

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
QUÍMICA DE MINAS GERAIS**

YAGO PEREIRA DE SOUZA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE 1-FENILPIRAZÓIS E 1-
CARBAMATIOIL PIRAZOLINAS OBTIDAS A PARTIR DE
PRODUTOS DE CONDENSAÇÃO DE KNOEVENAGEL COMO
POSSÍVEIS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS**

YAGO PEREIRA DE SOUZA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE 1-FENILPIRAZÓIS E 1-CARBAMATOIL PIRAZOLINAS OBTIDAS A PARTIR DE PRODUTOS DE CONDENSAÇÃO DE KNOEVENAGEL COMO POSSÍVEIS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS

Texto apresentado ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal de São João del-Rei, como parte para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Marcelo Siqueira Valle

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S729s Souza, Yago Pereira de.
Síntese e Caracterização de 1-Fenilpirazóis e 1
carbamatíol pirazolininas Obtidas a partir de
Produtos de Condensação de Knoevenagel como Possíveis
Agentes Antineoplásicos / Yago Pereira de Souza ;
orientador Marcelo Siqueira Valle. -- São João del
Rei, 2019.
117 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Multicêntrico em Química de Minas Gerais) --
Universidade Federal de São João del-Rei, 2019.

1. Pirazóis. 2. Pirazolininas. 3. Câncer. 4. Química
Orgânica. 5. Síntese Orgânica. I. Siqueira Valle,
Marcelo, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
Departamento de Ciências Naturais
Campus Dom Bosco, Praça Dom Helvécio, 74 –
Fábricas, São João del-Rei – MG CEP 36301-160
Secretaria: Sala A-2.17 Tel.: (32) 3379-5143
E-mail: ppgmq@ufs.edu.br




**PROGRAMA
DE PÓS-GRADUAÇÃO
MULTICÊNTRICO
EM QUÍMICA
DE MINAS GERAIS**

São João del-Rei, 20 de dezembro de 2019

A dissertação **“SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE 1-FENILPIRAZÓIS, 1-FENIL E 1-CARBAMATOIL PIRAZOLINAS OBTIDAS A PARTIR DE PRODUTOS DE CONDENSAÇÃO DE KNOEVENAGEL COMO POSSÍVEIS AGENTES ANTINEOPLÁSICOS”**, elaborada por **Yago Pereira de Souza** e aprovada por todos os membros da Banca Examinadora, foi aceita pelo Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal de São João del-Rei como requisito parcial à obtenção do título de

MESTRE EM QUÍMICA

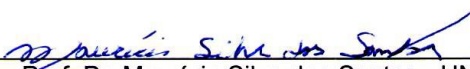
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Marcelo Siqueira Valle - UFSJ
(Orientador)



Prof. Dr. José Augusto Ferreira Perez Villar – UFSJ



Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos - UNIFEI

DEDICATÓRIA

Aos meus Pais Natal de Souza Reis e Evanilda Aparecida Pereira Reis (in memorian), minha madrasta, Fabíula de Fátima Pereira e minha irmã Isabele Pereira de Souza que sempre me apoiaram incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço ao meu orientador Marcelo S. Valle, pela atenção, pelas incontáveis discussões científica e alguns “puxões de orelha” pela falta de organização do laboratório, bem como a amizade construída durante a iniciação científica e que foi continuada no mestrado.

À Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora (DQ-UFJF), pelo uso dos equipamentos de Ressonância Magnética Nuclear, que permitiram realizar este trabalho.

À UFMG, em especial à Priscila, por se disponibilizar a fazer algumas medidas no espectrômetro no Infravermelho, que possibilitou a conclusão do trabalho.

Aos membros da comissão examinadora que se disponibilizaram em avaliar e contribuir com este trabalho.

Aos amigos do GPQO (Grupo de Pesquisas em Química Orgânica), que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho com discussões científicas e momentos de descontração: Lucas, Caroline, Carol Esquivel, Hugo, Thaís, Aline e Rodrigo. Em especial, ao Samuel, que é um grande amigo e colega de república, como também um grande professor. (Obs: Acabei por “arrastá-lo” para o mestrado em Química Orgânica, onde aprendemos muito um com o outro).

Aos técnicos dos laboratórios do DCNat: Giordane, Helena, Denilson e Pauline, sempre prestativos e dispostos quando necessário.

Aos meus amigos que fiz durante a graduação e o mestrado. Em especial aos que moravam no mesmo prédio da república e acabamos nos tornando uma família: Izabel (Bel), Henrique, Gisele, **Giovanna**, Rafael, Rafaela, Aduari, Luís Paulo e Samara.

Aos gatos que fizeram parte desta trajetória: Feijão, Lince e Frida, que sempre me fizeram companhia e alegravam meus dias.

Ao meu pai, que sempre fez tudo por mim, incentivando-me a seguir meus sonhos e que esteve sempre ao meu lado em cada decisão. À minha madrasta, xxxx, que sempre foi uma companheira para meu pai quando eu estava fora, ajudando a criar a minha irmã. Ela sempre esteve ao meu lado quando precisei.

À minha irmã Isabele, que sempre ficou do meu lado e que acompanhou minha trajetória na graduação e no mestrado, torcendo continuamente por mim. Agora está na vez de ela seguir estes passos. Saiba que vai sempre poder contar comigo.

À minha Mãe, *in memoriam*, por ser meu exemplo, que há 10 anos partiu e, apesar da saudade que sinto, o seu amor é sempre presente. E eu fico feliz por saber que estou conseguindo realizar este sonho que também era dela. Tenho muito orgulho de ti, assim como você deve estar sentindo de mim.

À minha família pela torcida e orações. Agradeço em especial às minhas tias Marlene e Isabel, por todo o apoio e carinho durante a graduação e o mestrado.

À todos os professores, em especial aos que contribuíram para minha formação. Agradeço à minha professora do terceiro ano do ensino médio, Águeda, *in memoriam*, que me mostrou a Química com “outros olhos” e então pude escolhê-la como minha profissão com muita alegria.

Ao programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais (PPGMQ), por possibilitar a minha pesquisa e ampliar meus conhecimentos. E à secretária do Programa, Joana, pela disponibilidade e auxílio durante todos o mestrado.

Obrigado a todos que participaram de algum modo desta conquista.

RESUMO

A Química Medicinal e a Síntese Orgânica contribuem fortemente no desenvolvimento de novos fármacos, que, entre as mais diversas atuações, permite preparar um grande número de substâncias que apresentam as mais variadas atividades biológicas para o tratamento de doenças. Entre estas diversas classes de substâncias, as substâncias heterocíclicas vêm se destacando como antitumorais, em especial os pirazóis e as pirazolininas. Nesta linha de pesquisas, a dissertação apresenta a síntese de duas séries de pirazóis e pirazolininas obtidas a partir de reações de ciclocondensação de produtos de Knoevenagel com a fenilhidrazina e a tiossemicarbazida, as quais são substituídas com grupos doadores e retiradores de elétrons, a fim de se avaliar a influência destes grupos na atividade biológica antitumoral.

Os produtos de Knoevenagel foram obtidos em ótimos rendimentos entre 82 a 95%.

A partir da reação destes produtos com fenilhidrazina, uma série de pirazóis foram obtidos, como mistura inseparáveis de isômeros, em três condições reacionais estudadas: AcOH 40%v/v; AcOH:EtOH 1:1 e AcOH, sendo esta última se mostrando mais eficiente. Os rendimentos variaram de 53 a 75% calculados após duas etapas.

Já as reações envolvendo a tiossemicarbazida como nucleófilo, a condição usando apenas AcOH, como também AcOH 40% v/v, levou a formação de muitos produtos. No entanto, aplicando-se a condição AcOH:EtOH 1:1, foi obtida uma série de pirazolininas em rendimentos globais de 45 a 61%. Desta forma, pôde-se desenvolver uma metodologia seletiva para a obtenção desta classe de compostos.

Palavras-chave: câncer, pirazol, pirazolinina

ABSTRACT

Medicinal Chemistry and Organic Synthesis, strongly contributes to the development of new drugs, acting in order to assemble a library of substances that can present the desired biological activities. Heterocyclic compounds have recently stood out as antitumor agents, especially pyrazoles, a class of heterocycles with relevant biological properties. Therefore, this dissertation presents the synthesis of two series of pyrazoles and pyrazolines obtained from cyclo-condensation reactions of Knoevenagel products, replaced with electron donating and removing groups, with phenylhydrazine and thiosemicarbazide.

For this first series of five compounds synthesized with phenylhydrazine, the yields varied from 53 to 75% after two steps. Other methodologies were used in the preparation of the compounds, however the one that was most effective in the synthesis was the one using glacial acetic acid, obtaining a mixture of the pyrazole isomers.

For the other series of reactions, four new compounds were obtained, using thiosemicarbazide as the nucleophile. Only pyrazolines were obtained instead of pyrazole, in global yields of 45 to 61%. Obtaining these products was only possible if acetic acid and ethanol were used in a 1: 1 ratio. In this way, it was possible to develop a selective methodology for obtaining these compounds.

Keywords: cancer, pyrazole, pyrazoline

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
AcOH	Ácido acético
CCD	Cromatografia em camada delgada
COX	Ciclooxigenase
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DIB	(Diacetoxiiodo)benzeno
EC ₅₀	Concentração requerida para induzir o 50% do efeito após um tempo especificado de exposição
EtOH	Etanol
Hex	Hexano (mistura de isômeros)
HMBC	Correlação Heteronuclear à Múltiplas Ligações (<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>)
HOP-92	Carcinoma pulmonar de células não pequenas
IC ₅₀	Concentração requerida para inibir 50% de uma atividade
IG ₅₀	Concentração requerida para inibir o crescimento celular em 50%
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IV	Infravermelho
K-562	Leucemia mieloide crônica
<i>m</i>	Multipleto
MCF-7	Células do adenocarcinoma de mama humano
MHz	MegaHertz
MW	Micro-ondas
NCI-H460	Células do carcinoma de pulmão humano
OMS	Organização Mundial da Saúde
ppm	Partes por milhão
<i>qd</i>	Quarteto de dupletos
<i>Rf</i>	Fator de Retenção
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
ROS	Espécies de Oxigênio Reativo (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
<i>s</i>	simpleto
SC-560	Medicamento antineoplásico
SF-268	Células do carcinoma do sistema nervoso central humano
SNC	Sistema Nervoso Central

<i>t</i>	Tripleto
TEMPO	<i>N</i> -Oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina
UO-31	Células do carcinoma renal humano

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de aminoácidos e bases nitrogenadas.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 2. Evolução do processo de obtenção da Aspirina.....	4
Figura 3. Medicamentos obtidos de forma sintética.....	4
Figura 4. Representação do processo de mutação genética de uma célula (Figura adaptada da referência 16).....	7
Figura 5. Atividade dos agentes quimioterápicos antineoplásicos, dependendo da fase do ciclo celular (Figura adaptada da referência 17).	9
Figura 6. Exemplos de alguns compostos antineoplásicos.....	11
Figura 7. Fórmulas estruturais de 3 derivados de 1,2-azóis.	12
Figura 8. Tautômeros de pirazóis dissustituídos 3,4 e 3,5.	12
Figura 9. Exemplos de alguns heterociclos pirazolínicos.	13
Figura 10. Pirazóis bicíclicos sintetizados por Mohamed com atividades antineoplásicas...	14
Figura 11. Pirazóis trissustituídos sintetizados por Mohareb com atividades antineoplásicas.	14
Figura 12. Chalconas pirazólicas sintetizadas por Insuasty com atividades antineoplásicas.	15
Figura 13. Série de pirazóis com atividade antineoplásica sintetizadas por El-Gamal e colaboradores.....	15
Figura 14. SC-560 análogo ao celecoxib com atividade antineoplásica.	16
Figura 15. Exemplos de substratos empregados na preparação de pirazóis.....	16
Figura 16. Imagem da CCD da reação de Knoevenagel para a obtenção de 23a (1 = benzaldeído, 2 = acetoacetato de etila, 3 = ponto misto, 4 = reação).	28
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H da cetona α,β -insaturada 23a (E ou Z) solvente CDCl_3 , 500 MHz.	29
Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C da cetona α,β -insaturada 23a, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	30
Figura 19. Espectro de absorção na região do infravermelho do compostos 23b.....	31
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H da cetona α,β -insaturada 23b, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	32
Figura 21. Imagem da CCD para a reação de formação do pirazol em AcOH 40% v/v.	36
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H da pirazolina 32a, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	39
Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C da pirazolina 32a, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	40
Figura 24. Espectro de absorção na região do infravermelho do composto 32a.	41
Figura 25. Representação dos isômeros formados nesta reação.....	41
Figura 26. Espectro de RMN de ^1H dos pirazóis 30a e 31a, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	43

Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C dos pirazol 30a e 31a, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	44
Figura 28. Confôrmers dos 1-fenilpirazóis preparados.	44
Figura 29. Espectro de RMN de ^1H do pirazol 30b, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	46
Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^1H do pirazol 30b, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	47
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C do pirazol 30b, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	48
Figura 32. Mapa de contorno de HMBC dos dois produtos formados mostrando acoplamento a longa distância do composto 30c.	49
Figura 33. Representação dos centros eletrofílicos presentes na estrutura dos compostos 23a-e.	51
Figura 34. Espectro na região do infravermelho para o composto 34a.	55
Figura 35. Espectro de RMN de ^1H da pirazolina 34a, solvente CDCl_3 , 500 MHz.	56
Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C do pirazol 34a, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	57
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H do composto 23c, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de aldeído).	66
Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 23c, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.	67
Figura 39. Espectro na região do infravermelho do composto 23c.	68
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H do composto 23d, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de aldeído).	69
Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 23d, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.	70
Figura 42. Espectro na região do infravermelho do composto 23d.	71
Figura 43. Espectro de RMN de ^1H do composto 23e, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de aldeído).	72
Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 23e, Solvente CDCl_3 , 125 MHz, (com vestígios de aldeído).	73
Figura 45. Espectro na região do infravermelho do composto 30b e 31b.	74
Figura 46. Espectro de RMN de ^1H dos compostos 30c e 31c, Solvente CDCl_3 , 500 MHz. (com vestígios de aldeído).	75
Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C dos compostos 30c e 31c, Solvente CDCl_3 , 125 MHz, (com vestígios de aldeído).	76
Figura 48. Espectro de RMN de ^1H dos compostos 30d e 31d, Solvente CDCl_3 , 500 MHz.	78
Figura 49. Espectro de RMN de ^1H do composto 34b, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de material desconhecido).	79
Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C dos compostos 34b, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.	80
Figura 51. Espectro na região do infravermelho do composto 34b.	81
Figura 52. Espectro de RMN de ^1H do composto 34d, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de material desconhecido).	82

Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 34d, solvente CDCl_3 , 125 MHz.	83
Figura 54. Espectro na região do infravermelho do composto 34d.	84
Figura 55. Espectro na região do infravermelho do composto 34e.	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos fármacos antineoplásicos.	10
Tabela 2. Numeração e nomenclatura dos compostos obtidos neste trabalho.	24
Tabela 3. Metodologia empregada para a síntese dos produtos de Knoevenagel.	27
Tabela 4. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos 23b-d.	30
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos 23a-e.	33
Tabela 6. Metodologia empregada para a síntese dos 1-fenilpirazóis.	37
Tabela 7. Dados do espectro de RMN de ^1H do composto (32a), 500 MHz, CDCl_3	38
Tabela 8. Dados do espectro de RMN de ^1H do composto (30a e 31a), 500 MHz, CDCl_3	42
Tabela 9. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos 30a e 30b.	45
Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos 30a-e.	50
Tabela 11. Metodologia empregada para a síntese dos 1-carbamotioilpirazolinás	54
Tabela 12. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos 33a,b,c,e.	55
Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos 34a-e.	58

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Ciclocondensação com fenilhidrazina para obtenção de anéis pirazolínicos. ...	17
Esquema 2. Síntese de pirazóis a partir de cetonas α,β -insaturadas.	17
Esquema 3. Síntese de pirazóis a partir de β -enaminonas.....	18
Esquema 4. Síntese de trifluorometanopirazóis	18
Esquema 5. Síntese de pirazóis via compostos inonas.....	19
Esquema 6. Reação de condensação descrita por Emil Knoevenagel.	19
Esquema 7. Condensação de Knoevenagel mediada por microondas descrita por Kwon e colaboradores.	20
Esquema 8. Síntese de cromenos a partir de produtos de condensação de Knoevenagel.	21
Esquema 9. Síntese derivados de cromenos catalisada pela L-prolina.	21
Esquema 10. Condensação de Knoevenagel desenvolvida por Fozzoin e colaboradores na preparação de 4 <i>H</i> -isoxazolonas.....	22
Esquema 11. Proposta de síntese de pirazóis a partir de condensados de Knoevenagel. ...	23
Esquema 12. Proposta mecanística para reação de Knoevenagel via catálise por base. ...	34
Esquema 13. Mecanismo da condensação de Knoevenagel via catálise por amina secundária.....	35
Esquema 14. Metodologias testadas para a reação do 30a com fenilhidrazina.....	36
Esquema 15. Representação dos possíveis compostos (30 e 31) formados em diferentes condições testadas a partir da reação dos produtos de Knoevenagel 23a-e.....	51
Esquema 16. Proposta de mecanismo para a formação dos isômeros 30a e 31a.	52
Esquema 17. Tentativa de síntese dos pirazóis 33a-e e obtenção da pirazolininas 34a,b,d,e.	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A Química Medicinal e a síntese de fármacos.....	2
1.2 O câncer	5
1.2.1 Os estágios do câncer	6
1.2.2 Os tratamentos do câncer e os agentes antineoplásicos	8
1.3 Os pirazóis.....	11
1.3.1 Atividade citotóxica dos pirazóis	13
1.3.2 Métodos de preparação de pirazóis	16
1.4 A condensação de Knoevenagel.....	19
1.4.1 Obtenção de heterociclos bioativos a partir de produtos de condensação de Knoevenagel.....	20
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivos específicos	23
3 RESULTADO E DISCUSSÃO	24
3.1 Apresentação dos compostos	24
3.2 Condensados de Knoevenagel (22a-e).....	27
3.2.1 Síntese.....	27
3.2.2 Caracterização.....	28
3.2.3 Propostas mecanísticas da condensação de Knoevenagel.....	33
3.3 1-Fenilpirazóis (29a-e e 30a-e) e 1-fenilpirazolina.....	35
3.3.1 Síntese.....	35
3.3.2 Caracterização.....	37
3.3.3 Proposta mecanística.....	50
3.4 1-Carbamotiolpirazóis	53
3.4.1 Síntese.....	53
3.4.2 Caracterização.....	54
4 CONCLUSÕES.....	58

5	PARTE EXPERIMENTAL	59
5.1	Preparação dos produtos de Knoevenagel (3a-e)	59
5.2	Preparação dos 1-fenilpirazóis (29a-e)	60
5.3	Preparação dos 1-carbamotioilpirazolinias (33a,b,d,e).....	60
6	REFERÊNCIAS	61
	ANEXOS.....	65

1 INTRODUÇÃO

O câncer, também chamado de neoplasia, é um conjunto de doenças que compartilham uma característica fundamental, o crescimento anormal de células. Há mais de 10 milhões de casos de câncer no mundo. É uma doença que vem se destacando nos últimos anos devido ao grande número de casos. Ela atinge tecidos e órgãos e leva a morte em muitos casos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo, sendo 9,6 milhões de mortes registrada somente em 2018.¹ Por este motivo, o câncer é considerado um problema de saúde pública. Embora pareça comum ver notícias sobre a descoberta de um novo fármaco ou sobre o avanço das pesquisas para o combate ao câncer, este é um processo ainda extremamente demorado e custoso, seja na descoberta de um fármaco ou no tratamento adequado.

As universidades e as indústrias farmacêuticas estão sempre à frente nestas pesquisas, realizando sínteses orgânicas e testes biológicos em busca de protótipos de novos fármacos, que podem ser moléculas simples ou complexas, de potencial ação farmacológica.

Entre diversas classes de substâncias que apresentam atividade contra o câncer, a classe dos compostos heterocíclicos, naturais ou sintéticos, merecem destaque, pois estas substâncias participam do metabolismo de organismos vivos e no desempenho de várias funções bioquímicas, sendo interessantes alvos como fármacos por sua biocompatibilidade.^{2,3} Elas desempenham um papel importante nos processos bioquímicos e nos constituintes mais típicos e essenciais das células vivas. Por exemplo, temos as bases nitrogenadas purinas e pirimídicas, que formam o DNA e RNA, como também os aminoácidos essenciais prolina, histidina e triptofano (Figura 1).

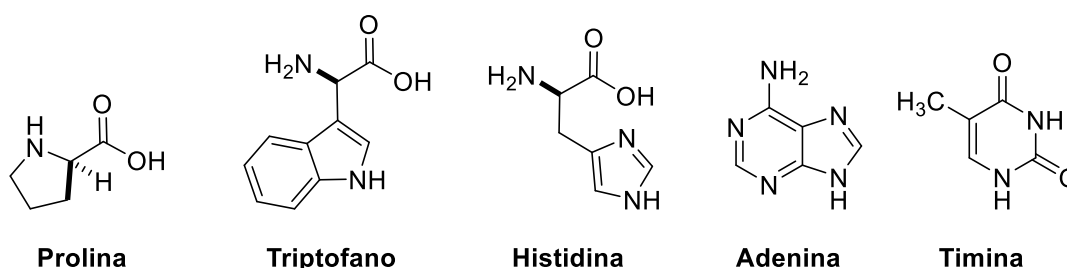


Figura 1. Exemplos de aminoácidos e bases nitrogenadas.

Não por acaso, a maioria dos fármacos conhecidos possui em sua estrutura uma porção heterocíclica.⁵ Mais de 90% de novos medicamentos contêm heterociclos.^{5,6}

Dentre diversos heterociclos existentes, os mais abundantes são os que contêm pelo menos um átomo de nitrogênio e que fazem parte de uma série de substâncias naturais ou

sintéticas de larga aplicabilidade na indústria e na Química Medicinal, denominados de *N*-heterocíclicos.⁷

Neste aspecto, o Grupo de Pesquisa em Química Orgânica (GPQO) da Universidade Federal de São João del-Rei, vem aperfeiçoando e desenvolvendo rotas sintéticas de obtenção para uma vasta gama de sistemas heterocíclicos. Neste trabalho, os estudos estão voltados para os derivados de 1-fenilpirazóis sintetizados, a partir de cetonas α,β -insaturadas, obtidas por meio de reações de Knoevenagel como bloco precursores. Seu uso também tem sido relatado por outros grupos de pesquisa internacionais,⁸ comprovando o grande potencial sintético desta classe de compostos.

1.1 A Química Medicinal e a síntese de fármacos

A busca por fármacos mais eficazes e seguros para o tratamento das mais variadas enfermidades faz com que os conhecimentos da Química Medicinal sejam importantes para o desenvolvimento de um novo composto. A aplicação dos conhecimentos da Química Medicinal permite otimizar o perfil farmacológico de substâncias, levando ao planejamento racional de fármacos com biodisponibilidade satisfatória, baixa toxicidade e de metabolismo adequado.

A Química Orgânica é uma área de grande importância para o desenvolvimento de novos fármacos e a partir dela surge a vertente da Síntese Orgânica, que é capaz de construir moléculas, sejam elas simples ou complexas, explorando conceitos fundamentais que regem o comportamento químico dos diferentes grupamentos funcionais.⁹ Desdobrando da síntese orgânica, a síntese de fármacos, uma aplicação nobre da Química Orgânica, é a combinação de diferentes grupos funcionais e a sua implementação em uma nova estrutura molecular, gerando compostos com uma bioatividade considerável.¹⁰

O desenvolvimento de novos fármacos não é uma tarefa fácil. No século XX certos medicamentos foram descobertos de forma não planejada, ou seja, por acaso, como é o caso da sulfonamida.¹⁰ Hoje, de certo modo, para se conseguir um novo fármaco necessita de um de alto investimento e tempo, além de obedecer a várias etapas, como: descoberta de alvos terapêuticos, desenho e seleção da molécula líder para o alvo pretendido, otimização da molécula-líder, a escolha da molécula candidata ao desenvolvimento. E, após todo esse processo, o futuro medicamento passa pela fase ensaios clínicos, que são divididas em quatro fases. Os ensaios clínicos são indicados para avaliar a segurança e eficácia de um novo produto ou uma nova formulação de um mesmo produto ou associação de produtos já em uso e por último uma nova indicação clínica de um produto já aprovado. E, após passar por essas etapas o medicamento pode finalmente ser comercializado e administrado em humanos.^{10,11}

A Química Medicinal tem um importante papel para a desenvolvimento de novos fármacos. Diversas áreas do conhecimento científico contribuem nesta descoberta, incluindo a química, ou seja, a química medicinal tem caráter multidisciplinar. Portanto quanto mais os pesquisadores compartilham o conhecimento entre si, mais rápido e mais avançado fica o desenvolvimento dos medicamentos.¹¹

Além disso, a Química Medicinal, contempla a invenção, a descoberta, o planejamento, a identificação, a preparação e a interpretação do mecanismo de ação molecular de compostos biologicamente ativos. Segundo Paul Ehrlich, prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1908, uma substância química, neste caso um protótipo a fármaco, não funcionará a menos que ela seja capaz de se ligar a um sítio ativo específico.¹⁰ Essa complementariedade molecular necessária para a interação do fármaco com o sítio ativo pode ser simplificada pelo modelo chave-fechadura, modelo proposto pelo químico Emil Fischer, este modelo explica a especificidade da interação enzima-substrato. Este conceito apesar de ter completado um século, e não ser tão válido atualmente assim mas nos mostra a importância da relação entre estrutura química e atividade biológica.¹²

A busca por novos candidatos a fármacos começou por meio da extração de compostos e produtos naturais e identificando-se os princípios ativos presentes nas plantas medicinais. Entretanto, a extração destes compostos não era muito viável, pois muitos apresentavam uma alta complexidade estrutural e não havia técnicas de separação tão eficientes como hoje em dia, e não eram puros ou eram necessário quantidades excessivas de plantas para extração de pequenas quantidades, dificultando o desenvolvimento do fármaco.¹³

Portanto, começaram-se as pesquisas para obter estes compostos de forma sintética. Tentavam sintetizar algumas moléculas semelhantes às extraídas das plantas, para obter candidatos sintéticos a fármacos, minimizando a contaminação de impurezas e até mesmo simplificando a estrutura molecular.¹³ O grande marco na indústria farmacêutica foi a descoberta da salicilina, um analgésico e antitérmico, a partir da planta *Salix alba*. A primeira modificação estrutural da salicilina, resultou na síntese do ácido salicílico em 1839. Felix Hoffmam em 1897 realizou mais uma modificação na estrutura do ácido salicílico e sintetizou o ácido acetilsalicílico (Aspirina®) (Figura 2), uns dos mais vendidos no mundo.¹⁰ Devido a essas modificações realizadas nos laboratórios, as atenções foram voltadas para os fármacos que eram obtidos de forma sintética, pois são mais fáceis de serem obtidos que seus análogos naturais e com maior grau de pureza, um fator importante na indústria farmacêutica.

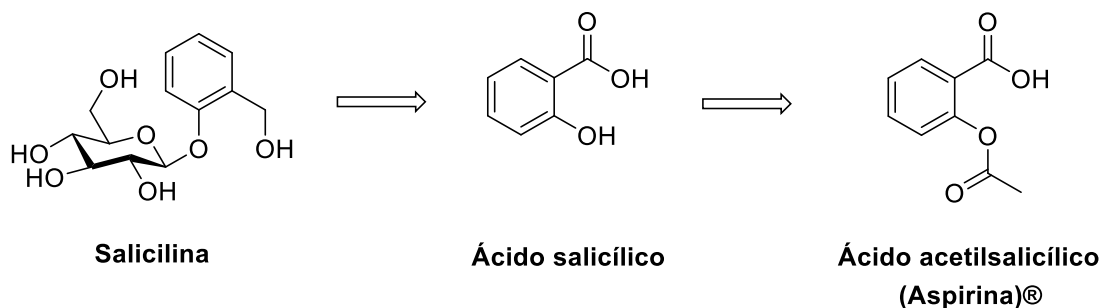


Figura 2. Evolução do processo de obtenção da Aspirina.

O fármaco obtido de forma sintética, permite que a sua estrutura seja modificada para que o fármaco seja aprimorado, visando aumentar a sua potência e reduzir os efeitos colaterais. Em 2018 no Brasil os medicamentos mais vendidos foram o relaxante muscular Dorflex® e o Xarelto®, (Figura 3) empregado para tratar a trombose venosa profunda, ambos medicamentos obtidos de forma sintética e que possuem na sua composição heterociclos.¹⁴ Mais de 80% dos principais medicamentos de pequenas moléculas das vendas de varejo dos EUA em 2010 contêm pelo menos um fragmento heterocíclico em sua estrutura.⁵

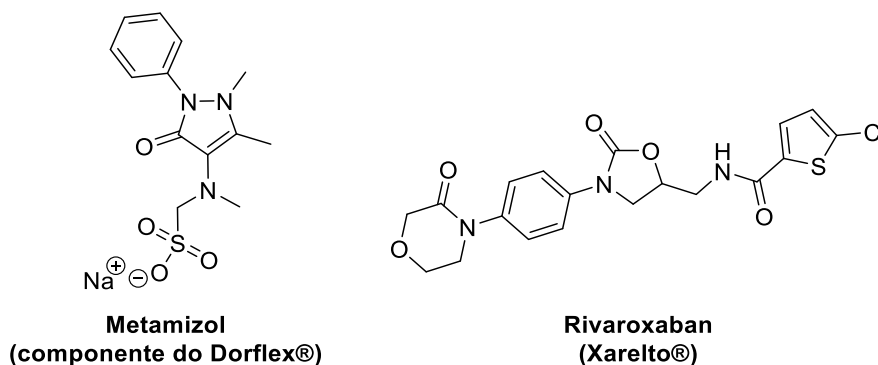


Figura 3. Medicamentos obtidos de forma sintética.

Para ser obtido de forma sintética, leva-se tempo e investimentos, nem sempre e fácil obter o fármaco por síntese, porém em alguns casos a forma sintética é mais almejada em vez de se obter por forma natural. A criação de um medicamento leva em média 10 anos, considerando todas as etapas de desenvolvimento. A cada 10 mil substâncias sintetizadas, uma é considerada segura e eficiente,¹⁴ e mesmo assim traz retorno para a indústria que o desenvolveu.

Desenvolver um novo fármaco que esteja de acordo com o regulamento, neste caso de acordo com as normas da ANVISA, nem sempre é fácil, pois muitos desses compostos novos apresentam alguma falha no desenvolvimento, como já dito, no final do processo apenas um é regulamentado e vai para o mercado. E as principais causas pelas falhas no desenvolvimento de novos medicamentos são: a baixa disponibilidade, ausência de eficácia,

detecção de efeitos tóxicos e razões de mercado, no caso quando o custo de produção é muito elevado. Em função disso quando mais avançado estiver na fase de desenvolvimento e algum problema for detectado, pode gerar grandes prejuízos para a empresa.

Para solucionar estes problemas, as universidades e empresas farmacêuticas apostam na modificação de medicamentos já aprovados e regulamentados. A modificação molecular é um ramo da química medicinal que ajuda a contornar problemas de baixa disponibilidade, efeitos tóxicos e a ausência de eficácia. Com o auxílio de métodos de química medicinal é possível explorar diversas substâncias delineando o trabalho de identificação, seleção e otimização de moléculas capazes de interagir com alta afinidade e seletividade com o alvo molecular selecionado (por exemplo, enzima, receptor). A modificação faz parte da síntese de fármacos, pois consegue bons resultados quando um composto é modificado aumentando a sua potência, e diminuindo efeitos colaterais, ou mesmo modificando o alvo terapêutico. Existem diversas estratégias dentro da química medicinal para o aprimoramento dos medicamentos.

Hoje, no entanto, com os recursos científicos e tecnológicos que se têm à disposição, é possível fazer uma busca racional por estruturas que possam vir a ser novos fármacos. Assim, atualmente, pode-se ampliar o conceito de química medicinal, a qual engloba o planejamento racional de substâncias bioativas, envolvendo a síntese ou a modificação de substâncias, o isolamento de princípios ativos naturais, a identificação e a elucidação da estrutural, e a descrição das moléculas desde a sua constituição atômica até as suas características estruturais quando da interação com os sistemas biológicos.

Dentre diversas classes de compostos os sistemas heterocíclicos vêm se destacando na constituição dos fármacos, e apresentam uma vasta gama de atividades biológicas, moléculas como os pirazóis são sintetizados e avaliados quanto a suas propriedades biológicas e, como já bem documentado na literatura, também utilizadas como protótipos de novos fármacos, pois são normalmente moléculas pequenas e de fácil obtenção por síntese química que parte de reagentes conhecidos e geralmente envolve apenas duas etapas e resulta em produtos com relativa facilidade de purificação.

1.2 O câncer

O câncer é hoje considerado um problema de saúde pública que atinge milhões de pessoas, em todo mundo.¹ Na verdade, o câncer não é somente uma única doença, ele é um conjunto de doenças, e todas denominadas como câncer que tem em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos, denominado metástase, consegue se espalhar por outras regiões do corpo causando dor e sofrimento para o portador desta doença.¹⁵

Para que o câncer seja desenvolvido em um indivíduo, deve haver uma alteração nos genes, que se encontram no DNA, a célula que sofreu alteração tende a ser corrigida pelo organismo, mas quando isso não acontece ela se divide, formando uma nova célula, mas com essa mesma alteração.¹⁶ A divisão celular permite o crescimento, nossa adaptação e a nossa recuperação. Quando distorcida e descontrolada ela permite que as células se adaptem e desenvolvam. Células com alterações no gene, tornam-se células cancerosas e estas podem crescer mais rapidamente e adaptar-se melhor.¹⁵ A massa formada pelo acúmulo dessas células cancerosas é denominada tumores malignos, dos quais as células podem se desprender e invadir os tecidos vizinhos e chegar até os órgãos mais distantes do local onde o tumor se iniciou. Os tecidos invadidos perdem suas funções ao mesmo tempo que perdem as células normais; pois vão sendo substituídas pelas células cancerosas.¹⁷

Os cânceres de pulmão, próstata, colorretal, estômago e fígado são os tipos mais comuns em homens, enquanto os de mama, colorretal, pulmão e colo do útero são os mais comuns entre as mulheres.¹ Estes cânceres são os mais comuns devido ao grande número de células que são renovadas todo o tempo nestes órgãos. O câncer está diretamente ligado ao número de divisões celulares, e quanto mais células se dividem e se renovam mais chances têm de alguma célula sofrer uma alteração e carregá-la para outras células.¹⁵ Por esse motivo o câncer é mais comum em homens e mulheres com mais idade, à medida que nossa expectativa de vida aumenta, inevitavelmente deflagra-se o crescimento maligno das células e as mutações nos genes do câncer se acumulam com o envelhecimento.¹⁵

De acordo com as evidências atuais, entre 30% e 50% das mortes por câncer poderiam ser evitadas modificando ou evitando os principais fatores de risco, incluindo evitar os produtos do tabaco, reduzir o consumo de álcool, manter um peso corporal saudável, fazer exercícios regularmente e abordar os fatores de risco relacionados à infecção. Além disso, uma proporção significativa de câncer pode ser curada por cirurgia, radioterapia e/ou quimioterapia, especialmente se forem detectados precocemente.¹ O segredo do combate ao câncer, portanto, está em encontrar meios de impedir que essas mutações ocorram em células suscetíveis ou descobrir meios de eliminar as células mutantes sem comprometer o crescimento normal.¹⁵

1.2.1 Os estágios do câncer

O surgimento de um câncer não tem uma única causa, ele pode ser provocado por causas externas, que estão presentes no ambiente onde se convive, como por exemplo no estilo e hábitos de vida, nos alimentos que são consumidos e até mesmo em ambientes de trabalho em condições insalubres. Pode ser provocado também por causas internas, como hormônios e condições imunológicas.¹⁶ Dentre os casos de câncer, 80 a 90% são causados

pelos fatores externos como por exemplo o fumo que é um dos maiores culpados pelos casos de câncer no mundo.¹ Já os fatores internos não são tão comuns de acontecer, apesar do fator genéticos exercerem um papel importante na formação dos tumores, os casos de câncer hereditários são raros de acontecer.¹⁶

Como descrito anteriormente, o envelhecimento natural do ser humano traz mudanças nas células, que as tornam mais vulneráveis ao processo cancerígeno.¹⁵ Isso, somado ao fato de as células das pessoas idosas terem sido expostas por mais tempo aos diferentes fatores de risco para câncer, explica, em parte, o porquê do câncer ser mais frequente nessa fase da vida.¹⁶ O processo de formação do câncer é conhecido como carcinogênese (Figura 4), é um processo lento, e pode levar vários anos para que uma célula cancerosa se prolifere e torne-se um tumor visível.^{17,18} A carcinogênese é determinada pela exposição das células aos chamados agentes cancerígenos e os efeitos cumulativos de diferentes agentes cancerígenos são os responsáveis pelo início, promoção, progressão e inibição do tumor, e esta proliferação ocorre em etapas.¹⁶

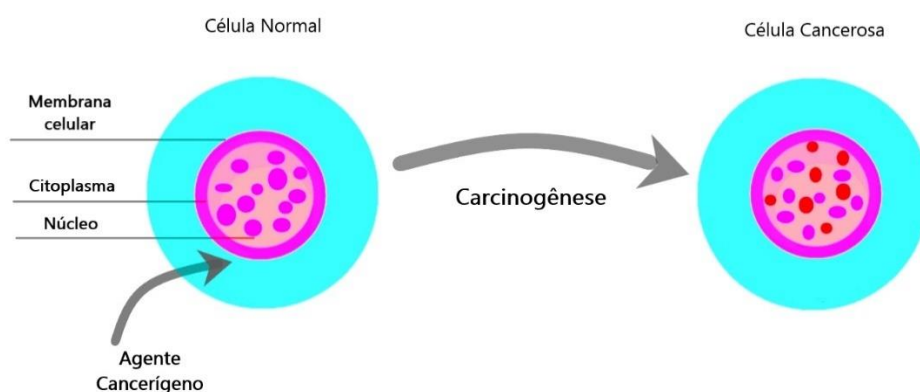


Figura 4. Representação do processo de mutação genética de uma célula (Figura adaptada da referência 16).

Primeiro ocorre o processo de iniciação, onde os genes presentes nas células são modificados pelos agentes cancerígenos, tornando-se uma célula que carrega informações alteradas nos genes, ou seja, ela está geneticamente alterada. Nesta fase ainda não é possível identificar o tumor, pois acontece em algumas células, que são ativadas, e elas ainda precisam se adaptar a essas alterações ou acabam sendo eliminadas pelo próprio organismo.^{16,18}

A segunda etapa é o processo de promoção, onde as células geneticamente alteradas sofrem os efeitos dos agentes cancerígenos, classificados como oncopromotores, e se tornam células malignas. Este também é um processo lento pois as células necessitam de um longo

período de exposição ao agente em questão. Se nesta fase as células forem afastadas destes agentes, o processo de promoção pode ser interrompido.^{16,18}

Já a progressão é a terceira etapa do processo, onde as células se multiplicam de forma descontrolada e irreversível e se estende até a manifestação clínica da doença. Esta forma descontrolada de multiplicação acaba modificando também os tecidos adjacentes as células geneticamente alteradas, e após um determinado tempo estas células vão se empilhando uma sobre as outra e formando o tumor.^{16,18}

Após se formarem os tumores pelo processo de progressão, as células cancerosas podem adquirir a capacidade de se desprenderem do tumor e de migrarem para outros tecidos vizinhos, ocorrendo o processo da metástase, que constitui o estágio mais grave da doença, as células podem chegar os vasos sanguíneos ou linfático e através destes, se disseminarem e chegar a órgãos mais distantes do local onde o tumor se iniciou.¹⁷

As células cancerosas são, geralmente, menos especializadas nas suas funções que as suas correspondentes normais. Conforme as células cancerosas vão substituindo as normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções; assim por exemplo, a invasão neoplásica dos pulmões gera alterações respiratórias; com isto há a disfunção orgânica que pode levar à falência do órgão ou, em casos mais graves, leva à morte dos pacientes.¹⁷

1.2.2 Os tratamentos do câncer e os agentes antineoplásicos

O melhor jeito de se tratar o câncer é a prevenção, ou seja, ficar fora dos fatores de risco, principalmente dos fatores externos e adotar hábitos saudáveis de vida, como por exemplo boa alimentação e atividades físicas. Porém algumas pessoas mesmo praticando hábitos considerados saudáveis, acabam em uma certa idade se tornando mais suscetíveis a desenvolver o câncer. E quando diagnosticado corretamente e o mais rápido possível, mais chances a pessoa tem de cura.¹⁶

Quando diagnosticado rapidamente é possível obter um tratamento adequado e eficiente. O tratamento do câncer pode ser feito através de cirurgia, quimioterapia, radioterapia ou transplante de medula óssea. Em muitos casos é necessário combinar mais de uma modalidade, para que se tenha o melhor resultado e diminuam as chances do câncer voltar a crescer.^{16,19} Quando diagnosticado na fase de progressão, ele pode ser controlado, ou mesmo curado, através do tratamento cirúrgico, atualmente considerado um dos tripés para o tratamento da doença, ao lado da quimioterapia e da radioterapia.¹⁶ Vale ressaltar que a abordagem múltipla do tratamento, associando diversas modalidades terapêuticas, costuma gerar melhores resultados em termos de cura e qualidade de vida.¹⁷

A cirurgia consiste na retirada do tumor a partir de operações no corpo do paciente. Já a radioterapia, comumente utilizada junto com a cirurgia, é um tratamento utilizado para

impedir que as células do tumor aumentem e, durante o tratamento são utilizadas radiações ionizantes, como por exemplo, o raio-X, que em alguns casos levam o desaparecimento completo do tumor, e ajudam a melhorar a qualidade de vida dos pacientes.¹⁶

No emprego da quimioterapia, o objetivo é combater as células cancerosas, preservando as normais. Entretanto, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não-específica, eliminando tanto células malignas quanto as normais,^{20,21} particularmente as células de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e as do sistema imunológico. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia como náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções.^{19,22} Porém, o corpo recupera-se destes inconvenientes após o tratamento e o uso clínico desses fármacos exigem que os benefícios sejam confrontados com a toxicidade, na procura de um índice terapêutico favorável.

Existe uma grande variedade de fármacos antineoplásicos que são utilizados na quimioterapia (Tabela 1). Estes agentes neoplásicos atuam por meio dos diversos mecanismos de ação das diferentes etapas da síntese, transcrição e transdução do DNA (Figura 5).¹⁷ Com por exemplo os agentes alquilantes, que compõem o grupo de agentes não específicos do ciclo-celular, os quais inibem a replicação celular. Já os antimetabólitos atuam na síntese de ácidos nucleicos e inibição de reações enzimáticas. São quimioterápicos ciclo celular específicos, que atuam por ação metabólica causando bloqueio na síntese de DNA.²³

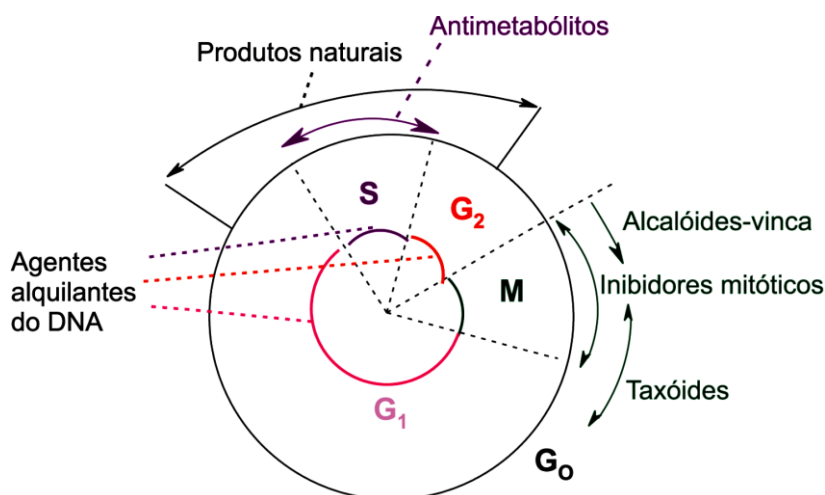


Figura 5. Atividade dos agentes quimioterápicos antineoplásicos, dependendo da fase do ciclo celular (Figura adaptada da referência 17).

O taxol, por exemplo (Figura 6), é um alcaloide derivado do teixo ocidental (*Taxus brevifolia*) e europeu (*Taxus baccata*), conhecido comercialmente como Paclitaxel®,¹⁷ é um quimioterápico utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer, como o câncer de mama, ovário e células do pulmão. Ele é um agente que promove as reorganizações de funções que são essenciais para formação celular e também induz a formação anormal de estruturas

durante o ciclo celular exercendo assim a atividade antitumoral, sendo um quimioterápico ciclo-celular específico.^{17,24}

Tabela 1. Classificação dos fármacos antineoplásicos.

Classe	Ação	Fármacos
Agentes alquilantes	Inibem a replicação celular	Ciclofosfamida ²⁵ Clorambucil ²⁶ Omustine ²⁷
Agentes platinantes	Alquilam e inibem seletivamente a síntese do DNA	Carboplatina ¹⁷ Cisplatina ¹⁷
Antimetabólitos	Atuam na síntese de ácidos nucleicos e inibem as reações enzimáticas	Metotrexato ²⁸ 5-Fluorouracila ²⁸ Citosina arabinósido ²⁹ Azatioprina ³⁰
Alcaloides da vinca	Impedem a divisão das células durante a metáfase	Vincristina ¹⁷ Vimblastina ¹⁷
Antibióticos	Inibem a transcrição do DNA	Doxorrubicina ³¹ Bleomicina ³² Actinomicina D ³³ Mitoxantrone ³⁴
Agentes hormonais	Atuma de forma ciclo celular específica	Prednisona ³⁵ Prednisolona ³⁵

A cisplatina e a carboplatina (Figura 6) são antineoplásicos que se destacaram nas últimas décadas, ressalta-se que a cisplatina exerce acentuada atividade antitumoral nos cânceres genitourinários, particularmente o testicular, ovariano e vesical.¹⁷ Estes compostos com platina promovem efeitos citotóxicos potentes por meio da platinação do DNA. E Por serem um agente platinante, impedem que haja síntese de novas cópias de DNA e causa bloqueio no processo de transcrição.²³ Já a decarbazina (Figura 6), quimioterapia-padrão para o tratamento do melanoma avançado não cirúrgico e metastático, promove a inibição seletiva da mutação do gene protooncogene e possibilita o bloqueio da via de sinalização da proteína quinase ativada e, conseqüentemente, inibe o crescimento tumoral.³⁶ Entre os agentes antineoplásicos sintéticos de importância está a doxorrubicina (Figura 6), fármaco amplamente utilizado na quimioterapia de vários tipos de câncer, atuando de forma que inibe a transcrição do DNA.

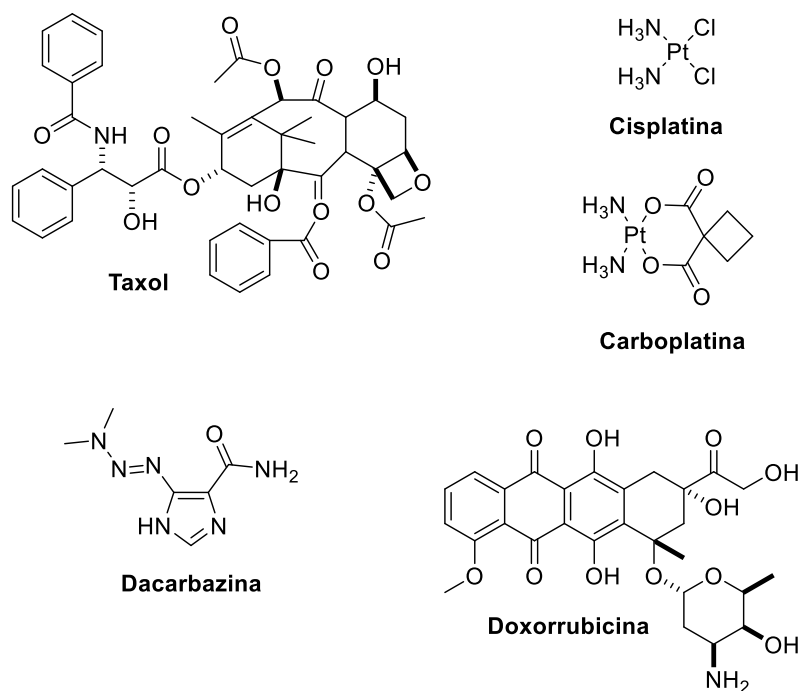


Figura 6. Exemplos de alguns compostos antineoplásicos.

A Tabela 1 demonstra que há uma ampla utilização clínica dos agentes antineoplásicos quimioterápicos que interagem com o DNA para as diversas neoplasias, o que comprova a enorme importância desta classe de fármacos e corrobora o grande interesse acadêmico e tecnológico no desenvolvimento de novos análogos mais eficientes e menos tóxicos.

Entre as diferentes classes de substâncias quimioterápicos, os compostos heterocíclicos apresentam-se particularmente importantes na Química Medicinal, pois possuem várias aplicações clínicas como nos fármacos antineoplásicos, sendo, portanto, importantes para o desenvolvimento de novos quimioterápicos. Mais adiante a síntese de heterociclos chamados de pirazóis com propriedades anticancerígenas, os quais serão o foco deste trabalho.

1.3 Os pirazóis

Dentre a classe de compostos heterocíclicos, destacamos os 1*H*-pirazóis, pertencentes à família do azóis (Figura 6), que são heterociclos aromáticos contendo um átomo de nitrogênio e um outro heteroátomo em um anel de cinco membros, no caso do pirazol outro átomo de nitrogênio. Estes heteroátomos podem estar dispostos nas posições 1,2; 1,3 ou 1,4. Outros exemplos de azóis são os isoxazóis e os isotiazóis (Figura 7).^{7,37}

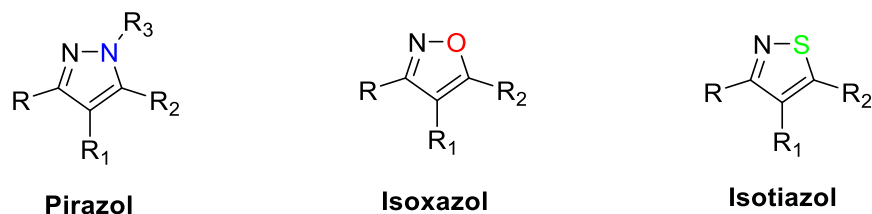


Figura 7. Fórmulas estruturais de 3 derivados de 1,2-azóis.

O termo pirazol foi introduzido em 1883 pelo cientista Ludwig Knorr, referindo-se a esta classe de compostos.³⁸ O pirazol possui um isômero estrutural que é conhecido como imidazol e como ele o pirazol possui dois átomos de nitrogênio com características diferentes sendo um átomo de nitrogênio do tipo pirrólicos e outro do tipo piridínicos nas posições 1,2.³⁹ Ele obedece a regra de Hückel, fazendo com que ele pertença a classe dos anéis aromáticos e é também um heterocíclico com elétrons π excessivo. Ou seja, substituições eletrofílicas ocorrem preferencialmente na posição 4 do anel e o ataque nucleofílico ocorre nas posições 3 ou 5.⁴⁰

Já os pirazóis não substituídos nas posições 1 e 2, sofrem o processo chamado tautomerismo (Figura 8). Estes tautômeros existem em equilíbrio em solução e geralmente não podem ser separados, devido a migração do próton entre os átomos do anel, a interconversão ocorre facilmente pela deslocalização do par de elétrons do heteroátomo, no caso do nitrogênio, pelo sistema cíclico. Para o pirazol não-substituído, os dois tautômeros são idênticos, mas isso não se aplica aos derivados substituídos.^{39,41}

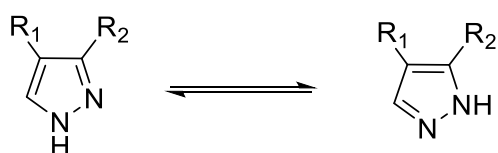


Figura 8. Tautômeros de pirazóis dissubstituídos 3,4 e 3,5.

Os pirazóis vêm se mostrando bastante relevantes no campo de Síntese Orgânica pela facilidade de obtenção e funcionalização, é possível observar uma enorme variedade de métodos de síntese e análogos sintéticos relatados ao longo dos anos.⁴² O núcleo pirazólico está presente em diferentes estruturas químicas que possuem aplicações diversificadas em áreas como medicina, tecnologia e agricultura.⁴³ Na medicina, por exemplo, estes compostos exibem propriedades farmacológicas e terapêuticas interessantes, sendo empregados como, anti-inflamatórios,⁴⁴ analgésica,⁴⁵ antitumoral⁴⁶ e antitrombóticas.⁴⁷

Como exemplos de pirazóis sintéticos com atividade biológica comprovada, podemos destacar o Celecoxib, um fármaco anti-inflamatório, o Fipronil, utilizado como inseticida, e o Metamizol, que está na composição do Dorflex®, conforme citado anteriormente, o razaxaban,

um atitrombótico e o SC-560, um antitumoral, que tem sua estrutura análogo ao celecoxib. medicamento mais vendido em 2018 no Brasil, e é um analgésico e antipirético (Figura 9).

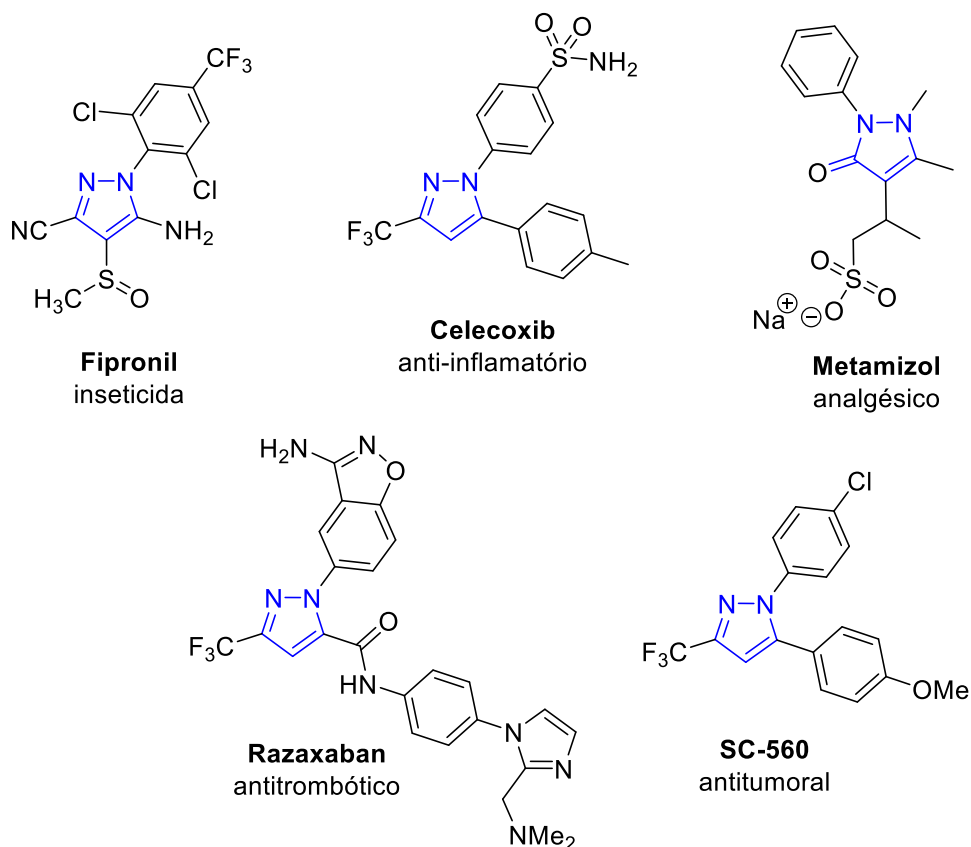


Figura 9. Exemplos de alguns heterociclos pirazolínicos.

Os pirazóis substituídos na posição 1, destaca-se aqui os 1-fenilpirazóis, vem se destacando nas pesquisas de síntese orgânica, por apresentar uma relevante bioatividade, ou uma potente citotoxicidade.⁴⁶ Conforme já mostrado na Figura 8, todas as moléculas são derivadas de 1-fenilpirazóis. Com isso o interesse em obter estes derivados são muito grandes para a obtenção de um protótipo para um novo fármaco.

1.3.1 Atividade citotóxicas dos pirazóis

No trabalho realizado por Mohamed et al. foram obtidos pirazóis bicíclicos substituídos com boas atividades citotóxicas e anti-proliferativas contra o carcinoma de fígado. Entre os dez compostos sintetizados, os pirazopiridinas **1** e **2** (Figura 10) mostraram atividade antineoplásica potente com valores de LC₅₀ (concentração letal) de 66,6 e 78,4%, respectivamente, enquanto os outros derivados exibiram um fraco efeito ou não houve atividade anticancerígena para os pirazóis.⁴⁸

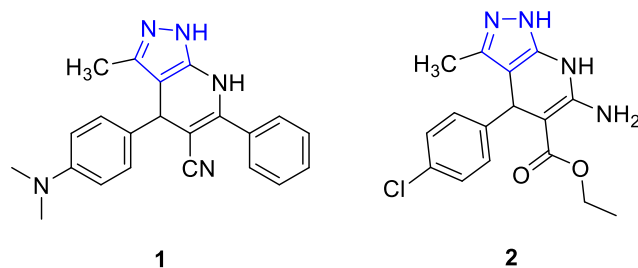


Figura 10. Pirazóis bicíclicos sintetizados por Mohamed com atividades antineoplásicas.

Entre os muitos estudos que reportam a atividade antitumoral dos pirazóis, este feito por Mohareb e colaboradores se mostrou bastante eficaz.⁴⁹ Neste trabalho foram sintetizados alguns pirazóis derivados de 5-amino-3-hidroxi-1*H*-pirazol-1-ilas **3** e **4** (Figura 11). Foram testados quanto à sua atividade antitumoral nas linhagens celulares MCF-7 (mama), NCI-H460 (pulmão) e SF-268 (câncer do SNC). Os dados de IG_{50} ($\mu\text{Mmol/L}$) foram comparados com os reportados para doxorrubicina, conferindo uma ótima atividade biológica apresentada por estes produtos. O restante dos compostos apresentados no trabalho de Mohareb mostrou um efeito inibidor de crescimento moderado ou fraco. Comparando os compostos os que apresentam grupos CN mostram um efeito inibitório mais alto do que os grupos CO_2Et .⁴⁹

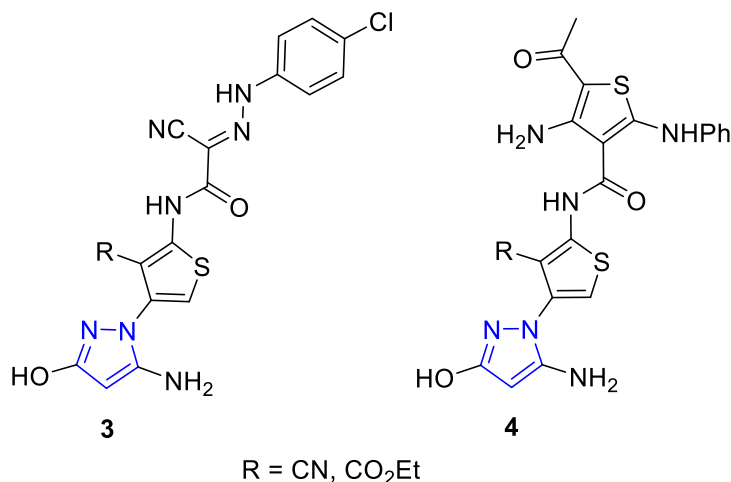


Figura 11. Pirazóis trissubstituídos sintetizados por Mohareb com atividades antineoplásicas.

Insuasty et al. concentraram-se em relatar a síntese de novas chalconas pirazólicas (Figura 12).⁵⁰ Essas substâncias foram avaliadas quanto à sua tendência a inibir 60 linhas celulares tumorais humanas diferentes, os triarilpirazóis **5** e **6** revelaram um efeito surpreendente geralmente contra a leucemia (K-562), câncer renal (UO-31) e linhas celulares de câncer de pulmão de células não pequenas (HOP-92), com os valores de GI_{50} variando de 0,04 a 11,4 μM .⁵⁰

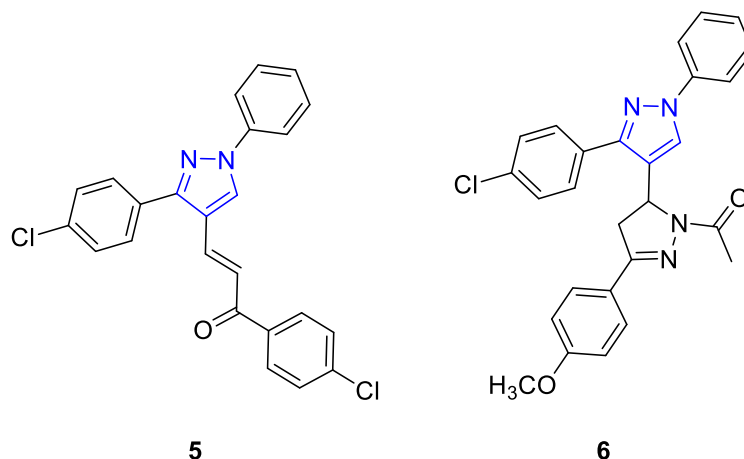


Figura 12. Chalconas pirazólicas sintetizadas por Insuasty com atividades antineoplásicas.

El-Gamal et al.⁵¹ prepararam uma série de 1,3,4-triarilpirazóis (Figura 13) que foram avaliados quanto à sua atividade anticancerígena e apresentaram alto efeito para mais de 60 linhagens de células desta doença. Entre todos os derivados, os pirazóis **7A** e **7B** demonstraram atividades anticancerígenas altamente potentes e de amplo espectro sobre todos os nove tipos de câncer testados.⁵¹

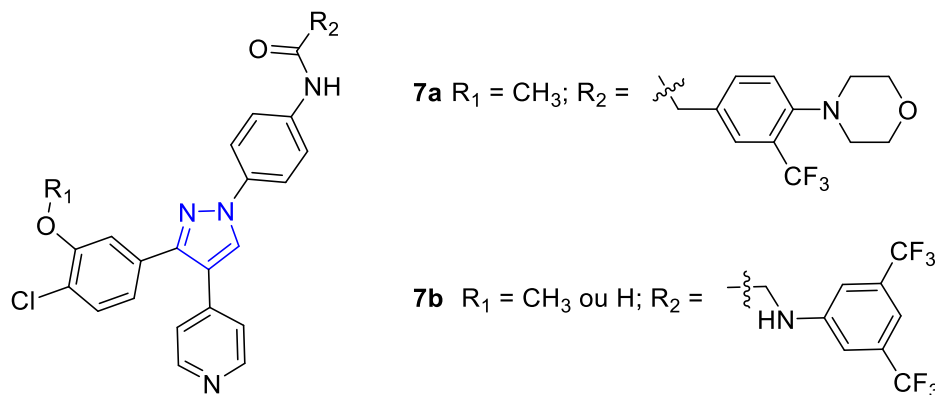


Figura 13. Série de pirazóis com atividade antineoplásica sintetizadas por El-Gamal e colaboradores

Por fim, o SC-560 (Figura 14) é um análogo estrutural do Celecoxib (Figura 8). Segundo Lee e colaboradores SC-560 é um inibidor de COX com seletividade de COX-1, enquanto o Celecoxib é um inibidor de seletividade de COX-2.⁴⁶ E estudos recentes demonstraram que o SC-560 inibiu a proliferação in vivo de câncer de cólon humano e células de câncer de mama de murídeo em uma extensão semelhante à observada no celecoxibe.

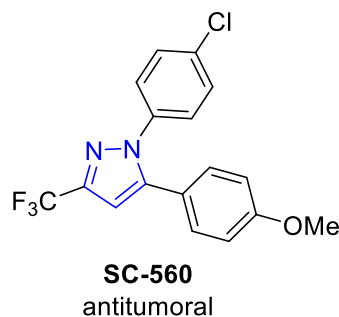


Figura 14. SC-560 análogo ao celecoxib com atividade antineoplásica.

Este estudo realizado por Lee e colaboradores, feito para examinar o mecanismo molecular pelo qual o SC-560 induz a supressão do crescimento em células de câncer de pulmão humano. O SC-560 induz a inibição do crescimento em células de câncer de pulmão, mais potently do que em células epiteliais de pulmão não cancerosas. Dados adicionais implicam no papel da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) na mediação do efeito inibidor de crescimento de SC-560.⁴⁶

1.3.2 Métodos de preparação de pirazóis

O grande interesse hoje pela obtenção de pirazóis está relacionada a sua fácil obtenção pela síntese orgânica e sua importante atividade biológica. Um dos principais métodos utilizados para a preparação dos pirazóis substituídos consiste na ciclocondensação de dois blocos de síntese, do tipo [3+2], que envolvem compostos 1,3-dieletrófilos (**8-11** Figura 14) e 1,2-dinucleófilos (**12** e **13** Figura 15).^{7,52} A seguir, serão mostrados alguns exemplos de emprego destas metodologias na preparação de pirazóis substituídos.

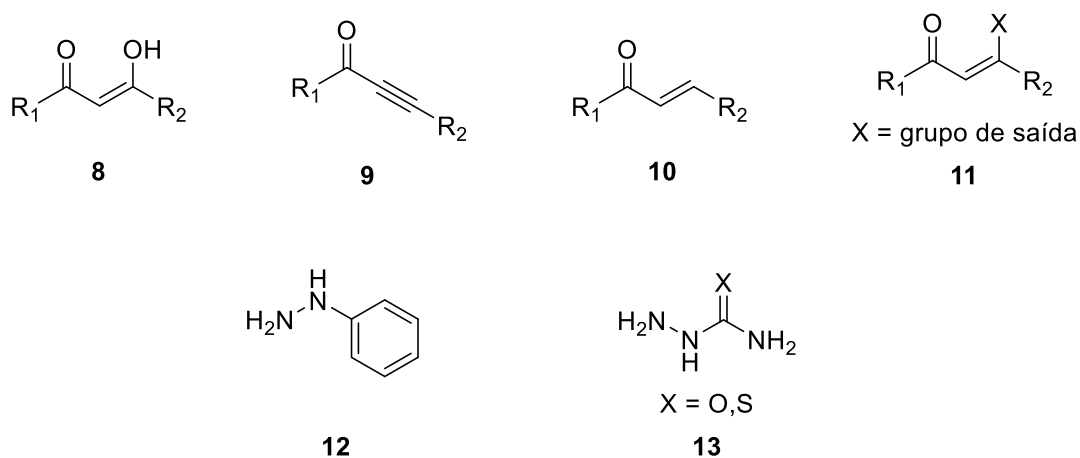
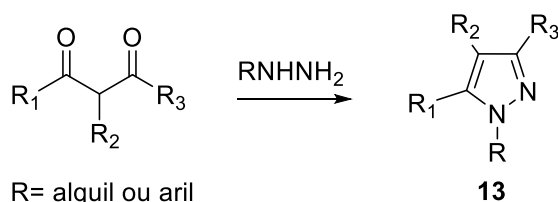


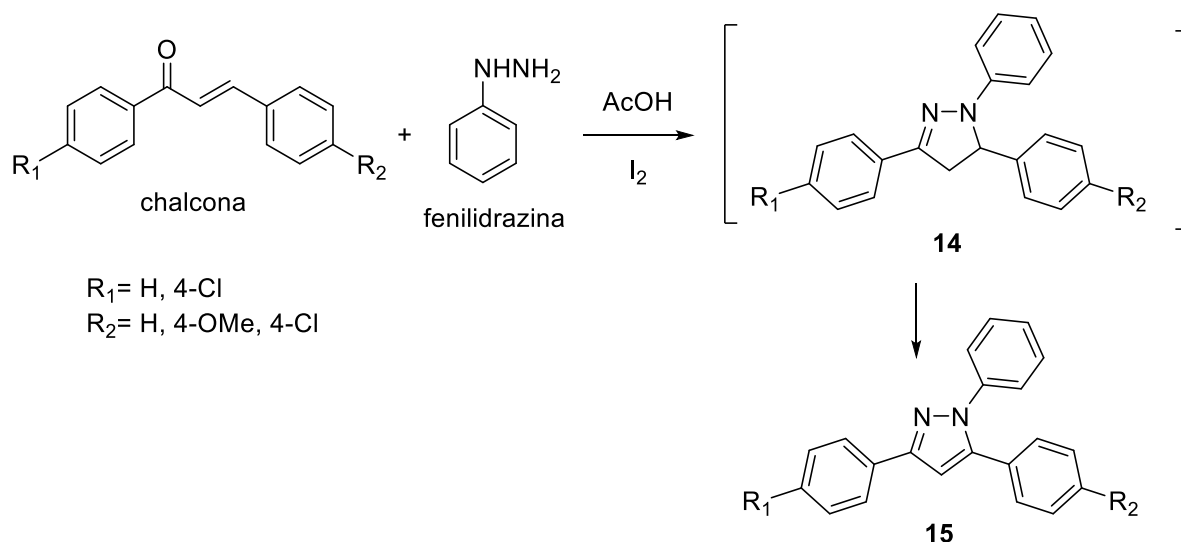
Figura 15. Exemplos de substratos empregados na preparação de pirazóis.

A ciclocondensação dos compostos 1,3-dicarbonílicos com os derivados de hidrazina (Esquema 1) é uma abordagem simples e rápida para a obtenção de pirazóis polissubstituídos, e a primeira síntese foi realizada por Knorr.⁵²



Esquema 1. Ciclocondensação com fenilhidrazina para obtenção de anéis pirazolínicos.

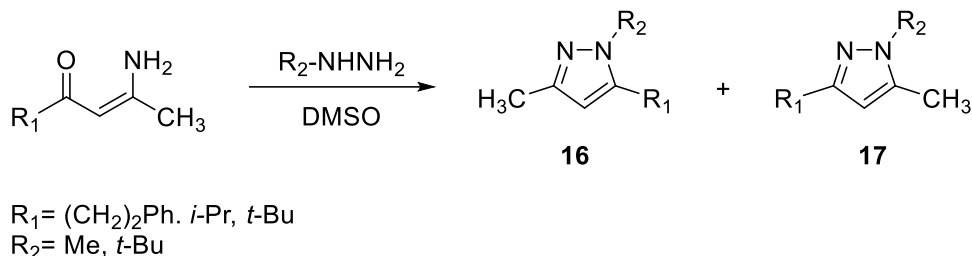
Em outro exemplo semelhante, Ponnala et al.⁵³ descreveram a condensação de cetonas α,β -insaturadas com a fenilhidrazina em ácido acético, na presença de iodo como catalisador, para ter acesso aos 1,3,5-trifenil-1*H*-pirazóis **15** (Esquema 2). Este protocolo de reação forneceu os pirazóis em bons rendimentos: cerca de 70% em média. Em conclusão, Pannola e colaboradores demonstram que o iodo pode ser empregado como um agente eficiente para promover a síntese de pirazóis a partir de chalcona e fenilhidrazina sob condições de refluxo.⁵³



Esquema 2. Síntese de pirazóis a partir de cetonas α,β -insaturadas.

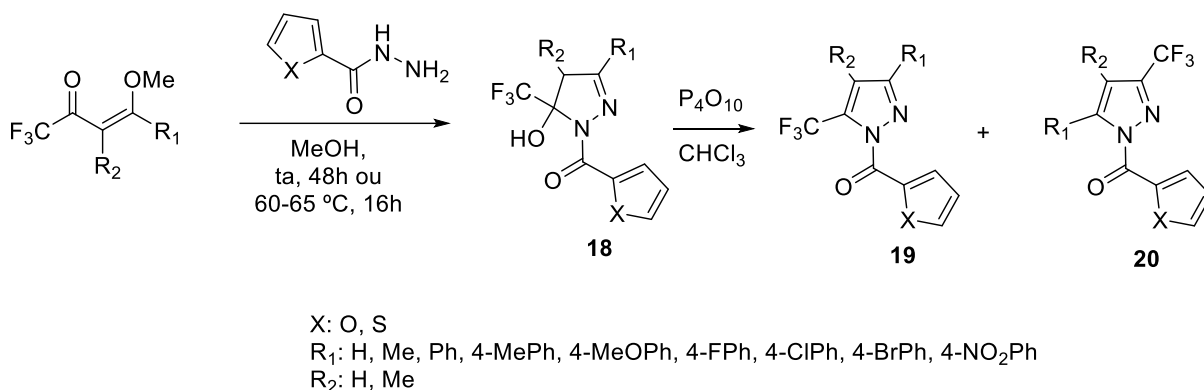
Por outro lado, em 1998, Alberola et al.⁵⁴ estudaram a regioseletividade da reação de várias β -enaminonas com diferentes hidrazinas (Esquema 3). No caso selecionado, foi observado que no caso quando o substituinte menos volumoso está ligado à carbonila β -

enaminona, o grupo CH₃, é obtida uma regioseletividade elevada, como no caso do pirazol trissubstituído **16** obtido em mais de 90% (R₂ = Me, *t*-Bu).⁵⁴



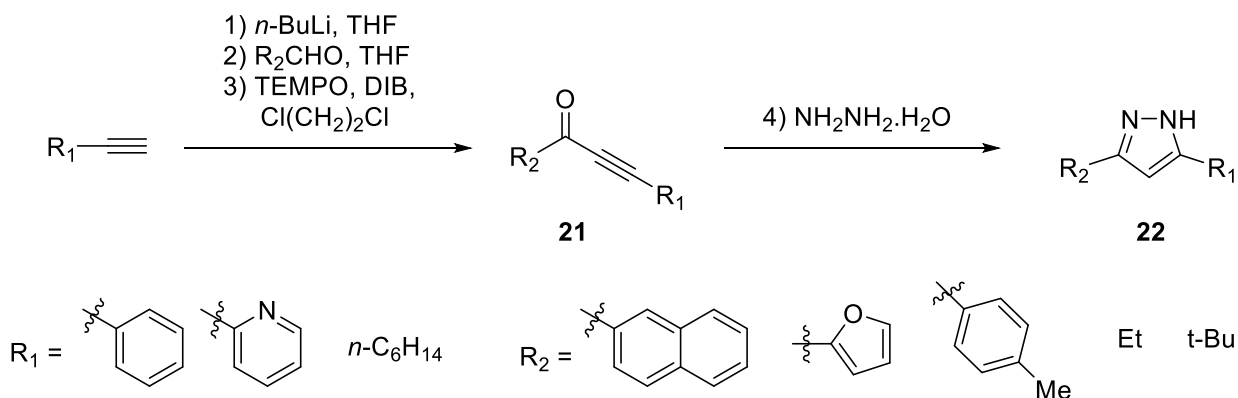
Esquema 3. Síntese de pirazóis a partir de β-enaminonas.

Já em 2005, Bonacorso et al⁵⁵ propuseram a síntese de pirazóis a partir da ciclocondensação de outras cetonas α,β-insaturadas, as (*E*)-4-metóxibut-3-en-2-onas trifluoradas contendo tiofenoil- e furanoilhidrazida (Esquema 4). No primeiro passo desta reação, houve apenas a formação da 2-pirazolina **18**, em rendimentos de moderados a bons. Para a obtenção dos pirazóis, as 2-pirazolinas foram submetidas a condições de desidratação, utilizando-se pentóxido de fósforo a 65 °C em clorofórmio por 24 horas. Surpreendentemente, os pirazóis **19** e **20** foram obtidos como uma mistura equimolar de dois regioisômeros.⁵⁵



Esquema 4. Síntese de trifluorometanopirazóis

Uma classe de compostos alternativa aos compostos 1,3-dicarbonílicos interessante para a condensação eletrofílica com dinucleófilos, tal como fenilhidrazina, é das inonas.⁴² Esses compostos são vantajosos devido à diferenciação significativa de reatividade entre seus dois carbonos eletrofílicos, proporcionando assim uma oportunidade de regioseletividade em condensações com hidrazinas assimétricas. A utilização de inonas foi relatada recentemente por Togo e colaboradores que realizaram a síntese de pirazóis por meio destes compostos por condensação 1,3-dipolar com hidrazina, em rendimentos variando entre 62% a 94% (Esquema 5).⁵⁶

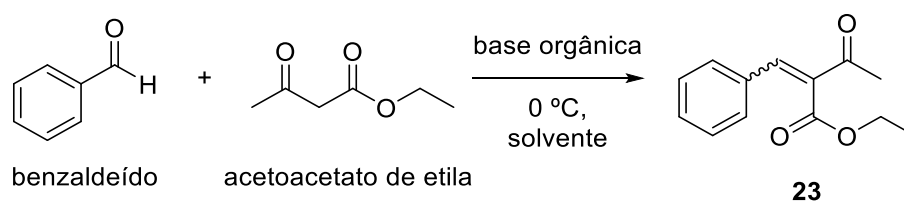


Esquema 5. Síntese de pirazóis via compostos inonas.

As reações de formação dos pirazóis ocorreram em temperatura ambiente, porém, os autores observaram que, em alguns casos, quando a reação foi deixada sob refluxo os pirazóis foram obtidos em melhores rendimentos.⁵⁶

1.4 A condensação de Knoevenagel

A condensação de Knoevenagel é amplamente empregada para formação de ligações C=C e, geralmente envolvem condensação aldólica de β-dicetonas e aldeídos, sendo catalisadas por bases orgânicas como trietilamina, piridina ou piperidina (Esquema 6).⁵⁷ O produto obtido é um composto α, β-insaturado, um 1,3-dieletrófilo, usado principalmente como intermediário na síntese de produtos naturais, agentes terapêuticos, polímeros com diferentes grupos funcionais, inseticidas e pesticidas.^{57,58} Em 1896, Emil Knoevenagel publicou um trabalho sobre a condensação entre o benzaldeído e o acetoacetato de etila em presença de piperidina à 0 °C, obtendo como produto principal o 2-benzilideno (**23**) mostrado no Esquema 6.⁵⁹

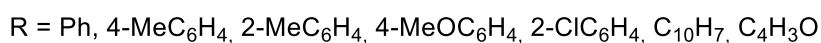
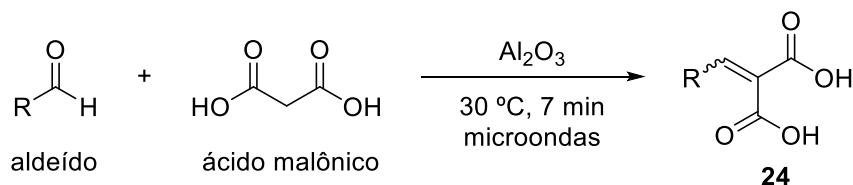


Esquema 6. Reação de condensação descrita por Emil Knoevenagel.

A condensação de Knoevenagel é uma importante reação que é amplamente aplicada em Síntese Orgânica, para o aumento e funcionalização de cadeias carbônicas,⁵⁷ pois pode introduzir, por exemplo, uma unidade dicarbonílica, que é relevante na síntese de alguns produtos orgânicos.⁵⁸ Além disso, esta reação vem sendo bastante empregada na síntese

alguns heterociclos e de compostos com aplicações farmacêuticas.^{57,60} Como já visto, os compostos 1,3-dicarbonílicos, ou cetonas α,β -insaturadas, são ótimos materiais de partida para a sua preparação, assim como os β -cetoésteres e β -cetoácidos, além dos β -cianoésteres. Todos eles são exemplos de compostos que contêm grupos metilênicos que apresentam hidrogênios ácidos e é esta característica que lhes conferem reatividade especial para este tipo de condensação.

Por exemplo, no trabalho descrito por Kwon et al,⁶¹ a condensação de Knoevenagel ocorreu entre o ácido malônico, um β -cetoácido, e aldeídos por meio de irradiação de microondas, sem a presença de solventes, na presença de Al_2O_3 (Esquema 9). O uso desta base se fez conveniente, uma vez que o uso de bases orgânicas, como a piperidina, poderia levar a produtos de descarboxilação.⁶¹ Esta metodologia se mostrou muito eficiente, limpa e ambientalmente correta, fornecendo rendimentos melhorados, entre 70 a 96% em relação aos métodos convencionais e em tempo de reação muito menor: 5 a 7 minutos.



Esquema 7. Condensação de Knoevenagel mediada por microondas descrita por Kwon e colaboradores.

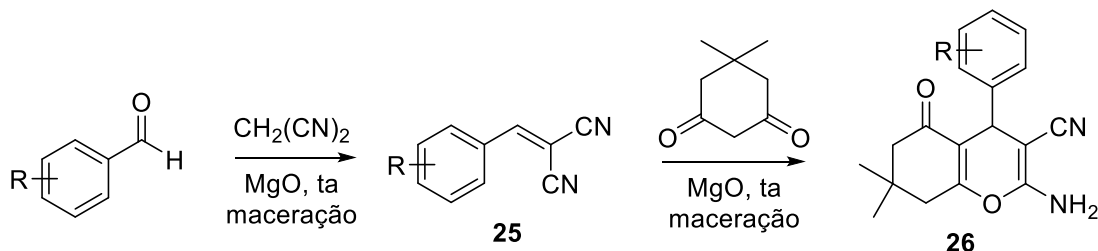
1.4.1 Obtenção de heterociclos bioativos a partir de produtos de condensação de Knoevenagel

Recentemente, o emprego da condensação de Knoevenagel na obtenção de compostos heterocíclicos biologicamente ativos vem se desenvolvendo e existe um grande número de metodologias para a sua preparação.

Por exemplo, os derivados do cromeno são uma classe importante de compostos bioativos, amplamente presente em plantas, vegetais e frutas comestíveis, e os produtos naturais da estrutura baseada em cromeno têm sido associados à capacidade de prevenir doenças.^{62,63} A preparação de cromenos por meio da condensação de Knoevenagel é amplamente aplicada.

No trabalho publicado por Kumar et al. foi preparada uma série de tetraidro-4H-cromenos **26** com atividade antibacteriana (Esquema 8).⁶² Os autores desenvolveram um protocolo simples que também não utiliza solvente, onde a condensação ocorre de maneira eficiente do aldeído com malononitrila, na presença de MgO, à temperatura ambiente, por

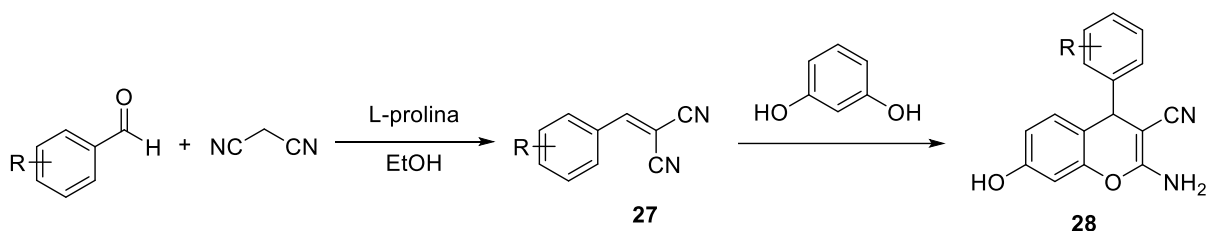
meio da maceração mecânica manual, levando-se a formação quase quantitativa dos tetraidro-4*H*-cromenos em apenas 5 minutos.



R = H, 4-MeO, 3-NO₂, 4-NO₂, 4-Cl, 4-Me, 3-OH

Esquema 8. Síntese de cromenos a partir de produtos de condensação de Knoevenagel.

Já no trabalho de Behbahani e Mehraban,⁶³ eles realizaram a síntese de derivados de cromenos utilizando a condensação de Knoevenagel catalisada pela L-prolina (Esquema 9), obtidos em ótimos rendimentos. As condições de reação são brandas, utilizando-se apenas L-prolina e etanol à temperatura ambiente.



R = H, 4-Cl, 2-Cl, 4-Me, 2-NO₂, 3-NO₂, 3-OH, 4-(Me)₂N, 3,4-MeO

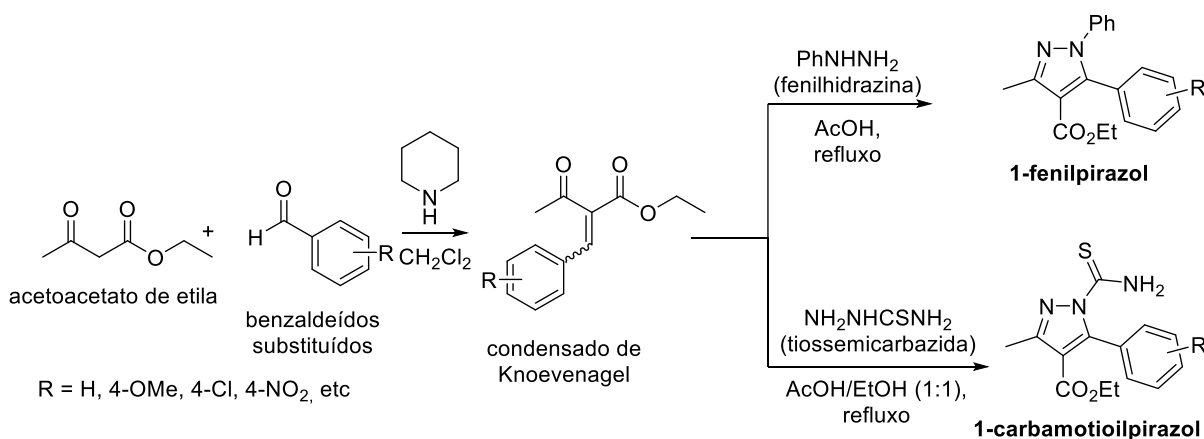
Esquema 9. Síntese derivados de cromenos catalisada pela L-prolina.

Por sua vez, Fozooni e colaboradores empregaram a condensação de Knoevenagel na preparação de oxazóis, que são anéis heterocíclicos biologicamente importantes para o desenvolvimento de novos fármacos (Esquema 10).⁶⁴ Neste trabalho, a condensação foi realizada *in situ* e investigada a eficiência do catalisador, relatando boas atividades catalíticas para o ácido fosfotúngstico (H₃PW₁₂O₄₀), clinoptilolita e nanopartículas de Fe₂O₃ para a síntese de 4*H*-isoxazolonas. Todos os experimentos foram realizados por meio da irradiação de microondas. A reação entre aldeídos aromáticos, cloridrato de hidroxilamina, acetato de sódio e os ésteres acetoacético ou fenilacético foi escolhida como modelo de reação para a otimização da quantidade de catalisador. Vale a pena ressaltar que, na ausência do catalisador, apenas pequenas quantidades do produto foram obtidas e a irradiação de microondas diminuiu apenas o tempo de reação.⁶⁴

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

O presente trabalho tem como objetivo obter compostos pirazólicos com diferentes substituintes para serem testados contra linhagem de células tumorais. A síntese será realizada a partir da reação de cetonas ou β -dicetonas α,β -insaturadas, obtidos a partir da condensação Knoevenagel, com diferentes nucleófilos, tais como fenilhidrazina e tiossemicarbazida, que possam ser ativos contra o câncer. A seguir, apresentamos nossa estratégia de síntese para a preparação destes compostos (Esquema 11).



Esquema 11. Proposta de síntese de pirazóis a partir de condensados de Knoevenagel.

2.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar pirazóis tetrassubstituídos a partir do produto de Knoevenagel do éster acetoacético com benzaldeídos substituídos;
2. Caracterizar os compostos obtidos por meio das técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono 13 (RMN de ¹H e ¹³C) e Espectroscopia no Infravermelho (IV) a ser realizado no Departamento de Química da UFJF;
3. Enviar as amostras obtidas neste trabalho para avaliação biológica como possíveis antineoplásicos na Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

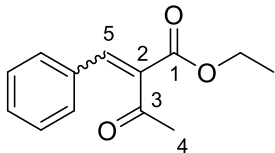
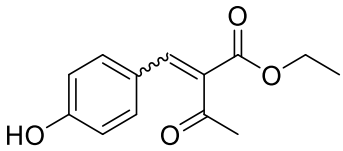
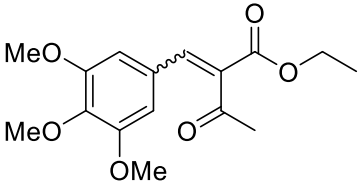
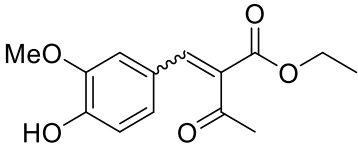
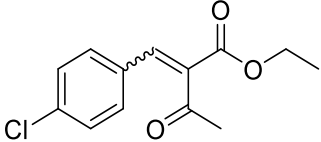
3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Na primeira parte do resultado e discussões será discutida a síntese de uma série de produtos de Knoevenagel (**23**) a partir da metodologia desenvolvida por Hong e colaboradores.⁶⁵ Será apresentada também a numeração e nomenclatura empregadas dos compostos envolvidos neste projeto, bem como a discussão da otimização das condições reacionais para a obtenção dos pirazóis e pirazolinas, além do mecanismo de duas reações empregadas neste trabalho. A identificação dos compostos foi realizada por meio das espectroscopias de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C e infravermelho.

3.1 Apresentação dos compostos

A numeração e nomenclatura adotada para identificação dos compostos sintetizados neste trabalho foram baseadas pelas regras da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) União Internacional de Química Pura e Aplicada, A Tabela 2 mostra a numeração utilizada para a série de compostos precursores e empregados nas reações e os obtidos por síntese.

Tabela 2. Numeração e nomenclatura dos compostos obtidos neste trabalho.

Composto	Estrutura	Nomenclatura
23a		(<i>E/Z</i>)-2-benzilideno-3-oxobutanoato de etila
23b		(<i>E/Z</i>)-2-(4-hidroxibenzilideno)-3-oxobutanoato de etila
23c		(<i>E/Z</i>)-3-oxo-2-(3,4,5-trimetoxibenzilideno)butanoato de etila
23d		(<i>E/Z</i>)-2-(4-hidroxi-3-metoxibenzilideno)-3-oxobutanoato de etila
23e		(<i>E/Z</i>)-2-(4-clorobenzilideno)-3-oxobutanoato de etila

Composto	Estrutura	Nomenclatura
30a		1,5-difenil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
30b		1-fenil-5-(4-hidroxifenil)-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
30c		1-fenil-3-metil-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
30d		1-fenil-5-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
30e		5-(4-clorofenil)-1-fenil-3-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
31a		1,3-difenil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
31b		1-fenil-3-(4-hidroxifenil)-5-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila

Composto	Estrutura	Nomenclatura
31c		1-fenil-5-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
31d		1-fenil-3-(4-hidróxi-3-metóxfifenil)-5-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
31e		3-(4-clorofenil)-1-fenil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
32		1,5-difenil-3-metil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
34a		1-carbamotioil-5-fenil-3-metil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
34b		1-carbamotioil-5-(4-hidroxifenil)-3-metil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila
34d		1-carbamotioil-5-(4-hidróxi-3-metóxfifenil)-3-metil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-4-carboxilato de etila

Composto	Estrutura	Nomenclatura
34e		1-carbamotioil-5-(4-clorofenil)-3-metil-4,5-diidro-1H-pirazol-4-carboxilato de etila

3.2 Condensados de Knoevenagel (22a-e)

3.2.1 Síntese

As cetonas α,β -insaturadas substituídas, utilizadas como material de partida no decorrer do trabalho, foram, portanto, obtidas por meio da reação de condensação de Knoevenagel a partir de aldeídos aromáticos e o acetoacetato de etila. A síntese foi realizada conforme a condição reacional relatada na literatura e os rendimentos foram obtidos acima de 80%, condizentes com observados na literatura (Tabela 3).⁶⁵

Tabela 3. Metodologia empregada para a síntese dos produtos de Knoevenagel.

R	Produto	Rendimento	Proporção E ou Z^a
H	23a	90%	1:1
4-OH	23b	95%	1:1
3,4,5-OCH ₃	23c	92%	1:4
3-OCH ₃ , 4-OH	23d	90%	1:2
4-Cl	23e	82%	1:1

^a Calculado pelas integrações por RMN de ¹H.

De acordo com a CCD (Cromatografia em Camada Delgada) (eluente: Hex/AcOEt 8:2 v/v, revelador ultravioleta (UV)) (Figura 16) foi possível observar, após 6 horas sob refluxo, o desaparecimento dos *spots* (1) e (2), referentes ao material de partida benzaldeído e o acetoacetato de etila, respectivamente, e o aparecimento de dois *spots* na reação (4), referentes aos produtos isoméricos *E* e *Z* de **23a**.

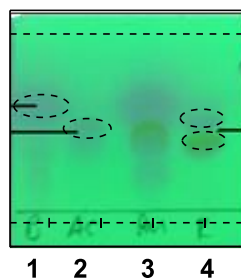


Figura 16. Imagem da CCD da reação de Knoevenagel para a obtenção de **23a** (1 = benzaldeído, 2 = acetoacetato de etila, 3 = ponto misto, 4 = reação).

3.2.2 Caracterização

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos sintetizados **23a-e** apresentaram todos os sinais característicos para as estruturas esperadas. Para exemplificar a análise dos espectros, foram discutidos apenas os espectros dos produtos **23a** e **23b**.

A análise do espectro de RMN de ^1H de **23a** (Figura 17) pode-se evidenciar claramente que a condensação de Knoevenagel funcionou, pois observamos um sinal relativo ao hidrogênio olefiníco um simpleto em $\delta = 7,69$ ppm. Este deslocamento químico ocorre em região mais desblindada por causa do efeito de desblindagem causados pela eletronegatividade dos grupos carbonila, assim como pelo efeito de anisotropia magnética. Os demais sinais deste espectro estão descritos a seguir: um tripleto em campo alto $\delta = 1,35$ ppm, relativo a 3 átomos hidrogênio, da metila do grupo éster; um simpleto em $\delta = 2,36$ ppm, referente ao grupo metila ligado à carbonila da cetona; um quarteto em $\delta = 4,32$ ppm integrado a 2 hidrogênios respectivos aos hidrogênios metilênicos da função éster. Por fim, um multipletto em $\delta = 7,40$ ppm integrado para 5 hidrogênios do anel aromático.

Importante dizer que, no caso do composto **23a**, foi possível isolar um dos isômeros geométricos por meio de coluna cromatográfica, mas pode-se distinguir qual deles foi isolado. Os sinais que surgem com deslocamentos químicos e $\delta = 7,71$, $7,52$, $4,36$ e $1,36$ ppm não puderam ser identificados e devem ser referentes de um subproduto da reação que não foi visto na CCD. Estes sinais aparecem em outros espectros dos pirazóis e pirazolininas, com exceção ao composto **23b**.

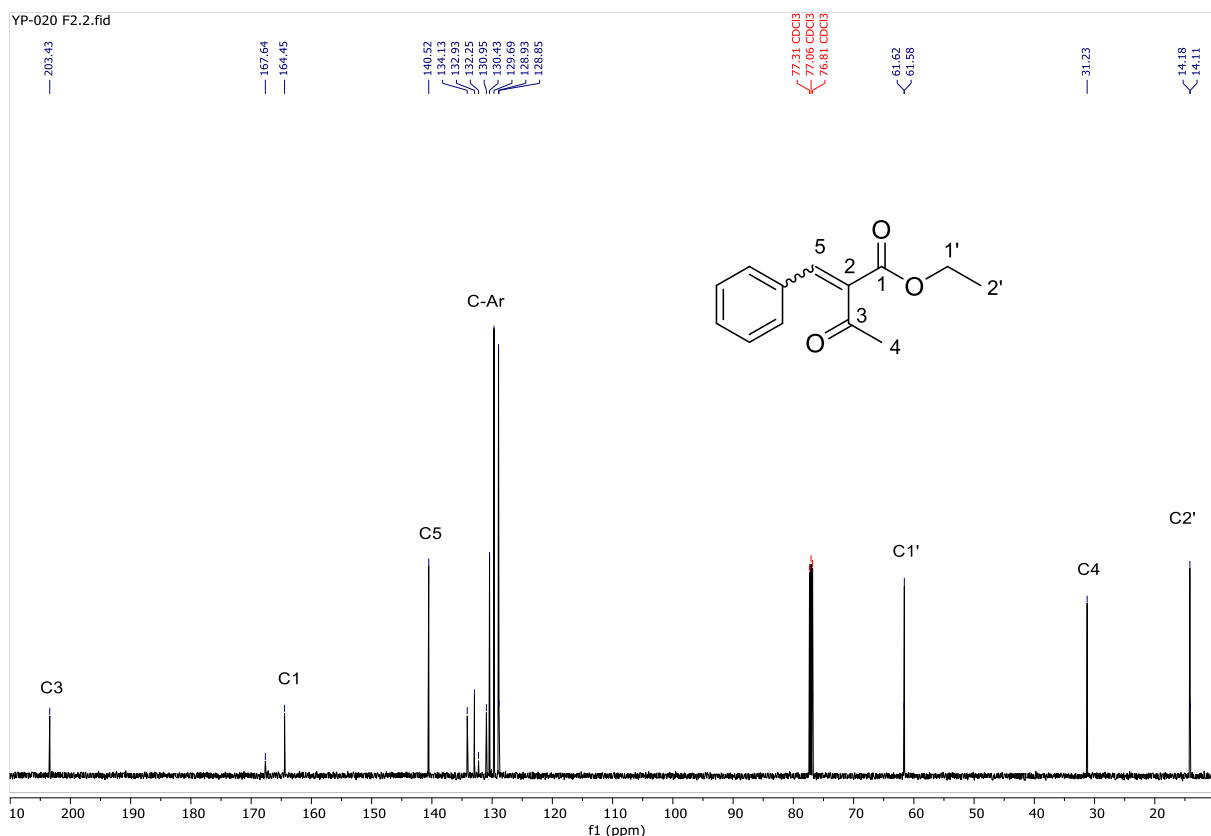


Figura 18. Espectro de RMN de ^{13}C da cetona α,β -insaturada **23a**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

A caracterização dos produtos de Knoevenagel (**23b-e**) também foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho, apresentando as principais absorções mostradas na Tabela 4. Todos os compostos **23b-e** evidenciaram um estiramento assimétrico associado ao grupo éster ($\text{C}=\text{O}$) presente como banda forte próxima a 1727 cm^{-1} ; cabe notar que esta banda apareceu em uma frequência mais baixa do esperado devido à conjugação existente com o grupo olefina. A banda referente a ligação $\text{C}=\text{C}$ da olefina está próxima a 1641 cm^{-1} , já a banda do estiramento da ligação $\text{C}-\text{O}$ surge em 1015 cm^{-1} , enquanto os estiramentos associados ao anel aromático $\text{C}=\text{C}$ se apresentam com duas absorções em 1575 e 1508 cm^{-1} , aproximadamente.

Tabela 4. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos **23b-d**.

Compostos	Bande de estiramentos (cm^{-1})				
	$\text{C}=\text{O}$	$\text{C}=\text{C}$ Olefina	$\text{C}-\text{O}$	$\text{C}=\text{C}$ Aromáticos	Substituinte
23b (R= 4-OH)	1727	1641	1015	1570; 1519	(OH) 3321
23c (R= 3,4,5-OMe)	1724	1690	1117	1587; 1510	(C-O) 1237
23d (R= 3-OMe, 4-OH)	1724	1647	1015	1578; 1510	(OH e C-O) 3398 e 1271

A Figura 19 é referente ao espectro no infravermelho do composto (**23b**) (R = 4-OH), no qual foram observadas as absorções específicas dos grupos que compõe a estrutura do composto. Além das representadas na Tabela 4 aparecem uma banda em 3321 cm^{-1} atribuídas a hidroxila (OH). A banda de dobramento fora do plano C-H observada em 793 cm^{-1} conferiram a *para*-dissubstituição do anel aromático.

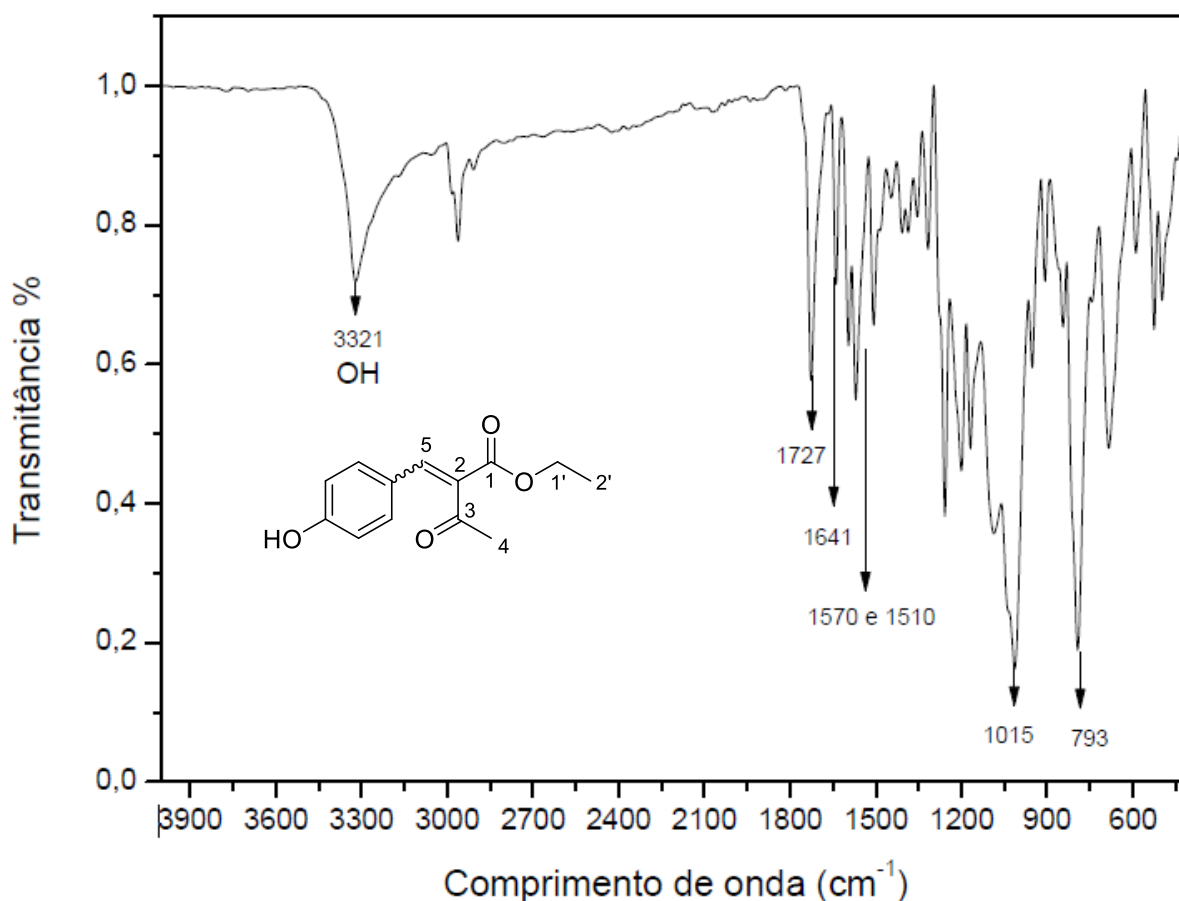


Figura 19. Espectro de absorção na região do infravermelho do compostos **23b**.

Quando analisou-se o espectro de RMN de ^1H do composto **23b** (Figura 20), pode-se observar a presença dos isômeros *E* e *Z* pelos sinais duplicados para todos os hidrogênios por meio dos sinais dos hidrogênios olefínicos H5, um surgido em $\delta = 7,49$, e outro próximo a ele e menos intenso, em $\delta = 7,59$ ppm, relativo ao seu isômero. Pelas integrações destes sinais foi possível determinar a proporção de um isômero em relação a outro (1:4).

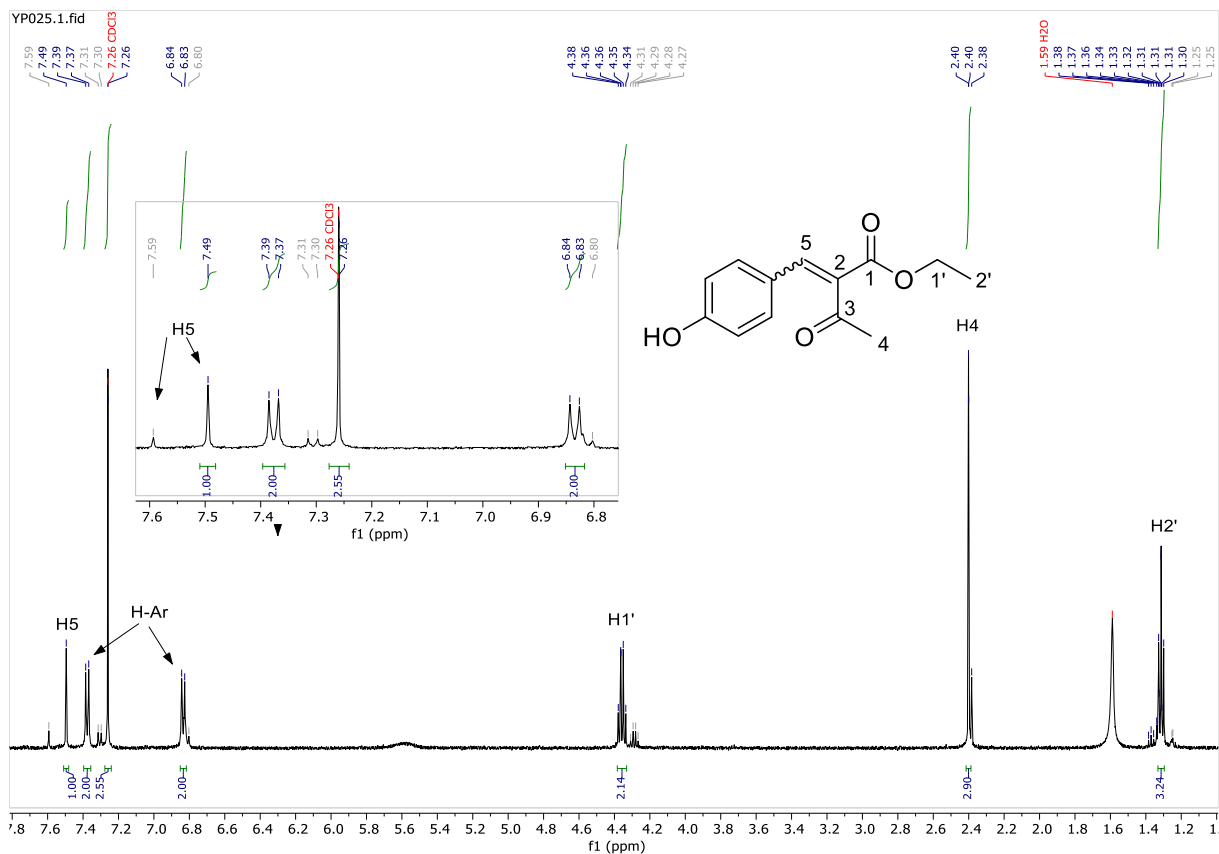


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H da cetona α,β -insaturada **23b**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **23b** estão descritos na Tabela 5. Os demais espectros destes compostos encontram-se no Anexo desta dissertação. Deve-se salientar que os sinais dos isômeros *E/Z* não puderam ser atribuídos separadamente por meio destas técnicas.

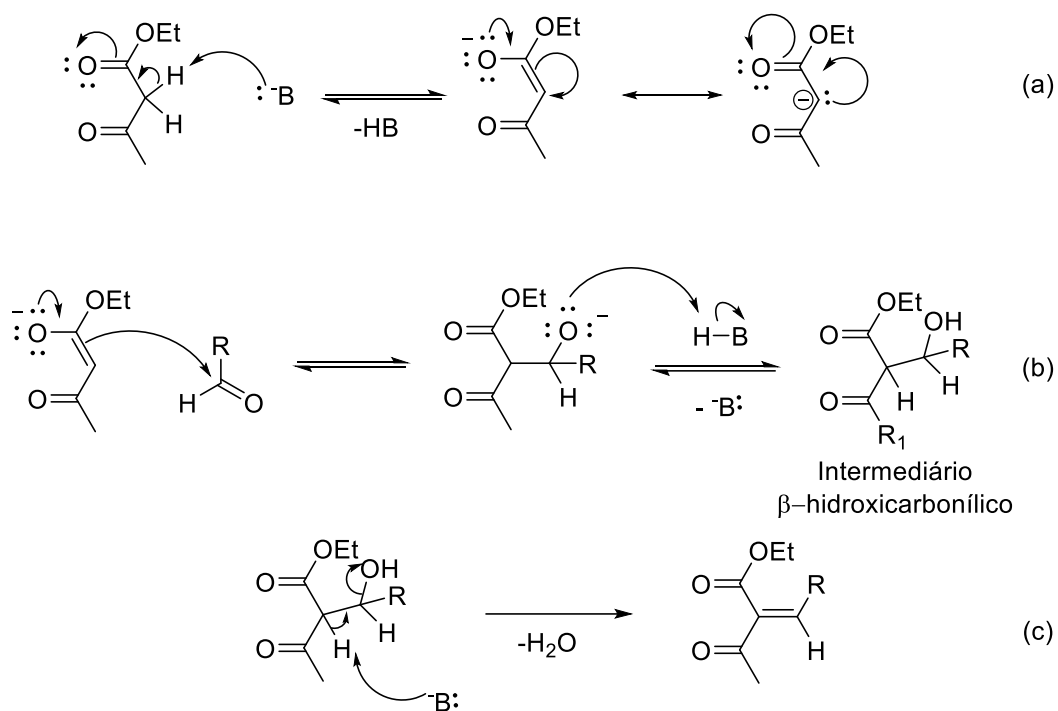
Tabela 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **23a-e**.

Compostos	Dados de RMN
23a	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,66 (s, 1H, H5); 7,42-7,32 (m, 5H, H-Ar); 4,29 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, O-CH ₂); 2,34 (s, 3H, H4) 1,32 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, O-CH ₂ CH ₃) RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 203,4 (C3); 164,4 (C1); 140,5 (C5); 134,1 (C-Ar); 132,9 (C-Ar); 130,9 (C-Ar), 130,4 (C-Ar); 192,6 (C-Ar); 128,9 (C-Ar); 61,5 (C, O-CH ₂ -); 31,21 (C4), 14,15 (C, O-CH ₂ CH ₃).
23b	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,49 (s, 1H, H5); 7,38 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 6,83 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H-Ar); 5,60 (s, 1H, OH); 4,36 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H, O-CH ₂ -); 2,40 (s, 3H, H4); 1,31 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, O-CH ₂ CH ₃).
23c	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,47 (s, 1H, H5); 6,73 (s, 2H, H-Ar); 4,35 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, O-CH ₂ -); 3,88 (s, 3H, 4-OMe); 3,84 (s, 6H, 3,5-diOMe); 2,41 (s, 3H, H4); 1,30 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, O-CH ₂ CH ₃). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 194,6 (C3); 168,2 (C1); 153,4 (C-Ar); 143,75 (C5); 134,0 (C-Ar); 131,0 (C5); 128,3 (C-Ar); 107,13 (C-Ar); 61,9 (C, O-CH ₂ -), 61,1 (C-OMe); 56,2 (C-OMe); 26,6 (C4); 14,1 (C, O-CH ₂ CH ₃).
23d	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,48 (s, 1H, H5); 7,06-7,02 (m, 2H, H-Ar); 6,92 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H-Ar); 6,06 (s, 1H, OH); 4,36 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, O-CH ₂ -); 3,89 (s, 3H, 3-OMe); 2,40 (s, 3H, H4); 1,32 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, O-CH ₂ CH ₃) RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 194,7 (C3); 168,4 (C1); 151,7 (C-Ar); 146,6 (C5); 141,4 (C-Ar); 128,8 (C-Ar); 125,1 (C-Ar); 114,8 (C-Ar); 111,4 (C-Ar); 61,7 (C, O-CH ₂ -); 55,9 (OMe); 26,4 (C4); 14,1 (C, O-CH ₂ CH ₃).
23e	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,59 (s, 1H, H5); 7,37 (d, $J = 7,5$ Hz, 4H, H-Ar); 4,36 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H, O-CH ₂ -); 2,40 (s, 3H, H4); 1,32 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, O-CH ₂ CH ₃). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 203,2 (C3); 167,7 (C1); 139,8 (C5); 136,8 (C-Ar); 134,9 (C-Ar); 130,7 (C-Ar); 129,1 (C-Ar); 61,9 (C, O-CH ₂ -); 26,6 (C4); 14,1 (C, O-CH ₂ CH ₃).

3.2.3 Propostas mecanísticas da condensação de Knoevenagel

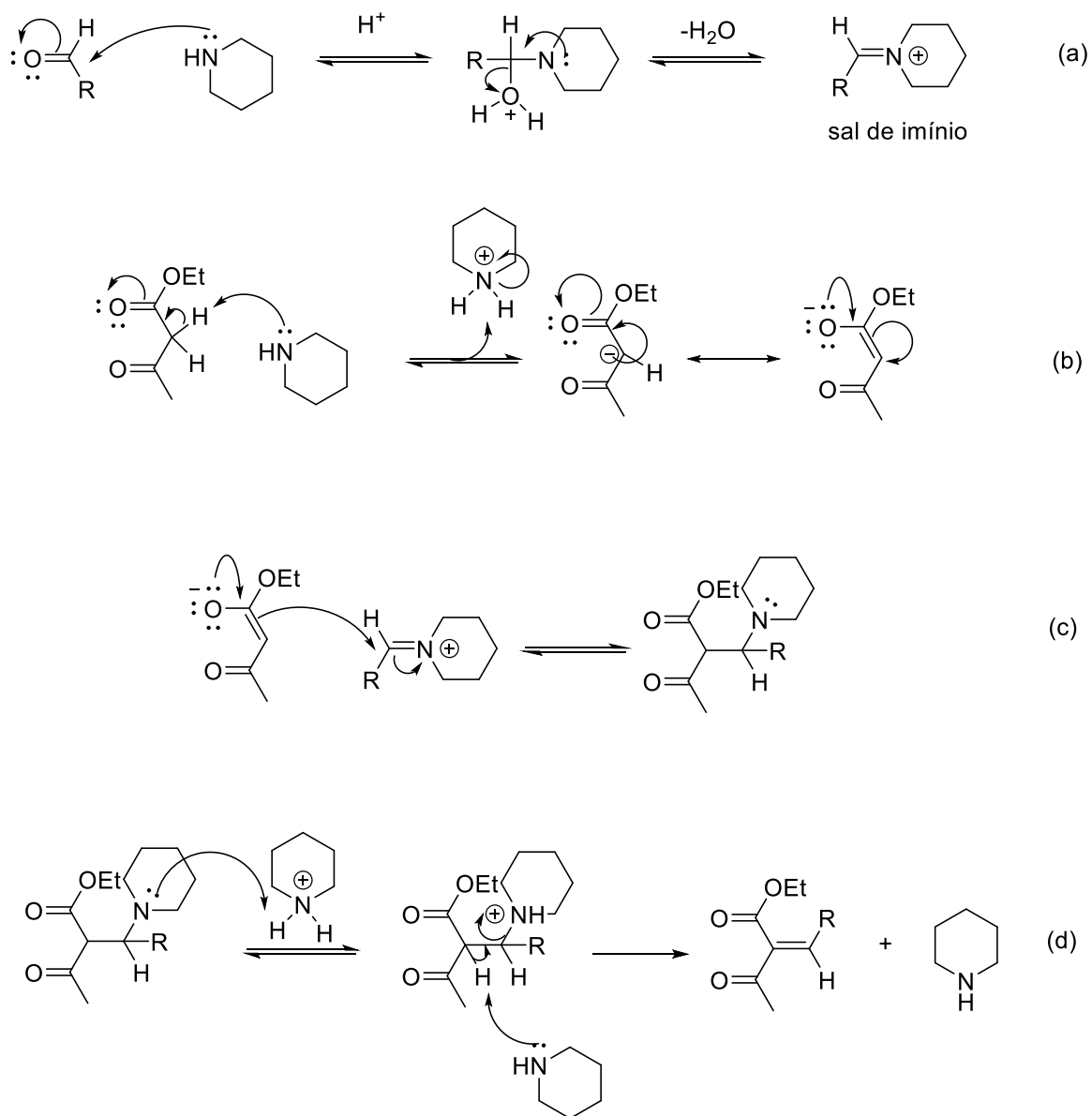
A reação de Knoevenagel pertence à classe geral das condensações do tipo aldólicas, catalisadas por bases. Existem duas principais propostas de mecanismos:⁶⁶ A primeira quando aminas terciárias ou outras bases são usadas como catalisadores, espera-se a formação de um intermediário β -hidroxidicarbonílico, o qual sofre desidratação para se obter o produto esperado (Esquema 12). De acordo com este mecanismo, a reação ocorre em três etapas: Inicialmente há uma desprotonação do carbono metilênico (a), seguida da adição do

carbânion gerado ao composto carbonílico (b) e, por último, ocorre a eliminação de água a partir do intermediário aldólico (c).⁶⁷



Esquema 12. Proposta mecanística para reação de Knoevenagel via catálise por base.

Na segunda proposta, quando o catalisador utilizado é uma amina secundária, tal como a piperidina (Esquema 13), A formação do enolato (b), o catalisador atua também como nucleófilo sobre o composto carbonílico, levando a formação do intermediário imínio (a). O qual será atacado pelo enolato e, finalmente, uma eliminação do tipo 1,2 dá origem ao dicarbonílico α,β -insaturado desejado (c).^{66,68}



Esquema 13. Mecanismo da condensação de Knoevenagel via catálise por amina secundária.

3.3 1-Fenilpirazóis (30a-e e 31a-e) e 1-fenilpirazolina

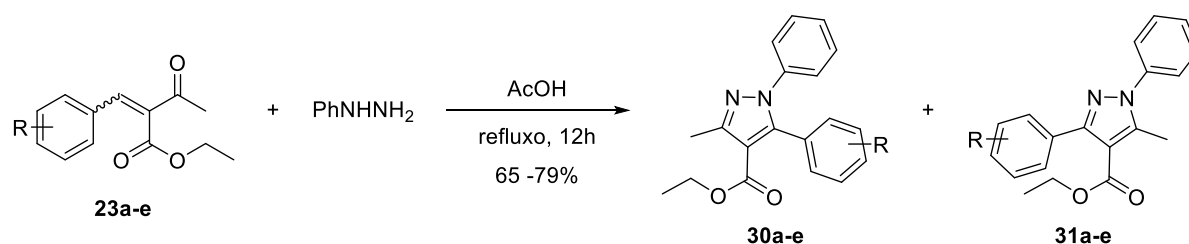
3.3.1 Síntese

De posse dos produtos de Knoevenagel **23a-e**, esses foram submetidos à reação de adição/eliminação nucleofílica com fenilhidrazina (Esquema 14).

Visando obter somente o produto pirazólico de interesse, foi aplicada uma terceira metodologia onde utilizou-se AcOH glacial, sem adição de solventes. Chegou-se a essa metodologia por meio de pesquisa na literatura⁶⁹⁻⁷⁹ e foi verificado que as melhores condições utilizavam concentrações diferentes de ácido acético e o próprio ácido acético puro. Neste sentido, foi lançada a reação, que foi deixada sob refluxo e acompanhada por CCD até ser completada. Após o término da reação foi observado apenas uma mancha na CCD e confirmado por RMN como sendo a mistura regioisomérica dos pirazóis **30a** e **31a**.

Portanto, pelo fato desta metodologia ter sido mais eficiente dentre as outras, para obter o pirazol, uma vez que não se observou a presença da pirazolina, ela foi aplicada para a obtenção de uma série de pirazóis a partir de produtos de Knoevenagel com diferentes substituintes no anel aromático, os quais foram obtidos em rendimentos de 65 a 79%, conforme apresentados na Tabela 2 a seguir. A mistura de isômeros dos pirazóis **30a-e** e **31a-e** sempre estava presente. Os rendimentos são referentes a mistura dos isômeros, pois a separação não foi realizada por apresentarem *Rfs* próximos, o que indica uma purificação pouco eficiente.

Tabela 6. Metodologia empregada para a síntese dos 1-fenilpirazóis.



Precursor	R	Produtos	Rendimento	Proporção
23a	H	30a e 31a	77%	1:0,9
23b	4-OH	30b e 31b	79%	1:1
23c	3,4,5-OMe	30c e 31c	75%	1:0,3
23d	3-OMe, 4-OH	30d e 31d	68%	1:2,5
23e	4-Cl	30e e 31e	65%	*

* Espectro não obtido.

3.3.2 Caracterização

A análise do espectro de RMN de ¹H de **32a**, utilizando a metodologia III: AcOH puro (Figura 22) nos permitiu observar que o produto era de fato uma pirazolina. A principal diferença deste núcleo comparado ao pirazol é a ausência de aromaticidade. Os sinais que

descrevem a formação deste composto são os hidrogênios do anel heterocíclico, sendo esperado o aparecimento de dois dupletos referentes aos hidrogênios H4 e H5.

Como esperado, neste espectro pode-se observar um duplete referente ao H5 em $\delta = 5,40$ ppm e duplo duplete (*dd*) largo em $\delta = 3,78$ ppm cada um deles integrados para 1 hidrogênio, o que indica que houve um acoplamento entre os hidrogênios H4 do anel heterocíclico e os hidrogênios da metila H6. E os Hidrogênios Aromáticos foram identificados na faixa de $\delta = 6,78$ a 7,34 ppm descritos detalhada mente na tabela 7.

Tabela 7. Dados do espectro de RMN de ^1H do composto (**32a**), 500 MHz, CDCl_3 .

Atribuições	Integral	δ (ppm)	M	J (Hz)
H2'	3	1,32	<i>t</i>	7,2
H6	3	2,14	<i>d</i>	1,3
H4	1	3,78	<i>dd</i>	8,9 e 1,3
H1	2	4,27	<i>dd</i>	17,5 e 7,1
H5	1	5,40	<i>d</i>	8,8
	1	6,78	<i>t</i>	7,3
H-Ar	2	6,98-9,92	<i>m</i>	----
	2	7,15	<i>dd</i>	8,8 e 7,3
	5	7,34	<i>d</i>	3,8

Pelas constantes de acoplamentos dos hidrogênios H4 e H5 foi possível determinar a configurações que estão os hidrogênios, após uma busca pela literatura, os hidrogênios configurados em *cis* entre si apresentam uma constante de acoplamento de 2,7-10 Hz e os *trans* de 10-15 Hz.⁸¹ O *J* encontrado para o acoplamento do H4 para o composto **32a** foi de 8,8 Hz, o que indica que esses hidrogênios são *cis* entre si. Já o duplete largo observado em $\delta = 3,78$ ppm indica que a estrutura está na configuração proposta para o isômero **32a** (3-metil-1,5-difenil-3,4-diidropirazol). Além disso, em $\delta = 2,14$ ppm é observado um duplete com constante de acoplamento $^4J_{\text{H}_6, \text{H}_4} = 1,3$ Hz, o que confirma que houve uma interação entres os hidrogênios H4 do anel heterocíclico como os hidrogênios da metila H6.

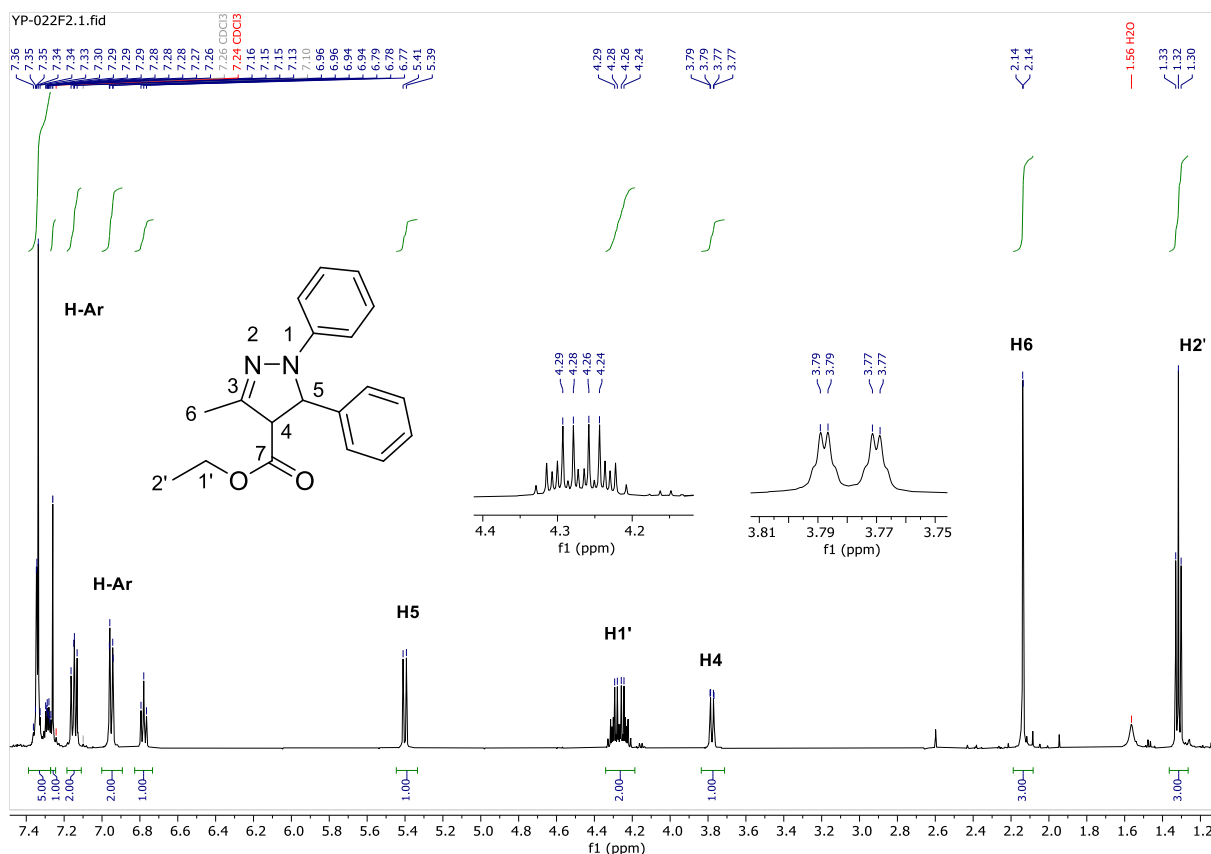


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H da pirazolina **32a**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 23) foram observados 15 sinais referentes aos deslocamentos químicos de todos os tipos de carbonos presentes na estrutura. Em $\delta = 14,3$ e $15,1$ ppm, estão os sinais referentes às duas metilas $\text{C}2'$ e $\text{C}6$, respectivamente. Os dois sinais dos carbonos sp^3 do anel pirazolínico foram encontrados em $\delta = 61,9$ ppm, referente ao $\text{C}4$, ligado ao grupo éster, e em $\delta = 65,1$ ppm, relativo ao $\text{C}5$, ligado ao grupo fenila. Já em $\delta = 67,9$ ppm foi possível visualizar o sinal referente ao $\text{C}1'$ do grupo éster. Na região de $\delta = 113,7$ a $143,6$ ppm estão os carbonos aromáticos e um sinal em $\delta = 145,4$ ppm, referente ao carbono sp^2 , $\text{C}3$, ligado ao nitrogênio, e em $\delta = 168,9$ ppm referente a carbonila, $\text{C}7$, da função éster.

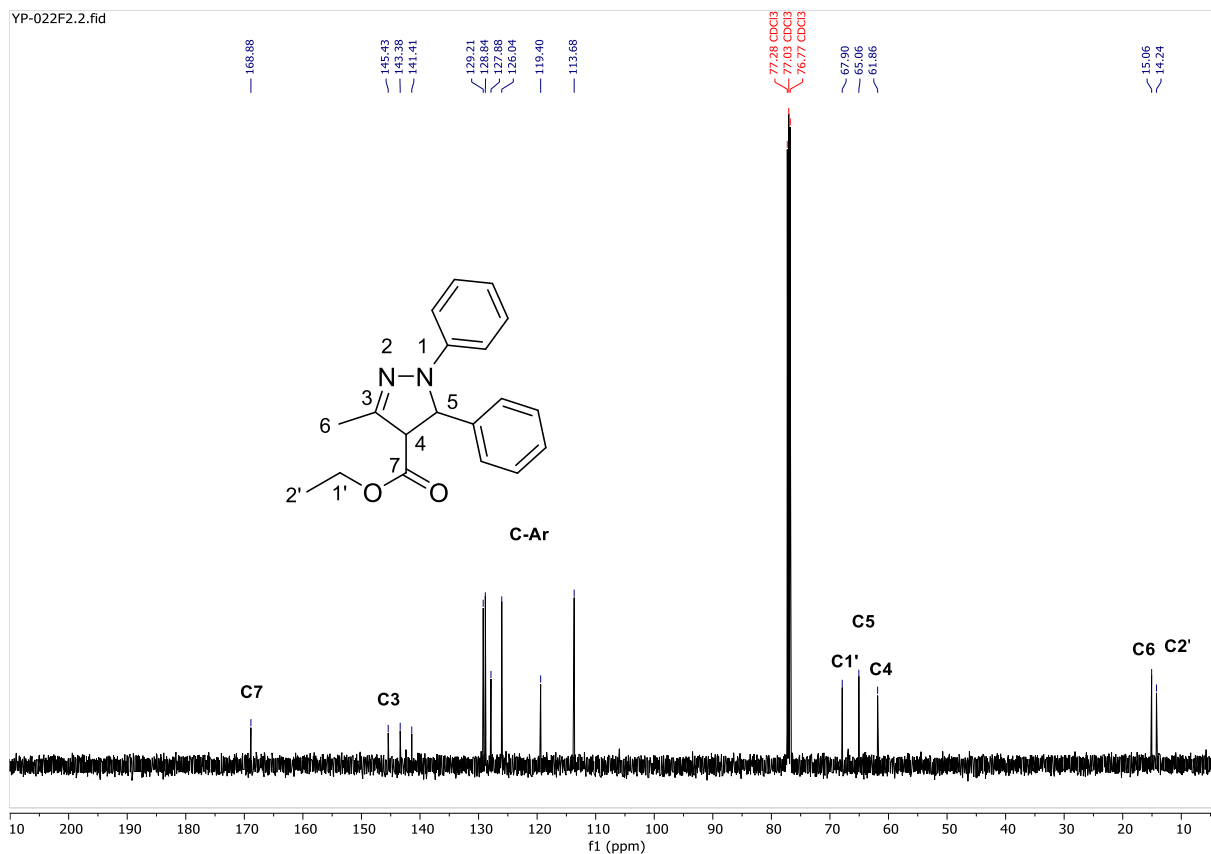


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C da pirazolina **32a**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

A caracterização da pirazolina (**32a**) obtida também foi realizada com ajuda da espectroscopia na região do infravermelho (IV). O espectro no IV do composto **32a** ($\text{R} = \text{H}$) (Figura 24) apresentou bandas que confirmam a formação do composto de interesse, pois as bandas de estiramento relacionadas com a formação do anel da pirazolina foram identificadas em 1690 cm^{-1} , referente à imina ($\text{C}=\text{N}$), e a banda em 1177 cm^{-1} , referente à ligação $\text{C}-\text{N}$. As ligações de carbonos aromáticos ($\text{C}=\text{C}$) geraram duas bandas de estiramento em 1596 e 1493 cm^{-1} ; a banda de estiramento 1732 cm^{-1} é referente a ligação ($\text{C}=\text{O}$) do éster que permanece na estrutura, e a ligação ($\text{C}-\text{O}$) é conferida pela banda de estiramento em 1023 cm^{-1} . Finalmente, as absorções para deformação angular das ligações $\text{C}-\text{H}$ dos anéis aromáticos levaram a duas bandas fora do plano em 852 e 767 cm^{-1} .

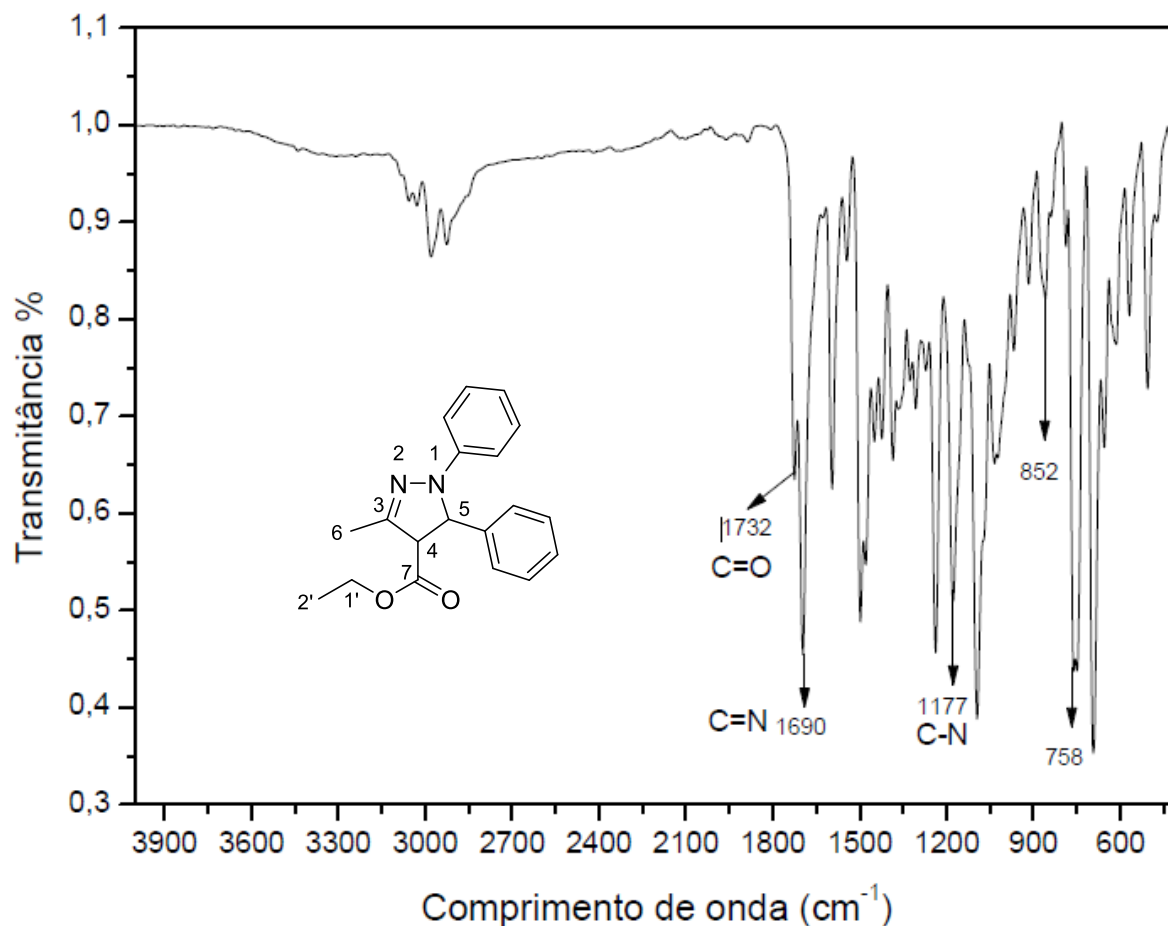


Figura 24. Espectro de absorção na região do infravermelho do composto **32a**.

Com relação aos pirazóis **30a** e **31a** (Figura 25), as suas estruturas puderam ser confirmadas pelos seus espectros de RMN de ¹H e ¹³C (Figuras 28 e 29). Pode-se encontrar a proporção de 1:0,9. entre eles pela integração dos hidrogênios metílicos no seu espectro de RMN de ¹H.

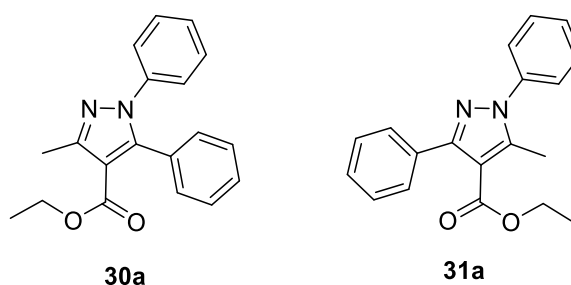


Figura 25. Representação dos isômeros formados nesta reação.

Pela análise do espectro de RMN de ¹H (Figura 26), pode-se observar que os pirazóis foram totalmente separados por cromatografia da pirazolina, pois os dois dupletos que caracterizam a pirazolina não foram identificados. Com os sinais estão duplicados e de acordo com as estruturas dos pirazóis **30a** e **31a**, na proporção de 1:0,9, embora não foi possível

distingui-los por esta técnica em particular neste momento, o que será discutido mais à frente. Os sinais atribuídos aos pirazóis estão descritos na tabela 8.

Tabela 8. Dados do espectro de RMN de ^1H do composto (**30a** e **31a**), 500 MHz, CDCl_3 .

Atribuições	Integral	δ (ppm)	M	J (Hz)
H2'	3	1,13 e 1,22	<i>t</i>	7,1
H6	2	2,59	<i>d</i>	1,3
H1'	2	4,15 e 4,24	<i>q</i>	7,1
H-Ar	10	7,17 a 7,67	<i>m</i>	----

Para o hidrogênio H6, num primeiro momento, observou-se um duplete em $\delta = 2,59$ ppm integrado para 6 hidrogênios, porém percebeu-se, que o espectro se trata de uma mistura de regioisômeros, este sinal corresponde aos dois simpletos referentes ao grupo metila ligado ao núcleo pirazolínico. Na região de campo baixo do espectro, $\delta = 7,67$ - $7,17$ ppm, identificamos os sinais de hidrogênios aromático para uma das estruturas obtidas, contabilizando 10 hidrogênios, os outros sinais para a segunda estrutura está entre os multipletos formados, não sendo possível atribuir os sinais respectivos.

No espectro foi observado alguns sinais que não foram identificados e estes aparecem no deslocamento químico de $\delta = 4,37$ ppm, $J = 7,2$ Hz, um quarteto, $\delta = 1,37$ ppm, $J = 7,1$ Hz sendo um tripleto, um duplo duplete em $\delta = 7,53$ ppm, $J = 5,8$ e $3,2$ Hz., e por último outro duplo duplete em $\delta = 7,72$ ppm, $J = 5,7$ e $3,3$ Hz.

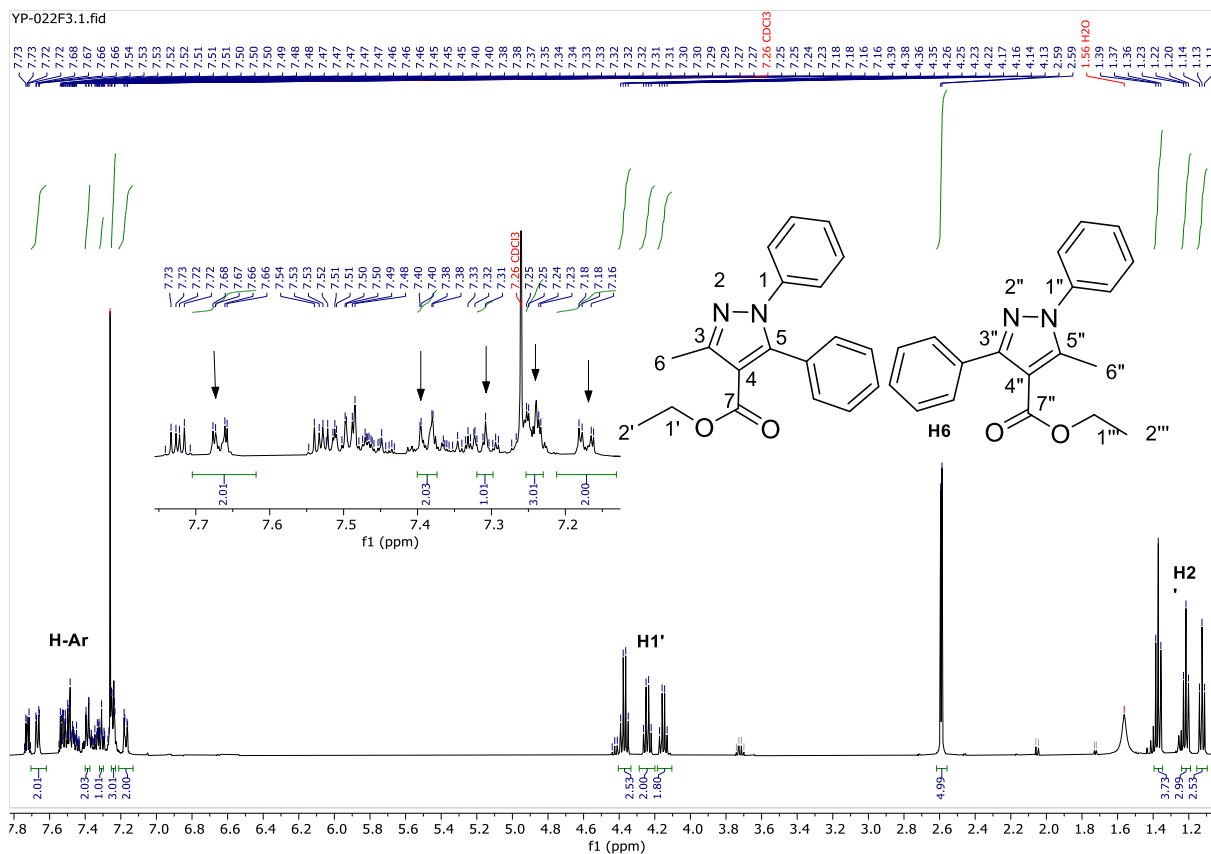


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H dos pirazóis **30a** e **31a**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

Quando analisou-se os espectros de RMN de ^{13}C (Figura 27) desta fração obtida, pode-se confirmar a formação das duas estruturas propostas, uma vez que o espectro apresentou os sinais duplicados para os carbonos também, totalizando 19 sinais para os carbonos aromáticos, 6 carbonos alifáticos e 2 carbonos carbonílicos para as duas estruturas. Na região de campo alto do espectro temos os sinais referente ao carbonos alifáticos, em $\delta = 13,98$ a $14,28$, apresentando quatro sinais, que correspondem as metilas $\text{C}2'$, $\text{C}2''$, $\text{C}6$ e $\text{C}6'$ para as duas estruturas, em $\delta = 59,81$ e $60,03$ ppm, são referentes aos carbonos do grupo éster, $\text{C}1'$ e $\text{C}1''$. Já na região dos carbonos aromáticos, o sinal em $\delta = 110,61$ ppm é referente ao $\text{C}4$, do anel heterocíclico. Os outros carbonos do heterocíclico aparecem em: $\text{C}3$, $\delta = 150,63$ ppm e $\text{C}3''$, $\delta = 139,18$ ppm; $\text{C}5$, $\delta = 144,81$ ppm e $\text{C}5''$, $\delta = 146,56$ ppm. Já a carbonila dos grupos éster, $\text{C}7$ e $\text{C}7''$, aparecem em $\delta = 163,87$ e $164,23$ ppm, respectivamente. Os demais sinais que aparecem no espectro são devido ao solvente residual da reação.

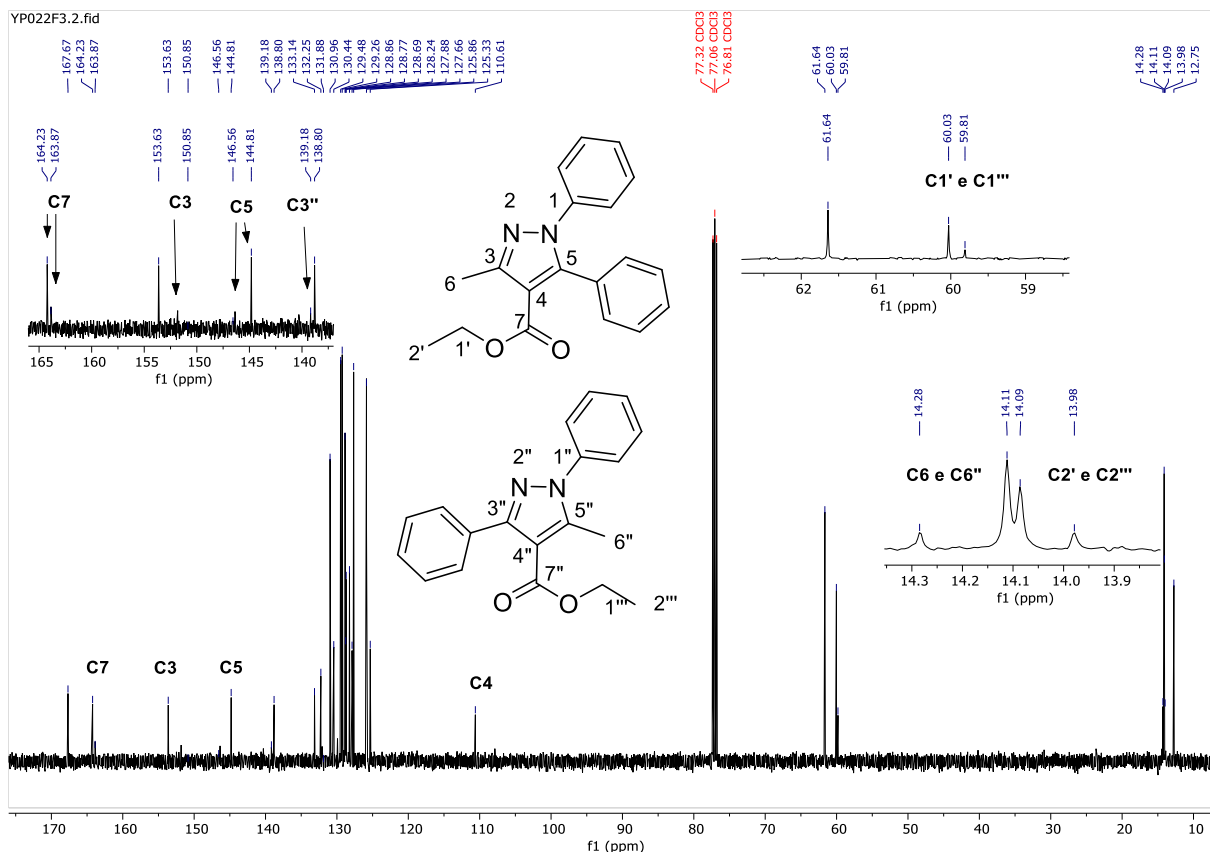


Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C dos pirazóis **30a** e **31a**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

Além dos sinais destes pirazóis, nota-se a presença sinais pouco intenso não esperados, como um quarteto e um tripleto que foram observados em alguns espectros. Estes sinais são referentes aos possíveis rotâmeros das suas estruturas. Segundo a IUPAC, moléculas que possuam rotação restrita em uma única ligação e levam a estados distintos de conformação são chamados de rotâmeros. Deste modo, moléculas que possuem sistema carbonílico α,β -insaturados, como exemplo da estrutura do compostos **30a** e **31a** podem ser chamadas de rotâmeros que apresentam duas conformações de mínima energia, *s-trans* e *s-cis* (Figura 28),⁸² o que explicaria o aparecimentos dos sinais duplicados de quarteto e tripleto.

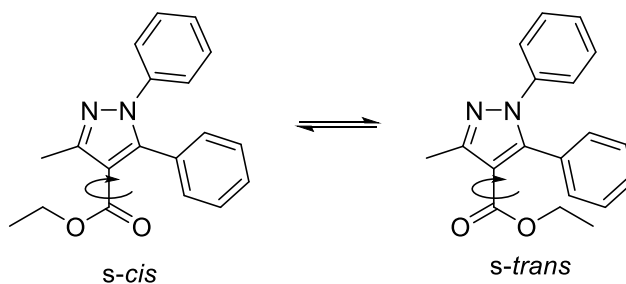


Figura 28. Confôrmeros dos 1-fenilpirazóis preparados.

Ainda para a confirmação da formação dos produtos formados, foi feita a análise dos seus espectros no IV (Tabela 7), onde pudemos observar que a banda de C=O do éster aparece em um comprimento de onda mais baixo do esperado. Isso se dá ao fato da introdução de uma ligação C=C do anel pirazólico adjacente ao grupo carbonila do éster, portanto este fato resulta num deslocamento de elétrons π da ligação C=O e C=C. Essa conjugação aumenta o caráter de ligação σ das ligações C=O e C=C no seu híbrido de ressonância e, assim, diminui suas constantes de força resultando na diminuição das frequências de absorções da carbonila e da ligação dupla.

Tabela 9. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos **30a** e **30b**.

Compostos	Banda de estiramentos cm^{-1}					Substituinte
	C=O	C=N	C=C pirazol	C-N	C-O	
30a (R= H)	1706	1596	1519	1254	1057	
30b (R= 4-OH)	1698	1604	1519	1245	1100	(OH) 3090

Ainda para ilustrar a formação de dois pirazóis, discutimos a seguir os espectros de RMN de ^1H (Figuras 29 e 30) e de ^{13}C (Figura 31) para a síntese do pirazol **29b**, onde foi observada a formação **30b** na proporção de 3:1, respectivamente.

Na análise do espectro de seu RMN de ^1H (Figura 30), pudemos observar os sinais do grupo éster, um tripleto em $\delta = 1,21$ ppm integrado para 3 hidrogênios referente ao H2', um quarteto em $\delta = 4,20$ ppm integrados para 2 hidrogênio referentes ao H1'. Observamos também um simpleto em $\delta = 2,56$ ppm, integrado para 3 hidrogênios e referentes ao grupo metila que está ligado ao núcleo pirazolínico, H6, e um simpleto largo em $\delta = 2,05$ ppm integrado para 1 hidrogênio referente ao hidrogênio da hidroxila. Na região de campo baixo do espectro, foram evidenciados os sinais dos hidrogênios aromáticos: dois dupletos um em $\delta = 6,67$ ppm e o outro em $\delta = 7,04$ ppm, ambos integrado para 2 hidrogênios, estes sinais são referentes aos hidrogênios do anel aromático substituído na posição *para*; um duplo duplete em $\delta = 7,15$ ppm, integrado pra 2 hidrogênio e um multiplete na faixa de $\delta = 7,25-7,22$ ppm integrado para 2 e um multiplete em $\delta = 7,48-7,44$ ppm, integrado para 1 hidrogênio, totalizando 9 hidrogênios aromáticos.

No espectro também foi possível identificar os sinais dos rotâmeros, porém neste caso aparecem bem menos intensos.

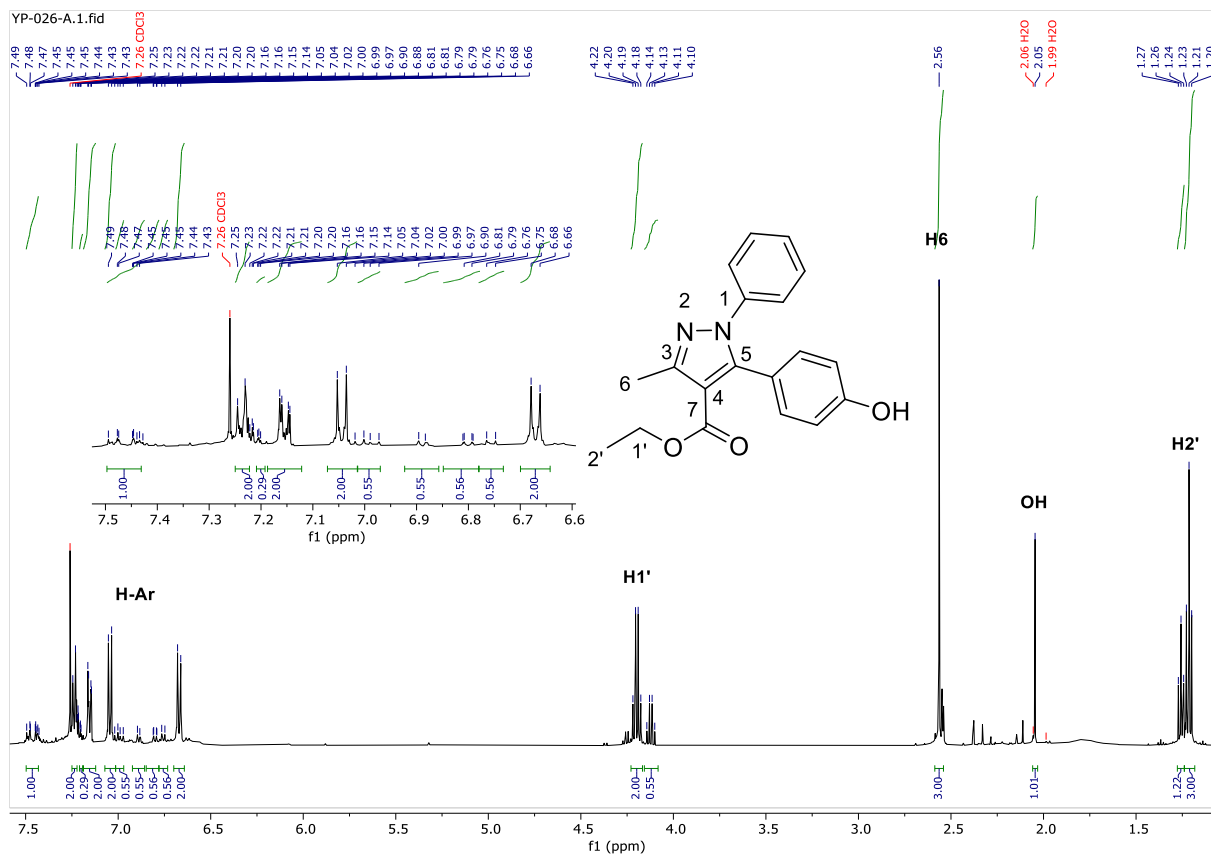


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H do pirazol **30b**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

Embora os sinais apareçam pouco intensos, a integração ajudou a confirmar a outra estrutura formada. Na expansão na região dos aromáticos (Figura 30) observamos sinais 9 sinais de hidrogênios referentes a estrutura do pirazol **30b**.

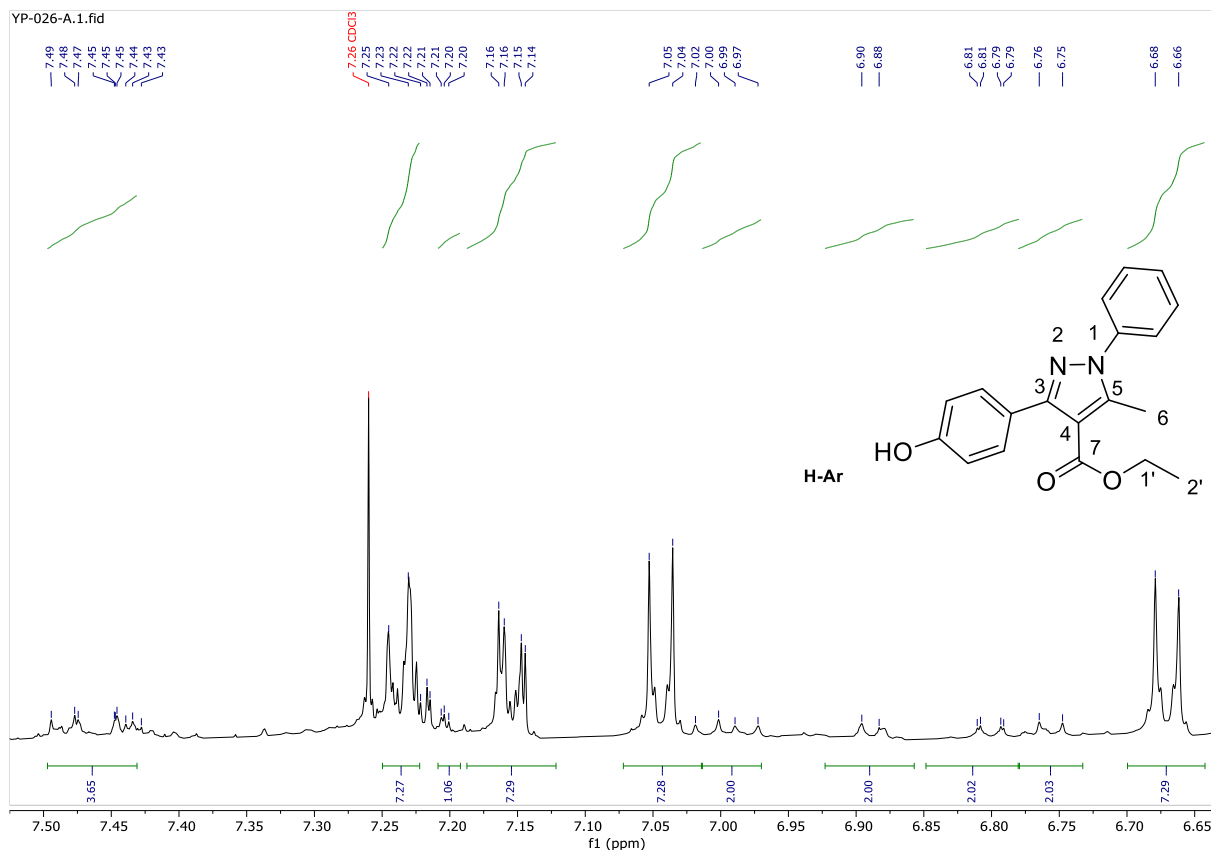


Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^1H do pirazol **30b**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

Já no seu espectro de RMN de ^{13}C (Figura 31) foram observados 13 sinais com diferentes deslocamentos químicos correspondentes a todos os tipos de carbonos presentes na estrutura, a saber: $\delta = 14,24$ e $14,59$ ppm, referentes às duas metilas, C2' e C6, respectivamente. Em $\delta = 60,1$ ppm, referente ao carbono de C1' do grupo éster. Os carbonos do anel heterocíclico, C4, C5 e C3 estão na região de $\delta = 111,56$ ppm, $\delta = 146,96$ ppm e $\delta = 151,84$ ppm, respectivamente. Na região de $\delta = 164,55$ ppm encontra-se a carbonila do éster, C7, e os demais sinais são referentes aos carbonos dos anéis aromáticos.

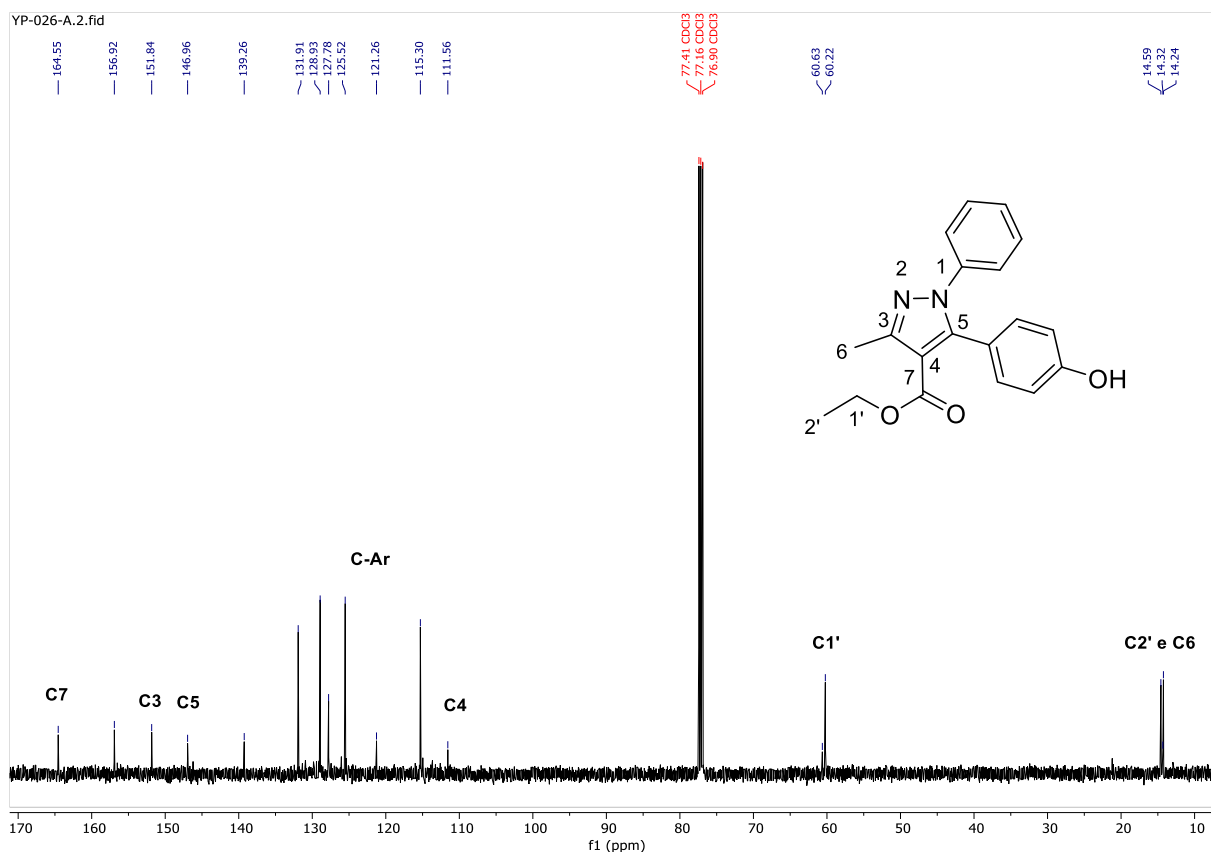


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C do pirazol **30b**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

A fim de elucidar e distinguir as estruturas regioisoméricas, foi realizado um experimento de RMN com a técnica de HMBC (Correlação Heteronuclear à Múltiplas Ligações - *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), o qual correlaciona os deslocamentos químicos de dois tipos de núcleos separados um do outro por duas ou mais ligações químicas (Figura 32). A partir do composto **30c** foi possível comprovar a estrutura do pirazol formado, onde a metila H6 possui acoplamento com os carbonos C3, C4, e C5 do anel heterocíclico. Outra evidência observada foi o acoplamento do hidrogênio aromático do anel trimetoxilado com o carbono C5 do anel pirazolínico, evidenciando assim formação do composto **30b** preferencialmente.

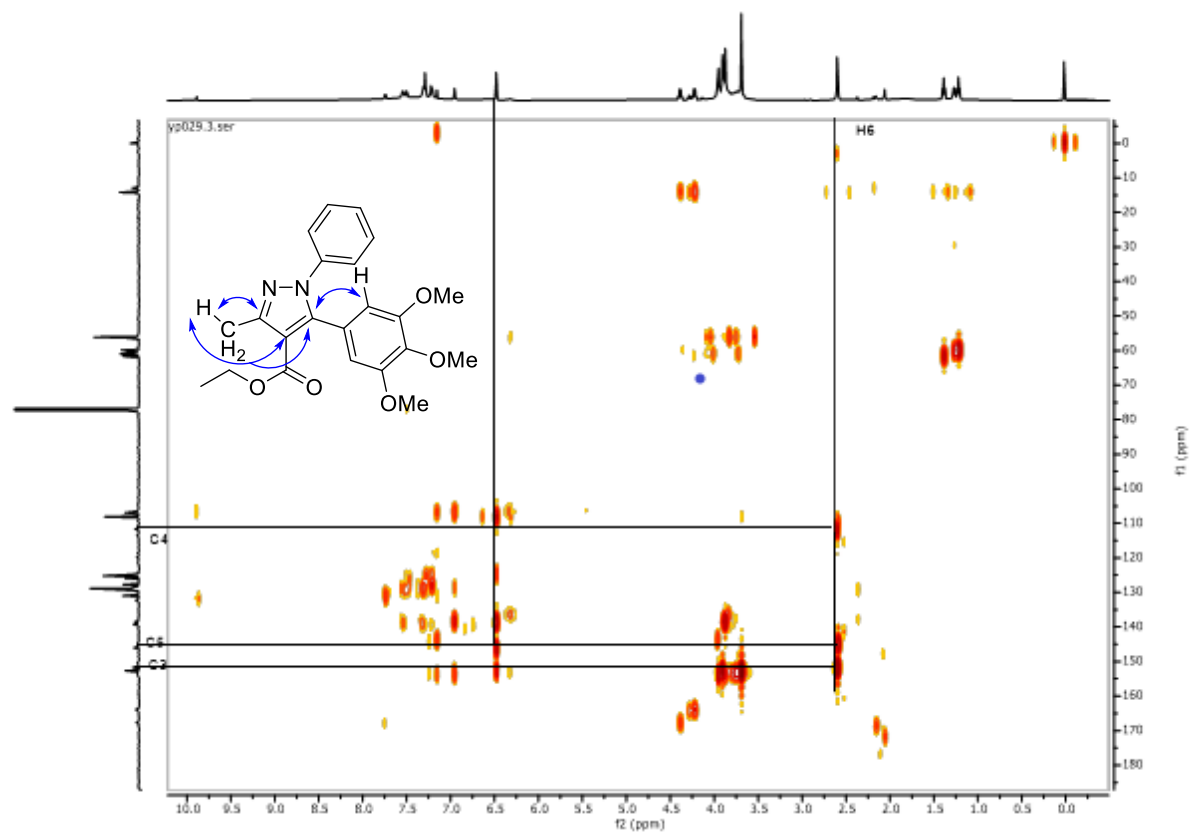


Figura 32. Mapa de contorno de HMBC dos dois produtos formados mostrando acoplamento a longa distância do composto **30c**.

Os respectivos sinais para dos demais compostos preparados nesta parte do trabalho (**30a-e**) se encontram na tabela 9.

Tabela 10. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **30a-e**.

Compostos	Dados de RMN
30a	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,67 (<i>dd</i> , $J = 7,9$ e $1,6$ Hz, 2H, H-Ar); 7,39 (<i>dd</i> , $J = 8,1$ e $0,8$ Hz, 2H, H-Ar); 7,32-7,30 (<i>m</i> , 1H, H-Ar); 7,24 (<i>dd</i> , $J = 8,2$ e $1,4$ Hz, 3H, H-Ar); 7,17 (<i>dd</i> , $J = 8,0$ e $1,8$ Hz, 2H, H-Ar); 4,24 (<i>q</i> , $J = 7,1$ Hz, 2H, H1'); 2,59 (<i>s</i> , 3H, H6) 1,22 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H1'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 164,2 (C7); 150,8 (C3); 144,8 (C5); 153,6 (C-Ar); 133,1 - 125,3 (C-Ar); 110,6 (C4), 60,0 (C1'); 14,1 (C2'); 14,0 (C6).
30b	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,27 (<i>d</i> , $J = 7,4$ Hz, 2H, H-Ar); 7,26 – 7,23 (<i>m</i> , 1H, H-Ar); 7,19 (<i>dd</i> , $J = 8,1$ e $1,7$ Hz, 2H, H-Ar); 7,09 (<i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 6,72 (<i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 6,12 (<i>s</i> , 1H, OH); 4,22 (<i>q</i> , $J = 7,2$ Hz, 2H, H1'); 2,59 (<i>s</i> , 3H, H6); 1,28 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H2'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 164,5 (C7); 156,9 (C-Ar); 151,8 (C3); 146,9 (C5); 139,2 – 115,3 (C-Ar); 111,5 (C4); 60,2 (C1'); 14,6 (C2'); 14,2 (C6).
30c	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 6,45 (<i>s</i> , 2H, H-Ar); 4,36 (<i>q</i> , $J = 7,2$ Hz, 2H, H1'); 3,84 (<i>s</i> , 3H, 4-OMe); 3,66 (<i>s</i> , 6H, 3,5-OMe); 2,57 (<i>s</i> , 3H, H6); 1,36 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H2'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 164,0 (C7); 152,8 (C-Ar); 151,8 (C3); 146,1 (C5); 139,4 – 124,9 (C-Ar); 111,7 (C4); 108,2 (C-Ar); 61,1 (C1'), 58,9 (C-OMe); 56,2 (C-OMe); 14,3 (C2'); 14,2 (C6).
30d	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,31 (<i>s</i> , 1H, H-Ar); 7,27 (<i>d</i> , $J = 5,8$ Hz, 1H, H-Ar); 7,19 (<i>dd</i> , $J = 7,9$ e $1,9$ Hz, 2H, H-Ar); 7,06 (<i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 6,69 (<i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 4,24 (<i>q</i> , $J = 7,1$ Hz, 2H, H1'); 2,61 (<i>s</i> , 3H, H6); 1,31 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H2').
30a	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,36-7,33 (<i>m</i> , 5H, H-Ar); 7,15 (<i>dd</i> , $J = 8,8$ e $1,3$ Hz, 2H, H-Ar); 6,95 (<i>d</i> , $J = 7,7$ Hz, 2H, H-Ar); 6,78 (<i>t</i> , $J = 7,3$ Hz, 1H, H-Ar); 5,40 (<i>d</i> , $J = 8,8$ Hz, 1H, H5); 4,27 (<i>dd</i> , $J = 17,5$ e $7,1$ Hz, 2H, H1'); 3,78 (<i>dd</i> , $J = 8,9$ e $1,3$ Hz, H4); 2,14 (<i>d</i> , $J = 1,3$ Hz, 3H, H6); 1,32 (<i>t</i> , $J = 7,2$ Hz, 3H, H2'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 168,8 (C7); 145,4 (C3); 129,2-113,6 (C-Ar); 67,9 (C1'); 65,0 (C5); 61,8 (C4); 15,0 (C6), 14,2 (C2').

3.3.3 Proposta mecanística

Os precursores sintetizados neste trabalho (**23a-e**), são compostos bastantes atrativos na síntese de compostos heterocíclicos porque suas estruturas possuem três centros eletrofílicos (Figura 33), os quais podem levar a diferentes caminhos de reações, e conseqüentemente, a diferentes produtos.

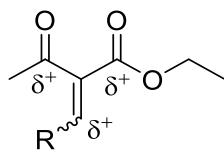
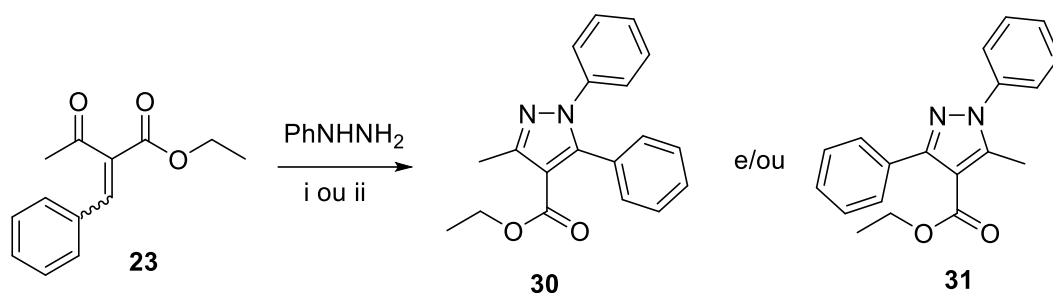


Figura 33. Representação dos centros eletrofílicos presentes na estrutura dos compostos **23a-e**.

Assim, considerando os diferentes centros eletrofílicos presentes nos compostos descritos acima, o estudo da reatividade desses compostos com agentes nucleofílicos foi investigado com a fenilhidrazina durante o desenvolvimento das metodologias utilizadas no trabalho. Verificamos que a reação deveria percorrer diferentes caminhos (Esquema 15), levando à obtenção de, pelo menos dois compostos diferentes, o que foi evidenciado nesta transformação.

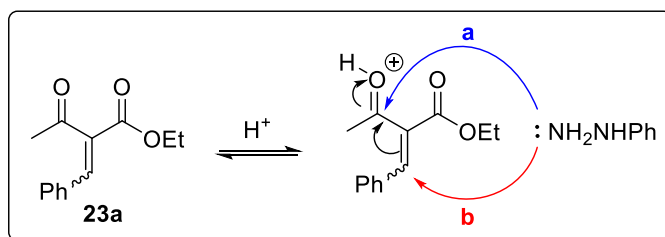


i: AcOH/EtOH 1:1 v/v; iii: AcOH glacial

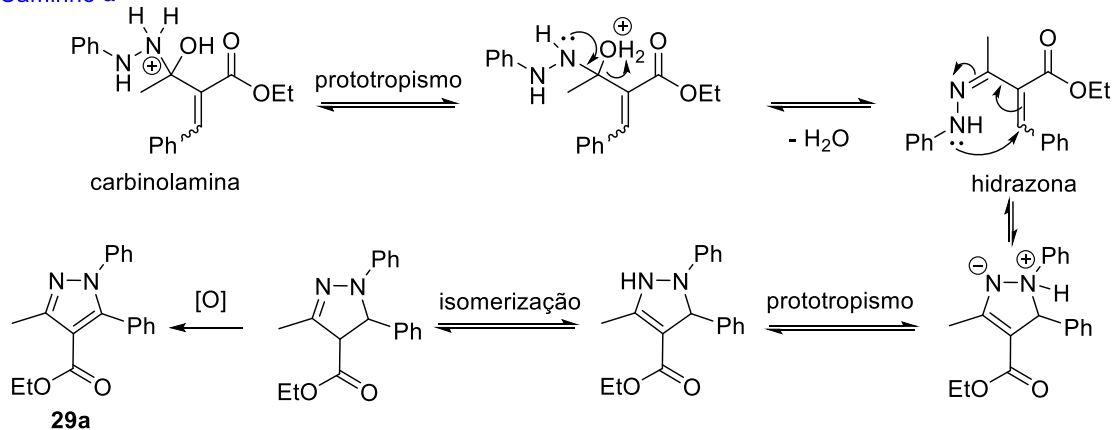
Esquema 15. Representação dos possíveis compostos (**30** e **31**) formados em diferentes condições testadas a partir da reação dos produtos de Knoevenagel **23a-e**.

Para uma melhor compreensão da formação dos produtos desta reação, foram propostos os seguintes mecanismos de reação (Esquema 16). Tanto para obtenção dos pirazóis, quanto das pirazolininas, ambas envolve uma reação de ciclocondensação [3+2] do nucleófilo, no caso fenilhidrazina, com a cetona α,β -insaturada preparada pela condensação de Knoevenagel. Este substrato possui dois carbonos eletrofílicos, o carbonílico e o insaturado na posição β à carbonila, que são passíveis de sofrerem ataque nucleofílico pelo par de elétrons não-ligantes do nitrogênio terminal da hidrazina (adição-1,2 e -1,4, respectivamente). Esta reatividade deve ser aumentada pela presença do ácido acético, o qual deve protonar o oxigênio da carbonila da função cetona, diminuindo a energia do LUMO desta molécula. No **caminho a** a formação do pirazol **30a** pode ser explicada pela reação de adição/eliminação do grupo amino da fenilhidrazina à cetona, levando a formação da hidrazona intermediária. A heterociclicização acontece após um segundo ataque nucleofílico do outro grupo amino ao carbono β da olefina, conduzindo ao anel pirazolinico I. A subsequente aromatização que acontece de forma mais lenta, ocorre na presença de ácido acético e com o oxigênio do ar.

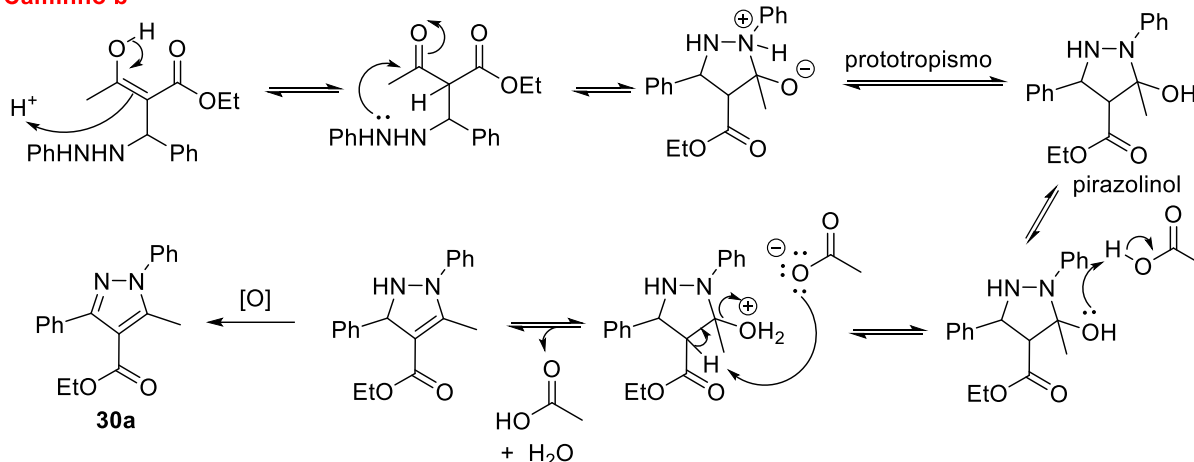
Já pelo **caminho b**, o grupo amino mais reativo da fenilhidrazina ataca inicialmente o carbono β de **23a** levando à formação do intermediário pirazolinol, o qual sofre eliminação de HO^- pela captura do próton ácido pelo íon acetato, formando o pirazol isomérico **31a**. A pirazolina **32a** exemplificada pelo mecanismo do **caminho a** parece ser favorecido pela presença de etanol, embora não tenhamos até o momento uma explicação para este comportamento.



Caminho a



Caminho b

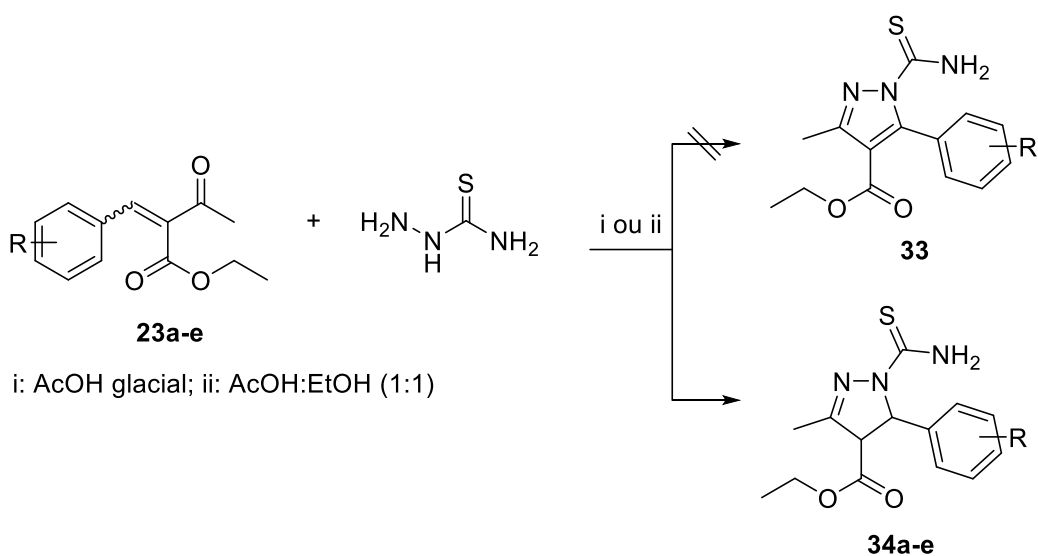


Esquema 16. Proposta de mecanismo para a formação dos isômeros **30a** e **31a**.

3.4 1-Carbamotioilpirazóis

3.4.1 Síntese

Nesta fase do trabalho, realizou-se a reação dos produtos de Knoevenagel (**23a-e**) com a tiossemicarbazida, visando a obtenção de 1-carbamotioilpirazóis (**33**) (Esquema 17) nas mesmas condições anteriores (AcOH glacial puro ou AcOH/EtOH 1:1). A primeira metodologia utilizada para os 1-fenilpirazóis (**30a** e **31a**) usando AcOH 40% não foi investigada nesta etapa do trabalho, pois ela não foi promissora no caso dos 1-fenilpirazóis. Nas tentativas em que se empregou somente o ácido acético, observou-se a formação de vários subprodutos de difícil separação. Porém, já a mistura equimolar de AcOH e etanol, foi observado uma reação mais limpa pela CCD, com *spots* bem homogêneos. Os produtos obtidos se precipitaram em solução e puderam ser separados por filtração ou foram recristalizados como sólidos amarelos.

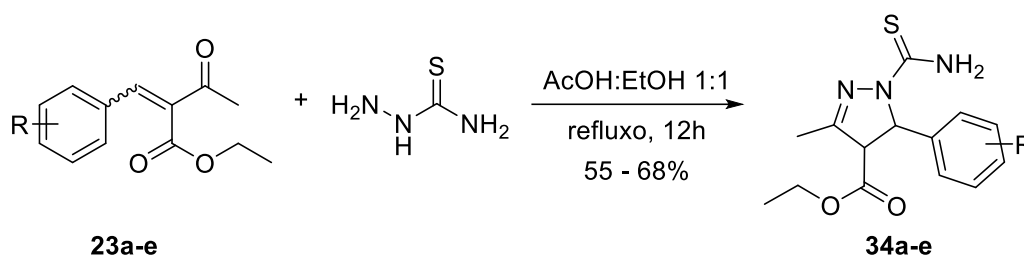


Esquema 17. Tentativa de síntese dos pirazóis **33a-e** e obtenção da pirazolinas **34a,b,d,e**.

Conforme será discutido a seguir, após a caracterização destes produtos, chegamos à conclusão que foram obtidos seus derivados pirazolínicos **34** ao invés dos compostos pirazólicos **33** (Esquema 17), sem a aromatização do anel heterocíclico, as quais são estruturas inéditas na literatura.

Portanto, pela metodologia onde utilizamos EtOH como solvente, este favoreceu a formação somente da pirazolina. Os rendimentos obtidos nas sínteses estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Metodologia empregada para a síntese dos 1-carbamotioilpirazolinas



Precursor	R ₁	Produto	Rendimento
23a	H	34a	61%
23b	4-OH	34b	65%
23d	3-OMe, 4-OH	34d	68%
23e	4-Cl	34e	55%

3.4.2 Caracterização

O composto **34a** foi utilizado para a interpretação dos espectros na região do infravermelho, todas as estruturas apresentaram semelhança nas bandas dos espectros, o que já era esperado. Para o composto em questão foi observado bandas na região 3407 cm^{-1} atribuídas ao NH_2 (Figura 34). A função tiocarbonila ($\text{C}=\text{S}$) foi caracterizada em 870 cm^{-1} com uma intensidade fraca. Já a função éster foi observada em ($\text{C}=\text{O}$) 1724 cm^{-1} e a ligação C-O 1057 cm^{-1} . A banda que caracteriza a função imina ($\text{C}=\text{N}$) foi confirmada em 1596 cm^{-1} com forte intensidade, e a banda que caracteriza a ligação C-N foi encontrada em 1280 cm^{-1} . Não foi observado a banda que caracteriza a ligação $\text{C}=\text{C}$ do anel heterocíclico, a ausência desta pode ser confirmada por ter sido observado uma diminuição na absorção do grupo carbonila do grupo éster, que aparece na região esperada. Caso existisse esta ligação adjacente a carbonila, deveria surgir um comprimento de onda menor, como observado nos pirazóis **30a-e**, devido à conjugação das ligações $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{C}$.

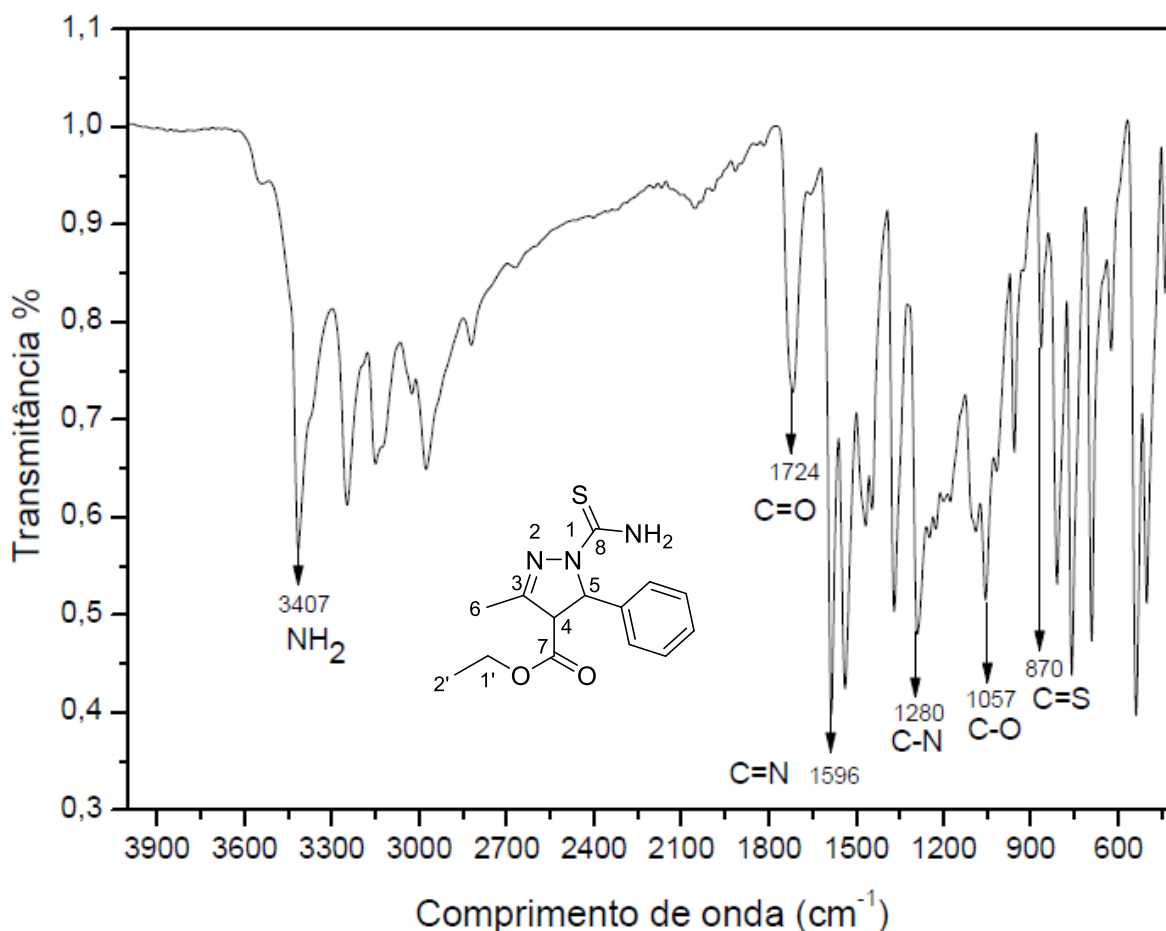


Figura 34. Espectro na região do infravermelho para o composto **34a**.

A caracterização dos compostos (**34a-e**) também foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho, apresentando as principais absorções mostradas na Tabela 10.

Tabela 12. Principais absorções na região do infravermelho dos compostos **33a,b,c,e**.

Compostos	Banda de estiramentos (cm ⁻¹)					
	NH ₂	C=O	C=N	C-N	C-O	C=S
33a (R= H)	3407	1724	1596	1280	1024	870
33b (R= 4-OH)	3466	1732	1587	1271	1074	827
33d (R= 3-OMe, 4-OH)	3432	1724	1587	1271	1023	844
33e (R= 4-Cl)	3432	1604	1527	1280	1083	870

A Figura 35 corresponde ao espectro de RMN de ¹H **34a** (R= H), onde os hidrogênios aromáticos aparecem como multipletos na faixa de δ = 7,37-7,27 ppm, integrados para 5 hidrogênios; em δ = 7,25 ppm aparece um simpleto largo integrado para 2 hidrogênios, este é referente aos hidrogênios da 1-carbamotiil; em seguida aparece um dupletos em δ = 6,13

ppm ($J = 4,3$ Hz) integrado pra 1 hidrogênio, referente ao H5, um quarteto de dupletos em $\delta = 4,28$ ppm ($J = 7,2$ e $3,2$ Hz) integrado para 2 hidrogênios, este corresponde aos H1', do grupo éster. Um duplo duplete aparece em $\delta = 3,71$ ppm ($J = 4,0$ e $1,1$ Hz), integrado para 1 hidrogênio, referente ao H4 do anel heterocíclico. Pelas constantes de acoplamento podemos atribuir a configuração *cis* para os hidrogênios H5 e H4. Seguindo de um duplete em $\delta = 2,15$ ppm ($J = 1,0$ Hz) referente a metila, H6, que faz um acoplamento 4J com o H4 do anel. E, por último, um tripleto em $\delta = 1,33$ ppm ($J = 7,1$ Hz) integrado para 3 hidrogênios, da metila do grupo éster, H2'. No entanto o espectro de ^1H , apresenta outros sinais. Alguns sinais são referentes ao material de partida. Porém, os sinais visualizados e não identificados nos espectros anteriores estão presentes nestes espectros também. O que indica que pode ser um subproduto dos produtos de Knoevenagel que veio acompanhando as reações.

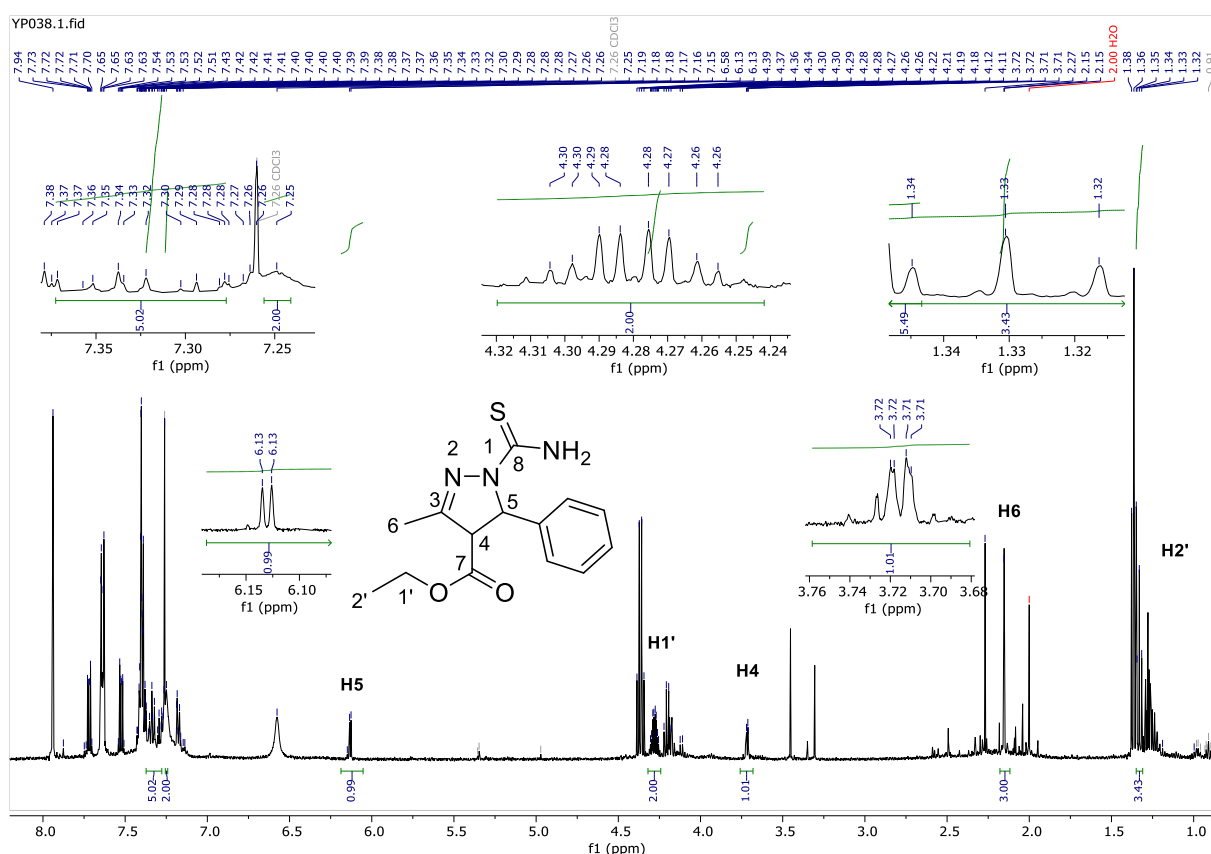


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H da pirazolina **34a**, solvente CDCl_3 , 500 MHz.

O quarteto de dupletos confirma a estrutura da pirazolina, pois como a estrutura apresenta dois centros quirais, os CH_2 da estrutura serão diastereotópicos, ou seja, não serão equivalentes. E o duplo duplete em $\delta = 3,71$ ppm, confirma também que se refere ao composto 1-carbamotioil-5-fenil-1*H*-pirazol **34a** e não ao seu isômero estrutural 1-carbamotioil-3-fenil-1*H*-pirazol, pois apresenta um acoplamento a 4J , o que não seria possível este outro isômero.

A estrutura da pirazolina pôde também ser confirmada com o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 36). Foram observados 13 sinais com diferentes deslocamentos químicos correspondentes a todos os tipos de carbonos presentes na estrutura, a saber: C8 em $\delta = 178,4$ ppm, C7 em $\delta = 167,3$ ppm, C3 em $\delta = 158,0$ ppm, os carbonos aromáticos estão na faixa de $\delta = 144,1 - 125,2$ ppm e em $\delta = 66,6$ ppm aparece o C1, seguido dos carbonos do anel heterocíclico, C5 e C4, em $\delta = 64,4$ ppm e $\delta = 62,4$ ppm, respectivamente. Em $\delta = 15,6$ ppm está o sinal corresponde ao grupo metila e $\delta = 14,11$ da função éster.

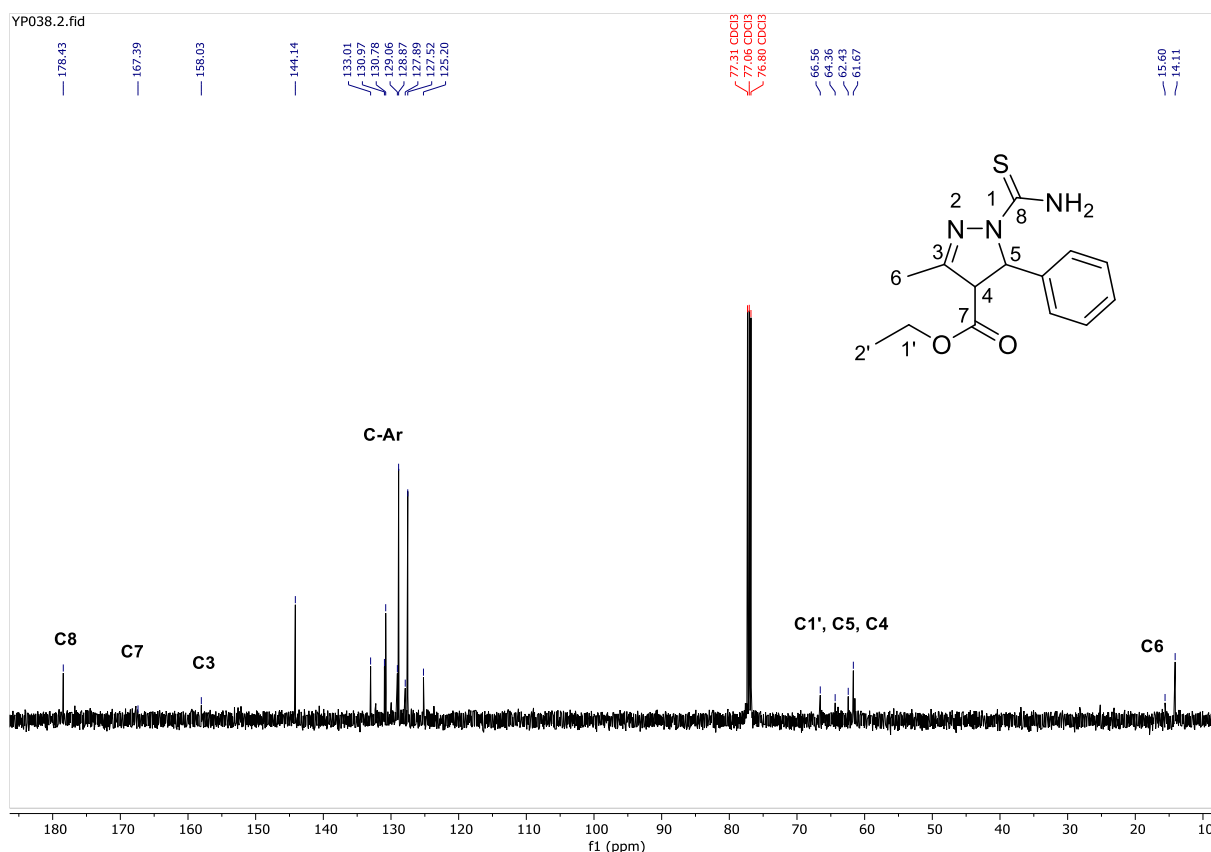


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C do pirazol **34a**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

Os demais dados espectroscópicos de RMN dos compostos obtidos estão apresentados na Tabela 13.

A síntese desses compostos foi realizada de forma eficiente, visto que podem ser utilizados para outros fins, tais como testes de atividades biológica para atividades antitumorais buscando novas moléculas bioativas ou precursores para novas rotas sintéticas. A partir dos resultados apresentados, o trabalho demonstrou ser promissor, abrindo, assim, novas perspectivas e condições para otimizações futuras em relação a obtenção de pirazóis tetrassubstituídos.

Tabela 13. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos **34a-e**.

Compostos	Dados de RMN
34a	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,37-7,27 (<i>m</i> , 5H, H-Ar); 7,25 (<i>s</i> , 2H, NH_2); 6,13 (<i>d</i> , $J = 4,3$ Hz, 1H, H5); 4,28 (<i>qd</i> , $J = 7,2$ e 3,2 Hz, 2H, H1'); 3,71 (<i>dd</i> , $J = 4,0$ e 1,1 Hz, 1H, H4); 2,15 (<i>d</i> , $J = 1,0$ Hz, 3H, H6); 1,33 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H1'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 178,4 (C8); 167,3 (C7); 158,0 (C3); 144,1-125,2 (C-Ar); 66,5 (C1'); 64,3 (C5); 62,4 (C4); 15,6 (C6), 14,1 (C2').
34b	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,02 (<i>d</i> , $J = 8,5$ Hz, 2H, H-Ar); 6,76 (<i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 2H, H-Ar); 6,05 (<i>d</i> , $J = 4,1$ Hz, 1H, H5); 4,28 (<i>qd</i> , $J = 7,1$ e 2,6 Hz, 2H, H1'); 3,71 (<i>dd</i> , $J = 4,1$ e 0,9 Hz, 1H, H4); 2,17 (<i>d</i> , $J = 0,9$ Hz, 3H, H6); 1,34 (<i>t</i> , $J = 7,1$ Hz, 3H, H2'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 176,4 (C8); 167,5 (C7); 155,6 (C3); 153,6-116,1 (C-Ar); 66,2 (C1'); 64,5 (C5); 62,4 (C4); 15,6 (C6), 14,1 (C2').
34d	RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 6,86 (<i>d</i> , $J = 8,2$ Hz, 1H, H-Ar); 6,71 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H, H-Ar); 6,63 (<i>dd</i> , $J = 8,2$ e 2,1 Hz, 1H, H-Ar); 6,03 (<i>d</i> , $J = 4,3$ Hz, 1H, H5); 4,27 (<i>qd</i> , $J = 7,2$ e 3,7 Hz, 2H, H1'); 3,71 (<i>dd</i> , $J = 4,3$ e 0,9 Hz, 1H, H4); 2,16 (<i>d</i> , $J = 0,9$ Hz, 3H, H6); 1,33 (<i>t</i> , $J = 7,2$ Hz, 3H, H2'). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 176,9 (C8); 167,6 (C7); 153,3 (C3); 145,3-115,1 (C-Ar); 66,5 (C1'); 64,6 (C5); 62,4 (C4); 15,7 (C6), 14,2 (C2').

4 CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos para este trabalho e análise dos resultados obtidos, foi possível concluir que a metodologia desenvolvida nesta dissertação se mostrou eficiente na síntese de sistemas heterocíclicos como os 1-fenilpirazóis e pirazolininas e 1-carbamotiolil pirazolininas

Este trabalho mostrou o comportamento químico dos (*E/Z*)-2-benzilideno-3-oxobutanoato de etila (**23a-e**) quando estes reagem com a fenilhidrazina, resultando em pirazóis tetrassubstituídos **30a-e** e de seus isômeros (**31a-e**) em bons rendimentos globais (53 a 75%). Estes isômeros **30** se mostraram de difícil a separação.

Dentre as três metodologias testadas, a que se utilizava ácido acético glacial se mostrou mais eficiente na preparação dos pirazóis, mesmo obtendo uma mistura de isômeros, a reação ocorreu de forma mais limpa e sem a formação de muitos subprodutos.

A formação do 1-fenil-4,5-diidropirazol (pirazolininas **32**) só foi evidenciada na metodologia em que se utilizava etanol como solvente. E mesmo nesta metodologia havia a formação dos isômeros dos pirazóis.

A reação utilizando o nucleófilo tiossemicarbazida forneceu quatro 1-carbamotiilil pirazolinas em bons rendimentos globais (45 a 61%). Utilizando a metodologia ácido acético etanol, esta etapa se mostrou mais eficiente para obtenção destes compostos, pois quando se utilizou ácido acético glacial, foram observado uma mistura de produtos de difícil separação o que impossibilitou a identificação por métodos espectroscópicos.

As amostras obtidas neste trabalho serão enviadas para avaliação biológica para células tumorais na Fundação Ezequiel Dias (FUNED) bem como as pirazolinas obtidas também serão enviadas para Universidade Federal de Sergipe (UFS) para testes de óptica não-linear

5 PARTE EXPERIMENTAL

Todas as reações foram acompanhadas por CCD utilizando-se placa de alumínio de sílica gel 60 F254 da *Analytical Chromatography*.

As separações por coluna cromatográfica foram feitas utilizando-se sílica flash da Sigma Aldrich *technical grade*, 60 Å, 230-400 mesh sendo o tamanho da partícula de 40- 63 µm.

Para as análises no infravermelho utilizou-se o aparelho Espectrômetro de Infravermelho da Alpha Bruker no modo ATR, na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} com 16 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} .

As análises de Ressonância Magnética Nuclear foram feitas na Universidade Federal de Juiz de Fora no aparelho de RMN da Bruker de 500 MHz e as amostras solubilizadas em solventes deuterados como CDCl_3 e $\text{DMSO}-d_6$, da marca Sigma-Aldrich.

5.1 Preparação dos produtos de Knoevenagel (23a-e):

Conforme o método descrito por Hong e colaboradores em 2015,⁶⁵ a reação foi conduzida em balão de fundo redondo com o acetoacetato de etila (11,0 mmoles) e aldeídos aromáticos (10,0 mmoles) em ácido acético (6,6 mmoles) catalisada pela piperidina (1,1 mmol) em CH_2Cl_2 . A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e sob refluxo por 6 horas. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por CCD: eluente: Hex/AcOEt, 8:2 ou 7:3 v/v; reveladores: câmara de ultravioleta (UV) e iodo. Eventualmente, utilizava-se também uma solução ácida de 2,4-dinitrofenilhidrazina para detecção da cetona formada. Após se verificar o término de cada reação pela ausência do benzaldeído utilizado, adicionou-se AcOEt e foi feita uma extração com NaOH 0,2 M (3 x 50 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2 x 50 mL), seca com Na_2SO_4 anidro e concentrada em evaporador rotativo sob vácuo. Os

produtos **23b-e** foram recristalizadas em etanol à quente e todos os produtos foram obtidos em rendimentos que variaram entre 82 e 95%.

5.2 Preparação dos 1-fenilpirazóis (30a-e)

Para gerar a série dos 1-fenilpirazóis, foram testadas três condições i, ii e iii, a fenilhidrazina foi utilizada como nucleófilo para reagir com os produtos de Knoevenagel obtidos na etapa anterior (Esquema 16). Em um balão de reação de 50 mL, colocou-se o produto de Knoevenagel obtido previamente (5,0 mmoles de **23a-e**; 1,0 equiv.), fenilhidrazina (5,0 mmoles; 1,0 equiv.), para a primeira condição utilizou-se ácido acético 40 % (4 mL de AcOH e 6 mL de água) o que resultou uma mistura de produtos de difícil purificação. Já a segunda metodologia foi utilizada uma mistura de AcOH e etanol 1:1 (5 mL de AcOH e 5 mL de EtOH), nesta condição foi obtido três produtos a pirazolina e a mistura de isômeros do pirazol. E por fim a terceira condição utilizou-se AcOH glacial (10 mL) obtendo somente a mistura de isômeros do pirazol. Em todas as condições a mistura reacional foi mantida sob agitação magnética e sob refluxo por tempo por 12 h. As reações foram monitoradas por CCD e visualizando-as em câmara de UV ou com iodo. Após se verificar o término da reação, ausência de pelo menos um dos reagentes na placa da cromatografia, adicionou-se à mistura reacional uma solução saturada de bicarbonato de sódio para a remoção do ácido acético. A fase orgânica foi lavada com salmoura (3 x 50 mL) e água destilada (3 x 50 mL). Os pirazóis que foram precipitados foram filtrados a vácuo e teve sua pureza avaliada por CCD. Os pirazóis impuros foram recristalizados em etanol ou purificados por cromatografia em coluna (eluente: hexano/AcOEt 95:05).

5.3 Preparação dos 1-carbamotioilpirazóis (34a,b,d,e)

Para gerar a série dos 1-carbamotioilpirazóis **34** foi utilizada a tiossemicarbazida como nucleófilo e reagida com os produtos de Knoevenagel anteriormente. Para a obtenção destes derivados de pirazol foi utilizada a mesma metodologia realizada na obtenção dos 1-fenilpirazóis **34**, porém, nesta síntese, fez-se o uso de mistura de etanol/AcOH (1:1) em vez de de AcOH glacial puro (Esquema 13). A reação foi monitorada por CCD usando como eluente uma mistura de hexano/AcOEt (7:3).

REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial de Saúde <http://www.who.int/cancer/en/>.
2. Sridhar, R.; Perumal, P. T.; Etti, S.; Shanmugam, G.; Ponnuswamy, M. N.; Prabavathy, V. R.; Mathivanan, N. ;*Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 6035.
3. Stefani, H. A. *Introdução à Química de Compostos Heterocíclicos*; 2009.
4. Balaban, A. T.; Oniciu, D. C.; Katritzky, A. R. **2004**.
5. Martins, M. A. P.; Frizzo, C. P.; Tier, A. Z.; Moreira, D. N.; Zanatta, N.; Bonacorso, H. G. **2015**.
6. Melo, J. O. F.; Universitário, C.; Minas, D. P. De; Estadual, U.; Gerais, D. M.; Bruno, R. J.; Luis, C.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V. De; Lourdes, M.; Ferreira, G.; Cunha, A. C. ;*Quim. Nova* **2006**, *29*, 569.
7. Dadiboyena, S.; Nefzi, A. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5258.
8. Adiyala, P. R.; Nanubolu, J. B.; Singarapu, K. K.; Kamal, A.; Sastry, K. N. V.; Chandrasekhar, D.; Mani, G. S.; Maurya, R. A. **2015**, *80*, 4325.
9. Barreiro, E. J. ;*Quim. Nova* **1991**, *14*, 179.
10. Calixto, J. B.; Jr, J. M. S. ;*Gaz. Médica da Bahia* **2008**, *78*, 98.
11. Guido, R. V. C.; Andricopulo, A. D.; Oliva, G. ;*Estud. Avançados* **2010**, *24*, 81.
12. Verli, H.; Barreiro, E. J. ;*Quim. Nova* **2005**, *28*, 95.
13. Luciano, J.; Carlos, A.; Claudio, L.; Nogueira, L. J.; Montanari, A.; Donnici, L. ;*Rev. Virtual Quim.* **2009**, *1*, 227.
14. Carvalhes, E. de; Nunes, O.; Hirai, S.; Marques, G. ;*Interfarma Assoc. da Ind. Farm. Pesqui.* **2019**, *1*.
15. Mukherjee, S. *O imperador de todos os males: uma bigrafia do câncer*, 2012; Vol. 66.
16. Instituto Nacional do Câncer <http://www1.inca.gov.br> (accessed Sep 20, 2001).
17. Almeida, V. L. de; Leitão, A.; Reina, L. del C. B.; Montanari, C. A.; Donnici, C. L. ;*Quim. Nova* **2005**, *28*, 118.
18. Faria, L. Bioquímica do câncer: Carcinogênese o começo da patologia <http://bioquimicacancer.blogspot.com/2011/06/carcinogenese-o-comeco-da-patologia.html>.
19. De Oliveira, R. B.; Alves, R. J. ;*Quim. Nova* **2002**, *25*, 976.
20. Murad, A. M.; Katz, A. In *Oncologia Bases Clínicas do Tratamento*; 1998; p. 41.
21. Katzung, B. G.; TREVOR, A. J. *BASIC & CLINIC PHARMACOLOGY (9th edition)*; 2017.
22. Machado, A. D. H. ;*Quim. Nova* **2000**, *23*, 237.
23. Gabel, G. H.; Nepomuceno, L. L.; Pimenta, V. de S. C.; Araújo, E. G. de ;*Enciclopédia Biosf.* **2017**, *14*, 13.
24. Oliveira, E. M. Bula para o paciente Taxol

- http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=6156902015&pIdAnexo=2735942.
25. Burkard, M. E.; Wisinski, K. B.; Njiaju, U. O.; Donohue, S.; Hegeman, R.; Stella, A.; Mansky, P.; Shah, V.; Goggins, T.; Qamar, R.; Dietrich, L.; Kim, K.; Traynor, A. M.; Tevaarwerk, A. J. ;*Clin Breast Cancer* **2014**, *14*, 205.
 26. Chiattonne, C. S. ;*Rev Bras hematol. hemoter* **2005**, *27*, 276.
 27. Lomustine capsule <https://www.webmd.com/drugs/2/drug-8801/lomustine-oral/details> (accessed Oct 19, 2019).
 28. Vanhoefer, U.; Rougier, P.; Wilke, H.; Ducreux, M. P.; Lacave, angel J.; Cutsem, E. Van; Planker, M.; Santos, J. G.; Piedbois, P.; Paillot, B.; Bodenstern, H.; Schmoll, H.; Bleiberg, H.; Nordlinger, B.; Couvreur, M.-L.; Baron, B.; Wils, J. ;*J. Clin. Oncol.* **2000**, *18*, 2648.
 29. Fiterre Lancís, I.; Sabournin Castelnau, N.; Sánchez Tamaki, R.; Molina Alfonso, S.; Bandera Sánchez, O. ;*Rev. Cuba. Farm.* **2015**, *49*, 793.
 30. Pacheco Neto, M.; Alves, A. N. L.; Fortini, A. S.; Burattini, M. do N.; Sumita, N. M.; Srougi, M.; Chocair, P. R. ;*J. Bras. Patol. e Med. Lab.* **2008**, *44*, 161.
 31. Escudero-Ortiz, V.; Valenzuela, B.; Ramón-López, A.; Duarte, M. J.; Pérez-Ruixo, J. J. ;*Farm. Hosp.* **2012**, *36*, 282.
 32. Silveira, J. C.; Cunha, B. M.; Estrella, R. R. ;*An. Bras. Dermatol.* **2006**, *81*, 83.
 33. Uberti, E. M. H.; Fajardo, M. D. C.; Cunha, A. G. V. Da; Frota, S. S.; Braga, A.; Ayub, A. C. K. ;*Rev. Bras. Ginecol. e Obstet.* **2015**, *37*, 258.
 34. Fox, E. J. ;*Neurology* **2004**, *63*, S15 LP.
 35. Rodrigues, L. C. de S.; Lucas, S. R. R. ;*Rev. Científica Med. Veterinária. Pequenos Animais e Animais Estimação* **2012**, *10*, 228.
 36. Corrêa, F. de M.; Guerra, R. L.; Fernandes, R. R. A.; Souza, M. C. de; Zimmermann, I. R. ;*Epidemiol. e Serviços Saúde* **2019**, *28*, 1.
 37. Netto, A. V. D. G.; Frem, R. C. G.; Mauro, A. E. ;*Quim. Nova* **2008**, *31*, 1208.
 38. Alam, M. J.; Alam, O.; Alam, P.; Naim, M. J. ;*Int. J. Pharma Sci. Res.* **2015**, *6*, 1433.
 39. Davies, D. T. *Aromatic heterocyclic chemistry*; 1992; Vol. 13.
 40. Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic chemistry*; 2010; Vol. 103.
 41. Katritzky, A. R.; Ramsden, C. A.; Joule, J. A.; Zhdankin, V. V. *Handbook of heterocyclic chemistry*; 2010.
 42. Brown, A. W. *Recent Developments in the Chemistry of Pyrazoles*; 1st ed.; Elsevier Inc., 2018; Vol. 126.
 43. Arora, P.; Arora, V.; Lamba, H. S.; Wadhwa, D. ;*Int. J. Pharm. Sci. Reserach* **2012**, *3*, 2947.
 44. Malhotra, S.; Shafiq, N.; Pandhi, P. ;*Medscape Gen. Med.* **2004**, *6*, 6.

45. Çaliskan, B.; Yilmaz, A.; Evern, I.; Menevese, S.; Uludag, O.; Banoglu, E. ;*Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 782.
46. Lee, E.; Youk, Æ. M. C. Æ. H.; Hyeon, C.; Han, K. Æ. I.; Lim, M. L. Æ. S. **2006**, 223.
47. Varnes, J. G.; Wacker, D. A.; Pinto, D. J. P.; Orwat, M. J.; Theroff, J. P.; Wells, B.; Galemo, R. A.; Luetgen, J. M.; Knabb, R. M.; Bai, S.; He, K.; Lam, P. Y. S.; Wexler, R. R. **2008**, *18*, 749.
48. Mohamed, N. R.; Khaireldin, N. Y.; Fahmy, A. F.; El-Sayed, A. A. ;*Der Pharma Chem.* **2010**, *2*, 400.
49. Mohareb, R. M.; Abdallah, A. E. M.; Abdelaziz, M. A. ;*Med. Chem. Res.* **2014**, *23*, 564.
50. Insuasty, B.; Tigreros, A.; Orozco, F.; Quiroga, J.; Abonía, R.; Nogueras, M.; Sanchez, A.; Cobo, J. ;*Bioorganic Med. Chem.* **2010**, *18*, 4965.
51. El-Gamal, M. I.; Park, Y. S.; Chi, D. Y.; Yoo, K. H.; Oh, C. H. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *65*, 315.
52. Karrouchi, K.; Radi, S.; Ramli, Y.; Taoufik, J.; Mabkhot, Y. N.; Al-Aizari, F. A.; Ansar, M. *Synthesis and pharmacological activities of Pyrazole derivatives: A review*, 2018; Vol. 23.
53. Ponnala, S.; Prasad Sahu, D. ;*Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2189.
54. Alberola, A.; González-Ortega, A.; Sádaba, M. L.; Sañudo, M. C. ;*J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 4061.
55. Bonacorso, H. G.; Oliveira, M. R.; Costa, M. B.; Da Silva, L. B.; Wastowski, A. D.; Zanatta, N.; Martins, M. A. P. ;*J. Heterocycl. Chem.* **2005**, *42*, 631.
56. Harigae, R.; Moriyama, K.; Togo, H. ;*J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 2049.
57. Khare, R.; Pandey, J.; Smriti, S.; Ruchi, R. ;*Orient. J. Chem.* **2019**, *35*, 423.
58. Martins, D. de L. ;*Rev. Virtual Quim.* **2009**, *1*, 186.
59. Knoevenagel, E. ;*Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft. Chem.* **1896**, *29*, 172.
60. Luiz Meleiro Porto, A.; L Zanin, L.; EQ Jimenez, D.; P Fonseca, L. ;*Curr. Org. Chem.* **2018**, *22*, 519.
61. Kwon, P. S.; Kim, Y. M.; Kang, C. J.; Kwon, T. W.; Chung, S. K.; Chang, Y. T. ;*Synth. Commun.* **1997**, *27*, 4091.
62. Kumar, D.; Reddy, V. B.; Sharad, S.; Dube, U.; Kapur, S. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3805.
63. Behbahani, F. K.; Mehraban, S. ;*J. Korean Chem. Soc.* **2015**, *59*, 284.
64. Fozooni, S.; Hosseinzadeh, N. G.; Hamidian, H.; Akhgar, M. R. ;*J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, *24*, 1649.
65. Hong, S.; Shin, Y.; Jung, M.; Ha, M. W.; Park, Y.; Lee, Y. J.; Shin, J.; Oh, K. B.; Lee, S. K.; Park, H. G. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *96*, 218.
66. Kurti, L.; Czako, B. *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*:

Background and Detailed Mechanisms; 2005.

67. Dalessandro, E. V.; Collin, H. P.; Valle, M. S.; Pliego, J. R. ;*RSC Adv.* **2016**, *6*, 57803.
68. Dalessandro, E. V.; Collin, H. P.; Guimarães, L. G. L.; Valle, M. S.; Pliego, J. R. ;*J. Phys. Chem. B* **2017**, *121*, 5300.
69. Dileep Kumar, A.; Bharath, S.; Dharmappa, R. N.; Naveen, S.; Lokanath, N. K.; Ajay Kumar, K. ;*Res. Chem. Intermed.* **2018**, *44*, 5635.
70. Al-Saleh, F. S.; Khawaja, I. K. Al; Joule, J. A. ;*J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 642.
71. Stauffer, S. R.; Coletta, C. J.; Tedesco, R.; Nishiguchi, G.; Carlson, K.; Sun, J.; Katzenellenbogen, B. S.; Katzenellenbogen, J. A. ;*J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4934.
72. Sui, Z.; Guan, J.; Ferro, M. P.; McCoy, K.; Wachter, M. P.; Murray, W. V.; Singer, M.; Steber, M.; Ritchie, D. M.; Argentieri, D. C. ;*Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 601.
73. Katoch-Rouse, R.; Pavlova, O. A.; Caulder, T.; Hoffman, A. F.; Mukhin, A. G.; Horti, A. G. ;*J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 642.
74. Sung Chun, Y.; Kon Lee, K.; Ok Ko, Y.; Shin, H.; Lee, S. G. ;*Chem. Commun.* **2008**, 5098.
75. Jayashree, B. S.; Arora, S. A.; Vanugopala, K. N. ;*Asian J. Chem.* **2008**, *20*, 1.
76. Ko, Y. O.; Chun, Y. S.; Park, C. L.; Kim, Y.; Shin, H.; Ahn, S.; Hong, J.; Lee, S. G. ;*Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1132.
77. Li, Y. F.; Liu, Z. Q. ;*Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *52*, 103.
78. Baytas, S.; Turan Dural, N. N.; Özkan, Y.; Simsek, H. B.; Gürsel, T.; Ünlü, S. ;*Turkish J. Chem.* **2012**, *36*, 367.
79. Kumar, G.; Tanwar, O.; Kumar, J.; Akhter, M.; Sharma, S.; Pillai, C. R.; Alam, M. M.; Zama, M. S. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *149*, 139.
80. Prabhudeva, M. G.; Renuka, N.; Kumar, K. A. ;*Curr. Chem. Lett.* **2018**, *7*, 73.
81. Padhy, G. K.; Panda, J.; Behera, A. K. ;*J. Serbian Chem. Soc.* **2017**, *82*, 985.
82. Marques, M. V.; Russowsky, D.; Fontoura, L. A. M. ;*Eclat. Quim.* **2010**, *35*, 33.

ANEXOS

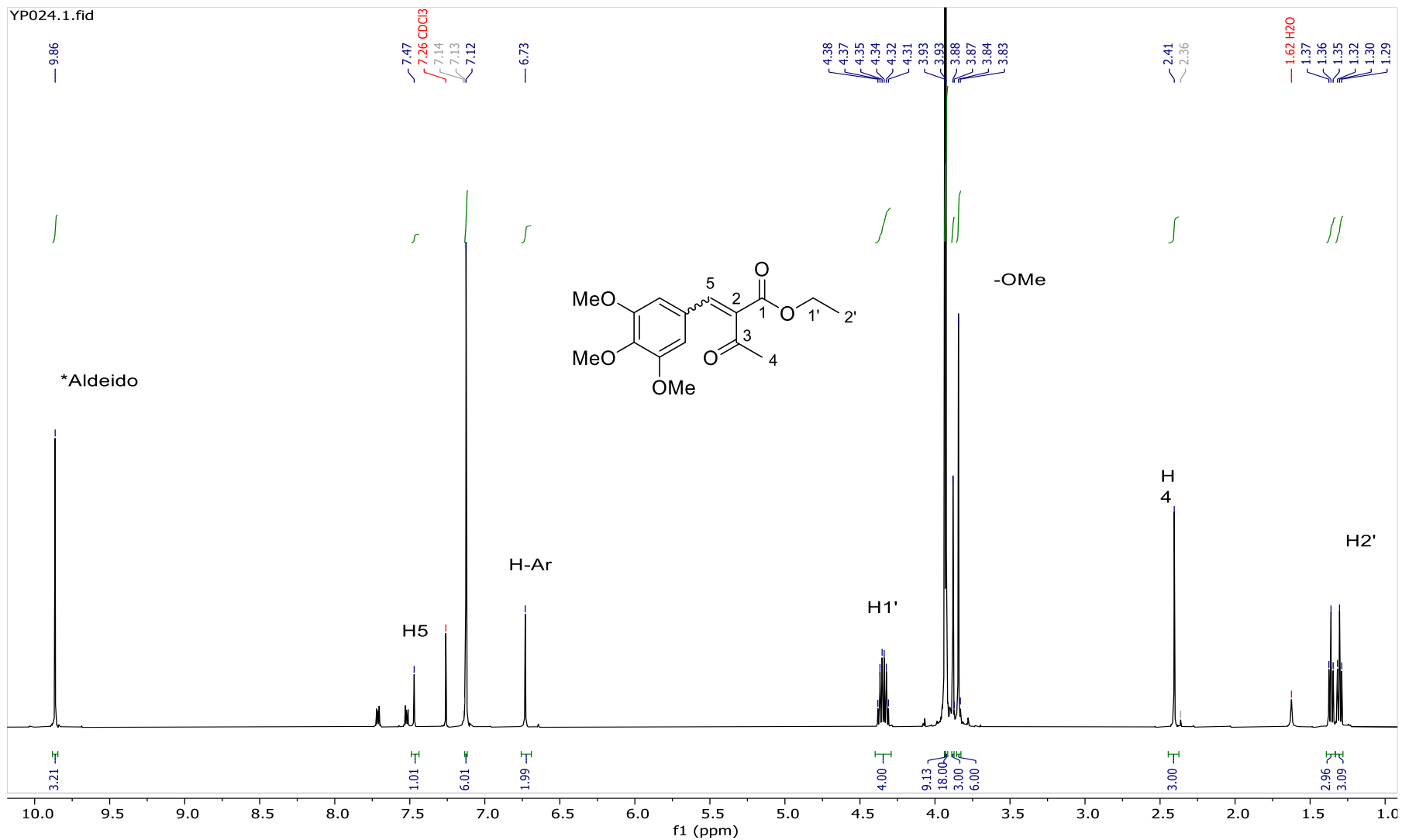


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H do composto **23c**, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de aldeído).

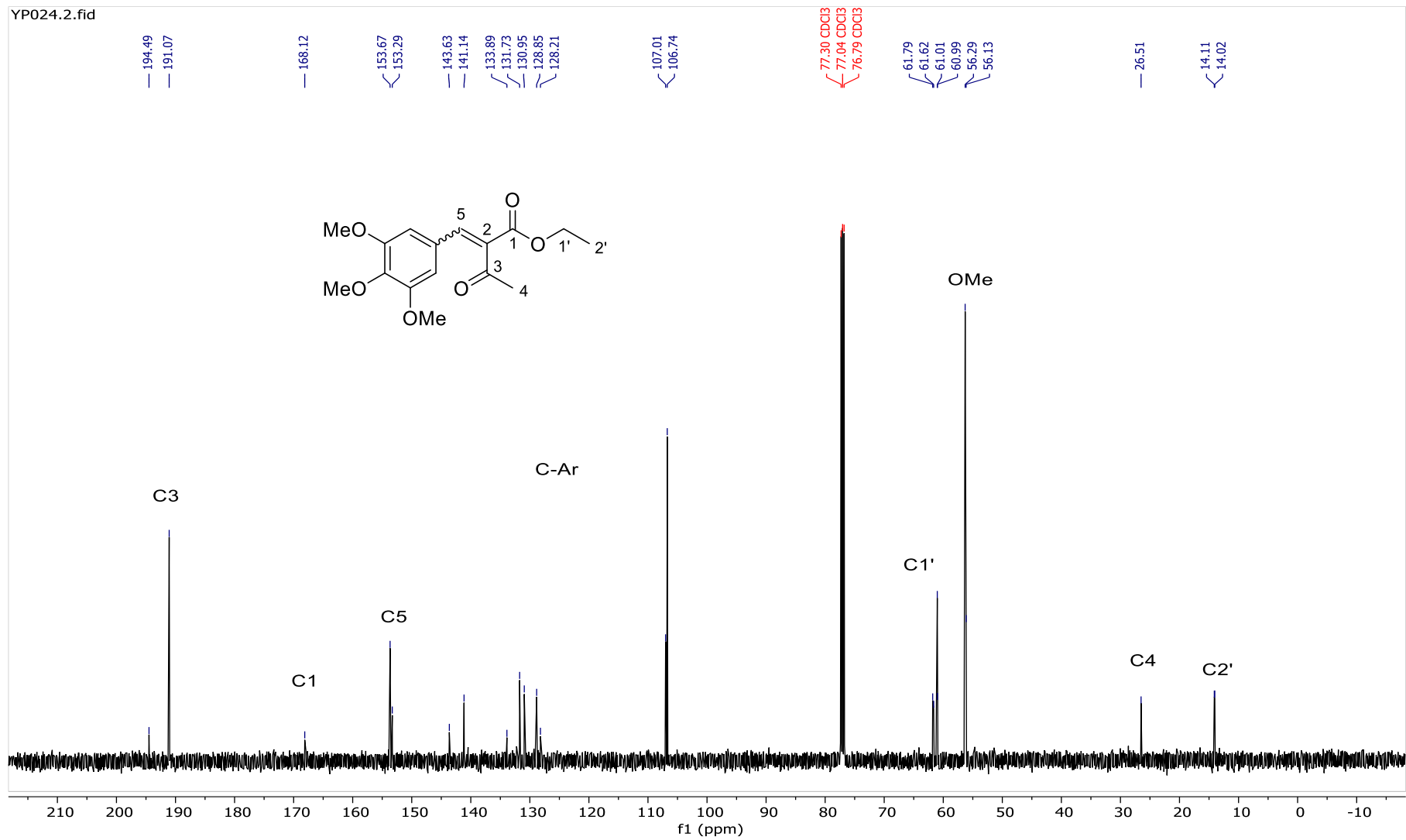


Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23c**, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.

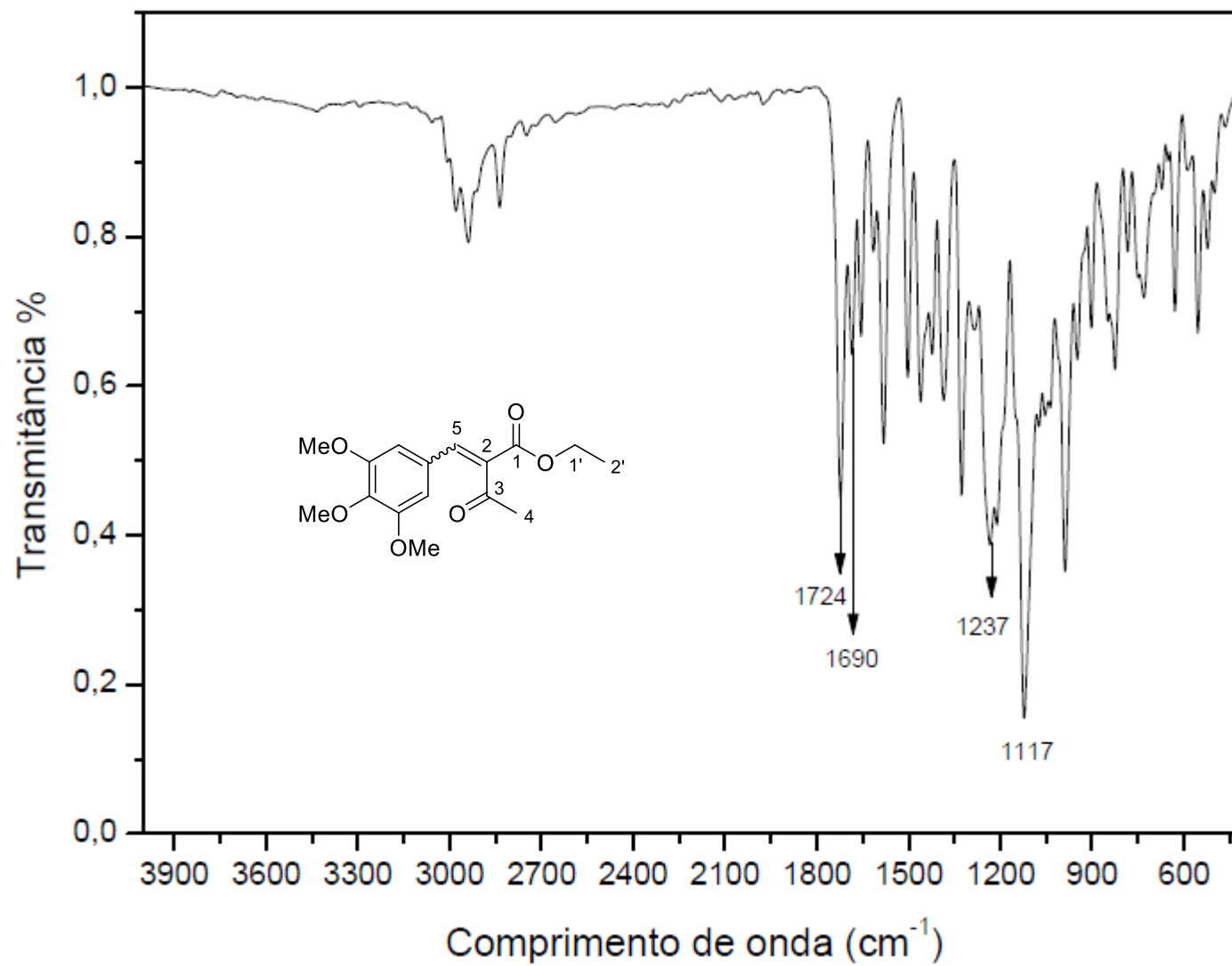


Figura 39. Espectro na região do infravermelho do composto 23c.

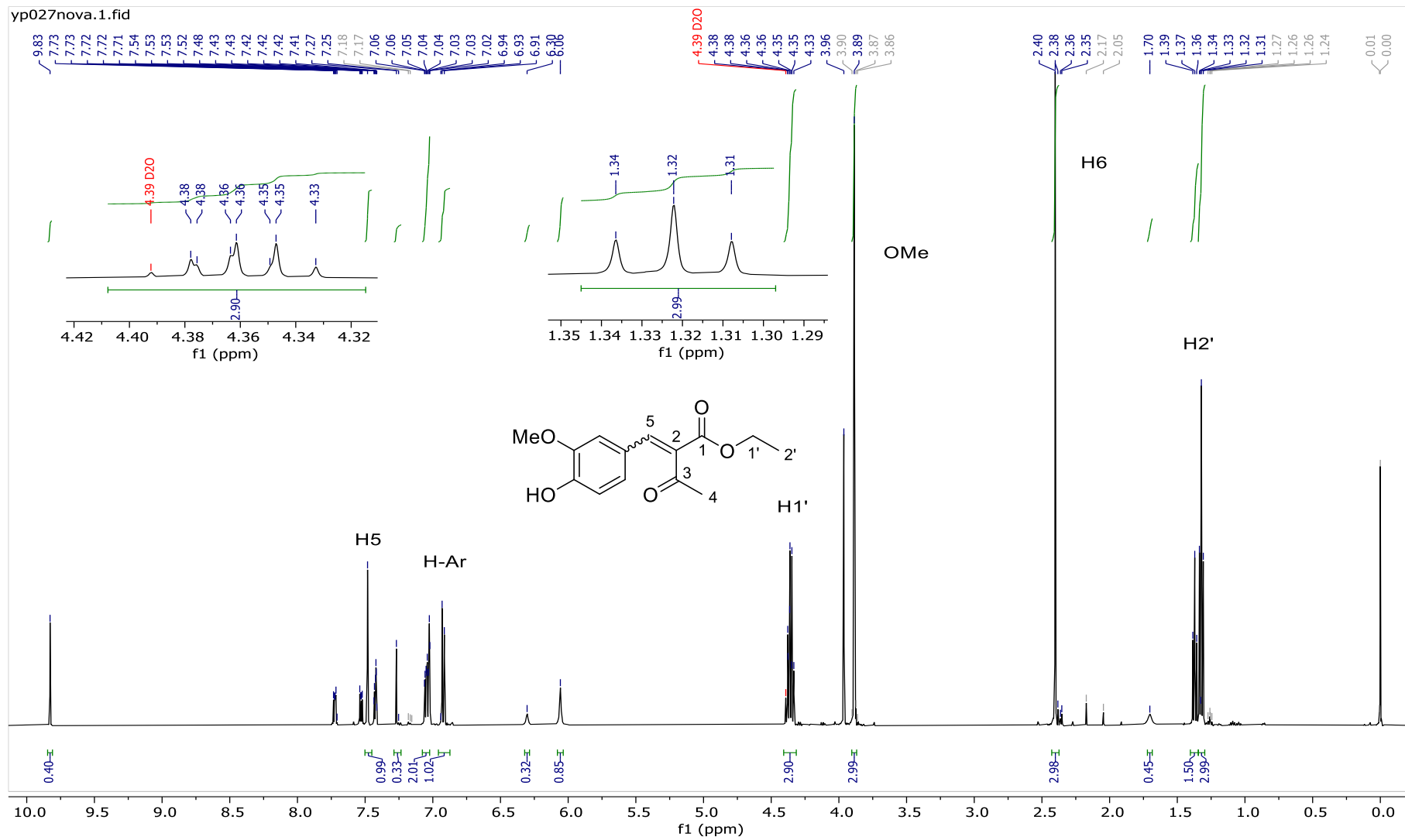


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H do composto **23d**, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de aldeído).

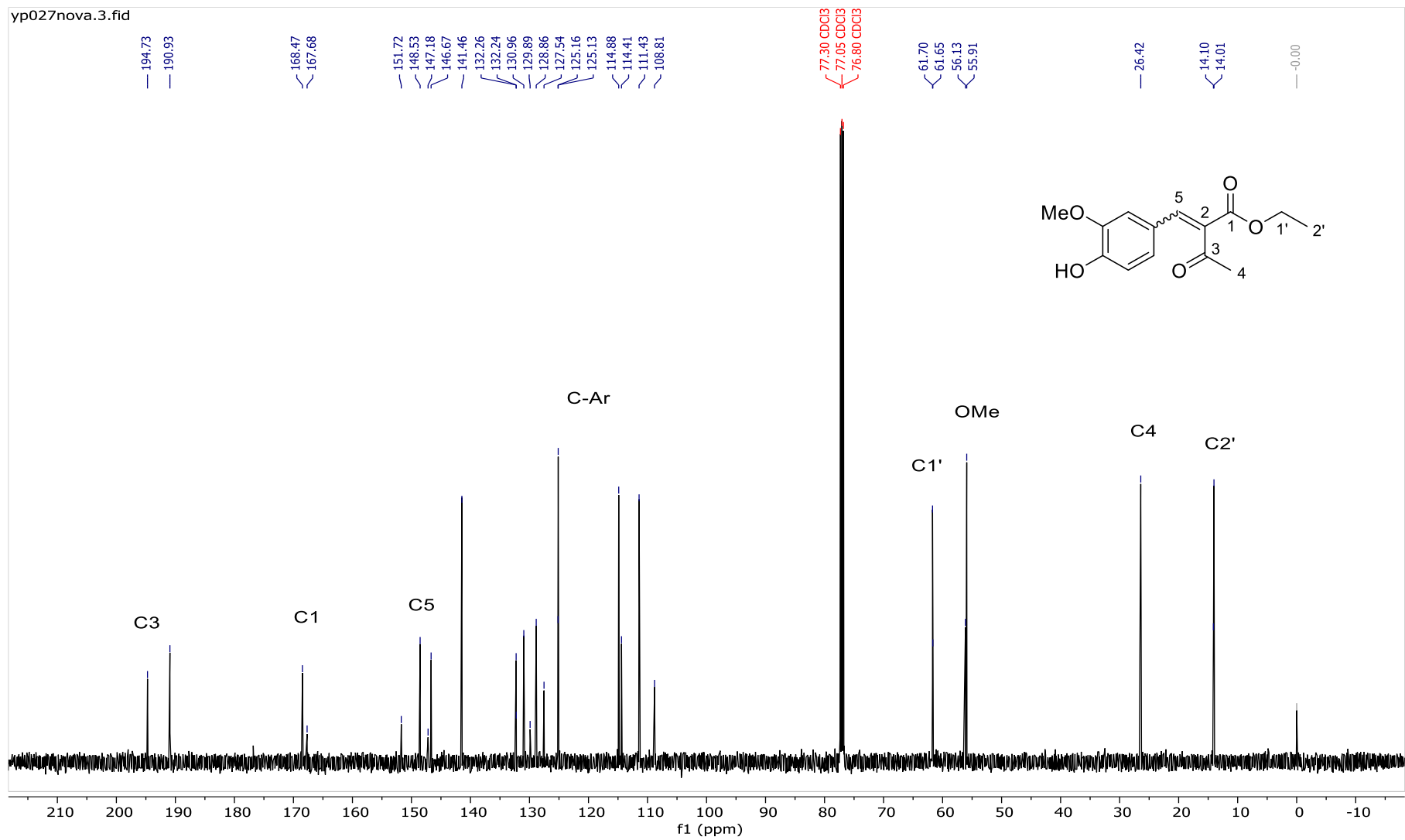


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23d**, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.

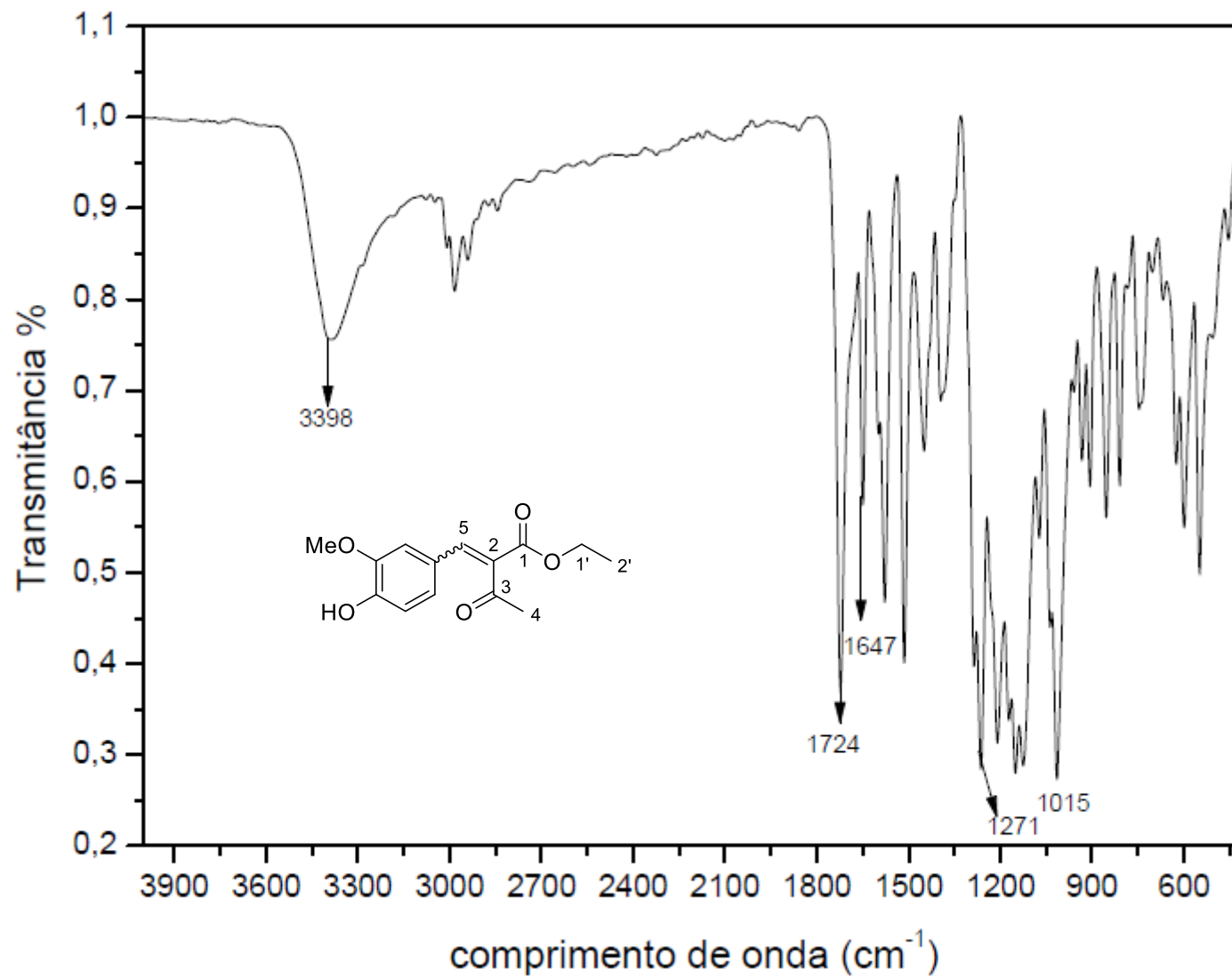


Figura 42. Espectro na região do infravermelho do composto 23d.

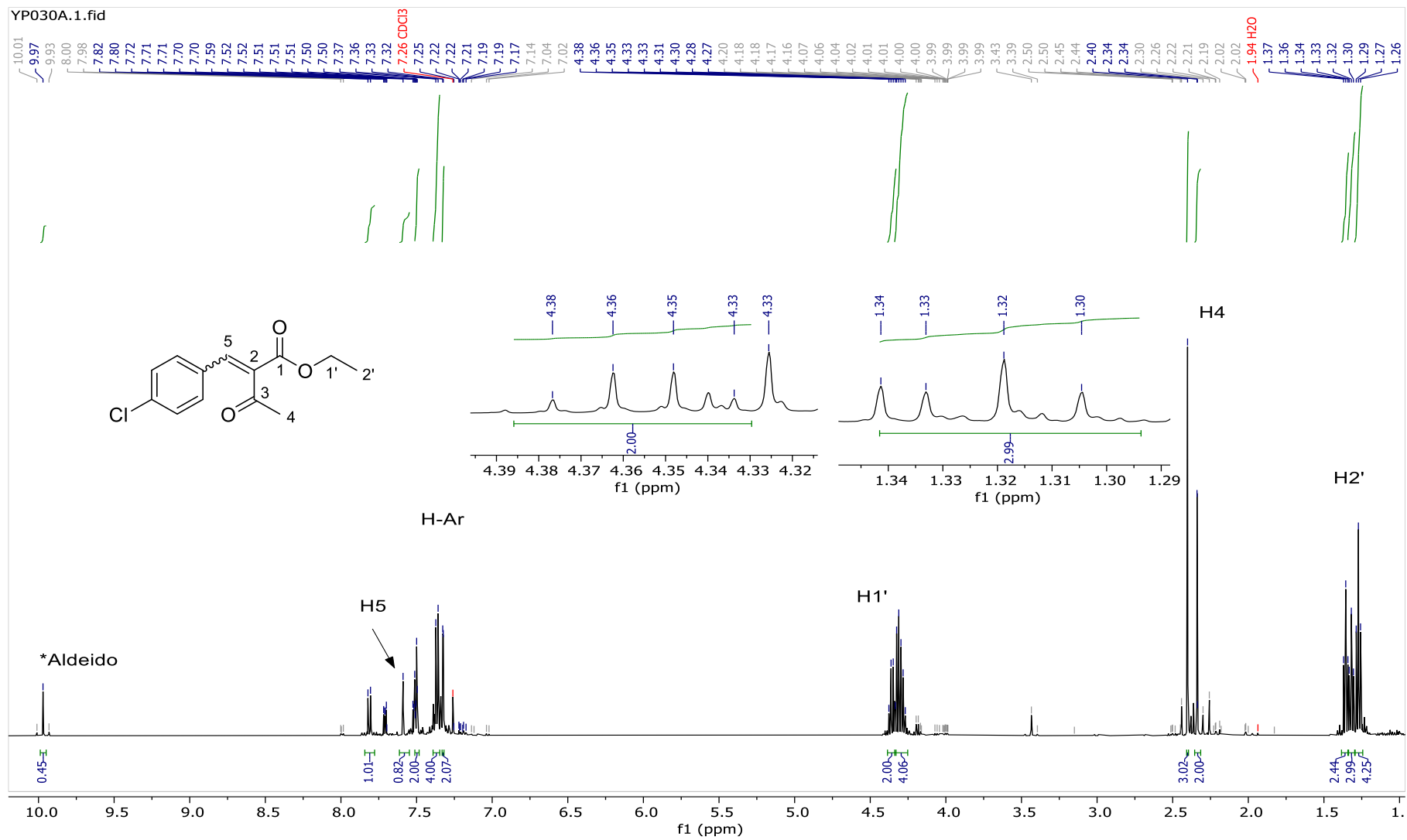


Figura 43. Espectro de RMN de ¹H do composto **23e**, Solvente CDCl₃, 500 MHz, (com vestígios de aldeído).

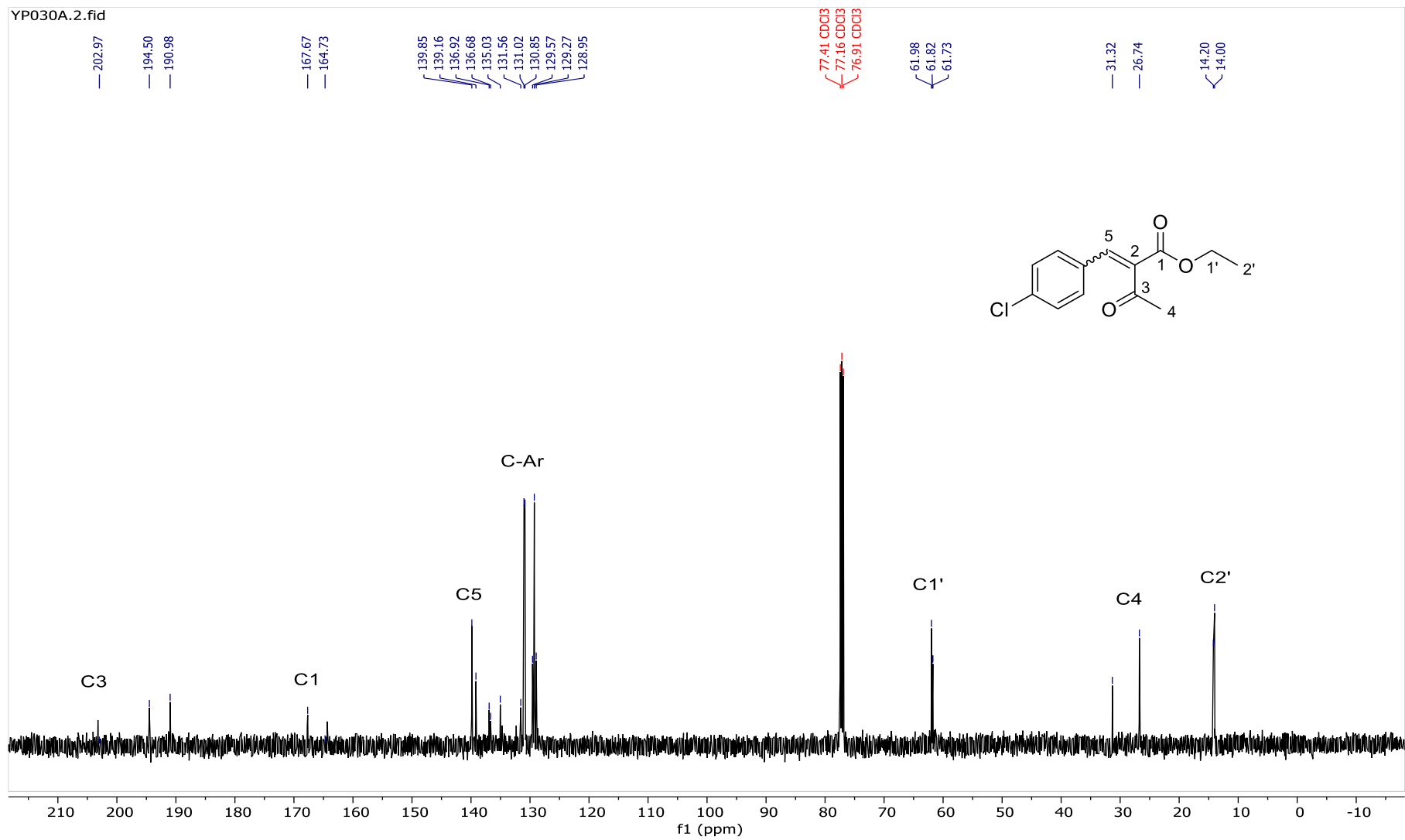


Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23e**, Solvente CDCl_3 , 125 MHz, (com vestígios de aldeído).

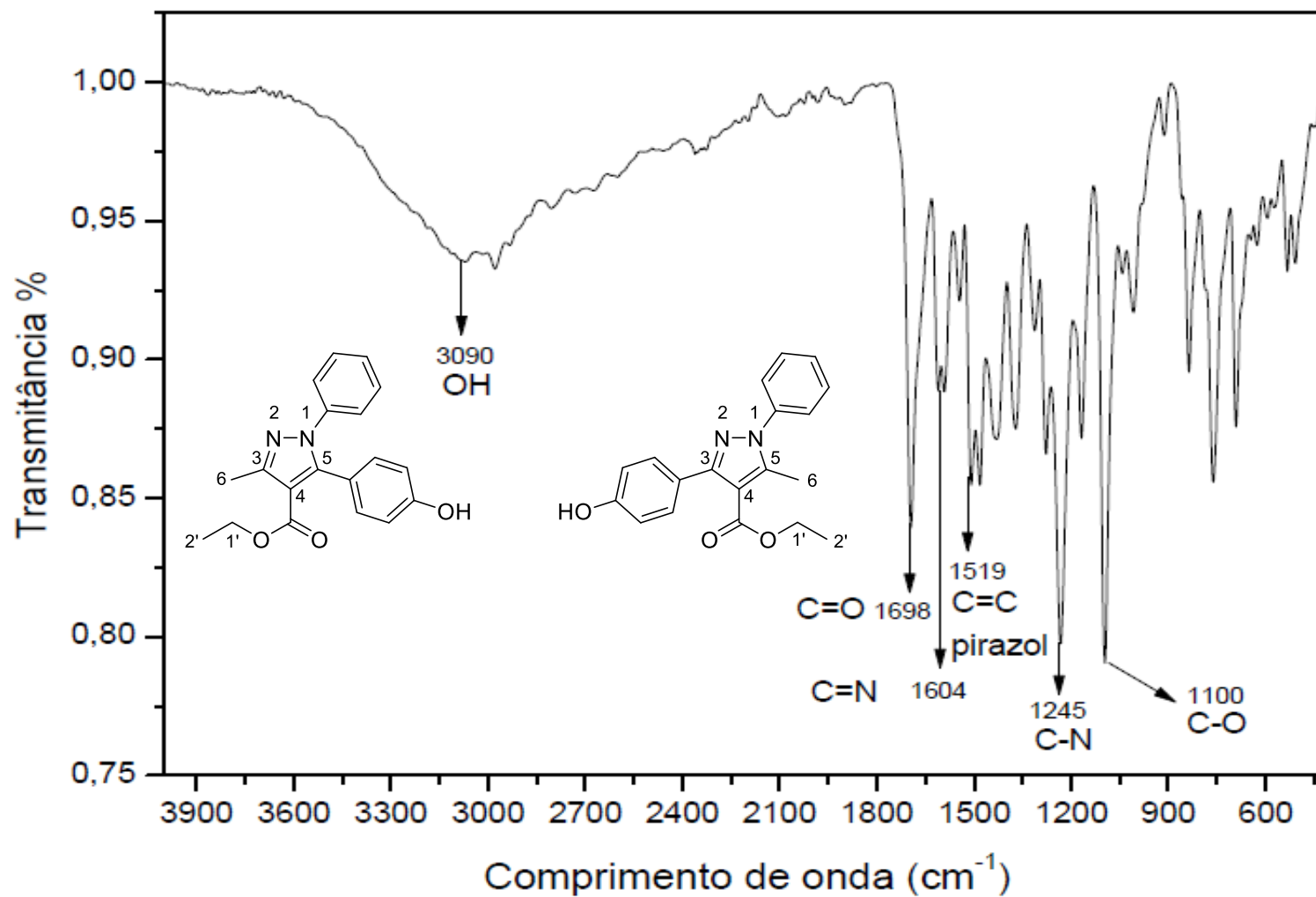


Figura 45. Espectro na região do infravermelho do composto 30b e 31b.

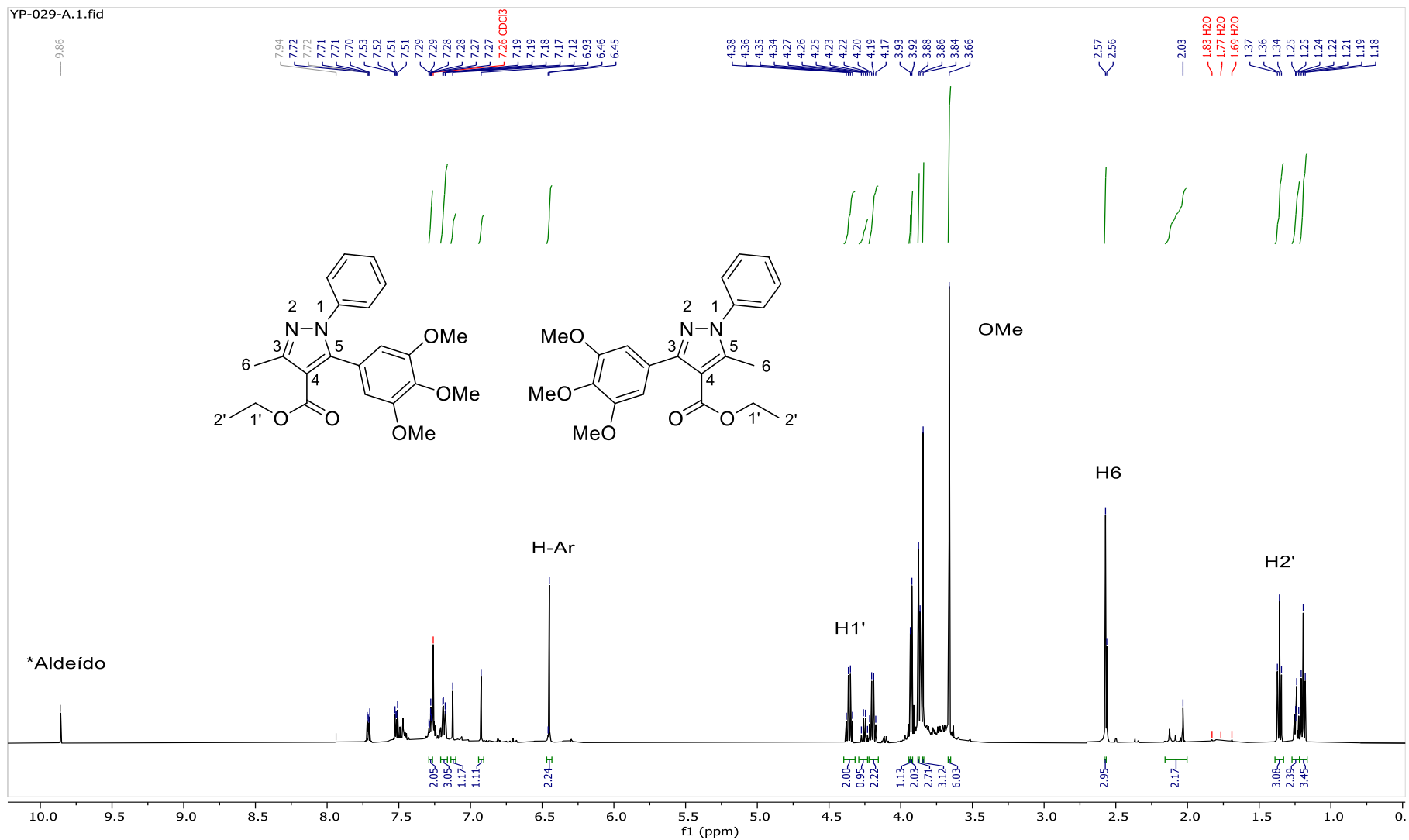


Figura 46. Espectro de RMN de ¹H dos compostos 30c e 31c, Solvente CDCl₃, 500 MHz. (com vestígios de aldeído).

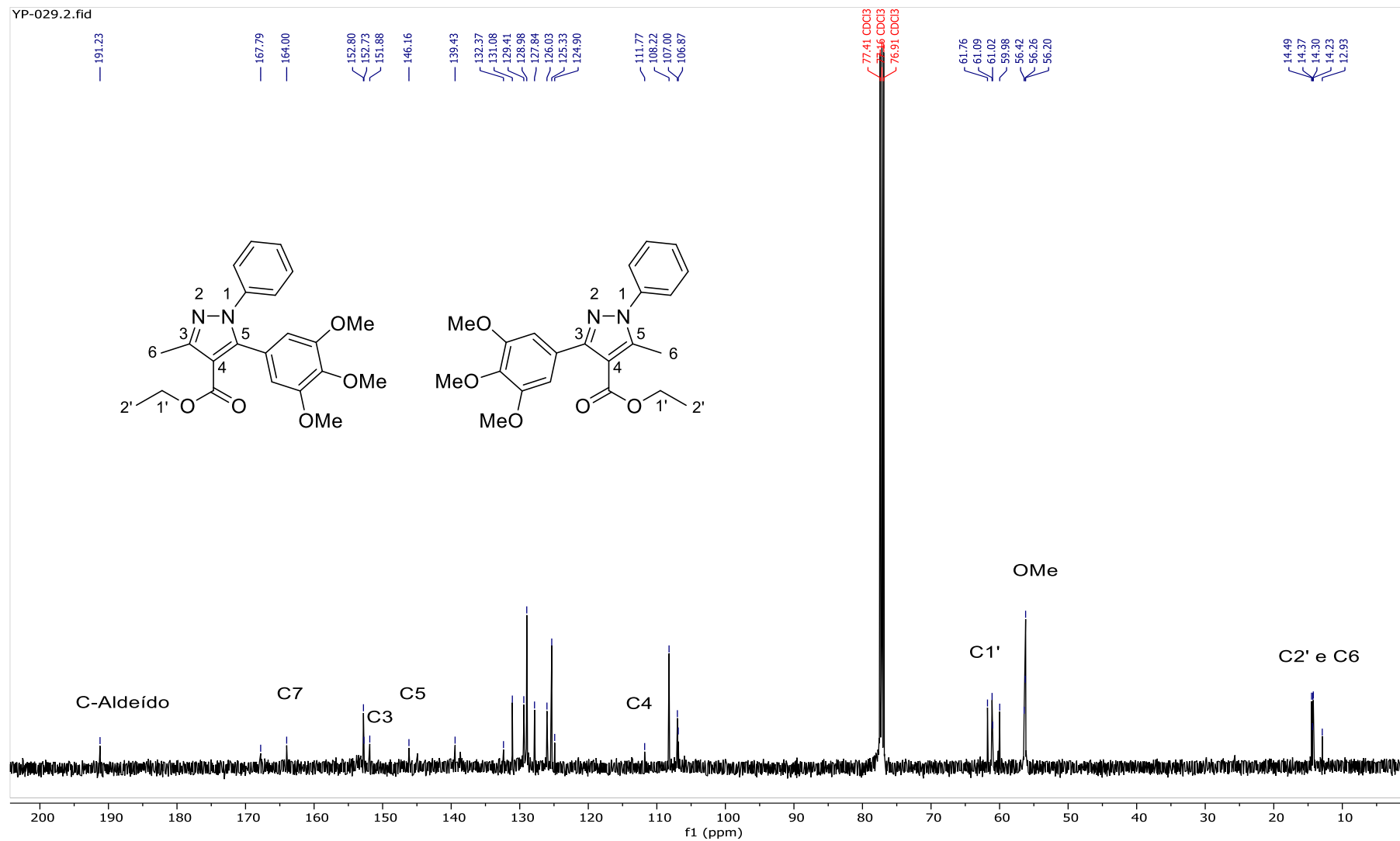


Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C dos compostos **30c** e **31c**, Solvente CDCl_3 , 125 MHz, (com vestígios de aldeído).

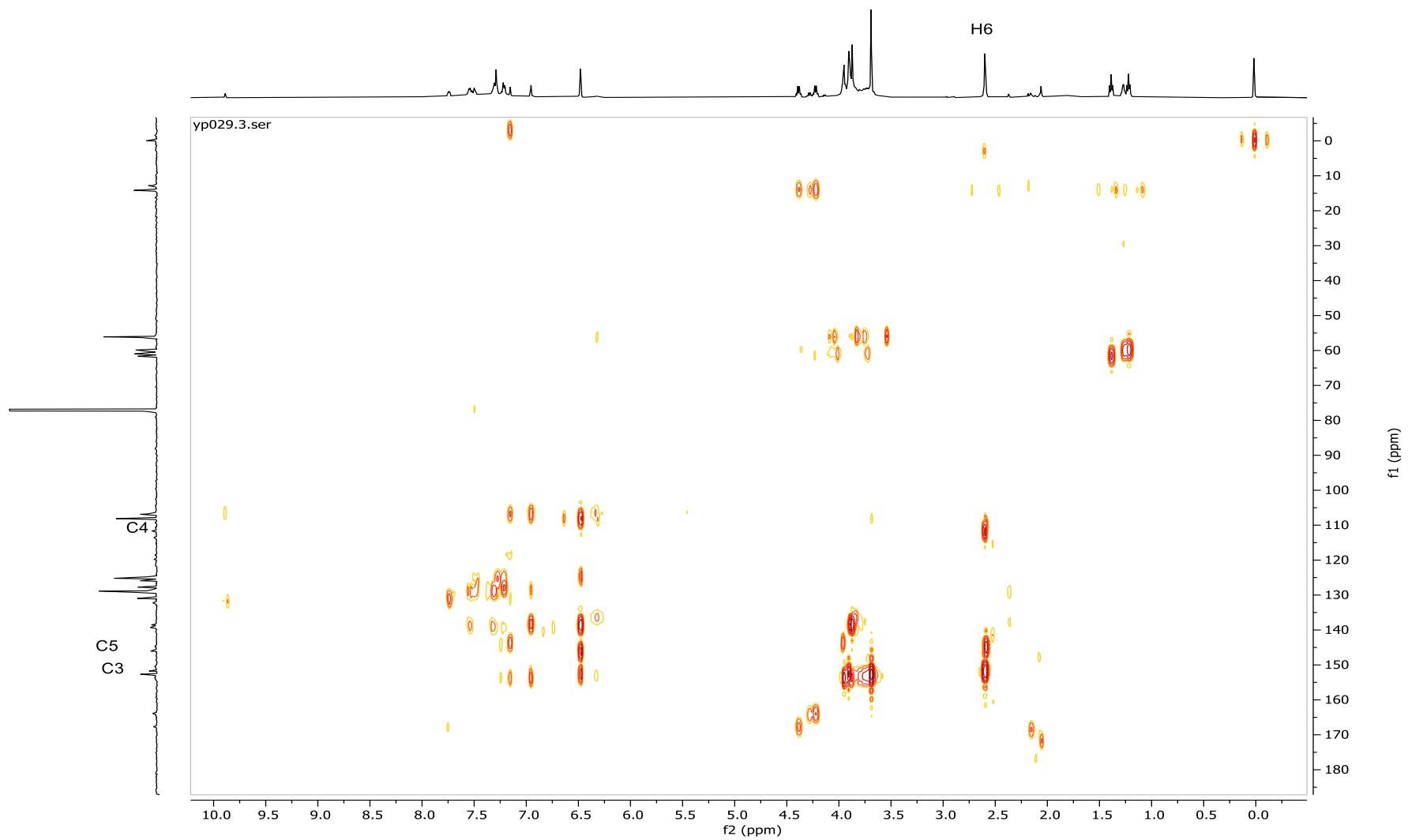


Figura 32. Espectro HMBC do composto 30c e 31c.

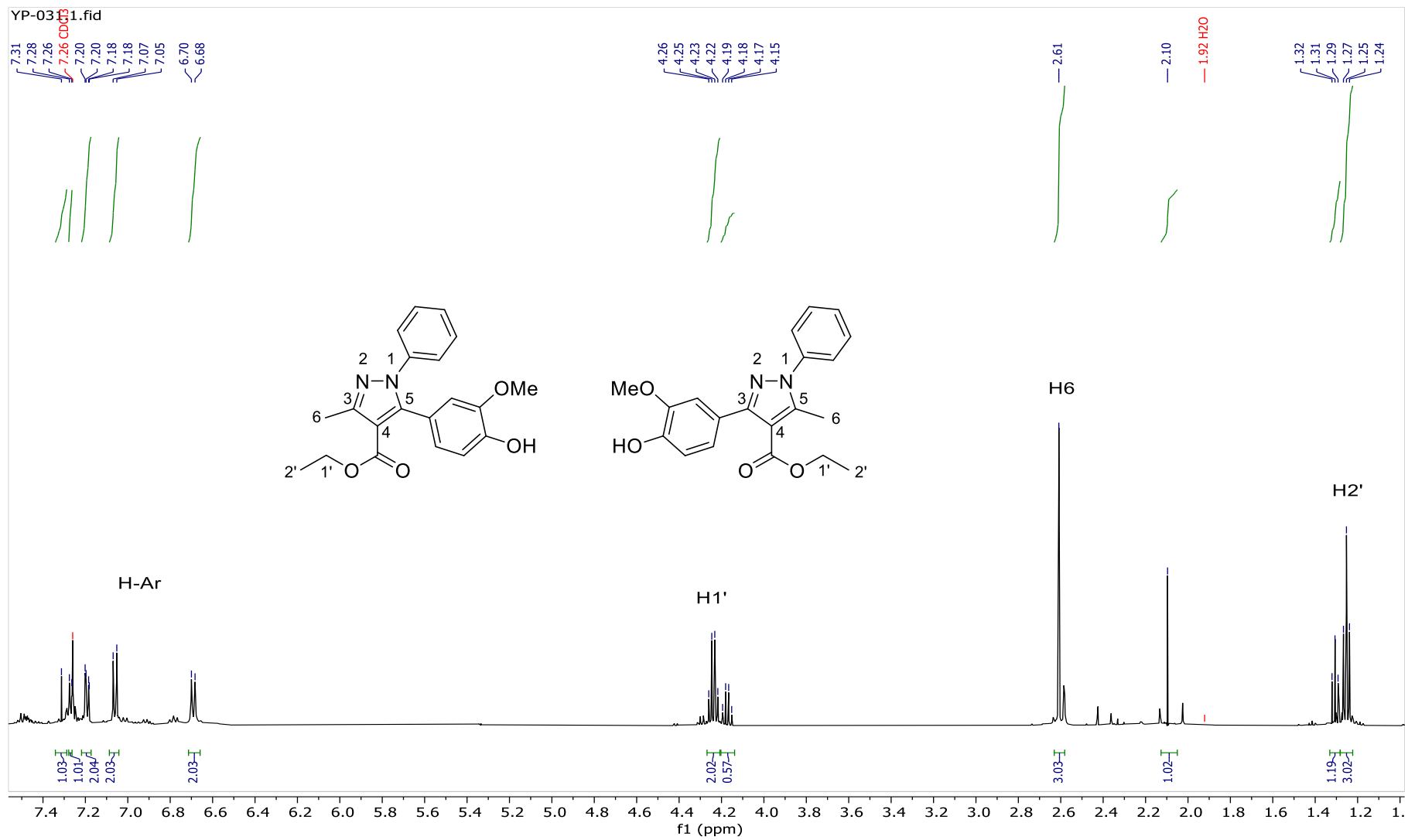


Figura 48. Espectro de RMN de ¹H dos compostos **30d** e **31d**, Solvente CDCl₃, 500 MHz.

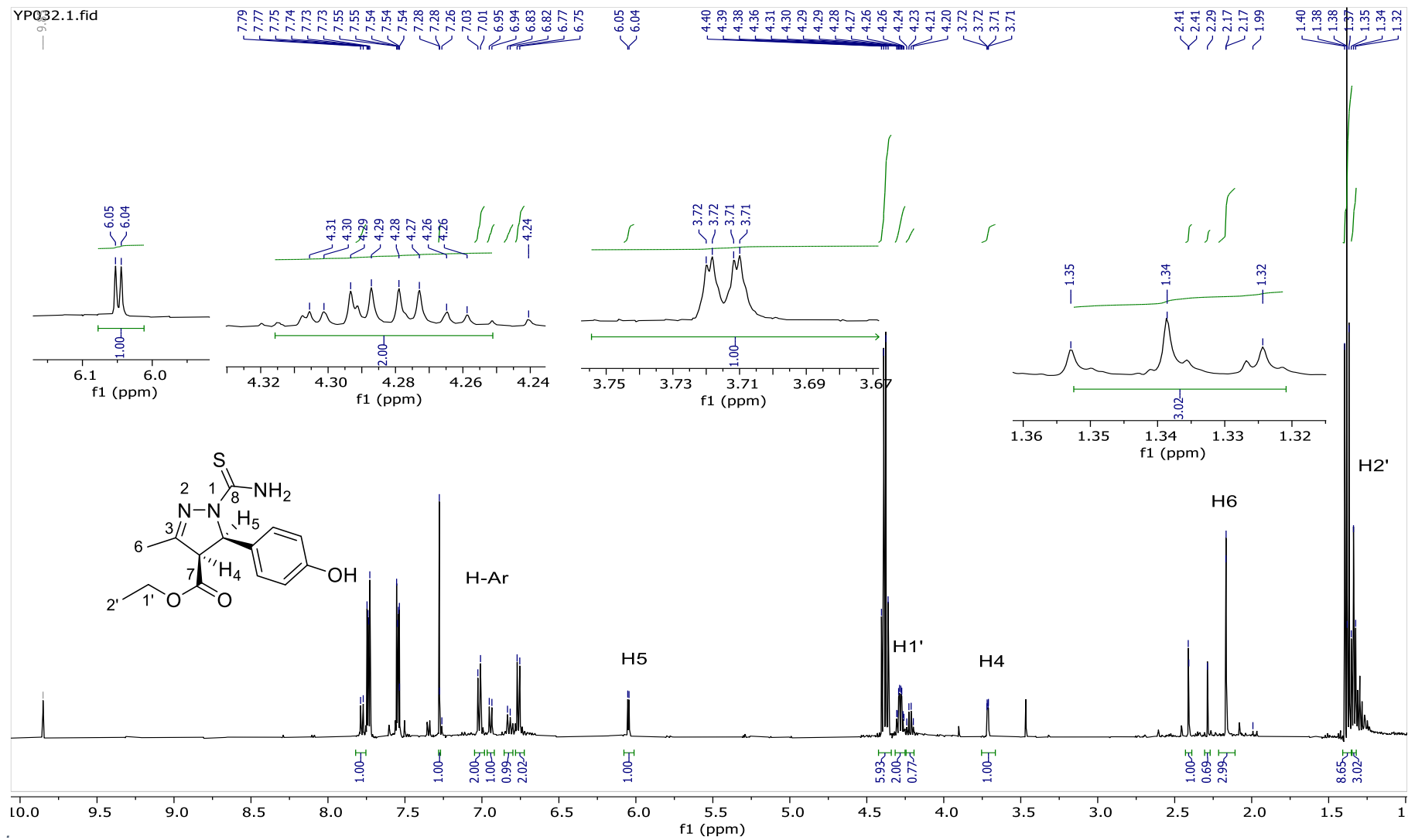


Figura 49. Espectro de RMN de ¹H do composto **34b**, Solvente CDCl₃, 500 MHz, (com vestígios de material desconhecido).

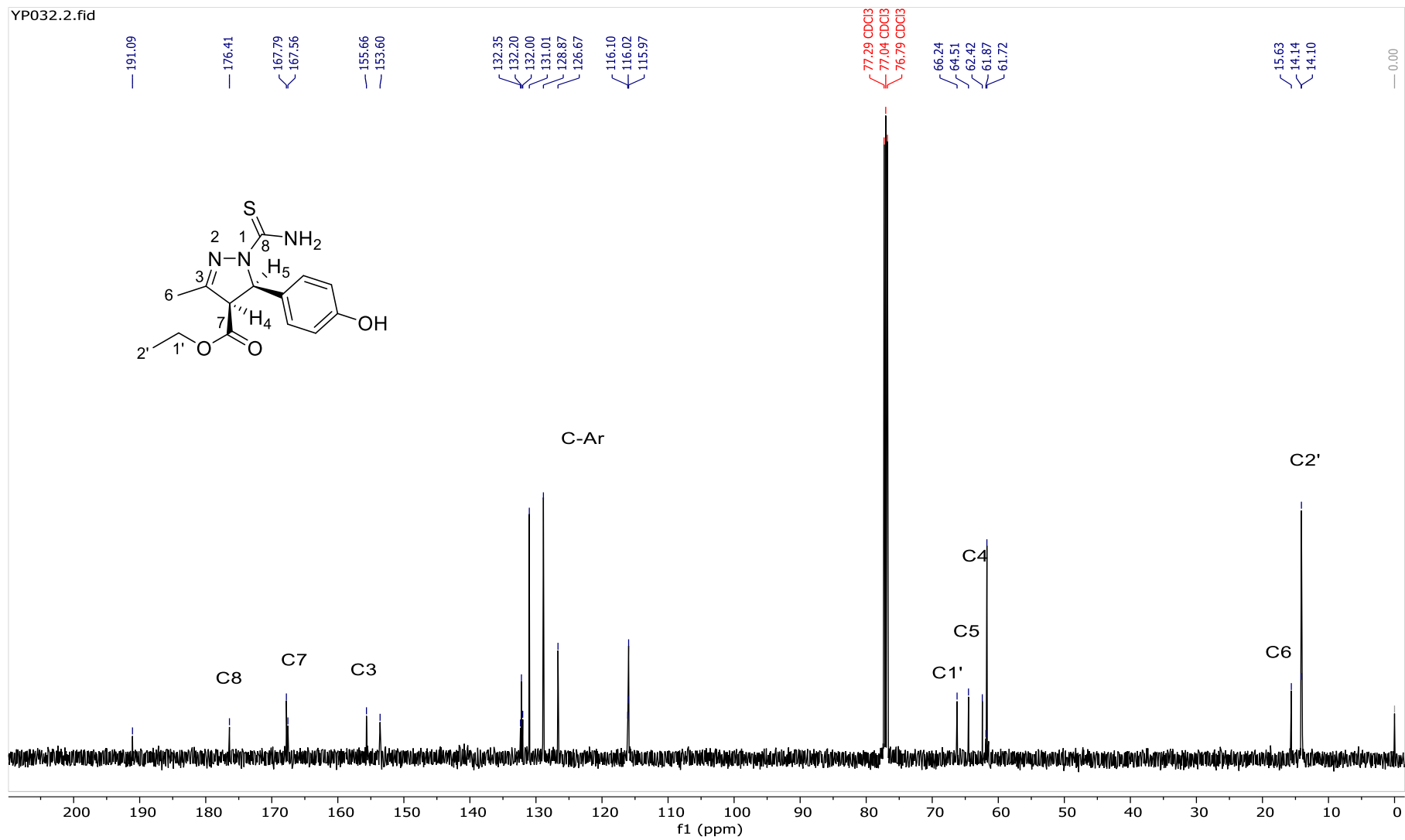


Figura 50. Espectro de RMN de ^{13}C dos compostos **34b**, Solvente CDCl_3 , 125 MHz.

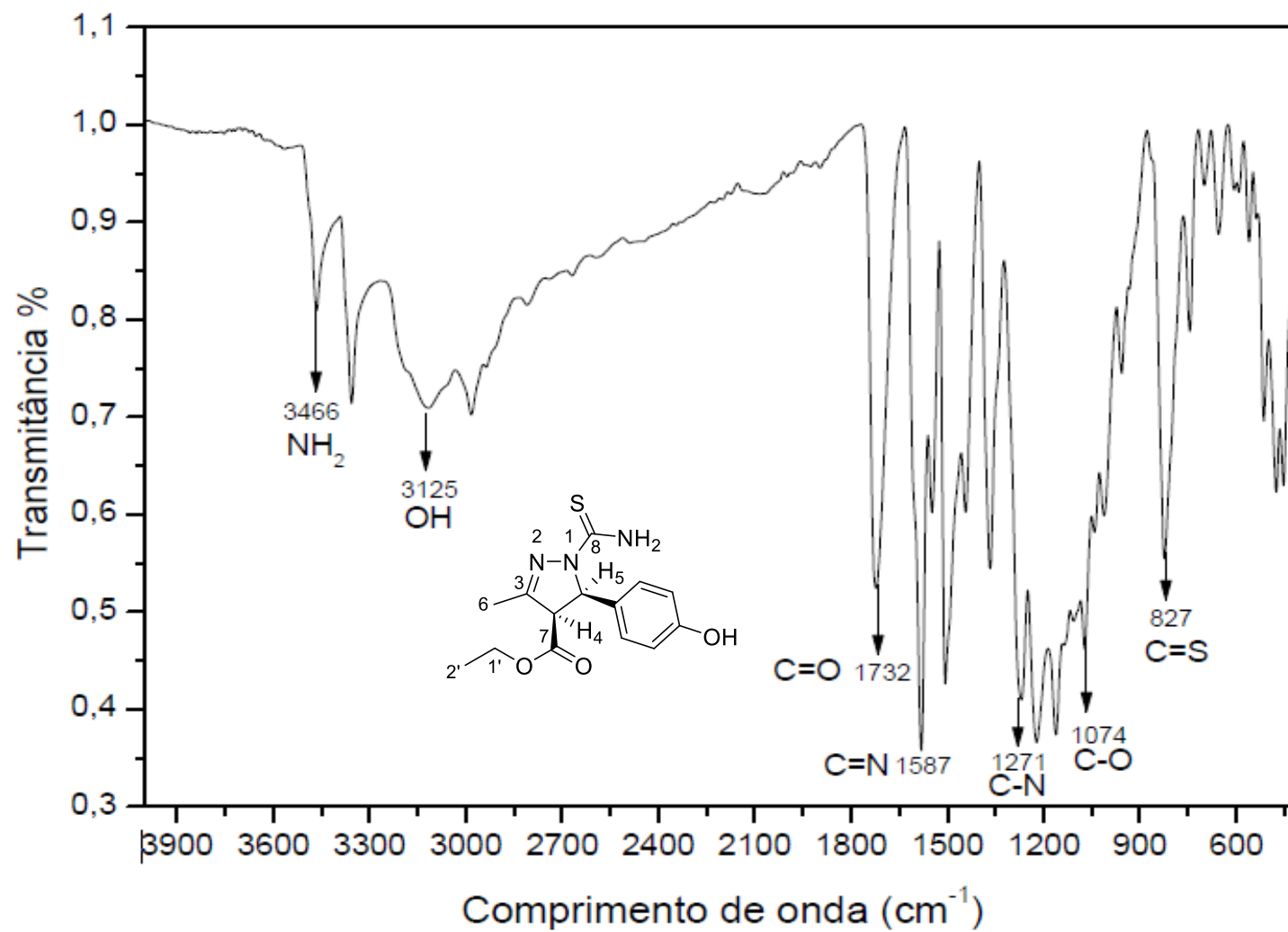


Figura 51. Espectro na região do infravermelho do composto 34b.

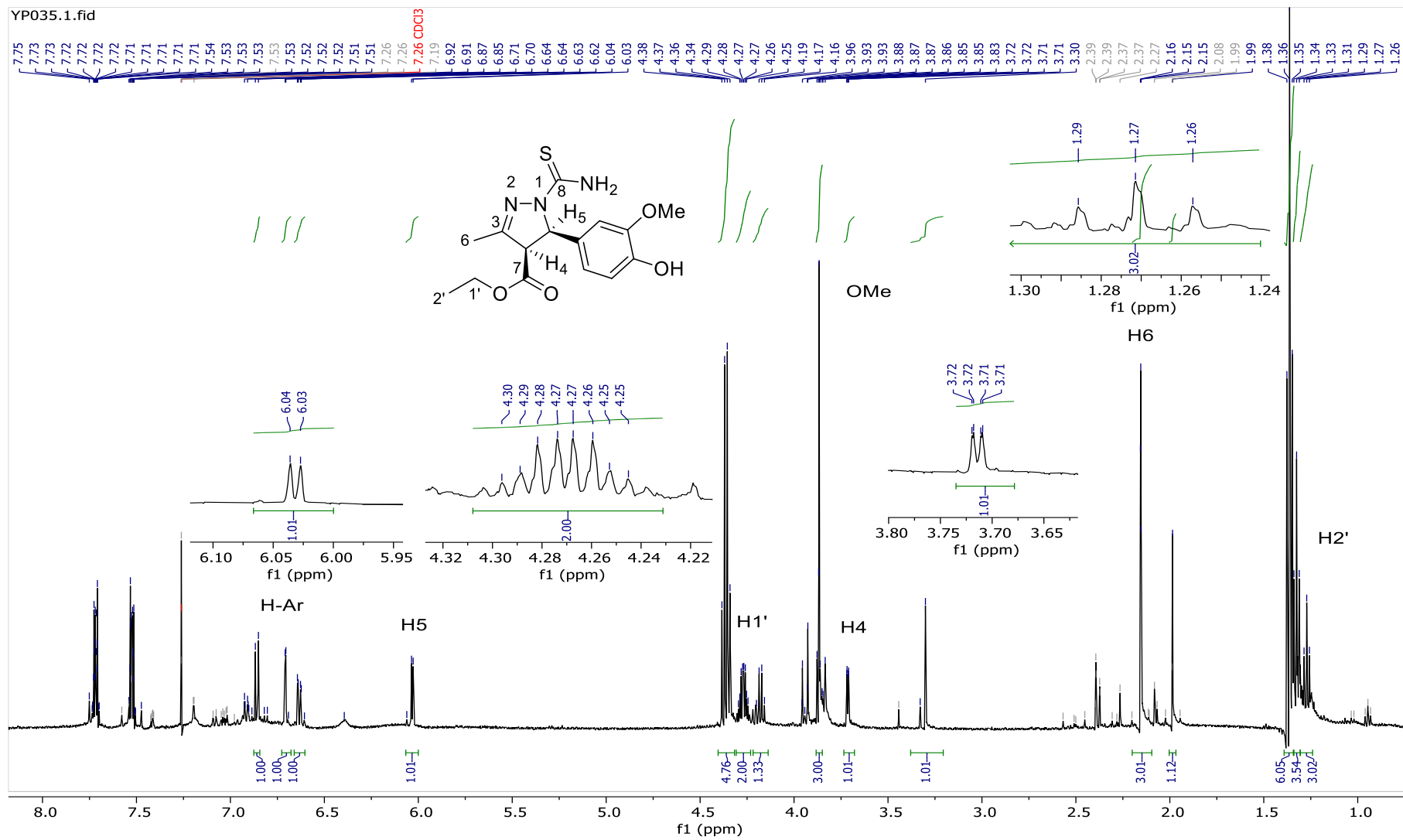


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H do composto **34d**, Solvente CDCl_3 , 500 MHz, (com vestígios de material desconhecido).

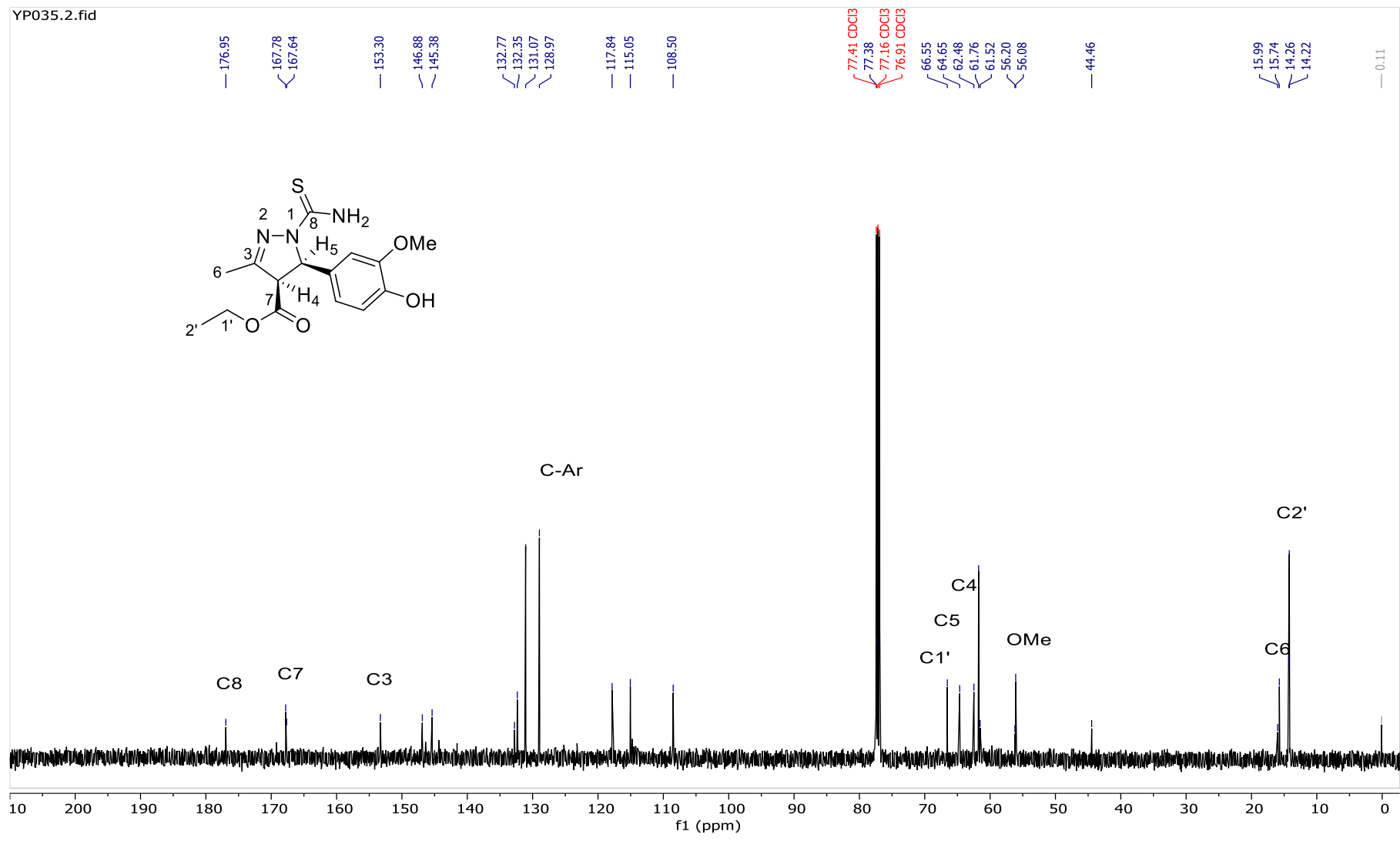


Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **34d**, solvente CDCl_3 , 125 MHz.

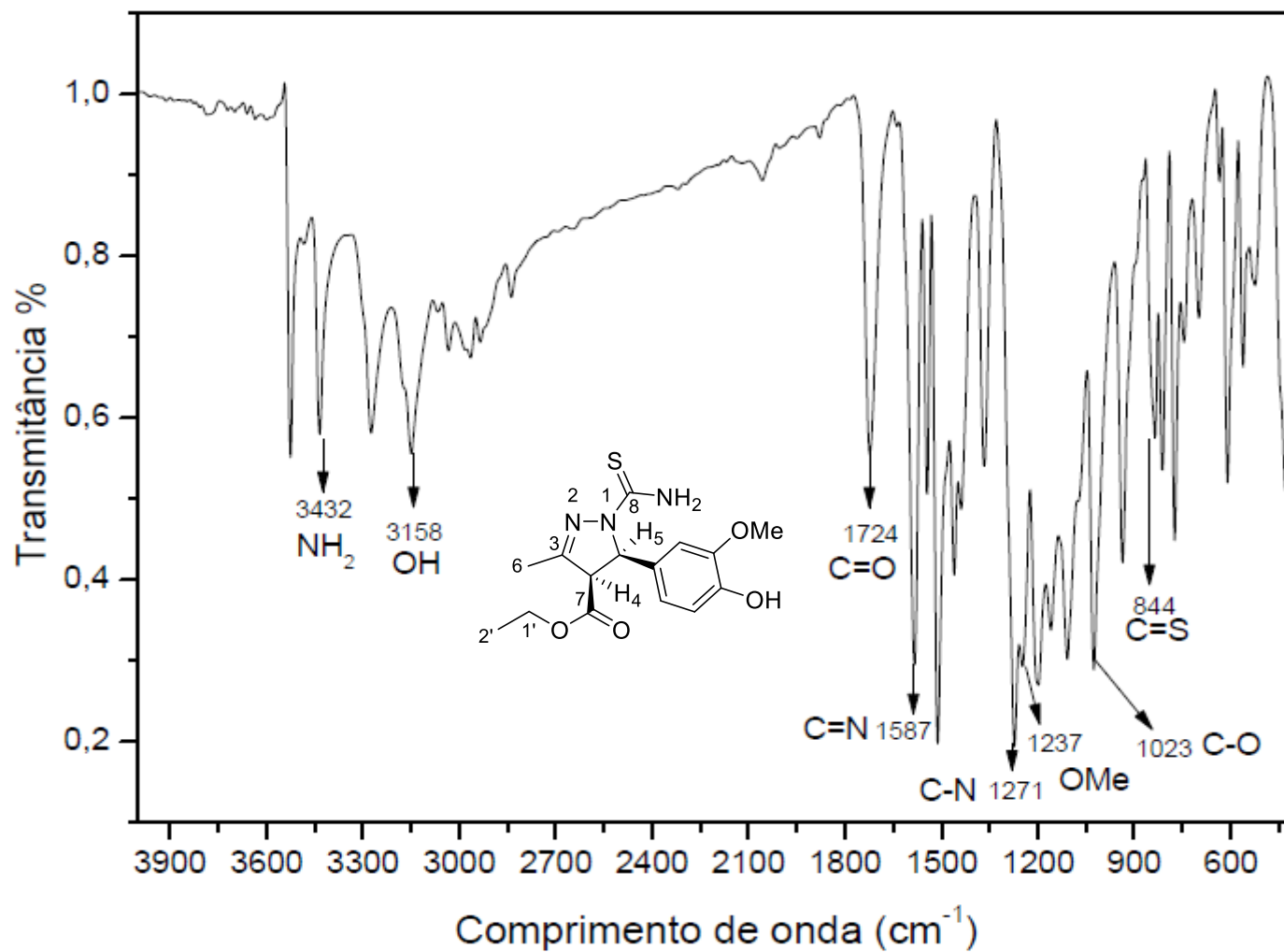


Figura 54. Espectro na região do infravermelho do composto 34d.

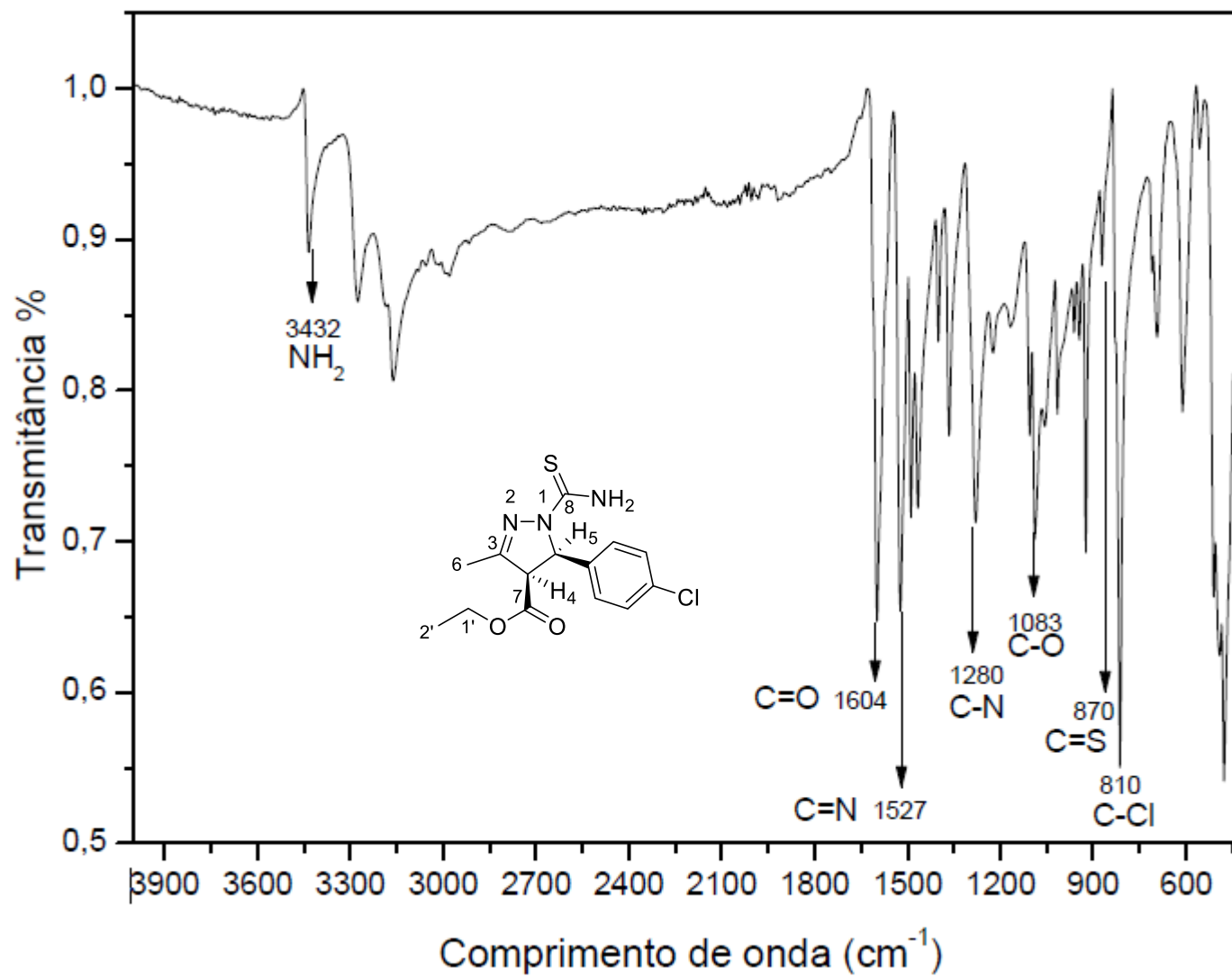


Figura 55. Espectro na região do infravermelho do composto 34e.