

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

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CLORIDRATOS DE
4,5-DIIDRO-1*H*-PIRAZOL-1-CARBOXIMIDAMIDAS SOB
CONDIÇÕES SONOQUÍMICAS**

Danilo Yano De Albuquerque

Dourados-MS, Brasil

2017

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CLORIDRATOS DE 4,5-DIIDRO-1H-PIRAZOL-1-CARBOXIMIDAMIDAS SOB CONDIÇÕES SONOQUÍMICAS

Danilo Yano De Albuquerque

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química** no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Lucas Pizzuti
Co-orientador: Prof. Dr. Eliandro Faoro

Dourados-MS, Brasil

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

A325s	Albuquerque, Danilo Yano de. Síntese e caracterização de cloridratos de 4,5-diidro-1<i>H</i>-pirazol-1-carboximidamidas sob condições sonoquímicas. / Danilo Yano de Albuquerque. – Dourados, MS: UFGD, 2017. 111f. Orientador: Prof. Dr. Lucas Pizutti. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados. 1. Pirazolinas. 2. Carboximidamidas. 3. Sonoquímica. 4. Atividade antimicrobiana. I. Título.
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



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 e Caracterização de Cloridratos de 4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamidas sob Condições Sonoquímicas", de autoria de Danilo Yano de Albuquerque, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

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

Prof. Dr. Adilson Beatriz
Membro Examinador (UFMS)

Prof. Dr. Guilherme Caneppele Pavaglio
Membro Examinador (UEMS)

Dourados/MS, 24 de fevereiro de 2017.

RESUMO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE CLORIDRATOS DE 4,5-DIIDRO-1H-PIRAZOL-1-CARBOXIMIDAMIDAS SOB CONDIÇÕES SONOQUÍMICAS

AUTOR: Danilo Yano de Albuquerque

ORIENTADOR: Lucas Pizzuti

CO-ORIENTADOR: Eliandro Faoro

Este trabalho apresenta a síntese de uma nova série de cloridratos de 4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamidas, obtidas em condições sonoquímicas a partir da reação de ciclocondensação de 1-(2-hidroxifenil)enonas com cloridrato de aminoguanidina. Ao todo foram sintetizadas treze substâncias inéditas, com rendimentos de 15,5% a 83,2%, que foram submetidas à avaliação antimicrobiana, utilizando o teste de concentração inibitória mínima (CIM). Os testes foram realizados com intuito de verificar o potencial antimicrobiano das substâncias sintetizadas, onde a substância 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida cloridratada apresentou o melhor resultado frente as bactérias Gram-positivas *S. aureus* e *E. faecalis* com CIM de 7,8 µg.L⁻¹, menor concentração quando comparado ao padrão cloranfenicol utilizado neste trabalho. O uso do ultrassom demonstrou ser eficaz, visto que as substâncias foram sintetizadas em curtos períodos de reação e sem a necessidade de purificação por cromatografia. Os produtos caracterizados por espectroscopia de infravermelho e RMN de ¹H e ¹³C apresentaram dados condizentes com as estruturas propostas. Apenas a estrutura do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida foi determinada por difração de Raios-X.

Palavras-chave: pirazolinas, carboximidamidas, sonoquímica, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF 4,5-DIHYDRO-1H-PYRAZOLE-1-CARBOXIMIDAMIDE HYDROCHLORIDES UNDER SONOCHEMICAL CONDITIONS

AUTHOR: Danilo Yano de Albuquerque

ADVISOR: Lucas Pizzuti

CO-ADVISOR: Eliandro Faoro

This work describes the synthesis of a new series of 4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboximidamide hydrochlorides obtained under sonochemical conditions by the cyclocondensation reaction between 1-(2-hydroxyphenyl)enones and aminoguanidine hydrochloride. Altogether, thirteen new substances were synthesized with yields from 15.5% to 83.2% and were subjected to antimicrobial evaluation by minimum inhibitory concentration test (MIC). The tests were carried out with purpose of verifying the antimicrobial potential of the synthesized substances, which the substance 5-(4-bromophenyl)-3-(2-hydroxyphenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboximidamide hydrochloride showed the best result against Gram-positives bacteria *S. aureus* and *E. faecalis* with MIC of 7.8 $\mu\text{g.L}^{-1}$, minor concentration when compared to the chloramphenicol standard used in this work. The use of ultrasound has proved to be effective since the substances were synthesized in short reaction times and without chromatographic purification. Products were characterized by infrared spectroscopy and ^1H and ^{13}C NMR. The data were consistent with the proposed structures. The structure of 3-(2-hydroxyphenyl)-5-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboximidamide hydrochloride was determined by X-ray diffraction.

Keywords: pyrazolines, carboximidamides, sonochemistry, antimicrobial activity.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram na minha formação, em especial:

A Deus e ao Santo Expedito pela saúde e força para superar todas as dificuldades.

A meus pais Antonio e Dirce que sempre me apoiaram nas minhas decisões e na minha jornada acadêmica.

A minha namorada Andressa pelo companheirismo e por estar presente em todos os momentos de alegrias e dificuldades.

Aos Professores Lucas Pizzuti e Eliandro Faoro pelo papel fundamental na preparação deste trabalho.

Aos meus grandes amigos de laboratório pelo companheirismo, auxílio e com quem compartilhei momentos de alegrias e aflições.

Ao Professor Gleison Casagrande (UFMS) pela obtenção dos espectros de RMN.

Ao Professor Davi F. Back (UFSM) pela análise de difração de raios-X.

Ao Professor Sidnei Moura e Silva (UCS) pela obtenção dos espectros de massas de alta resolução.

Ao Laboratório de Microbiologia Aplicada, coordenado pela Professora Kelly Mari (UFGD) pelos estudos microbiológicos realizados com as substâncias sintetizadas.

À UFGD, ao CNPq e à FUNDECT pelos auxílios financeiros para realizar esse trabalho.

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais Antonio e Dirce e a minha namorada Andressa, que tanto apoiaram e incentivaram o meu crescimento profissional.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura de compostos heterocíclicos encontrados na natureza.....	14
Figura 2: Compostos heterocíclicos comercializados.....	14
Figura 3: Estrutura do pirazol e da pirazolina.....	15
Figura 4: Estrutura de derivados pirazólicos com propriedades bioativas.....	15
Figura 5: Espectro de infravermelho do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-carboximidamida 3a	48
Figura 6: Espectro de RMN ¹ H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-carboximidamida 3a , em DMSO- <i>d</i> ₆	49
Figura 7: Expansão do espectro de RMN ¹ H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-carboximidamida 3a entre 6,5 a 8,5 ppm, em DMSO- <i>d</i> ₆	49
Figura 8: Espectro de RMN ¹³ C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-carboximidamida 3a entre 175 a -5 ppm, em DMSO- <i>d</i> ₆	50
Figura 9: DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-carboximidamida 3a entre 175 a -5 ppm, em DMSO- <i>d</i> ₆	51
Figura 10: Projeção ORTEP do composto 3a	53
Figura 11: Figura retirada do trabalho de Koskinen ilustrando o comprimento e ângulo de ligação e estrutura do cloridrato de aminoguanidina.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dado experimental e comparação do ponto de fusão das 1-(2-hidroxifenil)enonas 2a-m com a literatura.....	41
Tabela 2. Otimização das condições para a síntese do composto 3a	43
Tabela 3. Dados experimentais dos cloridratos pirazolínicos 3a-m	44
Tabela 4. Dados da coleta de intensidades e do refinamento da estrutura cristalina do composto 3a	52
Tabela 5. Comprimentos e ângulos de ligação do composto 3a	54
Tabela 6. Atividade antimicrobiana em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos cloridratos de 4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamidas 3 contra bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e leveduras do gênero <i>Candida</i>	57

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

))))	Ondas ultrassônicas
ATCC	American Type Culture Collection
ATR	Attenuated Total Reflectance
ATS	Ágar Triptona de Soja
BHI	Brain Heart Infusion
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonil
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinica and Laboratory Standards Institute
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido hexa deuterado
Fe(III)Cl-Pc	Cloreto ftalocianina de ferro(III)
IV	Infravermelho
ORTEP	Oak Ridge Thermal-Ellipsoid Plot Program
p.f.	Ponto de Fusão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
TEA	Trietilamina
TMS	Tetrametilsilano
TTC	Cloreto de Trifeniltetrazólio
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	17
2.1. OBJETIVO GERAL	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1. ROTAS PARA OBTENÇÃO DE PIRAZÓIS	18
3.1.1. Reações de cicloadição 1,3-dipolar.....	19
3.1.2. Ciclocondensação de composto 1,3-dicarbonílico com hidrazinas	20
3.1.3. Ciclocondensação de compostos carbonílicos α,β -insaturados com hidrazinas	21
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	26
4.1. CONSIDERAÇÕES EXPERIMENTAIS	26
4.1.1. Reagentes e solventes.....	26
4.1.2. Equipamento de ultrassom	26
4.1.3. Ponto de Fusão.....	26
4.1.4. Infravermelho	26
4.1.5. Ressonância magnética nuclear (RMN)	26
4.1.6. Difração de Raios X	26
4.1.7. Aparelho Fotométrico.....	27
4.2. PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DAS 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS	27
4.2.1. Dados físicos das 1-(2-hidroxifenil)enonas.....	27
4.3. PROCEDIMENTO GERAL PARA A REAÇÃO ENTRE 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS E CLORIDRATO DE AMINOGUANIDINA.....	30
4.3.1. Dados Físicos dos Cloridratos Pirazolínicos	30
4.4. METODOLOGIA GERAL DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA	37
4.4.1. Microrganismos.....	37
4.4.2. Procedimento geral para o teste de concentração inibitória mínima.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. PREPARAÇÃO DAS 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS 2a-m	41
5.1.1. Proposta de mecanismo de reação para a obtenção das 1-(2-hidroxifenil)enonas.....	42
5.2. PREPARAÇÃO DOS CLORIDRATOS PIRAZOLÍNICOS TRI-SUBSTITUÍDOS	43

5.2.1. Proposta de mecanismo de reação para a obtenção dos cloridratos pirazolínicos.....	46
5.3. CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DO COMPOSTO 3a	47
5.3.1. Espectroscopia de infravermelho do composto 3a	47
5.3.2. Espectroscopia de RMN do composto 3a	48
5.3.3. Determinação da Estrutura Cristalina do Composto 3a	51
5.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA POR CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS CLORIDRATOS PIRAZOLÍNICOS	55
5. CONCLUSÃO	548
6. REFERÊNCIAS	59
ANEXOS.....	62

1. INTRODUÇÃO

O estudo dos compostos heterocíclicos é uma grande e importante área da química, devido à ampla variedade de compostos que podem ser sintetizados e encontrados na natureza, como ácidos nucleicos, aminoácidos, alcalóides, vitaminas e substâncias extraídas de plantas, como a quinina (antimalária) proveniente da árvore *Cinchona* (Figura 1)^[1].

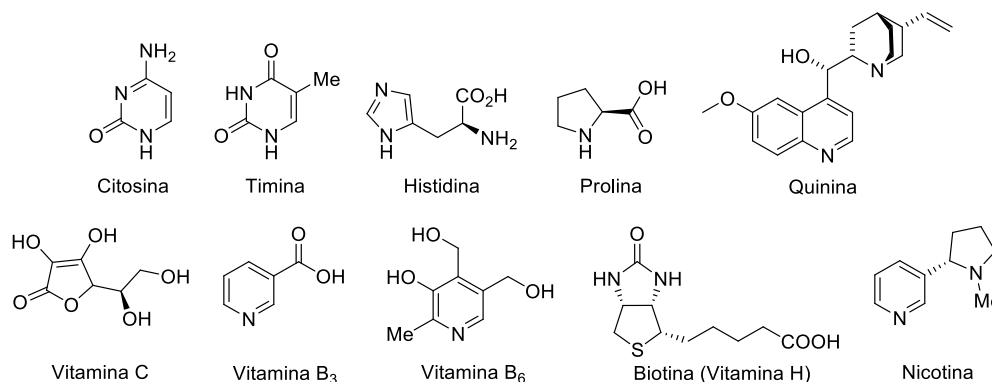


Figura 1: Estrutura de compostos heterocíclicos encontrados na natureza.

A importância destes compostos é incontestável devido ao fato de existirem inúmeros medicamentos comercializados. Muitos destes fármacos são mundialmente consumidos e apresentam diversas atividades farmacológicas, tais como, losartan (anti-hipertensiva), ribavirina (antiviral), fluconazol (antifúngica), dipirona (anti-inflamatória e analgésica), benzilpenicilina (antimicrobiana) e carbamato de fluorouracila (antitumoral) (Figura 2)^[2].

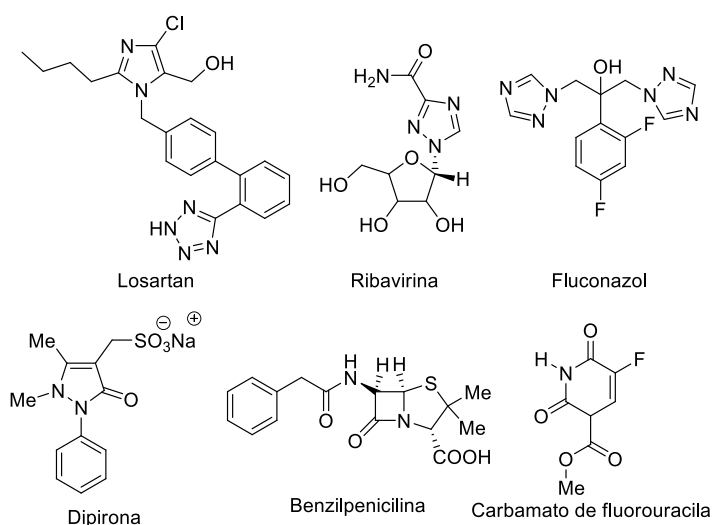


Figura 2: Compostos heterocíclicos comercializados

Os heterociclos nitrogenados de cinco membros, contendo um ou mais átomos de nitrogênio, pertencem a uma classe de substâncias denominada azol, sendo o mais simples deles, o pirrol. Dentre esta classe de compostos, os pirazóis e pirazolinas classificados como 1,2-diazóis (**Figura 3**), apresentam uma posição de destaque devido a sua grande aplicabilidade em diversas áreas, principalmente na química medicinal e agroquímica^[2].

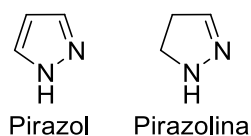


Figura 3: Estrutura do pirazol e da pirazolina

Com relação a essas aplicações, pode-se encontrar diversas substâncias comercializadas contendo o anel pirazólico, tais como, o Celecoxibe (anti-inflamatório)^[3], Sildenafil (disfunção erétil)^[4], Rimonabanto (tratamento de colesterol)^[5], Clorantranilprole (inseticida)^[6], Fipronil (inseticida)^[7] e o Piraclostrobina (fungicida)^[8] (**Figura 4**).

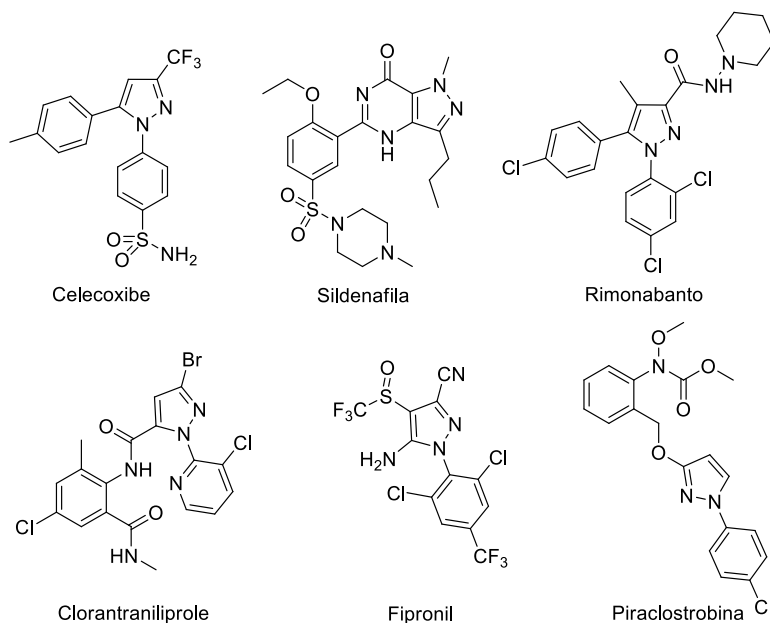


Figura 4: Estrutura de derivados pirazólicos com propriedades bioativas.

Devido a grande importância da química de heterociclos e o número crescente de publicações voltadas à síntese de pirazóis e derivados, nosso grupo de pesquisa busca o desenvolvimento de novos compostos pirazólicos e pirazolínicos funcionalizados.

Portanto, neste trabalho, estudamos o alcance e as limitações do uso de cloridrato de aminoguanidina e 1-(2-hidroxifenil)enonas, em condições sonoquímicas, para a síntese de novos compostos pirazolínicos.

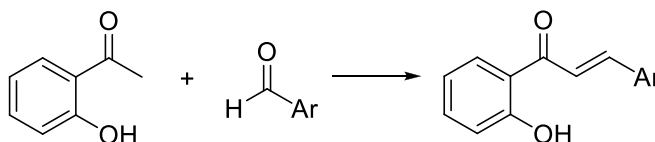
2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

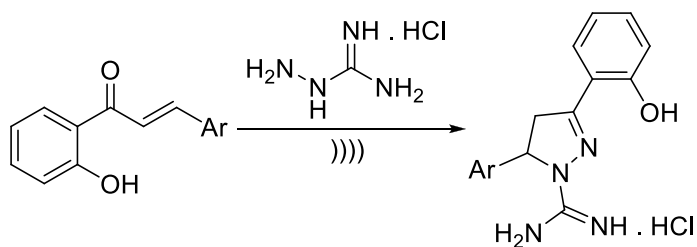
O objetivo do trabalho foi sintetizar e caracterizar novos cloridratos 4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas, por meio de reações de ciclocondensação entre 1-(2-hidroxifenil)enonas e cloridrato de aminoguanidina, sob condições sonoquímicas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Preparar as 1-(2-hidroxifenil)enonas por reações de condensação aldólica entre 2'-hidroxiacetofenona e aldeídos aromáticos;



- 2- Sintetizar novos compostos 4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas cloridratadas, pela reação de ciclocondensação entre as 1-(2-hidroxifenil)enonas e cloridrato de aminoguanidina, sob condições sonoquímicas;



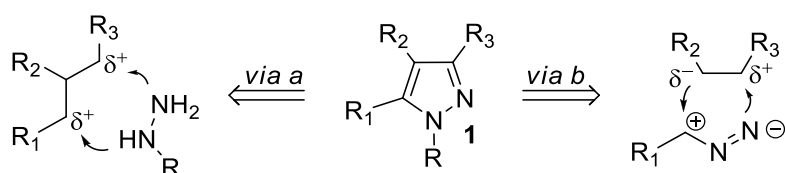
- 3- Comprovar a estrutura dos compostos pirazolínicos obtidos, por espectroscopia de absorção na região do Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear, Raios-X e Ponto de Fusão.
- 4- Avaliar a atividade antimicrobiana dos cloridratos de 4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas sintetizados utilizando a técnica de concentração inibitória mínima (CIM).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. ROTAS PARA OBTENÇÃO DE PIRAZÓIS

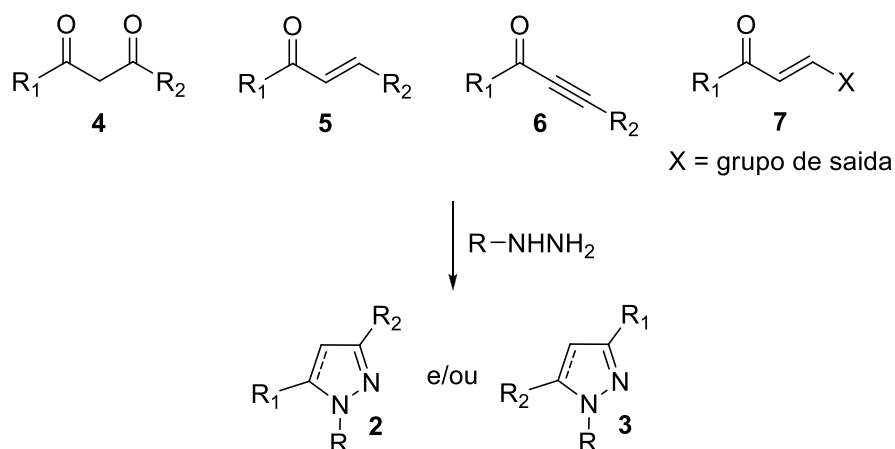
Abordagens convencionais para a preparação de pirazóis substituídos **1** podem envolver a construção de duas ligações C-N pela condensação de hidrazinas com compostos 1,3-dicarbonílicos ou equivalentes 1,3-dieletrófilicos (**Esquema 1, via a**), ou pela geração de uma ligação C-N e uma C-C pela cicloadição intermolecular [3 + 2] de 1,3-dipolos com dipolarófilos (**Esquema 1, via b**)^[9].

Esquema 1



Os métodos sintéticos mais comuns para a síntese de pirazóis e pirazolinas funcionalizadas em C-3 e C-5 **2** e **3** envolve a ciclocondensação de uma hidrazina, que atua como um duplo nucleófilo, com uma unidade de três carbonos, sendo que dois carbonos são eletrofílicos em uma relação-1,3, tais como, compostos 1,3-dicarbonílico **4**, compostos α,β -insaturado **5** e **6** e β -enaminonas ou compostos relacionados **7** (**Esquema 2**).

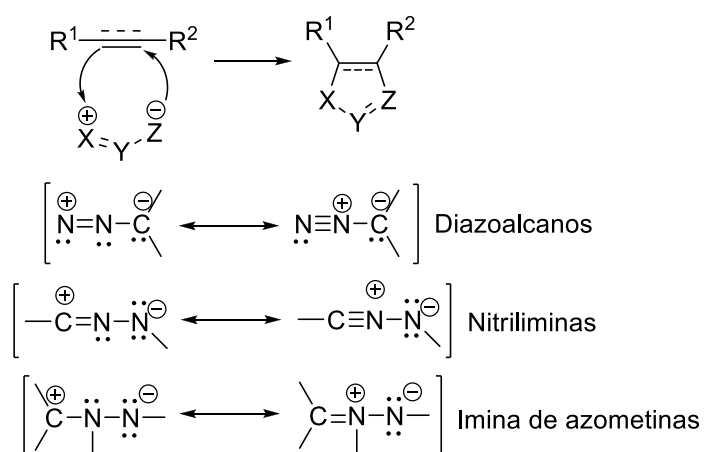
Esquema 2



3.1.1. Reações de cicloadição 1,3-dipolar

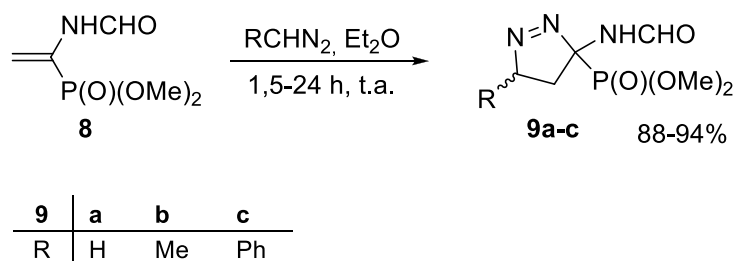
Reações de cicloadição de espécies 1,3-dipolares são empregadas como ferramenta promissora na síntese de pirazóis substituídos^[10]. Três principais classes de 1,3-dipolos utilizados como *syntons* [CNN], são nomeados como, diazoalcanos, nitriliminas, e iminas de azometina, e o fragmento [CC] seria de alcenos ou alcinos (**Esquema 3**)^[9,10].

Esquema 3



Exemplificando com trabalhos encontrados na literatura, Goulioukina e colaboradores estudaram o uso de diazoalcanos com dimetil 1-(formilamino)etilenofosfonato **8**, sob éter etílico em temperatura ambiente, proporcionando dimetil 3-(formilamino)-4,5-diidro-3*H*-pirazol-3-fosfonatos **9** em excelentes rendimentos (**Esquema 4**)^[11].

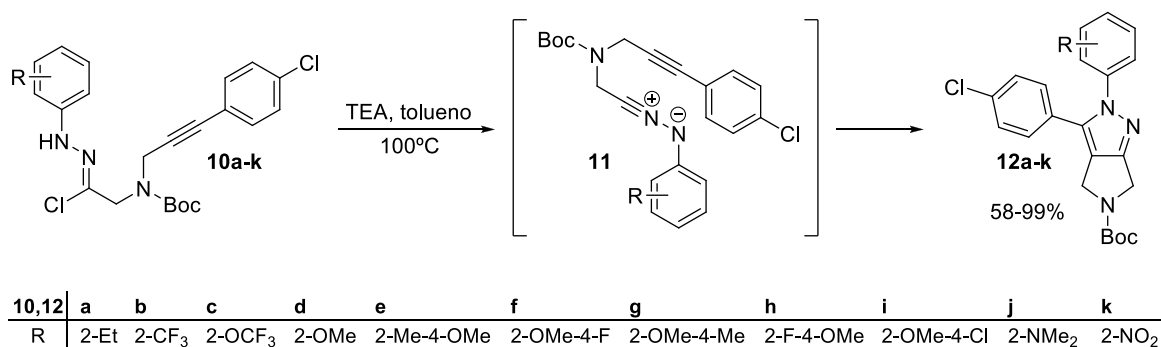
Esquema 4



Para a síntese de 2,4,5,6-tetrahidropirrol[3,4-*c*]pirazóis **12** Winters e colaboradores fizeram o uso de cloreto de hidrazonila **10** na presença de trietilamina e tolueno à 100°C, para formação do intermediário nitrilimina **11**. A nitrilimina formada sofre

uma reação intramolecular proporcionando os pirazóis em ótimos rendimentos (**Esquema 5**)^[12].

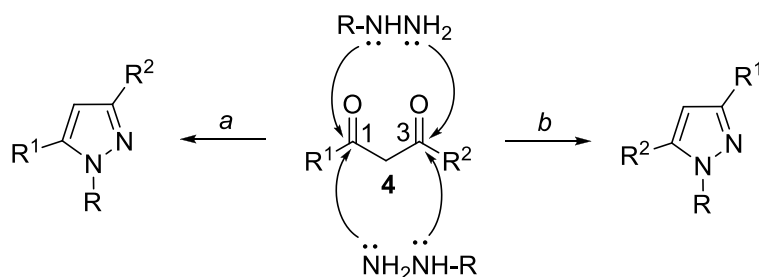
Esquema 5



3.1.2. Ciclocondensação de composto 1,3-dicarbonílico com hidrazinas

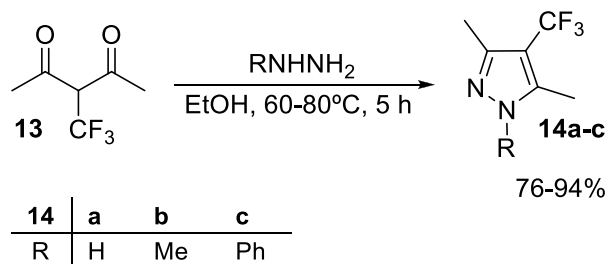
1,3-dicetonas **4** podem ser eficientemente condensadas com hidrazinas, proporcionando pirazóis alquil- ou aril-substituídos nas posições 3 e 5. No entanto, partindo de compostos 1,3-dicarbonílicos não simétricos ($R^1 \neq R^2$), misturas de dois regioisômeros são frequentemente obtidos em reações com hidrazinas substituídas ($R \neq H$). Para hidrazinas não substituídas ($R = H$) não existe nenhum regioisômero devido ao tautomerismo prototrópico dos pirazóis (**Esquema 6**)^[9].

Esquema 6



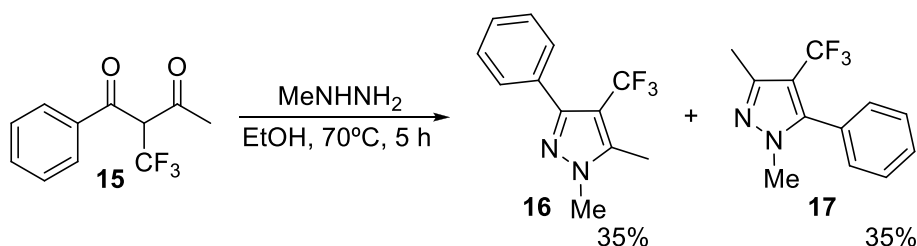
Elucidando, Yamakawa e colaboradores sintetizaram pirazóis trifluorados **14** com bons rendimentos pela ciclocondensação de derivados de hidrazina e 2-(trifluormetil)-1,3-dicetona **13**, sob condições reacionais brandas (**Esquema 7**). Nota-se que apenas um produto foi formado devido a presença de simetria na 1,3-dicetona^[13].

Esquema 7



Em contraste, o uso de 1-fenil-2-(trifluormetil)butan-1,3-diona **15** com metilhidrazina proporcionou uma mistura de dois regioisômeros, 1,5-dimetil-3-fenil-4-(trifluormetil)pirazol **16** e 1,3-dimetil-5-fenil-4-(trifluormetil)pirazol **17** (**Esquema 8**), na proporção de 1:1^[13].

Esquema 8

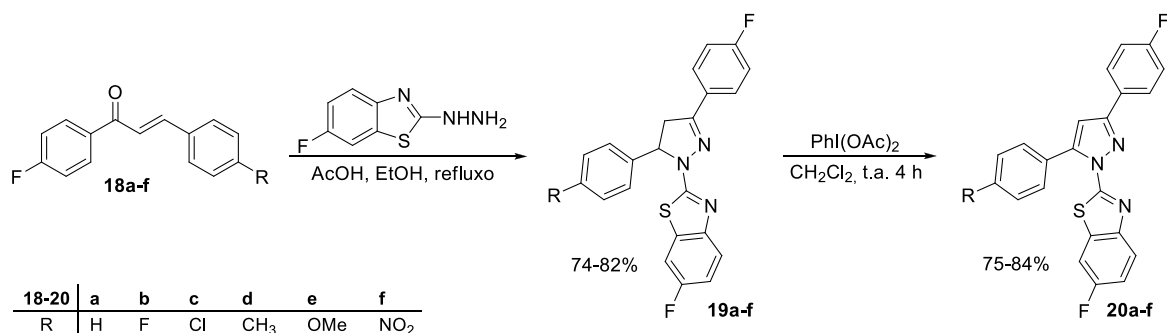


3.1.3. Ciclocondensação de compostos carbonílicos α,β -insaturados com hidrazinas

Em geral, condensação de hidrazinas com enonas e chalconas gera pirazolininas de forma regioseletiva, as quais podem ser aromatizadas para se obter os pirazóis correspondentes.

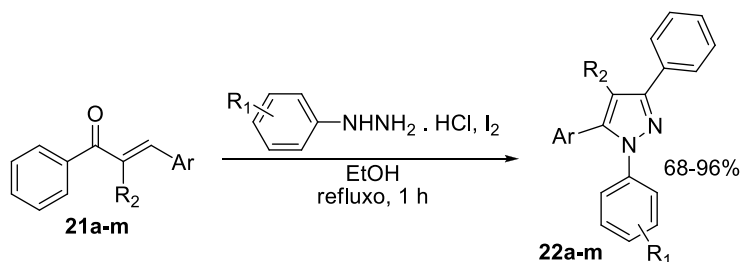
Aggarwal e colaboradores mostraram que chalconas fluoradas **18** e 6-fluorbenzotiazol-2-ilhidrazina, levaram a obtenção de 1-(6-fluorbenzotiazol-2-il)-3-(4-fluorfenil)-5-arilpirazolininas **19**, as quais foram facilmente aromatizadas aos pirazóis correspondentes **20** em bons rendimentos utilizando iodobenzeno diacetato, em CH_2Cl_2 (**Esquema 9**)^[14].

Esquema 9



Em uma reação *one-pot* partindo de cetonas α,β -insaturadas **21**, Chang e colaboradores obtiveram pirazóis tri-substituídos **22** em excelentes rendimentos, por meio de cloridrato de fenil-hidrazina e iodo molecular, em condições de refluxo sob EtOH (**Esquema 10**)^[15].

Esquema 10

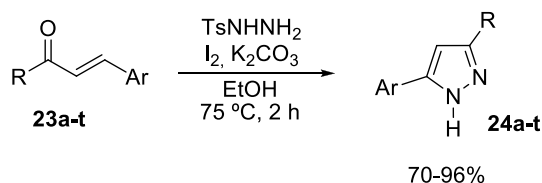


21,22	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Ar	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Ph	Ph-4-OMe	Ph-Cl
R ₁	4-Me	H	4-Cl	4-CF ₃	4-CN	2,4-di-Cl	4-Me	4-Me	4-Me
R ₂	H	H	H	H	H	H	H	H	H

21,22	j	k	l	m
Ar	Ph-2-F	Ph-3-NO ₂	2-Furfural	Ph-4-Me
R ₁	4-Me	4-Me	4-Me	4-Me
R ₂	H	H	H	Me

Outro método para a síntese de pirazóis, Wang e colaboradores utilizaram aldeído e cetonas α,β -insaturadas **23** com *p*-toluenosulfonil hidrazina na presença de carbonato de potássio e 2 mol% de I₂ como catalisador. A série de 1*H*-pirazóis **24** foi obtida em excelentes rendimentos (**Esquema 11**). Neste trabalho, destacou-se a formação do pirazol não substituído com o grupo tosil na posição 1^[16].

Esquema 11

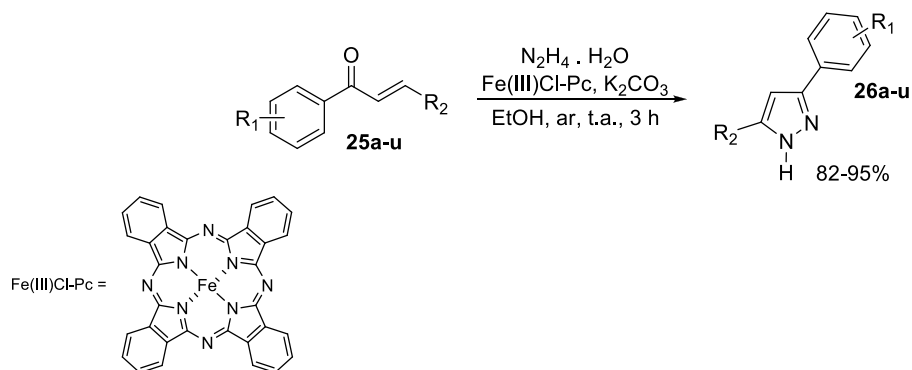


23,24	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
R	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph
Ar	Ph	Ph-2-OH	Ph-4-OMe	Ph-2-OMe	Ph-3-Me	Ph-4-Me	Ph-4-F	Ph-4-Cl	Ph-3,2-di-Cl	Ph-2-Br	Ph-4-Br

23,24	l	m	n	o	p	q	r	s	t
R	Ph	Ph	Ph	Ph-2-Me	Ph-3-Br	Ph-3-NO ₂	1-naftil	H	Me
Ar	Ph-4-NO ₂	Ph-2-naftil	Ph-2-tienil	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph

Cloreto de ftalocianina de ferro (III) em quantidade catalítica mostrou-se muito eficiente na síntese de pirazóis, sob condições reacionais brandas. Zhao e colaboradores fizeram o uso de hidrato de hidrazina e cetonas α,β -insaturadas **25**, em condições aeróbica e etanol proporcionando os 1H-pirazóis-3,5-disubstituídos **26** em excelentes rendimentos (**Esquema 12**)^[17].

Esquema 12



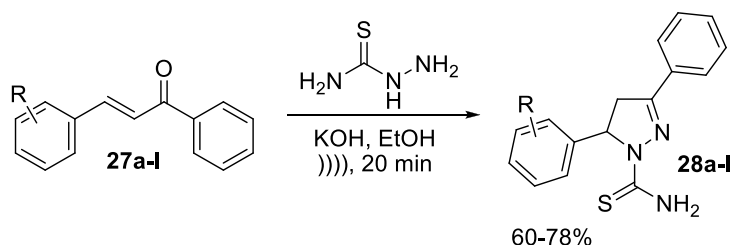
25,26	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k
R ₁	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	Ph	4-Me	4-Me
R ₂	Ph	Ph-4-Me	Ph-4-NO ₂	Ph-3-NO ₂	Ph-2,4-Cl	Ph-4-Cl	Ph-3-Br	Ph-4-OMe	2-tienil	Ph-4-Me	Ph-2-F

25,26	l	m	n	o	p	q	r	s	t	u
R ₁	4-Me	4-Me	4-Me	4-Me	4-Me	4-Cl	4-Cl	2-naftil	2-Me	2-OMe
R ₂	Ph-4-Cl	Ph-4-NO ₂	Ph-2-tienil	2-furfural	Ph-4-OMe	Ph-4-OMe	Ph-4-Cl	Ph-4-Me	Ph-4-Me	Me

No que diz respeito a aplicação da sonoquímica na síntese de pirazolinas, Pereira e colaboradores realizaram a síntese de uma série de 4,5-diidropirazóis utilizando ultrassom. Em 2009, a síntese de pirazolinas a partir de chalconas substituídas **27** e tiosemicarbazida, na presença de KOH e etanol em 20 minutos de sonicação foi

realizada. Os 4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carbotioamidas **28** foram obtidos com bons rendimentos e sem necessidade de purificação por cromatografia (**Esquema 13**)^[18].

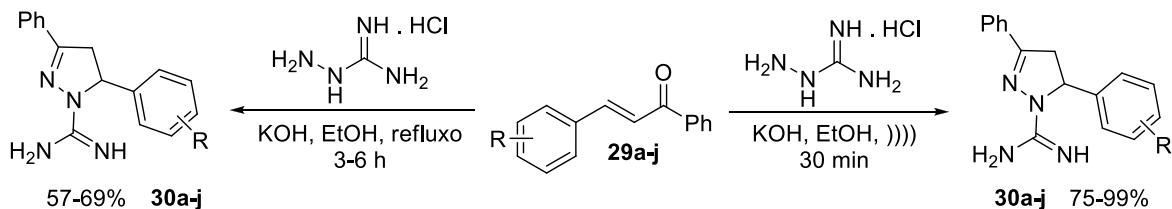
Esquema 13



27,28	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
R	H	2-Me	2-OMe	4-OMe	4-F	4-Cl	2-Br	3-Br	4-Br	4-Ph	3,4-di-OMe	2,4-di-Cl

Em 2010, Pereira e colaboradores realizaram a ciclocondensação de chalconas **29** com cloridrato de aminoguanidina, comparando a eficiência da sonoquímica, a fim de melhorar o tempo e os rendimentos das reações, em relação às sínteses realizadas em refluxo. Em relação à metodologia clássica, a técnica de ultrassom proporcionou 3,5-diaril-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas **30** em um menor tempo de reação, melhores rendimentos e sem necessidade de purificação (**Esquema 14**)^[19].

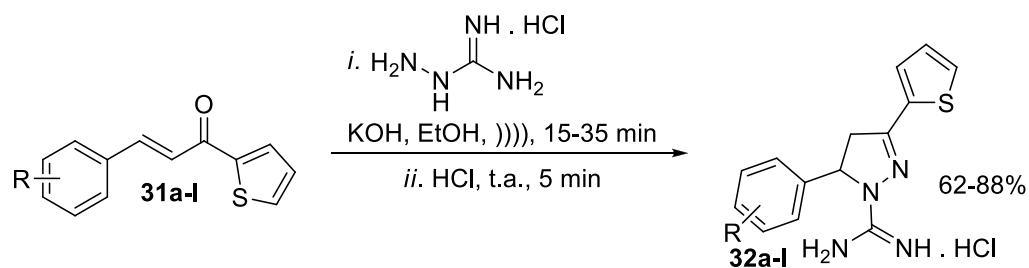
Esquema 14



29,30	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j
R	H	2-Me	2-OMe	4-OMe	4-Cl	2-Br	4-Br	3,4-di-OMe	2,4-di-Cl	3,4,5-tri-OMe

Em condições semelhantes, Pizzuti e colaboradores sintetizaram cloridratos de 3-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas **32**, por meio da ciclocondensação de tiofenilchalconas **31** e cloridrato de aminoguanidina, sob condições ultrassônicas na presença de KOH e etanol. As reações foram desenvolvidas em curto período de tempo e resultaram em bons rendimentos (**Esquema 15**)^[20].

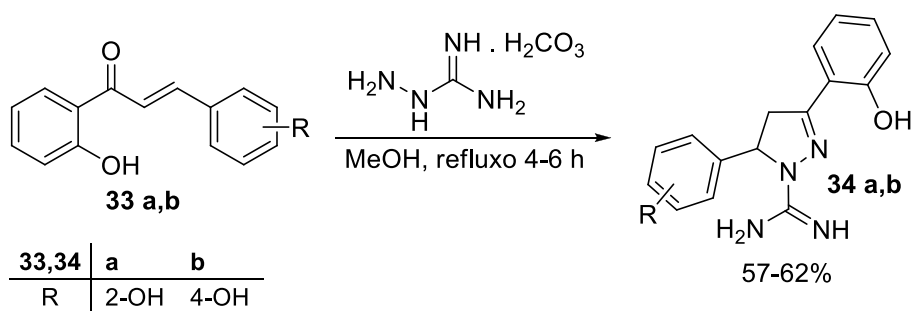
Esquema 15



31,32	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
R	H	2-OMe	2-Br	3-NO ₂	4-Me	4-CF ₃	4-OMe	4-F	4-Cl	4-Br	2,4-di-Cl	3,4-OMe

Finalizando, Quadri e colaboradores sintetizaram 3,5-diaril-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamidas **34** utilizando 2'-hidroxichalconas **33** e bicarbonato de aminoguanidina em metanol. A metodologia em refluxo proporcionou rendimentos moderados de 57 e 62% (**Esquema 16**)^[21].

Esquema 16



33,34	a	b
R	2-OH	4-OH

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. CONSIDERAÇÕES EXPERIMENTAIS

4.1.1. Reagentes e solventes

De acordo com a necessidade, os reagentes e solventes foram purificados utilizando métodos usuais descritos na literatura^[22].

4.1.2. Equipamento de ultrassom

As reações foram realizadas em um equipamento da marca Sonics, modelo Vibracell, de 500 W, conectado a uma sonda de liga de titânio. A frequência do equipamento é de 20 KHz e a amplitude foi ajustada a 20% da potência máxima de saída.

4.1.3. Ponto de Fusão

Os valores de pontos de fusão foram determinados utilizando um aparelho da marca MS Tecnopon, modelo PMF-II

4.1.4. Infravermelho

Os espectros de absorção na região do Infravermelho dos compostos sintetizados foram obtidos pelo espectrofotômetro Jasco FT/IR-4100. As substâncias foram analisadas em ATR.

4.1.5. Ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN (^1H e ^{13}C) foram obtidos no espectrômetro Bruker de 300 MHz, modelo Avance III HD, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. As amostras foram submetidas à análise solubilizadas em dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$) e os deslocamentos químicos foram registrados em ppm utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna, a 25°C.

4.1.6. Difração de Raios X

A coleta dos dados de difração de raios X foi realizada em um difratômetro Bruker Kappa APEX II CCD, utilizando radiação de $\text{Mo K}\alpha$ (0,71073 Å), agrupado com um monocromador de grafite, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM.

4.1.7. Aparelho Fotométrico

Os inóculos foram padronizados no espectrofotômetro da marca Quimis, modelo Q898DRM.

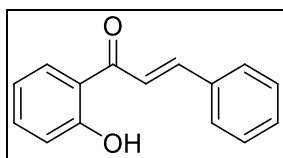
4.2. PROCEDIMENTO GERAL PARA A SÍNTESE DAS 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS

Em um balão de 250 mL foram adicionados 2'-hidroxiacetofenona (5 mmol) e o aldeído de interesse (5 mmol), em 30 mL de etanol. Sob agitação, adicionou-se na solução 15 mmol de NaOH e a mistura resultante foi então mantida por 24 horas em temperatura ambiente. Após esse período, a reação foi resfriada em banho de gelo e acidificada pela adição gota a gota de HCl concentrado, seguido pela adição de 50 mL de H₂O. A solução ficou em agitação em banho de gelo durante 30 minutos, para a obtenção do produto precipitado. Após a precipitação, o produto foi filtrado e seco em um dessecador.

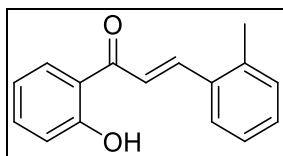
Para a obtenção da 1-(2-hidroxifenil)enona **2m** foi adicionado HCl concentrado apenas para neutralizar a solução, diferenciando dos demais que são acidificados.

4.2.1. Dados físicos das 1-(2-hidroxifenil)enonas

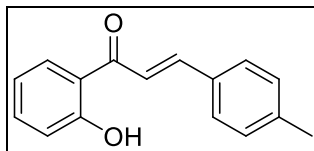
1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (2a): Rendimento: 80%; Ponto de fusão obtido: 96-98°C; Ponto de fusão (Lit.)^[23]: 97,1-97,8°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 1214-47-7.



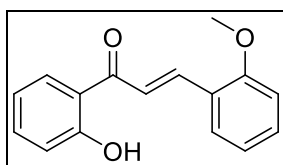
1-(2-hidroxifenil)-3-o-toluilprop-2-en-1-ona (2b): Rendimento: 81,5%; Ponto de fusão obtido: 85-87°C; Ponto de fusão (Lit.): não encontrado; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 42220-74-6;



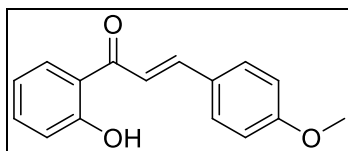
1-(2-hidroxifenil)-3-*p*-toluilprop-2-en-1-ona (2c): Rendimento: 45%; Ponto de fusão obtido: 126-127°C; Ponto de fusão (Lit.)^[24]: 105-106°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 16635-14-6.



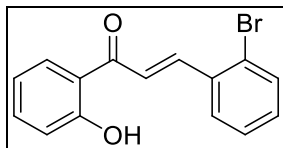
1-(2-hidroxifenil)-3-(2-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (2d): Rendimento: 81%; Ponto de fusão obtido: 124-127°C; Ponto de fusão (Lit.)^[25]: 110-111°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 42220-77-9.



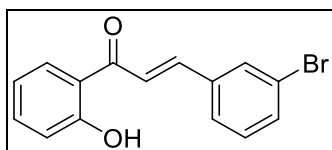
1-(2-hidroxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (2e): Rendimento: 38%; Ponto de fusão obtido: 105-107°C; Ponto de fusão (Lit.)^[24]: 90-92°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 3327-24-0.



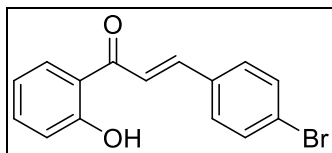
3-(2-bromofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (2f): Rendimento: 67,9%; Ponto de fusão obtido: 108-110°C; Ponto de fusão (Lit.)^[26]: 103-104°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 55370-65-5.



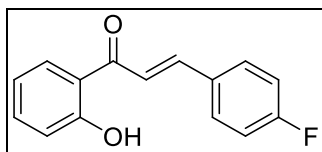
3-(3-bromofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (2g): Rendimento: 53,1%; Ponto de fusão obtido: 107-110°C; Ponto de fusão (Lit.)^[27]: 120°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 3754-50-5.



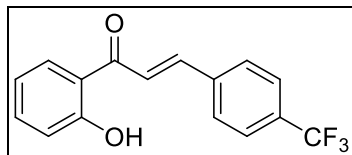
3-(4-bromofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (2h): 83,2%; Ponto de fusão obtido: 154-156°C; Ponto de fusão (Lit.)^[26]: 150°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 16635-18-0.



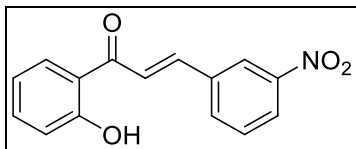
3-(4-fluorofenil)-1-(2-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (2i): Rendimento: 64,1%; Ponto de fusão obtido: 120-122°C; Ponto de fusão (Lit.)^[26]: 118-120°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 1840-01-3.



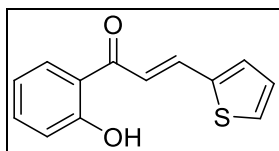
1-(2-hidroxifenil)-3-(4-(trifluormetil)fenil)prop-2-en-1-ona (2j): Rendimento: 77,4; Ponto de fusão obtido: 101-104°C; Ponto de fusão (Lit.): não encontrado; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 223519-90-2.



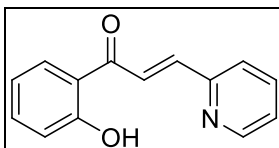
1-(2-hidroxifenil)-3-(3-nitrofenil)prop-2-en-1-ona (2k): Rendimento: 79,4%; Ponto de fusão obtido: 182°C; Ponto de fusão (Lit.)^[28]: 164-165°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 36574-84-2.



1-(2-hidroxifenil)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (2l): Rendimento: 50,3%; Ponto de fusão obtido: 114-115°C; Ponto de fusão (Lit.)^[29]: 99-100°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 2875-22-1.



1-(2-hidroxifenil)-3-(piridin-2-il)prop-2-en-1-ona (2m): Rendimento: 76,6%; Ponto de fusão obtido: 102-104°C; Ponto de fusão (Lit.)^[30]: 99-100°C; Característica: sólido amarelo; CAS Number: 2875-24-3.



4.3. PROCEDIMENTO GERAL PARA A REAÇÃO ENTRE 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS E CLORIDRATO DE AMINOGUANIDINA

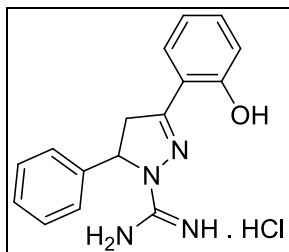
Em um tubo falcon de 50 mL, foi adicionado 15 mL de etanol, um dos derivados da 1-(2-hidroxifenil)enona **2a-m** (1 mmol), o cloridrato de aminoguanidina (2 mmol, 0,3316 g) e o KOH (2 mmol, 0,1683 g). A mistura foi levada ao ultrassom e sonicada por 30 minutos. Após o término da sonicação, a mistura foi resfriada, filtrada diretamente para um funil de extração ao qual foi adicionado HCl 10% (15 mL) e então, extraída com clorofórmio (3 x 30 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de magnésio, seguido de filtração e evaporação sob pressão reduzida utilizando um evaporador rotativo. Após a completa evaporação do solvente, o produto desejado foi purificado com a adição de uma solução de AcOEt e MeOH 10/1, seguido de uma filtração.

Para a obtenção do cloridrato pirazolínico **3m**, a mistura foi resfriada e filtrada para um funil de extração. Após a filtração foi adicionado 10 mL de solução de NaCl saturado e extraída com clorofórmio (3 x 30 mL). As fases orgânicas combinadas foram acidificadas com HCl concentrado e secas com sulfato de magnésio, seguido de filtração e evaporação sob pressão reduzida utilizando um evaporador rotativo.

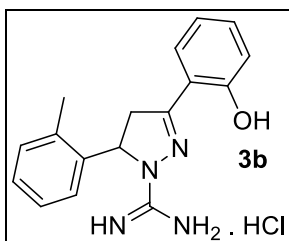
4.3.1. Dados Físicos dos Cloridratos Pirazolínicos

Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3a): Rendimento: 77,3%; Ponto de fusão obtido: 294-296°C; Característica: sólido branco; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3282, 3167, 3105, 1646, 1615, 1596,

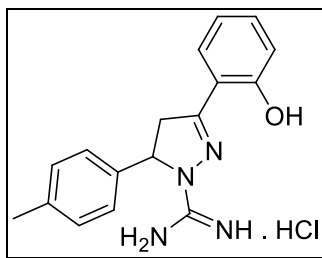
1585, 1493; RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 10,03 (s, 1H), 8,03 (sl, 4H), 7,80-7,78 (m, 1H), 7,43-7,31 (m, 4H), 7,26-7,23 (m, 2H), 7,07-7,05 (m, 1H), 6,95-6,90 (m, 1H), 5,93-5,89 (m, 1H), 4,15 (dd, 1H, $J = 18,3$ Hz, $J = 11,2$ Hz), 3,53-3,41 (m, 1H); RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 158,1, 156,9, 153,0, 139,1, 132,7, 129,7, 129,1, 128,2, 125,3, 119,6, 117,1, 114,8, 59,5, 46,0.



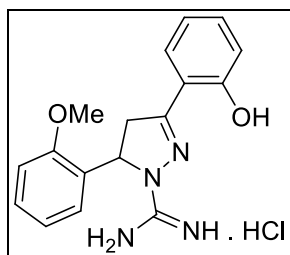
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-o-toluid-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3b): Rendimento: 64,3%; Ponto de fusão obtido: 282-284°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm^{-1}) 3273, 3117, 3032, 2940, 1646, 1617, 1590, 1490; RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ ppm 9,97 (s, 1H), 8,06 (sl, 4H), 7,76-7,74 (m, 1H), 7,35-7,14 (m, 4H), 7,04-7,01 (m, 1H), 6,91-6,86 (m, 1H), 6,77-6,75 (m, 1H), 5,93-5,90 (m, 1H), 4,17 (dd, 1H, $J = 18,1$ Hz, $J = 11,1$ Hz), 3,27 (dd, 1H $J = 18,1$ Hz, $J = 2,1$ Hz), 2,41 (s, 3H); RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 158,1, 156,8, 153,0, 137,4, 135,0, 132,7, 131,3, 129,8, 127,8, 126,2, 122,4, 119,5, 117,1, 115,7, 57,8, 44,9, 19,2.



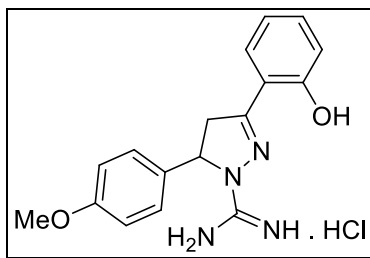
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-p-toluid-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3c): Rendimento: 83,2%; Ponto de fusão obtido: 273-274°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm^{-1}) 3272, 3166, 3065, 2938, 1645, 1616, 1588, 1493; RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,96 (s, 1H), 7,96 (sl, 4H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,37-7,32 (m, 1H), 7,20-7,17 (m, 2H), 7,12-7,09 (m, 2H), 7,04-7,01 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 5,82-5,78 (m, 1H), 4,14-3,98 (m, 1H), 2,26 (s, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ ppm 158,0, 156,8, 152,9, 137,5, 136,9, 132,6, 129,7, 129,6, 125,2, 119,5, 117,1, 115,8, 59,3, 45,9, 20,7.



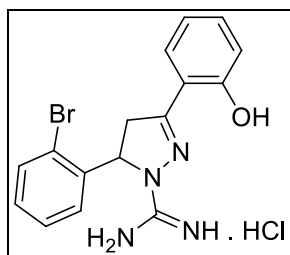
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3d): Rendimento 73,5%; Ponto de fusão obtido: 290-293°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3309, 3194, 3108, 2966, 2939, 1644, 1618, 1594, 1494; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,01 (s, 1H), 7,96 (sl, 4H), 7,76-7,73 (m, 1H), 7,35-7,30 (m, 2H), 7,10-7,02 (m, 2H), 6,94-6,86 (m, 3H), 5,84 (dd, 1H, J = 10,9 Hz, J = 2,5 Hz), 4,07 (dd, 1H, J = 18,2 Hz, J = 11,2 Hz), 3,43 (s, 3H), 3,31 (dd, 1H, J = 18,3, J = 2,7 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 158,57, 156,79, 156,24, 152,99, 132,49, 129,56, 129,49, 126,58, 125,01, 120,29, 119,38, 117,04, 115,79, 111,81, 56,30, 55,66, 44,73.



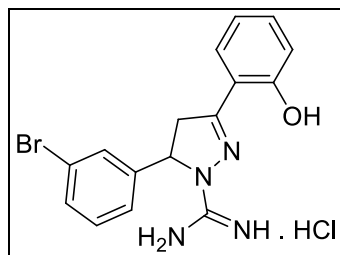
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3e): Rendimento: 80,3%; Ponto de fusão obtido: 274-276°C; Característica: sólido amarelo; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3265,86, 3177,63, 3066,26, 2952,97, 2834,85, 1644,98, 1614,61, 1586,65, 1510,47, 1492,15; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,97 (s, 1H), 7,96 (sl 4H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,37-7,32 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 2H), 7,04-7,01 (m, 1H), 6,95-6,88 (m 3H), 5,81-5,77 (m, 1H), 4,08 (dd 1H, J = 18,4 Hz, J = 11,2 Hz), 3,72 (s, 3H); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 159,10, 158,10, 156,85, 152,90, 132,65, 131,82, 129,70, 126,73, 119,49, 117,10, 115,87, 114,40, 59,04, 55,19, 45,89.



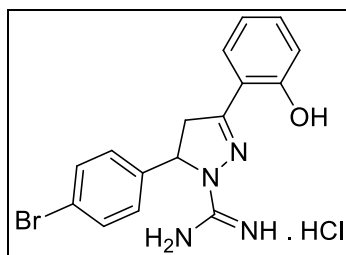
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-bromofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3f): Rendimento: 60,4%; Ponto de fusão obtido: 279-282°C; Característica: sólido branco; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3352,16, 3273,57, 3195,95, 3141,47, 3064,33, 2957,3, 2838,22, 1656,07, 1612,68, 1591,95, 1493,6; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,10 (s, 1H), 8,07 (sl, 4H), 7,82-7,80 (m, 1H), 7,74-7,72 (m, 1H), 7,43-7,39 (m, 1H), 7,35-7,27 (m, 2H), 7,03-7,00 (m, 1H), 6,93-6,85 (m, 2H), 5,86-5,83 (m, 1H), 4,24 (dd, 1H, J = 18,3 Hz, J = 11,1 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 157,74, 156,88, 153,12, 137,88, 133,82, 132,73, 130,00, 129,59, 128,18, 125,13, 121,53, 119,42, 117,10, 115,74, 60,08, 45,54.



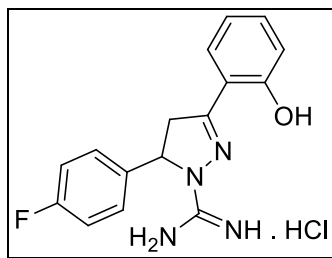
Cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3g): Rendimento: 44,8%; Ponto de fusão obtido: 308-309°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3313,11, 3177,63, 3120,74, 2933,68, 2847,38, 1638,23, 1615,09, 1603,04, 1590,02, 1494,08; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,00 (s, 1H), 8,03 (sl, 4H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,54-7,52 (m, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,39-7,33 (m, 2H), 7,19-7,17 (m, 1H), 7,04-7,01 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 5,86 (dd, 1H, J = 11,0 Hz, J = 2,3 Hz), 4,13 (dd, 1H J = 18,5 Hz, J = 11,3 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 157,99, 156,86, 152,92, 142,42, 132,72, 131,37, 131,08, 129,69, 128,49, 124,13, 122,05, 119,46, 117,09, 115,73, 58,86, 45,90.



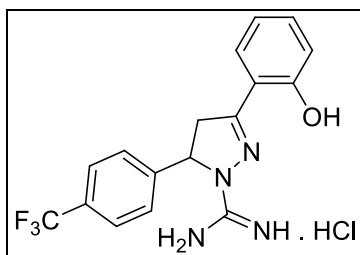
Cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3h): Rendimento: 68,1%; Ponto de fusão obtido: 277-279°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3293,82, 3192,09, 3100,97, 2956,34, 2835,81, 1656,07, 1616,54, 1590,5, 1489,74; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,99 (s, 1H), 8,01 (sl, 4H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,61-7,58 (m, 2H), 7,37-7,32 (m, 1H), 7,19-7,16 (m, 2H), 7,03-7,01 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 5,85 (dd, 1H, J = 11,0 Hz, J = 2,3 Hz), 4,13 (dd, 1H, J = 18,4 Hz, J = 11,3 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 157,96, 156,86, 152,90, 139,21, 132,72, 131,96, 129,70, 127,68, 121,32, 119,47, 117,10, 115,75, 58,92, 45,83.



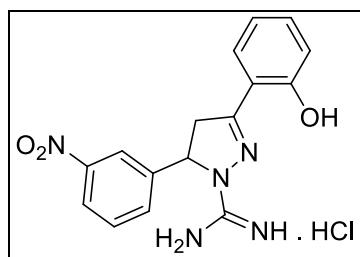
Cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3i): Rendimento: 74,1%; Ponto de fusão obtido: 272-275°C; Característica: sólido branco; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3362,76, 3274,54, 3079,76, 2948,63, 2829,06, 1646,91, 1615,09, 1593,88, 1508,54, 1492,15; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,98 (sl, 1H), 8,00 (sl, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,37-7,19 (m, 5H), 7,04-7,01 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 5,89-5,86 (m, 1H), 4,12 (dd, 1H, J = 18,4 Hz, J = 11,3 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 161,81 (d, J = 244,3 Hz), 158,02, 156,86, 152,92, 136,06 (d, J = 2,9 Hz), 132,68, 129,69, 127,58 (d, J = 8,4 Hz), 119,47, 117,09, 115,87 (d, J = 21,6 Hz), 115,79, 58,82, 45,93.



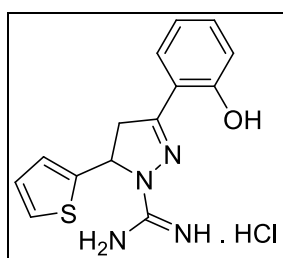
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3j): Rendimento: 63,2%; Ponto de fusão obtido: 294-296°C; Característica: sólido branco; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3392,66, 3289,48, 3222,47, 3153,53, 3078,8, 2943,32, 2842,56, 1656,55, 1615,57, 1591,95, 1495,04; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,04 (sl, 4H), 7,79-7,77 (m, 3H), 7,45-7,42 (m, 2H), 7,38-7,33 (m, 1H), 7,03-7,01 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 5,99-5,96 (m, 1H), 4,18 (dd, 1H, J = 18,4 Hz, J = 11,4 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 157,93, 156,87, 152,97, 144,33, 132,73, 129,69, 128,70 (q, J = 31,8 Hz), 124,08 (q, J = 272,5 Hz), 126,30, 126,11-125,91 (m), 119,43, 117,08, 115,70, 59,06, 45,86.



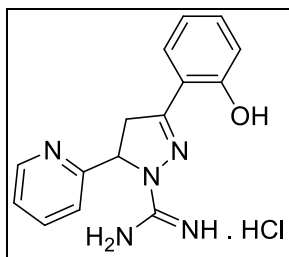
Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3k): Rendimento: 15,5%; Ponto de fusão obtido: 311-312°C; Característica: sólido bege; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3296,23, 3207,52, 3102,9, 2934,16, 2864,26, 1644,98, 1615,57, 1602,56, 1529,27, 1494,08; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ ppm 10,02 (s, 1H), 8,21-8,18 (m, 1H), 8,10-8,06 (m, 5H), 7,80-7,64 (m, 3H), 7,37-7,32 (m, 1H), 7,03-7,00 (m, 1H), 6,93-6,88 (m, 1H), 6,03-6,00 (m, 1H), 4,20 (dd, 1H, J = 18,5 Hz, J = 11,4 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ ppm 158,00, 156,90, 152,95, 148,00, 141,85, 132,80, 132,03, 130,86, 129,72, 123,18, 120,67, 119,49, 117,12, 115,72, 58,87, 45,96.



Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3l): Rendimento: 78,1%; Ponto de fusão obtido: 264-267°C; Característica: sólido amarelado; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3320,82, 3199,81, 3106,76, 2939,95, 2869,08, 1614,61, 1589,06, 1492,63; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 10,00 (s, 1H), 8,04 (sl, 4H), 7,81-7,78 (m, 1H), 7,49-7,47 (m, 1H), 7,39-7,34 (m, 1H), 7,22-7,21 (m, 1H), 7,04-6,98 (m, 2H), 6,95-6,90 (m, 1H), 6,23-6,20 (m, 1H), 4,08 (dd, 1H, J = 18,3 Hz, J = 10,7 Hz), 3,60 (dd, 1H, J = 18,3 Hz, J = 2,1 Hz); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ ppm 158,17, 156,87, 152,87, 141,88, 132,77, 129,69, 126,89, 126,46, 126,18, 119,53, 117,12, 115,81, 55,89, 45,76.



Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida (3m): Rendimento: 24,8%; Ponto de fusão obtido: 276-278°C; Característica: sólido branco; IV (ATR): ν (cm⁻¹) 3331,91, 3262,48, 3208,49, 3096,64, 3051,32, 2812,67, 2720,1, 1669,57, 1617,98, 1588,57, 1495,04, 1456,47; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,65-8,64 (m, 1H), 8,05-8,00 (m, 5H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,57-7,50 (m, 2H), 7,37-7,31 (m, 1H), 7,03-7,01 (m, 1H), 6,92-6,87 (m, 1H), 6,02 (dd, 1H, J = 11,4 Hz, J = 2,9 Hz), 4,15 (dd, 1H, J = 18,4 Hz, J = 11,5 Hz), 3,61 (dd, 1H, J = 18,4 Hz, J = 3,0 Hz); ¹³C RMN (75 MHz, DMSO) δ ppm 157,73, 156,85, 156,29, 153,34, 148,20, 139,65, 132,65, 129,68, 124,25, 121,93, 119,47, 117,11, 115,67, 59,52, 44,47.



4.4. METODOLOGIA GERAL DA AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

As análises microbiológicas foram realizadas pelo Laboratório de Microbiologia Aplicada, coordenado pela Professora Doutora Kelly Mari Pires de Oliveira.

A análise da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos compostos foi determinada pelo teste de micro diluição em caldo, seguindo as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* [CLSI, 2012] e do documento M27-A3 [CLSI, 2008] com algumas adaptações^[31].

4.4.1. Microrganismos

Os microrganismos testados são cepas provenientes da *American Type Culture Collection* sendo duas bactérias Gram-negativas: *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), duas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299) além de quatro leveduras: *Candida krusei* (ATCC 6558), *Candida tropicalis* (ATCC 750), *Candida albicans* (ATCC 90028) e *Candida glabrata* (ATCC 2001).

4.4.2. Procedimento geral para o teste de concentração inibitória mínima

As bactérias foram cultivadas em caldo *Brain-Heart Infusion* (BHI) e incubadas em estufa bacteriológica à 37°C por 24h. Em seguida, foram semeadas em ágar Triptona de Soja (ATS) e incubadas por mais 24h para o crescimento das colônias. As leveduras foram cultivadas em caldo Sabouraud Dextrose à 33°C por 48h e após este período, foram semeadas em ágar Sabouraud Dextrose para crescimento das colônias por mais 48h à 33°C.

Para a realização do teste foi feita a padronização dos inóculos em espectrofotômetro. As bactérias e leveduras foram ajustadas em solução salina (0,9%) na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹ utilizando absorbância no comprimento de onda de 625 nm e $2,5 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ no comprimento de onda de 530 nm em transmitância, respectivamente.

Após esta padronização, foram pesados 0,024 g das substâncias e feita à diluição em 5% de dimetilsulfóxido (DMSO).

Para o ensaio com bactérias, a concentração inicial do composto testada foi 2.000 µg/mL. Foram adicionados 100 µL de caldo Müller Hinton em todos os poços da microplaca, em seguida foram adicionados 100 µL da solução da substância testada na coluna 2 e feita à diluição seriada até a coluna 11, desprezando os 100 µL restantes. Por último, foi feita uma diluição de 1:100 das bactérias em tubos com caldo Müller Hinton e assim, adicionados 10 µL dessa solução em duplicata nas linhas horizontais da

microplaca, de A a H das colunas 2 até a 12. A coluna 1 foi o controle negativo do ensaio, contendo apenas 100 µL do meio de cultura e 10 µL do composto testado e a coluna 12 foi o controle positivo, contendo apenas 100 µL de meio de cultura e 10 µL do inóculo bacteriano. As concentrações finais do teste foram de 1,9 a 1.000 µg.mL⁻¹.

Para o ensaio com leveduras, foi utilizado procedimento de acordo com o documento M27-A3 do CLSI (2008). A concentração inicial do composto testado foi 4.000 µg.mL⁻¹. Após o ajuste das leveduras no espectrofotômetro, duas diluições do inóculo foram feitas em tubos com caldo RPMI-1640, uma diluição de 1:50 e outra de 1:20. Na microplaca foram adicionados 100 µL de caldo RPMI-1640 em todos os poços e em seguida, 100 µL da substância testada foram colocados na coluna 2 e feita a diluição seriada até a coluna 11. Por último, foram colocados 100 µL dos inóculos em duplicata nas linhas horizontais, A a H, das colunas 2 a 12. Como controle negativo do ensaio a coluna 1 recebeu 100 µL de caldo RPMI-1640 e 50 µL da substância testada e no controle positivo, a coluna 12 recebeu 100 µL de meio de cultura e 100 µL de inóculo. As concentrações finais do teste foram de 1,9 a 1000 µg.mL⁻¹.

Após esta etapa, as microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica em câmara úmida, a 37°C por 24h para bactérias e a 33°C por 48h para leveduras, após o período de incubação, foram observados os resultados. Foram utilizados como controle do ensaio para bactérias, os antibióticos Ampicilina e Cloranfenicol e os antifúngicos Fluconazol e Anfotericina B, para o controle do ensaio com leveduras.

A leitura dos resultados foi feita visualmente observando a turbidez do meio de cultura. Para auxiliar esta visualização, no ensaio com bactérias foram adicionados em todos os poços da microplaca 50 µL de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 0,1% que funciona como um indicador de viabilidade celular e depois as incubou a 37°C por 30 min em estufa. Para o ensaio com leveduras, não houve a necessidade de adicionar o TTC para visualização. A CIM foi considerada a menor concentração dos compostos capaz de inibir visualmente o crescimento dos microrganismos testados.

Para determinar a concentração bactericida mínima (CBM) e a concentração fungicida mínima (CFM), reproduziu-se a microplaca de 96 poços em placas de Petri com ágar Müller Hinton para bactérias e ágar Sabouraud Dextrose para as leveduras. Cada poço da microplaca foi homogeneizado com alça de platina flambada e em seguida, as placas de Petri com ágar foram perfuradas e incubadas em estufa por 24 h para bactérias e leveduras, para avaliar os resultados. As menores concentrações dos compostos, capazes de impedir o crescimento de colônias de bactérias e leveduras nas placas com ágar, foram consideradas as concentrações bactericida e fungicida mínima respectivamente.

Para o ensaio com os antibióticos, foi utilizada metodologia proposta pelo CLSI, 2012. Foram pesados 0,0065 g de Ampicilina e dissolvidos em solução tampão fosfato a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, em seguida, a solução foi esterilizada por filtração de membrana de $22 \mu\text{m}$. Foram pesados 0,0064 g de Cloranfenicol e dissolvidos em etanol a 95% e água deionizada, que também foi feita a esterilização por filtração por membrana de $22 \mu\text{m}$. As diluições foram feitas primeiramente em tubos com caldo Müller Hinton até atingir as concentrações desejadas, que foram $128 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $64 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $32 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $8 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $2 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Na microplaca foram colocados 200 μL de cada concentração por coluna, nas colunas 2 a 11. Em seguida, foram adicionados 20 μL do inóculo bacteriano já ajustado, em duplicata nas linhas A a H, conforme citado anteriormente. Na coluna 1, controle negativo, foram adicionados apenas 200 μL de caldo Müller Hinton, e na coluna 12, controle positivo, foram adicionados 200 μL do caldo e 20 μL do inóculo. Logo após, a placa foi incubada em estufa em câmara úmida a 37°C por 24 h, e após este período, foram observados os resultados e feita à análise da Concentração Bactericida Mínima.

Para a realização do ensaio das leveduras frente aos antifúngicos, utilizou-se o documento M27-A3 do CLSI, 2008. Após o ajuste dos inóculos em espectrofotômetro, foram feitas duas diluições no caldo RPMI-1640, uma diluição de 1:50 e outra de 1:20. Para o preparo da solução-estoque de Anfotericina B, a concentração inicial foi de 1600 $\mu\text{g/mL}$ utilizando DMSO e para o Fluconazol, água bi-distilada foi utilizada tendo uma concentração inicial foi $5120 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

A partir da concentração inicial de Anfotericina B, são feitas diluições em tubos de ensaio com DMSO para obter concentrações que vão de 3,13 a $1600 \mu\text{g.mL}^{-1}$ distribuídos em dez tubos. Em seguida, é feita uma diluição 1:100 em outros dez tubos de ensaio com meio RPMI-1640, atingindo as concentrações de 0,03 a $16 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Para o Fluconazol, a partir da concentração inicial são feitas diluições em caldo RPMI-1640, atingindo as concentrações de 2,5 a $5120 \mu\text{g.mL}^{-1}$ distribuídas em dez tubos de ensaio. Após esta etapa, é feita uma diluição 1:10 em caldo RPMI-1640, obtendo concentrações de 0,25 a $128 \mu\text{g.mL}^{-1}$, distribuídas em outros dez tubos.

Na microplaca, 100 μL das concentrações dos antifúngicos de cada um dos dez tubos serão transferidas para as colunas, de 2 a 11. Depois, são adicionados em duplicata nas linhas horizontais da microplaca de A a H, 100 μL dos inóculos diluídos em caldo RPMI-1640, nas colunas 2 a 12. A coluna 1, controle negativo recebe apenas 200 μL de meio de cultura e a coluna 12 controle positivo, recebe 100 μL de meio de cultura e 100 μL de inóculo.

As concentrações antifúngicas foram novamente diluídas após a distribuição dos 100 µL de inóculo na placa, em 1:20, de modo que as concentrações finais dos antifúngicos no teste caem para 0,015 a 8 µg.mL⁻¹ para a Anfotericina B e 0,12 a 64 µg.mL⁻¹ para o Fluconazol. Após esta etapa, as microplacas foram incubadas em estufa em câmara úmida a 33°C por 48h para análise dos resultados. Após este período, foi feita a análise da CFM, conforme procedimento citado anteriormente para leveduras. Todo o procedimento para Anfotericina B foi feito utilizando papel alumínio para proteger os tubos de ensaio e as microplacas da luz, devido à foto sensibilidade deste antifúngico.

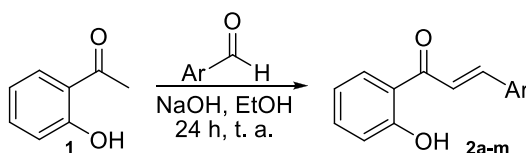
Os testes foram feitos em duplicata em dois momentos distintos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. PREPARAÇÃO DAS 1-(2-HIDROXIFENIL)ENONAS **2a-m**

Em primeiro momento foi realizado a obtenção das 1-(2-hidroxifenil)enonas **2a-m** pela reação de condensação aldólica entre 2'-hidroxiacetofenona **1** e aldeídos arílicos, sob o uso de NaOH e etanol (**Esquema 16**). As reações foram desenvolvidas de forma semelhante com metodologias presentes na literatura^[32].

Esquema 16



2	a	b	c	d	e	f	g	h
Ar	Ph	Ph-2-Me	Ph-4-Me	Ph-2-OMe	Ph-4-OMe	Ph-2-Br	Ph-3-Br	Ph-4-Br
2	i	j	f	l	m			
Ar	Ph-4-F	Ph-4-CF ₃	Ph-3-NO ₂	2-tienil	2-piridinil			

O grau de pureza das substâncias foram determinadas por cromatografia em camada delgada e pela comparação dos seus pontos de fusão com os encontrados na literatura. Os resultados estão apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Dado experimental e comparação do ponto de fusão das 1-(2-hidroxifenil)enonas **2a-m** com a literatura.^a

Composto	Rendimento (%)	p.f. (°C)	p.f. lit. (°C)
2a	80	96-98	97,1-97,8 ^[23]
2b	81,5	85-87	--
2c	45	126-127	105-106 ^[24]
2d	81	124-127	110-111 ^[25]
2e	38	105-107	90-92 ^[24]
2f	67,9	108-110	103-104 ^[26]
2g	53,1	107-110	120 ^[27]
2h	83,2	154-156	150 ^[26]
2i	64,1	120-122	118-120 ^[26]

2j	77,4	101-104	--
2k	79,4	182	164-165 ^[28]
2l	50,3	114-115	99-100 ^[29]
2m	76,6	102-104	99-100 ^[30]

^aAs reações foram realizadas utilizando 5 mmol de 2'-hidroxiacetofenona, 5 mmol de aldeído e 15 mmol de NaOH, em 30 mL de etanol, sob agitação por 24 horas.

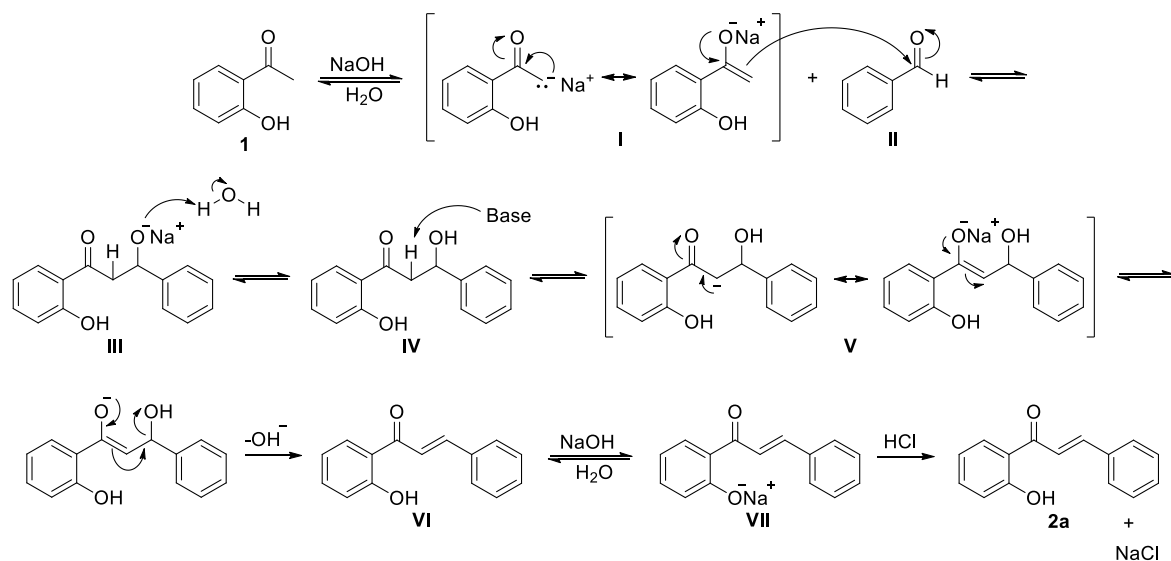
5.1.1. Proposta de mecanismo de reação para a obtenção das 1-(2-hidroxifenil)enonas

O mecanismo proposto se trata de uma condensação aldólica entre aldeídos e cetonas.

Com intuito de facilitar o entendimento do mecanismo no **Esquema 17**, não foi ilustrado a abstração do próton fenólico e o equilíbrio prototrópico entre as espécies intermediárias.

No primeiro passo a base abstrai o hidrogênio α ácido da 2'-hidroxiacetofenona **1** gerando o íon enolato **I**, que é relativamente estável por ser um híbrido de duas formas canônicas de ressonância. O íon enolato **I** ataca o carbono carbonílico do aldeído **II** por adição nucleofílica formando o íon alcóxido **III**. A protonação do íon alcóxido **III** gera o produto de adição **IV** com a regeneração da base. A formação de enona conjugada **2a** ocorre pela abstração do hidrogênio α -carbonílico da estrutura **IV**, gerando o intermediário enolato, seguido pela eliminação da hidroxila e adição de HCl (**Esquema 17**).

Esquema 17



5.2. PREPARAÇÃO DOS CLORIDRATOS PIRAZOLÍNICOS TRI-SUBSTITUÍDOS

Na literatura são encontradas várias reações entre derivados de chalconas e hidrazinas resultando na formação de pirazóis e pirazolinas. Neste trabalho, o estudo das reações de condensação entre 1-(2-hidroxifenil)enonas **2** e cloridrato de aminoguanidina foram desenvolvidas sob condições semelhantes aos trabalhos já publicados por nosso grupo de pesquisa^[18-20].

Primeiramente, foi realizada uma simples otimização visando determinar a quantidade de cloridrato de aminoguanidina a ser utilizado. Portanto, a reação entre a 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona **2a** e cloridrato de aminoguanidina foi utilizada como modelo, a fim de escolher a melhor condição para obtenção do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3a**. A pureza dos produtos e o monitoramento das reações foram realizados por cromatografia em camada delgada e ponto de fusão. Os dados referentes a estes experimentos são mostrados na **Tabela 2**.

A fim de neutralizar o cloridrato de aminoguanidina foi utilizada a mesma equivalência de KOH, para que a reação ocorresse com a aminoguanidina na forma livre.

Tabela 2. Otimização das condições para a síntese do composto **3a**.^a

Experimento	HCl.Aminoguanidina	KOH	Tempo (min)	Rendimento (%)
1	3 mmol	3 mmol	30	71,3
2	2 mmol	2 mmol	30	77,3
3	1,5 mmol	1,5 mmol	30	-- ^b

^aA otimização foi realizada utilizando 1 mmol de 1-(2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona em 15 mL de etanol.

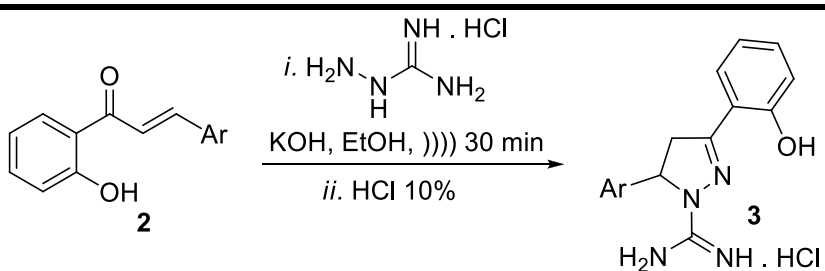
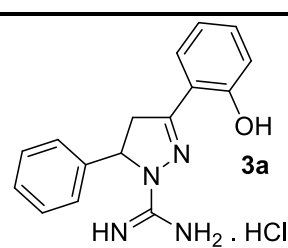
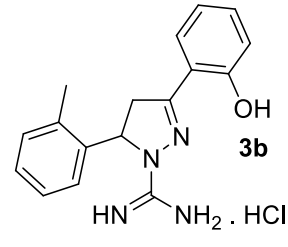
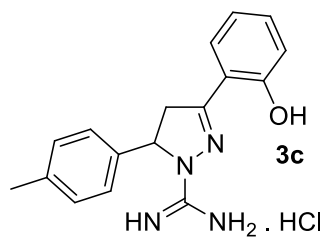
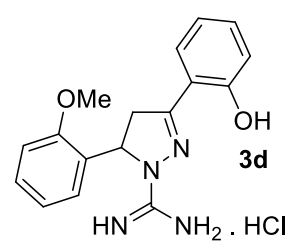
^bO produto não foi obtido puro, apresentou uma ampla faixa em seu ponto de fusão.

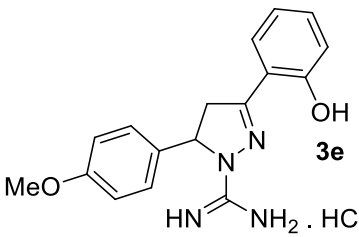
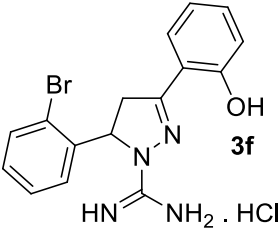
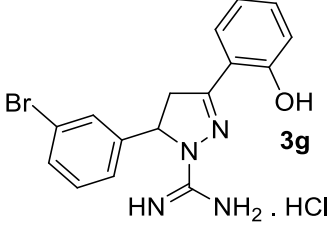
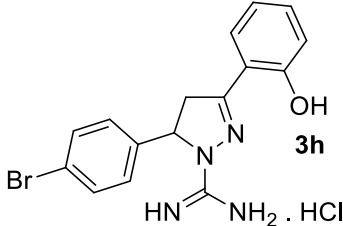
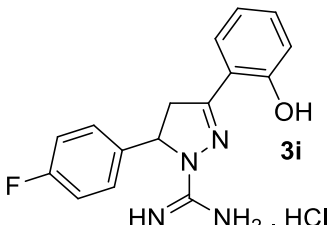
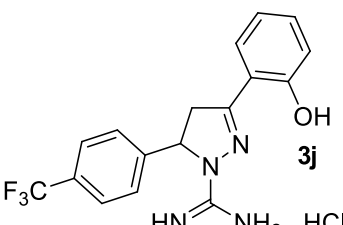
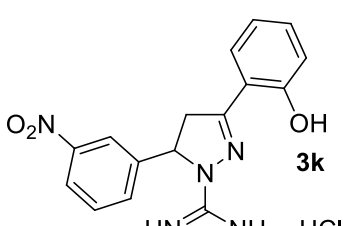
Como pode ser observado na **Tabela 2**, a melhor condição encontrada foi o experimento **2**, utilizando 2 equivalentes de cloridrato de aminoguanidina e de hidróxido de potássio, sob irradiação ultrassônica por 30 minutos. As substâncias dos experimentos **1** e **2**, ambos apresentaram o mesmo ponto de fusão e espectro de RMN. No experimento **3**, o produto obtido apresentou uma ampla faixa em seu ponto de fusão,

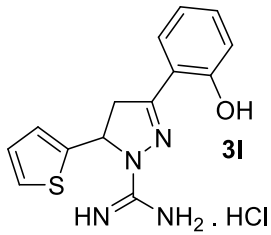
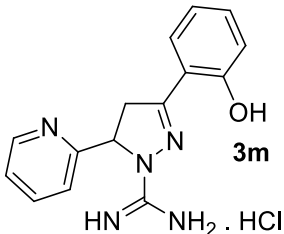
portanto, não foi realizada outra forma de caracterização para analisar a pureza e identificar o material sintetizado.

Fazendo uso das condições reacionais otimizadas para a síntese dos cloridratos pirazolínicos **3**, (**Tabela 2, Exp. 2**), iniciamos um estudo para avaliar o alcance e as limitações da transformação. A **Tabela 3** apresenta a estrutura dos compostos sintetizados e dados experimentais selecionados.

Tabela 3. Dados experimentais dos cloridratos pirazolínicos **3a-m**.^a

Experimento	Produto	Ponto de fusão (°C)	Rendimento(%)
			
1		294-296	77,3
2		282-284	64,3
3		273-274	83,2
4		290-293	73,2

5	 3e HN=NH₂ · HCl	274-276	80,3
6	 3f HN=NH₂ · HCl	279-282	60,4
7	 3g HN=NH₂ · HCl	308-309	44,8
8	 3h HN=NH₂ · HCl	277-279	68,1
9	 3i HN=NH₂ · HCl	272-275	74,1
10	 3j HN=NH₂ · HCl	294-296	63,1
11	 3k HN=NH₂ · HCl	311-312	15,5

12	 <chem>Nc1nc2c(cc1)sc2-c3ccccc3O.Cl</chem> 3l	264-267	78,1
13	 <chem>Nc1nc2c(cc1)ccn2-c3ccccc3O.Cl</chem> 3m	276-278	24,8

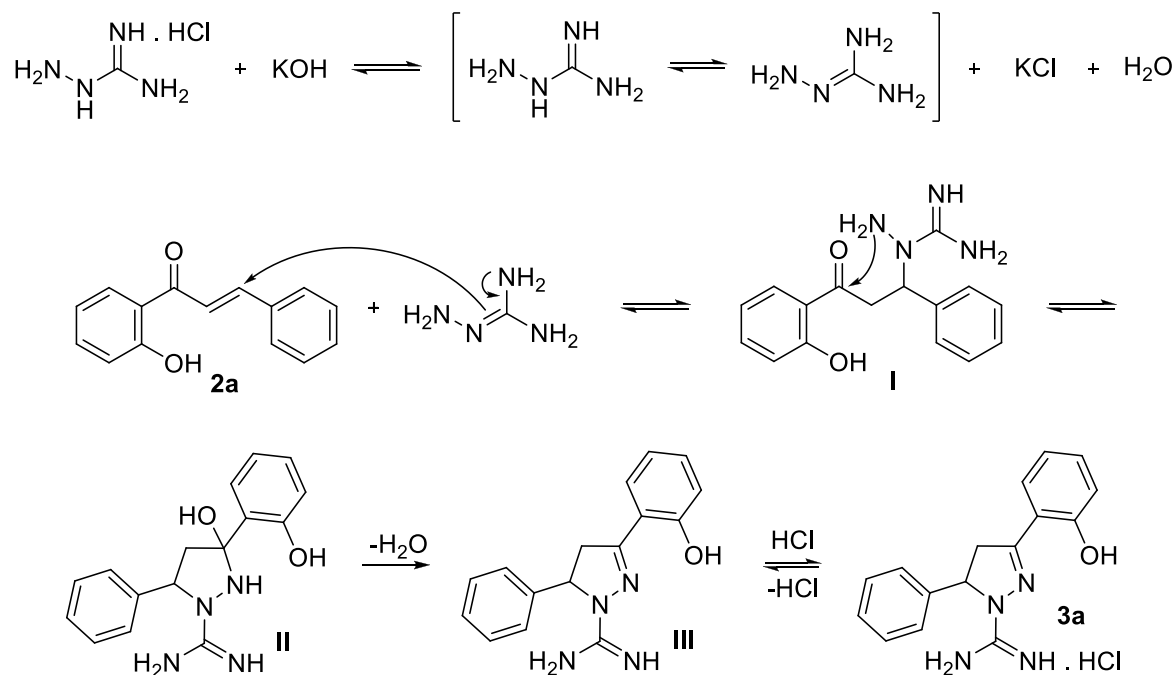
^aAs reações foram realizadas utilizando 1 mmol de 1-(2-hidroxifenil)enona, 2 mmol de cloridrato de aminoguanidina e 2 mmol de KOH, em 15mL de etanol.

Como mostrado na **Tabela 3**, os compostos sintetizados **3** apresentaram rendimentos de 15,5 a 83,2%. Pode ser observado que a posição dos substituintes influenciou significativamente nos valores dos rendimentos. Analisando o efeito estérico como um fator determinante para os resultados, os cloridratos pirazolínicos *orto*-substituídos (**3b,d,f**) foram obtidos em menores rendimentos em comparação aos substituídos na posição *para* (**3c,e,h**). Nota-se, que grupos retiradores de elétrons substituídos na posição 4 do anel aromático (**3h,i,j**) proporcionaram rendimentos menores quando comparados com grupos doadores de elétrons (**3c,e**). Da mesma forma ocorre com os grupos substituídos na posição 2. Em relação aos heteroarilsubstituídos (**3l,m**), o uso de 2-piridinil não apresentou resultado satisfatório, enquanto o 2-tiofenil substituído proporcionou ótimo rendimento.

5.2.1. Proposta de mecanismo de reação para a obtenção dos cloridratos pirazolínicos

De acordo com a literatura, a proposta do mecanismo inicia com a neutralização do cloridrato de aminoguanidina com KOH. A aminoguanidina em sua forma livre pode apresenta-se em duas formas tautoméricas mostradas no esquema (**Esquema 18**)^[33]. Após a neutralização, o par de elétrons da imina interna adiciona no carbono β-carbonílico da 1-(2-hidroxifenil)enona **2a** resultando no aduto **I**. Em uma ciclização intramolecular, o nitrogênio primário ataca a carbonila formando o intermediário **II**, que sofre desidratação chegando ao produto **III**. Por fim, com a adição de HCl obtém-se o cloridrato pirazolínico **3a** (**Esquema 18**)^[20].

Esquema 18

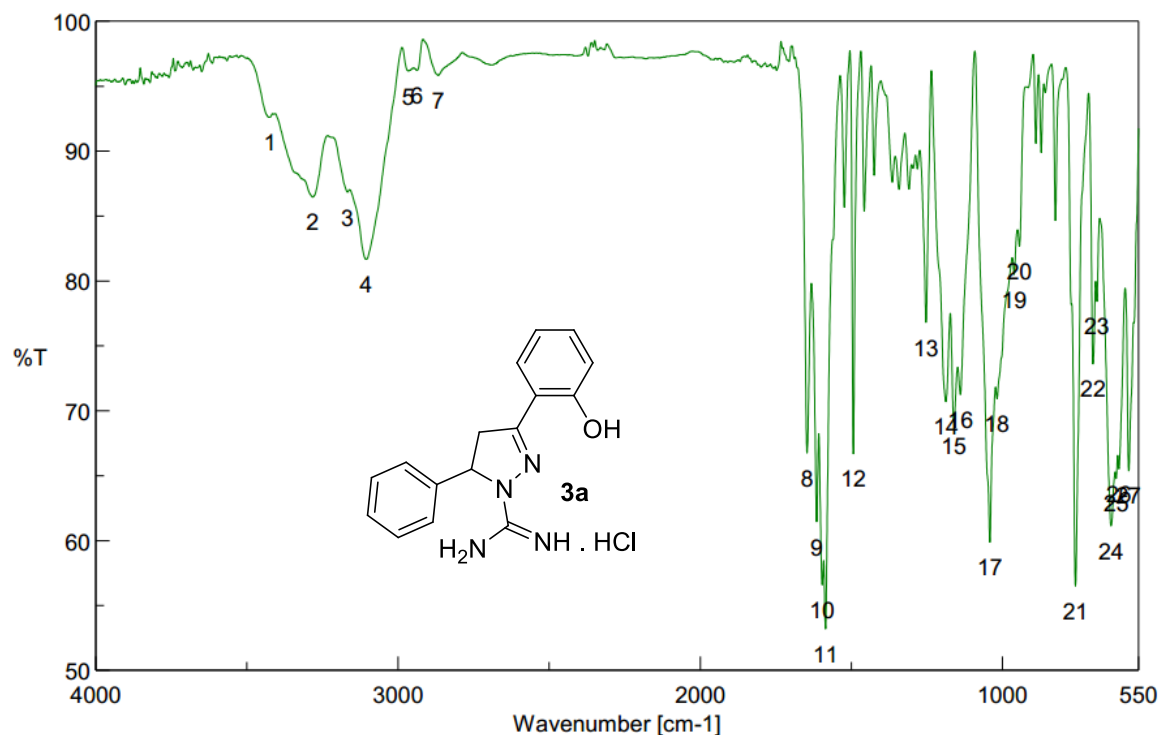


5.3. CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DO COMPOSTO **3a**

O cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3a**, foi escolhido para ser discutido, por apresentar análise de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C e Raio-X.

5.3.1. Espectroscopia de infravermelho do composto **3a**

A **Figura 5** demonstra o espectro de infravermelho do composto **3a** obtido em ATR. Observam-se duas bandas de 3282 e 3167 cm^{-1} , referentes ao estiramento N-H. Em 3105 cm^{-1} possui uma banda característica de estiramento $\text{Csp}^2\text{-H}$. As bandas presentes nas regiões entre 1646 a 1585 cm^{-1} podem ser referentes aos estiramentos C=C dos anéis aromáticos, ao grupo C=N e aos dobramentos N-H. Finalizando, a banda presente em 1493 cm^{-1} é característica do estiramento C=C de anéis aromáticos.



No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3423.99	92.5938	2	3282.73	86.4426	3	3167.51	86.8287
4	3105.8	81.6597	5	2965.98	96.1565	6	2937.06	96.1997
7	2867.15	95.8315	8	1646.43	66.7402	9	1615.09	61.4335
10	1596.77	56.5719	11	1585.68	53.1842	12	1493.6	66.6694
13	1253.02	76.8019	14	1187.45	70.6883	15	1160.94	69.2122
16	1139.24	71.2275	17	1041.85	59.8721	18	1018.23	70.9201
19	961.341	80.4798	20	943.985	82.6488	21	758.37	56.5
22	700.516	73.5909	23	687.498	78.4025	24	640.733	61.1161
25	623.859	64.7719	26	614.699	65.5006	27	582.397	65.3565

Figura 5: Espectro de infravermelho do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a**.

5.3.2. Espectroscopia de RMN do composto **3a**

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C apresentam sinais além do produto esperado, referente ao etanol como solvato. O etanol presente nas análises de RMN é ilustrado com maior clareza na difração de Raio-X.

As **Figura 6** e **7** ilustram os dados de RMN de ^1H do composto **3a**. O espectro apresentado mostra um simpleto em 10,03 ppm, referente ao hidrogênio da hidroxila. Em 8,03 ppm o simpleto largo é referente aos quatro hidrogênios do grupo $\text{C}(\text{NH}_2)_2$. Os hidrogênios dos anéis aromático aparecem como cinco multipletos nas regiões de 7,80 a 7,78 ppm (1H), 7,43 a 7,31 ppm (4H), 7,26 a 7,23 ppm (2H), 7,07 a 7,05 ppm (1H) e em 6,95 a 6,90 ppm (1H). Os picos referentes aos dois hidrogênios diastereotópicos do ciclo pirazólico foram observados como, duplete de dupletes em 4,15 ppm com $J = 18,3$ e

11,2 Hz para H_B e um multipeto em 3,53 a 3,41 ppm referente a H_A, que se encontra sobreposto com o pico da água presente no DMSO-*d*₆ e do etanol como solvato. Finalizando, observa-se um multipeto em 5,93 a 5,89 ppm para H_X.

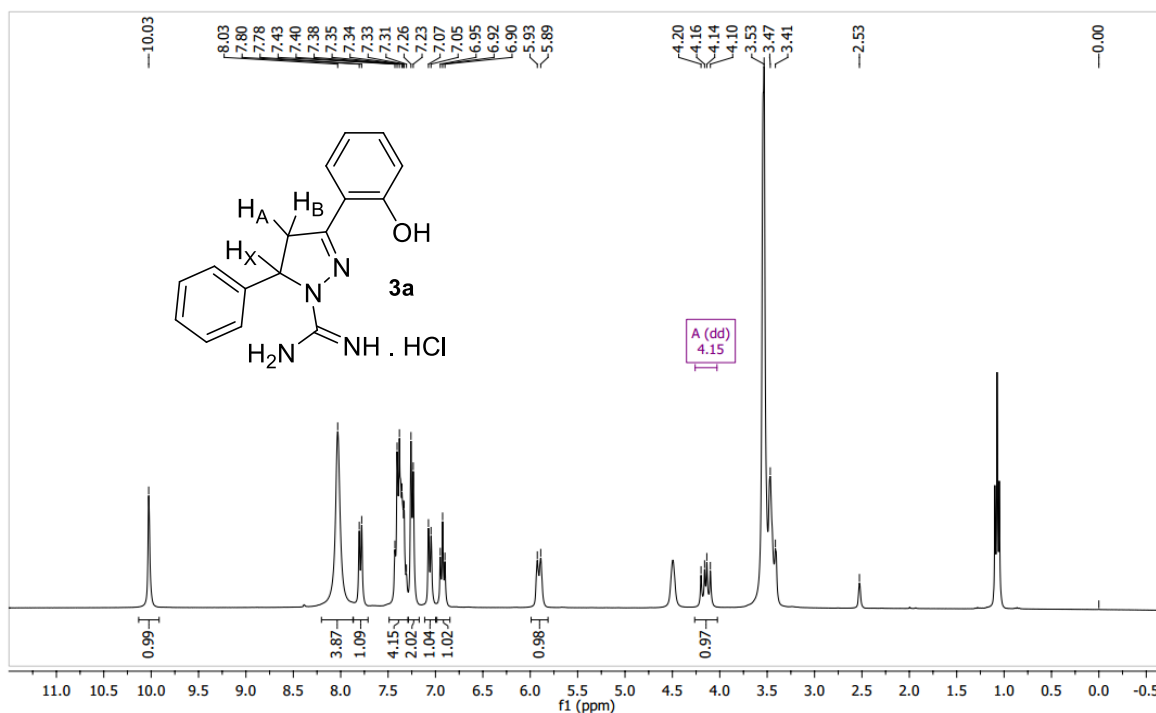


Figura 6: Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a**, em DMSO-*d*₆.

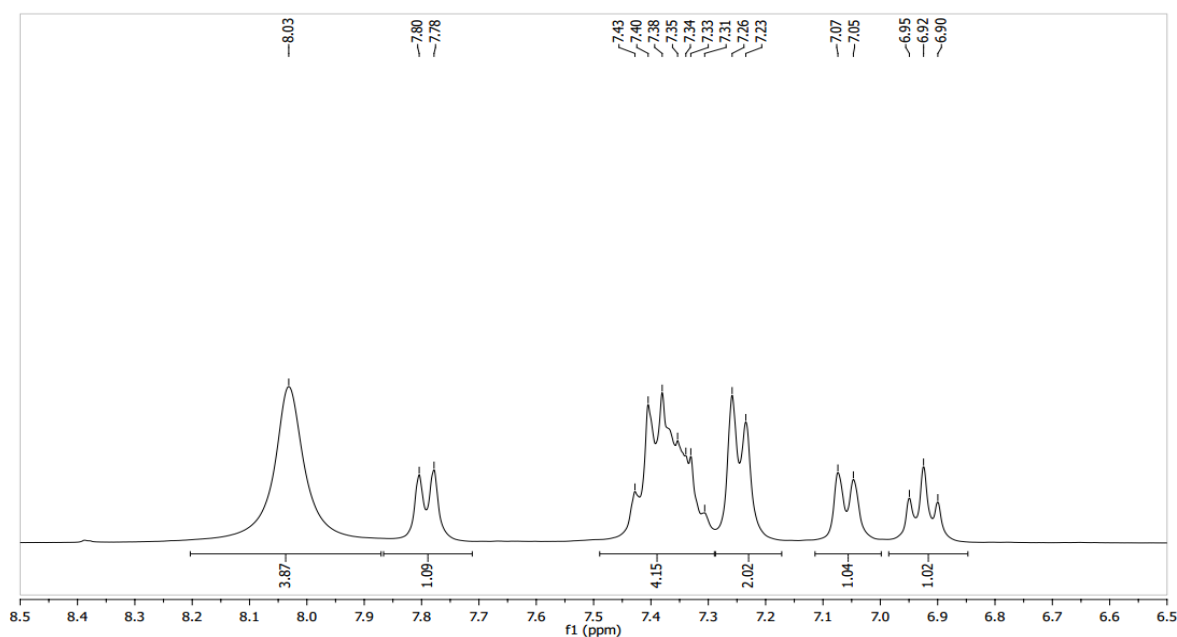
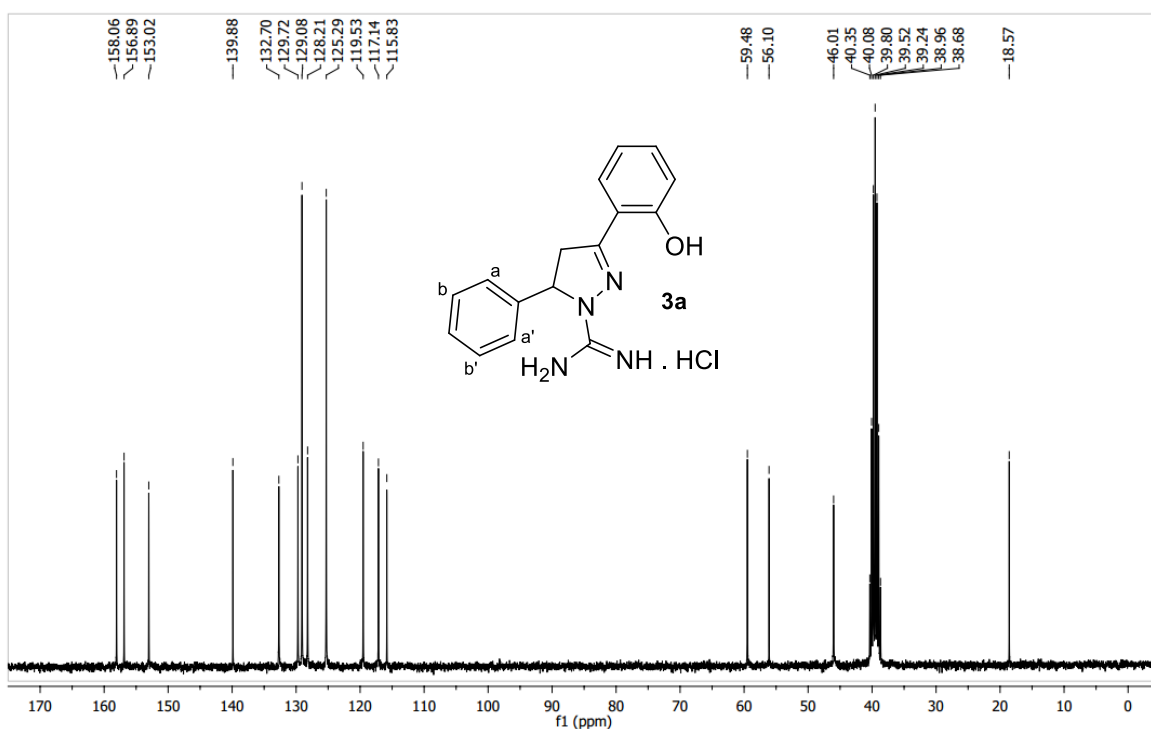


Figura 7: Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.

No espectro de RMN de ^{13}C apresentado na **Figura 8**, observa-se dois picos em 158,1 e 156,9 ppm referentes aos carbonos $\text{C}(\text{NH}_2)_2$ e $\text{C}-\text{OH}$ do anel aromático. Em 153,0 ppm apresenta um sinal do grupo $\text{C}=\text{N}$ pertencente ao ciclo pirazolínico. Entre 139,9 a 115,8 ppm estão os nove picos referente aos demais carbonos dos anéis aromáticos, sendo que, $a = a'$ e $b = b'$ apresentam o mesmo deslocamento químico. Por fim, os sinais em 59,5 e 46,0 ppm são relacionados aos carbonos CH e CH_2 , respectivamente. Os picos em 56,1 e 18,6 ppm correspondem aos carbonos CH_2 e CH_3 do etanol.



Para auxiliar na caracterização do RMN de ^{13}C a **Figura 9** ilustra a análise do DEPT-135. De acordo com a estrutura proposta do composto **3a**, nota-se a ausência de cinco picos correspondentes aos carbonos quaternários em 158,1, 156,9, 153,0, 139,9 e 115,8 ppm. A fase positiva do espectro mostra oito sinais de referentes aos dez carbonos $\text{C}-\text{H}$, visto que no anel monosubstituído, $a = a'$ e $b = b'$ e a fase negativa mostra um sinal em 46,01 ppm, que pertence ao carbono CH_2 .

Finalizando, o pico em fase negativa em 56,1 ppm e em fase positiva em 18,6 ppm, referem-se aos carbonos CH_2 e CH_3 do solvato, respectivamente.

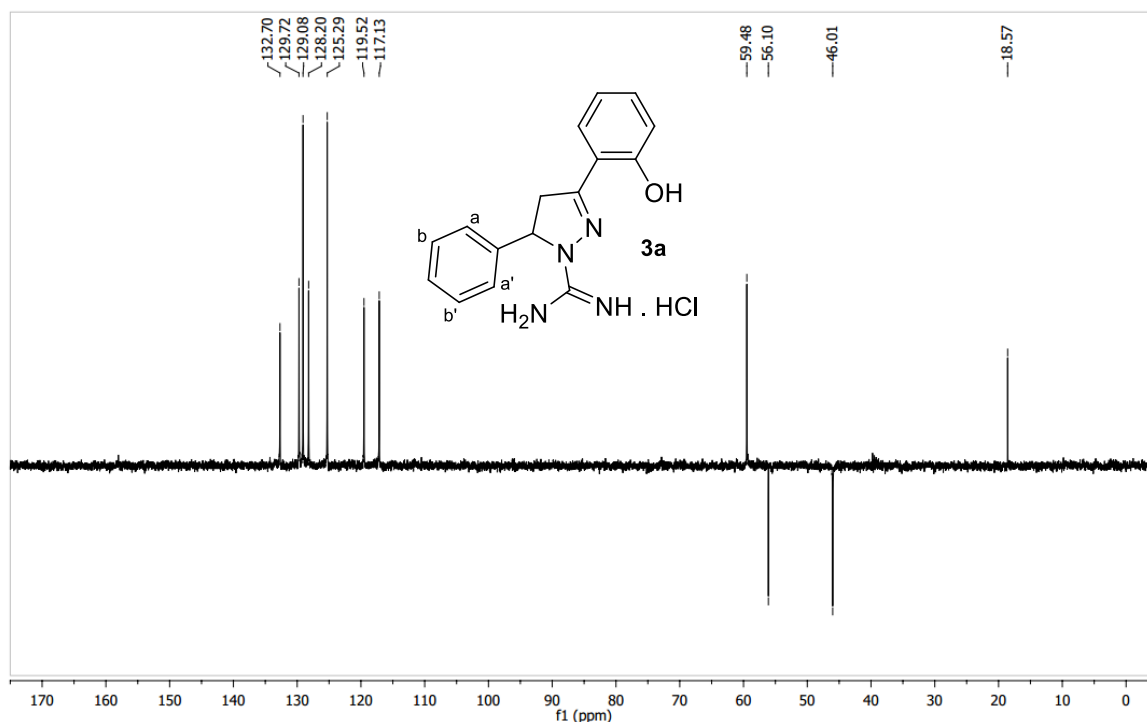


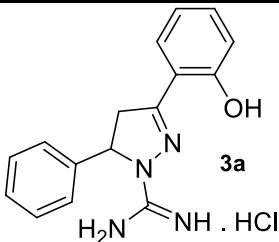
Figura 9: DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.

5.3.3. Determinação da Estrutura Cristalina do Composto **3a**

A estrutura deste composto foi resolvida empregando-se métodos diretos, com o programa SHELXS-97^[34]. Os refinamentos foram efetuados com pacote de programas SHELXL-97^[35], envolvendo o método de matriz completa/mínimos quadrados dos fatores estruturais F^2 , com parâmetros de deslocamentos térmicos anisotrópicos para todos os átomos não hidrogenoides.

Os átomos de hidrogênio foram incluídos no refinamento em posições calculadas, baseada na geometria completa fragmentos moleculares, na forma de grupos vinculados aos respectivos átomos não hidrogenoides. As representações gráficas das estruturas cristalinas foram executadas utilizando-se o programa ORTEP 3^[36]. A **Tabela 4** reúne as informações da coleta de intensidades e dados do refinamento da estrutura cristalina. O composto pertence ao sistema cristalino Monoclínico, grupo espacial $P2_1/c$, N° 14 da *International Tables for Crystallography*^[37].

Tabela 4. Dados da coleta de intensidades e do refinamento da estrutura cristalina do composto **3a**.

	
Fórmula molecular	C ₁₈ H ₂₃ ClN ₄ O ₂
Peso molecular (g.mol ⁻¹)	362,85
Sistema cristalino	Monoclinico
Grupo espacial	P2 ₁ /c(N° 14)
Parâmetros de cela	
<i>a</i> (Å)	11,4290(5)
<i>b</i> (Å)	15,2989(9)
<i>c</i> (Å)	10,3794(5)
<i>α</i> (°)	90
<i>β</i> (°)	102,713(2)
<i>γ</i> (°)	90
<i>V</i> (Å ³)	1770,36(16)
<i>Z</i>	4
Coeficiente linear de absorção <i>μ</i> (mm ⁻¹)	0,236
Dimensão do cristal (mm)	0,2 x 0,19 x 0,18
F(000)	768
Região de varredura angular <i>θ</i> (°)	2,26 - 29,19
Índices de varredura <i>h, k, l</i>	-15 ≤ <i>h</i> ≤ 15 -18 ≤ <i>k</i> ≤ 20 -14 ≤ <i>l</i> ≤ 13
Número de reflexos coletados	10281
Correção de absorção	Semi-empírica de equivalentes
Transmissão	<i>T</i> _{min} = 0,9444 <i>T</i> _{max} = 0,9688
Método de refinamento	M.C / M.Q. <i>F</i> ²
Dado / restrições / parâmetros	4774 / 0 / 226

Goodness-of-fit (F^2)	1,082
Índices de discordância final	R1 = 0,0602
	wR2 = 0,1455
Índices de discordância final (dados totais)	R1 = 0,1199
	wR2 = 0,2111
Densidade eletrônica residual (e. Å ⁻³)	0,315 e -0,379

Analisando a estrutura da substância representada na **Figura 10**, observa-se a presença de um ânion cloreto como contra-íon e um etanol como solvato. O balanço de cargas se deve a carga positiva deslocalizada entre o sistema N4-C4-N3, evidenciado pelas distâncias de ligações N3-C4 = 1,325 Å e C4-N4 = 1,323 Å, valores inferiores aos de ligações simples C-N, e superiores aos de duplas ligações C=N, com ângulo de ligação entre N4-C4-N3 de 120,3°. Demais comprimentos e ângulos de ligações podem ser visualizados na **Tabela 5**.

Comparando o ângulo e comprimentos de ligações do grupo amidino ($-C(NH_2)_2$) apresentado na análise de raios X do composto **3a** com a literatura, observaram-se valores muito próximos com o trabalho realizado por Koskinen e colaboradores em relação ao cloridrato de aminoguanidina, além de ilustrar o ânion cloreto como contra-íon da estrutura monocátion (**Figura 11**)^[33].

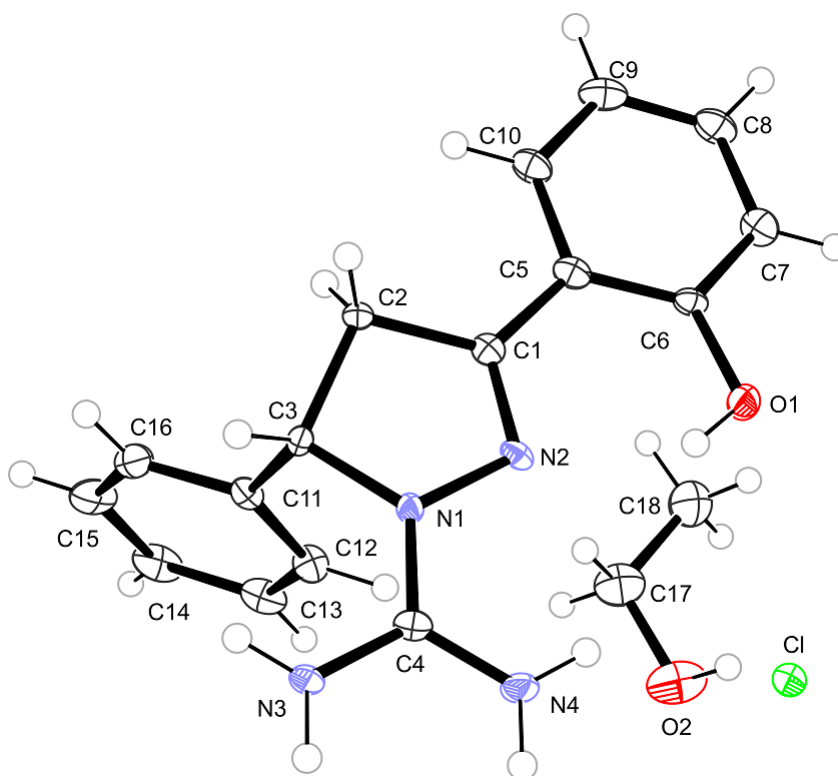


Figura 10: Projeção ORTEP do composto **3a**.

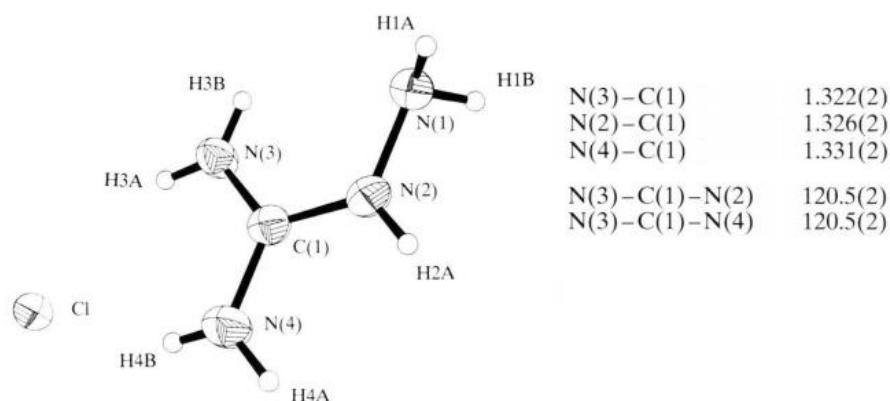


Figura 11: Figura retirada do trabalho de Koskinen ilustrando o comprimento e ângulo de ligação e estrutura do cloridrato de aminoguanidina^[33].

Tabela 5. Comprimentos e ângulos de ligação do composto **3a**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
O(1)-C(6)	1,363(3)	C(1)-N(2)-N(1)	107,5(2)
N(2)-C(1)	1,293(4)	C(4)-N(1)-N(2)	119,9(2)
N(2)-N(1)	1,413(3)	C(4)-N(1)-C(3)	126,1(2)
O(2)-C(17)	1,411(4)	N(2)-N(1)-C(3)	112,0(2)
N(1)-C(4)	1,343(4)	C(12)-C(11)-C(16)	119,0(3)
N(1)-C(3)	1,475(4)	C(12)-C(11)-C(3)	122,2(3)
N(3)-C(4)	1,325(4)	C(16)-C(11)-C(3)	118,6(3)
N(4)-C(4)	1,323(4)	C(10)-C(5)-C(6)	118,3(3)
C(11)-C(12)	1,396(4)	C(10)-C(5)-C(1)	118,3(3)
C(11)-C(16)	1,396(4)	C(6)-C(5)-C(1)	123,5(3)
C(11)-C(3)	1,511(4)	N(4)-C(4)-N(3)	120,3(3)
C(5)-C(10)	1,397(4)	N(4)-C(4)-N(1)	120,3(3)
C(5)-C(6)	1,409(4)	N(3)-C(4)-N(1)	119,4(3)
C(5)-C(1)	1,456(4)	C(1)-C(2)-C(3)	101,9(2)
C(2)-C(1)	1,512(4)	C(9)-C(10)-C(5)	121,8(3)
C(2)-C(3)	1,554(4)	C(8)-C(7)-C(6)	120,1(3)
C(10)-C(9)	1,386(4)	C(7)-C(8)-C(9)	121,3(3)
C(7)-C(8)	1,376(4)	N(1)-C(3)-C(11)	112,4(2)
C(7)-C(6)	1,394(4)	N(1)-C(3)-C(2)	99,7(2)
C(8)-C(9)	1,389(5)	C(11)-C(3)-C(2)	111,3(2)
C(12)-C(13)	1,392(4)	C(10)-C(9)-C(8)	118,6(3)
C(15)-C(14)	1,380(5)	O(1)-C(6)-C(7)	116,4(3)

C(15)-C(16)	1,387(5)	O(1)-C(6)-C(5)	123,6(3)
C(13)-C(14)	1,386(5)	C(7)-C(6)-C(5)	120,0(3)
C(18)-C(17)	1,486(5)	C(13)-C(12)-C(11)	120,0(3)
		C(14)-C(15)-C(16)	120,6(3)
		C(14)-C(13)-C(12)	120,5(3)
		N(2)-C(1)-C(5)	123,0(3)
		N(2)-C(1)-C(2)	113,3(3)
		C(5)-C(1)-C(2)	123,7(3)
		C(15)-C(16)-C(11)	120,3(3)
		C(15)-C(14)-C(13)	119,6(3)
		O(2)-C(17)-C(18)	113,6(3)

5.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA POR CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DOS CLORIDRATOS PIRAZOLÍNICOS

O estudo da concentração inibitória mínima (CIM) dos cloridratos pirazolínicos **3** apresentou atividade antimicrobiana frente às bactérias e leveduras estudadas. De acordo com a **Tabela 6**, nota-se que os diferentes substituintes utilizados no anel aromático e a sua posição influenciam no resultado final do teste.

Analisando os resultados de acordo com a posição de cada substituinte, a pirazolina **3c** (4-Me) mostrou-se mais eficiente em comparação ao **3b** (2-Me). As substâncias **3b** e **3c** apresentaram melhor resultado para as bactérias Gram-positivas, *S. aureus* e *E. faecalis*, enquanto o **3c** para a levedura *C. krusei* e *C. tropicalis*.

Utilizando o grupo –OMe no anel aromático, a pirazolina **3d** (2-OMe) apresentou melhor resultado em relação a **3e** (4-OMe), além disso, ambas foram aproximadamente eficazes frente as bactérias Gram-positivas. No que se refere a leveduras, a pirazolina **3d** mostrou-se melhor para *C. tropicalis* e *C. krusei*.

Para as bromo substituídas **3f** (2-Br), **3g** (3-Br) e **3h** (4-Br), nota-se que há uma boa diferença nos resultados, quando se compara a posição do substituinte. As pirazolinas **3g** e **3h** proporcionaram um melhor resultado para as bactérias Gram-negativas do que o **3f** e o mesmo é observado para as Gram-positivas. Para as *Candidas* a substância **3h** apresentou-se mais eficaz em relação às demais bromo substituídas.

Apesar de estarem na mesma posição, as substâncias fluoradas **3i** (4-F) e **3j** (4-CF₃) proporcionaram resultados bastante diferentes entre todos os microrganismos, sendo que a mais eficiente foi a **3j**, principalmente frente as bactérias.

Analisando as *meta*-substituídas **3g** (3-Br) e **3k** (3-NO₂), nota-se que a mudança do substituinte influenciou de forma significativa no resultado do teste, onde a pirazolina **3k** mostrou ser eficaz contra as bactérias Gram-positivas e leveduras.

As heteroaril substituídas **3l** (tiofen-2-il) e **3m** (piridin-2-il) proporcionaram resultados bem distintos uma da outra, onde a pirazolina **3m** não mostrou nenhuma atividade frente às leveduras e valores não tão satisfatórios contra as bactérias.

Em relação ao antibiótico Cloranfenicol, foram encontrados valores das Concentrações Inibitórias Mínimas bem aproximadas entre ele e as pirazolinas **3b**, **3c**, **3d**, **3j** e **3k**, frente *Staphylococcus aureus*, sendo a CIM de 31,2 µg.mL⁻¹. Além disso, a pirazolina **3h** apresentou a CIM de 7,8 µg.mL⁻¹ para esta bactéria, sendo menor que a própria concentração do Cloranfenicol e próxima a CIM da Ampicilina, outro antibiótico utilizado. Outras Concentrações Inibitórias Mínimas também foram próximas aos padrões utilizados, que é o caso das pirazolinas **3j** e **3k**, que apresentaram CIM de 31,2 µg.mL⁻¹ frente *Enterococcus faecalis*, enquanto o Cloranfenicol apresentou CIM de 16 µg.mL⁻¹, além disso, a pirazolina **3h** apresentou CIM menor que o próprio Cloranfenicol, sendo 7,8 µg.mL⁻¹ para este microrganismo.

Entre as leveduras, a pirazolina **3c** apresentou a mais eficiente Concentração Inibitória Mínima, que foi frente *Candida krusei*, sendo 31,2 µg.mL⁻¹ muito próxima ao antifúngico Fluconazol com CIM de 32 µg.mL⁻¹. Para as demais leveduras, as substâncias não demonstraram resultados próximos aos padrões utilizados no teste.

A análise da Concentração Bactericida Mínima (CBM), que define qual a concentração capaz de matar os microrganismos, mostrou que as pirazolinas **3f**, **3g** e **3h** apresentaram resultados menores que o Cloranfenicol, frente *Salmonella* Enteritidis. A pirazolina **3j** apresentou menor CBM para *S. Enteritidis* e *E. coli*, que o próprio Cloranfenicol e a **3k** também apresentou menor CBM para *S. Enteritidis* que o mesmo antibiótico. No caso das leveduras, a pirazolina **3c** mostrou Concentração Fungicida Mínima menor do que o Fluconazol frente *Candida krusei*.

Tabela 6. Atividade antimicrobiana em $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos cloridratos de 4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamidas **3** contra bactérias Gram-negativas, Gram-positivas e leveduras do gênero *Candida*.

		Microrganismos															
		Gram-negativa				Gram-positiva				Leveduras							
		<i>S. Enteritidis</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>	
Substâncias		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
3a	Ph	250	500	250	500	62,5	250	62,5	125	250	250	250	250	250	250	1.000	1.000
3b	Ph-2-Me	250	250	250	250	31,2	62,5	62,5	62,5	125	125	125	125	500	500	500	1.000
3c	Ph-4-Me	125	250	125	250	31,2	62,5	62,5	62,5	31,2	62,5	62,5	62,5	125	125	250	500
3d	Ph-2-OMe	250	500	250	250	31,2	62,5	62,5	62,5	125	250	125	125	250	250	250	500
3e	Ph-4-OMe	250	500	250	500	62,5	125	62,5	62,5	250	500	500	500	500	500	1.000	1.000
3f	Ph-2-Br	125	125	250	250	250	500	125	125	250	250	250	250	250	500	250	500
3g	Ph-3-Br	62,5	62,5	62,5	125	62,5	62,5	62,5	125	125	125	125	125	250	250	250	500
3h	Ph-4-Br	62,5	62,5	62,5	125	7,8	31,2	7,8	31,2	62,5	125	62,5	250	125	250	125	250
3i	Ph-4-F	125	250	125	250	125	250	125	250	250	500	250	250	500	500	500	1.000
3j	Ph-4-CF ₃	31,2	62,5	31,2	62,5	31,2	62,5	31,2	62,5	125	125	125	125	125	125	250	250
3k	Ph-3-NO ₂	62,5	125	125	125	31,2	125	31,2	62,5	125	250	62,5	125	125	250	125	250
3l	Tiofen-2-il	250	500	250	1.000	125	125	250	250	500	500	500	500	500	1.000	500	1.000
3m	Piridin-2-il	1.000	-	1.000	-	500	500	1.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CLO		4	128	4	64	32	-	16	-	*	*	*	*	*	*	*	*
AMP		1	1	4	16	4	16	0,5	1	*	*	*	*	*	*	*	*
FLC		*	*	*	*	*	*	*	*	32	64	2	-	0,5	4	2	-
AMB		*	*	*	*	*	*	*	*	0,25	0,25	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06

(*): Não testado. (-): Não houve inibição. **CIM:** Concentração Inibitória Mínima. **CBM:** Concentração Bactericida Mínima. **CFM:** Concentração Fungicida Mínima. **CLO:** Cloranfenicol. **AMP:** Ampicilina. **FLC:** Fluconazol. **AMB:** Anfotericina B.

5. CONCLUSÃO

Com base nos objetivos propostos inicialmente, foi possível obter as seguintes conclusões:

A preparação dos derivados de 1-(2-hidroxifenil)enonas **2a-m** foi facilmente alcançada com rendimentos de 38-83,2%, sob agitação em temperatura ambiente por 24 horas.

A reação entre as 1-(2-hidroxifenil)enonas **2** e cloridrato de aminoguanidina, sob condições sonoquímicas, mostrou ser muito eficiente para a obtenção dos cloridratos pirazolínicos **3a-m**. A técnica sonoquímica demonstrou ser muito eficaz, levando em conta o curto tempo de reação e rendimentos entre 15,5-82,3%, além do fato de não ter sido necessário purificação por cromatografia.

O efeito eletrônico dos grupos no anel aromático foi determinante nos valores dos resultados, pois os grupos doadores de elétrons favoreceram melhores rendimentos em comparação aos grupos retiradores de elétrons. Além disso, grupos substituídos na posição *orto* proporcionaram rendimentos menos satisfatórios em relação aos *para* substituídos.

As análises por espectroscopia de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C e a difração de raios X demonstraram que os produtos sintetizados apresentaram dados compatíveis com as estruturas propostas.

A análise da Concentração Inibitória Mínima (CIM) realizada com as substâncias sintetizadas demonstrou atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e as leveduras do gênero *Candida*, observando que a posição do substituinte no anel aromático gera uma influência significativa nos resultados do teste.

O melhor resultado do teste antimicrobiano foi para o cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3h**, frente *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, sendo que a CIM foi de 7,8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, proporcionando uma concentração menor quando comparado ao antibiótico Cloranfenicol.

6. REFERÊNCIAS

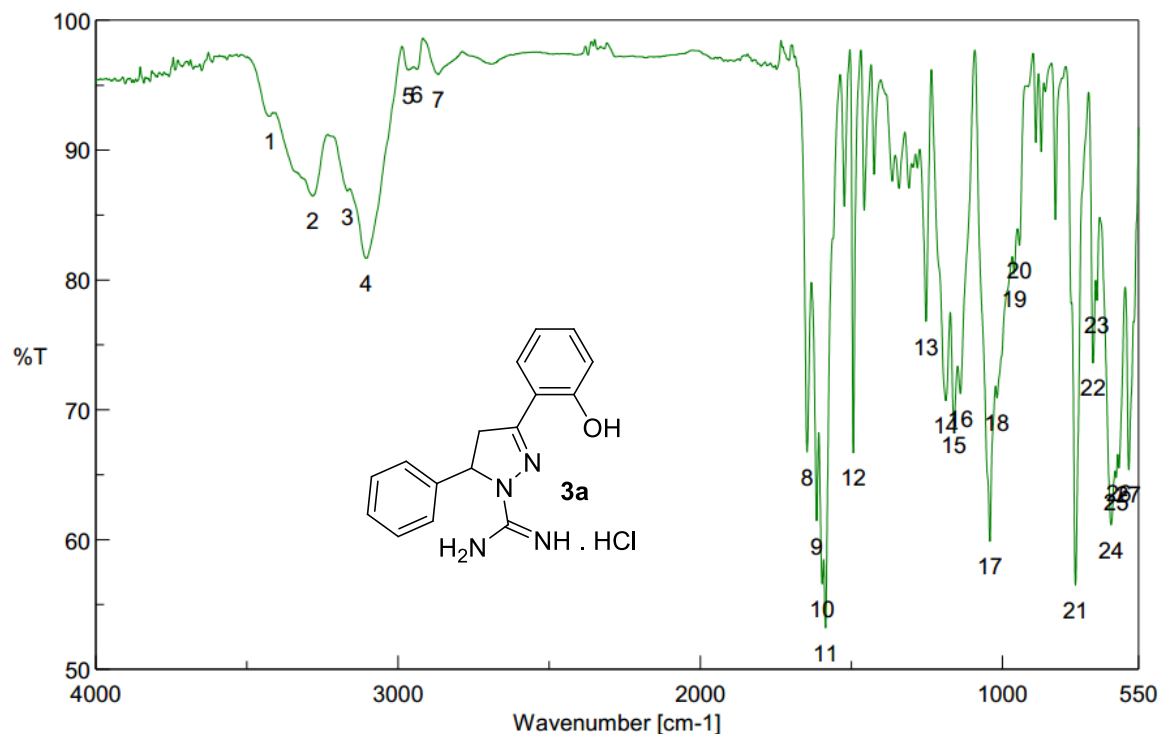
- [1] - (a) Stefani, H. A. *Introdução à química de compostos heterocíclicos*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, **2009**. (b) Davies, D. T.; *Aromatic Heterocyclic Chemistry*, Oxford Science Publication: Oxford, 1992. (c) Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P.; *Organic Chemistry*, Oxford: New York, **2007**.
- [2] - (a) Jamwal, A.; Javed, A.; Bhardwaj, V. J. *Pharm. BioSci*, **2013**, 3, 114. (b) Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G. K.; Sharma, A. K. *Eur. J. Med. Chem*, **2013**, 69, 735. (c) Netto, A. V. G.; Frem, R. C. G.; Mauro, A. E. *Quim. Nova*, **2008**, 31, 1208. (d) Melo, J. O. F.; Donnici, C. L.; Rodinei Augusti, R.; Ferreira, V. F.; Souza, M. C. B. V.; Ferreira, M. L. G.; Cunha, A. C. *Quim. Nova*, **2006**, 29, 569.
- [3] - Penning, T. D.; Talley, J. J.; Bertenshaw, S. R.; Carter, J. S.; Collins, P. W.; Docter, S.; Graneto, M. J.; Lee, L. F.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. M.; Rogers, R. S.; Rogier, D. J.; Yu, S. S.; Anderson, G. D.; Burton, E. G.; Cogburn, J. N.; Gregory, S. A.; Koboldt, C. M.; Perkins, W. E.; Seibert, K.; Veenhuizen, A. W.; Zhang, Y. Y.; Isakson, P. C. *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 1347.
- [4] - Terrett, N. K.; Bell, A. S.; Brown, D.; Ellis, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1819.
- [5] - Seltzmann, H. H.; Carroll, F. I.; Burgess J. P.; Wyrick, C. D.; Burch, D. F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1995**, 1549.
- [6] - Lahm, G. P.; Stevenson, T. M.; Selby, T. P.; Freudenberg, J. H.; Cordova, D.; Flexner, L.; Bellin, C. A.; Dubas, C. M.; Smith, B. K.; Hughes, K. A.; Hollingshaus, J. G.; Clark, C. E.; Benner, E. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 6274.
- [7] - Smith, K. E.; Wall, R.; Howard, J. J.; Strong, L.; Marchiondo, A. A.; Jeannin, Ph.; *Vet. Parasitol.*, **2000**, 88, 261.
- [8] - Joshi, J.; Sharma, S.; Guruprasad, K. N. *Pestic. Biochem. Phys.*, **2014**, 114, 61.
- [9] - (a) Elguero, J. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Rees, C. W., Eds.; Pergamon Press: Oxford, U.K., **1984**, 5, 167. (b) Elguero, J. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Katritzky, A. R.; Rees, C. W.; Scriven, E. F. V., Eds.; Pergamon Press: Oxford, U. K., **1996**, 3, 1. (c) Stanovnik, B.; Svete, J. In *Pyrazoles*; Neier, R., Ed.; Science of Synthesis, Houben-Weyl, Methods of Organic Transformations, Georg Thieme: Stuttgart, Germany, **2002**, 12, 15. (d) Yet, L. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*; Katritzky, A. R.; Ramsden, C. A.; Scriven, E. F. V.; Taylor, R. J. K., Eds.; Elsevier: Oxford, U.K., **2008**, 4, 1.

- [10] - Padwa, A., Pearson, W. H., Eds. *Synthetic Applications of 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry toward Heterocycles and Natural Products*; John Wiley and Sons; New York, **2002**.
- [11] - Goulioukina, N. S.; Makukhin, N. N.; Beletskaya, I. P. *Tetrahedron*, **2011**, 67, 9535.
- [12] - Winters, M. P.; Teleha, C. A.; Sui, Z. *Tetrahedron Lett.*, **2014**, 55, 2150.
- [13] - Ohtsuka, Y.; Uraguchi D.; Yamamoto, K.; Tokuhisa, K.; Yamakawa, T. *Tetrahedron*, **2012**, 68, 2636.
- [14] - Aggarwal, R.; Kumar, V.; Singh, S. P. *Indian J. Chem.*, **2007**, 46B, 1332.
- [15] - Zhang, X.; Kang, J.; Niu, P.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J. *J. Org. Chem.*, **2014**, 79, 10170.
- [16] - Zhang, H.; Wei, Q.; Zhu, G.; Qu, J.; Wang, B. *Tetrahedron Lett.*, **2016**, 57, 2633.
- [17] - Zhao, J.; Qiu, J.; Gou, X.; Hua, C.; Chen, B. *Chinese J. Catal.*, **2016**, 37, 571.
- [18] - Pizzuti, L.; Piovesan, L. A.; Flores, A. F. C.; Quina, F. H.; Pereira, C. M.P. *Ultrason. Sonochem.*, **2009**, 16, 728.
- [19] - Pizzuti, L.; Martins, P. L.G.; Ribeiro, B. A.; Quina, F. H.; Pinto, E.; Flores, A. F.C.; Venzke, D.; Pereira, C. M.P. *Ultrason. Sonochem.*, **2010**, 17, 34.
- [20] - (a) Santos, E. F. S.; Cury, N. M.; Nascimento, T. A.; Raminelli, C.; Casagrande, G. A.; Pereira, C. M. P.; Simionatto, E.; Yunes, J. A.; Pizzuti, L. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2017**, 2, 217. (b) Světlík, J.; Šallai, L.; *J. Heterocycl. Chem.*, **2002**, 39, 363.
- [21] - Ferreras, J. A.; Gupta, A.; Amin, N. D.; Basu, A.; Sinha, B. N.; Worgall, S.; Jayaprakash, V.; Quadri, L. E. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, 21, 6533.
- [22] - Armarego, W. L. F.; Perrin, D. D. *Purification of Laboratory Chemicals*; Butterworth-Heinemann: Oxford, **1996**, 4^a Ed.
- [23] - Karki, R.; Thapa, P.; Kang, M. J.; Jeong, T. C.; Nam, J. M.; Kim, H. L.; Na, Y.; Cho, W. J.; Kwon, Y.; Lee, E. S. *Bioorgan. Med. Chem.*, **2010**, 18, 3066–3077.
- [24] - Kumar, S.; Lamba, M. S.; Makrandi, J. K. *Green Chemistry Letters and Reviews*, **2008**, 1, 123-125.
- [25] - Vandrewalla, H. P.; Jadhav, G. V. *Indian Academy of Sciences, Section A*, **1948**, 28A, 125-31.
- [26] - Chen, R. C.; Yang, C. H. *Taiwan Yaoxue Zazhi*, **1951**, 3, 39-41.
- [27] - Nimavat, K. S.; Popat, K. H.; Vasoya, S. L.; Joshi, H. S. *Journal of the Institution of Chemists (India)*, **2002**, 74, 171-174.
- [28] - Fujise, S.; Fujii, R.; Maeda, T.; Takagi, K.; Nakamura, S. *Nippon Kagaku Zasshi*, **1953**, 74, 827-829.
- [29] - Revanasiddappa, B. C.; Subrahmanyam, E. V. S. *Journal of Indian Council of Chemists*, **2010**, 27, 96-98.

- [30] - Boehme, W.; Koo, J. *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 3589.
- [31] - (a) Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved standard, 9th. Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; **2012**. (b) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard*, CLSI document M27-A3, 3rd. Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, **2008**.
- [32] - (a) Stirrett, K. L.; Ferreras, J. A.; Jayaprakash V.; Sinha, B. N.; Ren, T.; Quadri, L. E. N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18, 2662. (b) Rostamizadeh, S.; Zekri, N.; Tahershamsi, L. *Chem. Heterocycl. Comp.*, **2015**, 51, 526.
- [33] - Koskinen, J. T.; Koskinen, M.; Mutikainen, I.; Mannfors, B.; Elo, H. *Z. Naturforsch.*, **1996**, 51b, 1771. Koskinen, J. T.; Koskinen, M.; Mutikainen, I.; Tilus, P. Mannfors, B.; Elo, H. *Z. Naturforsch.*, **1997**, 52b, 1259. Bharatam, P. V.; Iqbal, P.; Malde, A.; Tiwar, R. *J. Phys. Chem. A.*, **2004**, 108, 10509.
- [34] - Sheldrick, G.M.; *SHELXS-97, Program for Crystal Structure Solution*, Universidade de Gottingen, Alemanha, **1997**.
- [35] - Sheldrick, G.M.; *SHELXL-97 Program for Crystal Structure Refinement*, Universidade de Gottingen, Alemanha **1997**.
- [36] - Farrugia, L.J.; ORTEP 3 Program for Ellipsoid of Crystal Structures.; *J. Appl. Cryst.* **1997**, 30, 565.
- [37] - Hann, T.; *International Tables for Crystallography, Vol A: Space Group Symmetry*, 2nd ed. D. Reiel Publishing, Dordrecht, Países Baixos, **1987**.

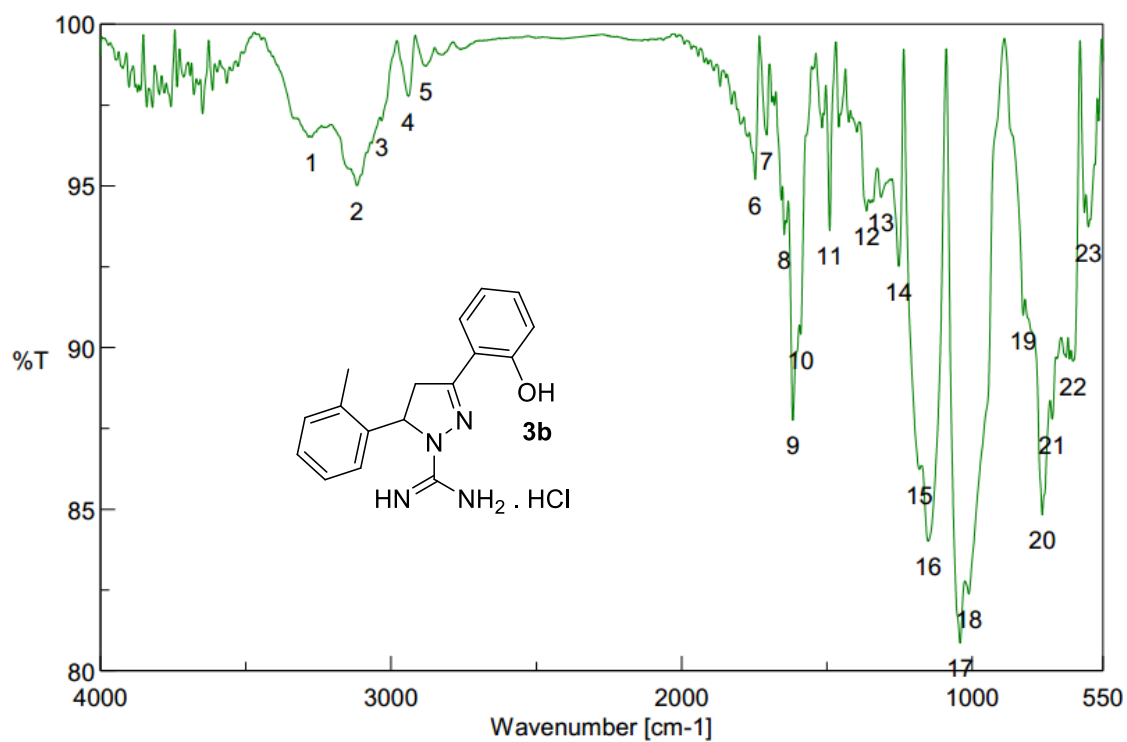
ANEXOS

ESPECTROS DE INFRAVERMELHO



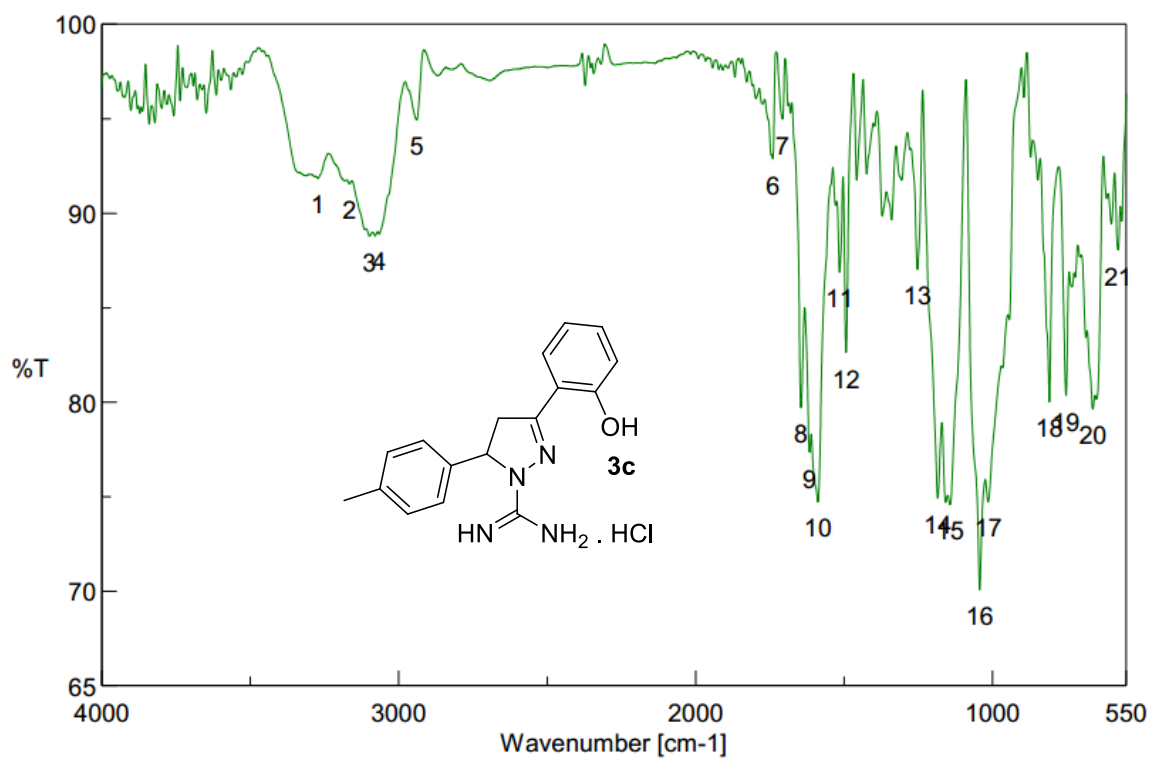
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3423.99	92.5938	2	3282.73	86.4426	3	3167.51	86.8287
4	3105.8	81.6597	5	2965.98	96.1565	6	2937.06	96.1997
7	2867.15	95.8315	8	1646.43	66.7402	9	1615.09	61.4335
10	1596.77	56.5719	11	1585.68	53.1842	12	1493.6	66.6694
13	1253.02	76.8019	14	1187.45	70.6883	15	1160.94	69.2122
16	1139.24	71.2275	17	1041.85	59.8721	18	1018.23	70.9201
19	961.341	80.4798	20	943.985	82.6488	21	758.37	56.5
22	700.516	73.5909	23	687.498	78.4025	24	640.733	61.1161
25	623.859	64.7719	26	614.699	65.5006	27	582.397	65.3565

Espectro de infravermelho do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3a**.



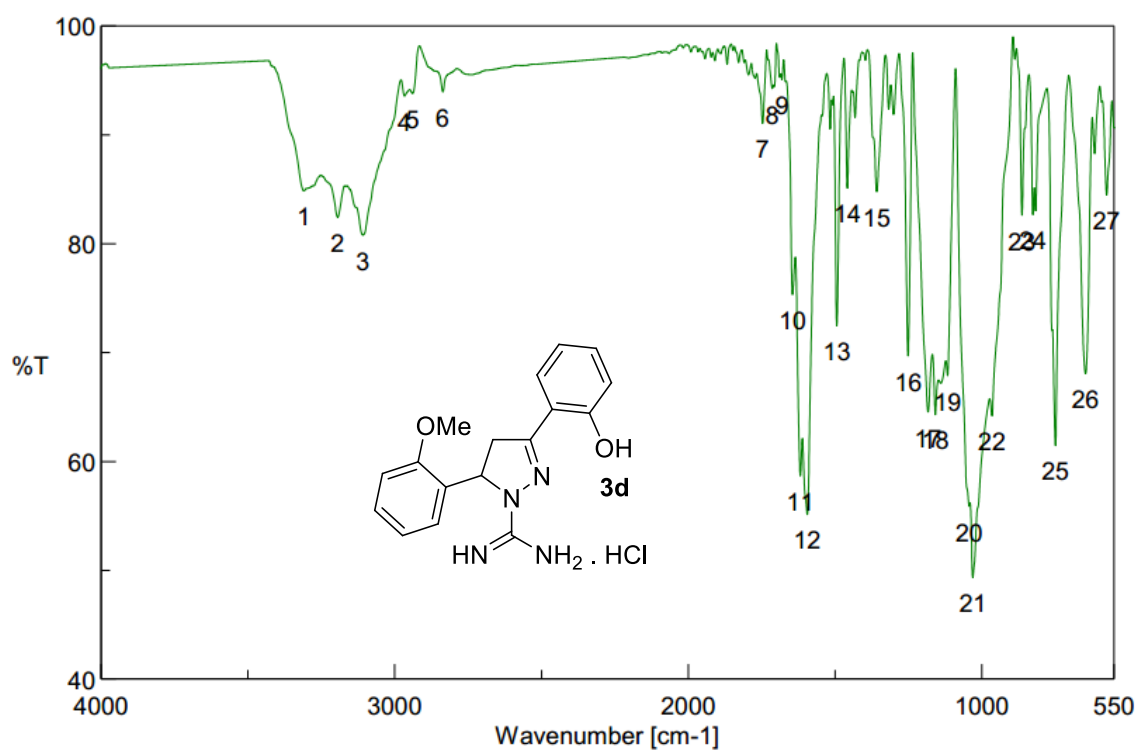
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3273.57	96.4977	2	3117.37	95.0014
3	3032.03	97.0064	4	2940.43	97.7683
5	2880.65	98.7015	6	1747.19	95.1927
7	1707.18	96.5653	8	1646.91	93.4904
9	1617.5	87.743	10	1590.5	90.4031
11	1490.7	93.6189	12	1363.43	94.2194
13	1313.77	94.6398	14	1253.02	92.5043
15	1182.15	86.2288	16	1151.78	84.0074
17	1041.37	80.8543	18	1011.48	82.375
19	824.42	90.9984	20	758.852	84.8238
21	724.621	87.7818	22	653.268	89.5798
23	599.753	93.7252			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-o-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3b**.



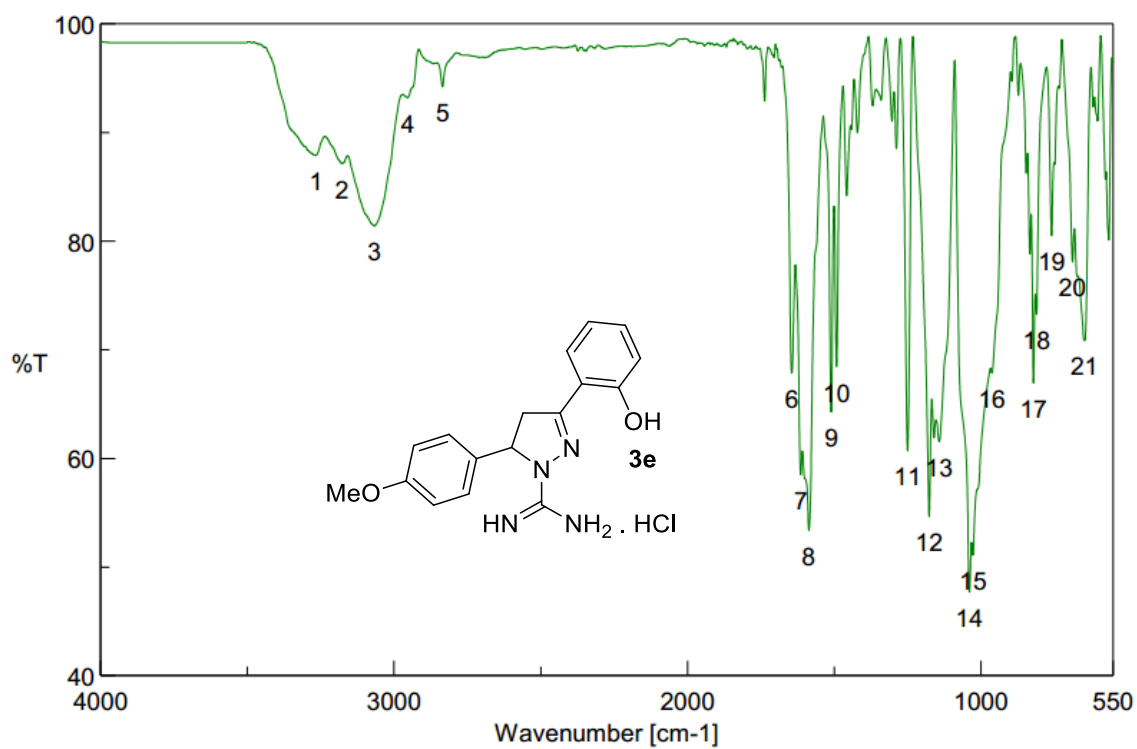
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3272.13	91.8253	2	3166.06	91.5361
3	3098.56	88.7821	4	3065.3	88.8825
5	2938.98	94.9307	6	1739.96	92.8593
7	1707.18	94.9627	8	1645.46	79.7097
9	1616.54	77.3416	10	1588.09	74.7188
11	1515.29	86.8786	12	1493.12	82.6142
13	1253.02	87.0097	14	1184.56	74.9089
15	1143.1	74.5821	16	1043.3	70.0607
17	1014.86	74.7102	18	808.51	80.0102
19	752.584	80.3425	20	662.428	79.625
21	577.094	88.0525			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c**.



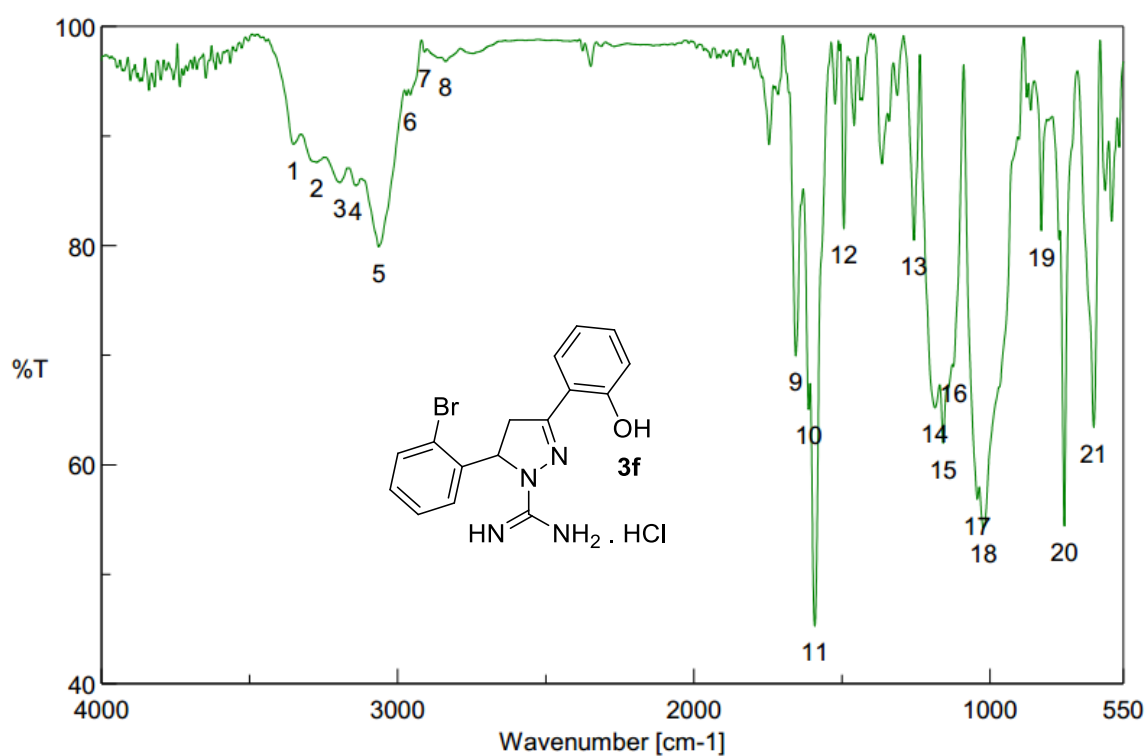
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3309.25	84.8296	2	3194.51	82.4216
3	3108.21	80.78	4	2966.95	93.5664
5	2939.47	93.7935	6	2836.29	93.9342
7	1747.19	91.0407	8	1713.92	94.2362
9	1681.14	95.0611	10	1644.98	75.3099
11	1618.47	58.6522	12	1594.84	55.0958
13	1494.08	72.4347	14	1458.4	85.0877
15	1358.12	84.7647	16	1251.58	69.6783
17	1183.6	64.5201	18	1158.53	64.2709
19	1116.58	67.8434	20	1043.78	55.8786
21	1030.77	49.321	22	965.68	64.1648
23	863.471	82.5986	24	826.348	82.6674
25	749.209	61.4396	26	647.001	68.0418
27	575.165	84.4656			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3d**.



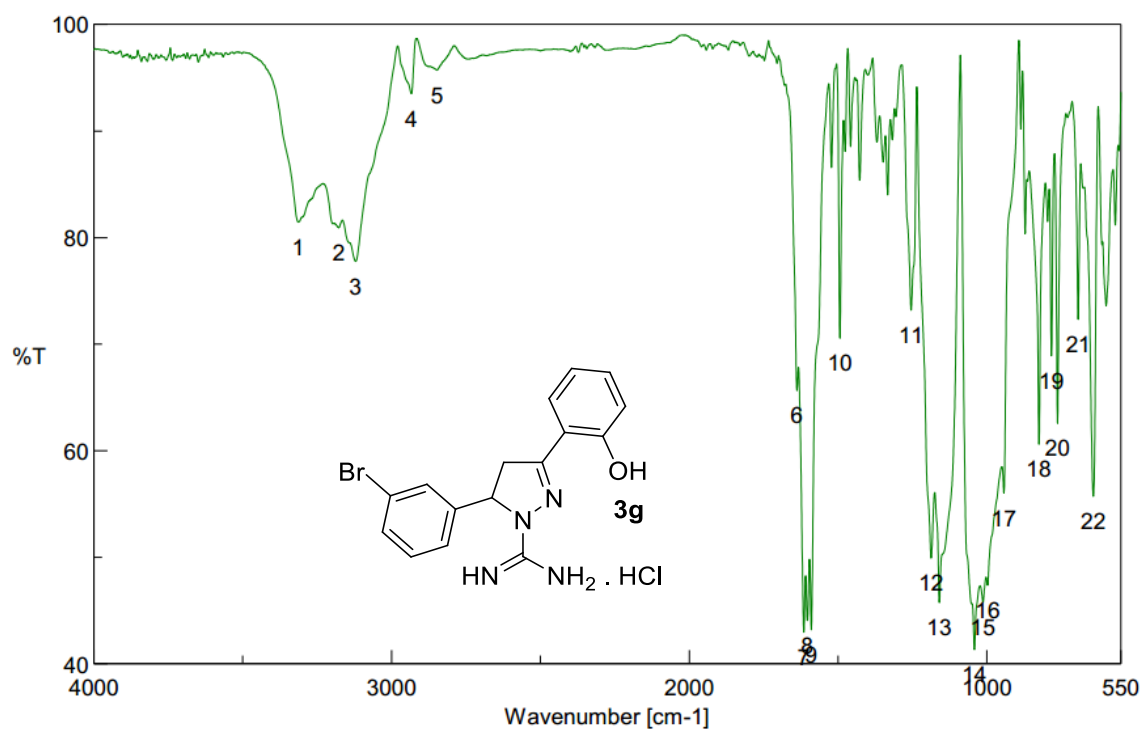
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3265.86	87.8873	2	3177.63	87.14
3	3066.26	81.3704	4	2952.97	93.1938
5	2834.85	94.1938	6	1644.98	67.8193
7	1614.61	58.4856	8	1586.65	53.3465
9	1510.47	64.2616	10	1492.15	68.4404
11	1250.13	60.7136	12	1176.85	54.6145
13	1142.62	61.5197	14	1039.44	47.6637
15	1027.87	51.0694	16	963.269	67.8481
17	821.527	66.9223	18	810.92	73.2383
19	759.816	80.4709	20	688.463	78.0817
21	648.447	70.8301			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3e**.



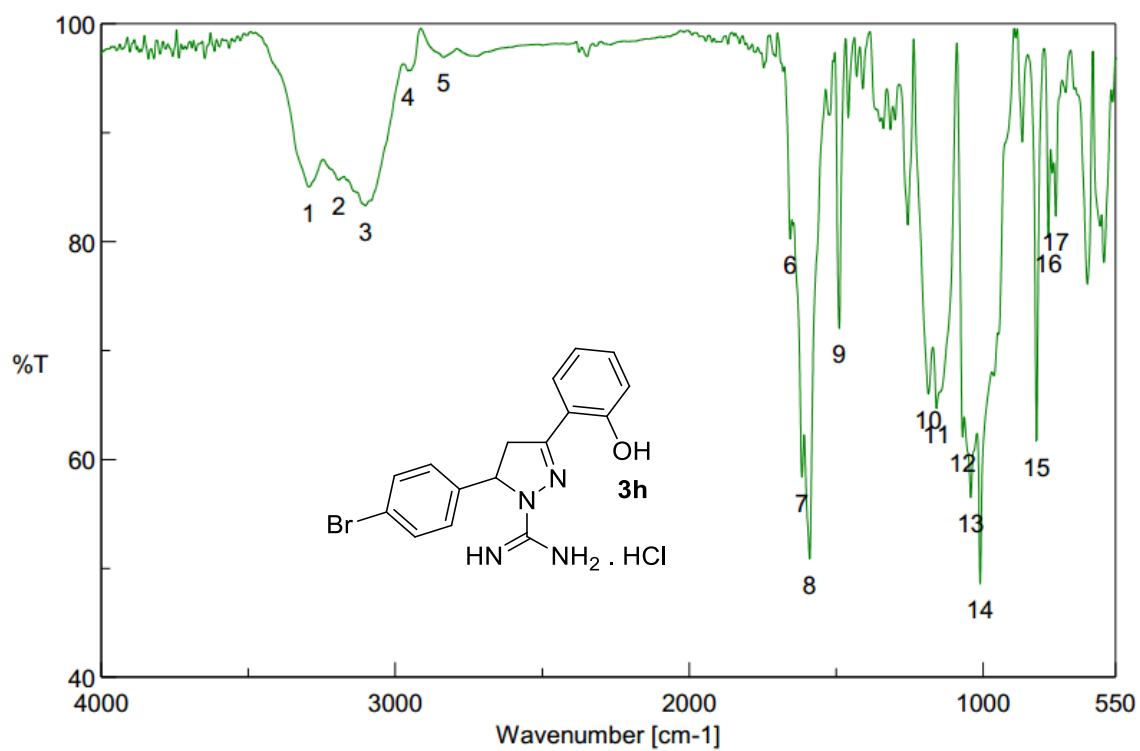
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3352.16	89.2266	2	3273.57	87.5696
3	3195.95	85.7473	4	3141.47	85.4554
5	3064.33	79.8784	6	2957.3	93.7387
7	2909.57	97.6455	8	2838.22	96.7933
9	1656.07	69.9181	10	1612.68	65.0214
11	1591.95	45.249	12	1493.6	81.5145
13	1256.88	80.4672	14	1186.01	65.1769
15	1158.53	61.9545	16	1123.81	68.9534
17	1043.3	56.8155	18	1022.57	54.2309
19	826.83	81.3434	20	749.209	54.3898
21	649.893	63.4076			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f**.



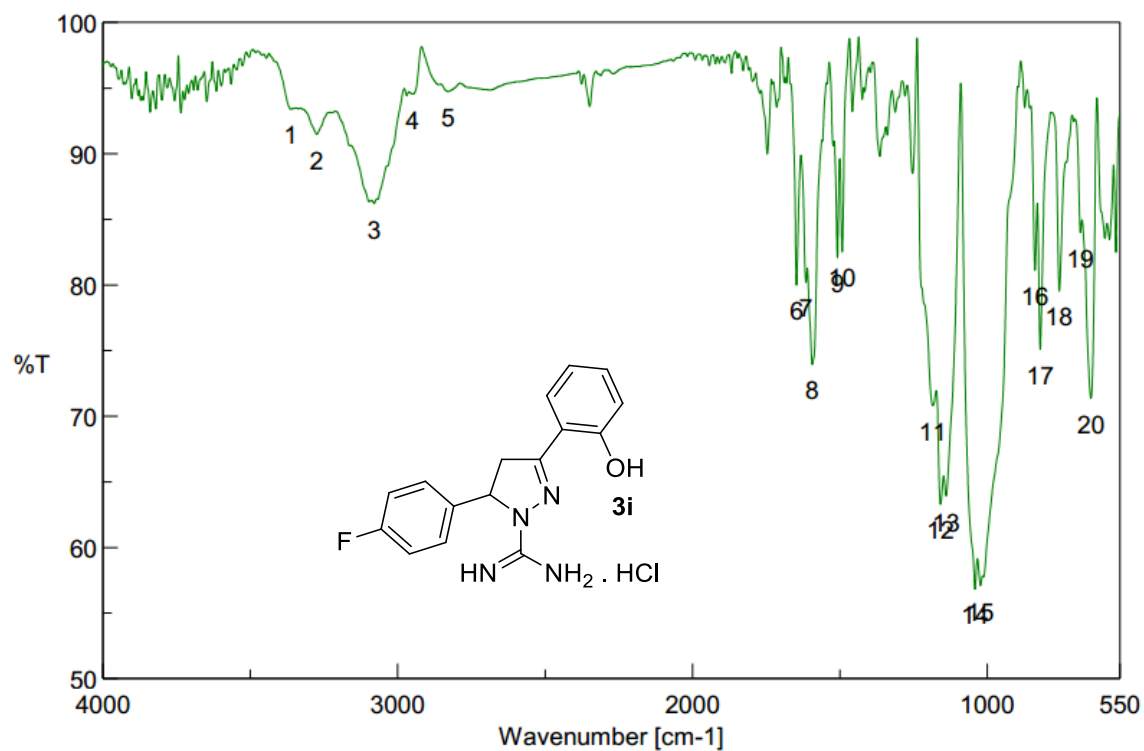
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3313.11	81.4398	2	3177.63	80.9153	3	3120.74	77.7491
4	2933.68	93.4857	5	2847.38	95.6967	6	1638.23	65.6369
7	1615.09	42.9434	8	1603.04	44.0461	9	1590.02	43.1753
10	1494.08	70.5515	11	1254.47	73.1656	12	1187.45	49.8974
13	1159.97	45.7236	14	1042.34	41.3116	15	1012.93	45.7781
16	997.982	47.3625	17	943.02	56.0144	18	824.902	60.5961
19	783.44	68.8874	20	762.709	62.545	21	693.284	72.3108
22	642.662	55.717						

Espectro de infravermelho Cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3g**.



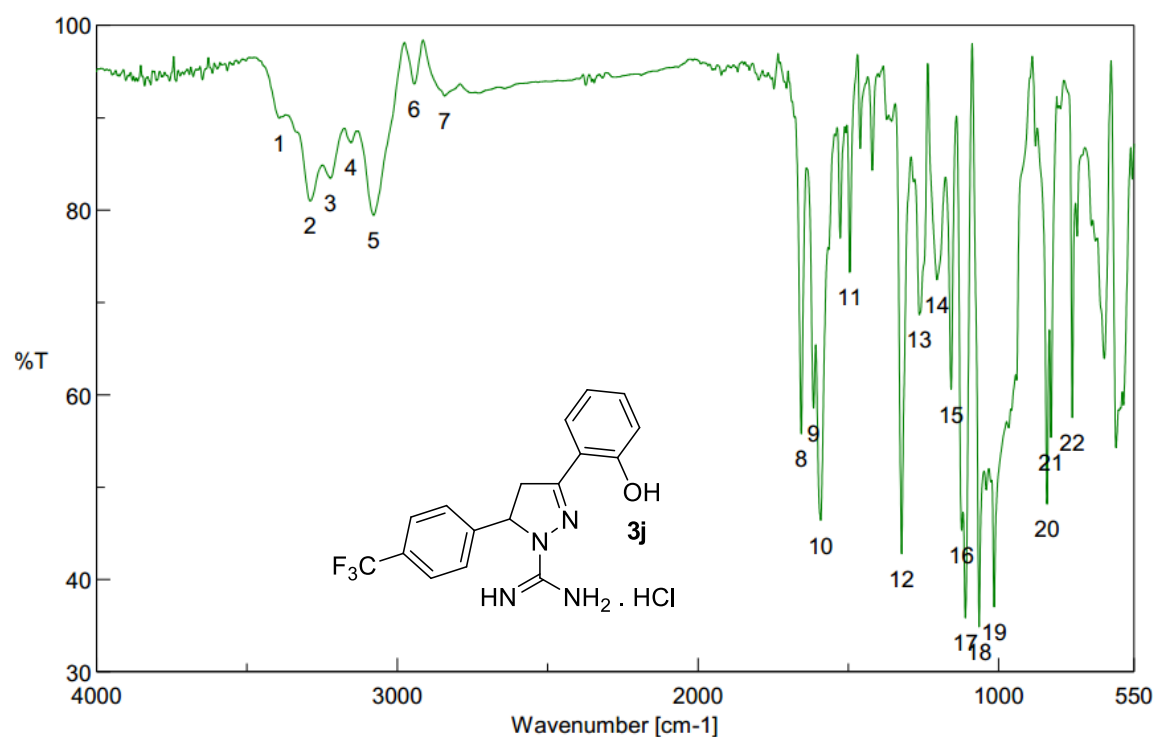
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3293.82	85.008	2	3192.09	85.6446
3	3100.97	83.2927	4	2956.34	95.6667
5	2835.81	96.9131	6	1656.07	80.2409
7	1616.54	58.3743	8	1590.5	50.8593
9	1489.74	72.016	10	1186.01	65.9962
11	1159.01	64.6675	12	1069.82	62.0282
13	1042.34	56.4764	14	1010.03	48.5448
15	818.634	61.6898	16	778.136	80.3683
17	753.066	82.3361			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3h**.



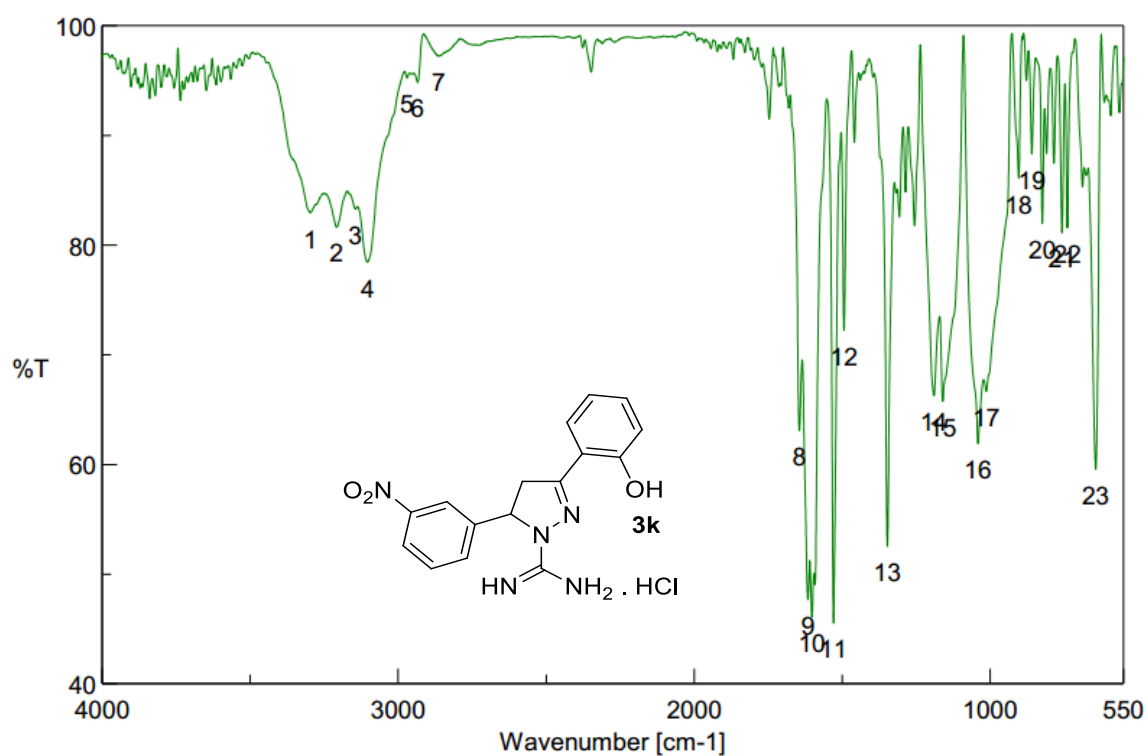
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3362.76	93.3746	2	3274.54	91.4553
3	3079.76	86.1955	4	2948.63	94.5363
5	2829.06	94.7145	6	1646.91	79.9671
7	1615.09	80.1819	8	1593.88	73.9201
9	1508.54	82.0674	10	1492.15	82.4993
11	1184.56	70.7997	12	1159.01	63.277
13	1139.72	63.8944	14	1041.85	56.8083
15	1023.53	57.0824	16	838.401	81.0941
17	820.563	75.0872	18	755.959	79.5287
19	684.124	83.9704	20	648.447	71.3385

Espectro de infravermelho Cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3i**.



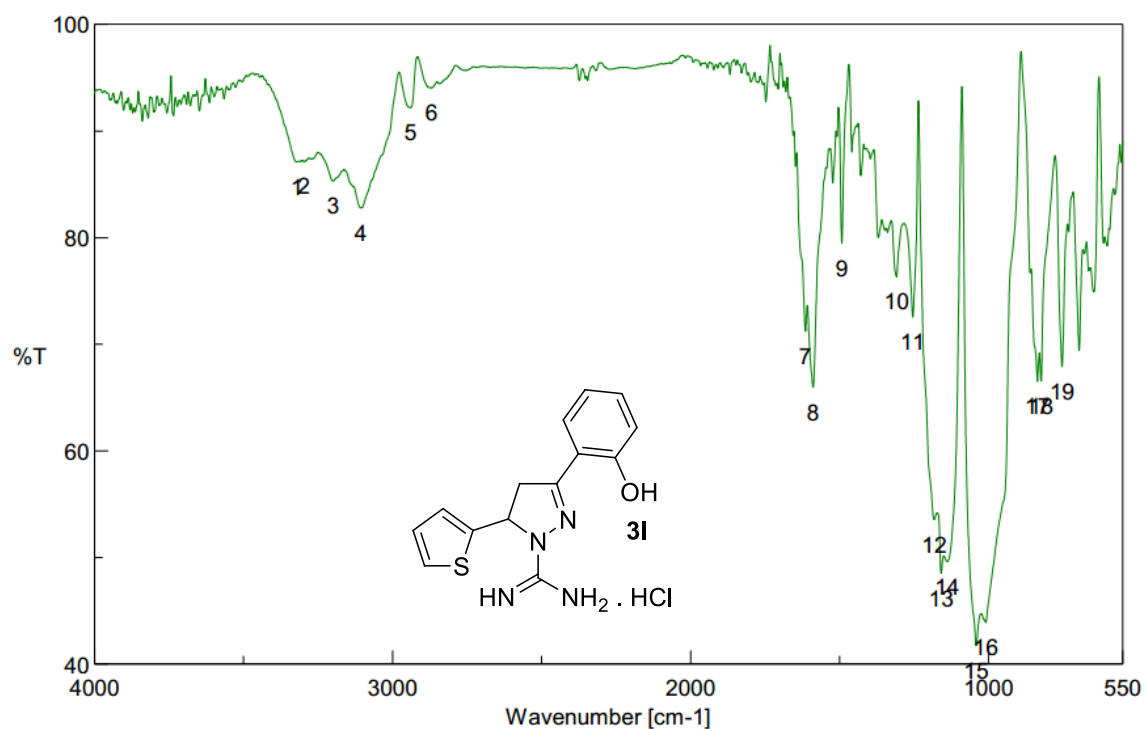
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3392.66	89.9374	2	3289.48	80.9748	3	3222.47	83.4298
4	3153.53	87.2899	5	3078.8	79.4141	6	2943.32	93.6453
7	2842.56	92.3472	8	1656.55	55.7358	9	1615.57	58.5325
10	1591.95	46.395	11	1495.04	73.2439	12	1322.93	42.758
13	1264.11	68.6271	14	1205.29	72.441	15	1158.04	60.5625
16	1123.33	45.3061	17	1110.8	35.8062	18	1065	34.8396
19	1015.34	37.0198	20	839.365	48.1476	21	825.866	55.3773
22	754.995	57.5131						

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3j**.



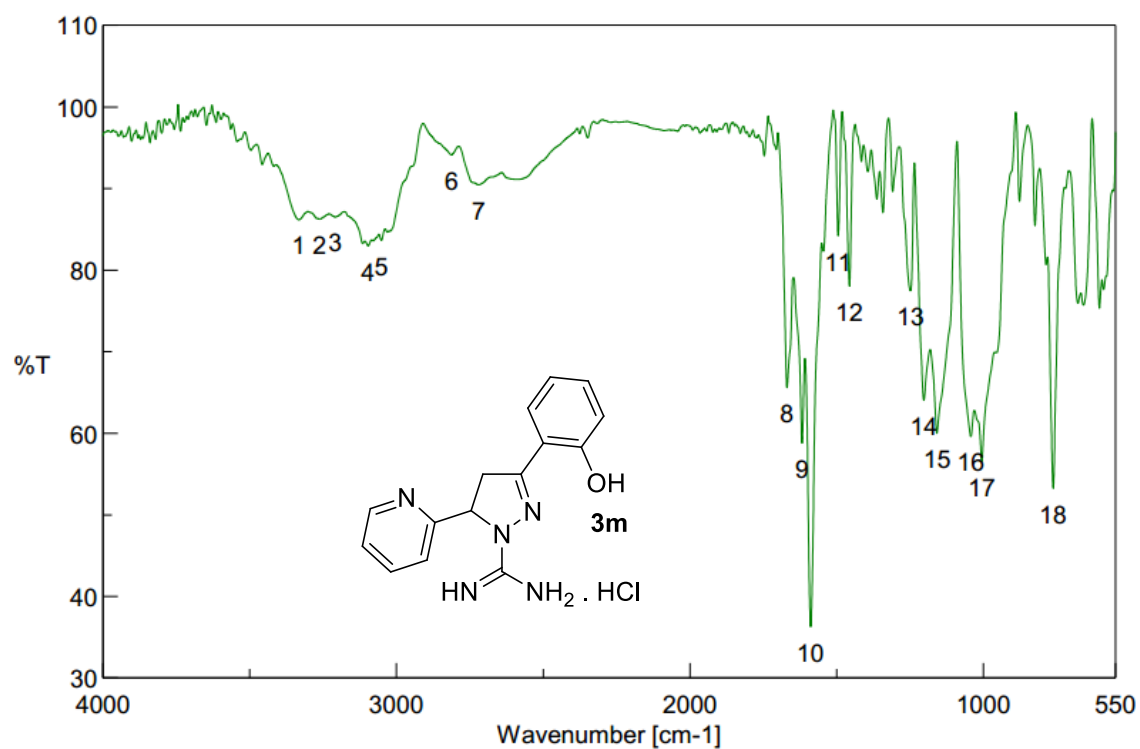
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3296.23	82.9389	2	3207.52	81.6073
3	3144.37	83.2717	4	3102.9	78.4517
5	2969.84	95.2311	6	2934.16	94.8232
7	2864.26	97.2144	8	1644.98	63.0477
9	1615.57	47.6347	10	1602.56	46.0752
11	1529.27	45.5204	12	1494.08	72.2038
13	1347.52	52.5085	14	1190.35	66.2408
15	1160.45	65.7235	16	1041.37	61.8731
17	1013.41	66.6383	18	903.969	86.0932
19	859.614	88.3047	20	823.938	81.9402
21	757.405	81.1326	22	739.567	81.5555
23	643.626	59.5373			

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3k**.



No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3320.82	87.0828	2	3297.2	87.1231	3	3199.81	85.2844
4	3106.76	82.7757	5	2939.95	92.1717	6	2869.08	94.0305
7	1614.61	71.1813	8	1589.06	65.9352	9	1492.63	79.4896
10	1308.95	76.3124	11	1254.47	72.5276	12	1182.63	53.5437
13	1159.49	48.5053	14	1138.76	49.5921	15	1041.85	41.7071
16	1009.55	43.8829	17	835.99	66.499	18	823.938	66.5245
19	753.548	67.8802						

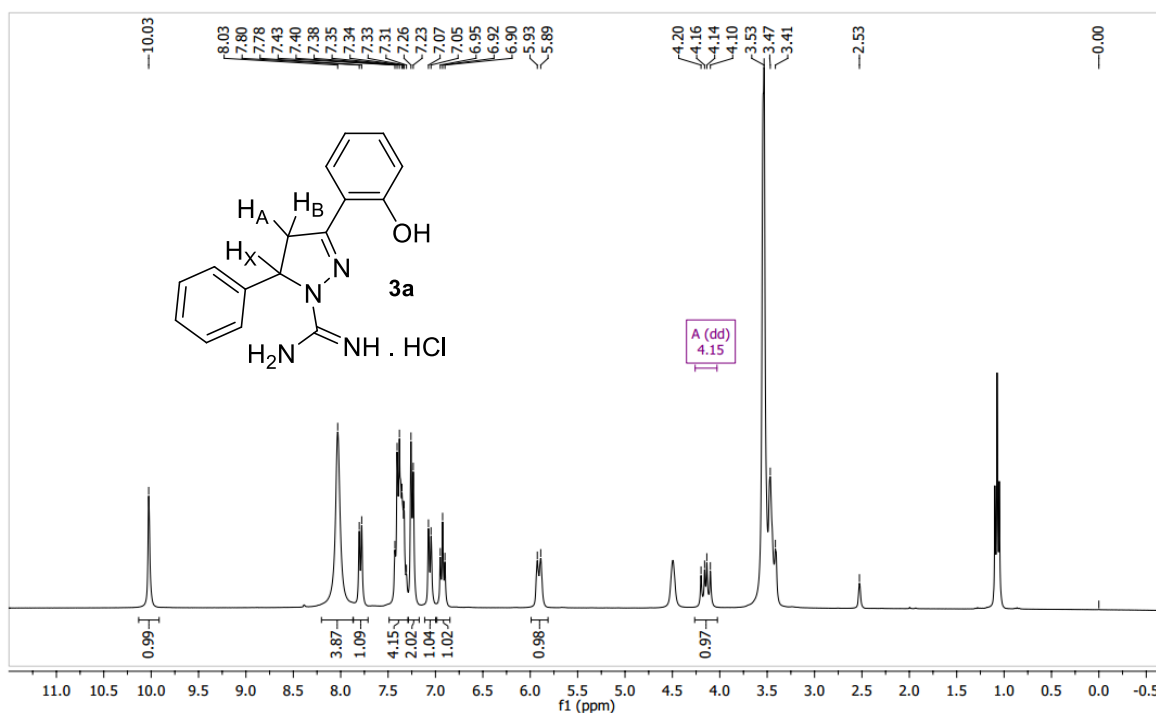
Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3I**.



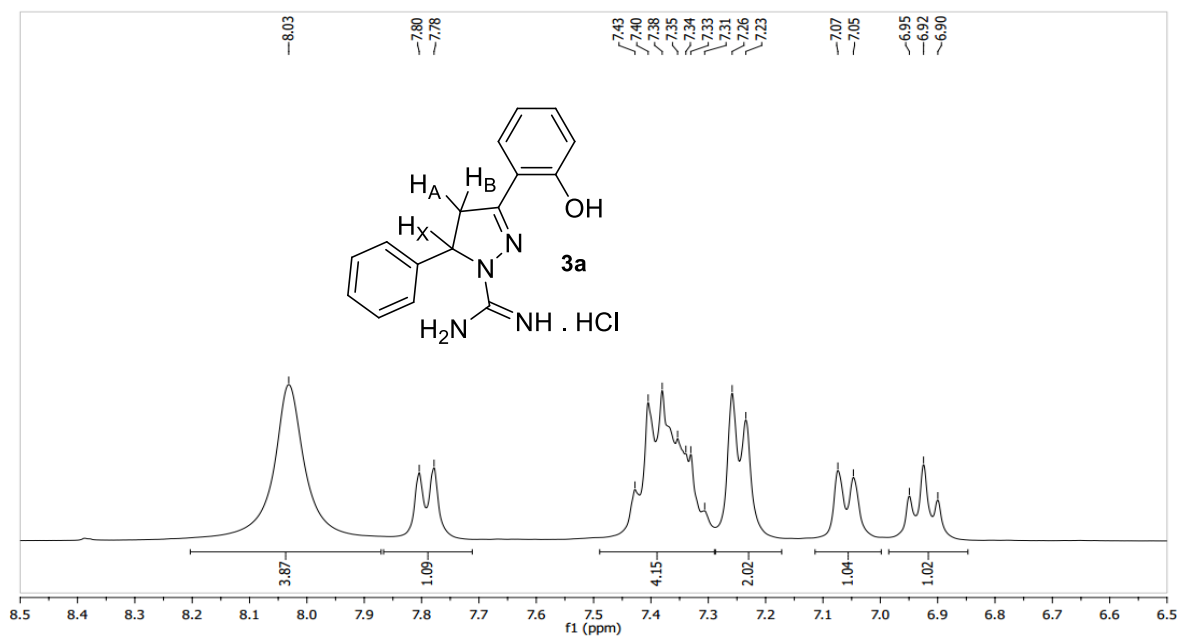
No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3331.91	86.1567	2	3262.48	86.2275
3	3208.49	86.4773	4	3096.64	82.9384
5	3051.32	83.6364	6	2812.67	94.0966
7	2720.1	90.43	8	1669.57	65.5728
9	1617.98	58.7498	10	1588.57	36.2646
11	1495.04	84.1881	12	1456.47	78.0085
13	1248.2	77.4495	14	1203.36	64.0214
15	1158.53	59.9598	16	1042.82	59.5564
17	1005.7	56.5014	18	762.227	53.2381

Espectro de infravermelho Cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3l**.

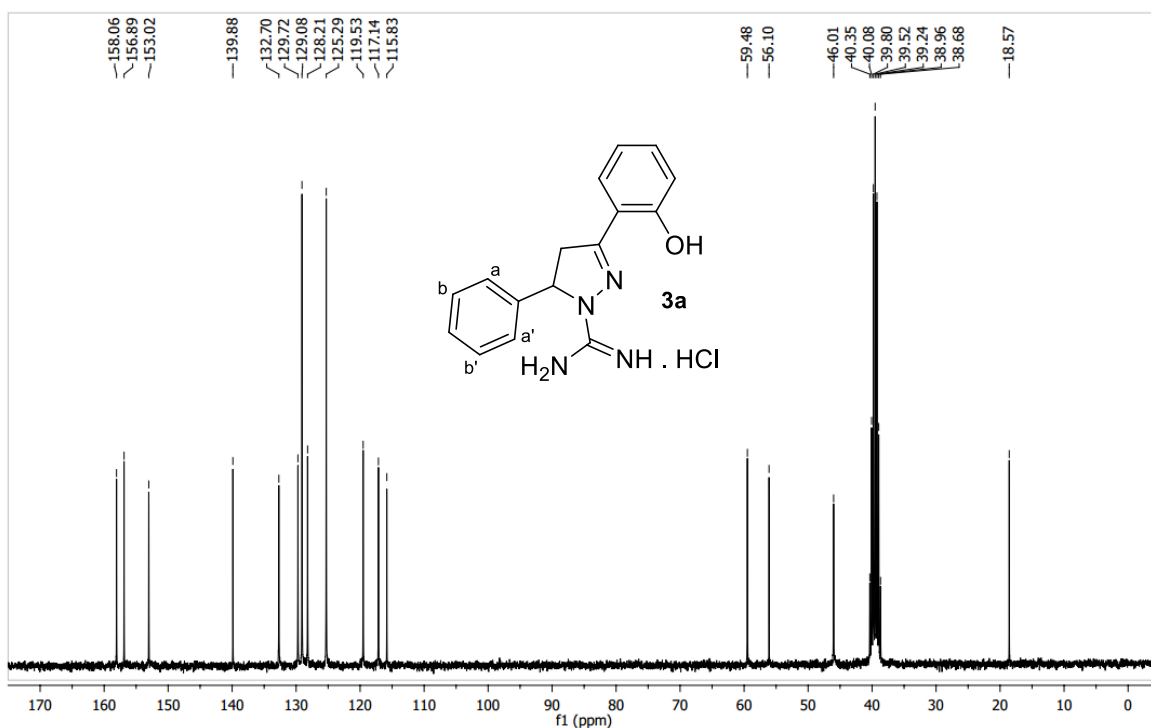
ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C



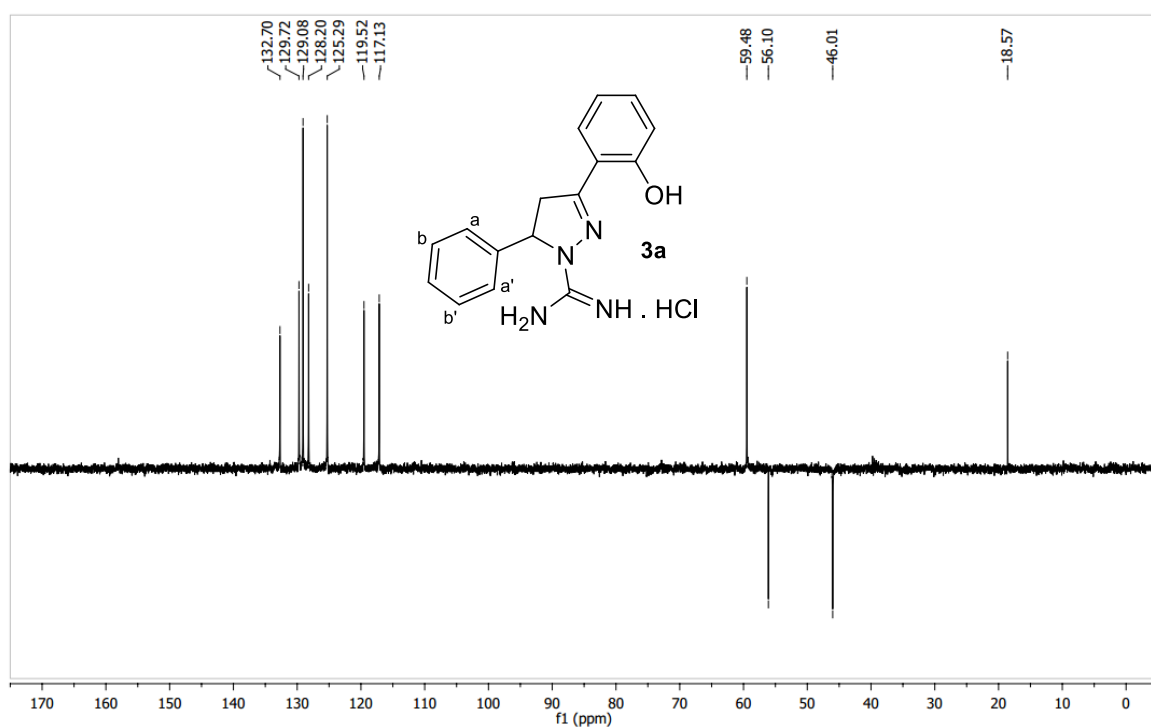
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 11,5 a -0,75 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



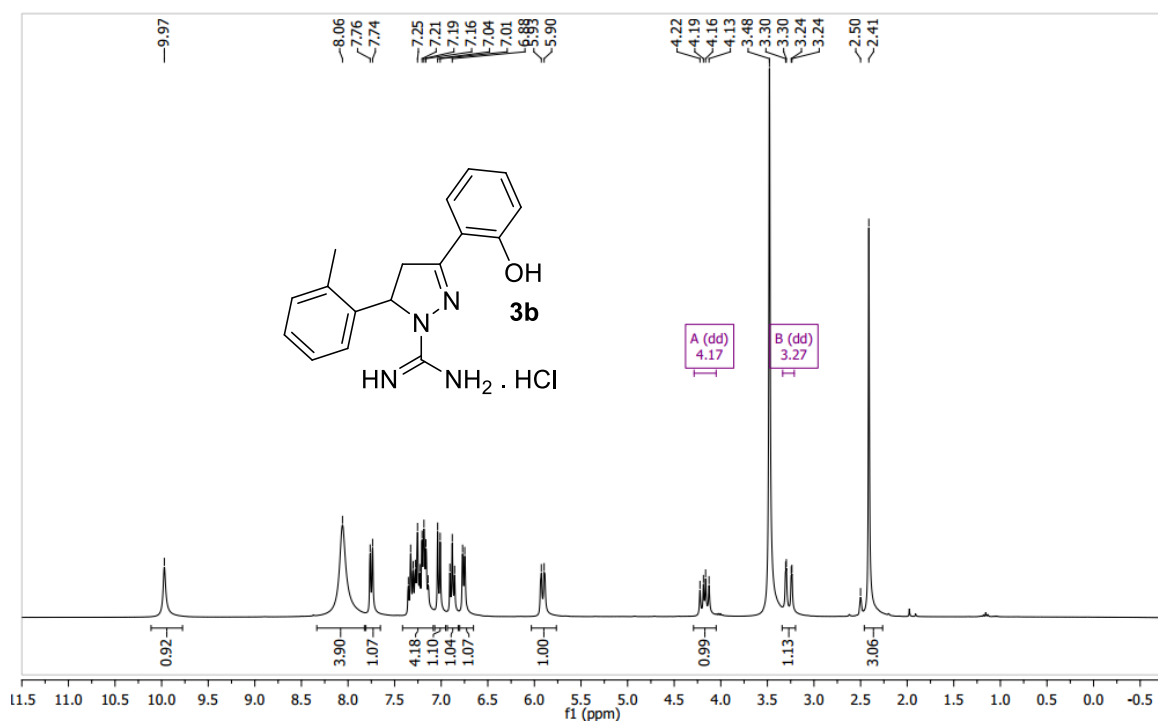
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 8,5 a 6,5 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



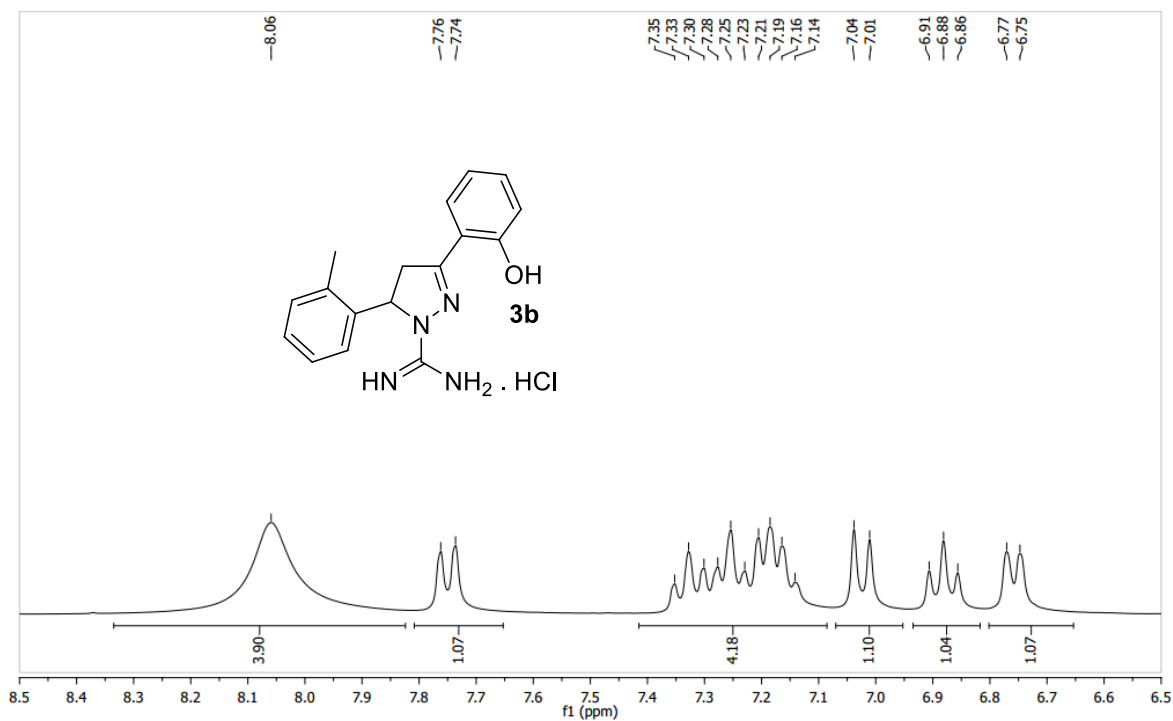
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



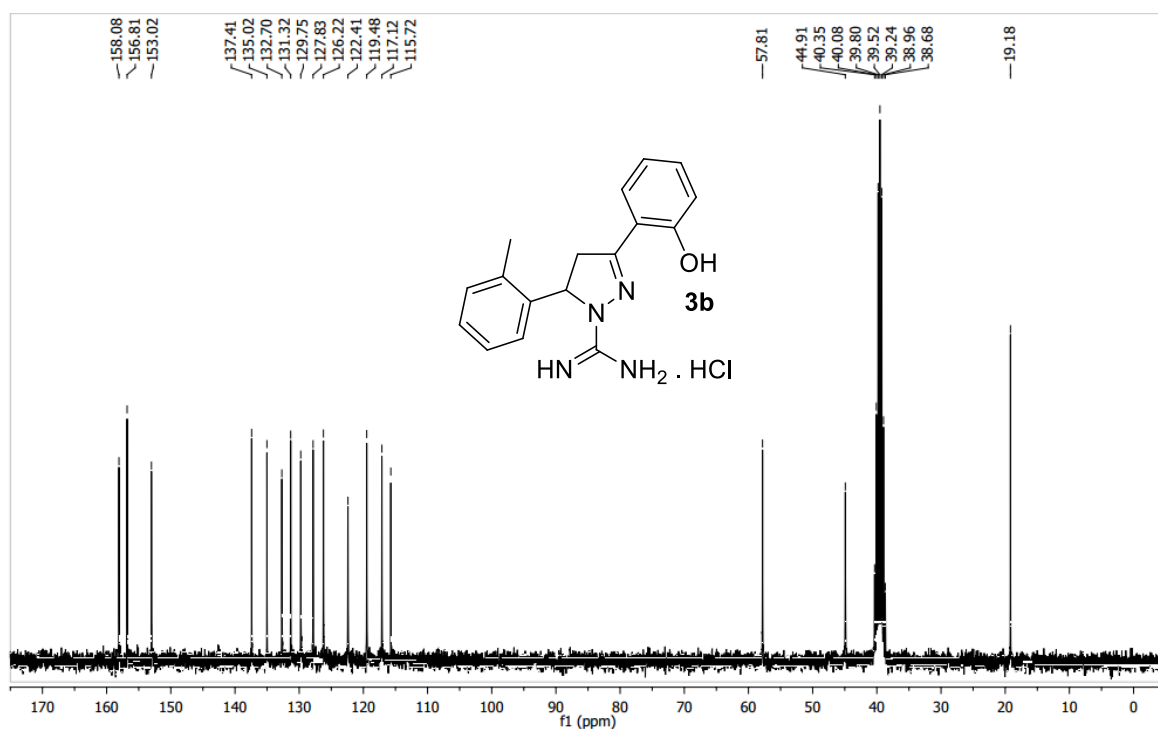
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-fenil-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3a** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



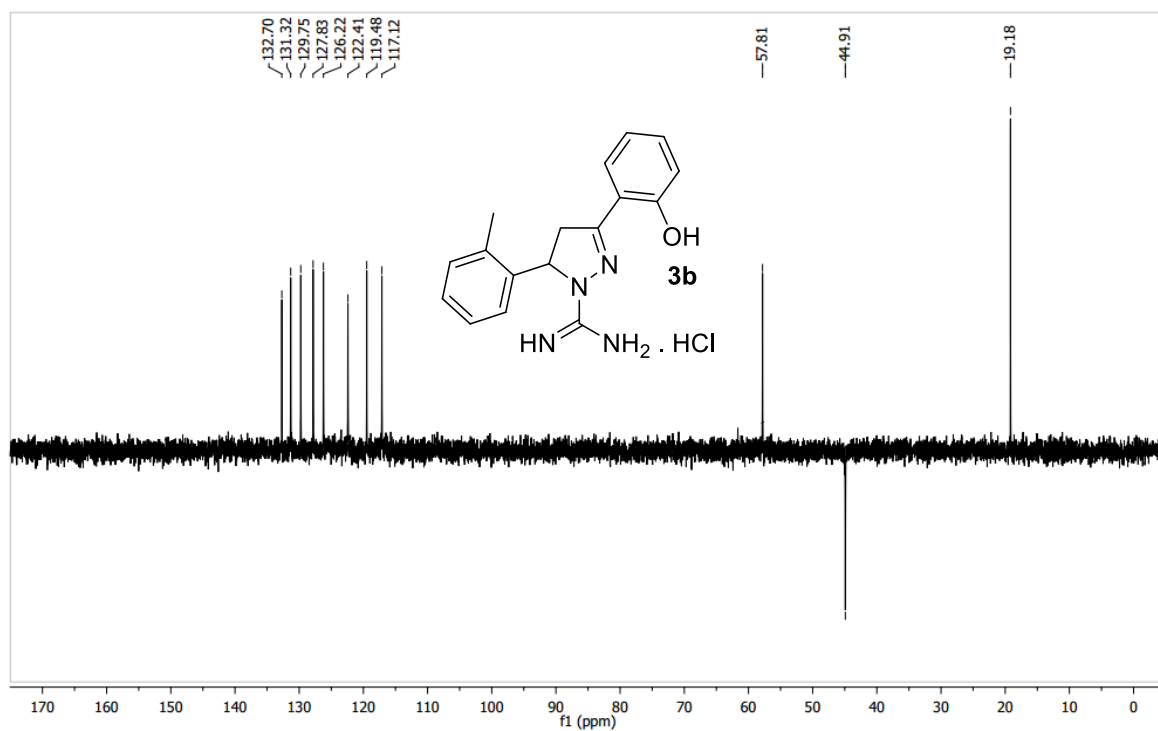
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*o*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3b** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



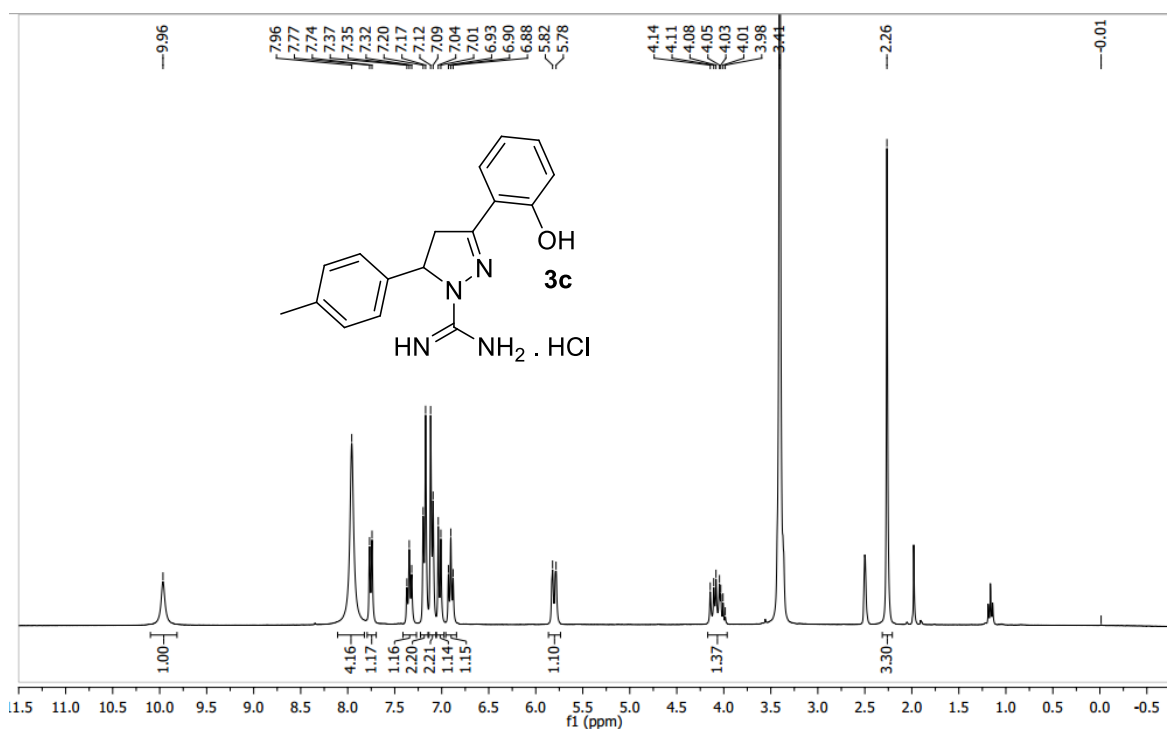
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*o*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3b** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



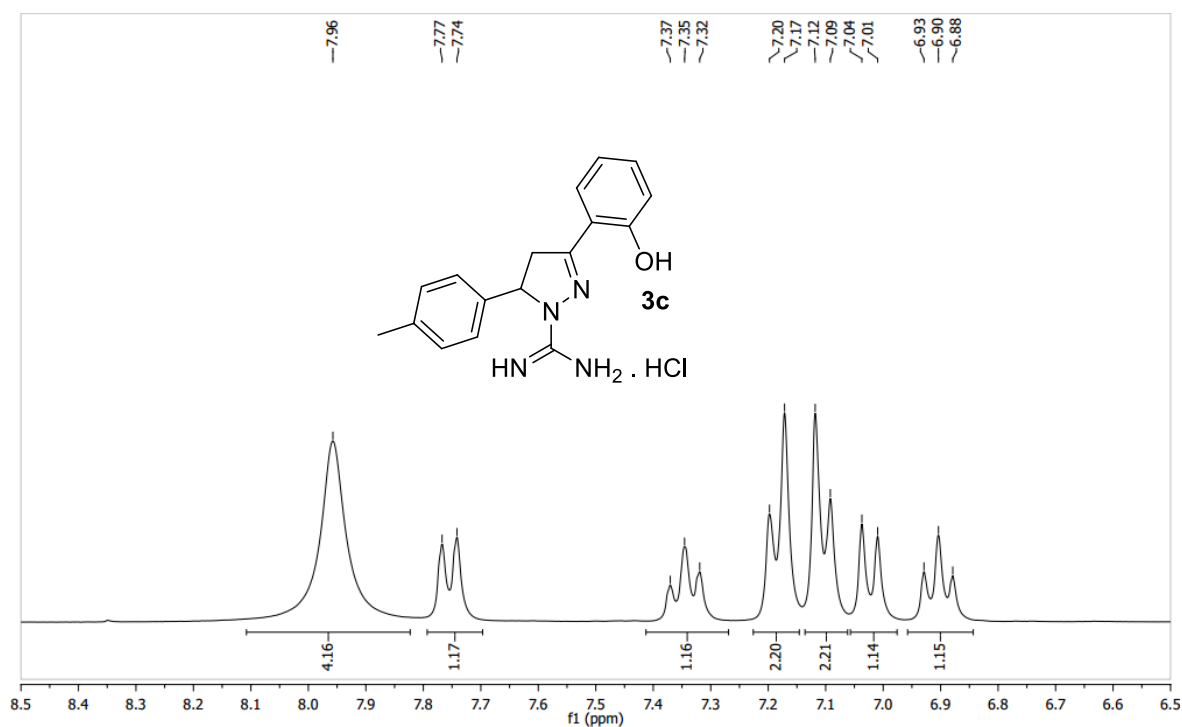
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*o*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3b** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



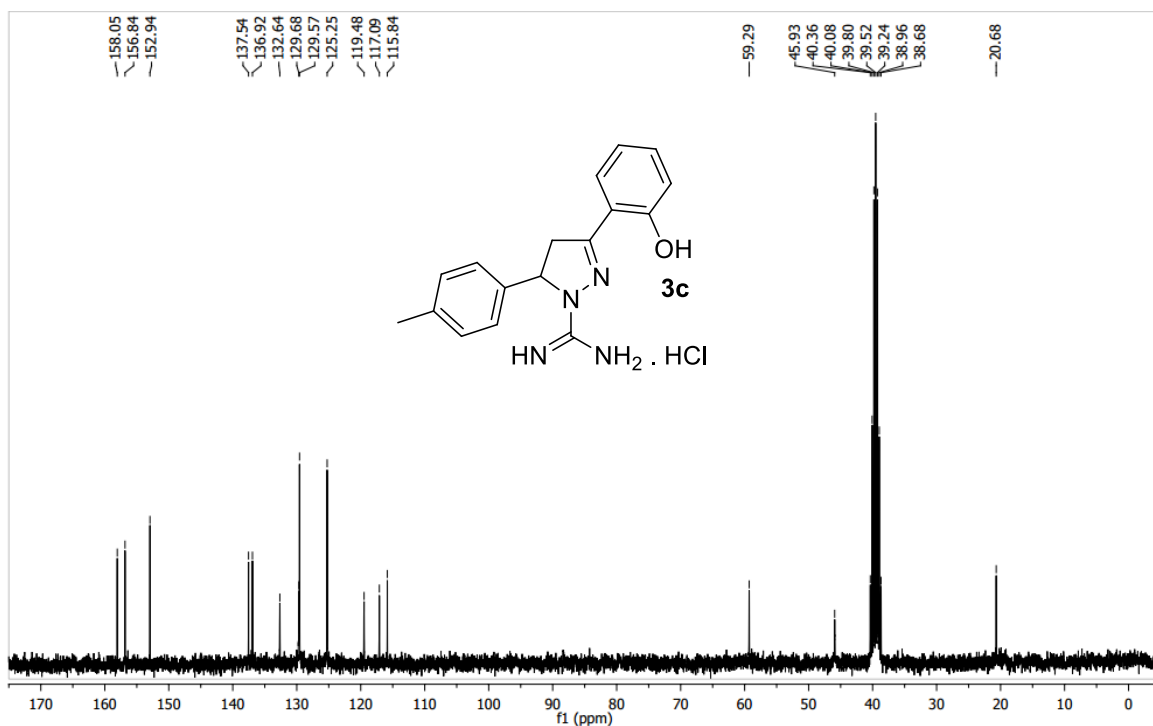
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*o*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3b** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



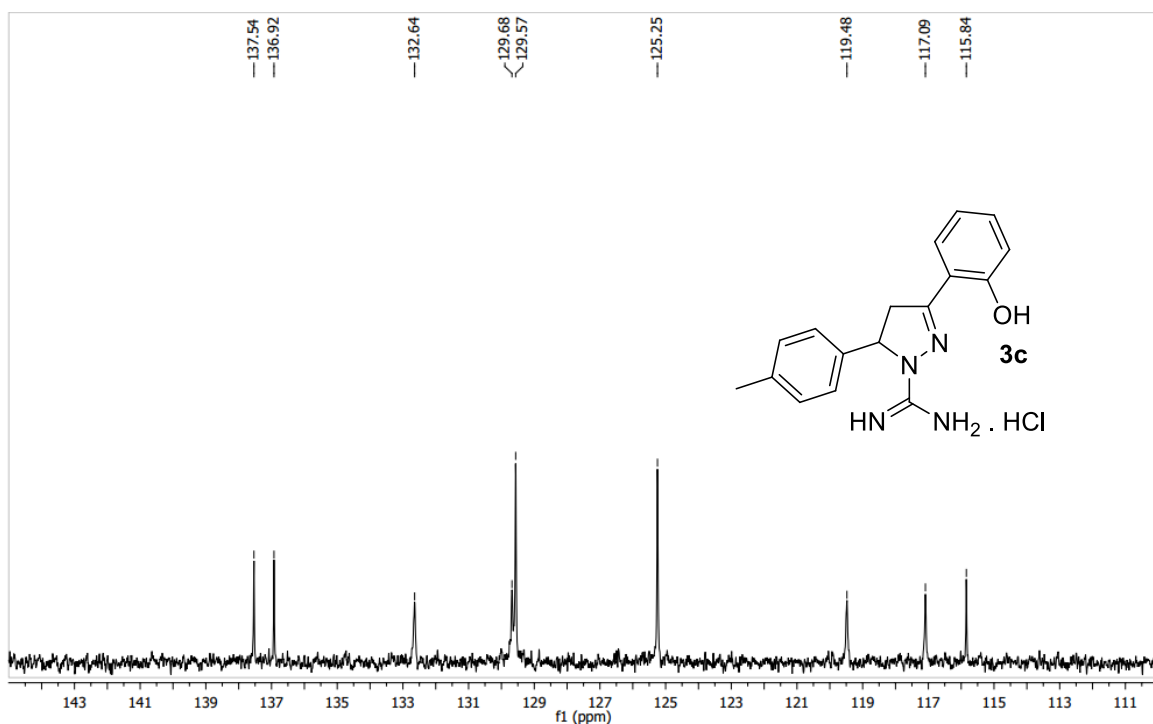
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



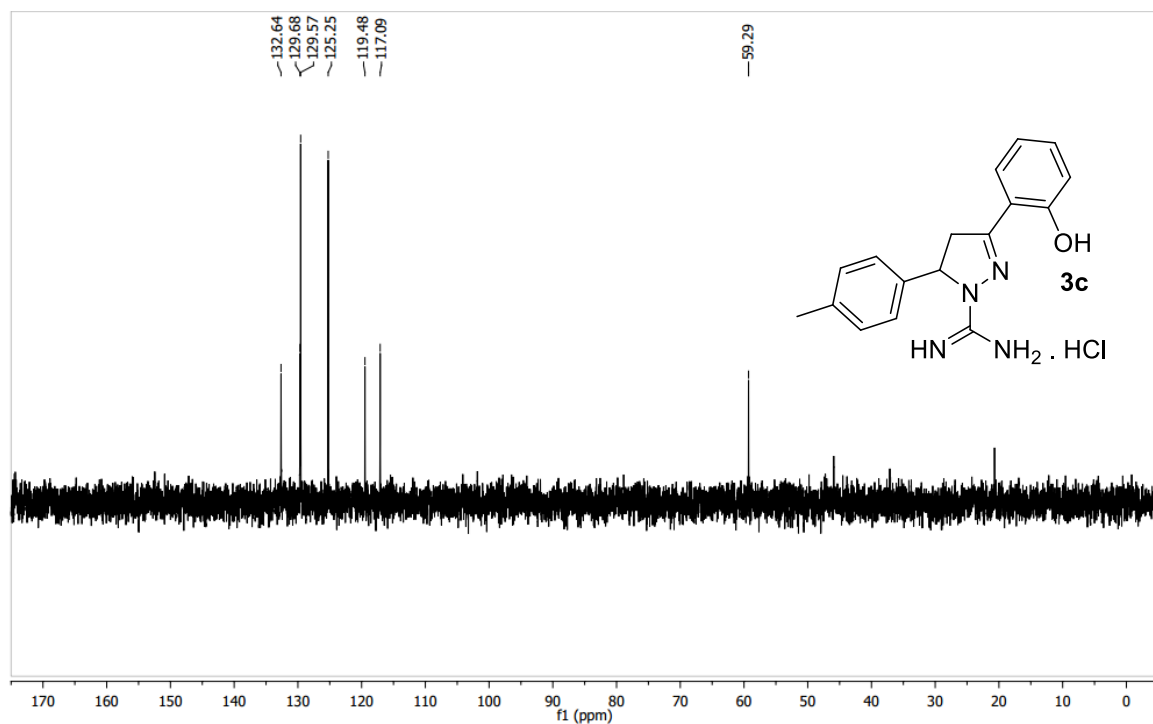
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



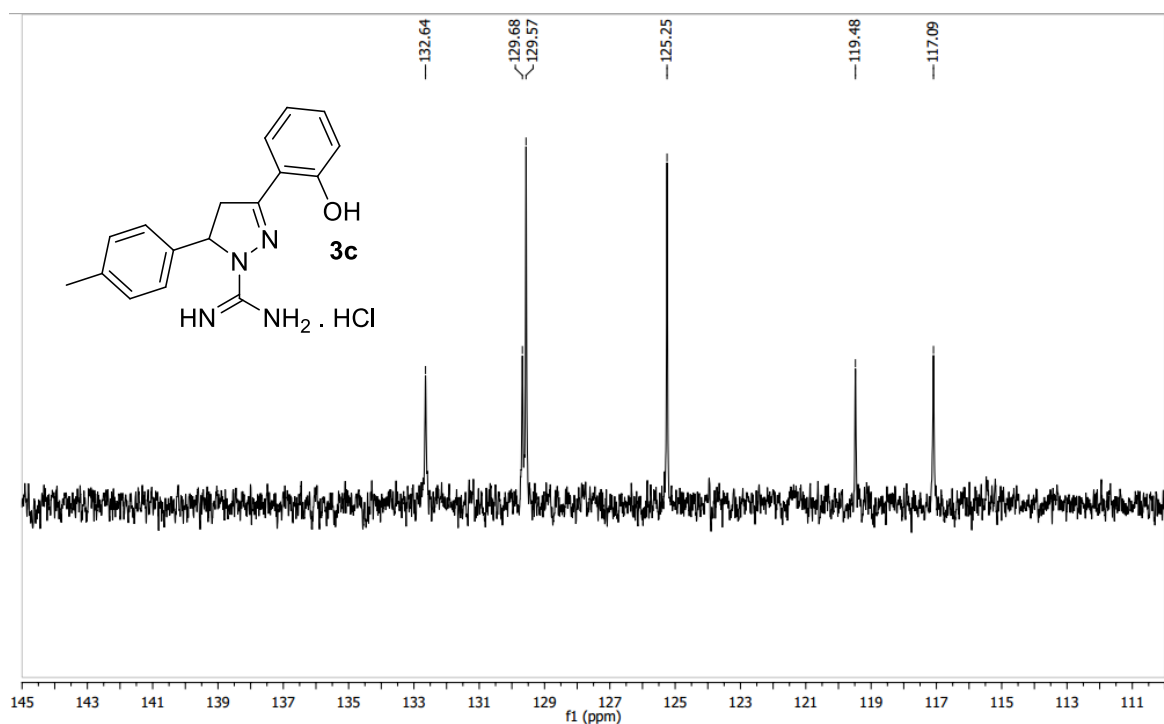
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



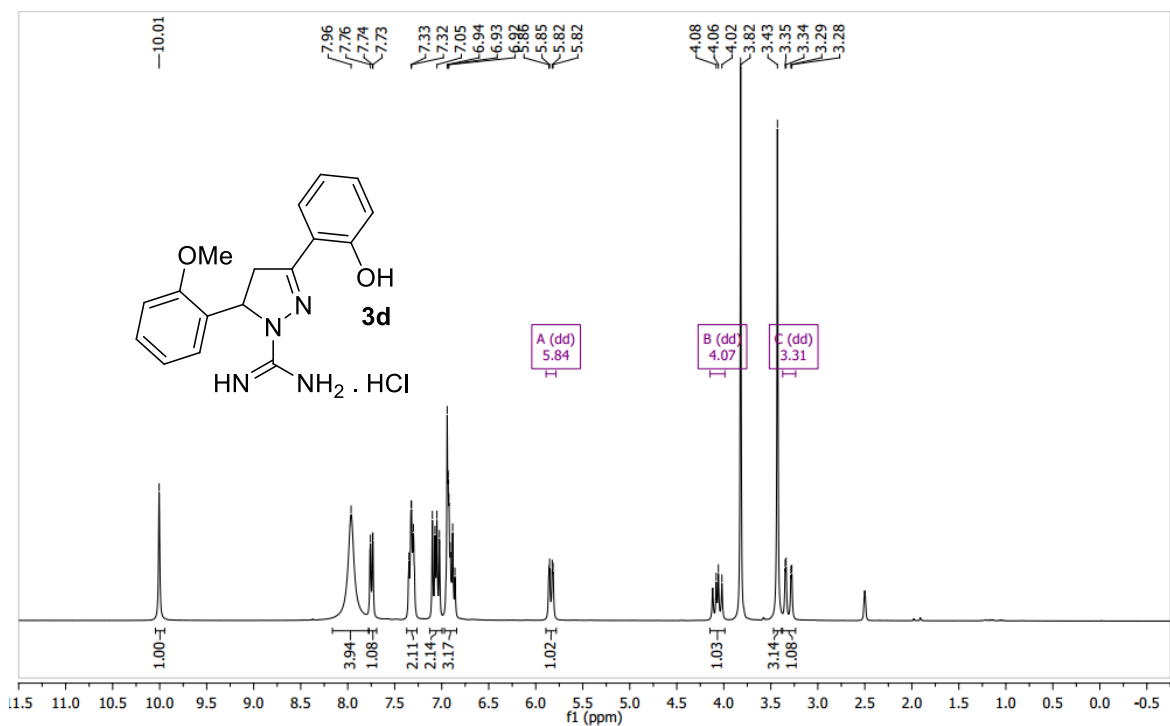
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



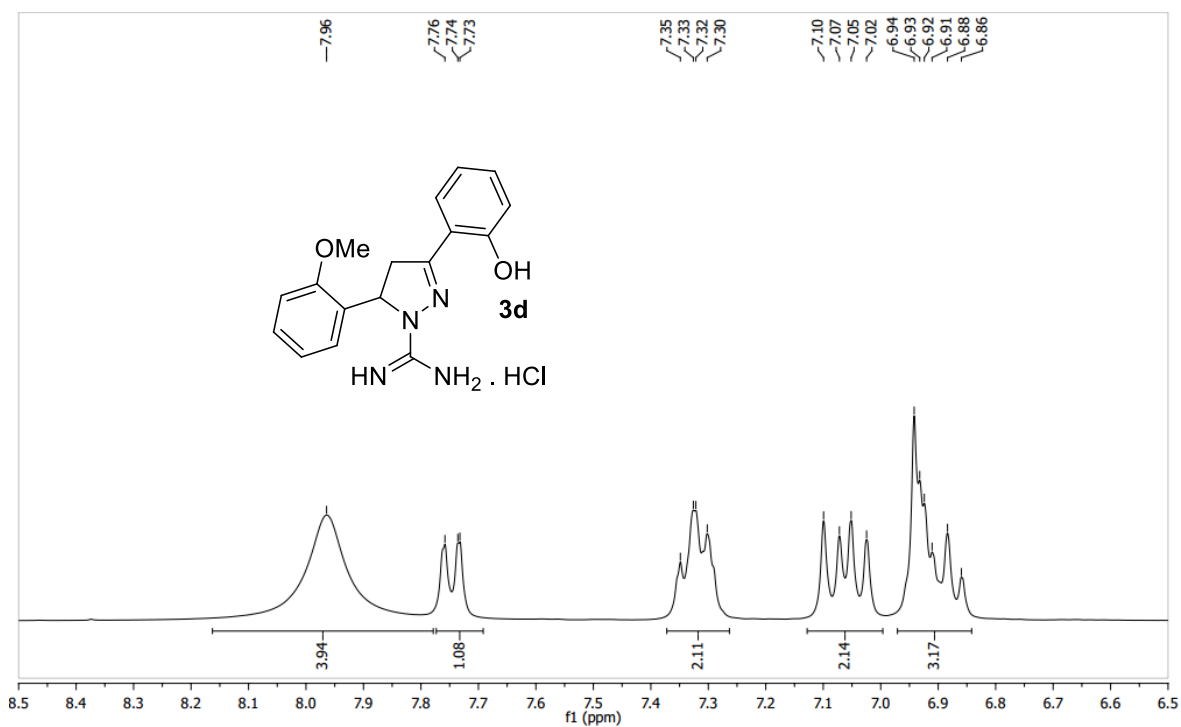
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



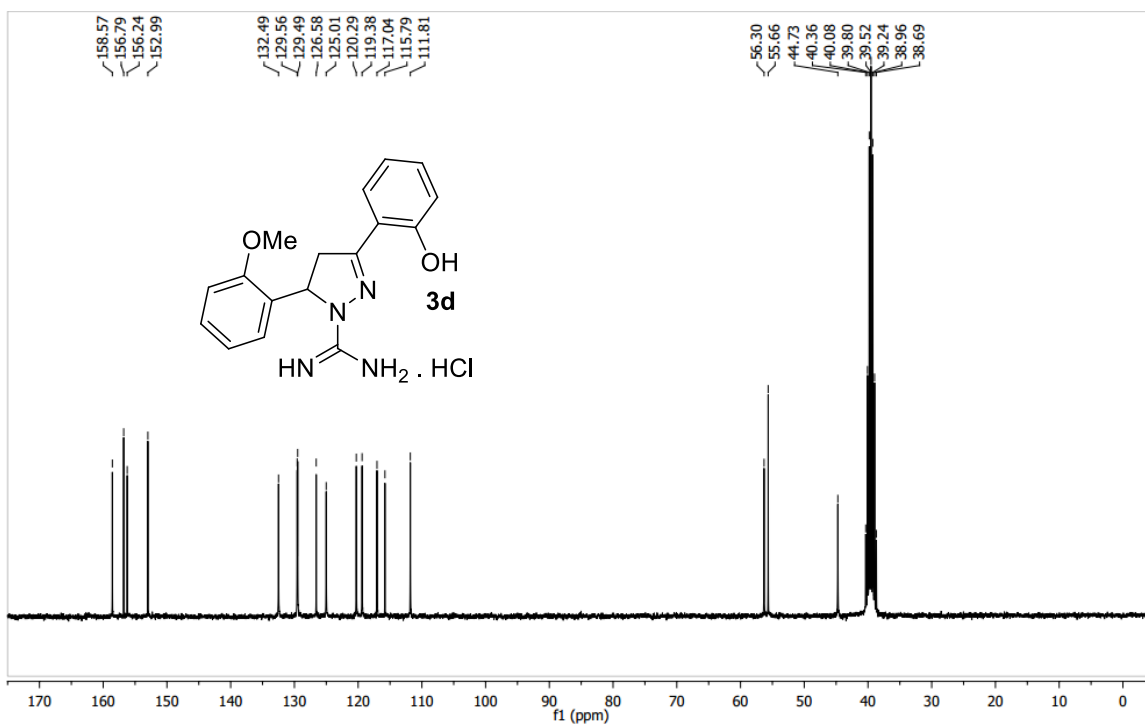
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-*p*-toluil-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3c** entre 145 a 110ppm, em DMSO-*d*₆.



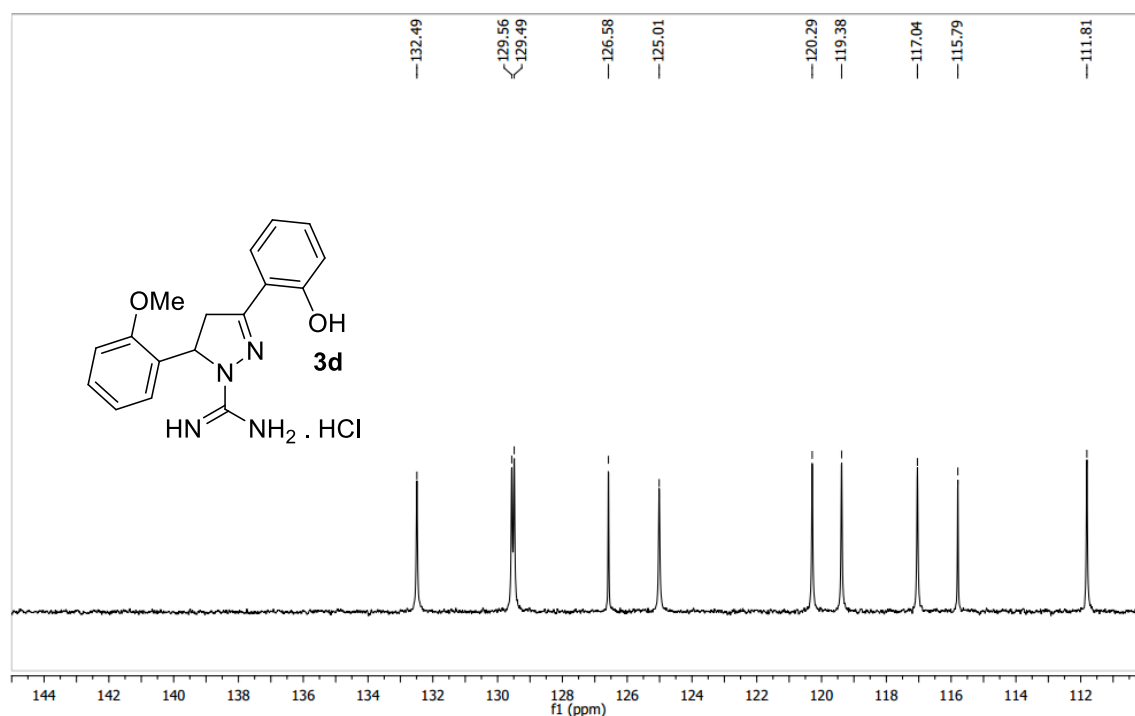
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



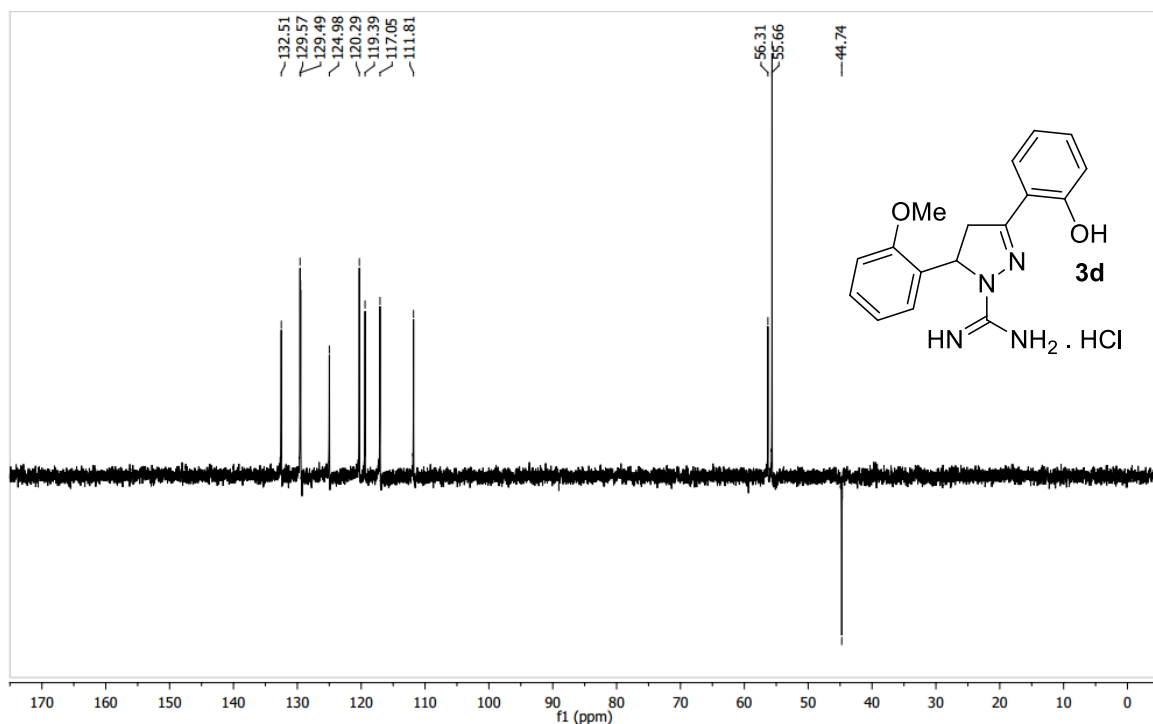
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



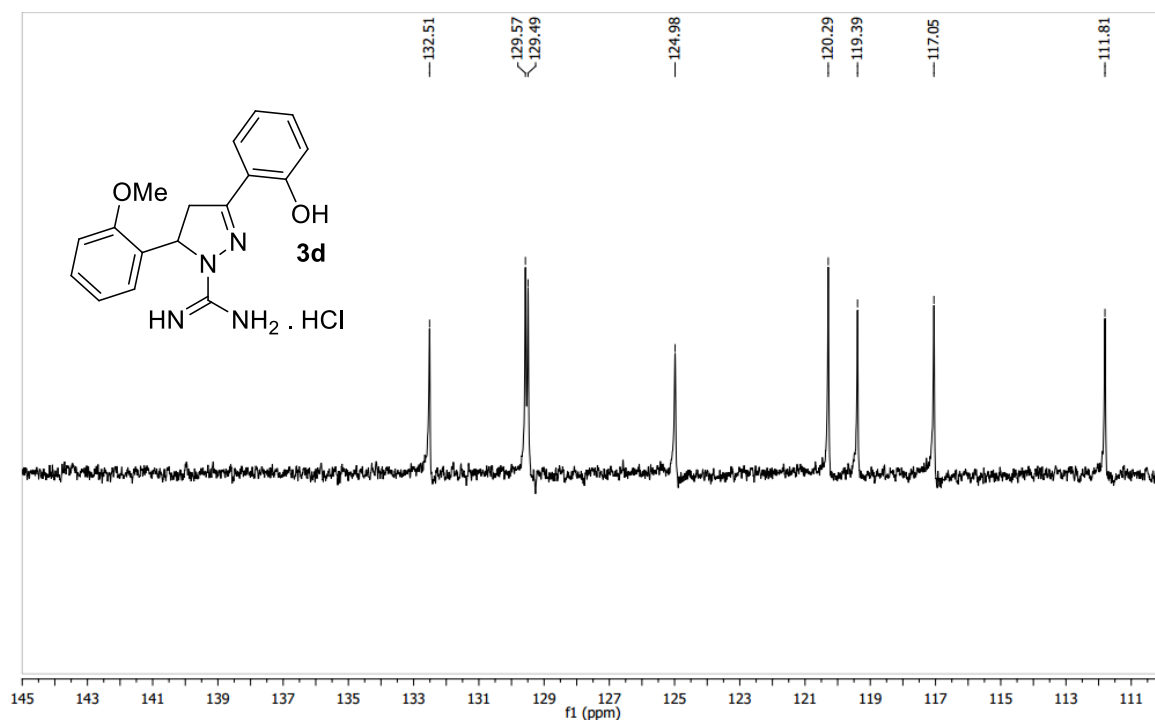
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



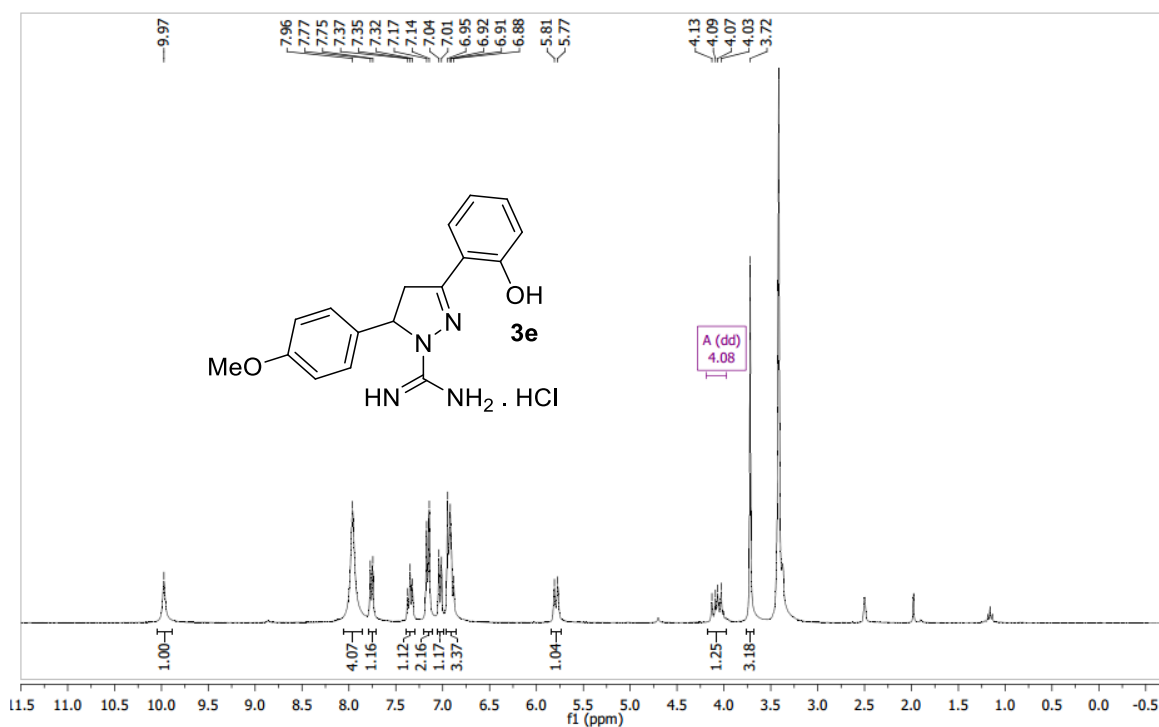
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



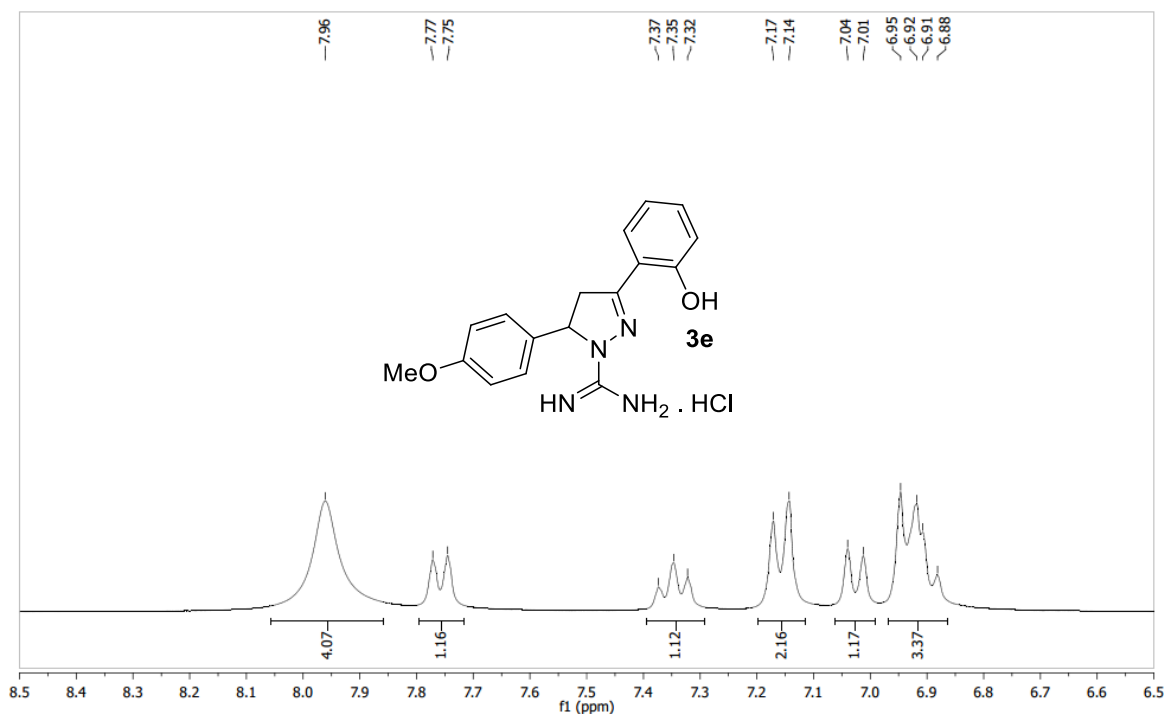
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 175 a -5 ppm, em DMSO- d_6 .



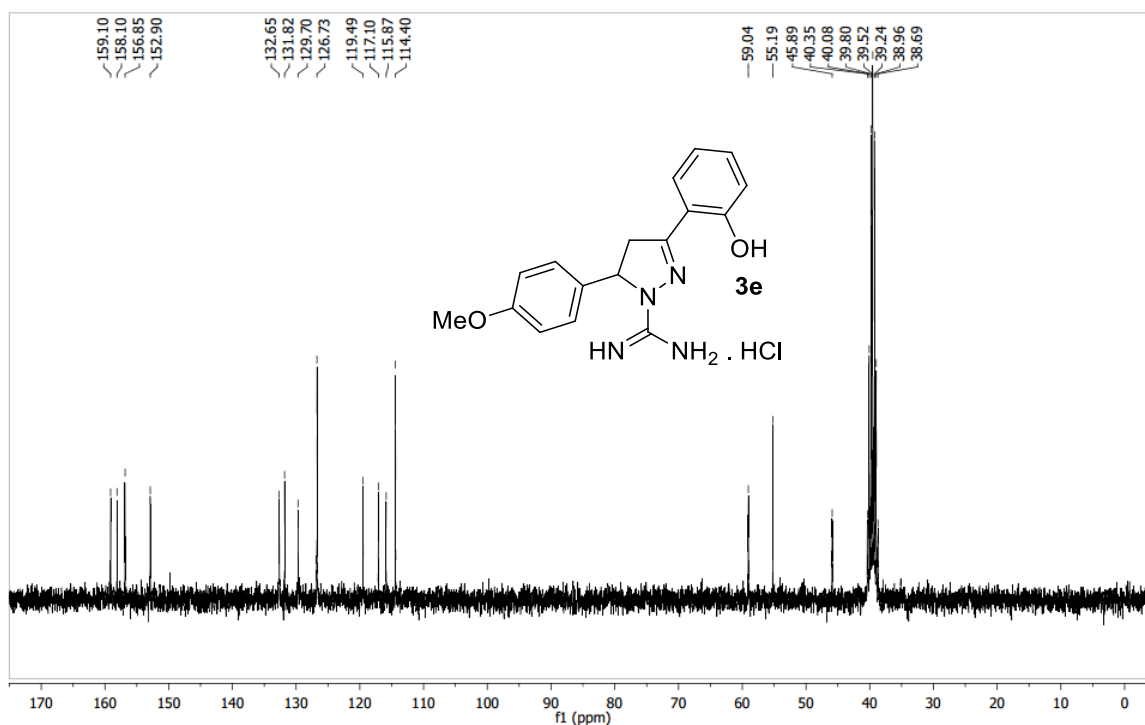
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3d** entre 145 a 110 ppm, em DMSO- d_6 .



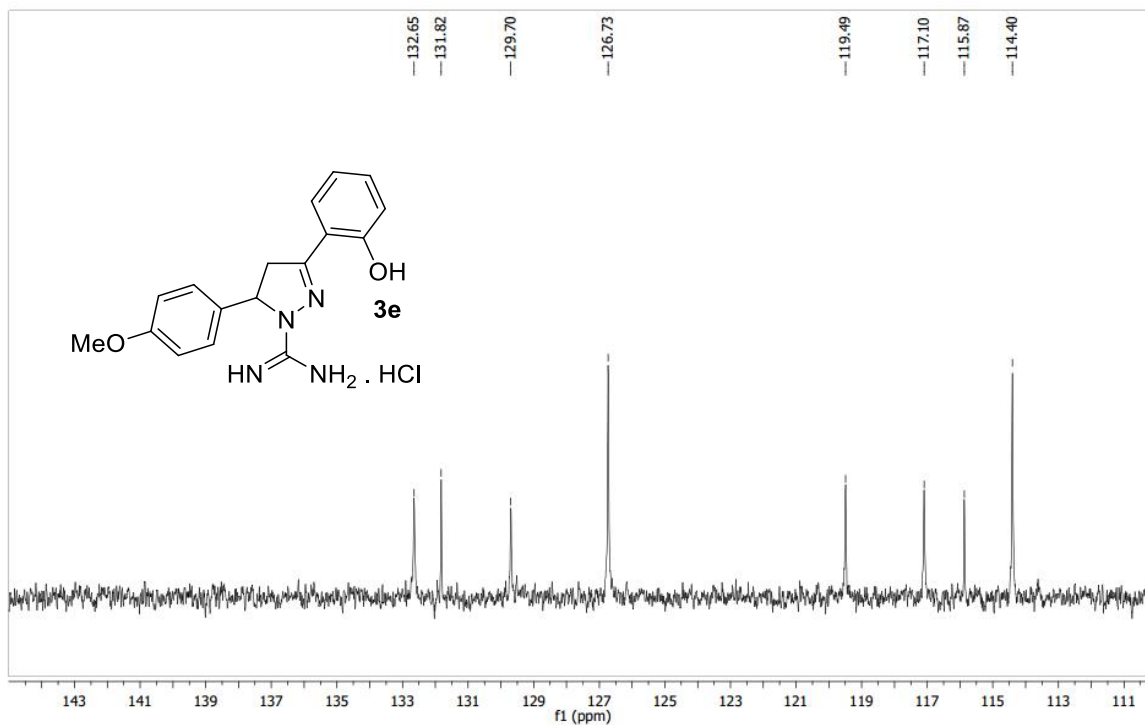
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



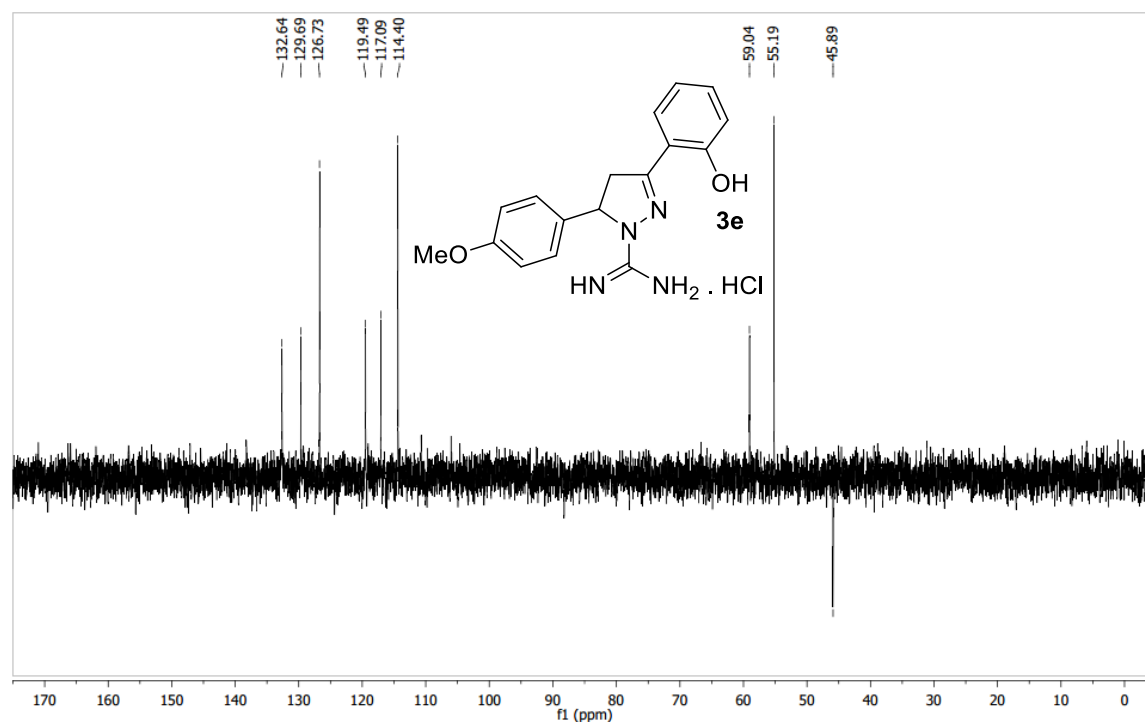
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



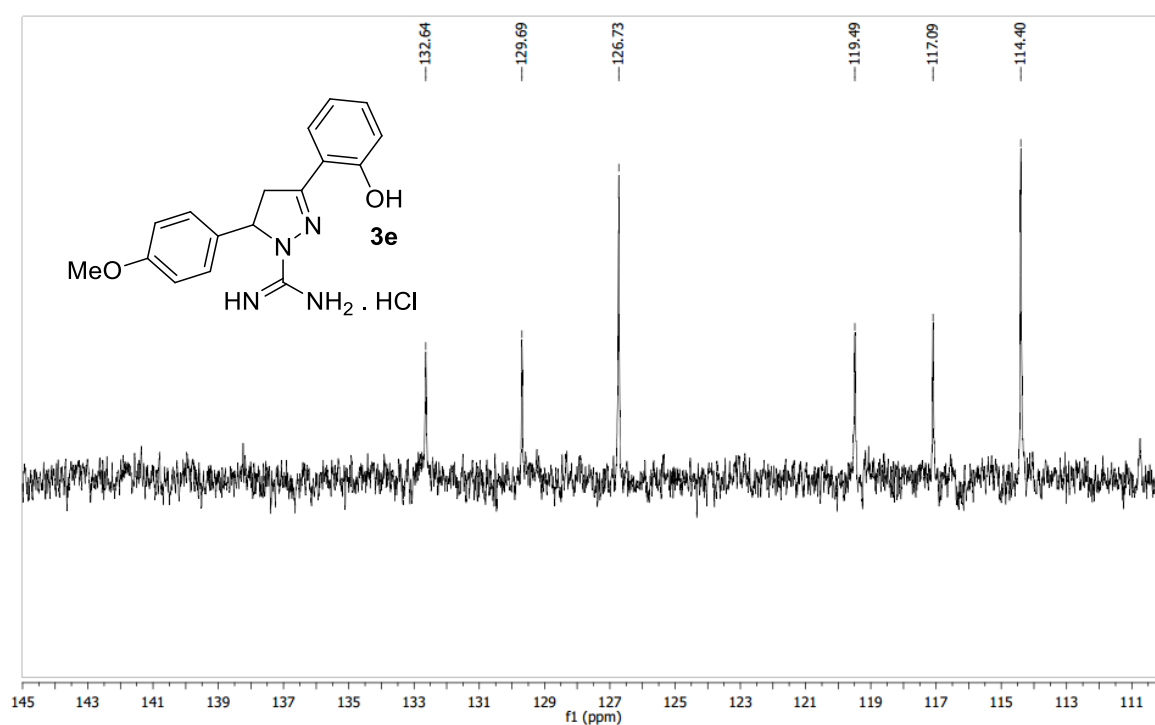
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



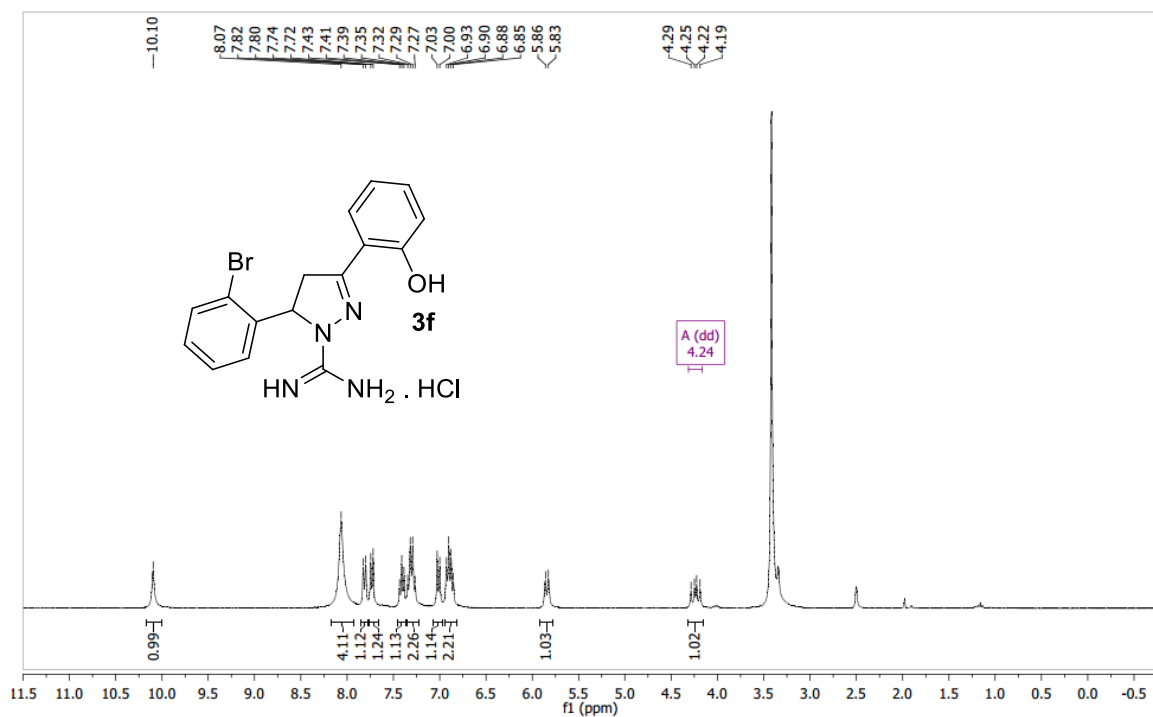
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



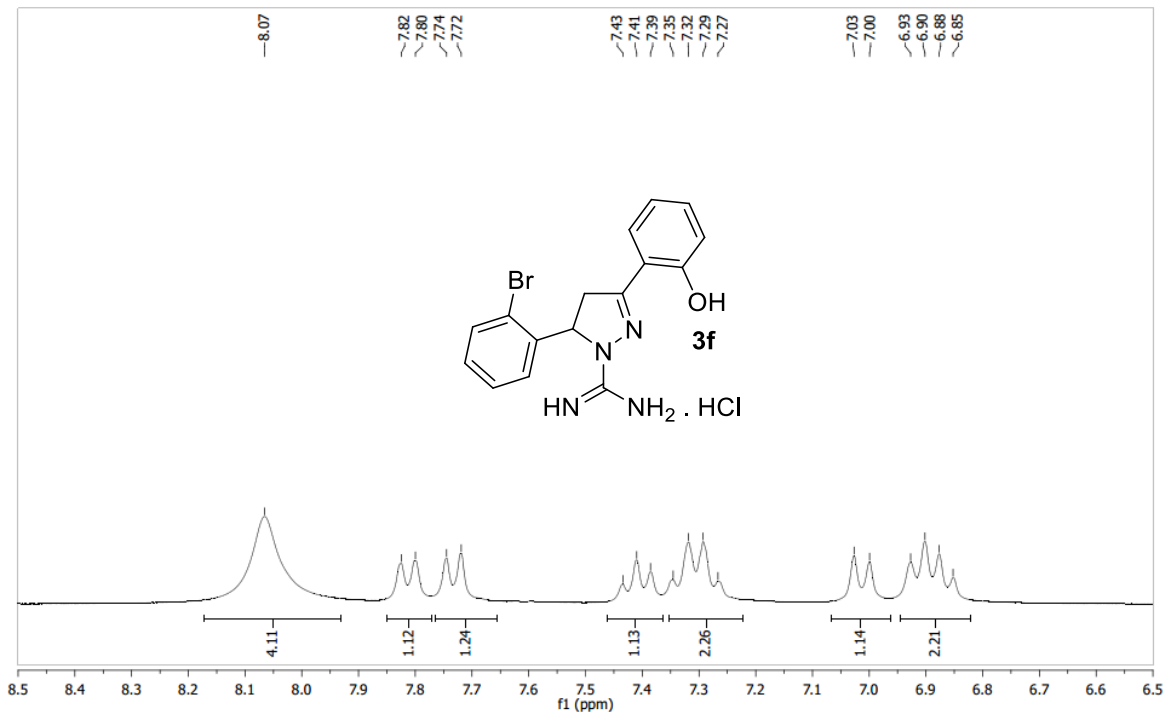
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 175 a -5 ppm, em DMSO- d_6 .



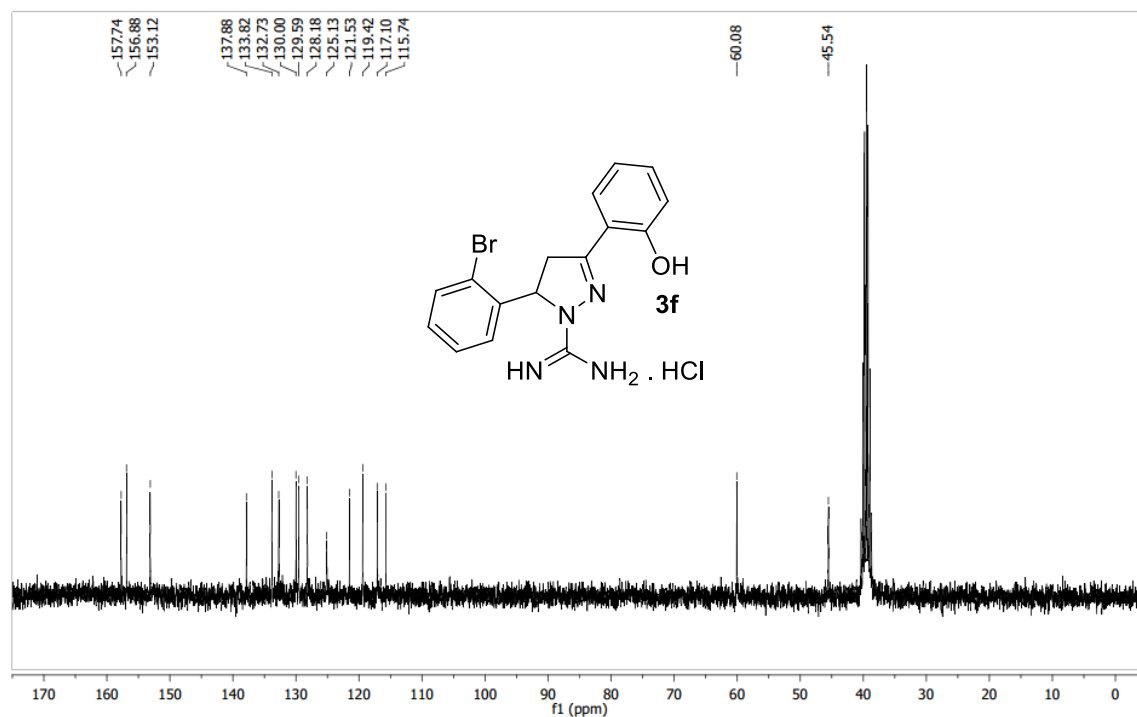
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-metoxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3e** entre 145 a 110ppm, em DMSO- d_6 .



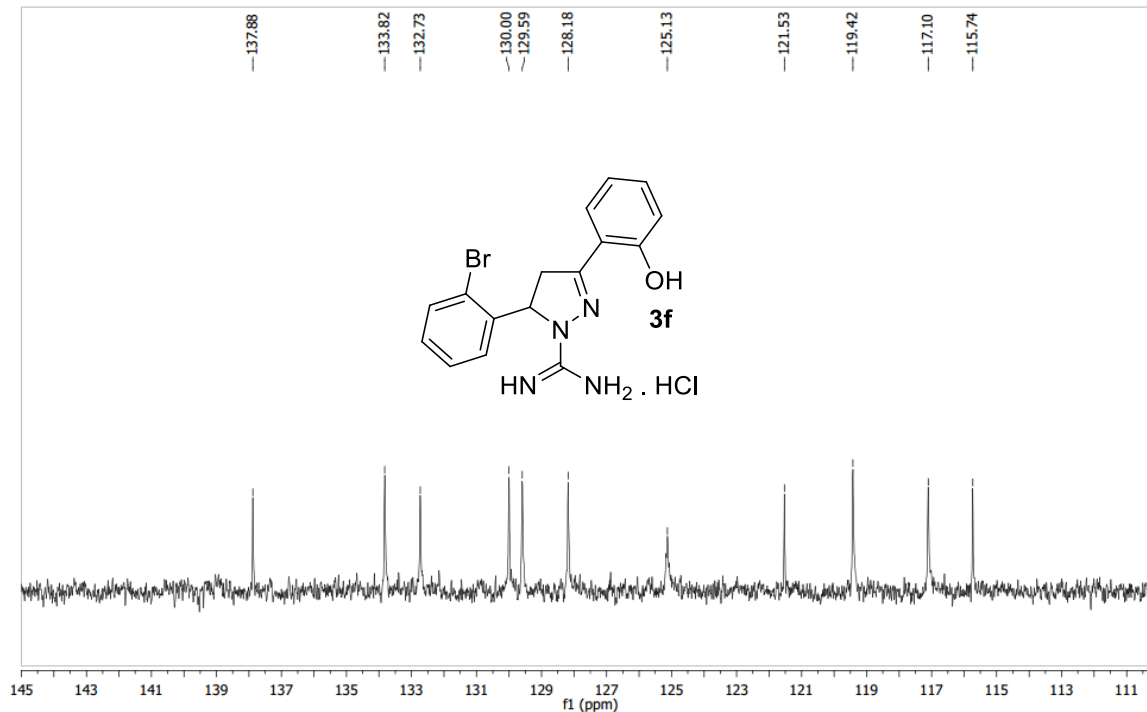
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO- d_6 .



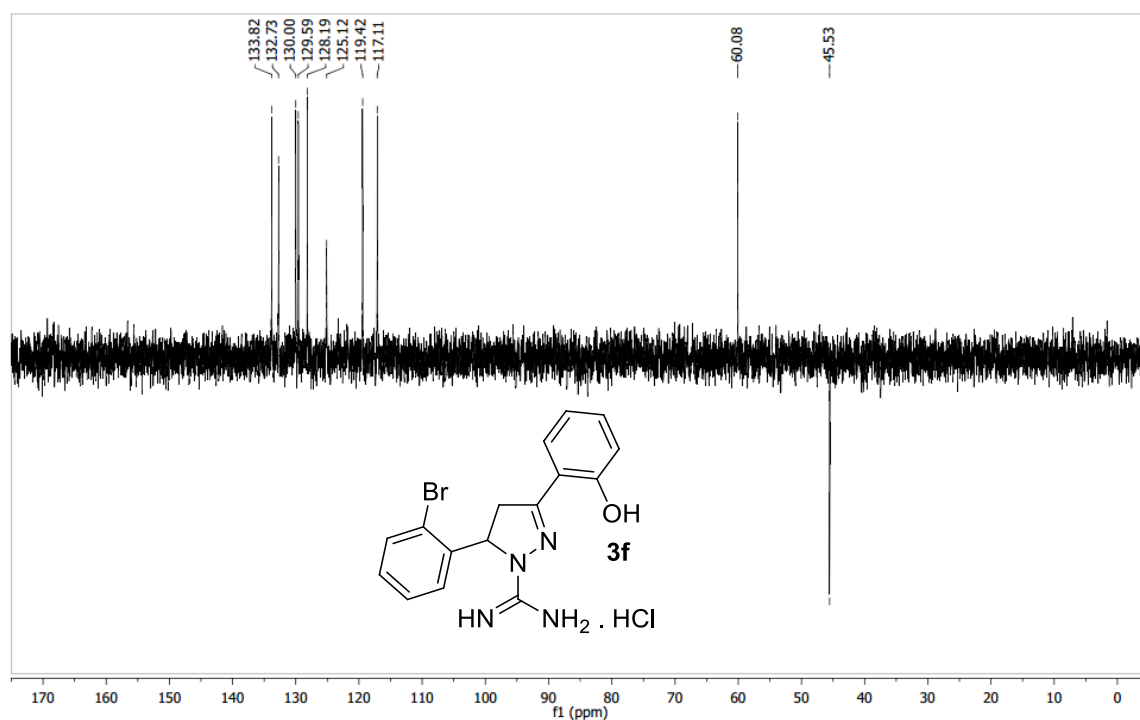
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO- d_6 .



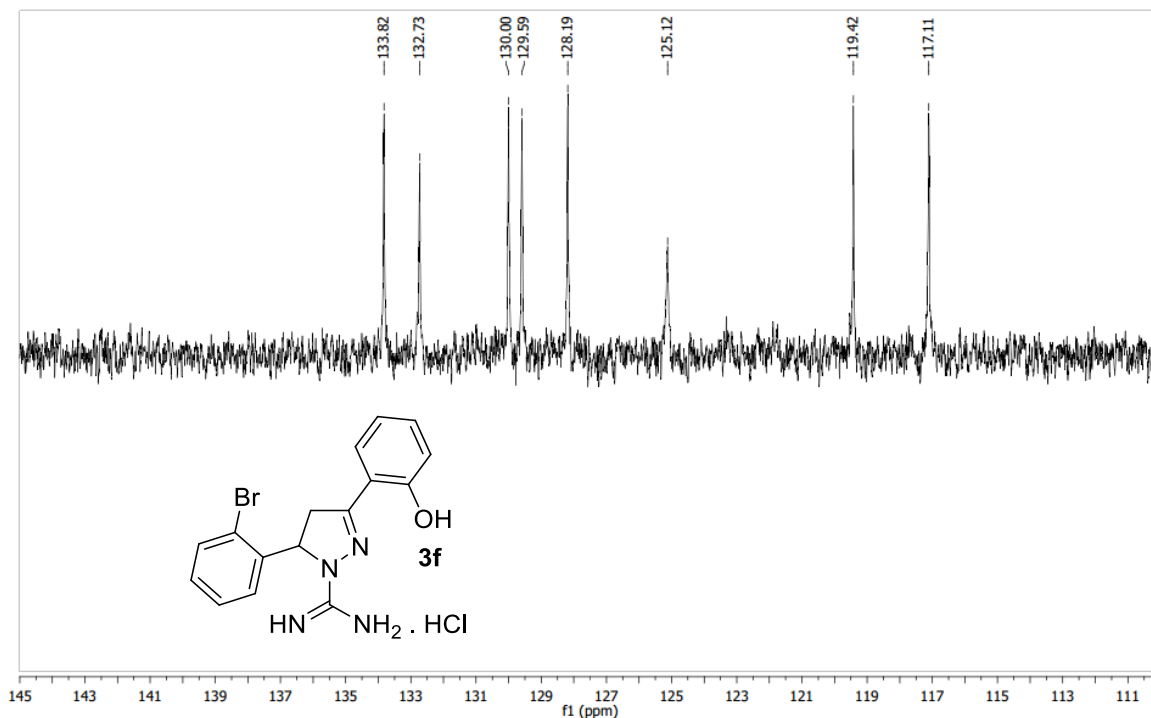
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz docloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



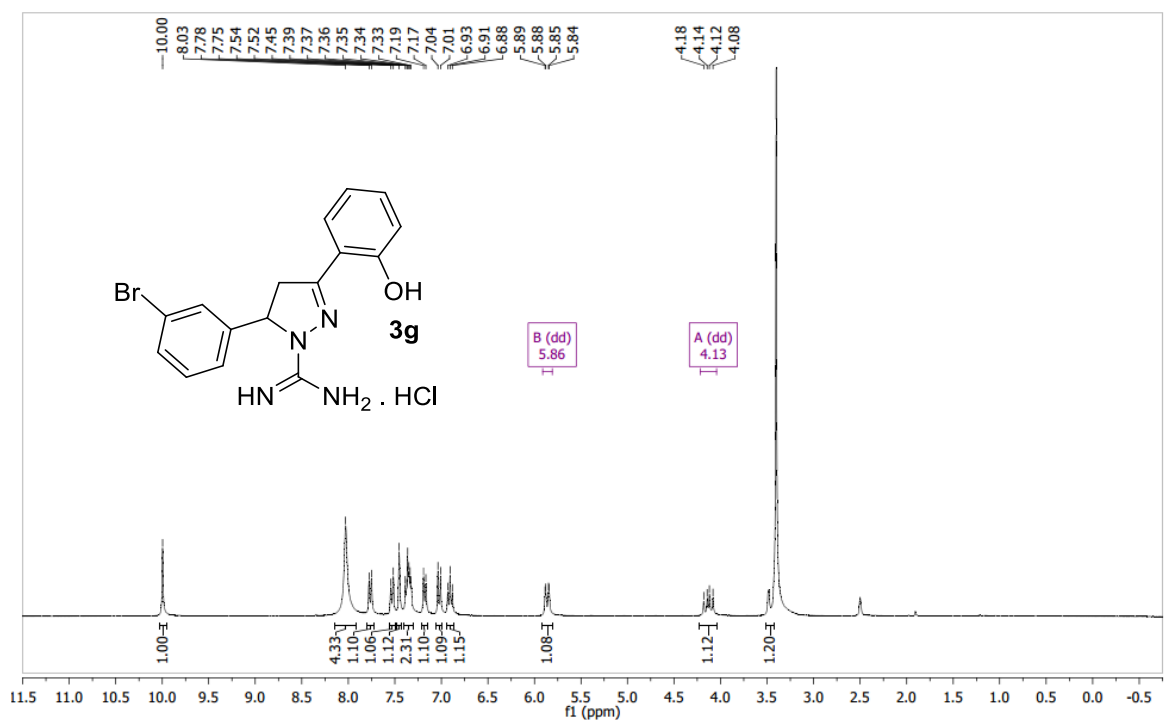
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



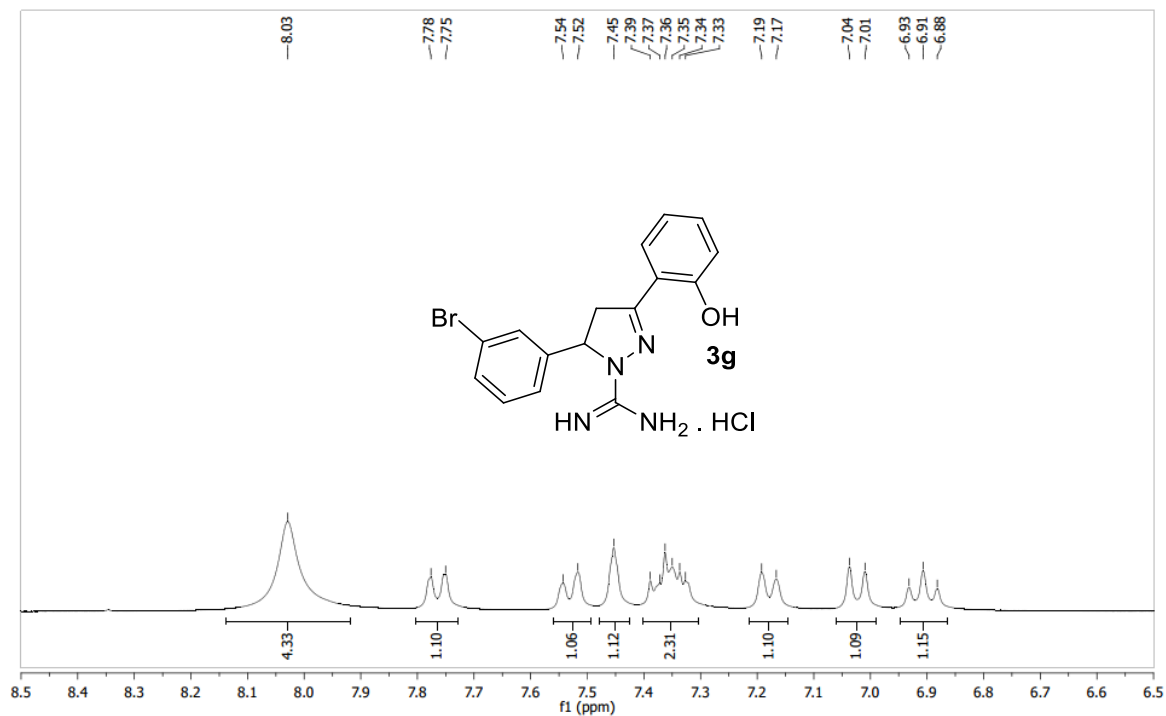
DEPT-135 do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 175 a -5 ppm, em DMSO- d_6 .



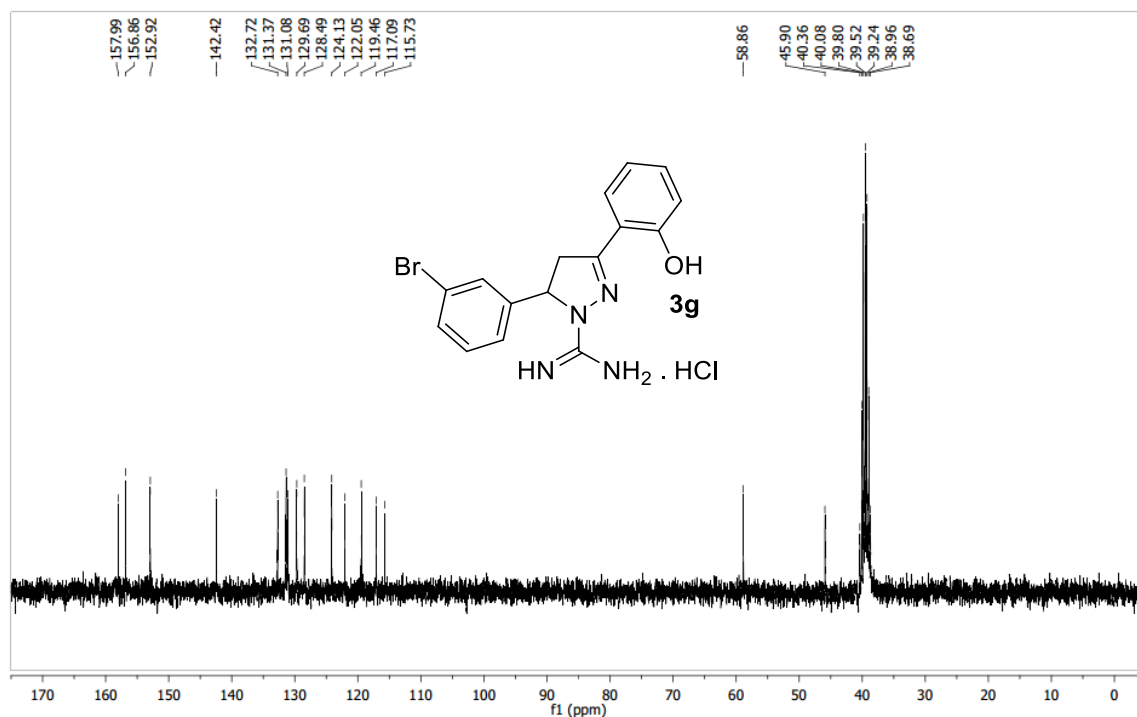
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 5-(2-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3f** entre 145 a 110 ppm, em DMSO- d_6 .



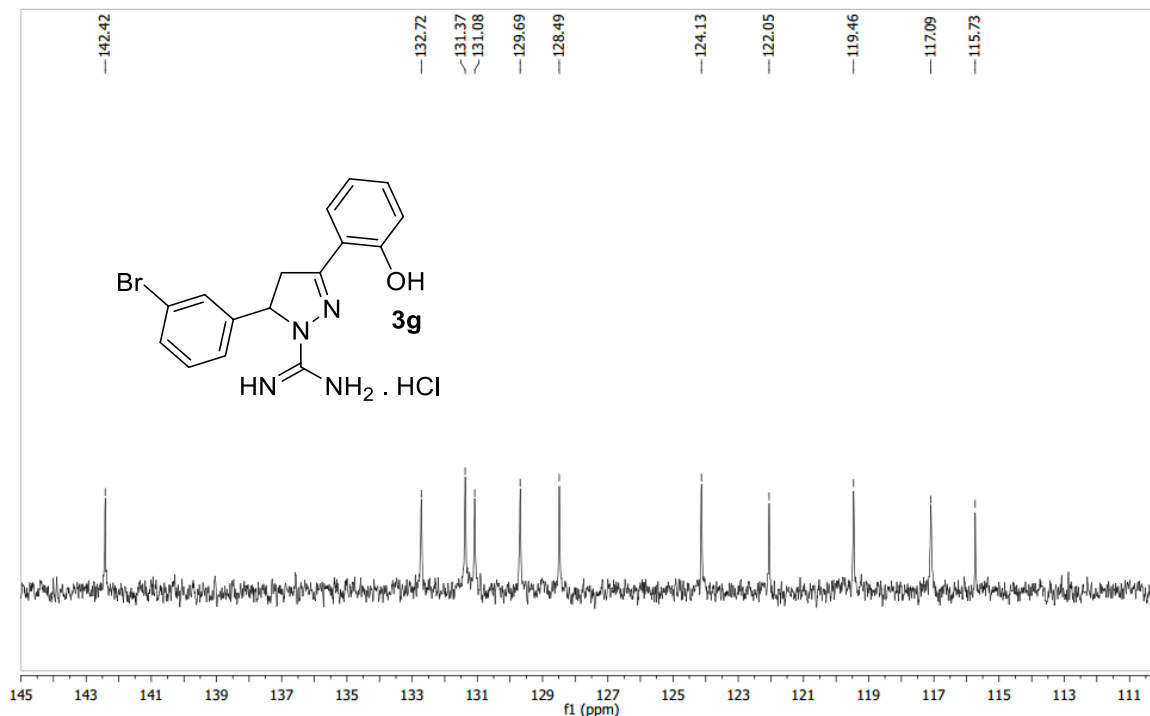
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



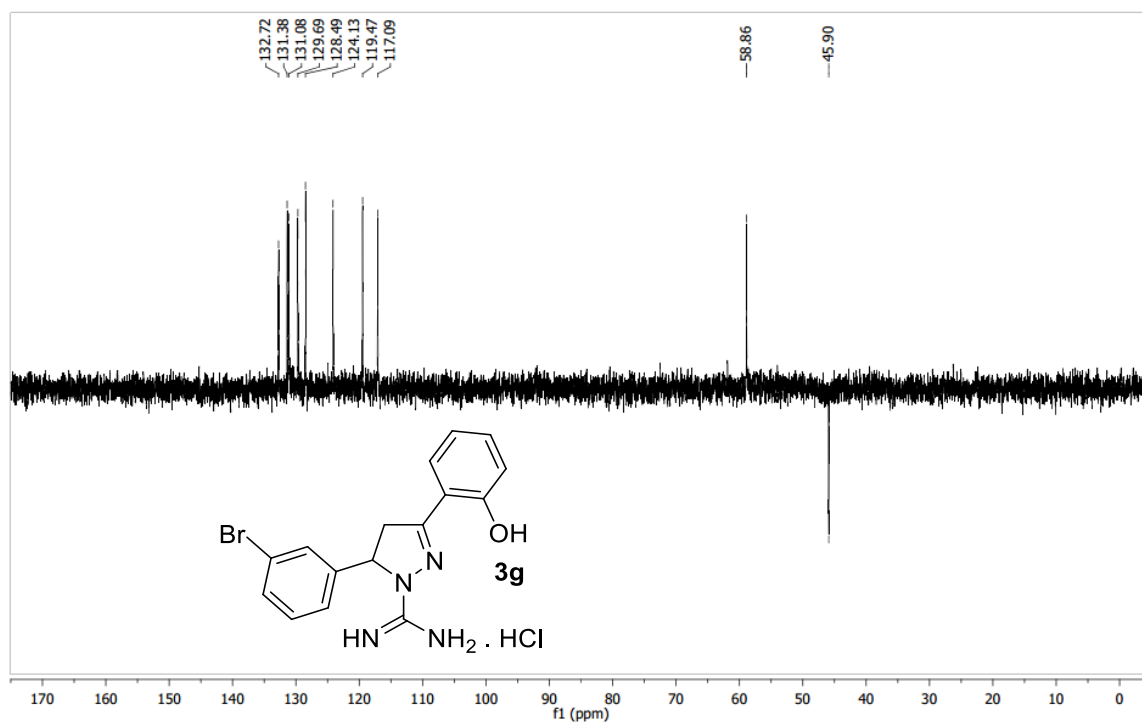
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



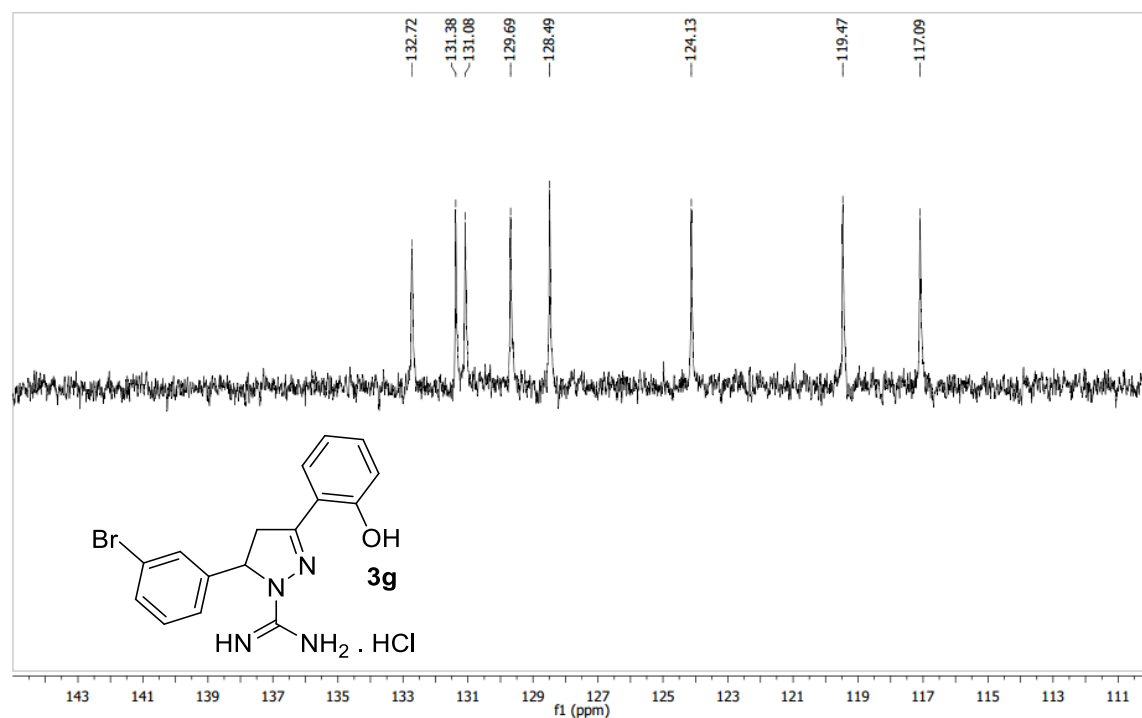
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



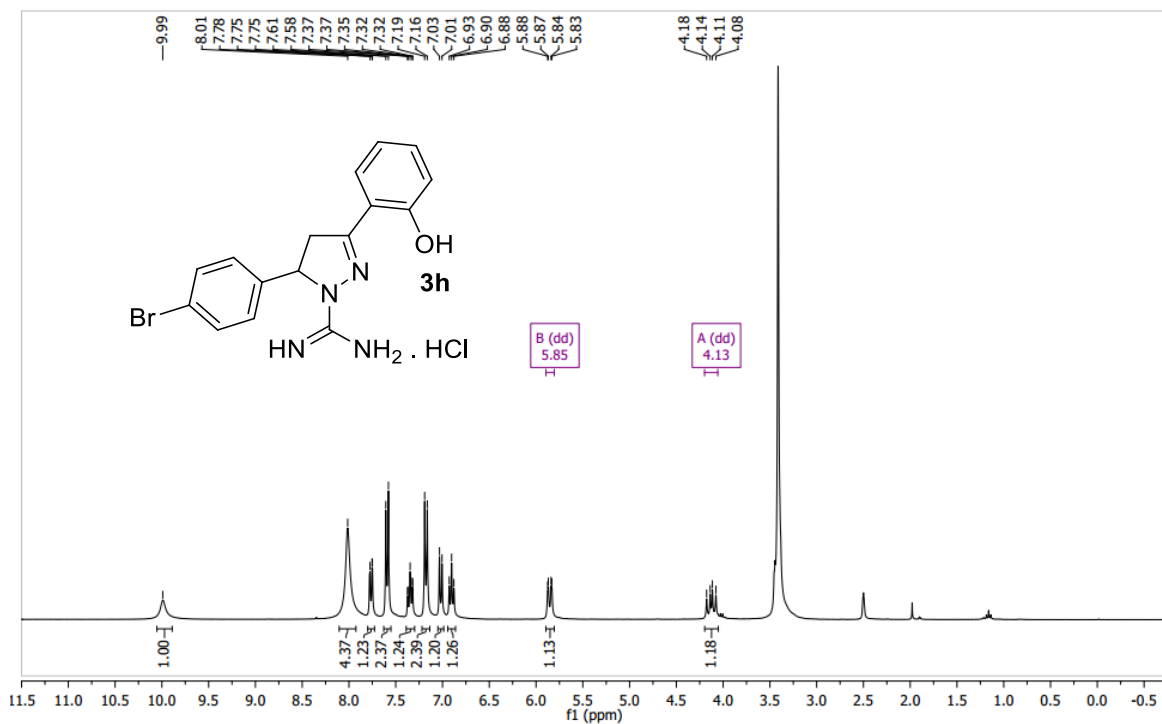
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



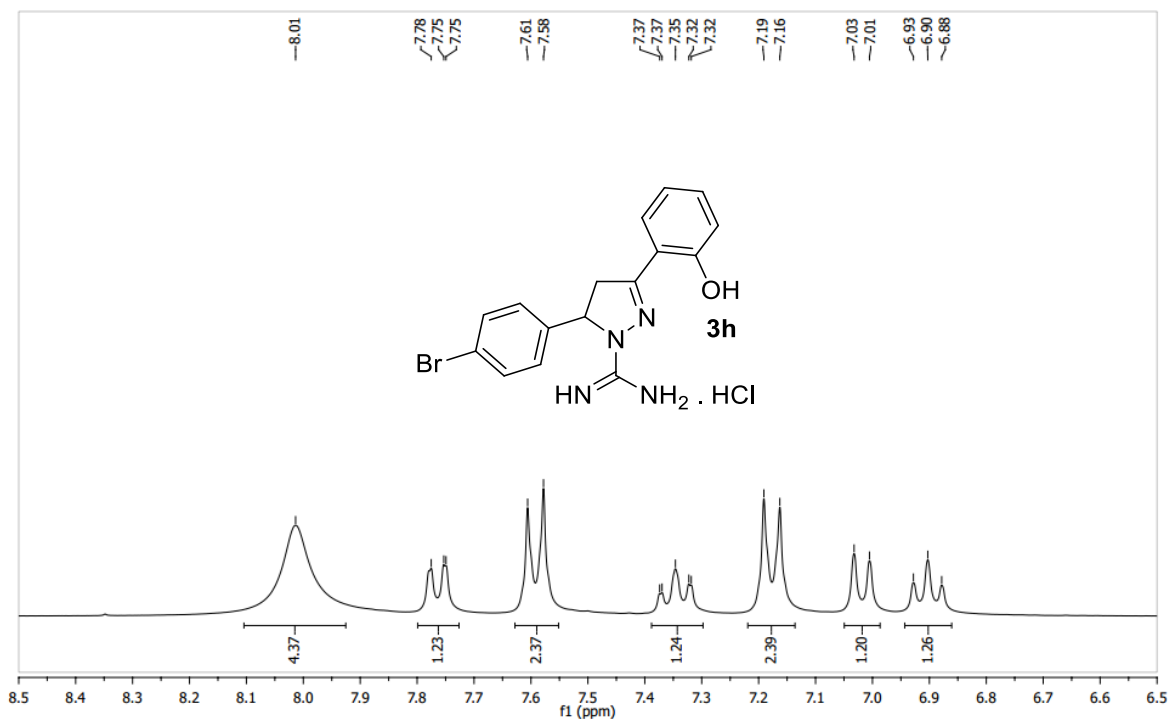
DEPT-135 do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



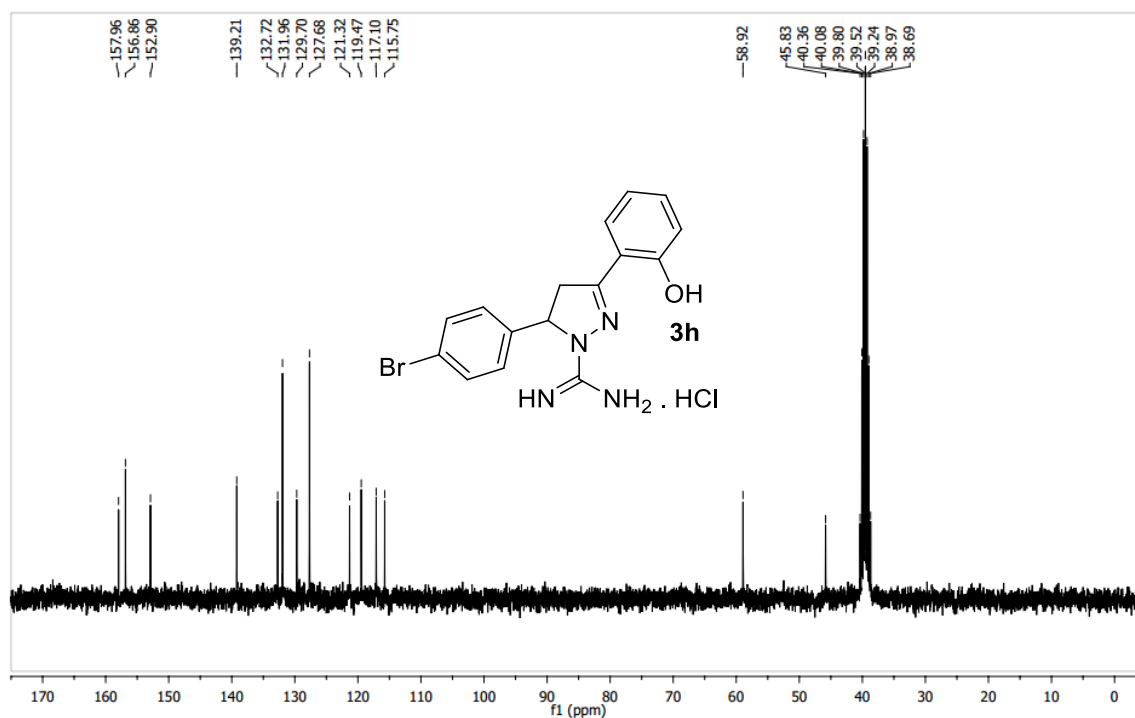
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 5-(3-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3g** entre 145 a 110ppm, em DMSO-*d*₆.



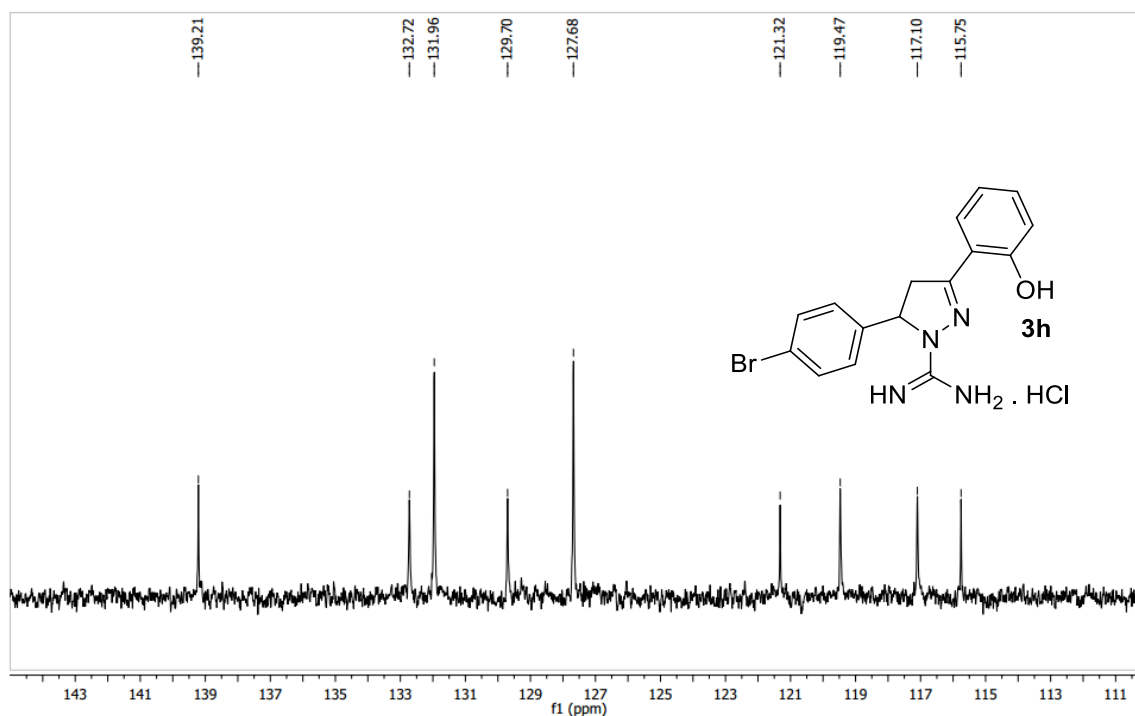
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



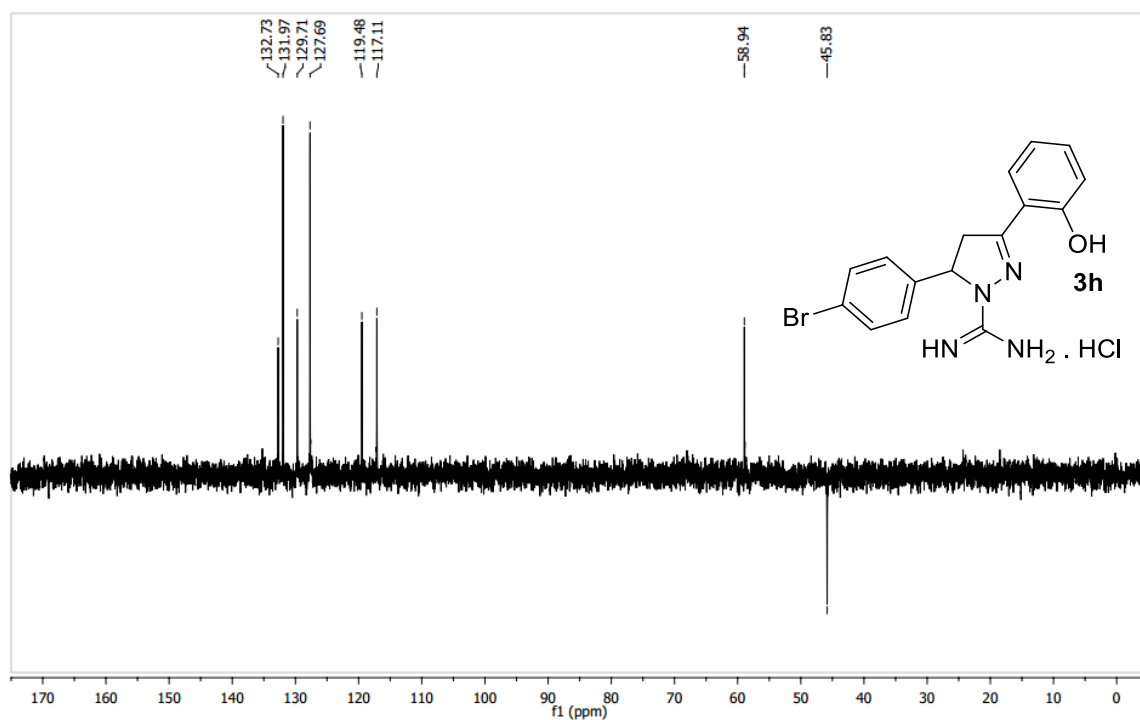
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



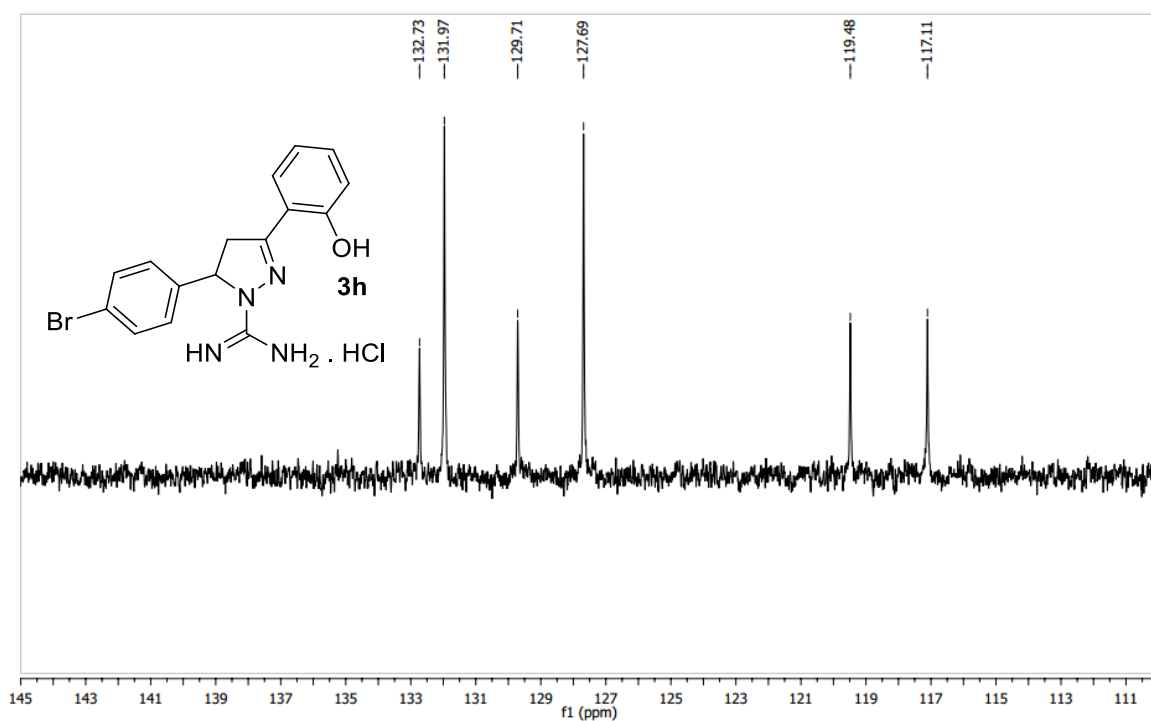
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



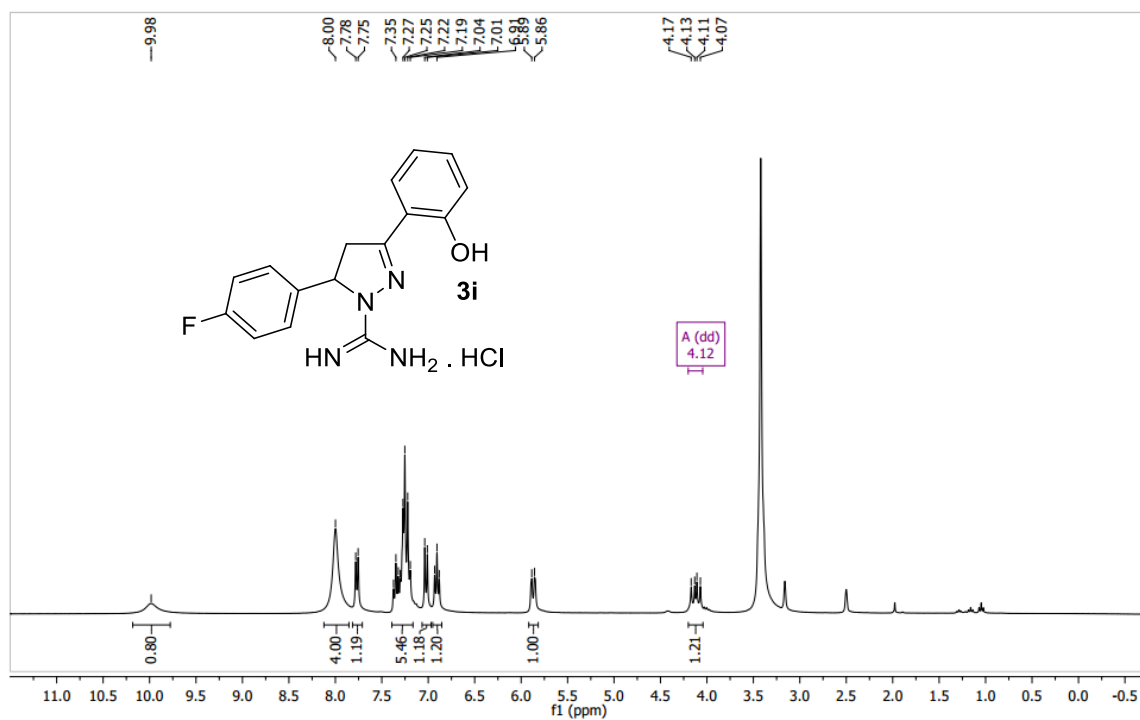
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



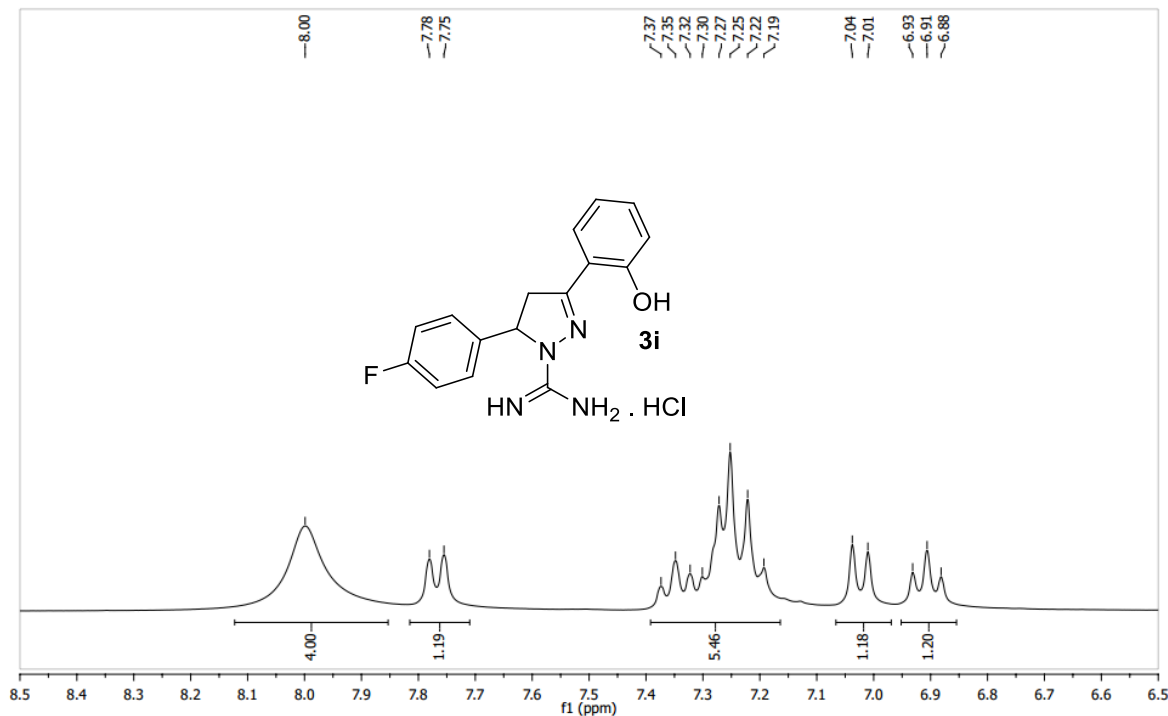
DEPT-135 do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 175 a -5 ppm, em DMSO- d_6 .



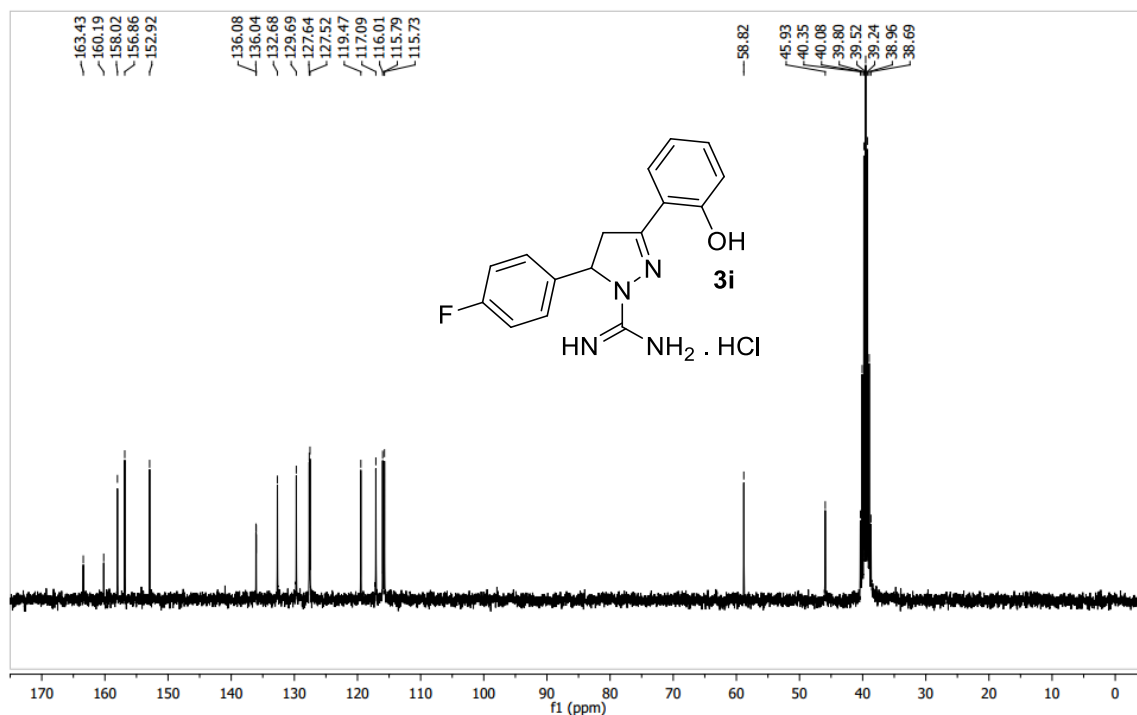
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 5-(4-bromofenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3h** entre 145 a 110 ppm, em DMSO- d_6 .



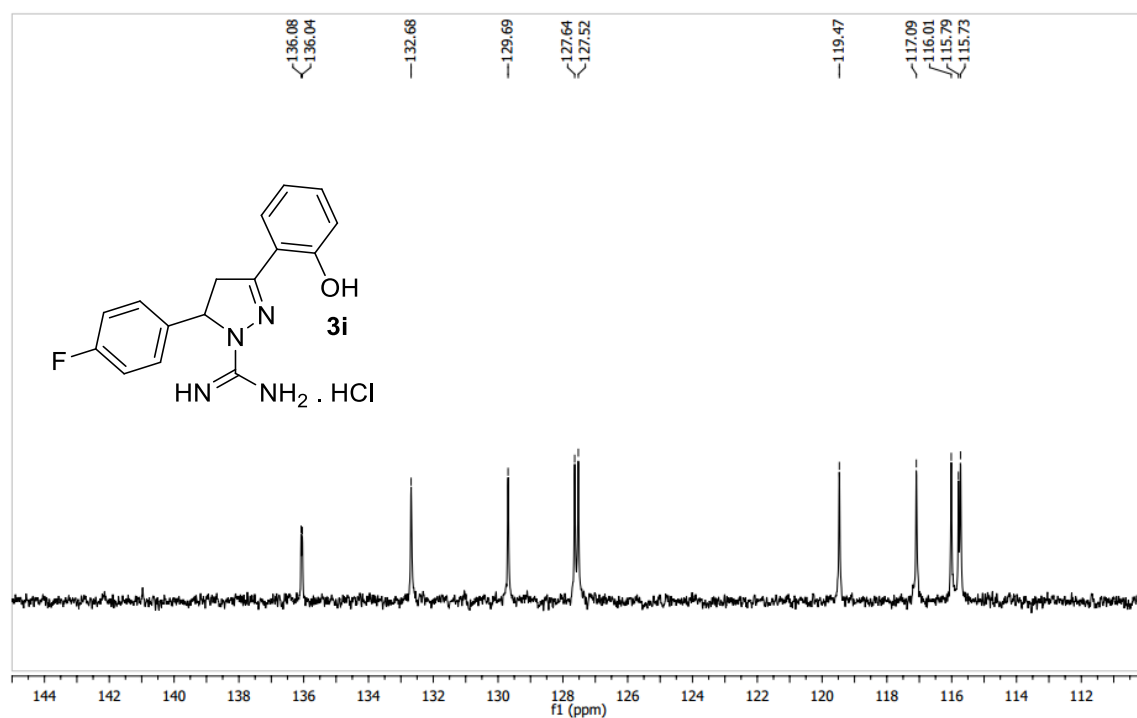
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 11,5 a -0,75 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



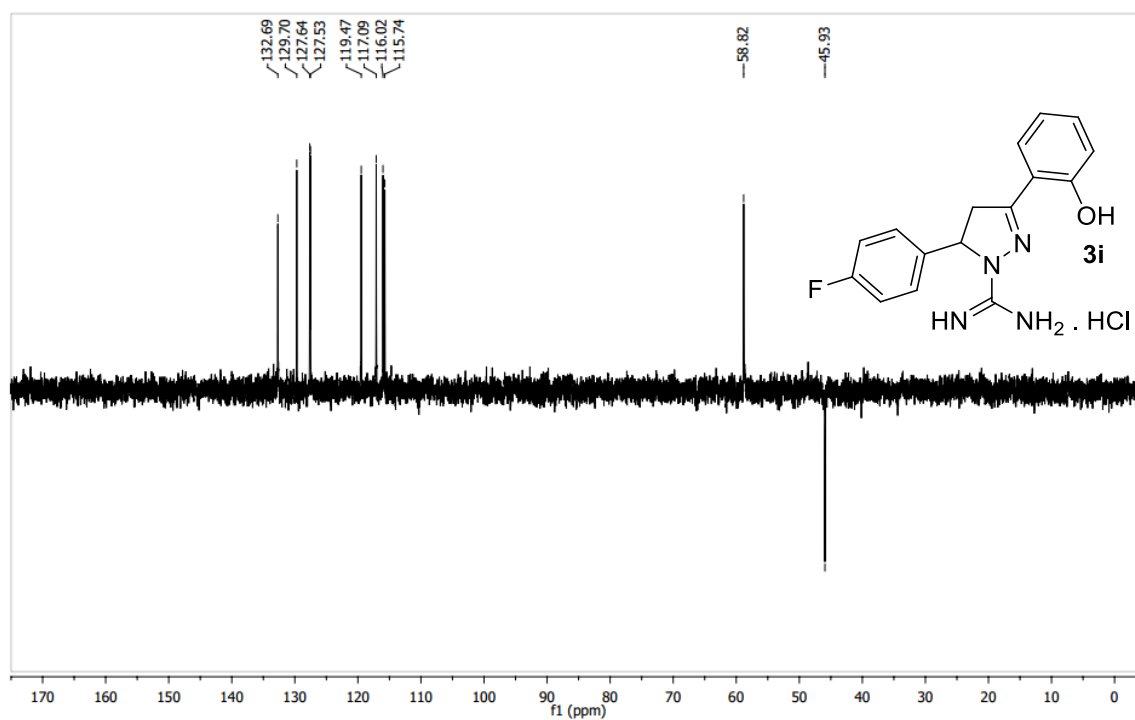
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 8,5 a 6,5 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



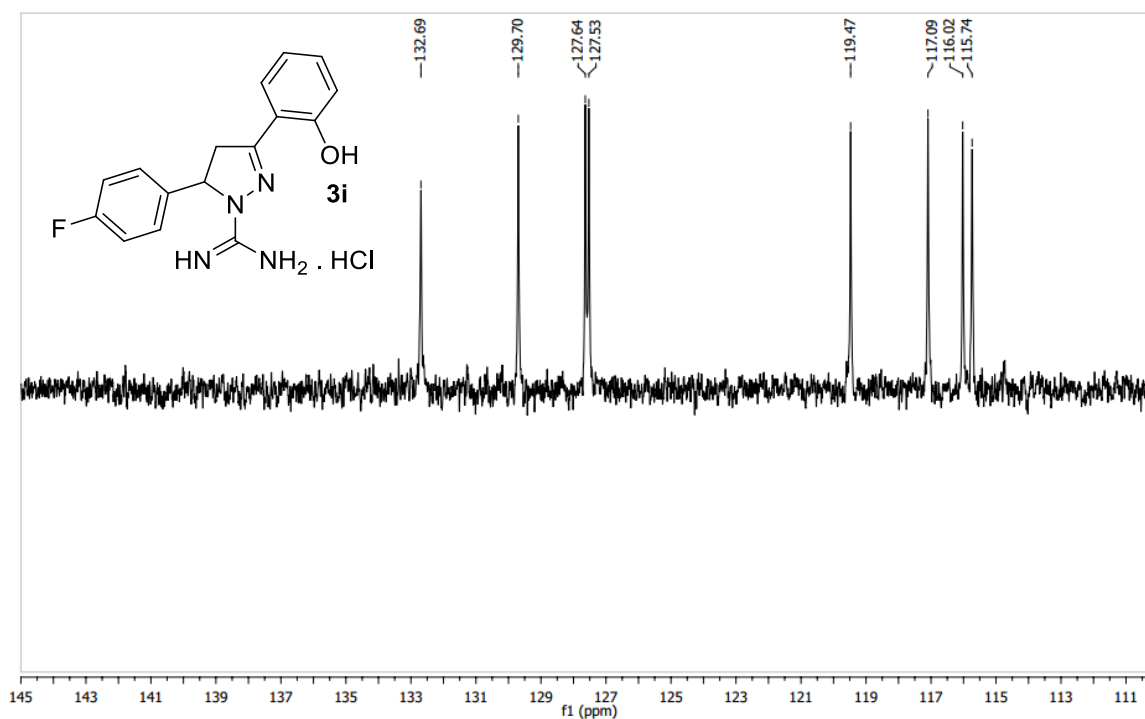
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



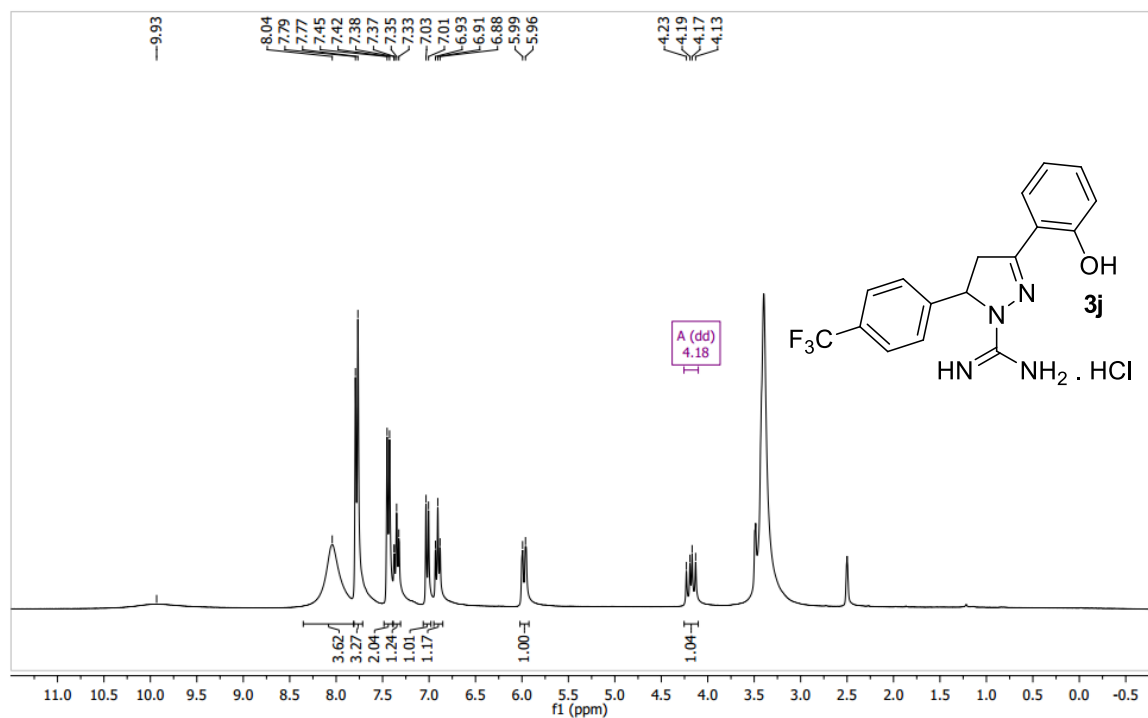
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



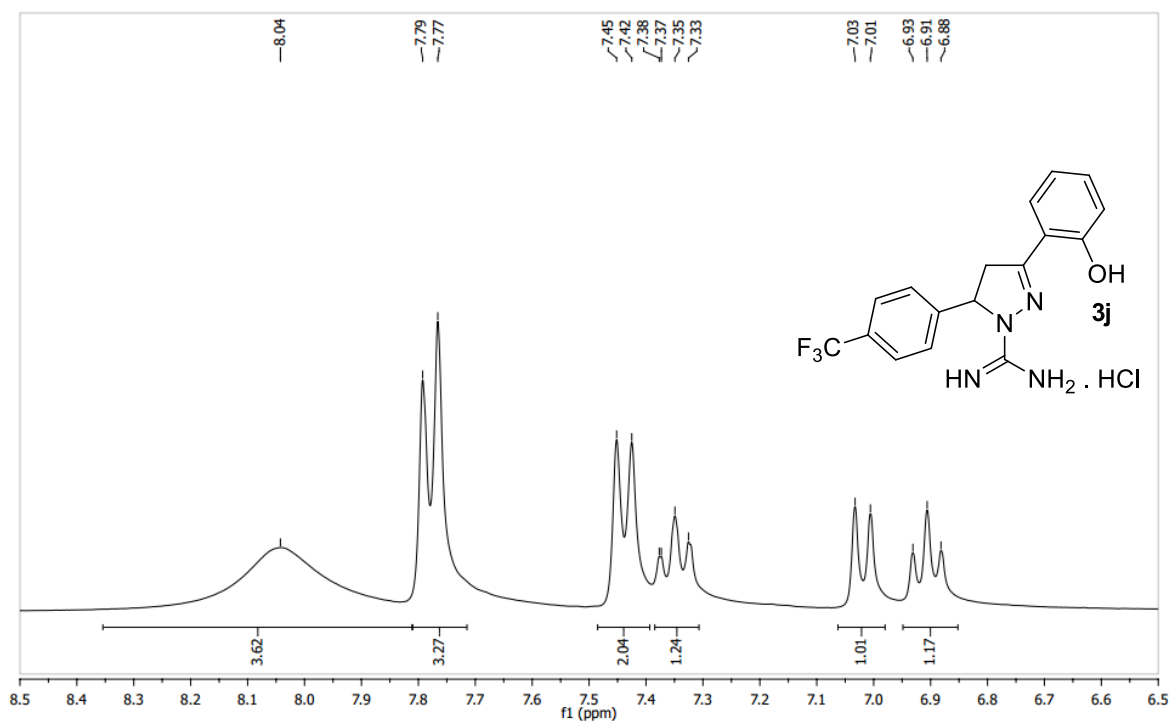
DEPT-135 do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



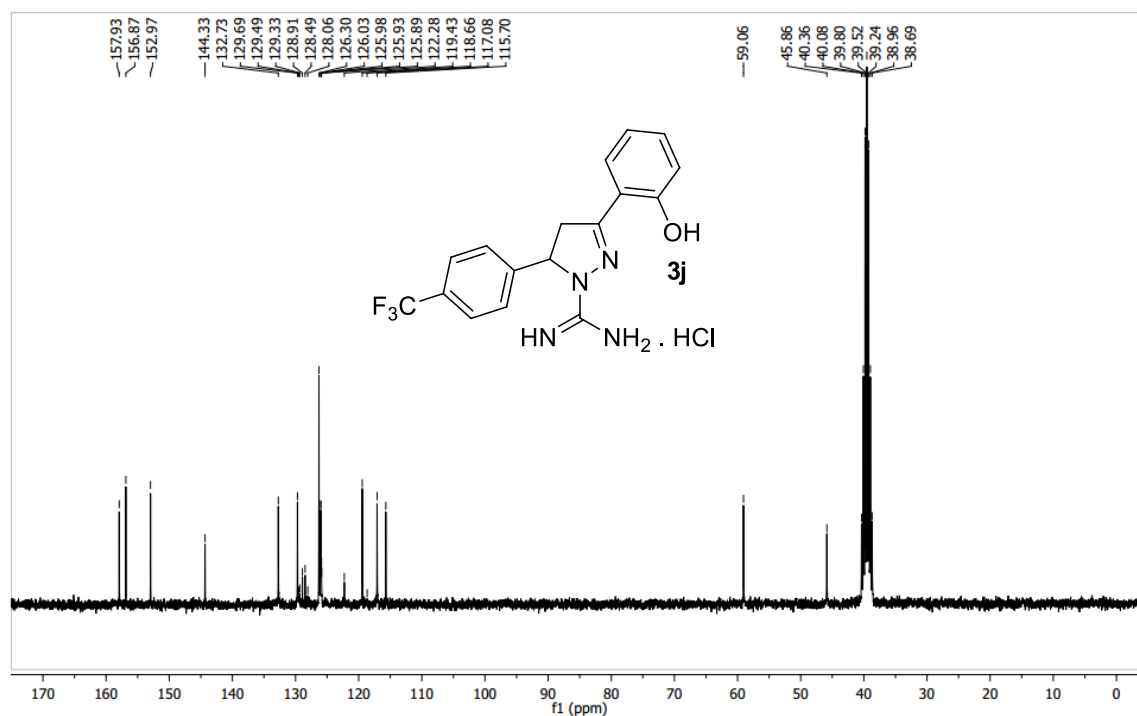
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 5-(4-fluorfenil)-3-(2-hidroxifenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3i** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



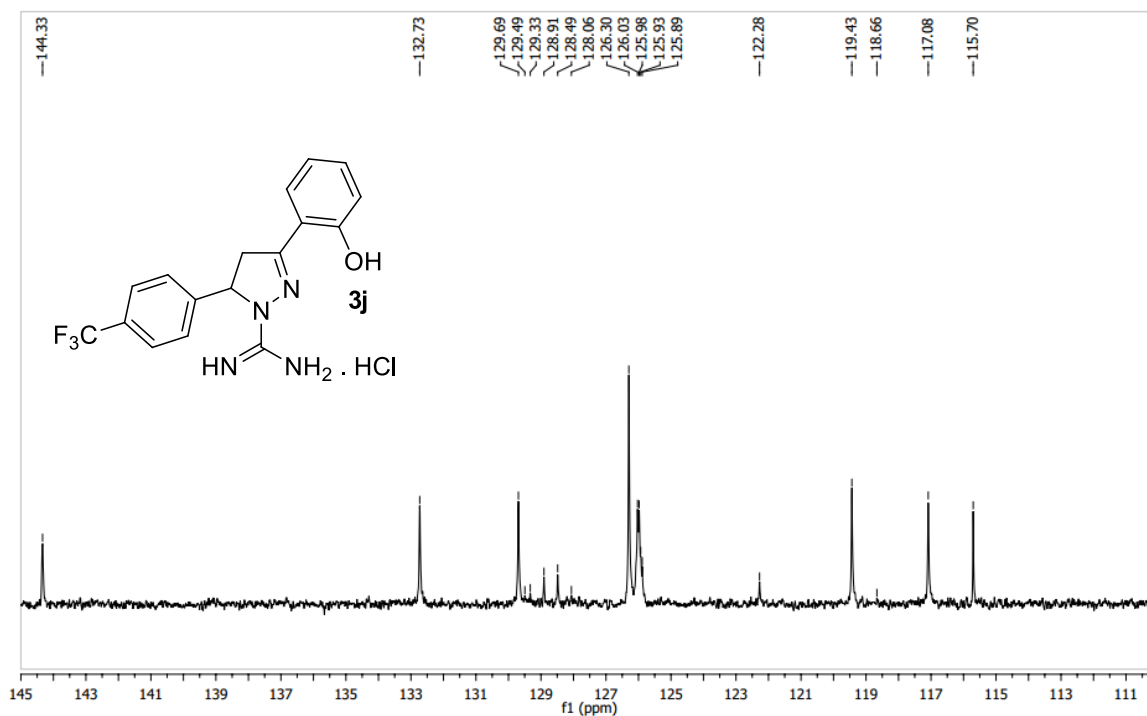
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 11,5 a -0,75 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



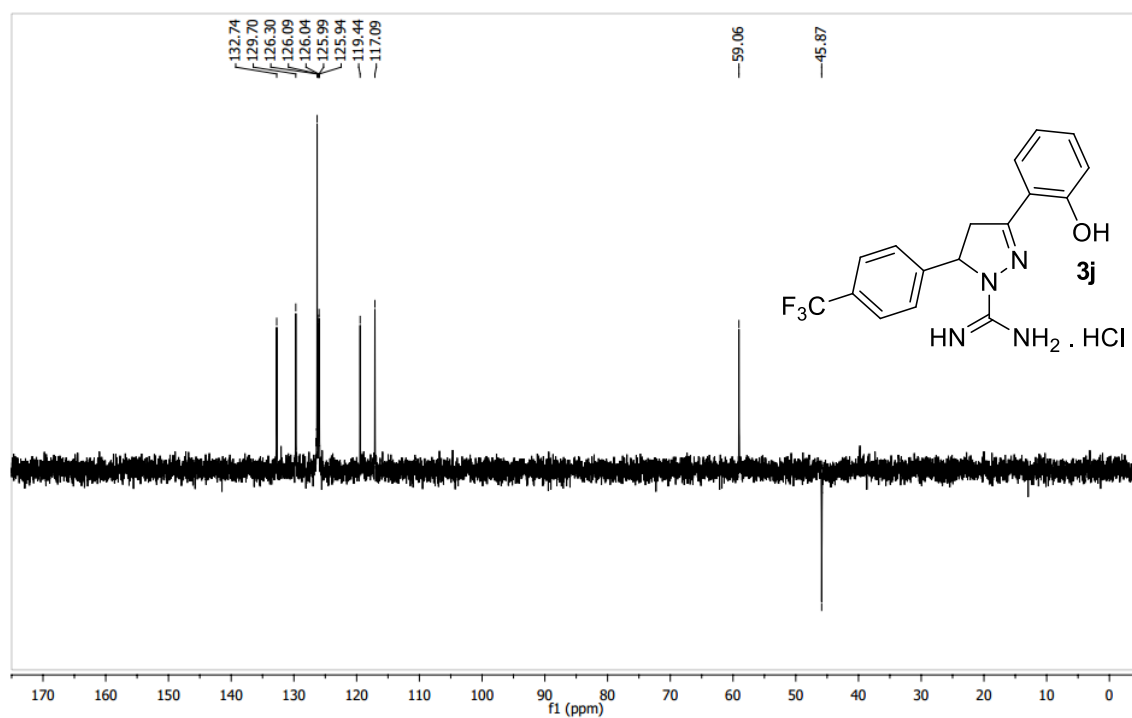
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 8,5 a 6,5 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



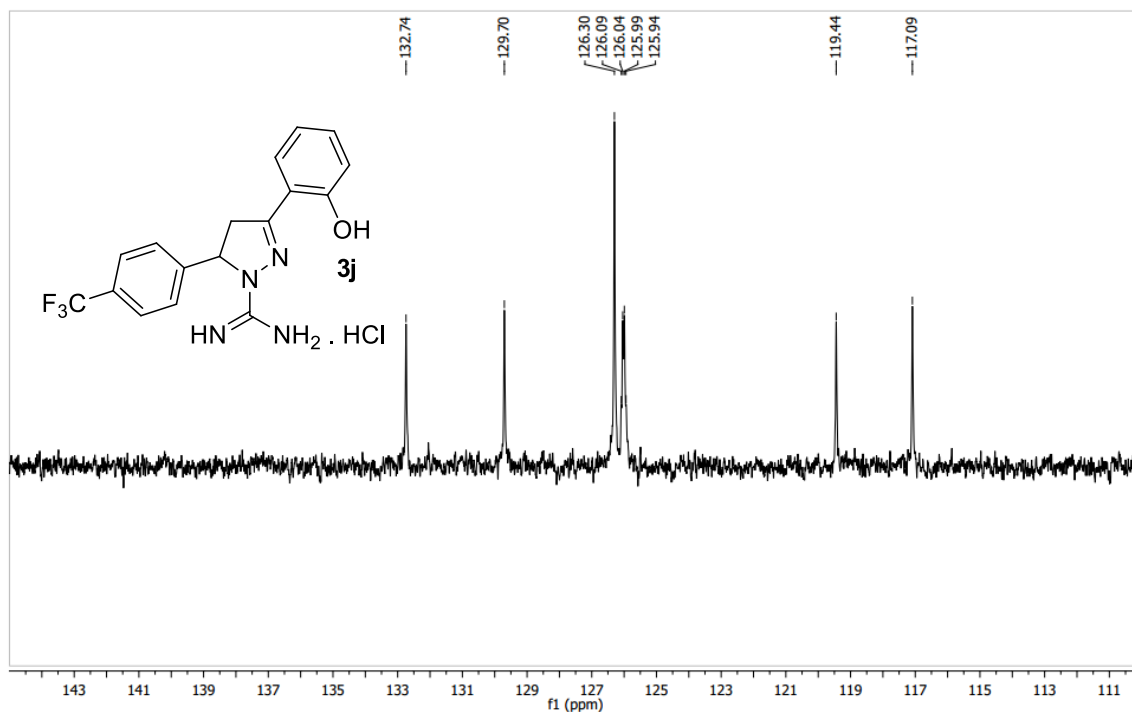
Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 175 a -5 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



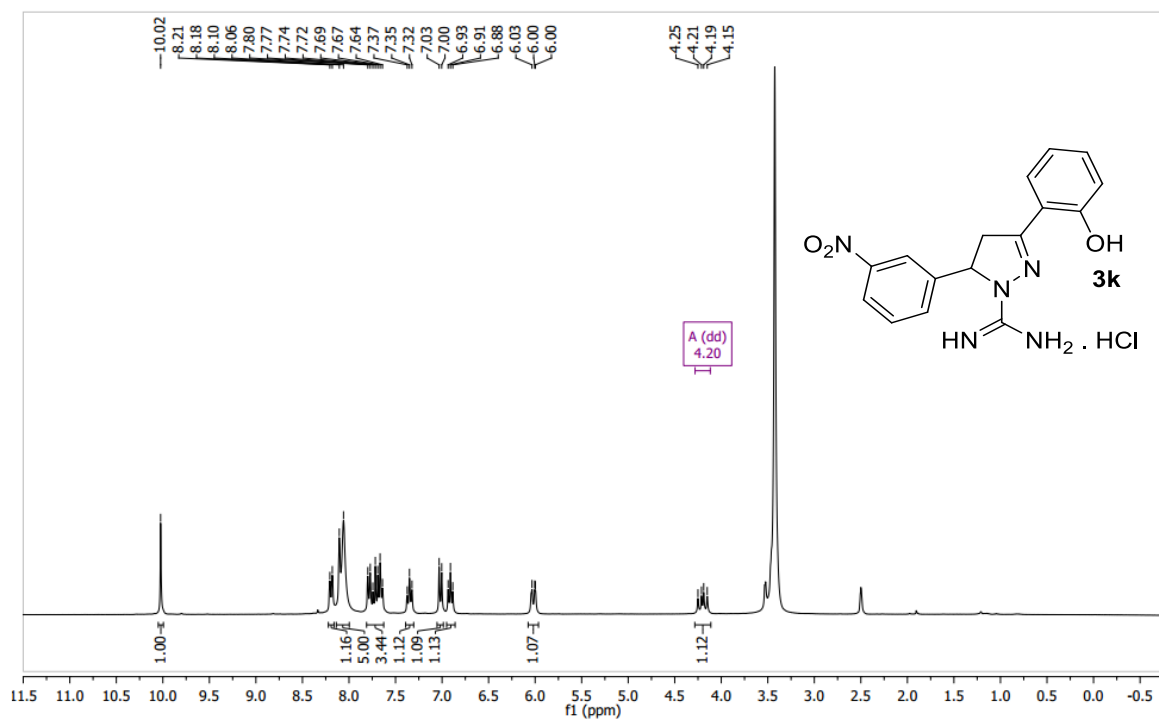
Expansão do espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 145 a 110 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



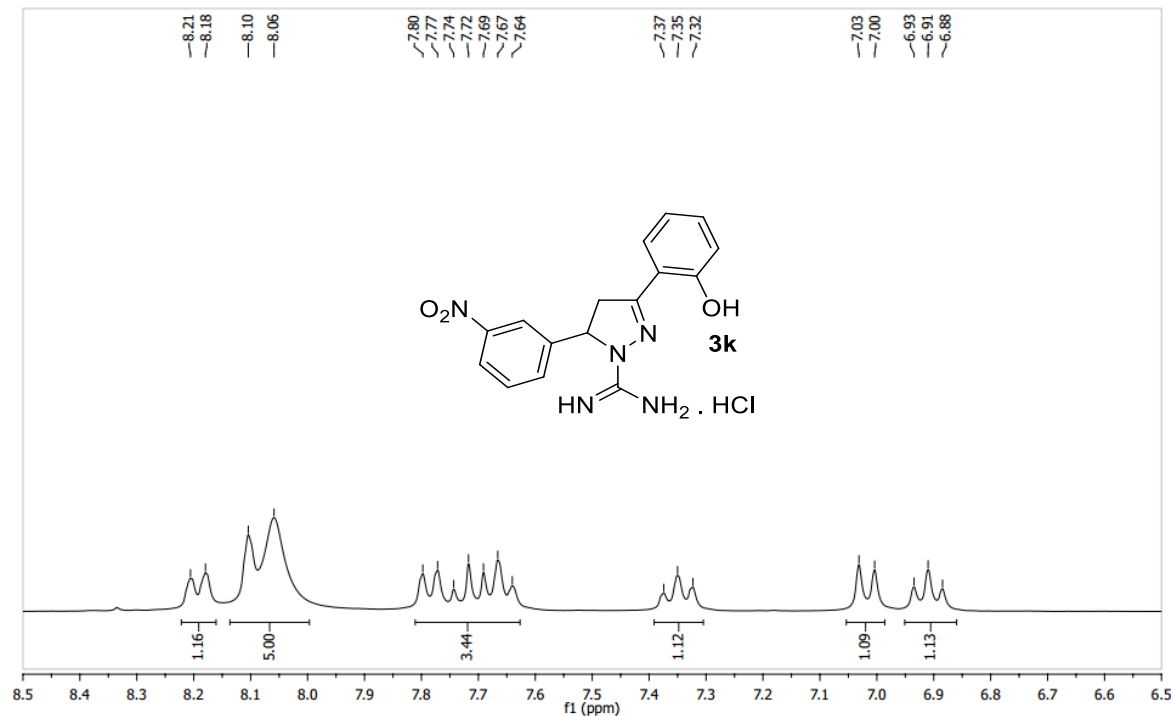
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 175 a -5 ppm, em DMSO- d_6 .



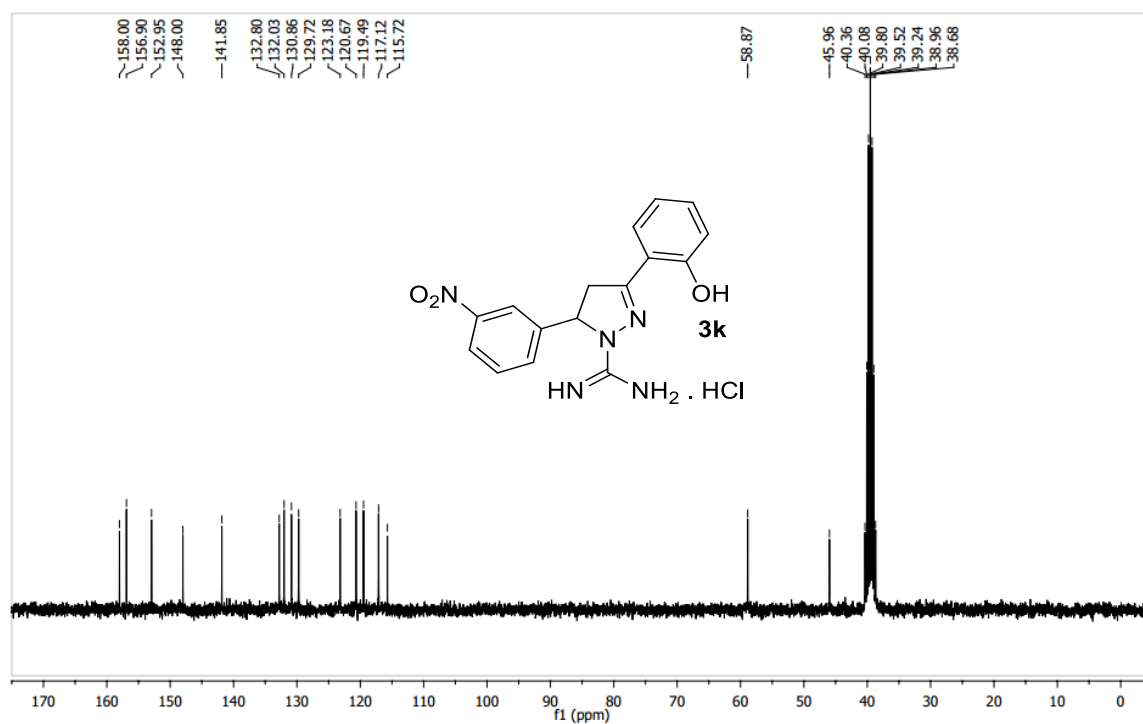
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(4-(trifluormetil)fenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3j** entre 145 a 110ppm, em DMSO- d_6 .



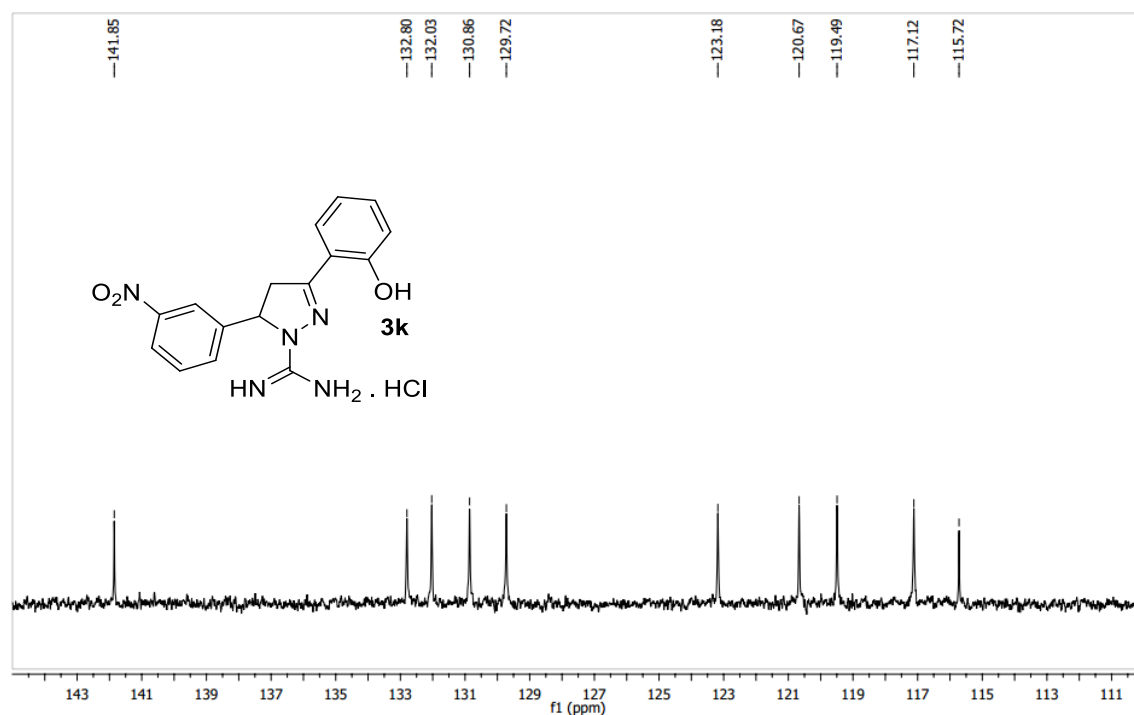
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 11,5 a -0,75 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



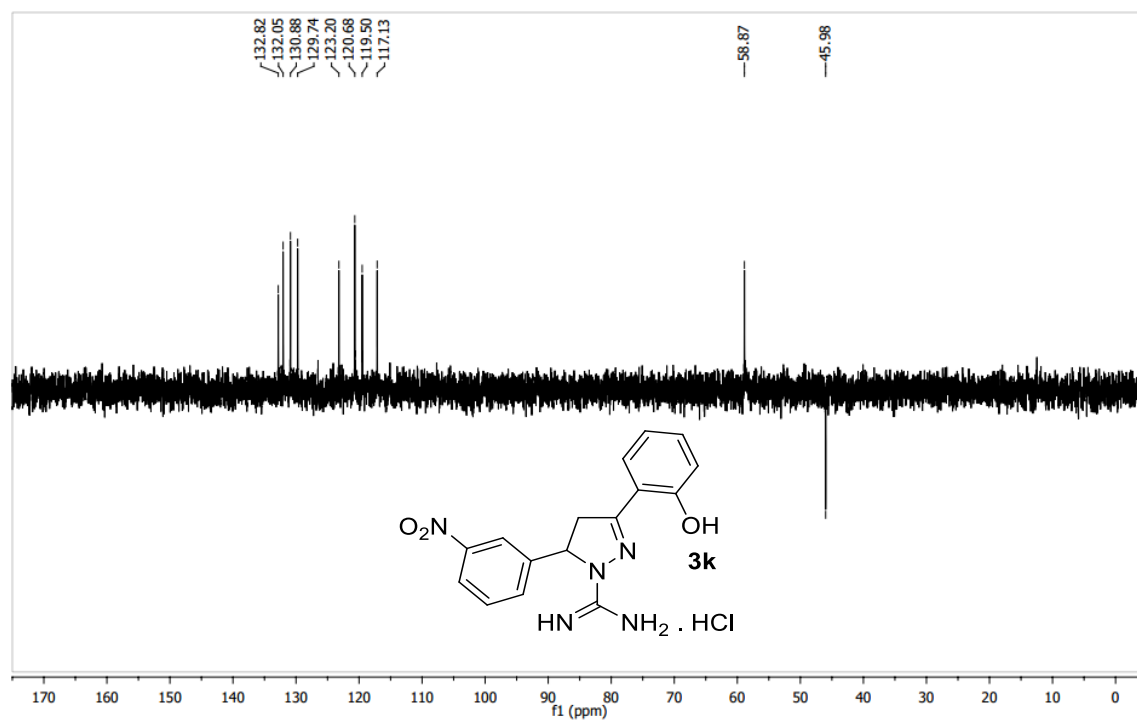
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 8,5 a 6,5 ppm, em $\text{DMSO-}d_6$.



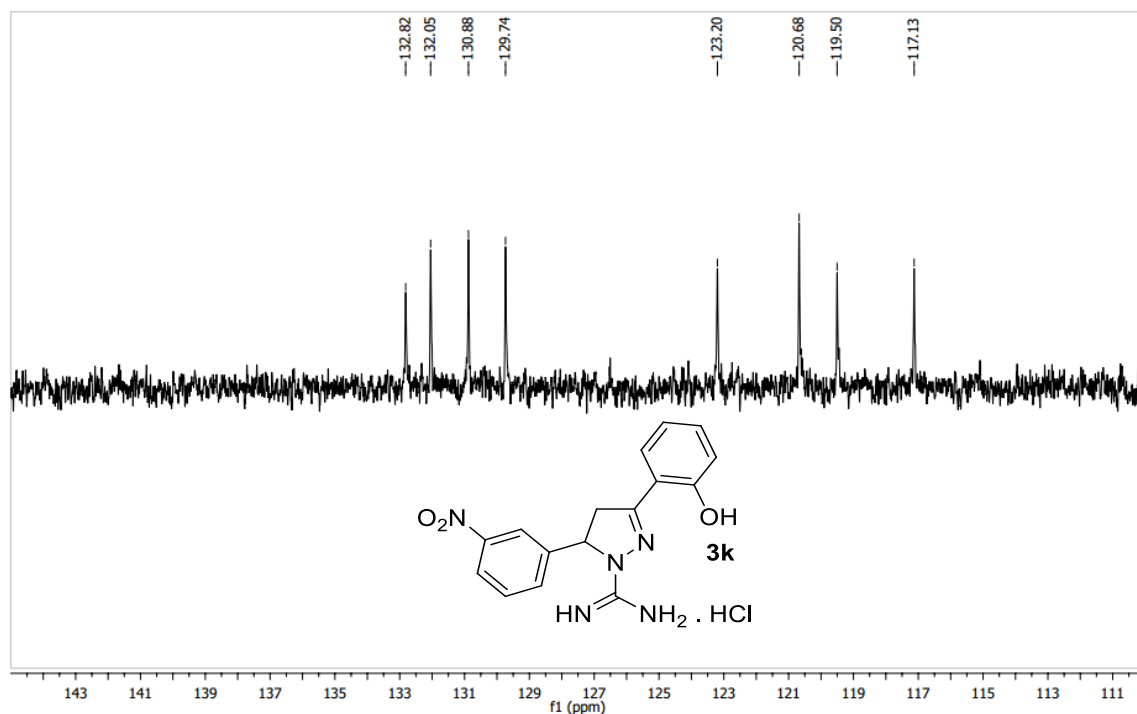
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



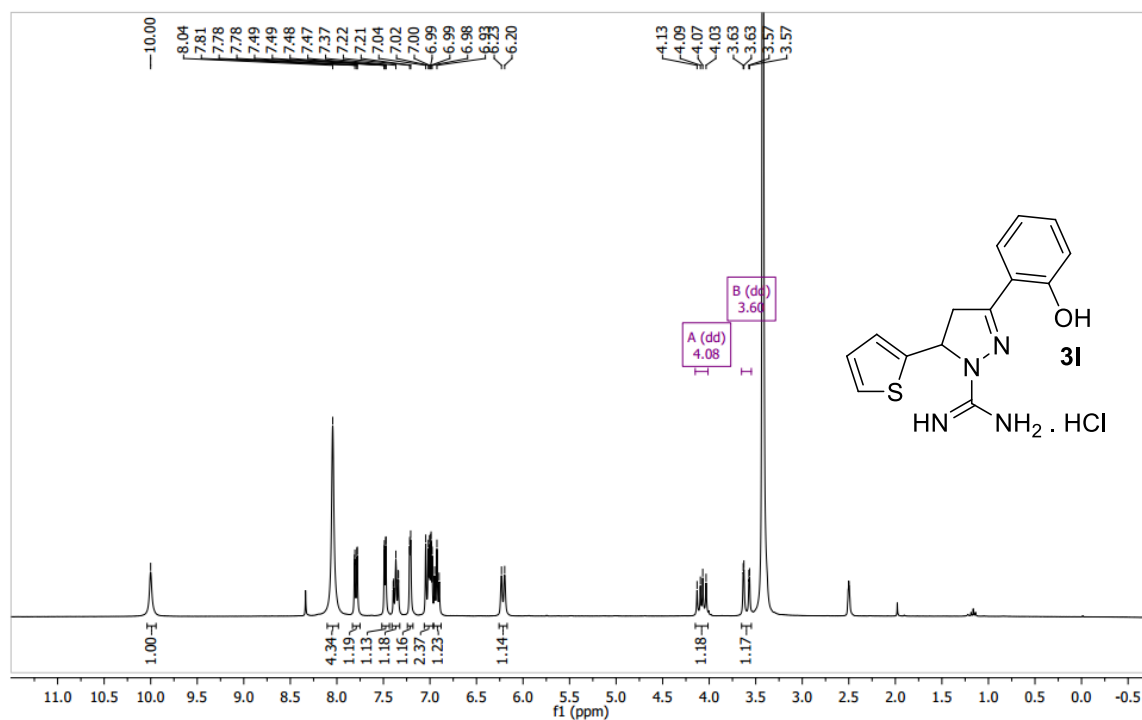
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



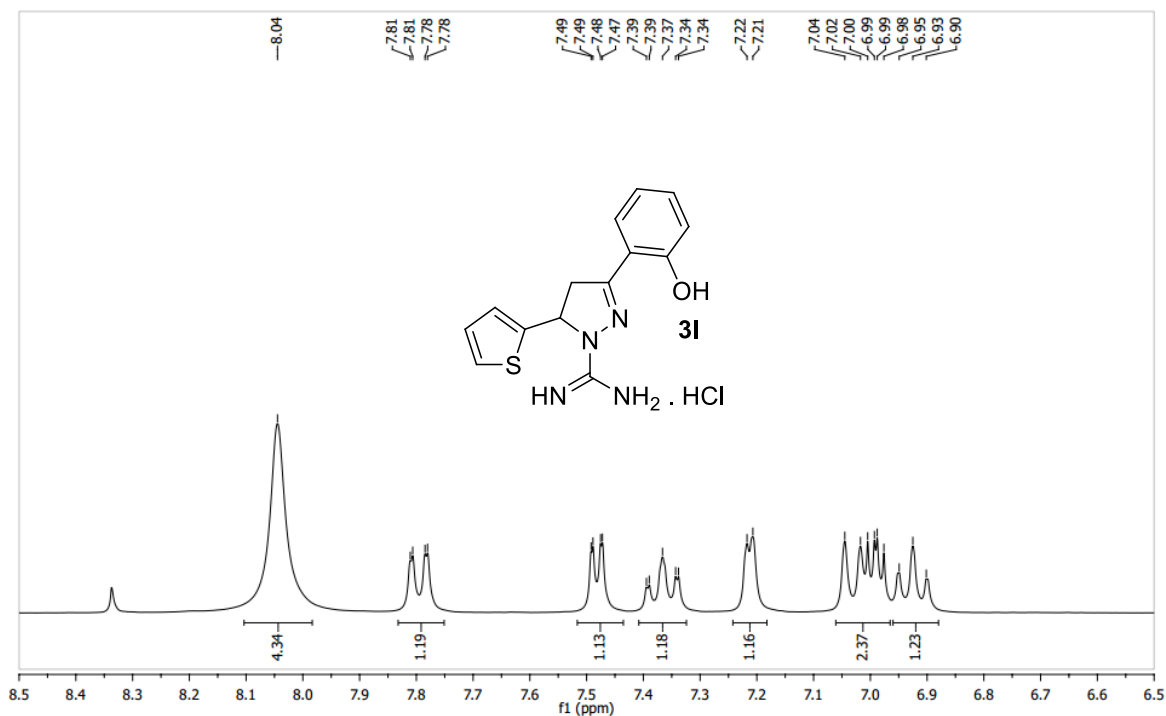
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



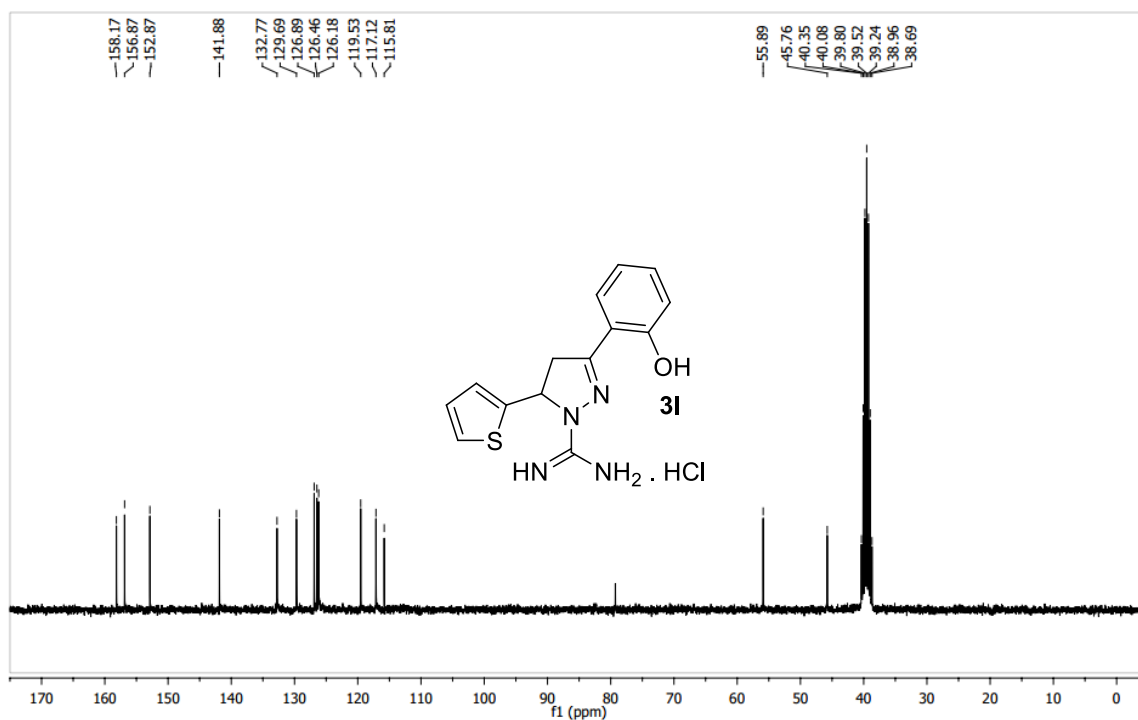
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(3-nitrofenil)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3k** entre 145 a 110ppm, em DMSO-*d*₆.



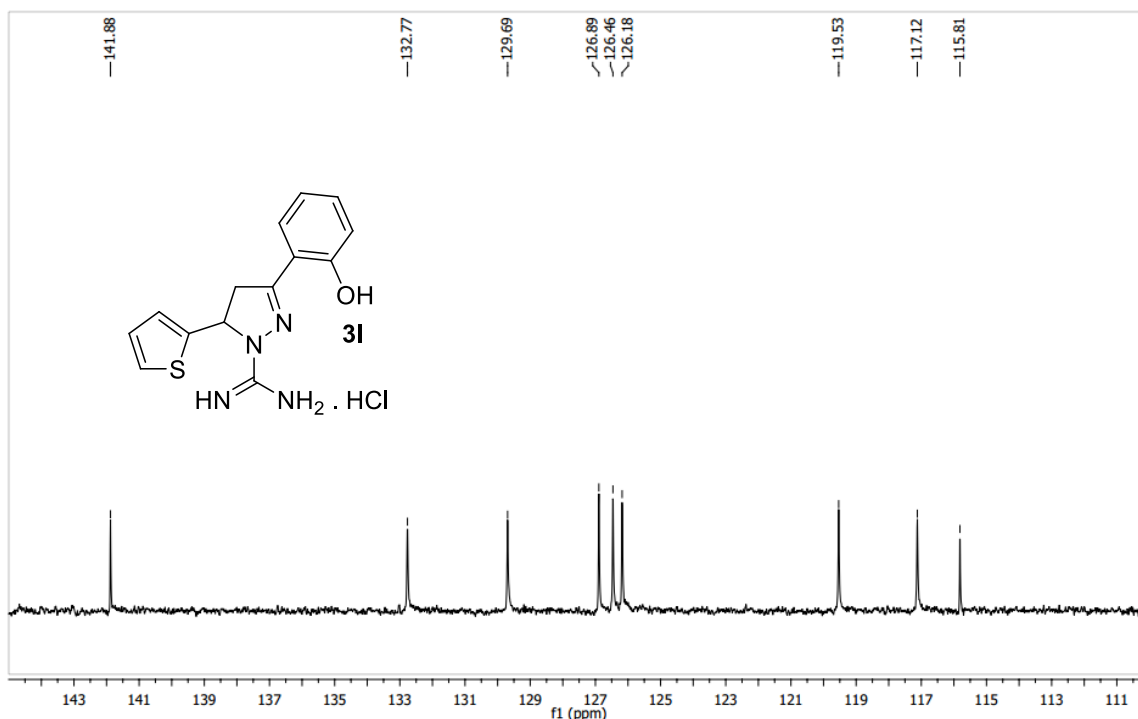
Espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 11,5 a -0,75 ppm, em DMSO-*d*₆.



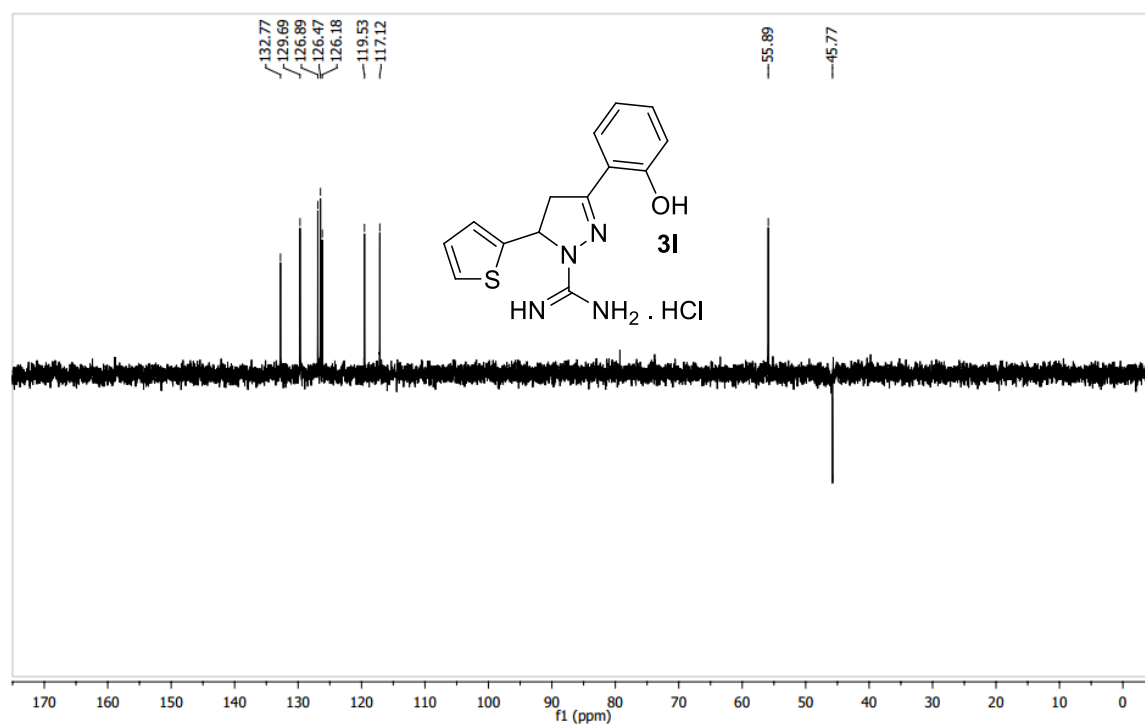
Expansão do espectro de RMN ¹H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 8,5 a 6,5 ppm, em DMSO-*d*₆.



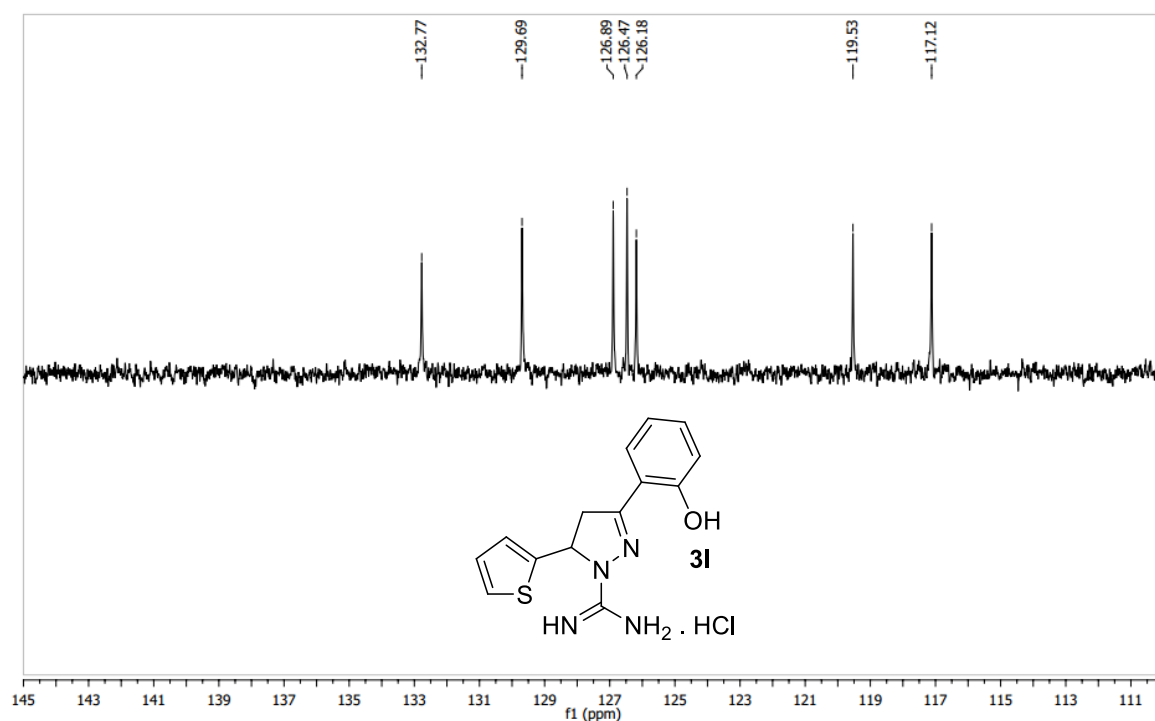
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



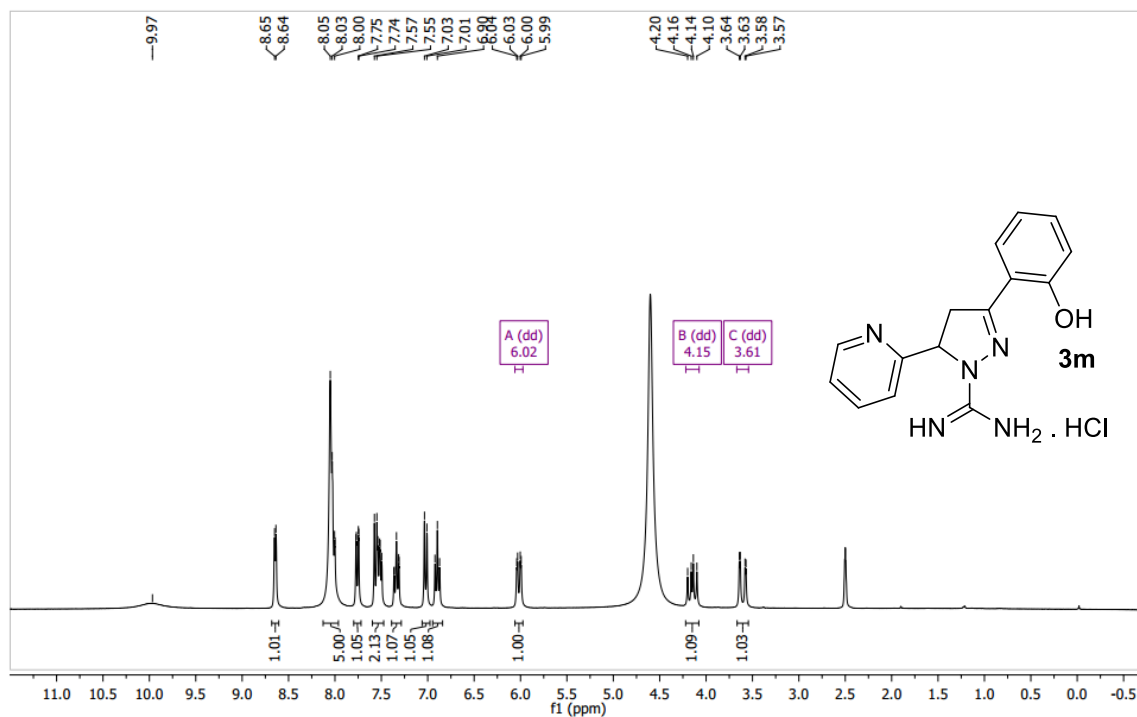
Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



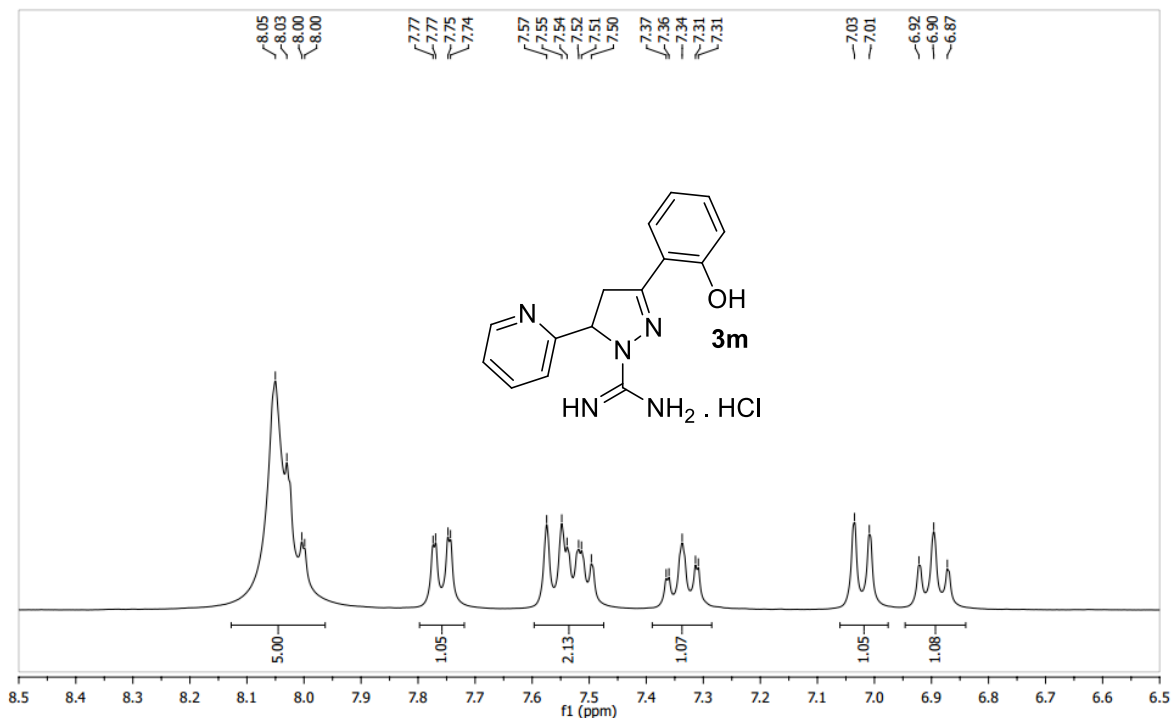
DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



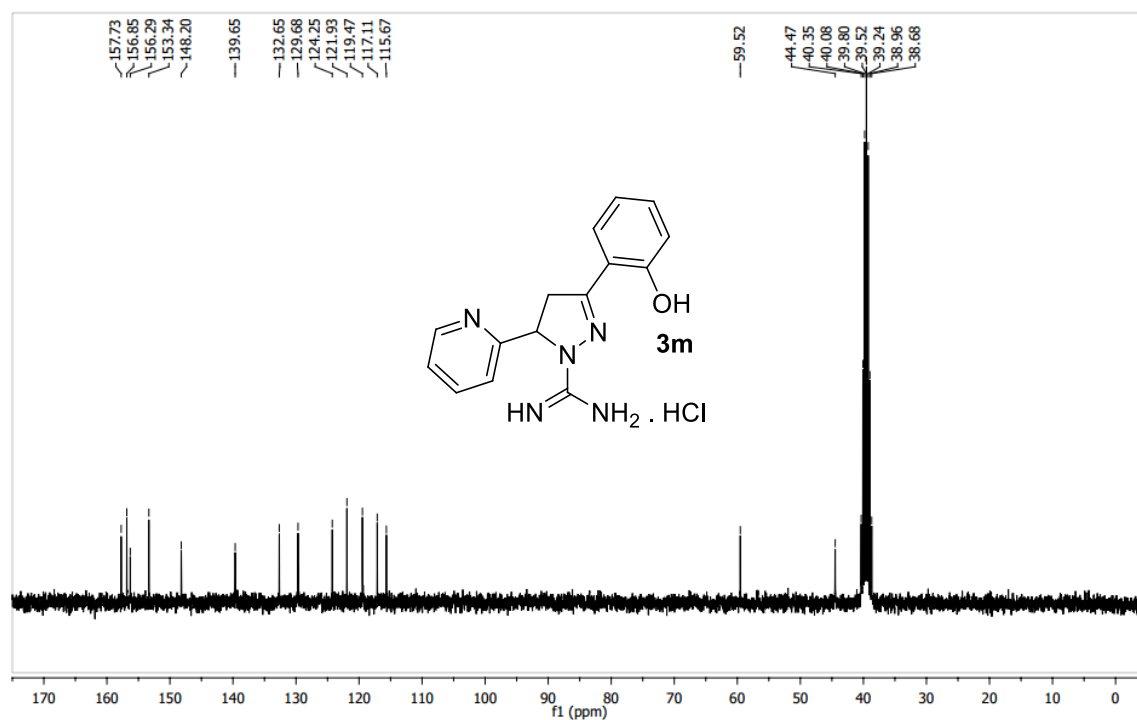
Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(tiofen-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3I** entre 145 a 110ppm, em DMSO-*d*₆.



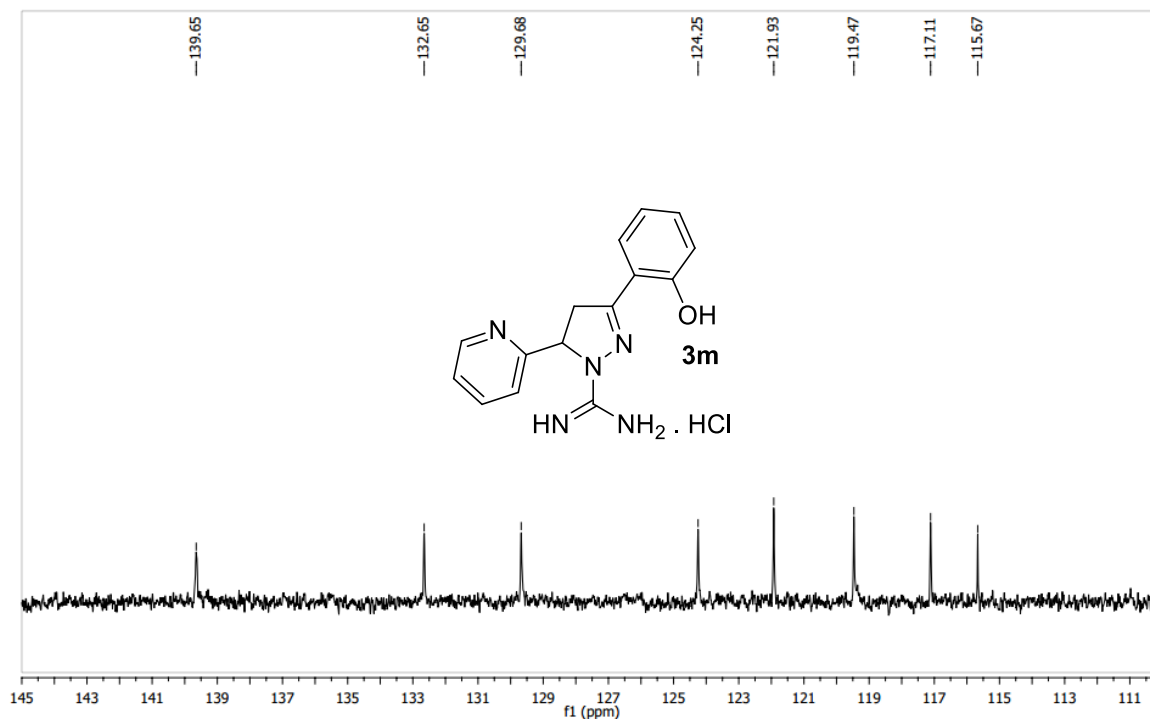
Espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 11,5 a -0,75 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



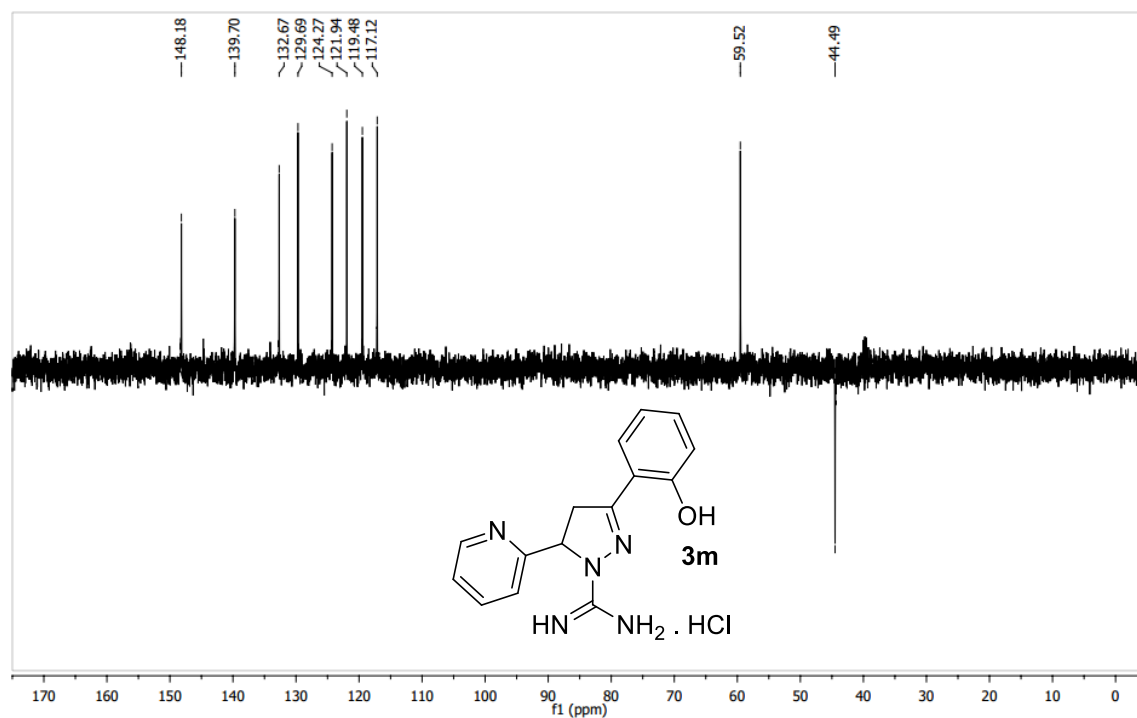
Expansão do espectro de RMN ^1H a 300 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 8,5 a 6,5 ppm, em $\text{DMSO}-d_6$.



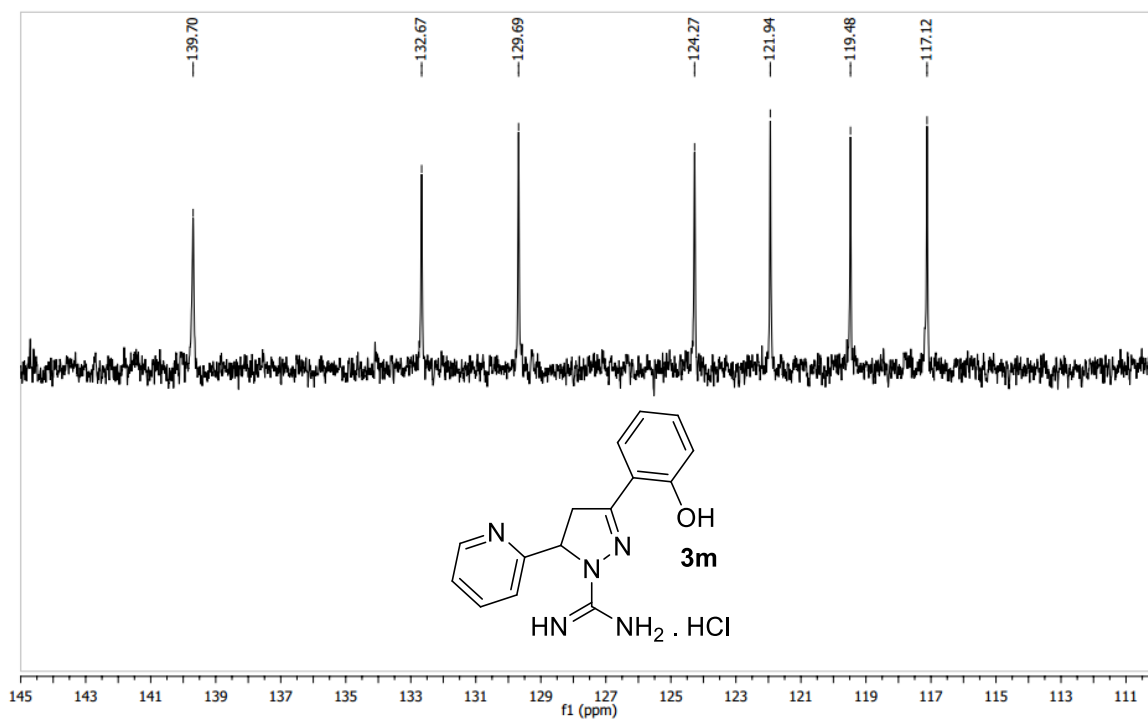
Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



Expansão do espectro de RMN ¹³C a 75 MHz do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1H-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 145 a 110 ppm, em DMSO-*d*₆.



DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 175 a -5 ppm, em DMSO-*d*₆.



Expansão do DEPT-135 do cloridrato de 3-(2-hidroxifenil)-5-(piridin-2-il)-4,5-diidro-1*H*-pirazol-1-carboximidamida **3m** entre 145 a 110ppm, em DMSO-*d*₆.