



Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

**SÍNTESE PROMOVIDA POR ULTRASSOM E ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA DE 4,5-DIIDRO-1H-AMIDINOPIRAZÓIS
TIENIL SUBSTITUÍDOS**

Dissertação de Mestrado

Mestrando: Eric Francisco Simão dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Lucas Pizzuti

Dourados-MS

2014

**SÍNTESE PROMOVIDA POR ULTRASSOM E ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA DE 4,5-DIIDRO-1H-AMIDINOPIRAZÓIS
TIENIL SUBSTITUÍDOS**

por

Eric Francisco Simão dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Lucas Pizzuti

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal da Grande Dourados, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química**.

Dourados, MS

2014

S237s Santos, Eric Francisco Simão dos.
Síntese promovida por ultrassom e atividade antibacteriana de 4,5-diidro-1*H*-amidinopirazóis tienil substituídos. / Eric Francisco Simão dos Santos. – Dourados, MS : UFGD, 2014.
97f.

Orientador: Prof. Dr. Lucas Pizzuti.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. 4,5-diidropirazóis. 2. Pirazolinas. 3. Atividade bactericida. I. Título.

CDD –547



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Termo de Aprovação

Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: "Síntese Promovida por Ultrassom e Atividade Antibacteriana de 4,5-diidro-1H-amidinopirazóis Tienil Substituídos.", de autoria de Eric Francisco Simão dos Santos, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dr. Lucas Pizzuti (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Profª. Drª. Rozanna Marques Muzzi
Membro Examinador (UFGD)

Prof. Dr. Alex Haroldo Jeller
Membro Examinador (UEMS)

Dourados/MS, 18 de fevereiro de 2014

RESUMO

SÍNTESE PROMOVIDA POR ULTRASSOM E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE 4,5-DIIDRO-1*H*-AMIDINOPIRAZÓIS TIENIL SUBSTITUÍDOS

AUTOR: Eric Francisco Simão dos Santos

ORIENTADOR: Prof. Dr. Lucas Pizzuti

O presente trabalho apresenta a síntese de 4,5-diidro-1*H*-amidinopirazóis utilizando a metodologia sonoquímica a partir da reação de ciclocondensação de 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas com cloridrato de aminoguanidina realizadas em etanol. Ao todo foram sintetizadas quatorze moléculas inéditas, sendo que, destas, treze foram submetidas a testes de avaliação da atividade antibacteriana. Os produtos foram isolados em rendimentos de 62-95%. A síntese assistida por ultrassom demonstrou ser eficaz, visto que as reações são realizadas em tempos menores e os produtos são obtidos sem a necessidade de procedimentos de purificação complicados. A utilização de um solvente ambientalmente correto, como o etanol, favorece ainda mais as relações com a química verde e colabora com o meio ambiente na economia de energia, na emissão de solventes voláteis na atmosfera e na geração de resíduos tóxicos. Nos testes de concentração inibitória mínima e de sensibilidade, algumas moléculas apresentaram resultados altamente seletivos. Tal fato, a nível farmacológico é extremamente importante para obtenção de substâncias com atividade frente a determinados microrganismo.

ABSTRACT**ULTRASOUND-PROMOTED SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL
ACTIVITY OF TIENYL SUBSTITUTED 4,5-DIHYDRO-1H-
AMIDINOPIRAZOLES**

AUTHOR: Eric Francisco Simão dos Santos

ADVISOR: Prof. Dr. Lucas Pizzuti

The present work describes the synthesis of 4,5-dihydro-1*H*-amidinopirazoles using sonochemical methodology by the cyclocondensation reaction of 3-aryl-1-(tien-2-yl)-prop-2-en-1-ones and aminoguanidine hydrochloride carried out in ethanol. Fourteen new molecules were synthesized, and, from these, thirteen were subjected to tests of antibacterial activity. The products were isolated in yields of 62-95%. The ultrasound-assisted synthesis has proved to be effective, since the reactions were carried out in less time and the products were obtained without using difficult purification procedures. The use of an environmentally friendly solvent, such as ethanol, favors further relations with green chemistry and collaborates with the environment by saving energy consumption, emission of volatile solvents in the atmosphere and the generation of toxic wastes. Some molecules showed highly selective results in the minimum inhibitory concentration and sensitivity test. From the pharmacological point of view, this fact is extremely important for obtaining substances with activity against certain microorganisms.

*Dedico esta dissertação à minha família e a Raquel Bertoldo
em retribuição ao intenso incentivo dado a mim
em toda minha trajetória acadêmica.*

AGRADECIMENTOS

- Agradecer a Deus, por ter me dado essa oportunidade, por me conceder saúde e força para encarar os momentos difíceis;
- Ao Professor Dr. Lucas Pizzuti, por toda paciência, orientação e por não se limitar em repassar seus conhecimentos aos alunos;
- Aos professores que participaram das bancas do exame de qualificação e da defesa: Alex Haroldo Jeller (UEMS), Jonas da Silva Mota (UEMS);
- Aos colegas e amigos da turma de mestrado e do laboratório: Danilo Yano, Jéssica Kunsminkas, Márcia Franco, Cícera Maria da Silva, Eduardo dos Santos Freitas Cardoso, Elvis Lincoln de Assunção, Fabiano Moura Rubio, Geziel Rodrigues de Andrade, Lis Regiane Vizolli Favarin, Rafael Aparecido Ciola Amoresi, Robson Carlos de Andrade, Uendinara Bilibio, Vanessa Cruz Dias Peronico, Sylvania Rizzi, Gelson Tiago dos Santos Tavares da Silva, Tereza Manuel Cossa, Tairine Pimentel, Juciely Moreti dos Reis, Alessandra Ramos entre outros que de certa forma colaboraram para execução deste trabalho;
- Aos alunos de iniciação científica Tainara Andrade, Priscila Toschi e Jéssica Guerreiro pela grande contribuição na execução do trabalho experimental;
- À secretária da Coordenação da Pós-Graduação Claudia Pereira pelo auxílio nas questões burocráticas;
- À UFSM pelas análises de RMN e à Carlise Frota da UNICAMP pela colaboração nas análises de RMN;
- Ao Prof. Dr. Sidnei Moura da Universidade de Caxias do Sul (UCS) pelas análises de espectrometria de massas de alta resolução;
- Ao Professor Dr. Anderson Caires por fornecer o suporte necessário para as análises de infravermelho.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

| | |
|-------|---|
|)))) | Ondas ultrassônicas |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| BHI | <i>Brain heart infusion</i> |
| CIM | Concentração inibitória mínima |
| CG/EM | Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas |
| CLSI | <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> |
| EMAR | Espectrometria de massas de alta resolução |
| EtOH | Etanol |
| IV | Infravermelho |
| MeOH | Metanol |
| pf | Ponto de fusão |
| ppm | Parte por milhão |
| RMN | Ressonância magnética nuclear |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 Otimização da reação de ciclocondensação entre 3-fenil-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona (1a) e cloridrato de aminoguanidina para obtenção do produto 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a)..... | 39 |
| Tabela 2 Dados experimentais dos cloridratos de 5-aryl-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazóis 2a-n | 39 |
| Tabela 3 Concentração inibitória mínima para os compostos 2a-d,f-n e antibióticos padrão contra microrganismos padrão..... | 48 |
| Tabela 4 Teste de sensibilidade <i>in vitro</i> das CIM encontradas para os compostos 2a-d,f-n e antibióticos padrão contra microrganismos padrão..... | 49 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Pirazol (1) e 4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol ou pirazolina (2) | 18 |
| Figura 2 Exemplos de pirazóis comerciais | 27 |
| Figura 3: Representação da regioseletividade das 3- <i>aryl</i> -1-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-prop-2-en-1-onas (1a-n) sofrendo um ataque dinucleofílico | 41 |
| Figura 4 Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 44 |
| Figura 5 Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 44 |
| Figura 6 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b) | 45 |
| Figura 7 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b) | 45 |
| Figura 8 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b) | 46 |
| Figura 9 Espectro de RMN de ¹ H a 500 MHz do cloridrato de 5- <i>aryl</i> -3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 57 |
| Figura 10 Espectro de RMN de ¹³ C a 126 MHz do cloridrato de 5- <i>aryl</i> -3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 57 |
| Figura 11 Espectro de RMN de ¹ H a 500 MHz do cloridrato de cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 58 |
| Figura 12 Espectro de RMN de ¹³ C a 126 MHz do cloridrato de cloridrato de cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 58 |
| Figura 13 Espectro de RMN de ¹ H a 500 MHz do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2d), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 59 |
| Figura 14 Espectro de RMN de ¹³ C a 126 MHz do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2d), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 59 |
| Figura 15 Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2e), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 60 |
| Figura 16 Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2e), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 60 |
| Figura 17 Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-metilfenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2e), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 61 |
| Figura 18 Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-metilfenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2f), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 61 |
| Figura 19 Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-trifluormetilfenil)-3-(<i>tién</i> -2- <i>il</i>)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2g), em DMSO- <i>d</i> ₆ | 62 |

| | |
|---|----|
| Figura 20 Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-trifluormetilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2g), em $\text{DMSO-}d_6$ | 62 |
| Figura 21 Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2h), em $\text{DMSO-}d_6$ | 63 |
| Figura 22 Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2h), em $\text{DMSO-}d_6$ | 63 |
| Figura 23 Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2i), em $\text{DMSO-}d_6$ | 64 |
| Figura 24 Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2i), em $\text{DMSO-}d_6$ | 64 |
| Figura 25 Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2j), em $\text{DMSO-}d_6$ | 65 |
| Figura 26 Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2j), em $\text{DMSO-}d_6$ | 65 |
| Figura 27 Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2k), em $\text{DMSO-}d_6$ | 66 |
| Figura 28 Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2k), em $\text{DMSO-}d_6$ | 66 |
| Figura 29 Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2l), em $\text{DMSO-}d_6$ | 67 |
| Figura 30 Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2l), em $\text{DMSO-}d_6$ | 67 |
| Figura 31 Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2m), em $\text{DMSO-}d_6$ | 68 |
| Figura 32 Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2m), em $\text{DMSO-}d_6$ | 68 |
| Figura 33 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a) | 70 |
| Figura 34 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b) | 70 |
| Figura 35 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2c) | 70 |
| Figura 36 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2d) | 70 |
| Figura 37 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2e) | 71 |
| Figura 38 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2f) | 71 |
| Figura 39 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-trifluormetilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2g) | 71 |
| Figura 40 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2h) | 71 |
| Figura 41 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3- | |

| | |
|--|----|
| (tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2i) | 72 |
| Figura 42 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2j) | 72 |
| Figura 43 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2k) | 72 |
| Figura 44 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2l) | 72 |
| Figura 45 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2l) | 73 |
| Figura 46 Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3,4,5-trimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (3n) | 73 |
| Figura 47 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a) | 75 |
| Figura 48 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2c) | 76 |
| Figura 49 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2e) | 77 |
| Figura 50 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2f) | 78 |
| Figura 51 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-trifluormetilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2g) | 79 |
| Figura 52 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2i) | 80 |
| Figura 53 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2j) | 81 |
| Figura 54 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2k) | 82 |
| Figura 55 Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2m) | 83 |
| Figura 56 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2a) | 85 |
| Figura 57 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2b) | 86 |
| Figura 58 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2c) | 87 |
| Figura 59 : Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2d) | 88 |
| Figura 60 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2f) | 89 |
| Figura 61 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-trifluormetilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2g) | 90 |
| Figura 62 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2h) | 91 |

| | |
|--|----|
| Figura 63 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2i) | 92 |
| Figura 64 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2j) | 93 |
| Figura 65 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2k) | 94 |
| Figura 66 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2l) | 95 |
| Figura 67 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2m) | 96 |
| Figura 68 Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3,4,5-trimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1 <i>H</i> -amidinopirazol (2n) | 97 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 17 |
| 2 OBJETIVOS..... | 19 |
| 2.1. Objetivo geral..... | 19 |
| 2.2. Objetivos específicos..... | 19 |
| 3 REVISÃO DE LITERATURA..... | 20 |
| 3.1 Química Verde..... | 20 |
| 3.2 Sonoquímica..... | 21 |
| 3.3 Metodologias sintéticas para a obtenção de pirazolinas e pirazóis..... | 23 |
| 3.3.1 <i>Ciclocondensação de compostos 1,3-dicarbonílicos com hidrazinas ..</i> | 23 |
| 3.3.2 <i>Ciclocondensação de compostos carbonílicos α,β-insaturados com hidrazinas.....</i> | 24 |
| 3.3.3 <i>Cicloadição 1,3-dipolar.....</i> | 25 |
| 3.4 Química medicinal de compostos heterocíclicos | 26 |
| 3.5 Importância biológicas das pirazolinas..... | 26 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 28 |
| 4.1 Equipamentos utilizados..... | 28 |
| 4.1.1 <i>Ultrassonicador.....</i> | 28 |
| 4.1.2 <i>Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM)...</i> | 28 |
| 4.1.3 <i>Espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i> | 28 |
| 4.1.4 <i>Ponto de fusão (pf).....</i> | 28 |
| 4.1.5 <i>Espectrômetro de massas de alta resolução (EMAR).....</i> | 28 |
| 4.1.6 <i>Infravermelho (IV).....</i> | 29 |
| 4.2 Métodos Experimentais..... | 29 |
| 4.2.1 <i>Procedimento de síntese das 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas (1a-n).....</i> | 29 |
| 4.2.2 <i>Procedimento de síntese dos 5-aryl-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazóis (2a-n).....</i> | 29 |
| 4.2.3 <i>Metodologia da avaliação da atividade antibacteriana.....</i> | 29 |
| 4.2.3.1 <i>Microrganismos.....</i> | 29 |
| 4.2.3.2 <i>Preparo do inóculo microbiano.....</i> | 30 |
| 4.2.3.3 <i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....</i> | 30 |
| 4.2.3.4 <i>Teste de sensibilidade in vitro.....</i> | 30 |
| 4.3 Dados físicos e espectroscópicos dos compostos 2a-n..... | 31 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 38 |
| 5.1 Proposta de mecanismo da reação entre 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona (1a) e cloridrato de aminoguanidina..... | 42 |
| 5.2 Caracterização espectroscópica dos compostos 2a-n..... | 43 |
| 5.3 Avaliação da atividade antibacteriana..... | 46 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 50 |
| 7 REFERÊNCIAS..... | 51 |
| ANEXO I – ESPECTROS DE RMN | 56 |

| | |
|---|-----------|
| ANEXO II – ESPECTROS DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO | 69 |
| ANEXO III – ESPECTROS DE MASSAS DE BAIXA RESOLUÇÃO | 74 |
| ANEXO IV – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO..... | 84 |

1 INTRODUÇÃO

Existe uma infinidade de moléculas orgânicas heterocíclicas encontradas na natureza, com excelentes atividades farmacológicas. O número de compostos heterocíclicos vem crescendo a cada dia devido ao estudo intenso de profissionais da síntese orgânica e da química medicinal, tendo como objetivo moléculas inéditas e que tenham atividades farmacológicas [1-3]. Tais heterociclos são subestruturas de uma enorme variedade de compostos com aplicações farmacológicas, atividades biológicas, na ciência de materiais e na química de coordenação [4].

Consciente deste fato, nosso grupo de pesquisa vem buscando inovações em rotas sintéticas para obtenção de heterociclos com substituições objetivadas a aplicações potenciais, e ou congêneres estruturais de compostos com aplicações já conhecidas, que possam ser alvos de derivatizações para obtenção de moléculas alvo bioativas [5-11].

Devido à grande e fundamental importância da preservação do meio ambiente em nossos dias, o desenvolvimento de rotas sintéticas sustentáveis tem sido alvo de nossa especial atenção. A busca para se adaptar à um novo cenário de síntese orgânica denominado química verde vem crescendo a cada dia. Nossos estudos têm dado um alto destaque para as sínteses realizadas em ultrassom. Vários de nossos trabalhos têm demonstrado a eficiência da utilização de ondas ultrassônicas para catalisar reações nas sínteses de heterociclos [4,8-10,12].

Para o desenvolvimento de rotas sintéticas ambientalmente corretas, procuramos enquadrar em nossas metodologias os princípios que a química verde nos dispõe, entre os doze princípios procuramos evitar ou reduzir ao máximo o uso de solventes voláteis, realizando as sínteses em meio aquoso [15] ou etanólico [8,9], e ativando as reações com ultrassom [12,13], procurando isentar a utilização de catalisadores que possam poluir o meio ambiente e não expondo em risco a saúde humana [13,14].

Os compostos heterocíclicos com anel de cinco membros contendo dois nitrogênios adjacentes são classificados como pirazóis (**1**), quando aromáticos, ou 4,5-diidro-1*H*-pirazóis (**2**), também chamados de pirazolininas (**Figura 1**). Inúmeros compostos que possuem o núcleo pirazólico são conhecidos por conter atividades biológicas e farmacológicas, como inibidora da monoamina oxidase, antibacteriana, antidepressiva, hipotensora, antipirética, antimicrobiana, anti-hipertensiva, antitumoral, antiinflamatória e anticonvulsivante [15-26].

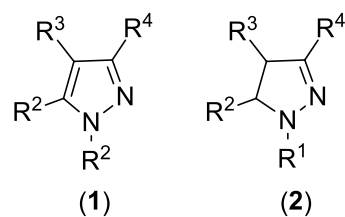


Figura 1: Pirazol **(1)** e 4,5-diidro-1*H*-pirazol ou pirazolina **(2)**.

Atentos a estes fatos, sintetizamos uma série de 4,5-diidro-1*H*-pirazóis através de reações de ciclocondensação entre chalconas substituídas e cloridrato de aminoguanidina, submetendo as mesmas a posteriores estudos de potencial biológico.

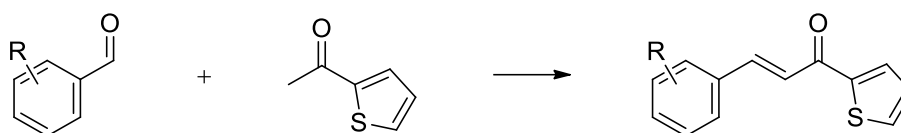
2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Esse trabalho tem como objetivo obter derivados de 5-aryl-3-(thien-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-amidinopirazóis através de reações entre 3-aryl-1-(thien-2-yl)-prop-2-en-1-onas com cloridrato de aminoguanidina promovida por ultrassom e a avaliação do potencial antibacteriano.

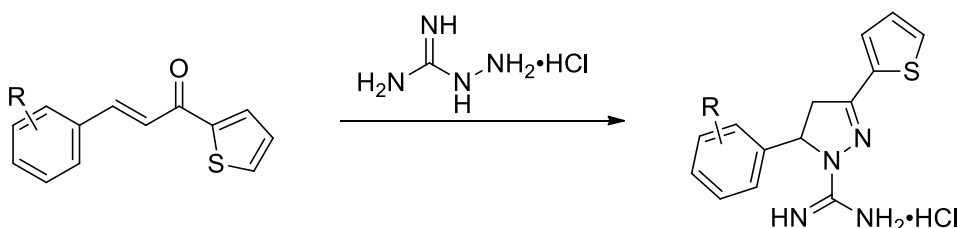
2.2 Objetivos específicos

- sintetizar os precursores 3-aryl-1-(thien-2-yl)-prop-2-en-1-onas via condensação de aldeídos aromáticos com 2-acetiltiofeno (**Esquema 1**);



Esquema 1

- utilizar o ultrassom para promover a reação entre as 3-aryl-1-(thien-2-yl)-prop-2-en-1-onas e o cloridrato de aminoguanidina visando à obtenção de 5-aryl-3-(thien-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-amidinopirazóis (**Esquema 2**);



Esquema 2

- caracterizar os produtos obtidos através de técnicas de RMN de ¹H e ¹³C, espectrometria de massas de alta e de baixa resolução e infravermelho;

- avaliar a atividade antibacteriana dos 5-aryl-3-(thien-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-amidinopirazóis.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Química Verde

Está extremamente claro para o mundo a necessidade de se criar e adaptar tecnologias mais sustentáveis [27]. A quantidade de solventes utilizados e de resíduos que são liberados pelas indústrias químicas são enormes [28,29], principalmente as indústrias que fabricam produtos da química fina e farmacêuticos [30].

A química verde, preocupada com a saúde humana e com o meio ambiente, preza pelo desenvolvimento e implementação de produtos químicos e processos para reduzir ou eliminar o uso ou geração de substâncias nocivas [28]. No contexto de síntese orgânica, existe a busca intensa por rotas sintéticas livres de solventes orgânicos, principalmente os mais voláteis [29,30], ausentar o uso de catalizadores nas reações, buscando ativar as mesmas com microondas ou ondas ultrassônicas [4,8-10], líquidos iônicos, fluídos supercríticos e reações em fase sólida.^{31,32}

Alguns artigos procuraram dar uma definição dos principais elementos da química verde. Basicamente, são descritos doze tópicos que precisam ser seguidos quando se tem interesse em implementar a química verde em uma indústria ou instituição de ensino e/ou pesquisa na área de química. Os doze princípios regidos pelo Química Verde são [28]:

1. *Prevenção*. Evitar ou diminuir a produção do resíduos é melhor do que tratá-lo ou após sua geração.

2. *Economia de Átomos*. Deve-se pesquisar metodologias sintéticas que possam maximizar a incorporação de todos os materiais de partida no produto final.

3. *Síntese de Produtos Menos Perigosos*. Sempre que realizar a síntese de um produto químico deve utilizar e gerar substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao ambiente.

4. *Desenho de Produtos Seguros*. Os produtos químicos devem ser desenhados de tal modo que realizem a função desejada.

5. *Solventes e Auxiliares mais Seguros*. O utilização de substâncias auxiliares como os solventes, agentes de separação e secantes precisa sempre que possível, tornar-se desnecessário e, quando utilizadas, estas substâncias devem ser inofensivas.

6. *Busca pela Eficiência de Energia*. A utilização de energia para realização dos processos químicos precisa ser reconhecida pelos seus impactos ambientais e econômicos

devendo ser minimizada. Se possível, os processos químicos devem ser realizados à temperatura e pressão ambientes.

7. *Uso de Fontes Renováveis de Matéria-Prima.* Sempre que técnica e economicamente viável, a utilização de matérias-primas renováveis deve ser escolhida em detrimento de fontes não renováveis.

8. *Evitar a Formação de Derivados.* A derivatização desnecessária (uso de grupos bloqueadores, proteção/desproteção, modificação temporária por processos físicos e químicos) deve ser minimizada ou evitada, porque estas etapas requerem reagentes adicionais e podem gerar resíduos em alguns casos tóxicos.

9. *Catálise.* Reagentes catalíticos são melhores que reagentes estequiométricos.

10. *Desenho para a Degradação.* Os produtos químicos precisam ser desenhados de tal modo que, ao final de sua função, se fragmentem em produtos de degradação.

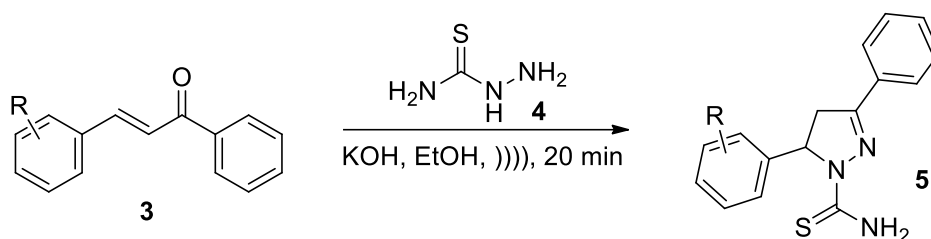
11. *Análise em Tempo Real para a Prevenção da Poluição.* Será necessário o desenvolvimento futuro de metodologias analíticas que viabilizem um monitoramento e controle dentro do processo, em tempo real, antes da formação de substâncias nocivas.

12. *Química Intrinsecamente Segura para a Prevenção de Acidentes.* As substâncias, bem como a maneira pela qual uma substância é utilizada em um processo químico, devem ser escolhidas a fim de minimizar o potencial para acidentes químicos, incluindo vazamentos, explosões e incêndios.

3.2 Sonoquímica

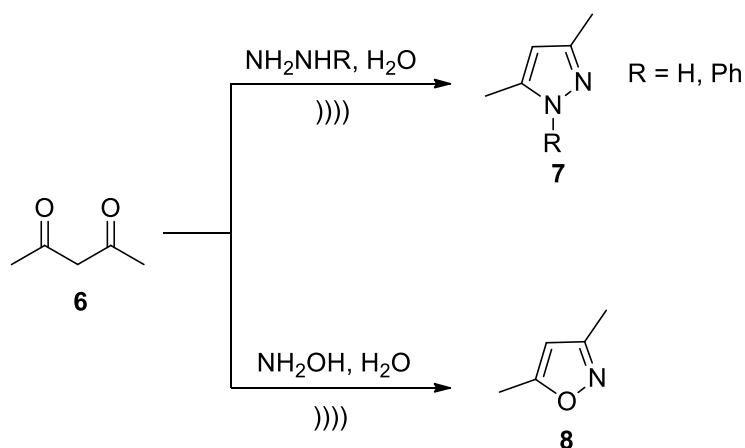
Sonoquímica é uma área da química que estuda as aplicações das ondas ultrassônicas em reações químicas, o intervalo de ondas utilizadas em reações, fica entre 20 kHz e 100 kHz [33]. A radiação ultrassônica tem várias aplicações e em várias áreas das ciências, como na medicina, física, engenharia, indústria, sendo também muito usada pelos animais marinhos e animais com hábitos noturnos como morcegos para se orientarem através do eco [12].

Sabendo que essa é uma técnica promissora, Pizzuti *et al.* [8] realizaram a síntese de inúmeros 4,5-diidropirazóis utilizando sondas ultrassônicas dando uma enorme contribuição para o avanço da técnica, tentando melhorar os tempos de reação e rendimentos obtidos pelas metodologias clássicas. Em 2009, realizaram a síntese de pirazóis a partir de chalconas substituídas (**3**) e tiosemicarbazida (**4**) na presença de etanol como solvente em 20 min de sonicação, os tiocarbamoilpirazóis (**5**) foram obtidos com bons rendimentos e sem necessidade de recristalização (**Esquema 3**) [8].



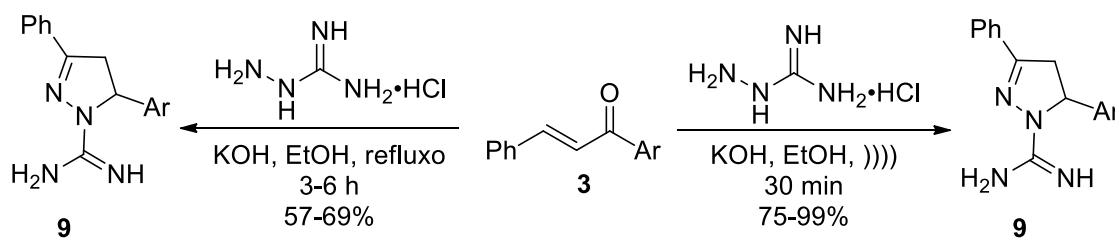
Esquema 3

Paralelamente, em 2009 também foi utilizado o ultrassom para síntese de pirazóis (6) e de isoxazol (7) a partir de compostos dicarbonílicos (8) estruturalmente simples utilizando água como um solvente ecologicamente eficiente (Esquema 4). Mais uma vez a técnica mostrou-se eficiente e promoveu a reação com rendimentos em torno de 70-99% em 10 minutos de reação, sem necessidade de utilizar catalisadores [3].



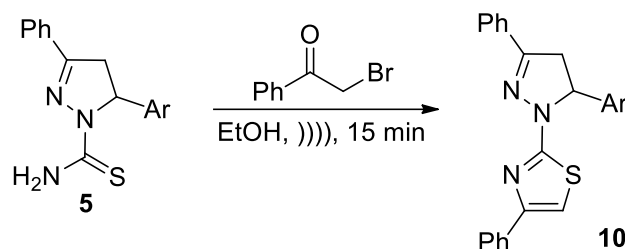
Esquema 4

Dando sequência a esta linha de pesquisa, em 2010, aplicou-se a técnica de ultrassom para realizar a ciclocondensação de chalconas (3) com cloridrato de aminoguanidina a fim de melhorar a cinética e os rendimentos em relação as sínteses realizadas em refluxo, obteve-se inúmeros carboxamidinopirazóis (9) (Esquema 5). Obtiveram excelentes resultados, à medida que conseguimos reduzir drasticamente o tempo de reação e melhorar os rendimentos, ausentando a necessidade de purificação dos compostos [4].



Esquema 5

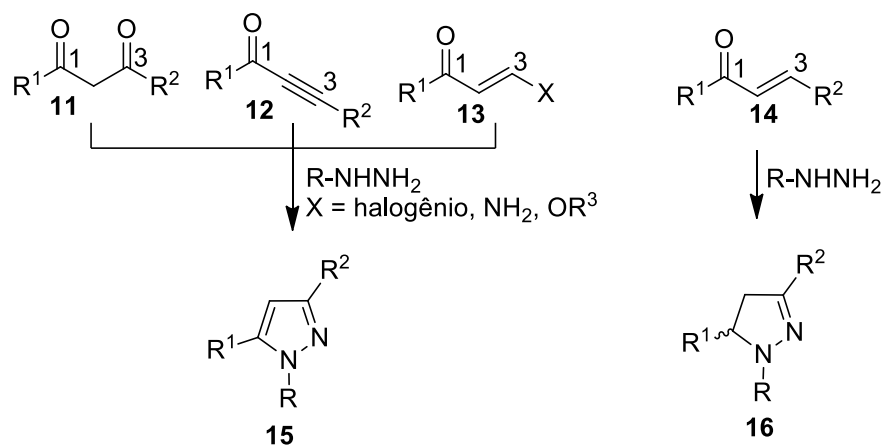
Em 2011, aplicou-se a técnica de irradiação ultrassônica para ativar a reação de ciclocondensação entre tiocarbamoilpirazóis (**5**) e 2-bromoacetofenona, formando os sistemas bi-heterocíclicos pirazolil-tiazóis (**10**) em tempos de 15 minutos e bons rendimentos (**Esquema 6**) [5,9].



Esquema 6

3.3 Metodologias sintéticas para a obtenção de pirazóis e pirazolininas

As metodologias de síntese de pirazóis mais exploradas são as ciclocondensações de compostos 1,3- dieletrofilicos com hidrazinas, formando uma vasta variedade de pirazóis substituídos **15** e **16** (**Esquema 7**). Os métodos mais utilizados são para a preparação de pirazóis funcionalizados nas posições 3 e 5. Os precursores dieletrofilicos mais utilizados para a síntese dos pirazóis são compostos 1,3-dicarbonílicos **11** e compostos carbonílicos α,β -insaturados **12**, **13** e **14**.

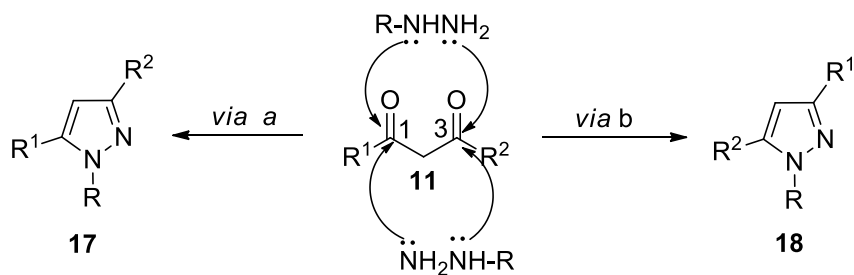


Esquema 7

A seguir serão mostradas algumas sínteses de pirazóis provenientes desses precursores.

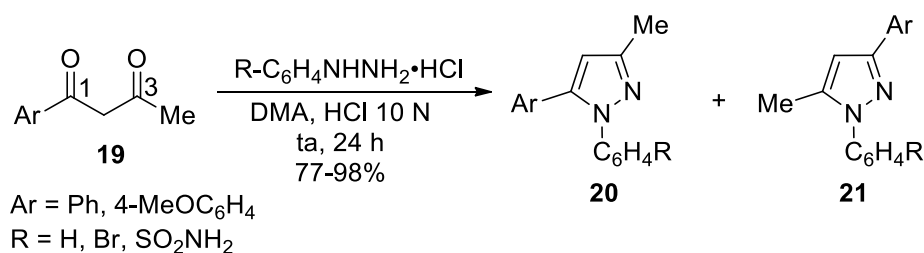
3.3.1 Ciclocondensação de compostos 1,3-dicarbonílicos com hidrazinas

A síntese de pirazóis a partir de compostos 1,3-dicarbonílicos pode acarretar em misturas de regioisômeros (**17**, **18**) devido a semelhança na reatividade das carbonilas, podendo assim, o nucleófilo atacar por duas vias (**Esquema 8**) [37,39].



Esquema 8

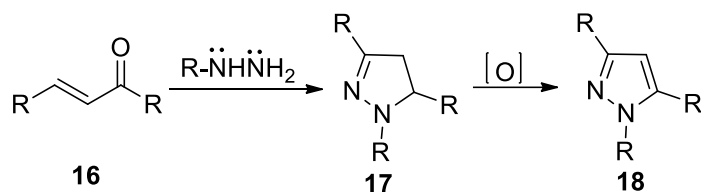
A ciclocondensação entre 1-arylbutano-1,3-dionas (**19**) e hidrocloreto de aril-hidrazina é normalmente realizada em solventes polares próticos, obtendo-se pirazóis (**20** e **21**) bons rendimentos [37], os solventes próticos têm a habilidade de aumentar a nucleofilicidade e eletrofilicidade dos substratos [38]. A mesma foi realizada em solvente aprótico *N,N*-dimetilacetamida, havendo a necessidade de catalisador ácido obtendo também rendimentos excelentes (**Esquema 9**) [37].



Esquema 9

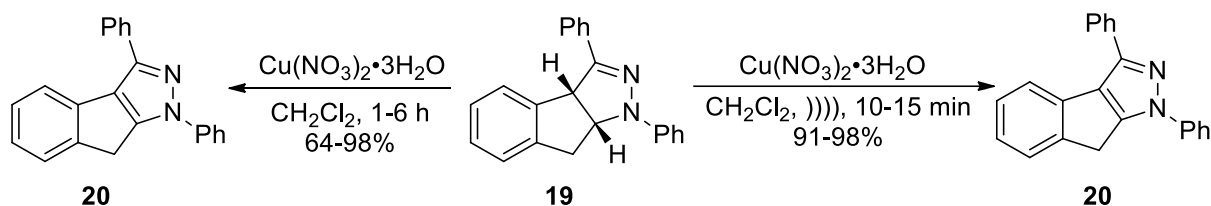
3.3.2 Ciclocondensação de compostos carbonílicos α,β -insaturados com hidrazinas

A condensação de enonas (**16**) com hidrazinas levam a formação de pirazolininas (**17**), havendo necessidade de um processo de oxidação para formar um pirazol aromático (**18**) (**Esquema 10**) [37].



Esquema 10

Mallouk e colaboradores em 2004 realizaram a aromatização de pirazolininas promovidas por agitação magnética e por radiação ultrassônica. O método de oxidação com $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ demonstra ser muito eficaz em ambas metodologias, mas a utilização de um ultrassom faz com que a reação aconteça num tempo muito inferior e os rendimentos aumentam significativamente (**Esquema 11**) [40].

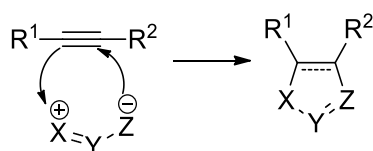


Esquema 11

Pizzuti e colaboradores realizaram a síntese de uma série de 3,5-diaril-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazóis a partir da ciclocondensação regioseletiva de chalconas com aminoguanidina, trabalhando com comparação de sínteses promovidas em refluxo e em ultrassom. Os resultados das reações ativadas com ondas ultrassônicas foram extremamente satisfatórios, à medida que se diminuiu drasticamente o tempo da reação e melhoram os rendimentos dos mesmos [4].

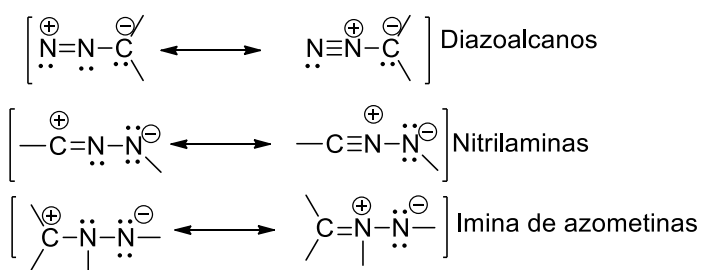
3.3.3 Cicloadição 1,3-dipolar

Cicloadições 1,3-dipolares são uma ferramenta promissora na síntese de pirazóis (**Esquema 12**) [37], os principais precursores dipolares para essas cicloadições são os diazoalcanos [42,43], nitrilaminas [44] e iminas de azometinas [45] (**Esquema 11**). Essas reações são conhecidas como cicloadições [3+2], muito úteis na formação de compostos pentacíclicos [42].



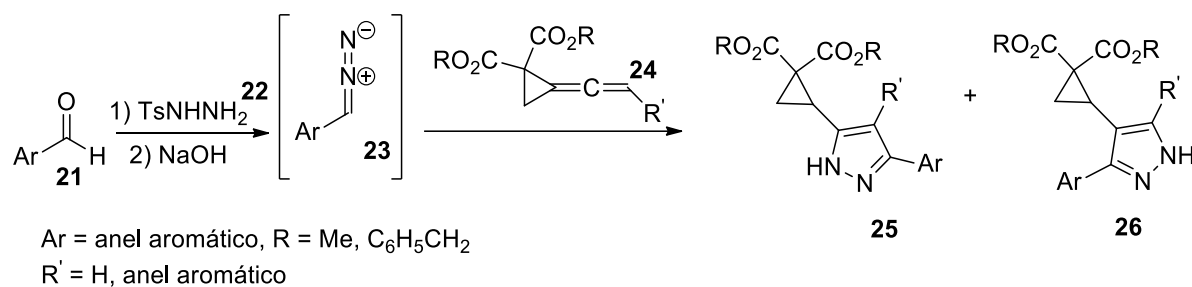
Esquema 12

Os compostos dipolares normalmente reagem com compostos insaturados como alcenos e alcinos gerando pirazolidinas e pirazóis, essas reações tem uma enorme característica regioseletiva devido a diferença de eletronegatividade dos átomos de C e N do substrato (**Esquema 13**) [37].



Esquema 13

Lei Wu e Min Shi realizaram a síntese de pirazóis reagindo alcenos com fenil-diazometanos (**Esquema 14**). A reação entre benzaldeído (**21**) e tosil hidrazina (**22**) gera o fenil-diazometano (**23**), que reage posteriormente com vinilideno ciclopropano de ésteres (**24**), formando pirazóis (**25** e **26**) com bons rendimentos. As sínteses quando realizadas em acetonitrila favorece a regioseletividade para a formação do produto (**26**) [43].



Esquema 14

3.4 Química medicinal de compostos heterocíclicos

Desde a antiguidade, no tratamento e na cura de enfermidades as plantas medicinais se destacavam. Tal fato fez com que inúmeros pesquisadores iniciassem um interesse, se atentando em estudar a atividade biológica de extratos de inúmeras plantas. Com o passar dos anos, alguns pesquisadores começaram a isolar substâncias dos extratos dessas plantas com atividades popularmente conhecidas, com o intuito de descobrir novas moléculas e que demonstrassem algum tipo de atividade biológica [1].

O surgimento da síntese orgânica tem um papel fundamental na vida moderna, por ter provocado um grande avanço na síntese de novas moléculas e ou fazendo mudanças em uma substância matriz. Tendo, essa classe de pesquisadores se dedicado a síntese compostos heterociclos, por ser um grupo extraordinariamente importante, fazendo parte da constituição de mais da metade de todos os compostos orgânicos conhecidos [2,47].

Os compostos heterocíclicos estão presentes em uma grande variedade de drogas, na maioria das vitaminas, produtos naturais, compostos biologicamente ativos, dentre eles os agentes antitumorais, antibióticos, anti-inflamatórios, antidepressivos, antimaláricos, anti-HIV, antibacteriana, antifúngica, antidiabético, herbicida, fungicida e agentes inseticidas [47].

3.5 Importância biológica das pirazolininas

Embora as pirazolininas não sejam encontradas na natureza, sua síntese e importância biológica vêm sendo estudada a cada dia, pela intensa pesquisa realizada sobre esses compostos. Existem alguns fármacos comerciais que contêm em sua estrutura o anel

pirazolínico. A **Figura 2** apresenta alguns compostos comerciais, o Celebra[®] (celecoxibe) (**27**) é um medicamento com atividade anti-inflamatória, também conhecido por ser um bom analgésico [48]. O Rimonabant (**28**) é um fármaco utilizado para redução de peso e diminuição da circunferência abdominal, conhecido como pílula antibarriga. O Fipronil (**29**) é conhecido por ser um inseticida de um vasto espectro de aplicação, o inseticida que atua no sistema nervoso central do inseto.

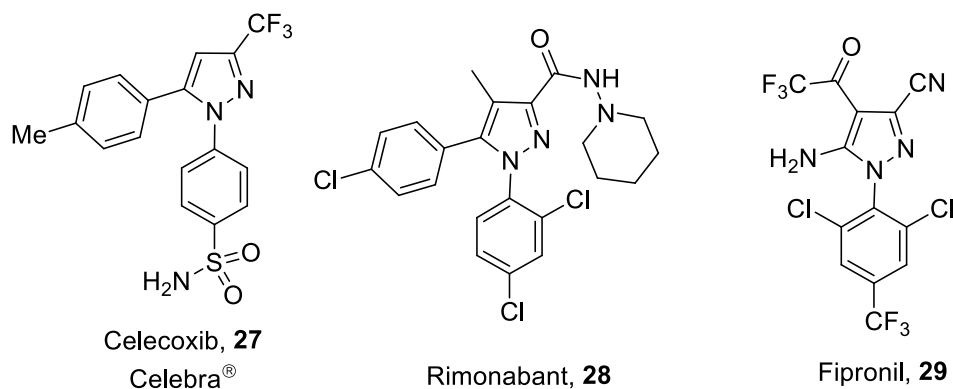


Figura 2: Exemplos de pirazóis comerciais.

Shaban e colaboradores em 2012 escreveram uma revisão fazendo um levantamento de pirazolinas patenteadas, o máximo de patentes de pirazolinas foi gerado em 2007, chegando a 59 patentes com vasta aplicação biológica [49].

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos utilizados

4.1.1 Ultrassonicador

As reações foram sonicadas com uma sonda conectada a um processador ultrassônico Sonics Vibracell de 500 W de potência máxima, operando em frequência de 20 KHz.

4.1.2 Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM)

Os cromatogramas e espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas marca Varian, modelo GC-431/MS-210. Para a fragmentação dos compostos, os mesmos foram bombardeados com feixe de elétrons de 70 eV. As amostras foram dissolvidas em acetato de etila e injetadas a fluxo constante de 1 mL/min com hélio como gás de arraste. Foi utilizada uma coluna capilar Varian Factor Four™ (30 m × 0,25 mm).

4.1.3 Espectrômetros de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Bruker DPX400, operando a 400,14 MHz para ^1H e 100,62 para ^{13}C , localizado no Departamento de Química da UFSM ou em um espectrômetro Bruker BioSpin GmbH, operando a 500 MHz para ^1H e 126 MHz para ^{13}C , localizado no Instituto de Química da UNICAMP. As amostras foram preparadas dissolvendo-se os compostos em DMSO- d_6 . Tetrametilsilano (TMS) a 0,1% foi utilizado como referência interna. As medidas foram realizadas em tubos de 5 mm à temperatura ambiente.

4.1.4 Aparelho para determinação do ponto de fusão (p.f.)

A determinação dos pontos de fusão foi realizada em capilares abertos em um aparelho da marca Instrutherm, utilizando termômetro não aferido.

4.1.5 Espectrômetro de massas de alta resolução (EMAR)

As análises de massas de alta resolução foram realizadas por inserção direta em um instrumento Micro-TOF equipado com uma fonte ESI, operando no modo de íon positivo. As amostras foram dissolvidas em MeOH ($\approx 0,5$ mg/mL) e introduzidas a 5 mL/min. Gás

nitrogênio foi usado para a nebulização (0,5 bar) e secagem (5 L/min, 180°C). A calibração de massa exata foi obtida usando uma solução de trifluoroacetato de sódio (10 mg/mL) como padrão interno.

4.1.6 Espectrômetro de infravermelho (IV)

Os dados de espectroscopia na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro FT/IR- 4100 Jasco, em uma janela espectral de 400 até 4000 cm^{-1} , utilizando dispersão das amostras em KBr.

4.2 Métodos Experimentais

4.2.1 Procedimento geral de síntese das 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas **1a-n**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados o 2-acetiltiofeno (1,26 g, 10 mmol), o benzaldeído apropriado (10 mmol) e etanol (20 mL). A esta mistura, sob agitação magnética, foi adicionado gota a gota o catalisador KOH 20% (4 mL) a temperatura ambiente. A mistura foi mantida sob agitação durante 4 horas. Decorrido este tempo, o balão foi resfriado em banho de gelo e a reação neutralizada com HCl 10% (20 mL). O precipitado foi filtrado, lavado com etanol gelado e seco em dessecador. A formação dos produtos **1a-n** foi confirmada por espectrometria de massas de baixa resolução.

4.2.2 Procedimento geral de síntese dos cloridratos de 5-aryl-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazóis **2a-n**

Em um frasco apropriado, foi adicionada a 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona **1a-n** apropriada (2 mmol), o cloridrato de aminoguanidina (0,22 g, 2 mmol) e etanol (15 mL). Em seguida, foi adicionado o KOH em pó (0,11 g, 2 mmol). A mistura foi sonicada por 15-35 minutos, conforme o precursor **1a-n** utilizado. Após o tempo de sonicação apropriado, a mistura foi transferida para um funil de extração ao qual foi adicionado HCl 10% (10 mL). O produto foi extraído com clorofórmio (3×20 mL) e as fases orgânicas combinadas. Posteriormente, a fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Após recristalização do sólido resultante em acetato de etila, o produto **2a-n** foi obtido na forma de sólido amorfo.

4.2.3 Metodologia da avaliação da atividade antibacteriana

4.2.3.1 Microrganismos

Os microrganismos utilizados nos testes de avaliação da atividade antimicrobiana foram as bactérias *American Type Culture Collection* (ATCC) *Staphylococcus aureus* - 37664, *Escherichia coli* - 25922, *Salmonella sp* - 13076, *Enterococcus faecalis* - 51299 e *Pseudomonas aerogenosa* - 27853. Os mesmos foram cedidos pelo Prof. Dr Fabio Juliano Negrão, onde o mesmo supervisionou os testes realizados no Laboratório de Microbiologia Aplicada da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (FCS/UFGD).

4.2.3.2 Preparo do inóculo microbiano

Os microrganismos foram ativados em tubos com caldo de infusão de cérebro e coração (BHI), incubados a 35°C por 24 horas. Para o isolamento de colônias, uma alíquota de cada cultura ativada foi transferida com o auxílio de uma alça calibrada para placa de Petri com Agar Mueller-Hinton e incubado a 35°C por 24 horas. Após esse processo, algumas colônias foram transferidas para um tubo de ensaio com 3 mL de solução salina (0,90%). A suspensão de microrganismos foi preparada em solução salina de acordo com a escala de turbidez padrão Mc Farland na escala 1/2. O teste foi adaptado de acordo com o procedimento para a realização do experimento a fim de determinar a concentração inibitória mínima (CIM).

4.2.3.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada em triplicata, em placas de Elisa de fundo U, nas quais foi adicionado em cada pocinho 100 µL de meio líquido Muller-Hinton devidamente esterilizado, 50 µL da suspensão de bactérias e 50 µL da solução estoque de 4,5-diidro-1H-amidinopirazol. As soluções estoque dos compostos **2a-n** foram preparadas em DMSO na concentração de 12000 µg/mL. As concentrações que foram trabalhadas nas placas variaram de 3000 µg/mL a 0,011 µg/mL.

Foi realizado um controle para cada microrganismo, composto por um branco contendo apenas o meio de cultura e outro contendo o solvente empregado na diluição das amostras (DMSO). As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas.

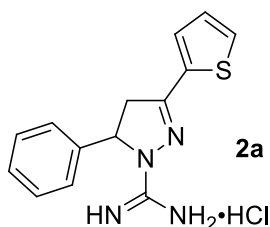
4.2.3.4 Teste de sensibilidade in vitro

Após os ensaios da concentração inibitória mínima determinou-se a concentração bactericida mínima (CBM). Para isso, foram feitas novas inoculações dos meios em que

ocorreram a CIM, com auxílio de alça de platina, cada pocinho foi inoculado novamente em Agar Mueller-Hinton e incubados em por 24 horas a 35°C. O meio de cultura em que houver crescimento do microrganismo denomina-se uma ação bacteriostática também chamada de efeito intermediário, e onde não houve crescimento bacteriano significa que o agente antimicrobiano teve uma ação bactericida, a bactéria foi eliminada em contato com o respectivo composto.

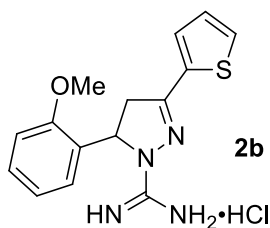
4.3 Dados físicos e espectroscópicos dos compostos 2a-n

Cloridrato de 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2a):



95%, sólido amarelo; p.f. 266-268°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3337, 3115, 1609, 1430; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 7,95 (s, 4H, C(NH₂)₂), 7,85 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,56 (dd, 1H, $J = 1,0$ Hz, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,39 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, Ar), 7,33 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,22 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, Ar), 7,17 (dd, 1H, $J = 3,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz, tienil), 5,95 (m, 1H_c), 4,09 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H_b), 3,36 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,0$ Hz, $J_{ab} = 17,9$ Hz, H_a); RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,0, 152,8, 139,5, 132,6, 131,9, 131,2, 128,9, 128,1, 125,2, 60,2, 55,9; 44,3; CG/MS [m/z (%)]: 226 (100), 227 (15), 197 (25). EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₄H₁₆N₄S: 271.1017, exp.: 271.1019.

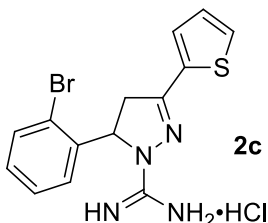
Cloridrato de 5-(2-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2b):



80%, sólido amarelo, p.f. 287-288°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3255, 3190, 3103, 1618, 1423, 1243; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 7,86 (s, 4H, C(NH₂)₂), 7,82 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 5,0$ Hz, Ar), 7,54 (dd, 1H, $J = 1,0$ Hz, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,34 (m, 1H, Ar), 7,16 (dd, 1H, $J = 3,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz, tienil), 7,11 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, Ar), 6,94 (m, 2H, tienil e Ar), 5,87 (dd, 1H, $J_{xa} = 3,2$ Hz, $J_{xb} = 11,1$ Hz, H_x), 4,04 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,7$ Hz, H_b), 3,83 (s, 1H,

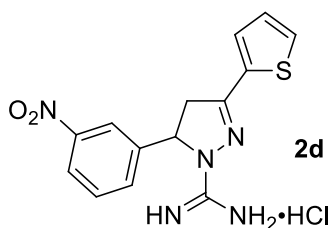
Ar-OCH₃), 3,24 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,2$ Hz, $J_{ab} = 17,7$ Hz, H_a); RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 156,1, 153,6, 152,8, 132,7, 131,7, 131,0, 129,4, 128,0, 126,2, 124,8, 120,2, 111,7, 57,1, 55,6, 43,2; EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₅H₁₇N₄OS: 301,1123, exp.: 301,1148.

Cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2c):



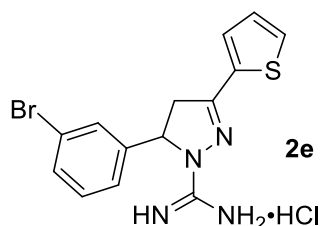
62%; sólido amarelado; p.f. 285-288°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3290, 3117, 1603, 1423; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 8,01 (s, 4H, C(NH₂)₂), 7,84 (d, 1H, $J = 4,9$ Hz, tienil), 7,75 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,55 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz, tienil), 7,52 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,36 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, Ar), 7,16 (d, 1H, 4,8 Hz, tienil), 6,01 (dd, 1H, $J_{xa} = 2,8$ Hz, $J_{xb} = 11,1$ Hz, H_x), 4,09 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,9$ Hz, H_b), 3,40 (dd, 1H, $J_{ax} = 2,9$ Hz, H_a); RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,1, 152,0, 135,7, 132,6, 132,5, 132,2, 132,0, 131,2, 129,7, 128,0, 127,5, 126,6, 58,5, 43,1,; CG/MS [m/z (%): 306 (100), 294 (89), 151 (79), 43 (96). EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₄H₁₄BrN₄S: 349,0122, exp.: 349,0129.

Cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2d):



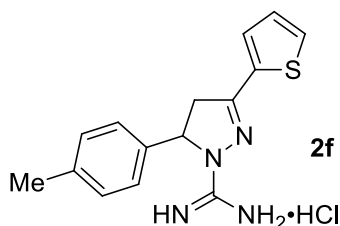
65%, sólido amarelo, p.f. 288-291°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3363, 3284, 3204, 3103, 1611, 1524, 1423, 1344, 847; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 8,21 (dd, 1H, $J = 1,4$ Hz, $J = 8,2$ Hz, Ar), 8,10 (s, 1H), 7,97 (s, 4H, C(NH₂)₂), 1H-NMR (500 MHz) ppm 7,86 (dd, 1H, $J = 1,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,73 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, Ar), 7,65 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, Ar), 7,54 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,19 (dd, 1H, $J = 3,7$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 6,07 (dd, 1H, $J_{xa} = 3,1$ Hz, $J_{xb} = 11,3$ Hz, H_x), 4,15 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,4$ Hz, $J_{ba} = 18,0$ Hz, H_b), 3,47 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,3$ Hz, $J = 18,0$ Hz, H_a); RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,1, 152,7, 147,8, 141,4, 132,4, 132,1, 131,9, 131,4, 130,8, 128,1, 123,1, 120,06, 59,6, 44,2; EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₄H₁₄N₅O₂S: 316,0868, exp.: 316,0878.

Cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2e):



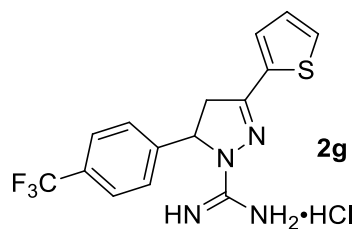
62%; sólido amarelado, p.f. 298-300°C; RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7,94 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,85 (dd, 1H, $J = 1,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,75 (d, 1H, $J = 0,8$ Hz, Ar), 7,54 (dd, 1H, $J = 1,1$ Hz, $J = 3,1$ Hz, tienil), 7,44 (s, 1H, Ar), 7,38 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz, Ar), 7,19 (m, 1H, tienil), 7,17 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 5,92 (dd, 1H, $J_{xa} = 2,8$ Hz, $J_{xb} = 11,2$ Hz, H $_x$), 4,08 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,3$ Hz, $J_{ba} = 17,9$ Hz, H $_b$), 3,42 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,1$ Hz, $J = 17,9$ Hz, H $_a$); RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 153,1, 152,7, 142,0, 132,5, 132,1, 131,3, 131,2, 131,0, 128,4, 128,1, 124,0, 121,9, 59,6, 44,2; CG/MS [m/z (%): 306 (100), 294 (89), 151 (79), 43 (96).

Cloridrato de 5-(4-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2f):



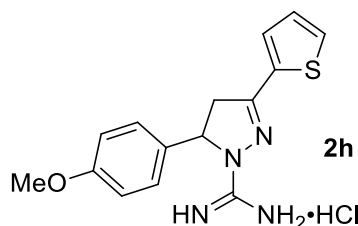
80%; sólido amarelado; p.f. 278-280°C; IV (KBr): ν (cm $^{-1}$) 3255, 3096, 1611, 1430; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7,90 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,83 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,55 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz, Ar), 7,55 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,20 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,18 (t, 1H, tienil), 5,91 (dd, 1H, $J_{xa} = 3,0$ Hz, $J_{xb} = 11,2$ Hz, H $_x$), 4,06 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,7$ Hz, H $_b$), 3,31 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,0$ Hz, $J_{ab} = 17,7$ Hz, H $_a$), 2,27 (s, 1H, Ar-CH $_3$); RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 153,0, 152,9, 137,5, 136,5, 132,7, 131,8, 131,1, 129,4, 12,1, 125,2, 60,1, 44,2; 20,54; CG/MS [m/z (%): 243 (28), 242 (100), 241 (52), 240 (43), 44 (9), 244 (7). EMAR: m/z [MH] $^+$ calcd. para C $_{15}$ H $_{18}$ N $_4$ S: 285,1174, exp.: 285,1179.

Cloridrato de 5-(4-trifluormetilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2g):



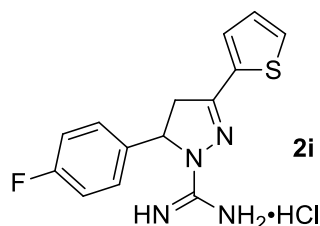
62%; sólido amarelo, p.f. 295-298°C; IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3370, 3290, 31068, 1603, 1423, 1315-1113, 839; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8,10 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,84 (d, 1H, $J = 4,7$ Hz, tienil), 7,75 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,55 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, tienil), 7,48 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,17-7,15 (m, 1H, tienil), 5,91 (dd, 1H, $J_{xa} = 2,4$ Hz, $J_{xb} = 11,0$ Hz, H $_x$), 4,15 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,3$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H $_b$), 3,40 (dd, 1H, $J_{ax} = 2,8$ Hz, $J_{ab} = 17,9$ Hz, H $_a$); RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 153,0, 152,9, 143,8 (q, $J_{\text{CF}} = 1,3$ Hz), 132,4, 131,9, 131,2, 128,6 (q, $J_{\text{CF}} = 32,0$ Hz), 128,0, 126,2, 125,7 (q, $J_{\text{CF}} = 3,7$ Hz), 123,9 (q, $J_{\text{CF}} = 272,2$ Hz), 59,8, 44,1; CG/MS [m/z (%): 294 (100), 295 (16), 265 (9), 44 (8). EMAR: m/z [MH] $^+$ calcd. para C $_{15}$ H $_{14}$ F $_3$ N $_4$ S: 339,0891, exp.: 339,0881.

Cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2h):



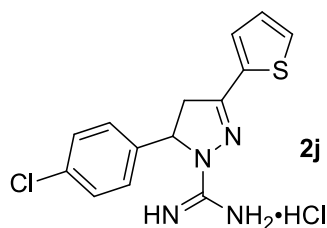
86%; sólido amarelado; IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3334-3132, 1611, 1438, 1243, 839; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7,85 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,85 (dd, 1H, $J = 0,8$ Hz, $J = 4,9$ Hz, tienil), 7,56 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,19 (dd, 1H, $J = 3,8$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,15 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, Ar), 6,95 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, Ar), 5,83 (dd, 1H, $J = 2,9$ Hz, $J = 11,1$ Hz, H $_x$), 4,04 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,1$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H $_b$), 3,73 (s, 1H, metila) 3,33 (m, 1H, H $_a$); RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 159,0, 153,1, 152,7, 132,7, 131,9, 131,4, 131,2, 128,1, 126,6, 114,3, 59,8, 55,1, 44,2; EMAR: m/z [MH] $^+$ calcd. para C $_{15}$ H $_{18}$ N $_4$ OS: 301.1123, exp.: 301.1132.

Cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2i):



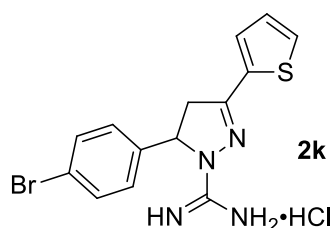
73%; sólido esverdeado, p.f. 243-245°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3348-3103, 1596, 1416, 1229, 832; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 7,93 (s, 4H, C(NH₂)₂), 7,85 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 5,0$, tienil), 7,56 (m, 1H, tienil), 7,26 (m, 4H, Ar), 7,18 (dd, 1H, $J = 3,7$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,18-7,16 (m, 1H, tienil), 5,95 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 10,8$ Hz, H_X), 4,08 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H_b), 3,37 (dd, 1H, $J_{ax} = 2,9$ Hz, $J_{ba} = 17,6$ Hz, H_a); RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,0, 152,7, 135,7, 132,6, 132,0, 131,2, 128,1, 127,6, 127,5, 115,9, 59,7, 44,2; CG/MS [m/z (%): 246 (100), 245 (37), 151 (16), 44 (11); EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₄H₁₄FN₄S: 289,0923, exp.: 289,0936.

Cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2j):



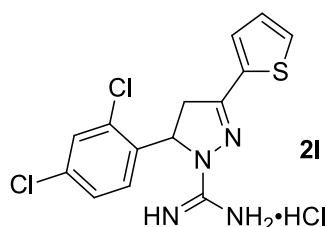
71%; sólido amarelado; p.f. 257-260°C; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3070, 1606, 1425, 825; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 7,96 (s, 4H, C(NH₂)₂), 7,83 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, tienil), 7,55 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, tienil), 7,45 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz, Ar), 7,25 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, Ar), 7,18-7,16 (m, 1H, tienil), 5,98 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz, H_X), 4,06 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,2$ Hz, $J_{ba} = 17,7$ Hz, H_b), 3,31 (d, 1H, $J_{ax} = 3,2$ Hz, H_a); RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,6, 152,8, 138,4, 138,8, 132,5, 131,9, 131,3, 128,9, 128,1, 127,3, 59,7, 44,2; CG/MS [m/z (%): 262 (M, 100), 264 (M+1), 151 (22), 44 (15). EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₄H₁₄ClN₄S: 305,0628, exp.: 305,0629.

Cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2k):



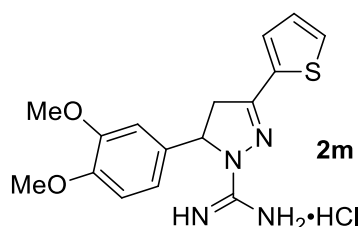
75%; sólido amarelado, p.f. 265-266°C; IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3269, 3190, 3103, 1611, 1430; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7,99 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,83 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, tienil), 7,58 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, Ar), 7,55 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,20 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, Ar), 7,18-7,16 (m, 1H, tienil), 6,02 (dd, 1H, $J_{xa} = 2,6$ Hz, $J_{xb} = 11,0$ Hz, H $_x$), 4,09 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,3$ Hz, $J_{ba} = 17,9$ Hz, H $_b$), 3,36 (dd, 1H, $J = 2,7_{ax}$ Hz, $J_{ab} = 17,9$ Hz, H $_a$); RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 152,9, 152,8, 138,7, 132,4, 131,8, 131,7, 131,1, 128,0, 127,5, 121,2, 59,6, 44,0; CG/MS [m/z (%)]: 308 (100), 309 (19), 307 (57), 306 (96), 305 (28), 151 (27), 44 (15). EMAR: m/z [MH] $^+$ calcd. para C $_{14}$ H $_{15}$ N $_4$ SBr: 349.0122, exp.: 349.0172.

Cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2l):



66%; sólido amarelado, p.f. 290-293°C; IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3334, 3175, 3103, 1611, 1423, 825; RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 8,10 (s, 4H, C(NH $_2$) $_2$), 7,84 (d, 1H, $J = 4,7$ Hz, tienil), 7,75 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,55 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz, tienil), 7,48 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, Ar), 7,17-7,15 (m, 1H, tienil), 5,91 (dd, 1H, $J_{xa} = 2,4$ Hz, $J_{xb} = 11,0$ Hz, H $_x$), 4,15 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,3$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H $_b$), 3,40 (dd, 1H, $J_{ax} = 2,8$ Hz, $J_{ab} = 17,9$ Hz, H $_a$); RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 153,0, 152,8, 141,9, 132,4, 131,8, 131,2, 131,1 130,9, 128,3, 128,0, 124,0, 121,8, 59,5, 44,1; CG/MS [m/z (%)]: 294 (100), 151 (22). EMAR: m/z [MH] $^+$ calcd. para C $_{14}$ H $_{14}$ Cl $_2$ N $_4$ S: 339.0238, exp.: 339.0237.

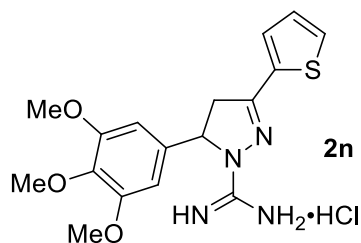
Cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2m):



83%; sólido amarelo, p.f. 287-291°C. IV (KBr): ν (cm^{-1}) 3298, 3139, 2830, 1618, 1430; RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): δ ppm 7,85 (s, 1H, C(NH $_2$) $_2$), 7,85 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 5,0$ Hz, Ar), 7,56 (dd, 1H, $J = 0,9$ Hz, $J = 3,6$ Hz, tienil), 7,19 (dd, 1H, $J = 3,8$ Hz, $J = 5,0$ Hz, tienil), 6,95 (d, 1H, $J = 6,5$ Hz, Ar), 6,94 (s, 1H, Ar), 6,66 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz, $J = 8,3$ Hz, tienil),

5,81 (dd, 1H, $J_{xa} = 3,2$ Hz, $J_{xb} = 11,1$ Hz, H_x), 4,05 (dd, 1H, $J_{bx} = 11,1$ Hz, $J_{ba} = 17,8$ Hz, H_b), 3,74 (s, 1H, Ar-OCH₃), 3,72 (s, 1H, Ar-OCH₃), 3,38 (dd, 1H, $J_{ax} = 3,2$ Hz, $J_{ab} = 17,8$ Hz, H_a); RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ ppm 153,1, 152,8, 148,7, 148,6, 132,7, 131,8, 131,7, 131,1, 128,1, 116,7, 112,1, 110,0, 60,1, 55,5, 55,4, 44,2; EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₆H₁₉N₄O₂S: 331.1229, exp.: 331.1293.

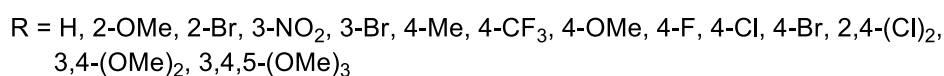
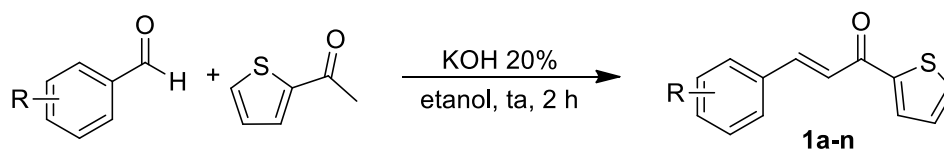
Cloridrato de 5-(3,4,5-trimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2n):



72%; sólido amarelo, p.f. 303-304; IV (KBr): ν (cm⁻¹) 3341, 3125, 2923, 2837, 1618, 1423, 1127; EMAR: m/z [MH]⁺ calcd. para C₁₇H₂₂N₄O₃S: 361.1334, exp.: 361.1342.

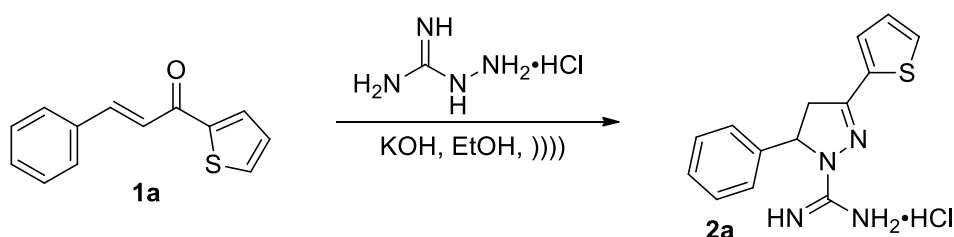
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas (**1a-n**) foram preparadas de acordo com a metodologia proposta por Luo et al. [52], reagindo respectivamente 1 equivalente em mol de acetiltiofeno e benzaldeído em etanol, com o catalisador básico KOH 20%, à temperatura ambiente (**Esquema 15**).



Esquema 15

A rota sintética empregada na síntese dos compostos **2a-n** foi a ciclocondensação dos precursores 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas **1a-n** com cloridrato de aminoguanidina na presença de hidróxido de potássio. O etanol foi o solvente escolhido, pois a literatura o aponta como meio adequado para a realização da reação entre chalconas e cloridrato aminoguanidina [4]. Além disso, o etanol satisfaz alguns requisitos ambientais importantes, tais como ser um produto obtido de fontes renováveis, ser menos nocivo à saúde humana e não causar efeito prejudicial aos ambientes aquáticos [13,14]. Para a otimização das condições de obtenção dos produtos de interesse, foram realizados experimentos utilizando como modelo a reação da 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona (**1a**) com aminoguanidina (**Esquema 16**). Inicialmente, os experimentos foram realizados sob irradiação ultrassônica com a variação da proporção de **1a**/aminoguanidina/base (**Tabela 1**).



Esquema 16

Como pode ser observado na **Tabela 1**, o melhor rendimento do produto isolado foi obtido quando a reação de ciclocondensação do substrato **1a** foi realizada com 2 equivalentes de cloridrato de aminoguanidina na presença de 2 equivalentes de hidróxido de potássio, sob irradiação ultrassônica por 30 minutos.

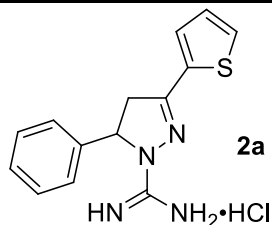
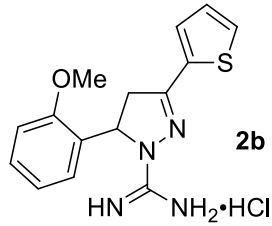
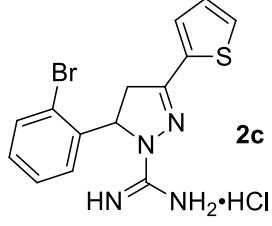
Tabela 1. Otimização da reação de ciclocondensação entre 3-fenil-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona (**1a**) e cloridrato de aminoguanidina para obtenção do produto 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2a**).

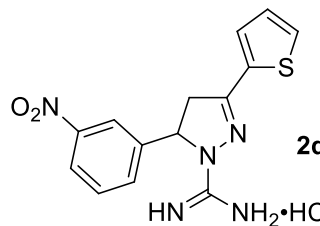
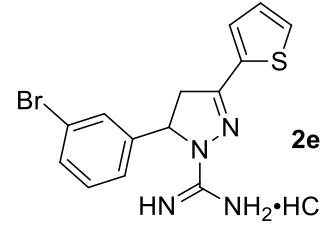
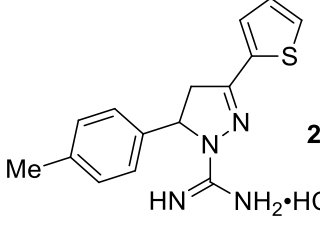
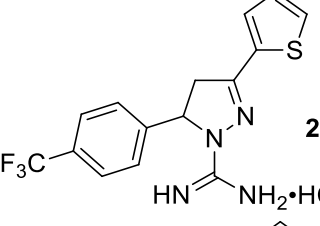
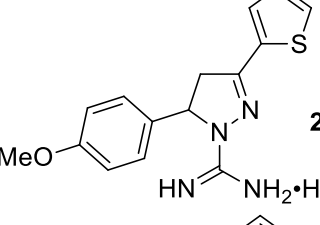
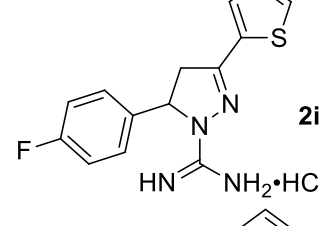
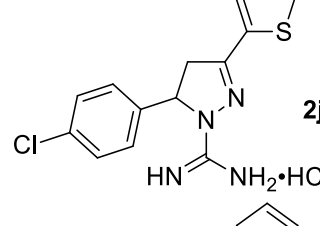
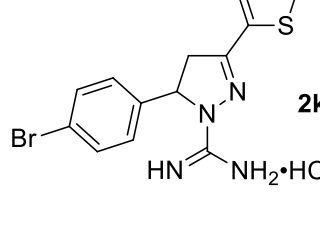
| Experimento | Proporção 1a/aminoguanidina/KOH | Tempo (min) | Rendimento (%) ^a |
|-------------|------------------------------------|-------------|-----------------------------|
| 1 | 1:1:1 | 30 | 57 |
| 2 | 1:2:2 | 30 | 85 |
| 3 | 1:3:3 | 30 | 66 |
| 4 | 1:4:4 | 30 | 75 |

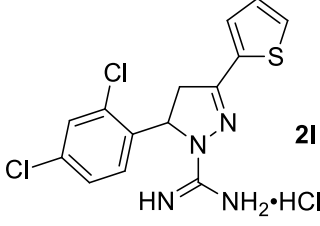
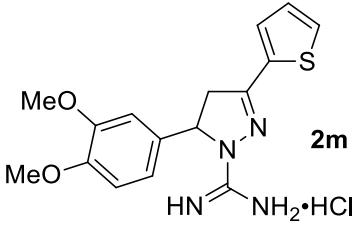
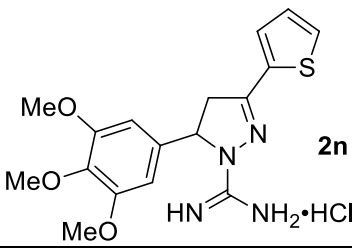
^aRendimento isolado.

Posteriormente, a fim de testar o alcance e as limitações desta metodologia, foram realizadas reações de ciclocondensação dos substratos **1** contendo vários padrões de substituição na fenila (**Tabela 2**). O tempo ideal para cada experimento foi determinado pelo consumo das chalconas **1a-n** por cromatografia em camada delgada. A **Tabela 2** apresenta a estrutura dos compostos sintetizados bem como dados experimentais selecionados.

Tabela 2. Dados experimentais dos cloridratos de 5-aryl-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazóis **2a-n**.

| Experimento | Produto | Ponto de fusão (°C) | Tempo (min) | Rendimento (%) ^a |
|-------------|--|---------------------|-------------|-----------------------------|
| 1 |  2a | 265-268 | 20 | 95 |
| 2 |  2b | 287-288 | 25 | 80 |
| 3 |  2c | 285-288 | 30 | 70 |

| | | | | |
|----|---|---------|----|----|
| 4 |  2d | 288-291 | 15 | 65 |
| 5 |  2e | 298-300 | 30 | 70 |
| 6 |  2f | 278-280 | 35 | 80 |
| 7 |  2g | 295-298 | 15 | 62 |
| 8 |  2h | 208-210 | 25 | 86 |
| 9 |  2i | 243-245 | 30 | 73 |
| 10 |  2j | 257-260 | 30 | 71 |
| 11 |  2k | 265-266 | 30 | 75 |

| | | | | |
|----|---|---------|----|----|
| 12 |  2l | 290-293 | 30 | 66 |
| 13 |  2m | 287-291 | 25 | 83 |
| 14 |  2n | 303-304 | 30 | 72 |

^aRendimento isolado.

As chalconas também conhecidas como 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas são cetonas α,β -insaturadas como demonstra a **Figura 3**. Esses compostos são muito aplicados em síntese orgânica como materiais de partida de diversas reações, devido à reatividade de seus dois carbonos eletrofílicos [50].

Os substituintes do anel aromático podem dirigir a reatividade desses dois carbonos eletrofílicos como ilustra a **Figura 3**. Os grupamentos R com efeito retirador de elétrons tendem a deixar os carbonos 1 e 3 ainda mais reativos. O contrário se espera para os grupamentos doadores de elétrons que aumentam a densidade eletrônica dos carbonos 1 e 3, diminuindo seu caráter eletrofílico e dificultando o ataque do nucleófilo.

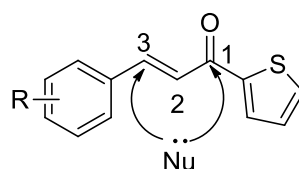


Figura 3: Representação da regioselectividade das 3-aryl-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas (**1a-n**) sofrendo um ataque dinucleofílico.

Neste sentido, através da análise dos tempos necessários para ocorrer o consumo dos materiais de partida **1a-n**, foram acompanhados por cromatografia em camada delgada e mostrados na **Tabela 2**, foi verificada a influência dos substituintes R na reatividade frente à

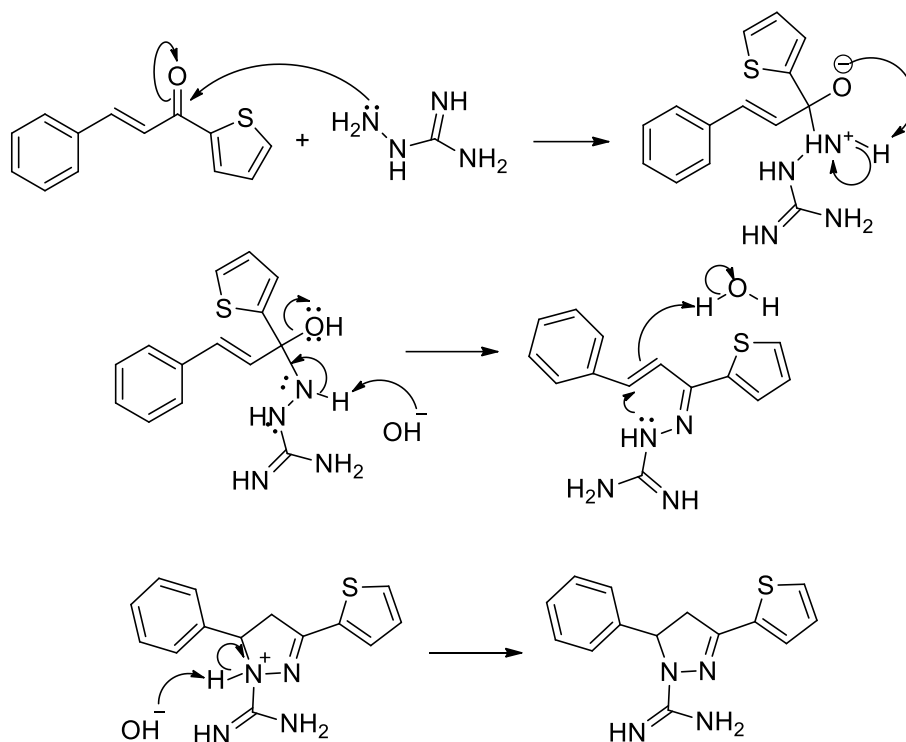
reação de ciclocondensação. De modo geral, foi observado que a presença de grupos retiradores de elétrons na fenila da chalcona permitiu o seu consumo em tempos menores (Experimentos 4 e 7, **Tabela 2**). Nestes casos, tentativas de melhorar os rendimentos através do aumento do tempo da reação não surtiram efeito positivo uma vez que, com o prolongamento do tempo, aconteceu o escurecimento da mistura e os produtos **2d** e **2g** foram obtidos em rendimentos menores.

Nas demais 3-*aril-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-onas* estão presentes grupos R com efeito doadores de elétrons, nesses materiais de partida foram prolongados os tempos a fim de melhorar os rendimentos dos 5-*aril-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazóis*. Nesses casos, os tempos de reação chegaram a 35 minutos e os rendimentos ficaram acima de 70%.

A síntese catalisada por ultrassom demonstrou ser bastante eficaz à medida que as reações foram realizadas em tempos curtos. A utilização de um solvente ambientalmente correto, favorecendo ainda mais as relações com a química verde, colaborando com o meio ambiente na economia de energia, na emissão de solventes voláteis na atmosfera e na geração de resíduos tóxicos.

5.1 Proposta de mecanismo da reação entre 3-*aril-1-(tien-2-il)-prop-2-en-1-ona* (1a) e cloridrato de aminoguanidina

As reações entre chalconas e hidrazinas são conhecidas como ciclocondensação [3+2], sendo que a aminoguanidina pode atuar como um 1,2-dinucleófilo e 1,3-dinucleófilo. Destacando a regioseletividade da reação, a aminoguanidina atua apenas como um 1,2-dinucleófilo na formação dos amidinopirazóis. O mecanismo da reação foi apresentado de acordo com o mais atualmente aceito para as ciclocondensações propostas (**Esquema 17**) [46,47].



Esquema 17

5.2 Caracterização espectroscópica dos compostos 2a-n

Os cloridratos de 5-aryl-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazóis **2a-n** foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , espectrometria de massas e espectrometria de infravermelho. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e as principais fragmentações observadas nos espectros de massas dos compostos da série foram descritas na Seção 4.3.

A fim de ilustrar a análise dos dados de RMN de ^1H , foi selecionado o espectro do composto **2k** (Figura 4) no qual é observado um singlete 7,99 ppm, referente aos quatro hidrogênios do grupo $(\text{C}(\text{NH}_2)_2)$. Os hidrogênios do anel aromático aparecem como dois dubletos em 7,58 ppm ($J = 8,3$ Hz) e 7,20 ppm ($J = 8,4$ Hz). O substituinte tienil contém três hidrogênios sendo dois dubletos em 7,83 ppm ($J = 5,0$ Hz) e 7,55 ppm ($J = 3,6$ Hz) e um multiplete no intervalo de 7,18-7,16 ppm. Os picos referentes aos três hidrogênios diastereotópicos do pirazol foram chamados de H_A , H_B e H_X e foram observados como dubletos de dubletos nas regiões de 3,36, 4,09 e 6,02 ppm, respectivamente. As constantes de acoplamento associadas a estes sistemas são $J_{\text{AB}} = 17,9$ Hz, $J_{\text{AX}} = 2,6$ Hz e $J_{\text{BX}} = 11,0$ Hz.

No espectro de RMN de ^{13}C do mesmo composto (Figura 5), observa-se o carbono mais desblindado da molécula no grupamento $(\text{C}(\text{NH}_2)_2)$ em 152,9 ppm, em seguida o C3 do pirazol aparece em 152,8 ppm sendo um pouco menos desblindado. Na região de 138,7 a

121,2 ppm apareceram os picos referentes aos carbonos dos aromáticos fenílicos e tienílicos. Os carbonos C4 e C5 do pirazol aparecem respectivamente em 44,0 e 59,6 ppm.

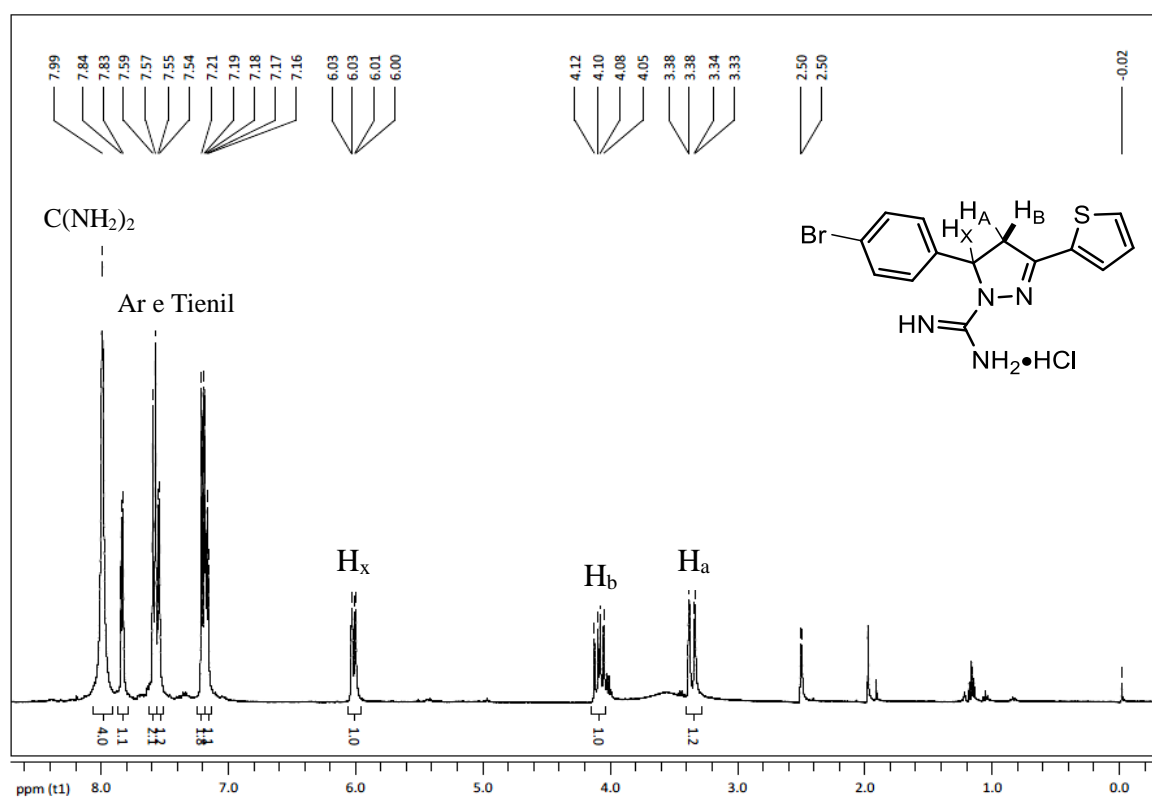


Figura 4: Espectro de RMN de 1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**), em DMSO- d_6 .

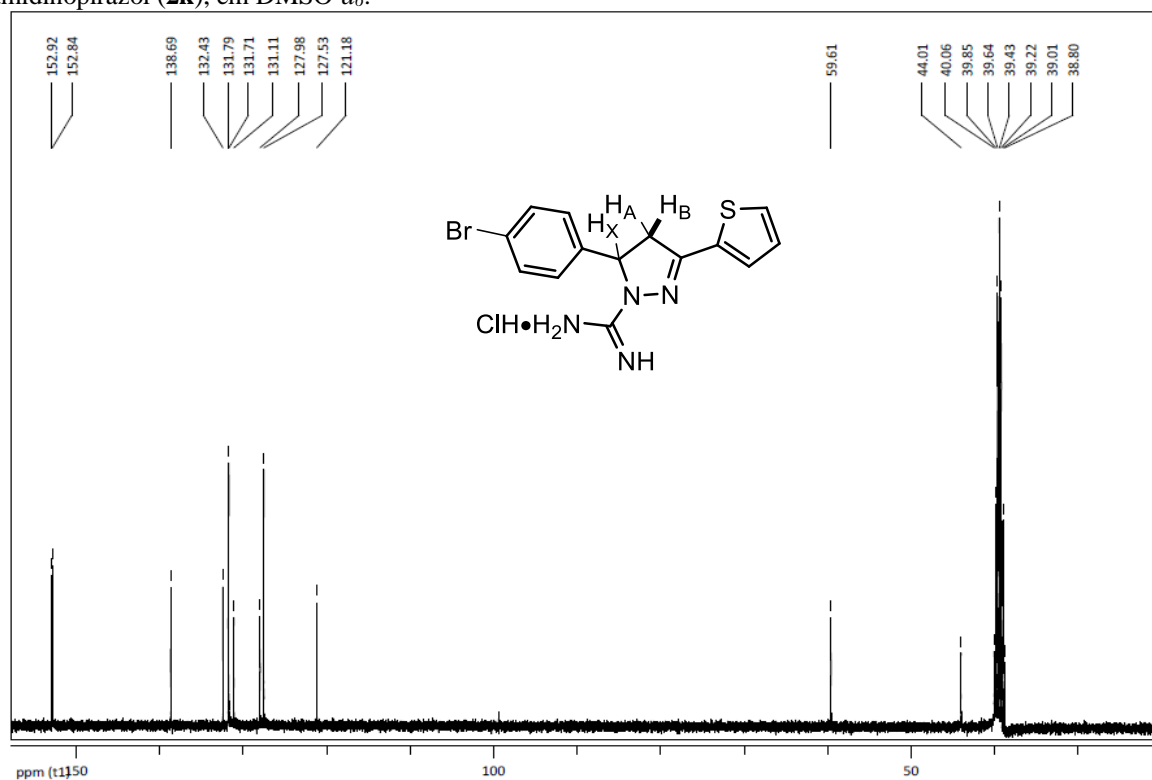


Figura 5: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**), em DMSO- d_6 .

A **Figura 6** representa o espectro de massas de alta resolução, onde a massa exata calculada para 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**) é 349,0122 e a massa exata experimental é de 349,0172, com uma razão de 4,90 ppm.

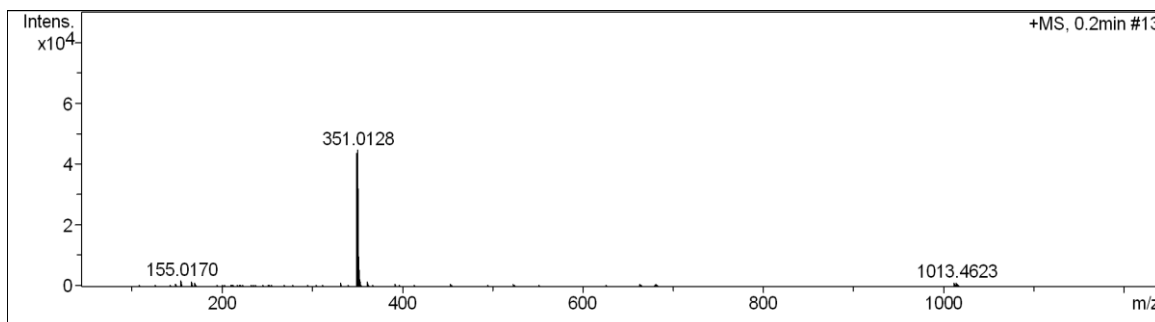


Figura 6: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**).

No espectro de baixa resolução demonstrada pela **Figura 7**, não foi possível caracterizar a massa do íon molecular, devido a perda do grupo amidinil na coluna do cromatógrafo, desta forma, em todos os espectros de massas de baixa resolução, estão identificados apenas o pico correspondente à massa do pirazol não-substituído no nitrogênio.

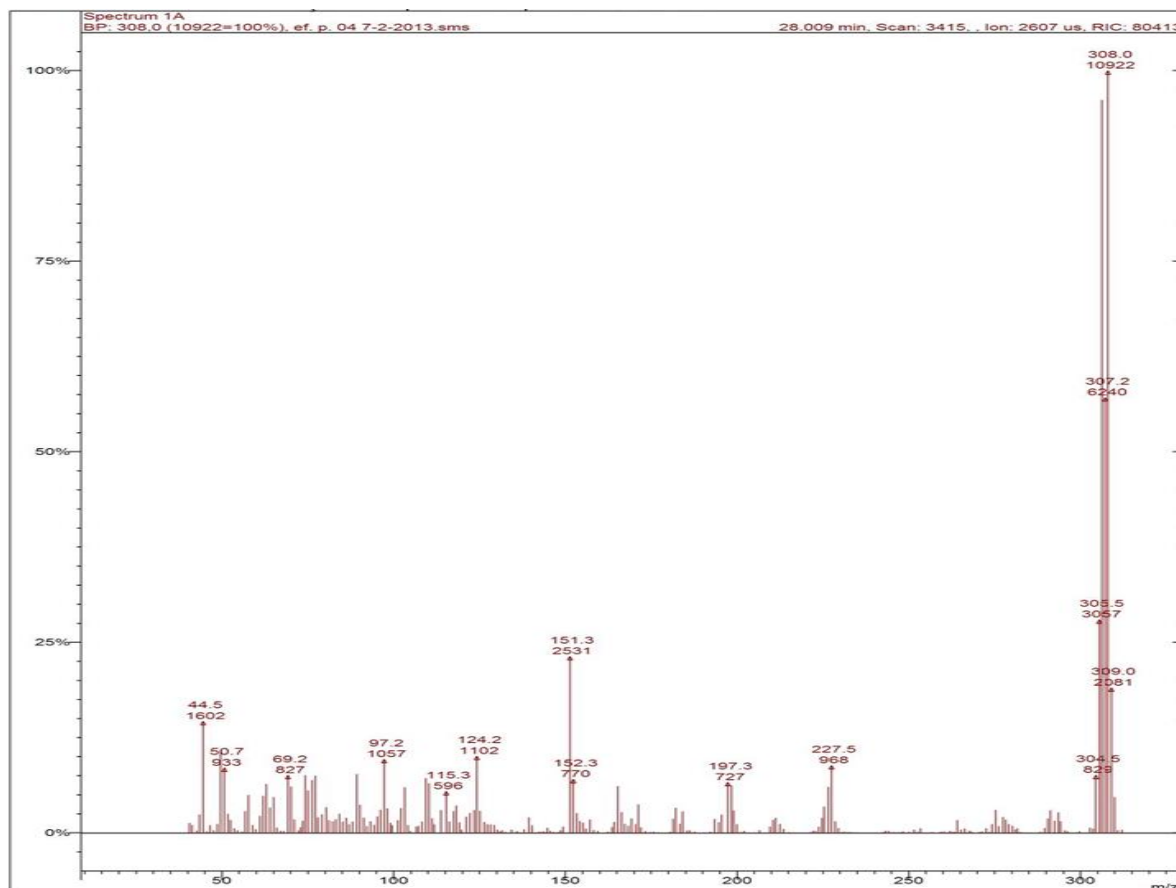


Figura 7: Espectro de Massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**).

A **Figura 8** demonstra o espectro de infravermelho do composto **2k** obtido em pastilha de KBr. Observam-se três frequências de deformação de N–H muito intensas, que provêm das deformações assimétrica e simétrica que ocorrem próximo de 3269 e 3103 cm^{-1} , respectivamente. Em 1611 cm^{-1} destaca-se uma banda com alta intensidade proveniente da absorção do grupo C=N. Em 1430 cm^{-1} aparece uma banda de absorção referente à absorção da ligação C=C.

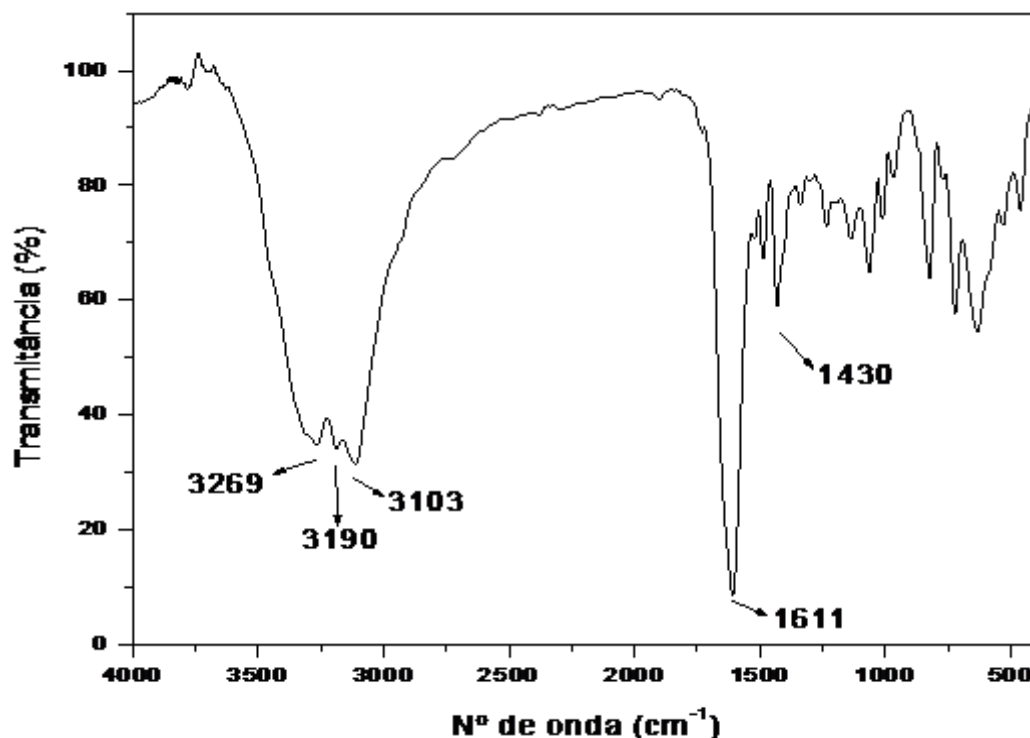


Figura 8: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2k**).

5.3 Avaliação da atividade antibacteriana

Os pesquisadores, através de seus intensos estudos têm comprovado inúmeras propriedades bacteriostáticas e bactericidas em moléculas provenientes de sínteses orgânicas e também de extratos vegetais. Normalmente são avaliadas e confirmadas através de bioensaios realizados *in vitro*, pelo qual se baseia o presente trabalho realizado.

Todo o teste bactericida foi regido pelas Normas de Desempenho para os testes de Susceptibilidade Antimicrobiana; Vigésima Segunda Informação Suplementar (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Information Supplement); utilizando antibióticos padrões testados e recomendados pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

Foram testadas cinco bactérias, sendo duas Gram positivas, a *Staphylococcus aureus* – 37664 e a *Enterococcus faecalis* – 51299, e três Gram negativas, a *Salmonella SP* – 13076, *Escherichia coli* – 25922 e a *Pseudomonas aerogenosa* – 27853.

A CIM é a concentração mínima de um determinado composto que inibe o crescimento de microrganismos. Todos os compostos submetidos ao teste apresentaram atividade antibacteriana dentro dos intervalos de concentração que foi de 3000,00 a 0,011 µg/mL.

A Tabela 3 apresenta os dados da CIM, onde se encontram as concentrações de inibição de bactérias Gram positivas e Gram negativas. As amostras apresentaram uma melhor CIM em bactérias Gram positivas, destacando as moléculas **2b**, **2d**, **2f**, **2g**, **2h**, **2j** e **2m** que apresentaram uma menor concentração para inibir o crescimento dos microrganismos.

Entre as bactérias Gram positivas ocorreu seletividade nas amostras **2c**, **2d**, **2f**, **2g**, **2h**, **2i**, **2j**, **2k** e **2n**, sendo que as amostras **2c**, **2g**, **2h** e **2n** obtiveram uma grande diferença de concentração para a inibição do crescimento das cepas. O perfil químico de seletividade contra bactérias Gram positivas é um fenômeno geral observado entre muitos antibióticos padrões [51].

Tabela 3: Concentração inibitória mínima para os compostos **2a-d,f-n** e antibióticos padrão contra microrganismos padrão.

| Composto | CIM ($\mu\text{g/mL}$) | | | | |
|-----------------------|--|--|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| | <i>Bactérias gram-positivas</i> | | <i>Bactérias gram-negativas</i> | | |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 37664 | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 | <i>Salmonella sp.</i> ATCC 13076 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | <i>Pseudomoneus aeruginosa</i> ATCC 27853 |
| 2a | 46,87 | 46,87 | 187,50 | 750,00 | 750,00 |
| 2b | 187,50 | 11,72 | 750,00 | 750,00 | 3000,00 |
| 2c | 46,87 | 0,73 | 3000,00 | 3000,00 | 187,50 |
| 2d | 11,72 | 0,73 | 187,50 | 187,50 | 3000,00 |
| 2f | 11,72 | 187,50 | 46,87 | 187,50 | 187,50 |
| 2g | 46,87 | 11,72 | 46,87 | 46,87 | 46,87 |
| 2h | 11,72 | 0,046 | 3000,00 | 750,00 | 750,00 |
| 2i | 11,72 | 2,93 | 3000,00 | 187,50 | 187,50 |
| 2j | 46,87 | 750,00 | 187,50 | 187,50 | 187,50 |
| 2k | 11,72 | 11,72 | 46,87 | 46,87 | 46,87 |
| 2l | 46,87 | 0,73 | 3000,00 | 46,87 | 46,87 |
| 2m | 11,72 | 0,18 | 46,87 | 187,50 | 750,00 |
| 2n | 750,00 | 750,00 | 3000,00 | 3000,00 | 3000,00 |
| Gentamicina | 2,93 | - | 2,93 | 2,93 | 2,93 |
| Amicacina | 11,72 | - | 11,72 | 11,72 | 11,72 |
| Ciprofloxacina | 0,73 | 2,93 | 0,73 | 0,73 | 0,73 |
| Norfloxacina | 2,93 | 2,93 | - | 2,93 | 2,93 |

Tabela 4: Teste de sensibilidade *in vitro* das CIM encontradas para os compostos **2a-d,f-n** e antibióticos padrão contra microrganismos padrão.

| Composto | Bactérias | | | | |
|-----------------------|--|--|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| | <i>Bactérias gram-positivas</i> | | <i>Bactérias gram-negativas</i> | | |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 37664 | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 | <i>Salmonella sp.</i> ATCC 13076 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | <i>Pseudomoneus aeruginosa</i> ATCC 27853 |
| 2a | S | I | I | I | I |
| 2b | I | I | I | I | S |
| 2c | S | I | S | S | S |
| 2d | I | I | S | S | S |
| 2f | I | S | I | S | S |
| 2g | I | I | I | I | S |
| 2h | I | I | S | S | S |
| 2i | I | I | S | I | I |
| 2j | I | I | S | S | S |
| 2k | I | I | S | I | S |
| 2l | S | I | S | S | S |
| 2m | I | I | I | S | I |
| 2n | I | I | I | S | I |
| Gentamicina | S | - | S | S | S |
| Amicacina | S | - | S | S | S |
| Ciprofloxacina | S | I | S | S | S |
| Norfloxacina | S | S | - | S | S |

I = Intermediário – Bacteriostático

S = Sensível – Bactericida

A Tabela 4 demonstra os resultados do teste de sensibilidade realizado a partir das CIM encontradas na Tabela 3. Com esse teste é possível verificar se o composto avaliado tem uma ação bactericida ou bacteriostática.

A bactéria pode ser sensível as moléculas analisadas, tendo sensibilidade, o composto tem uma ação bactericida, ou seja, a concentração encontrada na CIM eliminou os microrganismos. Outra possibilidade seria uma ação intermediária, onde a bactéria nos pocinhos sofre apenas uma paralisação do seu metabolismo, podendo retomar o seu processo de reprodução ao encontrar uma nova fonte ótima de nutrientes. Essa ação intermediária da amostra sobre a bactéria pode ser denominada como uma atividade bacteriostática. Em um último caso a CLSI classifica uma das ações das bactérias como resistentes ao composto avaliado, isso acontece com os compostos que não atrapalham a bactéria se desenvolver.

Entre os compostos que tiveram ação bactericida destacam-se os compostos **2a**, **2b**, **2l** e **2n**. Ambos os compostos apresentaram altíssima seletividade, cada composto teve ação bactericida direcionada a apenas uma bactéria. O composto **2a** teve ação seletiva a bactéria *Staphylococcus aureus* em uma concentração de 46,87 µg/mL, nessa mesma concentração o composto **2b** apresentou atividade contra a cepa *Pseudomoneus aerogenosas*.

O composto **2l** e **2n** também obtiveram uma seletividade para as bactérias Gram negativas, sendo que o **2l** teve uma ação contra a *Escherichia coli* e o **2n** contra a *Pseudomoneus aerogenosas*. O único composto que não obteve seletividade foi o **2c**, porém teve uma ação bactericida para todas as bactérias testadas. De modo geral, as bactérias Gram negativas demonstram ser mais sensíveis aos compostos analisados.

Para ter um parâmetro de comparação, foi realizado um teste com quatro antibióticos padrões com excelentes concentrações inibitórias. Apenas alguns 4,5-diidropirazóis obtiveram uma melhor CIM em relação aos antibióticos, entre eles destacaram-se o **2c**, **2d**, **2h**, **2l** e **2m**. Os melhores valores encontrados foram todos relacionados a bactéria *Enterococcus faecalis*, destacando o composto **2h** com uma CIM de 0,046 mg/mL.

6 CONCLUSÃO

Com base nos objetivos propostos inicialmente, pode-se concluir o desenvolvimento de uma rota sintética *one pot* eficiente para a obtenção amidinopirazóis ativados com ultrassom, sendo facilmente isolado por recristalização. A técnica de sonoquímica demonstra uma ampla versatilidade, levando em conta os curtos tempos de reação, bons rendimentos

obtidos e a colaboração para Química Verde, evitando a geração e liberação de substâncias tóxicas.

As técnicas de identificação espectroscópicas utilizadas demonstraram que os produtos sintetizados apresentam dados espectroscópicos compatíveis, de acordo com estruturas similares descritas na literatura.

Através do teste antibacteriano realizado com as moléculas sintetizadas obtivemos resultados preliminares, porém, tais resultados são significativos a ponto de se investigar a fundo a real potencialidade desses compostos, realizando testes mais rigorosos. Testes como o de toxicidade aguda serão realizados por grupos de pesquisas envolvidos.

7 REFERÊNCIAS

- [1] Melo, J. O. F.; Donnici, C. L.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V.; Ferreira, M. L. G.; Cunha, F. A. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, p. 569, 2006.
- [2] Souza, M. V. N.; Ferreira, S. B.; Mendonça, J. S.; Costa, M.; Rebello, R. Métodos de obtenção e aplicações sintéticas de tiazóis, uma importante classe de compostos heterocíclicos. **Química Nova**, v. 28, p. 77, 2005.
- [3] Silva, F. A. N.; Galluzzi, M. P.; Albuquerque, B.; Pizzuti, L.; Gressler, V.; Rivelli, D. P. Ultrasound irradiation promoted large-scale preparation in aqueous media and antioxidant activity of azoles. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 6, p. 323, 2009.
- [4] Pizzuti, L.; Martins, P. L. G.; Ribeiro, B.; Quina, F. H.; Pinto, E.; Flores, A. F. C.; Pereira, C. M. P. Efficient sonochemical synthesis of novel 3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole-carboximidamides. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 34, 2010.
- [5] Pizzuti, L.; Quina, F. H.; Souza, S. P.; Rosales, P. F.; Siqueira, G. M.; Rivelli, D. P. Antioxidant capacity of 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 7, p. 657, 2010.
- [6] Flores, A. F. C.; Pizzuti, L.; Piovesan, L. A.; Flores, D. C.; Malavolta, J. L.; Pereira, C. M. P. Efficient synthesis of new 1-alkyl(aryl)-5-(3,3,3-trihalo-2-oxopropylidene)-1*H*-pyrrol-2(5*H*)-ones. **Tetrahedron Letters**, v. 51, p. 4908, 2010.
- [7] Gallo, R. D. C.; Ferreira, I. M.; Casagrande, G. A.; Pizzuti, L.; Oliveira-Silva, D.; Raminelli, C. Efficient and eco-friendly synthesis of iodinated aromatic building blocks

promoted by iodine and hydrogen peroxide in water: a mechanistic investigation by mass spectrometry. **Tetrahedron Letters**, v. 53, p. 5372, 2012.

[8] Pizzuti, L.; Piovesan, L. A.; Flores, A. F. C.; Quina, F. H.; Pereira, C. M. P. Environmentally friendly sonocatalysis promoted preparation of 1-thiocarbamoyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, p. 728, 2009.

[9] Venzke, D.; Flores, A. F. C.; Quina, F. H.; Pizzuti, L.; Pereira, C. M. P. Ultrasound promoted greener synthesis of 2-(3,5-diaryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)-4-phenylthiazoles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 370, 2011.

[10] Martins, M. A. P.; Rossatto, M.; Prola, L. D. T.; Pizzuti, L.; Moreira, D. N.; Campos, P. T.; Bonacorso, H. G. Ultrasound promoted the synthesis of *N*-propargyl *α*-enaminones. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, p. 227, 2012.

[11] De Vasconcelos, A.; Oliveira, P. S.; Ritter, M.; Freitag, R. A.; Romano, R. L.; Quina, F. H.; Pizzuti, L.; Pereira, C. M. P.; Stefanello, F. M.; Barschak, A. G. Antioxidant capacity and environmentally friendly synthesis of dihydropyrimidin-(2*H*)-ones promoted by naturally occurring organic acids. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, p. 26, p. 155, 2012.

[12] Souza, M. V. N. **Estudo da síntese orgânica: baseada em substâncias bioativas**. Editora Átomo, 2010.

[13] Pizzuti, L.; Franco, M. S. F.; Flores, A. F. C.; Quina, F. H.; Pereira, C. M. P. **Recent Advances in the Ultrasound-Assisted Synthesis of Azoles: Green Chemistry – Environmentally Benign Approaches**. InTech, Rijeka, 2012. pg 81-102.

[14] Machado, A. A. S. C. Dos primeiros aos segundos doze princípios da química verde. **Química Nova**, v. 35, p. 1250, 2012.

[15] Chanda, A.; Fokin, V. V. Organic synthesis “on water”. **Chemical Reviews**, v. 109, p. 725, 2009.

[16] Ozdemir, Z.; Kandilci, H. B.; Gümüşel, B.; Caliş, U.; Bilgin, A. Synthesis and studies on antidepressant and anticonvulsant activities of some 3-(2-furyl)-pyrazoline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 373, 2007.

[17] Ozdemir, A.; Turan-Zitouni, G.; Kaplancikli, Z. A.; Revial, G.; Güven, K. Synthesis and antimicrobial activity of 1-(4-aryl-2-thiazolyl)-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 403, 2007.

- [18] Budakoti, A.; Abid, M.; Azam, A. Synthesis and antiamebic activity of new 1-N-substituted thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-2-pyrazoline derivatives and their Pd(II) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, p. 63, 2006.
- [19] Erol, K.; Bilgin, A. A. 1-N-Substituted thiocarbamoyl-3-phenyl-5-thienyl-2-pyrazolines: Synthesis and evaluation as MAO inhibitors. **Archiv der Pharmazie**, v. 336, p. 362, 2003.
- [20] Rani, M.; Yusuf, M. Synthesis and in vitro antibacterial activity of some alkoxy based N-substituted-5-(furan-2-yl)-phenyl-bis-pyrazolines. **European Journal of Chemistry**, v. 3, p. 21, 2012.
- [21] Holla, B. S.; Akberali, P. M.; Shivananda, M. K. Studies on arylfuran derivatives Part X. Synthesis and antibacterial properties of arylfuryl- Δ^2 -pyrazolines. **Il Farmaco**, v. 55, p. 256, 1989.
- [22] Palaska, E.; Aytemir, M.; Uzbay, I. T.; Erol, D. Synthesis and antidepressant activities of some 3,5-diphenyl-2-pyrazolines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, p. 539, 2001.
- [23] Pereira, C. M. P.; Stefani, H. A.; Guzen, K. P.; Órfão, A. T. G. Improved synthesis of benzotriazoles and 1-acylbenzotriazoles by ultrasound irradiation. **Letters in Organic Chemistry**, v. 4, p. 43, 2007.
- [24] Turan-zitouni, G.; Chevallet, P.; Kiliç, F. S.; Erol, K. Synthesis of some thiazolyl-pyrazoline derivatives and preliminary investigation of their hypotensive activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, p. 635, 2000.
- [25] Onoa, G. B.; Moreno, V.; Font-Bardia, M.; Solans, X; Pérez, J. M.; Alonso, C. Structural and cytotoxic study of new Pt(II) and Pd(II) complexes with the bi-heterocyclic ligand mepirizole. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 75, p. 205, 1999.
- [26] Husain, K.; Abid, M.; Azam, A. Novel Pd(II) complexes of 1-N-substituted 3-phenyl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of antiamebic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 393, 2008.
- [27] Silva, F. M.; de Lacerda, P. S. B.; Junior, J. J. Desenvolvimento sustentável e química verde. **Química Nova**, v. 28, p. 103, 2005.
- [28] Lenardão, E. J.; Dabdoub, M. J.; Batista, C. F. "Green chemistry" – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, p. 123, 2003.

- [29] Capello, C.; Fischer, U.; Hungerbühler, K. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. **Green Chemistry**, v. 9, p. 927, 2007.
- [30] Sheldon, R. A. Green solvents for sustainable organic synthesis: state of the art. **Green Chemistry**, v. 7, p. 267, 2005.
- [31] Huang, Z.; Wang, R.; Sheng, S.; Zhou, R.; Cai, M. Preparation of polystyrene-supported vinyl sulfone and its application in the solid-phase organic synthesis of 1-monosubstituted 1,2,3-triazoles. **Reactive & Functional Polymers**, v. 73, p. 224, 2013.
- [32] Marquardt, M.; Eifler-Lima, V. L. A síntese orgânica em fase sólida e seus suportes poliméricos mais empregados. **Química Nova**, v. 24, p. 846, 2001.
- [33] Cravotto, G.; Cintas, P. Power ultrasound in organic synthesis: moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 180, 2006.
- [34] Namboodiri, V. V.; Varma, R. S. Solvent-free sonochemical preparation of ionic liquids. **Organic Letters**, v. 4, p. 3161, 2002.
- [35] Cintas, P.; Luche, J. The sonochemical approach. **Green Chemistry**, v. 43, p. 115, 1999.
- [36] Zhang, Z.-H.; Li, J.-J.; Li T.-S. Ultrasound-assisted synthesis of pyrroles catalyzed by zirconium chloride under solvent-free conditions. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 673, 2008.
- [37] Fustero, S.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P.; Simón-Fuentes, A. From 2000 to Mid-2010: A fruitful decade for the synthesis of pyrazoles. **Chemical Reviews**, v. 111, p. 6984, 2011.
- [38] Nemati, F.; Hosseini, M. M.; Kiani, H. Glycerol as a green solvent for efficient, one-pot and catalyst free synthesis of 2,4,5-triaryl and 1,2,4,5-tetraaryl imidazole derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, 17, 2, 2013.
- [39] Lévai, A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. S.; Alkorta, I.; Elguero, J.; Jekó, J. Synthesis of pyrazoles by treatment of 3-benzylchromones, 3-benzylflavones and their 4-thio analogues with hydrazine. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 2825, 2006.
- [40] Mallouk, S.; Bougrin, K.; Doua, H.; Benhida, R.; Soufiaoui, M. Ultrasound-accelerated aromatisation of trans- and cis-pyrazolines under heterogeneous conditions using claycop. **Tetrahedron Letters**, v. 45, p. 4143, 2004.
- [41] Arrieta, A.; Carrillo, J. R.; Cossm, F. P.; Dmz-ortlz, A.; Gmez-, M. J. Efficient tautomerization hydrazone-azomethine imine under microwave irradiation. Synthesis of [4,3'] and [5,3'] bipyrazoles. **Tetrahedron**, v. 54, p. 13167, 1998.

- [42] Kobayashi, S.; Hirabayashi, R.; Shimizu, H.; Ishitani, H.; Yamashita, Y. Lewis acid-mediated [3+2] cycloaddition between hydrazones and olefins. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p. 3351, 2003.
- [43] Wu, L.; Shi, M. 1,3-Dipolar cycloaddition reactions of vinylidenecyclopropane-diester with aromatic diazomethanes generated *in situ*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, p. 2296, 2010.
- [44] Aggarwal, V. K.; de Vicente, J.; Bonnert, R. V. A novel one-pot method for the preparation of pyrazoles by 1,3-dipolar cycloadditions of diazo compounds generated *in situ*. **Journal of Organic Chemistry**, v. 68, p. 5381, 2003.
- [45] Rai, N. S.; Kalluraya, B.; Lingappa, B.; Shenoy, S.; Puranic, V. G. Convenient access to 1,3,4-trisubstituted pyrazoles carrying 5-nitrothiophene moiety via 1,3-dipolar cycloaddition of sydnone with acetylenic ketones and their antimicrobial evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 1715, 2008.
- [46] Li, J.-T.; Zhang, X.-H.; & Lin, Z.-P. An improved synthesis of 1,3,5-triaryl-2-pyrazolines in acetic acid aqueous solution under ultrasound irradiation. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 3, p. 13, 2007.
- [47] Eftekhari-Sis, B., Zirak, M., Akbari, A. Arylglyoxals in synthesis of heterocyclic compounds, **Chemical Reviews**, v. 113, p. 2958, 2013.
- [48] Shaaban, M. R.; Mayhoub, A. S.; Farag A. M. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. **Expert Opinion**, v. 22, p. 253, 2012.
- [49] Alex, J. M. Kumar, R. 4,5-Dihydro-1H-pyrazole: an indispensable scaffold. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 1, 2013.
- [50] Eicher, T.; Hauptmann, S. **The chemistry of heterocycles**. New York: Ed. George Thieme Verlag Stuttgart, 1995.
- [51] Schlemper, S. R. M.; Cordeiro, F.; Block, L. Ç.; Cechinel Filho, V. Atividade de frações semipurificadas e compostos puros de *Wendelia paludosa*. **Alcance**, v. 5, p. 14-18, 1998.
- [52] Vanangamudi, G.; Subramanian, M.; Thirunarayanan, G. Synthesis, spectral linearity, antimicrobial, antioxidant and insect antifeedant activities of some 2,5-dimethyl-3-thienyl chalcones. **Arabian Journal of Chemistry**. In Press, Corrected Proof. 2013.

ANEXO I
ESPECTROS DE RMN

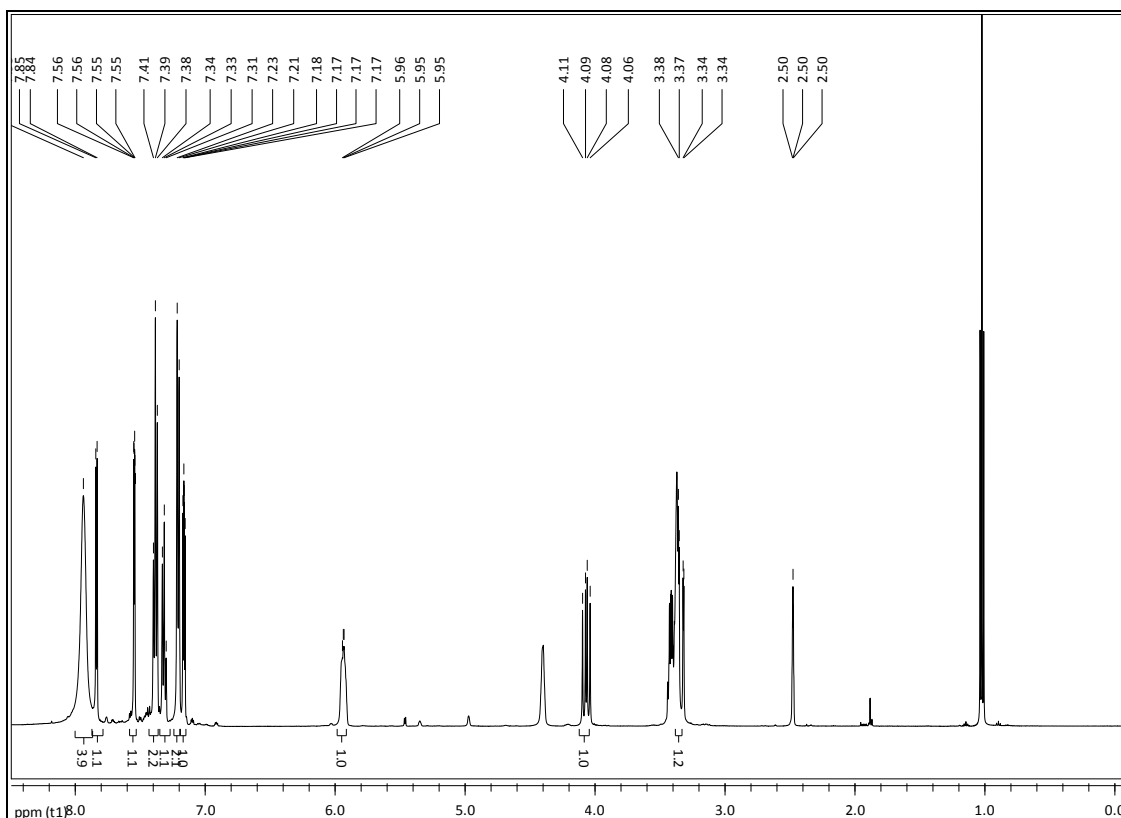


Figura 9: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2a**), em $\text{DMSO-}d_6$.

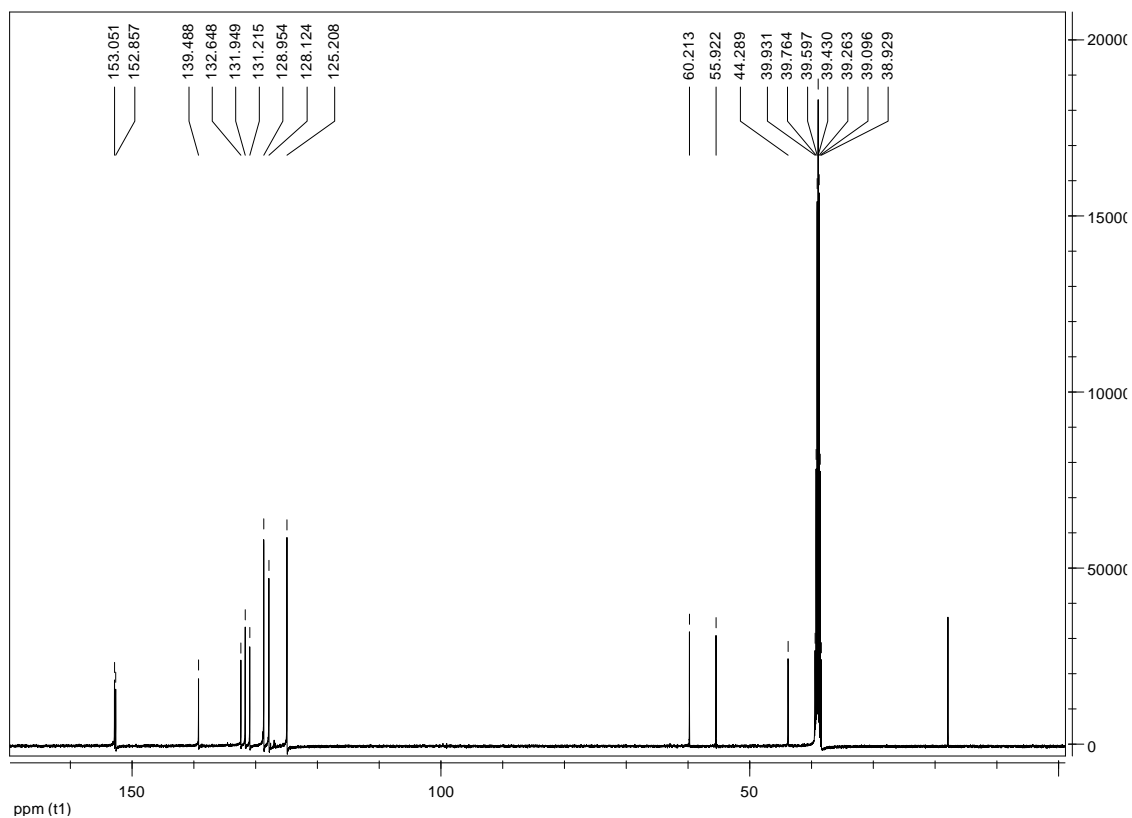


Figura 10: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2a**), em $\text{DMSO-}d_6$.

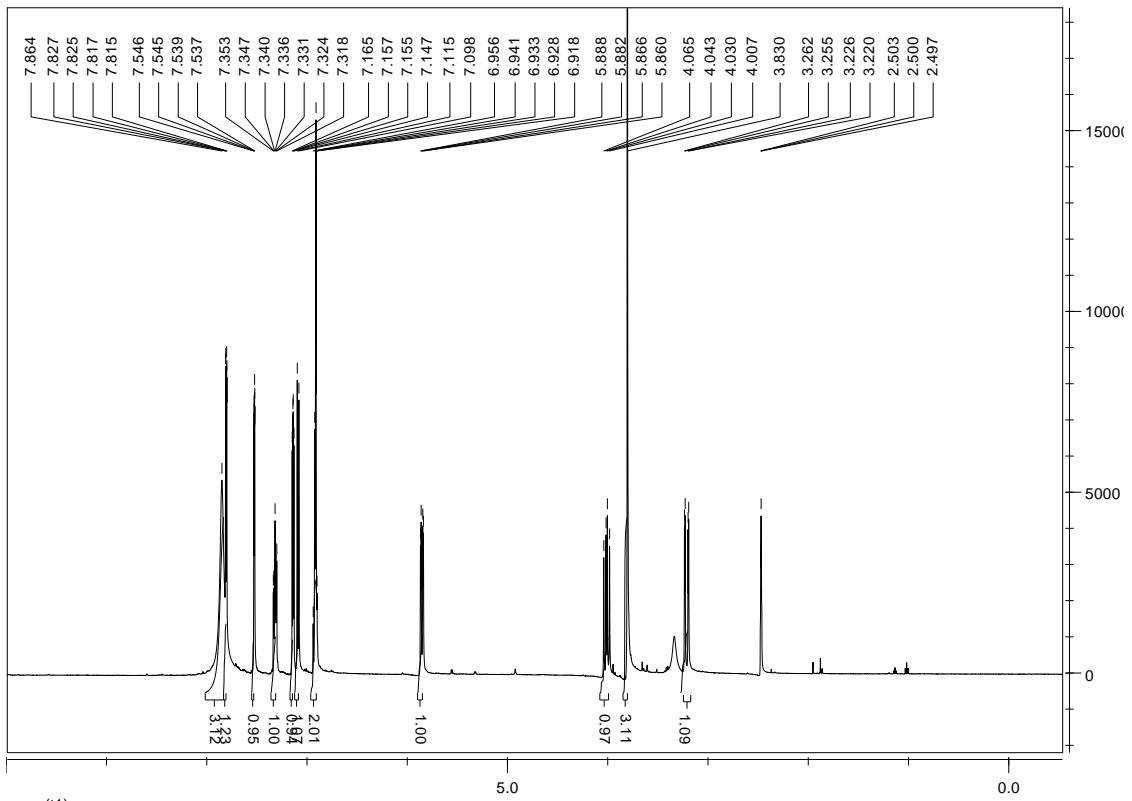


Figura 11: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de cloridrato de 5-(2-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2b**), em $\text{DMSO-}d_6$.

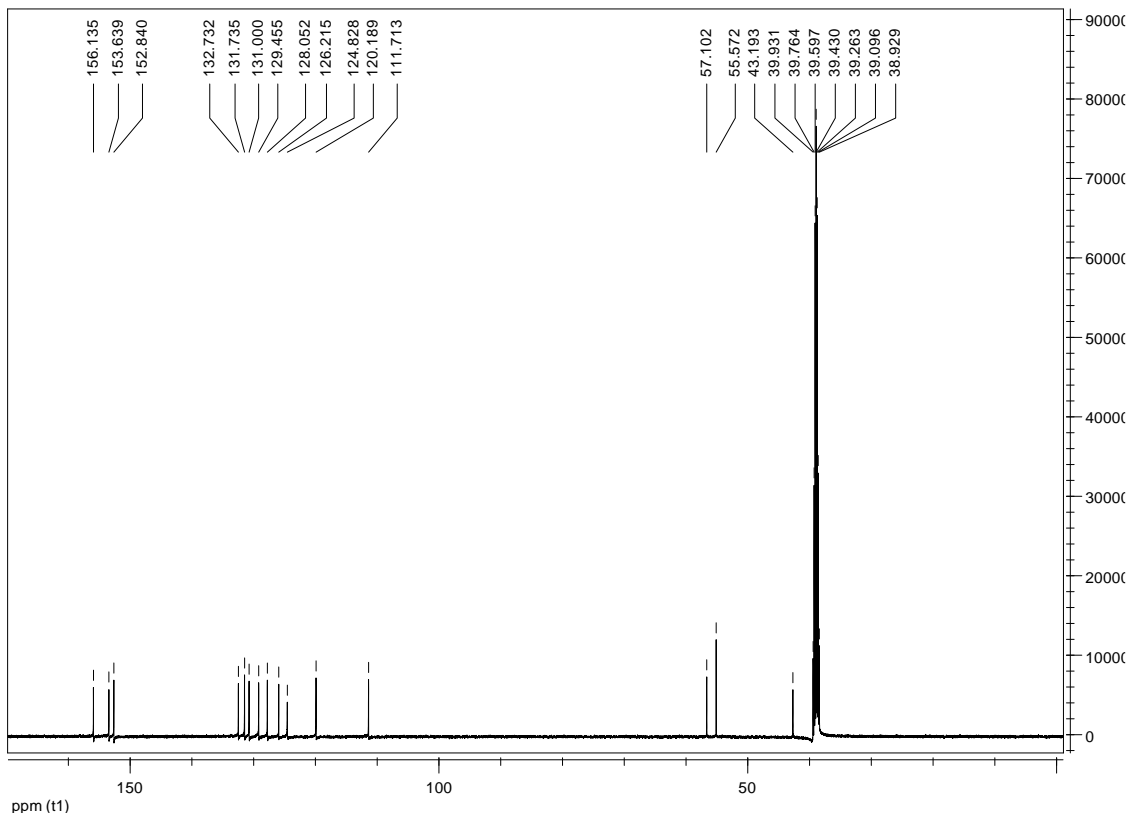


Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de cloridrato de cloridrato de 5-(2-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2b**), em $\text{DMSO-}d_6$.

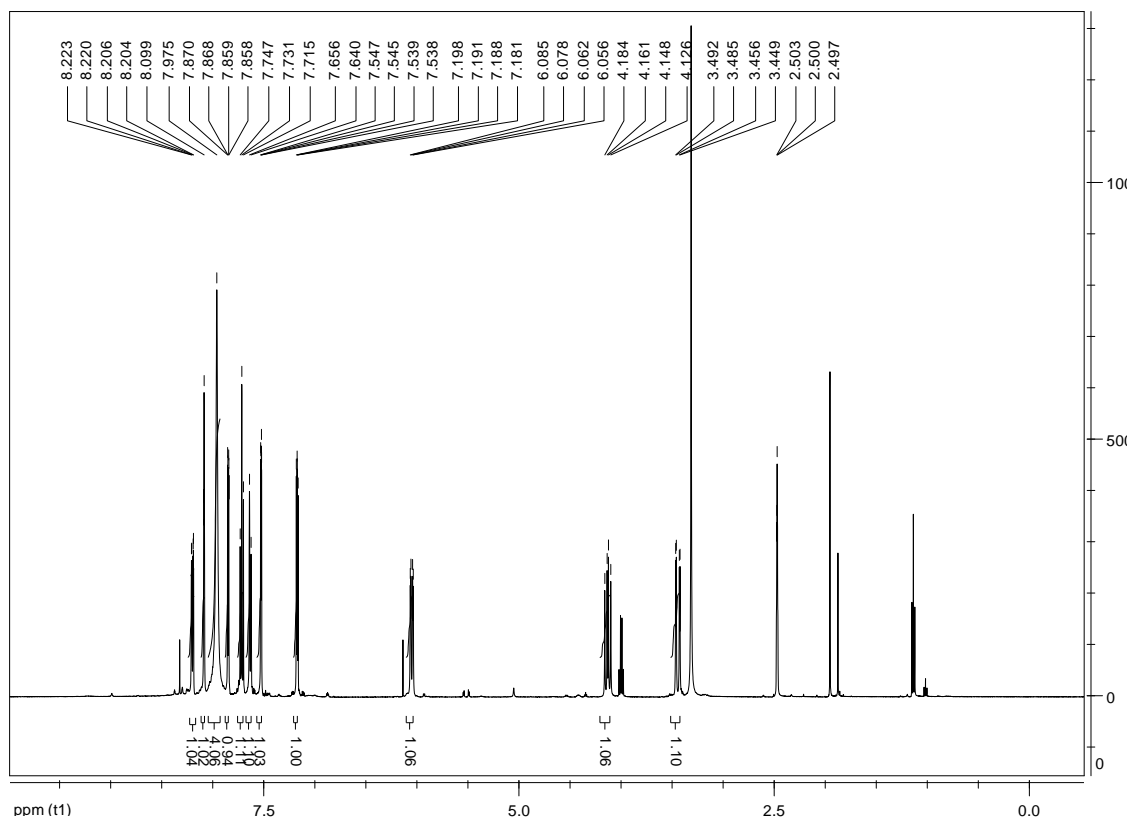


Figura 13: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2d**), em $\text{DMSO-}d_6$.

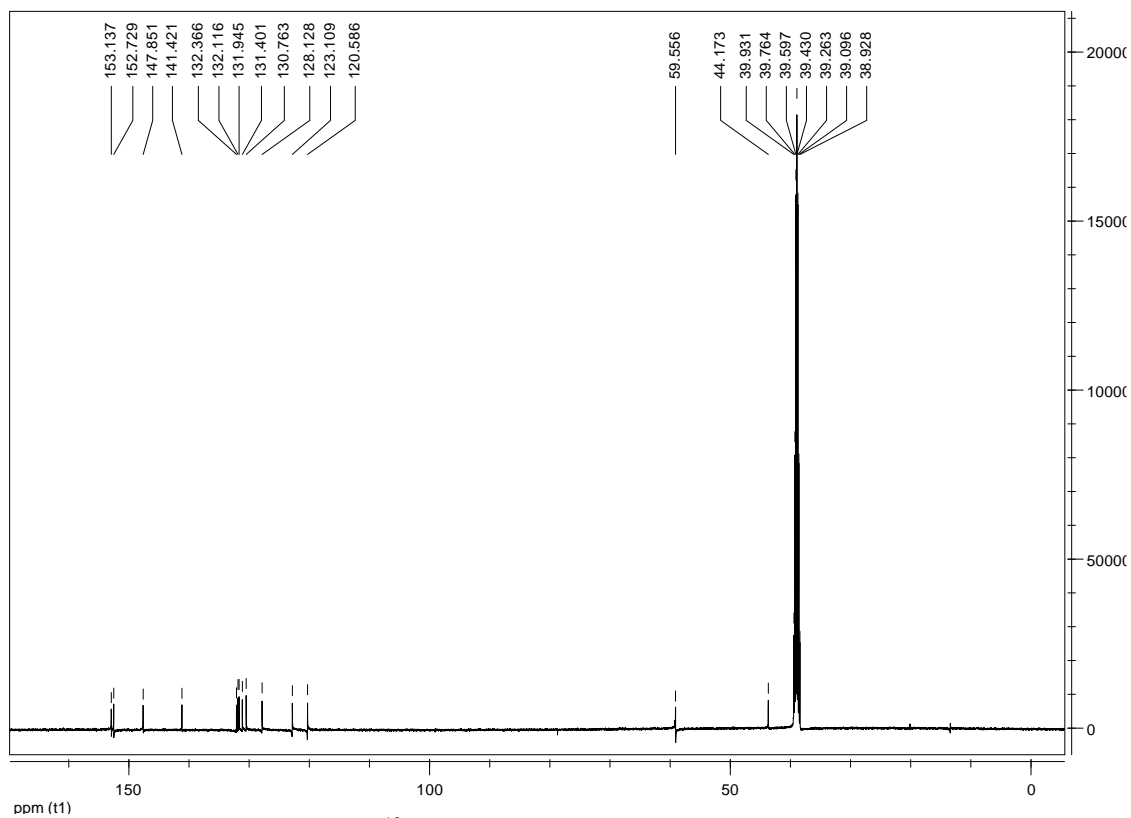


Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2d**), em $\text{DMSO-}d_6$.

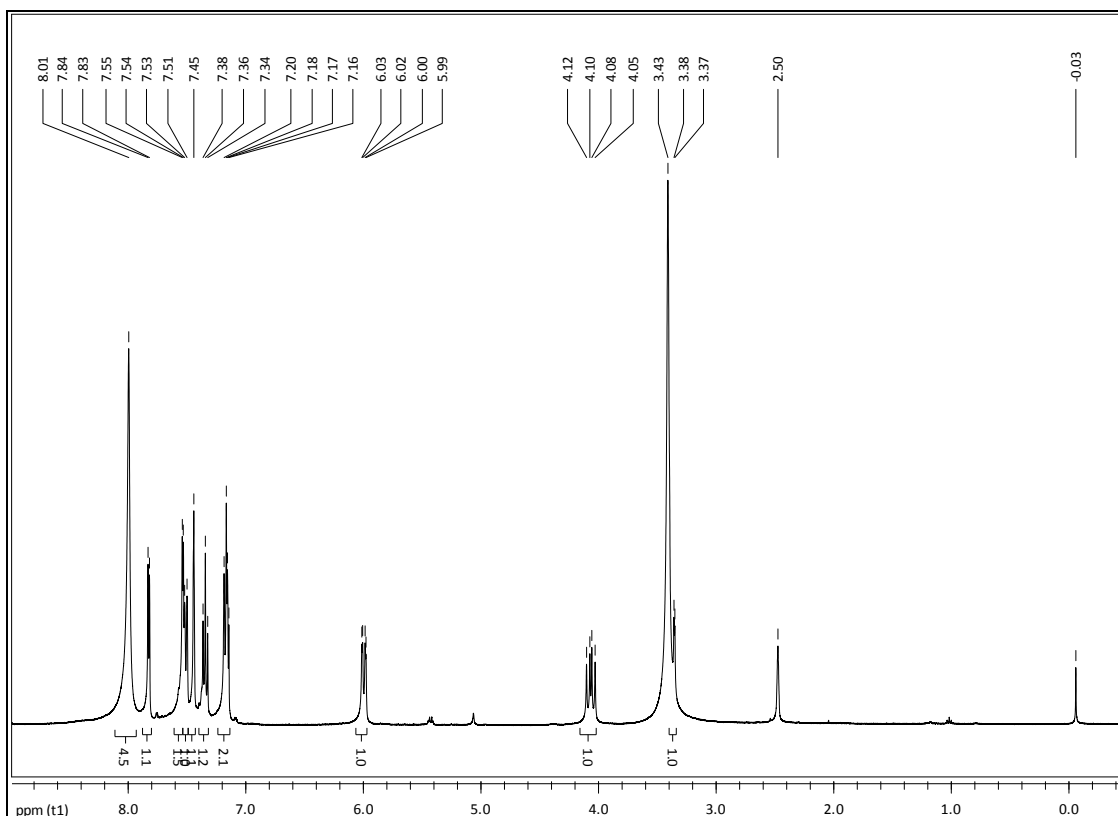


Figura 15: Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2e**), em $\text{DMSO-}d_6$.

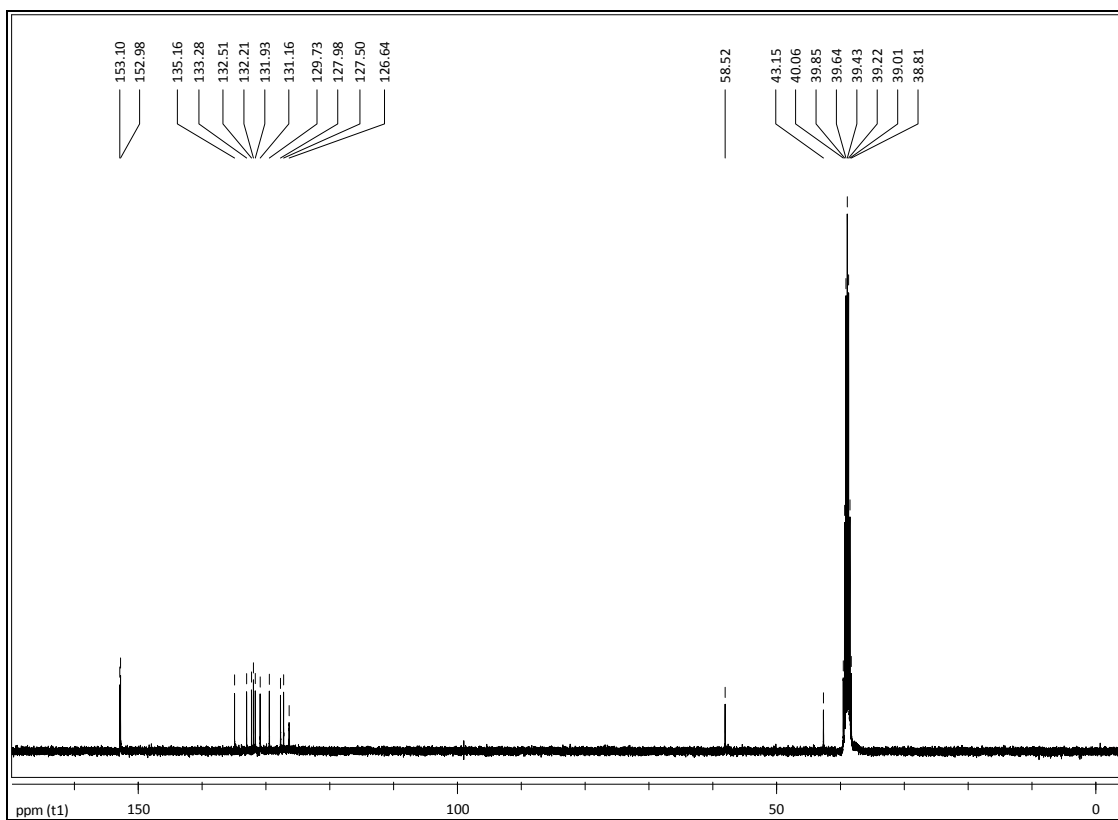


Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2e**), em $\text{DMSO-}d_6$.

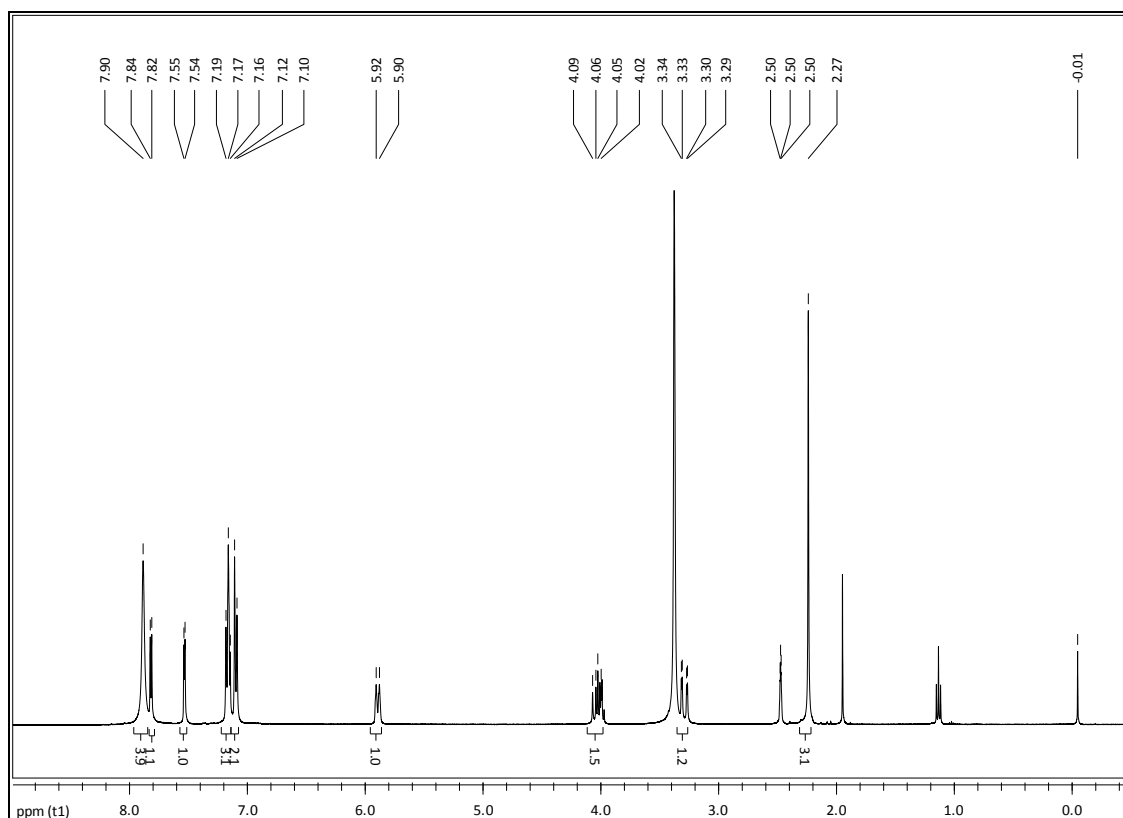


Figura 17: Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2e**), em $\text{DMSO-}d_6$.

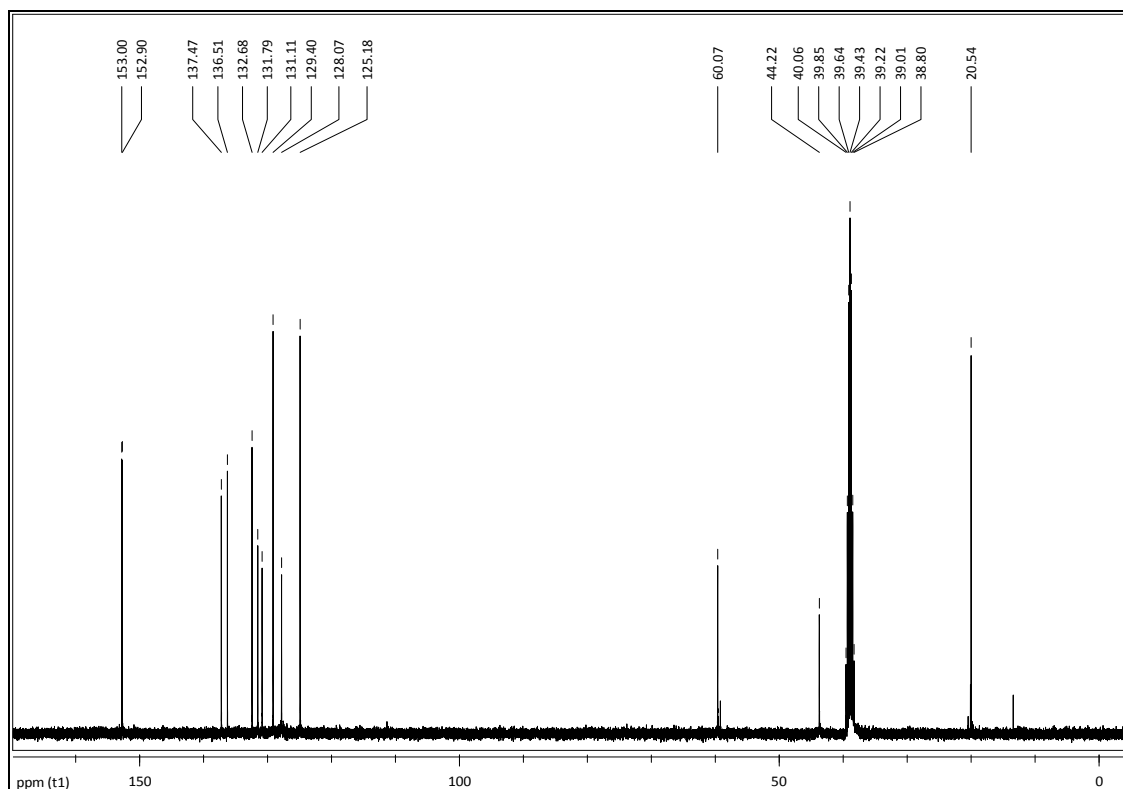


Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2f**), em $\text{DMSO-}d_6$.

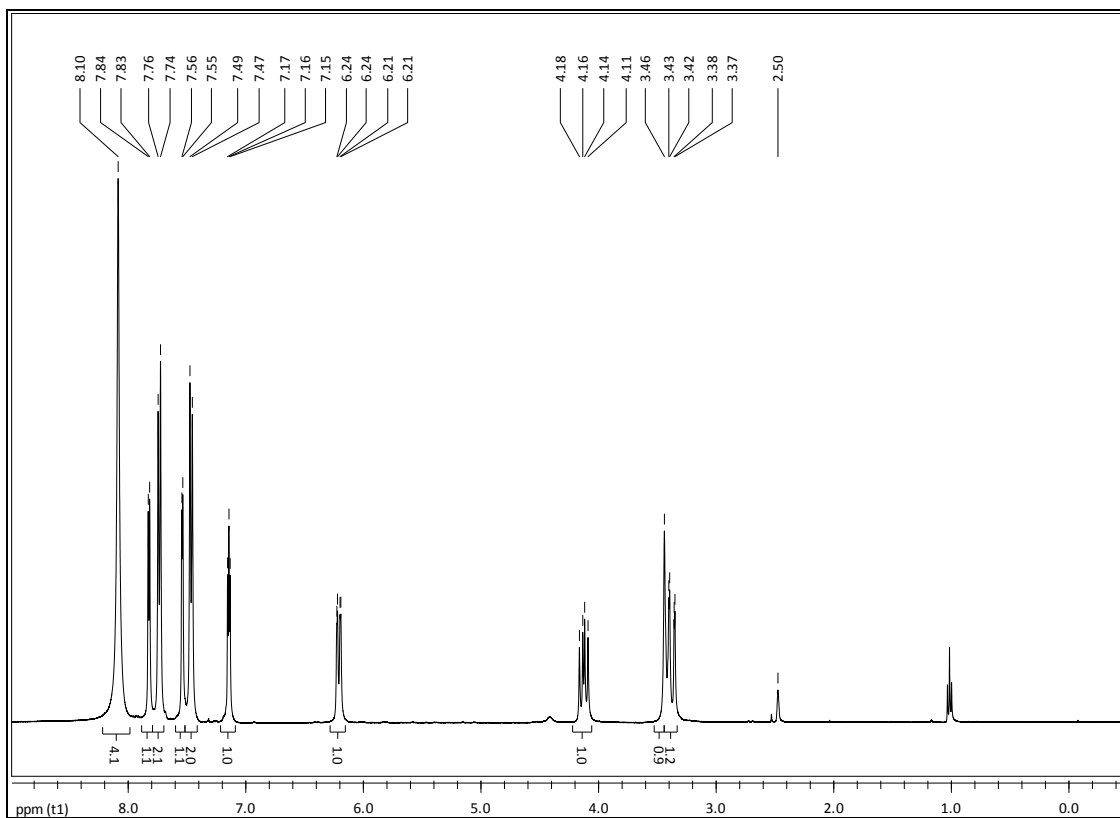


Figura 19: Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-trifluorometilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2g**), em $\text{DMSO-}d_6$.

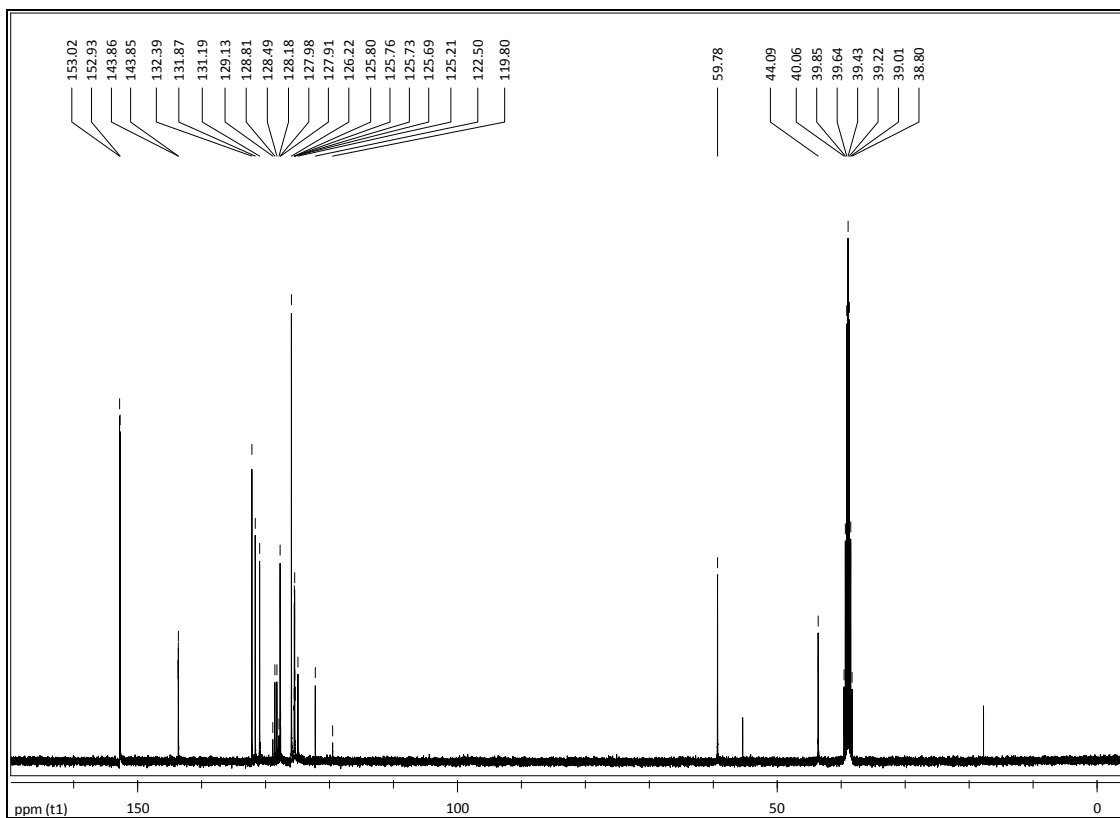


Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-trifluorometilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2g**), em $\text{DMSO-}d_6$.

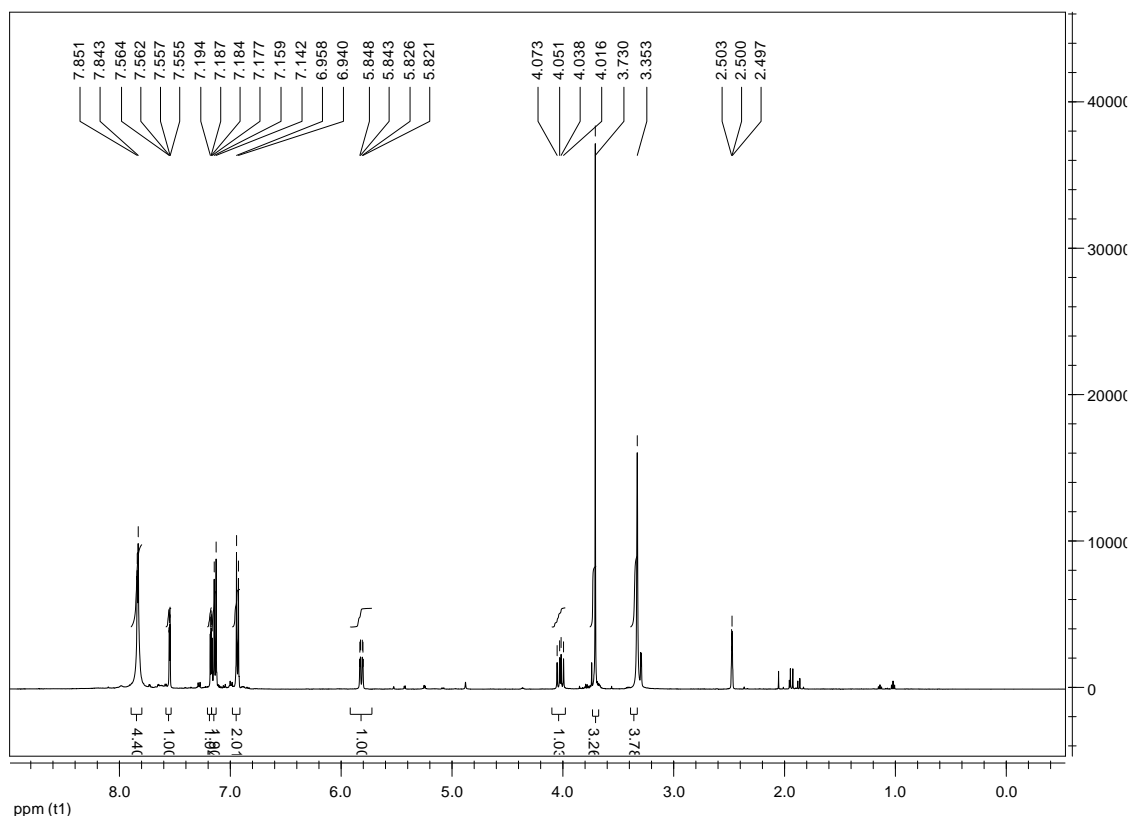


Figura 21: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2h**), em $\text{DMSO-}d_6$.

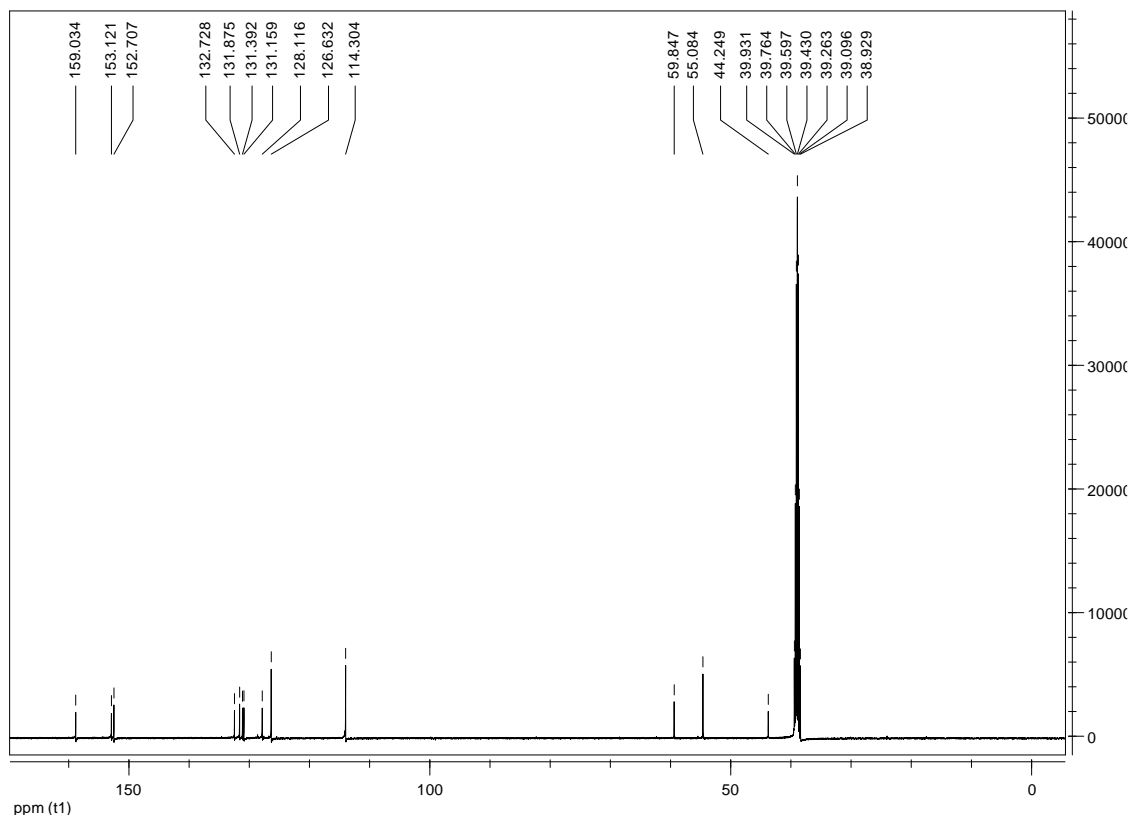


Figura 22: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2h**), em $\text{DMSO-}d_6$.

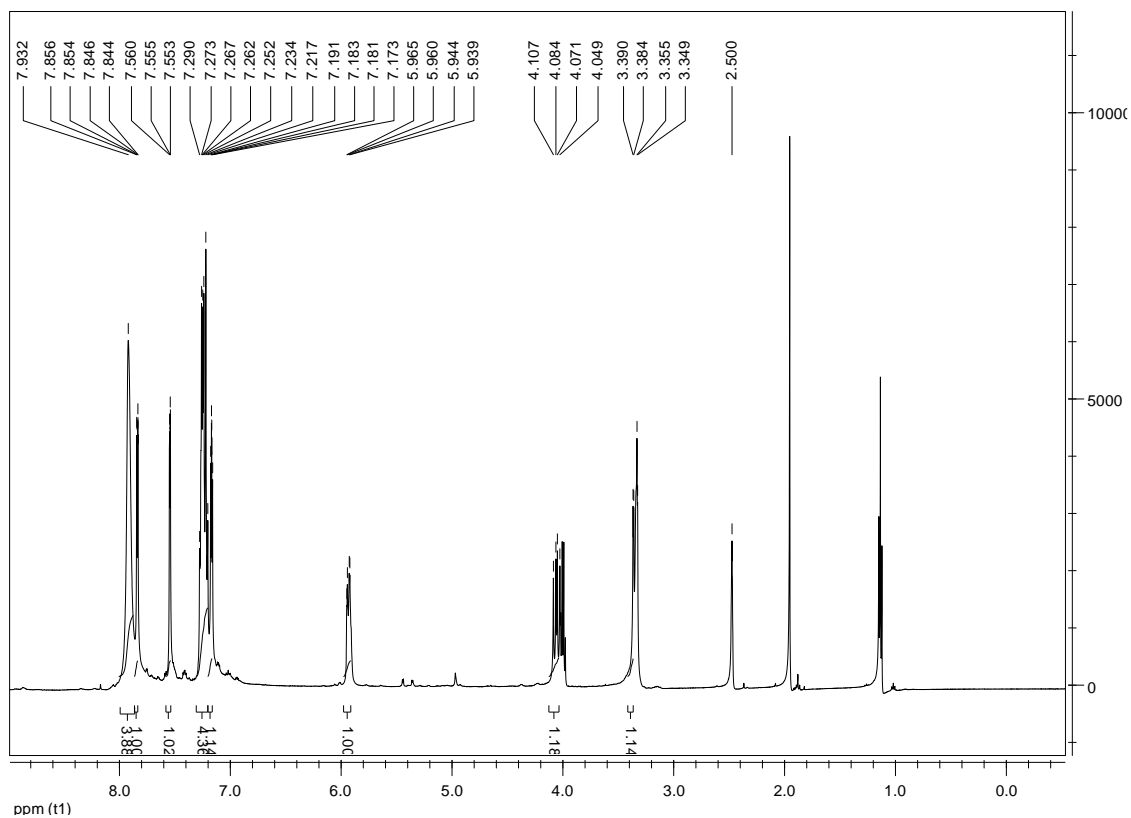


Figura 23: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2i**), em $\text{DMSO-}d_6$.

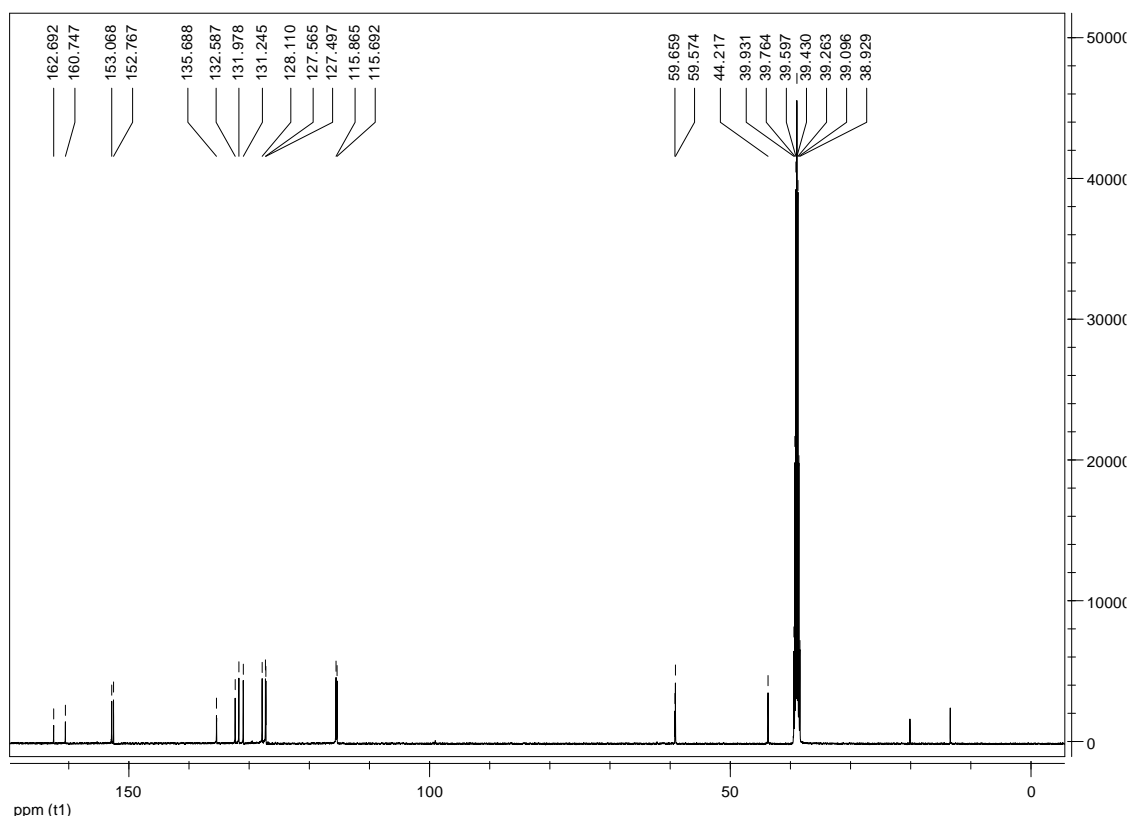


Figura 24: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2i**), em $\text{DMSO-}d_6$.

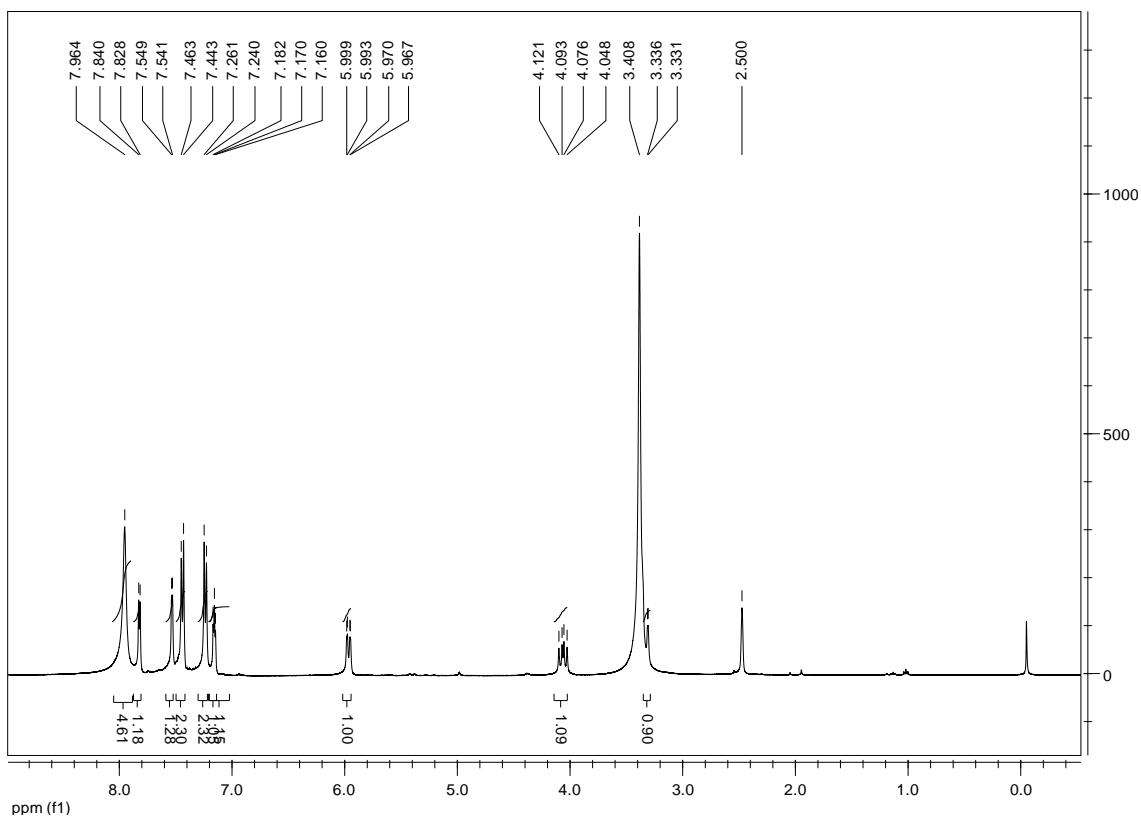


Figura 25: Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2j**), em $\text{DMSO-}d_6$.

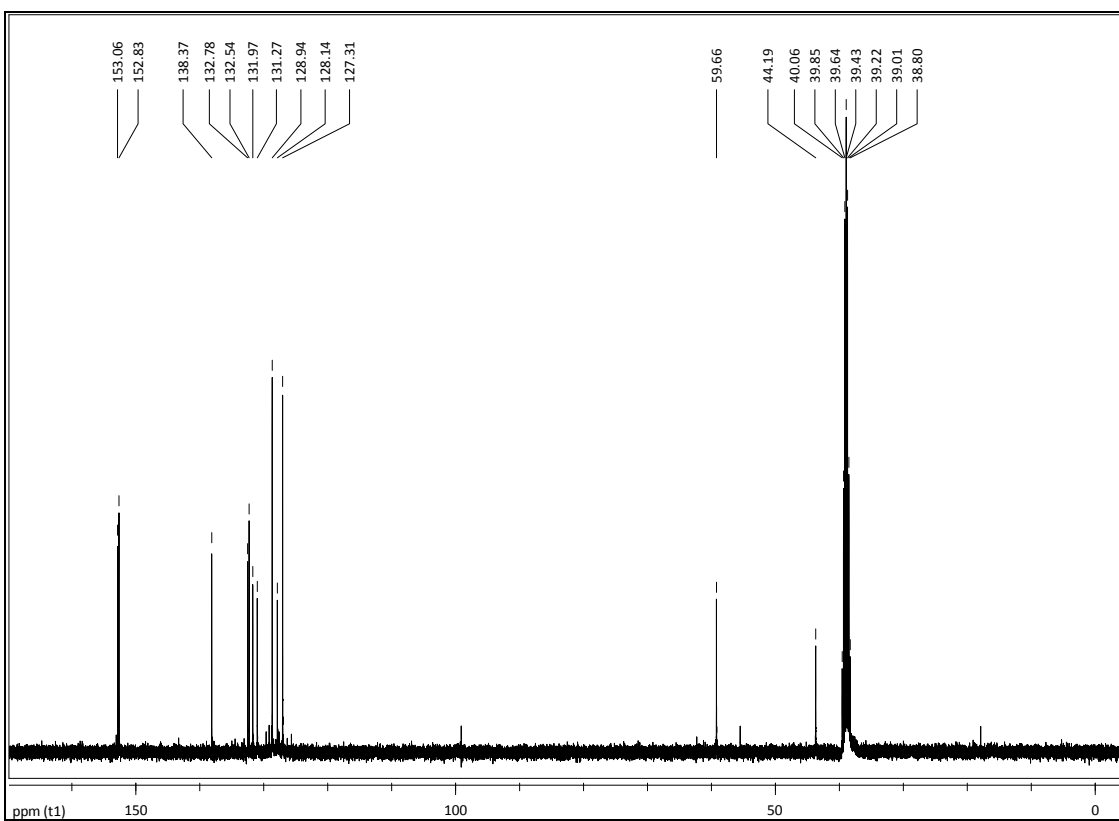


Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2j**), em $\text{DMSO-}d_6$.

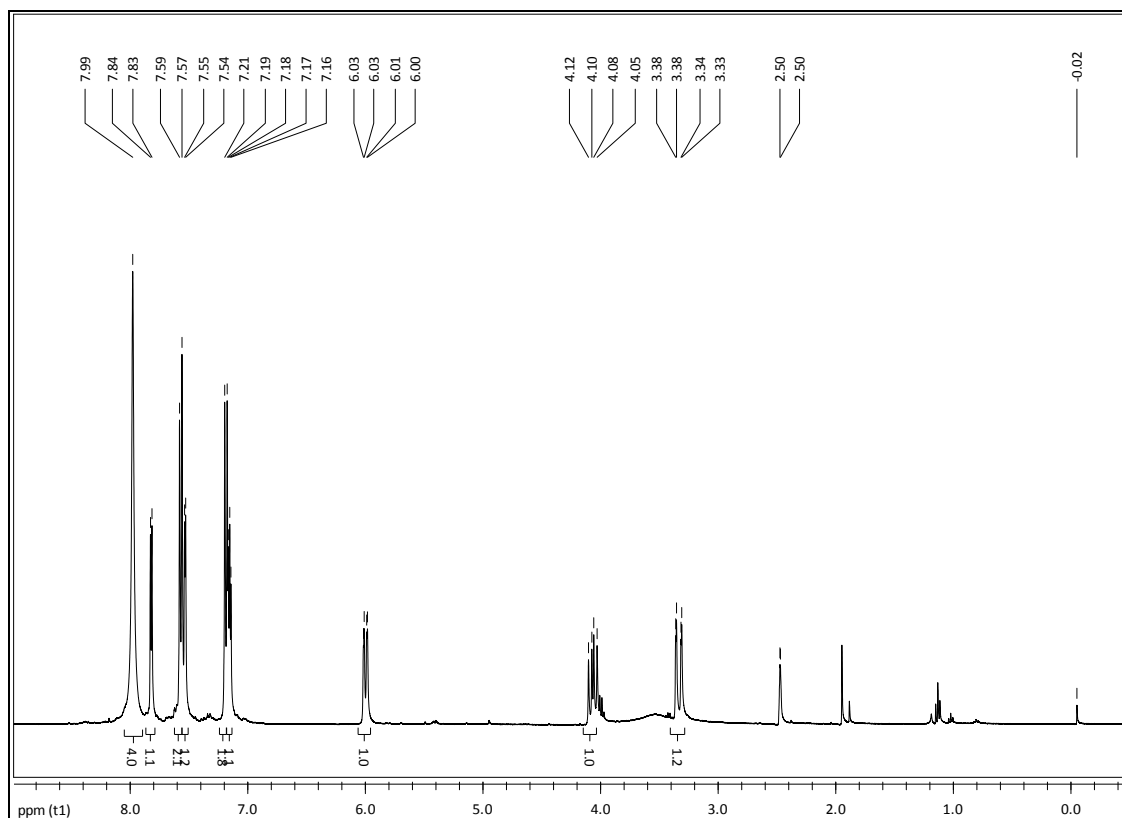


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2k**), em $\text{DMSO-}d_6$.

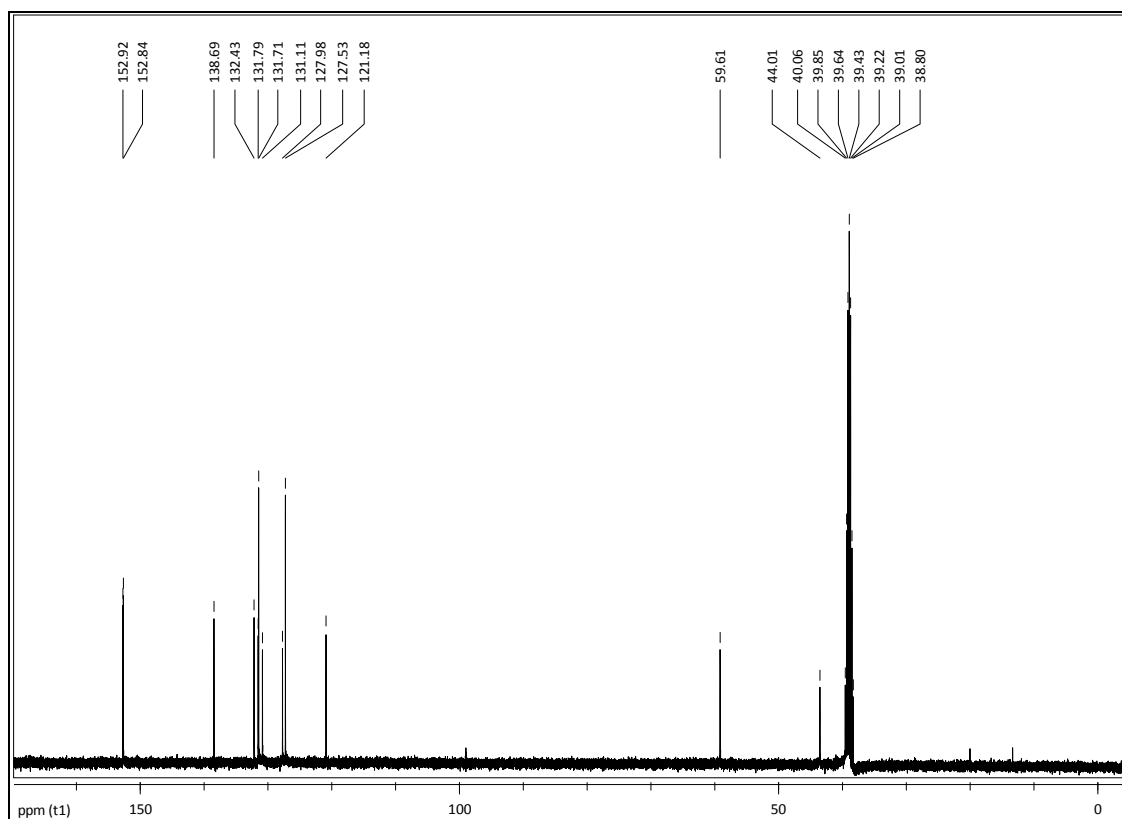


Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2k**), em $\text{DMSO-}d_6$.

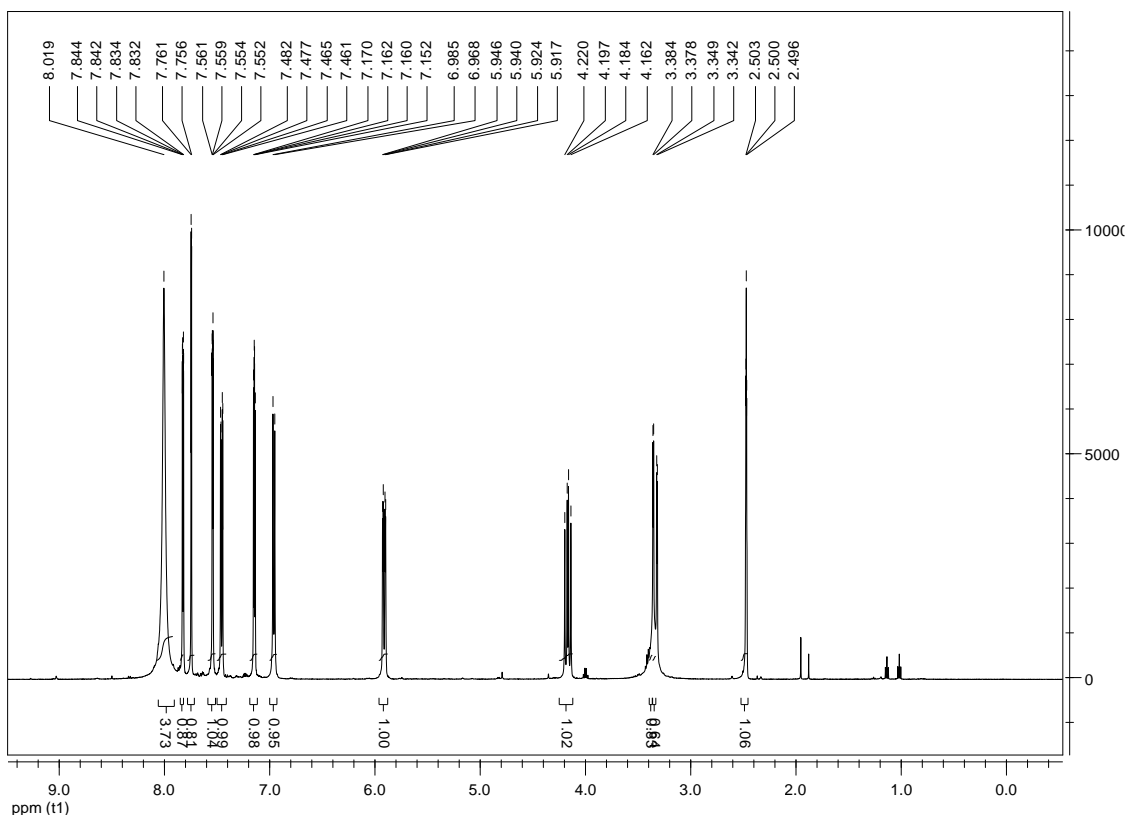


Figura 29: Espectro de RMN de ${}^1\text{H}$ a 500 MHz do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2I), em DMSO- d_6 .

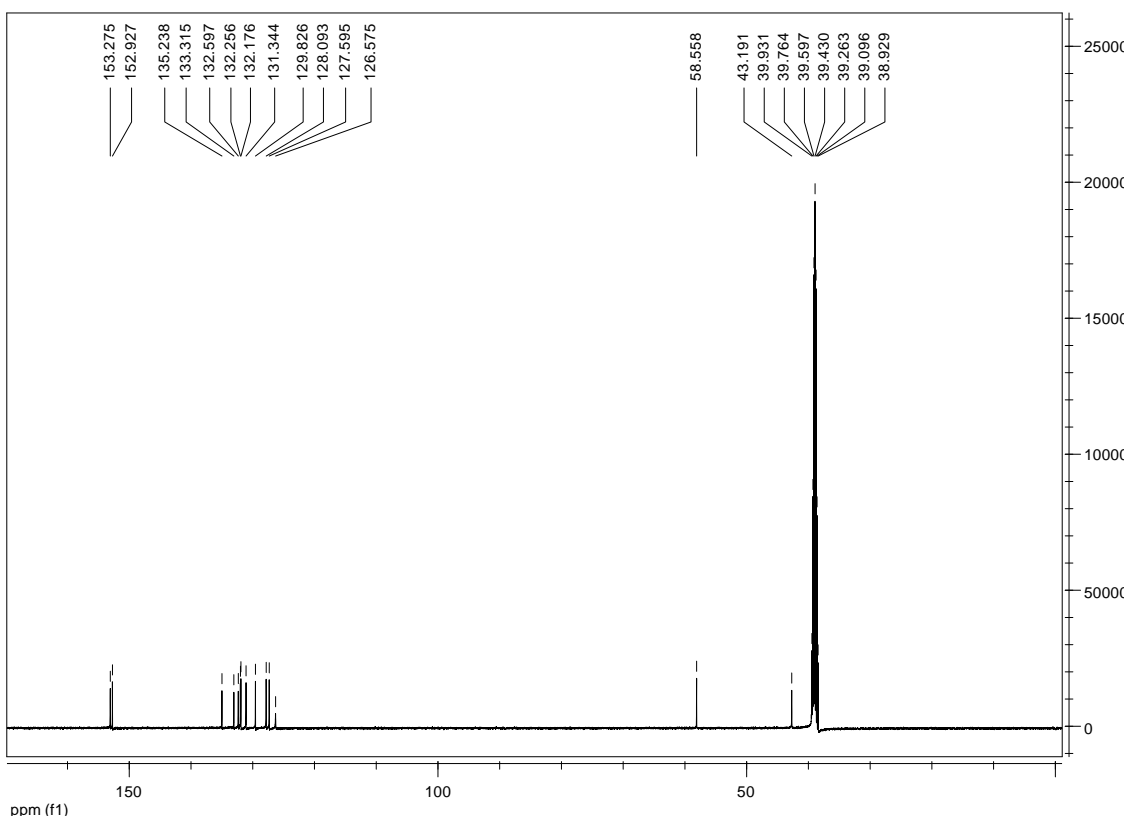


Figura 30: Espectro de RMN de ${}^{13}\text{C}$ a 126 MHz do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2I), em DMSO- d_6 .

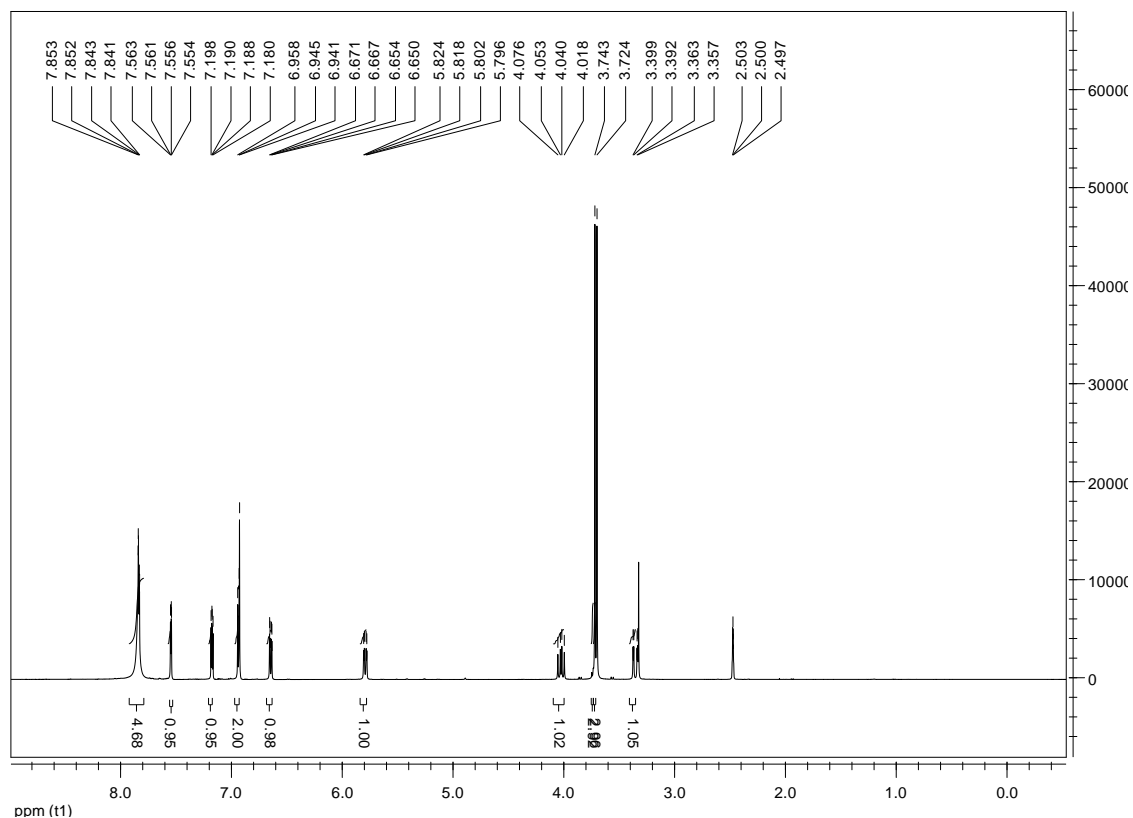


Figura 31: Espectro de RMN de ^1H a 500 MHz do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2m**), em $\text{DMSO-}d_6$.

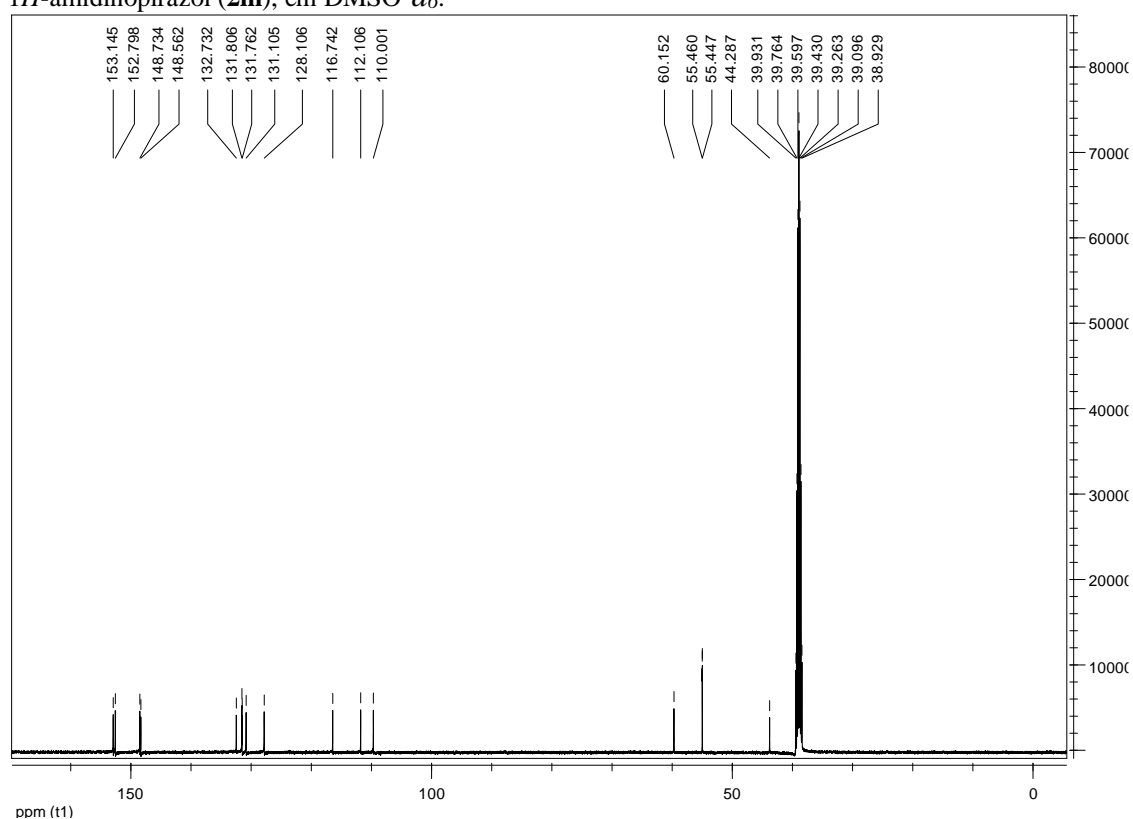


Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C a 126 MHz do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2m**), em $\text{DMSO-}d_6$.

ANEXO II
ESPECTROS DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO

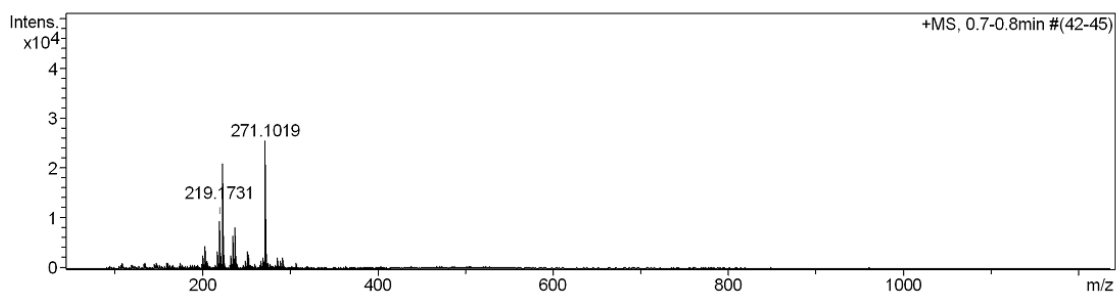


Figura 33: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-*aril*-3-(*tien*-2-*il*)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2a**).

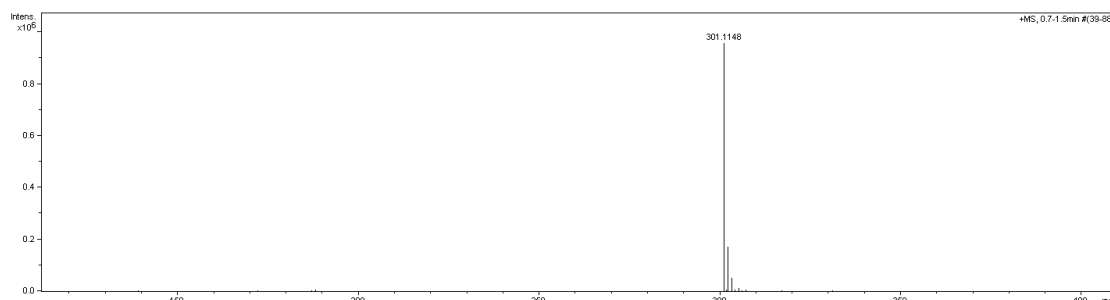


Figura 34: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-*aril*-3-(*tien*-2-*il*)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2b**).

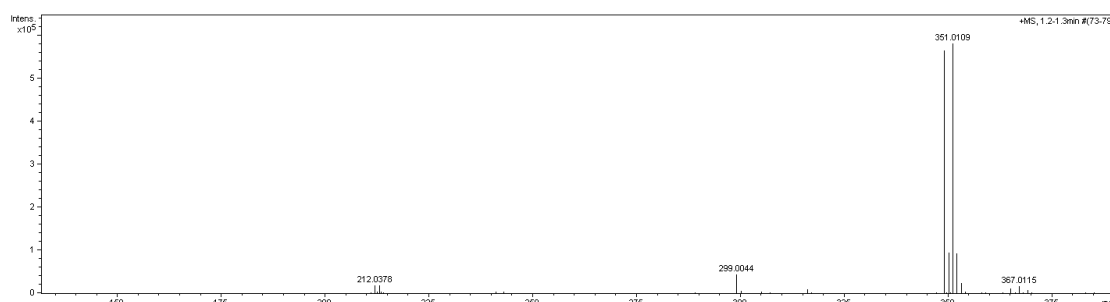


Figura 35: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(*tien*-2-*il*)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2c**).

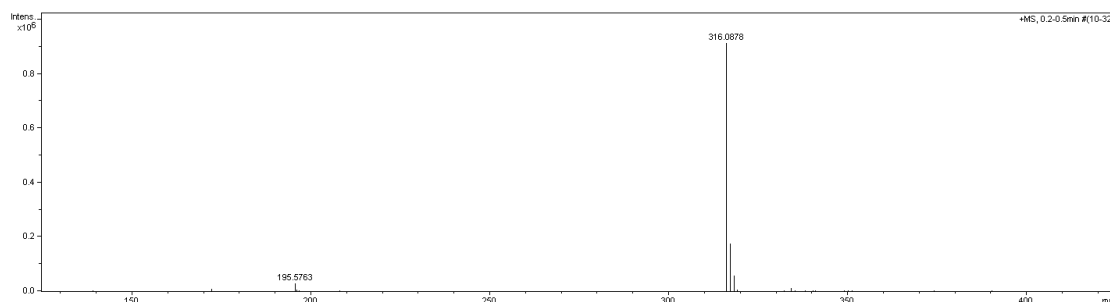


Figura 36: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(*tien*-2-*il*)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2d**).

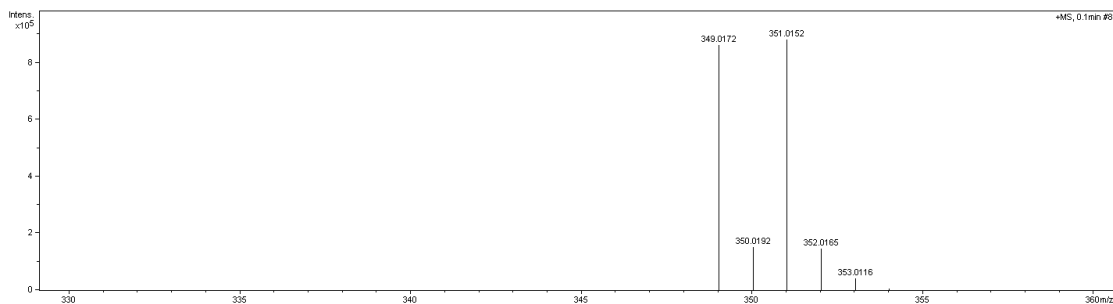


Figura 37: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2e**).

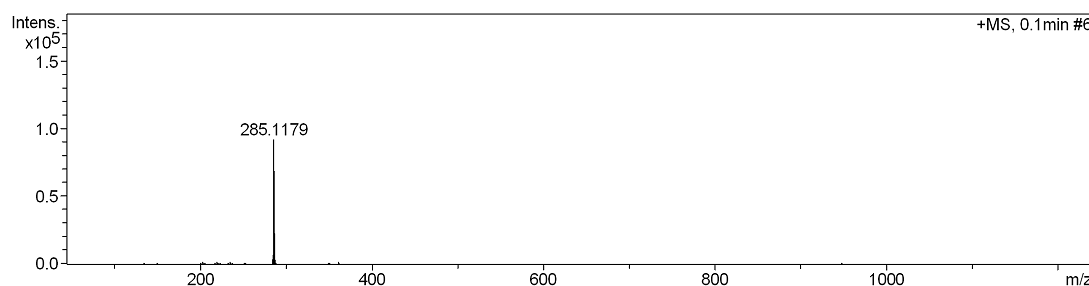


Figura 38: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2f**).

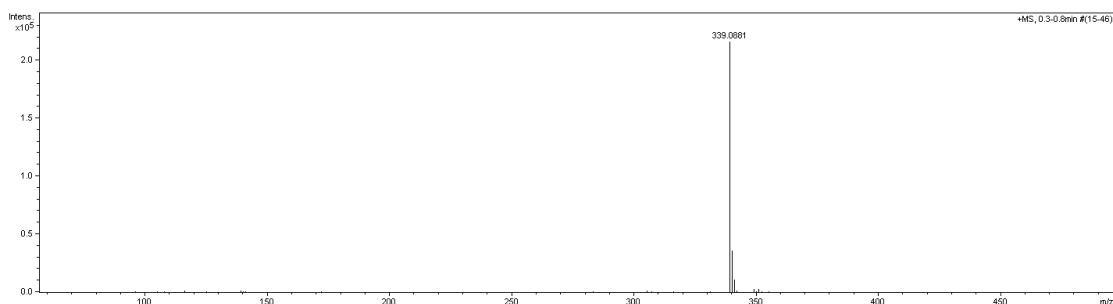


Figura 39: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-trifluorometilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2g**).

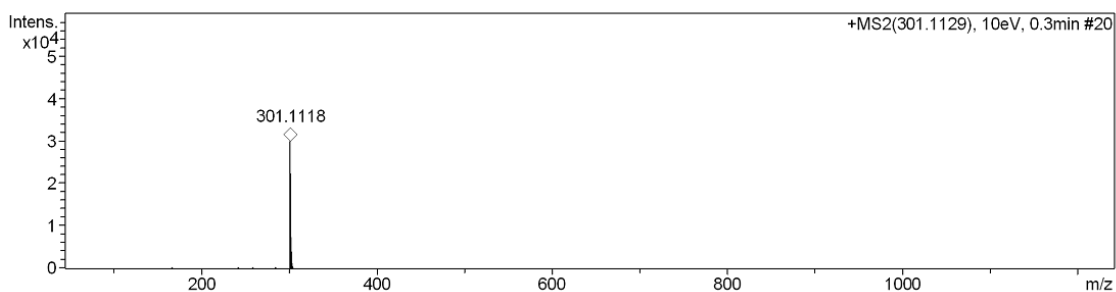


Figura 40: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-metoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2h**).

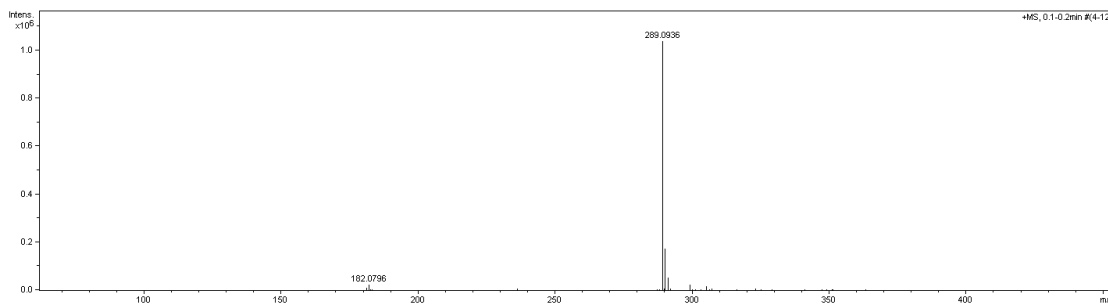


Figura 41: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2i**).

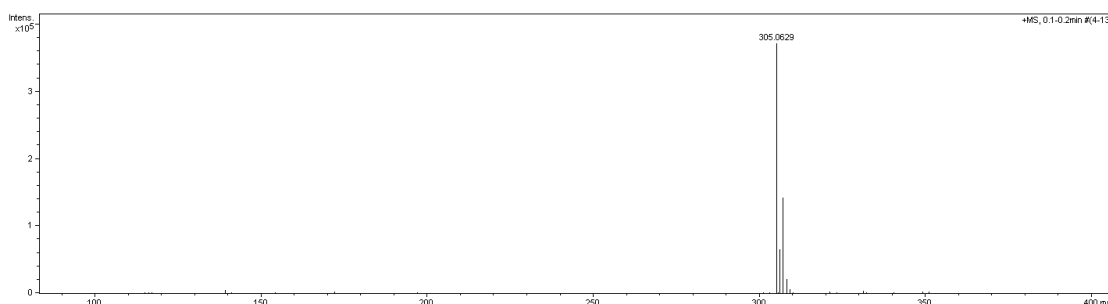


Figura 42: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2j**).

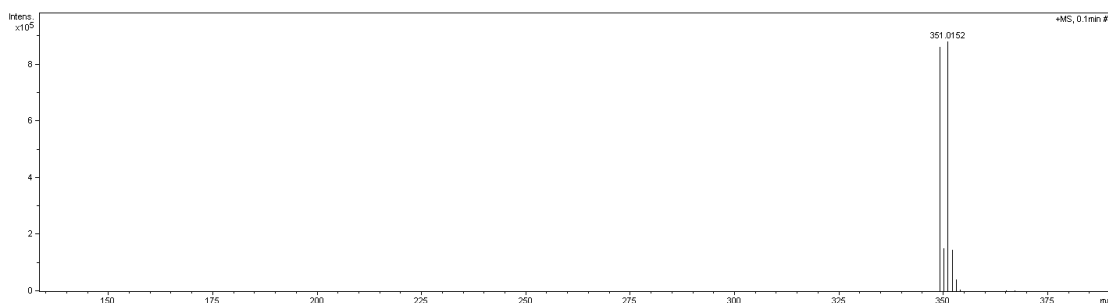


Figura 43: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2k**).

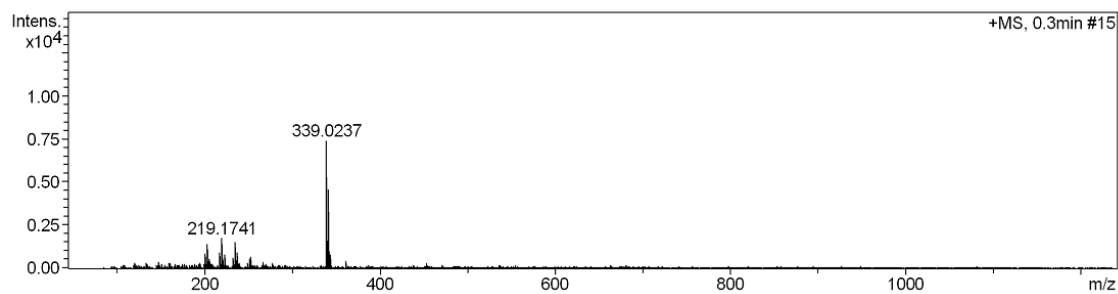


Figura 44: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2l**).

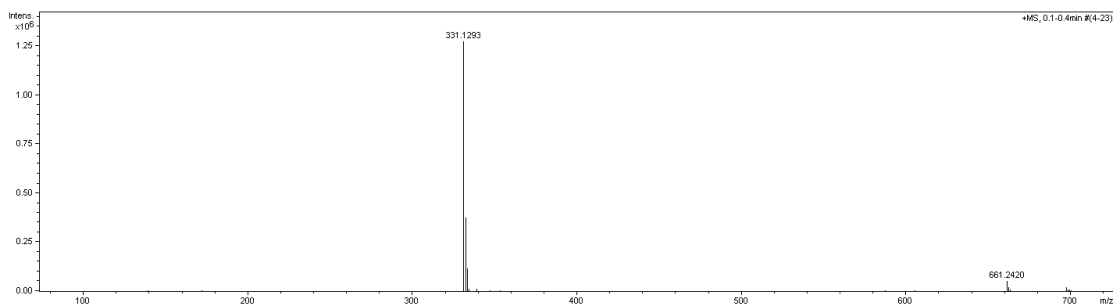


Figura 45: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**2l**).

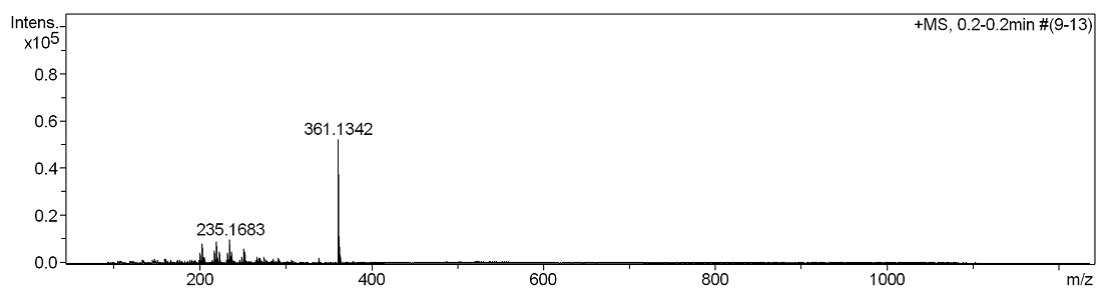


Figura 46: Espectro de massas de alta resolução do cloridrato de 5-(3,4,5-trimetoxifenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1*H*-amidinopirazol (**3n**).

ANEXO III
ESPECTROS DE MASSAS DE BAIXA RESOLUÇÃO

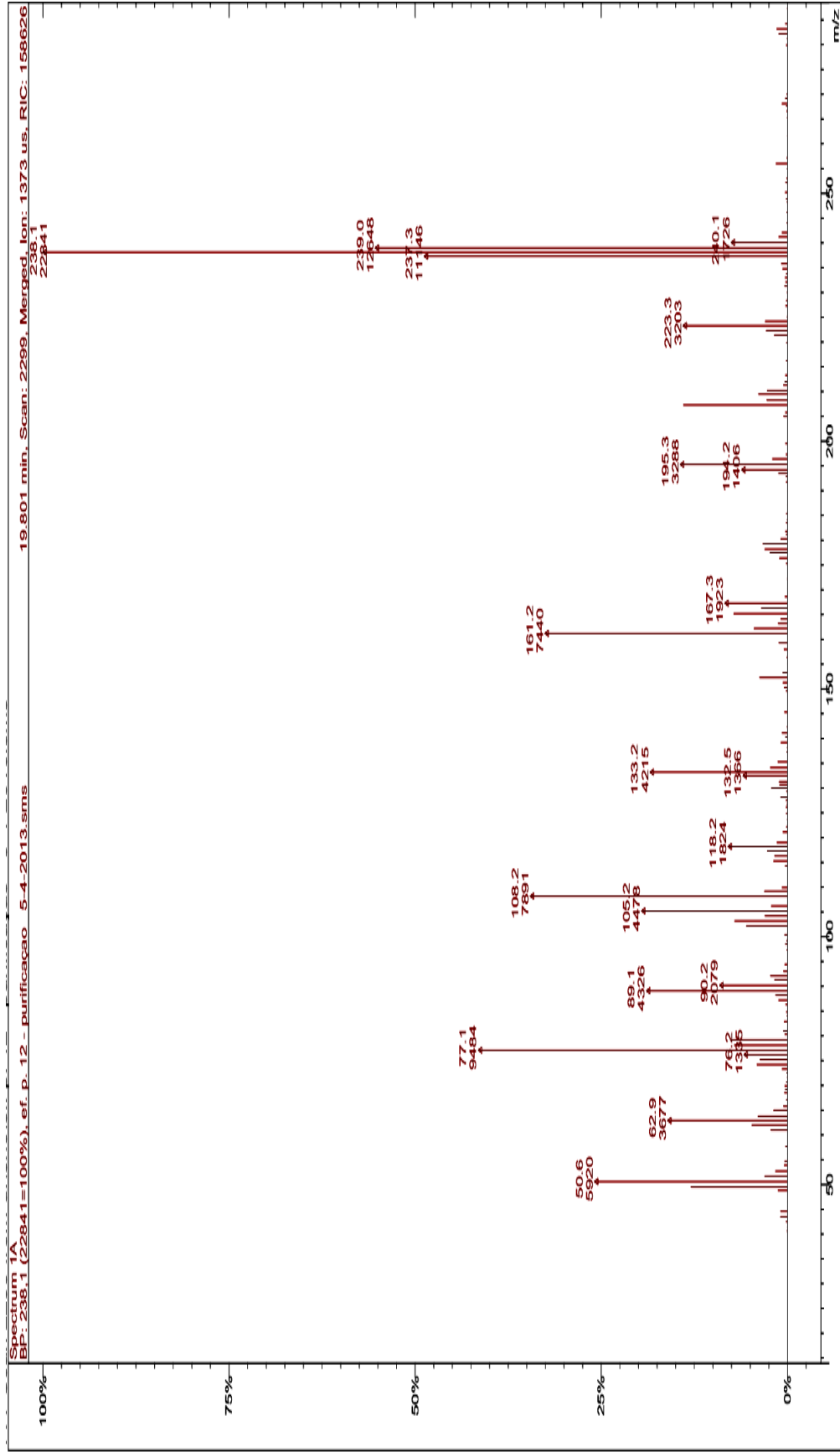


Figura 47: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-fenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2a).

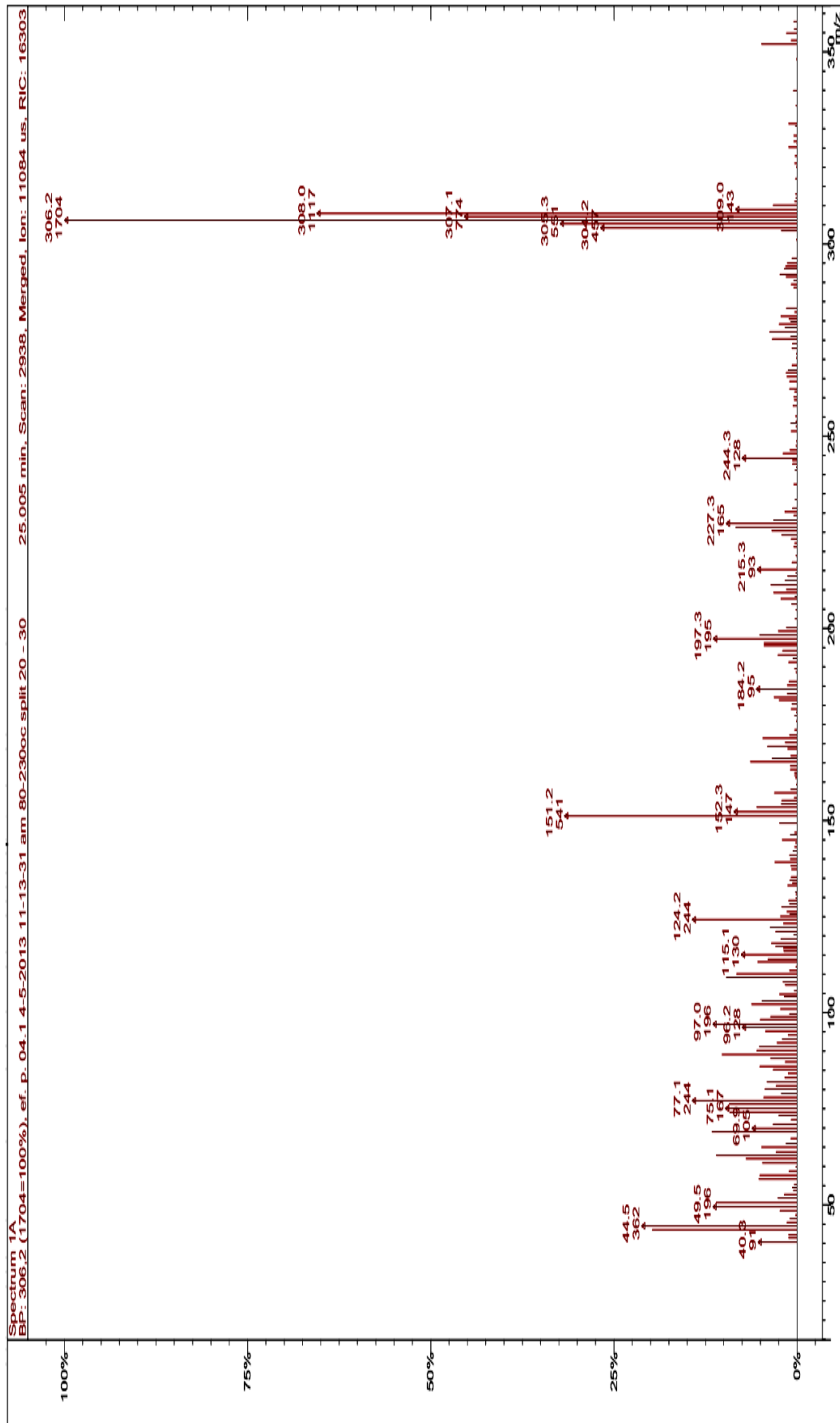


Figura 48: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2b).

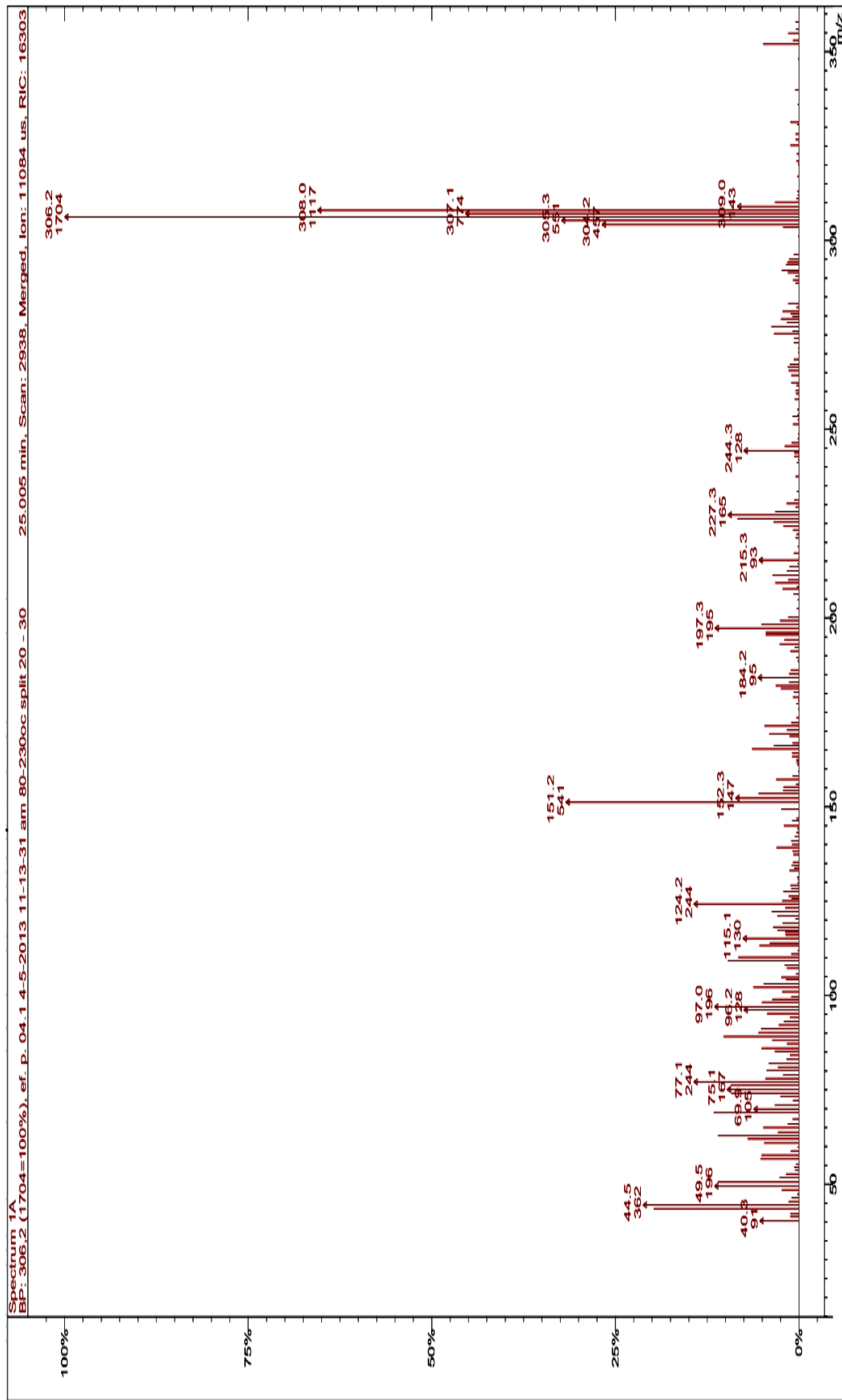


Figura 49: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (**2e**).

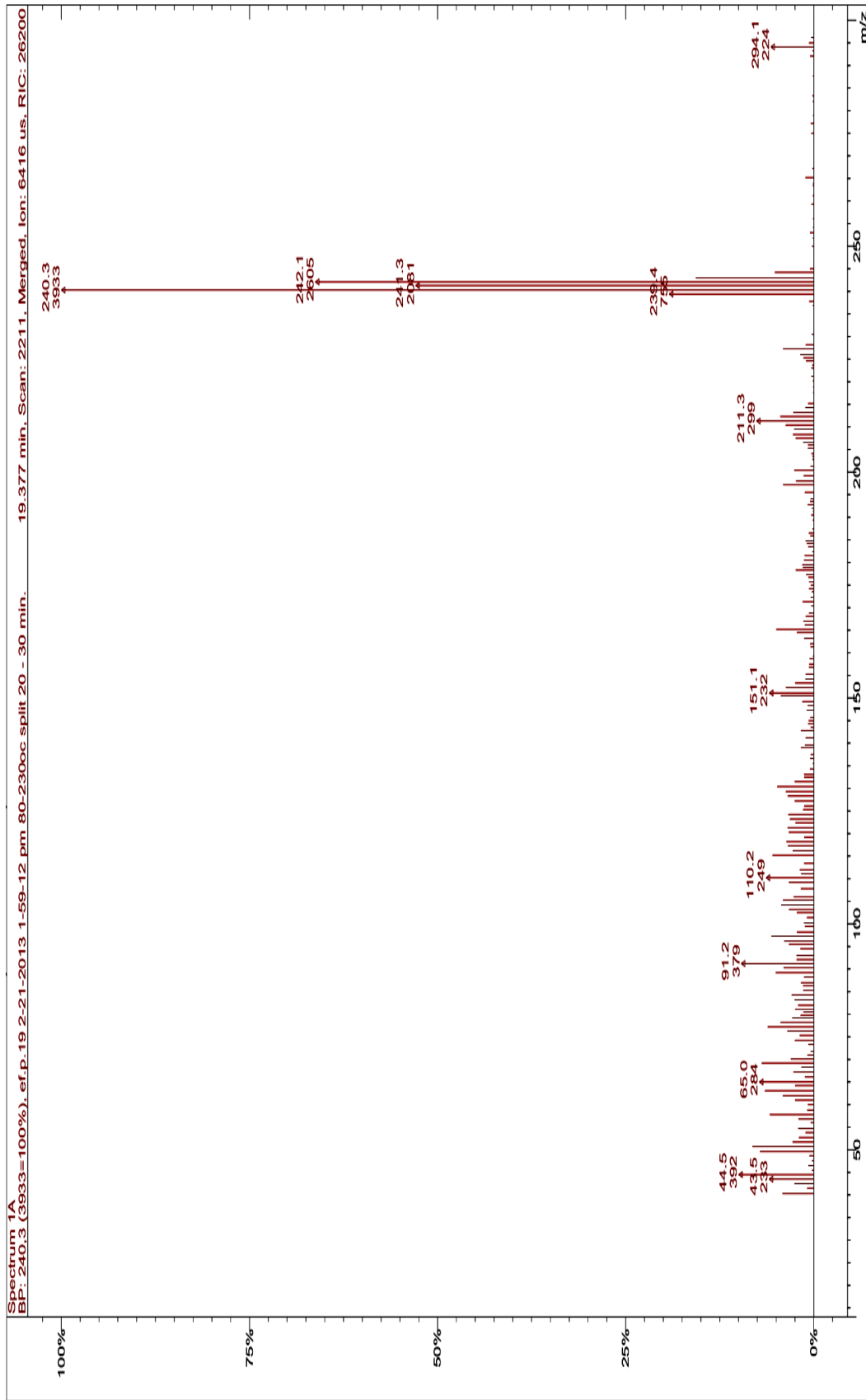


Figura 50: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2f).

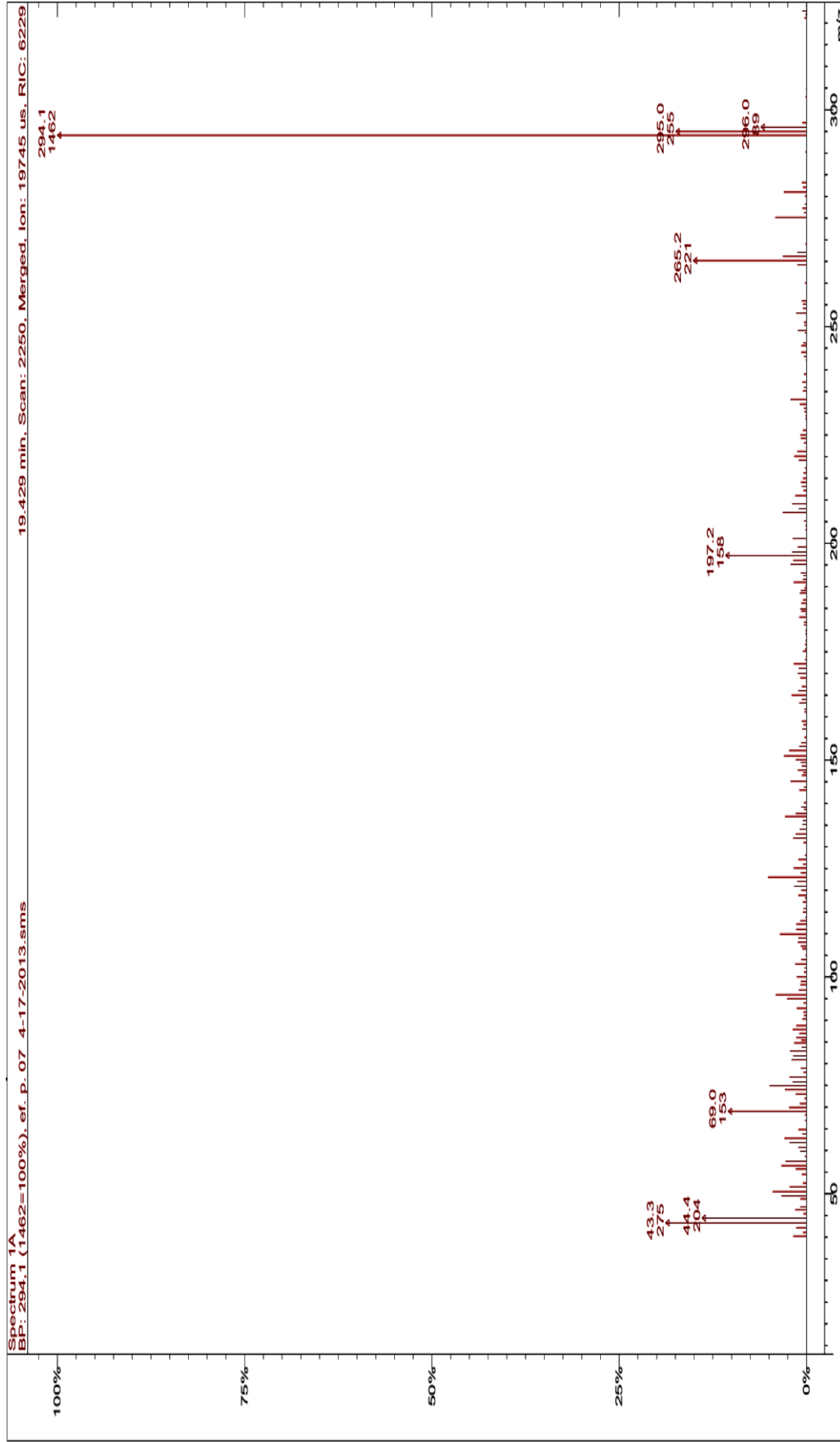


Figura 51: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3-(3-trifluorometilfенил)-3-(тиен-2-ил)-4,5-дигидро-1H-амидинопиразол) (2g).

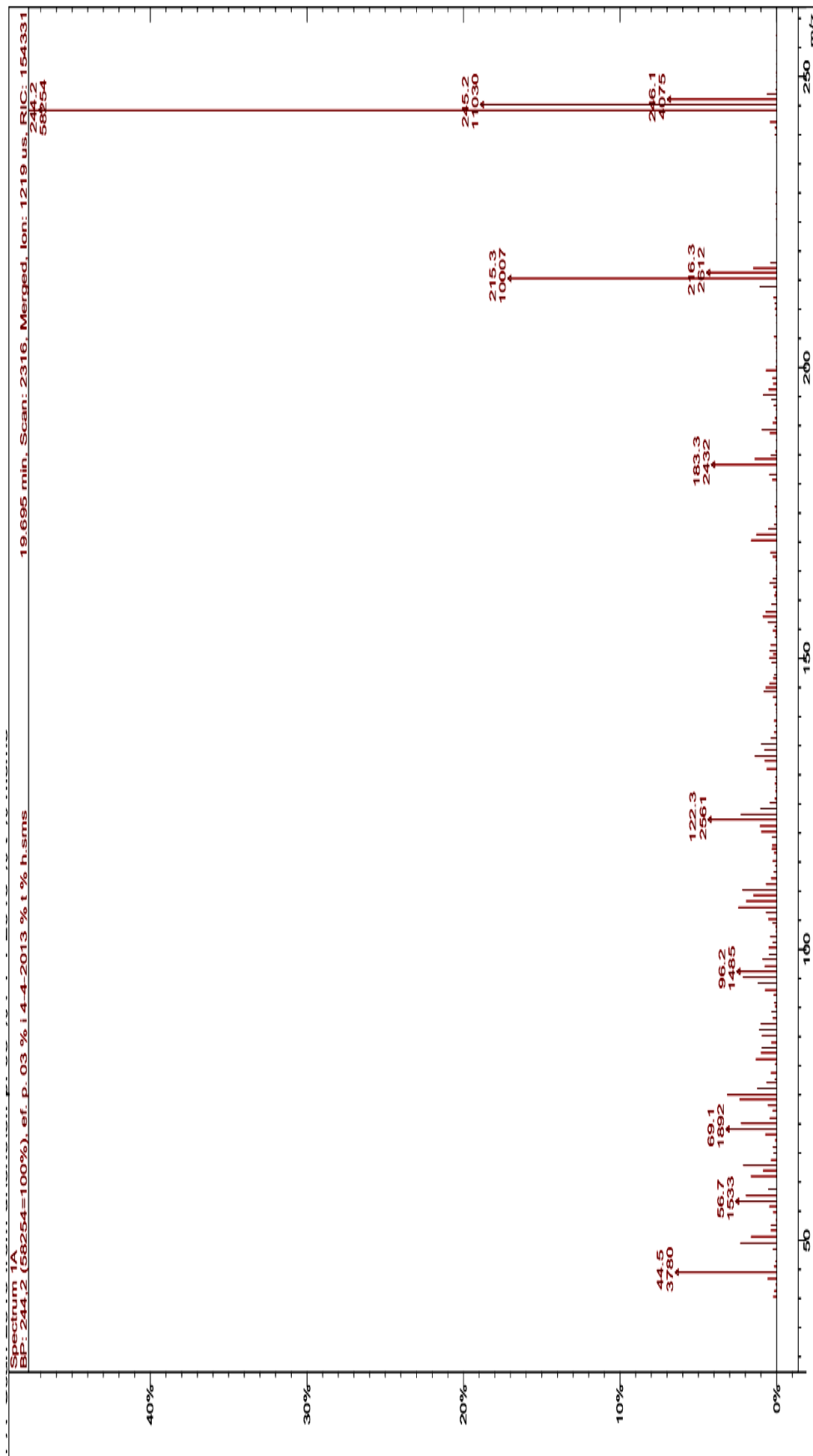


Figura 52: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-fluorofenil)-3-(1H-tien-2-yl)-4,5-dihidro-1H-amidinopirazol (2i).

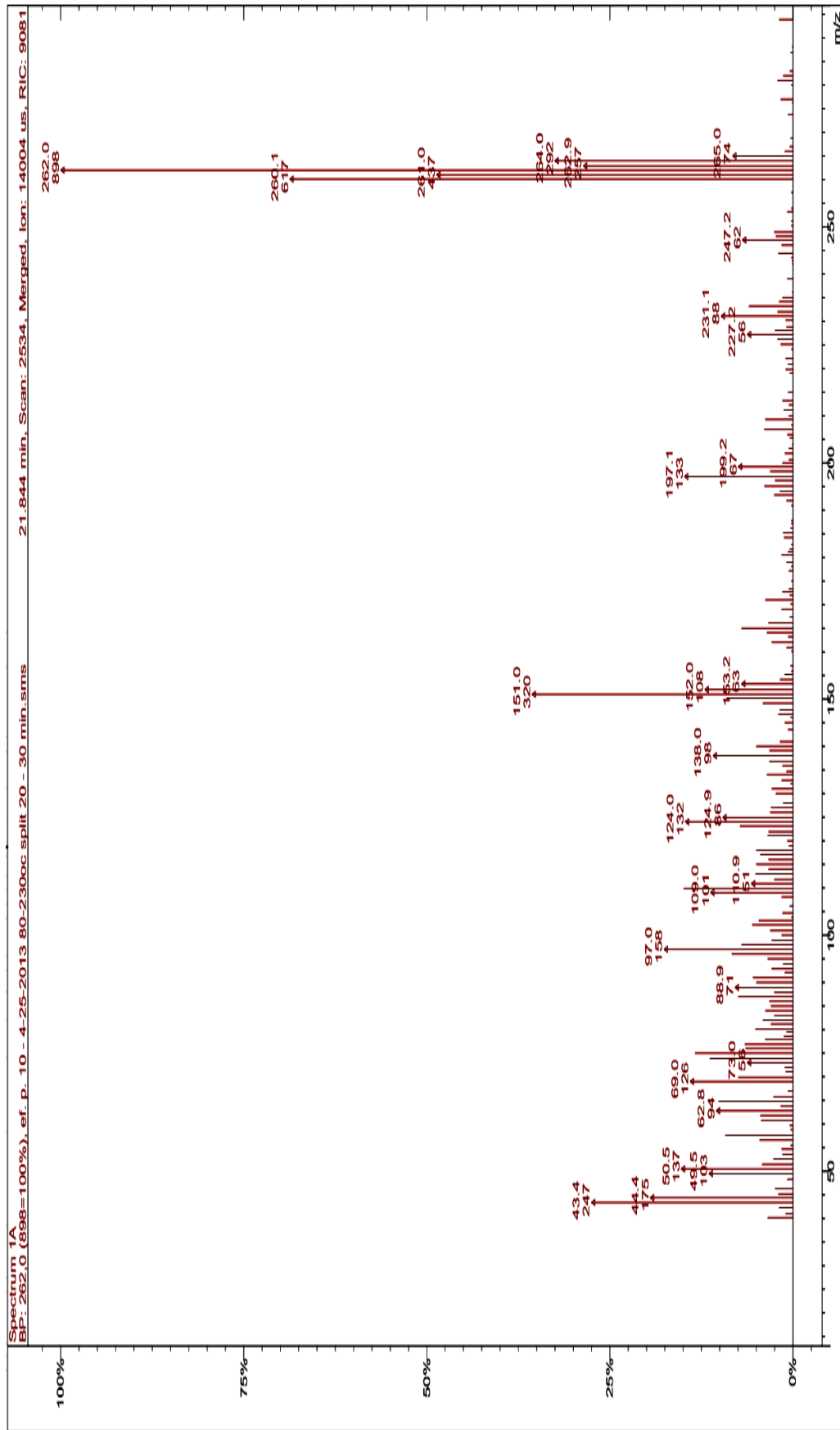


Figura 53: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(1H-tien-2-yl)-4,5-dihidro-1H-amidino-pirazol (2j).

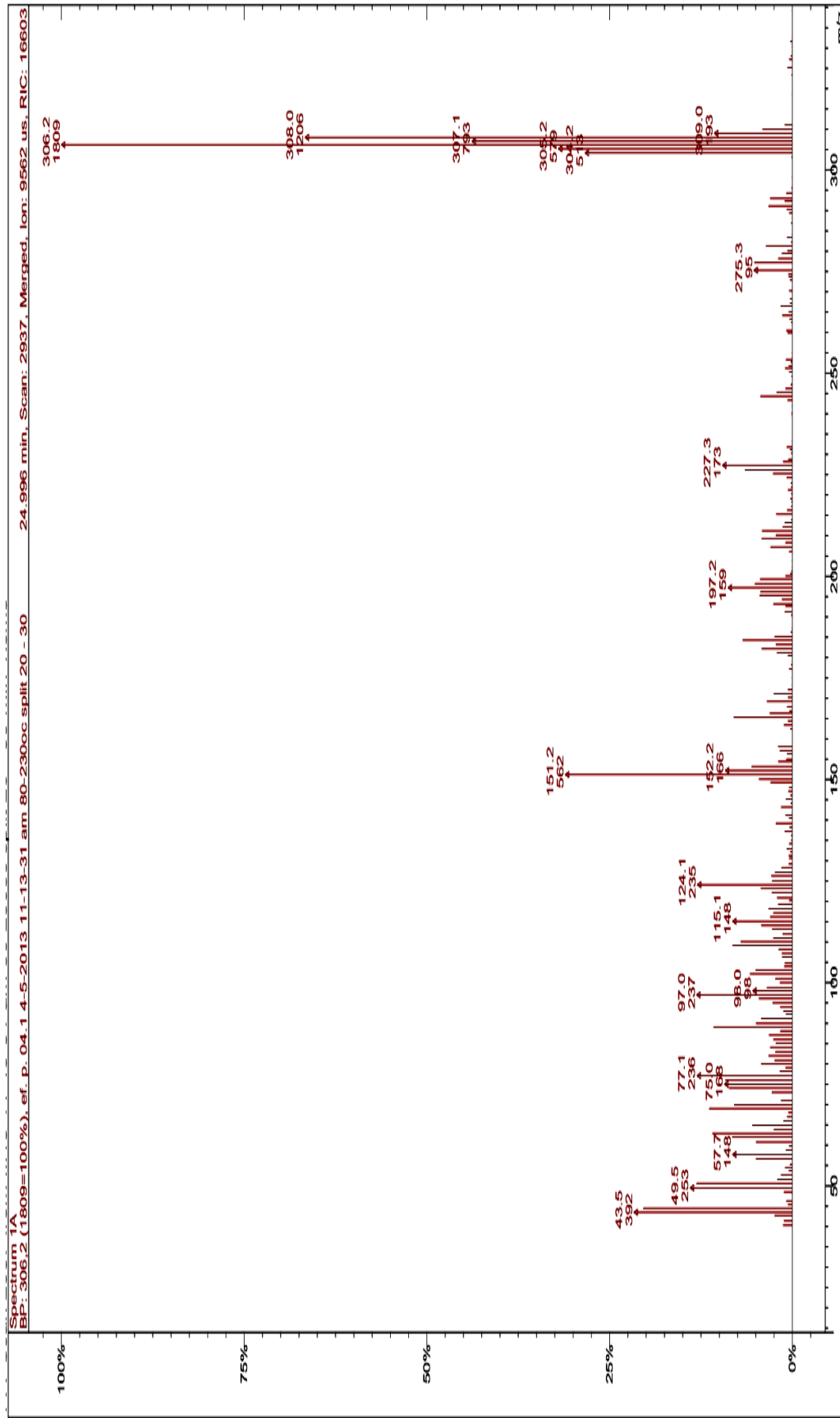


Figura 54: Espectro de massa de baixa resolução do cloridrato de 5-(4-bromofenil-3-(tien-2-il)-4,5-diidro-1H-amidinopirazol (2k).

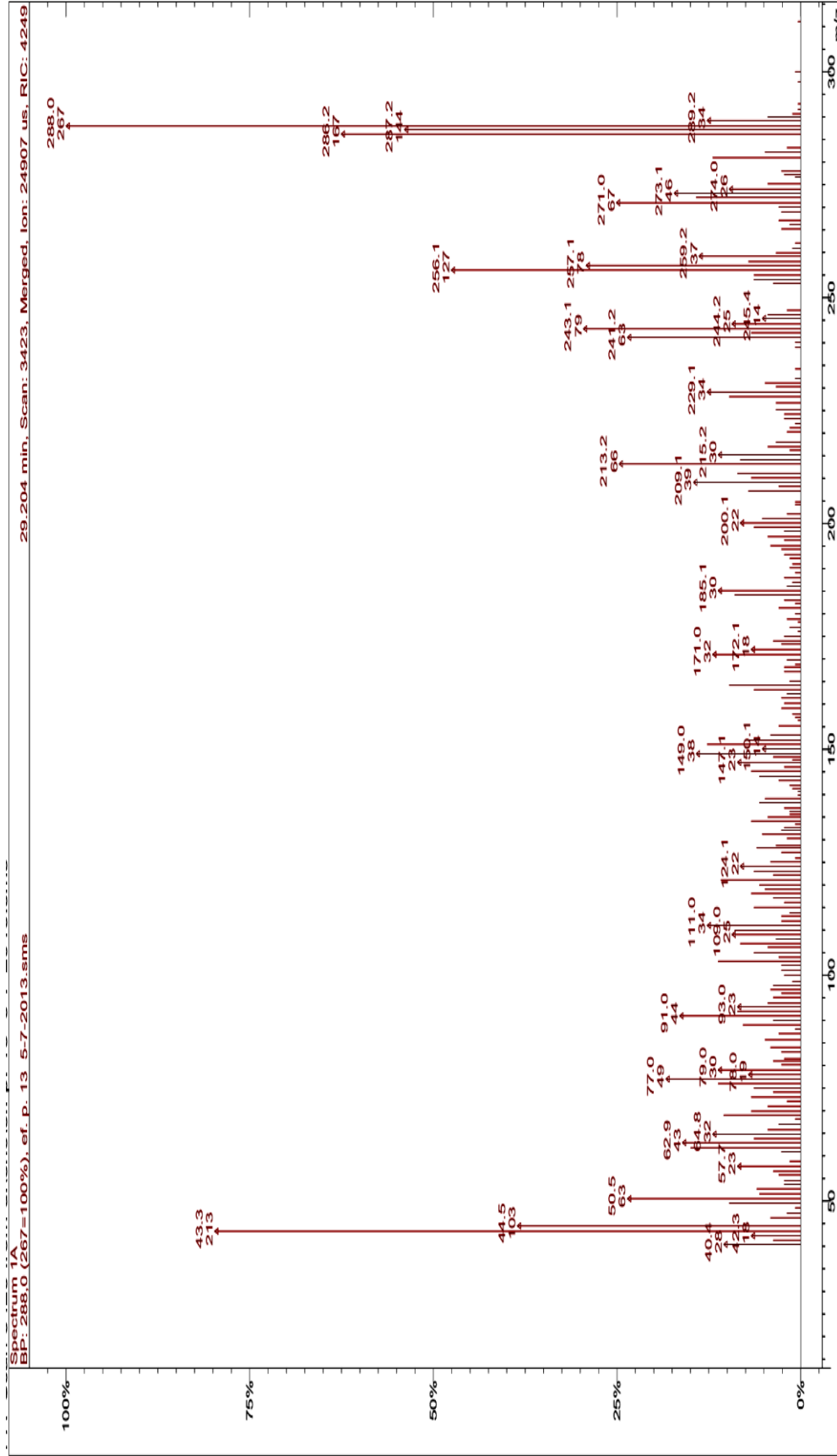


Figura 55: Espectro de massas de baixa resolução do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(tien-2il)-4,5-didro-1H-amidinopirazol (2m).

ANEXO IV
ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

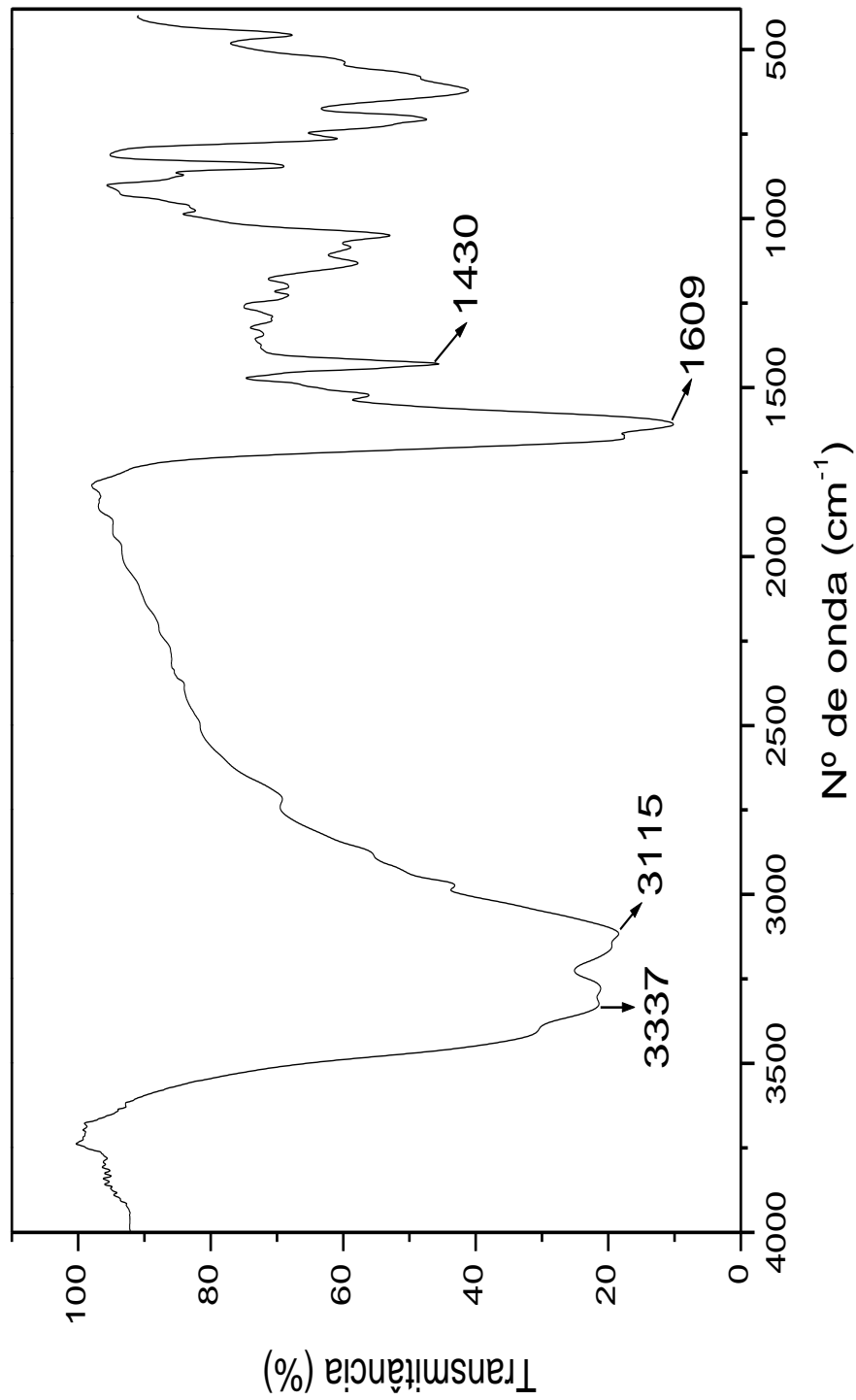


Figura 56: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-aryl-3-(1H-imidazo[4,5-d]imidazol-2-yl)-4,5-dihydro-1H-imidazo[4,5-d]imidazol (2a).

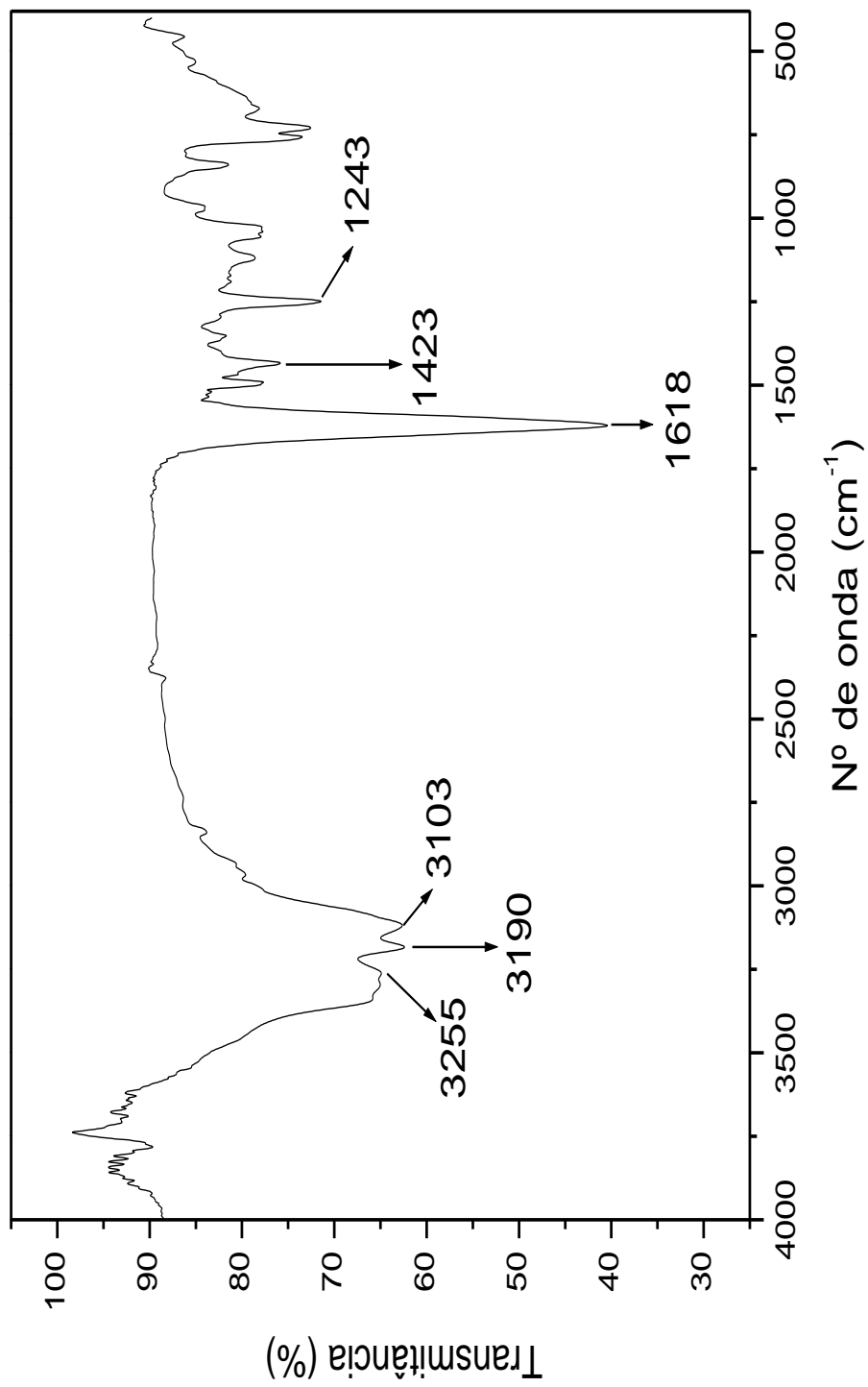


Figura 57: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-((1H-imidazo[4,5-d]imidazol-1-ylideneamino)pyrazol-1-yl)fenil)-1H-imidazo[4,5-d]imidazol (2b).

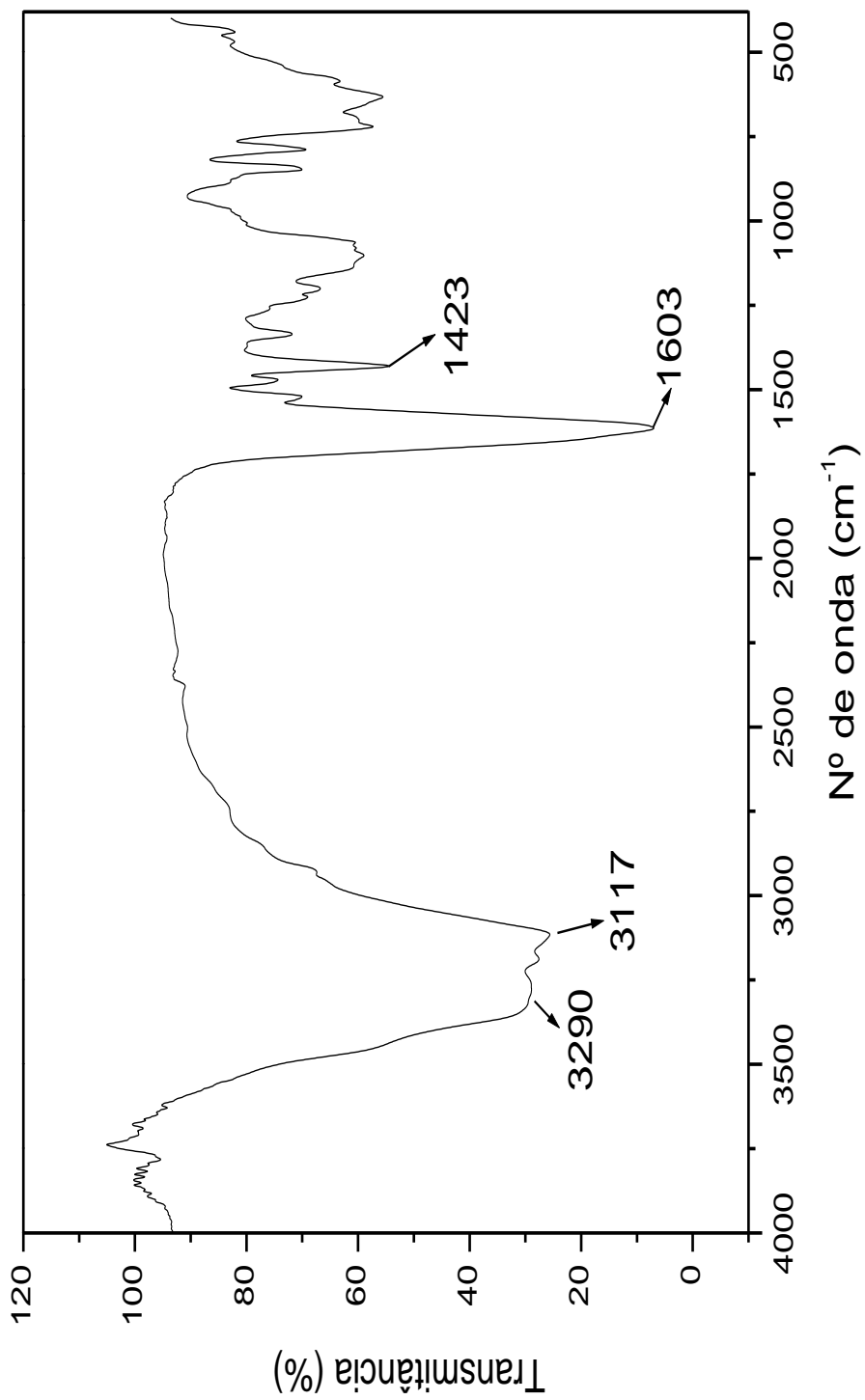


Figura 58: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(1H-tien-2-yl)-4,5-dihidro-1H-amidinopirazol (**2c**).

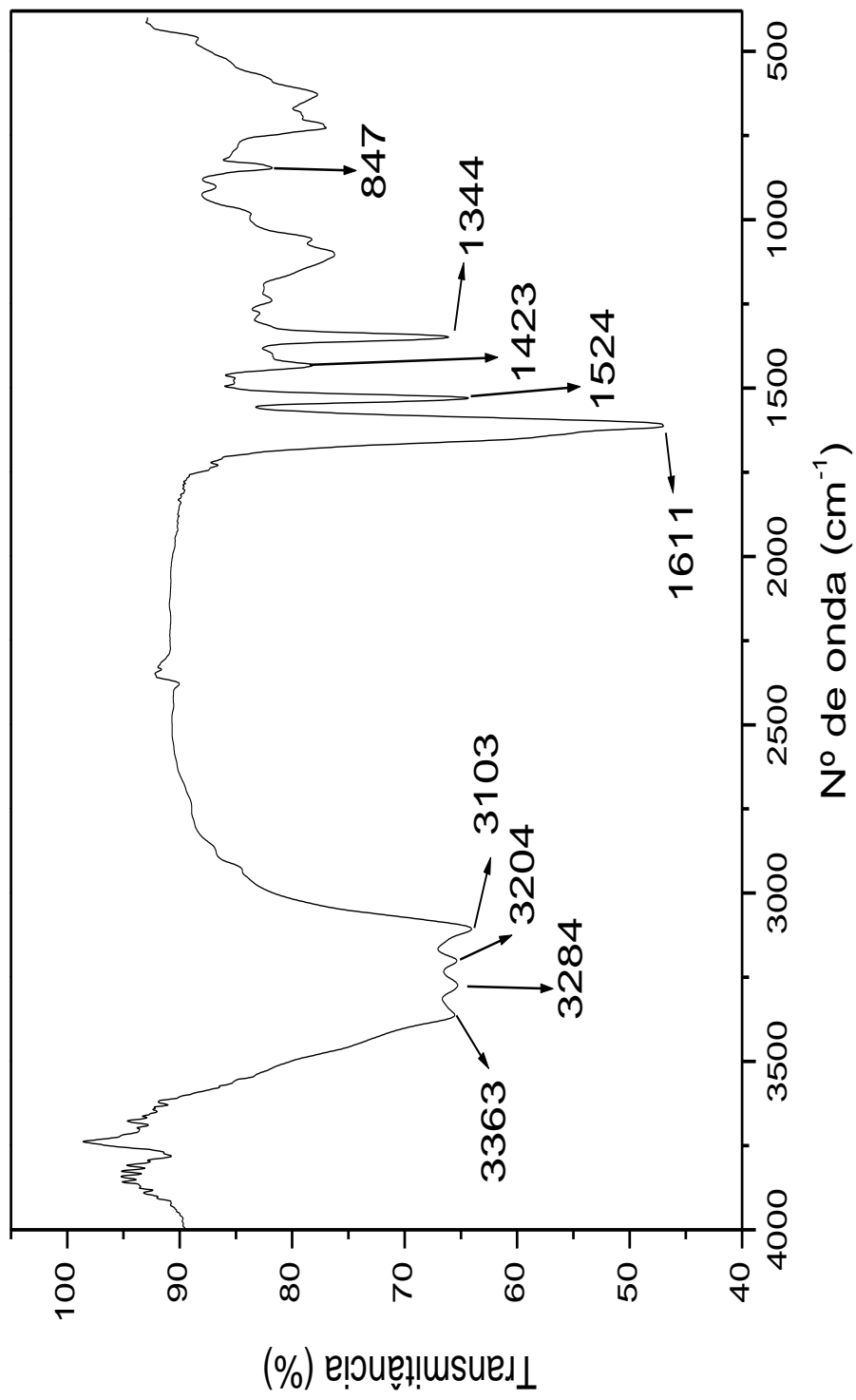


Figura 59: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-nitrofenil)-3-(1H-imidazo[4,5-d]hidro-1H-imidopirazol (2d)).

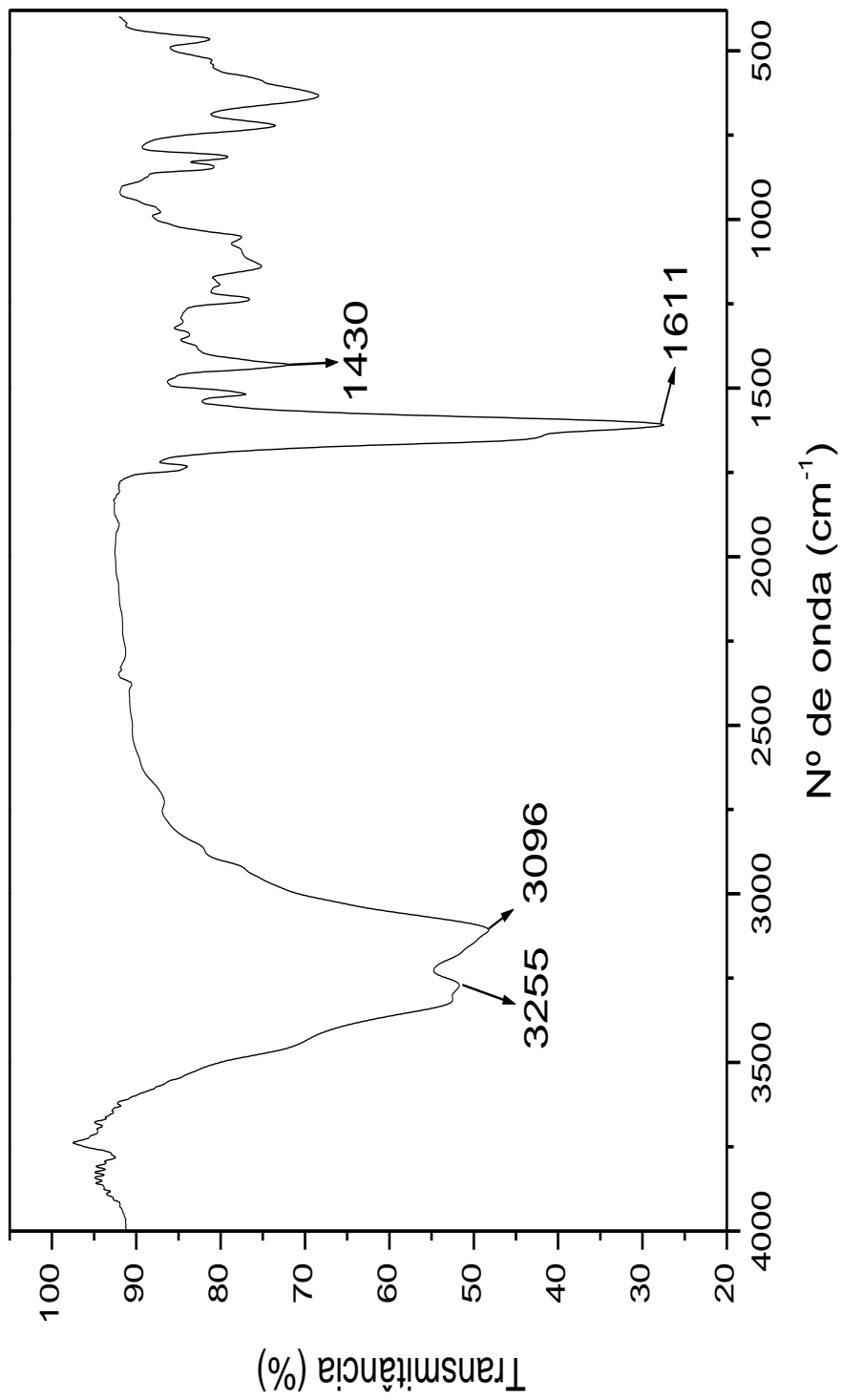


Figura 60: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-metilfenil)-3-(2-((1*H*-imidazo[4,5-*d*]imidazol-1-yl)ideneamino)pirazol-2-yl)-4,5-diidro-1*H*-imidinopirazol (**2f**).

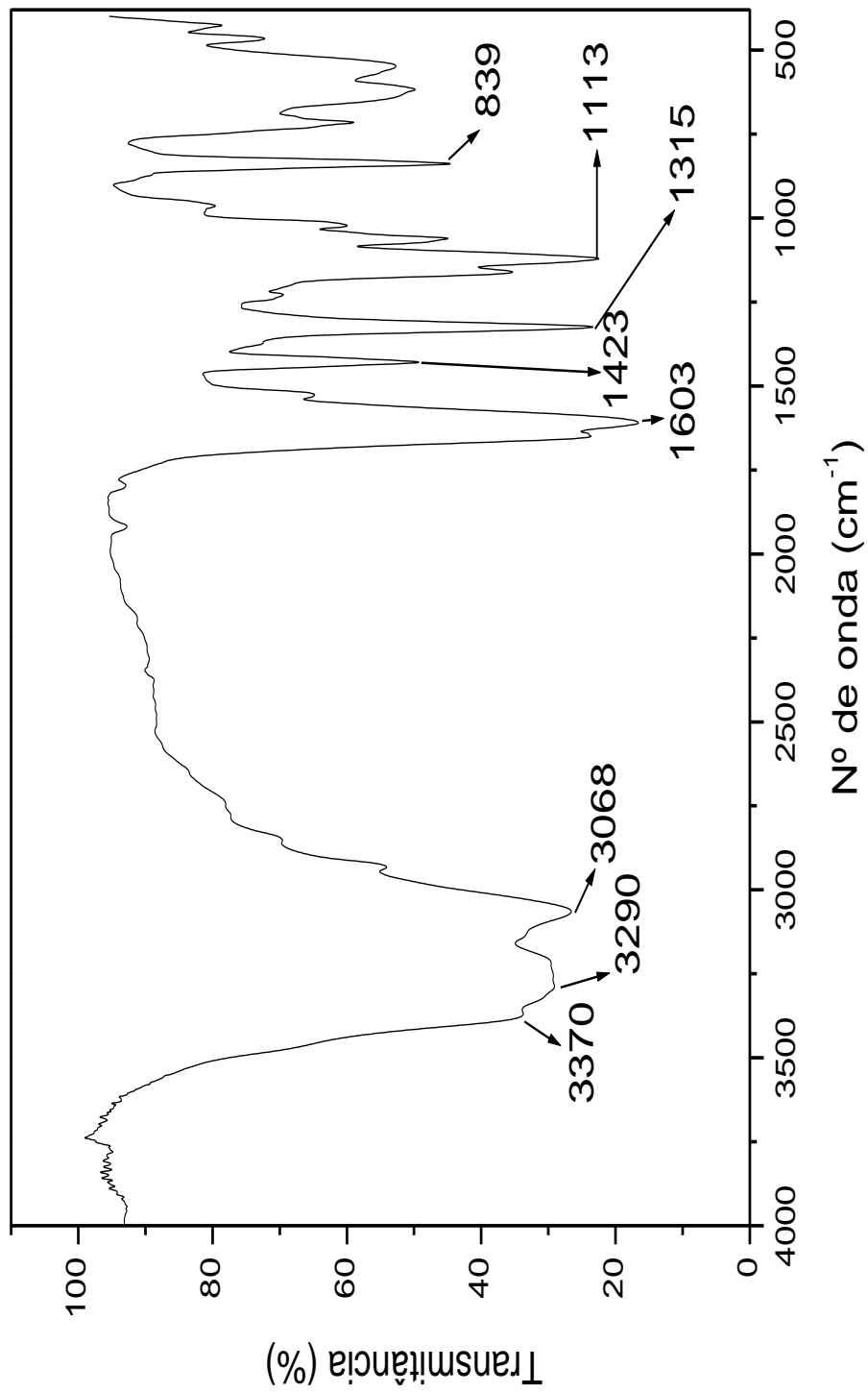


Figura 61: Espectro de infra vermelho do cloridrato de 5-(3-(3-trifluorometilfeni)-3-(tien-2-il)-4,5-didro-1H-amidinopirazol) (2g).

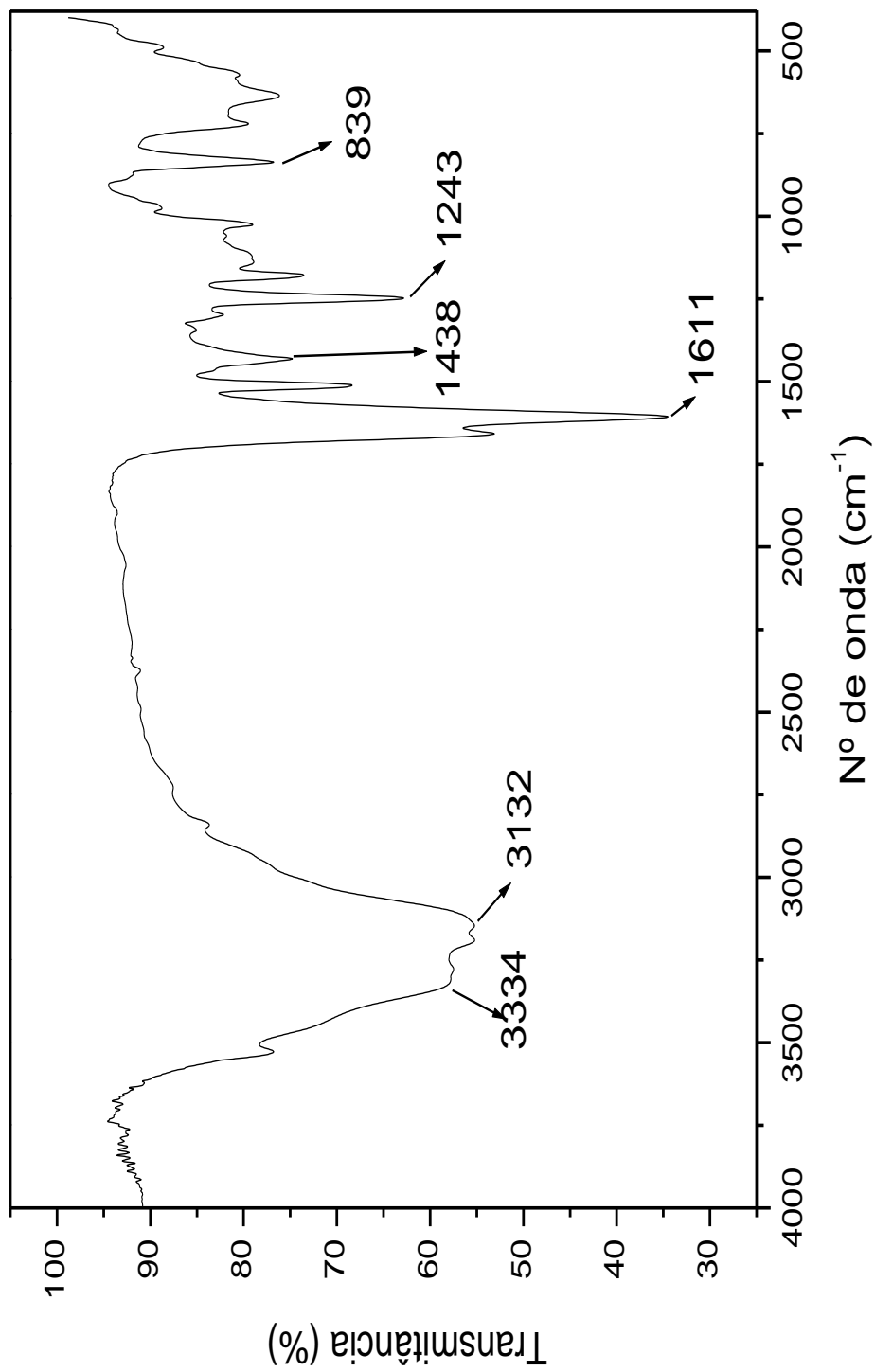


Figura 62: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-metoxifenil)-3-(1H-imidazo[2-1-i]-4,5-dihidro-1H-amidinopirazol-2-yl)-4,5-dihidro-1H-amidinopirazol (**2h**).

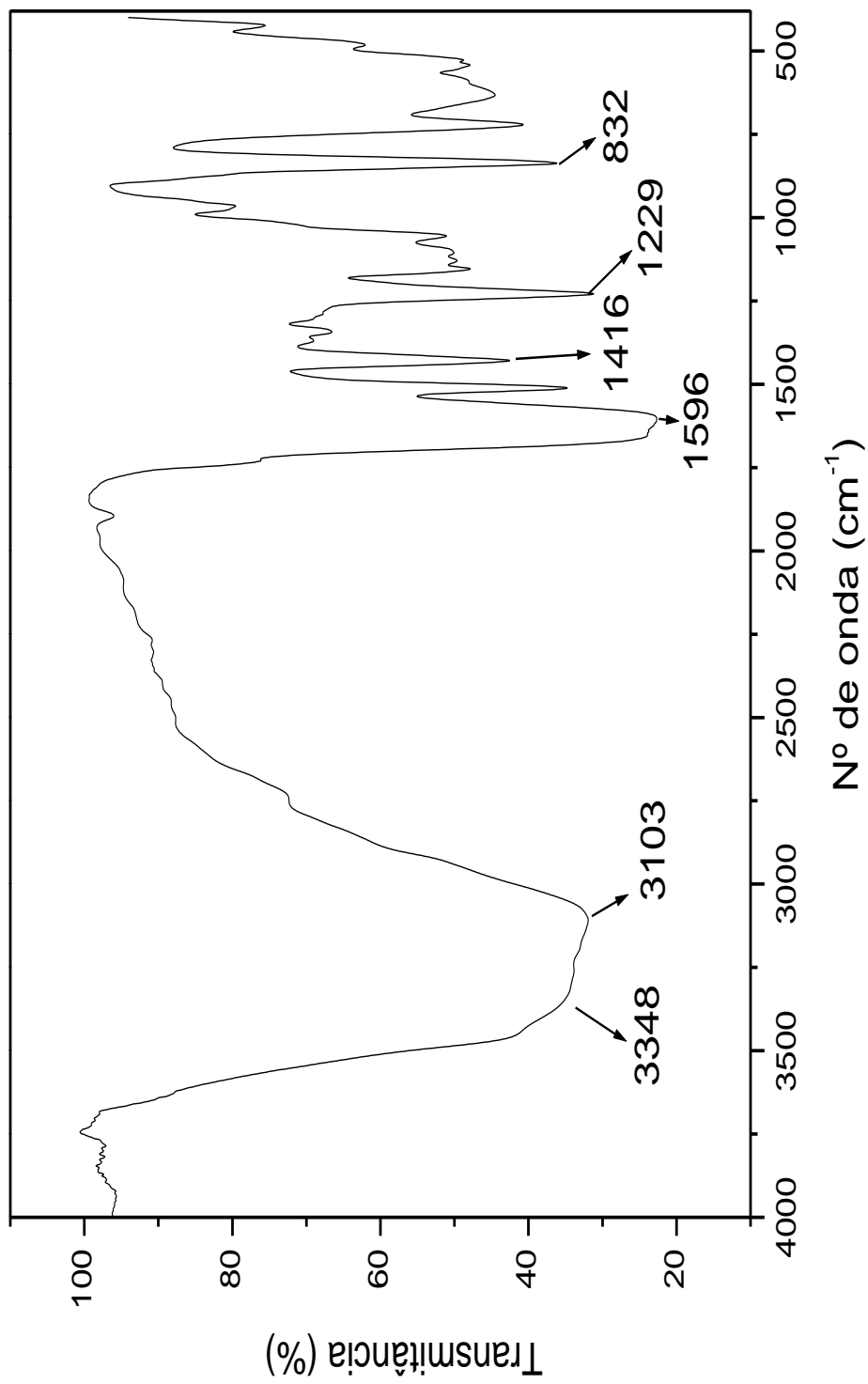


Figura 63: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3-fluorfenil)-3-(1H-2-imidazolil)-4,5-dihidro-1H-imidopirazol (**21**).

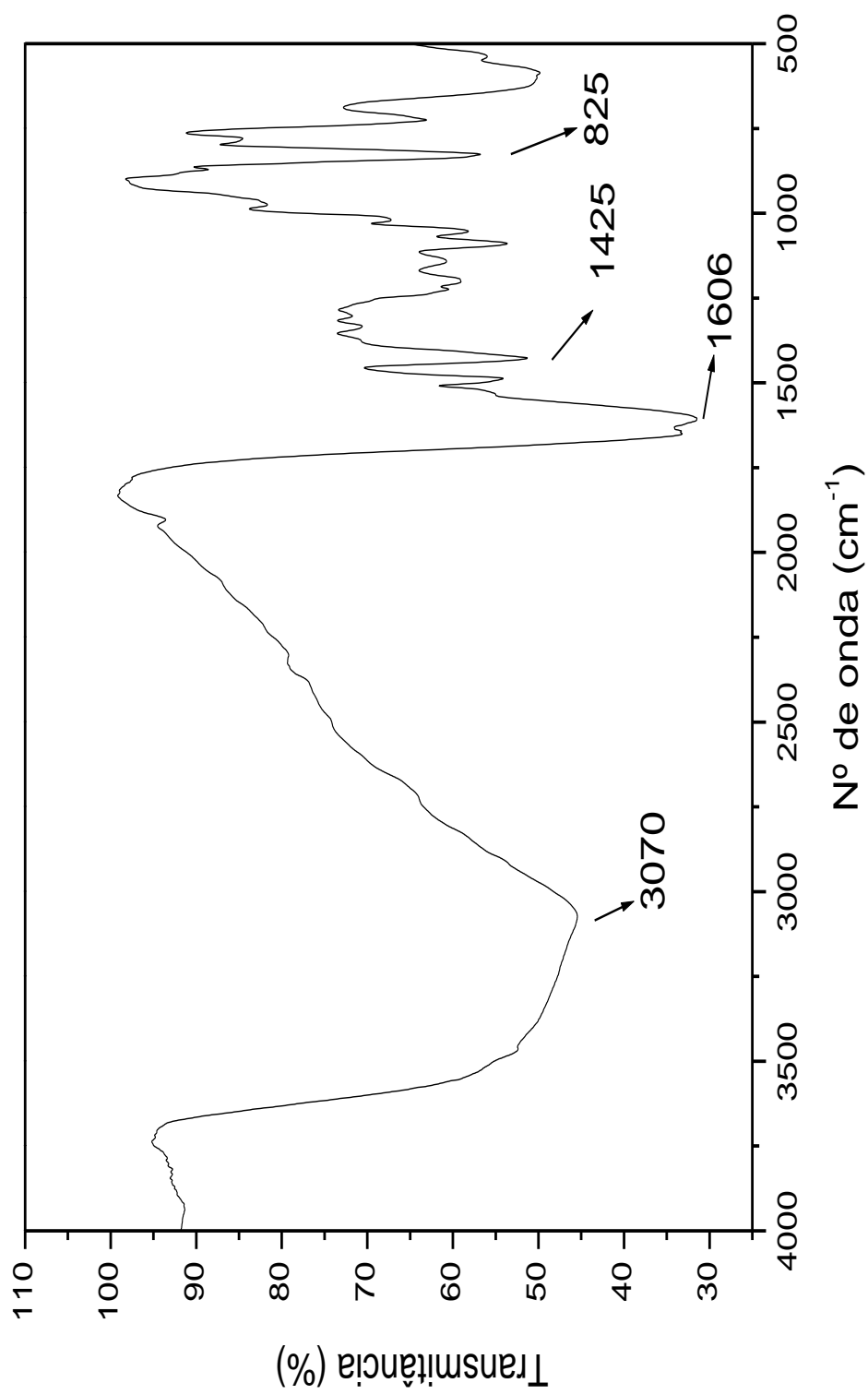


Figura 64: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-clorofenil)-3-(1H-tiazol-2-yl)-4,5-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]pirazol (2j).

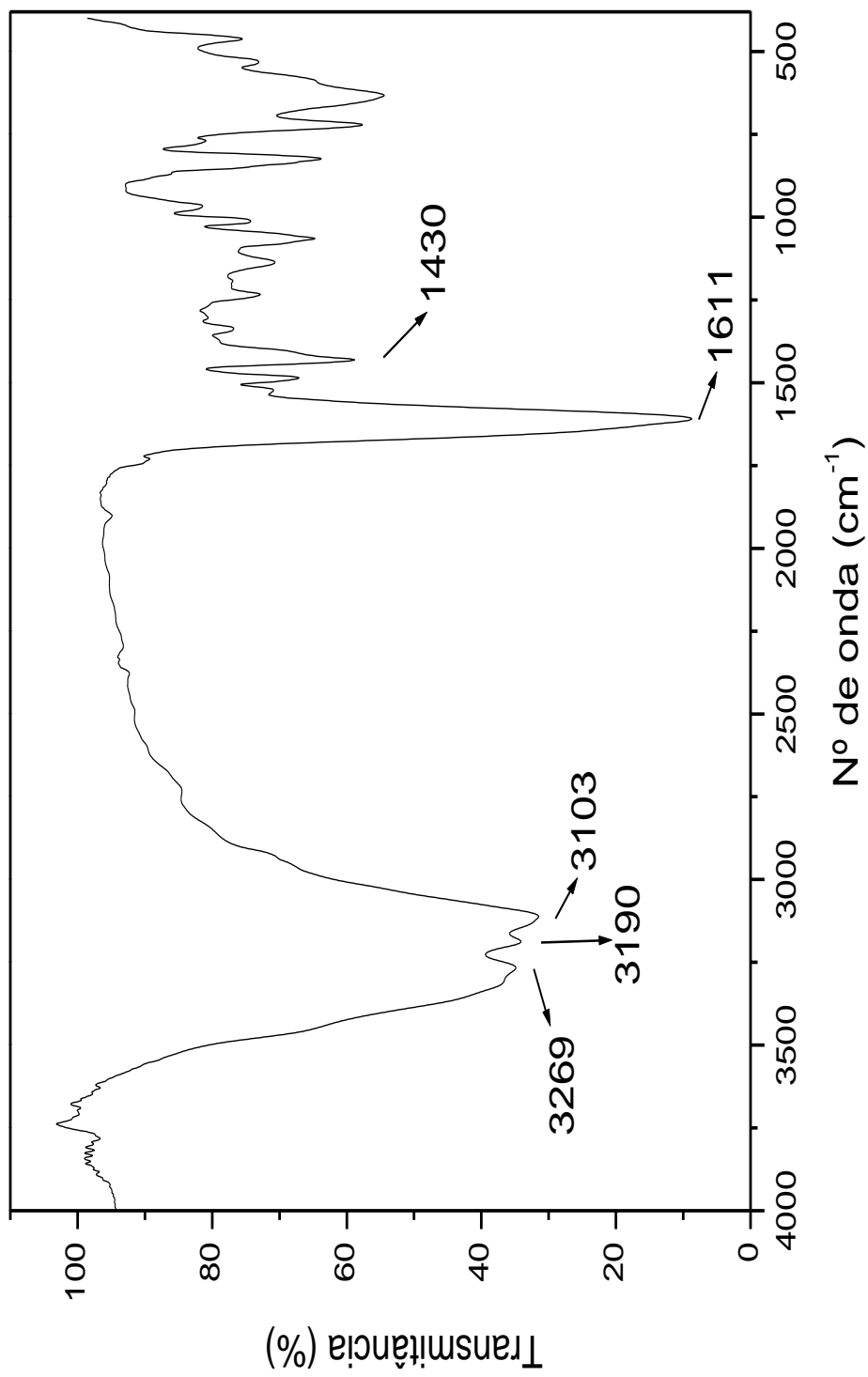


Figura 65: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(1H-tien-2-yl)-4,5-dihidro-1H-imidazopyrazol (**2k**).

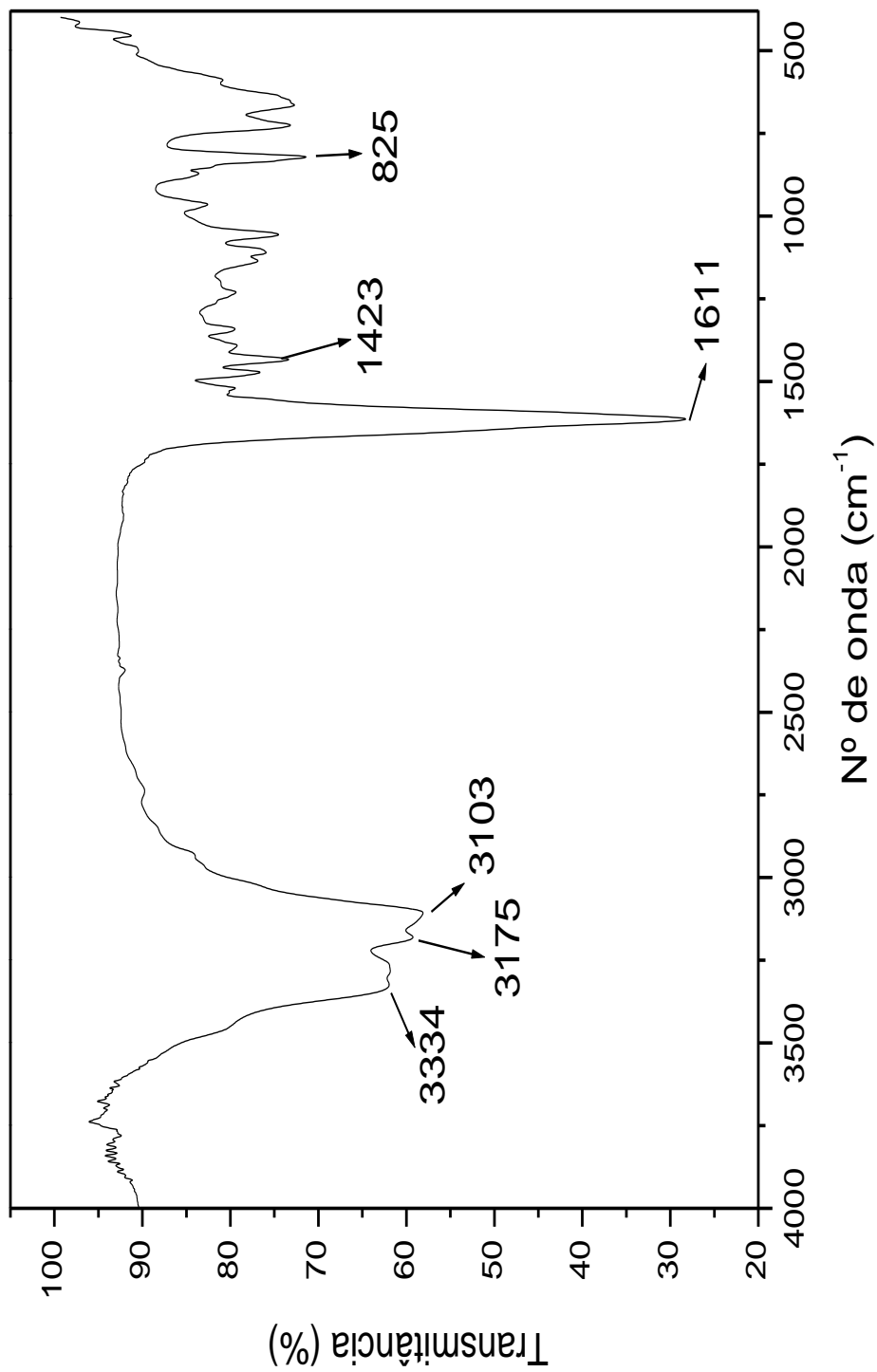


Figura 66: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(2,4-diclorofenil)-3-(1H-imidazo[5,1-b]pirazol-2-il)-4,5-didro-1H-amidinopirazol (**2I**).

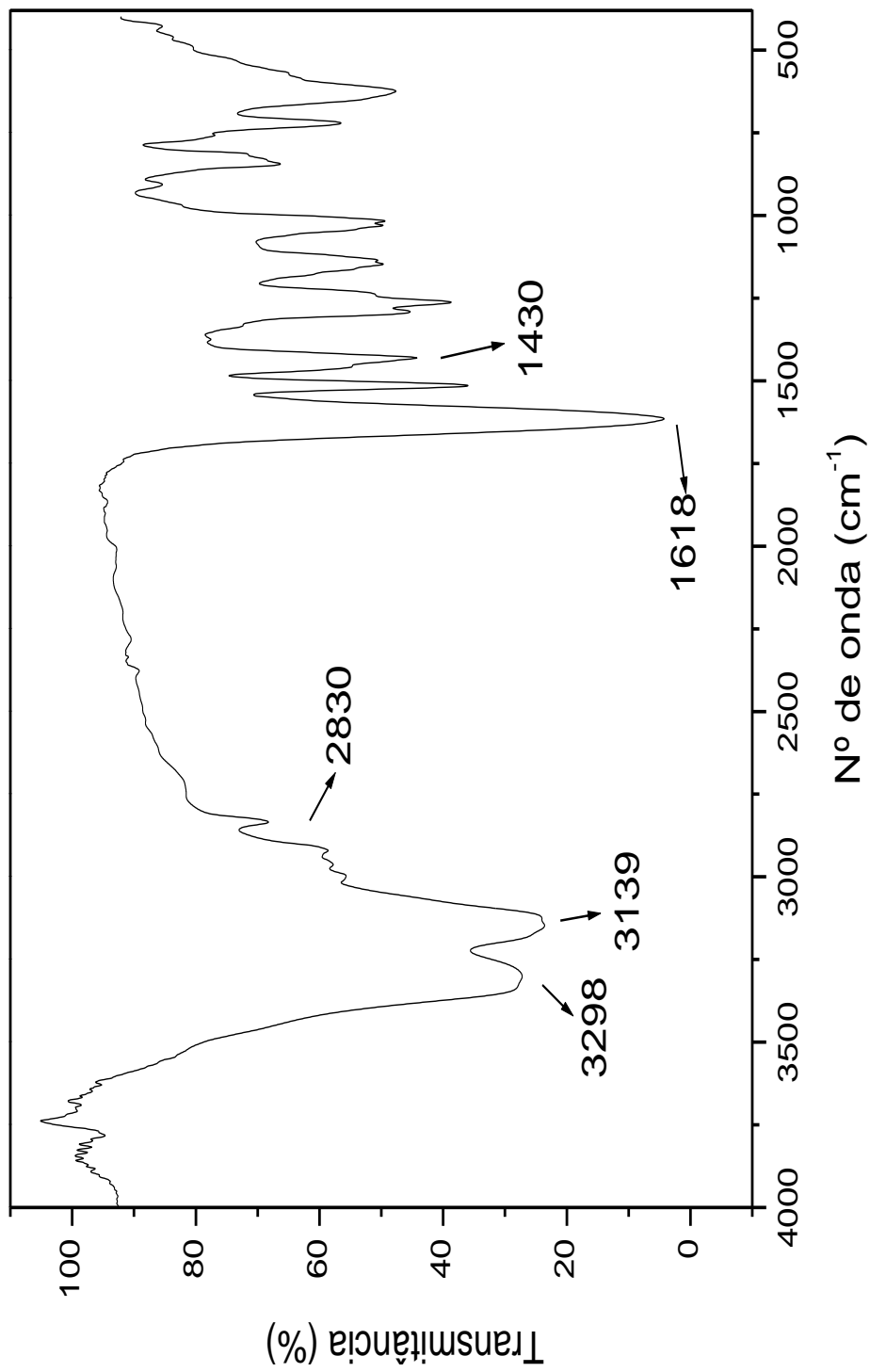


Figura 67: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3,4-dimetoxifenil)-3-(2-fenil-5,5-didro-1H-amidinopirazol (2m).

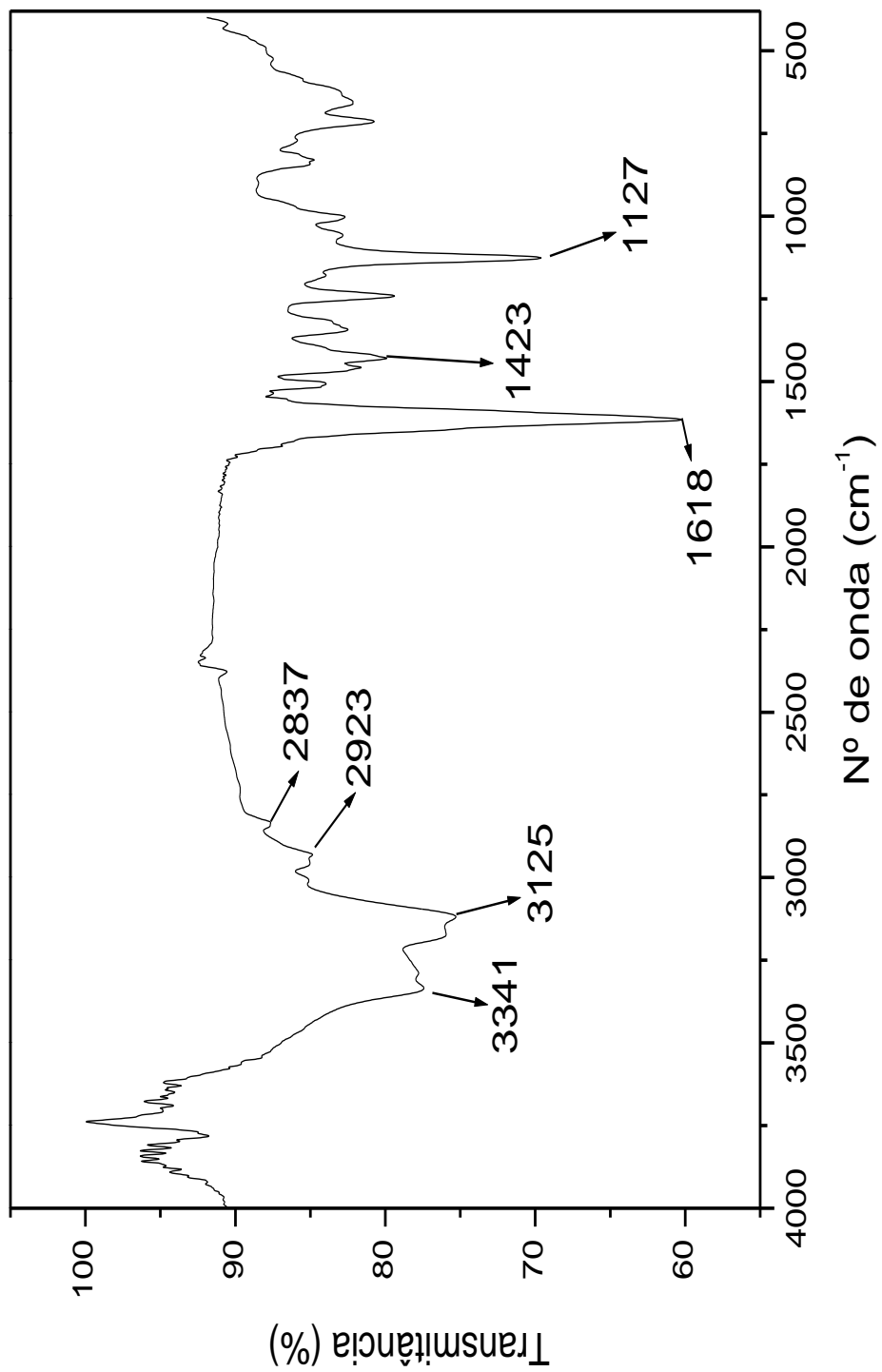


Figura 68: Espectro de infravermelho do cloridrato de 5-(3,4,5-trimetoxifenil)-3-(2-fenil-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-yl)-4,5-dihidro-1H-imidazol (**2n**).

