



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Leandro Espíndola

*Síntese, atividade biológica e propriedades ADME de novos derivados  
quinolínicos contendo o núcleo pirazolina e tiazol*

Florianópolis, 2017



Leandro Espíndola

***Síntese, atividade biológica e propriedades ADME de novos derivados  
quinolínicos contendo o núcleo pirazolina e tiazol***

Tese submetida ao programa de Pós- Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Moacir G. Pizzolatti

Florianópolis-SC  
2017.

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Espíndola, Leandro Espíndola  
Síntese, atividade biológica e propriedades ADME  
de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo  
pirazolina e tiazol / Leandro Espíndola Espíndola ;  
orientador, Moacir Geraldo Pizzolatti Pizzolatti,  
2017.  
247 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,  
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis,  
2017.

Inclui referências.

1. Química. 2. pirazolina. 3. tiazol. 4.  
quinolina. 5. PAMPA. I. Pizzolatti, Moacir Geraldo  
Pizzolatti. II. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III.  
Título.

Leandro Espíndola

**SÍNTESE, ATIVIDADE BIOLÓGICA E PROPRIEDADES ADME  
DE NOVOS DERIVADOS QUINOLÍNICOS CONTENDO O  
NÚCLEO PIRAZOLINA E TIAZOL**

Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de “doutor em química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química

Florianópolis, 10 de Março de 2017.

---

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti  
(Orientador – UFSC)

---

Prof. Dr. Cristian Soldi  
Relator - UFSC

---

Prof. Dr. *Miguel Soriano* Balpardea Caro  
(Examinador – UFSC)

---

Prof. Dr. Fábio Zazyki Galetto  
(Examinador – UFSC)

---

Prof. Dr. Giancarlo Botteselle  
(Examinador – UNOESTE)

---

Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke  
(Examinador – UFSC)

---

Dr. Alex Molina Manfredi  
(Examinador – UFSC)



## Agradecimentos

A Deus pela vida e capacidade que me deu.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Departamento de Química pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao CNPQ e a Capes pelo apoio financeiro.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Moacir Geraldo Pizzolatti, pela orientação, incentivo e liberdade de trabalho, que proporcionou todas as condições para o meu desenvolvimento intelectual.

Ao Prof. Dr. Aldo Sena de Oliveira pela realização do ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase.

À Prof. Dr. Susana Johann pela realização dos testes de atividade antifúngica.

À Dr. Dalila Venzke e aos doutorandos Tiago Tizziani e Ana Paula Ruani pela realização do ensaio de permeabilidade (PAMPA).

A todos os professores membros da banca examinadora pela disponibilidade em avaliar este trabalho.

A todos os amigos que fiz durante os 10 anos de pesquisa no LQPN pelos momentos de aprendizado e descontração.

Aos amigos Rafael Padovezi, Hugo Marchi Luciano, Naielly Coelho e Giuliani Sachinelli Garcia os quais me proporcionaram o prazer de dividir experiências, e aprendizados incríveis que vão muito além do campo que a química consegue alcançar.

À Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

Ao CEBIME pela realização de análises de massas de alta resolução.

Aos funcionários da secretaria do Programa de Pós-Graduação do curso de Química da UFSC, Jadir e Grace por toda ajuda na parte burocrática.

Aos meus grandes mestres Ivólvir Espíndola e Osmarino Marino Espíndola pela educação, apoio e incentivo durante toda a minha vida. Sem eles este objetivo jamais seria alcançado.

À minha namorada, Laís Truzzi Silva, pela paciência, carinho e ajuda durante parte desta jornada, a qual a convivência tornou meus dias mais fáceis.

À minha irmã Patrícia Espíndola, minha grande incentivadora, pelo auxílio durante toda minha vida escolar, e pela grande amiga que sempre foi.

Ao meu irmão Marcelo Espíndola pelos momentos de descontração, que foram muito importantes durante toda jornada.

Ao meu afilhado Bernardo Pinheiro Espíndola o qual me inspira todos os dias, e me proporciona momentos de infinita felicidade.

Aos amigos Diogo Brati, Waléria Karine Pinheiro, Filipy Gobo Maranhã, Larissa Sens, Nicolás Decarli, Priscila Pazzini Abatti, Daniel Alfonso Spudeit, Thiago Guimarães Costa, Janh Rodrigues, Alex Latino, Bira, Bernunça, Dorinha, e a todos os grandes amigos de todos os momentos e de todos os lugares.

À todos os amigos do futebol de segunda.



## Resumo

No presente trabalho realizou-se a síntese e investigação de atividades biológicas e propriedades ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo pirazolina e tiazol. A obtenção dos compostos se deu seguindo a rota sintética que parte do composto 6-metilquinolina, o mesmo foi submetido a reação de oxidação utilizando dióxido de selênio como agente oxidante, levando a formação do precursor 6-carbaldeído quinolina. A próxima etapa foi a síntese dos derivados de 6-quinolinil chalconas **1 a-g**, para esta adotou-se a metodologia de condensação de Claisen Schimidt, na qual o 6-carbaldeído quinolina reage com diferentes acetofenonas *p*-substituídas na presença de base, gerando os derivados de 6-quinolinil chalconas **1 a-g**. Na sequência, as referidas chalconas foram oxidadas na presença de *m*-CPBA, para gerar os derivados de 6-quinolinil N-óxido chalcona **2 a-g**, os quais foram utilizados para realização de ensaios antifúngicos *in vivo*. A sequência do trabalho se deu através da síntese de uma série de moléculas que apresenta na mesma estrutura os heterociclos pirazolina e quinolina. Para tal realizou-se a preparação de duas séries distintas. Na primeira, as 6-quinolinil chalconas reagiram com fenil hidrazina em etanol sob refluxo gerando os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)-quinolina **4 a-f**. Para a segunda série de pirazolinas, as 6-quinolinil chalconas **1 a-g** foram dissolvidas em etanol e submetidas à radiação ultrassônica na presença de NaOH, gerando os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5 a-f**. Posteriormente, afim de unir na mesma molécula três heterociclos de importância biológica, tiazol, quinolina e pirazolina, os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5 a-f** reagiram com brometo de fenacila em etanol sob energia ultrassônica, dando gerando os derivados de 5-fenil-2-(-3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol **6** e **7a-e**. Os compostos obtidos tiveram seus valores de log P calculados, e foi também realizado o teste de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial, para avaliar a capacidade das moléculas sintetizadas em atravessar a barreira gastrointestinal. Além disso, os compostos foram submetidos a ensaios para avaliação da atividade antifúngica, e ação inibidora da enzima acetilcolinesterase, para esta, os derivados **6b**, **6e** e **7c** apresentaram valores de IC<sub>50</sub> inferiores ao apresentado pela Galantamina.

**Palavras chaves:** pirazolina; tiazol; quinolina; PAMPA; atividade biológica.



## Abstract

In this work was done the synthesis and investigation of biological activities and ADME parameters of new quinoline derivatives containing the clusters pyrazoline and thiazole. The obtaining of compounds was done following a synthetic route that starts from 6-methylquinoline, this one was oxidized using selenium dioxide, affording the precursor quinoline-6-carbaldehyde. The next step was the synthesis of 6-quinolinyl chalcones derivatives **1 a-g**, for that was adopted the Claisen Schimidt condensation methodology, in which quinoline-6-carbaldehyde react with different p-substituted acetophenone in the presence of basis, giving the 6-quinolinyl chalcone derivatives **1 a-g**. Then, the chalcones derivatives were oxidized in the presence of *m*-CPBA, to generate the 6-quinolinyl N-oxide chalcones **2 a-g**, which have been used to continue the antifungal studies previously initiated by our research group. The sequence of the work took place through the synthesis of a molecules series that show in the same structure the heterocycles pyrazoline and quinoline. For this purpose two different series were prepared. For the first one, the 6-quinolinyl chalcones reacted with phenylhydrazine in ethanol under reflux to afford the 6-(4,5-dihydropyrazolyl)-quinoline **4 a-f**. For the other pyrazoline series, the 6-quinolinyl chalcones **1 a-g** were solubilized in ethanol and submitted to ultrasonic radiation in the presence of NaOH giving the 6-(4,5-dihydropyrazolyl-1-carbothioamide)-quinoline **5a-f**. After that, in order to unit in a single molecule three important heterocycles, thiazole, quinoline and pyrazoline, the 6-(4,5-dihydropyrazolyl-1-carbothioamide)-quinoline **5 a-f** reacted with phenacyl bromide derivatives in ethanol as solvent under ultrasonic energy, originating the 5-phenyl-2-(-3-phenyl-5-(quinolin-6-yl)thiazole **6 e 7 a-e**. The compounds obtained had their Lop P values calculated, and was performed the PAMPA assay to investigated the hability of derivatives to across the grastointestinal barrier. Besides this, the compounds were submitted to assay in order to evaluate the antifungal activity, and inibitory capacity of acetylcholinestarse enzyme. About the inhibitory assay of acetylcholinesterase, the compounds **6b, 6e e 7c** showed goos results with IC<sub>50</sub> valoues lower than Galantamine.

**Keywords:** pyrazoline; thiazole; quinoline; PAMPA; biological activity.



## Índice

1- Introdução e Justificativa .....	26
2-Revisão da Literatura .....	32
2.1. Química verde .....	32
2.2. Heterociclos de Importancia Biológica. ....	34
2.2.1. Atividades biológicas relacionadas ao núcleo quinolina ..	34
2.2.2. Atividades biológicas relacionadas ao núcleo 4,5-di- hidropirazol .....	45
2.2.3. Síntese de Pirazolinas.....	55
2.3.4. Atividades biológicas relacionadas ao núcleo Tiazol.....	57
2.3. Importância do estudo das propriedades físico-químicas relacionadas aos processos ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) no desenvolvimento de potenciais candidatos a fármacos. ....	63
3. Objetivos.....	65
3.1. Objetivos específicos .....	65
4. Materiais e Métodos .....	67
4.1. Métodos para purificação dos compostos .....	67
4.2. Identificação dos compostos .....	67
4.3. Síntese do precursor 6-carbaldeídoquinolina .....	68
4.4. Método geral para síntese das 6-quinolinil chalconas 1a-g (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011). ....	69
4.4.1. (2E)-1-Fenil-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1a). ....	69
4.4.2. (2E)-1-(4-Metil-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1b). .....	70
4.5. Síntese Geral dos derivados de 6-quinolina N-óxido chalconas 2a-g. ....	73
4.5.1. (2E)-3-(N-Óxido-6-quinolinil)-1-fenil-2-propen-1-ona (2a). .....	73
4.5.2. (2E)- 1-(4-Metil-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1- ona (2b).....	74

4.5.7. (2E)-1-(4-Cloro-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2g).....	76
4.6. Método geral para preparação dos derivados de 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina.....	77
4.6.1. 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4a).....	78
4.6.2. 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4b).....	78
4.6.3. 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4c).....	79
4.6.3. 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4d).....	79
4.6.5. 6-(3-(4-fluorfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4e).....	80
4.6.6. 6-(3-(4-bromofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4f).....	81
4.7. Método geral para a síntese dos derivados de 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5a-f).....	81
4.7.1. 6-(4,5-dihidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5a).....	82
4.7.2. 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil))-quinolina (5b).....	83
4.7.3. 6-(4,5-dihidropirazolil-3-(4-metoxifenil)1-tiocarbamoil)-quinolina (5c).....	83
4.7.4. 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5d).....	84
4.7.5. 6-(4,5-dihidropirazolil-3-(4-fluorfenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (5e).....	84
4.7.6. 6-(3-(4-bromofenil)-4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5f).....	85
4.8. Método geral para preparação dos derivados de 5-fenil-2-(-3-fenil-5-.....	86
(quinolin-6-il)tiazol (6a-e, 7a-e).....	86

4.8.1. 5-fenil-2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6a). ....	86
4.8.2. 5-fenil-2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6b). ....	87
4.8.3. 5-fenil-2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6c).....	87
4.8.4. 5-fenil-2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6d). ....	88
4.8.5. 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e). ....	89
4.8.6. 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7a). ....	89
4.8.7. 2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7b). ....	90
4.8.8. 2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7c). ....	91
4.8.9. 2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7d). ....	91
4.8.10. 2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7e). ....	92
4.9. Ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial (PAMPA).....	93
4.10. Ensaio de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase.....	95
5. Resultados e Discussão .....	96
5.1. Síntese dos precursores derivados de 6-quinolinil chalconas.....	97
5.2. Síntese dos derivados de 6-quinolinil N-óxido chalconas (2a-f). ....	103
5.3. Síntese dos derivados de quinolina contendo o núcleo 4,5-di-hidropirazol (4 e 5).....	107
5.3.1. Síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina. ....	108
5.3.2. Síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5a-f).....	113
5.4. Síntese dos derivados de quinolina contendo o núcleo tiazol (6 e 7 a-g).....	117
5.5. Estudo das propriedades físico-químicas relacionadas ao ADME .....	124

5.5.1. Determinação do Log P .....	125
5.5.3. Ensaio de permeabilidade em membrana artificial paralela aparente (PAMPA) .....	129
5.6. Ensaio Antifúngico .....	132
5.6.1. Atividade antifúngica de 6-quinolinil N-óxido chalconas 2a- g contra <i>Paracoccidioides</i> .....	134
5.7. Ensaio de Inibição da Enzima Acetilcolisterase .....	140
6. Considerações Finais .....	143
7. Referências Bibliográficas .....	145



## Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura dos derivados de 6-quinolinil-chalconas. ....	28
Figura 2: Derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)-quinolina que foram sintetizados e avaliados neste trabalho. ....	30
Figura 3: Estrutura da quinolina.....	34
Figura 4: Estrutura do composto N-hidroxi-3-[3-(quinolina-2-sulfonil)-fenyl]-acrilamida .....	35
Figura 5: Estrutura do sensor QLSA. ....	35
Figura 6: Estrutura dos compostos sintetizados por Palluotto et al.....	36
Figura 7: Estrutura base das moléculas estudadas por Perin et al (Perin, Nhili et al. 2016) .....	37
Figura 8: Estruturas que apresentaram melhores resultados antimicrobianos nos ensaios realizados no estudos de El-Gama et al (El-Gamal, Hags et al.).....	37
Figura 9: Estrutura dos compostos sintetizados e avaliados por Zuo et al (Zuo, Garrison et al. 2016).....	39
Figura 10: Estrutura dos copostos estudada por Shobeiri et al (Shobeiri, Rashedi et al. 2016).....	40
Figura 11: Estrutura dos híbridos de quinolina-hidrazona mais ativos nos estudos que Coa et al (Coa, Castrillón et al. 2015) .....	40
Figura 12: Estrutura da angelicina e pirazolo[3,4,h]-quinolina.....	41
Figura 13: Estrutura do TQCA.....	42
Figura 14: Estrutura do foretinib e dos derivados de 4-(2-fluorfenoxi)quinolinas estudadas por Liao et al (Liao, Hu et al. 2015). 42	
Figura 15: Estrutura estudada por Wang et al (Liao, Hu et al. 2015)....	43
Figura 16: Estrutura da cloroquina e derivados de quinolina estudados por Soares et al (Soares, da Silva et al. 2015). ....	44
Figura 17: Estrutura base das séries estudadas por Patel et al (Patel, Gangwal et al. 2015). ....	44
Figura 18: Estrutura de alguns fármacos comercializados que apresentam pirazol, pirazolina ou pirazolidina em sua estrutura.....	46
Figura 19: Análogo mais ativo nos estudos de Pandey et al (Pandey, Sharma et al. 2016).....	47
Figura 20: Estrutura das pirazolininas estudadas por Ahmad et al (Ahmad, Husain et al. 2016) .....	48
Figura 21: Estruturas do composto mais ativo nos experimento de Yang et al (Yang, Yang et al. 2016) e dos fármacos Vemurafenib e Erlotinib. ....	48

Figura 22: Estrutura base dos compostos estudados Abdel-Sayed et al (Abdel-Sayed, Bayomi et al. 2016) e estrutura do fármaco celecoxib..	49
Figura 23: Estrutura das pirazolininas estudadas por Shamsuzzaman et al (Shamsuzzaman, Khanam et al. 2016).....	50
Figura 24: Estrutura dos compostos sintetizados e avaliados por Viveka et al (Viveka, Dinesha et al. 2015).....	51
Figura 25: Estrutura dos compostos estudados por Bano et al (Bano, Alam et al. 2015).....	51
Figura 26: Estrutura dos derivados de pirazolina estudados por He et al (He, Ma et al. 2015) .....	52
Figura 27: Estrutura dos derivados de pirazolina estudada por Insuasty et al (Insuasty, Ramírez et al. 2015). .....	52
Figura 28: Estrutura do composto mais ativo nos estudos de Qin et al (Qin, Li et al. 2015).....	53
Figura 29: Estrutura dos compostos 75, 76 e dos fármacos cetoconazol e cisplatina. ....	54
Figura 30: Estrutura dos compostos 77 e 78. ....	54
Figura 31: Estrutura das pirazolininas estudadas por Lu et al (Lu, Gu et al.).....	55
Figura 32: Estrutura do tiazol.....	58
Figura 33: Estruturas dos compostos 81 e 82.....	58
Figura 34: Estrutura dos compostos estudados por Reddy et al (Reddy, Garcia et al. 2016).....	59
Figura 35: Estrutura dos 21 compostos estudados por Xu et al (Xu, Guo et al. 2016). ....	59
Figura 36: Estrutura base dos compostos estudados por Khan et al (Khan, Qurban et al. 2016).....	60
Figura 37: Estrutura dos compostos estudados por Zhao et al (Zhao, Cui et al.). ....	60
Figura 38: Estrutura base dos derivados de tiazol estudados por Bueno et al (Bueno, Carda et al. 2016). ....	61
Figura 39: estrutura base dos compostos 88 e 89.....	61
Figura 40: Estrutura dos compostos estudados por dos Santos et al (dos Santos, da Silva et al. 2016).....	62
Figura 41: Estrutura dos compostos mais ativos nos estudos de He et al (He, Wang et al. 2016).....	62
Figura 42: espectro de RMN <sup>1</sup> H e RMN <sup>13</sup> C do composto 6-carbaldeído quinolina.....	100
Figura 43: Espectro de RMN <sup>1</sup> H do derivado de 6-quinolinil chalcona 1c.....	102

Figura 44: Espectro de RMN <sup>13</sup> C do derivado de 6-quinolinil chalcona 1c.....	103
Figura 45: Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto (2E)-1-(4-Metóxi-fenil)-3-(1-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona 2c. ....	106
Figura 46: Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto (2E)-1-(4-Metóxi-fenil)-3-(1-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2c).....	107
Figura 47: representação dos carbonos $\alpha,\beta$ -insaturados dos derivados de 6-quinolinil chalconas .....	109
Figura 48: estrutura da fenil hidrazina .....	109
Figura 49: Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4c). ....	111
Figura 50: Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4c). ....	112
Figura 51: DEPT 135 do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4c). ....	113
Figura 52: Espectro de RMN <sup>1</sup> H em piridina deuterada do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5d). ....	116
Figura 53: Espectro de RMN <sup>13</sup> C obtido em piridina deuterada do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5d). ....	117
Figura 54: preparação dos derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol 6a-e e 7a-e.....	118
Figura 55: Espectro de RMN <sup>1</sup> H em CDCl <sub>3</sub> do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e).....	121
Figura 56: espectro de RMN <sup>13</sup> C em CDCl <sub>3</sub> do composto composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e). ....	122
Figura 57: Espectro de DEPT 135 do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e).....	123
Figura 58: Leveduras de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (Pb18) foram tratadas com os compostos <b>2c</b> e <b>2e</b> em concentrações subinibitórias (1,95 e 3,9 mg/L, respectivamente). <b>(a)</b> célula estourada, com vazamento do conteúdo celular; <b>(b)</b> uma célula com escamação do envelope celular. <b>(c)</b> e <b>(d)</b> Uma célula com muitos vacúolos e desorganização citoplasmática, e uma célula com retração da membrana citoplasmática. <b>(e)</b> e <b>(f)</b> células flácidas, extravazamento celular e conteúdo celular. <b>(g)</b> e <b>(h)</b> Uma célula com morfologia alterada e um citoplasma desorganizado e células com regiões anormais da membrana celular. <b>(i)</b> e <b>(j)</b> Controle. <b>(k)</b> e <b>(l)</b> O grupo controle com células	

binucleadas, com vacúolos, membrana citoplasmática. (m) parede celular externa com citoplasma granular..... 136

Figura 59: Histopatologia de pulmões, fígado e baço de ratos infectados com *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18) (controle infectado) e tratado com 2c, 2e, e itraconazol (ITRA) comparado com o controle não infectado. (a) Parênquima pulmonar sem alterações; (b) fígados sem alterações; (c) Baço normal; (d) Pulmão com infiltrados inflamatórios na parênquima e fibrose pulmonar inicial (setas); (e) Fígado com degeneração hidrópica (áreas claras ao redor dos núcleos hepatócitos-setas); (f) Baço sem alterações visíveis; (g) Pulmão com inflamação local (seta); (h) fígado normal; (i) baço normal; (j) Parênquima pulmonar com áreas de inflamação preservadas e leves (seta); (k) fígado normal; (l) Baço normal; (m) pulmão com intensa inflamação e excesso de granuloma (seta); (n) fígado com degeneração hidrópica (seta); (o) Baço normal..... 139

## Índice de Tabelas

Tabela 1: Comparação da atividade antifúngica do derivado mais ativo contra <i>P. brasiliensis</i> frente às drogas controles. ....	28
Tabela 2: IC <sub>50</sub> (µg/mL) da atividade anticâncer dos derivados de 6-quinolinil-chalconas. ....	29
Tabela 3: sistema de eluição utilizada para análise de HPLC das séries 1a-g, 2a-g, 4a-f, 5a-f, 6a-e, 7a-e. ....	94
Tabela 4: CIM dos derivados 6-quinolinil N-óxido chalconas contra o fungo <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .....	105
Tabela 5: Comparação do rendimento e tempo reacional da síntese dos derivados 5a-f utilizando o método convencional e ultrassom.....	115
Tabela 6: Comparação do método entre o tempo reacional rendimento obtidos com o método que utiliza ultrassom e o método com aquecimento. ....	119
Tabela 7: Valores de log P obtidos através de softwares chemdraw (a), osiris (b) e online (c). ....	127
Tabela 8: Massa molar, e número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio dos compostos sintetizados .....	128
Tabela 9: Resultados referentes ao ensaio de permeabilidade (PAMPA). ....	130
Tabela 10: Resultado do ensaio do percentual de inibição de crescimento, com as substâncias testadas na concentração de 250 µg/mL.....	134
Tabela 11: resultado do ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase .....	141



## Índice de Esquemas

Esquema 1: Metodologia utilizada por Miguel et al (Miguel, Dantas et al. 2016) para a síntese de pirazolinas.....	56
Esquema 2: Método para síntese de pirazolinas utilizado por Joshi et al (Joshi, Dixit et al. 2016).....	56
Esquema 3: Metodologia de síntese de pirazolinas utilizada pr Alam et al (Ahmad, Husain et al. 2016). .....	57
Esquema 4: Síntese de pirazolina via cicloadição 1,3 dipolar.....	57
Esquema 5: Síntese do precursor 6-carbaldeídoquinolina.....	68
Esquema 6: Síntese das 6-quinolinil chalconas.....	69
Esquema 7: Método de preparação das 6-quinolina N-óxido chalconas.....	73
Esquema 8: Preparação dos derivados de 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina. ....	77
Esquema 9: método de preparação dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina.....	81
Esquema 10: Método geral para síntese dos derivados de tiazol. ....	86
Esquema 11: Obtenção do precursor 6-carbaldeído-quinolina. ....	98
Esquema 12: Mecanismo de oxidação da 6-metilquinolina. ....	99
Esquema 13: síntese dos derivados de 6-quinolinil chalconas 1a-g. ...	101
Esquema 14: Mecanismo de obtenção dos derivados de 6-quinolinil chalconas 1a-g.....	101
Esquema 15: Mecanismo de oxidação da 6-quinolinil chalcona a 6-quinolinil N-óxido chalcona 2a-g.....	105
Esquema 16: síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina .....	108
Esquema 17: Mecanismo de formação dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina.....	110
Esquema 18: Mecanismo de formação dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina, com o primeiro ataque nucleofílico ocorrendo na carbonila. ....	110
Esquema 19: Mecanismo de formação dos 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina. ....	114
Esquema 21: mecanismo proposto para a reação de formação do tiazol. ....	120





## Lista de Abreviaturas e Siglas

A-2780	Células de câncer de ovário
A549	Células de câncer de pele
AcOEt	Acetato de etila
AchE	Acetilcolinesterase
ACN	Acetonitrila
ADME	Administração, distribuição, metabolismo e excreção
BCG823	Células de câncer estômago
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEBIME	Laboratório Central de Biologia Molecular
CFM	Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
CG	Cromatografia gasosa
CIM	Concentração inibitória mínima
CIM <sub>50</sub>	Concentração inibitória mínima para 50 % dos alvos
CIM <sub>90</sub>	Concentração inibitória mínima para 90 % dos alvos
COX	Concentração inibitória mínima para 90 % dos alvos
CQ	Ciclo oxigenase
d	Cloroquina
dd	Duplo
DA	Duplo duplo
DAD	Doença de Alzheimer
DMSO	Arranjo de diodo
EC <sub>50</sub>	Dimetil sulfóxido
EM	Concentração efetiva de 50 %
EtOH	Espectro de massa
GI <sub>50</sub>	Etanol
H460	Concentração inibitória médias citostática
HCT116	Células de câncer de pulmão
HDAC	Células de câncer de cólon
HIV	Histonas deacetilases
HPLC	Human Immunodeficiency Virus (vírus da imunodeficiência humana)
HT-29	Cromatografia líquida de alta eficiência
HepG-2	Células de câncer colorretal
IC <sub>50</sub>	Células de câncer de fígado
IV	Concentração inibitória média
MCF-7	

<i>m</i> -CPBA	Infravermelho
MKN45	Células de câncer de mama
PA	<i>Meta</i> -chloroperbenzoic acid
PAMPA	Células de câncer gástrico
	Padrão analítico
Papp	Permeabilidade Aparente em Membrana
Pb18	Paralela Artificial
pH	Permeabilidade aparente
PIN 1	<i>Paracoccidiodes brasiliensis</i>
PTC	Potencial hidrogeniônico
	Peptidil-prolil- cis-trans isomerase
QSAR	Phase transfer catalyst (catalisador por transferência de fase)
RM	Qualitative Structure-Activity Relationship
RMN <sup>1</sup> H	(relação qualitativa estrutura atividade)
RMN <sup>13</sup> C	Retenção na membrana
s	Ressonância magnética nuclear de
sr	hidrogênio
TK-10	Ressonância magnética nuclear de carbono
UACC-62	Simpleto
UFC	Simpleto largo
UV	Células de câncer de rim
	Células de melanoma
	Unidade formadora de colônia
	Ultravioleta
WM 2664	Linhagem de célula de melanoma

## 1- Introdução e Justificativa

A busca pelo alívio da dor e cura de doenças através da utilização de plantas e ervas nas suas mais diversas formas, foi possivelmente um dos primeiros modos de utilização dos produtos naturais (Viegas Jr, Bolzani et al. 2006). E, Ainda hoje, o conhecimento sobre plantas medicinais é muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos.(Maciel, Pinto et al. 2002)

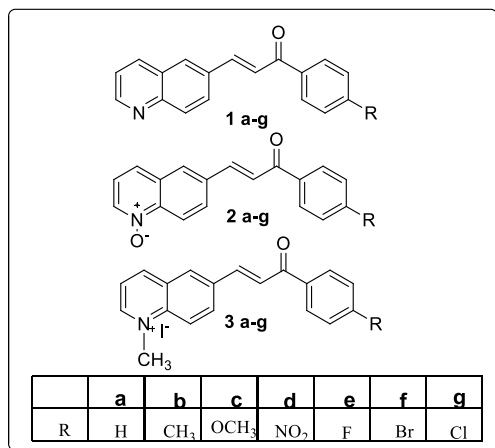
A presença de moléculas bioativas em plantas de interesse medicinal tem sido amplamente estudada nos últimos anos, devido à

crescente popularidade dos medicamentos fitoterápicos. (Diniz, Astarita et al. 2007)

Além do isolamento de centenas de compostos biologicamente ativos, os produtos naturais têm desempenhado um importantíssimo papel na área da química medicinal, com a descoberta de inúmeras novas moléculas as quais nenhum químico sonhou em sintetizar. Quando as estruturas dos compostos naturais são muito complexas, a síntese em laboratório pode se tornar inviável. Porém estas moléculas podem servir como matéria prima para a semi-síntese de compostos biologicamente ativos. Um estudo realizado entre os anos de 1981 e 2006 revelou que, 37% dos fármacos existentes são de origem puramente sintética, 17% são compostos sintéticos cujo farmacóforos foram desenhados com base em modelos de compostos biologicamente ativos de origem natural, 12% são sintéticos baseados em um modelo de inibidor natural, 28% são produtos naturais com alguma modificação estrutural e 6 % são produtos obtidos diretamente de fontes naturais. (Newman 2008)

Metabólitos secundários de produtos naturais que possuem esqueleto carbonado mais simples são mais facilmente sintetizados em laboratório, permitindo sua obtenção em grandes quantidades em massa, pois normalmente, estes são isolados com baixo rendimento a partir dos extratos de plantas. Sendo assim, a síntese de produtos naturais é um ótimo caminho para a obtenção de substâncias com potencial atividade biológica.

Um estudo publicado no ano de 2011 pelo nosso grupo de pesquisa (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011) relatou a síntese e avaliação da atividade antifúngica e citotóxica de 20 derivados de 6-quinolinil-chalconas **1-3 a-g** (**Figura 1**, página 26). Para o ensaio antifúngico foram utilizados 5 diferentes espécies de fungos patogênicos. O fungo *Paracoccidioides brasiliensis* mostrou-se o mais susceptível frente aos compostos testados, sendo o composto **2e** (**Figura 1**) o mais potente contra esse fungo apresentando uma concentração inibitória mínima (CIM) de 1,90 µg/mL (6,5 µM). A espécie *Cryptococcus gattii* também mostrou uma boa susceptibilidade, com os compostos **3b** e **3f** (**Figura 1**) apresentando CIM igual a 7,80 µg/mL.

**Figura 1:** Estrutura dos derivados de 6-quinolinil-chalconas.

Quando comparada a atividade antifúngica dos derivados de 6-quinolinil-chalconas com os fármacos controles utilizados, foi observado que a Anfotericina B é mais potente que as chalconas, porém o sulfametoxazol/trimetropim foi menos potente que as chalconas nas condições experimentais testadas para *P. brasiliensis* (Tabela 1, página 27). Apesar de sua boa atividade, a anfotericina B está associada com uma substancial atividade citotóxica, colocando-o numa posição delicada em casos de tratamento prolongado. Os efeitos tóxicos da anfotericina B, associado ao alto custo do tratamento, abre campo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos voltados ao tratamento de doenças parasitárias.

**Tabela 1:** Comparação da atividade antifúngica do derivado mais ativo contra *P. brasiliensis* frente às drogas controles.

Compostos	<i>P. brasiliensis</i> - MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )
2b	1,9
Anfotericina B	0,006
Trimetoprim-sulfametoxazol	300

Conforme mencionado anteriormente, os derivados de 6-quinolinil-chalconas **1-3/a-g** também tiveram sua atividade citotóxica avaliada. Foram investigados o crescimento e a sobrevivência de três linhagens de células de câncer humano, UACC-62 (melanona), MCF-7 (mama), e TK-10 (rins). Dos 18 compostos testados, 9 apresentaram mais de 70 % de inibição de crescimento das células cancerígenas. Sendo a IC<sub>50</sub> dos compostos mais potentes, em comparação com a droga controle, etoposídeo, apresentadas na **Tabela 2**.

**Tabela 2:** IC<sub>50</sub> (µg/mL) da atividade anticâncer dos derivados de 6-quinolinil-chalconas.

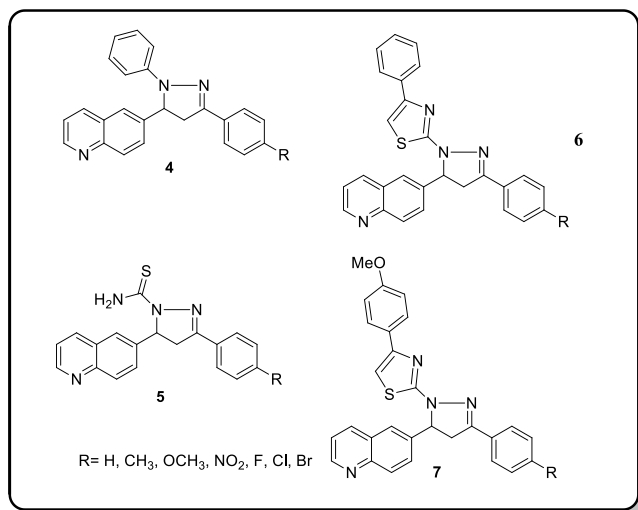
Compostos	MCF-7	TK-10	UACC-62
<b>1<sup>a</sup></b>	1,10 ± 0,46	7,00 ± 0,10	3,83 ± 0,30
<b>1c</b>	0,19 ± 0,01	-	22,5 ± 3,5
<b>1e</b>	6,30 ± 0,30	1,00 ± 0,05	5,65 ± 0,50
<b>1g</b>	0,96 ± 0,10	-	-
<b>2b</b>	8,30 ± 0,20	1,00 ± 0,01	5,30 ± 0,50
<b>2c</b>	1,15 ± 0,20	5,25 ± 1,00	4,30 ± 0,90
<b>2e</b>	4,30 ± 0,20	0,19 ± 0,01	2,75 ± 0,30
<b>2f</b>	6,60 ± 0,20	1,10 ± 0,10	4,70 ± 0,90
<b>2g</b>	6,60 ± 0,20	1,70 ± 0,60	4,90 ± 0,90
<b>Etoposídeo</b>	0,03 ± 0,01	20,40 ± 0,01	1,40 ± 0,01

Como pode ser observado na **Tabela 2**, todos os derivados analisados mostraram IC<sub>50</sub> inferior ao etoposídeo, droga controle utilizada, no teste frente a linhagem de células de câncer de rim (TK-10). Estes resultados, aliados aos resultados do teste antifúngico, demonstram o alto potencial do núcleo 6-quinolinil-chalcona para servir como modelo para a síntese de novos derivados no âmbito do desenvolvimento de novas substâncias para o tratamento anticâncer, e antifúngico.

A estrutura dos derivados de 6-quinolinil-chalconas, aliado ao crescente interesse na síntese e investigação das atividades biológicas de compostos que apresentam na mesma estrutura diferentes núcleos de origem natural, nos inspirou o planejamento da síntese de novos derivados 6-(4,5-di-hidropirazolil)-quinolina **4, 5, 6 e 7** (**Figura 2**). A finalidade se obter estes compostos é investigar a influência que novos

heterociclos incorporados à molécula poderiam causar na atividade biológica. Sendo o principal foco, as atividades antifúngica, citotóxica e inibidora da enzima acetilcolinesterase. Também pensando numa possível aplicação destas moléculas para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para o tratamento antifúngico, antitumoral e doença de Alzheimer.

**Figura 2:** Derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)-quinolina que foram sintetizados e avaliados neste trabalho.



Visando a obtenção de compostos com potencial atividade biológica, a modificação da estrutura das 6-quinolinil chalconas, foi realizada pensando-se em inserir em uma mesma molécula, grupos de origem natural, que apresentem na literatura, uma boa versatilidade de atividades farmacológicas a eles relacionadas. Assim sendo, além da quinolina que dispõe de um vasto leque de aplicações biológicas, foram incorporados à molécula, os núcleos pirazolina e tiazol, devido a alta versatilidade apresentada por esses núcleos a respeito de atividade farmacológicas.



## **2-Revisão da Literatura**

### **2.1. Química verde**

O meio ambiente é um sistema altamente complexo compreendido por uma parte biótica e outra abiótica, no qual existe uma contínua troca de matéria e energia que no entanto deve sempre permanecer em equilíbrio. Este equilíbrio pode ser afetado por inúmeros fatores dentre eles a liberação substâncias químicas no ambiente. (Wieczerek, Namieśnik et al. 2016)

A princípio toda atividade humana pode causar poluição ambiental em maior ou menor grau, porém algumas delas produzem grande influência no nível de impacto antropogênico. Dentre estas



podemos considerar atividades de diferentes áreas, tais como: indústria petroquímica, mineração de pedras e metais preciosos e indústria de baterias. Além da poluição proveniente de outras atividades humanas, como o transporte, agricultura, serviços de limpeza e esgoto (Wieczerzak, Namieśnik et al. 2016).

O termo, química verde, que refere-se ao design de produtos químicos e processos que reduzem ou eliminam o uso ou geração de resíduos e compostos perigosos, surgiu da preocupação com a prevenção da poluição através do uso dos chamados “solventes verdes”. Planejamento do processo químico para obter um produto final que usa a mesma quantidade de material (economia atômica e catálise) é essencial para uma aproximação de química verde. Nos anos 90 esta ideia começou a se expandir lentamente pela Europa e nos Estados Unidos, e foi aplicada primeiramente na síntese química e na engenharia química. (Pérez and Escandar 2016, Wieczerzak, Namieśnik et al. 2016)

Para a química verde a implementação de processos livres de solvente seria o ideal, porém, eles são quase inevitáveis devido ao seu papel crucial na dissolução de sólidos, de massa e transferência de calor, influenciando viscosidade e nas etapas de separação e purificação. Desta forma, duas estratégias são utilizadas: a substituição de solventes derivados do petróleo por solventes provenientes de fontes renováveis, e a substituição de solventes perigosos por aqueles que apresentam melhores propriedades ambientais, de saúde e segurança. (Espino, de los Ángeles Fernández et al. 2016).

Síntese orgânica assistida por ultrassom como uma ferramenta da química verde é uma poderosa técnica que vem sendo usada cada vez mais para acelerar a velocidade das reações. O uso da radiação ultrassônica pode ser extremamente eficiente e aplicável para uma grande quantidade de sínteses (Banitaba, Safari et al. 2013).

Dessa forma, a utilização do ultrassom em reações orgânicas pode apresentar uma série de vantagens que vão de acordo com os princípios da química verde, tais como (Sancheti and Gogate , Mason 1997, Mason 2003):

- Aumento da seletividade
- Uso de menos solventes perigosos
- Menor consumo de energia para a transformação desejada
- Utilização de fontes de alimentação renováveis e sustentáveis
- Menor tempo de reação
- Melhor aproveitamento dos reagentes e catalisadores.
- Economia atômica

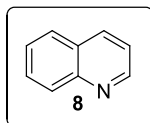
## 2.2. Heterociclos de Importancia Biológica.

Para este trabalho será dada uma atenção especial para três classes de compostos heterociclos: quinolina, pirazolina e tiazol. Todos apresentam uma vasta gama de atividades biológicas, como: antimalárica, antibacteriana, antifúngica, anticonvulsivante, analgésica antituberculose (Marella, Tanwar et al. 2013), anticâncer, antimicrobiana, antinociceptiva, antiviral e anti-inflamatória (Liu, Li et al. 2012). A ênfase nestes três heterociclos se dá pelo fato de as moléculas alvos que foram sintetizadas neste trabalho, apresentarem em uma mesma estrutura a combinação de dois ou até mesmo três dos núcleos citados, realizando assim, a chamada hibridização molecular.

### 2.2.1. Atividades biológicas relacionadas ao núcleo quinolina

Quinolina (estrutura **8**, **Figura 3**, página 33), ou 1-aza-naftaleno ou benzopiridina é um heterociclo aromático que contém um átomo de nitrogênio em sua estrutura. Sua fórmula molecular é  $C_9H_7N$  com um peso molecular de  $129,16 \text{ g.mol}^{-1}$ . Quinolina é uma base terciária fraca e pode formar sal na presença de ácidos e sofre reações semelhantes as da piridina e do benzeno. Podendo sofrer reações de substituição tanto nucleofílica quanto eletrofílica. Não é tóxica para os seres humanos por absorção oral ou inalação (Marella, Tanwar et al. 2013).

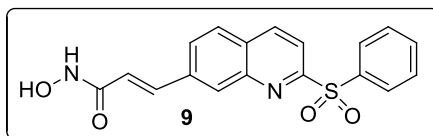
**Figura 3:** Estrutura da quinolina



O núcleo quinolina está presente em uma série de compostos de origem natural (alcaloides cinchona) e substâncias farmacologicamente ativas, dispondo de uma vasta gama de atividades biológicas a ela relacionada. A quinolina tem sido descrita possuir atividade antimalárica, antibacteriana, antifúngica, anticonvulsivante, anti-inflamatória e analgésica (Marella, Tanwar et al. 2013).

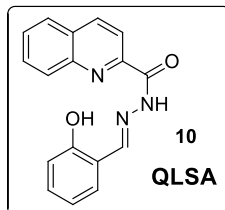
Lee et al (Lee, Chang et al. 2016) reportaram em seus estudos a síntese de derivados de 2-(fenilsulfonyl)quinolina N-hidroxiacrilamidas (**Figura 4**). O estudo de relação estrutura atividade revelou que o composto N-hidroxi-3-[3-(quinolina-2-sulfonyl)-fenyl]-acrilamida (**Figura 4**, composto **9**) apresenta atividade enzimática e celular. O estudo também revelou um efeito no grau de acetilação da histona H3 e  $\alpha$ -tubulina. Estudos *in vivo*, mostraram que o composto **9** inibe o crescimento do HCT116 (células de câncer de cólon) em xenotransplantes.

**Figura 4:** Estrutura do composto N-hidroxi-3-[3-(quinolina-2-sulfonyl)-fenyl]-acrilamida



Uma quinolina baseada em quimiossensor fluorescente (QLSA estrutura **10**, **Figura 5**, página 34) para detecção de íons  $Zn^{2+}$  foi reportada por Liu et al (Liu, Dong et al. 2016). Esta quinolina não fluorescente é capaz de detectar íons  $Zn^{2+}$  com alta sensibilidade e favorável especificidade. O limite de detecção foi cerca de  $10^{-8}$  mol.L<sup>-1</sup>. Os estudos realizados mostraram ainda que o sensor apresenta baixa toxicidade e alto *stokes shift*, características desejadas para um fluoróforo em imagens ao vivo de células. Além disso, foi estudada a aplicação deste sensor em imagens de fluorescência de células Hela por microscopia confocal de fluorescência, sugerindo que o sensor pode ser uma ferramenta útil para controlar os níveis  $Zn^{2+}$  *in vivo*.

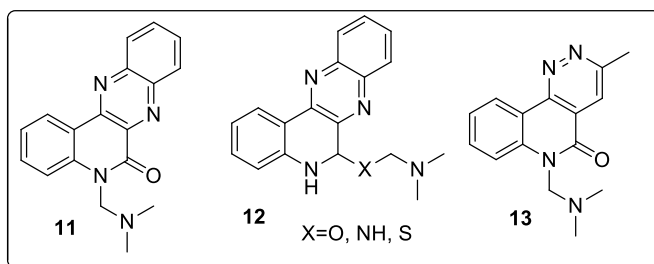
**Figura 5:** Estrutura do sensor QLSA.



Segundo Palluotto et al (Palluotto, Sosic et al. 2016), a quinolina fundida com outros sistemas heterociclos é um importante alvo no

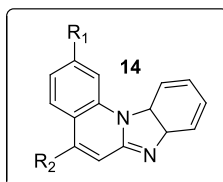
campo do desenvolvimento de fármacos anticâncer. Em seus estudos foi relatada a síntese de uma série de tetraciclicos quinolino[3,4-*b*]quinoxalinas substituídos (estruturas **11** e **12**, **Figura 6**) e triclicos piridazino[4,3-*c*]quinolinas substituídas (estrutura **13**, **Figura 6**). Os compostos foram avaliados contra duas linhagens de células humanas de câncer (HeLa e MCF-7). Praticamente todos os compostos testados da série quinolino[3,4-*b*]quinoxalinas mostraram alguma atividade e dois deles mostraram alta citotoxicidade com IC<sub>50</sub> na faixa de 2 μM.

**Figura 6:** Estrutura dos compostos sintetizados por Palluotto et al



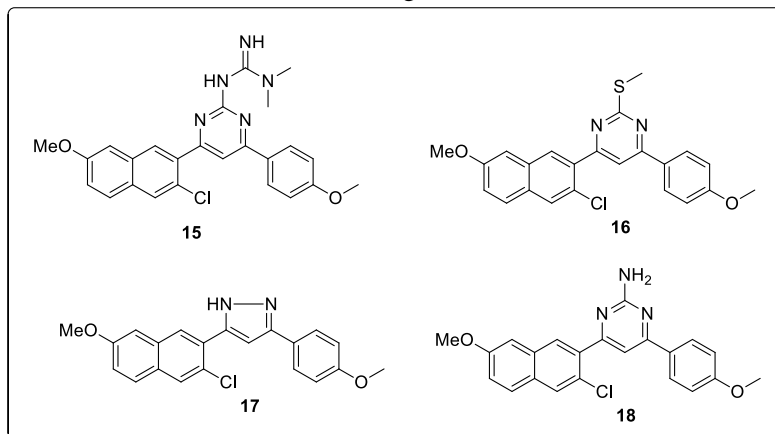
Em 2016 Perin et al (Perin, Nhili et al. 2016) foi reportada a síntese e investigação do potencial antiproliferativo de uma série benzimidazo[1,2-*α*]quinolinas (estrutura **14**, **Figura 7**, página 35) substituídos por 2-amino, 5-amino e 2,5-diamino preparados através do uso de microondas. As atividades antiproliferativas foram avaliadas *in vitro* contra células de carcinoma de colon, pulmão e mama. As atividades variaram da faixa submicromolar ao micromolar. A forte atividade antiproliferativa foi demonstrada pelos derivados 2-amino substituídos, entretanto os derivados 5-amino e 2,5-amino mostraram-se muito menos ativos. Os derivados com um grupo 4-metil e 3,5-dimetil-1-piperazinil foram os mais ativos. Uma análise de QSAR foi realizada e indentificou que a capacidade de fazer ligação de hidrogênio, hidrofobicidade, flexibilidade molecular e distribuição de regiões hidrofóbicas influenciam diretamente na alta atividade destes derivados.

**Figura 7:** Estrutura base das moléculas estudadas por Perin et al (Perin, Nhili et al. 2016)



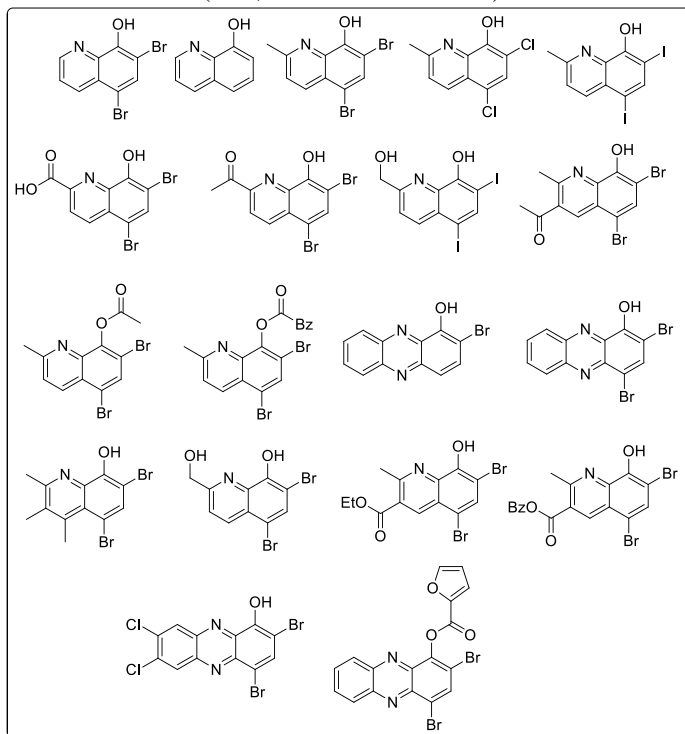
El-Gamal et al (El-Gamal, Hags et al.201) reportaram recentemente a síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novos derivados de quinolina fundidos com diferentes heterociclos (**Figura 8**, página 36). Todos os compostos sintetizados tiveram sua atividade antimicrobiana avaliada contra *Streptococcus pneumonia* e *Bacillus subtilis* como exemplo de bactéria gran positiva, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, como exemplo de bactéria Gran-negativa, e *Aspergillus fumigatus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Geotriucum candidum* e *Candida albicans*, representando os fungos. A maioria dos compostos testados apresentaram atividade moderada contra os microorganismos alvos. Porém os compostos **15** e **16** (**Figura 8**) mostraram alta atividade contra as bactérias Gran-positivas, e os compostos **16**] e **17** (**Figura 8**) foram bastante potentes contra *Escherichia coli* frente aos ensaios realizados. Com relação aos ensaios antifúngicos, os compostos **16** e **18** (**Figura 8**) mostraram alto potencial frente às cepas selecionadas.

**Figura 8:** Estruturas que apresentaram melhores resultados antimicrobianos nos ensaios realizados no estudos de El-Gama et al (El-



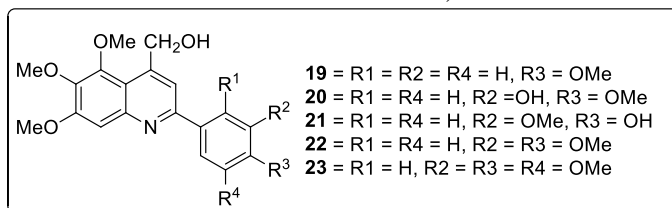
O grupo de pesquisa de Zuo et al (Zuo, Garrison et al. 2016) reportaram a síntese e investigação da atividade antifúngica, contra *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*, de 19 derivados de quinolinas halogenadas (**Figura 9**, página 37). Quatro derivados inibiram o crescimento de *C. albicans* com concentração inibitória mínima (CIM) de 100 nM. Contra *Cryptococcus neoformans* 16 análogos mostraram-se potentes com CIM na faixa de 50 – 780 nM.

**Figura 9:** Estrutura dos compostos sintetizados e avaliados por Zuo et al (Zuo, Garrison et al. 2016)



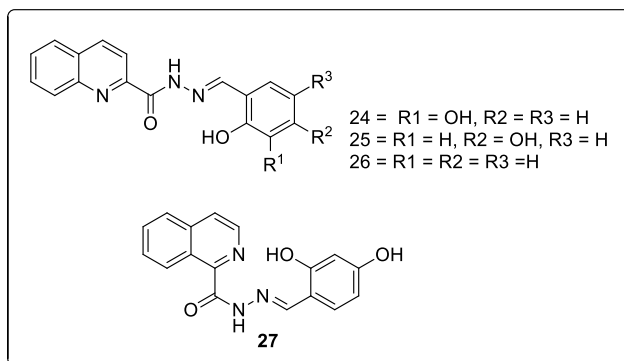
Shobeiri et al (Shobeiri, Rashedi et al. 2016) reportaram a síntese e avaliação da atividade citotóxica contra quatro linhagens de células cancerígenas (MCF-7, MCF-7/MX, A-2780, e A-2780/RClS), de nova série de derivados 2-aryl-trimetoxiquinolona. Cinco dos compostos testados (compostos **19-23**, **Figura 10**, página 38) mostraram significativa atividade citotóxica com  $IC_{50}$  na faixa de 7,98 – 60  $\mu$ M. Da série de compostos, **22** apresentou a maior atividade antiproliferativa e mostrando-se também o melhor inibidor da polimerização da tubulina.

**Figura 10:** Estrutura dos copostos estudada por Shobeiri et al (Shobeiri, Rashedi et al. 2016)



Coa et al (Coa, Castrillón et al. 2015) reportaram a síntese e investigação da atividade leishmanicida e tripanocida de 10 derivados híbridos de quinolina-hidrazona (**Figura 11**). Os compostos sintetizados foram avaliados contra a forma amastigota do *L.(V) panamensis*, a espécie de *Leishmania* mais comum na Colômbia, e *Trypanosoma cruzi* que é a espécie mais patogênica para humanos. Os compostos **24**, **25** e **26** (**Figura 11**) mostraram atividade contra *L.(V) panamensis* com  $EC_{50}$  na faixa de 2,6 – 21,2 mM, enquanto que os compostos **25** e **27** (**Figura 11**) mostraram melhor atividade contra o *T. cruzi* que o fármaco padrão utilizado, com  $EC_{50}$  de 40,3 mM. Os resultados obtidos sugerem que estas moléculas possuem potencial para serem aplicadas no desenvolvimento de novos fármacos leishmanicida e tripanocida.

**Figura 11:** Estrutura dos híbridos de quinolina-hidrazona mais ativos nos estudos que Coa et al (Coa, Castrillón et al. 2015)

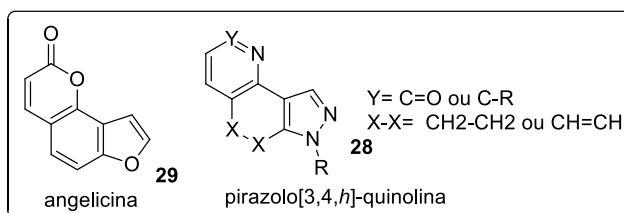


Uma nova série de pirazolo[3,4,*h*]-quinolina (estrutura **28**, **Figura 12**, página 39), heteroanálogos da angelicina (estrutura **29**, **Figura 12**), foi sintetizada por Spanò et al (Spanò, Parrino et al. 2015).

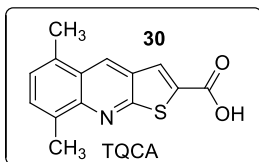


Um grande número de derivados foi obtido e a fototoxicidade celular avaliada *in vitro* contra 5 diferentes linhagens de células de tumores humanos com valores de  $GI_{50}$  na faixa de 14,52 – 0,04  $\mu\text{M}$ . Os compostos selecionados foram capazes de fotoinduzir a morte celular massiva com o envolvimento da mitocôndria. Seus alvos celulares fotodanificados foram proteínas e lípidios não causando nenhum tipo de fotodano ao DNA. Estes resultados são de considerável importância na modulação dos efeitos colaterais.

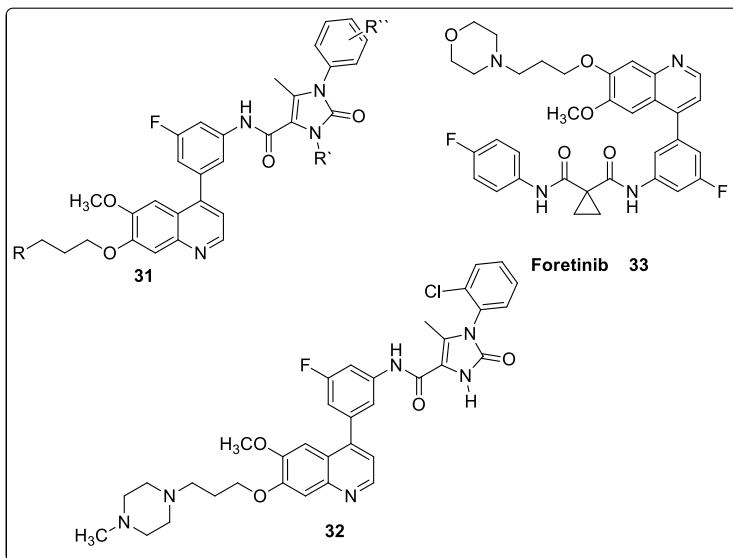
**Figura 12:** Estrutura da angelicina e pirazolo[3,4,*h*]-quinolina.



Parasitas *Plasmodium* degradam a hemoglobina e produzem espécies reativas de oxigênio. Segundo Gamboa de Domínguez et al (Gamboa de Domínguez, Charris et al. 2015), compostos quinolínicos tem demonstrado atividade contra a degradação da hemoglobina, sendo que o composto 2-ácido-5,8-metilieno-[2,3,*b*]-quinolina (TQCA **30**, **Figura 13**, página 40) representa um recente inibidor para esse processo. Assim, um estudo foi realizado para determinar a habilidade do TQCA de modificar o grau oxidativo no eritrócito infectado do *Plasmodium-berghei*. Após hemólise, atividades das enzimas superóxido dismutase, glutatona peroxidase, glutatona redutase e dehidrogenase, bem como a peroxidação lipídica foram investigadas por espectrometria. Ácidos graxos saturados e insaturados foram determinados por CG e HPLC, e os efeitos *in vivo* do TQCA foi confirmado pelo teste modelo malaria murina. A atividade da glucose-6-fosfatase dehidrogenase e 6-fosfogluconato dehidrogenase em células infectadas foi diminuída respectivamente em 75,1% e 26,5% pela ação do TQCA.

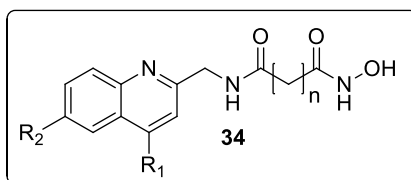
**Figura 13:** Estrutura do TQCA

Liao et al (Liao, Hu et al. 2015) relataram a síntese e atividade *in vitro* contra c-Met Kinase e quatro linhagens de células cancerígenas (A549, H460, HT-29 e MKN-45), de uma série de 4-(2-fluorfenoxi)quinolinas (composto **31**, **Figura 14**) que contém um imidazol incorporado na molécula. A maioria dos compostos apresentaram atividades moderadas a excelentes nos ensaios celular e enzimático. O análogo mais promissor (composto **32**, **Figura 14**) mostrou uma  $IC_{50} = 1,42$  nM contra c-Met kinase, e também apresentou atividade 2,1 e 8,6 vezes maior na inibição do crescimento das células H460 e MKN-45, respectivamente, quando comparados com o controle foretinibe (composto **33**, **Figura 14**), fármaco controle utilizados nos testes.

**Figura 14:** Estrutura do foretinib e dos derivados de 4-(2-fluorfenoxi)quinolinas estudadas por Liao et al (Liao, Hu et al. 2015)

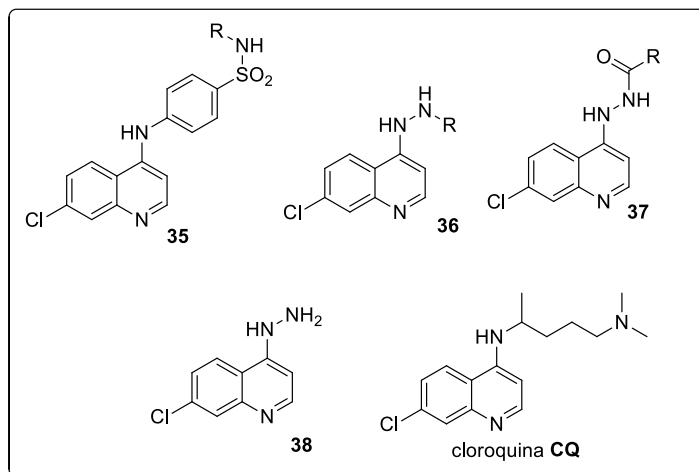
A inibição da atividade das enzimas histonas deacetilases (HDAC) tem se tornado uma estratégia promissora para reverter o estado epigenético anormal do câncer e outras doenças. Com isso, inibidores do HDAC tornaram-se uma classe relativamente nova de agentes anticâncer. Wang et al (Wang, Hou et al. 2015) apresentaram em seus estudos a síntese de uma série de novos inibidores HDAC usando vários anéis quinolínicos substituídos (estrutura **34**, **Figura 15**). Estudos *in vitro* mostraram que alguns compostos têm boa atividade inibitória contra HDAC e potente atividade antiproliferativa frente a algumas linhagens de células tumorais.

**Figura 15:** Estrutura estudada por Wang et al (Liao, Hu et al. 2015)



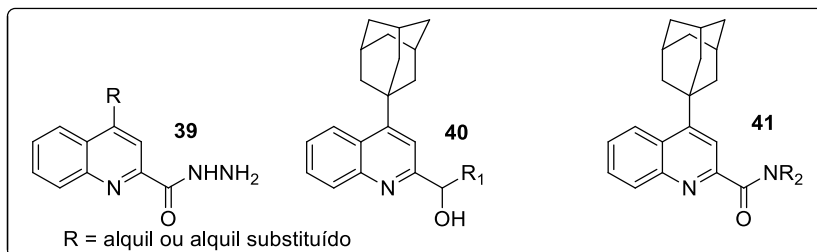
Em um estudo publicado por Soares et al (Soares, da Silva et al. 2015) foi investigada a atividade antiplasmodial de 10 novos compostos derivados da quinolina, cinco deles combinados com sulfonamida (estrutura **35**, **Figura 16**, página 42) e outros cinco com grupo hidrazina (estrutura **36**, **Figura 16**) ou hidrazida (estrutura **37**, **Figura 16**). Os compostos foram avaliados de acordo com sua citotoxicidade contra as linhagens de células HepG2 e HeLa, suas atividades antimalarial contra cepas cloroquina (estrutura **CQ**, **Figura 16**) (CQ)-sensitiva e CQ-resistentes do *Plasmodium falciparum* e, finalmente, sua ação esquizonticida em camundongos infectados com *Plasmodium berghei* NK65. Os compostos não exibiram nenhuma ação citotóxica contra as células testadas até a concentração de 100 µg/mL. Além disso, os derivados contendo grupo hidrazina ou hidrazida foram menos citotóxicos frente a linhagem de células testadas e mais ativos contra as cepas CQ-sensitiva e CQ-resistentes do *Plasmodium falciparum*. Quando testado *in vivo*, o composto **38** (**Figura 16**) mostrou atividade contra o desenvolvimento parasitas no sangue similar ao observado com **CQ**, fármaco de referência. Os resultados sugerem a importância de estudos mais aprofundados com este mesmo composto por ser promissor na quimioterapia antimalarial.

**Figura 16:** Estrutura da cloroquina e derivados de quinolina estudados por Soares et al (Soares, da Silva et al. 2015).



Nos estudos de Patel et al (Patel, Gangwal et al. 2015) foi relatada a síntese e investigação da atividade antituberculose, de três séries de derivados de quinolina 2,4-disubstituídas (estruturas **39-41**, **Figura 17**). Os compostos sintetizados foram avaliados contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Os compostos mais promissores das três séries apresentaram valores de CIM entre 3,12 e 6,25  $\mu\text{g/mL}$ . Nenhum dos compostos testados exibiu citotoxicidade até a concentração máxima usada nos testes, que foi de 200  $\mu\text{g/mL}$ .

**Figura 17:** Estrutura base das séries estudadas por Patel et al (Patel, Gangwal et al. 2015).

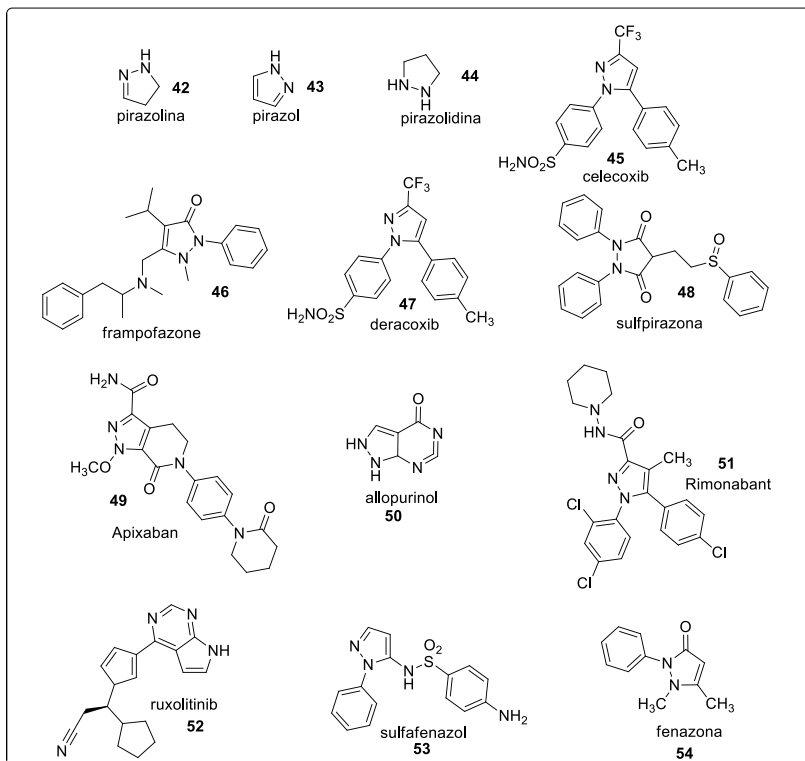


### 2.2.2. Atividades biológicas relacionadas ao núcleo 4,5-dihidropirazol

O núcleo 4,5-dihidropirazol ou pirazolina (estrutura **42, Figura 18**, página 44) é um heterociclo bastante versátil que apresenta dois átomos de nitrogênio interligados em uma estrutura cíclica com anel de cinco membros. As pirazolininas, bem como pirazóis **43** e pirazolidina **44 (Figura 18)** apresentam um vasto leque de atividades farmacológicas descritas na literatura e estão presentes em um grande número de fármacos amplamente comercializados visando o tratamento de diversas patologias, como (Ahmad, Woo et al. 2016):

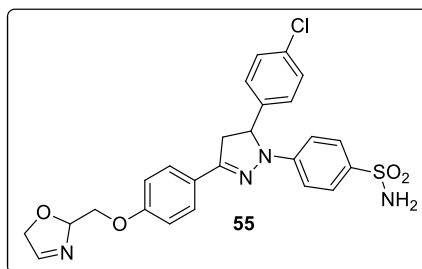
- Celecoxib® (anti-inflamatório, usado no tratamento da osteoartrite e artrite reumatóide Estrutura **45, Figura 18**);
- Famprofazone® (analgésico, anti-inflamatório e antipirético. Estrutura **46, Figura 18**);
- Deracoxib® (anti-inflamatório, usado no tratamento de osteoartrite em cachorros. Estrutura **47, Figura 18**);
- Sulfinpirazona® (usado no tratamento da urease, ou artrite gotosa crônica. Estrutura **48, Figura 18**);
- Apixaban® (utilizado para prevenção do tromboembolismo. Estrutura **49, Figura 18**);
- Allopurinol® (inibidor da xantina oxidase, usado para tratar o excesso de ácido úrico no sangue. Estrutura **50 Figura 18**);
- Rimonabant® (é um anorético antiobesidade, utilizado para redução de peso. Estrutura **51, Figura 18**);
- Ruxolitinib® (indicado para o tratamento de mielofibrose, um tipo de câncer provocado pelo desenvolvimento anormal de células da medula óssea. Estrutura **52, Figura 18**);
- Sulfafenazol® (antibiótico, antibacteriano. Estrutura **53, Figura 18**);
- Fenazone® (anti-inflamatório, analgésico e antipirético. Estrutura **54, Figura 18**).

**Figura 18:** Estrutura de alguns fármacos comercializados que apresentam pirazol, pirazolina ou pirazolidina em sua estrutura



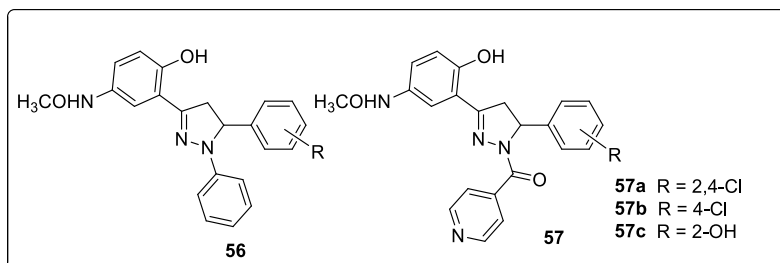
Uma nova série de pirazolina-oxazolina foi sintetizada por Pandey e colaboradores (Pandey, Sharma et al. 2016), e teve sua atividade antimalarial testada contra cepas resistentes e sensíveis à cloroquina. O análogo mais potente (estrutura **55**, **Figura 19**, página 45) mostrou uma  $IC_{50} = 0,322 \mu M$  para o teste *in vivo* contra o *Plasmodium berghei* em camundongos. Os resultados obtidos no estudo sugerem que esta classe de compostos pode servir de modelo para o desenvolvimento de novos agentes para o combate da malária.

**Figura 19:** Análogo mais ativo nos estudos de Pandey et al (Pandey, Sharma et al. 2016).



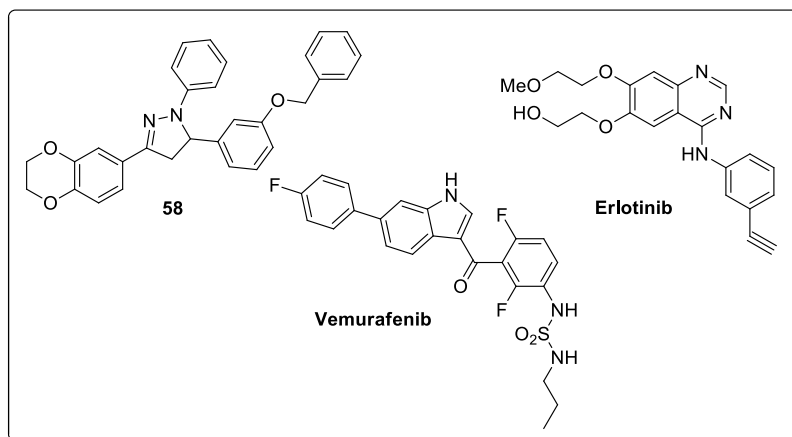
Ahmad et al (Ahmad, Husain et al. 2016) reportaram a síntese de duas novas séries de pirazolininas (estruturas **56** e **57**, **Figura 20**, página 46). Os compostos foram avaliados quanto às atividades antibacteriana, antifúngica e antituberculose. Os derivados exibiram significativa atividade contra *Stafilococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* quando comparados com o padrão utilizado nos testes, o fármaco ciprofloxacina. O composto **57a** (**Figura 20**) mostrou potente atividade contra o fungo *Candida albicans* e *Aspergillus niger*, com resultados superiores aos encontrados para o cetoconazol, fármaco controle. Os resultados da atividade antituberculose, dos compostos sintetizados, contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv pelo método de microdiluição do agar foi bastante promissor. Três dos compostos (**57a**, **57b** e **57c**, **Figura 20**) testados contra tuberculose apresentaram atividades superiores ao padrão estreptomicina, com uma CIM de 3,12 µg/mL contra 6,25 µg/mL. Estes resultados sugerem o alto potencial do núcleo pirazolinina na investigação de atividade antimicrobiana.

**Figura 20:** Estrutura das pirazolinas estudadas por Ahmad et al (Ahmad, Husain et al. 2016)



Uma nova série de derivado de triaril pirazolina contendo dioxina foi sintetizada por Yang et al (Yang, Yang et al. 2016). Estes compostos foram avaliados quanto a atividade inibitoria e antiproliferativa do B-Raf (proteína envolvida no crescimento celular, sendo que, anomalias nessa proteína tem sido associadas ao desenvolvimento de cânceres). O composto **58** (**Figura 21**) mostrou atividade biológica contra as linhagens de célula de melanona humano BRaf<sup>V600E</sup> e WM266.4 com valores de IC<sub>50</sub> de 0.04 µM e GI<sub>50</sub> de 0,87 µM, sendo estes resultados comparáveis aos controles positivos (Erlotinib e Vemurafenib, **Figura 21**) utilizados nos testes.

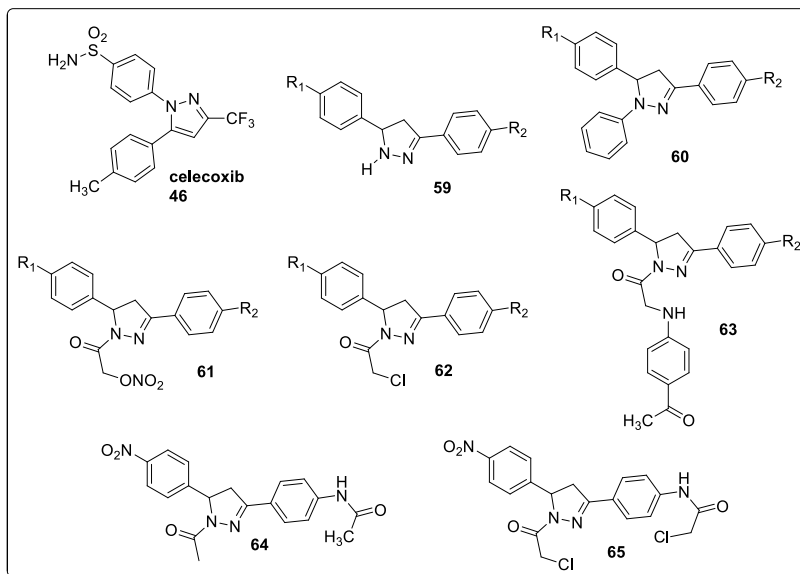
**Figura 21:** Estruturas do composto mais ativo nos experimento de Yang et al (Yang, Yang et al. 2016) e dos fármacos Vemurafenib e Erlotinib.





Abdel-Sayed et al (Abdel-Sayed, Bayomi et al. 2016) sintetizaram e testaram farmacologicamente um grupo de 1,3,5-trissubstituídos pirazolinas (**59-65**, **Figura 22**). Os compostos sintetizados foram avaliados quanto a sua atividade anti-inflamatória, analgésica e inibidora *in vitro* do COX-1/2. Cinco dos compostos testados apresentaram atividade anti-inflamatória e analgésica mais potente que o fármaco de referência (celecoxib **46**, **Figura 22**) utilizado nos testes. Três dos compostos quando testados quanto a inibição do COX-1/2 usando o ensaio *in vitro* da inibição da ciclooxigenase, mostraram seletividade apenas para o COX-2, ou seja, estes compostos podem ser importantes no desenvolvimentos de novos agentes no combate do alívio da inflamação e da dor nocicepitiva. Uma vez que, o COX-2 está diretamente ligado a dor provocada por estímulos.

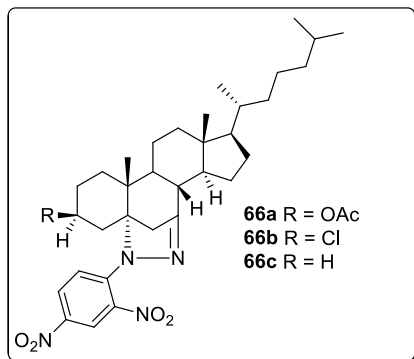
**Figura 22:** Estrutura base dos compostos estudados Abdel-Sayed et al (Abdel-Sayed, Bayomi et al. 2016) e estrutura do fármaco celecoxib.



Shamsuzzaman et al (Shamsuzzaman, Khanam et al. 2016) reportaram a síntese de três análogos de 2'-(2'',4''-dinitrofenil)-5 $\alpha$ -colestano[5,7-*c* *d*]pirazolinas (**66a-c**, **Figura 23**, página 48). Os compostos sintetizados tiveram sua atividade antimicrobiana avaliada para diferentes cepas, sendo que o composto **66c** (**Figura 23**) apresentou

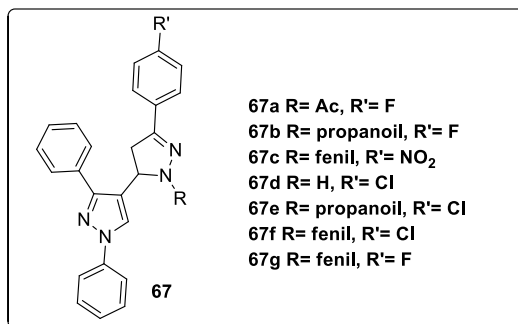
potente atividade contra *Corynebacterium xerosis* e *Staphylococcus epidermidis*. Os compostos também foram avaliados *in vitro* quanto a sua atividade anticâncer sendo que o composto **66c** (**Figura 23**) apresentou significante atividade.

**Figura 23:** Estrutura das pirazolininas estudadas por Shamsuzzaman et al (Shamsuzzaman, Khanam et al. 2016)



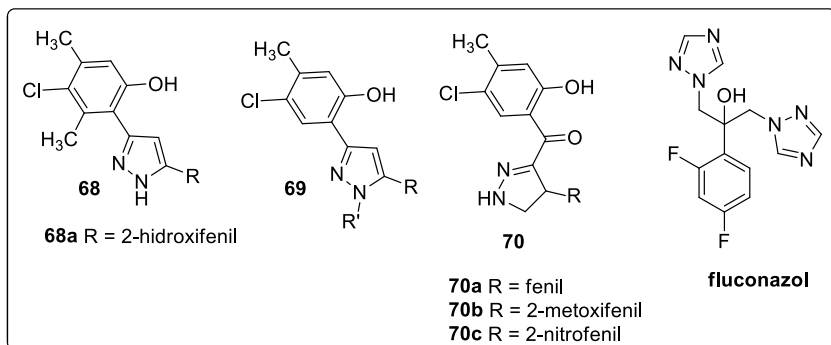
Algumas novas pirazolininas ligadas a um esqueleto pirazol substituído foram sintetizadas e avaliadas quanto a sua atividade anti-inflamatória, analgésica e antibacteriana, por Viveka et al (Viveka, Dinesha et al. 2015). Os resultados preliminares revelaram que os compostos **67a-c** (**Figura 24**, página 49) exibiram atividade anti-inflamatória, e os compostos **67b** e **67c** foram interessantes agentes analgésicos. Nos testes antibacterianos, os compostos que apresentam um átomo de halogênio como substituinte do fenil na posição 4 do anel (estruturas **68d-g**, **figura 24**) mostraram-se ativos contra bactérias patogênicas, com MIC entre 0,2 – 0,4 mg/mL.

**Figura 24:** Estrutura dos compostos sintetizados e avaliados por Viveka et al (Viveka, Dinesha et al. 2015).



Três séries de pirazolininas substituídas (estruturas **68**, **69** e **70**, **Figura 25**) foram sintetizadas por Bano et al (Bano, Alam et al. 2015). Os compostos sintetizados foram testados contra duas bactérias e quatro fungos. O composto **68a** e **70a-c** (**Figura 25**) apresentaram significante atividade contra todas as cepas de fungos testadas, sendo os valores da CIM para o composto **68a** comparáveis aos do fármaco fluconazol (**Figura 25**), utilizado como padrão para os testes.

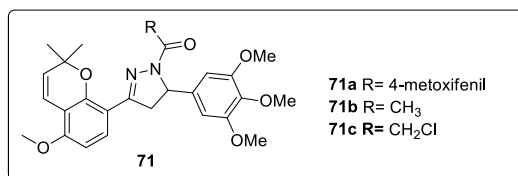
**Figura 25:** Estrutura dos compostos estudados por Bano et al (Bano, Alam et al. 2015)



He et al (He, Ma et al. 2015) reportaram a síntese de 28 novos derivados contendo o núcleo pirazolina, e avaliaram o potencial inibitório na produção do mediador anti-inflamatório óxido nítrico

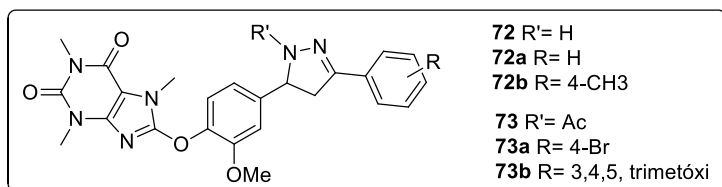
(NO). Dentre todos os compostos, três (**71a-c**, **Figura 26**) mostraram potente efeito inibitório na produção de NO e iNOS (óxido nítrico sintase na isoforma incubada). O composto **71a** (**Figura 26**) mostrou ainda que, pode suprimir o progresso do edema induzido por carragenina na pata traseira de camundongos, quando tratados com uma dose de 50 mg/kg ao dia, e mostrou mediação dose-dependente quando testado contra artrite induzida por adjuvante, evitando o desenvolvimento de artrite severa.

**Figura 26:** Estrutura dos derivados de pirazolina estudados por He et al (He, Ma et al. 2015)



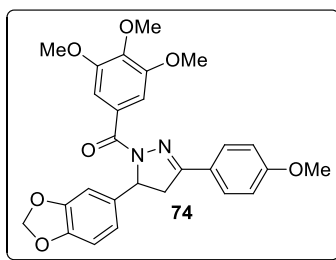
Em 2015, Isuasty et al (Insuasty, Ramírez et al. 2015) relataram a síntese de uma série de pirazolinonas baseadas na estrutura da cafeína (estruturas **72** e **73**, **Figura 27**). Os compostos tiveram a atividade antimalarial, leishmanicida e tripanocida avaliada *in vitro*. O composto **72a** (**Figura 27**) apresentou excelente percentual de inibição do crescimento ( $85.2 \pm 5.4\%$ ) do *Plasmodium falcioarum* (malária). Os compostos **73a** e **73b** (**Figura 27**) inibiram fortemente ( $82.8 \pm 1.7$  and  $87.6 \pm 0.5\%$  respectivamente) o crescimento de *Leishmania panamensis* (leishmaniose). E os compostos **72b** (**Figura 27**) mostraram um percentual de inibição do crescimento de  $61,9 \pm 7.8\%$  de *Trypanosoma cruzi*. Todos os ensaios foram realizados na concentração de 20 µg/mL.

**Figura 27:** Estrutura dos derivados de pirazolinona estudados por Isuasty et al (Insuasty, Ramírez et al. 2015).



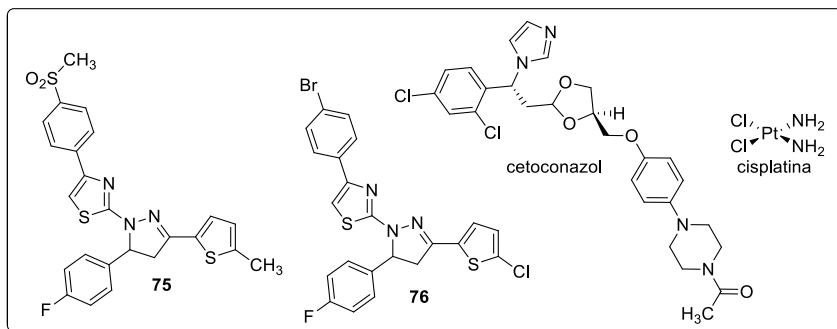
No ano de 2015 Qin et al (Qin, Li et al. 2015), publicaram a síntese e avaliação biológica de uma nova série derivados contendo o núcleo pirazolina. Dentre todos análogos sintetizados, o composto **74** (**Figura 28**) apresentou a mais potente atividade antiroliferativa contra as linhagens de células A549 (câncer de pele), MCF-7 (câncer de mama) e HepG-2 (câncer de fígado) ( $IC_{50} = 0.07$  mM, 0.05 mM, 0.03 mM, respectivamente) e atividade inibitória da polimerização da tubulina ( $IC_{50} = 1.88$  mM). Os autores afirmam que estes estudos fornecem uma nova base molecular para o desenvolvimento de novos agentes anticâncer que visam a tubulina como alvo terapêutico.

**Figura 28:** Estrutura do composto mais ativo nos estudos de Qin et al (Qin, Li et al. 2015)



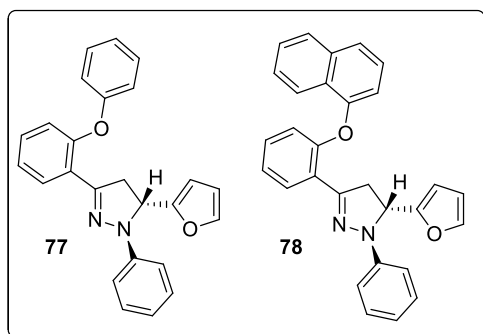
Nos estudos publicado por Altintop et al (Altintop, Özdemir et al. 2015) foi relatada a síntese de novos derivados tiazolina-pirazolina. Os compostos foram avaliados para as atividade antifúngica, genotóxica (para o compostos com maior atividade antifúngica) e citotóxica. O composto **75** (**Figura 29**, página 52) foi considerado como sendo o mais promissor, devido a baixa toxicidade, ausência de efeito mutagênico e notável atividade inibitória de *Candida zeylanoides* com valor de CIM de 250  $\mu\text{g/mL}$ , o mesmo apresentado pelo cetoconazol (**Figura 29**). Em relação aos ensaios anticâncer, o composto **76** (**Figura 29**) apresentou os melhores resultados contra a linhagem de células A549 (câncer de pele) com um  $IC_{50} = 62,5$   $\mu\text{g/mL}$ , contra 45,88  $\mu\text{g/mL}$  da cisplatina (**Figura 29**), fármaco controle utilizado nos testes, além de baixa citotoxicidade contra células normais.

**Figura 29:** Estrutura dos compostos **75**, **76** e dos fármacos cetoconazol e cisplatina.



A síntese de novos derivados de pirazolina com propriedades antibacterianas foi publicada por Rani et al (Rani, Yusuf et al. 2015). Os compostos foram avaliados contra duas bactérias Gran-positivas e duas Gran-negativas, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, e *Staphylococcus aureus*. Os resultados mostraram que os compostos **77** e **78** (**Figura 30**) apresentam atividade antibacteriana mais pronunciada que os fármacos Gentamicina e Tetraciclina, utilizados como controle nos testes.

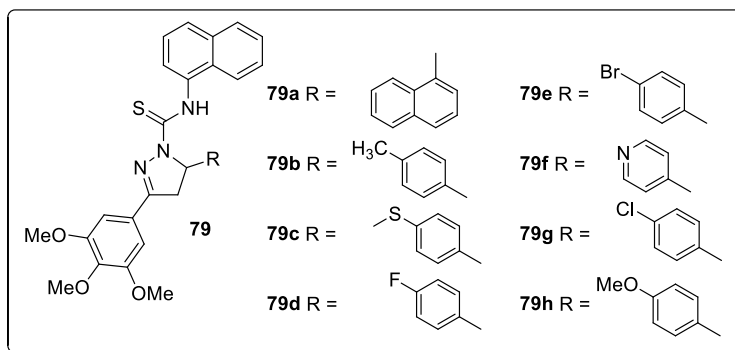
**Figura 30:** Estrutura dos compostos **77** e **78**.



Uma nova série de análogos de pirazolina **79a-h** (**Figura 31**, página 53) foi sintetizada por Lu et al (Lu, Gu et al.) e avaliada *in vitro* quanto a sua atividade anticâncer contra a linhagem de células A549. Ao final, os compostos apresentaram um bom potencial, em particular, os

derivados que apresentam um grupo funcional tiometil e metóxi na estrutura. O estudo revelou a eficácia das presentes moléculas pra estudos futuros no desenvolvimento de potenciais agentes anticâncer.

**Figura 31:** Estrutura das pirazolininas estudadas por Lu et al (Lu, Gu et al.)

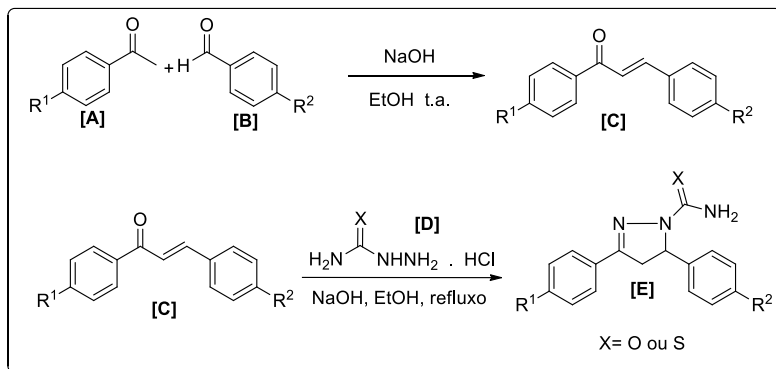


### 2.2.3. Síntese de Pirazolininas

A breve revisão da literatura sobre a síntese e atividade biológica de compostos contendo núcleos pirazolinina, sugere que a obtenção de novos derivados pirazolinínicos, pode ser uma ferramenta importante para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial atividade biológica, para obtenção de novos candidatos a fármacos. De forma geral, os métodos apresentam uma característica em comum: a ciclização da carbonila  $\alpha,\beta$ -insaturada presente nas chalconas utilizando derivados de hidrazina na presença de ácido ou base. Cabe salientar alguns estudos recentes que mostram a versatilidade desta metodologia.

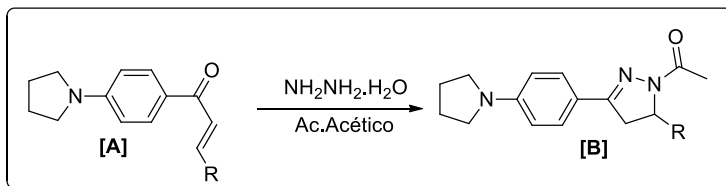
Em 2016, Miguel et al (Miguel, Dantas et al. 2016) apresentaram um estudo que descreve a síntese de uma nova série de derivados de pirazolininas. A metodologia utilizada na preparação dos derivados (Esquema 1, página 54), parte da preparação de chalconas (estrutura [C], Esquema 1), através da condensação aldólica entre diferentes acetofenonas e benzaldeídos (estruturas [A] e [B], Esquema 1) utilizando o método clássico de Claisen-Schmitt. Os derivados de chalconas reagem com derivados de hidrazina (estrutura [D], Esquema 1) na presença de NaOH, gerando os respectivos derivados de pirazolinina (estrutura [E], Esquema 1).

**Esquema 1:** Metodologia utilizada por Miguel et al (Miguel, Dantas et al. 2016) para a síntese de pirazolinas



Joshi et al (Joshi, Dixit et al. 2016) reportaram em seus estudos um método para a síntese de pirazolinas bastante semelhante ao descrito no parágrafo anterior, porém com a alteração do meio básico para meio ácido. Com isso diferentes chalconas (estrutura [A], **Esquema 2**) reagiram com derivados de hidrazina na presença de ácido acético, gerando os respectivos derivados de pirazolinas (estrutura [B], **Esquema 2**).

**Esquema 2:** Método para síntese de pirazolinas utilizado por Joshi et al (Joshi, Dixit et al. 2016)

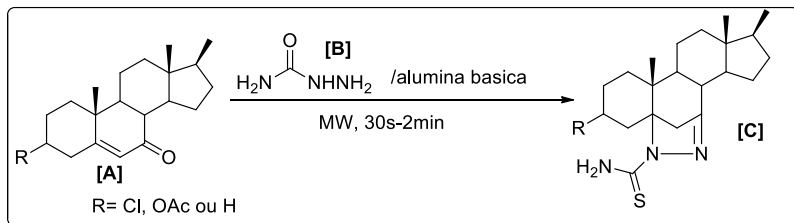


Em 2012, Alam et al (Alam, Nami et al. 2012) utilizaram a energia fornecida pela radiação de microondas para sintetizar uma série de derivados de pirazolina esteroidal. Para tal, uma mistura da cetona esteroidal  $\alpha,\beta$ -insaturada (estrutura [A], **Esquema 3**, página 55), tiosemicarbazida (estrutura [B], **Esquema 3**) e alumina básica foram homogeneizados em um gral. Posteriormente, a mistura é transferida para um balão de reação e aquecida em um forno microondas por de 30



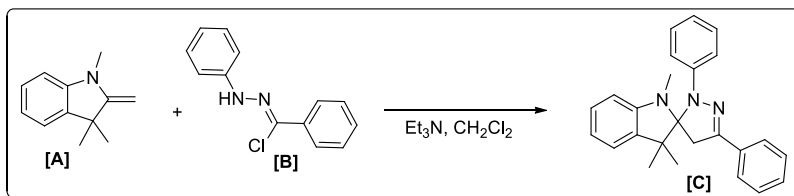
segundos a dois minutos, gerando os derivado se pirazolina (estrutura [C], **Esquema 3**) com rendimentos que variaram entre 65-90%.

**Esquema 3:** Metodologia de síntese de pirazolinas utilizada pr Alam et al (Ahmad, Husain et al. 2016).



Dadiboyena et al (Dadiboyena, Valente et al. 2014) relataram a síntese de derivados de pirazolina através de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar, como mostrado no **Esquema 4**. Nesta síntese o 1,3,3-trimetil-2-metilenolindolina (estrutura [A], **Esquema 4**) foi utilizado como dipolarófilo e o cloreto de fenilbenzohidrazonoil (estrutura [B], **Esquema 4**) como dipolar.

**Esquema 4:** Síntese de pirazolina via cicloadição 1,3 dipolar

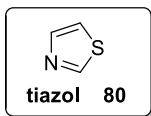


### 2.3.4 Atividades biológicas relacionadas ao núcleo Tiazol

O núcleo 1,3-tiazol **80** (**Figura 32**, página 56) é uma das mais importantes estruturas na química dos heterociclos, sendo também utilizado no desenvolvimento de novos fármacos. É um esqueleto encontrado em muitas substâncias farmacologicamente ativas e, em alguns compostos de origem natural. O tiazol é um versátil bloco de construção que, permite fácil acesso a diversos derivados. Assim, nos últimos anos, o interesse na síntese de novos derivados de tiazol, com a

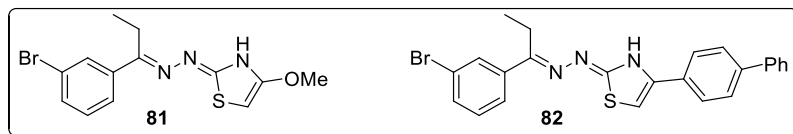
finalidade de investigação em atividades biológicas, tem crescido consideravelmente (de Moraes Gomes, de Oliveira Barbosa et al. 2016).

**Figura 32:** Estrutura do tiazol.



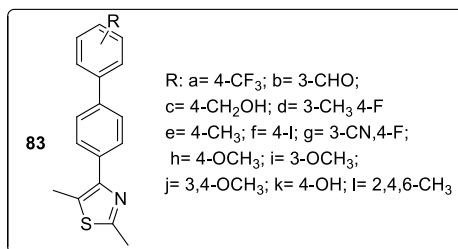
Recentemente de Moraes Gomes et al (de Moraes Gomes, de Oliveira Barbosa et al. 2016) reportaram a síntese de uma série de derivados de tiazol, e os compostos foram avaliados quanto à atividade antiparasitária. Dentre eles, os compostos **81** e **82** (**Figura 33**) apresentaram melhor atividade que o fármaco controle utilizado nos testes, benznidazol. Os compostos mostraram também atividade contra cruzain protease, demonstrando serem capazes de matar os parasitas.

**Figura 33:** Estruturas dos compostos 81 e 82.



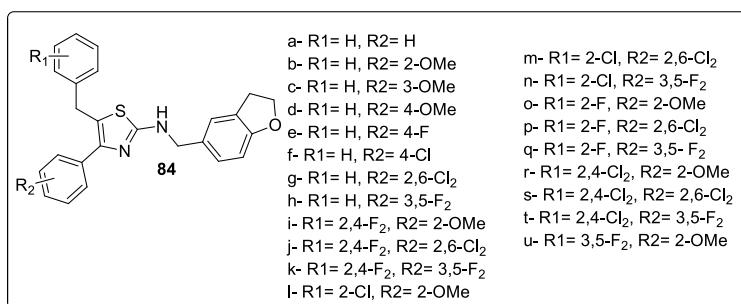
A síntese de 12 novos derivados de tiazol trissubstituídos (estrutura **83a-1**, **Figura 34**, página 57) e o estudo de suas atividades antimicrobianas foi reportada por Reddy et al (Reddy, Garcia et al. 2016). Todos os compostos foram avaliados quanto a atividade antibacteriana, e os resultados revelaram um potente atividade tanto para bactérias Gran-negativas quanto bactérias Gran-positivas. Além disso, os compostos também inibiram a germinação de esporos contra os fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*. De fato, todos os compostos testados mostraram atividade ligeiramente superior ao fármaco controle utilizado, cetoconazol.

**Figura 34:** Estrutura dos compostos estudados por Reddy et al (Reddy, Garcia et al. 2016).



Xu et al (Xu, Guo et al. 2016) relataram em seus estudos a síntese de 21 novos derivados de 2,4,5-trisubstituído tiazol (estrutura **84a-u**, **Figura 35**), como inibidor da transcriptase reversa não nucleosídeo do HIV-1. Dentre todos, os compostos **84n**, **84p**, **84q** e **84s** (**Figura 35**) mostraram as mais potentes atividades inibitórias contra o HIV-1 com IC<sub>50</sub>= 0.010 μM. Além disso, os compostos **84d**, **84i-k**, **84m** e **84p** (**Figura 35**) foram testados em 9 cepas de HIV-1 resistentes, e todos eles exibiram um efeito inibitório frente aos testes realizados. Mostrando assim, o potencial do núcleo para servir como modelo para o desenvolvimento de novos agentes anti HIV-1.

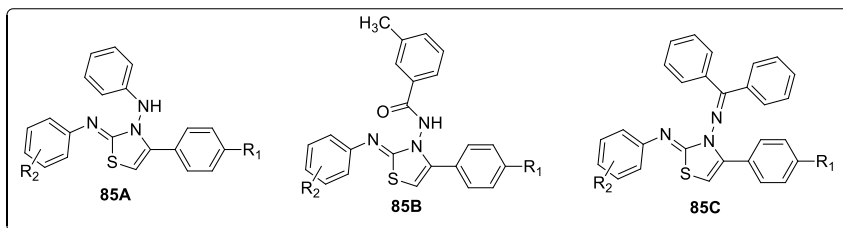
**Figura 35:** Estrutura dos 21 compostos estudados por Xu et al (Xu, Guo et al. 2016).



Nos estudos de Khan et al (Khan, Qurban et al. 2016) foi relatada a síntese de novos derivados de tiazol (estrutura **85A-C**, **Figura 36**, página 58) e a avaliação *in vitro* da atividade inibidora da enzima α-glicosidase. Os compostos sintetizados mostraram atividades que variaram entre IC<sub>50</sub> = 9.06 ± 0.10–82.50 ± 1.70 μM, alguns deles

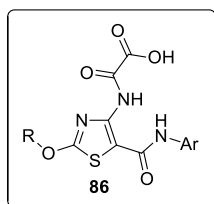
apresentando resultados melhores que o padrão utilizado nos testes, acarbose  $IC_{50} = 38.25 \pm 0.12 \mu M$ .

**Figura 36:** Estrutura base dos compostos estudados por Khan et al (Khan, Qurban et al. 2016).



Recentemente Zhao et al (Zhao, Cui et al.) reportaram a síntese de novos derivados de tiazol e avaliou a atividade inibitória do PIN1 humano. PIN1 é um peptídeo protil cis-trans isomerase o qual catalisa a conversão conformacional da ligação amida do pSer/ Thr-Pro em substratos de proteínas, motivos pelo qual é um novo e promissor alvo anticâncer. Todos os compostos testados que apresentam um grupo oxalico na estrutura (estrutura **86**, **Figura 37**) demonstraram potente atividade inibitória de PIN1 com valores de  $IC_{50}$  na faixa do micromolar.

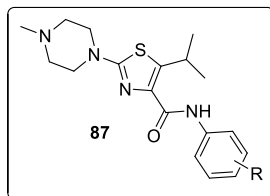
**Figura 37:** Estrutura dos compostos estudados por Zhao et al (Zhao, Cui et al.).



Como parte de seus estudos de química medicinal na busca por novos agentes antimalária, Bueno et al (Bueno, Carda et al. 2016) prepararam uma série de análogos de tiazol (estrutura **87**, **Figura 38**, página 59) e analisou a atividade *in vitro* contra cepas de *Plasmodium falciparum* sensível à cloroquina. Os resultados indicam que, modificações do grupo *N*-aril amida ligado ao anel tiazol (**Figura 38**) são mais significantes em termos de atividade antimalarial *in vitro*,

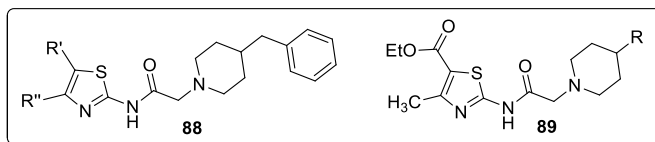
deixando os compostos com alta atividade e baixa toxicidade contra a linhagem de células HepG2.

**Figura 38:** Estrutura base dos derivados de tiazol estudados por Bueno et al (Bueno, Carda et al. 2016).



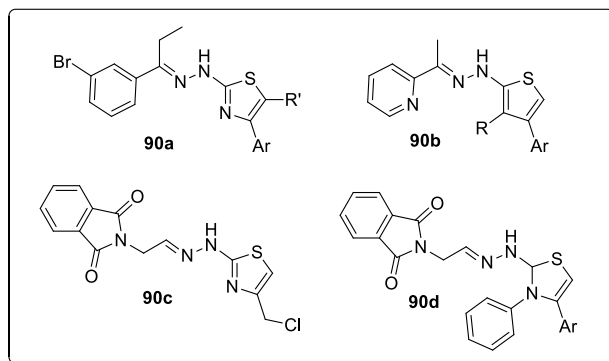
Uma série de novas moléculas, contendo o anel tiazol na estrutura foi sintetizado por Pawar et al (Pawar, Sarkate et al. 2016). Os compostos sintetizados (estrutura **88** e **89**, **Figura 39**) foram avaliados quanto a sua atividade antimicrobiana contra uma série de cepas de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* para atividade antibacteriana e contra cepas de *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger* para os testes antifúngicos. Os resultados revelaram que a maioria dos compostos testados apresentam de moderada a boa atividade antimicrobiana.

**Figura 39:** estrutura base dos compostos **88** e **89**.



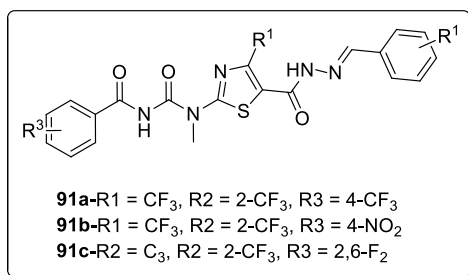
Nos estudos de dos Santos et al (dos Santos, da Silva et al. 2016), foi relatada a síntese de novos derivados de tiazol (estrutura **90a-d**, **Figura 40**, página 60) os quais tiveram o potencial antitumoral e imunomodulador avaliados. Os compostos não apenas exibiram citotoxicidade nas células de câncer, mas foram também capazes de causar danos irreversíveis nas células cancerosas através da indução de necrose e apoptose celular. Os resultados mostraram que os novos derivados apresentam potente e seletiva atividade anticâncer.

**Figura 40:** Estrutura dos compostos estudados por dos Santos et al(dos Santos, da Silva et al. 2016).



Uma série de novos derivados de tiazol 2,4,5-trisubstituídos **91** (**Figura 41**) foi sintetizada e teve sua atividade antitumoral avaliada *in vitro* contra 5 linhagens de células de câncer. Os compostos **91a**, **91b** e **91c** exibiram as melhores atividade citotóxicas com valores de IC<sub>50</sub> de 2,21 µg/mL, 1,67 µg/mL e 1,11 µg/mL, contra as linhagens MCF-7 (câncer de mama), BCG-823 (câncer de estômago), e HepG2 (câncer de fígado) respectivamente. Além disso, as análises indicaram que os compostos **91a** e **91c** podem induzir apoptose nas células de câncer de fígado. Os resultados mostram o alto potencial do núcleo tiazol para ser aplicado no desenvolvimento de novos agentes anticâncer (He, Wang et al. 2016).

**Figura 41:** Estrutura dos compostos mais ativos nos estudos de He et al (He, Wang et al. 2016).



### 2.3. Importância do estudo das propriedades físico-químicas relacionadas aos processos ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) no desenvolvimento de potenciais candidatos a fármacos.

Obter informações a respeito das propriedades físico-químicas de fármacos nas primeiras etapas de seu desenvolvimento é de primordial importância. Uma vez que, a baixa solubilidade e permeabilidade por entre as membranas biológicas estão entre as principais causas de descarte de moléculas ativas durante o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos (Dreassi, Zizzari et al. 2009).

- **Lipofilicidade**

Dentre todos os parâmetros físico-químicos, a lipofilicidade pode ser considerado um dos mais importantes, por estar diretamente envolvida em processos farmacocinéticos como absorção, distribuição, metabolismo, excreção, toxicidade (ADMET) e interações com o ligante alvo. Portanto, o cálculo do coeficiente de partição (**Equação 1**), Log P, é uma ferramenta indispensável para se fazer uma previsão a respeito do transporte e atividade do fármaco (Dreassi, Zizzari et al. 2009).

$$\text{Equação 1: } P = \frac{[\text{fase orgânica}]}{[\text{fase aquosa}]}$$

- **Permeabilidade**

Outro parâmetro muito importante a ser investigado durante fase de descoberta de fármacos é a permeabilidade. Este parâmetro é conhecido por ser importante na absorção gastrointestinal do fármaco, porém apresenta também uma importante função em atividades baseadas em células e penetração de tecidos, como a barreira hematoencefálica (Kerns, Di et al. 2004).

Kerns e colaboradores desenvolveram um ensaio “*in vitro*” que mimetiza a permeabilidade de moléculas nas mais diversas membranas do organismo, o chamado “ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial” (PAMPA). Esta é uma técnica que não envolve cultura de células, e utiliza dois poços de soluções tampões aquosas separadas por uma membrana artificial. Esta membrana é constituída por um lipídeo em diluente orgânico suportada por uma placa matriz porosa (Kerns, Di et al. 2004).

O experimento se dá através da diluição dos compostos na solução tampão, seguida da adição em um poço doador. O composto se move por difusão passiva pela membrana e vai para o poço receptor. O

ensaio PAMPA é realizado em uma placa de 96 poços e pode ser rapidamente quantificado por uma placa leitora de UV. Vale lembrar que neste teste apenas o transporte passivo é quantificado e que não existe nenhum metabolismo.

- **Regra de Lipinski**

No cenário da descoberta de um novo fármaco, a regra de Lipinski (Lipinski, Lombardo et al. 2001) ou “regra dos 5”, prevê que para um composto apresentar absorção ou permeabilidade satisfatória, parâmetros que são determinantes para o sucesso, o mesmo deve apresentar as seguintes características:

- ✓ No máximo 5 doadores de ligação de hidrogênio (NH, OH)
- ✓ Um máximo de 10 aceptores de ligação de hidrogênio (O, N)
- ✓  $\text{Log } P \leq 5$
- ✓ Massa molecular inferior a  $500 \text{ g.mol}^{-1}$ .

Candidatos a fármacos que infrinjam duas ou mais destas características, apresentam em geral baixa solubilidade ou permeabilidade.



### 3. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo central a síntese de novos derivados de quinolina empregando metodologia que utiliza da radiação ultrassônica, bem como avaliar os compostos quanto a suas propriedades ADME e possíveis atividades farmacológicas.

#### 3.1. Objetivos específicos

- Realizar a síntese de 4 novas séries de derivados de quinolinas;
- realizar o estudo de obtenção dos derivados sintéticos de 6-(4,5-di-hidropirazolil)-quinolina;
- obter os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina através da metodologia que emprega a utilização de energia na faixa do ultrassom;
- a partir dos compostos citados no item acima obter a série de derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-6-(quinolinil)-4,5-di-hidro-1H-pirazolil)tiazol, e 5-(4-metoxifenil)-2-(3-fenil-6-(quinolinil)-4,5-di-hidro-1H-pirazolil)tiazol fazendo-se também o uso da energia ultrassônica;
- caracterizar os compostos sintetizados através da análise dos espectros de IV, EM, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ;
- investigar a possível atividade biológica *in vitro* dos compostos; sintetizados por meio de diferentes bioensaios;
- investigar a atividade antifúngica *in vitro*, e ação inibitória da enzima acetil colinesterase, dos compostos sintetizados
- obter os derivados de 6-quinolinil-N-óxido-chalconas, afim de submeter os compostos mais promissores ao ensaio antifúngico *in vivo*.
- realizar um estudo a respeito das propriedades relacionadas ao processo de administração, distribuição metabolismo e excreção (ADME)
- determinar o coeficiente de partição (log de P),
- realizar o ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial (PAMPA).



## 4. Materiais e Métodos

### 4.1. Métodos para purificação dos compostos

Os compostos foram purificados utilizando-se métodos de recristalização e fracionamento cromatográfico em coluna.

Para o fracionamento cromatográfico em coluna foi utilizada sílica gel de granulação 70-230 mesh (0,063-0,2 mm) da Merck e solventes de qualidade PA. As frações eluídas passaram por processo de concentração em evaporador rotatório e o solvente destilado foi reutilizado no processo cromatográfico, sem qualquer purificação ou secagem. Isso acarreta na diminuição dos custos para purificação dos produtos e minimiza a contaminação do meio ambiente pela diminuição da quantidade de emissão de resíduos químicos.

No caso de purificação de misturas mais simples foi realizada coluna cromatográfica em sílica de granulação 230-400 mesh (0,04-0,063 mm) da Macherey-Nagel, com eluição no modo isocrático e os respectivos eluentes preparados na proporção adequada de diferentes solventes de qualidade PA. As frações obtidas foram analisadas através de CCD (cromatografia em camada delgada), e as que apresentaram o mesmo Rf, reunidas e concentradas em evaporador rotatório, afim de se obter o produto com pureza analítica.

### 4.2. Identificação dos compostos

A identificação dos compostos foi realizada principalmente através da análise dos espectros de IV, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , EM, ponto de fusão e cromatografia em camada delgada (CCD).

Os espectros de absorção na região do IV foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR 16 PC. As amostras foram analisadas na forma de pastilhas comprimidas de brometo de potássio anidro.

As análises de ESI-Q-TOFMS foram realizadas em espectrômetro de massas micrOTOF-QII (Bruker Daltonics), disponível no Laboratório Central de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME).

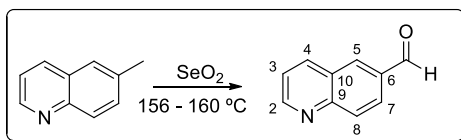
Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Varian Mercury Plus a 400 MHz e espectrômetro Bruker AC200 para hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ). Os espectros de carbono 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos através do espectrômetro Bruker AC200 a 50 MHz. As

amostras analisadas foram dissolvidas no solvente deuterado apropriado e os respectivos espectros foram locados em relação ao sinal residual do solvente não deuterado ou do tetrametilsilano (TMS).

Para as análises CCD foram utilizadas placas cromatográficas Alugram Sil G/UV254 com 0,20 mm de espessura da Macherey-Nagel. Os compostos foram visualizados sob lâmpada de ultravioleta a 254 nm e por imersão das placas em anisaldeído sulfúrico e/ou solução de sulfato de cério 2 mol/L em ácido sulfúrico seguido de aquecimento da placa.

### 4.3. Síntese do precursor 6-carbaldeídoquinolina

**Esquema 5:** Síntese do precursor 6-carbaldeídoquinolina.



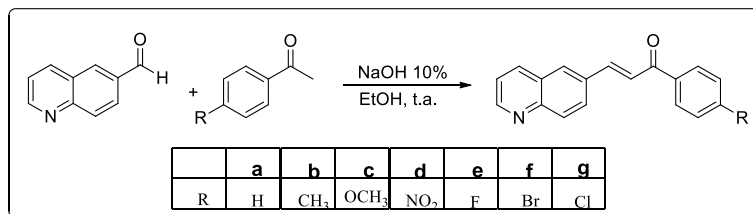
Em um balão de 100 mL de fundo redondo equipado com uma barra de agitação magnética, foram adicionados 6-metilquinolina (1,74g, 12,18 mmol) e dióxido de selênio (1,42g, 12,78 mmol). A mistura reacional foi aquecida a  $150\text{-}160\text{ }^\circ\text{C}$  e mantida sob agitação durante 24 h (**Esquema 5**). Após esse período a reação foi resfriada a  $55\text{ }^\circ\text{C}$ , seguida da adição de AcOEt (25 mL). O sistema foi então agitado por 5-10 min, a suspensão decantou e a solução coletada, esse procedimento foi repetido por 5 vezes. Após as extrações, a fase orgânica foi lavada com solução de  $\text{NaHCO}_3$  (3 x 15 mL) e solução de NaCl 15% (1 x 25 mL). A fase orgânica foi seca sob  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporada a pressão reduzida. O produto puro foi obtido na forma de um sólido branco após recristalização com éter di-isopropílico/AcOEt (2:1) e um rendimento de 47%; p.f. =  $74,0\text{-}75,6\text{ }^\circ\text{C}$ .

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 10,2 (s, 1H, H-9), 9,1 (dd,  $J=4,2, 1,7$  Hz, 1 H, H-2), 8,4 (s, 1 H, H-5), 8,3 (dd,  $J=8,3$  Hz, 1,7, 1H, H-4), 8,2 (m, 2 H, H-7, H-8), 7,5 (dd,  $J=8,3, 4,2$  Hz, 1 H, H-3).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 191,45; 153,10; 150,90; 137,45; 134,33; 133,58; 130,82; 127,7; 126,75; 122,20.

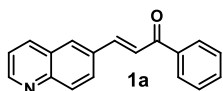
#### 4.4. Método geral para síntese das 6-quinolinil chalconas **1a-g** (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011).

**Esquema 6:** Síntese das 6-quinolinil chalconas.



Em um balão de fundo redondo de 100 mL equipado com uma barra de agitação magnética foram adicionados EtOH (30 mL), 6-carbaldeído quinolina (0,31 g, 2,0 mmol) e as respectivas acetofenonas (2,0 mmol). O sistema foi resfriado a 0 °C e 4 mL de uma solução de hidróxido de sódio 10 % foi adicionado. A mistura reacional foi aquecida a temperatura ambiente e agitada por 15 h (**Esquema 6**). O sólido obtido foi filtrado a vácuo em funil de buchner, lavado com água gelada até atingir pH neutro, seguido de EtOH gelado. Os produtos brutos foram recristalizados a partir de uma mistura de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/éter diisopropílico gerando os produtos **1a-g** analiticamente puros.

##### 4.4.1. (2E)-1-Fenil-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (**1a**).

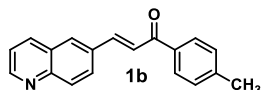


Rend.= 73%; sólido amarelo; p.f.= 145-146 °C; IV (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1660 (C=O), 1575 (C=C).

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 8,9 (dd, *J*=4,4, 1,7 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (d, *J*=8,8 Hz, 1H, Ar-Qn), 8,0 (m, 5 H, ( 2 Ar-Qn, 2 Ar, 1 Hβ)), 7,7 (d, *J*=15,7 Hz, 1 H, Hα), 7,6 (m, 1 H, Ar), 7,5 (m, 2 H, Ar), 7,4(dd, *J*=8,3, 4,2 Hz, 1 H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 190,09, 151,37, 149,13, 143,65, 138,00, 136,41, 133,06, 132,90, 130,26, 129,92, 128,64 (2 C, Ar), 128,48 (2 C, Ar), 128,26, 127,28, 123,09, 121,83.

#### 4.4.2. (2E)-1-(4-Metil-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1b)

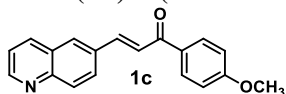


Rend.= 62%; sólido amarelo; p.f.= 161-162 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1660 (C=O), 1571 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,9 (dd,  $J=4,3$ , 1,6 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (d,  $J=8,3$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (d,  $J=8,3$  Hz, 2 H, Ar), 7,9 (m, 2 H, (1 Ar-Qn, 1 H $\beta$ )), 7,6 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,4 (dd,  $J=8,3$ , 4,2 Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,3 (d,  $J=8,1$  Hz, 2 H, Ar), 2,4 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 189,41, 151,17, 148,95, 143,72, 143,10, 136,34, 135,33, 133,08, 130,06, 129,75, 129,26 (2 C, Ar), 128,55 (2 C, Ar), 128,17, 127,23, 122,97, 121,72, 21,54.

#### 4.4.3. (2E)-1-(4-Metoxi-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1c)

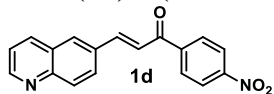


Rend.= 58%; sólido amarelo; p.f.= 134-136°C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1654 (C=O), 1570 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,9 (dd,  $J=4,2$ , 1,5 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (m, 5 H, (3 Ar-Qn, 2 Ar)), 8,0 (m, 2 H, (1 Ar-Qn, 1 H $\beta$ )), 7,7 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,4 (dd,  $J=8,2$ , 4,3 Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,0 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H, Ar), 3,9 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 188,12, 163,42, 151,17, 148,91, 142,70, 136,34, 133,12, 130,74 (3 C, Ar), 130,04, 129,72, 128,16, 127,21, 122,72, 121,72, 113,7 (2 C, Ar), 55,37.

#### 4.4.4. (2E)-1-(4-Nitro-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1d)

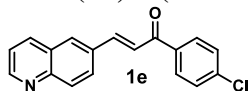


Rend.= 66%; sólido amarelo; p.f.= 257-258 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1660 (C=O), 1573 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 9,0 (dd,  $J=4,2, 1,5$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,4 (d,  $J=9,05$ , 2 H, Ar), 8,2 (m, 7 H, (2 Ar, 4 Ar-Qn, 1H $\beta$ )), 7,6 (d,  $J=15,9$  Hz, 1 H, H $\alpha$ )), 7,5 (dd,  $J=8,3, 4,2$  Hz, 1H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  ppm 189,01, 151,21, 150,24, 148,78, 145,43, 142,76, 137,13, 132,84, 130,39, 129,77, 129,37 (2 C, Ar), 128,48, 127,60, 123,77 (2 C, Ar), 122,74, 122,08.

#### 4.4.5. (2E)-1-(4-Cloro-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1e)

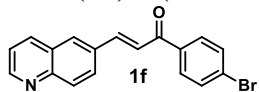


Rend.= 51%; sólido amarelo; p.f.= 196-198 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1658 (C=O), 1570 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 9,0 (dd,  $J=4,3, 1,6$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (d,  $J=7,3$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 5 H, (2 Ar-Qn, 2 Ar, 1 H $\beta$ )), 7,6 (d,  $J=15,7$  Hz, 1H, H $\alpha$ )), 7,51 (d,  $J=8,6$  Hz, 2H, Ar), 7,5 (dd,  $J=8,3, 4,2$  Hz, 1H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 188,73, 151,48, 149,19, 144,16, 139,37, 136,45, 136,28, 132,86, 130,32, 130,14, 129,87 (2 C, Ar), 128,97 (2 C, Ar), 128,26, 127,21, 122,46, 121,90.

#### 4.4.6. (2E)-1-(4-Bromo-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1f)

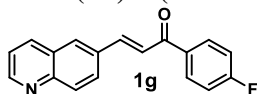


Rend.= 61%; sólido amarelo; p.f.= 199-200 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1657 (C=O), 1573 (C=C).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,9 (dd,  $J=4,2, 1,5$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (d,  $J=7,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 3 H, (2 Ar-Qn, 1  $\text{H}\beta$ )), 7,9 (d,  $J=8,6$  Hz, 2 H, Ar), 7,7 (d,  $J=8,3$  Hz, 2 H, Ar), 7,6 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H,  $\text{H}\alpha$ ), 7,5 (dd,  $J=8,3, 4,4$  Hz, 1 H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 189,01, 151,52, 149,24, 144,28, 136,76, 136,49, 132,91, 131,99 (2 C, Ar), 130,38, 130,19, 130,02 (2 C, Ar), 128,31, 128,11, 127,25, 122,51, 121,95.

#### 4.4.7. (2E)-1-(4-Flúor-fenil)-3-(6-quinolinil)-2-propen-1-ona (1g)



Rend.= 57%; sólido amarelo; p.f.= 172-174°C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1660 (C=O), 1573 (C=C).

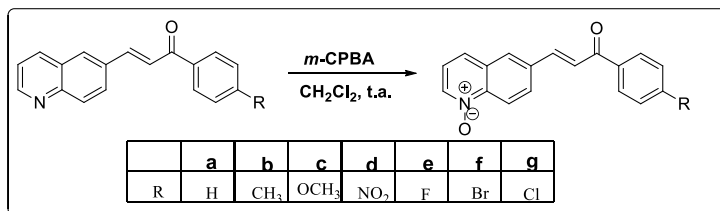
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 9,0 (dd,  $J=4,2, 1,7$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (d,  $J=8,3$ , 1 H, Ar-Qn), 8,1 (m, 5H, (3 Ar-Qn, 2Ar)), 8,0 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H,  $\text{H}\beta$ ), 7,70 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H,  $\text{H}\alpha$ ), 7,5 (dd,  $J=8,3, 4,2$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,2 (m, 2 H, Ar).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 188,45, 166,94, 164,41, 151,46, 149,17, 143,91, 136,48, 134,37, 134,34, 132,96, 131,16, 131,06, 130,31, 130,08, 128,30, 127,25, 122,62, 121,91, 115,92, 115,70.



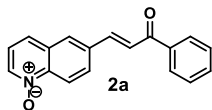
#### 4.5. Síntese Geral dos derivados de 6-quinolina N-óxido chalconas 2a-g.

**Esquema 7:** Método de preparação das 6-quinolina N-óxido chalconas



Em um balão de fundo redondo 25 mL equipado com uma barra de agitação magnética foram adicionados as respectivas 6-quinolinil chalconas **1a-f** (2,0 mmol) e 8,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**Esquema7**). O sistema foi resfriado a 0-5 °C seguida da adição de uma solução de *m*-CPBA (0,85g, 3,69 mmol, em 4,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) durante 10 minutos. A mistura reacional foi elevada a temperatura ambiente e mantida sob agitação por 13 horas. Após esse período, foi adicionado 1,0 mL de solução 10 % de bisulfito de sódio e agitada por 1-2 minutos. O produto reacional foi filtrado e o resíduo sólido lavado com pequenas porções de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A fase orgânica combinada foi lavada com solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 % (3x15 mL), seca sob MgSO<sub>4</sub> e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Todos os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica rendendo os compostos **2a-g** analiticamente puros.

##### 4.5.1. (2E)-3-(N-Óxido-6-quinolinil)-1-fenil-2-propen-1-ona (2a).

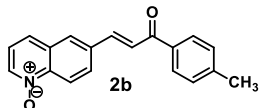


Sistema de eluente = 30% AcOEt em hexano, rend.= 65%; sólido amarelo; p.f.= 148 -150 °C; IV (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1674 (C=O), 1571 (C=C), 1204 (N-O).

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ ppm 8,9 (d, *J*=5,4 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,8 (d, *J*=9,0 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,2 (d, *J*=9,3 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (m, 4 H, ( 2 Ar-Qn, 2 Ar)), 7,9 (d, *J*=15,7 Hz, 1 H, H<sub>β</sub>), 7,7 (d, *J*=15,7 Hz, 1 H, H<sub>α</sub>), 7,6 (m, 1 H, Ar), 7,5 (m, 2 H, Ar), 7,4 (m, 1 H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 189,83, 142,32, 137,80, 136,49, 135,56, 133,21, 129,63, 128,79, 128,70 (2 C, Ar), 128,59 (2 C, Ar), 128,37, 128,07, 126,37, 124,65, 121,92, 120,81.

#### 4.5.2. (2E)- 1-(4-Metil-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2b)

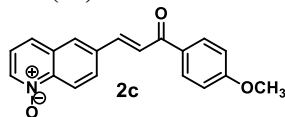


Sistema de eluente = 30% de AcOEt em hexano; rend.= 78%; sólido amarelo; p.f.= 176-177 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1661 (C=O), 1567 (C=C), 1294 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=9,0$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,5 (d,  $J=6,1$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (dd,  $J=9,0$ , 1,7 Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (s, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (d,  $J=8,1$  Hz, 2 H, Ar), 7,9 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\beta$ ), 7,8 (d,  $J=8,3$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,7 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,3 (m, 3 H, (1 Ar-Qn, 2 Ar)), 2,5 (s, 3H, CH $_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 189,22, 144,14, 142,00, 141,87, 136,23, 135,53, 135,16, 130,77, 129,53, 129,43 (2 C, Ar), 128,69 (2 C, Ar), 128,19, 125,98, 124,51, 121,85, 120,67, 21,67.

#### 4.5.3. (2E)-1-(4-Metóxi-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2c)

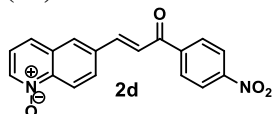


Sistema de eluente = 45% AcOEt em hexano; rend.= 73%; sólido amarelo; p.f.= 187-189 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1655 (C=O), 1568 (C=C), 1260 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=9,0$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,5 (d,  $J=5,9$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 4 H, (2 Ar-Qn, 2 Ar)), 7,9 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\beta$ ), 7,8 (d,  $J=8,3$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,7 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,3 (dd,  $J=8,3$ , 6,1 Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,0 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H, Ar), 3,9 (s, 3 H, OCH $_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 187,90, 163,72, 141,96, 141,45, 136,22, 135,62, 130,90 (2 C, Ar), 130,77, 130,64, 129,42, 128,19, 126,00, 124,38, 121,83, 120,65, 113,96 (2 C, Ar), 55,49.

#### 4.5.3. (2E)-1-(4-Nitro-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2d)

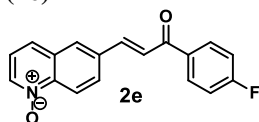


Sistema de eluente = 5 % de etanol em diclorometano; rend.= 70%; sólido amarelo; p.f.= 256-257 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1664 (C=O), 1571 (C=C), 1211 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=9,5$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,6 (d,  $J=6,1$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,4 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H, Ar), 8,2 (d,  $J=8,6$  Hz, 2 H, Ar), 8,0 (m, 2 H, Ar-Qn), 8,0 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\beta$ ), 7,8 (d,  $J=8,3$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,6 (d,  $J=15,7$  Hz, 1H, H $\alpha$ ), 7,4 (dd,  $J=7,8, 6,4$  Hz, 1 H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  ppm 188,39, 150,33, 143,10, 142,09, 139,50, 136,01, 135,03, 131,08, 130,72, 129,97 (2 C), 129,55 (2 C, Ar), 124,83, 123,92 (2 C, Ar), 122,20, 119,71.

#### 4.5.5. (2E)-1-(4-Fluor-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2e)

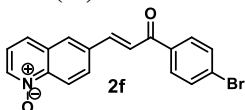


Sistema de eluente = 30% AcOEt em hexano; rend.= 73%; sólido amarelo; p.f.= 216-218 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1668 (C=O), 1566 (C=C), 1222 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,6 (d,  $J=2,9$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (m, 4 H, (2 Ar-Qn, 2 Ar)), 8,0 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\beta$ ), 7,8 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,7 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,4 (m, 1 H, Ar-Qn), 7,2 (m, 2 H, Ar).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 188,10, 167,17, 164,62, 142,44, 141,93, 136,87, 135,54, 134,14, 134,11, 131,29, 131,19, 130,81, 129,70, 128,58, 127,16, 124,29, 121,93, 120,78, 116,08, 115,87.

**4.5.6. (2E)-1-(4-Bromo-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2f)**

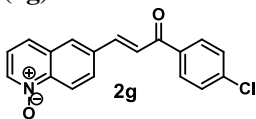


Sistema de eluente = 30% AcOEt em hexano; rend.= 77%; sólido amarelo; p.f.= 186-188 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1663 (C=O), 1567 (C=C), 1208 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=9,0$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,6 (d,  $J=6,1$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,1 (m, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 3 H, (1 H $\beta$ , 2 Ar)), 7,8 (d,  $J=8,6$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,7 (m, 3 H, (1 H $\alpha$ , 2 Ar)), 7,4 (dd,  $J=8,3, 6,1$  Hz, 1 H, Ar-Qn).

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 188,68, 142,91, 142,19, 136,46, 136,39, 135,24, 132,09 (2 C, Ar), 130,80, 130,06 (2 C, Ar), 129,85, 128,41, 128,11, 125,91, 123,89, 122,00, 120,87.

**4.5.7. (2E)-1-(4-Cloro-fenil)-3-(N-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (2g)**



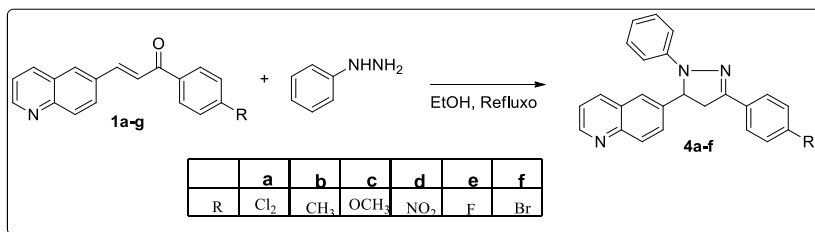
Sistema de eluente = 30% AcOEt em hexano; rend.= 77%; sólido amarelo; p.f.= 180-182 °C; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1668 (C=O), 1566 (C=C), 1222 (N-O).

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 8,8 (d,  $J=8,8$  Hz, 1 H, Ar-Qn); 8,6 (d,  $J=5,9$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 8,0 (m, 4 H (2 Ar-Qn, 2 Ar)), 7,9 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\beta$ ), 7,8 (d,  $J=8,6$  Hz, 1 H, Ar-Qn), 7,7 (d,  $J=15,7$  Hz, 1 H, H $\alpha$ ), 7,5 (d,  $J=8,55$ , 2 H, Ar), 7,4 (dd,  $J=8,6, 6,1$  Hz, 1 H, Ar-Qn);

RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  ppm 188,36, 142,75, 142,09, 139,62, 136,30, 135,97, 135,16, 130,72, 129,90 (2 C, Ar), 129,77, 129,02 (2 C, Ar), 128,04, 125,84, 123,84, 121,93, 120,75.

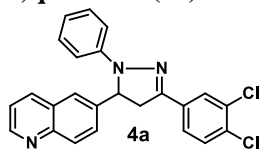
#### 4.6. Método geral para preparação dos derivados de 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina.

**Esquema 8:** Preparação dos derivados de 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina.



Em um balão de 50 mL de duas bocas e fundo redondo equipado com um condensador de refluxo, e uma barra de agitação magnética foram adicionados as respectivas 6-quinolinil chalconas **1a-f** (2,0 mmol), 20 mL de EtOH e fenilhidrazina (4 mmol, 0,432 g) (**Esquema 8**). A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo (80 °C) até que todo substrato fosse consumido (17 horas). Após esse período, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, e o resíduo sólido redissolvido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e lavado com água. A fase orgânica foi seca sob  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporado novamente sob pressão reduzida. Todos os compostos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica flash eluída com uma mistura de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (4:1), rendendo as 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina **4a-f** analiticamente puras.

**4.6.1. 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4a).**



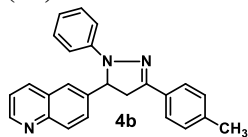
Rendimento 81 %; p.f. 155,8-158,8; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1595 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,91 (dd,  $J=4,2, 1,6$  Hz, 1 H) 8,07 – 8,14 (m, 1 H) 7,81 (d,  $J=1,9$  Hz, 1 H) 7,74 (s, 1 H) 7,68 (dd,  $J=8,7, 2,0$  Hz, 1 H) 7,54 (d,  $J=1,8$  Hz, 1 H) 7,48 (s, 1 H) 7,41 (dd,  $J=8,0, 3,8$  Hz, 1 H) 7,05 – 7,25 (m, 4 H) 6,77 – 6,89 (m, 1 H) 5,53 (dd,  $J=12,5, 7,2$  Hz, 1 H) 3,90 (dd,  $J=17,1, 12,5$  Hz, 1 H) 3,17 (dd,  $J=17,1, 7,2$  Hz, 1 H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 158,30, 150,59, 147,91, 144,32, 144,17, 140,15, 135,97, 132,89, 132,66, 130,98, 130,50, 129,02 (2 C), 128,38, 127,32 (2 C), 124,70, 124,40, 121,53, 119,90, 113,56 (2 C), 64,60, 43,10.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3$  (M+H) $^+$ : 418,0872, encontrado, 418,0870.

**4.6.2. 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4b).**



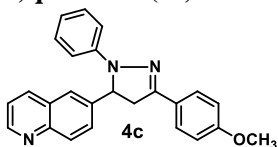
Rendimento 78 %; p.f. 161,7-162,2 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1597 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J= 4,2, 1,6$  Hz, 1 H), 8,15 – 8,05 (m, 2 H), 7,72 – 7,81 (m, 1 H), 7,69 (d,  $J=2.1$  Hz, 1 H), 7,65 (d,  $J=8,2$  Hz, 2 H), 2,38 (dd,  $J= 4,2, 8,3$  Hz, 1 H), 7,06 – 7,15 (m, 4 H), 6,92 (dd,  $J= 2,7, 8,9$  Hz, 2H), 6,70 – 6,87 (m, 1 H), 5,44 (dd,  $J=12,3, 7,3$  Hz, 1 H), 3,93 (dd,  $J=17,1, 12,3$  Hz, 1 H), 3,84 (s, 3H), 3,20 (dd,  $J=17,1, 7,3$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 160,32, 150,37, 147,83, 146,87, 145,21, 136,13, 130,74, 128,95 (2 C), 128,47, 127,73, 127,31 (2 C), 125,36, 124,47, 121,44, 119,14, 114,10 (2 C), 113,37 (2 C), 64,49, 55,37, 43,80.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_3$  (M+H) $^+$ : 368,1808, encontrado, 364,1813.

**4.6.3. 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4c).**



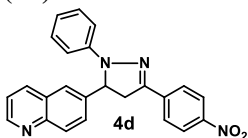
Rendimento 78 %; p.f. 158,4-160,9 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1597 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J=4,3, 1,6$  Hz, 1 H), 8,07 – 8,17 (m, 2 H), 7,81 (m, 4 H), 7,64 – 7,40 (dd,  $J=8,3, 4,3$  Hz, 1 H), 7,05 – 7,23 (m, 4 H), 6,93 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H), 6,72 – 6,83 (m, 1 H), 5,43 (dd,  $J=12,2, 7,3$  Hz, 1 H), 3,91 (dd,  $J=17,1, 12,2$  Hz, 1 H) 3,85 (s, 3 H) 3,19 (dd,  $J=17,1, 7,3$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 160,29, 150,32, 147,78, 146,82, 145,16, 140,94, 136,08, 130,68, 128,90 (2 C), 128,41, 127,68, 127,25 (2 C), 125,30, 124,42, 121,40, 119,09, 114,04 (2 C), 113,31 (2 C), 64,44, 55,31, 43,75.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$  (M+H) $^+$ : 380,1757, encontrado, 380,1754.

**4.6.3. 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4d).**



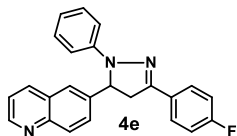
Rendimento 77 %. p.f. 169,2-172,4 °C; sólido roxo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1592 (C=N).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,91 (dd,  $J=4,3$ , 1,7 Hz, 1 H), 8,24 (d,  $J=8,9$  Hz, 2 H), 8,06 – 8,18 (m, 2 H), 7,84 (d,  $J=8,9$  Hz, 2 H), 7,74 (s, 1 H), 7,67 (dd,  $J=8,7$ , 1,9 Hz, 1 H), 7,41 (dd,  $J=8,3$ , 4,3 Hz, 1 H), 7,09 – 7,26 (m, 4 H), 6,80 – 6,93 (m, 1 H), 5,62 (dd,  $J=12,7$ , 7,0 Hz, 1 H), 3,97 (dd,  $J=17,2$ , 12,7 Hz, 1 H), 3,24 (dd,  $J=17,2$ , 7,0 Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 150,72, 147,94, 147,17, 144,04, 143,56, 139,82, 138,76, 135,97, 131,14, 129,11 (2 C), 128,38, 127,18, 125,88 (2 C), 124,45 (2 C), 123,99, 121,61, 120,50, 113,86 (2 C), 64,78, 42,81.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$  (M+H) $^+$ : 395,1503, encontrado, 395,1504.

#### 4.6.5. 6-(3-(4-fluorfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4e).



Rendimento 71 %, 125,6-127,5 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1597 (C=N).

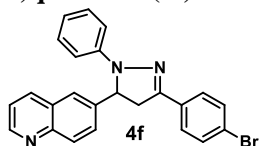
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,91 (dd,  $J=4,3$ , 1,6 Hz, 1 H), 8,16 (s, 1 H), 7,98 – 8,15 (m, 1 H), 7,66 – 7,85 (m, 4 H), 7,40 (dd,  $J=8,3$ , 4,3 Hz, 1 H), 7,05 – 7,28 (m, 6 H), 6,74 – 6,93 (m, 1 H), 5,47 (dd,  $J=12,4$ , 7,3 Hz, 1 H), 3,93 (dd,  $J=17,2$ , 12,4 Hz, 1 H) 3,20 (dd,  $J=17,2$ , 7,3 Hz, 1 H)

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 163,65, 150,43, 147,81, 145,87, 144,80, 140,66, 136,09, 130,80, 128,97 (2 C), 127,62, 127,57, 127,45 (2 C), 124,43 (2 C), 121,48, 119,47, 115,85, 115,43, 113,43 (2 C), 64,57, 43,60.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{FN}_3$  (M+H) $^+$ : 368,1558, encontrado, 368,1551.



#### 4.6.6. 6-(3-(4-bromofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (4f)



Rendimento 68 %, 181,2-182,8 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1957 (C=N).

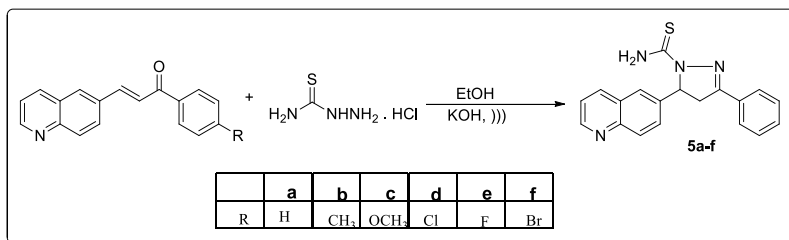
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J=4,3, 1,7$  Hz, 1 H), 8,06 – 8,18 (m, 2 H), 7,75 (s, 1 H), 7,69 (dd,  $J=8,7, 1,9$  Hz, 1 H), 7,47 – 7,65 (m, 4 H), 7,40 (dd,  $J= 8,3, 4,2$  Hz, 1 H), 7,06 – 7,25 (m, 4 H), 6,76 – 6,87 (m, 1 H), 5,48 (dd,  $J=12,4, 7,3$  Hz, 1 H), 3,90 (dd,  $J=17,1, 12,4$  Hz, 1 H), 3,18 (dd,  $J=17,1, 7,3$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CHCl}_3$ )  $\delta$  ppm 150,43, 147,81, 145,87, 144,80, 140,66, 136,09, 131,53, 130,80, 128,97 (2 C), 127,62, 127,57, 127,45 (2 C), 124,43 (2 C), 121,48, 119,47, 115,85, 115,43, 113,43 (2 C), 64,57, 43,60.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{BrN}_3$  (M+H) $^+$ : 428,0757, encontrado, 428,0740.

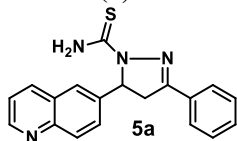
#### 4.7. Método geral para a síntese dos derivados de 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5a-f)

**Esquema 9:** método de preparação dos derivados de 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina.



Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados as respectivas 6-quinolinilchalconas (2,0 mmol), cloridrato de tiosemicarbazida (6,0 mmol, 510 mg) e 10 mL de EtOH. A mistura reacional foi sonificada com ultrassom de probe seguida da adição lenta de KOH (6,6 mmol, 370 mg) durante 30 minutos (**Esquema 9**, página 79). A Reação foi mantida sob irradiação de energia ultrassônica por mais 1,5 horas. Após esse período, o sistema foi levado ao refrigerador por 0,5 horas e o precipitado coletado através de filtração em funil de Buchner. O sólido obtido foi lavado com água e etanol gelados. Todos os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica em sílica flash eluída com mistura de  $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$  (70:30) gerando os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5a-f** analiticamente puros.

#### 4.7.1. 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a**).



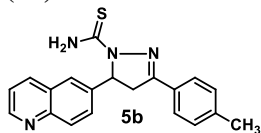
Rendimento 71 %, p.f. 249-251 °C; sólido branco; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1623 (C=S) 1595 (C=N) 3128 e 3298 ( $\text{NH}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 9,53 (sr, 1H), 8,97 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,6$ , Ar-Qn), 8,80 (sr, 1H), 8,30 (d, 1H,  $J=8,7$  Hz, Ar-Qn), 8,03 (d, 1H,  $J=8,3$ ), 7,96 (d, 1H,  $J= 1,6$  Hz), 7,80 (m, 3H), 7,42 (m, 3H), 7,29 (dd, 1H,  $J= 8,3, 4,1$  Hz, Ar-Qn), 6,59 (dd, 1H,  $J= 3,9, 11,6$  Hz), 3,89 (dd, 1H,  $J= 11,6, 17,9$  Hz), 3,32 (dd, 1H,  $J= 3,9, 17,9$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 178,93, 155,67, 142,21, 148,75, 132,04, 131,24, 131,05, 139,44, 129,07 (2C), 128,26, 127,74 (2 C), 125,25 122,09, 64,35, 43,40.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 333,1168, encontrado, 333,1166.

#### 4.7.2. 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil))-quinolina (5b).



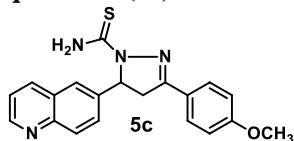
Rendimento 83 %, p.f. 251-253 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1627 (C=S) 1592 (C=N) 3145 e 3234 ( $\text{NH}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 9,50 (sr, 1H), 8,98 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,6$ , Ar-Qn), 8,83 (sr, 1H), 8,31 (d, 1H,  $J= 8,7$  Hz, Ar-Qn), 8,03 (m, 1H), 7,96 (d, 1H,  $J= 1,7$  Hz), 7,75 ( dd, 1H,  $J= 8,7, 2,0$  Hz), 7,73 (m, 3H), 7,3 (dd, 2H,  $J= 4,3, 8,3$  Hz, Ar-Qn), 6,58 (dd, 1H,  $J= 3,3, 11,7$  Hz ), 3,88 (dd, 1H,  $J= 11,7, 17,6$  Hz), 3,30 (dd, 1H,  $J= 3,3, 17,9$  Hz), 2,25 (s, 3H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 178,81, 155,86, 151,01, 148,79, 142,30, 141,61, 131,08, 130,19 (2 C), 129,33, 129,10, 128,30, 127,82 (2 C), 125,27, 123,90, 122,12, 64,30, 43,50, 21,72.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 347,1325, encontrado, 347,1322.

#### 4.7.3. 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-(4-metoxifenil)1-tiocarbamoil)-quinolina (5c)



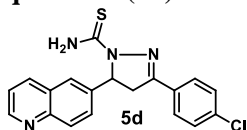
Rendimento 51 %, p.f. 233-235 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1621 (C=S) 1594 (C=N) 3143 e 3298 ( $\text{NH}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 9,45 (sr, 1H), 8,98 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,6$ , Ar-Qn), 8,83 (sr, 1H), 8,31 (d, 1H,  $J=8,3$  Hz, Ar-Qn), 8,02 (m, 1H), 7,96 (d, 1H,  $J= 1,7$  Hz), 7,75 ( dd, 1H,  $J= 8,7, 2,0$  Hz), 7,73 (m, 3H), 7,3 (dd, 2H,  $J= 4,3, 8,3$  Hz, Ar-Qn), 6,58 (dd, 1H,  $J= 3,3, 11,7$  Hz), 3,88 (dd, 1H,  $J= 11,7, 17,6$  Hz), 3,73 (s, 1H), 3,30 (dd, 1H,  $J= 3,3, 17,9$  Hz), 2,25 (s, 3H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 179,10, 163,01, 156,17, 151,48, 149,27, 142,81, 131,55, 130,01 (2 C), 129,58, 128,82, 125,76, 122,57, 115,56 (2 C), 64,73, 56,31, 44,03.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{OS}$  (M+H) $^+$ : 363,1274, encontrado, 363,1271.

#### 4.7.4. 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5d).



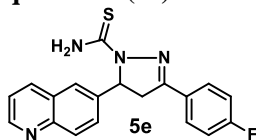
Rendimento 74 %, p.f. 241-242 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1629 (C=S) 1594 (C=N) 3102 e 3143 ( $\text{NH}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 9,60 (sr, 1H), 8,98 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,7$ , Ar-Qn), 8,83 (sr, 1H), 8,31 (d, 1H,  $J= 8,5$  Hz, Ar-Qn), 8,05 (m, 1H), 7,96 (d, 1H,  $J= 1,7$  Hz), 7,79 (dd, 1H,  $J= 8,7, 2,0$  Hz), 7,73 (m, 3H), 7,3 (dd, 2H,  $J= 4,3, 8,3$  Hz, Ar-Qn), 6,60 (dd, 1H,  $J= 4,1, 11,6$ ), 3,88 (dd, 1H,  $J= 11,7, 17,9$  Hz), 3,30 (dd, 1H,  $J= 4,1, 17,9$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 178,65, 154,15, 150,66, 148,38, 141,75, 136,39, 136,08, 130,69, 130,40, 129,26 (2 C), 128,82 (2 C), 128,71, 127,87, 124,90, 121,76, 64,16, 42,93.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{S}$  (M+H) $^+$ : 367,0779, encontrado, 367,0776.

#### 4.7.5. 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-(4-fluorfenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (5e).



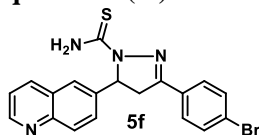
Rendimento 73 %, p.f. 244-246 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1641 (C=S) 1592 (C=N) 3145 e 3234 ( $\text{NH}_2$ ).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 9,55 (sr, 1H), 8,97 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,7$ , Ar-Qn), 8,83 (sr, 1H), 8,31 (d, 1H,  $J=8,8$  Hz, Ar-Qn), 8,05 (m, 1H), 7,95 (d, 1H,  $J= 1,7$  Hz), 7,78 ( m, 3H,  $J= 8,5, 3,6, 2,5$  Hz), 7,28 (dd, 2H,  $J= 4,3, 8,3$  Hz, Ar-Qn), 7,17 (m, 1H), 6,60 (dd, 1H,  $J= 4,0, 11,8$  ), 3,89 (dd, 1H,  $J= 11,8, 17,9$  Hz), 3,31 (dd, 1H,  $J= 3,9, 17,9$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 178,83, 155,36, 152,11, 149,12, 143,18, 133,58, 132,93, 132,02, 129,98 (2 C), 129,19, 127,23 (2 C), 127,12, 124,16, 63,12, 43,17.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{FN}_4\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 351,1074, encontrado, 351,1077.

#### 4.7.6. 6-(3-(4-bromofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (5f)



Rendimento 62 %, p.f. 236-239 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1627 (C=S) 1592 (C=N) 3132 e 3287 ( $\text{NH}_2$ ).

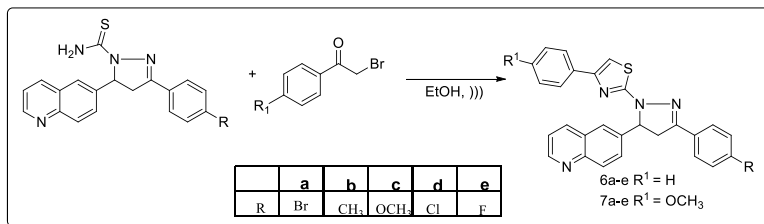
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz, Pyr)  $\delta$  9,60 ppm (sr, 1H), 8,98 (dd, 1H,  $J= 4,1, 1,7$ , Ar-Qn), 8,83 (sr, 1H), 8,30 (d, 1H,  $J=8,5$  Hz, Ar-Qn), 8,05 (m, 1H), 7,96 (d, 1H,  $J= 1,7$  Hz), 7,79 ( dd, 1H,  $J= 8,7, 1,9$  Hz), 7,61 (m, 3H), 7,28 (dd, 2H,  $J= 4,3, 8,3$  Hz, Ar-Qn), 6,60 (dd, 1H,  $J= 4,0, 11,7$  ), 3,89 (dd, 1H,  $J= 11,7, 17,8$  Hz), 3,31 (dd, 1H,  $J= 4,1, 17,9$  Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz, Pyr)  $\delta$  ppm 178,97, 154,57, 151,04, 148,75, 142,14, 136,44, 132,59 (2 C), 131,15, 131,08, 129,34 (2 C), 129,08, 128,26, 125,35, 125,24, 122,13, 64,49, 43,19.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{BrN}_4\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 411,0274, encontrado, 411,0776.

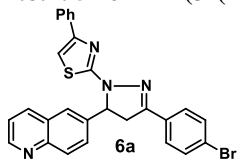
#### 4.8. Método geral para preparação dos derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol (6a-e, 7a-e).

**Esquema 10:** Método geral para síntese dos derivados de tiazol.



Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados as respectivas pirazolininas (**5**) (2,0 mmol), brometo de fenacila (2 mmol) e 10 mL de EtOH. A mistura reacional foi sonificada com ultrassom de probe durante 2 horas (**Esquema 10**). Após esse período, o sistema foi levado ao refrigerador por 0,5 horas e o precipitado coletado através de filtração em funil Buchner. O sólido obtido foi lavado com água e etanol gelados. Todos os compostos foram purificados através de coluna cromatográfica em sílica flash eluída com mistura de CHCl<sub>3</sub>/AcOEt (85:15) gerando os derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol (6,7a-e) analiticamente puros.

##### 4.8.1. 5-fenil-2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6a).



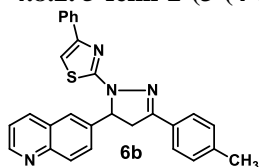
Rendimento 69 %, p.f. 166 - 168 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1711 (C=N) 1590 (C=N) 1539 (C=C conjugada com o fenil).

RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 8,91 (dd, 1H, *J* = 4,2, 1,6 Hz), 8,15 (m, 2H), 7,98 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz), 7,77 (dd, 1H, *J* = 8,8, 1,8 Hz), 7,72 (m, 6H), 7,41 (dd, 1H, *J* = 8,5, 4,4 Hz), 7,23 (m, 3H), 6,84 (s, 1H), 8,88 (dd, 1H, *J* = 12,2, 7,2), 3,98 (dd, 1H, *J* = 17,6, 12,2 Hz), 3,31 (dd, 1H, *J* = 17,5, 7,1 Hz).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 151,62, 150,47, 150,44, 147,87, 139,70, 136,12, 134,76, 131,96 (2 C), 130,30, 130,24, 128,36 (2 C), 128,20, 128,09, 127,80 (2 C), 127,50, 125,79, 125,53 (2 C), 124,11, 121,45, 120,90, 103,74, 64,76, 43,20.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{S}$  (M+H) $^+$ : 511,0587, encontrado, 511,0584.

#### 4.8.2. 5-fenil-2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6b).



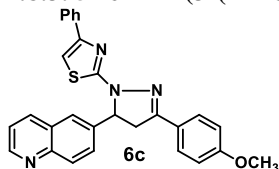
Rendimento 71 % %, p.f. 197 - 199 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1715 (C=N) 1599 (C=N) 1541 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J= 4,2, 1,6$  Hz, 1 H), 8,07 - 8,21 (m, 2 H), 7,90 (d,  $J= 1,7$  Hz, 1 H), 7,79 (dd,  $J= 8,7, 2,0$  Hz, 1 H), 7,70 (d,  $J=8,1$  Hz, 2 H), 7,62 (dd,  $J= 8,0, 1,5$  Hz, 2 H), 7,39 (dd,  $J= 8,3, 4,2$  Hz, 1 H), 7,17 - 7,33 (m, 5 H), 6,82 (s, 1 H), 5,85 (dd,  $J=11,9, 6,9$  Hz, 1 H), 3,98 (dd,  $J= 17,5, 12,0$  Hz, 1 H), 3,40 (dd,  $J= 17,5, 7,0$  Hz, 1 H), 2,41 (s, 3 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 165,06, 151,73, 151,52, 150,40, 147,91, 140,20, 140,01, 136,05, 134,89, 130,16, 129,44 (2 C), 128,56, 128,33 (2 C), 128,19, 127,39, 126,38 (2 C), 125,79 (2 C), 125,50, 121,35, 103,45, 64,50, 43,51, 21,48.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{S}$  (M+H) $^+$ : 447,1638, encontrado, 447,1641.

#### 4.8.3. 5-fenil-2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6c)



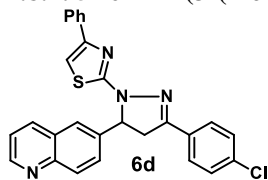
Rendimento 71%, p.f. 221 - 222 °C; sólido amarelo pálido; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1719 (C=N) 1597 (C=N) 1539 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,91 (dd,  $J=4,2, 1,6$  Hz, 1 H) 8,06 – 8,26 (m, 2 H), 7,9 (d,  $J=1,7$ , Hz, 1 H), 7,82 (dd,  $J=8,7, 2,0$  Hz, 1 H), 7,75 (d,  $J=8,5$  Hz, 2 H), 7,62 (d,  $J=8,5, 2$  H), 7,39 (dd,  $J=8,3, 4,3$  Hz, 1 H), 7.17 - 7.33 (m, 5 H), 6,82 (s, 1 H), 5,84 (dd,  $J=11,9, 7,0$  Hz, 1 H), 3,98 (dd,  $J=17,5, 12,0$  Hz, 1 H), 3,87 (s, 3H), 3,39 (dd,  $J=17,5, 7,0$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 165,20, 161,11, 157,72, 151,52, 150,40, 147,92, 140,23, 140,07, 136,08, 134,93, 130,16, 128,33 (2 C), 128,22, 128,01 (2 C), 127,39, 125,80 (2 C), 125,50, 124,05, 121,36, 114,21 (2 C), 103,36, 64,51, 55,40, 43,62.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OS}$  (M+H) $^+$ : 463,1587, encontrado, 463,1585.

#### 4.8.4. 5-fenil-2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6d).



Rendimento 84 %, p.f. 178 - 180 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1719 (C=N) 1597 (C=N) 1539 (C=C conjugada com o fenil).

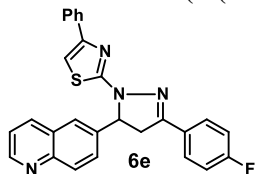
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,82 (dd,  $J=4,1, 1,4$  Hz, 1 H), 7,96 – 8,18 (m, 2 H), 7,82 (d,  $J=1,4$  Hz, 1 H), 7,72 (d,  $J=1,9$  Hz, 1 H), 7,58 – 7,70 (m, 2 H), 7,52 (dd,  $J=7,9, 1,4$  Hz, 2 H), 7,26 – 7,44 (m, 2 H), 7,09 – 7,26 (m, 4 H), 6,76 (s, 1 H), 5,81 (dd,  $J=12,0, 7,1$  Hz, 1 H), 3,91 (dd,  $J=17,6, 12,1$  Hz, 1 H), 3,31 (dd,  $J=17,5, 7,0$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 164,75, 151,62, 150,51, 150,39, 147,93, 139,72, 136,09, 135,82, 134,78, 130,28, 129,88, 129,02 (2 C), 128,37 (2 C), 128,20, 128,08, 127,59 (2 C), 127,50, 125,80 (2 C), 125,53, 121,44, 103,71, 64,77, 43,29.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{S}$  (M+H) $^+$ : 467,1092, encontrado, 467,1096.



#### 4.8.5. 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e).



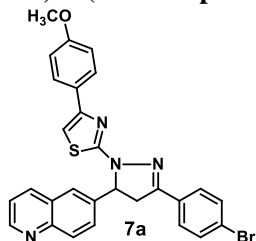
Rendimento 89 %, p.f. 207 - 208 °C; sólido amarelo; IV (KB,r,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1717 (C=N) 1599 (C=N) 1541 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,91 (d,  $J = 4,0$  Hz, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 8,18 (s, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,71 – 7,87 (m, 3 H), 7,61 (d,  $J = 7$ , Hz, 2 H), 7,41 (dd,  $J = 8,3, 4,0$  Hz, 1 H), 7,06 – 7,34 (m, 5 H), 6,84 (s, 1 H), 5,88 (dd,  $J = 11,9, 7,1$  Hz, 1 H), 3,99 (dd,  $J = 17,5, 11,9$  Hz, 1 H), 3,40 (dd,  $J = 17,5, 7,1$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 164,91, 151,58, 150,56, 150,48, 147,92, 139,79, 136,07, 134,80, 130,26, 128,40, 128,36 (2 C), 128,24, 128,19, 128,08, 127,69, 127,61, 127,46, 125,78 (2 C), 125,51, 121,41, 116,13, 115,68, 103,60, 64,72, 43,50.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{19}\text{FN}_4\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 451,1387, encontrado, 451,1385.

#### 4.8.6. 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7a).



Rendimento 56 %, p.f. 222 - 224 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1711 (C=N) 1590 (C=N) 1539 (C=C conjugada com o fenil).

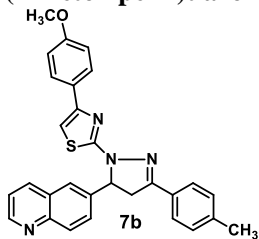
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,89 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1 H), 8,04 – 8,21 (m, 2 H), 7,86 (s, 1 H), 7,76 (dd,  $J = 8,8, 1,9$  Hz, 1 H), 7,46 - 7,70 (m, 6 H), 7,39 (dd,  $J = 8,3, 4,1$  Hz, 1 H), 6,79 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2 H), 6,68 (s, 1 H), 5,86 (dd,  $J = 12,0, 7,1$  Hz, 1

H), 3,96 (dd,  $J=17,3$ , 12,3 Hz, 1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,36 (dd,  $J= 17,5$ , 6,8 Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 164,64, 159,10, 151,33, 150,47, 150,31, 149,04, 147,87, 139,74, 136,08, 131,92 (2 C), 130,27, 130,20, 128,20, 128,11, 127,76 (2 C), 127,04 (2 C), 125,41, 124,04, 121,41, 113,73 (2 C), 101,86, 64,72, 55,22, 43,20.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{BrN}_4\text{OS}$  (M+H) $^+$ : 541,0692, encontrado, 541,0674.

#### 4.8.7. 2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7b).



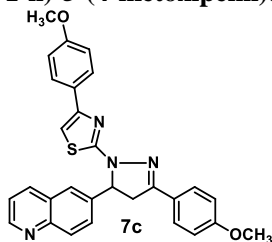
Rendimento 78 %, p.f. 244 - 245 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1721 (C=N) 1607 (C=N) 1548 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J= 4,1$ , 1,5 Hz, 1 H), 8,05 - 8,23 (m, 2 H), 7,89 (s, 1 H), 7,74 - 7,86 (m, 1 H), 7,69 (d,  $J= 8,1$  Hz, 2 H), 7,54 (d,  $J= 8,7$  Hz, 2 H), 7,40 (dd,  $J= 8,2$ , 4,2 Hz, 1 H), 7,25 (d, 2H), 6,8 (d,  $J= 6,7$  Hz, 2H), 6,68 (s, 1H), 5,85 (dd,  $J= 11,9$ , 7,0 Hz, 1 H), 3,99 (dd,  $J= 17,4$ , 12,0 Hz, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 3,40 (dd,  $J= 17,4$ , 7,0 Hz, 1 H), 2,41 (s, 3 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 165,02, 159,14, 151,73, 151,21, 147,49, 141,85, 140,37, 139,55, 139,49, 130,40, 129,46 (2 C), 128,52, 128,33, 127,72, 127,38, 126,99 (2 C), 126,38 (2 C), 125,38, 121,28, 113,78 (2 C), 101,80, 64,37, 55,23, 43,50, 21,45.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{OS}$  (M+H) $^+$ : 477,1744, encontrado, 477,1746.

**4.8.8. 2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7c).**



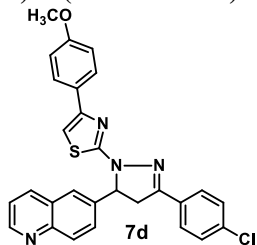
Rendimento 72 %, p.f. 216 - 218 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1607 (C=N) 1548 (C=N) 1511 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,89 (d,  $J=4,1$ , 1 H), 8,13 (d,  $J=8,5$  Hz, 2 H), 7,84 – 7,94 (m, 1 H), 7,66 – 7,84 (m, 3 H), 7,54 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H), 7,38 (dd,  $J=8,3$ , 4,2 Hz, 1 H), 6,95 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H), 6,79 (d,  $J=8,8$  Hz, 2 H), 6,67 (s, 1 H), 5,80 (dd,  $J=11,8$ , 6,9 Hz, 1 H), 3,96 (dd,  $J=17,4$ , 11,9 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,34 (dd,  $J=17,4$ , 6,9 Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 165,14, 161,04, 159,05, 151,43, 151,26, 150,34, 147,80, 140,18, 136,16, 130,03, 128,33, 128,21, 127,99 (2 C), 127,06 (2 C), 125,42, 124,01, 121,36, 114,17 (2 C), 113,73 (2 C), 101,51, 77,04, 64,48, 55,39, 55,23, 43,61.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$  (M+H) $^+$ : 493,1693, encontrado, 493,1692.

**4.8.9. 2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7d).**



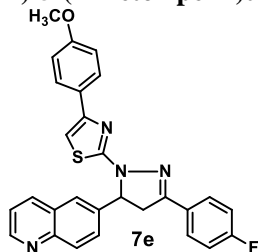
Rendimento 67 %, p.f. 231 - 232 °C; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1719 (C=N) 1597 (C=N) 1544 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J= 4,0, 1,5$  Hz, 1 H), 8,14 (d,  $J= 8,7$  Hz, 2 H), 7,83 – 7,92 (m, 1 H), 7,65 – 7,83 (m, 4 H), 7,52 (d,  $J= 8,8$  Hz, 2 H), 7,40 (d,  $J= 8,5$  Hz, 2 H), 6,79 (d,  $J= 8,7$  Hz, 2 H), 6,68 (s, 1 H), 5,86 (dd,  $J= 12,2, 7,1$  Hz, 1 H), 3,96 (dd,  $J= 17,5, 12,2$  1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,36 (dd,  $J= 17,5, 7,1$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 164,70, 159,15, 151,35, 150,29, 150,06, 145,34, 140,06, 136,58, 135,81, 129,85, 129,01 (2 C), 128,45, 128,26, 127,84, 127,58 (2 C), 127,06 (2 C), 125,44, 121,40, 120,82, 113,79 (2 C), 101,91, 64,77, 55,25, 43,29.

HRMS (m/z) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{OS}$  (M+H) $^+$ : 497,1197, encontrado, 497,1196.

#### 4.8.10. 2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7e).



Rendimento 77 %, p.f. 235 - 237  $^{\circ}\text{C}$ ; sólido amarelo; IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1603 (C=N) 1552 (C=N) 1511 (C=C conjugada com o fenil).

RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 8,90 (dd,  $J= 4,2, 1,3$  Hz, 1 H), 8,14 (d,  $J= 8,6$  Hz, 2 H), 7,72 – 7,96 (m, 4 H), 7,53 (d,  $J= 8,6$  Hz, 2 H), 7,40 (dd,  $J= 8,4, 4,2$  Hz, 1 H), 7,04 – 7,23 (m, 2 H), 6,79 (d,  $J= 8,8$  Hz, 2 H), 6,69 (s, 1 H), 5,85 (dd,  $J= 12,0, 7,1$  Hz, 1 H), 3,96 (dd,  $J= 17,5, 12,1$  Hz, 1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,37 (dd,  $J= 17,5, 7,0$  Hz, 1 H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 166,21, 164,89, 161,23, 159,14, 151,35, 150,46, 150,37, 147,78, 139,93, 136,18, 130,10, 128,39, 128,22 (2 C), 127,88, 127,69, 127,64, 127,06 (2 C), 125,44, 121,40, 116,10, 115,66, 113,77, 101,76, 64,73, 55,23, 43,47.

HRMS (m/z) calculado para  $C_{28}H_{21}FN_4OS$  (M+H)<sup>+</sup>: 481,1493, encontrado, 481,1489.

#### 4.9. Ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial (PAMPA)

Os ensaios de permeabilidade dos compostos foram realizados conforme Wohnsland e Faller com modificações (Wohnsland and Faller 2001) (Wohnsland and Faller 2001, Wohnsland and Faller 2001). Foram utilizadas placas de 96 poços com filtros, os quais foram revestidos com 10  $\mu$ L de solução de 1% (m/v) de fosfatidilcolina (para mimetizar a barreira gastrointestinal) em dodecano. As soluções doadoras dos compostos foram preparadas pela diluição das soluções estoque (1000 ppm em DMSO) em 50% de tampão fosfato (pH 7,4) e mantidas sob agitação durante a noite. Adicionou-se 150  $\mu$ L das soluções doadoras aos poços da placa com filtro e 300  $\mu$ L de solução acceptora (50% DMSO em tampão fosfato) foram adicionados aos poços da placa acceptora. A placa com filtro foi acoplada à placa acceptora e incubada no escuro durante 5 horas sob temperatura ambiente, com agitação a cada 20 minutos. Em seguida 150  $\mu$ L de cada solução doadora foram adicionadas a 300  $\mu$ L de solução acceptora rendendo as respectivas soluções de equilíbrio. Os experimentos foram realizados em quadruplicata. Após a incubação, a placa com filtro e a placa acceptora foram separadas e as soluções doadora, acceptora e de equilíbrio foram analisadas por HPLC. A permeabilidade aparente ( $P_{app}$ ) foi calculada através da seguinte equação:

$$P_{app} = \frac{V_D V_A}{(V_D + V_A) A t} (-\ln(1 - r))$$

onde  $V_D$  é o volume do poço doador ( $cm^3$ ),  $V_A$  é o volume do poço acceptor ( $cm^3$ ),  $A$  é a área da membrana ( $cm^2$ ),  $t$  é o tempo de incubação (s) e  $r$  é a razão entre as concentrações do composto no poço acceptor e na solução de equilíbrio. As concentrações dos compostos foram obtidas pela integração dos picos no HPLC.

A retenção de membrana foi calculada através da seguinte equação:

$$RM\% = \frac{(A_E - (A_A + A_D))}{A_E} 100$$

Onde  $A_E$  é a área do pico do composto na solução de equilíbrio,  $A_A$  é a área do pico na solução aceptora e  $A_D$  é a área do pico na solução doadora.

A acetonitrila grau HPLC foi obtida comercialmente (Panreac) e a água ultra pura foi obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q Plus (Millipore).

As análises por HPLC foram realizadas no laboratório de Química Analítica (102) do Departamento de Química da UFSC, sob supervisão dos professores Gustavo Amadeu Micke e Luiz Augusto dos Santos Madureira, com a colaboração da doutora Dalila Venzke e dos doutorandos Ana Paula Ruani e Tiago Tizziani. Utilizou-se o cromatógrafo da Agilent 1260 equipado com detector UV-Vis com arranjo de diodos (DAD), sendo que as análises foram monitoradas a 235 nm, 260 nm e 320 nm. Em todas as análises foi utilizada uma coluna C18 Phenomenex (150 mm x 4,6 mm x 5  $\mu$ m) à temperatura de 30 °C e utilizando um volume de injeção de 20  $\mu$ L. A vazão de eluição foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, utilizando um sistema de eluição isocrático constituído por acetonitrila e água nas seguintes proporções (**tabela 3**).

**Tabela 3:** sistema de eluição utilizada para análise de HPLC das séries **1a-g, 2a-g, 4a-f, 5a-f, 6a-e, 7a-e**.

Série	Eluente (ACN: H <sub>2</sub> O) v:v	Comprimento de onda (nm)
<b>1a-g</b>	75:25	320
<b>2a-g</b>	60:40	260
<b>4a-f</b>	80:20	260
<b>5a-f</b>	60:40	235
<b>6, 7 a-e</b>	65:35	320

#### 4.10. Ensaio de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase

O ensaio de inibição da enzima Acetilcolinesterase foi realizado em parceria com o professor doutor Aldo Sena de Oliveira, da Universidade Federal de Santa Catarina, campus Blumenau,

Para o teste de inibição da enzima acetilcolinesterase foram utilizados o iodeto de acetiltiocolina, ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (reagente de Ellman), a enzima acetilcolinesterase (na forma de pó liofilizado do peixe elétrico tipo VI-S), um tampão tris-HCl (tris[hidroximetilaminometano]), soro albumina bovina, cloreto de magnésio hexahidratado e cloreto de sódio (P.A), adquiridos da Sigma.

O ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase foi realizado conforme Canto et al. (Canto, Barbosa et al. 2014) com modificações. Em uma cubeta foram colocados o tampão Tris-HCl 50 mM pH=8, o composto na concentração  $0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$ , e a enzima acetilcolinesterase ( $0,25 \text{ U mL}^{-1}$ ). Após 15 min a temperatura ambiente foi adicionada nesta cubeta o iodeto de acetiltiocolina ( $0,023 \text{ mg mL}^{-1}$  em água) e o reagente de Ellman ( $3 \text{ mmol L}^{-1}$  em Tris-HCl, pH 8.0 tampão,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  NaCl,  $0,02 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ ). Após trinta minutos foi feita a leitura em espectrofotômetro UV-VIS a 405 nm. Como controle positivo foi utilizado o fármaco Remynil® ( $0,1 \text{ mg. mL}^{-1}$ ) que contém 50% de galantamina. Como controle negativo o mesmo solvente em que foi dissolvida a amostra, para o qual a atividade enzimática foi considerada 100%. Na referência (ou branco) foram utilizados todos os reagentes exceto a enzima.

O resultado foi expresso em termos de % de inibição enzimática (I %):

$$I \% = 100 - \left( \text{Absorbância}_{\text{amostra}} / \text{Absorbância}_{\text{branco}} \right) \times 100$$

A concentração necessária para inibir a atividade enzimática em 50 %,  $\text{IC}_{50}$ , foi determinada a partir do gráfico plotado em função da concentração *versus* a absorbância.

## **5. Resultados e Discussão**



No desenvolvimento deste trabalho foi realizada a síntese de novos derivados quinolínicos contendo os núcleos 4,5-di-hidropirazol e tiazol. Para tal, utilizou-se a metodologia sob aquecimento convencional, em sistema de refluxo, e ainda, a metodologia que utiliza da energia fornecida pelo ultrassom. Como parte deste trabalho, foram realizados também, ensaios afim de avaliar o potencial biológico das novas moléculas sintetizadas, em conjunto com o grupo de pesquisa coordenado pela professora Dr. Susana Johann, do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, onde realizaram-se os ensaios antifúngicos frente a sete diferentes leveduras. Outro ensaio realizado, determinou a habilidade dos compostos de inibir a ação da enzima acetilcolinesterase, este ensaio foi realizado em parceria com o professor Dr Aldo Sena de Oliveira, do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, campus Blumenau.

Além dos ensaios visando avaliar o potencial antifúngico, e inibidor da enzima acetilcolinesterase, foram realizados ensaios afim de obter informações relacionadas ao processo ADME. Para tal, o log P, que prevê a lipofilicidade da moléculas, foi calculado com o auxílio de *softwares*, e o ensaio do PAMPA que prediz a capacidade dos compostos de atravessar a barreira gastro intestinal, foi realizado.

O estudo realizado está aqui apresentado em quatro diferentes tópicos:

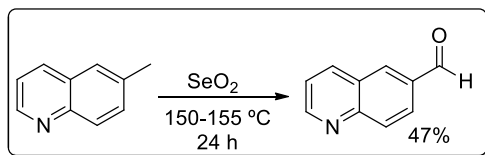
- preparação dos precursores 6-quinolinil chalconas,
- obtenção dos derivados de 6-(4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il)quinolina,
- síntese dos derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol,
- avaliação de atividade biológica e ensaios de bancada.

A seguir serão apresentados e discutidos, separadamente, cada um dos tópicos citados acima, os quais fundamentaram este trabalho.

## **5.1. Síntese dos precursores derivados de 6-quinolinil chalconas.**

Os derivados 6-quinolinil chalconas foram obtidos através da metodologia de condensação de Claisen-Schimidt, entre o 6-carbaldeído quinolina e diferentes acetofenonas *p*-substituídas. O precursor 6-carbaldeído quinolina utilizado neste trabalho foi preparado conforme metodologia descrita por Carvalho Tavares et al (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011) onde a 6-metilquinolina é submetida a reação de oxidação com dióxido de selênio ( $\text{SeO}_2$ ) durante 24 horas seguido de recristalização em AcOEt/éter di-iso propílico (1:2), rendimento de 47 % (**Esquema 11**).

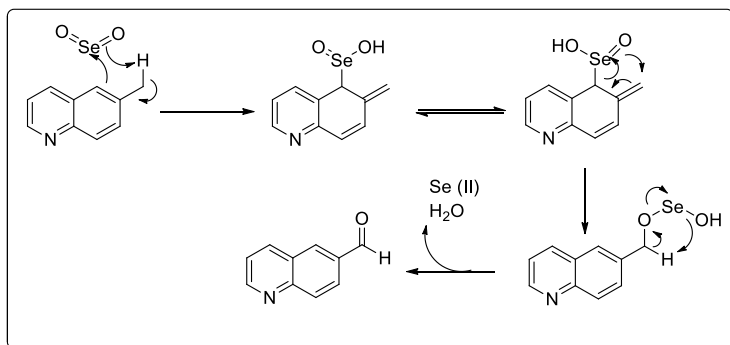
**Esquema 11:** Obtenção do precursor 6-carbaldeído-quinolina.



O dióxido de selênio é um agente oxidante muito útil para oxidações alílicas e o produto pode ser tanto um composto carbonílico ou um álcool alílico, dependendo das condições reacionais utilizadas. O produto de oxidação inicialmente formado são os alcoois, mas estes são novamente oxidados sob condições reacionais normais, portanto o composto carbonílico é normalmente o produto isolado nestas reações. Caso o produto desejado seja o álcool, a reação deve ser realizada utilizando-se ácido acético como solvente.

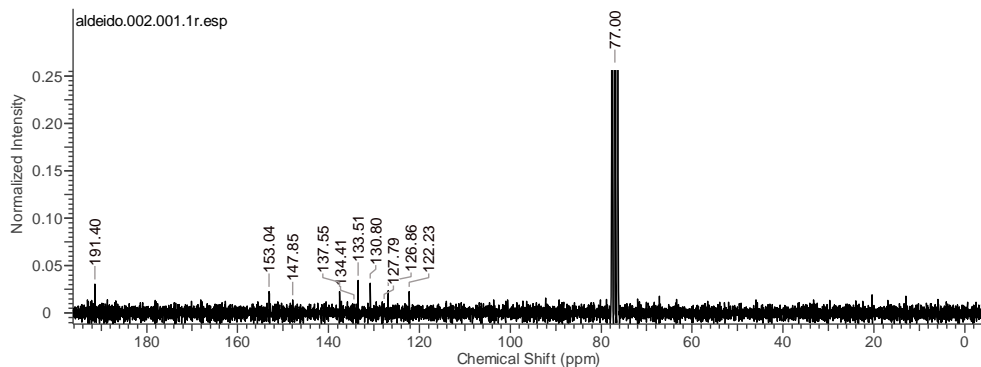
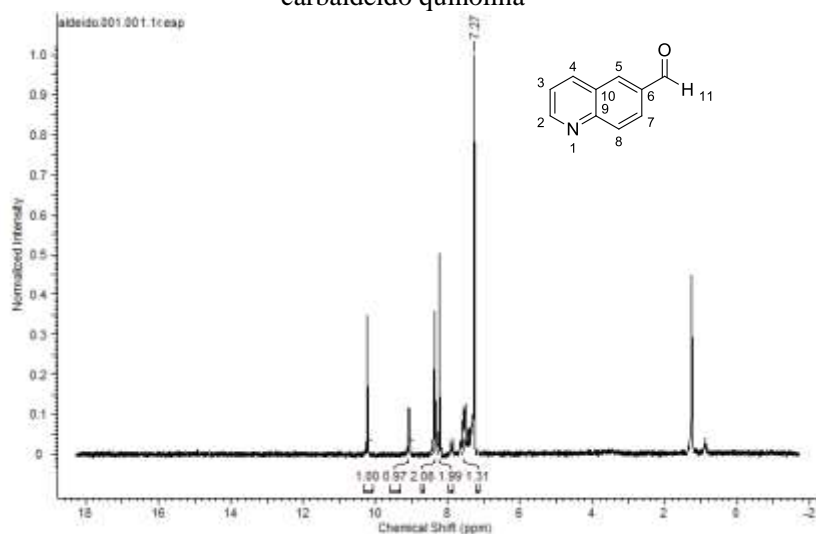
O mecanismo desta reação de oxidação pode ser explicado em três etapas conforme mostrado no **Esquema 12** (página 97). Primeiramente o dióxido de selênio irá reagir com a porção alílica da molécula em uma espécie de cicloadição [4+2] gerando o ácido selênico alílico. Na sequência, um rearranjo [2,3] sigma trópico reestabelece a posição original da dupla ligação, levando à formação de um composto instável que rapidamente se decompõe a um composto carbonílico. Particularmente, para o caso mais comum, oxidação de grupos metilas, leva a um aldeído.

**Esquema 12:** Mecanismo de oxidação da 6-metilquinolina.

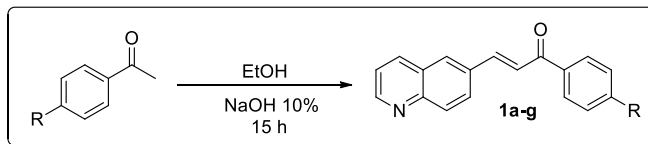


A estrutura do composto 6-carbaldeído quinolina foi confirmada através da análise dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C em clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>). No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Figura 42**) pode-se observar a presença de sinais com integração para 7 átomos de hidrogênio, sendo estes, um simpleto em 10.22 ppm, atribuído ao átomo de H ligado ao carbono carbonílico do grupamento aldeído (hidrogênio ao C-11, **Figura 42**). Pode-se observar também a presença de outros quatro sinais, na região de ressonância de núcleo aromático com integração para seis átomos hidrogênios. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Figura 42**) foram observados a presença de 10 sinais com ressonância na região de carbono sp<sup>2</sup>, com destaque para o sinal do carbono carbonílico em 191,4 ppm.

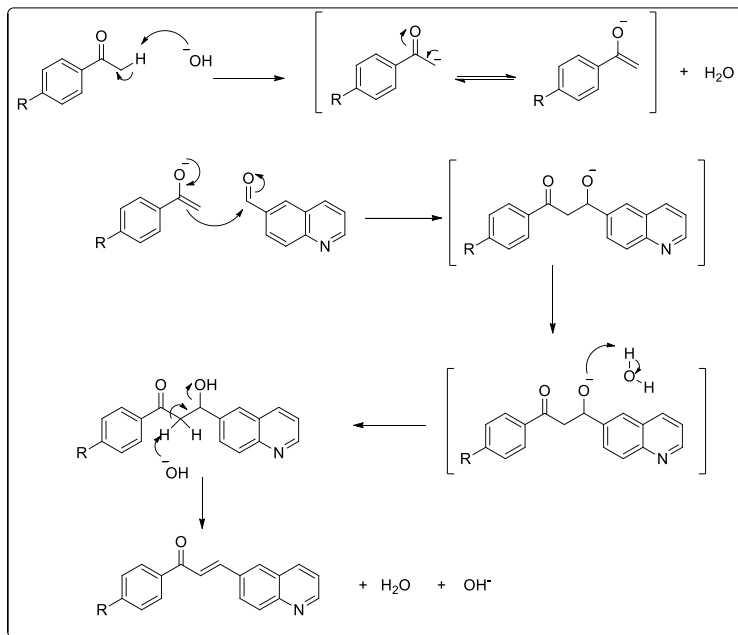
**Figura 42:** espectro de RMN 1H e RMN 13C do compostos 6-carbaldeído quinolina



Uma vez obtido o composto 6-carbaldeídoquinolina foi possível a obtenção dos derivados quinolínicos com um grupo carbonílico  $\alpha,\beta$  insaturados, ou seja, as 6-quinolinil chalconas **1a-g** (esquema 13, página 99). Os produtos foram obtidos com rendimentos entre 51 – 73 %, a partir da metodologia empregada, após a recristalização em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /éter di-isopropílico.

**Esquema 13:** síntese dos derivados de 6-quinolinil chalconas **1a-g**.

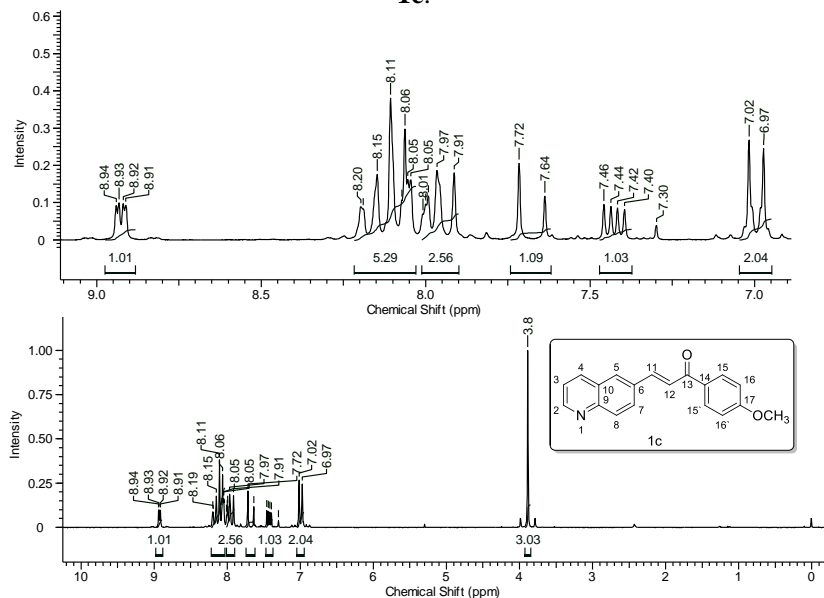
O mecanismo proposto para a formação das 6-quinolinil chalconas (**Esquema 20**) se dá através da formação de um enolato *in situ*, pela abstração de um próton  $\alpha$  carbonílico. A espécie gerada procede com um ataque nucleofílico no carbono eletrofílico da carbonila presente no composto 6-carbaldeído quinolina, originando uma  $\beta$ -hidroxi cetona. Em meio básico a  $\beta$ -hidroxi cetona sofre desidratação, gerando os derivados chalconas de interesse (**1a-f**).

**Esquema 14:** Mecanismo de obtenção dos derivados de 6-quinolinil chalconas 1a-g.

As estruturas dos derivados quinolínicos  $\alpha,\beta$ -insaturados (6-quinolinil chalconas) foram caracterizadas através da análise dos espectros infravermelho e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$ .

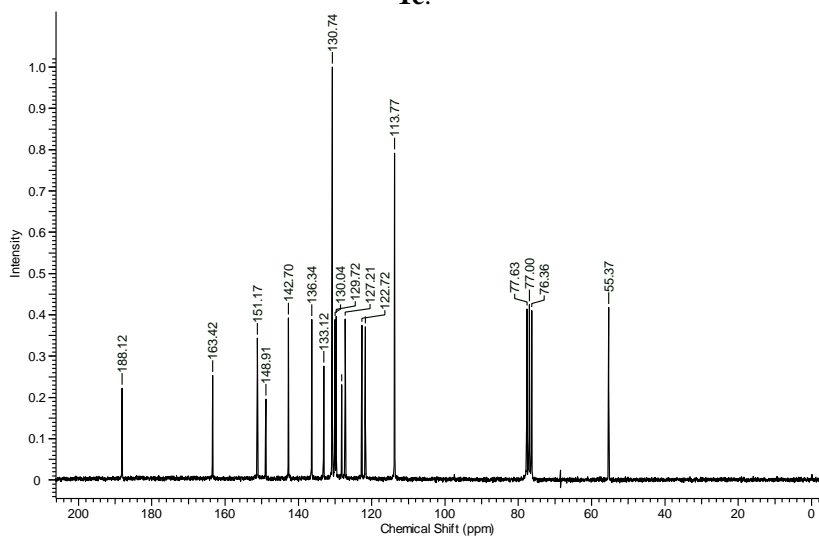
Analisando os espectros de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 43**), é possível observar claramente a formação dos requeridos compostos. Primeiramente observa-se uma blindagem (deslocamento do sinal para campo alto, ou menor ppm) do sinal referente ao átomo de hidrogênio 9 de 10.2 ppm no composto 6-carbaldeído quinolina, para aproximadamente 8.1 - 7.9 ppm nas 6-quinolinil chalconas. Além disso é possível observar a presença de dois dupletos em 7,68 e 8,10 ppm, com integração para 1 átomo hidrogênio cada, e constante de acoplamento de 15,5 Hz, o que é característico de dupla ligação com estereoquímica *E*, estes sinais foram atribuídos aos átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono  $\alpha,\beta$  em relação a carbonila (H 11 e H 12). É evidente também, a presença de sinais na região de aromáticos referentes aos átomos de hidrogênio 13 e 14.

**Figura 43:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do derivado de 6-quinolinil chalcona **1c**.



No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 44) pode-se observar a presença de 16 sinais de átomos de carbono para os derivados com substituinte halogênio, e 17 sinais de átomos de carbono para aqueles cujo substituinte é um grupo metil ou metóxi. Analisando detalhadamente os espectros, percebe-se que houve uma proteção no deslocamento químico do átomo de carbono 11 de 191,4 ppm no precursor para a região entre 142-144 ppm nos requeridos produtos. Evidenciando assim, que o carbono carbonílico C-11 do composto 6-carbaldeído quinolina foi quem sofreu o ataque nucleofílico do enolato durante a reação. Outro sinal de destaque no espectro é referente ao átomo de carbono 13 do derivado quinolínico (carbono carbonílico) o qual aparece na região entre 187-190 ppm.

**Figura 44:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do derivado de 6-quinolinil chalcona **1c**.



## 5.2. Síntese dos derivados de 6-quinolinil N-óxido chalconas (2a-f).

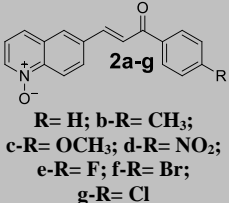
Em muitos casos, ensaios farmacológicos que apresentam bons resultados no modelo *in vitro*, não são reprodutíveis em organismos vivos. Isto deve-se a complexidade dos sistemas biológicos, uma vez que, o fármaco precisa ser injerido, solubilizado, transportado até o sítio

ativo, realizar a função desejada, e posteriormente excretado. Nesse caminho, pode-se encontrar uma série de empecilhos, como por exemplo, entre outras coisas, a substância pode apresentar uma baixa permeabilidade em membrana, não atingindo assim o alvo biológico de interesse. Ou ainda, o candidato a fármaco pode apresentar o efeito esperado contra o alvo biológico, porém, pode ser tóxico também para organismo infectado, causando uma série de outros problemas. Devido a isso, realizar ensaios *in vivo* de substâncias que mostraram resultados promissores em ensaios preliminares *in vitro*, é de grande importância, durante o desenvolvimento de um novo fármaco. Tendo em vista os bons resultados obtidos nos ensaios antifúngicos dos derivados de 6-quinolinil N-óxido chalconas, publicados por Tavares et al (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011), a síntese dos derivados (**2a-g**) foi repetida com a finalidade de se realizar estudos *in vivo* com os compostos mais ativos. Sendo assim, possível obter algumas informações adicionais a respeito dos parâmetros farmacocinéticos, como a permeabilidade em membrana e toxicidade. Com estes resultados é possível aprofundar o conhecimento sobre a molécula e suas propriedades farmacológicas, afim do desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

O interesse nos derivados de 6-quinolinil N-óxido chalconas surgiu do fato de o derivado **2e** (**(2E)-1-(4-Flúor-fenil)-3-(1-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona**) ter apresentado o melhor resultado nos ensaios frente ao fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, conforme apresentado na **Tabela 4** (página 103), o composto **2e** apresentou uma CIM (concentração inibitória mínima) de 1,9 µg/mL, cerca de 8 vezes mais ativo que o segundo composto (**2c**) com menor CIM (15,6 µg/mL). Sendo assim, estes compostos foram selecionados para dar continuidade aos estudos relacionados a atividade antifúngica contra o *Paracoccidioides brasiliensis*.

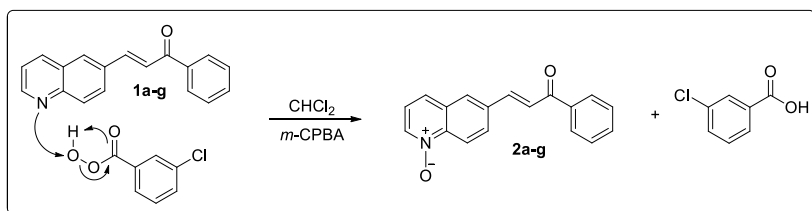


**Tabela 4:** CIM dos derivados 6-quinolinil N-óxido chalconas contra o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*

estrutura	Composto	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) contra <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
 <p> <b>2a-g</b>  <b>R= H; b-R= CH<sub>3</sub>;</b>  <b>c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= NO<sub>2</sub>;</b>  <b>e-R= F; f-R= Br;</b>  <b>g-R= Cl</b> </p>	2 <sup>a</sup>	62,50
	2b	125,00
	2c	15,60
	2d	500,00
	2e	1,90
	2f	62,50
	2g	15,50

Os compostos foram então sintetizados conforme descrito por Tavares et al (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011), ou seja, utilizando-se *m*-CPBA como agentes oxidante. No mecanismo proposto para esta transformação, (**Esquema 15**) o par de elétrons do átomo de nitrogênio do anel quinoliníco faz uma ataque nucleofílico no átomo de oxigênio eletrofílico do *m*-CPBA seguido da eliminação do ácido *m*-clorobenzóico.

**Esquema 15:** Mecanismo de oxidação da 6-quinolinil chalcona a 6-quinolinil N-óxido chalcona 2a-g.

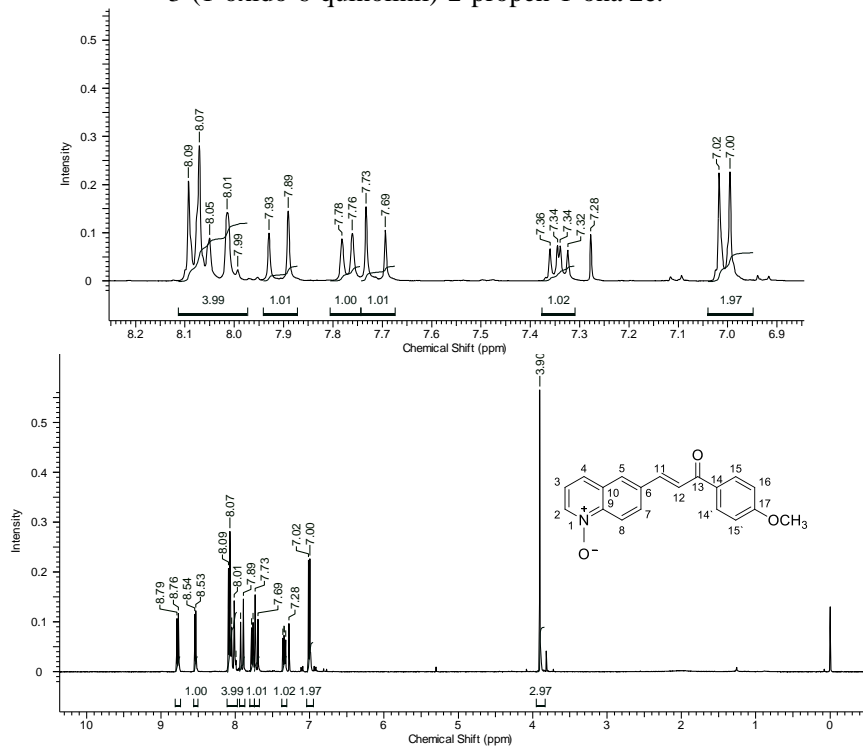


Os rendimentos obtidos para estas sínteses foram bastante satisfatórios 65-78 %. E a estrutura dos compostos puderam ser confirmadas através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em clorofórmio ou dimetil sulfóxido deuterados.

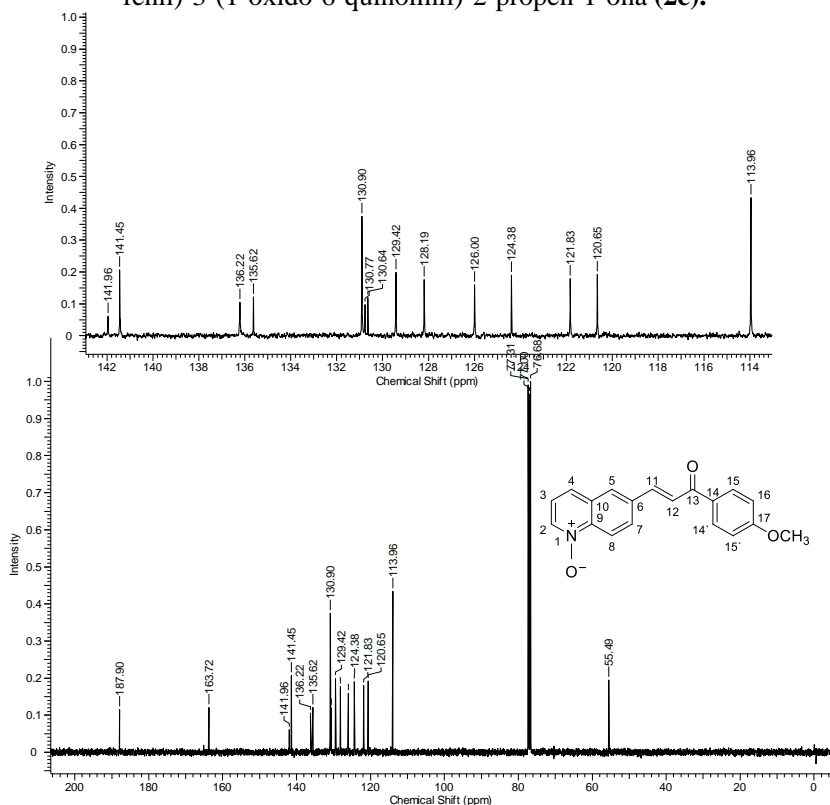
Nos espectros de RMN tanto de  $^1\text{H}$  (**Figura 45**) quanto de  $^{13}\text{C}$  (**Figura 46**) foi possível observar uma blindagem nos sinais relativos ao anel quinoliníco, especialmente para as posições 2, 4, 5 e 7. Devido a presença do átomo de oxigênio ligado a estrutura da quinolina, ocorre uma deslocalização dos elétrons do oxigênio no sentido do anel quinoliníco, o que fornece um caráter de ligação dupla à ligação N-O, e

aumenta a densidade eletrônica no anel aromático, especialmente nas posições anteriormente mencionadas. A partir desta constatação foi possível inferir formação dos requeridos derivados **2a-g**.

**Figura 45:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (2E)-1-(4-Metóxi-fenil)-3-(1-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona **2c**.



**Figura 46:** Espectro de RMN 13C do composto (2E)-1-(4-Metóxi-fenil)-3-(1-óxido-6-quinolinil)-2-propen-1-ona (**2c**).



### 5.3. Síntese dos derivados de quinolina contendo o núcleo 4,5-dihidropirazol (4 e 5).

Um dos principais alvos do nosso estudo, foi a obtenção de derivados quinolínicos contendo o anel pirazolínico na estrutura. Este interesse deve-se ao fato de que, a preparação de novos compostos baseados em núcleos de origem natural, tem sido de grande importância na busca e desenvolvimento de novos potenciais agentes farmacológicos. Com isso, levou-se em consideração que tanto a quinolina quanto o di-hidropirazol são núcleos que apresentam uma vasta gama de atividades farmacológicas relacionadas, tais como:

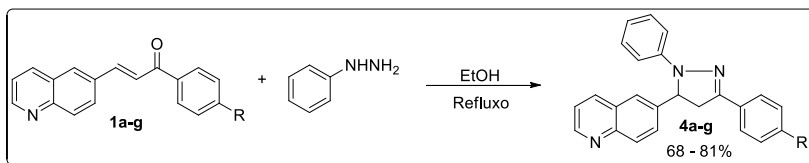
- Para quinolina: antimalárica, antibacteriana, anti-helmintica, antifúngica, cardiotônica, anticonvulsivante, anti-inflamatória, analgésica e antituberculose. (Marella, Tanwar et al. 2013)
- Para o di-hidropirazol: anticâncer, antimicrobiana, antimalárica, antinocicepitiva, antiviral, antituberculose e anti-inflamatória. (Liu, Li et al. 2012)

Devido a grande quantidade de atividades farmacológicas relacionadas a esses dois heterociclos de origem natural, consideramos relevante a síntese de compostos que une na mesma estrutura esses dois núcleos, fazendo assim, a chamada hibridização molecular. Analisando a estrutura dos derivados 6-quinolinil chalconas observamos que a inserção de derivados de hidrazina, na porção carbonílica  $\alpha,\beta$ -insaturada levaria a formação do núcleo 4,5-di-hidropirazol, gerando os derivados de quinolina contendo o anel pirazolínico de interesse.

### 5.3.1. Síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina.

Para a síntese dos derivados pirazolínicos, as respectivas 6-quinolinil chalconas reagiram com fenil hidrazina sob aquecimento durante 17 horas, gerando os compostos de interesse em rendimento satisfatório (68-81%) (**Esquema 16**).

**Esquema 16:** síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina

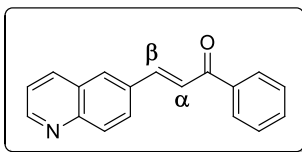


A fenil hidrazina é um bom nucleófilo, que apresenta dois átomos de nitrogênio nucleofílico. As 6-quinolinil chalconas por sua vez tratam-se de compostos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados, portanto, apresentam dois centros eletrofílicos, o carbono carbonílico e o carbono  $\beta$ . Sendo assim, qual o produto formado na reação da fenil hidrazina com os derivados de 6-quinolinil chalconas? Qual átomo de nitrogênio reage com o carbono  $\beta$ , e qual reage com o carbono carbonílico? Para responder esta questão partimos do princípio de *Pearson* de ácidos e bases duros e macios. Nucleófilos macios tendem a reagir com

eletrófilos macios, e eletrófilos duros tendem a reagir com nucleófilos duros.

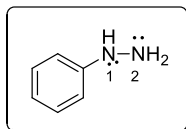
Em um composto carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturados (**Figura 47**), como mencionado anteriormente, existe dois sítios eletrofílicos, um é duro e o outro mais macio. O grupo carbonil tem uma alta carga parcial positiva no carbono carbonílico e, portanto, tende a reagir com nucleófilos mais duros. Já o carbono  $\beta$  do sistema carbonílico  $\alpha,\beta$ -insaturado não apresenta uma carga parcial positiva, mas é o sítio que apresenta o maior coeficiente orbitalar de LUMO. Isso faz do carbono  $\beta$ , um eletrófilo mais macio tendendo a reagir com nucleofílos macios.

**Figura 47:** representação dos carbonos  $\alpha,\beta$ -insaturados dos derivados de 6-quinolinilil chalconas

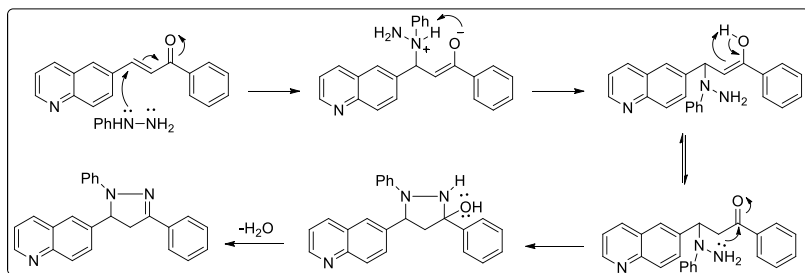


No caso do composto fenil hidrazina (**Figura 48**), como já mencionado, temos dois sítios nucleofílicos, e para saber quem reage com o carbono  $\beta$  e quem reage com o carbono carbonílico do sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado, precisamos saber qual nitrogênio é mais duro ou mais macio. Nucleófilos duros apresentam alta densidade de carga, enquanto nucleófilos macios podem não ser carregados ou apresentam a carga mais difusa. Analisando a estrutura da fenil hidrazina observa-se que o par de elétrons livre do nitrogênio 1, apresenta uma conjugação mais efetiva com o anel aromático do que os pares de elétrons do nitrogênio 2. Portanto o nitrogênio 1 apresenta um caráter mais macio que o nitrogênio 2. Logo o nitrogênio 1 deve reagir com o eletrófilo mais macio (carbono  $\beta$ ) e o nitrogênio 2 reage com o eletrófilo mais duro (carbono carbonílico) conforme mostrado no **Esquema 17** (página 108).

**Figura 48:** estrutura da fenil hidrazina

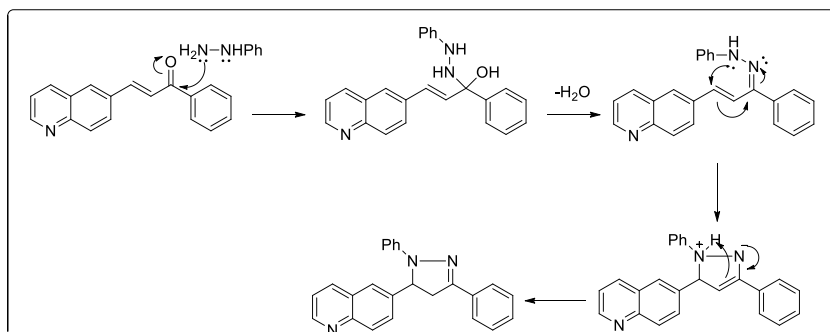


**Esquema 17:** Mecanismo de formação dos derivados de 6-(4,5-dihidropirazolil)quinolina.



Porém, surge uma segunda dúvida, qual centro eletrofílico sofre primeiro o ataque do nucleófilo? O sítio mais macio, ou seja, o carbono  $\beta$  do sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado, ou o ataque ocorre primeiro no sítio mais duro, formado pelo carbono carbonílico. Segundo Clayden et al (Clayden, J. et al. 2012), as reações de espécies duras são dominadas pelas cargas e efeitos eletrostáticos. Enquanto que, as reações de espécies macias são dominadas pelo efeito do orbital, e polarizabilidade. Devido a essa dúvida propõe-se um segundo mecanismo (**Esquema 18**), onde o ataque ocorre primeiro na carbonila, fazendo-se valer a interação elétróstática frente aos efeitos de polarizabilidade e de orbital.

**Esquema 18:** Mecanismo de formação dos derivados de 6-(4,5-dihidropirazolil)quinolina, com o primeiro ataque nucleofílico ocorrendo na carbonila.

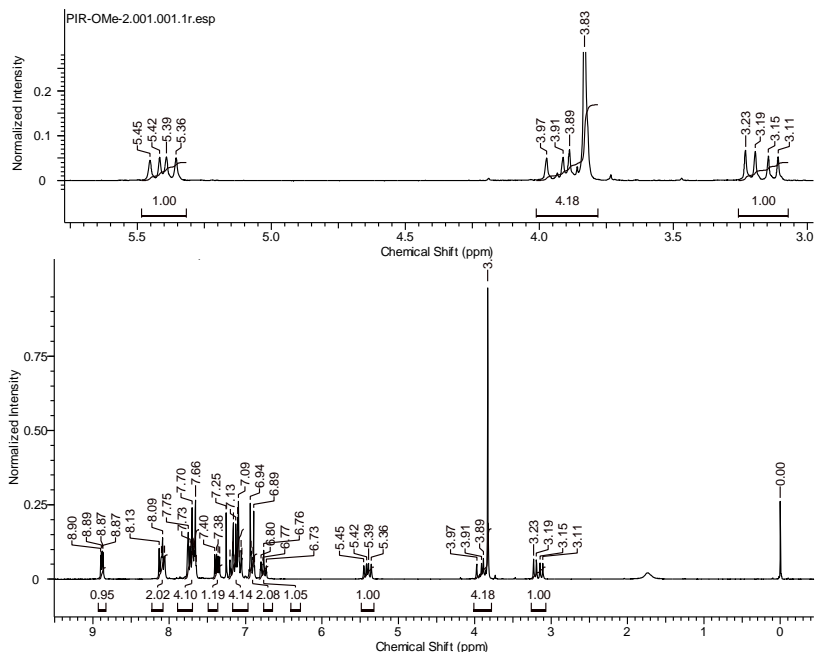


Para se ter uma maior certeza, de qual via a reação realmente ocorre, precisaríamos realizar um estudo mecanístico, afim de visualizar um dos intermediários chaves da reação, que indiquem onde o primeiro ataque nucleofílico ocorre.

Os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina sintetizados foram caracterizados através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (anexos).

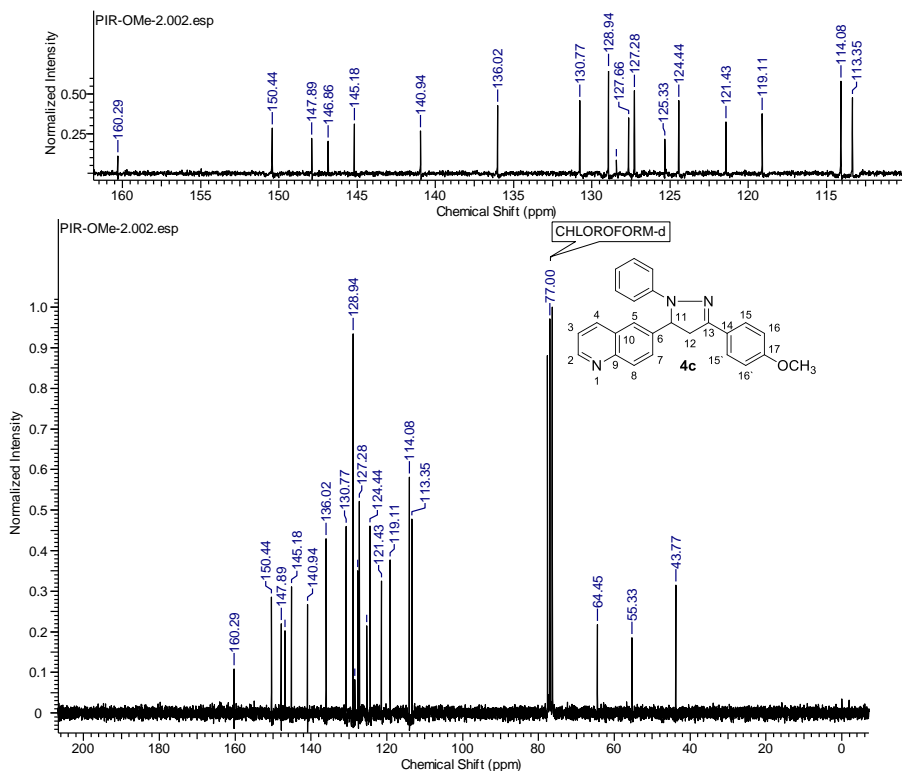
Analisando o espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 49**) dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil)quinolina pode-se observar a presença de sinais com integração para 21 (no caso dos derivados com substituinte metil ou metóxi) ou 18 átomos de hidrogênio (para os demais). Mas o que evidencia a formação do anel 4,5-di-hidropirazol, é a presença de três duplos dupletos acoplando entre si na região dos hidrogênio alifáticos que são referentes aos átomos de hidrogênios ligados aos átomos de carbonos C-11 e C-12 do anel pirazolínico: 5.42 (dd,  $J=12.24, 7.34$  Hz, 1 H); 3,91 (dd,  $J= 12.29, 17.06$  Hz, 1H); 3.19 (dd,  $J=17.08, 7.34$  Hz, 1 H).

**Figura 49:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1*H*-il)quinolina (**4c**).



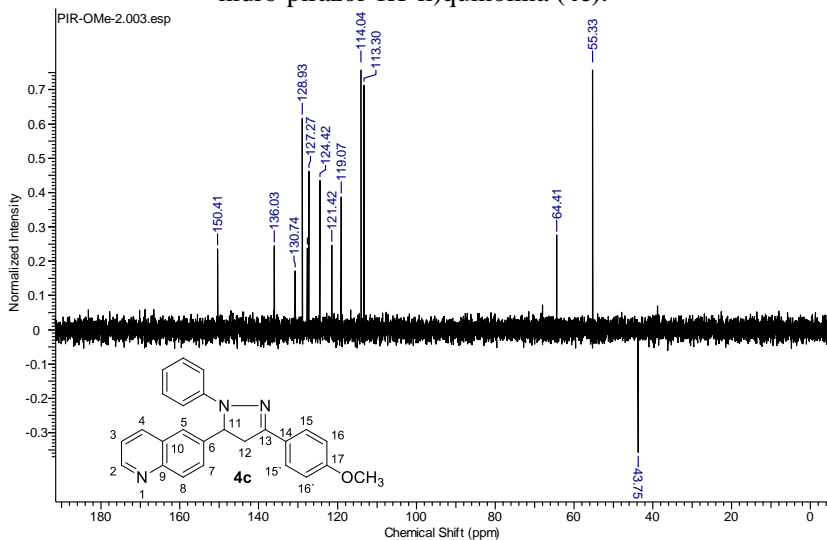
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da **Figura 50**, observa-se a presença de 21 sinais o que é condizente com a estrutura dos produtos. Vale destacar, a presença de três sinais na região dos átomos de carbono com hibridização  $\text{sp}^3$  que são referentes aos átomos de carbono C-11 e C12 em 64,4 e 43,7 ppm respectivamente e o átomo de carbono da metoxila em 55,33 ppm. Além destes, merece destaque o sinal mais desblindado, em 160,33 ppm, referente ao átomo de carbono da dupla ligação com o nitrogênio (C-13). Com o auxílio do espectro de DEPT 135 (**Figura 51**, página 111) foi possível se ter uma maior certeza da estrutura formada, através do qual identificou-se, 7 carbonos não hidrogenados, 12 carbonos metínicos e 1 carbono metilênico.

**Figura 50:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1H-il)quinolina (4c).





**Figura 51:** DEPT 135 do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1*H*-il)quinolina (**4c**).



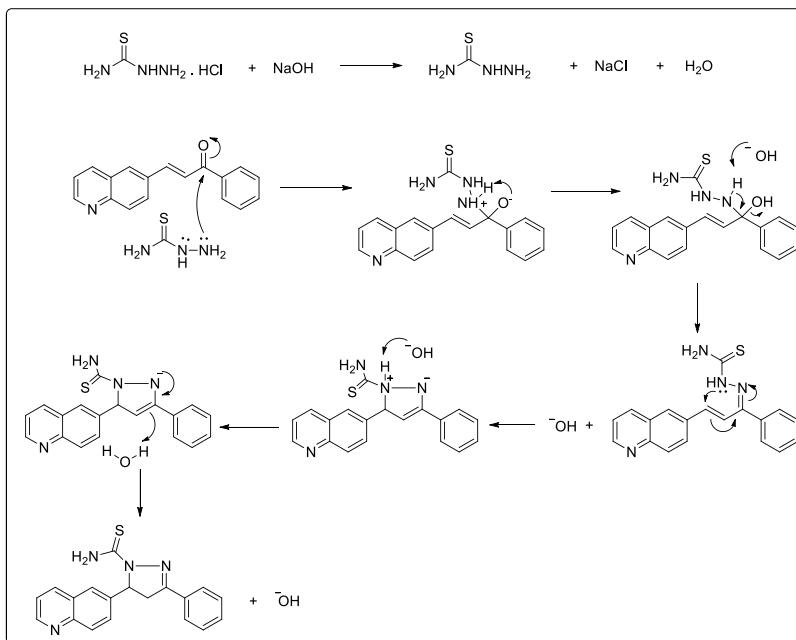
### 5.3.2. Síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a-f**)

Visando a síntese de uma nova série de derivados contendo o núcleo 4,5-di-hidropirazol, foi feita a síntese dos derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5a-f**. O propósito destas sínteses, foi aumentar a hidrofiliicidade dos compostos, através da inserção de um grupo que apresente mais sítios doadores e aceptores de ligação de hidrogênio. Para tal, um grupamento tioamida ligado ao anel pirazolínico ao invés do grupo fenil presente nos derivado **4a-f**, realiza bem esta função. Isso porque o NH<sub>2</sub> é um doador/aceptor de ligação de hidrogênio e o grupo C=S é um acceptor de ligação de hidrogênio. Sendo assim, escolheu-se a tiosemicarbazida para realizar a condensação com as respectivas 6-quinolinil chalconas a fim de se obter uma série de derivados com o perfil de substituição citado neste parágrafo.

O mecanismo proposto para esta reação, é bastante semelhante ao mostrado no **Esquema 18** (página 108), com a diferença de que foi utilizado NaOH como base com um excesso de 0,3 equivalentes em relação ao cloridrato de tiosemicarbazida. Além disso, vale destacar que toda a discussão realizada no tópico anterior, a respeito de qual

nitrogênio ataca qual centro eletrofílico continua valendo para este mecanismo, conforme mostrado no **Esquema 19**.

**Esquema 19:** Mecanismo de formação dos 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina.



Para estas sínteses optou-se por utilizar a energia na faixa do ultrassom preferencialmente em relação ao aquecimento convencional. Isto devido ao fato de se conseguir realizar as reações em menor tempo reacional e rendimento levemente superior quando foi utilizada a energia ultrassônica, conforme mostrado na **Tabela 5** (página 113).

**Tabela 5:** Comparação do rendimento e tempo regional da síntese dos derivados 5a-f utilizando o método convencional e ultrassom.

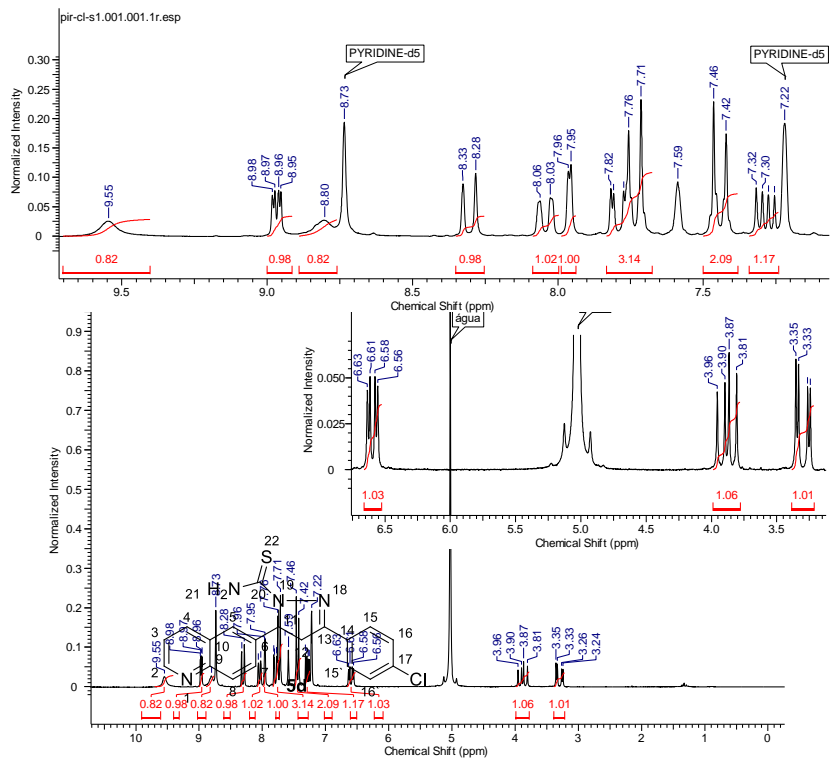
Composto	Ultrassom	Aquecimento
	Tempo - rendimento	Tempo - rendimento
<b>5a</b>	1,5 h – 71%	n.a.
<b>5b</b>	1,5 h – 83%	10 h – 76%
<b>5c</b>	1,5 h – 51%	11 h – 39%
<b>5d</b>	1,5 h – 74%	11 h – 70%
<b>5e</b>	1,5 h – 73%	11 h – 68%
<b>5f</b>	1,5 h – 62%	10 h – 57%

\*n.a. – não analisado

Os derivados de 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5a-f** sintetizados foram caracterizados através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  (anexos), e infravermelho.

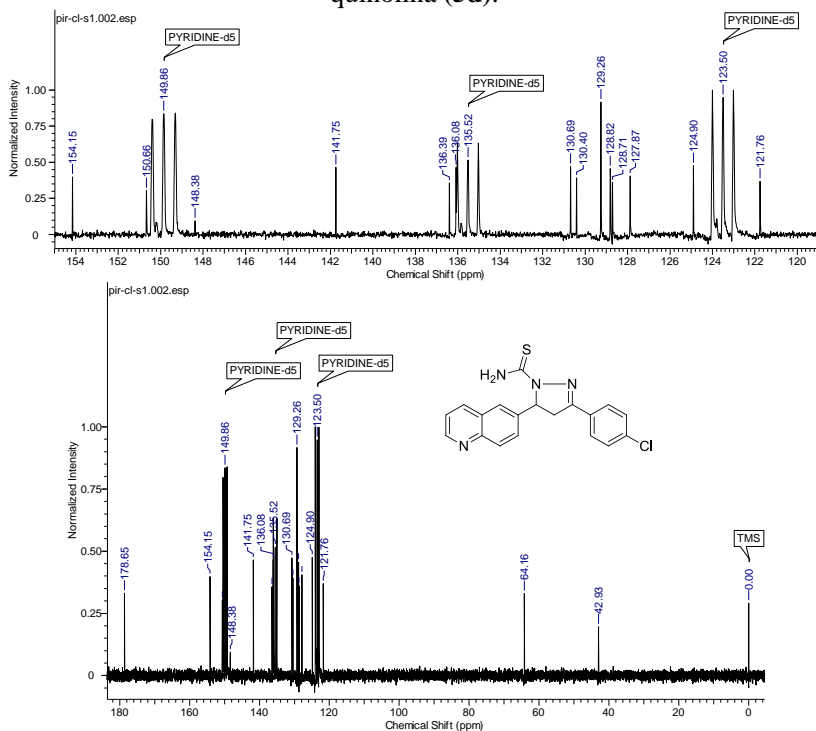
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52**), observa-se a presença de sinais com integração para 15 átomos de hidrogênio, o que está de acordo com a estrutura do derivado **5d**. Além disso, na região entre 3,0 e 7,0 ppm encontram-se três duplos dupletos com integração para 1 átomo de hidrogênio cada, 6,60 (dd,  $J=11,7$ , 4,1 Hz, 1 H), 3,88 (dd,  $J=18,0$ , 11,7 Hz, 1 H), 3,30 (dd,  $J=18,0$ , 4,1 Hz, 1 H), sinais estes característicos dos átomos de hidrogênio do heterociclo pirazolina. Na região compreendida entre 7,0 – 10,0 ppm, observa-se a presença de sinais com integração para 12 átomos de hidrogênio, sendo estes, 4 referentes ao substituinte fenílico (7,73 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H), 7,44 (d,  $J = 8,55$  Hz, 2 H), 6 referentes aos átomos de hidrogênio da quinolina (8,97 (dd,  $J = 4,2$ , 1,7 Hz, 1 H), 8,30 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1 H), 8,04 (dd,  $J = 8,7$ , 1,8 Hz, 1 H), 7,96 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1 H), 7,79 (dd,  $J = 8,8$ , 1,8 Hz, 1H), 7,29 (dd,  $J = 8,3$ , 4,2 Hz, 1 H)), além dos dois átomos de hidrogênio referentes ao grupamento tio amida 9.55 (sr, 1 H) e 8.80 (sr, 1 H), comprovando assim a estrutura dos compostos sintetizados.

**Figura 52:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em piridina deuturada do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**figura 53**, página 115) é possível observar a presença de 17 sinais, o que condiz com a estrutura do derivado **5d**. Na região dos alifáticos temos a presença de dois sinais em 64,1 e 42,9 ppm, referentes ao CH e  $\text{CH}_2$  do anel pirazolina respectivamente. Vale destacar também, os sinais em 178,6 e 154,1 ppm que foram atribuídos ao átomo de carbono do grupo tioamida e da dupla ligação endocíclica do anel pirazolina, respectivamente.

**Figura 53:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  obtido de piridina deuturada do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



#### 5.4. Síntese dos derivados de quinolina contendo o núcleo tiazol (6 e 7 a-g)

O interesse na síntese de novos compostos que contém o núcleo tiazol tem crescido consideravelmente nos últimos anos. Isto deve-se ao fato da grande versatilidade por este apresentada, tanto como bloco de construção para novas moléculas, quanto para aplicações biológicas na busca por novos princípios ativos para o tratamento das mais diversas patologias.

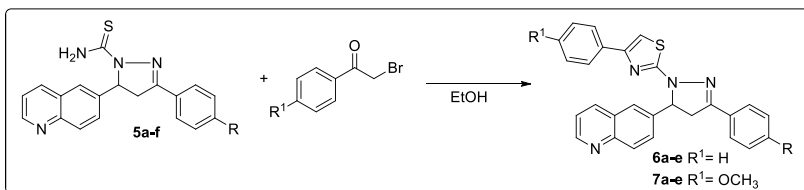
Nos últimos anos, os estudos envolvendo o núcleo tiazol, tem apontado uma vasta gama de atividades biológicas a este relacionadas, tais como:

- Antimalárica (Bueno, Carda et al. 2016)
- Anticâncer (Zhao, Guo et al. 2016)
- Ação inibidora da enzima  $\alpha$ -glicosidase (Khan, Qurban et al. 2016)
- Anti HIV (Xu, Guo et al. 2016)
- Antimicrobiana (Reddy, Garcia et al. 2016)
- Antiparasitária (de Moraes Gomes, de Oliveira Barbosa et al. 2016)

Devido ao exposto nos parágrafos acima, junto da alta versatilidade apresentada por compostos híbridos de diferentes núcleos de origem natural, decidimos unir a quinolina, a pirazolina e o tiazol em uma única molécula, realizando assim, a hibridização molecular. O intuito desta síntese, é investigar as propriedades farmacocinéticas (log P e permeabilidade) e farmacodinâmicas (atividade antifúngica e ação inibidora da enzima acetilcolinesterase) apresentadas por estas novas estruturas.

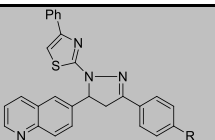
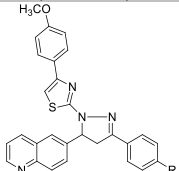
Visando a síntese dos novos compostos quinolínicos contendo o grupo tiazol, os respectivos 6-(4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina **5a-f**, reagiram com o respectivo brometo de fenacila, dando origem aos derivados de 5-fenil-2-(-3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol **6a-e** e **7a-e** (**Figura 54**). Para tal, foram testadas duas metodologias, na qual, uma utiliza a energia emitida pelo ultrassom, e outra que faz uso do refluxo através do aquecimento convencional. O tempo reacional e rendimento obtido com cada um dos métodos seguem descritos na **Tabela 6** (página 117). Como pode ser observado, em todos os casos onde houve a comparação, após 2 horas reagindo, todo o substrato havia sido consumido quando utilizou-se energia provida pelo ultrassom, e os rendimentos foram superiores aos da metodologia com refluxo, que necessitou em torno de 7 horas de reação.

**Figura 54:** preparação dos derivados de 5-fenil-2-(-3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol **6a-e** e **7a-e**.



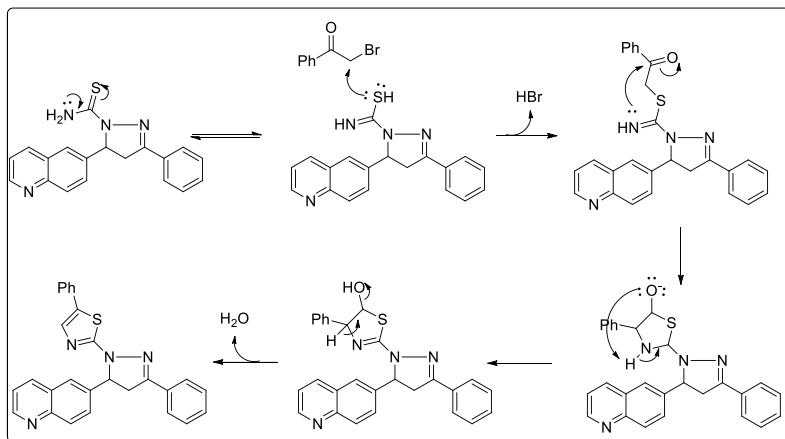
A purificação dos composto se deu através de cromatografia em coluna de sílica gel (230-400 mesh, 0,04-0,063 mm) eluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  (85:15) obtendo-se rendimentos que ficaram entre 69 – 89% (método com ultrassom) e 51 – 63% (método com aquecimento convencional).

**Tabela 6:** Comparação do método entre o tempo reacional rendimento obtidos com o método que utiliza ultrassom e o método com aquecimento.

Estrutura	Composto	Ultrassom Tempo - rendimento	Aquecimento Tempo - rendimento
 <p>a-R= Br; b-R= <math>\text{CH}_3</math>; c-R= <math>\text{OCH}_3</math>; d-R= Cl; e-R= F</p>	<b>6a</b>	2 h – 69%	7 h – 51%
	<b>6b</b>	2 h – 71%	7 h – 54%
	<b>6c</b>	2 h – 71%	-
	<b>6d</b>	2 h – 84%	n.s.
	<b>6e</b>	2 h – 89%	7 h – 63%
 <p>a-R= Br; b-R= <math>\text{CH}_3</math>; c-R= <math>\text{OCH}_3</math>; d-R= Cl; e-R= f</p>	<b>7a</b>	2 h – 56%	n.s.
	<b>7b</b>	2 h – 78%	n.s.
	<b>7c</b>	2 h – 72%	7 h – 60%
	<b>7d</b>	2 h – 67%	7 h – 54%
	<b>7e</b>	2 h – 77%	n.s.

\*n.s. não sintetizado

No mecanismo de condensação de  $\alpha$ -halocetonas com tioamidas proposto para esta reação (**Esquema 21**, página 118), primeiramente ocorre a substituição do átomo de halogênio pelo átomo de enxofre, com liberação de HBr. Na sequência o par de elétrons do átomo de nitrogênio ataca o carbono carbonílico, que com a subsequente liberação de água, forma o núcleo tiazol de interesse.

**Esquema 20:** mecanismo proposto para a reação de formação do tiazol.

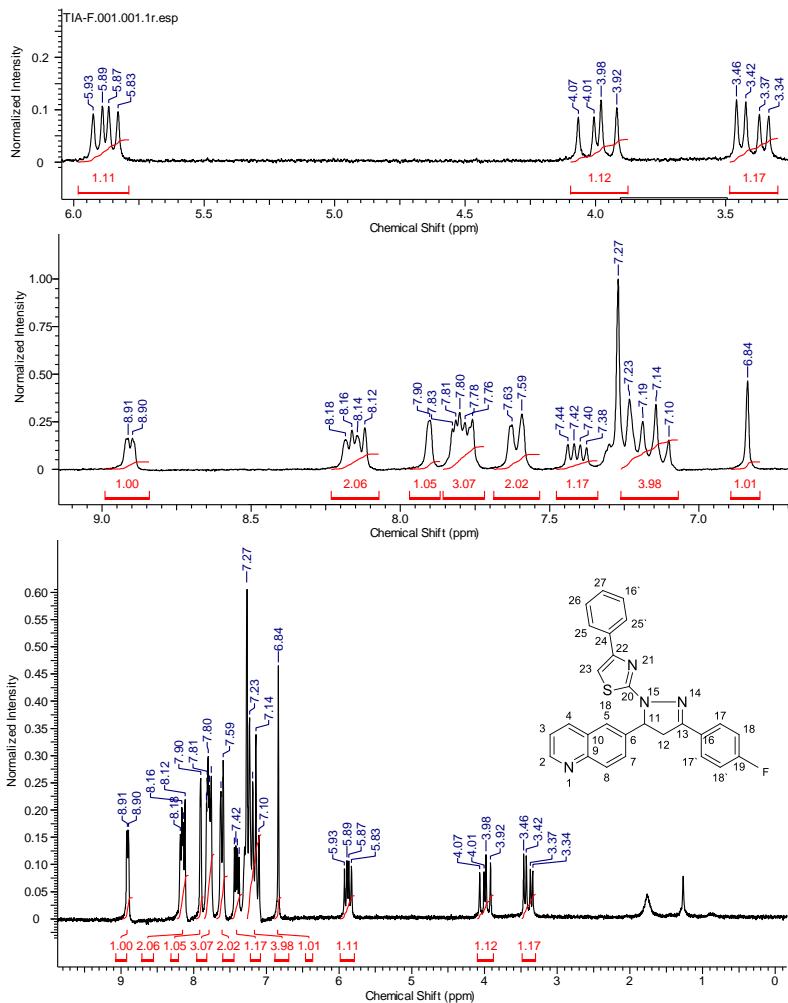
Os derivados de 5-fenil-2-(3-fenil-5-(quinolin-6-il)tiazol (6 e 7(a-e)) sintetizados foram caracterizados através da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  em  $\text{CDCl}_3$  e infravermelho (anexos).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  do derivado **6e** (Figura 55), observa-se a presença de sinais com integração para 19 átomos de hidrogênio, o que está de acordo com a estrutura do composto esperado. Vale destacar a presença de um simpleto em 6,84 ppm, com integração para 1, que foi atribuído ao átomo de hidrogênio ligado ao átomo de carbono C-23 do heterociclo Tiazol. Além deste, observa-se a presença de três duplos dupletos referentes aos átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono C-11 e C-12 do anel pirazolina: 5,88 (dd,  $J=11,9, 7,1$  Hz, 1 H), 3,99 (dd,  $J=17,5, 11,9$  Hz, 1 H), 3,40 (dd,  $J=17,5, 7,1$  Hz, 1 H).

Na região dos átomos de hidrogênio aromáticos (7,0 – 9,0 ppm) do espectro da Figura 55, temos sinais com integração para 15 átomos de hidrogênio (a integração dos sinais é atrapalhada pela sobreposição dos sinais da amostra com o sinal do clorofórmio em 7,27 ppm), dos quais 6 são referentes aos hidrogênios da quinolina. Os outros 9 átomos de hidrogênio são atribuídos aos substituintes fenílicos presentes na estrutura da molécula (no espectro da Figura 55, um dos grupos fenílicos é substituído na posição 4 por um átomo de flúor).



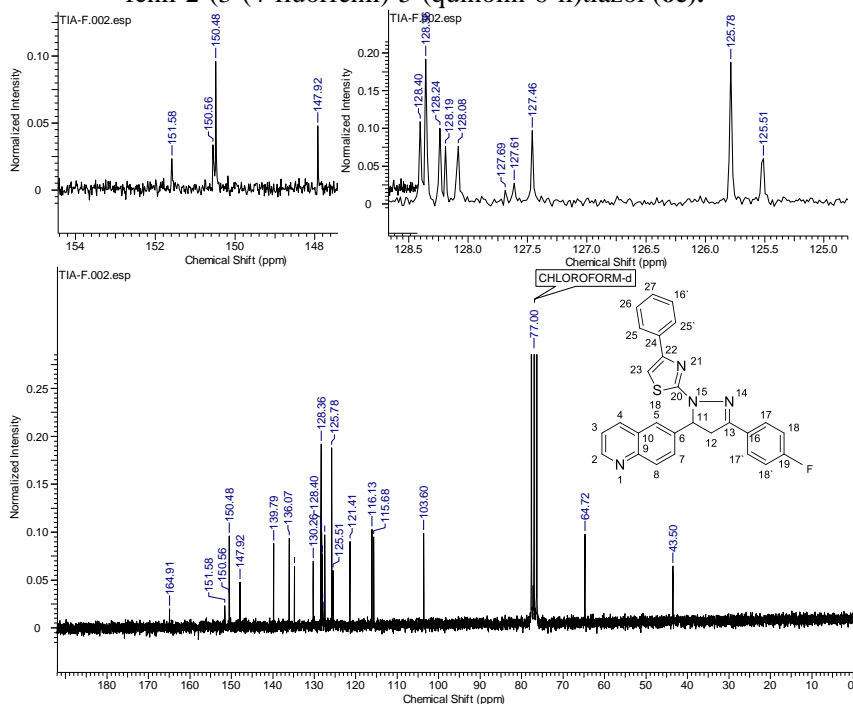
**Figura 55:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e)



Para a análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  selecionamos o espectro do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e) (Figura 56, página 120) devido ao fato de esta molécula apresentar um

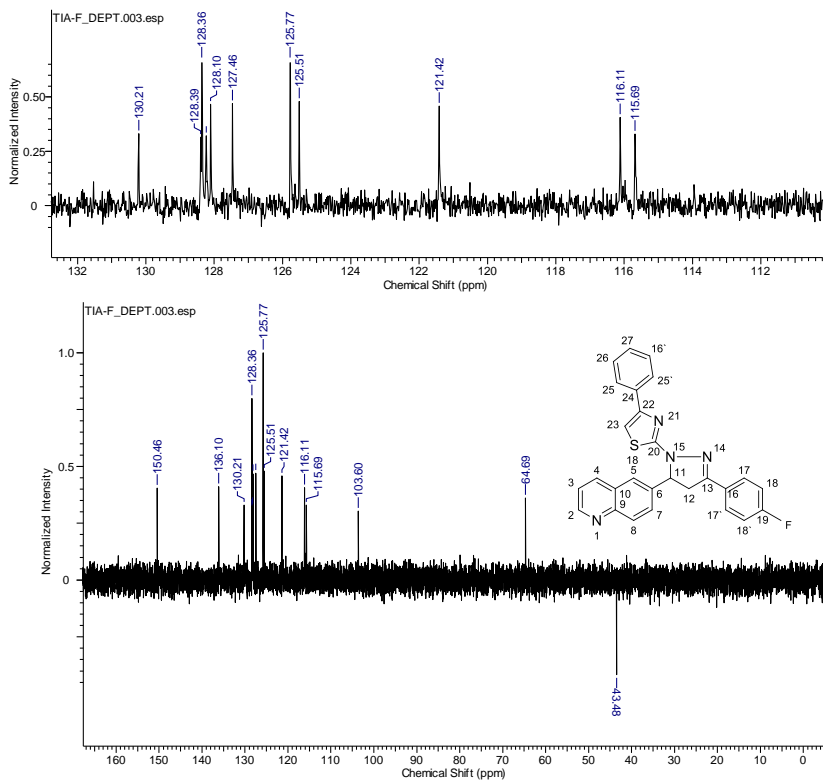
grupo fenil substituído na posição 4 por um átomo de flúor, isto nos dá uma maior segurança na atribuição dos sinais, uma vez que o fluor acopla com o carbono gerando sinais bastante característicos. Com isso, foi possível identificar cada um dos átomos de carbono referentes ao anel aromático substituído, em 151,58 – 147,92 ppm (d,  $J= 184,0$  Hz, C-19), 128,40 – 128,23 ppm (d,  $J= 8,4$  Hz, C-), e 116,16 – 115,68 ppm (d,  $J= 22.2$  Hz, C-18). Além disso, em 164,91 ppm temos o átomo carbono mais desblindado do espectro, este foi atribuído ao C-20 que está diretamente ligado a dois átomos de nitrogênio e um átomo de enxofre. Logo na sequência em 150,48 ppm temos o sinal referente ao C-2 do anel quinolínico. O C-13 referente a dupla ligação carbono/nitrogênio do anel pirazolina, foi atribuído como sendo o sinal em 147,92 ppm. E por fim temos a presença de dois sinais na região de alifáticos, em 64,72 e 43,50 ppm, que são referentes aos carbonos C-11 e C-12 do anel pirazolina, respectivamente.

**Figura 56:** espectro de RMN 13C em CDCl<sub>3</sub> do composto composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6e).



Visando uma maior confiabilidade na atribuição dos sinais referentes ao espectro de carbono (**Figura 56**), foi obtido também o espectro de DEPT 135 do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (**6e**) (**Figura 57**), através do qual identificou-se a presença de 1 átomo de carbono metilênico, 13 átomos de carbono metínicos e 9 átomos de carbono não hidrogenados.

**Figura 57:** Espectro de DEPT 135 do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (**6e**).



## 5.5. Estudo das propriedades físico-químicas relacionadas ao ADME

Um bom perfil farmacocinético aumenta a probabilidade de um promissor candidato a fármaco vir a oferecer uma terapia de sucesso. Com isso, conhecer informações a respeito de propriedades associadas à absorção, metabolismo, distribuição, e excreção de um fármaco é essencial.

Afim de enfatizar a importância dos estudos relacionados aos processos ADME, vejamos o seguinte dado publicado por Prentis et al (Prentis, Lis et al. 1988); entre o período de 1964 e 1985, sete indústrias farmacêuticas estabelecidas no Reino Unido introduziram 49 novos fármacos no mercado, por outro lado, 198 compostos foram descartados durante a fase de desenvolvimento. A principal razão para este abandono foram parâmetros farmacocinéticos inapropriados.

Sendo assim, o estudo de parâmetros de ADME e tornou-se uma ferramenta importante no desenvolvimento de um novo candidato a fármaco, para prever a adequação de uma molécula para avaliação *in vivo* de modo a selecionar os melhores candidatos durante a fase clínica. Uma vez que as propriedades físico-químicas podem ser controladas através da modificação estrutural, os parâmetros ADME podem ser ajustados, se necessário, paralelamente numa fase inicial à otimização da eficácia (Perspice, Giorgio et al. 2013).

Visando o conhecimento dos parâmetros físico-químicos relacionados ao processo ADME de um candidato a fármaco, Lipinski et al (Lipinski, Lombardo et al. 2001) propôs a “regra dos 5”, que abrange as chances de um composto candidato a fármaco vir a obter sucesso quando este apresenta 4 características:

- No máximo 5 doadores de ligação de hidrogênio (NH, OH)
- Um máximo de 10 aceptores de ligação de hidrogênio (O, N)
- $\text{Log } P \leq 5$
- Massa molecular inferior a  $500 \text{ g.mol}^{-1}$

Segundo a “regra dos 5” um composto que infrinja duas ou mais destas regras tende a apresentar baixa permeabilidade ou solubilidade.

Visando a obtenção de parâmetros que permitam ter um maior entendimento sobre o comportamento dos compostos sintetizados num possível processo de absorção, distribuição metabolismo e excreção em

um ensaio *in vivo*, o log P foi calculado utilizando-se *softwares*, além de ter sido performedo o ensaio PAMPA com a finalidade de se obter informações a respeito da lipofilicidade e permeabilidade da barreira gastro intestinal, visando identificar os melhores candidatos a fármacos dentre os compostos obtidos.

### 5.5.1. Determinação do Log P

O coeficiente de partição n-octanol/água é definido como a razão da concentração de um soluto na fase octanol pela concentração do mesmo na fase aquosa e é expressa na forma de logaritmo deste coeficiente (log P). Logo, o log P nos dá a medida do quanto um composto é hidrofílico ou lipofílico. Sendo assim, os valores de log P nos dão uma estimativa de quão bioacumulável ou rapidamente excretado um composto pode ser (Reddy and Locke 1994). Estas informações, contribuem na determinação da posologia de um medicamento (dose e frequência de administração) que permite níveis plasmáticos satisfatórios durante o tratamento.

Além disso, informações a respeito da solubilidade ou lipofilicidade tem sido relacionadas com o transporte através de biomembranas. De modo geral, o transporte de substâncias via o sistema gastrointestinal é um complicado processo transcelular ou paracelular passivo ou ativo. Contudo, o conhecimento do transporte passivo de moléculas e fármacos pequenos através das biomembranas é indispensável, especialmente para o processo transcelular, que envolve a passagem dos fármacos através da célula, sendo este a rota mais comum de acesso (Luo, Zheng et al. 2007).

Um equilíbrio entre solubilidade em água e lipofilicidade é um fator fundamental para a absorção passiva de fármacos. Fármacos muito polares ou hidrofílicos, tendem a apresentar baixa biodisponibilidade, em virtude da baixa permeabilidade pelas membranas celulares. O problema de baixa absorção também acontece com moléculas que apresentam alta lipofilicidade, devido a baixa solubilidade em água que dificulta a dissolução no meio biológico (Pereira 2007).

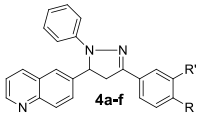
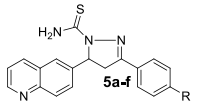
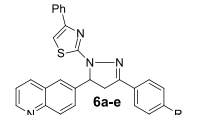
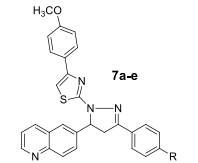
Sendo assim, a afinidade de pequenas moléculas candidatas a fármacos com o ambiente lipofílico é um instrumento importante no processo farmacológico e terapêutico. Tanto a mobilidade das moléculas difusas no lipídio, quanto a solubilidade na membrana fazem-se importantes nesse processo (Luo, Zheng et al. 2007).

Tendo em vista a importância de se obter informações a respeito da lipofilicidade e hidroflicidade de novos compostos candidatos a fármacos, o log P de todos os derivados sintetizados foi obtido através do *softwares chemdraw* e *osisris* (disponível para download no site <http://www.organic-chemistry.org/prog/>) e *online* no site <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>, os resultados estão apresentados na **Tabela 7** (página 125).

Através dos dados apresentados na **Tabela 7**, podemos observar que a série **5a-f** apresenta os melhores valores de log P (3,23 – 4,22), segundo a “regra dos 5” de Lipinski (Lipinski, Lombardo et al. 2001), que afirma que para um composto ter uma solubilidade e permeabilidade satisfatória, deve ter log P inferior ou igual a 5. Este melhor resultado pode ser atribuído ao fato de a série apresentar a menor massa molecular e maior de doadores de ligação de hidrogênio (**Tabela 8** (página 126) o que confere um caráter mais hidrofílico a estas moléculas.

Em contrapartida, a série **6a-e** foi a que apresentou valores mais elevados de log P (6,44 – 7,28), e portanto é a que está mais em desacordo com a regra dos 5” (Lipinski, Lombardo et al. 2001). Mesmo apresentando uma massa molar menor que a da série **7a-e** (**Tabela 8**), os derivados **6a-e** apresentam um valor de log P superior devido à presença de um aceptor de ligação de hidrogênio a menos (**Tabela 8**), uma vez que na estrutura daqueles compostos está presente uma metoxila (aceptor de ligação de hidrogênio) na posição 4 do substituinte fenila ligado ao anel tiazol, fornecendo assim um caráter levemente mais hidrofílico.

**Tabela 7:** Valores de log P obtidos através de softwares chemdraw (a), osiris (b) e online (c).

Estrutura	composto	log P (a)	log P (b)	log P (c)	Média
 <p><b>4a-f</b></p> <p>a-R= R'= Cl, b-R= CH<sub>3</sub>, R'= H; c-R= OCH<sub>3</sub>, R'= H; d-R= NO<sub>2</sub>, R'= H; e-R= F, R'=H; f-R= Br, R'= H</p>	4.a	5,44	6,65	6,52	6,20
	4.b	5,37	5,78	5,69	5,61
	4.c	4,75	5,36	5,30	5,13
	4.d	4,18	4,51	5,20	4,63
	4.e	5,04	5,53	5,40	5,35
	4.f	5,71	6,16	6,05	5,97
 <p><b>5a-f</b></p> <p>a-R= H; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F f-R= Br</p>	5.a	3,16	3,32	3,36	3,28
	5.b	3,65	3,66	3,81	3,70
	5.c	3,03	3,24	3,42	3,23
	5.d	3,72	3,92	4,04	3,89
	5.e	3,72	3,42	3,52	3,55
	5.f	3,99	4,04	4,17	4,06
 <p><b>6a-e</b></p> <p>a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F</p>	6.a	7,53	7,53	6,78	7,28
	6.b	7,19	7,16	6,42	6,92
	6.c	6,57	6,74	6,02	6,44
	6.d	7,26	7,42	6,64	7,10
	6.e	6,86	6,91	6,13	6,63
 <p><b>7a-e</b></p> <p>a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F</p>	7.a	7,40	7,47	6,83	7,23
	7.b	7,06	7,09	6,47	6,87
	7.c	6,45	6,67	6,08	6,40
	7.d	7,13	7,35	6,70	7,06
	7.e	6,73	7,47	6,19	6,79

a- Dados obtidos a partir do software chemdraw

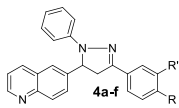
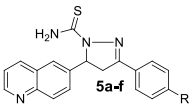
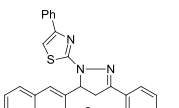
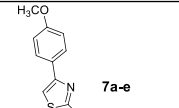
b- Dados obtidos a partir do software osiris

c- Dados obtidos a partir do site <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>

Analisando um resultados descritos nas **tabelas 7 e 8**, observa-se claramente uma tendência para compostos da mesma série. Fica evidente a diminuição dos valores de log P, e por conseguinte, da hidrofobicidade com o aumento no número de aceptores de ligação do hidrogênio. Porém temos um aumento nos valores com o aumento da

massa molar. Com isso, para a série **4a-f**, por exemplo, o derivado **4d** é o mais hidrofílico ( $\log P = 4,63$ ), este que apresenta seis aceptores de ligação de hidrogênio, enquanto o composto **4c**, que apresenta quatro aceptores de ligação de hidrogênio é o segundo mais hidrofílico ( $\log P = 5,13$ ). Para o restante da série, (composto **4a, b, e, f**) todos apresentam apenas três aceptores de ligação de hidrogênio e são os que apresentam os maiores valores de  $\log P$  ( $5,13 - 6,20$ ).

**Tabela 8:** Massa molar, e número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio dos compostos sintetizados

Estrutura	composto	Massa molar $\text{g.mol}^{-1}$	D. de ligação de H	A. de ligação de H	Log P Médio
 <p><b>4a-f</b></p> <p>a-R= R'= Cl; b-R= CH<sub>3</sub>, R'= H; c-R= OCH<sub>3</sub>, R'= H; d-R= NO<sub>2</sub>, R'= H; e-R= F, R'=H; f-R= Br, R'= H</p>	4a	418,326	0	3	6,20
	4b	363,463	0	3	5,61
	4c	379,462	0	4	5,13
	4d	394,433	0	6	4,63
	4e	367,426	0	3	5,35
	4f	428,332	0	3	5,97
 <p><b>5a-f</b></p> <p>a-R= H; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F; f-R= Br</p>	5a	332,430	1	5	3,28
	5b	346,457	1	5	3,70
	5c	362,456	1	6	3,23
	5d	366,875	1	5	3,89
	5e	350,420	1	5	3,55
	5f	411,326	1	5	4,06
 <p><b>6a-e</b></p> <p>a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= CH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F</p>	6a	511,446	0	5	7,28
	6b	446,577	0	5	6,92
	6c	462,576	0	6	6,44
	6d	466,995	0	5	7,10
	6e	450,540	0	5	6,63
 <p><b>7a-e</b></p> <p>a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= CH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F</p>	7a	541,472	0	6	7,23
	7b	476,603	0	6	6,87
	7c	492,602	0	7	6,40
	7d	497,050	0	6	7,06
	7e	480,566	0	6	6,79

\*O  $\log P$  médio foi calculado através da média dos três valores apresentados na tabela 17.



Outro fator importante a ser comparado, são compostos de séries diferentes que apresentam o mesmo número de aceptores de ligação de hidrogênio, porém, massas distintas. Tomamos como exemplo para este caso os compostos **4d** e **6c**, ambos apresentam seis aceptores de ligação de hidrogênio, mas o composto **6c** apresentam massa molar cerca de  $68 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  maior que o **4d**. O resultado que temos, é que mesmo possuindo o mesmo número de sítios aceptores de ligação de hidrogênio, o composto de maior massa (e maior volume) apresenta uma lipofilicidade significativamente maior ( $\log P = 6,44$ ) que o composto de massa molecular menor (e menor volume) ( $\log P = 4,63$ ).

Com as constatações descritas nos parágrafos acima, foi possível tirar algumas conclusões, tais como:

- O número de sítios doadores de ligação é o fator mais importante para o aumento da hidrofiliicidade;
- Dentro de uma mesma série, o número de sítios aceptores de ligação de hidrogênio é determinante para o aumento da hidrofiliicidade;
- Em compostos de séries diferentes, que apresentam o mesmo número de sítios aceptores de ligação de hidrogênio o  $\log P$  tende a ser menor para o composto que apresentam menor massa e volume.

### **5.5.3. Ensaio de permeabilidade em membrana artificial paralela aparente (PAMPA)**

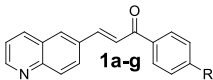
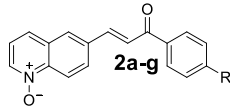
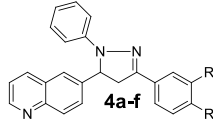
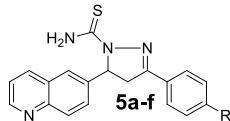
Conforme discutido anteriormente, propriedades farmacocinéticas inapropriadas tem sido a principal causa de rejeição de novos candidatos a fármacos. O primeiro critério que uma molécula deve preencher para alcançar seu sítio ativo é a absorção, visto que, para chegar a um tecido específico ela geralmente deve ser carregada pela corrente sanguínea. Fatores como baixa solubilidade, tempo de trânsito intestinal, instabilidade química no estômago, e inabilidade de transpor a parede gastrointestinal podem reduzir a extensão com que o fármaco é absorvido após a administração oral (Bujard, Petit et al. 2017).

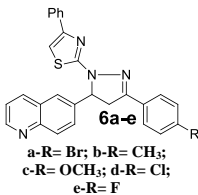
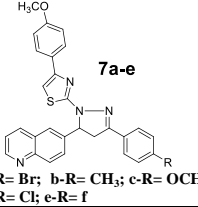
O ensaio de Permeabilidade Aparente em Membrana Paralela Artificial (PAMPA), ajuda na predição da absorção passiva ou ativa através da parede gastrointestinal, que é a principal rota usada para tratamentos farmacológicos. A técnica PAMPA, também pode ser usada para predizer o transporte passivo através da barreira hematoencefálica,

camada epitelial e outras barreiras biológicas. A principal diferença entre cada ensaio, está na natureza da membrana artificial utilizada durante o experimento (Bujard, Petit et al. 2017).

Os ensaios de permeabilidade foram realizados com a colaboração da doutora Dalila Venzke e dos doutorandos Ana Paula Ruani e Tiago Tizziani, sendo que os resultados obtidos estão expressos na **Tabela 9**:

**Tabela 9:** Resultados referentes ao ensaio de permeabilidade (PAMPA).

Estrutura	Composto	Permeabilidade ( $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ )	Retenção na Membrana (%)
 <p><b>1a-g</b> a-R= H; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= NO<sub>2</sub>; e-R= F; f-R= Br; g-R= Cl</p>	<b>1a</b>	$7,86 \times 10^{-6}$	21,81
	<b>1b</b>	$7,38 \times 10^{-6}$	15,67
	<b>1d</b>	$8,01 \times 10^{-6}$	13,37
	<b>1e</b>	$7,23 \times 10^{-6}$	28,23
	<b>1f</b>	$6,90 \times 10^{-6}$	29,42
	<b>1g</b>	$5,40 \times 10^{-6}$	40,63
	 <p><b>2a-g</b> a-R= H; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= NO<sub>2</sub>; e-R= F; f-R= Br; g-R= Cl</p>	<b>2a</b>	$2,32 \times 10^{-6}$
<b>2b</b>		$4,16 \times 10^{-6}$	27,14
<b>2e</b>		$2,87 \times 10^{-6}$	8,48
<b>2f</b>		$3,15 \times 10^{-6}$	8,29
 <p><b>4a-f</b> a-R= R<sup>1</sup>= Cl; b-R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= H; c-R= OCH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= H; d-R= NO<sub>2</sub>, R<sup>1</sup>= H; e-R= F, R<sup>1</sup>=H; f-R= Br, R<sup>1</sup>= H</p>	<b>4a</b>	$4,68 \times 10^{-7}$	73,41
	<b>4b</b>	$1,84 \times 10^{-6}$	55,92
	<b>4c</b>	$5,99 \times 10^{-6}$	31,83
	<b>4d</b>	$5,78 \times 10^{-6}$	35,55
	<b>4e</b>	$4,02 \times 10^{-6}$	45,51
	<b>4f</b>	$1,91 \times 10^{-6}$	64,40
 <p><b>5a-f</b> a-R= H; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl; e-R= F; f-R= Br</p>	<b>5a</b>	$5,37 \times 10^{-7}$	4,78
	<b>5b</b>	$1,17 \times 10^{-6}$	16,64
	<b>5c</b>	$3,90 \times 10^{-7}$	12,42
	<b>5d</b>	$1,15 \times 10^{-6}$	6,01
	<b>5e</b>	$1,16 \times 10^{-6}$	23,29
	<b>5f</b>	$8,88 \times 10^{-7}$	18,79

 <p><b>6a-e</b>  a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>;  c-R= OCH<sub>3</sub>; d-R= Cl;  e-R= F</p>	<b>6a</b>	$1,23 \times 10^{-6}$	60,48
	<b>6b</b>	$1,90 \times 10^{-6}$	3,42
	<b>6c</b>	n.a.	n.a.
	<b>6d</b>	$8,01 \times 10^{-7}$	22,17
	<b>6e</b>	$1,59 \times 10^{-6}$	2,35
 <p><b>7a-e</b>  a-R= Br; b-R= CH<sub>3</sub>; c-R= OCH<sub>3</sub>;  d-R= Cl; e-R= f</p>	<b>7a</b>	$3,83 \times 10^{-6}$	0,00
	<b>7b</b>	$1,96 \times 10^{-5}$	27,21
	<b>7c</b>	$4,29 \times 10^{-6}$	60,29
	<b>7d</b>	$8,10 \times 10^{-7}$	7,01
	<b>7e</b>	$7,21 \times 10^{-6}$	0,00
n.a.: não avaliado			

Analisando os resultados do ensaio de permeabilidade apresentados na **Tabela 9**, observa-se que, dentre todas as séries sintetizadas, a que apresentou maior permeabilidade em membrana artificial que mimetiza a barreira gastrointestinal, foi a série **1a-g**, representada pelos derivados de 6-quinolinil chalconas. Os valores ficaram entre  $8,01 \times 10^{-6}$  e  $5,40 \times 10^{-6}$  cm.s<sup>-1</sup>. A maior permeabilidade dentro desta série, é apresentada pelo composto que possui como substituinte um grupo nitro (NO<sub>2</sub>), um forte retirador de elétrons. Em contrapartida, os menores valores de permeabilidade ficaram por conta dos compostos que apresentam átomos de halogênio como substituintes, mais especificamente, Cl, Br e F, respectivamente.

Um fato que chamou bastante atenção ao observar os resultados expressos na **Tabela 9**, foi a diminuição nos valores de permeabilidade apresentados pelos derivados de 6-quinolinil N-óxido chalconas **2a-g**, em relação aos derivados **1a-f**. Analisando as estruturas das moléculas referentes a estas duas séries, percebe-se que a única diferença está na oxidação do átomo de nitrogênio do anel quinolínico, o que acarreta na formação de cargas. Possivelmente, estas cargas fazem com que a lipofilicidade dos derivados **2a-g** diminua, o que dificulta a interação com a membrana mimetizada neste ensaio. Vale ressaltar também, que muitas vezes substâncias iônicas precisam se complexar a proteínas afim de facilitar o seu transporte através da membrana celular.

Dentre os compostos inéditos (séries **4**, **5**, **6** e **7**), os derivados **7a-e** foram os mais capazes de atravessar a membrana mimética. Sendo o derivado que contém um substituinte metil (CH<sub>3</sub>), um grupo capaz de doar elétrons de forma indutiva, o que apresentou o melhor resultado

( $1,96 \times 10^{-5} \text{ cm.s}^{-1}$ ). Inclusive, foi o mais permeável dentre todos os compostos analisados.

Para a série **4a-f**, os melhores resultados ficaram por conta dos compostos que apresentam os substituintes metóxi ( $\text{OCH}_3$ ) e nitro ( $\text{NO}_2$ ), respectivamente. Em comum, estes dois substituintes apresentam o fato de atuarem principalmente de forma ressonante na configuração eletrônica da molécula, o primeiro como doador e o segundo como retirador de elétrons. Isto nos mostra que, além do tamanho e lipofilicidade, a conjugação do sistema eletrônico, também influencia diretamente na permeabilidade destas moléculas.

Na sequência, os melhores resultados foram apresentados pelas séries **5a-f** e **6a-e**, respectivamente. Para estes compostos pode-se observar uma tendência, onde para as duas séries, os compostos que apresentam um substituinte metil ( $\text{CH}_3$ ) apresentam a maior permeabilidade. E dentre os compostos com um substituinte halogênio, o que apresenta um átomo de flúor, é o mais permeável.

## 5.6. Ensaio Antifúngico

As terapias antifúngicas disponíveis atualmente apresentam sérios inconvenientes, principalmente no que diz respeito a toxicidade para células humanas e efeitos colaterais. Devido aos fármacos utilizados para tratar micoses, não serem sempre seletivos contra um tipo específico de fungo, tem acontecido um significativo aumento na resistência dos mesmos aos tradicionais medicamentos antifúngicos utilizados. Esse aumento na razão da resistência antimicrobiana, pode também, ser um resultado da longa exposição ao fármaco ou seleção de cepas com mecanismo de resistência intrínseca. Portanto, o desenvolvimento de novas estratégias para minimizar os efeitos tóxicos dos antifúngicos atualmente disponíveis e melhorar sua efetividade tem sido fortemente encorajado (Sardi, Gullo et al. 2016).

Visto a necessidade de estudos que busquem novos agentes antifúngicos visando terapias que oferecem maior efetividade e menores efeitos colaterais, os compostos sintetizados foram submetidos a ensaios *in vitro* com a finalidade de avaliar o potencial antimicrobiano das moléculas testadas.

Os ensaios foram realizados em parceria com a professora Dr. Susana Johann do laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, e a graduanda Larissa Finamore.

Os compostos foram avaliados quanto ao percentual de inibição frente a sete diferentes leveduras, a concentração dos compostos no teste foi de 250 µg/mL. Os fungos avaliados foram: *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*.

No referido ensaio antifúngico, os compostos que apresentam percentual de inibição maior ou igual a 70% foram considerados ativos e posteriormente avaliados para determinação da concentração inibitória mínima. Analisando os resultados apresentados na **Tabela 10** (página 132), pode-se observar que apenas quatro compostos mostraram-se ativos: **5f** com um percentual de inibição de 76,1 % frente ao *Cryptococcus gattii*, **4c** e **6b** foram ativos frente a *Cryptococcus neoformans* com um percentual de inibição de 77,4 e 79,3 % respectivamente, e **6a** apresentou uma inibição de 71,7 % para o *Candida krusei* (os resultados considerados promissores estão expressos na cor vermelha na **Tabela 10**, página 132).

Ainda, segundo os dados da **Tabela 10**, os compostos **4c** e **6c** mostraram-se mais ativos frente ao *Cryptococcus neoformans*. Além disso todos os derivados **7a-e** mostraram algum percentual de inibição do crescimento desta levedura. Já para os compostos **4a-f** e **6a-e**, além de cada série apresentar um composto com percentual de inibição superior a 70 %, apenas dois derivados (um de cada série) não apresentaram nenhuma atividade frente ao ensaio realizado.

**Tabela 10:** Resultado do ensaio do percentual de inibição de crescimento, com as substâncias testadas na concentração de 250 µg/mL.

Levedura/ substancia	C. <i>gattii</i>	C. <i>neo</i>	C. <i>albicans</i>	C. <i>tropicalis</i>	C. <i>glabrata</i>	C. <i>parapsilosis</i>	C. <i>krusei</i>
4.a	0	5,1	0	0	0	0	0
4.b	29	0	9	0	17,1	11,6	0
4.c	57,2	77,4	0	0	0	0	0
4.d	42,7	18,2	0	0	9,8	0	0
4.e	58,5	42,9	0	0	0	0	0
4.f	60,9	23,4	0	0	35,4	0	0
5.a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
5.b	0	0	0	0	0	0	0
5.c	36	0	0	0	7,3	0	0
5.d	0	0	0	0	0	0	10
5.e	13,9	0	0	33,4	7,5	0	0
5.f	76,1	55,6	0	0	0	0	0
6.a	0	69,7	2,3	0	0	0	71,7
6.b	30,8	79,3	2,5	0	0	0	55,2
6.c	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
6.d	0	20,5	0	0	0	0	0
6.e	0	0	0	0	0	0	47,1
7.a	0	69,5	0	0	0	0	44,5
7.b	0	64	0	19,1	0	0	27,9
7.c	0	38,2	0	0	0	0	46,9
7.d	0	53	0	7,3	0	0	0
7.e	0	7,7	0	0,5	0	0	25,7

n.a.- não avaliados

### 5.6.1. Atividade antifúngica de 6-quinolinil N-óxido chalconas 2a-g contra *Paracoccidioides*

Os fungos pertencentes ao gênero *Paracoccidioides* são os agentes causadores da *paracoccidioidomycosis* (PCM). O tratamento desta enfermidade é geralmente prolongado (entre 1 e 2 anos), e na ausência de terapia a PCM é fatal. Ainda assim, mesmo após o tratamento com antifúngicos, não se tem a total segurança da ausência dos fungos. Isso nos leva à necessidade de novos agentes antifúngicos seguros e eficazes (de Sá, Cisalpino et al. 2015).

Um trabalho publicado anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa (de Carvalho Tavares, Johann et al. 2011), mostra que os derivados de 6-quinolinil N-óxido chalcona (**2a-g**) apresentaram boa atividade *in vitro* contra o fungo patogênico *Paracoccidioides brasiliensis* (**Tabela 4**, página 103) sendo os compostos **2c** e **2e** os mais

ativos, com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 15,60 e 1,90  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectivamente. Tendo em vista estes bons resultados, os referidos derivados foram submetidos ao ensaio *in vivo* contra o mesmo fungo, e os resultados foram publicados no *Journal of Antimicrobial Chemoterapy* (de Sá, Cisalpino et al. 2015).

Para este estudo, foram utilizados 14 cepas isoladas do fungo *P. brasiliensis* e 3 do *Paracoccidioides lutzii*, membros de uma coleção da Universidade Federal de Minas Gerais. Os animais utilizados foram ratos, machos, com quatro a seis semanas de idade, e foram obtidos do biotério do Centro de Pesquisas René Rachou (Belo Horizonte). O modelo de teste em animais foi conduzido em acordo com o Comitê de Ética para Experimentação com Animal (CETEA/UFMG), protocolo número 100/2010.

No tratamento experimental, um total de 25 ratos foram divididos em 5 grupos de 5, onde nos grupos 1, 2, e 3, os animais foram infectados e tratados com os compostos **2c**, **2e** ou itraconazol, respectivamente. Grupo 4, os ratos foram infectados, porém, não tratados (controle positivo). E no grupo 5, os animais não foram infectados, porém, receberam o tratamento (controle negativo). A infecção dos animais se deu via intratraqueal, os ratos foram tratados através de injeção intraperitoneal de **2c**, **2e** ou itraconazol por duas semanas após a infecção sendo que para todos os casos a dose usada foi de 5 mg/Kg de massa corporal do animal por dia. O experimento foi feito em triplicata.

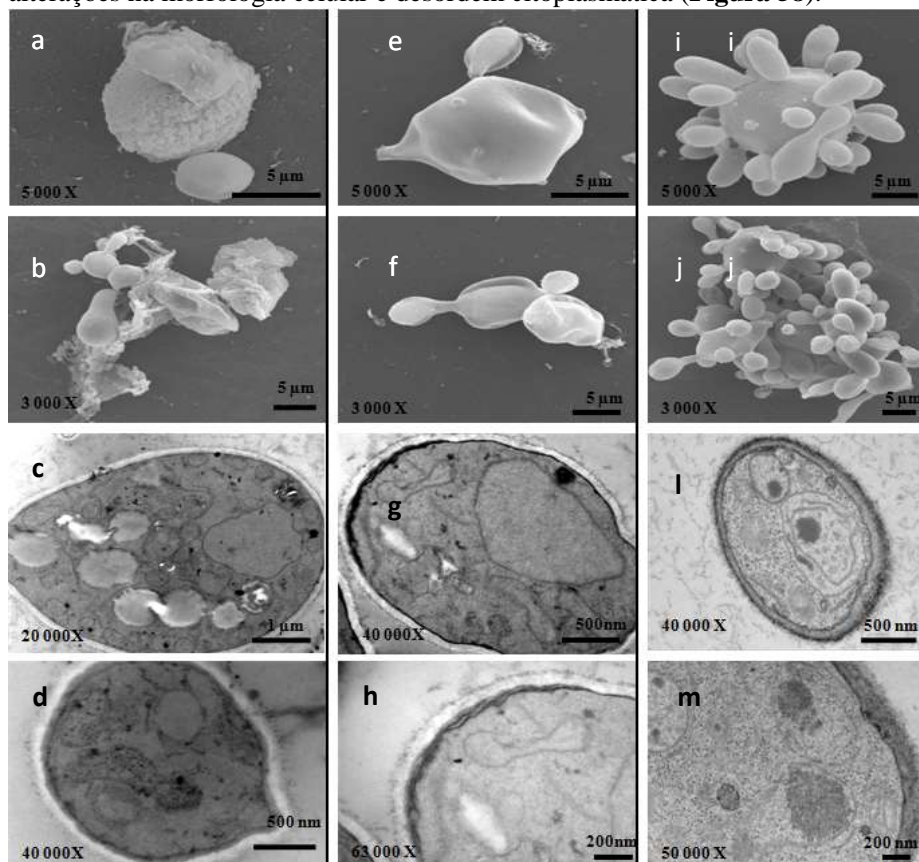
Afim de investigar um potencial efeito toxicológico, os ratos não infectados foram tratados com 5 e 15 mg/Kg ao dia de **2c** e **2e** durante 15 dias. A aparência, peso dos animais, e tecido histopatológico do fígado foram analisados.

Como resultado, os valores de CIM<sub>50</sub> e CIM<sub>90</sub> foram 7,8 e 23,4 mg/L, para o composto **2c**; 7,8 e 10,4 mg/L para o composto **2e**; 0,007 e 0,062 mg/L para o itraconazol; e 11,7 e 150 mg/L para o sulfametoxazol/trimetoprim, respectivamente. As diferenças nos valores de CIM dos compostos testados, anfotericina B, itraconazol e sulfametoxazol/ trimetoprim foram estatisticamente significantes ( $P > 0,05$ ).

Com respeito à CFM (concentração fungicida mínima), foi encontrado que este valor coincide com a CIM ou 2 x CIM. Foi verificado ainda, que os compostos **2c** e **2e** reduziram em 70 % o número de células viáveis nas primeiras 100 horas de incubação.

No teste realizado com o fungo Pb18, para avaliar a interação entre as substâncias experimentais com a anfotericina B, itraconazol e

sulfametoxazol/ trimetoprim, nenhuma interação foi observada. Através da análise por microscopia eletrônica de varredura foi possível observar como os compostos testados afetam as células das leveduras. O tratamento com a substância **2c** causou descamação do envelope celular e algumas células mostraram vazamento do conteúdo citoplasmático, retração da membrana citoplasmática, muitos vacúolos e desordem no citoplasma. No tratamento com o composto **2e** foi observado algumas células murchas, e rompidas, além de dobras na membrana plasmática alterações na morfologia celular e desordem citoplasmática (**Figura 58**).



**Figura 58:** Leveduras de *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18) foram tratadas com os compostos **2c** e **2e** em concentrações subinibitórias (1,95 e 3,9 mg/L, respectivamente). (a) célula estourada, com vazamento do conteúdo celular; (b) uma célula com escamação do

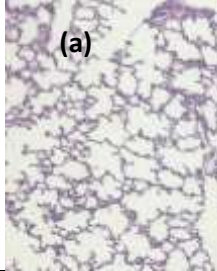
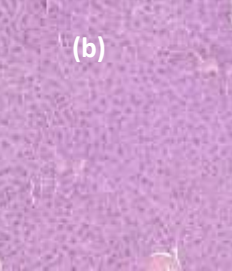
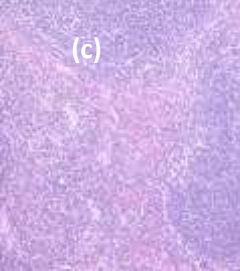
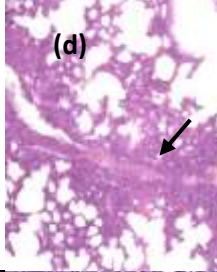
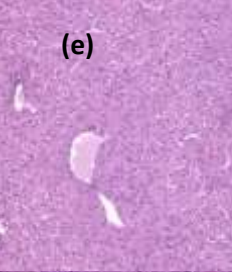
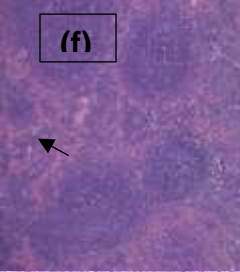
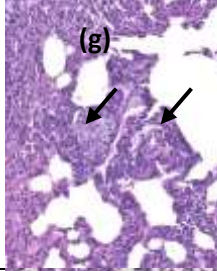
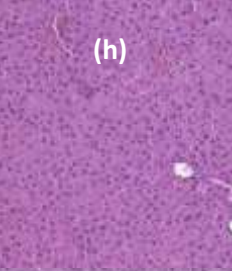
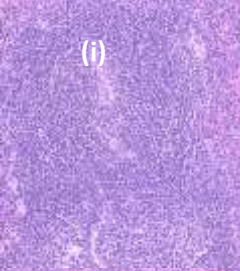
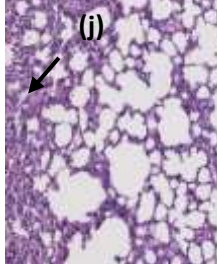
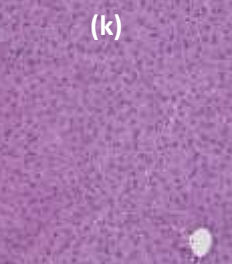
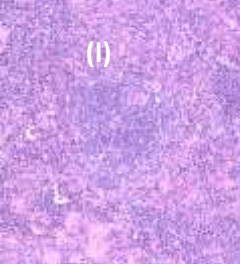


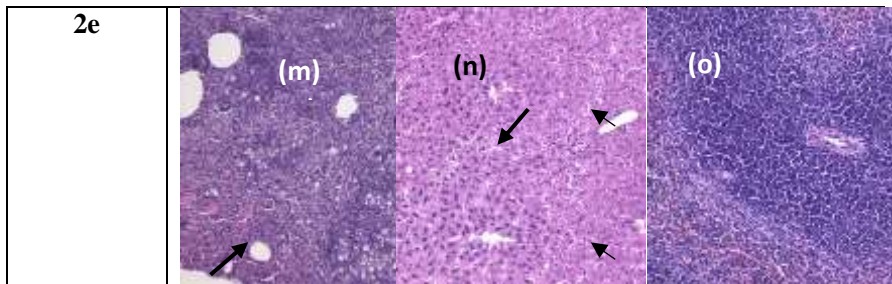
envelope celular. **(c)** e **(d)** Uma célula com muitos vacúolos e desorganização citoplasmática, e uma célula com retração da membrana citoplasmática. **(e)** e **(f)** células flácidas, extravazamento celular e conteúdo celular. **(g)** e **(h)** Uma célula com morfologia alterada e um citoplasma desorganizado e células com regiões anormais da membrana celular. **(i)** e **(j)** Controle. **(k)** e **(l)** O grupo controle com células binucleadas, com vacúolos, membrana citoplasmática. **(m)** parede celular externa com citoplasma granular.

Foi realizado também o ensaio para averiguar unidades formadoras de colônia (UFC), para este, foram recuperadas células dos pulmões. A análise de UFC mostrou uma significativa diminuição no número de células de fungos das células recuperadas do pulmão dos animais tratados com itraconazol ou os compostos **2c** e **2e** quando comparados com o controle positivo. Apesar de diferenças observadas entre os três tratamentos (**2c**, **2e** e itraconazol), elas não foram estatisticamente significantes. Isto aponta para similaridade na eficácia dos três tratamentos sob as condições avaliadas. Os pulmões de animais infectados que não receberam nenhum tratamento mostraram múltiplos focos de inflamação granulomatosa epiteloide pulmonar e inicial fibrose pulmonar. Os pulmões de animais tratados com **2c** mostraram poucas áreas contendo infiltrados inflamatórios e muitas áreas do tecido preservado. Os pulmões de animais tratados com o composto **2e** mostrou excessiva infiltração e granulomas. Animais tratados com itraconazol exibiram um acúmulo de infiltrados inflamatórios e alguns granulomas. Com relação ao fígado, animais que foram tratados com itraconazol e o composto **2c** não mostraram nenhuma mudança morfológica visível, porém no caso do grupo tratado com o composto **2e** extensas áreas de micosteatose e degeneração hidrópica foi observado, similarmente ao apresentado para os animais que não receberam tratamento. O baço também não mostrou mudanças patológicas (**Figura 59**).

O exame histopatológico revelou que o processo inflamatório do fígado de animais infectados porém não tratados (controle positivo) foi maior que em grupos que receberam tratamento com itraconazol e o composto **2c**. O exame para o composto **2c** mostrou uma significativa diferença comparada com animais não tratados. Apenas os pulmões de animais que receberam o tratamento com a 6-quinolinil N-óxido chalcona **2c** mostrou um exame patológico com diferenças significantes na inflamação comparada com animais controle. A aparência, peso e tecido histopatológico de fígados de animais tratados com ambos

compostos testados foram bastante similar ao grupo controle, sugerindo uma falta de efeitos tóxicos evidentes.

Grupo	Pulmão	Fígado	Baço
Controle (não infectado)	 (a)	 (b)	 (c)
Controle (Infectado)	 (d)	 (e)	 (f)
Itraconazol	 (g)	 (h)	 (i)
2c	 (j)	 (k)	 (l)



**Figura 59:** Histopatologia de pulmões, fígado e baço de ratos infectados com *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb18) (controle infectado) e tratado com 2c, 2e, e itraconazol (ITRA) comparado com o controle não infectado. (a) Parênquima pulmonar sem alterações; (b) fígados sem alterações; (c) Baço normal; (d) Pulmão com infiltrados inflamatórios na parênquima e fibrose pulmonar inicial (setas); (e) Fígado com degeneração hidrópica (áreas claras ao redor dos núcleos hepatócitos-setas); (f) Baço sem alterações visíveis; (g) Pulmão com inflamação local (seta); (h) fígado normal; (i) baço normal; (j) Parênquima pulmonar com áreas de inflamação preservadas e leves (seta); (k) fígado normal; (l) Baço normal; (m) pulmão com intensa inflamação e excesso de granuloma (seta); (n) fígado com degeneração hidrópica (seta); (o) Baço normal.

Este estudo mostrou que as 6-quinolinil N-óxido chalconas **2c** e **2e** são capazes de matar fungos do gênero *Paracoccidioides* *in vivo*. Em leveduras tratadas com os referidos compostos, foi encontrada desordem na membrana plasmática e citoplasma bem como na morfologia abdominal. Animais tratados com **2c** e **2e** mostraram significativa redução no número de UFC recuperada de pulmões quando comparadas com o controle positivo que não recebeu tratamento. Nos animais, esta atividade não foi significativamente diferente em animais tratados com itraconazol, um fármaco usado no tratamento da PCM humana. A análise histopatológica e exame de progressão da doença em ratos mostrou que o composto **2c** foi mais eficaz no controle da inflamação e resolveu a infecção com melhores resultados que o tratamento com itraconazol e **2e**. Em resumo, os resultados mostraram grande potencial terapêutico para o composto **2c**, devido a sua importante atividade antifúngica, sem formação de granuloma e com preservação do tecido dos pulmões.

Devido a potente atividade antifúngica de **2c** ( $CIM_{50} = 7,8$  mg/mL e  $CIM_{90} 10,4$  mg/mL), novos estudos estão sendo conduzidos, a fim melhor avaliar a eficiência e toxicidade deste potencial candidato a fármaco.

### 5.7. Ensaio de Inibição da Enzima Acetilcolinesterase

A Doença de Alzheimer (DA) é a desordem degenerativa mais comum entre a população de todo o planeta, sendo a sexta principal causa de morte nos Estados Unidos da América. Aproximadamente 5 milhões de americanos com mais de 65 anos foram diagnosticados com DA em 2010. Com a expectativa de vida crescendo nos EUA, estima-se que em 2050, 13,8 milhões de idosos apresentem este distúrbio (Yacoubian 2017).

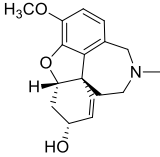
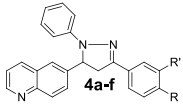
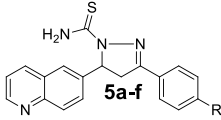
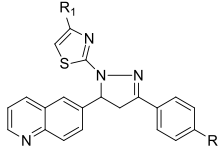
Atualmente, nenhum tratamento disponível para doenças neurodegenerativas é totalmente eficaz. Porém, em muitos casos, as terapias disponíveis fazem uma grande diferença na qualidade de vida dos pacientes. No caso da Doença de Alzheimer as opções de tratamento são bastante limitadas, sendo que, os inibidores da enzima acetilcolinesterase e memantina tem mostrado tratar o distúrbio cognitivo (Yacoubian 2017), tanto que dos cinco fármacos disponíveis no mercado para tratar a DA, quatro agem inibindo a enzima acetilcolinesterase, aumentando assim, o nível do neurotransmissor acetilcolina nas sinapses nervosas (Ni, Sun et al. 2017), que apresenta uma importante função no que diz respeito ao aprendizado e memória.

Compostos isolados de produtos naturais, derivados semi-sintéticos e sintéticos baseados em um modelo natural que atuam como inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) tem potencial de uso no tratamento de neuropatias degenerativas, como Doença de Alzheimer e Parkinson, bem como outras desordens relativas à transmissão colinérgica como miastenia gravis, paralisias musculares causadas por agentes químicos, intoxicação por escopolamina e outras patologias associadas à perda de memória.

Sendo assim, a investigação da atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase, torna-se uma ferramenta importante no descobrimento de novas moléculas capazes de tratar o Alzheimer, uma doença extremamente séria, que tem vitimado milhões de pessoas ao redor do planeta.

Neste trabalho, foi investigada a atividade acetilcolinesterásica dos compostos **4a-f**, **5b-f**, **6b**, **6e** e **7d**, os resultados serão apresentados a seguir (**Tabela 11**).

**Tabela 11:** resultado do ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase

Estrutura	Composto	Inibição da AchE [IC <sub>50</sub> μM]	
	<b>Galantamina</b>	17,05 ± 0,21	
 <b>4a-f</b>	<b>4a</b>	21,42 ± 0,45	
	<b>4b</b>	22,45 ± 0,33	
	<b>4c</b>	22,50 ± 0,15	
	<b>4d</b>	29,17 ± 0,11	
	<b>4e</b>	21,40 ± 0,24	
	<b>4f</b>	21,37 ± 0,29	
a-R= R'= Cl, b-R= CH <sub>3</sub> , R'= H; c-R= OCH <sub>3</sub> , R'= H; d-R= NO <sub>2</sub> , R'= H; e-R= F, R'=H; f-R= Br, R'= H	<b>5b</b>	28,80 ± 0,90	
 <b>5a-f</b>	<b>5c</b>	28,50 ± 0,08	
	<b>5d</b>	27,00 ± 0,06	
	<b>5e</b>	27,10 ± 0,18	
	<b>5f</b>	26,75 ± 0,03	
	a-R= H; b-R= CH <sub>3</sub> ; c-R= OCH <sub>3</sub> ; d-R= Cl; e-R= F; f-R= Br	<b>6b</b>	13,55 ± 0,28
	 <b>6b-R<sub>1</sub>=Ph, R=CH<sub>3</sub></b> <b>6e-R<sub>1</sub>=Ph, R=F</b> <b>7c-R<sub>1</sub>=4-OCH<sub>3</sub>, R=OCH<sub>3</sub></b>	<b>6e</b>	12,23 ± 0,11
<b>7c</b>		14,67 ± 0,09	

Analisando os resultados expressos na **Tabela 11** observa-se que de forma geral os compostos avaliados apresentaram bons valores de inibição de 50 % da atividade enzimática (IC<sub>50</sub> = 12,23 e 29,17 μM).

A respeito dos derivados **4a-f** e **5a-f**, observa-se que os resultados foram bastante semelhantes, porém com leve vantagem para série **4a-f**, onde os valores de IC<sub>50</sub> ficaram entre 21,37 – 29,17 μM. Já

para os derivados **5a-f** os valores ficaram entre 26,75 - 28,80  $\mu\text{M}$ . Observando a estrutura dos compostos das referidas séries, percebe-se que a única diferença entre elas, está no grupo ligado ao átomo de nitrogênio da pirazolina. Sendo assim, acredita-se que fatores como volume molecular e hidrofobicidade estão diretamente relacionados à inibição desta enzima. Uma vez que, a série **4a-f** que possui um anel aromático ligado ao átomo de nitrogênio do anel pirazolina, o que confere maior volume e hidrofobicidade, apresentou melhores resultados do que a série **5a-f**.

Com relação aos derivados **6b**, **6e** e **7c**, nota-se que estes apresentaram os melhores resultados, inclusive com valores de  $\text{IC}_{50}$  (13,55, 12,23 e 14,67  $\mu\text{M}$ , respectivamente) inferiores ao apresentado pelo padrão utilizado nos testes, a galantamina (17,05  $\mu\text{M}$ ). Isto, novamente nos leva a crêr que o volume molecular e a lipofilicidade influenciam diretamente nos resultados, uma vez que estas moléculas são as que apresentam maior lipofilicidade e volume dentre todos os compostos analisados.

Como perspectivas futuras, serão realizados os ensaios de cinética enzimática. Caso o mecanismo de inibição seja por competição, serão feitas correlações quantitativas (QSAR) e os compostos serão submetidos à docagem molecular (*docking*).

## 6. Considerações Finais

Neste trabalho foi realizada a síntese de novos derivados quinolínicos contendo o núcleo 4,5-di-hidropirazol e tiazol. Os compostos sintetizados foram avaliados quanto ao potencial antifúngico, e inibidor da enzima acetilcolinesterase. Além disso, foram realizados ensaios afim de investigar as propriedades relacionadas ao processo ADME (administração, distribuição, metabolismo e excreção), para tal foi realizado o ensaio do PAMPA, e o log P de todos os compostos sintetizados foram calculados com o auxílio de softwares.

➤ *Quanto a síntese dos compostos:*

No total foram sintetizados 29 compostos, dos quais, 22 que apresentam os núcleos pirazol e/ou tiazol, são inéditos. A metodologia selecionada para a síntese dos compostos mostrou-se bastante eficaz, com os rendimentos variando entre 62 – 83%. Através do uso da energia ultrassônica foi possível obter os compostos em menor tempo e maior rendimento, em comparação com o aquecimento convencional.

As técnicas de purificação utilizadas foram bastante eficientes, possibilitando obter os compostos em elevado grau de pureza. Para a identificação dos compostos foram obtidos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT, infravermelho e massas de alta resolução (ESI-Q-TOFMS), o qual nos possibilitou com clareza a confirmação das estruturas.

➤ *Quanto a atividade antifúngica:*

Os novos compostos obtidos foram avaliados contra sete diferentes cepas de fungos, *Cryptococcus gattii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, na concentração de 250  $\mu\text{g/mL}$ .

Dentre os compostos analisados, apenas 4 mostraram percentual de inibição superior a 70 % (percentual no qual o composto é considerado ativo). Foram estes, o composto **4c** e **6b** com um percentual de inibição de 77,4 % e 79,3 % respectivamente, frente ao fungo *Cryptococcus neoformans*, o derivado **5f** inibiu em 76,1 % o crescimento das cepas do fungo *Cryptococcus gattii*, e o composto **6a** inibiu em 71,7 % o crescimento da cepa do fungo *Candida krusei*.

Em relação aos ensaios antifúngicos *in vivo* realizados em ratos, os resultados mostraram-se bastante significantes. Os valores de MIC<sub>50</sub> e MIC<sub>90</sub> foram 7,8 e 23, mg/L, para o composto **2c**; 7.8 e 10,4 mg/L para o composto **2e**. Mostrando que os referidos compostos são capazes de

matar os fungos *in vivo*. Além disso, os resultados mostraram baixos efeitos toxicológicos, e um grande potencial, em especial, para o **2c**, devido a sua importante atividade antifúngica, sem a formação de granuloma e com preservação dos tecidos dos pulmões.

➤ *Quanto a inibição da enzima acetilcolinesterase*

O ensaio de percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase, mostrou resultados bastante satisfatórios, com resultados de  $IC_{50}$  que variam de 12 a 28  $\mu M$ . o destaque fica por conta dos compostos **6.b**, **6.e** e **7.c**, que apresentaram  $IC_{50}$  de 13,55; 12,23 e 14,67  $\mu M$  respectivamente, valores inferiores ao apresentado pela galantamina ( $IC_{50}$  17,05  $\mu M$ ), padrão utilizado nos testes.

➤ *Quanto a determinação dos parâmetros relacionados ao processo ADME*

Através do cálculo do log P através dos softwares chemdraw, osiris e pelo site <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>, foi possível obter informações importante a respeito da hidrofobicidade dos compostos. A série 5a-f foi a que mostrou-se mais hidrofílica com valores de log P na faixa de 3,28 – 4,06.

Com o ensaio do PAMPA avaliou-se a capacidade dos compostos em atravessar a membrana gastrointestinal, mimetizada nos testes pela fosfatidilcolina. Todas as moléculas analisadas foram capazes de permear a membrana, sendo o derivado **7b** o que mostrou a maior permeabilidade ( $1,96 \times 10^{-5}$ ).



## 7. Referências Bibliográficas

Abdel-Sayed, M. A., S. M. Bayomi, M. A. El-Sherbeny, N. I. Abdel-Aziz, K. E. H. ElTahir, G. S. G. Shehatou and A. A. M. Abdel-Aziz (2016). "Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, COX-1/2 inhibition activities and molecular docking study of pyrazoline derivatives." Bioorganic & Medicinal Chemistry **24**(9): 2032-2042.

Ahmad, A., A. Husain, S. A. Khan, M. Mujeeb and A. Bhandari (2016). "Synthesis, antimicrobial and antitubercular activities of some novel pyrazoline derivatives." Journal of Saudi Chemical Society **20**(5): 577-584.

Ahmad, P., H. Woo, K.-Y. Jun, A. A. Kadi, H. A. Abdel-Aziz, Y. Kwon and A. F. M. M. Rahman (2016). "Design, synthesis, topoisomerase I & II inhibitory activity, antiproliferative activity, and structure-activity relationship study of pyrazoline derivatives: An ATP-competitive human topoisomerase II $\alpha$  catalytic inhibitor." Bioorganic & Medicinal Chemistry **24**(8): 1898-1908.

Alam, M., S. A. A. Nami, M. Parveen, D.-U. Lee and S. Park (2012). "Microwave assisted synthesis and in silico screening of steroidal pyrazolines." Chinese Chemical Letters **23**(9): 1039-1042.

Altıntop, M. D., A. Özdemir, G. Turan-Zitouni, S. Ilgın, Ö. Atlı, R. Demirel and Z. A. Kaplancıklı (2015). "A novel series of thiazolyl-pyrazoline derivatives: Synthesis and evaluation of antifungal activity, cytotoxicity and genotoxicity." European Journal of Medicinal Chemistry **92**: 342-352.

Banitaba, S. H., J. Safari and S. D. Khalili (2013). "Ultrasound promoted one-pot synthesis of 2-amino-4,8-dihydropyrano[3,2-b]pyran-3-carbonitrile scaffolds in aqueous media: A complementary 'green chemistry' tool to organic synthesis." Ultrasonics Sonochemistry **20**(1): 401-407.

Bano, S., M. S. Alam, K. Javed, M. Dudeja, A. K. Das and A. Dhulap (2015). "Synthesis, biological evaluation and molecular docking of some substituted pyrazolines and isoxazolines as potential antimicrobial agents." European Journal of Medicinal Chemistry **95**: 96-103.

Bueno, J. M., M. Carda, B. Crespo, A. C. Cuñat, C. de Cozar, M. L. León, J. A. Marco, N. Roda and J. F. Sanz-Cervera (2016). "Design, synthesis and antimalarial evaluation of novel thiazole derivatives." Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **26**(16): 3938-3944.

Bujard, A., C. Petit, P.-A. Carrupt, S. Rudaz and J. Schappler (2017). "HDM-PAMPA to predict gastrointestinal absorption, binding percentage, equilibrium and kinetics constants with human serum albumin and using 2 end-point measurements." European Journal of Pharmaceutical Sciences **97**: 143-150.

Canto, R. F. S., F. A. R. Barbosa, V. Nascimento, A. S. de Oliveira, I. M. C. Brighente and A. L. Braga (2014). "Design, synthesis and evaluation of seleno-dihydropyrimidinones as potential multi-targeted therapeutics for Alzheimer's disease." Organic & Biomolecular Chemistry **12**(21): 3470-3477.

Coa, J. C., W. Castrillón, W. Cardona, M. Carda, V. Ospina, J. A. Muñoz, I. D. Vélez and S. M. Robledo (2015). "Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activity of quinoline-hydrazone hybrids." European Journal of Medicinal Chemistry **101**: 746-753.

Dadiboyena, S., E. J. Valente and A. T. Hamme li (2014). "Synthesis and tautomerism of spiro-pyrazolines." Tetrahedron Letters **55**(14): 2208-2211.

de Carvalho Tavares, L., S. Johann, T. Maria de Almeida Alves, J. C. Guerra, E. Maria de Souza-Fagundes, P. S. Cisalpino, A. J. Bortoluzzi, G. F. Caramori, R. de Mattos Piccoli, H. T. S. Braibante, M. E. F. Braibante and M. G. Pizzolatti (2011). "Quinolinyl and quinolinyl N-oxide chalcones: Synthesis, antifungal and cytotoxic activities." European Journal of Medicinal Chemistry **46**(9): 4448-4456.

de Moraes Gomes, P. A. T., M. de Oliveira Barbosa, E. Farias Santiago, M. V. de Oliveira Cardoso, N. T. Capistrano Costa, M. Z. Hernandez, D. R. M. Moreira, A. C. da Silva, T. A. R. dos Santos, V. R. A. Pereira, F. A. Brayner dos Santosd, G. A. do Nascimento Pereira, R. S. Ferreira and A. C. L. Leite (2016). "New 1,3-thiazole derivatives and their biological

and ultrastructural effects on *Trypanosoma cruzi*." European Journal of Medicinal Chemistry **121**: 387-398.

de Sá, N. P., P. S. Cisalpino, L. d. C. Tavares, L. Espíndola, M. G. Pizzolatti, P. C. Santos, T. P. de Paula, C. A. Rosa, D. d. G. de Souza, D. A. Santos and S. Johann (2015). "Antifungal activity of 6-quinolinyl N-oxide chalcones against Paracoccidioides." Journal of Antimicrobial Chemotherapy **70**(3): 841-845.

Diniz, A. C. B., L. V. Astarita and E. R. Santarém (2007). Alteração dos metabólitos secundários em plantas de *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae) submetidas à secagem e ao congelamento, sciELO. **21**: 442-450.

dos Santos, T. A. R., A. C. da Silva, E. B. Silva, P. A. T. d. M. Gomes, J. W. P. Espíndola, M. V. d. O. Cardoso, D. R. M. Moreira, A. C. L. Leite and V. R. A. Pereira (2016). "Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29 cells." Biomedicine & Pharmacotherapy **82**: 555-560.

Dreassi, E., A. T. Zizzari, F. Falchi, S. Schenone, A. Santucci, G. Maga and M. Botta (2009). "Determination of permeability and lipophilicity of pyrazolo-pyrimidine tyrosine kinase inhibitors and correlation with biological data." European Journal of Medicinal Chemistry **44**(9): 3712-3717.

El-Gamal, K. M., M. S. Hags and H. S. Abulkhair (2016). "Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of some novel quinoline derivatives bearing different heterocyclic moieties." Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University **54**: 263-273.

Espino, M., M. de los Ángeles Fernández, F. J. V. Gomez and M. F. Silva (2016). "Natural designer solvents for greening analytical chemistry." TrAC Trends in Analytical Chemistry **76**: 126-136.

Gamboa de Domínguez, N. D., J. Charris, J. Domínguez, M. Monasterios, J. Angel and J. Rodrigues (2015). "Effects of 5,8-dimethylthieno[2,3-b]quinoline-2-carboxylic acid on the antioxidative defense and lipid membranes in *Plasmodium berghei*-infected erythrocytes." Experimental Parasitology **155**: 26-34.

He, H., X. Wang, L. Shi, W. Yin, Z. Yang, H. He and Y. Liang (2016). "Synthesis, antitumor activity and mechanism of action of novel 1,3-thiazole derivatives containing hydrazide–hydrazone and carboxamide moiety." Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **26**(14): 3263-3270.

He, J., L. Ma, Z. Wei, J. Zhu, F. Peng, M. Shao, L. Lei, L. He, M. Tang, L. He, Y. Wu and L. Chen (2015). "Synthesis and biological evaluation of novel pyrazoline derivatives as potent anti-inflammatory agents." Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **25**(11): 2429-2433.

Insuasty, B., J. Ramírez, D. Becerra, C. Echeverry, J. Quiroga, R. Abonia, S. M. Robledo, I. D. Vélez, Y. Upegui, J. A. Muñoz, V. Ospina, M. Nogueras and J. Cobo (2015). "An efficient synthesis of new caffeine-based chalcones, pyrazolines and pyrazolo[3,4-b][1,4]diazepines as potential antimalarial, antitrypanosomal and antileishmanial agents." European Journal of Medicinal Chemistry **93**: 401-413.

Joshi, S. D., S. R. Dixit, M. N. Kirankumar, T. M. Aminabhavi, K. V. S. N. Raju, R. Narayan, C. Lherbet and K. S. Yang (2016). "Synthesis, antimycobacterial screening and ligand-based molecular docking studies on novel pyrrole derivatives bearing pyrazoline, isoxazole and phenyl thiourea moieties." European Journal of Medicinal Chemistry **107**: 133-152.

Kerns, E. H., L. Di, S. Petusky, M. Farris, R. Ley and P. Jupp (2004). "Combined application of parallel artificial membrane permeability assay and Caco-2 permeability assays in drug discovery." Journal of Pharmaceutical Sciences **93**(6): 1440-1453.

Khan, K. M., S. Qurban, U. Salar, M. Taha, S. Hussain, S. Perveen, A. Hameed, N. H. Ismail, M. Riaz and A. Wadood (2016). "Synthesis, in vitro  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity and molecular docking studies of new thiazole derivatives." Bioorganic Chemistry **68**: 245-258.

Lee, H.-Y., C.-Y. Chang, C.-J. Su, H.-L. Huang, S. Mehndiratta, Y.-H. Chao, C.-M. Hsu, S. Kumar, T.-Y. Sung, Y.-Z. Huang, Y.-H. Li, C.-R. Yang and J.-P. Liou (2016). "2-(Phenylsulfonyl)quinoline N-hydroxyacrylamides as potent anticancer agents inhibiting histone deacetylase." European Journal of Medicinal Chemistry **122**: 92-101.

Liao, W., G. Hu, Z. Guo, D. Sun, L. Zhang, Y. Bu, Y. Li, Y. Liu and P. Gong (2015). "Design and biological evaluation of novel 4-(2-fluorophenoxy)quinoline derivatives bearing an imidazolone moiety as c-Met kinase inhibitors." Bioorganic & Medicinal Chemistry **23**(15): 4410-4422.

Lipinski, C. A., F. Lombardo, B. W. Dominy and P. J. Feeney (2001). "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." Advanced Drug Delivery Reviews **46**(1&2): 3-26.

Liu, H., Y. Dong, B. Zhang, F. Liu, C. Tan, Y. Tan and Y. Jiang (2016). "An efficient quinoline-based fluorescence sensor for zinc(II) and its application in live-cell imaging." Sensors and Actuators B: Chemical **234**: 616-624.

Liu, X.-H., J. Li, J. B. Shi, B.-A. Song and X.-B. Qi (2012). "Design and synthesis of novel 5-phenyl-N-piperidine ethanone containing 4,5-dihydropyrazole derivatives as potential antitumor agents." European Journal of Medicinal Chemistry **51**: 294-299.

Lu, Z.-H., X.-J. Gu, K.-Z. Shi, X. Li, D.-D. Chen and L. Chen (2014). "Assessing anti-human lung tumor cell line (A549) potential of newer 3,5-disubstituted pyrazoline analogs." Arabian Journal of Chemistry .

Luo, H., C. Zheng and Y.-K. Cheng (2007). "The retention properties of nucleobases in alkyl C8-/C18- and IAM-chromatographic systems in relation to log Pow." Journal of Chromatography B **847**(2): 245-261.

Maciel, M. A. M., A. C. Pinto, V. F. Veiga Jr, N. F. Grynberg and A. Echevarria (2002). Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares, sciELO. **25**: 429-438.

Marella, A., O. P. Tanwar, R. Saha, M. R. Ali, S. Srivastava, M. Akhter, M. Shaquiquzzaman and M. M. Alam (2013). "Quinoline: A versatile heterocyclic." Saudi Pharmaceutical Journal **21**(1): 1-12.

Mason, T. J. (1997). "Ultrasound in synthetic organic chemistry." Chemical Society Reviews **26**(6): 443-451.

Mason, T. J. (2003). "Sonochemistry and sonoprocessing: the link, the trends and (probably) the future." Ultrasonics Sonochemistry **10**(4-5): 175-179.

Miguel, F. B., J. A. Dantas, S. Amorim, G. F. S. Andrade, L. A. S. Costa and M. R. C. Couri (2016). "Synthesis, spectroscopic and computational characterization of the tautomerism of pyrazoline derivatives from chalcones." Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **152**: 318-326.

Newman, D. J. e. a. (2008). "Natural Products as Pharmaceuticals and Sources for Lead Structures In The Practice of Medicinal Chemistry."

Ni, P., Y. Sun, S. Jiang, W. Lu, Y. Wang, Z. Li and Z. Li (2017). "Label-free detection of acetylcholinesterase and its inhibitor based on the in situ formation of fluorescent copper nanoparticles." Sensors and Actuators B: Chemical **240**: 651-656.

Palluotto, F., A. Sobic, O. Pinato, G. Zoidis, M. Catto, C. Sissi, B. Gatto and A. Carotti (2016). "Quinolino[3,4-b]quinoxalines and pyridazino[4,3-c]quinoline derivatives: Synthesis, inhibition of topoisomerase II $\alpha$ , G-quadruplex binding and cytotoxic properties." European Journal of Medicinal Chemistry **123**: 704-717.

Pandey, A. K., S. Sharma, M. Pandey, M. M. Alam, M. Shaquiquzzaman and M. Akhter (2016). "4, 5-Dihydrooxazole-pyrazoline hybrids: Synthesis and their evaluation as potential antimalarial agents." European Journal of Medicinal Chemistry **123**: 476-486.

Patel, S. R., R. Gangwal, A. T. Sangamwar and R. Jain (2015). "Synthesis, biological evaluation and 3D QSAR study of 2,4-disubstituted quinolines as anti-tuberculosis agents." European Journal of Medicinal Chemistry **93**: 511-522.

Pawar, C. D., A. P. Sarkate, K. S. Karnik, S. S. Bahekar, D. N. Pansare, R. N. Shelke, C. S. Jawale and D. B. Shinde (2016). "Synthesis and antimicrobial evaluation of novel ethyl 2-(2-(4-substituted)acetamido)-4-substituted-thiazole-5-carboxylate derivatives." Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **26**(15): 3525-3528.

Pereira, D. G. (2007). "Importância do metabolismo no planejamento de fármacos." Química Nova **30**: 171-177.

Pérez, R. L. and G. M. Escandar (2016). "Experimental and chemometric strategies for the development of Green Analytical Chemistry (GAC) spectroscopic methods for the determination of organic pollutants in natural waters." Sustainable Chemistry and Pharmacy **4**: 1-12.

Perin, N., R. Nhili, M. Cindrić, B. Bertoša, D. Vušak, I. Martin-Kleiner, W. Laine, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M.-H. David-Cordonnier and M. Hranjec (2016). "Amino substituted benzimidazo[1,2-a]quinolines: Antiproliferative potency, 3D QSAR study and DNA binding properties." European Journal of Medicinal Chemistry **122**: 530-545.

Perspicace, E., A. Giorgio, A. Carotti, S. Marchais-Oberwinkler and R. W. Hartmann (2013). "Novel N-methylsulfonamide and retro-N-methylsulfonamide derivatives as 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (17 $\beta$ -HSD2) inhibitors with good ADME-related physicochemical parameters." European Journal of Medicinal Chemistry **69**: 201-215.

Prentis, R. A., Y. Lis and S. R. Walker (1988). "Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964-1985)." British Journal of Clinical Pharmacology **25**(3): 387-396.

Qin, Y.-J., Y.-j. Li, A.-Q. Jiang, M.-R. Yang, Q.-Z. Zhu, H. Dong and H.-L. Zhu (2015). "Design, synthesis and biological evaluation of novel pyrazoline-containing derivatives as potential tubulin assembling inhibitors." European Journal of Medicinal Chemistry **94**: 447-457.

Rani, M., M. Yusuf, S. A. Khan, P. P. Sahota and G. Pandove (2015). "Synthesis, studies and in-vitro antibacterial activity of N-substituted 5-(furan-2-yl)-phenyl pyrazolines." Arabian Journal of Chemistry **8**(2): 174-180.

Reddy, G. M., J. R. Garcia, V. H. Reddy, A. M. de Andrade, A. Camilo Jr, R. A. Pontes Ribeiro and S. R. de Lazaro (2016). "Synthesis, antimicrobial activity and advances in structure-activity relationships (SARs) of novel tri-substituted thiazole derivatives." European Journal of Medicinal Chemistry **123**: 508-513.

Reddy, K. N. and M. A. Locke (1994). "Relationships between molecular properties and log P and soil sorption (Koc) of substituted phenylureas: QSAR models." Chemosphere **28**(11): 1929-1941.

Sancheti, S. V. and P. R. Gogate (2017). "A review of engineering aspects of intensification of chemical synthesis using ultrasound." Ultrasonics Sonochemistry **36**: 527-543.

Sardi, J. d. C. O., F. P. Gullo, I. A. Freires, N. d. S. Pitangui, M. P. Segalla, A. M. Fusco-Almeida, P. L. Rosalen, L. O. Regasini and M. J. S. Mendes-Giannini (2016). "Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida* spp." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease **86**(4): 387-391.

Shamsuzzaman, H. Khanam, A. M. Dar, N. Siddiqui and S. Rehman (2016). "Synthesis, characterization, antimicrobial and anticancer studies of new steroidal pyrazolines." Journal of Saudi Chemical Society **20**(1): 7-12.

Shobeiri, N., M. Rashedi, F. Mosaffa, A. Zarghi, M. Ghandadi, A. Ghasemi and R. Ghodsi (2016). "Synthesis and biological evaluation of quinoline analogues of flavones as potential anticancer agents and tubulin polymerization inhibitors." European Journal of Medicinal Chemistry **114**: 14-23.

Soares, R. R., J. M. F. da Silva, B. C. Carlos, C. C. da Fonseca, L. S. A. de Souza, F. V. Lopes, R. M. de Paula Dias, P. O. L. Moreira, C. Abramo, G. H. R. Viana, F. de Pila Varotti, A. D. da Silva and K. K. G. Scopel (2015). "New quinoline derivatives demonstrate a promising antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* in vitro and *Plasmodium berghei* in vivo." Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **25**(11): 2308-2313.



Spanò, V., B. Parrino, A. Carbone, A. Montalbano, A. Salvador, P. Brun, D. Vedaldi, P. Diana, G. Cirrincione and P. Barraja (2015). "Pyrazolo[3,4-h]quinolines promising photosensitizing agents in the treatment of cancer." European Journal of Medicinal Chemistry **102**: 334-351.

Viegas Jr, C., V. d. S. Bolzani and E. J. Barreiro (2006). "Os produtos naturais e a química medicinal moderna." Química Nova **29**: 326-337.

Viveka, S., Dinesha, P. Shama, G. K. Nagaraja, S. Ballav and S. Kerkar (2015). "Design and synthesis of some new pyrazolyl-pyrazolines as potential anti-inflammatory, analgesic and antibacterial agents." European Journal of Medicinal Chemistry **101**: 442-451.

Wang, L., X. Hou, H. Fu, X. Pan, W. Xu, W. Tang and H. Fang (2015). "Design, synthesis and preliminary bioactivity evaluations of substituted quinoline hydroxamic acid derivatives as novel histone deacetylase (HDAC) inhibitors." Bioorganic & Medicinal Chemistry **23**(15): 4364-4374.

Wieczorzak, M., J. Namieśnik and B. Kudłak (2016). "Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality: A review." Environment International **94**: 341-361.

Wohnsland, F. and B. Faller (2001). "High-Throughput Permeability pH Profile and High-Throughput Alkane/Water log P with Artificial Membranes." Journal of Medicinal Chemistry **44**(6): 923-930.

Wohnsland, F. and B. Faller (2001). "High-throughput permeability pH profile and high-throughput alkane/water log P with artificial membranes." J Med Chem **44**(6): 923-930.

Xu, Z., J. Guo, Y. Yang, M. Zhang, M. Ba, Z. Li, Y. Cao, R. He, M. Yu, H. Zhou, X. Li, X. Huang, Y. Guo and C. Guo (2016). "2,4,5-Trisubstituted thiazole derivatives as HIV-1 NNRTIs effective on both wild-type and mutant HIV-1 reverse transcriptase: Optimization of the substitution of positions 4 and 5." European Journal of Medicinal Chemistry **123**: 309-316.

Yacoubian, T. A. (2017). Chapter 1 - Neurodegenerative Disorders: Why Do We Need New Therapies? A2 - Adejare, Adeboye. Drug Discovery Approaches for the Treatment of Neurodegenerative Disorders, Academic Press: 1-16.

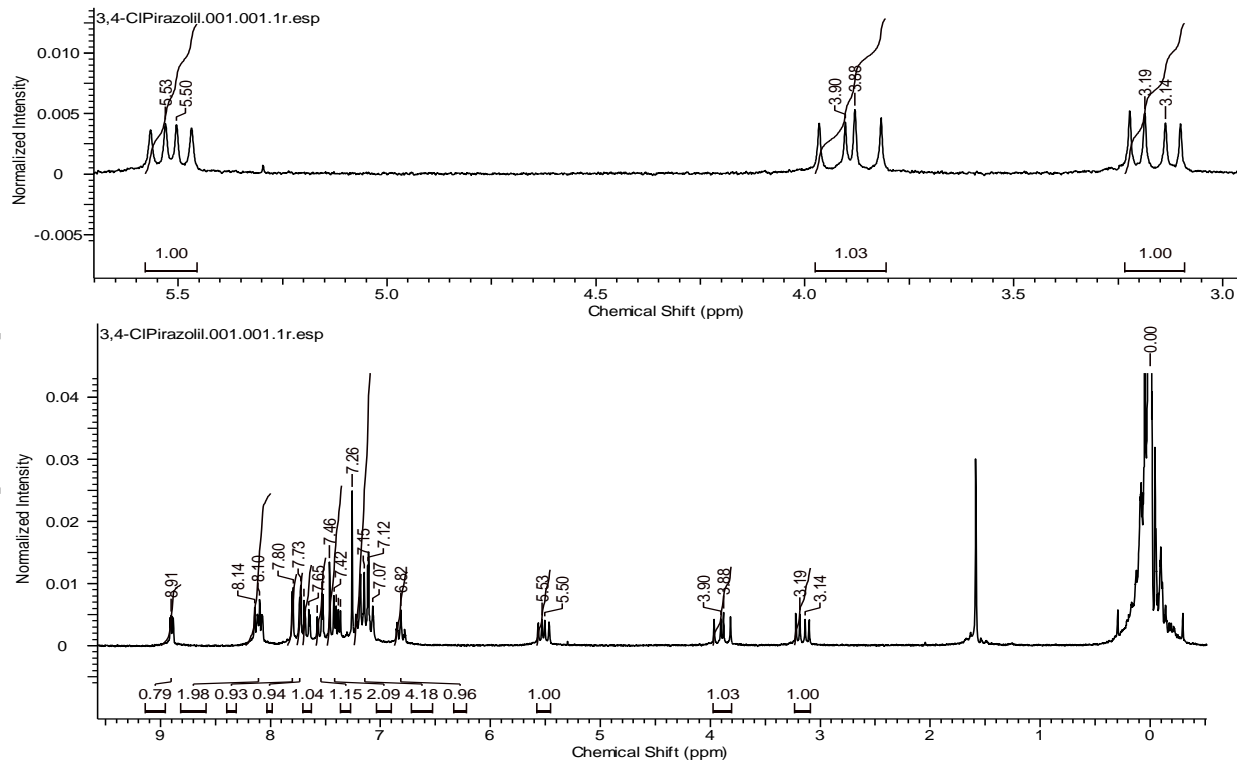
Yang, Y.-S., B. Yang, Y. Zou, G. Li and H.-L. Zhu (2016). "Design, biological evaluation and 3D QSAR studies of novel dioxin-containing triaryl pyrazoline derivatives as potential B-Raf inhibitors." Bioorganic & Medicinal Chemistry **24**(13): 3052-3061.

Zhao, D., S. Guo, X. Guo, G. Zhang and Y. Yu (2016). "Facile, efficient synthesis of polysubstituted thiazoles via  $\alpha$ -nitroepoxides and thioureas." Tetrahedron **72**(35): 5285-5289.

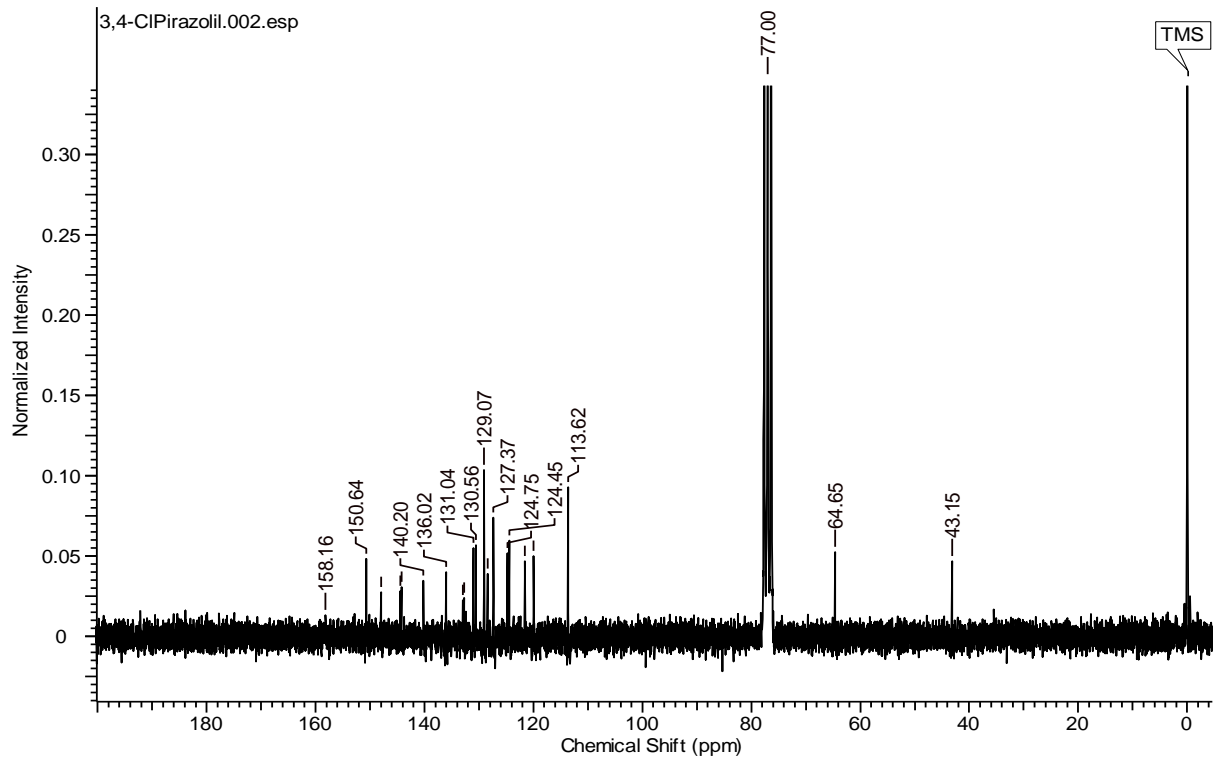
Zhao, H., G. Cui, J. Jin, X. Chen and B. Xu "Synthesis and Pin1 inhibitory activity of thiazole derivatives." Bioorganic & Medicinal Chemistry.

Zuo, R., A. T. Garrison, A. Basak, P. Zhang, R. W. Huigens Iii and Y. Ding (2016). "In vitro antifungal and antibiofilm activities of halogenated quinoline analogues against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*." International Journal of Antimicrobial Agents **48**(2): 208-211.

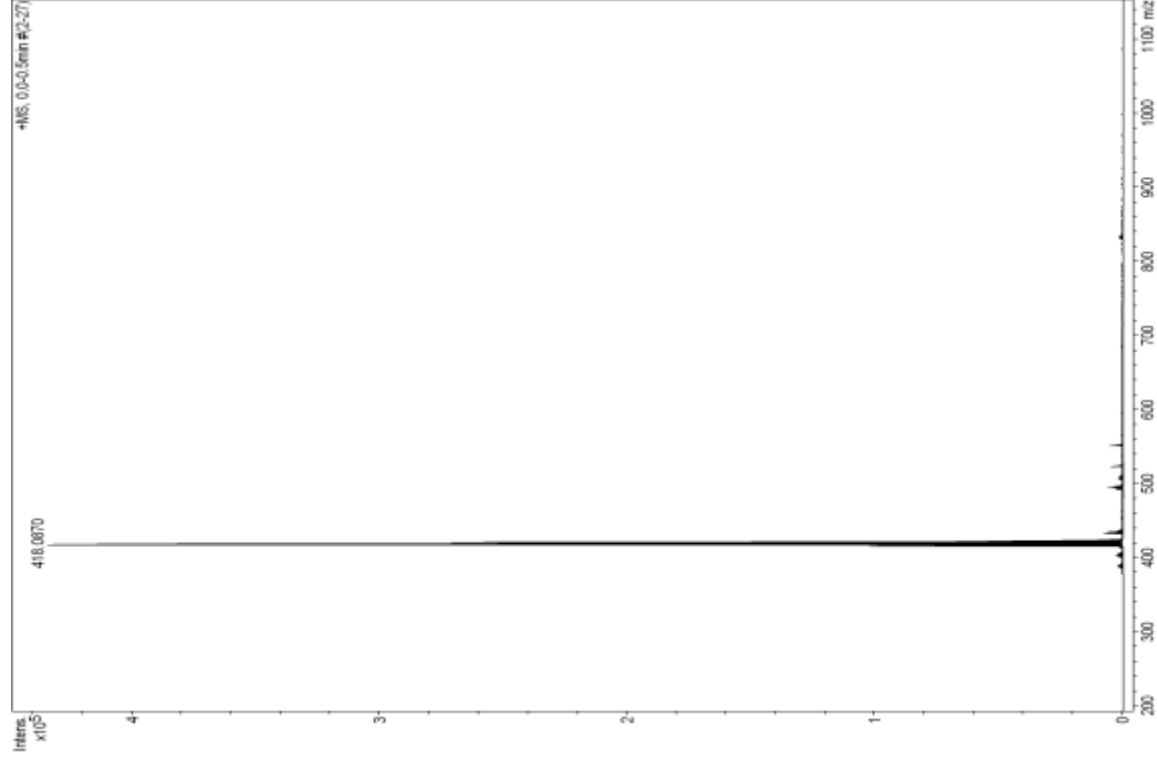
**Anexo 1:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina. (**4a**)



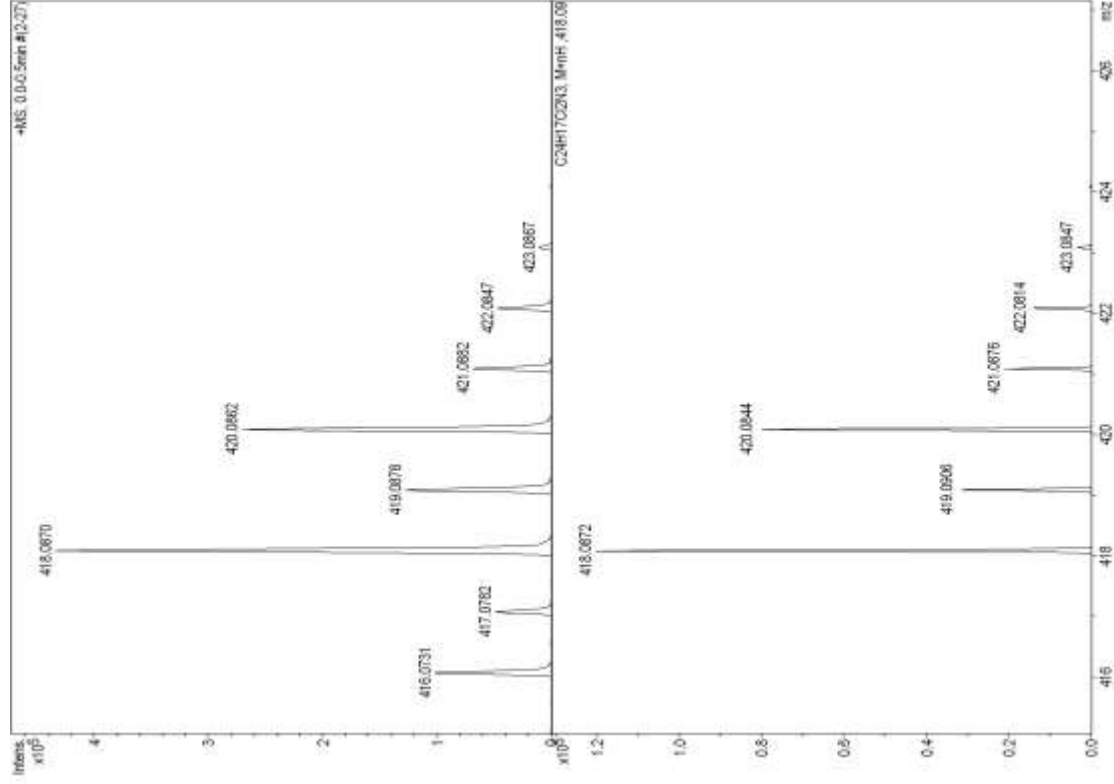
**Anexo 2:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1*H*-il)quinolina. (**4a**)



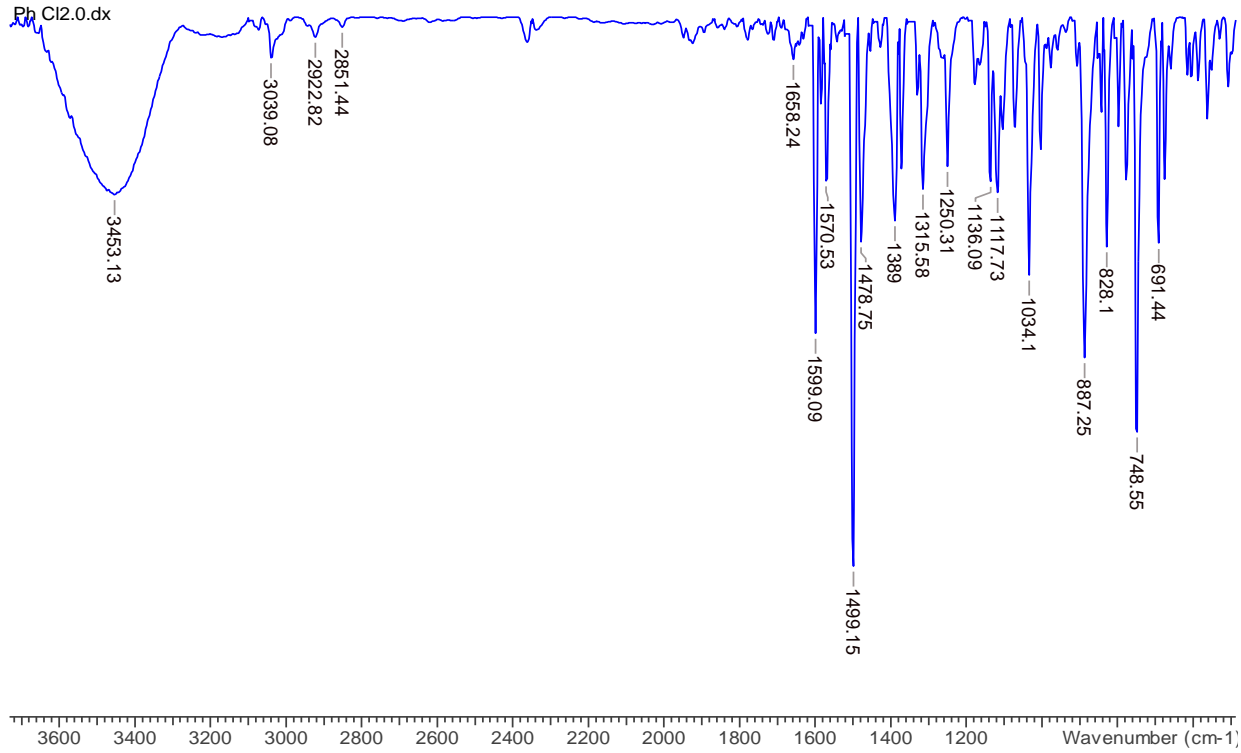
**Anexo 3:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4a**). (parte A)



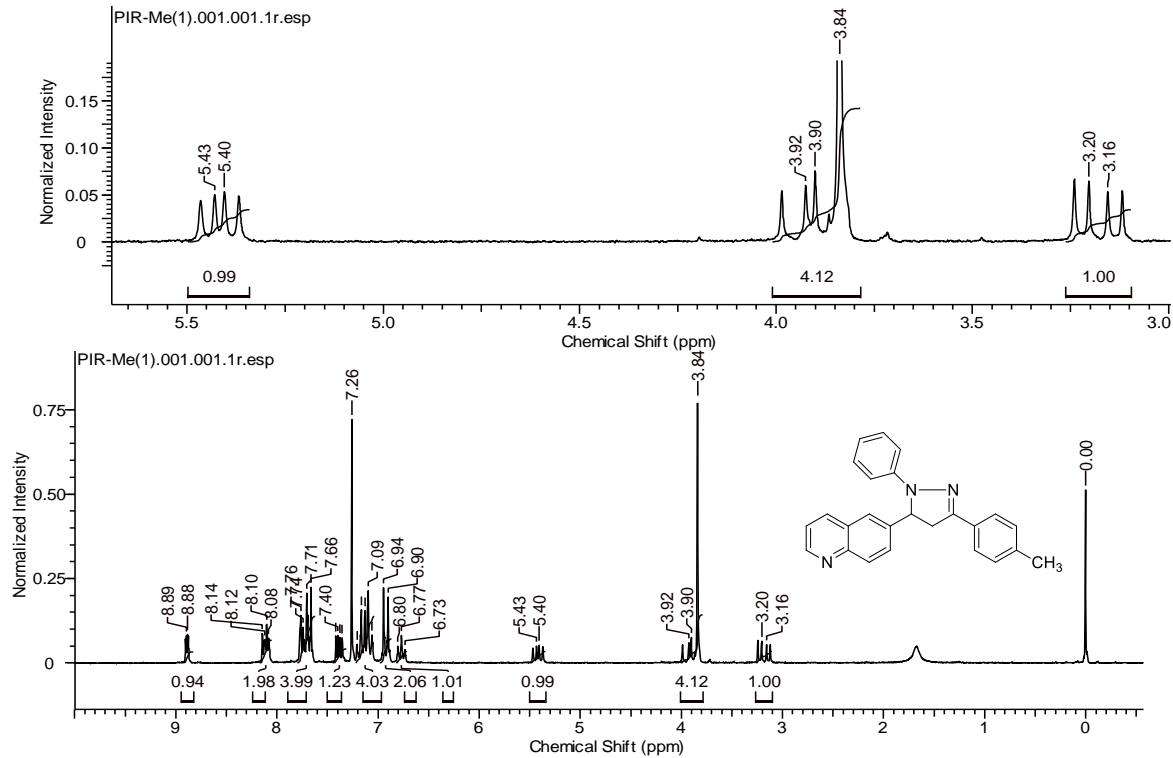
**Anexo 4:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4a**). (Parte B)



**Anexo 5:** Espectro de infravermelho do composto 6-(3-(3,4-diclorofenil)-1-(1-fenil-4,5-dihidro-pirazol-1-í)-9-9-í)-quinolina (**4a**).

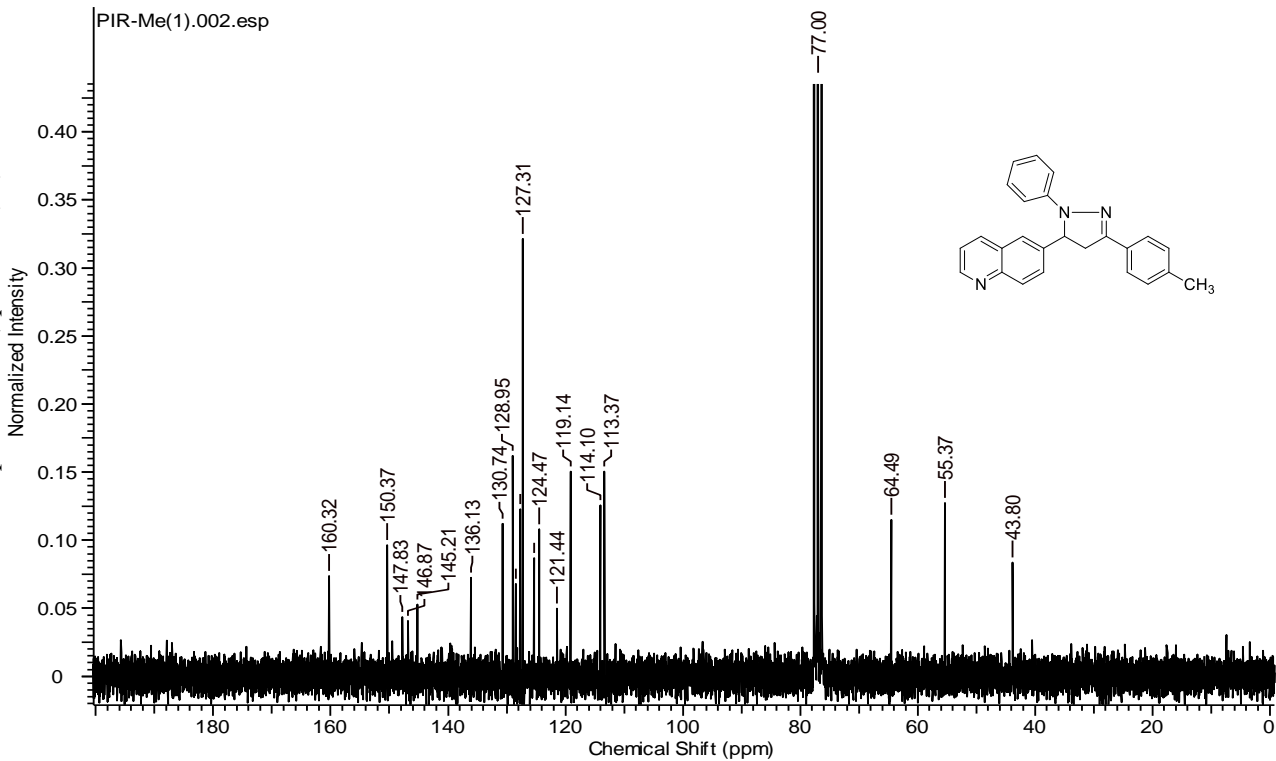


**Anexo 6:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4b**).

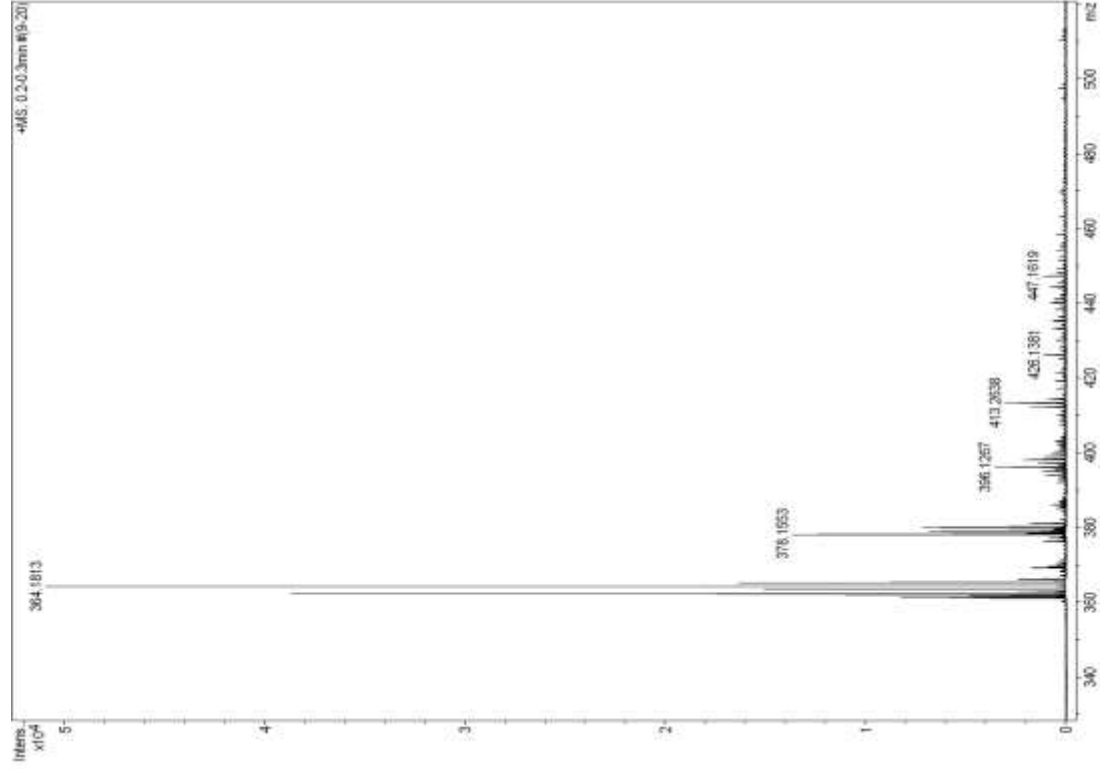




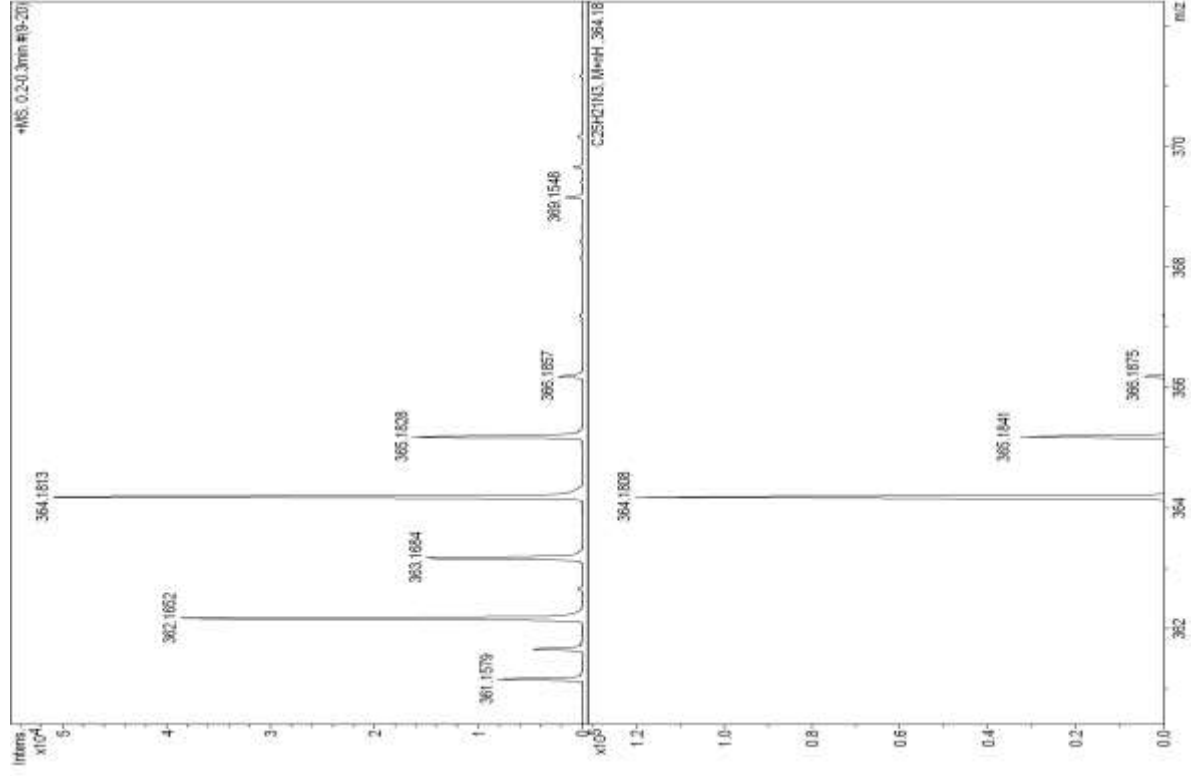
**Anexo 7:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4b**).



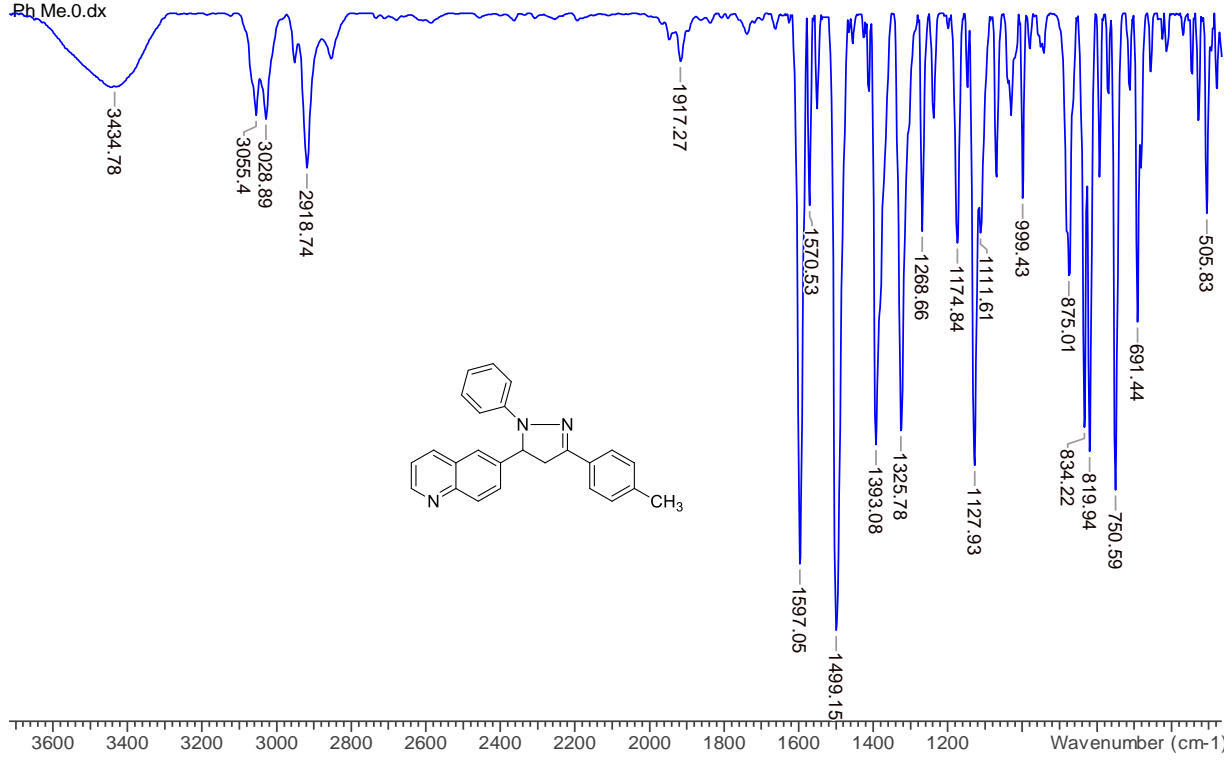
**Anexo 8:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4b**). (Parte A)



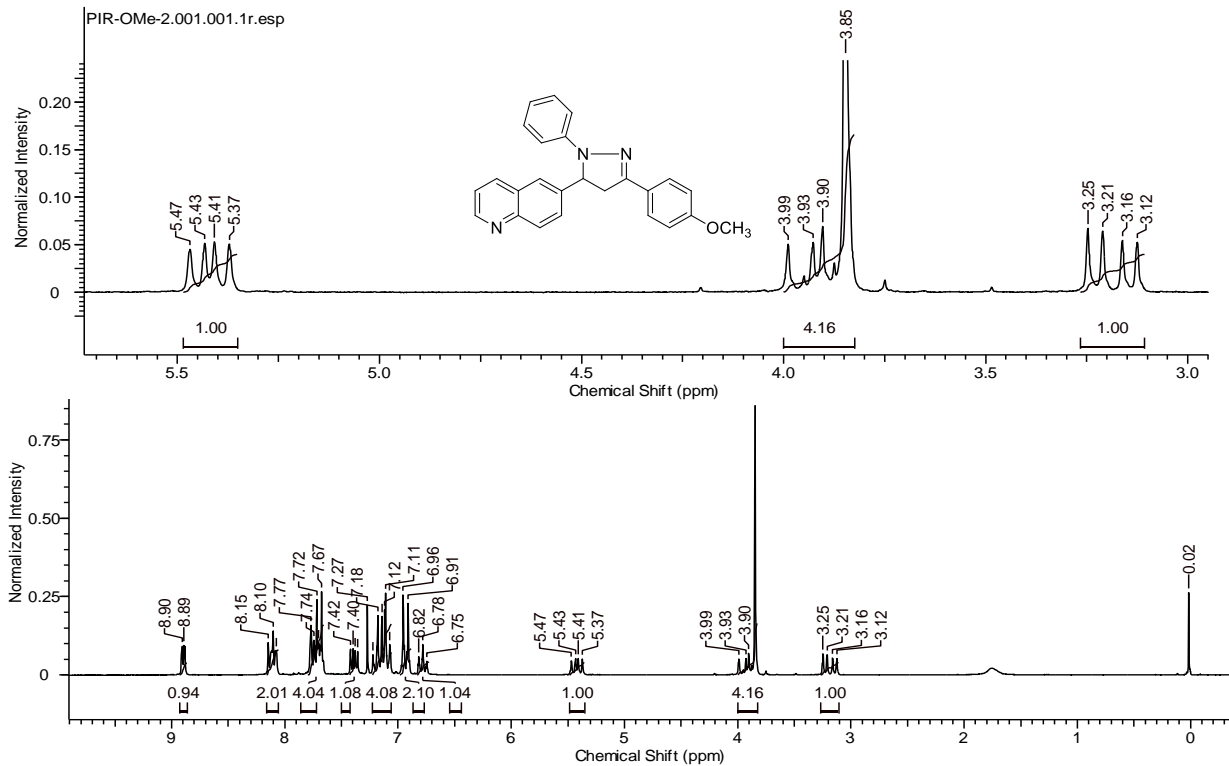
**Anexo 9:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(4-metilfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4b**). (Parte B)



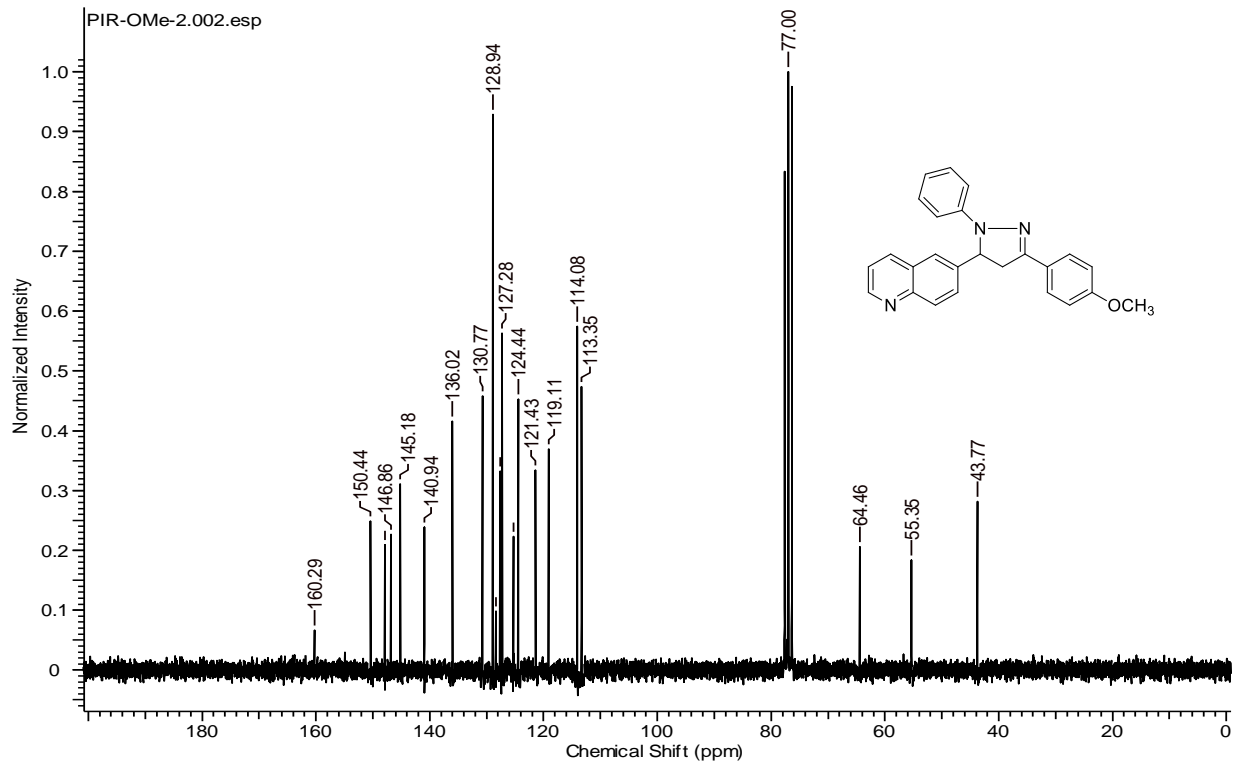
**Anexo 10:** Espectro de infravermelho do composto 6-(3-(4-metilfenil)-4,5,5-di-hidro-pirazol-1H-il)-quinolina (**4b**).



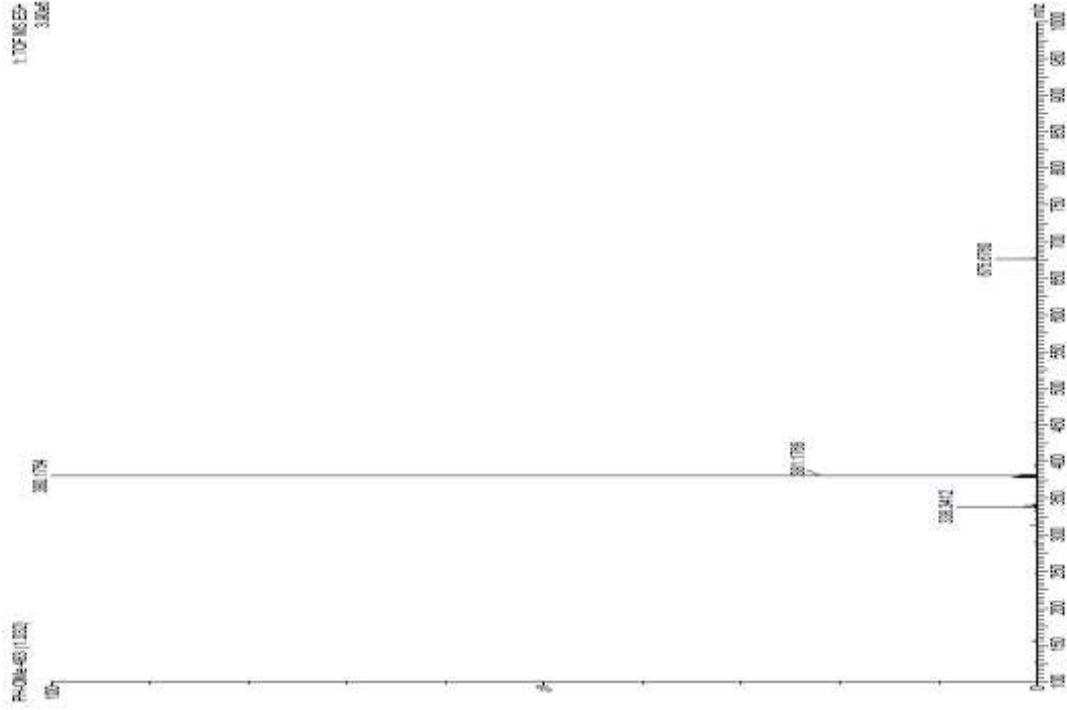
**Anexo 11:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-*H*-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1-*H*-il)quinolina (**4c**).



**Anexo 12:** Espectro de RMN 13C do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4c**).

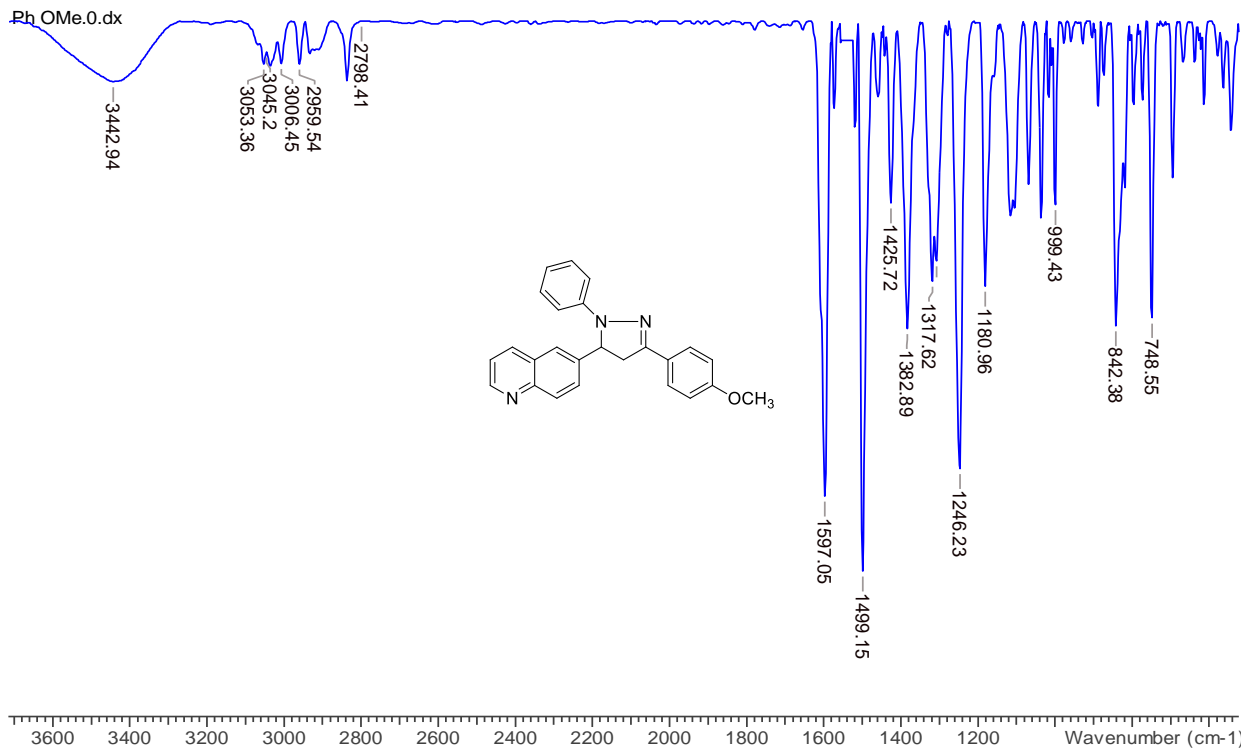


**Anexo 13:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(4-metoxifenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4c**). (Parte A)



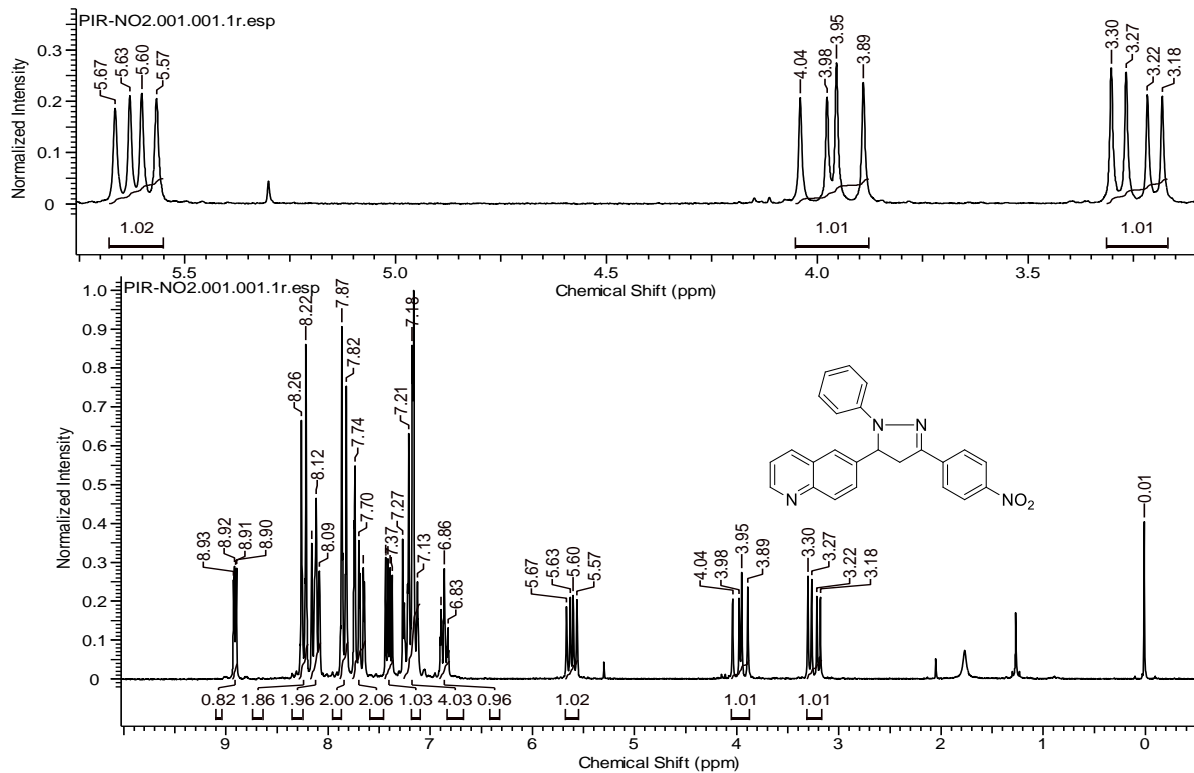
**Anexo 14:** Espectro de infravermelho do composto 6-(3-(4-metoxifenil-1-1-fenil-1H-pirazol-5-í-dí-hídrido-pirazol-1-í-dí-hídrido)quinolina) (4c).

168

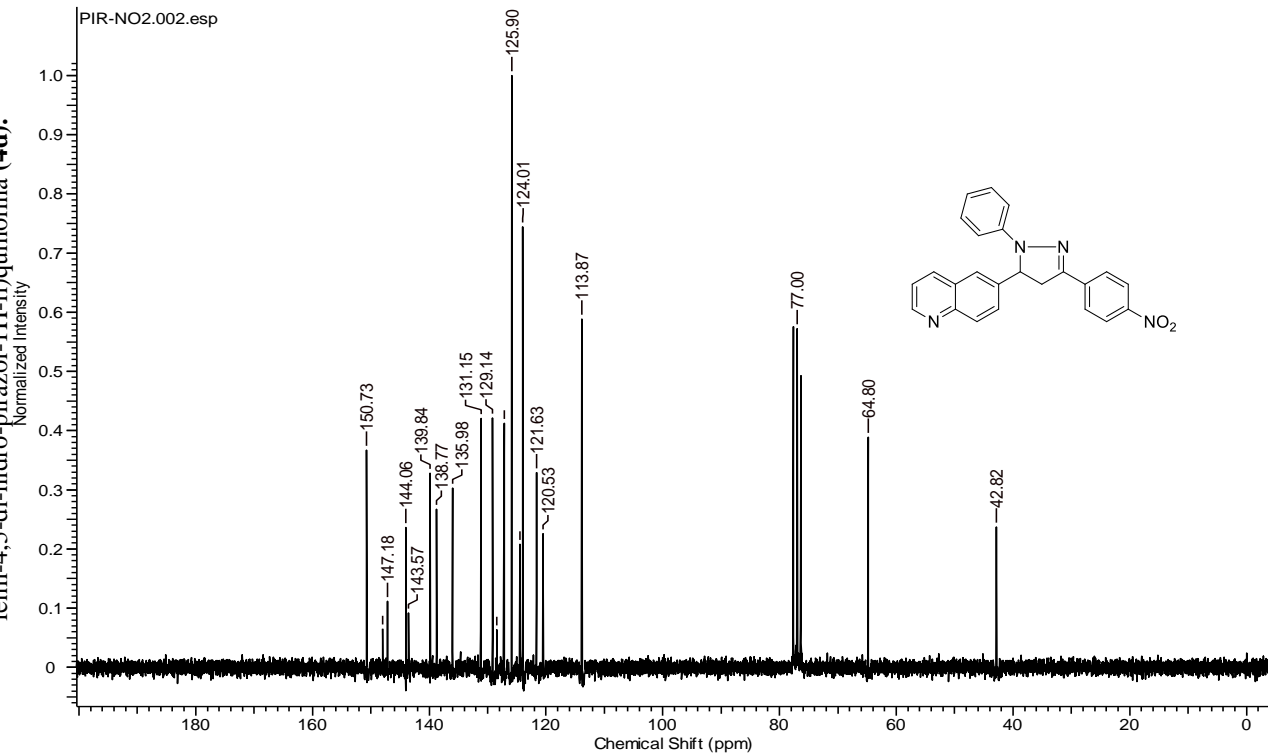




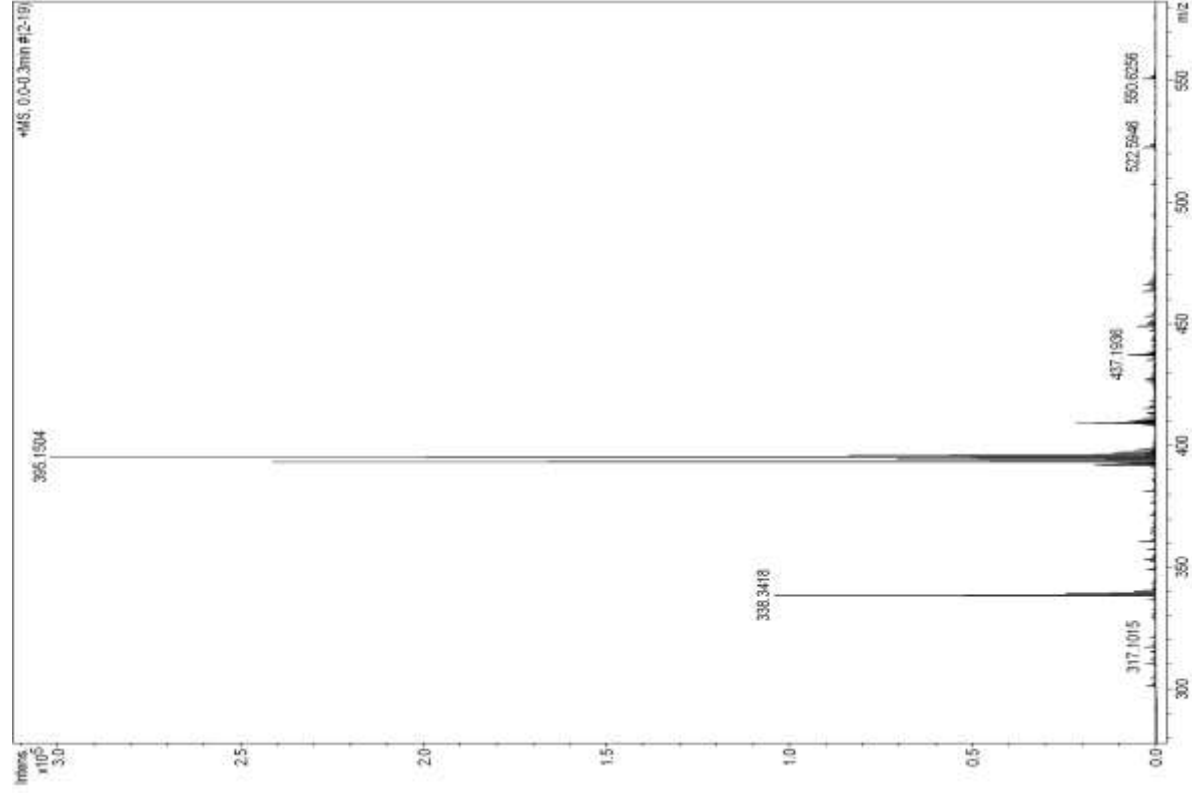
**Anexo 15:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4d**).



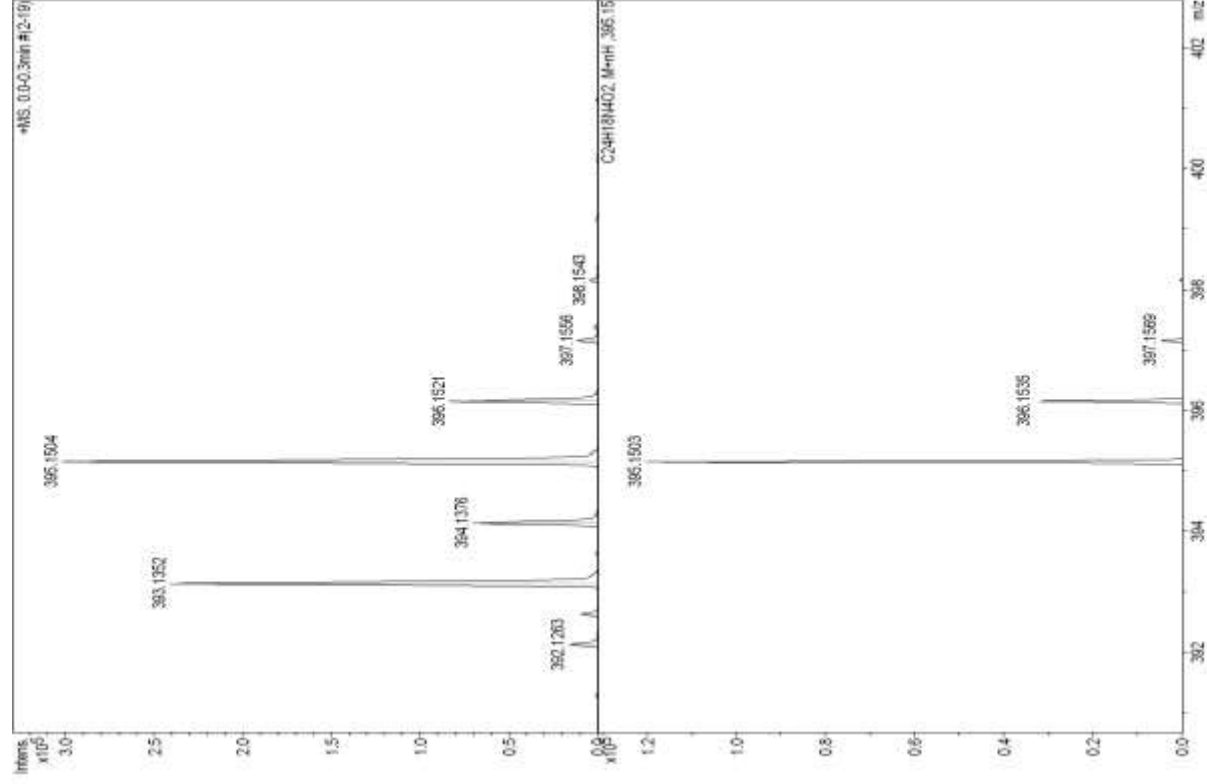
Anexo 16: Espectro de RMN 13C do composto 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4d**).



**Anexo 17:** Espectro de massas de alta de alta do composto 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4d**). (Parte A)

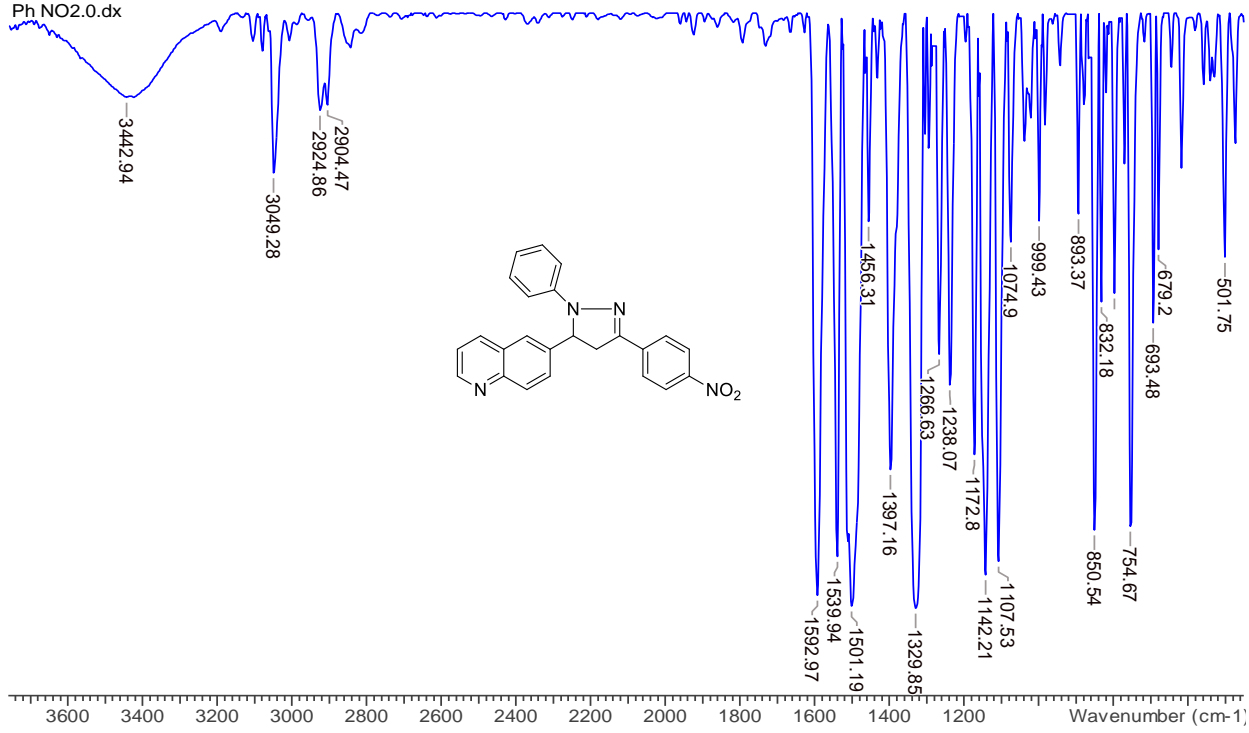


**Anexo 18:** Espectro de massas de alta do composto 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4d**). (Parte B)

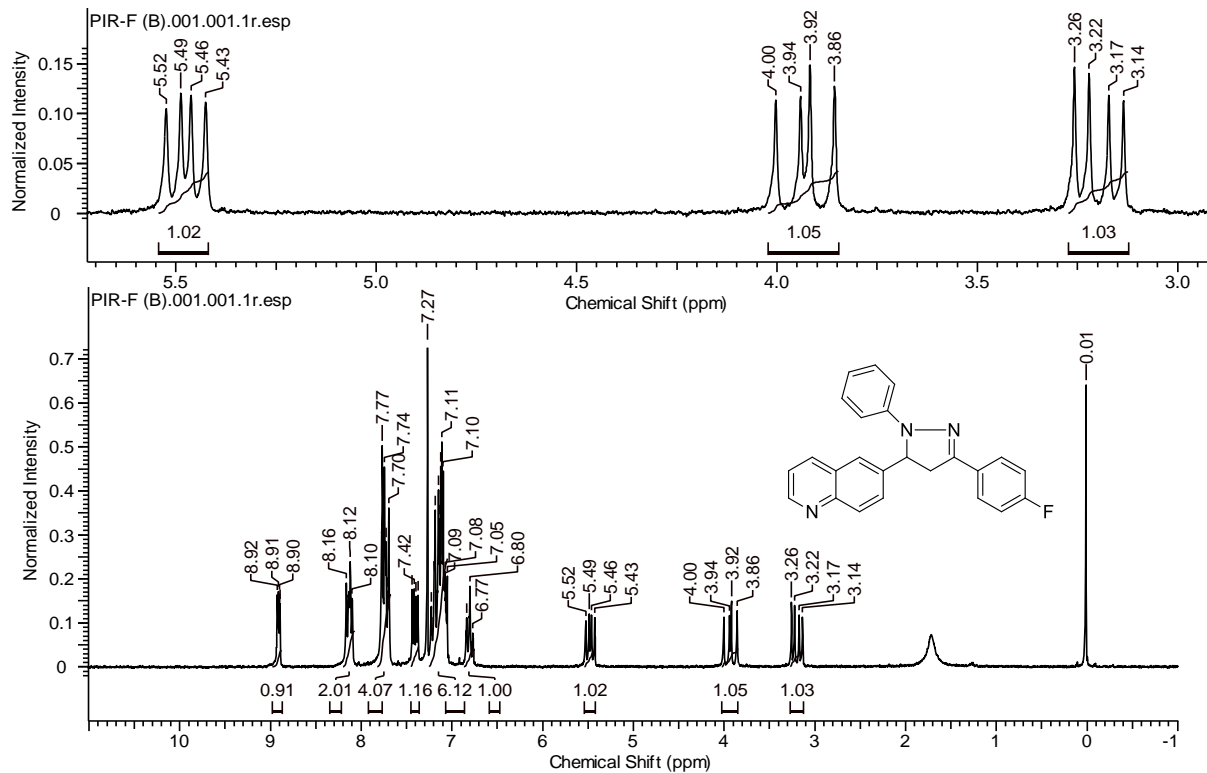


**Anexo 19:** Espectro de infravermelho do composto composto 6-(3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1-(1H-imidazol-5-ídi-hidro-pirazol-1H-il)quinolina

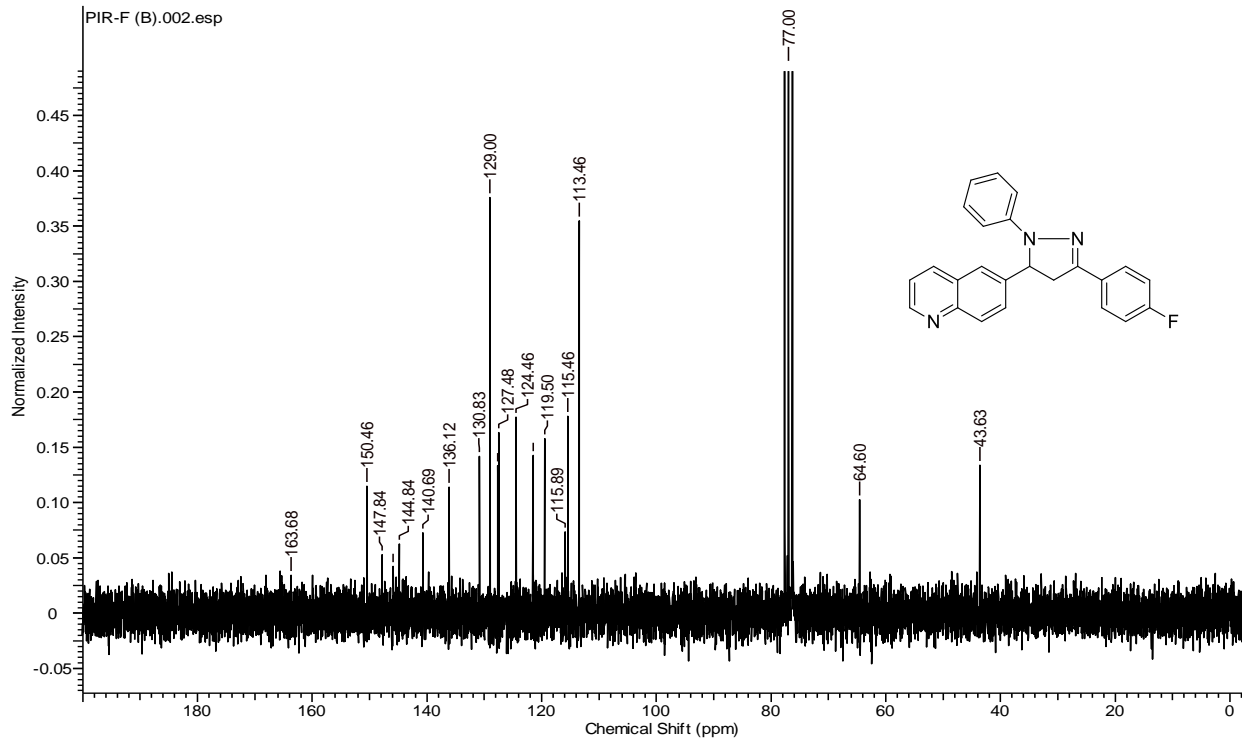
**(19)**



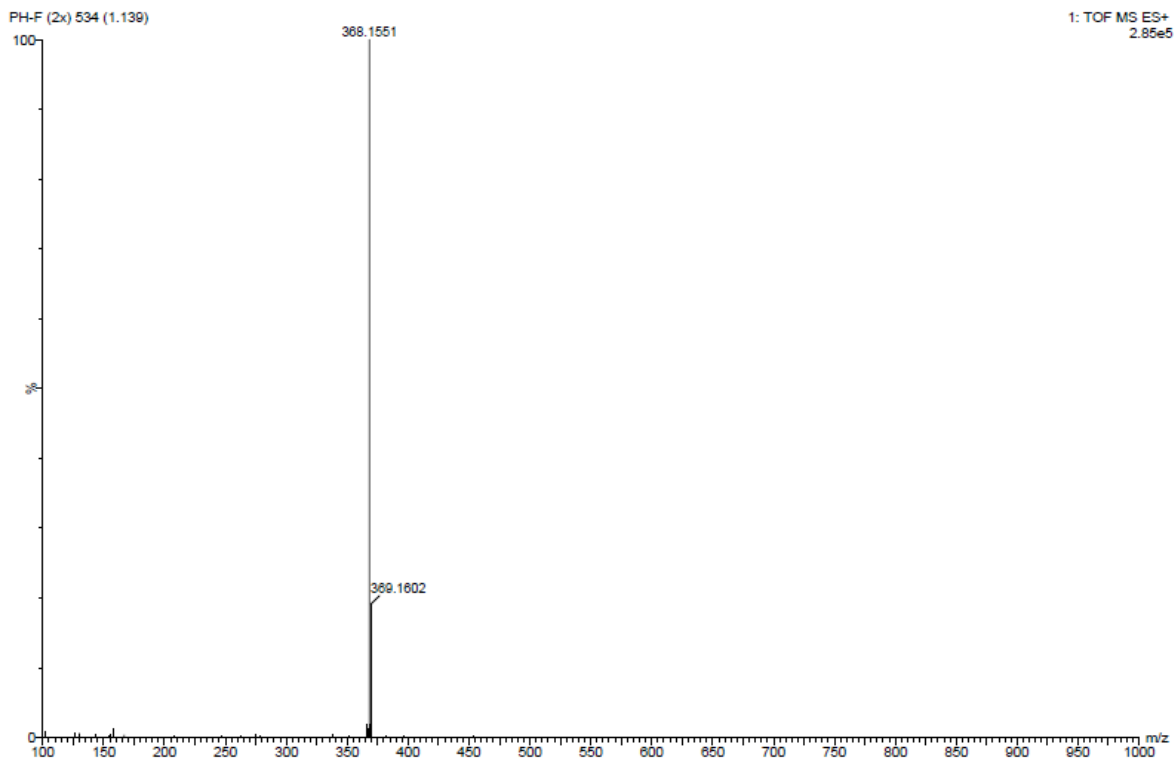
**Anexo 20:** Espectro de RMN 1H do composto 6-(3-(4-fluorfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4e**).



**Anexo 21:** Espectro de RMN 13C do composto 6-(3-(4-fluorfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4e**).



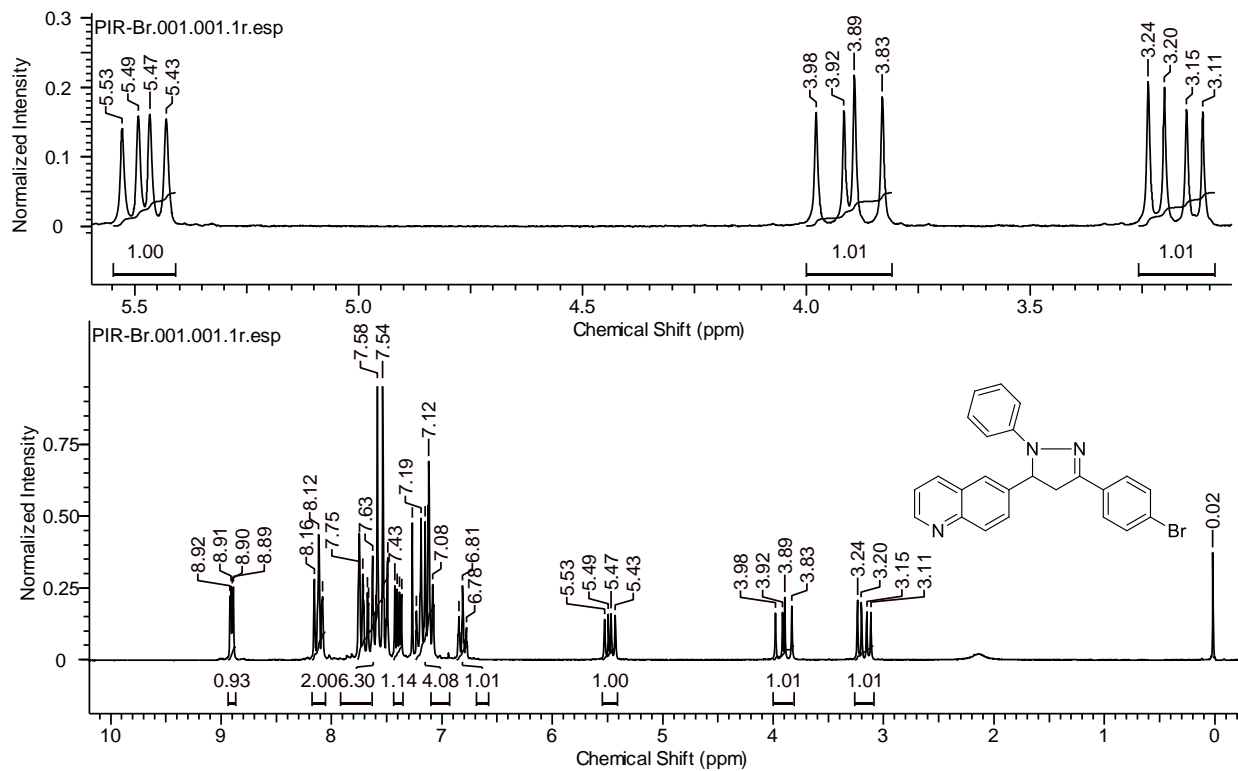
**Anexo 22:** Espectro de massas de alta resolução do composto 6-(3-(4-fluorfenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4e**).



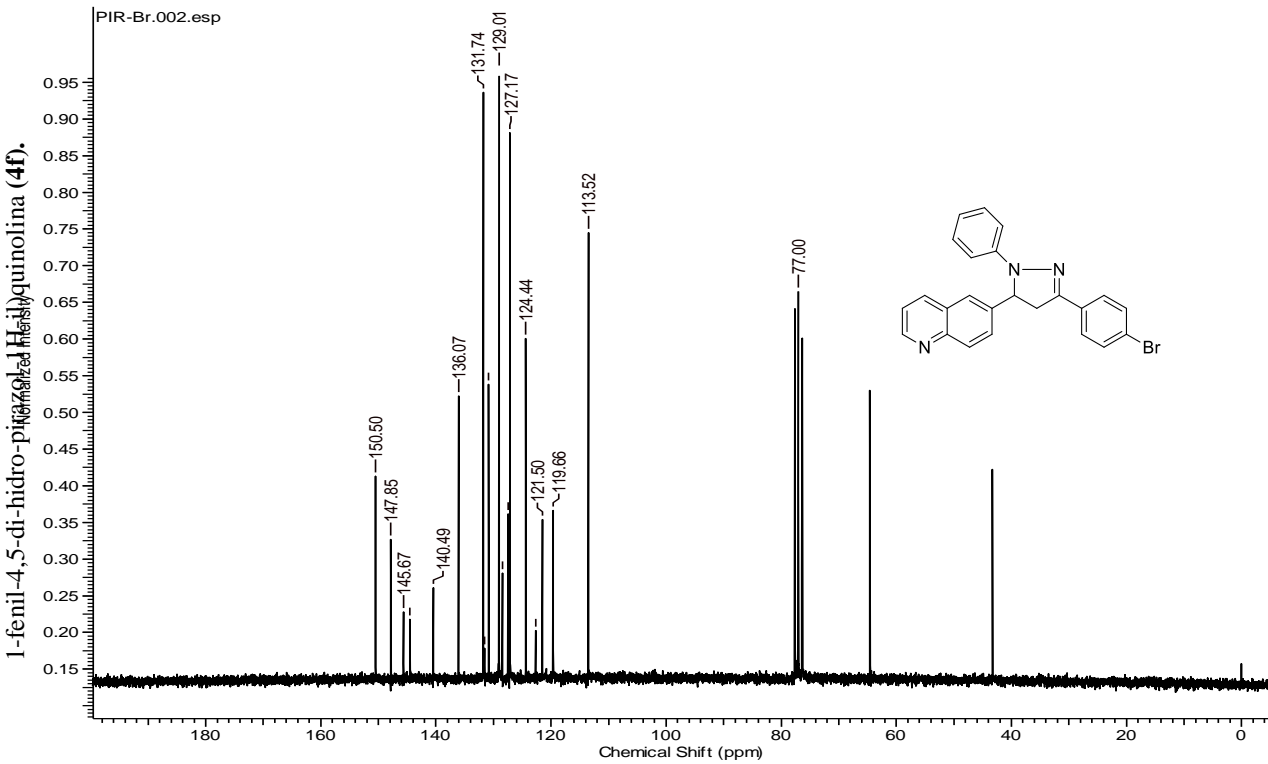




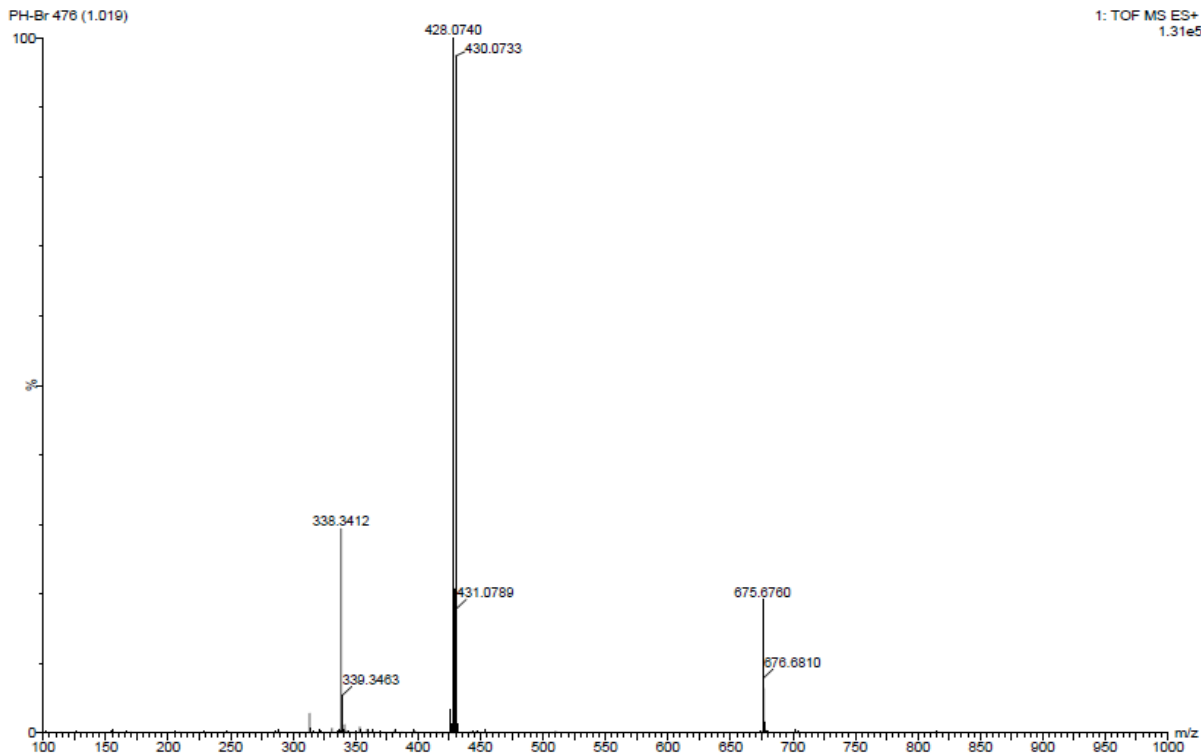
**Anexo 24:** Espectro de RMN 1H do composto 6-(3-(4-bromofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4f**).



Anexo 25: Espectro de RMN 13C do composto 6-(3-(4-bromofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-2-il)quinolina (4f).

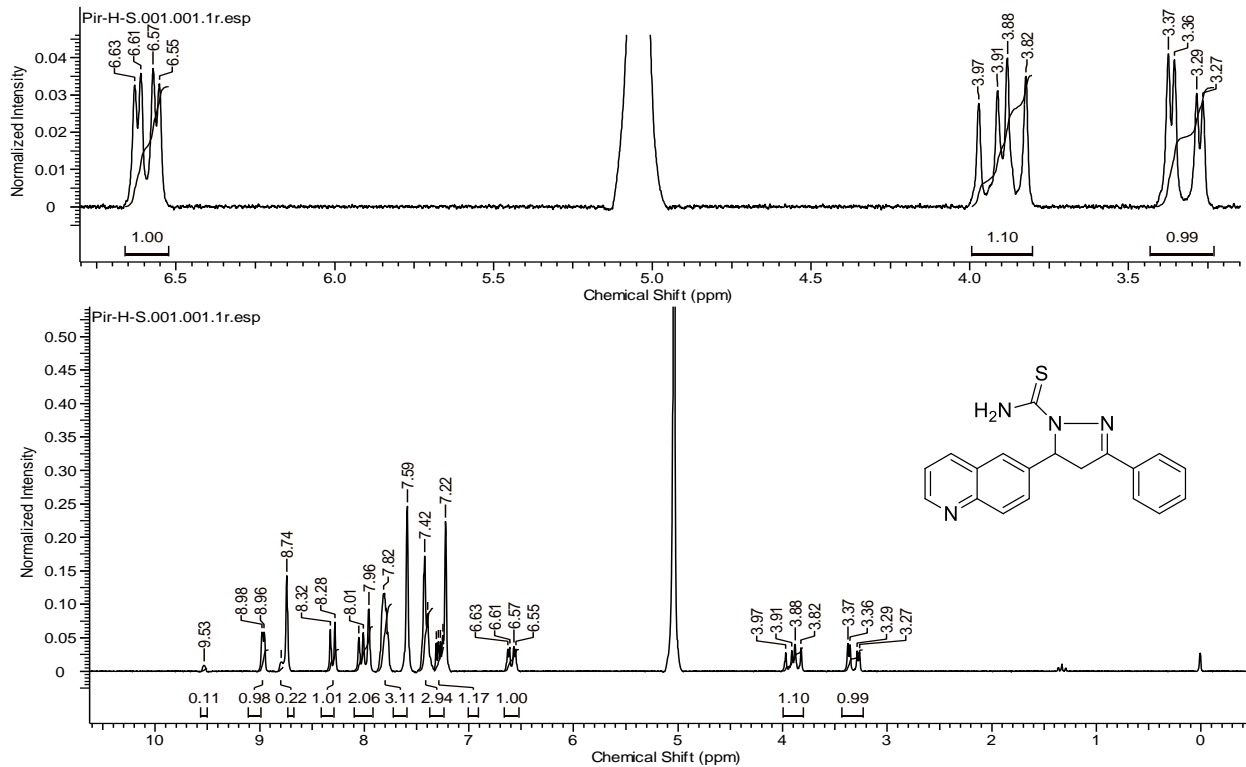


**Anexo 26:** Espectro de massa de alta do composto 6-(3-(4-bromofenil)-1-fenil-4,5-di-hidro-pirazol-1H-il)quinolina (**4f**).

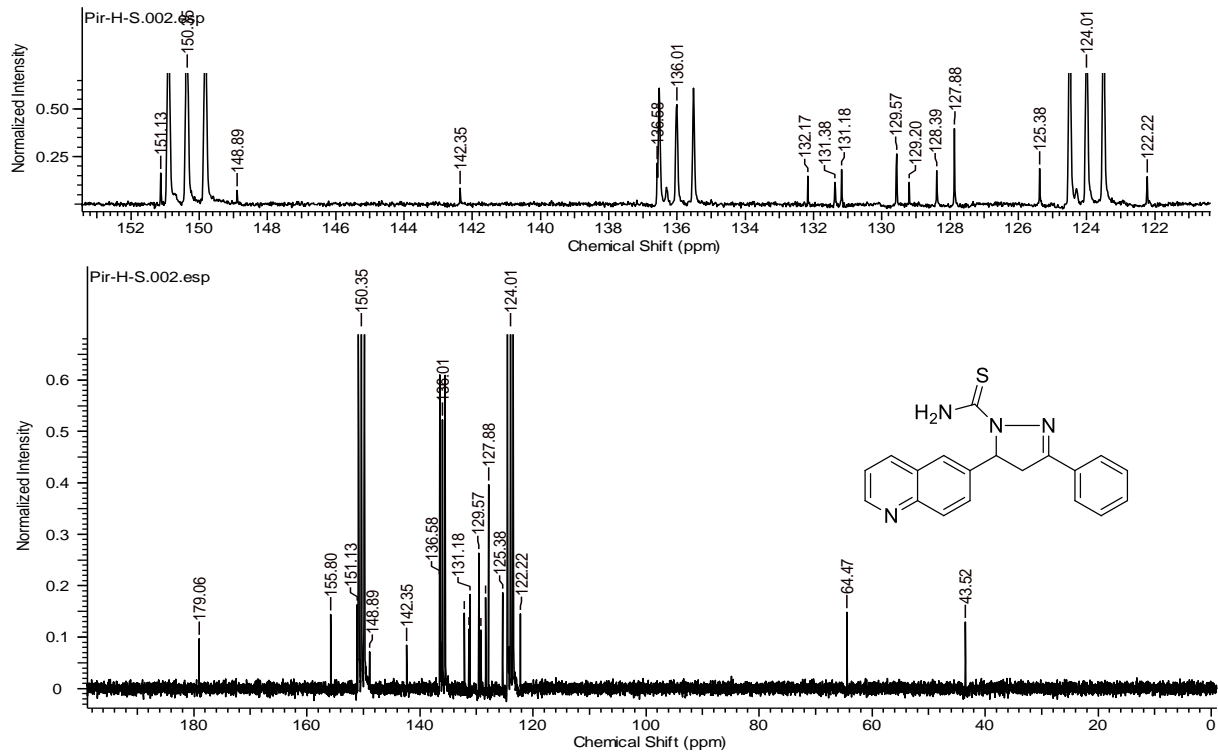




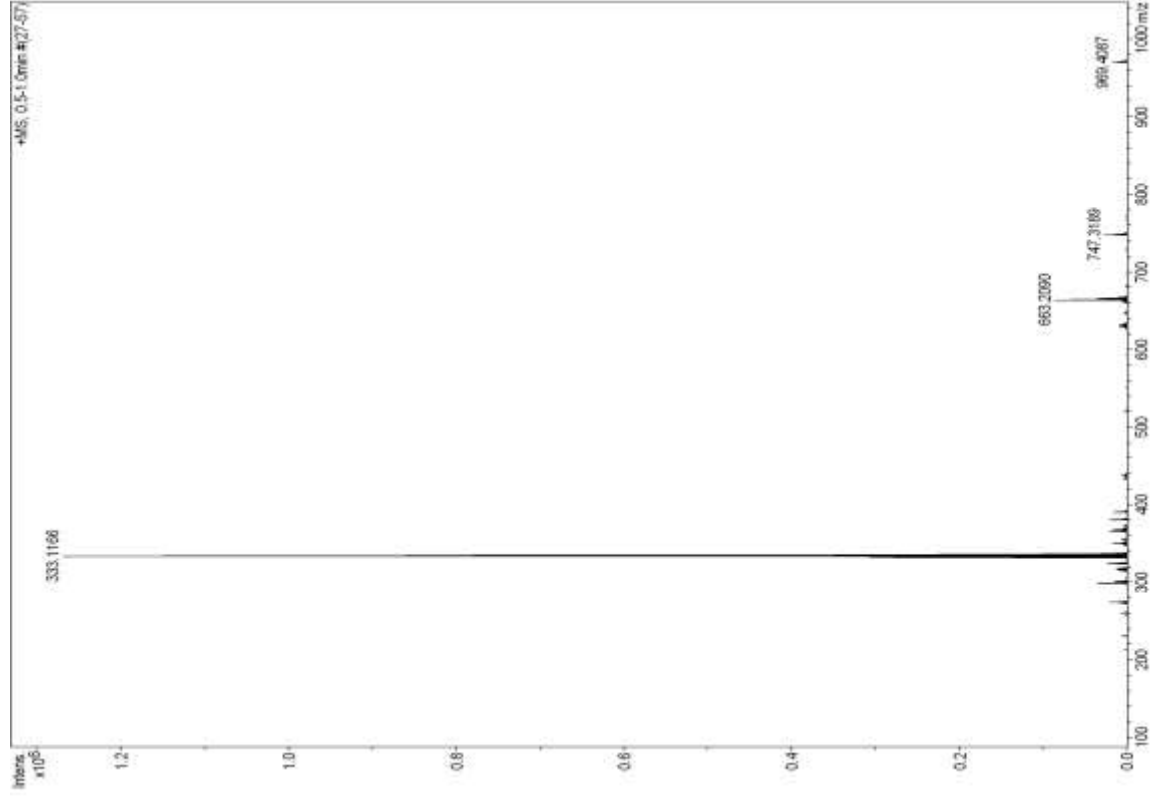
**Anexo 28:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a**).



**Anexo 29:** Espectro de RMN 13C do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a**).

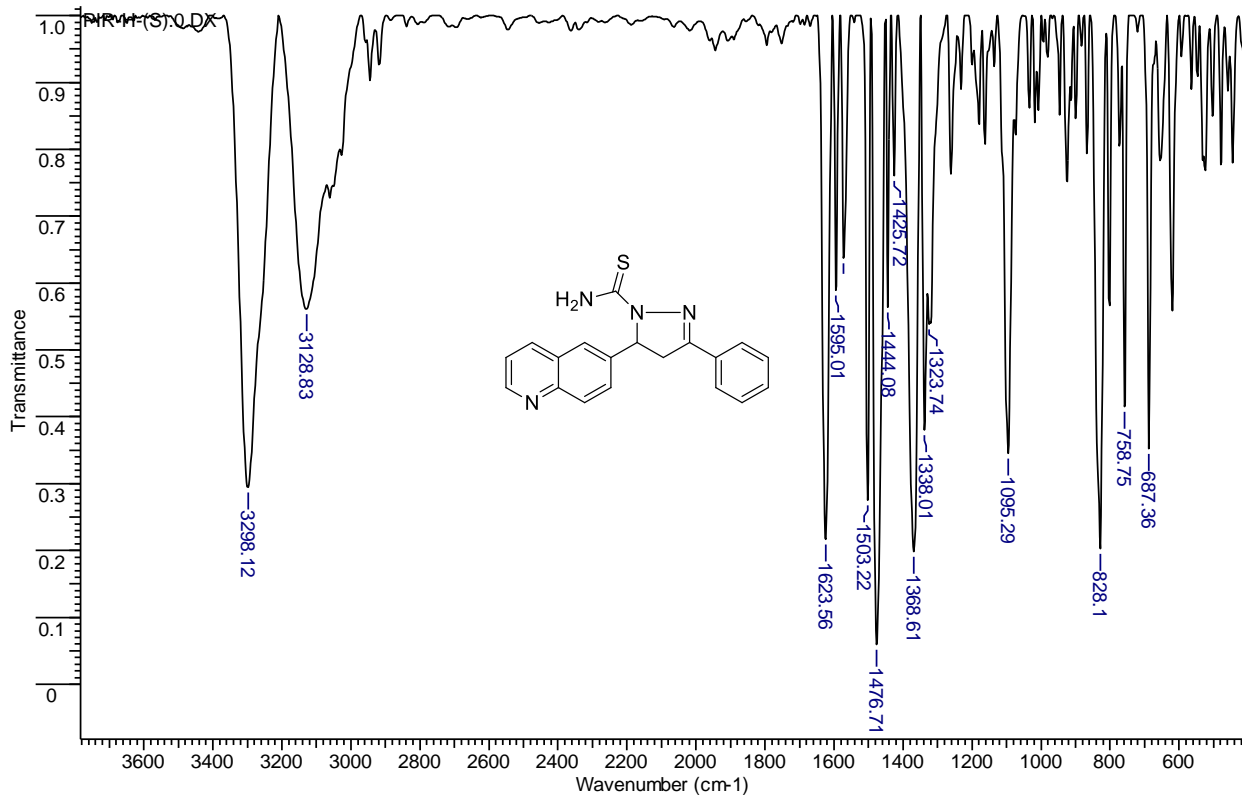


**Anexo 30:** Espectro de massas de alta do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a**).

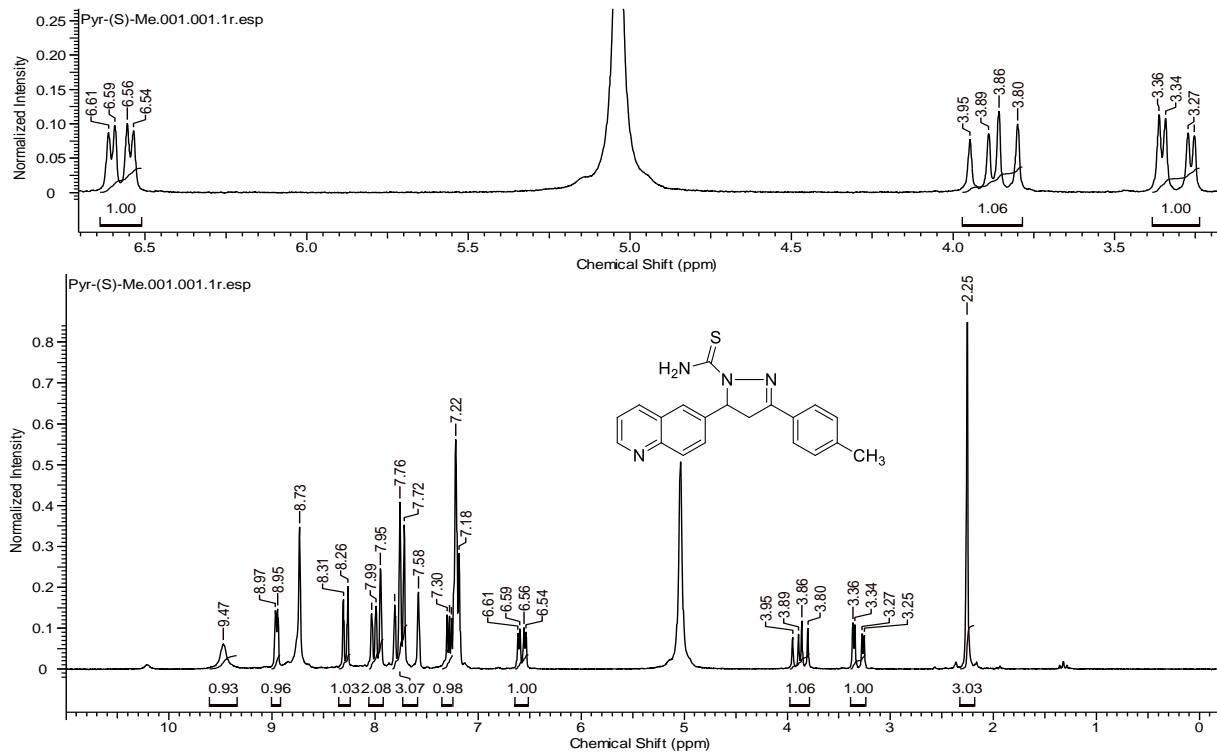




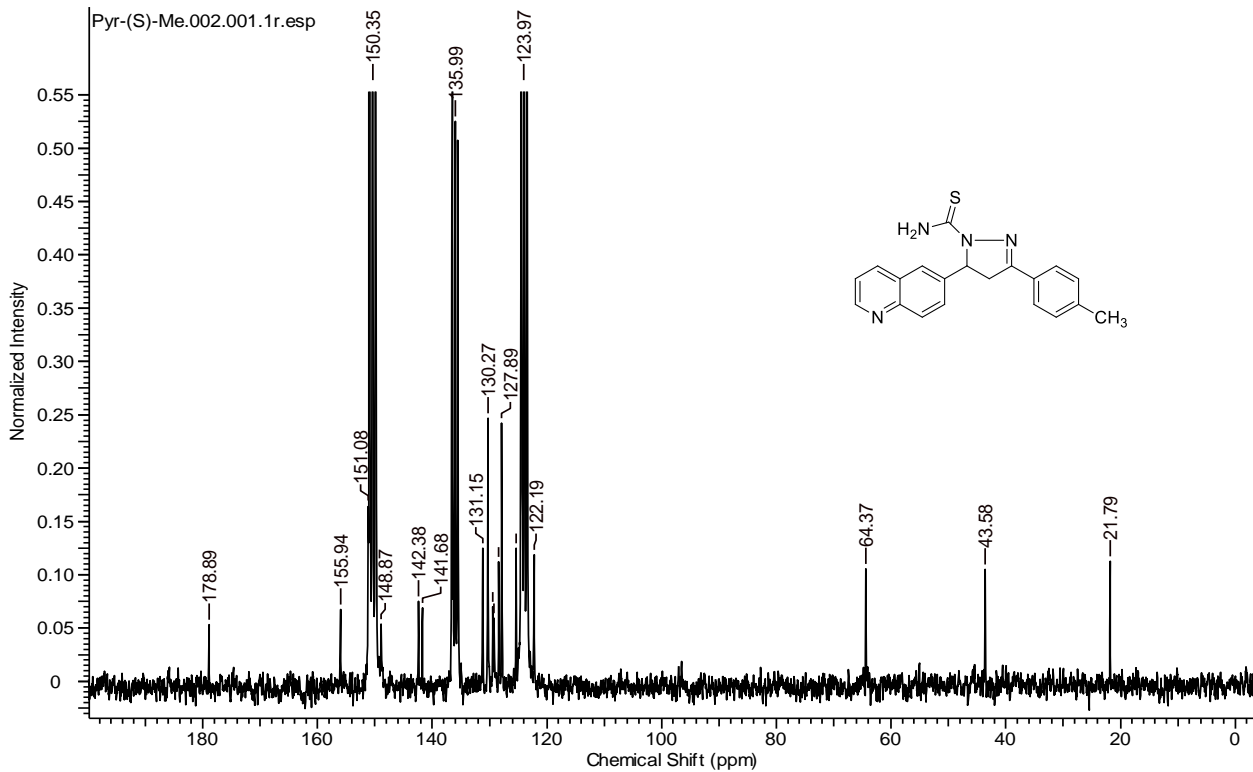
**Anexo 31:** Espectro de infravermelho do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-fenil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5a**).



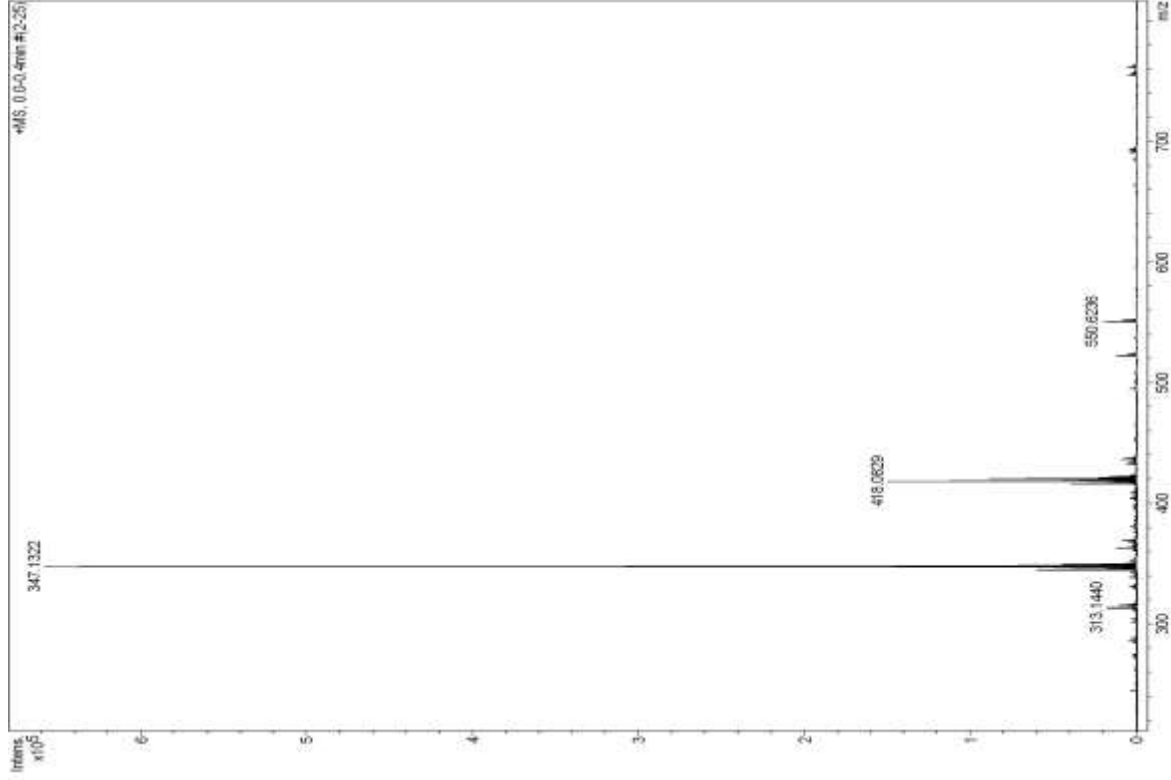
**Anexo 32:** Espectro de RMN 1H do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil))-quinolina (**5b**).



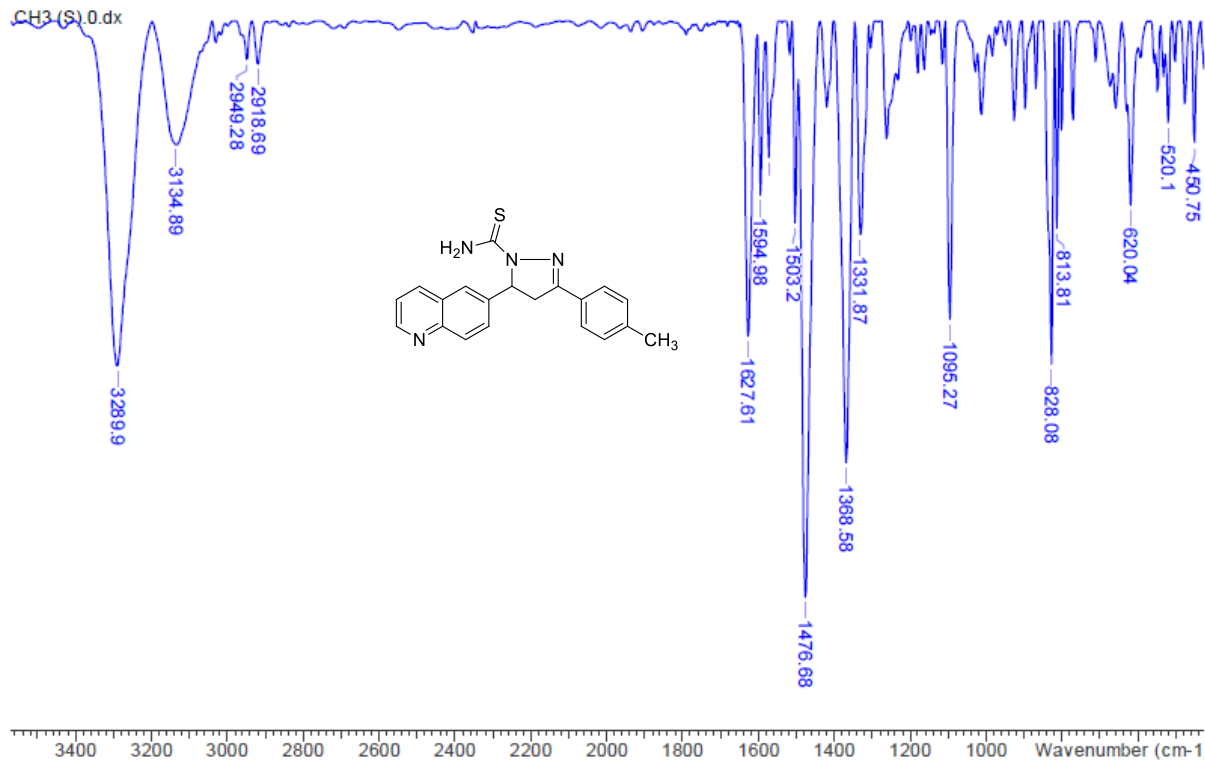
Anexo 33: Espectro de RMN 13C do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil))-quinolina (**5b**).



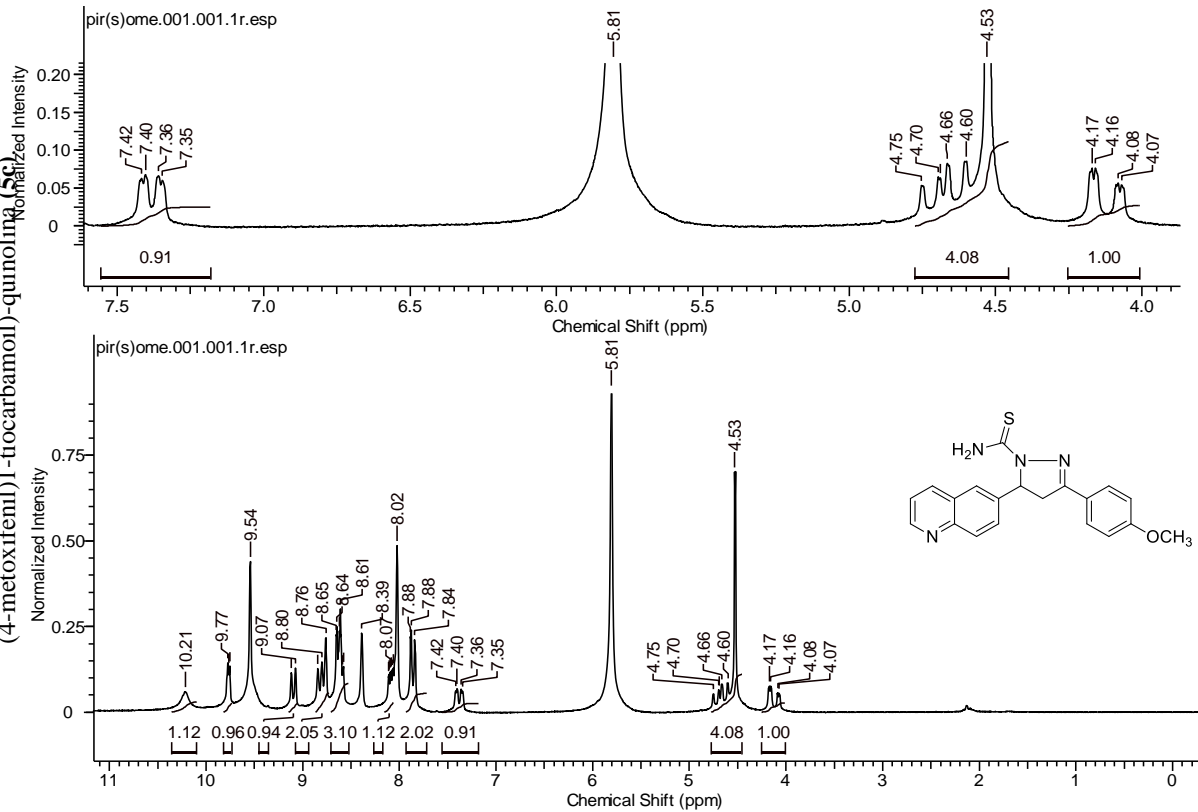
**Anexo 34:** Espectro de massas de alta do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil))-quinolina (**5b**).

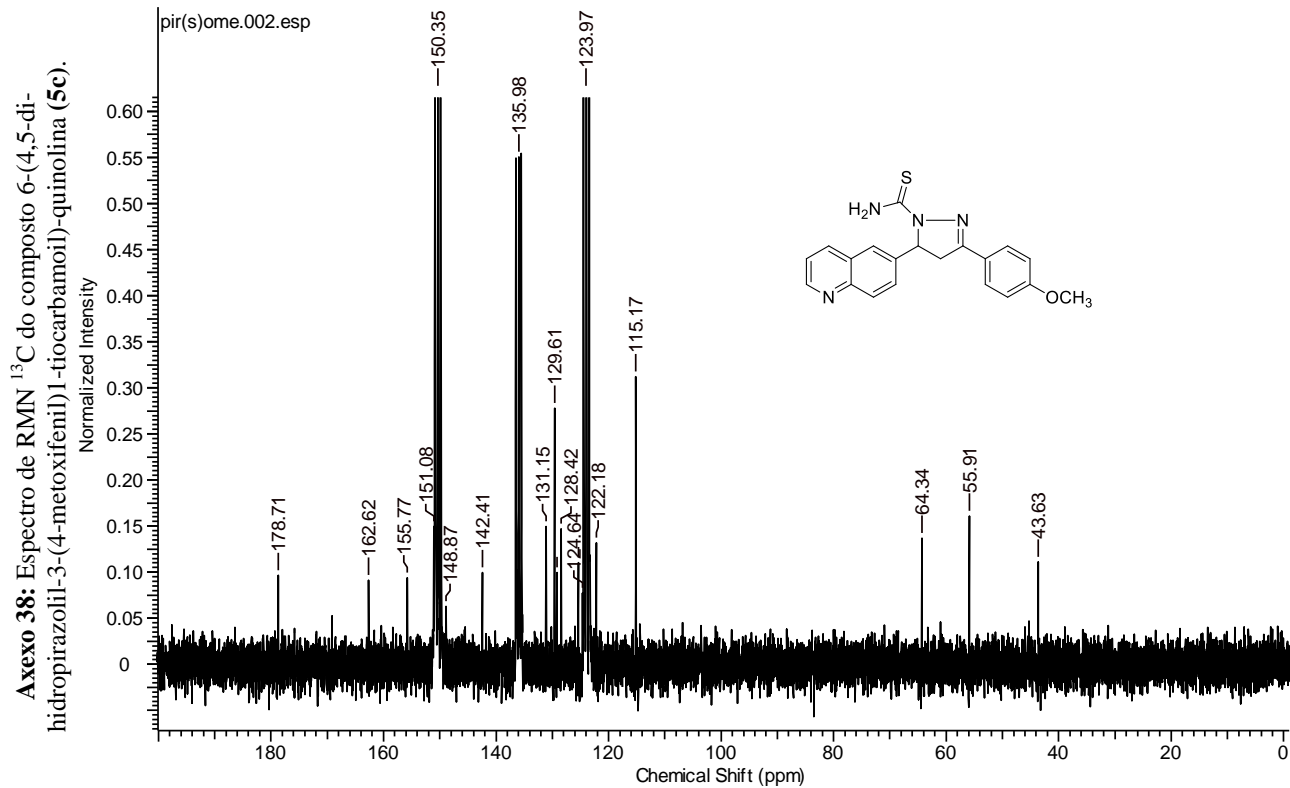


**Anexo 36:** Espectro de infravermelho do composto 6-(4-(4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil-3-(4-toluil)))-quinolina (**5b**).

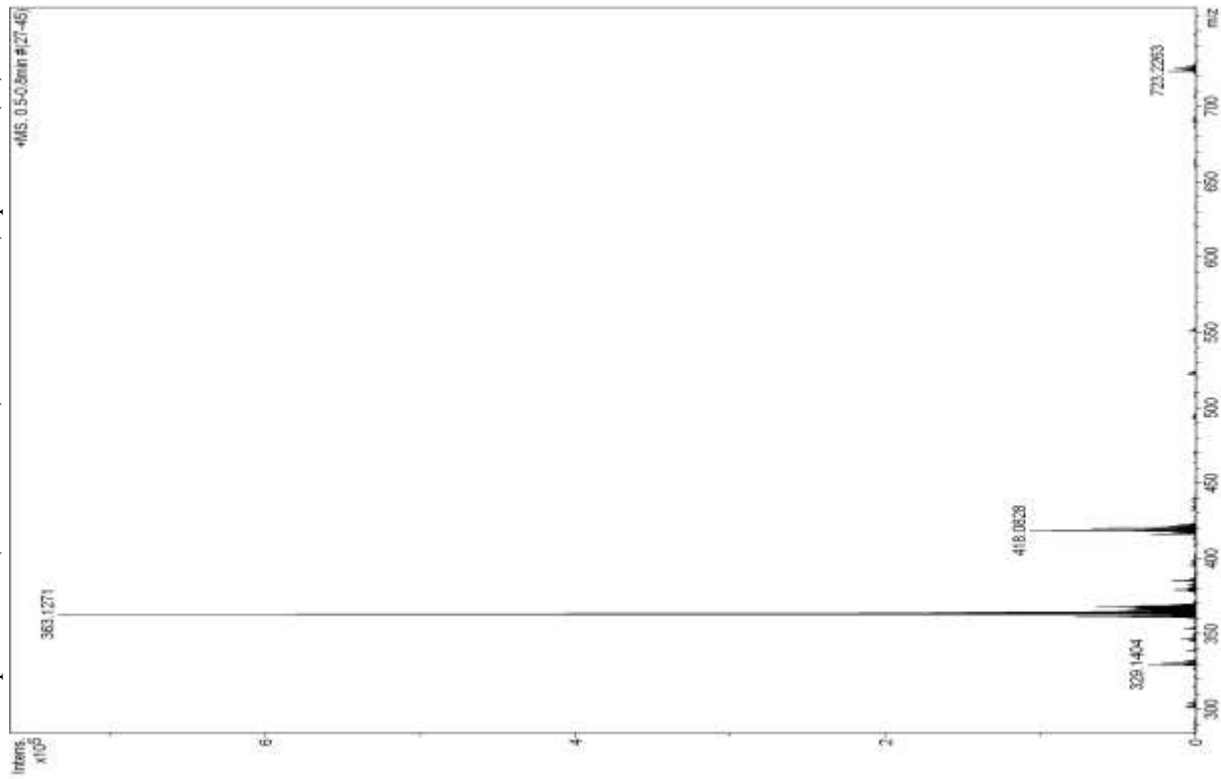


**Anexo 37:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-(4-metoxifenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (5c)



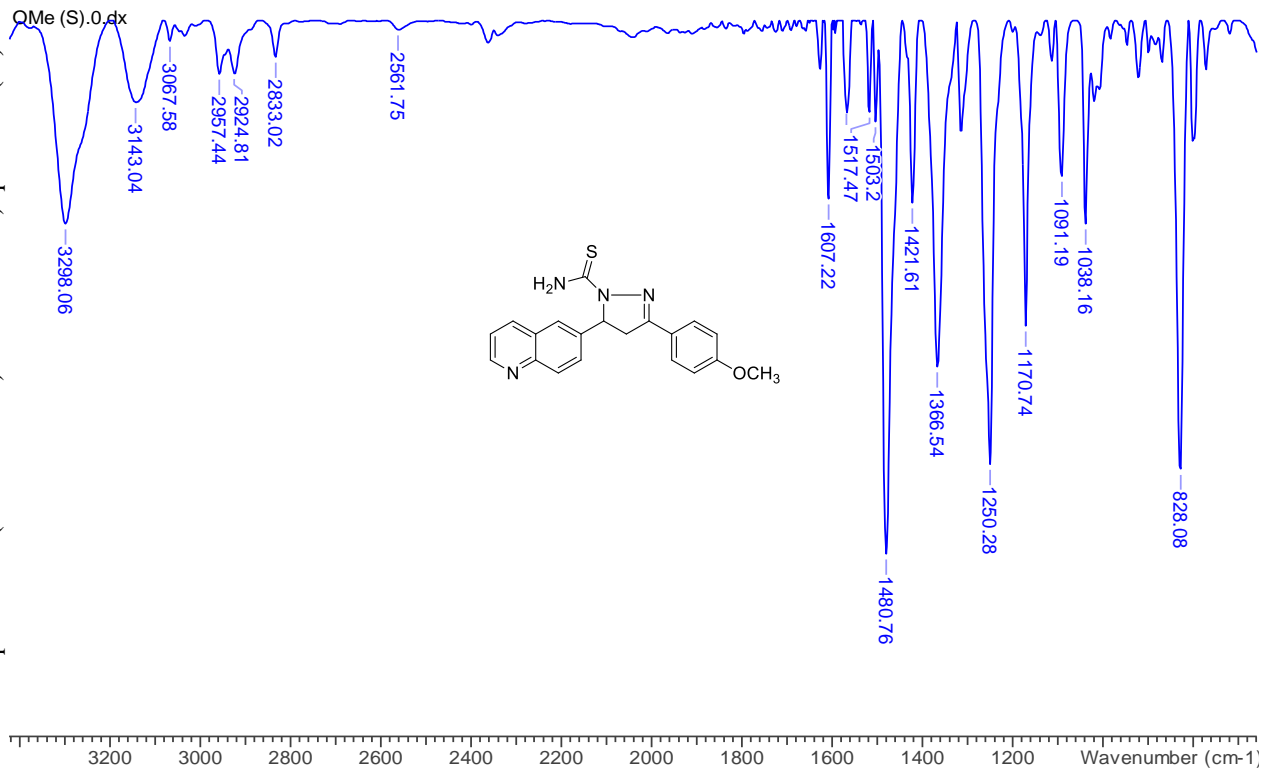


**Anexo 391:** Espectro de massas de alta do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-(4-metoxifenil)-tiocarbamoil)-quinolina (**5c**).

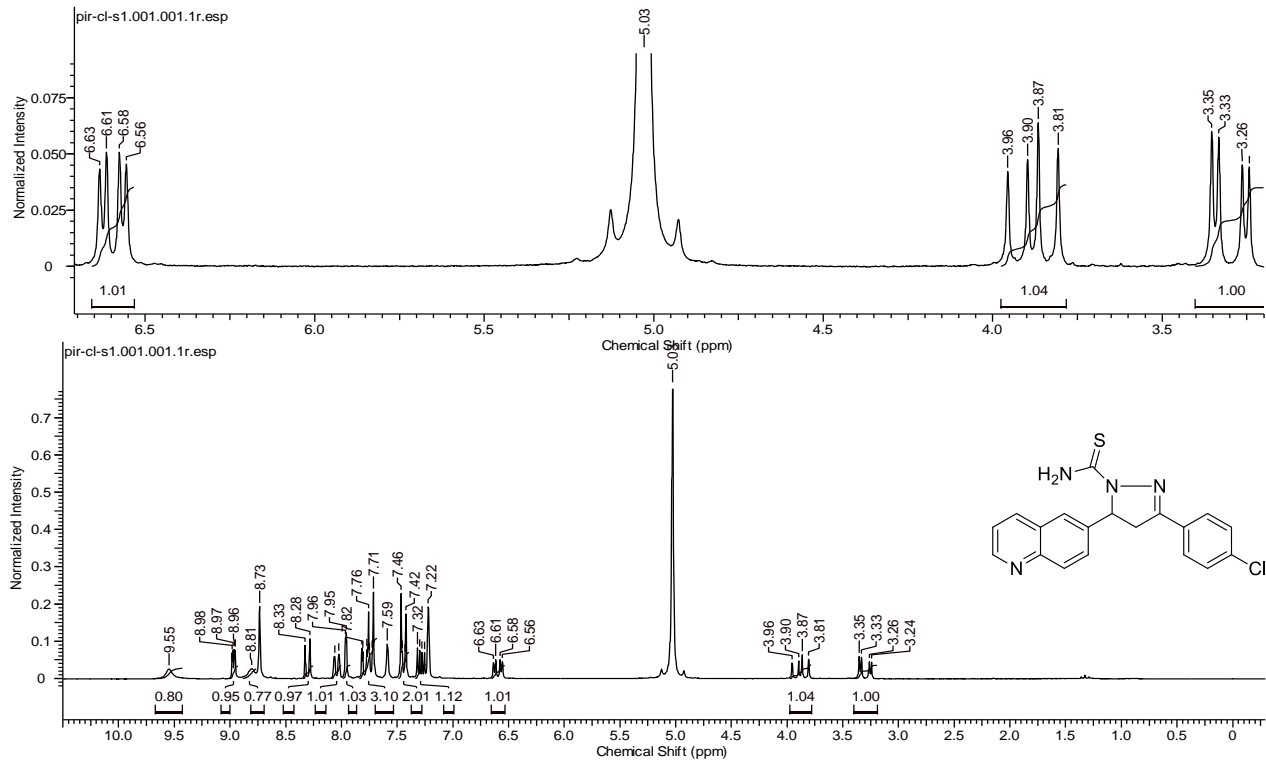




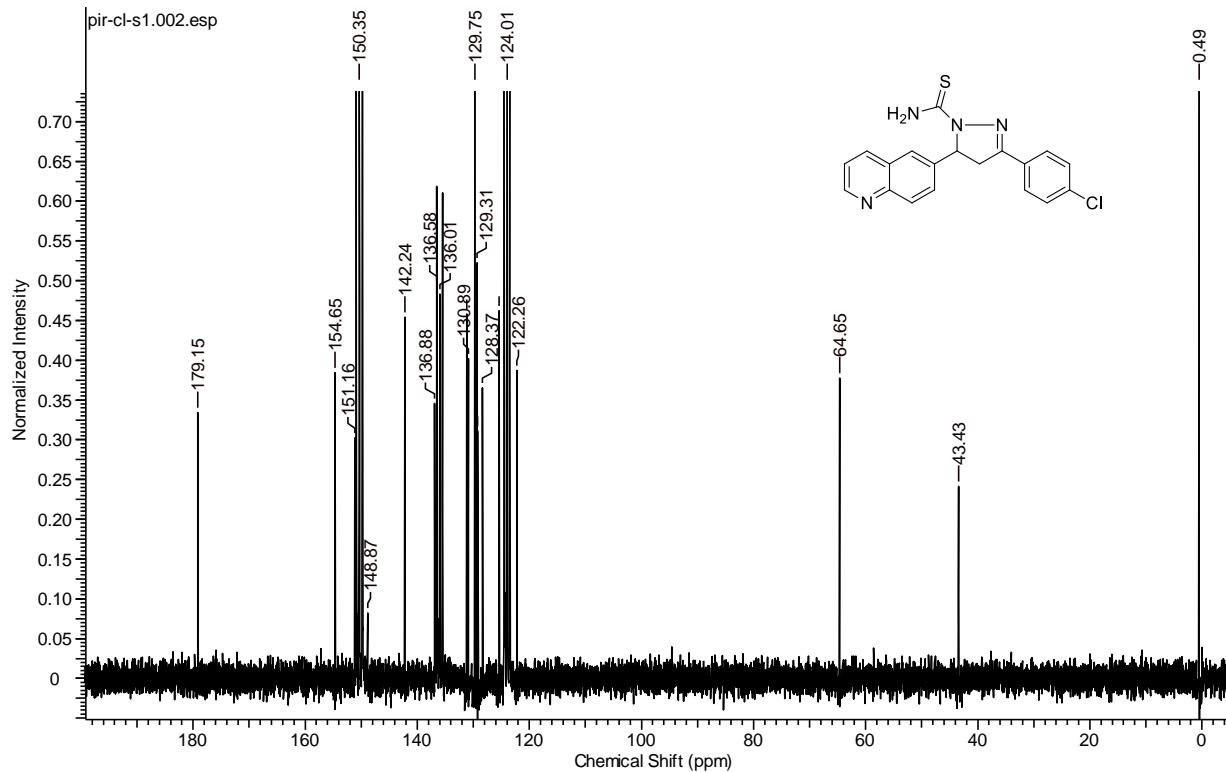
**Anexo 40:** Espectro de infravermelho do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-(4-metoxifenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5c**).



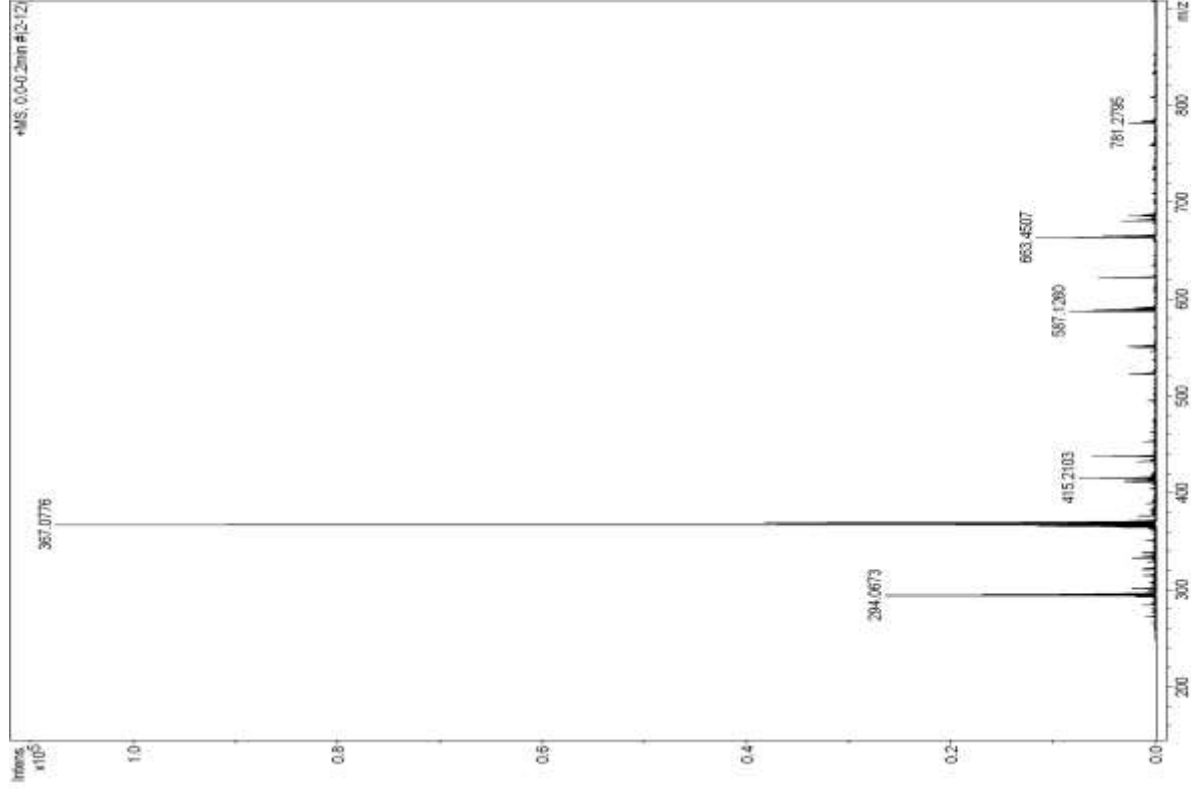
**Anexo 41:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazoli-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



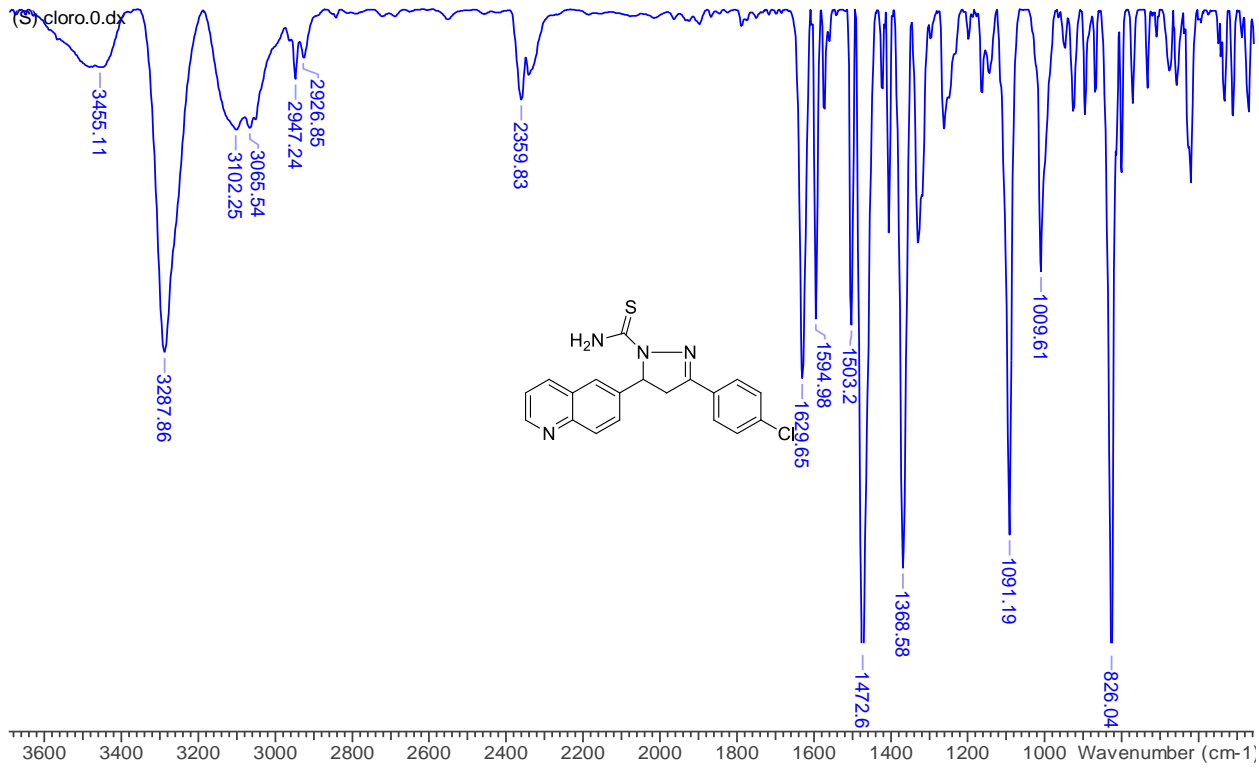
**Anexo 42:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



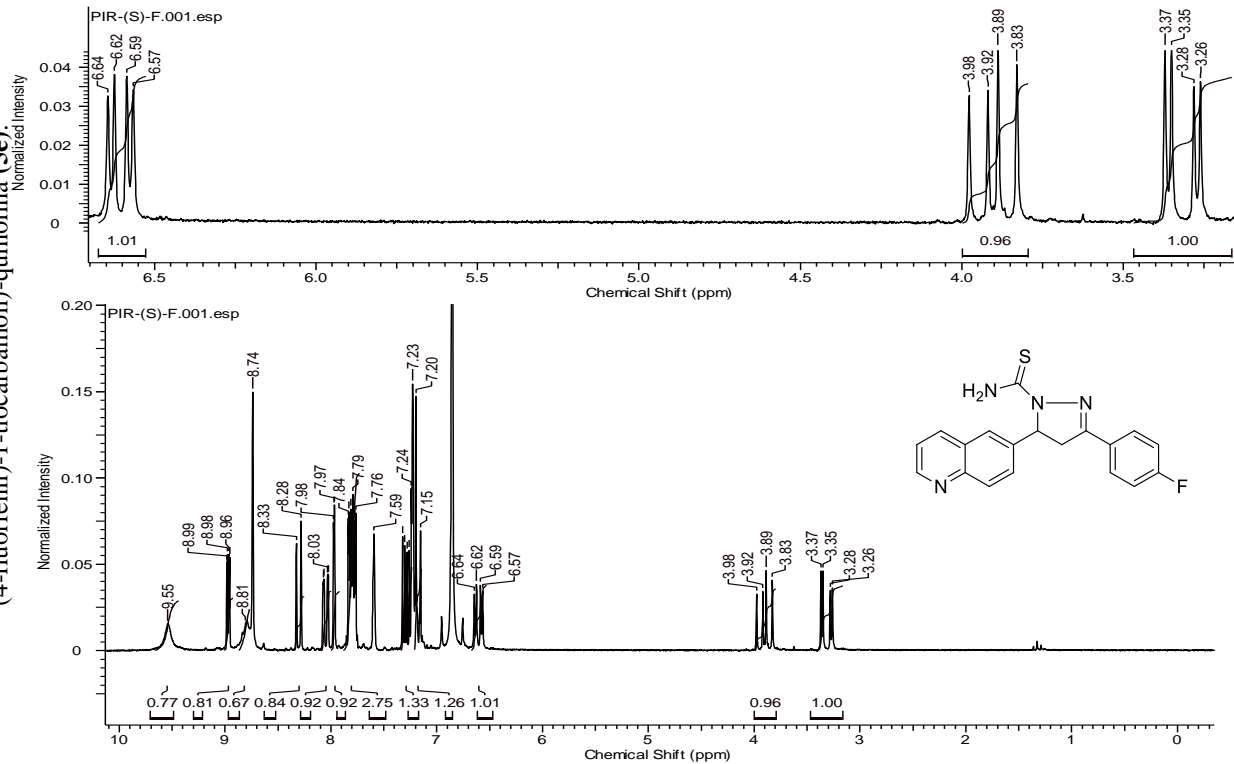
**Anexo 43:** Espectro de massas de alta do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



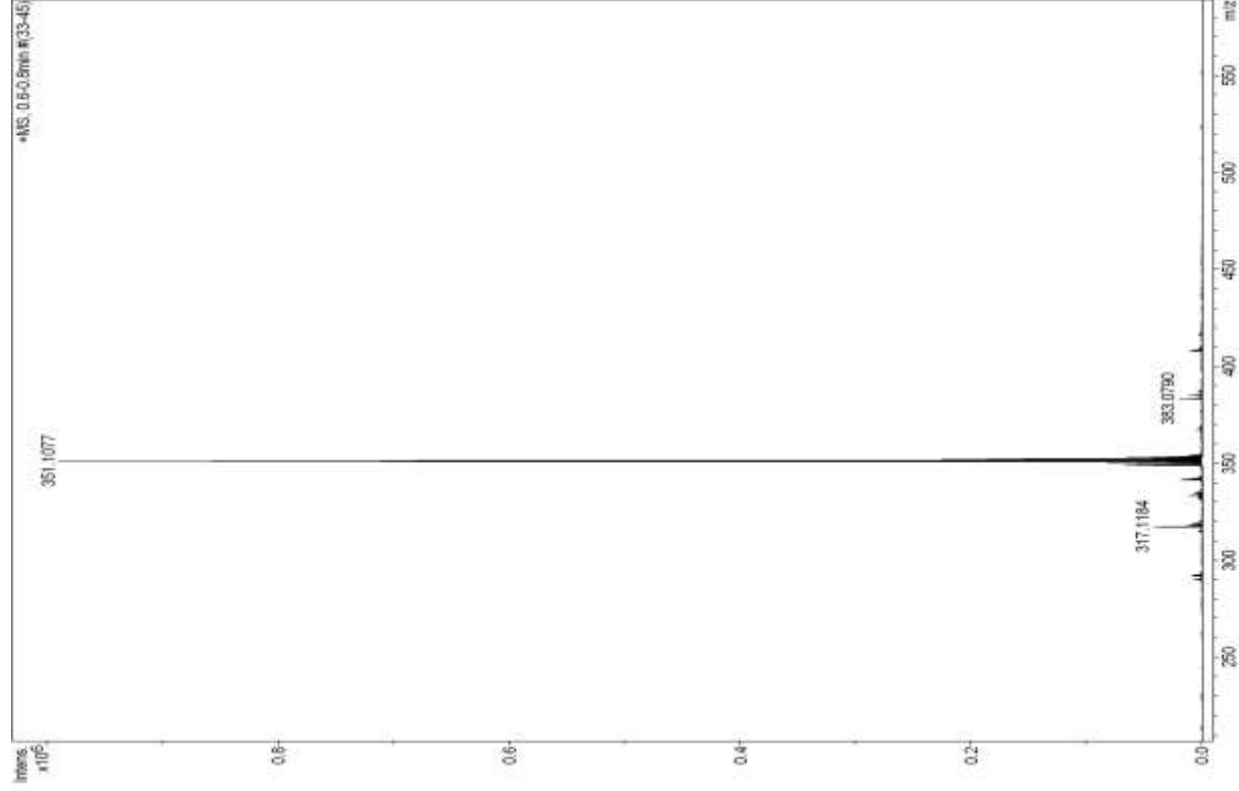
**Anexo 44:** Espectro de infravermelho do composto 6-(3-(4-clorofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5d**).



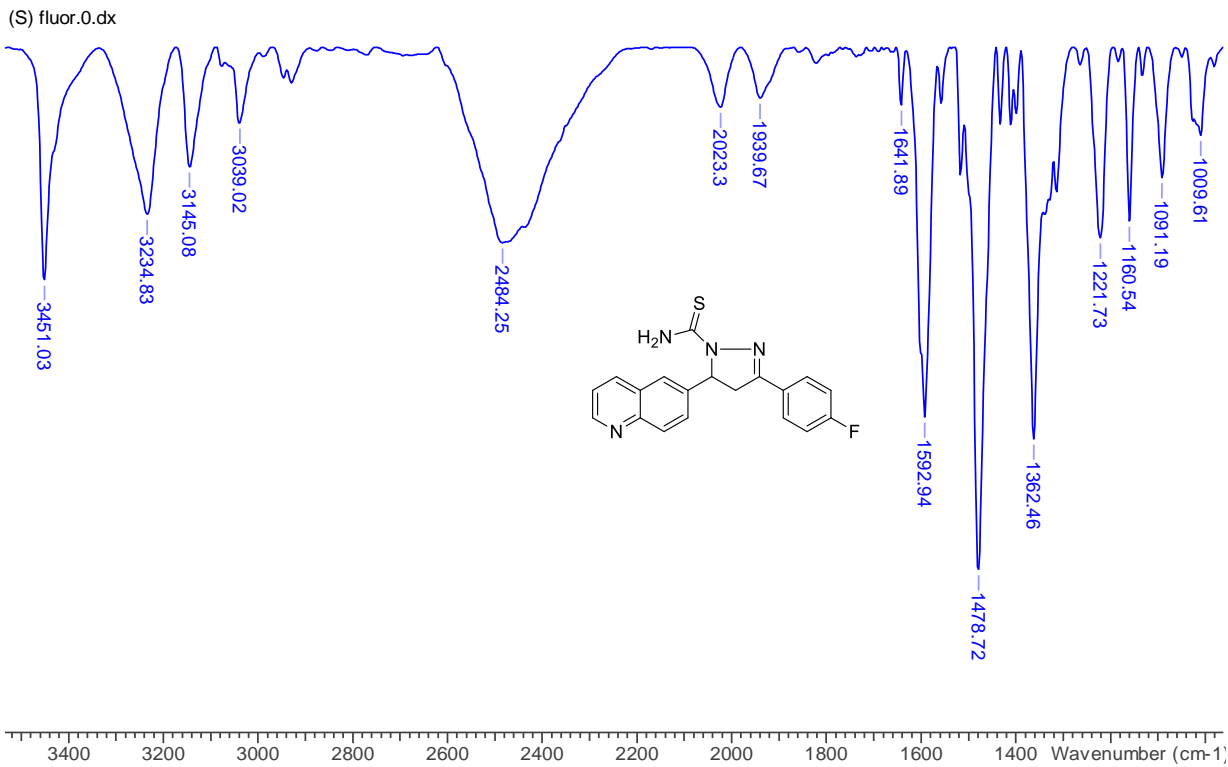
**Anexo 45:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-(4-fluorfenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5c**)



**Anexo 46:** Espectro de massas de alta do composto 6-(4,5-di-hidropirazolil-3-(4-fluorfenil)-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5e**).

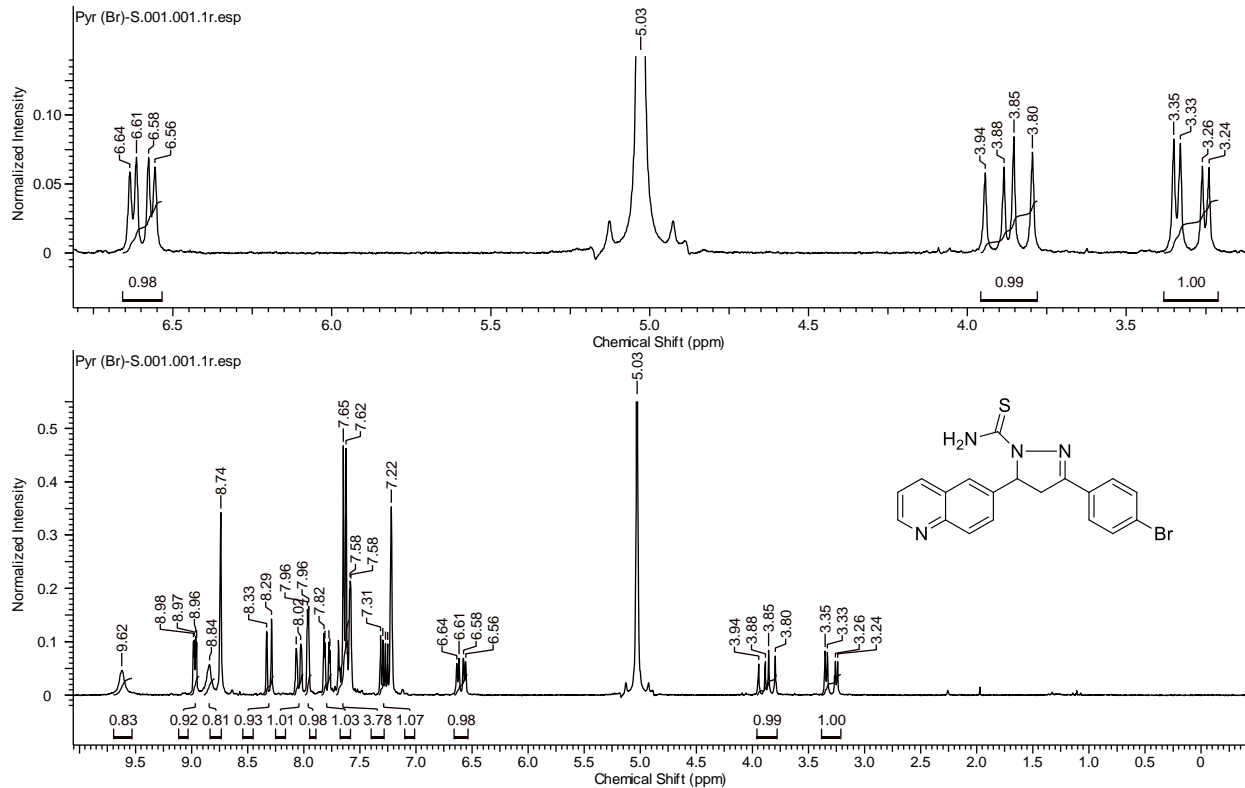


**Anexo 47:** Espectro de infravermelho do composto 6-(4,5-dihidropirazolil-3-3-(4-fluorfenil)-1-(tiocarbamoil)-quinolina (**5e**).

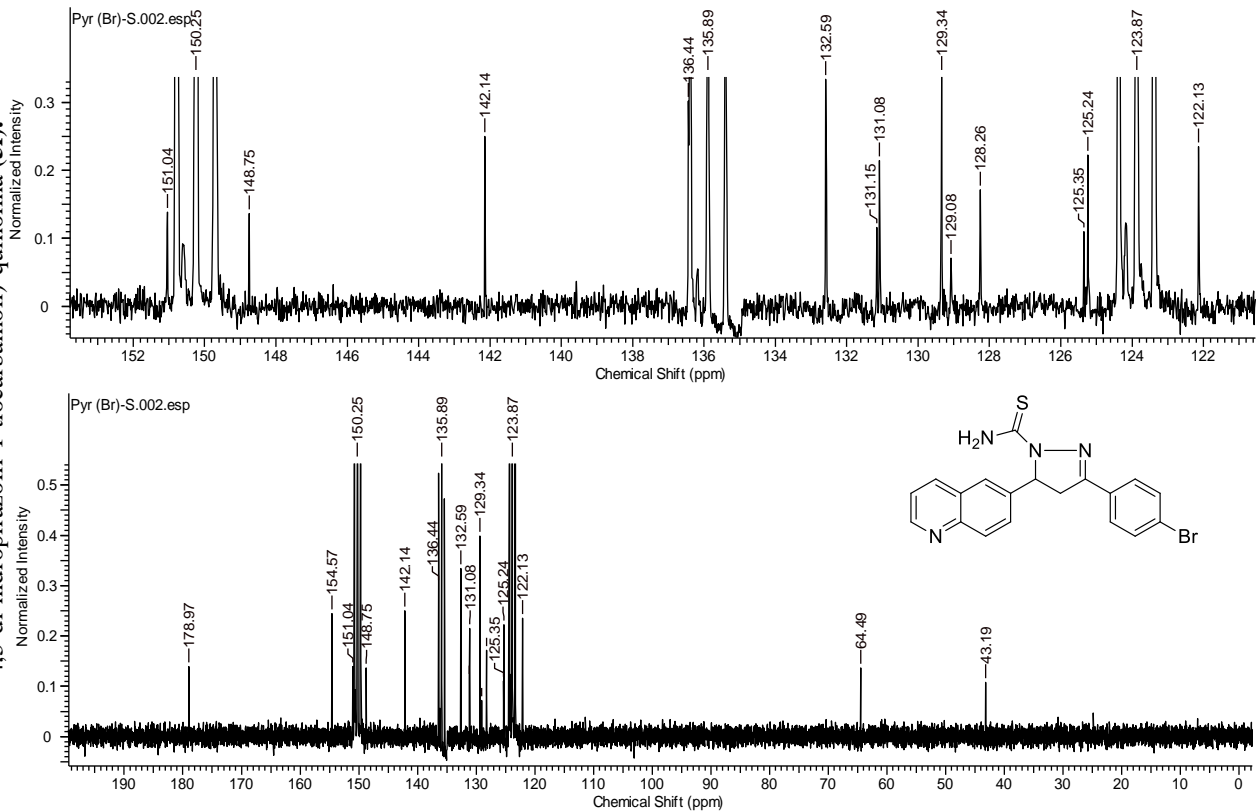




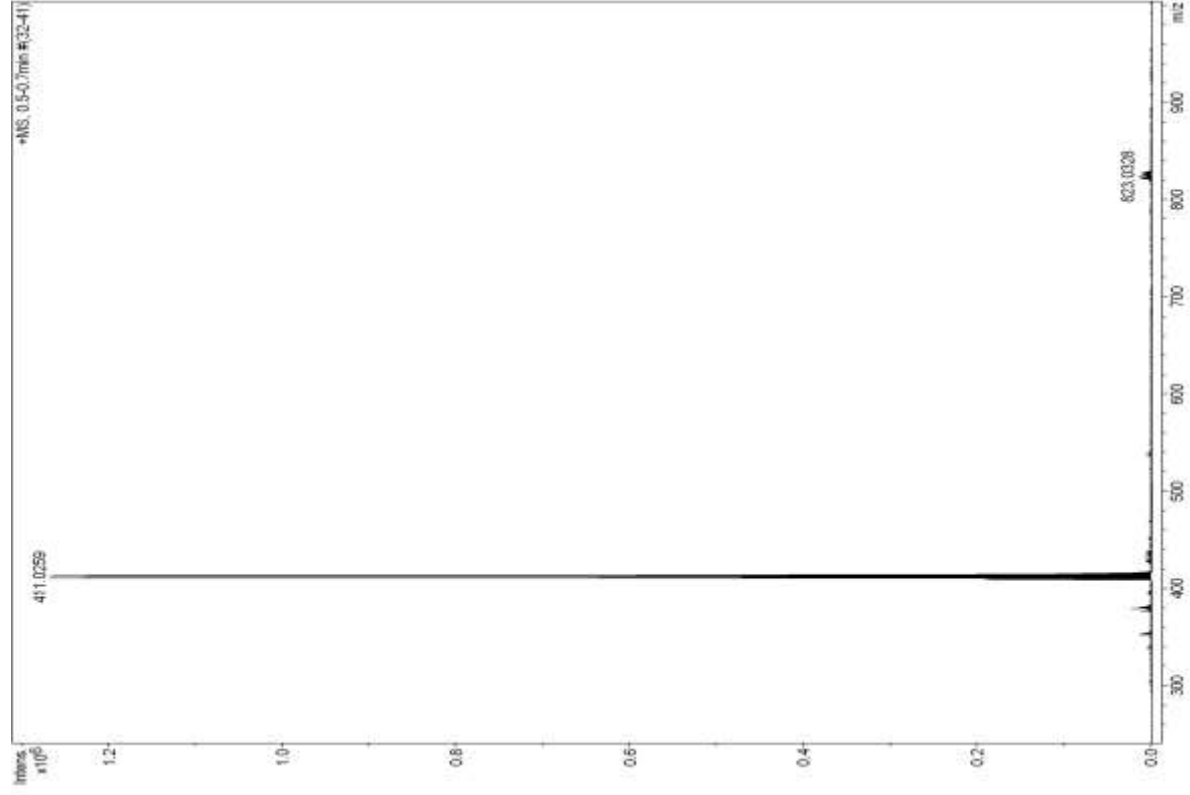
**Anexo 48:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 6-(3-(4-bromofenil)-4,5-dihidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5f**).



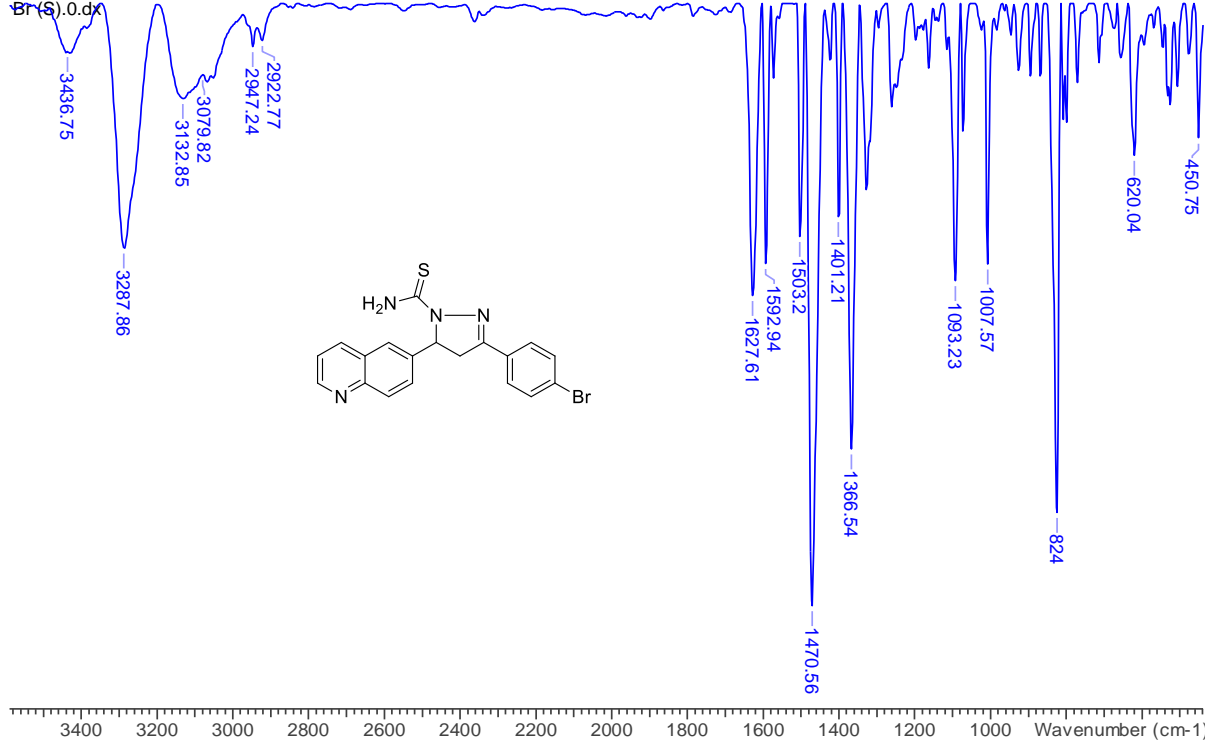
**Anexo 49:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 6-(3-(4-bromofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5f**).



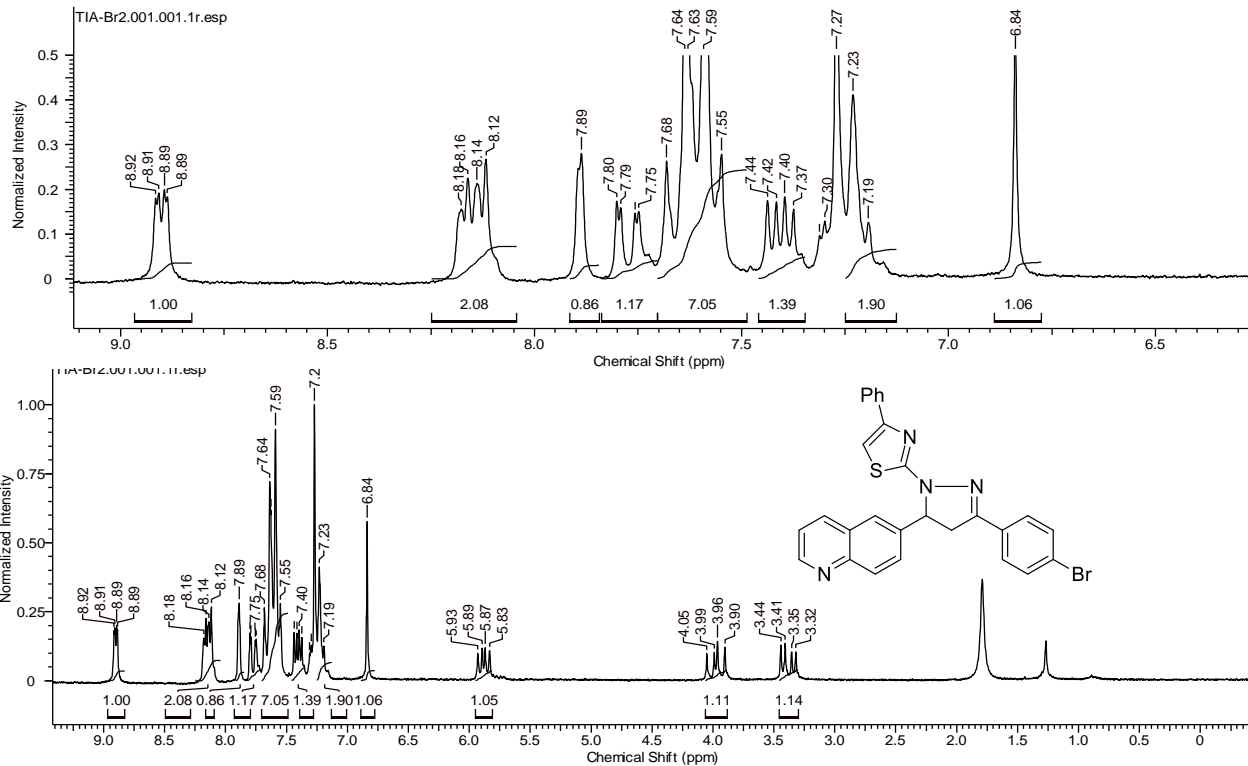
**Anexo 50:** Espectro de massas de alta do composto 6-(3-(4-bromofenil)-4,5-di-hidropirazolil-1-tiocarbamoil)-quinolina (**5f**).

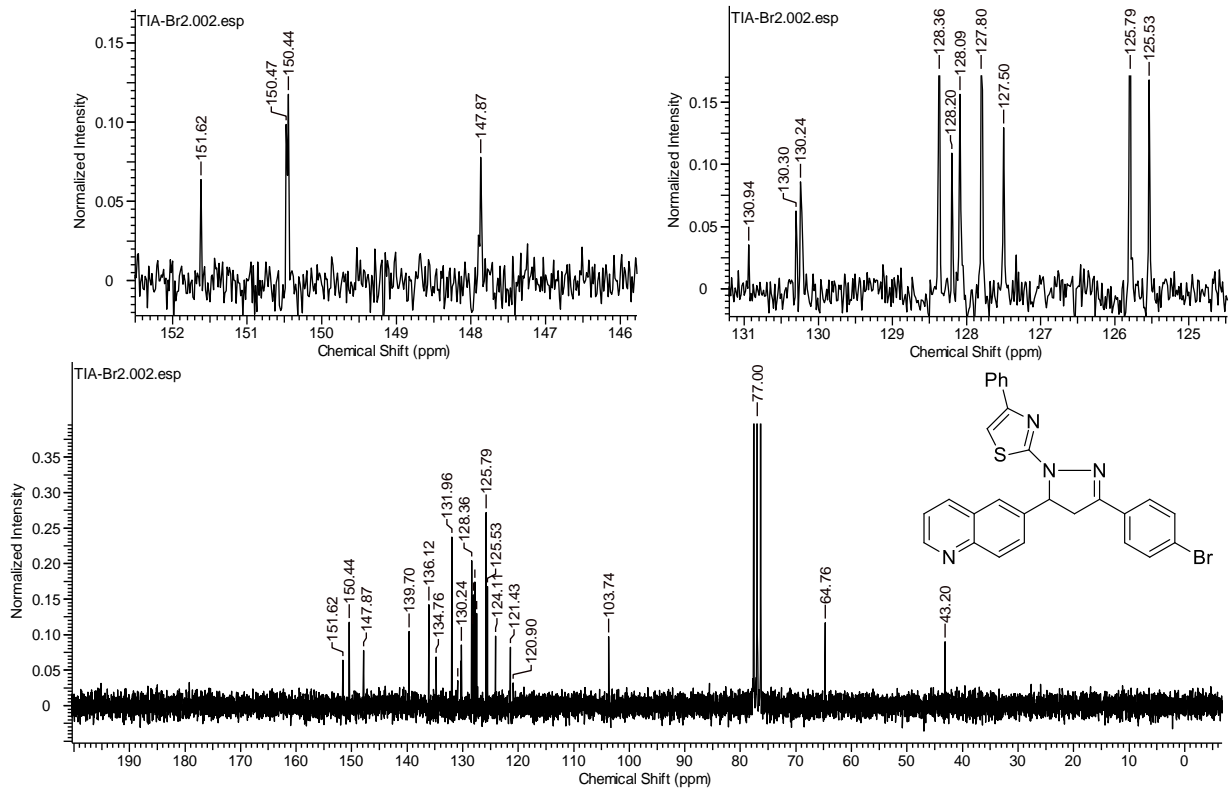


**Anexo 50:** Espectro de infravermelho do composto 6-(3-(4-bromofenil)-1-1-tiocarbazolil-1-quinolina (5f).

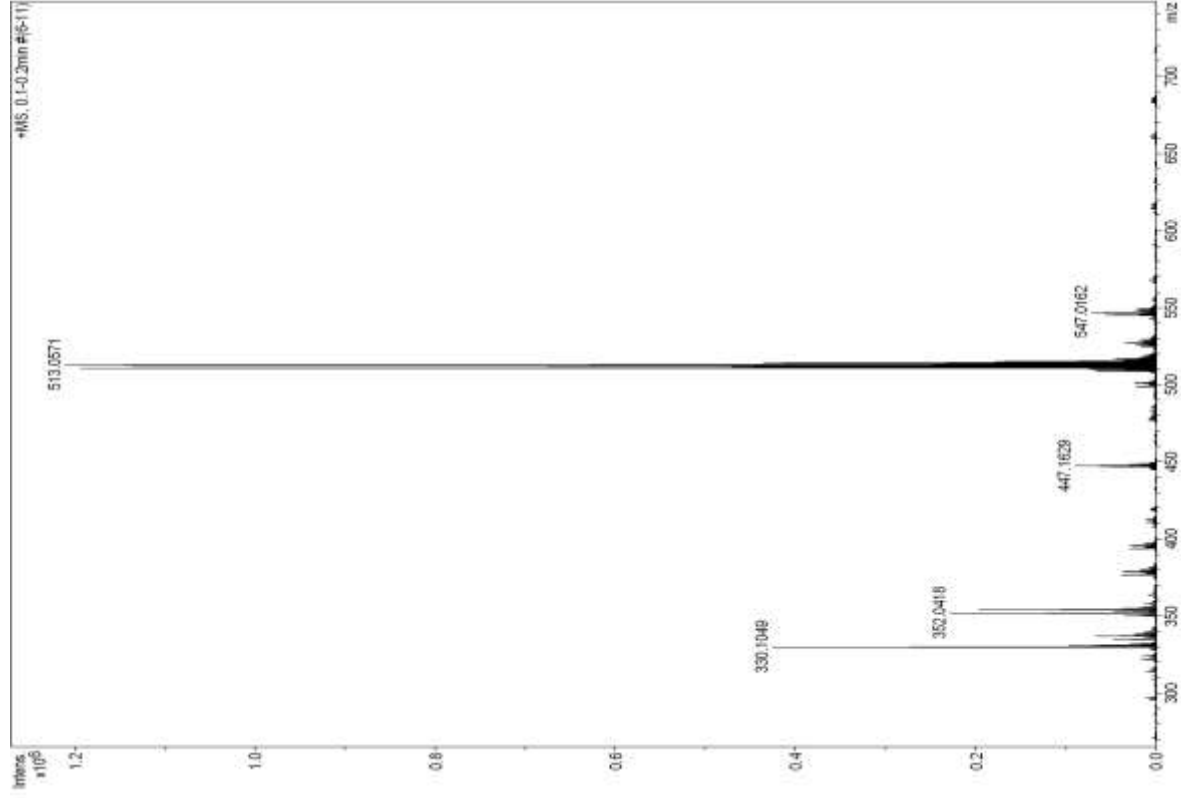


**Anexo 51:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)triazol (6a).



**Anexo 52: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)thiazol (6a).**

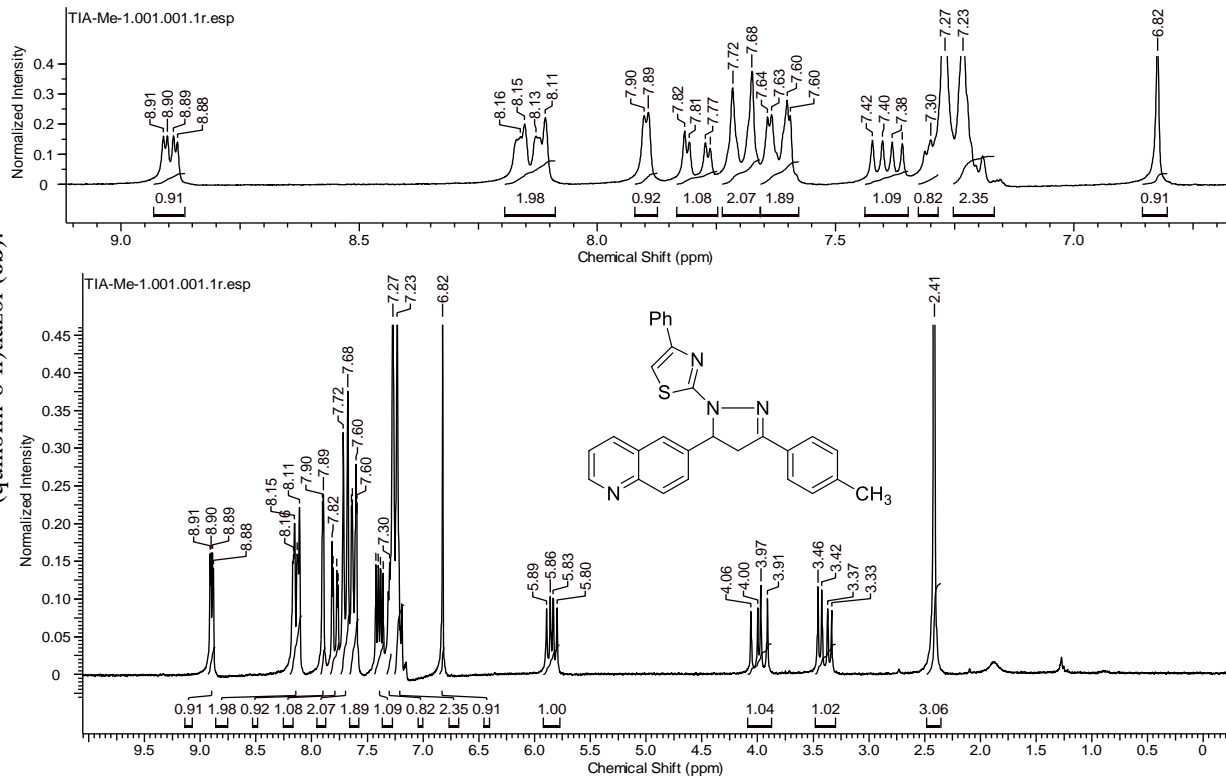
**Anexo 53:** Espectro de massas de alta do composto 5-fenil-2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6a).



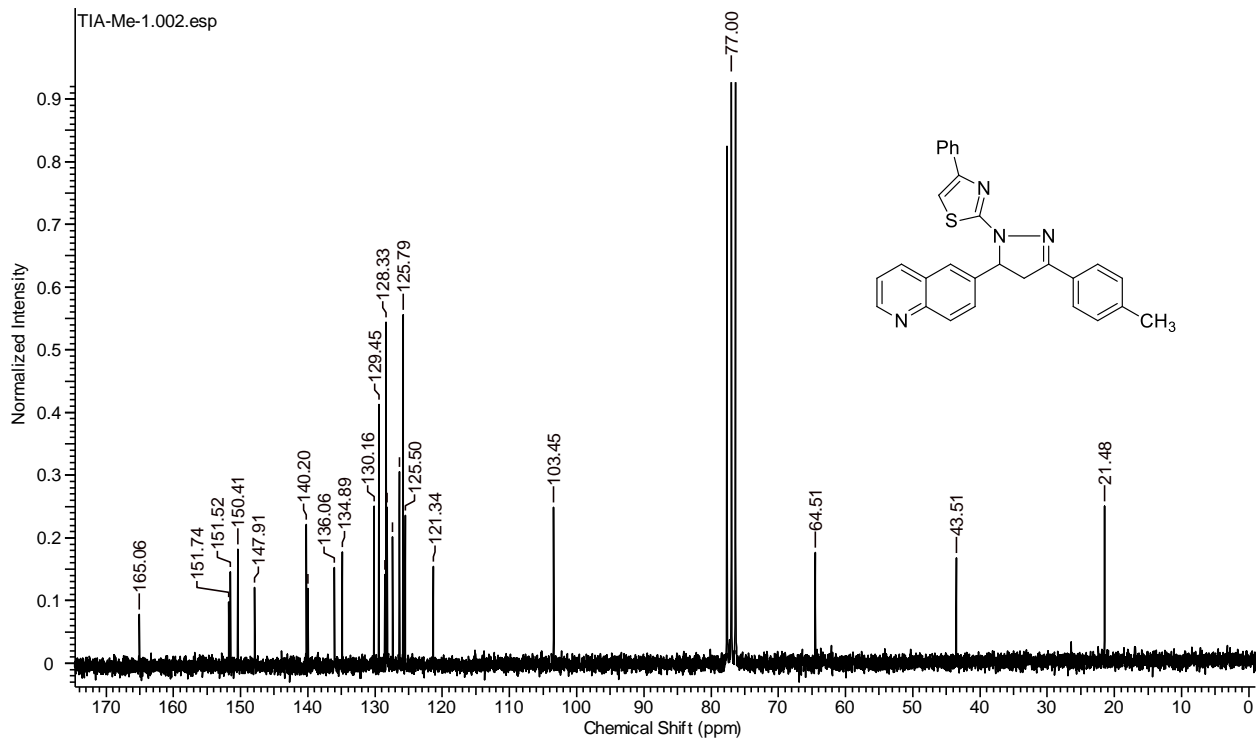




**Anexo 55:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)thiazol (6b).

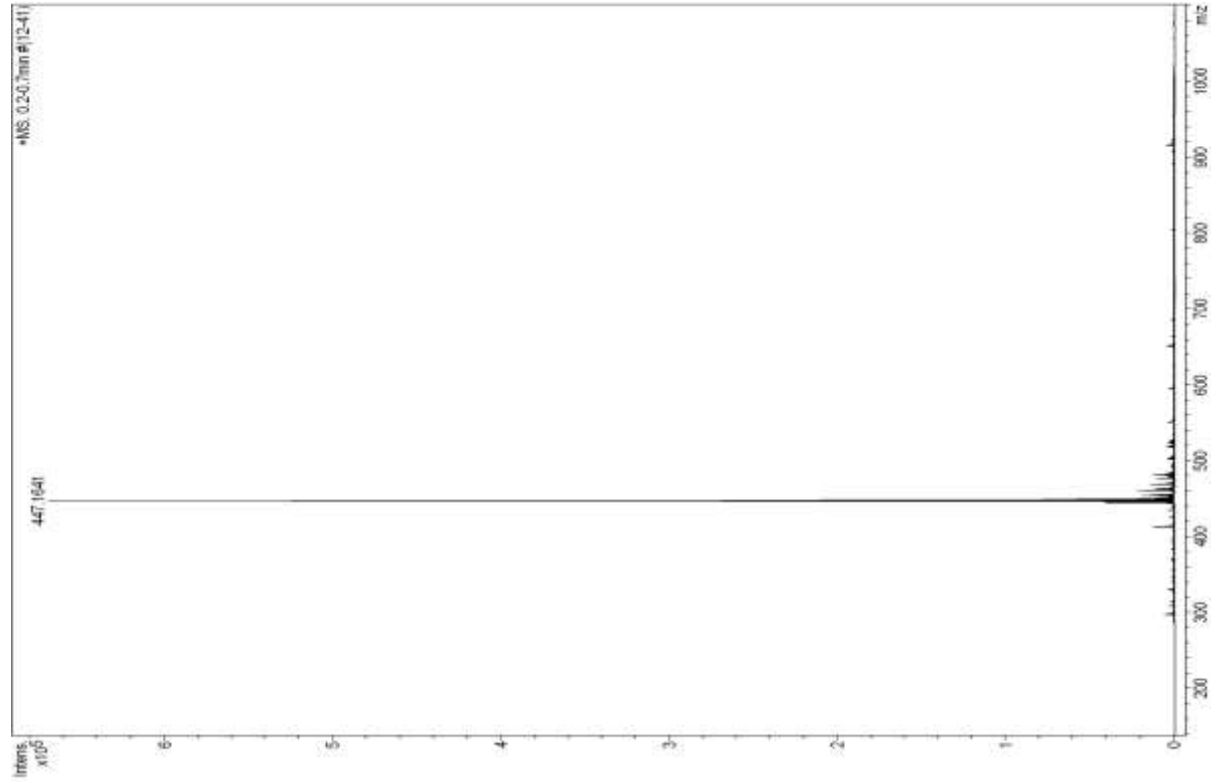


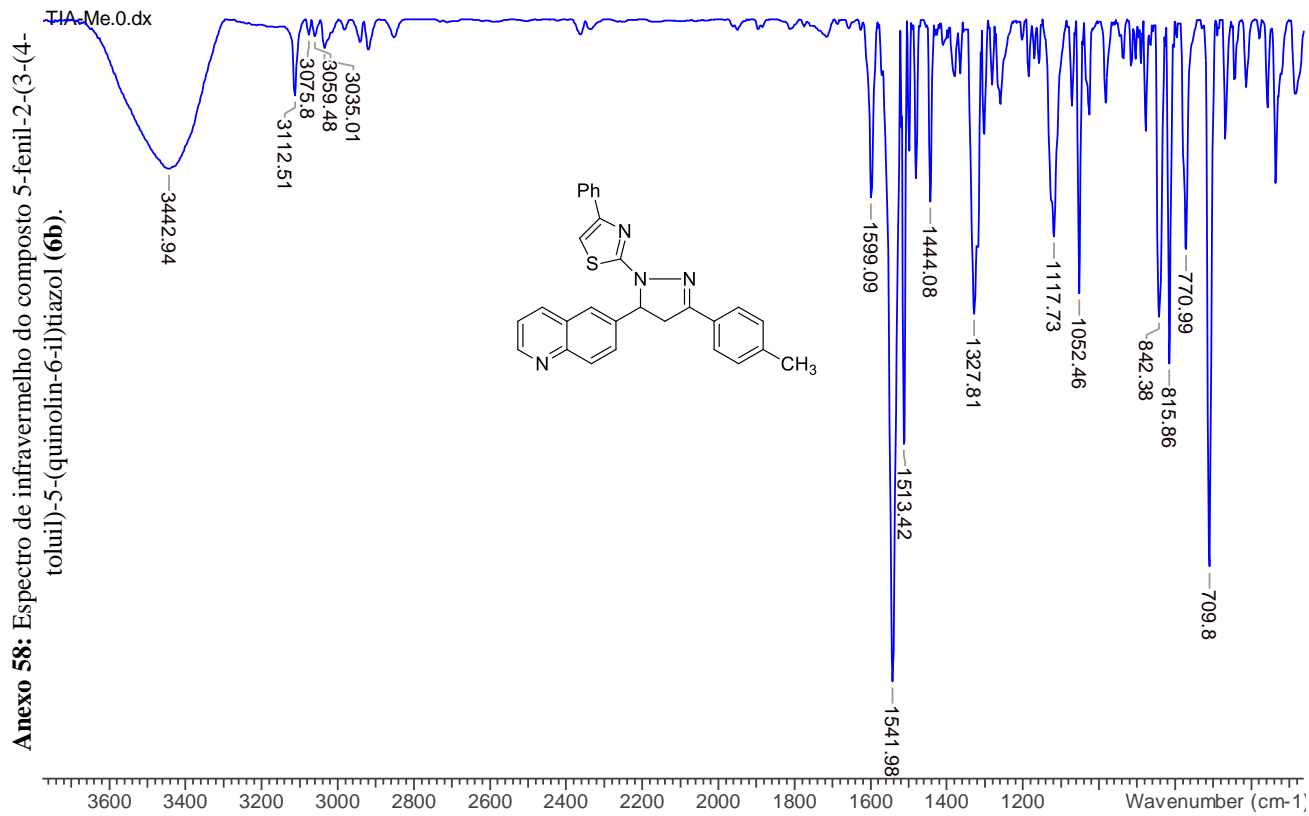
**Anexo 56:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)tiazol).



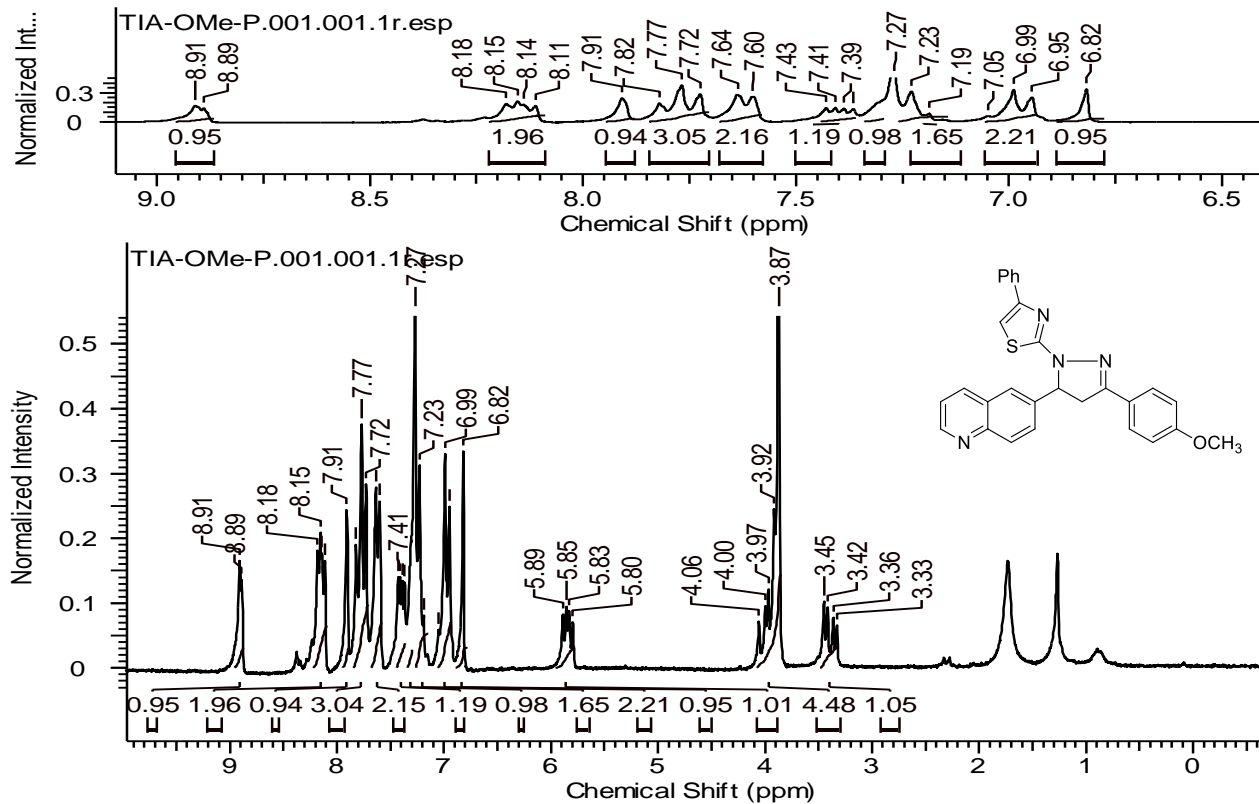


**Anexo 57:** Espectro de massas de alta de massa do composto 5-fenil-2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)triazol (**6b**).

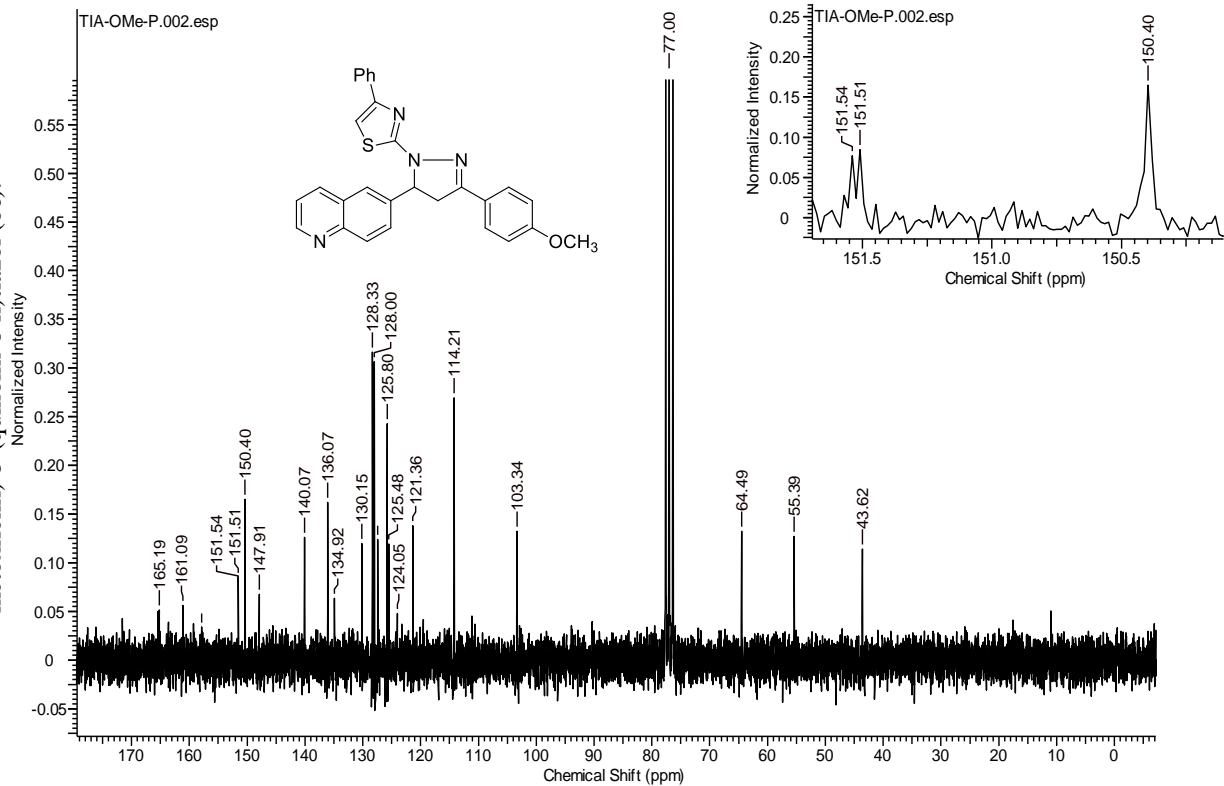




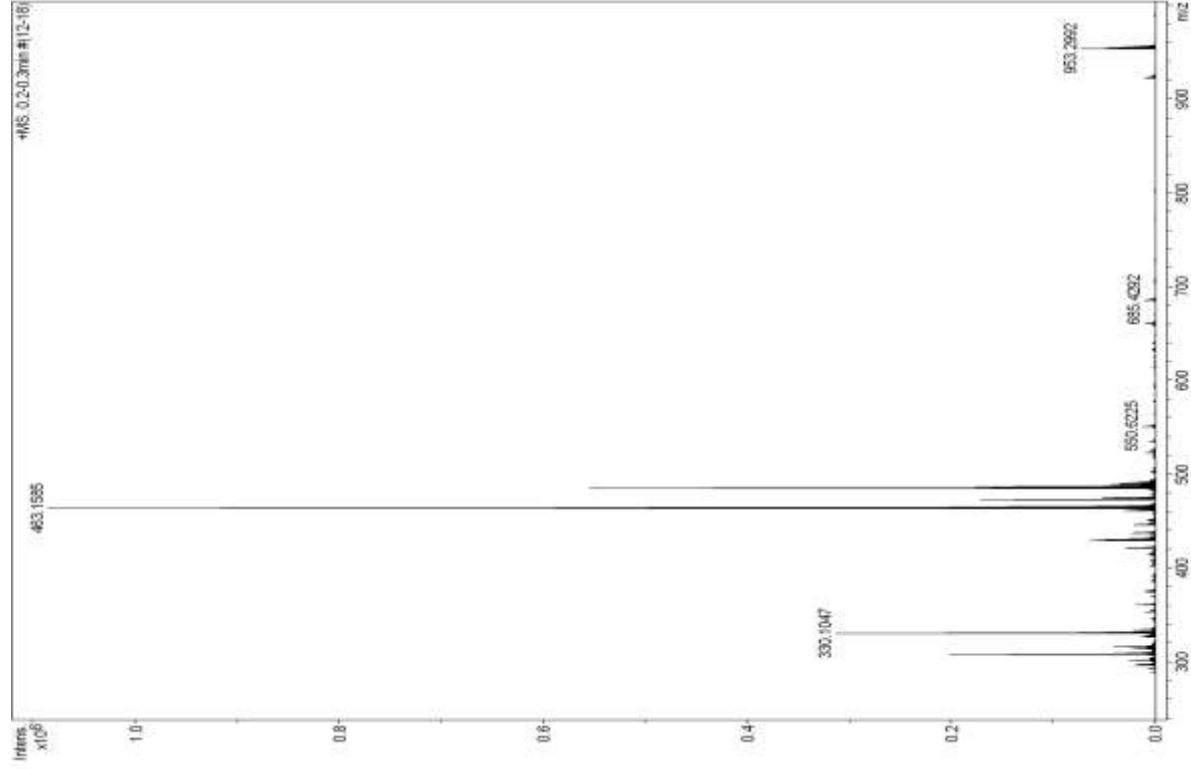
**Anexo 59:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)thiazol (6c).



**Anexo 60:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol) (6c).

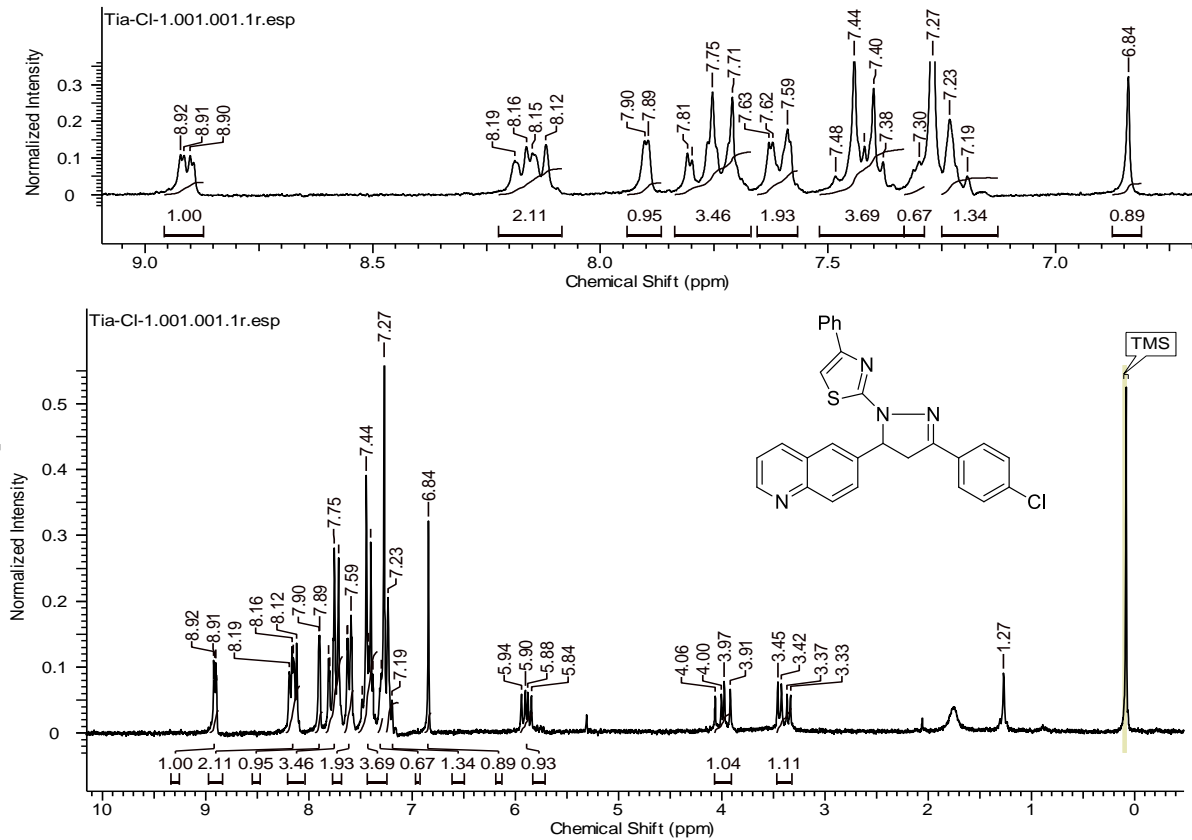


**Anexo 61:** Espectro de massas de alta do composto 5-fenil-2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6c).

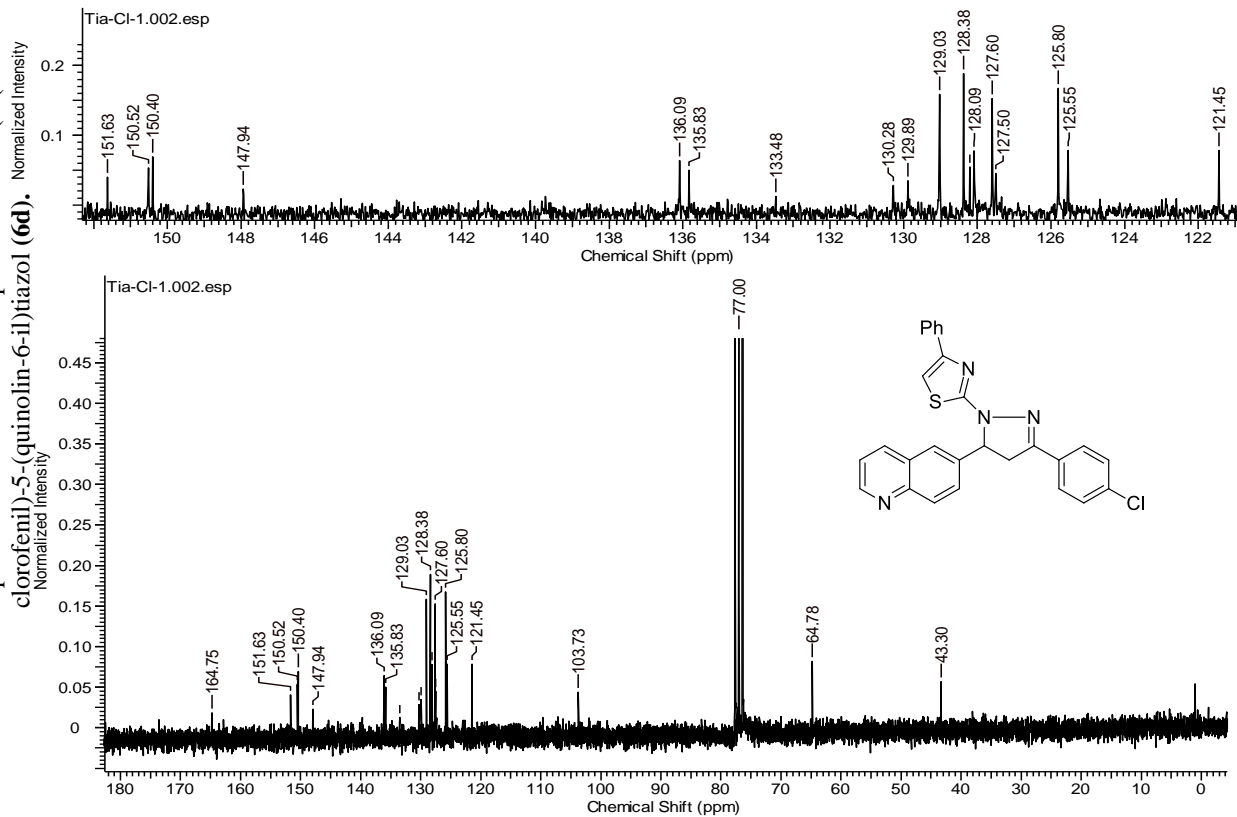




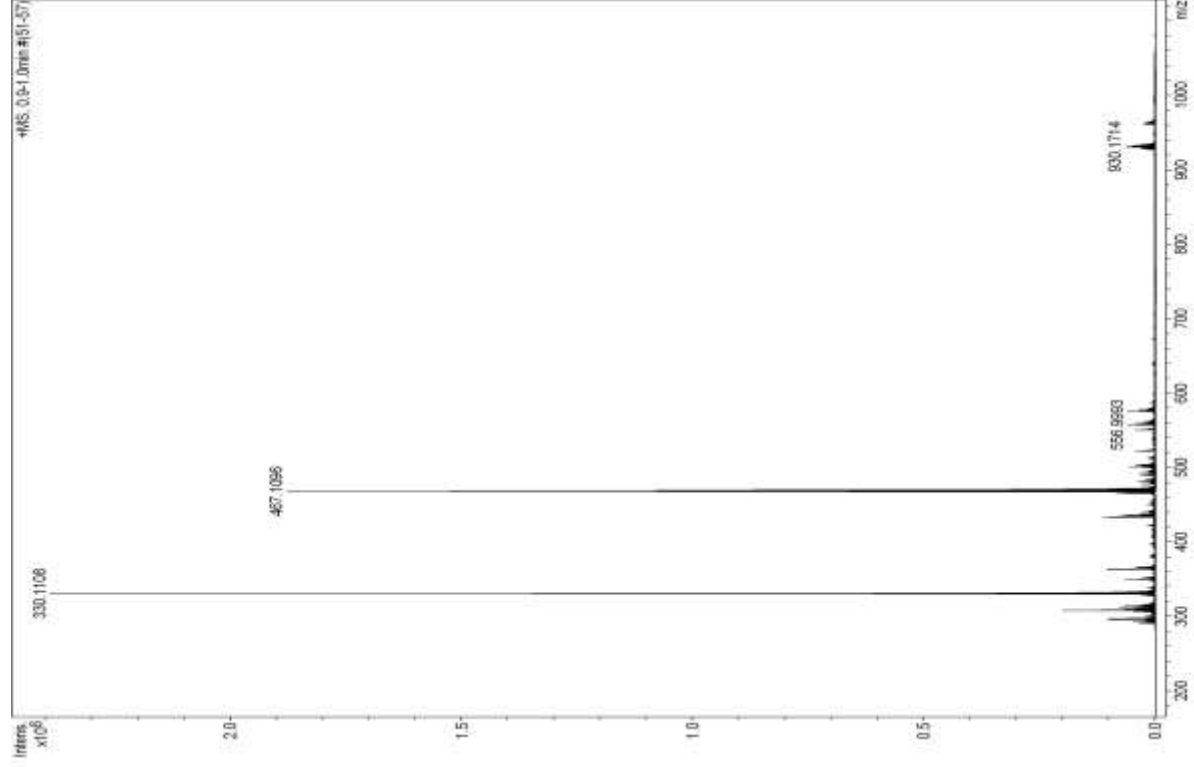
**Anexo 62:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (6d).

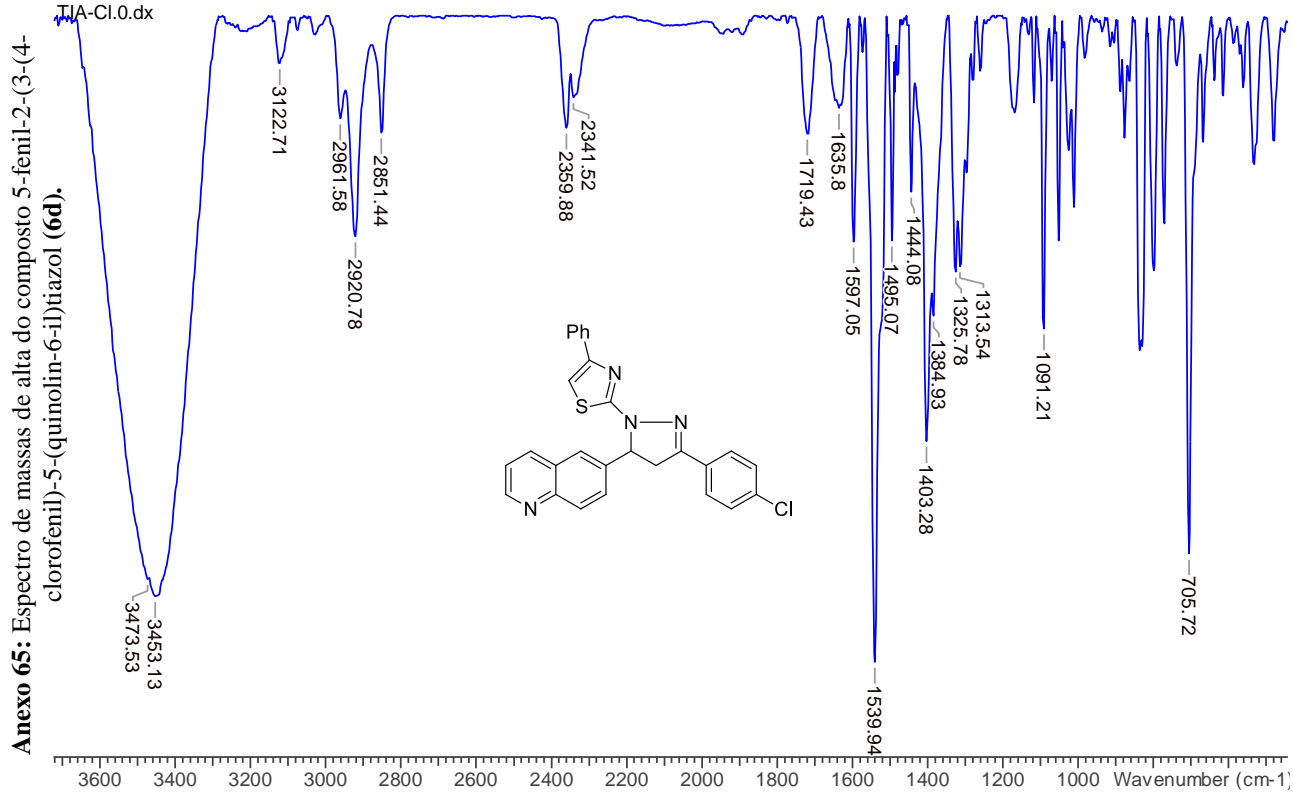


**Anexo 63:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol) (6d).

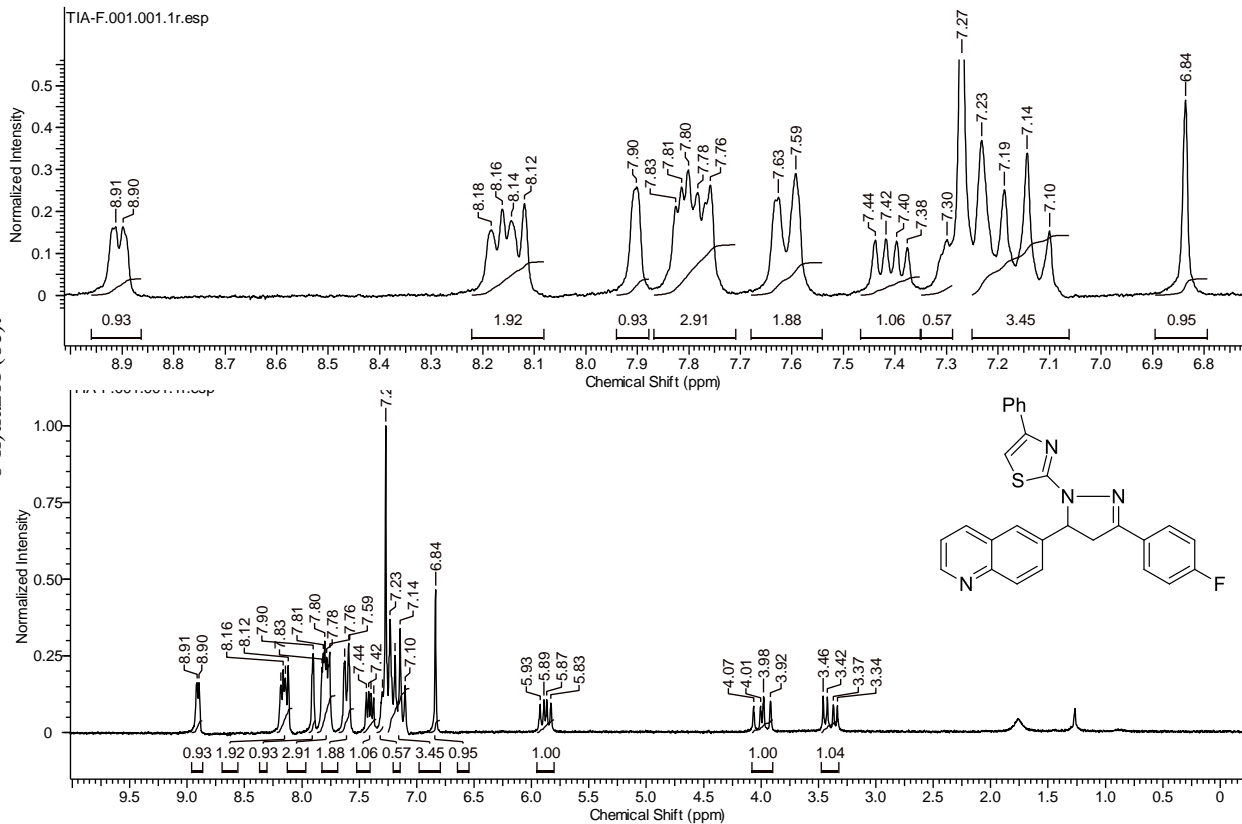


**Anexo 64:** Espectro de massas de alta do composto 5-fenil-2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)tiazol (**6d**).

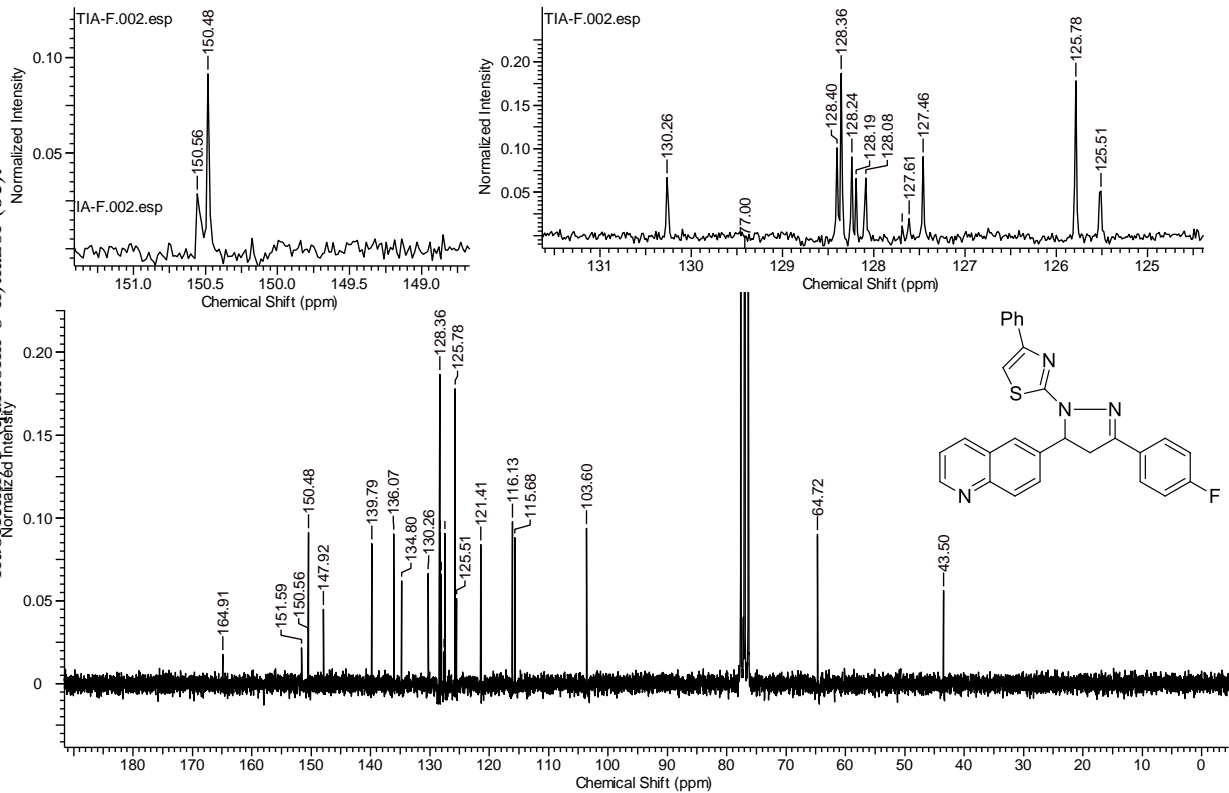




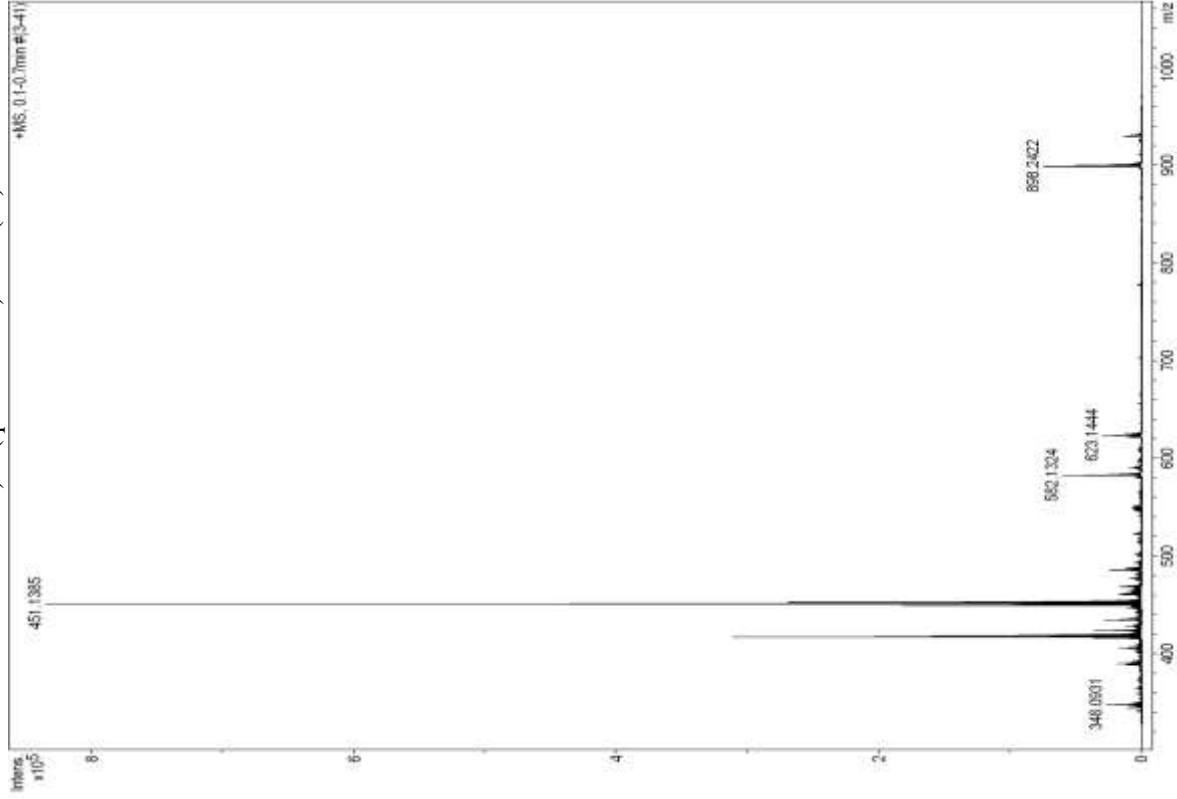
**Anexo 66:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ -5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)itiazol (6c).



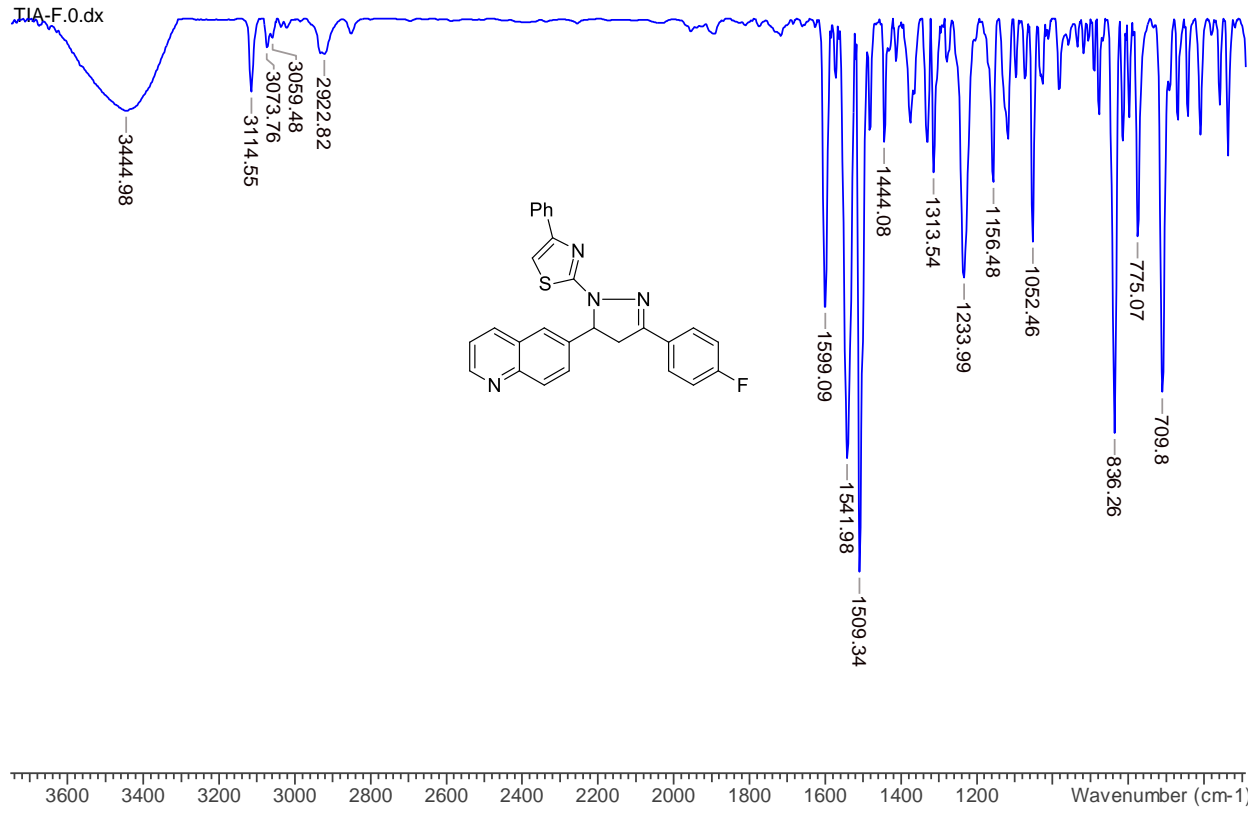
Anexo 67: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)iazol)iazol (6e).



**Anexo 67:** Espectro de massas de alta do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)itiazol (**6e**).

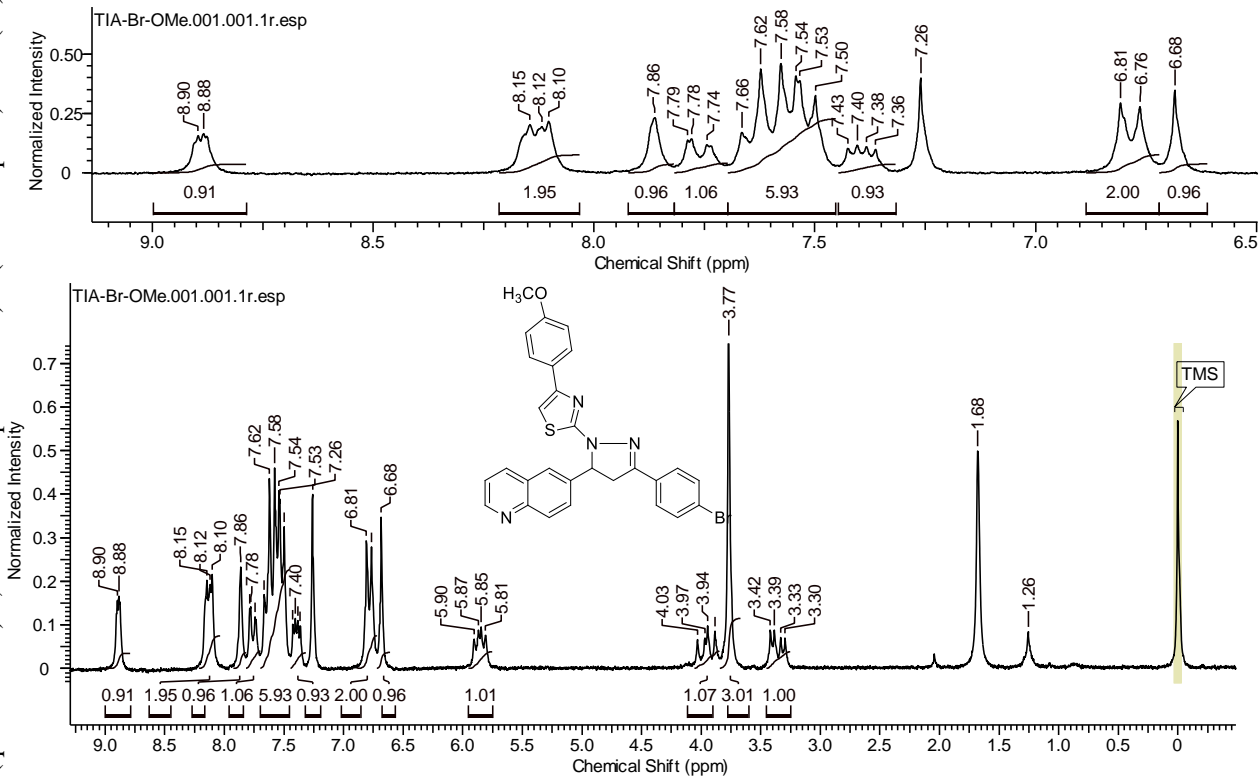


**Anexo 68:** Espectro de infravermelho do composto 5-fenil-2-(3-(4-fluorfenil)-5-quinolin-6-il)triazol (6e).

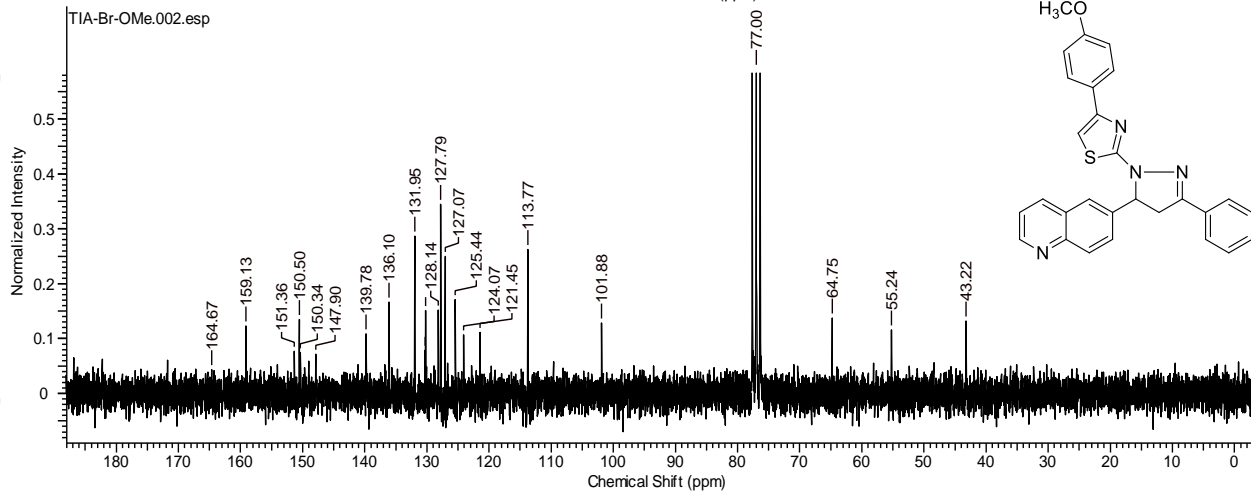
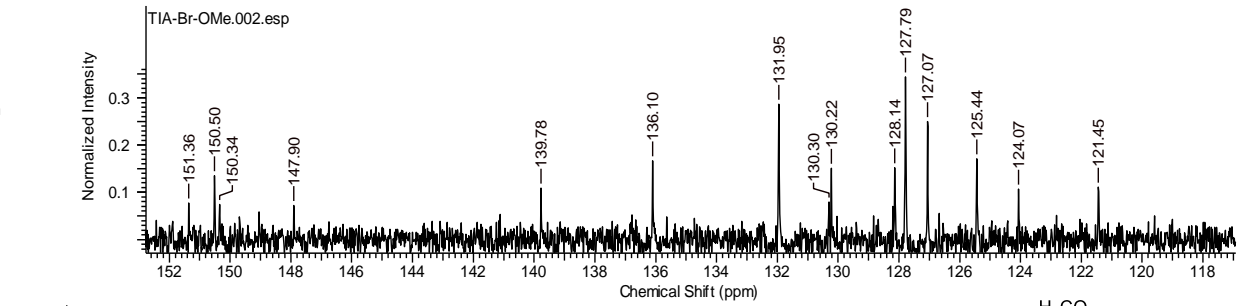




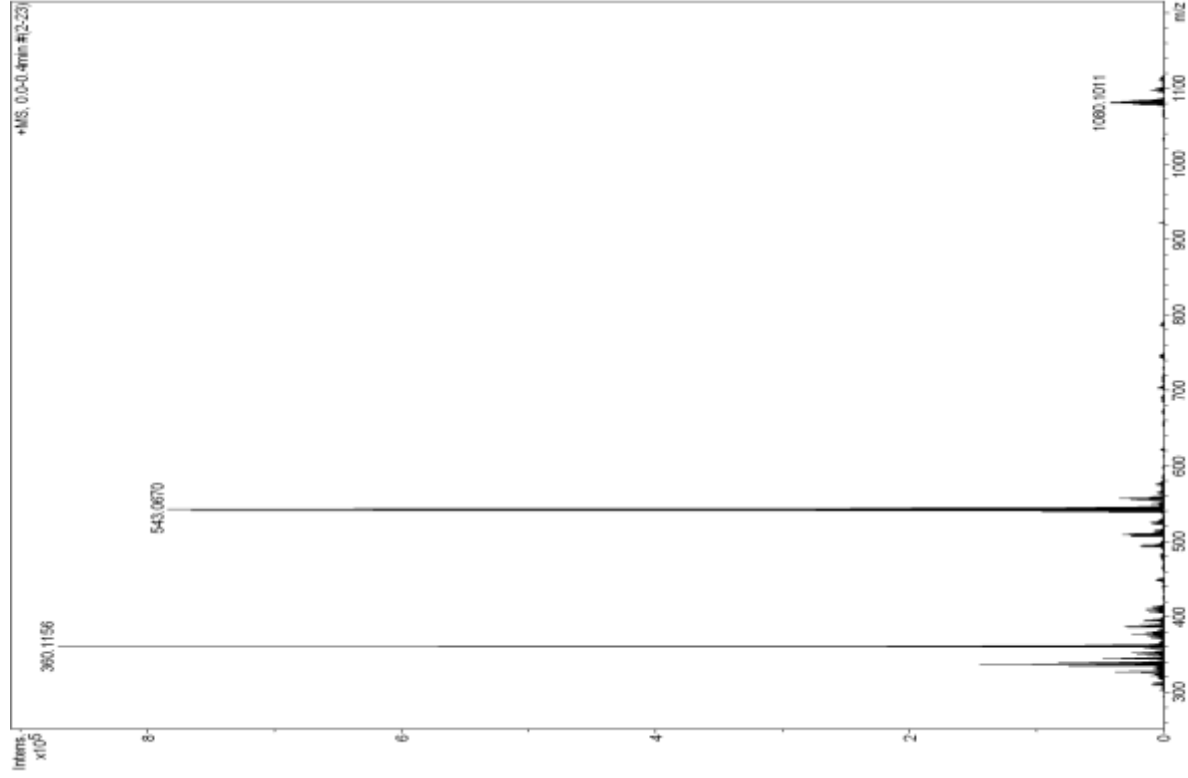
**Anexo 69:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)triazol (7a).



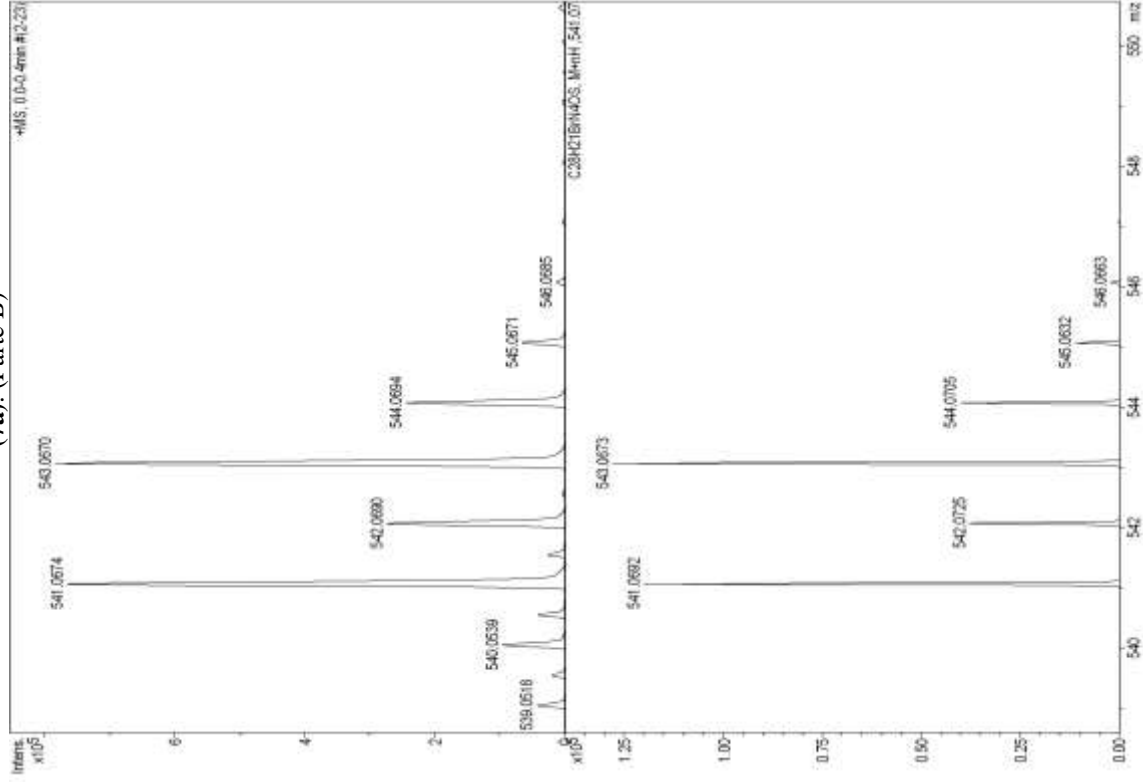
**Anexo 70:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7a).



**Anexo 71:** Espectro de massas de alta de alia do composto 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7a). (Parte A)

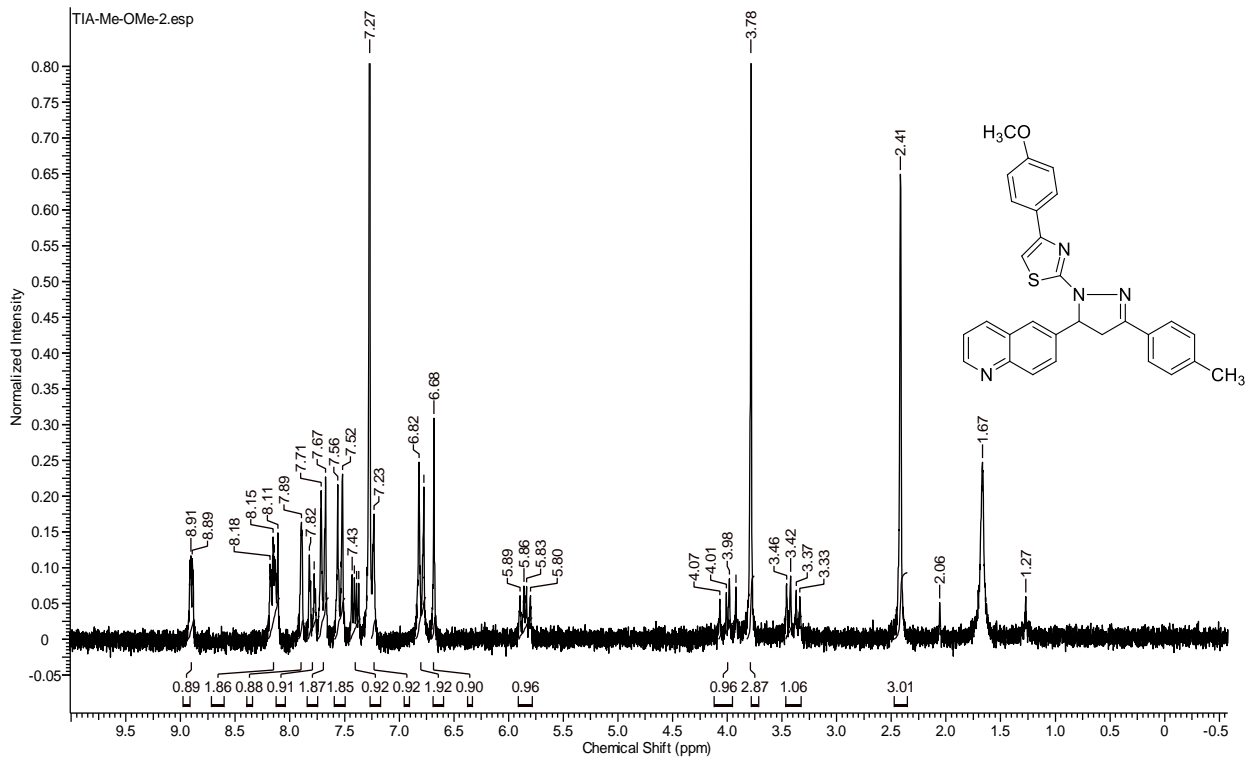


**Anexo 72:** Espectro de massas de alta do composto 2-(3-(4-bromofenil)-5-(quinolin-6-yl)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-yl)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7a). (Parte B)

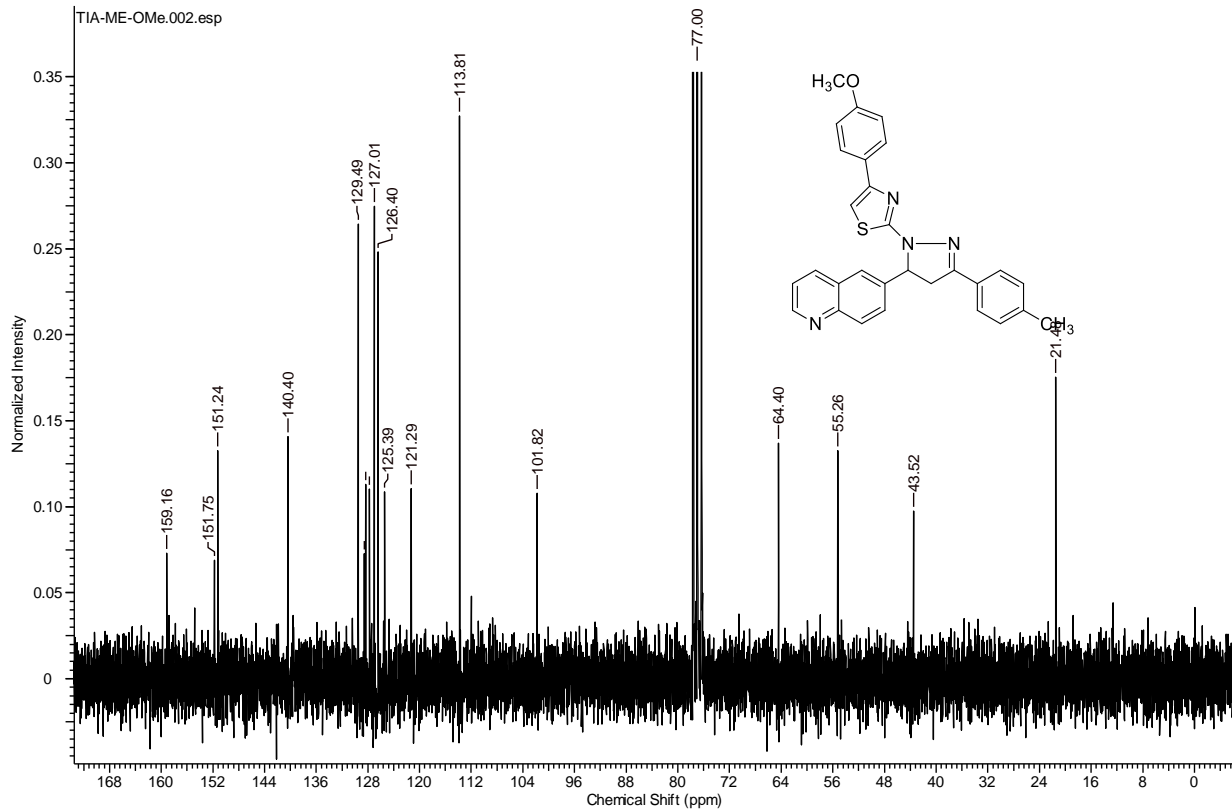




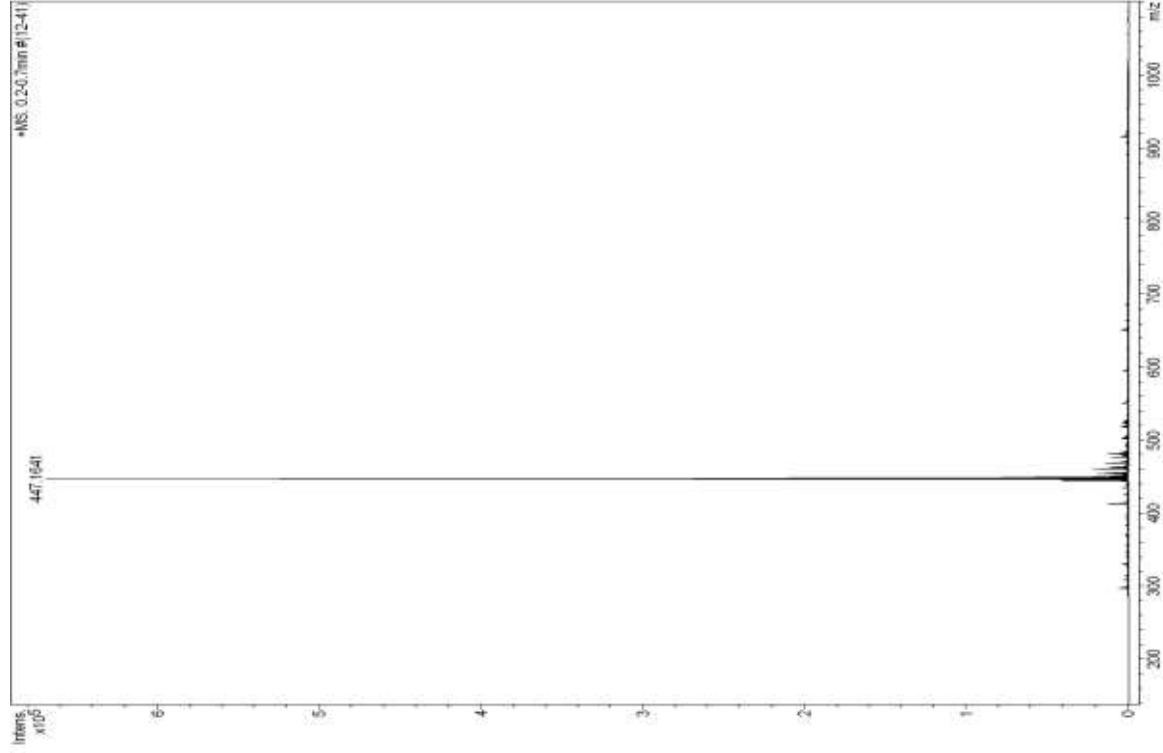
**Anexo 73:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 2-(3-(4-toluidi)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)triazol (7b).



**Anexo 74:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 2-(3-(4-toluid)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7b).



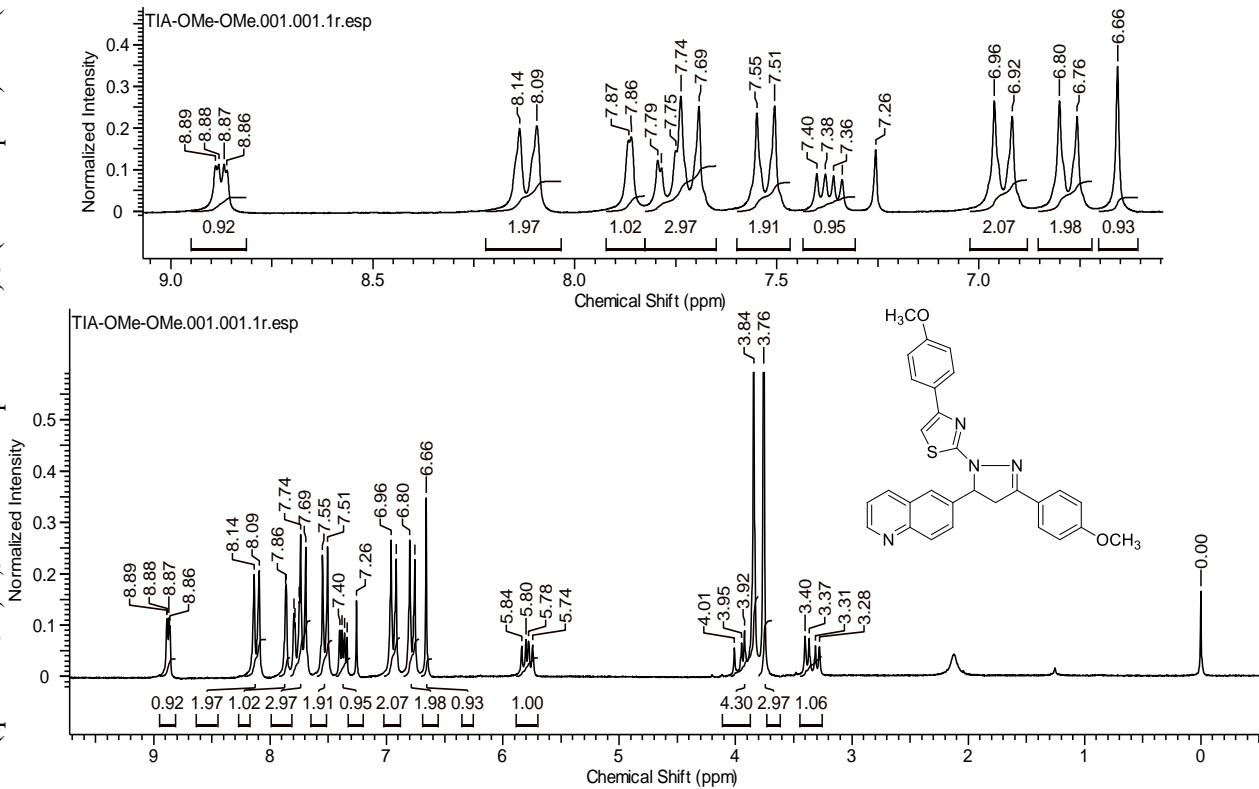
**Anexo 75:** Espectro de massas de alta de composto 2-(3-(4-toluil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7b).



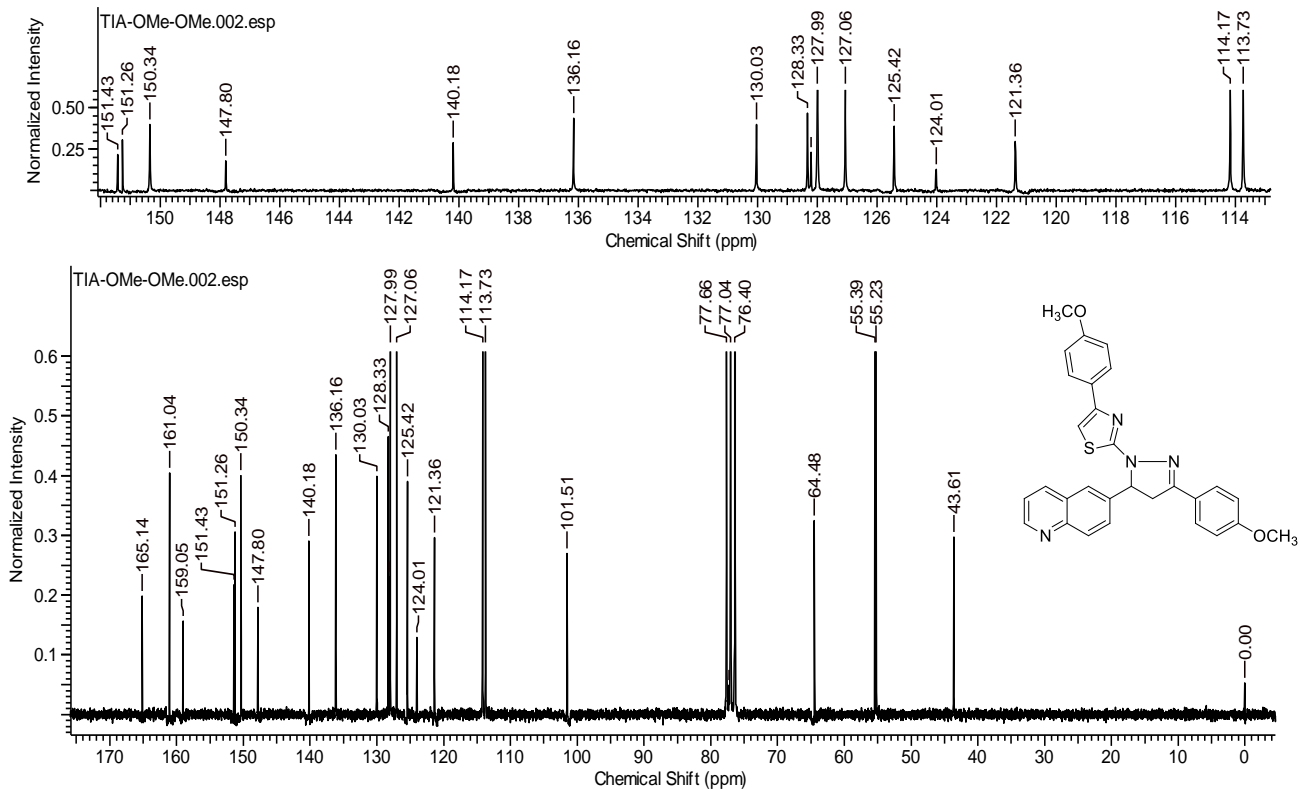




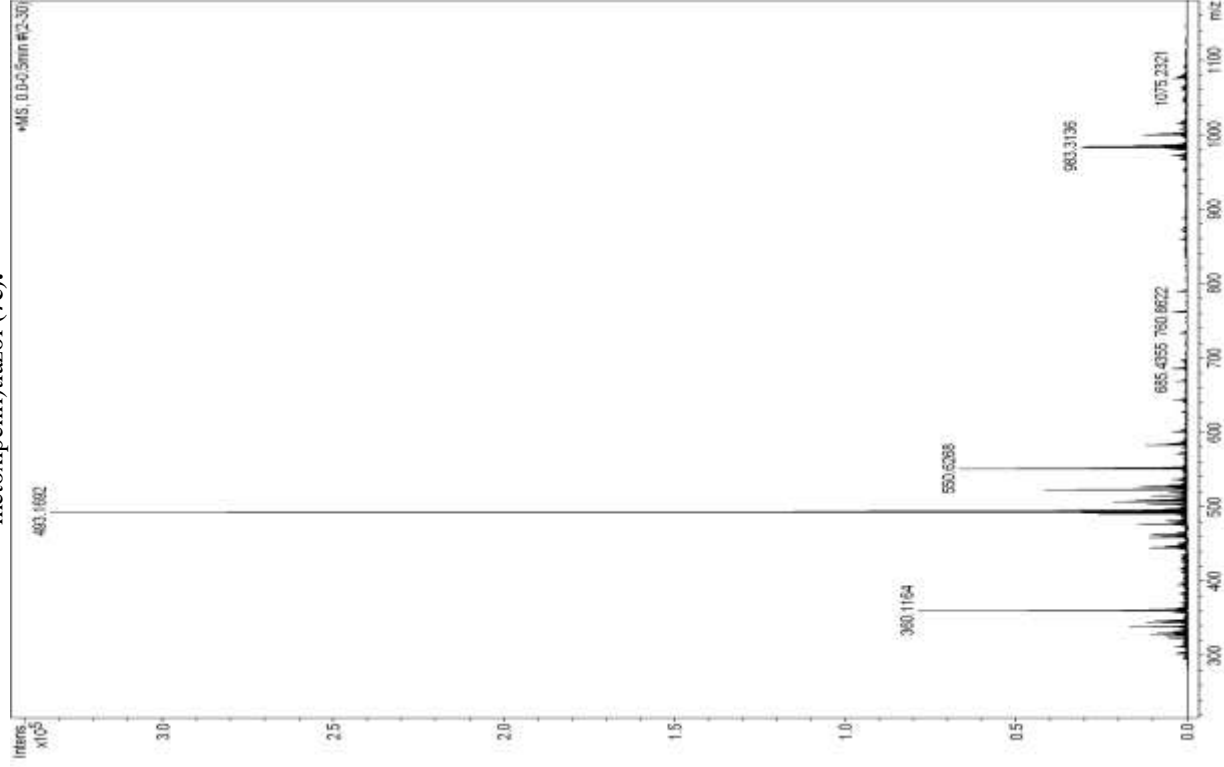
**Anexo 76:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7c).



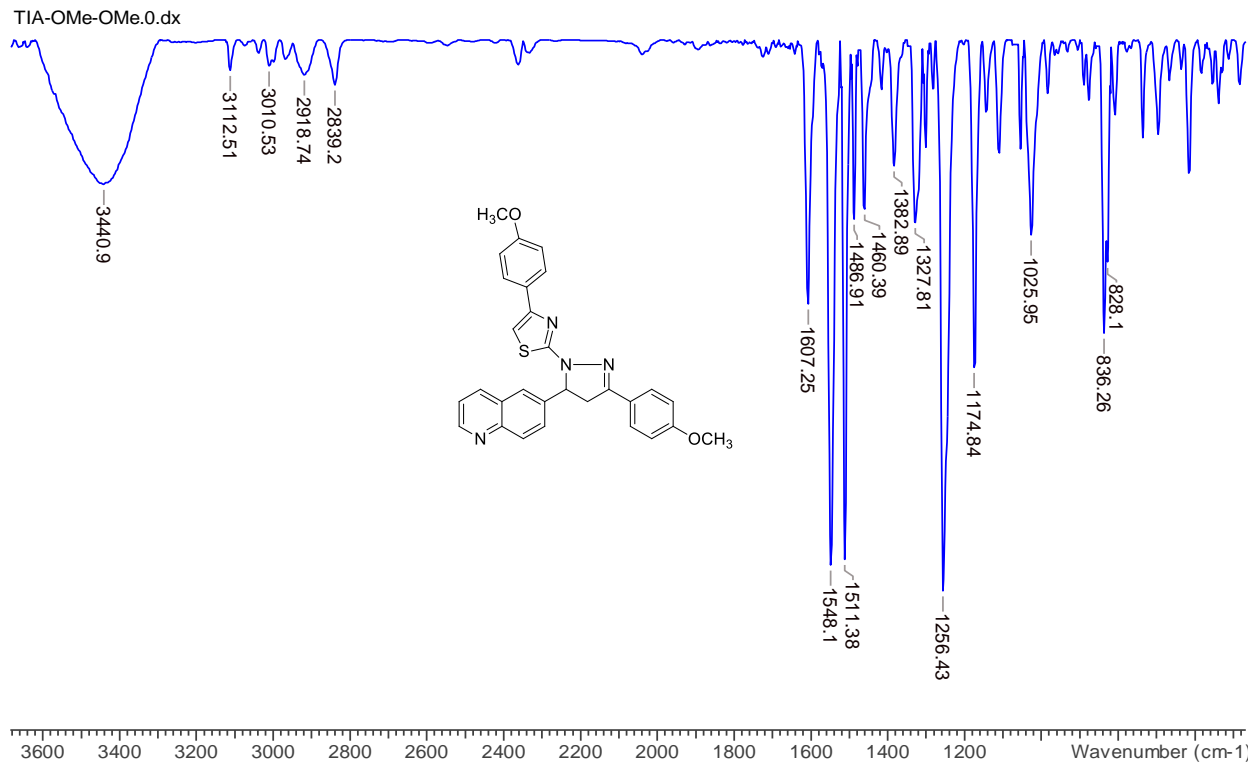
**Anexo 77:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7c).



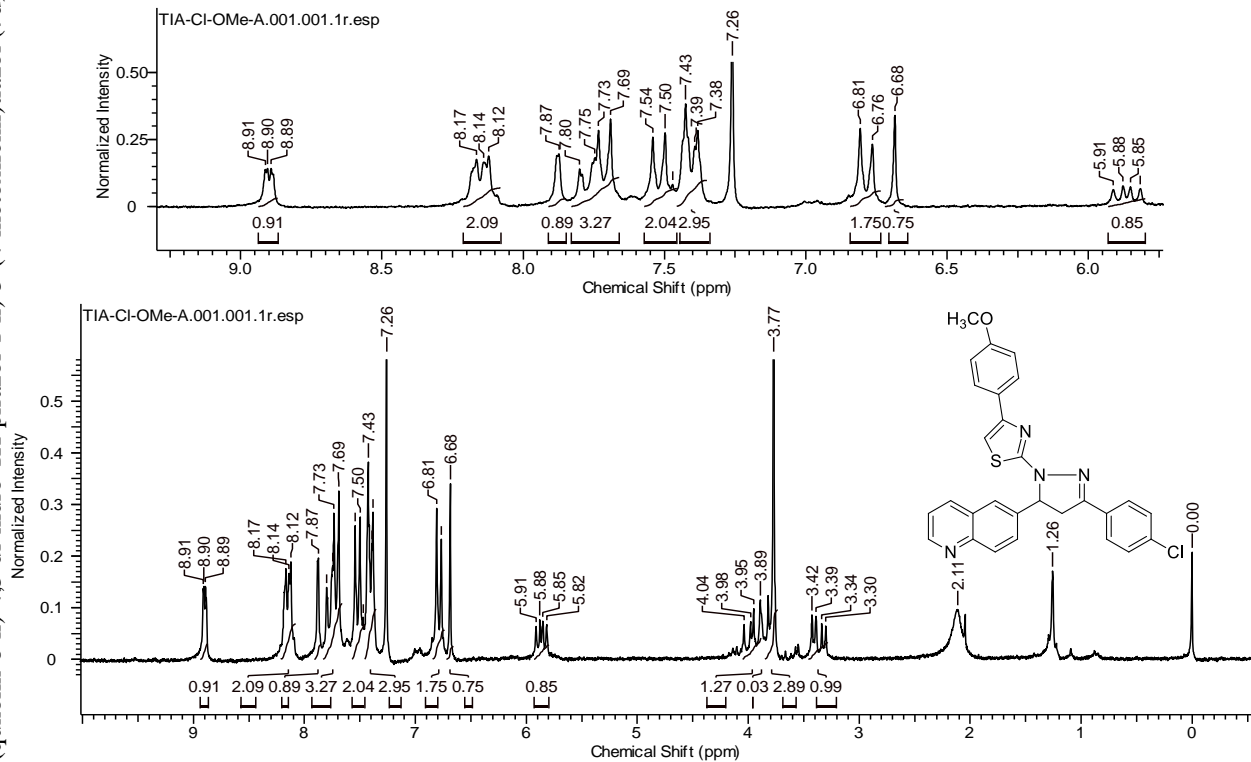
**Anexo 78:** Espectro de massas de alta do composto 2-(3-(4-metoxifenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7c).



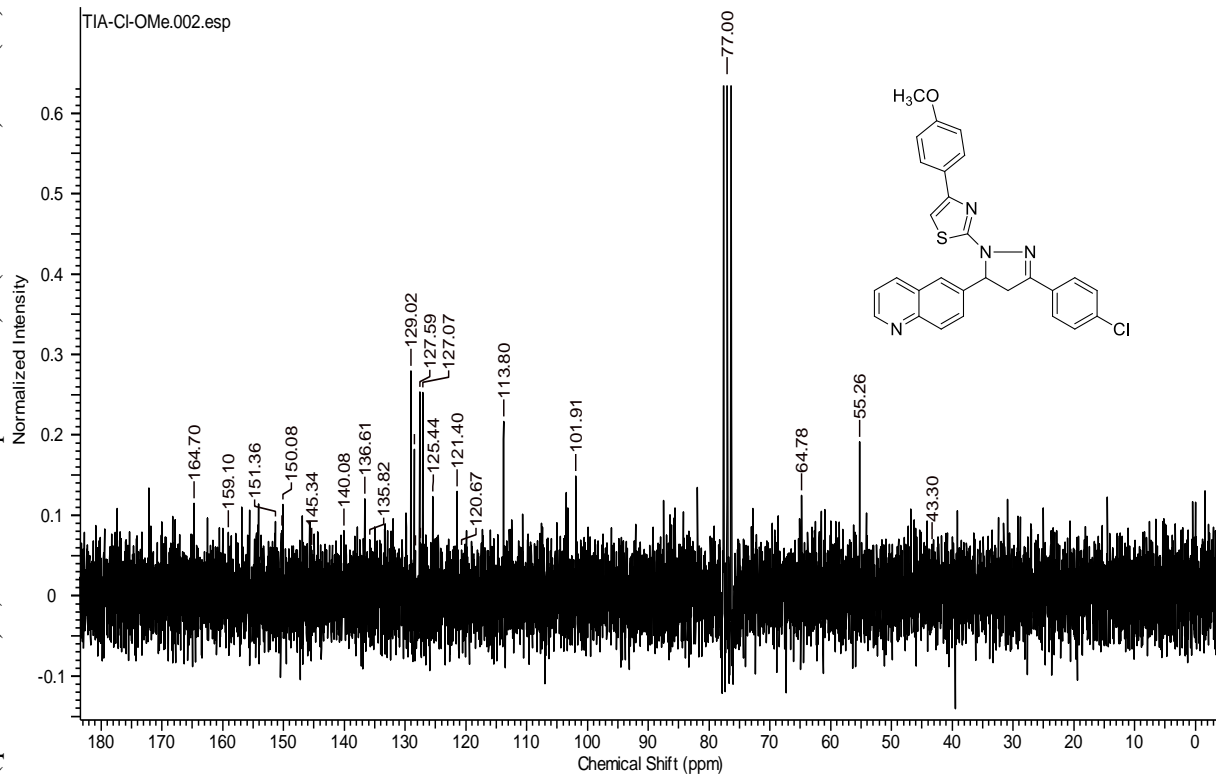
**Anexo 79:** Espectro de infravermelho do composto 2-(3-(4-metoxifenil)-5-quinolin-6-yl)-1H-pirazol-1-yl-1-(4-metoxipenil)tiazol (7c).



**Anexo 80:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7d).



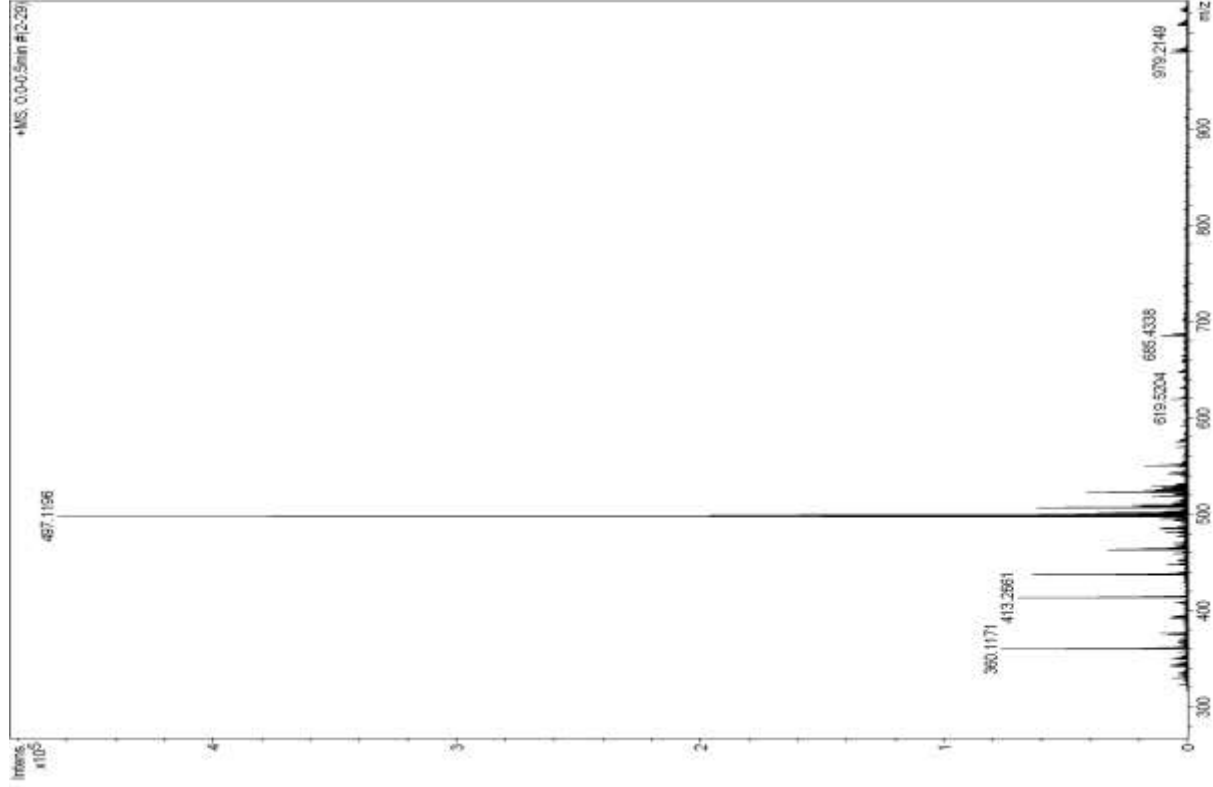
**Anexo 81:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7d).



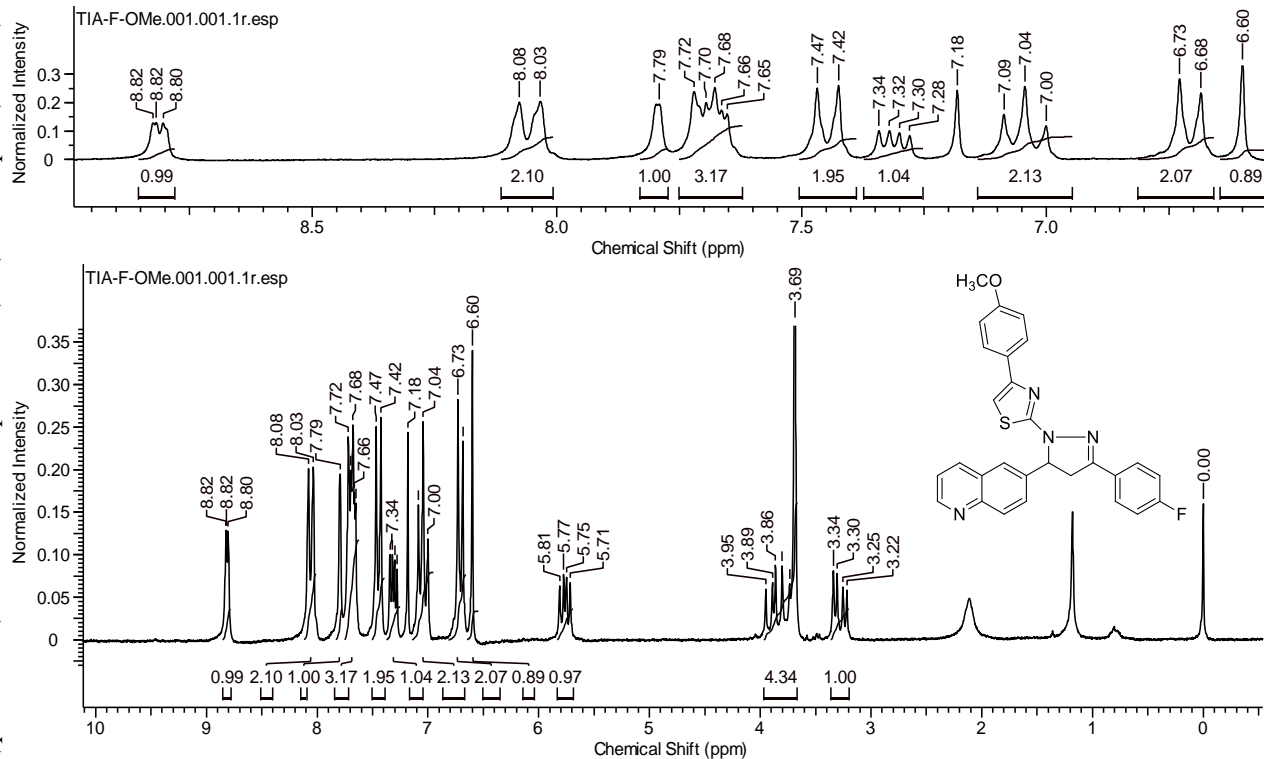




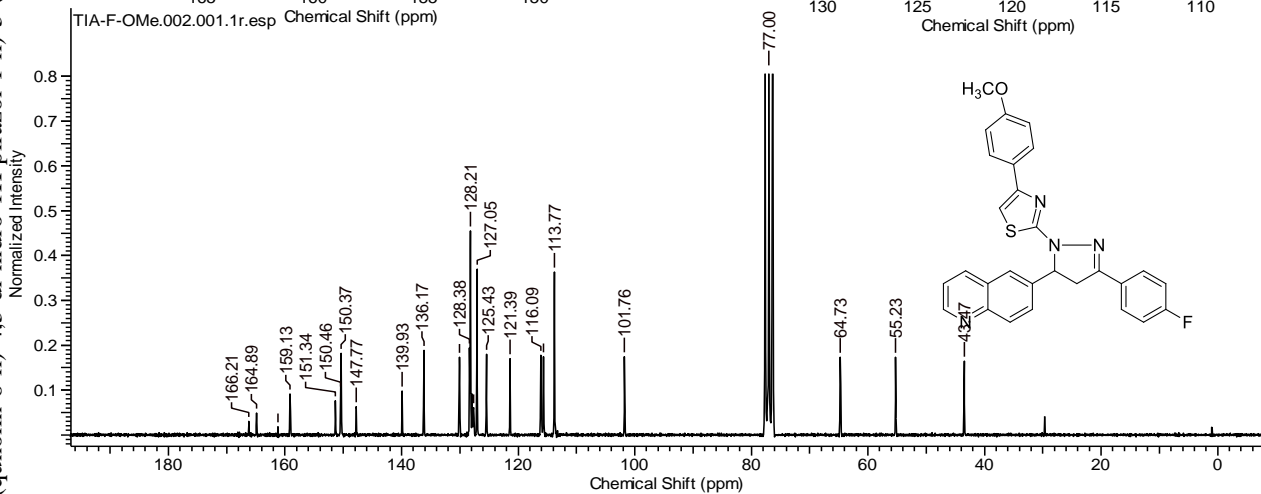
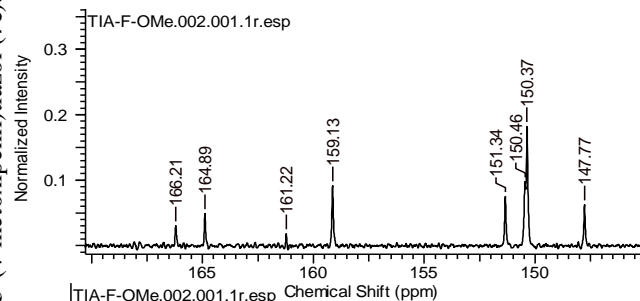
**Anexo 83** Espectro de massas de alta do composto 2-(3-(4-clorofenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxifenil)tiazol (7d)



**Anexo 84:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (7e).



**Anexo 85** : Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto 2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)triazol (7e).





**Anexo 87:** Espectro de massas de alta de alta do composto 2-(3-(4-fluorfenil)-5-(quinolin-6-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-1-il)-5-(4-metoxipenil)tiazol (**7c**).

