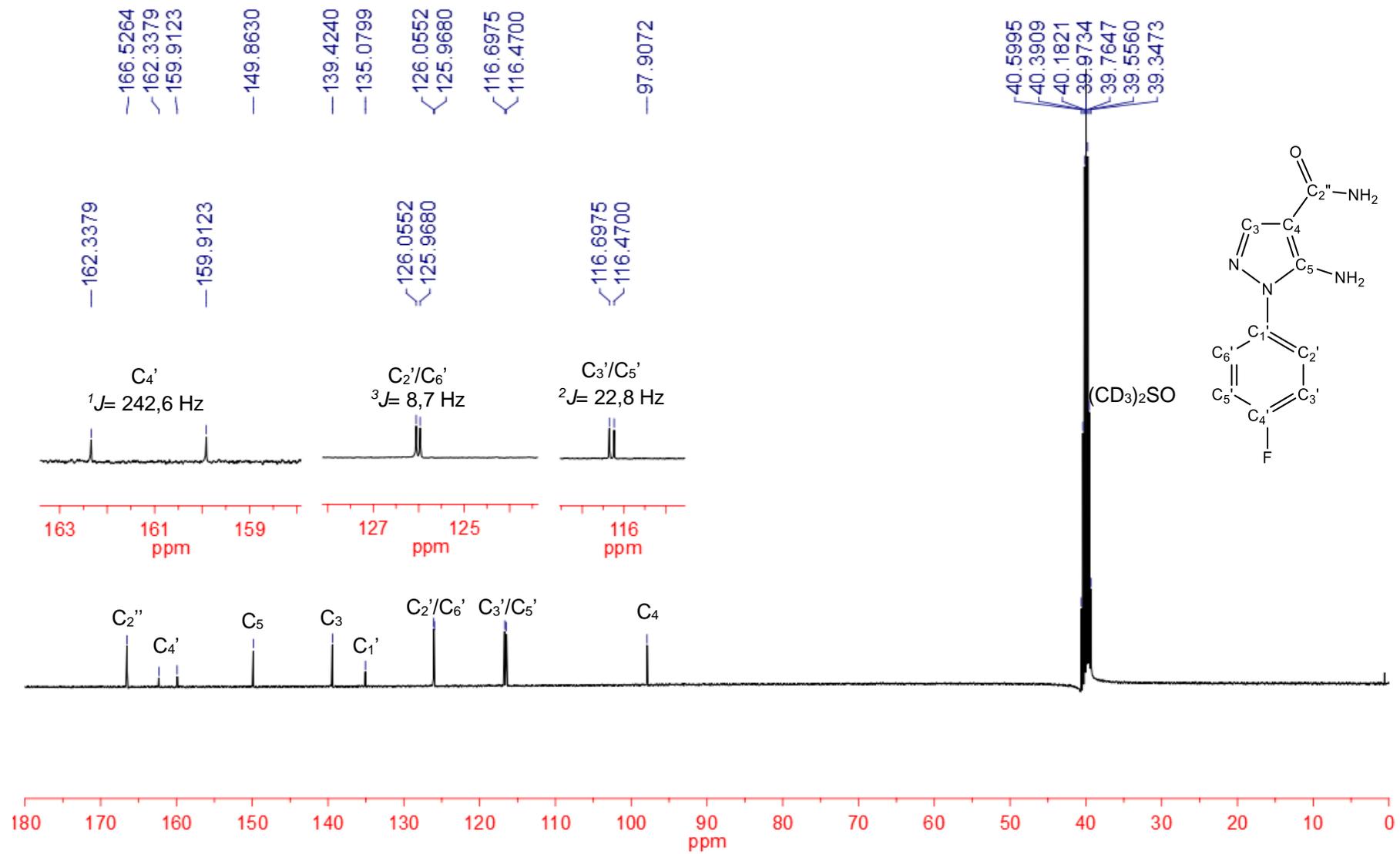
Espectro 180: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3c**.



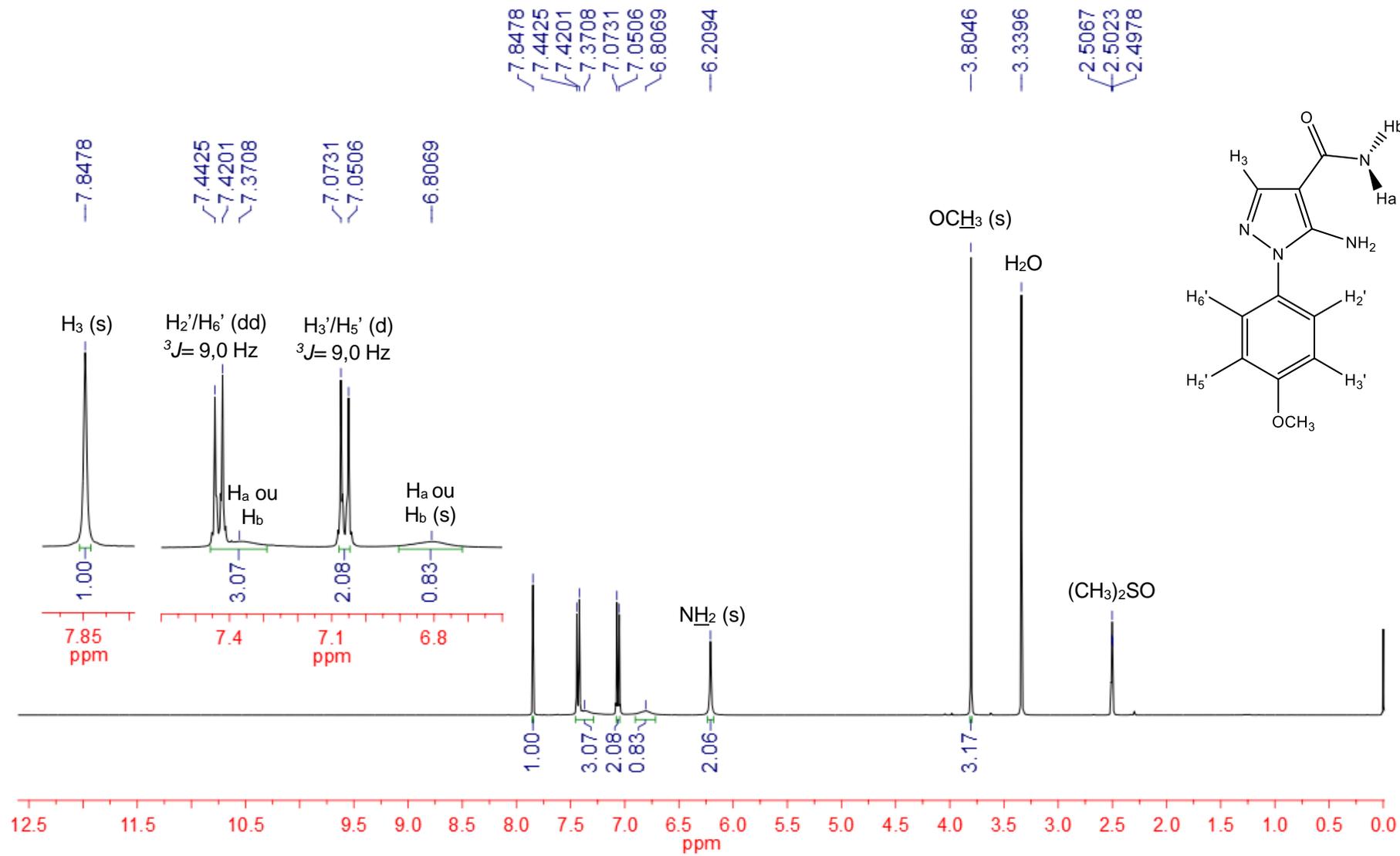
Espectro 181: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3d**.



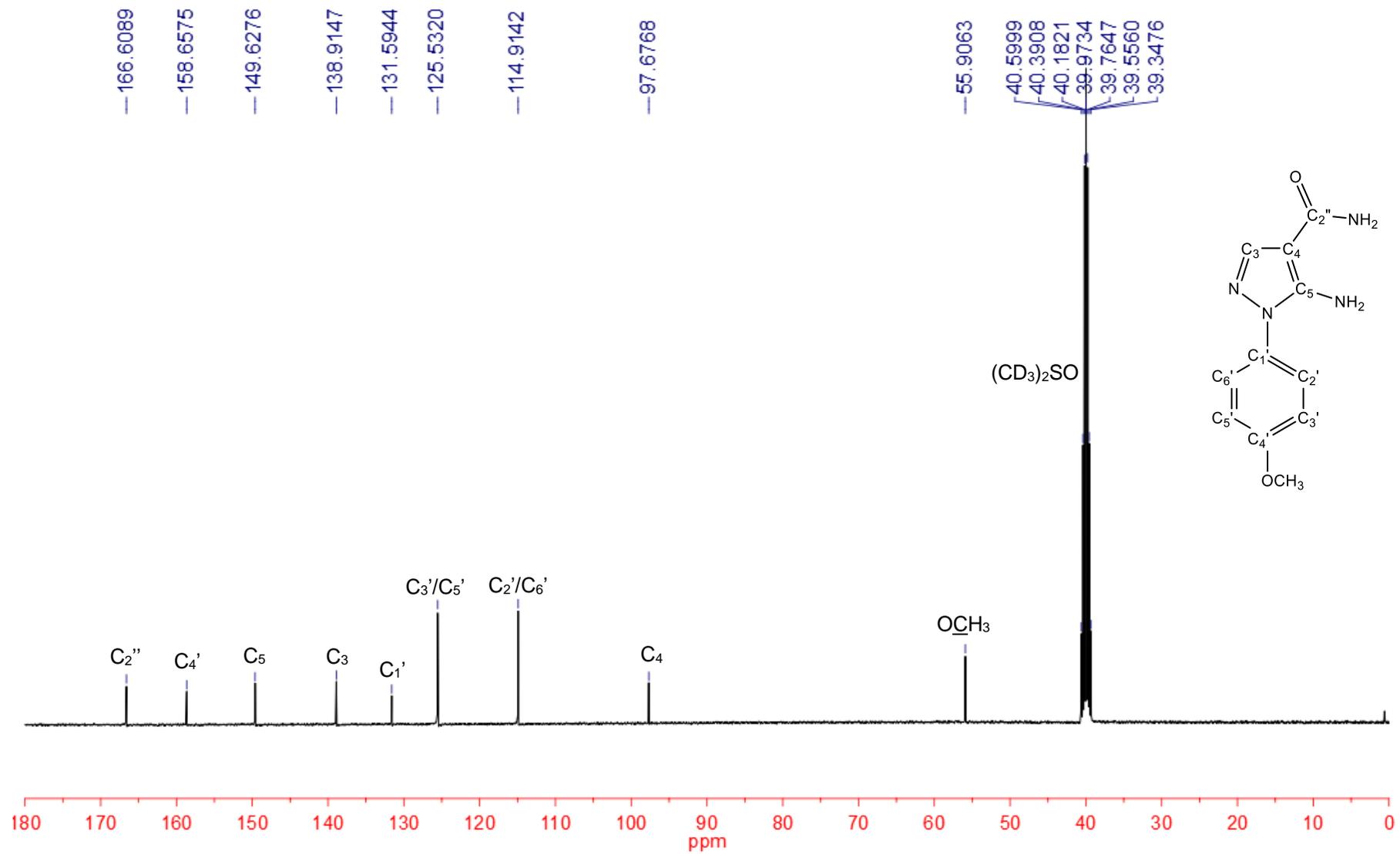
Espectro 182: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3d**.



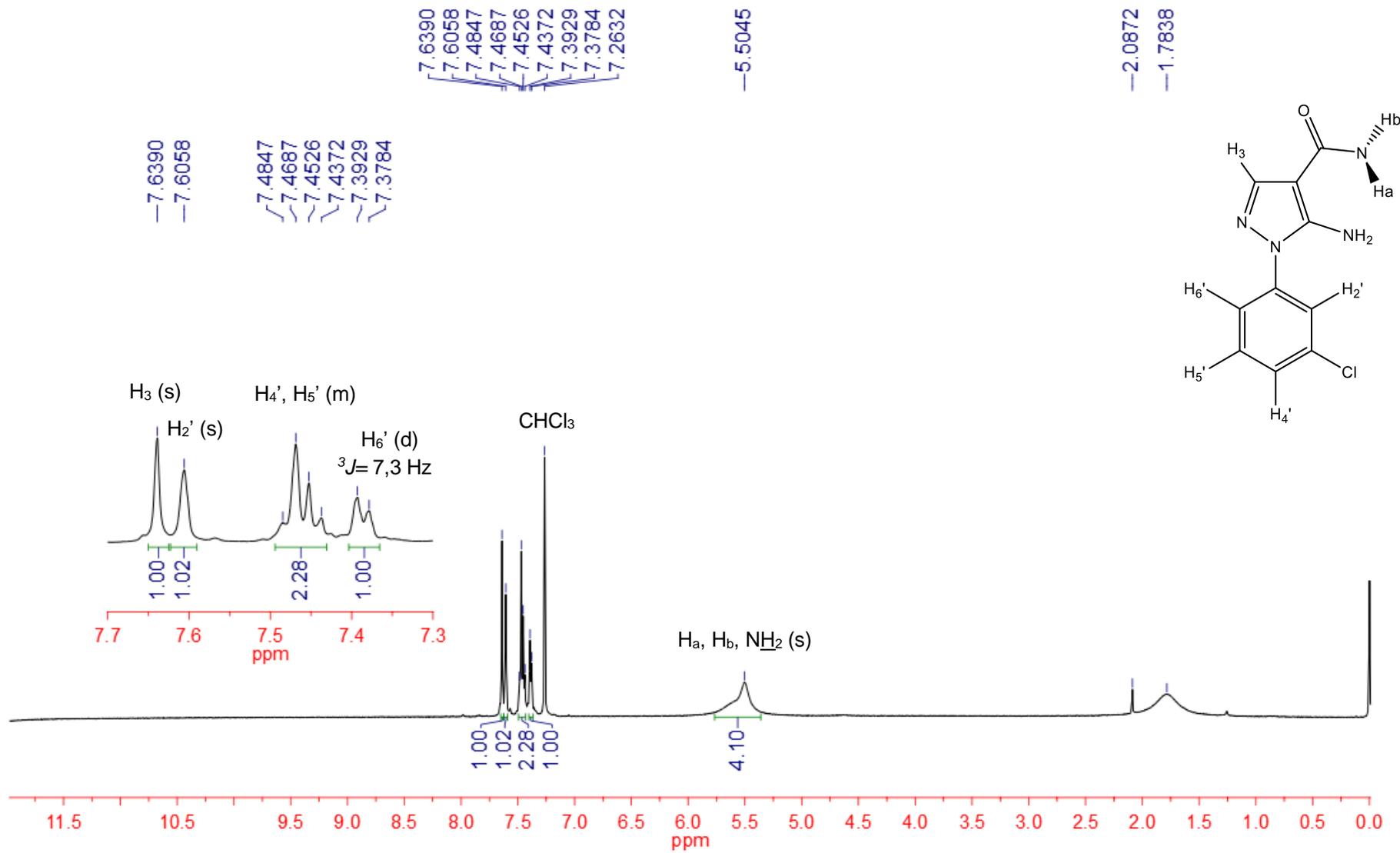
Espectro 183: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3e**.



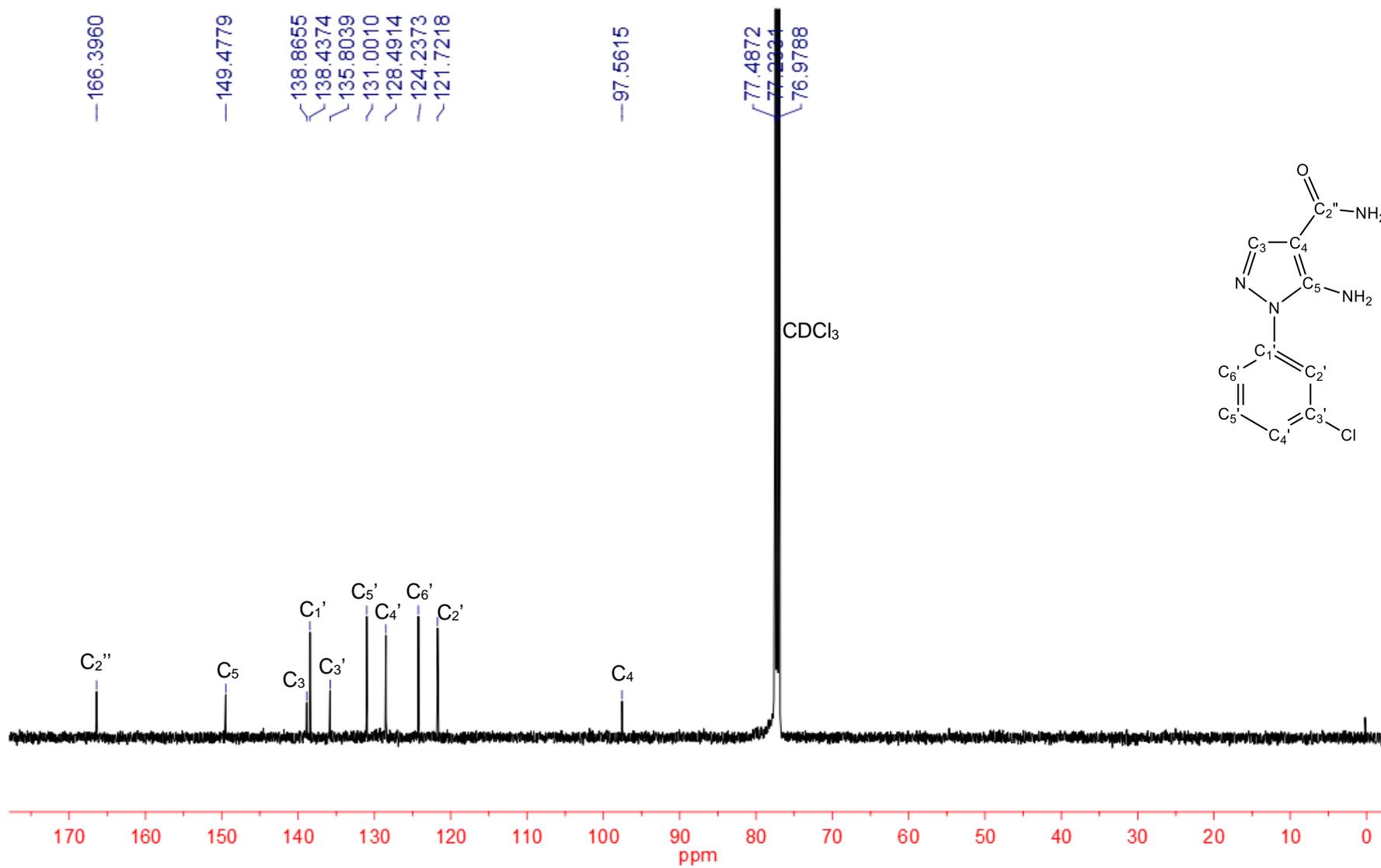
Espectro 184: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3e**.



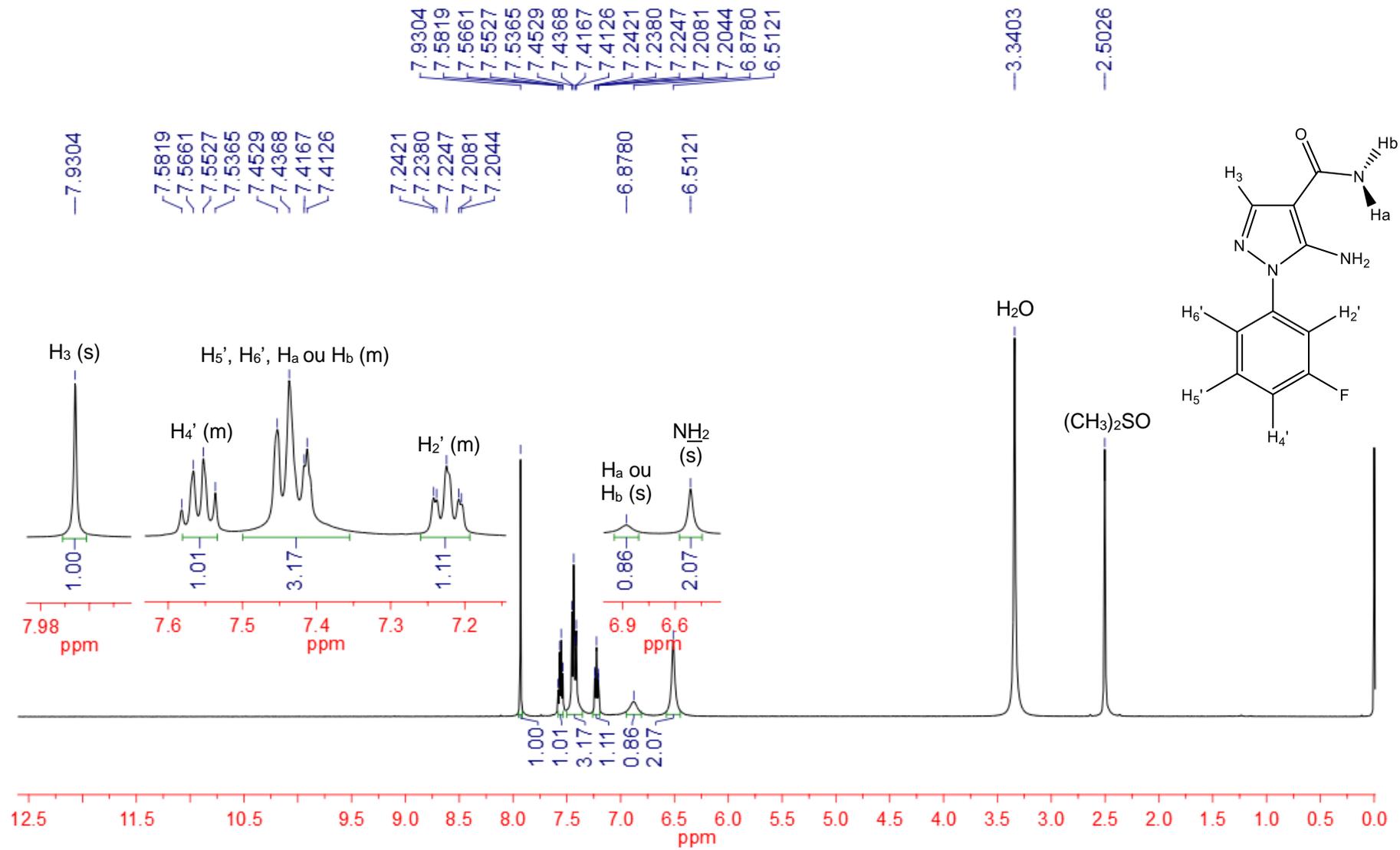
Espectro 185: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **3f**.



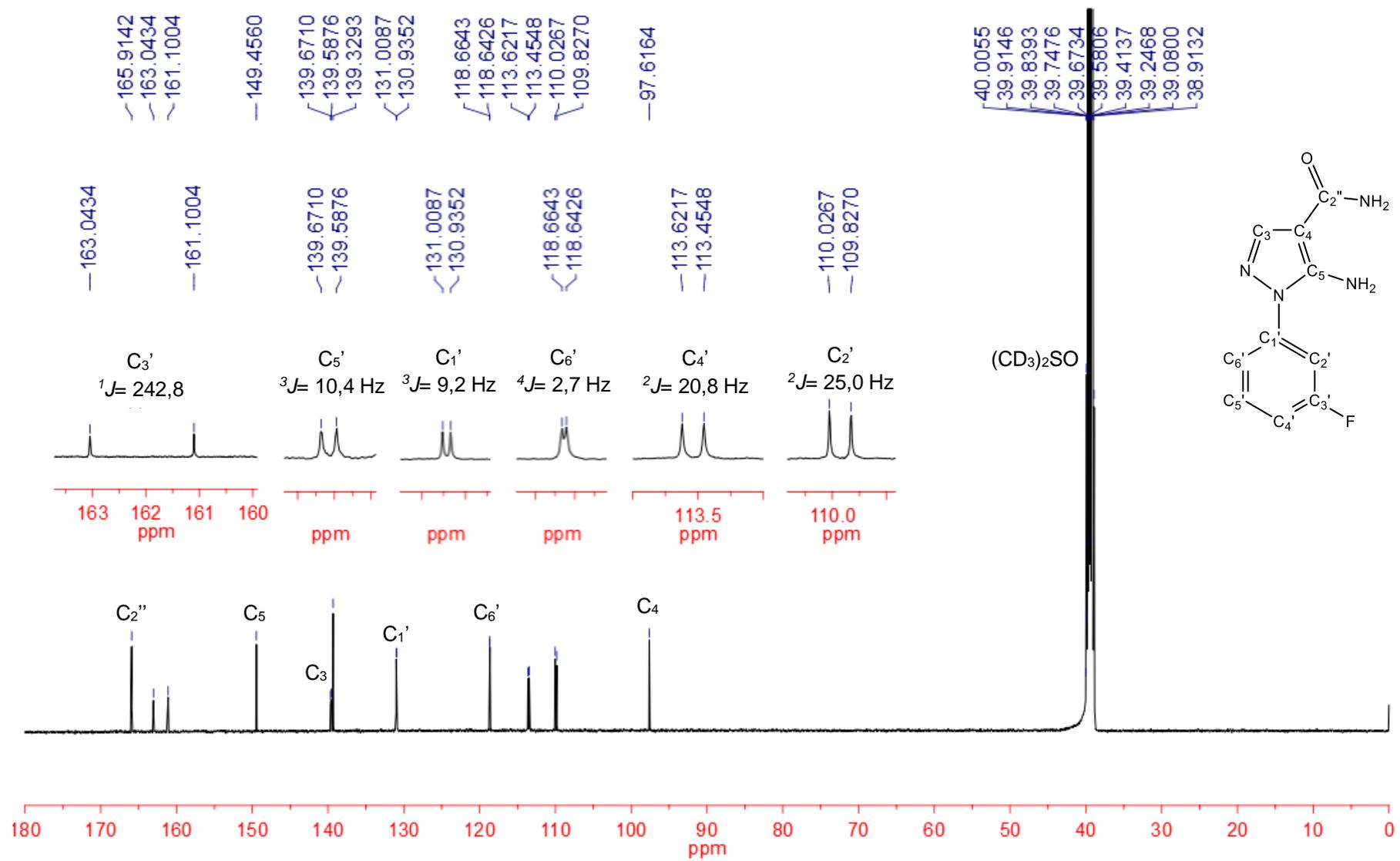
Espectro 186: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **3f**.



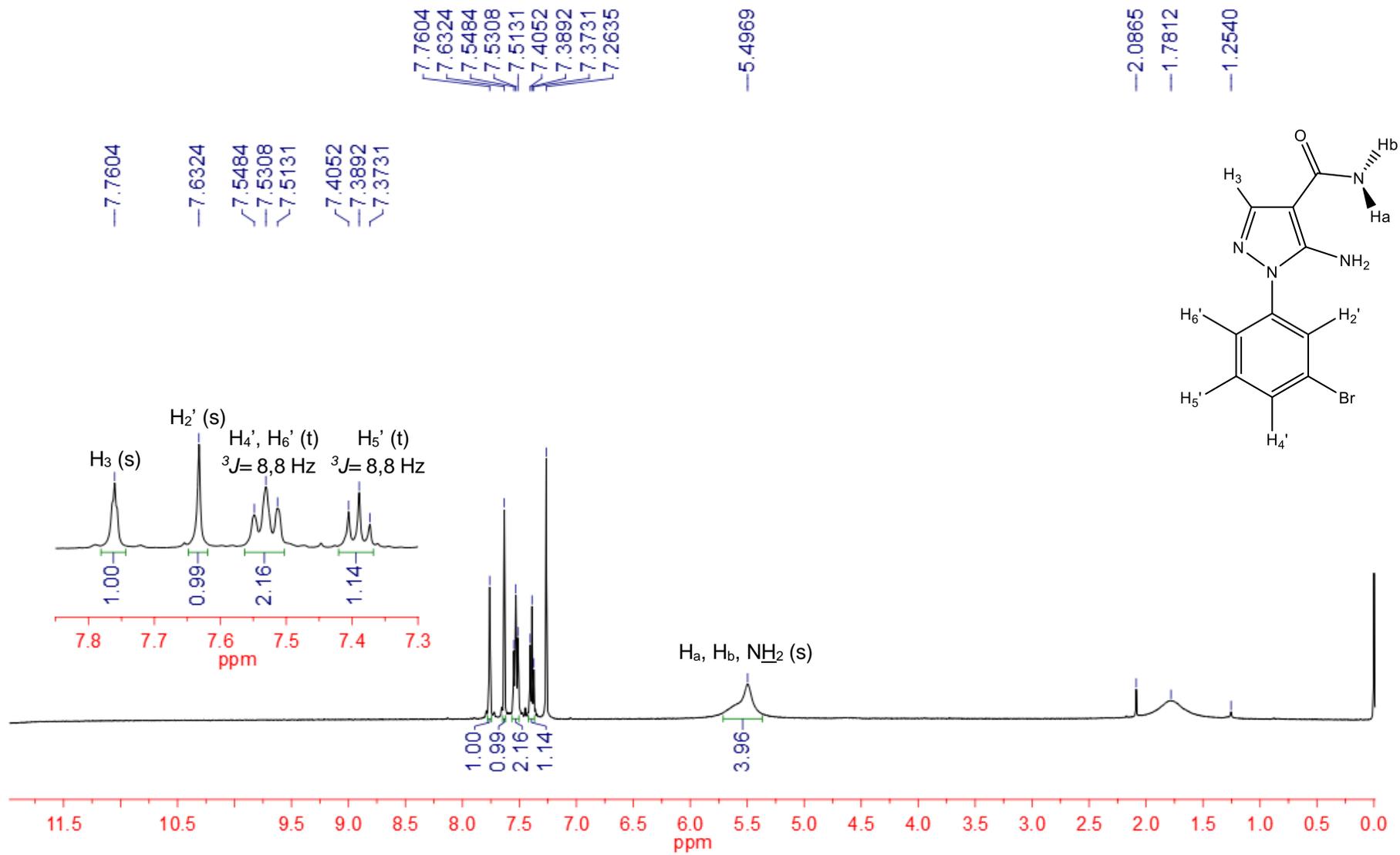
Espectro 187: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3g**.



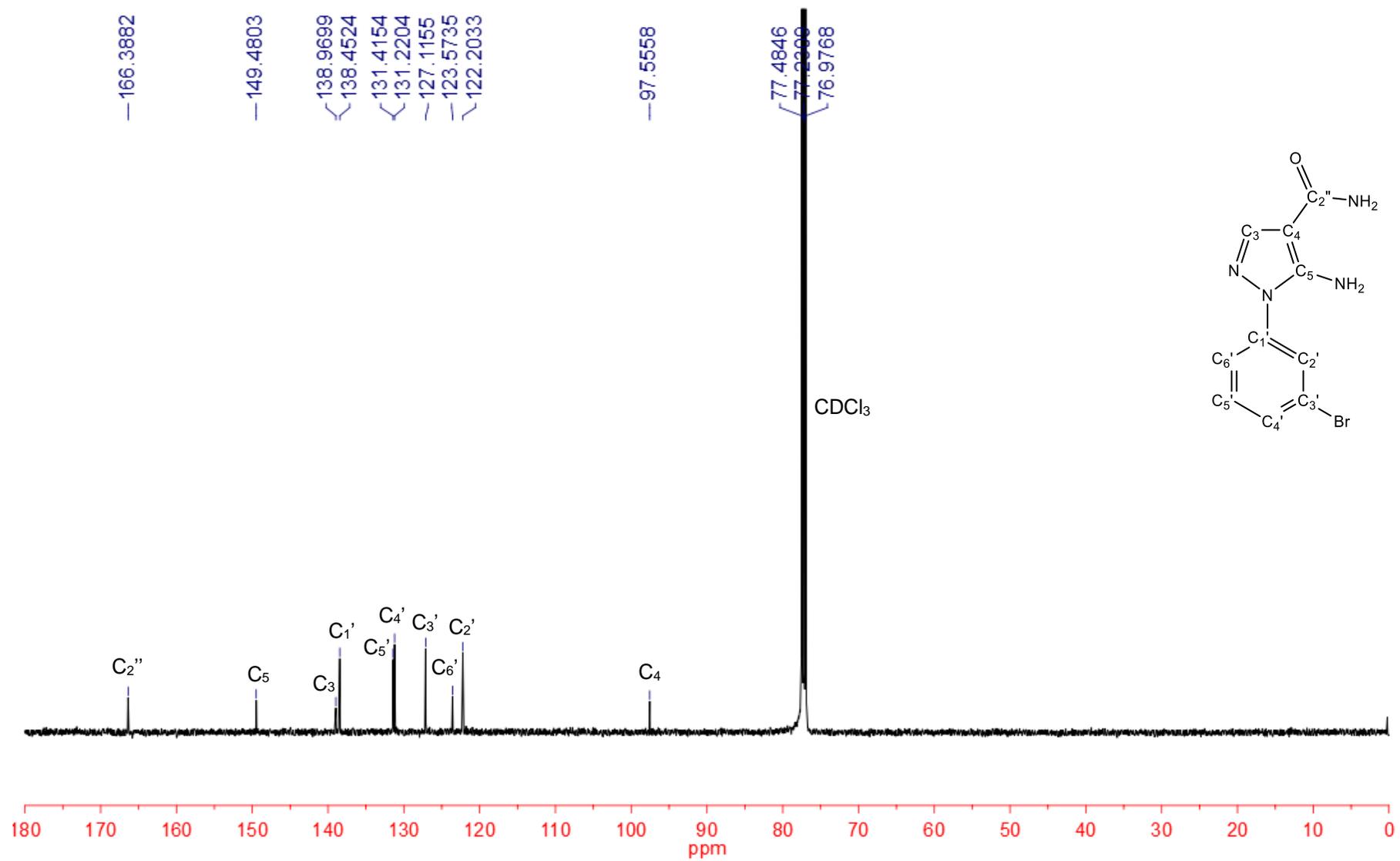
Espectro 188: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3g**.



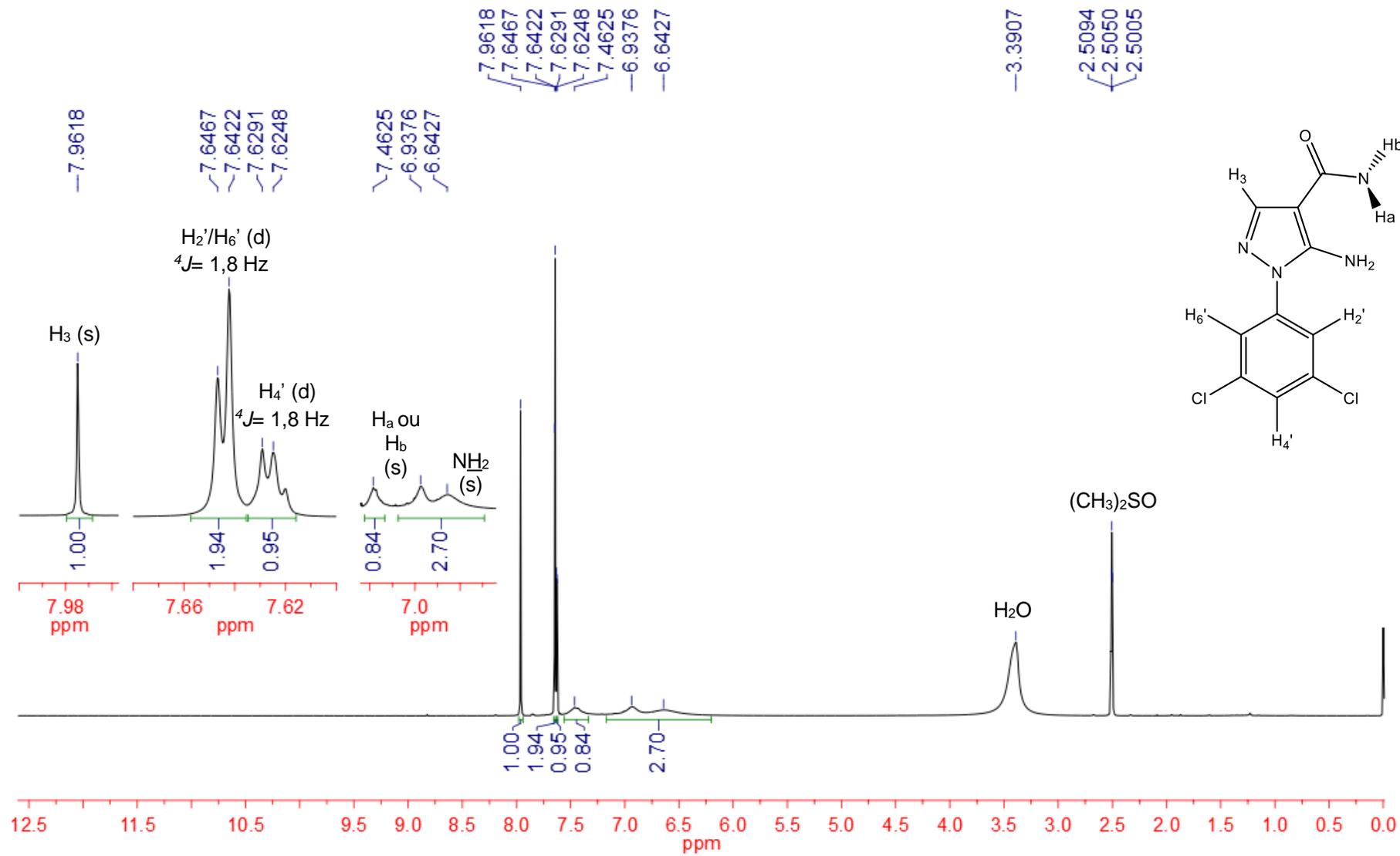
Espectro 189: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – CDCl₃) do derivado **3h**.



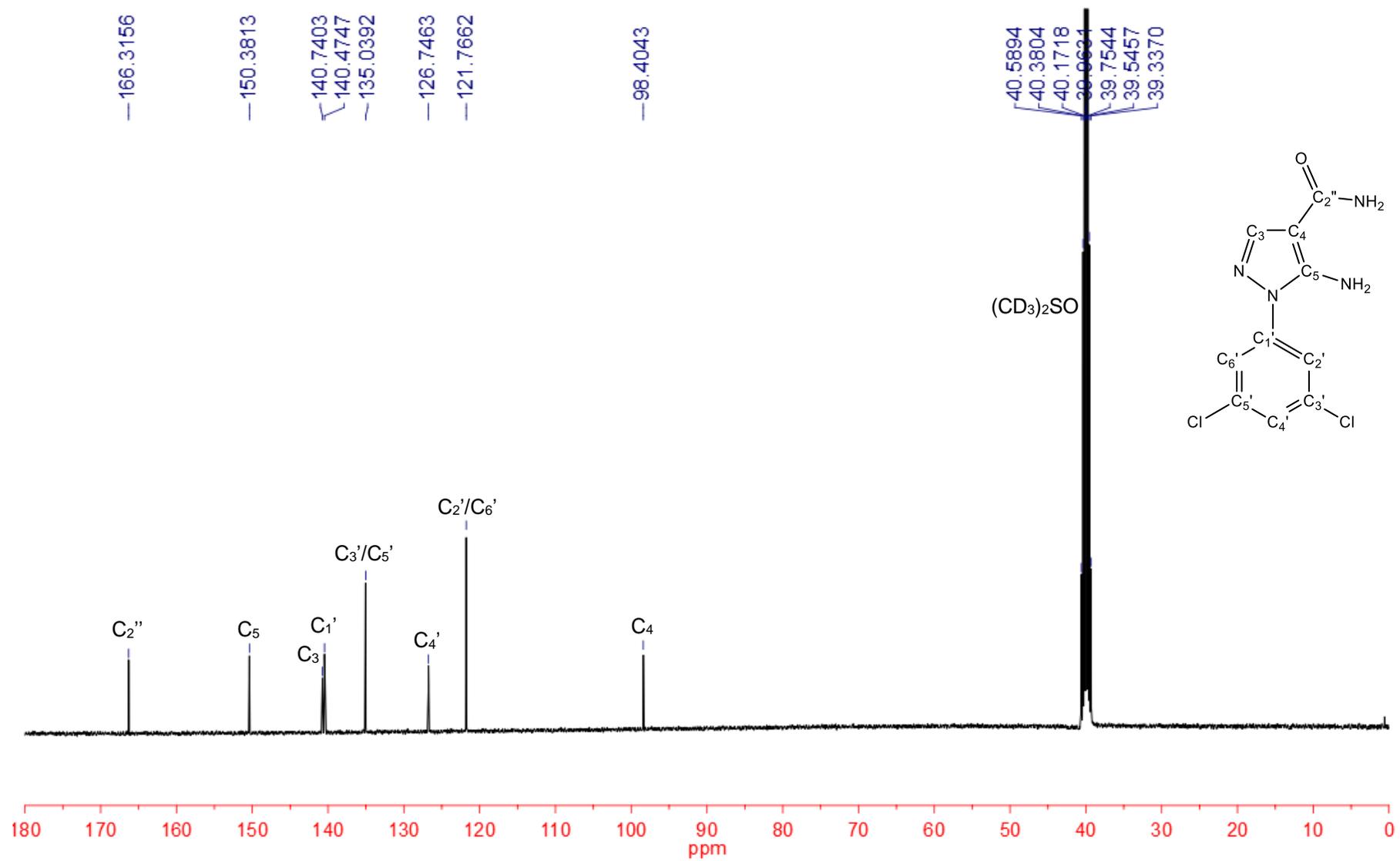
Espectro 190: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – CDCl₃) do derivado **3h**.



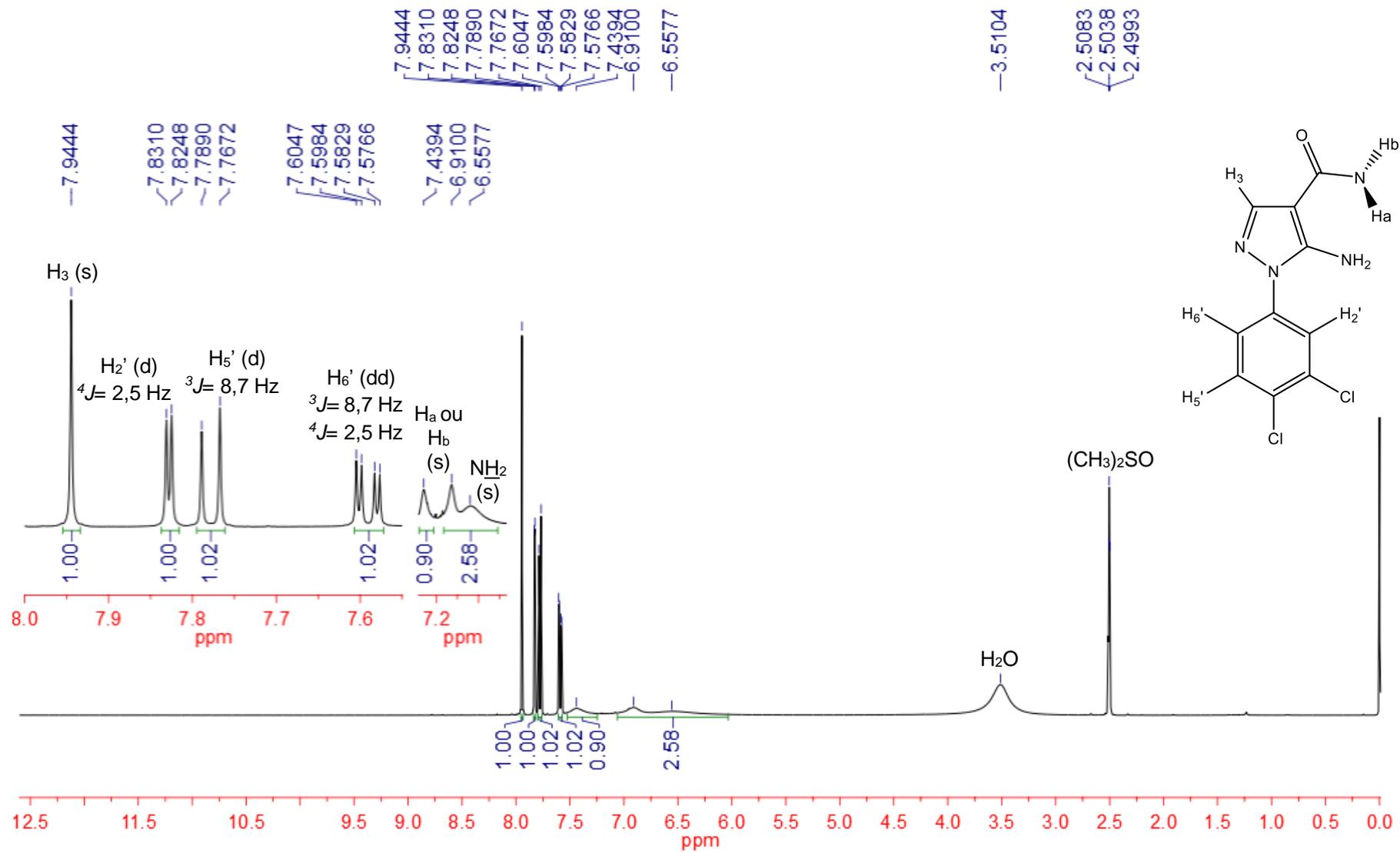
Espectro 191: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3i**.



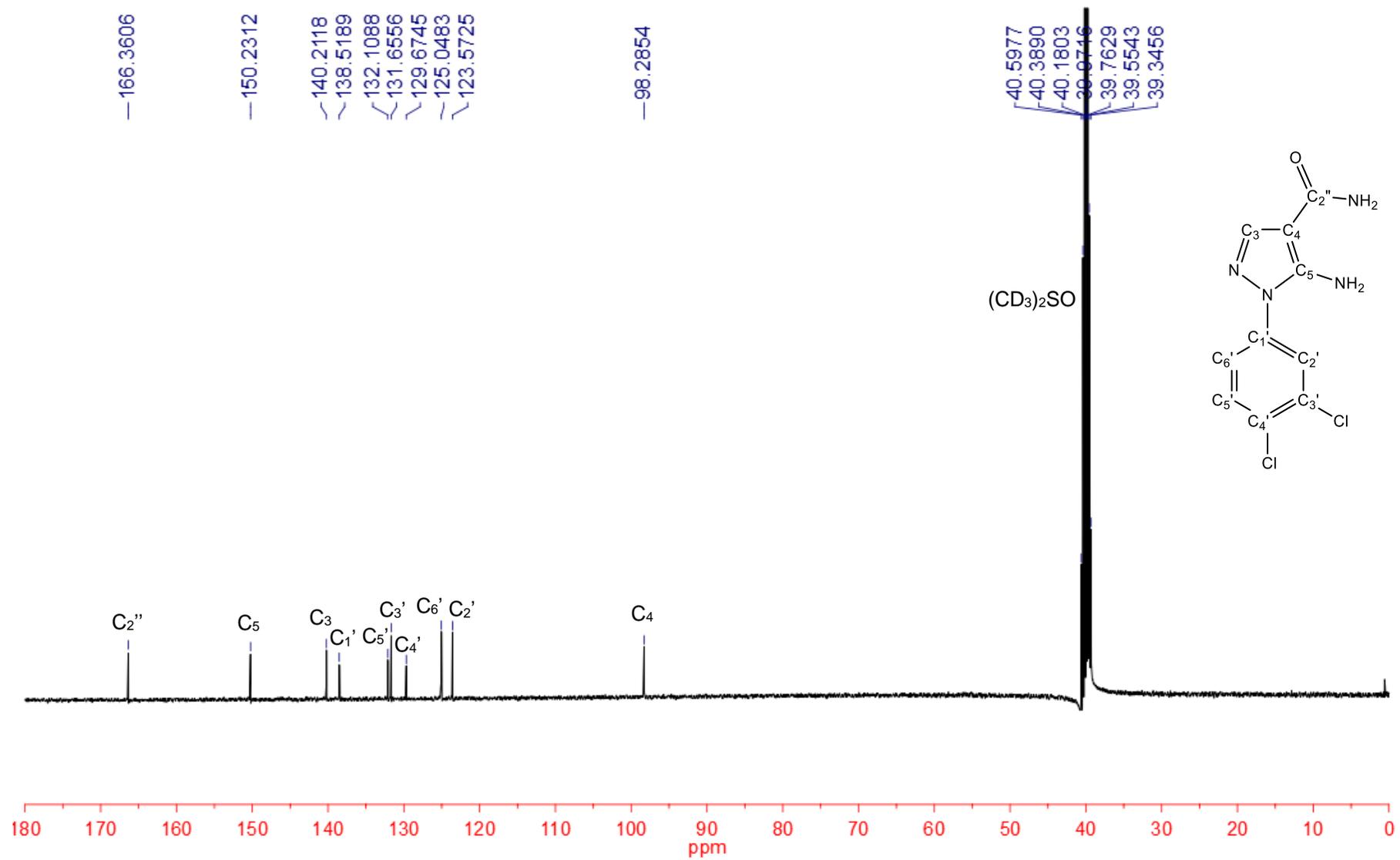
Espectro 192: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado 3i.



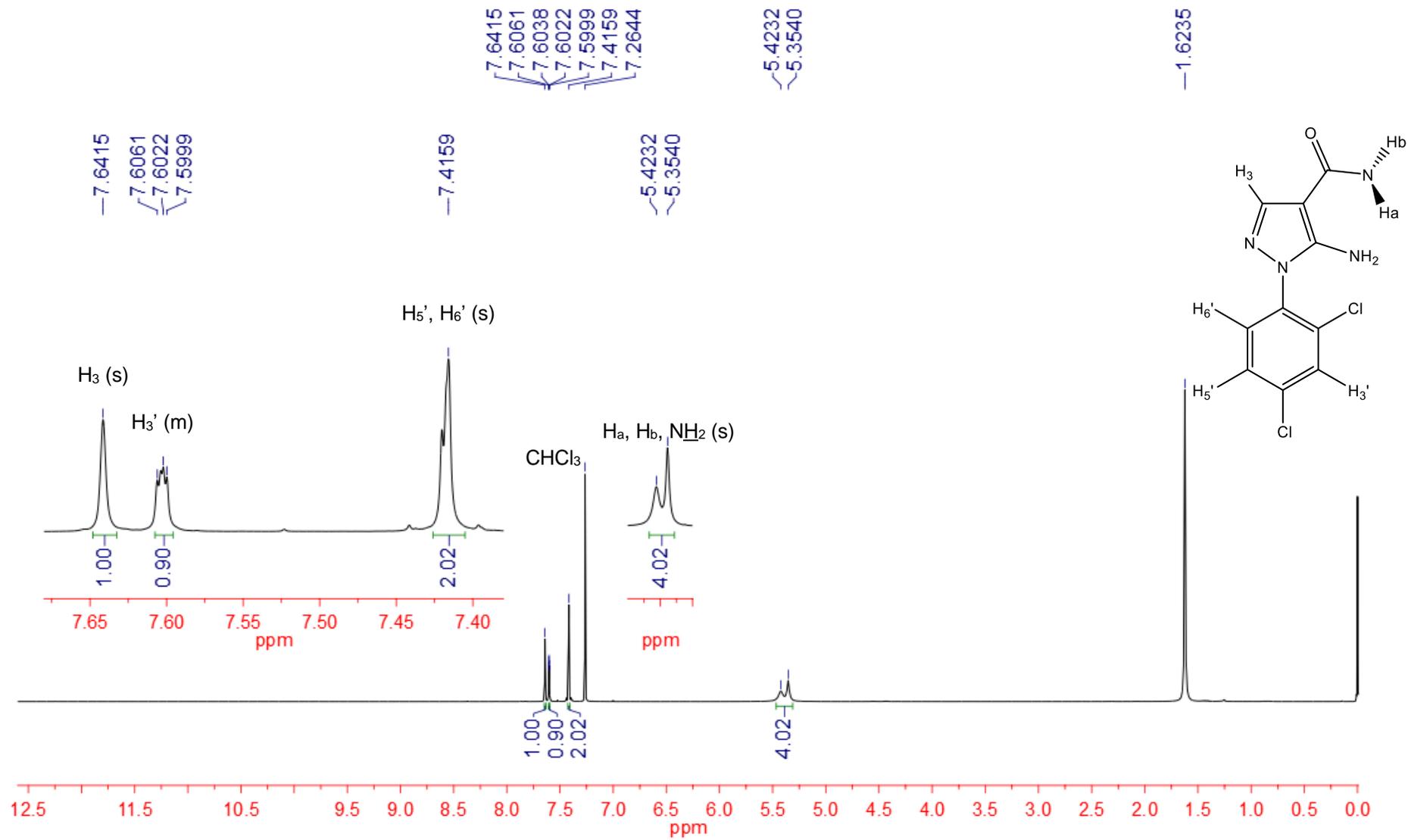
Espectro 193: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3j**.



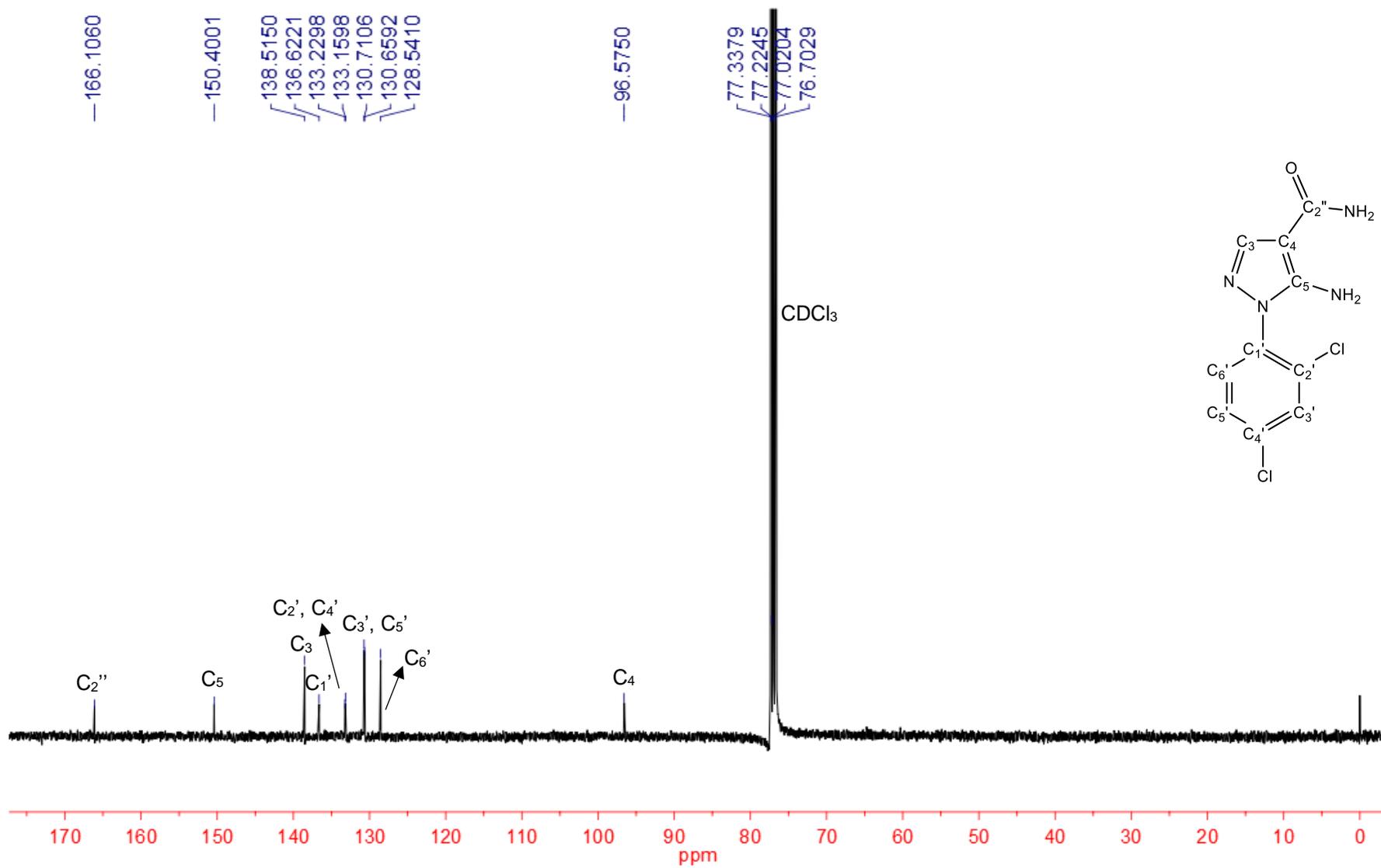
Espectro 194: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3j**.



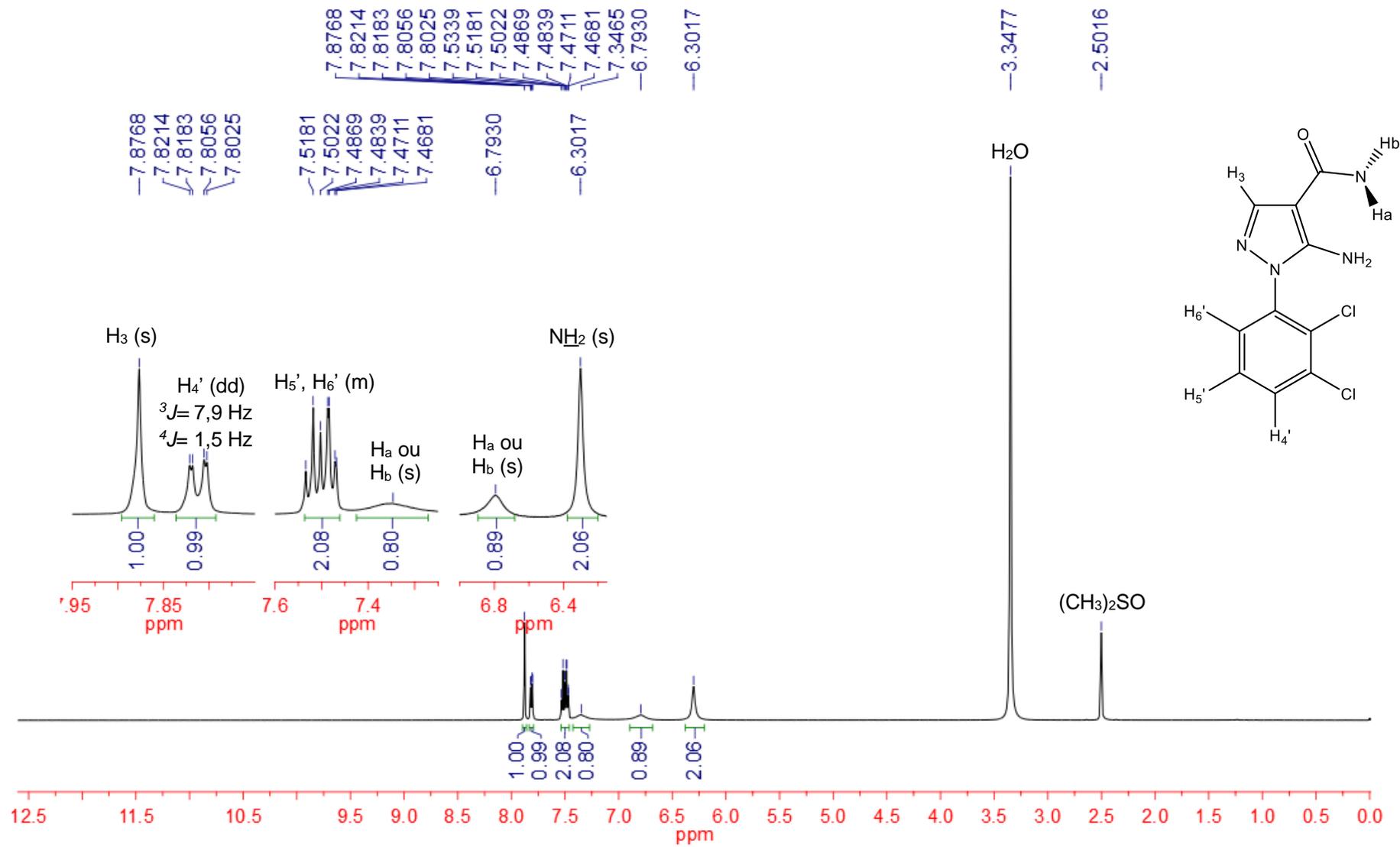
Espectro 195: Espectro de RMN-¹H (400 MHz – CDCl₃) do derivado **3k**.



Espectro 196: Espectro de RMN-¹³C (100 MHz – CDCl₃) do derivado **3k**.



Espectro 197: Espectro de RMN-¹H (500 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3I**.



Espectro 198: Espectro de RMN-¹³C (125 MHz – DMSO-*d*₆) do derivado **3I**.

