



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
NÚCLEO DE QUÍMICA DE HETEROCICLOS**

**PIRAZOLO[1,5-*a*]PIRIMIDINAS:  
SÍNTESE E BROMAÇÃO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Elisandra Scapin**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2006**

**PIRAZOLO[1,5-a]PIRIMIDINAS:  
SÍNTESE E BROMAÇÃO**

**por**

**Elisandra Scapin**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Orgânica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**.

**Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Pinto Martins**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2006**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**A COMISSÃO ORGANIZADORA, ABAIXO ASSINADA,  
APROVA A DISSERTAÇÃO**

**PIRAZOLO[1,5-A]PIRIMIDINAS:  
SÍNTESE E BROMAÇÃO**

**Elaborada por**

**ELISANDRA SCAPIN**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA A OBTENÇÃO  
DO GRAU DE MESTRE EM QUÍMICA

**COMISSÃO ORGANIZADORA:**

---

Prof. Dr. Marcos A. P. Martins – Orientador – UFSM

---

Prof. Dr. Alex F. C. Flores – UFSM

---

Prof. Dr. Nilo Zanatta - UFSM

Santa Maria, 27 de janeiro de 2006

Dedico esta dissertação aos meus pais,  
**Adilvo Antônio Scapin e Valdereza Scapin,**  
por todo carinho, paciência e incentivo.

Ao **Prof. Dr. Marcos A. P. Martins**,  
pela confiança, orientação e incentivo  
durante todos estes anos.

**A Deus,**  
Que sempre me guiou nas horas  
boas e principalmente nas mais  
difíceis e pela oportunidade de  
realizar este trabalho.

Ao **Denilson Kulman**,  
pelo amor, paciência  
e companheirismo.

## AGRADECIMENTOS

À toda a minha grande família, pais, avós, irmã, tios(a), primos(a), pela confiança, apoio, paciência e carinho; e principalmente por acreditarem em mim, muito obrigada por tudo .

Às companheiras de apartamento Enelise, Simone e Simara pela compreensão, apoio e amizade, meu eterno agradecimento.

Aos colegas e amigos do laboratório, Clarissa, Gabriela, Marcelo, João Inácio, Fernanda, Pablo, Graciela, Luciana, Emerson, Paulo, Rodrigo, Sidnei, Frantiescoli, Pâmela, Alexandre, pela convivência e ajuda durante a realização deste trabalho. Ao Marcos Vinícius Teixeira, Wilson Cunico e Fabiana Missau pela orientação durante os anos iniciação científica.

À todos os colegas dos laboratórios dos Professores Helio Bonacorso e Nilo Zanatta, em especial à Liana, Helena e Cleber pelo pelo incessante apoio e amizade.

Aos professores Alex F. C. Flores e Nilo Zanatta , pela disponibilidade de participar do exame de qualificação e pelas sugestões.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em química e aos funcionários Ademir Sartóri e Valéria Valquez.

Aos operadores do RMN pelos vários serviços prestados.

Às entidades financiadoras CNPq, CAPES, FAPERGS e FATEC pelos auxílios concedidos.



## RESUMO

### PIRAZOLO[1,5-*a*]PIRIMIDINAS: SÍNTESE E BROMAÇÃO

Autor: Elisandra Scapin

Orientador: Marcos A. P. Martins

Este trabalho mostra a síntese de uma série de 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-*a*]pirimidinas a partir da reação de ciclocondensação do 3-amino-5-metilpirazol com 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas [ $\text{CCl}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{C}(\text{R}^1)\text{OR}$  onde  $\text{R}^1 = \text{H}, \text{Me}, \text{Et}, \text{Pr}, \text{Bu}, t\text{-Bu}$  e  $\text{R} = \text{Me}, \text{Et}$  em bons rendimentos (69-98%). Também foi realizada a síntese de 2-metil-7-arylpirazolo[1,5-*a*]pirimidinas a partir da reação de ciclocondensação de  $\beta$ - dimetilaminovinil cetonas [ $\text{R}^2\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CHNMe}_2$ , onde  $\text{R} = \text{Ph}, \text{Ph-4-NO}_2, \text{Ph-4-Me}, \text{Ph-4-Br}, \text{Ph-4-F}, \text{Ph-4-Cl}, \text{pirid-2-il}, \text{pirrol-2-il}, \text{tien-2-il}$  e  $\text{fur-2-il}$ ] com 3-amino-5-metilpirazol em bons rendimentos (65-98%). Finalmente, foi realizada a reação de bromação das 2-metilpirazolo[1,5-*a*]pirimidinas a partir da reação destes compostos com *N*-bromosuccinimida. Os compostos foram obtidos com grau de pureza satisfatório e identificados através de espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC, HMBC, CG-MS e de Difração de Raio-X.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA  
SANTA MARIA, JANEIRO DE 2006

## Abstract

### Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines : Synthesis and Bromation

Author: Elisandra Scapin

Advisor: Marcos A. P. Martins

The synthesis of a series of 2-methyl-7-trichloromethylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines from the cyclocondensation reaction of 3-amino-5-methylpyrazole with 1,1,1-trichloro-4-alkoxyalk-3-en-2-ones [ $\text{CCl}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{C}(\text{R}^1)\text{OR}$  where  $\text{R}^1 = \text{H, Me, Et, Pr, Bu, } t\text{-Bu}$  e  $\text{R} = \text{Me, Et}$ ] in good yields (69-98%) is reported. Also, was performed the synthesis of 2-methyl-7-arylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines from de cyclocondensation reaction of 3-amino-5-methylpyrazole with  $\beta$ -dimethylaminovinyl ketones [ $\text{R}^2\text{C}(\text{O})\text{CH}=\text{CHNMe}_2$ , where  $\text{R} = \text{Ph, Ph-4-NO}_2, \text{Ph-4-Me, Ph-4-Br, Ph-4-F, Ph-4-Cl, pyrid-2-yl, pyrrol-2-yl, tien-2-yl e fur-2-yl}$ ] in good yields (65-98%). Finally, was performed of the bromation reaction of 2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidines from the reaction of these compounds with *N*-bromosuccinimide (yields: 70-98%). All compounds were obtained in satisfactory purity and were identified by  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC and HMBC spectroscopy, CG-MS and X-ray diffraction.

Master Dissertation

Post-Graduate Course in Chemistry

Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, January of 2006

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Síntese de 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas.....	4
2.2. Síntese de $\beta$ -enamino cetonas.....	5
2.3. Síntese de pirazolo[1,5-a]pirimidinas .....	6
2.4. Halogenação de Pirazóis .....	13
<b>3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
3.1. Numeração e nomenclatura dos compostos .....	15
3.2. 2-Metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>2a-f</b> .....	18
3.2.1. Síntese das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>2a-f</b> .....	18
3.2.2. Identificação dos compostos <b>2a-f</b> através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas 2D .....	20
3.2.3. Dados de Espectrometria de Massas para os compostos <b>2a-f</b> .....	28
3.2.4. Mecanismo da Reação.....	29
3.3. 2-Metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>4a-j</b> .....	31
3.3.1. Síntese das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>4a-j</b> .....	31
3.3.2. Identificação dos compostos <b>4a-j</b> através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas de 2D.....	33
3.3.3. Identificação dos compostos <b>4a-j</b> através de cromatografia ga sosa CG-MS.....	42
3.3.4. Mecanismo da Reação.....	43
3.3.5. Estrutura do composto <b>4a</b> obtida por difratometria de Raios-X em monocristal.....	44
4	
3.4. 3-Bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>5a-b,d</b> e 3-Bromo-2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	455

3.4.1. Síntese das 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>5a-b,d</b> síntese das 3-bromo-2-metil-7-arylpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	455
3.4.2. Identificação dos compostos <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas de 2D .....	488
3.4.3. Dados de Espectrometria de massas dos compostos <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	533
3.4.4. Mecanismo da Reação.....	544
<b>4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>555</b>
4.1. <i>Equipamentos Utilizados</i> .....	555
4.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear .....	555
4.1.3. Espectroscopia de Massas.....	555
4.1.4. Ponto de Fusão .....	566
4.1.5. Análise Elementar .....	566
4.1.6. difração de Raio-X.....	566
4.2. <i>Síntese dos Compostos</i> .....	566
4.2.1. Procedimento geral para a síntese de pirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>2a-f</b> e <b>4a-j</b> .....	566
4.2.2. Procedimento geral para a síntese de 3-bromo-2-metil-pirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	577
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>588</b>
<b>6. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXO 1: Espectro de massas dos compostos 2a-f, 4a-j, 5a-b,d, 6a-b,d-f, i-j.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO 2: Espectros de RMN de <math>^1\text{H}</math> e <math>^{13}\text{C}</math> dos compostos 2a-f, 4a-j, 5a-b, d, 6a-b, d-f, i-j.....</b>	<b>78</b>

**ANEXO 3: Estrutura d eRaio-X do composto****4a.....130****APÊNDICE 1: Atividade antimicrobiana.....138**

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Alguns heterociclos nitrogenados de elevado potencial biológico.....	1
<b>Figura 2:</b> Algumas purinas .....	2
<b>Figura 3:</b> Numeração dos compostos sintetizados.....	15
<b>Figura 4.</b> Nomenclatura dos compostos das séries <b>2, 4, 5 e 6</b> .....	16
<b>Figura 5:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2b</b> .....	21
<b>Figura 6:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2b</b> .....	22
<b>Figura 7:</b> Espectro de RMN de HMQC do composto <b>2b</b> .....	24
<b>Figura 8:</b> Espectro de RMN de HMBC do composto <b>2b</b> .....	25
<b>Figura 9:</b> Formas tautoméricas para o 5-metil-3-aminopirazol .....	29
<b>Figura 10:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4d</b> .....	34
<b>Figura 11:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4d</b> .....	35
<b>Figura 12:</b> Espectro de RMN de HMQC do composto <b>4d</b> .....	37
<b>Figura 13:</b> Espectro de RMN de HMBC do composto <b>4d</b> .....	38
<b>Figura 14.</b> ORTEP obtido por difração de Raios-X do composto <b>4a</b> .....	44
<b>Figura 15:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6d</b> .....	49
<b>Figura 16:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6d</b> .....	49
<b>Figura 17:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a] pirimidina <b>2a</b> .....	65
<b>Figura 18:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>2b</b> .....	65
<b>Figura 19:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-etilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>2c</b> .....	66
<b>Figura 20:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-propilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>2d</b> .....	66
<b>Figura 21:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-butilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>2e</b> .....	67
<b>Figura 22:</b> Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-isopropilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>2f</b> .....	67
<b>Figura 23:</b> Espectro de massas 2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4a</b> .....	68
<b>Figura 24:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(4-nitrofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4b</b> .....	68

<b>Figura 25:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4c</b> .....	<b>69</b>
<b>Figura 26:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4d</b> .....	<b>69</b>
<b>Figura 27:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4e</b> .....	<b>70</b>
<b>Figura 28:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4f</b> .....	<b>70</b>
<b>Figura 29:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(pirid-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4g</b> .....	<b>71</b>
<b>Figura 30:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(pirrol-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4h</b> .....	<b>71</b>
<b>Figura 31:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4i</b> .....	<b>72</b>
<b>Figura 32:</b> Espectro de massas 2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4j</b> .....	<b>72</b>
<b>Figura 33:</b> Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>5a</b> .....	<b>73</b>
<b>Figura 34:</b> Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>5b</b> .....	<b>73</b>
<b>Figura 35:</b> Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina <b>5d</b> .....	<b>74</b>
<b>Figura 36:</b> Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina <b>6a</b> .....	<b>74</b>
<b>Figura 37:</b> Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-nitrofenilpirazolo[1,5-a]pirimidina <b>6b</b> .....	<b>75</b>
<b>Figura 38:</b> Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>4d</b> .....	<b>75</b>
<b>Figura 39:</b> Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>6e</b> .....	<b>76</b>
<b>Figura 40:</b> Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>6f</b> .....	<b>76</b>

<b>Figura 41:</b> Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo [1,5-a]pirimidina <b>6i</b> .....	77
<b>Figura 42:</b> Espectro de massa 3-bromo 2-metil-7-(fur-2-il)pirazo lo[1,5-a]pirimidina <b>6j</b> .....	77
<b>Figura 43:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2a</b> .....	79
<b>Figura 44:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2a</b> .....	80
<b>Figura 45:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2b</b> .....	81
<b>Figura 46:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2b</b> .....	82
<b>Figura 47:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2c</b> .....	83
<b>Figura 48:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2c</b> .....	84
<b>Figura 49:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2d</b> .....	85
<b>Figura 50:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2d</b> .....	86
<b>Figura 51:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2e</b> .....	87
<b>Figura 52:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2e</b> .....	88
<b>Figura 53:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>2f</b> .....	89
<b>Figura 54:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>2f</b> .....	90
<b>Figura 55:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4a</b> .....	91
<b>Figura 56:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4a</b> .....	92
<b>Figura 57:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4b</b> .....	93
<b>Figura 58:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4b</b> .....	94
<b>Figura 59:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4c</b> .....	95
<b>Figura 60:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4c</b> .....	96
<b>Figura 61:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4d</b> .....	97
<b>Figura 62:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4d</b> .....	98
<b>Figura 63:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4e</b> .....	99
<b>Figura 64:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4e</b> .....	100
<b>Figura 65:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4f</b> .....	101
<b>Figura 66:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4f</b> .....	102
<b>Figura 67:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4g</b> .....	103
<b>Figura 68:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4g</b> .....	104
<b>Figura 69:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4h</b> .....	105
<b>Figura 70:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4h</b> .....	106
<b>Figura 71:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4i</b> .....	107



<b>Figura 72:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4i</b> .....	<b>1087</b>
<b>Figura 73:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>4j</b> .....	<b>109</b>
<b>Figura 74:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>4j</b> .....	<b>110</b>
<b>Figura 75:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>5a</b> .....	<b>111</b>
<b>Figura 76:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>5b</b> .....	<b>112</b>
<b>Figura 77:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>5b</b> .....	<b>113</b>
<b>Figura 78:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>5d</b> .....	<b>114</b>
<b>Figura 79:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>5d</b> .....	<b>115</b>
<b>Figura 80:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6a</b> .....	<b>116</b>
<b>Figura 81:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6a</b> .....	<b>117</b>
<b>Figura 82:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6b</b> .....	<b>118</b>
<b>Figura 83:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6b</b> .....	<b>119</b>
<b>Figura 84:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6d</b> .....	<b>120</b>
<b>Figura 85:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6d</b> .....	<b>121</b>
<b>Figura 86:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6e</b> .....	<b>122</b>
<b>Figura 87:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6e</b> .....	<b>123</b>
<b>Figura 88:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6f</b> .....	<b>124</b>
<b>Figura 89:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6f</b> .....	<b>125</b>
<b>Figura 90:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6i</b> .....	<b>126</b>
<b>Figura 91:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6i</b> .....	<b>127</b>
<b>Figura 92:</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>6j</b> .....	<b>128</b>
<b>Figura 93:</b> Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do composto <b>6j</b> .....	<b>129</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Nomenclatura das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>2a-f</b> .....	16
<b>Tabela 2:</b> Nomenclatura das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>4a-j</b> .....	16
<b>Tabela 3:</b> Nomenclatura das 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>5a-b,d</b> e das 3-bromo-2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	17
<b>Tabela 4:</b> Condições reacionais testadas para a síntese da 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>1a</b> . .....	19
<b>Tabela 5:</b> Rendimentos, Pontos de fusão, Fórmula Molecular e Análise Elemental das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas <b>2a-f</b> . .....	19
<b>Tabela 6:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ dos compostos <b>2a-f</b> .....	24
<b>Tabela 7:</b> Principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos <b>2a-f</b> a uma energia de 70 eV.....	28
<b>Tabela 8:</b> Rendimentos, Pontos de Fusão, Fórmula Molecular e Análise Elemental dos compostos <b>4a-j</b> .....	32
<b>Tabela 9:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ dos compostos <b>4a-j</b> .....	37
<b>Tabela 10:</b> Principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos <b>4a-j</b> a uma energia de 70 eV.....	42
<b>Tabela 11:</b> Condições reacionais testadas para a síntese da 3-bromo-2-metil-pirazolo[1,5-a]pirimidina <b>6a</b> .....	46
<b>Tabela 12:</b> Rendimentos, Pontos de Fusão e Fórmula Molecular dos compostos <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	47
<b>Tabela 13:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ dos compostos <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> .....	50
<b>Tabela 14:</b> Principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos <b>5a-b,d</b> e <b>6a-b,d-f,i-j</b> a uma energia de 70 eV .....	53
<b>Tabela 15:</b> Dados cristalográficos e refinamento da estrutura para o composto <b>4a</b> . .....	133
<b>Tabela 16:</b> Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros de substituição de equivalência isotrópica ( $\text{Å}^2 \times 10^3$ ) para o composto <b>4a</b> .....	134
<b>Tabela 17:</b> Comprimentos de ligação [ $\text{Å}$ ] e ângulos [ $^\circ$ ] para o composto <b>4a</b> . .....	135

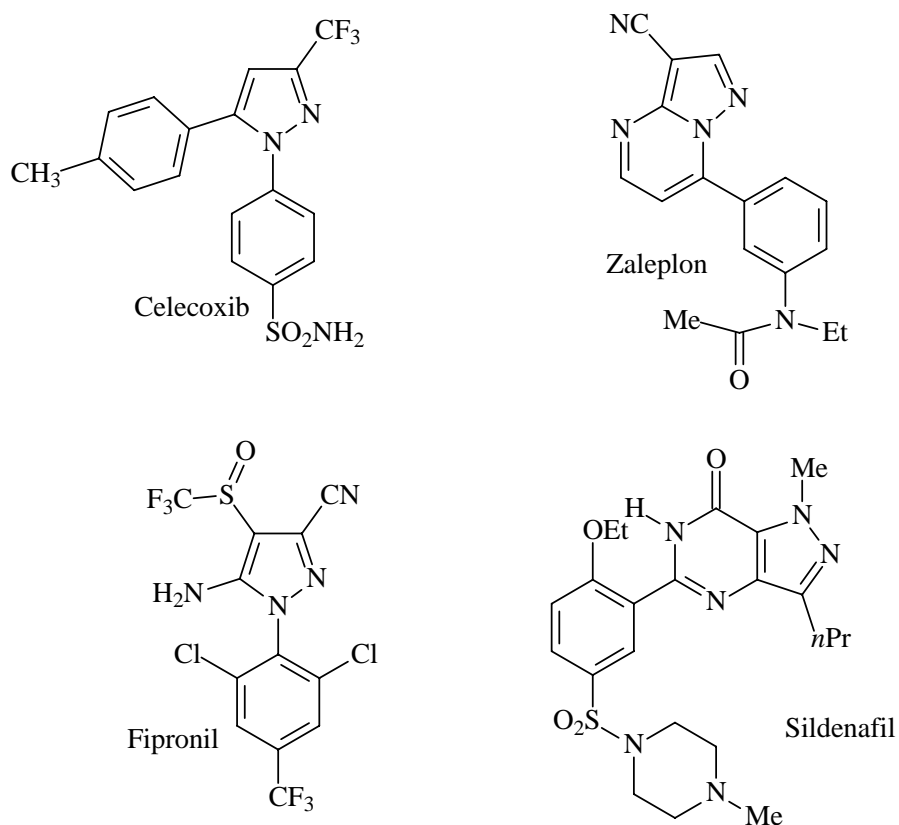
<b>Tabela 18:</b> Parâmetros de substituição anisotrópica ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto <b>4a</b> .....	<b>136</b>
<b>Tabela 19:</b> Coordenadas de hidrogênio ( $\times 10^4$ ) e parâmetros de substituição isotrópica ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto <b>4a</b> .....	<b>137</b>
<b>Tabela 20:</b> Avaliação da atividade antibacteriana <i>in vitro</i> de pirazolo[1,5- <i>a</i> ]pirimidinas.....	<b>145</b>
<b>Tabela 21:</b> Avaliação da atividade antifúngica <i>in vitro</i> de pirazolo[1,5- <i>a</i> ]pirimidinas (CIM/CFM - $\mu\text{gml}^{-1}$ ):.....	<b>146</b>

# 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Há uma grande variedade de compostos orgânicos nitrogenados usados como componentes estruturais de substâncias farmacêuticas e agroquímicas conferindo-lhes alta atividade biológica. Atualmente 85% dos fármacos disponíveis na terapêutica moderna são de origem sintética e destes, 62% são heterociclos sendo que 91% contém nitrogênio em suas estruturas.

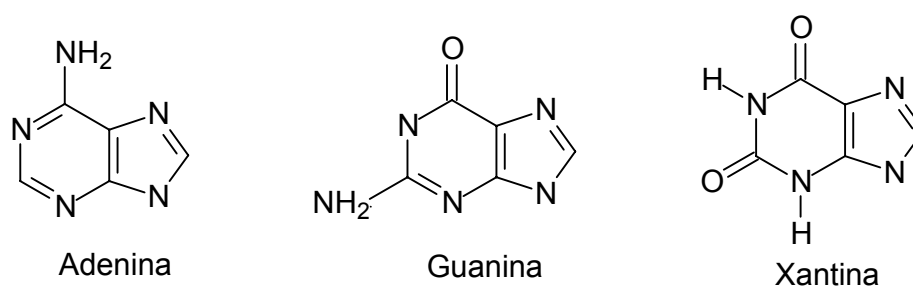
Heterociclos nitrogenados como piridinas<sup>1</sup>, pirimidinas<sup>2</sup>, pirazolinas<sup>3</sup>, pirazóis<sup>4</sup>, pirimidinonas<sup>5</sup> e pirazolopirimidinas<sup>6</sup> tem sido alvos de intensos estudos e pesquisas em busca de guias farmacofóricos e fármacos. Dentre muitos destacam-se o celecoxib (Celebra<sup>®</sup>),<sup>7</sup> potente antiinflamatório que atua como inibidor seletivo da enzima prostaglandina endoperóxido sintase-2 (PGHS-2); o zaleplon (Sonata<sup>®</sup>),<sup>8</sup> agente hipnótico não-benzodiazepínico utilizado no tratamento da insônia; o sildenafil (Viagra<sup>®</sup>), usado contra a impotência masculina; o fipronil, inseticida (carrapaticida) que atua bloqueando o canal de cloro do ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA)<sup>9</sup> (Figura 1).

**Figura 1:** Alguns heterociclos nitrogenados de elevado potencial biológico



As pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas são análogas a purinas (Figura 2) e assim, possuem propriedades antimetabólicas em reações de purinas naturais. Os compostos desta classe têm ainda atraído interesse farmacêutico devido a atividade antitripanossômica<sup>10</sup> e atividade antiesquistossômica<sup>11</sup>, como inibidores da HMG-CoA redutase<sup>12</sup> e como inibidores da PGHS-2<sup>13</sup> (o que lhes confere alta atividade anti-inflamatória) e como agente ansiolítico<sup>14</sup>.

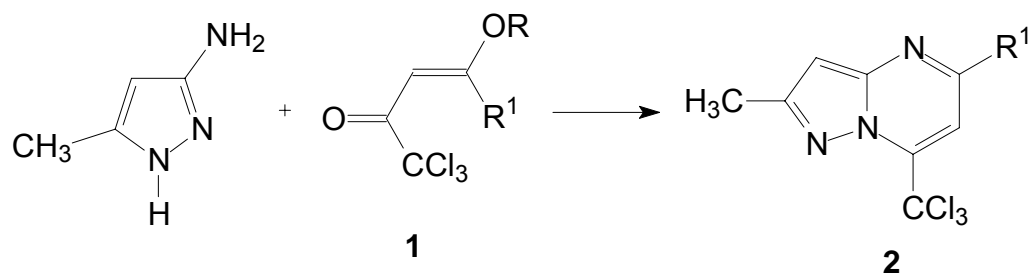
**Figura 2:** Algumas purinas



Assim, considerando o grande potencial farmacológico apresentado pelas pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas e dando continuidade aos trabalhos desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa foram estabelecidos como objetivos desta dissertação:

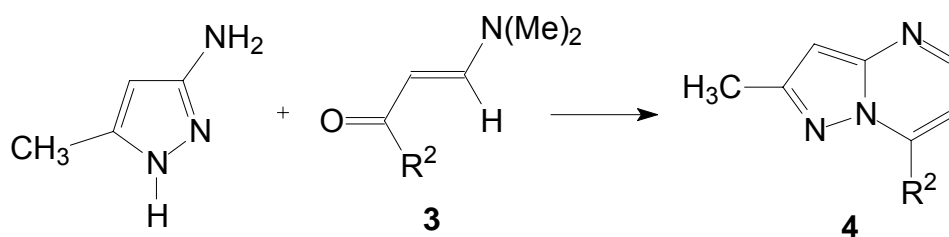
1. Realizar o estudo das reações de ciclocondensação do tipo [NCN] + [CCC] entre o 3-amino-5-metilpirazol e 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas, respectivamente (Esquema 1);
2. Realizar o estudo das reações de ciclocondensação do tipo [NCN] + [CCC] entre o 3-amino-5-metilpirazol e  $\beta$ -dimetilaminovinil cetonas, respectivamente (Esquema 2);
3. Realizar a reação de bromação das pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas sintetizadas nos itens 1 e 2 com NBS (Esquema 3);
4. Avaliar a possível atividade antimicrobiana da série dos compostos sintetizados;

## Esquema 1:



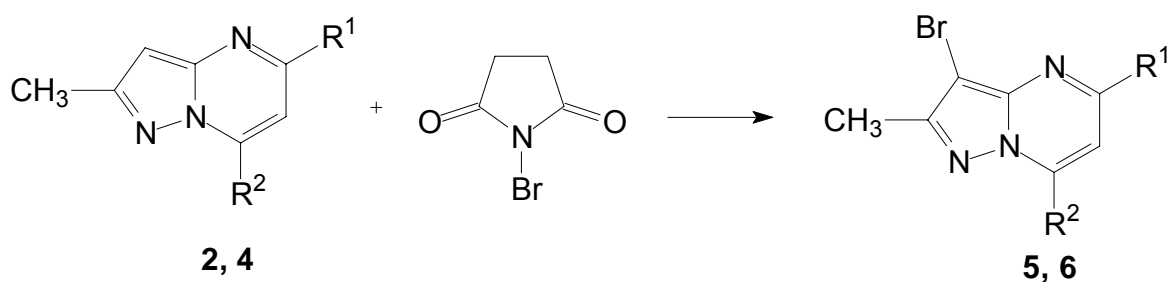
R = Me, Et  
R<sup>1</sup> = H, Alquil

## Esquema 2:



R<sup>2</sup> = aril, heteroaril

## Esquema 3:



R<sup>1</sup> = H, alquil  
R<sup>2</sup> = CCl<sub>3</sub>, aril, heteroaril

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

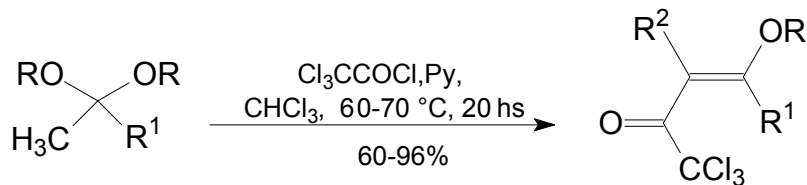
Esta revisão da literatura terá como objetivo apresentar os trabalhos relacionados à síntese de pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas e seus derivados. Inicialmente serão mostrados, resumidamente, os principais métodos de síntese de 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas e de  $\beta$ -enamino cetonas. Posteriormente serão apresentados os principais métodos de síntese de pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas encontrados na literatura seguida pela halogenação de núcleos pirazolínicos.

### 2.1. Síntese de 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas

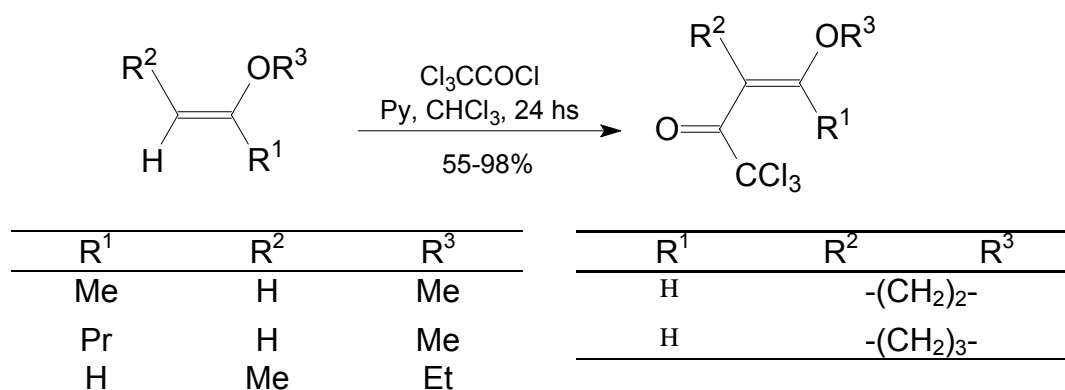
As  $\beta$ -alcoxivinil triclorometil cetonas apresentam um grande potencial sintético devido às propriedades químicas semelhantes aos sistemas 1,3-dicarbonílicos. A principal diferença está na reatividade distinta dos dois centros eletrofílicos, conduzindo, assim, a reações mais regioseletivas.

É muito vasta a literatura sobre a preparação de 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-ona e sua utilização como 1,3-dieletrófilos. De uma maneira geral são preparadas a partir da acilação de acetais (Esquema 4) e ou enoléteres com cloreto de tricloroacetila como agente acilante (Esquema 5). Para uma visão mais completa sobre o assunto consultar referências 15-26.

**Esquema 4:**



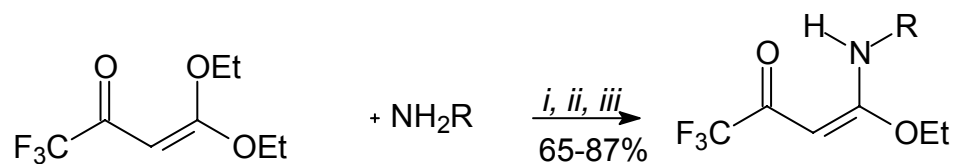
R	R <sup>1</sup>	R	R <sup>1</sup>	R	R <sup>1</sup>
Me	Me	Me	Ph-4-Br	Me	<i>i</i> -Bu
Et	Ph	Me	Ph-4-NO <sub>2</sub>	Me	<i>i</i> -Pent
Me	Ph	Me	Et	Me	<i>n</i> -hex
Me	Ph-4-MeO	Me	Pr	Me	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CO <sub>2</sub> Me
Me	Ph-4-Me	Me	<i>i</i> -Pr	Me	Furil
Me	Ph-4-F	Me	Bu	Me	Tienil
Me	Ph-4-Cl				

**Esquema 5:****2.2. Síntese de β-enamino cetonas**

Enaminonas são reagentes versáteis, facilmente obtidos e a química de enaminonas tem recebido considerável atenção nos últimos anos<sup>27</sup>. Sendo importantes intermediários sintéticos, particularmente na química de heterociclos. Heterociclos sintetizados a partir de enaminonas incluem alcalóides carbazolequinonas<sup>28</sup>, benzo[a]quinolizinas tricíclicas<sup>29</sup>, pirróis<sup>30</sup>, isoxázois<sup>31</sup>, pirimidinas<sup>32</sup>, pirazóis<sup>33</sup>, pirazolopirimidinas<sup>34</sup> e piridinas<sup>35</sup>.

Um grande número de enaminonas foi sintetizada com alto grau de pureza por Martins e colaboradores, reagindo diferentes aminas com 1,1,1-trifluor-4-alcoxi-3-buten-2-onas<sup>34</sup> (Esquema 6) e também através da reação entre diferentes cetonas com dimetilformamida<sup>42</sup> (Esquema 7). Para uma visão mais ampla sobre β-enamino cetonas, consultar referências 36-41.



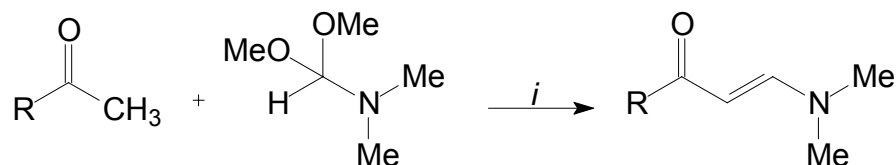
**Esquema 6:**

*i*: (a) NH<sub>3</sub> (g), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, t. a., 3 horas

*ii*: (b-g) NH<sub>2</sub>R, CH<sub>3</sub>CN, t. a., 2-3 horas

*iii*: (h-l) NH<sub>2</sub>R<sup>+</sup>HCl, CH<sub>3</sub>CN, piridina, refluxo, 6 horas

R	R
H	-CH <sub>2</sub> Ph
Me	5-metilisoxazol-3-il
Et	Tioxazol-2-il
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	Ph-4-NH <sub>2</sub>
-C(Me) <sub>2</sub> Et	Ph-4-COCH <sub>3</sub>
Ph	Ph-4-NO <sub>2</sub>

**Esquema 7:**

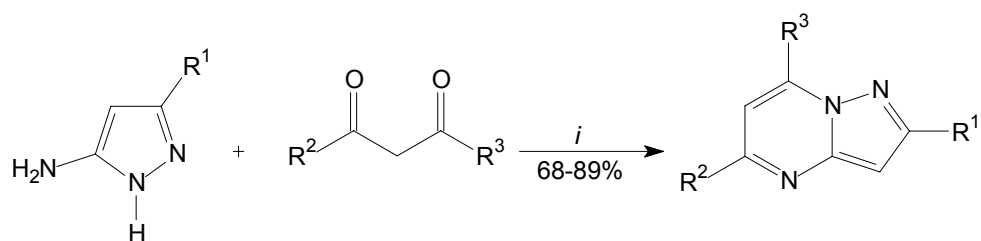
*i*: F<sub>3</sub>BOEt<sub>2</sub>, tolueno, refluxo, 24 HS

R	R
Ph	Ph-4-NO <sub>2</sub>
Ph-4-MeO	Fur-2-il
Ph-4-Me	Tien-2-il
Ph-4-F	Pirrol-2-il
Ph-4-Cl	Pirid-2-il
Ph-4-Br	CCl <sub>3</sub>

**2.3. Síntese de pirazolo[1,5-a]pirimidinas**

Em 2004, Yin e col.<sup>43</sup> sintetizaram 3-alquenilpirazolo[1,5-a]pirimidinas via reação de acoplamento Heck Cross. Para a síntese do 2,5,7-trissubstituído pirazolo[1,5-a]pirimidina Yin e col. realizaram a reação de condensação entre os 5-aminopirazóis 3-substituídos com 1,3-dicetonas em presença de ácido clorídrico concentrado, em ácido acético ou etanol (Esquema 8).

### Esquema 8:

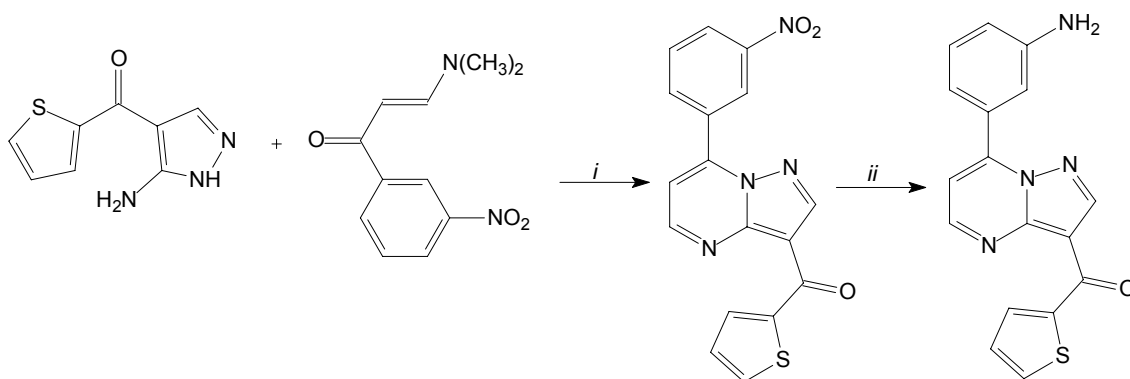


*i* = HCl refluxo

R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
Ph	Me	Ph
Ph-4-Cl	Me	Ph
Me	Ph	Ph
Ph	Me	Ph-4-Cl
Me	Me	Ph
Me	Me	Me
Ph	Ph	Ph
H	Ph	Ph

Gopalsamy e col.<sup>44</sup> sintetizaram pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-7-il fenil amidas a partir da reação entre enaminonas e diferentes aminopirazóis (Esquema 9).

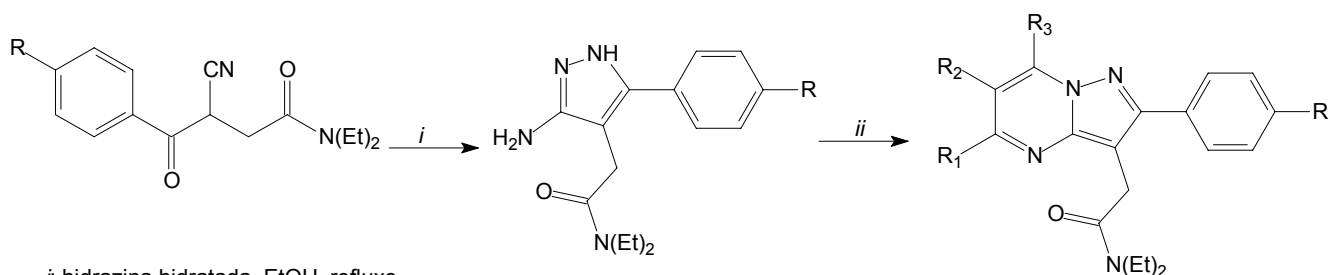
### Esquema 9:



*i*: CH<sub>3</sub>COOH, refluxo, 82%

*ii*: Fe, NH<sub>4</sub>Cl, MeOH, H<sub>2</sub>O, 61%

*N,N*-Dietilbutanamidas foram usadas por Selleri e col.<sup>45</sup> para a síntese dos intermediários *N,N*-dietil-(3-amino-5-arylpirazol-4-il)acetamidas utilizados na síntese das pirazolo[1,5-*a*]pirimidin-3-il acetamidas (Esquema 10).

**Esquema 10:**

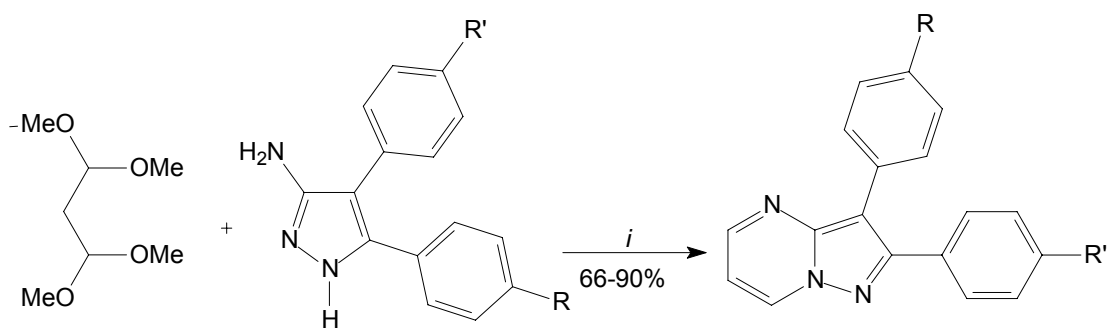
*i*: hidrazina hidratada, EtOH, refluxo

*ii*: reagentes mostrados na tabela

Reagente <sup>a</sup>	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
<b>A</b>	H	Me	H	H
<b>A</b>	H	H	H	Me
<b>B</b>	H	H	H	H
<b>C</b>	H	Me	H	Me
<b>C</b>	Cl	Me	H	Me
<b>C</b>	F	Me	H	Me
<b>C</b>	Me	Me	H	Me
<b>C</b>	OMe	Me	H	Me

A= 4,4-dimetoxi-2-butanona, B= 1,1,3,3-tetraetoxipropano, C= 2,4-pentanodiona

Compton e col.<sup>46</sup> sintetizaram pirazolo[1,5-a]pirimidinas através da reação entre tetrametoxipropano e 3-aminopirazol em meio ácido (Esquema 11).

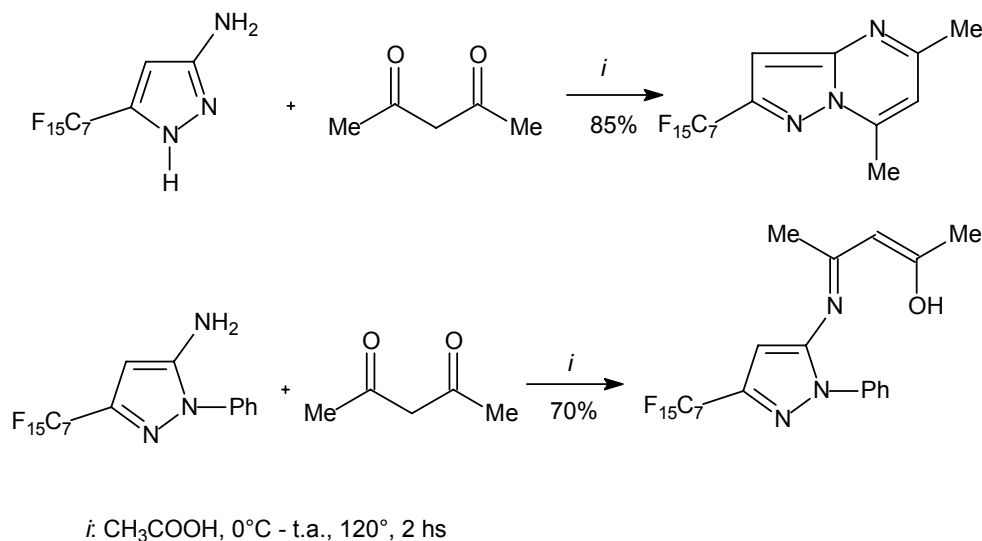
**Esquema 11:**

*i*: HOAc, 110°C, 3h

R	R'
H	H
H	OMe
OMe	H
OMe	OMe

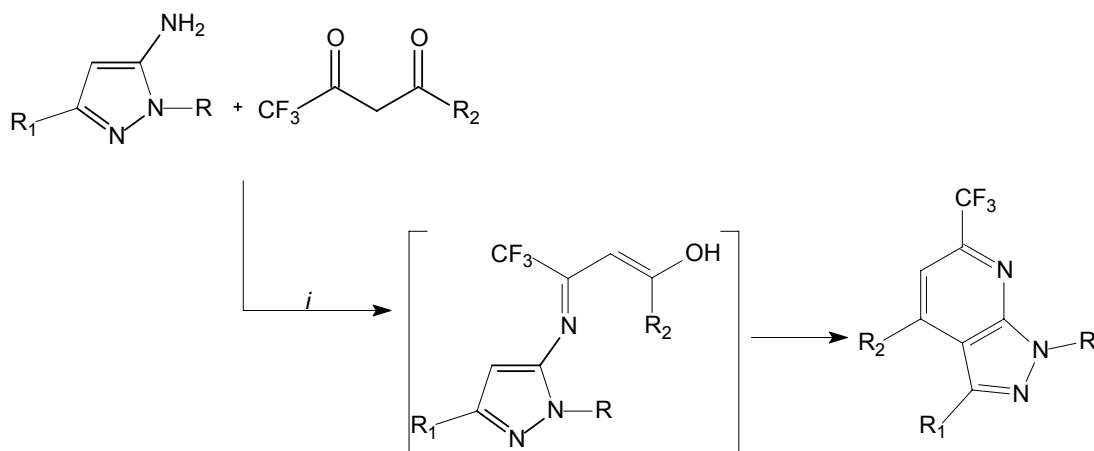
Fabron e col.<sup>47</sup> estudaram a regioseletividade da reação de ciclocondensação de 5(3)-polifluoraril-5(3)-aminopirazóis com acetilacetona. O 3-aminopirazol reage com acetilacetona em refluxo de ácido acético formando a pirazolo[1,5-a]pirimidina, enquanto a reação com o 5-amino-1-fenilpirazol forma apenas o intermediário imina (Esquema 12).

**Esquema 12:**



Entretanto, Singh e Col<sup>48</sup>, através da reação entre 5-amino 1,3-pirazol dissubstituído e β-dicetonas sintetizaram um único isômero da pirazolo[3,4-*b*]piridina (Esquema 13). A reação inicia exclusivamente com o ataque do grupo amino ao carbono carbonílico adjacente ao grupo CF<sub>3</sub>. A ciclização envolve o ataque do carbono a outra carbonila do 1,3-dieletrófilo trifluormetil substituído.

## Esquema 13:

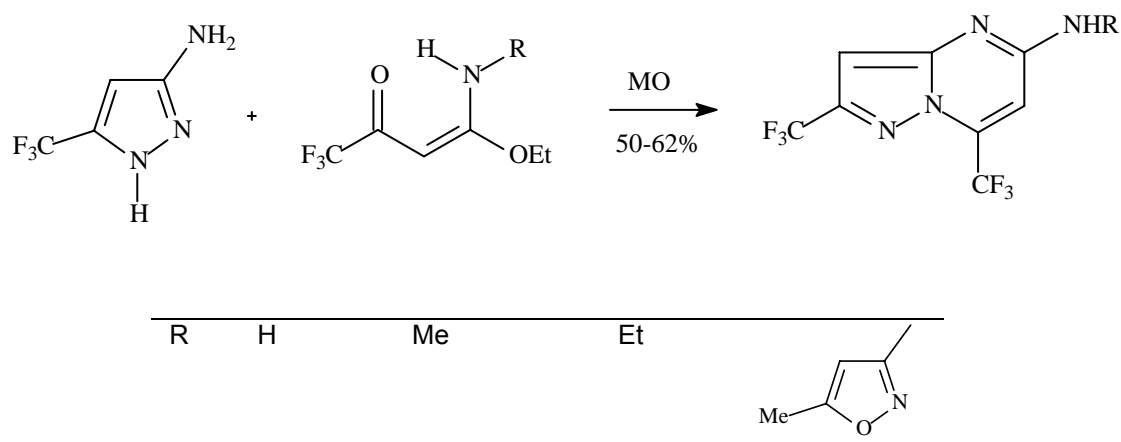


*i.* CH<sub>3</sub>COOH, 12 hs, refluxo

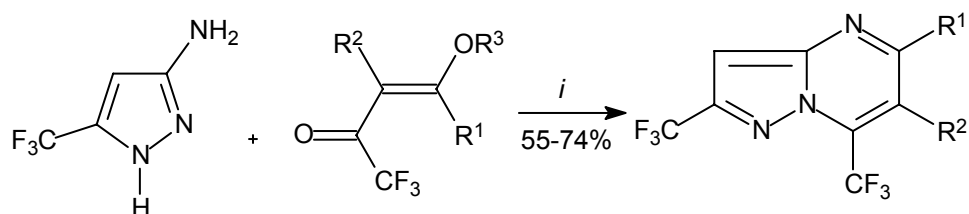
R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
H	Ph	tien-2-il
H	Ph	Ph
H	Ph-4-OMe	Tien-2-il
benzotiazol-2-il	Ph	Ph
benzotiazol-2-il	Ph	Tien-2-il

Cunico e col.<sup>34</sup> sintetizaram aminopirazolo[1,5-*a*]pirimidinas a partir da reação entre enaminonas e 5-trifluorometil-3-aminopirazol em tolueno sob irradiação de microondas por 12 minutos utilizando 50% da potência máxima do aparelho (Esquema 14). Eles também reagiram o 5-trifluorometil-3-aminopirazol com 1,1,1-trifluor-4-alcoxi-3-alquen-2-onas para formar as pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas. A reação foi realizada em acetonitrila, em refluxo por 16 horas (Esquema 15).

## Esquema 14:



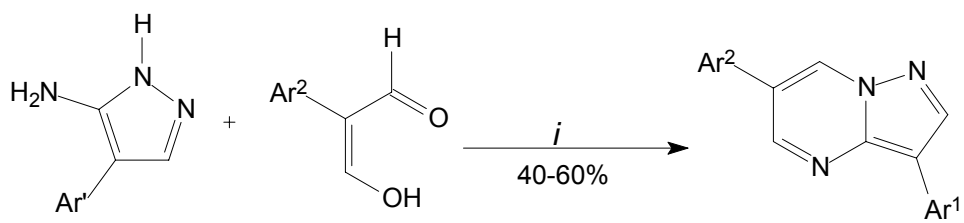
## Esquema 15:



i: CH<sub>3</sub>CN, refluxo, 16 horas

R <sup>1</sup>	H	Me	Pr	<i>t</i> -Bu	H	Ph-4-Me	OEt
R <sup>2</sup>	H	H	H	H	Me	Me	H
R <sup>3</sup>	Et	Me	Me	Me	Me	Me	Et

Fraley e col.<sup>49</sup> sintetizaram pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas 3,6-disubstituídas a partir da reação de condensação entre 3-amino-4-arilpirazóis e 2-arilmalonaldeído em presença de ácido acético em etanol (Esquema 16). As pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas disubstituídas resultantes são potentes inibidores da KDR kinase.

**Esquema 16:**

*i* = CH<sub>3</sub>COOH cat., EtOH, refluxo

Ar <sup>2</sup>	Ar <sup>1</sup>
Pirid-4-il	Pirid-4-il
Ph-4-Me	Pirid-4-il
Ph-4-Me	Pirid-4-il
Ph-4-OMe	Pirid-4-il

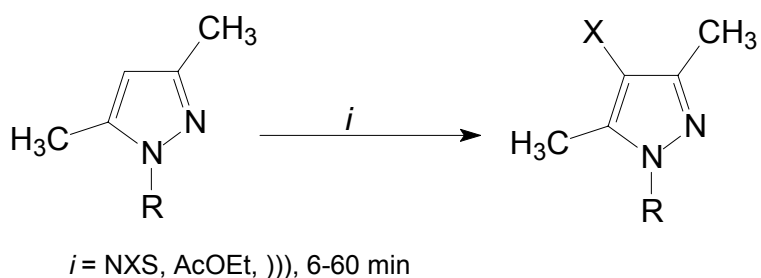
Ar <sup>2</sup>	Ar <sup>1</sup>
Ph-4-OMe	Pirid-3-il
Pirid-4-il	Ph
Pirid-2-il	Ph
Ph-4-OMe	Tien-3-il

## 2.4. Halogenação de Pirazóis

Este item descreve os principais métodos de halogenação de pirazóis, mais especificamente, a halogenação na posição 4 do anel pirazólico.

Recentemente Stefani e col.<sup>50</sup> realizaram a halogenação de pirazóis utilizando ultrassom. Stefani e col. usaram como precursores diferentes pirazóis com *N*-halosuccinimidas com tempo reacional em 6 a 60 minutos em ultrassom (Esquema 17).

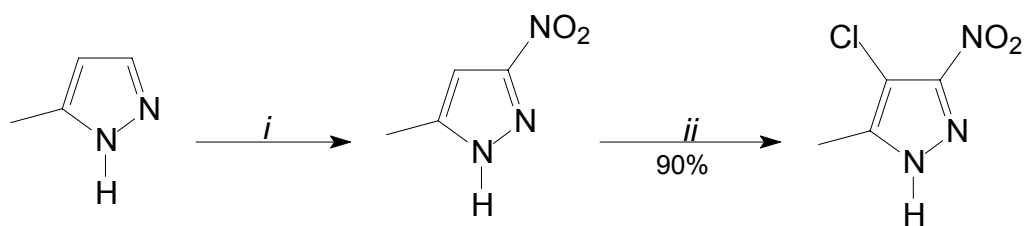
**Esquema 17:**



R	X	Tempo(min.)	Rend. (%)
H	Br	15	80
H	I	30	71
Ph	Br	60	82
Ph	I	60	70

Dalinger e col.<sup>51</sup> realizaram a nitração do 5-metil-1*H*-pirazol seguida pela reação de cloração do anel pirazólico na posição 4 utilizando  $\text{SOCl}_2$  em clorofórmio conforme o Esquema 18.

**Esquema 18:**

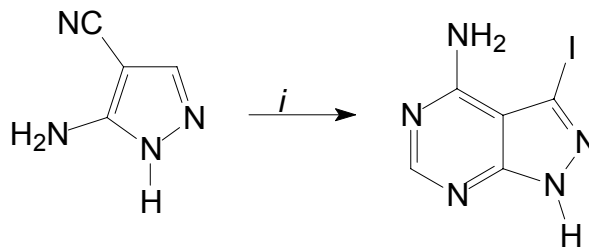


$i = 1) \text{ HNO}_3 / \text{AcOH} / \text{Ac}_2\text{O}, 0-5^\circ\text{C}, 2\text{h}; 2) \text{ Tetracloroetileno, refluxo, 8h}$   
 $ii = \text{SOCl}_2, \text{CHCl}_3, \text{ refluxo, 10 h}$



A iodação de pirazóis foi também feita por Burchat e col.<sup>52</sup> utilizando NIS em DMF, 50°C em duas etapas (Esquema 19).

**Esquema 19:**

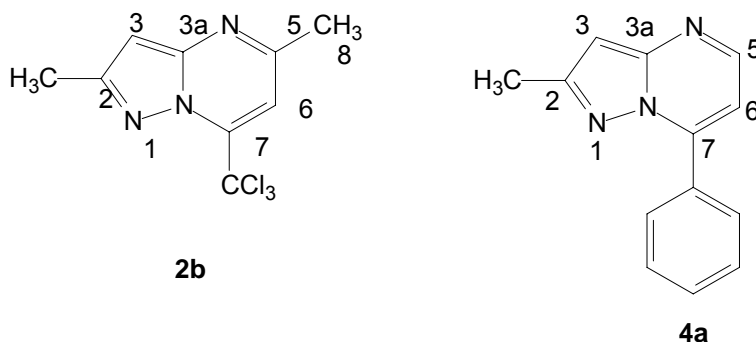


*i*: 1) formamida, 180°C  
2) NIS, DMF, 50°C, 84%, duas etapas

### 3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

#### 3.1. Numeração e nomenclatura dos compostos

A numeração adotada para a identificação os compostos sintetizados neste trabalho está representada na Figura 3:



**Figura 3:** Numeração dos compostos sintetizados

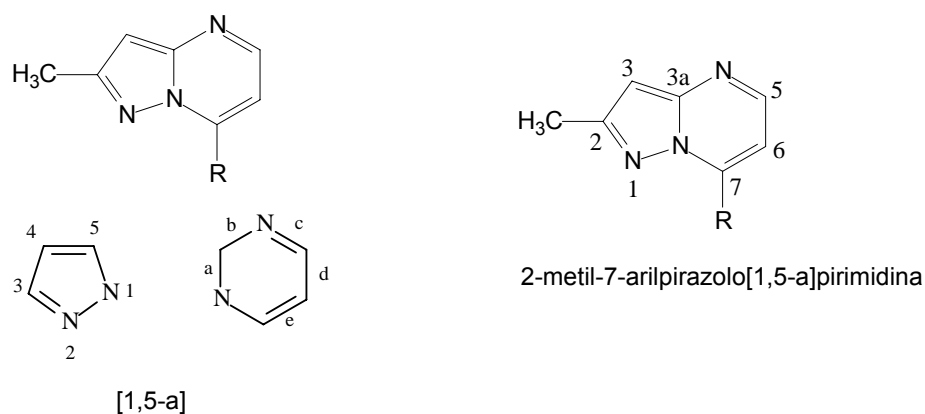
A nomenclatura dos compostos **2**, **4**, **5** e **6** foi determinada conforme nomenclatura desenvolvida por Hantzsch-Widman<sup>53</sup>. Esta baseia-se nos passos demonstrados na Figura 4:

[1] o heterociclo condensado é separado em dois heterociclos no ponto de intersecção;

[2] determina-se qual heterociclo apresenta prioridade. Aquele que tiver o maior número de heteroátomos seguido pelo maior número de átomos é o prioritário (ambos apresentam dois átomos de nitrogênio, porém a pirimidina tem 1 átomo de carbono a mais);

[3] numeram-se os heterociclos separadamente, colocam-se números nos átomos do heterociclo não principal e letras nas ligações do heterociclo principal;

[4] finalmente, o composto é numerado colocando no quadrante superior direito o maior número de heteroátomos possível.



**Figura 4.** Nomenclatura dos compostos das séries 2, 4, 5 e 6

**Tabela 1:** Nomenclatura das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f**

Composto	Nomenclatura
<b>2a</b>	2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>2b</b>	2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>2c</b>	2-metil-7-triclorometil-5-etilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>2d</b>	2-metil-7-triclorometil-5-propilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>2e</b>	2-metil-7-triclorometil-5-butilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>2f</b>	2-metil-7-triclorometil-5-isobutilpirazolo[1,5-a]pirimidina

**Tabela 2:** Nomenclatura das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **4a-j**

Composto	Nomenclatura
<b>4a</b>	2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4b</b>	2-metil-7-(4-nitrofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4c</b>	2-metil-7-(4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4d</b>	2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4e</b>	2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4f</b>	2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4g</b>	2-metil-7-(pirid-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4h</b>	2-metil-7-(pirrol-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4i</b>	2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>4j</b>	2-metil-7-(fur-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina

**Tabela 3:** Nomenclatura das 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **5a-b,d** e das 3-bromo-2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **6a-b,d-f,i-j**

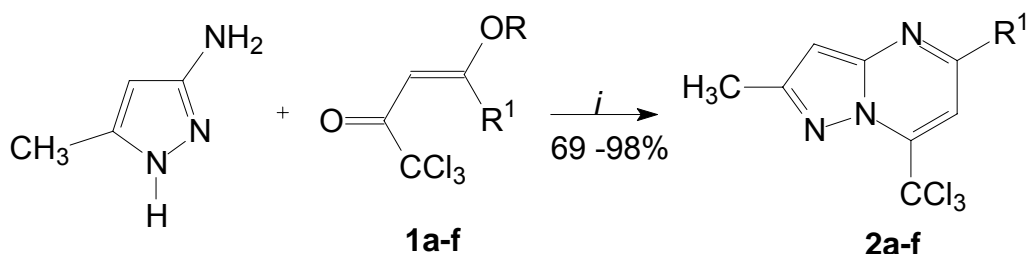
Composto	Nomenclatura
<b>5a</b>	3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo [1,5-a]pirimidina
<b>5b</b>	3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina
<b>5d</b>	3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-propilpirazolo [1,5-a]pirimidina
<b>6a</b>	3-bromo-2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6b</b>	3-bromo -2-metil-7-(4-nitrofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6d</b>	3-bromo -2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6e</b>	3-bromo -2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6f</b>	3-bromo -2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6i</b>	3-bromo -2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina
<b>6j</b>	3-bromo 2-metil-7-(fur-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina

### 3.2. 2-Metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 2a-f

#### 3.2.1. Síntese das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 2a-f

A síntese das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f** foi realizada a partir da reação de ciclocondensação do tipo [NCN] + [CCC] entre o 3-amino-5-metilpirazol e as 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas **1a-f**, respectivamente (Esquema 20).

#### Esquema 20:



*i*: CH<sub>3</sub>COOH, refluxo, 16h

Reagente	R <sup>1</sup>	R
<b>1a</b>	H	Me
<b>1b</b>	Me	Et
<b>1c</b>	Et	Me
<b>1d</b>	Pr	Et
<b>1e</b>	Bu	Me
<b>1f</b>	<i>i</i> -Bu	Me

Para otimização da reação foram testadas diferentes condições reacionais (Tabela 4). Observou-se que quando a reação foi realizada em ácido acético, em condições de refluxo durante 16 horas foram obtidos os melhores rendimentos. Desta forma os demais compostos **2b-f** foram obtidos com base na reação número 5.

As constantes físicas e rendimentos dos compostos **2a-f** estão listados na Tabela 5.

**Tabela 4:** Condições reacionais testadas para a síntese da 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a**.

Reação	Solvente	Temp. (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	Etanol	78	16	35
2	Etanol	78	48	42
3	CH <sub>3</sub> CN	67	16	59
4	CH <sub>3</sub> CN	67	24	67
<b>5</b>	<b>Ac. Acético</b>	<b>118</b>	<b>16</b>	<b>87</b>

**Tabela 5:** Rendimentos, Pontos de fusão, Fórmula Molecular e Análise Elementar das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f**.

Comp.	Rend.(%)	P. F. (°C)	Fórmula Molecular (g/Mol)	Anal. Elem. (%)		
				Calc./ Exp.		
				C	H	N
<b>2a</b>	87	94-96	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (250,52)	38,36	2,41	16,77
				38,30	2,56	16,63
<b>2b</b>	75	118-120	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (264,54)	40,86	3,05	15,88
				–	–	–
<b>2c</b>	80	69-70	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (278,57)	43,12	3,62	15,08
				42,80	3,63	14,50
<b>2d</b>	98	59-61	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (292,60)	45,15	4,13	14,36
				45,20	4,15	14,56
<b>2e</b>	69	50-52	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (306,62)	47,01	4,60	13,70
				–	–	–
<b>2f</b>	98	89-90	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (306,62)	47,01	4,60	13,70
				–	–	–

### 3.2.2. Identificação dos compostos **2a-f** através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas de 2D

Os compostos obtidos foram identificados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e através de técnicas de 2D, como HMQC (*Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f** apresentam  $\delta$  na faixa de 6,54-6,71 para o hidrogênio vinílico do anel pirazólico (H3). No composto **2a**, os hidrogênios H5 e H6 apresentam-se na forma de dubletos e têm  $\delta$  8,55 e 7,43, respectivamente.

Com o objetivo de mostrar como se apresentam os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  das pirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f** foram selecionados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto **2b**. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 5) observam-se dois singletos com  $\delta$  2,58 e 2,68 correspondendo aos 3 hidrogênios da metila do anel pirazolínico e aos 3 hidrogênios do anel pirimidínico respectivamente. Em  $\delta$  6,54 observa-se um singlete com integração correspondente a um hidrogênio. Esse sinal refere-se ao hidrogênio pirazolínico (H-3). Da mesma forma em  $\delta$  7,28 encontra-se um singlete correspondente ao hidrogênio pirimidínico (H-6), com integração também correspondente a um hidrogênio. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 6) em  $\delta$  89 observa-se o sinal do grupamento  $\text{CCl}_3$ . Em seguida aparecem os carbonos vinílicos em  $\delta$  96,6 e  $\delta$  104,9 correspondendo aos carbonos C-3 e C-6 respectivamente. A metila do anel pirazolínico possui  $\delta$  em 14,9 e a metila do anel pirimidínico (C-8) em  $\delta$  24,9. Os carbonos C-5, C-2, C-7 e C-3a encontram-se entre  $\delta$  157,5 e 141,8. O C-5 encontra-se em campo mais baixo devido a ser um carbono de hibridização  $\text{sp}^2$  ligado a dois átomos de nitrogênio.

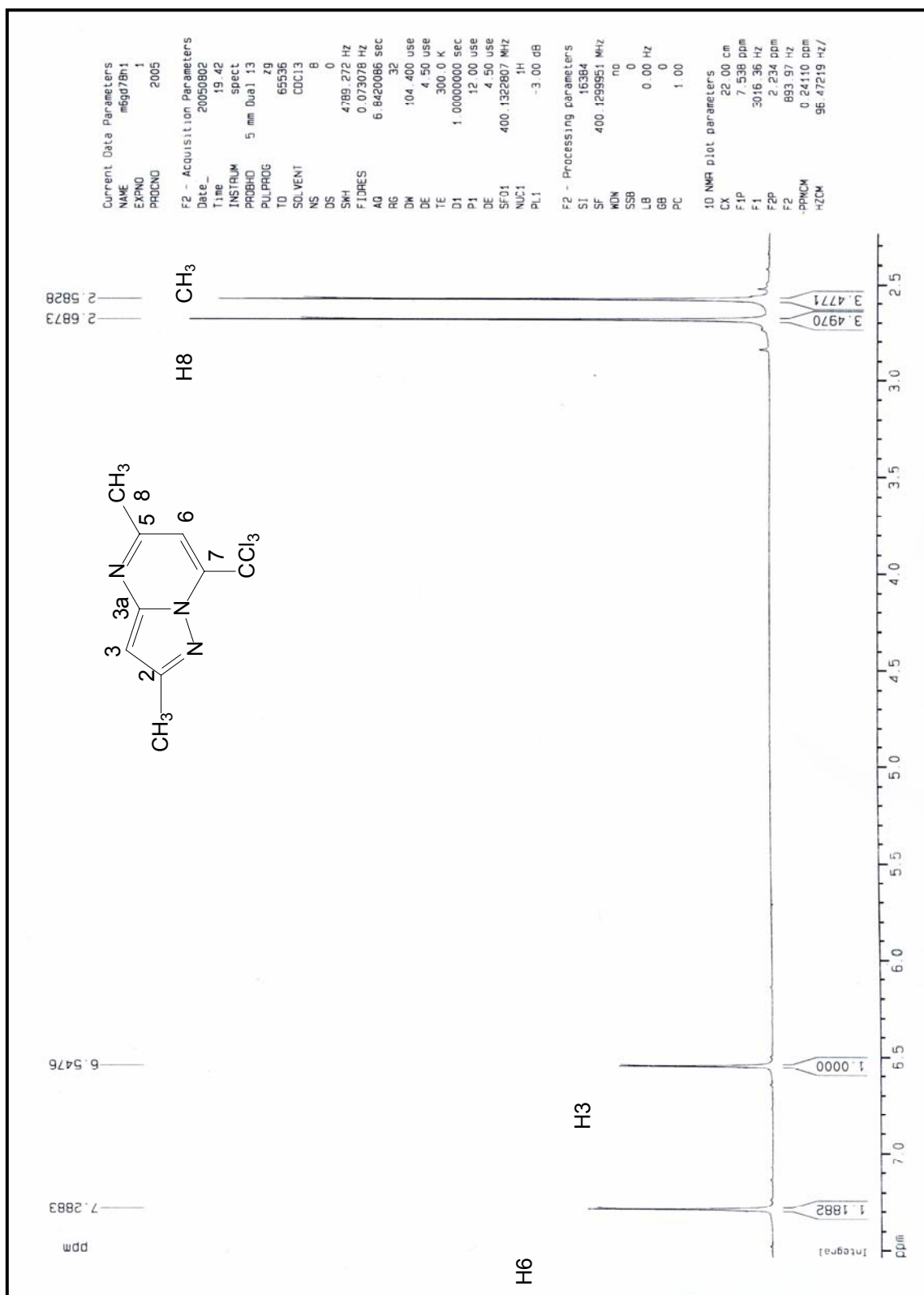


Figura 5: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2b** em  $\text{CDCl}_3$



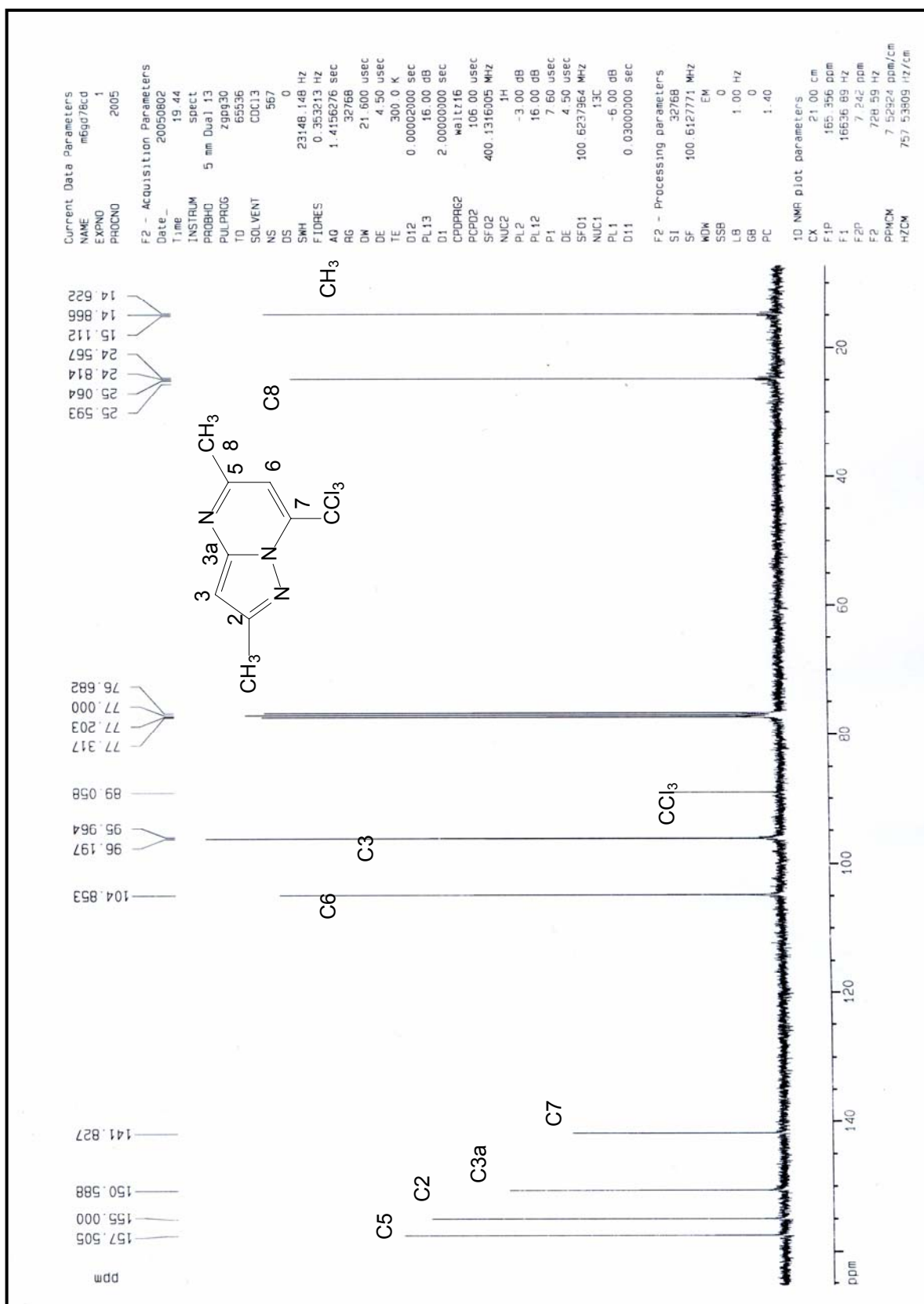


Figura 6: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2b** em  $\text{CDCl}_3$

Pelo espectro de HMQC do composto **2b** (Figura 7) foi confirmada a atribuição do C-3 e do C-6, pelo acoplamento destes com os respectivos hidrogênios H-3 e H-6.

Pelo espectro de HMBC do composto **2b** (Figura 8) foi confirmada a atribuição do carbono C-5 a  $\delta$  157,5 pelo acoplamento a distância de duas ligações com o H-6 e com o grupo CH<sub>3</sub>-8. Também foram observados acoplamentos de duas ligações entre o C-2 e os hidrogênios da metila do anel pirazolínico e entre o C-2 e o H-3. Aparecem ainda o acoplamento de duas ligações entre o C-3a e o H-3, do carbono C-7 com o H-6 e o acoplamento de três ligações do grupo CCl<sub>3</sub> com o H-6.

Portanto, pôde-se observar o C-5 ligado ao C-6, ao N do anel pirimidínico e ao grupamento alquila; o C-6 ligado ao C-5 e ao C-7. O C-7 está ligado ao N do anel pirazolínico e ao grupamento CCl<sub>3</sub>, confirmando, assim, a formação de uma 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-*a*]pirimidina.

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, HMQC e HMBC foram registrados em CDCl<sub>3</sub> como solvente. Os dados de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C dos compostos **2a-f** estão listados na Tabela 6.

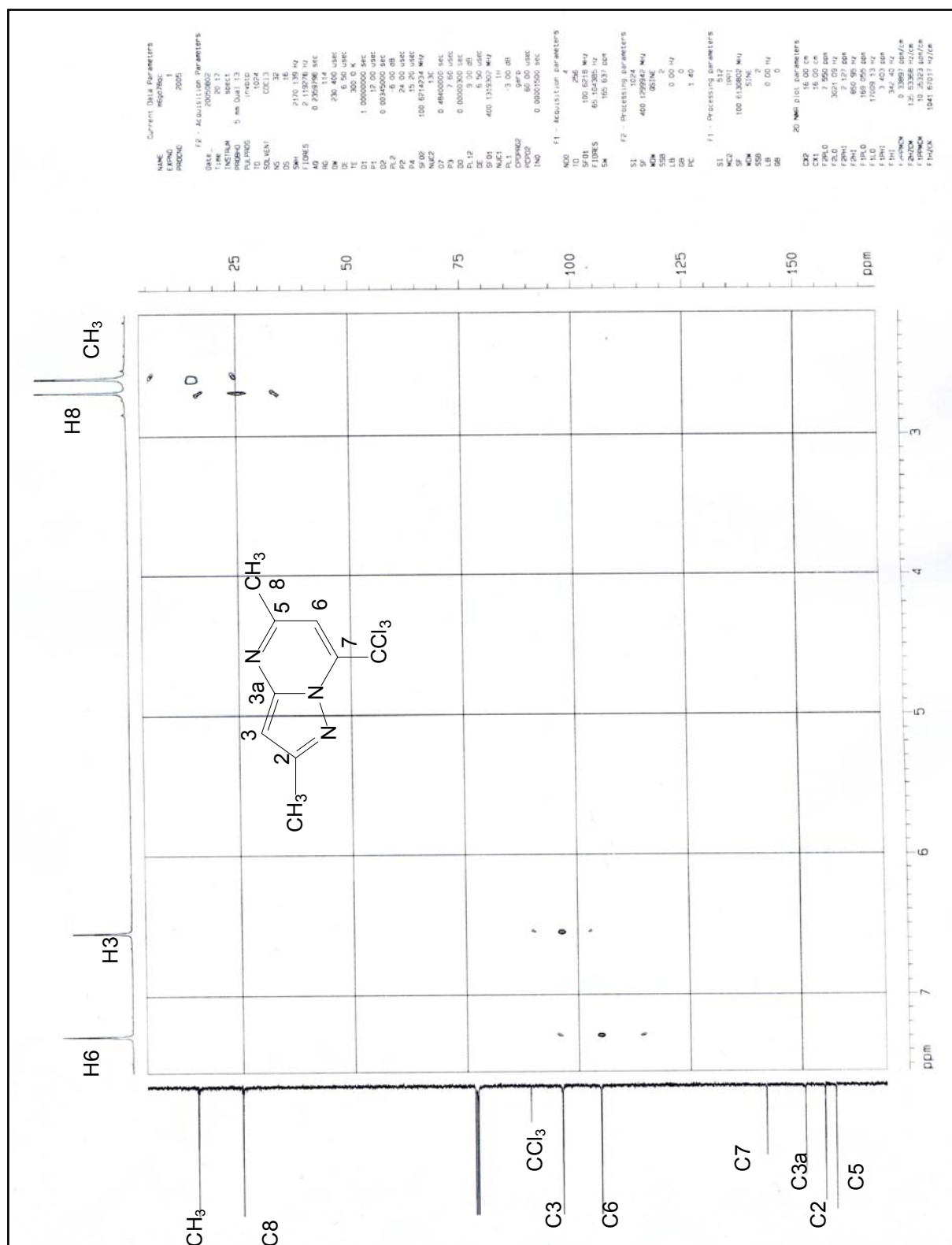


Figura 7: Espectro de RMN de HMQC do composto **2b** em  $\text{CDCl}_3$

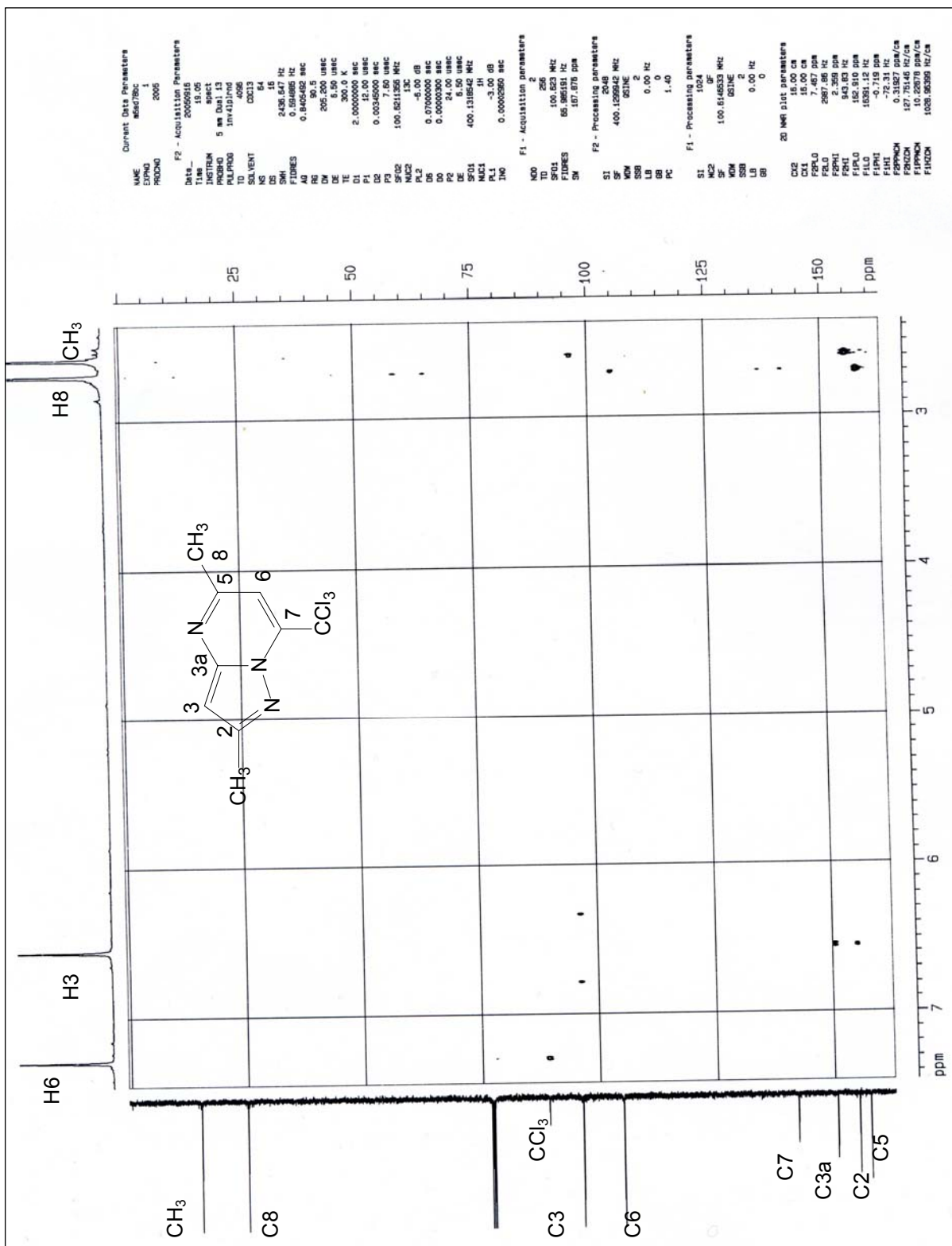
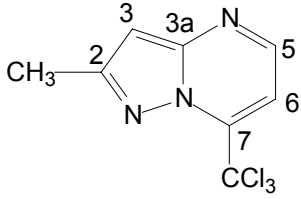
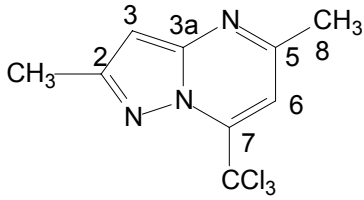
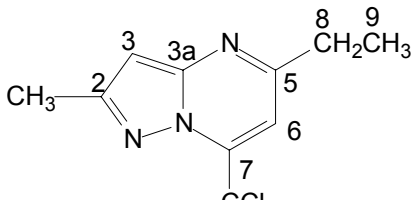
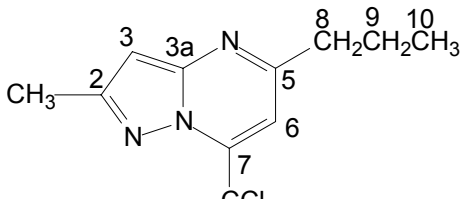
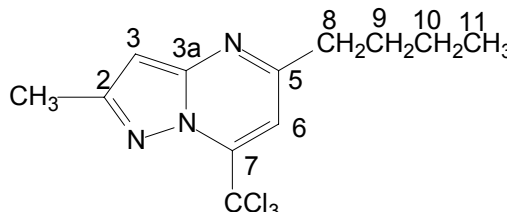
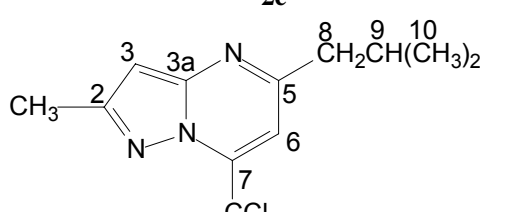


Figura 8: Espectro de RMN de HMBC do composto **2b** em CDCl<sub>3</sub>

**Tabela 6:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **2a-f**

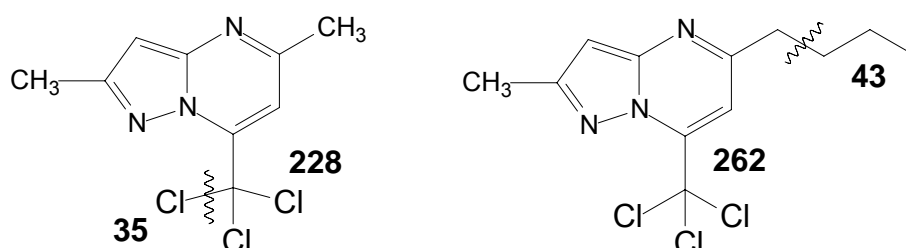
Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p style="text-align: center;"><b>2a</b></p>	8,55 (d, 1H, H5, $J$ = 4,41); 7,43 (d, 1H, H6 $J$ = 4,41); 6,71 (s, 1H, H3); 2,58 (s, 3H, CH3)	160,7 (C5); 156,5 (C2); 153,0 (C3a); 147,7 (C7); 109,4 (C6); 103,1 (C3); 94,4 (CCl <sub>3</sub> ); 20,5 (CH <sub>3</sub> )
 <p style="text-align: center;"><b>2b</b></p>	7,27 (s, 1H, H6); 6,54 (s, 1H, H3); 2,68 (s, 3H, H8); 2,58 (s, 3H, CH3)	157,5 (C5); 155,1 (C2); 150,6 (C3a); 141,9 (C7); 104,9 (C6); 96,2 (C3); 89,1 (CCl <sub>3</sub> ); 24,8 (C8); 14,9 (CH <sub>3</sub> )
 <p style="text-align: center;"><b>2c</b></p>	7,29 (s, 1H, H6); 6,56 (s, 1H, H3); 2,93 (q, 2H, H8); 2,59 (s, 3H, CH3); 1,40 (t, 2H, H9);	162,2 (C5); 154,8 (C2); 150,7 (C3a); 141,8 (C7); 103,9 (C6); 96,3 (C3); 89,1 (CCl <sub>3</sub> ); 31,5 (C8); 14,8 (CH <sub>3</sub> ); 12,6 (C9)
 <p style="text-align: center;"><b>2d</b></p>	7,28 (s, 1H, H6); 6,56 (s, 1H, H3); 2,88 (t, 2H, H8); 2,56 (s, 3H, CH3); 1,85 (sex, 2H, H9); 1,04 (t, 3H, H10)	161,2 (C5); 154,9 (C2); 150,5 (C3a); 141,9 (C7); 104,2 (C6); 96,2 (C3); 89,1 (CCl <sub>3</sub> ); 40,3 (C8); 22,1 (C9); 14,9 (CH <sub>3</sub> ); 13,7 (C10)

**Tabela 6:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **2a-f** (continuação)

Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p style="text-align: center;"><b>2e</b></p>	0,98 (t, 3H, H11) 1,46 (set, 2H, H10); 1,80 (quit, 2H, H9); 2,59 (s, 3H, CH3); 2,90 (t, 2H, H8); 6,56 (s, 1H, H3); 7,28(s, 1H, H6);	161,5 (C5); 155,0(C2); 150,8 (C3a); 141,9 (C7); 104,3 (C6); 96,3 (C3); 89,2 (CCl <sub>3</sub> ); 38,3 (C8); 30,9 (C9); 22,4 (C10) 14,9 (CH <sub>3</sub> ); 13,8 (C11)
 <p style="text-align: center;"><b>2f</b></p>	7,27 (s, 1H, H6); 6,57 (s, 1H, H3); 2,77 (d, 2H, H8); 2,59 (s, 3H, CH3); 2,21 (non, 8H, H9); 1,01 (d, 6H, H10)	160,7 (C5); 155,0(C2); 150,8 (C3a); 141,8 (C7); 104,7 (C6); 96,4 (C3); 89,2 (CCl <sub>3</sub> ); 47,5 (C8); 28,8 (C9); 22,4(C10) 14,9 (CH <sub>3</sub> )

### 3.2.3. Dados de Espectrometria de Massas para os compostos 2a-f

Através dos dados apresentados na Tabela 7 pode-se observar os principais fragmentos ionizados para as 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f**. O composto **2b** apresenta como principal característica a perda do fragmento  $m/z = 35$ , referente a perda de um átomo de cloro e o composto **2e** a quebra do grupamento alquila.

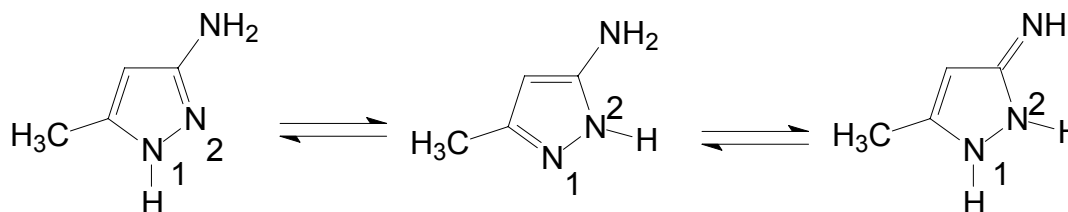


**Tabela 7:** Principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos **2a-f** a uma energia de 70 eV

Comp.	MS [m/z(%)]
<b>2a</b>	249(M <sup>+</sup> , 46), 214(100, -Cl), 144(42), 50(25)
<b>2b</b>	263 (M <sup>+</sup> , 68), 228(100, -Cl), 158(61), 107 (26) 73(33)
<b>2c</b>	277 (M <sup>+</sup> , 53), 242 (100, -Cl), 207(80), 51(20)
<b>2d</b>	291 (M <sup>+</sup> , 47), 263(100, -Et), 228(90), 158(15), 120(21)
<b>2e</b>	307(M <sup>+</sup> , 6), 263 (100, -Pr), 228 (62), 149 (14), 107 (13), 77(17), 51 (24)
<b>2f</b>	305 (M <sup>+</sup> , 24), 290(37), 272 (29), 263(100, -i-Pr), 228(68), 120(11)

### 3.2.4. Mecanismo da Reação

O 3-amino-5-metilpirazol possui três centros nucleofílicos com reatividade diferenciada, sendo eles: o nitrogênio pirazolínico, (N1 ou N2, pois existe um equilíbrio tautomérico, (Figura 9); o nitrogênio do grupo amina ( $\text{NH}_2$ ); e ainda o carbono C4. A nucleofilicidade acentuada dos átomos de nitrogênio garante a regioespecificidade da reação.

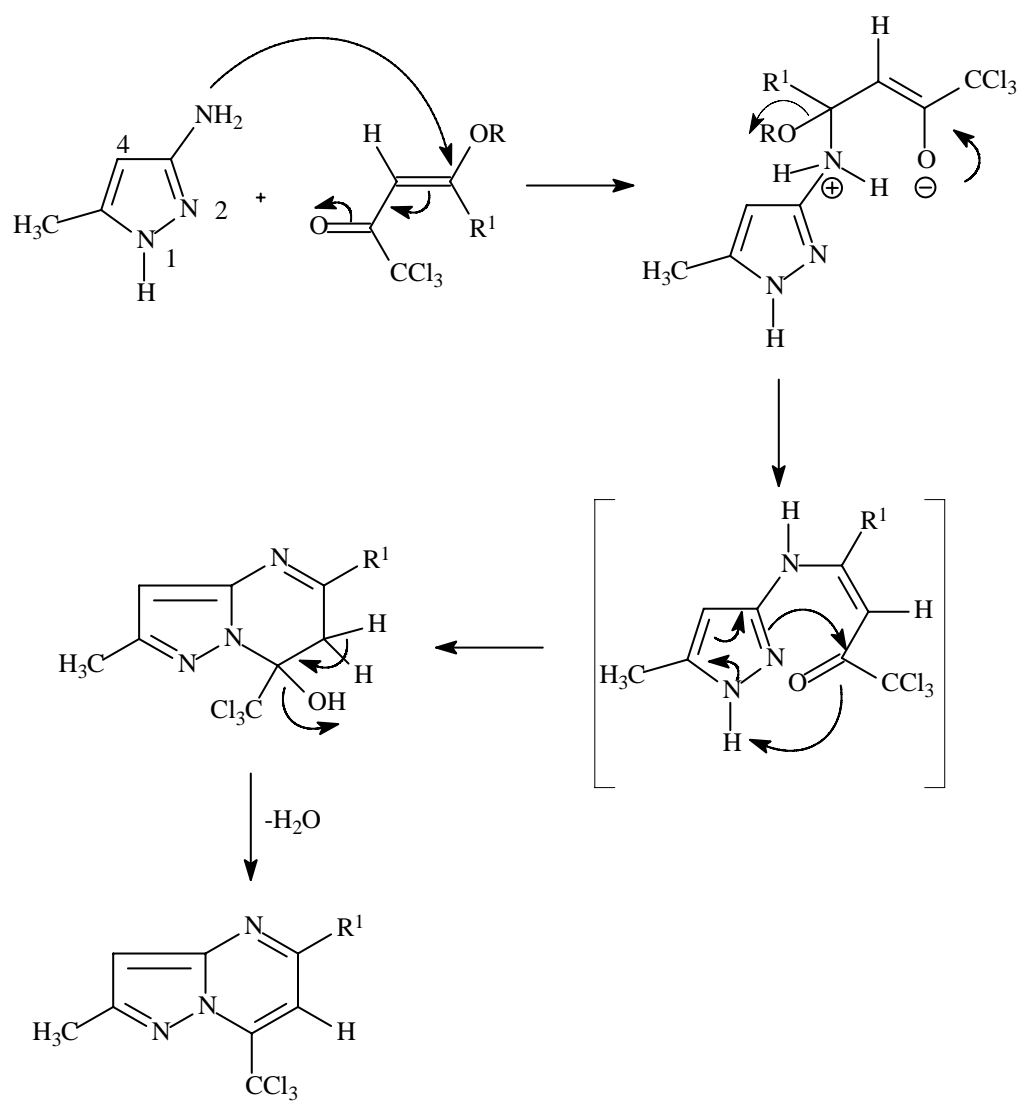


**Figura 9:** Formas tautoméricas para o 5-metil-3-aminopirazol

O mecanismo ocorre com o ataque inicial do nitrogênio do grupo amina ao carbono beta da 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas formando a enaminona intermediária com posterior adição nucleofílica intramolecular do nitrogênio do anel pirazolínico ao carbono carbonílico e subsequente eliminação de uma molécula de água<sup>54, 55</sup> (Esquema 21). Este mecanismo segue uma rota reacional diferente daquela sugerida por Singh e col.<sup>48</sup> onde o produto final obtido é uma pirazolo[3,4-*b*]piridina.



Esquema 21:

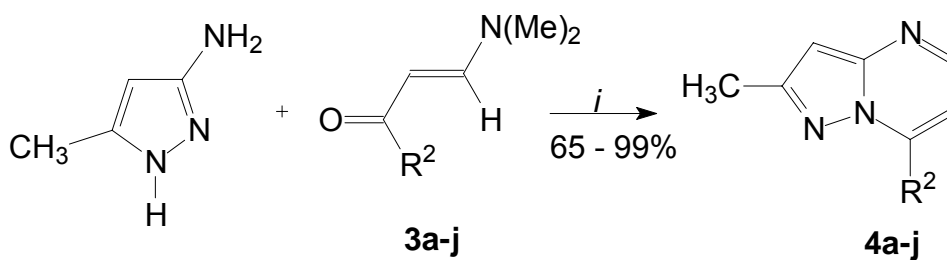


### 3.3. 2-Metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 4a-j

#### 3.3.1. Síntese das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 4a-j

Para a síntese das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **4a-j** foi realizada a reação de ciclocondensação do tipo [NCN] + [CCC] entre o 3-amino-5-metilpirazol com as  $\beta$ -dimetilaminovinil cetonas **3a-j** utilizando ácido acético em refluxo durante 16 horas (Esquema 22). As  $\beta$ -dimetilaminovinil cetonas **3a-j** foram sintetizados conforme a referência 42.

**Esquema 22:**



*i*: CH<sub>3</sub>COOH, refluxo, 16hs

Comp.	R <sup>2</sup>	Comp.	R <sup>2</sup>
<b>a</b>	Ph	<b>g</b>	Pirid-2-il
<b>b</b>	Ph-4-NO <sub>2</sub>	<b>h</b>	Pirrol-2-il
<b>c</b>	Ph-4-Me	<b>i</b>	Tien-2-il
<b>d</b>	Ph-4-Br	<b>j</b>	Fur-2-il
<b>e</b>	Ph-4-F		
<b>f</b>	Ph-4-Cl		

As constantes físicas e rendimentos dos compostos **4a-j** estão listados na Tabela

8.

**Tabela 8:** Rendimentos, Pontos de Fusão, Fórmula Molecular e Análise Elementar dos compostos **4a-j**

Comp.	Rend. (%)	P. F. (°C)	Fórmula Molecular (g/Mol)	Anal. Elementar (%)		
				Calc./Exp.		
				C	H	N
<b>4a</b>	92	124-125	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> (209,25)	74,62	5,30	20,08
				74,57	5,38	19,97
<b>4b</b>	90	171-173	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> (254,24)	61,41	3,96	22,04
				–	–	–
<b>4c</b>	82	87-88	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> (223,28)	75,31	5,87	18,82
				74,99	6,03	18,71
<b>4d</b>	98	148-150	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> BrN <sub>3</sub> (288,15)	54,19	3,50	14,58
				54,03	3,65	14,47
<b>4e</b>	99	158-160	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> FN <sub>3</sub> (227,24)	68,71	4,44	18,49
				68,10	4,68	18,16
<b>4f</b>	83	145-147	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>3</sub> (243,70)	64,07	4,14	17,24
				64,82	4,20	16,67
<b>4g</b>	65	136-138	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> (210,24)	68,56	4,79	26,65
				–	–	–
<b>4h</b>	72	101-103	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> (198,23)	66,99	4,60	28,41
				–	–	–
<b>4i</b>	80	106-108	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> S (215,27)	61,37	4,21	19,52
				61,94	4,8	20,01
<b>4j</b>	76	86-87	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O (199,21)	66,32	4,55	21,09
				67,03	4,57	20,69

### 3.3.2. Identificação dos compostos 4a-j através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas 2D

Os compostos obtidos foram identificados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e através de técnicas de 2D, como HMQC (*Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das 2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas **4a-j** apresentam  $\delta$  na faixa de 6,54-6,62 para o hidrogênio vinílico do anel pirazolínico (H3).

Com o objetivo de mostrar como se apresentam os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  das pirazolo[1,5-a]pirimidinas **4a-j** foram selecionados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto **4d**. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 10) observam-se dubletos com  $\delta$  de 6,76 e 8,42 correspondendo ao hidrogênio 6 e ao hidrogênio 5 do anel pirimidínico respectivamente. Em  $\delta$  6,55 observa-se um singleto com integração correspondente a um hidrogênio. Esse sinal refere-se ao hidrogênio pirazolínico (H-3). Ainda, tem-se um singleto com  $\delta$  em 2,51 correspondendo a metila na posição 2 do anel pirazolínico. A integração corresponde aos 3 hidrogênios da metila. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 10) em  $\delta$  96,4 observa-se o sinal correspondente ao carbono vinílico (C-3) do anel pirazolínico. Em seguida aparece o carbono vinílico em  $\delta$  106,2 correspondendo ao carbono C-6. A metila possui  $\delta$  14,7. Os carbonos da fenila apresentam  $\delta$  entre 125,4 e 132,0. Em  $\delta$  155,1; 150,6; 148,4 e 144,9 encontram-se C-2, C-3a, C-5 e C-7 respectivamente.

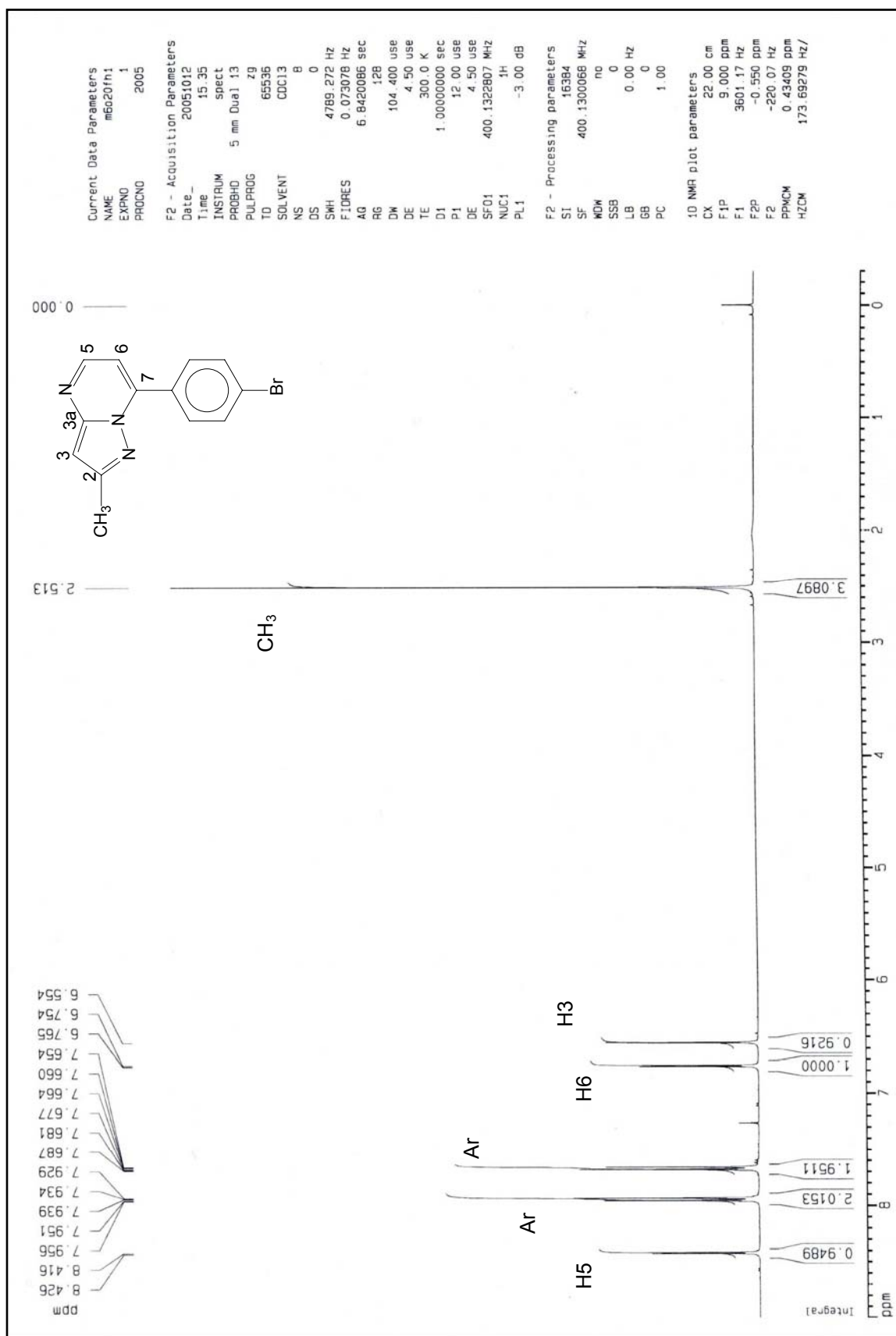


Figura 10: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4d** em  $\text{CDCl}_3$

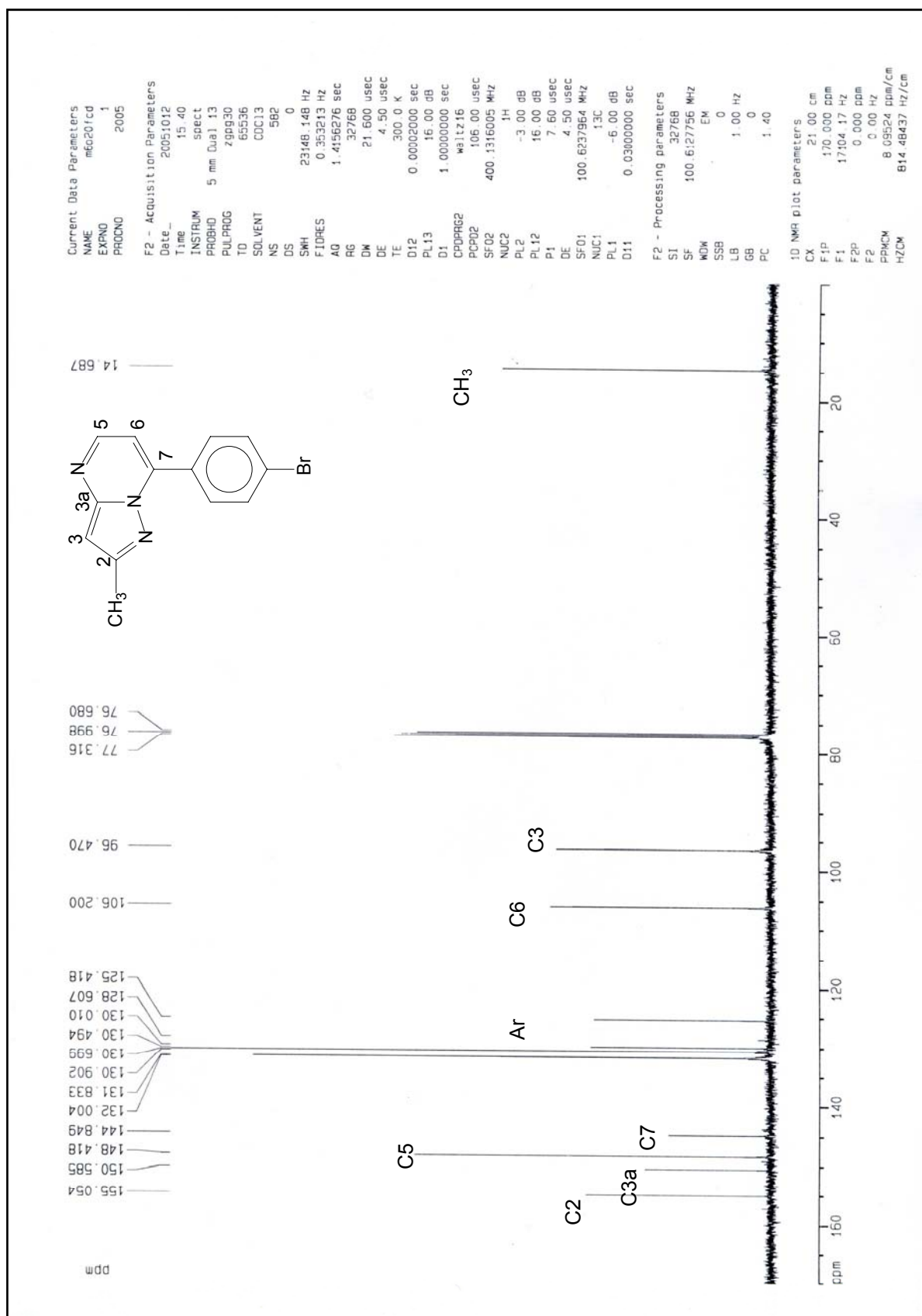


Figura 11: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto 4d em CDCl<sub>3</sub>

Pelo espectro de HMQC (Figura 12) do composto **4j** foi confirmada a atribuição dos C-3 e C-6 , pelo deslocamento destes com os respectivos hidrogênios H-3 e H-6.

Pelo espectro de HMBC (Figura 13) do composto **4j** foi confirmada a atribuição do carbono C-5 pelo acoplamento de duas ligações com o H-6. Também foram observados acoplamentos de duas ligações entre o C-2 e os hidrogênios da metila do anel pirazolínico e entre o C-2 e o C-3. Aparecem ainda o acoplamento de duas ligações entre o C-3a e o H-3, do carbono C-7 com o H-6.

Desta forma, pôde-se observar o C-5 ligado ao C-6 e ao N do anel pirimidínico, o C-6 ligado ao C-5 e ao C-7. O C-7 está então ligado ao N do anel pirazolínico e ao grupamento arila, confirmando, assim, a formação de uma 2-metil-7-arylpirazolo[1,5-a]pirimidina.

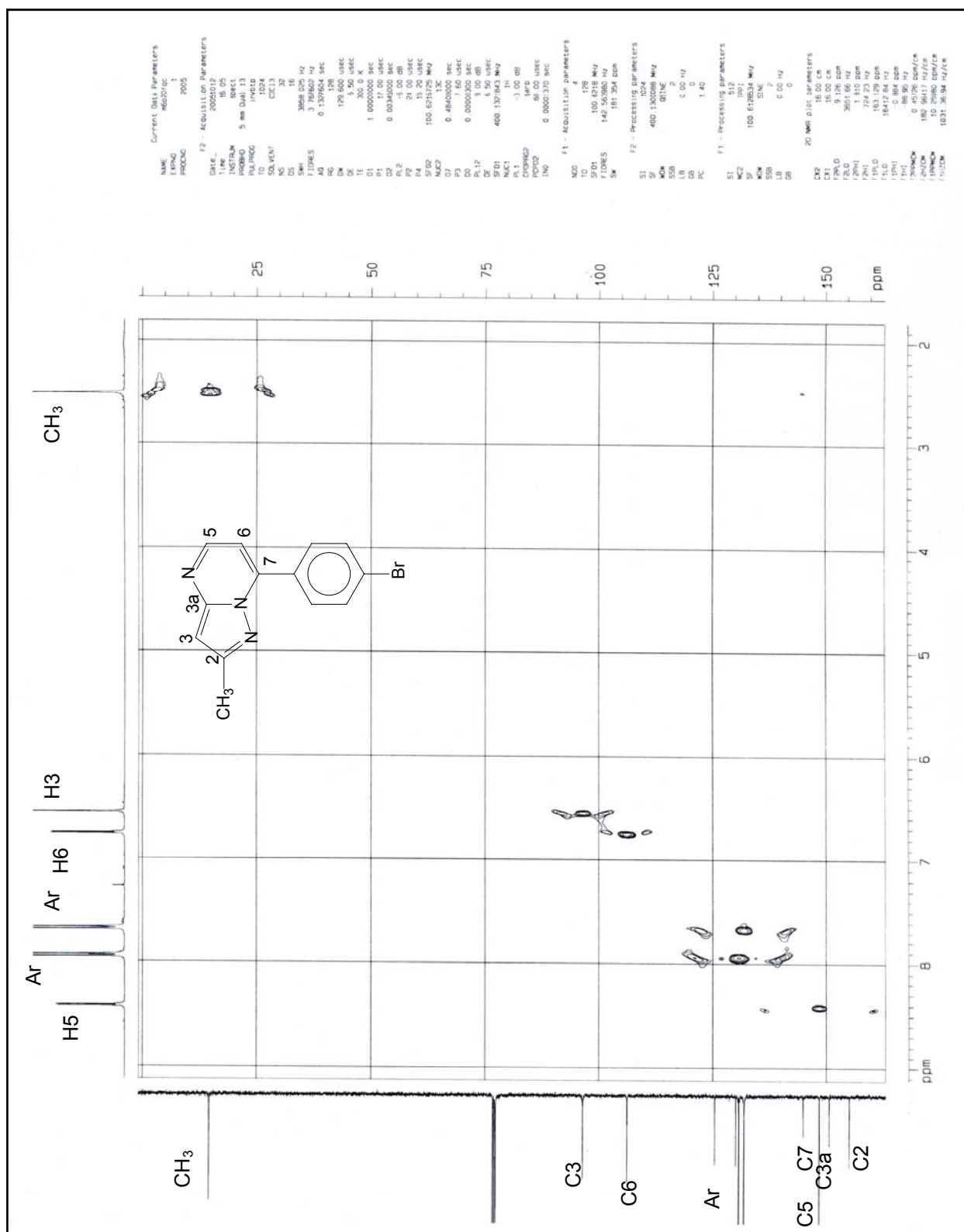


Figura 12: Espectro de RMN de HMQC do composto 4d em CDCl<sub>3</sub>



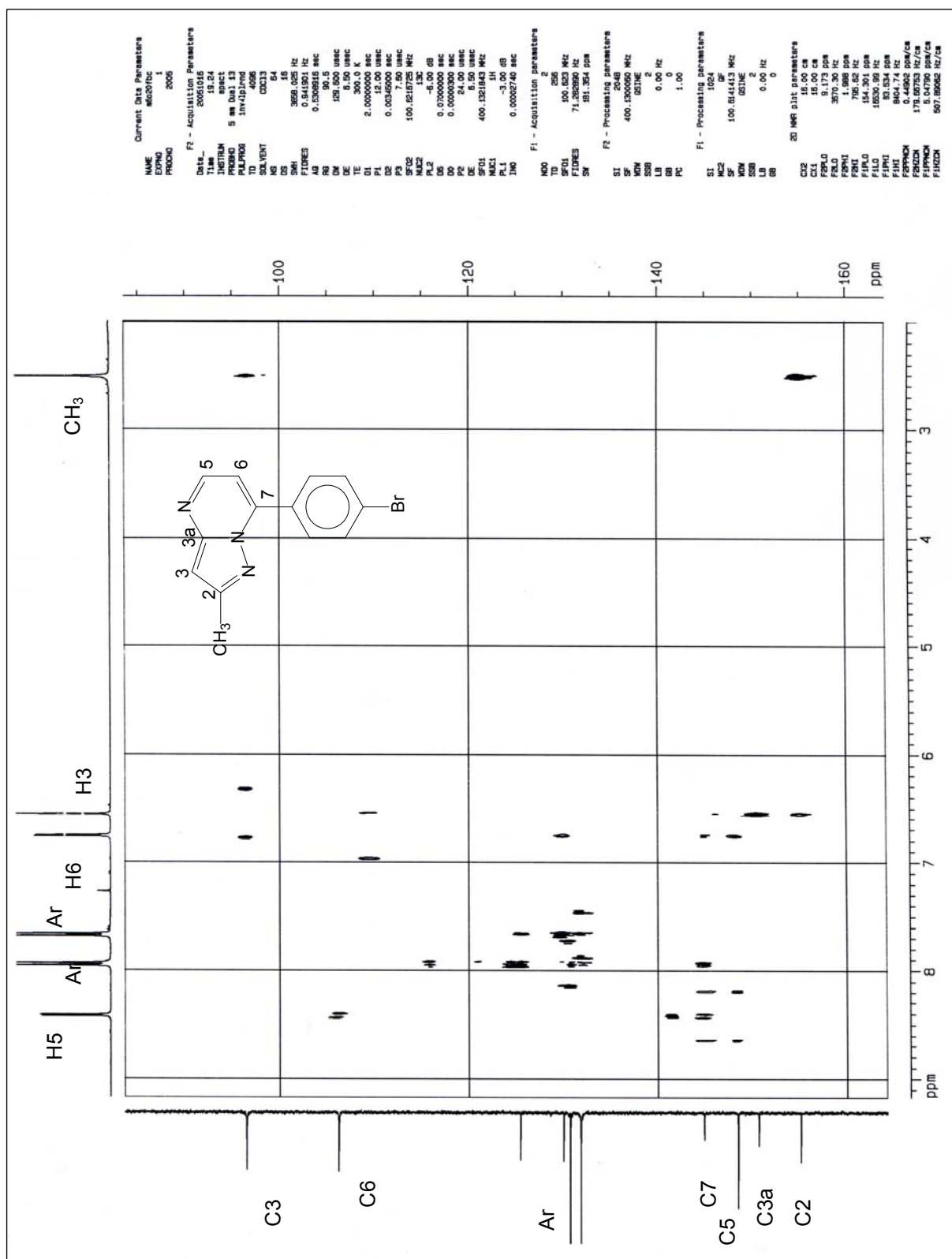


Figura 13: Espectro de RMN de HMBC do composto 4d em CDCl<sub>3</sub>

**Tabela 9:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **4a-j**

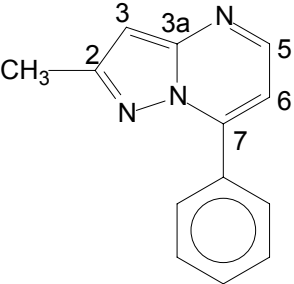
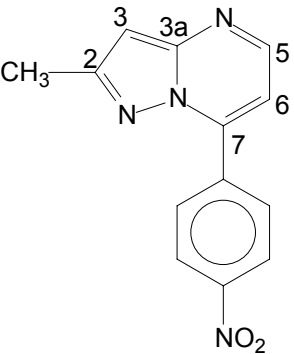
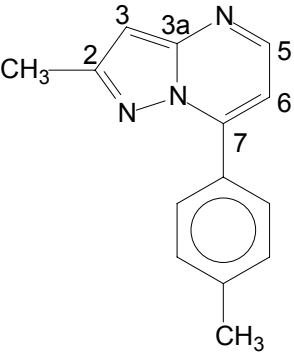
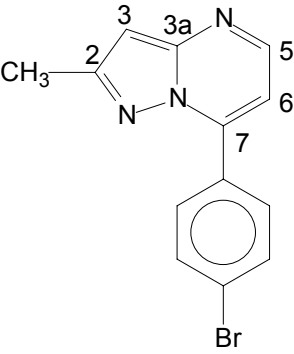
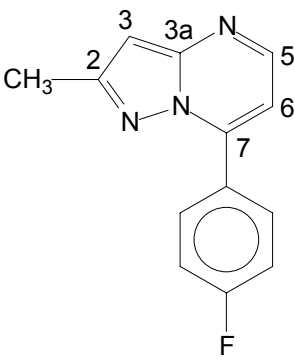
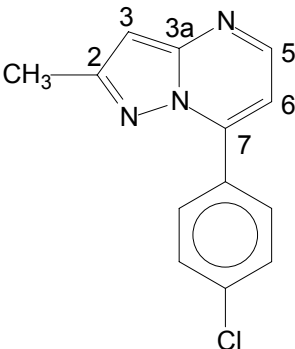
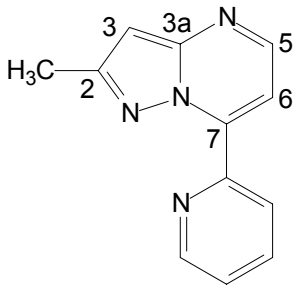
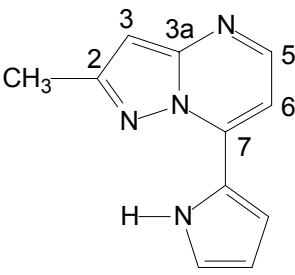
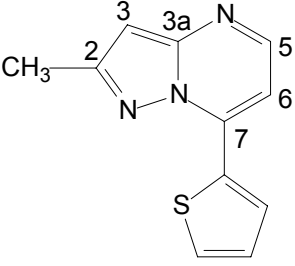
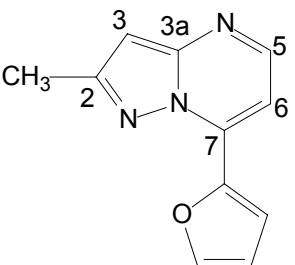
Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p><b>4a</b></p>	8,42 (d, 1H, H5, $J$ = 4,4) 8,03-7,53 (m, 5H, Ph) 6,77 (d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 6,54 (s, 1H, H3) 2,51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	154,8 (C2), 150,5 (C3a), 148,4 (C5), 146,0 (C7), 128,5; 129,1; 130,8; 131,1 (6C, Ph), 106,4 (C6), 96,2 (C3), 14,7 (CH <sub>3</sub> )
 <p><b>4b</b></p>	8,51 (d, 1H, H5, $J$ = 4,3) 8,41-8,26 (m, 4H, Ph) 6,82 (d, 1H, H6, $J$ = 4,3) 6,62 (s, 1H, H3) 2,53 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	155,3 (C2), 150,4 (C3a), 148,8 (C5), 148,3 (C7), 123,6; 130,2; 137,1; 143,3 (6C, Ph), 106,9 (C6), 96,8 (C3), 14,6 (CH <sub>3</sub> ),
 <p><b>4c</b></p>	8,41 (d, 1H, H5, $J$ = 4,2) 7,95-7,34 (m, 4H, Ph) 6,76 (d, 1H, H6, $J$ = 4,2) 6,54 (s, 1H, H3) 2,52 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ) 2,43 (s, 3H, C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> )	154,8 (C2), 150,6 (C3a), 148,5 (C5), 146,2 (C7), 141,3; 129,2; 129,1; 128,2; (6C, Ph), 106,1 (C6) 96,1 (C3), 21,5 (CH <sub>3</sub> , Ph) 14,7 (CH <sub>3</sub> )
 <p><b>4d</b></p>	8,42 (d, 1H, H5, $J$ = 4,2) 7,94-7,67 (m, 4H, Ph) 6,76 (d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 6,55 (s, 1H, H3) 2,51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	155,0 (C2), 150,6 (C3a), 148,4 (C5), 144,8 (C7), 132,0; 125,4; 130,0; 130,7; (6C, Ph), 106,2 (C6) 96,5 (C3), 14,7 (CH <sub>3</sub> )

Tabela 9: Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos 4a-j (continuação)

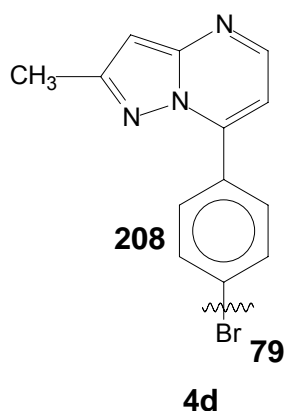
Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p>4e</p>	8,43 (d, 1H, H5, $J$ = 3,9) 8,10-7,23 (m, 4H, Ph) 6,77 (d, 1H, H6, $J$ = 4,2) 6,56(s, 1H, H3) 2,52 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	165,3-162,8 (1C, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , $J$ = 252,3), 155,0 (C2); 150,5 (C3a), 148,3 (C5), 145,0 (C7), 106,1 (C6) 131,5-131,4(1C, Ph, $J$ = 8,47); 127,2-127,1(1C, Ph, $J$ = 3,53); 115,8-115,6 (1C, Ph, $J$ = 21,83); 96,3 (C3); 14,70 (CH <sub>3</sub> )
 <p>4f</p>	8,43 (d, 1H, H5, $J$ = 4,4) 8,02-7,52 (m, 4H, Ph) 6,77 (d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 6,56 (s, 1H, H3) 2,52 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	154,9 (C2), 150,5 (C3a), 148,4 (C5), 144,7 (C7), 136,9; 130,4; 129,5; 129,4; 128,8; (6C, Ph), 106,2 (C6) 96,4 (C3), 14,6 (CH <sub>3</sub> )
 <p>4g</p>	9,09; 8,80; 7,95; 7,47 (m, 4H, piridil) 8,55 (d, 1H, H5, $J$ = 4,6) 7,46(d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 6,62 (s, 1H, H3) 2,58(s, 3H, CH <sub>3</sub> )	154,9 (C2), 150,8 (C3a), 149,6 (C5), 148,3 (C7), 143,3; 125,0; 125,9; 136,5; (6C, Ph), 106,9 (C6) 96,2 (C3), 14,6 (CH <sub>3</sub> )
 <p>4h</p>	12,32 (s, 1H, N-H) 8,32 (d, 1H, H5, $J$ = 4,6) 7,16 (m, 2H, pirrol, $J$ = 1,3) 6,99(d, 1H, H6, $J$ = 4,9) 6,45 (s, 1H, H3, $J$ = 2,6) 6,42 (m, 1H, pirrol) 2,55(s, 3H, CH <sub>3</sub> )	154,1 (C2) 150,7 (C3a), 148,2(C5), 136,5 (C7), 144,1; 122,5; 112,7; 110,7; (4C, pirrol), 100,3 (C6), 94,9 (C3), 14,4 (CH <sub>3</sub> ),

**Tabela 9:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **4a-j** (continuação)

Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p style="text-align: center;"><b>4i</b></p>	8,37 (d, 1H, H5, $J$ = 4,7) 8,31 (d, 1H, tienil, $J$ = 3,8) 7,65 (d, 1H, tieni, $J$ = 4,0) 7,21 (t, 1H, tieni, $J$ = 3,9) 7,08 (d, 1H, H6, $J$ = 4,7) 6,53 (s, 1H, H3) 2,58 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	154,7 (C2), 150,3 (C3a), 147,5 (C5), 139,2 (C7), 127,4; 131,2; 131,4; 132,07;(4C, tienil), 102,8 (C6), 96,1 (C3), 14,7 (CH <sub>3</sub> )
 <p style="text-align: center;"><b>4j</b></p>	8,444 (d, 1H, H5 $J$ = 4,6) 8,24 (d, 1H, furil, $J$ = 3,5) 7,68 (d, 1H, furil, $J$ = 1,2) 7,22 (d, 1H, H6, $J$ = 4,7) 6,69 (m, 1H, furil, $J$ = 1,8) 6,55 (s, 1H, H3) 2,58 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	155,0 (C2) 150,1 (C3a), 147,6(C5), 145,4(C7), 144,1; 135,1; 119,5; 112,9; (4C, furil), 101,6 (C6), 95,9 (C3), 14,7 (CH <sub>3</sub> ),

### 3.3.3. Identificação dos compostos 4a-j através de cromatografia gasosa CG-MS

Através dos dados apresentados na Tabela 10 pode-se identificar os principais fragmentos ionizados positivos para os compostos **4a-f**. Por exemplo, para a 2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4d** a principal característica é a perda do átomo de bromo ligado a fenila.



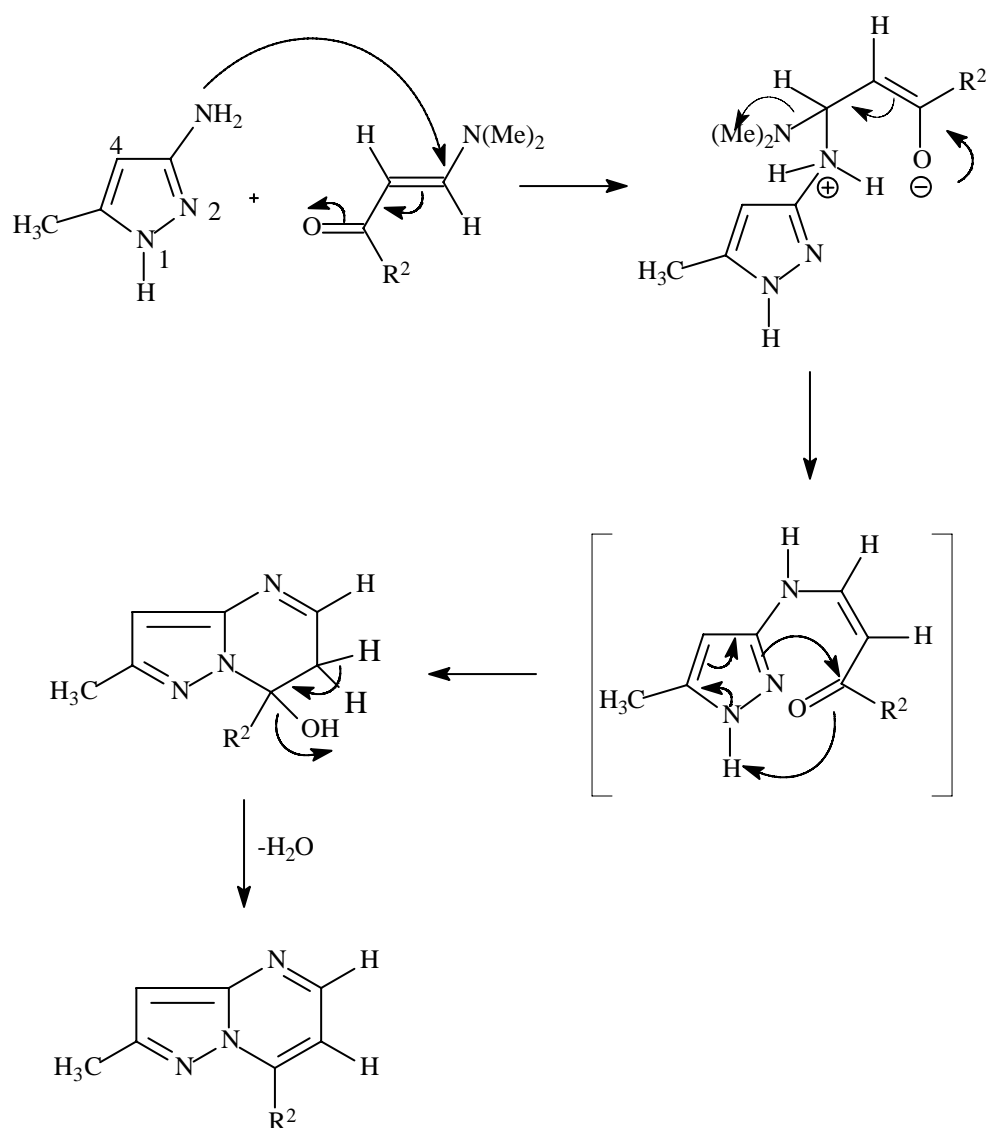
**Tabela 10:** Principais fragmentos positivos obtidos para os compostos **4a-j** a uma energia de 70 eV

Comp.	MS [m/z (%)]
<b>4a</b>	209(M <sup>+</sup> , 100), 140 (7)
<b>4b</b>	254(M <sup>+</sup> , 100), 208 (38, -NO <sub>2</sub> ), 63 (10)
<b>4c</b>	223 (M <sup>+</sup> , 100), 207 (37, -CH <sub>3</sub> ), 115 (15)
<b>4d</b>	288 (M <sup>+</sup> , 100), 208 (27, -Br), 180 (10), 140 (12), 101 (16), 75 (25), 50 (20).
<b>4e</b>	227 (M <sup>+</sup> , 100), 158 (9), 133 (12), 120 (9), 95 (10).
<b>4f</b>	243 (M <sup>+</sup> , 100), 208 (14, -Cl), 140 (10), 113 (9), 75 (15)
<b>4g</b>	210 (M <sup>+</sup> , 100), 182 (16), 129 (11), 78 (17), 51 (21)
<b>4h</b>	198 (M <sup>+</sup> , 100), 170 (18), 145 (11), 92 (23), 52 (20)
<b>4i</b>	215 (M <sup>+</sup> , 100), 162 (10), 108 (9), 69 (8).
<b>4j</b>	199 (M <sup>+</sup> , 100), 170 (23), 146 (10), 51 (17), 51(17)

### 3.3.4. Mecanismo da Reação

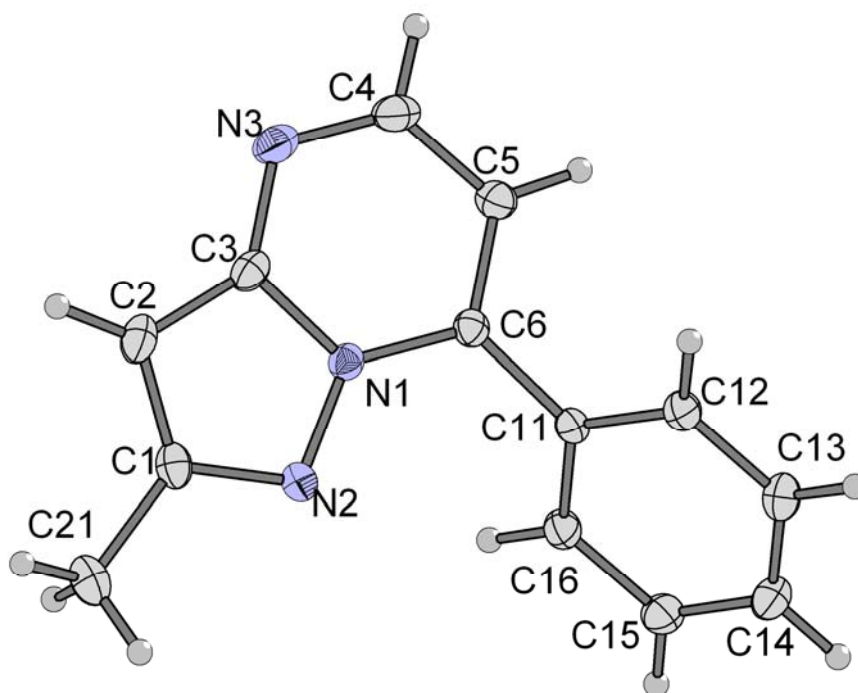
O mecanismo reacional para a síntese das pirazolopirimidinas **4a-j** é análogo ao mecanismo proposto para a síntese dos compostos **2a-f**. Inicialmente ocorre com o ataque do nitrogênio do grupo amino ao carbono beta da  $\beta$ -dimetilaminovinil cetona formando a enaminona intermediária com posterior adição nucleofílica intramolecular do nitrogênio do anel pirazolínico ao carbono carbonílico e subsequente eliminação de uma molécula de água<sup>54, 55</sup> (Esquema 23).

Esquema 23



### 3.3.5. Estrutura do composto 4a obtida por difratometria de Raios-X em monocristal

Além da identificação das pirazolopirimidinas **2a-f** e **4a-j** através de técnicas de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMQC, HMBC e cromatografia gasosa CG-MS foi realizada análise por difração de Raio-X em monocristal do composto **4a**. O ORTEP<sup>56</sup> mostrado na Figura 14, confirma a regioquímica proposta para a ciclocondensação [NCN] + [CCC] entre o 3-amino-5-metilpirazol e  $\beta$ -dimetilaminovinil cetonas a partir da atribuição estrutural dos produtos isolados. Os dados da difratometria de Raios-X encontram-se no Anexo 3.



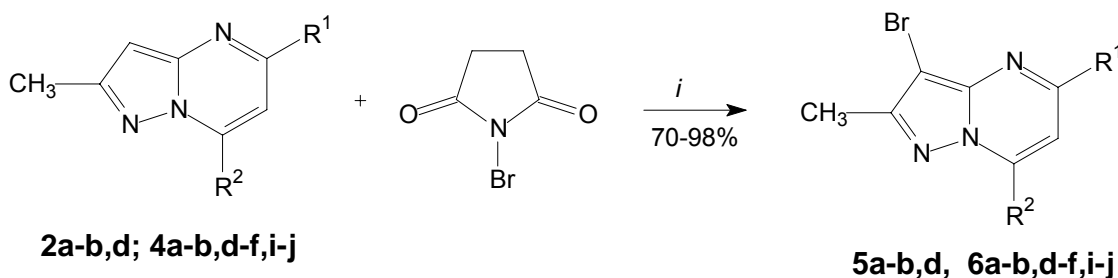
**Figura 14.** ORTEP obtido por difração de Raios-X do composto **4a**

### 3.4. 3-Bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 5a-b,d e 3-bromo-2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 6a-b,d-f,i-j

#### 3.4.1. Síntese das 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 5a-b,d síntese das 3-bromo-2-metil-7-arilpirazolo[1,5-a]pirimidinas 6a-b,d-f,i-j

A halogenção das pirazolopirimidinas **2a-b,d** e **4a-b,d-f,i-j** foi realizada através da reação com *N*-bromosuccinimida em refluxo de THF durante 20 horas (Esquema 24).

**Esquema 24:**



*i*: THF, refluxo, 20 h

Comp.	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>5a</b>	H	CCl <sub>3</sub>
<b>5b</b>	Me	CCl <sub>3</sub>
<b>5d</b>	Pr	CCl <sub>3</sub>
<b>6a</b>	H	Ph
<b>6b</b>	H	Ph-4-NO <sub>2</sub>
<b>6d</b>	H	Ph-4-Br
<b>6e</b>	H	Ph-4-F
<b>6f</b>	H	Ph-4-Cl
<b>6i</b>	H	Tien-2-il
<b>6j</b>	H	Fur-2-il

Com o objetivo de otimizar a reação, algumas condições reacionais foram testadas para a obtenção do composto **6a** (Tabela 9). Observou-se que quando a reação foi realizada utilizando *N*-bromosuccinimida, THF, em condições de refluxo durante 20 horas foram obtidos os melhores rendimentos. Desta forma os demais compostos **5a-b, d, 6b,d-f,i-j** foram obtidos com base na reação número 5.

As constantes físicas e rendimentos dos compostos **5a-b, d, 6a-b,d-f,i-j** estão listados na Tabela 12.



**Tabela 11:** Condições reacionais testadas para a síntese da 3-bromo-2-metilpirazolo[1,5-a]pirimidina **6a**

Reação	Condições Reacionais	Rend. (%)
1	Br <sub>2</sub> , t.a., CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 6h, Py, 0°C, 1h	–
2	NBS, Tolueno, 110 °C, 16 h	30
3	NBS, CHCl <sub>3</sub> , MCPBA 15 %, t.a., 36 h	50
4	NBS, CHCl <sub>3</sub> , MCPBA 15 %, refluxo, 24 h	70
<b>5</b>	<b>NBS, THF, 116°C, 20 h</b>	<b>78</b>

**Tabela 12:** Rendimentos, Pontos de Fusão, Fórmula Molecular e Análise Elementar dos compostos **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j**

Comp.	Rend. (%)	P. F. (°C)	Fórmula Molecular (g/Mol)
<b>5a</b>	89	144-146	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> BrCl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (329,41)
<b>5b</b>	78	136-138	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> BrCl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> (343,44)
<b>5d</b>	88	110-112	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> BrCl <sub>3</sub> (371,49)
<b>6a</b>	78	174-176	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>3</sub> Br (288,15)
<b>6b</b>	87	183-185	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> BrN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> (333,14)
<b>6d</b>	98	178-179	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Br <sub>2</sub> N <sub>3</sub> (367,04)
<b>6e</b>	95	159-161	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> BrFN <sub>3</sub> (306,14)
<b>6f</b>	95	166-168	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> BrClN <sub>3</sub> (322,59)
<b>6i</b>	91	125-128	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> BrN <sub>3</sub> S (294,17)
<b>6j</b>	70	133-135	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> BrN <sub>3</sub> O (278,11)

### 3.4.2. Identificação dos compostos 5a-b,d e 6a-b,d-f,i-j através de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e através de técnicas de 2D

Os compostos obtidos foram identificados por RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e através de técnicas de 2D, como HMQC (*Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence*) e HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das 3-bromo-2-metil-7-arylpirazolo[1,5-a]pirimidinas **5a-b,d**, **6a-b,d-f,i-j** apresentam  $\delta$  na faixa de 2,49-8,61. Os hidrogênios H5 e H6 apresentam-se na forma de dubletos e têm  $\delta$  de 8,42 e  $\delta$  6,77, respectivamente.

Com o objetivo de mostrar como se apresentam os sinais de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  das pirazolo[1,5-a]pirimidinas **5a-b,d**, **6a-b,d-f,i-j** foram selecionados os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto **6d**. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 15) observam-se dubletos com  $\delta$  6,84 e 8,51 correspondendo ao hidrogênio 6 e ao hidrogênio 5 do anel pirimidínico respectivamente. Em  $\delta$  7,67 e 7,91 observam-se dois dubletos com integração correspondente a dois hidrogênio. Estes sinais referem-se aos hidrogênios da fenila ligada ao anel pirimidínico. Ainda, tem-se um singleto com  $\delta$  em 2,49 e integração referente a três hidrogênios correspondendo a metila na posição 2 do anel pirazolínico. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 16) em  $\delta$  85,2 observa-se o sinal correspondente ao carbono (C-3) do anel pirazolínico. Em seguida aparece o carbono vinílico em 106,2 correspondendo ao carbono do anel pirimidínico. Os C-7, C-5, C3a e C-2 apresentam  $\delta$  em 145,3; 146,7; 149,4 e 153,24 respectivamente. A metila do anel pirazolínico possui  $\delta$  em 13,3. Os carbonos da fenila apresentam  $\delta$  entre 131,9 e 125,8.

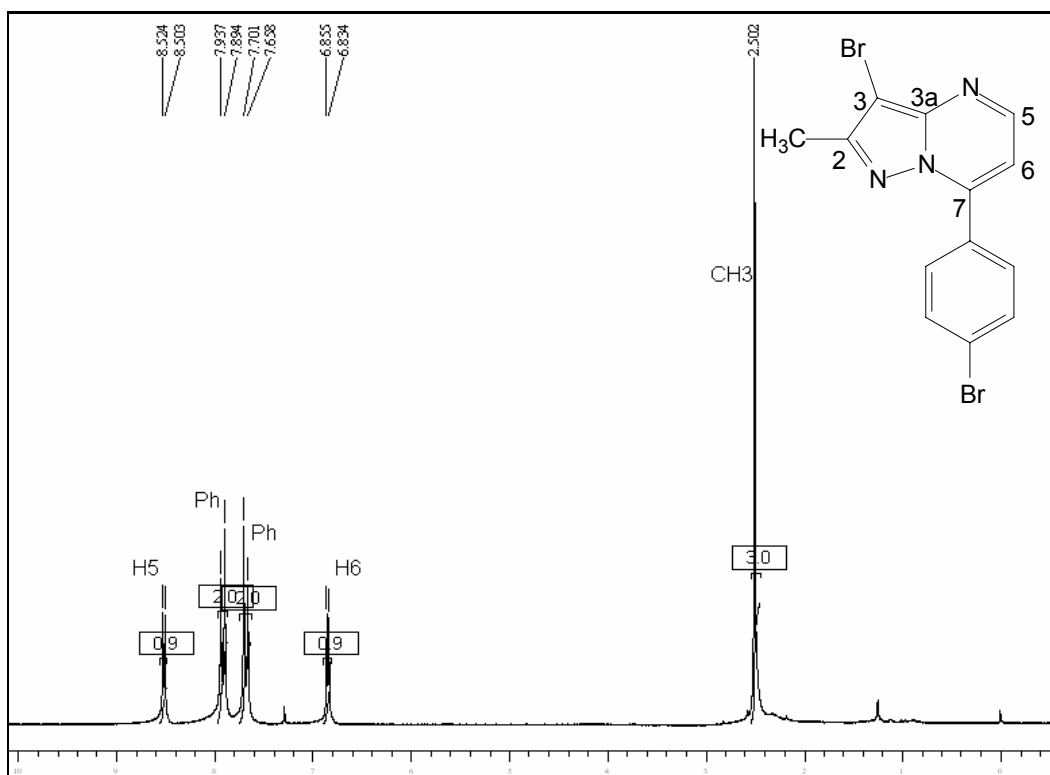


Figura 15: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6d** em CDCl<sub>3</sub>

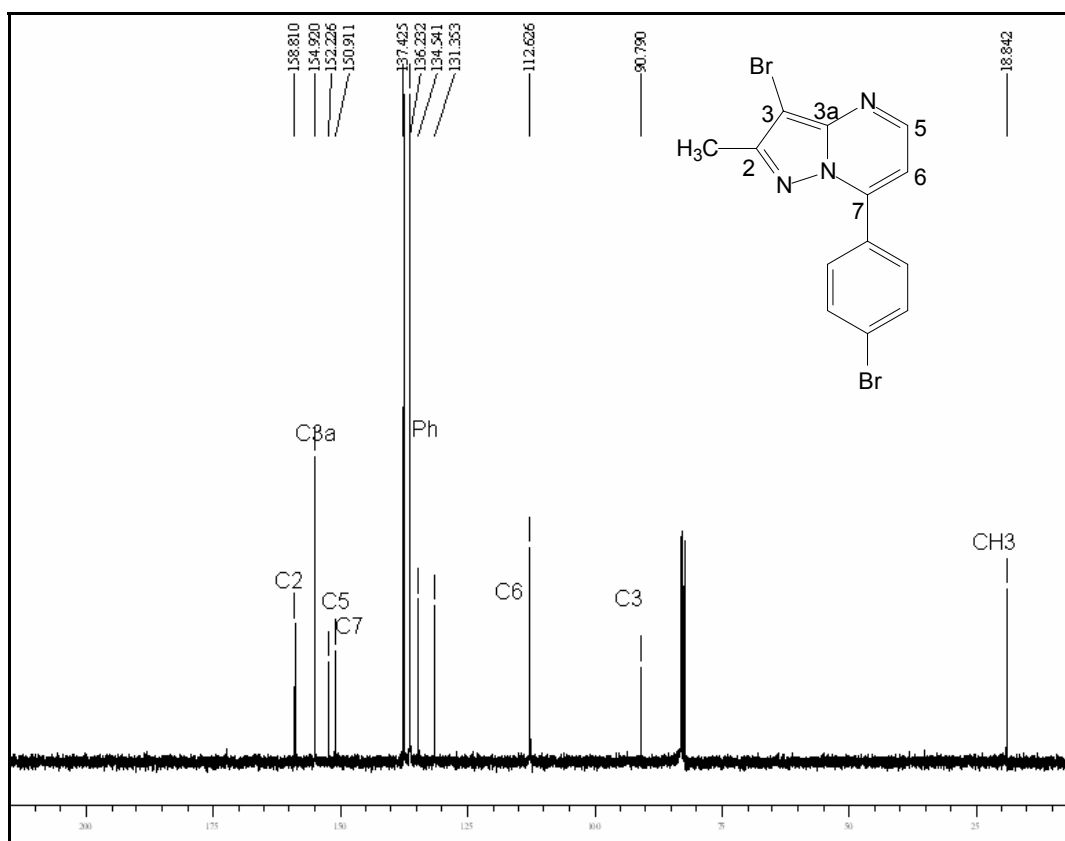
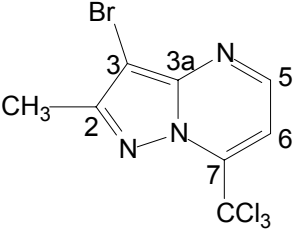
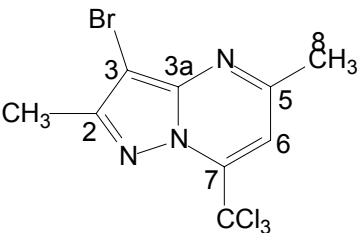
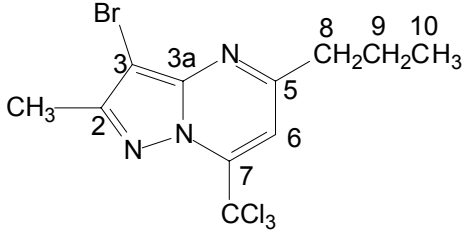
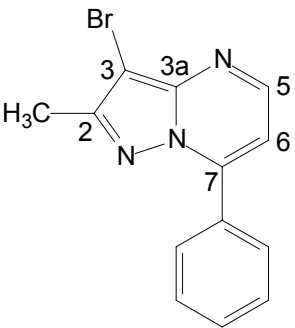


Figura 16: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **6d** em CDCl<sub>3</sub>

Tabela 13: Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j**

Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p><b>5a</b></p>	8,65 (d, 1H, H5) 7,50 (d, 1H, H6) 2,62 (s, 3H, CH3)	153,6 (C5), 148,6 (C2), 147,1 (C3a), 142,7(C7), 104,9 (C6); 88,3 (CCl3), 87,3 (C3); 13,5 (CH3)
 <p><b>5b</b></p>	7,34 (s, 1H, H6) 2,74 (s, 3H, H8) 2,57 (s, 3H, CH3)	159,1 (C5), 153,3 (C2), 146,9 (C3a), 142,2(C7), 106,0 (C6); 89,6 (CCl3), 85,9 (C3), 25,2 (C8), 13,5 (CH3),
 <p><b>5d</b></p>	7,30 (s, 1H, H6); 2,93 (t, 2H, H8); 2,57 (s, 3H, CH3); 1,87 (sex, 2H, H9); 1,06 (t, 3H, H10)	162,8 (C5); 153,2 (C2); 147,0 (C3a); 142,3 (C7); 105,4 (C6); 88,7 (C3); 85,9 (CCl3); 40,6 (C8); 22,2 (C9); 13,8 (CH3); 13,5 (C10)
 <p><b>6a</b></p>	8,50 (d, 1H, H5, $J$ = 4,2) 8,01-7,54 (m, 5H, Ph) 6,69 (d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 2,50 (s, 3H, CH3)	153,1 (C2), 149,6 (C3a), 146,8 (C5), 146,6(C7), 131,2; 130,2; 129,2; 128,6 (6C, Ph); 107,3 (C6); 85,0 (C3); 13,3 (CH3)

**Tabela 13:** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **5a-b,d** e **6a-f, i-j** (continuação)

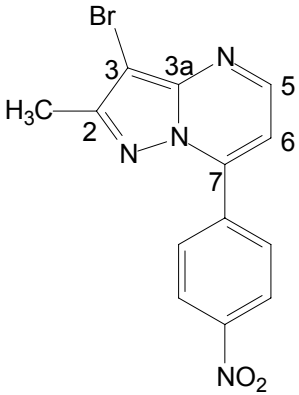
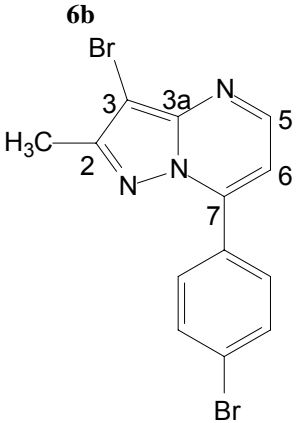
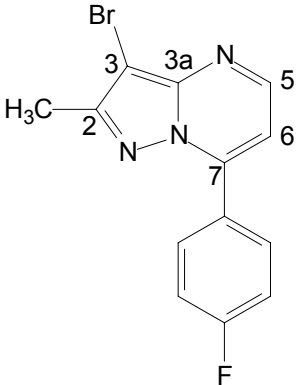
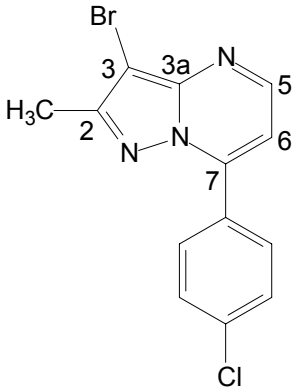
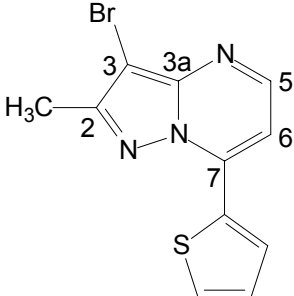
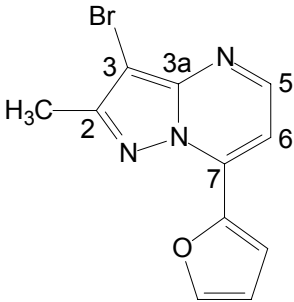
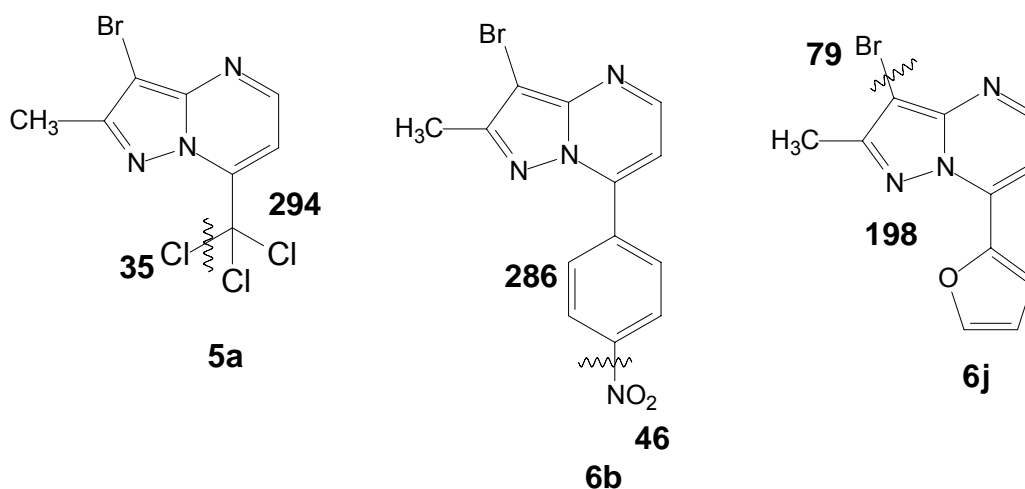
Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p><b>6b</b></p>	8,61 (d, 1H, H5, $J$ = 4,3) 8,43-8,24 (m, 4H, Ph) 6,95 (d, 1H, H6, $J$ = 4,3) 2,53 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	153,8 (C2), 149,5 (C3a), 149,1 (C5), 146,7 (C7), 144,1; 136,2; 130,4; 123,8; (6C, Ph), 107,9 (C6), 85,9 (C3), 13,4 (CH <sub>3</sub> )
 <p><b>6d</b></p>	8,51 (d, 1H, H5, $J$ = 4,3) 7,91-7,67 (m, 4H, Ph) 6,84 (d, 1H, H6, $J$ = 4,5) 2,49 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	153,2 (C2), 149,3 (C3a), 146,6(C5), 145,3 (C7), 131,8; 130,7; 129,0; 125,8; (6C, Ph), 107,0 (C6) 85,2 (C3), 13,3 (CH <sub>3</sub> ),
 <p><b>6e</b></p>	8,52 (d, 1H, H5, $J$ = 4,4) 8,06-7,24 (m, 4H, Ph) 6,84 (d, 1H, H6, $J$ = 4,4) 2,51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	165,6-163,0 (1C, Ph, $J$ = 252,9) 153,3 (C2); 149,4 (C3a), 146,7 (C5), 145,6 (C7), 131,6-131,5( 1C, Ph, $J$ = 8,47); 126,3-126,3 ( 1C, Ph, $J$ = 3,53); 116,0-115,8 ( 1C, Ph, $J$ = 21,89); 107,1 (C6); 85,2 (C3); 13,3 (CH <sub>3</sub> )

Tabela 13: Dados de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos **5a-b,d** e **6a-f, i-j** (continuação)

Produto/Estrutura	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (m, n $^\circ$ H, identificação, $J$ = Hz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (m, identificação, $J$ = Hz)
 <p><b>6f</b></p>	8,53 (d, 1H, H5, $J$ = 4,4) 8,00-7,53 (m, 4H, Ph) 6,85 (d, 1H, H6, $J$ = 4,2) 2,51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	153,4 (C2), 149,4(C3a), 146,6 (C5), 145,5 (C7), 85,2 (C3), 107,1 (C6), 129,0 ; 130,6 ; 137,5; 128,6 ; (6C, Ph), 13,3 (CH <sub>3</sub> )
 <p><b>6i</b></p>	8,47 (d, 1H, H5, $J$ = 4,7) 8,32 (d, 1H, tienil, $J$ = 4,8) 7,72 (d, 1H, tienil, $J$ = 4,0) 7,24 (t, 1H, tienil, $J$ = 3,9) 7,16 (d, 1H, H6, $J$ = 4,7) 2,57 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	153,1 (C2), 148,5 (C3a), 146,5 (C5), 139,9 (C7), 132,72; 130,61; 131,9; 127,64; (4C, tienil), 103,70 (C6), 84,9(C3), 13,4 (CH <sub>3</sub> )
 <p><b>6j</b></p>	8,45 (d, 1H, H5, $J$ = 4,7) 8,11 (d, 1H, furil, $J$ = 3,5) 7,65 (d, 1H, furil, $J$ = 1,6) 7,18 (d, 1H, H6, $J$ = 4,6), 6,6 (t, 1H, furi, $J$ = 1,7), 2,51 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )	153,0 (C2), 148,4 (C3a), 146,4 (C5), 145,6 (C7), 143,3; 135,4; 119,9; 112,9; (4C, furil), 102,3 (C6), 84,8(C3), 13,3 (CH <sub>3</sub> )

### 3.4.3. Dados de Espectrometria de massas dos compostos 5a-b,d e 6a-b,d-f,i-j

Os principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j** encontram-se na Tabela 14, onde observa-se a perda de um átomo de cloro para o composto **5a**, a perda grupo  $-\text{NO}_2$  ligado a fenila no composto **6b** e a quebra do Br na posição 3 da pirazolopirimidina **6j**. (Tabela 14).



**Tabela 14:** Principais fragmentos ionizados obtidos para os compostos **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j** a uma energia de 70 eV

Comp.	MS [ <i>m/z</i> (%)]
<b>5a</b>	329(M+2, 50), 294(100, -Cl), 212 (10), 110 (14), 85 (18)
<b>5b</b>	343(M+2, 56), 308(100, -Cl), 226(15), 202(09), 157 (09), 73(16).
<b>5d</b>	371(M+2, 33), 356(20), 344(100), 308(47)
<b>6a</b>	287(M <sup>+</sup> , 100), 206 (19, -Br), 182 (24), 140 (44), 115 (27), 51 (30),
<b>6b</b>	332(M <sup>+</sup> , 100), 286 (36, -NO <sub>2</sub> ), 207 (37), 74 (27), 52 (34)
<b>6d</b>	367 (M+2, 100), 286 (15, -Br), 206 (10), 166 (13), 113 (23), 75 (21), 51 (16).
<b>6e</b>	305 (M <sup>+</sup> , 100), 224 (17, -Br), 200 (28), 173 (21), 158 (58), 133 (33), 75(16).
<b>6f</b>	323 (M+2, 100), 242(14, -Br), 216(18), 189 (13), 140 (29), 113(17), 75 (25).
<b>6i</b>	293 (M <sup>+</sup> , 100), 214 (17, -Br), 188 (29), 161 (19), 121 (24), 63 (19).
<b>6j</b>	277 (M <sup>+</sup> , 100), 198(14, -Br), 172 (28), 102 (19), 76 (22), 51 (31).

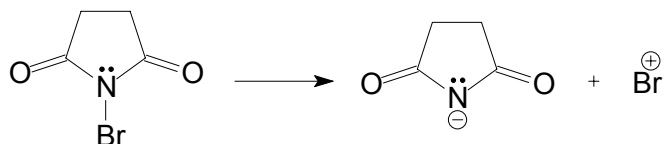


### 3.4.4. Mecanismo da Reação

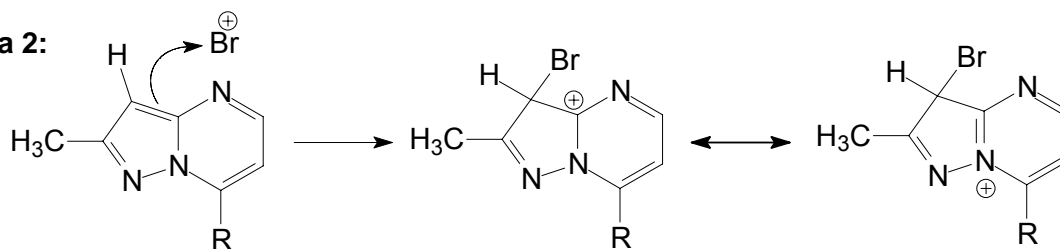
O mecanismo proposto para a reação de bromação das pirazolo[1,5-a]pirimidinas **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j** segue o mecanismo de uma reação de Substituição Eletrofilica Aromática. Na etapa 1 ocorre a formação do íon bromônio seguida pela etapa 2 onde ocorre a formação do cátion intermediário. Na etapa 3 ocorre a retirada do próton pelo nucleófilo formado na etapa 1 ocorrendo assim o restabelecimento da aromaticidade (Esquema 25).

#### Esquema 25

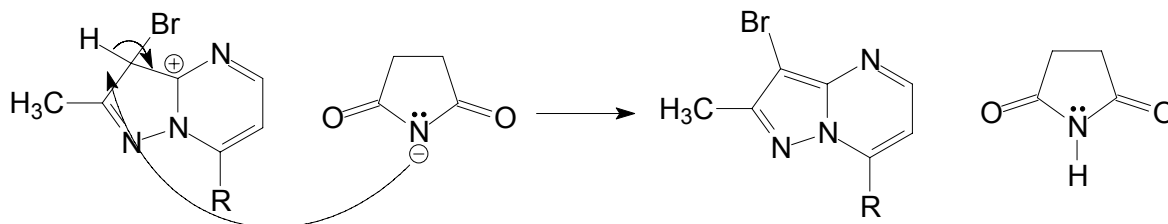
Etapa 1:



Etapa 2:



Etapa 3:



## 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1. Equipamentos Utilizados

#### 4.1.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em espectrômetro BRUKER DPX 200 de 200,13 MHz para  $^1\text{H}$  e/ou espectrômetro BRUKER DPX 400 de 400,13 MHz para  $^1\text{H}$  e 100,62 MHz para  $^{13}\text{C}$ .

As amostras de RMN foram dissolvidas em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). As condições usadas para  $^1\text{H}$  no espectrômetro BRUKER DPX 200 foram: SF 200,13 MHz; lock interno pelo  $^2\text{D}$ , largura do pulso 9,9  $\mu\text{s}$ : tempo de aquisição 3,89 s, janela espectral 965 Hz, número de varreduras 8 a 32, número de pontos 65536 com resolução digital Hz/ponto igual a 0,128875; temperatura de 300 K.

As condições usadas no espectrômetro BRUKER DPX 400 foram: SF 400,13 MHz para  $^1\text{H}$  e 100,32 para  $^{13}\text{C}$ ; lock interno pelo  $^2\text{D}$ , largura do pulso 9,9  $\mu\text{s}$  ( $^1\text{H}$ ) e 19,5  $\mu\text{s}$  ( $^{13}\text{C}$ ): tempo de aquisição 3,98 s ( $^1\text{H}$ ) e 1,41 s ( $^{13}\text{C}$ ), janela espectral 965 Hz ( $^1\text{H}$ ) e 5000 Hz ( $^{13}\text{C}$ ), número de varreduras 8 a 32 ( $^1\text{H}$ ) e 500 a 60000 para  $^{13}\text{C}$  dependendo do composto, número de pontos 65536 com resolução digital Hz/ponto igual a 0,128875 ( $^1\text{H}$ ) e 0,179994 ( $^{13}\text{C}$ ); temperatura de 300 K.

#### 4.1.3. Espectroscopia de Massas

Os espectros de massa e respectivos cromatogramas foram obtidos através de um Cromatógrafo Gasoso HP 6890 acoplado ao Detector de Massas Seletivo 5973 (CG/MS), com injetor automático HP 6890. Coluna HP-5MS (Crosslinked 5% de PH ME Siloxane) – temperatura máxima de 325°C - diâmetro interno 0,32mm e fase estacionária 0,25 Å. Fluxo de gás hélio de 2mL/min., pressão de 5.05 psi. Temperatura do injetor: 250° C; Seringa de 10  $\mu\text{L}$ , com injeção de 1  $\mu\text{L}$ ; temperatura inicial do forno de 70° C/min e após aquecimento de 12°C/min até 280°C. Para a fragmentação dos compostos foi utilizado 70 eV no espectrômetro de massas.

#### 4.1.4. Ponto de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho KOFER REICHERT-THERMOVAR (pontos de fusão não corrigidos).

#### 4.1.5. Análise Elementar

As análises elementares para os compostos foram realizadas em um analisador Perkin Elmer 2400 CHN, no Instituto de Química, USP, São Paulo.

#### 4.1.6. Difração de Raio-X

As medidas cristalográficas do composto **4a** foram feitas em um espectrômetro Bruker Kappa Apex II, equipado com um detector de área tipo CCD, usando radiação Mo K $\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ). A estrutura foi resolvida usando métodos diretos (SHELXS-97), achando todos os átomos C e N. A estrutura foi refinada nas  $F^2$  (SHELXL-97). Os átomos de H foram achados no mapa de densidade diferencial ( $F_o - F_c$ ) e refinados junto com os átomos para quais eles estão ligados.

### 4.2. Síntese dos Compostos

#### 4.2.1. Procedimento geral para a síntese de pirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-f** e **4a-j**.

Adicionou-se a um balão acoplado a um condensador de refluxo, as 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquên-2-onas **1a-f** (1 mmol) ou as  $\beta$ -dimetilaminovinil cetonas (1 mmol) e o 5-metil-3-aminopirazol (1 mmol) em ácido acético (5 mL). Elevou-se à temperatura de refluxo do solvente e manteve-se a reação por 16 horas. Posteriormente ao tempo reacional a solução foi extraída com clorofórmio ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ), lavada com água destilada ( $3 \times 10 \text{ mL}$ ), seca com sulfato de magnésio. O solvente foi retirado no rotaevaporador rotatório a pressão reduzida e um sólido foi obtido como produto.

#### 4.2.2. Procedimento geral para a síntese de 3-bromo-2-metil-pirazolo[1,5-a]pirimidinas **5a-b,d** e **6a-b,d-f,i-j** .

Adicionou-se a um balão acoplado a um condensador de refluxo, as pirazolo[1,5-a]pirimidinas **2a-b,d** ou **4a-b,d-f,i-j** (1 mmol) e a *N*-bromocuccinimida (1 mmol) em tetraidrofurano (5 mL). Elevou-se à temperatura de refluxo do solvente e manteve-se a reação por 20 horas. Posteriormente ao tempo reacional a solução foi extraída com clorofórmio (3 × 10 mL), lavada com água destilada (3 × 10 ml), seca com sulfato de magnésio. O solvente foi retirado no rotaevaporador rotatório a pressão reduzida e um sólido foi obtido como produto. O sólido resultante foi então recristalizado em hexano.

## 5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesta dissertação, as conclusões são as seguintes:

- As reações entre o 3-amino-5-metilpirazol com 1,1,1-tricloro-4-alcoxi-3-alquen-2-onas foram regioespecíficas formando as pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas **2a-f** com altos rendimentos e boa pureza.
- As reações entre o 3-amino-5-metilpirazol com  $\beta$ -dimetilaminovinil arilcetonas também foram regioespecíficas formando as pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas **4a-j**. Os produtos foram obtidos com êxito, altos rendimentos e pureza.
- Portanto, a atribuição estrutural das pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas obtidas permite dizer que os sistemas 1,3-dieletrófilos (enonas **1a-f** e enamionas **3a-j**) reagem de modo análogo com o 1,3-dinucleófilo 3-amino-5-metilpirazol. Então, foram obtidos somente produtos do ataque do grupo 3-amino do pirazol ao carbono- $\beta$  dos sistemas **1** e **3** com posterior ciclização a partir do ataque do N-1 do pirazol as carbonilas de **1** e **3**.
- A bromação dos compostos **2a-b**, **d**, **4a-b**, **d-f**, **i-j** utilizando *N*-bromosuccinimida ocorreu na posição 3 do anel pirazolínico via Substituição Eletrofílica Aromática com bons rendimentos.
- Os compostos testados demonstraram moderada atividade antimicrobiana (Apêndice 1).

## 6. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zanatta, N.; Barrichello, R.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Synthesis* **1999**, 765.
2. (a) Zanatta, N.; Rosa, L. S.; Loro, E.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J Fluorine Chem*, **2001**, 107, 149. (b) Zanatta, N.; Cortelini, M. F. M.; Carpes, M. J. S.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1997**, 34, 509. (c) Zanatta, N.; Fagundes, M. B.; Ellenshon, R.; Marques, M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1998**, 35, 451. (d) Zanatta, N.; Pacholski, I. L.; Faoro, D.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Synth. Comm.*, **2001**, 31, 2855. (e) Madruga, C. C.; Clerici, E.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, 32, 735; (f) Zanatta, N.; Madruga, C.C.; Marisco, P.C.; Flores, D.C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, 37, 1213; (g) Zanatta, N.; Flores, D.C.; Madruga, C.C.; Faoro, D.; Flores, A.F.C.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Synthesis* **2003**, 6, 894;
3. (a) Bonacorso, H. G.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Synth. Comm.*, **2000**, 30, 1457. (b) Bonacorso, H. G.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P.; Naue, J. A. *J Fluorine Chem*, **1998**, 92, 23.
4. (a) Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Beck, P.; Machado, P.; Moura, S.; Teixeira, M. V.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6669. (b) Braibante, M. E. F.; Clar, G.; Martins, M. A. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1993**, 30, 1159. (c) Flores, A. F. C.; Martins, M. A. P.; Rosa, A.; Flores, D. C.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Synth. Comm.*, **2002**, 32, 1585. (d) Martins, M. A. P.; Freitag, R. A.; Flores, A. F. C.; Zanatta, N. *Synthesis*, **1995**, 1491. (e) Martins, M. A. P.; Freitag, R. A.; Rosa, A.; Flores, A. F. C.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G.; *J. Heterocyclic Chem.* **1999**, 36, 217. (f) Flores, A. F. C.; Zanatta, N.; Rosa, A.; Brondani, S.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 5005. (g) Bonacorso, H. G.; Oliveira, M.R.; Wentz, A.P.; Wastowski, A. D.; Oliveira, A.B.; Hörner, M.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron* **1999**, 55, 345; (h) Bonacorso, H. G.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Synth. Commun.* **2000**, 30, 1457; (i) Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Zimmermann, N. E. K; Moura, S.; Sinhörin, A. P.; Cunico, W.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G.; Flores, A. F. C. *Synthesis* **2003**,

- 15, 2353; ; (j) Bonacorso, H. G.; Muniz, M.N.; Wastowski, A.D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Heteroatom Chem.* **2003**, *14*, 132;
5. (a) Bonacorso, H. G.; Lopes, I. S.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J Fluorine Chem*, **2003**, *120*, 29. (b) Zanatta, N.; Pacholski, I. L.; Blanco, I.; Martins, M. A. P. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1991**, *2*, 118. (c) Zanatta, N.; Blanco, I.; Pacholski, I. L.; Martins, M. A. P. *Quím. Nova*, **1993**, *16*, 15. (d) Bonacorso, H. G.; Lourega, R. V.; Wastowski, A. D.; Flores, A. F. C.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9315.
6. (a) El-Gabi, M. S. A.; Atall, A. A.; Gaber, A. M.; Al-Wahab, K.A.A. *Il Farmaco*, **2000**, *55*, 596. (b) Yiu, L.; Liebscher, J.; *Syntesis*, **2005**, *1*, 0131. (c) Selleri, S.; Bruni, F.; Costagli, C.; Costanzo, A.; Guerrini, G.; Ciciani, G.; Costa, B.; Martini, C. *Bioorg. and Med. Chem.*, **1999**, *7*, 2705. (d) Williamson, D. S.; Parrat, M. J.; Bower, J. F.; Moore, J. D.; Richardson, C. M.; Dokurno, P.; Cansfield, A. D.; Francis, G. L.; Hebdon, R. J.; Howes, R.; Jackson, P. S.; Lockie, A. M.; Murray, J. B.; Nunns, C. L.; Powles, J.; Robertson, A.; Surgenor, A. E.; Torrance, C. J. *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 863. (e) Devesa, I.; Alcaraz, M. J.; Riguera, R.; Ferrándiz, M. L. *European Journal Pharmacology*, **2004**, *488*, 225. (f) Almansa, C.; Arriba, A. F.; Cavalcanti, F. L.; Gómes, L. A.; Mirrales, A.; Merlos, M.; Rafanell, J. G.; Forn, J. *J. Med Chem.* **2001**, *44*, 350. (g) Fraley, M. E.; Hoffman, W. F.; Rubino, R. S.; Hungate, R. W.; Tebben, A. J.; Rutledge, R. Z.; McFall, R. C.; Huckle, W. R.; Kendall, R. L.; Coll, K. E.; Thomas, K. A. *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12*, 2767.
7. Penning, T. D. et all. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1347.
8. (a) George, C. F. P. *The Lancet* **2001**, *357*, 1623. (b) Weitzel, K. W.; Wickman, J. M.; Augustin, S. G.; Strom, J. G. *Clinical Therapeutics* **2000**, *22*, 1254. (b) Moore, K. A.; Zemrus, T. L.; Ramcharitar, V.; Levine, B.; Fowler, D. R. *Forensic Science International*, **2003**, *134*, 120.
9. Casida, J. E.; Hainzl, D.; Cole, L. M. *Chem. Res. Toxicol.* **1998**, *11*, 1529.
10. Novinson, T.; Bhooshan, B.; Okabe, T.; Revankar, G. R.; Wilson, H. R. *J. Med Chem.* **1976**, *19*, 512.
11. Senga, K.; Novinson, T.; Wilson, H. R. *J. Med Chem.* **1981**, *24*, 610.
12. Suzuki, M.; Iwasaki, H.; Fujikawa, Y.; Sakashita, M.; Kitahara, M.; Sakoda, R. *Bioorg. Med Chem.* **2001**, *11*, 1285.

13. Almansa, C.; Arriba, A. F.; Cavalcanti, F. L.; Gomes, L. A.; Mirrales, A.; Forn, J. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 350.
14. Kirkpatrick, W. E.; Okabe, T.; Hillyard, I. W.; Robin, R. K.; Dren, A. T. *J. Med Chem.* **1977**, *20*, 386.
15. Hojo, M.; Masuda, R.; Sakaguchi, S.; Takagowa, M. *Synthesis*, **1986**, 1016.
16. Martins, M. A. P.; Siqueira, G. M.; Bastos, G. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 1619. (b) Martins, M. A. P.; Bastos, G. P.; Zimmermann, N. E. K; Rosa, A.; Brondani, S.; Emerich, D.; Bonacorso, H. G; Zanatta, *J Fluorine Chem*, **2003**, *123*, 249. (c) Martins, M. A. P.; Sinhorin, A. P.; Bastos, G. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Sinlett*, **1999**, *17*, 789. (d) (a) Flores, A. F. C.; Brondani, S.; Zanatta, N.; Rosa, A.; Martins, M. A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8701.
17. Martins, M. A. P.; Zoch, A. N.; Flores, A. F. C.; Clar, G.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Heterocyclic Chem.* **1995**, *32*, 739.
18. Colla, A.; Martins, M. A. P.; Clar, G.; Krimmer, S.; Fischer, P. *Synthesis* **1991**, 483.
19. Pacholski, I. L.; Blanco, I.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1991**, *1*, 1118. *Chem Abstr.*, **1997**, *120*, 323443n.
20. Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M.; Freitag, R.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quím. Nova* **1994**, *17*, 298.
21. Hojo, M.; Kamitori, Y.; Masuda, R. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *13*, 1009.
22. Wohl, R. A. *Synthesis* **1974**, 38.
23. Madruga, C. C.; Clerici, E.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Heterocyclic Chem.* **1995**, *32*, 735.
24. Effenberger, E. *Angew. Chem.*, **1969**, *81*, 374.
25. Effenberger, F.; Maier, R.; Schönwälder, K.-H.; Ziegler, T. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 2766.
26. Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C.M.P; Flores, A.F.C.; Bonacorso H.G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synthesis* **2004**, *1*, 391.
27. Elassar, A-Z. A.; El, Khair, A. A. *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 8463.
28. Murphy, W. S.; Bertrand, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 4115.
29. Kirschbaum, S.; Waldmann, H. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4936.



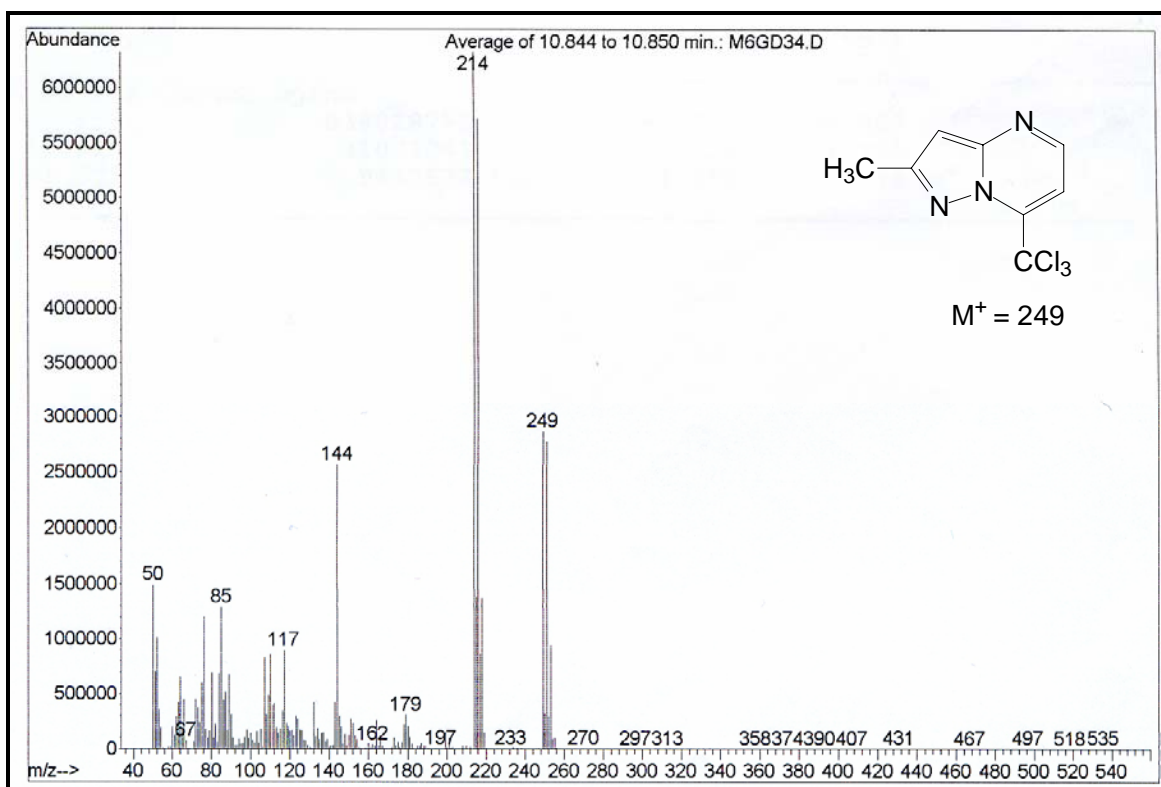
30. (a) Trautwein, A. W.; Jung, G. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 8263. (b) Hojo, M.; Okada, E.; Masuda, R.; Inoue, R. *Synthesis* **1992**, 533. (c) Sommen, G.; Comel, A.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2003**, 59, 1557.
31. Maeba, I.; Ito, Y.; Wakimara, M.; Ito, C. *Heterocyclic*, **1993**, 36, 1617.
32. Yu, H. B.; Huang, W. Y. *J Fluorine Chem.*, **1997**, 84, 65.
33. Katritzky, A. R.; Fang, Y.; Donkor, A.; Xu, J. *Synthesis*, **2000**, 2029.
34. Cunico, W. J. F. *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Santa Maria, **2004**.
35. (a) Lue, P.; Greenhill, J. V. *Adv. Heterocyclic. Chem.* **1997**, 67, 215. (b) Elassar, A.-Z. A.; El-Khair A. A. *Tetrahedron* **2003**, 59, 8463.
36. Tseng, S-S.; Epstein, J. W.; Bradander, H. J.; Francisco, G. J. *Heterocyclic Chem*, **1987**, 1241, 837.
37. Al-Omran, F.; Elassar, A-Z. A.; El-Khair, A. A. *Tetrahedron*, **2001**, 57, 10163.
38. Gorobets, N. Y.; Yousefi, B. H.; Belaj, F.; Kappe, C. O. *Tetrahedron*, **2004**, 60, 8633.
39. (a) Hojo, M.; Masuda, R.; Okada, E.; Sakaguchi, S.; Narumiya, H.; Morimoto, K. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 30, 6173. (b) Hojo, M.; Masuda, R.; Okada, E.; Yamamoto, H.; Morimoto, K.; Okada, K. *Synthesis*, **1990**, 195.
40. Tietze, L. F.; Bergmann, A.; Brill, G.; Brüggemann, K.; Hartfiel, U.; Voss, E. *Chem. Ber.* **1989**, 122, 83.
41. (a) Zanatta, N.; Squizani, A.M.C.; Fantinel, L.; Nachtigall, F.M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Synthesis*, **2002**, 16, 2409; (b) Bonacorso, H. G.; Wentz, A.P.; Bittencourt, S.R.T.; Marques, L.M.L.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Synth. Commun.* **2002**, 32, 335; (c) Zanatta, N.; Barichello, R.; Pauletto, M.M.; Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 961.
42. Rosa, F. A. *Tese de Mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, **2004**.
43. Yiu, L.; Liebscher, J.; *Synthesis*, **2004**, 14, 2329.
44. Gopalsamy, A.; Yang, H.; Ellingboe, J. W.; Tsou, H.; Zhang, N.; Honores, E.; Powel, D.; Miranda, M.; McGinnis, J. P.; Rabindran, S. K. *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 1591.
45. Selleri, S.; Bruni, F.; Costagli, C.; Costanzo, A.; Guerrini, G.; Ciciani, G.; Costa, B.; Martini, C. *Bioorg. and Med. Chem.*, **2001**, 9, 2661.

46. Compton, D. R.; Sheng, S.; Carlson, K. E.; Rebacz, N. A.; Lee, I. Y.; Katzenellenbogen, B. S.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 5872.
47. Fabron, J.; Pastor, R.; Cambon, A. *J. Fluorine Chem.* **1991**, 51, 141.
48. Singh, S. P.; Naithani, R.; Aggarwal, R.; Prakash, O. *Synth. Commun.*, **2004**, 34, 4359.
49. Fraley, M. E.; Hoffman, W. F.; Rubino, R. S.; Hungate, R. W.; Tebben, A. J.; Rutledge, R. Z.; McFall, R. C.; Huckle, W. R.; Kendall, R. L.; Coll, K. E.; Thomas, K. A. *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 2767.
50. Stefani, H. A.; Pereira, C. M. P.; Almeida, R. B.; Braga, R. C.; Guzen, K. P.; Cella, R. *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 6833.
51. Dalinger, I. L.; Vatsadse, I. A.; Shevelev, S. A.; Ivachtchenko, A. V. *J. Comb. Chem.*, **2005**, 7, 236.
52. Burchat, A. F.; Calderwood, D. J.; Friedman, M. M.; Hirst, G. C.; Li, B.; Rafferty, P.; Ritter, K.; Skinner, B. S. *Bioorg. and Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 1687.
53. Eicher, T.; Hauptmann, S. *The Chemistry of Heterocycles* **1995**, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, pp 6-13.
54. Chern, J. W.; Lee, C. C.; Liaw, Y. C.; Wang, A. H. *J. Heterocycles*, **1992**, 34(6), 1133.
55. Fabron, J.; Pastor, R.; Cambon, A. *J. Fluorine Chem.* **1991**, 51, 141.
56. Sheldrick, G. M. SHELXS-97 and SHELXL-97, Programs for Crystal structure Solution and Refinement: Umiversität Göttingen, Germany, **1997**.
57. ESPINEL-INGROFF, A. & PFALLER, M. A. Antifungal agents and susceptibility testing. IN: Murray, P. R.; Baron, E. J.; Pfaller, M. A.; tenover, F. C. - Manual of Clinical Microbiology, 6<sup>a</sup> Ed., American Society for Microbiology, Washington, p. 1405, **1995**.
58. National Committee for Clinical Laboratory Standards (**2002**). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard*. NCCLS document M27-A2. Wayne, P.A.; National Committee for Clinical Laboratory Standards.

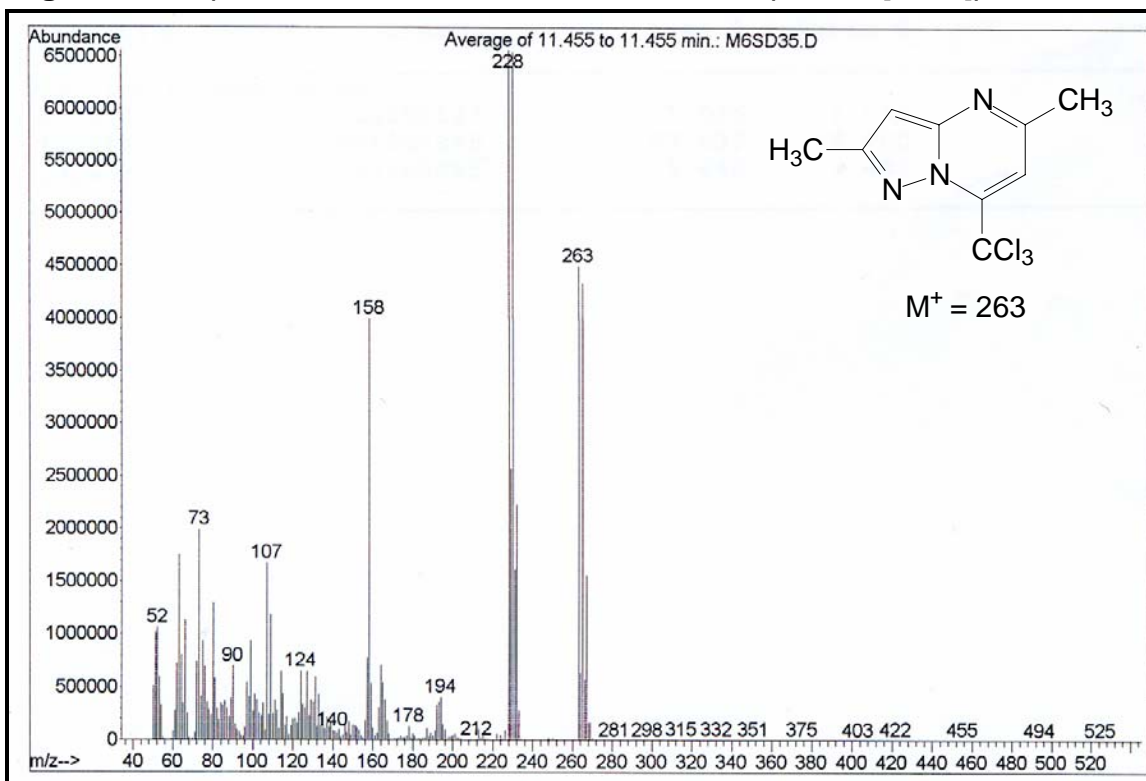
59. National Committee for Clinical and laboratory Standards (**2000**). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard; 5<sup>o</sup> edition*. NCCLS document M7-A5. Wayne, P.A.; National Committee for Clinical Laboratory Standards.

## **ANEXO 1**

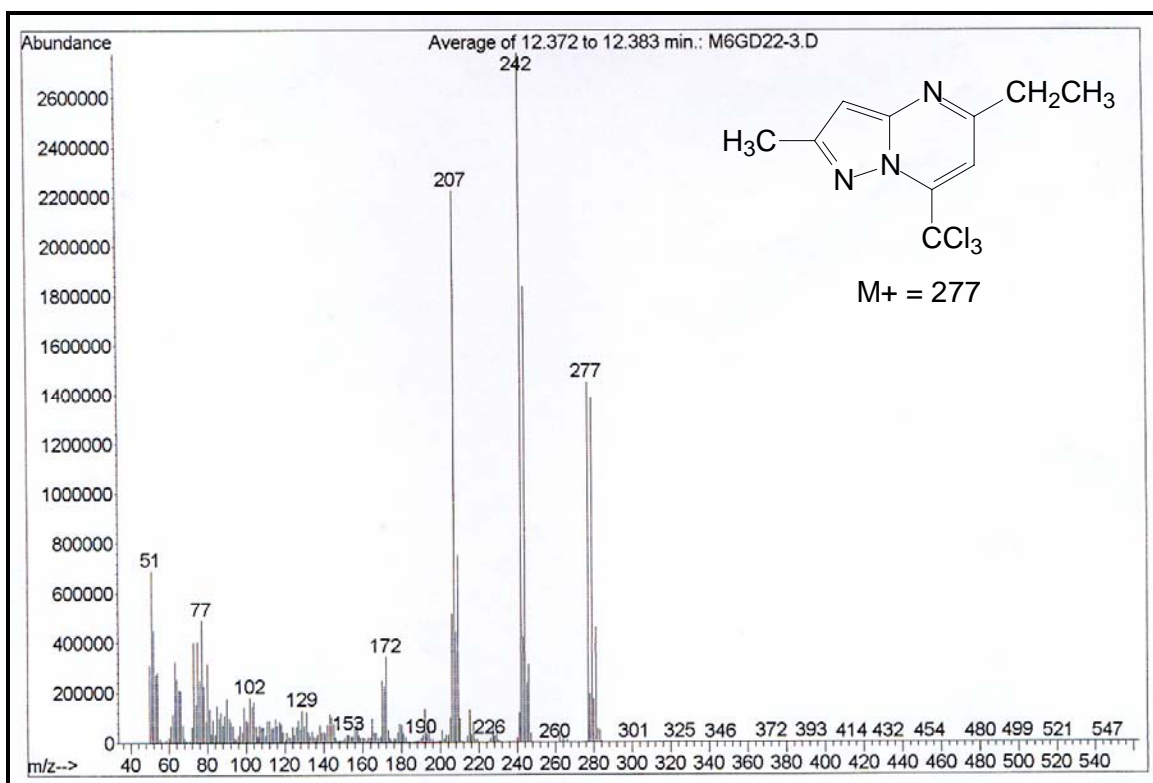
**Espectro de massas dos compostos 2a-f, 4a-j, 5a-b,d, 6a-b, d-f, i-j**



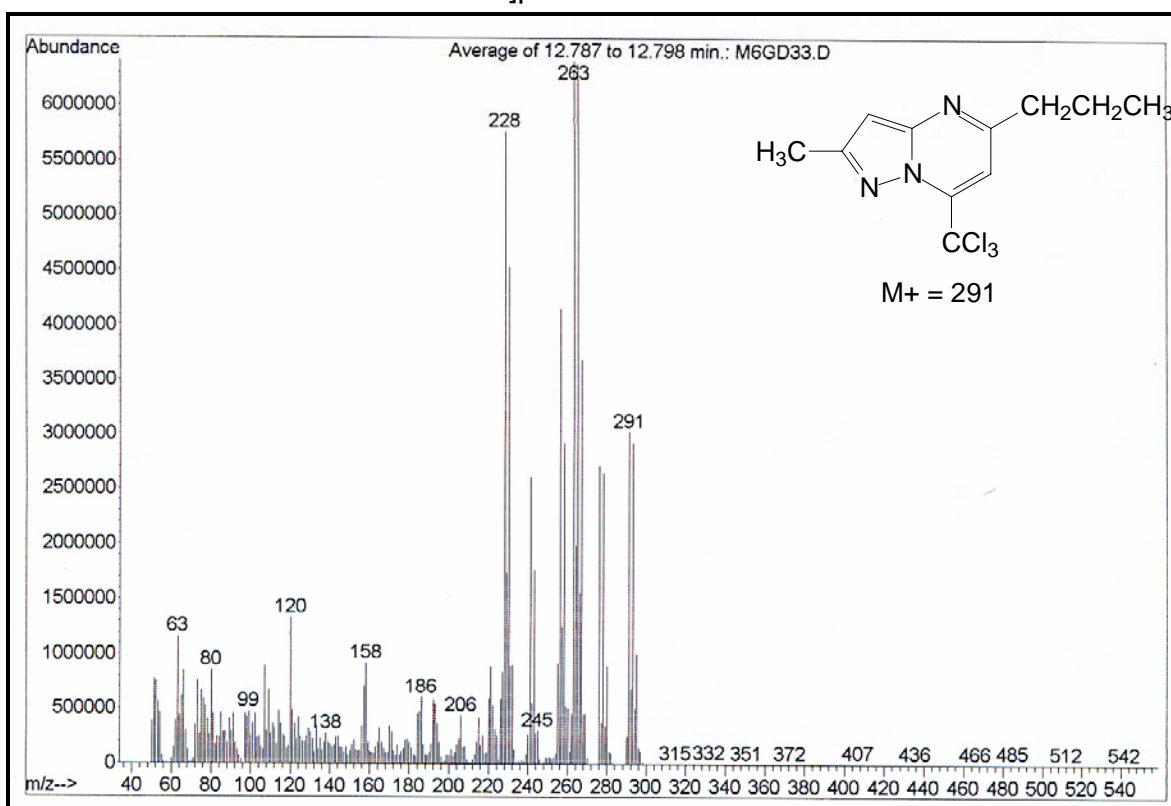
**Figura 17:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometilpirazolo[1,5-a]pirimidina **2a**



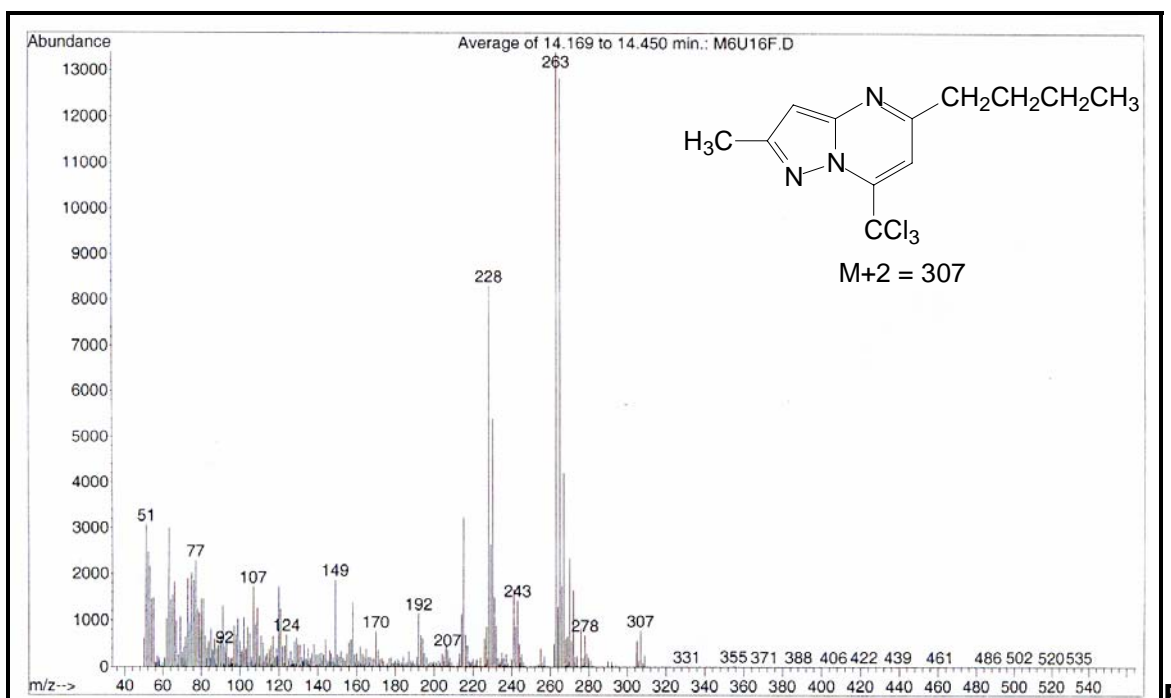
**Figura 18:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidina **2b**



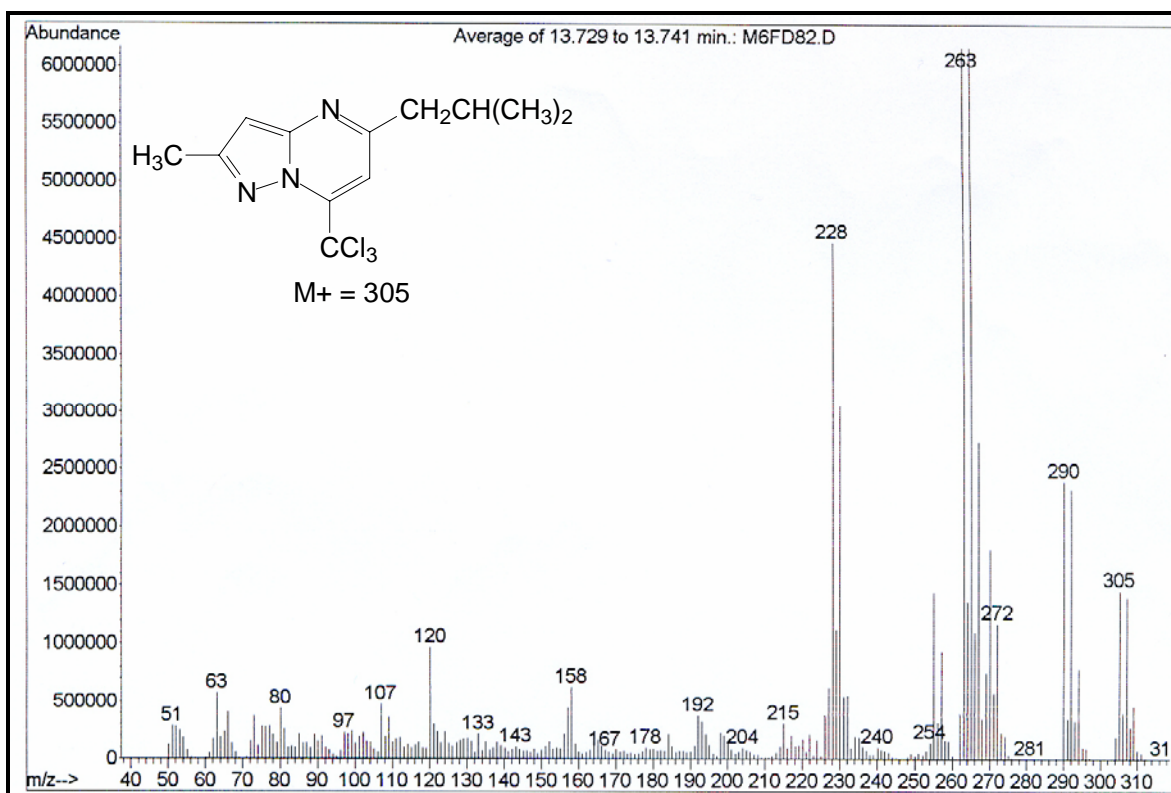
**Figura 19:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-etilpirazolo[1,5-a]pirimidina **2c**



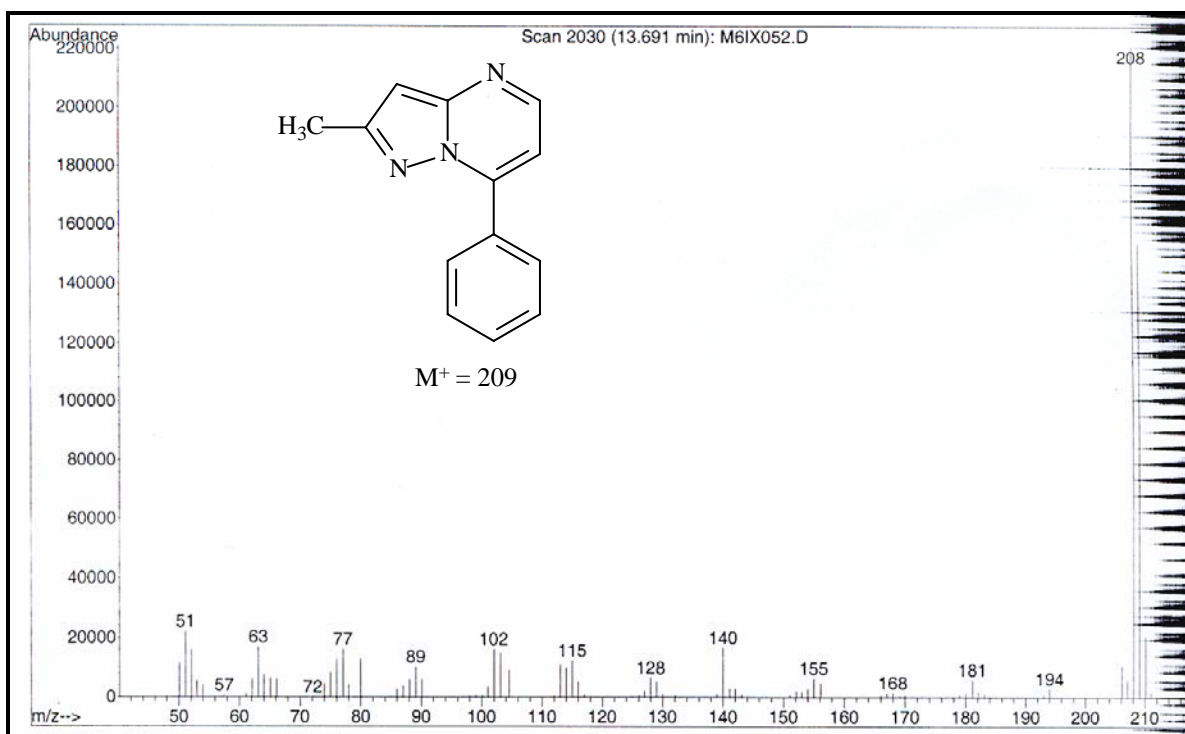
**Figura 20:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-propilpirazolo [1,5-a]pirimidina **2d**



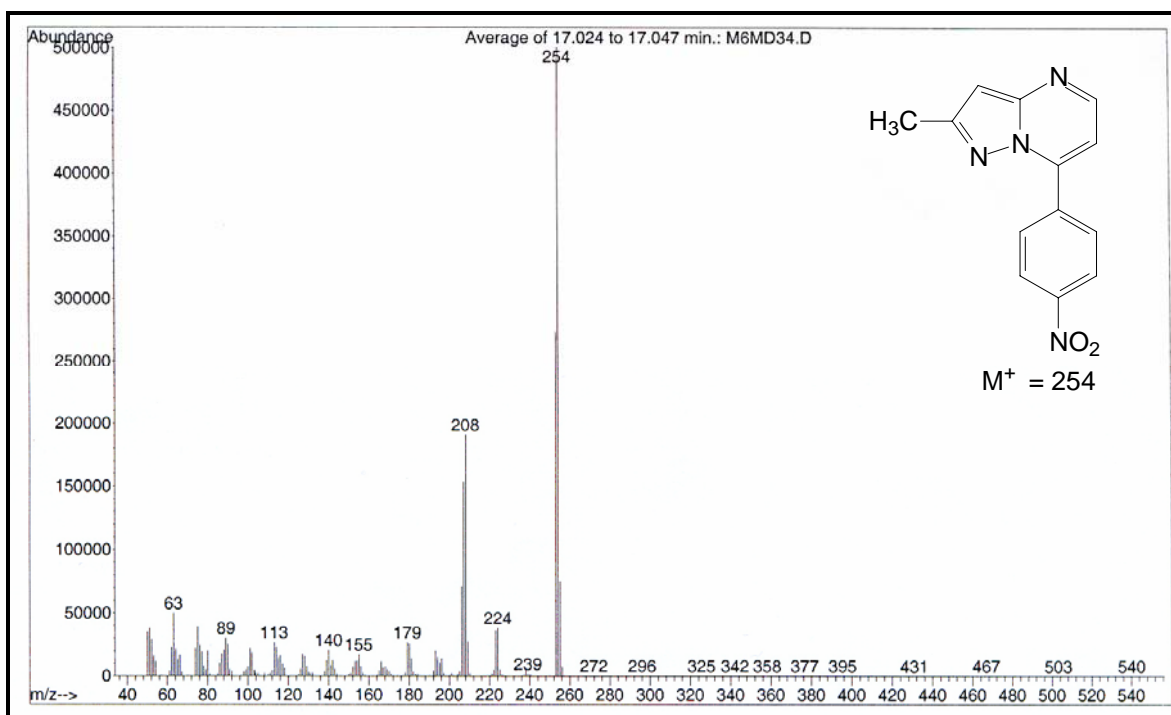
**figura 21:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-butilpirazolo [1,5-a]pirimidina **2e**



**Figura 22:** Espectro de massas 2-metil-7-triclorometil-5-isopropilpirazolo [1,5-a]pirimidina **2f**



**Figura 23:** Espectro de massas 2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina **4a**



**Figura 24:** Espectro de massas 2-metil-7-(4-nitrofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4b**



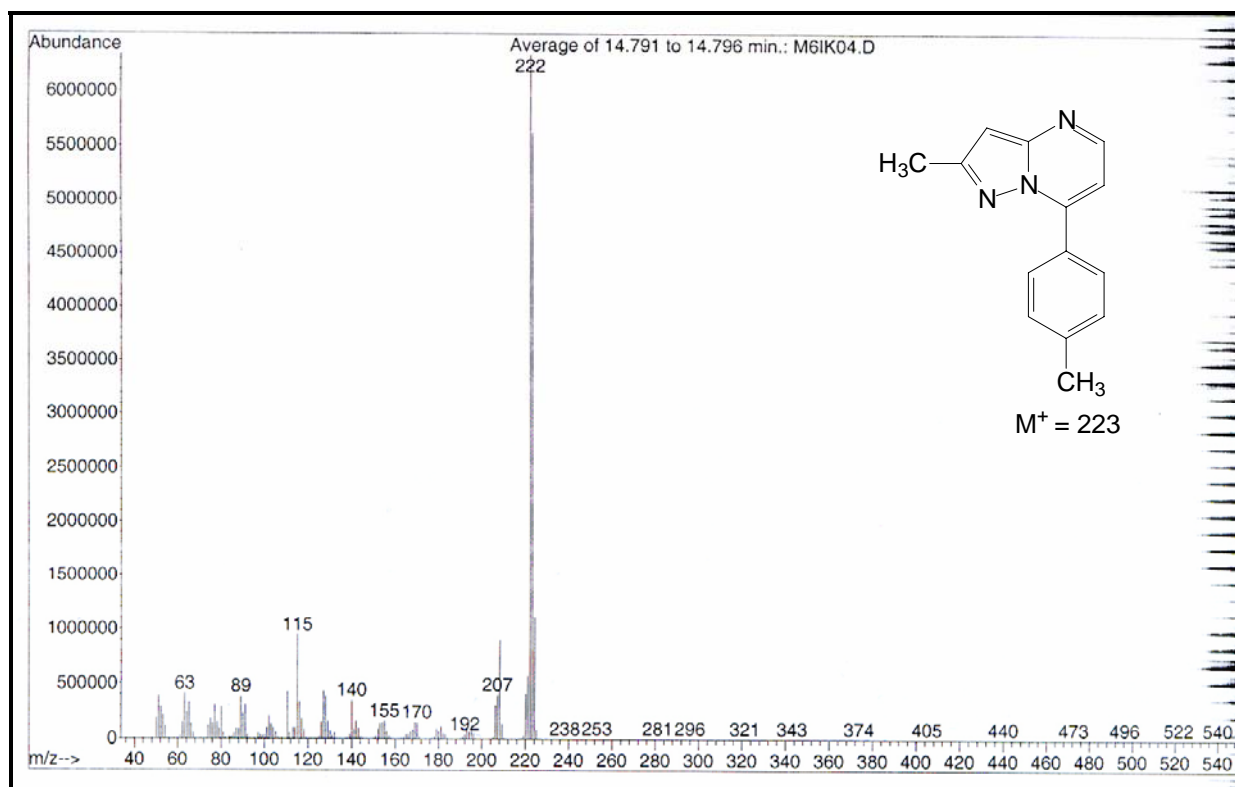


Figura 25: Espectro de massas 2-metil-7-(4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4c**

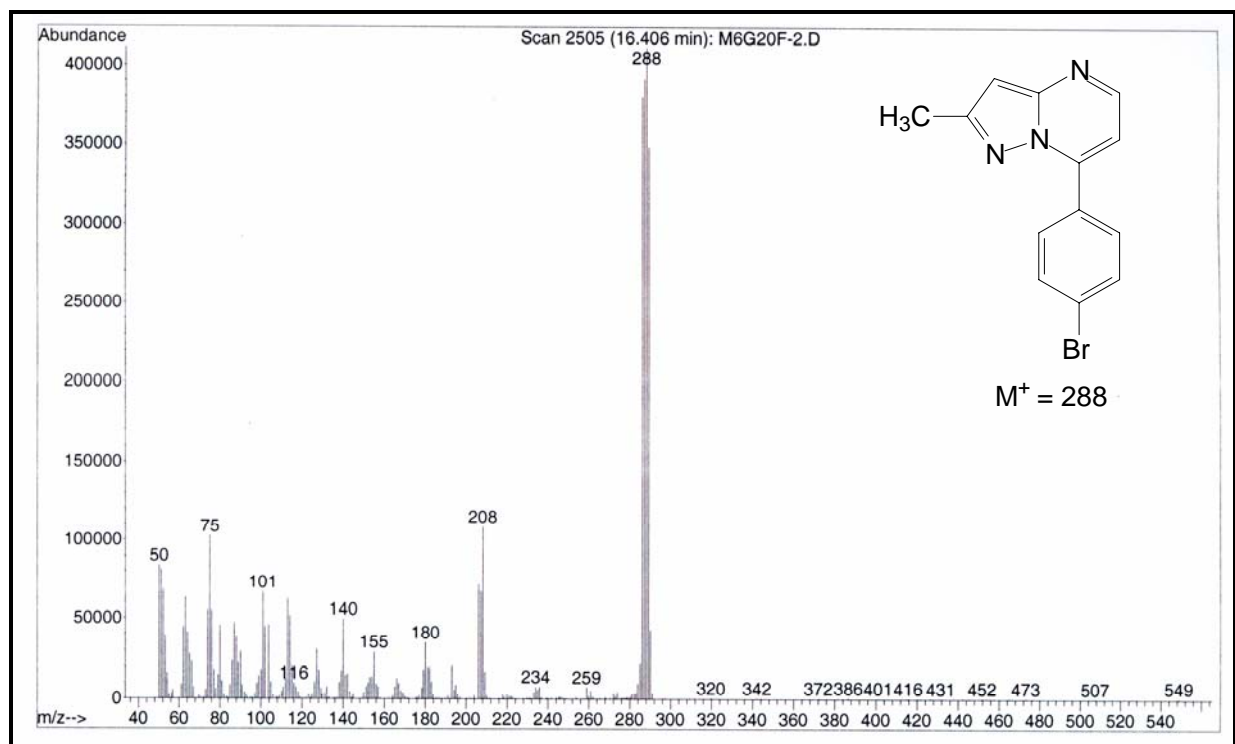
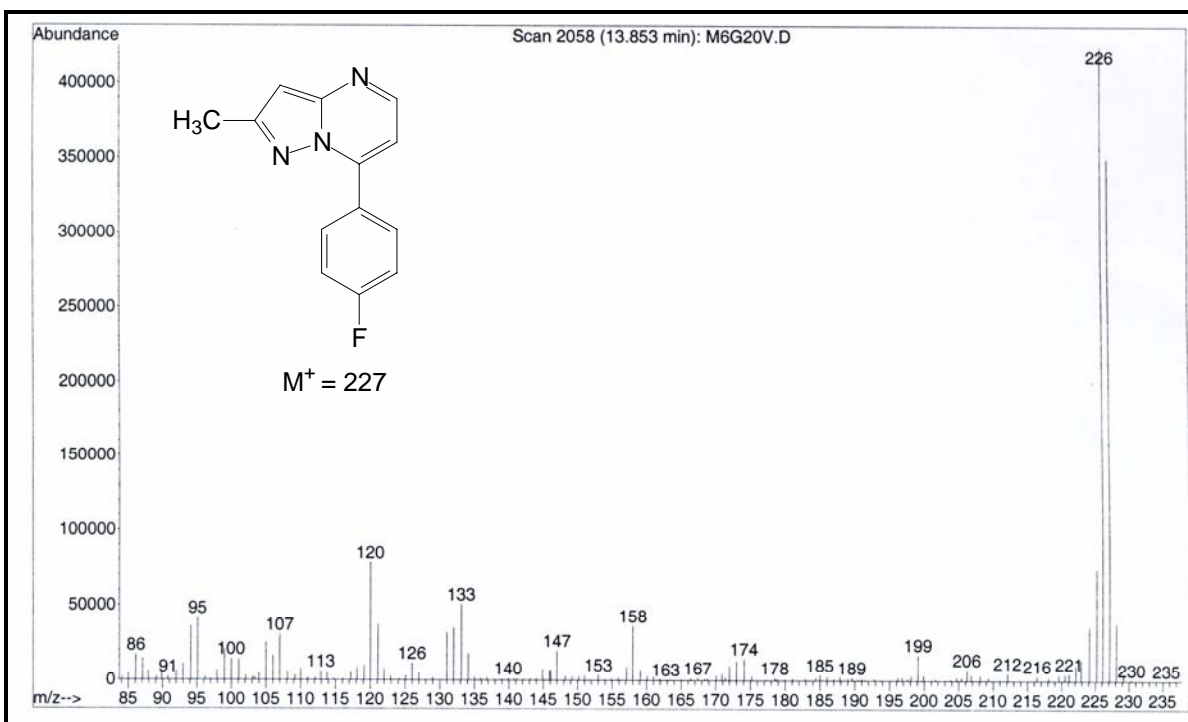
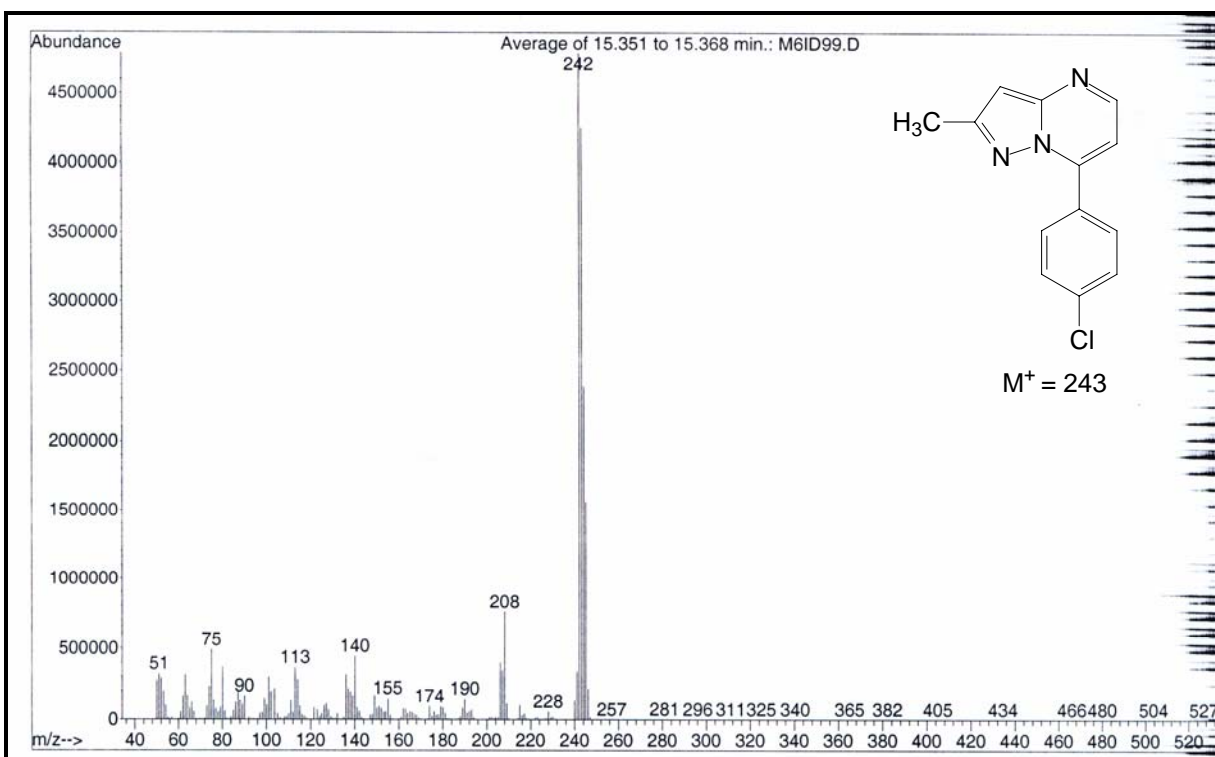


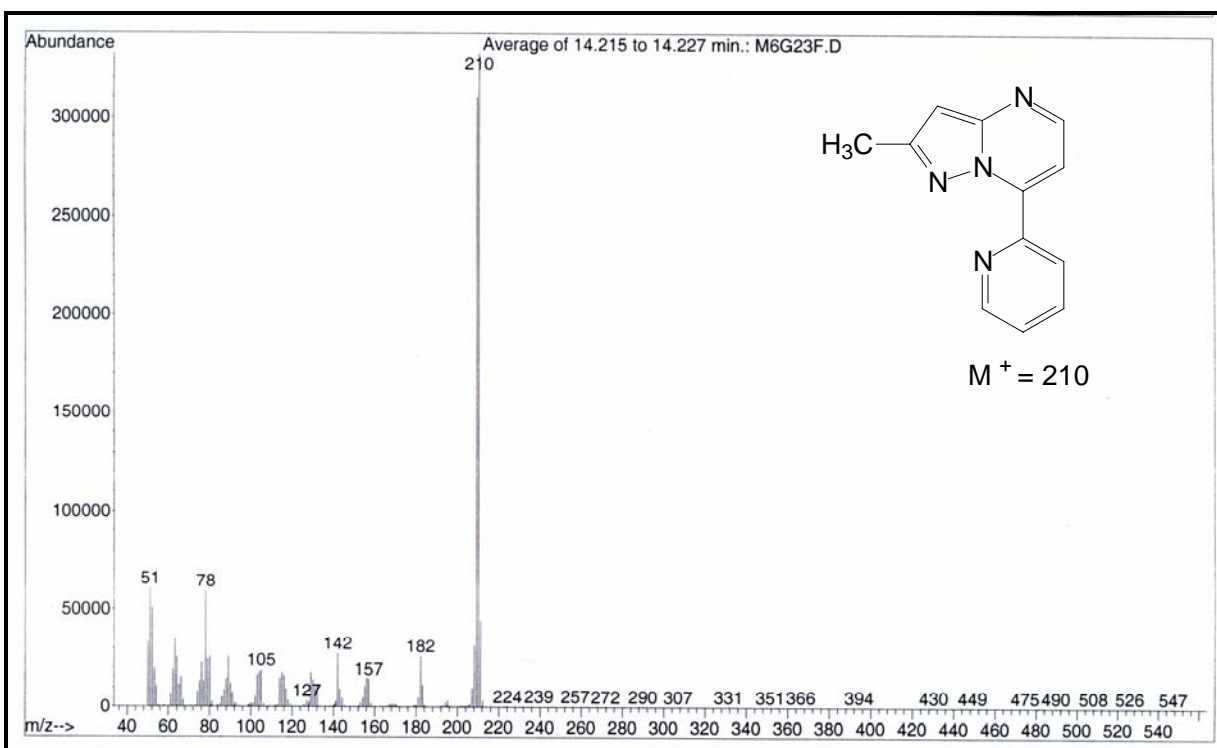
Figura 26: Espectro de massas 2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4d**



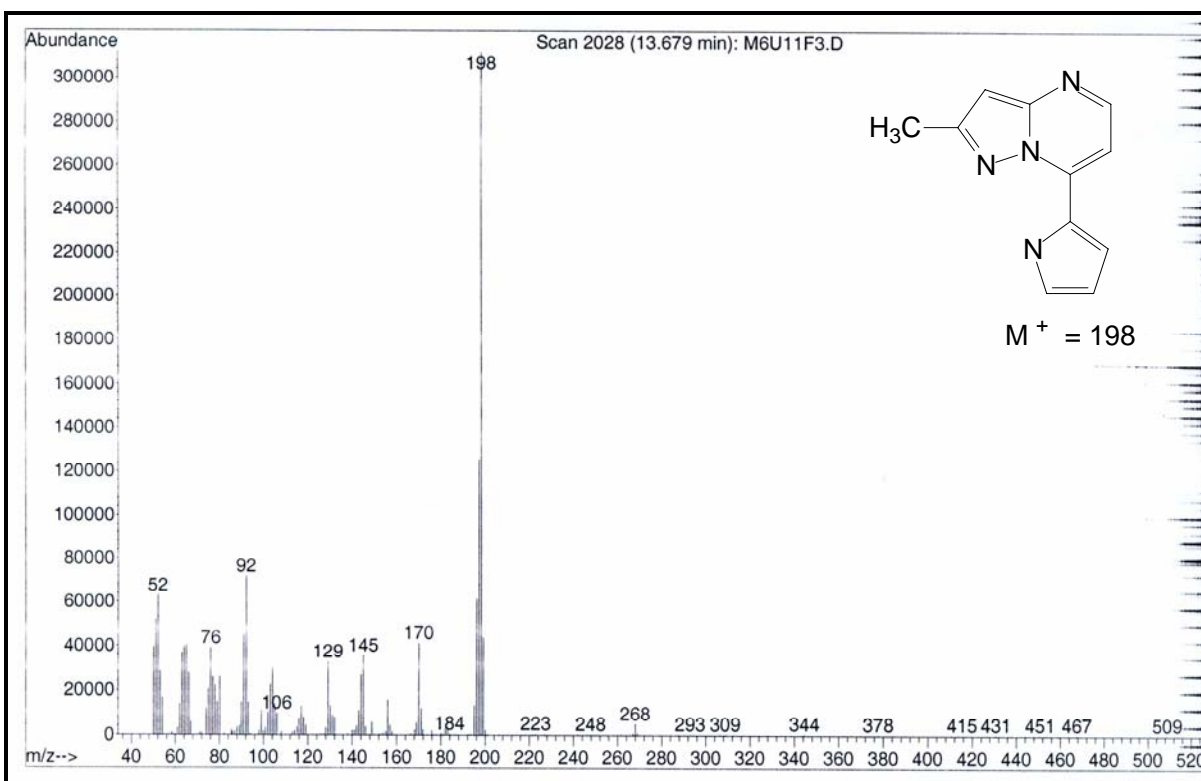
**Figura 27:** Espectro de massas 2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4e**



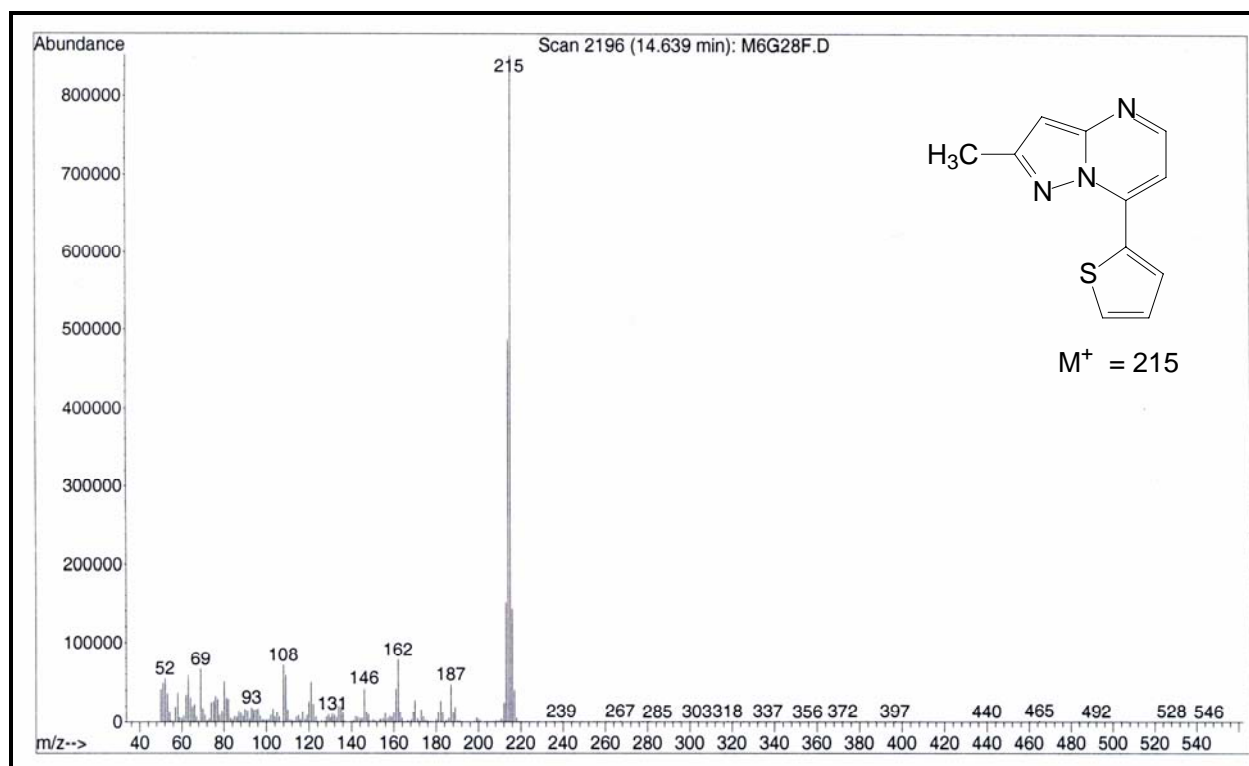
**Figura 28:** Espectro de massas 2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4f**



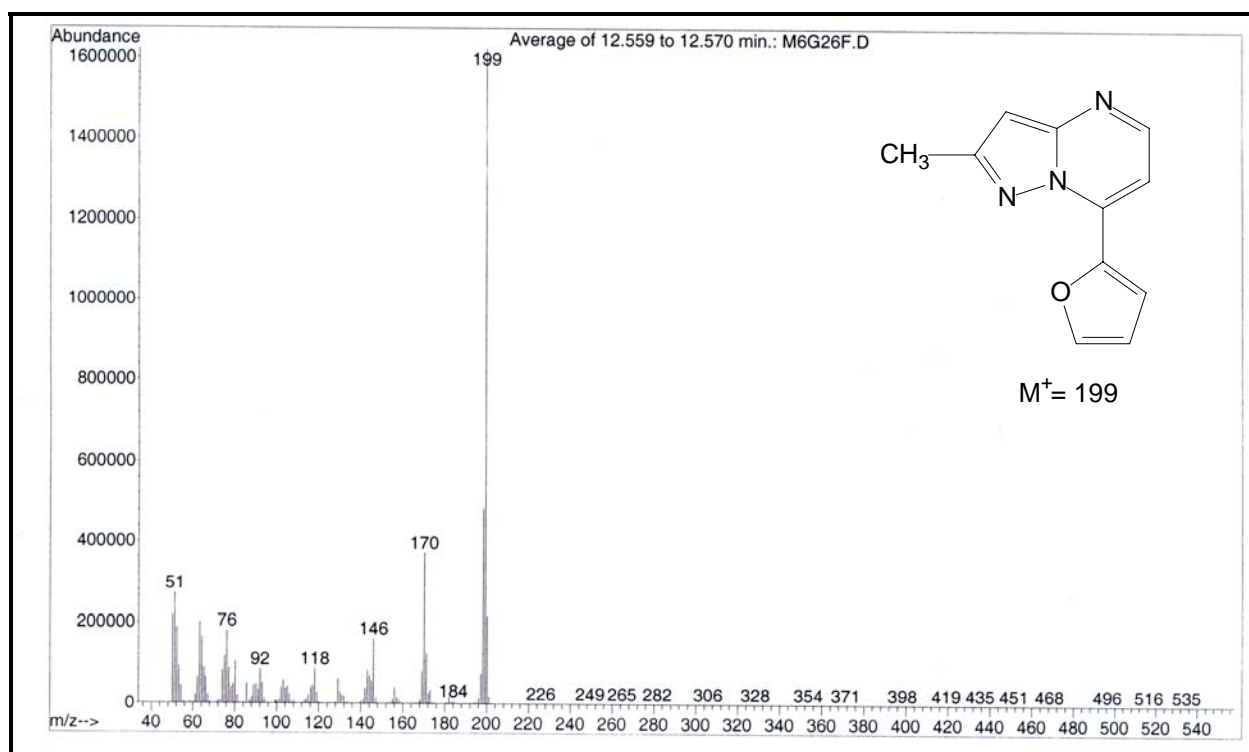
**Figura 29:** Espectro de massas 2-metil-7-(pirid-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4g**



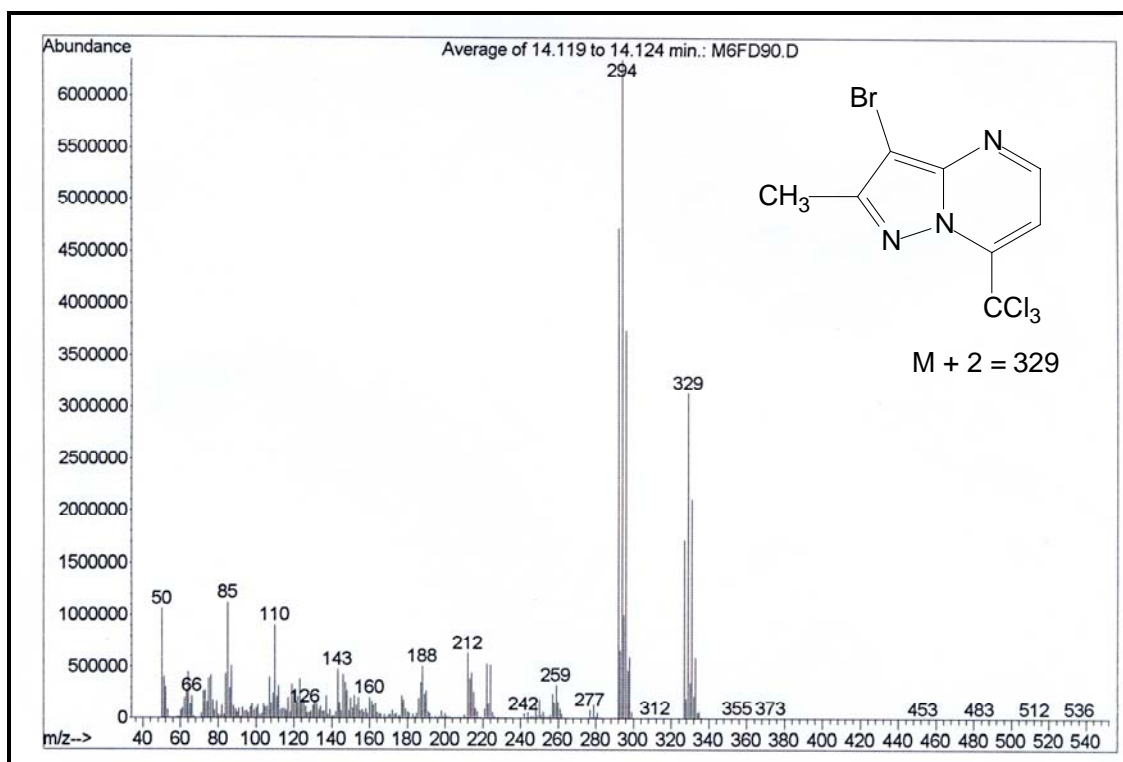
**Figura 30:** Espectro de massas 2-metil-7-(pirrol-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4h**



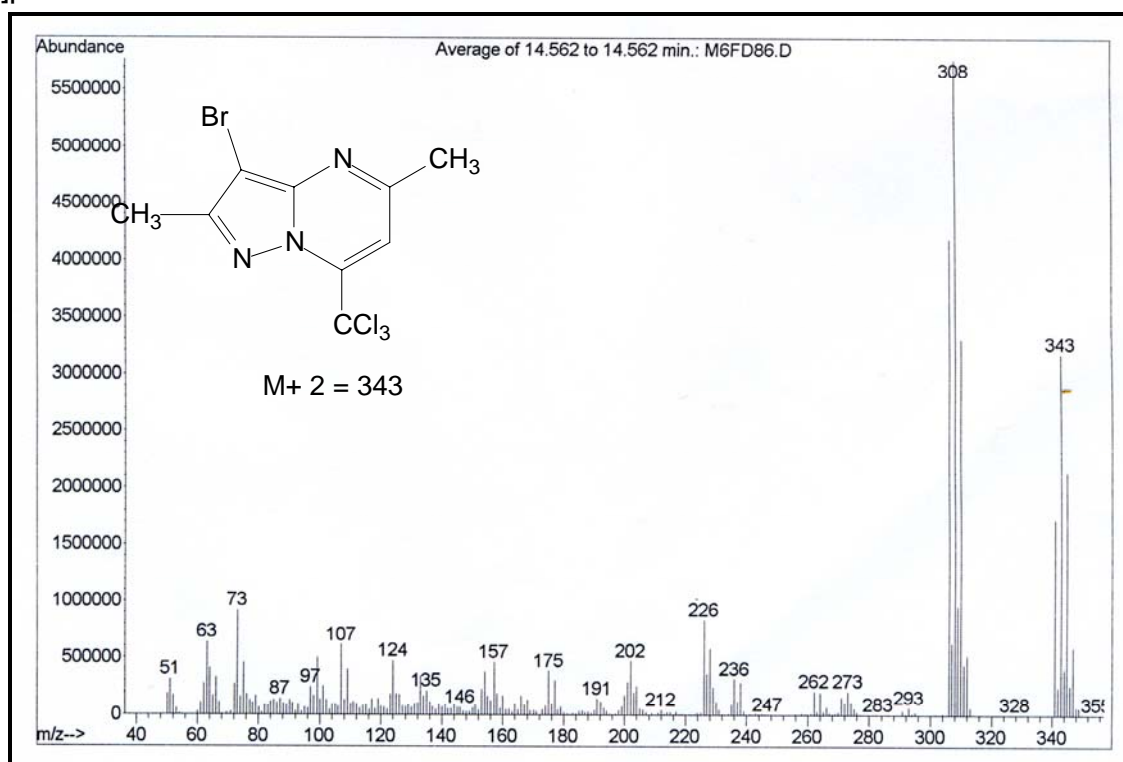
**Figura 31:** Espectro de massas 2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4i**



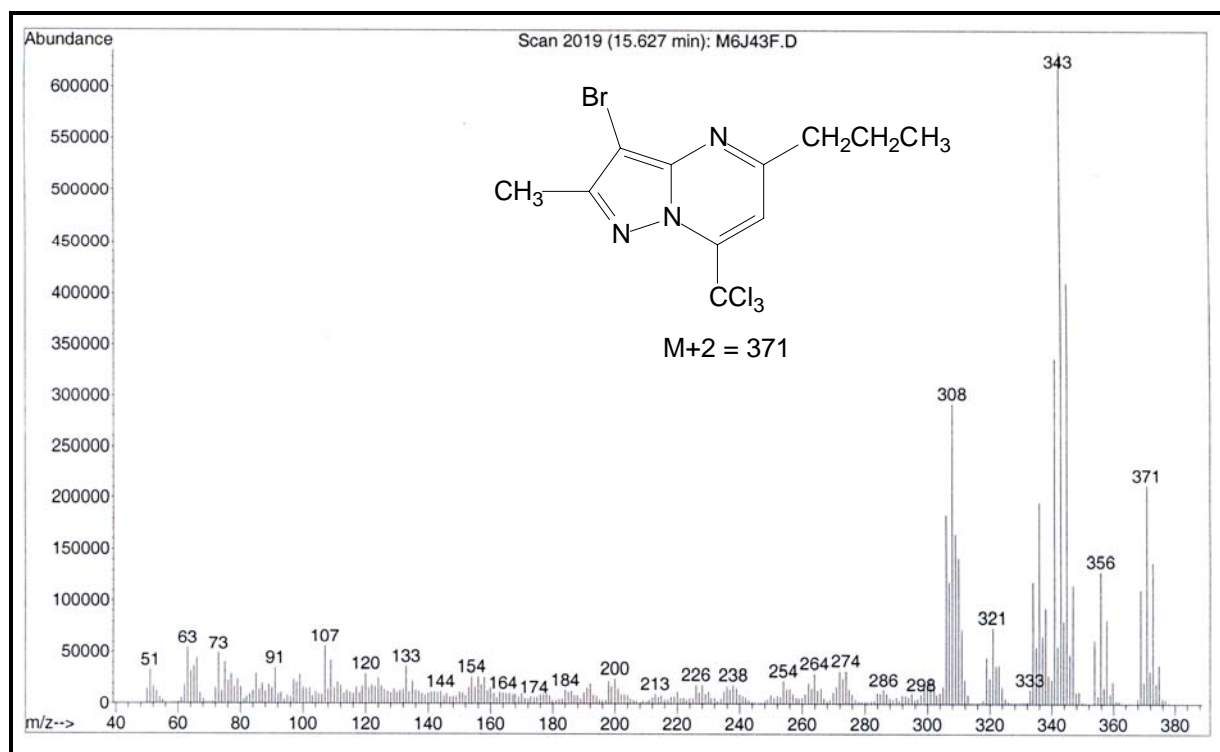
**Figura 32:** Espectro de massas 2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **4j**



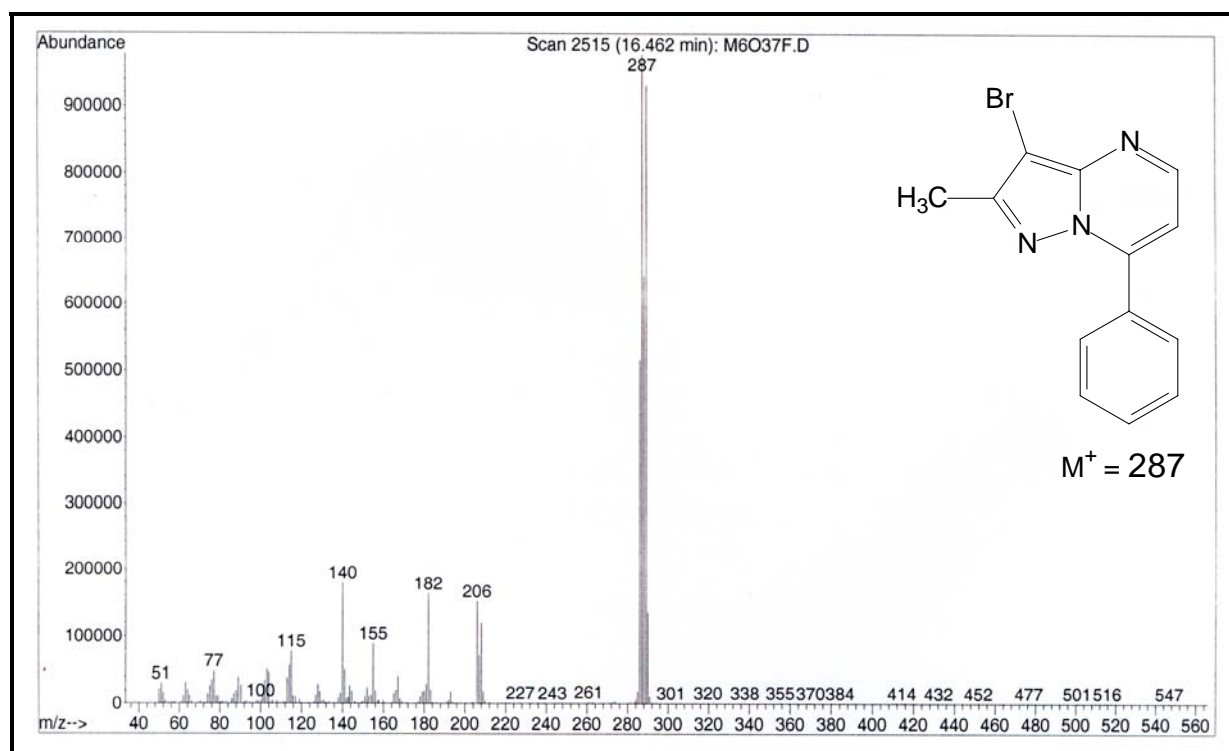
**Figura 33:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometilpirazolo [1,5-a]pirimidina **5a**



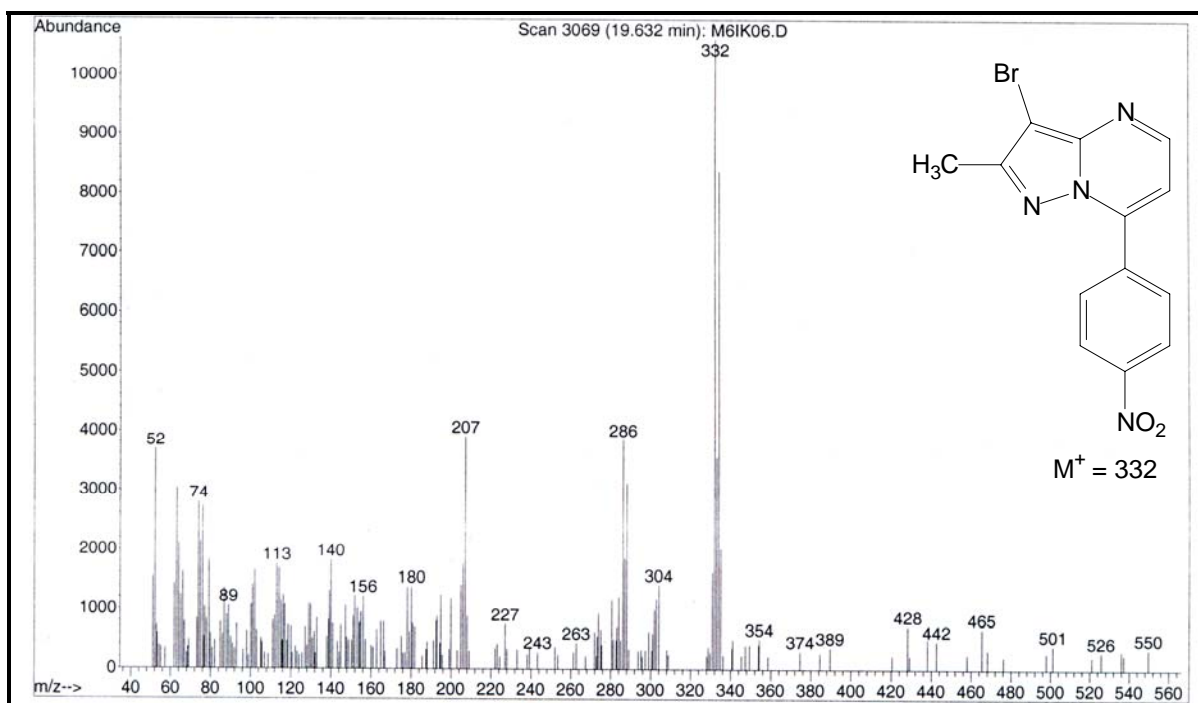
**Figura 34:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina **5b**



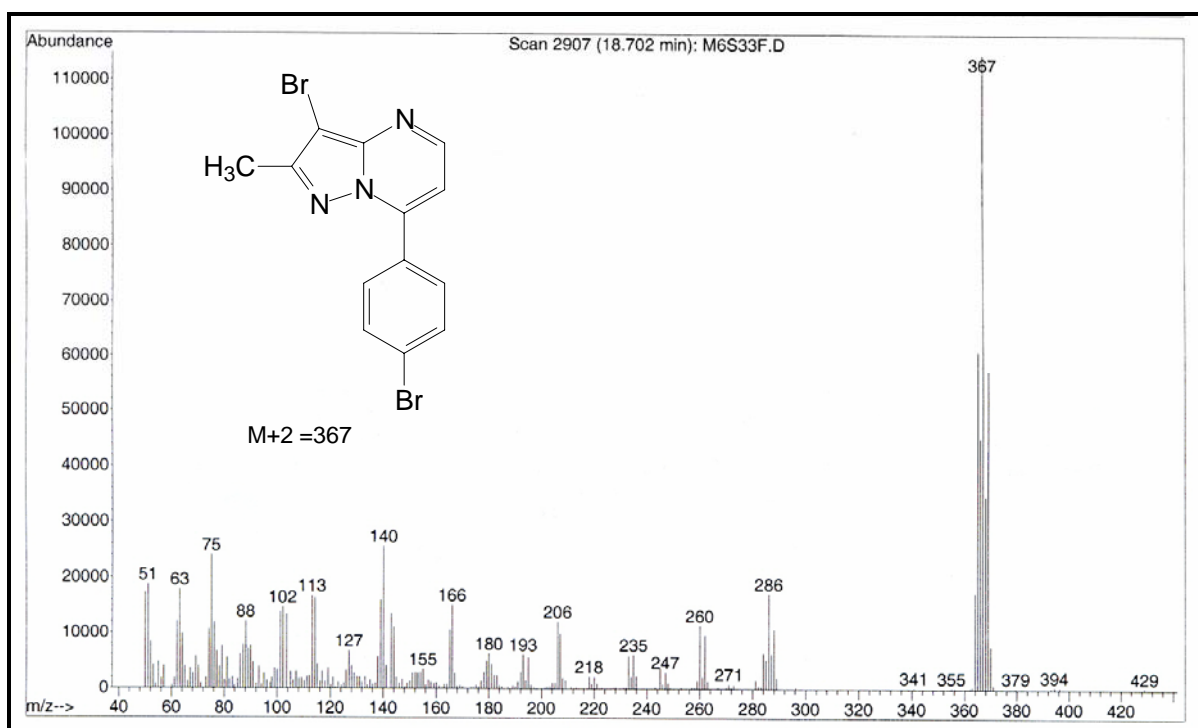
**Figura 35:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-triclorometil-5-metilpirazolo [1,5-a]pirimidina **5d**



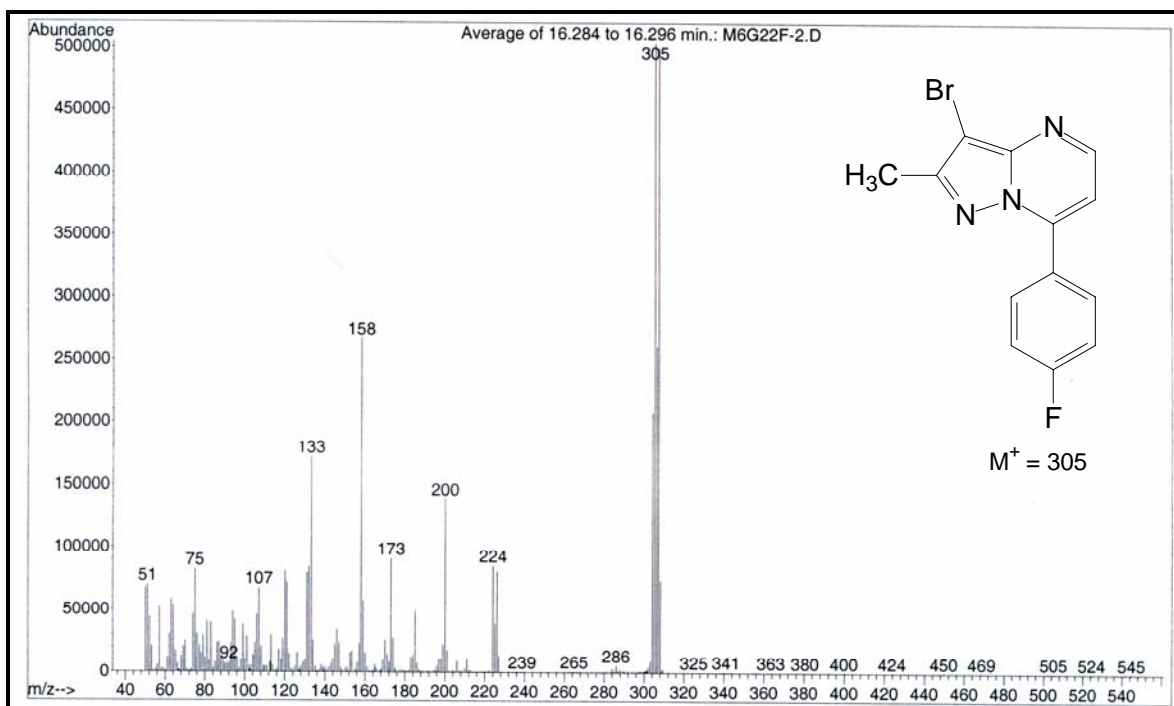
**Figura 36:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidina **6a**



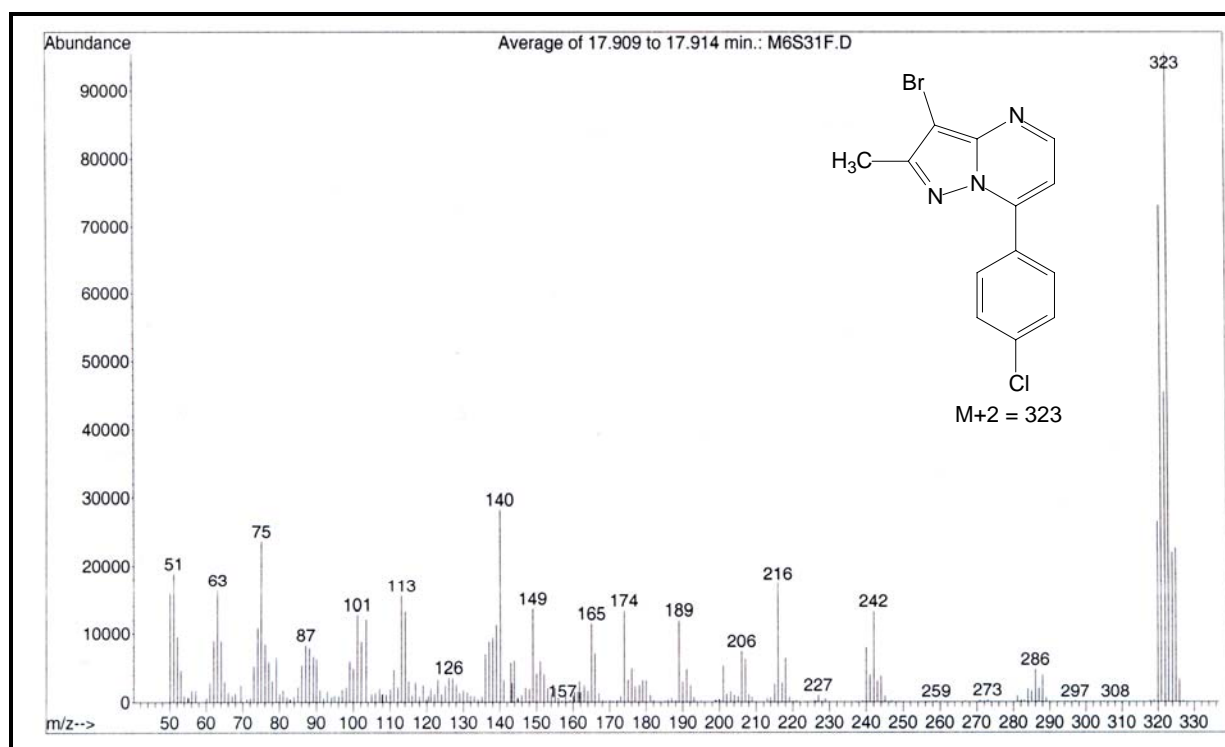
**Figura 37:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-nitrofenilpirazolo[1,5-a]pirimidina **6b**



**Figura 38:** Espectro de massas 3-bromo-2-metil-7-(4-bromofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **6d**

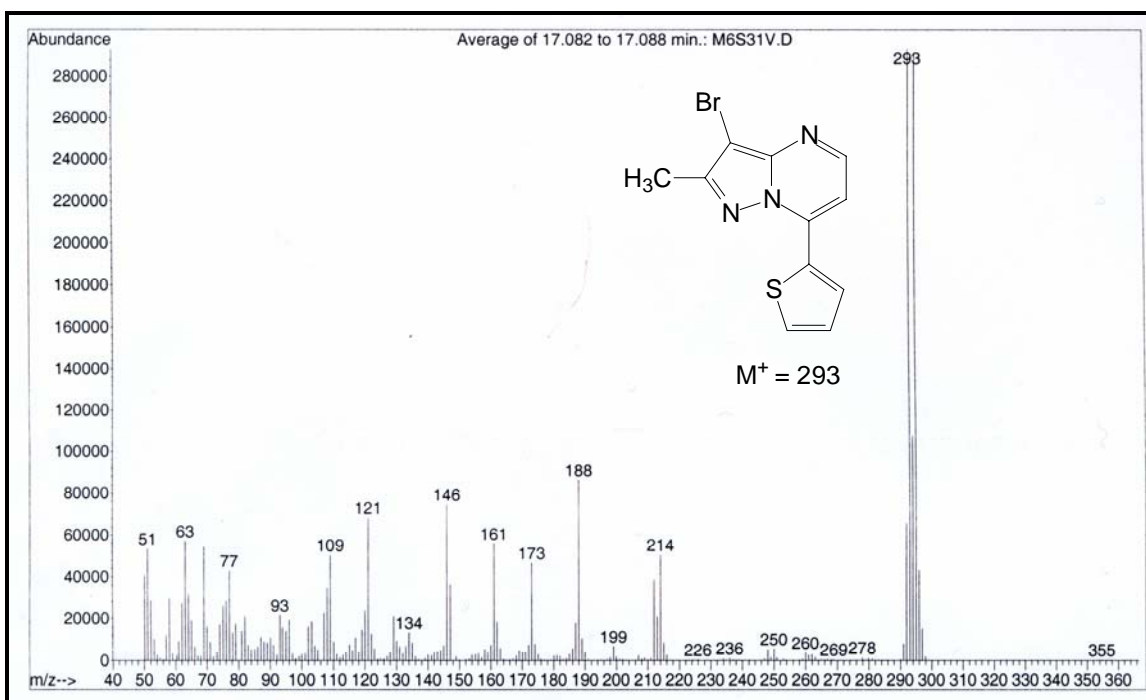


**Figura 39:** Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(4-fluorfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **6e**

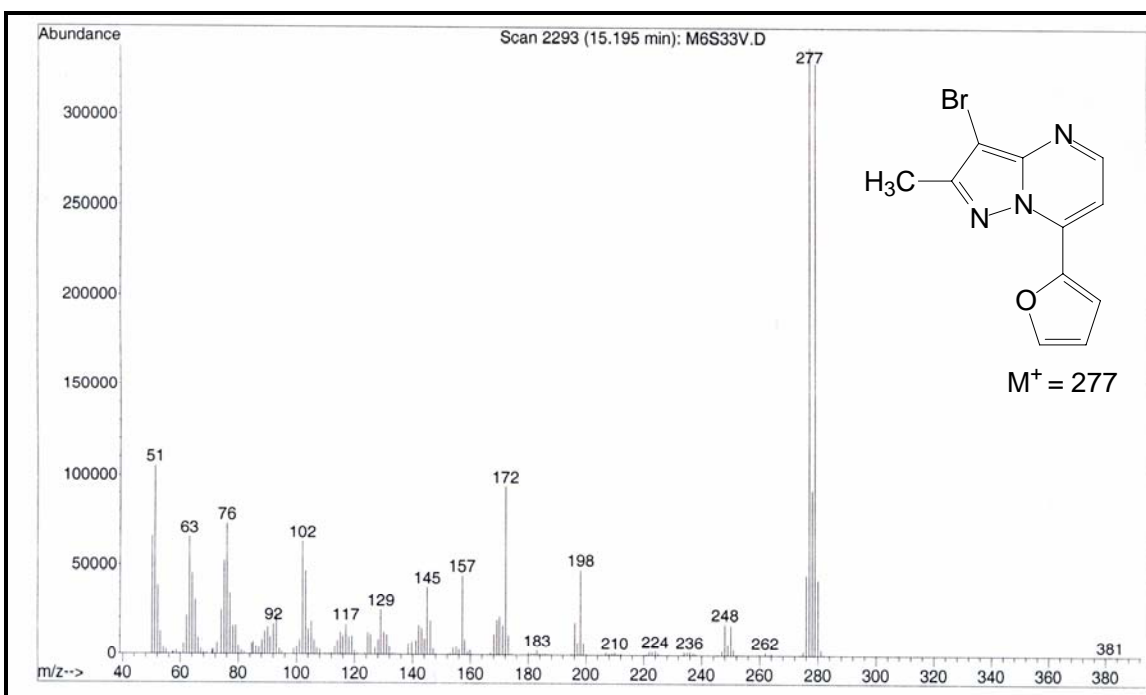


**Figura 40:** Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(4-clorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidina **6f**





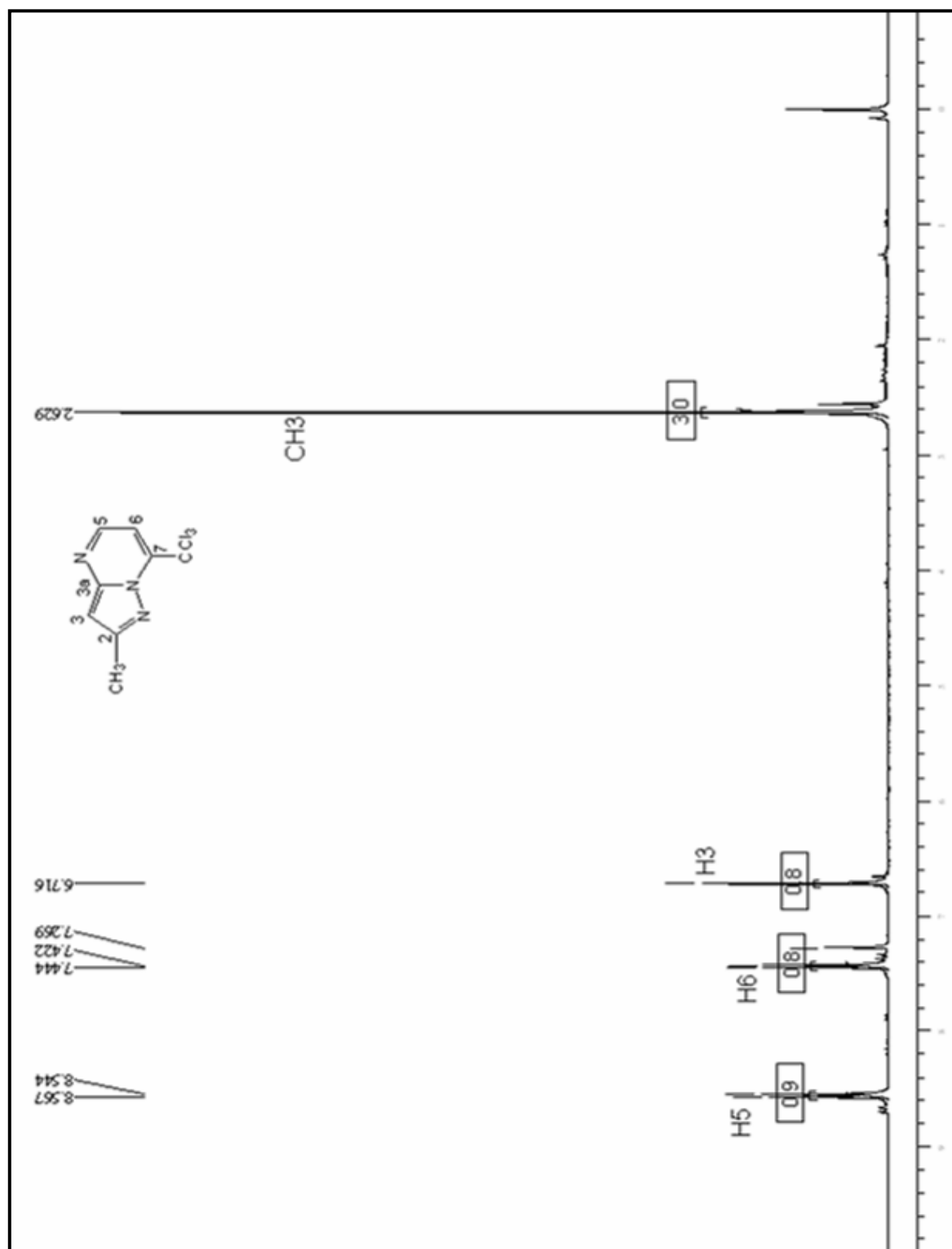
**Figura 41:** Espectro de massas 3-bromo -2-metil-7-(tien-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **6i**



**Figura 42:** Espectro de massas 3-bromo 2-metil-7-(fur-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina **6j**

## **ANEXO 2**

**Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos compostos 2a-f, 4a-j,  
5a-b, d, 6a-b, d-f, i-j**



**Figura 43:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2a** em  $\text{CDCl}_3$

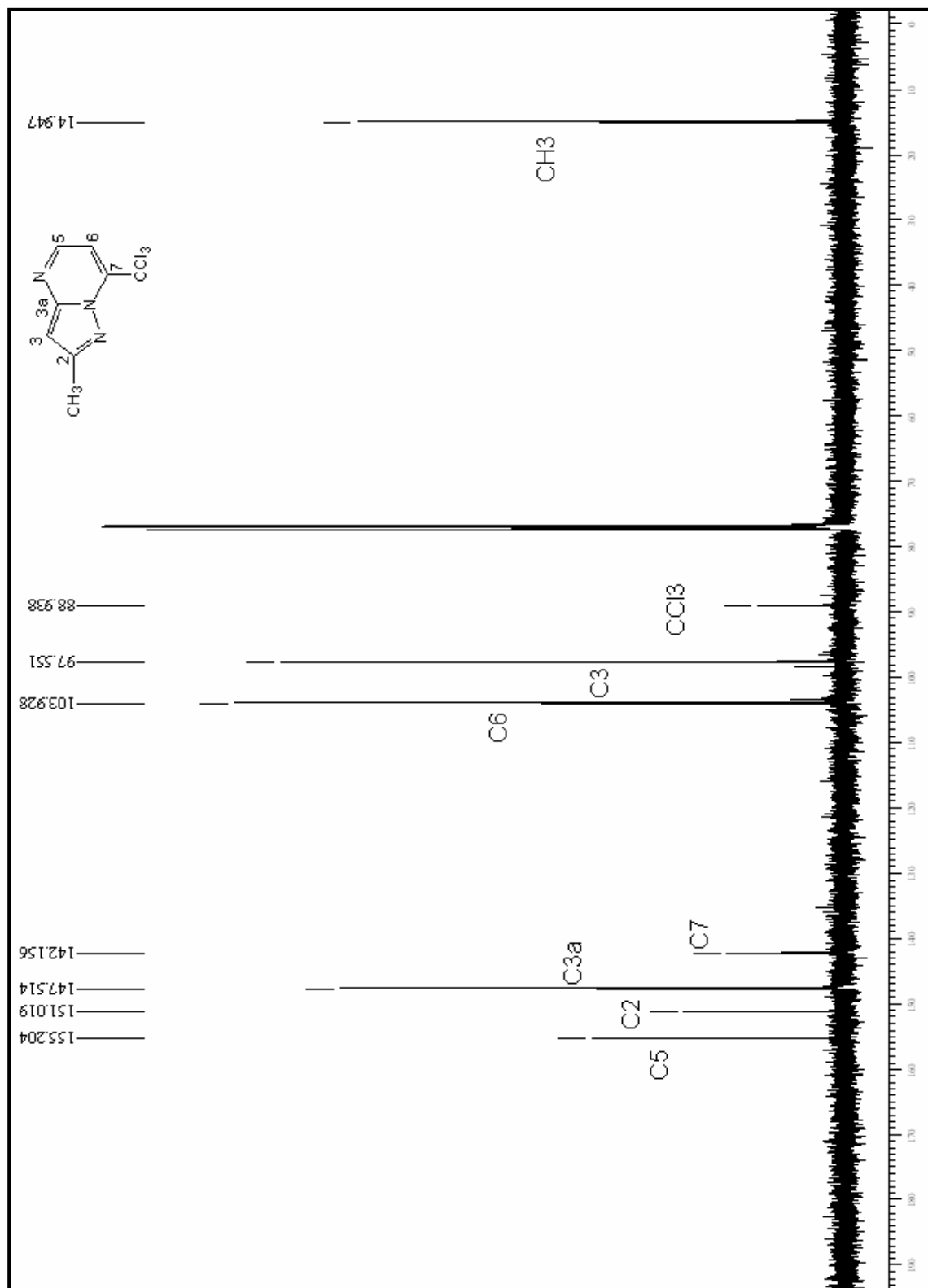


Figura 44: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2a** em  $\text{CDCl}_3$

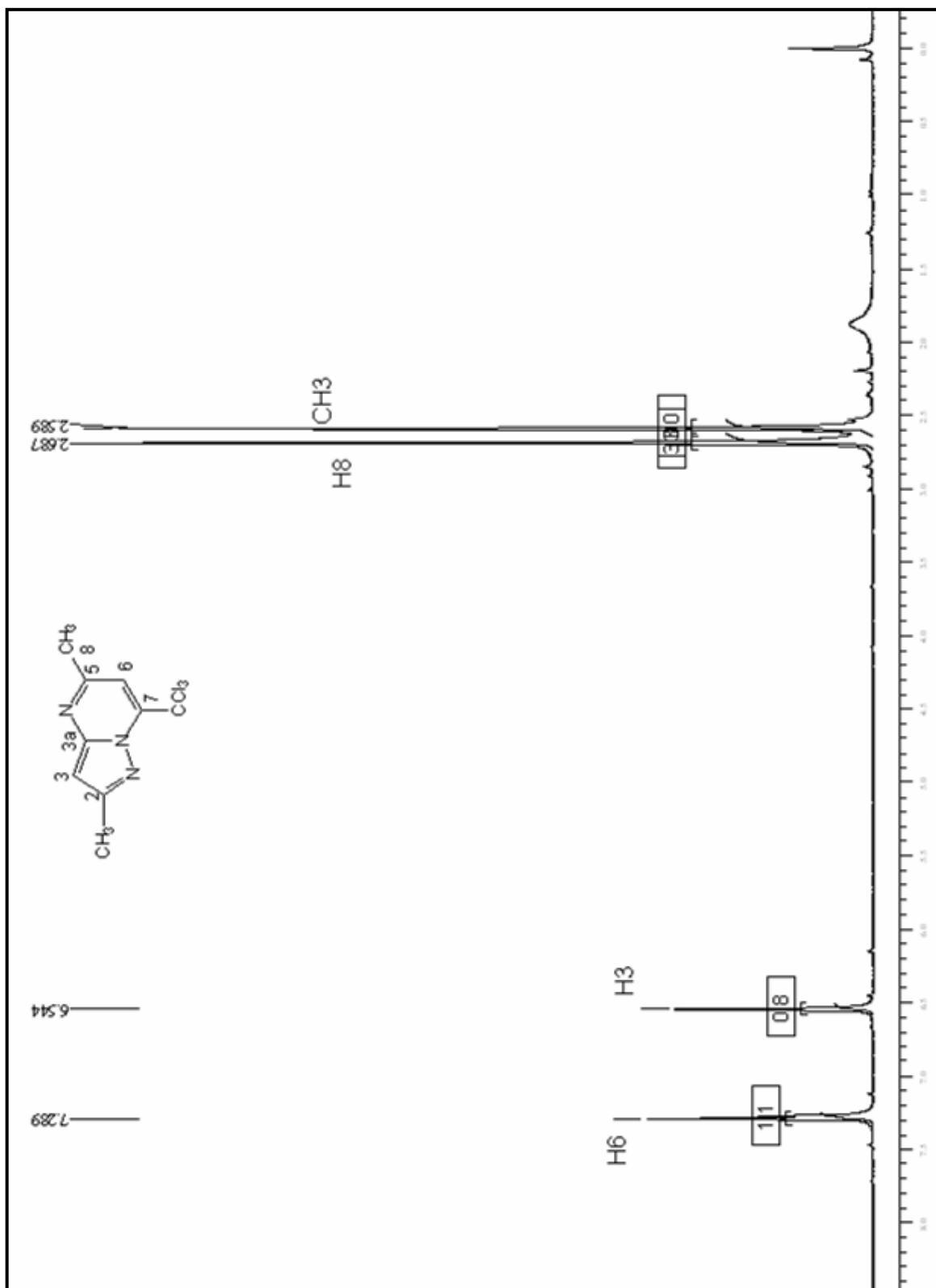


Figura 45: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2b** em  $\text{CDCl}_3$

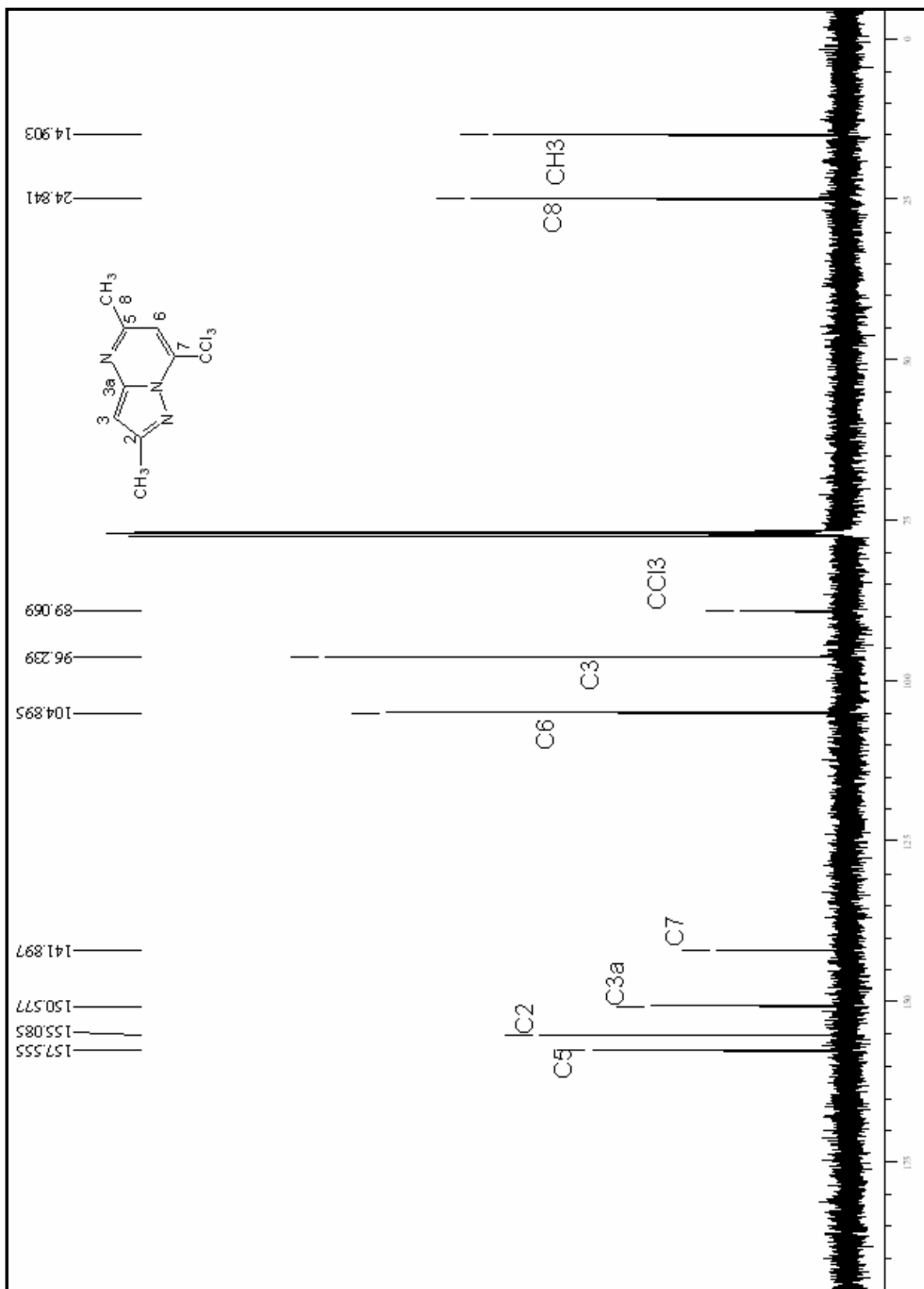


Figura 46: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2b** em  $\text{CDCl}_3$

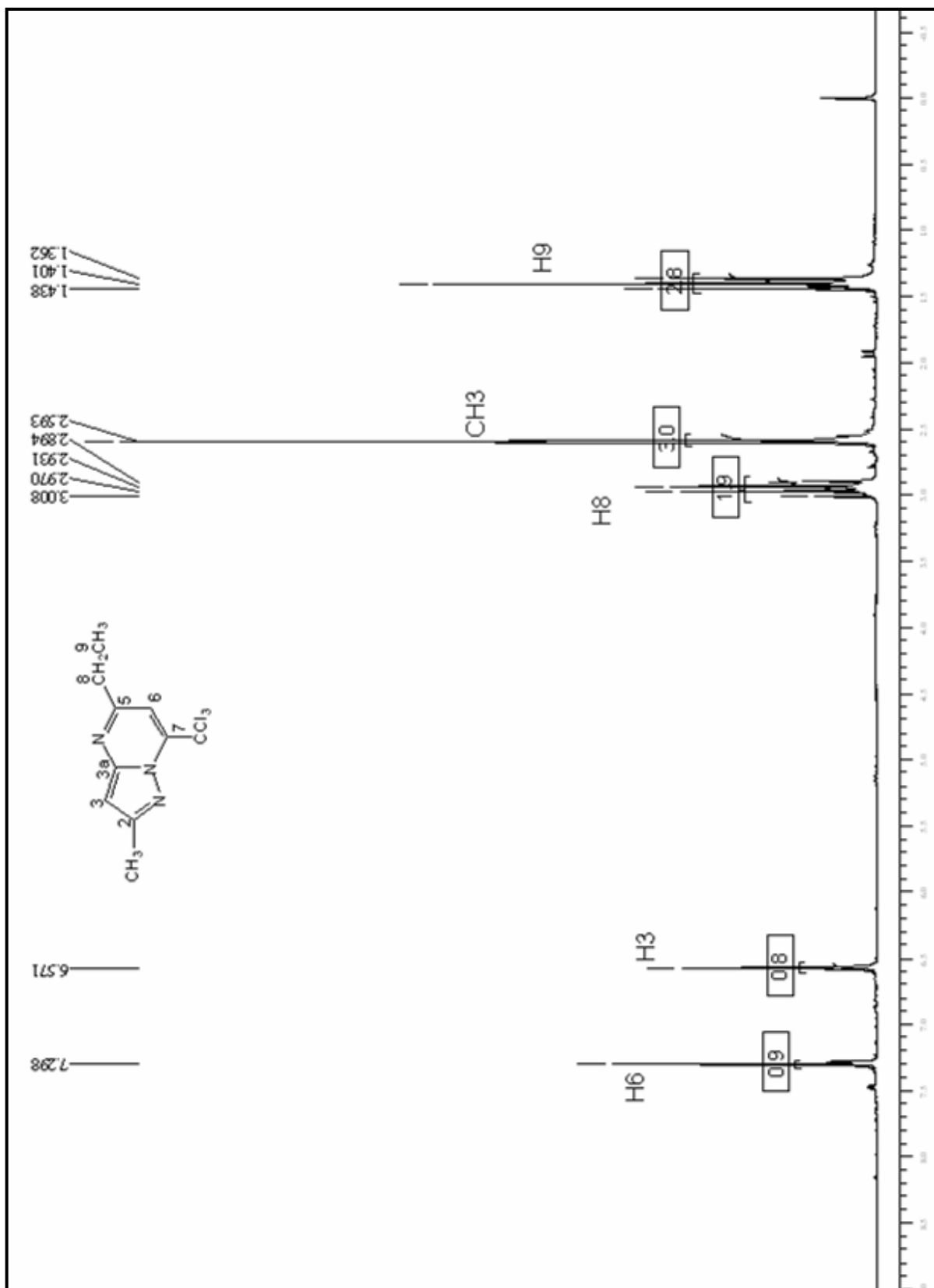


Figura 47: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2c** em  $\text{CDCl}_3$

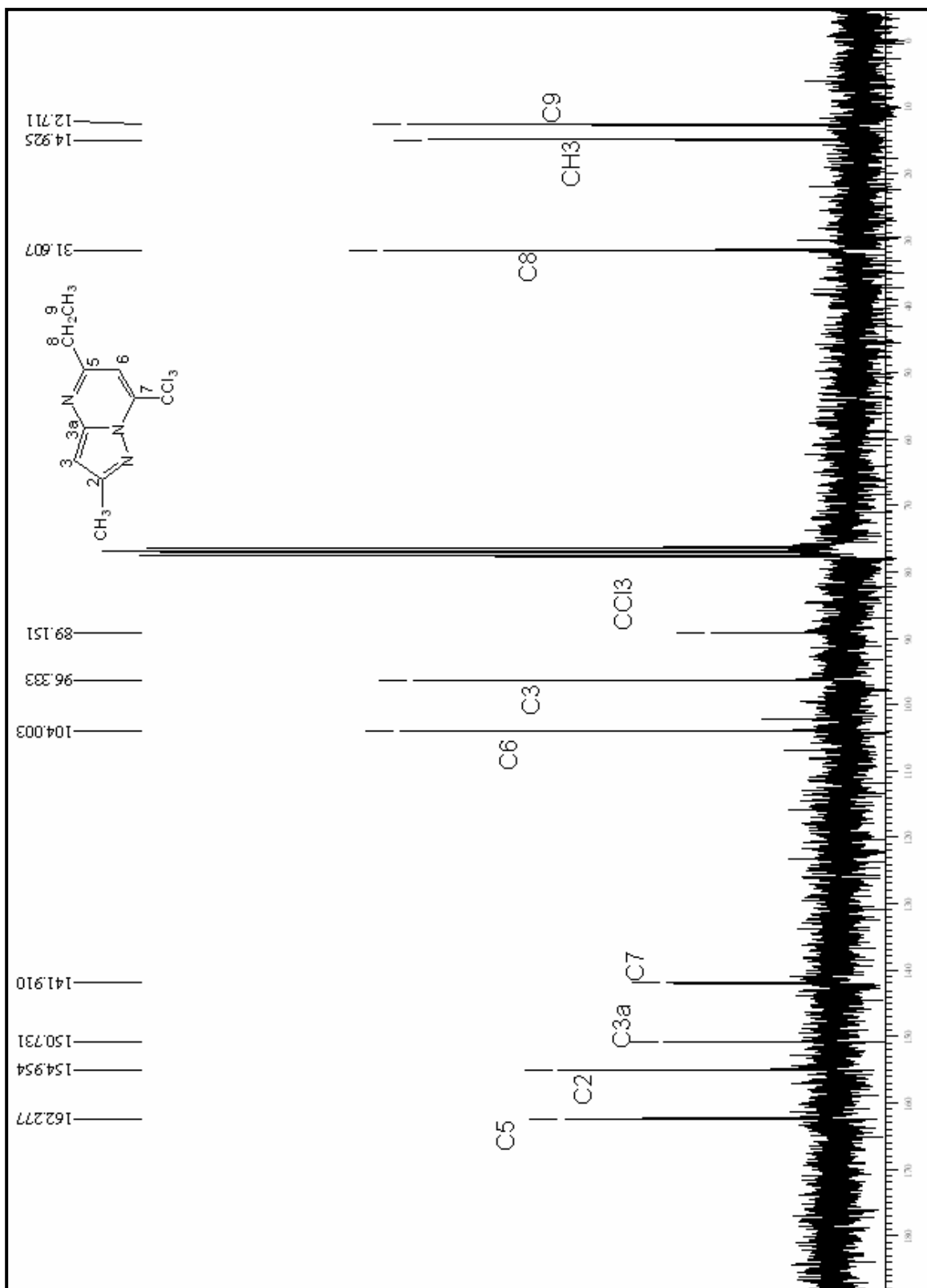


Figura 48: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2c** em  $\text{CDCl}_3$



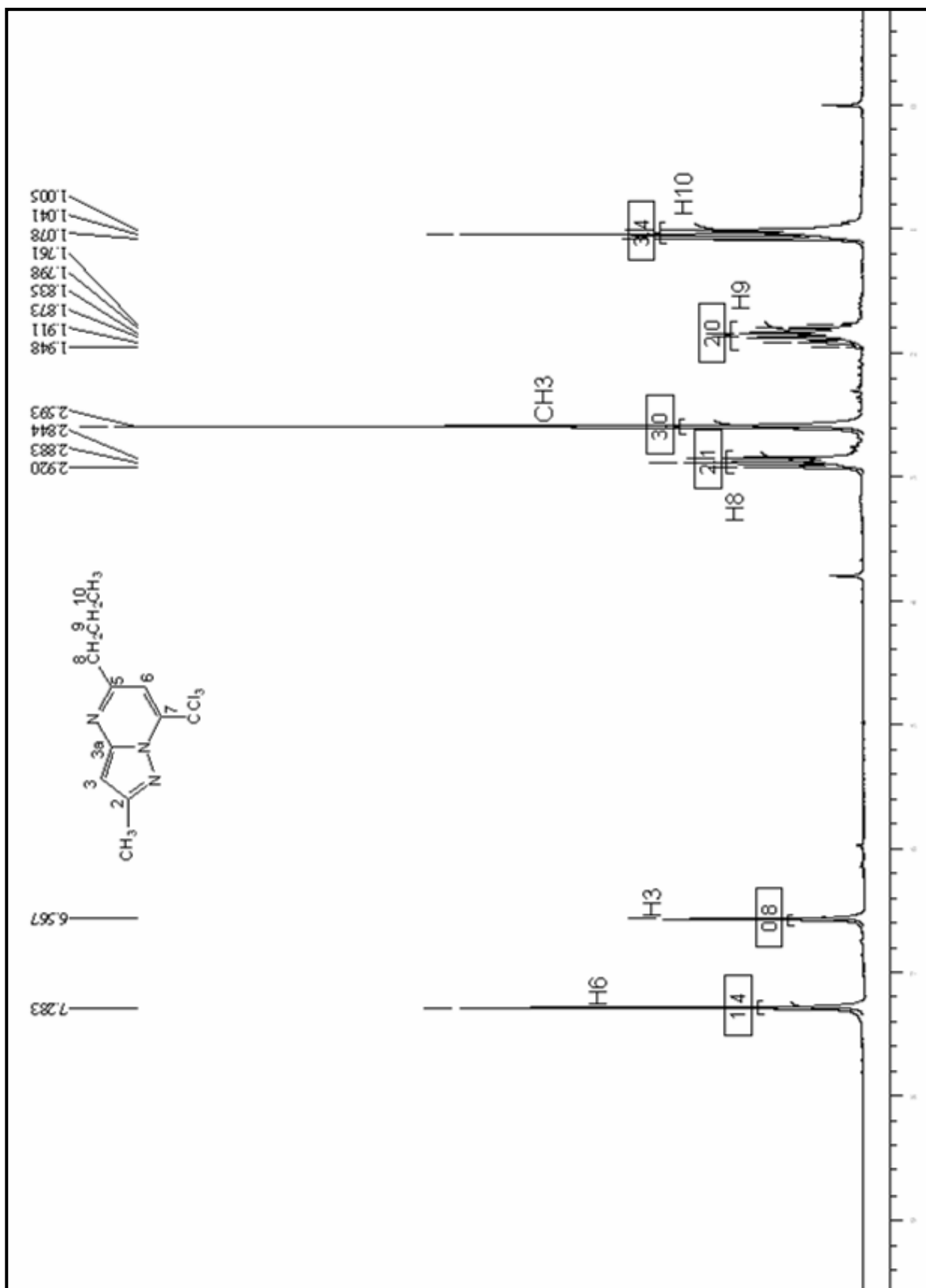


Figura 49: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2d** em  $\text{CDCl}_3$

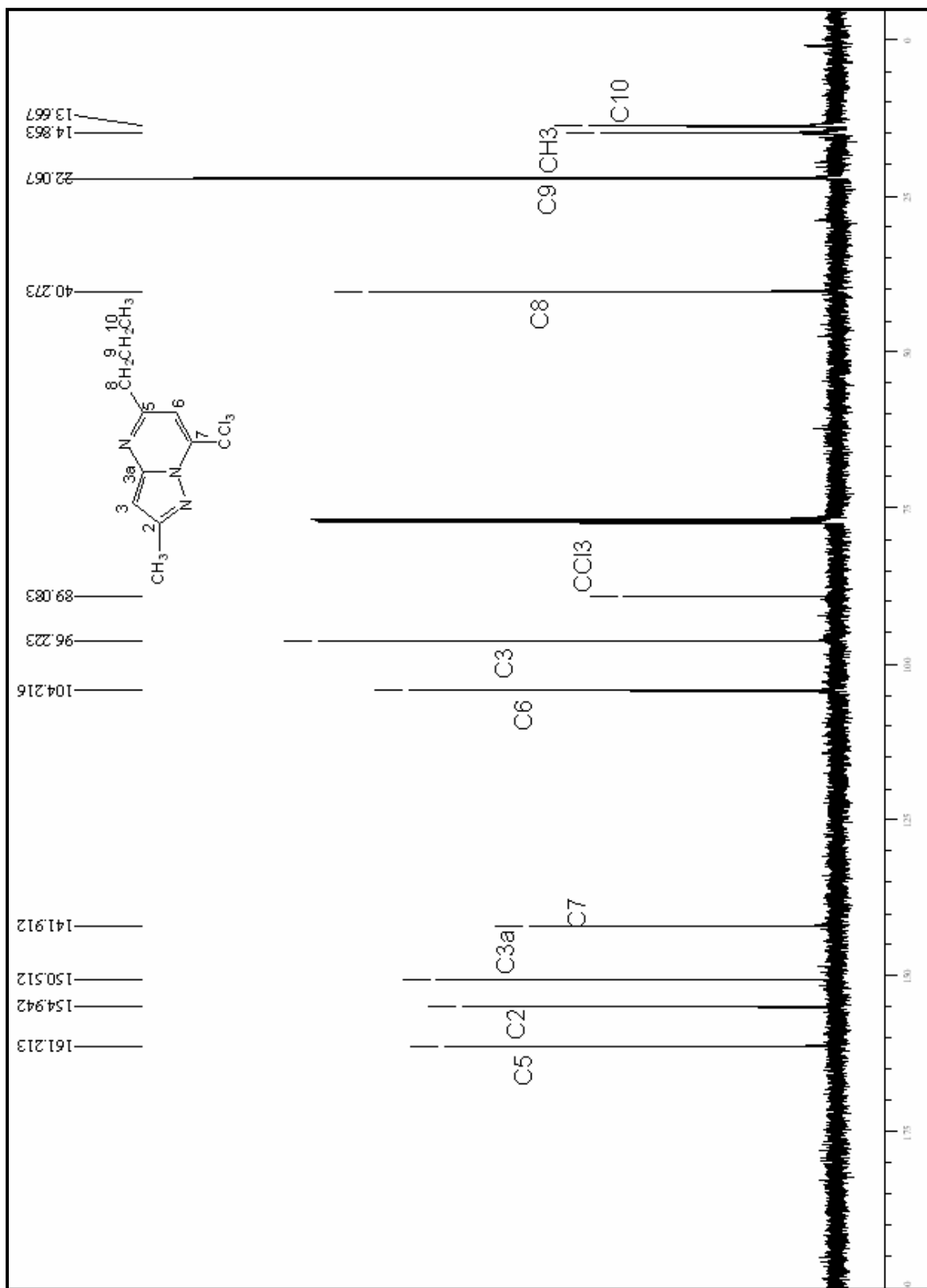


Figura 50: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2d** em  $\text{CDCl}_3$

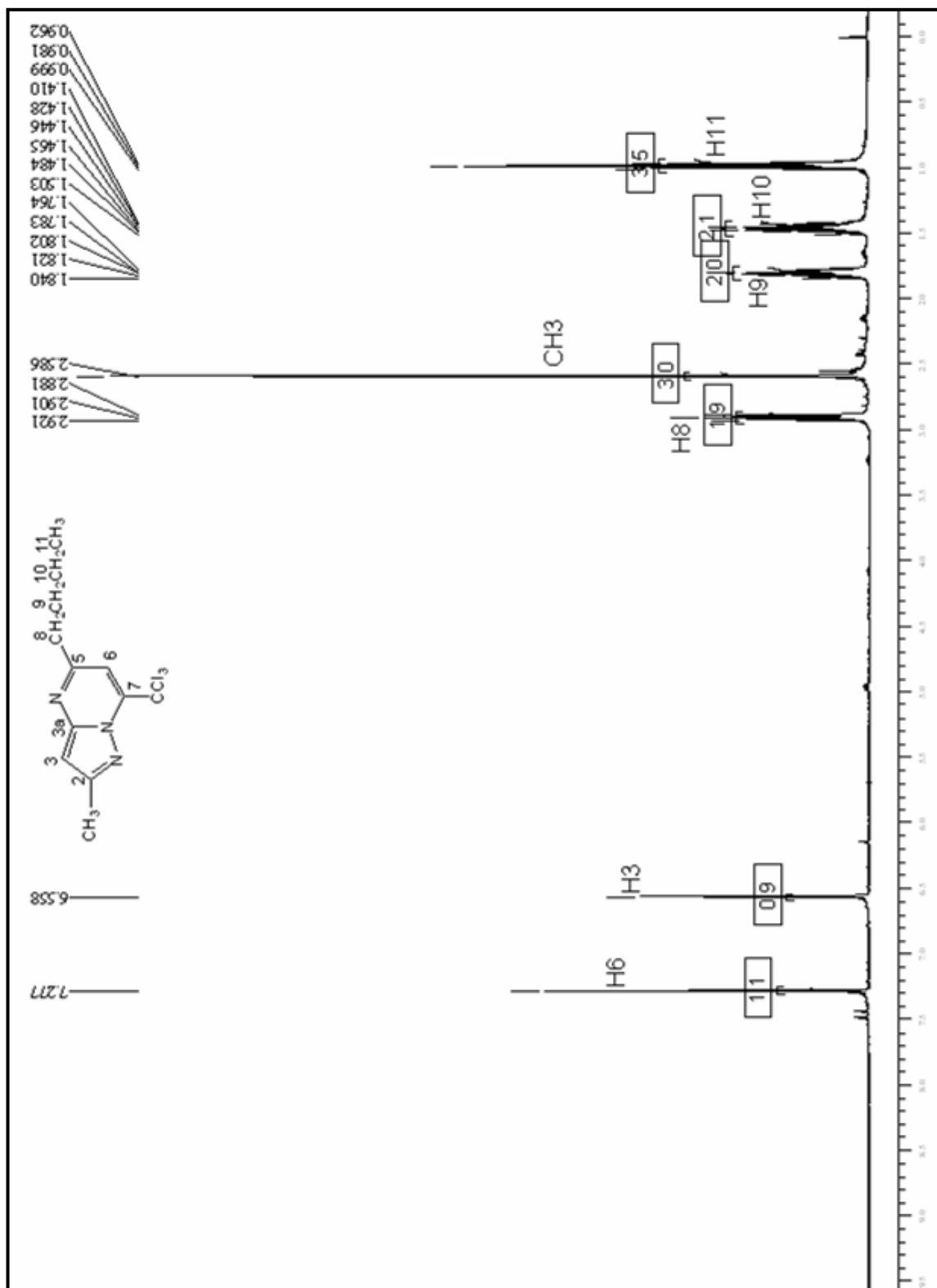


Figura 51: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **2e** em CDCl<sub>3</sub>

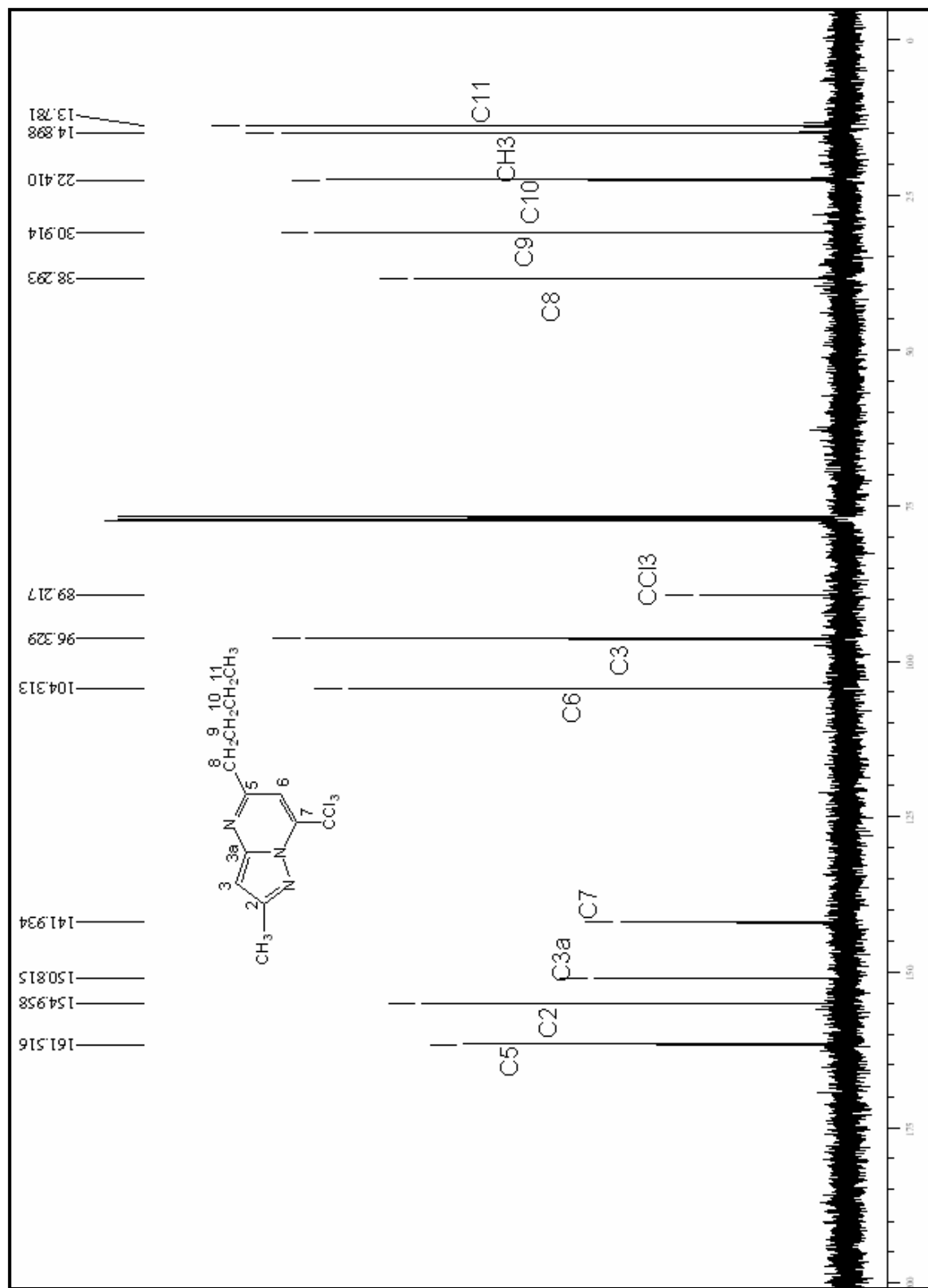


Figura 52: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2e** em  $\text{CDCl}_3$

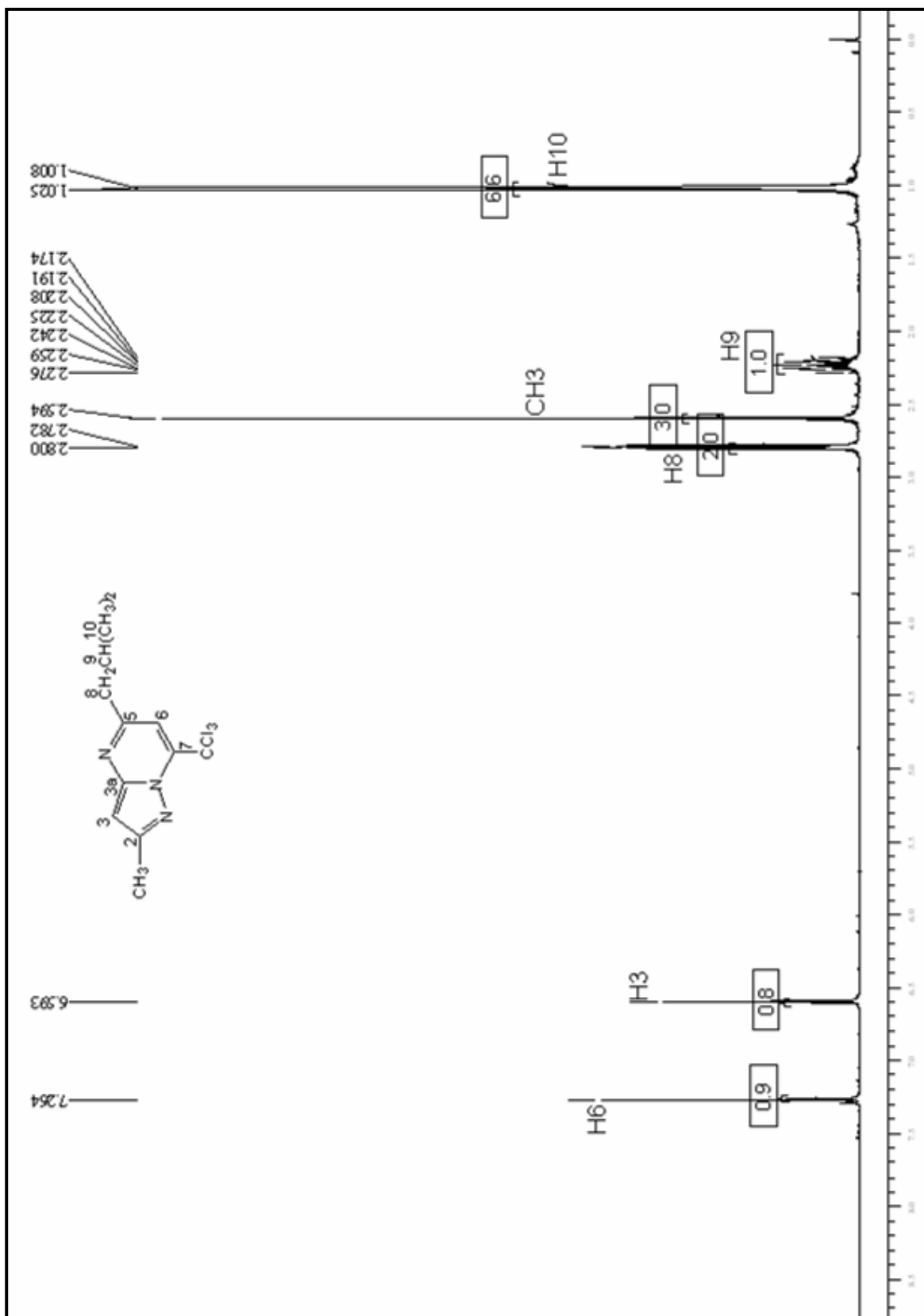


Figura 53: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2f** em  $\text{CDCl}_3$

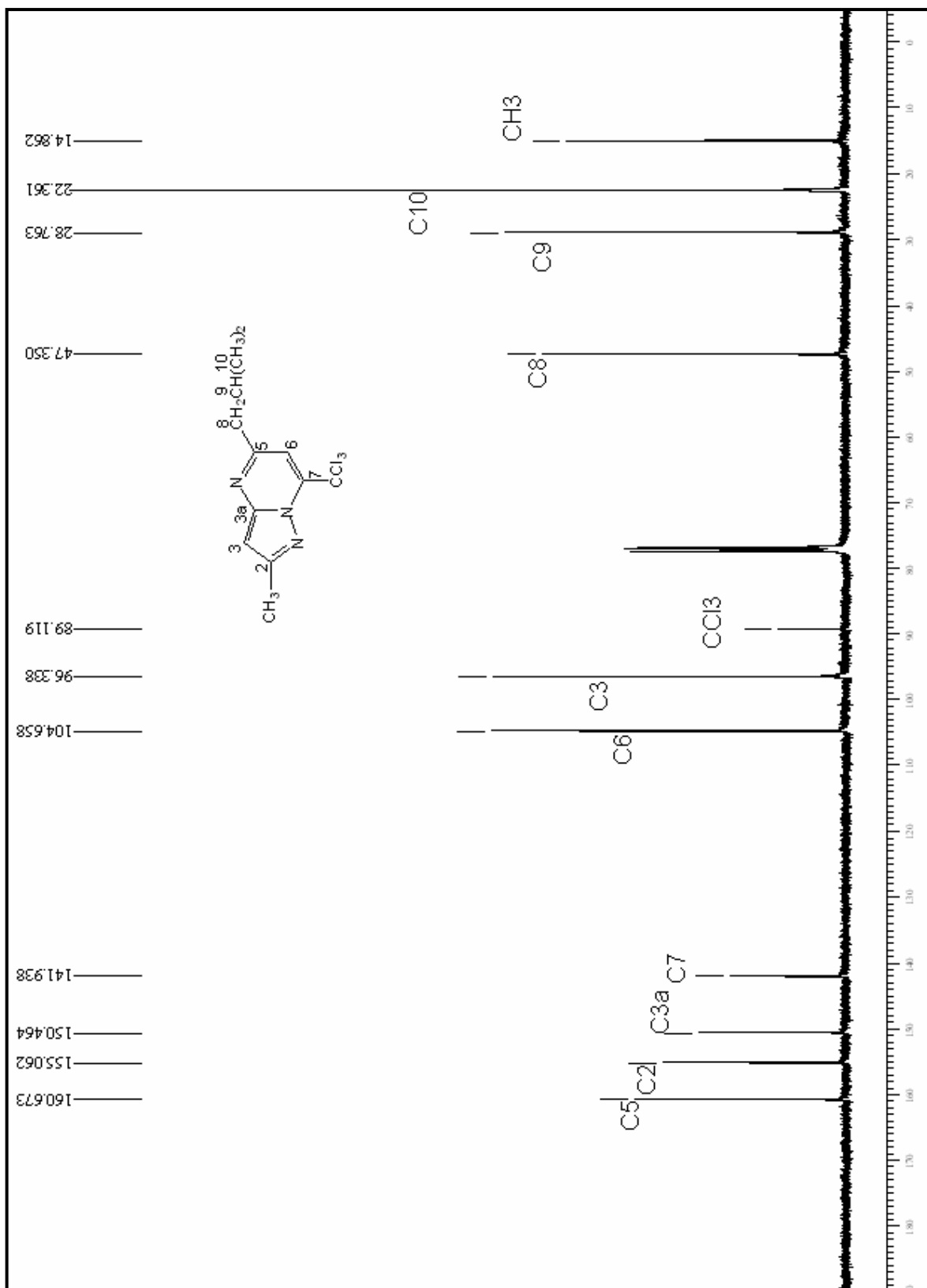


Figura 54: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 2f em  $\text{CDCl}_3$

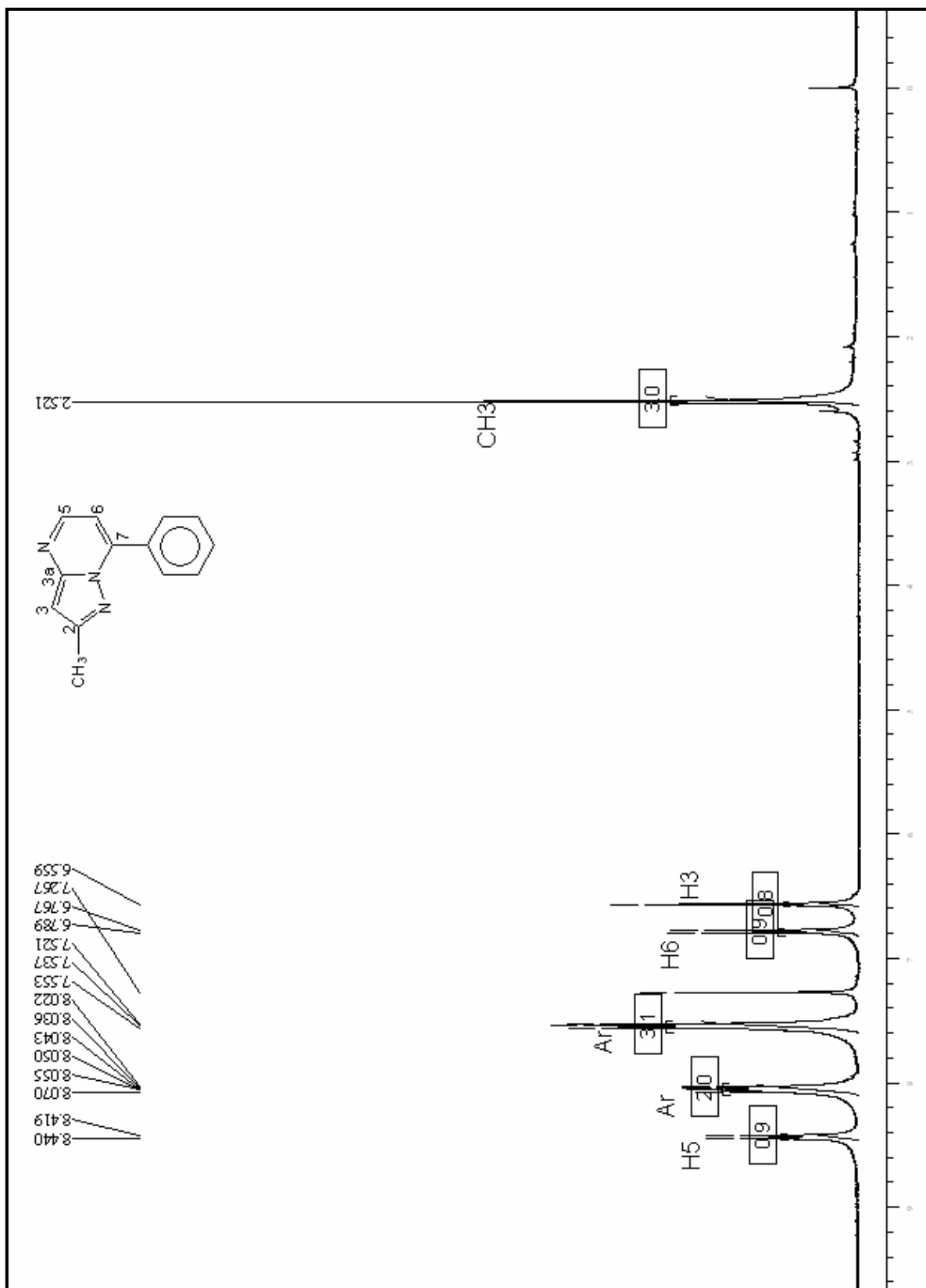


Figura 55: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 4a em CDCl<sub>3</sub>

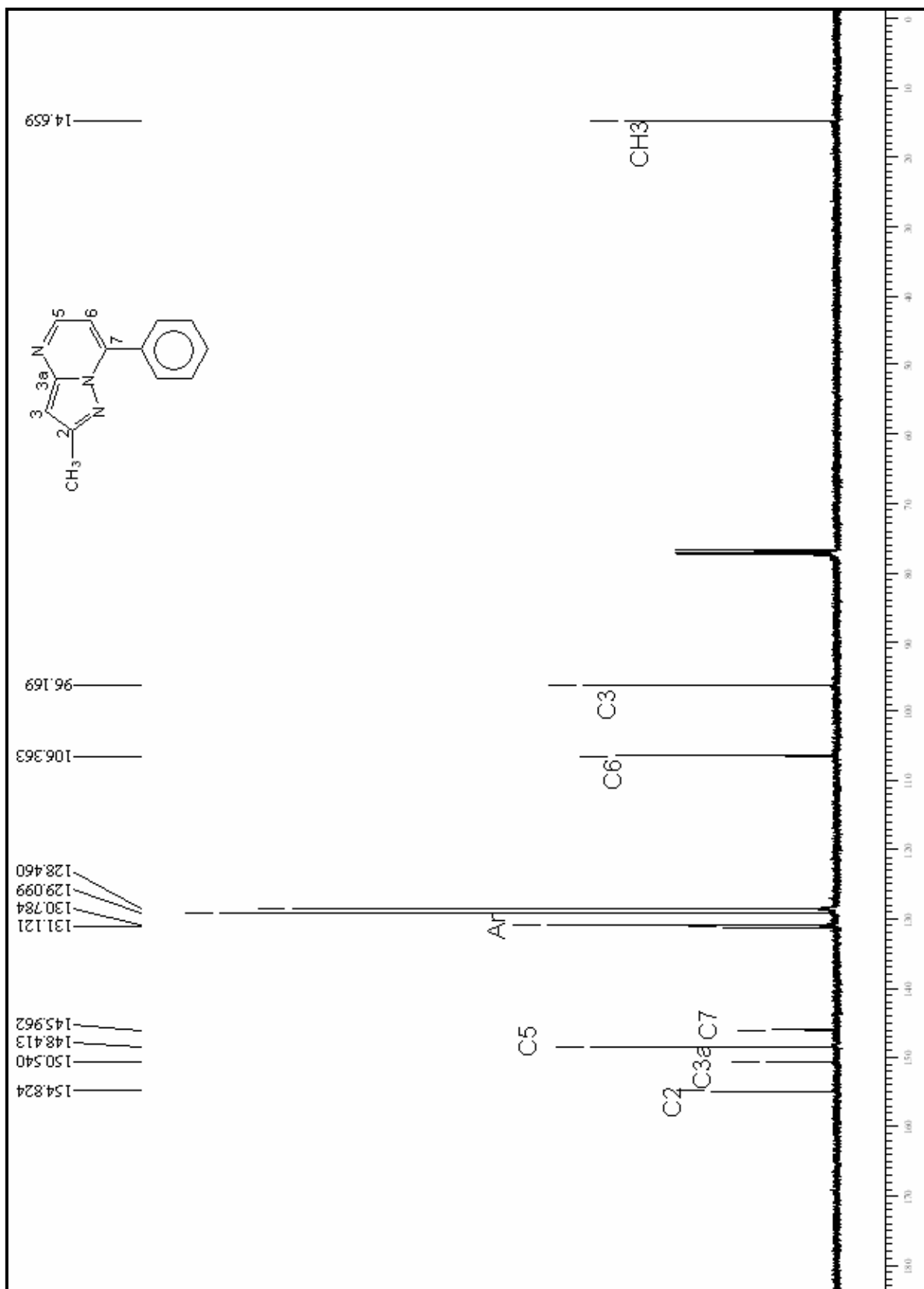


Figura 56: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto 4a em CDCl<sub>3</sub>



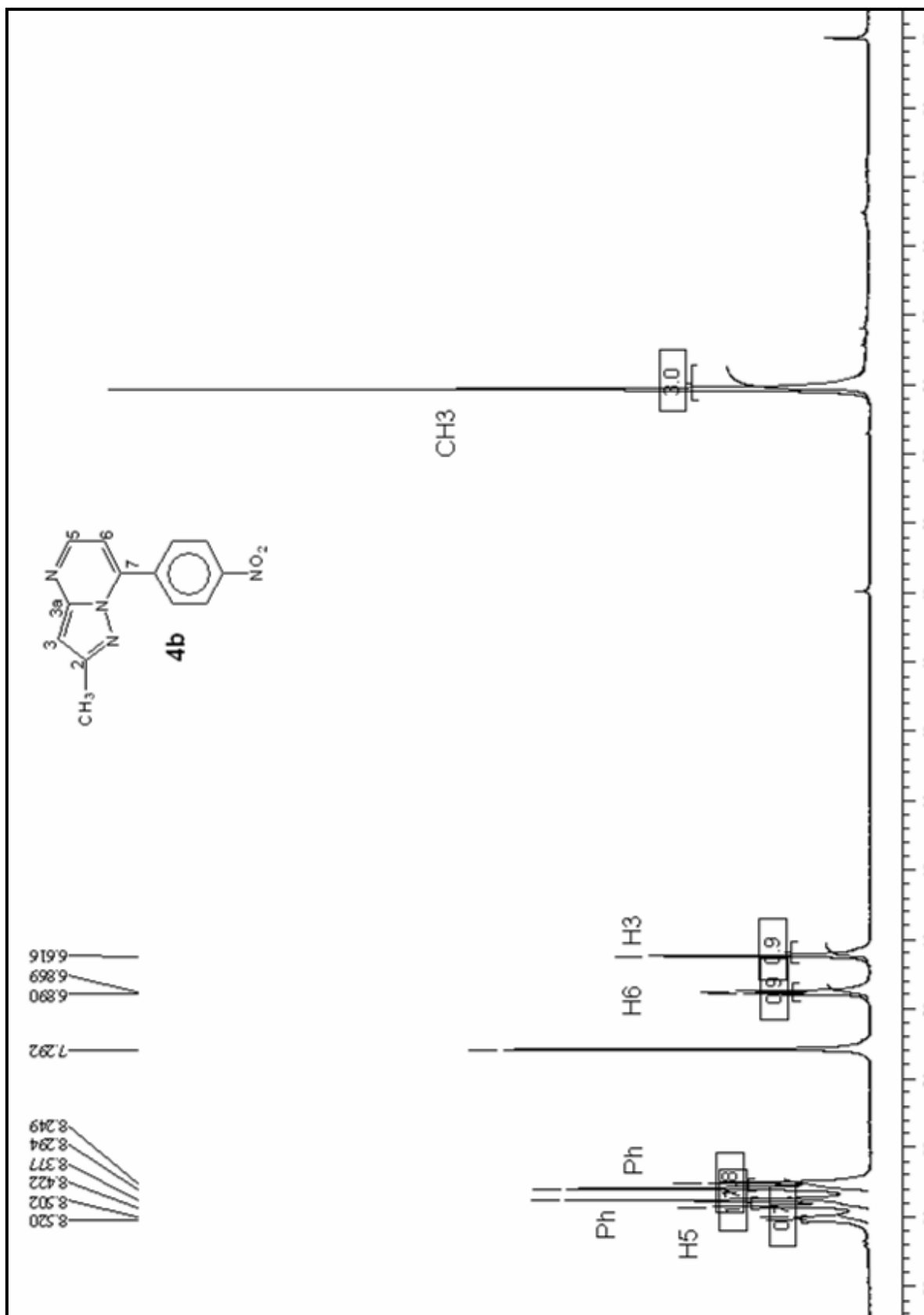


Figura 57: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4b** em  $\text{CDCl}_3$

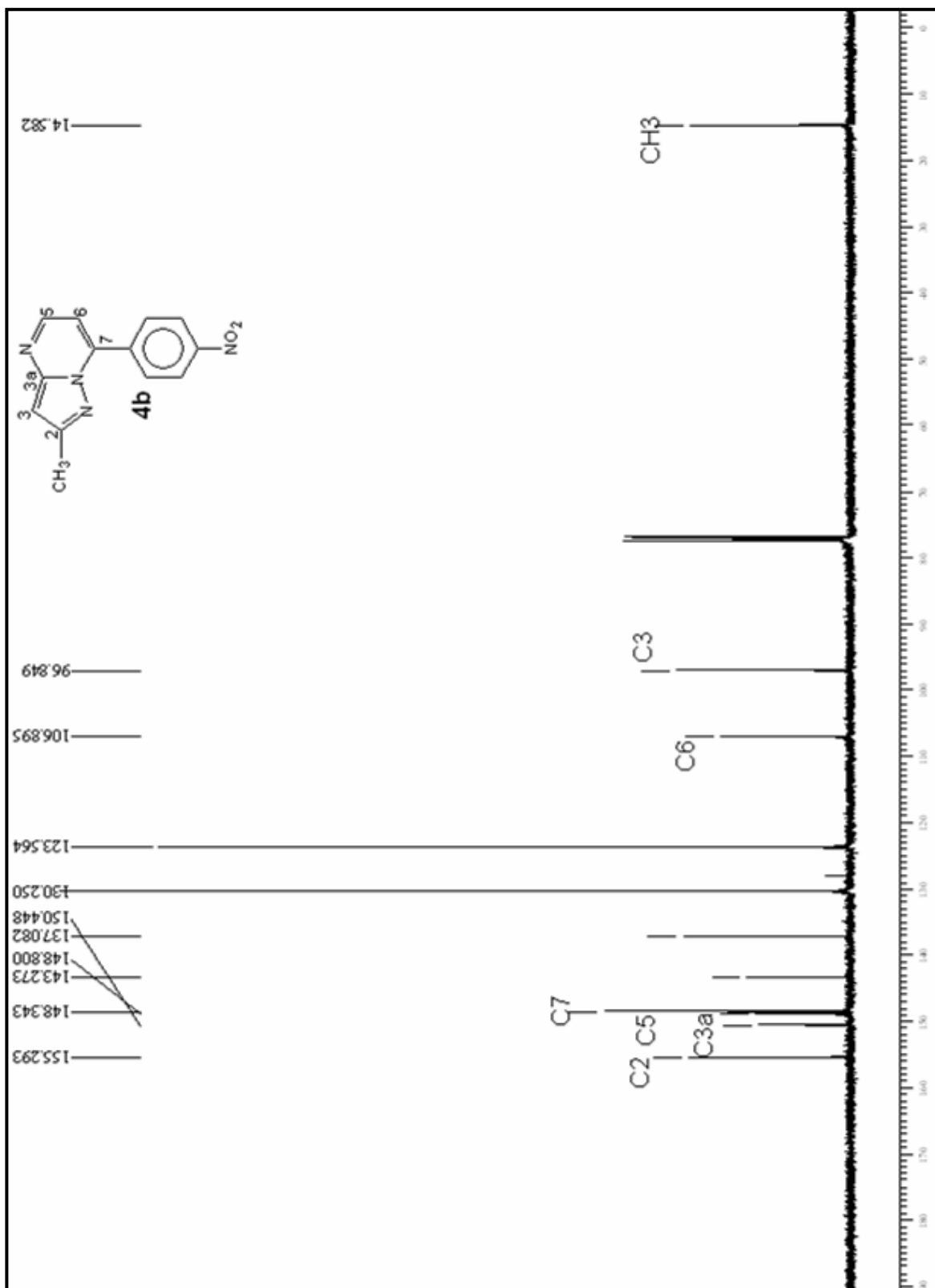


Figura 58: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4b** em  $\text{CDCl}_3$

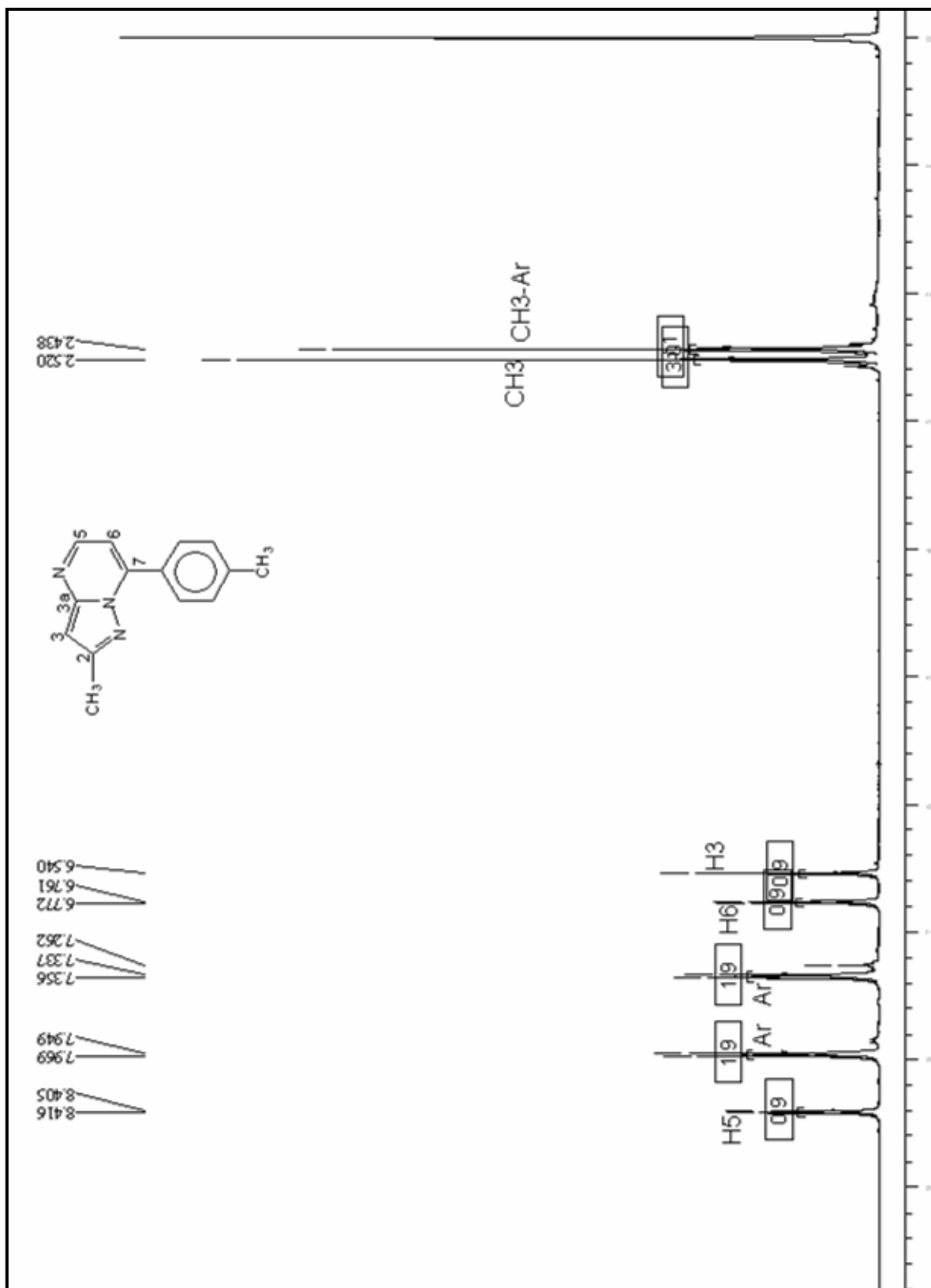


Figura 59: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4c** em  $\text{CDCl}_3$

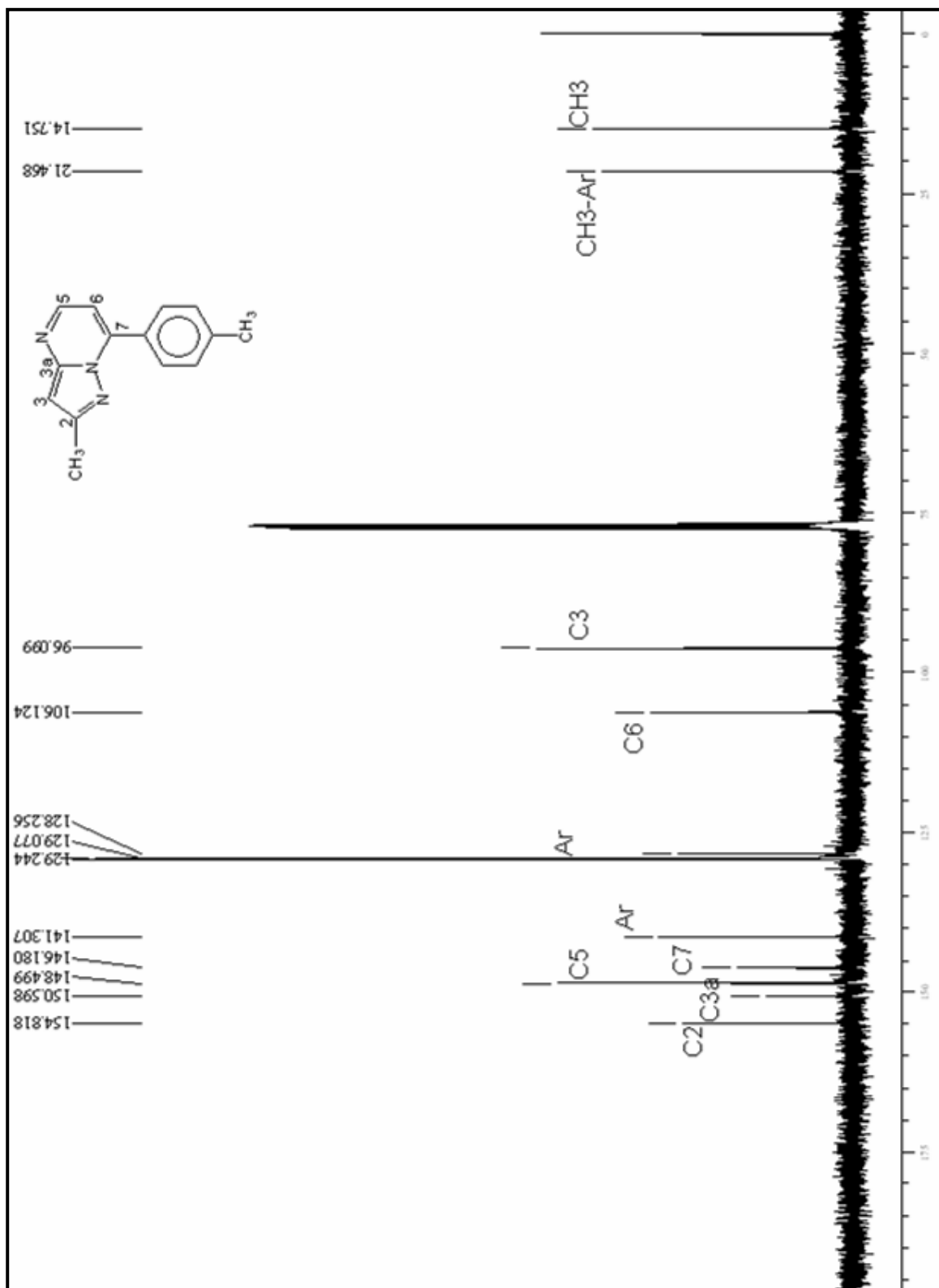


Figura 60: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4c** em  $\text{CDCl}_3$

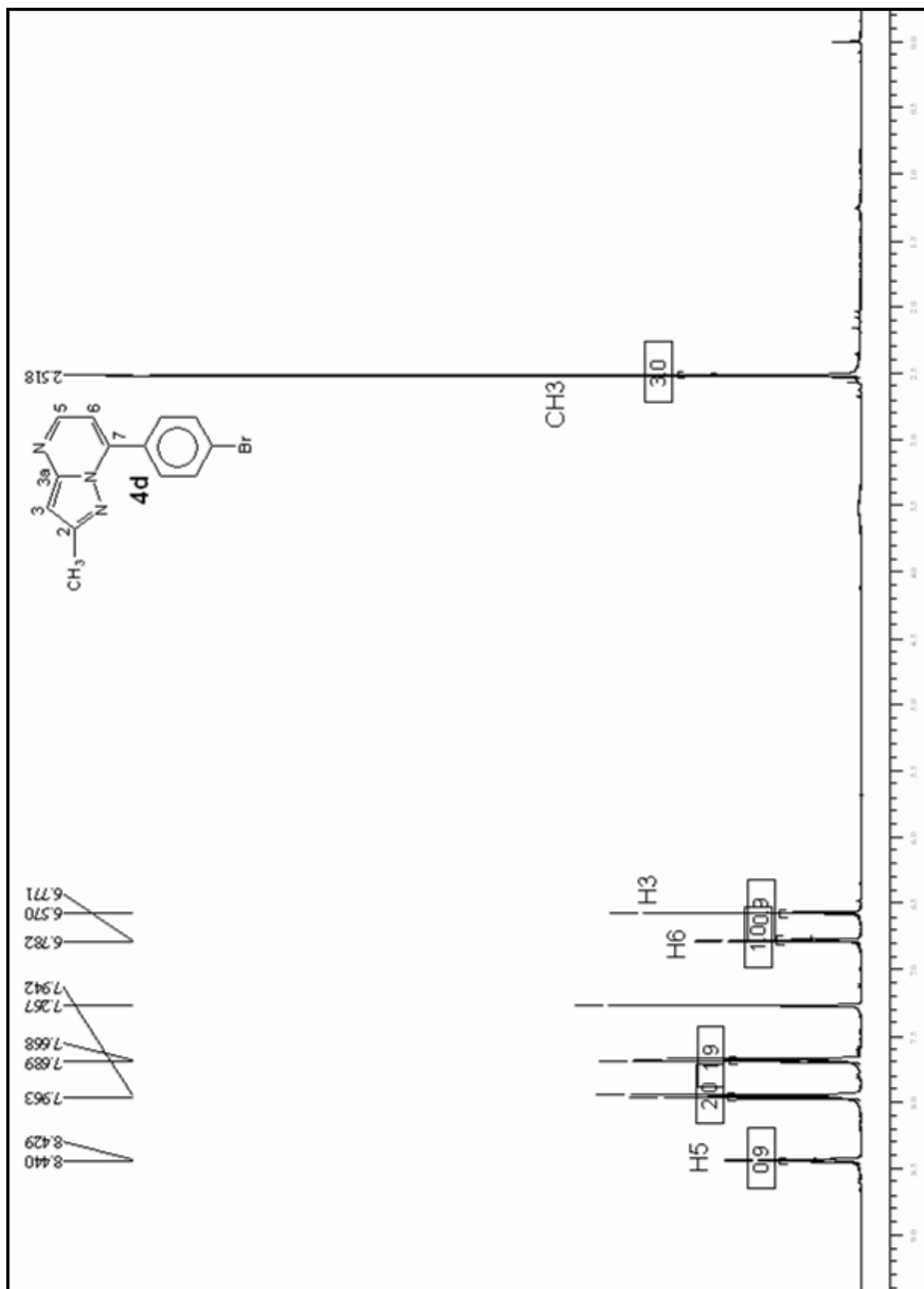


Figura 61: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4d** em  $\text{CDCl}_3$

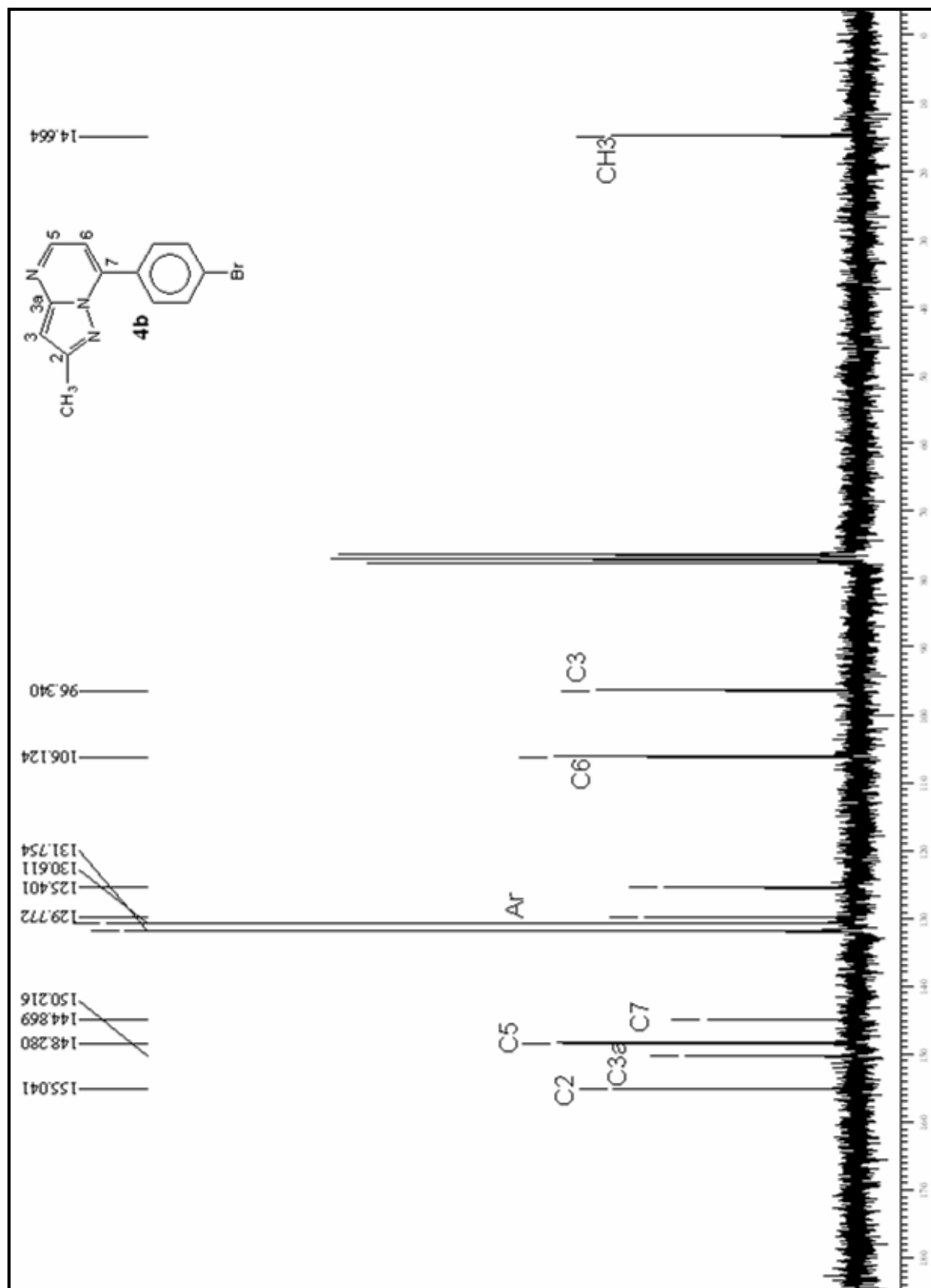
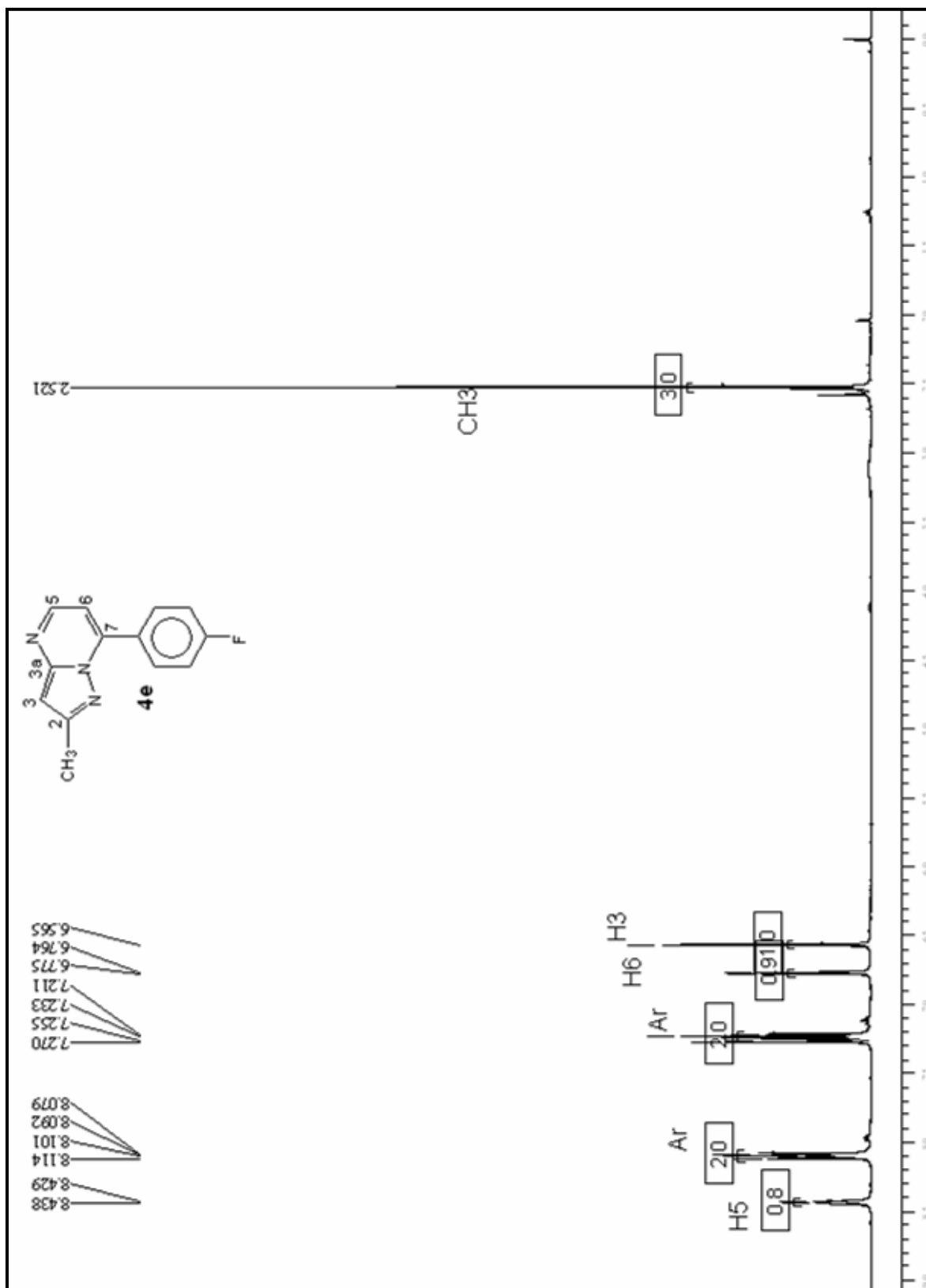


Figura 62: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4d** em  $\text{CDCl}_3$



**Figura 63:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4e** em  $\text{CDCl}_3$

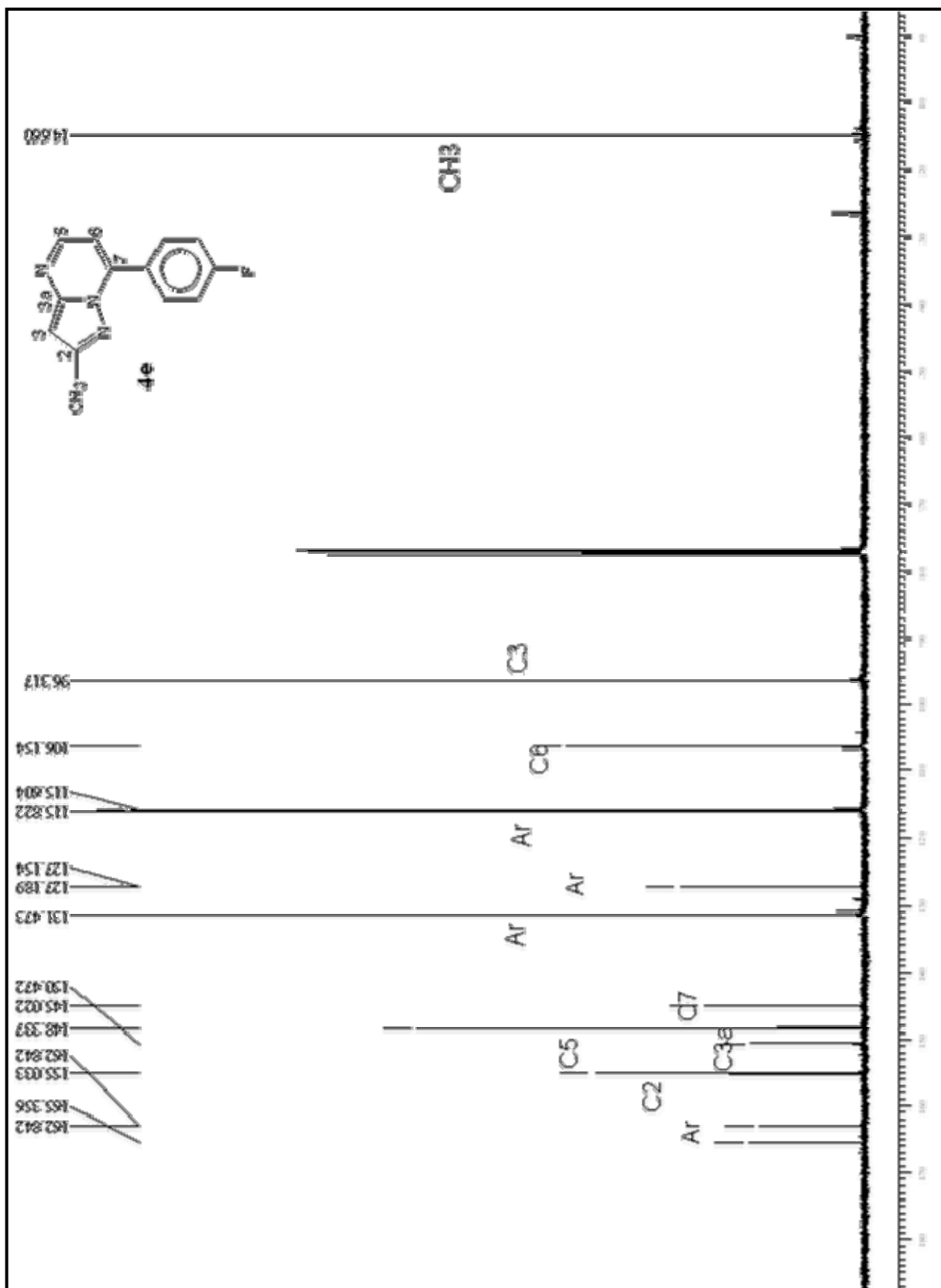


Figura 64: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4e** em  $\text{CDCl}_3$



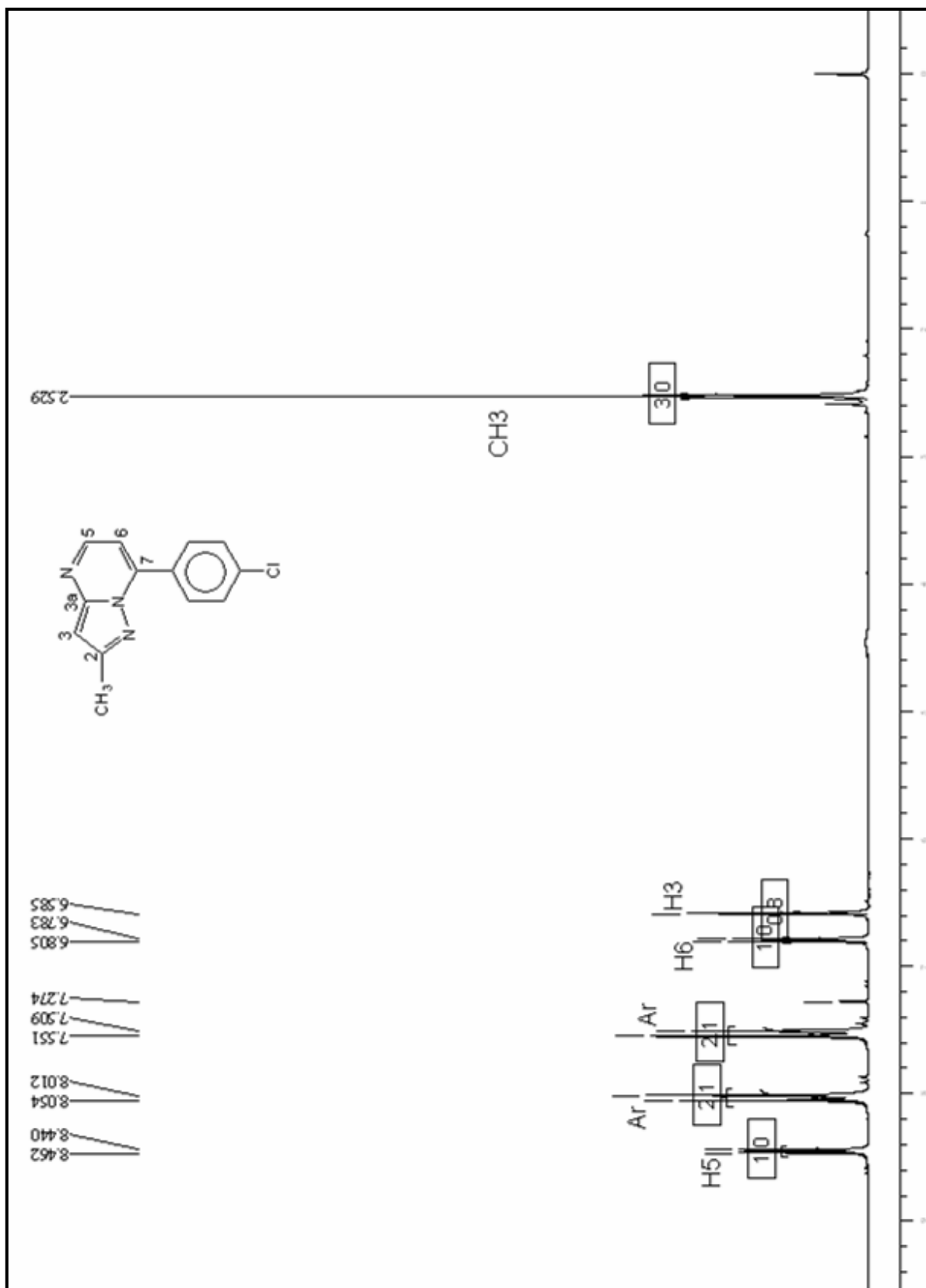


Figura 65: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4f** em  $\text{CDCl}_3$

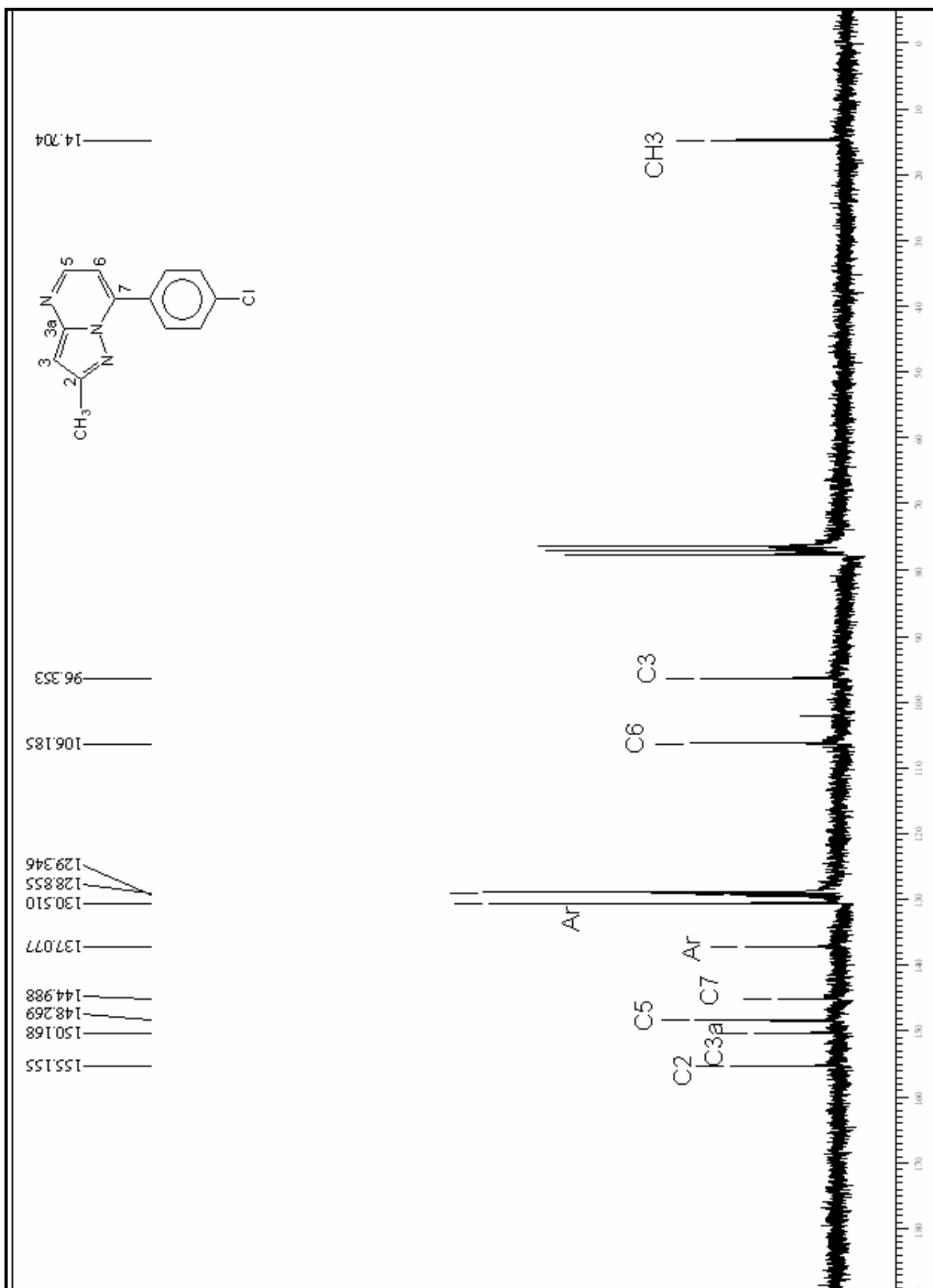


Figura 66: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 4f em  $\text{CDCl}_3$

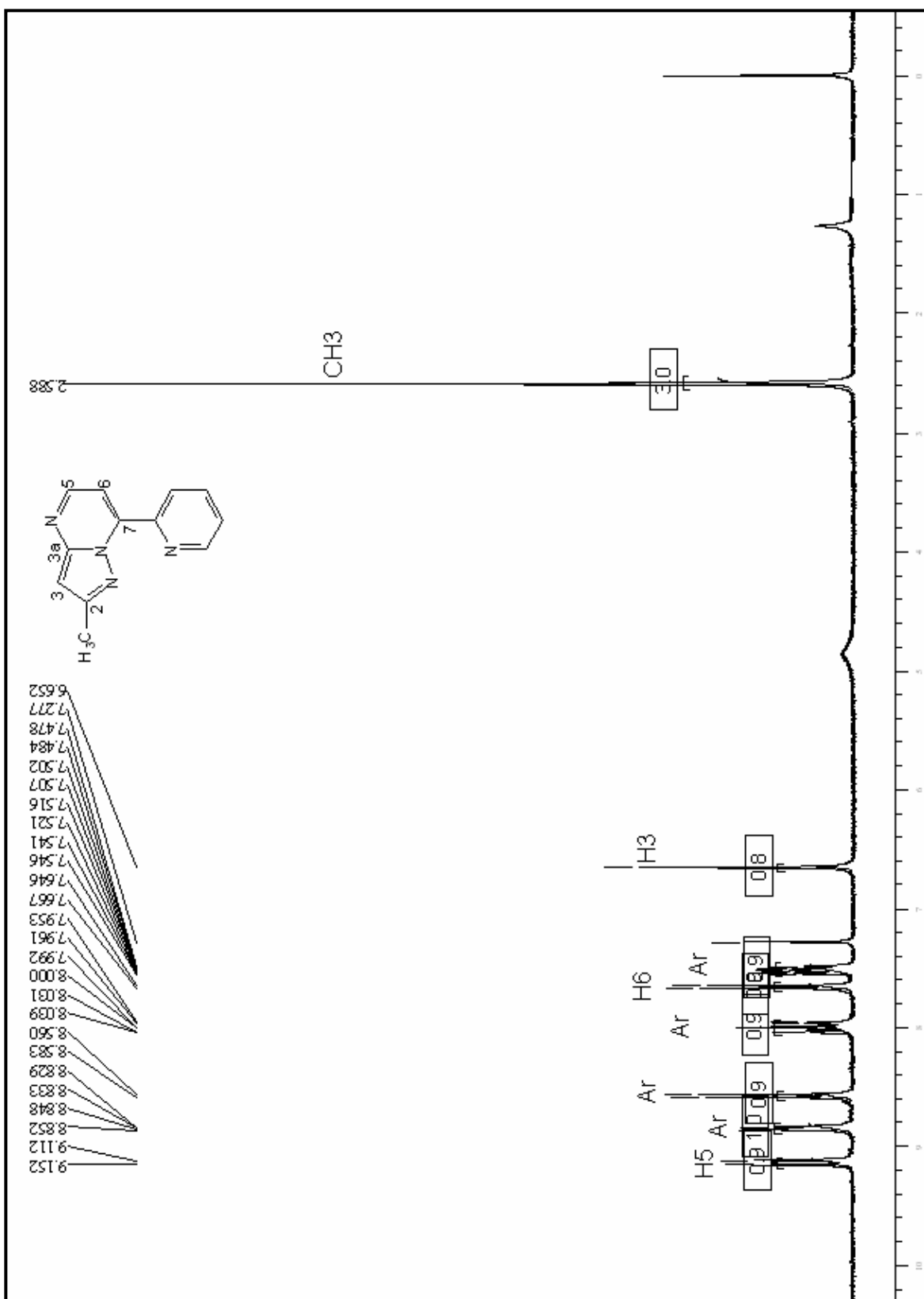


Figura 67: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **4g** em CDCl<sub>3</sub>

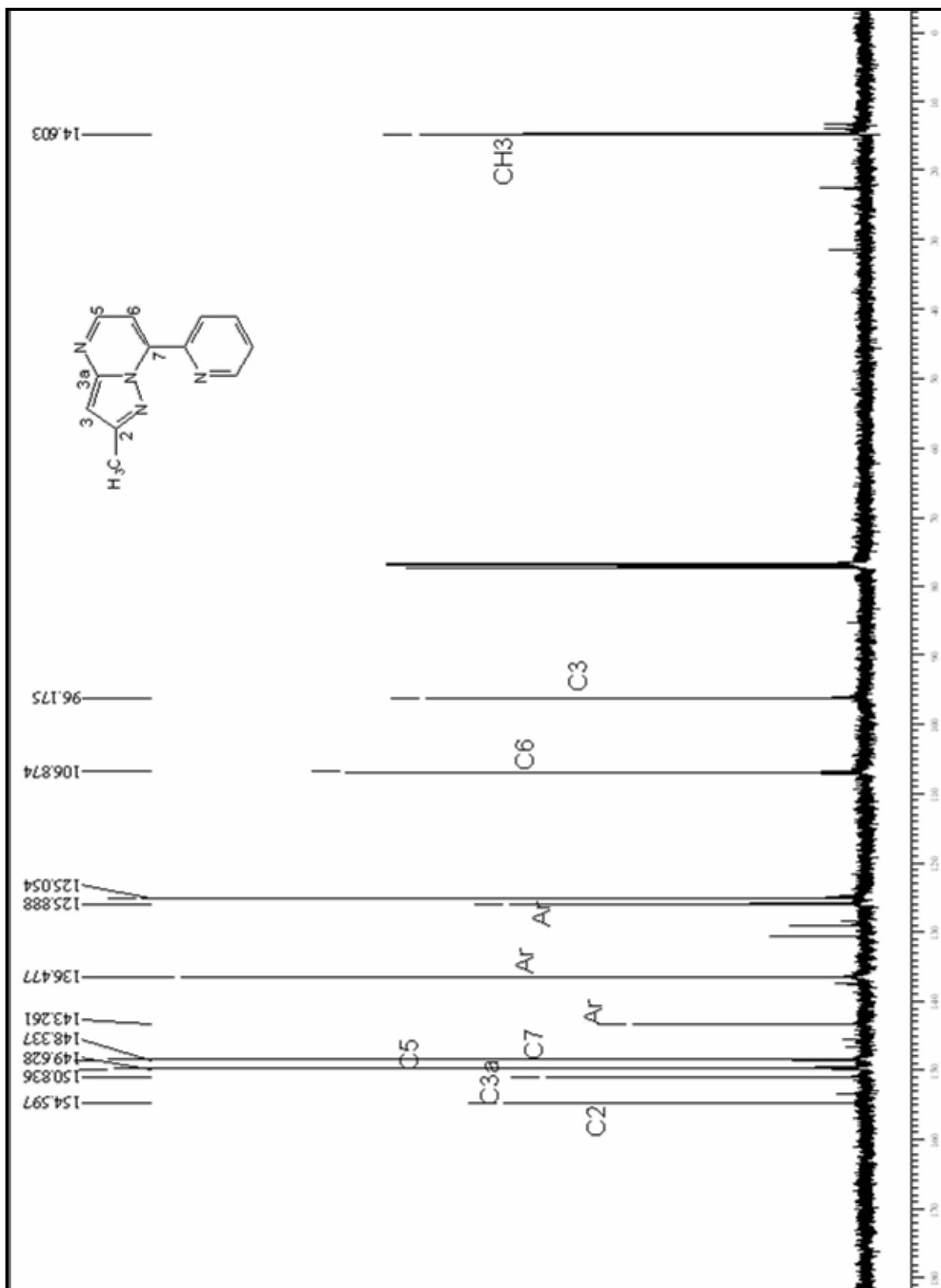
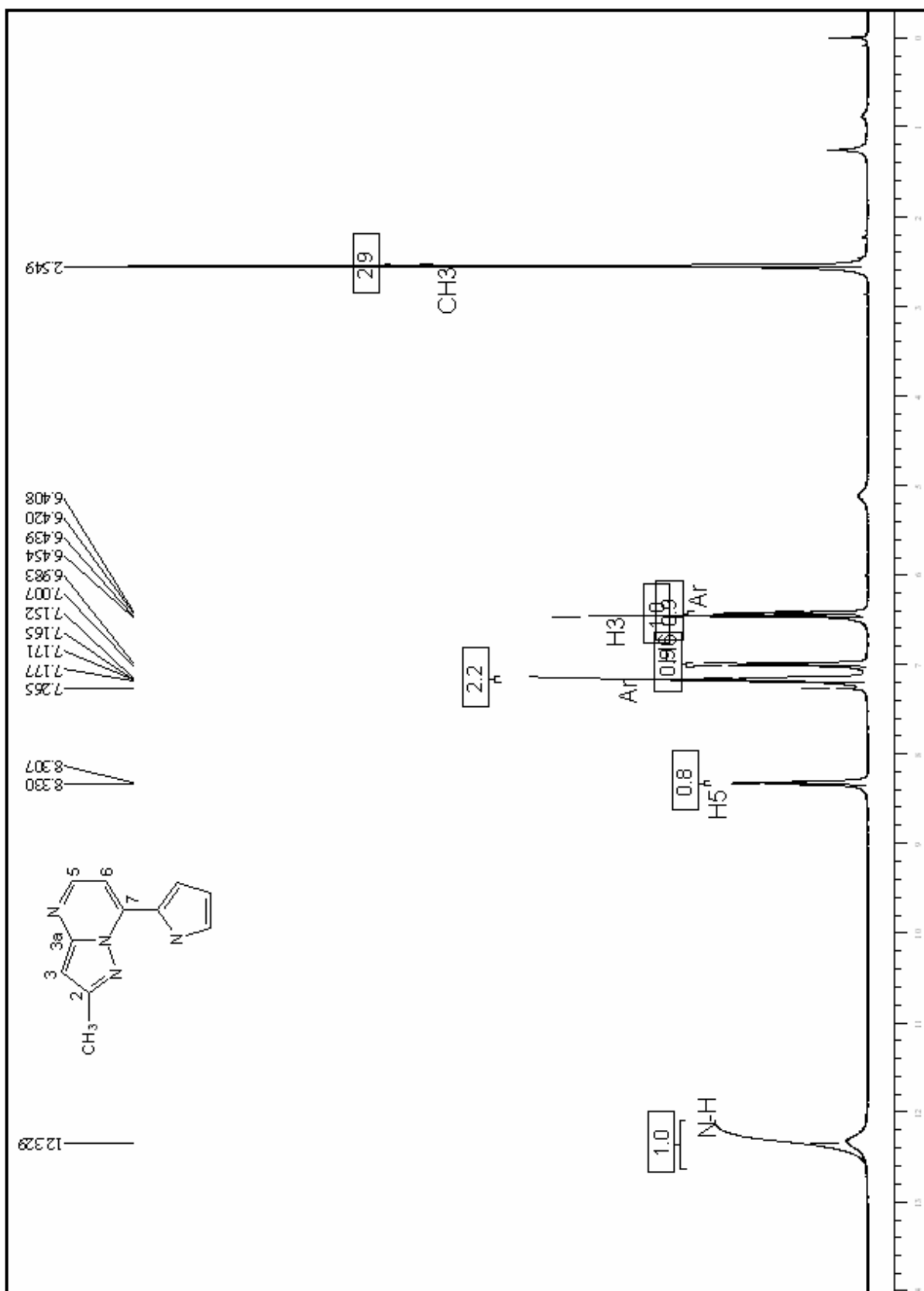


Figura 68: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4g** em  $\text{CDCl}_3$



**Figura 69:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **4h** em  $\text{CDCl}_3$

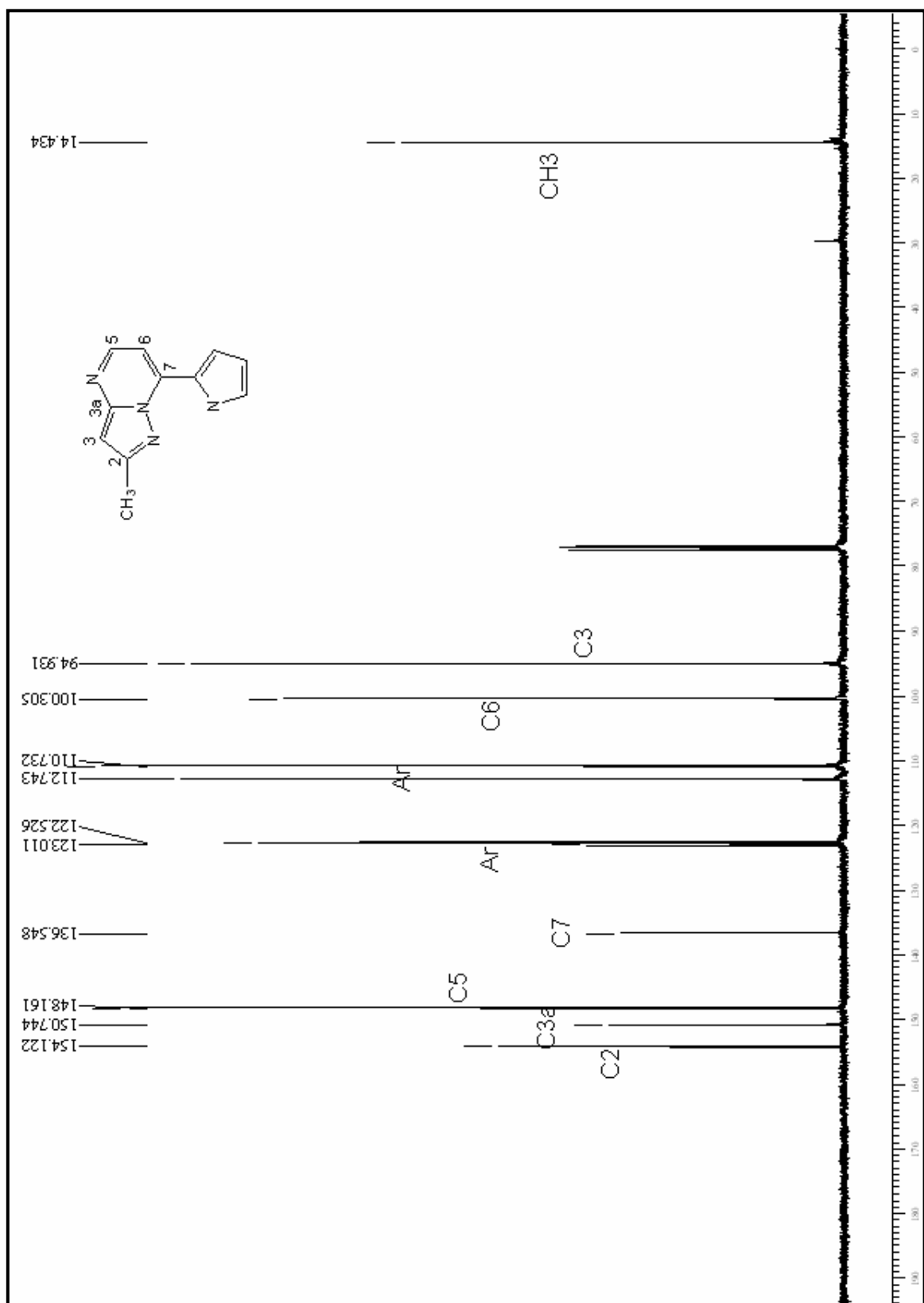


Figura 70: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto 4h em CDCl<sub>3</sub>



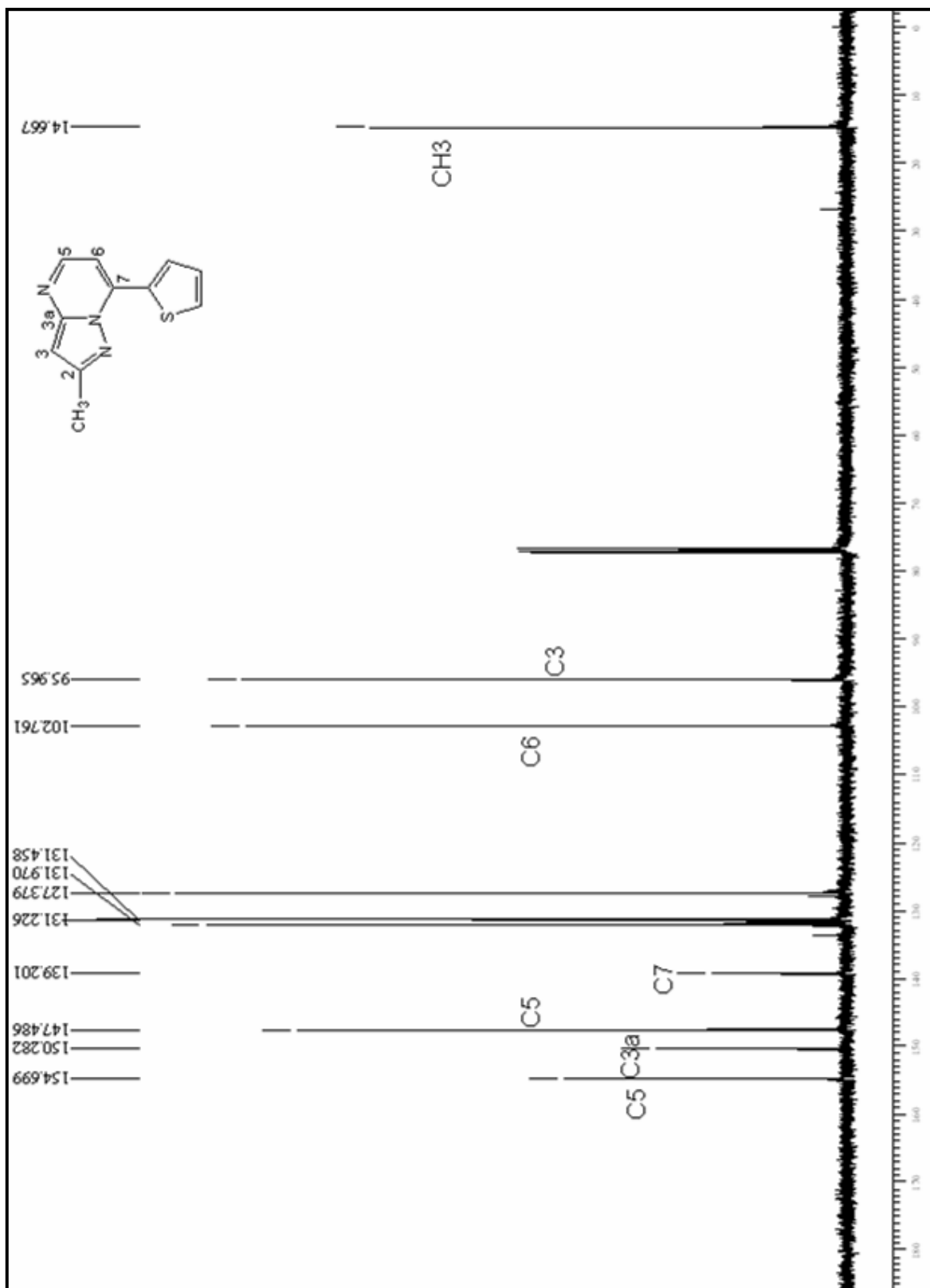


Figura 72: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **4i** em  $\text{CDCl}_3$





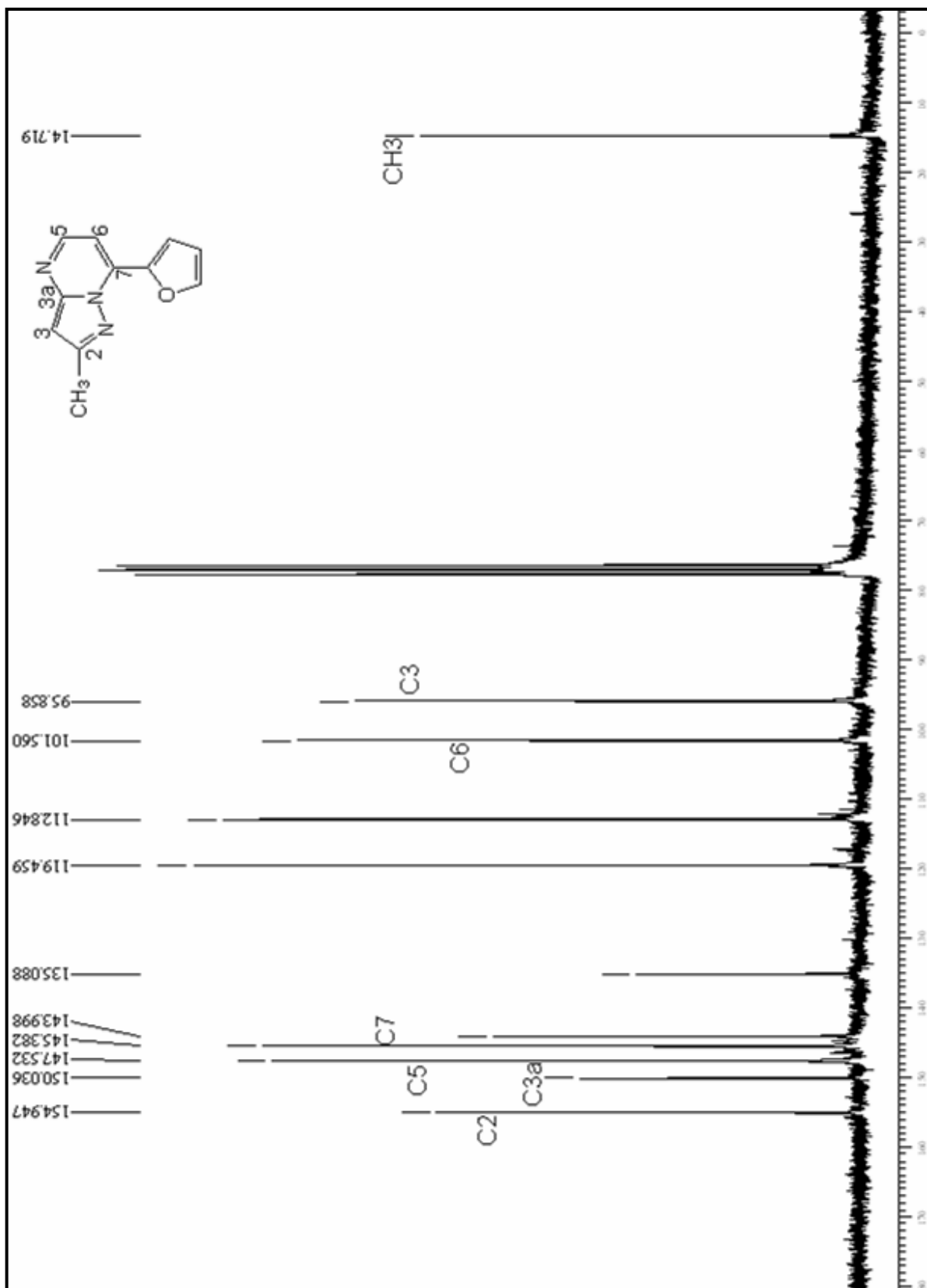


Figura 74: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 4j em  $\text{CDCl}_3$

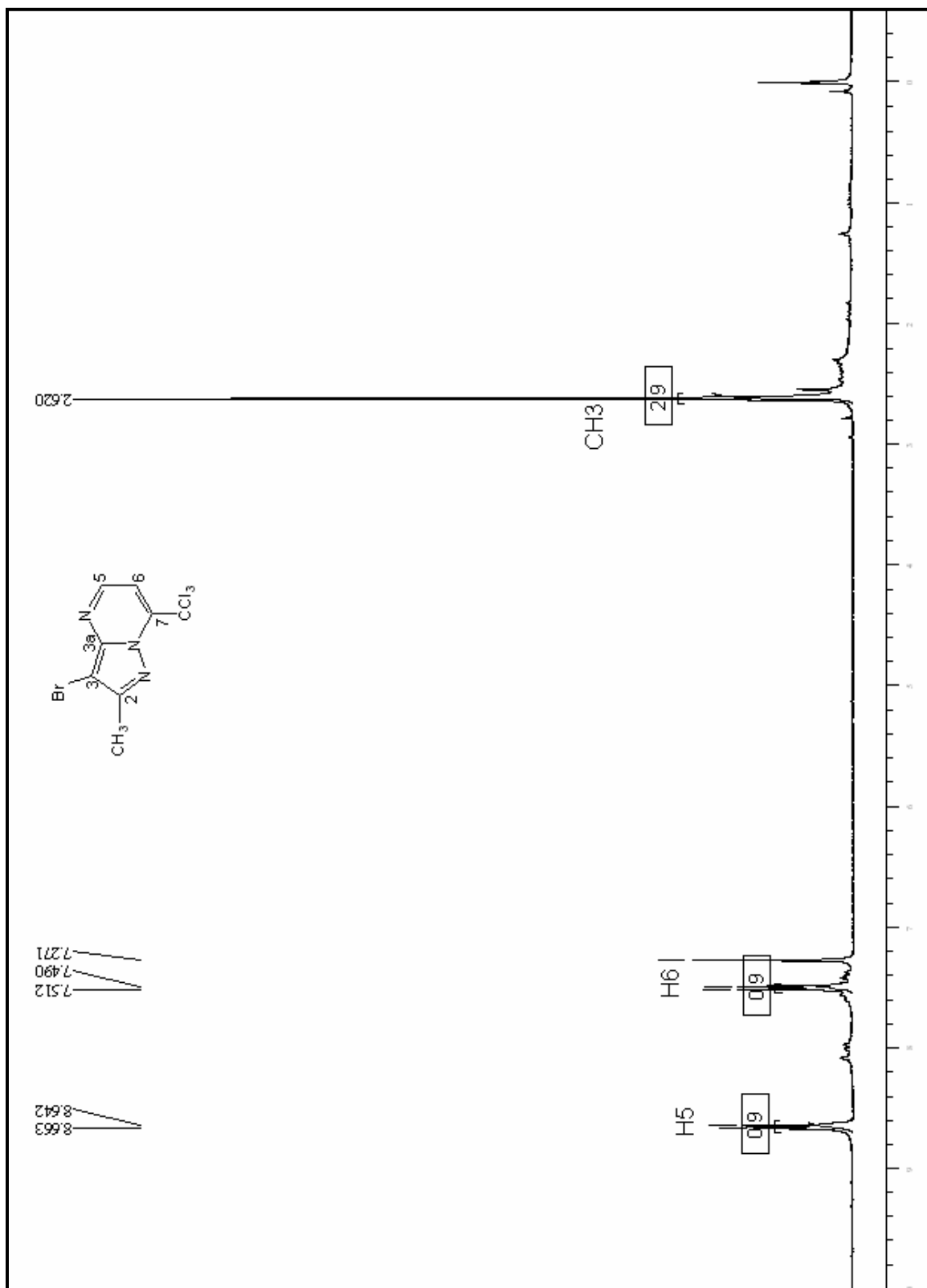


Figura 75: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **5a** em  $\text{CDCl}_3$

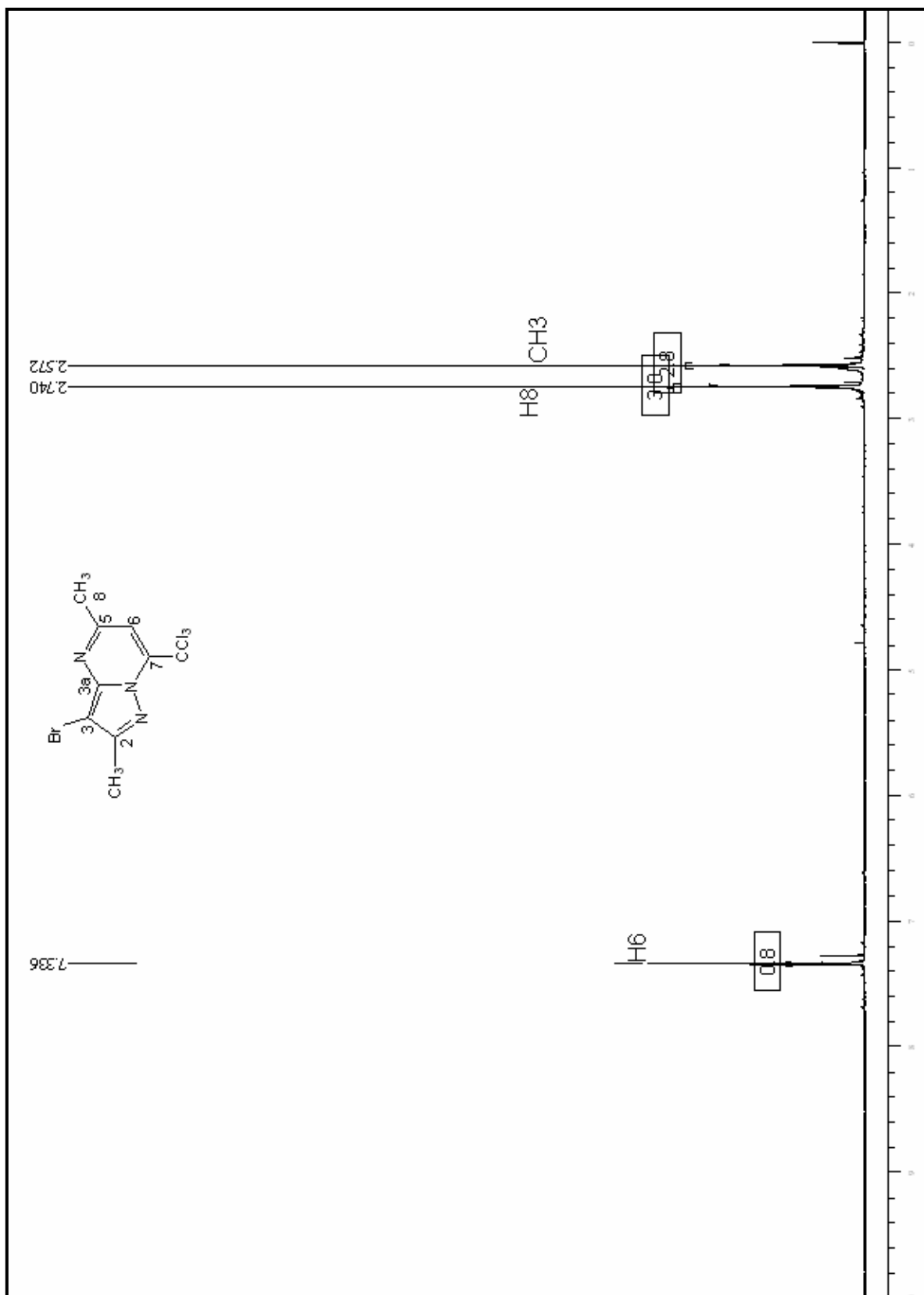
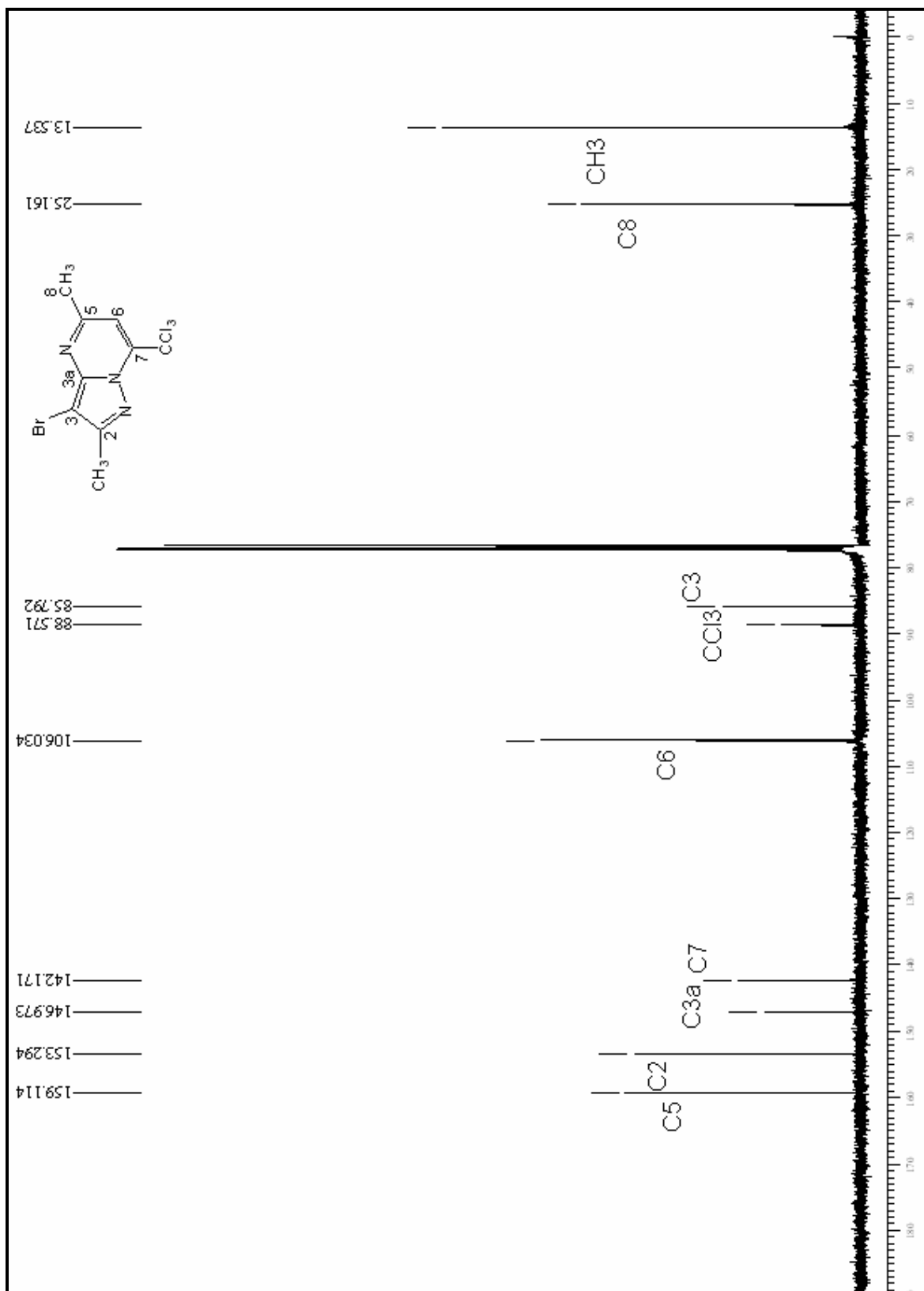
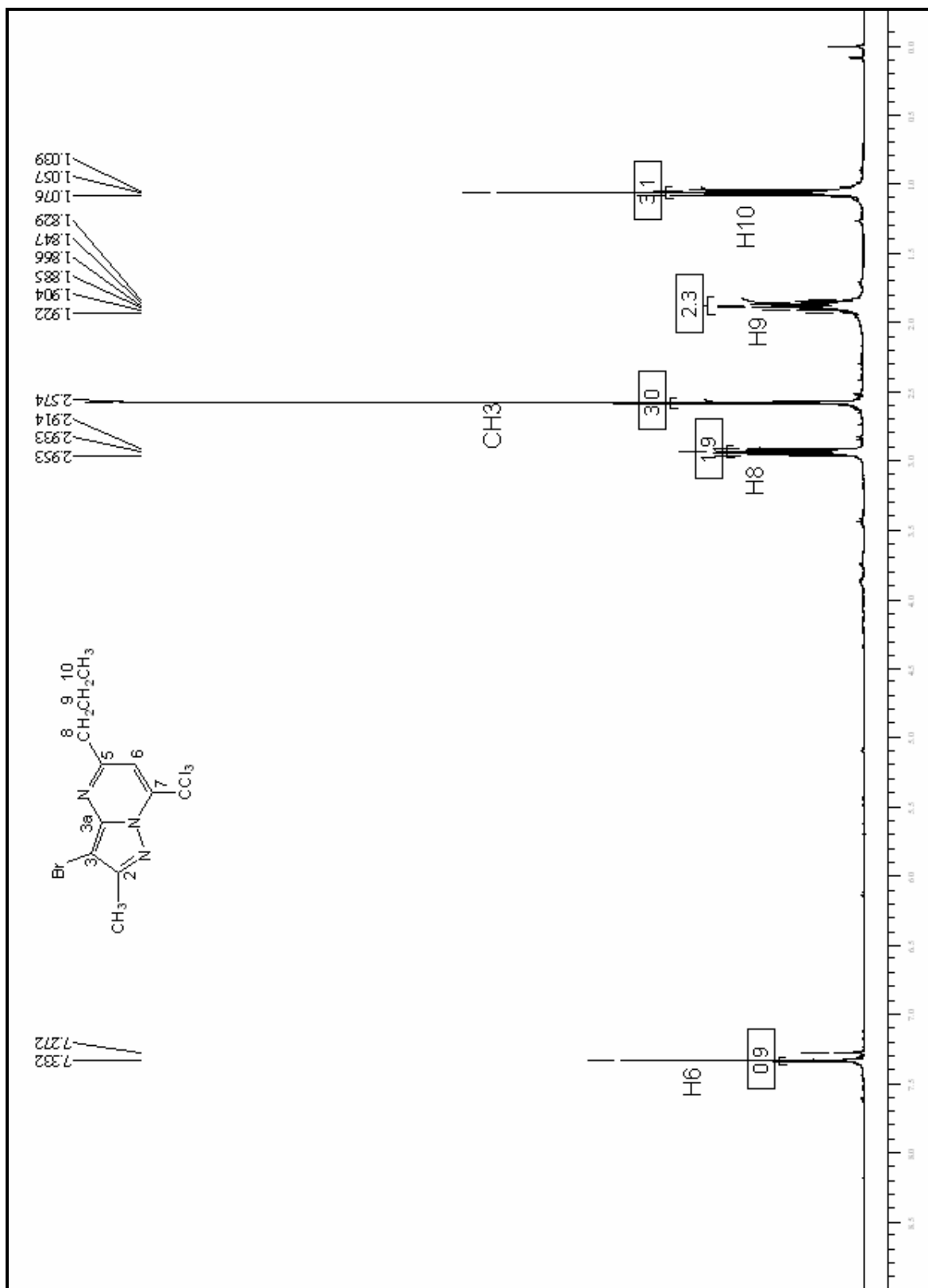
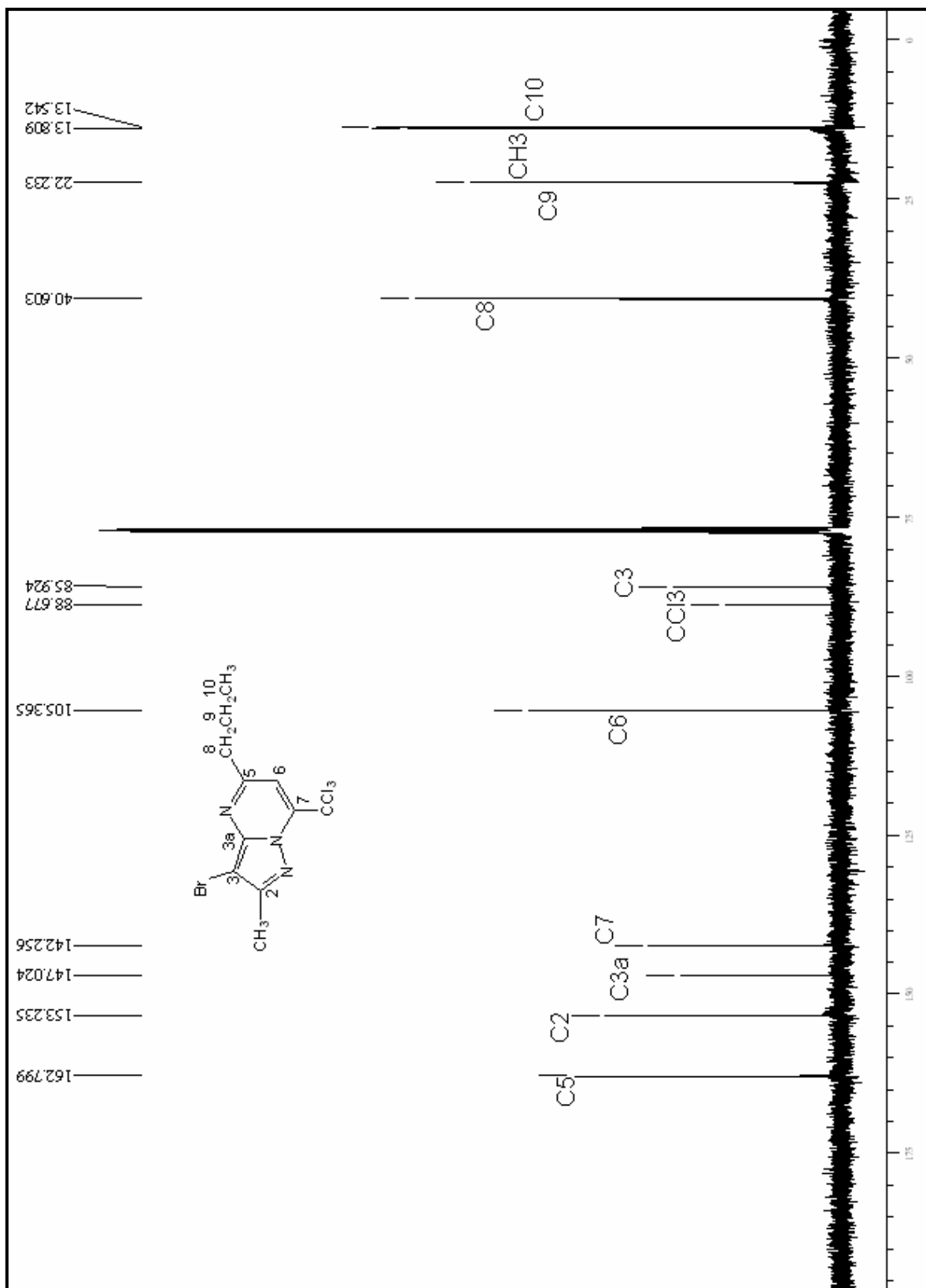


Figura 76: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **5b** em  $\text{CDCl}_3$

Figura 77: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 5b



**Figura 78:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **5d**

Figura 79: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 5d

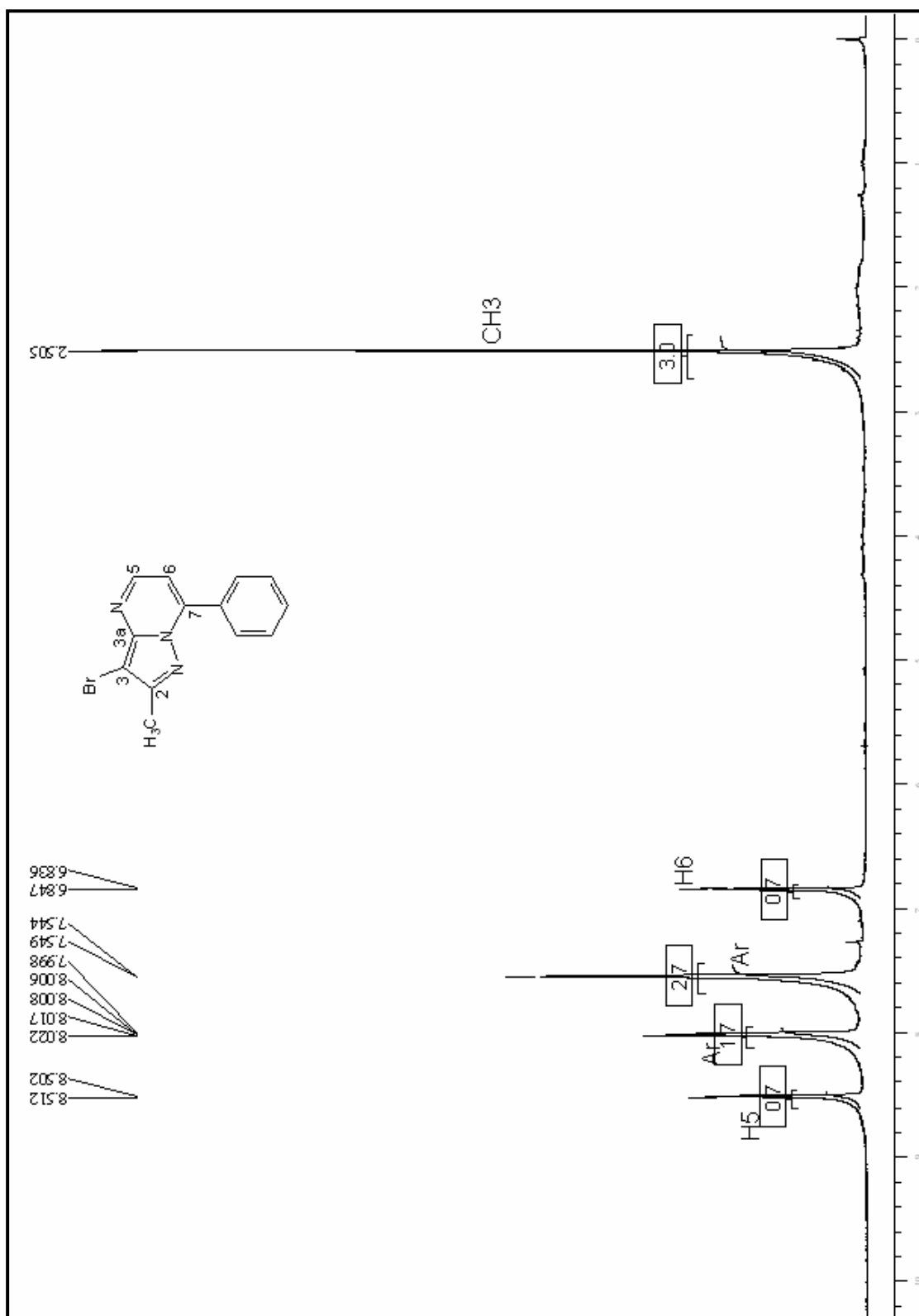


Figura 80: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6a**



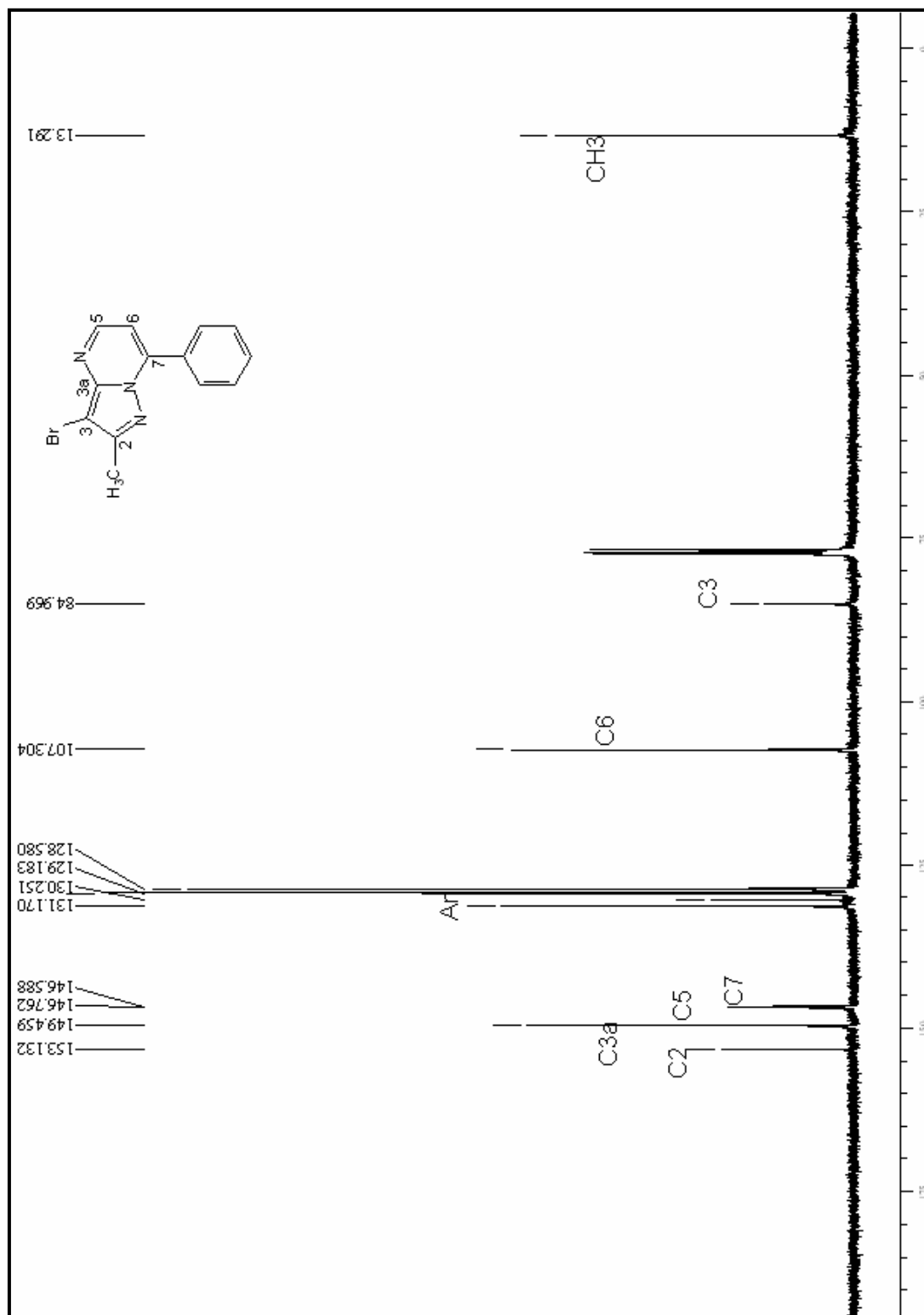
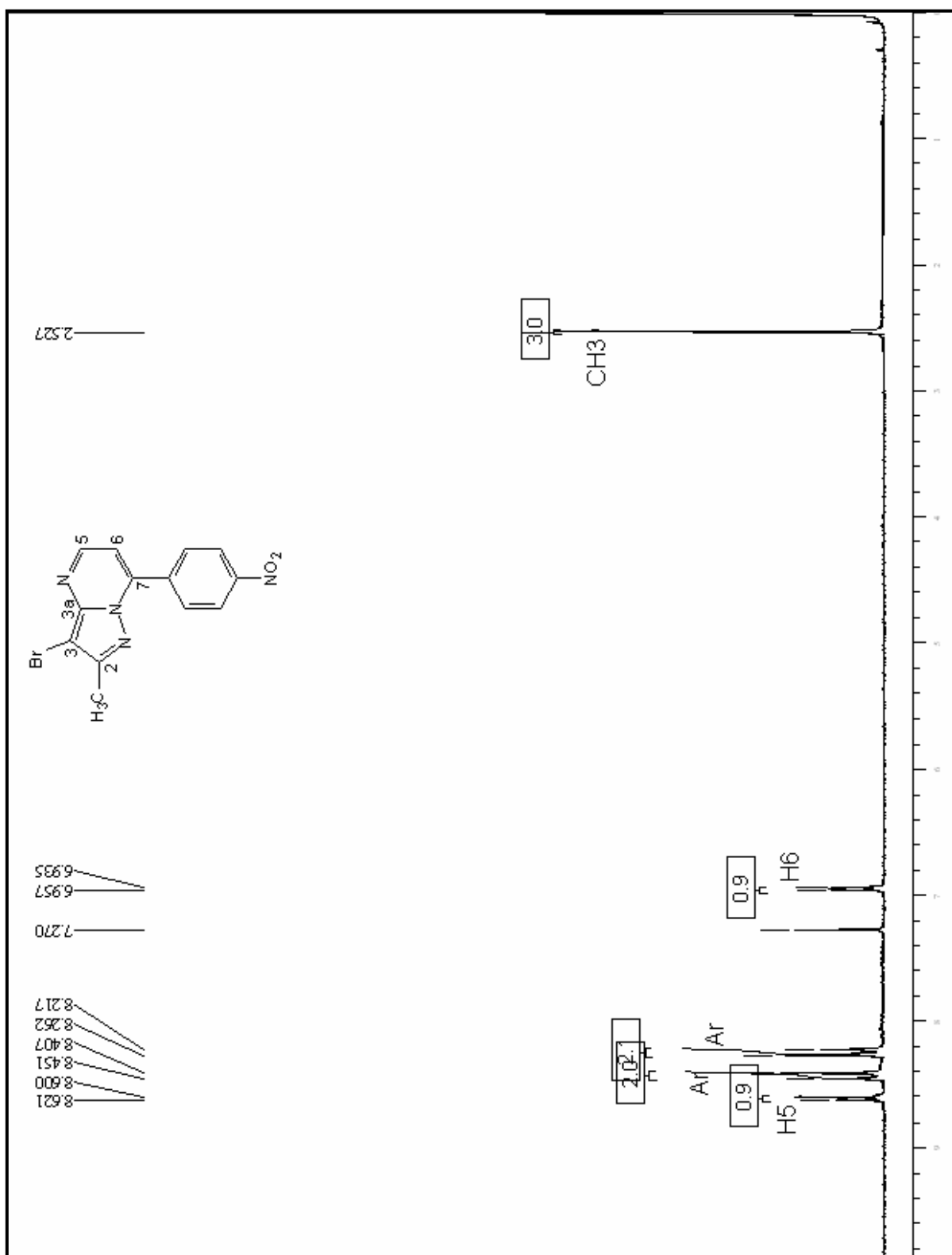


Figura 81: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **6a**



**Figura 82:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6b**

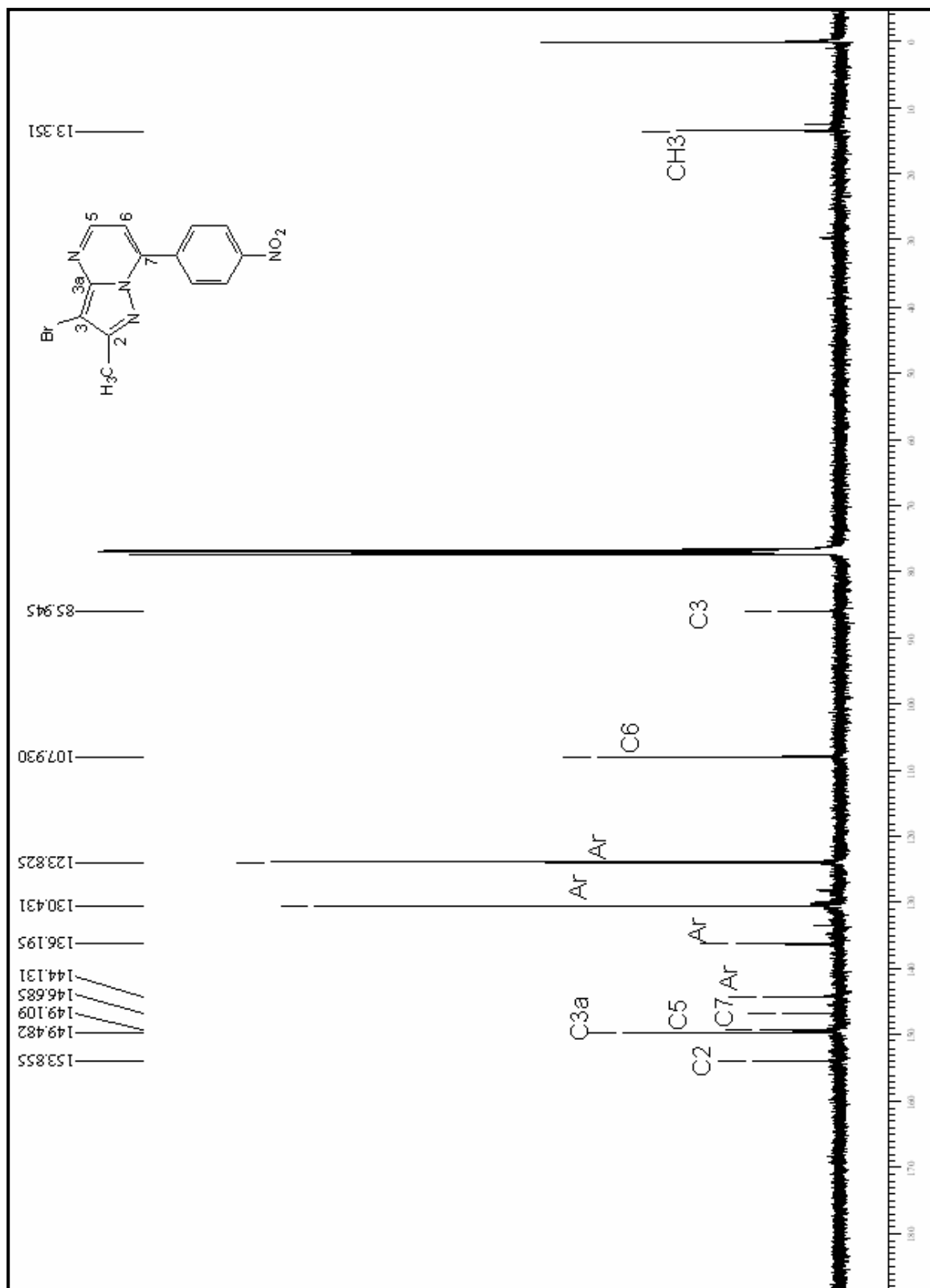


Figura 83: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **6b**

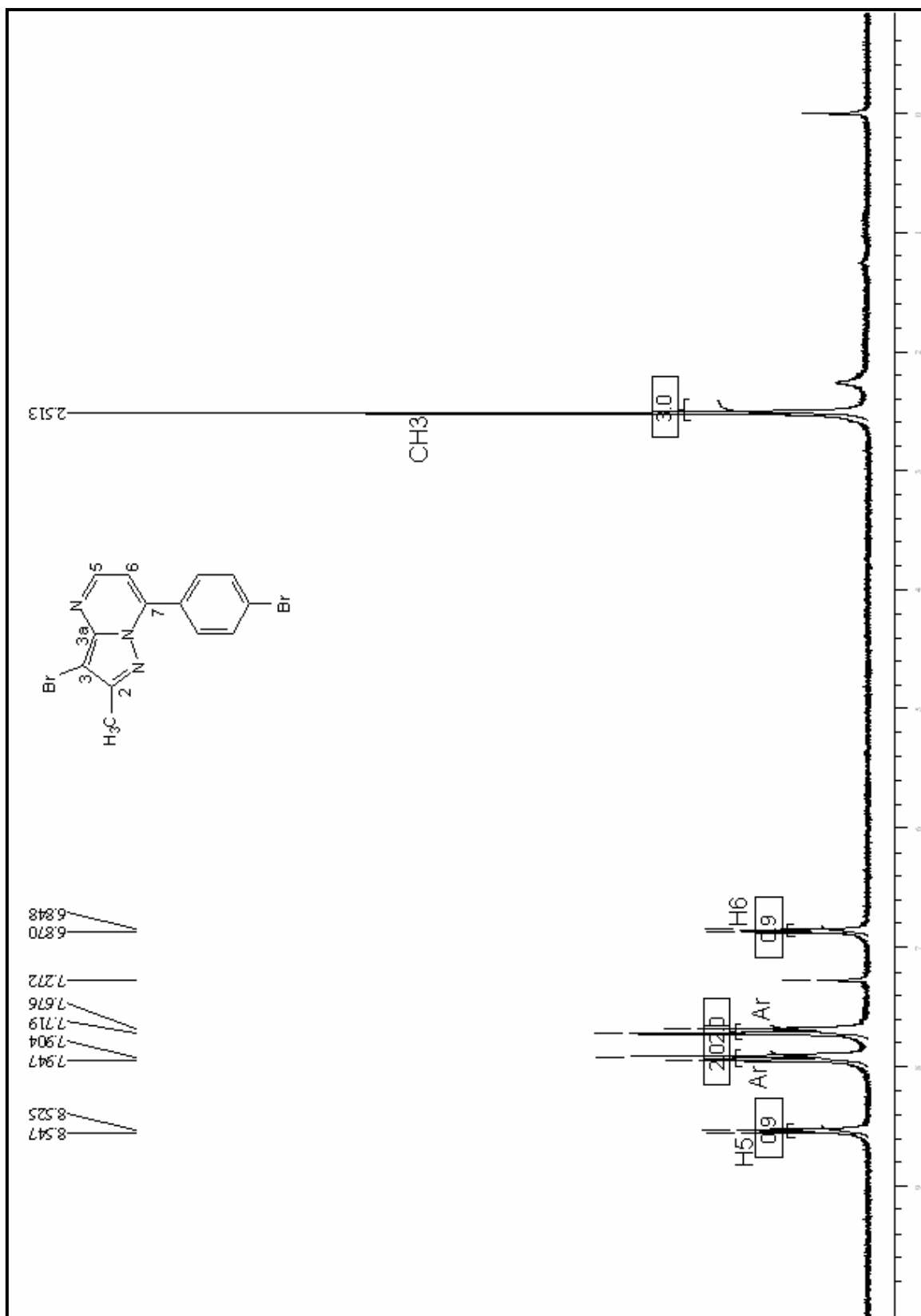
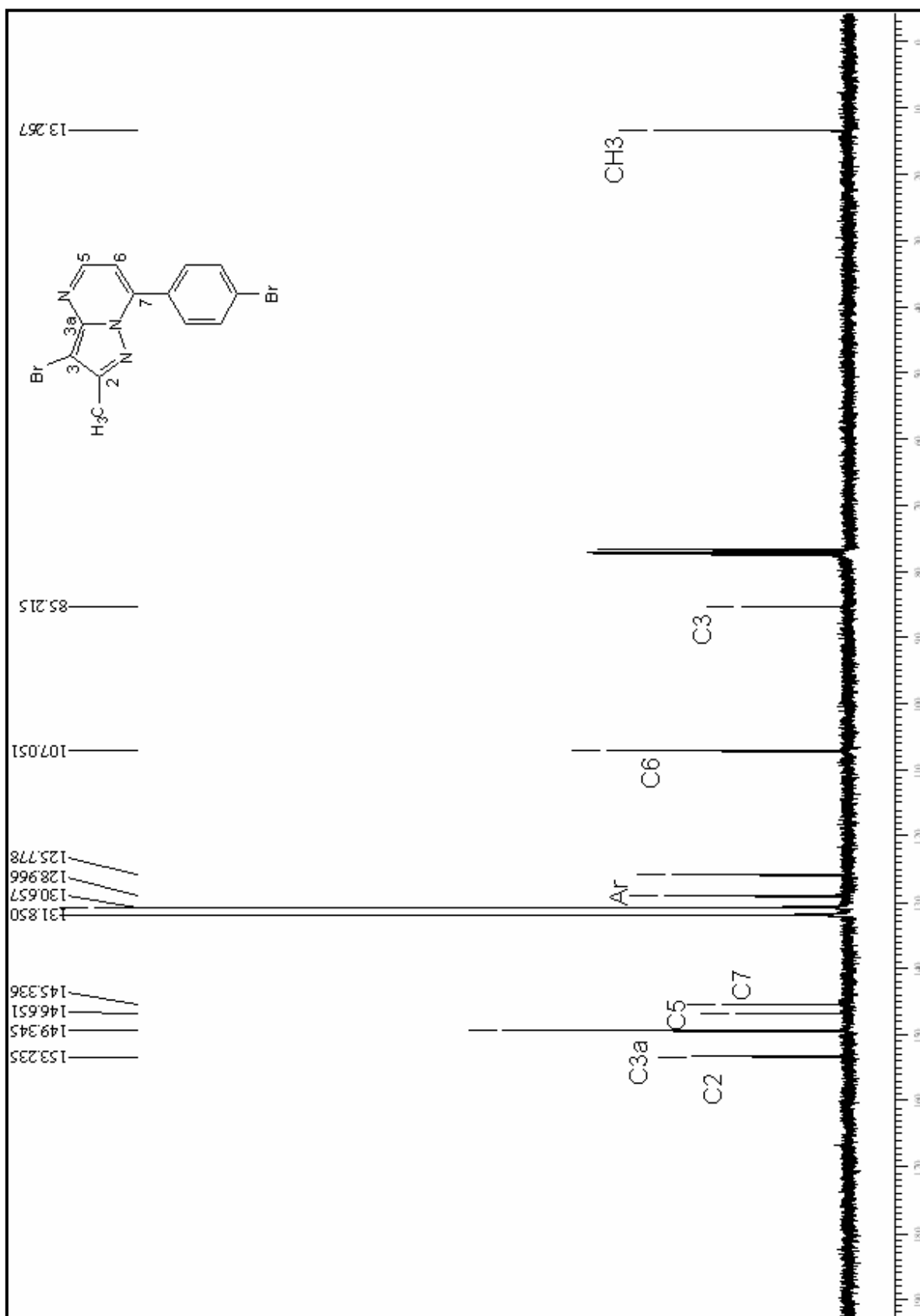
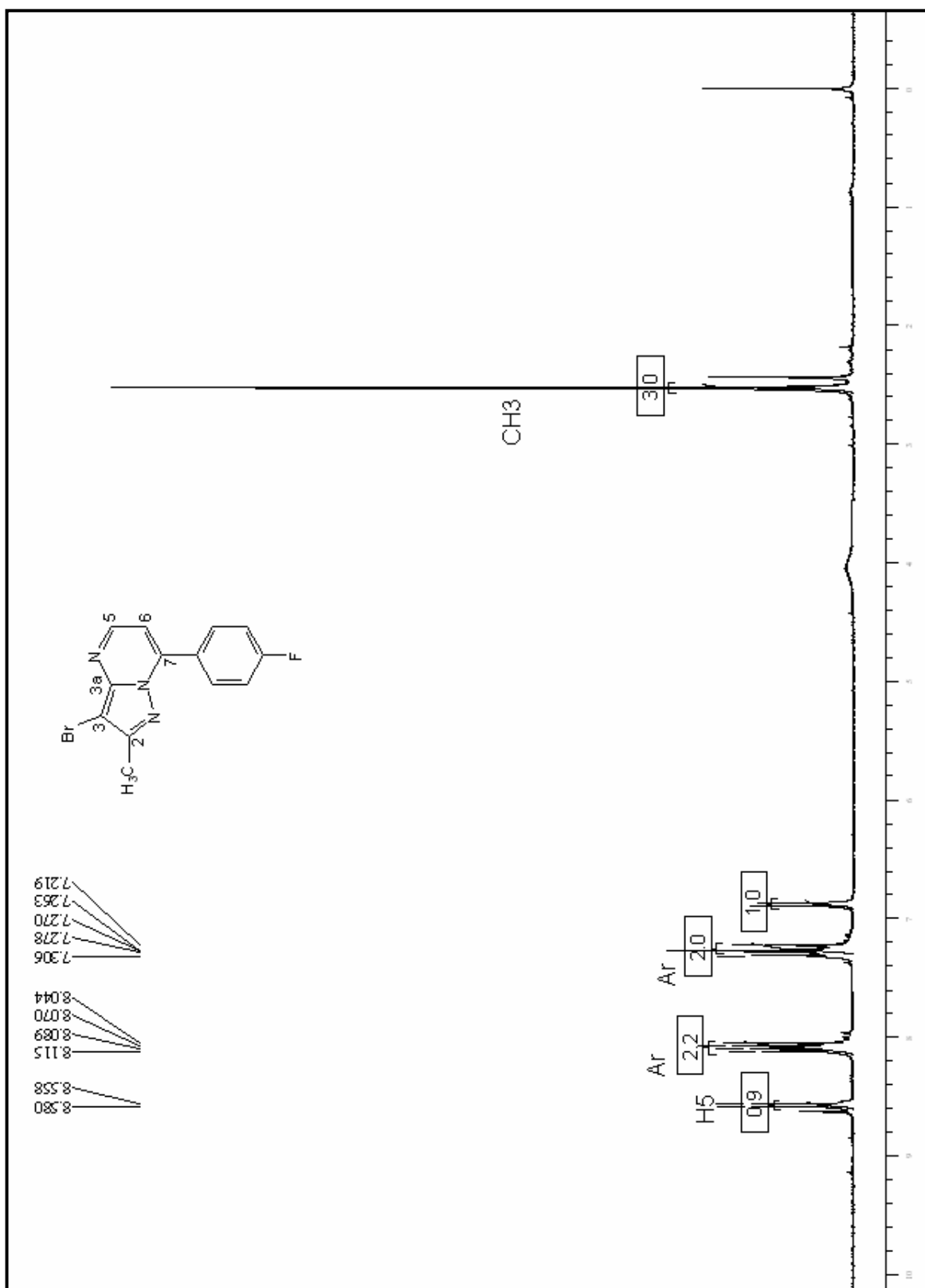
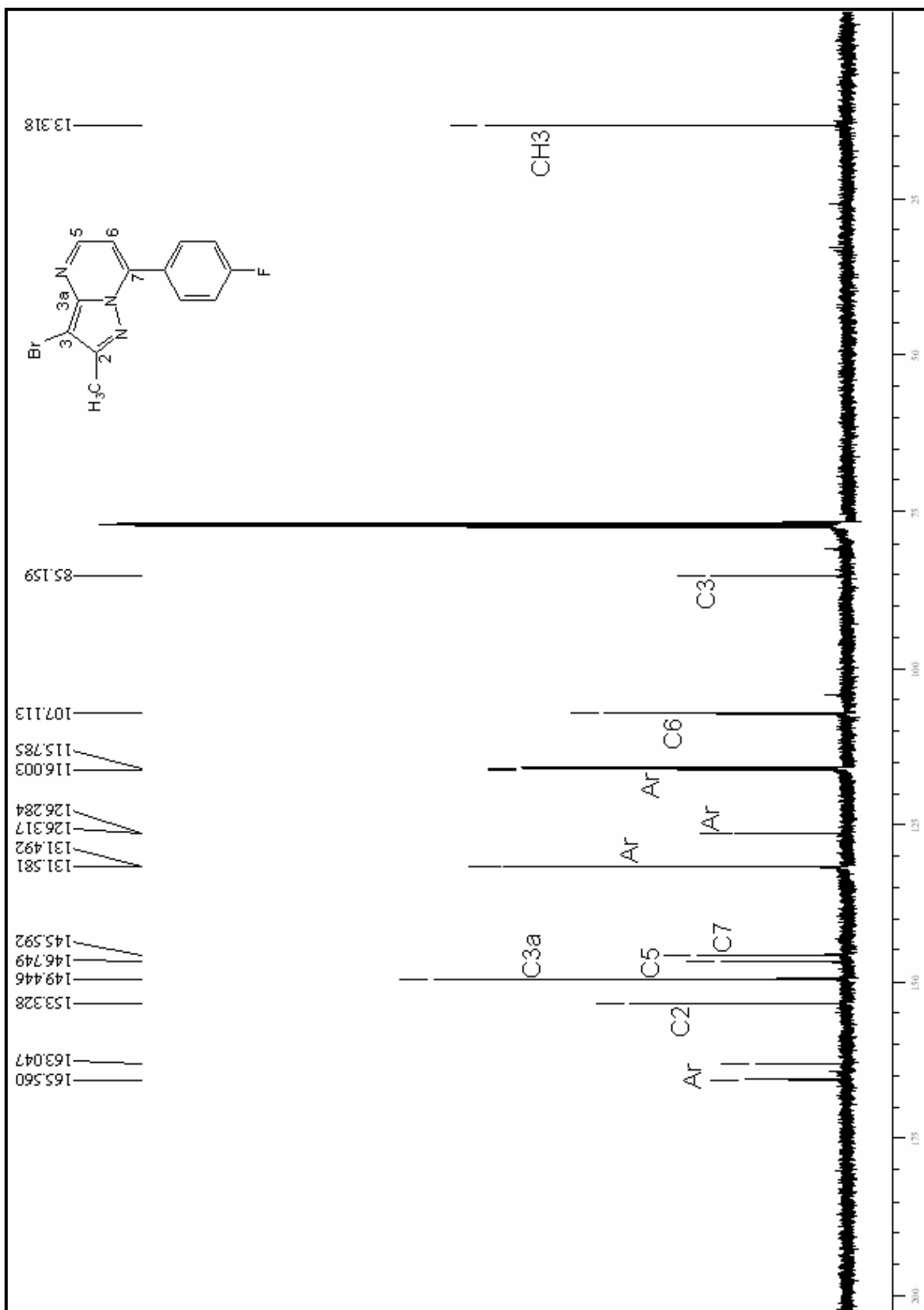
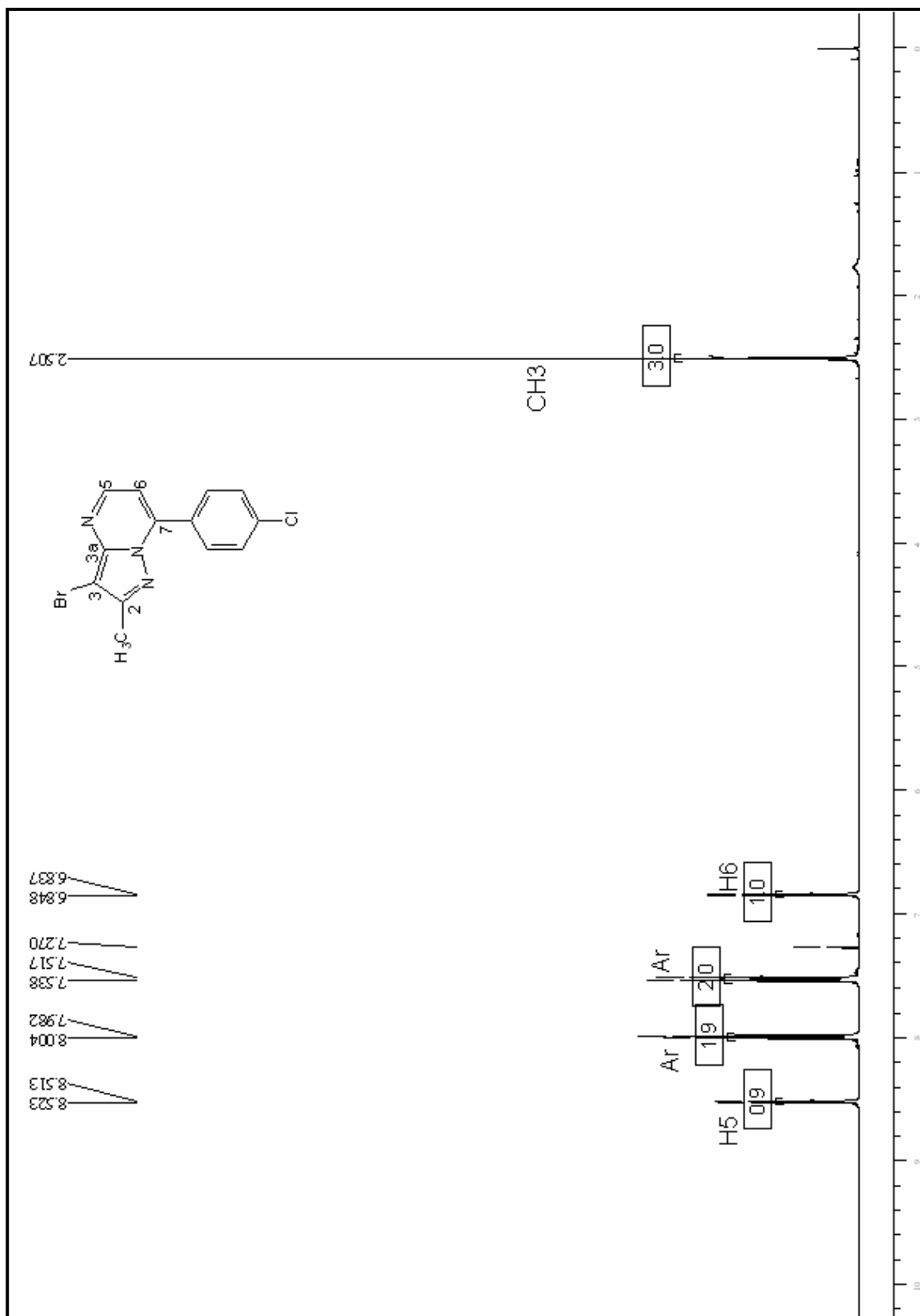


Figura 84: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6d**

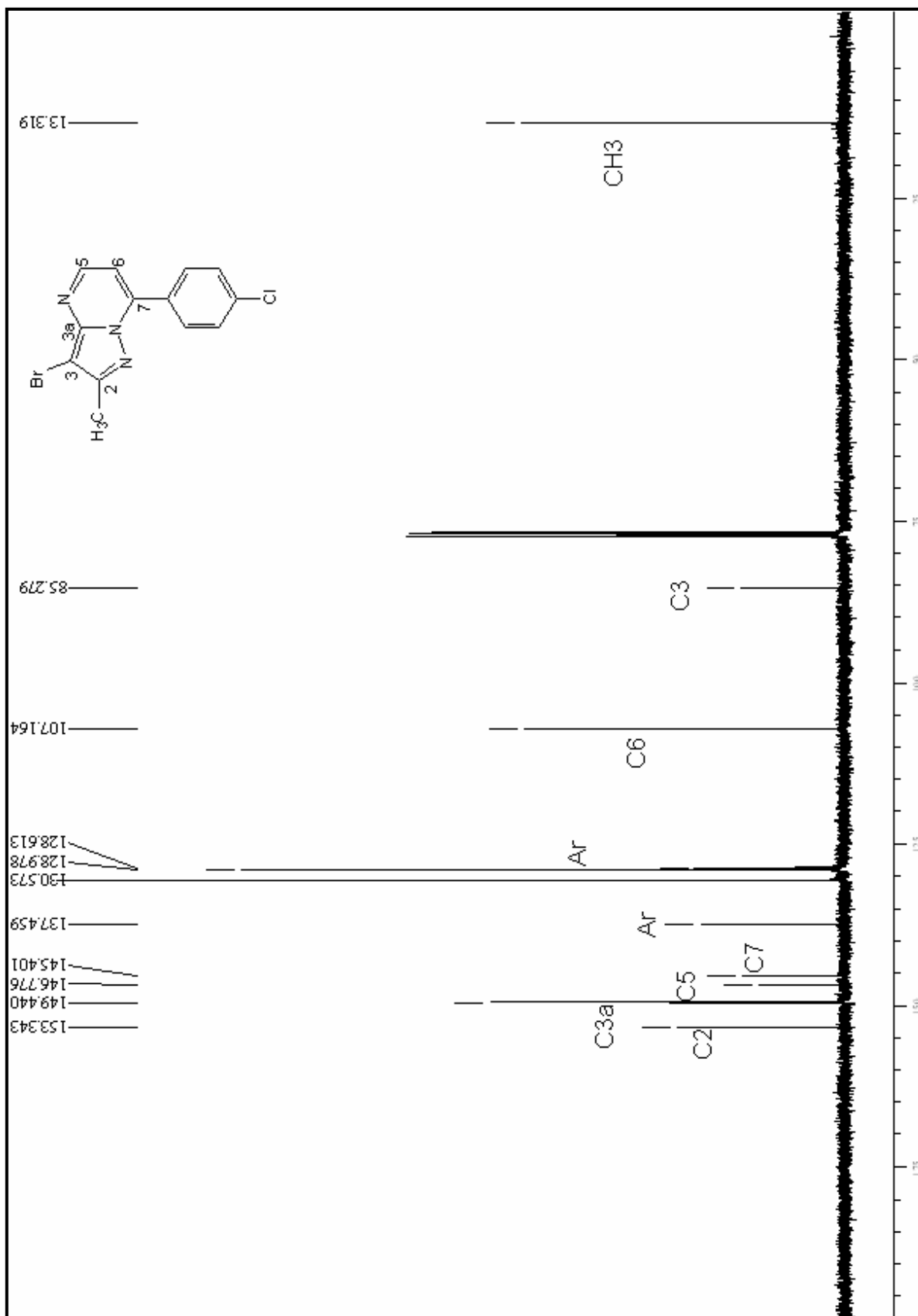
Figura 85: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 6d

Figura 86: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **6e**

Figura 87: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto 6e

Figura 88: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **6f**



Figura 89: Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do composto 6f

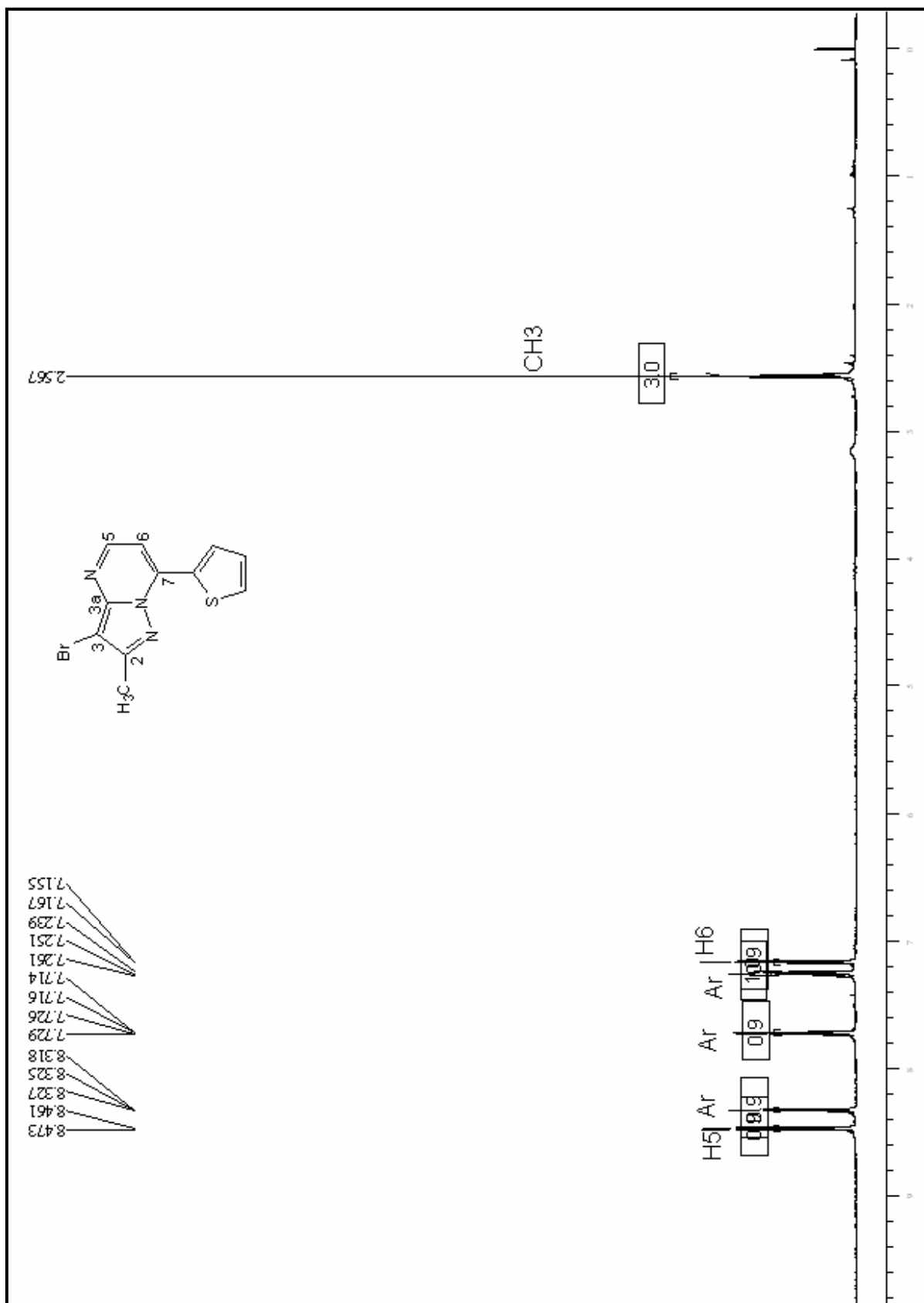


Figura 90: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 6i

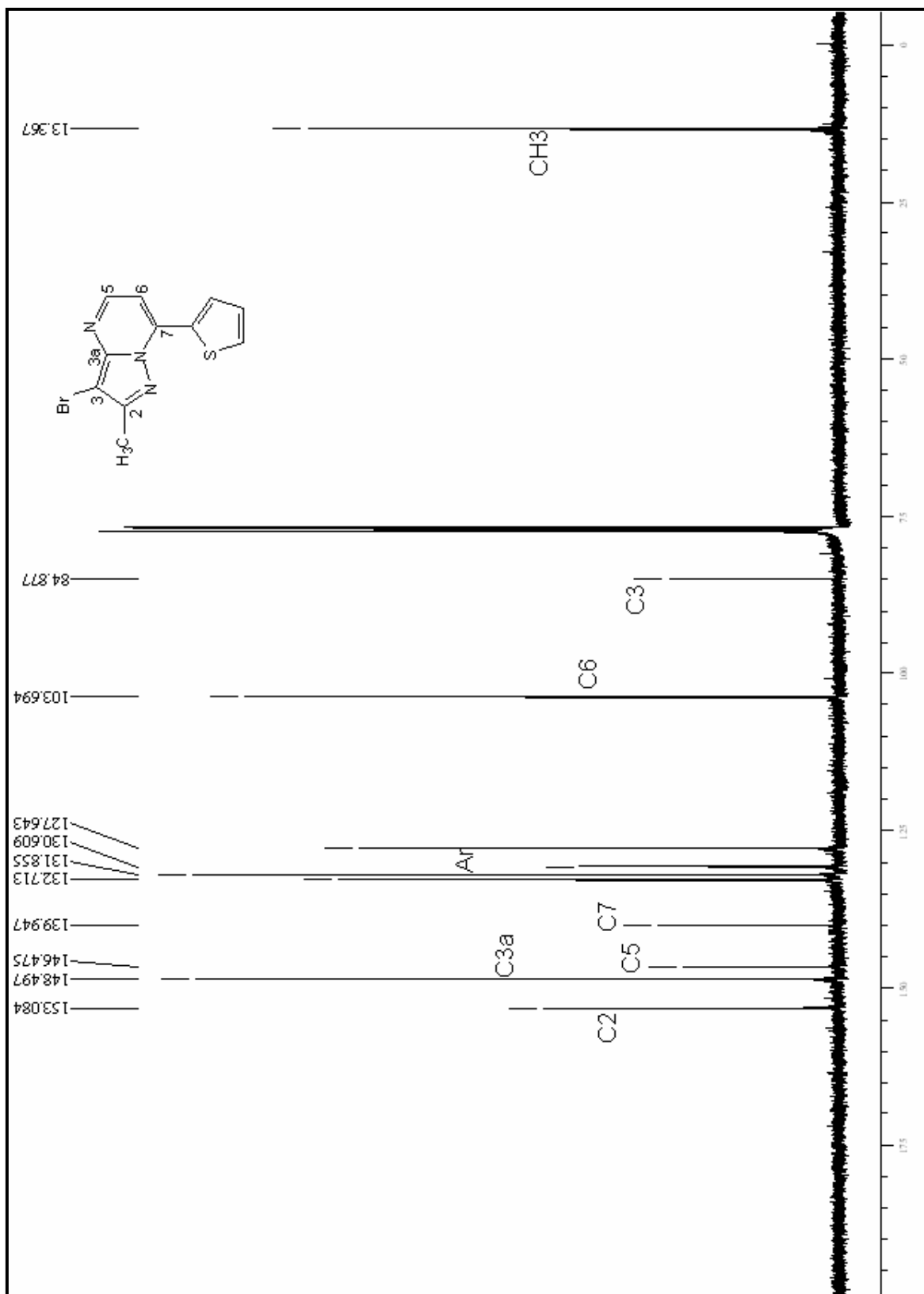


Figura 91: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **6i**

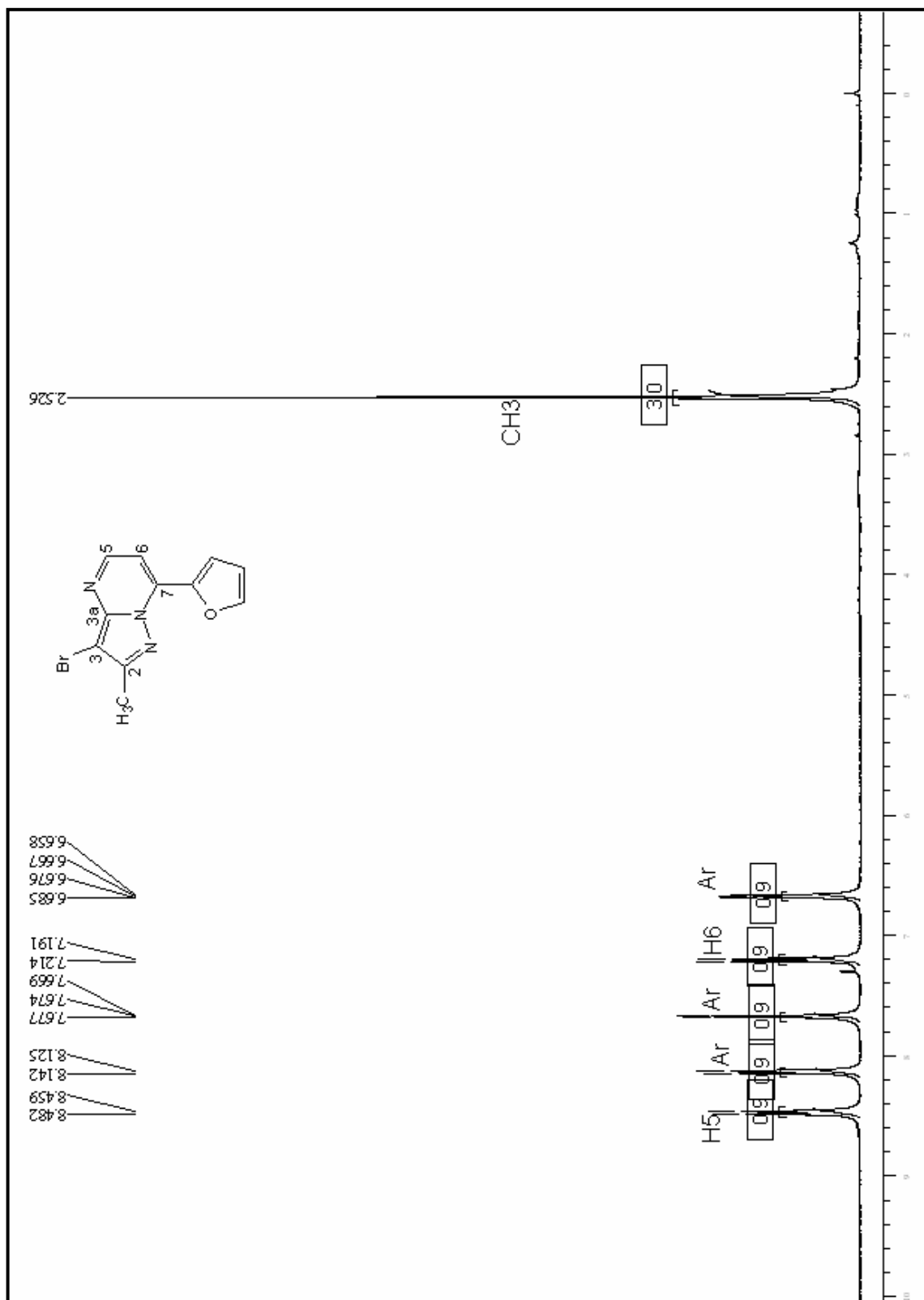


Figura 92: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto 6j

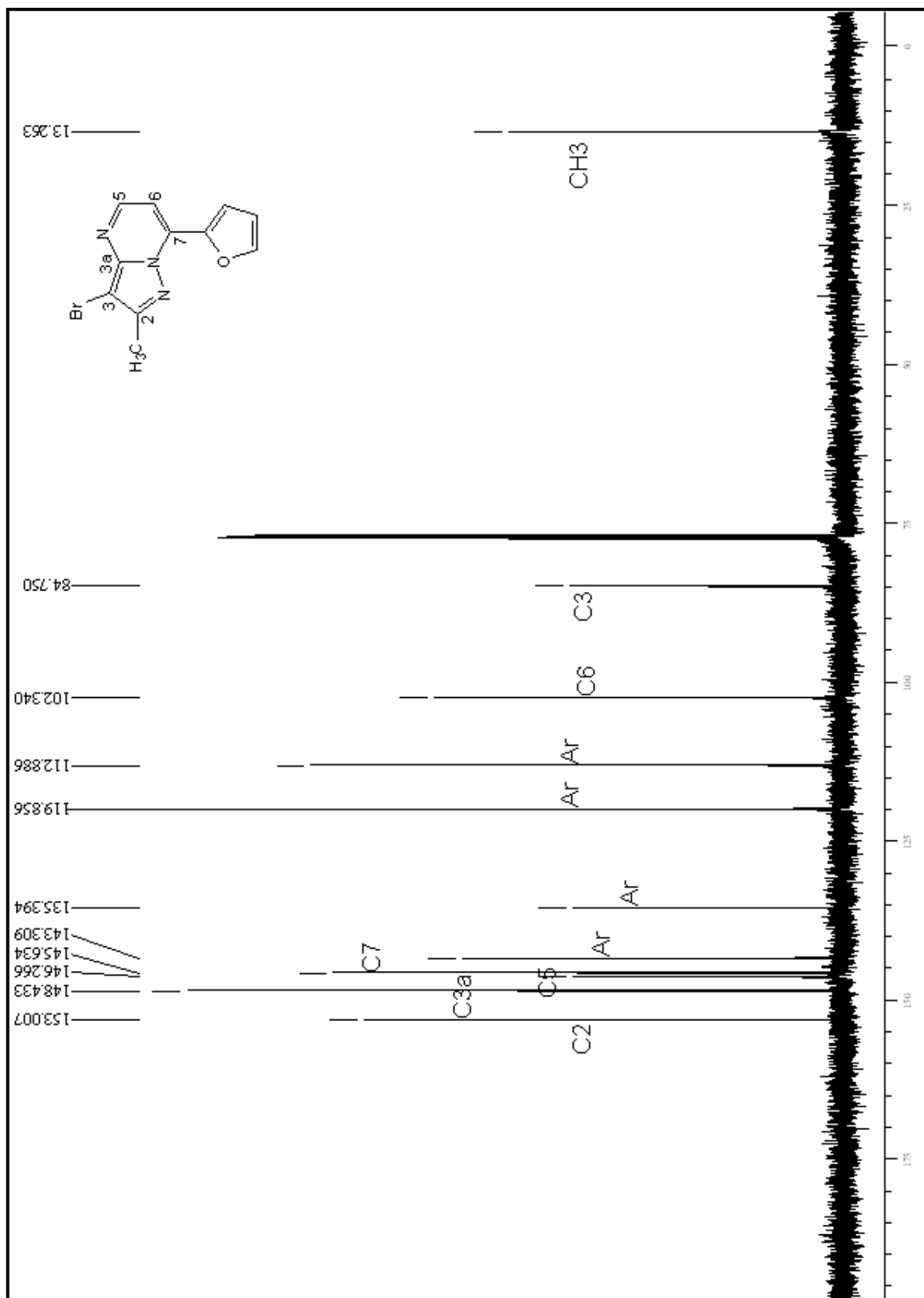
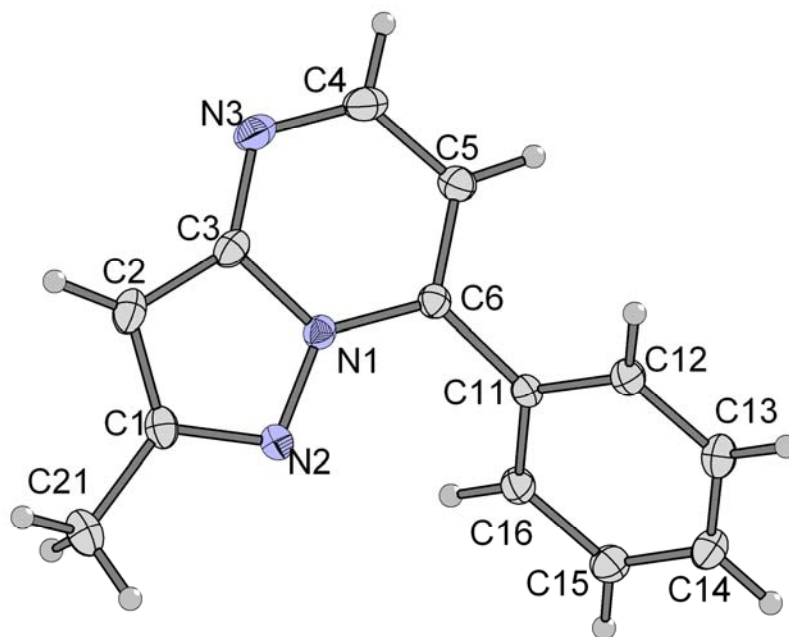
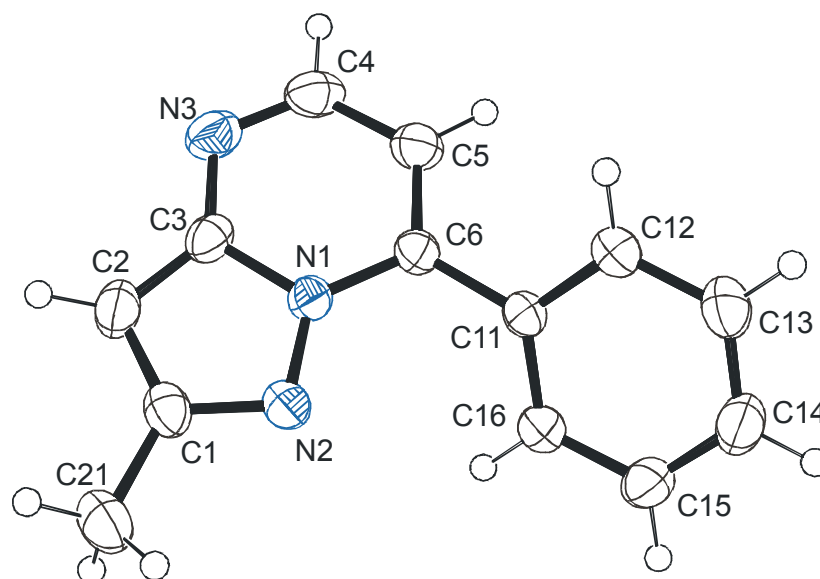
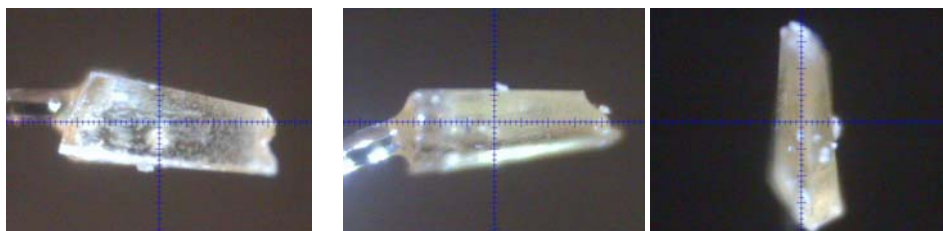
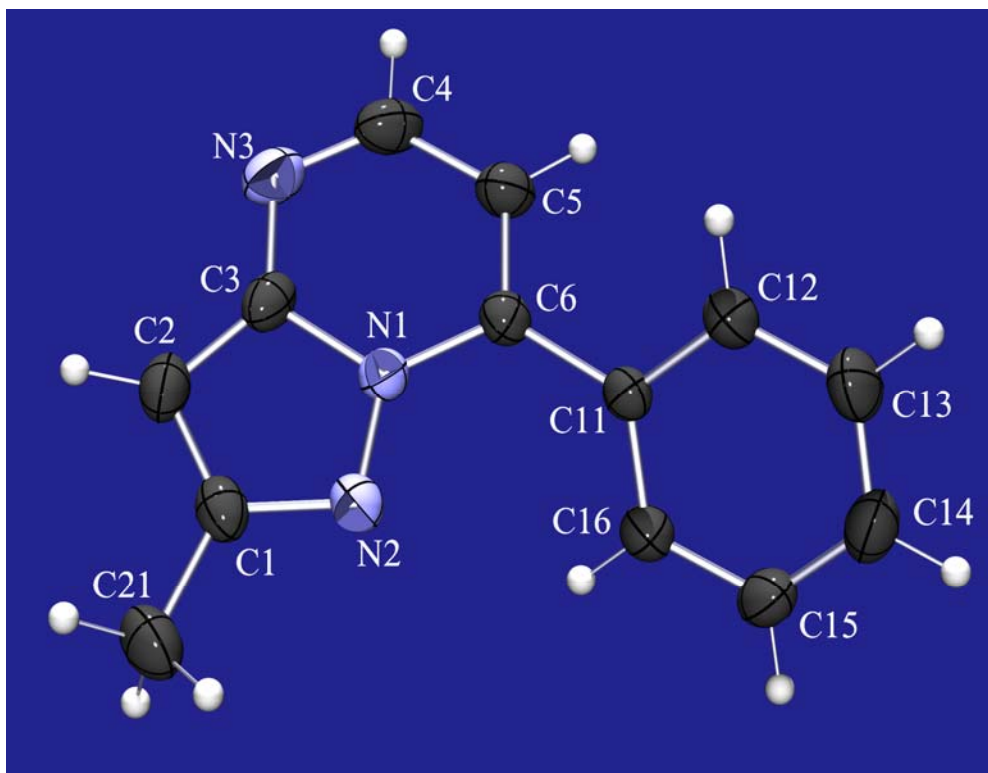


Figura 93: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto 6j

## **ANEXO 3**

**Estrutura de Raio-X do composto 4a**





### Coleta dos Dados de Raio-X

As medidas cristalográficas foram feitas num Bruker Kappa Apex II, equipado com um detector de área tipo CCD, usando radiação Mo K $\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ). A estrutura foi resolvida usando métodos diretos (SHELXS-97), achando todos os átomos de C e N. A estrutura foi refinada nas  $F^2$  (SHELXL-97). Os átomos de H foram achados no mapa de densidade diferencial ( $F_o - F_c$ ) e refinados junto com os átomos para quais eles estão ligados.

Dados cristalinos para o composto **4a**: C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>, M = 209,25, monoclinico, grupo espacial P2<sub>1</sub>/n (N<sup>o</sup> 14 alternativo), a = 3,9095(14) Å, b = 10,516(5) Å, c = 25,498(12) Å,  $\beta = 90,634(10)^\circ$ , V = 1048,2(8) Å<sup>3</sup>, T = 294(2) K, Z = 4, D<sub>c</sub> = 1.326 g/cm<sup>-3</sup>,  $\mu = 0.082 \text{ mm}^{-1}$ ,  $3,74 < \theta < 31,57$ , F(000) = 440; 16595 reflexões medidas, 3429 únicos ( $R_{\text{int}} = 0.0358$ ). Índices de concordância finais:  $wR_2 = 0.1680$  (todos os dados),  $R_1 [I > \sigma(I)] = 0.0668$ , GoF = 1,079. CCDC No. XXXXX



**Tabela 15:** Dados cristalográficos e refinamento da estrutura para o composto **4a**.

Identification code	rb_mm_4a_0m
Empirical formula	C13 H11 N3
Formula weight	209.25
Temperature	294(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2(1)/n
Unit cell dimensions	a = 3.9095(14) Å $\alpha = 90^\circ$ . b = 10.516(5) Å $\beta = 90.634(10)^\circ$ . c = 25.498(12) Å $\gamma = 90^\circ$ .
Volume	1048.2(8) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.326 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	0.082 mm <sup>-1</sup>
F(000)	440
Crystal size	0.7 x 0.2 x 0.1 mm <sup>3</sup>
Theta range for data collection	3.74 to 31.57°.
Index ranges	-5<=h<=5, -15<=k<=15, -37<=l<=37
Reflections collected	16595
Independent reflections	3429 [R(int) = 0.0358]
Completeness to theta = 31.57°	97.5 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	1 and 0.827858
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	3429 / 0 / 146
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.079
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0668, wR2 = 0.1527
R indices (all data)	R1 = 0.1001, wR2 = 0.1680
Largest diff. peak and hole	0.264 and -0.235 e.Å <sup>-3</sup>

**Tabela 16:** Coordenadas atômicas ( $\times 10^4$ ) e parâmetros de substituição de equivalência isotrópica ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto **4a**.

$U(\text{eq})$  is defined as one third of the trace of the orthogonalized  $U_{ij}$  tensor.

	x	y	z	$U(\text{eq})$
N(1)	9057(4)	1756(1)	1513(1)	30(1)
N(2)	7660(4)	2093(1)	1041(1)	33(1)
N(3)	10053(5)	2609(2)	2377(1)	45(1)
C(6)	10369(4)	592(2)	1641(1)	30(1)
C(3)	8864(5)	2743(2)	1880(1)	35(1)
C(5)	11561(5)	466(2)	2147(1)	39(1)
C(4)	11355(5)	1495(2)	2495(1)	44(1)
C(1)	6596(5)	3292(2)	1115(1)	36(1)
C(2)	7271(5)	3733(2)	1619(1)	42(1)
C(11)	10379(4)	-458(2)	1257(1)	29(1)
C(15)	11652(5)	-1338(2)	413(1)	43(1)
C(14)	10550(6)	-2515(2)	579(1)	47(1)
C(13)	9366(6)	-2675(2)	1081(1)	48(1)
C(12)	9282(5)	-1650(2)	1423(1)	38(1)
C(16)	11570(5)	-305(2)	748(1)	36(1)
C(21)	4939(6)	3987(2)	670(1)	48(1)

**Tabela 17:** Comprimentos de ligação [Å] e ângulos [°] para o composto **4a**.

N(1)-N(2)	1.3610(19)		
N(1)-C(6)	1.366(2)		
N(1)-C(3)	1.400(2)	C(6)-N(1)-C(3)	121.75(15)
N(2)-C(1)	1.342(2)	C(1)-N(2)-N(1)	104.01(14)
N(3)-C(4)	1.311(3)	C(4)-N(3)-C(3)	115.87(16)
N(3)-C(3)	1.353(2)	N(1)-C(6)-C(5)	115.79(16)
C(6)-C(5)	1.373(2)	N(1)-C(6)-C(11)	120.98(14)
C(6)-C(11)	1.476(2)	C(5)-C(6)-C(11)	123.21(16)
C(3)-C(2)	1.380(3)	N(3)-C(3)-C(2)	132.73(17)
C(5)-C(4)	1.402(3)	N(3)-C(3)-N(1)	121.94(17)
C(1)-C(2)	1.388(3)	C(2)-C(3)-N(1)	105.32(16)
C(1)-C(21)	1.493(3)	C(6)-C(5)-C(4)	119.89(18)
C(11)-C(12)	1.392(3)	N(3)-C(4)-C(5)	124.74(18)
C(11)-C(16)	1.394(2)	N(2)-C(1)-C(2)	112.84(16)
C(15)-C(14)	1.379(3)	N(2)-C(1)-C(21)	119.07(18)
C(15)-C(16)	1.382(3)	C(2)-C(1)-C(21)	128.08(19)
C(14)-C(13)	1.376(3)	C(3)-C(2)-C(1)	105.88(16)
C(13)-C(12)	1.385(3)	C(12)-C(11)-C(16)	119.54(16)
		C(12)-C(11)-C(6)	118.04(15)
N(2)-N(1)-C(6)	126.23(14)	C(16)-C(11)-C(6)	122.37(16)
N(2)-N(1)-C(3)	111.95(14)	C(14)-C(15)-C(16)	120.40(18)
		C(13)-C(14)-C(15)	120.35(18)
		C(14)-C(13)-C(12)	119.98(19)
		C(13)-C(12)-C(11)	120.06(17)
		C(15)-C(16)-C(11)	119.68(17)

---

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

**Tabela 18:** Parâmetros de substituição anisotrópica ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto **4a**.

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:  $-2 \sum [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U <sup>11</sup>	U <sup>22</sup>	U <sup>33</sup>	U <sup>23</sup>	U <sup>13</sup>	U <sup>12</sup>
N(1)	33(1)	27(1)	29(1)	-1(1)	3(1)	-2(1)
N(2)	35(1)	30(1)	33(1)	3(1)	0(1)	1(1)
N(3)	58(1)	43(1)	33(1)	-7(1)	4(1)	-10(1)
C(6)	31(1)	28(1)	31(1)	2(1)	2(1)	-2(1)
C(3)	40(1)	31(1)	34(1)	-5(1)	9(1)	-7(1)
C(5)	45(1)	38(1)	33(1)	3(1)	-3(1)	-2(1)
C(4)	54(1)	49(1)	30(1)	0(1)	-2(1)	-12(1)
C(1)	34(1)	30(1)	44(1)	5(1)	8(1)	2(1)
C(2)	50(1)	30(1)	48(1)	-5(1)	12(1)	2(1)
C(11)	30(1)	28(1)	30(1)	2(1)	-2(1)	4(1)
C(15)	50(1)	45(1)	33(1)	-3(1)	3(1)	10(1)
C(14)	58(1)	38(1)	46(1)	-12(1)	-6(1)	8(1)
C(13)	61(1)	29(1)	52(1)	0(1)	-3(1)	-4(1)
C(12)	48(1)	31(1)	35(1)	3(1)	2(1)	-2(1)
C(16)	41(1)	31(1)	34(1)	3(1)	3(1)	2(1)
C(21)	47(1)	42(1)	56(1)	10(1)	0(1)	10(1)

**Tabela 19:** Coordenadas de hidrogênio ( $\times 10^4$ ) e parâmetros de substituição isotrópica ( $\text{\AA}^2 \times 10^3$ ) para o composto **4a**.

	x	y	z	U(eq)
H(5)	12504	-301	2259	46
H(4)	12203	1379	2834	53
H(2)	6755	4532	1753	51
H(15)	12456	-1239	73	51
H(14)	10608	-3204	351	57
H(13)	8622	-3470	1191	57
H(12)	8491	-1759	1762	46
H(16)	12306	488	634	43
H(21A)	6633	4472	487	73
H(21B)	3218	4550	802	73
H(21C)	3902	3387	433	73

# **APÊNDICE 1**

## Atividade Antimicrobiana

## 1. Atividade antimicrobiana

### 1.1. Microrganismos

Os microrganismos utilizados nos ensaios para determinação da concentração inibitória mínima provieram de cepas catalogadas pela American Type Culture Collection (ATCC), constituídas de bactérias gram-positivos e gram-negativos, fungos leveduriformes e alga. Os microrganismos sem referência são provenientes de isolado clínico.

#### GRAM-POSITIVOS

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### GRAM-NEGATIVOS

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27850

*Klebsiella pneumoniae* ATCC1003

*Salmonela setubal* ATCC19196

*Escherichia coli* ATCC 25922

#### FUNGOS

*Candida albicans* ATCC 44373

*Candida dubliniensis* BRCD 12

*Candida glabrata* ATCC 10231

*Cryptococcus neoformans* ATCC 28952

*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601

#### ALGA

*Prototheca zoopfi*

## 1.2. Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados foram de procedência Merck ou Difco, sendo a composição dos mesmos descrita abaixo.

### Ágar batata-dextrose

Infusão de batata (desidratada).....	4,0 g
Dextrose.....	20,0 g
Ágar.....	15,0 g
Água destilada q.s.p. ....	1000 mL

Os compostos foram misturados e fervidos para efetuar a solução, seguindo-se esterilização por autoclavação a 120°C por 15 minutos.

### Ágar Mueller-Hinton

Infuso de carne .....	300g
Caseína hidrolisada .....	17,5g
Amido .....	1,5g
Ágar-ágar .....	17,0g
Água destilada .....	1000,0mL

Preparado conforme as instruções do fabricante, reidratar 38,0g em água destilada, em seguida esterilizar em autoclave por 15 minutos a 120°C.

### Ágar sabouraud

Peptona .....	10,0g
Dextrose .....	40,0g
Ágar-ágar .....	15,0g
Água destilada .....	1000,0mL

Reidratou-se em 1000 mL de água destilada 65,0g do meio, com aquecimento até a fusão do ágar. Posteriormente cerca de 5,0 mL foram distribuídos em tubos de ensaio 16X150mm e esterilizados em autoclave a 120°C por 20 minutos. Após a esterilização, os tubos foram mantidos inclinados até a sua solidificação.

### Caldo Mueller-Hinton

Infuso de carne .....	300g
-----------------------	------



Caseína hidrolisada .....	17,5g
Amido .....	1,5g
Água destilada .....	1000,0mL

Preparado conforme as instruções do fabricante, reidratar 38,0g em água destilada, em seguida esterilizar em autoclave por 15 minutos a 120°C.

#### Caldo RPMI-1640

RPMI-1640 em pó.....	10,0 g
Carbonato de sódio.....	2,0 g
Tampão MOPS.....	34,53 g
Água destilada q.s.p. ....	1000 mL

Foi medido 5% menos de água destilada do que o volume final desejado. O meio foi adicionado entre 15° a 30°C na água, agitando-se suavemente; o carbonato de sódio e o restante do volume de água foram adicionados, agitando-se até completa dissolução. O pH foi ajustado até 7,0 pela adição de hidróxido de sódio 1N. O meio foi esterilizado imediatamente por filtração.

### **1.3. Avaliação da atividade antimicrobiana**

Técnica M27-A2 (NCCLS) de microdiluição em caldo para avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) frente a fungos leveduriformes

A técnica M27-A2 é utilizada na determinação da suscetibilidade de leveduras a agentes antifúngicos, sendo realizado em duplicata e utilizando como padrão um controle de crescimento positivo. O teste foi adaptado para bactérias, alterando-se apenas o meio de cultura usado - Mueller-Hinton, e o tempo e a temperatura de incubação da placa - 24h a 35°C.

#### **1.3.1. Preparação do inóculo**

As leveduras foram incubadas em tubos com ágar Sabouraud a 30°C durante 24h. Após decorrido este período, foi preparada uma suspensão dos microrganismos em salina 0,85% estéril ajustando-se a turvação visualmente de acordo com o tubo nº 0,5 da escala MacFarland. A suspensão foi, então, diluída a 1:50 no meio RPMI-1640,

pipetando-se 0,01mL da suspensão em 0,5 mL do meio, caracterizando um inóculo prévio. Esse inóculo prévio foi novamente diluído 1:20 no meio, utilizando-se 0,1mL do inóculo em 1,9mL do meio.

A preparação do inóculo das espécies bacterianas foi realizada da mesma forma, substituindo-se apenas os meios ágar Sabouraud e RPMI-1640 por ágar Müeller-Hinton e caldo Müeller-Hinton, respectivamente.

### **1.3.2. Preparação das amostras para a avaliação da atividade antimicrobiana**

Uma alíquota das amostras foram dissolvidas em 1 mL uma mistura de DMSO:MEIO (1:7) de maneira a se obter uma solução estoque a 5,12mg/mL.

A solução estoque foi diluída no meio de cultura de maneira a se obter as concentrações intermediárias de 640-320-160-80-40-20-10-5µg/mL, de maneira que as concentrações finais testadas fossem 320-160-80-40-20-10-5-2.5µg/mL.

### **1.3.3. Inoculação no meio de cultura**

Cada atividade da placa de microdiluição já contendo 0,1mL da concentração do antifúngico foi inoculada com 0,1mL da suspensão preparada conforme descrito acima. Esta etapa diluía a concentração da droga, a densidade do inóculo e o diluente (quando usado) às concentrações finais desejadas para o teste. A cavidade do controle positivo deve conter 0,1mL do inóculo e 0,1mL meio e do diluente na mesma proporção em que este foi encontrado na cavidade contendo a maior concentração do agente antifúngico, mas sem a presença do mesmo.

### **1.3.4. Incubação**

As placas de microdiluição foram incubadas a 25°C sem agitação durante 46 a 50 horas para fungos leveduriformes e 35°C durante 24 horas para bactérias, ou até que o crescimento do controle positivo pudesse ser evidenciado.

### **1.3.5. Leitura do teste**

A leitura do teste foi realizada após transcorrido o período de incubação preconizado por cada metodologia para cada tipo de microrganismo (fungos leveduriformes ou bactérias). A leitura foi realizada mediante comparação visual com o controle de crescimento positivo, determinando-se como CIM a menor concentração da(s) substância(s) testadas onde não foi visualizado crescimento do microrganismo.

#### **1.4. Determinação da concentração bactericida ou concentração fungicida**

Para se determinar a concentração bactericida mínima (CBM) ou concentração fungicida mínima (CFM) dos compostos, fez-se repiques das diluições em que não havia crescimento de microrganismos em placa de Petri contendo ágar Müeller-Hinton para bactérias e ágar Sabouraud para fungos. As placas foram incubadas de acordo com o método adotado. Após período de incubação, verificou-se qual a menor concentração em que os repiques não apresentavam crescimento microbiano, determinando assim a CBM, nos testes antibacterianos ou CFM, nos testes antifúngicos.

## **RESULTADOS**

Nos últimos dez anos, o uso de novas e mais efetivas drogas antimicrobianas e imunossupressoras aumentaram a sobrevida dos pacientes com diversas enfermidades. A pesquisa de compostos biologicamente ativos vem crescendo cada vez mais, na busca da cura de muitos males tais como diversas doenças infecciosas causadas por fungos e bactérias.

As técnicas empregadas para avaliação da atividade antimicrobiana de compostos são difusão em ágar, bioautografia e teste de suscetibilidade determinado pelo National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS)<sup>58</sup>.

O NCCLS padronizou o teste de suscetibilidade, técnica de microdiluição em caldo, e veio tornar a execução e leitura mais fáceis, com maior praticidade e menor custo, tornando-se um método de referência.

Alguns fatores devem ser levados em consideração para a determinação da metodologia a ser utilizada como: o método de ensaio, o inóculo, o meio de crescimento, o tempo de leitura do teste, os microrganismos e ainda a solubilidade dos compostos a serem testados<sup>57</sup>. A atividade antimicrobiana foi avaliada baseada na concentração inibitória mínima (CIM) de acordo com os procedimentos NCCLS M27-A2<sup>58</sup> para fungos e alga e para bactérias de acordo com NCCLS M7-A4<sup>59</sup>. Desta forma, a atividade antimicrobiana *in vitro* para as pirazolo[1,5-a]pirimidinas foi avaliada frente a uma série de microrganismos patogênicos incluindo bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27850, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1003, *Salmonella setubal* ATCC 19196, *Escherichia coli* ATCC25922), fungos (*Candida albicans* ATCC 44373, *Candida dubliniensis* CBR 7987, *Candida glabrata* ATCC 10231, *Cryptococcus neoformans* var. gattii (sorotipo D) ATCC 28952, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601) e alga (*Prototheca zopfii* isolado clínico) de acordo com o método de microdiluição em caldo.

Nas Tabelas 20 e 21 estão reportadas as concentrações das pirazolo[1,5-a]pirimidinas necessárias para inibir o crescimento dos diferentes microrganismos utilizados nos ensaios.

**Tabela 20:** Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de pirazolo[1,5-*a*]pirimidinas ( CIM/CBM -  $\mu\text{gml}^{-1}$ ):

Comp.	CIM <sup>a</sup> / CBM <sup>b</sup>				
	S.a. <sup>c</sup>	K.p. <sup>d</sup>	P.a. <sup>e</sup>	E.c. <sup>f</sup>	S.s. <sup>g</sup>
<b>2a</b>	160/>320	160/>320	320/320	320/>320	320/>320
<b>2b</b>	>320	160/>320	>320	>320	>320
<b>2d</b>	>320	>320	>320	>320	>320
<b>4a</b>	>320	320/>320	>320	>320	>320
<b>4b</b>	>320	>320	320/>320	>320	>320
<b>4c</b>	320/>320	>320	>320	>320	320/>320
<b>4d</b>	>320	>320	>320	>320	>320
<b>4e</b>	320/>320	320/>320	320/>320	320/>320	320/>320
<b>4f</b>	>320	>320	>320	>320	>320
<b>4i</b>	320/>320	320/>320	320/320	320/>320	320/>320
<b>4j</b>	>320	>320	320/>320	>320	>320
<b>5a</b>	320/320	160/>320	160/320	160/>320	320/>320
<b>5b</b>	>320	>320	320/>320	>320	>320
<b>6a</b>	80/320	160/>320	160/>320	160/>320	320/>320
<b>6b</b>	>320	160/>320	>320	320/>320	320/320
<b>6d</b>	80//>320	160/>320	>320	160/>320	>320
I <sup>h</sup>	0,06	< 4,0	2,0	0,06	< 4,0

<sup>a</sup> Concentração Inibitória Mínima <sup>b</sup> Concentração Bactericida Mínima

Microrganismos: <sup>c</sup>*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, <sup>d</sup>*Klebsiella pneumoniae* ATCC 1003, <sup>e</sup>*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27850, <sup>f</sup>*Escherichia coli* ATCC25922, <sup>g</sup>*Salmonella setubal* ATCC 19196

Controle: <sup>h</sup>imipenen

**Tabela 21:** Avaliação da atividade antifúngica *in vitro* de pirazolo[1,5-a]pirimidinas (CIM/CFM -  $\mu\text{gml}^{-1}$ ):

Comp.	C. a. <sup>c</sup>	C. d. <sup>d</sup>	CIM <sup>a</sup> / CFM <sup>b</sup>		C. n. <sup>g</sup>	S.c. <sup>h</sup>
			C. g. <sup>e</sup>	P. z. <sup>f</sup>		
<b>2a</b>	320/>320	160/160	>320	320/160	160/320	320/>320
<b>2b</b>	>320	320/320	>320	320/>320	320/320	>320
<b>2d</b>	>320	160/160	320/>320	>320	>320	320/>320
<b>4a</b>	320/>320	>320	>320	>320	160/>320	>320
<b>4b</b>	>320	320/>320	>320	320/>320	320/>320	>320
<b>4c</b>	>320	320/>320	320/320	>320	160/160	>320
<b>4d</b>	>320	>320	>320	>320	>320	>320
<b>4e</b>	>320	320/>320	>320	>320	>320	320/>320
<b>4f</b>	>320	>320	>320	>320	>320	>320
<b>4i</b>	>320	320/>320	>320	>320	>320	>320
<b>4j</b>	>320	160/320	>320	>320	80/160	320/>320
<b>5a</b>	320	320/>320	320	>320	320	320/>320
<b>5b</b>	>320	320/>320	320/>320	320/>320	>320	320/>320
<b>6a</b>	>320	160/160	>320	320/320	320/320	>320
<b>6b</b>	>320	>320	>320	320/>320	320/320	>320
<b>6d</b>	>320	>320	>320	>320	>320	>320
F <sup>i</sup>	4,0	2,0	8,0		2,0	1,0
A <sup>j</sup>				0,5		

<sup>a</sup> Concentração Inibitória Mínima <sup>b</sup> Concentração Fungicida Mínima  
 Microrganismos: <sup>c</sup>*Candida albicans* ATCC 44373; <sup>d</sup>*Candida dubliniensis* CBS 7987; <sup>e</sup>*Candida glabrata* ATCC 10231; <sup>f</sup>*Prototheca zopfii*; <sup>g</sup>*Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (sorotype D) ATCC 28952; <sup>h</sup>*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601  
 Controle: <sup>i</sup>fluconazol, <sup>j</sup>anfotericina B

Os compostos evidenciaram moderada atividade antibacteriana. Após análise dos resultados verificou-se que apresentam apenas atividade bacteriostática.

Os compostos **6a** e **6d** apresentaram-se ativos frente a bactérias gram-positiva. A concentração mínima dos compostos **6a** e **6d** necessária para inibir *Staphylococcus aureus* foi 80 $\mu\text{g/ml}$ .

Ao compararmos os compostos **6a**, **6d** e **4d**; podemos verificar que o composto **4d**, o qual não apresenta o substituinte Br no carbono C-3, não foi sensível para os diferentes microrganismos testados. Desta forma podemos sugerir que este substituinte é responsável pela sensibilidade conferida os compostos **6a** e **6d**.

Os compostos mostraram-se pouco ativos frente a fungos, e em alguns casos foram inativos. Apenas o composto **4j** foi ativo para *Cryptococcus neoformans*. A concentração inibitória necessária para inibir o seu crescimento foi de 80 $\mu\text{g/ml}$ .