



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

**SÍNTESE E BIOATIVIDADE DE SISTEMAS
PIRAZOLIL-PIRIDÍNICOS POLI-HETEROCÍCLICOS TRIALOMETIL
SUBSTITUÍDOS**

TESE DE DOUTORADO

SUSIANE CAVINATTO MEIRA

SANTA MARIA-RS, BRASIL

2015

SÍNTESE E BIOATIVIDADE DE SISTEMAS
PIRAZOLIL-PIRIDÍNICOS POLI-HETEROCÍCLICOS TRIALOMETIL
SUBSTITUÍDOS

ELABORADA POR

SUSIANE CAVINATTO MEIRA

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do Grau de **Doutora em Química**
ao Curso de Doutorado do Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Maria - RS.
Orientador: Prof. Dr. Helio Gauze Bonacorso

SANTA MARIA-RS, BRASIL.

2015

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
APROVA a Tese de Doutorado

SÍNTESE E BIOATIVIDADE DE SISTEMAS
PIRAZOLIL-PIRIDÍNICOS POLI-HETEROCÍCLICOS TRIALOMETIL
SUBSTITUÍDOS

ELABORADA POR:

SUSIANE CAVINATTO MEIRA

Como requisito parcial para obtenção do Grau de **DOUTORA** em **QUÍMICA**.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Helio Gauze Bonacorso - Orientador - UFSM

Prof. Dr. Helmoz Roseniaim Appelt - UNIPAMPA

Prof.^a Dr.^a Ionara Irion Dalcol - UFSM

Prof.^a Dr.^a Michelle Budke Costa - UTFPR

Prof. Dr. Oscar Endrigo Dorneles Rodrigues - UFSM

Santa Maria-RS, 2015.

¹*The heavens declare the glory of God;
And the firmament shows His handiwork.*

²*Day unto day utters speech,
And night unto night reveals knowledge.*

³*There is no speech nor language
Where their voice is not heard.*

⁴*Their line has gone out through all the earth,
And their words to the end of the world.
In them He has set a tabernacle for the sun,*

⁵*Which is like a bridegroom coming out of his chamber,
And rejoices like a strong man to run its race.*

⁶*Its rising is from one end of heaven,
And its circuit to the other end;
And there is nothing hidden from its heat.*

⁷*The law of the LORD is perfect, converting the soul;
The testimony of the LORD is sure, making wise the simple;*

⁸*The statutes of the LORD are right, rejoicing the heart;
The commandment of the LORD is pure, enlightening the eyes;*

⁹*The fear of the LORD is clean, enduring forever;
The judgments of the LORD are true and righteous altogether.*

¹⁰*More to be desired are they than gold,
Yea, than much fine gold;
Sweeter also than honey and the honeycomb.*

¹¹*Moreover by them Your servant is warned,
And in keeping them there is great reward.*

¹²*Who can understand his errors?
Cleanse me from secret faults.*

¹³*Keep back Your servant also from presumptuous sins;
Let them not have dominion over me.
Then I shall be blameless,
And I shall be innocent of great transgression.*

¹⁴*Let the words of my mouth and the meditation of my heart
Be acceptable in Your sight,
O LORD, my strength and my Redeemer.*

Psalm 19 (New King James Version)

Ao João Lindolfo Meira, meu esposo,
pelo carinho, pela calma e pelo apoio durante
meu doutoramento.

Aos meus Pais Sérgio e Jonara, e meu irmão Guilherme, que sempre acreditaram e ajudaram em minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Helio Gauze Bonacorso,
pela oportunidade e orientação durante o
trabalho desenvolvido.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas do “Lab. 2113 e 2114”, ao longo desses seis anos, pela amizade, pelo chimarrão, pelas jantas, cafés, músicas, pela companhia em congressos, pelas divagações, pelas contribuições em artigos, pelos seminários infinitos.

Aos colegas operadores do RMN pelo desempenho no desenvolvimento dos espectros.

Ao colega Alexandre R. Meyer pela realização dos cálculos teóricos, complementando este trabalho.

À colega Aniele pelas análises de difração de Raios-X.

À colega Maiara Moraes pelas atividades microbiológicas realizadas juntamente com o LAPEMI.

Ao Grupo de pesquisa NPPN pela realização das atividades AChE.

Aos colegas dos outros Laboratórios integrantes do Grupo NUQUIMHE.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, pelo serviço disponibilizado.

Ao chefe Prof. Dr. José Neri Gottfried Paniz, aos professores e aos colegas do Departamento de Química que sempre apoiaram a continuidade dos meus estudos.

À CNPq, CAPES e FATEC, pelo auxílio financeiro na compra de materiais permanentes e reagentes para a pesquisa.

RESUMO

SÍNTESE E BIOATIVIDADE DE SISTEMAS PIRAZOLIL-PIRIDÍNICOS POLI-HETEROCÍCLICOS TRIALOMETIL SUBSTITUÍDOS

Autora: Msc. Susiane Cavinatto Meira

Orientador: Dr. Helio Gauze Bonacorso

A presente tese descreve os estudos desenvolvidos empregando o reagente hidrazida 6-hidrazinonicotínica para a síntese de novos sistemas pirazolil-piridínicos trialometilados utilizando as 4-alcóxi-4-alkuil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alkuen-2-onas [CX₃C(O)CHCROCH₃, onde X= Cl, F; R= CH₃, C₆H₅, 4-CH₃C₆H₄, 4-OCH₃C₆H₄, Fur-2-ila].

Em quatro etapas reacionais os compostos 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas foram isolados após o tratamento de seus respectivos metil-estéres com hidrazina hidratada. Em vista do potencial sintético destas moléculas, posteriormente, promoveram-se reações de ciclocondensação do tipo [3 + 2] e do tipo [4 + 1] para o desenvolvimento de diferentes sistemas poli-heterocíclicos.

Inicialmente, os sistemas contendo *bis*-pirazóis trialometilados foram sintetizados em rendimentos de 67 – 91% e em uma etapa posterior foram submetidos a reações de desidratação intramolecular em meio piridina/benzeno e cloreto de tionila. Ainda, neste trabalho é mostrada a rota sintética dos sistemas 5-alkuil(aril)-1,3,4-oxadiazol-pirazolil-piridínico, 2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-pirazolil-piridínico. Na sequencia, para exemplificar a possibilidade de obtenção de diferentes heterociclos, é descrito o exemplo da conversão de 1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-tiona a 2*H*-1,2,4-triazol-3(4*H*)-tiona. Ainda, descreve a síntese de 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina, quando o reagente hidrazida 6-hidrazinonicotínica reage com dissulfeto de carbono em meio básico.

Em continuação do estudo, é demonstrada a síntese do *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinamidas obtidas quando pirazolil-nicotinoidrazidas reagem com hexano-2,5-diona. Finalmente, são descritas reações de condensação no composto 6-[3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas utilizando aldeídos arílicos substituídos ou acetofenona.

Na segunda parte desse trabalho, os compostos sintetizados foram avaliados *in vitro* quanto à atividade antimicrobiana determinando a concentração mínima inibitória (CIM) e a concentração letal mínima (CLM) através do método por microdiluição em caldo frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e a fungos de interesse clínico; quanto à sua atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE); e quando a seu potencial antioxidante pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e sua capacidade antioxidante total pelo método de fosfomolibdênio.

A caracterização estrutural dos compostos foi realizada por Espectroscopia de RMN de ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ^{19}F , COSY 90, DEPT 135, HSQC, Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-ESI-MS/MS), Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HMRS), Espectroscopia de Infravermelho (IV), Difração de Raios-X e suas purezas foram determinadas via Análise Elementar CHN.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA
SANTA MARIA, MARÇO – 2015.**

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOACTIVITY OF TRIHALOMETHYLATED PYRAZOLYL-PYRIDINE SUBSTITUTED SYSTEMS

Author: Msc. Susiane Cavinatto Meira

Advisor: Dr. Helio Gauze Bonacorso

This thesis describes the studies carried out using the reagent 6-hydrazinonicotinic hydrazide for the synthesis of new trihalomethylated pyrazolyl-pyridine systems using the 4-alkoxy-4-alkyl(aryl/heteroaryl)-1,1,1-trihaloalk-3-en-2-ones [CX₃C(O)CH=CROCH₃, in which R = CH₃, C₆H₅, 4-CH₃C₆H₄, 4-OCH₃C₆H₄, 2-Furyl and X = F, Cl].

In four reactional steps, compounds 6-[3-alkyl(aryl)-5-trifluoromethyl-1*H*-pyrazol-1-yl]nicotinohydrazides were isolated after the treatment of their respective methyl nicotinate hydrochlorides with hydrazine hydrate. Because of the synthetic potential of these molecules, afterwards, type [3 + 2] and type [4 + 1] cyclocondensation reactions were carried out to develop various polyheterocyclic systems.

Initially, systems containing trihalomethylated *bis*-pyrazolyl-pyridine were synthesized in yields of 67 – 91% and in a following step, are subjected to intramolecular dehydration reactions in the midst pyridine/benzene and thionyl chloride. Furthermore, this study shows the synthetic routes of systems 5-alkyl(aryl)-1,3,4-oxadiazolyl-pyrazolyl-pyridinic, 2-thione-3*H*-1,3,4-oxadiazolyl-pyrazolyl-pyridinic.

Subsequently, to illustrate the possibility of obtaining different heterocycles, we describe an example of the conversion of 1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thione into 2*H*-1,2,4-triazole-3(4*H*)-thione. Still, we describe the synthesis of 6-(2-thione-3*H*-1,3,4-oxadiazole-5-yl)-3(4*H*)-thioxo-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]pyridine, when reagent 6-hydrazinonicotinic hydrazide reacts with carbon disulfide under basic conditions.

In continuation of the study, we demonstrate the synthesis of *N*-(2,5-dimethyl-1*H*-pyrrole-1-yl)-6-[3-alkyl(aryl/heteroaryl)-5-trifluoromethyl-1*H*-pyrazole-1-yl]nicotineamides, obtained when pyrazolyl-nicotinohydrazides reacts with hexane-2,5-dione. Finally, cyclocondensation reactions using aryl-aldehydes or 1-phenylethanone in

compounds 6-[3-alkyl(aryl)-5-trifluoromethyl-1*H*-pyrazol-1-yl]nicotinohydrazides are described.

In the second part of this study, the synthesized compounds were evaluated *in vitro* for antimicrobial activities by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal lethal concentration (MLC) through broth microdilution against Gram-positive and Gram-negative bacteria and fungi of clinical interest; for their inhibitory activity of the acetylcholinesterase enzyme (AChE); for the antioxidant potential by the method of free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and the total antioxidant capacity (TAC) of compounds was evaluated by the phosphomolybdenum assay.

The compounds were characterized by ^1H , ^{13}C { ^1H }, ^{19}F , COSY 90, DEPT 135, HSQC RMN Spectroscopy, Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS), Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-ESI-MS/MS), Infrared Spectroscopy (IR), X-Ray Diffraction and their purities determined by CHN Elemental Analysis.

**FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA
POST-GRADUATE COURSE IN CHEMISTRY
DOCTORAL THESIS IN CHEMISTRY
SANTA MARIA, MARCH – 2015.**

ÍNDICE

| | |
|---|---------------|
| LISTA DE FIGURAS..... | xx |
| LISTA DE TABELAS..... | xxxiii |
| LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS..... | xxxv |
| RESUMO..... | ix |
| ABSTRACT..... | xi |
| 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS..... | 1 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA..... | 13 |
| 2.1 Síntese de 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas..... | 14 |
| 2.2 Síntese de 5-Hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonil-pirazóis Trialometil Substituídos e Metodologias de Desidratação Intramolecular..... | 18 |
| 2.3 Síntese de Ácido Nicotínico e Ésteres Derivados..... | 23 |
| 2.4 Síntese de carboidrazidas e semicarbazonas..... | 25 |
| 2.5 Síntese de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos e 1,2,4-triazóis..... | 28 |
| 2.6 Síntese de pirróis 2,5-dissubstituídos..... | 36 |
| 3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS..... | 40 |
| 3.1 Apresentação dos Compostos..... | 43 |
| 3.1.1 Numeração e nomenclatura dos compostos..... | 43 |
| 3.2 Síntese de Acetais..... | 44 |
| 3.3 Síntese de 4-Alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas (2a-e , 3a-b)..... | 45 |
| 3.4 Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il-1-carbonil] piridinas (4a-c). | 46 |
| 3.5 Síntese de Ácidos 6-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]nicotínicos (5a-c)..... | 46 |
| 3.6 Reação de Esterificação dos Ácidos pirazolil-nicotínicos..... | 47 |
| 3.7 Síntese de 6-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] nicotinoidrazidas (7a-c)..... | 48 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.7.1 | Identificação espectroscópica por RMN dos compostos (7a-c)..... | 50 |
| 3.8 | Reações de ciclocondensação do tipo [3+2] da função hidrazida..... | 53 |
| 3.8.1 | Síntese de 2-(3-aryl-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-(5-hidróxi-4,5-diidro)-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina..... | 53 |
| 3.8.2 | Identificação Espectroscópica dos compostos 8 – 9 | 54 |
| 3.8.2.1 | RMN ¹ H dos compostos 8 – 9 | 55 |
| 3.8.2.2 | RMN ¹³ C { ¹ H} dos compostos 8 – 9 | 57 |
| 3.8.3 | Difração de Raios-X do composto 9 | 60 |
| 3.8.4 | Síntese de 2-(3-alkyl(aryl/heteroaryl)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-alkyl(aryl/heteroaryl)-5-trialometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10 e 11)..... | 60 |
| 3.8.5 | Identificação Espectroscópica dos Compostos 10 – 11 | 63 |
| 3.8.5.1 | RMN ¹ H, ¹³ C { ¹ H} dos compostos 10 | 63 |
| 3.8.5.2 | RMN ¹ H e ¹³ C { ¹ H} dos compostos 11 | 65 |
| 3.8.5.3 | RMN ¹⁹ F dos compostos 10 e 11 | 69 |
| 3.8.6 | Difração de Raios-X do composto 10aa e 11aa | 69 |
| 3.8.7 | Mecanismo proposto para a síntese de 2-[3-alkyl(aryl/heteroaryl)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[3-alkyl(aryl)-5-trialometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (10, 11)..... | 71 |
| 3.9 | Síntese de 2-[3-Ary(heteroaryl)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[3-alkyl(aryl)-5-trialometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (12, 13)..... | 72 |
| 3.9.1 | Identificação Espectroscópica dos Compostos 12 – 13 | 74 |
| 3.9.1.1 | RMN ¹ H, ¹³ C, { ¹ H}..... | 74 |
| 3.9.2 | Mecanismo geral proposto para desidratação dos compostos 9, 12ba e 13bd utilizando cloreto de tionila..... | 78 |
| 3.10 | Reações de ciclocondensação do tipo [4 +1] da função hidrazida..... | 79 |
| 3.10.1 | Síntese de 2-[3-Alkyl(aryl)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[5-alkyl(aryl)-1,3,4-oxadiazol-2-il]piridinas (14)..... | 79 |
| 3.10.2 | Identificação Espectroscópica de 2-[3-Alkyl(aryl)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[5-alkyl(aryl)-1,3,4-oxadiazol-2-il]piridinas (14)..... | 81 |
| 3.10.2.1 | RMN ¹ H, ¹³ C { ¹ H}, ¹⁹ F, COSY, HSQC..... | 81 |
| 3.10.2.2 | Espectrometria de Massas..... | 85 |

| | | |
|------------|---|-----|
| 3.10.3 | Mecanismo proposto para a obtenção de 5-[5-Alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-2-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]piridinas (14)..... | 86 |
| 3.10.4 | Cálculos teóricos dos compostos 14 | 88 |
| 3.10.5 | Síntese de 2-(3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[(2-tiona)-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il]piridinas (15a-c)..... | 90 |
| 3.10.5.1 | Identificação Espectroscópica de 2-(3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridinas (15a-c)..... | 92 |
| 3.10.5.1.1 | RMN ¹ H, ¹³ C { ¹ H}, DEPT 135, COSY e HSQC..... | 93 |
| 3.10.6 | Cálculos teóricos dos compostos 15 | 98 |
| 3.10.7 | Espectroscopia na região do infravermelho (IV) do composto 15b ... | 100 |
| 3.10.8 | Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 15 | 101 |
| 3.11 | Síntese de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b)..... | 103 |
| 3.11.1 | Identificação Espectroscópica do Composto 16 | 104 |
| 3.11.1.1 | RMN ¹ H, ¹³ C, { ¹ H}..... | 104 |
| 3.11.2 | Cálculos teóricos do composto 16 | 106 |
| 3.11.3 | Mecanismo proposto para obtenção do composto 16 | 107 |
| 3.12 | Síntese de 6-(2-Tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazolo[4,3- <i>a</i>]piridina (17)..... | 108 |
| 3.12.1 | Identificação Espectroscópica de 6-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazolo[4,3- <i>a</i>]piridina (17)..... | 109 |
| 3.12.1.1 | RMN ¹ H e ¹³ C, { ¹ H}..... | 109 |
| 3.12.2 | Cálculos teóricos do composto 17 | 111 |
| 3.12.3 | Mecanismo proposto para a obtenção de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i>)-tiona-5-il)-1(2 <i>H</i>)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3- <i>a</i>]piridina (17)..... | 112 |
| 3.13 | Síntese de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]nicotinamidas (18)..... | 115 |
| 3.13.1 | Identificação espectroscópica por RMN do composto (18b)..... | 116 |
| 3.13.1.1 | RMN ¹ H e ¹³ C { ¹ H}..... | 117 |
| 3.13.2 | Mecanismo geral proposto para obtenção dos compostos 18 | 119 |

| | | |
|------------|--|-----|
| 3.14 | Síntese de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N</i> '-1- alquil(aril)metilideno nicotinoídrazida (19)..... | 120 |
| 3.14.1 | Identificação espectroscópica por RMN dos compostos (19)..... | 122 |
| 3.14.1.1 | RMN ¹ H..... | 122 |
| 3.14.1.2 | RMN ¹³ C { ¹ H}..... | 123 |
| 3.15 | Síntese do composto 20 | 124 |
| 3.15.1 | Identificação espectroscópica por RMN do composto (20)..... | 125 |
| 3.15.1.1 | RMN ¹ H..... | 125 |
| 3.15.2 | Mecanismo geral proposto para obtenção dos compostos 19 – 20 | 126 |
| 3.16 | Avaliações Biológicas..... | 127 |
| 3.16.1 | Atividades Antioxidantes DPPH e Fosfomolibdênio..... | 127 |
| 3.16.1.1 | Método do Radical Livre DPPH..... | 129 |
| 3.16.1.2 | Padrão ácido ascórbico..... | 129 |
| 3.16.1.3 | Apresentação e Discussão dos Resultados..... | 130 |
| 3.16.2 | Método por Fosfomolibdênio..... | 135 |
| 3.16.2.1 | Padrão BHT (di-terc-butil metil fenol)..... | 135 |
| 3.16.2.2 | Apresentação e Discussão dos Resultados..... | 136 |
| 3.16.3 | Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> | 140 |
| 3.16.3.1 | Micro-organismos patogênicos..... | 141 |
| 3.16.3.1.1 | Bactérias Gram-positivas..... | 141 |
| 3.16.3.1.2 | Bactérias Gram-negativas..... | 142 |
| 3.16.3.1.3 | Fungos..... | 143 |
| 3.16.3.1.4 | Apresentação e Discussão dos Resultados..... | 144 |
| 3.16.3.1.5 | Antibióticos controles..... | 146 |
| 3.16.4 | Avaliação da Atividade de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase.. | 149 |
| 3.16.4.1 | Resultados da atividade de inibição da enzima AChE..... | 151 |
| 3.16.5 | Ensaio <i>in silico</i> | 154 |
| 4. | MATERIAIS E MÉTODOS | 157 |
| 4.1 | Reagentes e Solventes Utilizados..... | 158 |
| 4.1.1 | Reagentes..... | 158 |
| 4.1.2 | Solventes..... | 159 |
| 4.2 | Aparelhos Utilizados..... | 159 |
| 4.2.1 | Espectroscopia de RMN..... | 159 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 4.2.2 | Ponto de Fusão..... | 160 |
| 4.2.3 | Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (CG-EM)..... | 160 |
| 4.2.4 | Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas (LC/MS/MS)... | 161 |
| 4.2.5 | Análise Elementar..... | 161 |
| 4.2.6 | Cálculos Teóricos..... | 161 |
| 4.2.7 | Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HMRS)..... | 161 |
| 4.2.8 | Espectroscopia vibracional de infravermelho (IV)..... | 162 |
| 4.2.9 | Difração de Raios-X..... | 162 |
| 4.3 | Procedimentos Experimentais Sintéticos..... | 162 |
| 4.3.1 | Síntese de acetais – procedimento geral..... | 162 |
| 4.3.2 | Síntese de 4-alkuil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-4-metóxi-3-alkuen- 2-onas (2a-e , 3a-b)..... | 163 |
| 4.3.3 | Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5- diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5- trifluormetil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (4a-c)... | 164 |
| 4.3.4 | Síntese dos Ácidos 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> - pirazol-1-il]nicotínicos (5a-c)..... | 164 |
| 4.3.5 | Síntese de Cloridrato de nicotinato de 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5- trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]metila (6a-c)..... | 164 |
| 4.3.6 | Síntese de 6-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1- il] nicotinoidrazidas (7a-c)..... | 165 |
| 4.3.7 | Síntese do composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5- (3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (8)..... | 167 |
| 4.3.8 | Síntese do composto 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5- [3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9)..... | 168 |
| 4.3.9 | Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1- il]-5-(5-triclorometil-5-hidróxi-3-alkuil(aril)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1- carbonilpirazol-1-il) piridinas (10)..... | 169 |
| 4.3.10 | Síntese de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3- alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1- carbonilpirazol-1-il)piridinas (11)..... | 172 |
| 4.3.11 | Síntese de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-[3- | |

| | | |
|-----------|--|-----|
| | alquil(aril)-5-trialometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (12 , 13)..... | 177 |
| 4.3.12 | Síntese de 5-[5-Alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-2-[3-alquil(aril)- 5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] piridinas (14)..... | 179 |
| 4.3.13 | Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1- il]-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il) piridinas (15a-c)..... | 181 |
| 4.3.14 | Síntese de 2-(3-Aril-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino- 3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16)..... | 184 |
| 4.3.15 | Síntese de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i>)-tiona-5-il)-1(2 <i>H</i>)-tiona-1,2,4- triazolo-[4,3-a]piridina (17)..... | 184 |
| 4.3.16 | Síntese de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-[3- alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]nicotinamidas (18)..... | 185 |
| 4.3.17 | Síntese de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -1- (Alquil/aril metilideno) nicotinoidrazida (19)..... | 187 |
| 4.3.18 | Síntese do composto (<i>E</i>)- <i>N'</i> -(3-nitrobenzilideno)-6-(<i>E</i>)-2-(3- nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (20)..... | 189 |
| 4.4 | Avaliações Biológicas..... | 190 |
| 4.4.1 | Atividades Antioxidantes DPPH e Fosfomolibdênio..... | 190 |
| 4.4.1.1 | Método Quantitativo para Atividade Antioxidante (DPPH) em placas de Elisa..... | 190 |
| 4.4.1.1.1 | Preparo da curva padrão de ácido ascórbico..... | 190 |
| 4.4.1.1.2 | Preparo da solução dos compostos..... | 191 |
| 4.4.1.1.3 | Preparo solução de DPPH..... | 191 |
| 4.4.1.1.4 | Leitura das medidas de absorbância nas amostras..... | 191 |
| 4.4.1.2 | Método Quantitativo para Capacidade Antioxidante Total em placas de Elisa..... | 193 |
| 4.4.2 | Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> | 193 |
| 4.4.2.1 | Método da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição em Caldo Muller-Hinton..... | 193 |
| 4.4.2.1.1 | Preparação do inoculo..... | 194 |
| 4.4.2.1.2 | Técnica de Microdiluição em Caldo Muller-Hinton..... | 194 |
| 4.4.2.2 | Método da concentração inibitória mínima (CIM) por | |

| | | |
|-------------|---|-----|
| | microdiluição em Caldo RPMI 1640..... | 195 |
| 4.4.2.2.1 | Preparação do inoculo..... | 196 |
| 4.4.2.2.1.1 | Leveduras..... | 196 |
| 4.4.2.2.1.2 | Fungos filamentosos..... | 196 |
| 4.4.2.2.2 | Técnica de Microdiluição em Caldo RPMI 1640..... | 197 |
| 4.4.3 | Determinação da Atividade de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase..... | 198 |
| 4.4.4 | Ensaio <i>in silico</i> | 200 |
| 5. | CONCLUSÃO | 201 |
| 6. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 205 |
| 7. | ANEXO I | 220 |
| 8. | ANEXO II | 267 |
| 9. | ANEXO III | 272 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 1: | Exemplos de compostos heterocíclicos..... | 2 |
| Figura 2: | Produtos naturais derivados da piridina..... | 3 |
| Figura 3: | Derivados do ácido nicotínico..... | 4 |
| Figura 4: | Estrutura de derivados pirazólicos..... | 4 |
| Figura 5: | Estruturas dos medicamentos..... | 6 |
| Figura 6: | Moléculas bioativas que possuem o anel triazólico..... | 7 |
| Figura 7: | Estrutura da pirrolnitrina..... | 7 |
| Figura 8: | Estrutura genérica de 1,3-dieletrófilos trialometil substituídos..... | 15 |
| Figura 9: | Estrutura de 1 <i>H</i> -pirazol e 4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol..... | 18 |
| Figura 10: | Estrutura dos compostos A e B | 32 |
| Figura 11: | Estrutura de Hidrazida 6-hidrazinonicotínica 1 | 42 |
| Figura 12: | Estruturas dos compostos 2 – 6 sintetizados..... | 43 |
| Figura 13: | Estrutura dos compostos inéditos..... | 44 |
| Figura 14: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 6-(5-Trifluormetil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7a) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 51 |
| Figura 15: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluormetil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7a) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 52 |
| Figura 16: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (8), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 55 |
| Figura 17: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina 9 (composto obtido pela metodologia utilizando ácido acético a partir do composto 7b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 56 |
| Figura 18: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina 9 (obtido pela metodologia de desidratação com SOCl ₂ do composto 8) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 57 |
| Figura 19: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (8), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 58 |

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 20: | Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina 9 (obtido a partir de 7b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 59 |
| Figura 21: | ORTEP de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9) CCDC 1040654..... | 60 |
| Figura 22: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa) em CDCl ₃ | 64 |
| Figura 23: | Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa) em CDCl ₃ | 65 |
| Figura 24: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 66 |
| Figura 25: | Espectro de RMN ^{13}C a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa) DMSO- <i>d</i> ₆ | 67 |
| Figura 26: | ORTEP de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa) CCDC 1040652..... | 70 |
| Figura 27: | ORTEP de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa) CCDC 1040653..... | 71 |
| Figura 28: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (12ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 75 |
| Figura 29: | Espectro de RMN ^{13}C a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (12ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 76 |

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 30: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 77 |
| Figura 31: | Espectro de RMN ¹³ C a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd), registrado em CDCl ₃ ... | 78 |
| Figura 32: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina. 14aa em DMSO- <i>d</i> ₆ | 81 |
| Figura 33: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina 14aa em DMSO- <i>d</i> ₆ | 82 |
| Figura 34: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 376,46 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina 14aa em DMSO- <i>d</i> ₆ | 84 |
| Figura 35: | Espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina 14aa em DMSO- <i>d</i> ₆ | 84 |
| Figura 36: | Espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina 14aa em DMSO- <i>d</i> ₆ | 85 |
| Figura 37: | Espectro de massas CG/EM de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina 14aa | 86 |
| Figura 38: | Geometrias do confômero I dos compostos 14aa e 14ab | 89 |
| Figura 39: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 93 |
| Figura 40: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 94 |
| Figura 41: | Espectro de RMN DEPT 135 a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 96 |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| Figura 42: | Expansão do espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b)..... | 96 |
| Figura 43: | Expansão do espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b)..... | 97 |
| Figura 44: | Estruturas dos compostos 15 | 99 |
| Figura 45: | Geometria Ib do composto 15c visualizada no programa GaussView 5.0.8..... | 100 |
| Figura 46: | Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina 15b | 101 |
| Figura 47: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 105 |
| Figura 48: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 105 |
| Figura 49: | Estruturas do composto 16b | 106 |
| Figura 50: | Geometrias dos tautômeros I do composto 16b visualizada no programa GaussView 5.0.8..... | 107 |
| Figura 51: | Espectro de RMN ¹ H a 200,13 MHz de 6-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazolo[4,3- <i>a</i>]piridina (17) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 110 |
| Figura 52: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 6-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazolo[4,3- <i>a</i>]piridina 17 em DMSO- <i>d</i> ₆ | 110 |
| Figura 53: | Estruturas do composto 17 | 111 |
| Figura 54: | Geometrias dos tautômeros III do composto 17 visualizada no programa GaussView 5.0.8..... | 112 |
| Figura 55: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18b) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 117 |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| Figura 56: | Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 118 |
| Figura 57: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -1-[(4-metóxi)benzilideno]nicotinoidrazida (19ea), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 123 |
| Figura 58: | Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -1-[(4-metóxi)benzilideno]nicotinoidrazida (19ea), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 124 |
| Figura 59: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de (<i>E</i>)- <i>N'</i> -(3-nitrobenzilideno)-6-(<i>E</i>)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (20), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 126 |
| Figura 60: | Estrutura do ácido ascórbico..... | 130 |
| Figura 61: | Foto das placas de alguns compostos após a leitura..... | 131 |
| Figura 62: | Estrutura do BHT..... | 136 |
| Figura 63: | Estruturas dos compostos com atividade antifúngica..... | 146 |
| Figura 64: | Inibidores da AChE empregados para o tratamento da DA..... | 151 |
| Figura 65: | Equilíbrio químico do composto..... | 154 |
| Figura 66: | Resultado do <i>docking</i> molecular, em que os isômeros/tautômeros 15a (em azul) e 15a' (em vermelho), apresentam interagir na mesma região da enzima (AChE em verde), no Sub Sítio Aniônico Periférico (SSAP), impedindo a entrada da ACh na tríade catalítica: Ser200, Glu327 e His400 (em rosa)..... | 155 |
| Figura 67: | Sobreposição dos isômeros/tautômeros 15a (em azul) e 15a' (em vermelho), demonstrando que ambos atuam na mesma região da enzima..... | 155 |
| Figura 68: | Interações entre o composto 15a e a enzima AChE (PDB: 1EA5), logrados do Auto Dock Vina. É possível observar uma ligação de hidrogênio (linhas pontilhadas em amarelo) e duas interações π - π (linhas pontilhadas em vermelho). O composto é apresentado na forma bola e bastão, e os aminoácidos na forma de bastão. São mostrados apenas os átomos de hidrogênio polares..... | 156 |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| Figura 69: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluormetil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7a), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 221 |
| Figura 70: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluormetil-3-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 222 |
| Figura 71: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-[5-Trifluormetil-3-(2-Furil)-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] nicotinoidrazida (7c), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 223 |
| Figura 72: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (8), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 224 |
| Figura 73: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 225 |
| Figura 74: | Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9)..... | 226 |
| Figura 75: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa), registrado em CDCl ₃ | 226 |
| Figura 76: | Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa), registrado em CDCl ₃ | 227 |
| Figura 77: | Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 227 |
| Figura 78: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 | |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| | MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10ab), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 228 |
| Figura 79: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz registrado em CDCl ₃ de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10ba)..... | 229 |
| Figura 80: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10ba) registrado em CDCl ₃ | 230 |
| Figura 81: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 230 |
| Figura 82: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 231 |
| Figura 83: | Espectro de 2D HSQC de 2-[3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 231 |
| Figura 84: | Espectro de 2D HSQC de 2-[3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 232 |
| Figura 85: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 232 |
| Figura 86: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10cb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 233 |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| Figura 87: | Espectro de 2D HSQC de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10cb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 234 |
| Figura 88: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10cb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 234 |
| Figura 89: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 235 |
| Figura 90: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 236 |
| Figura 91: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ab), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 236 |
| Figura 92: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ab), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 237 |
| Figura 93: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ab), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 237 |
| Figura 94: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 238 |
| Figura 95: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi- | |

| | | |
|--------------------|---|-----|
| | 4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 239 |
| Figura 96: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 239 |
| Figura 97: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 240 |
| Figura 98: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 240 |
| Figura 99: | Espectro de RMN ¹ H a 600 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bc), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 241 |
| Figura 100: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bc), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 242 |
| Figura 101: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bd), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 242 |
| Figura 102: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bd), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 243 |
| Figura 103: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11be), registrado | |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| | em DMSO- <i>d</i> ₆ | 243 |
| Figura 104: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11be), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 244 |
| Figura 105: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11be), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 244 |
| Figura 106: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (12ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 245 |
| Figura 107: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (12ba), registrado em CDCl ₃ | 246 |
| Figura 108: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 246 |
| Figura 109: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd) registrado em CDCl ₃ | 247 |
| Figura 110: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 247 |
| Figura 111: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14aa), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 248 |
| Figura 112: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz em CDCl ₃ e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14ab)..... | 249 |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| Figura 113: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14ba), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 250 |
| Figura 114: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz em DMSO- <i>d</i> ₆ e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz registrado em CDCl ₃ de 5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)piridina (14bb)..... | 251 |
| Figura 115: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15a), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ ... | 252 |
| Figura 116: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ ... | 253 |
| Figura 117: | Espectro de RMN DEPT 125 a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 254 |
| Figura 118: | Espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b)..... | 254 |
| Figura 119: | Expansão do espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b)..... | 255 |
| Figura 120: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-[5-Trifluormetil-3-(fur-2-ila)-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15c), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 256 |
| Figura 121: | Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 257 |
| Figura 122: | Espectro de RMN ^{19}F a 564,69 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4 <i>H</i>)-tiona-2 <i>H</i> -1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 258 |
| Figura 123: | Espectro de RMN ^1H a 200,13 MHz de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i>)- | |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| | tiona-5-il)-1(2 <i>H</i>)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3- <i>a</i>]piridina (17) em DMSO- <i>d</i> ₆ | 258 |
| Figura 124: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i>)-tiona-5-il)-1(2 <i>H</i>)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3- <i>a</i>]piridina 17 em DMSO- <i>d</i> ₆ | 259 |
| Figura 125: | Espectro de RMN ¹ H a 600 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18a), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 259 |
| Figura 126: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 150 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18a), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 260 |
| Figura 127: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18a), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 260 |
| Figura 128: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz e RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 261 |
| Figura 129: | Espectro de RMN ¹⁹ F a 564,68 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)nicotinamida (18b), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 262 |
| Figura 130: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] nicotinamida (18c), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 262 |
| Figura 131: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de <i>N</i> -(2,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-1-il)-6-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il] nicotinamida (18c), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 263 |
| Figura 132: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N</i> '-1-(benzilideno) nicotinoidrazida (19ba) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 263 |
| Figura 133: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N</i> '-1-(benzilideno) nicotinoidrazida (19ba) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 264 |
| Figura 134: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil- | |

| | | |
|--------------------|---|-----|
| | 1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -1-(4-metóxi-benzilideno) nicotinoidrazida (19ea) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 264 |
| Figura 135: | Espectro de RMN ¹³ C { ¹ H} a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5- trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -1-(4-metóxi-benzilideno) nicotinoidrazida (19ea) registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 265 |
| Figura 136: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil- 1 <i>H</i> -pirazol-1-il)- <i>N'</i> -(1-feniletilideno) nicotinoidrazida (19bb), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 265 |
| Figura 137: | Espectro de RMN ¹ H a 400,13 MHz de (<i>E</i>)- <i>N'</i> -(3- nitrobenzilideno)-6-(<i>E</i>)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (20), registrado em DMSO- <i>d</i> ₆ | 266 |
| Figura 138: | Espectro de massas LC-ESI-MS/MS de 2-(3-Metil-5- trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi- 4,5-diidro-1 <i>H</i> -1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ab)..... | 268 |
| Figura 139: | Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> - pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14aa)..... | 268 |
| Figura 140: | Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> - pirazol-1-il)-5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14ab)..... | 269 |
| Figura 141: | Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> - pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (14ba)..... | 269 |
| Figura 142: | Espectro de massas (CG-EM) de 5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)- 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)piridina (14bb)..... | 270 |
| Figura 143: | Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Metil-5- trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5- il)piridina (15a)..... | 270 |
| Figura 144: | Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Fenil-5- trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5- il)piridina (15b)..... | 271 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|--|-----|
| Tabela 1. | Propriedades Físicas dos compostos 7a-c | 50 |
| Tabela 2. | Dados de RMN ¹ H e ¹³ C dos compostos 7a-c | 52 |
| Tabela 3. | Propriedades Físicas dos Compostos 8 – 9 | 54 |
| Tabela 4. | Dados de RMN ¹ H dos compostos 8 – 9 | 59 |
| Tabela 5. | Dados de RMN ¹³ C { ¹ H} dos compostos 8 – 9 | 59 |
| Tabela 6. | Propriedades Físicas dos Compostos 10 – 11 | 62 |
| Tabela 7. | Dados de RMN ¹ H dos compostos 10 – 11 | 67 |
| Tabela 8. | Dados de RMN ¹³ C { ¹ H} dos compostos 10 – 11 | 68 |
| Tabela 9. | Dados de RMN ¹⁹ F dos compostos 10 – 11 | 70 |
| Tabela 10. | Propriedades Físicas dos Compostos 12 e 13 | 74 |
| Tabela 11. | Propriedades Físicas dos compostos 14 | 80 |
| Tabela 12. | Dados de RMN ¹ H dos compostos 14 | 83 |
| Tabela 13. | Dados de ¹³ C { ¹ H} dos compostos 14 | 83 |
| Tabela 14. | Correlações ¹³ C/ ¹ H observadas no espectro 2D HMQC do composto 14aa | 85 |
| Tabela 15. | Energias relativas calculadas de geometrias de principal confôrmero I e II para os compostos 14RR¹ . $\Delta E = (E_{\text{confôrmero II}} - E_{\text{confôrmero I}}) \times 627,5095$ | 89 |
| Tabela 16. | Otimização de síntese de 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3 <i>H</i> -1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b)..... | 91 |
| Tabela 17. | Propriedades Físicas dos Compostos 15a-c | 92 |
| Tabela 18. | Dados de RMN ¹ H, ¹³ C {H} dos compostos 15a-c | 95 |
| Tabela 19. | Dados de RMN ¹ H, ¹³ C {H} dos compostos 15a-c | 95 |
| Tabela 20. | Correlações ¹³ C/ ¹ H observadas no espectro 2D HSQC do composto 15b (R = C ₆ H ₅)..... | 98 |
| Tabela 21. | Energias de isômeros dos compostos 15 ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ $\Delta E = (E_{\text{confôrmero II}} - E_{\text{confôrmero I}}) \times 627,5095$ | 99 |
| Tabela 22. | Propriedades Físicas do Composto 16 | 103 |
| Tabela 23. | Energias de isômeros do composto 16b ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ | |

| | | |
|-------------------|---|-----|
| | $\Delta E = (E_{\text{estrutura}} - E_{\text{conformero Ia}}) \times 627,5095$ | 107 |
| Tabela 24. | Propriedade Física do Composto 17 | 109 |
| Tabela 25. | Energias de isômeros do composto 17 ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ $\Delta E = (E_{\text{estrutura}} - E_{\text{IIIb}}) \times 627,5095$ | 112 |
| Tabela 26. | Propriedades Físicas dos Compostos 18 | 116 |
| Tabela 27. | Dados de RMN ^{13}C { ^1H } dos compostos 18 | 119 |
| Tabela 28. | Propriedades Físicas dos Compostos 19 | 121 |
| Tabela 29. | Dados de RMN ^{13}C { ^1H } dos compostos 19 | 124 |
| Tabela 30. | Propriedades Físicas do Composto 20 | 125 |
| Tabela 31. | Dados da atividade antioxidante (%) para os compostos pelo método DPPH apresentados como média \pm erro..... | 132 |
| Tabela 32. | A capacidade antioxidante total (%) dos compostos pelo método de fosfomolibdênio apresentados como média \pm erro..... | 137 |
| Tabela 33. | Concentração inibitória mínima (CIM) para os antimicrobianos frente a diferentes micro-organismos..... | 147 |
| Tabela 34. | Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Mínima Letal (CML) dos compostos com atividade antifúngica..... | 148 |
| Tabela 35. | Porcentagem de inibição para a enzima AChE dos compostos analisados..... | 152 |
| Tabela 36. | Concentração compostos analisados..... | 192 |
| Tabela 37. | Micro-organismos Indicadores..... | 194 |
| Tabela 38. | Micro-organismos Indicadores..... | 196 |
| Tabela 39. | Dados cristalográficos dos compostos 9 , 10aa e 11aa | 273 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|----------|--|
| ATCC | American Type Culture Collection |
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | Acetilcolinesterase |
| ACTI | Iodeto de acetilcolina |
| BHT | Di-terc-butil metil fenol |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| CG/EM | Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas |
| ChAT | Colina Acetiltransferase |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CLM | Concentração Letal Mínima |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento |
| δ | Deslocamento Químico |
| DA | Doença de Alzheimer |
| DPPH | 2,2-Difenil-1-picrilhidrazila |
| LAPEMI | Laboratório de Pesquisas Micológicas |
| NAPO | Núcleo de Análises e Pesquisa Orgânicas |
| NEUROTOX | Laboratório de Neurotoxicidade e Comportamento |
| NPPN | Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais |
| NUQUIMHE | Núcleo de Química de Heterociclos |
| Oxa | 1,3,4- Oxadiazol |
| Py | Piridina |
| Pl | Pirrol |
| Pz | Pirazol |
| Pzl | 2- Pirazolina (4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol) |
| SIDA | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |
| t.a. | Temperatura Ambiente (20 – 25 °C) |
| TAC | Capacidade Total Antioxidante |

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

É indiscutível a importância e o valor tecnológico da Química Orgânica. É a química dos plásticos, das tintas, da gasolina, dos corantes, dos alimentos, do vestuário. É considerada a química da vida por serem substâncias orgânicas os ácidos nucleicos, as enzimas, as proteínas, os hormônios, as vitaminas, etc.¹

A classe dos heterociclos compõe um grupo de destaque, constituindo o maior e mais variado ramo da família dos compostos orgânicos. Essa classe tem se afirmado ao longo dos anos pela elevada aplicabilidade nas mais diversas áreas da Química.²

Extraídos da natureza ou obtidos sinteticamente, os compostos heterocíclicos são comuns na Química Orgânica e muitos apresentam propriedades biológicas.^{3,4} Sua importância está relacionada mais especificamente aos fármacos, aos produtos agroquímicos e ao desenvolvimento de matérias-primas industriais.⁵

Com enfoque nos fármacos, pode-se definir o início da história da Química Medicinal pelos heterociclos. O fato nos remonta ao século XVI, quando a Quinina foi usada para prevenção e tratamento da malária, embora a estrutura química, na época, ainda fosse desconhecida. Em 1887, a Antipirina passou a ser usada como antitérmico e, mesmo antes do advento da penicilina, em 1938, surge o primeiro antibiótico denominado Sulfapiridina. Já nos anos 70, o composto Tagamet[®] foi produzido em larga escala para o tratamento da úlcera (Figura 1).⁶

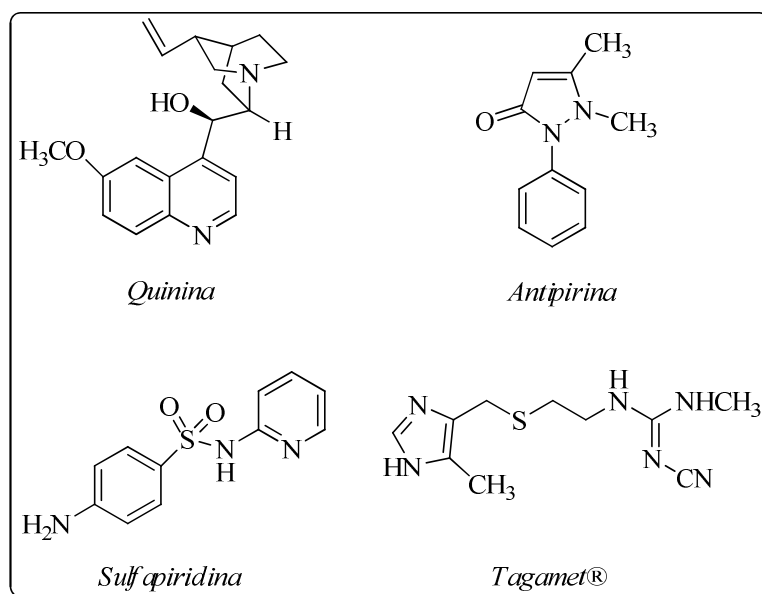


Figura 1. Exemplos de compostos heterocíclicos

A atividade fisiológica da maioria dos compostos ativos farmacologicamente deve-se à presença de heteroátomos, nos núcleos heterocíclicos.^{6b} Muitos medicamentos comercializados no mundo e que ainda estão em fase de testes clínicos e pré-clínicos possuem em suas estruturas núcleos heterocíclicos. Um dado interessante é o de que 85% das drogas disponíveis na terapêutica moderna são de origem sintética e, destes, 62% possuem heterociclos⁷. Além disso, aproximadamente mais de 70% de todos os produtos farmacêuticos e agroquímicos contém pelo menos um anel heterocíclico.⁸

Portanto, sistemas heterocíclicos estão presentes em muitas substâncias que são biológica ou farmacologicamente ativas. Assim, o desenvolvimento de novas estratégias que permitam a síntese de novos heterociclos tem importância tanto acadêmica quanto industrial.

Entre os inúmeros heterociclos conhecidos, podem-se destacar a classe das piridinas, dos pirazóis, dos oxadiazóis e dos pirróis. Embora a piridina não seja encontrada livremente na natureza, seus derivados são encontrados como produtos naturais (nicotinamida, vitamina B₆ e a nicotina) (Figura 2). Os derivados da piridina possuem várias aplicações químicas, destacando-se sua utilização como polímeros e corantes, bem como na área farmacêutica em analgésicos, anestésicos e medicamentos psicofarmacológicos*.^{9,10}

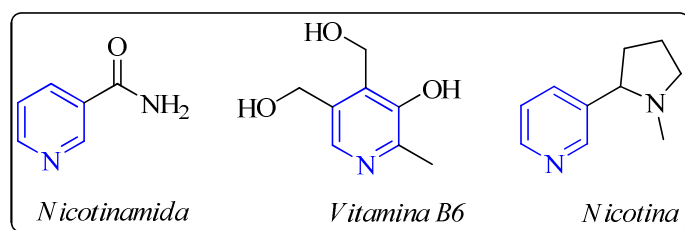


Figura 2. Produtos naturais derivados da piridina

Os derivados do ácido nicotínico são usados como vasodilatadores, anticoagulantes e agentes hipolipidêmicos. Já os derivados do ácido isonicotínico (ácido piridino-4-carboxílico), como a isoniazida e a etionamida, são empregados como tuberculostáticos. O ácido niflúmico tem servido como antirreumático e analgésico¹⁰ (Figura 3).

**Segundo a OMS, drogas psicoativas são aquelas que afetam a mente, alterando humor, comportamento, cognição, psicomotricidade e personalidade. Elas interagem diretamente com o Sistema Nervoso Central (SNC) modificando as funções fisiológicas e psicológicas.*

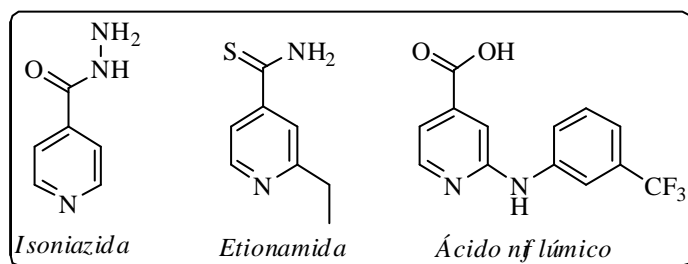


Figura 3. Derivados do ácido nicotínico

Já os pirazóis são compostos heterocíclicos aromáticos da classe dos diazóis que possuem um anel de cinco membros com dois átomos de nitrogênio nas posições 1 e 2. Produtos naturais contendo anéis pirazólicos são raros¹⁰ e, devido ao grande número de ligações polarizadas contidas na sua estrutura,¹¹ a sua síntese, a reatividade química e a bioatividade são bastante exploradas.

Contudo, rotas sintéticas para obtenção de 1*H*-pirazóis parcialmente saturados (pirazolinas ou diidropirazóis) são bem menos pesquisadas.⁷ Por procedimento convencional, pirazóis têm sido obtidos por reação direta de β -dicetonas e derivados com hidrazinas. Entretanto, obtêm-se as pirazolinas quando o anel é substituído com grupos fortemente retiradores de elétrons tanto no nitrogênio-1 (N1) quanto no carbono-5 (C5), os quais dificultam a desidratação e a subsequente aromatização do anel pirazolínico.^{7,12} Estudos realizados com esses compostos demonstram que o grupo halometil confere uma regioquímica bem definida no fechamento do anel, enquanto seu análogo, 1,3-dicarbonílico, leva à formação de mistura de isômeros.¹³ Muitos derivados pirazolínicos são relatados. Entre eles, está o Fenilbutazona[®], droga de ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica,¹⁴ e o fármaco Difenamizol^{®10} utilizado para analgesia e inflamações (Figura 4).

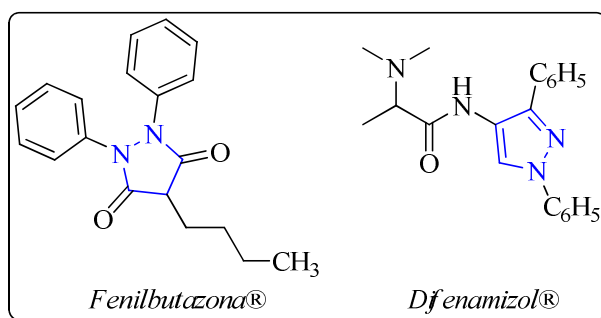


Figura 4. Estrutura de derivados pirazólicos

Na literatura, há muitos procedimentos para a síntese de pirazóis, e, geralmente, esses métodos são complementares, podendo fornecer diferentes tipos de substituintes no composto formado. Contudo, a maioria é sintetizada por reações de condensação do tipo CCC + NN [3 + 2].¹¹ A inclusão de substituintes halogenados nesses compostos orgânicos se torna muito estimada, uma vez que halogênios também influenciam nas propriedades desses heterociclos.

Nesse contexto, o NUQUIMHE tem desenvolvido estratégias para a síntese de novos compostos heterocíclicos, introduzindo neles fragmentos halogenados. A síntese desses compostos se dá através do emprego de precursores 1,3-dieletrófilos trialometil substituídos, originários de reação de haloacilação de enoléteres¹⁵ ou acetais.¹³

O grupo trifluormetil (CF₃) confere mudanças nas propriedades físico-químicas desses compostos, como polaridade, lipossolubilidade e polarizabilidade. Também é possível observar o efeito desses substituintes no comportamento químico, no espectroscópico¹⁶ e na atividade farmacológica¹⁷ dos compostos obtidos. Especificamente, esse grupo afeta a reatividade e a estabilidade de grupos funcionais, devido ao seu efeito retirador de elétrons. A troca do átomo de hidrogênio por flúor leva a mudanças nas características químicas da molécula sem modificar a geometria da mesma.

Um composto contendo o substituinte trifluormetila é comparável ao seu análogo metilado, desempenhando um importante papel na interação droga-receptor por ser estericamente indistinguível para o sítio ativo das moléculas. Em muitos sistemas, a substituição do grupo metil por um grupo trifluormetil resulta em um acréscimo de lipofilicidade ($\pi_{CF_3} = 1,07$ vs $\pi_{CH_3} = 0,5$). Essa lipofilicidade proporciona uma maior permeabilidade nas membranas celulares, o que pode levar a uma maior absorção e a um maior transporte dessas moléculas dentro do sistema biológico, melhorando, portanto, as propriedades farmacocinéticas das drogas. Essas propriedades têm feito com que compostos organo-fluorados sejam muito utilizados na Química Medicinal.¹⁸

Ademais, o grupamento triclorometila (CCl₃) em heterociclos é relativamente raro, mas com atividade promissora. Esse substituinte pode sofrer a clássica reação halofórmica como grupo abandonador¹⁹ que possibilita realizar reações de derivatizações posteriores.

Em se tratando dos oxadiazóis, pode-se dizer que pertencem a uma classe de heterociclos com amplo espectro de atividades biológicas, tornando-se importantes para a construção e o desenvolvimento de novas drogas. Nos últimos anos, o número de

estudos científicos disponíveis com essa classe tem aumentado consideravelmente.²⁰ Oxadiazóis são caracterizados por um anel de cinco membros, com um átomo de oxigênio e dois átomos de nitrogênio, localizados, respectivamente, nas posições 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5- ou 1,3,4- do anel.²¹

Os 1,3,4-oxadiazóis substituídos têm revelado atividades anti-inflamatórias, analgésicas, anticonvulsivantes, hipoglicêmicas, antibacteriais, antifúngicas, antivirais, além de propriedades inseticidas.^{20,22} A capacidade dos compostos heterocíclicos 1,3,4-oxadiazóis de sofrer várias reações químicas fez-lhes importantes para o planejamento de moléculas devido à sua arquitetura privilegiada, a qual tem grande potencial biológico.²⁰ Dois exemplos de compostos contendo essa unidade, atualmente utilizados em medicina clínica são: Raltegravir[®], um fármaco antirretroviral^{22c} e Zibotentan[®] um agente anticancerígeno^{22d} (Figura 5).

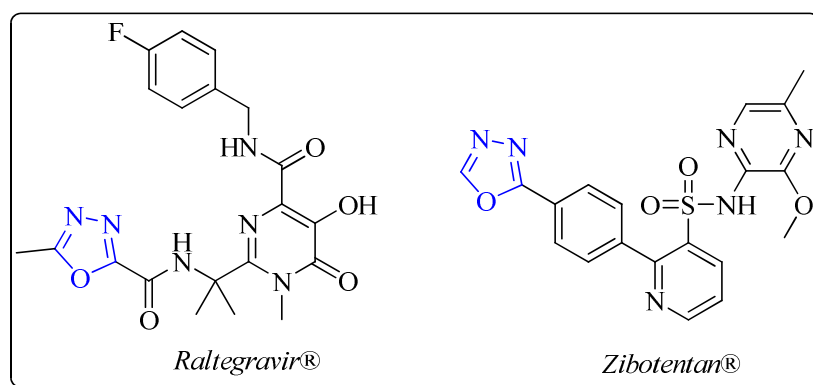


Figura 5. Estruturas dos medicamentos

Além dos oxadiazóis, outra classe que merece destaque é a dos triazóis. Os triazóis são compostos heterocíclicos que contêm cinco membros, sendo três deles átomos de nitrogênio. Há dois tipos de anéis triazólicos, dependendo das posições dos átomos de nitrogênio, o 1*H*-1,2,3-triazol e o 1*H*-1,2,4-triazol.²³

Os 1,2,4-triazóis e seus derivados constituem uma classe importante de compostos orgânicos, sendo que sua síntese recebeu atenção considerável nos últimos anos devido ao seu amplo espectro de produtos agrícolas e industriais.²⁴ Algumas drogas biologicamente ativas que possuem propriedades anti-HIV, anticâncer, antimicrobiana, antifúngica ou antialérgica possuem o anel triazólico na sua estrutura (Figura 6).²⁵

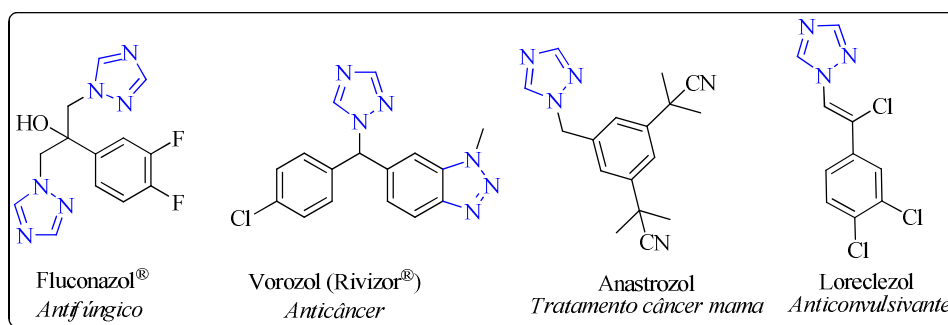


Figura 6. Moléculas bioativas que possuem o anel triazólico

O anel pirrólico por sua vez, embora não muito comum na natureza, ocorre em alguns produtos naturais importantes, fazendo parte de moléculas aromáticas mais complexas como no caso da porfirina, da hemoglobina, da clorofila, da vitamina B₁₂ (cobalamina) e da nicotina.

Poucos antibióticos contêm este anel, dentre os quais a pirrolnitrina (Figura 7).¹⁰ Porém, outros numerosos fármacos são derivados do pirrol, como o analgésico e anti-inflamatório Zomepirac®, o controlador de colesterol Lipitor®, o fungicida Fenpiclonil®, usado para o controle de *Fusarium sulphureum*,²⁶ o analgésico Ketorolac® e, ainda, diferentes pirróis são conhecidos por possuir propriedades antiviral, antibacterial, antidepressiva e antipsicótica.²⁷

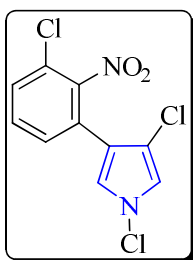


Figura 7. Estrutura da pirrolnitrina

Com base na crescente importância da área de síntese de heterociclos, um grande número de reações vem sendo desenvolvido, e a preparação de novos compostos tem sido objeto de estudos intensos de vários grupos de pesquisa ao redor do mundo.

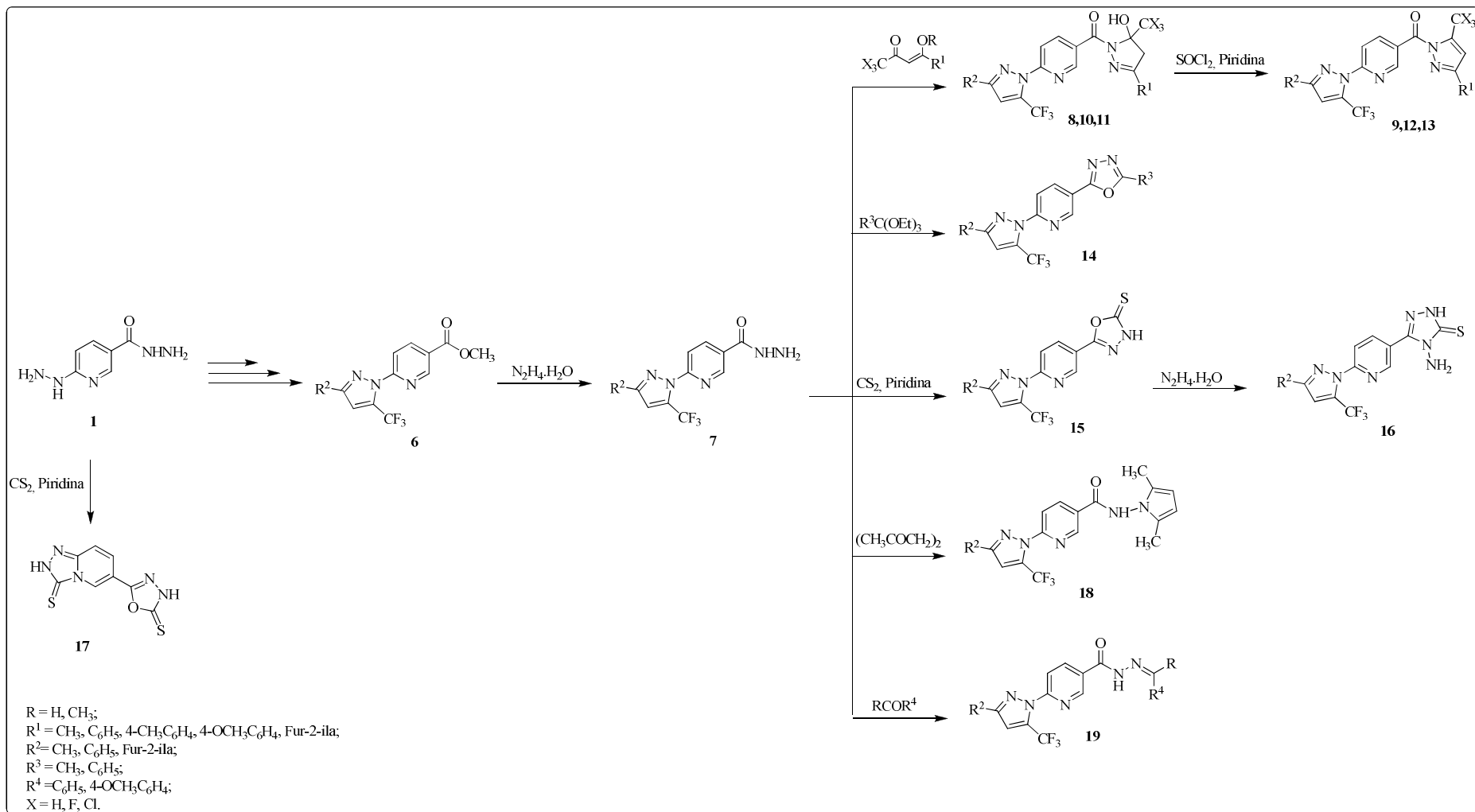
Considera-se nesta tese, toda a pesquisa desenvolvida pelo NUQUIMHE na área de síntese de precursores de heterociclos e a importância no desenvolvimento de novas rotas sintéticas. Neste sentido, visando à obtenção de moléculas heterocíclicas trialometiladas inéditas que comportem em suas estruturas sistemas policíclicos,

abordando atividade inibitória frente à enzima acetilcolinesterase (AChE), propriedade antimicrobiana e potencial antioxidante, tem-se por objetivos com esta tese:

Objetivo Geral:

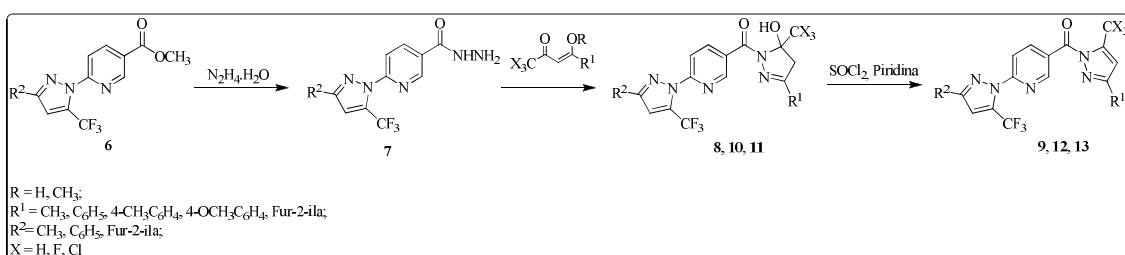
Desenvolver rotas sintéticas para síntese de sistemas poli-heterocíclicos trialometil substituídos inéditos que tenham possíveis propriedades biológicas com vista à continuidade dos estudos realizados pelo grupo NUQUIMHE sobre o comportamento químico e a versatilidade do reagente Hidrazida 6-hidrazinonicotínica (Esquema 1).

Esquema 1:

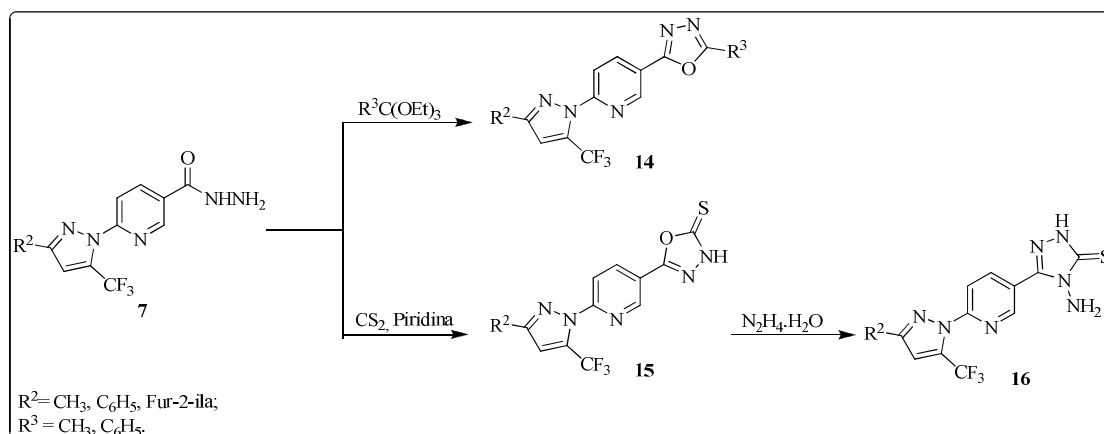


Objetivos específicos:

- i) Estudar reações estratégicas a partir dos precursores metil-ésteres **6**, envolvendo reação do tipo [3+2] para formação de um sistema único que contenha dois anéis pirazolínicos com diferentes substituintes **8**, **10**, **11**. Em um passo subsequente, promover reações de desidratação para a obtenção dos pirazóis aromatizados **9**, **12** e **13** procurando preservar a ligação amídica entre o N1 pirazolínico e a carbonila hidrazídica (Esquema 2);

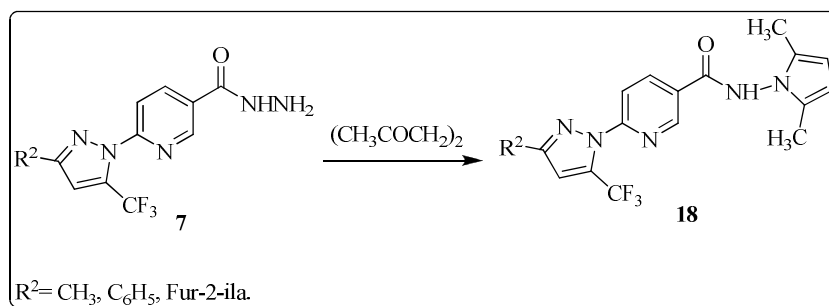
Esquema 2:

- ii) Estudar o potencial sintético das nicotinoidrazidas **7** na rota sintética de moléculas com sistema poli-heterocíclico contendo o grupamento trifluormetil, promovendo, posteriormente, reações de ciclocondensação tipo [4 + 1], visando o desenvolvimento de compostos que contenham a classe 1,3,4-oxadiazol (**14**, **15**) e, além disso, mostrar um exemplo da conversão de 1,3,4-oxadiazol a 1,2,4-triazol (**16**) (Esquema 3);

Esquema 3:

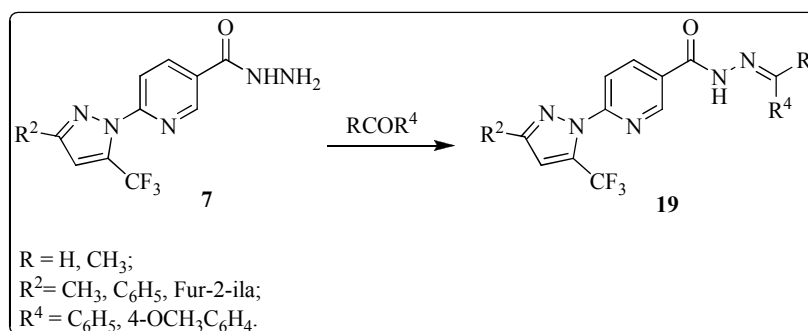
- iii) A partir das pirazolil nicotino-hidrazidas **7**, sintetizar compostos contendo as classes de heterociclos: pirazol, piridina e pirrol no mesmo sistema **18** (Esquema 4);

Esquema 4:



- iv) Utilizar aldeídos arílicos substituídos ou acetofenona para sintetizar compostos **19** a partir de reações de condensação (Esquema 5);

Esquema 5:



- v) Determinar o efeito dos compostos heterocíclicos inéditos, previamente sintetizados, sobre a atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) pelo método adaptado de Ellman;
- vi) Avaliar a atividade antimicrobiana de moléculas sintetizadas nesta tese, determinando a concentração mínima inibitória (CIM) e a concentração letal mínima (CLM) através do método por microdiluição em caldo Muller-Hinton frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e pelo método de microdiluição em caldo RPMI 1640 frente a fungos;

- vii) Medir o potencial antioxidante pelo método do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e a capacidade antioxidante total pelo método de fosfomolibdênio de compostos sintetizados neste trabalho.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

Nesta revisão da literatura tem-se por objetivo evidenciar as principais referências relacionadas com os estudos concretizados neste trabalho. Dessa forma, inicialmente, serão descritos trabalhos do grupo NUQUIMHE, relativos à síntese de 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas, a partir da acilação de acetais e enoléteres.

Num segundo momento, serão enfocados os principais métodos para a síntese de 2-pirazolinas trialometiladas. A seguir, serão descritas as sínteses de ácidos e de ésteres nicotínicos derivados. Posteriormente, serão descritas reações com carboidrazidas e semicarbazonas. E, por fim, serão apresentados alguns trabalhos referentes à síntese dos heterociclos contendo anéis como: 1,3,4-oxadiazólicos, 1,2,4-triazólicos e pirrólicos.

2.1 Síntese de 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas

A começar da década de 1970, numerosos trabalhos vêm sendo publicados referentes a reações de enol éteres e acetais com acilantes derivados de ácidos haloacéticos para a síntese de 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas. Esses trabalhos foram reportados inicialmente por Effenberger e col.^{15b-c, 28} e a seguir por Hojo e col.^{13a-c} os quais, ao longo dos últimos 30 anos, têm sido desenvolvidos pelo grupo de pesquisa NUQUIMHE para síntese e utilização desses precursores.^{13d, 15a, 29}

O principal benefício do emprego de sistemas 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas (Figura 8) é que estes apresentam uma reatividade bastante distinta nos dois centros eletrofílicos: carbono carbonílico e carbono- β (C2 e C4) e também um centro nucleofílico (C3) em sua estrutura, o que gera grande interesse em reações de ciclocondensação regioespecíficas ou regioseletivas. Sendo assim, cada vez mais o potencial sintético desses blocos vem sendo utilizado na síntese de uma vasta gama de compostos heterocíclicos.^{15a, 30}

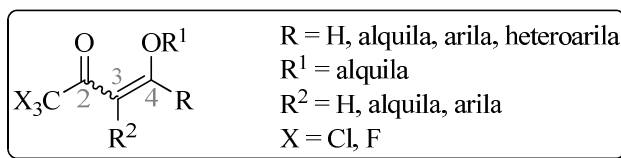
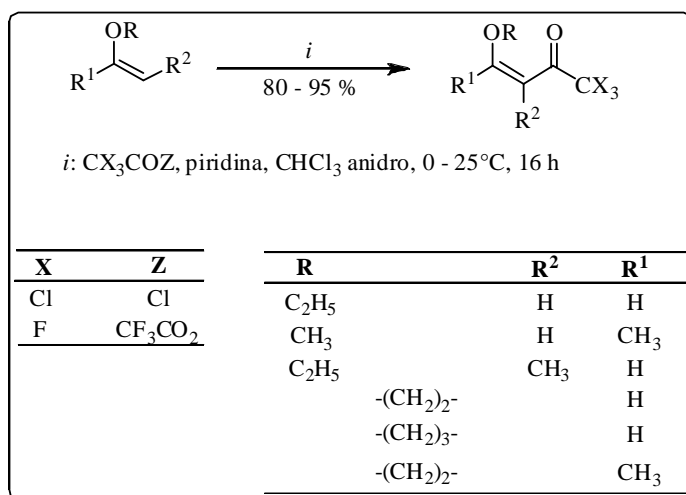


Figura 8. Estrutura genérica de 1,3-dieletrófilos trialometil substituídos

Com altos rendimentos, as 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-alquen-2-onas foram obtidas reagindo séries de enoléteres com anidrido trifluoracético ou cloreto de tricloroacetila, usando clorofórmio como solvente (Esquema 6).³⁰

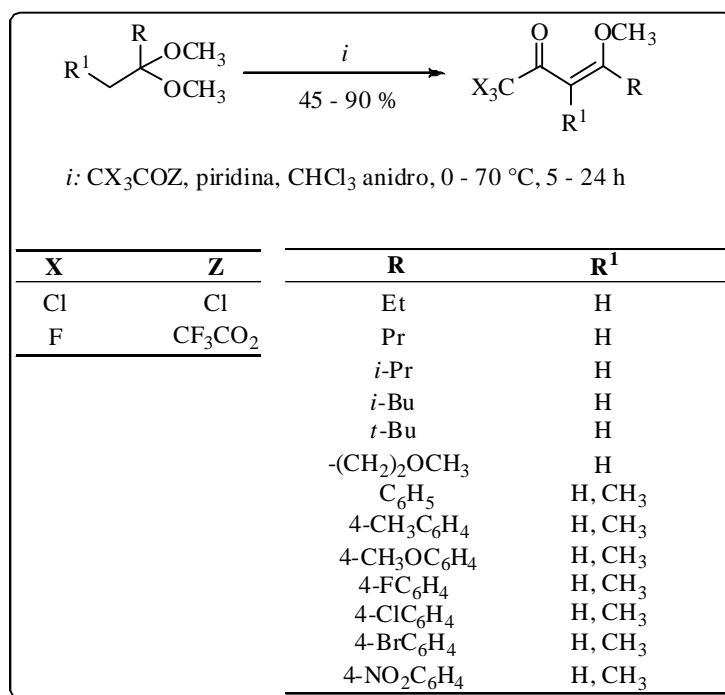
Esquema 6:



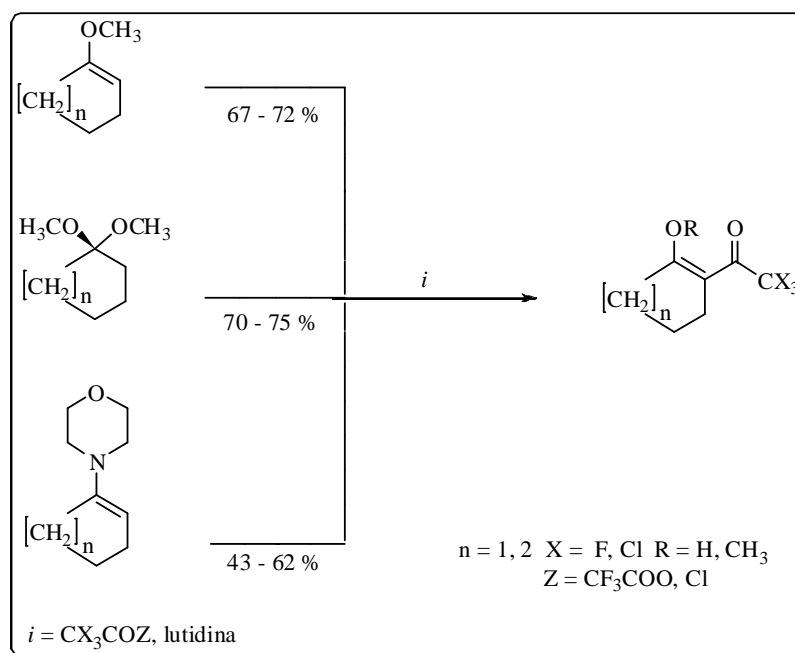
A metodologia desenvolvida por Hojo e col.^{13a-c} foi ampliada pelo NUQUIMHE a partir da acilação direta de acetais derivados de acetofenonas, propiofenonas *p*-substituídas e alquilcetonas^{29b-c, 29e, 31} com rendimentos de moderados a bons. Em 1994, Siqueira e col.^{16g} realizaram a acilação de acetais com diferentes reatividades através de acilantes halogenados e obtiveram rendimentos de 86 – 95% (Esquema 7).

No mesmo ano, a obtenção de 2-trialoacetilmetoxicicloalquenos foi relatado pelo grupo NUQUIMHE.^{13f} Para a síntese desses compostos, (Esquema 8) utilizou-se cicloalcanonas e foram realizadas reações de haloacetilação de enol éteres, cetais e enaminas derivados da ciclohexanona e ciclopentanona com cloreto de tricloroacetila e com anidrido trifluoracético.

Esquema 7:

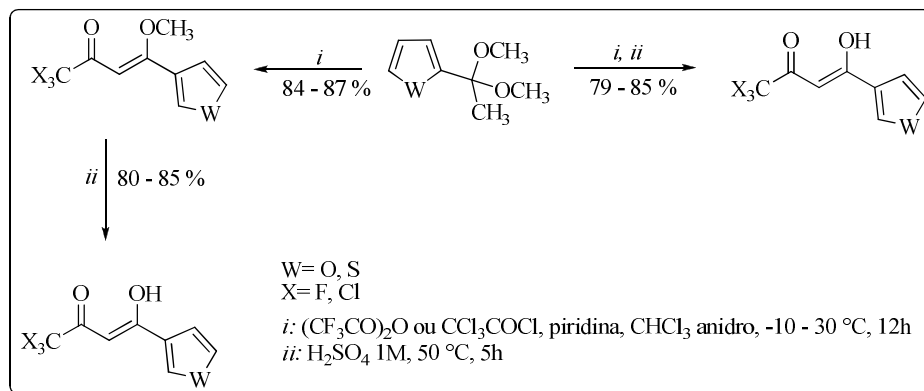


Esquema 8:

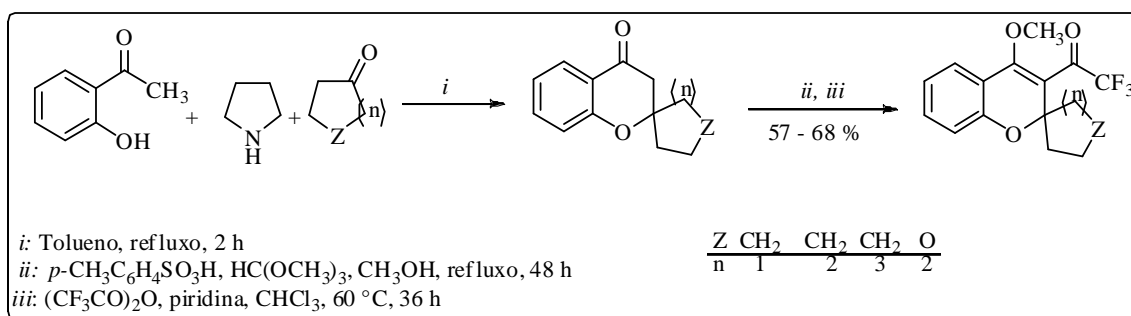


Em 2002, foram realizadas acilações regioseletivas de acetais derivados de heteroaril cetonas (Esquema 9) para obtenção de 4-heteroaril-4-metóxi-1,1,1-trialo-3-buten-2-onas, derivadas do tiofeno e do furano.^{29b} E em 2014, Bonacorso e col.,³² publicaram a síntese de novos derivados trifluormetilados, as espiro trifluormetil cromenonas, com rendimentos de 48 – 61% (Esquema 10).

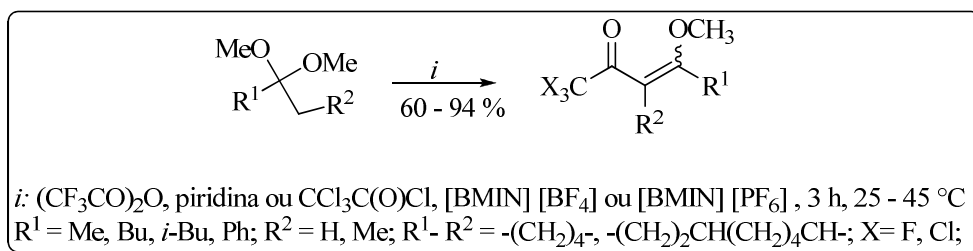
Esquema 9:



Esquema 10:



De modo recente, as metodologias de obtenção das vinil cetonas trialometiladas envolvem, além dos métodos convencionais, reações por microondas³³ e também através de líquidos iônicos.³⁴ Dentre as metodologias descritas para esta síntese, a realizada por Martins e col., em 2009,³⁴ promoveu a síntese de trialoacetil enol éteres através de acetais e líquidos iônicos como [BMIN] [BF₄] e [BMIN] [PF₆] (Esquema 11). Os trialoacetil enol éteres foram obtidos com rendimentos de 60 – 94%. No entanto, o método convencional de obtenção continua sendo o mais empregado devido à possibilidade de realizar a reação em maior escala.³⁵

Esquema 11:

2.2 Síntese de 5-Hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonil-pirazóis Trialometil Substituídos e Metodologias de Desidratação Intramolecular

Um grande número de compostos importantes em termos médicos e biológicos correspondem às aminas. Entre elas, as aminas heterocíclicas (*diaza*-), nas quais os 1,2-azóis são uma classe amplamente utilizada em muitas áreas tecnológicas. E, dentre essa categoria, destacam-se os pirazóis, heterociclo com excesso de elétrons π , anéis de cinco membros que contêm apenas átomos de nitrogênio e carbono em sua estrutura, e que denominam-se 4,5-diidro-1*H*-pirazóis quando possuem uma ligação saturada entre os carbonos C4 - C5 do anel. Esses compostos também são conhecidos como 2-pirazolinas (Figura 9).

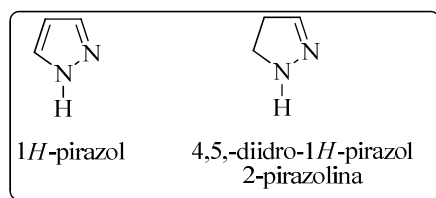


Figura 9. Estrutura de 1*H*-pirazol e 4,5-diidro-1*H*-pirazol

As sínteses de compostos heterocíclicos podem ser classificadas a partir das características dos reagentes utilizados. Existem muitas rotas sintéticas para pirazol, mas duas delas são especialmente versáteis e largamente utilizadas, a saber: ciclocondensação de hidrazina e cicloadição 1,3-dipolar de diazoalcanos com alquinos.

A ciclocondensação ocorre a partir de dois conjuntos de átomos, sendo um dieletrófilo, geralmente 1,3-dicarbonílicos e um 1,2-dinucleófilo (hidrazina, alquil- ou aril-hidrazinas). 1,3-Dicetonas assimétricas geram mistura de isômeros estruturais. O mecanismo da reação depende grandemente da natureza dos substituintes R e também

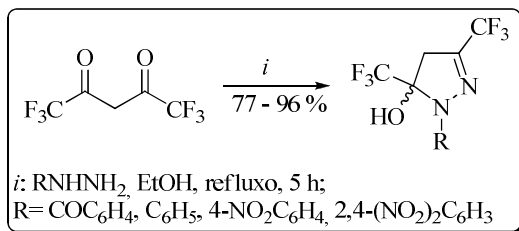
do pH do meio reacional. Essas ciclocondensações podem ser classificadas como tipo [3 + 2], usando blocos [CCC] + [NN].

No presente trabalho, os métodos sintéticos envolvendo compostos 1,3-dieletrófilos (bloco CCC) e hidrazidas [bloco (-CO)NN] serão enfatizados. Esses são os métodos mais estudados e relevantes do ponto de vista da aplicação sintética e mecanística.¹¹

Em 1986, Elguero e Yranzo³⁶ foram os primeiros a isolar uma 3,5-diidroxipirazolidina a partir da 1,1,1,5,5,5-hexafluorpentan-2,4-diona e hidrazina. Em 1990, Selivanov e col.³⁷ caracterizaram os intermediários 5-hidróxi-4,5-pirazóis e 3,5-diidroxipirazolidinas usando experimentos de RMN.

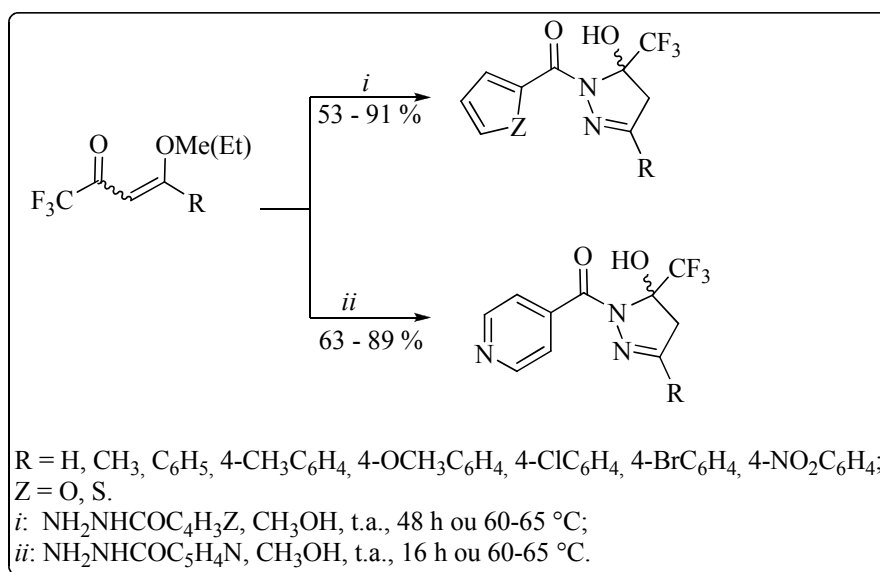
Em 1993, Threadgill e col.³⁸ estudaram a reação do composto 1,3-bis-trifluormetil-1,3-dicarbonílico com hidrazinas e isolaram os 5-hidróxi-3,5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-pirazóis em bons rendimentos (Esquema 12).

Esquema 12:



Em 2006, Bonacorso e col.³⁹ propuseram a síntese de 1-(2-tenoil)-, 1-(2-furil)- e 1-(2-isonicotinoil)-3-alkil(aril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-pirazóis, a partir da reação de ciclocondensação de 4-alcóxi-1,1,1-trifluormetil-3-buten-2-onas com tenoilidrazina, furanoilidrazina e isonicotinoilidrazina, respectivamente. As três séries de compostos foram obtidas utilizando uma relação molar de 1:1 entre enonas e hidrazidas, em metanol, levando à obtenção dos produtos de maneira regiosseletiva, em passo reacional único com rendimentos de moderados a bons (Esquema 13).

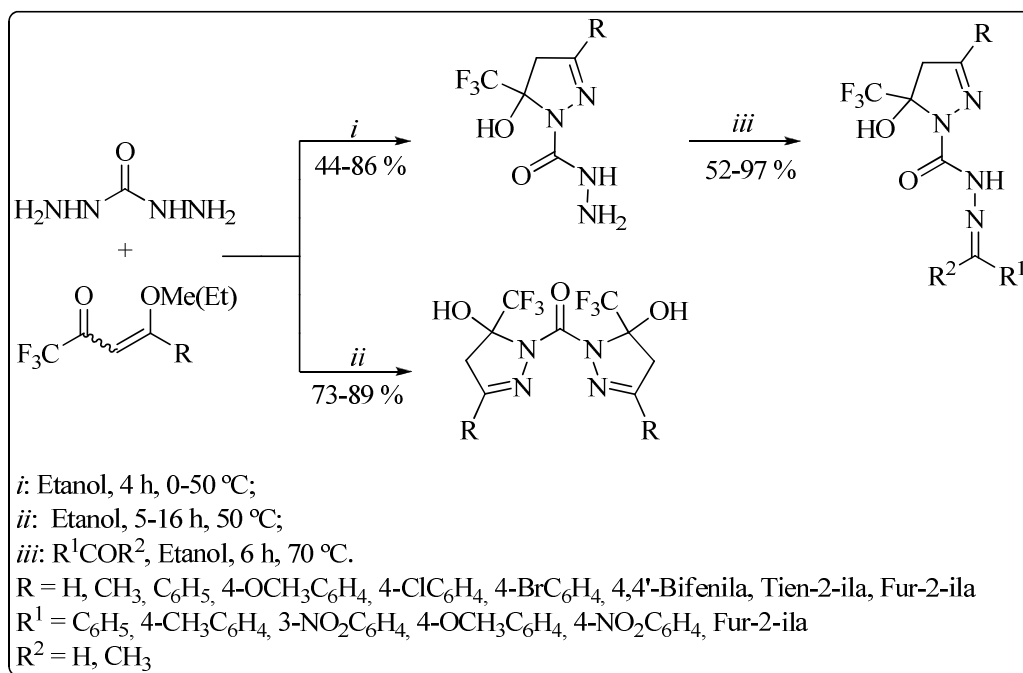
Esquema 13:



Três anos mais tarde, Bonacorso e col.¹⁴ sintetizaram uma série de 3-aryl(heteroaryl)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-pirazolil-1-carboidrazidas, a partir da ciclocondensação de 4-alcóxi-1,1,1-trifluór-3-buten-2-onas com carboidrazida, em etanol como solvente. Os *bis*-heterociclos foram sintetizados com elevado grau de pureza e bons rendimentos.

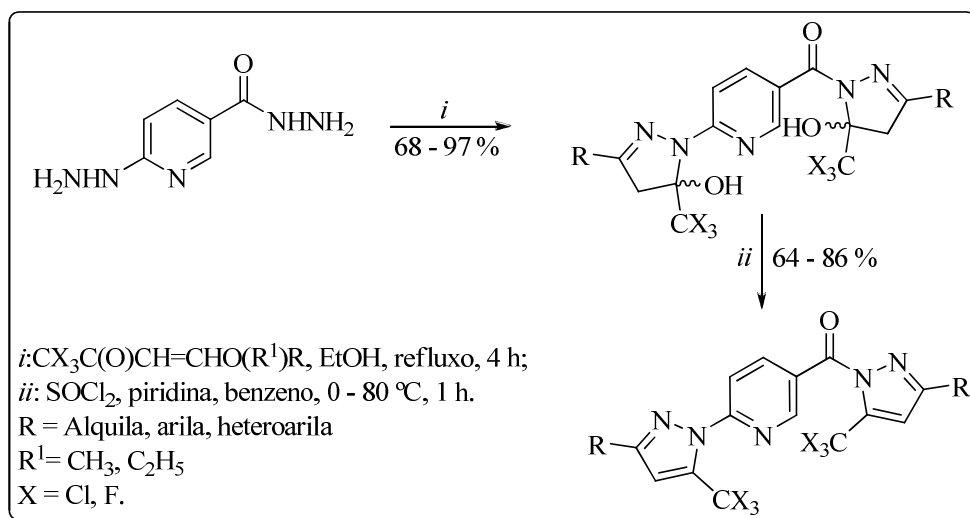
Além disso, no ano de 2012,⁴⁰ publicou-se um artigo utilizando os compostos que possuíam um grupo -NHNH₂ livre como precursores, reagindo frente a aril(heteroaryl) aldeídos substituídos ou acetofenona para obtenção de uma nova série de semicarbazonas trifluormetil substituídas com rendimentos de 52 – 97%. Esses compostos mostraram potenciais antioxidantes e apresentaram atividade fungicida frente a *C. albicans* e a *S. cerevisiae* (Esquema 14).

Esquema 14:



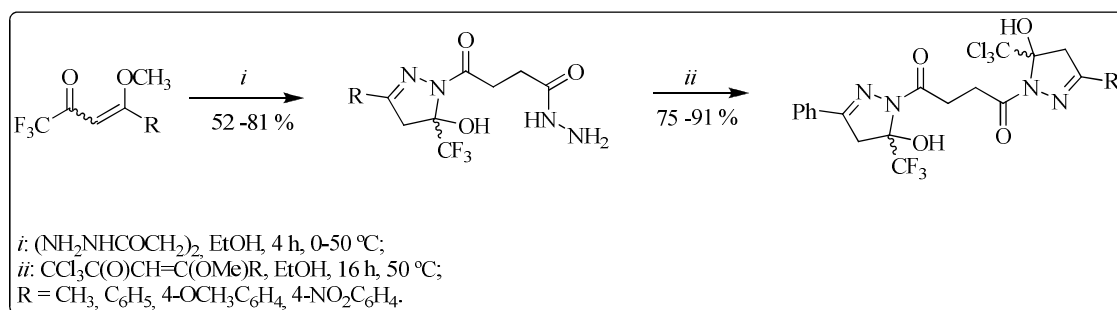
Ainda no ano de 2009, Bonacorso e col.⁴¹ descreveram reações de ciclização a partir de 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-buten-2-onas com hidrazida 6-hidrazinonicotínica, na proporção molar (2:1), em etanol, sob refluxo por 4 horas dando origem aos compostos 2-(1*H*-pirazol-1-il)-5-(1*H*-1-il-1-carbonil) piridinas, que, em um passo subsequente, sofre reação de desidratação sem promover a quebra da ligação N¹-C(O), em bons rendimentos. Essa reação de desidratação foi realizada em meio piridina/benzeno, na presença de cloreto de tionila⁴² (Esquema 15).

Esquema 15:



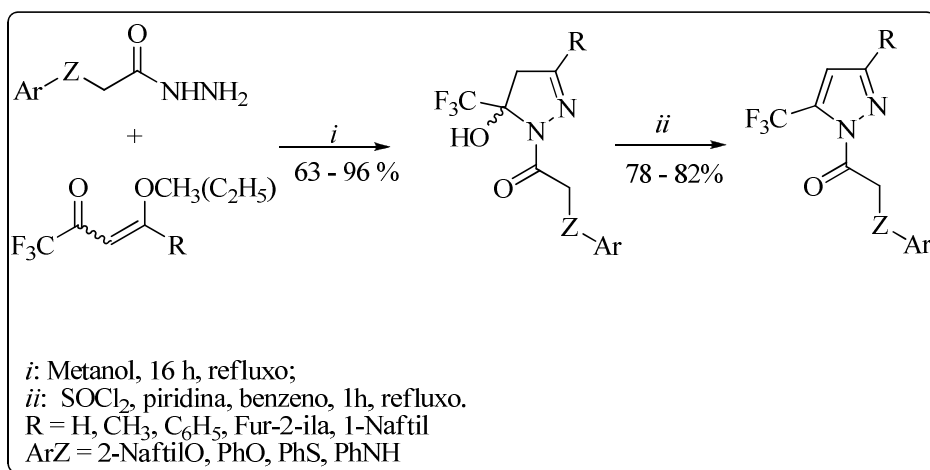
Em 2010, Bonacorso e col.⁴³ apresentaram a síntese regioseletiva de 3-*aril*-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1-succinil hidrazino-1*H*-pirazol (52 – 81%) e dois exemplos de 2-pirazolinas derivadas não simétricas, contendo substituintes trifluormetil e triclorometil na mesma molécula, succinil-1-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*)-pirazol-1'-(3-*alquil*(*aril*)-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*)-pirazol (75 – 91%). Os *bis*-pirazóis succinil substituídos foram obtidos a partir de reações de ciclocondensação de 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-alquen-2-onas 4-substituídas (4-substituinte = CH₃, C₆H₅, 4-OCH₃C₆H₄, 4-NO₂C₆H₄) com di-hidrazida succínica, em etanol como solvente, sob condições reacionais convencionais controladas (Esquema 16).

Esquema 16:



Em 2012, Bonacorso e col.⁴⁴ publicaram a síntese de uma nova série de 4,5-diidro-1*H*-pirazóis, utilizando refluxo de metanol por 16 horas, a partir da reação de ciclocondensação entre vinil cetonas trifluormetiladas e diferentes acetoidrazidas resultando em vinte novas moléculas, dentre as quais quatro obtiveram atividade antifúngica revelante para *C. albicans*. Dois exemplos foram submetidos à desidratação na presença de cloreto de tionila, obtendo rendimento de 78% e de 82% (Esquema 17).

Esquema 17:

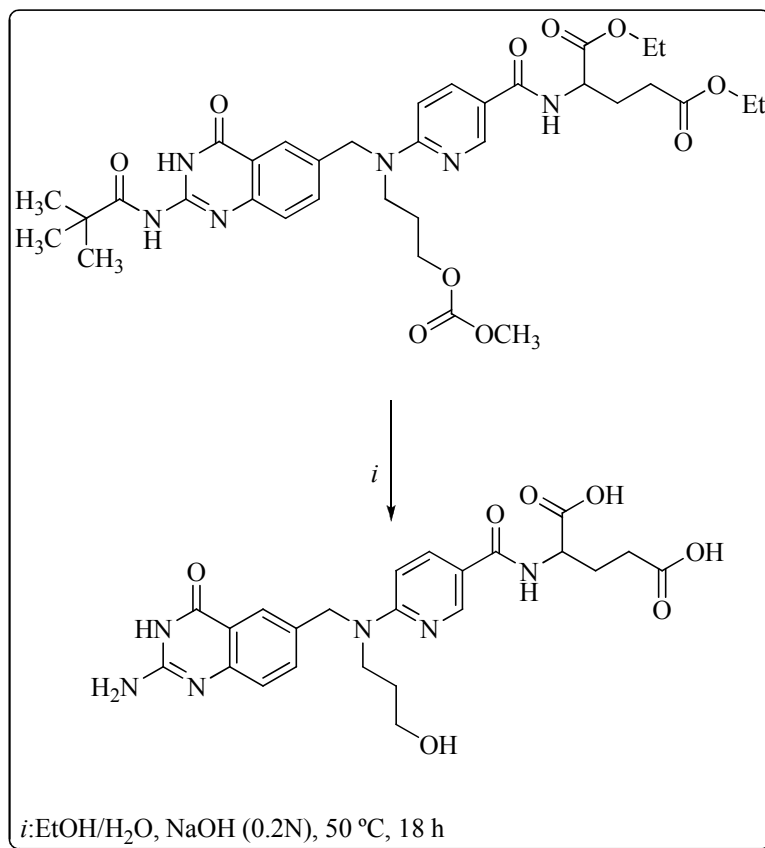


2.3 Síntese de Ácido Nicotínico e Ésteres Derivados

O ácido nicotínico (ácido 3-carbóxi piridínico) foi primeiramente obtido pela oxidação do alcalóide nicotina em 1867 por Huber.⁴⁵ É produzido comercialmente a partir da 5-etil-2-metilpiridina e, assim como sua amida, pertence ao grupo das vitaminas B.¹⁰ Os derivados dos ácidos nicotínicos são usados como vasodilatadores, anticoagulantes e agentes hipolipidêmicos.

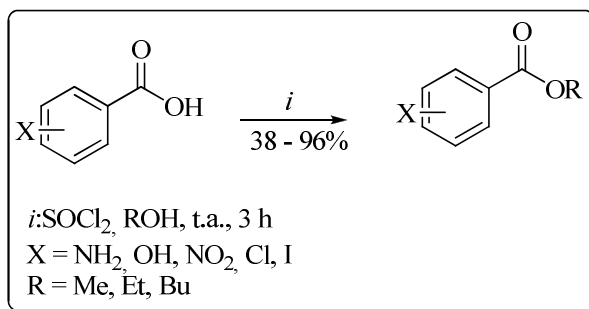
Anos mais tarde, pelo interesse de ampliar o escopo desses compostos, trabalhos relacionados à síntese de ácidos nicotínicos derivados, com métodos de hidrólise^{46,47} ocasionando a ruptura da ligação amídica C(O)N ou da ligação C(O)OR, foram publicados. Um os trabalhos reportados foi o de Jones e col.,⁴⁶ em 1985. Os autores realizaram a desproteção da pivalamida – NHCOC(CH₃)₃ – através da quebra da ligação amídica, utilizando uma solução etanólica tratada com NaOH aquoso (0,2 N), a 50 °C por 18 horas, para preparar 2-aminoquinazolininas, com base na estrutura dos inibidores da timidilato sintase, que possui desempenho na síntese do DNA, constituindo-se como um importante alvo para certas drogas quimioterápicas (Esquema 18).

Esquema 18:

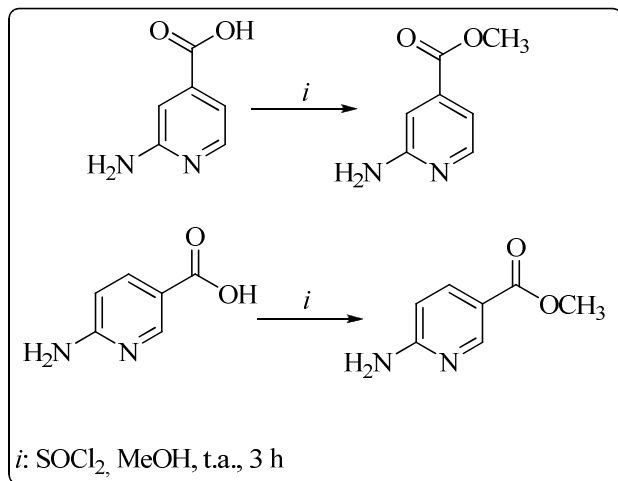


Em 1996, Hosagandi e Dave⁴⁸ realizaram a esterificação de ácidos carboxílicos aromáticos, utilizando cloreto de tionila e alcoóis como: metanol, etanol e butanol. Isso comprova que essas condições reacionais não afetam grupos funcionais como hidroxila e amina, bem com as duplas ligações. Trata-se, portanto, de um método eficiente e atrativo para a síntese de ésteres (Esquema 19). Já em 2007, Boovanahalli e col.⁴⁹ empregaram a mesma metodologia para ácidos isonicotínico e nicotínico (Esquema 20).

Esquema 19:

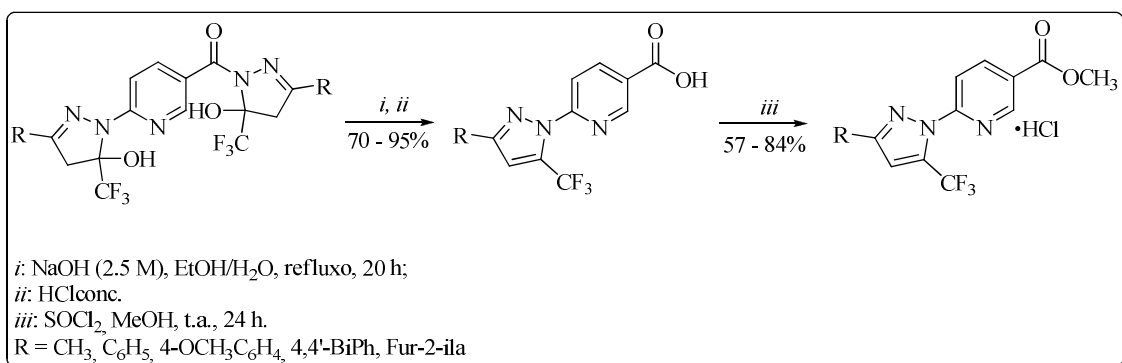


Esquema 20:



Durante o ano de 2011, Bonacorso e col. expuseram na forma de uma Patente Brasileira depositada no INPI,⁵⁰ uma rota sintética, a partir de 2-(1*H*-pirazol-1-il)-5-(1*H*-1-il-1-carbonil) piridinas, para síntese de ácidos pirazolil-nicotínicos e posterior reação de esterificação com bons rendimentos (Esquema 21).

Esquema 21:



2.4 Síntese de carboidrazidas e semicarbazonas

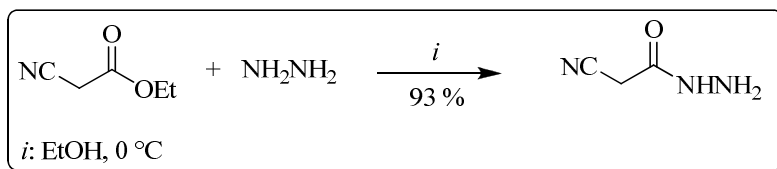
Incluso do escopo de metodologias sintéticas para a formação de amidas, os protocolos mais relatados na literatura são os que utilizam como precursores os ésteres, os quais sofrem adição nucleofílica-eliminação em seus átomos de carbono acila, quando estes são tratados com amônia (*amólise*) ou com aminas primárias e secundárias. Essas reações ocorrem bem mais lentamente do que com cloretos de acila e anidridos, mas ela é útil sinteticamente.

Hidrazidas incluem um vasto grupo de derivados orgânicos de hidrazina, contendo o grupo ativo funcional $-C(=O)NHNH_2$. Seu grande interesse na Química é explicado pela sua diversidade, suas propriedades e amplas aplicações na indústria.

Essa classe de compostos e os seus derivados, tais como hidrazonas têm sido descrita como sítios úteis para vários anéis heterocíclicos de diferentes tamanhos com um ou mais heteroátomos que exibem aplicações interessantes como os produtos farmacêuticos, herbicidas, agentes antibacterianos e corantes.⁵¹ A estratégia de síntese, em geral, para vários heterociclos de precursores hidrazida, tem sido realizada por ciclização ou cicloadição com numerosos reagentes.

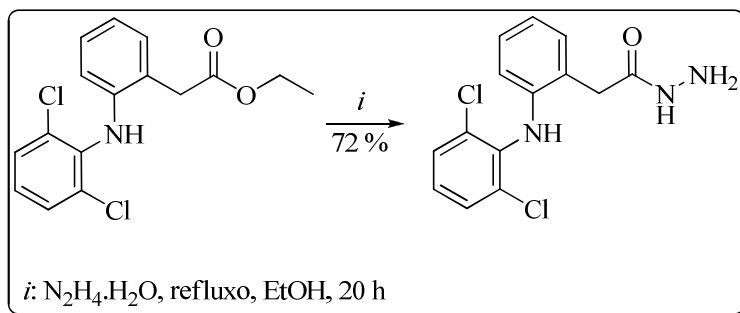
Há onze anos, Gorobets e col.,⁵² relataram a síntese de cianoacetilhidrazida através da reação entre cianoacetato de etila e hidrazina. Essa reação se procedeu a 0 °C e obteve-se um ótimo rendimento de 93% (Esquema 22).

Esquema 22:



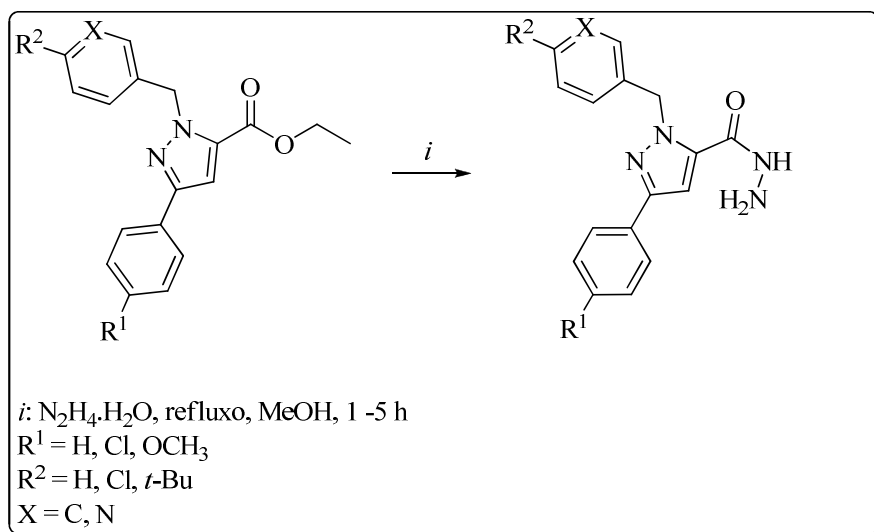
Em 2004, Amir e Shikha⁵³ (Esquema 23) sintetizaram com 72% de rendimento o 2-(2,6-dicloroanilina)fenil ácido acético hidrazida, refluxando o éster com hidrazina hidratada (1:2 molar) em solvente etanol por 20 horas.

Esquema 23:



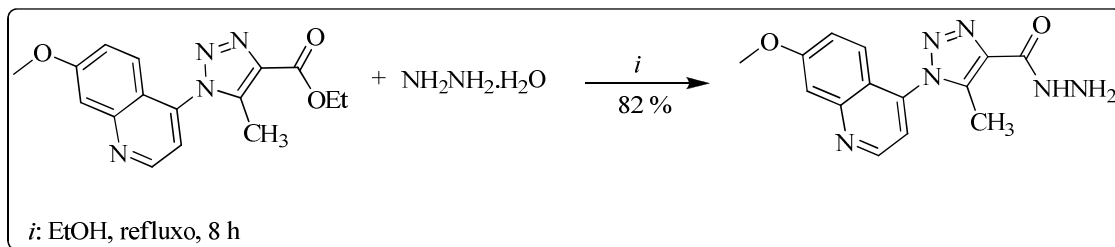
Xia e col.,⁵⁴ em 2007, relataram a síntese de novos derivados de 1-aryl-metil-3-aryl-1*H*-pirazol-5-carboidrazida, a partir do derivado éster (1 mmol) em metanol, com 1,2 mL de hidrazina mono-hidrato 80%, sob refluxo, durante 1 – 5 horas com rendimentos de 72 – 93% (Esquema 24). Os nove compostos mostraram efeitos inibidores sobre o crescimento de células cancerosas pulmonares A54.

Esquema 24:



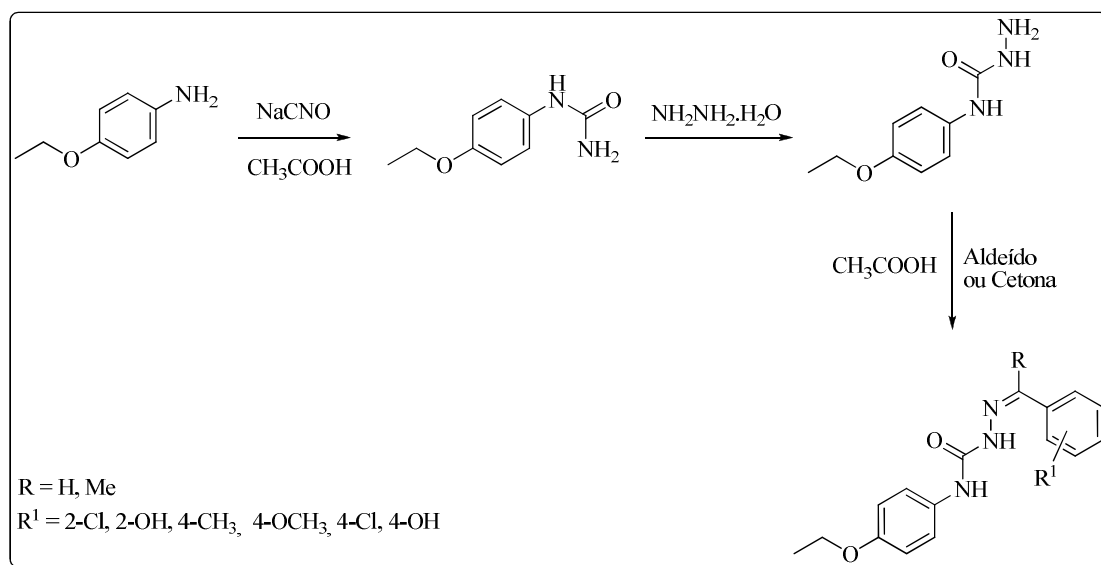
Em 2012, Dharshan e col.⁵⁵ obtiveram a 1-(7-metoxiquinolin-4-il)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il-carboidrazida, reagindo o 1-(7-metoxiquinolin-4-il)-5-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il-carboxilato com a hidrazina hidratada em meio etanólico, sob refluxo, por 8 horas (Esquema 25).

Esquema 25:



Em 2005, Yogeeswari e col.⁵⁶ sintetizaram aril semicarbazonas com potenciais agentes anticonvulsivos, a partir de uma solução de 4-etóxi fenil semicarbazida em etanol e ácido acético glacial, em quantidade equimolar de aldeído ou cetona, durante 3 – 4 horas em refluxo (Esquema 26).

Esquema 26:

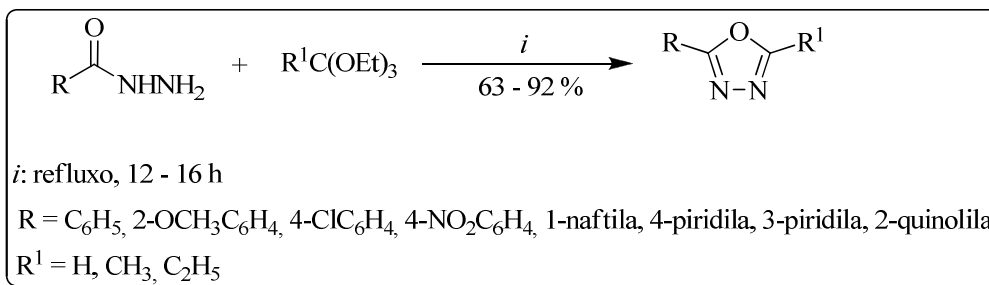
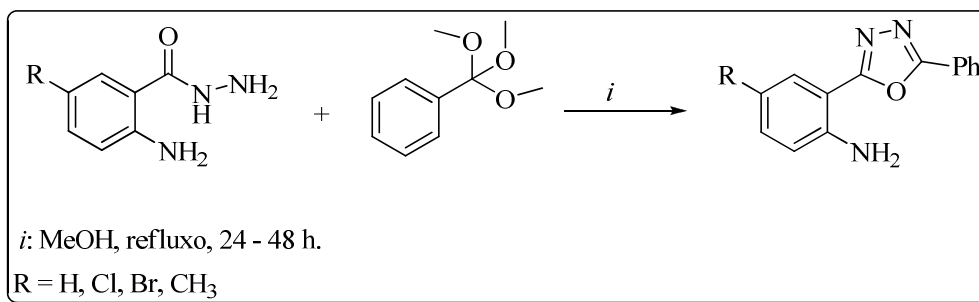


2.5 Síntese de 1,3,4-oxadiazóis 2,5-dissubstituídos e 1,2,4-triazóis

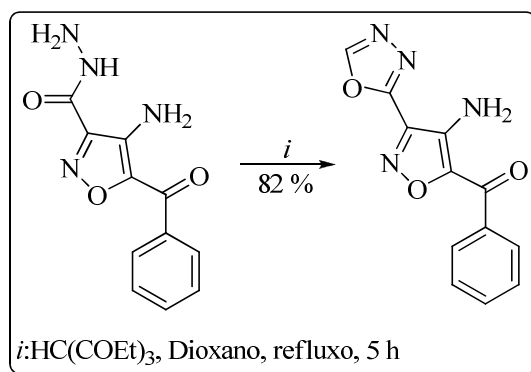
Os anéis pentagonais de três heteroátomos são compostos aromáticos estáveis e muitos são usados comercialmente como fármacos, pesticidas e corantes e podem ser sintetizados por reação de cicloadição ou ciclização.

1,3,4-Oxadiazóis são importantes isômeros da classe, devido ao fato de que alguns de seus derivados têm sido aplicados como materiais eletroluminescentes, materiais de partida para cicloadição, sínteses de hormônio de crescimento de plantas. Ademais, possuem atividade biológica, pesticida, herbicida, analgésica, antialérgica, etc.²¹

Em 1955, Ainsworth⁵⁷ preparou 2-aryl-1,3,4-oxadiazóis, com bons rendimentos (63 – 92%), a partir da ciclocondensação de uma hidrazida aromática com excesso de ortoformiato de etila (Esquema 27). Posteriormente, estendeu-se essa reação a outros ortoésteres, levando à formação de 2-alkil-5-aryl-1,3,4-oxadiazóis. Este foi o primeiro relato de síntese utilizando esses precursores. Em 1984, Leiby e col.⁵⁸ obtiveram, com 39 – 53% de rendimento, uma série de 2,5-diaril-1,3,4-oxadiazóis, quando refluxadas hidrazidas com ortobenzoato de trimetila em metanol (Esquema 28).

Esquema 27:**Esquema 28:**

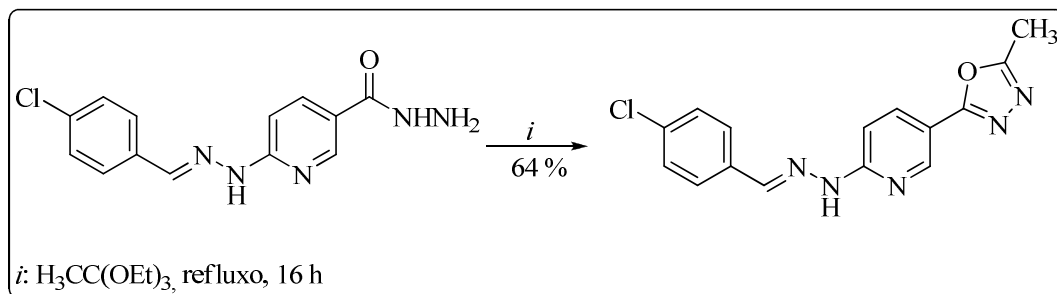
Em 2008, Wagner e col.⁵⁹ sintetizaram e avaliaram, quanto à atividade anticâncer, o composto [4-amino-3-(1,3,4-oxadiazol-2-il)isoxazol-5-il](fenil)metanona. De forma semelhante à metodologia apresentada por Ainsworth, com adição de dioxano como solvente, utilizando um excesso de ortoformiato de trietila e reduzindo o tempo reacional, obtiveram 82% de rendimento da molécula (Esquema 29).

Esquema 29:

Pelo mesmo método sintético de Ainsworth, Bonacorso e col.,⁶⁰ em 2012, obtiveram 1,3,4-oxadiazol derivado (64%), a partir de 6-[2-(4-

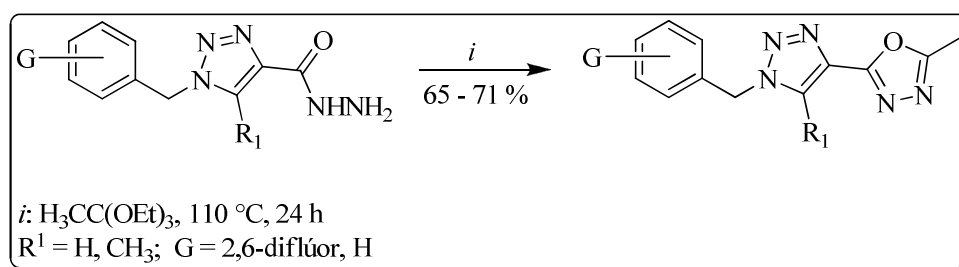
clorobenzilideno)hidrazinil]nicotinoidrazida, por reação de ciclocondensação do tipo [4 + 1] com ortoacetato de trietila (Esquema 30).

Esquema 30:

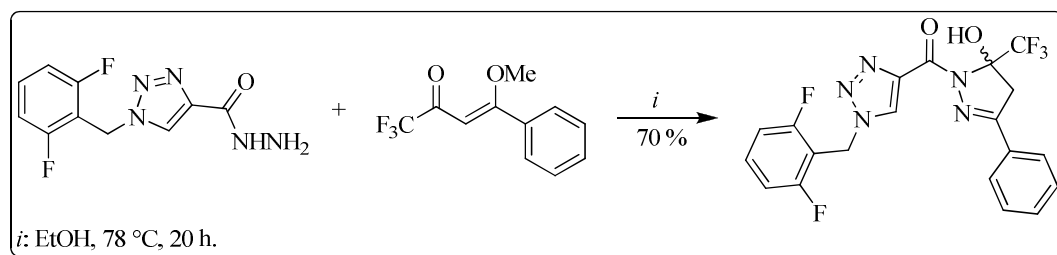


Em 2014, Luz⁶¹ realizou a síntese de 1*H*-1,2,3-triazol-4-il-1,3,4-oxadiazóis, compostos de estrutura análoga à Rufinamida[®], seguindo a metodologia descrita por Ainsworth.⁵⁷ Para essa síntese, o autor utilizou como reagentes uma série de 1*H*-1,2,3-triazol-4-il-carboidrazidas e o ortoéster ortoacetato de trietila, submetidos a uma temperatura de 110 °C, por 24 horas (Esquema 31). Após obter êxito nessa síntese, o mesmo autor, utilizando-se da versatilidade sintética das carboidrazidas, fez um teste submetendo a 1-(2,6-difluorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il-carboidrazida, frente a 4-fenil-1,1,1-trifluór-4-metóxi-3-buten-2-ona, um composto dieletrofílico, formando, assim, um novo núcleo heterocíclico, o anel pirazolínico (Esquema 32).

Esquema 31:



Esquema 32:

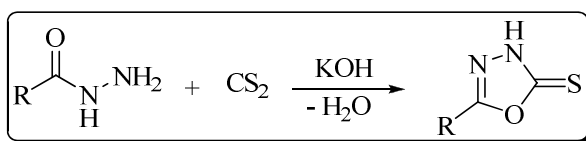


O protocolo de Ainsworth⁵⁷ foi revisado por grupos de pesquisa, os quais buscavam uma metodologia que não utilizasse um excesso de ortoésteres, longo tempo reacional e condições drásticas, isto é, buscavam uma metodologia mais econômica e ambientalmente correta.

Dabiri e col.⁶² sintetizaram 1,3,4-oxadiazóis através da utilização de sílica ácida sulfúrica, a qual é um catalisador versátil, pouco danoso ao meio ambiente e reutilizável, não sendo necessária a presença de algum tipo de solvente e nem um excesso de ortoéster. A síntese procedeu por 10 minutos à temperatura ambiente. Polshettiwar e col.⁶³ realizaram algumas reações “one pot” entre aril ou heteroaril hidrazidas e ortoésteres, sob radiação de micro-ondas e utilizando um catalisador sólido, o Nafion[®]NR50. Esse catalisador também dispensa a presença de algum tipo de solvente. As reações decorreram por um tempo de 10 a 25 minutos, a temperaturas de 80 a 130 °C, obtendo-se ótimos rendimentos (~ 90%).

Há vários métodos relatados na literatura para sintetizar derivados de 1,3,4-oxadiazóis.⁶⁴ Sabe-se que a rota/via mais utilizada para a síntese de 1,3,4-oxadiazóis e de seus derivados 2,5-disubstituídos é a ciclização com catálise térmica, ácida ou básica, de suas carboidrazidas correspondentes.⁶⁵ Contudo, outra forma de sintetizar é quando hidrazidas são tratadas com CS₂ em meio básico, o que resultou, em 1971, o primeiro relato deste tipo de reação, em 2-R-5-mercaptilo derivados (1,3,4-oxadiazóis-5-tionas) (Esquema 33).⁶⁶

Esquema 33:



No ano de 2006, 5-(2-piridil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**A**) foi sintetizado a partir do correspondente ácido carboxílico de 2-piridina (ácido picolínico), testado *in vitro* contra os micro-organismos *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e comparado com os antibióticos cefalosporina[®] e gentamicina[®]. O composto teve relativamente menor efeito de inibição de *S. aureus* e *E. coli*, mas exibiu maior efeito sobre a *P. aeruginosa*.⁶⁷ Todavia, em 2010, bis-5-(2,6-piridil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiona (**B**) foi sintetizado a partir de ácido 2,5-dicarboxílico de piridina, e também testado *in vitro* contra os mesmos micro-organismos. Os resultados mostraram que o composto bis

(B) teve efeito muito elevado, em comparação com o anel de piridina mono oxadiazol (A), sobre a bactéria gram-negativa *P. aeruginosa*, em particular, quando o seu efeito excedeu até mesmo o do cefalosporina® (Figura 10).⁶⁸

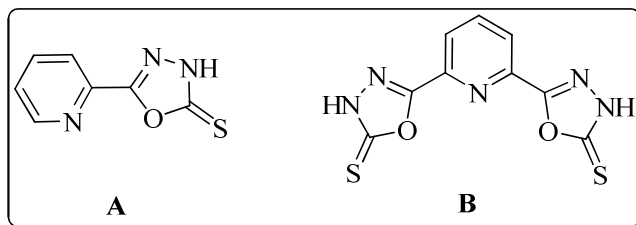
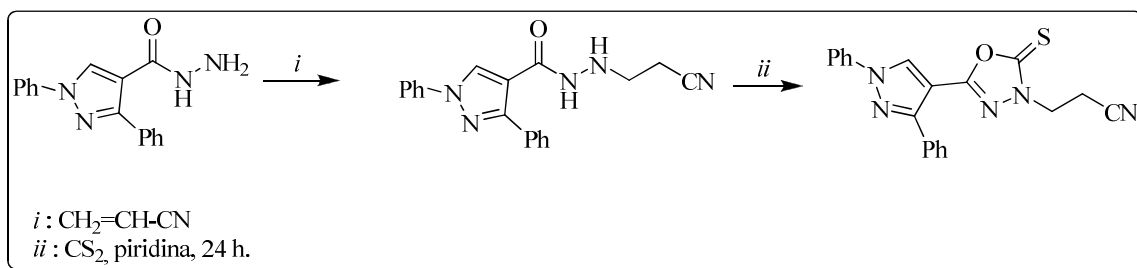


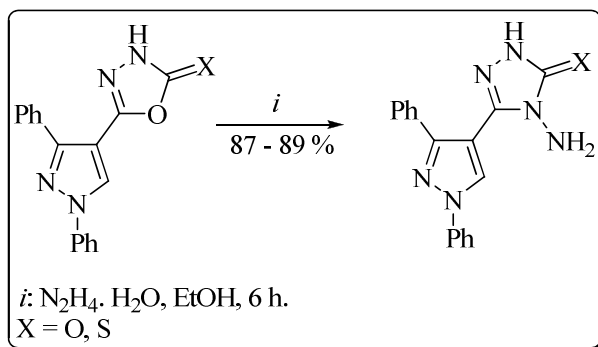
Figura 10. Estrutura dos compostos A e B

Em 2006, El-Kashef e col.⁶⁹ sintetizaram o composto 3-[5-(1,3-difenil-1*H*-pirazol-4-il)-2-tioxo(1,3,4)-oxadiazol-3-il]propionitrilo, tratando carboidrazida com dissulfeto de carbono em piridina (1 mmol : 2 mL : 5 mL). A suspensão foi aquecida sob refluxo, em banho de água, durante 24 horas. O solvente foi eliminado sob pressão reduzida e o resíduo foi triturado com água gelada e neutralizado com ácido clorídrico diluído. O produto sólido obtido foi filtrado e recristalizado com éter de petróleo/acetato de etila (2:1), obtendo-se, assim, o correspondente derivado oxadiazol tiona com 64% de rendimento (Esquema 34). No mesmo *paper*, os autores descrevem a síntese de 1,2,4-triazóis, a partir de 1,3,4-oxadiazóis (1 mmol) e hidrazina hidratada (3 mL) em etanol, com refluxo, por 6 horas, com rendimentos de 87 – 89% (Esquema 35).

Esquema 34:

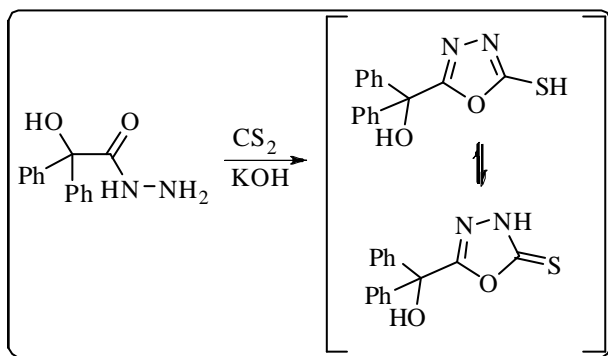


Esquema 35:



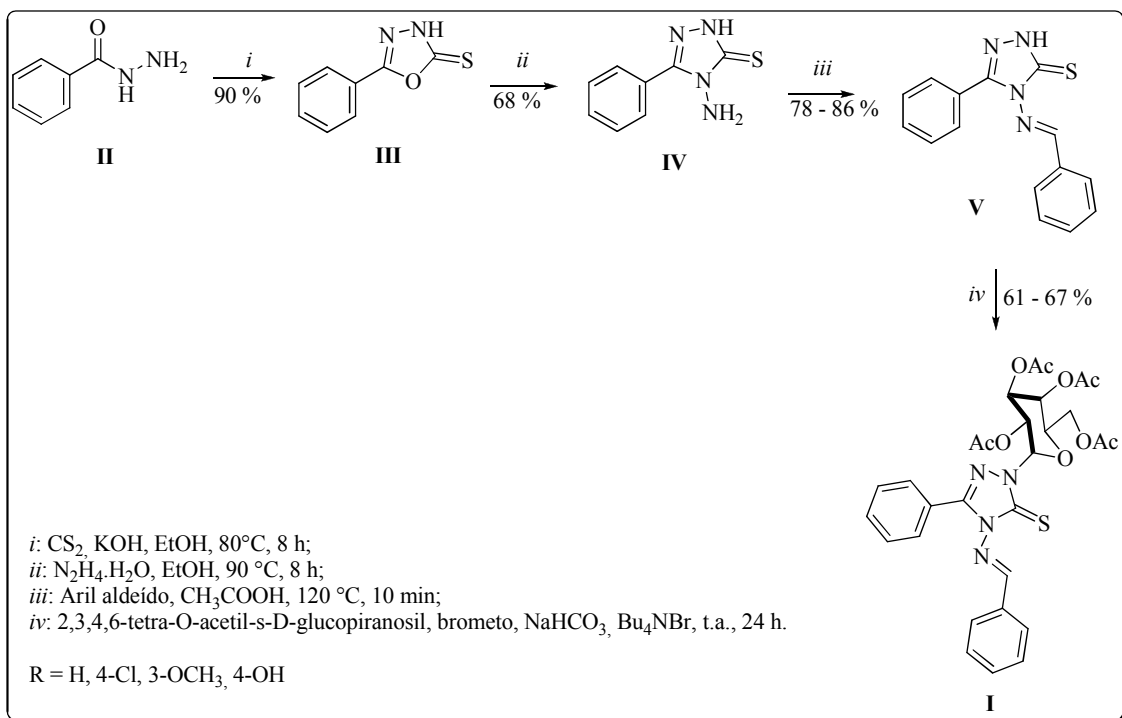
Em 2007, Safieh e col.^{70a} sintetizaram o composto (5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-il)(difênil)metanol, com 96% de rendimento. Para a reação de ciclização utilizou-se dissulfeto de carbono em meio básico, em etanol, sob refluxo por 20 horas, depois acidificou-se com ácido acético e extraiu-se com solvente clorofórmio (Esquema 36).

Esquema 36:



Em 2009, Li e col.^{70b} sintetizaram uma série de D-glucopiranosil-1,2,4-triazol-3-ona derivados **I**, pela reação de 1,2,4-triazol-3-ona com 2,3,4,6-tetra-*o*-acetil- σ D-glucopiranosil. Os autores demonstraram a conversão dos compostos **II** para **V**, sem a necessidade de purificação de ambos oxadiazol e triazol para a obtenção dos intermediários dos compostos **V**. Além disso, verificou-se que os análogos **V** e **I** mostraram atividade citotóxica frente a células malignas humanas MCF-7 (câncer de mama) e Bel-7402 (câncer de fígado) (Esquema 37).

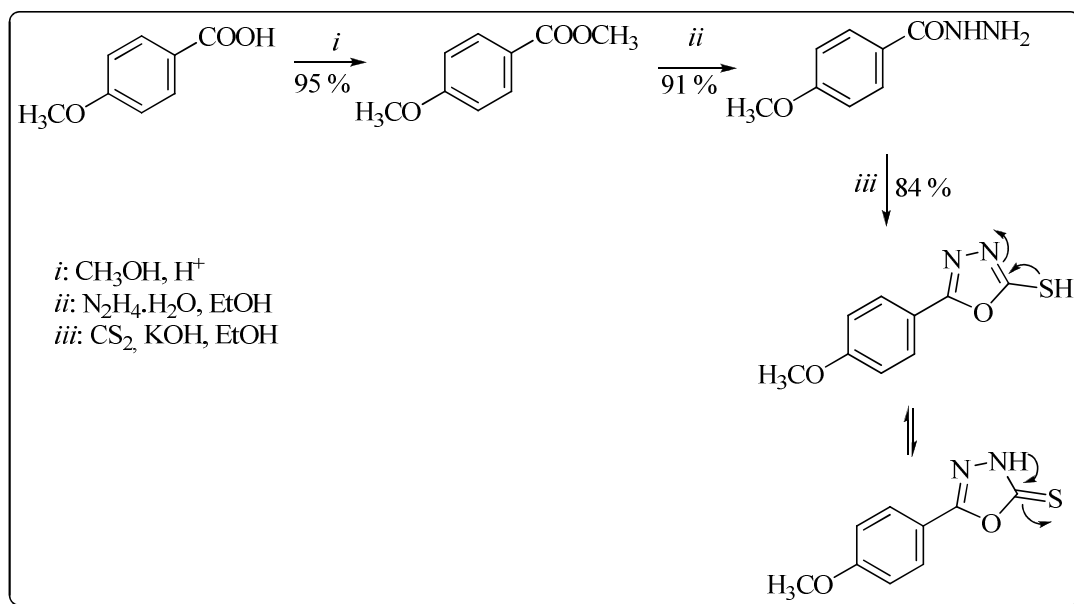
Esquema 37:



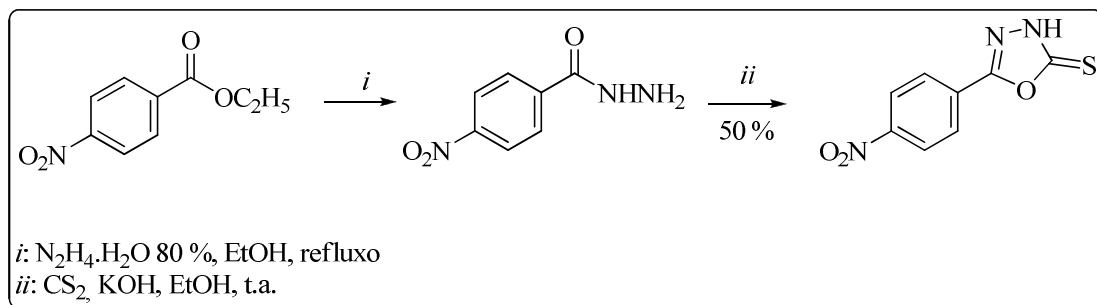
Em 2010, Al-Qaisi e col.⁷¹ sintetizaram o 5-(4-Metoxifenil)-1,3,4-oxadiazol-2-tiona, com 84% de rendimento, utilizando dissulfeto de carbono em meio de hidróxido de potássio e etanol. (Esquema 38). Aos mesmos moldes, em 2011, Hasan e col.^{24a} prepararam uma série de 5-aryl(heteroaryl)-1,3,4-oxadiazol-2-tiol dissolvendo, em etanol absoluto, aril(heteroaryl) hidrazidas com dissulfeto de carbono e, após, adicionando uma solução aquosa de hidróxido de potássio, refluxando por 3 horas.

E, em 2012 (Esquema 39), Modi e Modi⁷² sintetizaram, com rendimento de 50%, o composto 5-(4-nitrofenil)-3*H*-1,3,4-oxadiazol-2-tiona. Porém, sem necessitar de um período de refluxo, como procederam Hasan e col.,^{24a} apenas misturaram-se os reagentes em temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi evaporada e o resíduo foi vertido para uma mistura de gelo e ácido clorídrico concentrado. O precipitado formado foi filtrado e cristalizado em etanol/água destilada (4:1), produzindo o composto oxadiazol-tiona.

Esquema 38:

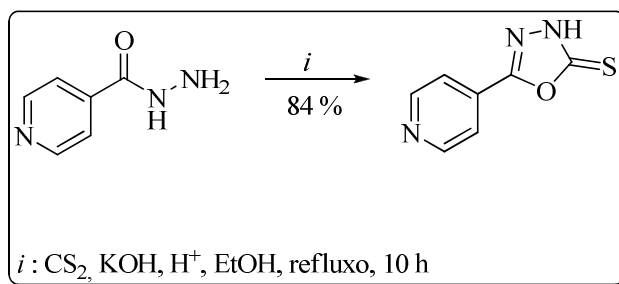


Esquema 39:



Ainda em 2012, Azam e col.⁷³ isolaram, na forma de tiona, o composto 5-(piridina-4-il)-1,3,4-oxadiazol-2-(3*H*)-tiona, com 84% de rendimento, após 10 horas de refluxo em etanol (Esquema 40). Ao término, o produto foi dissolvido em água e acidificado com HCl, sendo o sólido filtrado e recristalizado em metanol.

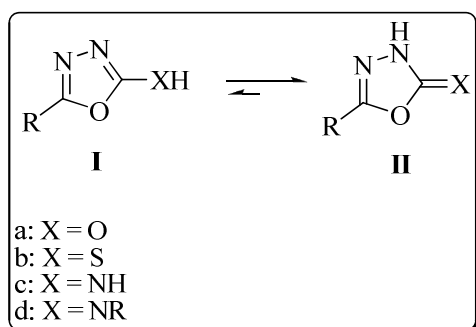
Esquema 40:



Estudos revelaram que o tautomerismo em 1,3,4-oxadiazol 2-hidróxi (**Ia**), 2-mercapto (**Ib**) e 2-amino-oxadiazóis (**Ic**) está em equilíbrio com as oxadiazolinas tautoméricas (**IIa**), (**IIb**) e (**IIc**), respectivamente (Esquema 41).⁷⁴

Entretanto, há evidências de que espectros de UV, IV, RMN ¹H e RMN ¹³C suportam estrutura **IIb** de 1,3,4-oxadiazol-5-tiona, quando os valores UV e os espectros de IV, de fluorescência e de pK de 2-amino-1,3,4-oxadiazoles, indicam que o tautômero amina (**Ic** ou **Id**), em vez de o seu tautômero imina (**IIc** ou **IId**), predomina.^{74c, 75}

Esquema 41:



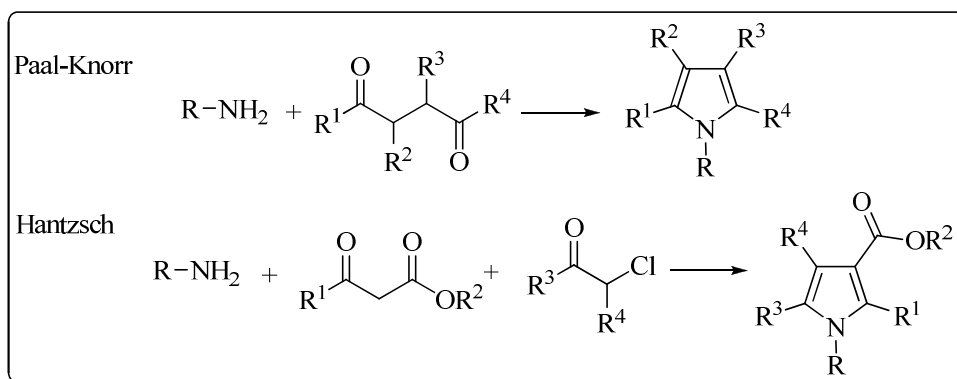
2.6 Síntese de pirróis 2,5-dissubstituídos

O pirrol, sistema aza-heterocíclico aromático de fórmula C₄H₅N, foi primeiramente isolado de óleo de osso, mas também ocorre no carvão. Esse composto é encontrado como estrutura básica de produtos naturais e moléculas biologicamente ativas,⁷⁶ com vasta gama de aplicações biológicas, tais como atividade antitumoral,⁷⁷ antibacteriana⁷⁸ e antiviral.⁷⁹ Além disso, são moléculas altamente versáteis como precursores dentro da síntese orgânica.⁸⁰

Pirróis com substituintes nas posições adjacentes ao nitrogênio são observados também em importantes classes de produtos naturais marinhos, alguns dos quais demonstram excepcionais propriedades biológicas e farmacológicas. Extraídos principalmente de diversas espécies de esponjas marinhas, alguns alcaloides com núcleo pirrólico apresentam efeito citotóxico contra células tumorais.⁸¹

Além da extração e da modificação a partir de derivados de produtos naturais, é possível obter pirróis por métodos sintéticos convencionais, principalmente através de vias clássicas, partindo de reagentes simples, como as reações de Paal-knorr e de Hantzsch (Esquema 42).⁸²

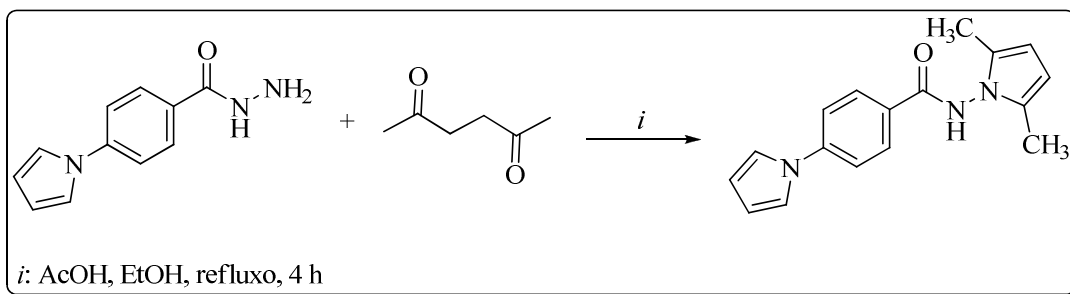
Esquema 42:



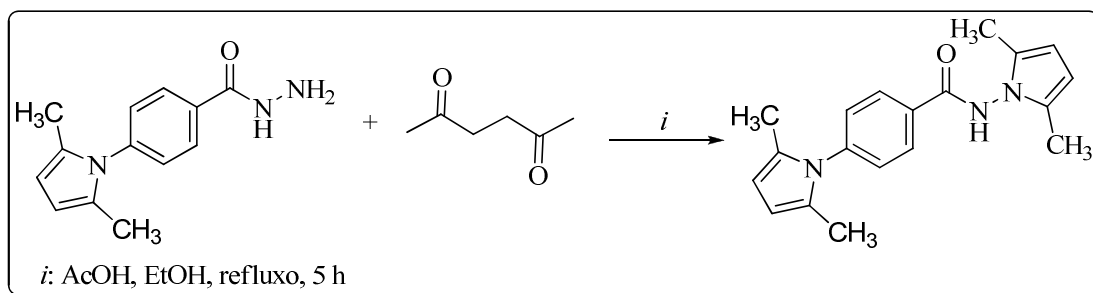
Na reação de Paal-Knorr, os compostos 1,4-dicarbonílicos são tratados com NH₃ ou aminas primárias (ou com sais de amônio), em etanol ou ácido acético, levando para pirróis 2,5-dissubstituídos. Já na síntese de Hantzsch, os compostos α-halocarbonílicos (aldeído ou cetona) reagem com β-cetoésteres ou β-dicetonas e NH₃ ou aminas primárias para formar derivados pirrólicos 3-alcooxicarbonil ou 3-acil pirrólicos, respectivamente.^{10, 82, 83}

Em 2008, Joshi e col.⁸⁴ descreveram a síntese de *N*-(2,5-dimetil-pirrol-1-il)-4-pirrol-1-il benzamida, a partir de 4-pirrol-1-il-ácido benzoico hidrazida frente a hexano-2,5-diona, com rendimento de 86%, após 4 horas de refluxo em etanol (Esquema 43). O composto foi avaliado quanto à sua atividade *in vitro* antibacteriano contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e rastreado para a atividade antituberculose contra o *Mycobacterium tuberculosis* pelo método de ensaio de diluição em caldo. E em 2013,^{85a} os mesmo autores publicaram o potencial antibacteriano, antifúngico e antituberculose da molécula *N*-(2,5-dimetil-pirrol-1-il)-4-(2,5-dimetil-pirrol-1-il)benzamida, apresentando CIM de 2 µg/mL, para a bactéria Gram-positiva *S. aureus*, de 4 µg/mL, para o fungo *C. tropicalis*, e de 2 µg/mL, para *M. tuberculosis* H37Rv (Esquema 44).

Esquema 43:

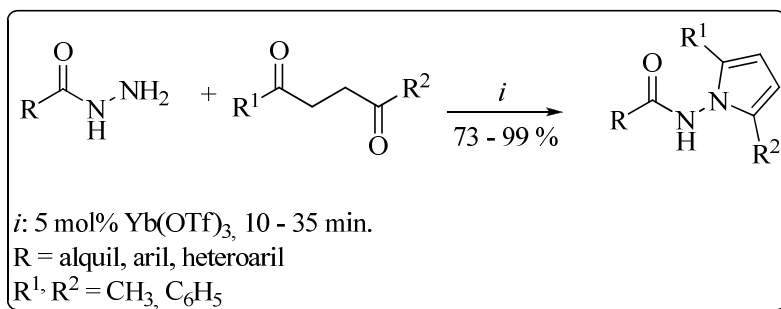


Esquema 44:



Visando o desenvolvimento de metodologias orgânicas verdes e eficientes para realizar a síntese em grande demanda, recentemente Zuo e col.^{85b} relataram um método eficiente para a obtenção de derivados de pirrol de γ -dicetonas com hidrazidas, catalisada por $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ (0,5 mol%), sob condições livres de solvente, a qual proporcionou os produtos desejados, com rendimentos variando de moderado a excelente (73 – 99%) (Esquema 45).

Esquema 45:



APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nesse capítulo serão apresentados a numeração dos compostos obtidos, bem como a discussão da otimização das condições reacionais, purificação e mecanismos propostos.

A elucidação estrutural dos compostos foi feita por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectroscopia de Massas (GC-MS) e/ou Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (LC-ESI-MS/MS) e/ou Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HMRS), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ^1H , ^{13}C { ^1H }, ^{19}F , COSY 90, DEPT 135, HSQC, Difração de Raios-X e suas purezas comprovadas por Análise Elementar CHN.

Na primeira etapa deste capítulo será descrita a síntese de uma série de 4-alcóxi-4-alkuil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alkuen-2-onas (**2a-e**, **3a-b**) a partir da reação de acilação de enoléteres e acetais com anidrido trifluoracético ou cloreto de tricloroacetila, conforme metodologia desenvolvida por Hojo e col.^{13, 15d} e sistematizada por Martins e col.^{13e, 29e, 31d-g}

Em uma segunda etapa, serão discutidos os compostos 2-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il] piridinas (**4a-c**) sintetizados conforme Bonacorso e col. em 2009.⁴¹

A seguir, será demonstrada a síntese de ácidos pirazolil-nicotínicos (**5a-c**) através da hidrólise básica dos compostos **4a-c** sintetizados previamente.⁵⁰

Em uma etapa subsequente, uma série de ésteres (**6a-c**) será discutido em meio metanólico e cloreto de tionila a partir dos ácidos pirazolil-nicotínicos, conforme metodologia já desenvolvida por Bonacorso e col.,⁵⁰ em 2011, para demonstrar a sua capacidade de aplicação como intermediários sintéticos.

Sabe-se que a hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) possui em sua estrutura dois centros nucleofílicos, o que lhe confere reatividade diferenciada frente à eletrófilos. Em um estudo recente⁴¹ desenvolvido pelo NUQUIMHE, realizaram-se reações de ciclocondensação com este reagente, observando-se que o uso das vinil cetonas (**2**, **3**) e da hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) em proporção molar 1:1, não conduziu à ciclização. Diante disso, foi descrito mais tarde um trabalho^{50b} a fim de provar a versatilidade deste precursor diante de diferentes eletrófilos, porém, a reação com ortoacetato de trietil, tendo como finalidade de ciclizar a hidrazida, formando um anel

1,3,4-oxadiazólico também, não favoreceu a diferenciação da reatividade de **1** uma vez que o ortoacetato de trietila é altamente reativo, não permitindo a ciclização apenas em um dos centros nucleofílicos. A quimiodiferenciação de reatividade hidrazina-hidrazida favorecendo a função mais reativa hidrazina só foi observada quando **1** reagiu com aldeídos arílicos e heteroarílicos na razão molar 1:1.

Por isso, posteriormente, neste trabalho será relatada a síntese de 6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinoidrazidas (**7a-c**) tendo como precursor os metil-ésteres (**6a-c**) frente a hidrazina hidratada (NH₂NH₂.H₂O). Como veremos a seguir, esta rota reacional irá proporcionar novos compostos policíclicos nitrogenados com o grupamento pirazolínico trifluormetilado na posição 2 do anel da piridina, sendo uma estratégia química para a introdução de diferentes heterociclos na posição 5 do anel piridínico.

Após, será demonstrada a obtenção de dois anéis pirazólicos trialometilados diferentes ligados a uma piridina nas posições 2 e 5. Os compostos 2-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-alquil(aril)-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**10**) e 2-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11**) foram sintetizados a partir da reação de 6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinoidrazidas **7** com as 4-alcóxi-1,1,1-trialo-3-alquen-2-onas (**2** ou **3**). Em vista disto, será exposta a síntese do composto **8** resultado da reação de **7b** frente ao 1,3-dicarbonílico, 2,4-pentanodiona.

Também serão relatadas reações de desidratação da pirazolina pela metodologia de Padwa,⁴² em meio piridina/benzeno, na presença de cloreto de tionila sintetizando os compostos **9**, **12**, e **13**.

Ainda neste trabalho, será descrito a obtenção de compostos com sistemas poli-heterocíclicos contendo a classe pirazol com substituinte trifluormetil, piridina e 1,3,4-oxadiazol. A síntese dos 2-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-[5-alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]piridina (**14aa**, **14ab**, **14ba**, **14bb**) sendo realizada a partir da reação de ciclocondensação [4 + 1] dos compostos **7a-b** quando submetidos a temperatura de 110 °C com ortoacetato de trietila ou ortobenzoato de trimetila.

Depois, um relato da síntese de 2-(3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il]piridinas **15a-c** a partir da reação de ciclização com dissulfeto de carbono, em meio básico, frente a pirazolil

nicotinoidrazidas **7a-c**. Esta síntese demonstrará mais uma versatilidade na estratégia em se ter na posição 5 do anel piridínico uma hidrazida livre.

Em sequência, a síntese do novo composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(4-amino-3-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il)piridina **16b** a partir da substância **15b** frente a hidrazina e também, a síntese de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-tiona-5-il)-1(2*H*)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-*a*]piridina (**17**), quando utilizado a mesma metodologia da série **15** frente ao reagente **1**.

Exemplificando a possibilidade de obtenção de outros heterociclos, utilizou-se como precursores os compostos **7**, que apresentam a função hidrazida livre, e o reagente acetilacetona (hexano-2,5-diona). Desta forma, a pirazolil-piridinas-pirrolil **18** foram obtidas quando a reação foi realizada sob refluxo de etanol durante 4 horas.

Finalmente, será apresentada a síntese de condensação do composto 6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (**7b**) frente a aldeído arílico ou acetofenona (**19**). Também, será relatada a reação de condensação da hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) frente a aldeídos arílicos na proporção molar 1:2 (**20**).

Na Figura 11, encontram-se o composto utilizado comercialmente (**1**) e na Figura 12 estão as estruturas dos percursos sintetizados para a obtenção dos compostos inéditos descritos nesta tese.

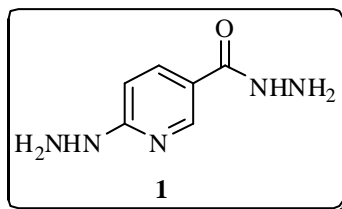


Figura 11. Estrutura de Hidrazida 6-hidrazinonicotínica **1**.

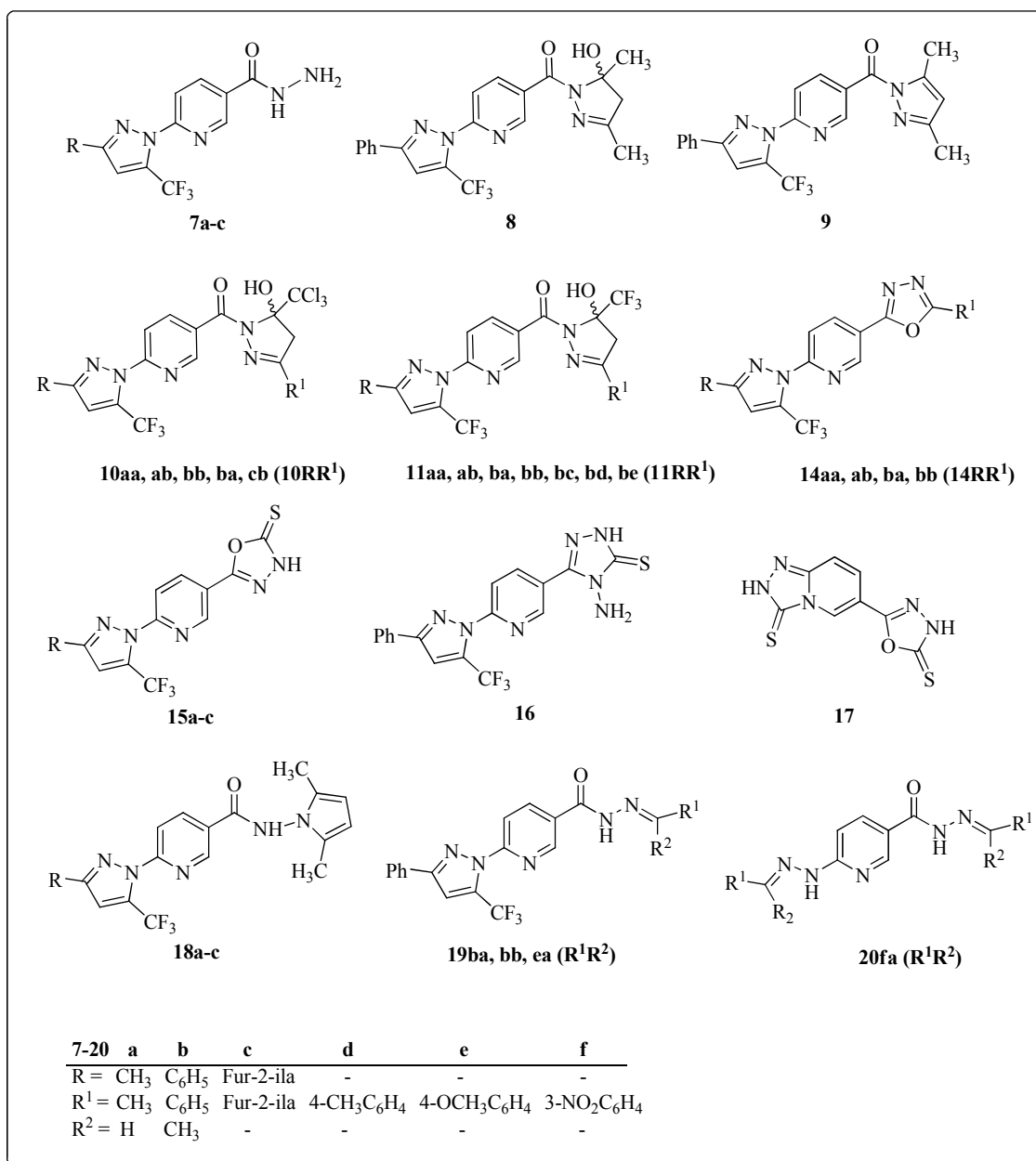


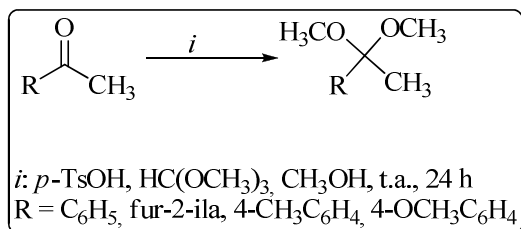
Figura 13. Estrutura dos compostos inéditos

3.2 Síntese de Acetais

As reações de obtenção dos acetais (Esquema 46) foram realizadas de acordo com a metodologia já descrita,^{13a-c, e, g, 15c-d, 13a, 31d-g, 15b, 29b} a partir de metilcetonas com ortoformiato de trimetila e quantidades catalíticas de ácido *p*-tolueno sulfônico, em metanol anidro. O tempo de reação foi de 24 horas em repouso, à temperatura ambiente (25 °C). Após neutralização com carbonato de sódio anidro, os acetais foram obtidos na sua forma pura através de destilação à pressão reduzida. Os pontos de ebulição encontrados, bem como os rendimentos, estão de acordo com dados da literatura.^{13, 15c-d,}

31d-g, 15b, 29^b Os acetais também foram caracterizados por RMN ¹H e comparados com seus respectivos dados encontrados na literatura.

Esquema 46:

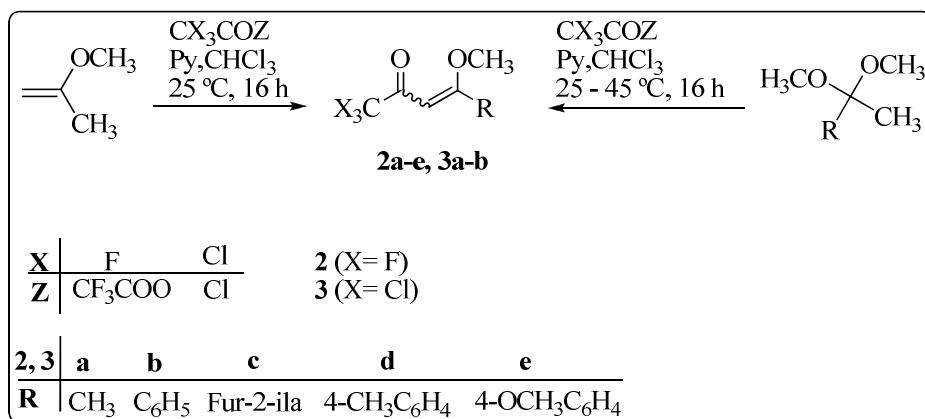


3.3 Síntese de 4-Alcóxi-4-alkuil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alquen-2-onas (2a-e, 3a-b)

A síntese dos compostos **2a-e**, **3a-b** está baseada na metodologia utilizada pelos pesquisadores do grupo NUQUIMHE.^{13e-g, 31d-f, 29^b}

A reação de acilação foi realizada adicionando-se anidrido trifluoroacético ou cloreto de tricloroacetila a uma solução de enoléter, para a síntese de **2a** e **3a**, ou acetal, para a síntese dos compostos **2b-e** e **3b**, ambos em piridina e clorofórmio anidro, sob banho de gelo e agitação magnética. A mistura permaneceu durante 24 horas à temperatura ambiente e sob agitação magnética para os enoléteres, e 16 horas, a 45 °C e sob agitação magnética, para os acetais. Lavou-se a mistura com uma solução de ácido clorídrico (0,1 M) e, a seguir, com água destilada. A fase orgânica foi seca com carbonato de sódio anidro e o solvente removido no rotaevaporador. Os produtos (**2a-e** e **3a-b**) foram purificados por destilação à pressão reduzida. Os rendimentos foram próximos aos descritos na literatura (Esquema 47).^{13e-g, 31d-f, 29^b}

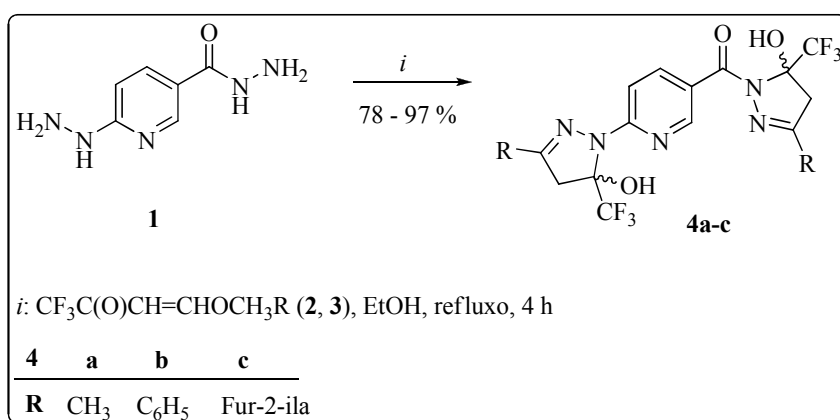
Esquema 47:



3.4 Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-il-1-carbonil] piridinas (**4a-c**)

Os compostos **4a-c** foram sintetizados utilizando como precursor sintético as enonas (**2a-c**) frente à hidrazida 6-hidrazinonicotínica comercial (**1**) na proporção molar 2:1, com solvente etanol, durante 4 horas em temperatura de refluxo conforme Bonacorso e col.^{41,86} Com esta metodologia foi possível isolar as 2-(1H-pirazol-1-il)-5-(1H-1-il-1-carbonil) piridinas (**4a-c**), sendo estas 2-pirazolinas obtidas, estáveis à temperatura ambiente, com o grupo CF₃ na posição 5 do anéis pirazolínicos. Os rendimentos foram condizentes com os descritos na literatura.^{41,86} (Esquema 48).

Esquema 48:



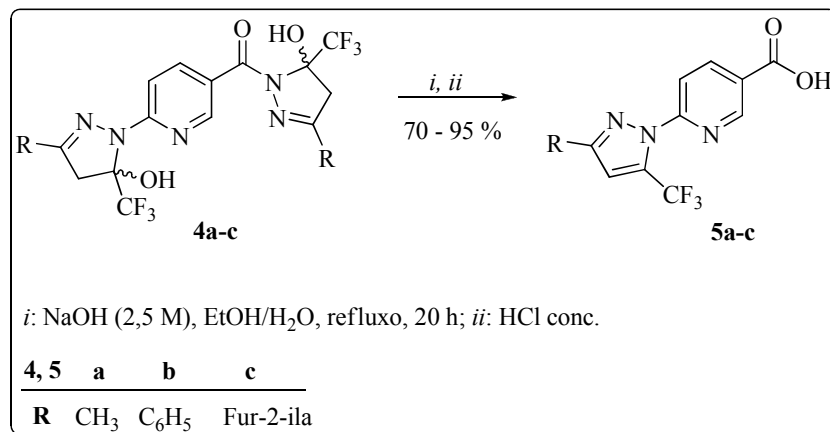
3.5 Síntese de Ácidos 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]nicotínicos (**5a-c**)

De acordo com trabalhos já descritos pelo grupo NUQUIMHE^{50,86} promoveu-se a reação de hidrólise básica do sistema 2-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (**4a-c**) visando a obtenção de ácidos pirazolil-nicotínicos (**5a-c**).

Assim, a metodologia da reação se processou com NaOH (2,5 M), em uma mistura de EtOH/H₂O (7:3, v/v), na temperatura de 95 – 100 °C, por um período de 20 horas, produzindo os produtos **5** todos sólidos, após ajuste do pH (acidificação) os quais, foram filtrados/lavados com água destilada gelada. Os derivados do ácido

nicotínico são estáveis ao ar e de coloração branca, amarela ou marrom, os pontos de fusão encontrados, bem como rendimentos, estão de acordo com a literatura.⁵⁰ (Esquema 49).

Esquema 49:

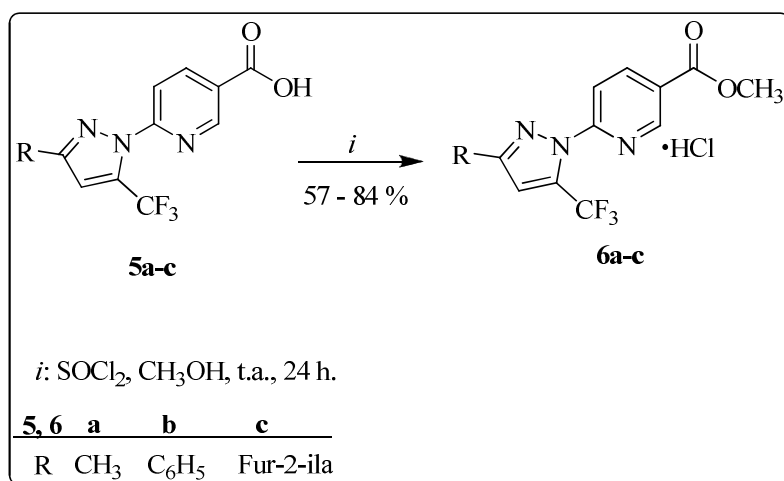


3.6 Reação de Esterificação dos Ácidos pirazolil-nicotínicos

Após a realização da síntese dos ácidos pirazolil-nicotínicos (**5a-c**), efetuou-se a reação de esterificação para obtenção dos cloridratos de 6-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinato de metila (**6a-c**), a qual foi realizada com o procedimento previamente desenvolvido,⁴⁸⁻⁵⁰ utilizando cloreto de tionila e metanol como reagente e solvente. Os metil-ésteres foram obtidos sólidos estáveis e todos isolados na forma de cloridratos, e com rendimentos equivalentes aos descritos (Esquema 50).^{50b}

Durante o ano de 2011, o conteúdo científico do processo de síntese dos ácidos e ésteres nicotínicos (**5 – 6**) foram redigidos e publicados como forma de uma Patente Brasileira depositada no INPI^{50a} por Bonacorso e col.

Esquema 50:



3.7 Síntese de 6-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas (7a-c)

O Esquema 51 apresenta as reações entre cloridrato de nicotinato de 6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]metila (**6a-c**) e hidrazina hidratada para a síntese de 6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas (**7a-c**). As condições reacionais foram determinadas inicialmente para o precursor **6a** levando, desse modo, à formação do composto **7a**.

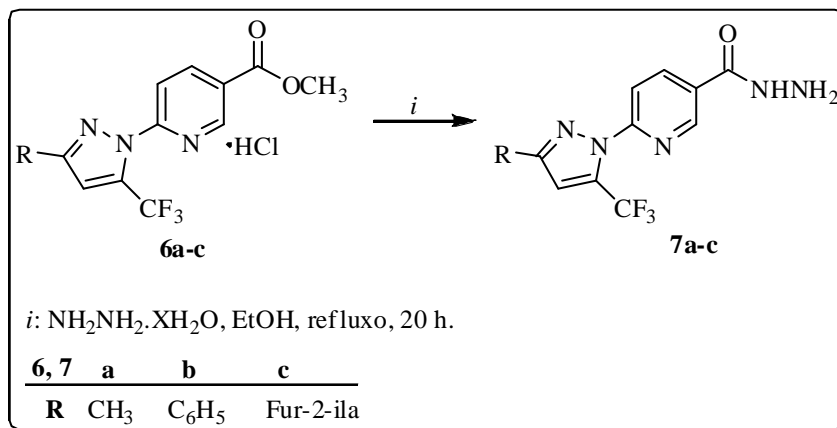
Na busca de melhor rendimento para esta etapa sintética, foram testadas algumas condições reacionais, observando as já descritas na literatura para este tipo de reação.³⁰

A partir de uma solução de etanol absoluto (5 mL) e cloridrato de nicotinato de 6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]metila **6a** (1 mmol) em um balão reacional foram adicionados, sob agitação, 0,5 mL de hidrazina hidratada (NH₂NH₂.XH₂O 24%). Após a adição, a reação foi posta à temperatura de refluxo durante 4 a 5 horas, mantendo-se a agitação magnética durante todo o tempo decorrido. Ao término do período reacional, havia ainda sobra do material de partida **6a**, analisando por CCD.

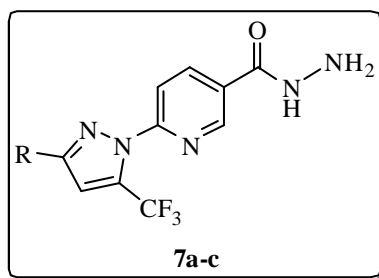
Em vista disto, realizou-se uma nova reação aumentando o tempo reacional de 18 a 20 horas, também acompanhado por CCD, com a quantidade de 0,5 mL da hidrazina hidratada. Após o tempo reacional, a mistura ficou em repouso por 12 – 24 horas à temperatura ambiente. Observou-se a formação de um precipitado sendo este filtrado e lavado com 10 – 15 mL de solução etanol/H₂O gelados, seco em pressão

reduzida com P_2O_5 obtendo sólido estável ao ar, de cor branca, com rendimento de 73%. Observou-se depois, através de espectro de RMN 1H somente o produto desejado **7a**.

Esquema 51:



O tempo de repouso (cristalização lenta) pode ser reduzido colocando em banho de gelo ou retirando o solvente etanol em evaporador rotatório, porém após deverá ser feita uma lavagem com água gelada (+/- 10 mL) para a retirada total de hidrazina presente em excesso no meio reacional não necessitando de recristalização. Os compostos **7a-c** são inéditos e foram isolados na forma de sólidos. A Tabela 1 mostra os dados de rendimentos, os pontos de fusão e HRMS (ESI) desses compostos (**7a-c**).

Tabela 1. Propriedades Físicas dos compostos **7a-c**.

| Comp. | R | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | HRMS (ESI) Calc./Exp. |
|-----------|-------------------------------|-----------|-----------|--|------------------------|
| 7a | CH ₃ | 73 | 155 – 157 | C ₁₁ H ₁₀ F ₃ N ₅ O (285,22) | 286,0915(M+H)/286,0987 |
| 7b | C ₆ H ₅ | 62 | 218 – 219 | C ₁₆ H ₁₂ F ₃ N ₅ O (347,29) | 348,1072(M+H)/348,1064 |
| 7c | Fur-2-ila | 57 | 204 – 206 | C ₁₄ H ₁₀ F ₃ N ₅ O ₂ (337,26) | 338,0866(M+H)/338,0832 |

3.7.1 Identificação espectroscópica por RMN dos compostos (7a-c)

A identificação dos compostos (**7a-c**) foi realizada por RMN ¹H, ¹³C {¹H}. Os espectros foram registrados em DMSO-*d*₆, temperatura de 313 K, utilizando TMS como referência interna. A atribuição de sinais para os compostos foram baseados a partir da interpretação dos dados da literatura.^{50b,72,87}

O espectro de RMN ¹H do composto 6-(5-trifluormetil-3-metil-1*H*-pirazol-1-il) nicotinoídrazida **7a** (Figura 14) mostrou um simpleto alargado em 9,96 referente ao NH, um simpleto em 8,86 ppm referente ao hidrogênio H-2(Py). Em 8,38 ppm foi observado um duplete com constante de acoplamento *J* = 8 Hz do hidrogênio H-4(Py) e em 7,91 ppm um duplete referente ao hidrogênio H-5(Py) com *J* = 8 Hz. O hidrogênio H-4(Pz), ou seja, o hidrogênio vinílico do anel pirazolínico apresentou-se em 7,04 ppm como um simpleto. Em 4,56 ppm foi verificado um simpleto alargado referentes aos dois hidrogênios do NH₂. Por fim, mostrou o sinal de três hidrogênios da metila em 2,34 ppm como um simpleto.

Através do espectro de RMN ¹H foi possível verificar a ausência de sinais referentes ao material de partida, como da metóxila (-OCH₃) de éster na região de 3,9 ppm.

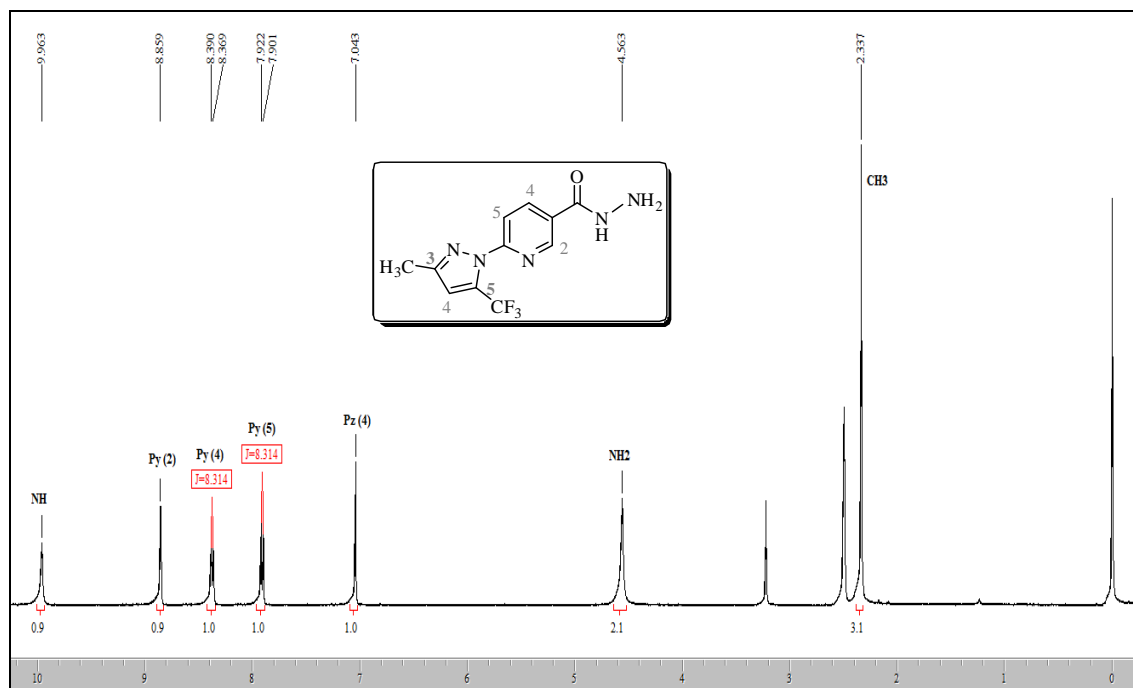


Figura 14. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz de 6-(5-Trifluorometil-3-metil-1H-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (**7a**) em DMSO-*d*₆.

O espectro de RMN ¹³C {¹H} do composto **7a** (Figura 15), apresentou em 163,1 ppm o sinal referente a carbonila. Em 151,7 ppm observou o C-6(Py), em 146,4 ppm o C-2(Py) e em 138,0 ppm o C-4(Py) da piridina. Já o carbono C-3(Pz) mostrou-se em 150,1 ppm e o C-4(Pz) em 112,2 ppm como um quarteto com ³J = 3 Hz. Em 127,8 ppm foi observado o sinal referente ao carbono C-3(Py) e em 114,9 o sinal referente ao C-5(Py). Em 131,5 ppm atribuiu-se o quarteto correspondente ao carbono C-5(Pz), com ²J = 41 Hz e em 119,7 ppm outro quarteto referente ao CF₃(Pz), com ¹J = 268 Hz. Ainda, em 12,8 ppm o sinal do carbono referente a metila (CH₃). Foi possível verificar a ausência do carbono da metóxila (-OCH₃) do éster do material de partida (**6a**) na região de 52 ppm.

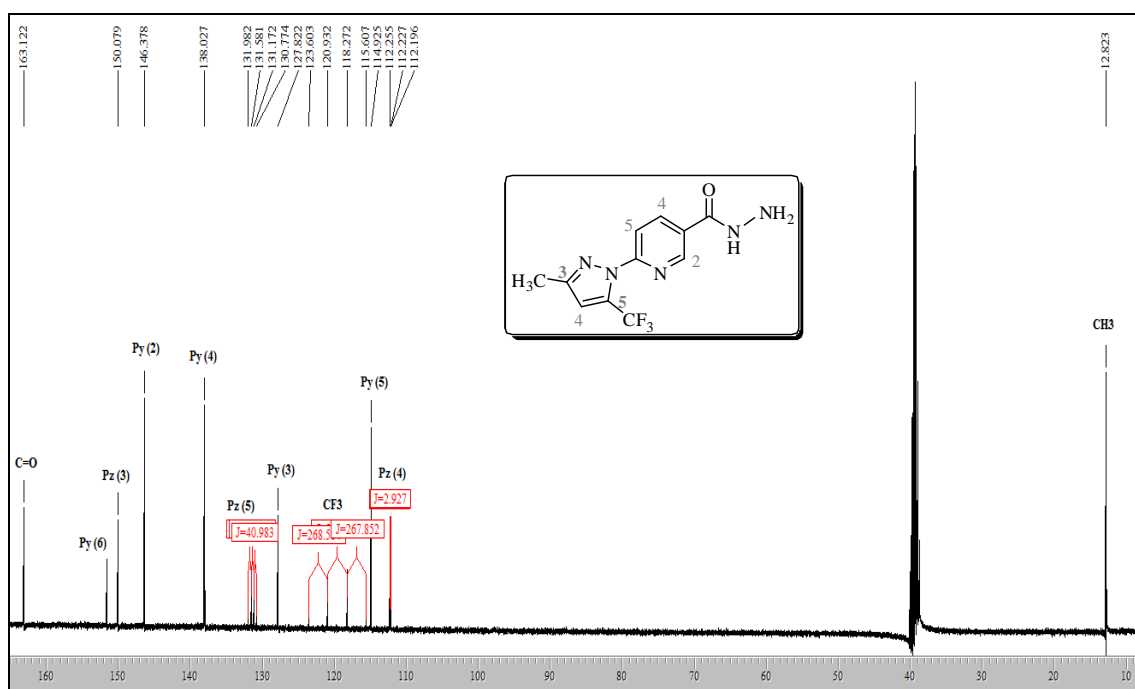
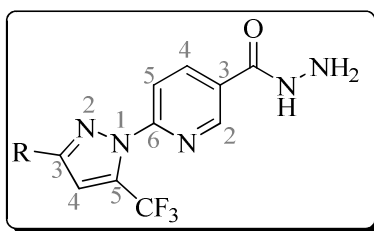


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluormetil-3-metil-1*H*-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (**7a**) em $\text{DMSO-}d_6$.

Os espectros destes compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese e a Tabela 2 demonstra determinados valores de deslocamentos químicos de hidrogênios e carbono obtidos para os compostos da série **7**. Observou-se que os sinais do H-4 vinílico do anel pirazólico variou conforme o substituinte na posição 3 do heterociclo, assim também observou-se que o C-3(Pz) modificou seu deslocamento.

Tabela 2. Dados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos **7a-c**.



| Comp. | R | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) |
|-----------|-------------------------------|-----------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | NH ₂ | NH | H-2 _{py} | H-4 _{py} | H-5 _{py} | H-4 _{pz} | C-3 _{pz} |
| 7a | CH ₃ | 4,56 | 9,96 | 8,86 | 8,38 | 7,91 | 7,04 | 150,1 |
| 7b | C ₆ H ₅ | 4,57 | 10,08 | 8,93 | 8,47 | 8,10 | 7,81 | 151,7 |
| 7c | Fur-2-ila | 4,61 | 10,04 | 8,92 | 8,46 | 8,02 | 7,56 | 146,5 |

3.8 Reações de ciclocondensação do tipo [3+2] da função hidrazida

3.8.1 Síntese de 2-(3-*aril*-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-(5-hidróxi-4,5-diidro)-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina

Como foram demonstrados os compostos **6** podem ser facilmente convertidos em hidrazidas (**7**) por tratamento com hidrato de hidrazina, em bons rendimentos. A partir de então, foram realizadas reações do tipo [3 + 2] visando a formação de mais um anel pirazólico no sistema pirazolil-piridínico, com isto possibilitando posteriormente a obtenção de dois anéis da classe com substituintes halogenados diferentes em uma mesma molécula.

Considerando o conhecimento na obtenção de sistemas heterocíclicos nitrogenados e a deficiência no escopo literário de compostos *bis*-pirazóis assimétricos procedeu-se, inicialmente, a obtenção do composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina **8** a partir do composto **7b** frente ao 1,3 dicarbonílico (2,4-pentanodiona).

Primeiramente, utilizando o reagente 2,4-pentanodiona, tentou-se a metodologia apenas em etanol como solvente, a temperatura de refluxo durante 16 horas porém, houve a formação de um mistura, observada por CCD e RMN ¹H. O resultado da reação após 16 horas foi uma mistura de dois produtos: um composto constituído com um anel 4,5-diidro-1*H*-pirazol e outro com um anel 1*H*-pirazol identificados por RMN ¹H.

Seguidamente, efetuou-se a reação em meio básico, com trietilamina (Et₃N), álcool etílico como solvente, sendo refluxada por 16 horas, acompanhada por CCD. Após o término do tempo reacional constatou por RMN ¹H a formação de um único produto **8** com 72% de rendimento. Este por sua vez apresentou um anel pirazolina em sua estrutura (Esquema 52).

A partir de então se realizou outra reação, em meio ácido (CH₃COOH), utilizando também etanol como solvente, em refluxo por 16 horas. Como resultante do meio reacional após o término, foi à constatação da formação de um único produto, ao qual identificado por RMN ¹H como sendo um anel pirazolínico aromatizado, o composto **9** foi obtido com 71% de rendimento.

A obtenção do composto **8** promoveu-se a reação de desidratação da 2-pirazolina ao pirazol aromatizado com a utilização de cloreto de tionila, em meio básico conforme metodologia de Padwa.⁴³ Como esperado, o resultado foi a síntese da substância 2-(3-

fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina **9** com 61% de rendimento (Esquema 52).

Os compostos foram isolados do meio reacional (ver parte experimental), na forma de sólido de coloração amarelo claro, estável ao ar. Suas purezas foram comprovadas por análise elementar. A Tabela 3 mostra as propriedades físicas dos compostos inéditos **8** e **9**.

Esquema 52:

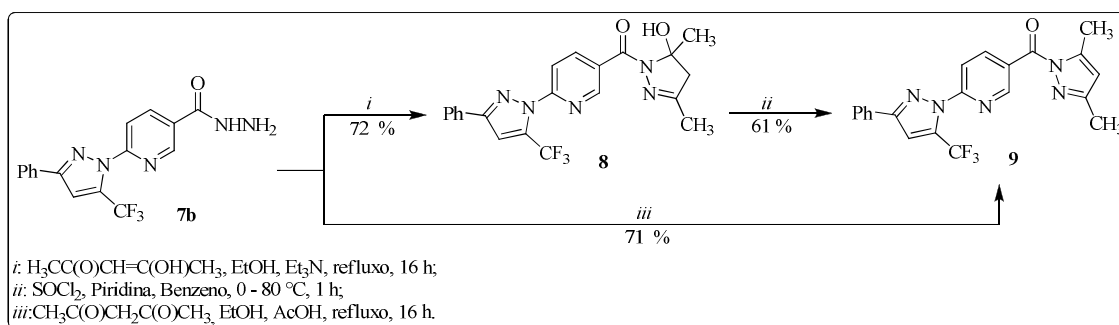


Tabela 3. Propriedades Físicas dos Compostos **8** – **9**

| Comp. | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar Calc./Exp. | | |
|----------|-----------|-----------|--|------------------------------|------|-------|
| | | | | C | H | N |
| 8 | 72 | 131 – 133 | C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₅ O ₂ (429,39) | 58,74 | 4,23 | 16,31 |
| | | | | 58,41 | 4,59 | 16,04 |
| 9 | 71 | 128 – 130 | C ₂₁ H ₁₆ F ₃ N ₅ O (411,38) | 61,31 | 3,92 | 17,02 |
| | | | | 61,18 | 4,12 | 16,95 |

3.8.2 Identificação Espectroscópica dos compostos **8** – **9**

A identificação dos compostos **8** – **9** foi realizada por RMN ¹H e ¹³C {¹H}. Os espectros de RMN foram registrados em DMSO-*d*₆, utilizando TMS como referência interna. Os espectros desses compostos encontram-se na sequência e também no Anexo I (RMN) desta tese.

3.8.2.1 RMN ^1H dos compostos 8 – 9

O espectro de RMN ^1H do composto **8** (Figura 16) apresentou um simpleto em 8,80 ppm do hidrogênio H-6(Py) e em 8,34 ppm um duplete H-4(Py) com $J = 8$ Hz; em 8,06 ppm outro duplete do H-3(Py) com $J = 8$ Hz do anel da piridina. Os hidrogênios aromáticos do anel da fenila apareceram na região de 8,02 ppm como um duplete de dois hidrogênios com constante de acoplamento $J = 7$ Hz e em 7,53 – 7,46 ppm um multiplete equivalente a três hidrogênios. Em 7,78 ppm simpleto do H-4 do anel pirazol e em 6,51 ppm o hidrogênio do OH.

Ainda, mostrou sinais característicos de 2-pirazolina em 3,02 e 2,91 ppm, dois dupletos referentes aos hidrogênios diastereotópicos com constante de 18 Hz cada. Enfim, em 1,98 ppm e em 1,92 ppm na forma de simpletos, cada um referente a três hidrogênio das metilas (CH_3).

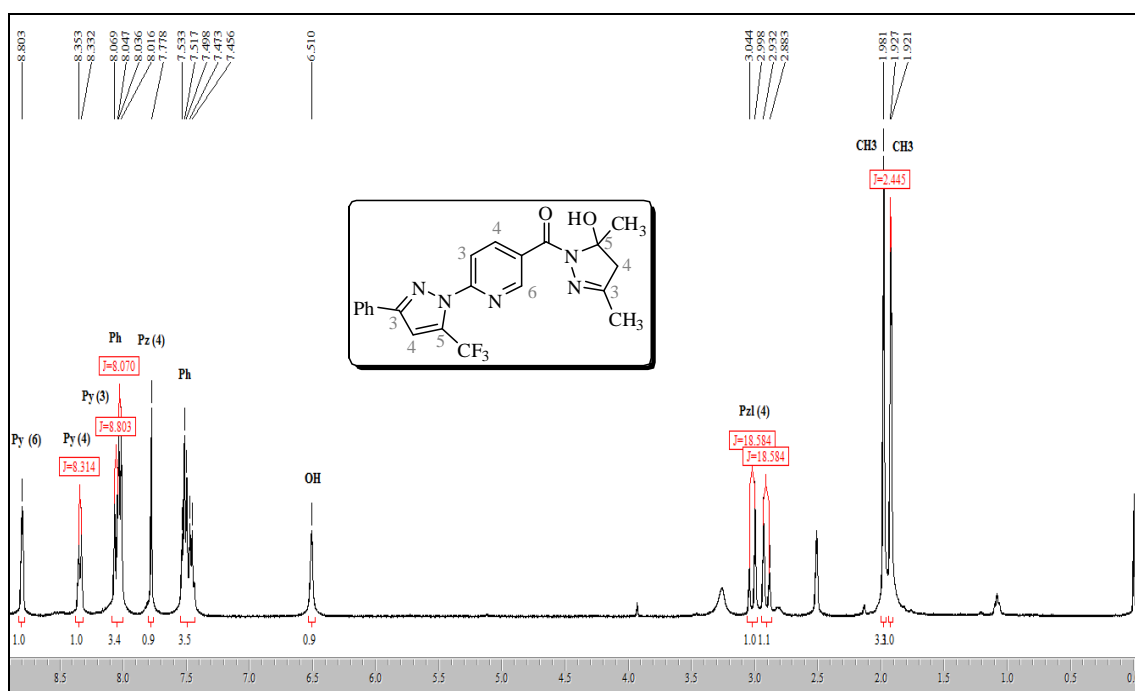


Figura 16. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**8**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^1H do composto **9** (Figuras 17 e 18) apresentou um sinal na forma de simpleto em 9,00 ppm referente ao hidrogênio H-6(Py) do anel piridina, em 8,55 ppm um sinal como duplete do hidrogênio H-4(Py) com $J = 8$ Hz, em 8,16 ppm

outro sinal na forma de duplete do hidrogênio H-3(Py) com $J = 8$ Hz. O espectro exibiu os hidrogênios aromáticos em 8,03 ppm como duplete com $J = 7$ Hz referente a dois hidrogênios e na região de 7,53 – 7,48 ppm um múltiplo equivalente a três hidrogênios do anel fenila. Os hidrogênios vinílicos dos anéis pirazolínicos mostrou em 7,82 e 6,33 ppm na forma de simpletos H-4(Pz) e as duas metilas em 2,60 e em 2,20 ppm como simpletos.

Através do espectro de RMN ^1H do composto **9** foi possível verificar a ausência de sinais característicos de 2-pirazolina na forma de dupletos na região de 3,02 e 2,91 ppm, dos hidrogênios diastereotópicos os quais, havia no composto **8** e pode-se observar que as duas metilas apresentaram descolamentos diferentes após a desidratação (aromatização do anel).

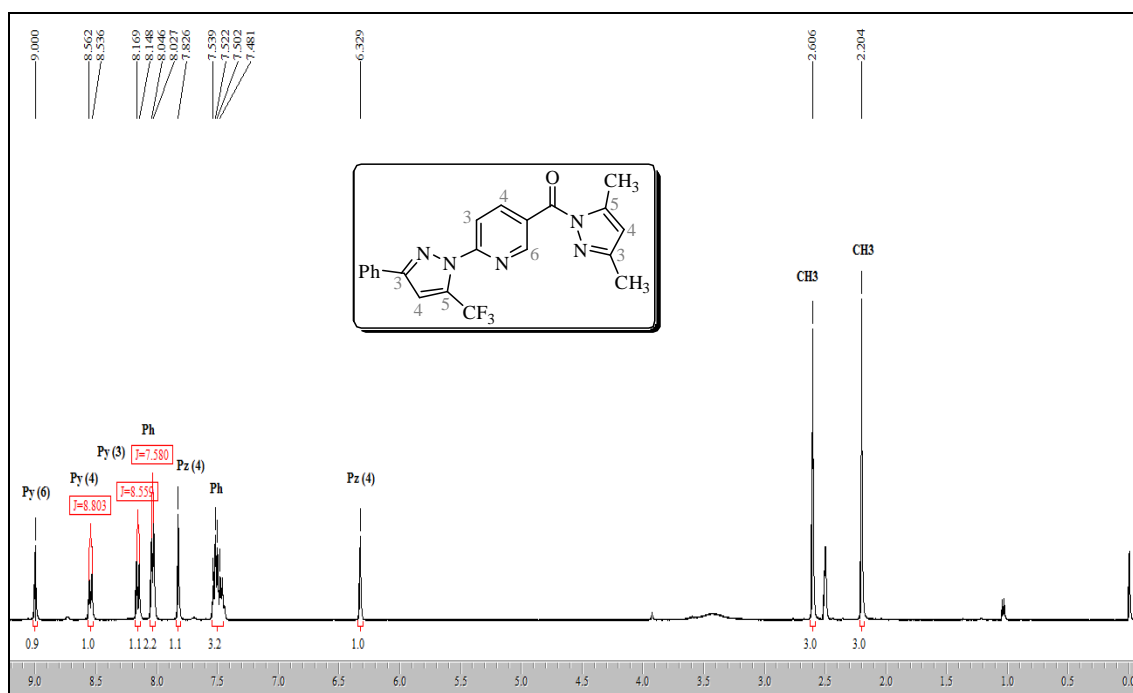


Figura 17. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina **9** (composto obtido pela metodologia utilizando ácido acético a partir do composto **7b**), registrado em DMSO- d_6 .

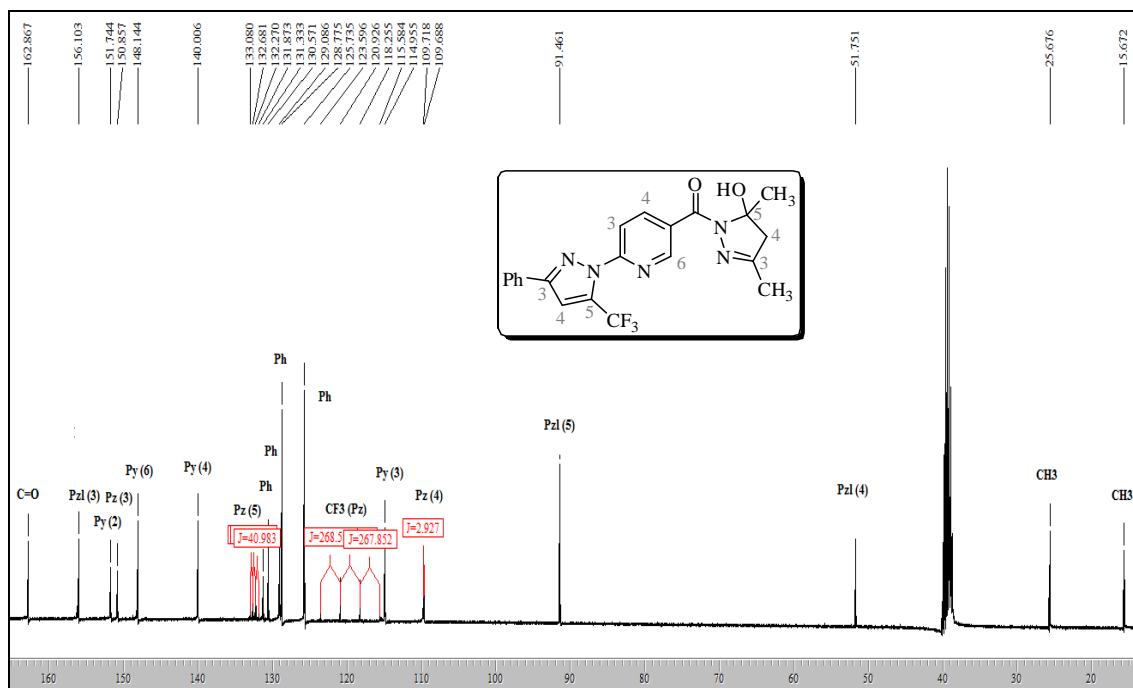


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**8**), registrado em DMSO- d_6 .

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **9** (Figura 20) apresentou em 164,9 ppm o carbono carbonílico (C=O), em 152,3 e 152,0 ppm os carbonos C-3(Pz) dos anéis pirazolínicos. Em 151,8; 149,0; 141,7; 130,4; 114,6 ppm os carbonos do anel da piridina C-2(Py); C-6(Py); C-3(Py); C-4(Py) e C-5(Py) respectivamente. Em 144,5 ppm apresentou sinal do carbono C-5(Pz) do anel pirazolínico que não tem CF_3 substituído e em 111,6 ppm o carbono C-4(Pz) deste mesmo anel, diferenciando do composto **8** estes deslocamentos.

No espectro, o anel pirazolínico trifluormetil substituído apareceu em 132,6 ppm como quarteto com $^2J = 40$ Hz do carbono C-5(Pz), em 119,5 ppm outro quarteto com $^1J = 268$ Hz referente ao carbono do CF_3 , em 110,2 ppm mais um quarteto com $^3J = 3$ Hz do carbono C-4(Pz) e ainda em 152,0 ppm do C-3(Pz). Ainda, o espectro exibiu também o descolamento químico de 129,1; 128,7; 128,5 e 125,7 ppm dos carbonos do anel da fenila e por fim, em 13,6 e 13,3 ppm os dois carbonos das metilas (CH_3).

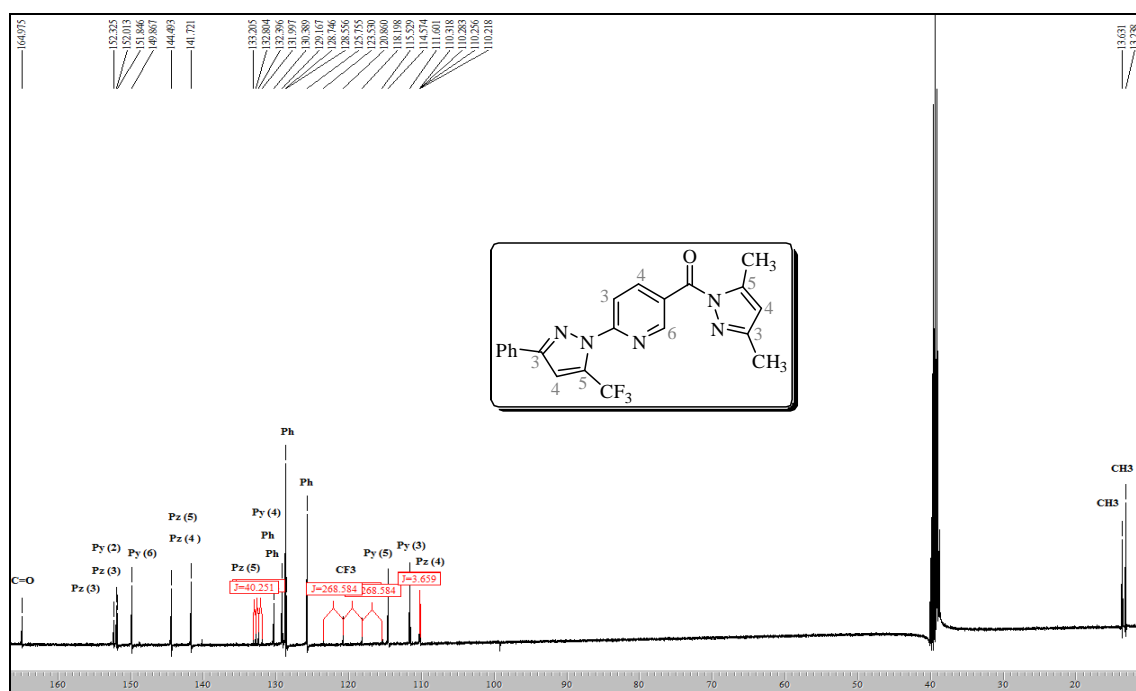


Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina **9** (obtido a partir de **7b**), registrado em DMSO- d_6 .

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **8** – **9** estão descritos nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Dados de RMN ^1H dos compostos **8** – **9**

| Comp. | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) |
|----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|-------------------|------------------|
| | H-6 _{py} | H-4 _{py} | H-3 _{py} | H-4 _{pz} | H-4 _{pzl} | OH | H-4 _{pz} | 2CH ₃ |
| 8 | 8,80 | 8,34 | 8,06 | 7,78 | 3,02/2,91 | 6,51 | - | 1,98/1,92 |
| 9 | 9,00 | 8,55 | 8,16 | 7,82 | - | - | 6,33 | 2,60/2,20 |

Tabela 5. Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **8** – **9**

| Comp./ δ (ppm) | C-6 _{py} | C-5 _{py} | C-4 _{py} | C-3 _{py} | C-2 _{py} | C-5 _{pz} | C-3 _{pz} | C-5 | C-4 | C-3 | 2CH ₃ |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| 8 | 151,7 | 148,1 | 140,0 | 130,6 | 114,6 | 132,5 | 150,9 | 91,5 ^a | 51,7 ^a | 156,1 ^a | 25,7/ 15,7 |
| 9 | 151,8 | 149,0 | 141,7 | 130,4 | 114,6 | 132,6 | 152,0 | 144,5 ^b | 111,6 ^b | 152,3 ^b | 13,6/ 13,3 |

[a] Ciclo 4,5-diidro-1H-pirazol [b] Ciclo 1H-pirazol resultado da desidratação (sem CF₃).

3.8.3 Difração de Raios-X do composto 9

Complementando a caracterização do composto **9**, realizou-se a determinação estrutural por difração de Raios-X em monocristal. O ORTEP relativo ao composto é mostrado na Figura 21, enquanto seus dados cristalográficos estão no Anexo VI desta tese.

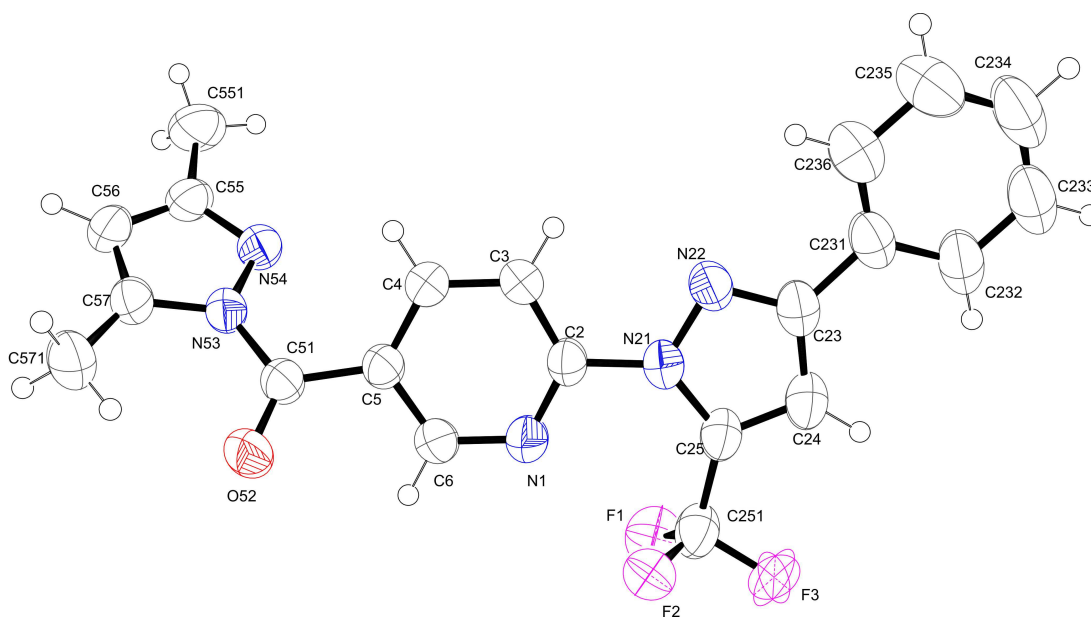


Figura 21. ORTEP de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**9**) CCDC 1040654.

3.8.4 Síntese de 2-(3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-alkil(aril/heteroaril)-5-trialometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10** e **11**)

Como mencionado anteriormente, há uma carência na literatura de estruturas que contenham dois anéis pirazólicos com substituintes trialometilados diferentes na mesma molécula.⁴³ Em vista disto, foi realizado um estudo para promover a síntese de uma nova série de *bis*-pirazóis-carbonil-piridinas (**10** e **11**) com diferentes substituintes na posição 3 do anel pirazolínico e/ou diferentes halogênios na posição 5.

Então, através de uma reação de ciclocondensação do tipo [3 + 2] utilizando como 1,3-dieletrófilos as 4-alcóxi-4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alken-2-onas (**2** e **3**) frente aos compostos 6-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]

nicotinoidrazidas (**7a-c**) em etanol como solvente, sob refluxo sintetizou-se os *Bis*-pirazóis trialometilados (**10 – 11**). A reação foi acompanhada por CCD e o período reacional deu-se em torno de 16 – 20 horas, porém para o precursor **7a** utilizou-se ácido acético (2 gotas) como catalisador para obtenção dos compostos **10aa**, **10ab**, **11aa** e **11ab** (Esquema 53). A síntese foi baseada em metodologias já descritas por Bonacorso e col.^{41,43-44} Foi sintetizado um total de 12 compostos inéditos os quais, obtiveram rendimentos na faixa de 67 – 91%, sendo o menor rendimento para o composto **11bd** com substituinte R = C₆H₅ e R¹ = 4-CH₃C₆H₄, X = F e o maior rendimento para o **11aa** com substituinte R = CH₃ e R¹ = CH₃, X = F

Os compostos foram isolados do meio reacional (ver parte experimental), através de uma filtração com etanol P.A. gelado sob pressão reduzida, apresentaram-se sólidos estáveis ao ar e de coloração branca, bege, amarelada, laranja ou marrom. A Tabela 6 mostra os dados de rendimentos, de pontos de fusão e das análises elementares dos **10 – 11**.

Esquema 53:

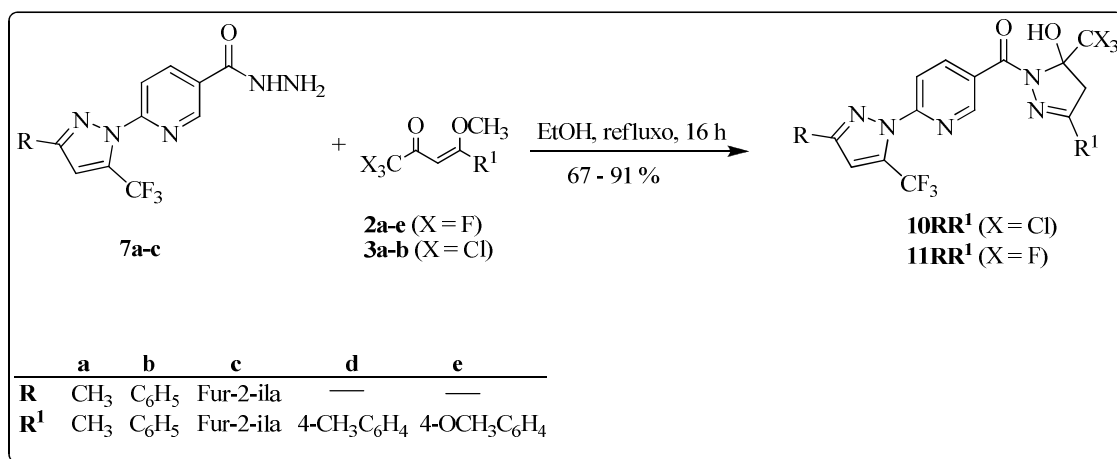
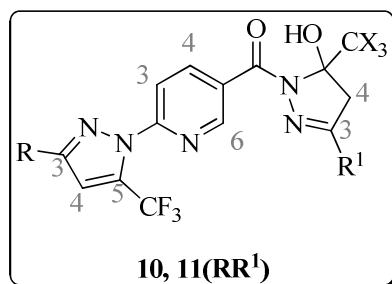


Tabela 6. Propriedades Físicas dos Compostos 10 – 11.



| Nº | R | R ¹ | X | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar Calc./Exp. | | |
|-------------|-------------------------------|--|----|--------------|--------------|--|---------------------------------|--------------|----------------|
| | | | | | | | C | H | N |
| 10aa | CH ₃ | CH ₃ | Cl | 71 | 109 – 111 | C ₁₆ H ₁₃ Cl ₃ F ₃ N ₅ O ₂ (470,66) | 40,83 40,93 | 2,78 2,82 | 14,88 15,09 |
| 10ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | Cl | 80 | 127 – 128 | C ₂₁ H ₁₅ Cl ₃ F ₃ N ₅ O ₂ (532,73) | 47,35 47,71 | 2,84 3,11 | 13,15 13,42 |
| 10ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | Cl | 83 | 140 – 142 | C ₂₁ H ₁₅ F ₃ Cl ₃ N ₅ O ₂ (532,73) | 47,35 47,33 | 2,84 2,86 | 13,15 13,01 |
| 10bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | Cl | 79 | 157 – 159 | C ₂₆ H ₁₇ F ₃ Cl ₃ N ₅ O ₂ (594,79) | 52,50 52,49 | 2,88 2,98 | 11,77 11,99 |
| 10cb | Fur-2-ila | C ₆ H ₅ | Cl | 88 | 144 – 145 | C ₂₄ H ₁₅ F ₃ Cl ₃ N ₅ O ₃ (583,76) | 49,29 49,46 | 2,59 2,89 | 11,98 11,56 |
| 11aa | CH ₃ | CH ₃ | F | 91 | 135 – 137 | C ₁₆ H ₁₃ F ₆ N ₅ O ₂ (421,29) | 45,61 45,29 | 3,11 3,11 | 16,62 16,04 |
| 11ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | F | 81 | 114 – 116 | C ₂₁ H ₁₅ F ₆ N ₅ O ₂ (483,36) | 52,18 51,64 | 3,13 3,12 | 14,49 14,25 |
| 11ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | F | 87 | 153 – 155 | C ₂₁ H ₁₅ F ₆ N ₅ O ₂ (483,36) | 52,18 52,09 | 3,13 3,33 | 14,49 14,41 |
| 11bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | F | 75 | 192 – 194 | C ₂₆ H ₁₇ F ₆ N ₅ O ₂ (545,44) | 57,25 57,32 | 3,14 3,11 | 12,84 12,62 |
| 11bc | C ₆ H ₅ | Fur-2-ila | F | 69 | 146 – 148 | C ₂₄ H ₁₅ F ₆ N ₅ O ₃ (535,39) | 53,84 54,19 | 2,82 3,23 | 13,08 12,78 |
| 11bd | C ₆ H ₅ | 4-CH ₃ C ₆ H ₄ | F | 67 | 206 – 207 | C ₂₇ H ₁₉ F ₆ N ₅ O ₂ (559,46) | 57,96 57,76 | 3,42 3,58 | 12,52 12,86 |
| 11be | C ₆ H ₅ | 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ | F | 80 | 200 – 201 | C ₂₇ H ₁₉ F ₆ N ₅ O ₃ (575,46) | 56,35 56,38 | 3,33 3,29 | 12,17 12,12 |

3.8.5 Identificação Espectroscópica dos Compostos 10 – 11

A identificação dos compostos foi realizada por RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ^{19}F , e HSQC, a temperatura de 25 – 40 °C. Os espectros de RMN foram registrados em DMSO- d_6 ou CDCl_3 utilizando TMS como referência interna. Os compostos **10aa** e **11aa** foram difratados por Raios-X.

3.8.5.1 RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos 10

O espectro de RMN ^1H do composto **10aa** (Figura 22) apresentou um duplete na região de 8,98 ppm referente ao hidrogênio H-6 do anel piridínico com constante de acoplamento $J = 2$ Hz, um duplo duplete em 8,29 ppm do hidrogênio H-4 da piridina com constantes de $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6(Py) e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py) ainda, um duplete em 7,91 ppm do H-3(Py) com $^3J = 8$ Hz em relação ao H-4(Py). Mostrou um sinal na forma de simpleto em 6,70 ppm do hidrogênio vinílico do pirazol (H-4Pz).

Também, exibiu dois dupletos em 3,58 e 3,32 ppm, referentes aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos ligados ao C-4(Pzl) do anel pirazolina, os quais apresentam uma constante de acoplamento $^2J = 19$ Hz e por fim, dois simpletos um em 2,37 ppm da metila ligada ao anel pirazol com CF_3 substituído e outro em 2,04 ppm referente os três hidrogênios da metila ligado ao anel pirazolina com CCl_3 substituído.

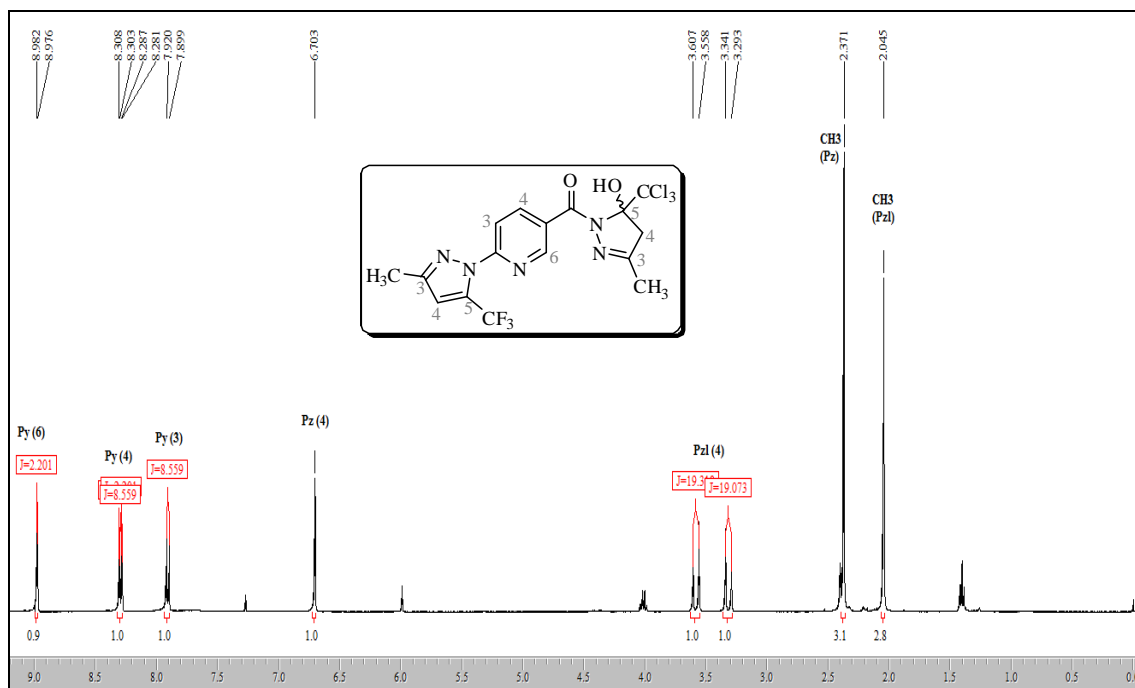


Figura 22. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**) em CDCl_3 .

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, para o composto 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-triclorometil-5-hidróxi-3-metil-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**) (Figura 23), apresentou sinal em 169,8 ppm referente ao carbono carbonílico (C=O). Em 157,0 ppm o carbono C-3 da pirazolina e em 152,7; 150,0 e 140,2 ppm observou respectivamente os carbonos C2, C6 e C4 do anel da piridina. Em 150,3 ppm o carbono C3(Pz) no anel pirazol, e em 133,2 ppm um sinal na forma de quarteto com constante $^2J = 40$ Hz referente ao carbono C5 do anel pirazol e em 119,8 ppm o outro sinal da forma de quarteto referente ao carbono do CF_3 com constante $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz. Em 128,0 ppm o carbono C-5(Py), em 114,1 ppm o carbono C-3(Py), em 112,2 ppm um quarteto com $^3J = 3$ do carbono C-4(Pz), em 103,6 ppm o carbono do CCl_3 , em 102,5 ppm o carbono C-5(Pzl) e em 50,1 ppm o sinal do carbono C-4(Pzl). Já em 15,6 ppm a metila ligada ao anel da pirazolina com CCl_3 e em 13,4 ppm o sinal referente a metila ligada ao anel pirazol com CF_3 .

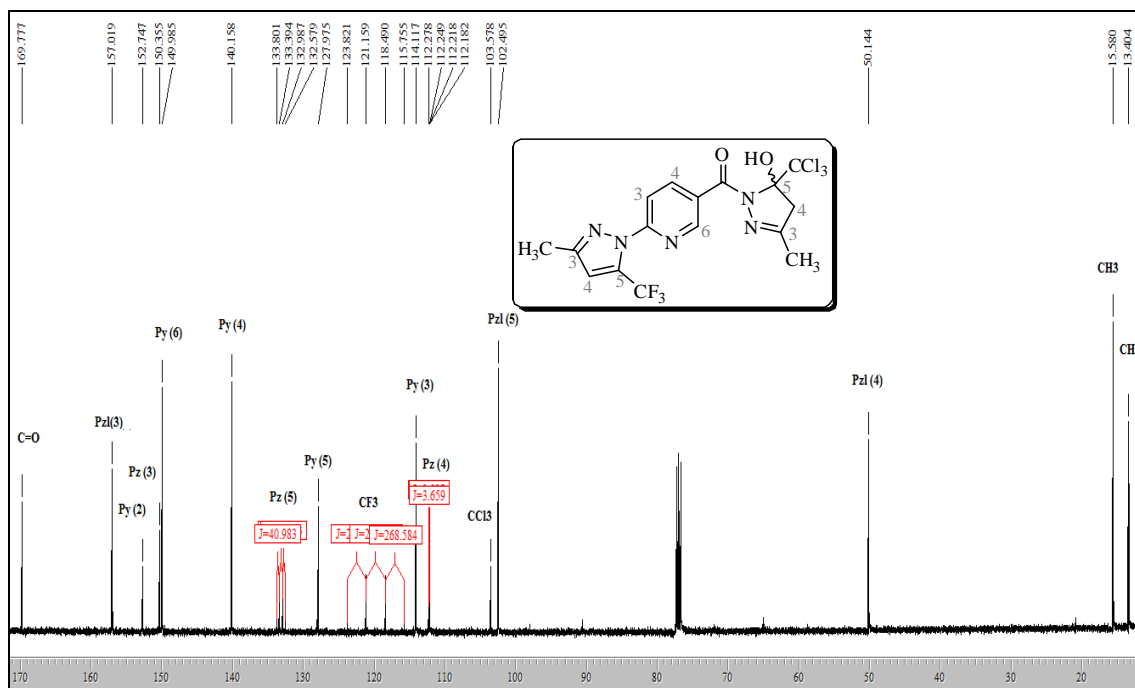


Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**) em CDCl_3 .

3.8.5.2 RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos 11

O espectro de RMN ^1H do composto **11aa** (Figura 24) apresentou um duplete em 8,75 ppm do hidrogênio do anel piridina H-6(Py) com $J = 2$ Hz, também um duplo duplete em 8,29 ppm do hidrogênio H-4(Py) do anel com $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6(Py) e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py), exibiu ainda outro duplete em 7,92 ppm equivalente ao hidrogênio H-3(Py) com $J = 8$ Hz.

Mostrou um simpleto do hidrogênio do OH em 7,97 ppm. Na região de 7,05 ppm um simpleto referente ao hidrogênio de anel pirazolínico (H-4Pz). Já em 3,53 e 3,16 ppm dupletos referentes aos hidrogênios diastereotópicos do anel da pirazolina (H-4Pzl) com constante de acoplamento de $^2J = 19$ Hz. E, finalmente em 2,36 e 2,01 ppm observou-se na forma de simpleto referente aos três hidrogênios da metila do pirazol e da pirazolina, respectivamente.

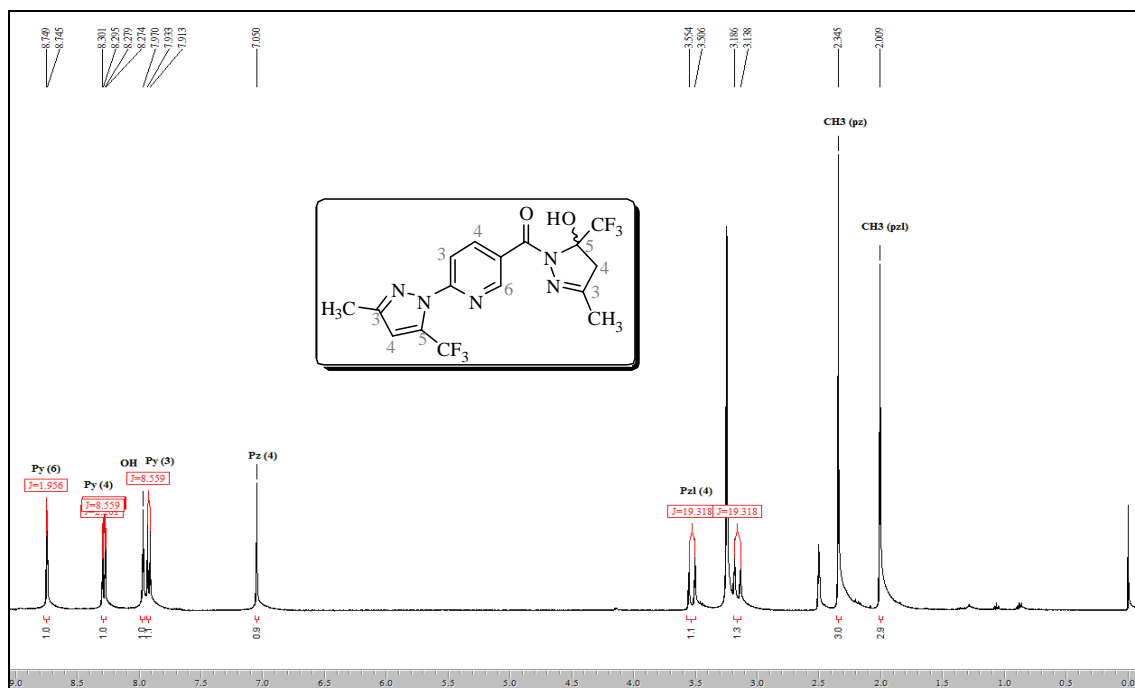


Figura 24. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11aa**) em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C {H} para o composto **11aa** (Figura 25), apresentou sinal em 163,6 ppm referente ao carbono carbonílico (CO). Os carbonos do anel piridina C-2(Py), C-6(Py), C-4(Py), C-5(Py) e C-3(Py) apresentaram deslocamentos químicos respectivamente em 151,3; 148,2; 140,1; 129,9 e 114,5 ppm.

Já os carbonos do anel pirazolínico exibiram sinais em 150,3 ppm referente ao carbono C-3(Pz), em 131,5 ppm um quarteto com $^2J = 40$ Hz do carbono C-5(Pz), em 119,7 ppm mais um quarteto com $^1J = 267$ Hz do carbono do CF_3 (Pz), em 112,5 ppm outro quarteto do carbono C-4(Pz) com $^3J = 3$ Hz e ainda, a metila em 12,9 ppm (CH_3).

Os carbonos do anel da pirazolina foram verificados em 155,4 ppm o carbono C-3(Pzl) da pirazolina, em 123,2 ppm um quarteto com $^1J = 286$ Hz do carbono do CF_3 (Pzl), em 91,3 ppm outro quarteto do carbono C-5(Pzl) com $^2J = 34$ Hz, em 47,6 ppm o carbono C-4(Pzl) e por fim, a metila da pirazolina em 15,2 ppm (CH_3).

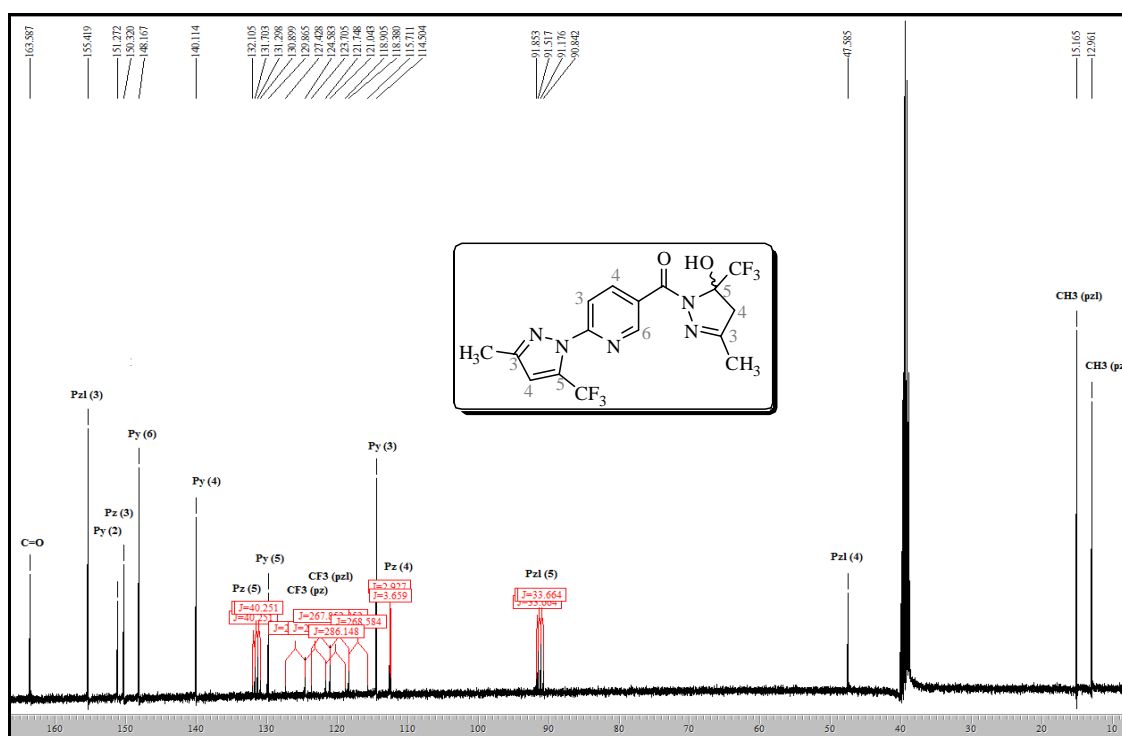
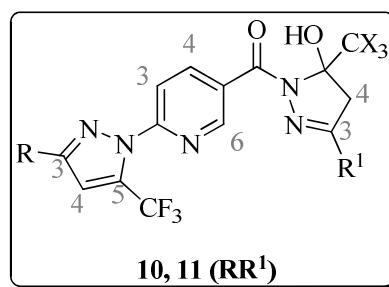


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11aa**) DMSO- d_6 .

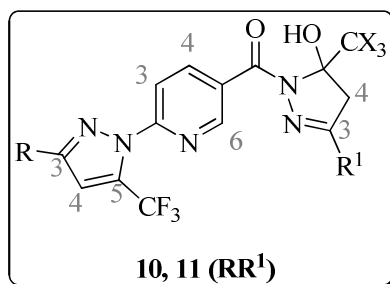
Os dados de RMN ^1H e ^{13}C { ^1H } dos compostos **10** – **11** estão descritos nas Tabelas 7 e 8. Os espectros desses compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese.

Tabela 7. Dados de RMN ^1H dos compostos **10** – **11**.



| Comp. | R | R ¹ | X | δ (ppm) | | | | |
|-------------|-----------------|-------------------------------|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| | | | | H-6 _{py} | H-4 _{py} | H-3 _{py} | H-4 _{pz} | H-4 _{pz} [a] |
| 10aa | CH ₃ | CH ₃ | Cl | 8,98 | 8,29 | 7,91 | 6,70 | 3,58/3,32 |
| 10ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | Cl | 8,82 | 8,40 | 8,00 | 7,07 | 4,11/3,88 |

[a] hidrogênios diastereot3picos: duplete com $^2J = 18 - 19$ Hz.

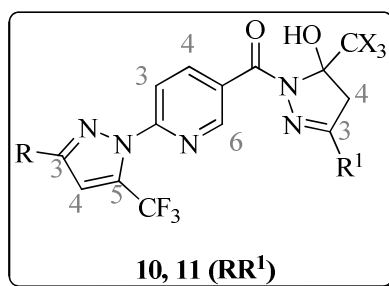
Tabela 7 (Continuação). Dados de RMN ^1H dos compostos **10** – **11**

| Comp | R | R ¹ | X | δ (ppm) | | | | |
|-------------|-------------------------------|--|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------------------|
| | | | | H-6 _{py} | H-4 _{py} | H-3 _{py} | H-4 _{pz} | H-4 _{pzl} ^[a] |
| 10ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | Cl | 8,79 | 8,34 | 8,11 | 7,80 | 3,66/3,43 |
| 10bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | Cl | 8,86 | 8,46 | 8,18 | 7,85 | 4,12/3,89 |
| 10cb | Fur-2-ila | C ₆ H ₅ | Cl | 8,87 | 8,47 | 8,11 | 7,62 | 4,13/3,91 |
| 11aa | CH ₃ | CH ₃ | F | 8,75 | 8,29 | 7,92 | 7,05 | 3,53/3,16 |
| 11ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | F | 8,83 | 8,42 | 8,00 | 7,01 | 4,01/3,68 |
| 11ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | F | 8,80 | 8,36 | 8,12 | 7,84 | 3,55/3,18 |
| 11bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | F | 8,88 | 8,48 | 8,17 | 7,85 | 4,02/3,68 |
| 11bc | C ₆ H ₅ | Fur-2-ila | F | 8,86 | 8,42 | 8,16 | 7,87 | 3,44/3,33 |
| 11bd | C ₆ H ₅ | 4-CH ₃ C ₆ H ₄ | F | 8,87 | 8,48 | 8,16 | 7,86 | 3,99/3,66 |
| 11be | C ₆ H ₅ | 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ | F | 8,87 | 8,48 | 8,16 | 7,85 | 3,97/3,81 |

[a] hidrogênios diastereotópicos: duplete com $^2J = 18 - 19$ Hz.

Tabela 8. Dados de RMN ^{13}C { ^1H } dos compostos **10** – **11**

| Comp. | R | R ¹ | X | δ (ppm) | | | | | | | | |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|----|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | | C=O | C-5 _{py} | C-2 _{py} | C-5 _{pz} | C-4 _{pz} | C-3 _{pz} | C-5 _{pzl} | C-4 _{pzl} | C-3 _{pzl} |
| 10aa | CH ₃ | CH ₃ | Cl | 169,8 | 128,0 | 152,7 | 133,2 | 112,2 | 150,3 | 102,5 | 50,1 | 157,0 |
| 10ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | Cl | 166,1 | 130,7 | 151,4 | 131,6 | 112,4 | 150,3 | 102,4 | 46,8 | 154,3 |
| 10ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | Cl | 169,8 | 131,3 | 152,9 | 134,2 | 109,6 | 152,5 | 102,6 | 50,3 | 157,0 |
| 10bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | Cl | 165,9 | 130,7 | 151,9 | 132,5 | 109,9 | 151,4 | 102,5 | 46,8 | 154,0 |
| 10cb | Fur-2-ila | C ₆ H ₅ | Cl | 165,9 | 130,7 | 151,2 | 132,4 | 109,4 | 148,3 | 102,4 | 46,8 | 154,1 |
| 11aa | CH ₃ | CH ₃ | F | 163,6 | 129,9 | 151,3 | 131,5 | 112,5 | 150,3 | 91,3 | 47,6 | 155,4 |
| 11ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | F | 163,8 | 130,9 | 151,2 | 131,6 | 112,6 | 150,5 | 92,1 | 44,2 | 153,0 |
| 11ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | F | 163,5 | 130,5 | 151,9 | 132,5 | 110,0 | 151,3 | 91,4 | 47,6 | 155,5 |

Tabela 8 (Continuação). Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **10** – **11**

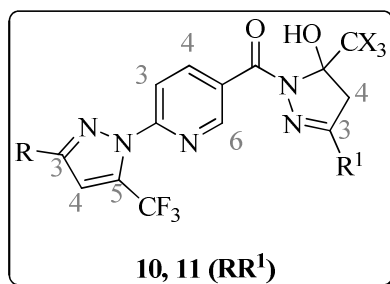
| Comp. | R | R ¹ | X | δ (ppm) | | | | | | | | |
|-------------|-------------------------------|--|---|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | | C=O | C-5 _{py} | C-2 _{py} | C-5 _{pz} | C-4 _{pz} | C-3 _{pz} | C-5 _{pzl} | C-4 _{pzl} | C-3 _{pzl} |
| 11bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | F | 164,3 | 131,4 | 152,5 | 133,1 | 110,7 | 152,0 | 92,7 | 44,7 | 153,6 |
| 11bc | C ₆ H ₅ | Fur-2-ila | F | 163,8 | 130,6 | 152,0 | 132,6 | 110,3 | 146,2 | 91,7 | 43,9 | 151,5 |
| 11bd | C ₆ H ₅ | 4-CH ₃ C ₆ H ₄ | F | 163,5 | 130,5 | 151,8 | 132,6 | 109,8 | 151,3 | 91,9 | 44,0 | 152,8 |
| 11be | C ₆ H ₅ | 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ | F | 163,6 | 130,6 | 152,0 | 132,6 | 110,2 | 151,4 | 92,0 | 44,3 | 152,8 |

3.8.5.3 RMN ^{19}F dos compostos **10** e **11**

Foram realizadas espectroscopia de RMN ^{19}F a 564,68 MHz utilizando triclоромоноfluormetano (CFCl₃) como referencia externa ($\delta = 0,0$ ppm) dos compostos da série **10** e **11** que estão descritos na Tabela 9. Os espectros desses compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese e a atribuição de sinais foram baseados a partir da interpretação dos dados da literatura.⁹⁴

3.8.6 Difração de Raios-X do composto **10aa** e **11aa**

Complementando a caracterização dos compostos **10** e **11**, realizou-se a determinação estrutural por difração de Raios-X em monocristal do **10aa** (R = CH₃; R¹ = CH₃, X = Cl) e do **11aa** (R = CH₃; R¹ = CH₃, X = F). O ORTEP relativo aos compostos é mostrado nas Figuras 26 e 27, enquanto seus dados cristalográficos estão no Anexo VI desta tese.

Tabela 9. Dados de RMN ^{19}F dos compostos **10** – **11**

| Comp. | R | R ¹ | X | δ (ppm) | δ (ppm) |
|-------------|-------------------------------|--|----|----------------------|-----------------------|
| | | | | CF ₃ (pz) | CF ₃ (pzl) |
| 10aa | CH ₃ | CH ₃ | Cl | -56,60 | – |
| 10ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | Cl | -56,56 | – |
| 10ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | Cl | -57,89 | – |
| 10bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | Cl | -56,56 | – |
| 10cb | Fur-2-ila | C ₆ H ₅ | Cl | -56,71 | – |
| 11aa | CH ₃ | CH ₃ | F | -56,63 | -76,28 |
| 11ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | F | -56,56 | -76,03 |
| 11ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | F | -56,60 | -76,23 |
| 11bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | F | -51,80 | -71,24 |
| 11bc | C ₆ H ₅ | Fur-2-ila | F | -56,57 | -76,05 |
| 11be | C ₆ H ₅ | 4-OCH ₃ C ₆ H ₄ | F | -56,55 | -75,99 |

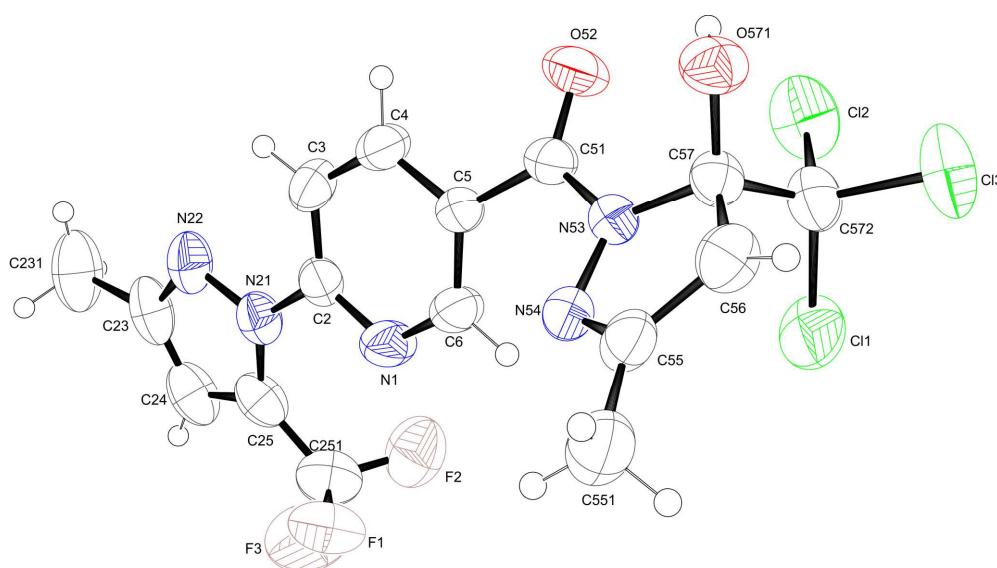


Figura 26. ORTEP de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**) CCDC 1040652.

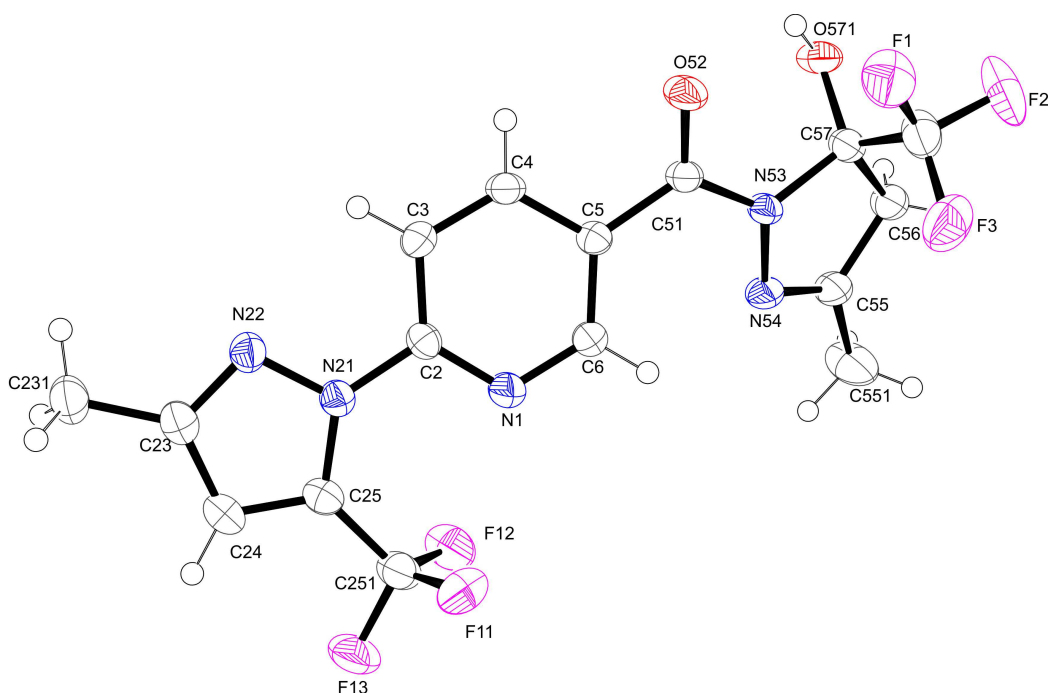


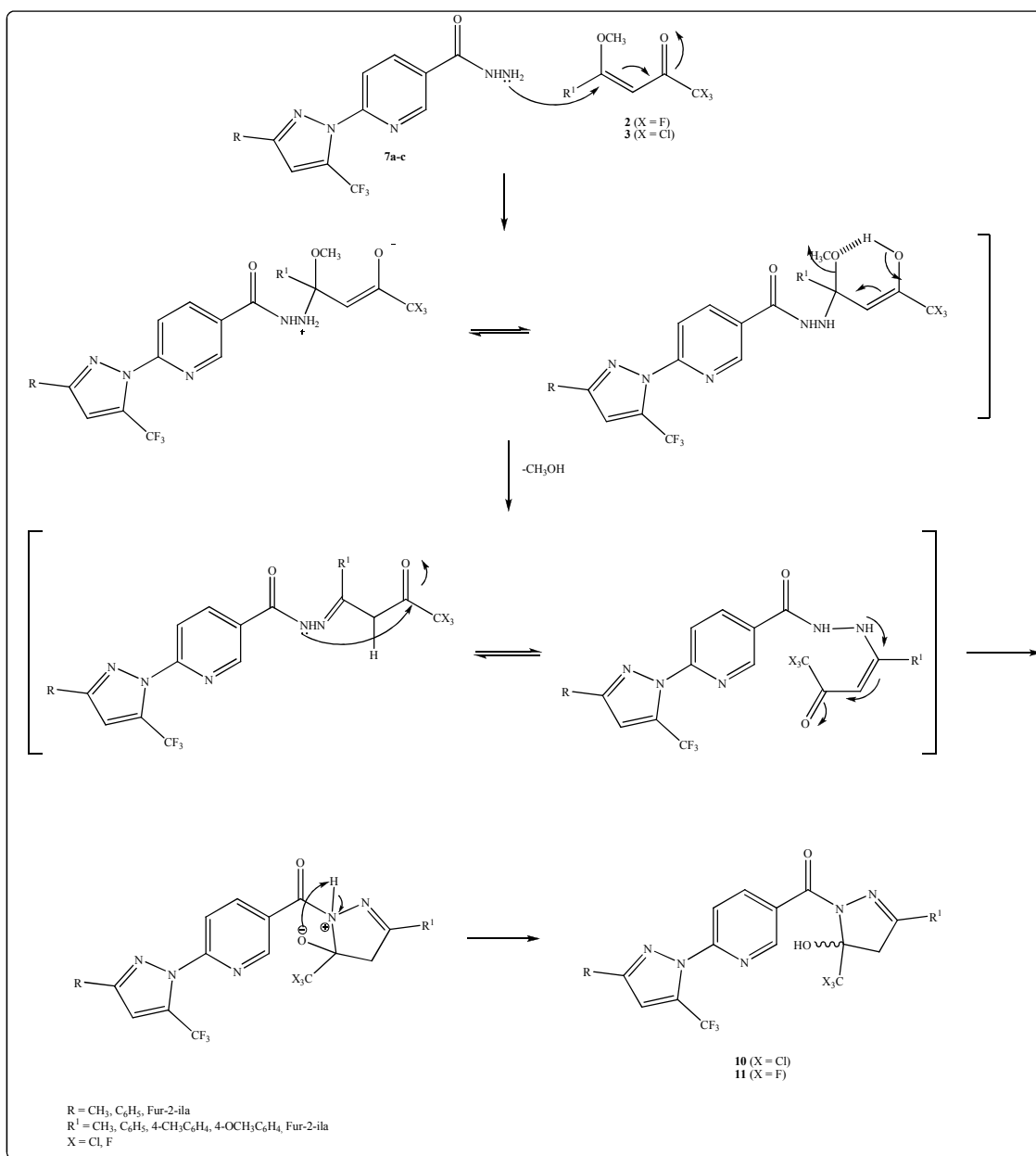
Figura 27. ORTEP de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11aa**) CCDC 1040653.

3.8.7 Mecanismo proposto para a síntese de 2-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-alkil(aril)-5-trialometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**10**, **11**)

Considerando que as vinil cetonas trialometiladas (**2**, **3**) possuem dois centros eletrofílicos com reatividade diferenciada e que o carbono olefínico C-4 é um centro eletrofílico mais reativo que o carbono carbonílico devido a sua estrutura de ressonância, e que, por sua vez, as hidrazidas possuem dois centros nucleofílicos diferenciados, que demonstram alta reatividade em presença de carbonos eletrofílicos, concluiu-se que o primeiro passo da reação foi o ataque nucleofílico do nitrogênio do grupo NH₂ ao carbono olefínico (C-4) com posterior saída do grupamento metoxila. A seguir, ocorre o ataque nucleofílico do segundo nitrogênio da hidrazida ao carbono carbonílico, formando o anel de cinco membros.

A partir dessas considerações, pode-se propor o mecanismo para as ciclocondensações que levam a obtenção dos compostos **10** e **11** (Esquema 54).

Esquema 54:



3.9 Síntese de 2-[3-Aril(heteroaryl)-5-trifluorometil-1H-pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril)-5-trialometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (12, 13)

Diferentes metodologias já foram descritas para a desidratação de 5-hidróxi-2-pirazolininas utilizando ácido sulfúrico concentrado ou outros solventes, como: ácido acético/etanol, ácido acético/anidrido acético ou pentóxido de fósforo em clorofórmio.⁸⁸ Porém, sabe-se que grupos retiradores de elétrons são sensíveis a hidrólise ligados ao N1 da 2-pirazolina, normalmente conduzem à eliminação de água acompanhada da perda do grupo ligado ao N1 [quebra da ligação C(O)-N].^{13a, 30b, 89}

A metodologia descrita por Padwa,⁴² e já utilizada no grupo NUQUIMHE de pesquisa,³⁹ demonstrou nos últimos anos ser muito eficiente nesses casos, sendo dessa forma empregada para a reação de eliminação dos compostos **10** – **11**.

Então, um composto representativo de cada série: o **10ba** (R= C₆H₅, R¹= CH₃, X= Cl) e o **11bd** (R= C₆H₅, R¹= 4-CH₃C₆H₄, X= F) foram submetidos à desidratação por essa metodologia⁴³ (Esquema 55), utilizando uma mistura de piridina anidra e o composto a ser eliminado em benzeno, resfriado em banho de gelo (~ 5 – 10 °C). Adicionou-se, lentamente, gota a gota cloreto de tionila em benzeno, sob refluxo permaneceu 1 hora. Após o período reacional, extraiu-se com benzeno e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio. O solvente foi evaporado e os sólidos recristalizados em EtOH P.A. O composto **12ba** ainda precisou ser purificado com auxílio de coluna cromatográfica sílica gel em eluição com os solventes hexano e acetato de etila (6:4). Os compostos **12ba** e **13bd** foram isolados do meio reacional (ver parte experimental). A Tabela 10 mostra os dados de rendimento, dos pontos de fusão e das análises elementar das moléculas.

Esquema 55:

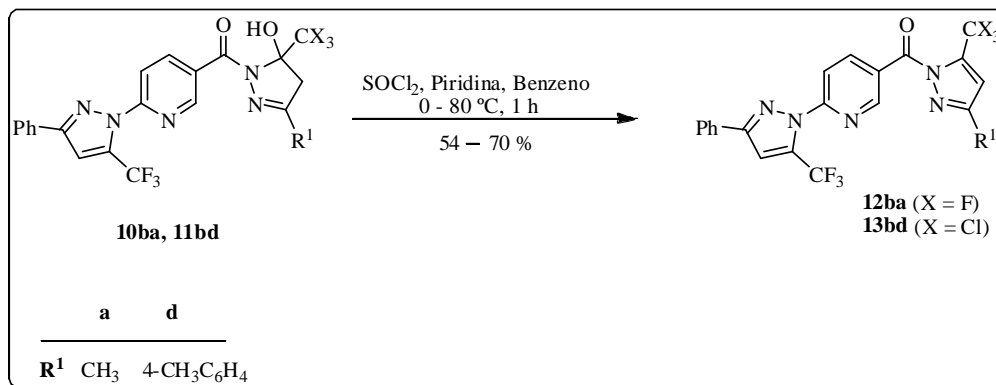


Tabela 10. Propriedades Físicas dos Compostos **12** e **13**.

| Comp. | R | R ¹ | X | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | HRMS (ESI) Calc./Exp. | | |
|-------------|-------------------------------|---|----|-----------|-----------|---|--|--------------|----------------|
| 12ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | Cl | 54 | 160 – 162 | C ₂₁ H ₁₃ F ₃ Cl ₃ N ₅ O (514,72) | 514,0216 (M+H)/ 514,0302. | | |
| | | | | | | | Análise Elementar Calc./Exp. | | |
| 13bd | C ₆ H ₅ | 4-CH ₃ C ₆ H ₄ | F | 70 | 153 – 155 | C ₂₇ H ₁₇ F ₆ N ₅ O (541,45) | C | H | N |
| | | | | | | | 59,89 60,29 | 3,16 3,91 | 12,93 12,34 |

3.9.1 Identificação Espectroscópica dos Compostos **12** – **13**

A identificação dos compostos **12** e **13** foi realizada por RMN ¹H, ¹³C e ¹⁹F a temperatura de 25 °C. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C {¹H} foram registrados em DMSO-*d*₆ e/ou CDCl₃.

3.9.1.1 RMN ¹H, ¹³C {¹H}

O espectro de RMN ¹H do composto **12ba** (Figura 28) apresentou em 8,99 ppm um sinal na forma de simpleto do hidrogênio H-6 da piridina, um duplete em 8,55 ppm do hidrogênio H-4 da piridina com constantes de ³J = 8 Hz em relação ao H-3(Py), ainda um duplete em 8,20 ppm do H-3(Py) com ³J = 8 Hz em relação ao H-4(Py). Também, o espectro apresentou um duplete em 8,03 ppm, referentes aos dois hidrogênios da fenila com J = 7 Hz. Mostrou dois sinais na forma de simpleto na região de 7,82 e 7,22 ppm dos hidrogênios vinílicos dos pirazóis (H-4). Ainda, um múltiplo de três hidrogênios da fenila ligada ao anel do pirazol CF₃ substituído em 7,52 – 7,46 ppm e por fim, um simpleto em 2,29 ppm da metila ligada ao anel pirazol com CCl₃ substituído.

Salienta-se que no espectro não há mais a presença dos dubletos de constante 19 Hz em 3,66 ppm e 3,43 ppm dos hidrogênios diastereotópicos (H-4_{PzI}) que havia no composto **10ba**, o que evidência a formação do núcleo pirazolínico aromatizado.

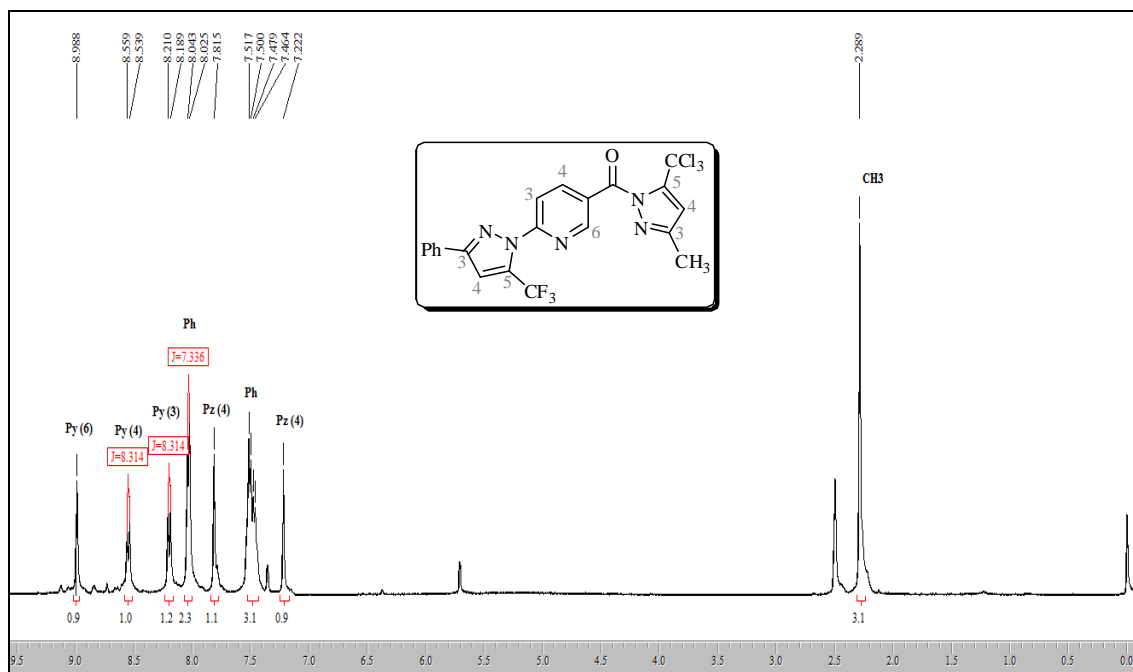


Figura 28. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**12ba**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, registrado em $\text{DMSO-}d_6$, para o composto de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**12ba**) (Figura 29), apresentou sinal em 165,4 ppm referente ao carbono carbonílico ($\text{C}=\text{O}$). Em 162,5 ppm mostrou o carbono C-3 do pirazol que foi desidratado e em 152,9; 149,1 e 140,4 ppm observou-se respectivamente os carbonos C2, C6 e C4 da piridina. Em 152,2 ppm o carbono C3(Pz) no anel pirazólico e em 132,8 ppm um sinal na forma de quarteto com constante $^2J = 41$ Hz referente ao carbono C5 do anel do pirazol foram verificados e em 119,8 ppm o outro sinal da forma de quarteto referente ao carbono do CF_3 com constante $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz. Em 126,1 ppm apresentou o carbono C-5(Py), em 115,6 ppm o carbono C-3(Py), em 110,3 ppm um quarteto com $^3J = 3$ Hz do carbono C-4(Pz), em 106,8 ppm o carbono do CCl_3 , em 142,2 ppm o carbono C-5(Pz) e em 141,3 ppm o sinal do carbono C-4(Pz). Já em 130,5; 129,3; 128,9; 125,9 ppm os sinais do anel da fenila e em 10,9 ppm o sinal referente ao carbono da metila (CH_3) foram demonstrados.

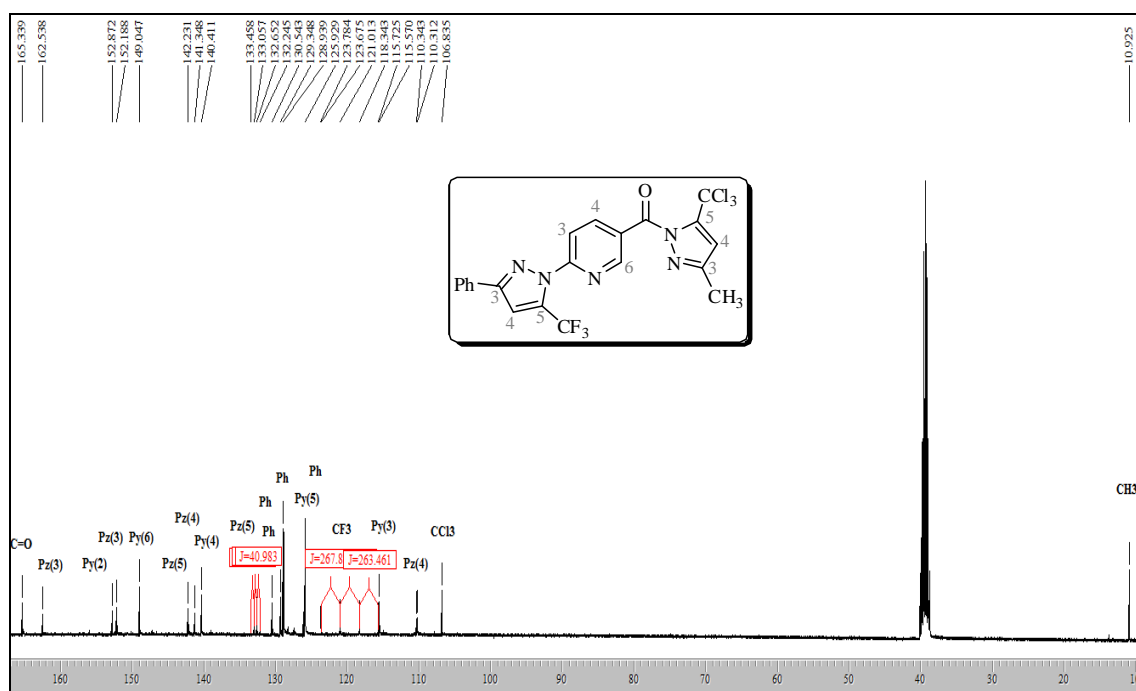


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**12ba**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^1H do composto **13bd** (Figura 30) apresentou um simpleto em 9,13 ppm referente ao hidrogênio H-6 do anel da piridina, um duplete em 8,73 ppm referente ao hidrogênio H-3 do anel piridínico com $J = 9$ Hz. Em 8,53 ppm observou um duplete em 8,26 ppm referente ao hidrogênio H-4 da piridina com $J = 8$ Hz. Os hidrogênios aromáticos foram identificados na região de 8,06 ppm um duplete com $J = 7$ Hz de dois hidrogênios, na região de 7,84 ppm um simpleto equivalente a dois hidrogênios, na região de 7,55 – 7,49 ppm um multiplete referindo-se a três hidrogênios e para finalizar na região de 7,31 ppm um duplete com constante $J = 7$ Hz referente aos outros dois hidrogênios do anel da fenila substituído. Mostrou ainda, dois simpletos em 8,00 e 7,87 ppm referente aos dois hidrogênios vinílicos de cada anel pirazólico, sendo observado a partir do precursor **11bd** que o sinal de 8,00 ppm é do pirazol substituído na posição 3 com 4-metilfenila e o de 7,87 ppm é do anel pirazol substituído na posição 3 com fenila. Por fim, um sinal na forma de simpleto dos três hidrogênio da metila em 2,35 ppm (CH_3).

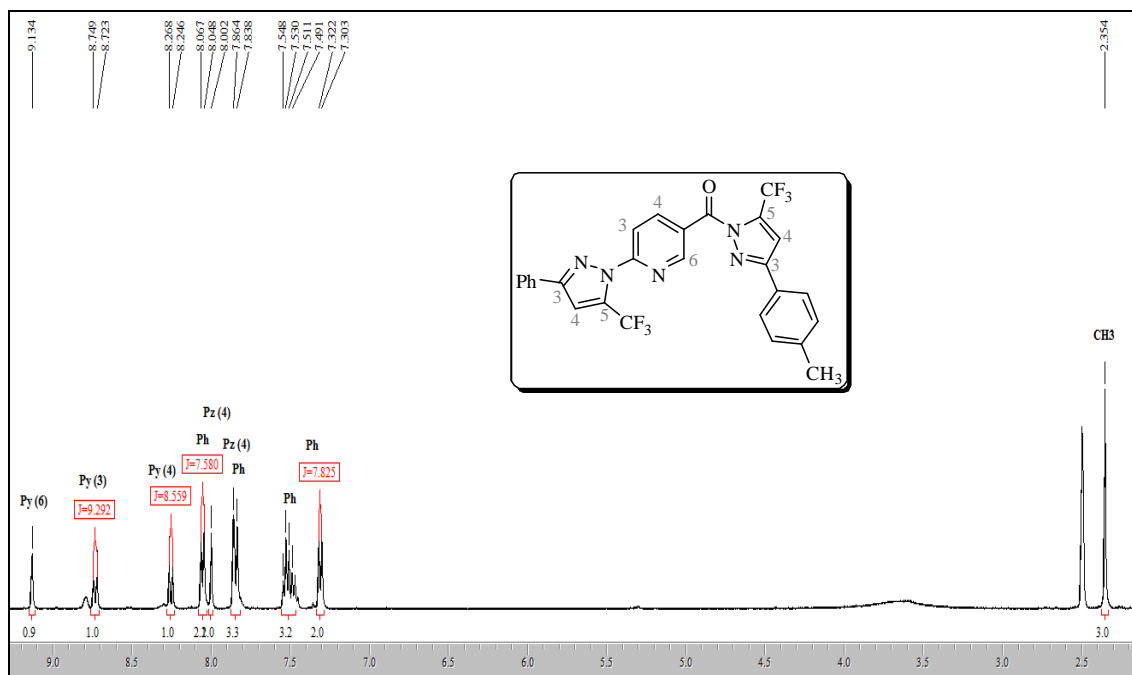


Figura 30. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**13bd**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C {H} em CDCl_3 para o composto **13bd** (Figura 31), apresentou sinal em 163,0 ppm referente ao carbono carbonílico (CO). Os carbonos do anel piridina C-2(Py), C-6(Py), C-4(Py), C-5(Py) e C-3(Py) apresentaram deslocamentos químicos respectivamente em 153,6; 151,6; 140,3; 131,0; 114,3 ppm.

Já os carbonos do anel pirazólico exibiram sinais em 152,7 ppm referente ao carbono C-3(Pz), em 134,3 ppm um quarteto com $^2J = 41$ Hz do carbono C-5(Pz), em 119,8 ppm mais um quarteto com $^1J = 268$ Hz do carbono do CF_3 (Pz), em 110,1 ppm outro quarteto do carbono C-4(Pz) com $^3J = 3$ Hz e ainda o mostrou sinais dos carbonos da fenila em 129,7; 129,3; 127,2; 126,0 ppm.

Os carbonos do anel pirazólico, agora desidratado, apareceu em 153,9 ppm o carbono C-3, em 119,3 ppm um quarteto com $^1J = 285$ Hz do carbono do CF_3 , em 136,3 ppm outro quarteto do carbono C-5 com $^2J = 42$ Hz, em 111,4 ppm o carbono C-4 com $^1J = 3$ Hz. Ainda, exibiu sinais dos carbonos da fenila 141,9; 129,3; 128,2; 126,2 em ppm e por fim, a metila em 21,3 ppm (CH_3).

Os espectros desses compostos encontram-se também no Anexo I (RMN) desta tese. O sinal de ^{19}F para o composto **12ba** verificou-se deslocamento de -57,94 ppm

(CF₃) e para o composto **13bd** exibiu sinais em -56,58 ppm e em -58,54 ppm referentes aos CF₃ nas posições 5 dos dois anéis pirazólicos.

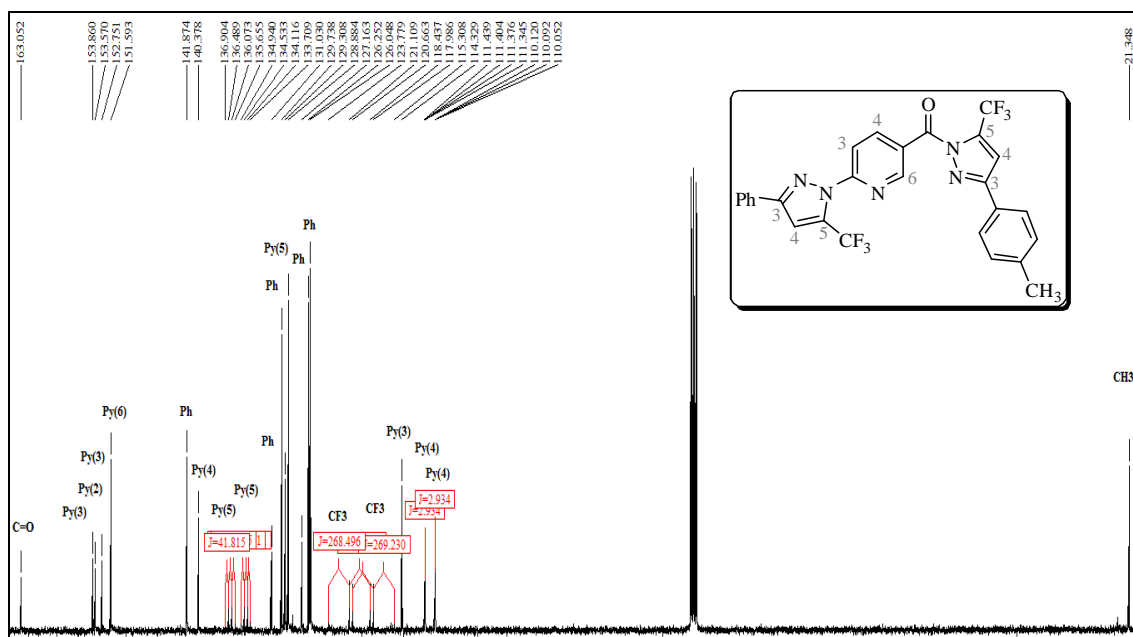
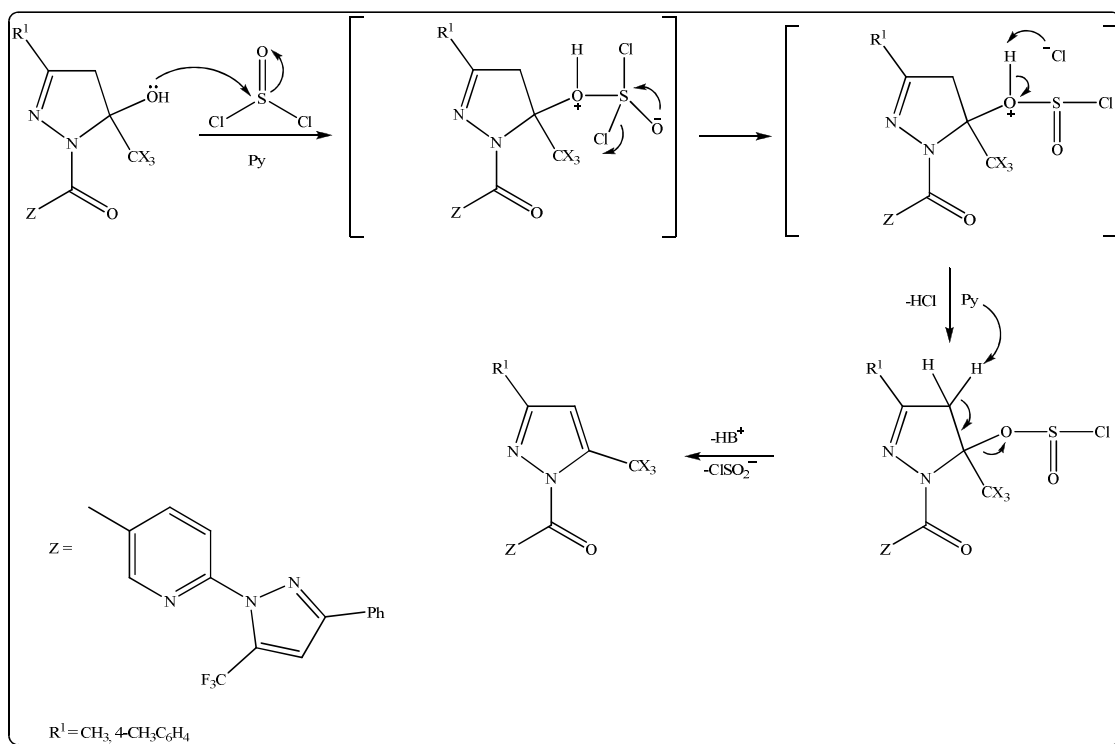


Figura 31. Espectro de RMN ¹³C a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**13bd**), registrado em CDCl₃.

3.9.2 Mecanismo geral proposto para desidratação dos compostos **9**, **12ba** e **13bd** utilizando cloreto de tionila

A desidratação da 2-pirazolina ao pirazol aromático pode ser efetuada com a utilização de cloreto de tionila, em meio básico.⁴² O mecanismo proposto para a eliminação de água (Esquema 56) envolve inicialmente a formação de um bom grupo abandonador, o clorossulfito (ClSO₂⁻) na posição da hidroxila. A seguir, uma base remove um dos hidrogênios ligados ao C-4 simultaneamente à saída do grupamento ClSO₂⁻ e à formação de uma ligação dupla entre os carbonos C-4 e C-5. O grupo ClSO₂⁻ decompõe-se ao gás SO₂ e íon cloreto, o que auxilia a completar a reação.

Esquema 56:



3.10 Reações de ciclocondensação do tipo [4 + 1] da função hidrazida

3.10.1 Síntese de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-[5-alkuil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]piridinas (14)

Com a obtenção satisfatória das 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]nicotino hidrazidas (**7**) e a realização, com sucesso, da síntese de novos poli-heterocíclicos (**8** – **13**) com reações de ciclocondensação na hidrazida livre do tipo [3 + 2], e ainda com o propósito de demonstrar a versatilidade dos compostos **7**, seguiu-se para a execução do objetivo II: reações de ciclocondensação do tipo [4+1].

Desta forma, seguindo o protocolo da literatura,⁵⁷ as 6-[3-alkuil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]nicotino hidrazidas (**7a-b**) sintetizadas anteriormente foram submetidas a reagir com excesso de ortoacetato de trietila ou ortobenzoato de trimetila, na proporção molar de (1:6), na temperatura de 110 °C por 16 horas (Esquema 57). Salienta-se que nestas reações o próprio ortoéster desempenha o papel de solvente.

A aplicação destas condições reacionais de ciclocondensação tiveram êxito e um novo sistema tríciclico aromático contendo CF₃ em sua estrutura foi possível, as 2-[3-alkuil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-[5-alkuil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-

il]piridinas (**14aa**, **14ab**, **14ba**, **14bb**) foram obtidas com moderados rendimentos de 52 – 66%. Os compostos **14** foram isolados do meio reacional (ver parte experimental) na forma de sólido e a Tabela 11 mostra algumas de suas propriedades físicas.

Esquema 57:

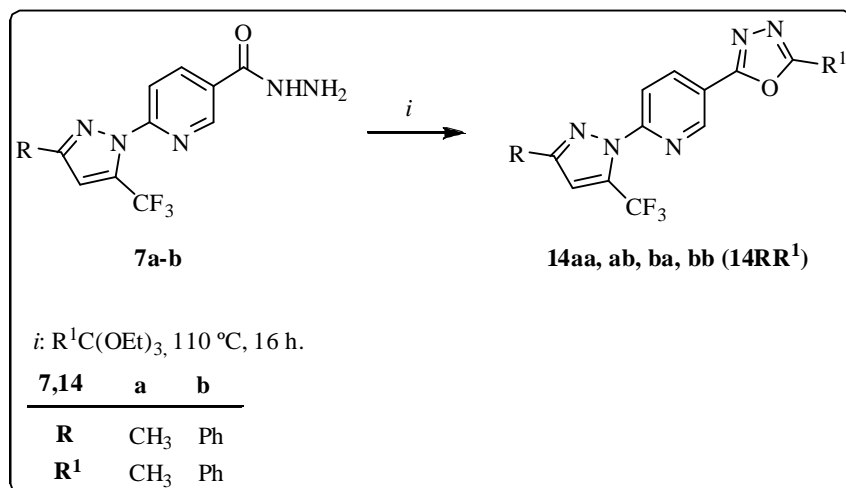
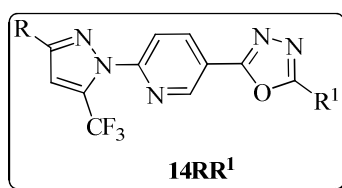


Tabela 11. Propriedades Físicas dos compostos **14**.



| Nº | R | R ¹ | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | HRMS (ESI) Calc./Exp. |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------|-----------|---|-----------------------------|
| 14aa | CH ₃ | CH ₃ | 52 | 147 – 149 | C ₁₃ H ₁₀ F ₃ N ₅ O (309,25) | 310,0915 (M+H)/ 310,0908 |
| 14ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 56 | 166 – 168 | C ₁₈ H ₁₂ F ₃ N ₅ O (371,32) | 372,1072 (M+H)/ 372,1087 |
| 14ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | 60 | 208 – 210 | C ₁₈ H ₁₂ F ₃ N ₅ O (371,32) | 372,1072 (M+H)/ 372,1085 |
| 14bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | 66 | 204 – 206 | C ₂₃ H ₁₄ F ₃ N ₅ O (433,39) | 434,1228 (M+H)/ 434,1222 |

3.10.2 Identificação Espectroscópica de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-[5-álquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]piridinas (14)

A identificação dos compostos **14** foi realizada por RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, COSY, HSQC, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e HRMS (ESI). Os espectros de RMN foram registrados em CDCl_3 e/ou $\text{DMSO-}d_6$, utilizando TMS como referência interna. Já para o RMN ^{19}F teve com referência interna o monofluorbenzeno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{F}$).

3.10.2.1 RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ^{19}F , COSY, HSQC.

O espectro de RMN ^1H do composto **14aa** (Figura 32) apresentou um duplete em 9,00 ppm $J = 2$ Hz referente ao hidrogênio H-6(Py) do anel piridínico. Em 8,53 ppm observou-se um duplo duplete referente ao hidrogênio H-4(Py) com $J = 2$ Hz em relação ao H-6(Py) e $J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py) e em 8,05 ppm outro duplete referente ao hidrogênio com $J = 8$ Hz em relação ao H-4(Py). Mostrou ainda um sinal em 7,08 ppm referente ao hidrogênio do anel pirazolínico H-4(Pz). E em 2,61 e 2,35 ppm observou-se os hidrogênios referente as duas metilas.

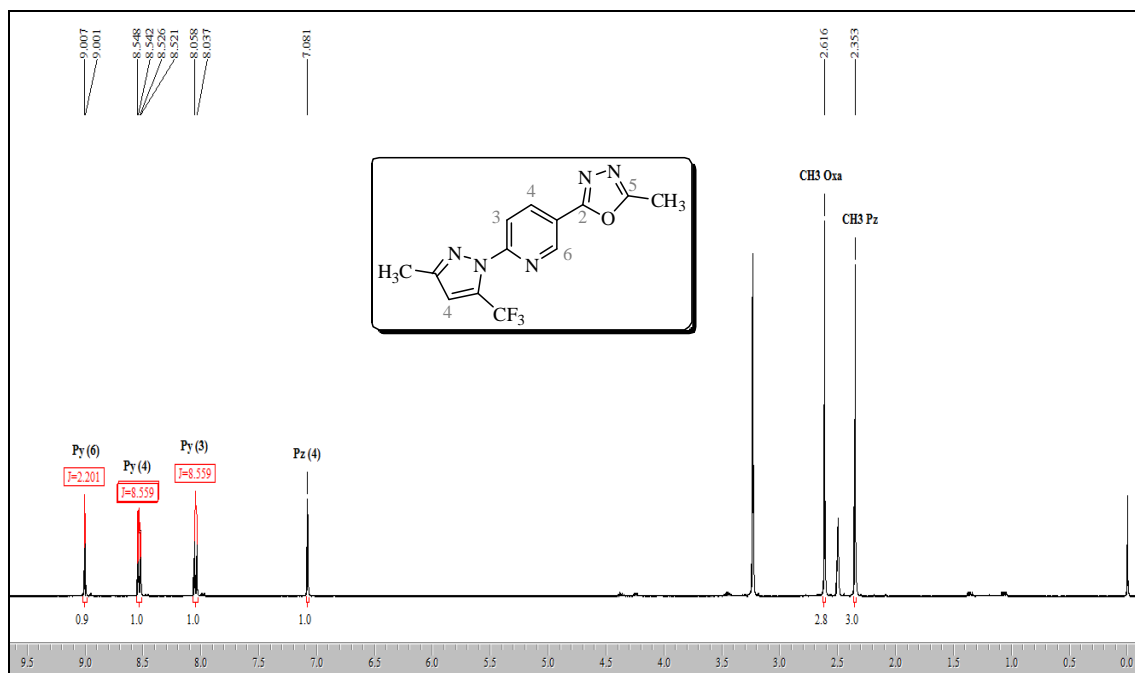


Figura 32. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina. **14aa** em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto **14aa** (Figura 33) apresentou um sinal em 164,3 ppm e outro sinal em 161,4 ppm referente aos carbonos do oxadiazol C-5 e C-2 respectivamente. Um sinal em 151,8 ppm o carbono C-2(Py) e em 150,5 ppm do carbono C-3(Pz). Em 145,4 ppm foi observado o carbono C-6(Py). Em 137,1, 118,3, 115,6 ppm os carbonos C-4(Py), C-5(Py) e C-3(Py) do anel piridínico. Já o carbono C-5(Pz) apresentou em forma de quarteto em 131,5 ppm com $^2J = 40$ Hz e o carbono do CF_3 também como quarteto em 119,6 ppm com constante de acoplamento de $^1J = 268$ Hz e C-4(Pz) quarteto em 112,7 com $^3J = 2$ Hz. E em 12,9 e 10,4 ppm observou-se os carbonos das duas metilas constituindo indicativo ao do anel pirazólico e ao do anel oxadiazólico, respectivamente.

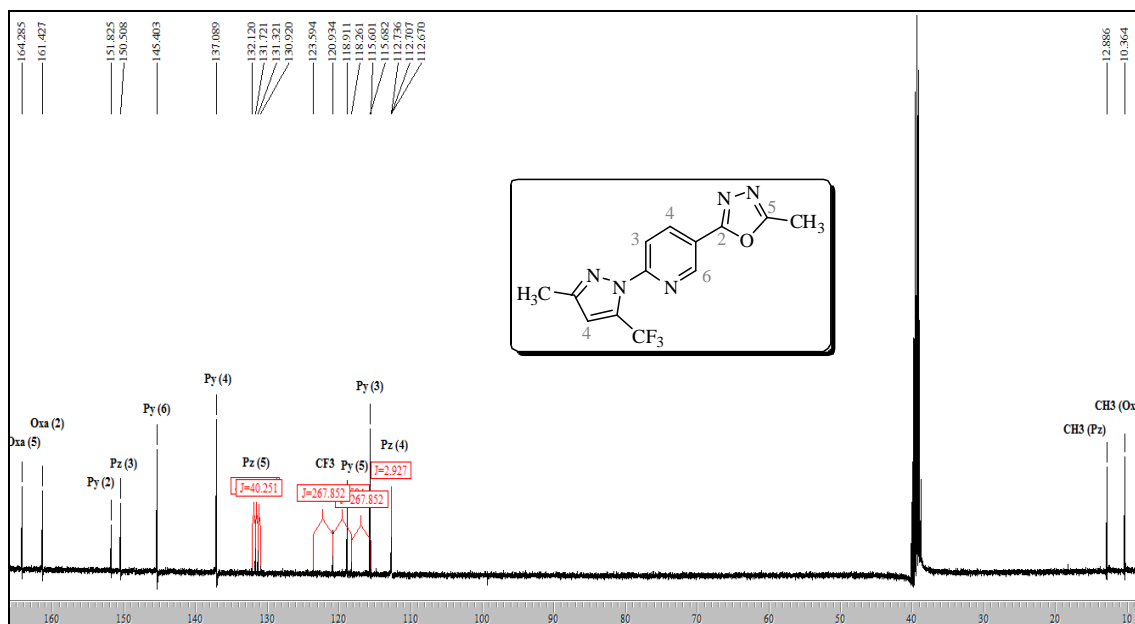
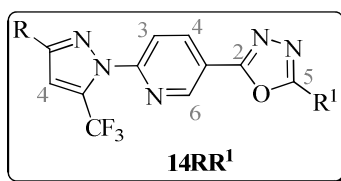


Figura 33. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina **14aa** em $\text{DMSO-}d_6$.

Os dados de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, dos compostos **14aa-bb** estão descritos na Tabelas 12 e 13. Os espectros destes compostos encontram-se no Anexo I (RMN).

Tabela 12. Dados de RMN ^1H dos compostos **14**

| Comp. | R | R ¹ | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | H-6 _{py} | H-4 _{py} | H-3 _{py} | H-4 _{pz} |
| 14aa | CH ₃ | CH ₃ | 9,00 | 8,53 | 8,05 | 7,08 |
| 14ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 9,15 | 8,65 | 8,05 | 7,04 |
| 14ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | 8,94 | 8,45 | 8,10 | 7,78 |
| 14bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | 9,26 | 8,76 | 8,26 | 7,83 |

Tabela 13. Dados de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos compostos **14**

| Comp. | R | R ¹ | δ (ppm) | | | | | |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | | | C-5 _{py} | C-2 _{py} | C-3 _{pz} | C-4 _{pz} | C-2 _{oxa} | C-5 _{oxa} |
| 14aa | CH ₃ | CH ₃ | 118,9 | 151,8 | 150,5 | 112,7 | 164,3 | 161,4 |
| 14ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 115,6 | 152,0 | 150,6 | 112,8 | 164,4 | 161,8 |
| 14ba | C ₆ H ₅ | CH ₃ | 115,6 | 151,8 | 151,7 | 109,8 | 164,3 | 163,2 |
| 14bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | 119,1 | 153,0 | 152,3 | 109,8 | 165,1 | 162,1 |

O espectro de RMN ^{19}F a 376,46 MHz, para o composto (**14aa**) (Figura 34) apresentou sinal em -55,91 ppm do flúor do CF₃ ligado ao carbono C-5 do anel pirazolínico. Já no espectro de RMN 2D COSY (Figura 35) verificou as correlações entre os hidrogênios do anel da piridina que estão acoplados, como o hidrogênio H-4(Py) com $J = 2$ Hz em relação ao H-6(Py) e $J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py).

A atribuição dos deslocamentos químicos para o composto **14aa** foi realizada ainda com auxílio de RMN 2D HSQC (Figura 36), em que se observou as correlações diretas carbono-hidrogênio que participam da mesma ligação química (Tabela 14).

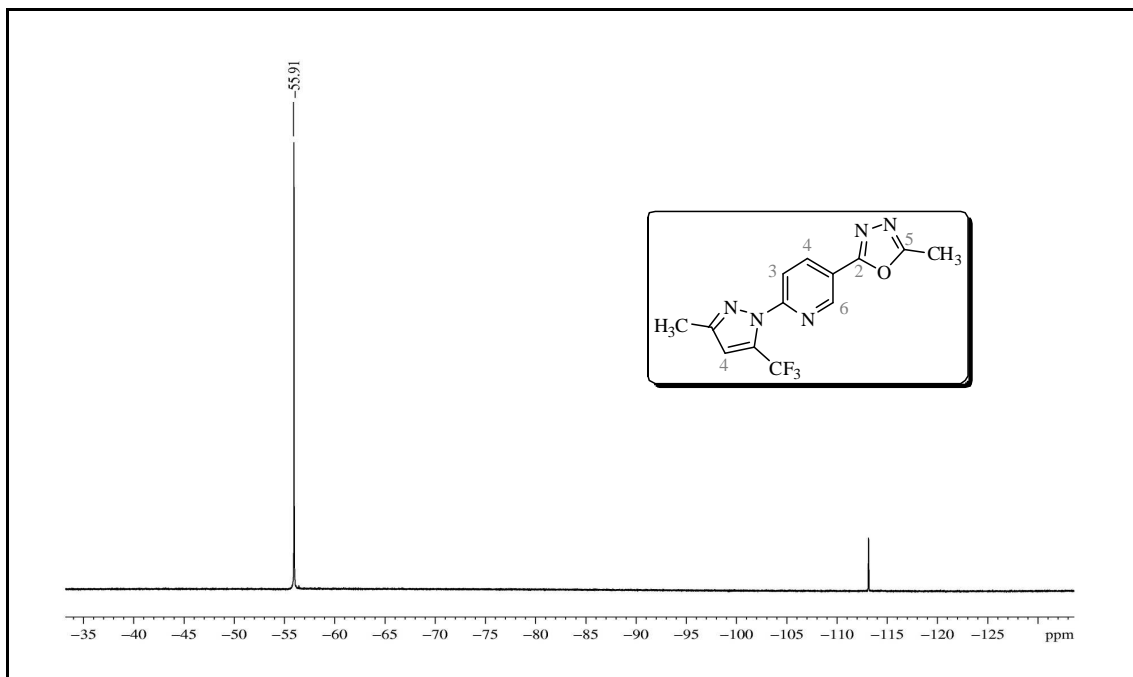


Figura 34. Espectro de RMN ^{19}F a 376,46 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina **14aa** em $\text{DMSO-}d_6$.

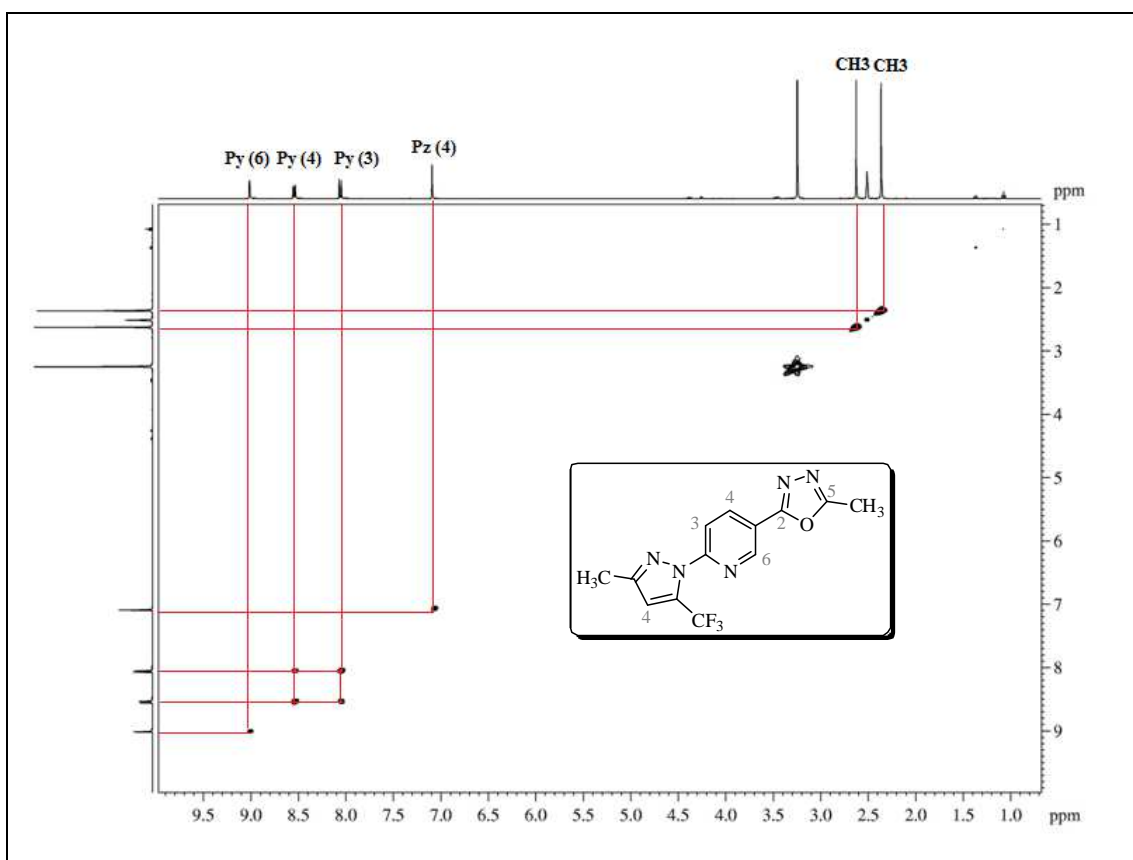


Figura 35. Espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina **14aa** em $\text{DMSO-}d_6$.

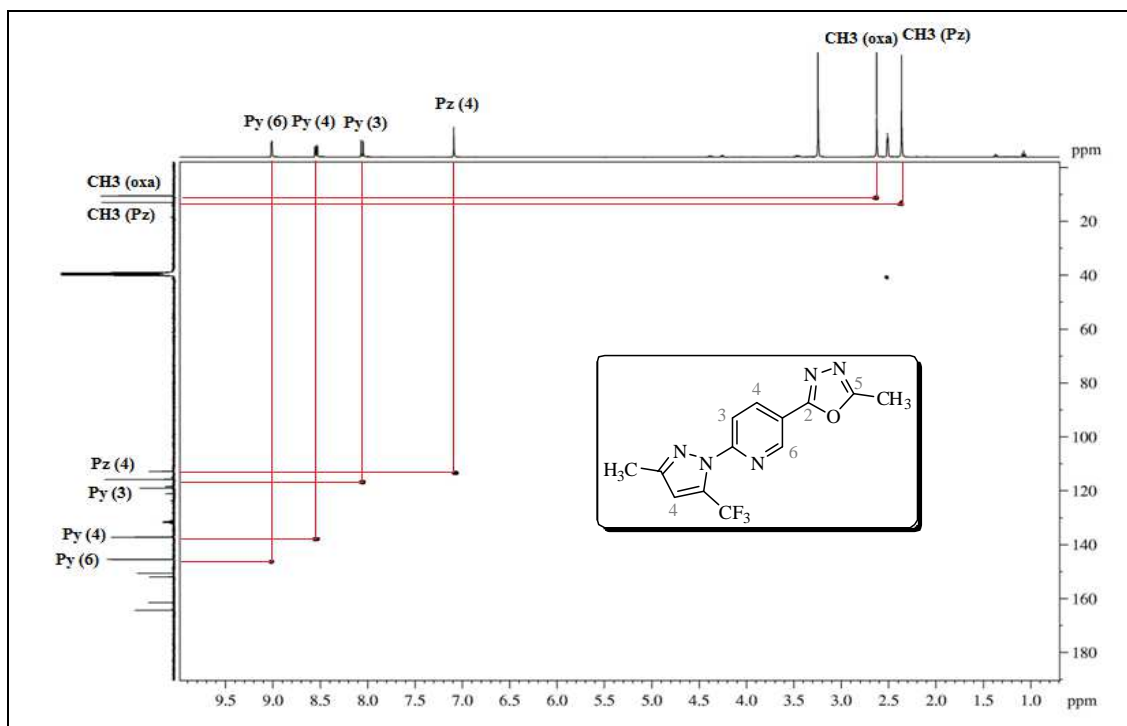


Figura 36. Espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina **14aa** em DMSO-*d*₆.

Tabela 14. Correlações ¹³C/¹H observadas no espectro 2D HMQC do composto **14aa**.

| δ RMN ¹³ C {H} (ppm) | δ RMN ¹ H (ppm) |
|--|-----------------------------------|
| 145,4 – C-6(Py) | 9,00 – H-6(Py) |
| 137,1 – C-4(Py) | 8,55 – 8,52 – H-4(Py) |
| 115,7 – C-3(Py) | 8,05 – 8,03 – H-3(Py) |
| 112,7 – C-4 (Pz) | 7,08 – H-4 (Pz) |
| 10,36 – CH ₃ (Oxa) | 2,62 – CH ₃ (Oxa) |
| 12,9 – CH ₃ (Pz) | 2,35 – CH ₃ (Pz) |

3.10.2.2 Espectrometria de Massas

O espectro de massas do composto **14aa** (Figura 37), apresentou uma série de fragmentos ionizados, utilizando uma energia de 70 eV. MS: *m/z* (%) (EI) = 309 (M⁺, 100); 254 (44); 184 (11); 149 (7).

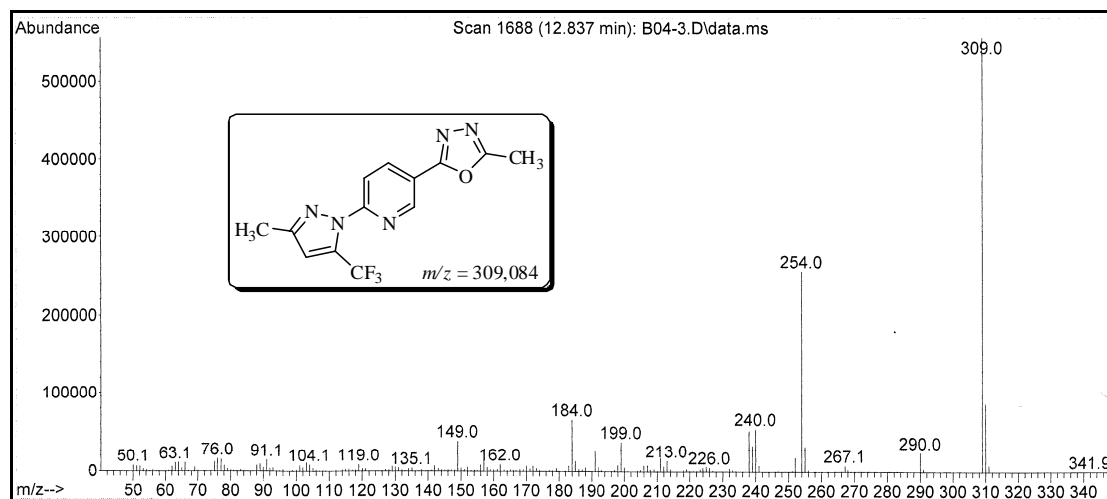


Figura 37. Espectro de massas CG/EM de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina **14aa**.

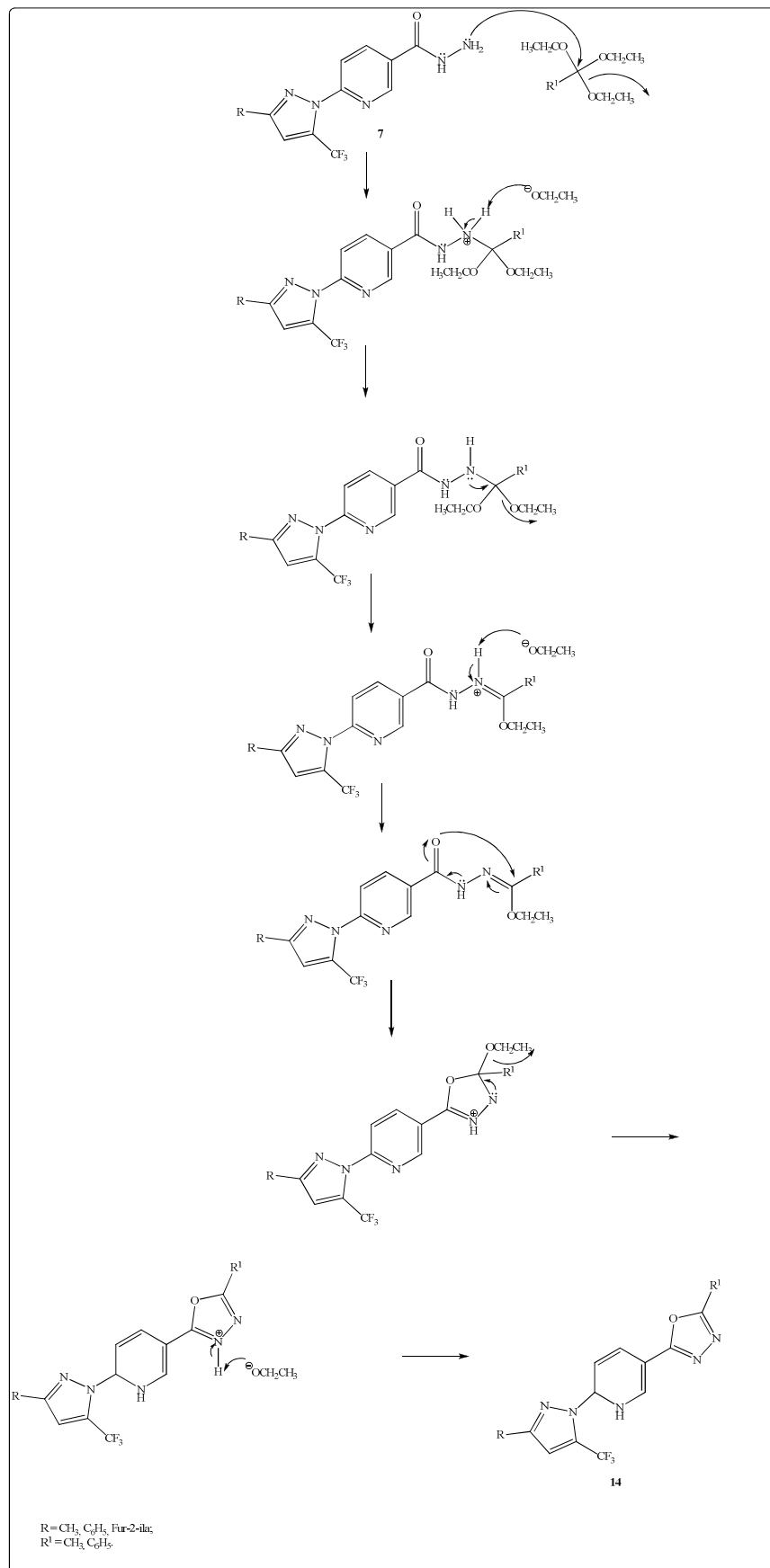
3.10.3 Mecanismo proposto para a obtenção de 5-[5-Alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-2-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] piridinas (**14**)

Analisando dados da literatura, sugere-se que a formação dos 1,3,4-oxadiazóis ocorra através de uma reação de ciclocondensação [4+1] envolvendo hidrazidas (fragmento – OCNN) e ortoésteres (fragmento – C), a qual tem sido proposta por Ainsworth.^{50b, 57}

Desta forma, o primeiro passo é o ataque nucleofílico do nitrogênio (N-2) ao carbono eletrofílico do ortoacetato de trietila ou ortobenzoato de trimetila, com saída do grupamento $^-OCH_2CH_3$ (etóxi) ou $^-OCH_3$ (metóxi). A seguir ocorrem reações de transferências de elétrons, com posterior ataque do oxigênio/nitrogênio com par de elétrons livres, formando um anel de cinco membros, que sofre posterior ataque de outro ânion etóxido ou metóxido, ocorrendo a aromatização do anel, através da eliminação de EtOH ou MeOH.

A partir das considerações anteriores, e do produto isolado pode-se propor o mecanismo para a obtenção de 5-[5-alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-2-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] piridinas (**14aa-bb**), através de uma ciclocondensação do tipo [4 + 1] (Esquema 58).

Esquema 58:



3.10.4 Cálculos teóricos dos compostos **14**

Depois de promover a síntese dos compostos inéditos **14aa-bb**, e de realizar sua identificação estrutural através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H , ^{13}C), Espectrometria de Massas (ESI-MS-MS) e de Alta Resolução HRMS (ESI) como que tais técnicas não permitiam determinar a configuração espacial e como os compostos não foram isolados sob a forma de sólidos cristalinos, mas sim sob a forma de pó, impedindo desta maneira um estudo mais aprofundado através de Difração de Raios-X. Então, fez-se uso de cálculos teóricos denominados DFT (*Density Functional Theory*), os quais foram realizados no pacote de programas Gaussian 09,⁹⁰ sendo o método DFT B3LYP associado com a base cc-pVDZ o nível de teoria empregado.

As estruturas foram otimizadas e cálculos de frequência foram realizados para comprovar que as estruturas se encontram em mínimos de energia.

Os compostos poli-heterocíclicos **14** fazem quatro conformações planas possíveis, no entanto, os cálculos DFT mostraram apenas duas conformações preferenciais. Na primeira configuração, o oxigênio do anel do oxadiazol e o nitrogênio do anel da piridina estão no mesmo lado da molécula (confômero **I**) e na segunda conformação, os dois respectivos átomos estão em lados opostos da molécula (confômero **II**). Os cálculos teóricos (DFT) mostraram que o confômero **I** é cerca de $0,5 \text{ kcal mol}^{-1}$ mais estável que o confômero **II** (Figura 38).

O ângulo diedro $\text{NN}_{\text{Pz}} - \text{CC}_{\text{PY}}$ entre os átomos de nitrogênio N-1 e N-2 do pirazol e átomos de carbono C-2 e C-3 da piridina e ainda, os ângulos diedros $\text{OC}_{\text{Oxa}} - \text{CC}_{\text{PY}}$ entre o oxadiazol O-1 e C-2, e carbonos C-4 e C-5 da piridina, mostraram que a estrutura do confômero **I** é quase plana para todos os compostos de **14aa – 14bb**.

Os valores de energia absoluta e relativa dos compostos em estudo estão demonstrados na Tabela 15.

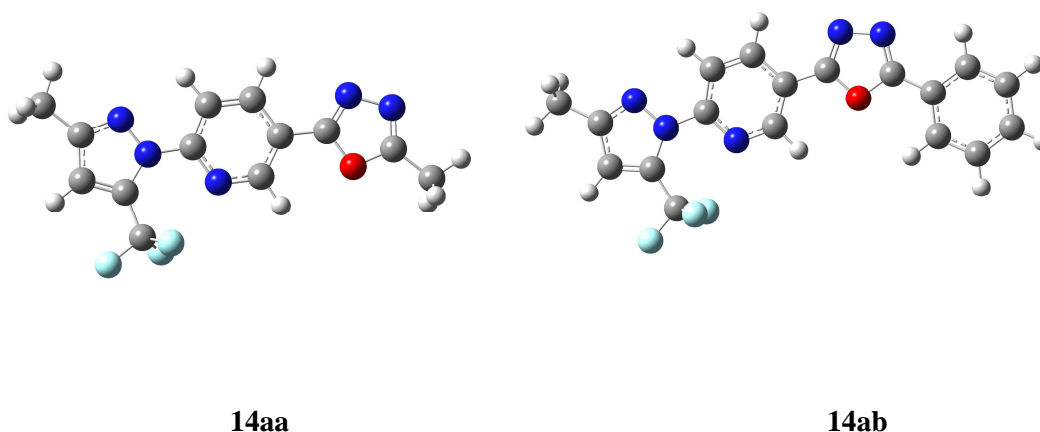
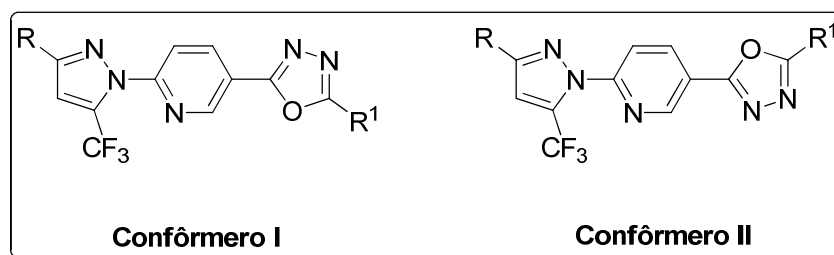


Figura 38. Geometrias do conformero I dos compostos **14aa** e **14ab**

Tabela 15. Energias relativas calculadas de geometrias de principal conformero I e II para os compostos **14RR¹**. $\Delta E = (E_{\text{conformero II}} - E_{\text{conformero I}}) \times 627,5095$.



| N° | R | R ¹ | Ângulos diedros | | ΔE (kcal.mol ⁻¹) |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|---|
| | | | $NN_{Pz} - CC_{Py}$ | $OC_{oxa} - CC_{Py}$ | |
| 14aa | CH ₃ | CH ₃ | 0,00° | 0,01° | 0,49 |
| 14ab | CH ₃ | C ₆ H ₅ | 0,05° | 0,00° | 0,49 |
| 14ba | C ₆ H ₅ | Me | 1,62° | 0,01° | 0,52 |
| 14bb | C ₆ H ₅ | C ₆ H ₅ | 6,76° | 0,98° | 0,52 |

Analisando os dados de energia obtidos através dos cálculos teóricos (Tabela 15) conclui-se que, para os compostos **14** uma característica interessante é que quando R = R¹ = C₆H₅ (**14bb**), a diferença de energia entre os conformeros I e II é muito

semelhante aos outros com médias de $0,50 \text{ kcal.mol}^{-1}$, mas os valores dos ângulos diedros $\text{NN}_{\text{Pz}} - \text{CC}_{\text{PY}}$ e $\text{OC}_{\text{oxa}} - \text{CC}_{\text{PY}}$ são claramente afetados. Uma possível explicação refere-se aos efeitos estéricos dos substituintes R e R¹. No caso de **14bb** (R = R¹ = C₆H₅), o sistema poli-heterocíclico é composto de cinco ciclos, cada um ligado a outro, com não mais do que três ciclos como no **14aa** (R = R¹ = CH₃) ou quatro ciclos como no **14ab** e **14ba**. O maior tamanho do fenil em comparação com os grupos metilas provavelmente resulta num maior efeito estérico entre os ciclos ligados. Uma outra característica deste sistema é que o substituinte fenil ligado ao anel pirazólico (**14ba**), induz um efeito maior sobre a planaridade do sistema em relação ao que está sendo ligado ao anel do oxadiazol (**14ab**).

3.10.5 Síntese de 2-(3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[(2-tiona)-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il]piridinas (**15a-c**)

De acordo com a literatura a síntese de 2-tiona-1,3,4-oxadiazol pode ser realizada em meio básico com a utilização de dissulfeto de carbono (CS₂) frente a hidrazidas. Primeiramente, testou-se um procedimento para uma reação instantânea, segundo Modi e Modi.⁷² Colocou-se a hidrazida **7b** (1 mmol, 0,347 g) em EtOH em um balão reacional, adicionou-se uma solução de KOH/H₂O e logo em seguida 10 gotas de CS₂ em temperatura ambiente ($\approx 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Observou-se a formação de um precipitado amarelo escuro, no qual foi posto dentro do balão uma pedra de gelo ($\pm 4 \text{ g}$) e acidificou-se a reação com HCl diluído (1:1). O sólido final formado de coloração amarelo claro foi filtrado e lavado com uma solução de EtOH/H₂O (4:1). O produto desejado **15b** foi verificado por RMN ¹H, porém o rendimento reacional foi baixo (28%).

Posteriormente, testou-se a metodologia segundo Hasan e col.²⁴ utilizando-se de uma mistura da hidrazida **7b** (1 mmol, 0,347 g) em EtOH, ao qual foi adicionado 2 mL de CS₂ e uma solução de hidróxido de potássio (KOH) em água (1,2 g/20 mL). Foi então agitada e refluxada por 3 horas. Após a reação, o solvente EtOH foi removido em rotaevaporador adicionado 200 mL de água destilada ao produto e acidificando-o a pH = 2 com HCl (4 M), este momento houve a formação de sólido. Filtrou-se o sólido com

éter dietílico gelado e foram secos em pressão reduzida em P₂O₅. Foi observado por RMN ¹H sobra do composto **7b**, produto esperado **15b** e mais subprodutos não identificados.

Em sequência, testou-se a reação com base no método de El-Kashef e col.⁶⁹ a qual, empregando piridina tratada (5 mL) com 3 mL de CS₂ em refluxo (52 – 55 °C) por 3 horas em sistema fechado, sendo este o procedimento mais eficiente na construção deste sistema poli-heterocíclico. Após o tempo reacional, deixou-se o balão aberto exposto ao ar, em temperatura ambiente durante 12 – 16 horas para liberação do vapor de sulfeto.

Colocou-se 15 mL de água destilada gelada no balão (observou-se um aspecto leitoso) e acidificou-se a reação com HCl diluído (1:1 HCl 37% /H₂O) até pH 4 – 5 em banho de gelo. O sólido precipitado de coloração amarelo claro **15b** foi isolado por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com água destilada gelada e recristalizados em EtOH e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.

Esta condição reacional utiliza a própria piridina em excesso como solvente da reação e permitiu a formação de sólido estável ao ar e em bons rendimentos (73% para o composto **15b**), considerando a perda de produto na filtração e recristalização (Tabela 16).

As estruturas obtidas **15a-c** são inéditas (Esquema 59) e foram isolados do meio reacional (ver parte experimental) através de uma filtração e após recristalização em EtOH, sob a forma de sólidos estáveis, com alto teor de pureza. A pureza dos compostos foi comprovada por Análise Elementar (CHN). A Tabela 17 mostra os dados de rendimentos, pontos de fusão e a análise elementar dos compostos **15a-c**.

Tabela 16. Otimização de síntese de 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**)

| Nº | Solvente | Base | Tempo (h) | Temperatura (°C) | Rendimento (%) |
|----|----------|----------|-----------|-------------------|----------------|
| 1 | EtOH | KOH | - | t.a. | 28 |
| 2 | EtOH | KOH | 3 | 78 – 80 | [a] |
| 3 | - | piridina | 3 | 52 – 55 | 73 |

^a sobra de MP, subprodutos não identificados.

Esquema 59:

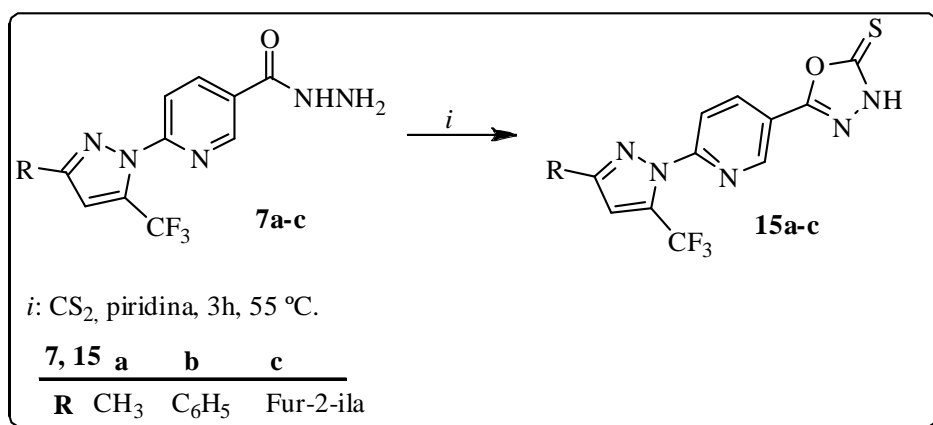
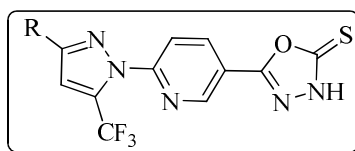


Tabela 17. Propriedades Físicas dos Compostos 15a-c



| Nº | R | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar | | |
|-----|-------------------------------|-----------|-----------|--|-------------------|------|-------|
| | | | | | Calc./Exp. | C | H |
| 15a | CH ₃ | 81 | 209 – 211 | C ₁₂ H ₈ F ₃ N ₅ OS (327,28) | 44,04 | 2,46 | 21,40 |
| | | | | | 43,87 | 2,55 | 21,12 |
| 15b | C ₆ H ₅ | 73 | 212 – 213 | C ₁₇ H ₁₀ F ₃ N ₅ OS (389,35) | 52,44 | 2,59 | 17,99 |
| | | | | | 51,99 | 2,84 | 17,32 |
| 15c | Fur-2-ila | 64 | 222 – 224 | C ₁₅ H ₈ F ₃ N ₅ O ₂ S.H ₂ O (397,33) | 45,34 | 2,54 | 17,63 |
| | | | | | 45,25 | 2,14 | 17,18 |

3.10.5.1 Identificação Espectroscópica de 2-(3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridinas (15a-c)

A identificação dos compostos **15a-c** foi realizada por RMN ¹H, ¹³C {¹H}, COSY e HSQC. Os espectros de RMN foram registrados em DMSO-*d*₆, utilizando TMS como referência interna.

3.10.5.1.1 RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, DEPT 135, COSY e HSQC.

A utilização de análises espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio permitiu elucidar a estrutura do composto obtido, confirmando a obtenção dos compostos **15**.

O espectro de RMN ^1H do composto (**15b**) (Figura 39) mostrou em 8,95 ppm um duplete referente ao hidrogênio H-6(Py) com $J = 2$ Hz, em 8,50 ppm observou-se um duplo duplete com um hidrogênio referente ao H-4(Py) com $J = 2$ Hz em relação ao H-6(Py) e $J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py), já em 8,19 ppm um duplete do hidrogênio H-3(Py) com $J = 8$ Hz. Um sinal em forma de duplete em 8,02 ppm com $J = 7$ Hz de dois hidrogênios da fenila e um mutipletto na região de 7,53 – 7,45 ppm referente a três hidrogênios do anel aromático. Seguidamente, em 7,81 ppm um simpleto do hidrogênio vinílico H-4(Pz) do anel pirazólico.

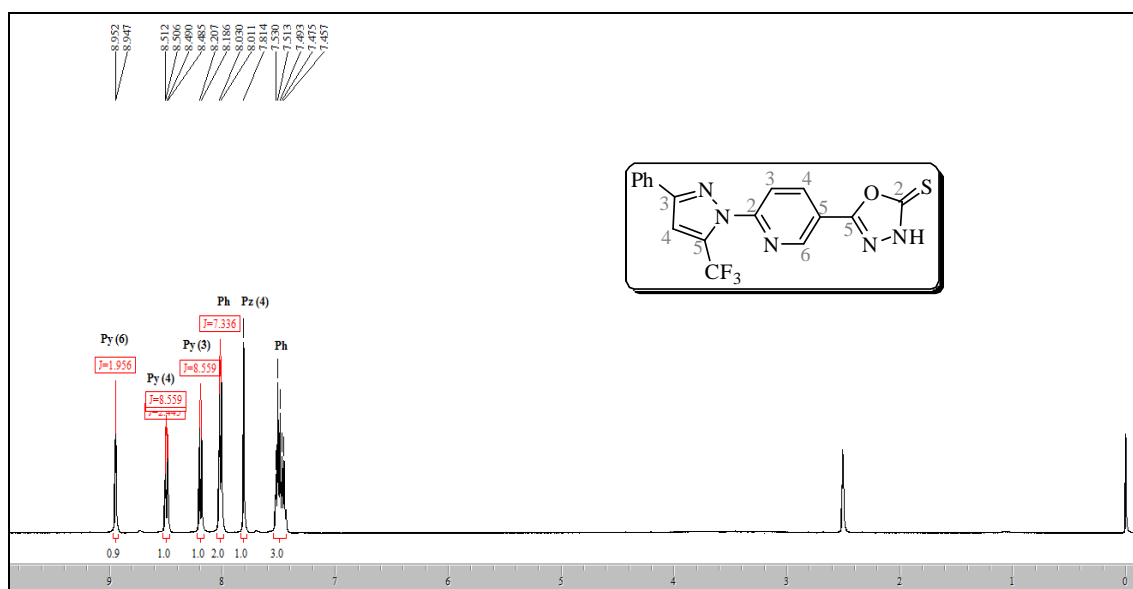


Figura 39. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**) em DMSO- d_6 .

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, para o composto **15b** (Figura 40), apresentou sinal em 177,4 e em 157,8 ppm, referente ao C-2 e C-5, respectivamente, do anel do oxadiazol. Sinais em 151,9; 145,2; 136,9 ppm, designam respectivamente os carbonos C-2, C-6 e C-4 da piridina e em 118,3 ppm observou-se o carbono C-5 da piridina e já em 115,8 ppm o carbono C-3 da piridina. Os carbonos referentes à fenila em 130,2; 129,1; 128,7 e 125,7 ppm. Os carbonos do anel pirazólico foi verificado em 151,8 ppm o C-3 em 110,3 ppm o C-4. Finalmente, o carbono C-5 do anel na forma de

quarteto em 132,5 ppm com constante de acoplamento $^2J = 40$ Hz e o CF_3 apresentando na forma de característico quarteto de $^1J = 268$ Hz em 119,4 ppm.

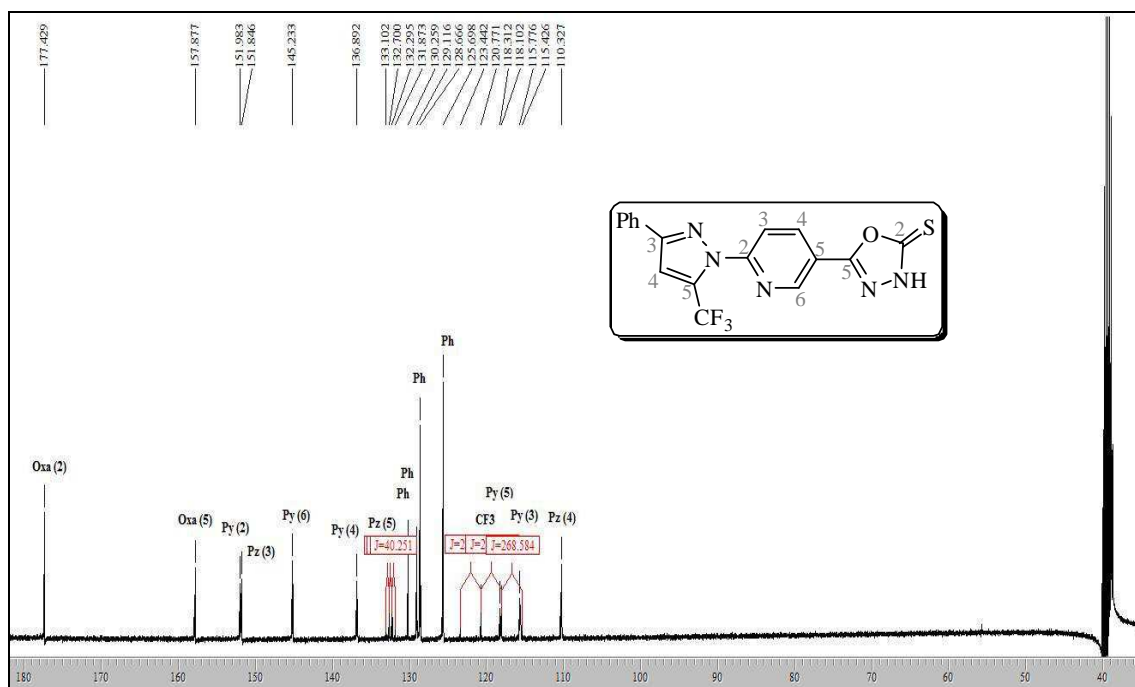
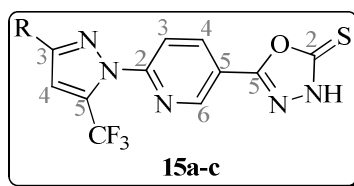


Figura 40. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**) em $\text{DMSO-}d_6$.

Os dados de RMN ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos compostos **15a-c**, estão descritos nas Tabelas 18 e 19. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C dos compostos **15** são bastante semelhantes. As pequenas diferenças de multiplicidade e, ou deslocamentos químicos devem-se à influência da vizinhança de cada núcleo de hidrogênio (H-3_{py} , H-4_{pz}) ou carbono (C-3 do anel pirazol). Os espectros desses compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese.

Tabelas 18 e 19. Dados de RMN ^1H , ^{13}C {H} dos compostos **15a-c**.

| Comp. | R | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) |
|------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | H-6 _{py} | H-4 _{py} | H-3 _{py} | H-4 _{pz} |
| 15a | CH ₃ | 8,90 | 8,44 | 8,03 | 7,09 |
| 15b | C ₆ H ₅ | 8,95 | 8,50 | 8,19 | 7,81 |
| 15c | Fur-2-ila | 8,91 | 8,45 | 8,09 | 7,54 |

| Comp. | R | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) | δ (ppm) |
|------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | | C-5 _{py} | C-2 _{py} | C-3 _{pz} | C-4 _{pz} | C-2 _{oxa} | C-5 _{oxa} |
| 15a | CH ₃ | 118,0 | 151,9 | 150,6 | 112,9 | 177,4 | 157,9 |
| 15b | C ₆ H ₅ | 118,3 | 151,9 | 151,8 | 110,3 | 177,4 | 157,8 |
| 15c | Fur-2-ila | 118,5 | 151,8 | 145,5 | 110,1 | 177,5 | 158,0 |

O espectro de RMN DEPT 135, para o composto (**15b**) (Figura 41) apresentou sinais em 145,0; 136,7 e 115,6 ppm respectivamente dos carbonos C-6, C-4 e C-3 do anel da piridina e os carbonos referentes ao da fenila em 128,9; 128,5 e 125,5 ppm. O carbono C-4 do anel pirazolínico foi observado em 110,3 ppm. Já no espectro de RMN 2D COSY (Figura 42) foi verificado as correlações homonuclear entre os hidrogênios do anel da piridina e entre os hidrogênios da fenila que estão acoplados por $^2J_{\text{H,H}}$ (acoplamentos geminais e vicinais, mensuráveis no espectro 1D).

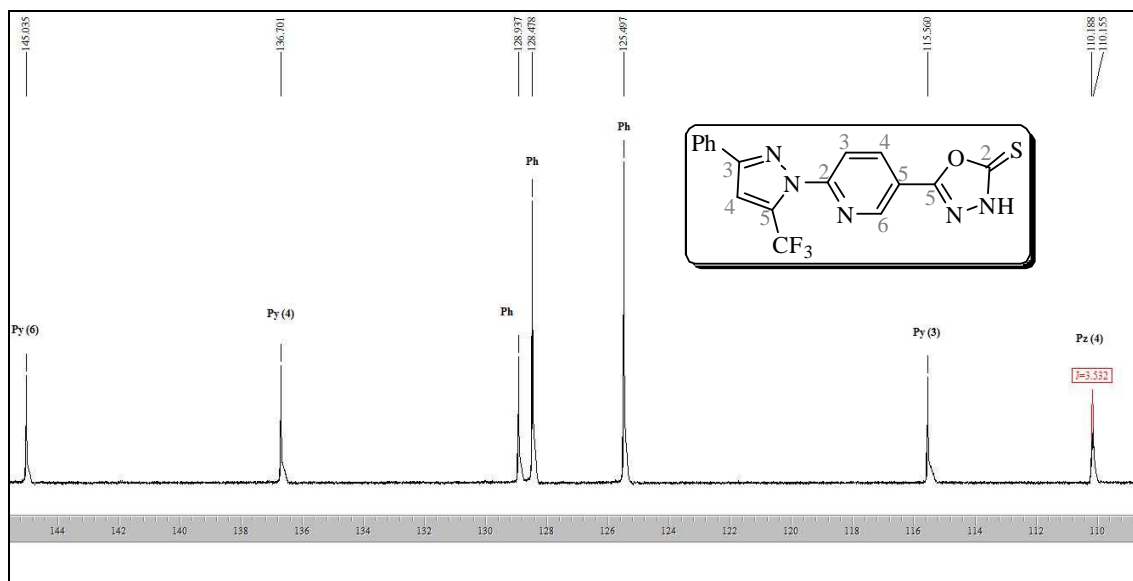


Figura 41. Espectro de RMN DEPT 135 a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**) em DMSO-*d*₆.

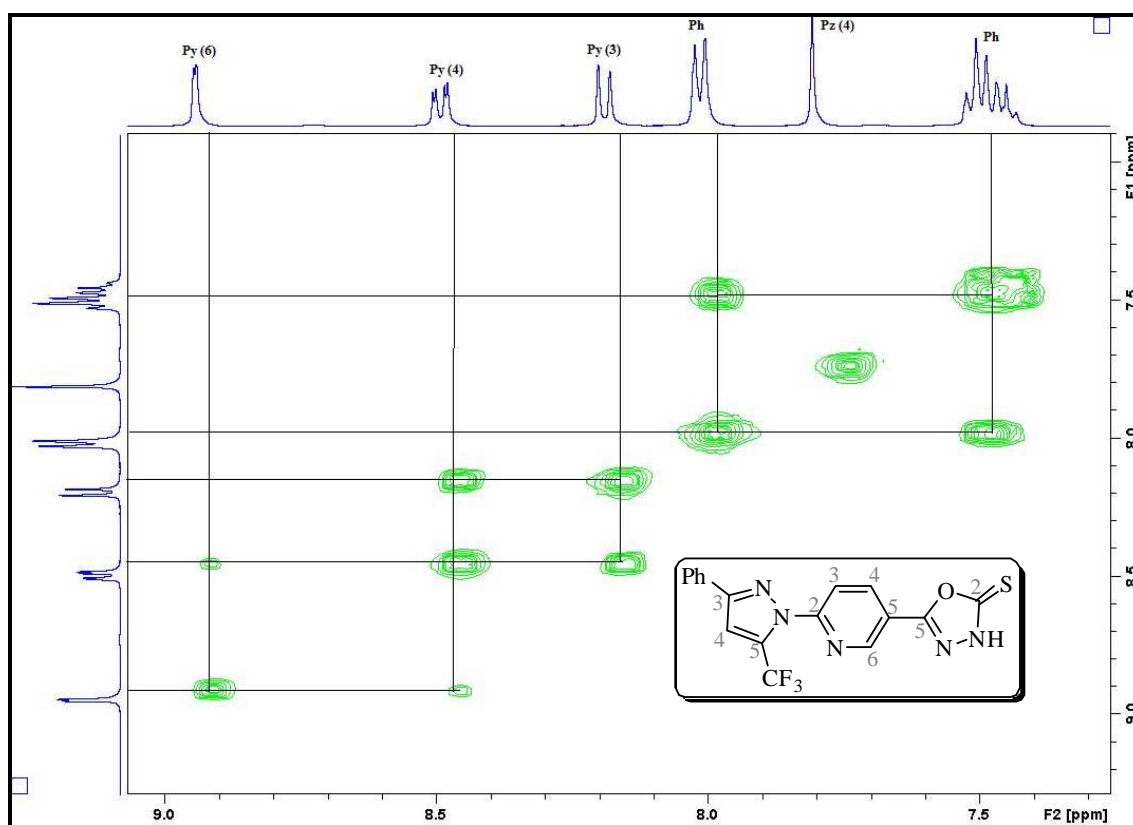


Figura 42. Expansão do espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**).

A atribuição dos deslocamentos químicos para o composto **15b** foi realizada também com auxílio de RMN 2D HSQC (Figura 43), em que se observou o acoplamento entre carbonos e hidrogênios que participam da mesma ligação química, favorecendo, desta forma, a identificação do carbono e hidrogênio que fazem parte da ligação.

O espectro de 2D HSQC mostrou a correlação entre o carbono C-6(Py) 145,2 ppm e o hidrogênio H-6(Py) 8,95 ppm. O carbono C-4(Py) em 136,9 ppm acopla com o duplo duplete do hidrogênio H-4(Py) em 8,50 ppm. Também foi verificado o acoplamento dos carbonos da fenilas (128,7 e 125,7 ppm) com seus respectivos hidrogênios (8,02 e 7,49 ppm). Já o acoplamento do carbono C-3(Py) (115,8 ppm) com o duplete do hidrogênio H-3(Py) (8,19 ppm) e finalmente, o carbono vinílico do anel pirazol C-4(Pz) em 110,3 ppm acopla com o hidrogênio vinílico em 7,81 ppm. As correlações diretas carbono-hidrogênio para este composto e observada no espectro 2D HSQC estão descritas na tabela 20.

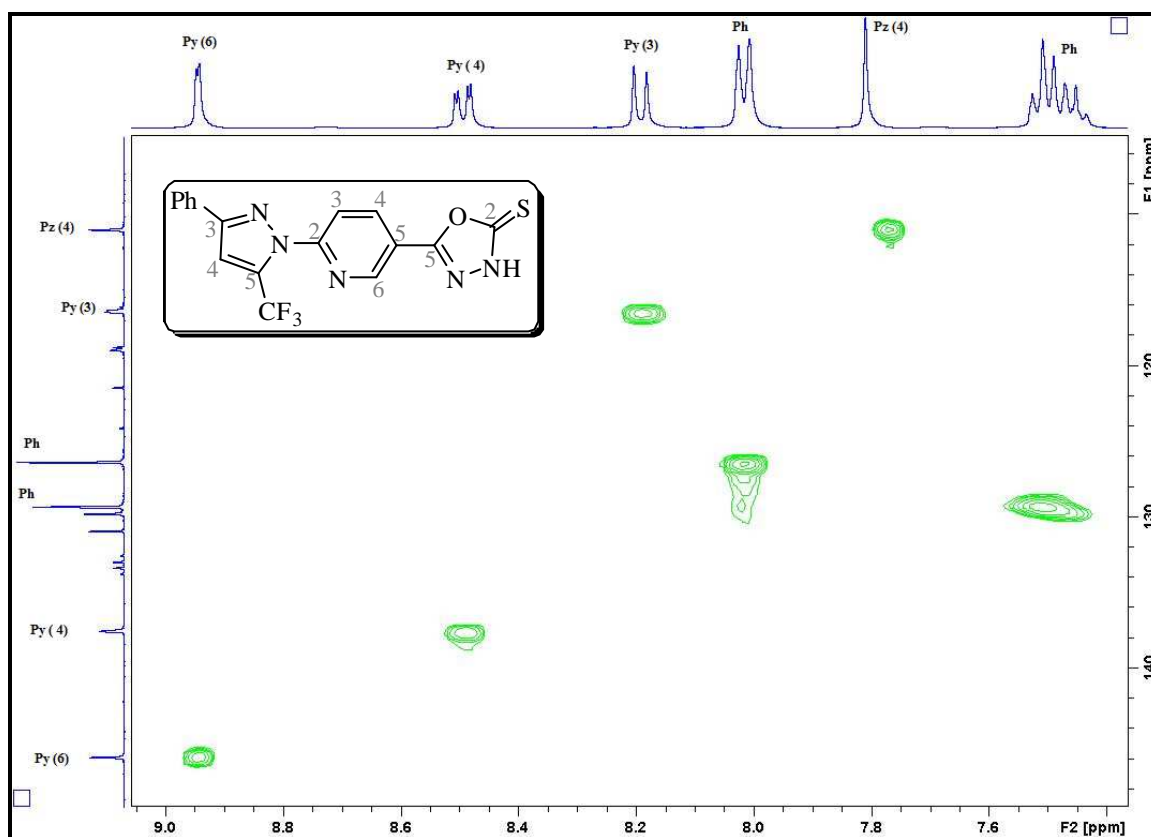
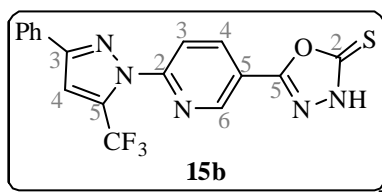


Figura 43. Expansão do espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**).

Tabela 20. Correlações $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ observadas no espectro 2D HSQC do composto **15b** ($\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$).



| $\delta \text{RMN}^a \text{ } ^{13}\text{C} \{ \text{H} \} \text{ (ppm)}$ | $\delta \text{RMN}^a \text{ } ^1\text{H} \text{ (ppm)}$ |
|---|---|
| 145,2 – C-6(Py) | 8,95 – H-6(Py) |
| 136,9 – C-4 (Py) | 8,50 – H-4(Py) |
| 115, 8 – C-3(Py) | 8,19 – H-3(Py) |
| 110,3 – C-4(Pz) | 7,81 – H-4(Pz) |

[a] Espectros em $\text{DMSO-}d_6$ como solvente e TMS como referência interna.

3.10.6 Cálculos teóricos dos compostos 15

Depois de promover a síntese dos compostos inéditos **15** e de realizar sua identificação estrutural através de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H , ^{13}C), como que tais técnicas não permitiam determinar a configuração espacial e como os compostos **15** não apresentaram deslocamento químico no espectro de RMN ^1H , sinal na região de NH ou de SH desta maneira podendo evidenciar ressonância entre os isômeros, um estudo por cálculos teóricos denominados DFT (*Density Functional Theory*) foi necessário.

Todos os cálculos teóricos foram realizados usando o pacote de programas Gaussian 09.⁹⁰ Ângulos diedros N-N-C-C e O-C-C-C dos compostos **15** foram mudados de 0° a 360° em intervalos de 10° , otimizando a geometria no HF/6-31G. A geometria dos conformeros mais estáveis foi totalmente reotimizada sem restrição ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ. Todas as geometrias foram verificadas como mínimas no potencial de energia através do cálculo das matrizes Hessian pelo cálculo das frequências harmônicas.⁹⁰ A Tabela 21 mostra a energia relativa para a mais estável das formas isoméricas dos compostos **15**, dentre os quais o isômero **Ia-b** que apresenta NH em sua estrutura é em torno de 10 kcal/mol mais estável que o isômero **IIa-b** (Figura 44 e 45).

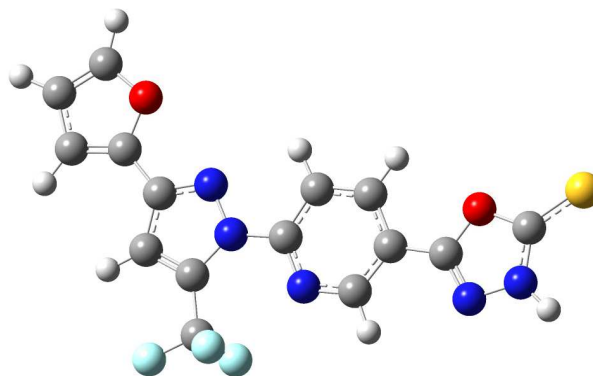


Figura 45. Geometria **Ib** do composto **15c** visualizada no programa GaussView 5.0.8

3.10.7 Espectroscopia na região do infravermelho (IV) do composto **15b**

Espectros de infravermelho (IV), isoladamente, não se constituem em ferramenta analítica conclusiva na identificação estrutural de compostos orgânicos, mas inegavelmente podem possibilitar inferências sobre estiramentos ou deformações de ligações químicas, que podem concorrer como evidências sobre a estrutura que planejamos preparar. Então, realizou-se a caracterização dos compostos **15** também por espectroscopia de infravermelho.

Segundo a literatura de Góes e col.,⁹¹ uma vez que há o aparecimento de banda na região $1028 - 1082 \text{ cm}^{-1}$ sugere-se a forma de tiona predominante do tautomerismo e presença de banda de S-H (v, f-m, $2600 - 2550$)⁹² sugere a forma tiol sendo a mais predominante.

Koparir e col.⁹³ relatam que os espectros de IV destes compostos (tiol-tiona) apresentaram bandas moderadamente fortes em torno $3100 - 3360 \text{ cm}^{-1}$, $1600 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ e $1250 - 1270 \text{ cm}^{-1}$, típico de grupos NH, C = N e C = S, respectivamente.

O espectro de absorção na região do IV do composto **15b** (Figura 46) foi feito na forma sólida em pastilhas de KBr. O resultado do espectro exibiu entre outras bandas de deformação, a banda de deformação axial 3199 cm^{-1} , evidenciando a presença da ligação química N-H, uma banda forte em $1074,8 \text{ cm}^{-1}$ indicando a presença da tiocarbonila (C=S) e ausência de banda na região de $2500 - 2600 \text{ cm}^{-1}$ da ligação S-H, vindo ao encontro o que os cálculos teóricos demonstraram sendo o isômero **I** mais estável que o isômero **II** (Figura 46). O importante é salientar que os espectros de infravermelho dos demais compostos da classe **15**, sintetizados neste trabalho,

apresentam espectros semelhantes ao exemplo comentado, diferindo apenas na frequência dos sinais devidos a características particulares de cada composto, tais como a natureza dos grupamentos e a presença de substituintes aromáticos (Anexo II).

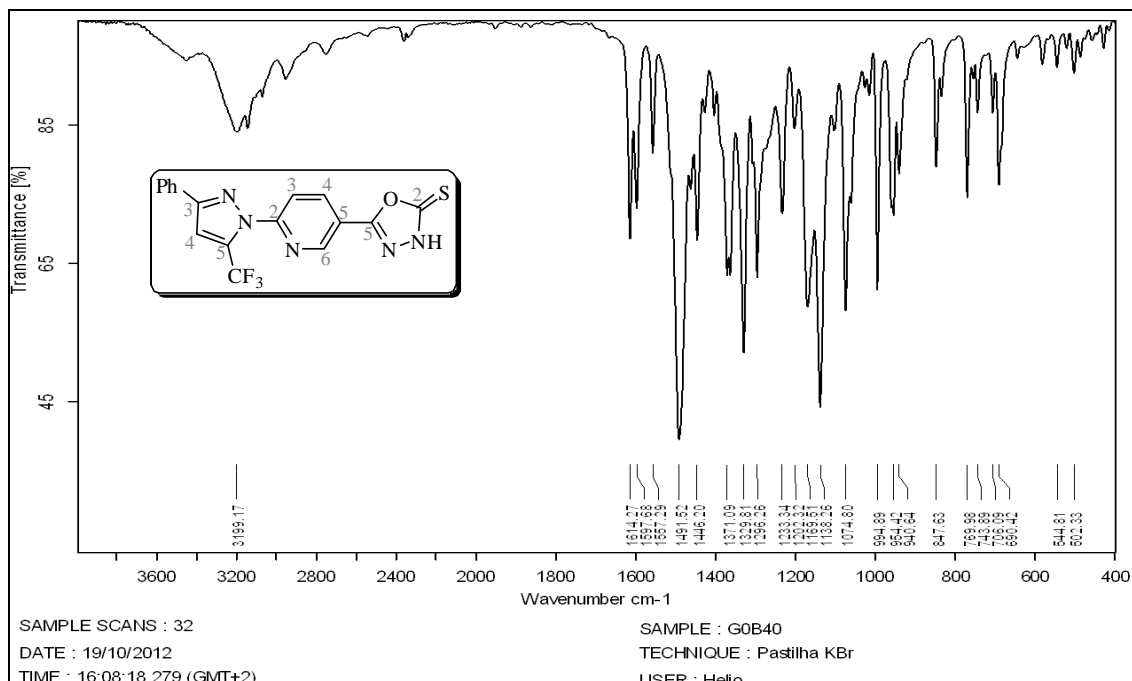


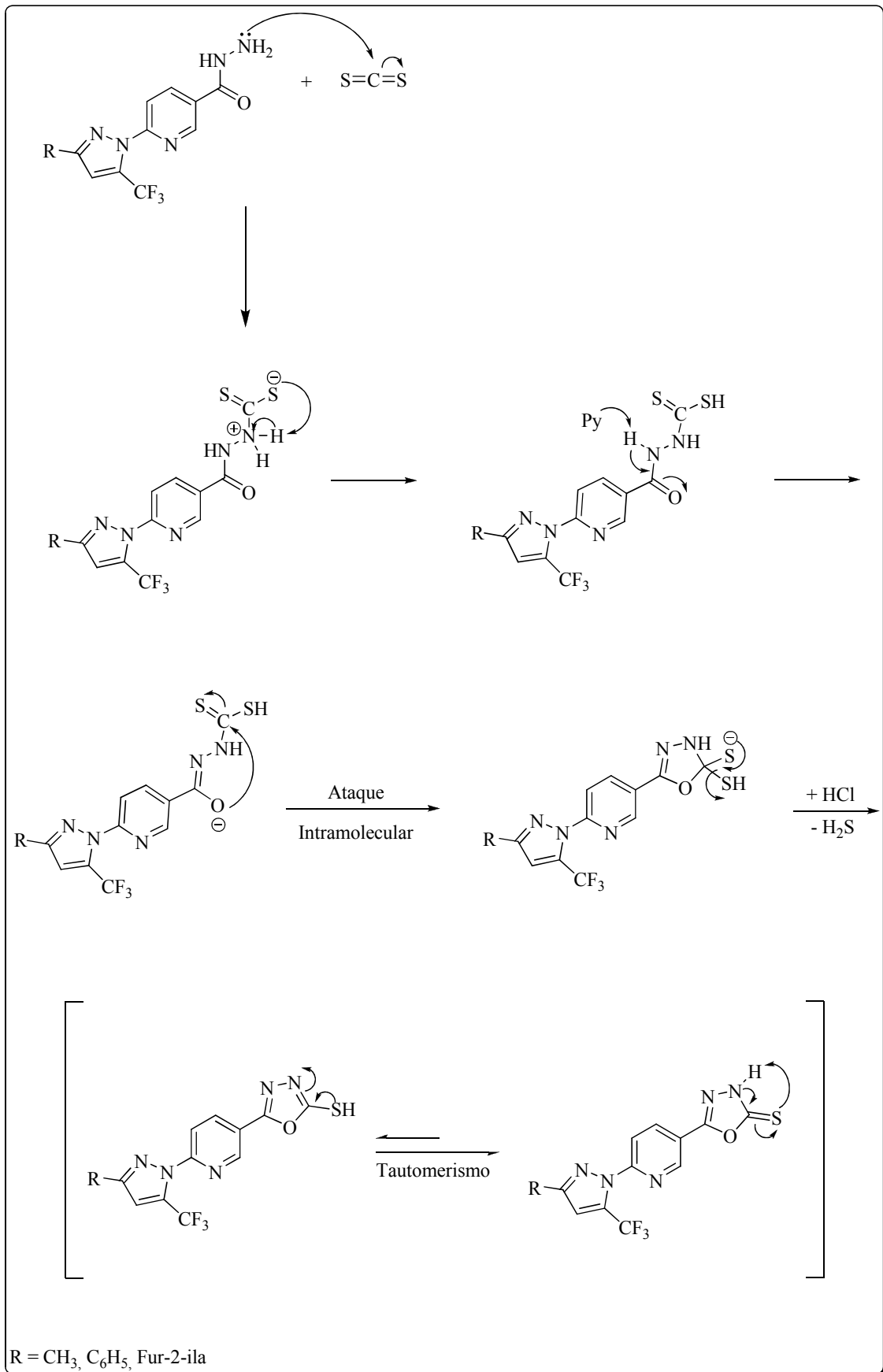
Figura 46. Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina **15b**.

3.10.2.5 Mecanismo proposto para obtenção dos compostos 15

A partir das condições anteriores, pode-se propor o mecanismo para a reação dos compostos **15a-c** (Esquema 60).

Primeiramente, há o ataque do nitrogênio da carboidrazida no carbono eletrofílico do dissulfeto; logo após há o prototropismo, convertendo o S^- em SH, sendo que S^- é bem instável; o terceiro passo, a piridina usada abstrai o H do NH deslocando a densidade eletrônica em direção ao O da carbonila; o quarto passo é a ciclização intramolecular com o ataque do O ao carbono da tiocarbolina, ataque esse favorável conforme a Regra de Baldwin (Ciclização 5-exo-trig); finalizando, a densidade eletrônica do S restaura a tiocarbonila e libera o SH, na forma de H_2S pois há a adição de HCl.

Esquema 60:



3.11 Síntese de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina (**16b**)

A partir da obtenção dos compostos **15** propôs-se a síntese de 1,2,4-triazol conforme métodos notados na literatura (Esquema 61).^{24,69,92}

Sendo assim, para 1 mmol (0,389 g) de **15b** (R = C₆H₅) utilizou-se excesso de hidrazina hidratada (1 mL) em um volume de 5 mL de etanol, pôs-se em refluxo e foi acompanhado por CCD por 6 horas, após o tempo reacional resfriou-se e os sólidos formados foram filtrados em funil de Büchner com uma solução em EtOH/H₂O (1:1) gelados a fim de carrear toda sobra de hidrazina que havia em excesso no meio reacional e foram secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅, apresentando-se estável ao ar e de coloração branca (ver parte experimental). A Tabela 22 mostra os dados de rendimento, ponto de fusão e HRMS do produto **16b**.

Esquema 61:

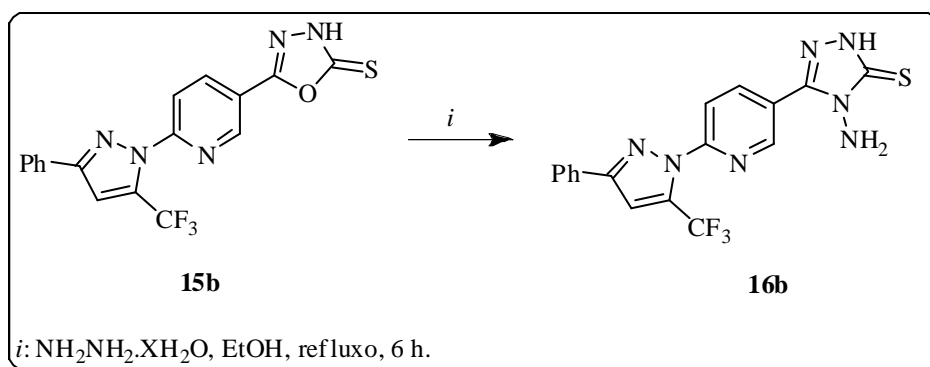
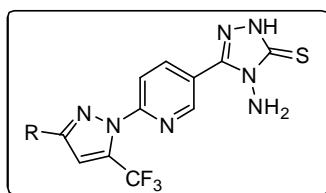


Tabela 22. Propriedades Físicas do Composto **16**.



| Nº | R | Rend. (%) | P.F.(°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | HRMS (ESI) Calc./Exp. |
|------------|-------------------------------|-----------|------------------------|---|-------------------------|
| 16b | C ₆ H ₅ | 69 | 248 – 250 ^a | C ₁₇ H ₁₂ F ₃ N ₇ S (403,38) | 404.0905 (M+H)/404.0897 |

[a] *escurece (cor caramelo) quando funde.*

3.11.1 Identificação Espectroscópica do Composto 16

A identificação do composto inédito **16b** ($R = C_6H_5$) foi realizada por RMN 1H , $^{13}C \{^1H\}$ e 2D HSQC, à temperatura de 25 – 40 °C com base nos dados da literatura.^{24,69,73,92a,98} Os dados de RMN foram registrados em DMSO- d_6 utilizando TMS como referência interna.

3.11.1.1 RMN 1H , $^{13}C \{^1H\}$

O espectro de RMN 1H do composto **16b** (Figura 47) apresentou um sinal da forma de simpleto alargado em 14,12 ppm de um hidrogênio de NH; em 9,18 ppm simpleto de um hidrogênio do anel piridina H-6(Py), outro em 8,66 ppm H-4(Py) na forma de duplete com constante de acoplamento $J = 8$ Hz em relação ao H-3(Py), mais um sinal como duplete em 8,19 ppm H-3(Py) com $J = 8$ Hz em relação ao H-4(Py). Os demais hidrogênios aromáticos exibiram sinais no espectro na região de 8,04 ppm na forma de duplete com $J = 7$ Hz equivalente a dois hidrogênios e em 7,54 – 7,46 ppm um múltiplo de três hidrogênios do anel da fenila. Ainda, mostrou sinal em 7,81 ppm na forma de simpleto do hidrogênio vinílico do anel do pirazol e por fim, em 5,86 ppm um simpleto indicativo a dois hidrogênios de NH_2 .

O espectro de RMN $^{13}C \{^1H\}$ do composto **16b** (Figura 48) mostrou no deslocamento de 168,1 ppm o carbono ligado ao enxofre (C=S) e apresentou no deslocamento químico de 147,4 ppm referente ao carbono C-5 ligado aos N (1,4) do anel triazol (C=N). Nos deslocamentos de 152,5; 147,5; 139,3; 122,2 e 116,3 ppm encontra-se os carbonos do anel da piridina C-2(Py), C-6(Py), C-4(Py); C-5(Py) e C-3(Py), respectivamente.

Ainda, foram atribuídos os deslocamentos químicos nas regiões de 131,2; 129,8; 129,4 e 126,4 ppm aos carbonos aromáticos do anel da fenila. Em 151,7 ppm o carbono C-3(Pz). Já em 133,1 ppm um quarteto do carbono C-5(Pz) com $^2J = 41$ Hz e em 120,2 ppm outro quarteto com constante $^1J = 268$ Hz referente ao carbono do CF_3 . Por fim, no deslocamento de 110,6 ppm um simpleto do carbono C-4(Pz).

Salienta-se que a presença dos sinais em 177,4 ppm e em 157,8 ppm, referentes ao C-2 e ao C-5, respectivamente do anel do oxadiazol do composto de partida **15b** não foram verificados neste espectro, e sim os sinais em 168,1 ppm e em 147,4 ppm, comprovando assim a formação do núcleo triazolínico.

Os espectros desse composto encontram-se também no Anexo I (RMN) desta tese.

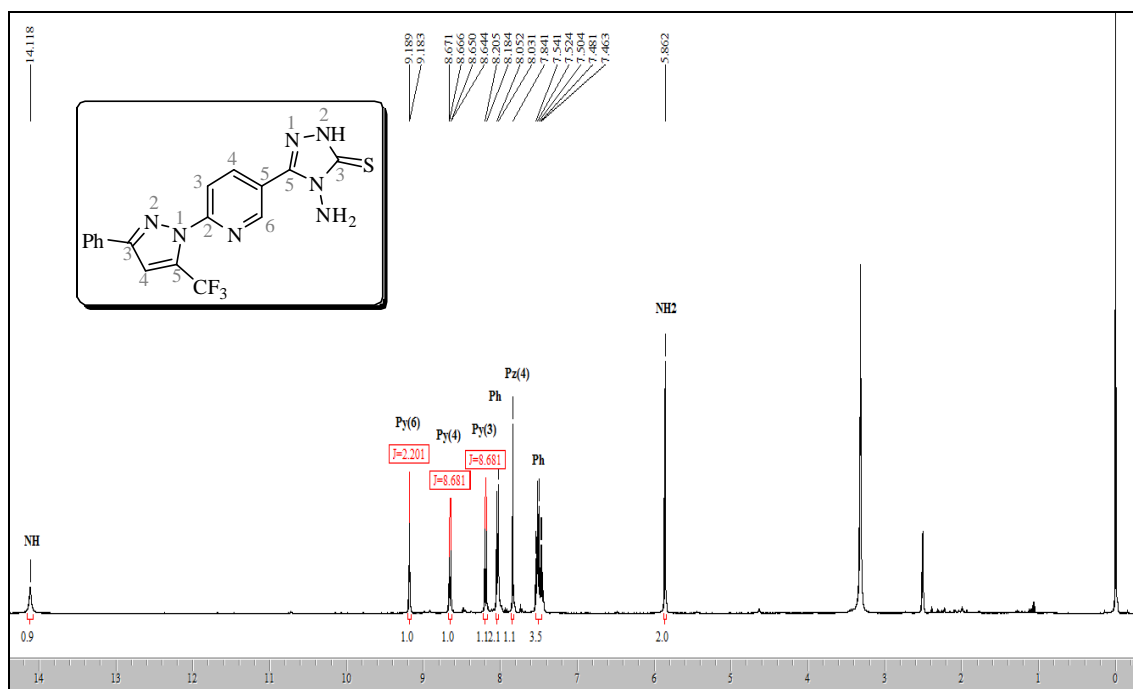


Figura 47. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina (**16b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

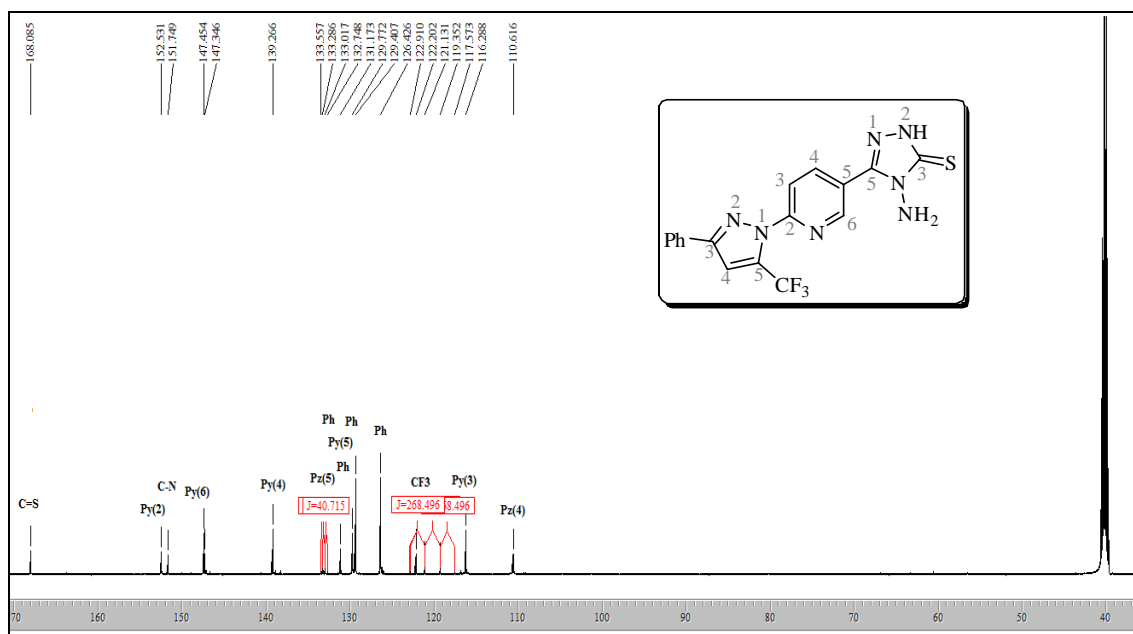


Figura 48. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina (**16b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

3.11.2 Cálculos teóricos do composto 16

Após promover a síntese de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina **16b** foi realizado um estudo por cálculos teóricos denominado DFT (*Density Functional Theory*)⁹⁰ com objetivo de avaliar qual a estrutura mais estável. Para tal as geometrias das possíveis estruturas foram sistematicamente determinadas a partir da rotação dos ângulos diedros no nível de teoria HF/3-21g. As estruturas mais estáveis foram totalmente otimizadas no nível de teoria B3LYP/cc-pVTZ (Figura 49). Cálculos de frequência foram realizados para comprovar que as estruturas se encontram em mínimos de energia potencial dentre as quais, o isômero **I** é em torno de 8 kcal/mol mais estável que o isômero **II** (Tabela 23)(Figura 50).

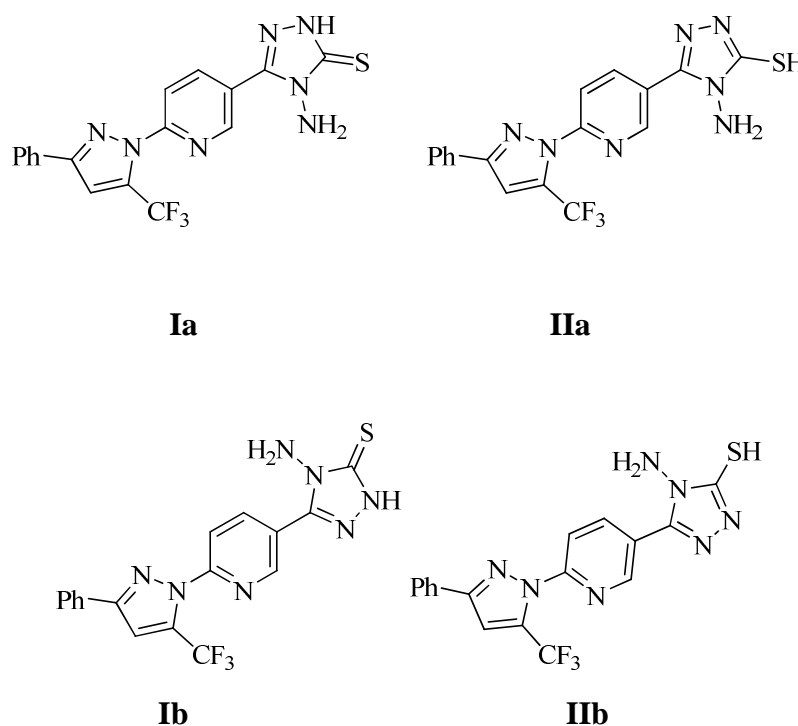
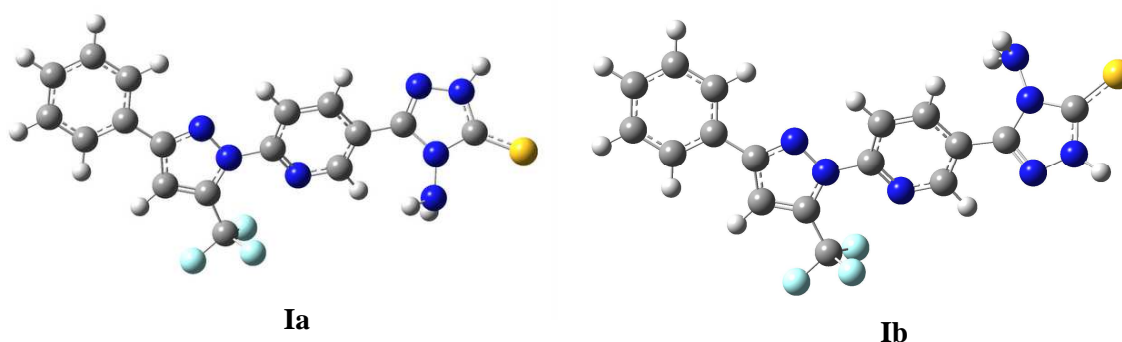


Figura 49. Estruturas do composto **16b**

Tabela 23. Energias de isômeros do composto **16b** ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ

$$\Delta E = (E_{\text{estrutura}} - E_{\text{confôrmero Ia}}) \times 627,5095.$$

| Estrutura | E (a.u.) | ΔE (kcal.mol ⁻¹) |
|------------|----------------|--------------------------------------|
| Ia | -1736,47070773 | 0,00 |
| Ib | -1736,46981445 | 0,56 |
| IIa | -1736,45769649 | 8,17 |
| IIb | -1736,45652741 | 8,89 |

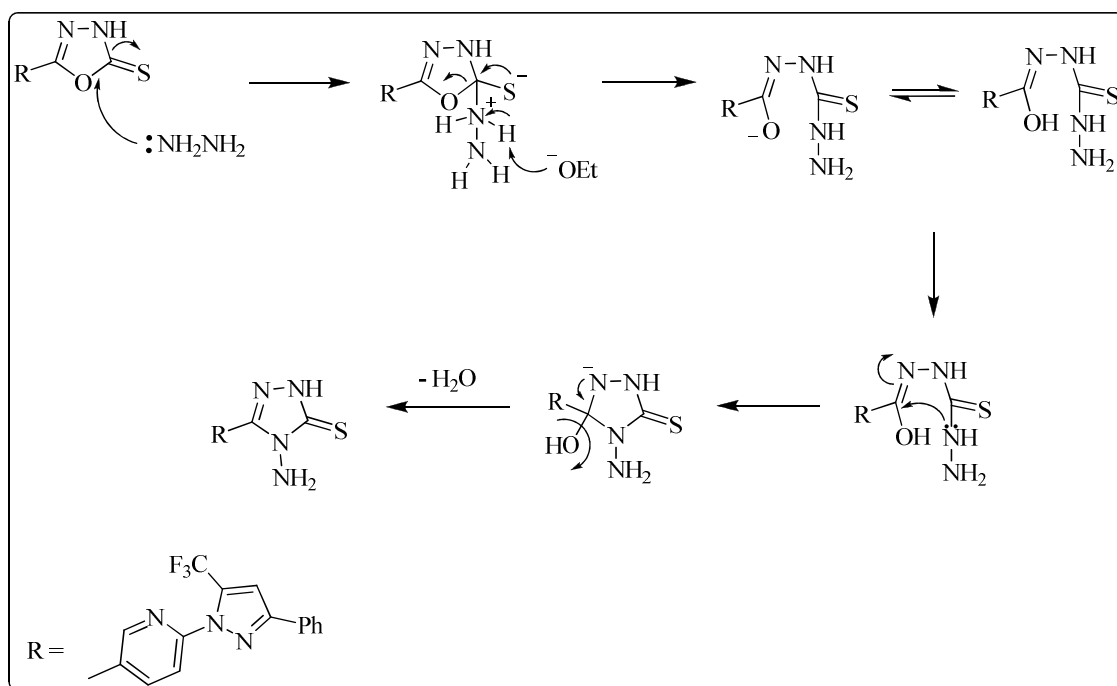
**Figura 50.** Geometrias dos tautômeros **I** do composto **16b** visualizada no programa

GaussView 5.0.8

3.11.3 Mecanismo proposto para obtenção do composto **16**

A partir das condições anteriores, pode-se propor o mecanismo para a reação do composto **16b** (Esquema 62). Primeiramente, há o ataque do nitrogênio da hidrazina no carbono ligado ao enxofre deslocando a densidade eletrônica em direção ao átomo de enxofre; logo após, a carga eletrônica contida no enxofre restaura a tiocarbonila ocorrendo à abertura do anel; a seguir, sucede o prototropismo, e posteriormente, o par de elétrons do NH ataca o carbono do enol acontecendo assim uma deslocalização de cargas; Por fim, há eliminação de água formando o novo anel 1,2,4-triazolínico.

Esquema 62:



3.12 Síntese de 6-(2-Tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina (17)

Na tentativa de realizar reações quimiosseletivas no reagente hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) e também promover a redução de passos reacionais para obtenção dos compostos **15** foi realizada reação com CS₂ em meio básico como o método descrito anteriormente. Porém, com base nos dados de RMN ¹H e ¹³C obteve-se exclusivamente o poli-heterociclo inédito 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina (**17**) (Esquema 63) com 84% de rendimento, mostrando que não houve a diferenciação entre hidrazina e hidrazida, permitindo assim, ciclização nos dois centros nucleofílicos. Semelhante comportamento ocorreu, em 2012, quando Bonacorso e col.^{50b-c} reagiram a hidrazida 6-hidrazinonicotínica **1** com ortoacetato de trietila por 16 horas obtendo uma dupla ciclocondensação do tipo [4 + 1], o composto 3-metil-6-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-[1,2,4]-triazolo[4,3-*a*]piridina foi isolado com 82% de rendimento e sem também a diferenciação almejada. O composto **17** foi isolado do meio reacional (ver parte experimental) através de uma filtração, sob a forma de sólido. A Tabela 24 mostra o dado de rendimento, de ponto de fusão e de massa do composto **17**.

Esquema 63:

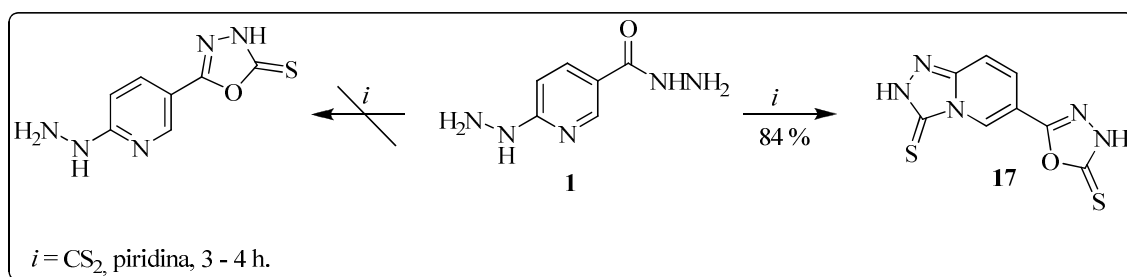
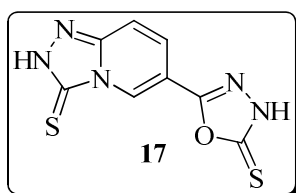


Tabela 24. Propriedade Física do Composto 17



| Comp. | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | HRMS (ESI) Calc./Exp. |
|-------|-----------|-----------|--|------------------------|
| 17 | 84 | 285 – 287 | C ₈ H ₅ N ₅ OS ₂ (250,99) | 252,0014(M+H)/252,0014 |

3.12.1 Identificação Espectroscópica de 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina (17)

A identificação do composto **17** foi realizada por RMN ¹H e ¹³C {¹H} e com base na literatura.^{50b-c} Os espectros de RMN foram registrados em DMSO-*d*₆, utilizando TMS como referência interna.

3.12.1.1 RMN ¹H e ¹³C {¹H}

O espectro de RMN ¹H do composto **17** (Figura 51) apresentou um simpleto em 8,58 ppm referente ao hidrogênio H-7(Py) do anel piridínico. Em 7,77 ppm observa-se um dubleto referente ao hidrogênio H-5(Py) com $J = 9$ Hz em relação ao H-4(Py) e em 7,72 ppm outro dubleto referente ao hidrogênio H-4(Py) com $J = 9$ Hz em relação ao H-5(Py). Em 14,86 ppm observou simpleto alargado de um hidrogênio referente a NH.

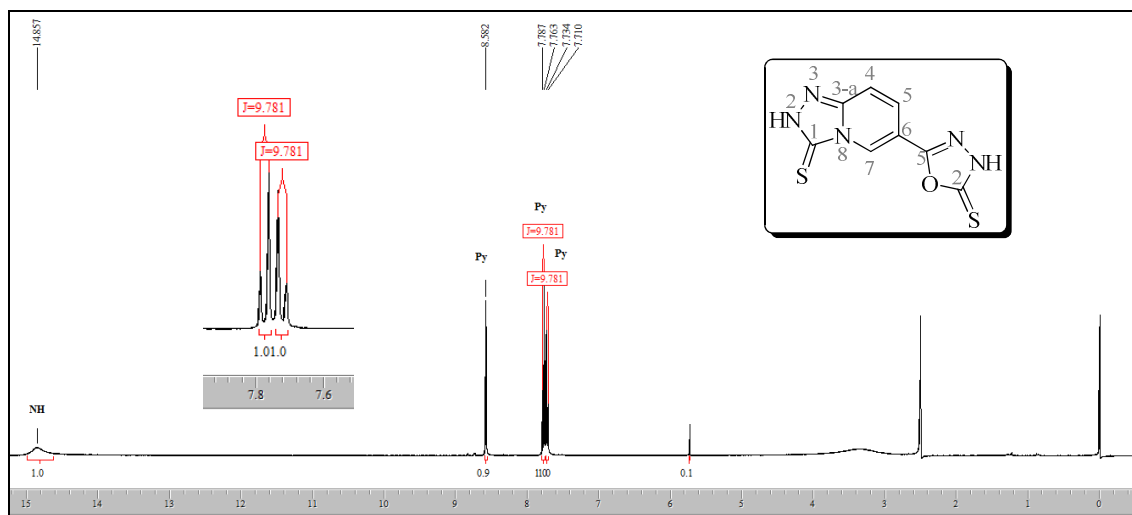


Figura 51. Espectro de RMN ^1H a 200,13 MHz de 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina (**17**) em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C { ^1H } do composto **17** (Figura 52) apresentou um sinal em 177,3 e em 157,5 ppm referente aos carbonos C-2 e C-5 do oxadiazol.

Em 160,5 o carbono ligado ao enxofre do anel triazolínico. Já em 145,4 ppm observa-se o carbono C-3a(Py) e os demais em 126,5, 124,4, 117,1 e 110,5 ppm estão respectivamente os carbonos C-7(Py), C-5(Py), C-6(Py) e C-4(Py) do anel piridínico.

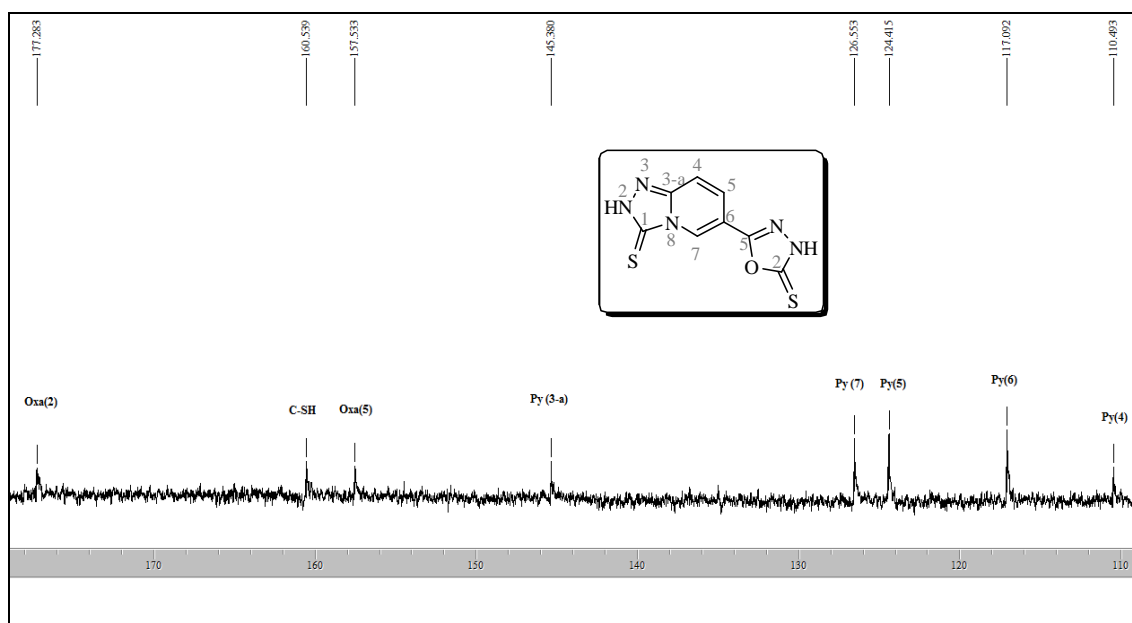


Figura 52. Espectro de RMN ^{13}C { ^1H } a 100,61 MHz de 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina **17** em $\text{DMSO-}d_6$.

3. 12.2 Cálculos teóricos do composto 17

Posteriormente a síntese de 6-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]piridina (**17**), foi realizado um estudo por cálculos teóricos denominado DFT (*Density Functional Theory*), igualmente realizado para moléculas anteriores (**14** – **16**), este estudo teve o objetivo de estimar a estrutura tautomérica mais estável (HN-C=S/N=C-SH).

Para tal as geometrias das aceitáveis estruturas com seus confôrmeros foram sistematicamente determinadas a partir da rotação dos ângulos diedros no nível de teoria HF/3-21g. As estruturas mais estáveis foram otimizadas no nível de teoria B3LYP/cc-pVTZ (Figura 53). Cálculos de frequência foram realizados para comprovar que as estruturas se encontravam em mínimos de energia potencial dentre as quais, o isômero **IIIb** é o mais estável (Tabela 25) (Figura 54).

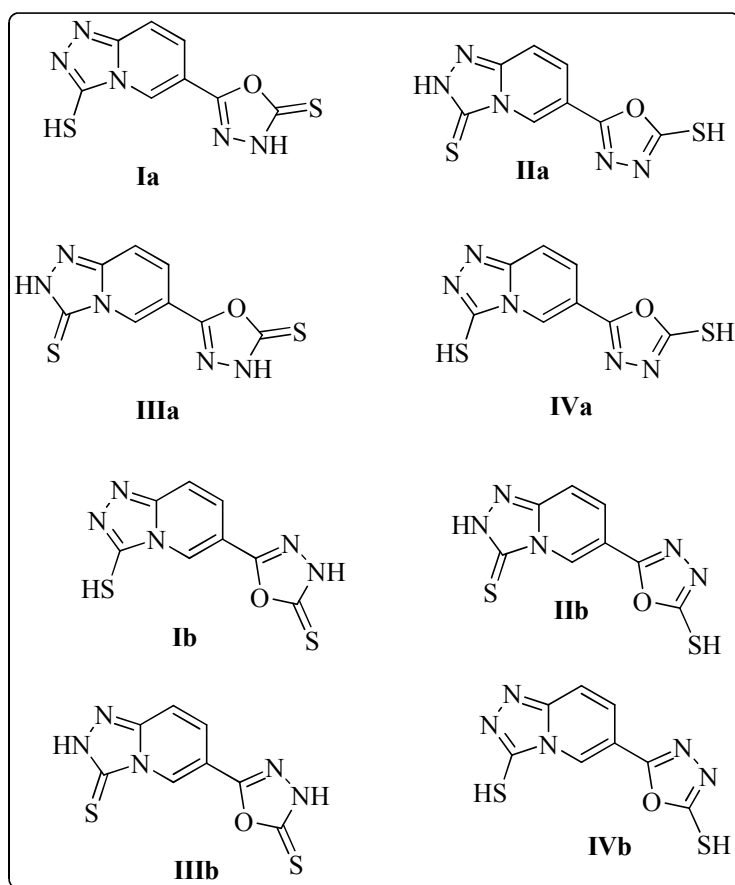


Figura 53. Estruturas do composto **17**

Tabela 25. Energias de isômeros do composto **17** ao nível teórico B3LYP/cc-pVDZ

$$\Delta E = (E_{\text{estrutura}} - E_{\text{IIIb}}) \times 627,5095.$$

| Estruturas | E (a.u.) | ΔE (kcal.mol ⁻¹) |
|-------------|----------------|--------------------------------------|
| Ia | -1453,46326727 | 14,55 |
| IIa | -1453,46690085 | 12,27 |
| IIIa | -1453,48490233 | 0,98 |
| IVa | -1453,44827721 | 23,96 |
| Ib | -1453,46512921 | 13,38 |
| IIb | -1453,47000939 | 10,32 |
| IIIb | -1453,48645719 | 0,00 |
| IVb | -1453,44724873 | 24,60 |

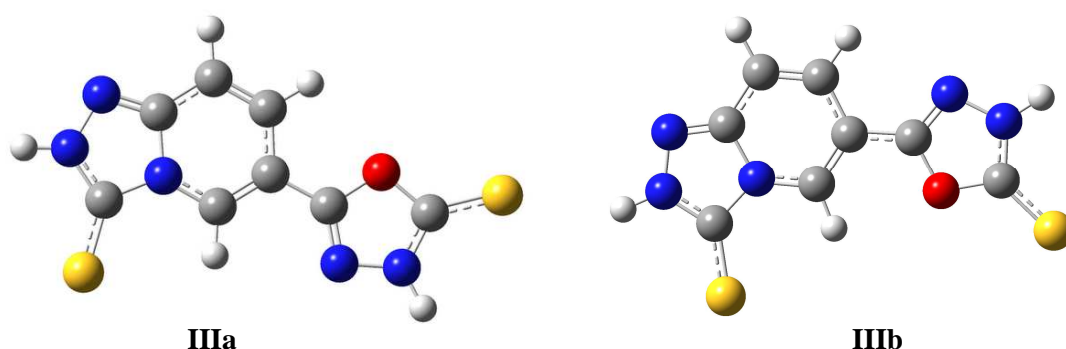


Figura 54. Geometrias dos tautômeros **III** do composto **17** visualizada no programa GaussView 5.0.8

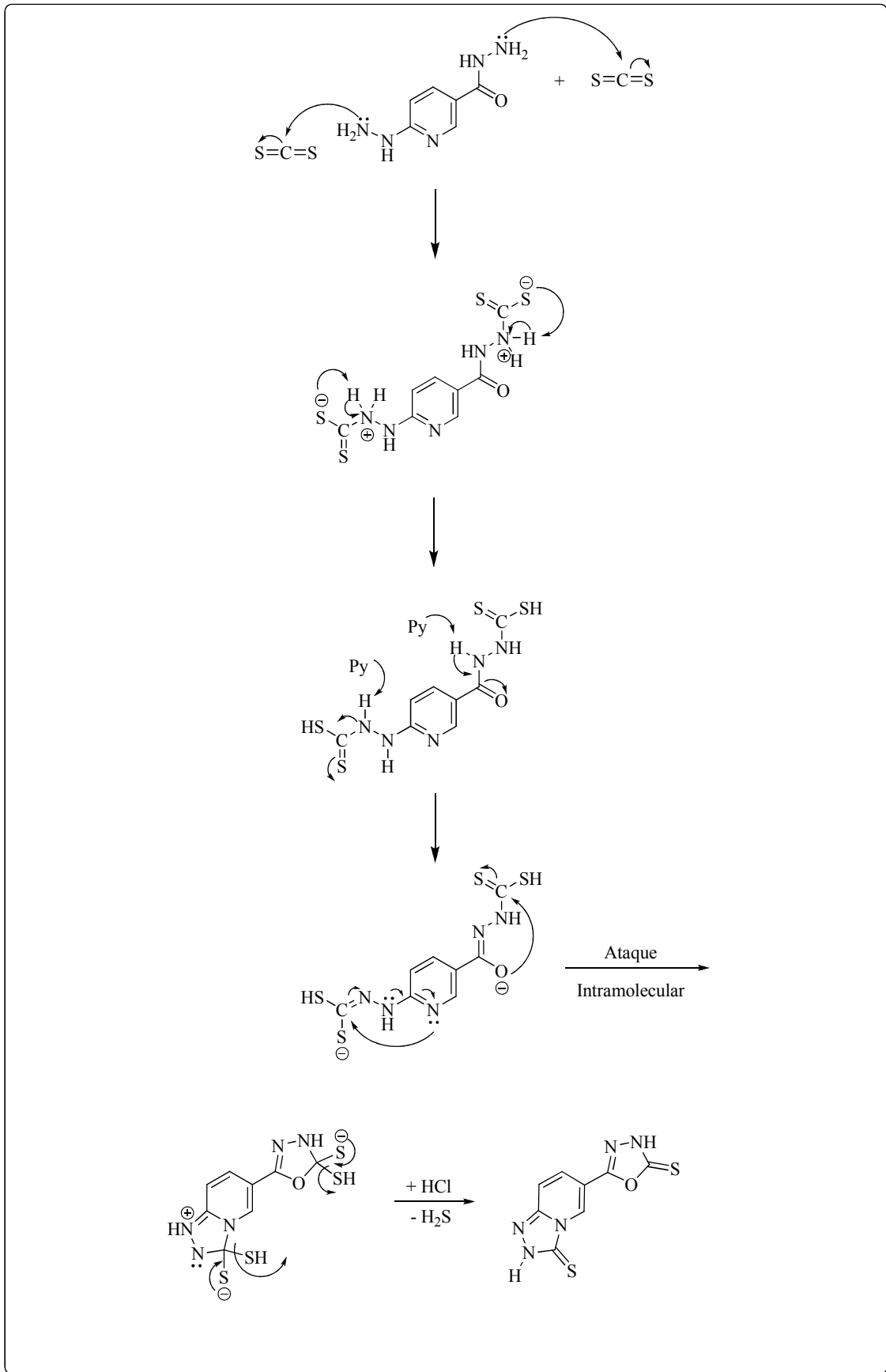
3.12.3 Mecanismo proposto para a obtenção de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-tiona-5-il)-1(2*H*)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-*a*]piridina (**17**)

Considerando que a hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) possui dois centros nucleofílicos diferenciados devido aos *N*-substituídos, os quais mostram alta reatividade em presença de carbonos eletrofílicos. Esta reatividade diferenciada das hidrazinas e hidrazidas são explicadas através do efeito α o qual, ocorre quando o centro nucleofílico (nitrogênio) possui um átomo adjacente (outro nitrogênio) com par de elétrons não ligantes que ao entrosarem com o sítio nucleofílico levam a um acréscimo considerável de nucleofilicidade do centro nucleofílico.^{50b} Sendo assim, o primeiro passo é o ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono eletrofílico do dissulfeto de carbono. A seguir como nos compostos **15** há o prototropismo (S – SH), então a base abstrai o H do NH

deslocando a densidade eletrônica ocorrendo reações de transferências de elétrons, com posterior ataque do oxigênio/nitrogênio com par de elétrons livres ao carbono ligado ao átomo de enxofre, formando um anel de cinco membros. Para concluir, a densidade eletrônica do S restaura a tiocarbonila, ocorrendo a aromatização dos anéis e libera o SH, na forma de H₂S pois há a adição de ácido no meio reacional.

A partir das considerações anteriores e do produto isolado, pode-se propor o mecanismo para a obtenção do composto **17**, através de uma dupla ciclocondensação (Esquema 64).

Esquema 64:



3.13 Síntese de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinamidas (**18**)

O anel pirrólico é uma classe heterocíclica de importante interesse no ramo farmacêutico, sendo que alguns antibióticos possuem esse anel (*Vide* Introdução e Objetivos, página 9). Assim, conhecendo-se essa importância e tendo em mãos a versatilidade sintética da hidrazida 6-hidrazinonicotínica **1**, o terceiro objetivo desta tese é sintetizar novos compostos que possuam em sua estrutura heterociclos como: pirazol, piridina, pirrol.

Para a execução deste objetivo, utilizou-se a metodologia desenvolvida por Joshi e col.^{92a} (Esquema 65). A uma suspensão do composto **7b** (R = C₆H₅) (1 equiv.) em álcool etílico foram adicionados o reagente hexano-2,5-diona (2 equiv.) e o ácido acético glacial, esta foi refluxada em agitação magnética por 4 horas acompanhada por CCD. Observou-se durante o tempo reacional a solubilização dos reagentes a 70 °C e seu escurecimento após 3 horas. Depois de completadas às 4 horas, a mistura foi concentrada com auxílio de rotaevaporador reduzindo seu volume pela metade, e os sólidos formados durante o resfriamento foram filtrados em funil de Büchner com etanol gelado, recristalizou-se com éter diisopropílico/éter etílico (1:1), os sólidos foram secos em pressão reduzida com P₂O₅, obtendo estes estáveis ao ar, de coloração marrom. O composto **18b** (R = C₆H₅) obteve 84% de rendimento.

Os compostos inéditos **18a-c** foram isolados do meio reacional (ver parte experimental) através de uma filtração e após recristalização em éter diisopropílico/éter etílico, sob a forma de sólidos, com alto teor de pureza. A pureza dos compostos foi comprovada por Análise Elementar (CHN). A Tabela 26 mostra os dados de rendimentos, de pontos de fusão e das análises elementar dos compostos **18a-c**.

Esquema 65:

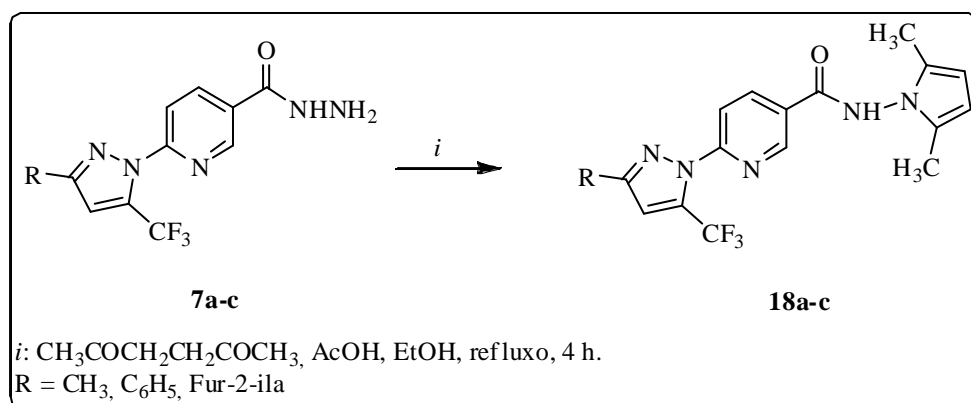
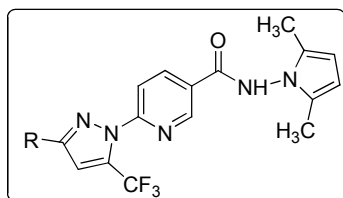


Tabela 26. Propriedades Físicas dos Compostos 18



| Nº | R | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar | | |
|------------|-------------------------------|--------------|--------------|--|-------------------|------|-------|
| | | | | | Calc./Exp. | C | H |
| 18a | CH ₃ | 67 | 138 – 140 | C ₁₇ H ₁₆ F ₃ N ₅ O (363,34) | 56,20 | 4,44 | 19,28 |
| | | | | | 56,55 | 4,30 | 18,50 |
| 18b | C ₆ H ₅ | 84 | 191 – 195 | C ₂₂ H ₁₈ F ₃ N ₅ O (425,41) | 62,11 | 4,26 | 16,46 |
| | | | | | 61,65 | 4,07 | 15,99 |
| 18c | Fur-2-ila | 50 | 172 – 174 | C ₂₀ H ₁₆ F ₃ N ₅ O ₂ (415,37) | 57,83 | 3,88 | 16,86 |
| | | | | | 57,65 | 3,74 | 16,27 |

3.13.1 Identificação espectroscópica por RMN do composto (18b)

A identificação dos compostos **18** foi realizada por RMN ¹H, ¹³C {¹H}. Os espectros foram registrados em DMSO-*d*₆, temperatura de 313 K, utilizando TMS como referência interna. A atribuição de sinais para os compostos foram baseados a partir da interpretação dos dados da literatura.^{92a}

3.13.1.1 RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$

O espectro de RMN ^1H do composto **18b** ($\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$) (Figura 55) mostrou: um simpleto em 11,53 ppm referente ao NH, um simpleto em 9,08 ppm do hidrogênio H-2(Py) do anel da piridina, um duplo duplete em 8,58 ppm do hidrogênio H-4(Py) com $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2(Py) e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5(Py), um sinal em forma de duplete em 8,22 ppm com constante de $J = 8$ Hz do hidrogênio H-5(Py). Os hidrogênios aromáticos do anel da fenila são exibidos como um sinal na forma de duplete em 8,05 ppm equivalente a dois hidrogênios e um múltiplo na região de 7,56 – 7,47 ppm equivalente a três hidrogênios do anel. Ainda, apresentou um simpleto em 7,87 ppm do hidrogênio vinílico do anel pirazólico, um simpleto em 5,73 ppm dos dois hidrogênios do anel pirrólico e por fim, em 2,08 ppm um sinal na forma de simpleto dos seis hidrogênios das metilas do pirrol.

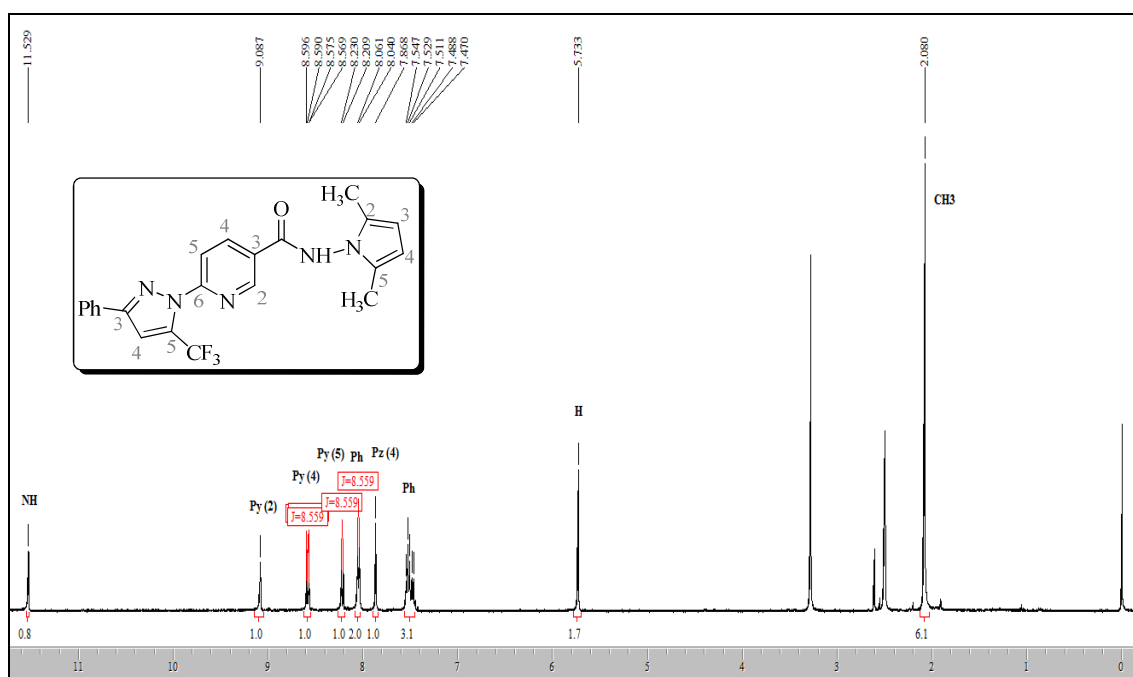


Figura 55. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18b**) registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, para o composto **18b** (Figura 56), apresentou sinal em 163,4 ppm referente ao C=O. Sinais na região de 152,5; 147,0; 139,1; 125,8; e 115,6 ppm, designam respectivamente os carbonos C-6(Py), C-2(Py), C-4(Py), C-3(Py) e C-5(Py) do anel da piridina. Em 152,0 ppm sinal do carbono do anel pirazol (C-3_{pz}) e

em 132,6 ppm um sinal na forma de quarteto em constante de acoplamento ${}^2J_{C-F} = 40$ Hz referente ao carbono C-5(Pz) do pirazol. Mostrou também sinais em 130,4; 129,3; 128,8 e 126,9 ppm referente aos carbonos do anel da fenila. Ainda, apresentou sinal em 119,6 ppm sendo um quarteto com ${}^1J_{C-F} = 268$ Hz equivalente ao carbono do CF_3 e em 110,4 ppm um duplete do carbono C-4(Pz) do anel pirazol com $J = 2$ Hz. Já em 103,2 ppm o sinal referente a dois carbonos do pirrol (2CH) e em 10,9 ppm o sinal dos dois carbonos das duas metilas do pirrol (2CH₃).

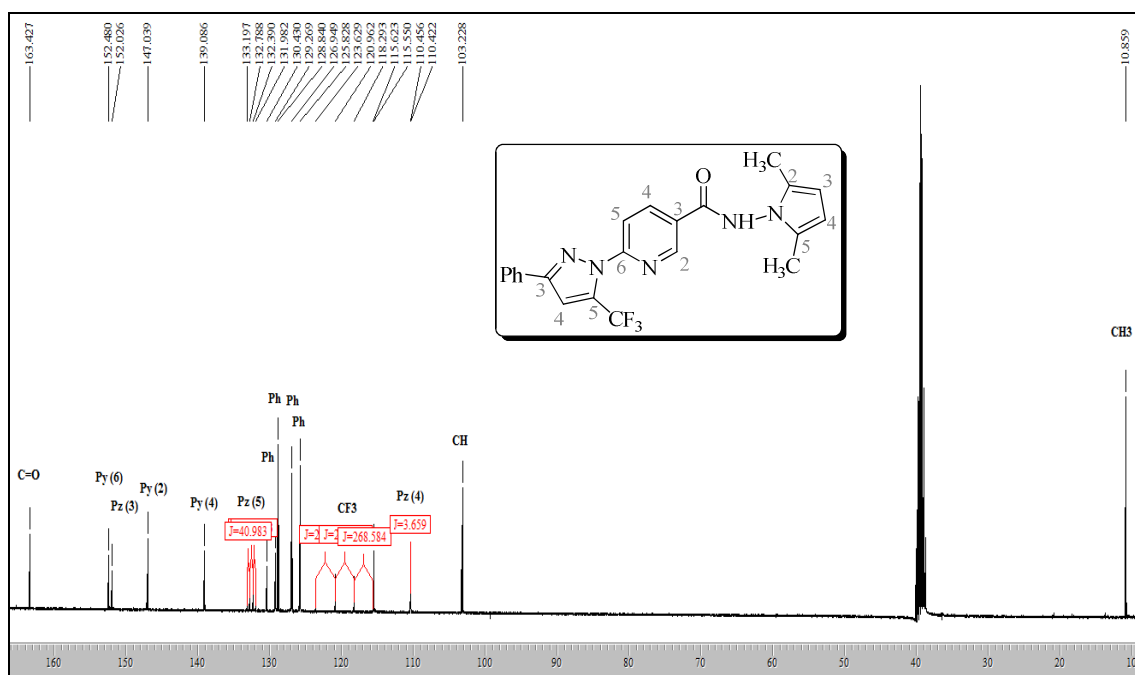
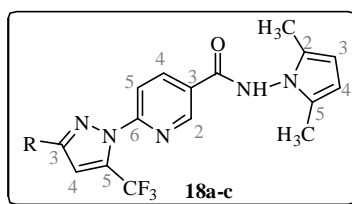


Figura 56. Espectro de RMN ${}^{13}C \{ {}^1H \}$ a 100,61 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18b**), registrado em DMSO-*d*₆.

Os dados de RMN ${}^{13}C \{ {}^1H \}$ dos compostos **18a-c**, estão descritos na Tabela 27. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ${}^{13}C \{ {}^1H \}$ dos compostos **18** são bastante semelhantes, consistindo em diferenças de deslocamento químico devido à influência da vizinhança (R) do carbono C-3 e C-4 do anel do pirazol. Os espectros desses compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese.

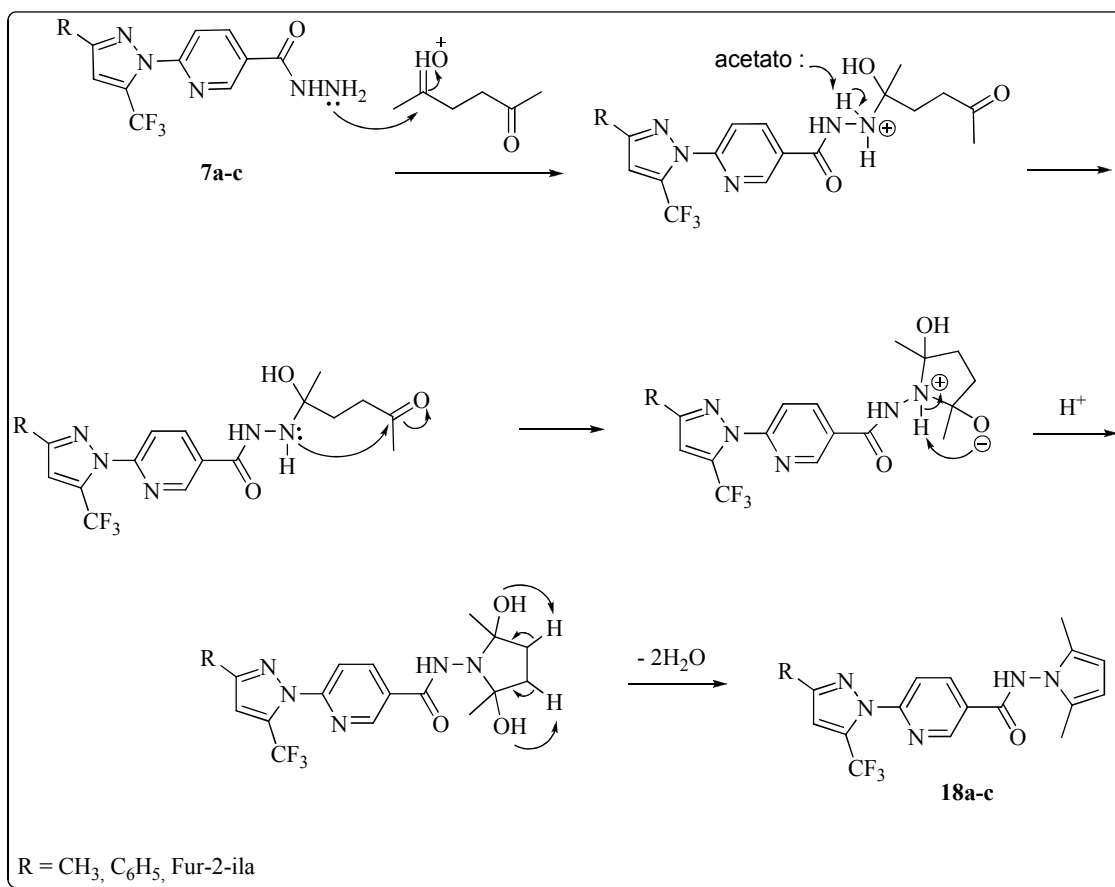
Tabela 27. Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **18**

| Comp. | R | δ (ppm) | | | | | | |
|------------|-------------------------------|----------------|-------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | C=O | C-6 _{py} | C-2/5 _{pl} | C-3/4 _{pl} | C-5 _{pz} | C-4 _{pz} | C-3 _{pz} |
| 18a | CH ₃ | 163,4 | 152,4 | 126,9 | 103,2 | 131,6 | 112,8 | 150,5 |
| 18b | C ₆ H ₅ | 163,4 | 152,5 | 126,9 | 103,2 | 132,6 | 110,4 | 152,0 |
| 18c | Fur-2-ila | 163,3 | 152,2 | 126,8 | 103,1 | 132,3 | 109,6 | 145,5 |

3.13.2 Mecanismo geral proposto para obtenção dos compostos **18**

Com base em Amarnath⁹⁵ e a partir dos compostos inéditos isolados, pode-se propor o mecanismo para a obtenção de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinamidas (**18**). O grupo carbonil protonado pelo ácido é atacado pelo nitrogênio da hidrazida formando uma hidrazida *N'*-substituída. Seguindo esse mecanismo, acontece o ataque do par eletrônico livre no nitrogênio à outra carbonila livre, formando assim o núcleo 2,5-diidróxipirrolodínico. Por eliminação sequencial de água fornece a aromatização do sistema, gerando um centro pirrólico 2,5-dissubstituído (Esquema 66).

Esquema 66:



3.14 Síntese de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-alquil(aril)metilideno nicotinoidrazida (19)

A partir da síntese dos diversos compostos poli-heterocíclicos e visando à viabilidade sintética de carboidrazidas **7** propôs-se novas reações de condensação. Optou-se por preparo de exemplos de moléculas com a classe das semicarbazonas, sendo as quais promissoras de outras reações de ciclização e também por apresentarem um amplo perfil farmacológico segundo a literatura.⁹⁶

Então, inicialmente, a uma solução do respectivo pirazolil-nicotinoidrazida **7b** (1 mmol) e etanol P.A. (5 mL) adicionou-se o 4-metóxi-benzaldeído (1 mmol). A mistura foi submetida à agitação magnética durante 7 horas, a temperatura de 60 °C conforme metodologia de Bonacorso e col.^{40,97} (Esquema 67). Após o tempo reacional, a mistura ficou em repouso por 24 horas, à temperatura ambiente. Observou-se a formação de um precipitado, o qual foi filtrado e lavado com etanol gelado sob vácuo.

O sólido **19ea** ($R^1 = H$; $R^2 = 4\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$) foi submetido à pressão reduzida em linha de vácuo, para eliminação de solvente residual, obtendo um sólido de coloração amarela com $\approx 80\%$ de rendimento.

Da mesma forma, outros compostos foram sintetizados com benzaldeído e também com acetofenona frente ao **7b** ($R = \text{C}_6\text{H}_5$). Para a síntese de 6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-(1-feniletilideno) nicotinoídrazida (**19bb**) houve a necessidade de adicionar gotas de ácido acético glacial na reação.

Os produtos inéditos foram isolados do meio reacional (ver parte experimental) através de uma filtração em EtOH, sob a forma de sólidos estáveis, com alto teor de pureza. A pureza foi comprovada por Análise Elementar (CHN). A Tabela 28 mostra os dados de rendimentos, pontos de fusão e a análise elementar destes compostos.

Esquema 67:

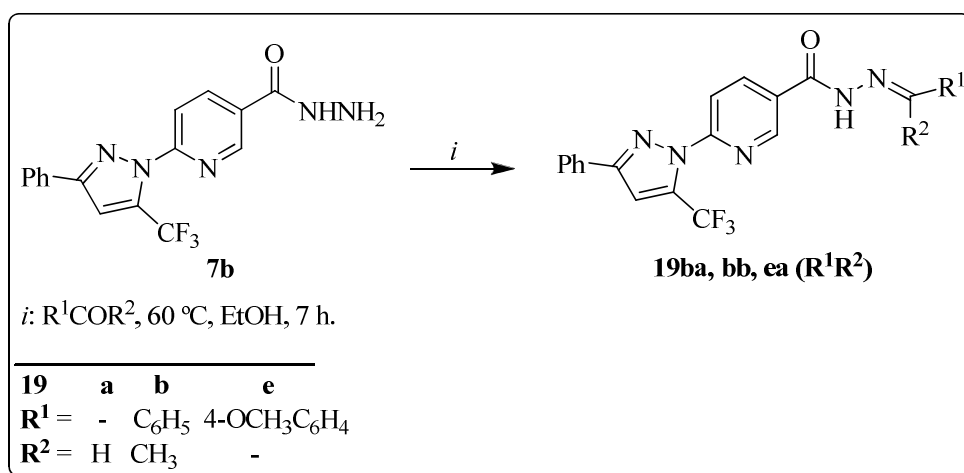


Tabela 28. Propriedades Físicas dos Compostos **19**

| Nº | R^1 | R^2 | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar Calc./Exp. | | |
|-------------|--------------------------------------|---------------|-----------|-----------|--|------------------------------|------|-------|
| | | | | | | C | H | N |
| 19ba | C_6H_5 | H | 79 | 217 – 219 | $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}$ | 63,45 | 3,70 | 15,89 |
| | | | | | (435,40) | 63,66 | 3,68 | 16,06 |
| 19bb | C_6H_5 | CH_3 | 77 | 207 – 209 | $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}$ | 64,14 | 4,04 | 15,58 |
| | | | | | (449,43) | 64,06 | 4,51 | 15,41 |
| 19ea | $4\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ | H | 92 | 220 – 222 | $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2$ | 61,93 | 3,90 | 15,05 |
| | | | | | (411,38) | 61,38 | 4,31 | 14,77 |

3.14.1 Identificação espectroscópica por RMN dos compostos (19)

A identificação dos compostos (19) foi realizada por RMN ^1H , ^{13}C . Os espectros foram registrados em DMSO- d_6 , temperatura de 25 °C, utilizando TMS como referência interna.

3.14.1.1 RMN ^1H

O espectro de RMN ^1H do composto **19ea** (Figura 57) mostrou: um simpleto em 11,96 ppm referente ao hidrogênio do NH, um simpleto em 9,05 ppm do hidrogênio H-2(Py), em 8,55 ppm um duplete com constante de acoplamento de $J = 8$ Hz do hidrogênio H-4(Py), em 8,43 ppm um simpleto referente a um hidrogênio, em 8,18 ppm um duplete com $J = 8$ Hz do hidrogênio da piridina H-5(Py). Ainda, exibiu sinal em 8,05 ppm na forma de duplete referente a dois hidrogênios do anel fenila com $J = 7$ Hz, em 7,72 e 7,04 ppm outros dois sinais como duplete cada um de dois hidrogênios aromáticos do anel fenila com constantes $J = 8$ Hz. Na região de 7,54 – 7,47 ppm mostrou um múltiplo referente a mais três hidrogênios aromáticos e em 7,84 ppm um simpleto do hidrogênio vinílico do anel pirazol (H-4_{pz}). Por fim, apresentou um sinal na forma de simpleto em 3,83 ppm de três hidrogênios da metóxila ligada ao anel fenila (-OCH₃).

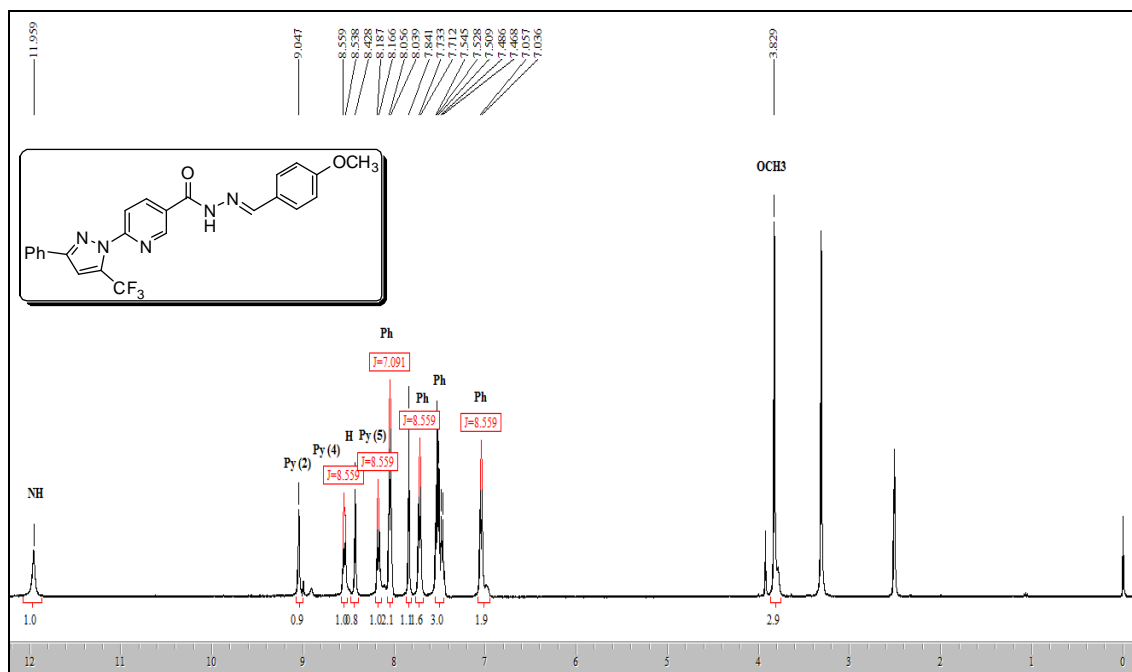


Figura 57. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-[(4-metóxi)benzilideno]nicotinoidrazida (**19ea**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

3.14.1.2 RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$

O espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, para o composto **19ea** (Figura 58), apresentou sinal em 164,3 ppm referente ao C=O. Sinais em 160,4; 152,0; 139,0; 130,1; 115,5 ppm, designam respectivamente os carbonos C-2(Py), C-6(Py), C-4(Py), C-3(Py) e C-5(Py) do anel da piridina. O carbono vinílico apresentou sinal em 148,5 ppm (C=N).

Em 147,1 ppm sinal do carbono do anel pirazol (C-3_{pz}) e em 132,3 ppm um sinal na forma de quarteto em constante de acoplamento $^2J = 40$ Hz referente ao carbono C-5(Pz) do pirazol. Mostrou também sinais em 160,9; 129,3; 128,8; 128,7; 128,6; 126,6; 125,8 e 114,3 ppm referentes aos carbonos dos anéis aromáticos. Ainda, apresentou sinal em 119,6 ppm sendo um quarteto com $^1J = 267$ Hz equivalente ao carbono do CF_3 e em 110,3 ppm do carbono C-4(Pz) do anel pirazólico. Já em 55,2 ppm o sinal referente a metóxila ligada na posição *para* do anel da fenila (OCH_3).

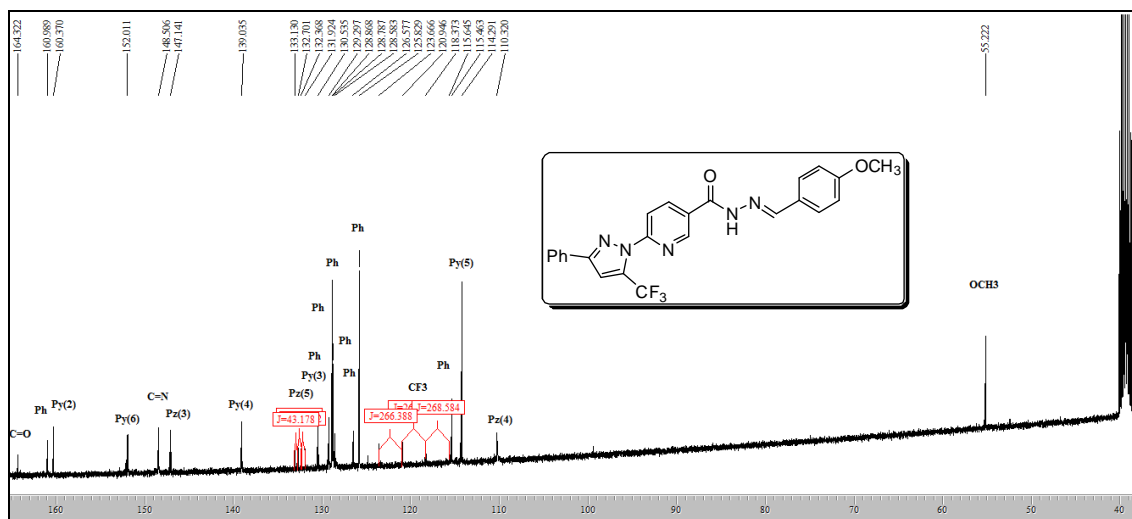


Figura 58. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-[(4-metóxi)benzilideno]nicotinoidrazida (**19ea**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

Os dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **19** estão descritos na Tabela 29. O espectro desses compostos encontram-se no Anexo I (RMN) desta tese.

Tabela 29. Dados de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos compostos **19**.

| Comp. | R^1 | R^2 | δ (ppm) | | | | | | |
|-------------|---------------------------------------|---------------|----------------|-------------------|-------------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | C=O | C-6 _{py} | C-5 _{py} | C=N | C-5 _{pz} | C-4 _{pz} | C-3 _{pz} |
| 19ba | C_6H_5 | H | 160,6 | 151,9 | 115,5 | 148,6 | 132,6 | 139,2 | 147,2 |
| 19bb | C_6H_5 | CH_3 | 164,3 | 152,0 | 115,5 | 148,8 | 132,8 | 139,5 | 147,7 |
| 19ea | 4- $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ | H | 164,3 | 150,0 | 115,5 | 148,5 | 132,3 | 139,0 | 147,1 |

3.15 Síntese do composto 20

Aos mesmos moldes da síntese dos compostos **19** propôs a síntese de (*E*)-*N'*-(3-nitrobenzilideno)-6-(*E*)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida **20** a partir de reação de condensação com aril aldeído, no caso ocorrendo duas adições simultâneas na porção hidrazina e na hidrazida.

A partir de hidrazida 6-hidrazidanicotínica **1** (0,167 g, 1 mmol) com 3-nitrobenzaldeído (2 mmol), em relação molar de 1:2 e etanol absoluto (10 mL), a temperatura de 60 °C sob agitação, por 7 horas. O produto **20** precipitou durante o período reacional. Logo após foi filtrado em funil de Büchner, lavado com etanol P.A. gelado e seco sob vácuo

em dessecador contendo P_2O_5 . O composto foi isolado na forma de sólido estáveis ao ar, na coloração amarela com 90% de rendimento (Esquema 68). A pureza do composto foi comprovada por Análise Elementar (CHN). A Tabela 30 mostra os dados de rendimento, pontos de fusão e a análise elementar do composto **20**.

Esquema 68:

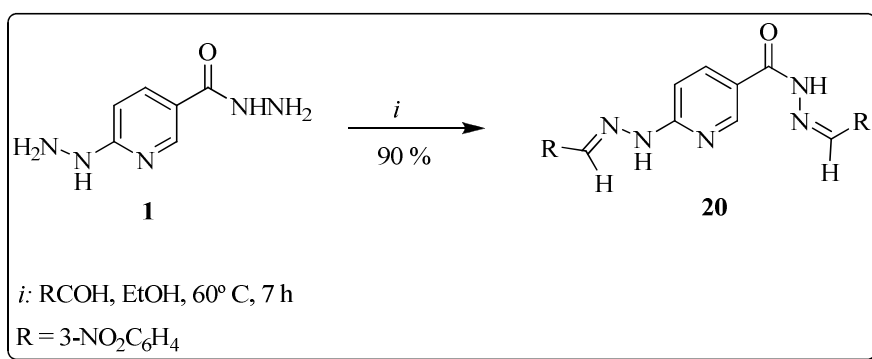


Tabela 30. Propriedades Físicas do Composto **20**

| N° | R | Rend. (%) | P.F. (°C) | Fórmula Molecular (g/mol) | Análise Elementar Calc./Exp. | | |
|----|---|-----------|-----------|---|------------------------------|------|-------|
| | | | | | C | H | N |
| 20 | 3-NO ₂ C ₆ H ₄ | 90 | 290 – 292 | C ₂₀ H ₁₅ N ₇ O ₅ (433,38) | 55,43 | 3,49 | 22,62 |
| | | | | | 55,25 | 3,31 | 23,22 |

3.15.1 Identificação espectroscópica por RMN do composto (20)

A identificação do composto (**20**) foi realizada por RMN ¹H, ¹³C {¹H}. Os espectros foram registrados em DMSO-*d*₆, temperatura de 25 °C, utilizando TMS como referência interna.

3.15.1.1 RMN ¹H

O espectro de RMN ¹H do composto **20** (Figura 59) mostrou: um simpleto alargado em 11,93 e 11,57 ppm referente aos hidrogênios dos NH, um simpleto em 8,77 ppm do hidrogênio H-2(Py), em 8,52 – 8,47 ppm um multipeto dos hidrogênios da piridina H-4(Py), H-5(Py) e ainda, referente a um hidrogênio do H vinílico. Exibiu um

signal em 8,25 – 8,13 ppm também na forma de multipeto de cinco hidrogênios dos anéis aromáticos e um hidrogênio vinílico. Em 7,77 – 7,69 ppm outros dois sinais como dupeto cada um de dois hidrogênios aromáticos do anel da fenila com constantes $J = 8$ Hz. Por fim, mostra um sinal na forma de dubleto em 7,38 ppm com constantes $J = 8$ Hz de um hidrogênio da fenila.

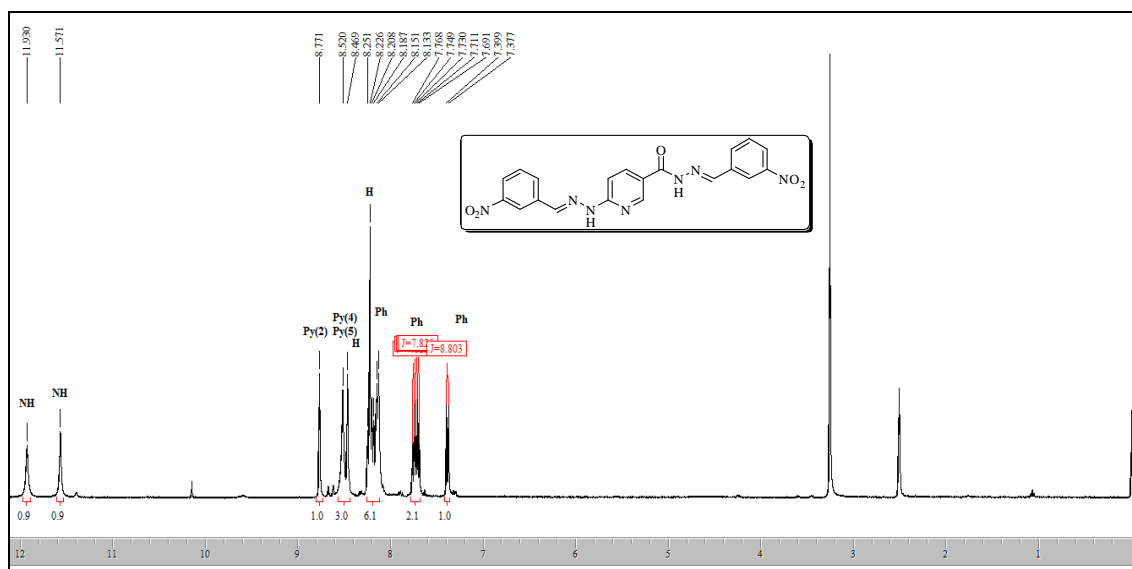


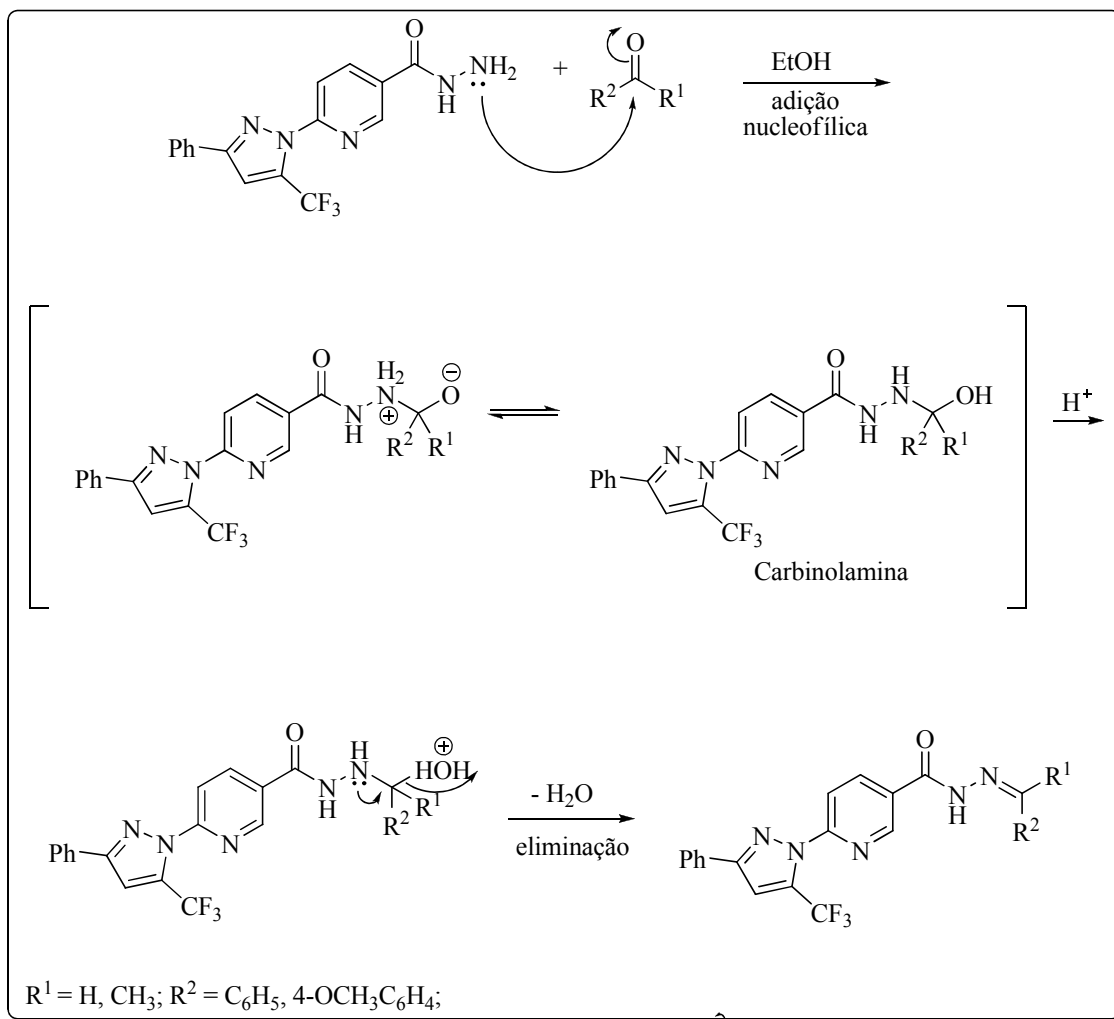
Figura 59. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz de (*E*)-*N'*-(3-nitrobenzilideno)-6-(*E*)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (**20**), registrado em DMSO-*d*₆.

3.15.2 Mecanismo geral proposto para obtenção dos compostos **19** – **20**

Considerando que os compostos **7** possuem um centro nucleofílico o qual, demonstrou uma alta reatividade em presença de carbonos eletrofílicos, sabe-se que o primeiro passo reacional é o ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono carbonílico do aldeído ou cetona, com posterior perda de uma molécula de água, formando a semicarbazona.

A partir das condições anteriores, pode-se propor o mecanismo para a reação de adição na carbohidrazida ligada ao carbono 3 do anel piridínico com aldeídos arílicos substituídos ou cetona, levando à obtenção de dos compostos **19**, já no caso do composto **20** ocorre duas adições simultâneas frente ao reagente comercial hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**) uma vez que o aldeído foi adicionado na proporção de 2 equivalentes (Esquema 69).⁹⁷

Esquema 69:



3.16 Avaliações Biológicas

3.16.1 Atividades Antioxidantes DPPH e Fosfomolibdênio

Os radicais livres estão relacionados a um grande número de doenças que afetam o ser humano como a catarata, os problemas cardiovasculares, as neoplasias, o declínio do sistema imune e as disfunções cerebrais como as doenças neurodegenerativas Alzheimer e Parkinson.⁹⁹⁻¹⁰⁰ A produção destas espécies reativas de oxigênio no organismo humano, tais como o radical hidroxila (HO[•]) e o ânion radical superóxido (O₂^{•-}), podem oxidar proteínas e lipídios e até causar danos ao DNA.

O equilíbrio entre a formação e a remoção das espécies radicalares no organismo deve ser regulada para que haja a manutenção fisiológica das células. A produção de

radicais livres, nos seres vivos, é controlada por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena, ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. Destas últimas destacam-se ácido ascórbico (vitamina C), tocoferóis (vitamina E), polifenóis e selênio carotenóide.¹⁰¹

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, retarda ou previne a oxidação do substrato.¹⁰² Algumas particularidades são necessárias para ser considerado um bom antioxidante, por exemplo, ter a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; e acesso ao local de ação, dependendo de sua lipofilia ou hidrofilia e de seu coeficiente de partição.^{103a}

Em vista disso, há grande interesse na descoberta de novos antioxidantes provenientes de espécies naturais, bem como de ordem sintética, a fim de prevenir o presumido efeito nocivo dos radicais livres no corpo humano, pois estes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos no sistema celular.¹⁰⁰

Além do seu uso no campo da medicina, os antioxidantes têm imensas aplicações industriais, como conservantes alimentares, em cosméticos e na prevenção da degradação da borracha. São importantes aditivos na gasolina, prevenindo a formação de gomas que interferem na atividade dos motores de combustão interna.^{103b} Contudo, os antioxidantes mais utilizados em alimentos (butil hidroxitotolueno, BHT; butil hidroxi-anisól, BHA; ter-butil hidroquinona, TBHQ; e galato de propila, PG) estão sendo apontados como promotores de efeitos maléficos à saúde humana.¹⁰⁴

Diversos métodos são utilizados para determinar a atividade antioxidante em extratos, substâncias isoladas ou sintetizadas, tais como, métodos de captura de peróxido, poder de redução do metal, captura do radical hidroxila, captura de radicais orgânicos, entre outros.

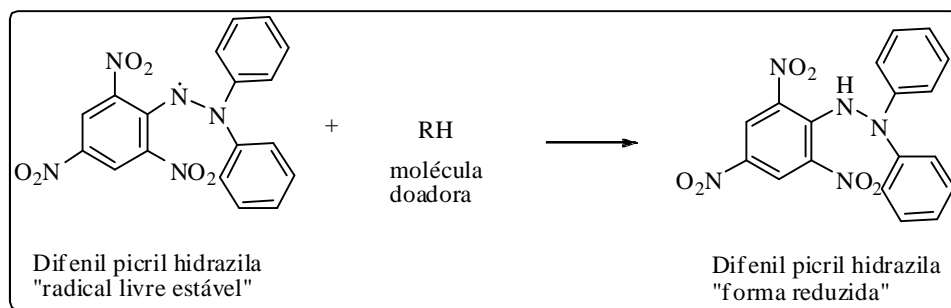
Neste trabalho, a determinação da atividade antioxidante *in vitro* foi realizada pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) e pelo método de complexação do fosfomolibdênio – redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V). Ambos os métodos são fotométricos sendo utilizados os comprimentos de onda de 518 nm (DPPH) e 695 nm (fosfomolibdênio).

3.16.1.1 Método do Radical Livre DPPH

Um dos métodos mais utilizados é considerado rápido, prático e com boa estabilidade¹⁰⁵ consiste na avaliação da atividade antioxidante empregando o radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e avalia a habilidade de ação do mesmo como radical (oxidante) ou a atividade dos compostos testados como doadores de hidrogênio (antioxidante) (Esquema 70).¹⁰⁶

Neste método mede-se a captação deste radical (de coloração violeta, $\lambda_{\max} = 518$ nm, provocada pelo elétron desemparelhado) através da diminuição da absorvância, que acontece devido ao emparelhamento do elétron do radical DPPH e, também, devido à presença do resíduo de um grupo picril presente.^{107a-b} Essa coloração é medida contra um branco, e o padrão utilizado, entre outros, pode ser o BHT ou o ácido ascórbico (vitamina C) avaliando precisamente a porcentagem de inibição do radical pela substância.

Esquema 70: Representação esquemática da reação do radical livre DPPH com a molécula doadora de H, dando origem a sua forma reduzida, DPPH-H.



3.16.1.2 Padrão ácido ascórbico

O ácido ascórbico, também designado por ascorbato ou vitamina C (Figura 60), é um catalisador redox (redução-oxidação) monossacarídeo presente tanto em animais como em plantas, sendo necessário na conversão do pró-colágeno em colágeno através da oxidação de resíduos de prolina em hidroxiprolina.

A vitamina C, menos tóxicos dos antioxidantes naturais, também pode atuar como pró-oxidante.^{107c} Tem muitas funções fisiológicas entre elas, o alto poder antioxidante de reciclar a vitamina E no processo de peroxidação lipídica das membranas e lipoproteínas,¹⁰¹ por ser um catalisador redox que pode reduzir, e portanto

neutralizar as espécies reativas do oxigênio, como o peróxido de hidrogênio.¹⁰⁸ Além dos seus efeitos antioxidantes diretos também é um substrato para a enzima redox ascorbato peroxidase, uma função particularmente importante das plantas na resistência ao stress.¹⁰⁹

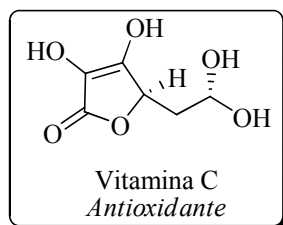


Figura 60. Estrutura do ácido ascórbico

3.16.1.3 Apresentação e Discussão dos Resultados

Os resultados obtidos (% inibição) pelo método quantitativo para atividade antioxidante captadora do radical livre DPPH (ver parte experimental – materiais e métodos) dos compostos **7a**, **7b**, **8**, **9**, **10ab**, **10ba**, **10bb**, **10cb**, **11ba**, **12ba**, **13bd**, **14aa**, **14ab**, **14ba**, **14bb**, **15a**, **15b** e **15c** nas concentrações de 10 a 1000 µg/mL, definidas previamente, estão apresentados na Tabela 31 (Figura 61).

Na curva de calibração do padrão (ácido ascórbico) os valores obtidos de inibição foram de 10,60; 19,40; 51,20 e 93,50% com valor de $IC_{50} = 11,88 \pm 0,82$ µg/mL.

Obtiveram atividade antioxidante as pirazolil nicotinoidrazidas **7** (Gráfico 1), os Bis-pirazóis trialometilados **10ba**, **10cb** (Gráfico 2) e os compostos contendo a classe 1,3,4-oxadiazóis-2-tiona (**15**), sendo estes últimos alcançando dados relevantes de atividade na concentração de 100 µg/mL, os quais se aproximaram do padrão da vitamina C que é de 93,5% como se observa no Gráfico 5 e na Figura 61.

Pela determinação da IC_{50} , dos compostos **15** com valores de $25,84 \pm 7,20$ µg/mL (**15a**), $29,89 \pm 7,87$ µg/mL (**15b**) e $33,93 \pm 5,59$ µg/mL (**15c**), observou-se que a melhor atividade foi obtida quando o anel pirazolínico possui substituinte metil na posição 3. No caso dos compostos **9**, **10cb** e **11ba** constatou-se atividade antioxidante, apenas nas concentrações maiores que 500 µg/mL.

Já os 1,3,4-oxadiazóis **14aa**, **14ab**, **14ba** e **14bb** não foram capazes de capturar o radical livre DPPH pelo contrário, estas moléculas apresentaram atividade pró-oxidantes (Gráfico 4) da mesma forma, os compostos **10bb** e **13bd**.

Por fim, comparando os compostos da série dos *bis*-pirazóis trialometilados **8** – **12** com $R = C_6H_5$ e $R^1 = CH_3$ pode-se observar que a atividade inibitória aumentou quando $X = Cl$ no sistema não aromatizado (Gráfico 3).

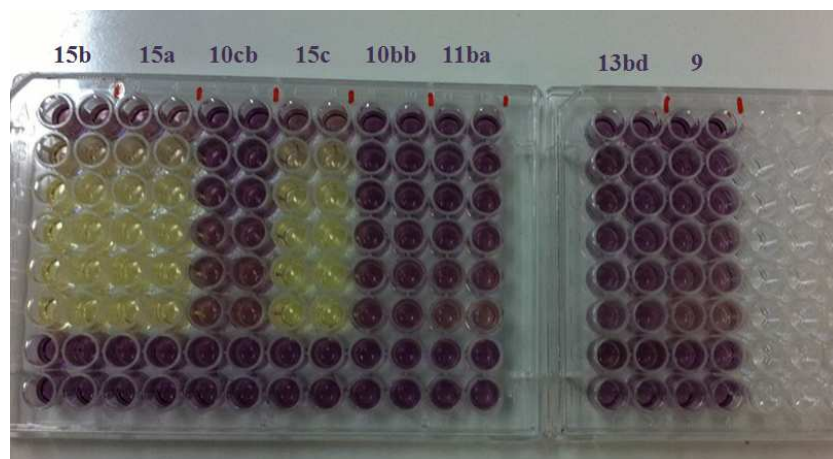


Figura 61. Foto das placas de alguns compostos após a leitura

Tabela 31. Dados da atividade antioxidante (%) para os compostos pelo método DPPH apresentados como média \pm erro.

| [] $\mu\text{g/mL}$ Comp. | 10 | 50 | 100 | 500 | 1000 |
|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 7a | 6,54 \pm 2,7 | -1,52 \pm 1,9 | 2,77 \pm 2,3 | 12,5 \pm 0,6 | 25,8 \pm 1,1 |
| 7b | 5,55 \pm 3,1 | -1,46 \pm 1,0 | 1,15 \pm 3,6 | 17,16 \pm 0,6 | 29,57 \pm 1,8 |
| 8 | -10,89 \pm 6,0 | -11,21 \pm 2,9 | -11,04 \pm 5,5 | -5,77 \pm 1,9 | 3,65 \pm 2,4 |
| 9 | -8,73 \pm 8,8 | 14,2 \pm 7,9 | -6,57 \pm 3,6 | 11,1 \pm 12,8 | 17,07 \pm 2,9 |
| 10ab | -2,68 \pm 8,4 | 0,01 \pm 5,4 | 3,21 \pm 6,9 | -20,87 \pm 0,4 | -43,96 \pm 8,6 |
| 10ba | -0,61 \pm 4,8 | 21,38 \pm 1,9 | 43,34 \pm 2,4 | 77,25 \pm 6,5 | 85,74 \pm 2,9 |
| 10bb | -9,17 \pm 8,8 | -4,97 \pm 13,9 | -9,77 \pm 5,4 | -8,94 \pm 10,1 | -41,67 \pm 7,8 |
| 10cb | -9,40 \pm 6,9 | -3,93 \pm 12,4 | -2,2 \pm 6,5 | 16 \pm 2,4 | 21,67 \pm 3,1 |
| 11ba | -7,80 \pm 9,6 | 6,37 \pm 5,2 | -9,5 \pm 4,5 | 4,4 \pm 7,6 | 20,67 \pm 2,4 |
| 12ba | -9,21 \pm 5,3 | -2,93 \pm 3,0 | -4,02 \pm 6,5 | -23,84 \pm 1,1 | -42,05 \pm 6,5 |
| 13bd | -2,73 \pm 9,4 | -4,60 \pm 10,7 | -4,93 \pm 4,2 | -12,2 \pm 17,6 | -19,8 \pm 10,4 |
| 14aa | 6,41 \pm 4,8 | -2,23 \pm 1,9 | -3,26 \pm 3,7 | -1,30 \pm 1,5 | 3,54 \pm 0,9 |
| 14ab | 0,75 \pm 2,9 | -2,82 \pm 1,7 | 0,12 \pm 2,4 | -0,11 \pm 2,7 | -23,99 \pm 11,5 |
| 14ba | -0,93 \pm 3,4 | -2,49 \pm 1,4 | -1,18 \pm 3,2 | -0,99 \pm 1,8 | -12,98 \pm 4,9 |
| 14bb | -2,14 \pm 2,9 | -1,26 \pm 2,1 | -1,25 \pm 3,8 | 2,66 \pm 3,5 | -3,50 \pm 7,3 |
| 15a | 30,6 \pm 3,8 | 76,47 \pm 4,6 | 87,60 \pm 0,7 | 89,67 \pm 4,2 | 92,00 \pm 2,7 |
| 15b | 27,43 \pm 4,6 | 74,53 \pm 4,0 | 88,17 \pm 0,6 | 88,13 \pm 4,0 | 89,63 \pm 2,6 |
| 15c | 27,53 \pm 3,9 | 72,67 \pm 3,8 | 83,13 \pm 1,0 | 84,43 \pm 3,49 | 82,50 \pm 2,2 |

Gráfico 1 – Atividade Antioxidante dos compostos **7a-b** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$)

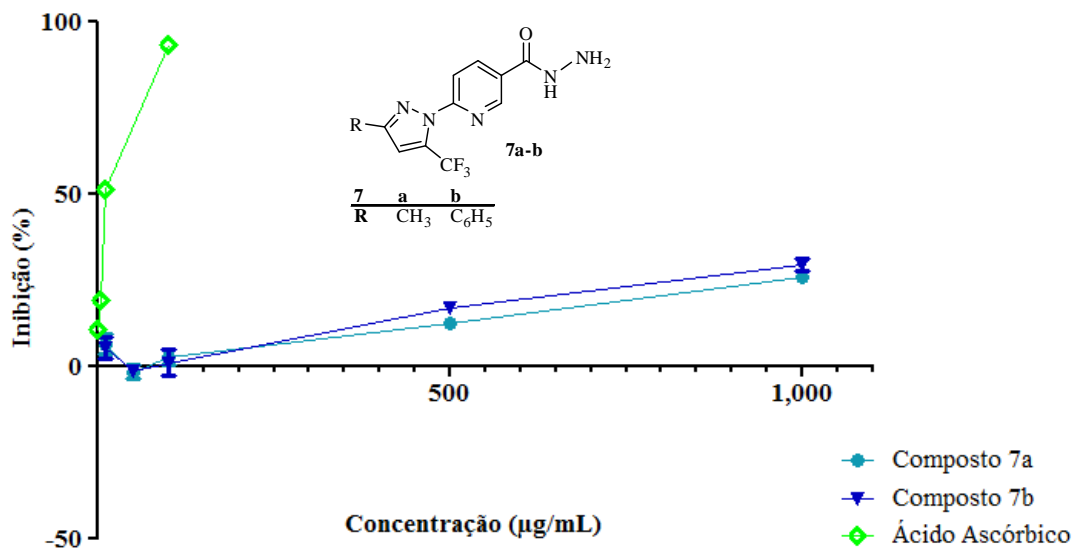


Gráfico 2 – Atividade Antioxidante dos compostos **10** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).

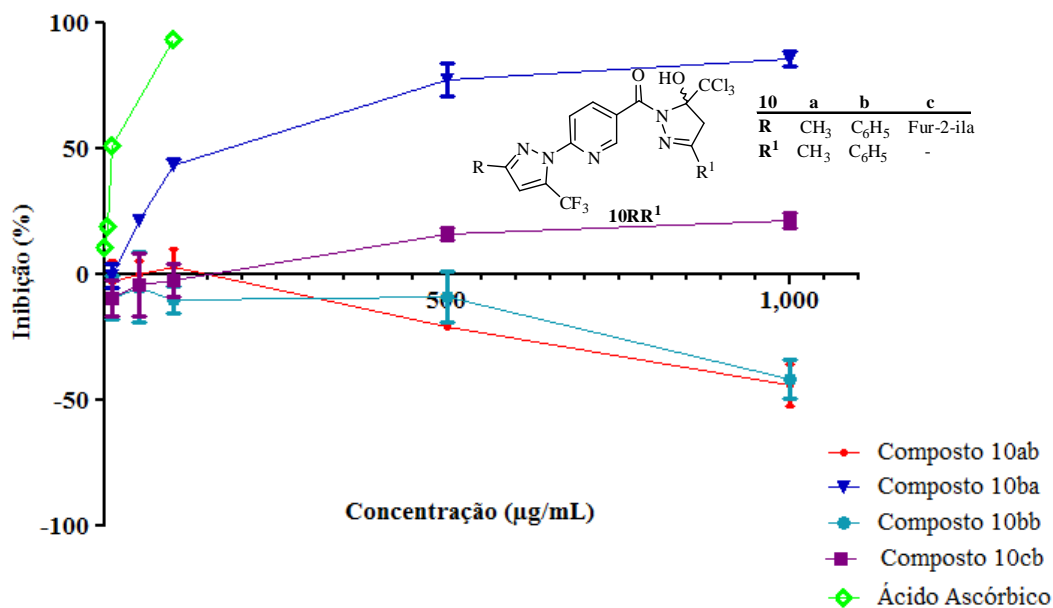


Gráfico 3 – Atividade Antioxidante dos compostos **8** – **12** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).

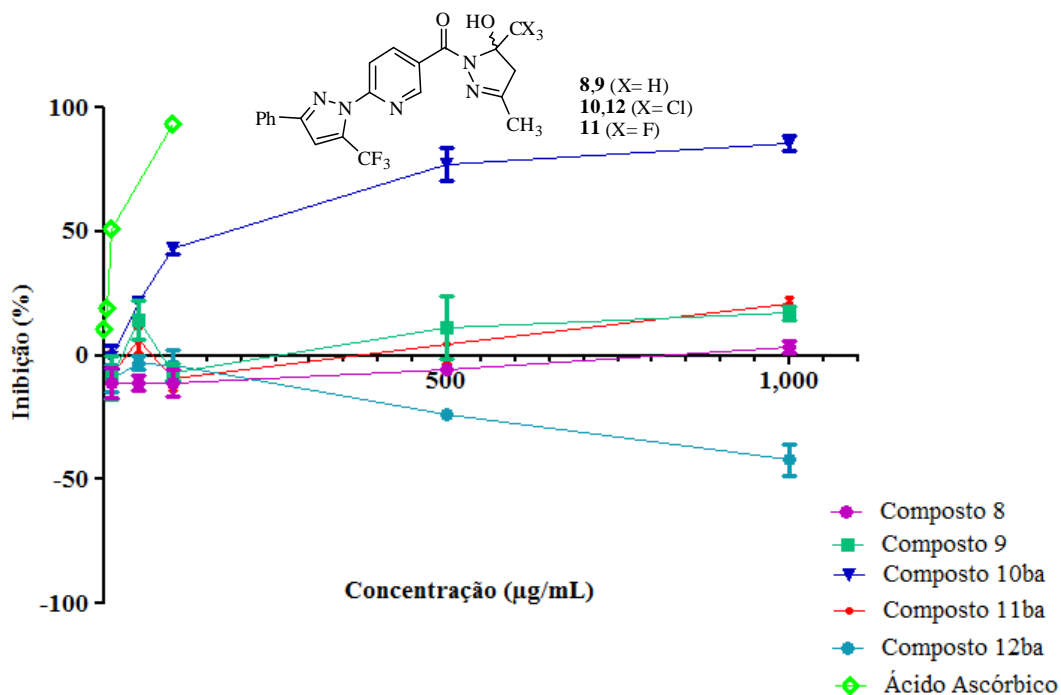


Gráfico 4 – Atividade Antioxidante da série **14** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).

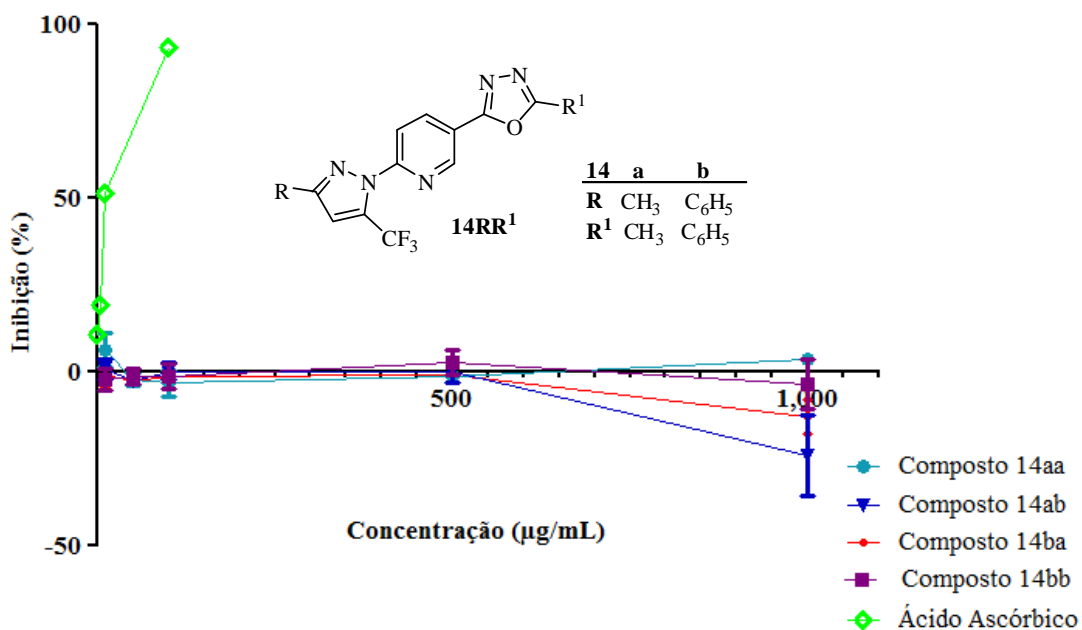
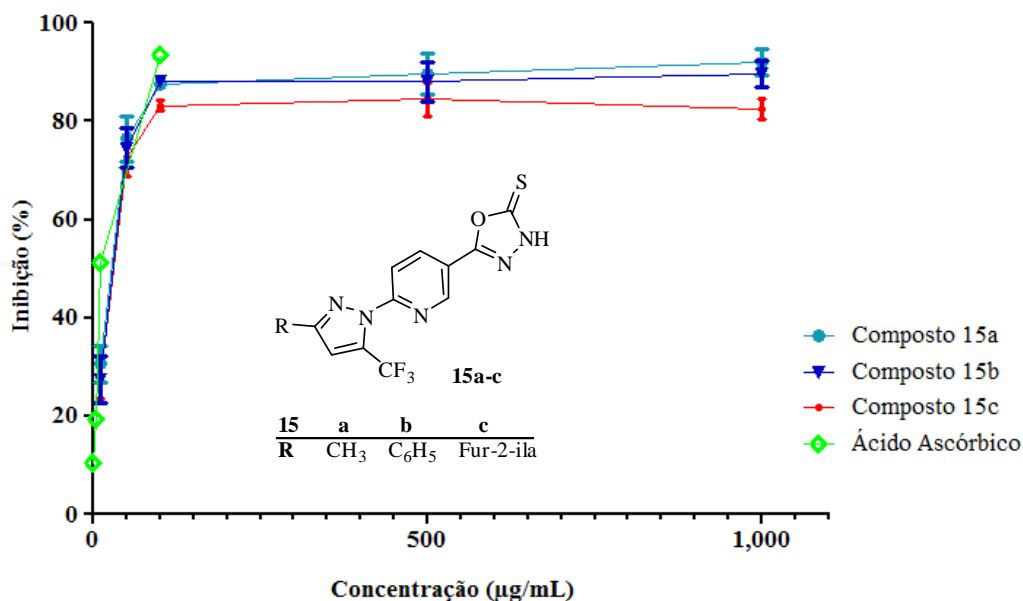


Gráfico 5 – Atividade Antioxidante da série **15** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).



3.16.2 Método por Fosfomolibdênio

O método de complexação pelo fosfomolibdênio, descrito por Prieto e col.¹¹⁰ é uma maneira bastante simples de avaliar a capacidade antioxidante total (TAC) tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos. Fundamenta-se na redução do molibdênio (VI) de coloração amarela à molibdênio (V) ocorrido em presença de determinada substância com capacidade antioxidante, com formação de um complexo de cor verde entre fosfato/molibdênio (V), o qual é determinado espectrofotometricamente a 695 nm (ver parte experimental – materiais e métodos).

3.16.2.1 Padrão BHT (di-terc-butil metil fenol)

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinérgicos, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos.¹¹¹ Os antioxidantes primários são compostos fenólicos que promovem a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. Os

antioxidantes principais e mais conhecidos deste grupo são os polifenóis, dentre eles o composto sintético BHT (Figura 62).

Sendo um composto antioxidante orgânico, lipossolúvel, o BHT é usado como aditivo alimentar, conservante na área de cosméticos, remédios, combustível, produtos feitos a base de borracha, plásticos.¹¹²

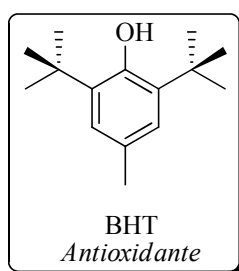


Figura 62. Estrutura do BHT

Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade deste antioxidante apresentar efeito carcinogênico,¹¹³ também de ter efeito tóxico para o fígado, rins e pulmões.¹¹⁴ Por estes motivos, o uso deste antioxidante em alimentos é limitado, no Brasil, o uso é controlado pelo Ministério da Saúde que limita 100 mg/g para o BHT como concentração máxima permitida.¹¹⁵

3.16.2.2 Apresentação e Discussão dos Resultados

Os resultados demonstraram que todos os compostos apresentaram capacidade antioxidante total (TAC %) dependente da concentração (Tabela 32). Uma curva padrão de BHT foi utilizada com controle positivo e para estimativa de TAC utilizou-se a absorbância de BHT (50 µg/mL) como controle positivo (100%). Deste modo, é possível afirmar que as pirazolil-nicotinoidrazidas **7a** e **7b** (50 µg/mL) apresentaram efeito semelhante ao BHT (50 µg/mL). Além disso, os compostos **10ba**, **11ba**, **15a** e **15b** mostraram uma boa capacidade antioxidante à concentração de 100, 500, 500 e 1000 µg/mL. (Gráficos 7 e 8). Contudo, os *Bis*-pirazóis trialometilados **10bb** e o **11bb** apresentaram uma atividade antioxidante mais baixa do que a encontrada para o BHT (50 µg/mL).

O método por fosfomolibdênio é utilizado para caracterizar as propriedades antioxidantes nos compostos naturais e químicos.¹¹⁶ Este método compreende se os

compostos tem capacidade para promover a redução do Mo (VI) em Mo (V) por uma doação de elétrons. Os resultados demonstram que as estruturas químicas dos compostos **7a** e **7b** foram alteradas apenas no substituinte R (CH₃ e C₆H₅) e, portanto, provavelmente não interfere na capacidade de doação de um elétron para o Mo (VI), porque estes compostos mostraram efeitos antioxidantes semelhantes e também mais elevado quando comparado com as outras estruturas (Gráfico 6).

Além disso, foi possível observar que os compostos, em que sua estrutura continha cloro, apresentaram uma atividade antioxidante mais elevada do que aqueles com flúor. Do mesmo modo, a presença de CH₃ em R¹ para o composto **10ba** promoveu uma atividade antioxidante mais elevada do que a encontrada para o composto **10bb** com C₆H₅ na posição R¹ (Gráfico 7). Assim, a capacidade antioxidante dos compostos foi encontrada decresce na ordem, **7a** ≈ **7b** > **10ba** > **15a** > **11ba** > **15b** > **11bb** > **10bb**.

Tabela 32. A capacidade antioxidante total (%) dos compostos pelo método de fosfomolibdênio apresentados como média ± erro.

| [] µg/mL | 10 | 50 | 100 | 500 | 1000 |
|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|---------------|
| 7a | 25,28 ± 0,3 | 97,54 ± 1,9 | 137,62 ± 4,3 | 277,76 ± 16,6 | 277,76 ± 16,6 |
| 7b | 22,53 ± 0,9 | 87,92 ± 2,2 | 138,27 ± 2,6 | 277,76 ± 16,6 | 277,76 ± 16,6 |
| 10ba | 8,58 ± 1,3 | 42,63 ± 1,6 | 73,95 ± 2,2 | 158,44 ± 8,8 | 167,10 ± 10,1 |
| 10bb | 10,55 ± 0,5 | 25,54 ± 1,0 | 30,01 ± 0,4 | 37,24 ± 1,1 | 37,61 ± 1,5 |
| 11ba | 7,55 ± 0,6 | 13,88 ± 2,8 | 23,74 ± 2,1 | 72,87 ± 6,9 | 87,35 ± 6,7 |
| 11bb | 15,66 ± 1,2 | 24,02 ± 1,9 | 29,85 ± 1,7 | 38,08 ± 2,3 | 48,52 ± 3,1 |
| 15a | 6,63 ± 0,3 | 16,66 ± 0,4 | 33,06 ± 1,5 | 88,30 ± 9,5 | 103,87 ± 3,8 |
| 15b | 8,52 ± 1,2 | 24,62 ± 1,1 | 33,63 ± 0,6 | 55,81 ± 0,4 | 70,79 ± 1,2 |

Gráfico 6 – Atividade Antioxidante dos compostos **7** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).

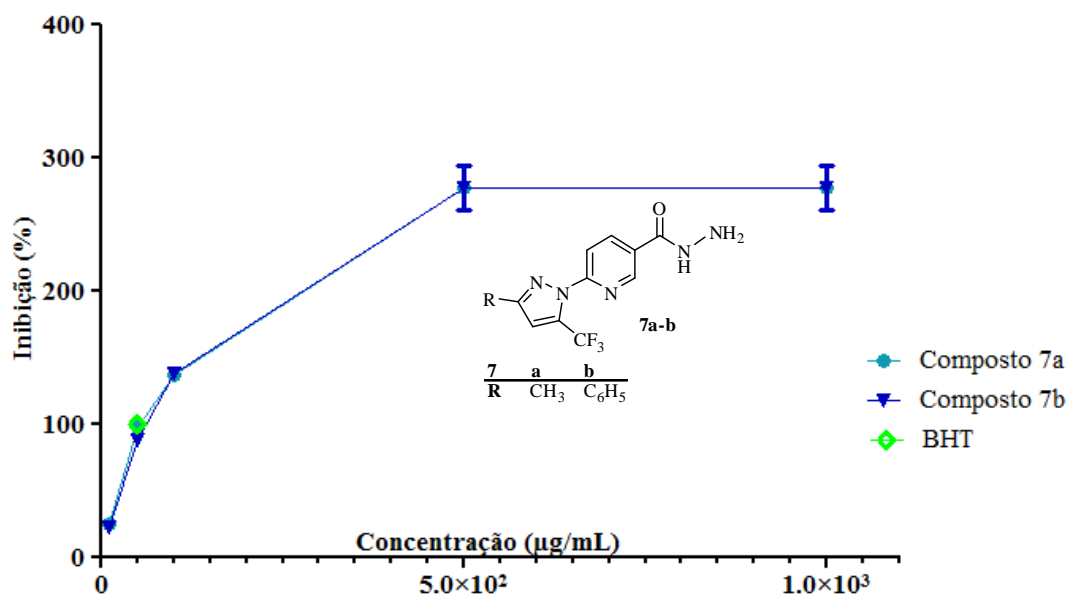


Gráfico 7 – Atividade Antioxidante dos compostos **10**, **11** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).

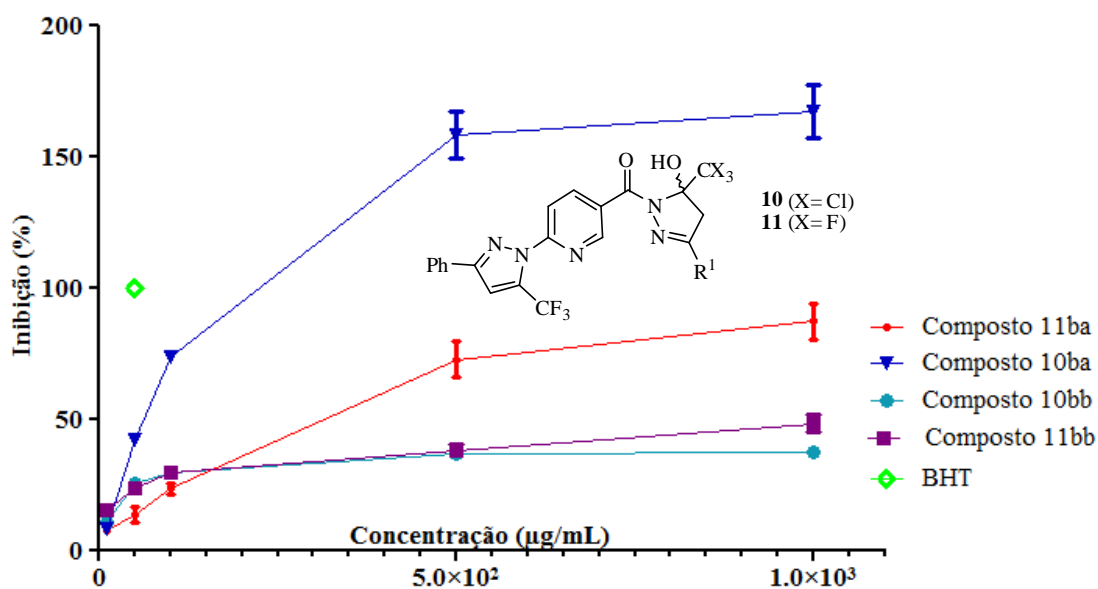
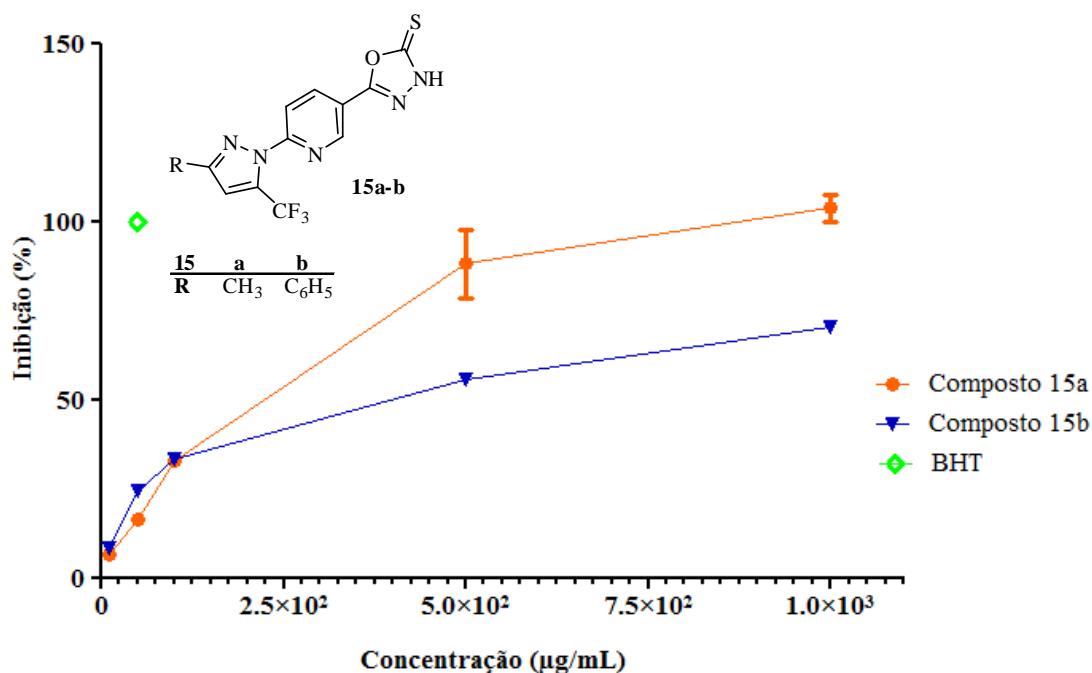


Gráfico 8 – Atividade Antioxidante dos compostos **15a-b** (% de Inibição *versus* concentração em $\mu\text{g/mL}$).



As metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas. Sendo assim, a partir de referências literárias,¹¹⁷ dos experimentos realizados e pelos dados obtidos, conclui-se que a variação da leitura foi maior no método de captação do radical livre DPPH. Pode ser por este ter a capacidade de provocar várias reações secundárias lentas podendo causar uma diminuição progressiva de absorvância, e dessa maneira ser difícil alcançar o estado estacionário mesmo ao fim de várias horas. À vista disso na maioria dos casos o método de DPPH é utilizado para medir a captação de radicais após 30 minutos depois de iniciada a reação.

Sabe-se que este método é muito útil para a busca de novos antioxidantes, mas quando se pretende a utilidade de um antioxidante num alimento, a sua atividade neste caso depende de mais fatores tais como a solubilidade, polaridade e a atividade quelante de metais.

Os procedimentos de análises de atividade antioxidante *in vitro* têm se tornados relevantes, uma vez que auxiliam na busca por substâncias bioativas. Cada técnica de análise possui suas particularidades. Devido aos vários tipos de radicais e aos diferentes sítios de ação, dificilmente haverá um exclusivo método capaz de representar de forma segura e precisa a verdadeira atividade antioxidante de uma substância.

3.16.3 Atividade Antimicrobiana *in vitro*

A história do desenvolvimento e do uso de substâncias antimicrobianas na prática médica antecedeu a descoberta de espécies microbianas, uma vez que Hipócrates (460 – 337 a.C.) recomendava a lavagem de ferimentos com vinho para impedir o processo infeccioso. Existem relatos de povos chineses e indianos, datados de 2500 a 3000 anos atrás, sobre o uso de mofo e papa de soja para o tratamento de lesões e processos inflamatórios.¹¹⁸

As substâncias antimicrobianas ou antibióticas representam o maior avanço nas últimas cinco décadas ou mais, com progressos ilimitados na terapêutica medicamentosa. Os antimicrobianos são drogas que têm a capacidade de inibir o crescimento de micro-organismos. São, portanto, indicadas para o tratamento de infecções microbianas sensíveis. Esse grupo medicamentoso condiciona de forma efetiva o efeito de espécies microbianas responsáveis por diversas patologias que provocaram a incapacidade prolongada ou o óbito de seres humanos, sem restrição de faixa etária, situação financeira ou estado de saúde.

Um dos conceitos importantes que deve ser lembrado ao considerar o uso dos antimicrobianos é a potência ou a concentração inibitória mínima (CIM), do inglês "*Minimum Inhibitory Concentration*" (MIC). A CIM é a concentração de antimicrobiano necessária para inibir o crescimento bacteriano (bacteriostática/fungiostática) em um dado meio de cultura líquido, de forma que, quanto menor o valor da CIM, maior a potência e, quanto maior a potência, maior a dificuldade para a bactéria desenvolver resistência.^{40,97}

Atualmente, a técnica mais utilizada é a de microdiluição, que usa pequenos volumes de amostra, tem baixo custo e apresenta resultados produtivos,¹¹⁹ na qual o CIM é determinado em placas de cultura de 96 poços. Nessa técnica, uma série de diluições da amostra é realizada em meio líquido. Os poços são, então, inoculados com suspensão microbiana e as placas são incubadas.

O crescimento microbiano (turvação) e o CIM são observados visualmente, sendo que as culturas que não apresentam crescimento são usadas para inocular placas com meio sólido, de forma a determinar a Concentração Bactericida ou Fungicida Mínima (CBM/CFM). Segundo Hammer e col.,¹²⁰ trata-se da menor concentração da substância que alcança uma redução maior que 99,9% do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Sendo assim, nesta tese, realizaram-se testes para a determinação da atividade biológica frente a bactérias (microdiluição em caldo Muller-Hinton) e fungos (microdiluição em caldo RPMI 1640) de compostos representativos das séries, aqui sintetizados e descritos (ver parte experimental).

3.16.3.1 Micro-organismos patogênicos

3.16.3.1.1 Bactérias Gram-positivas

Dentro da classe dos cocos, o *Staphylococcus aureus* são patógenos primários ou oportunistas que acometem homens e animais.¹²¹ São amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e de mucosas.¹²²

S. aureus está geralmente envolvido nas infecções humanas tanto de origem comunitária quanto hospitalar e se encontram em várias partes do corpo como garganta, fossas nasais, intestinos e pele.¹²³⁻¹²⁴ Causa infecções cutâneas como impetigo, foliculite e furúnculos, infecções em ferimentos, infecções mediadas por toxinas, como intoxicações alimentares e a síndrome do choque tóxico (uma infecção rara, extremamente grave, caracterizada por febre alta e vômitos, que pode ocasionar o óbito), e outras infecções como pneumonia, endocardite e artrite séptica.¹²¹

Ainda dentro da classe dos cocos, os *Staphylococcus epidermidis* são anaeróbios facultativos imóveis, habitantes normais da pele e da mucosa, sendo encontrados em praticamente todos os indivíduos.¹²⁴ As infecções produzidas por *S. epidermidis* incluem endocardites de válvulas cardíacas naturais e proteicas, infecções produzidas por cateteres endovenosos,¹²⁴⁻¹²⁵ bacteremia, osteomielite, infecções de feridas, de enxertos vasculares e mediastinite.¹²⁴

Staphylococcus saprophyticus está presente na microbiota normal da pele, região periuretral e mucosas do trato geniturinário.

Enterococcus são bactérias gram-positivas, normalmente encontradas no intestino e no trato genital feminino. Existem 14 espécies descritas de *Enterococcus spp.*, sendo o *E. faecalis* e o *E. faecium* as duas que normalmente promovem colonização e infecções em humanos.

Outra classe existente dentro das bactérias Gram-positivas são os bacilos, como a *Listeria monocytogenes*, que são anaeróbios facultativos, que podem aparecer isolados

ou agrupados em pares ou cadeias curtas. São uma espécie capaz de provocar doenças em seres humanos, tais como meningite.

A *Bacillus cereus* é uma β hemolítica gram-positiva, de forma cilíndrica, endêmica, que vive no solo. São organismos anaeróbios facultativos e, tal como outros membros do gênero *Bacillus*, podem produzir endósporos protetores. Algumas cepas são prejudiciais aos seres humanos e causam intoxicação alimentar, enquanto outras podem ser benéficas, como os probióticos para animais.¹²⁶

3.16.3.1.2 Bactérias Gram-negativas

O gênero *Escherichia* consiste em cinco espécies, das quais a *E. coli* é a mais comum e clinicamente importante.¹²⁷ A *E. coli* é uma bactéria facultativa, considerada um dos habitantes mais comuns do trato intestinal, não sendo normalmente patogênica. Faz parte da microbiota normal, mas esse micro-organismo pode estar associado a uma variedade de doenças, incluindo sepse, meningite neonatal, gastroenterite e infecções das vias urinárias.¹²⁸

Os membros do gênero *Klebsiella* são bacilos e são comumente encontrados no solo e na água.¹²⁸ *K. pneumoniae* é o membro mais isolado desse gênero, podendo causar um tipo grave de pneumonia lobar, sendo mais frequente em alcoólatras e pessoas com funções pulmonares comprometidas. Sua implicação em infecções hospitalares chega a atingir 29% dos casos.

Pseudomonas aeruginosa, conhecida também como *Pseudomonas pyocyanea*, é aeróbia e baciliforme. Seu ambiente de origem é o solo, mas sua ocorrência é comum também em outros ambientes. É um patógeno oportunista, ou seja, que raramente causa doenças em um sistema imunológico saudável, mas explora eventuais fraquezas do organismo para estabelecer um quadro de infecção. Essa característica, associada à sua resistência natural a um grande número de antibióticos e antisépticos, o torna uma recorrente causa de infecções hospitalares.^{97,129} Por ser um patógeno de indivíduos com sistema imunológico comprometido, a *P. aeruginosa* normalmente infecta o aparelho respiratório, o aparelho urinário, queimaduras e também causa outras infecções sanguíneas.¹³⁰ É a causa mais comum de infecções no ouvido e por queimaduras, e é o mais frequente colonizador de equipamentos médicos.

O gênero *Shigella* apresentam-se em forma de bastão, não-esporulado intimamente relacionado com a *Escherichia coli* e *Salmonella*. É o agente causador da shigelose humana, durante a infecção normalmente causa disenteria.¹³¹

Outro gênero de bactérias Gram-negativas é a *Salmonella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, sendo conhecida há mais de um século. Apresentam forma de bacilo, em maiorias móveis, não esporulados, não capsulados, sendo que a maioria não fermenta a lactose. Dentre as mais prejudiciais à saúde humana, destacam-se a *Salmonella typhi* (*Salmonella entérica* sorovar *Typhi*), que causa infecções sistêmicas e febre tifoide, sendo esta uma doença endêmica em muitos países em desenvolvimento.

3.16.3.1.3 Fungos

Da classe das Candidas, *Candida albicans* faz parte da microbiota normal do ser humano, mas geralmente estão implicadas manifestações clínicas, principalmente em imunodeprimidos, que abrangem desde infecções superficiais da pele até infecções sistêmicas potencialmente fatais.¹³² A candidíase ocorre frequentemente em recém-nascidos, pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) ou HIV (do inglês Human Immunodeficiency Virus) e indivíduos fazendo uso de antibióticos de amplo espectro.¹³³

Candida dubliniensis é uma espécie recentemente reconhecida, com características muito semelhantes a *C. albicans*, mas causando, principalmente, candidíase oral em pacientes com SIDA. O primeiro isolamento desta espécie, no ambulatório para SIDA do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), no Rio Grande do Sul, foi relatado em 1999.¹³⁴ Seu reconhecimento tem importância porque existe a capacidade de esses fungos, rapidamente, desenvolverem resistência ao Fluconazol[®],¹³⁵ mesmo que inicialmente sensíveis.¹³⁵⁻¹³⁶

Diferentemente da *Candida albicans*, a *Candida parapsilosis* não é um patógeno humano obrigatório, tendo sido isolada a partir de fontes não-humanos como animais domésticos, insetos ou solo. Esse é, também, um dos fungos mais frequentemente isolados das mãos humanas. Não existe, atualmente, um consenso sobre o tratamento de doenças invasivas por *C. parapsilosis*. Historicamente, a Anfotericina B tem sido o anti fungo mais utilizado.

Dentro da classe das leveduras, o *Cryptococcus neoformans* está associado à infecção designada criptococose. A maioria das infecções por *C. neoformans* ocorre nos pulmões.

Microsporum canis é um esporo dermatófito. Os cães e os gatos são os hospedeiros naturais, por isso esse fungo afeta, sobretudo, as áreas de pele expostas (mãos, membros e couro cabeludo) de crianças. As infecções do couro cabeludo podem ser resistentes ao tratamento com Terbinafina[®], sendo necessárias maiores doses e um tratamento mais prolongado (interesse da correta identificação do agente patogênico).¹³⁷

Ainda na classe dos esporos, o *Trichophyton rubrum* é responsável por infecções dos tecidos queratinizados, isto é, pele e unhas (muito raramente afeta o cabelo), sendo o micro-organismo mais frequentemente isolado em lesões por dermatófitos.¹³⁸

3.16.3.1.4 Apresentação e Discussão dos Resultados

Uma pesquisa de novos agentes antimicrobianos capazes de inibir o crescimento bacteriano e fúngico, mais eficazes e seguros, que causem menos efeitos colaterais, tem sido o objetivo de estudos de vários pesquisadores através dos planejamentos e das modificações moleculares. O uso indiscriminado de antibióticos, na tentativa de se curar infecções potencialmente fatais, resulta no aparecimento de patógenos resistentes, o que torna necessária a busca, cada vez maior, por novas drogas com poder bactericida ou bacteriostático, fungicida ou fungistático.¹³⁸

Em se tratando de antifúngicos, as opções disponíveis continuam limitadas, apesar do surgimento de novas classes de compostos.¹³⁹ O fluconazol[®] é um antifúngico com alta tolerabilidade pelos pacientes, porém cada vez mais ocorrem relatos de resistência das espécies de *Candida* perante essa droga.¹⁴⁰

A anfotericina B é o fármaco mais utilizado atualmente contra *Cryptococcus neoformans*. Entretanto, esse medicamento possui alta toxicidade, causando diversos efeitos aos pacientes, principalmente distúrbios renais.¹⁴¹

Tendo em vista o potencial biológico das estruturas heterocíclicas sintetizadas e descritas nesta tese, somado à busca por novos fármacos, realizaram-se testes de avaliação microbiológica. A determinação da atividade antimicrobiana ocorreu pelo método de microdiluição em caldo Muller-Hilton (bactérias) e em caldo RPMI 1640 (fungos) dos compostos selecionados **9, 10aa, 10bb, 10cb, 11ba, 11bb, 11bc, 11be, 13bd, 14bb, 15a, 15b, 18b, 19bb e 19ea.**

Como resultados desses testes, verificou-se que nenhum dos quinze compostos apresentou formação de zonas de inibição para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas nas concentrações testadas de 1000 – 1,95 µg/mL. Já para os fungos, as concentrações utilizadas foram de 500– 0,98 µg/mL e os compostos **9**, **10aa**, **15a** e **15b** foram ativos frente à diversos fungos (Figura 63) (Tabela 33).

Dessa forma, as amostras que apresentaram valores de CIM menores do que 10 µg/mL foram consideradas excelentes. E valores entre 10 e 100 µg/mL foram consideradas de bom a moderado.¹⁴²

O composto **9** foi ativo, inibindo os fungos leveduriformes *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* e *Cryptococcus neoformans*, na concentração de 125 µg/mL; e os fungos filamentosos *Microsporum canis*, na concentração de 62,5 µg/mL; *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*, na concentração de 31,25 µg/mL. Desse modo, conferiu-se ao composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-metil-5-metil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**9**) atividade fungioestática. Também foi verificada a concentração letal mínima (CLM) ou concentração fungicida mínima (CFM) para o composto **9**, a qual mostrou resultado de 250 µg/mL para os fungos *C. parapsilosis* e *C. neoformans*, de 125 µg/mL para os fungos *C. dubliniensis* e *M. canis*, de 62,5 µg/mL para o *T. rubrum* e de 31,25 µg/mL para o *T. mentagrophytes*.

O composto **10aa** (R, R¹ = CH₃; X = Cl) também apresentou inibição no crescimento para fungos. No entanto, foi ativo para 4 micro-organismos, para os quais o composto **9** não obteve resultados. Ele inibiu o crescimento na concentração de 125 µg/mL para *C. krusei*, *C. glabrata* e *S. schenckii*, e, na concentração de 250 µg/mL, para *R. oryzae*. Também apresentou atividade fungicida em concentração de 250 µg / mL para *C. krusei*, *C. glabrata* e *S. schenckii* e, para *R.oryzae*, em 500 µg/mL.

O destaque para a avaliação biológica foi para a classe dos 2-tiona-1,3,4-oxadiazóis. As moléculas **15a** (R = CH₃) e **15b** (R = Ph) demonstraram os melhores resultados.

No composto 2-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)- piridina (**15a**) foi observada a inibição a dez cepas de diferentes espécies de fungos, na concentração de 500 até 31,25 µg/mL, e a letalidade a nove fungos, na faixa de 250 até 31,25 µg/mL, sendo que o *Trichophyton mentagrophyte* e o *Trichophyton rubrum* obtiveram os valores mais baixos de CIM e CLM (31,25 µg/mL).

Já o composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina **15b** apresentou atividade fungioestática para as dezesseis

linhagens testadas e atividade fungicida para quinze tipos de fungos. Os melhores resultados foram na concentração de 7,81 μ g/mL (CIM/CFM) para os dermatófitos: *Microsporium canis*, *Trichophyton mentagrophyte* e *Trichophyton rubrum*.

Verificou-se que a mudança do substituínte R na posição 3 do anel pirazol dos compostos testados **15** teve influência na atividade microbiológica, sendo que a modificação de uma metila (**15a**) para uma fenila (**15b**) baixou em oito vezes a CIM e a CLM frente ao micro-organismo *M. canis*, baixou quatro vezes a CIM e a CLM frente aos *Trichophyton*s e baixou duas vezes a CIM para *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. neoformans*.

Nos demais compostos não se verificou inibição no crescimento dos micro-organismos fungos (leveduriformes e filamentosos) para as concentrações testadas.

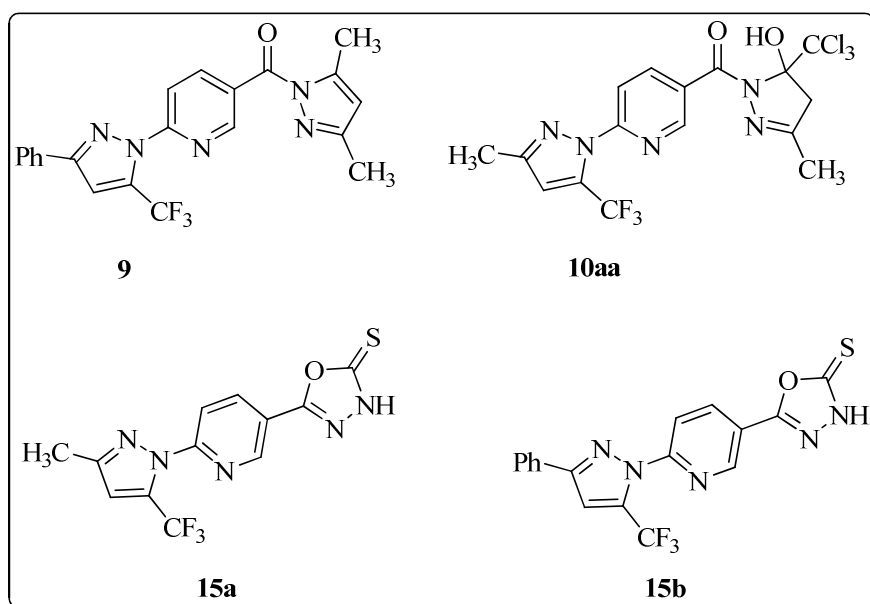


Figura 63. Estruturas dos compostos com atividade antifúngica.

3.16.3.1.5 Antibióticos controles

Para controle de viabilidade do teste, foram utilizados antimicrobianos frente aos diferentes micro-organismos e avaliada a concentração inibitória mínima (CIM). Os antibióticos testados foram o Imipenem[®], para bactérias, e o Fluconazol[®], a Anfotericina B[®] e a Terbinafina[®], para os fungos e os resultados foram conforme dados na Tabela 34.

Tabela 33. Concentração inibitória mínima (CIM) para os antimicrobianos frente a diferentes micro-organismos

| Micro-organismos | CIM (µg/mL) | | | |
|--|----------------|------------|-------------|----------|
| | Anfotericina B | Fluconazol | Terbinafina | Imipenem |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 | - | - | - | 0,03 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 1228 | - | - | - | 0,03 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | - | - | - | 0,03 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 | - | - | - | 1 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | - | - | - | 0,125 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 | - | - | - | 0,25 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | - | - | - | 2 |
| <i>Shigella sonnei</i> | - | - | - | 0,125 |
| <i>Salmonella typhi</i> | - | - | - | 0,25 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | - | - | - | 0,06 |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579 | - | - | - | 0,06 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 14057 | - | 1 | - | - |
| <i>Candida dubliniensis</i> | - | 0,25 | - | - |
| <i>Candida glabrata</i> ATCC 2301 | - | 8 | - | - |
| <i>Candida krusei</i> ATCC 6258 | - | 16 | - | - |
| <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22018 | - | 2 | - | - |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | - | 4 | - | - |
| <i>Aspergillus flavus</i> | 1 | - | - | - |
| <i>Aspergillus fumigates</i> | 1 | - | - | - |
| <i>Aspergillus niger</i> | 1 | - | - | - |
| <i>Aspergillus terreus</i> | 2 | - | - | - |
| <i>Fusarium solani</i> ATCC 36031 | 4 | - | - | - |
| <i>Microsporium canis</i> | - | - | 0,06 | - |
| <i>Sporothrix schenckii</i> ATCC 17107 | 0,5 | - | - | - |
| <i>Rhizopus oryzae</i> | 1 | - | - | - |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 | - | - | 0,004 | - |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | - | - | 0,03 | - |

Tabela 34. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Mínima Letal (CML) dos compostos com atividade antifúngica.

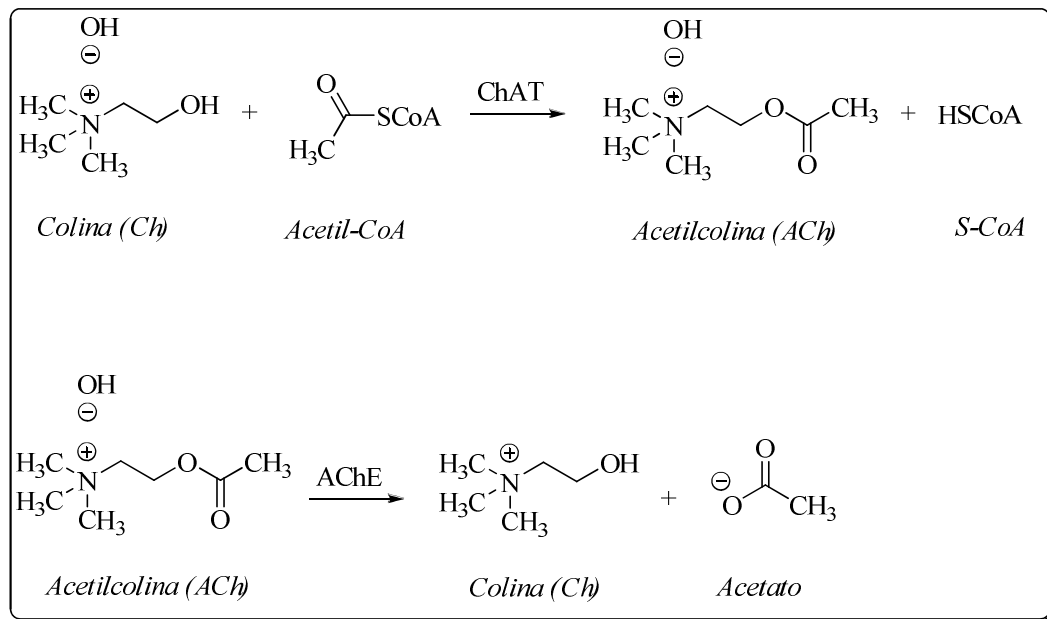
| Fungos testados | CIM/CLM ($\mu\text{g/mL}$) | | | |
|---|------------------------------|---------|-------------|-------------|
| | 9 | 10aa | 15a | 15b |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 14057 | >500/- | >500/- | >500/- | 500/>500 |
| <i>Candida dubliniensis</i> | 125/125 | >500/- | 125/125 | 62,5/62,5 |
| <i>Candida glabrata</i> ATCC 2301 | >500/- | 125/250 | 500/>500 | 62,5/250 |
| <i>Candida krusei</i> ATCC 6258 | >500/- | 125/250 | 125/250 | 62,5/125 |
| <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22018 | 125/250 | >500/- | 62,5/125 | 31,25/125 |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 125/250 | 500/500 | 62,5/250 | 31,25/31,25 |
| <i>Aspergillus flavus</i> | >500/- | >500/- | >500/- | 250/250 |
| <i>Aspergillus fumigates</i> | >500/- | >500/- | >500/- | 250/500 |
| <i>Aspergillus niger</i> | >500/- | >500/- | 250/250 | 250/250 |
| <i>Aspergillus terreus</i> | >500/- | >500/- | >500/- | 500/>500 |
| <i>Fusarium solani</i> ATCC 36031 | >500/- | >500/- | >500/- | 500/500 |
| <i>Microsporium canis</i> | 62,5/125 | 500/500 | 62,5/62,5 | 7,81/7,81 |
| <i>Sporothrix schenckii</i> ATCC 17107 | >500/- | 125/250 | 62,5/62,5 | 15,63/31,25 |
| <i>Rhizopus oryzae</i> | >500/- | 250/500 | >500/- | 125/250 |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533 | 31,25/31,25 | 125/125 | 31,25/31,25 | 7,81/7,81 |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | 31,25/62,5 | 125/125 | 31,25/31,25 | 7,81/7,81 |

3.16.4 Avaliação da Atividade de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase

A acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima pertencente à família das colinesterases. Ela está presente no sistema nervoso central e periférico,¹⁴³ sendo responsável pela finalização da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas, pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh).

A ACh é um dos maiores moduladores da função cerebral e é o principal neurotransmissor do sistema nervoso periférico. A regulação na liberação da ACh é crucial para a função do sistema nervoso, sendo a enzima colina acetiltransferase (ChAT) responsável pela síntese da ACh. A ACh é armazenada em vesículas sinápticas, sendo liberada para transmitir o impulso colinérgico. Esse impulso é estreitamente regulado pela enzima AChE, a qual hidrolisa o neurotransmissor ACh em colina (Ch) e acetato, restaurando, assim, a polarização original da membrana pós-sináptica, tornando possível outra vez o impulso nervoso (Esquema 71).¹⁴⁴

Esquema 71:



A inibição da acetilcolinesterase (AChE) humana tem várias aplicações importantes na área da saúde. É empregada em tratamentos médicos, especialmente para o controle da doença de Alzheimer (DA), que é uma das principais causadoras de demência em idosos e que afeta cerca de 35,6 milhões de pessoas em todo o mundo.¹⁴⁵

Para o ano 2050, a prevalência mundial da doença de Alzheimer aumentará para 106,8 milhões de casos.¹⁴⁶

Caracterizada pelo neuropatologista alemão Aloiz Alzheimer, em 1907, a doença de Alzheimer (DA) é uma afecção neurodegenerativa progressiva e irreversível que afeta a memória e acarreta diversos distúrbios cognitivos.¹⁴⁷ Erroneamente é conhecida como “esclerose” e muitos a denominam “mal do século”. Contudo, ainda é pouco divulgada mesmo com os grandes impactos que gera na vida dos pacientes.¹⁴⁸

Os sintomas principais apresentados pela doença são dano gradual da memória, mudanças significativas de personalidade sem motivo, desorientação quanto ao tempo e ao espaço, dificuldade de memorização, déficit cognitivo e queda na realização de atividades cotidianas.¹⁴⁷⁻¹⁴⁸ Algumas características observadas nos pacientes estão diretamente relacionadas ao aparecimento da doença, como a presença de placas neuríticas constituídas principalmente de proteína- β -amiloide, que se acumulam no meio cerebral, a formação de emaranhados fibrilares intraneurais e a acentuada queda na quantidade de neurotransmissores cerebrais nas regiões da sinapse, principalmente acetilcolina (ACh), glutamato, dopamina e serotonina.¹⁴⁹

Nos portadores da DA, a concentração da acetilcolina é reduzida devido ao déficit colinérgico que faz com que os neurônios a produzam em baixas quantidades. Dessa forma, as funções cognitivas dos pacientes com DA ficam comprometidas.¹⁴⁹

Por isso, uma das primeiras tentativas de corrigir o déficit colinérgico presente na doença foi a produção de análogos da ACh. A intenção das pesquisas realizadas com compostos estruturalmente relacionados à ACh seria a de produzir candidatos capazes de aumentar os níveis cerebrais de colina (Ch), melhorando, assim, a biossíntese do neurotransmissor.¹⁵⁰ Porém, os resultados obtidos não foram satisfatórios devido à presença de efeitos colaterais indesejáveis. No entanto, a terapia atual para melhorar a transmissão colinérgica está baseada no uso de inibidores da AChE. É a melhor maneira de aumentar a concentração de ACh, uma vez que a AChE possui uma alta eficiência catalítica, com capacidade de hidrolisar até 6×10^5 moléculas de ACh por molécula de enzima por minuto.¹⁵¹ Apesar de a DA não ter cura, esse caminho consagrou os melhores resultados nos testes clínicos, recuperando parcialmente os pacientes da perda de memória e déficit cognitivo.¹⁵²

Com isso, novos inibidores reversíveis da AChE (AChEi) têm sido sintetizados e testados frente às diferentes isoformas da enzima, com o objetivo de descobrir drogas com maior afinidade e seletividade na ação farmacológica.¹⁵³ Os AChEi também são

empregados para combater desordens neuromusculares, tais como a *miastenia gravis* e o glaucoma.¹⁵⁴

Atualmente, algumas drogas já são aprovadas como fármacos pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e no Brasil pela Anvisa para o tratamento da DA: a Tacrina (THA, Cognex[®]),¹⁵⁵ o Donepezil (Aricept[®]),¹⁵⁶ a Rivastigmina (Exelon[®])¹⁵⁷ e a Galantamina (Remynil[®])¹⁵⁸ (Figura 64).

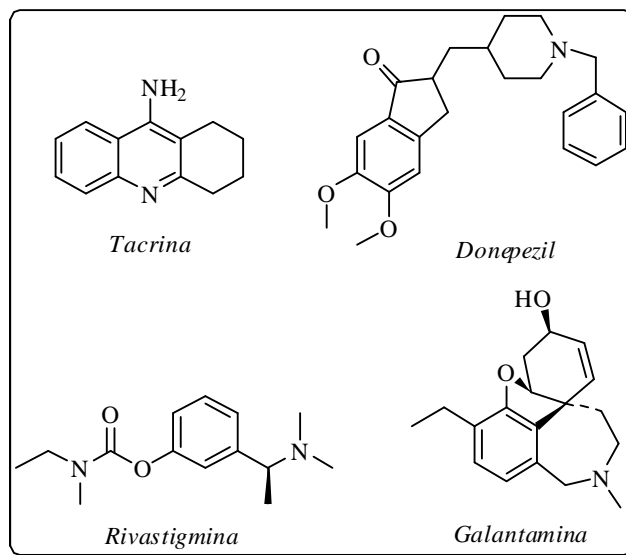


Figura 64. Inibidores da AChE empregados para o tratamento da DA.

A tacrina, entretanto, tem uso limitado, pois, além de estar associada à hepatotoxicidade e à incidência de efeitos colaterais, exige altas dosagens diárias (4x), levando os pacientes a interromperem o tratamento.¹⁵⁹

Devido ao interesse biológico sobre os compostos AChEi, mostra-se a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos inibidores da AChE que tenham menores riscos de efeitos colaterais, maior potência e ação prolongada. Sendo assim, tem-se como objetivo, neste trabalho, avaliar o efeito dos compostos heterocíclicos inéditos, previamente sintetizados, sobre a atividade da enzima AChE.

3.16.4.1 Resultados da atividade de inibição da enzima AChE

Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição para a enzima AChE, na concentração de 200 μ M, para cada composto analisado (Tabela 35) (Gráfico 9). Os melhores valores registrados foram atribuídos aos compostos 2-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15a**) e 2-(3-

fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11bd**), com valores de 49,89 e 42,22% de inibição da enzima AChE, respectivamente.

Outros bons resultados atribuem-se às substâncias da série dos 1,3,4-oxadiazóis **14**, que variaram seu grau de inibição de 27,92 a 38,65%, observando que o composto com a melhor inibição (38,65%) tem em sua estrutura substituintes fenilas nos anéis pirazol e oxadiazol, no caso o 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14bb**).

Nos compostos da série **7**, o composto com substituinte fenila na posição 3 do anel pirazol (**7b**) apresentou maior inibição frente à AChE (24,99%) quando comparado aos outros contendo metila (**7a**) ou 2-furila (**7c**) como substituinte. Assim, também se observou que, na série dos pirróis **18**, o **18b** (R = Ph) teve maior porcentagem de inibição, 30,69%.

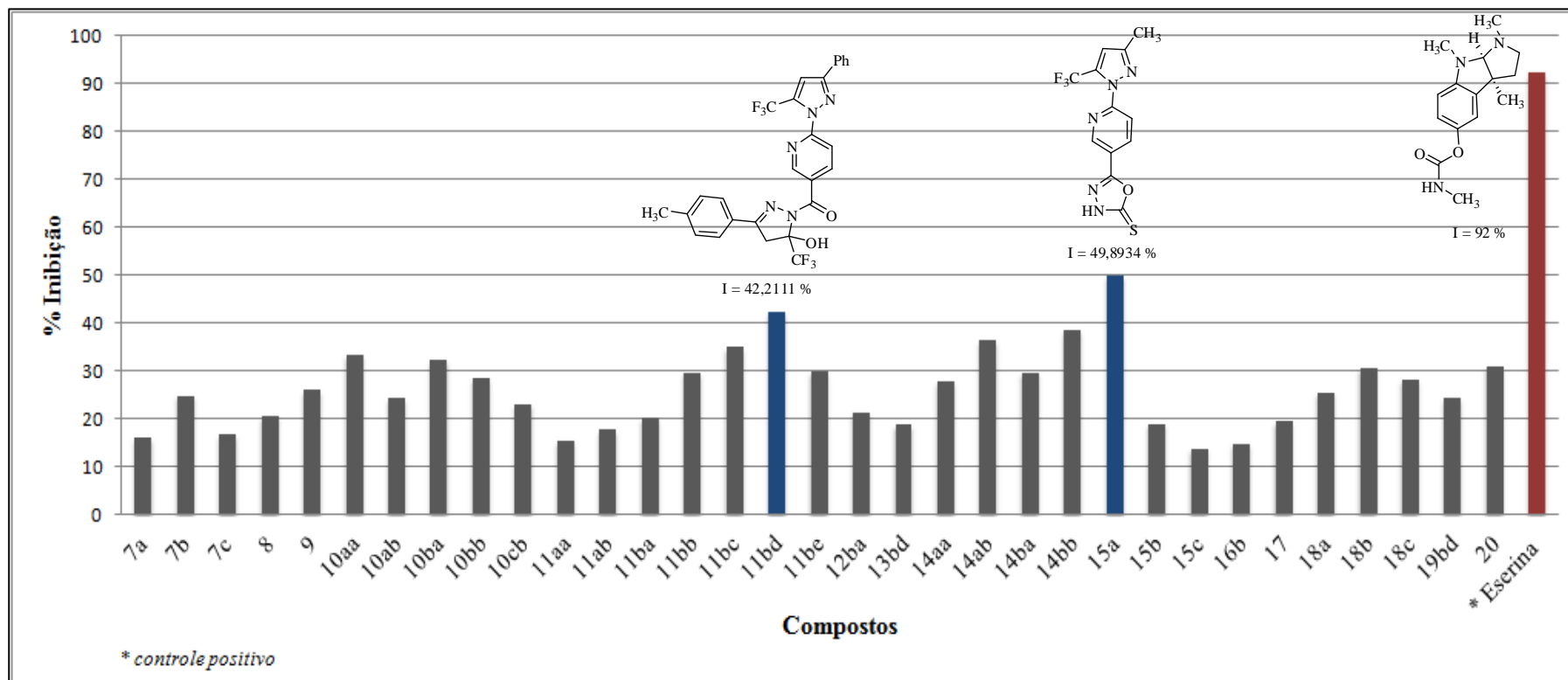
O potencial inibitório das substâncias *bis*-pirazóis trialometilados **10ba** e **11bd** frente à enzima AChE foi diminuído quando comparado ao seu análogo desidratado **12ba** e **13bd**. Porém, para o composto **8** sintetizado com o regente acetilacetona, o seu potencial foi aumento em apenas 6% quando submetido à reação de desidratação com piridina/benzeno, na presença de cloreto de tionila (**9**).

Tabela 35. Porcentagem de inibição para a enzima AChE dos composto analisados

| Comp. | % inibição ^a | Comp. | % inibição ^a | Comp. | % inibição ^a |
|-------------|-------------------------|-------------|-------------------------|-------------|-------------------------|
| 7a | 16,0530 | 11ab | 17,7954 | 14bb | 38,6516 |
| 7b | 24,9905 | 11ba | 20,2929 | 15a | 49,8934 |
| 7c | 16,8272 | 11bb | 29,7723 | 15b | 19,1271 |
| 8 | 20,5475 | 11bc | 35,0156 | 15c | 13,9159 |
| 9 | 26,0919 | 11bd | 42,2111 | 16b | 14,8976 |
| 10aa | 33,4741 | 11be | 29,9762 | 17 | 19,4935 |
| 10ab | 24,3562 | 12ba | 21,4598 | 18a | 25,6373 |
| 10ba | 32,3166 | 13bd | 18,8192 | 18b | 30,6866 |
| 10bb | 28,6458 | 14aa | 27,9186 | 18c | 28,3568 |
| 10cb | 23,2264 | 14ab | 36,4149 | 19bd | 24,4511 |
| 11aa | 15,4531 | 14ba | 29,8105 | 20 | 31,1154 |

^a [] = 200 µM

Gráfico 9: Compostos (concentração de 200 μM) *versus* % de inibição da AChE



3.16.5 Ensaio *in silico*

Em colaboração com o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular – UFSM, a partir dos resultados obtidos e com o objetivo de compreender a interação entre a enzima e o inibidor, foi realizado o *docking* entre a AChE e o composto 2-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15a**), por este apresentar o melhor valor de porcentagem de inibição da enzima através do ensaio colorimétrico quantitativo previamente realizado (49,89% na concentração de 200μM).

Os resultados do *docking* molecular, demonstraram que ambos os isômeros, **15a** e **15a'** (Figura 65) interagem na mesma região da AChE, impedindo a entrada da acetilcolina (ACh) (Figura 66). A sobreposição dos ligantes demonstra que, independente do isômero, eles irão interagir na mesma região (Figura 67). Mas, de acordo com a energética do processo, **15a** é mais favorável, já que apresentou um $\Delta G = -9,7$ kcal/mol, que é mais espontâneo energeticamente que **15a'**, em que o $\Delta G = -9,3$ kcal/mol.

Na figura 68, é possível ver as interações entre o composto **15a** e a AChE, na qual se observa uma ligação de hidrogênio entre a hidroxila da Tyr121 e o nitrogênio da porção pirimídica do ligante, e também duas interações π - π , uma entre a Phe330 e o anel pirazol, e outra entre a Tyr334 e a piridina. Observa-se, também, que o composto atua no Sub Sítio Aniônico Periférico, impedindo a entrada e a consequente hidrólise da ACh pela Ser200. Logo, a inibição da AChE causa o aumento da concentração da ACh e ativação da transmissão colinérgica nas sinapses do nervo,¹⁶⁰ sendo um bom método para o tratamento da doença de Alzheimer.¹⁶¹

Ademais, os resultados do *docking* demonstram que o composto atua no Sub Sítio Aniônico Periférico, impedindo a entrada da ACh na tríade catalítica, inibindo, consequentemente, a AChE, o que está de acordo com os dados experimentais, já que o ensaio apresentou um IC_{50} de 200 μM.

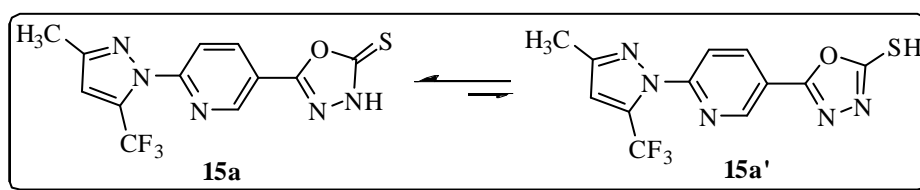


Figura 65. Equilíbrio químico do composto

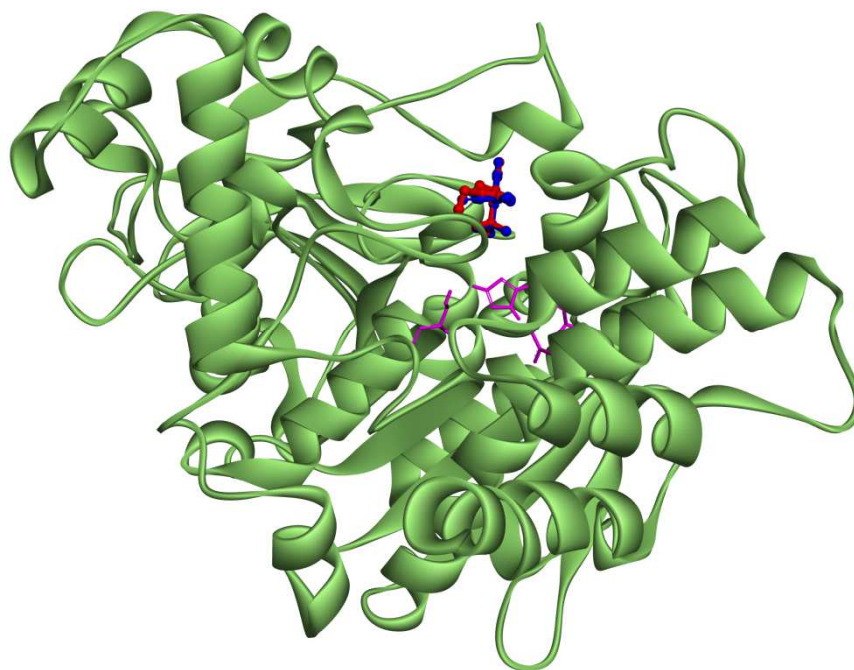


Figura 66. Resultado do *docking* molecular, em que os isômeros/tautômeros **15a** (em azul) e **15a'** (em vermelho), apresentam interagir na mesma região da enzima (AChE em verde), no Sub Sítio Aniônico Periférico (SSAP), impedindo a entrada da ACh na tríade catalítica: Ser200, Glu327 e His400 (em rosa).

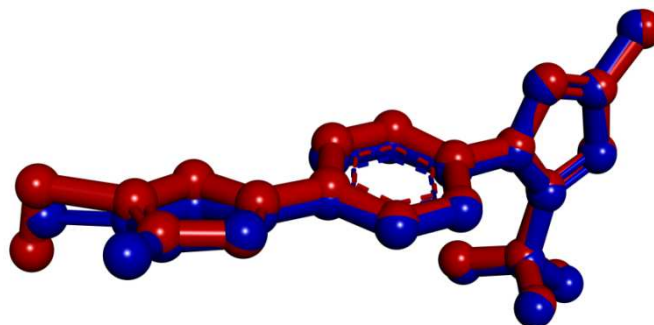


Figura 67. Sobreposição dos isômeros/tautômeros **15a** (em azul) e **15a'** (em vermelho), demonstrando que ambos atuam na mesma região da enzima.

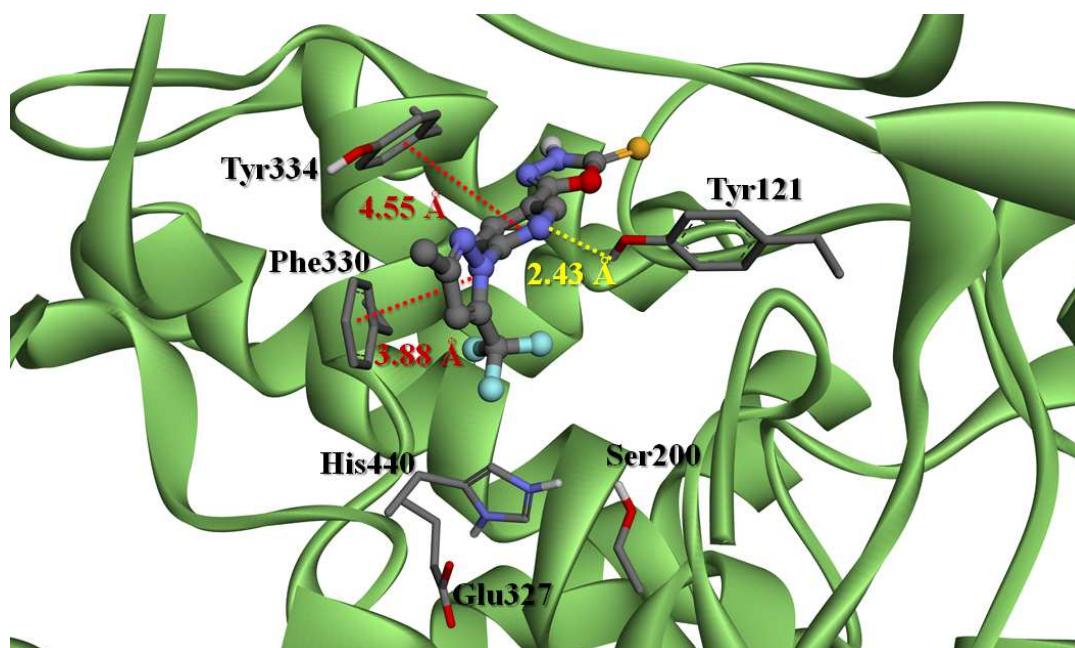


Figura 68. Interações entre o composto **15a** e a enzima AChE (PDB: 1EA5), logrados do Auto Dock Vina. É possível observar uma ligação de hidrogênio (linhas pontilhadas em amarelo) e duas interações π - π (linhas pontilhadas em vermelho). O composto é apresentado na forma bola e bastão, e os aminoácidos na forma de bastão. São mostrados apenas os átomos de hidrogênio polares.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes e Solventes Utilizados

Os reagentes e solventes empregados para a síntese dos compostos em estudo apresentam qualidade técnica ou P.A., e/ou foram purificados segundo metodologias usuais de laboratório.¹⁶² Os reagentes e solventes utilizados estão descritos a seguir:

4.1.1 Reagentes

- 1-Metoxipropeno;
- 2,4-Pentanodiona;
- 4-alquil(aril/heteroaril)-1,1,1-triflúor-4-metóxi-3-alquen-2-ona;
- 4-alquil(aril/heteroaril)-1,1,1-tricloro-4-metóxi-3-alquen-2-ona;
- Acetais sintetizados e purificados, conforme técnicas descritas;
- Ácido 4-toluenossulfônico hidratado;
- Ácido acético glacial;
- Ácido clorídrico 37% P.A.;
- Ácido sulfúrico concentrado;
- Acetilacetona
- Cetonas em geral;
- Aldeídos em geral;
- Anidrido trifluoracético;
- Cloreto de tricloroacetila;
- Carbonato de potássio anidro;
- Carbonato de sódio anidro;
- Cloreto de tionila;
- Dissulfeto de carbono;
- Hexano-2,5-diona;
- Hidrazida 6-hidrazinonicotínica (**1**);
- Hidrazina hidratada 24%;
- Hidróxido de potássio;
- Hidróxido de sódio;
- Ortoformiato de trimetila;

- Ortoacetato de trietila;
- Ortobenzoato de trimetila;
- Sulfato de magnésio anidro.

4.1.2 Solventes

- Acetona P.A.;
- Água destilada;
- Álcool Etílico destilado sob magnésio e iodo;
- Álcool Etílico absoluto P.A.;
- Álcool Metílico destilado sob magnésio e iodo;
- Acetato de Etila;
- Clorofórmio destilado sob P₂O₅;
- Diclorometano deslitado sob P₂O₅;
- Éter etílico;
- Éter diisopropílico;
- Piridina destilada sob hidróxido de potássio;
- Dimetilsulfóxido deuterado;
- Clorofórmio deuterado;
- Hexano;
- Tetrametilsilano.

4.2 Aparelhos Utilizados

4.2.1 Espectroscopia de RMN

Os espectros de RMN de ¹H, ¹³C {¹H}, ¹⁹F, COSY 90, DEPT 135 e HSQC foram registrados em um espectrômetro BRUKER DPX-400 e/ou BRUKER AVANCE III DPX-600, realizados no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear – Lab. RMN, anexo ao prédio 18 e Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas – NAPO, prédio 15 ambos do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

Os dados de ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ^{19}F , COSY 90, DEPT 135 e HSQC, registrados no aparelho BRUKER DPX-400 ou BRUKER AVANCE III DPX-600, foram obtidos em tubos de 5 mm na temperatura de 298 – 323 K, em dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$) ou clorofórmio deuterado (CDCl_3) utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna sendo que para ^{19}F com referência interna de monofluorbenzeno ($\text{C}_6\text{H}_5\text{F}$) ou tricloromonofluormetano (CFCl_3) como referência externa ($\delta = 0,0$ ppm).

As condições usadas no espectrômetro foram: SF 400,13 MHz para ^1H ; 100,61 MHz para ^{13}C ; 376,46 MHz para ^{19}F ; *lock* interno pelo ^2D ; largura de pulso 8,0 μs para (^1H) e 13,7 μs para (^{13}C); tempo de aquisição 6,5 s para (^1H) e 7,6 s para (^{13}C); janela espectral 2400 Hz para (^1H) e 11500 Hz para (^{13}C); número de varreduras de 8 a 64 para (^1H) e 2000 a 20000 para (^{13}C); dependendo do composto, número de pontos 65536 com resolução digital Hz/ponto igual a 0,677065 para (^1H) e 0,371260 para (^{13}C). A reprodutibilidade dos dados de deslocamento químico é estimada ser de mais ou menos 0,01 ppm.

4.2.2 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital MQAPF-302, marca Micro Química Equipamentos Ltda.

4.2.3 Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises por cromatografia gasosa foram efetuadas em um Cromatógrafo a gás HP 6890, acoplado a um espectrômetro de Massas HP 5973 (CG/MS), com Injetor automático HP 6890 Coluna HP-5MS (Crosslinked 5% de PH ME Siloxane). As condições utilizadas foram as seguintes: temperatura máxima de 325 °C (30 m x 0.32 mm, 0,25 μm); fluxo de gás Hélio de 2 mL/min, pressão de 5,05 psi; temperatura do injetor 250 °C; seringa de 10 μL , com injeção de 1 μL ; temperatura inicial do forno de 70 °C por 1 min e após aquecimento de 12 °C por min até 280 °C, realizadas no prédio 15 do NAPO da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

Para a fragmentação dos compostos, foi utilizado impacto de elétrons de 70 eV no espectrômetro de massas.

4.2.4 Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas (LC/MS/MS)

As análises por cromatografia líquida foram realizadas através de Cromatografia Líquida acoplada a detector de massas em série (LC-MS/MS), modelo Agilent Q 6460, com ionização por eletrospray (ESI), foram realizadas no Prédio 15 do NAPO da Universidade Federal de Santa Maria, RS.

O espectrômetro de massas foi operado no modo positivo de ionização. Nitrogênio foi utilizado na nebulização (*jetstream*) e também na cela de colisão (CID). A voltagem do capilar foi mantida em + 3500 V. A temperatura da fonte foi de 300 °C com um fluxo de 5 L/min. A temperatura do *jetstream* foi de 250 °C com um fluxo de 11 L/min. Todas as amostras foram injetadas com amostrador automático, em volume de 1µL. Os dados foram adquiridos no modo *scan*, na faixa m/z 50 – 500 e no modo íon produto (*product ion*) MS/MS.

4.2.5 Análise elementar

As análises elementares foram realizadas em um analisador Perkin Elmer 2400 CHN, no Instituto de Química, Central Analítica, USP, São Paulo, SP, Brasil.

4.2.6 Cálculos Teóricos

Todos os cálculos DFT (*Density Functional Theory*) foram realizados no pacote de programas Gaussian 09, sendo o método DFT B3LYP associado com a base cc-pVDZ o nível de teoria empregado.⁹⁰

4.2.7 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HMRS)

As análises por espectrometria de massas de alta resolução foram efetuadas em um Espectrômetro Agilent-QTOF 6530, realizadas no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) da Universidade Federal de Santa Maria e Micro TOF Bruker Daltonic do Instituto de Química, Central Analítica, USP, São Paulo, SP, Brasil.

4.2.8 Espectroscopia vibracional de infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram feitos na forma sólida em pastilhas de KBr (2,0 a 3,0 mg do composto para cada 100 mg de KBr). Utilizou-se o aparelho Espectrofotômetro Bruker Tensor – 27, localizado no subsolo prédio 18 do Departamento de Química da UFSM, com uma janela espectral entre 4000 e 400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.9 Difração de Raios-X

A análise de difração de raios-X dos compostos foi realizada em monocristal em um difratômetro automático de quatro círculos com detector de área Bruker Kappa APEX-II CCD 3 kW Sealed Tube System, dotado de um monocromador de grafite e fonte de radiação Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$)¹⁶³ instalado no Departamento de Química da UFSM. A solução e o refinamento das estruturas foram feitos utilizando o pacote de programas SHELXS-97.¹⁶⁴ Os parâmetros estruturais foram obtidos através do refinamento, baseando-se nos quadrados dos fatores estruturais e na técnica da matriz completa/mínimos quadrados. Os átomos não hidrogenóides restantes foram localizados através de sucessivas diferenças de Fourier e refinados com parâmetros térmicos anisotrópicos.⁴² As coordenadas dos átomos de hidrogênio foram, então, localizadas a partir das densidades encontradas no mapa de Fourier. As projeções gráficas foram construídas utilizando-se o programa *Ortep3 for Windows*.¹⁶⁵

4.3 Procedimentos Experimentais Sintéticos

4.3.1 Síntese de acetais – procedimento geral^{13a-b,13g,166}

A uma solução da cetona respectiva (667 mmol) e ortoformiato de trimetila (84,8 g, 800 mmol) em metanol anidro (50 mL), adicionou-se ácido *p*-tolueno sulfônico (0,19 g, 1 mmol). Após ter ficado em repouso por 24 horas à temperatura ambiente com recipiente fechado com tubo secante, o meio reacional foi neutralizado com carbonato de sódio anidro (30 g), e filtrado à pressão ambiente. O metanol e o ortoformiato de trimetila (excesso) foram retirados em rotaevaporador e o respectivo acetal foi então destilado à pressão reduzida (temperatura de ebulição: do (1,1-dimetóxi-etil)benzeno =

57 °C, 3,3 mbar; do 2-(1,1-dimetóxi-etil)furano = 40 °C, 7 mbar; do 4-metil-(1,1-dimetóxi-etil)benzeno = 60 °C, 2,2 mbar; do 4-metóxi-1-(1,1-dimetóxi-etil) benzeno = 50 °C, 10 mbar).

4.3.2 Síntese de 4-alkil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-4-metóxi-3-alken-2-onas (**2a-e**, **3a-b**)

Método A: Síntese de **2a**, **3a** – procedimento geral^{13a-b,13g}

A uma solução do enoléter (1-metóxi-propeno) (30 mmol) e piridina tratada (30 mmol) em clorofórmio seco (30 mL), em banho de gelo a 0 °C e sob agitação magnética em sistema fechado, foi adicionado anidrido trifluoracético ou cloreto de tricloroacetila (30 mmol). A mistura foi deixada sob agitação durante 24 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi lavada com uma solução de ácido clorídrico 0,1 M (3 x 15 mL) e água destilada (1 x 15 mL). A fase orgânica foi desidratada com sulfato de magnésio anidro. O solvente foi removido em rotaevaporador, à pressão reduzida, e o produto, purificado através de destilação, sob pressão reduzida (temperatura de ebulição: **2a** = 35 °C, 1 mbar; **3a** = 45 °C, 5 mbar)

Método B: Síntese a partir de acetais **2b-e**, **3b** – procedimento geral^{13a-b,13g}

A uma solução de acetal (30 mmol) e piridina tratada (60 mmol) em clorofórmio seco (30 mL), em banho de gelo a 0 °C e sob agitação magnética em sistema fechado, foi adicionado anidrido trifluoracético ou cloreto de tricloroacetila (60 mmol). A mistura foi agitada durante 16 horas, a 45 °C. A seguir, a mistura foi lavada com uma solução de ácido clorídrico 0,1 M (3 x 15 mL) e água destilada (1 x 15 mL). A fase orgânica foi desidratada com sulfato de magnésio anidro, o solvente removido em rotaevaporador, à pressão reduzida, e os produtos (**2b-e**) purificados através de destilação sob pressão reduzida (temperatura de ebulição **2b** = 57 °C, 3 mbar; **2c** = 92 °C, 6 mbar, **2d** = 111 °C, 1 mbar; **2e** = 85 °C, 2 mbar).

4.3.3 Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-*alquil(aril/heteroaril)-5-hidroxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]*piridinas (**4a-c**)^{41,50,86}

Em um balão reacional munido de agitação magnética e condensador de refluxo, adicionou-se 1,1,1-trifluormetil-4-*alquil(aril/heteroaril)-4-metóxi-3-alquen-2-ona* **2** (10 mmol) e hidrazida 6-hidrazinonicotínica (5 mmol) em 15 mL de etanol. A mistura reacional foi então refluxada por 4 horas. Os produtos (**4b-c**) apresentaram-se como sólidos durante o período reacional, sendo posteriormente filtrados em funil de Büchner com etanol P.A. gelado e submetidos à pressão reduzida em linha de vácuo, para eliminação de solvente residual. O composto **4a** foi rotaevaporado após as 4 horas de reação e seco sob pressão reduzida em dessecador contendo P₂O₅, apresentando-se como sólido amarelo claro.

4.3.4 Síntese dos Ácidos 6-[3-*alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]*nicotínicos (**5a-c**)⁵⁰

A uma solução de 2-[3-*alquil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-il]-5-[3-*alquil(aril/heteroaril)-5-hidróxi-5-trifluormetil-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]*piridinas (**4a-c**) (1 mmol) em uma mistura de etanol P.A.:água (7:3 v/v) (10 mL), sob agitação magnética, à temperatura ambiente (20 – 25 °C), foi adicionado, gota a gota de uma solução de NaOH 2,5 M (5 mL). A mistura foi refluxada por 20 horas. Após o tempo reacional, a mistura foi resfriada em banho de gelo (< 5 °C), e neutralizada com HCl 37%. Os sólidos **5a-c** foram filtrados em funil de Büchner, lavados com água destilada gelada (20 mL) e secos sob pressão reduzida em dessecador contendo P₂O₅.*

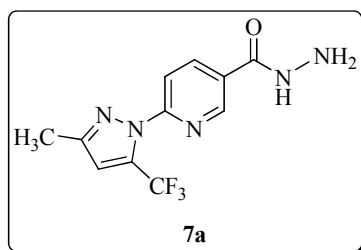
4.3.5 Síntese de Cloridrato de nicotinato de 6-[3-*alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]*metila (**6a-c**)⁵⁰

Os ácidos pirazolil-nicotínicos **5a-c** (1 mmol) foram adicionados a uma solução de metanol (10 mL) e SOCl₂ (1,1 mL, 15 mmol) a 0 °C e sob agitação magnética. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Os sólidos **6a-c** foram isolados por filtração em funil de Büchner, lavados com metanol

gelado, secos sob pressão reduzida em dessecador contendo P_2O_5 . Para o caso específico de **6b** uma recristalização em acetona foi ainda necessária. Os metil-ésteres obtidos foram todos isolados na forma de cloridratos.

4.3.6 Síntese de 6-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas (**7a-c**)

A uma solução de etanol absoluto (5 mL) e cloridrato de nicotinato de 6-[3- alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]metila **6a-c** (1 mmol) foram adicionados, sob agitação, 0,5 mL de hidrazina hidratada 24% ($NH_2NH_2 \cdot H_2O$). Após a adição, a reação foi posta à temperatura de refluxo ($\approx 78\text{ }^\circ\text{C}$) durante 20 horas, mantendo-se a agitação magnética durante todo o tempo decorrido. Ao término do tempo reacional, os produtos **7a-c** sólidos foram isolados por filtração, lavados com solução de etanol P.A./ H_2O gelados, secos sob pressão reduzida num dessecador contendo P_2O_5 .

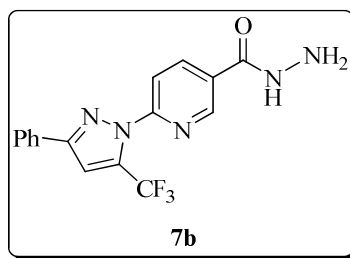


6-(5-Trifluormetil-3-metil-1H-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7a): sólido branco, rendimento 73%, p.f 155 – 157 $^\circ\text{C}$.

RMN ^1H (400,13 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,96 (s, 1H, NH); 8,86 (s, 1H, H-2_{py}); 8,38 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 8$ Hz); 7,91 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 9$ Hz); 7,04 (s, 1H, H-4_{pz}); 4,56 (s, 2H, NH_2); 2,34 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 163,1 (CO); 151,7 (C-6_{py}); 150,1 (C-3_{pz}); 146,4 (C-2_{py}); 138,1 (C-4_{py}); 131,5 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 127,8 (C-3_{py}); 119,7 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF_3); 114,9 (C-5_{py}); 112,2 (q, $^3J_{\text{C-F}} = 3$, C-4_{pz}); 12,8 (CH_3).

HRMS (ESI): Valor calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}$: 286,0915($\text{M}+\text{H}^+$), experimental: 286,0987.

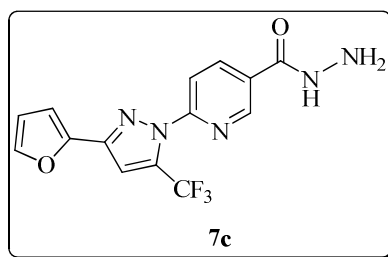


6-(5-Trifluorometil-3-fenil-1H-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (7b): sólido branco, rendimento 62%, p.f 217 – 219 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 10,08 (s, 1H, NH); 8,93 (s, 1H, H-2_{py}); 8,47 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5_{py}); 8,10 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 8$ Hz); 8,03 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,81 (s, 1H, 4_{pz}); 7,46 – 7,54 (m, 3H, Ph); 4,57 (s, 2H, NH₂).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,1 (CO); 151,8 (C-6_{py}); 151,7 (C-3_{pz}); 146,5 (C-2_{py}); 138,2 (C-4_{py}); 132,5 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,5 (Ph); 129,1 (Ph); 128,8 (Ph); 128,3 (C-3_{py}); 125,7 (Ph); 119,6 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 267$ Hz, CF₃); 115,5 (C-5_{py}); 109,8 (q, $^3J_{\text{C-F}} = 3$, C-4_{pz}).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₆H₁₂F₃N₅O: 348,1072 (M+H⁺), experimental: 348,1064.



6-[5-Trifluorometil-3-(fur-2-ila)-1H-pirazol-1-il] nicotinoidrazida (7c): sólido marrom claro, rendimento 57%, p.f 204 – 206 °C.

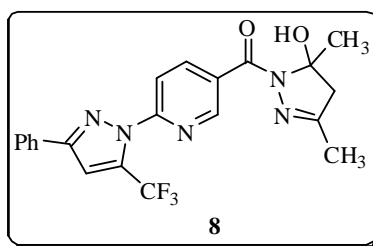
RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 10,04 (s, 1H, NH); 8,92 (d, 1H, H-2_{py}, $J = 2$ Hz); 8,46 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5_{py}); 8,02 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 8$ Hz); 7,84 (s, 1H, fur); 7,56 (s, 1H, 4_{pz}); 7,08 (d, 2H, fur, $J = 3$ Hz); 6,67 (dd, 3H, fur, $J = 3$ Hz); 4,61 (s, 2H, NH₂).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,1 (CO); 151,5 (C-6_{py}); 146,5 (C-3_{pz}); 145,6 (C-2_{py}); 144,2 (fur); 143,8 (fur); 138,3 (C-4_{py}); 132,2 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 41$ Hz, C-5_{pz}); 128,3 (C-3_{py}); 119,4 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 269$ Hz, CF₃); 115,4 (C-5_{py}); 111,7 (fur); 109,2 (fur); 109,4 (q, $^3J_{\text{C-F}} = 3$, C-4_{pz}).

HRMS (ESI): Valor calculado para $C_{16}H_{13}Cl_3F_3N_5O_2$: 338,0866 ($M+H^+$), experimental: 338,0832.

4.3.7 Síntese do composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina **8**

A uma solução de etanol absoluto tratado (10 mL) e do composto **7b** (0,347 g, 1 mmol) adicionou-se 2,4-pentanodiona (0,2 mL, 0,2 g, 2 mmol) e gotas (0,3 mL) de trietilamina (Et_3N), sob agitação magnética. A reação permaneceu em refluxo por 16 horas. Após o término do tempo reacional evaporou-se o solvente em rotaevaporador, o sólido isolado foi filtrado, lavado com EtOH gelado para retirada de excesso do 1,3 dicarbonílico e o solvente residual removido num dessecador sob pressão reduzida sobre P_2O_5 .



2-(3-fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (8): sólido bege, rendimento 72%, p.f 131 – 133 °C.

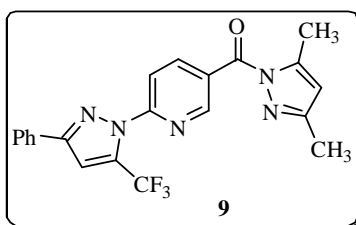
RMN 1H (400,13 MHz, $DMSO-d_6$): δ 8,80 (s, 1H, H-6_{py}); 8,34 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 8$ Hz); 8,06 (d, 3H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,02 (d, 1H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,78 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,53 – 7,46 (m, 3H, Ph); 6,51 (s, 1H, OH); 3,02 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 18$ Hz); 2,91 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 18$ Hz); 1,98 (s, 3H, CH_3); 1,92 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, $DMSO-d_6$): δ 162,9 (CO); 156,1 (C-3_{pzl}); 151,7 (C-2_{py}); 150,9 (C-3_{pz}); 148,1 (C-6_{py}); 140,0 (C-4_{py}); 132,5(q, C-5_{pz}, $^2J_{C-F} = 40$ Hz); 131,3 (Ph); 130,6 (C-5_{py}); 129,1 (Ph); 128,8 (Ph); 125,7 (Ph); 119,6 (q, $^1J_{C-F} = 268$ Hz, CF_3); 114,9 (C-3_{py}); 109,7 (q, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 91,5 (C-5_{pzl}); 51,7 (C-4_{pzl}); 25,7 (CH_3); 15,7 (CH_3).

Análise Elementar Calculada para $C_{21}H_{18}F_3N_5O_2$ (429,39): C, 58,74; H, 4,23; N, 16,31; Experimental: C, 58,41; H, 4,59; N, 16,04%.

4.3.8 Síntese do composto 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9)

A uma solução de etanol absoluto tratado (10 mL) e do composto **7b** (0,347 g, 1 mmol) adicionou-se 2,4-pentanodiona (0,2 mL, 0,2 g, 2 mmol) e gotas (0,3 mL) de ácido acético glacial (AcOH), sob agitação magnética. A reação permaneceu em refluxo por 16 horas. Após o término do tempo reacional evaporou-se o solvente em rotaevaporador, o sólido isolado foi filtrado, lavado com EtOH gelado para retirada de excesso do 1,3 dicarbonílico e o solvente residual removido num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (9): sólido amarelo claro, rendimento 71%, p.f 128 – 130 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (s, 1H, H-6_{py}); 8,55 (d, 1H, H-4_{py}, *J* = 8 Hz); 8,16 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 8,03 (d, 2H, Ph, *J* = 7 Hz); 7,82 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,53 – 7,48 (m, 3H, Ph); 6,33 (s, 1H, H-4_{pz}); 2,60 (s, 3H, CH₃); 2,20 (s, 3H, CH₃).

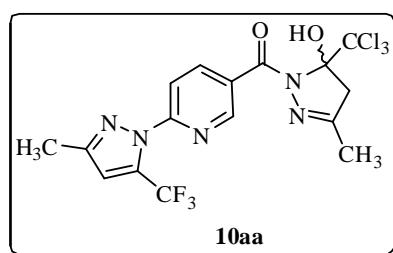
RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,9 (CO); 152,3 (C-3_{pz}); 152,0 (C-3_{pz}); 151,8 (C-2_{py}); 149,0 (C-6_{py}); 144,5 (C-5_{pz}); 141,7 (C-4_{py}); 132,6 (q, C-5_{pz}, *J* = 40 Hz); 130,4 (C-4_{py}); 129,1 (Ph); 128,7 (Ph); 128,5 (Ph); 125,7 (Ph); 119,5 (q, CF₃, ¹*J*_{C-F} = 268 Hz); 114,6 (C-5_{py}); 111,6 (C-4_{pz}); 110,2 (q, *J* = 3 Hz, C-4_{pz}); 13,6 (CH₃); 13,3 (CH₃).

RMN ¹⁹F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -57,88 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₁H₁₆F₃N₅O (411,38): C, 61,31; H, 3,92; N, 17,02; Experimental: C, 61,18; H, 4,12; N, 16,95%.

4.3.9 Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-(5-triclorometil-5-hidróxi-3-alquil(aril)-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridinas (10)

A uma solução de etanol absoluto tratado (10 mL) e pirazolil nicotinoidrazidas **7a-c** (1 mmol) foram adicionados a t.a., sob agitação, 4-alkil(aril)-1,1,1-triclorometil-4-metóxi-3-alquen-2-ona (**3a-b**). Para o reagente **7a** a reação necessitou de 3 gotas de ácido acético glacial. A reação permaneceu durante 16 horas em temperatura de refluxo com agitação magnética. Após o tempo reacional, foi evaporado o solvente em rotaevaporador e os sólidos **10** foram isolados por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com etanol P.A. e água destilada (4:1) gelados e recristalizados em etanol e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



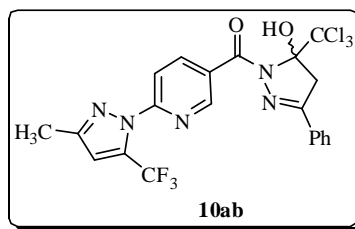
2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-triclorometil-5-hidróxi-3-metil-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10aa): sólido amarelo cristalino, rendimento 71%, p.f 109 – 111 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃): δ 8,98 (d, 1H, H-6_{py}, *J* = 2 Hz); 8,29 (dd, 1H, H-4_{py}, ⁴*J* = 2 Hz em relação ao H-6_{py} e ³*J* = 8 Hz em relação ao H-3_{py}); 7,91(d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 6,70 (s, 1H, H-4_{pz}); 3,58 (d, 1H, H-4_{pzl}, ²*J* = 19 Hz); 3,32 (d, 1H, H-4_{pzl}, ²*J* = 19 Hz); 2,37 (s, 3H, CH_{3py}) 2,04 (s, 3H, CH_{3pzl}).

RMN ¹³C (100,61 MHz, CDCl₃): δ 169,8 (CO); 157,0 (C-3_{pzl}); 152,7 (C-2_{py}); 150,3 (C-3_{pz}); 150,0 (C-6_{py}); 140,2 (C-4_{py}); 133,2 (q, ²*J*_{C-F} = 40 Hz, C-5_{pz}); 128,0 (C-5_{py}); 119,8 (q, ¹*J*_{C-F} = 268 Hz, CF₃); 114,1 (C-3_{py}); 112,2 (q, ³*J*_{C-F} = 3, C-4_{pz}); 103,6 (CCl₃); 102,5 (C-5_{pzl}); 50,1 (C-4_{pzl}); 15,6 (CH_{3pzl}); 13,4 (CH_{3pz}).

RMN ¹⁹F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,60 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₁₆H₁₃Cl₃F₃N₅O₂ (470,66): C, 40,83; H, 2,78; N, 14,88; Experimental: C, 40,93; H, 2,82; N, 15,09%.



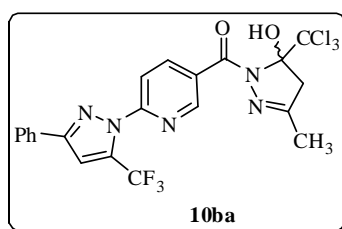
2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10ab): sólido laranja claro, rendimento 80%, p.f 127 – 128 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,82 (s, 1H, H-6_{py}); 8,40 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 10$ Hz); 8,30 (s, OH); 8,00 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 7,71 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,5 – 7,44 (m, 3H, Ph); 7,07 (s, 1H, H-4_{pz}); 4,11 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,88 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,37 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 166,1 (CO); 154,0 (C-3_{pzl}); 151,4 (C-2_{py}); 150,3 (C-3_{pz}); 148,2 (C-6_{py}); 140,0 (C-4_{py}); 131,6 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,7 (C-5_{py}); 129,9 (Ph); 129,5 (Ph); 128,6 (Ph); 126,4 (Ph); 119,6 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 114,5 (C-3_{py}); 112,4 (q, $^3J_{\text{C-F}} = 3$ Hz, C-4_{pz}); 103,2 (CCl₃); 102,4 (C-5_{pzl}); 46,8 (C-4_{pzl}); 12,8 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,56 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₁H₁₅Cl₃F₃N₅O (532,73): C, 47,35; H, 2,84; N, 13,15; Experimental: C, 47,71; H, 3,11; N, 13,42%.



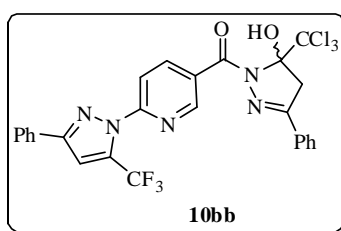
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10ba): sólido amarelo, rendimento 83%, p.f 140 – 142 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,79 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,34 (dd, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,11 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,02 (d, 2H Ph); 7,80 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,52 (s, OH); 7,5 – 7,46 (m, 3H, Ph); 3,66 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,43 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,01 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 169,8 (CO); 157,0 (C-3_{pzl}); 152,9 (C-2_{py}); 152,5 (C-3_{pz}); 150,1 (C-6_{py}); 140,3 (C-4_{py}); 134,2 (q, C-5_{pz}, $^2J = 41$ Hz); 131,3 (C-5_{py}); 129,2 (Ph); 128,9 (Ph); 128,4 (Ph); 126,0 (Ph); 114,4 (C-3_{py}); 119,9 (q, CF₃, $^1J = 268$ Hz); 109,6 (q, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 103,7 (CCl₃); 102,6 (C-5_{pzl}); 50,3 (C-4_{pzl}); 15,6 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ - 57,89 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₁H₁₅Cl₃F₃N₅O (532,73): C, 47,35; H, 2,84; N, 13,15; Experimental: C, 47,33; H, 2,86; N, 13,01%.



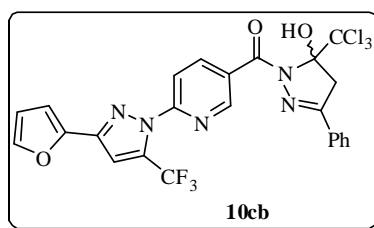
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10bb): sólido amarelo, rendimento 79%, p.f 157 – 159 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,86 (s, 1H, H-6_{py}); 8,46 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 8$ Hz); 8,33 (s, OH); 8,18 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,85 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,73 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,55 – 7,46 (m, 6H, Ph); 4,12 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,89 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 165,9 (CO); 154,0 (C-3_{pzl}); 151,9 (C-2_{py}); 151,4 (C-3_{pz}); 148,3 (C-6_{py}); 140,2 (C-4_{py}); 132,5 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,7 (C-5_{py}); 130,4 (Ph); 130,3 (Ph); 129,5 (Ph); 129,0 (Ph); 128,6 (Ph); 128,6 (Ph); 126,4 (Ph); 125,7 (Ph); 119,5 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 114,8 (C-3_{py}); 109,9 (C-4_{pz}); 103,2 (CCl₃); 102,4 (C-5_{pzl}); 46,8 (C-4_{pzl}).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,56 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₆H₁₇F₃Cl₃N₅O₂ (594,79): C, 52,50; H, 2,88; N, 11,77; Experimental: C, 52,49; H, 2,98; N, 11,99%.



2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (10cb): sólido marrom, rendimento 88%, p.f 144 – 145 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,87 (d, H-2_{py}, *J* = 2 Hz); 8,47 (dd, H-4_{py}, ⁴*J* = 2 Hz em relação ao H-6_{py} e ³*J* = 8 Hz em relação ao H-3_{py}); 8,11 (d, H-5_{py}, *J* = 8 Hz); 7,88 (s, 1H, fur); 7,74 (d, 2H, Ph, *J* = 8 Hz); 7,62 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,51 – 7,46 (m, 3H, Ph); 7,14 (d, 1H, fur, *J* = 3 Hz); 6,70 (dd, 1H, fur, ³*J* = 3 Hz e ⁴*J* = 2 Hz); 4,13 (d, 1H, H-4_{pzl}, *J* = 19 Hz); 3,91 (d, 1H, H-4_{pzl}, *J* = 19 Hz).

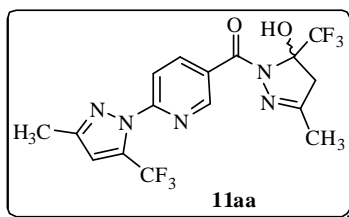
RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165,9 (CO); 154,1 (C-3_{pzl}); 151,2 (C-2_{py}); 148,3 (C-3_{pz}); 145,6 (C-6_{py}); 144,2 (fur); 143,7 (fur); 140,2 (C-4_{py}); 132,4 (q, ¹*J*_{C-Pz} = 40 Hz, C-5_{pz}); 130,7 (C-5_{py}); 130,4 (Ph); 129,5 (Ph); 128,6 (Ph); 126,4 (Ph); 119,3 (q, ¹*J*_{C-F} = 268 Hz, CF₃); 144,9 (C-3_{py}); 116,3 (fur); 109,4 (d, ³*J*_{C-F} = 3Hz, C-4_{pz}); 103,2 (CCl₃); 102,4 (C-5_{pzl}); 46,8 (C-4_{pzl}).

RMN ¹⁹F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,71 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₄H₁₅F₃Cl₃N₅O₃ (583,76): C, 49,29; H, 2,59; N, 11,98; Experimental: C, 49,46; H, 2,89; N, 11,56%.

4.3.10 Síntese de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridinas (11)

A uma solução de etanol absoluto tratado (10 mL) e pirazolil nicotinoidrazidas **7a-b** (1 mmol) foram adicionados a t.a., sob agitação, 1,1,1-trifluormetil-4-alquil(aril/heteroaril)-4-metóxi-3-alquen-2-ona (**2a-e**). Para o reagente **7a** a reação necessitou de um acréscimo de 3 gotas de ácido acético. A reação permaneceu durante 16 horas em temperatura de refluxo com agitação magnética. Após o tempo reacional, os sólidos **11** foram isolados por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com etanol P.A. e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



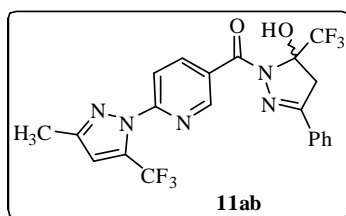
2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11aa): sólido amarelo cristalino, rendimento 91%, p.f 135 – 137 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,75 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,29 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 7,97 (s, 1H, OH); 7,92 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 7,05 (s, 1H, H-4_{pz}); 3,53 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,16 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,36 (s, 3H, CH_{3pz}); 2,01 (s, 3H, CH_{3pzl}).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,6 (CO), 155,4 (C-3_{pzl}); 151,3 (C-2_{py}); 150,3 (C-3_{pz}); 148,2 (C-6_{py}); 140,1 (C-4_{py}); 131,5 (q, C-5_{pz}, $J = 40$ Hz); 129,9 (C-5_{py}); 119,7 (q, CF_{3pz}, $J = 267$ Hz); 123,2 (q, CF_{3pzl}, $J = 286$ Hz); 114,5 (C-3_{py}); 112,5 (q, C-4_{pz}, $J = 3$ Hz) 91,3 (q, C-5_{pzl}, $J_{\text{C-CF}_3} = 34$ Hz); 47,6 (C-4_{pzl}); 15,2 (CH_{3pzl}); 12,9 (CH_{3pz}).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,63 (CF_{3pz}); δ -76,28 (CF_{3pzl}).

Análise Elementar Calculada para C₁₆H₁₃F₆N₅O₂ (421,29): C, 45,61; H, 3,11; N, 16,62; Experimental: C, 45,29; H, 3,11; N, 16,04%.



2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ab): sólido amarelo, rendimento 81%, p.f 114 – 116 °C.

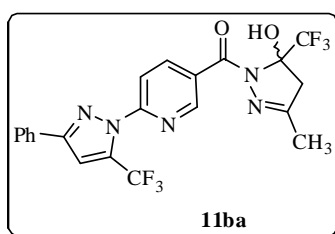
^1H RMN (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,83 (d, 1H, H-6_{py}); 8,42 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,33 (s, OH); 8,0 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 7,73 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,49 – 7,45 (m, 3H, Ph); 7,01 (s, 1H, H-4_{pz}); 4,01 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,68 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,36 (s, 3H, CH₃).

^{13}C RMN (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,8 (CO); 153,0 (C-3_{pzl}); 151,4 (C-2_{py}); 150,5 (C-3); 148,4 (C-6_{py}); 140,4 (C-4_{py}); 131,6 (q, C-5_{pz}, $^2J = 40$ Hz); 130,9 (C-5_{py}); 129,8 (Ph); 129,7 (Ph); 128,8 (Ph); 126,6 (Ph); 123,2 (q, CF_{3pzl}, $^1J = 285$ Hz); 119,7 (q, CF_{3pz},

$^1J = 268$ Hz); 114,6 (C-3_{py}); 112,6 (q, C-4_{pz}, $^3J = 2$ Hz); 92,1 (q, C-5_{pzl}, $^2J = 34$ Hz); 44,2 (C-4_{pzl}); 13,0 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,56 (CF_{3pz}); δ -76,03 (CF_{3pzl}).

Análise Elementar Calculada para C₂₁H₁₅F₆N₅O₂ (483,36): C, 52,18; H, 3,13; N, 14,49; Experimental: C, 51,64; H, 3,12; N, 14,25%.



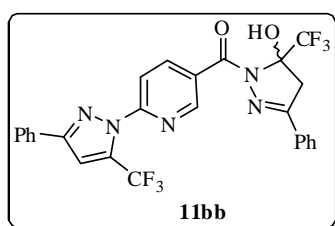
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11ba): sólido amarelo, rendimento 87%, p.f 153 – 155 °C.

^1H RMN (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,80 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,36 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,12 (s, H-3_{py}); 8,10 (s, 1H, OH); 8,04 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,84 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,54 – 7,46 (m, 3H, Ph); 3,55 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,18 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,02 (s, 3H, CH₃).

^{13}C RMN (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 163,5 (CO); 155,5 (C-3_{pzl}); 151,9 (C-2_{py}); 151,3 (C-3_{pz}); 148,2 (C-6_{py}); 140,2 (C-4_{py}); 132,5 (q, C-5_{pz}, $^2J = 40$ Hz); 130,5 (C-5_{py}); 130,3 (Ph); 129,2 (Ph); 128,8 (Ph); 125,7 (Ph); 123,2 (q, CF_{3pzl}, $^1J = 285$ Hz); 119,6 (q, CF_{3pz}, $^1J = 268$ Hz); 114,9 (C-3_{py}); 110,0 (q, C-4_{pz}, $^3J = 2$ Hz); 91,4 (q, C-5_{pzl}, $^2J = 34$ Hz); 47,6 (C-4_{pzl}); 15,2 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,60 (CF_{3pz}); δ -76,23 (CF_{3pzl}).

Análise Elementar Calculada para C₂₁H₁₅F₆N₅O₂ (483,36): C, 52,18; H, 3,13; N, 14,49; Experimental: C, 52,09; H, 3,33; N, 14,41%.



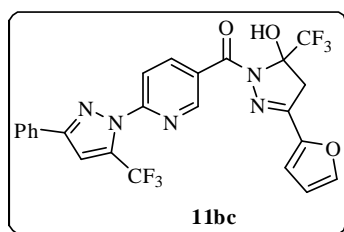
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (11bb): sólido bege, rendimento 75%, p.f 192 – 194 °C.

^1H RMN (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,88 (dd, 1H, H-6_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-3_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-4_{py}); 8,48 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,35 (s, OH); 8,17 (dd, 1H, H-3_{py}, $^2J = 8$ Hz em relação ao H-4_{py}); 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,85 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,74 (d, 2H, Ph, $J = 2$ Hz e $J = 8$ Hz); 7,55 – 7,47 (m, 6H, Ph); 4,02 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,68 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz).

^{13}C RMN (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 164,3 (CO); 153,6 (C-3_{pzl}); 152,5 (C-2_{py}); 152,0 (C-3_{pz}); 149,1 (C-6_{py}); 141,1 (C-4_{py}); 133,1 (q, C-5_{pz}, $^2J = 40$ Hz); 131,4 (C-5_{py}); 131,6 (Ph); 130,7 (Ph); 130,3 (Ph); 129,8 (Ph); 129,4 (Ph); 129,3 (Ph); 127,2 (Ph); 126,4 (Ph); 123,7 (q, CF₃_{pzl}, $^1J = 285$ Hz); 120,2 (q, CF₃_{pz}, $^1J = 268$ Hz); 115,5 (C-3_{py}); 110,7 (q, C-4_{pz}, $^3J = 2$ Hz); 92,7 (q, C-5_{pzl}, $^2J = 34$ Hz); 44,7 (C-4_{pzl}).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -51,80 (CF₃_{pz}); δ -71,24 (CF₃_{pzl}).

Análise Elementar Calculada para C₂₆H₁₇F₆N₅O₂ (545,44): C, 57,25; H, 3,14; N, 12,84; Experimental: C, 57,32; H, 3,11; N, 12,62%.



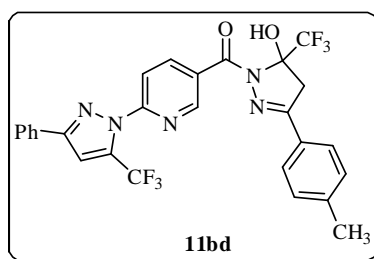
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bc): sólido marrom claro, rendimento 69%, p.f 146 – 148 °C.

RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6): δ 8,86 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,49 (s, 1H, OH); 8,42 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz and $^3J = 8$ Hz); 8,16 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,91 (s, 1H, fur); 7,87 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,53 (t, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,48 (t, 1H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,13 (d, 1H, fur, $J = 3$ Hz); 6,69 (dd, 1H, fur, $^3J = 2$ Hz and $^4J = 2$ Hz); 3,44 (d, 1H, H-4_{pzl}, $^2J = 19$ Hz); 3,33 (d, 1H, H-4_{pzl}, $^2J = 19$ Hz).

RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (150 MHz, DMSO- d_6): δ 163,8 (CO); 152,0 (C-2_{py}); 151,5 (C-3_{pzl}); 148,5 (C-6_{py}); 146,2 (C-3_{pz}); 144,8 (fur); 144,3 (fur); 140,6 (C-4_{py}); 132,6 (q, C-5_{pz}, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz); 130,6 (C-5_{py}); 130,2 (Ph); 129,4 (Ph); 129,0 (Ph); 125,9 (Ph); 123,1 (q, CF₃, $^1J_{\text{C-F}} = 285$ Hz); 121,5 (q, CF₃, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz); 115,2 (C-3_{py}); 110,3 (s, C-4_{pz}); 115,6 (fur); 112,4 (fur); 91,7 (q, C-5_{pzl}, $^2J_{\text{C-F}} = 34$ Hz); 43,9 (C-4_{pzl}).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,57 (CF₃_{pz}); δ -76,05 (CF₃_{pzl}).

Análise Elementar Calculada para $C_{24}H_{15}F_6N_5O_3$ (535,39): C, 53,84; H, 2,82; N, 13,08; Experimental: C, 54,19; H, 3,23; N, 12,78%.

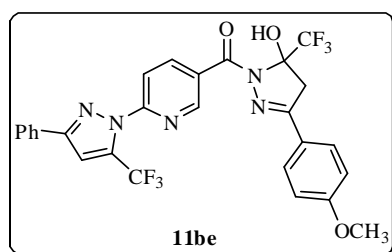


2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metilfenil)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11bd): sólido amarelo claro, rendimento 67%, p.f 206 – 207 °C.

RMN 1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,87 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,48 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,35 (s, OH); 8,16 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 9$ Hz em relação ao H-4_{py}); 8,06 (dd, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,86 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,62 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,55 – 7,47 (m, 3H, Ph); 7,28 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 3,99 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,66 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 2,35 (3H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,5 (CO); 152,8 (C-3_{pzl}); 151,8 (C-2_{py}); 151,3 (C-3_{pz}); 148,3 (C-6_{py}); 140,7 (Ph); 140,2 (C-4_{py}); 132,6 (q, C-5_{pz}, $^2J = 40$ Hz); 130,5 (C-5_{py}); 130,1 (Ph); 129,1 (Ph); 128,9 (Ph); 128,6 (Ph); 126,9 (Ph), 126,4 (Ph); 125,7 (Ph); 123,0 (q, CF₃_{pzl}, $^1J = 285$ Hz); 119,5 (q, CF₃_{pz}, $^1J = 268$ Hz); 114,8 (C-3_{py}); 109,8 (q, C-4_{pz}, $^3J = 2$ Hz); 91,9 (q, C-5_{pzl}, $^2J = 34$ Hz); 44,0 (C-4_{pzl}); 20,7 (CH₃).

Análise Elementar Calculada para $C_{27}H_{19}F_6N_5O_2$ (559,46): C, 57,96; H, 3,42; N, 12,52; Experimental: C, 57,76; H, 3,58; N, 12,86%.



2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi-fenil)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (11be): sólido laranja, rendimento 80%, p.f 200 – 201 °C.

RMN 1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,87 (d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,48 (dd, 1H, H-4_{py}, $J = 2$ Hz e $J = 8$ Hz); 8,28 (s, 1H, OH); 8,16 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,05 (d, 1H, Ph, J

= 7 Hz); 7,85 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,68 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,55 – 7,47 (m, 3H, Ph); 7,03 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 3,97 (d, 1H, H-4_{pzl}, $J = 19$ Hz); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,64 (d, 1H, $J = 19$ Hz).

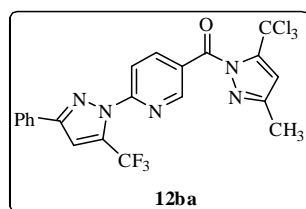
RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 163,6 (CO); 161,4 (Ph); 152,8 (C-3_{pzl}); 152,0 (C-2_{py}); 151,4 (C-3_{pz}); 148,6 (C-6_{py}); 140,6 (C-4_{py}); 132,6 (q, C-5_{pz}, $^2J = 40$ Hz); 130,6 (C-5_{py}); 130,3 (Ph); 129,3 (Ph); 128,9 (Ph); 128,5 (Ph); 125,9 (Ph); 123,2 (q, CF_{3pzl}, $^1J = 285$ Hz); 122,3 (Ph) 119,7 (q, CF_{3pz}, $^1J = 268$ Hz); 114,9 (C-3_{py}); 114,3 (Ph); 110,2 (d, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 92,0 (q, C-5_{pzl}, $^2J = 34$ Hz); 55,3(OCH₃); 44,3 (C-4_{pzl}).

RMN ¹⁹F (564,68 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,55 (CF_{3pz}); δ -75,99 (CF_{3pzl}).

Análise Elementar Calculada para C₂₇H₁₉F₆N₅O₃ (575,46): C, 56,35; H, 3,33; N, 12,17; Experimental: C, 56,38; H, 3,29; N, 12,12%.

4.3.11 Síntese de 2-[3-Alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-[3-alkuil(aril)-5-trialometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridinas (**12**, **13**).⁴²

Em um balão de duas bocas, equipado com condensador de refluxo, funil de adição e agitação magnética, adicionou-se os compostos a serem desidratados (**10** ou **11**) (2,6 mmol) em piridina seca (33,8 mmol) e benzeno (50 mL) resfriada em banho de gelo ($\approx 5 - 10$ °C), foi adicionado uma solução de cloreto de sulfonila (16,8 mmol) em benzeno (25 mL), após a adição, retirou-se o banho de gelo e a solução resultante foi elevada lentamente à temperatura ambiente e, então refluxada por 1 hora, seguida de extração com benzeno (2 x 50 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, o solvente evaporado e os compostos **12**, **13** foram recristalizados em etanol. O composto 12ba foi purificado através de cromatografia em coluna de sílica gel com eluição de hexano:acetato de etila (6:4).



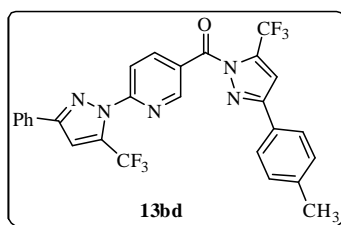
2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (12ba**):** sólido amarelo, rendimento 54%, p.f 160 – 162 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,99 (s, 1H, H-6_{py}); 8,55 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 8$ Hz); 8,20 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,03 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,82 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,52 – 7,46 (m, 3H, Ph); 7,22 (s, 1H, H-4_{pz}); 2,29 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C { ^1H } (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 165,4 (CO); 162,5 (C-3_{pzl}); 152,9 (C-2_{py}); 152,2 (C-3_{pz}); 149,1 (C-6_{py}); 142,2 (C-5_{pzl}); 141,3 (C-4_{pzl}); 140,4 (C-4_{py}); 132,8 (q, C-5_{pz}, $^2J_{\text{C-F}} = 41$ Hz); 130,5 (Ph); 129,3 (Ph); 128,9 (Ph); 126,1 (C-5_{py}); 125,9 (Ph); 119,8 (q, CF₃, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz); 115,6 (C-3_{py}); 110,3 (q, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 106,8 (CCl₃) 10,9 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -57,94 (CF₃).

HRMS (ESI): Valor calculado para: C₂₁H₁₃F₃Cl₃N₅O: 514,0216 (M+H), Valor experimental: 514,0302.



2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (13bd): sólido bege, rendimento 70%, p.f 153 – 155 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 9,13 (s, 1H, H-6_{py}); 8,73 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 9$ Hz); 8,26 (d, 1H, H-4_{py}, $J = 8$ Hz); 8,06 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 8,00 (s, H, H-4_{pz}); 7,87 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,84 (s, 2H, Ph); 7,55 – 7,49 (m, 3H, Ph); 7,31 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 2,35 (s, 3H, CH₃).

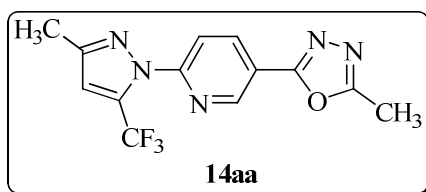
RMN ^{13}C { ^1H } (100,61 MHz, CDCl₃): δ 163,0 (CO); 153,9 (C-3_{pz}); 153,6 (C-2_{py}); 152,7 (C-3_{pz}); 151,6 (C-6_{py}); 141,9 (Ph); 140,3 (C-4_{py}); 136,3 (q, C-5_{pz}, $^2J = 42$ Hz); 134,3 (q, C-5_{pz}, $J = 41$ Hz); 131,0 (C-5_{py}); 129,7 (Ph); 129,3 (Ph); 129,3 (Ph); 128,2 (Ph); 127,2 (Ph); 126,2 (Ph); 126,0 (Ph); 119,8 (q, CF₃, $^1J = 268$ Hz); 119,3 (q, CF₃, $^1J = 285$ Hz); 114,3 (C-3_{py}); 111,4 (q, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 110,1 (q, C-4_{pz}, $^3J = 3$ Hz); 21,3 (CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,58 (CF_{3_{pz}}); δ -58,54 (CF_{3_{py}}).

Análise Elementar Calculada para C₂₇H₁₇F₆N₅O (541,45): C, 59,89; H, 3,16; N, 12,93; Experimental: C, 60,29; H, 3,91; N, 12,34%.

4.3.12 Síntese de 5-[5-Alquil(aril)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-2-[3-alquil(aril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il] piridinas (14)

Uma mistura de pirazolil nicotinoidrazidas **7a-b** (1 mmol) e ortoacetato de trietila ou ortobenzoato de trimetila (6 mmol), foi agitada durante 16 horas a 110 °C.^{13,58} Após o tempo reacional, os sólidos **14** foram isolados por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com etanol P.A. e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅. Em algumas reações para a síntese dos compostos **14** observou-se que não formou o precipitado durante o tempo reacional, então, após o término da reação foi removido com rotaevaporador o excesso do reagente/solvente, em seguida, adicionou-se etanol P.A. gelado, este momento verificou-se a ocorrência de precipitado, o qual foi filtrado à vácuo em funil de Büchner com etanol P.A. gelado e os sólidos foram secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina

(**14aa**): sólido branco, rendimento 52%, p.f 147 – 149 °C.

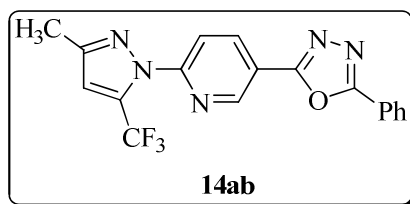
RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,00 (d, 1H, H-6_{py}, *J* = 2 Hz); 8,53 (dd, 1H, H-4_{py}, ⁴*J* = 2 Hz em relação ao H-6_{py} e ³*J* = 8 Hz em relação ao H-3_{py}); 8,05 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 7,08 (s, 1H, H-4_{pz}); 2,62 (s, 3H, CH_{3oxa}); 2,36 (s, 3H, CH_{3pz}).

RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,3 (C-2_{oxa}); 161,4 (C-5_{oxa}); 151,8 (C-2_{py}); 150,5 (C-3_{pz}); 145,4 (C-6_{py}); 138,0 (C-4_{py}); 131,5 (q, ²*J* = 40 Hz, C-5_{pz}); 119,6 (q, ¹*J* = 268 Hz, CF₃); 118,9 (C-5_{py}); 115,7 (C-3_{py}); 112,7 (q, ³*J* = 3 Hz, C-4_{pz}); 12,9 (CH_{3pz}); 10,4 (CH_{3oxa}).

RMN ¹⁹F (376,46 MHz, DMSO-*d*₆; ref. interna de C₆H₅F): -55,96 (CF₃).

MS: *m/z* (%) (EI) = 309 (M+, 100); 254 (44); 184 (11); 149 (7).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₃H₁₀F₃N₅O: 310,0915 (M+H⁺); Valor experimental: 310,0908.



2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina

(14ab): sólido branco, rendimento 56%, p.f 166 – 168 °C.

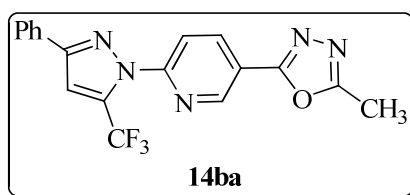
RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,15 (s, 1H, H-6_{py}); 8,65 (dd, 1H, H-4_{py}, *J* = 8 Hz); 8,14 (d, 2H, Ph, *J* = 7 Hz); 8,05 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 7,65–7,60 (m, 3H, Ph); 7,04 (s, 1H, H-4_{pz}); 2,34 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,4 (C-2_{oxa}); 161,79 (C-5_{oxa}); 152,0 (C-2_{py}); 150,6 (C-3_{pz}); 145,9 (C-6_{py}); 137,4 (C-4_{py}); 131,2 (q, ²*J* = 40 Hz, C-5_{pz}); 132,1 (Ph); 129,0 (Ph); 128,7 (Ph); 126,7 (Ph); 128,4 (C-5_{py}); 119,6 (q, ¹*J* = 268 Hz, CF₃); 115,7 (C-3_{py}); 112,8 (q, ³*J* = 3 Hz, C-4_{pz}); 12,9 (CH₃).

RMN ¹³C (100,61 MHz, CDCl₃): δ 165,1 (C-2_{oxa}); 162,1 (C-5_{oxa}); 152,9 (C-2_{py}); 150,6 (C-3_{pz}); 146,2 (C-6_{py}); 136,6 (C-4_{py}); 133,2 (q, ²*J* = 40 Hz, C-5_{pz}); 132,0 (Ph); 129,4 (Ph); 129,1 (Ph); 127,0 (Ph); 128,2 (C-5_{py}); 119,8 (q, ¹*J* = 268 Hz, CF₃); 115,4 (C-3_{py}); 112,5 (q, ³*J* = 3 Hz, C-4_{pz}); 13,4 (CH₃).

MS: *m/z* (%) (EI) = 371 (M⁺, 100); 254 (31); 105 (28); 77 (14).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₈H₁₂F₃N₅O: 372,1072 (M+H⁺); Valor experimental: 372,1087.



2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina

(14ba): sólido branco, rendimento 60%, p.f 208 – 210 °C.

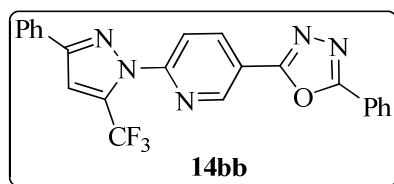
RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,94 (s, 1H, H-6_{py}); 8,45 (d, 1H, H-4_{py}, *J* = 8 Hz); 8,10 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 8,02 (d, 2H, Ph, *J* = 7 Hz); 7,78 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,53 – 7,48 (m, 3H, Ph); 2,0 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164,3 (C-2_{oxa}); 163,2 (C-5_{oxa}); 151,8 (C-2_{py}); 151,7 (C-3_{pz}); 146,5 (C-6_{py}); 138,2 (C-4_{py}); 132,5 (q, ²*J* = 40 Hz, C-5_{pz}); 130,5 (Ph);

129,0 (Ph); 128,7 (Ph); 128,3 (C-5_{py}); 125,7 (Ph); 119,6 (q, $^1J = 268$ Hz, CF₃); 115,6 (C-3_{py}); 109,8 (q, $^3J = 3$ Hz, C-4_{pz}); 10,3 (CH₃).

MS: m/z (%) (EI)=371 (M⁺, 100); 316 (27); 207 (34); 103 (9); 77 (9).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₈H₁₂F₃N₅O: 372,1072 (M+H⁺); Valor experimental: 372,1085.



5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(3-fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)piridina

(**14bb**): sólido amarelo, rendimento 66%, p.f 204 – 206 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,26 (s, 1H, H-6_{py}); 8,76 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,26 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,19 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 8,04 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,83 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,67 – 7,65 (m, 3H, Ph); 7,54 – 7,46 (m, 3H, Ph).

RMN ¹H (400,13 MHz, CDCl₃): δ 9,21 (s, 1H, H-6_{py}); 8,59 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,20 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,16 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,90 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,59 – 7,54 (m, 3H, Ph); 7,49 – 7,42 (m, 3H, Ph); 7,24 (s, 1H, H-4_{pz}).

RMN ¹³C (100,61 MHz, CDCl₃): δ 165,1 (C-2_{oxa}); 162,1 (C-5_{oxa}); 153,0 (C-2_{py}); 152,6 (C-3_{pz}); 146,2 (C-6_{py}); 136,7 (C-4_{py}); 134,1 (q, $^2J = 40$ Hz, C-5_{pz}); 132,1(Ph); 131,1 (Ph); 129,3 (Ph); 129,2 (Ph); 128,9 (Ph); 127,1 (Ph); 126,0 (Ph); 123,5 (Ph); 119,1 (C-5_{py}); 120,5 (q, $^1J = 268$ Hz, CF₃); 115,6 (C-3_{py}); 109,8 (q, $^3J = 3$ Hz, C-4_{pz}).

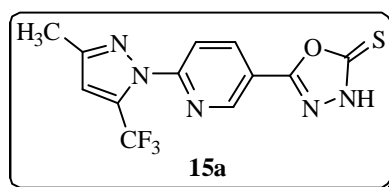
MS: m/z (%) (EI) = 433 (M⁺, 100); 376 (14); 316 (31); 105 (35); 77 (19).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₂₃H₁₄F₃N₅O: 434,1228 (M+H⁺); Valor experimental: 434,1222.

4.3.13 Síntese de 2-[3-Alquil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il) piridinas (15a-c).

Em um balão de duas bocas, munido de condensador de refluxo, primeiramente adicionou-se a pirazolil nicotinoidrazidas **7a-c** (1 mmol) no balão e então o sistema foi fechado em atmosfera de argônio, foi adicionado 5 mL de piridina seca tratada com

auxílio de uma seringa por uma das bocas do balão que estava protegida com um septo e em seguida, do mesmo modo, foi adicionado o dissulfeto de carbono (3 mL). A mistura foi aquecida e agitada com agitação magnética durante 3 horas a temperatura de 52 – 55 °C. Após o tempo reacional, deixou-se o balão aberto exposto ao ar, em temperatura ambiente durante uma noite para liberação do vapor de sulfeto (esta etapa pode ser reduzida com o auxílio do rotaevaporador para evaporar o sulfeto e piridina). Colocou-se 15 – 20 mL de água destilada gelada no balão (observou-se um aspecto leitoso) colocou-o em banho de gelo e acidificou-se a reação com HCl diluído (1:1 HCl 37 % / H₂O) até pH 4 – 5. Os sólidos precipitados de coloração bege/amarelo claro **15a-c** foram isolados por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com água destilada gelada e recristalizado em etanol P.A. e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



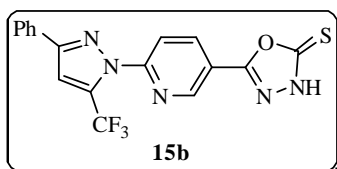
2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)

piridina (15a): sólido bege, rendimento 81%, p.f 209 – 211 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,90 (d, 1H, H-6_{py}, *J* = 2 Hz); 8,44 (dd, 1H, H-4_{py}, ⁴*J* = 2 Hz em relação ao H-6_{py} e ³*J* = 8 Hz em relação ao H-3_{py}); 8,03 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz); 7,09 (s, 1H, H-4_{pz}); 2,35 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 177,4 (C-2_{oxa}); 157,9 (C-5_{oxa}); 151,9 (C-2_{py}); 150,6 (C-3_{pz}); 145,3 (C-6_{py}); 136,9 (C-4_{py}); 131,5 (q, ²*J*_{C-F} = 40 Hz, C-5_{pz}); 119,6 (q, ¹*J*_{C-F} = 268 Hz, CF₃); 118,0 (C-5_{py}); 115,6 (C-3_{py}); 112,9 (t, ³*J* = 3 Hz, C-4_{pz}); 12,9 (d, ⁴*J* = 3 Hz, CH₃).

Análise Elementar Calculada para C₁₂H₈F₃N₅OS (327,28): C, 44,04; H, 2,46; N, 21,40; Experimental: C, 43,87; H, 2,5; N, 21,12%.

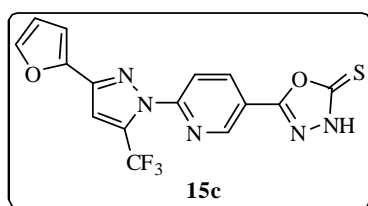


2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15b): sólido amarelo claro, rendimento 73%, p.f 212 – 213 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,95 d, 1H, H-6_{py}, $J = 2$ Hz); 8,50 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-6_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,19 (d, 1H, H-3_{py}, $J = 8$ Hz); 8,02 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,53 – 7,45 (m, 3H, Ph); 7,81 (s, 1H, H-4_{pz}).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 177,4 (C-2_{oxa}); 157,8 (C-5_{oxa}); 151,9 (C-2_{py}); 151,8 (C-3_{pz}); 145,2 (C-6_{py}); 136,9 (C-4_{py}); 130,2 (Ph); 129,1 (Ph); 128,7 (Ph); 125,7 (Ph); 132,5 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 119,4 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 118,3 (C-5_{py}); 115,8 (C-3_{py}); 110,3 (C-4_{pz}).

Análise Elementar Calculada para C₁₇H₁₀F₃N₅OS (389,35): C, 52,44; H, 2,59; N, 17,99; Experimental: C, 51,99; H, 2,84; N, 17,32%.



2-[5-Trifluormetil-3-(fur-2-ila)-1H-pirazol-1-il]-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (15c): sólido amarelo claro bem fino, rendimento 64%, p.f 222 – 224 °C.

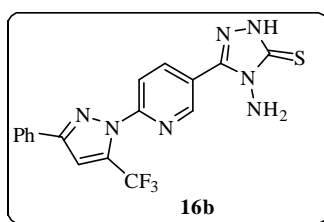
RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 8,91 (s, 1H, H-6_{py}); 8,45 (d, 1H, H-4_{py}, $^3J = 8$ Hz em relação ao H-3_{py}); 8,09 (d, 1H, H-3_{py}); 7,81 (s, 1H, fur); 7,54 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,07 (s, 1H, fur); 6,64 (d, 1H, fur, $J = 1$ Hz).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 177,5 (C-2_{oxa}); 158,0 (C-5_{oxa}); 151,8 (C-2_{py}); 145,5 (C-3_{pz}); 145,3 (C-6_{py}); 144,5 (fur); 144,1 (fur); 137,1 (C-4_{py}); 132,4 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 119,4 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 269$ Hz, CF₃); 118,5 (C-5_{py}); 115,9 (C-3_{py}); 111,9 (fur); 110,1 (C-4_{pz}); 109,6 (fur).

Análise Elementar Calculada para C₁₅H₈F₃N₅O₂S.H₂O (397,33) C, 45,34; H, 2,54; N, 17,63; Experimental: C, 45,25 ; H, 2,14; N, 17,18%.

4.3.14 Síntese de 2-(3-Aril-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina (16)

Uma mistura de 2-(3-aril-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina **15** (1 mmol) e 1 mL de hidrazina hidratada (NH₂NH₂.XH₂O) em etanol absoluto tratado (10 mL) foi agitada durante 6 horas à temperatura de refluxo. Após o tempo reacional, os sólidos **16** foram isolados por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com etanol P.A./H₂O gelados e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4*H*)-tiona-2*H*-1,2,4-triazol-5-il]piridina (16b): Sólido bege, rendimento 69%, p.f 248 – 250 °C

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14,12 (s, 1H, SH); 9,18 (s, 1H, H-6_{py}), 8,66 (d, 1H, H-4_{py}, *J* = 8 Hz em relação ao H-3_{py}); 8,19 (d, 1H, H-3_{py}, *J* = 8 Hz em relação ao H-4_{py}); 8,04 (d, 2H, Ph, *J* = 7 Hz); 7,54 – 7,46 (m, 3H, Ph); 7,81 (s, 1H, H-4_{pz}); 5,86 (s, 2H, NH₂).

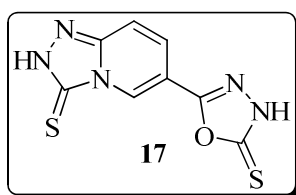
RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168,1 (C-SH); 147,4 (C-5 ligado aos N 1,4 do anel triazol); 152,5 (C-2_{py}); 147,5 (C-6_{py}); 139,3 (C-4_{py}); 122,2 (C-5_{py}); 116,3 (C-3_{py}); 131,2 (Ph); 129,8 (Ph); 129,4 (Ph); 126,4 (Ph); 151,7 (C-3_{pz}); 133,1 (q, C-5_{pz}, ²*J* = 41 Hz); 120,2 (q, CF₃, ¹*J* = 268 Hz); 110,6 (C-4_{pz}).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₇H₁₂F₃N₇S: 404,0905 (M+H⁺); Valor experimental: 404,0897.

4.3.15 Síntese de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-tiona-5-il)-1(2*H*)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-*a*]piridina (17)

Em um balão de duas bocas, munido de condensador de refluxo, primeiramente adicionou-se o reagente hidrazida 6-hidrazinonicotínica **1** (167,17 g, 1 mmol) no balão e então o sistema foi fechado em atmosfera de argônio, foi adicionado 5 mL de piridina

seca tratada com auxílio de uma seringa por uma das bocas do balão que estava protegida com um septo e em seguida, do mesmo modo, foi adicionado o dissulfeto de carbono (3 mL). A mistura foi aquecida e agitada com agitação magnética durante 3 horas a temperatura ≈ 55 °C. Após o tempo reacional, deixou-se o balão aberto exposto ao ar, em temperatura ambiente durante um período de 16 horas. Colocou-se 15 mL de água destilada gelada no balão e acidificou-se a reação com HCl diluído (1:1 HCl 37% / H₂O) até pH 4 – 5 em banho de gelo. O sólido precipitado de coloração amarelo **17** foi isolado por filtração a frio em funil de Büchner, lavados com água destilada gelada e secos num dessecador sob pressão reduzida sobre P₂O₅.



6-(1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tione-5-il)-1(2H)-tione-1,2,4-triazolo-[4,3-a]piridina (17): sólido amarelo, rendimento 84%, p.f 285 – 287 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,58 (s, 1H, H-7_{py}); 7,77 (d, 1H, H-5_{py}, *J* = 9 Hz em relação ao H-4_{py}); 7,72 (d, 1H, H-4_{py}, *J* = 9 Hz em relação ao H-5_{py}); 14,86 (s, 1H, NH).

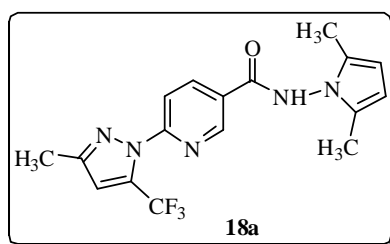
RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 177,3 (C-2_{oxa}); 160,5 (C=S_{tz}), 157,5 (C-5_{oxa}); 145,4 (C-3a_{py}); 126,5 (C-7_{py}); 124,4 (C-5_{py}); 117,1 (C-6_{py}); 110,5 (C-4_{py}).

HRMS (ESI): Valor calculado para C₈H₅N₅OS₂: 252,0014 (M+H⁺); Valor experimental: 252,0014.

4.3.16 Síntese de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-alkil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]nicotinamidas (18)

A uma suspensão do composto pirazolil nicotinoidrazida **7** (1 mmol) em 10 mL de etanol P.A. foram adicionados o reagente hexano-2,5-diona (2 mmol, 0,228 g) e ácido acético glacial (1 mL), foi mantida sob agitação por 4 horas, à temperatura de refluxo (78 °C). Observou-se durante o tempo reacional a solubilização dos reagentes a ≈ 70 °C e o escurecimento da solução após 3 horas de refluxo. Após o término do tempo reacional, a mistura foi concentrada com auxílio de rotaevaporador, reduzindo assim seu volume pela metade (5 mL), e os sólidos formados foram lavados filtrados com etanol

P.A. gelado em funil de Büchner, recristalizou-se com éter diisopropílico/ éter etílico (1:1). Após, os sólidos foram secos em pressão reduzida com P_2O_5 .



***N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)**

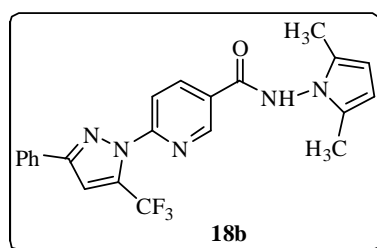
nicotinamida (18a): sólido amarelo escuro, rendimento 67%, p.f 138 – 140 °C.

RMN 1H (600 MHz, DMSO- d_6): δ 11,46 (s, 1H, NH); 9,03 (d, 1H, H-2_{py}, $J = 2$ Hz); 8,50 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5_{py}); 8,03 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 8$ Hz); 7,08 (s, 1H, H-4_{pz}); 5,72 (s, 2H, H_{pirrol}); 2,35 (s, 3H, CH_{3pz}); 2,06 (s, 6H, CH₃).

RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6): δ 163,4 (CO); 152,4 (C-6_{py}); 150,5 (C-3_{pz}); 146,9 (C-2_{py}); 138,9 (C-4_{py}); 131,6 (q, $^2J_{C-F} = 41$ Hz, C-5_{pz}); 126,9 (C-N, C-2/5_{pirrol}); 125,5 (C-3_{py}); 119,7 (q, $^1J_{C-F} = 268$ Hz, CF₃); 115,1 (C-5_{py}); 112,8 (d, C-4_{pz}, $J = 2$ Hz); 103,2 (CH, C-3/4_{pirrol}); 12,9 (CH_{3pz}); 10,7 (2CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,63 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₁₇H₁₆F₃N₅O (363,34): C, 56,20; H, 4,44; N, 19,28; Experimental: C, 56,55; H, 4,30; N, 18,50%.



***N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)**

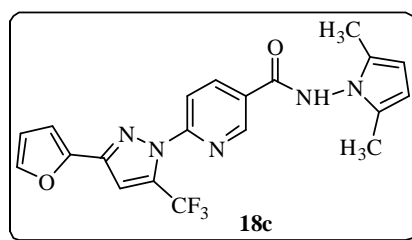
nicotinamida (18b): sólido marrom, rendimento 84%, p.f 191 – 195 °C.

RMN 1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 11,53 (s, 1H, NH); 9,08 (s, 1H, H-2_{py}); 8,58 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5_{py}); 8,22 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 8$ Hz); 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,87 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,56 – 7,47 (m, 3H, Ph); 5,73 (s, 2H); 2,08 (s, 6H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,4 (CO); 152,5 (C-6_{py}); 152,0 (C-3_{pz}); 147,0 (C-2_{py}); 139,1 (C-4_{py}); 132,6 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,4 (Ph); 129,3 (Ph); 128,8 (Ph); 126,9 (2C-N_{pirrol}); 126,9 (Ph); 125,8 (C-3_{py}); 119,6 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 115,6 (C-5_{py}); 110,4 (d, C-4_{pz}, $J = 2$ Hz); 103,2 (2CH_{pirrol}); 10,9 (2CH₃).

RMN ^{19}F (564,68 MHz, DMSO- d_6): δ -56,60 (CF₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₂H₁₈F₃N₅O (425,41): C, 62,11; H, 4,26; N, 16,46; Experimental: C, 61,65; H, 4,07; N, 15,99%.



***N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]**

nicotinamida (18c): sólido amarelo escuro, rendimento 50%, p.f 172 – 174 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 11,53 (s, 1H, NH); 9,09 (d, 1H, H-2_{py}, $J = 2$ Hz); 8,58 (dd, 1H, H-4_{py}, $^4J = 2$ Hz em relação ao H-2_{py} e $^3J = 8$ Hz em relação ao H-5_{py}); 8,14 (d, 1H, H-5_{py}, $J = 8$ Hz); 7,86 (d, 1H, fur, $J = 2$ Hz); 7,62 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,13 (d, 1H, fur, $J = 3$ Hz); 6,69 (q, 1H, fur, $J = 2$ Hz); 5,74 (s, 2H, H_{pirrol}); 2,09 (s, 6H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 163,3 (CO); 152,2 (C-6_{py}); 146,9 (C-2_{py}); 145,5 (C-3_{pz}); 144,3 (fur); 143,8(fur); 138,9 (C-4_{py}); 132,3 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 41$ Hz, C-5_{pz}); 127,0 (C-3_{py}); 126,8 (C-N); 119,7 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 115,5 (C-5_{py}); 111,6 (fur); 109,6 (d, C-4_{pz}, $J = 2$ Hz); 109,2 (fur); 103,1 (2CH); 10,6 (2CH₃).

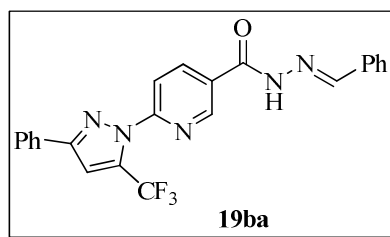
Análise Elementar Calculada para C₂₀H₁₆F₃N₅O₂ (415,37): C, 57,83; H, 3,88; N, 16,86; Experimental: C, 57,65; H, 3,74; N, 16,27%.

4.3.17 Síntese de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-(Alquil/aril metilideno) nicotinoidrazida (19)

A uma solução do respectivo pirazolil nicotinoidrazida (**7b**) (1 mmol) e etanol P.A. (5 mL) adicionou-se o aldeído (aril substituído) (1 mmol) ou acetofenona (1 mmol). No caso, ao utilizar a cetona adicionou-se cinco gotas de ácido acético glacial. A mistura foi submetida à agitação magnética durante 7 horas, a 60 °C. Após o tempo reacional, a mistura ficou em repouso por 24 horas, à temperatura ambiente. Observou-

se à formação de precipitado, o qual foi filtrado e lavado com etanol P.A. gelado sob vácuo (o tempo de cristalização pode ser reduzido evaporando o solvente em rotaevaporador seguidamente após o termino da reação).

Os compostos foram submetidos à pressão reduzida em linha de vácuo, para eliminação de solvente residual, obtendo-se sólidos de coloração branca.



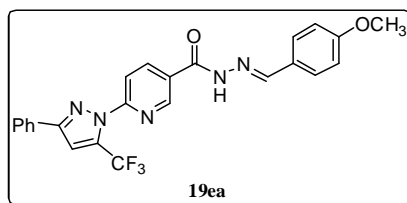
6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-N'-1-(benzilideno) nicotinoidrazida

(19ba): sólido branco, rendimento 79%, p.f 217 – 219 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 12,07 (s, 1H, NH); 9,04 (s, 1H, H-2_{py}); 8,55 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H-4_{py}); 8,53 (s, H); 8,17 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H-5_{py}); 8,03 (dd, 2H, Ph, $J = 2$ e $J = 8$ Hz); 7,85 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,77 – 7,75 (m, 2H, Ph); 7,53 – 7,45 (m, 6H, Ph).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 160,6 (CO); 152,1 (C-2_{py}); 151,9 (C-6_{py}); 148,6 (C=N); 147,2 (C-3_{pz}); 139,2 (C-4_{py}); 133,9 (C-3_{py}); 132,6 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,5 (Ph); 130,2 (Ph); 129,3 (Ph); 128,9 (Ph); 128,8 (Ph); 128,4 (Ph); 127,1(Ph); 125,8 (Ph); 119,7 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 115,5 (C-5_{py}); 110,4 (C-4_{pz}).

Análise Elementar Calculada para C₂₃H₁₆F₃N₅O (435,40): C, 63,45; H, 3,70; N, 15,89; Experimental: C, 63,66; H, 3,68; N, 16,06%.



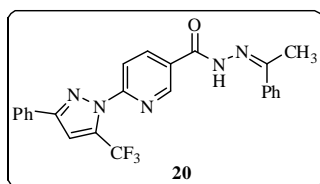
6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-N'-1-(4-metóxi-benzilideno) nicotinoidrazida

(19ea): sólido branco, rendimento 92%, p.f 220 – 222 °C.

RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 11,96 (s, 1H, NH); 9,05 (s, 1H, H-2_{py}); 8,55 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H-4_{py}); 8,43 (s, H); 8,18 (d, 1H, $J = 8$ Hz, H-5_{py}); 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,84 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,72 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 7,54 – 7,47 (m, 3H, Ph); 7,04 (d, 2H, Ph, $J = 8$ Hz); 3,83 (s, 3H, OCH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 164,3 (CO); 160,9 (Ph); 160,4 (C-2_{py}); 152,0 (C-6_{py}); 148,5 (C=N); 147,1 (C-3_{pz}); 139,0 (C-4_{py}); 132,3 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,1 (C-3_{py}); 129,3 (Ph); 128,8 (Ph); 128,8 (Ph); 128,6 (Ph); 126,6 (Ph); 125,8 (Ph); 119,6 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 115,5 (C-5_{py}); 114,3 (Ph); 110,3 (C-4_{pz}); 55,2 (OCH₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₄H₁₈F₃N₅O₂ (411,38): C, 61,93; H, 3,90; N, 15,05; Experimental: C, 61,38; H, 4,31; N, 14,77%.



6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-N'-(1-feniletilideno) nicotinoidrazida

(19bb): sólido branco, rendimento 77%, p.f 207 – 209 °C.

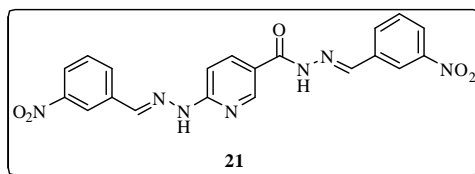
RMN ^1H (400,13 MHz, DMSO- d_6): δ 11,05 (s, 1H, NH); 9,03 (s, 1H, Py); 8,51 (s, 1H, Py); 8,14 (d, 1H, Py, $J = 8$ Hz); 8,03 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,87 (s, 2H, Ph); 7,81 (s, 1H, H-4_{pz}); 7,52 (d, 2H, Ph, $J = 7$ Hz); 7,49 – 7,44 (m, 4H, Ph); 2,41 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (100,61 MHz, DMSO- d_6): δ 164,3 (CO); 160,2 (C-2_{py}); 152,0 (C-6_{py}); 148,8 (C=N); 147,7 (C-3_{pz}); 139,5 (C-4_{py}); 132,8 (q, $^2J_{\text{C-F}} = 40$ Hz, C-5_{pz}); 130,6 (C-3_{py}); 129,5 (Ph); 128,9 (Ph); 128,3 (Ph); 126,4 (Ph); 125,9 (Ph); 119,7 (q, $^1J_{\text{C-F}} = 268$ Hz, CF₃); 115,5 (C-5_{py}); 109,9 (C-4_{pz}); 14,4 (CH₃).

Análise Elementar Calculada para C₂₄H₁₈F₃N₅O (449,43): C, 64,14; H, 4,04; N, 15,58; Experimental: C, 64,06; H, 4,51; N, 15,41%.

4.3.18 Síntese do composto (E)-N'-(3-nitrobenzilideno)-6-(E)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (20)

Uma mistura de hidrazida 6-hidrazidanicotínica **1** (0,167 g, 1 mmol) e aril aldeído substituído (2 mmol), com relação molar de 1:2 em etanol absoluto (10 mL), foi mantida sob agitação por 7 horas, à temperatura de 60 °C.⁴² O produto **20** precipitou durante o período reacional. Logo após o término da reação, o sólido foi filtrado em funil de Büchner, lavado com etanol P.A. gelado e seco sob vácuo em dessecador contendo P₂O₅. O composto foi isolado na forma de sólido estáveis ao ar, na coloração amarela.



(E)-N'-(3-nitrobenzilideno)-6-(E)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (20): sólido amarelo, rendimento 90%, p.f 290 – 292 °C.

RMN ¹H (400,13 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,93 (s, 1H, NH); 11,57 (s, 1H, NH); 8,77 (s, 1H, H-2_{py}); 8,52 – 8,47 (m, 3H); 8,25 – 8,13 (m, 6H); 7,77 – 7,69 (d, 2H, *J* = 8 Hz); 7,38 (d, 1H, *J* = 8 Hz).

RMN ¹³C (100,61 MHz, DMSO-*d*₆): δ 158,3 (C=O); 148,2 (C-2_{py}); 148,1 (C=N); 138,6 (C-6_{py}); 136,6 (C-4_{py}); 136,1 (C=N); 134,6 (Ph); 132,8 (Ph); 132,0 (Ph); 130,1 (C-3_{py}); 130,0 (Ph); 123,7 (Ph); 122,8 (Ph); 120,1 (Ph); 119,9 (Ph); 105,5 (C-5_{py}).

Análise Elementar Calculada para C₂₀H₁₅N₇O₅ (433,38): C, 55,43; H, 3,49; N, 22,62;

Experimental: C, 55,25; H, 3,31; N, 23,22%.

4.4 Avaliações Biológicas

4.4.1 Atividades Antioxidantes DPPH e Fosfomolibdênio

Com cooperação do Laboratório NEUROTOX, da UFSM, os novos *bis*-pirazóis foram avaliados quanto ao seu potencial antioxidante, pela redução do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH); e pelo Laboratório de Bioquímica – Biologia Molecular os compostos foram verificados quanto sua capacidade total de atividade antioxidante (TAC) pelo método de fosfomolibdênio.

4.4.1.1 Método Quantitativo para Atividade Antioxidante (DPPH) em placas de Elisa

4.4.1.1.1 Preparo da curva padrão de ácido ascórbico:

Conforme protocolo do Laboratório de Pesquisa NEUROTOX – UFSM,¹⁶⁷ no dia da realização do ensaio, preparou-se a solução padrão para a curva deixando-a sob gelo; Para isso, pesou-se 0,01 g de ácido ascórbico (padrão) e dissolveu-se em água destilada completando o volume para 10 mL (4º ponto da curva; []_i = 1mg/mL e []_f = 100 µg/mL).

Utilizou-se 500 μL desta solução + 4,5 mL de água destilada para preparar a solução a ser pipetada no 3º ponto da curva ($[]_f = 10 \mu\text{g/mL}$).

Com 2,5 mL desta última solução + 2,5 mL de água destilada obteve-se a solução do 2º ponto da curva ($[]_f = 5 \mu\text{g/mL}$) e, para preparar a solução do ponto 1 da curva, utilizou-se 1 mL desta solução + 4 mL de água destilada ($[]_f = 1 \mu\text{g/mL}$).

4.4.1.1.2 Preparo da solução dos compostos:

Pesou-se 10 mg de cada um dos compostos a serem analisados como varredores de radicais livres (**7a, 7b, 8, 9, 10ab, 10ba, 10bb, 10cb, 11ba, 12ba, 13bd, 14aa, 14ab, 14ba, 14bb, 15a, 15b, 15c, e 18b**) os quais, foram solubilizados individualmente em etanol/acetona 1:1 (1 mL) sendo a solução estoque A $[]_i = 10000 \mu\text{g/mL}$, a qual foi utilizada para preparar a solução estoque B $[]_i = 1000 \mu\text{g/mL}$ (100 μL da solução estoque A mais 900 μL do veículo de solubilização).

4.4.1.1.3 Preparo solução de DPPH:

Foram preparados 50 mL de solução estoque de DPPH em etanol na concentração de 0,3 mM, mantida sob refrigeração e protegida da luz.

4.4.1.1.4 Leitura das medidas de absorbância nas amostras:

Inicialmente, adicionou-se em uma microplaca de 96 poços, o volume de 20 μL das 4 soluções previamente preparadas de ácido ascórbico nas concentrações de 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ e 100 $\mu\text{g/mL}$ e acrescentou-se 80 μL de etanol/acetona (1:1) em cada poço, totalizando um volume final de 100 μL .

Após, adicionou-se a outros poços separadamente o volume de 20 e 10 μL da solução estoque A e o volume de 20, 10 e 2 μL da solução estoque B de cada composto a ser analisado e acrescentaram-se 80, 90, 80, 90 e 98 μL respectivamente de etanol/acetona (1:1) em cada poço, de modo a totalizar um volume final de 100 μL .

Seguidamente, acresceu-se 100 μL da solução de DPPH 0,3 mM em todos os poços, a fim de resultar o volume total de 200 μL .

Para todas as concentrações dos compostos testados foram analisadas contra um branco específico em cada avaliação, formado pelas amostras nas suas respectivas

diluições e o controle (0% de inibição) utilizou-se uma solução de 100 µL de etanol/acetona (1:1) acrescidos de 100 µL da solução de DDPH 0,3 mM.

As concentrações finais das amostras **7a, 7b, 8, 9, 10ab, 10ba, 10bb, 10cb, 11ba, 12ba, 13bd, 14aa, 14ab, 14ba, 14bb, 15a, 15b, 15c** e **18b** nos poços foram de [] f = 1000, 500, 100, 50, 10 µg/mL (Tabela 36). Todas as amostras foram realizadas em duplicata em três placas de 96 poços.

Incubou-se por 30 minutos à temperatura ambiente e protegida da luz, efetuou-se a leitura dos poços em leitora de microplacas TP-READER THERMOPLATE® no comprimento de onda de 518 nm.

Tabela 36. Concentração compostos analisados

| [] f compostos (µg/mL) | Etanol/ Acetona 1:1 (µL) | Soluções Compostos (µL) | DPPH 0,3mM (µL) |
|-------------------------|------------------------------|-------------------------|-----------------|
| 10 | 98 | 2 (B) | 100 |
| 50 | 90 | 10 (B) | 100 |
| 100 | 80 | 20 (B) | 100 |
| 500 | 90 | 10 (A) | 100 |
| 1000 | 80 | 20 (A) | 100 |
| Controle | 100 | - | 100 |
| Branco | Ajustou-se conforme composto | Todas [] do composto | - |

A porcentagem de atividade antioxidante (% AA) corresponde à quantidade de DDPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC₅₀), também chamada de concentração inibitória (IC₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua IC₅₀ e maior a sua atividade antioxidante.

A partir dos resultados obtidos da leitura da absorbância pode-se fazer a avaliação da atividade captadora do radical, obtendo a porcentagem de inibição, conforme a equação abaixo:^{167a,168}

$$\% \text{ AA} = 100 - [(Abs \text{ da amostra} - Abs. \text{ do branco}) \times 100 / Abs. \text{ do controle}]$$

Para cada substância calculou-se com auxílio do software *GraphPad Prism* a média e o erro das % de inibição para cada concentração testada, também pelo mesmo *software* foi possível a construção dos gráficos dos compostos.

A determinação da IC₅₀, ou seja, concentração da amostra ou padrão que causa 50% de inibição do DPPH foi obtida por regressão linear (equação da reta), a partir de pontos plotados pela média de porcentagens obtidas no programa *Microsoft Excel 2007*.

4.4.1.2 Método Quantitativo para Capacidade Antioxidante Total em placas de Elisa

A capacidade antioxidante total (TAC) dos compostos foi avaliada pelo ensaio de fosfomolibdênio conforme protocolo do Laboratório de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular – UFSM com base na metodologia de Prieto e col.¹¹⁰ com algumas modificações. Cada composto (**7a**, **7b**, **10ba**, **10bb**, **11ba**, **11bb**, **15a**, **15b**) foi testado a 10, 50, 100, 500, e 1000 µg/mL em 10% de DMSO. Sete diferentes concentrações de BHT (10, 50, 100, 500 e 1000 µg/mL) foram utilizadas como controles positivos. Uma alíquota da solução de amostra foi combinada com uma solução de reagente (600 mM de ácido sulfúrico, 28 mM de fosfato de sódio e molibdato de amônio a 4 mM). Os tubos foram tapados e incubados num banho de água a 95 °C durante 90 min. Após as amostras foram arrefecidas até à temperatura ambiente e a absorbância foi medida a 695 nm contra um ensaio em branco (reagente e 0,05 mL de água). Atividade antioxidante total foi expressa em relação do BHT 50 µg/mL de absorbância (100% de controle) e calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{TAC \%} = [(\text{Abs. da amostra} - \text{Abs. de branco}) \times 100 / (\text{Abs. do controle} - \text{Abs. de branco})]$$

4.4.2 Atividade Antimicrobiana *in vitro*

Com colaboração do Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI), da UFSM, as moléculas foram submetidas à determinação da atividade antimicrobiana.

4.4.2.1 Método da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição em Caldo Muller-Hinton

Os micro-organismos utilizados neste teste foram cepas padrão ATCC (American Type Culture Collection), de acordo com o protocolo M7-A9 (2012), aprovado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas utilizadas estão descritas a seguir (Tabela 37):

Tabela 37. Micro-organismos Indicadores

| Características | Micro-organismos | ATCC |
|------------------------|-------------------------------------|-------------|
| Gram-positivo | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 29213 |
| | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | ATCC 1228 |
| | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | |
| | <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 51299 |
| | <i>Listeria monocitogenis</i> | |
| | <i>Bacillus cereus</i> | ATCC 14579 |
| Gram-negativo | <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | ATCC 700603 |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |
| | <i>Shigella sonnei</i> | |
| | <i>Salmonella entérica (typhi)</i> | |

4.4.2.1.1 Preparação do inóculo

As bactérias foram cultivadas em tubos contendo Ágar BHI (*Brain Heart Infusion Agar*), a 35 °C, por 24 horas. Primeiramente, foi realizada uma suspensão direta de colônias de mesma morfologia em salina (0,85%). As densidades dessas suspensões bacterianas foram ajustadas para uma densidade óptica variável entre 0,08 a 0,10 (88 a 92% de transmitância), em 625 nm, através de um espectrofotômetro, correspondendo à escala McFarland 0,5. Os inóculos, assim padronizados, foram diluídos 1:20 em caldo Muller-Hinton, para se obter a concentração final de aproximadamente 5×10^5 UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mL) em cada poço-teste.

4.4.2.1.2 Técnica de Microdiluição em Caldo Muller-Hinton

Primeiramente, pesaram-se 100 mg de cada composto a ser testado (**9, 10aa, 10bb, 10cb, 11ba, 11bb, 11bc, 11be, 13bd, 14bb, 15a, 15b, 18b, 19ea, 19bb**) e solubilizou-se em 1000 µL de DMSO, obtendo-se a Solução I (100.000 µg/mL).

Realizou-se uma diluição 1:100 da solução I em caldo Muller-Hinton, obtendo-se a solução II, com concentração de 1000 µg/mL.

Para determinar as CIMs, foram utilizadas microplacas de poliestireno contendo 96 poços com fundo chato. Inicialmente foram depositados 200 µL da solução II de cada composto no primeiro poço teste e, posteriormente, foram realizadas sucessivas diluições 1:2 em caldo Muller-Hilton, previamente depositado, até o poço 10 das microplacas. As concentrações testadas foram: 1000; 500; 250; 12,5; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91; 1,95 µg/mL.

Após, foram adicionados 10 µL do inóculo, previamente ajustado e diluído em caldo Muller-Hilton, em cada poço teste (1 a 10) e também ao controle positivo. As placas foram incubadas por 24 horas, a 35 °C.

A leitura foi realizada com base na inibição do crescimento da bactéria, comparada com o seu controle positivo. Todos os testes foram realizados em duplicata, contendo seus respectivos controles positivos e negativos.

4.4.2.2 Método da concentração inibitória mínima (CIM) por microdiluição em Caldo RPMI 1640

O método foi realizado por microdiluição em caldo RPMI 1640 e avaliou o comportamento dos micro-organismos frente a crescentes concentrações dos compostos a serem testados em meio de cultura líquido.

A suscetibilidade dos fungos frente aos compostos foi determinada pelo método de microdiluição em caldo RPMI 1640, de acordo com os protocolos M27-A3 (para leveduras) e M38-A2 (para fungos filamentosos), aprovados pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Os fungos utilizados estão descritos a seguir (Tabela 38):

Tabela 38. Micro-organismos Indicadores

| Características | Micro-organismos | ATCC |
|-----------------------------|------------------------------------|-------------|
| Leveduriformes | <i>Candida albicans</i> | ATCC 14057 |
| | <i>Candida dubliniensis</i> | |
| | <i>Candida glabrata</i> | ATCC 2301 |
| | <i>Candida krusei</i> | |
| | <i>Candida parapsilosis</i> | ATCC 6258 |
| | <i>Cryptococcus neoformans</i> | ATCC 22018 |
| Filamentosos | <i>Aspergillus fumigatus</i> | ATCC 36031 |
| | <i>Aspergillus flavus</i> | |
| | <i>Aspergillus niger</i> | |
| | <i>Aspergillus terreus</i> | |
| | <i>Fusarium solani</i> | |
| | <i>Rhizopus oryzae</i> | |
| | <i>Microsporium canis</i> | |
| | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | ATCC 17107 | |
| <i>Sporothrix schenckii</i> | | |

4.4.2.2.1 Preparação do inóculo

4.4.2.2.1.1 Leveduras

As leveduras foram cultivadas em tubos contendo Ágar Sabouraud Dextrose a 35°C, por 24 horas, para os isolados de *Candida* sp., e, por 48 horas, para *Cryptococcus neoformans*. Primeiramente, foi realizada uma suspensão direta de colônias de mesma morfologia em salina (0,85%). As densidades dessas suspensões bacterianas foram ajustadas para uma densidade óptica variável entre 0,08 a 0,10 (88 a 92% de transmitância), em 530 nm. Os inóculos, assim padronizados, foram diluídos 1:50 em salina estéril e, posteriormente, 1:20 em caldo RPMI 1640. Isso resultou em uma concentração final de aproximadamente 1×10^3 a 5×10^3 UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mL), em cada poço teste.

4.4.2.2.1.2 Fungos filamentosos

Aspergillus sp., *Fusarium solani*, *Rhizopus oryzae*, *Sporothrix schenckii*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium solani*, *Rhizopus oryzae* e *Sporothrix schenckii* foram cultivados em tubos contendo Ágar Batata Dextrose, a 35 °C, por 7 dias. Para a preparação dos inóculos, as

colônias de sete dias foram cobertas com aproximadamente 1 mL de solução salina estéril, a 0,85%. Para *Aspergillus* sp., foram adicionadas às colônias uma gota (aproximadamente 0,01 mL) de Tween 20 para facilitar a remoção dos conídios. As suspensões foram obtidas através de movimentos delicados com auxílio de uma pipeta de Pasteur estéril. A mistura de conídios e fragmentos de hifas foi transferida para um novo tubo estéril e mantida em repouso por cinco minutos. O sobrenadante foi removido por aspiração e transferido para um novo tubo também estéril. As densidades das suspensões de conídios foram ajustadas para uma densidade óptica variável entre 0,09 a 0,13 (80 a 82%), para *Aspergillus* sp. e *Sporothrix schenckii*, e 0,15 a 0,17 (68 a 70% de transmitância), para *Fusarium solani* e *Rhizopus oryzae*, em 530 nm. Os inóculos, assim padronizados, foram diluídos 1:50 em caldo RPMI 1640, para se obter uma concentração final de aproximadamente $0,4 \times 10^4$ a 5×10^4 UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mL).

Microsporium canis e *Trichophyton mentagrophytes* foram cultivados em tubos contendo Ágar Batata Dextrose, enquanto o *Trichophyton rubrum* foi cultivado em Ágar Aveia. Todas as culturas foram mantidas a 30 °C, por cinco dias. Para a preparação desses inóculos, as colônias de cinco dias foram cobertas com aproximadamente 1 ml de solução salina estéril, a 0,85%. As suspensões foram obtidas através de movimentos delicados com auxílio de uma pipeta de Pasteur estéril. A mistura de conídios e fragmentos de hifas foi transferida para um novo tubo estéril e mantida em repouso por cinco minutos. O sobrenadante foi removido por aspiração e transferido para um novo tubo também estéril. Os inóculos foram ajustados para o tamanho de inóculo desejado, utilizando um hemocitômetro. A concentração final foi de 1×10^3 a 3×10^3 UFC/mL.

4.4.2.2.2 Técnica de Microdiluição em Caldo RPMI 1640

Pesaram-se, inicialmente, 100 mg de cada composto a ser testado (**9**, **10aa**, **10bb**, **10cb**, **11ba**, **11bb**, **11bc**, **11be**, **13bd**, **14bb**, **15a**, **15b**, **18b**, **19ea**, **19bb**) e solubilizou-se em 1000 µL de DMSO, obtendo-se a Solução I (100.000 µg/mL). Em seguida, realizou-se uma diluição 1:100 da Solução I em caldo RPMI 1640, obtendo-se a Solução II (1000 µg/mL).

Para determinar as CIMs (concentrações inibitórias mínimas), foram utilizadas microplacas de poliestireno contendo 96 poços com fundo chato. Primeiramente, foram

depositados 200 μL (Solução II) de cada composto no primeiro poço teste e, posteriormente, foram realizadas sucessivas diluições 1:2 em caldo RPMI 1640, previamente depositado, até o poço 10 das microplacas. As concentrações testadas foram: 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91; 1,95 e 0,98 $\mu\text{g/mL}$.

Após, foram adicionados 100 μL do inóculo previamente ajustado e diluído em caldo RPMI 1640, em cada poço teste (1 ao 10) e também ao controle positivo. As placas foram incubadas a 35°C, por 24 horas, o fungo filamentososo *Rhizopus oryzae*; por 48 horas, os fungos *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* *Aspergillus* sp., *Fusarium solani* e *Sporothrix schenckii*; por 72 horas, o *Cryptococcus neoformans*; e, por 4 dias, os fungos *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton rubrum*.

A leitura foi realizada com base na inibição do crescimento do fungo, comparada com o seu controle positivo. Todos os testes foram realizados em duplicata, contendo seus respectivos controles negativo e positivo.

Para controle de viabilidade do teste, foram utilizados antimicrobianos frente aos diferentes micro-organismos e avaliada a concentração inibitória mínima (CIM). Os antibióticos testados foram o Imipenem[®], para bactérias, e o Fluconazol[®], a Anfotericina B[®] e a Terbinafina[®], para os fungos.

4.4.3 Determinação da Atividade de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase

Em coparticipação com o Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais (NPPN), da UFSM, os compostos inéditos sintetizados neste trabalho foram submetidos à determinação da atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE).

A avaliação da atividade foi realizada através de um ensaio colorimétrico quantitativo, baseado no método adaptado de Ellman.¹⁶⁹ Trinta e três compostos inéditos previamente sintetizados neste trabalho a serem testados (**7a, 7b, 7c, 8, 9, 10aa, 10ab, 10ba, 10bb, 10cb, 11aa, 11ab, 11ba, 11bc, 11bb, 11bd, 11be, 12ba, 13bd, 14aa, 14ab, 14ba, 14bb, 15a, 15b, 15c, 16b, 17b, 18a, 18b, 18c, 19bd, 20**) foram preparados em DMSO, com uma concentração de 5 mM (solução estoque), sendo que esta foi diluída no tampão de análise para adição em cada poço (concentração final no poço de 200 μM).

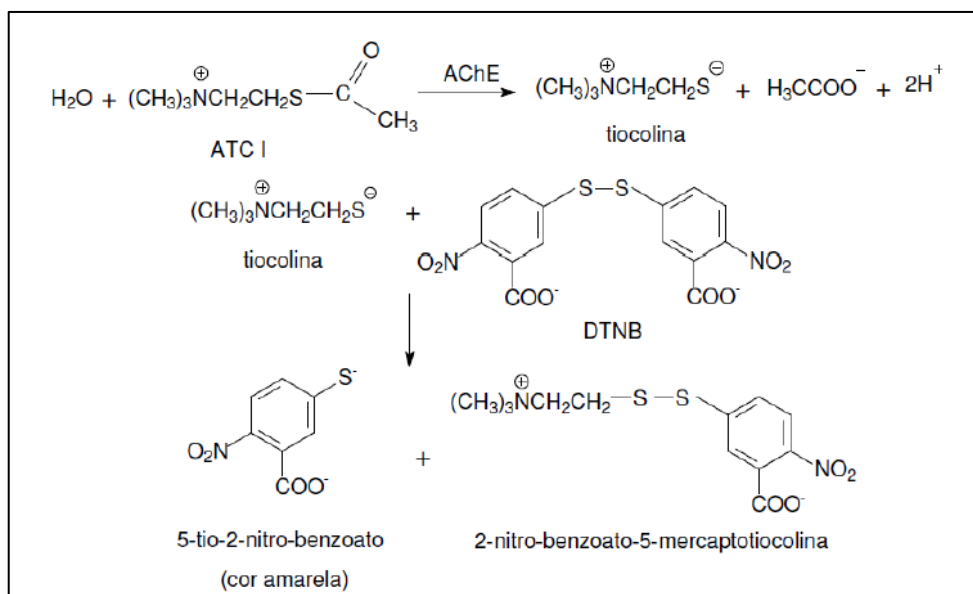
Em uma microplaca de Elisa de 96 poços, foram adicionados e incubados a 25 °C, por 5 min, 160 μL (1,5 mM) de reagente Ellman's – DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-2-

nitrobenzóico) em tampão B (50 mM Tris-HCl, pH 7,9 contendo NaCl 0,1 M e 0,02 M $MgCl_2 \cdot 6H_2O$), 50 μL da enzima AChE (0,22 U/mL) em tampão A (50 mM Tris-HCl, pH 7,9, contendo NaCl 0,1% de albumina de soro bovino) e 10 μL do composto a ser testado.

Após o tempo de incubação, 30 μL (15 mM) de iodeto de acetiltiocolina (ASCh) em H_2O miliQ foi adicionado em cada poço e a microplaca foi novamente incubada a 25 °C por 20 minutos. As leituras de absorbância foram realizadas em um espectrofotômetro com leitor de micro placas da marca SpectraMax M2 (Molecular Devices Inc., USA), utilizando o comprimento de onda de 405 nm a cada 60 segundos e o tempo escolhido para o cálculo de inibição foi de 3 minutos após adição do ASCh.

A enzima hidrolisa o substrato ASCh que reage com o DTNB para produzir os compostos 2-nitrobenzoato-5-mercaptotiocolina e 5-tio-2-nitro-benzoato de coloração amarela com intensa absorção em 405 – 415 nm (Esquema 72).^{159b}

Esquema 72. Reações envolvidas no método de Ellman



Foram realizados controles negativos de cada substância a ser testada, em que todos os reagentes foram adicionados conforme anteriormente, porém sem a enzima (para observar se a amostra por si só não geraria nenhuma absorbância). Também foram feitos dois controles da enzima e um branco, o primeiro contendo 160 μL de DTNB, 50 μL da enzima, 10 μL de DMSO e 30 μL de ASCh (sem nenhum inibidor) e o segundo contendo apenas 160 μL de DTNB, 50 μL de tampão A, 10 μL de DMSO e 30 μL de ASCh.

O ensaio foi realizado em triplicata e a Eserina/Fisiostigmina foi utilizada como referência (controle positivo) na inibição da AChE por já ser um inibidor conhecido, nas mesmas condições experimentais (concentração de 200 μ M). Neste teste, a eserina inibiu a atividade da enzima acetilcolinesterase entre 92 – 95%.

O programa utilizado para a análise dos resultados obtidos foi o SoftMaxPro 5.4.1. A porcentagem de inibição foi calculada pela absorbância da amostra, utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ Inibição} = 100 - [(I-N)/E] \times 100$$

Sendo,

I: Absorbância da inibição da amostra;

N: Absorbância do controle negativo da amostra;

E: Absorbância do controle da enzima.

4.4.4 Ensaio *in silico*

A estrutura 3D cristalográfica da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi obtida através do Protein Data Bank – PDB¹⁷⁰ com o código 1EA5. O software CHIMERA 1.8 foi utilizado para remover moléculas, água e íons, da estrutura e para minimizar a mesma, com 500 passos e usando as cargas parciais de Gasteiger.

Havendo a possibilidade de equilíbrio tautomérico do composto **15** realizou-se o *docking* com ambas as formas isoméricas. Os isômeros foram obtidos através do programa Avogadro 1.0.3, no qual foram pré-otimizados com 500 passos e usando o campo de força UFF. A seguir, os mesmos foram otimizados com o método semiempírico PM6¹⁶⁸, através do software MOPAC.¹⁷¹ Tanto a macromolécula como os ligantes foram convertidos para o formato *pdbqt*, usando o Auto Dock Tools 1.5.6.

Para realizar o *docking* molecular, foi utilizado o programa Auto Dock Vina,¹⁷² com a posição do grid box em: x= 5.206, y= 66.365, z= 58.759; e tamanho de x= 64 Å, y= 62 Å, z= 58 Å. Os resultados foram visualizados no programa *Discovery Studio Visualizer* 3.5.0.

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Considerando-se os objetivos propostos para a realização deste trabalho, analisando-se os métodos desenvolvidos e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

I – Ocorreu a formação eficiente de 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il] nicotinoidrazidas (**7a-c**) quando reagiu-se cloridrato de nicotinato de 6-[3-alkuil(aril/heteroaril)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]metila (**6a-c**) e hidrazina hidratada;

II - Foi possível desenvolver uma rota sintética hábil para a formação de sistemas *bis*-pirazóis trialometilados carbonil-piridínico **10 – 11** a partir de reações do tipo [3 + 2] entre pirazolil-nicotinoidrazidas **7a-c** precursores dos metil-ésteres **6a-c** frente às 4-alcóxi-4-alkuil(aril/heteroaril)-1,1,1-trialo-3-alkuen-2-onas (**2, 3**), com rendimentos entre 67 – 91%. Após, em um único passo reacional, promoveu-se desidratação utilizando cloreto de tionila que conduziram com sucesso aos compostos **12 e 13**, preservando a ligação amídica entre o N1 pirazolínico e a carbonila hidrazídica, isolando-se compostos sólidos, puros;

III – Realizou-se a síntese do núcleo 1,3,4-oxadiazol no sistema pirazolil nicotinoidrazidas (**7**) com reações de ciclocondensação do tipo [4 + 1], sendo a metodologia empregada simples e hábil, com uma utilização mínima de solvente e às vezes a ausência dele. Os poli-heterociclos **14 e 15** obtiveram rendimento na faixa de 52 – 81%. Também, em sequência, conseguiu-se apresentar exemplo da conversão da classe 1,3,4-oxadiazol (**15**) à 1,2,4- triazol (**16**); e ainda a síntese de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-tiona-5-il)-1(2*H*)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-*a*]piridina (**17**), quando o reagente **1** reagiu com dissulfeto de carbono em meio básico;

IIV - Ainda, sintetizou-se sistemas poli-heterocíclicos contendo as classes pirazol, piridina e pirrol a partir das nicotinidrazidas **7a-c** obtendo compostos inéditos **18a-c** com rendimentos de 50 – 87%;

V- Utilizou-se aldeídos arilícos substituídos ou acetofenona para sintetizar compostos com função semicarbazida a partir de reações de condensação com precursores **7**;

VI - Foi possível determinar a atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (AChE) das moléculas inéditas sintetizadas, descritas neste trabalho, destacando 1,3,4-oxadiazol-2-tiona, composto **15a**, que teve um $IC_{50} \approx 200\mu M$;

VII - Avaliou-se a bioatividade frente a bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e a fungos de moléculas descritas nesta tese, determinando a concentração mínima inibitória (CIM) e concentração letal mínima (CLM) através do método por microdiluição em caldo. Exclusivamente os compostos **9**, **10aa**, **15a** e **15b** demonstraram serem ativos frente a fungos.

O composto 2-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)-piridina (**15a**) inibiu o crescimento para dez tipos de cepas e verificou-se a letalidade para nove fungos, sendo que para o *Trichophyton mentagrophyte* e o *Trichophyton rubrum* obtiveram-se os valores menores de CIM e CLM (31,25 $\mu g/mL$). Já o composto 2-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina **15b** apresentou atividade fungioestática para as dezesseis espécies testadas e atividade fungicida para 15 tipos de fungos. Os melhores resultados foram na concentração de 7,81 $\mu g/mL$ (CIM/CFM) para os dermatófitos: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophyte* e *Trichophyton rubrum*.

VIII - Pôde-se medir o potencial antioxidante pelo método do radical livre DPPH de compostos previamente sintetizados. Observou-se que a melhor atividade por esta metodologia foi dos compostos **15**, 1,3,4-oxadiazóis 2-tiona, com valores de IC_{50} de $25,84 \pm 7,20 \mu g/mL$ (**15a**), $29,89 \pm 7,87 \mu g/mL$ (**15b**) e $33,93 \pm 5,59 \mu g/mL$ (**15c**). A capacidade antioxidante total pelo método de fosfomolibdênio também foi verificada e as moléculas revelaram serem promissoras antioxidantes;

IX - As técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de 1H e ^{13}C e de Difração de Raios-X foram fundamentais para a elucidação da estrutura dos compostos sintetizados nesta tese.

Sugestões para continuidade deste trabalho:

(a) Explorar a versatilidade do potencial sintético das pirazolil nicotinoidrazidas **7** para a obtenção de novos compostos poli-heterocíclicos, contendo em sua estrutura classes como: tiadiazol, 1,2,4-triazol derivados;⁵⁵

(b) Realizar reações de ciclização nos compostos **19** – **20** para obtenção de mais um anel heterociclo na molécula;^{84,87}

(c) Levando-se em consideração o potencial biológico dos núcleos heterociclos, realizar mais testes de suas atividades farmacológicas (anticonvulsivante, anti-inflamatória, analgesia), e avaliar a citotoxicidade destes compostos que foram promissores (bioativos).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rissato, S. R.; Gerenutti, M. *Química Orgânica: compreendendo a ciência da vida*, Ed. Átomo: Campinas, São Paulo, **2005**.
2. Padwa, A.; Murphree, S. S.; Gribble, G. W.; Gilchrist, T. L. *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, **2002**.
3. (a) Cottineau, B.; Toto, P.; Marot, C.; Pipaud, A.; Chenault, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2105; (b) Lee, K. Y.; Kim, J. M.; Kim, J. N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6737; (c) Genin, M. J.; Biles, C.; Keiser, B. J.; Poppe, S. M.; Swaney, S. M.; Tarpley, W. G.; Yagi, Y.; Romero, D. L. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1034.
4. (a) Lednicer, D.; Mitscher, L. A. *Organic Chemistry of Drugs Synthesis*, John Wiley & Sons: New York, **1997**, Vol. 1-4; (b) Arriba, A. F.; Gómez-Casajús, L. A.; Cavalcante, F.; Almansa, C.; García-Rafanell, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *318*, 341.
5. (a) Hayen, A.; Schmitt, M. A.; Ngassa, F. N.; Thomasson, K. A.; Gellman, S. H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 505; (b) Staude, V. E. *Angew Makromolekulare Chemie*, **1970**, *13*, 163; (c) Awazu, K.; Roorda, S.; Brebner, J. L.; Ishii, S.; Kunihiro, K. *S. Jpn J. Appl. Phys.* **2002**, *42*, 3950.
6. (a) Silva, L. E. *Heterociclos Aromáticos Nitrogenados – Síntese e Potencial Quimioterápico*, 183 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, **2006**; (b) Peter, K.; Vollhardt, C.; Schore, N. E. *Química Orgânica: estruturas e funções*, Ed. Artmed, 4ª Ed., **2004**.
7. (a) Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos*, Ed. Artmed: Porto Alegre, **2001**; (b) Zelenin, K. N. *Org. Prep. Proc. Int.* **1995**, *27*, 519.
8. Dinges, J.; Lamberth, C. (Ed.) *Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Pharmaceuticals*, 1st Ed., Wiley-VCH, **2012**.
9. Park, P. Y.; Lee, M. J.; Kim, J. N. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8799.
10. Stefani, H. A. *Introdução à Química de Compostos Heterocíclicos*, Ed. Guanabara Koogan S. A.: Rio de Janeiro, **2009**.
11. (a) Katritzky, A. R.; Rees, C. W. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Pergamon Press: Oxford, New York, 1st ed., Vol. 1-8, **1984**; (b) Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C. M. P.; Sinhorin, A. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synthesis*, **2004**, *1*, 391.

12. Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. *In Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Eds. Pergamon Press: Oxford, **1996**, Vol. 3,5.
13. (a) Hojo, M.; Masuda, R.; Okada, E. *Synthesis*, **1986**, *12*, 1013; (b) Hojo, M.; Masuda, R.; Kokuryo, Y.; Shioda, H.; Matsuo, S. *Chem Lett.* **1976**, *5*, 499; (c) Hojo, M.; Masuda, R.; Sakagushi, S.; Takagawa, M. *Synthesis* **1986**, 1016; (d) Martins, M. A. P.; Bastos, G. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4309; (e) Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P.; Bittencourt, S. R. T.; Lourega, R. V.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **1999**, *99*, 177; (f) Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M.; Freitag, A. R.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, *17*, 298; (g) Siqueira, G. M.; Flores, A. F. C.; Clar, G. Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Quim. Nova*, **1994**, *17*, 24.
14. Bonacorso, H. G.; Cechinel, C. A.; Deon, E. D.; Sehnem, R. C.; Luz, F. M.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *ARKIVOC*, **2009**, *ii*, 174.
15. (a) Martins, M. A. P.; Zoch, A. N.; Flores, A. F. C.; Clar, G.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1995**, *32*, 739; (b) Effenberger, F.; Maier, R.; Schonwalder, K. H.; Ziegler, T. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 2766; (c) Effenberger, F.; Schonwalder, K. H. *Chem. Ber.* **1984**, *117*, 3270; (d) Kamiori, Y.; Hojo, M.; Masuda, R.; Fujitani, T.; Kosbuschi, T. *Synthesis*, **1986**, *4*, 340.
16. Martins, M. A. P.; Pereira, C. M. P.; Sinhorin, A. P.; Rosa, A.; Zimmermann, N. E. K.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Magn. Res. Chem.* **2002**, *40*, 182.
17. Hussein, A. H. M. *Heteroat. Chem.* **1997**, *8*, 1.
18. (a) Lin, P.; Jiang, J. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 3635; (b) Arnone, A.; Berbaridi, R.; Blasco, F.; Cardillo, R.; Resnati, G.; Gerus, I. I.; Kukhar, V. P. *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 2809; (c) Filler, R.; Banks, R. E. *Organofluorine Chemicals and Their Industrial Applications*, Ellis Horwood: Chichester, **1979**.
19. Bonacorso, H. G.; Lourega, R. V.; Wastowski, A. D.; Flores, A. F. C.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P.; *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 9315.
20. Oliveira C. S.; Lira, B. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Lorenzo, J. G. F.; Athayde-Filho, P. F.; *Molecules*, **2012**, *17*, 10192.
21. Patel, K. D.; Prajapati, S. M.; Panchal, S. N.; Patel, H. D. *Synthetic Commun.*, **2014**, *44*, (13), 1859-1875.
22. (a) Gaonkar, S. L.; Rai, K. M. L.; Prabhuswamy, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 841; (b) Sahin, G.; Palaska, E.; Ekizoglu, M.; Özalp, M. *Il Farmaco*, **2002**, *57*, 539; (c)

- Savarino, A. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2006**, *15*, 1507; (d) James, N. D.; Growcott, J. W. Zibotentan. *Drugs Future*, **2009**, *34*, 624.
23. Melo, J. O.; Donnici, C. L.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V.; Ferreira, M. L. G.; Cunha, A. C. *Quim. Nova*, **2006**, *29*, 569.
24. (a) Hasan, A.; Thomas, N. F.; Gopil, S. *Molecules*, **2011**, *16*, 1297; (b) Hasan, A.; Akhtar, M. N.; Gopil, S. *Asian J. Chem.*, **2011**, *23* (12), 5471.
25. (a) Bekircan, O.; Bektas, H. *Molecules* **2006**, *11*, 469; (b) Sahin, D.; Bayrak, H.; Demirbas, A.; Demirbas, N.; Alpay Karaoglu, S. *Turk. J. Chem.*, **2012**, *36*, 411; (c) Koparır, M.; Cansız, A.; Demirdağ, A. *Molecules*, **2004**, *9*, 204.
26. Jaspers, B. K.; Dewaard, M. A. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **1994**, *49*, 1, 53.
27. Trofimov, B. A.; Mikhaleva, A. I.; Ivanov, A. V.; Shcherbakova, V. S.; Ushakov, I. A. *Tetrahedron*, **2015**, *71*, 1, 124.
28. Effenberger, F. *Chem. Ber.* **1965**, *98*, 226.
29. (a) Bonacorso, H. G.; Costa, M. B.; Moura, S.; Pizzuti, L.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.* **2005**, *126*, 1396; (b) Flores, A. F. C.; Brondani, S.; Zanatta, N.; Rosa, A.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8701; (c) Martins, M. A. P.; Sinhoin, A. P.; Rosa, A.; Flores, A. F. C.; Wastowski, A. D.; Pereira, C. M. P.; Flores, D. C.; Beck, P.; Freitag, R. A.; Brondani, S.; Cunico, W.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Synthesis*. **2002**, *16*, 2353; (d) Martins, M. A. P.; Emmerich, D. J.; Pereira, C. M. P.; Cunico, W.; Rossato, M.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4935; (e) Colla, A.; Clar, G.; Martins, M. A. P.; Krimmer, S.; Fisher, P. *Synthesis*. **1991**, 6,483.
30. (a) Bonacorso, H. G.; Porte, L. M. F.; Cechinel, C. A.; Paim, G. R.; Deon, E. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1392; (b) Bonacorso, H. G.; Porte, L. M. F.; Paim, G. R.; Luz, F. M.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3759; (c) Bonacorso, H. G.; Porte, L. M. F.; Navarini, J.; Paim, G. R.; Luz, F. M.; Oliveira, L. M.; Whietan, C. W.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3333; (d) Bonacorso, H. G.; Ferla, A.; Cechinel, C. A.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *Lett. Org. Chem.* **2007**, *4*, 495; (e) Bonacorso, H. G.; Ferla, A.; Cechinel, C. A.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Heterocycl. Chem.* **2008**, *45*, 483.
31. (a) Martins, M. A. P.; Zoch, A. N.; Flores, A. F. C.; Clar, G.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *J. Heterocyclic Chem.*, **1995**, *32*, 739; (b) Martins, M. A. P.; Bastos, G. P.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C.; Siqueira, G. M. *Tetrahedron*

- Lett.*, **1999**, *40*, 4309; (c) Bonacorso, H. G.; Martins, M. A. P.; Bittencourt, S. R. T.; Lourega, R. V.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.*, **1999**, *99*, 177; (d) Bonacorso, H. G.; Cechinel, C. A.; Oliveira, M. R.; Costa, M. B.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Heterocycl. Chem.*, **2005**, *42*, 1055; (e) Bonacorso, H. G.; Drekenner, R. L.; Rodríguez, I. R.; Vezzosi, R. P.; Costa, M. B.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Fluorine Chem.*, **2005**, *126*, 1384; (f) Bonacorso, H. G.; Costa, M. B.; Moura, S.; Pizzuti, L.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *J. Fluorine Chem.*, **2005**, *126*, 1396; (g) Bonacorso, H. G.; Costa, M. B.; Lopes, I. S.; Oliveira, M. R.; Drekenner, R. L.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Flores, A. F. C. *Synth. Comm.*, **2005**, *35*, 3055; (h) Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C. M. P.; Sinhoin, A. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synth.*, **2004**, *1*, 391; (i) Druzhinin, S. V.; Balenkova, E. S.; Nenajdenko, V. G. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7753.
32. Bonacorso, H. G.; Garcia, F. D.; Belo, C. R.; Tier, A. Z.; Frizzo, C. P.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Fluorine Chem.* **2014**, *166*, 44.
33. Beck, P. H. *Uso de energia de microondas na síntese de enonas e de 4,5-diidropirazóis triálometil-substituídos*, 2007. 213 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2007**.
34. Martins, M. A. P.; Guarda, E. A.; Frizzo, C. P.; Moreira, D. N.; Marzari M. R. B.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. *Catal.Lett.* **2009**, *130*, 93.
35. (a) Martins, M. A. P.; Cunico, W.; Pereira, C. M. P.; Sinhoin, A. P.; Flores, A. F. C.; Bonacorso, H. G.; Zanatta, N. *Curr. Org. Synth.* **2004**, *1*, 391; (b) Druzhinin, S. V.; Balenkova, E. S.; Nenajdenko, V. G. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7753.
36. Elguero, J.; Yranzo, G. I. *J. Chem. Res. Synop.* **1990**, 120.
37. Zefirov, N. S.; Kozhushkov, S. I.; Kuznetsova, T. S.; Ershov, B. A.; Selivanov, S. I. *Tetrahedron*, **1986**, *42*, 709.
38. Threadgill, M. D.; Herr, A. K.; Jones, B. G. *J. Fluorine Chem.*, **1993**, *65*, 21.
39. Bonacorso, H. G.; Wentz, A. P.; Lourega, R. V.; Cechinel, C. A.; Moraes, T. S.; Coelho, H. S.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P.; Höerner, M.; Alves, S. H. *J. Fluorine Chem.* **2006**, *127*, 1066.
40. Bonacorso, H. G.; Cavinatto, S.; Campos, P. T.; Porte, L. M. F.; Navarini, J.; Paim, G. R.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N.; Stuker, C. Z. *J. Fluorine Chemistry*, **2012**, *135*, 303.
41. Bonacorso, H. G.; Paim, G. R.; Guerra, C. Z.; Sehnem, R. C.; Cechinel, C. A.; Porte, L. M. F.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 509.

42. Padwa, A. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1274.
43. Bonacorso, H. G.; Cechinel, C. A.; Pittaluga, E. P.; Ferla, A.; Porte, L. M. F.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2010**, *21* (9), 1656.
44. Bonacorso, H. G.; Pittaluga, E. P.; Alves, S. H.; Schaffer, L. F.; Cavinatto, S.; Porte, L. M. F.; Paim, G. R.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *ARKIVOC*, **2012**, *viii*, 62.
45. (a) Huber, C. *Ann. Chem. Pharm.*, **1867**, *141*, 271; (b) Weidel, H. *Ann. Chem. Pharm.* **1873**, *165*, 328; (c) Laiblin, R. *Ber.*, **1877**, 2136.
46. Jones, T. R.; Calvert, A. H.; Jackman, A. L.; Eakin, M. A.; Smithers, M. J.; Betteridge, R. F.; Newell, D. R.; Hayter, A. J.; Stocker, A.; Harland, S. J.; Davies, L. C.; Harrap, K. R. *J. Med. Chem.*, **1985**, *28*, 1468.
47. (a) Akama, T.; Shida, Y.; Sugaya, T.; Ishida, H.; Gomi, K.; Kasai, M. *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 3461; (b) BAVTESIAS, V.; Henderson, E. A.; McDonald, E. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 5643.
48. Hosangadi, B. D.; Dave, R. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 6375.
49. Boovanahalli, S. K.; Jin, X.; Jin, Y.; Kim, J.; Dat, N.; Hong, Y.; Lee, J.; Jung, S.; Lee, K.; Lee, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 6305.
50. (a) Bonacorso, H. G.; Paim, G. R.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. BR Patente depositada no Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI (PI1105804-8) em acordo para Universidade Federal de Santa Maria, **2011**; (b) Paim, G. R. *Hidrazida 6-hidrazinonicotínica: síntese química e regioseletiva de piridinohidrazonas, ácidos pirazolil-nicotínicos e heterociclos derivados*. 2012. 220 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2012**.
51. Majumdar, P.; Pati, A.; Patra, M.; Behera, R. K.; Behera, A. K. *Chem. Rev.*, **2014**, *114* (5), 2942.
52. Gorobets, N. Y.; Yousefi, B. H.; Belaj, F.; Kappe, C. O. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 8633.
53. Amir, M.; Shikha, K. *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, *39*, 535.
54. Xia, Y.; Dong, Z.-W.; Zhao, B.-X.; Ge, X.; Meng, N.; Shin, D.-S.; Miao, J.-Y. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 6893.
55. Dharshan, J. C.; Vishnumurth, K. A. A.; Bodke, Y. D.; Vagdevi, H. M.; Jayanna, N. D.; Raghvendra, R. *Pharm. Chem.*, **2012**, *4*, 272.
56. Yogeewari, P.; Sriram, D.; Veena, V.; Kavaya, R.; Rakhra, K.; Ragavendran, J. V.; Mehta, S.; Thirumurugan, R.; Stables, J. P. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **2005**, *59*, (1-2), 51.

57. Ainsworth, C. *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 1148.
58. Leiby, R. W. *J. Heterocycl. Chem.*, **1984**, 21, 1825.
59. Wagner, E.; Al-Kadasi, K.; Zimecki, M.; Sawka-Dobrowolska, W. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 2498.
60. Bonacorso, H. G.; Pittaluga, E. P.; Porte, L. M. F.; Paim, G. R.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *ARKIVOC*, **2012**, viii, 214;
61. Luz, F. M. *Síntese de 1H-1,2,3-triazol-4-il-1,3,4-oxadiazóis a partir de 4-alcóxi-4-alquil-1,1,1-tricloro-3-buten-2-onas*. 2014. 130 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2014**.
62. Dabiri, M.; Salehi, P.; Baghbandeh, M.; Zolfigol, M. A.; Bahramnejad, M. *Synth. Commun.*, **2007**, 37, 1201.
63. Polshettiwar, V.; Varma, R. S. *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 879.
64. Wang, Y. T.; Tang, G. M.; Qiang, Z. W. *Polyhedron*, **2007**, 26, 4542.
65. Hill, J., **1984**. In: Katritzky, A. R., Rees, C. W. (Eds.). In: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, 6. Pergamon Press: Oxford, p. 428.
66. (a) Ollis, W. D.; Ramsden, C. A. *Chem. Commun.*, **1971**, 1223; (b) Gaetano, G.; Maria, M.; Bianca, C.; Aldo, P.; Carmelo, L. R. *J. Heterocycl. Chem.*, **1991**, 28, 325.
67. Belkadi, M.; Othman, A. A. *ARKIVOC*, **2006**, xi, 183.
68. Benhammadi, S.; Othman, A. A.; Derdour, A.; Mami, A. *Asian J. Chem.*, **2010**, 22 (7), 5535.
69. Farghaly, A.; El-Kashef, H. *ARQUIVOC*, **2006**, xi, 76.
70. (a) Safieh, K. A. A.; Al-Titi, A. M. S.; Zahra, J. A.; Ayoub, M. T. *Jordan Journal of Chemistry*, **2007**, 2, 211; (b) Li, Z.; Gu, Z.; Yin, K.; Zhang, R.; Deng, Q.; Xiang, J. *Eur. J. Med. Chem.*, **2009**, 44(11), 4716.
71. Al-Qaisi, A. H. J.; Tomi, I. H. R.; Al-Qaisi, Z. H. J. *IBN Al- Haitham J. For Pure & Appl. Sci*, **2010**, 23 (3).
72. Modi V.; Modi P. *J. Saudi Chem. Soc.*, **2012**, 16, 327.
73. Azam, A.; Salahuddin, A.; Siddiqui, S. M. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, 49, 411.
74. (a) Aydogan, F.; Turgut, Z.; Ocal, N. *Turk. J. Chem.*, **2002**, 26, 159; (b) Giudicelli, J. F.; Menin, J.; Najer, H. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1969**, 870; (c) Majumdar, P.; Pati, A.; Patra, M.; Behera, R. K.; Behera, A. K. *Chem. Rev.*, **2014**, 114 (5), 2942.
75. Khiati, Z.; Othman, A. A.; Guessas, B. S. *Afr. J. Chem.*, **2007**, 60, 20.
76. (a) Yates, F. S.; Boulton A. J.; McKillop A. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Pergamon: Oxford. **1984**, Vol. 2; (b) Walsh, C. T.; Tsodikova, G.; Howard-

- Jones, A. R. *Nat. Prod. Rep.*, **2006**, *23*, 517; (c) Bellina, F., Rossi, R. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 7213.
77. Su, T. L.; Lee, T. C.; Kakadiya, R. *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, *69*, 609.
78. Biava, M. *Curr. Med. Chem.*, **2002**, *9*, 1859.
79. Almerico, A. M.; Diana, P.; Barraja, P.; Dattolo, G.; Mingoia, F.; Loi, A. G.; Scintu, F.; Milia, C.; Puddu I.; La Colla, P. *Farmaco*, **1998**, *53*, 33.
80. Pelkey, E. T. *Prog. Heterocycl. Chem.*, **2005**, *17*, 109.
81. Bellina, F.; Rossi, R. *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 7213.
82. Eicher, T.; Hauptmann, S. *The Chemistry of Heterocycles*. Wiley: Londres. 2ª Ed. **2003**.
83. Hantzsch, A. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1890**, *23*, 1474.
84. Joshi, S. D., Vagdevi, H. M., Vaidya, V. P., Gadaginamath, G. S. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, *43*, 1989.
85. (a) Joshi, S. D.; More, Y.; Vagdevi, H. M.; Vaidya, V. P.; Gadaginamath, G. S.; Kulkarni, V. H. *Med. Chem. Res.*, **2013**, *22* (3), 1073; (b) Zuo, B.; Chen, J. X.; Liu, M. C.; Wu, H. Y.; Su, W. K. *Chinese Chemical Letters*, **2009**, *20*, (4), 423.
86. Paim, G. R. *Síntese de 2-(1H-Pirazol-1-Il)-5-(1H-Pirazol-1-Il-1-Carbonil) Piridinas*. 2008. 134 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2008**.
87. Aurangzeb, H., Noel, F. T., Shelly, G. *Molecules*, **2011**, *16*, 1297.
88. Singh, S. P.; Kumar, D.; Jones, B. G.; Threadgill, M. *J. Fluorine Chem.*, **1999**, *94*, 199.
89. Bonacorso, H. G.; Oliveira, M. R.; Costa, M. B.; Silva, L. B.; Wasowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Heterocycl. Chem.* **2005**, *42*, 631.
90. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.;

- Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian 09, Revision A.1, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
91. Góes, A. J. S.; Tenório, R. P. *Quim. Nova*, **2005**, 28, 1030.
92. (a) Joshi, S.D.; Vagdevi, H. M.; Vaidya, V. P.; Gadaginamath, G. S. *Eur. J. Med. Chem.*, **2008**, 43, 1989; (b) Mukesh, B.; Vandana, S.; Rakseh, K. *Int. Res. J. Pharm.*, **2011**, 2 (12), 84.
93. Koparır, M.; Çetin, A.; Cansız A. *Molecules*, **2005**, 10(2), 475.
94. Bonacorso, H. G.; Navarini, J.; Porte, L. M. F.; Pittaluga, E. P.; Junges, A. F.; Meyer, A. R.; Martins, M. A. P.; Zanatta, N. *J. Fluor. Chem.*, **2013**, 151, 38.
95. Amarnath, V.; Anthony, D. C.; Amarnath, K.; Valentine, W. M.; Wetterau, L. A.; Graham, D. G. *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, (24), 6924.
96. Beraldo, H. O. *Quím. Nova*, **2004**, 27, (3), 461.
97. Cavinatto, S. *Síntese e atividades antimicrobiana/antioxidante de 1-(pirazolin-1-il)-2-[(aril/heteroaril)metileno] carboidrazidas trifluormetil substituídas*. 2010. 176 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2010**.
98. Jin, J.-Y.; Zhang, L.-X.; Zhang, A.-J.; Lei, X.-X.; Zhu, J.-H. *Molecules*, **2007**, 12, 1596.
99. (a) Christen, Y. *Am. J. Clin. Nutr.*, **2000**, 71, (2), 621S; (b) Nunomura, A.; Castellani, R.; Zhu, X.; Moreira, P.; Perry, G.; Smith, M. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **2006**, 65, (7), 631.
100. (a) Atoui, A. K.; Mansouri, A.; Boskou, G.; Kefalas, P. *Food Chem.*, **2005**, 89, 27; (b) Barreiros, A. L. B. S.; David, J. M.; David, J. P. *Quím. Nova*, **2006**, 29, 113.
101. (a) Valko, M.; Izakovic, M.; Mazur, M.; Rhodes, C. J.; Telser, J. *Mol. Cell. Biochem*, **2004**, 266, 37; (b) El-Agamey, A.; Lowe, G. M.; McGarvey, D. J.; Mortesen, A.; Phillip, D. M.; Truscott, T. M.; Young, A. J. *Arch. Biochem. Biophys*, **2004**, 430, 37; (c) Omoni, A. O.; Aluko, R. E. *Trends Food Sci. Technol.*, **2005**, 16, 344; (d) Haslam, E.; *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 205.
102. Halliwell, B.; Aeschbach, R.; Lölliger, J.; Arouma, O. I. *Food Chem. Toxicol.*, **1995**, 33, (7), 601-17.
- 103.(a) Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jimenez, L. *Am. J. Clin. Nutr.*, **2004**, 79, (5), 727-47. (b) Dabelstein, D.; Reglitzky, A.; Schütze, A.; Reders K. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, **2007**, Wiley-VCH: Weinheim.

104. Milos, M.; Kulisic, T.; Radonic, A.; Katalinic, V. *Food Chem.*, **2004**, 85, (4), 633.
105. Sucupira, N. R.; Silva, A. B.; Pereira, G.; Costa, J. N. UNOPAR *Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, **2012**, 14, (4), 263-9.
106. Hostettmann, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C. *Princípios Ativos de Plantas Superiores*. Série de textos da Escola de Verão em Química, IV, Ed. UFSCar: São Carlos, **2003**.
107. (a) Prado A. *Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo; **2009**; (b) Goodman, L. S.; Gilman, A. *The Pharmacological Basis of Therapeutic*, **1990**, 8ª Ed., 1018. (c) Podsedek A. *Food Science and Technology*, **2007**, 40, 1.
108. Padayatty, S. J.; Katz, A.; Wang, Y.; Eck, P.; Kwon, O.; Lee, J.-H.; Chen, S.; Corpe, C.; Dutta, A.; Dutta, S. K.; Levine, M. *J. Am. Coll. Nutr.*, **2003**, 22, (1), 18.
109. Shigeoka, S.; Ishikawa, T.; Tamoi, M.; Miyagawa, Y.; Takeda, T.; Yabuta, Y.; Yoshimura, K. *J. Exp. Bot.*, **2002**, 53, (372), 1305–19.
110. Prieto, P.; Pineda, M.; Aguilar, M. *Anal. Biochem.*, **1999**, 269, 337-41.
111. Ramalho, V. C.; Jorge, N. *Quim. Nova*, **2006**, 29, (4), 755.
112. Ecycle *BHA e BHT: substâncias nocivas à saúde estão presentes em alimentos e cosméticos*. Ecycle, 22 jun. **2013**. Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/63-meio-ambiente/2206-o-que-e-sao-onde-estao-bha-bht-substancias-nocivas-batom-sombra-olho-maquagem-cosmetico-desodorante-protetor-perfume-alimento-conservante-antioxidante-enlatado-industrializado-conservador-regulamentacao-o-que-fazer-alternativas.html>>. Acesso em 15 dez. 2014.
113. Botterweck, A. A. M.; Verhagen, H.; Goldbohm, R. A.; Kleinjans, J. *Food Chem. Toxicol.*, **2000**, 38, 599.
114. Thomazini, M. H.; Klagenboech, R.; Motta, C. V.; Lenz, G. F.; Zara, R. F. *Anais do III ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica*, Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR, **2011**.
115. Revista Food Ingredient Brasil *Dossiê antioxidantes*, **2009**, 6. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>>. Acesso em 16 dez. 2014.
116. (a) Abdille, M. H.; Singh, R. P.; Jayaprakasha, G. K.; Jena, B. S. *Food Chem.*, **2005**, 90, (4), 891; (b) Stefanello, S. T.; Prestes, A. S.; Ogunmoyole, T.; Salman, S. M.;

- Schwab, R. S.; Brender, C. R.; Dornelles, L.; Rocha, J. B. T.; Soares, F. A. A. *Toxicology in Vitro*, **2013**, 27, 1433.
117. Pereira, M. O. S. *Estudo Comparativo de Métodos de Avaliação da Capacidade Antioxidante de Compostos Bioativos*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) Lisboa, **2010**.
118. (a) Sanches, A. C. C. Estudo farmacognóstico das cascas de *Stryphnodendron oblovalum* Benth. atividade antioxidante, antimicrobiana e da ação cicatrizante dos seus extrati. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- UNESP, **2004**. (b) Lima, E. O. *Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica*. In: Yunes, R. A.; Calixto, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, 481-501, 532p, **2001**.
119. (a) Devienne, K. F.; Raddi, M. S. *Braz. J. Microbiol*, **2002**, 33, 166; (b) Ellof, J. N. *Planta Med.*, **1998**, 64, 711.
120. Hammer, K. A.; Carson, C. F.; Riley, T. V. *J. Appl. Microbiol.*, **1999**, 86, 985.
121. Murray, P. R.; Rosenthal, K. S.; Pfaller, M. A. *Microbiologia Médica*, 4ª Ed., Ed. Guanabara-Koogan S. A., **2004**, 188, 762.
122. Trabulsi, L. R.; Alterthum, F. *Microbiologia*, 4ª Ed., São Paulo: Atheneu, **2005**, 697.
123. (a) Cowan, M. M. *Clin. Microbiol. Rev.* **1999**, 12, 564; (b) Mahady, G. B. *Current Pharmaceutical Design*, **2005**, 11, 2405.
124. Hörner, R. *Microbiologia Clínica - Caderno Didático*, **2003**, 328.
125. (a) Trabulsi, L. R.; Teixeira, L. M. *Staphylococcus aureus* In: Trabulsi, L. R.; Alterthum, F. *Microbiologia*. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, **2004**, 718; (b) Arrecubieta, C.; Lee, M.; Macey, A.; Foster, T. J.; Lowry, F. D. *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 18767; (c) Trabulsi, L. R. *Outras espécies aeróbias e anaeróbias facultativas*; 4ª Ed., Atheneu, **2004**, 718.
126. Ryan, K. J.; Ray, C.G. *Sherris Medical Microbiology*, 4th Ed., **2004**.
127. Murray, P. R. *Microbiologia Médica*, 4ª Ed., Ed. Guanabara-Koogan S. A., **2004**, pág. 250-264, 762p.
128. Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. *Microbiologia*, 8ª Ed., Porto Alegre: Artmed, **2005**, 304.
129. CORDIS *New EU project AEROPATH takes on 'superbugs'*. **2008**. Disponível em: < http://cordis.europa.eu/news/rcn/30104_en.html >. Acesso em 25 jan. 2009.

130. (a) Todar, K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*; (b) Fine, M. J.; Smith, M. A.; Carson, C. A. *JAMA* 275, **1996**, (2), 134–41; (b) Mims, C. A.; Playfair, J. H. L.; Roitt, I. M.; Wakelin, D.; Williams, R. *Medical Microbiology*. 1st Ed. Mosby, **1993**.
131. Murray, P. R. *Microciologia Médica*, 4^a Ed., Ed. Guanabara-Koogan S. A., **2004**, pág. 626, 762p.
132. (a) Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. *Microbiologia*, 8^a Ed., Porto Alegre: Artmed, **2005**, 893p; (b) Tortora, G. J. *Microbiologia*, 8^a Ed., Porto Alegre: Artmed, **2005**, 67.
133. Revista AMRIGS, Porto Alegre, 44 (3,4): 185-187, jul-dez. **2000**.
134. Sullivan, D.; Coleman, D. *J. Clin. Microbiol.* **1998**, 36, 329.
135. (a) Moran, G. P.; Sullivan, D. J.; Henman, M. C.; McCreary, C. E.; Harrington B. J.; Shanley, D. B.; Coleman, D. C. *Antimicrob. Agents Chemother*, **1997**, 41, 617; (b) Sullivan, D. J.; Moran G.; Donnelly, S.; Gee, S.; Pinjon, E.; McCartan, B.; Shanley D. B.; Colenam, D. C. *Revista Iberoamericana de Micologia*, **1999**, 16, 72.
136. Atlas Micologia. *Microsporum canis*. Coimbra, **2013**. Disponível em: <<http://atlasmicologia.blogspot.com.br/2011/06/microsporum-canis.html>>. Acesso em: 28 nov. 2013.
137. Atlas Micologia. *Trichophyton rubrum*. Coimbra, **2013**. Disponível em: <<http://atlasmicologia.blogspot.com.br/2012/01/trichophyton-rubrum.html>>. Acesso em: 28 nov. 2013.
138. Trabulsi, L. R. Edwarsiella — Citrobacter — Klebsiella — Enterobacter — Hafnia — Serratia — Proteus — Morganella — Providencia; 4^a Ed., Atheneu, **2004**, 718.
139. Rogers, T. R. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2006**, 27S, S7-S11.
140. (a) Pfaller, M. A.; Boyken, L.; Hollis, R. J.; Messer, S. A.; Tendolkar, S.; Diekema, D. J. *J. Clin. Microbiol.*, **2005**, 43, 3807; (b) Pfaller, M. A.; Diekema, D. J. *J. Clin. Microbiol.*, **2004**, 42, 4419; (c) Nguyen, M. H.; Yu, C. Y. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, **1998**, 42, 471.
141. (a) Martinez, R. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, **2006**, 32, 449; (b) Araujo, D. P. *Síntese de bis-iminas aromáticas e avaliação da atividade biológica contra fungos de interesse clínico*. **2011**. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química. Belo Horizonte.
142. (a) Rios, J. L.; Recio, M. C. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, 100, 80; (b) Dalmarco, J. B. *Lotus corniculatus* L. cv. São Gabriel: Análise Fitoquímica e Atividade Biológica. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa

- Catarina. Florianópolis-SC, **2009**; (c) Machado, K. E.; Cechinel Filho, V.; Tessarolo, M. L.; Mallmann, R.; Meyre-Silva, C.; Bella Cruz, A. *Pharmaceutical Biology*, **2005**, *43*, (7), 636.
143. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. *Drogas que Inibem a Cholinesterase. 4ª edição, Guanabara Koogan*, **2001**, 110.
144. (a) Russell, R.W. *Annu. Rev. Pharmacol.Toxicol.*, **1982**, *22*, 435; (b) Obregon, C. D. A. *3-Alcóxi-4-hidróxi pirrolidin-2-onas,2-metilsulfanil pirimidina, enoilcarbamatos e 3-dialcóxi fosforiloxi trialometilados: síntese e potencial inibitório sobre a atividade da enzima acetilcolinesterase* Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2006**.
145. Zanon, G. *Análise fitoquímica e estudo das atividades antimicrobiana, antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase das espécies Zanthoxylum rhoifolium e Zanthoxylum hyemale*. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, **2010**.
146. (a) Small, G.; Bullock, R. *Alzheimers Dement.* **2010** Nov 3:1-8; (b) Brookmeyer, R.; Johnson, E.; Ziegler-Graham, K.; Arrighi H. M. *Alzheimers Dement.* **2007** Jul; *3*(3):186-91.
147. Smith, M. A. C. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, **1999**, *21*.
148. Sereniki, A.; Vital, M. A. B. F. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, **2008**, *30* (1).
149. Morais, S. M.; Filho, R. B. *Produtos Naturais. Estudos químicos e biológicos*, Ed. UECE: Fortaleza, **2007**.
150. Alcaro, S.; Scipione, L.; Ortuso, F.; Posca, S.; Rispoli, V.; Rotiroti, D. *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **2002**, *12*, 2899.
151. Silman, I.; Sussman, J. L. *Current Opinion in Pharmacology*, **2005**, *5*, 293.
152. (a) Bartus, R. T.; Dean, R. L.; Beer, B.; Lippa, A. S. *Science*, **1982**, *30*, 408; (b) Andres, C.; Beeri, R.; Huberman, T.; Shani, M.; Soreq H. *Progress Brain Res.* **1996**, *109*, 265.
153. (a) Sanpe, M. F.; Misra, A.; Murray, T. K.; Souza, R. J.; Williams, J. L.; Cross, A. *Neuropharmacology*, **1999**, *38*, 181; (b) Skau, K. A.; Shipley, M. T. *Neuropharmacology*, **1999**, *38*, 691.
154. Rotundo, R. L.; Rossi, S. G.; Kimbell, L. M.; Ruiz, C.; Marrero E. *Chem. Biol. Interact.*, **2005**, *157*, 15.
155. Davis, K. L.; Powchick, P. *Lancet*, **1995**, *345*, 625.
156. Nightingale, S. L. *J. Am. Med. Assoc.*, **1997**, *277*, 10.

157. Polinski, R. *J. Clin. Therap.* **1998**, *20*, 634.
158. Orhan, G.; Orhan, I.; Sener, B. *Lett. Drug Desing Discov.*, **2006**, *3*, 268.
159. (a) Farlow, M.; Gracon, S. I.; Hersey, L. A.; Lewis, K. W.; Sadowsky, C. H. *J. Am. Med. Assoc.*, **1992**, 268, 2523; (b) Knapp, M. J.; Knopman, D. S.; Solomon, P. R.; Pendlebury, W. W.; David, C. S.; Gracon, S. I. *J. Am. Med. Assoc.*, **1994**, *271*, 985; (c) Souza, P. M. *Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do bioma cerrado*. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Brasília Faculdade de Ciências da Saúde, Brasília, **2011**.
160. Enz, A.; Amstutz, R.; Boddeke, H.; Gmelin, G.; Malonowski, J. *Progress in Brain Research*, **1993**, *98*, 431.
161. Cummings, J. L.; Back, C. *Am. J. Geriatri Psychiatry*, **1998**, *6*, S64-78.
162. Perrin, D. D.; Armarego, L. F. *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd Ed., Pergamon Press: New York, **1996**.
163. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA. **2006**. APEX2 (Versão 2.1), COSMO (Versão 1.56), BIS (Versão 2.0.1.9), SAINT (Versão 7.3A), SADABS (Versão 2004/1), XPREP (Versão 2005/4).
164. Sheldrick, G. M. SHELX-97, *Programs for solution and Refinement of Crystal Structures*, University of Göttingen, Germany, **1997**.
165. Farrugia, L. J. *J. Appl. Crystallogr.* **1997**, *30*, 565.
166. Bonaccorso, H. G.; Lopes, I. S.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. *J. Fluorine Chem.* **2003**, *120*, 29.
167. (a) Pereira, R. P.; Fachinetto, R.; Prestes A. S.; Puntel, R. L.; Silva, G. N. S.; Heinzmann, B. M.; Boschetti, T. K.; Athayde, M. L.; Bürger, M. E.; Morel, A. F.; Morsch, V. M.; Rocha, J. B. T. *Neurochem. Res.*, **2009**, *34*, (5), 973-83; (b) Pereira, R. P.; Boligon, A. A.; Appel, A. S.; Fachinetto, R.; Ceron, C. S.; Tanus-Santos, J. E.; Athayde, M. L.; Rocha, J. B. T. *Industrial Crops and Products*, **2014**, *53*, 34.
168. Mensor, L. L.; Menezes, F. S.; Leitão, G. G.; Reis, A. S.; Santos, T. C.; Coube, C. S.; Leitão, S. G. *Phytother. Res.*, **2001**, *15*, 127.
169. (a) Rhee, I. K.; Meent, M. V.; Ingkaninan, K.; Verpoorte, R. *J. Chromatogr. A*, **2001**, *915*, 217; (b) Ellman, G. L.; Lourtney, D. K.; Andres, V.; Gmelin, G. *Biochem. Pharmacol.*, **1961**, *7*, 88; (c) Arruda, H.; Nunes, R.; Medeiros, J. P.; Viana, H.; Barreto M. C. *Planta Med.*, **2010**, *76*, 1211.
170. Protein Data Bank. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/pdb>>. Acesso em 16 set. 2014.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

171. Stewart J. J. P. *MOPAC2012*, **2012**. Stewart Computational Chemistry. Colorado Springs, CO, USA.
172. Trot, O.; Olson, A. J. *J. Comput. Chem.*, **2010**, *31*, 455.
173. Stewart, J. J. P. *J. Mol. Mod.*, **2007**, *13*, 1173.

ANEXO I

Espectros de RMN ^1H , ^{13}C , ^{19}F , HSQC, COSY 90, DEPT 135

7. ESPECTROS DE RMN DOS COMPOSTOS INÉDITOS

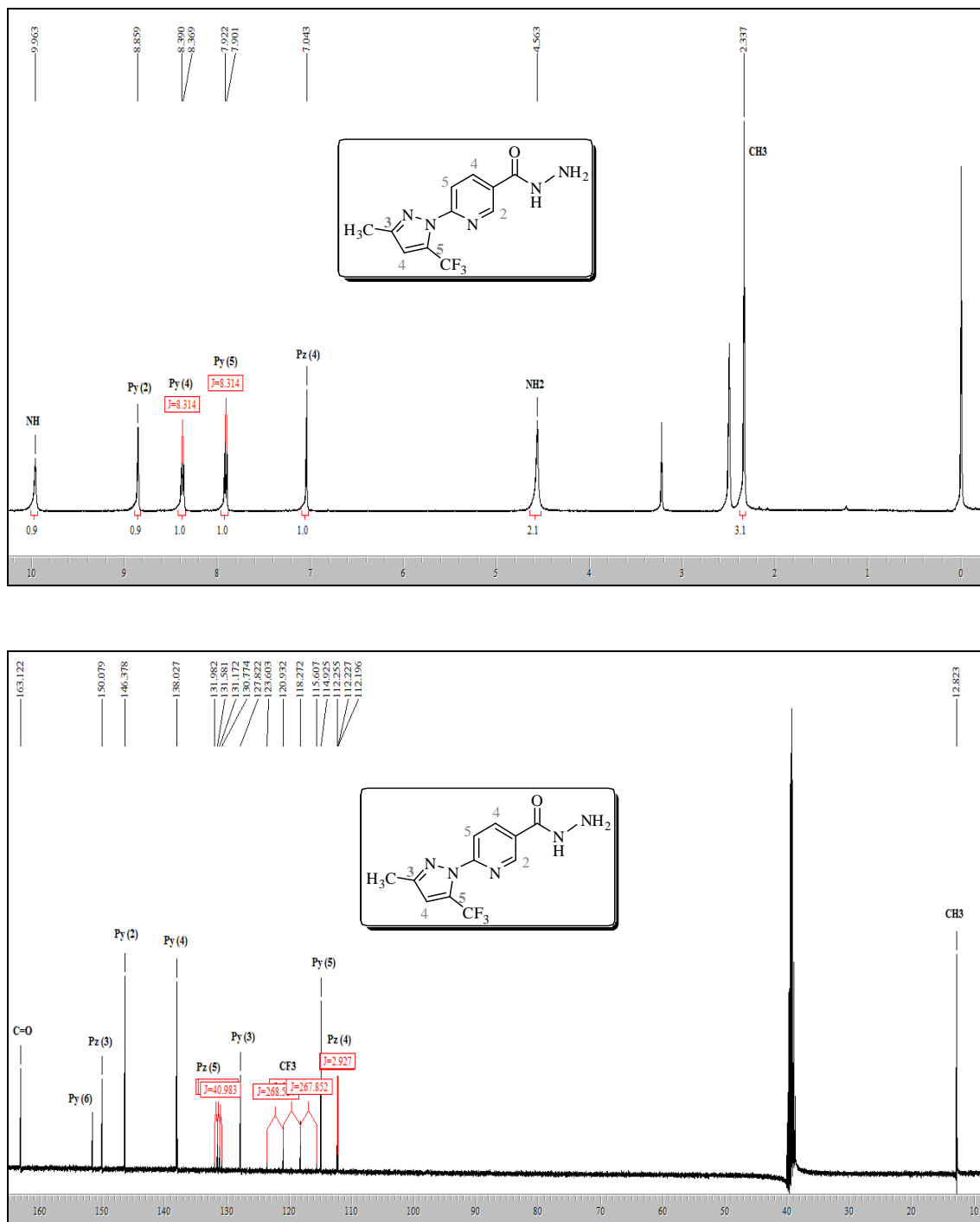
7.1 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos Compostos 7a-c

Figura 69. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluorometil-3-metil-1H-pirazol-1-il) nicotinoidrazida (**7a**), registrado em DMSO-

*d*₆.

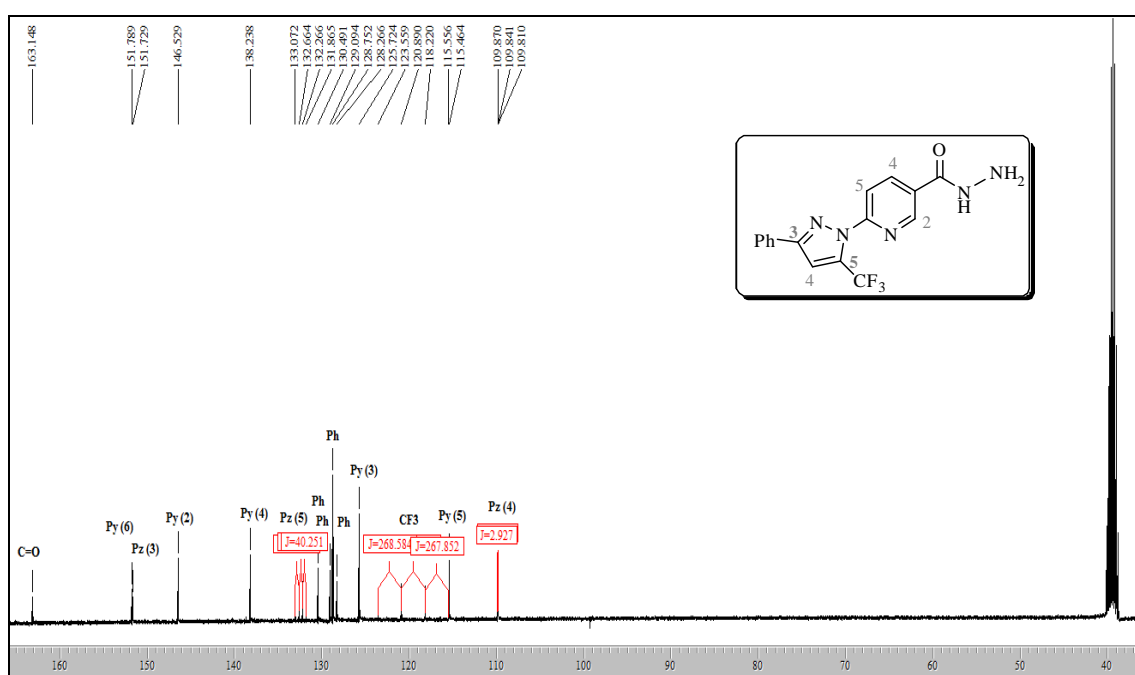
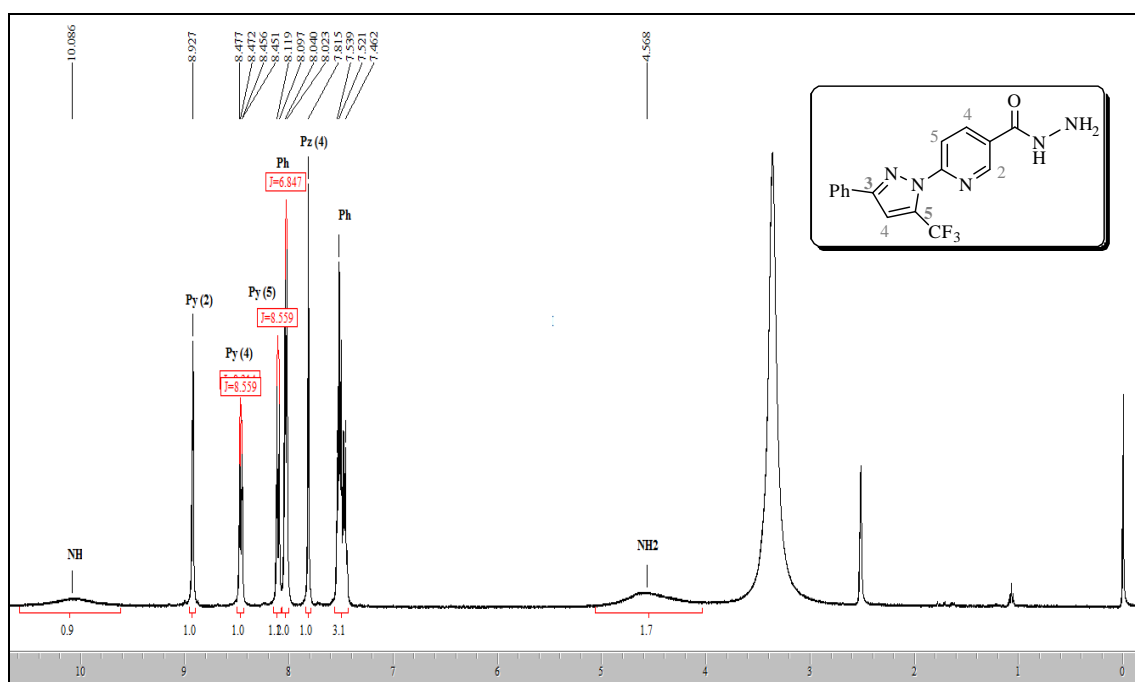


Figura 70. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(5-Trifluorometil-3-fenil-1H-pirazol-1-il) nicotinoimidrazida (**7b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

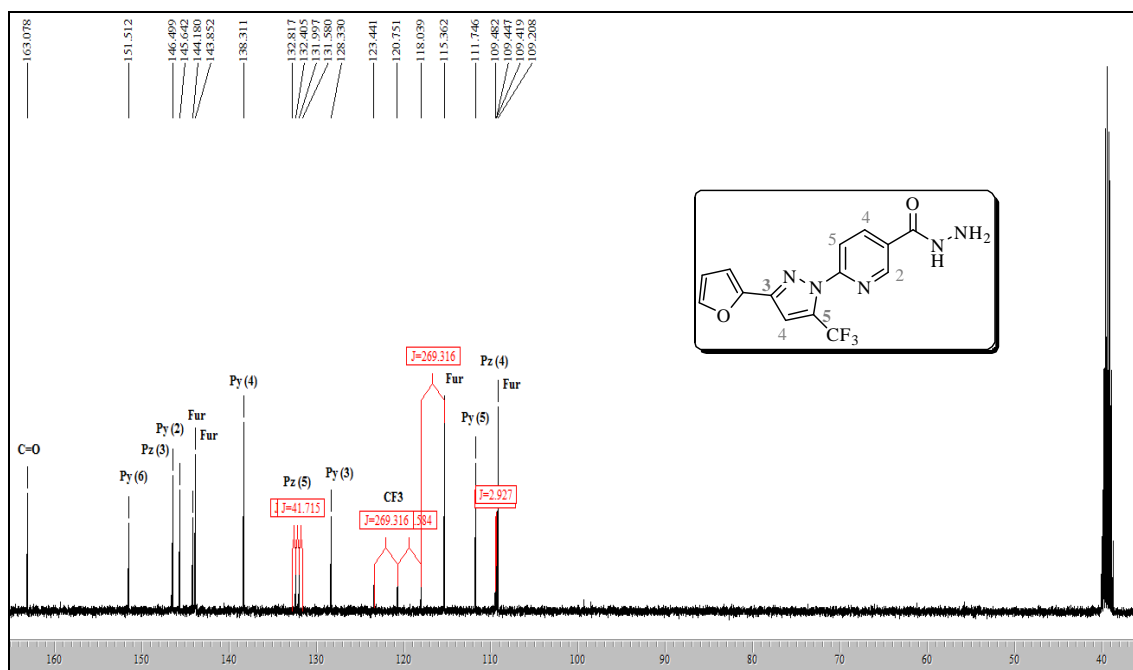
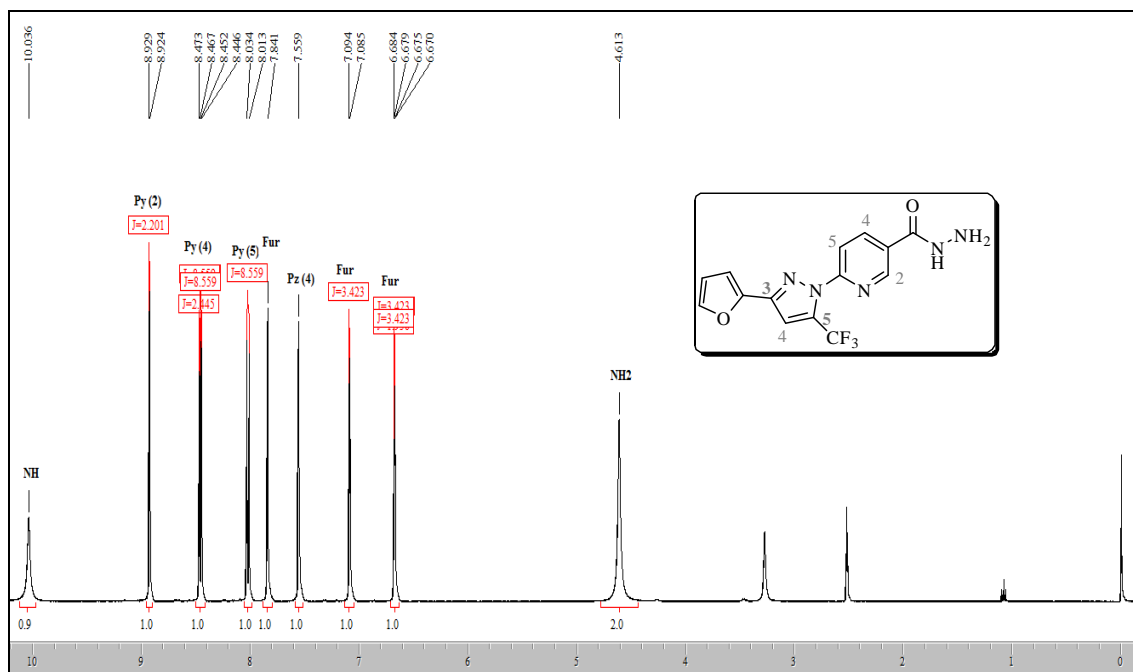


Figura 71. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz e RMN ¹³C {¹H} a 100,61 MHz de 6-[5-Trifluorometil-3-(2-Furil)-1H-pirazol-1-il] nicotinoidrazida (**7c**), registrado em DMSO-*d*₆.

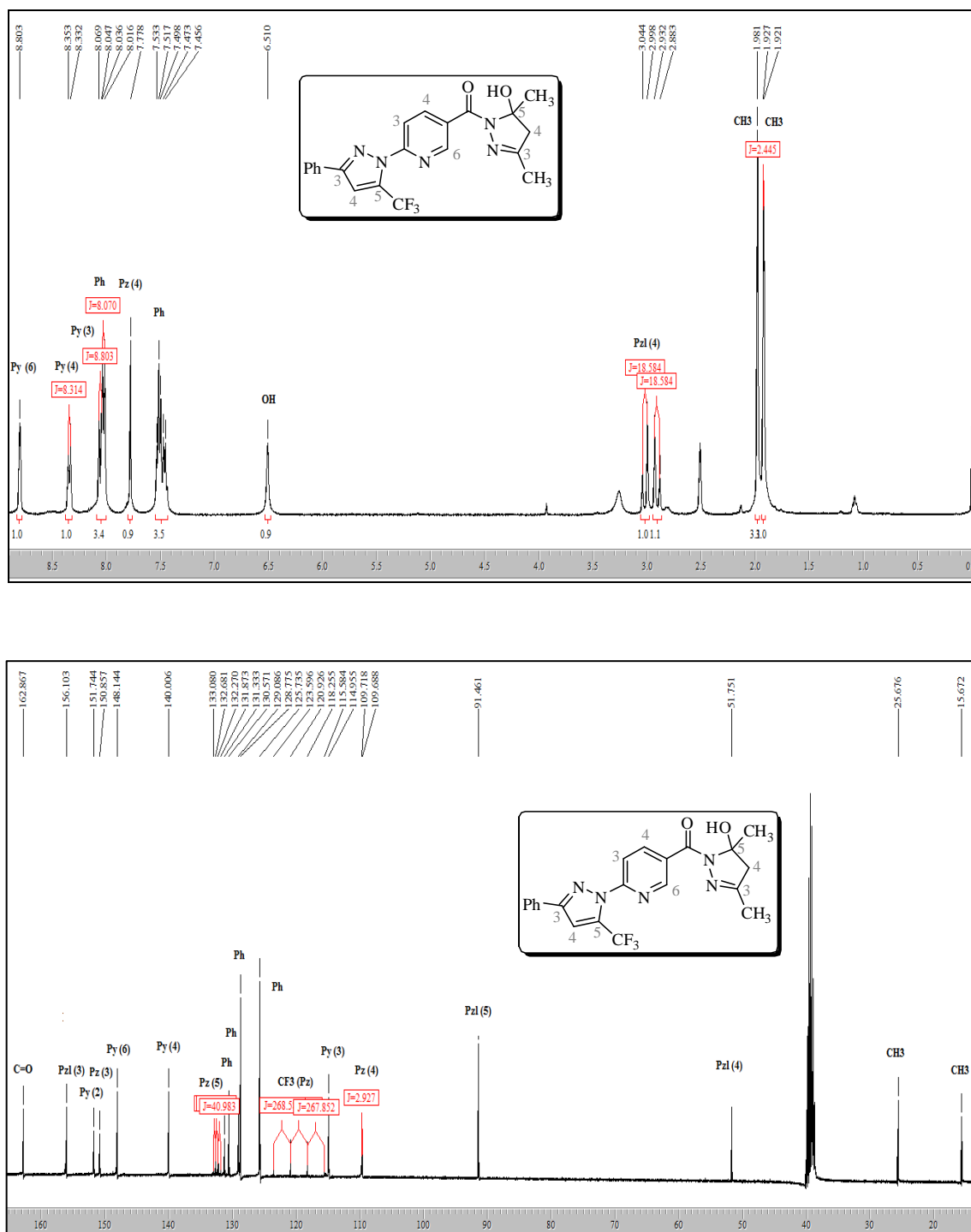
7.2 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do Composto 8

Figura 72. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3,5-dimetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**8**), registrado em $\text{DMSO}-d_6$.

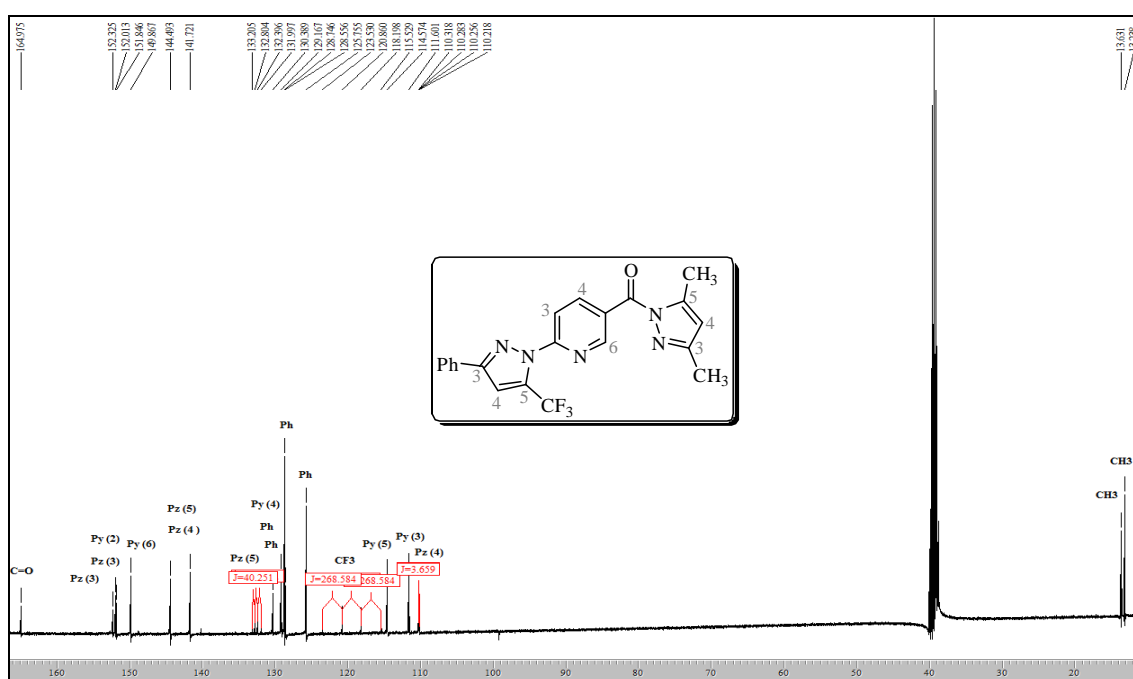
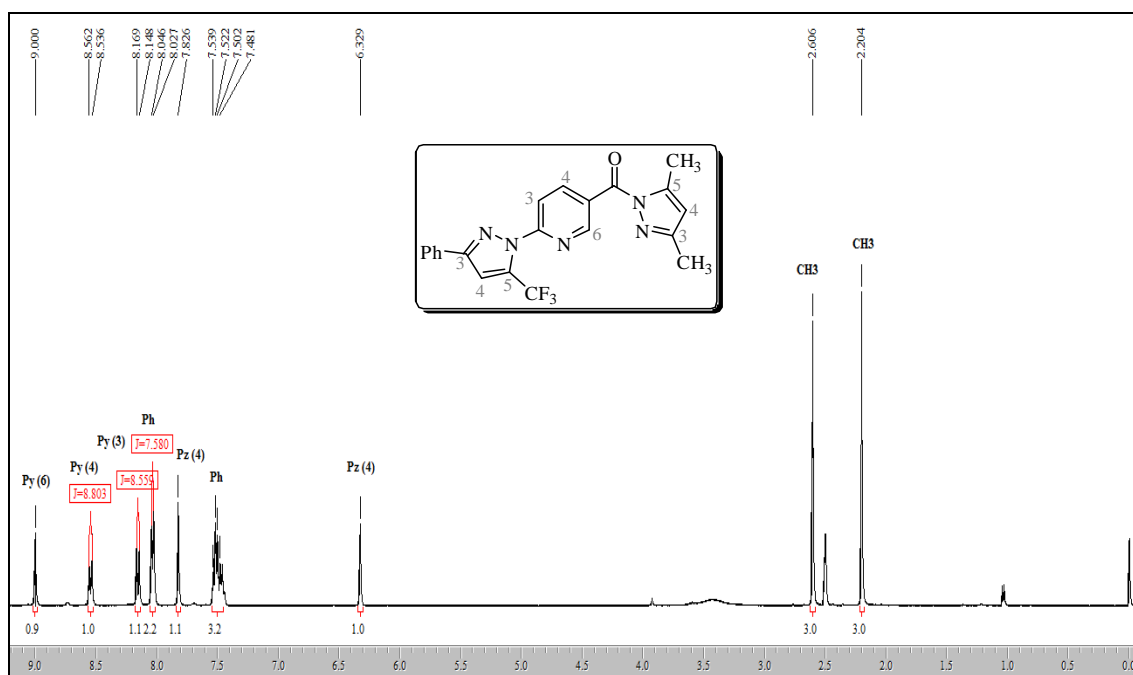
7.3 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C { ^1H } e ^{19}F do Composto 9

Figura 73. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C { ^1H } a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**9**), registrado em DMSO- d_6 .

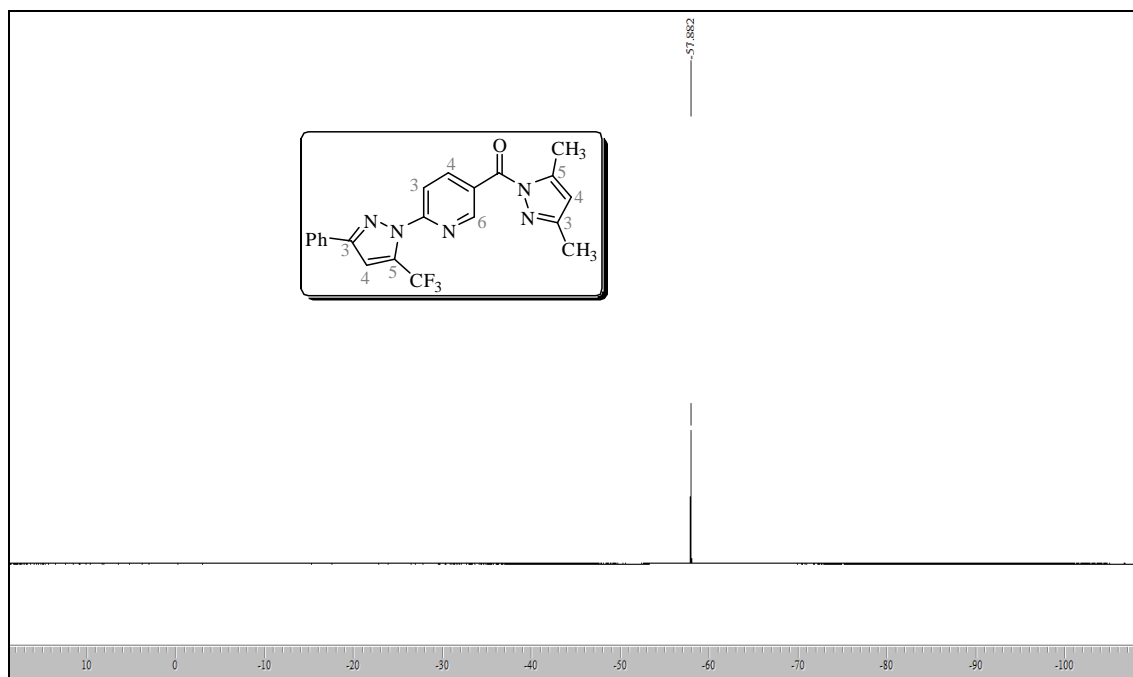


Figura 74. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3,5-dimetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**9**).

7.4 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ^{19}F e HSQC dos Compostos 10

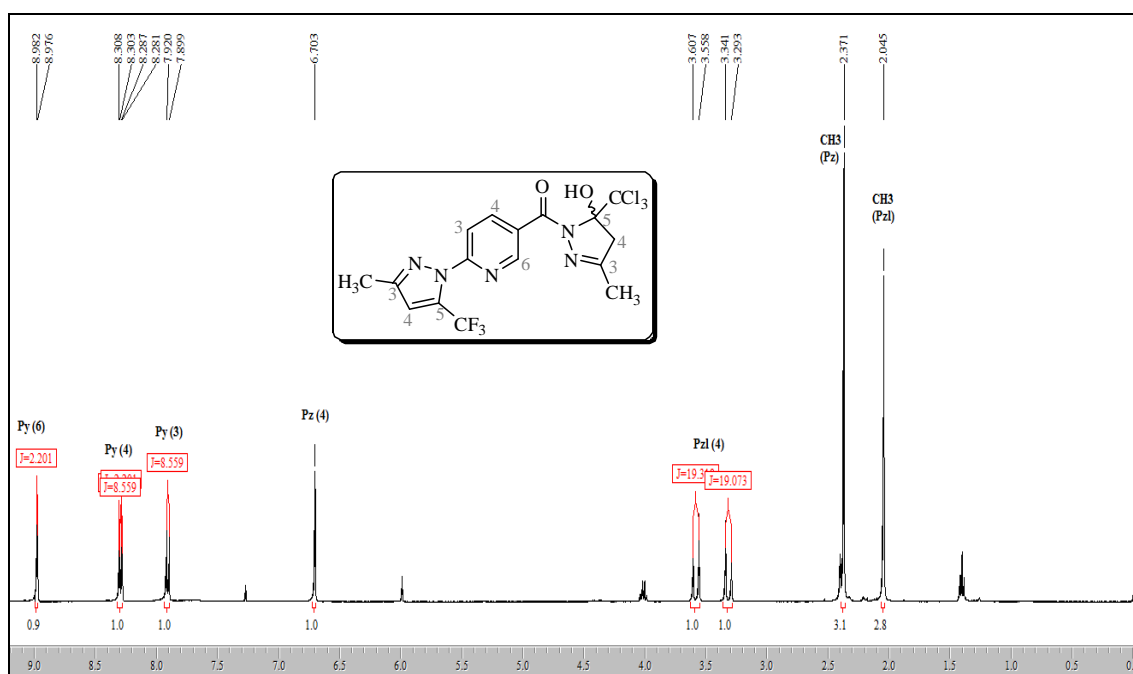


Figura 75. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**), registrado em CDCl_3 .

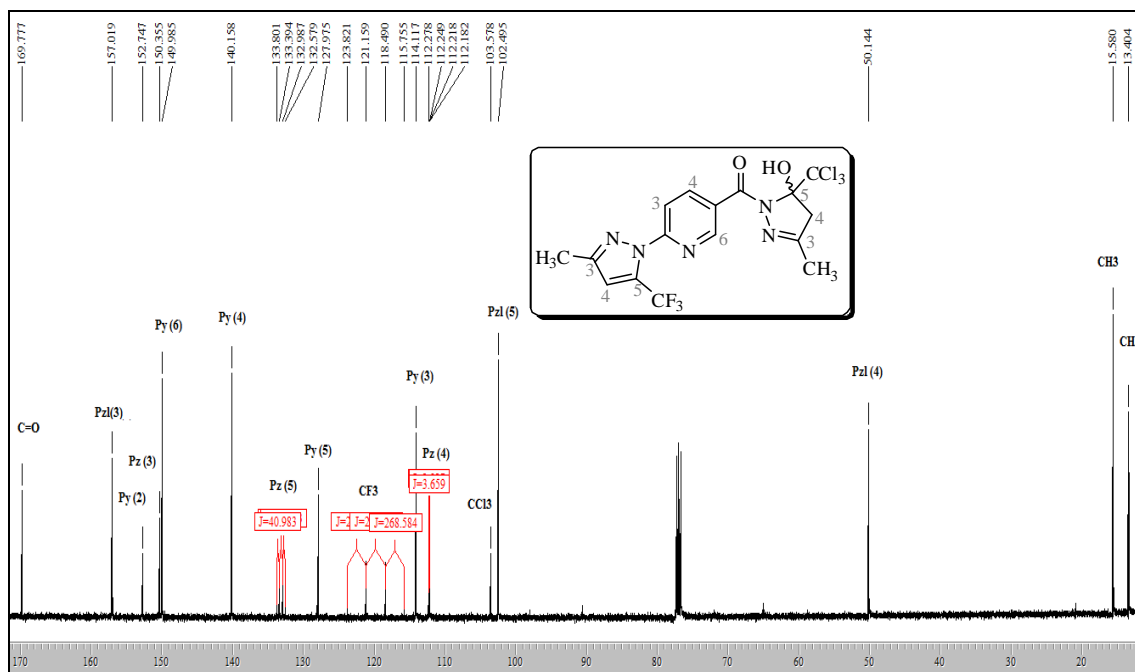


Figura 76. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**), registrado em CDCl_3 .

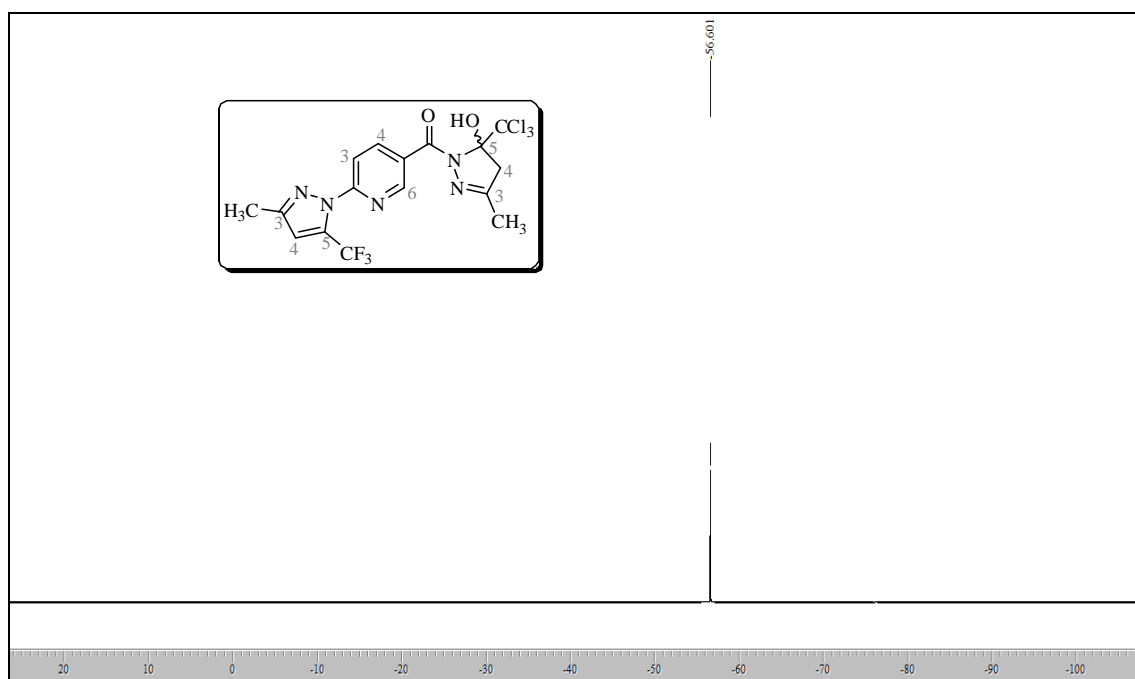


Figura 77. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10aa**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

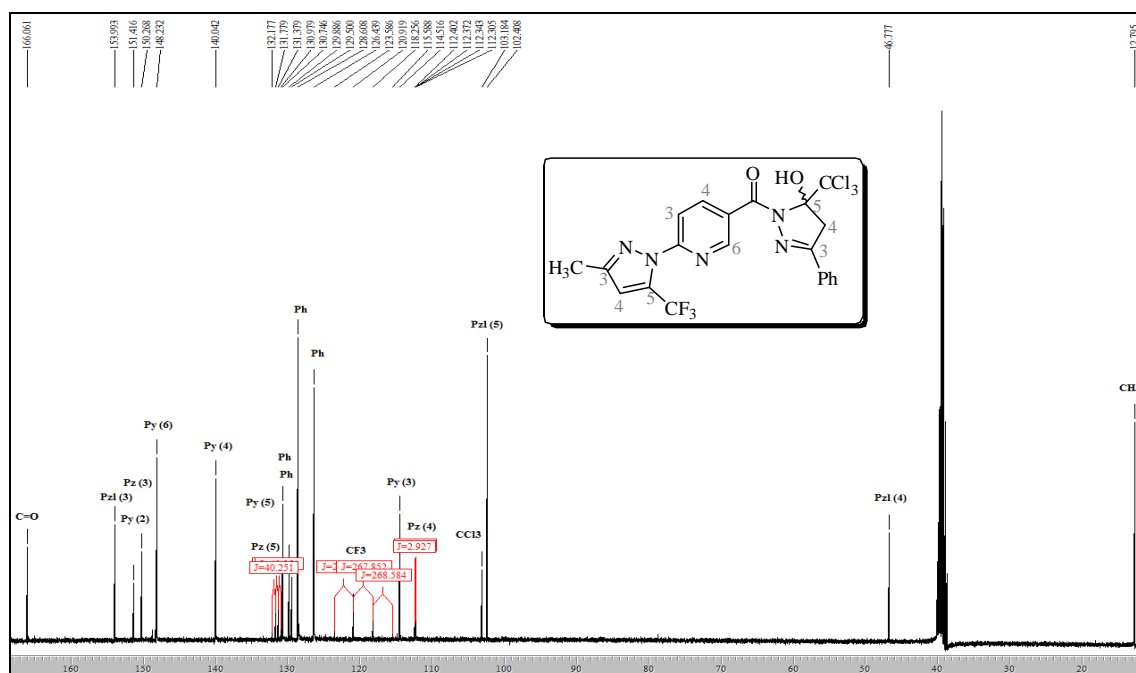
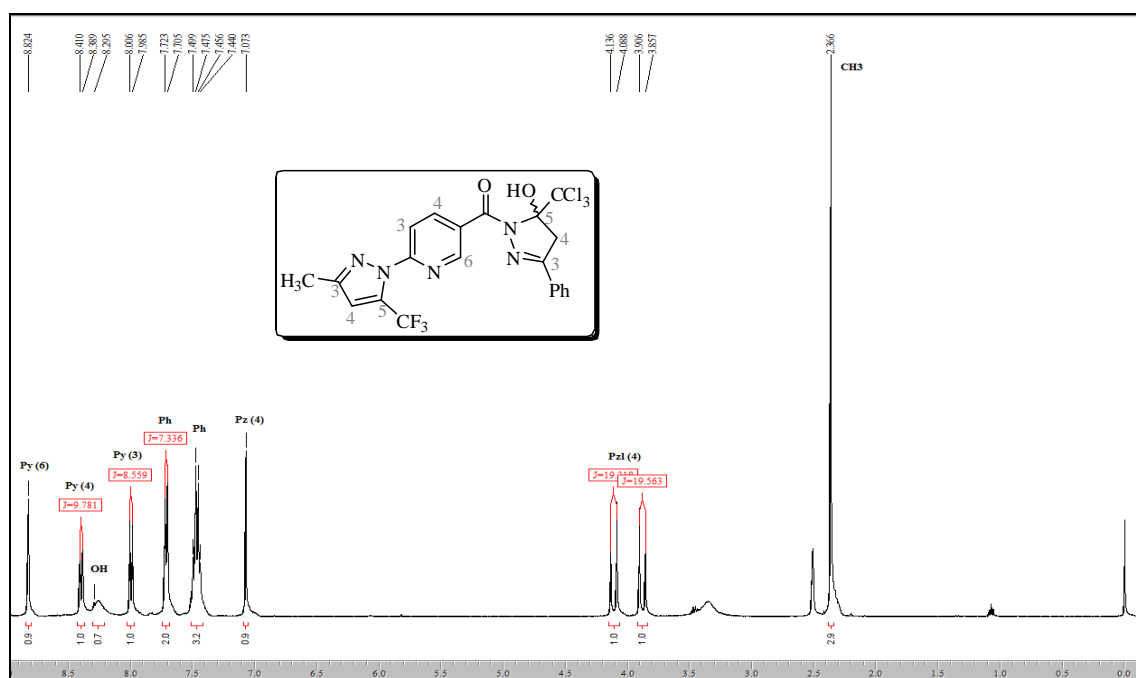


Figura 78. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluorometil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10ab**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

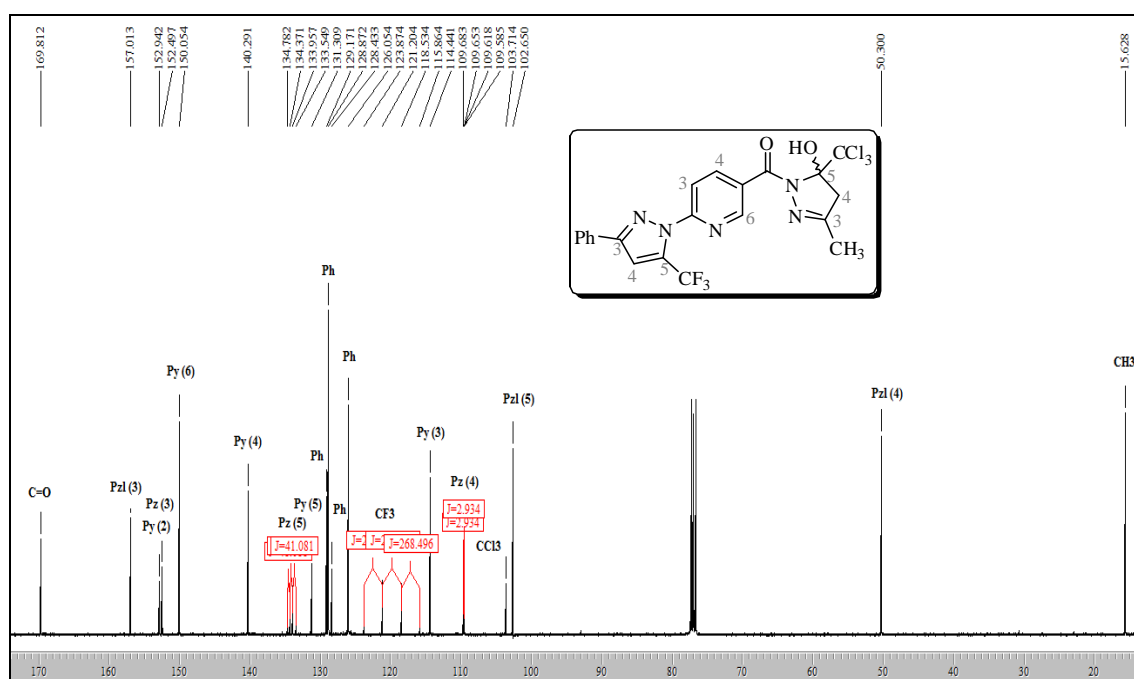
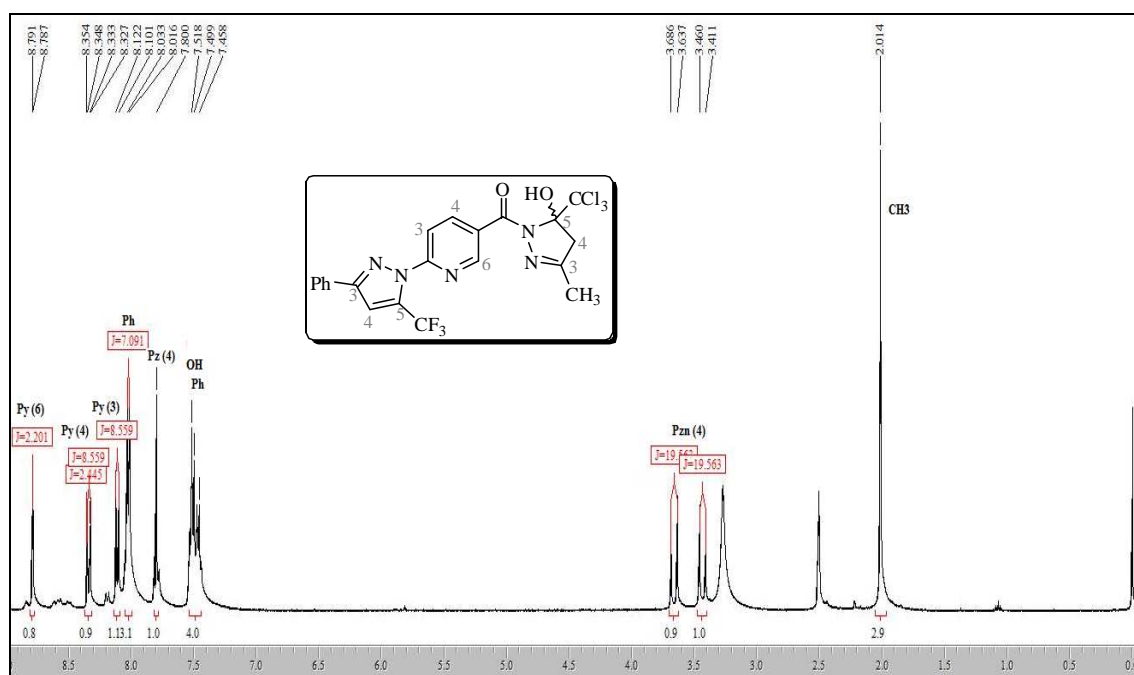


Figura 79. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz registrado em $\text{DMSO-}d_6$ e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz registrado em CDCl_3 de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10ba**).

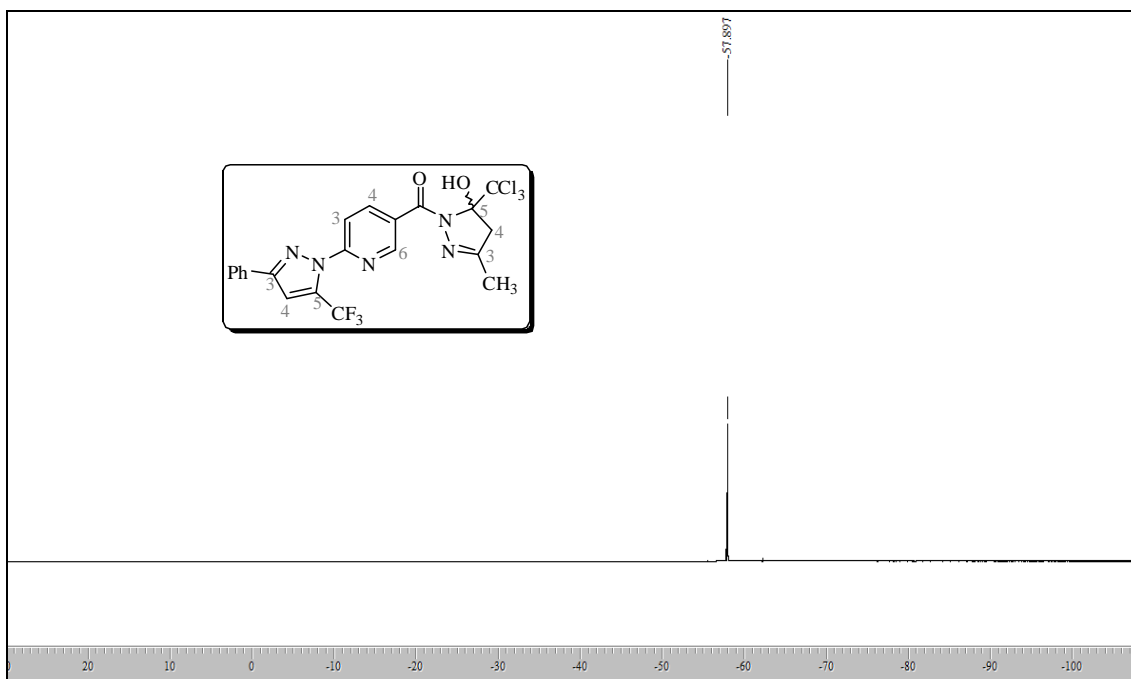


Figura 80. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10ba**) registrado em DMSO- d_6 .

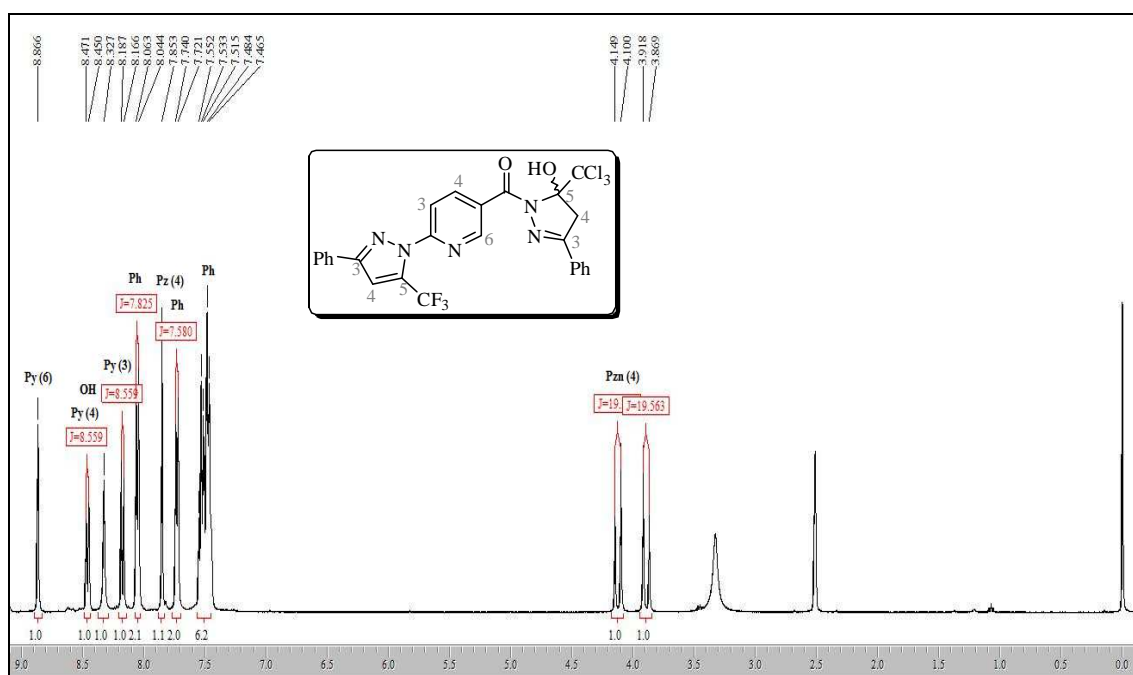


Figura 81. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10bb**), registrado em DMSO- d_6 .

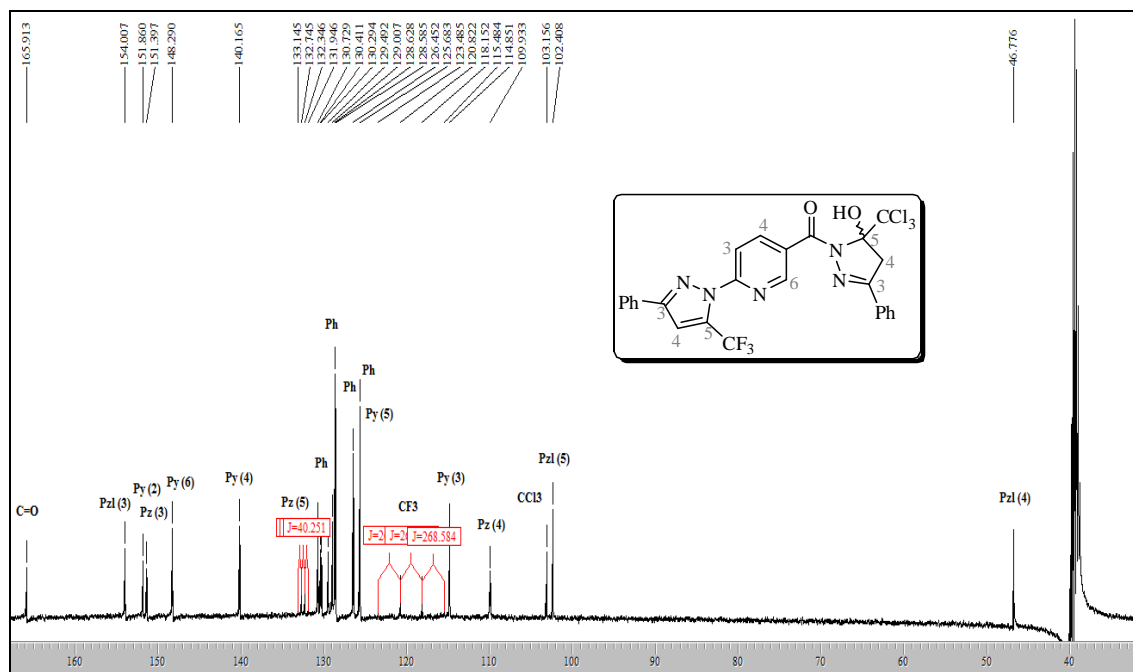


Figura 82. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10bb**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

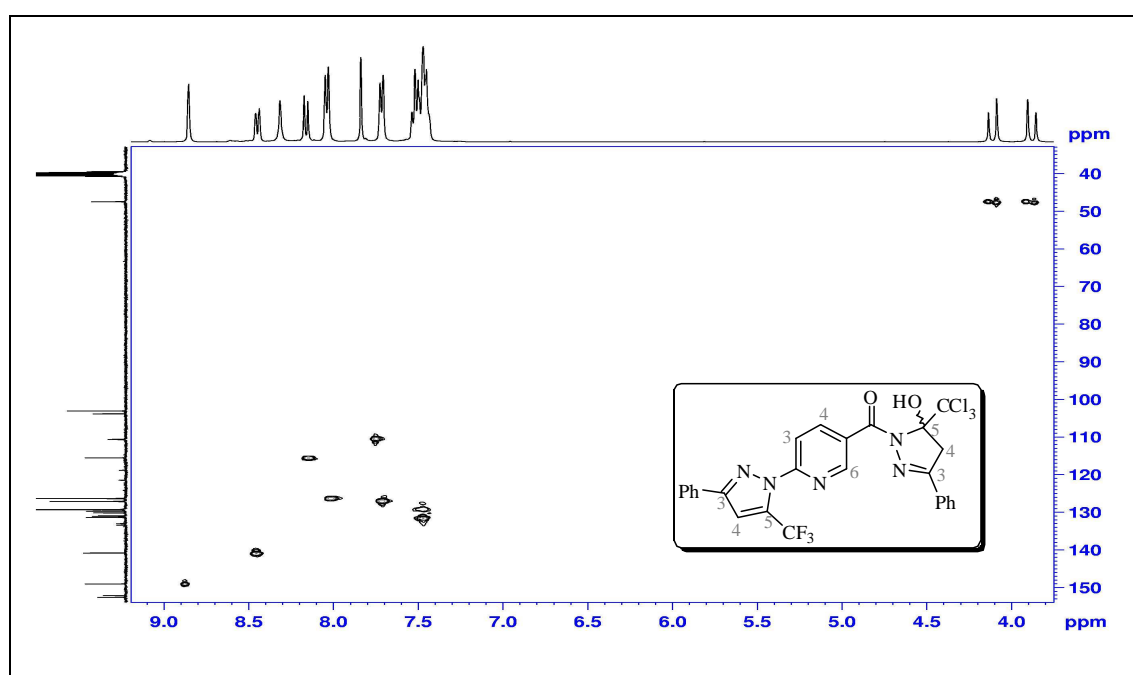


Figura 83. Espectro de 2D HSQC de 2-[3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10bb**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

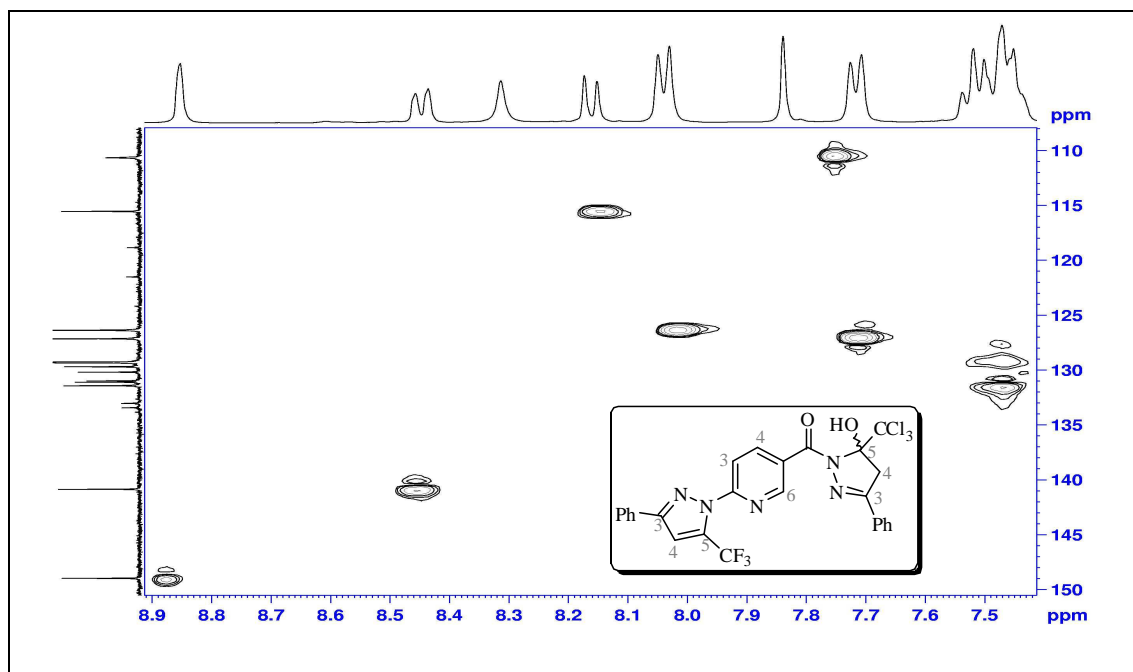


Figura 84. Espectro de 2D HSQC de 2-[3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10bb**), registrado em DMSO-*d*₆.

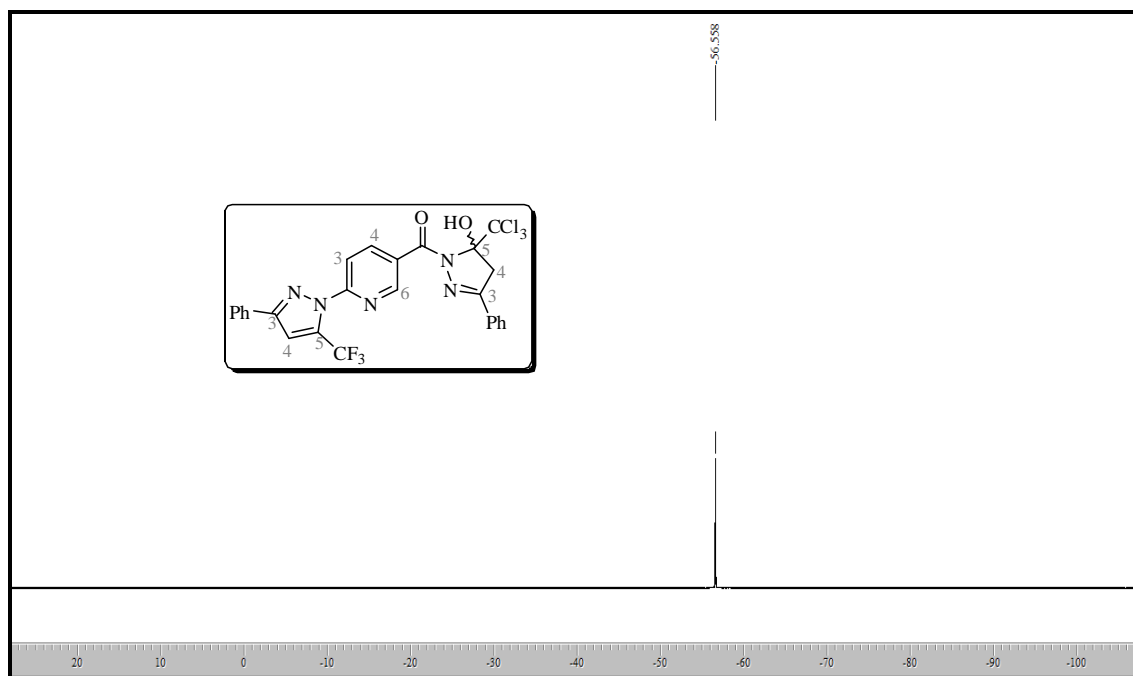


Figura 85. Espectro de RMN ¹⁹F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10bb**), registrado em DMSO-*d*₆.

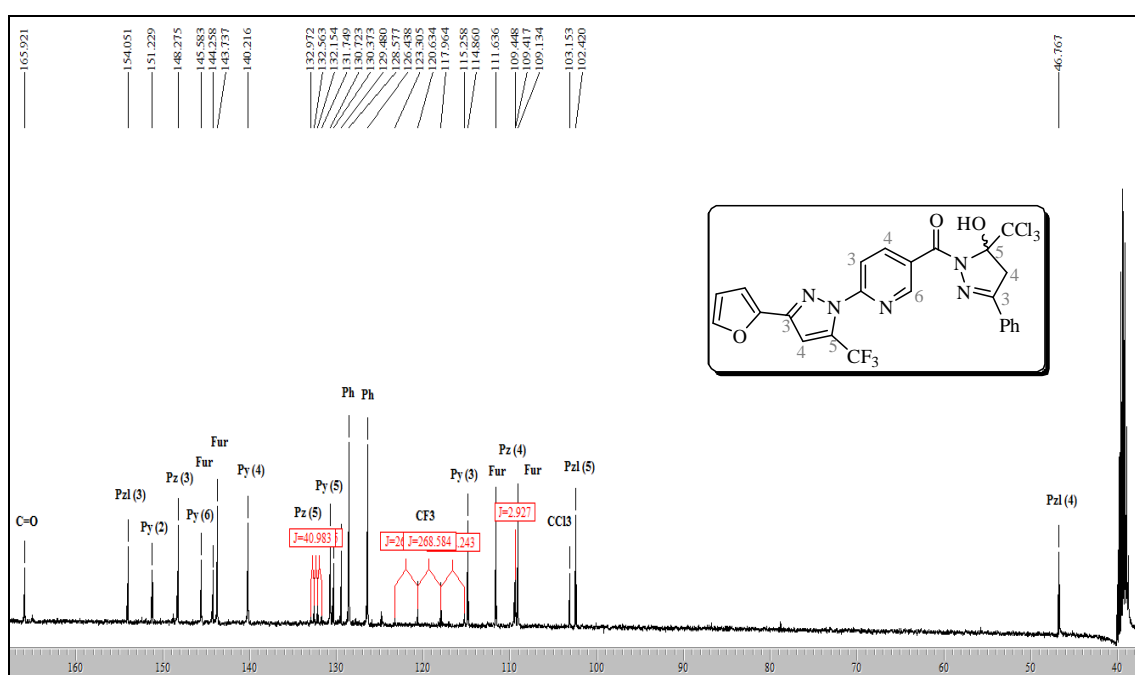
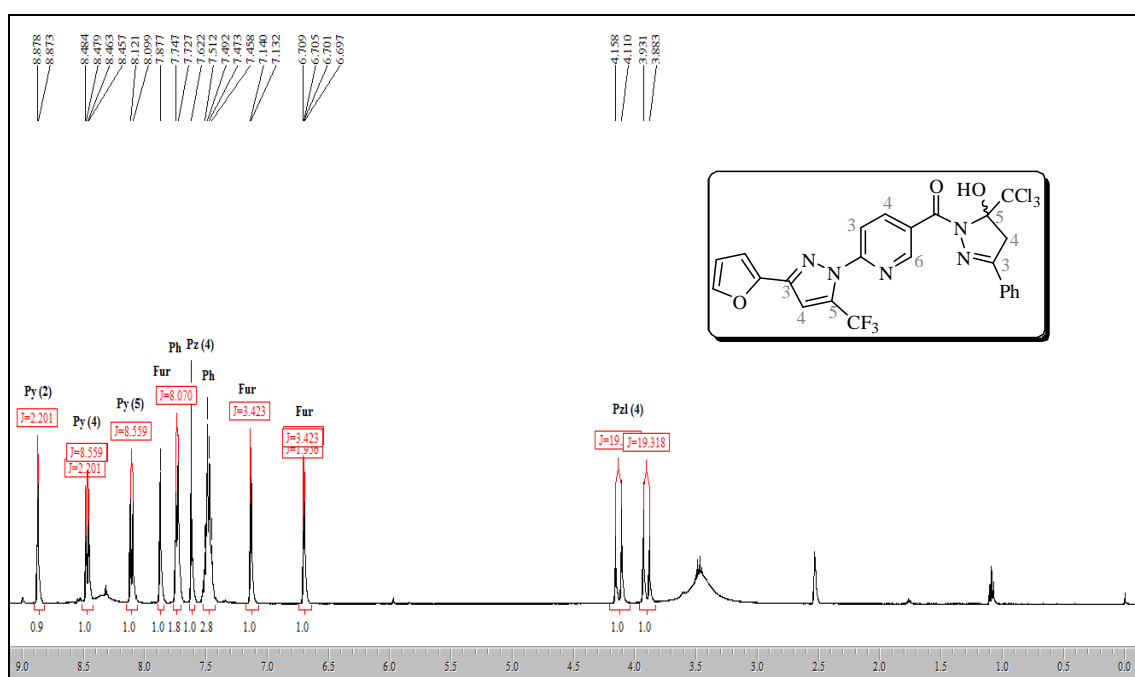


Figura 86. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

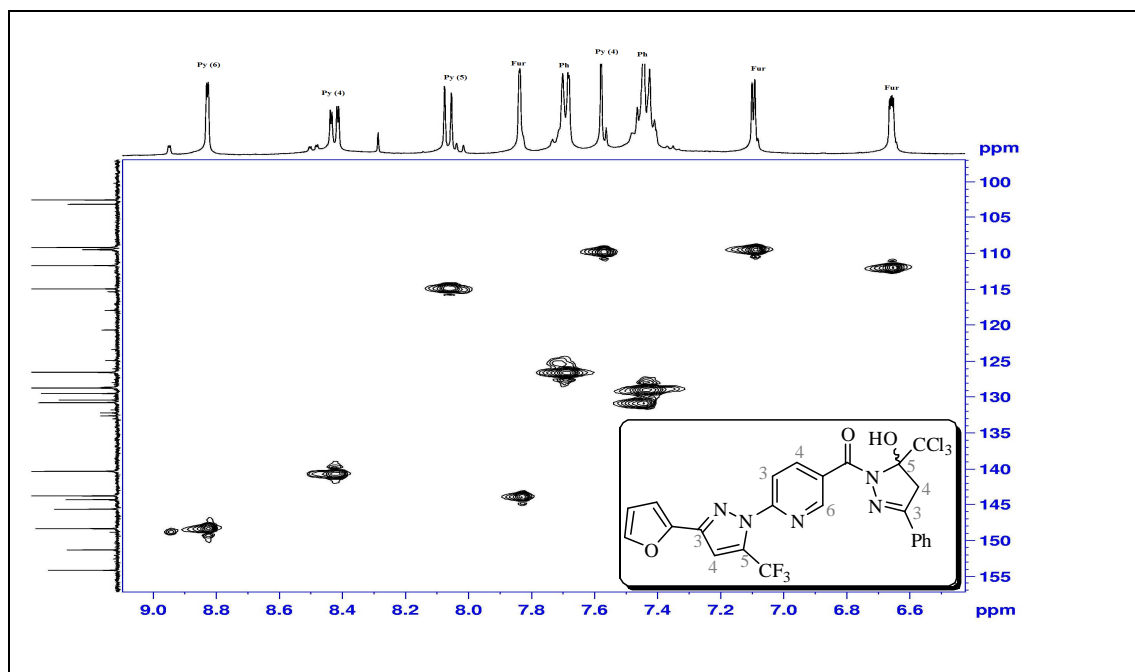


Figura 87. Espectro de 2D HSQC de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10cb**), registrado em DMSO-*d*₆.

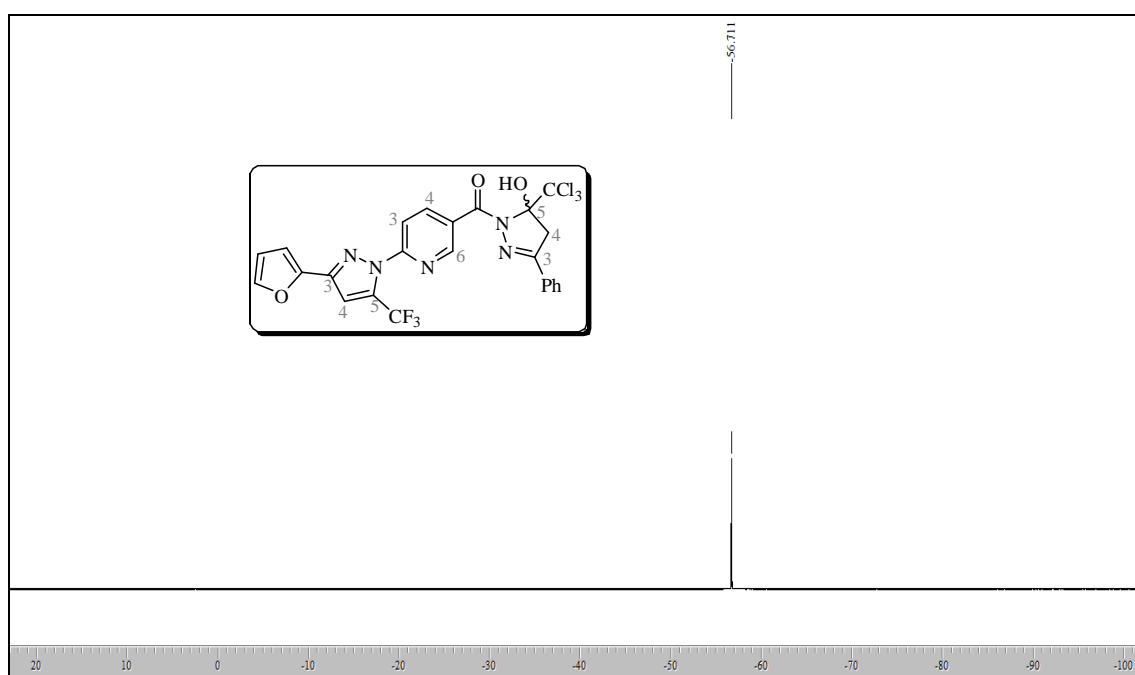


Figura 88. Espectro de RMN ¹⁹F a 564,68 MHz de 2-[3-(Fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il]-5-(3-fenil-5-triclorometil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**10cb**), registrado em DMSO-*d*₆.

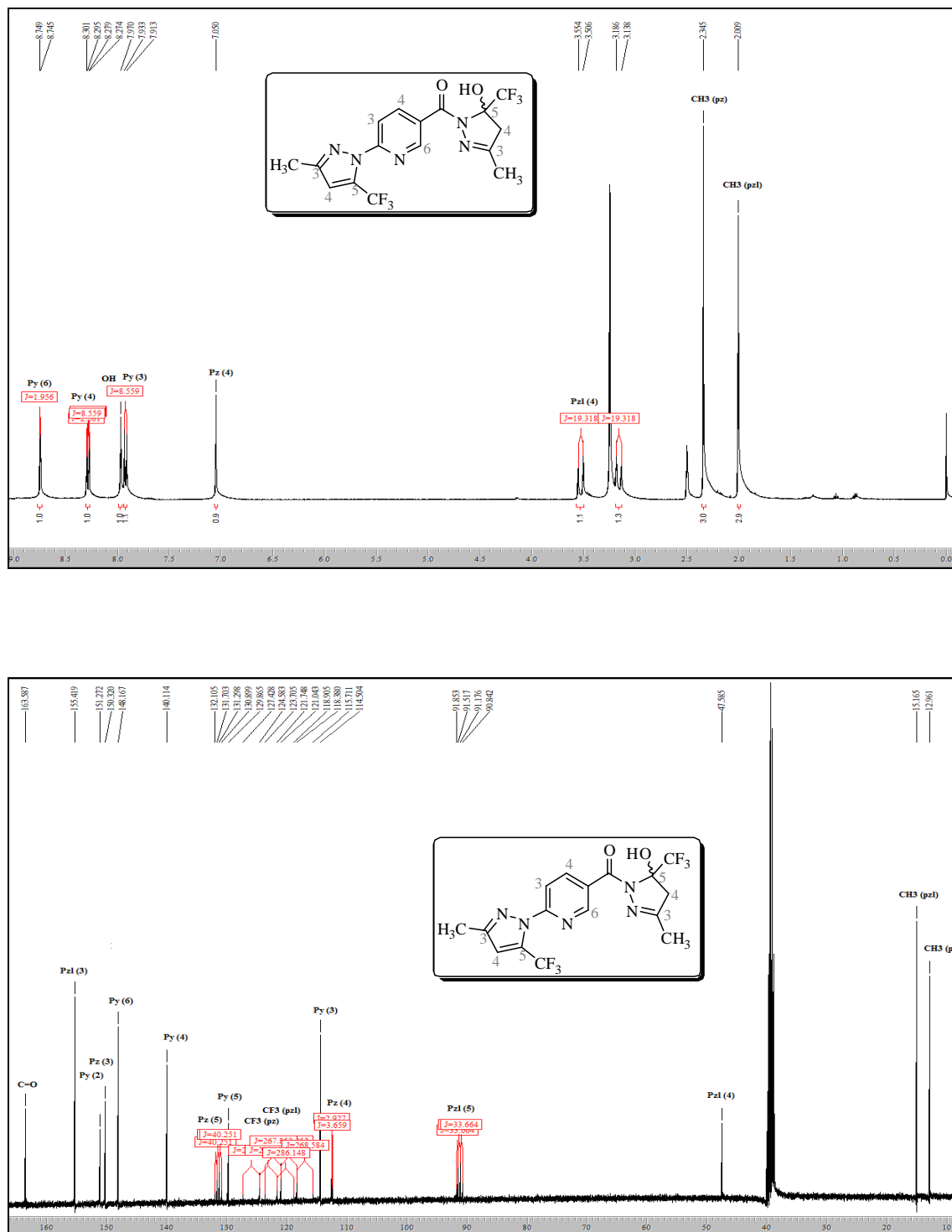
7.5 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{19}F dos Compostos 11

Figura 89. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11aa**), registrado em $\text{DMSO}-d_6$

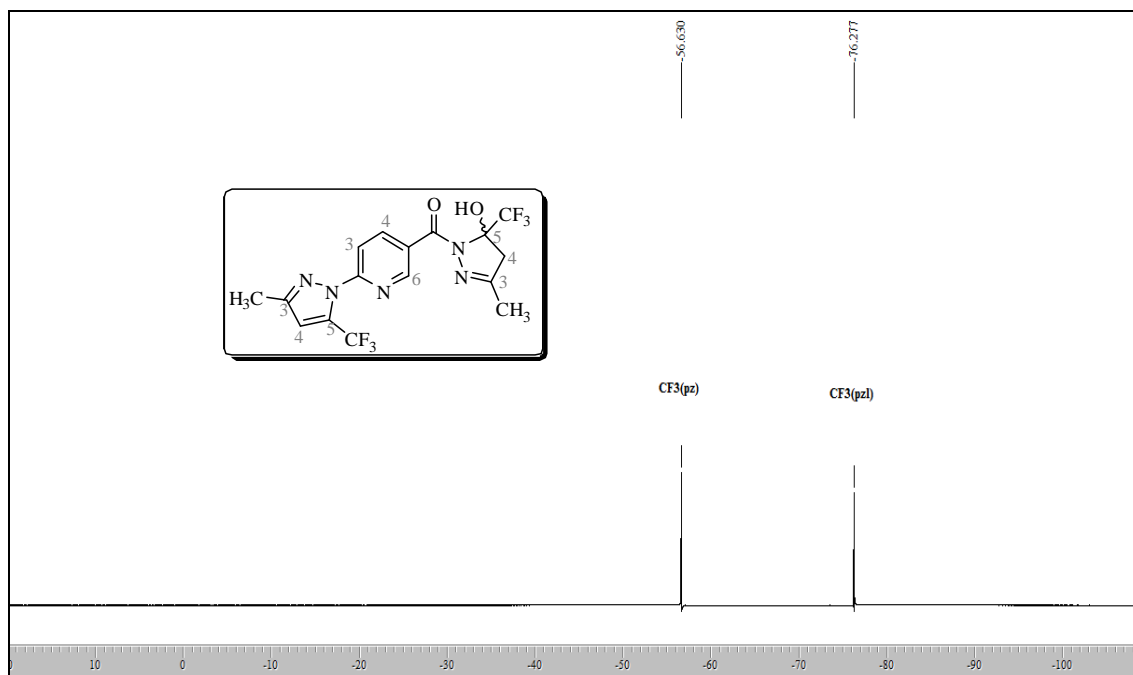


Figura 90. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11aa**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

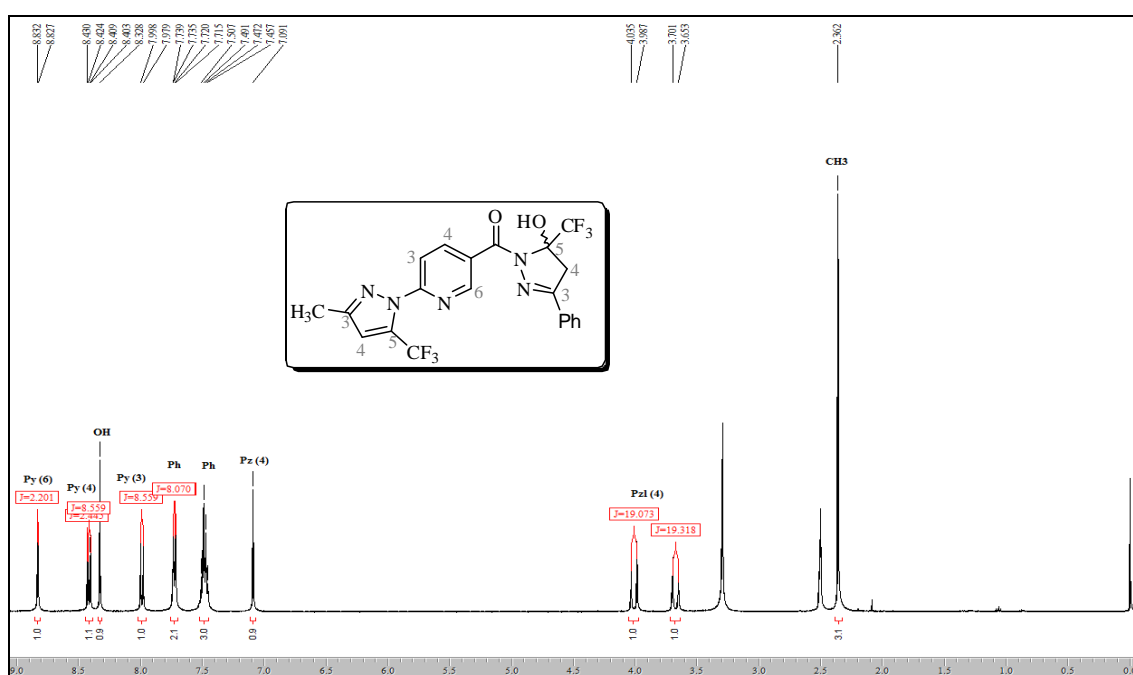


Figura 91. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ab**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

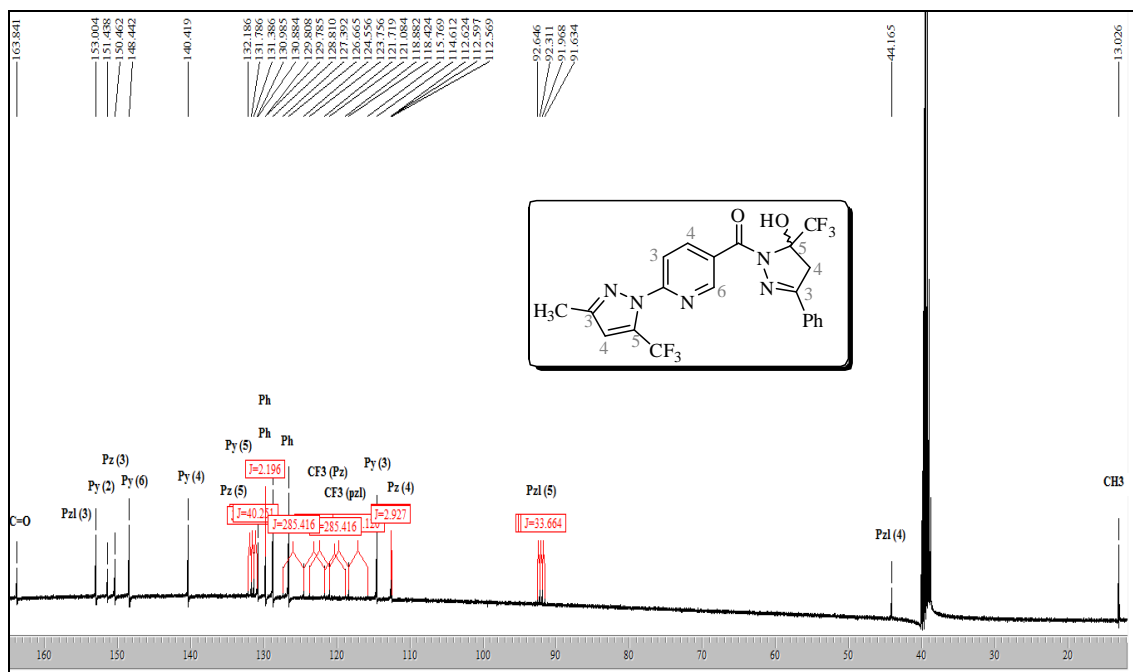


Figura 92. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ab**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

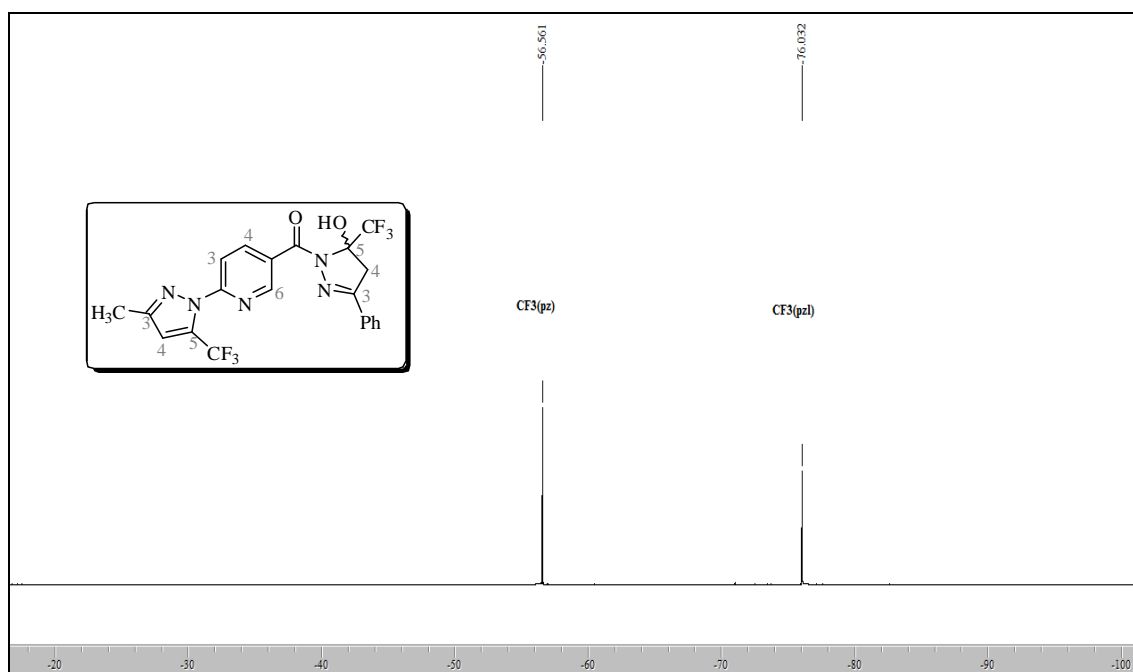


Figura 93. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ab**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

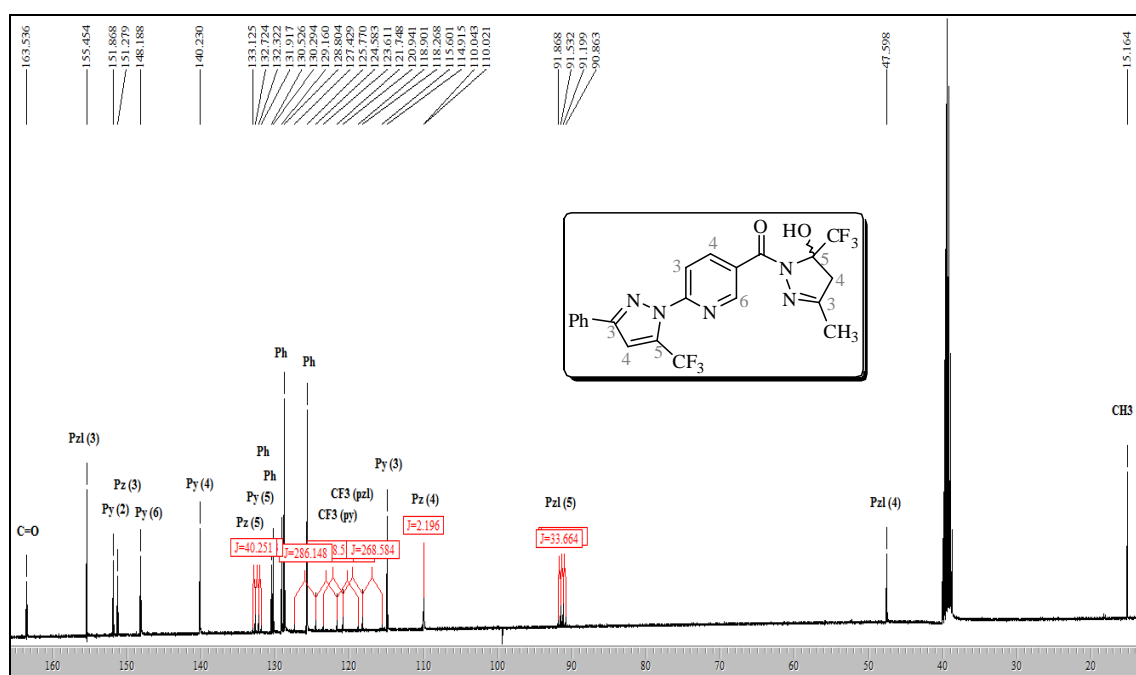
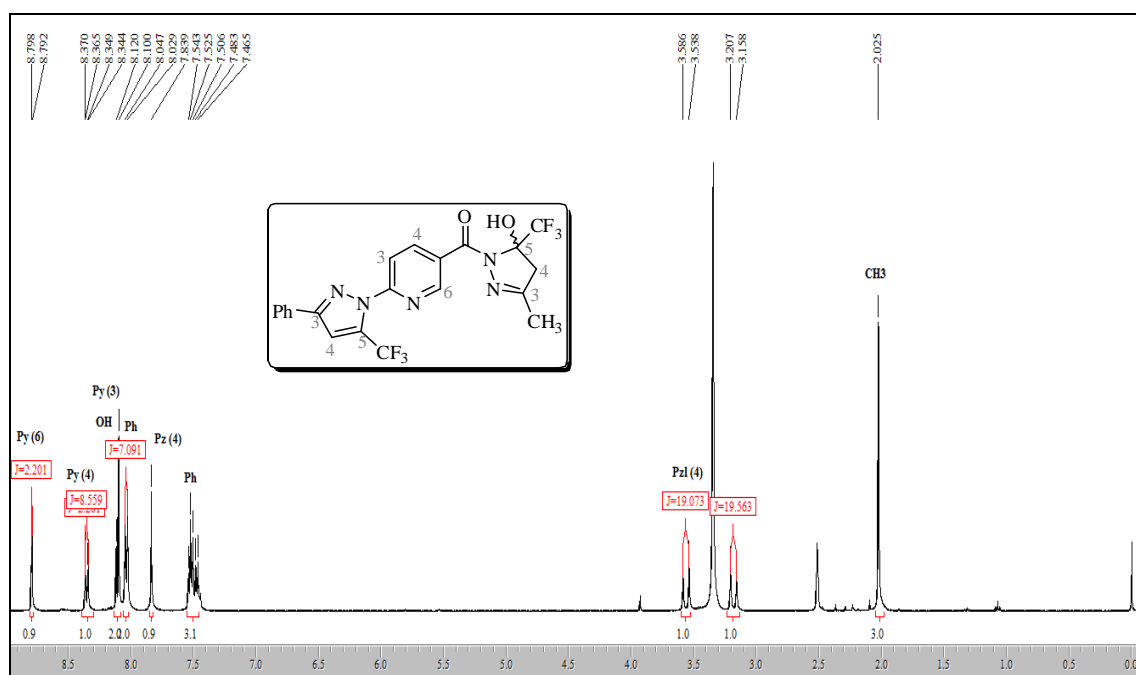


Figura 94. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ba**), registrado em DMSO-*d*₆.

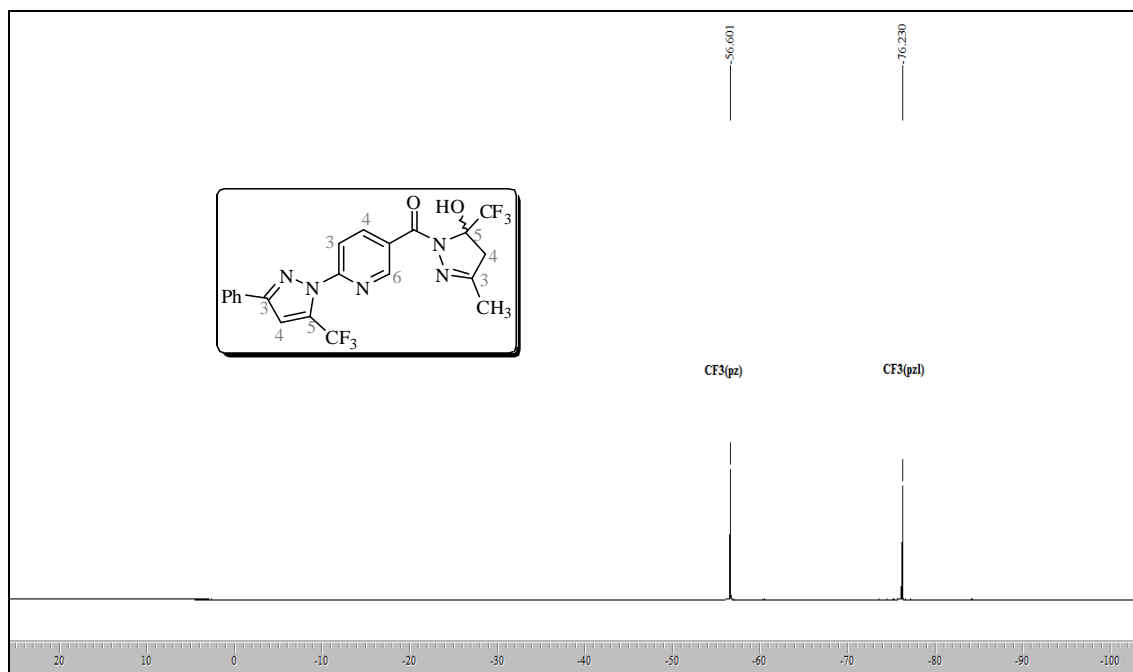


Figura 95. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ba**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

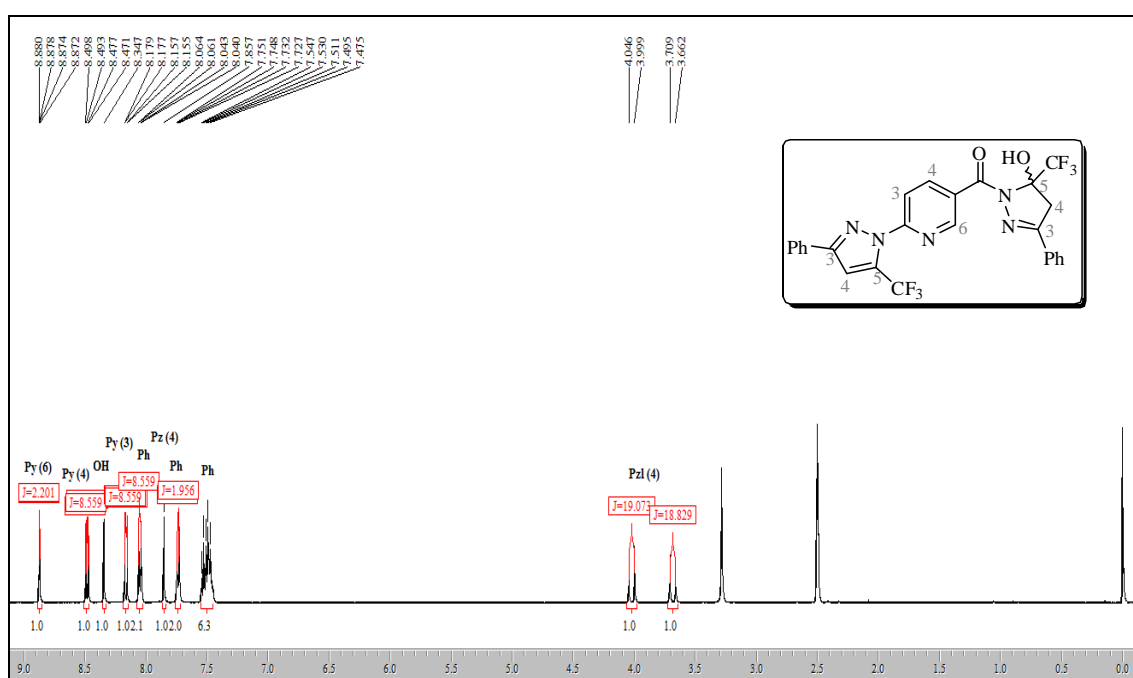


Figura 96. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11bb**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

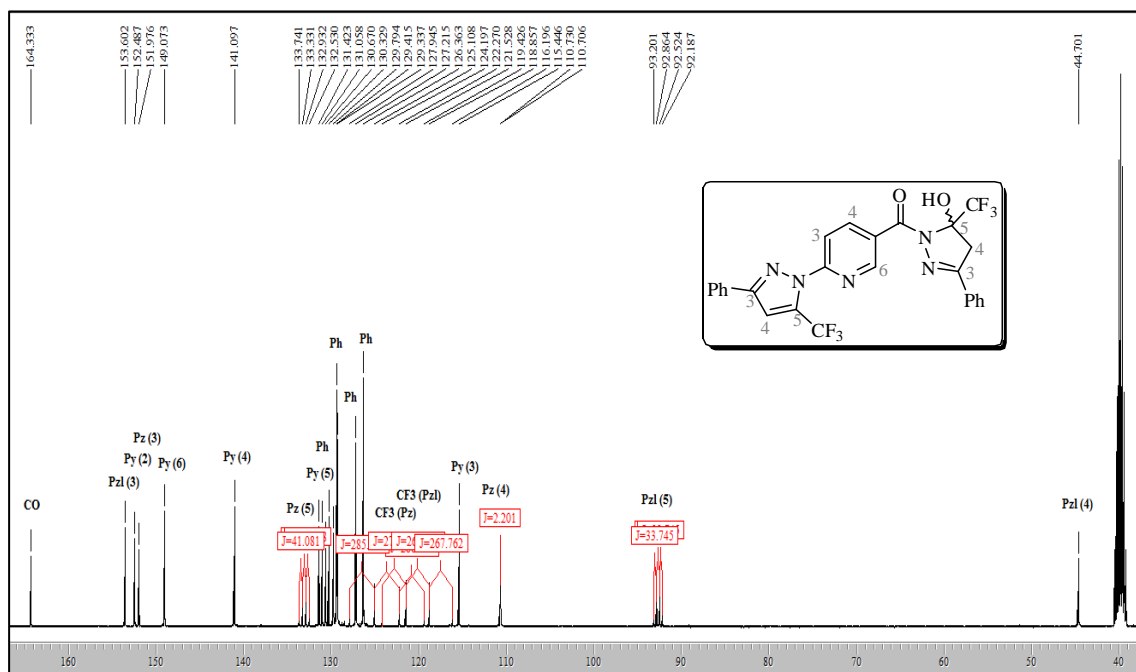


Figura 97. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11bb**), registrado em DMSO- d_6 .

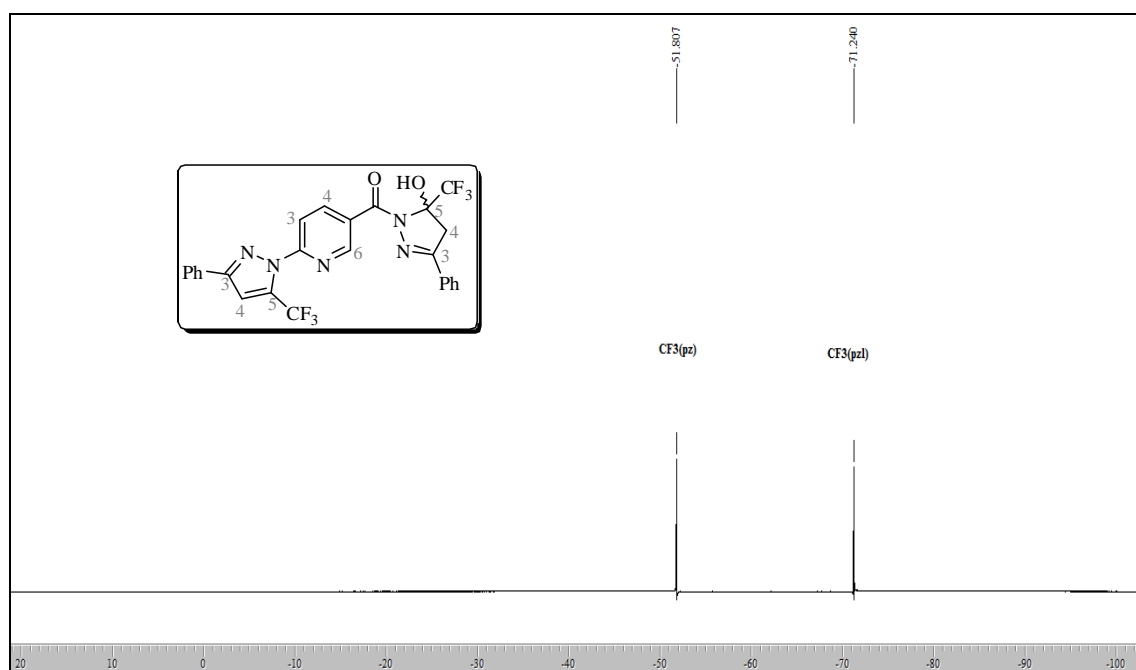


Figura 98. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11bb**), registrado em DMSO- d_6 .

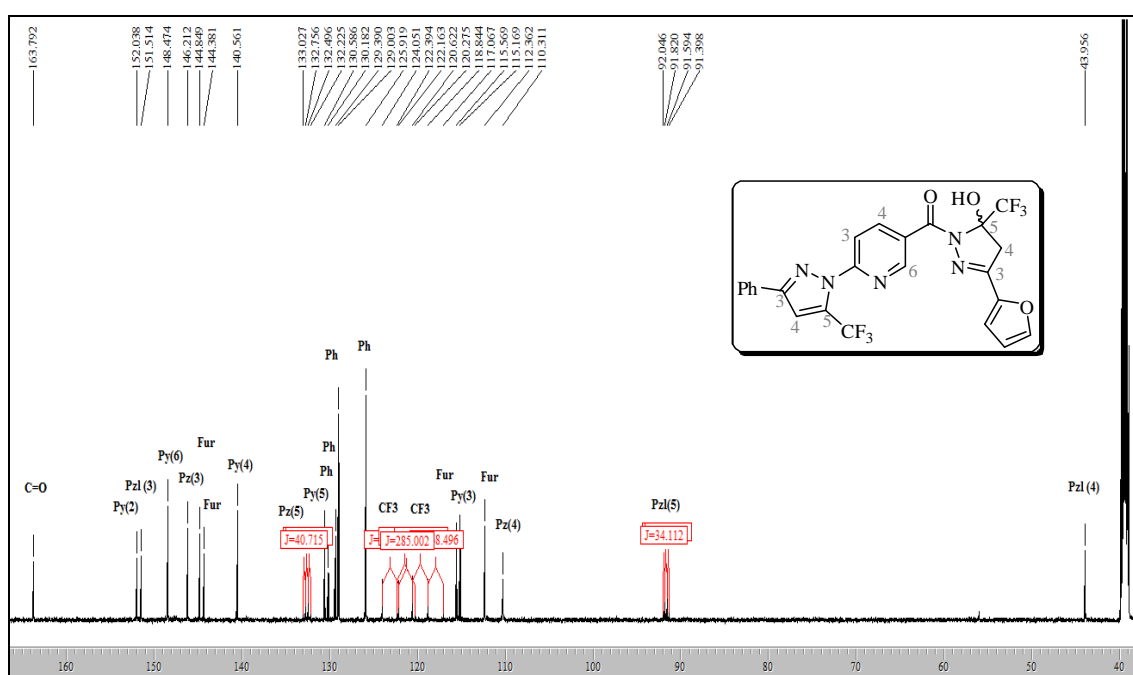
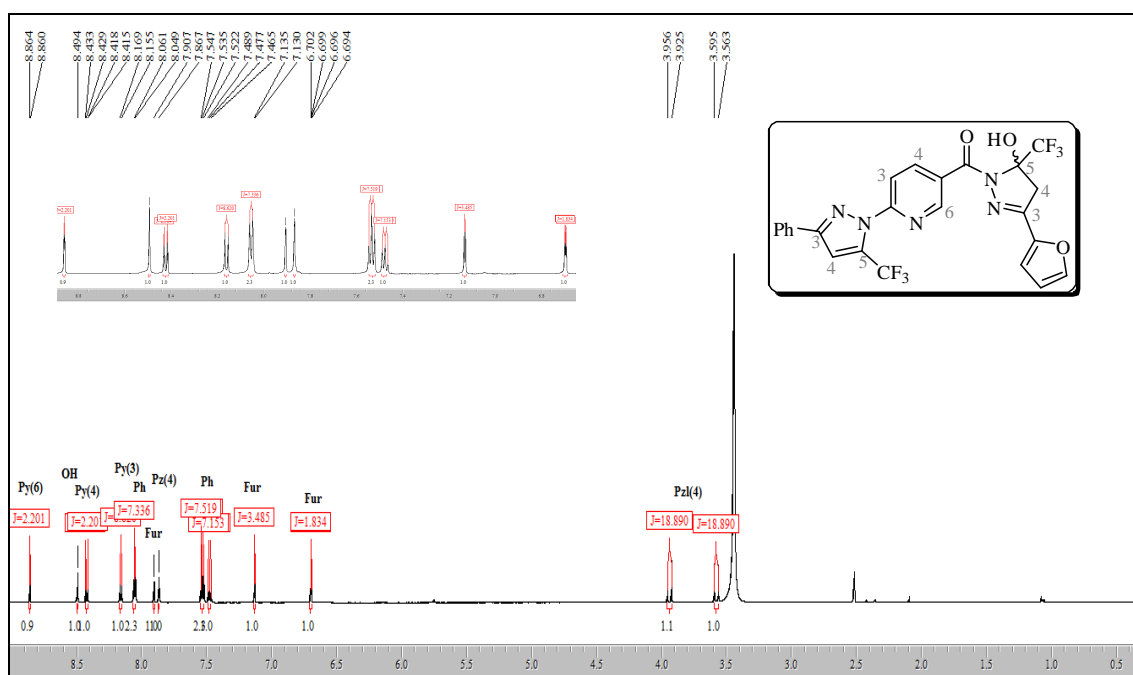


Figura 99. Espectro de RMN ¹H a 600 MHz e RMN ¹³C {¹H} a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11bc**), registrado em DMSO-*d*₆.

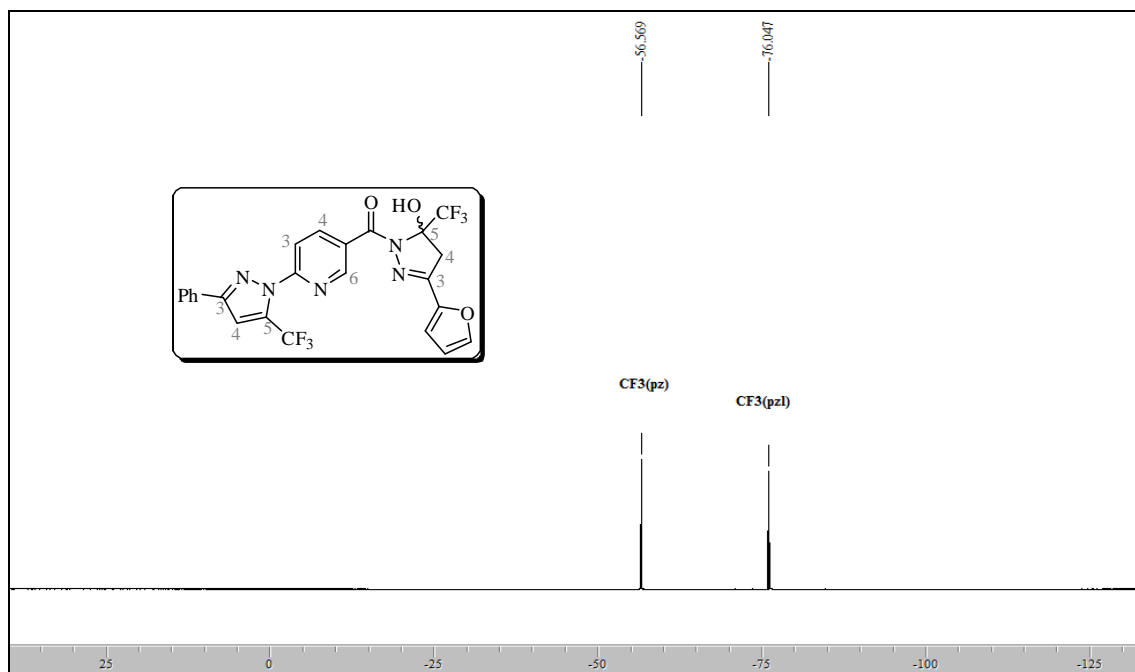


Figura 100. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11bc**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

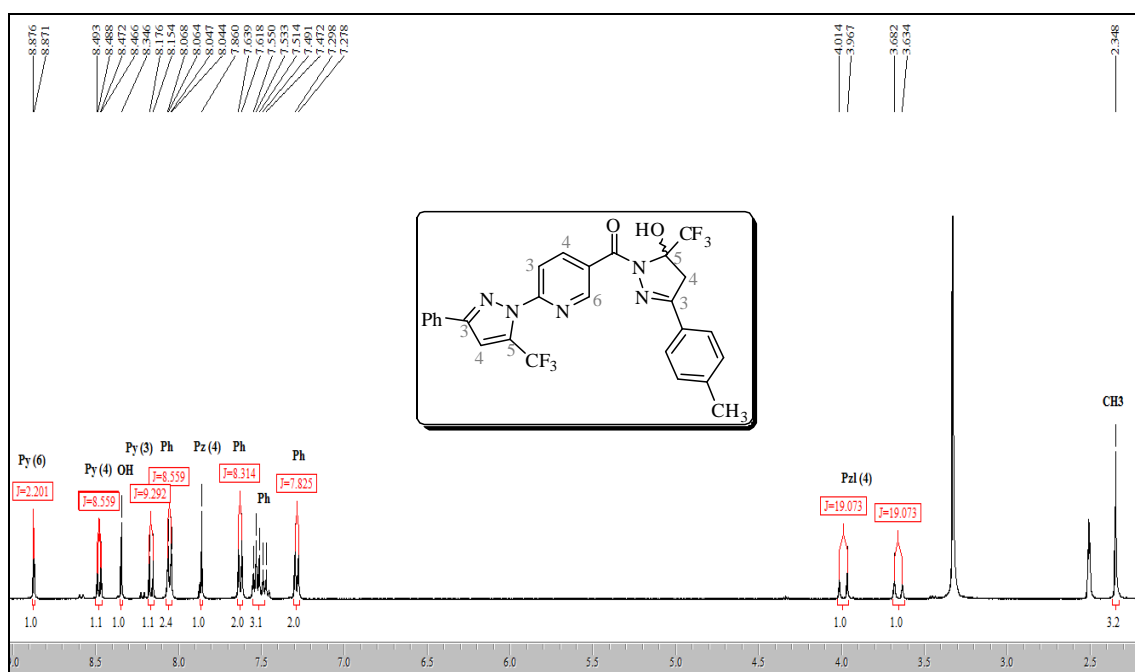


Figura 101. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11bd**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

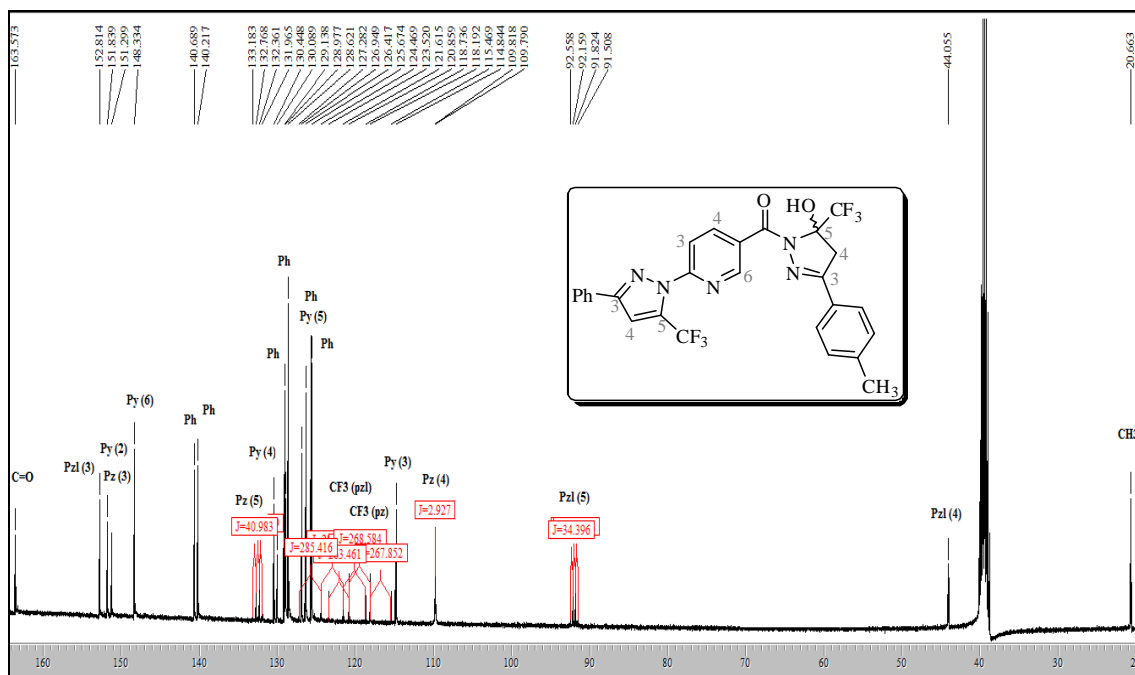


Figura 102. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11bd**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

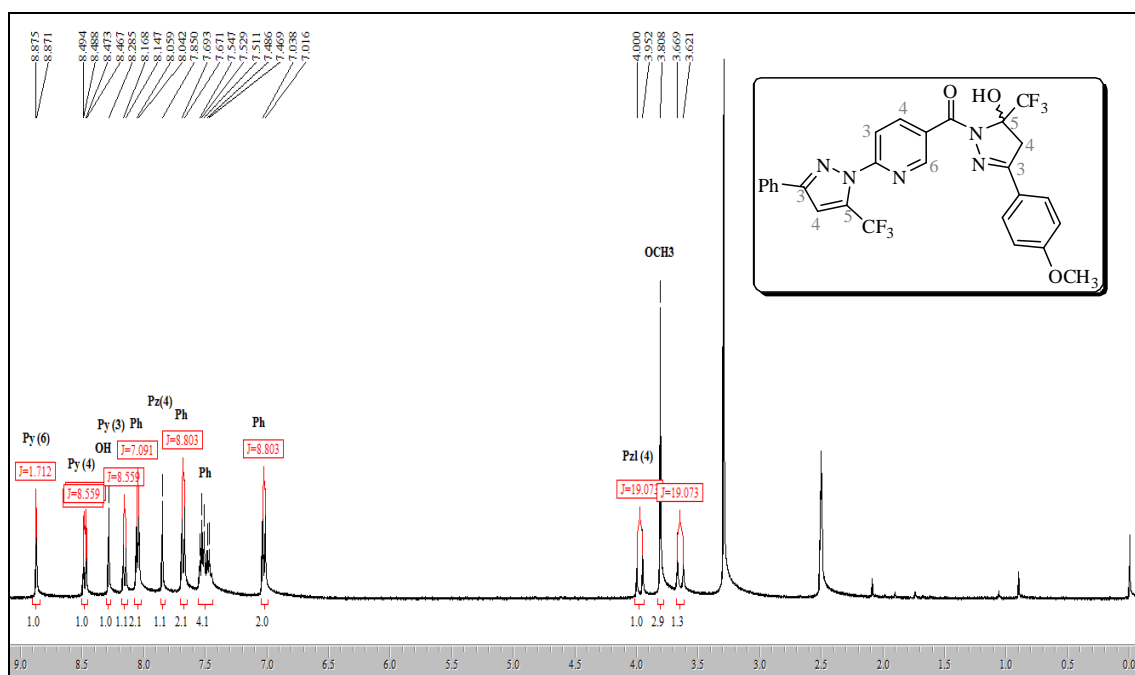


Figura 103. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-met3xi)fenil-5-trifluormetil-5-hidr3xi-4,5-diidro-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11be**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

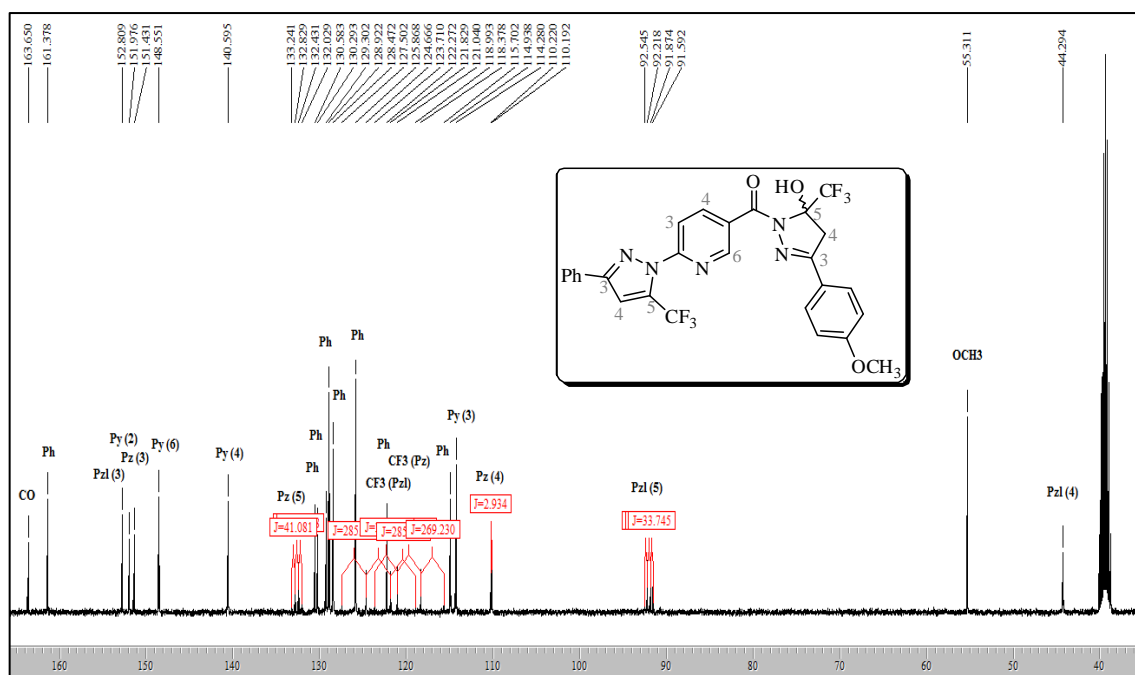


Figura 104. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11be**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

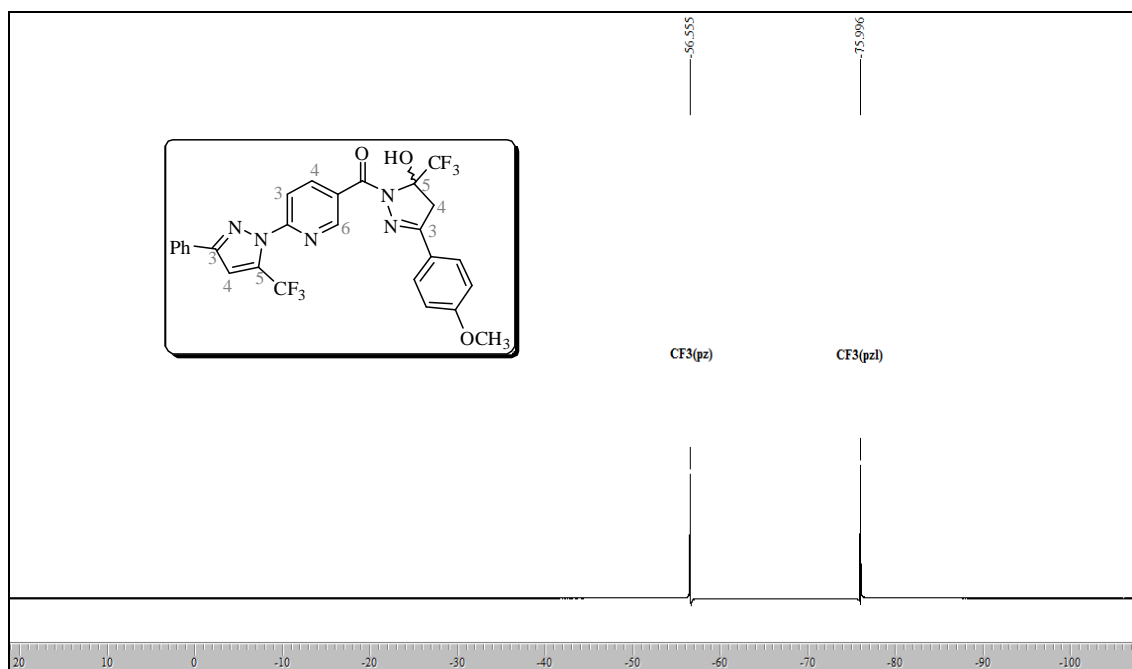


Figura 105. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metóxi)fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**11be**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

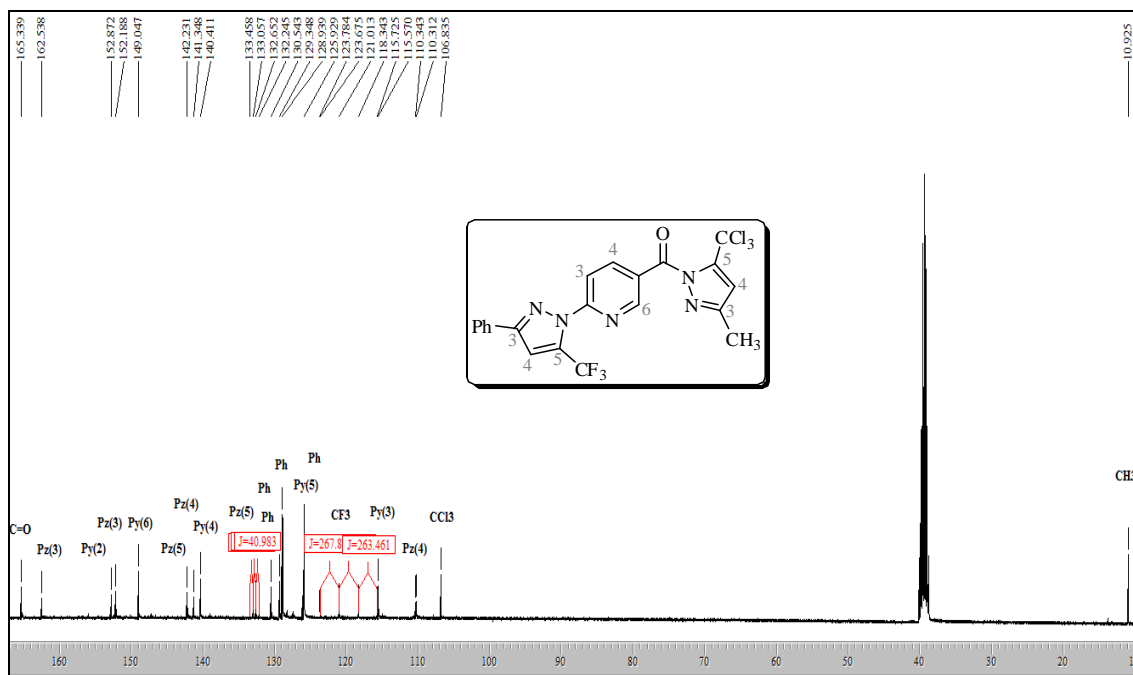
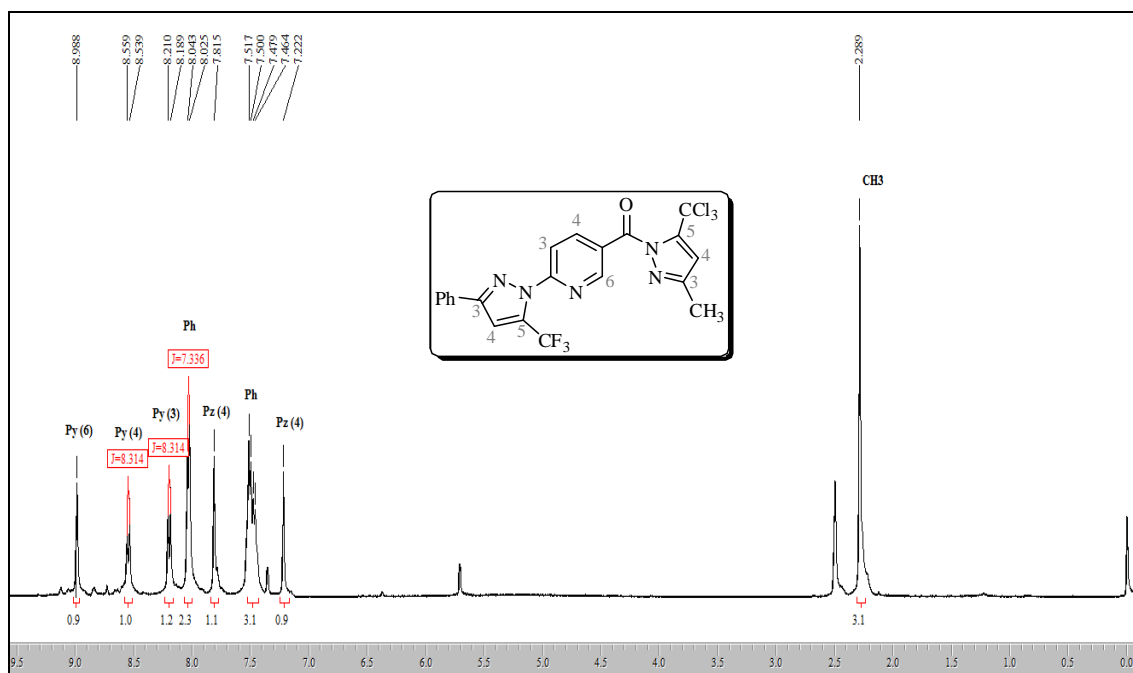
7.6 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do Composto 12

Figura 106. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**12ba**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

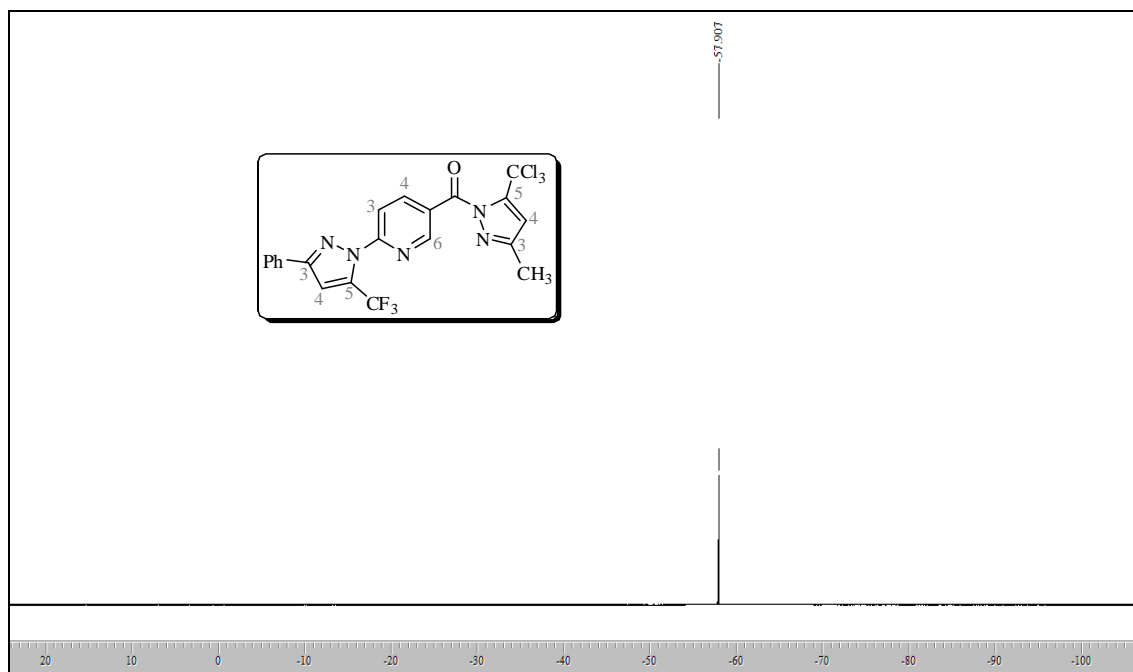


Figura 107. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-metil-5-triclorometil-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**12ba**), registrado em CDCl_3 .

7.7 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos Compostos 13

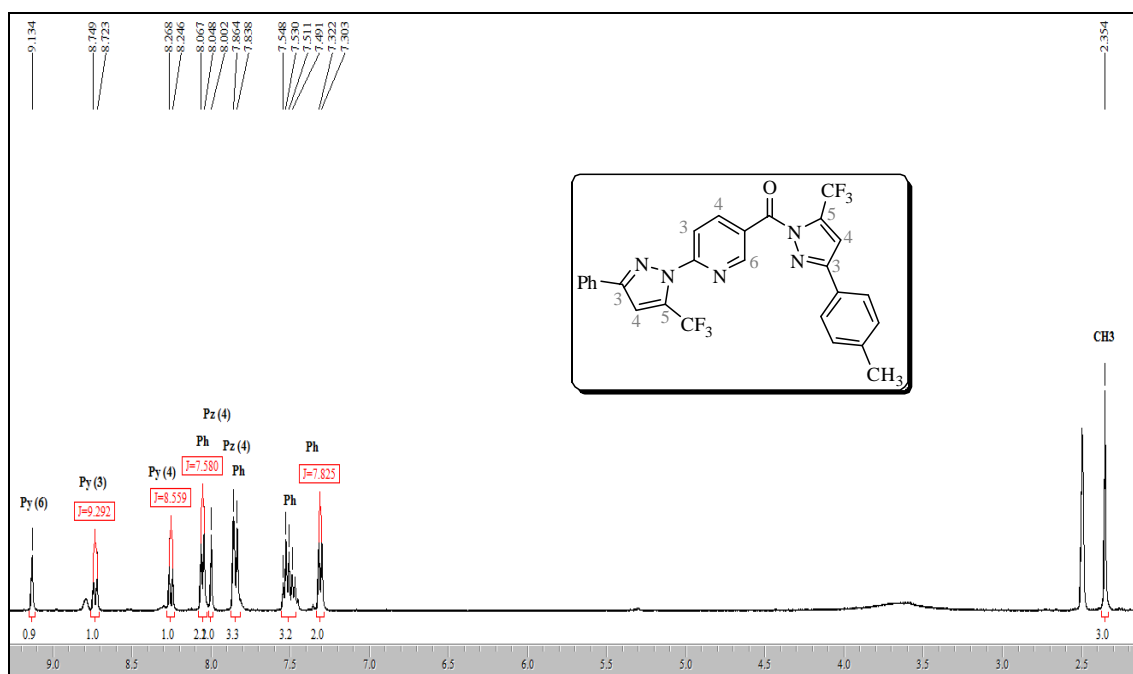


Figura 108. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1H-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**13bd**) registrado em $\text{DMSO}-d_6$.

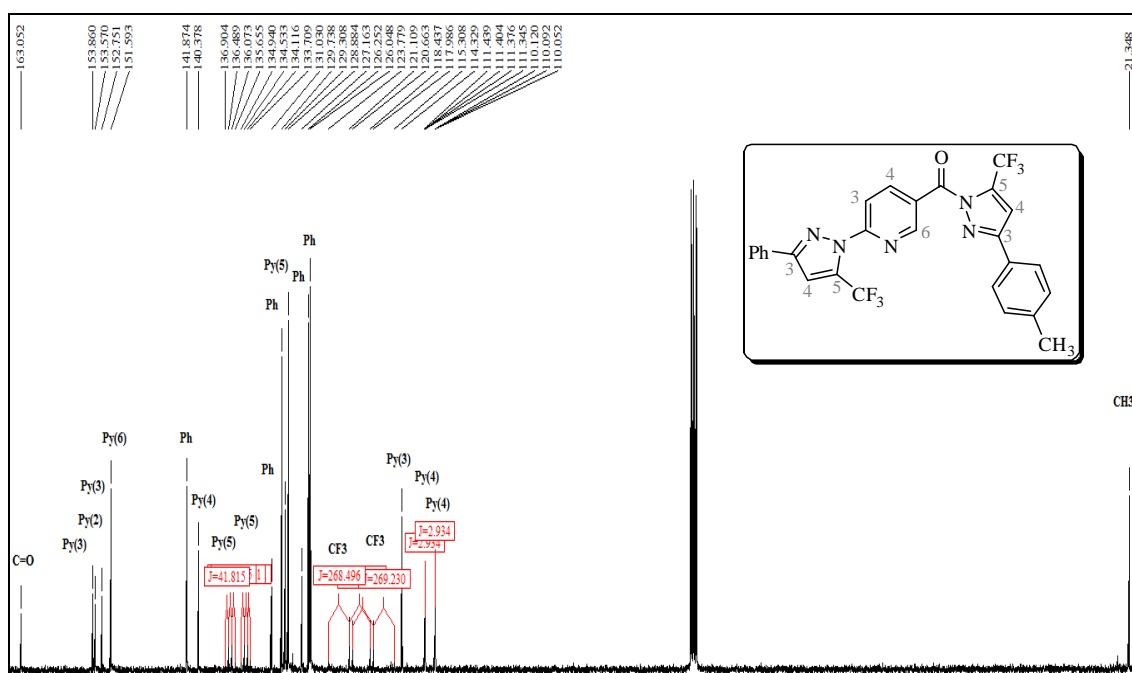


Figura 109. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**13bd**) registrado em CDCl_3 .

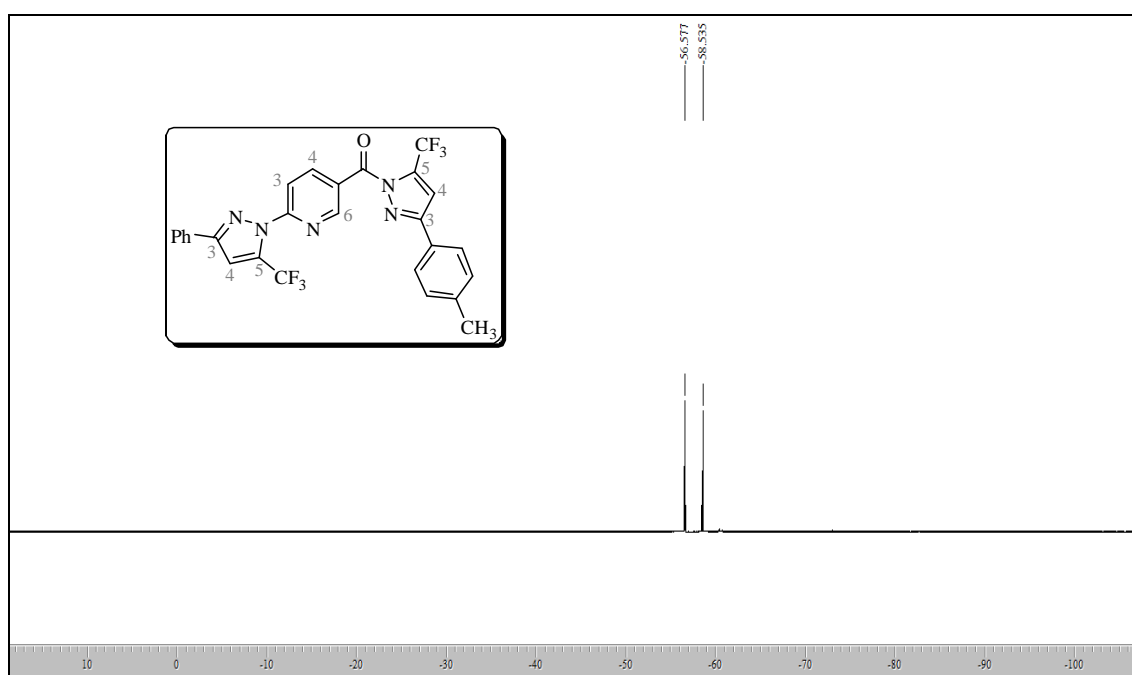


Figura 110. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-[3-(4-metil)fenil-5-trifluormetil-1*H*-1-carbonilpirazol-1-il]piridina (**13bd**) registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

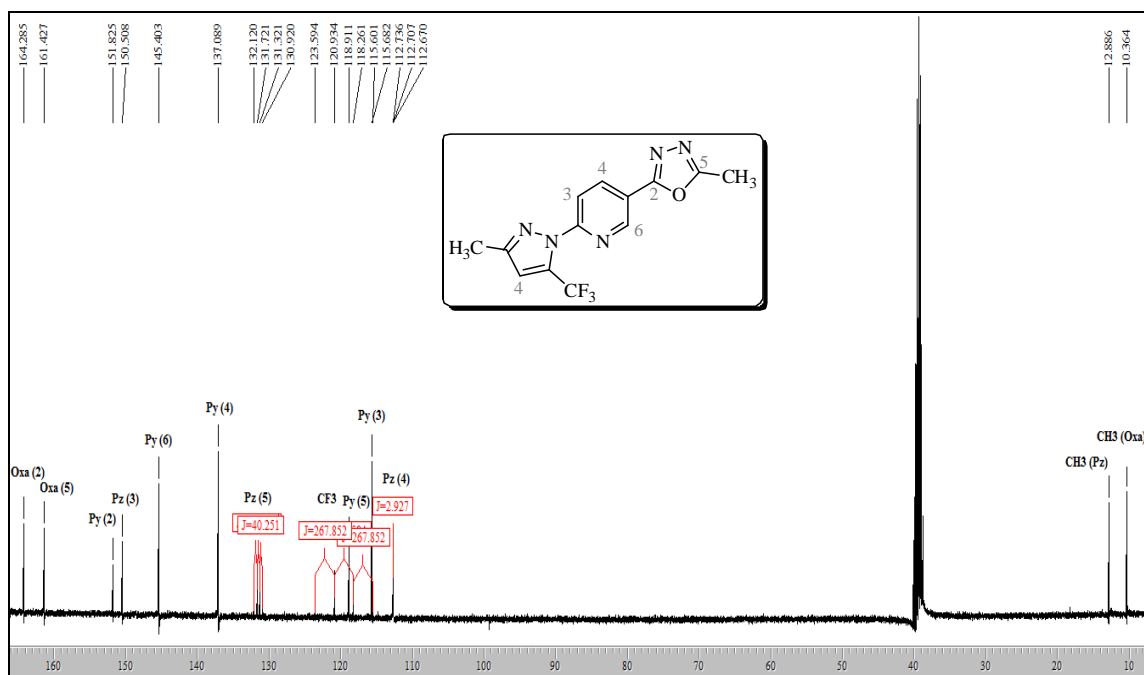
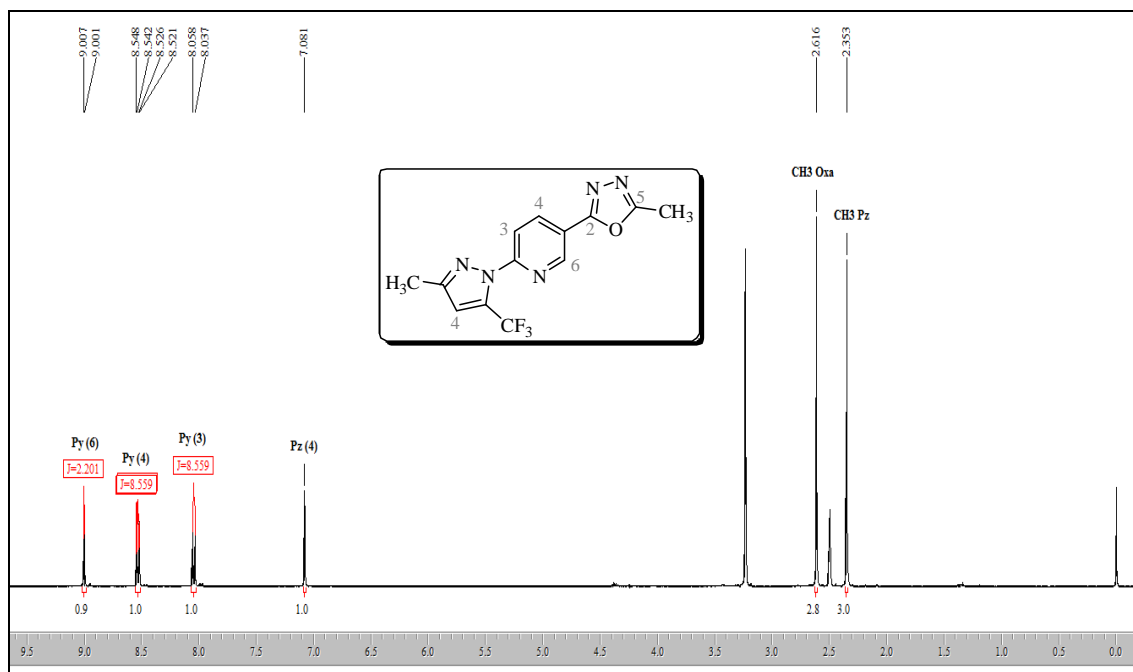
7.8 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos Compostos 14aa-bb

Figura 111. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14aa**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

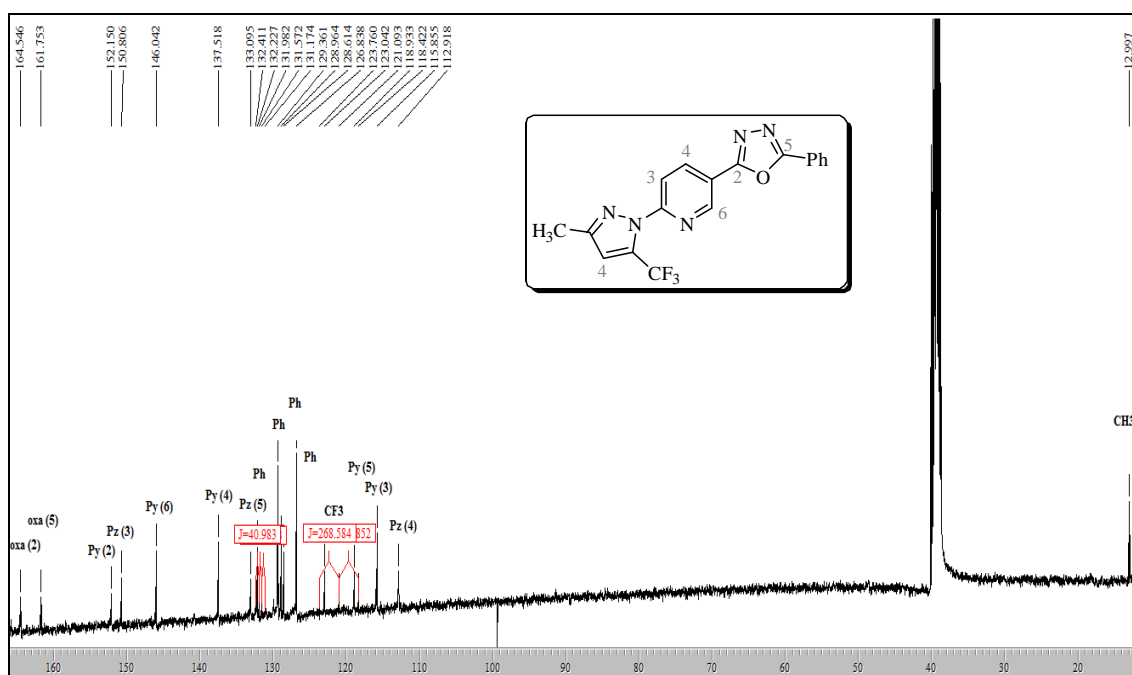
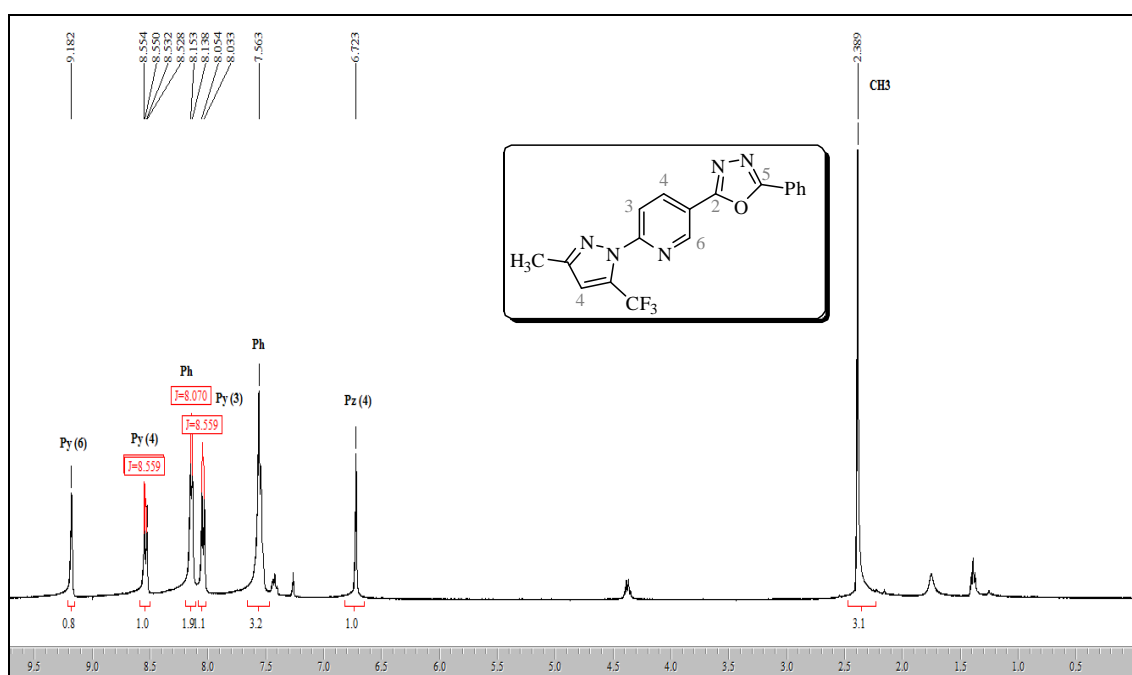


Figura 112. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz em CDCl₃ e RMN ¹³C {¹H} a 100,61 MHz registrado em DMSO-*d*₆ de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14ab**).

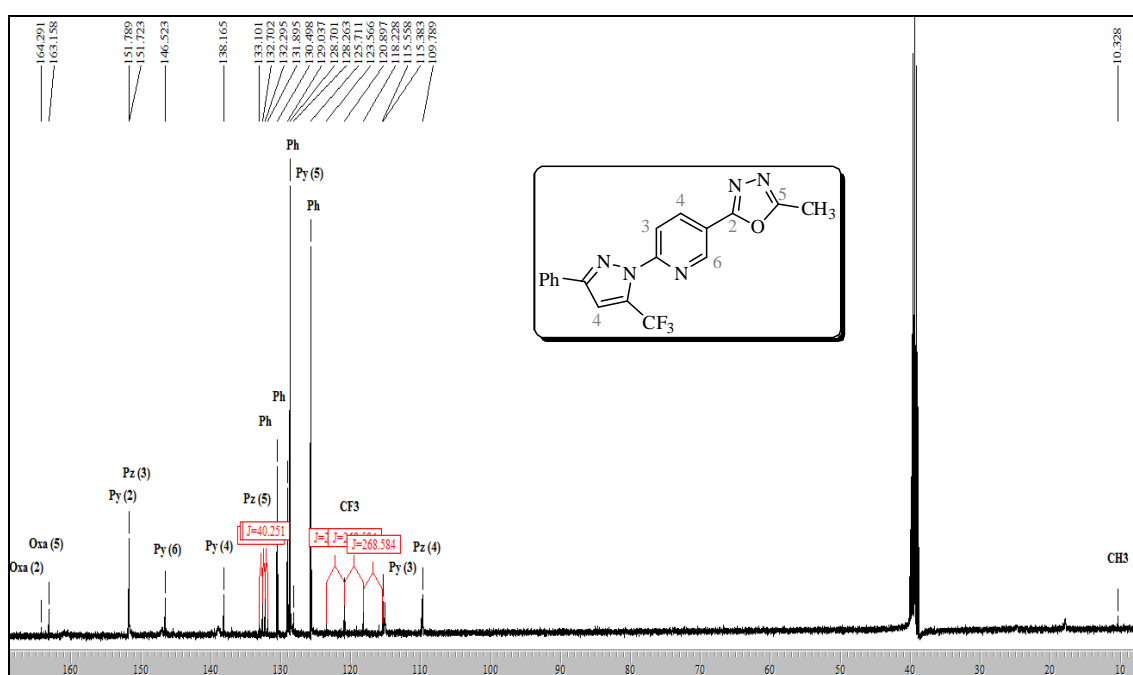
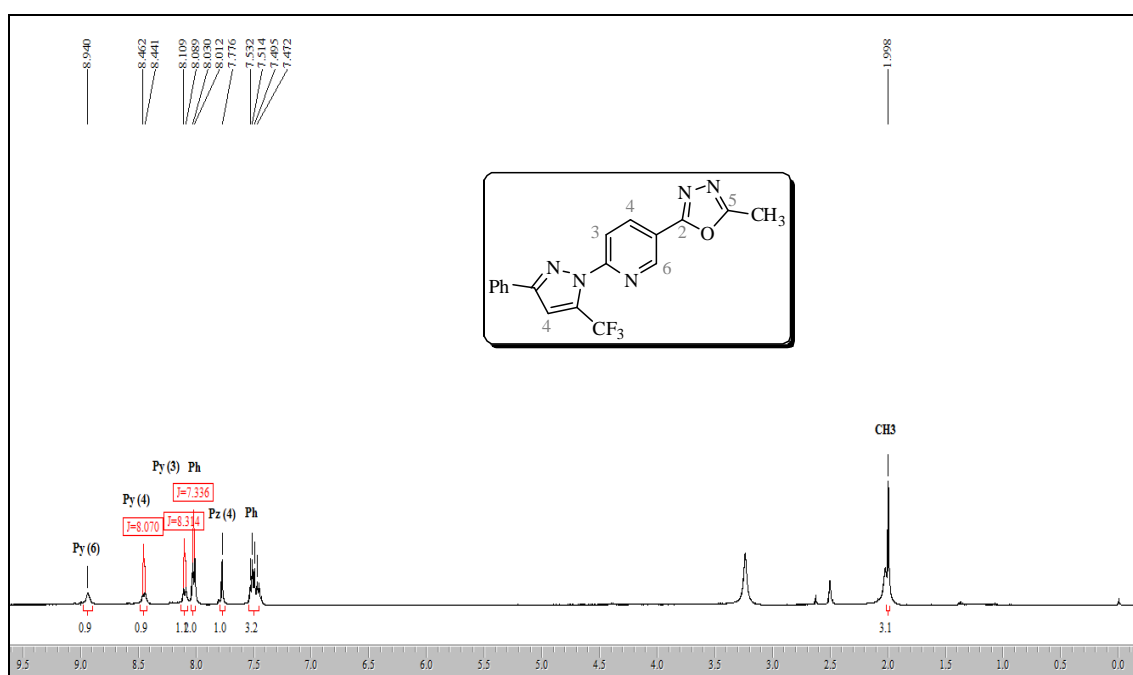


Figura 113. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14ba**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

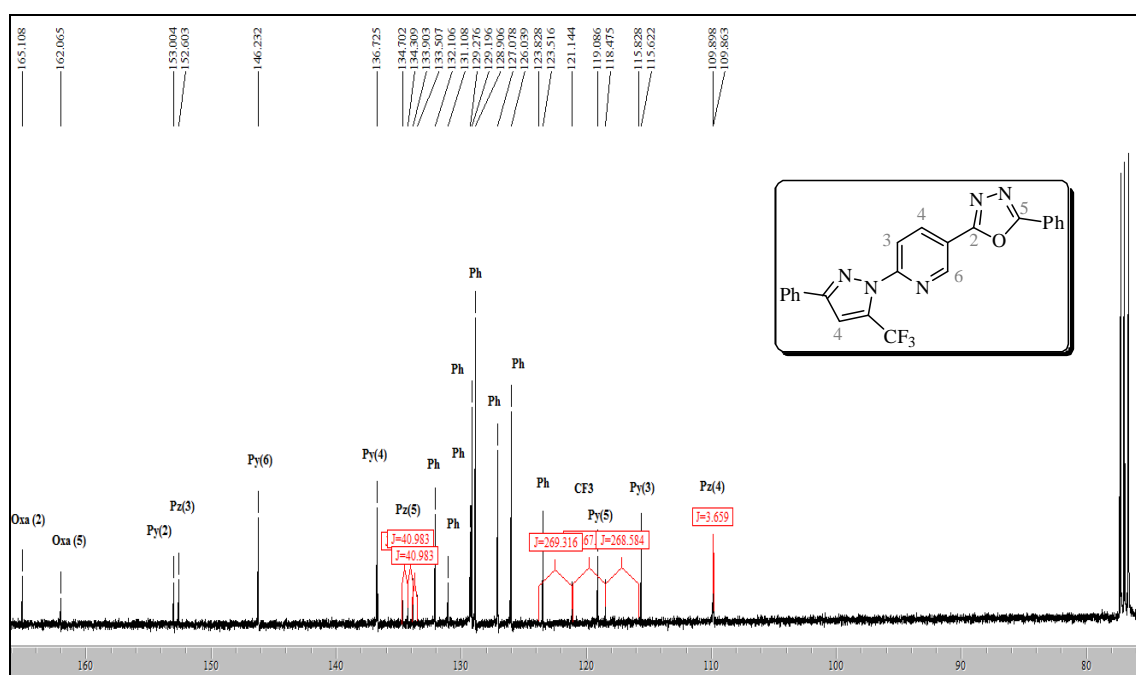
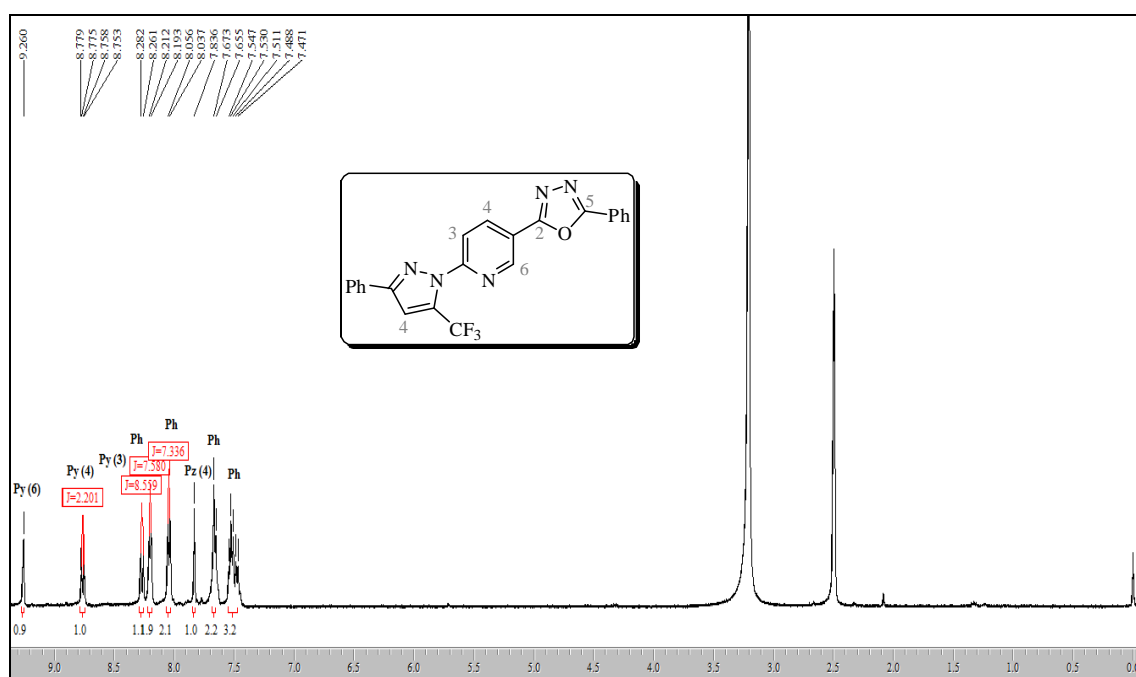


Figura 114. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz em $\text{DMSO-}d_6$ e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz registrado em CDCl_3 de 5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(3-fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)piridina (**14bb**).

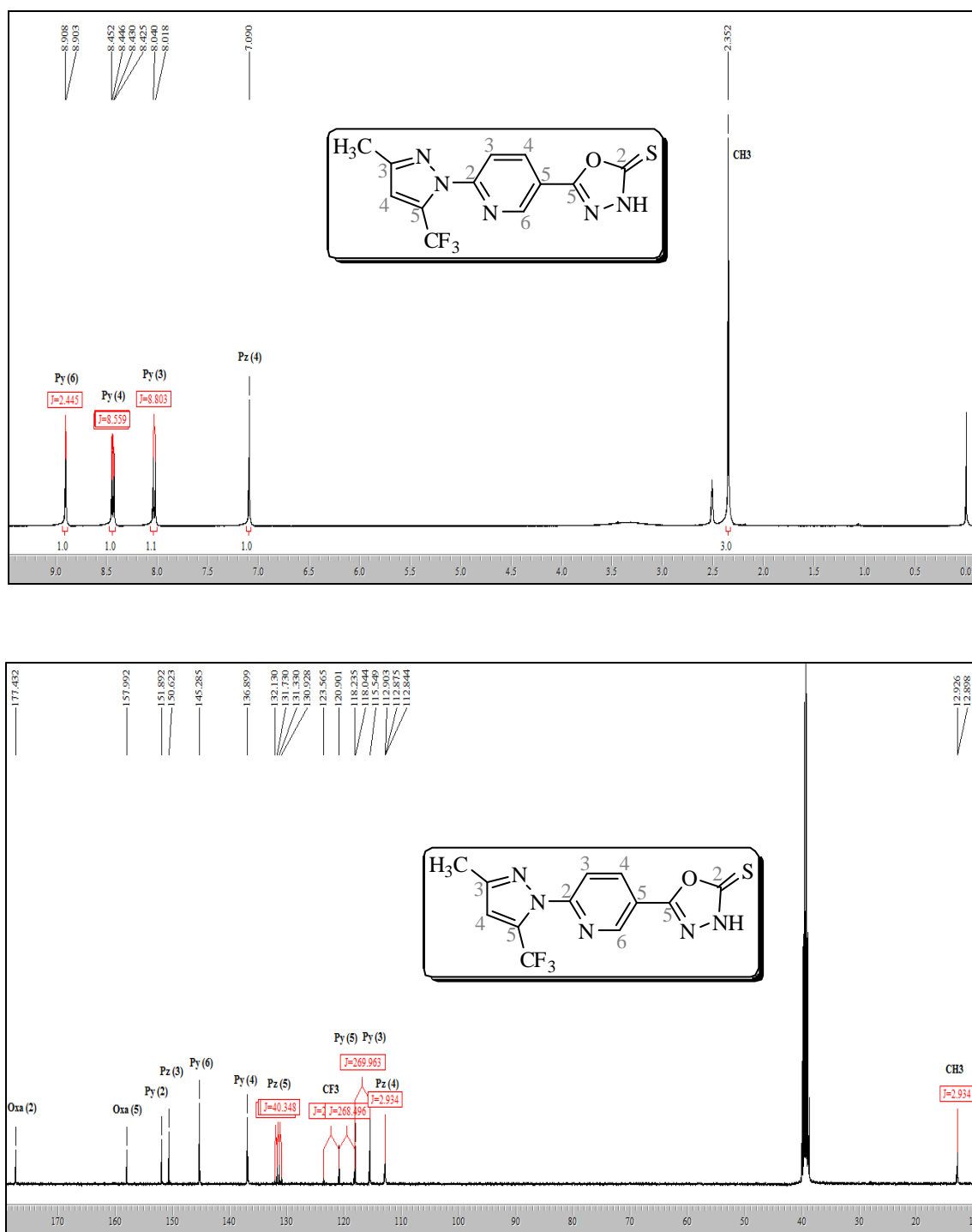
7.9 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, DEPT, COSY e HSQC dos Compostos 15a-c

Figura 115. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15a**), registrado em DMSO- d_6 .

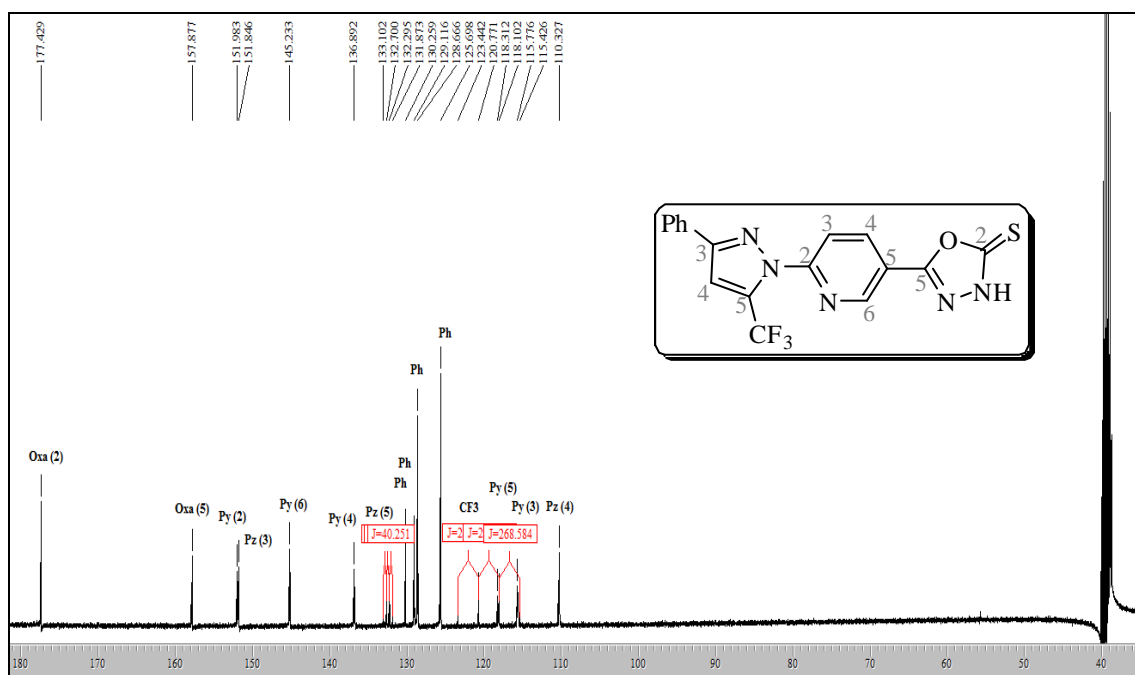
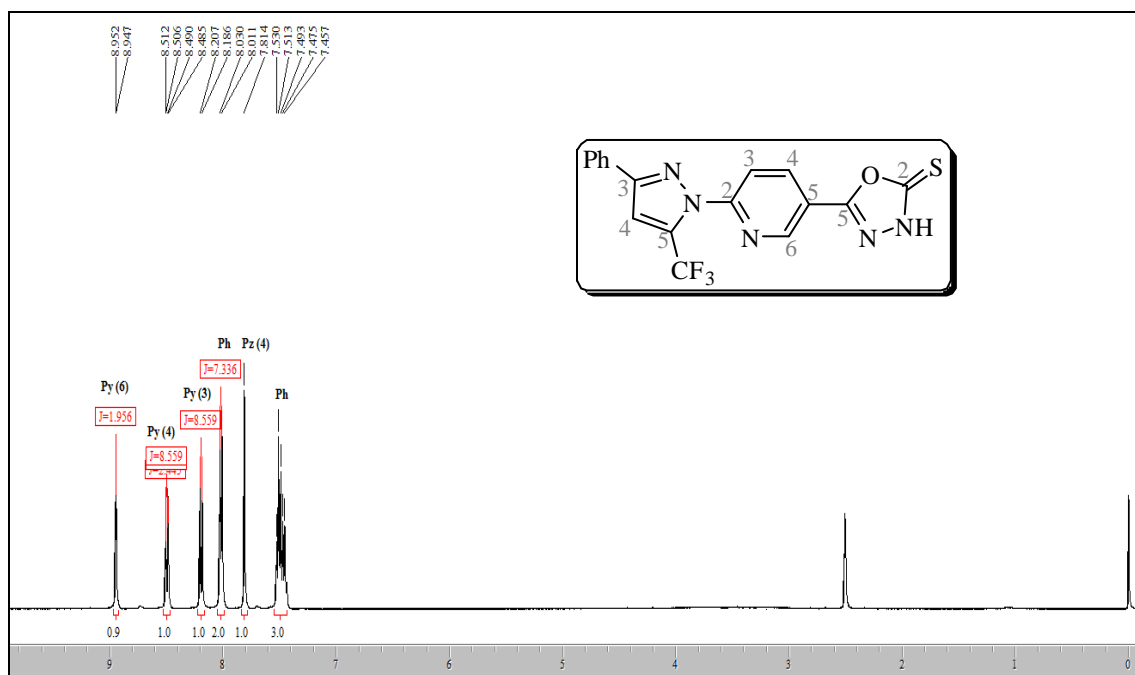


Figura 116. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

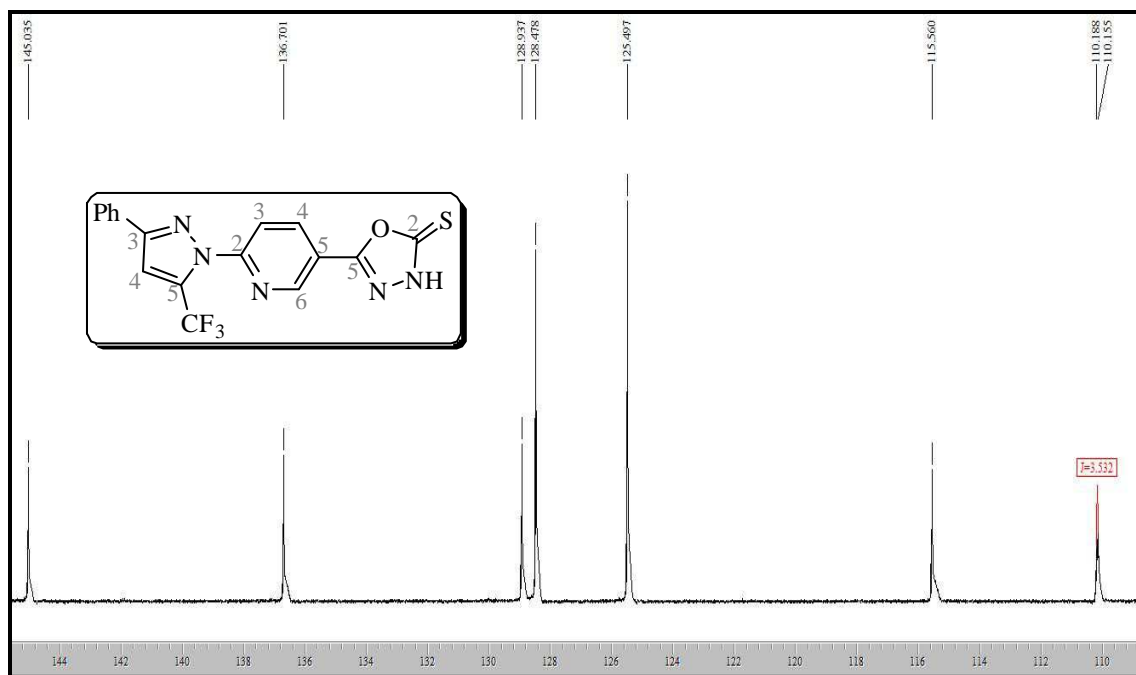


Figura 117. Espectro de RMN DEPT 125 a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

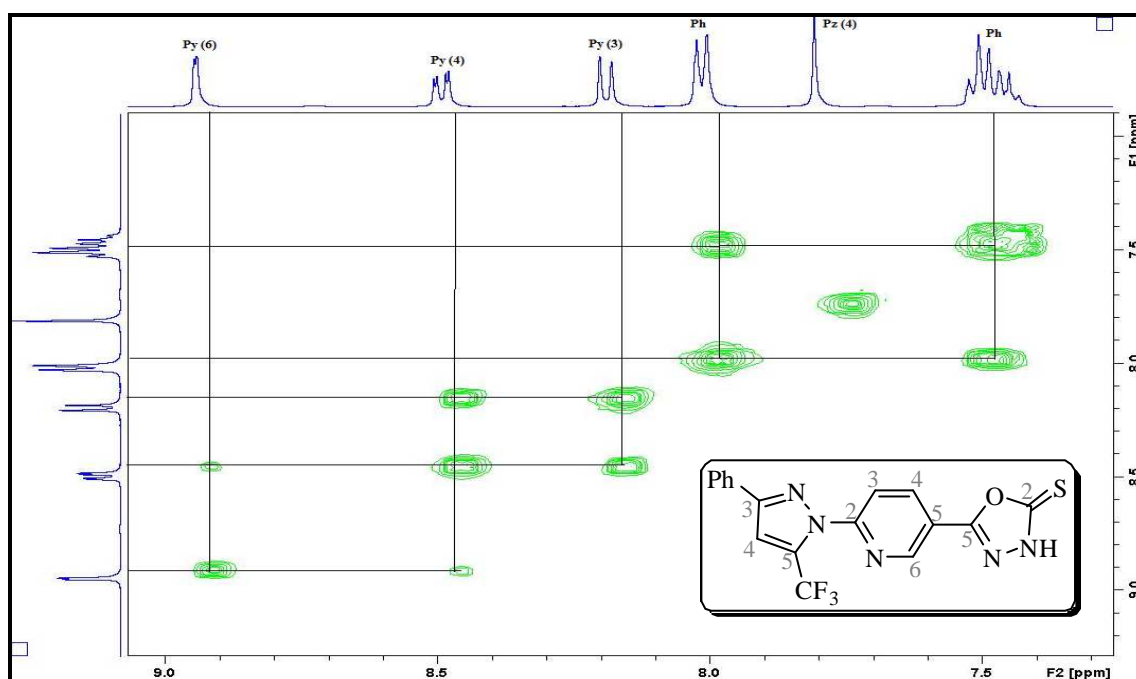


Figura 118. Espectro de RMN 2D COSY de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**).

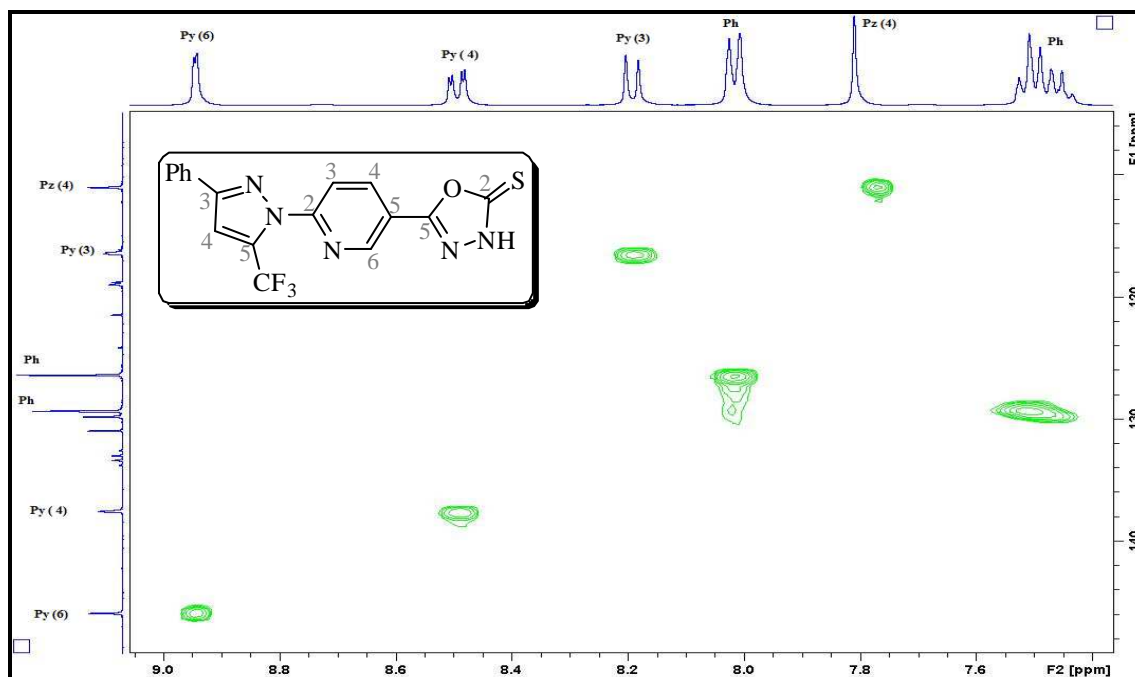


Figura 119. Expansão do espectro de RMN 2D HSQC a 100,61 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**).

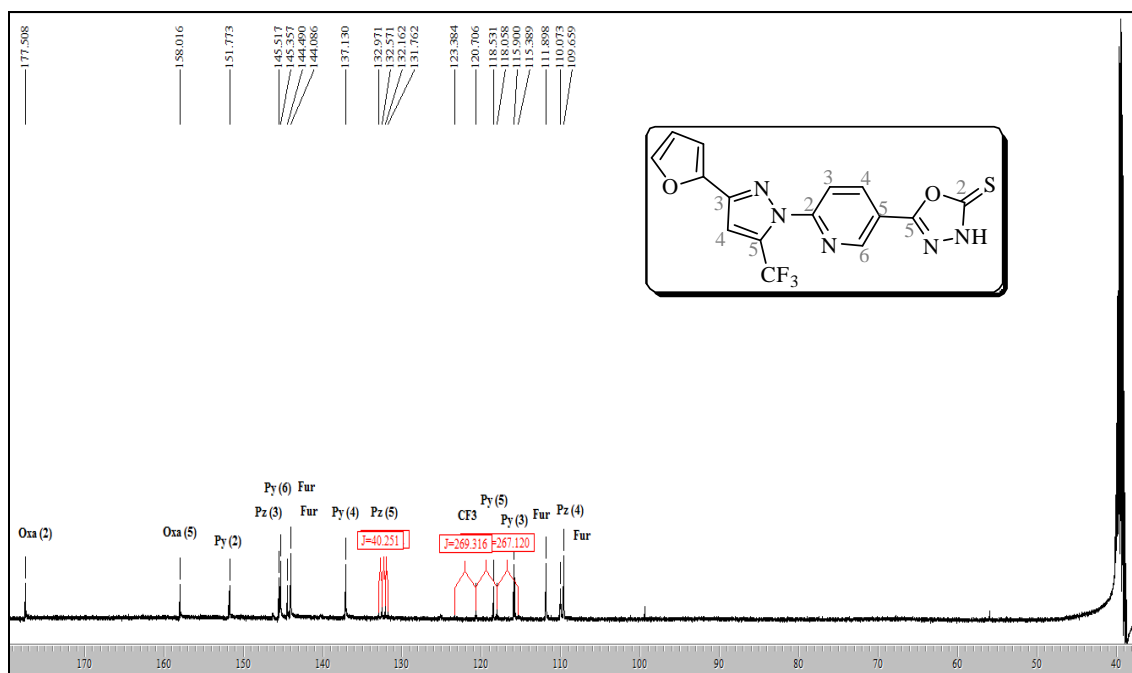
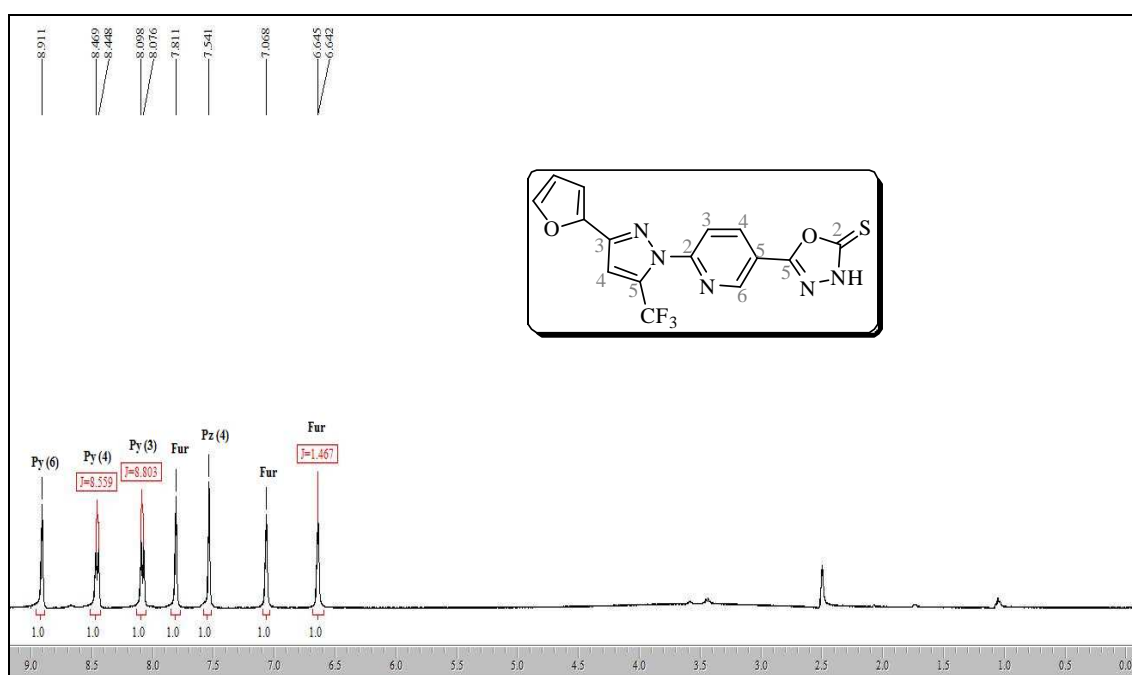


Figura 120. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz e RMN ¹³C {¹H} a 100,61 MHz de 2-[5-Trifluormetil-3-(fur-2-ila)-1*H*-pirazol-1-il]-5-(2-tiona-3*H*-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15c**), registrado em DMSO-*d*₆.

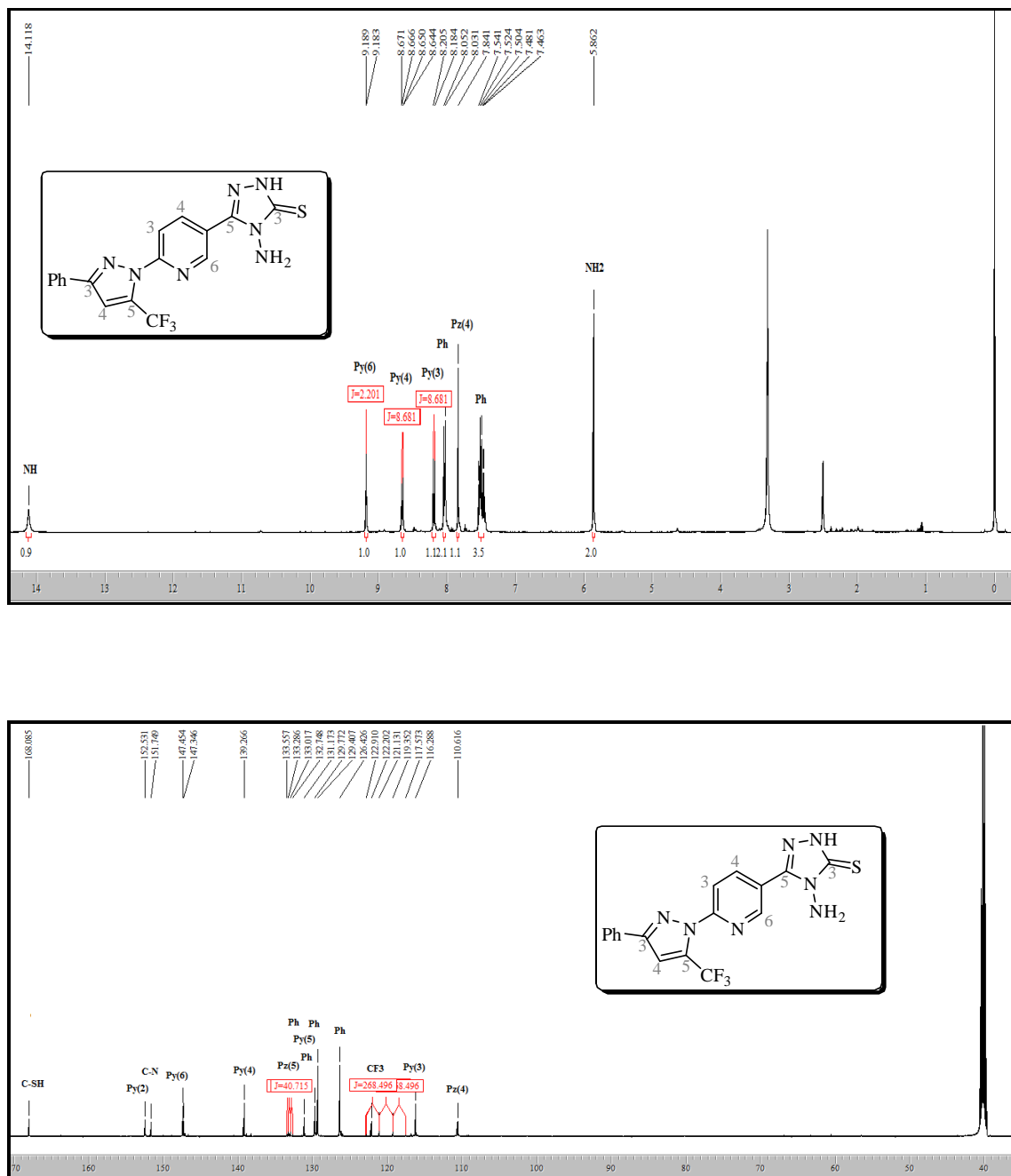
7.10 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{19}F do Composto 16

Figura 121. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz e RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 150 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4H)-tiona-2H-1,2,4-triazol-5-il]piridina (**16b**), registrado em $\text{DMSO}-d_6$.

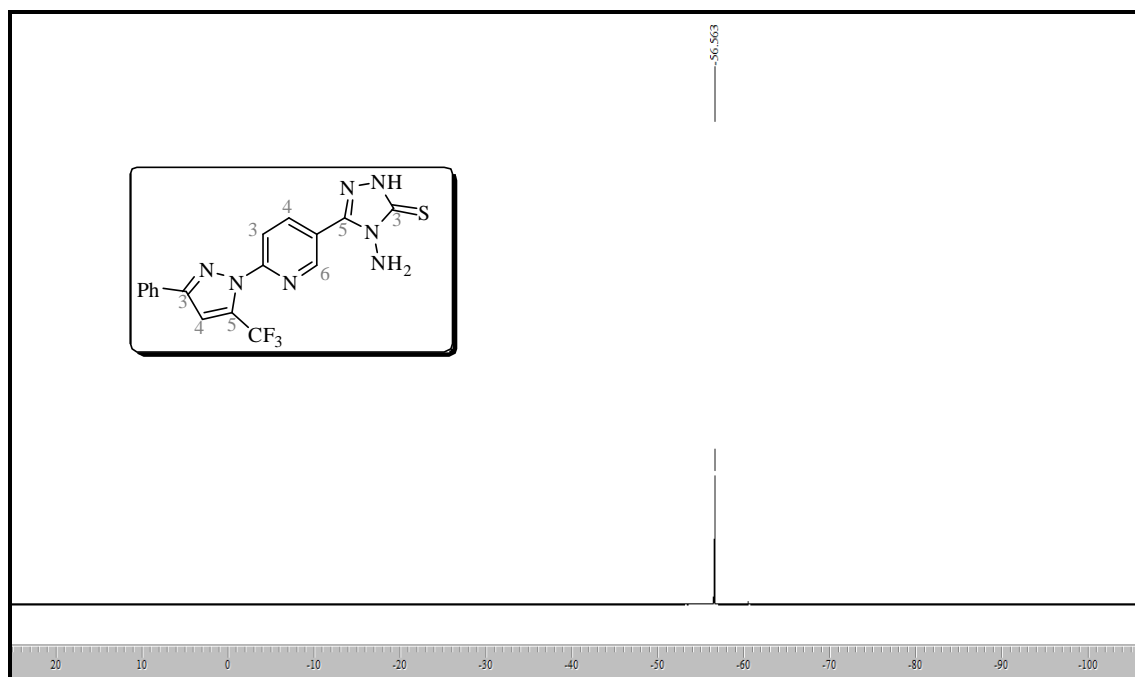


Figura 122. Espectro de RMN ^{19}F a 564,69 MHz de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-[4-amino-3(4H)-tiona-2H-1,2,4-triazol-5-il]piridina (**16b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

7. 11 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do Composto 17

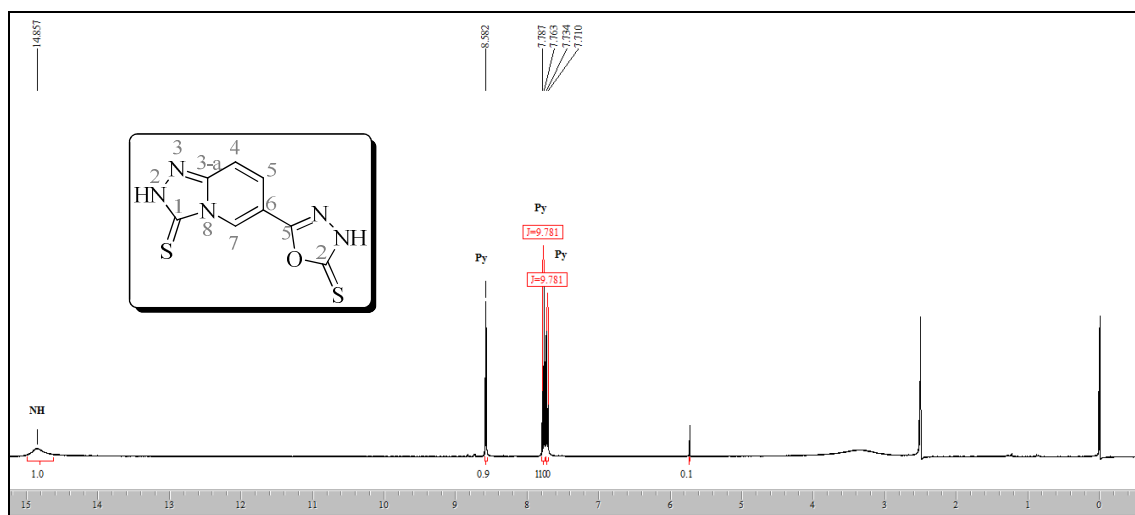


Figura 123. Espectro de RMN ^1H a 200,13 MHz de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tiona-5-il)-1(2H)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-a]piridina (**17**) em $\text{DMSO-}d_6$.

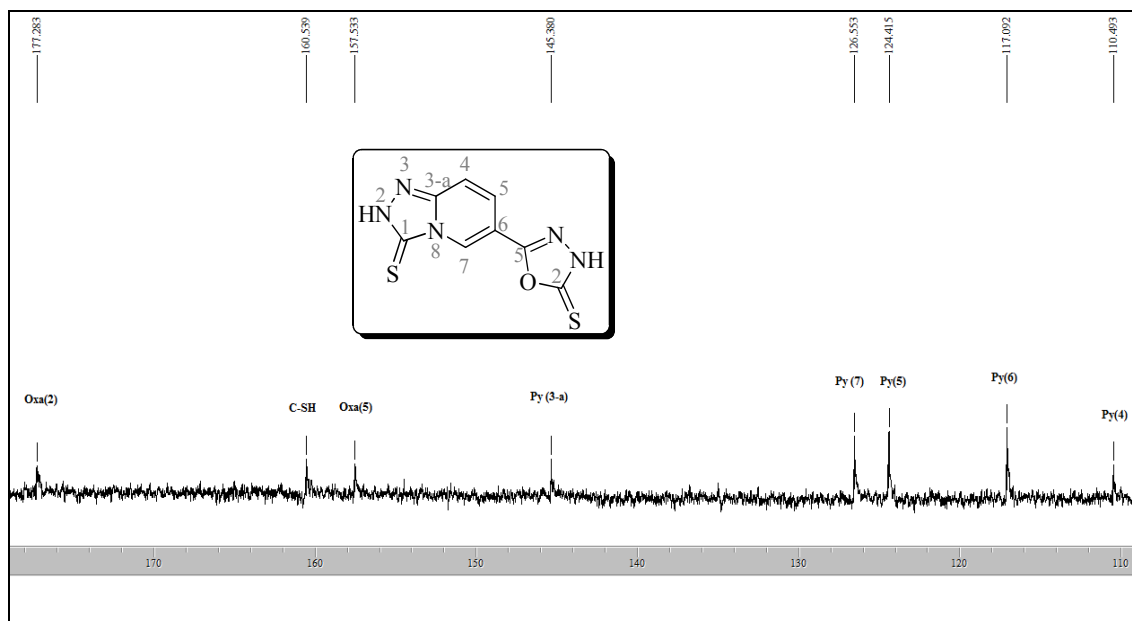


Figura 124. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(1,3,4-oxadiazol-2(3H)-tiona-5-il)-1(2H)-tiona-1,2,4-triazolo-[4,3-a]piridina **17** em DMSO- d_6 .

7. 12 Espectros de RMN ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{19}F dos Compostos 18

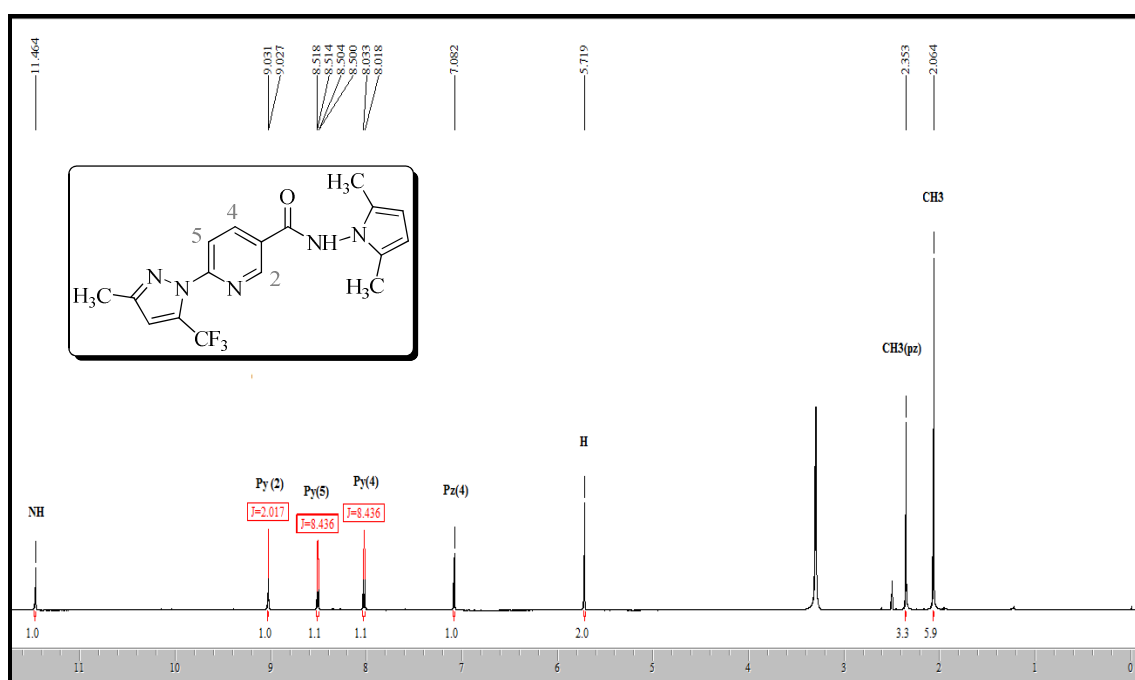


Figura 125. Espectro de RMN ^1H a 600 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18a**), registrado em DMSO- d_6 .

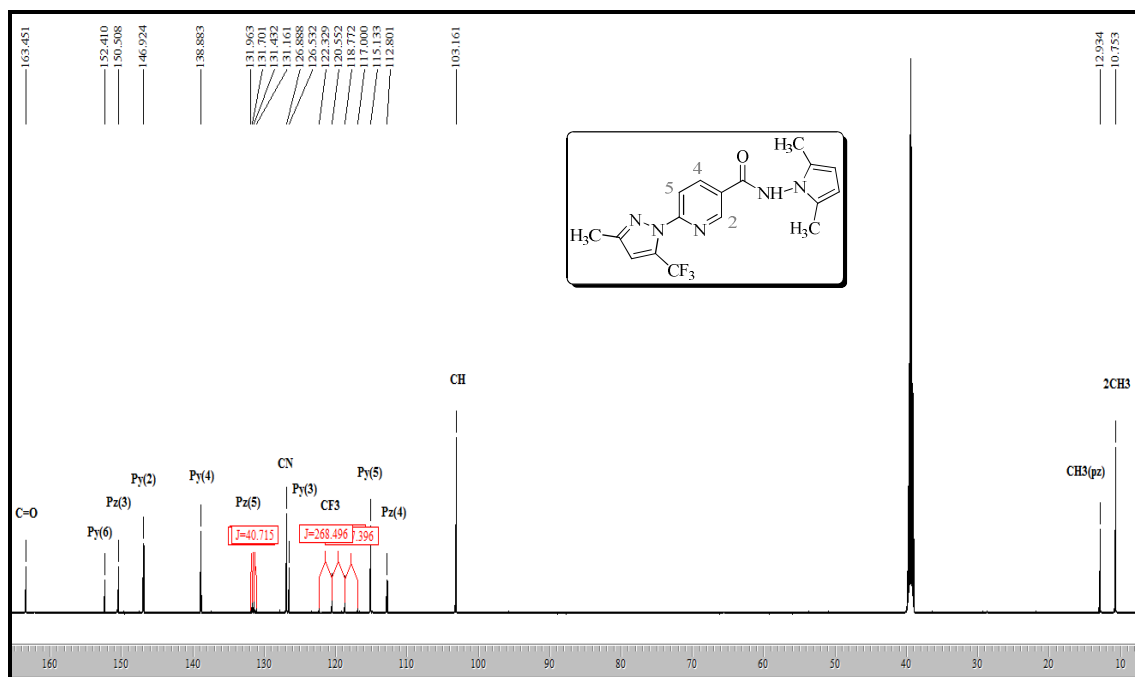


Figura 126. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 150 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18a**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

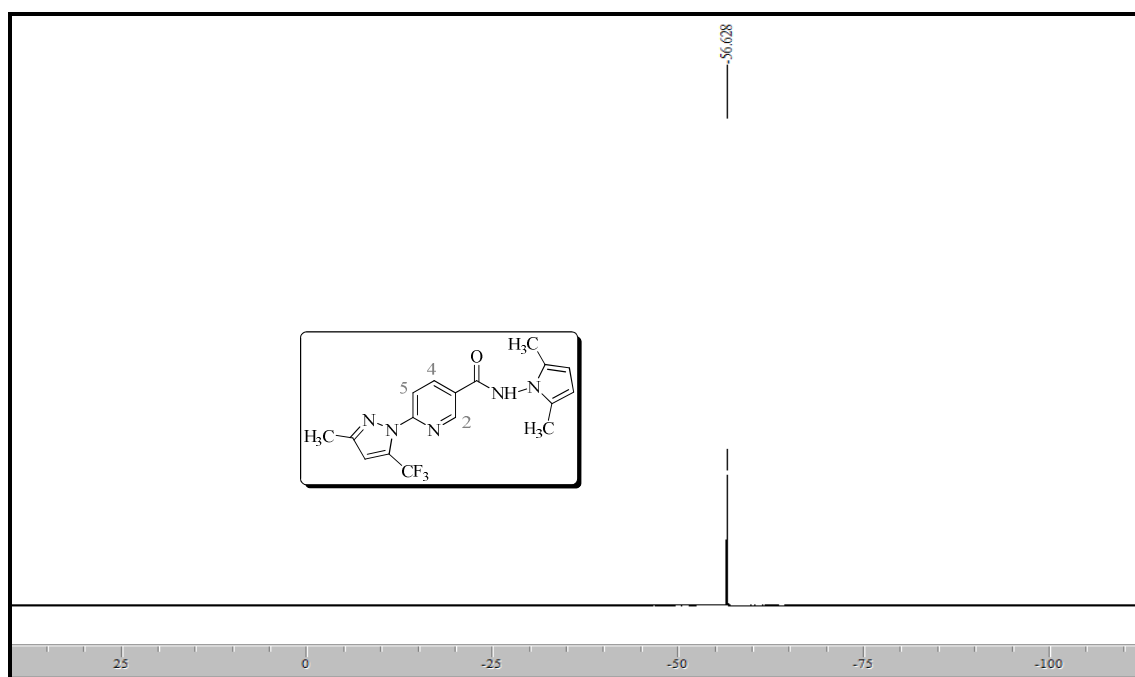


Figura 127. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18a**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

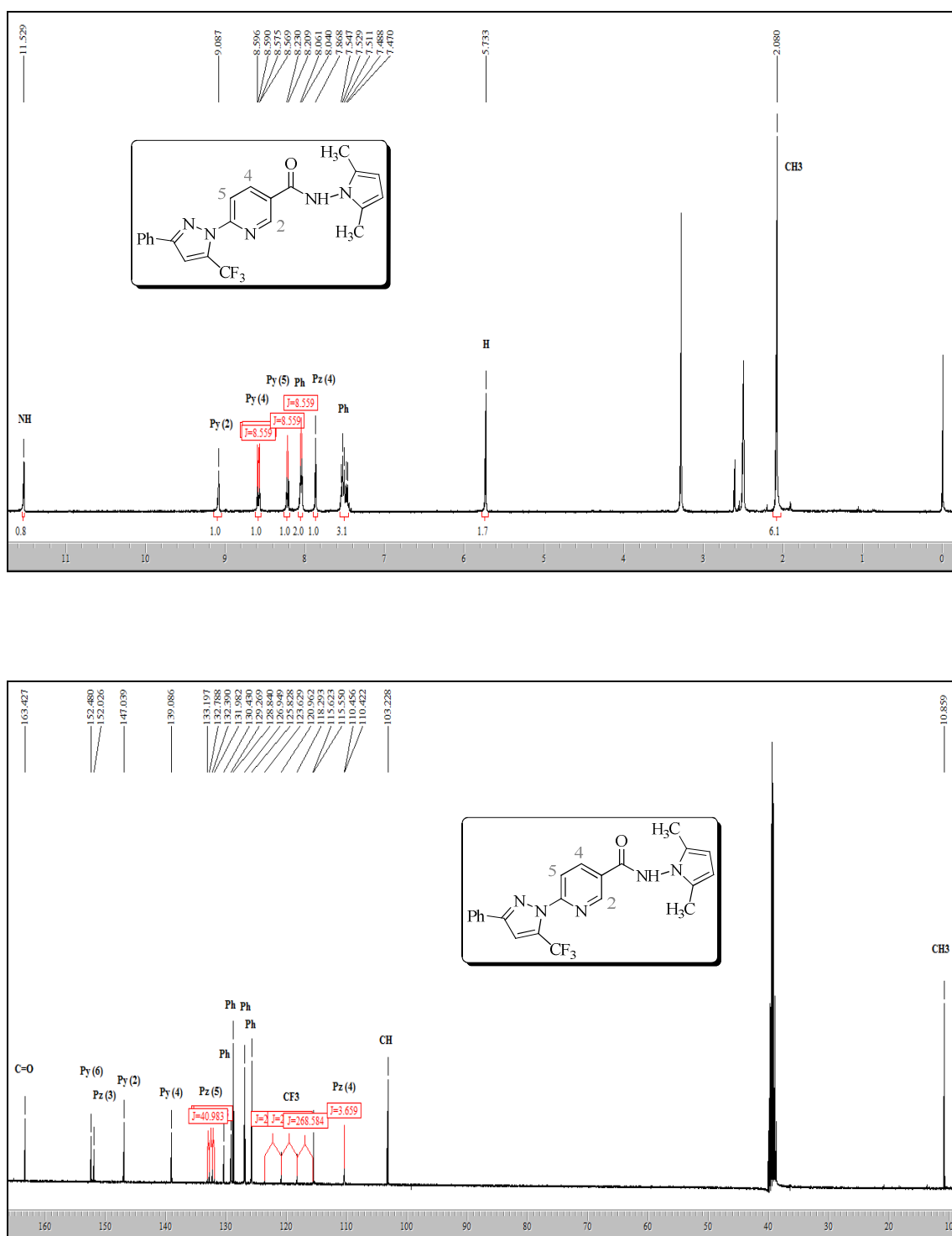


Figura 128. Espectro de RMN ¹H a 400,13 MHz e RMN ¹³C {¹H} a 100,61 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18b**), registrado em DMSO-*d*₆.

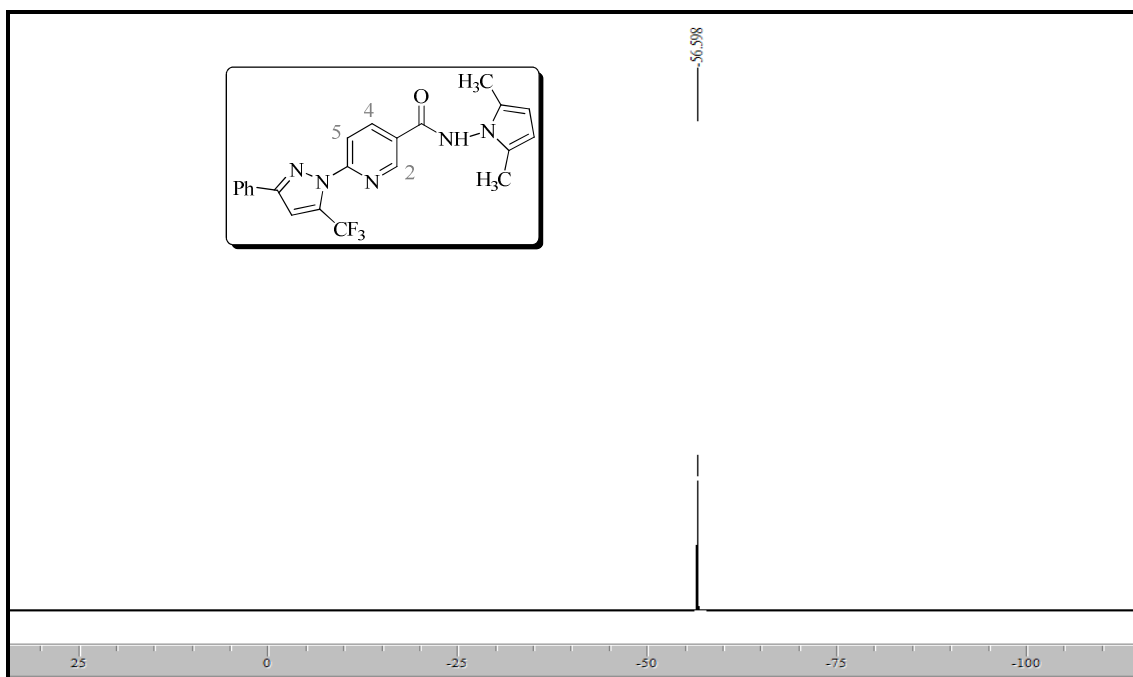


Figura 129. Espectro de RMN ^{19}F a 564,68 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-(3-fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)nicotinamida (**18b**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

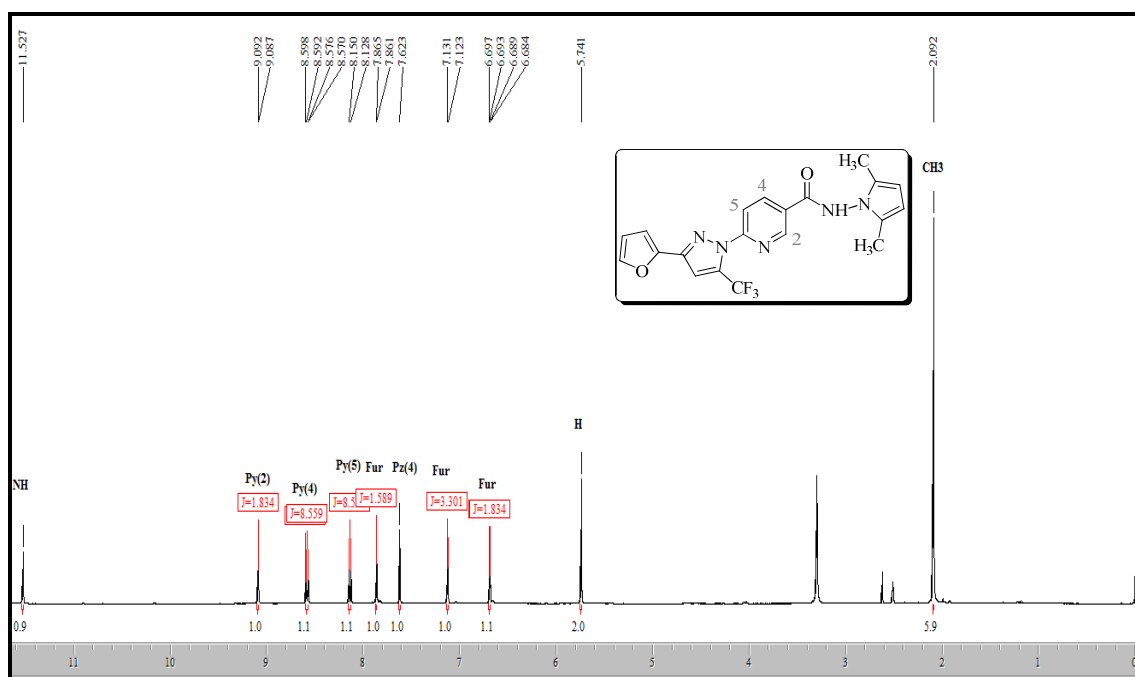


Figura 130. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il] nicotinamida (**18c**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

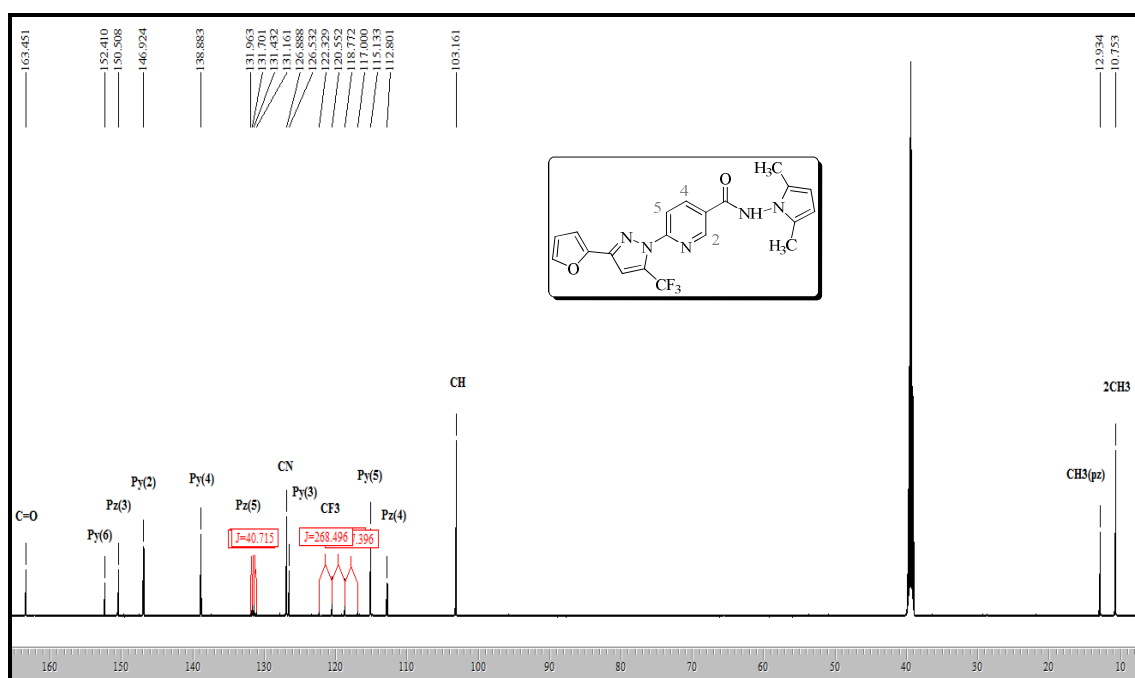


Figura 131. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de *N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-6-[3-(fur-2-ila)-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il] nicotinamida (**18c**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

7.13 Espectros de RMN ^1H e ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ dos Compostos 19 – 20

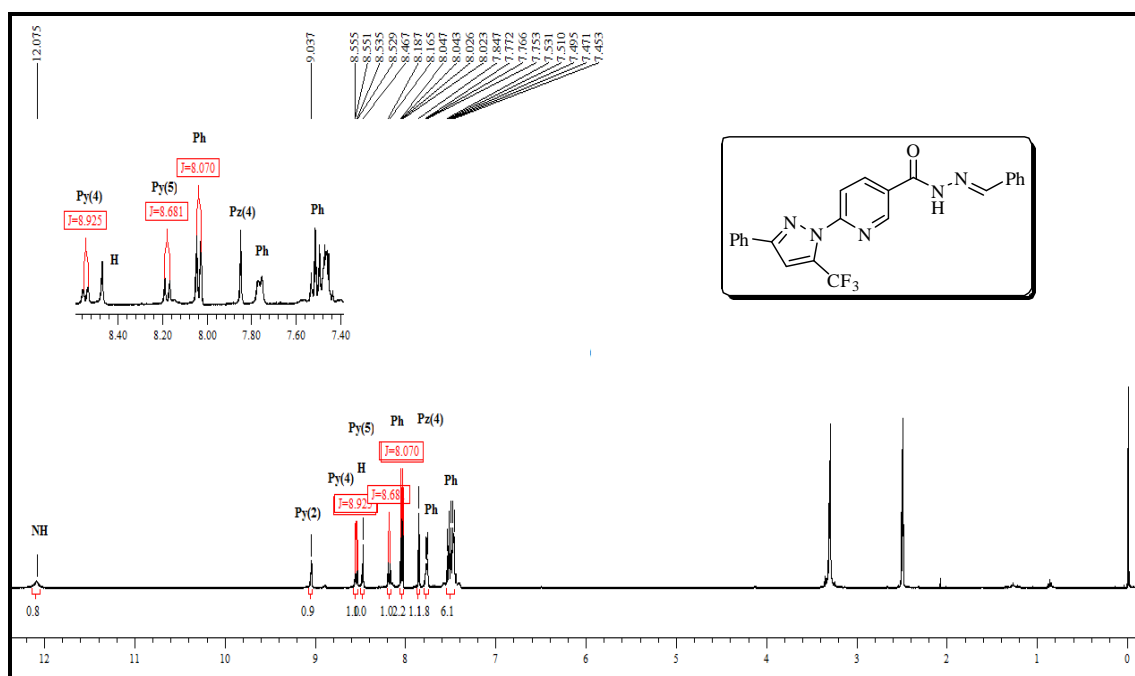


Figura 132. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-(benzilideno) nicotinoidrazida (**19ba**) registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

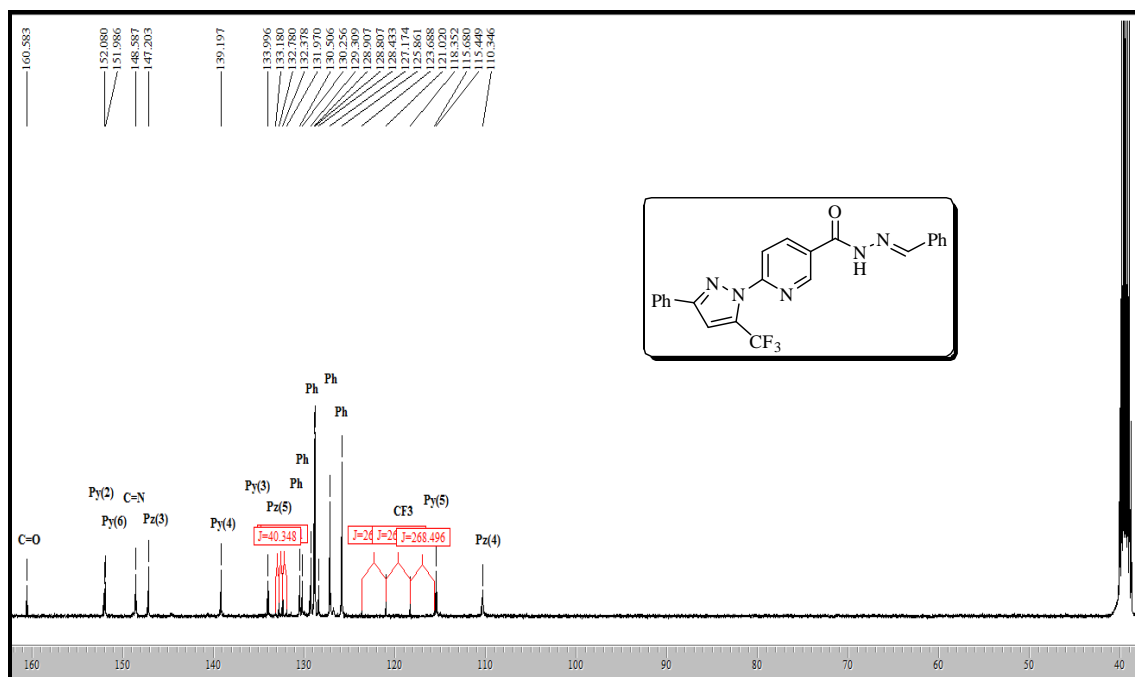


Figura 133. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-N'-1-(benzilideno) nicotinoidrazida (**19ba**) registrado em DMSO- d_6 .

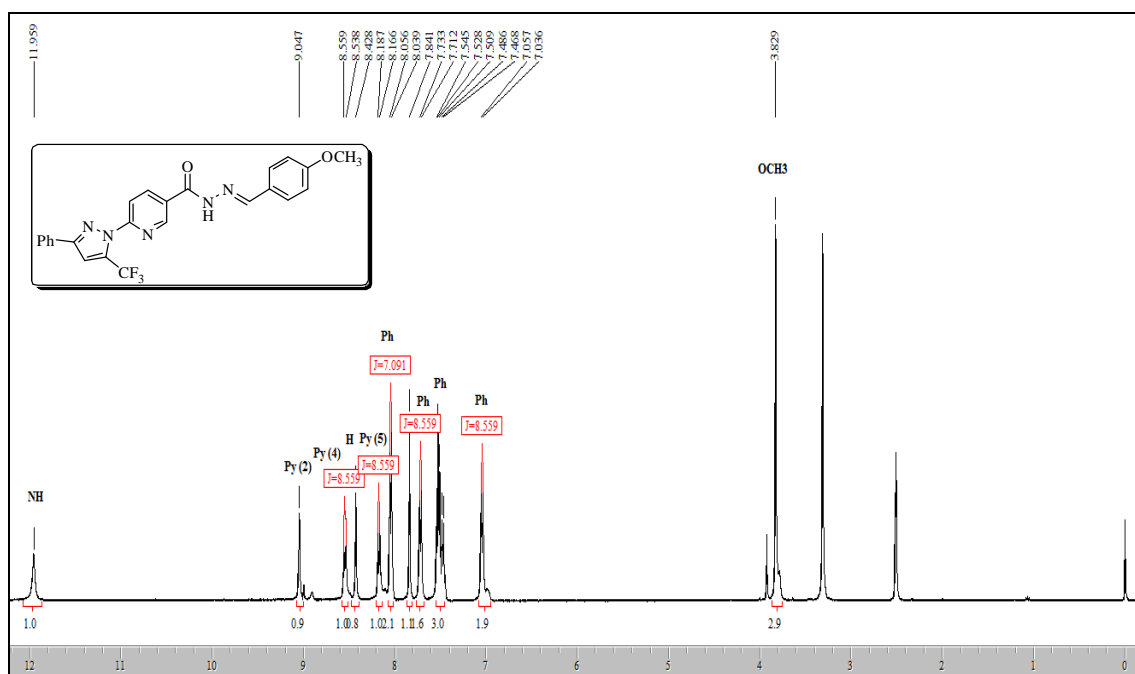


Figura 134. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-N'-1-(4-metóxi-benzilideno) nicotinoidrazida (**19ea**) registrado em DMSO- d_6 .

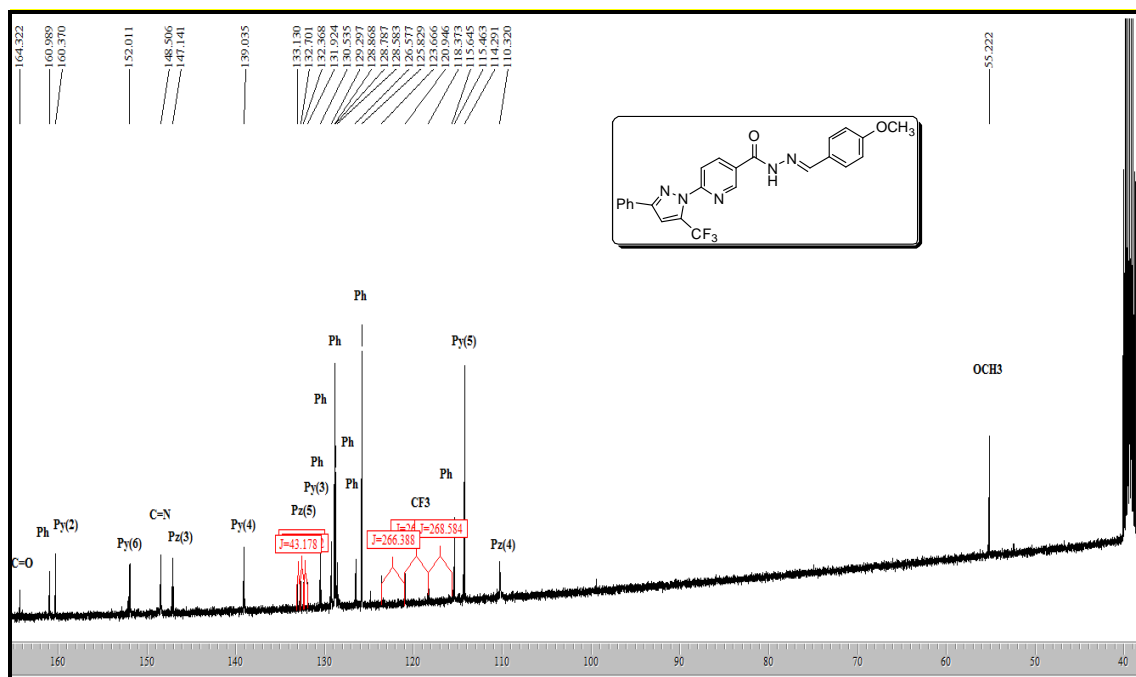


Figura 135. Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ a 100,61 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-1-(4-metóxi-benzilideno) nicotinoidrazida (**19ea**) registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

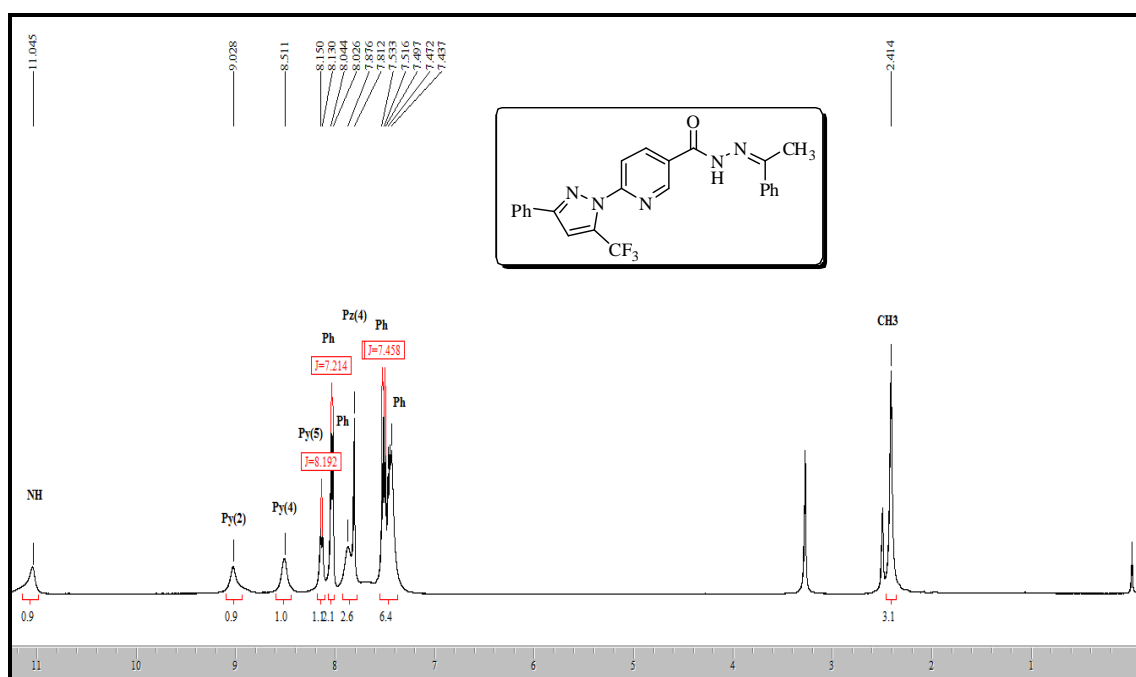


Figura 136. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de 6-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-*N'*-(1-feniletilideno) nicotinoidrazida (**19bb**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

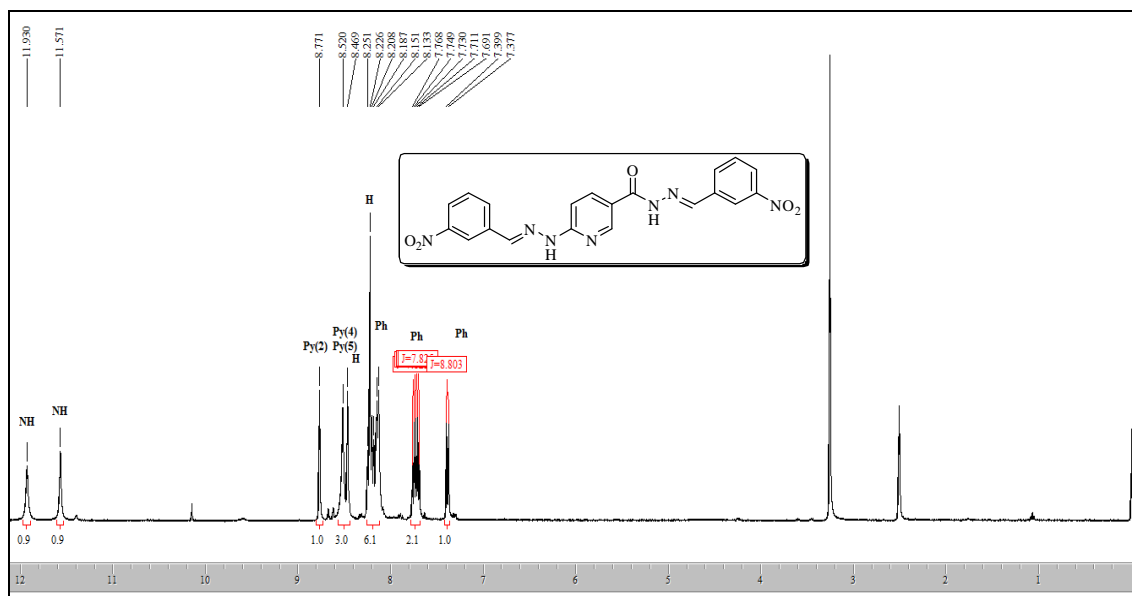


Figura 137. Espectro de RMN ^1H a 400,13 MHz de (*E*)-*N'*-(3-nitrobenzilideno)-6-(*E*)-2-(3-nitrobenzilideno)hidrazinil nicotinoidrazida (**20**), registrado em $\text{DMSO-}d_6$.

ANEXO II

Espectros de Massas e IV

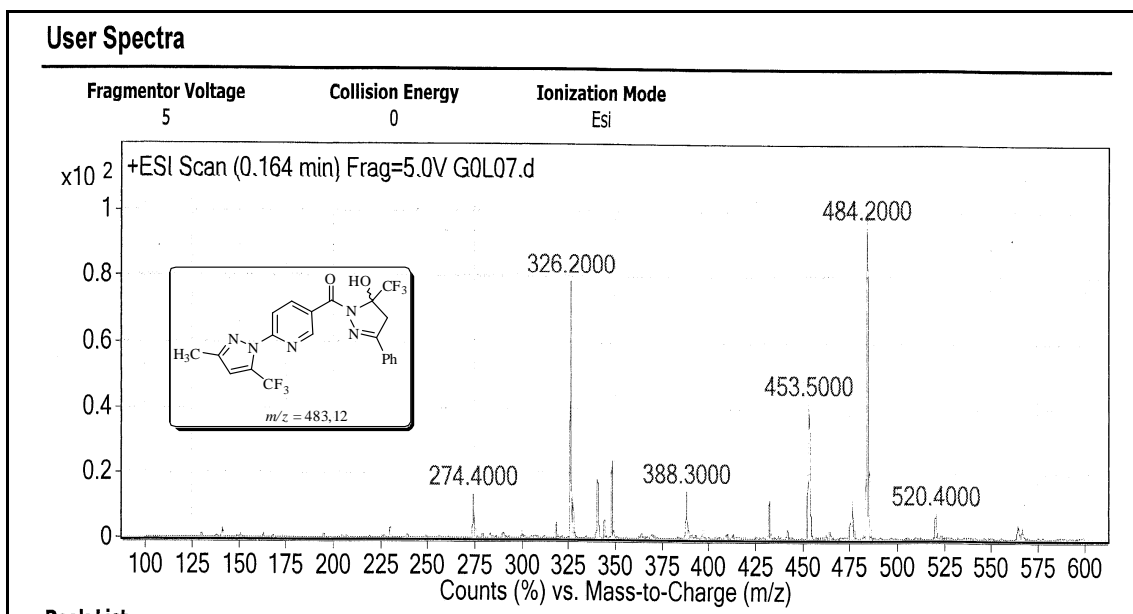


Figura 138. Espectro de massas LC-ESI-MS/MS de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(3-fenil-5-trifluormetil-5-hidróxi-4,5-diidro-1H-1-carbonilpirazol-1-il)piridina (**11ab**).

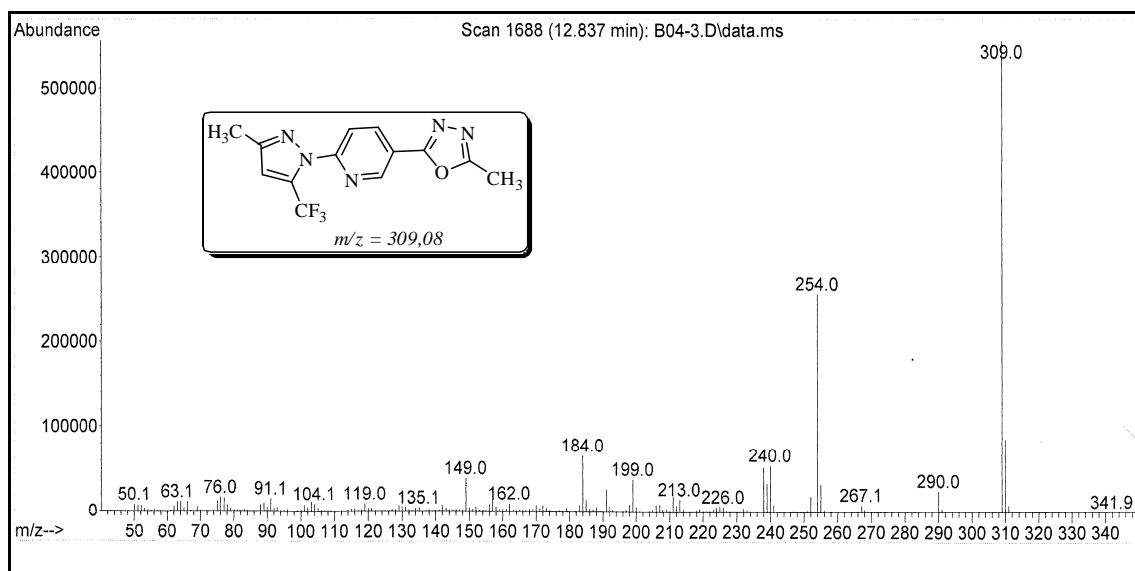


Figura 139. Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14aa**).

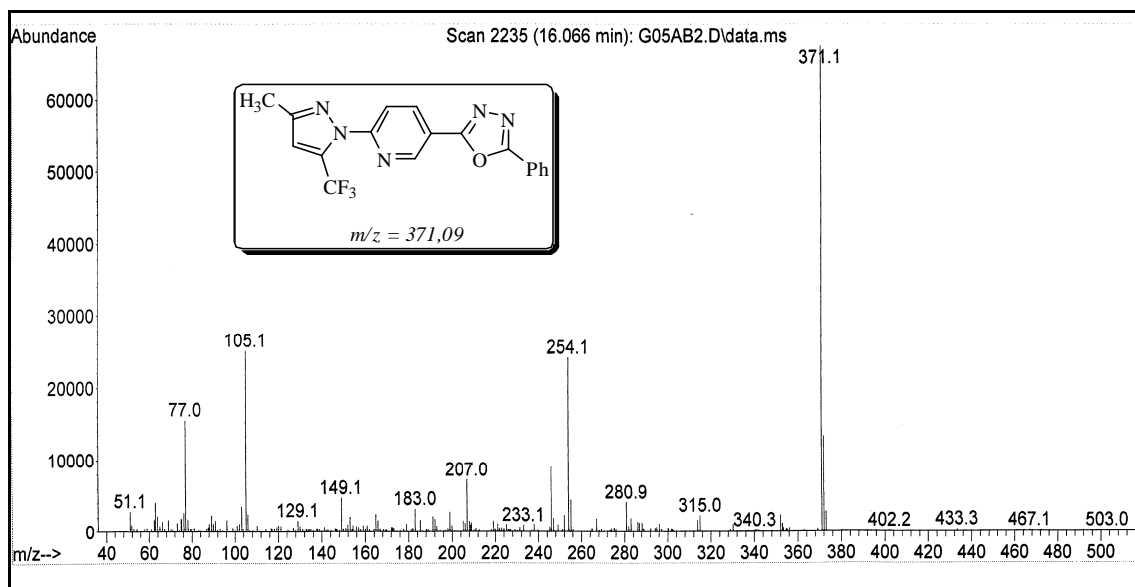


Figura 140. Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Metil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14ab**).

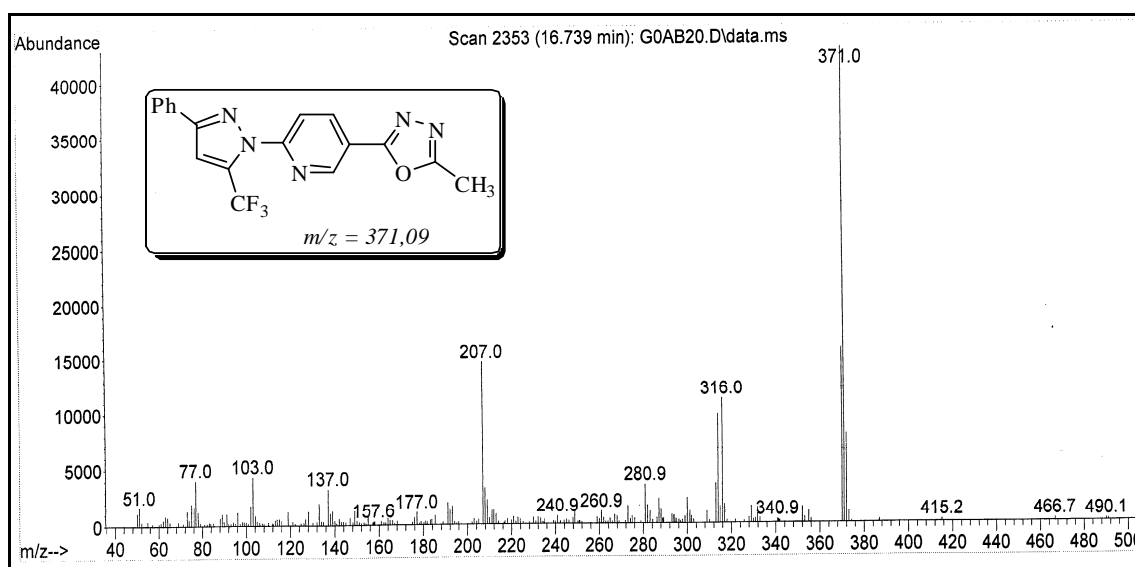


Figura 141. Espectro de massas (CG-EM) de 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1*H*-pirazol-1-il)-5-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)piridina (**14ba**).

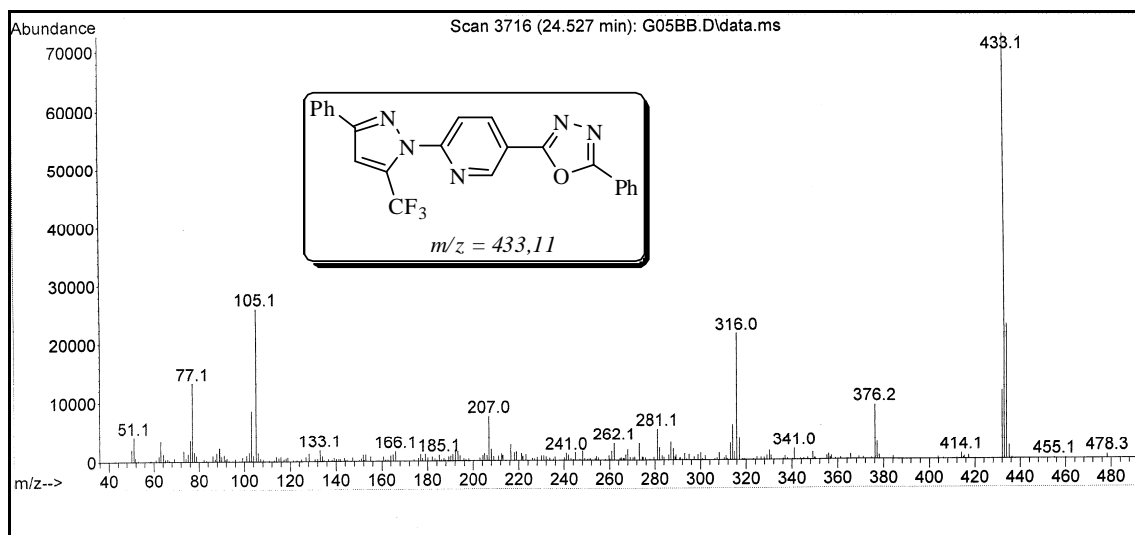


Figura 142. Espectro de massas (CG-EM) de 5-(5-Fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(3-fenil-5-trifluorometil-1H-pirazol-1-il)piridina (**14bb**).

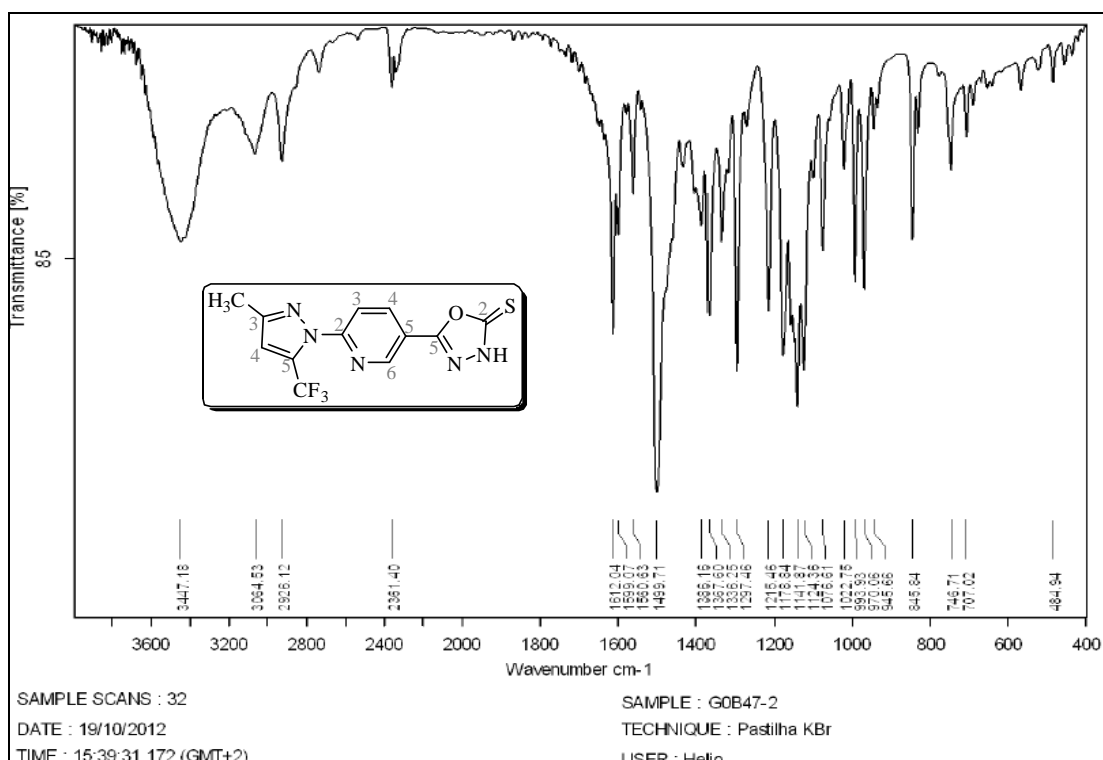


Figura 143. Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Metil-5-trifluorometil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15a**).

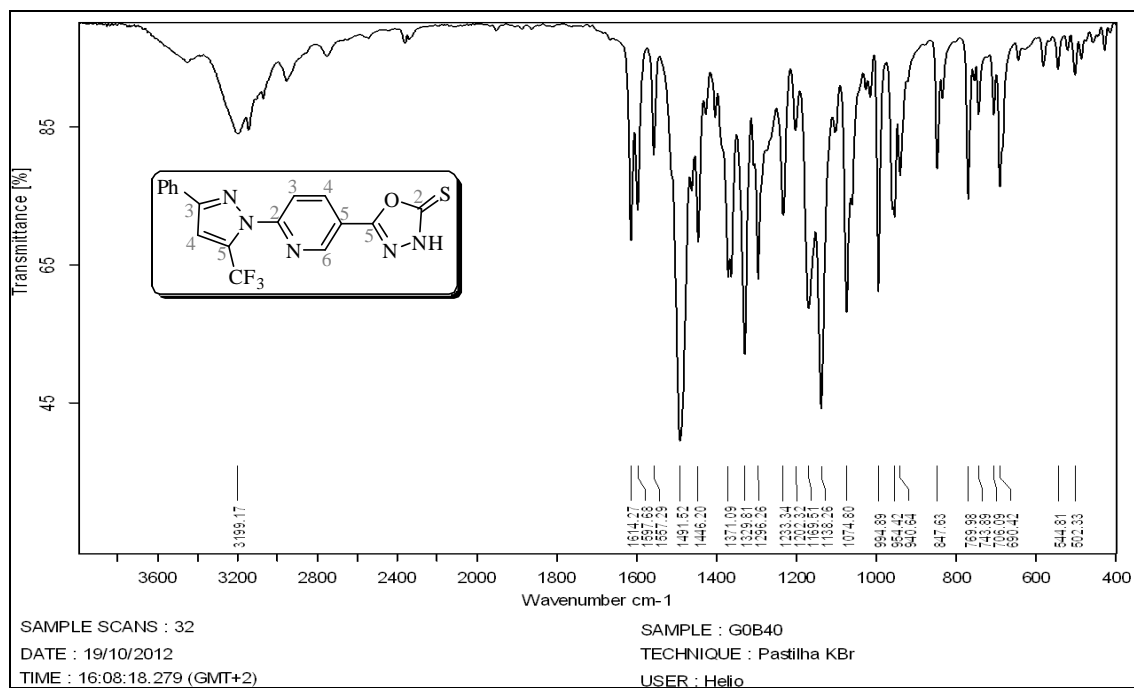


Figura 144. Espectro de infravermelho do composto 2-(3-Fenil-5-trifluormetil-1H-pirazol-1-il)-5-(2-tiona-3H-1,3,4-oxadiazol-5-il)piridina (**15b**).

ANEXO III

Difração de Raios-X

12. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

12.1 Difração de Raios-X dos Compostos (9, 10aa, 11aa)

Como já mencionado, foi realizado difração de raios-X para os compostos **9**, **10aa** e **11aa**. Abaixo Tabela 39 com os dados respectivamente de cada molécula.

Tabela 39. Dados cristalográficos dos compostos **9**, **10aa** e **11aa**

| Código | 9 | 10aa | 11aa |
|--|---|--|--|
| Formula molecular | C ₂₁ H ₁₆ F ₃ N ₅ O | C ₁₆ H ₁₂ Cl ₃ F ₃ N ₅ O ₂ | C ₁₆ H ₁₃ F ₆ N ₅ O ₂ |
| Peso molecular | 411,39 | 469,66 | 421,31 |
| Temperatura | 293(2) K | 293(2) K | 293(2) K |
| Comprimento de onda | 0.71073 Å | 0.71073 Å | 0.71073 Å |
| Sistema cristalino | Monoclinic, P21/n | Monoclinic, P21/c | Monoclinic, P21/c |
| Dimensões da unidade celular | a = 17,7171(12) | a = 10,3520(4) Å | a = 6,9665(19) Å |
| | alpha = 90 deg. | alpha = 90 deg. | alpha = 90 deg. |
| | b = 13,4853(10)Å | b = 9,3002(3) Å | b = 11,405(3) Å |
| | beta = 92,483(3) | beta = 99,887(2) | beta = 101,254(14) |
| | c = 8,2053(6)Å | c = 21,0663(7) Å | c = 12,857(3) Å |
| | gamma = 90deg. | gamma = 90 deg. | gamma = 90 deg. |
| Volume | 1958,6(2)Å ³ | 1998,05(12) Å ³ | 889,5(4) Å ³ |
| Z, densidade calculada | 4, 1,395 Mg/m ³ | 4, 1,561 Mg/m ³ | 4, 1,573 Mg/m ³ |
| Coefficiente de absorção | 0,110 mm ⁻¹ | 0,509 mm ⁻¹ | 0,149 mm ⁻¹ |
| F(000) | 848,0 | 948,0 | 428,0 |
| Índices limitantes máximos | h=22 | h=13 | h=8 |
| | k=17 | k=11 | k=14 |
| | l=10 | l=27 | l=15 |
| Complemento a theta | = 27,330 | = 27,180 | = 27,310 |
| | 98,7 % | 99,8 % | 99,5 % |
| Correção de absorção | Gaussian | Gaussian | Gaussian |
| Transmissão mínima e máxima reportada | 0,958 e 0,975 | 0,889 e 0,968 | 0,999 e 0,999 |
| Método de refinamento | Full-matrix least-squares on F ² | Full-matrix least-squares on F ² | Full-matrix least-squares on F ² |