

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Química



Tese de Doutorado

Síntese de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, a partir de catálise organometálica e avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório

DANIELA HARTWIG DE OLIVEIRA

Pelotas, fevereiro de 2017.

Daniela Hartwig de Oliveira

Síntese de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, a partir de catálise organometálica e avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Raquel Guimarães Jacob

Pelotas, fevereiro de 2017.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

O48s Oliveira, Daniela Hartwig de

Síntese de 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, a partir de catálise organometálica e avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório / Daniela Hartwig de Oliveira ; Raquel Guimarães Jacob, orientadora. — Pelotas, 2017.
171 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Pirazóis. 2. Organocalcogênios. 3. Estresse oxidativo. 4. Dor. 5. Inflamação. I. Jacob, Raquel Guimarães, orient. II. Título.

CDD : 547

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Daniela Hartwig de Oliveira

Síntese de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, a partir de catálise organometálica e avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Química, Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 23/02/2017

Banca examinadora:



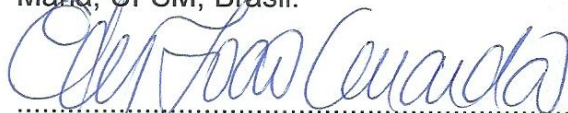
Prof.^a. Dr.^a. Raquel Guimarães Jacob (Orientadora)
Doutora em Ciências (Química Orgânica) pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, FFCL-USP, Brasil.



Prof.^a. Dr.^a. Ethel Antunes Wilhelm
Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Brasil.



Prof. Dr. Ricardo Frederico Schumacher
Doutor em Química (Química Orgânica) pela Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Brasil.



Prof. Dr. Eder João Lenardão
Doutor em Ciências (Química Orgânica) pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP, FFCL-USP, Brasil.

***Em especial aos meus pais,
minha filha e ao Julio,
Obrigada!***

*Cada pessoa deve trabalhar para o seu
aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo,
participar da responsabilidade coletiva
por toda a humanidade.”*

Marie Curie

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por todas as bênçãos recebidas e por estar sempre ao meu lado nos momentos difíceis e de alegria. Agradeço por permitir que este sonho pudesse se concretizar e pelas oportunidades que sempre coloca em meu caminho. Obrigada pela presença constante em minha vida.

Aos meus pais, Aires e Leci, e ao meu irmão Talisson, por serem pessoas amorosas, companheiras e compreensivas, por sempre me apoiarem e estarem ao meu lado em cada conquista. Amo vocês.

A minha amada filha Camila e ao meu querido esposo Julio, pelo apoio, amor, incentivo e compreensão, essenciais para realização desse trabalho. Obrigada por sempre acreditarem em mim. Amo muito vocês.

A minha orientadora Raquel G. Jacob, pelos ensinamentos científicos e pela oportunidade de aprendizado. Agradeço também pelo exemplo de determinação e pela confiança em mim depositada.

Ao professor Diego Alves e a professora Lucielli Savegnago, por dedicarem parte do seu tempo para colaborar na elaboração e desenvolvimento deste trabalho, por disponibilizarem seus laboratórios de pesquisa, pela confiança, amizade e pelos ensinamentos concedidos.

Aos professores Eder João Lenardão, Ricardo Frederico Schumacher e Gelson Perin pelos ensinamentos, oportunidades e orientação dedicados no período do doutorado.

Aos colegas do laboratório Paola, Thalita, Camila, Jéssica, Maria Rosa e Italo que sempre me apoiaram e ajudaram.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia, especialmente a Fernanda e Paloma, por toda amizade, paciência e companheirismo.

À CAPES pela bolsa de doutorado.

A todos os demais colegas do grupo LASOL pela ajuda e cooperação.

A todos aqueles que, de alguma forma, colaboraram para a finalização dessa conquista.

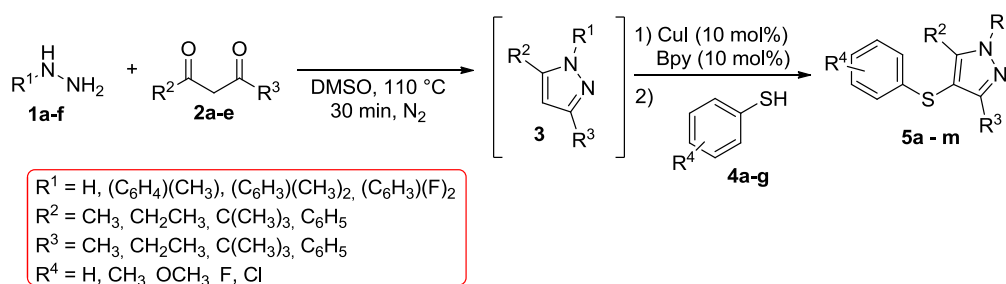
Resumo

Titulo: Síntese de 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, a partir de catálise organometálica e avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório.

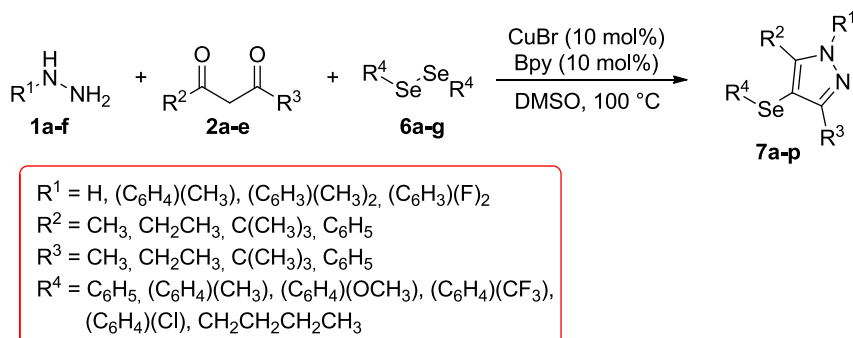
Autora: Daniela Hartwig de Oliveira

Orientador: Prof.^a Dr.^a Raquel Guimarães Jacob

Os pirazóis e os compostos organocalcogênicos são substâncias orgânicas que apresentam um amplo potencial sintético e farmacológico. Neste trabalho, descreve-se o uso de um sistema catalítico constituído por um sal de cobre e bipyridina na presença de DMSO como solvente, em reações multicomponente, para a obtenção de diversos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis contendo enxofre ou selênio e também a avaliação do potencial farmacológico destas moléculas. Foram realizadas reações entre hidrazinas substituídas **1a-f** com 1,3-dicetonas **2a-e**, obtendo-se o produto de ciclocondensação **3**, e posterior adição do ariltiol **4a-g**, obtendo-se uma série de 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis **5a-m** a partir de uma metodologia *one pot* sequencial, com bons rendimentos (35-89%) em tempos reacionais que variaram de 22 a 48h.



A partir de reações entre hidrazinas substituídas **1a-f** com 1,3-dicetonas **2a-e** e disselenetos de diorganoíla **6a-g** foram obtidos os 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis **7a-p**, a partir de reações multicomponentes, com bons rendimentos (42-98%) em tempos reacionais que variaram de 20 a 48h.



Os compostos 3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol (**5a**), 4-(metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol (**5k**), 4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol (**5m**), 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol (**5o**), 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (**7a**), 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (**7f**), 4-

(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol (**7k**) e 4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol (**7n**) tiveram seu potencial farmacológico avaliado. Para investigar a capacidade antioxidante das moléculas foram realizados os experimentos de neutralização dos radicais sintéticos 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH), ácido 2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) e óxido nítrico, bem como avaliação do potencial redutor do íon férrico (FRAP) e da peroxidação lipídica. Dentre os testes realizados, os compostos **5a** e **7a** apresentaram efeitos promissores em modelos *in vitro*. A avaliação da atividade antinociceptiva dos compostos **3a** (3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol, sem a presença do grupo organocalcogênio), **5a** e **7a** foi realizada nos modelos de nocicepção induzidos por formalina, glutamato e placa quente em camundongos. A atividade anti-inflamatória foi avaliada de acordo com modelos de indução da formação de edema por formalina e por óleo de cróton. Em ambos os casos, os compostos **5a** e **7a**, apresentaram efeitos superiores quando comparados ao grupo controle e ao composto **3a**. Além disso, experimentos de toxicidade aguda não evidenciaram indícios de toxicidade a partir do tratamento com os compostos **3a**, **5a** e **7a** quando administrados em doses elevadas (300 mg/Kg) em camundongos. Nesse sentido, de acordo com o presente trabalho, pode-se concluir que os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis podem ser obtidos a partir de metodologias simples e eficientes, os quais apresentam atividade antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória.

Palavras-chave: pirazol; organocalcogênios; estresse oxidativo; dor; inflamação.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Tese de Doutorado
Pelotas, fevereiro de 2017.

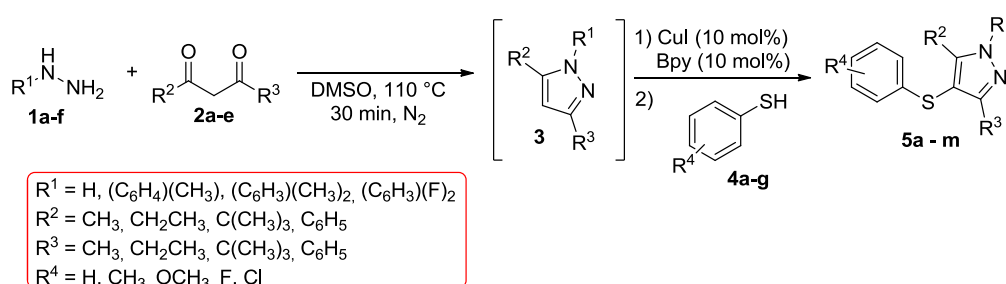
Abstract

Title: Synthesis of 4-(arylchalcogenyl)-1*H*-pyrazoles containing sulfur or selenium group from organometallic catalysis and evaluation of antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory potential.

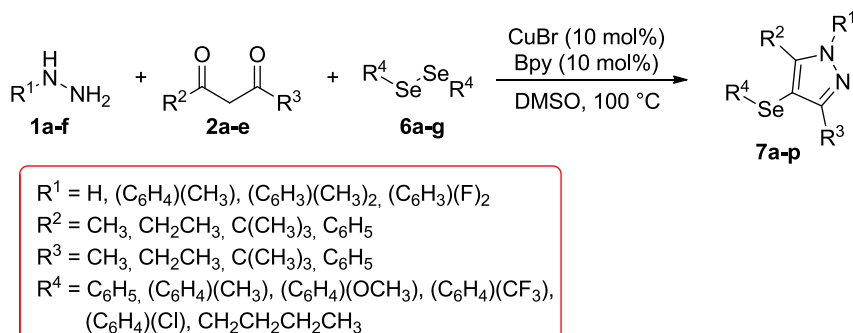
Author: Daniela Hartwig de Oliveira

Academic Advisor: Prof. Dr. Raquel Guimarães Jacob

Pyrazoles and organochalcogen compounds are organic substances with a wide synthetic and pharmacological potential. This work describes the use of a catalytic system (copper salt and bipyridine) and DMSO as solvent in multicomponent reactions for synthesize several sulfur or selenium-containing 4-(arylchalcogenyl)-1*H*-pyrazoles, as well as the evaluation of the pharmacological potential of these molecules. Initially, reactions between substituted hydrazines **1a-f** with 1,3-diketones **2a-e** were made to give the cyclocondensation product **3**, and subsequent addition of the arylthiol **4a-g** to give a series of 4-(arylthio)-1*H*-pyrazoles **5a-m** from a *one pot* methodology in good yields (35-89%) at reaction times ranging from 22 to 48h.



In addition, from the reactions between substituted hydrazines **1a-f** with 1,3-diketones **2a-e** and diorganoyl diselenide **6a-g**, the 4-(arylselenyl)-1*H*-pyrazoles **7a-p** were obtained from a multicomponent reaction, with good yields (42-98%) in reaction times ranging from 20 to 48 hours.



The compounds 3,5-dimethyl-1-phenyl-4-(phenylthio)-1*H*-pyrazole (**5a**), 4-(methoxyphenylthio)-3,5-dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole (**5k**), 4-(4-chlorophenylthio)-3,5-dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole (**5m**), 3,5-dimethyl-4-(phenylthio)-1*H*-pyrazole (**5o**), 3,5-dimethyl-1-phenyl-4-(phenylselenyl)-1*H*-pyrazole (**7a**), 3,5-dimethyl-4-(phenylselenyl)-1*H*-pyrazole (**7f**), 4-

(methoxyphenylselenyl)-3,5-dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole (**7k**) and 4-(4-chlorophenylselenyl)-3,5-dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole (**7n**) had their pharmacological potential explored. In order to investigate the antioxidant capacity of the compounds, neutralization assays of the synthetic radicals 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and nitric oxide were carried out, as well as the evaluation of the ferric ion reducing potential (FRAP) and lipid peroxidation. Among these tests, compounds **5a** and **7a** showed promising effects *in vitro*. The evaluation of the antinociceptive activity of compounds **3a** (3,5-dimethyl-1-phenyl-1*H*-pyrazole, without organochalcogen group), **5a** and **7a** was performed in the nociception models induced by formalin, glutamate and hot plate in mice. Meanwhile, the anti-inflammatory activity was evaluated according to models of induction of edema by formalin and croton oil. In both cases, compounds **5a** and **7a**, containing an organic group of sulfur and selenium, respectively, presented superior effects when compared to the control group and to compound **3a**. Moreover, acute toxicity experiments showed no evidence of toxicity from treatment with compounds **3a**, **5a** and **7a** when given at high doses (300 mg/kg) in mice. In this sense, according to the present work, it can be concluded that 4-(arylcycogenyl)-1*H*-pyrazoles can be obtained from simple and efficient methodologies, and that they present antioxidant, antinociceptive and anti-inflammatory activities.

Keywords: pyrazole; organochalcogen; oxidative stress; pain; inflammation.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
PhD Thesis in Chemistry.
Pelotas, February 2017.

Índice

Resumo	vii
Abstract	ix
Índice de Figuras	xii
Índice de Tabelas	xviii
Lista de Siglas e Abreviaturas	xix
1. Introdução e Objetivos	1
2. Revisão da Literatura	7
2.1. Pirazóis	8
2.2. Síntese de pirazóis.....	9
2.3. Síntese de calcogenil-1 <i>H</i> -pirazóis.....	17
2.4. Propriedades farmacológicas dos pirazóis.....	20
2.5. Estresse oxidativo	24
2.6. Nocicepção e inflamação.....	29
3. Apresentação e Discussão dos Resultados	37
3.1. Síntese dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazóis.....	38
3.2. Avaliação do potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> - pirazóis	61
4. Considerações finais.....	85
5. Parte Experimental	89
5.1 Materiais e Métodos.....	90
5.2 Procedimentos Experimentais	92
5.2.1. Procedimento geral para a síntese dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> - pirazóis.....	92
5.2.2. Avaliação do potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)- 1 <i>H</i> -pirazóis	93
5.3 Dados espectrais de RMN ¹ H, RMN ¹³ C, EM e EMAR	104
6. Referência Bibliográficas.....	115
7. Espectros Seleccionados	123
8. Anexos.....	151

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura de fármacos obtidos de fontes naturais.....	2
Figura 2: Estrutura geral do núcleo pirazolínico.....	3
Figura 3: Derivados pirazolínicos com aplicações farmacêutica e agroquímica	3
Figura 4: Heterociclos aromáticos azólicos.....	4
Figura 5: Estrutura química de pirazóis encontrados na natureza	9
Figura 6: Cicloadição 1,3-dipolar: 1,3-dipolos.....	9
Figura 7: Compostos 1,3-dieletrofílicos	10
Figura 8: Estrutura química do <i>Tebufenpyrad</i> 43	15
Figura 9: Estruturas química do Celecoxib 11	21
Figura 10: Derivados sintéticos do <i>withasomnie</i>	22
Figura 11: Estrutura química do 1,5-DHP 67	23
Figura 12: Estrutura química dos triarilpirazóis avaliados frente ao potencial antibacteriano.....	23
Figura 13: Estrutura química dos compostos 69a e 69b , derivados de pirazóis ...	24
Figura 14: Derivados semissintéticos da deidrozingerona.....	27
Figura 15: Avaliação do potencial antioxidante dos compostos 1,2,3-triazóis-4-carbonitrilas contendo selênio	28
Figura 16: Estrutura química das tiouréias analisadas frente ao potencial antioxidante	28
Figura 17: Representação esquemática dos diferentes tipos de neurônios sensoriais primários.....	30
Figura 18: Estrutura química do disseleneto de difenila <i>m</i> -trifluorometil [(<i>m</i> -CF ₃ -PhSe) ₂] 73	34
Figura 19: Estrutura química do disseleneto de difenila	34
Figura 20: Estrutura química do composto bis (4-metilbenzoi) disseleneto 75	35
Figura 21: Estrutura química dos triazol-tiobenzo-tiazazóis.....	35
Figura 22: Estrutura química das benzotiazolonas 77a-c testadas.....	36
Figura 23: RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5a	47
Figura 24: RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5a	48

Figura 25: RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7a	58
Figura 26: RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7a	59
Figura 27: Compostos pertencentes a classe dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazóis ..	62
Figura 28: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a na capacidade de neutralização dos radicais DPPH	63
Figura 29: Efeito dos compostos 5a e 7a na capacidade de neutralização dos radicais ABTS $^{+\bullet}$	64
Figura 30: Efeito dos compostos 5a , 5k , 5m , 5o e 3a frente ao ensaio de peroxidação lipídica.....	71
Figura 31: Efeito dos compostos 7a , 7f , 7k , 7n e 3a frente ao ensaio de peroxidação lipídica.....	72
Figura 32: Compostos utilizados para realização dos experimentos <i>ex vivo</i>	73
Figura 33: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a (0,001-50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzido por formalina em camundongos na Fase 1 (0 – 5 minutos, fase neurogênica)	78
Figura 34: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a (0,001-50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzido por formalina em camundongos na Fase 2 (15 – 30 minutos, fase inflamatória).....	79
Figura 35: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a (0,01 – 50 mg/Kg) na formação do edema de pata induzido por formalina em camundongos	80
Figura 36: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a (0,001-50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzida por glutamato em camundongos	81
Figura 37: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a (1 – 10 mg/Kg) no teste da placa quente em camundongos	82
Figura 38: Efeito dos tratamentos 5a , 7a e 3a no ensaio de indução do edema de orelha por óleo de cróton.....	83
Figura 39: Protocolo geral para avaliação do potencial farmacológico dos 4-arilcalcogenil-1 <i>H</i> -pirazóis	93
Figura 40: Protocolo experimental da atividade antinociceptiva dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazóis no teste de indução de nocicepção por formalina.....	100
Figura 41: Protocolo experimental da atividade antinociceptiva dos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazóis no teste de indução de nocicepção por glutamato....	101

Figura 42: Protocolo experimental para avaliação antinociceptiva no teste da placa quente em camundongos	102
Figura 43: Protocolo experimental da avaliação da inflamação induzida por óleo de cróton em camundongos	103
Figura 44: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5a em CDCl_3	124
Figura 45: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5a em CDCl_3	124
Figura 46: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1- <i>o</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 5b em CDCl_3	125
Figura 47: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1- <i>o</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 5b em CDCl_3	125
Figura 48: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1- <i>m</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 5c em CDCl_3	126
Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1- <i>m</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 5c em CDCl_3	126
Figura 50: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 1-(2,5-dimetil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5d em CDCl_3	127
Figura 51: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 1-(2,5-dimetil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5d em CDCl_3	127
Figura 52: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5e em CDCl_3	128
Figura 53: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5e em CDCl_3	128
Figura 54: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dietil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5f em CDCl_3	129
Figura 55: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dietil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5f em CDCl_3	129
Figura 56: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5g em CDCl_3	130
Figura 57: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(feniltio)-1 <i>H</i> -pirazol 5g em CDCl_3	130
Figura 58: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-di- <i>tert</i> -butil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 3b em CDCl_3	131

Figura 59: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-di- <i>tert</i> -butil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 3b em CDCl_3	131
Figura 60: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>p</i> -toluilitio)-1 <i>H</i> -pirazol 5i em CDCl_3	132
Figura 61: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>p</i> -toluilitio)-1 <i>H</i> -pirazol 5i em CDCl_3	132
Figura 62: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>o</i> -toluilitio)-1 <i>H</i> -pirazol 5j em CDCl_3	133
Figura 63: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>o</i> -toluilitio)-1 <i>H</i> -pirazol 5j em CDCl_3	133
Figura 64: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 4-(4-metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5k em CDCl_3	134
Figura 65: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 4-(4-metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5k em CDCl_3	134
Figura 66: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 4-(4-fluorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5l em CDCl_3	135
Figura 67: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 4-(4-fluorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5l em CDCl_3	135
Figura 68: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5m em CDCl_3	136
Figura 69: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 5m em CDCl_3	136
Figura 70: Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7a em CDCl_3	137
Figura 71: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7a em CDCl_3	137
Figura 72: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1- <i>o</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 7b em CDCl_3	138
Figura 73: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1- <i>o</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 7b em CDCl_3	138
Figura 74: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7c em CDCl_3	139
Figura 75: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7c em CDCl_3	139

Figura 76: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1- <i>m</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 7d em CDCl_3	140
Figura 77: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1- <i>m</i> -toluil-1 <i>H</i> -pirazol 7d em CDCl_3	140
Figura 78: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7e em CDCl_3	141
Figura 79: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7e em CDCl_3	141
Figura 80: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7f em CDCl_3	142
Figura 81: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7f em CDCl_3	142
Figura 82: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 3,5-dietil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7g em CDCl_3	143
Figura 83: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dietil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7g em CDCl_3	143
Figura 84: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7j em CDCl_3	144
Figura 85: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7j em CDCl_3	144
Figura 86: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 4-(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7K em CDCl_3	145
Figura 87: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 4-(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7K em CDCl_3	145
Figura 88: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>p</i> -toluilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7l em CDCl_3	146
Figura 89: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(<i>p</i> -toluilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7l em CDCl_3	146
Figura 90: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 3-(mesitilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7m em CDCl_3	147
Figura 91: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3-(mesitilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7m em CDCl_3	147
Figura 92: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7n em CDCl_3	148

Figura 93: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7n em CDCl_3	148
Figura 94: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-((4-trifluorometil)fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7o em CDCl_3	149
Figura 95: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-((4-trifluorometil)fenilselanil)-1 <i>H</i> -pirazol 7o em CDCl_3	149
Figura 96: Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 4-(butilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7p em CDCl_3	150
Figura 97: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 4-(butilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol 7p em CDCl_3	150

Índice de Tabelas

Tabela 1: Estudos de otimização do processo reacional para a síntese de 4-(ariltio)-1 <i>H</i> -pirazóis	40
Tabela 2: Variação dos substratos: arilidrazinas, 1,3-dicetonas e ariltióis	44
Tabela 3: Otimização das condições reacionais para a obtenção dos 4-(arilselanil)-1 <i>H</i> -pirazóis	51
Tabela 4: Variação dos substratos: arilidrazinas, 1,3-dicetonas e disselenetos de diarila	54
Tabela 5: Efeito dos compostos 4-(arilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazóis no ensaio FRAP..	67
Tabela 6: Efeito dos 4-(ariltio)-1 <i>H</i> -pirazóis no ensaio de neutralização dos radicais óxido nítrico.....	68
Tabela 7: Efeito dos 4-(arilselanil)-1 <i>H</i> -pirazóis no ensaio de neutralização dos radicais óxido nítrico	69
Tabela 8: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a (300 mg/Kg) no ganho de peso de camundongos.....	73
Tabela 9: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a nas atividades das enzimas AST, ALT e nos níveis de ureia e creatinina	74
Tabela 10: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a na atividade da enzima δ -ALA-D em camundongos.....	75
Tabela 11: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a no ensaio TBARS no fígado, rim e cérebro de camundongos	76
Tabela 12: Efeito dos compostos 5a , 7a e 3a no comportamento locomotor do ensaio de campo aberto	84

Lista de Siglas e Abreviaturas

ABTS	Ácido 2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
Bpy	Bipiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	Dimetilformamida
DPPH	1,1-difenil-2-picril-hidrazil
ER	Espécies reativas
Fen	1,10-fenantrolina
i.p.	Intraperitoneal
i.pl.	Intraplantar
m/z	Razão Massa/Carga
ON	Óxido nítrico
RMC	Reação multicomponente
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
THF	Tetrahidrofurano
TMEDA	Tetrametiletilenodiamino

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. Introdução e Objetivos

Os compostos heterocíclicos constituem uma importante classe de moléculas orgânicas, uma vez que a maioria das biomoléculas produzidas naturalmente ou existentes em algum fármaco conhecido, apresentam em sua estrutura, um ou mais heteroátomos e cadeia cíclica. Esta classe de compostos é conhecida por apresentar um grande número de propriedades biológicas, sendo assim amplamente utilizada na indústria agroquímica e farmacêutica.¹

Os compostos heterocíclicos podem ser obtidos de fontes naturais ou sintéticas, e representam a maioria dos medicamentos prescritos atualmente. São exemplos de heterociclos a morfina **8**, um potente analgésico, a quinina **9**, um forte antitético, analgésico e antimalárico e o lovastatin **10** usado no tratamento de dislipidemias e doenças coronarianas (Figura 1).²

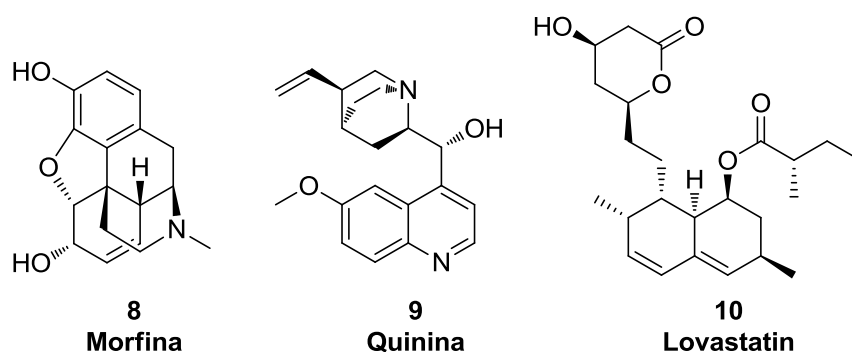


Figura 1: Estrutura de fármacos obtidos de fontes naturais.

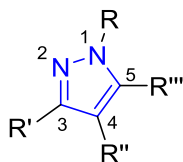
Entre os compostos heterocíclicos, os pirazóis e seus derivados, representam uma importante classe de compostos nitrogenados, aos quais são atribuídas numerosas aplicações agroquímicas e farmacológicas.³

Os pirazóis são moléculas orgânicas caracterizadas por apresentar uma cadeia cíclica de cinco membros constituída por três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio em posições adjacentes, conforme descrito na Figura 2.²

¹ (a) Dadiboyena, S.; Nefzi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 46, 5258. (b) Behra, A.K.; Majundar, P.; Pati, A.; Patra, M.; Behera, R.K. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 2942.

² Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G.K.; Sharma, A.K. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 69, 735.

³ Tang, M.; Zhang, Fu-Min. *Tetrahedron* **2013**, 69, 1427.



R, R', R'', R''' = H ou alqui ou aril

Figura 2: Estrutura geral do núcleo pirazolínico.

Dentre estes compostos contendo o núcleo pirazolínico e com aplicações industriais, podemos citar o Celecoxib **11** um anti-inflamatório seletivo da ciclooxigenase-2, Piraclostrobin **12** um antifúngico, PNU-32945 **13** um inibidor da transcripase reversa do vírus HIV e o Fluazolato **14** um herbicida (Figura 3).³

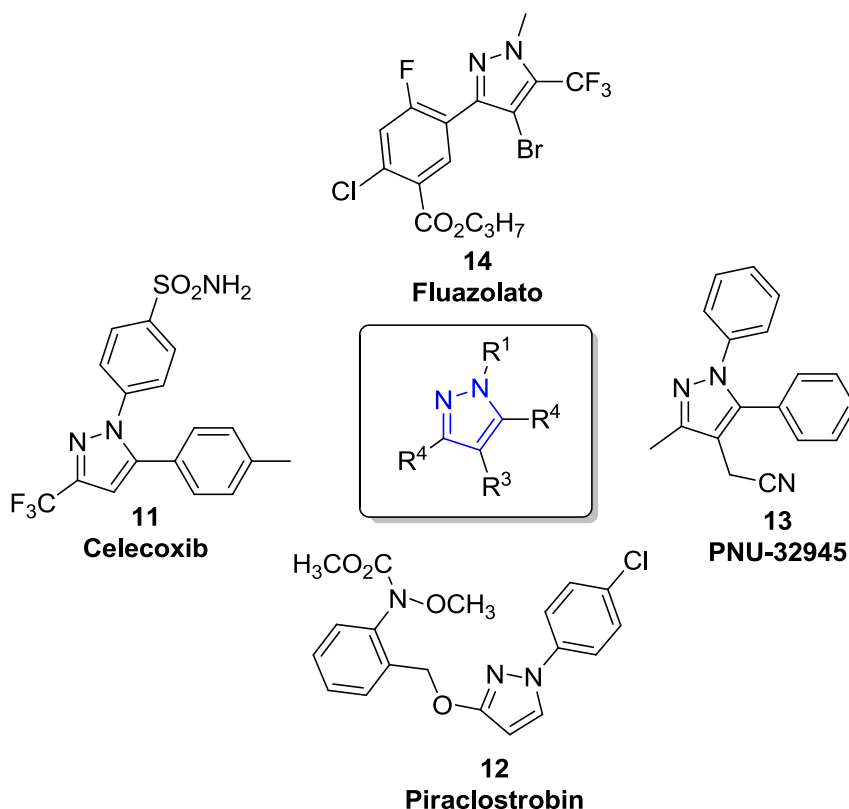


Figura 3: Derivados pirazolínicos com aplicações farmacêutica e agroquímica.³

Os pirazóis, assim como os demais heterociclos aromáticos nitrogenados de cinco membros contendo um ou mais átomos de nitrogênio, são denominados genericamente azóis, sendo o pirrol **15** seu representante mais simples. Além destes, existem também outros compostos heterocíclicos

de cinco membros os quais podem conter outros heteroátomos como, por exemplo, oxigênio ou enxofre, em adição a um átomo de nitrogênio, os quais também recebem a mesma denominação azol, sendo conhecidos como oxazol e tiazol, respectivamente. A Figura 4 ilustra alguns exemplares mais simples dos compostos pertencentes à classe dos azóis.⁴

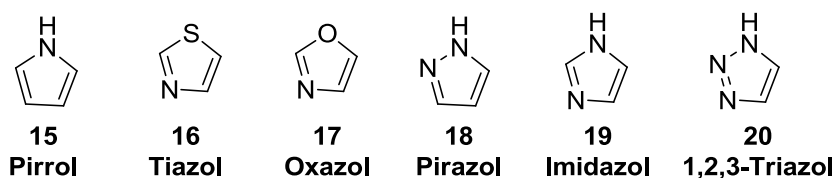
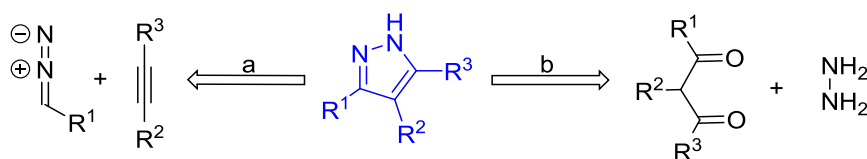


Figura 4. Heterociclos aromáticos azólicos.

Apesar da reconhecida importância dos compostos contendo o núcleo pirazólico, principalmente em função de suas propriedades farmacológicas e agroquímicas, estes compostos são raramente encontrados na natureza devido à dificuldade dos organismos vivos em sintetizar a ligação nitrogênio-nitrogênio.⁵

Em contrapartida, podemos evidenciar na literatura a existência de diversas propostas para a síntese de pirazóis polissubstituídos. Nesse contexto, as metodologias mais exploradas são reações de cicloadição 1,3-dipolar entre compostos nitrogenados e alquinos (Esquema 1, a) ou reações de ciclocondensação entre hidrazinas e compostos 1,3-dicarbonílicos (Esquema 1, b), as quais serão explorados neste trabalho.^{1,6}



Esquema 1

⁴ (a) Katritzky, A.R.; Pozharskii, A.F. Em *Handbook of Heterocyclic Chemistry, Second Edition*; Pergamon: Oxford, **2000**. (b) Eicher, T.; Hauptmann, S. Em *The Chemistry of Heterocycles, Second Edition*; Wiley-VCH, **2003**.

⁵ Suri, M.; Jousseume, T.; Neumann, J.J.; Glorius, F. *Green Chem.* **2012**, *14*, 2193.

⁶ Wang, J.; Gong, X.; Wang, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 7555.

Outra classe de compostos orgânicos que tem merecido grande destaque na literatura são os organocalcogênios, os quais constituem uma classe de compostos que apresentam em sua estrutura os elementos oxigênio (O), enxofre (S), selênio (Se) ou telúrio (Te) ligado diretamente a um átomo de carbono.^{7,8} Estes compostos despertam interesse em função de suas estruturas serem alvos sintéticos importantes, possibilitando a participação de reações altamente seletivas, seu uso em catálise assimétrica⁹ e na síntese de produtos naturais.¹⁰ Aliado a isso, outro grande potencial dos compostos organocalcogênios, se dá em função das diversas propriedades biológicas apresentadas por muitos destes compostos.¹¹

Nesse contexto, considerando-se o potencial sintético e farmacológico dos pirazóis¹² e também de compostos organocalcogênios, o objetivo deste trabalho foi descrever uma metodologia sintética para a obtenção de pirazóis funcionalizados com um grupo orgânico de enxofre ou de selênio, utilizando-se de um sistema catalítico constituído por um sal de cobre e ligante nitrogenado. Além disto, pretende-se estudar o potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis obtidos frente a sua capacidade antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória (Esquema 2).

⁷ (a) Perin, G.; Lenardão, E.J.; Jacob, R.G.; Panatieri, R.B. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1277. (b) Freudendahl, D.M.; Shahzad, S.A.; Wirth, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *22*, 1649. (c) Zeni, G.; Ludtke, D.S.; Panatieri, R.B.; Braga, A.L. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 1032. (d) Petragnani, N.; Stefani, H.A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1613. (e) Comasseto, J.V.; Gariani, R.A. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8447.

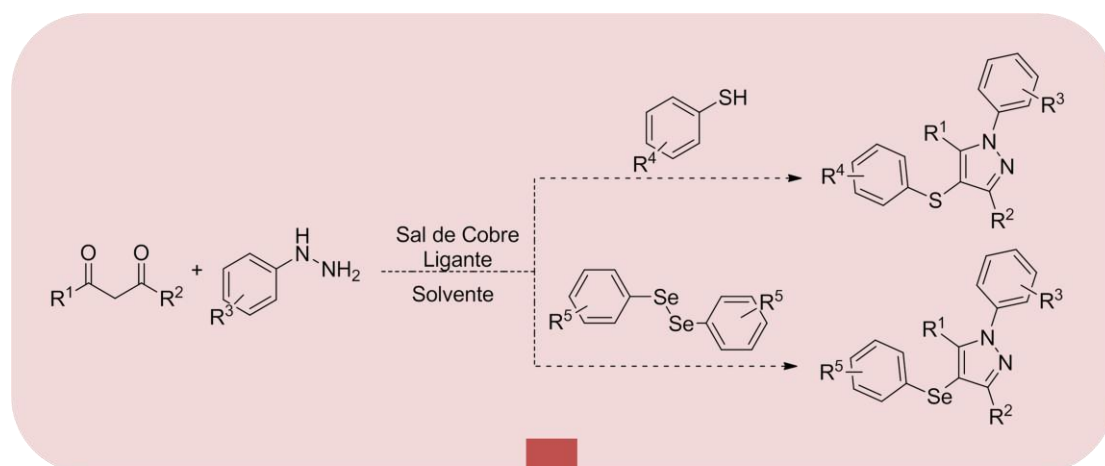
⁸ (a) Wirth, T. *Organoselenium Chemistry*. In *Topics in Current Chemistry*; p 208; Ed.; Springer-Verlag: Heidelberg, **2000**. (b) Krief, A. In *Comprehensive Organometallic Chemistry II*; Abel, E. V.; Stone, F.G.A.; Wilkinson, G., Eds.; Pergamon Press: New York, **1995**.

⁹ (a) Braga, A.L.; Ludtke, D.S.; Vargas, F.; Braga, R.C. *Synlett* **2006**, *12*, 1453. (b) Braga, A.L.; Vargas, F.; Sehnem, J.A.; Braga, R.C. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9021. (c) Braga, A.L.; Paixao, M.W.; Ludtke, D.S.; Silveira, C.C.; Rodrigues, O.E.D. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3635.

¹⁰ (a) Zeni, G.; Panatieri, R.B.; Lissner, E.; Menezes, P.H.; Braga, A.L.; Stefani, H.A. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 819. (b) Marino, J.P.; McClure, M.S.; Holub, D.P.; Comasseto, J.V.; Tucci, F.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1664. (c) Alves, D.; Nogueira, C.W.; Zeni, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *50*, 8761.

¹¹ Nogueira, C.W.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6255.

¹² (a) Bandgar, P.B.; Gawande, S.S.; Bodage, R.G.; Gawande, N.M.; Khobragade, C.N. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8168. (b) Winters, M.P.; Subasinghe, N.; Wall, M.; Beck, E.; Brandt, M.R.; Finley, M.F.A.; Liu, Y.; Lubin, M.L.; Neeper, M.P.; Qin, N.; Flores, C.M.; Sui, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 22057. (c) Liu, Z.Q.; Li, Y.F. *Free Radical Biol. Med.* **2012**, *52*, 103.



Avaliação do Potencial Farmacológico:
 Antioxidante
 Antinociceptivo
 Anti-inflamatório

Esquema 2

Revisão da Literatura

2. Revisão da Literatura

Neste capítulo será descrita, de forma resumida, uma revisão sobre os temas relacionados ao desenvolvimento deste trabalho. Dessa forma, serão abordados inicialmente, a importância dos pirazóis e metodologias sintéticas para sua obtenção, e na sequência, será apresentada uma breve revisão referente às propriedades biológicas estudadas, sendo estas as atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória.

2.1. Pirazóis

Os pirazóis são compostos heterocíclicos de cinco membros constituídos pela associação de três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio em posições adjacentes.

Nos últimos anos, esta classe de moléculas tem despertado o interesse acadêmico em função das propriedades biológicas a que lhe são atribuídas, bem como em função do grande número de compostos derivados que podem ser obtidos a partir destas moléculas.

Com relação a aplicações, os pirazóis têm sido amplamente explorados como substratos, na indústria agroquímica e farmacêutica. No entanto, também há relatos, de acordo com a literatura, que descrevem seu uso como corantes em cosméticos, estabilizadores de UV, na química supramolecular e de polímeros, e também na indústria de alimentos.¹³

Já com respeito à disponibilidade desta classe de moléculas, têm-se poucos relatos na literatura que descrevem a presença destes em compostos de origem natural, o que impulsionou o desenvolvimento de diferentes rotas sintéticas para a obtenção dos mesmos.

O primeiro derivado natural dos pirazóis, o 3-nonilpirazol **21**, foi descrito em 1954 por pesquisadores japoneses, onde o composto foi isolado a partir da planta *Houttuynia Cordata*, típica da região da Ásia tropical, a qual apresentou

¹³ (a) Yang, L.; Okuda, F.; Kobayashi, K.; Nozaki, K.; Tanabe, Y.; Ishii, Y.; Haga, M. *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 7154. (b) Chang, E.-M.; Lee, C.-T.; Chen, C.-Y.; Wong, F. F.; Yeh, M.-Y. *Aust. J. Chem.* **2008**, 61, 342. (c) Cavero, E.; Uriel, S.; Romero, P.; Serrano, J. L.; Gimenez, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 11608. (d) Ye, C.; Gard, G. L.; Winter, R. W.; Syvret, R. G.; Twamley, B.; Shreeve, J. M. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3841.

propriedades antimicrobianas. Posteriormente, outro derivado natural contendo o núcleo pirazolínico, o qual pode ser citado como exemplo, é o levo-β-(1-pirazolil)alanina **22**, um aminoácido encontrado na planta *Citrullus Vulgaris*, (Figura 5).¹⁴

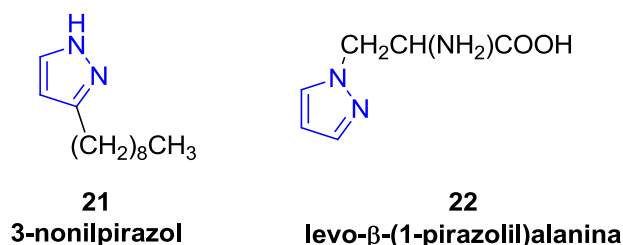


Figura 5. Estrutura química de pirazóis encontrados na natureza.

2.2. Síntese de pirazóis

De acordo com a literatura, diferentes propostas são descritas para a síntese de pirazóis funcionalizados, as quais geralmente estão baseadas em reações de ciclocondensação ou então em reações cicloadição 1,3-dipolar.

Nas reações de cicloadição 1,3-dipolar, de acordo com a literatura, são utilizados três principais blocos (1,3-dipolos) como *synthons* (carbono-nitrogênio-nitrogênio) no processo reacional para a obtenção dos respectivos pirazóis, sendo estes diazoalcanos, nitriliminas e azometino iminas (Figura 6). Já o fragmento da porção carbono-carbono, para construção do heterociclo, geralmente está associado a alquenos ou alquinos.⁶

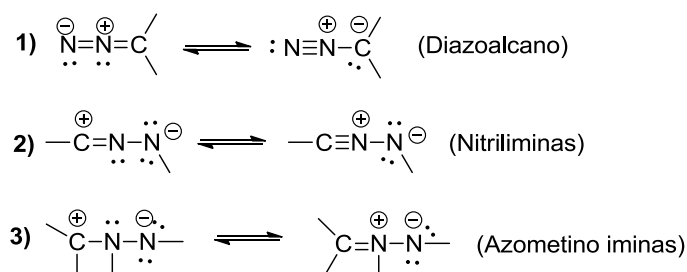
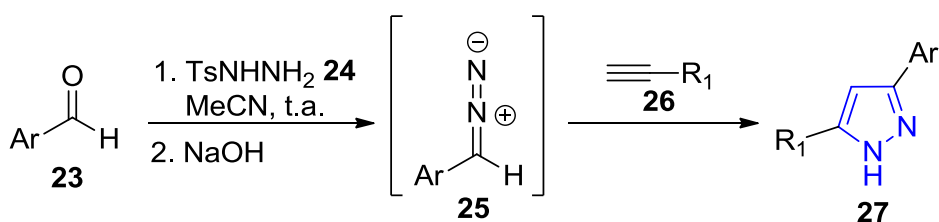


Figura 6. Cicloadição 1,3-dipolar: 1,3-dipolos.

¹⁴ Behr, L. C.; Fusco, R.; Jarboe, C. H. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*, Wiley Interscience Publishers, New York, **1967**.

Neste contexto, pode-se citar como exemplo de reações de cicloadição 1,3-dipolar para a obtenção de pirazóis substituídos, a reação entre diazo compostos ricos em elétrons com alquinos terminais, as quais são facilitadas quando conduzidas sob condições térmicas.¹⁵ A síntese de pirazóis funcionalizados foi proposta, a partir de reações de cicloadição 1,3-dipolar, entre aldeídos **23** e hidrazinas protegidas **24**, formando as respectivas hidrazonas **25**, e posterior ciclização com alquinos terminais **26** (Esquema 3), obtendo-se os respectivos produtos **27** com bons rendimentos.



Esquema 3

As reações de ciclocondensação, foco do nosso estudo, estão diretamente relacionadas com a síntese de pirazóis funcionalizados nas posições C-3 e C-5 do núcleo pirazolínico. Estas reações envolvem a ciclocondensação entre hidrazinas com compostos 1,3-dieletrofílicos, os quais contém uma unidade de três carbonos onde dois átomos de carbono são deficientes de elétrons (posição 1,3), tais como compostos 1,3-dicarbonílicos (I) ou α,β -insaturados (II e III) (Figura 7). Entretanto, quando se utiliza compostos dicarbonílicos assimétricos em reações com hidrazinas substituídas ($R \neq H$), pode-se obter como produto final uma mistura de regioisômeros.¹⁶

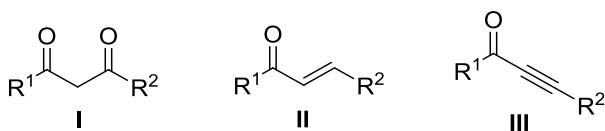


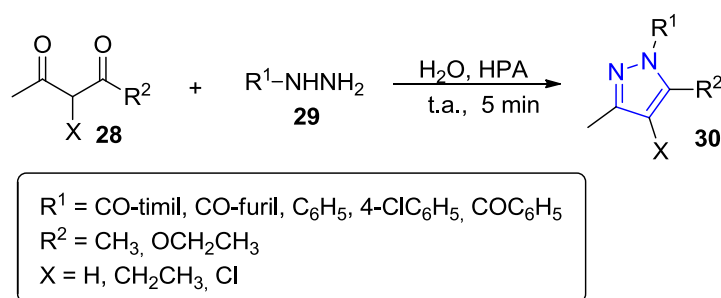
Figura 7: Compostos 1,3-dieletrofílicos.

¹⁵ Aggarwal, V.K.; de Vicente, J.; Bonnert, R.V. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 5381.

¹⁶ Fustero, S.; Simón-Fuentes, A.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6984.

Usualmente, as reações de ciclocondensação entre hidrazinas e compostos 1,3-dicarbonílicos são facilitadas com o uso de solventes polares próticos. No entanto, na literatura são descritas algumas reações de ciclocondensação, onde são obtidos bons resultados quanto a regioseletividade e ao rendimento utilizando-se de solventes apolares apróticos.¹⁷

Gharib e colaboradores¹⁸ propuseram uma metodologia sintética para obter os respectivos pirazóis polissubstituídos a partir de reações de ciclocondensação entre 1,3-dicetonas **28** e diferentes hidrazinas substituídas **29** utilizando água como solvente. Nesse caso, a reação foi realizada a temperatura ambiente e sob catálise ácida (Esquema 4), onde os respectivos produtos **30** foram obtidos com bons rendimentos



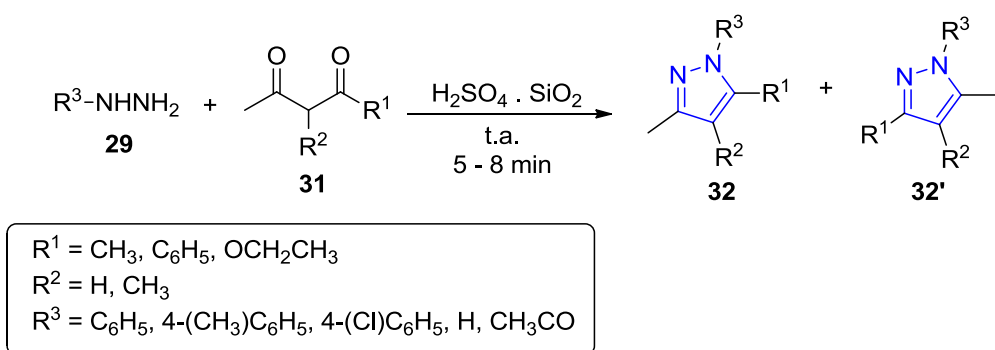
Esquema 4

A obtenção de pirazóis a partir de reações de ciclocondensação em meio livre de solvente foi proposta inicialmente por Chen e colaboradores¹⁹, onde foi possível a síntese de 14 exemplos de pirazóis polissubstituídos a partir de reações entre alquil e aril hidrazinas **29** com compostos 1,3-dicarbonílicos **31**, como cetonas ou ésteres (Esquema 5). As reações foram realizadas em curtos tempos reacionais, 5 – 8 min, a temperatura ambiente, utilizando-se de um pequeno excesso de 10% da respectiva hidrazina e um suporte sólido constituído de ácido sulfúrico suportado em sílica, obtendo-se como produto uma mistura de regioisômeros **32** e **32'**

¹⁷ Gosselin, F.; O'Shea, P.D.; Webster, R.A.; Reamer, R.A.; Tillyer, R.D.; Graboski, E.J.J. *Synlett* **2006**, 19, 3267.

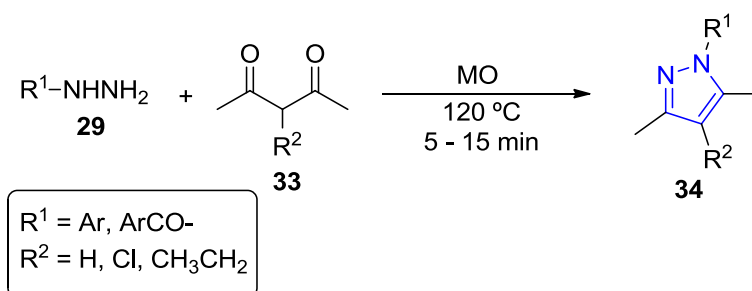
¹⁸ Gharib, A.; Jahangir, M.; Scheeren, J.W. *Synthetic Commun.* **2013**, 43, 309.

¹⁹ Chen, X.; She, J.; Shang, Z-C.; Wu, J.; Zhang, P. *Synthetic Commun.* **2009**, 39, 947.



Esquema 5

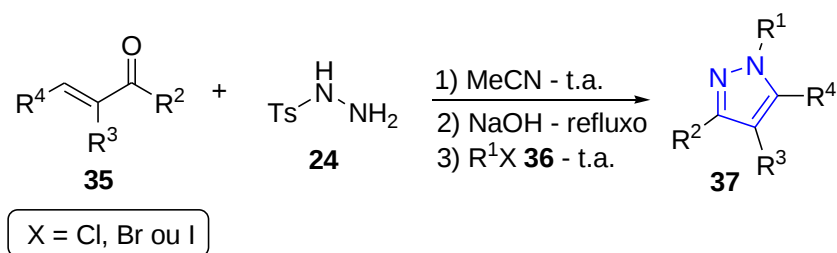
Mais recentemente, Varma e colaboradores²⁰, propuseram a síntese de pirazóis polissubstituídos a partir de reações entre aril ou alquil hidrazinas **29** com compostos 1,3-dicarbonílicos **33** em meio livre de solvente. As reações foram realizadas sob irradiação de micro-ondas a uma temperatura de 120 °C, levando aos respectivos produtos **34** em curtos tempos reacionais e com excelentes rendimentos 94 – 99% (Esquema 6).



Esquema 6

A síntese de pirazóis utilizando um solvente aprótico foi proposta por Tang & Zhang.³ Nesse trabalho, os autores descrevem a obtenção de 21 exemplos de pirazóis substituídos com bons rendimentos (65 – 98%). Para isso, foi utilizado como substrato, enonas **35**, *p*-toluenosulfonil hidrazinas **24** e haletos de alquila ou arila **36**. As reações foram realizadas em meio básico, a temperatura de refluxo, utilizando-se de acetonitrila como solvente (Esquema 7).

²⁰ Varma, R.S.; Leazer, J.; Vaddula, B.R. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 1538.



Esquema 7

Para a obtenção dos respectivos pirazóis **37**, reagiu-se inicialmente a enona **35** com a TsNHNH₂ **24** a temperatura ambiente, utilizando-se a acetonitrila como solvente por 3 h. Posteriormente, foi adicionado ao meio reacional uma solução de NaOH em acetonitrila, e em seguida a mistura foi aquecida a temperatura de refluxo por mais 15 h. Por fim, a solução contida no frasco reacional foi resfriada até a temperatura ambiente e acrescentou-se uma solução do haleto de alquila ou arila **36**, obtendo-se ao final do processo reacional os respectivos pirazóis **37**. Nesse contexto, de acordo com o substrato utilizado, enona **35**, foi possível a obtenção de pirazóis 1,3- ou 1,4-dissubstituídos, 1,3,4-trissubstituídos e 1,3,4,5-tetrassubstituídos com bons rendimentos a partir de uma metodologia *one pot*.

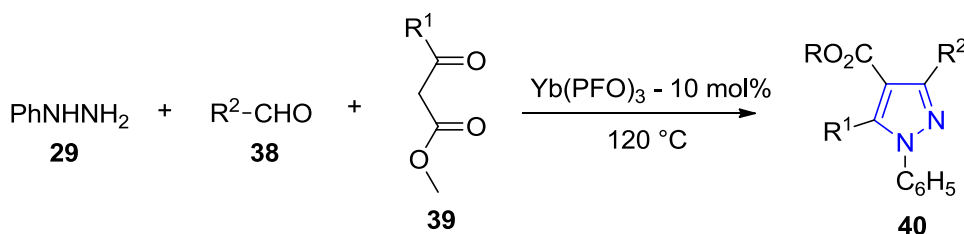
Dentre os trabalhos descritos até o presente momento, considerando-se a síntese de pirazóis polissubstituídos a partir de reações de ciclocondensação, podemos evidenciar que os substituintes localizados nas posições 3, 4 e 5 do núcleo pirazolínico são altamente dependentes do substrato 1,3-dieletrófilico utilizado.

Neste sentido, além das propostas já apresentadas, podemos citar ainda outras metodologias para a síntese de pirazóis funcionalizados, os quais podem conter diferentes grupos orgânicos ligados ao núcleo pirazolínico independente dos materiais de partida utilizados na etapa de ciclocondensação.⁶ Assim, grupos alquila, arila ou acila podem ser inseridos no núcleo pirazolínico depois da etapa de ciclização. Nesse sentido, observa-se o desenvolvimento de metodologias, catalisadas por metais de transição,

principalmente paládio (Pd), cobre (Cu) e níquel (Ni), capazes de promover a construção de novas ligações carbono-carbono e carbono-nitrogênio.²¹

As reações multicomponentes também surgem como alternativas interessantes para a construção de núcleos heterocíclicos, uma vez que a partir destas reações é possível a combinação de dois ou mais blocos estruturantes em uma só etapa, permitindo a formação dos produtos desejados, a partir da formação simultânea de duas ou mais ligações, sem que ocorra necessidade de se purificar os intermediários reacionais. É válido ressaltar ainda que esta metodologia permite a formação de uma grande diversidade de moléculas a partir da variação dos substratos utilizados.¹⁶

A obtenção de pirazóis funcionalizados a partir de reações multicomponentes e com uso de metais de transição foi descrita por Shen e colaboradores.²² Para isto foi utilizado como catalisador o perfluorooctanato de itérbio em reações de acoplamento entre aldeídos **38**, arilidrazinas **29** e alquil acetoacetatos **39**, em meio livre de solvente, com posterior etapa de oxidação, obtendo-se os respectivos alquil-*N*-arilpirazol-4-carboxilatos **40** com bons rendimentos. É válido ressaltar que, de acordo com os autores, a metodologia proposta, mostrou-se mais eficiente quando utilizado aldeídos alifáticos como substrato, e que o catalisador usado no processo reacional, pode ser reutilizado por até mais três ciclos sem perder sua eficiência (Esquema 8).

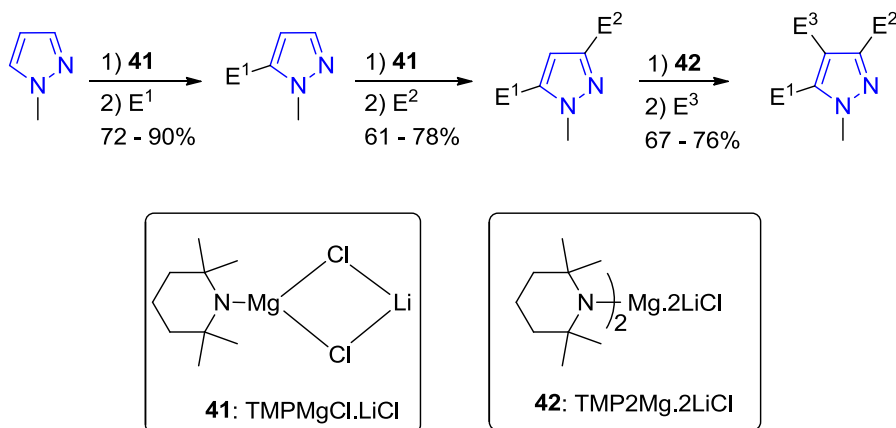


A síntese regio- e quimiosseletiva de pirazóis polissubstituídos foi proposta a partir de reações de metalacção sucessivas, utilizando-se de bases fortes constituídas pela associação de magnésio e lítio, sendo estas a

²¹ (a) Nývák, Z.; Kóvacs, S. *Tetrahedron*. **2013**, 69, 8987. (b) Doucet, H.; Touzani, R.; Takfaoui, A.; Zhao, L.; Dixneuf, P.H. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 1697.

²² Shen, L.; Cao, S.; Liu, N.; Wu, J.; Zhu, L.; Qian, X. *Synlett* **2008**, 9, 1341.

TMPMgCl.LiCl (**41**) e $\text{TMP}_2\text{Mg}\cdot 2\text{LiCl}$ (**42**), onde TMP é o 2,2,6,6-tetrametil-piperidil. Para isso, foi utilizado como substrato um núcleo pirazolínico protegido ou então o 1-metil-1*H*-pirazol, conforme ilustrado no Esquema 9. Inicialmente ocorre a formação do intermediário Mg – pirazol, o qual passa por uma etapa de transmetalção, e posteriormente, na presença do eletrófilo, dá origem ao pirazol substituído.²³



Esquema 9

As reações de funcionalização do respectivo pirazol ocorrem, preferencialmente, nas posições 5, 3 e 4, respectivamente. Nesse sentido, de acordo com os resultados descritos no trabalho, pode-se observar que a metodologia proposta pelos autores foi eficiente, uma vez que possibilitou a obtenção dos respectivos pirazóis polissubstituídos com bons rendimentos. A metodologia proposta também pode ser utilizada para descrever a síntese total do *Tebufenpyrad* **43** (Figura 8), um potente acaricida, com 75 % de rendimento, a partir de reações de metalação sucessivas.

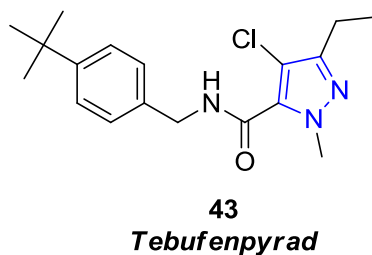
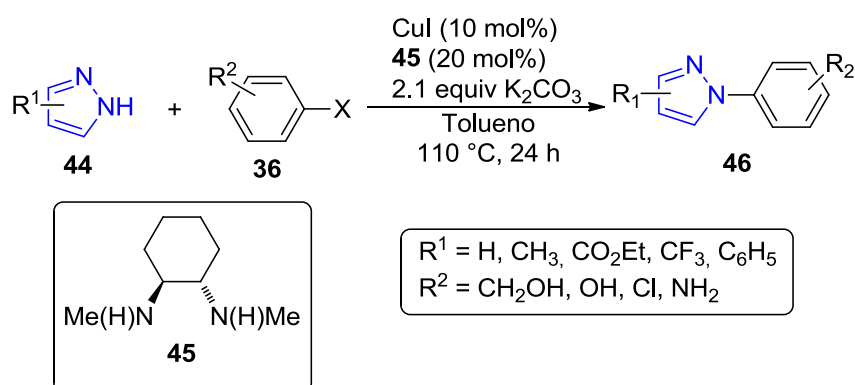


Figura 8. Estrutura química do *Tebufenpyrad* **43.**

²³ Despotopoulou, C.; Klier, C.; Knoche, P. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3326.

Antilla e colaboradores²⁴ propuseram a *N*-arilação de pirazóis a partir do uso da catálise de cobre e ligantes nitrogenados. Para isso os autores promoveram a reação entre o núcleo pirazolínico **44** com haletos de arila **36**, derivados de iodo ou bromo, utilizando tolueno como solvente sob catálise de iodeto de cobre e um ligante nitrogenado bidentado **45** (Esquema 10), obtendo-se os respectivos derivados **46** com 71 a 98 % de rendimento.

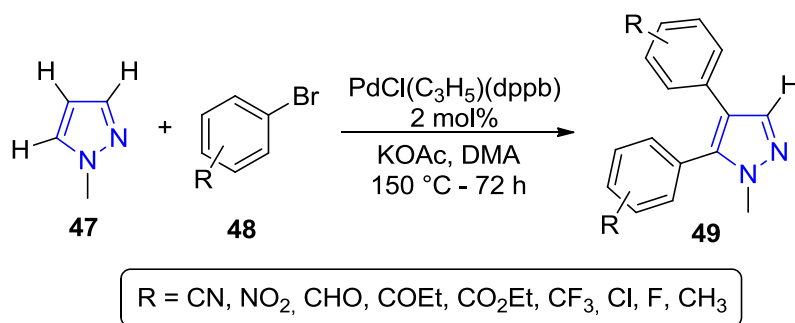


Esquema 10

Takfaoui e colaboradores²⁵ descreveram a diarilação direta de pirazóis com haletos de arila usando paládio como catalisador e dimetilacetamida como solvente (Esquema 11). Os autores descrevem a diarilação simultânea nas posições 4 e 5 do núcleo pirazolínico em função da semelhança na reatividade da ligação C-H nessas posições. Em contrapartida, a ligação C-H do carbono C-3 do anel apresenta uma reatividade menor, e por isso não favorece a formação do produto 3,4,5-trissubstituído.

²⁴ Antilla, J. C.; Baskin, T.; Barder, T. E.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 5578.

²⁵ Takfaoui, A.; Zhao, L.; Touzani, R.; Dixneuf, P. H.; Doucet, H. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 1697.



Esquema 11

2.3. Síntese de calcogenil-1H-pirazóis

Croce e colaboradores²⁶ propuseram, inicialmente, a obtenção de 4-fenilsulfonyl-1H-pirazóis a partir de reações de cicloadição-1,3-dipolar, entre nitriliminas **50** com alquinilsulfonas **51a-c**, onde foram obtidos os respectivos produtos **52** com bons rendimentos e elevada seletividade (Esquema 12).

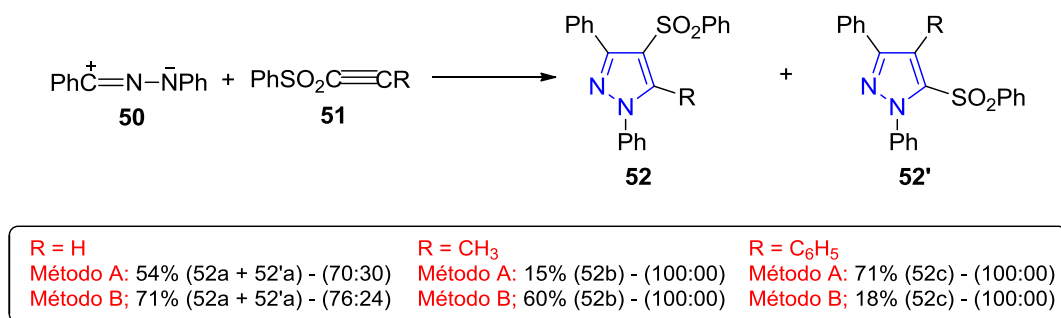
Para a obtenção dos respectivos produtos, a nitrilimina **50** foi gerada *in situ* seguindo dois procedimentos alternativos. Inicialmente, a alquinilsulfona **51a-c** foi tratada com uma quantidade equimolar de 1-(α -clorobenzilideno)-2-fenilidrazina na presença de trietilamina e usando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente (Método A). Nesse caso, foi observada a formação dos respectivos produtos de cicloadição **52a** e **52c**, com bons rendimentos. Entretanto, o produto de cicloadição **52b** foi obtido apenas com 15% de rendimento em função de reações paralelas de isomerização da alquinilsulfona **51b**.

Para evitar reações paralelas, quando considerada o uso da sulfona **51b**, um procedimento diferente para a obtenção da nitrilimina foi adotado (Método B). Nesse caso, para a formação *in situ* da nitrilimina foi utilizado o 2,5-difeniltetrazol em anisol sob refluxo. De acordo com este procedimento, foi possível a obtenção dos produtos de cicloadição **52a** e **52b** em rendimento satisfatórios, entretanto o produto **52c** foi obtido com baixo rendimento, o que pode ser explicado em função da estabilidade térmica do substrato **51c**.

Ainda com respeito a obtenção dos 4-fenilsulfonyl-1H-pirazóis **52a-c**, pode-se concluir, a partir dos resultados apresentados pelos autores, que em

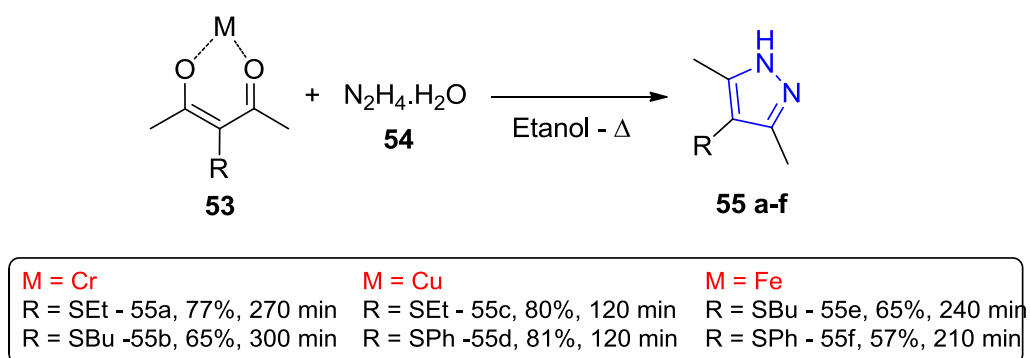
²⁶ Croce, P. D.; Rosa, C.; Zecchi, G. *J. Chem. Soc.* **1985**, 1, 2621.

ambos caminhos apresentados para a obtenção da respectiva nitrilimina, a seletividade dos produtos obtidos **52a-c** foi mantida.



Esquema 12

Svistunova e colaboradores²⁷ descreveram a síntese de pirazóis e de sulfenilpirazóis a partir de reações entre complexos metálicos de acetilacetatos **53** e hidrato de hidrazina **54** (Esquema 13). Neste trabalho, os autores buscavam avaliar a influência do centro metálico na obtenção dos respectivos produtos. As reações foram realizadas em etanol sob refluxo, utilizando-se como centro metálico o cromo, ferro e o cobre, onde os respectivos sulfenilpirazóis **55** puderam ser obtidos com bons rendimentos, os quais oscilaram entre 57 e 81%.



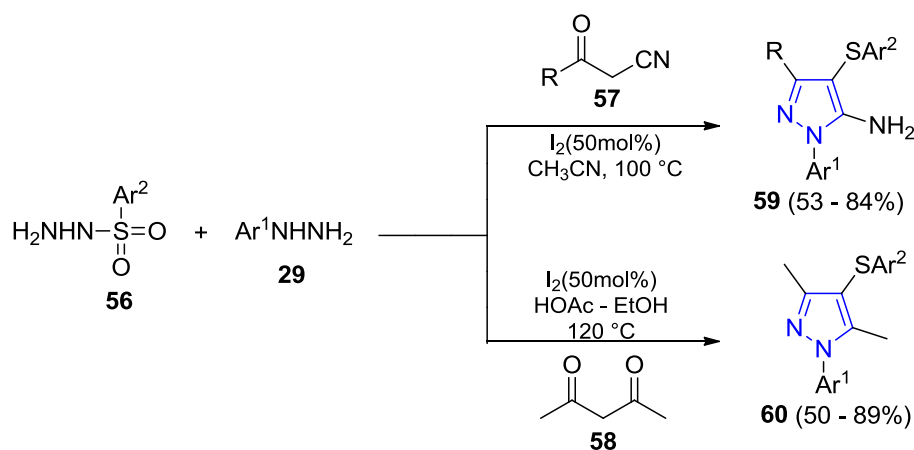
Esquema 13

Considerando-se os diferentes centros metálicos utilizados, cromo, cobre e ferro, pode-se evidenciar que não houve diferença significativa dos

²⁷ Svistunova, I.V.; Shapkina, N.P.; Nikolaevav, O.V.; Apanasenkov, O.A. *Russ. J. Gen. Chem.* **2011**, *81*, 756.

rendimentos quando comparados os efeitos dos mesmos substituintes, **55a** e **55c**, **55b** e **55e**, e por fim **55d** e **55f**, respectivamente.

A sulfenilação de pirazóis utilizando-se de iodo como catalisador em meio livre de metal de transição foi proposta por Sun e colaboradores²⁸ a partir do uso direto de arilsulfonilidrazidas **56**. Neste trabalho, os autores descrevem a síntese *one pot* de 4-arilsulfenilpirazóis a partir de reações de ciclização direta de três componentes entre β-acetonitrilas **57** ou 2,4-pentanodiona **58** com arilidrazinas **29** e arilsulfonilidrazidas **56**, sob catálise de iodo, promovendo a quebra de ligações S–O, S–N e C–O, e a construção de novas ligações C–S e C–N (Esquema 14).



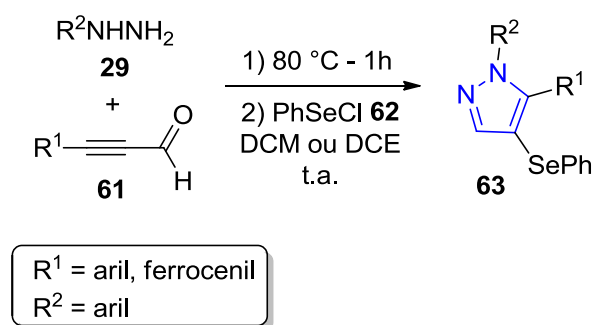
Esquema 14

A partir dos resultados descritos, é possível evidenciar a formação dos respectivos produtos com rendimentos que oscilaram entre regulares a bons, uma vez que a metodologia proposta apresenta um amplo escopo reacional, sendo possível a utilização de substratos com grupos doadores e retiradores de elétrons, além de ser de fácil reprodutibilidade.

A síntese de 4-(fenilselanil)pirazóis foi descrita recentemente por Zora e colaboradores²⁹, a partir de reações entre hidrazinas **29** e aldeídos alquinílicos **61**, gerando as respectivas α,β-hidrazonas acetilênicas *in situ*, e posterior ciclização com cloreto de fenilselenenila **62** (Esquema 15).

²⁸ Sun, J.; Qiu, J.-K.; Zhu, Y.-L.; Guo, C.; Hao, W.-J.; Jiang, B.; Tu, S.-J. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8217.

²⁹ Zora, M.; Demirci, D.; Kivrak, A.; Kelgokmen. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 993.



Esquema 15

A partir desta metodologia, os autores puderam sintetizar 13 exemplos de 4-(arilselanil)pirazóis **63**, os quais foram obtidos com rendimentos que variaram entre 25 e 95%. A metodologia mostrou-se sensível em situações em que o grupo arila, derivado da fenilidrazina, é substituído com grupos retiradores de elétrons, principalmente pelo átomo de flúor. Entretanto, grupos doadores de elétrons favorecem a reação.

Nesse sentido, em face do que foi exposto, podemos observar que existem poucos relatos na literatura, que se referem à síntese de calcogenilpirazóis, principalmente contendo selênio em sua estrutura, o que torna relevante o desenvolvimento de novas metodologias para a síntese dos mesmos bem como a avaliação do potencial farmacológico desta classe de moléculas.

2.4. Propriedades farmacológicas dos pirazóis

Os pirazóis e seus derivados sintéticos são encontrados em um grande número de compostos que apresentam um amplo espectro de propriedades farmacológicas, onde se pode citar como exemplo seu potencial como agente anti-câncer, antipsicótico, analgésico e anti-inflamatório, por exemplo.³⁰

Entretanto, a busca por novos derivados sintéticos ainda se faz relevante, uma vez que há interesse na obtenção de novos compostos que

³⁰ Zhang, J.; Didierlaurent, S.; Fortin, M.; Lefrançois, D.; Uridad, E.; Vever, J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1351.

possuam o mesmo efeito farmacológico, porém com efeitos adversos menos expressivos, quando comparados aos fármacos atualmente comercializados.³¹

O Celecoxib **11** é um fármaco seletivo e mundialmente comercializado, o qual apresenta em sua estrutura um anel pirazolínico. É indicado para diversos tratamentos como anti-inflamatório, analgésico e antitérmico. Seu mecanismo de ação está relacionado a inibição de prostaglandinas, as quais são responsáveis por ocasionar processos infecciosos, dor e inchaço, principalmente pela inibição da via da enzima ciclooxigenase-2 (Cox-2). Em concentrações terapêuticas, não excedente a dose diária de 400 mg, o Celecoxib **11** não ocasiona interferências nas funções normais do estômago, intestinos, rins e plaquetas, diminuindo assim os efeitos adversos ocasionados por alguns medicamentos.³²

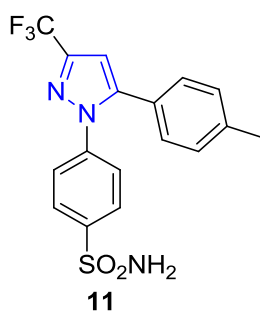


Figura 9. Estruturas química do Celecoxib **11**.

Diferentes estudos têm sido realizados a partir de compostos derivados de um pirazol de ocorrência natural, o *withasomnie* **64**, o qual foi isolado de uma planta medicinal indiana a *Withania Somnifera*. Estes compostos apresentam um amplo espectro farmacêutico, o qual tem sido amplamente explorado nas últimas décadas (Figura 10).³³

³¹ Rainsford, K. D. *Subcell Biochem.* **2007**, 42, 3.

³² (a) Malmstrom, K.; Daniels, S.; Kotey, P.; Seidenberg, B.C.; Desjardins, P.J. *Clin. Ther.* **1999**, 21, 1653. (b) Sheng-Fen H.; Lub, C.; Chaoc, C-S.; Tanb, p.; Huangb, y.; Hsiehb, s. w.; Hsiaob, H. T.; Chungb, N. C.; Linb, S. H.; Huangd, P. L.; Lyua, P. C. *Mol. Brain Res.* **2004**, 125, 113. (c) Ushiyama, S.; Yamada, T.; Murakami, Y.; Kumakura, S.; Inoue, S.; Suzuki, K.; Nakao, A.; Kawara, A.; Kimura, T. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, 578, 76. (d) Prasanna, S.; Manivannan, E.; Chaturvedi, S. C.; *Bioorg Med Chem Lett.* **2005**, 15, 2097.

³³ Qjao, J.; Liu, B.; Liao, Z.; Li, Y.; Ma, L.; Dong, C.; Zhou, H.B. *Tetrahedron* **2014**, 70, 3782.

Dentre as aplicações destes derivados, destacam-se principalmente, seu uso para o tratamento do aumento do baço, diversos tipos de infecções, agente anti-câncer além de estudos referentes ao seu potencial inseticida.³⁴

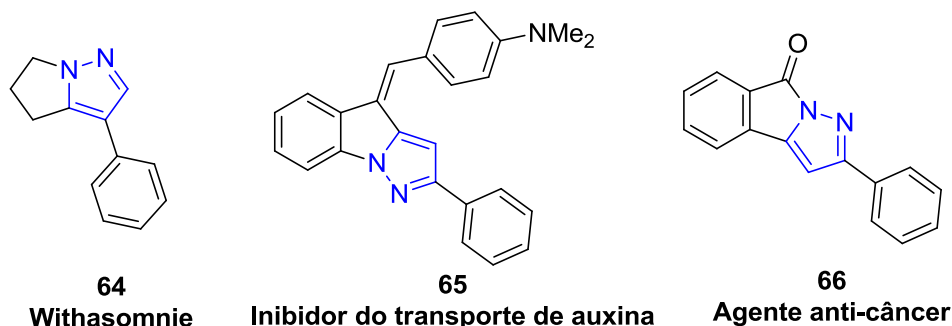


Figura 10. Derivados sintéticos do *withasomnie*.

Malvar e colaboradores³⁵ desenvolveram um estudo para avaliar o potencial antinociceptivo, anti-inflamatório e antipirético da 1,5-difenil-1H-pirazol-3-carbohidrazida **67** (1,5-DHP) (Figura 11). Dessa forma, para avaliar o potencial antinociceptivo foram realizados os testes da placa quente, formalina e contorções abdominais, onde resultados positivos foram obtidos no experimento que avalia o número de contorções abdominais, induzido por ácido acético, em concentrações de 1, 3 e 10 mg/Kg. Já no teste da formalina, resultados positivos foram obtidos somente na concentração de 10 mg/Kg, na segunda fase do experimento, relacionada a dor inflamatória. Entretanto, resultados significativos não foram obtidos no teste da placa quente, mesmo quando considerada a dose de 10 mg/Kg.

³⁴ a) Dinges, J.; Akritopolou-Zane, I.; Arnold, L.D.; Barlozari, T.; Bousquet, P.F.; Cunha, G.A.; Ericsson, A.M.; Iwasaki, N.; Michaelides, M.R.; Ogawa, N.; Phelan, K.M.; Rafferty, P.; Sowin, T. J.; Stewart, K.D.; Tokuyama, R.; Xia, Z.; Zhang, H.Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4371. (b) Aladesanmi, A. J.; Nia, R.; Nahrstedt, A. *Planta Med.* **1998**, *64*, 90.

³⁵ Malvar, D.M.; Ferreira, R.T.; Castro, R.A.; Castro, L.L.; Freitas, A.C.C.; Costa, E.A.; Florentino, I.F.; Mafra, J.C.M.; Souza, G.E.P.; Vanderlinde, F.A. *Life Sciences* **2014**, *95*, 81.

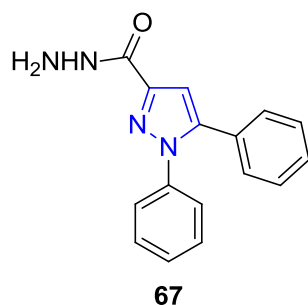


Figura 11. Estrutura química do 1,5-DHP **67**.

Para avaliar o potencial anti-inflamatório do 1,5-DHP **67** foi realizado o teste de indução do edema de orelha, utilizando-se como agente causador do edema o óleo de cróton. Resultados significativos foram obtidos quando avaliadas as doses de 10 e 30 mg/Kg. Já o potencial antipirético foi avaliado utilizando-se de um modelo induzido por LPS, onde um resultado significativo foi obtido a partir de tratamentos com uma dose de 60 mg/Kg. Para validar os resultados, foi utilizado como controle positivo a indometacina, na dose de 2 e 10 mg/Kg, entretanto, resultados mais expressivos que o controle positivo não foram obtidos.

Umesha & Basavaraju³⁶ avaliaram o potencial antimicrobiano de triarilpirazóis **68 a-e** (Figura 12) frente a bactérias *E. coli* e *S. aureus*. De acordo com os dados apresentados, resultados mais expressivos foram alcançados quando avaliados triarilpirazóis *para* – substituídos com os grupos tiometil e nitro, respectivamente, quando comparado aos demais compostos testados.

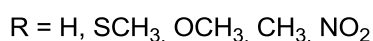
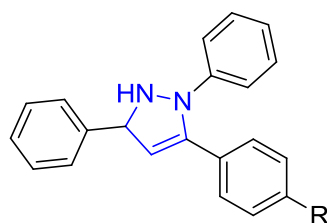


Figura 12. Estrutura química dos triarilpirazóis avaliados frente ao potencial antibacteriano.

³⁶ Umesha, B.; Basavaraju, Y. B. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* **2013**, 4, 33.

O potencial antioxidante de uma série de compostos, derivados de pirazóis, foi avaliado e bons resultados foram obtidos.³⁷ Dentre os substratos testados, 3-(pirin-4-il)-1*H*-pirazol-5-carboxiamidas, os compostos **69a** e **69b** (Figura 13), contendo um grupo tiofeno ou *o*-Cl-fenil substituído, apresentaram melhores resultados quando comparados aos demais compostos no ensaio de neutralização dos radicais sintéticos DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Para estas substâncias, os valores de IC₅₀ (concentração necessária para inibir metade dos radicais livres presentes em solução) observados no ensaio de neutralização dos radicais DPPH foram de 27,59 µM e 27,71 µM, respectivamente, sendo estes substratos mais potentes que os demais compostos testados, os quais apresentaram valores de IC₅₀ superiores a 41 µM.

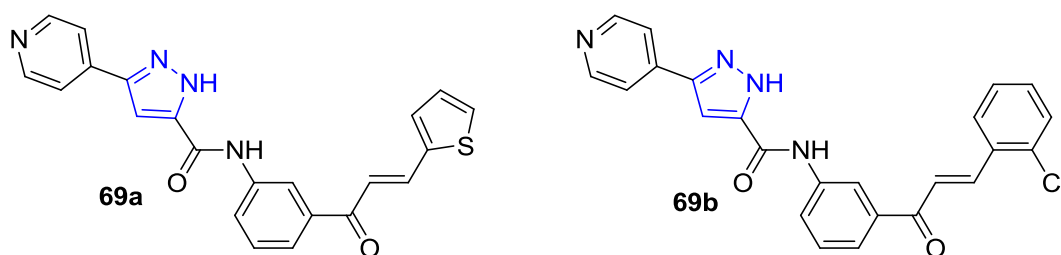


Figura 13. Estrutura química dos compostos **69a** e **69b**, derivados de pirazóis.

2.5. Estresse oxidativo

A produção de espécies reativas (ERs) e de radicais livres pode ocorrer através de reações endógenas ou exógenas, e as espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas constantemente, como parte da respiração celular, durante as etapas intermediárias de redução do oxigênio ao longo da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, os quais são de extrema relevância para a manutenção de processos biológicos. Entretanto, uma parte destas espécies pode ser tóxica através de interações oxidativas com biomoléculas importantes, tais como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, podendo ocasionar assim danos ou morte celular.³⁸ No entanto, todos os

³⁷ Sribalan, R.; Banupriya, G.; Kirubavathi, M.; Jayachitra, A.; Padmini, V. *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 5624.

³⁸ Morrissey, P.A.; O'brien, N. M. *Int. Dairy J.* **1998**, 8, 463.

organismos aeróbios possuem um sistema de defesa antioxidante, os quais podem ser enzimáticos ou não enzimáticos, sendo estes responsáveis por neutralizar ou reparar danos causados por espécies reativas nas moléculas.

O processo de estresse oxidativo se origina a partir da existência de um desequilíbrio entre os compostos antioxidantes e oxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção dos mesmos. Tais processos conduzem a oxidações de biomoléculas, com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo contra células e tecidos,³⁹ podendo resultar na manifestação de algumas enfermidades crônicas não transmissíveis como aterosclerose, alguns tipos de câncer, mutações, envelhecimento, doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, entre outras.⁴⁰ Nesse sentido, a busca por novas moléculas com potencial antioxidante é de grande relevância. Entre as pesquisas realizadas nessa área, os compostos heterocíclicos, se destacam como potenciais agentes antioxidantes, devido principalmente a sua capacidade em estabilizar espécies radicalares.

Os sistemas de defesa antioxidantes têm como função inibir ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres e atuam de maneira conjunta com a finalidade de proteger as células.⁴¹ Nesse sentido, o sistema enzimático é constituído por quatro enzimas principais, as quais são responsáveis pela neutralização das EROs ou de ERN, sendo elas a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e o sistema glutathiona peroxidase (GPx) / glutathiona redutase (GR). Enquanto que o sistema de defesa antioxidante não enzimático é constituído por pequenas moléculas, as quais atuam na detoxificação das espécies reativas a partir da doação de elétrons de suas estruturas aos radicais livres, sem tornarem-se também reativas em função de sua estabilidade. Dentre estas moléculas com atividade antioxidante estão, principalmente, os flavonóides, as vitaminas A, E e C e também a glutathiona reduzida (GSH).⁴²

³⁹ Halliwell, B. J. *Neurochem.* **2006**, 97, 1634.

⁴⁰ (a) Barbosa, F.F.; Bandeira, J.M.; Rodrigues, L.M.P.; Bacarin, I.C.S.; Peters, M.A.; Braga, E.B. *Rev. Bras. Plantas Med.* **2010**, 13, 157. (b) Gülçin, I. *Arch. Toxicol.* **2012**, 86, 345.

⁴¹ (a) Há, B.J.; Lee, S.H.; Kim, H.J.; Lee, J.Y. *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, 29, 1305. (b) Robbers, C.K.; Sindhu, K.K., *Life Sciences.* **2009**, 84, 705.

⁴² Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L. *Physiol. Rev.* **2007**, 87, 315.

Uma substância antioxidante pode ser definida como qualquer substância, que quando presente em baixas concentrações, comparadas ao substrato oxidado, diminui ou inibe significativamente a oxidação do substrato.⁴³ Os antioxidantes podem proteger o corpo humano do ataque de espécies reativas e de radicais livres, retardando o progresso de muitas doenças crônicas, assim como da peroxidação lipídica.

Os principais agentes promotores da oxidação em sistemas biológicos são as espécies reativas de oxigênio (ERO), tais como os raicais: ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxil ($OH\cdot$), peroxil ($ROO\cdot$), alcóxil ($RO\cdot$) e hidroperoxil ($HOO\cdot$). Já as espécies não radicalares são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ozônio (O_3) e o oxigênio singlete ($1O_2$). As ERO são as principais promotoras da iniciação das reações oxidativas e são formados durante o metabolismo normal no corpo humano, como subprodutos da respiração celular e da síntese de estruturas mais complexas.⁴⁴ Os radicais livres, nesse contexto, podem ser compreendidos como moléculas que possuem elétrons não pareados no orbital externo, e em função disso são muito instáveis e reativos, sendo um dos principais causadores de danos oxidativos.

Entretanto, é válido ressaltar que embora sejam associados muitos efeitos desfavoráveis aos radicais livres, essas moléculas são requeridas em muitos processos bioquímicos normais, onde se pode citar como exemplo sua ação frente a microrganismos patógenos, na sinalização e controle do crescimento celular, e na detoxicação de substâncias estranhas e tóxicas ao organismo.⁴⁵

De acordo com a literatura, diversos substratos são apontados em função de suas propriedades antioxidantes, principalmente compostos fenólicos oriundos de produtos naturais ou derivados semissintéticos. Entretanto, os compostos organocalcogênicos, também vêm ganhando destaque.

⁴³ (a) Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. *Free radicals in biology and medicine*. 3 Ed. Oxford University Press, London, **1999**. (b) Halliwell, B. *Biochem. Science* **2006**, 31, 509.

⁴⁴ De Flora, S.; Izzotti, A. *Mutat. Res.* **2007**, 621, 517.

⁴⁵ Araújo, J. M. A. *Química de Alimentos : Teoria e Prática*. ed. 4º. Ed UFV, 596 p. **2008**.

2.6.1. Atividade antioxidante de compostos orgânicos de selênio e enxofre

Martinez e colaboradores desenvolveram um estudo para avaliar o potencial antioxidante de duas moléculas derivadas da deidrozingerona **70a**, a 4-(4-hidroxi-3-metóxfenil)-4-fenilselênio-2-butanona **70b** e a 4-(4-hidroxi-3-metóxfenil)-4-feniltio-2-butanona **70c**. De acordo com os resultados apresentados, pode-se evidenciar uma melhora significativa, quando avaliada o potencial antioxidante, das duas moléculas semissintéticas **70b** e **70c**, quando comparadas a deidrozingerona **70a**. O aumento da capacidade antioxidante, de acordo com os autores, está relacionado a dupla capacidade em estabilizar espécies radiculares quando considerados os derivados semissintéticos. No ensaio de inibição de espécies radiculares de DDPH, foram observados valores de IC₅₀ de $27,7 \pm 9,6 \mu\text{M}$ e $33,3 \pm 3,5 \mu\text{M}$ para os compostos **70b** e **70c**, respectivamente, enquanto que para o composto **70a** o IC₅₀ observado foi de $57,00 \pm 2,5 \mu\text{M}$.

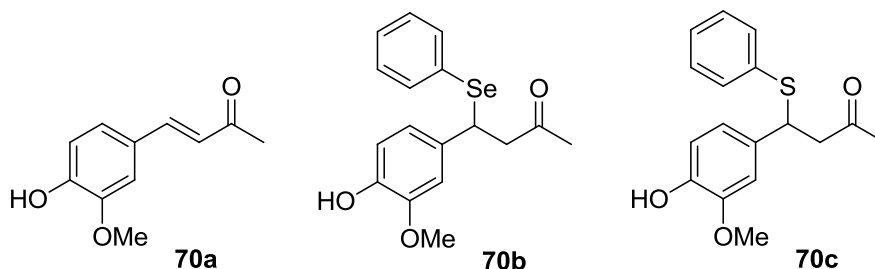


Figura 14. Derivados semissintéticos da deidrozingerona.

Savegnago e colaboradores⁴⁶ avaliaram o potencial antioxidante *in vitro* de 1,2,3-triazóis-4-carbonitrilas **71a-e**, contendo selênio, em ensaios que buscavam avaliar a capacidade de redução dos íons férrico e de inibição da peroxidação lipídica. Dentre os compostos avaliados (Figura 15), o composto **71a** foi o que apresentou melhores resultados quanto a sua capacidade antioxidante, quando comparado aos demais compostos testados.

⁴⁶ Savegnago, L.; Sacramento, M.; Brod, L.M.P.; Fronza, M.G.; Seus, N.; Lenardão, E.J.; Paixão, M.W.; Alves, D. *RSC Advances* **2016**, 6, 8021.

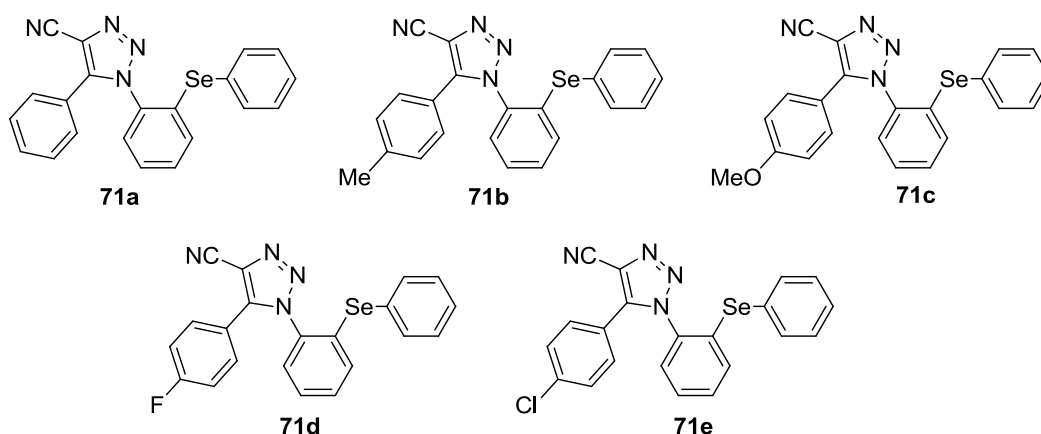


Figura 15. Avaliação do potencial antioxidante dos compostos 1,2,3-triazóis-4-carbonitrilas contendo selênio.

Silva e colaboradores⁴⁷ propuseram a avaliação do potencial antioxidante de tiouréias (Figura 16) a partir de ensaios de neutralização de radicais sintéticos, DPPH e ABTS. Nesse contexto, excelentes resultados foram obtidos quando avaliados os compostos **72a-c**. Considerando o experimento de neutralização dos radicais DPPH, o composto **72b** apresentou efeitos mais significativos quando comparados aos demais, onde foram obtidos os valores de IC₅₀ de 27,66 ± 2,51, 20,33 ± 2,31 e 23,00 ± 2,64 μM para os compostos **72a**, **72b** e **72c**, respectivamente. Entretanto, quando considerado o efeito frente a neutralização dos radicais ABTS, o composto **72a** mostrou-se mais potente, onde nesse caso, os valores de IC₅₀ obtidos foram de 2,83 ± 0,76, 4,54 ± 0,5 e 5,15 ± 1,5 μM para os compostos **72a**, **72b** e **72c**, respectivamente.

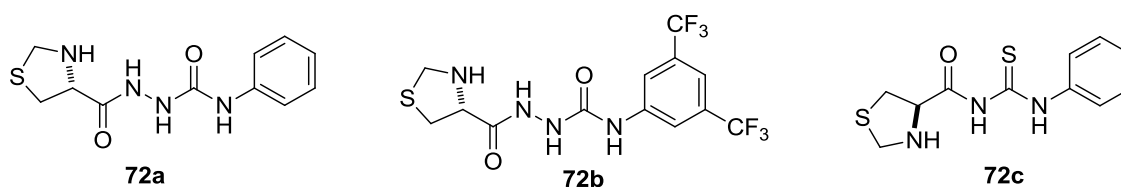


Figura 16. Estrutura química das tiouréias analisadas frente ao potencial antioxidante.

⁴⁷ Silva, T.L.; Miolo, L.M.F.; Sousa, F.S.S.; Brod, L.M.P.; Savegnago, L.; Schneider, P.H. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *48*, 6674.

2.6. Nocicepção e inflamação

O organismo apresenta diversos sistemas responsáveis pelo controle da homeostasia, dentre estes a dor possui um papel importante, podendo atuar como um mecanismo de alerta, indicando que há algo errado. Nesse sentido, a dor torna-se um sintoma clínico muito importante, auxiliando na detecção e avaliação de muitas doenças. Em contrapartida, quando persistente, a dor ocasiona reações emocionais negativas, tornando-se debilitante.⁴⁸

A dor é um fenômeno complexo, a qual surge a partir da influência de diversos sistemas neuroatômicos e neuroquímicos, envolvendo processos cognitivos e afetivos, os quais estão relacionados a três componentes principais: (i) o componente cognitivo, o qual causa atenção e avaliação ao processo doloroso; (ii) o componente sensorial, relacionado a intensidade, localização e duração da dor; e (iii) o componente afetivo-emocional, o qual estabelece uma relação da dor com a emoção e o comportamento de defesa.⁴⁹ De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor, define-se dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial”.⁵⁰

Nesse contexto, podemos evidenciar que a dor é um processo influenciado tanto por fatores fisiológicos (sensoriais) quanto psicológicos. Já a nocicepção, por outro lado, está relacionada apenas a parte fisiológica da dor, ou seja, considera apenas a sensação nociva ocasionada pela estimulação das fibras aferentes primárias, envolvendo apenas o sistema nervoso periférico e algumas estruturas cerebrais.⁵¹

Em modelo animal, a dor pode ser avaliada indiretamente a partir da observação comportamental, onde neste caso, têm-se de fato modelos de nocicepção. As estruturas cerebrais são responsáveis por transmitir e codificarem as informações nociceptivas. Dessa forma, os estímulos nocivos ocasionados por fontes externas ou internas, são transmitidos e traduzidos

⁴⁸ (a) Chapman, C.R.; Gavrin, J. *The Lancet*. **1999**, 353, 2233. (b) Julius, D.; Basbaum, A.I. *Nature* **2001**, 413, 203. (c) Griffis, C.A.; Compton, P.; Doering, L. *Biol. Res. Nurs.* **2006**, 7, 297.

⁴⁹ (a) Bilevicius, E.; Kolesar, T. A.; Kornelsen, J. *Brain Science* **2016**, 6, 1. (b) Senkowski, D.; Höfle, M.; Engel, A.K. *Trends Cogn. Sci.* **2014**, 18, 319.

⁵⁰ Garland, E.L. *Prim Care* **2012**, 39, 561.

⁵¹ Millan, M.J. *Prog. Neurobiol.* **1999**, 57, 1.

pelas vias neurais do SNP para o SNC.⁵² Estes estímulos são detectados por neurônios sensoriais periféricos, os nociceptores, os quais são capazes de codificar estímulos térmicos, químicos e mecânicos com diferentes intensidades.⁵³

Os nociceptores estão localizados em diferentes tecidos periféricos, e são classificados de acordo com sua capacidade em transmitir os estímulos nervosos. Sua ativação se dá a partir de um estímulo nocivo, proporcionando a liberação de moléculas sinalizadoras específicas, as quais terão seus sinais convertidos, posteriormente, a impulsos elétricos.⁵⁴

As fibras aferentes primárias, as quais conduzem a informação nociceptiva ao sistema nervoso central, são classificadas de acordo com seu diâmetro, estrutura ou velocidade de condução. Nesse sentido, destacam-se três tipos principais: (i) fibras C, finas (0,4 a 1,2 μ m de diâmetro), não mielinizadas e de condução lenta; (ii) fibras A δ , médias (2 a 6 μ m de diâmetro), mielinizadas e de condução intermediária; e (iii) fibras A β , espessas (mais de 10 μ m de diâmetro), mielinizadas e de condução rápida (Figura 17).^{48(b)}

Fibras A α e A β	Fibras A δ (I e II)	Fibras C
		
➤ Muito mielinizadas	➤ Pouco mielinizadas	➤ Não mielinizadas
➤ 10 μ m de diâmetro	➤ 2-6 μ m de diâmetro	➤ 0,4 - 1,2 μ m de diâmetro
➤ Não estão envolvidas com a nocicepção, somente percepção de estímulos não nocivos	➤ Estão envolvidas com a nocicepção mecânica, térmica e química.	➤ Estão envolvidas com a nocicepção mecânica, térmica e química.

Figura 17. Representação esquemática dos diferentes tipos de neurônios sensoriais primários. Adaptado de Julius e Basbaum (2001).

⁵² Veinante, P.; Yalcin, I.; Barrot, M. *J. Mol. Psychiatry* **2013**, 1, 1.

⁵³ Dubin, A. E.; Patapoutian, A. *J. Clin. Invest.* **2010**, 120, 3760.

⁵⁴ Bridgestock, C.; Rae, P.R. *Anaesth. Intens. Care* **2013**, 14, 480.

Os mediadores químicos liberados após diferentes estímulos fazem com que a informação nociceptiva seja levada através das fibras aferentes ao SNC, para que este a processe e responda adequadamente em cada situação.

Com respeito à classificação da dor, têm-se principalmente, as subdivisões que consideram o tempo e a origem do processo. Nesse sentido, considerando-se o tempo de duração, uma sensação dolorosa pode ser classificada como crônica, aguda ou transitória. Dessa forma, tem-se que na dor transitória ocorre a ativação dos nociceptores com ausência de danos teciduais, desempenhando apenas uma função protetora. Já a dor aguda é uma resposta ocasionada por uma lesão de tecidos com consequente ativação dos nociceptores no local da lesão, a qual desaparece antes mesmo da recuperação total dos tecidos. Em contrapartida, a dor crônica é originada por uma doença ou lesão tecidual que na maioria das vezes ultrapassa o tempo de recuperação do organismo, podendo durar meses ou anos, e caracteriza-se pela incapacidade do organismo em reestabelecer suas funções fisiológicas.⁵⁵

A dor pode ser ocasionada por diferentes processos, onde dentre estes se destacam a nocicepção, processos inflamatórios, danos nos nervos, sensibilização periférica e reorganização estrutural, por exemplo. Nesse sentido, como há o envolvimento de diferentes mecanismos, a dor pode ser caracterizada em diferentes tipos, sendo estes a dor nociceptiva, dor inflamatória, dor neuropática e dor funcional.⁵⁶

A dor nociceptiva pode ser compreendida como consequência de uma lesão, a qual ativa os nociceptores periféricos, podendo ser ocasionada pelo frio, calor ou estímulo mecânico e/ou químico. Com respeito a dor inflamatória, tem-se nesse caso, a associação a um quadro inflamatório, podendo ser ocasionada após processos cirúrgicos, traumas ou em pacientes com doenças inflamatórias.⁴¹ A dor neuropática está relacionada a uma patologia do sistema somatossensorial, a qual ocorre em função de uma disfunção ou lesão a um nervo ou grupo de nervos, podendo resultar de lesões no SNP ou no SNC.⁵⁷

⁵⁵ (a) Wang, L.X.; Wang, Z. J. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, 55, 949. (b) Lotshc, J.; Geisslinger, G. *Clin. Pharmacokinet.* **2001**, 40, 485.

⁵⁶ Vasileiou, I.; Giaginis, C.; Klonaris, C.; Theocharis, S. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2011**, 25, 48.

⁵⁷ Bouhassira, D.; Attal, N. *Neuroscience* **2016**, 16, 252.

Por fim, a dor funcional é caracterizada por processos de hipersensibilidade a um estímulo doloroso, a qual eleva a sensibilidade do sistema sensorial.⁴⁶

A eliminação de microrganismos patogênicos por meio de processos de fagocitose e de indução da inflamação são comuns nos organismos vivos, sendo estas ferramentas importantes para manter a homeostasia do sistema. Nesse sentido, a inflamação é uma reação de proteção, a qual envolve as células hospedeiras, com o objetivo de eliminar a causa inicial da lesão celular para que ocorra um posterior reparo.⁵⁸

Os processos inflamatórios podem ser classificados como agudos ou crônicos. Sob condições normais, a inflamação aguda é essencial para proteger o organismo de patógenos invasores e reparar os tecidos lesados.⁵⁹ Entretanto, a inflamação crônica é um processo com duração prolongada em que o processo inflamatório, lesão tecidual e tentativa de reparo dos tecidos coexistem em combinações variadas. Esta fase ocasiona lesões nos tecidos e causa dor.⁶⁰

Alguns mediadores dos processos inflamatórios são capazes de ativar diretamente os nociceptores, auxiliando também na sensibilização periférica.⁶¹ Nesse contexto, pode-se dizer que dor e inflamação são processos que estão interligados, uma vez que as células do sistema imunológico formam uma rede integrada em que a resposta do sistema imune modula a excitabilidade das fibras aferentes primárias.⁶²

Na literatura, são descritos inúmeros relatos de compostos heterocíclicos com ação antinociceptiva e anti-inflamatória.⁶³ Entretanto, ao longo dos anos a pesquisa relacionada ao estudo das propriedades farmacológicas, incluindo-se a ação antinociceptiva e anti-inflamatória, de

⁵⁸ Skeldon, A.; Saleh, M. *Front. Microbiol.* **2011**, 2, 2.

⁵⁹ Muley, M. M.; Krustev, E.; Mcdougall, J. J. *CNS Neurosci Ther.* **2016**, 22, 88.

⁶⁰ Lipnik-Stangelj, M. *Mediators Inflamm.* **2013**, 2013, 1.

⁶¹ (a) Reichling, D. B.; Green, P. G.; Levine, J. D. *Pain* **2013**, 154, 2. (b) Voscopoulos, C.; Lema, M. *Br J. Anaesth.* **2010**, 105, 69.

⁶² Ren, K.; Dubner, R. *Nat. med.* **2010**, 16, 1267.

⁶³ (a) Vergelli, C.; Ciciani, G.; Cilibrizzi, A.; Crocetti, L.; Mannelli, L. C.; Ghelardini, C.; Guerrini, G.; Lacovone, A.; Giovannoni, M. P. *Bioor. Med. Chem.* **2015**, 23, 6237. (b) Ninomiya, M.; Garud, D.R.; Koketsu, M. *Coordination Chemistry Reviews* **2011**, 255, 2968. (c) Trevisan, G. Rossato, M.F.; Walker, C.I.B.; Oliveira, S.; Rosa, F.; Tonello, R.; Silva, C.; Machado, P.; Boligon, A.A.; Martins, M.A.P.; Zanatta, N.; Bonacorso, H.G.; Athayde, M. L.; Rubin, M.; Calixto, J.B.; Ferreira, J. *Neuropharmacol.* **2013**, 73, 261.

compostos organocalcogênicos tem se intensificado em função dos bons resultados que vem sendo obtidos.⁶⁴

2.6.1 Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de compostos orgânicos de selênio e de enxofre.

Os compostos orgânicos de selênio e de enxofre, principalmente, ao longo dos anos vêm sendo alvo de constantes estudos em função de suas propriedades farmacológicas e por apresentarem uma menor toxicidade quando comparadas às espécies inorgânicas.⁶⁵ Nesse contexto, dentre os estudos realizados destacam-se a avaliação do seu potencial antidepressivo, antioxidante, antifúngico, antibacteriano, antinociceptivo e anti-inflamatório.⁶⁶

A busca por novas substâncias com potencial farmacológico, nesse caso para tratar nocicepção, as quais tenham potencial em diminuir os efeitos adversos ocasionados aos pacientes em tratamento, impulsionam o desenvolvimento de novas pesquisas.

Brüning e colaboradores^{54a} avaliaram o potencial antinociceptivo do composto disseleneto de difenila *m*-trifluorometil [(*m*-CF₃-PhSe)₂] **73** (Figura 18) em ratos. De acordo com os resultados descritos pelos autores, pode-se observar que o composto testado **73** mostrou-se eficiente, assim como o controle positivo, nesse caso a morfina, em doses que variaram de 1 a 50 mg/Kg em reduzir o tempo de lambida induzido por glutamato (20 µmol/pata), mostrando que o composto testado apresenta efeito antinociceptivo quando submetido a um protocolo por indução química.

⁶⁴ (a) Brüning, C.A.; Gai, B.M.; Soares, S.M.; Martini, F.; Nogueira, C.W. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2014**, *125*, 15. (b) Jesse, Cristiano R.; Wilhelm, E.; Nogueira, C.; Savegnago, L. *Exp. Toxicol. Pathol.* **2009**, *61*, 197. (c) Chagas, P.M.; Rosa, S.G.; Sari, M.H.M.; Oliveira, C.E.S.; Canto, R.F.S.; Da Luz, S.C.A.; Braga, A.L.; Nogueira, C.W. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2014**, *118*, 87.

⁶⁵ (a) Nogueira, C.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 6255. (b) Solovyev, N.D.J. *Inorg. Biochem.* **2015**, *153*, 1.

⁶⁶ (a) Martinez, D.M.; Barcellos, A.; Casaril, A.M.; Perin, G.; Schisser, C.H.; Callaghan, K. L.; Lenardão, E. J.; Savegnago, L. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 2243. (b) Donato, F.; Pavin, N. F.; Goes, A.T.R.; Souza, L.C.; Soares, L. C.; Rodrigues, O.E.D.; Jesse, C.R.; Savegnago, L. *Pharm. Biol.* **2015**, *53*, 395. (c) Victoria, F.N.; Radatz, C.S.; Sachini, M.; Jacob, R.G.; Alves, D.; Savegnago, L.; Motta, A.S.; Silva, W.P.; Lenardão, E.J. *Food Control* **2012**, *23*, 95.

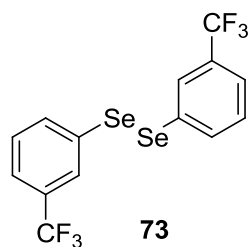


Figura 18. Estrutura química do disseleneto de difenila *m*-trifluorometil [(*m*-CF₃-PhSe)₂] **73**.

O disseleneto de difenila (Figura 19) já teve seu potencial farmacológico amplamente explorado, entretanto, alguns estudos ainda vêm sendo realizados. Nesse sentido, pode-se citar como exemplo a avaliação do seu potencial antioxidante,⁶⁷ atividade mimética a glutathione peroxidase,⁶⁸ antinociceptivo e anti-inflamatório⁶⁹. Considerando-se a ação antinociceptiva, foi avaliado em um trabalho desenvolvido por Savegnago e colaboradores⁷⁰, que o possível mecanismo de ação envolvido, está relacionado a via glutamatérgica, adenosinérgica, canais de cálcio, via do óxido-nítrico e serotoninérgico.

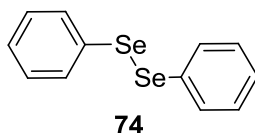


Figura 19. Estrutura química do disseleneto de difenila.

A atividade antinociceptiva do composto *bis*(4-metilbenzoil) disseleneto **75** (Figura 20) foi avaliada frente a modelos de nocicepção mecânicos e

⁶⁷ Posser, T.; Moretto, M.B.; Dafre, A. L.; Farina, M.; Rocha, J.B.; Nogueira, C.W.; Zeni, G.; Ferreira, J.D.; Leal, R.B.; Franco, J.L. *Chem. Biol. Interac.* **2006**, *164*, 126.

⁶⁸ Meotti, F.C.; Stangherlin, E.C.; Zeni, G.; Nogueira, C.W.; Rocha, J.B. *Environ. Res.* **2004**, *94*, 276.

⁶⁹ (a) Zasso, F.B.; Gonçalves, C.E.P.; Jung, E.A.C.; Araldi, D.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T.; Nogueira, C.W. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2005**, *19*, 283. (b) Rocha, J.T.; Pinton, S.; Gai, B. M.; Nogueira, C.W. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *154*, 372.

⁷⁰ Savegnago, L.; Pinto, L.G.; Jesse, C.R.; Alves, D.; Rocha, J.B.T.; Nogueira, C.W.; Zeni, G. *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, *555*, 129.

químicos, onde bons resultados foram obtidos sem ocasionar toxicidade aguda hepática e renal.⁷¹

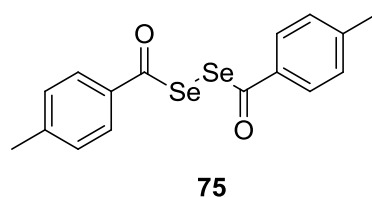


Figura 20: Estrutura química do composto bis (4-metilbenzoyl) disseleneto **75**.

Shafi e colaboradores⁷² descreveram a síntese e a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de triazol-tiobenzo-tiazazóis **76** a partir de experimentos realizados para avaliar a atividade da enzima cicloxigenase e também de indução de edema por carragenina, bem como no teste de contorções adnominais. Nesse sentido, de acordo com os resultados obtidos, os autores descrevem que os compostos **76a**, **76b**, **76c** e **76d** (Figura 21) apresentaram um efeito anti-inflamatório mais potente do que o controle positivo de referência, nesse caso o Ibuprofeno. Cabe-se destacar ainda que o composto **76b** apresentou resultados mais satisfatórios quando comparados aos demais compostos testados, além de apresentar seletividade para inibição de Cox-2. Com relação ao potencial antinociceptivo, as quatro amostras testadas apresentaram resultados semelhantes ao controle positivo no teste de contorções abdominais.

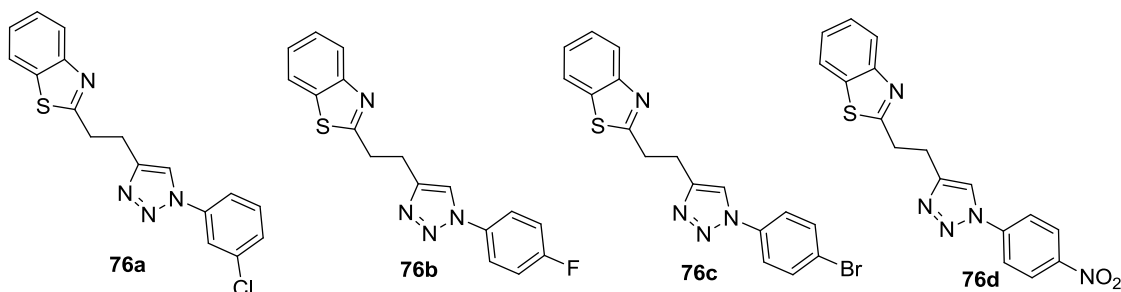


Figura 21. Estrutura química dos triazol-tiobenzo-tiazazóis.

⁷¹ Donato, F.; Gomes, M.G.; Goes, A.T.R.; Seus, N.; Jesse, C.R.; Savegnago, L. *Life Science* **2013**, 93, 393.

⁷² Shafi, A.; Alam, M.M.; Mulakayala, N.; Mulakayala, G.; Vanaja, C.; Kalle, A.M.; Pallu, R.; Alam, M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 49, 324.

Abdelazeen e colaboradores⁷³ avaliaram o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório de benzotiazolonas **77** (Figura 22). De acordo com os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* e *in vivo* para avaliar o potencial anti-inflamatório, atividade da enzima óxido nítrico sintase e indução de edema com carragenina, os autores puderam evidenciar resultados expressivos a partir da concentração de 1 mg/Kg para o composto **77c**, sendo estes superiores aos resultados encontrados para os compostos **77a** e **77b**, bem como para o controle positivo, Cetoloraco, nesse caso. Já quando considerado o potencial antinociceptivo, bons resultados foram obtidos para os compostos **77a** e **77c** (3 – 10 mg/Kg) quando comparados aos resultados obtidos para o composto **77b** e o controle positivo, Indometacina

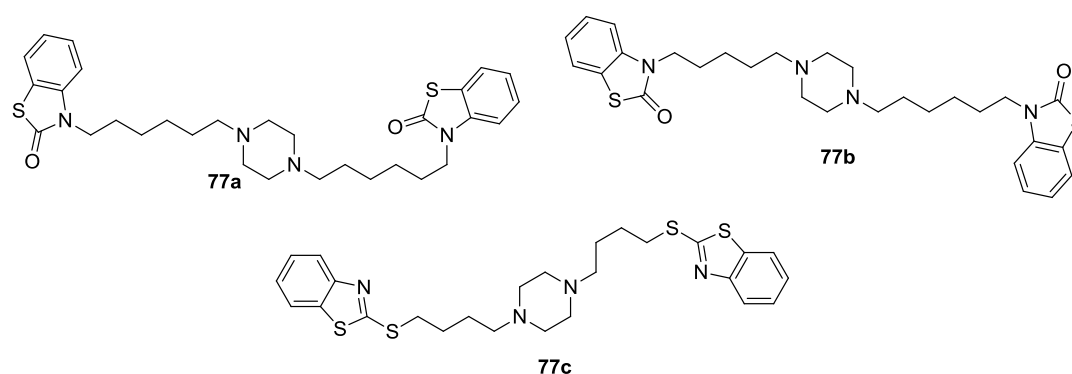


Figura 22. Estrutura química das benzotiazolonas **77a-c** testadas.

⁷³ Abdelazeem, A.H.; Khan, S.I.; White, S.W.; Sufka, K.J.; McCurdy, C.R. *Biochem. Med. Chem.* **2015**, *13*, 3248.

Capítulo 3
Apresentação e Discussão dos Resultados

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o estudo desenvolvido para sintetizar os 4-arilcalcogenil-1*H*-pirazóis funcionalizados com enxofre e selênio utilizando um sistema catalítico composto por sal de cobre-bipiridina e DMSO como solvente. Além disso, também serão apresentados nesta seção, os resultados referentes à avaliação do potencial antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório destas moléculas.

3.1. Síntese dos 4-arilcalcogenil-1*H*-pirazóis

3.1.1. Reações de otimização para a obtenção dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis.

As reações multicomponentes (RMC) são importantes metodologias sintéticas, pois permitem a construção de dois ou mais blocos, conduzindo a formação dos produtos esperados, em uma única etapa através da formação simultânea de duas ou mais ligações.⁷⁴ Aliado a isso, RMCs permitem ainda a construção de novas moléculas com elevado grau de complexidade e diversidade.⁷⁵

O uso de metais de transição como catalisadores em RMCs, tem facilitado a construção de novas ligações carbono-carbono e carbono-heteroátomo. Esta é uma importante ferramenta em síntese orgânica em função do aumento da reatividade dos materiais envolvidos, da seletividade e também da possibilidade de uso de condições reacionais mais brandas.⁷⁶

Nesse sentido, considerando os princípios das RMCs e o uso da catálise de metais de transição, inicialmente foram realizados alguns estudos para determinar a melhor condição reacional. Para isto, reagiu-se a fenilidrazina **1a** (0,5 mmol) com a 2,4-pentanodiona **2a** (0,5 mmol) e benzenotiol **4a** (0,5 mmol), utilizando DMSO como solvente e um sistema catalítico constituído por CuI (10 mol%) e bipiridina (10 mol%). A reação ocorreu a uma temperatura de 100 °C e sob atmosfera de nitrogênio, obtendo-se o respectivo produto **5a** após 24 h com rendimento de 58%

⁷⁴ Heravi, M.M.; Mousavizadeh, F.; Ghobadi, N.; Tajbakhsh, M. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 1226.

⁷⁵ Sing, K.N.; Kumari, K.; Raghuvanshi, D.S.; Jouikov, V. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 1130.

⁷⁶ D'Souza, D.M.; Muller, T.J. *J. Chem. Soc. Rev.* **2007**, 36, 1095.

(Tabela 1, linha 1).

Na sequência, foi verificada a influência da temperatura no sistema reacional (Tabela 1, linhas 2-3). Nesse caso, foi observado que a utilização de temperaturas mais elevadas favorecem a reação. Foram obtidos rendimentos de 57 e 64% nas reações realizadas a uma temperatura de 110 e 120 °C, respectivamente, conforme descrito na literatura em reações catalisadas por cobre.⁷⁷

Fixou-se a temperatura de 120 °C como mais adequada para o processo reacional. Posteriormente, foi avaliado o uso de um pequeno excesso do benzenotiol **4a** (0,6 mmol) no meio reacional (Tabela 1, linha 4) e após 48 h, observou-se o total consumo dos materiais de partida, obtendo-se o produto esperado com um rendimento de 82%.

Na etapa seguinte, após fixar a temperatura ideal e a quantidade necessária de benzenotiol **4a**, também foi avaliada a influência das proporções do sistema catalítico. Inicialmente foi estudado um sistema catalítico composto por CuI (5 mol%) e bipyridina (5 mol%) (Tabela 1, linha 5), onde foi observado um decréscimo no rendimento reacional. O respectivo produto foi obtido com rendimento de 66%. Uma concentração superior do sistema catalítico no meio reacional também foi estudada, CuI (15 mol%) e bipyridina (15 mol%). Entretanto, não foram observadas melhoras no rendimento (Tabela 1, linha 6), ocorrendo um decréscimo para 49%.

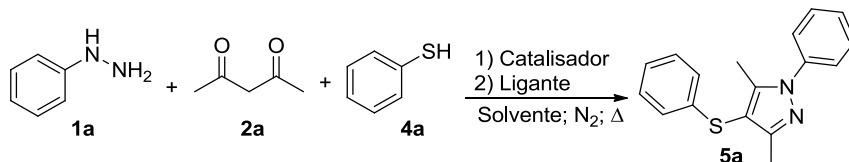
A reação também foi estudada com relação ao uso de uma maior quantidade de ligante quando comparado ao catalisador (Tabela 1, linha 7). No entanto, observamos que ocorre um decréscimo no rendimento para 51%. Nesse caso, acredita-se que uma maior quantidade do ligante possa estar complexando com o sal de cobre, deixando o sistema catalítico menos disponível para que ocorra a reação de adição do grupo organocalcogênio ao núcleo pirazolínico.

Outra hipótese avaliada, foi a possibilidade de se obter o produto esperado sem o uso de ligante no meio reacional (Tabela 1, linha 8). Nesse caso, foi observado que a formação do produto ocorre, entretanto o rendimento obtido foi menor quando comparado à reação com adição do

⁷⁷ (a) Klapars, A.; Antilla, J.C.; Huang, X.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7727. (b) Buchwald, S.L.; Antilla, J.C.; Baskin, J.M.; Barder, T.E. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5578.

ligante, 45% com tempo reacional de 48 h.

Tabela 1. Estudos de otimização do processo reacional para a síntese de 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis.



#	4a (mmol)	Catalisador (mol%)	Ligante (mol%)	Solvente/temp.	Tempo ^b (h)	Rend. ^c (%)
1	0,5	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/100°C	24	58
2	0,5	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/110°C	24	57
3	0,5	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	24	64
4	0,6	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	82
5	0,6	CuI (5)	Bipy (5)	DMSO/120°C	48	66
6	0,6	CuI (15)	Bipy (15)	DMSO/120°C	48	49
7	0,6	CuI (10)	Bipy (20)	DMSO/120°C	48	51
8	0,6	CuI (10)	-	DMSO/120°C	48	45
9	0,6	Cu(OAc) ₂ (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	-
10	0,6	CuCl (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	16
11	0,6	CuCl ₂ (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	7
12	0,6	CuBr (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	56
13	0,6	CuO _(nps) (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	9
14 ^d	0,6	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	24	89
15 ^d	0,6	CuI (10)	Fen (10)	DMSO/120°C	24	88
16 ^d	0,6	CuI (10)	TMEDA (10)	DMSO/120°C	48	43
17 ^d	0,6	CuI (10)	Bipy (10)	DMF/120°C	48	13
18 ^d	0,6	CuI (10)	Bipy (10)	Tolueno/Refluxo	48	6
19 ^d	0,6	CuI (10)	Bipy (10)	CH ₃ CN/Refluxo	48	-
20 ^e	-	CuI (10)	Bipy (10)	DMSO/120°C	48	79

^a Reações foram realizadas utilizando-se fenilidrazina **1a** (0,5 mmol), 2,4-pentanediona **2a** (0,5 mmol) e benzenotiol **4a** em 1 mL de solvente sob atmosfera de nitrogênio.

^b As reações foram acompanhadas por TLC até o total consumo dos materiais de partida.

^c Rendimento dos produtos isolados.

^d Inicialmente o intermediário **3a** (produto de condensação obtido entre **1a** e **2a**) foi sintetizado (30 min) e posterior adição do benzenotiol **4a**.

^e Reação utilizando 0,3 mmol de dissulfeto de difenila.

Após analisar os resultados obtidos até o presente momento, foi estabelecida a proporção de 10 mol% do sistema catalítico constituído por CuI e bipyridina, respectivamente.

Na sequência, foi avaliada a eficiência de outros sais de cobre no meio reacional, como acetato de cobre II, cloreto de cobre I, cloreto de cobre II, brometo de cobre e óxido de cobre nanoparticulado (Tabela 1, linhas 9-10).

A partir destes estudos realizados, observou-se que não houve a formação do produto esperado ou apenas a formação de traços do produto quando utilizadas espécies de cobre II como catalisador, ou seja, quando utilizado Cu(OAc)₂ e CuCl₂ (Tabela 1, linhas 9 e 11). Entretanto, resultados mais satisfatório também não foram evidenciados quando utilizadas outras espécies ativas de cobre I, tais como CuCl e CuO_(nps) (Tabela 1, linhas 10 e 13) obtendo-se rendimentos de 16 e 9%, respectivamente. Apenas quando utilizou-se CuBr (Tabela 1, linha 12) os resultados foram mais expressivos, obtendo-se o produto com 56% de rendimento. No entanto, como não foram obtidos resultados superiores aos evidenciados utilizando CuI, fixou-se o mesmo como espécie catalítica.

Posteriormente, a síntese do pirazol de interesse foi avaliada em um processo reacional *one pot*, em duas etapas. Para isto, reagiu-se inicialmente a fenilidrazina **1a** (0,5 mmol) com 2,4-pentanodiona **2a** (0,5 mmol) em 1 mL de DMSO como solvente. A seguir, após a formação do núcleo pirazolíico **3a** a partir de uma reação de ciclocondensação (30 min), adicionou-se ao meio reacional o CuI (10 mol%) e a bipyridina (10 mol%) formando o sistema catalítico, e a seguir adicionou-se o benzenotiol (0,6 mmol). Observou-se um decréscimo no tempo reacional e um significativo acréscimo no rendimento da reação, onde após 24 h o respectivo produto **5a** foi obtido com 89% de rendimento (Tabela 1, linha14).

Desta forma, procurou-se estudar esta metodologia onde primeiro ocorre a formação do núcleo pirazolíico **3a** e posteriormente, a etapa de adição do grupo organocalcogênio. Portanto, foi avaliada a utilização de outros ligantes nitrogenados bidentados no meio reacional, tais como a 1,10-fenantroline (Fen) e tetrametiletilenodiamina (TMEDA). Observou-se a partir destes ensaios, promissores resultados quando utilizada a 1,10-fenatrolina

(10 mol%), obtendo-se um rendimento de 88% (Tabela 1, linha 15). Em contrapartida, quando utilizou-se a tetrametiletilenodiamina (10 mol%) como ligante (Tabela 1, linha 16), observamos um decréscimo significativo no rendimento reacional para 43% e um aumento no tempo reacional para 48 h.

Considerando os rendimentos satisfatórios obtidos quando utilizados os ligantes bipyridina e 1,10-fenantrolina de 89 e 88%, respectivamente, concluiu-se que não há diferença significativa nos resultados obtidos, e portanto os sistemas catalíticos constituído por Cu-Bipy e Cu-Fen são em ambos os casos eficientes. No entanto, o sistema Cu-Bipy foi escolhido, em função de sua disponibilidade no laboratório, para dar continuidade ao presente estudo.

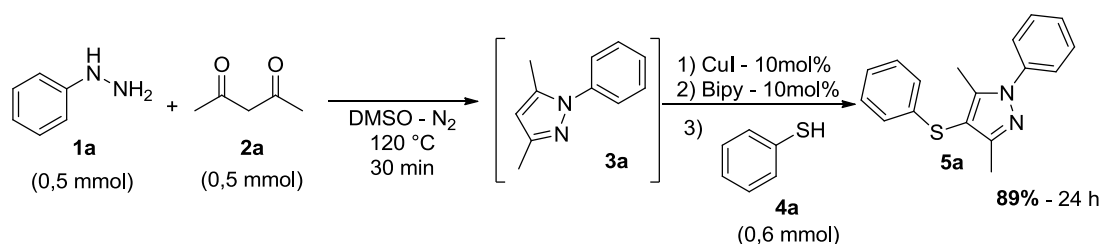
A influência do solvente no processo reacional também foi avaliada (Tabela 1, linhas 17 – 19). Assim, quando a dimetilformamida (DMF) foi utilizada, a uma temperatura de 120 °C, foi obtido apenas 13% do produto esperado após 48 h de reação (Tabela 1, linha 17). Nesse caso, observou-se grande quantidade do produto de condensação, o núcleo pirazolínico, entretanto a etapa posterior de adição do grupo organocalcogênio na foi obtida com sucesso.

Ao utilizar tolueno e acetonitrila como solvente e sob refluxo, (Tabela 1, linhas 18 e 19) não foi observada a formação de quantidades significativas do produto esperado, apenas traços do mesmo. Cabe-se ressaltar que quando utilizado tolueno como solvente, observou-se que além do núcleo pirazolínico, restava também no meio reacional os respectivos materiais de partida, fenilidrazina e 2,4-pentanodiona. Dessa forma, o DMSO foi considerado como o melhor solvente para esta reação.

O uso de dissulfeto de difenila como fonte de organocalcogênio também foi avaliada (Tabela 1, linha 20). Nesse caso, não observou-se diferença significativa no rendimento do produto, quando comparou-se a reação *one pot*, em duas etapas, e multicomponente. Sendo assim, foi observada a formação de 79% do produto de interesse após 48 h, o que mostra que dissulfetos de diarila também podem ser utilizados como fontes de enxofre para obter o produto esperado, observando-se apenas um aumento no tempo reacional.

Nesse sentido, em face do que foi exposto, a melhor condição

reacional encontrada é a que envolve a reação da fenilidrazina **1a** (0,5 mmol) com a 2,4-pentanodiona **2a** (0,5 mmol) em 1 mL de DMSO para a formação do núcleo pirazolínico **3a** a partir de uma reação de ciclocondensação, seguida da adição ao meio reacional do sistema catalítico constituído por CuI (10 mol%) e bipyridina (10 mol%) e do benzenotiol **4a**. A reação ocorre a uma temperatura de 120 °C sob atmosfera de nitrogênio Esquema 16.



Esquema 16

3.1.2. Estudo do escopo reacional para obtenção dos 4-(ariltio)-1H-pirazóis

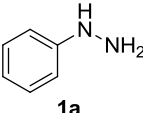
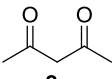
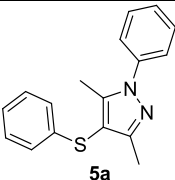
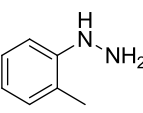
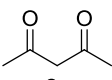
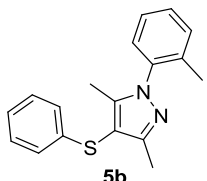
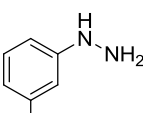
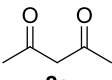
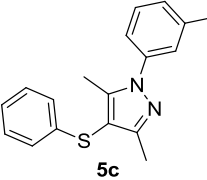
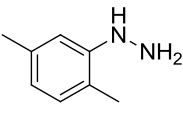
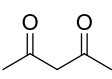
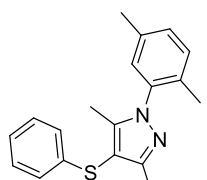
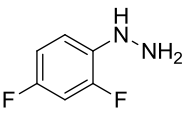
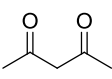
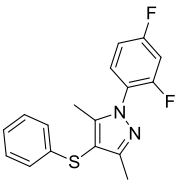
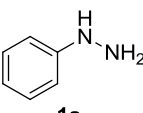
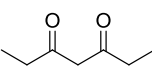
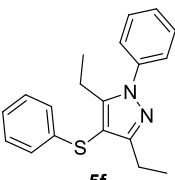
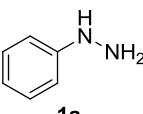
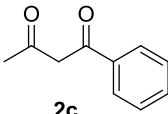
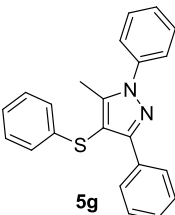
Após a determinação das melhores condições reacionais para síntese desta classe de moléculas contendo o núcleo pirazolínico acoplado a um grupo orgânico de enxofre, foi avaliado a abrangência desta nova metodologia desenvolvida, utilizando arilidrazinas substituídas **1a-e**, 1,3-dicetonas simétricas e assimétricas **2a-d**, bem como ariltióis substituídos **4a-g**. Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 2.

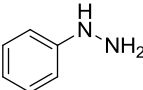
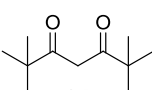
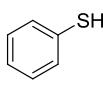
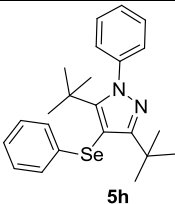
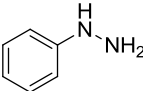
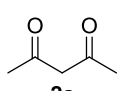
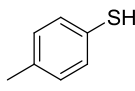
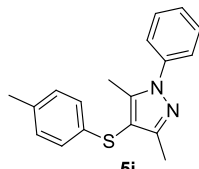
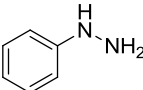
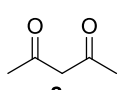
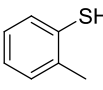
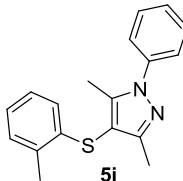
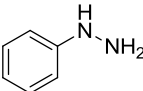
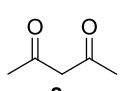
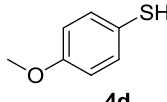
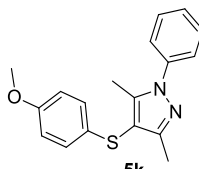
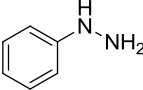
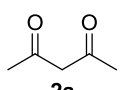
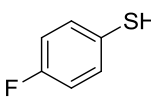
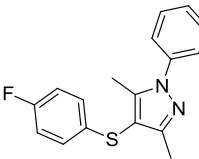
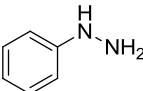
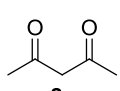
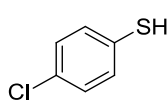
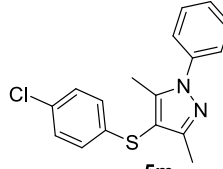
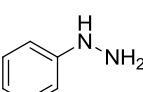
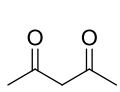
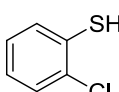
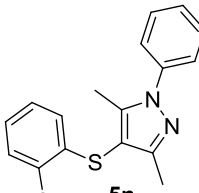
De acordo com os resultados obtidos, pode-se notar (Tabela 2, linhas 2 a 5) que quando foram utilizadas diferentes arilidrazinas substituídas **1b-e** com grupos doadores ou retiradores de elétrons, os tiopirazóis correspondentes **5b-e** foram obtidos com rendimentos satisfatórios sem sofrer influência significativa quanto ao grupo funcional ligado diretamente ao anel aromático da respectiva arilidrazina.

De maneira análoga, quando se reagiu a 3,5-heptanodiona **2b** com fenilidrazina **1a** e posteriormente com o benzenotiol **4a**, foi obtido o produto **5f** com um excelente rendimento de 85%, ocorrendo apenas um acréscimo no tempo reacional para 32 h de reação (Tabela 2, linha 6). Este fato pode ser

explicado em função do impedimento estérico ocasionado pelo grupo etila (-CH₂CH₃) ao redor do anel pirazolínico, dificultando a aproximação do grupo orgânico de enxofre na etapa posterior.

Tabela 2. Variação dos substratos: arilidrazinas, 1,3-dicetonas e ariltióis.^a

#	Arilidrazina	1,3-dicetona	Ariltiól	Tempo (h)	Produto	Rend ^b (%)
1	 1a	 2a	 4a	24	 5a	89
2	 1b	 2a	 4a	24	 5b	78
3	 1c	 2a	 4a	22	 5c	84
4	 1d	 2a	 4a	26	 5d	77
5	 1e	 2a	 4a	24	 5e	75
6	 1a	 2b	 4a	32	 5f	85
7	 1a	 2c	 4a	48	 5g	68

8				48		-
9				26		76
10				26		35
11				32		72
12				43		56
13				26		64
14				43		traços

^a Condições reacionais: arilidrazina **1a-e** (0,5mmol), 1,3-dicetona **2a-d** (0,5mmol), ariltiol **4a-g** (0,6mmol), CuI (10mol%), Bipy (10mol%) em DMSO (1 mL) a uma temperatura de 120 °C sob atmosfera de nitrogênio.

^b Rendimento dos produtos isolados.

A fim de avaliar a reatividade de compostos 1,3-dicarbonílicos não simétricos, utilizamos a 1-fenil-1,3-butanodiona **2c** como substrato (Tabela 2, linha 7). Nesse caso, observamos um decréscimo significativo no rendimento reacional para 68% e um acréscimo no tempo reacional para 48 h, que pode

também ser explicado em função do impedimento estérico. Cabe ressaltar que neste caso, de acordo com os dados espectrais obtidos, não foi observada a formação de mistura dos possíveis regioisômeros do produto **5g**, o que comprova que a metodologia é seletiva.

A fim de avaliar a reatividade de compostos 1,3-dicarbonílicos impedidos, reagiu-se a 2,2,6,6-tetrametil-3,5-heptanodiona **2d** como material de partida para a síntese do respectivo tiopirazol (Tabela 2, linha 8). Pode-se observar neste experimento, que não houve a formação do produto de interesse, **5h**. Ocorreu apenas a formação do produto de ciclocondensação do composto 1,3-dicarbonílico com a fenilidrazina, resultando na formação do núcleo pirazolínico, 3,5-di-*terc*-butil-1-fenil-1*H*-pirazol (**3b**), sem a adição do organocalcogênio com um rendimento de 80% após 48 h.

Com a finalidade de aumentar ainda mais o escopo reacional, foi analisada a reatividade de diversos ariltióis substituídos **4b-g** com grupos doadores e retiradores de elétrons em posições *orto* e *para* do anel aromático (Tabela 2, linhas 9-14).

Nesse contexto, quando foram utilizados o *p*-metilbenzenotiol e o *p*-metóxi-benzenotil como substrato, observou-se a formação dos respectivos produtos **5i** e **5k** com rendimentos satisfatórios de 76 e 72%, respectivamente (Tabela 2, linhas 9 e 11). Em contrapartida, quando foram utilizados grupos retiradores de elétrons ligados ao anel aromático do organotiol, *p*-fluorobenzenotiol e *p*-clorobenzenotiol, evidenciou-se um decréscimo significativo no rendimento para 56 e 64%, respectivamente (Tabela 2, linhas 12 e 13). Isto pode ser explicado em função da diminuição da densidade eletrônica no átomo de calcogênio, o que possivelmente diminui a interação da ligação Cu–S, formada a partir do intermediário ativo no ciclo catalítico.

Quando avaliado o efeito do substituinte na posição *orto* em relação ao anel aromático do organotiol, foi observado um decréscimo ainda mais significativo. Nesse caso, quando foi utilizado o *o*-metilbenzenotiol como material de partida (Tabela 2, linha 10) o produto correspondente foi obtido com rendimento de 35%, enquanto que com o *o*-clorobenzenotiol (Tabela 2, linha 14) obteve-se apenas traços do produto **5n**.

Após serem isolados, os tiopirazóis **5a-n** obtidos foram identificados por espectrometria de massas, análise de ressonância magnética nuclear de

hidrogênio e carbono, comprovando as estruturas propostas. A título de exemplo discutir-se-á a atribuição dos sinais nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C para o composto **5a**.

No espectro de RMN ^1H do composto **5a** (Figura 23), pode-se observar na região de 2,29 e 2,34 ppm, dois singletos referentes aos hidrogênios das metilas ligadas diretamente ao núcleo pirazolínico, os quais apresentam valores relativos às integrais somadas de 6H. Na região compreendida de 7,08 – 7,04 ppm, observa-se um multipeto referente aos hidrogênios aromáticos ligados diretamente ao anel vizinho ao átomo de enxofre. Já na região compreendida entre 7,26 – 7,19 ppm, é possível observar-se um multipeto referente aos dois hidrogênios mais próximos ao átomo de enxofre. E por fim, em uma região mais desblindada, pode-se observar um multipeto na região compreendida de 7,49 – 7,37 ppm, referente aos 5 H aromáticos derivados da fenilidrazina.

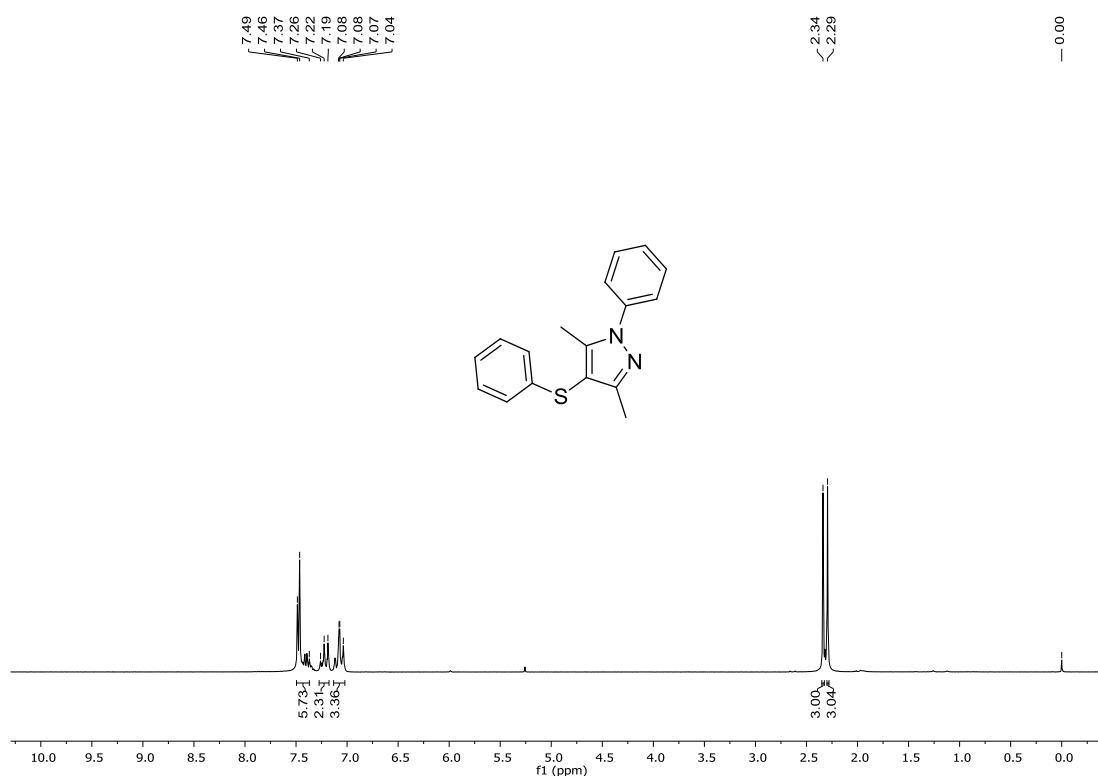


Figura 23. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1H-pirazol **5a**.

No espectro de RMN ^{13}C do composto **5a** (Figura 24), por sua vez, observam-se os sinais referentes aos carbonos da molécula, totalizando 13 sinais, conforme o esperado. Em um deslocamento químico de 153,10 ppm encontra-se o sinal referente ao carbono imínico do núcleo pirazolínico. No deslocamento químico de 144,01 ppm encontra-se o sinal referente ao carbono de posição cinco no anel pirazolínico, o qual está ligado por uma ligação simples a um átomo de nitrogênio. Já em um deslocamento químico de 139,80 e 138,27 ppm, encontram-se os carbonos relativos aos carbonos do anel aromático ligados diretamente aos átomos de nitrogênio e enxofre, respectivamente. Nos deslocamentos de 129,07; 128,82; 127,71; 125,46; 124,87 e 124,65 ppm podem-se observar os sinais referentes aos carbonos presentes nos anéis aromáticos da molécula. O carbono de posição quatro no núcleo pirazolínico, o qual está ligado diretamente ao átomo de enxofre, encontra-se no deslocamento químico de 106,18 ppm. Já em uma frequência mais baixa, em 11,98 e 11,47 ppm, encontram-se os sinais relativos aos dois carbonos das metilas.

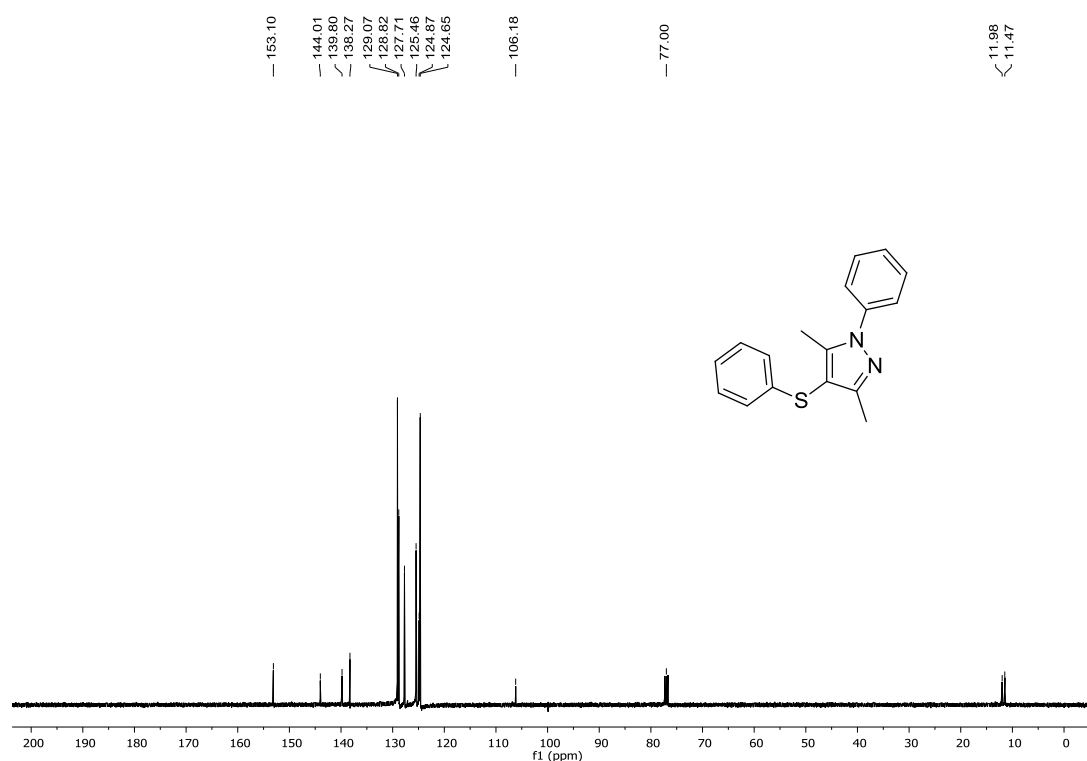
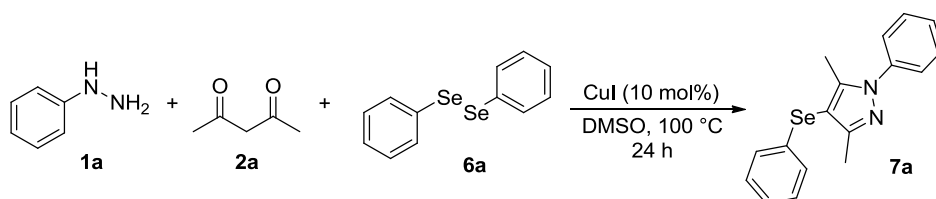


Figura 24. RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1H-pirazol **5a**.

3.1.3. Reações de otimização para a obtenção dos 4-(arilselenil)-1*H*-pirazóis.

Após a obtenção dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis, a metodologia foi estendida a outros substratos para a obtenção dos 4-(arilselenil)-1*H*-pirazóis. Nesse contexto, com o objetivo de se estabelecer a melhor condição reacional, uma série de estudos foram realizados. Para isto, foi eleito como substrato reacional a fenilidrazina **1a**, a 2,4-pentanodiona **2a** e o disseleneto de difenila **6a**.

Considerando o trabalho descrito por Alves e colaboradores⁷⁸, reagiu-se a fenilidrazina **1a** (0,5 mmol) com a 2,4-pentanodiona **2a** (0,5 mol) e o disseleneto de difenila **6a** (0,25 mmol) em 1 mL de DMSO usando o iodeto de cobre (10 mol%) como catalisador, Esquema 17. A mistura reacional permaneceu sob agitação constante a uma temperatura de 100 °C, e após 24 h foi obtido o respectivo produto **7a** com 72% de rendimento.



Esquema 17

Posteriormente, novos estudos foram desenvolvidos com a intenção de se obter melhores resultados para a obtenção dos 4-(arilselenil)-1*H*-pirazóis, e neste caso, foram avaliadas a influência do uso de ligantes no meio reacional, de outros solventes e de diferentes sais de cobre nos estados de oxidação I e II, conforme resultados expressos na Tabela 3.

Bons resultados foram observados quando se utilizou a bipyridina como ligante nitrogenado no meio reacional, elevando-se o rendimento do produto **7a** para 90% (Tabela 3, linha 2). Na sequência, foi avaliada a influência da temperatura no meio reacional (Tabela 3, linhas 3-4). Entretanto, conforme o esperado, com a redução da temperatura, houve um decréscimo no rendimento

⁷⁸ Alves, D.; Lara, R.G.; Contreira, M.E.; Radatz, C.S.; Duarte, L.F.; Perin, G. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 3364.

do respectivo produto **7a**, uma vez que reações multicomponentes são facilitadas pelo uso de temperaturas elevadas.

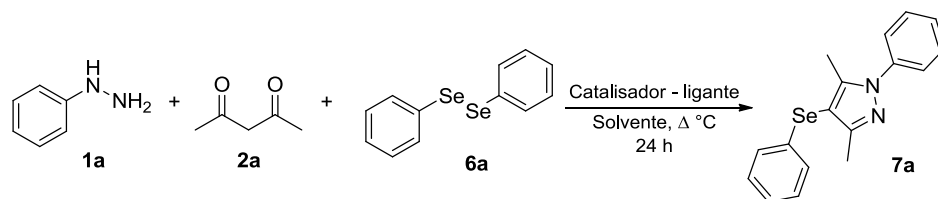
Considerando as reações para a obtenção dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis, a qual é favorecida quando realizada em duas etapas, realizou-se um teste onde inicialmente ocorre a formação do núcleo pirazolínico a partir da reação entre a fenilidrazina **1a** e a 2,4-pentanodiona **2a**. Posteriormente é adicionado ao meio reacional o sistema catalítico, constituído por iodeto de cobre e bipyridina (10 mol%), e o disseleneto de difenila **6a** (Tabela 3, linha 5). Entretanto, resultados mais significativos não foram observados, obtendo-se o respectivo produto **7a** com 87 % de rendimento. Dessa forma, fixou-se a reação em uma só etapa como condição ideal.

O uso de diferentes proporções do sistema catalítico no meio reacional também foi avaliado (Tabela 3, linhas 6-8). A redução da quantidade do sistema catalítico para 5 mol% e o uso de um sistema constituído por 5 mol% de CuI e 10 mol% de bipyridina não favoreceram a formação do produto **7a**, obtendo-se os rendimentos de 20 e 76 %, respectivamente. No entanto, quando utilizado um sistema catalítico composto por 10 mol% de CuI e 20 mol% de bipyridina, o respectivo produto foi formado com 93 % de rendimento. Como o rendimento obtido não difere significativamente ao obtido na linha 2 da Tabela 3, fixou-se como quantidade ideal uma proporção de 10 mol% do sistema catalítico, sal de cobre e ligante nitrogenado.

Na sequência foi avaliado o uso de outros solventes no meio reacional (Tabela 3, linhas 9-11). No entanto, observou-se que a natureza do solvente afeta diretamente a formação do produto de interesse, e que melhores resultados não foram evidenciados quando usado glicerol, DMF ou tolueno como solvente.

O uso de outros ligantes nitrogenados bidentados também foi estudado (Tabela 3, 12-13), porém rendimentos menos satisfatórios foram obtidos quando comparados ao uso da bipyridina como ligante.

Tabela 3. Otimização das condições reacionais para a obtenção dos 4-arilseleno-1*H*-pirazóis.^a



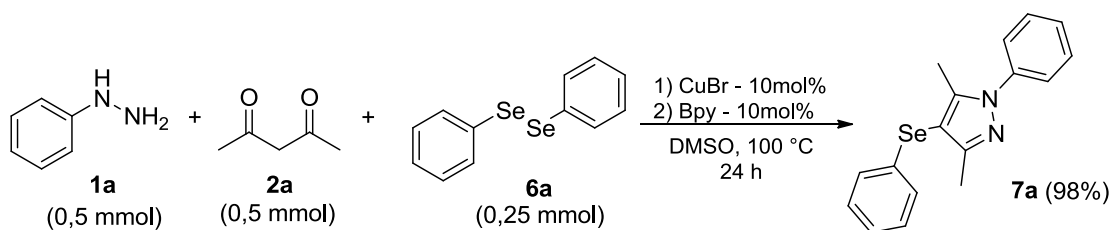
#	Catalisador (mol%)	Ligante (mol%)	Temperatura (°C)	Solvente	Rendimento (%) ^b
1	CuI (10)	-	100	DMSO	72
2	CuI (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	90
3	CuI (10)	Bipiridina (10)	25	DMSO	-
4	CuI (10)	Bipiridina (10)	60	DMSO	60
5 ^c	CuI (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	87
6	CuI (5)	Bipiridina (5)	100	DMSO	20
7	CuI (5)	Bipiridina (10)	100	DMSO	76
8	CuI (10)	Bipiridina (20)	100	DMSO	93
9	CuI (10)	Bipiridina (10)	100	DMF	50
10	CuI (10)	Bipiridina (10)	100	Tolueno	-
11	CuI (10)	Bipiridina (10)	100	Glicerol	52
12	CuI (10)	TMEDA (10)	100	DMSO	66
13	CuI (10)	1,10-fenantrolina (10)	100	DMSO	77
14	CuCl (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	86
15	CuBr (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	98
16	CuO NPs (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	69
17	Cu(OAc) ₂ (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	55
18 ^d	CuBr (10)	-	100	DMSO	43
19	CuBr (5)	Bipiridina (10)	100	DMSO	75
20 ^e	CuBr (10)	Bipiridina (10)	100	DMSO	75

^{a)} As reações foram realizadas usando como substratos a fenilidrazina **1a** (0,5 mmol), a 2,4-pentanediona **2a** (0,5 mmol) e o disseleneto de difenila **6a** (0,25 mmol) em 1 mL de solvente sob atmosfera aberta, por no máximo 24 h. ^{b)} Rendimento dos produtos isolados. ^{c)} Reação em duas etapas. ^{d)} A reação foi acompanhada por 48 h. ^{e)} A reação foi realizada sob atmosfera de nitrogênio.

O sistema reacional foi avaliado a partir do uso de diversos sais de cobre, sendo estes CuCl, CuBr, CuO_{NPS} e Cu(OAc)₂ (Tabela 3, linhas 14-17). A partir dos resultados obtidos com o uso de espécies de cobre I e II, pode-se perceber que houve um acréscimo significativo no rendimento para 98 % quando usado brometo de cobre (10 mol%) e bipyridina (10 mol%) (Tabela 3, linha 15) como sistema catalítico. Isso pode ser explicado, possivelmente, em função da maior estabilidade do contraíon do átomo de cobre, presente em solução. Entretanto, quando a reação foi realizada somente com CuBr (10 mol%), sem a adição de ligante, o rendimento apresentou um decréscimo significativo para apenas 43% (Tabela 3, linha 18) após por 48 h de reação, uma vez que não houve a formação do complexo catalítico ativo.

O uso de um sistema catalítico constituído por 5 mol% de CuBr e 10 mol% de bipyridina também foi avaliado, entretanto um decréscimo no rendimento foi evidenciado (Tabela 3, linha 19), onde acredita-se que o excesso de ligante comprometa a disponibilidade da formação da interação cobre - calcogênio. Por fim, avaliou-se a reatividade do meio reacional em um sistema fechado, sob atmosfera de nitrogênio (Tabela 3, linha 20). A partir deste experimento, pode-se observar que há um decréscimo significativo no rendimento do produto **7a** para 75 %, indicando que o oxigênio presente no ar possa estar atuando no mecanismo de formação do respectivo produto, favorecendo a oxidação do intermediário benzenosselenol, formado durante o progresso da reação, a disseleneto de difenila.

Após a realização dos experimentos de otimização, fixou-se como melhor condição reacional a descrita na linha 15 da Tabela 3, onde ocorre a reação entre a fenilidrazina **1a** (0,5 mmol), a 2,4-pentanodiona **2a** (0,5 mmol) e o disseleneto de difenila **6a** (0,25 mmol) em 1 mL de DMSO como solvente, usando um sistema catalítico constituído por CuBr (10mol%) e bipyridina (10 mol%), Esquema 18.



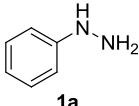
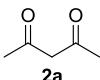
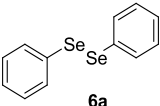
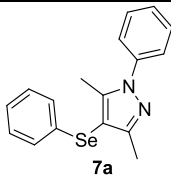
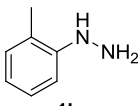
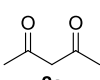
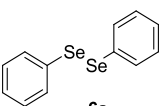
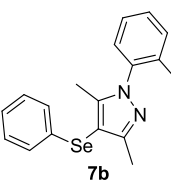
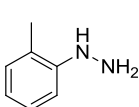
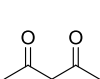
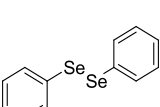
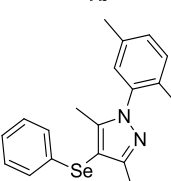
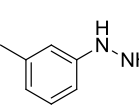
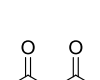
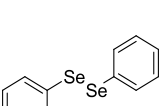
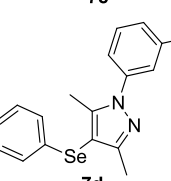
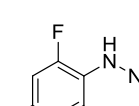
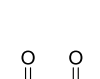
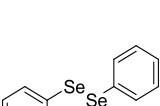
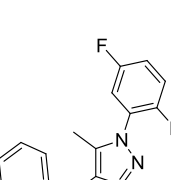
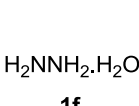
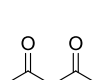
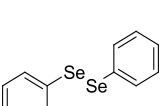
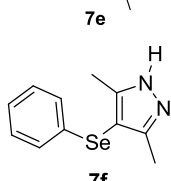
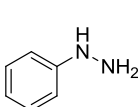
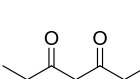
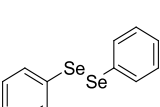
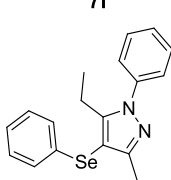
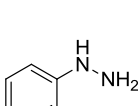
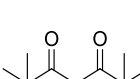
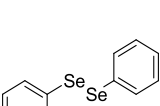
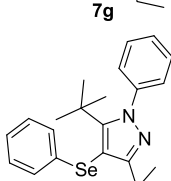
Esquema 18

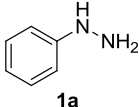
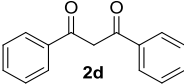
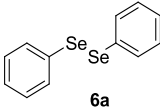
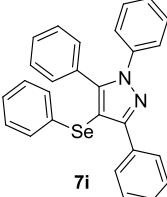
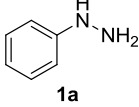
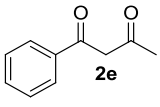
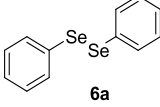
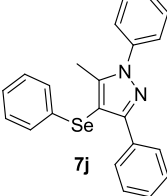
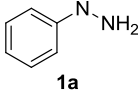
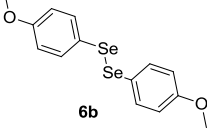
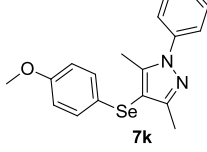
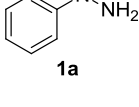
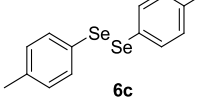
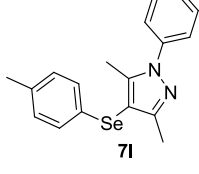
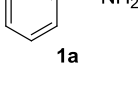
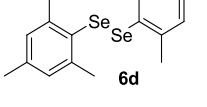
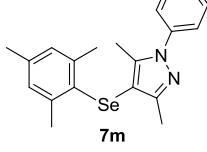
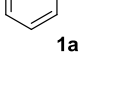
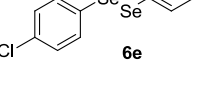
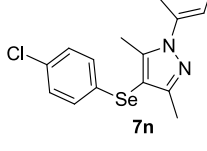
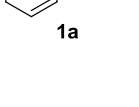
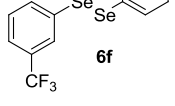
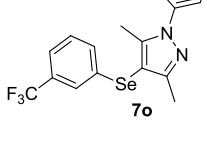
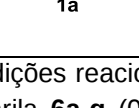
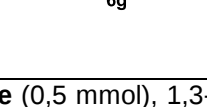
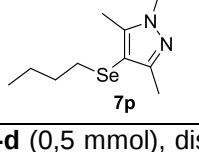
3.1.4. Estudo do escopo reacional para obtenção dos 4-(arilselanil)-1H-pirazóis

Após a determinação da melhor condição reacional para a síntese dos pirazóis funcionalizados com um grupo orgânico de selênio, foi avaliada a abrangência da metodologia utilizando-se de arilidrazinas substituídas **1a-f**, compostos 1,3-dicarbonílicos **2a-e**, bem como disselenetos de diorganoíla substituídos **6a-g**. Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 4.

Inicialmente, foi avaliada a reatividade de arilidrazinas substituídas **1a-f**, onde foi verificado que a reação se mostrou sensível aos efeitos eletrônicos dos substituintes ligados diretamente ao anel aromático da hidrazina (Tabela 4, linhas 1-5). Pode-se citar como exemplo, o resultado obtido quando foi utilizada a 2,4-difluorofenilidrazina **1e**, contendo um grupo retirador de elétron ligado ao anel aromático. O respectivo produto, 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7e**, foi obtido em rendimentos inferiores aos resultados obtidos quando foram utilizadas arilidrazinas contendo grupos doadores de elétrons ligados diretamente ao anel aromático **1b-d** (Tabela 4, linha 5 vs linhas 2-4). Resultados significativos também foram obtidos quando foi usada a hidrazina mono-hidratada **1f** como substrato para a obtenção do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7f**, obtendo-se o respectivo produto com um rendimento de 85% (Tabela 4, Linha 6). A presença de grupos retiradores de elétrons no anel aromático da arilidrazina possibilita a diminuição da densidade eletrônica nos átomos de nitrogênio, o que dificulta o ataque aos compostos 1,3-dicarbonílicos, dificultando a formação dos produtos de ciclocondensação. Entretanto, há presença de grupos doadores de elétrons na arilidrazina, favorecem o ataque aos compostos 1,3-dicarbonílicos, favorecendo a formação do produto de ciclocondensação.

Tabela 4. Variação dos substratos: arilidrazinas, 1,3-dicetonas e disselenetos de diarila.^a

#	Arilidrazina	1,3-dicetona	Disseleneto de diorganoila	Tempo (h)	Produto	Rend ^b (%)
1	 1a	 2a	 6a	20	 7a	98
2	 1b	 2a	 6a	24	 7b	70
3	 1c	 2a	 6a	24	 7c	68
4	 1d	 2a	 6a	24	 7d	70
5	 1e	 2a	 6a	48	 7e	42
6	 1f	 2a	 6a	22	 7f	85
7	 1a	 2b	 6a	42	 7g	78
8	 1a	 2c	 6a	48	 7h	-

9				48		-
10				48		75
11				48		71
12				24		80
13				24		72
14				20		84
15				48		65
16				24		70

^a Condições reacionais: arilidrazina **1a-e** (0,5 mmol), 1,3-dicetona **2a-d** (0,5 mmol), disseleneto de diarila **6a-g** (0,25 mmol), CuBr (10mol%), Bipiridina (10mol%) em DMSO (1 mL) a uma temperatura de 100 °C.

^b Rendimento dos produtos isolados.

O uso de 1,3-dicetonas substituídas também foi avaliado (Tabela 4, linhas 7 – 10). De acordo com os resultados obtidos, pode-se evidenciar que quando se utilizou a 3,5-heptanodiona **2b** e a 1-fenil-1,3-butanodiona **2e** como substrato, foi possível obter os respectivos 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis **7g** e **7j** com 78% e 75% de rendimento, respectivamente (Tabela 4, linhas 7 e 10).

O produto **7j** obtido a partir do uso da 1-fenil-1,3-butanodiona como substrato, ocorreu de maneira seletiva. Dessa forma, acredita-se que nesse caso possa haver, no substrato **2e**, um efeito de conjugação do anel aromático que auxilie na estabilidade do tautômero enólico, contribuindo para o favorecimento de uma ciclização regioseletiva.

Compostos 1,3-dicarbonílicos estericamente impedidos também foram avaliados como substrato para a obtenção dos 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis. Entretanto, quando utilizado a 2,2,6,6-tetrametil-3,5-heptanodiona **2c** como material de partida, pode-se evidenciar apenas a formação do núcleo pirazolínico como produto, o 3,5-di-*tert*-butil-1-fenil-1*H*-pirazol (**3b**), com 81% de rendimento. Nesse sentido, é importante destacar que o produto de adição **7h**, contendo um grupo orgânico de selênio, não foi obtido (Tabela 4, linha 8). Em contrapartida, quando utilizada a β -dicetona **2d** como substrato reacional, pode-se observar a formação de apenas traços do respectivo produto **7i** e um baixo consumo dos materiais de partida **1a** e **2d**, mesmo após 48 h reacionais (Tabela 4, linha 9).

Na sequência, foi estudado o uso de disselenetos de diarila substituídos **6b-f** com grupos doadores e retiradores de elétrons como substrato para a obtenção dos 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis (Tabela 4, linhas 11-15). De acordo com os resultados obtidos experimentalmente, pode-se concluir que os rendimentos dos respectivos produtos (**7k-o**) não foram afetados significativamente em função do efeito eletrônico causado pela presença de grupos doadores de elétrons **6b-d** ou retiradores de elétrons **6e-f** no anel aromático dos disselenetos de diarila estudados. No entanto, é válido ressaltar que maiores tempos reacionais foram necessários quando utilizados os substratos **6b** e **6f**, elevando o tempo reacional para 48 h.

O uso do disseleneto de dimesitila **6d** como substrato, ocasionou um leve decréscimo no rendimento do produto **7m** quando comparado ao uso dos demais disselenetos de diarila substituídos **6b-f**, indicando que a metodologia

usada apresenta uma pequena sensibilidade ao uso de disselenetos de diarila estericamente impedidos (Tabela 4, linha 13).

Finalmente, a metodologia foi estendida para o uso do disseleneto de dibutila **6g** como substrato alquílico. Pode-se observar de acordo com os resultados obtidos, que foi possível a obtenção do respectivo pirazol **7p** com rendimento de 70% (Tabela 4, linha 16).

Após a obtenção dos respectivos selenopirazóis **7a-p**, os mesmos foram identificados e caracterizados por espectroscopia de massas e análise de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono. A título de exemplo discutir-se-á a atribuição dos sinais nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C para o composto **7a**.

No espectro de RMN ^1H do composto **7a** (Figura 25), observam-se na região de 2,33 e 2,36 ppm, dois singletos referentes aos hidrogênios das metilas ligadas diretamente ao núcleo pirazolínico, os quais apresentam valores relativos às integrais de 3H cada. Na região compreendida de 7,46 – 7,44 ppm e 7,39 – 7,32 ppm encontram-se dois multipletos referentes aos hidrogênios do anel aromático da arilidrazina, enquanto que na região de 7,18 ppm tem-se um duplete e na região de 7,14 – 7,10 ppm tem-se um multiplete referente aos hidrogênios aromáticos ligados diretamente ao anel vizinho ao átomo de selênio.

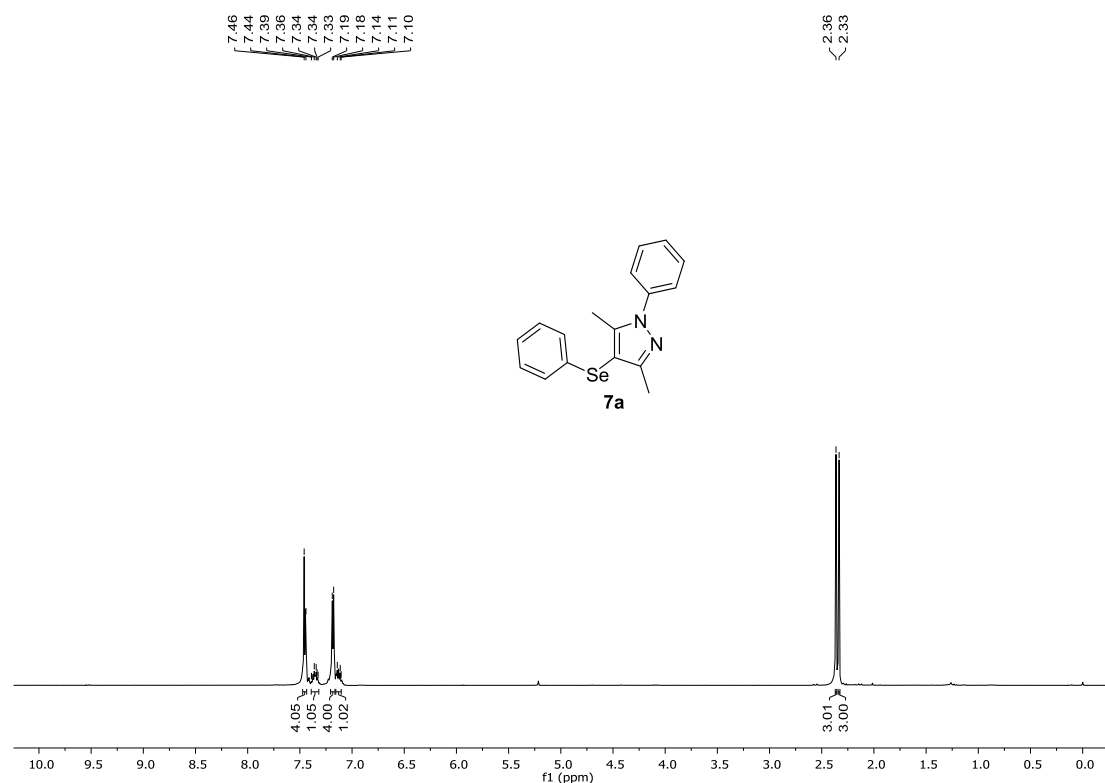


Figura 25. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselanil)-1H-pirazol **7a**.

No espectro de RMN ^{13}C do composto **7a** (Figura 26), observam-se os sinais referentes aos carbonos da molécula, totalizando 13 sinais, conforme o esperado. Dessa forma, em um deslocamento químico de 153,06 ppm encontra-se o sinal referente ao carbono imínico presente no núcleo pirazolínico. No deslocamento químico de 143,86 ppm encontra-se o sinal do carbono de posição cinco no núcleo pirazolínico. Já em um deslocamento químico de 139,66 e 132,79 ppm encontram-se os sinais dos carbonos do anel aromático ligados diretamente aos átomos de nitrogênio e selênio, respectivamente. Nos deslocamentos de 128,98; 128,95; 128,12; 127,56; 125,58 e 124,53 ppm podem-se observar os sinais referentes aos carbonos presentes nos anéis aromáticos da molécula. O sinal do carbono de posição quatro do núcleo pirazolínico, ligado diretamente ao átomo de selênio, encontra-se no deslocamento químico de 102,42 ppm. Por fim, em uma frequência mais baixa, em 12,82 e 12,32 ppm, encontram-se os sinais relativos aos dois carbonos metilênicos.

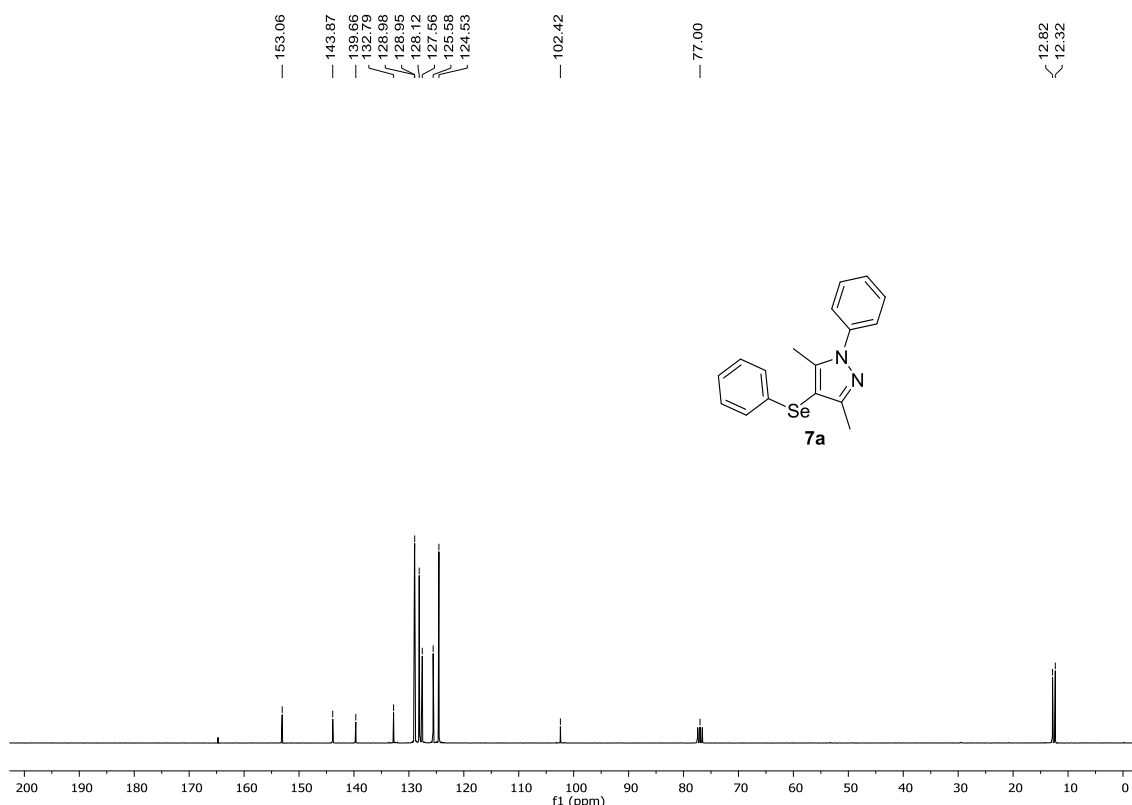


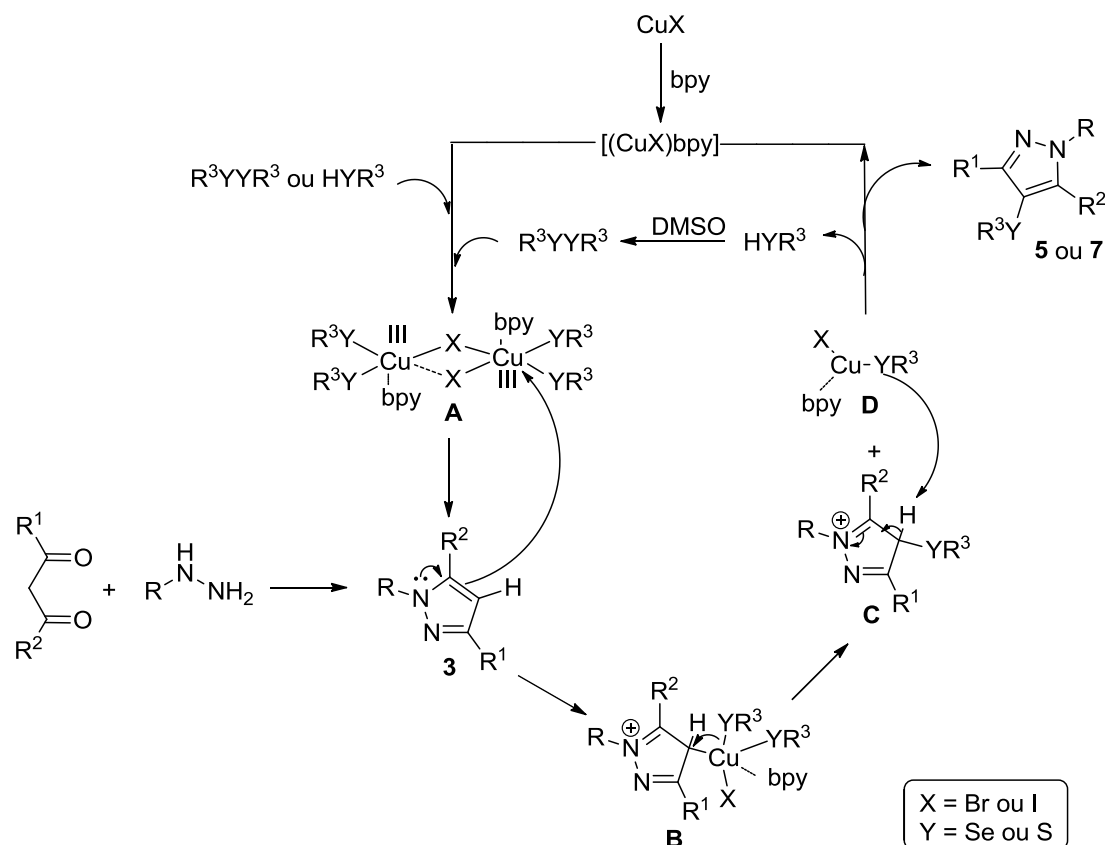
Figura 26. RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselanil)-1H-pirazol **7a**.

3.1.5. Mecanismo proposto para Síntese dos 4-arilcalcogeno-1H-pirazóis

Considerando os resultados obtidos, e baseado em relatos recentes descritos na literatura referente a formação de novas ligações carbono-calcogênio catalisadas por cobre⁷⁹ e na clivagem de ligação C–H⁸⁰, um mecanismo plausível para a formação dos 4-arilcalcogeno-1H-pirazóis **5a-m** e **7a-p** é proposto no Esquema 19.

⁷⁹ (a) Beletskaya, I.P.; Ananikov, V.P. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1596. (b) Ananikov, V.P.; Zaleskiy, S.S.; Beletskaya, I.P. *Curr. Org. Synth.* **2011**, *8*, 2.

⁸⁰ (a) Ricordi, V.G.; Thurow, S.; Penteadó, F.; Schumacher, R.F.; Perin, G.; Lenardão, E.J.; Alves, D. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 933. (b) Iwasaki, M.; Kaneshika, W.; Tsuchiya, Y.; Nakajima, K.; Nishihara, Y. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 11330. (c) Thurow, S.; Penteadó, F.; Perin, G.; Jacob, R.G.; Alves, D. Lenardão, E. J.; *Green Chem.* **2014**, *16*, 3854.



Esquema 19

Inicialmente, conforme descrito na literatura, ocorre a formação do núcleo pirazolínico⁸¹ a partir do ataque dos pares de elétrons do nitrogênio aos carbonos da carbonila do composto 1,3-dicarbonílico, gerando um intermediário, a 3,5-dihidróxipirazolidina. Na sequência, ocorre uma dupla desidratação seguida de uma deslocalização de elétrons formando o produto final da ciclocondensação, o 1*H*-pirazol **3**.

Uma segunda etapa do processo reacional se dá a partir da interação entre o sal de cobre e a bipyridina, formando o sistema catalítico CuX-bpy. Posteriormente, ocorre a formação do intermediário tetracoordenado **A**, uma espécie de Cu(III), obtida da interação entre o sistema catalítico e a espécie orgânica de calcogênio. Na sequência, o núcleo pirazolínico **3**, previamente formado a partir da ciclocondensação entre a fenilidrazina e a 1,3-dicetona, ataca o intermediário **A** dando origem ao intermediário **B**. Posteriormente,

⁸¹ (a) Singh, S.P.; Kumar, D.; Batra, H.; Naithani, R.; Rozas, I.; Elguero, J. *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 1109. (b) Fustero, S.; Sánchez-Rosello, M.; Barrio, P.; Simós-Fuentes, A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6984.

ocorre uma etapa de eliminação redutiva, promovendo a construção de uma nova ligação C – Y, gerando o intermediário pirazolínico **C**, e a formação de um complexo aniônico **D**.

O complexo aniônico **D** abstrai um próton do intermediário **C**, liberando o respectivo produto **5** ou **7** e a espécie reduzida de organocalcogênio, benzenosselenol ou benzenotiol, respectivamente. O sistema catalítico CuX-bpy é regenerado, retornando ao início do ciclo reacional. É válido ressaltar ainda que, quando se utiliza uma espécie oxidada de calcogênio no meio reacional, tal como disseleneto de difenila ou dissulfeto de difenila, pode ocorrer uma etapa de oxidação das espécies reduzidas de benzenosselenol e/ou benzenotiol, formadas no meio reacional, a partir da ação do ar atmosférico e do DMSO usado como solvente, formando as espécies de dicalcogeneto de diorganoíla.

3.2. Avaliação do potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis

De acordo com dados presentes na literatura, são atribuídos aos compostos orgânicos de selênio e de enxofre, bem como aos pirazóis, diversas propriedades biológicas, dentre as quais se destacam a atividade antinociceptiva, antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anti-depressiva. Sendo assim, após a obtenção dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis, o objetivo foi avaliar o potencial farmacológico destes compostos e verificar se a união destas classes de compostos, os organocalcogênios e os pirazóis, altera estas propriedades farmacológicas.

Nesse contexto, os compostos **5a**, **5k**, **5m**, **5o**, **7a**, **7f**, **7k** e **7n** foram selecionados para avaliar seu possível potencial antioxidante, os quais apresentam átomos de selênio ou enxofre em sua estrutura. Para avaliar a contribuição do grupo organocalcogênio presente no núcleo pirazolínico, foi avaliada também o potencial farmacológico do pirazol **3a**, o qual difere dos demais compostos estudados apenas pela adição do grupo organocalcogênio (Figura 27).

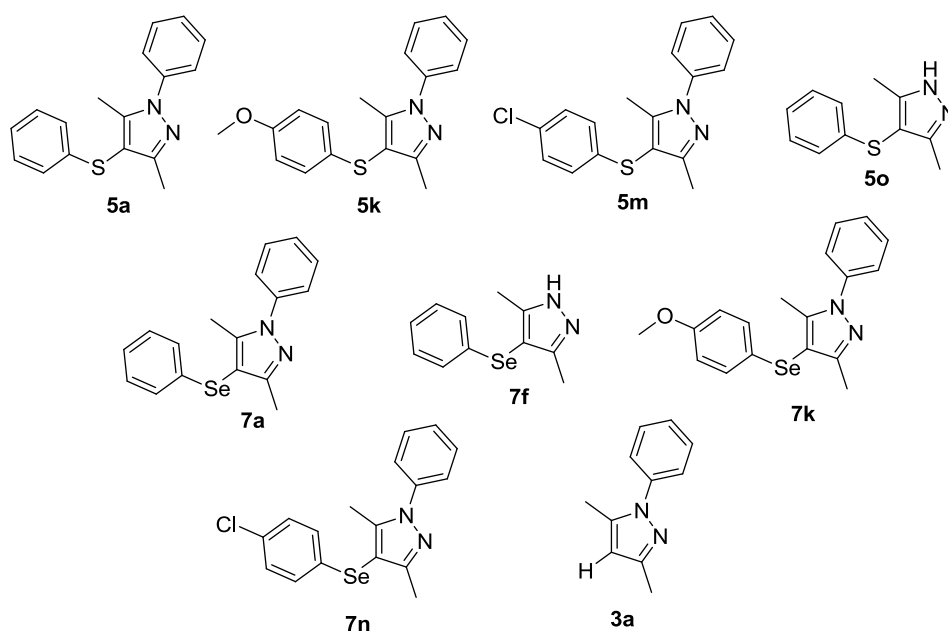


Figura 27. Compostos pertencentes a classe dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis.

3.2.1. Avaliação do potencial antioxidante *in vitro* dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis

Para avaliar o potencial antioxidante dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis e dos 4-(arilselanyl)-1*H*-pirazóis, foram escolhidos nove compostos, os quais estão descritos na Figura 27. Inicialmente foram realizados dois testes espectrofotométricos, os quais estão baseados na estabilização de espécies radiculares, 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico (ABTS), uma vez que ambos os testes apresentam ampla sensibilidade, são simples de serem realizados, rápidos e reprodutíveis.

Nestes experimentos, os compostos são adicionadas as soluções contendo as espécies radiculares. Quando se observa um potencial antioxidante das moléculas, ocorre uma descoloração da solução etanólica de coloração violeta no ensaio de DPPH, e uma descoloração da solução aquosa de coloração verde no ensaio ABTS. Nesse sentido, qualquer alteração evidenciada nesses cromógenos permite uma avaliação rápida e eficiente da capacidade antioxidante de substâncias puras ou não isoladas.

Neste estudo, essas duas técnicas foram utilizadas para avaliar a capacidade antioxidante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis. Posteriormente, outros ensaios, também foram realizados a fim de explorar a possível capacidade antioxidante apresentada por esta classe de moléculas.

A capacidade antioxidante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi avaliada em diferentes concentrações (1-500 μ M) frente ao radical DPPH. Os resultados obtidos evidenciaram uma possível atividade antioxidante para os compostos **5a**, **7a** e **3a** (Figura 28). Entretanto, os demais compostos testados **5k**, **5m**, **5o**, **7f**, **7k**, e **7n** não apresentaram efeitos significativos neste experimento, e seus resultados não serão apresentados.

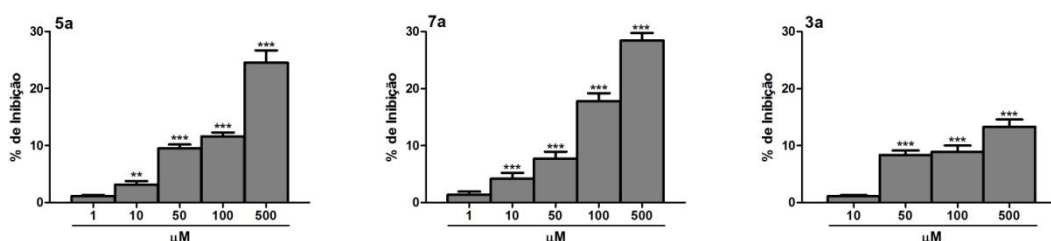


Figura 28. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** na capacidade de neutralização dos radicais DPPH. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão, (n=3). Os asteriscos representam efeitos significativos ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo de controle, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

A partir dos gráficos apresentados na Figura 28, pode-se observar que os compostos contendo átomos de enxofre (**5a**) e de selênio (**7a**) apresentaram uma maior capacidade antioxidante quando comparados ao núcleo pirazolínico (**3a**), sem a presença de um grupo organocalcogênio na molécula. Esse resultado torna-se um indicativo de que a adição de grupos orgânicos de enxofre e de selênio a molécula possam potencializar o efeito antioxidante em diferentes substratos. A Inibição máxima ($I_{m\acute{a}x}$) observada foi de $25,54 \pm 2,15 \mu$ M, $28,44 \pm 1,31 \mu$ M e de $13,32 \pm 1,26 \mu$ M para os compostos **5a**, **7a** e **3a**, respectivamente.

Para tentar evidenciar o possível mecanismo de ação antioxidante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, realizou-se o ensaio de neutralização dos radicais ABTS, uma vez que este apresenta um mecanismo de ação diferente do proposto para a neutralização dos radicais DPPH. Neste caso, seu mecanismo de ação está associado à capacidade de transferência de

elétrons do substrato para o radical cátion, visando conferir estabilidade ao mesmo.⁸²

Assim, as soluções contendo os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foram submetidas ao teste de neutralização dos radicais ABTS em diferentes concentrações, as quais variaram de 10-500 µM. Entretanto, resultados significativos foram evidenciados para os compostos **5a** e **3a**, os quais estão representados na Figura 29.

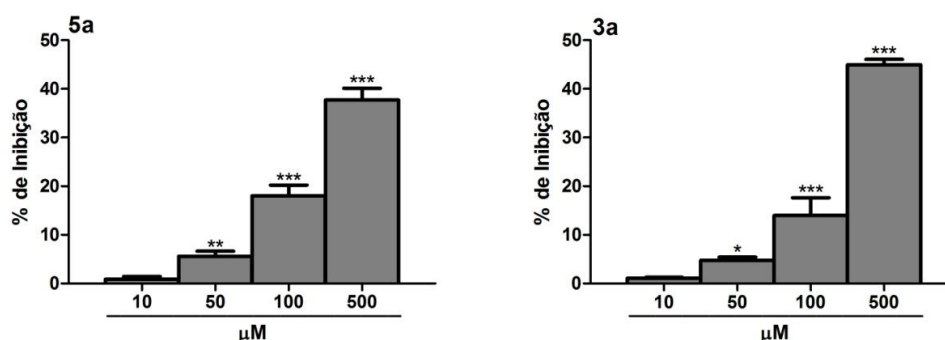


Figura 29. Efeito dos compostos **5a** e **3a** na capacidade de neutralização dos radicais ABTS^{•+}. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, (n=3). Os asteriscos representam efeitos significativos * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo de controle, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

A partir dos dados expressos na Figura 29, pode-se evidenciar que a capacidade em neutralizar os radicais sintéticos ABTS do composto **3a** foi superior ao composto **5a**, contendo um grupo orgânico de enxofre. No entanto, a diferença entre os resultados obtidos para os compostos **5a** e **3a** não foi muito expressiva, onde a inibição máxima observada foi de $37,71 \pm 2,40$ µM para o composto **5a** e de $44,92 \pm 1,14$ µM para o composto **3a**.

Diferentes estudos têm demonstrado que a capacidade de doar elétrons de um substrato para outro em reações de oxirredução, podem estar associados à capacidade antioxidante em organismos vivos. Nesse contexto,

⁸² Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., *Free Radical Biol. Med.* **1999**, 26, 1231.

os antioxidantes podem ser explicados como espécies redutoras na qual um substrato é reduzido em detrimento da oxidação de outro.⁸³

Considerando-se os resultados apresentados até o presente momento, e para tentar avaliar o possível mecanismo de ação antioxidante, realizou-se outro experimento, o qual buscou evidenciar a capacidade de reduzir o íon férrico presente em solução, conforme resultados apresentados na sequência. Assim, a capacidade de doação de elétrons dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi avaliada a partir do experimento do potencial redutor do íon férrico (Fe^{3+}) (FRAP) a íon ferroso (Fe^{2+}). Este experimento está associado ao mecanismo de doação de elétrons e estima a capacidade dos compostos com ação antioxidante em reduzir o complexo de ferro III (férrico tripiridiltiazina – Fe^{3+}) presente em solução ao complexo de ferro II (ferroso tripiridiltiazina – Fe^{2+}) em pH 3,6.⁸⁴

Neste experimento, o complexo de Fe^{2+} formado em solução, na presença de compostos com ação antioxidante, apresenta coloração azul intensa. Isso permite o monitoramento da atividade redutora da amostra a partir da leitura da absorbância da solução final. Dessa forma, foram avaliadas neste experimento diferentes concentrações dos **5a**, **5k**, **5m**, **5o**, **7a**, **7f**, **7k**, **7n** e **3a** as quais variaram entre 10 e 500 μM , e os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 5.

De acordo com os dados expressos na Tabela 5, foi observado que a adição do grupo orgânico de enxofre (**5a**, **5k** e **5m**) ou de selênio (**7a**, **7k** e **7n**) potencializa a ação antioxidante quando comparados aos resultados obtidos para o composto **3a**. A ação antioxidante é medida de acordo com a concentração do complexo de ferro II formada em solução, o que promove uma alteração da absorbância para os compostos com efeito antioxidante. Os resultados evidenciam a capacidade de transferência de elétrons dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis presentes em solução, mostrando que seu mecanismo de ação está possivelmente baseado na estabilização por transferência de elétrons.

⁸³ (a) Siddhuraju, P., Nithiyantham, S., Francis, G. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 43, 261. (b) Arabshahi-Delouee, S.; Urooj, A. *Food Chem.* **2007**, 52, 524. (c) Gülçin, I., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y. *Arabian J. Chem.* **2010**, 5, 489.

⁸⁴ Gülçin, I. *Arch Toxicol.* **2012**, 86, 345.

Dessa forma, pode-se evidenciar a ação antioxidante dos compostos testados, a partir dos resultados obtidos no ensaio do potencial redutor antioxidante dos íons Fe^{3+} , uma vez que em ambos os casos houve uma redução significativa, embora em proporções diferentes, dos íons férrico a ferroso, diminuindo a formação de espécies reativas, em um mecanismo de ação semelhante a reação de Haber-Weiss.⁸⁵ Em alguns casos, soluções contendo os compostos com concentração de 500 μM apresentaram-se com uma coloração azul intensa porém turva, impossibilitando a leitura do experimento.

A capacidade antioxidante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis também foi avaliada frente aos ensaios de avaliação do potencial quelante ao íon ferroso e da atividade da superóxido dismutase (SOD-like) *in vitro*. Entretanto, resultados significativos não foram obtidos e seus resultados não serão apresentados.

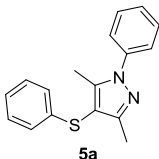
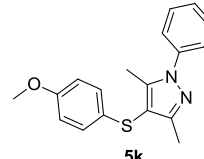
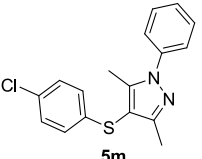
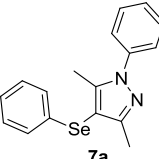
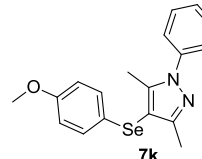
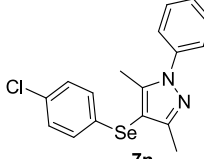
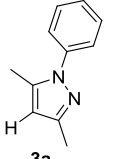
Na sequência, os compostos pertencentes à classe dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis também foram analisados no ensaio de neutralização dos radicais óxido nítrico. Esses radicais ($\bullet\text{NO}$) desempenham importantes papéis em diferentes sistemas biológicos, e sua formação se dá em função da ação da enzima óxido nítrico sintase sobre o substrato *L*-arginina. Entretanto, a produção em excesso destes radicais pode desencadear um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e os sistemas de defesas antioxidantes, o que pode vir a provocar danos em biomoléculas como o DNA e proteínas, por exemplo.⁸⁶

A produção em excesso de radical óxido nítrico pode promover a formação de outro intermediário instável, com propriedades semelhantes as do radical hidroxil, o peróxido de nitrito (ONOO^-) a partir da combinação do $\bullet\text{NO}$ com O_2^- . Dessa forma, o desenvolvimento de novas substâncias capazes de neutralizar o radical óxido nítrico se faz muito relevante. Assim, foi avaliado neste trabalho, a capacidade de neutralização dessas espécies radicalares a partir de soluções contendo os 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis em diferentes concentrações (10-500 μM), onde os resultados obtidos encontram-se descritos nas Tabelas 6 e 7.

⁸⁵ Niki, E. *Free Radical Biol. Med.* **2009**, 47, 469.

⁸⁶ Ramachandran, E.; Thomas, S.P.; Poornima, P.; Kalaivani, P.; Prabhakaran, R.; Padma, V.V.; Natarajan, K. *E. J. Med. Chem.* **2012**, 50, 405.

Tabela 5. Efeito dos compostos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis no ensaio FRAP.^a

(μM)	Compostos						
	 5a	 5k	 5m	 7a	 7k	 7n	 3a
Controle	0,109 ± 0,011	0,085 ± 0,012	0,085 ± 0,012	0,111 ± 0,012	0,096 ± 0,012	0,074 ± 0,029	0,096 ± 0,011
10	0,123 ± 0,035	0,111 ± 0,011	0,094 ± 0,011	0,120 ± 0,024	0,111 ± 0,011	0,089 ± 0,013	0,111 ± 0,012
50	0,128 ± 0,013	0,298 ± 0,017**	0,210 ± 0,027***	0,265 ± 0,045**	0,290 ± 0,017***	0,233 ± 0,040***	0,290 ± 0,017**
100	0,180 ± 0,007***	0,466 ± 0,038***	0,435 ± 0,012***	0,428 ± 0,050***	0,466 ± 0,038***	0,337 ± 0,036***	0,402 ± 0,007***
500	0,285 ± 0,023***	-	-	-	-	-	-

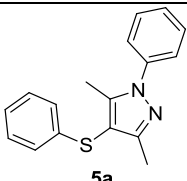
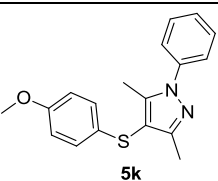
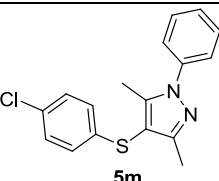
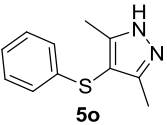
^a) Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, (n=4). Os asteriscos representam efeitos significativos ** p < 0,01 e *** p < 0,001 quando comparados com o grupo de controle (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

De acordo com os resultados expressos nas Tabelas 6 e 7, no que se refere o ensaio de neutralização do óxido nítrico, pode-se perceber que há um decréscimo dos valores de absorbância, quando comparado o grupo controle e os diferentes compostos, o que sugere a neutralização destes radicais presentes em solução.

Pode-se inferir ainda que os 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis (Tabela 7) apresentaram um efeito superior aos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis (Tabela 6), uma vez que estes compostos apresentaram menores valores de absorbância, sugerindo que uma maior quantidade de espécies radicalares foi neutralizada. Cabe-se destacar também que neste experimento, o intermediário pirazolínico **3a** não apresentou resultados significativos, não sendo capaz de neutralizar o radical óxido nítrico, e por isso os dados deste experimento não foram apresentados neste documento. Nesse contexto, podemos atribuir a atividade apresentada pelos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, neste experimento, a presença do grupo orgânico de enxofre ou selênio.

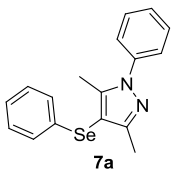
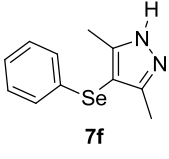
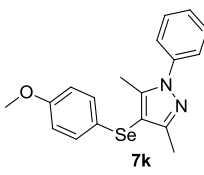
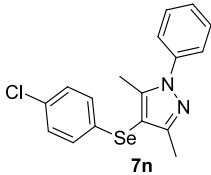
Os resultados significativos foram obtidos para os compostos **5a**, **5m** e **7a**, a partir da concentração de 50 µM, enquanto que para os demais compostos testados, foram observados efeito a partir da concentração de 100 µM.

Tabela 6. Efeito dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis no ensaio de neutralização dos radicais óxido nítrico.^a

(µM)	Compostos			
	 5a	 5k	 5m	 5o
Controle	0,497 ± 0,026	0,497 ± 0,026	0,497 ± 0,026	0,497 ± 0,026
10	0,482 ± 0,024	0,494 ± 0,016	0,492 ± 0,015	0,485 ± 0,008
50	0,460 ± 0,018**	0,465 ± 0,012	0,383 ± 0,019***	0,403 ± 0,022
100	0,327 ± 0,013***	0,347 ± 0,022***	0,355 ± 0,014***	0,340 ± 0,025***
500	0,232 ± 0,019***	0,273 ± 0,024***	0,289 ± 0,016***	0,286 ± 0,014***

^{a)} Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, (n=5). Os asteriscos representam efeitos significativos ** p < 0,01 e *** p < 0,001 quando comparados com o grupo de controle (C), (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

Tabela 7. Efeito dos 4-(arilselenanil)-1*H*-pirazóis no ensaio de neutralização dos radicais óxido nítrico.^a

(μM)	Compostos			
	 7a	 7f	 7k	 7n
Controle	0,429 ± 0,032	0,429 ± 0,032	0,429 ± 0,032	0,429 ± 0,032
10	0,404 ± 0,025	0,415 ± 0,019	0,428 ± 0,022	0,433 ± 0,019
50	0,337 ± 0,018 ^{**}	0,367 ± 0,018	0,373 ± 0,017	0,387 ± 0,013
100	0,284 ± 0,025 ^{***}	0,292 ± 0,014 ^{***}	0,293 ± 0,014 ^{***}	0,319 ± 0,018 ^{***}
500	0,192 ± 0,020 ^{***}	0,189 ± 0,017 ^{***}	0,217 ± 0,018 ^{***}	0,210 ± 0,018 ^{***}

^{a)} Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, (n=5). Os asteriscos representam efeitos significativos ^{**} p < 0,01 e ^{***} p < 0,001 quando comparados com o grupo de controle (C), (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

Os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis e o intermediário pirazolínico **3a** também foram submetidos ao ensaio que avalia a capacidade de neutralização dos radicais hidroxila presentes em solução, sendo esta uma das espécies radicalares mais reativas de oxigênio, a qual pode ocasionar diversos danos celulares.⁸⁷ Entretanto, nenhuma amostra testada apresentou efeito significativo neste experimento, não sendo capaz portanto de neutralizar os radicais hidroxila presentes em solução.

A capacidade de diminuir a peroxidação lipídica é também considerada uma potente atividade antioxidante, uma vez que reações de oxidação podem promover a oxidação de lipídios de membrana, ocasionando uma diminuição da fluidez de membrana, bem como ocasionar a inativação de receptores, de enzimas e também de canais iônicos.⁸⁸

Para verificar a capacidade antioxidante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis e do intermediário pirazolínico **3a** em prevenir a peroxidação lipídica, foram realizados experimentos utilizando-se de um sistema constituído por uma emulsão de ácido linoleico, como substrato, e diferentes soluções com

⁸⁷ (a) Niki, E. *Free Radical Biol. Med.* **2010**, 49, 503. (b) Fan, M.; Goodwin, M.E.; Birrer, M.J.; Chambers, T.C. *Cancer Res.* **2001**, 61, 4450.

⁸⁸ Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1995**, 35, 7.

concentrações que variaram entre 1 a 500 μM dos diversos compostos testados. Os resultados obtidos encontram-se descritos nas Figuras 30 e 31.

De acordo com os resultados descritos na Figura 30, pode-se observar que todos os compostos testados **5a**, **5k**, **5m** e **5o** apresentaram capacidade em diminuir a peroxidação lipídica induzida por NPS em um sistema contendo emulsão de ácido linoleico, bem como o intermediário pirazolínico **3a**. Entretanto, cabe-se destacar que o composto **5o**, derivado da hidrazina hidratada contendo um grupo orgânico de enxofre, apresentou uma inibição máxima de 83,08% enquanto que o composto **3a** apresentou uma inibição máxima de 68,94%, o que indica que a adição do grupo organocalcogênio, pode ser responsável por potencializar o efeito observado, neste caso. Resultados semelhantes de inibição máxima ao composto **3a** foi observado para o composto **5a**, o qual apresentou uma inibição máxima de 67,97%. Os demais compostos testados, **5k** e **5m**, apresentaram valores de I_{max} menores, quando comparados ao núcleo pirazolínico **3a**, 30,59 e 41,39%, respectivamente. Cabe salientar ainda que os compostos **5a** e **5o** apresentaram um IC_{50} de $196 \pm 6,81 \mu\text{M}$ e $40,62 \pm 15,83 \mu\text{M}$ respectivamente, enquanto que o composto **3a** apresentou IC_{50} de $103 \pm 5,0 \mu\text{M}$.

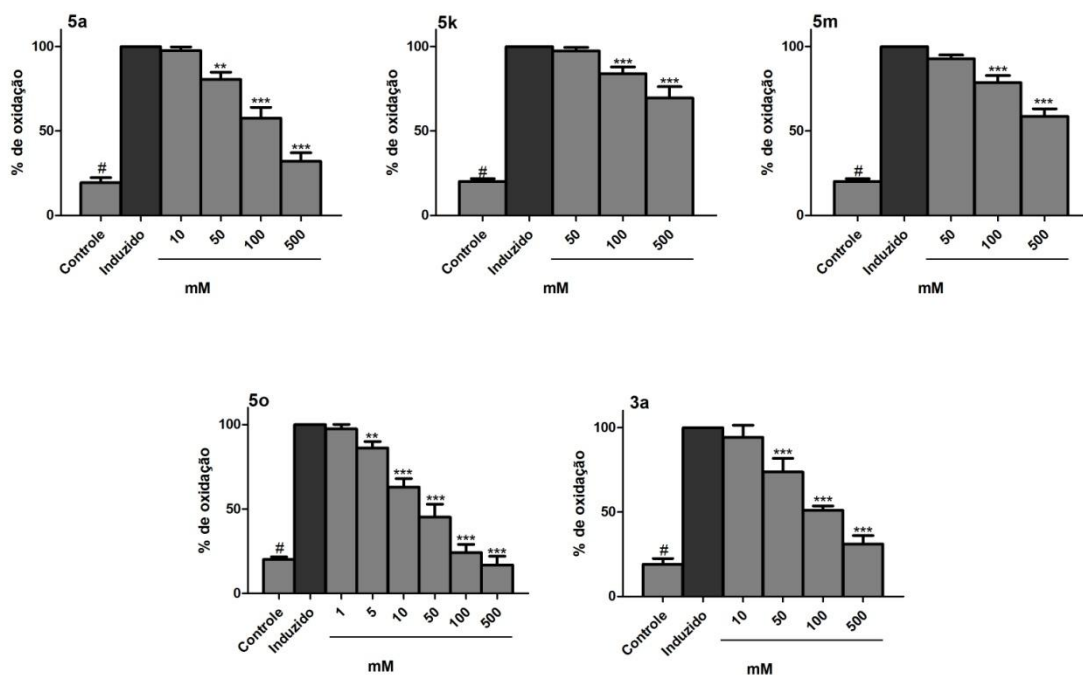


Figura 30. Efeito dos compostos **5a**, **5k**, **5m**, **5o** e **3a** frente ao ensaio de peroxidação lipídica. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Os experimentos foram realizados em duplicata ($n = 4$), e a peroxidação lipídica foi induzida por NPS. Os asteriscos representam efeitos significativos ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo de controle, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

Quando avaliada a capacidade em reduzir a peroxidação lipídica induzida por NPS num sistema constituído por uma emulsão de ácido linoleico, usando como tratamento soluções dos 4-arilseleno-1*H*-pirazóis **7a**, **7f**, **7k** e **7n** (Figura 31), ótimos resultados foram obtidos. Nesse caso, todos os compostos testados apresentaram uma inibição máxima superior quando comparados ao núcleo pirazolínico **3a**, sem a adição do grupo orgânico de selênio, onde os valores de $I_{\text{máx}}$ observados foram de 86,87%, 90,52%, 92,25% e 82,22%, respectivamente, enquanto que para o composto **3a** a $I_{\text{máx}}$ observada foi de apenas 68,94%.

Quando considerado os valores de IC_{50} , observa-se que os tratamentos realizados com os compostos **7a**, **7f**, **7k** e **7n**, apresentaram efeitos mais potentes quando comparados ao composto **3a**. Nesse sentido, os valores de IC_{50} obtidos foram de $46,62 \pm 2,21 \mu\text{M}$, $32,6 \pm 1,54 \mu\text{M}$, $8,0 \pm 1,21 \mu\text{M}$ e $19,30 \pm 17,0 \mu\text{M}$, respectivamente.

Nesse sentido, de acordo com os resultados obtidos para o grupo dos 4- arilselênio-1*H*-pirazóis, evidencia-se que a adição do grupo orgânico de selênio foi capaz de potencializar a capacidade dos substratos, arilpirazóis, em diminuir a peroxidação lipídica em um modelo *in vitro*. Nesse sentido, este resultado nos motiva a continuar os estudos para avaliar o potencial biológico desta classe de moléculas.

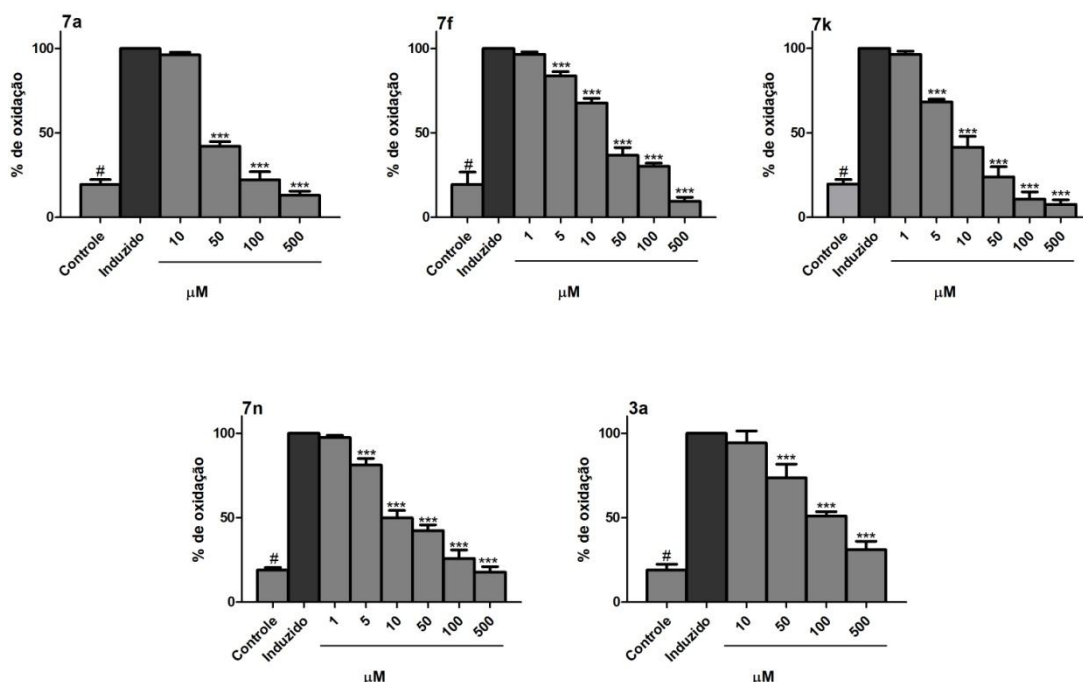


Figura 31. Efeito dos compostos **7a**, **7f**, **7k**, **7n** e **3a** frente ao ensaio de peroxidação lipídica. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Os experimentos foram realizados em duplicata ($n = 4$), e a peroxidação lipídica foi induzida por NPS. Os asteriscos representam efeitos significativos ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo de controle, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

3.2.2. Avaliação do potencial toxicológico dos 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis

Para avaliar o efeito toxicológico dos compostos pertencentes a classe dos pirazóis, elegeu-se três compostos, o 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1*H*-pirazol **5a**, o 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselânil)-1*H*-pirazol **7a** e o 3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol **3a**. Os compostos selecionados para a realização dos ensaios toxicológicos foram reduzidos em número, quando comparado aos

experimentos *in vitro*, em função dos resultados obtidos nestes experimentos bem como em razão do número de animais necessários para desenvolver o experimento, conforme projeto aprovado (CEEA 1904-2016). Nesse sentido, as estruturas químicas dos compostos analisados encontram-se descritos na Figura 32.

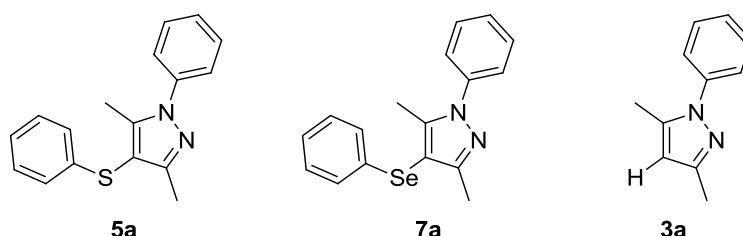


Figura 32. Compostos utilizados para realização dos experimentos *ex vivo*.

Para avaliar o potencial toxicológico dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi realizado um experimento onde foram separados 20 animais, camundongos machos Swiss, os quais foram divididos em 4 grupos, contendo cinco animais cada. Na sequência, procedeu-se a administração oral dos compostos **3a**, **5a** e **7a** na dose de 300 mg/Kg em camundongos, além do grupo controle, o qual recebeu apenas óleo de canola. Após 72 horas, os animais foram eutanasiados e tiveram suas estruturas (cérebro, fígado, rim e sangue) removidas para posterior análise.

De acordo com a observação experimental, pode-se evidenciar que uma única dose administrada dos respectivos tratamentos (300 mg/Kg) não levou à morte de nenhum animal e nem causou alterações significativas no peso, consumo de comida ou de água dos mesmos (Tabela 8).

Tabela 8. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** no ganho de peso de camundongos.

Grupo	Ganho de peso (g)	Consumo de comida (g)	Consumo de água (mL)
Controle	0,80 ± 0,837	1,44	3,20
5a	1,40 ± 0,548	1,60	5,60
7a	1,00 ± 0,738	1,36	4,00
3a	1,00 ± 0,989	1,76	5,60

Os resultados são expressos por animal, considerando grupos de cinco animais cada. O ganho de peso foi expresso segundo a média ± D.P. de 5 animais por grupo.

Considerando-se os resultados obtidos a partir de ensaios bioquímicos realizados com Kits comerciais (Labtest Diagnostica), pode-se observar que a atividade plasmática das enzimas AST e ALT e os níveis de ureia e creatinina permaneceram inalterados, quando comparados com o grupo controle, após o tratamento com os compostos **5a**, **7a** e **3a** (Tabela 9). Além disso, não foi constatada alterações na atividade renal, hepática e cerebral quando considerada a atividade da enzima δ -Aminolevulinato Desidratase (δ -ALA-D) nos animais que receberam o tratamento com os compostos **5a**, **7a** e **3a**, quando comparados ao grupo controle (Tabela 10).

Tabela 9. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** nas atividades das enzimas AST, ALT e nos níveis de ureia e creatinina em camundongos.

Grupo	AST (U/L)	ALT (U/L)	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
Controle	37,71 $\pm$ 4,76	43,65 $\pm$ 1,99	97,55 $\pm$ 11,11	1,37 $\pm$ 0,33
5a	40,16 $\pm$ 1,38	45,99 $\pm$ 0,99	109,30 $\pm$ 7,92	1,30 $\pm$ 0,25
7a	40,76 $\pm$ 2,94	42,77 $\pm$ 2,39	114,30 $\pm$ 6,50	1,53 $\pm$ 0,09
3a	44,35 $\pm$ 4,59	46,88 $\pm$ 4,99	117,40 $\pm$ 7,99	1,59 $\pm$ 0,17

Os dados são apresentados como média $\pm$ D.P. considerando grupos de 5 animais cada. Os resultados são expressos em comparação ao grupo controle, sem tratamento, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparação múltiplas).

A enzima δ -ALA-D apresenta uma elevada sensibilidade a agentes com capacidade oxidante e ao estresse oxidativo.⁸⁹ Dessa forma, ensaios que avaliam a inativação desta enzima também podem ser utilizados como indicativo de toxicidade de substâncias testadas. A enzima δ -ALA-D apresenta propriedades importantes, sendo esta a responsável pela condensação de duas moléculas de ácido δ -aminolevulínico (ALA), formando um precursor do grupo heme, o porfobilinogênio (PBG).⁹⁰ Dessa forma, a inibição da enzima δ -ALA-D pode inibir a biossíntese do grupo heme, afetando o metabolismo de transporte de oxigênio, podendo desencadear uma ação pró-oxidante. Entretanto, de acordo com os resultados obtidos, podemos verificar que ambos os tratamentos, **5a**, **7a** e **3a**, não apresentaram alterações quando comparados ao grupo controle na atividade da enzima δ -ALA-D, o que sugere, juntamente

⁸⁹ Prauchner, C.A.; Prestes, A.; Rocha, J. B. *Patholl. Res. Pract.* **2011**, 207, 554.

⁹⁰ Rocha, J.T.; Saraiva, R.A.; Garcia, S.C.; Gravina, F.S.; Nogueira, C.W. *Toxicol. Res.* **2012**, 1, 85.

com os outros parâmetros bioquímicos já apresentados, de que os compostos pertencentes à classe dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis não são tóxicos.

Tabela 10. Efeito dos compostos **3a**, **5a** e **7a** na atividade da enzima δ -ALA-D em camundongos.

Grupo	δ -ALA-D		
	Fígado	Rim	Cérebro
Controle	16,10 $\pm$ 1,50	1,34 $\pm$ 0,34	1,32 $\pm$ 0,24
5a	15,33 $\pm$ 0,77	1,67 $\pm$ 0,28	1,34 $\pm$ 0,18
7a	15,50 $\pm$ 0,47	1,70 $\pm$ 0,11	1,30 $\pm$ 0,25
3a	14,97 $\pm$ 0,64	1,75 $\pm$ 0,21	1,43 $\pm$ 0,14

A atividade da enzima δ -ALA-D foi expressa em nmol PBG/mg Ptn/hora, e os resultados são apresentados como média $\pm$ D.P. Considerando grupos de 5 animais cada em comparação ao grupo controle, sem tratamento, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparação múltiplas).

Os tecidos (fígado, rim e cérebro) removidos dos animais após o tratamento com os compostos **5a**, **7a** e **3a** (300 mg/Kg), foram utilizados para mensurar a capacidade dos compostos em inibir a peroxidação lipídica a partir da formação de malondialdeídos (MDA), em reações que consideram espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Para realização dos experimentos, foram escolhidas as estruturas cérebro, fígado e rim de camundongos, os quais desempenham importantes funções biológicas. Nesse sentido, o cérebro, rico em lipídeos é responsável pelo desenvolvimento de funções sofisticadas dos organismos. Já o fígado é responsável pelo metabolismo do colesterol, enquanto que o rim é responsável por excretar substâncias tóxicas que são formadas ou que estão presentes no organismo animal.

Os resultados obtidos a partir da realização do ensaio de determinação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) podem ser visualizados na Tabela 11, onde se pode observar que os tratamentos realizados com os compostos **5a** e **7a**, contendo um grupo organocalcogênio em sua estrutura, não foram capazes de diminuir a peroxidação lipídica quando comparados ao grupo controle em todos os tecidos avaliados. Entretanto, o composto **3a** apresentou efeito significativo na redução da peroxidação lipídica no cérebro e

no fígado de camundongos, no entanto o mesmo efeito não foi observado quando considerado o rim destes animais.

Tabela 11. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** no ensaio TBARS no fígado, rim e cérebro de camundongos.

Grupo	TBARS		
	Fígado	Rim	Cérebro
Controle	772,70 ± 39,79	375,60 ± 53,32	85,47 ± 7,13
5a	781,51 ± 48,82	292,12 ± 59,81	73,91 ± 8,80
7a	740,32 ± 39,17	323,01 ± 54,20	84,76 ± 9,44
3a	559, 12 ± 39,56 ^{***}	333,28 ± 50,17	66,72 ± 9,50 ^{**}

Os resultados estão expressos como nmol de malondialdeído (MDA) / g de tecido. Os asteriscos representam o efeito significativo ^{**} p < 0,01 e ^{***} p < 0,001 quando comparado com o grupo de controle, sem tratamento, (one-way ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls de comparações múltiplas).

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que não houve proteção dos tecidos, aos danos oxidativos a que foram expostos, quando os animais foram tratados com os compostos **5a**, **7a** o que difere dos resultados obtidos quando avaliada a atividade antioxidante em ensaios *in vitro*. Entretanto, um fator positivo verificado é que em nenhum dos experimentos realizados com os diferentes tecidos, houve uma indução maior da peroxidação lipídica quando comparada ao grupo controle, indicando que os compostos possivelmente não apresentem uma ação pró-oxidante.

De maneira geral, podemos evidenciar a partir dos experimentos realizados, que os compostos não apresentam toxicidade quando comparados ao grupo controle, considerando o ensaio de toxicidade aguda, o que impulsiona a continuação da investigação de possíveis propriedades biológicas destes compostos. Da mesma forma, também verificamos que as amostras testadas não apresentam efeito pró-oxidante, no entanto para que se possa avaliar a real capacidade de proteção/oxidação de ambos os compostos testados, outros experimentos complementares devem ser realizados.

3.2.3. Avaliação do potencial antinociceptivo e anti-inflamatório dos 4-arilcalcogeno-1H-pirazóis

Para realização dos experimentos *in vivo*, os quais buscaram avaliar o possível potencial antinociceptivo e anti-inflamatório dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis, elegeu-se como substrato de teste o composto 3,5-dimetil-1-fenil-(4-feniltio)-1H-pirazol **5a** e o 3,5-dimetil-1-fenil-(4-fenilselanil)-1H-pirazol **7a**. No entanto, para comparar os resultados obtidos, realizou-se também o experimento com o 3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **3a**, para avaliar a possível contribuição do grupo orgânico de enxofre ou de selênio no potencial antinociceptivo ou anti-inflamatório destes substratos. Durante a realização dos experimentos, o Celecoxib **11**, o qual apresenta um núcleo pirazolínico em sua estrutura, foi usado como fármaco de referência.

Inicialmente, foi realizado o teste da formalina, o qual se utiliza de um modelo de nocicepção que permite avaliar duas formas distintas de nocicepção, a de origem neurogênica, a qual envolve a estimulação direta das fibras nociceptivas, e a de origem inflamatória, a qual é caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios. Nesse contexto, após 30 min da administração dos compostos **3a**, **5a** e **7a**, injetou-se na pata esquerda 20 µL de formalina e 20 µL de salina na pata direita. Os animais foram observados, inicialmente, por um período de 5 min, onde de acordo com os resultados obtidos (Figura 33) podemos evidenciar que ambos os compostos testados, **5a**, **7a** e **3a** apresentaram um potencial antinociceptivo quando comparados ao respectivo grupo controle. É importante destacar também que quando considerados os tratamentos com os substratos contendo um grupo orgânico de enxofre **5a** ou de selênio **7a**, na dose de 10 mg/Kg, são obtidos resultados semelhantes ao tratamento realizado com um fármaco de referência, o celecoxib **11** (10 mg/Kg).

Ainda considerando os resultados obtidos, podemos concluir que a presença de um grupo organocalcogênio potencializa o efeito antinociceptivo quando avaliados os tratamentos **5a** e **7a** em relação ao **3a**, o qual é constituído apenas pelo núcleo pirazolínico, indicando que há uma contribuição significativa do grupo organocalcogênio nos efeitos observados pelos respectivos tratamentos. Cabe-se destacar também que na primeira fase, os

animais que receberam um pré-tratamento com os compostos **5a** e **7a** foram capazes de reduzir o tempo de lambida nas doses iguais ou superiores a 0,01 mg/Kg, enquanto que o composto **3a** apresentou efeitos significativos somente a partir da dose de 10 mg/Kg.

Quando considerado o pré-tratamento nas doses de 0,01, 10 e 50 mg/Kg para o composto **5a**, o tempo de lambida foi reduzido em 37,3%, 72,8% e 77,1%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle. No entanto, quando considerado o composto selênio substituído, **7a**, o tempo de lambida foi reduzido em 44,2%, 68,0% e 79,9% respectivamente, para as mesmas doses testadas. O composto **3a** foi capaz de reduzir o tempo de lambida em 40,2% e 45,1% quando considerados os pré-tratamentos nas doses de 10 e 50 mg/Kg. O celecoxib, usado como fármaco de referência na dose de 10 mg/Kg, foi capaz de reduzir em 50,8% o tempo de lambida, na primeira fase do teste da formalina, quando comparado ao grupo controle.

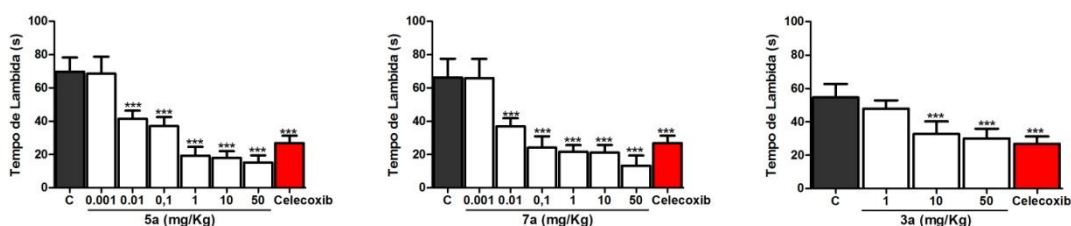


Figura 33. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** (0,001 – 50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzido por formalina em camundongos na Fase 1 (0 – 5 minutos, fase neurogênica). Abreviações: C indica o controle, grupo o qual foi tratado somente com óleo de canola. Celecoxib é o controle positivo, fármaco de referência (10 mg/Kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 8 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

Na sequência, quando avaliada a segunda fase do experimento, a dor relacionada ao processo inflamatório, se pode observar que ambos os tratamentos utilizados **5a**, **7a** e **3a** apresentaram efeito, sendo estes capazes de diminuir o tempo de lambida quando comparados aos respectivos grupos controles (Figura 34). No entanto, o composto **7a** mostrou-se mais potente quando comparado ao tratamento realizado com o composto **5a**, o qual apresentou um efeito significativo a partir da dose de 0,01 mg/Kg enquanto que o tratamento com o **5a** mostrou-se eficiente a partir da dose de 0,1 mg/Kg. Já

em se tratando do composto **3a**, efeitos significativos foram observados a partir de doses iguais ou superiores a 50 mg/Kg.

É importante salientar que o composto **5a** foi capaz em reduzir o tempo de lambida, quando comparado ao grupo controle, em 21,6%, 48,1% e 67,6% nas doses de 0,1; 10 e 50 mg/Kg. No entanto o composto **7a** reduziu o tempo de lambida em 32,4%, 44,8%, 78,2% e 97,89%, quando comparado ao grupo controle, nas doses de 0,01; 0,1; 10 e 50 mg/Kg. Já o composto **3a** reduziu o tempo de lambida em 51,6% na dose de 50 mg/Kg.

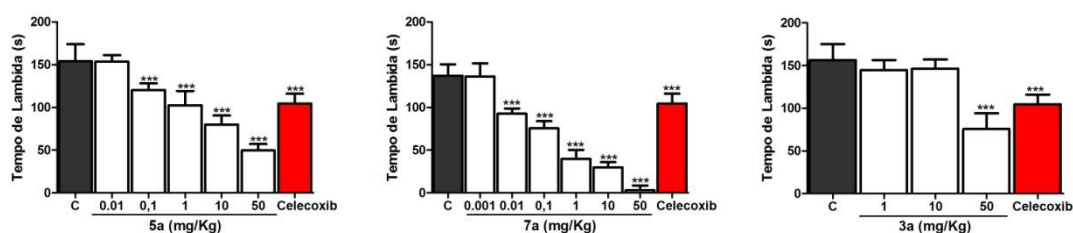


Figura 34. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** (0,001 – 50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzido por formalina em camundongos na Fase 2 (15 – 30 minutos, fase inflamatória). Abreviações: C indica o controle, grupo o qual foi tratado somente com óleo de canola. Celecoxib é o controle positivo, fármaco de referência (10 mg/Kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 8 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

Na sequência, para avaliar a possível atividade anti-inflamatória dos compostos **5a**, **7a** e **3a**, foi realizado o ensaio de indução do edema de pata por formalina. A avaliação do edema gerado na pata é realizada imediatamente após a eutanásia do animal, onde a pata direita (recebeu salina) e a pata esquerda (recebeu formalina) são retiradas e pesadas em uma balança analítica. O resultado da subtração do peso da pata direita do peso da pata esquerda é um indicativo de redução ou não do edema gerado pela formalina. Dessa forma, podemos observar na Figura 35 que ambos os tratamentos realizados apresentaram efeitos significativos a partir da dose de 0,1 mg/Kg para os compostos **5a** e **7a**, e de 10 mg/Kg para o composto **3a**.

De acordo com os resultados obtidos, podemos observar que os tratamentos testados apresentam um potencial anti-inflamatório semelhante ao apresentado pelo fármaco de referência, o Celecoxib. No entanto, resultados

promissores foram observados para os compostos **5a** e **7a** nas doses de 50 mg/Kg.

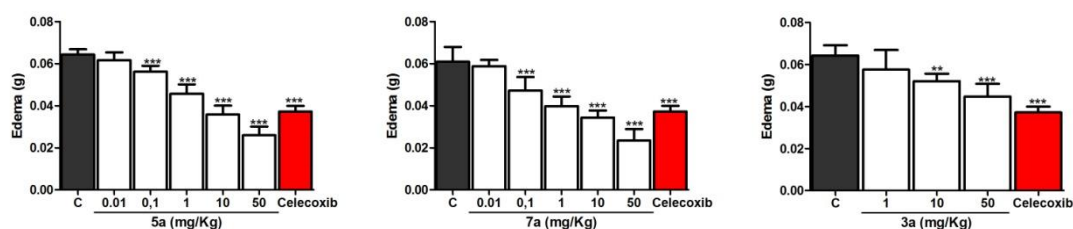


Figura 35. Efeito dos compostos **5a**, **7a** e **3a** (0,01-50 mg/Kg) na formação do edema de pata induzido por formalina em camundongos. Abreviações: C indica o controle, grupo o qual foi tratado somente com óleo de canola. Celecoxib é o controle positivo, fármaco de referência (10 mg/Kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 8 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

Outro experimento para avaliar o efeito antinociceptivo dos compostos **5a**, **7a** e **3a** foi realizado, sendo este o teste do glutamato, um indutor químico. Neste experimento, 30 min após os animais receberem os respectivos tratamentos, foi administrado na pata direita de cada animal 20 μ L de uma solução de glutamato (20 μ M). Posteriormente, os animais foram observados durante um período de 15 min e a diminuição do tempo de lambida, quando comparados ao grupo controle, é um indicativo de efeito antinociceptivo. Os resultados obtidos com os diferentes tratamentos estão descritos na Figura 36, onde se pode observar que os compostos **5a** e **7a** apresentaram excelentes resultados, apresentando efeitos significativos a partir de doses iguais ou superiores a 0,01 mg/Kg. O composto **3a**, sem a presença de um grupo organocalcogênio em sua estrutura, apresentou efeito significativo somente a partir da dose de 10 mg/Kg.

É válido destacar ainda que, todos os tratamentos realizados (**5a**, **7a** e **3a**), apresentaram resultados mais promissores, neste experimento, quando comparados ao fármaco de referência, o celecoxib **11**, considerando-se uma dose de 10 mg/kg. Aliado a isso, os tratamentos realizados, foram capazes de diminuir o tempo de lambida em 85,7%, 87,9% e 60,9%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle, na dose de 10 mg/Kg.

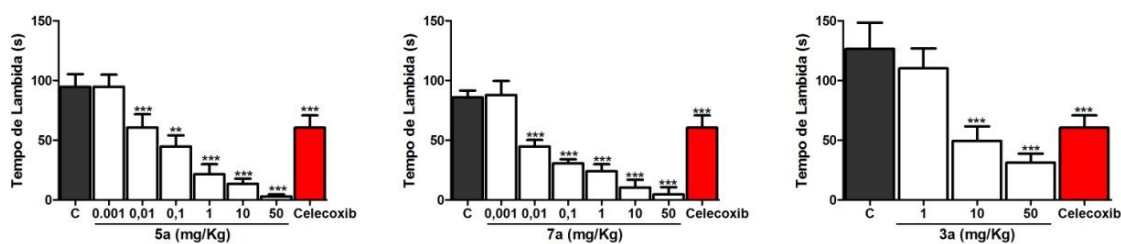


Figura 36. Efeito dos tratamentos **5a**, **7a** e **3a** (0,001 – 50 mg/Kg) no tempo de lambida da pata induzida por glutamato em camundongos. Abreviações: C indica o controle, grupo o qual foi tratado somente com óleo de canola. Celecoxib é o controle positivo (10 mg/Kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 10 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

Considerando-se os resultados obtidos, até o presente momento, nos testes de nocicepção induzidos por mediadores químicos, a formalina e o glutamato, escolheu-se a dose de 10 mg/Kg como referência do teste para avaliar o efeito antinociceptivo dos compostos **5a**, **7a** e **3a** no teste da placa quente. Nesse sentido, considerando-se os resultados apresentados na Figura 37 podemos evidenciar que os compostos **5a**, **7a** e **3a** apresentaram um efeito significativo quando comparado ao grupo controle na dose de 10 mg/Kg. Entretanto, o composto **7a** apresentou efeito significativo a partir da dose de 1 mg/Kg, já os compostos **5a** e **3a** não foram capazes de aumentar o tempo de permanência dos animais sobre a placa aquecida, sem que houvesse uma resposta indicando um possível desconforto dos animais em doses inferiores a 10 mg/Kg. Outro fator importante a ser destacado neste experimento é que o controle positivo, o Celecoxib (Clx), não apresentou efeito significativo neste ensaio, sendo, portanto, necessário o uso de outro fármaco de referência, a Morfina (M), também avaliada na dose de 10 mg/Kg.

Quando comparado os efeitos apresentados pelo composto **7a** e a Morfina, pode-se evidenciar que não há diferença significativa entre os dois tratamentos, indicando que o composto **7a** apresenta um amplo potencial farmacológico e que precisa ainda ser mais explorado.

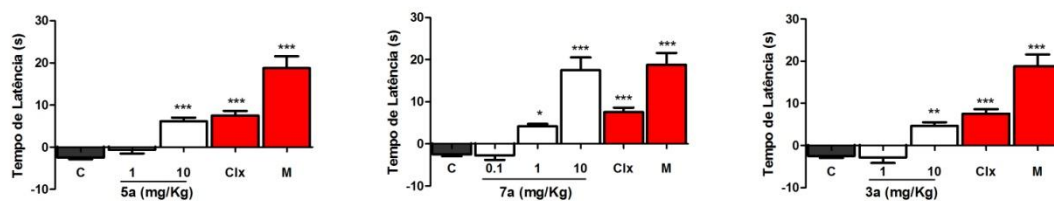


Figura 37. Efeito dos tratamentos **5a**, **7a** e **3a** (1-10 mg/Kg) no teste da placa quente em camundongos. Abreviações: C indica o controle, grupo o qual foi tratado somente com óleo de canola; Clx e M representam o grupo de controles positivos (10 mg/Kg), sendo estes Celecoxib e Morfina, respectivamente. Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 7 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

A possível atividade anti-inflamatória dos compostos **5a**, **7a** e **3a**, também foi avaliada no ensaio de indução do edema de orelha por óleo de cróton.

Nesse contexto, quando considerado os resultados obtidos neste experimento, indução do edema de orelha em camundongos (Figura 38), pode-se observar que apenas o composto **7a**, contendo um grupo orgânico de selênio em sua estrutura, apresentou efeito significativo quando comparado ao grupo controle. Os demais tratamentos testados, **5a** e **3a**, não apresentaram efeitos significativos na dose testada (10 mg/Kg). Cabe salientar também que o controle positivo, Celecoxib, não foi eficaz em reduzir o edema de orelha, gerado pela administração de óleo de cróton, quando comparado ao respectivo grupo controle.

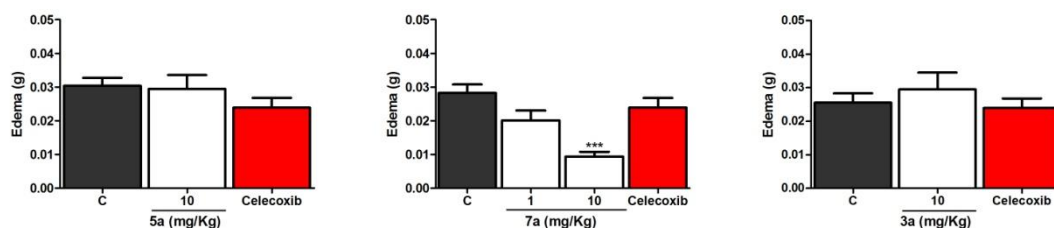
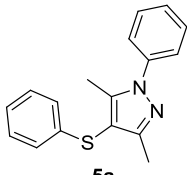
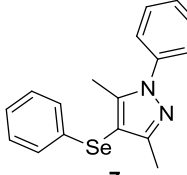
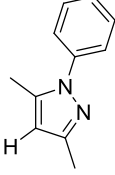


Figura 38. Efeito dos tratamentos **5a**, **7a** e **3a** no ensaio de indução do edema de orelha por óleo de cróton. A diferença de peso entre as orelhas que receberam diferentes administrações (acetona ou óleo de cróton) foi utilizado como um indicativo de inflamação. Abreviações: C indica o grupo controle, o qual recebeu apenas óleo de canola; Celecoxib indica o controle positivo, fármaco de referência (10 mg/Kg). Os resultados estão expressos como média $\pm$ D.P., considerando-se 8 animais por grupo. Os asteriscos representam efeitos significativos *** $p < 0,001$ quando comparados ao grupo de controle, (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

A possível interação dos tratamentos (**5a**, **7a** e **3a**) com a atividade locomotora dos animais foram avaliadas no teste do campo aberto, com a intenção de se verificar se não houve interferência nos resultados obtidos, uma vez que a diminuição desta atividade poderia indicar um resultado falso positivo.

Nesse contexto, o ensaio de campo aberto é um experimento onde são considerados o número de quadrantes percorridos com as quatro patas pelos animais em um intervalo de tempo de 5 min. De acordo com os resultados obtidos, podemos evidenciar que ambos os tratamentos realizados nas diferentes concentrações (0,001-50 mg/Kg) não alteram a atividade locomotora dos animais, uma vez que nenhuma dose administrada se mostrou estatisticamente diferente do grupo controle (Tabela 12). Dessa forma, este resultado demonstra que a administração dos compostos não promove alterações locomotoras que possam ter interferido nos resultados descritos anteriormente nos testes de nocicepção, o que torna ainda mais válido os resultados descritos neste documento.

Tabela 12. Efeito dos tratamentos **5a**, **7a** e **3a** no comportamento locomotor do ensaio de campo aberto.^a

Dose (mg/Kg)	Tratamento		
	 5a	 7a	 3a
Controle	97,29 ± 10,81	92,22 ± 7,05	93,43 ± 11,96
0,001	88,00 ± 8,46	85,00 ± 8,99	-
0,01	82,29 ± 13,89	88,71 ± 10,05	-
0,1	84,86 ± 5,61	96,17 ± 8,61	-
1	89,00 ± 9,76	90,44 ± 5,94	86,00 ± 12,34
10	90,15 ± 9,05	94,44 ± 9,61	85,67 ± 10,51
50	95,71 ± 12,11	92,44 ± 11,29	91,71 ± 13,92

a) O número de cruzamentos de um quadrante ao outro, foram avaliados como sendo a atividade locomotora do animal. Os resultados são expressos como média ± D.P. considerando-se um grupo de 10 animais cada (ANOVA seguido por teste de Newman-Keuls).

Capítulo 4

Considerações Finais

Considerando os objetivos propostos para a síntese dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, contendo enxofre ou selênio, através de reações de ciclocondensação e catálise organometálica, e também da avaliação do potencial farmacológico destas moléculas, pode-se fazer algumas considerações perante o estudo realizado.

Através da ciclocondensação entre hidrazinas substituídas e 1,3-dicetonas, seguida de uma etapa de adição do organocalcogênio, utilizando-se de um sistema catalítico constituído por um sal de cobre e bipyridina, foi possível a obtenção dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis **5a-n** e dos 4-arilseleno-1*H*-pirazóis **7a-p** com bons rendimentos.

A primeira etapa do trabalho consistiu na síntese dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis **5a-n**, os quais foram obtidos a partir de reações *one pot* sequencial entre hidrazinas, 1,3-dicetonas e o ariltiol, utilizando-se de um sistema catalítico constituído de CuI – bipyridina. Os respectivos produtos foram obtidos com 35-89% de rendimento em tempos reacionais que oscilaram de 22 a 48 h reacionais. De maneira geral, a metodologia mostrou-se efetiva frente a uma série de substratos. Entretanto, há algumas limitações quanto ao uso de 1,3-dicetonas impedidas e derivados do ariltiol substituídos na posição *orto*.

Adicionalmente, a partir de uma reação multicomponente, foram sintetizados os 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis **7a-p** e nesse caso, foram usados como substratos, hidrazinas substituídas, 1,3-dicetonas, disselenetos de diorganoíla, brometo de cobre (10 mol%) e bipyridina (10 mol%) em DMSO como solvente, obtendo-se os respectivos produtos com rendimentos que variaram de 42-98% em tempos reacionais de 20 a 48 h. A metodologia mostrou-se eficiente, apresentando interferências no rendimento somente quando utilizadas hidrazinas ou disseleneto de diarila substituídos com grupos fortemente retiradores de elétrons.

Posteriormente, o potencial farmacológico desta classe de moléculas, os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi avaliado. Para isso, inicialmente foi avaliado o potencial antioxidante dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis, **5a**, **5k**, **5m**, e **5o**, bem como dos 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis **7a**, **7f**, **7k** e **7n**, em comparação ao intermediário pirazolínico **3a**, espécie sem adição do organocalcogênio. Foram realizados diferentes experimentos, os quais buscaram avaliar a capacidade dos substratos em neutralizar espécies de radicais livres presentes em solução,

reduzir o íon férrico, bem como em inibir a peroxidação lipídica de um sistema contendo uma emulsão de ácido linoleico.

Nesse sentido, de acordo com os resultados apresentados neste documento, pode-se concluir que os substratos contendo um grupo orgânico de selênio ou enxofre, apresentaram resultados mais significativos com respeito ao potencial antioxidante, nos ensaios *in vitro*, quando comparados ao núcleo pirazolínico **3a**, os quais apresentaram efeito nos ensaios de inibição dos radicais DPPH, ABTS e óxido nítrico, bem como no ensaio que avalia a capacidade de redução dos íons férrico a ferroso (FRAP). É válido ressaltar ainda que os 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis apresentaram excelentes resultados no ensaio que avalia a capacidade em reduzir a peroxidação lipídica, apresentando valores de $I_{máx}$ de 86,87%, 90,52%, 92,25% e 82,22% para os compostos **7a**, **7f**, **7k** e **7n**, respectivamente, enquanto que o intermediário pirazolínico **3a**, apresentou uma $I_{máx}$ de apenas 68,94%. Já a inibição máxima observada para os 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis foi de 83,08% para o composto **5o**, enquanto que os demais compostos **5a**, **5k** e **5m** apresentaram uma $I_{máx}$ de 67,97%, 30,59% e 41,39%, respectivamente. Em contrapartida, quando considerado o ensaio de TBARS basal, o qual foi realizado após o tratamento com os compostos **3a**, **5a** e **7a**, observou-se que apenas o composto **3a** apresentou efeito antioxidante nos tecidos de fígado e cérebro de camundongos, sendo capaz de diminuir os níveis de peroxidação lipídica quando comparados ao grupo controle.

O potencial antinociceptivo dos compostos **3a**, **5a** e **7a** foram avaliados de acordo com ensaios comportamentais em camundongos, onde se pode observar que ambos os tratamentos realizados apresentaram ação antinociceptiva. Nesse contexto, resultados significativos foram obtidos para os tratamentos **5a** e **7a**, os quais contem um grupo orgânico de enxofre ou selênio diretamente ligado ao núcleo pirazolínico, a partir da dose de 0,1 mg/Kg na Fase 1 do teste da formalina, o qual está relacionado com a dor neurogênica. Já o composto **3a** apresentou efeito somente a partir da dose de 10 mg/Kg. Entretanto, quando avaliada a Fase 2 do mesmo teste, fase inflamatória, resultados significativos foram obtidos a partir das doses de 50, 0,1 e 0,01 mg/Kg para os compostos **3a**, **5a** e **7a**, respectivamente. Já quando considerado o teste da placa quente, os compostos **5a** e **3a**, apresentaram

efeito a partir da dose de 10 mg/Kg, enquanto que o **7a**, contendo selênio em sua estrutura, apresentou efeito significativo a partir da dose de 1 mg/Kg. Nesse sentido, podemos evidenciar até o presente momento, que o composto contendo selênio em sua estrutura, apresentou melhores resultados frente a nocicepção quando comparado aos demais tratamentos.

A atividade anti-inflamatória dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis **3a**, **5a** e **7a** foi avaliada de acordo com modelos de indução de edema de pata, induzido por formalina, e de orelha, induzido por óleo de cróton. De acordo com os resultados obtidos, foram evidenciados indícios da capacidade anti-inflamatória dos compostos testados, uma vez que a administração dos compostos **5a** e **7a** resultou na diminuição do edema de pata, induzido por formalina, a partir da dose de 0,1 mg/Kg, enquanto que o composto **3a** apresentou efeito somente a partir da dose de 10 mg/Kg. Já quando considerado o experimento de indução do edema de orelha por óleo de cróton, apenas o composto **7a**, na dose de 10 mg/Kg, apresentou efeito significativo.

Os compostos **3a**, **5a** e **7a** não apresentaram indícios de toxicidade nos testes de dosagem dos parâmetros bioquímicos (ureia, creatinina, AST, ALT e δ -ALA-D) quando avaliados os animais submetidos ao teste de toxicidade aguda, os quais receberam tratamentos com doses elevadas (300 mg/Kg) dos respectivos compostos.

Nesse sentido, em face do que foi exposto, pode-se concluir que os 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis e os 4-(arilselanil)-1*H*-pirazóis foram obtidos a partir de metodologias simples e eficientes. Aliado a isso, cabe-se destacar que os compostos testados apresentaram resultados promissores quanto a sua capacidade antioxidante, antinociceptiva e também anti-inflamatória, sem apresentar indícios de toxicidade, o que motiva o desenvolvimento de novos estudos complementares. Os resultados aqui apresentados resultaram na publicação de dois artigos científicos, relacionados à síntese dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, e na sequência, pretende-se submeter duas patentes referentes ao estudo do potencial farmacológico, bem como um artigo científico a periódicos pertinentes da área.

5.1. Materiais e Métodos

5.1.1. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Bruker ARX que opera na frequência de 200, 300 e 400 MHz para RMN ^1H e na frequência de 75 e 100 MHz para RMN ^{13}C (Departamento de Química da UFSM e UFRGS). Os deslocamentos químicos (δ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao padrão interno (TMS) utilizado como padrão interno para os espectros de RMN ^1H e CDCl_3 para os espectros de RMN ^{13}C , colocando-se entre parênteses a multiplicidade (s = sinpleto, d = duplete, t = tripleto, m = multiplete), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz).

5.1.2. Espectrometria de Massas

Os espectros de massas foram obtidos a partir de um aparelho de CG/MS QP 2010-Plus (Central Analítica – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas-UFPeI - Pelotas - RS).

5.1.3. Pontos de Fusão

Os pontos de fusão das amostras sólidas foram medidos utilizando o Aparelho de Ponto de Fusão Digital (Modelo: PFD III) da marca Marte.

5.1.4. Solventes e Reagentes

Os solventes Hexano, Acetato de Etila (AcOEt) e diclorometano foram purificados por destilação fracionada. Os demais reagentes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

Os produtos foram purificados por cromatografia em coluna (CC), utilizando-se sílica gel 60 (230 – 400 mesh – MERCK) e como eluente hexano ou uma mistura de hexano/acetato de etila, de acordo com a polaridade do

produto obtido. As placas de cromatografia em camada delgada (CCD) foram obtidas de fontes comerciais, Merck Sílica Gel G/UV₂₅₄ (0,25 mm). Utilizou-se, como método de revelação, luz ultravioleta, cuba de iodo, e solução alcoólica ácida de vanilina.

5.1.5. Animais

Para o desenvolvimento dos experimentos, foram utilizados camundongos Swiss albinos machos, pesando entre 25 e 30g, de aproximadamente 2 meses, provenientes do Biotério Central, localizado na Universidade Federal de Pelotas. Durante seu desenvolvimento, os animais ficaram alojados em caixas, sob o ciclo claro e escuro (12 h claro – 12 h escuro, claro às 7:00 h) com temperatura controlada (22 ± 2 °C) e livre acesso à água e comida. No dia do experimento, os animais foram retirados do Biotério Central e levados até a sala de experimentação, onde lá permaneciam aclimatando por aproximadamente 2 horas, em um ambiente com iluminação e temperatura controladas. O projeto para realização dos experimentos com animais foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel, sob o registro CEEA 1904-2016, e todas as medidas necessárias foram adotadas para minimizar ao máximo o sofrimento animal.

5.1.6. Análise Estatística

Os resultados experimentais são mostrados como média $\pm$ desvio padrão (D.P.) para evidenciar as variações entre os grupos. As análises estatísticas foram realizadas por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de comparação múltipla de Newman-Keuls quando apropriado. Todos os testes *in vitro* foram realizados pelo menos três vezes em duplicata. Os valores de IC₅₀ (concentração de amostra necessária para neutralizar 50% dos radicais livres) foram calculados a partir do gráfico do efeito da percentagem de inibição em função da concentração do composto. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas a uma probabilidade inferior a 5% ($p < 0,05$).

5.2. Procedimentos Experimentais

5.2.1. Procedimento geral para a síntese dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis

(a) Procedimento para a síntese dos 4-(ariltio)-1H-pirazóis **5a-n**.

Em um balão reacional de duas bocas adicionou-se a arilidrazina **1a-e** (0,5 mmol), DMSO (1 mL) e a 1,3-dicetona **2a-d** (0,5 mmol), respectivamente. Em seguida, a mistura reacional foi mantida sob atmosfera inerte de nitrogênio e forte agitação magnética a uma temperatura de 120 °C até o total consumo dos materiais de partida. Após a formação do pirazol, adicionou-se à mistura reacional CuI (10 mol%), biperidina (10 mol%) e o ariltiol **4a-g** (0,6 mmol). O sistema reacional foi mantido sob os mesmos parâmetros descritos acima e acompanhado até o total consumo dos materiais de partida. Após o término da reação, o produto foi extraído com acetato de etila e lavado com água. A fase orgânica foi separada e seca com sulfato de magnésio anidro e posteriormente concentrada sob pressão reduzida. Os tiopirazóis obtidos **5a-n** foram purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (98:2) como eluente.

(b) Procedimento para a síntese dos 4-(arilselanil)-1H-pirazóis **7a-p**.

Foi adicionado em um balão de vidro de 25 mL a arilidrazina **1a-e** (0,5 mmol), 1 mL de DMSO, a 1,3-dicetona **2a-d** (0,5 mmol), o disseleneto de diarila **6a-g** (0,25 mmol), o brometo de cobre (10 mol%) e a biperidina (10 mol%), respectivamente. A mistura reacional foi colocada sob agitação magnética a uma temperatura de 100 °C e acompanhada até o consumo dos materiais de partida. Após o término da reação, o produto foi extraído com acetato de etila e lavado com água. A fase orgânica foi separada e seca com sulfato de magnésio anidro e posteriormente concentrada sob pressão reduzida. Os selenopirazóis obtidos **7a-p** foram purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (98:2) como eluente.

5.2.2. Avaliação do potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis

Os protocolos experimentais utilizados para determinar o potencial antioxidante, toxicológico, antinociceptivo e anti-inflamatório dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis foram desenvolvidos no Centro de Desenvolvimento Tecnológico – CDTec, Unidade de Biotecnologia, no laboratório do Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) – UFPel, sob orientação da Prof. Dra Lucielli Savegnago. A metodologia utilizada está resumidamente apresentada na Figura 39.

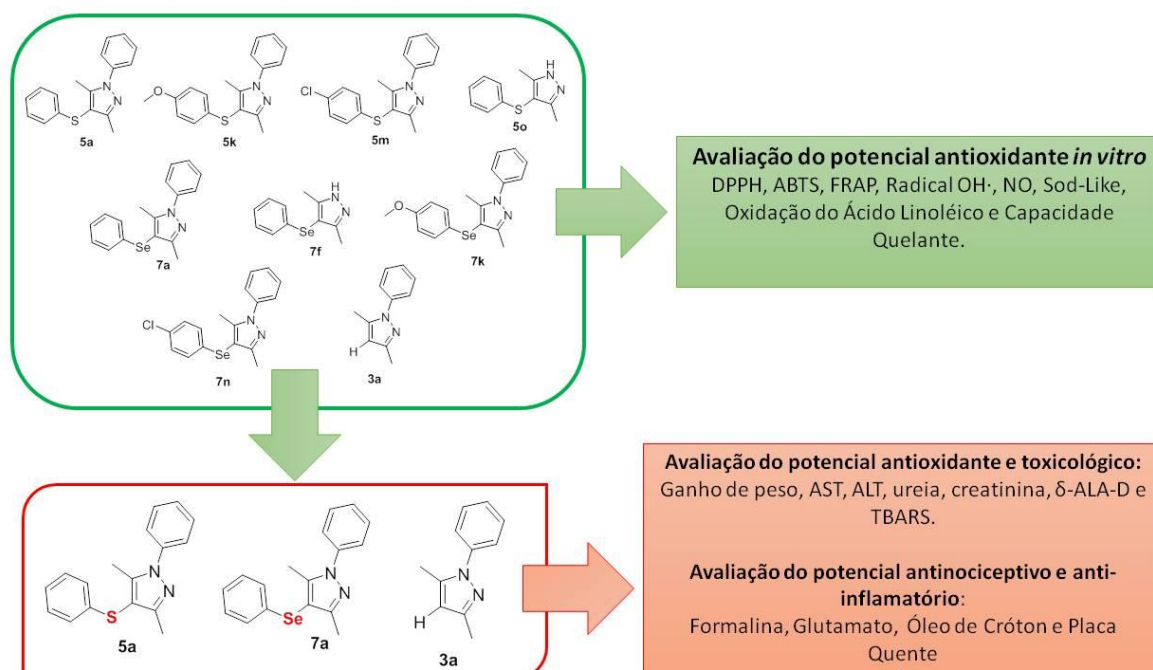


Figura 39. Protocolo geral para avaliação do potencial farmacológico dos 4-(arilcalcogenil)-1H-pirazóis.

Atividade antioxidante *in vitro*

(a) Ensaio de neutralização das espécies radicalares de 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade “scavenger” do radical de DPPH foi avaliada de acordo com o método descrito na literatura com algumas modificações.⁹¹ Para isso, 10 µL de uma solução com diferentes concentrações (10-500 µM) dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foram misturados a 990 µL de uma solução etanólica contendo os radicais de DPPH (50 µM). Posteriormente, essa mistura foi agitada e incubada durante 30 min a 30 °C ao abrigo da luz. Em seguida, leu-se a absorbância num comprimento de onda de 517 nm, onde um decréscimo na absorbância indica a neutralização dos radicais de DPPH. Os resultados obtidos no ensaio foram calculados a partir da equação abaixo e expressos em porcentagem de inibição dos radicais de DPPH (decréscimo da absorbância) em relação aos valores do controle.

$$\% I_{DPPH} = [(A_c - A_a / A_c) \times 100]$$

Onde A_c é a absorbância do controle e A_a é a absorbância da amostra analisada.

(b) Ensaio de neutralização das espécies radicalares do ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS^{•+})

A avaliação da neutralização do radical cátion do ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS^{•+}) pelos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Re e colaboradores (1999), com algumas modificações.⁹² Inicialmente, para se preparar a solução estoque de radicais ABTS^{•+}, foi misturado 10 mL de solução estoque de ABTS

⁹¹ Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H., Kim, S.K. *Plant Sci.* **2002**, 163, 1161.

⁹² Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, 26, 1231.

(7 mM) com 175 µL da solução de persulfato de sódio (140 mM) ao abrigo da luz. A solução formada ficou em repouso sob refrigeração por 16 horas para que ocorra a formação dos radicais cátion de ABTS^{•+}.

No dia do ensaio, a solução contendo os radicais ABTS^{•+} (solução estoque) foi diluída no tampão fosfato de potássio (5 mM, pH 7,4) na proporção de 1,47 mL para 100 mL. Depois de realizada a diluição, adicionou-se 10 µL da solução contendo a amostra, os 4-amilcalcogeno-1*H*-pirazóis, (10-500 µM) em um tubo de ensaio e em seguida, adicionou-se 990 µL da solução contendo os radicais ABTS^{•+}. A mistura foi vigorosamente agitada e incubada ao abrigo da luz a temperatura ambiente por 30 minutos. Após este período foi lida a absorbância da solução formada em 734 nm, onde a diminuição da absorbância indica a atividade antioxidante da amostra. Os resultados foram expressos em porcentagem de neutralização dos radicais ABTS^{•+} em relação aos valores de controle, de acordo com a equação descrita abaixo, onde A_c é equivalente a absorbância do controle e A_a é a absorbância da amostra analisada.

$$\% I_{ABTS^{•+}} = [(A_c - A_a) / A_c] \times 100$$

(c) Ensaio de neutralização dos radicais hidroxila (OH[•])

A verificação da capacidade dos 4-(amilcalcogenil)-1*H*-pirazóis em neutralizar os radicais hidroxila foi avaliada a partir de um método espectrofotométrico,⁹³ foram adicionados em um tubo de ensaio e nesta ordem os seguintes reagentes: água, salicilato de sódio (20 mM), sulfato ferroso (1,5 mM), solução de diferentes concentrações (10-500 µM) dos compostos pertencentes a classe dos pirazóis e solução de peróxido de hidrogênio (6 mM). Posteriormente a mistura reacional foi vigorosamente agitada e incubada a 37 °C por 1 hora. A absorbância foi medida em 510 nm, onde a diminuição da absorbância indica a inibição da formação dos radicais hidroxila em solução. A atividade de neutralização do radical hidroxila pode ser determinada de acordo

⁹³ Smirnov, N., Cumbe, Q. *Phytochemistry* **1989**, 28, 1057.

com a equação descrita a seguir, onde A_c é a absorbância do controle e A_a é a absorbância da amostra.

$$\text{Atividade scavenger do radical OH}^\bullet \% = [(A_c - A_a/A_c) \times 100]$$

(d) Ensaio de neutralização do radical óxido nítrico (NO $^\bullet$)

O ensaio que avalia a inibição da formação do radical óxido nítrico foi desenvolvido de acordo com o método proposto na literatura com algumas modificações.⁹⁴ Nesse sentido, adicionou-se 10 μ L em tubos de ensaio de uma solução contendo os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis em diferentes concentrações (10-500 μ M) e, na sequência, acrescentou-se uma solução aquosa de nitroprussiato de sódio (NPS, 25 mM), que é uma fonte geradora dos radicais óxido nítrico, incubando-se a mistura reacional por duas horas a 37 °C na presença de luz. Após o período de incubação, transferiu-se uma alíquota de 250 μ L da mistura reacional para outro tubo de ensaio e adicionou-se uma quantidade equivalente do reagente de Griess. A mistura foi homogeneizada e novamente incubada por 5 min à temperatura ambiente, fazendo-se a leitura da absorbância num comprimento de onda de 570 nm. A diminuição da absorbância indica a inibição da formação do radical oxido nítrico pela amostra testada.

(e) Ensaio de avaliação da capacidade redutora do íon férrico (Fe $^{3+}$) (FRAP)

O ensaio FRAP é um método no qual se busca avaliar a capacidade da amostra, possível antioxidante, em reduzir os íons férrico presente em solução aquosa.⁹⁵ Para realizar este ensaio, foram utilizadas 10 μ L de diferentes concentrações de uma solução contendo os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis (10-500 μ M), as quais foram misturadas a 990 μ L de uma solução de trabalho FRAP. Esta solução de trabalho foi preparada utilizando-se uma solução de triazina (10 mM), cloreto férrico (20 mM) e acetato de sódio (38 mM, pH=3,6). A

⁹⁴ Yen, G.C., Lai, H.H., Chou, H.Y. *Food Chem.* **2001**, 74, 471.

⁹⁵ Stratil, P., Klejdus, B., Kuban, V. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 607.

mistura reacional foi incubada por 40 min a 37 °C ao abrigo da luz. Posteriormente foi realizada a leitura da absorbância da solução em um comprimento de onda de 593 nm, onde um aumento da absorbância em relação ao controle indica a capacidade redutora da amostra.

(f) Ensaio de avaliação da capacidade quelante do íon ferroso

A propriedade quelante dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi estudada de acordo com uma metodologia proposta na literatura, onde o método também está relacionado ao íon ferroso.²¹ Nesse sentido, um volume de 10 µL de uma solução contendo os pirazóis em diferentes concentrações (10-500 µM) foi misturada a 10 µL de uma solução de sulfato ferroso e 10 µL de triazina (5 mM em HCl 40 mM), sendo o volume ajustado para 500 µL com água destilada. O efeito quelante do íon ferroso foi monitorado pela absorbância do controle (máxima) em um comprimento de onda de 570 nm. O percentual de inibição da formação do complexo Fe²⁺ - triazina foi calculado pela equação:

$$\text{Efeito quelante de íons Fe}^{2+} (\%) = (A_c - A_a / A_c) \times 100$$

Onde A_c é a absorbância do controle e A_a a absorbância da amostra contendo o composto.

(g) Avaliação da atividade superóxido dismutase (SOD-like) in vitro

A atividade SOD-like dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi avaliada de acordo com um método⁹⁶ no qual um volume de 10 µL da solução contendo a amostra (10-500 µM) é misturada a 980 µL de Tris-HCl em EDTA (50 mM, pH 8,5) e 10 µL de pirogalol. A solução formada é incubada a temperatura ambiente por 10 minutos. Posteriormente, adiciona-se a essa mistura 500 µL de uma solução de HCl 1mol/L e após 10 minutos lê-se a absorbância em 420 nm. A atividade SOD-like pode ser determinada pelo decréscimo da

⁹⁶ Marklund, S. Marklund, G. *Eur. J. Biochem.* **1974**, 47, 469.

absorbância em relação ao controle pela equação abaixo, onde A_c é a absorbância do controle e A_a é a absorbância da amostra contendo o pirazol.

$$\% \text{ SOD-like} = (A_c - A_a / A_c) \times 100$$

(h) Avaliação da capacidade de inibição da oxidação do ácido linoléico

A avaliação da capacidade dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis em inibir a peroxidação lipídica foi realizada de acordo com uma metodologia proposta na literatura com algumas modificações.⁹⁷ A peroxidação lipídica foi induzida por NPS. Assim, foram pipetados em um tubo de ensaio o Tris-HCl (100 mM, pH 7,5), solução contendo a amostra em diferentes concentrações (10 – 500 μ M), ácido linoleico (20 mM) e NPS (25 mM). Posteriormente, os tubos foram vigorosamente agitados e incubados por 30 min a uma temperatura de 37 °C. Após o período inicial de incubação, a reação foi parada com a adição de solução de ácido tricloroacético (5,5%). Em seguida, transferiu-se uma alíquota do meio reacional para outro tubo de ensaio, adicionando-se uma quantidade equivalente de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram novamente incubadas por 10 min a 90 °C, e posteriormente a reação foi parada com a adição dos tubos em banho de gelo. Para se proceder a análise pelo método espectrofotométrico, a fase orgânica da mistura reacional foi extraída com butanol, procedendo-se a leitura em um comprimento de onda de 532 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de oxidação, onde a oxidação do induzido foi considerada máxima e o decréscimo da oxidação (verificado pela diminuição da absorbância) indica um efeito positivo de proteção da peroxidação lipídica apresentada pelos 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis testados.

Potencial toxicológico

Para avaliação da possível toxicidade aguda dos compostos, os animais foram divididos em quatro grupos de 5 animais cada, no qual o primeiro grupo recebeu somente o veículo e os demais grupos receberam uma única dose dos

⁹⁷ Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. *Anal. Biochem.* **1979**, 95, 351.

respectivos compostos (300 mg/Kg) e após 72h foi realizada a eutanásia. O ganho de peso dos animais foi observado, como sendo um sinal da possível toxicidade do composto. Depois de 72h, os animais foram anestesiados para o procedimento de coleta de sangue via punção cardíaca. O sangue foi coletado diretamente em um tubo contendo heparina sódica e foi centrifugado à 2000 rpm por 10 minutos, e utilizado para ensaios bioquímicos de avaliação de toxicidade.

Como um marcador de dano hepático, foram analisadas as atividades das enzimas plasmáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). A função renal foi analisada através da quantificação dos níveis de ureia e creatinina. Todos os parâmetros foram determinados através de métodos colorimétricos utilizando kits comerciais (Labtest Diagnostica). A AST e ALT foram expressas em UI/L, e a creatinina e ureia foram expressas em mg/dL. Além disso, foi realizado o ensaio de avaliação da atividade da enzima delta-aminolevulinato desidratase (δ -ALA D), através da quantificação dos níveis de porfobilinogênio (PBG) nos tecidos rim, fígado e cérebro total dos animais, e o resultado obtido foi expresso em nmolPBG/mg de proteína/hora.

Potencial antinociceptivo e anti-inflamatório

(a) Nocicepção induzida por formalina e edema de pata

O modelo de nocicepção induzida pela formalina permite avaliar dois tipos distintos de nocicepção: a de origem neurogênica (estimulação direta das fibras nociceptivas) e a de origem inflamatória (caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios). Para a avaliação comportamental, os camundongos foram previamente divididos em grupos e tratados com os compostos nas doses de 0,001, 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 50 mg/kg pela via oral (v.o.) ou seu veículo (óleo de canola) ou o controle positivo (celecoxib). Após 30 min de tratamento, os animais receberam a administração de 20 μ l de formalina 2,5% (0,92% de formaldeído) na região intraplantar (i.pl.) na superfície ventral da pata de sustentação traseira. Os animais foram individualmente observados. O tempo em que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada com

formalina foi cronometrado. A fase neurogênica compreende os 5 primeiros minutos de observação. A fase inflamatória se dá entre 15 e 30 minutos após a injeção da formalina.⁹⁸

A avaliação da formação do edema gerado na pata, induzido pela formalina, foi feita imediatamente após a eutanásia, onde a pata direita (com salina) e esquerda (com formalina) foram retiradas e pesadas em uma balança analítica. O resultado da subtração do peso da pata que recebeu formalina, do peso da pata que recebeu somente salina, é um indicativo, quando comparado ao controle, se houve redução ou não do edema gerado pela formalina quando o animal recebeu como tratamento os 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis.

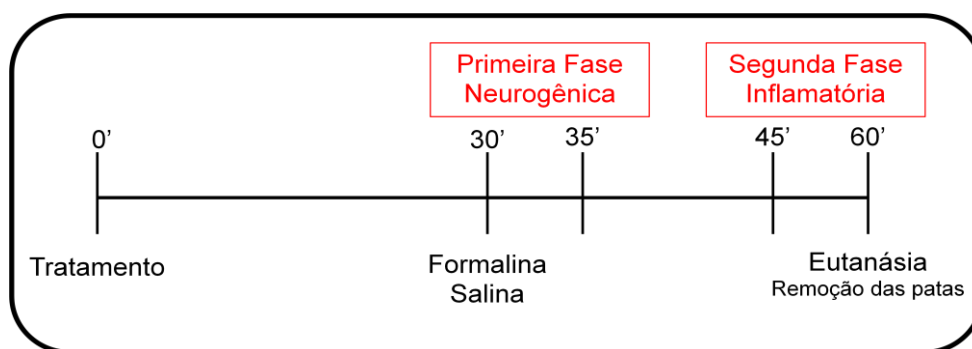


Figura 40. Protocolo experimental da atividade antinociceptiva no teste de indução de nocicepção por formalina.

(b) Nocicepção induzida por glutamato

Assim como a formalina, o glutamato é um agente químico indutor de nocicepção. Para a avaliação comportamental, de acordo com protocolo previamente reportado na literatura,⁹⁹ os camundongos foram divididos em grupos no dia do experimento e receberam previamente os compostos pertencentes a classe dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis nas doses de 0,01, 0,1, 1, 5, 10, 50 e 100 mg/kg pela via oral (p.o.) ou seu veículo (óleo de canola) ou o controle positivo (celecoxib). Após 30 minutos, o animal foi submetido à injeção de glutamato (20 μ M; 1,87g em 10 ml de água destilada) na pata

⁹⁸ Corrêa, C.R.; Calixto, J.B. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, *110*, 193.

⁹⁹ Beirith, A.; Santos, A.R.; Calixto, J.B. *Brain Res.* **2002**, *924*, 219.

posterior, para avaliação da possível atividade antinociceptiva do composto. Os animais foram observados individualmente por 15 minutos e o tempo em que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo a pata injetada com glutamato foi cronometrado como um indicativo de nocicepção.

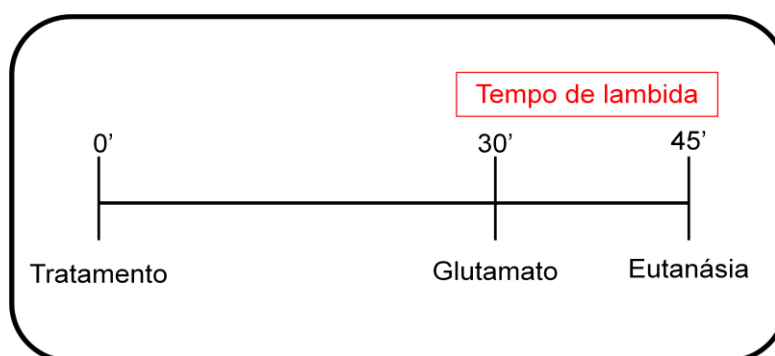


Figura 41. Protocolo experimental da atividade antinociceptiva no teste de indução de nocicepção por glutamato.

(c) *Teste da Placa Quente*

A atividade antinociceptiva dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis foi avaliada no teste da placa quente, o qual é um modelo de dor sensível para drogas analgésicas que atuam no sistema nervoso central. Os animais foram colocados dentro de um cilindro de acrílico sobre a superfície de uma placa de metal previamente aquecida a 52 ± 1 °C (aparelho de placa quente). O tempo em segundos que o animal levou para lamben, morder ou levantar as patas dianteiras sobre a placa previamente aquecida, foi cronometrado e considerado como indicativo de efeito antinociceptivo.¹⁰⁰

Cada animal foi selecionado conforme sua resposta ao modelo (pré-teste – 24 horas antes do teste), sendo desprezados aqueles que permaneceram acima dos 30 segundos na placa aquecida sem reagir ao estímulo térmico na temperatura de 52 ± 1 °C. O tempo máximo permitido de permanência dos animais no aparelho de placa quente foi de 40 segundos para evitar danos teciduais aos animais, o qual será considerado como índice total de analgesia.

¹⁰⁰ Eddy; N.B.; Leimbach, D. J. *Pharmacol. Exp. Ther.* **1953**, 107, 385.

Os animais, no dia do experimento, foram divididos em grupos e pré-tratados com os compostos pertencentes a classe dos 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis nas doses de 1 e 10 mg/Kg (v.o.). Após 30 minutos do tratamento, os animais foram colocados sobre a placa quente. O tempo de permanência dos animais na placa quente, tempo de latência (Δt), foi calculado para cada animal: Δt (s) = tempo de permanência pós-tratamento – tempo de permanência no treinamento.

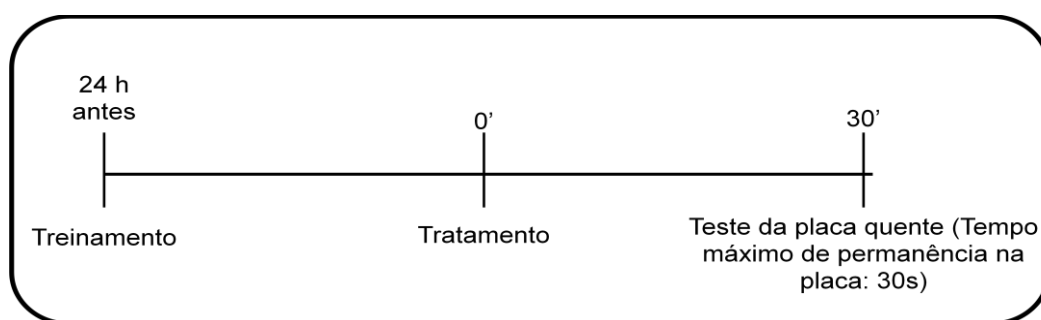


Figura 42. Protocolo experimental para avaliação antinociceptiva no teste da placa quente em camundongos

*(d) Avaliação da atividade anti-inflamatória dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis*

Para avaliar a possível atividade anti-inflamatória dos 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis, foram realizados o ensaio de indução do edema de pata pela formalina (previamente descrito) e a indução do edema na orelha por óleo de cróton em camundongos.

Edema de orelha induzido por óleo de cróton

Com o intuito de investigar a possível ação anti-inflamatória dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, foi desenvolvido o experimento de indução do edema de orelha induzido por óleo de cróton de acordo com protocolos experimentais pré-existentes.¹⁰¹ Para isso os camundongos foram pré-tratados com os compostos pertencentes a classe dos 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis (10 mg/Kg, v.o.), ou com celecoxib (fármaco de referência, 10 mg/Kg, v.o.), ou

¹⁰¹ Tubaro, A.; Dri, P.; Delbello, G.; Zilli, C.; Dellaloggia, R. *Agents Actions*. **1986**, 17, 347.

somente com o veículo (óleo de canola). Trinta minutos após a administração dos tratamentos, foi administrado 20 µL de maneira sub-cutânea (s.c.) na orelha direita do animal uma solução de acetona contendo 2,5% de óleo de cróton com o objetivo de induzir inflamação cutânea. Na orelha esquerda, foi administrado 20 µL de acetona. Após 4 horas da administração, os animais foram eutanasiados e as orelhas foram removidas e pesadas para análise da formação de edema.

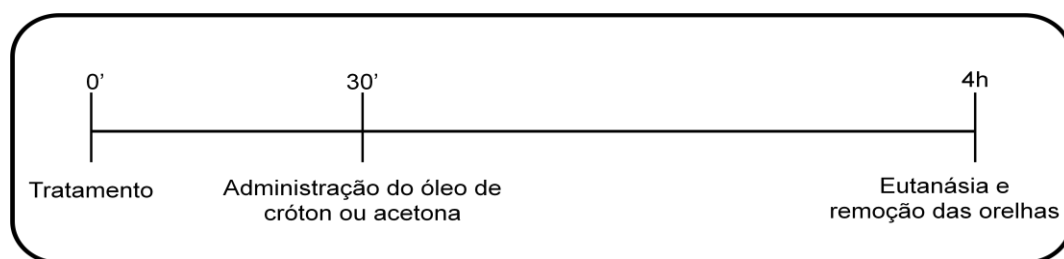


Figura 43. Protocolo experimental para avaliação da inflamação induzida por óleo de cróton em camundongos.

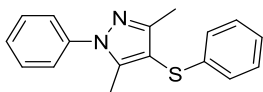
(e) Ensaio do campo aberto

Para avaliar se a administração dos compostos estudados, os 4-(arilcalcogenil)-1*H*-pirazóis, interfere na atividade locomotora dos animais, o ensaio do campo aberto foi realizado. Este experimento é realizado em uma caixa de madeira de aproximadamente 35 cm de altura, 45 cm de comprimento e 45 cm de largura, a qual é dividida por 9 quadrantes iguais (3 colunas com 3 quadrantes cada). Para o desenvolvimento do ensaio, os animais foram tratados com os 4-arilcalcogeno-1*H*-pirazóis ou com óleo de canola. Após 30 min do tratamento, o animal foi colocado no quadrante central da caixa de teste e foi contado o número de quadrantes que o animal percorreu, cruzando com as 4 patas, durante 5 minutos.¹⁰²

¹⁰² Walsh, R.N.; Cummins, R.A. *Psychology Bulletin*. **1976**, 83, 482.

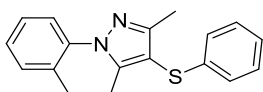
5.3. Dados espectrais de RMN ^1H , RMN ^{13}C e EM

5.3.1. Dados espectrais dos 4-(ariltio)-1*H*-pirazóis



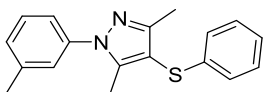
3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol (5a):

Rendimento 89%; sólido amarelo; PF 66-68 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7,49 – 7,37 (m, 5H), 7,26 – 7,19 (m, 2H), 7,18 – 7,04 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 153,10, 144,01, 139,80, 138,27, 129,07, 128,82, 127,71, 125,46, 124,87, 124,65, 106,18, 11,98, 11,47. EM (intensidade relativa) m/z: 283 (3), 282 (7), 281 (26), 280 (M^+ , 100), 279 (3), 247 (23), 232 (15), 206 (10), 130 (10), 118 (98), 91 (13), 77 (88), 51 (23). EMAR calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 281,1106. Encontrado: 281,1112.



3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*o*-toluil-1*H*-pirazol (5b):

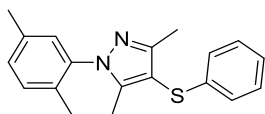
Rendimento 78%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7,36 – 7,20 (m, 6H), 7,10 – 7,03 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,08 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 152,74, 145,02, 138,55, 138,53, 135,88, 130,93, 129,30, 128,80, 127,60, 126,59, 125,14, 124,73, 104,21, 17,15, 12,01, 10,36. EM (intensidade relativa) m/z: 296 (6), 295 (20), 294 (M^+ 100), 279 (32), 261 (10), 246 (6), 208 (30), 203 (17), 170 (32), 145 (23), 132 (27), 121 (12), 115 (9), 103 (5), 91 (68), 77 (14), 65 (33), 51 (9). EMAR calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 295,1263. Encontrado: 295,1263.



3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*m*-toluil-1*H*-pirazol (5c):

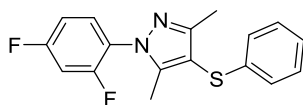
Rendimento 84%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,34 – 7,30 (m, 2H), 7,24 – 7,15 (m, 4H), 7,07 – 7,04 (m, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 152,78, 143,84, 139,51, 139,09, 138,15, 128,67, 128,63, 128,37, 125,22, 125,18, 124,68, 121,42, 105,75, 21,13, 11,88, 11,33. EM (intensidade relativa) m/z: 297 (1), 296 (5), 295 (20), 294 (M^+ 100), 279 (3), 261 (21), 246 (12), 221 (17), 204 (2), 194 (3),

144 (6), 132 (50), 121 (3), 91 (44), 77 (7), 65 (19), 51 (5). EMAR calculado para $C_{18}H_{19}N_2S$: $[M + H]^+$ 295,1263. Encontrado: 295,1265.



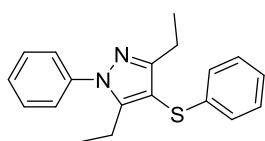
1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1H-pirazol

(5d): Rendimento 77%; óleo laranja. 1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 7,27 – 7,20 (m, 4H), 7,12 – 7,02 (m, 4H), 2,36 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,04 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 152,70, 145,00, 138,69, 138,42, 136,53, 132,53, 130,70, 130,07, 128,82, 128,14, 125,24, 124,75, 104,17, 20,64, 16,69, 12,01, 10,40. EM (intensidade relativa) m/z: 311 (1), 310 (6), 309 (23), 308 (M^+ 100), 307 (9), 293 (26), 275 (9), 260 (3), 222 (24), 199 (15), 184 (22), 159 (22), 146 (15), 131 (4), 121 (7), 105 (14), 103 (11), 91 (18), 77 (21), 51 (6). EMAR calculado para $C_{19}H_{21}N_2S$: $[M + H]^+$ 309,1419. Encontrado: 309,1416.



1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1H-pirazol

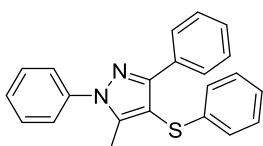
(5e): Rendimento 75%; óleo laranja. 1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 7,52 – 7,46 (m, 1H), 7,25 – 7,22 (m, 2H), 7,13 – 7,08 (m, 1H), 7,06 – 6,98 (m, 4H), 2,27 (s, 3H), 2,20 (d, J = 1,6 Hz). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 162,62 (dd, J = 252,0 e 11,0 Hz), 156,98 (dd, J = 254,0 e 12,0 Hz), 154,01, 146,31, 138,00, 129,94 (dd, J = 10,0 e 1,2 Hz), 128,91, 125,37, 124,96, 123,96 (dd, J = 12,0 e 4,0 Hz), 112,08 (dd, J = 22,0 e 4,0 Hz), 105,76, 104,99 (dd, J = 26,0 e 24,0 Hz), 12,08, 10,40 (d, J = 3,7 Hz). EM (intensidade relativa) m/z: 319 (1), 318 (6), 317 (21), 316 (M^+ 100), 283 (14), 268 (6), 243 (17), 216 (3), 154 (75), 140 (2), 127 (12), 121 (5), 113 (14), 91 (4), 77 (6), 63 (8), 51 (5). EMAR calculado para $C_{17}H_{15}F_2N_2S$: $[M + H]^+$ 317,0918. Encontrado: 317,0918.



3,5-diethyl-1-fenil-4-(feniltio)-1H-pirazol (5f): Yield 85%;

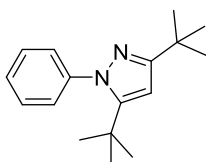
óleo amarelo. 1H RMN ($CDCl_3$, 200 MHz) δ = 7,48 – 7,38 (m, 5H), 7,24 –

7,19 (m, 2H), 7,09 – 7,05 (m, 3H), 2,74 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,68 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,23 (t, $J = 7,5$, 3H), 1,00 (t, $J = 7,5$, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) $\delta = 158,17, 149,76, 139,90, 138,91, 129,12, 128,71, 128,05, 125,27, 125,15, 124,68, 103,97, 20,05, 18,41, 13,55, 13,34$. EM (intensidade relativa) m/z : 311 (1), 310 (6), 309 (21), 308 (M^+100), 276 (19), 275 (89), 260 (5), 246 (3), 231 (6), 217 (4), 132 (33), 121 (5), 115 (3), 104 (8), 91 (12), 65 (4), 77 (51), 51 (12). EMAR calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 309,1419. Encontrado: 309.1421.



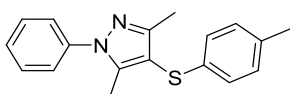
5-metil-1,3-difenil-4-(feniltio)-1H-pirazol (5g):

Rendimento 68%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) $\delta = 7,29 - 7,05$ (m, 15H), 2,34 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 153,88, 146,80, 139,95, 138,57, 129,94, 129,34, 128,87, 128,79, 128,72, 128,24, 127,27, 125,73, 124,96, 124,87, 107,25$. EM (intensidade relativa) m/z : 345 (1), 344 (7), 343 (25), 342 (M^+100), 341 (6), 309 (19), 280 (4), 269 (12), 232 (5), 223 (6), 180 (40), 165 (9), 121 (10), 118 (5), 91 (4), 77 (41), 59 (5), 51 (9). EMAR calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 343,1263. Encontrado: 343.1274.



3,5-di-*tert*-butil-1-fenil-1H-pirazol (3b) [1]:

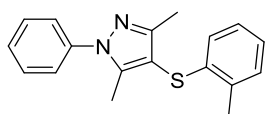
Rendimento 80%; sólido branco; PF 105 – 107 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) $\delta = 7,37 - 7,40$ (m, 5H), 6,0 (s, 1H), 1,33 (s, 9H), 1,15 (s, 9H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) $\delta = 160,43, 153,04, 142,77, 129,01, 128,63, 128,47, 100,17, 31,93, 31,89, 30,90, 30,66$. EM (intensidade relativa) m/z : 256 (M^+28), 255 (7), 242 (17), 241 (100), 225 (5), 214 (17), 185 (18), 143 (3), 113 (3), 91 (5), 77 (14), 57 (12), 51 (3).



3,5-dimetil-1-fenil-4-(*p*-toluiltio)-1H-pirazol (5i):

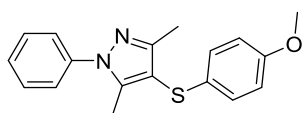
Rendimento 76%; sólido amarelo; PF 95 – 97 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz)

δ = 7,48 – 7,37 (m, 5H), 7,04 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,96 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 2,34 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 153,05, 143,86, 139,87, 134,76, 134,66, 129,62, 129,08, 127,68, 125,87, 124,67, 106,80, 20,77, 12,02, 11,48. EM (intensidade relativa) m/z : 296 (1), 295 (6), 294 (21), 294 (M^+ 21), 293 (100), 260 (19), 245 (13), 231 (3), 220 (25), 193 (4), 147 (3), 135 (3), 130 (5), 118 (72), 105 (5), 103 (4), 91 (10), 77 (56), 65 (8), 51 (10). EMAR calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 295,1263. Encontrado: 295,1267.



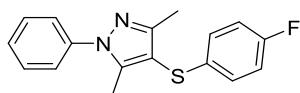
3,5-dimetil-1-fenil-4-(o-toluiltio)-1H-pirazol (5j):

Rendimento 35%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7, 49 – 7,43 (m, 5H), 7,15 – 1,11 (m, 1H), 7,04 – 6,99 (m, 2H), 6,70 – 6,65 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,27 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 153,21, 144,02, 139,80, 137,13, 134,36, 129,98, 129,04, 129,00, 127,66, 126,30, 124,70, 124,61, 124,47, 124,14, 105,59, 19,67, 11,95, 11,42. EM (intensidade relativa) m/z : 297 (1), 296 (6), 295 (26), 294 (M^+ 100), 261 (5), 217 (29), 185 (7), 172 (62), 171 (58), 158 (9), 155 (8), 144 (6), 130 (13), 122 (19), 121 (12), 118 (49), 103 (6), 91 (13), 78 (10), 77 (88), 65 (14), 63 (4), 51 (16). EMAR calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 295,1263. Found: 295,1266.



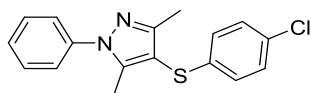
4-(4-metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol (5k):

Rendimento 72%; sólido amarelo; PF 73 – 75 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,45 – 7,44 (m, 4H), 7,37 – 7,34 (m, 1H), 7,06 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,79 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,74 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,30 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 157,88, 152,76, 143,53, 139,81, 129,02, 128,75, 128,15, 127,61, 124,60, 114,63, 107,84, 55,25, 12,03, 11,48. EM (intensidade relativa) m/z : 313 (1), 312 (5), 311 (18), 310 (84), 295 (4), 277 (16), 262 (9), 254 (3), 237 (26), 222 (19), 207 (10), 192 (2), 155 (4), 130 (3), 119 (9), 118 (100), 91 (6), 77 (76), 59 (5), 51 (13). EMAR calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 311,1212. Encontrado: 311,1219.



4-(4-fluorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol (5l):

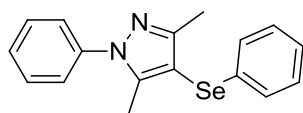
Rendimento 56%; óleo laranja. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7,48 – 7,40 (m, 5H), 7,08 – 6,99 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 160,96 (d, J = 244,5 Hz), 152,90, 143,88, 139,76, 133,24 (d, J = 3,1 Hz), 129,11, 127,80, 127,52 (d, J = 7,7 Hz), 124,67, 115,91 (d, J = 22,1 Hz), 106,74, 12,99 (d, J = 2,4 Hz), 11,45 (d, J = 2,5 Hz). EM (intensidade relativa) m/z : 301 (1), 300 (5), 299 (19), 298 (M^+100), 265 (19), 150 (12), 248 (6), 225 (16), 224 (9), 198 (4), 161 (4), 130 (6), 121 (3), 118 (77), 109 (9), 103 (6), 91 (3), 77 (60), 51 (12). EMAR calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{FN}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 299,1012. Encontrado: 299,1019.



4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol (5m):

Rendimento 64%; sólido amarelo; PF 121 – 123 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,47 – 7,39 (m, 5H), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,97 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 152,98, 144,04, 139,71, 136,94, 130,76, 129,12, 128,94, 127,84, 126,71, 124,66, 105,81, 11,98, 11,42. EM (intensidade relativa) m/z : 317 (6), 316 (37), 315 (19), 314 (M^+100), 281 (17), 266 (6), 246 (21), 241 (14), 231 (2), 214 (3), 204 (4), 155 (4), 139 (3), 131 (3), 125 (6), 119 (9), 118 (94), 108 (5), 91 (5), 77 (87), 59 (6), 51 (19). EMAR calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClN}_2\text{S}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 315,0717. Encontrado: 315,0722.

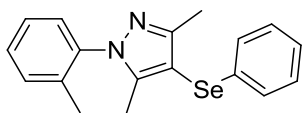
5.3.2. Dados espectrais dos 4-(arilselanil)-1H-pirazóis



3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7a):

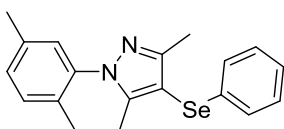
Rendimento 98%; sólido laranja; PF 67 – 69 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7,46 – 7,44 (m, 4H), 7,39 – 7,32 (m, 1H), 7,18 (d, J = 3,95 Hz, 4H), 7,14 – 7,10 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 153,06, 143,86, 139,66, 132,79, 128,98, 128,95, 128,12, 127,56, 125,58, 124,53, 102,42, 12,82, 12,32. EM (intensidade relativa) m/z : 330 (2), 329

(12), 328 (M^+ 12), 327 (65), 326 (8), 325 (35), 324 (13), 248 (23), 247 (29), 246 (100), 231 (7), 206 (5), 171 (3), 130 (8), 118 (34), 115 (3), 103 (5), 91 (4), 78 (9), 77 (90), 65 (5), 51 (24), 41 (3). EMAR calculado para $C_{17}H_{16}N_2Se$: $[M + H]^+$ 329,0551. Encontrado: 329,0543.



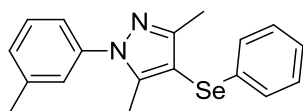
3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-o-toluil-1H-pirazol (7b):

Rendimento 70%; óleo amarelo. 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) δ = 7,37 – 7,31 (m, 2H), 7,25 – 7,13 (m, 7H), 2,42 (s, 3H), 2,37 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 153,08, 144,02, 139,70, 139,27, 132,96, 129,09, 128,76, 128,52, 128,23, 125,67, 125,47, 121,67, 102,30, 21,31, 12,91, 12,42. EM (intensidade relativa) m/z: 344 (12), 343 (9), 342 (M^+ 67), 341 (9), 340 (33), 339 (13), 338 (12), 325 (2), 281 (3), 262 (85), 261 (91), 246 (30), 232 (9), 221 (11), 220 (17), 207 (4), 204 (8), 185 (5), 178 (3), 169 (7), 157 (6), 144 (13), 132 (49), 128 (5), 115 (14), 106 (4), 103 (6), 92 (9), 91 (100), 89 (12), 77 (29), 65 (53), 51 (19), 41 (4). EMAR calculado para $C_{18}H_{18}N_2Se$: $[M + H]^+$ 343,0708. Encontrado: 343,0691.



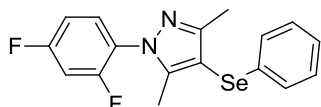
1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7c):

Rendimento 68%; óleo amarelo. 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) δ = 7,25 – 7,07 (m, 8H), 2,37 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,03 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 152,70, 145,14, 139,18, 136,14, 135,48, 133,29, 131,49, 129,05, 127,89, 127,34, 127,18, 125,52, 100,25, 21,13, 17,07, 12,92, 11,26. EM (intensidade relativa) m/z: 358 (19), 357 (21), 356 (M^+ 100), 355 (15), 354 (50), 352 (20), 341 (9), 339 (4), 276 (29), 275 (62), 261 (58), 260 (25), 246 (8), 234 (12), 222 (17), 220 (10), 198 (8), 184 (30), 169 (7), 159 (22), 157 (15), 146 (20), 131 (16), 115 (17), 105 (28), 103 (26), 91 (31), 79 (38), 77 (64), 65 (15), 51 (14), 41 (4). EMAR calculado para $C_{19}H_{20}N_2Se$: $[M + H]^+$ 357,0864. Encontrado: 357,0869.



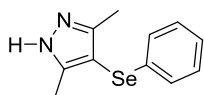
3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-m-toluil-1H-pirazol (7d):

Rendimento 70%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7,28 – 7,23 (m, 2H), 7,16 – 7,08 (m, 7H), 2,33 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 153,05, 143,99, 139,68, 139,24, 132,94, 129,06, 128,74, 128,50, 128,20, 125,65, 125,45, 121,65, 102,28, 21,29, 12,89, 12,40. EM (intensidade relativa) m/z: 344 (15), 343 (2), 342 (M^+ 67), 340 (34), 338 (13), 263 (16), 261 (100), 246 (31), 244 (13), 232 (10), 221 (11), 220 (16), 205 (5), 169 (5), 157 (5), 143 (8), 132 (33), 130 (11), 117 (4), 115 (10), 91 (74), 77 (22), 65 (37), 51 (14), 41 (3). EMAR calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{Se}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 343,0708. Encontrado: 343,0708.



1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7e):

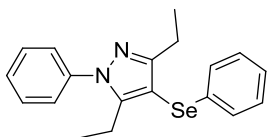
Rendimento 42%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7,52 – 7,44 (m, 1H), 7,24 – 7,14 (m, 5H), 7,04 – 6,97 (m, 2H), 2,31 (s, 3H), 2,23 (d, J = 1,66 Hz, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 162,54 (dd, J = 251,9 e 11,1 Hz), 156,94 (dd, J = 254,3 e 12,6 Hz), 154,09, 146,22, 132,67, 129,91 (dd, J = 10,1 e 1,4 Hz), 129,13, 128,22, 125,76, 124,01 (dd, J = 12,4 e 4,0 Hz), 112,01 (dd, J = 22,5 e 3,9 Hz), 104,93 (dd, J = 26,4 e 23,7 Hz), 101,97, 12,93, 11,24 (d, J = 3,6 Hz). EM (intensidade relativa) m/z: 366 (12), 365 (6), 364 (M^+ 59), 362 (30), 284 (99), 283 (63), 269 (7), 268 (18), 263 (9), 256 (8), 243 (11), 242 (16), 236 (4), 222 (5), 207 (8), 194 (2), 166 (6), 155 (13), 154 (100), 143 (5), 140 (7), 128 (16), 127 (28), 113 (42), 103 (9), 91 (6), 77 (32), 65 (11), 63 (3), 41 (6). EMAR calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{N}_2\text{Se}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 365,0363. Encontrado: 365,0366.



3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7f):

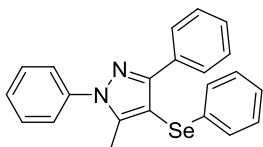
Rendimento 85%; sólido branco; PF 91 – 93 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,11 – 7,19 (m, 5H), 2,33 (s, 6H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 149,03, 133,12, 129,09, 128,16, 125,64, 100,09, 11,97. EM (intensidade relativa) m/z: 254 (9), 253

(6), 252 (M^+ 47), 251 (4), 250 (25), 249 (9), 248 (10), 172 (100), 171 (60), 157 (10), 144 (14), 130 (23), 115 (6), 95 (16), 91 (7), 77 (26), 51 (28), 42 (62). EMAR calculado para $C_{11}H_{13}N_2Se$: $[M + H]^+$ 253,0244. Encontrado: 253,0252.



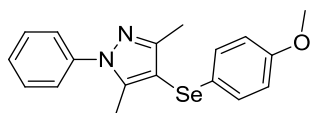
3,5-dietil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7g):

Rendimento 78%; óleo laranja. 1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 7,47 – 7,45 (m, 4H), 7,41 – 7,35 (m, 1H), 7,20 – 7,15 (m, 4H), 7,13 – 7,09 (m, 1H), 7,77 (q, J = 7,55 Hz, 2H), 2,72 (q, J = 7,55 Hz, 2H), 1,23 (t, J = 7,56 Hz, 3H), 0,99 (t, J = 7,56 Hz, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 158,24, 149,68, 140,10, 133,63, 129,07, 128,98, 128,12, 127,99, 125,56, 125,35, 100,41, 20,84, 19,15, 13,82, 13,62. EM (intensidade relativa) m/z : 358 (7), 357(8), 356 (M^+ 7), 355 (30), 353 (16), 326 (1), 276 (24), 275 (100), 260 (6), 246 (5), 231 (6), 217 (1), 204 (3), 197 (6), 183 (4), 169 (3), 155 (2), 143 (4), 132 (16), 128 (2), 117 (5), 104 (6), 91 (8), 77 (46), 65 (3), 51 (9), 41 (2). EMAR calculado para $C_{19}H_{20}N_2Se$: $[M + H]^+$ 357,0865. Encontrado: 357,0905.



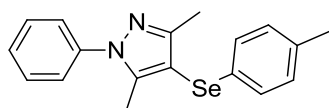
5-metil-1,3-difenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (7j):

Rendimento 75%; óleo amarelo. 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) δ = 7,30 – 7,23 (m, 8H), 7,20 – 7,12 (m, 7H), 2,38 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 153,93, 146,89, 139,84, 133,21, 130,09, 129,89, 129,10, 128,73, 128,63, 128,48, 128,12, 127,15, 125,75, 124,75, 103,35, 13,00. EM (intensidade relativa) m/z : 392 (10), 391 (7), 390 (M^+ 15), 389 (58), 387 (30), 311 (22), 310 (100), 309 (99), 293 (5), 280 (7), 270 (7), 268 (12), 241 (1), 232 (9), 218 (8), 205 (6), 190 (6), 180 (21), 178 (7), 165 (16), 152 (3), 130 (5), 127 (7), 118 (4), 102 (7), 91 (6), 89 (15), 77 (93), 51 (30), 41 (2). EMAR calculado para $C_{22}H_{18}N_2Se$: $[M + H]^+$ 391,0635. Encontrado: 391,0642.



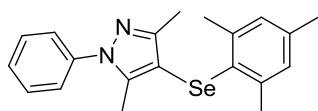
4-(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol

(7k): Rendimento 71%; óleo vermelho. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7,49 – 7,43 (m, 4H), 7,39 – 7,33 (m, 1H), 7,20 (d, J = 8,87 Hz, 2H), 6,77 (d, J = 8,87 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,34 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 158,41; 152,87, 143,53, 139,81, 131,02, 129,02, 127,61, 124,66, 122,60, 114,84, 103,82, 55,21, 12,95, 12,43. EM (intensidade relativa) m/z : 360 (8), 359 (2), 358 (M^+ 23), 356 (11), 354 (4), 280 (2), 279 (20), 278 (100), 277 (12), 264 (7), 263 (38), 247 (2), 235 (2), 222 (4), 194 (1), 186 (1), 179 (1), 160 (1), 139 (5), 130 (3), 118 (20), 91 (2), 77 (34), 63 (3), 51 (7), 41 (3). EMAR calculada para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OSe}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 359,0657. Encontrado: 359,0683.



3,5-dimetil-1-fenil-4-(p-toluiselanil)-1H-pirazol (7l):

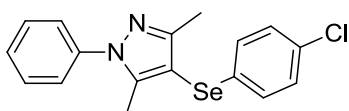
Rendimento 80%; sólido amarelo; PF 85 – 86 °C. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7,48 – 7,46 (m, 4H), 7,40 – 7,36 (m, 1H), 7,13 – 7,10 (m, 2H), 7,04 – 7,01 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,28 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 153,16, 143,88, 139,87, 135,67, 129,93, 129,08, 128,99, 128,75, 127,69, 124,74, 103,00, 20,92, 12,95, 12,46. EM (intensidade relativa) m/z : 344 (12), 343 (6), 342 (M^+ 39), 340 (22), 339 (8), 262 (100), 261 (53), 246 (19), 244 (7), 232 (7), 220 (13), 204 (5), 171 (7), 169 (5), 156 (2), 144 (8), 130 (11), 118 (46), 115 (6), 103 (7), 91 (19), 89 (7), 77 (86), 63 (6), 51 (19), 41(4). EMAR calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{Se}$: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 343,0708. Encontrado: 343,0699.



4-(mesitilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol (7m):

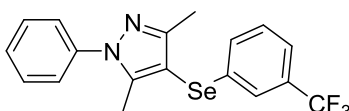
Rendimento 72%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,41 – 7,34 (m, 5H), 6,86 (s, 2H), 2,43 (s, 6H), 2,23 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,16 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 151,61, 141,61, 141,39, 139,77, 137,38, 128,86, 128,70, 127,77, 127,32, 124,56, 104,16, 23,87, 20,70, 12,79, 12,11.

EM (intensidade relativa) m/z: 372 (14), 371 (17), 370 (M^+ 74), 369 (18), 368 (40), 367 (15), 366 (14), 289 (9), 278 (3), 251 (2), 200 (28), 198 (100), 196 (51), 196 (26), 195 (22), 183 (10), 171 (12), 158 (16), 130 (7), 118 (42), 117 (19), 115 (14), 91 (19), 77 (61), 65 (7), 51 (11), 41 (5). EMAR calculado para $C_{20}H_{22}N_2Se$: $[M + H]^+$ 371,1021. Encontrado: 371,1021.



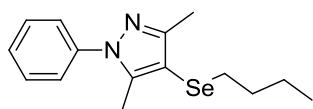
4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-

pirazol (7n): Rendimento 84%; sólido branco; PF 88 – 89 °C. 1H RMN ($CDCl_3$, 300 MHz) δ = 7,48 – 7,46 (m, 4H), 7,41 – 7,35 (m, 1H), 7,19 – 7,10 (m, 4H), 2,37 (s, 3H), 2,32 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 75 MHz) δ = 153,07, 144,02, 139,70, 131,75, 131,20, 129,58, 129,18, 129,11, 127,82, 124,70, 102,31, 12,87, 12,38. EM (intensidade relativa) m/z: 364 (11), 363 (4), 362 (M^+ 17), 361 (81), 359 (42), 346 (2), 284 (31), 282 (100), 281 (73), 266 (12), 264 (6), 251 (5), 246 (37), 240 (10), 230 (4), 219 (3), 205 (10), 204 (9), 190 (2), 171 (4), 164 (5), 154 (4), 130 (9), 123 (4), 118 (56), 115 (5), 104 (4), 91 (3), 77 (91), 65 (6), 51 (20), 41 (4). EMAR calculado para $C_{17}H_{15}ClN_2Se$: $[M + H]^+$ 363,0159. Encontrado: 363,0143.



3,5-dimetil-1-fenil-4-((4-trifluorometil)fenilselanil)-

1H-pirazol (7o): Rendimento 65%; óleo amarelo. 1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 7,48 – 7,47 (m, 5H), 7,43 – 7,38 (m, 2H), 7,31 – 7,29 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,33 (s, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 153,10, 144,21, 139,69, 134,42, 131,40 (q, J = 32 Hz), 131,21 (q, J = 1,3 Hz), 129,38, 129,13, 127,92, 124,79, 124,67 (q, J = 3,1 Hz), 123,71 (q, J = 272 Hz), 122,50 (q, J = 3,8 Hz), 101,62, 12,81, 12,31. EM (intensidade relativa) m/z: 398 (14), 397 (15), 396 (M^+ 70), 395 (9), 394 (38), 392 (15), 377 (4), 317 (10), 316 (61), 315 (89), 300 (18), 298 (13), 103 (8), 91 (4), 77 (100), 63 (4), 51 (21), 41 (1). EMAR calculado para $C_{18}H_{15}F_3N_2Se$: $[M + H]^+$ 397,0452. Encontrado: 397,0469.



4-(butilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol (7p):

Rendimento 70%; óleo amarelo. ^1H RMN (CDCl_3 , 300 MHz) δ = 7,47 – 7,38 (m, 5H), 2,58 (t, J = 7,32 Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 1,58 (quin, J = 7,51 Hz, 2H), 1,42 (sex, J = 7,51 Hz, 2H), 0,90 (t, J = 7,32 Hz, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 75 MHz) δ = 152,83, 143,19, 139,98, 128,95, 127,43, 124,65, 103,23, 32,33, 28,29, 22,68, 13,51, 13,02, 12,49. EM (intensidade relativa) m/z : 310 (5), 309 (5), 308 (M^+ 29), 307 (3), 306 (14), 305 (5), 304 (5), 253 (6), 252 (17), 251 (21), 249 (13), 173 (30), 172 (65), 171 (99), 155 (4), 130 (15), 118 (90), 103 (5), 77 (100), 57 (7), 51 (21), 41 (19). EMAR calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{Se}$: $[M + H]^+$ 309,0864. Encontrado: 309,0866.

Capítulo 6

Referências Bibliográficas

1. (a) Dadiboyena, S.; Nefzi, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 46, 5258. (b) Behra, A.K.; Majundar, P.; Pati, A.; Patra, M.; Behera, R.K. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 2942.
2. Kumar, V.; Kaur, K.; Gupta, G.K.; Sharma, A.K. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 69, 735.
3. Tang, M.; Zhang, Fu-Min. *Tetrahedron* **2013**, 69, 1427.
4. (a) Katritzky, A.R.; Pozharskii, A.F. *Em Handbook of Heterocyclic Chemistry*, Second Edition; Pergamon: Oxford, 2000. (b) Eicher, T.; Hauptmann, S. *Em The Chemistry of Heterocycles*, Second Edition; Wiley-VCH, **2003**.
5. Suri, M.; Jousseume, T.; Neumann, J.J.; Glorius, F. *Green Chem.* **2012**, 14, 2193.
6. Wang, J.; Gong, X.; Wang, L. *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 7555.
7. (a) Perin, G.; Lenardão, E.J.; Jacob, R.G.; Panatieri, R.B. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1277. (b) Freudendahl, D.M.; Shahzad, S.A.; Wirth, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 22, 1649. (c) Zeni, G.; Ludtke, D.S.; Panatieri, R.B.; Braga, A.L. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 1032. (d) Petragnani, N.; Stefani, H.A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 1613. (e) Comasseto, J.V.; Gariani, R.A. *Tetrahedron* **2009**, 65, 8447.
8. (a) Wirth, T. *Organoselenium Chemistry*. In *Topics in Current Chemistry*; p 208; Ed.; Springer-Verlag: Heidelberg, 2000. (b) Krief, A. In *Comprehensive Organometallic Chemistry II*; Abel, E. V.; Stone, F.G.A.; Wilkinson, G., Eds.; Pergamon Press: New York, 1995.
9. (a) Braga, A.L.; Ludtke, D.S.; Vargas, F.; Braga, R.C. *Synlett* **2006**, 12, 1453. (b) Braga, A.L.; Vargas, F.; Sehnem, J.A.; Braga, R.C. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9021. (c) Braga, A.L.; Paixao, M.W.; Ludtke, D.S.; Silveira, C.C.; Rodrigues, O.E.D. *Org. Lett.* **2003**, 5, 3635.
10. (a) Zeni, G.; Panatieri, R.B.; Lissner, E.; Menezes, P.H.; Braga, A.L.; Stefani, H.A. *Org. Lett.* **2001**, 3, 819. (b) Marino, J.P.; McClure, M.S.; Holub, D.P.; Comasseto, J.V.; Tucci, F.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1664. (c) Alves, D.; Nogueira, C.W.; Zeni, G. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 50, 8761.
11. Nogueira, C.W.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 6255.

12. (a) Bandgar, P.B.; Gawande, S.S.; Bodage, R.G.; Gawande, N.M.; Khobragade, C.N. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 8168. (b) Winters, M.P.; Subasinghe, N.; Wall, M.; Beck, E.; Brandt, M.R.; Finley, M.F.A.; Liu, Y.; Lubin, M.L.; Neeper, M.P.; Qin, N.; Flores, C.M.; Sui, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 22057. (c) Liu, Z.Q.; Li, Y.F. *Free Radical Biol.Med.* **2012**, *52*, 103.
13. (a) Yang, L.; Okuda, F.; Kobayashi, K.; Nozaki, K.; Tanabe, Y.; Ishii, Y.; Haga, M. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7154. (b) Chang, E.-M.; Lee, C.-T.; Chen, C.-Y.; Wong, F. F.; Yeh, M.-Y. *Aust. J. Chem.* **2008**, *61*, 342. (c) Cavero, E.; Uriel, S.; Romero, P.; Serrano, J. L.; Gimenez, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11608. (d) Ye, C.; Gard, G. L.; Winter, R. W.; Syvret, R. G.; Twamley, B.; Shreeve, J. M. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3841.
14. Behr, L. C.; Fusco, R.; Jarboe, C. H. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Pyrazoles, Pyrazolines, Pyrazolidines, Indazoles and Condensed Rings*, Wiley Interscience Publishers, New York, **1967**.
15. Aggarwal, V.K.; de Vicente, J.; Bonnert, R.V. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5381.
16. Fustero, S.; Simón-Fuentes, A.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6984.
17. Gosselin, F.; O'Shea, P.D.; Webster, R.A.; Reamer, R.A.; Tillyer, R.D.; Graboski, E.J.J. *Synlett* **2006**, *19*, 3267.
18. Gharib, A.; Jahangir, M.; Scheeren, J.W. *Synthetic Commun.* **2013**, *43*, 309.
19. Chen, X.; She, J.; Shang, Z-C.; Wu, J.; Zhang, P. *Synthetic Comm.* **2009**, *39*, 947.
20. Varma, R.S.; Leazer, J.; Vaddula, B.R. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1538.
21. (a) N6v6k, Z.; K6vacs, S. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 8987. (b) Doucet, H.; Touzani, R.; Takfaoui, A.; Zhao, L.; Dixneuf, P.H. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 1697.
22. Shen, L.; Cao, S.; Liu, N.; Wu, J.; Zhu, L.; Qian, X. *Synlett* **2008**, *9*, 1341.
23. Despotopoulou, C.; Klier, C.; Knoche, P. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3326.
24. Antilla, J. C.; Baskin, T.; Barder, T. E.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5578.

25. Takfaoui, A.; Zhao, L.; Touzani, R.; Dixneuf, P. H.; Doucet, H. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 1697.
26. Croce, P. D.; Rosa, C.; Zecchi, G. *J. Chem. Soc.* **1985**, *1*, 2621.
27. Svistunovaa, I.V.; Shapkina, N.P.; Nikolaevav, O.V.; Apanasenkoc, O.A. *Russ. J. Gen. Chem.* **2011**, *81*, 756.
28. Sun, J.; Qiu, J-K.; Zhu, Y-L.; Guo, C.; Hao, W-J.; Jiang, B.; Tu, S-J. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 8217.
29. Zora, M.; Demirci, D.; Kivrak, A.; Kelgokmen. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 993.
30. Zhang, J.; Didierlaurent, S.; Fortin, M.; Lefrançois, D.; Uridad, E.; Vevert, J. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1351.
31. Rainsford, K. D. *Subcell Biochem.* **2007**, *42*, 3.
32. (a) Malmstrom, K.; Daniels, S.; Kotey, P.; Seidenberg, B.C.; Desjardins, P.J. *Clin. Ther.* **1999**, *21*, 1653. (b) Sheng-Fen H.; Lub, C.; Chaoc, C-S.; Tanb, p.; Huangb, y.; Hsiehb, s. w.; Hsiaob, H. T.; Chungb, N. C.; Linb, S. H.; Huangd, P. L.; Lyua, P. C. *Mol. Brain Res.* **2004**, *125*, 113. (c) Ushiyama, S.; Yamada, T.; Murakami, Y.; Kumakura, S.; Inoue, S.; Suzuki, K.; Nakao, A.; Kawara, A.; Kimura, T. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *578*, 76. (d) Prasanna, S.; Manivannan, E.; Chaturvedi, S. C.; *Bioorg Med Chem Lett.* **2005**, *15*, 2097.
33. Qjao, J.; Liu, B.; Liao, Z.; Li, Y.; Ma, L.; Dong, C.; Zhou, H.B. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 3782.
34. a) Dinges. J.; Akritopolou-Zane, I.; Arnold, L.D.; Barillozari, T.; Bousquet, P.F.; Cunha, G.A.; Ericsson, A.M.; Iwasaki, N.; Michaelides, M.R.; Ogawa, N.; Phelan, K.M.; Rafferty, P.; Sowin, T. J.; Stewart, K.D.; Tokuyama, R.; Xia, Z.; Zhang, H.Q. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4371. (b) Aladesanmi, A. J.; Nia, R.; Nahrstedt, A. *Planta Med.* **1998**, *64*, 90.
35. Malvar, D.M.; Ferreira, R.T.; Castro, R.A.; Castro, L.L.; Freitas, A.C.C.; Costa, E.A.; Florentino, I.F.; Mafra, J.C.M.; Souza, G.E.P.; Vanderlinde, F.A. *Life Sciences* **2014**, *95*, 81.
36. Umesha, B.; Basavaraju, Y. B. *International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* **2013**, *4*, 33.
37. Sribalan, R.; Banuppriya, G.; Kirubavathi, M.; Jayachitra, A.; Padmini, V. *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 5624.

38. Morrissey, P.A.; O'brien, N. *M. Int. Dairy J.* **1998**, *8*, 463.
39. Halliwell, B. *J. Neurochem.* **2006**, *97*, 1634.
40. (a) Barbosa, F.F.; Bandeira, J.M.; Rodrigues, L.M.P.; Bacarin, I.C.S.; Peters, M.A.; Braga, E.B. *Rev. Bras. Plantas Med.* **2010**, *13*, 157. (b) Gülçin, I. *Arch. Toxicol.* **2012**, *86*, 345.
41. (a) Há, B.J.; Lee, S.H.; Kim, H.J.; Lee, J.Y. *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, *29*, 1305. (b) Robbers, C.K.; Sindhu, K.K. *Life Sciences.* **2009**, *84*, 705.
42. Pacher, P.; Beckman, J.S.; Liaudet, L. *Physiol. Rev.* **2007**, *87*, 315.
43. (a) Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. 3 Ed. Oxford University Press, London, 1999. (b) Halliwell, B. *Biochem. Science* **2006**, *31*, 509.
44. De Flora, S.; Izzotti, A. *Mutat. Res.* **2007**, *621*, 517.
45. Araújo, J. M. A. Química de Alimentos : Teoria e Prática. ed. 4º. Ed UFV, 596 p. **2008**.
46. Savegnago, L.; Sacramento, M.; Brod, L.M.P.; Fronzaa, M.G.; Seus, N.; Lenardão, E.J.; Paixão, M.W.; Alves, D. *RSC Advances* **2016**, *6*, 8021.
47. Silva, T.L.; Miolo, L.M.F.; Sousa, F.S.S.; Brod, L.M.P.; Savegnago, L.; Schneider, P.H. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *48*, 6674.
48. (a) Chapman, C.R.; Gavrin, J. *The Lancet.* **1999**, *353*, 2233. (b) Julius, D.; Basbaum, A.I. *Nature* **2001**, *413*, 203. (c) Griffis, C.A.; Compton, P.; Doering, L. *Biol. Res. Nurs.* **2006**, *7*, 297.
49. (a) Bilevicius, E.; Kolesar, T. A.; Kornelsen, J. *Brain Science* **2016**, *6*, 1. (b) Senkowski, D.; Höfle, M.; Engel, A.K. *Trends Cogn. Sci.* **2014**, *18*, 319.
50. Garland, E.L. *Prim Care* **2012**, *39*, 561.
51. Millan, M.J. *Prog. Neurobiol.* **1999**, *57*, 1.
52. Veinante, P.; Yalcin, I.; Barrot, M. *J. Mol. Psychiatry* **2013**, *1*, 1.
53. Dubin, A. E.; Patapoutian, A. *J. Clin. Invest.* **2010**, *120*, 3760.
54. Bridgestock, C.; Rae, P.R. *Anaesth. Intens. Care* **2013**, *14*, 480.
55. (a) Wang, L.X.; Wang, Z. *J. Adv. Drug Deliv. Rev.* **2003**, *55*, 949. (b) Lotshc, J.; Geisslinger, G. *Clin. Pharmacokinet.* **2001**, *40*, 485.
56. Vasileiou, I.; Giaginis, C.; Klonaris, C.; Theocharis, S. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **2011**, *25*, 48.
57. Bouhassira, D.; Attal, N. *Neuroscience* **2016**, *16*, 252.
58. Skeldon, A.; Saleh, M. *Front. Microbiol.* **2011**, *2*, 2.

59. Muley, M. M.; Krustev, E.; Mcdougall, J. J. *CNS Neurosci Ther.* **2016**, 22, 88.
60. Lipnik-Stangelj, M. *Mediators Inflamm.* **2013**, 2013, 1.
61. (a) Reichling, D. B.; Green, P. G.; Levine, J. D. *Pain* **2013**, 154, 2. (b) Voscopoulos, C.; Lema, M. *Br J. Anaesth.* **2010**, 105, 69.
62. Ren, K.; Dubner, R. *Nat. med.* **2010**, 16, 1267.
63. (a) Vergelli, C.; Ciciani, G.; Cilibrizzi, A.; Crocetti, L.; Mannelli, L. C.; Ghelardini, C.; Guerrini, G.; Lacovone, A.; Giovannoni, M. P. *Bioor. Med. Chem.* **2015**, 23, 6237. (b) Ninomiya, M.; Garud, D.R.; Koketsu, M. *Coordination Chemistry Reviews* **2011**, 255, 2968. (c) Trevisan, G. Rossato, M.F.; Walker, C.I.B.; Oliveira, S.; Rosa, F.; Tonello, R.; Silva, C.; Machado, P.; Boligon, A.A.; Martins, M.A.P.; Zanatta, N.; Bonacorso, H.G.; Athayde, M. L.; Rubin, M.; Calixto, J.B.; Ferreira, J. *Neuropharmacol.* **2013**, 73, 261.
64. (a) Brüning, C.A.; Gai, B.M.; Soares, S.M.; Martini, F.; Nogueira, C.W. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2014**, 125, 15. (b) Jesse, Cristiano R.; Wilhelm, E.; Nogueira, C.; Savegnago, L. *Exp. Toxicol. Pathol.* **2009**, 61, 197. (c) Chagas, P.M.; Rosa, S.G.; Sari, M.H.M.; Oliveira, C.E.S.; Canto, R.F.S.; Da Luz, S.C.A.; Braga, A.L.; Nogueira, C.W. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2014**, 118, 87.
65. (a) Nogueira, C.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 6255. (b) Solovyev, N.D.J. *Inorg. Biochem.* **2015**, 153, 1.
66. (a) Martinez, D.M.; Barcellos, A.; Casaril, A.M.; Perin, G.; Schisser, C.H.; Callaghan, K. L.; Savegnago, L. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 2243. (b) Donato, F.; Pavin, N. F.; Goes, A.T.R.; Souza, L.C.; Soares, L. C.; Rodrigues, O.E.D.; Jesse, C.R.; Savegnago, L. *Pharm. Biol.* **2015**, 53, 395. (c) Victoria, F.N.; Radatz, C.S.; Sachini, M.; Jacob, R.G.; Alves, D.; Savegnago, L.; Motta, A.S.; Silva, W.P.; Lenardão, E.J. *Food Control* **2012**, 23, 95.
67. Posser, T.; Moretto, M.B.; Dafre, A. L.; Farina, M.; Rocha, J.B.; Nogueira, C.W.; Zeni, G.; Ferreira, J.D.; Leal, R.B.; Franco, J.L. *Chem. Biol. Interac.* **2006**, 164, 126.
68. Meotti, F.C.; Stangherlin, E.C.; Zeni, G.; Nogueira, C.W.; Rocha, J.B. *Environ. Res.* **2004**, 94, 276.

69. (a) Zasso, F.B.; Gonçalves, C.E.P.; Jung, E.A.C.; Araldi, D.; Zeni, G.; Rocha, J.B.T.; Nogueira, C.W. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2005**, *19*, 283. (b) Rocha, J.T.; Pinton, S.; Gai, B. M.; Nogueira, C.W. *Biol. Trace Elem. Res.* **2013**, *154*, 372.
70. Savegnago, L.; Pinto, L.G.; Jesse, C.R.; Alves, D.; Rocha, J.B.T.; Nogueira, C.W.; Zeni, G. *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, *555*, 129.
71. Donato, F.; Gomes, M.G.; Goes, A.T.R.; Seus, N.; Jesse, C.R.; Savegnago, L. *Life Science* **2013**, *93*, 393.
72. Shafi, A.; Alam, M.M.; Mulakayala, N.; Mulakayala, G.; Vanaja, C.; Kalle, A.M.; Pallu, R.; Alam, M. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 324.
73. Abdelazeem, A.H.; Khan, S.I.; White, S.W.; Sufka, K.J.; McCurdy, C.R. *Biochem. Med. Chem.* **2015**, *13*, 3248.
74. Heravi, M.M.; Mousavizadeh, F.; Ghobadi, N.; Tajbakhsh, M. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 1226.
75. Sing, K.N.; Kumari, K.; Raghuvanshi, D.S.; Jouikov, V. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1130.
76. D'Souza, D.M.; Muller, T.J. *J. Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1095.
77. (a) Klapars, A.; Antilla, J.C.; Huang, X.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7727. (b) Buchwald, S.L.; Antilla, J.C.; Baskin, J.M.; Barder, T.E. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5578.
78. Alves, D.; Lara, R.G.; Contreira, M.E.; Radatz, C.S.; Duarte, L.F.; Perin, G. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 3364.
79. (a) Beletskaya, I.P.; Ananikov, V.P. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1596. (b) Ananikov, V.P.; Zaleskiy, S.S.; Beletskaya, I.P. *Curr. Org. Synth.* **2011**, *8*, 2.
80. (a) Ricordi, V.G.; Thurow, S.; Penteado, F.; Schumacher, R.F.; Perin, G.; Lenardão, E.J.; Alves, D. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 933. (b) Iwasaki, M.; Kaneshika, W.; Tsuchiya, Y.; Nakajima, K.; Nishihara, Y. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 11330. (c) Thurow, S.; Penteado, F.; Perin, G.; Jacob, R.G.; Alves, D. Lenardão, E. J.; *Green Chem.* **2014**, *16*, 3854.
81. (a) Singh, S.P.; Kumar, D.; Batra, H.; Naithani, R.; Rozas, I.; Elguero, J. *Can. J. Chem.* **2000**, *78*, 1109.
82. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, *26*, 1231.

83. (a) Siddhuraju, P., Nithiyantham, S., Francis, G. *Ind. Crops Prod.* **2013**, 43, 261. (b) Arabshahi-Delouee, S.; Urooj, A. *Food Chem.* **2007**, 52, 524. (c) Gülçin, I., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y. *Arabian J. Chem.* **2010**, 5, 489.
84. Gülçin, I. *Arch Toxicol.* **2012**, 86, 345.
85. Niki, E. *Free Radical Biol. Med.* **2009**, 47, 469.
86. Ramachandran, E.; Thomas, S.P.; Poornima, P.; Kalaivani, P.; Prabhakaran, R.; Padma, V.V.; Natarajan, K. E. *J. Med. Chem.* **2012**, 50, 405.
87. (a) Niki, E. *Free Radical Biol. Med.* **2010**, 49, 503. (b) Fan, M.; Goodwin, M.E.; Birrer, M.J.; Chambers, T.C. *Cancer Res.* **2001**, 61, 4450.
88. Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Aruoma, O.I. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1995**, 35, 7.
89. Prauchner, C.A.; Prestes, A.; Rocha, J. B. *Patholl. Res. Pract.* **2011**, 207, 554.
90. Rocha, J.T.; Saraiva, R.A.; Garcia, S.C.; Gravina, F.S.; Nogueira, C.W. *Toxicol. Res.* **2012**, 1, 85.
91. Choi, C.W., Kim, S.C., Hwang, S.S., Choi, B.K., Ahn, H.J., Lee, M.Y., Park, S.H., Kim, S.K. *Plant Sci.* **2002**, 163, 1161.
92. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, 26, 1231.
93. Smirnoff, N., Cumbes, Q. *Phytochemistry* **1989**, 28, 1057.
94. Yen, G.C., Lai, H.H., Chou, H.Y. *Food Chem.* **2001**, 74, 471.
95. Stratil, P., Klejdus, B., Kuban, V. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 607.
96. Marklund, S. Marklund, G. *Eur. J. Biochem.* **1974**, 47, 469.
97. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. *Anal. Biochem.* **1979**, 95, 351.
98. Corrêa, C.R.; Calixto, J.B. *Br. J. Pharmacol.* **1993**, 110, 193.
99. Beirith, A.; Santos, A.R.; Calixto, J.B. *Brain Res.* **2002**, 924, 219.
100. Eddy, N.B.; Leimbach, D. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1953**, 107, 385.
101. Tubaro, A.; Dri, P.; Delbello, G.; Zilli, C.; Dellaloggia, R. *Agents Actions.* **1986**, 17, 347.
102. Walsh, R.N.; Cummins, R.A. *Psychology Bulletin.* **1976**, 83, 482.

Capítulo 7
Espectros Seleccionados

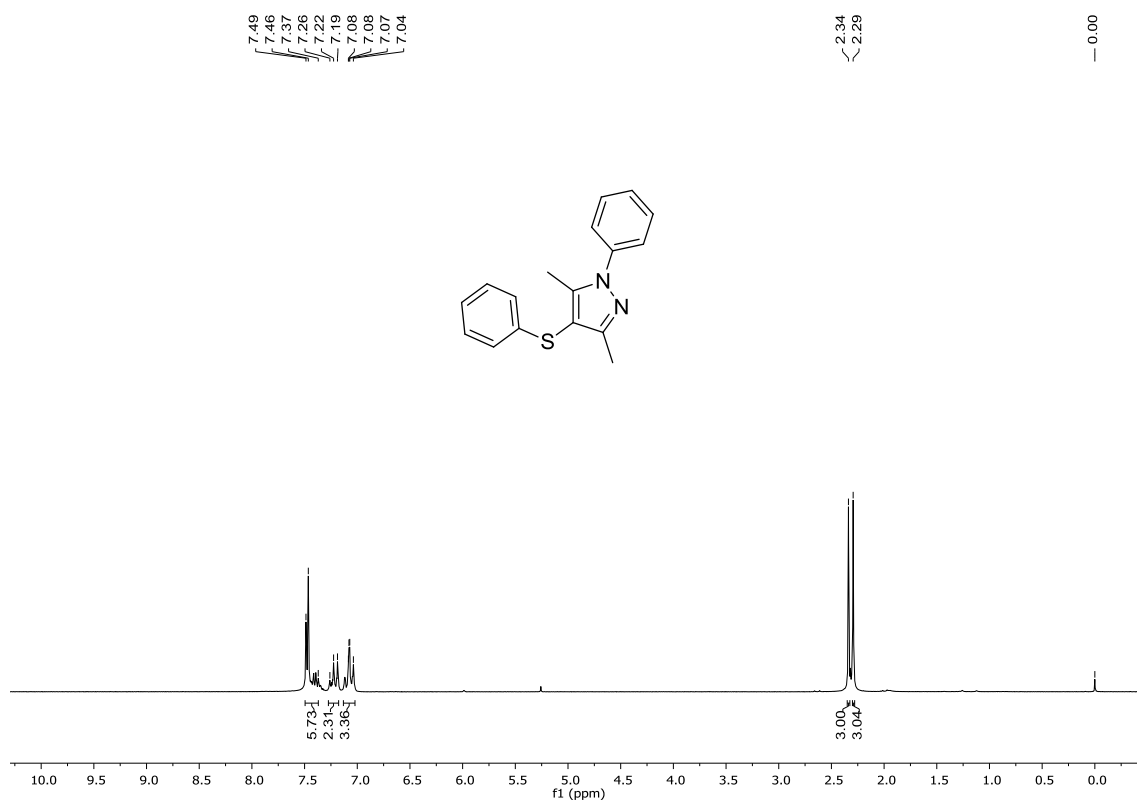


Figura 44. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5a** em CDCl₃.

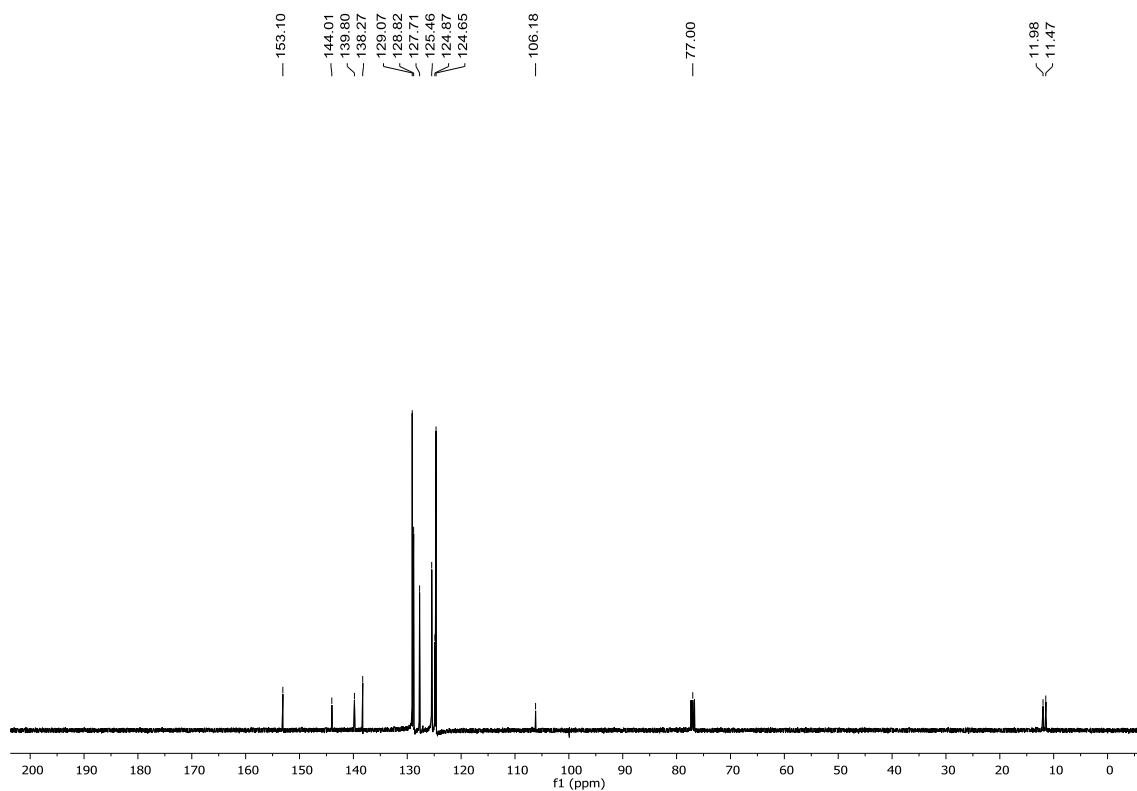


Figura 45. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5a** em CDCl₃.

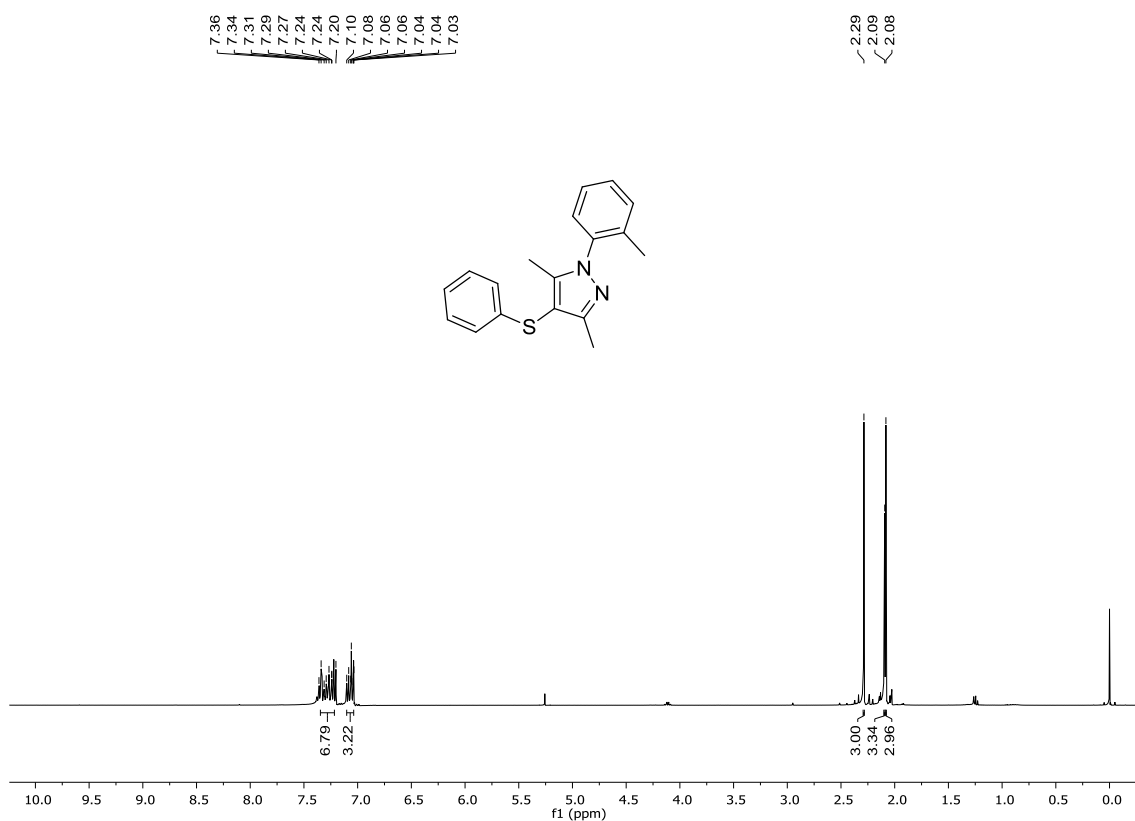


Figura 46. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*o*-toluil-1*H*-pirazol **5b** em CDCl₃.

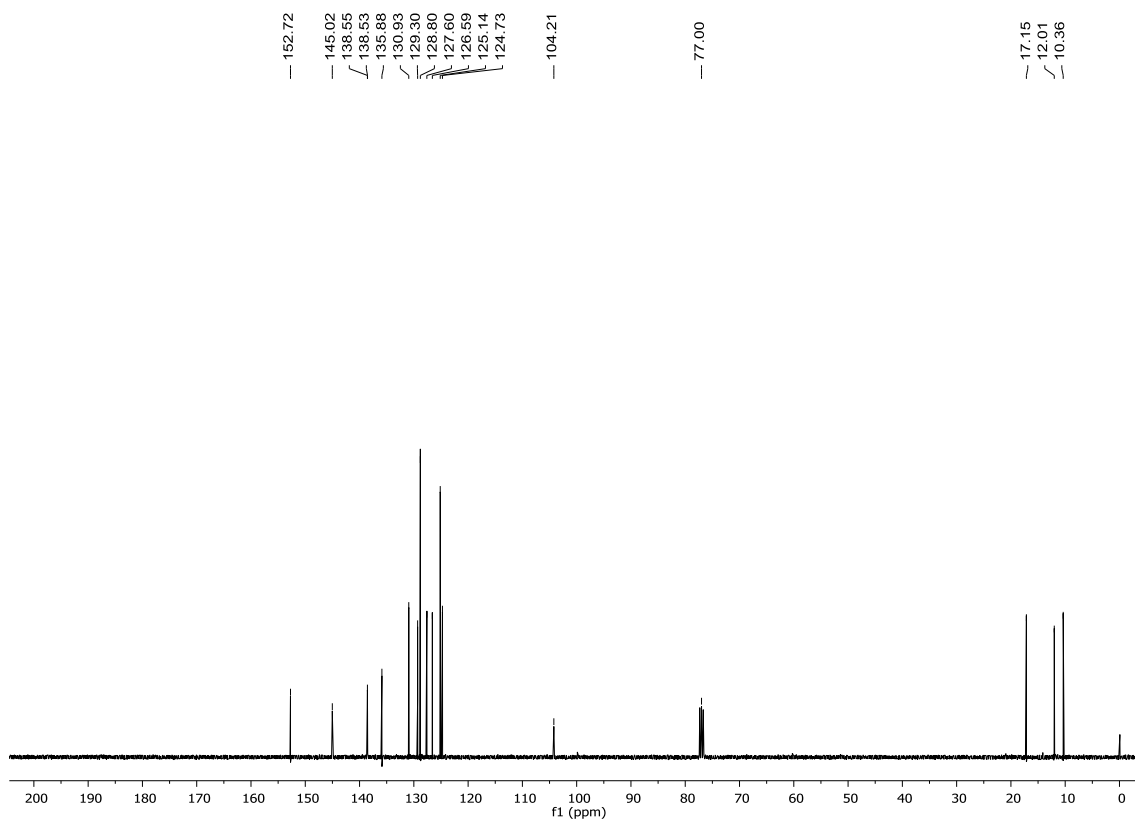


Figura 47. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*o*-toluil-1*H*-pirazol **5b** em CDCl₃.

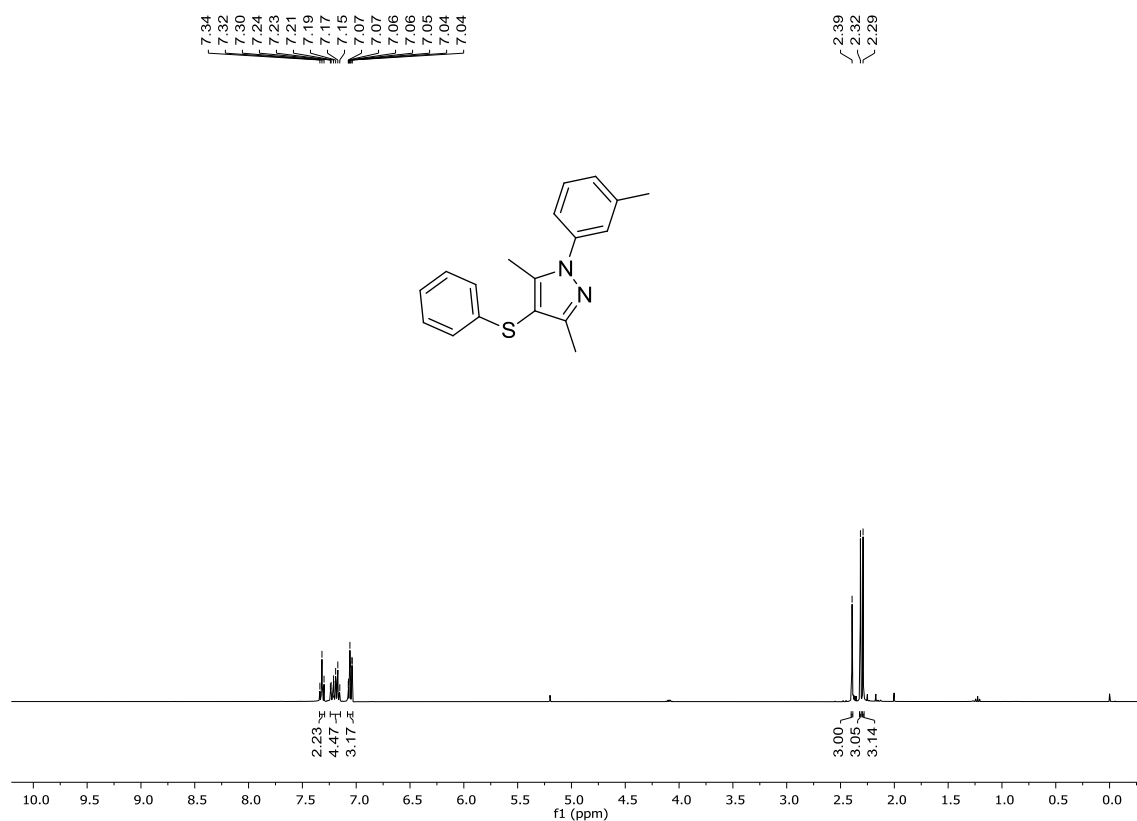


Figura 48. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*m*-toluil-1*H*-pirazol **5c** em CDCl₃.

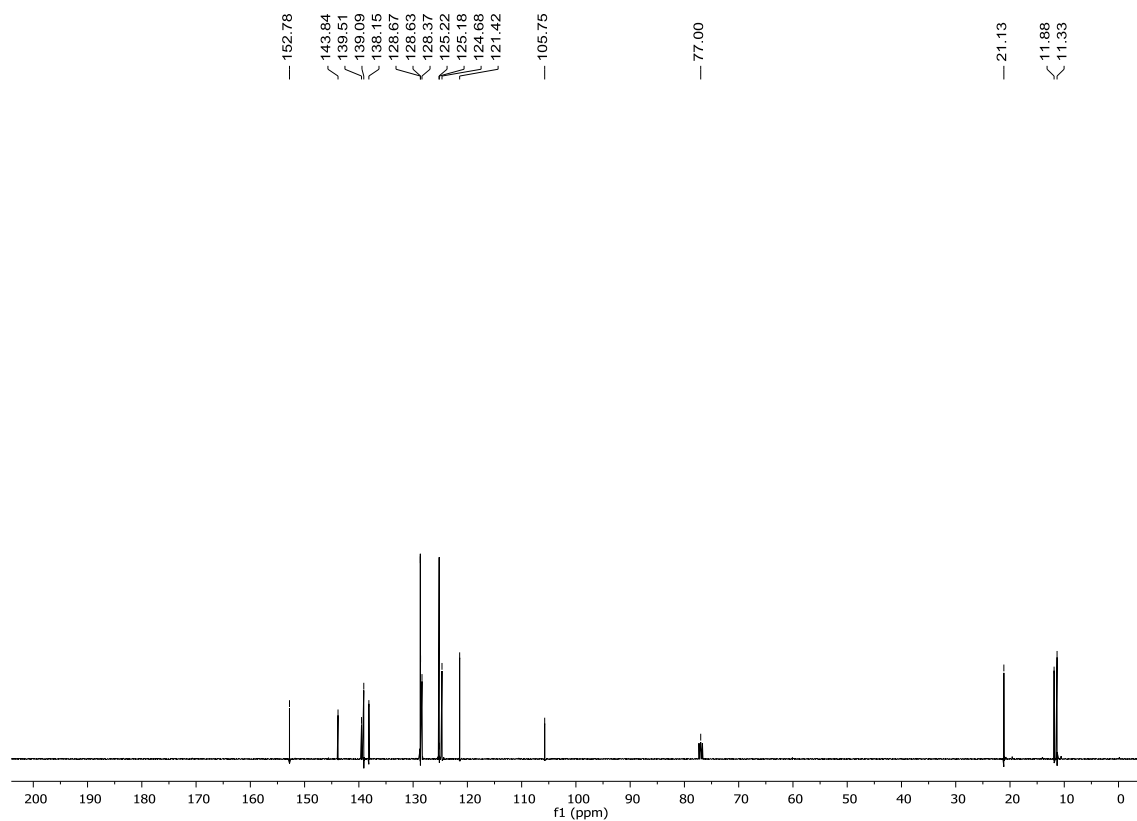


Figura 49. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(feniltio)-1-*m*-toluil-1*H*-pirazol **5c** em CDCl₃.

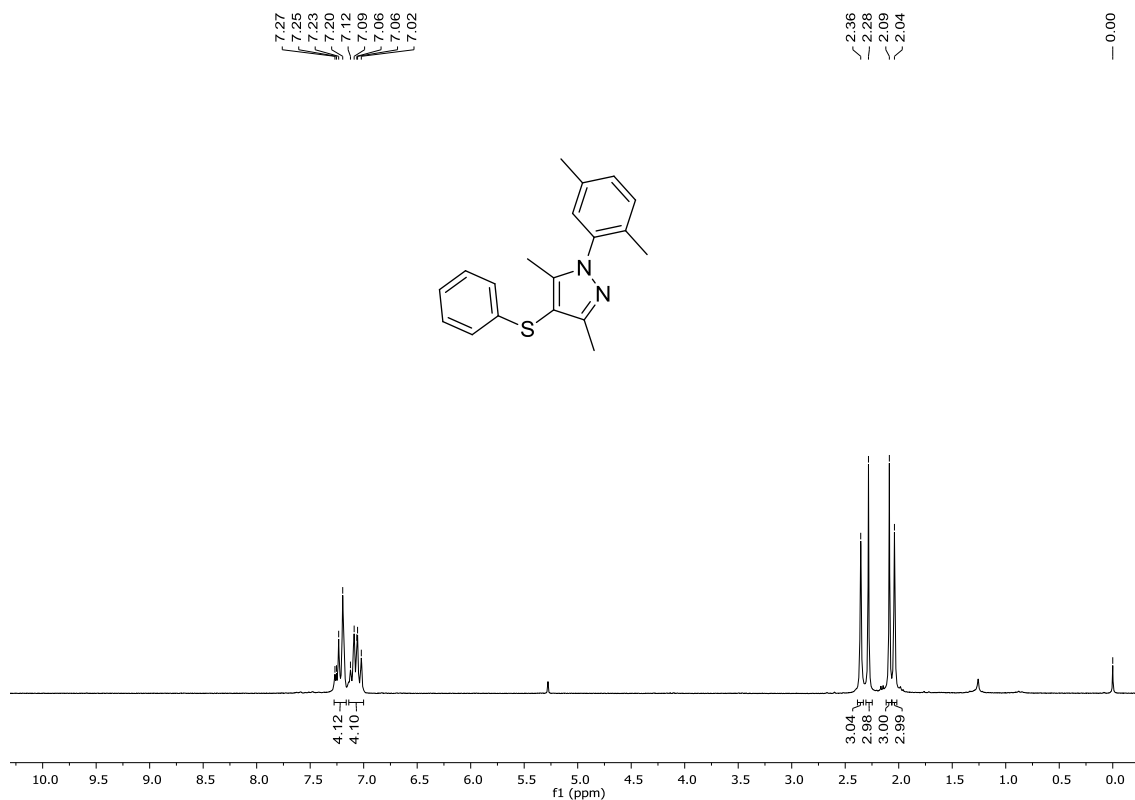


Figura 50. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 1-(2,5-dimetil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1H-pirazol **5d** em CDCl₃.

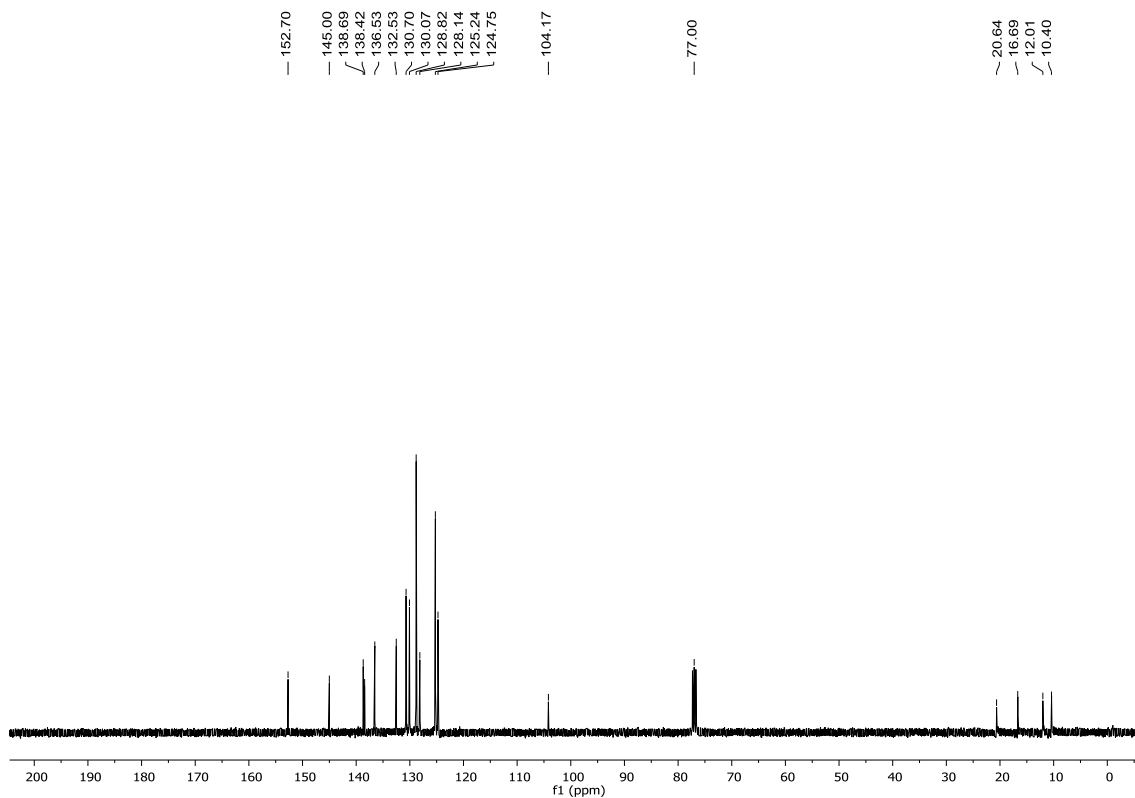
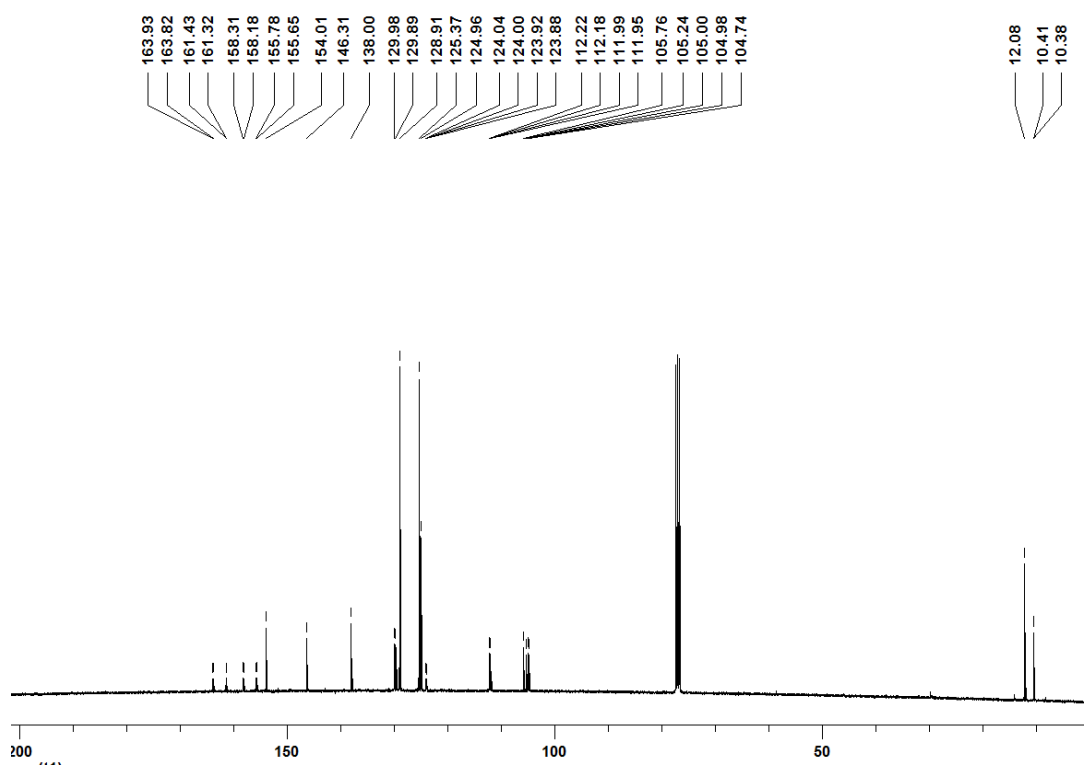
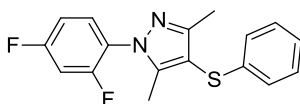


Figura 51. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 1-(2,5-dimetil)-3,5-dimetil-4-(feniltio)-1H-pirazol **5d** em CDCl₃.



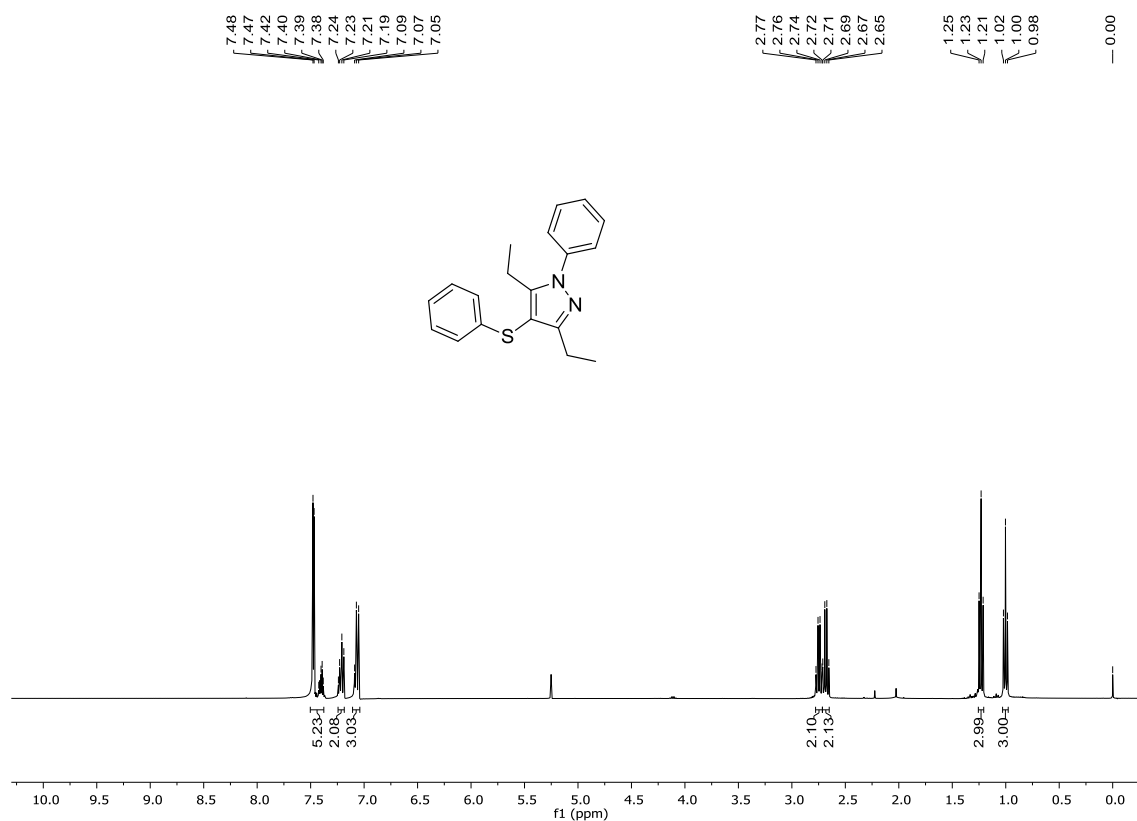


Figura 54. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 3,5-dietil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5f** em CDCl₃.

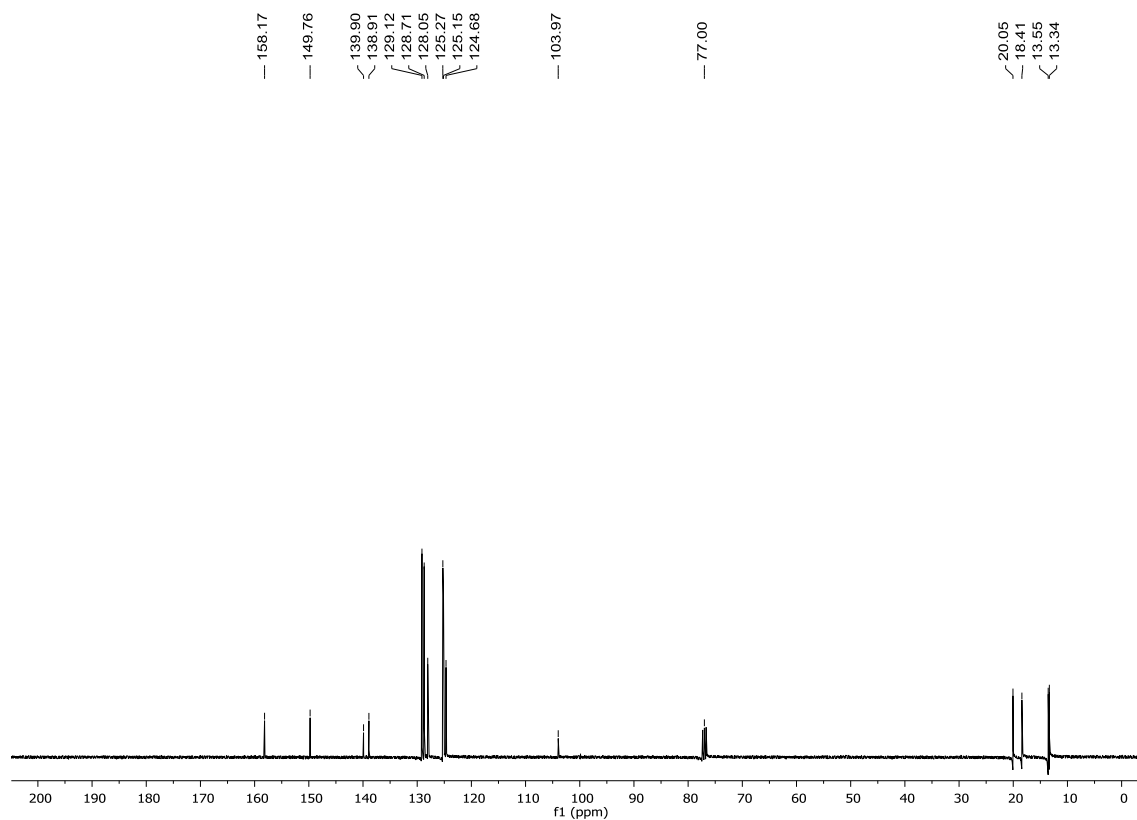


Figura 55. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dietil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5f** em CDCl₃.

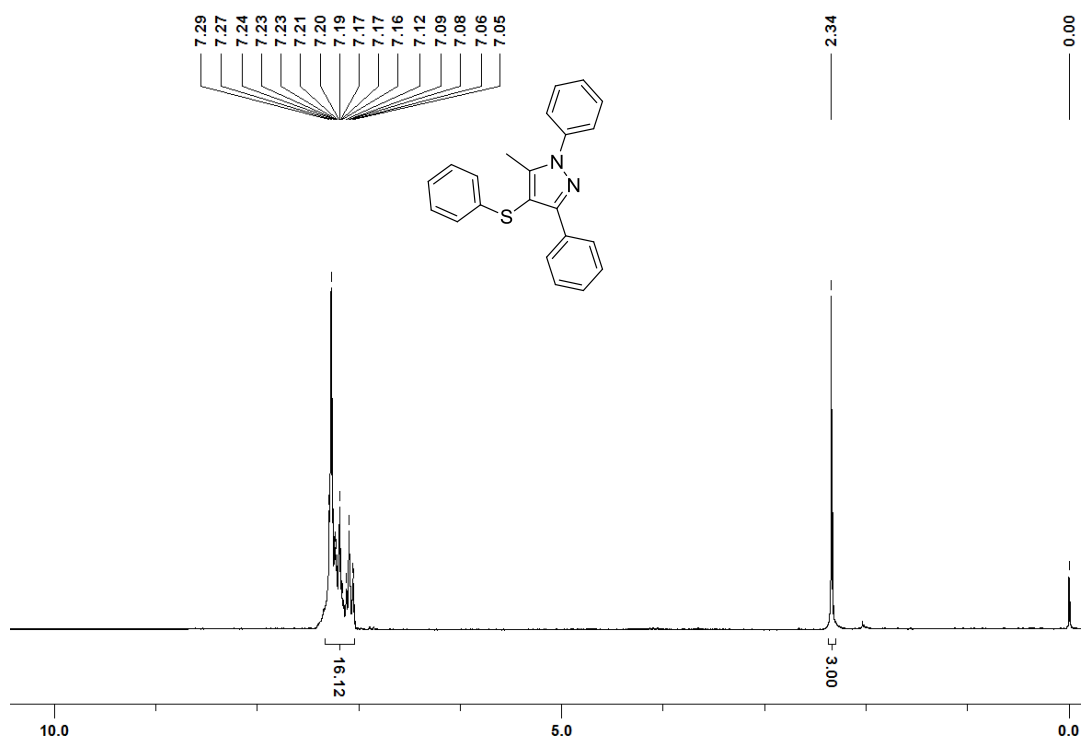


Figura 56. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5g** em CDCl₃.

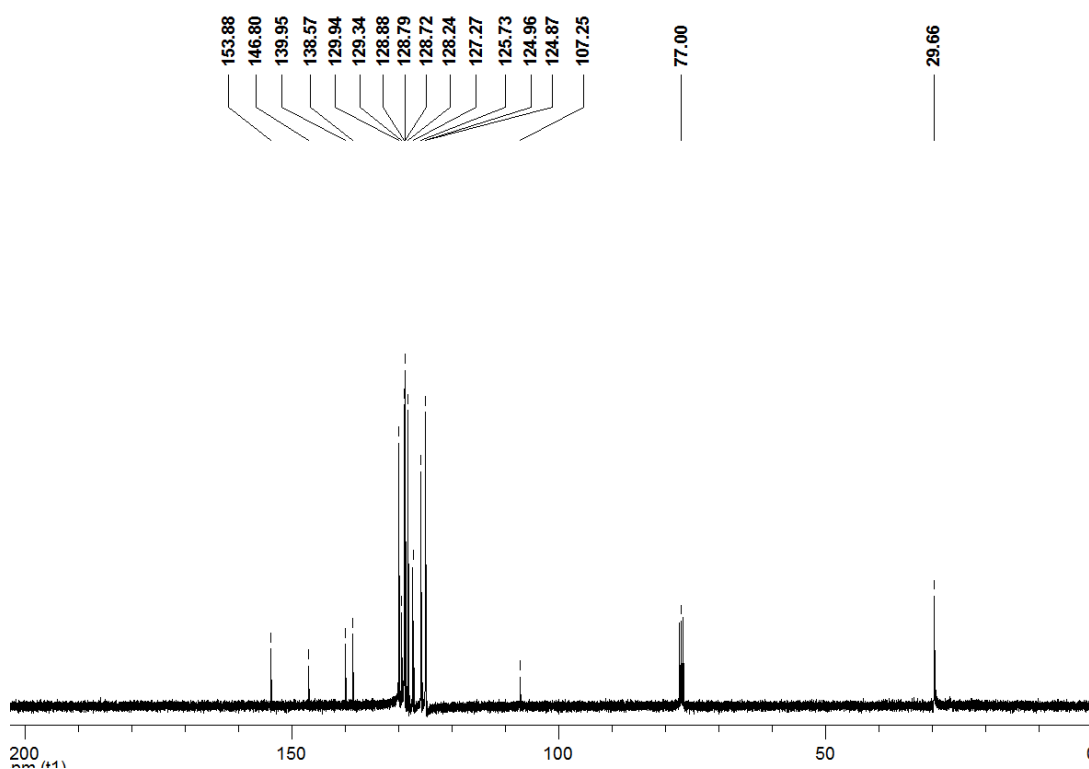


Figura 57. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol **5g** em CDCl₃.

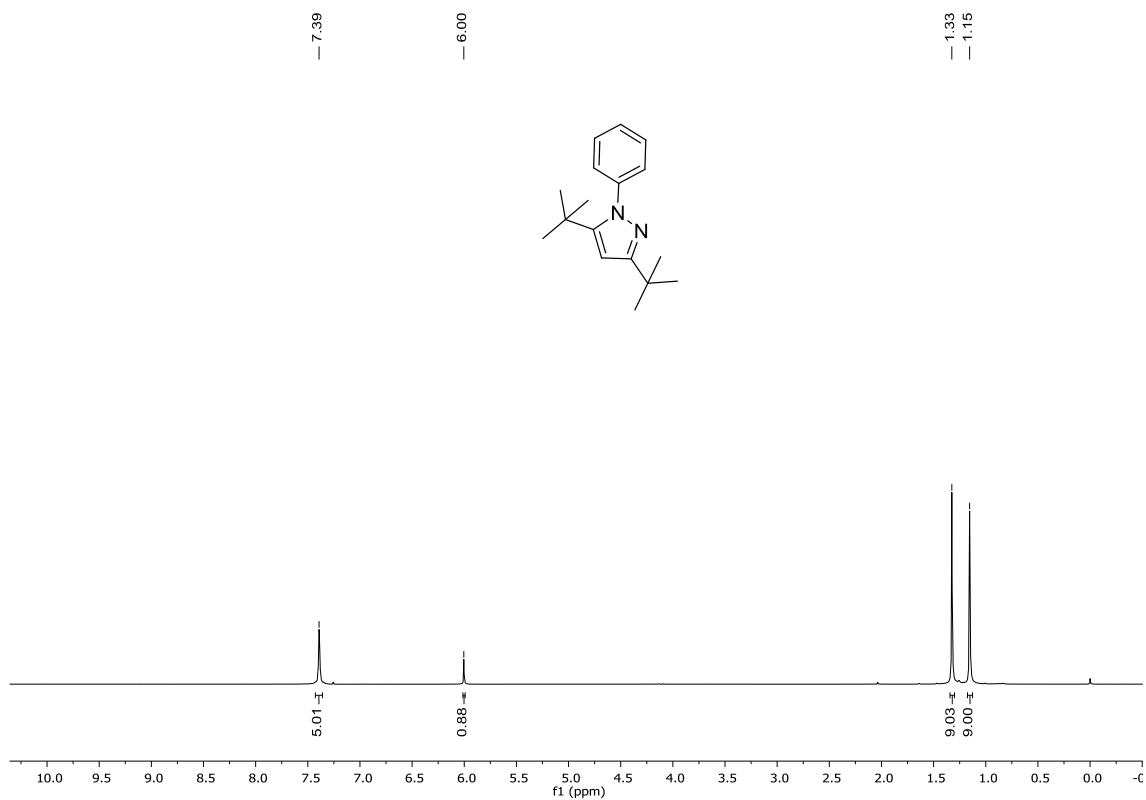


Figura 58. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 3,5-di-*tert*-butil-1-fenil-1*H*-pirazol **3b** em CDCl₃.

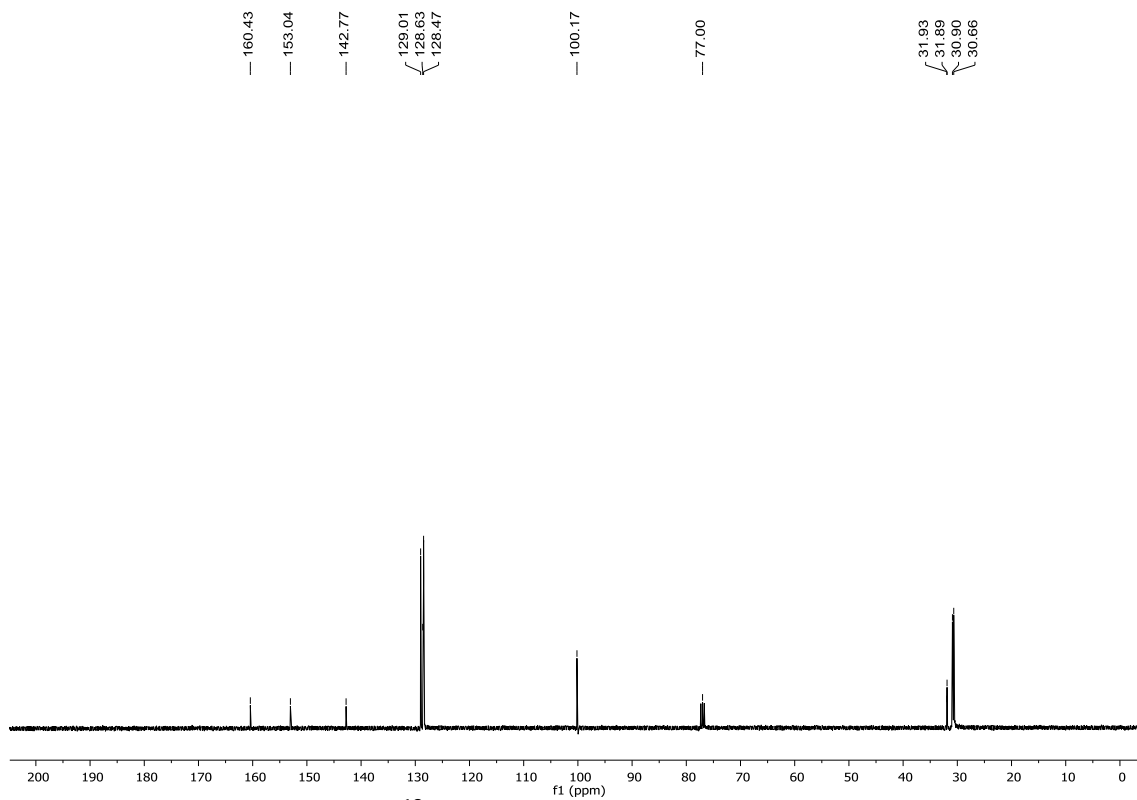


Figura 59. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 3,5-di-*tert*-butil-1-fenil-1*H*-pirazol **3b** em CDCl₃.

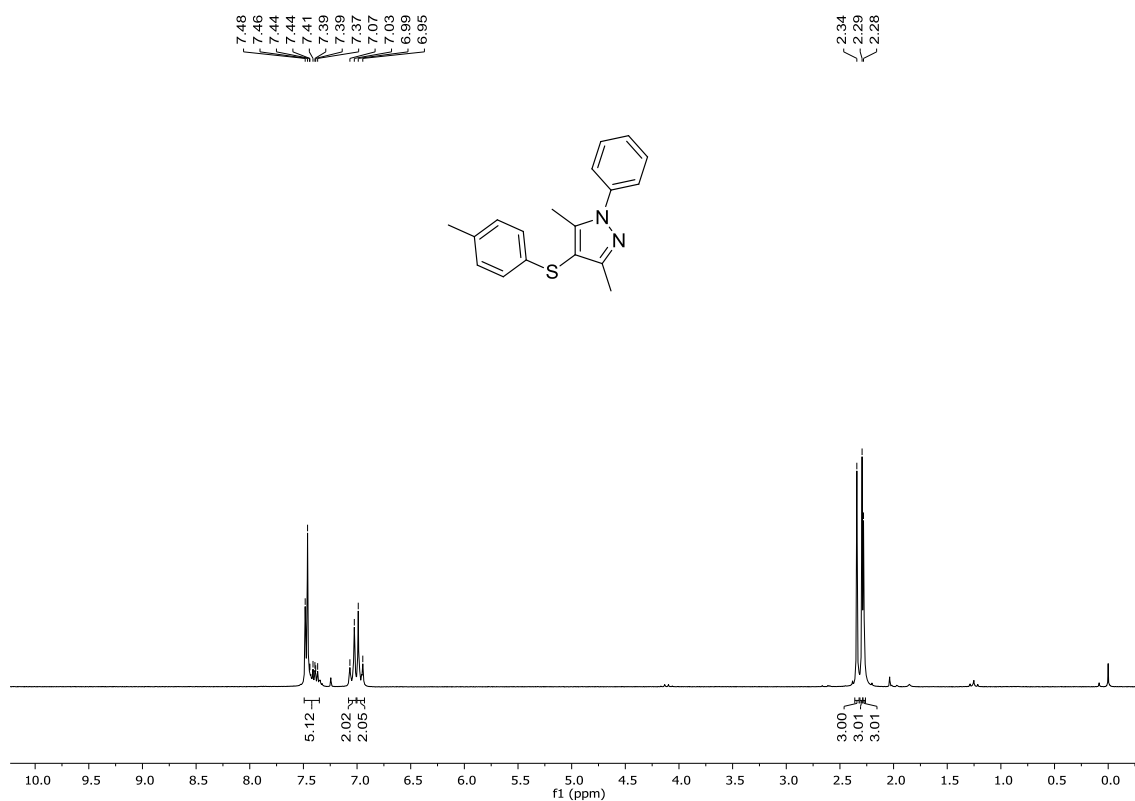


Figura 60. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*p*-toluilitio)-1*H*-pirazol **5i** em CDCl₃.

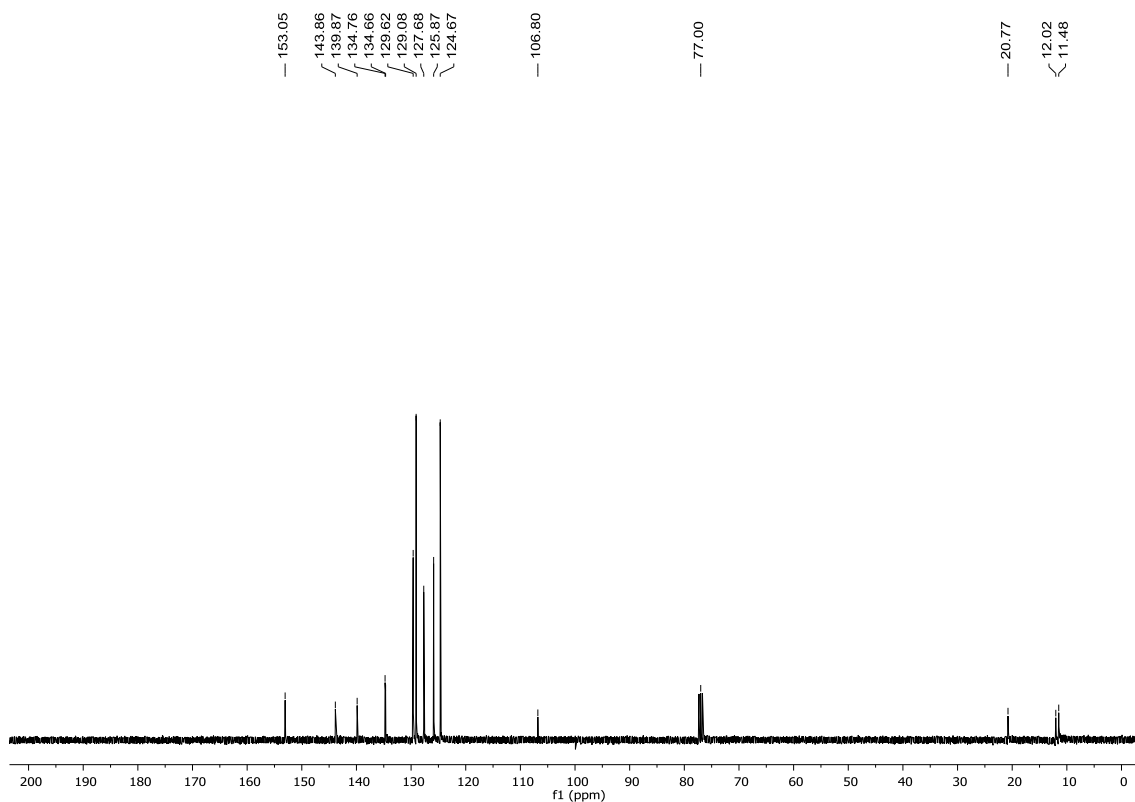


Figura 61. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*p*-toluilitio)-1*H*-pirazol **5i** em CDCl₃.

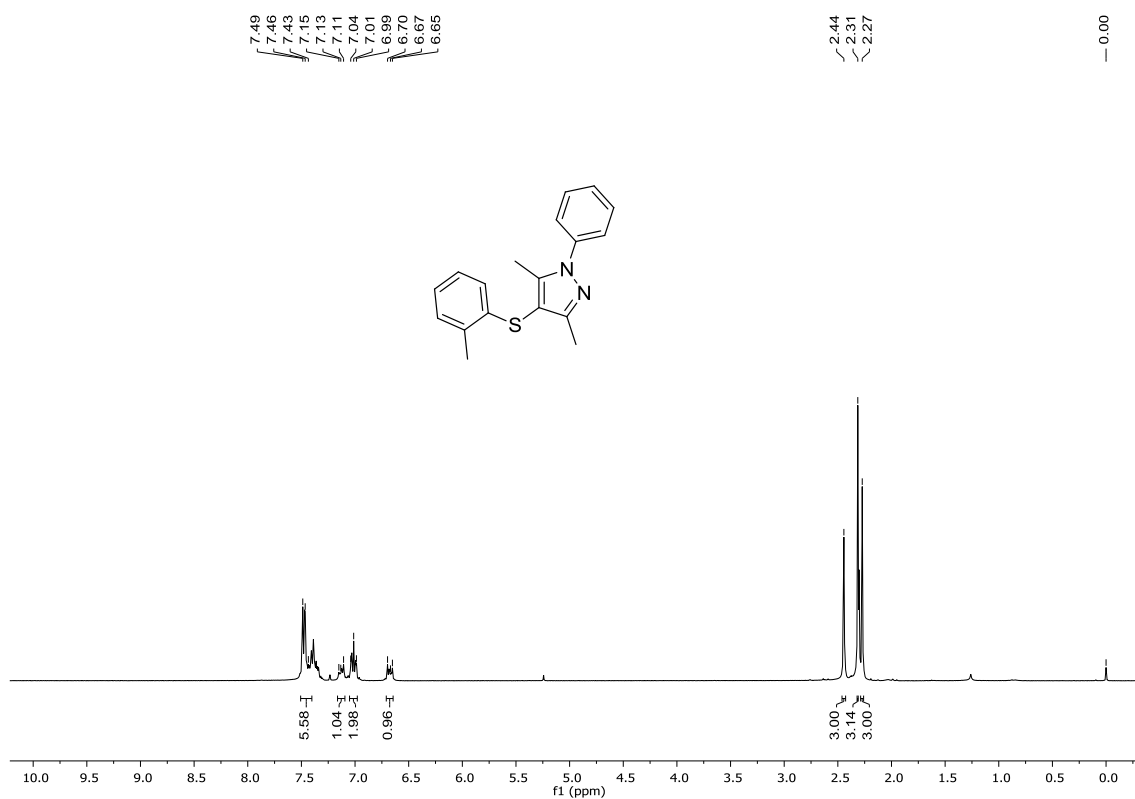


Figura 62. Espectro de RMN ^1H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*o*-toluilitio)-1*H*-pirazol **5j** em CDCl_3 .

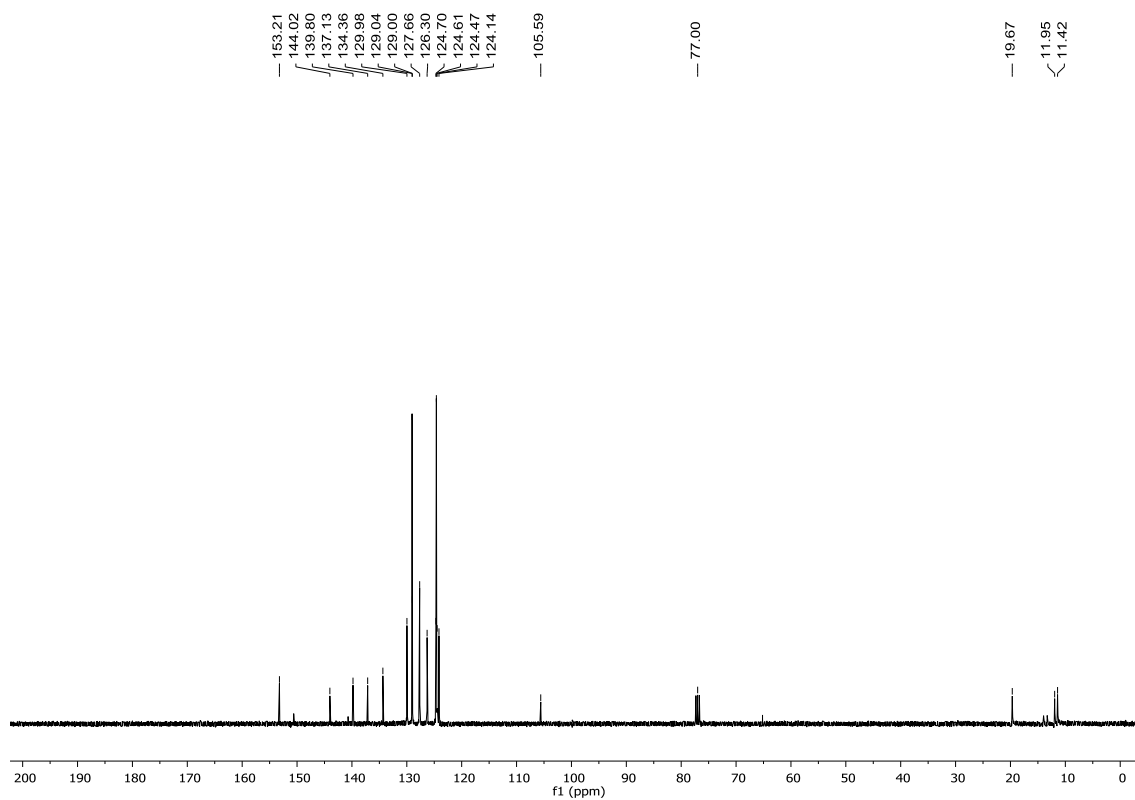


Figura 63. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*o*-toluilitio)-1*H*-pirazol **5j** em CDCl_3 .

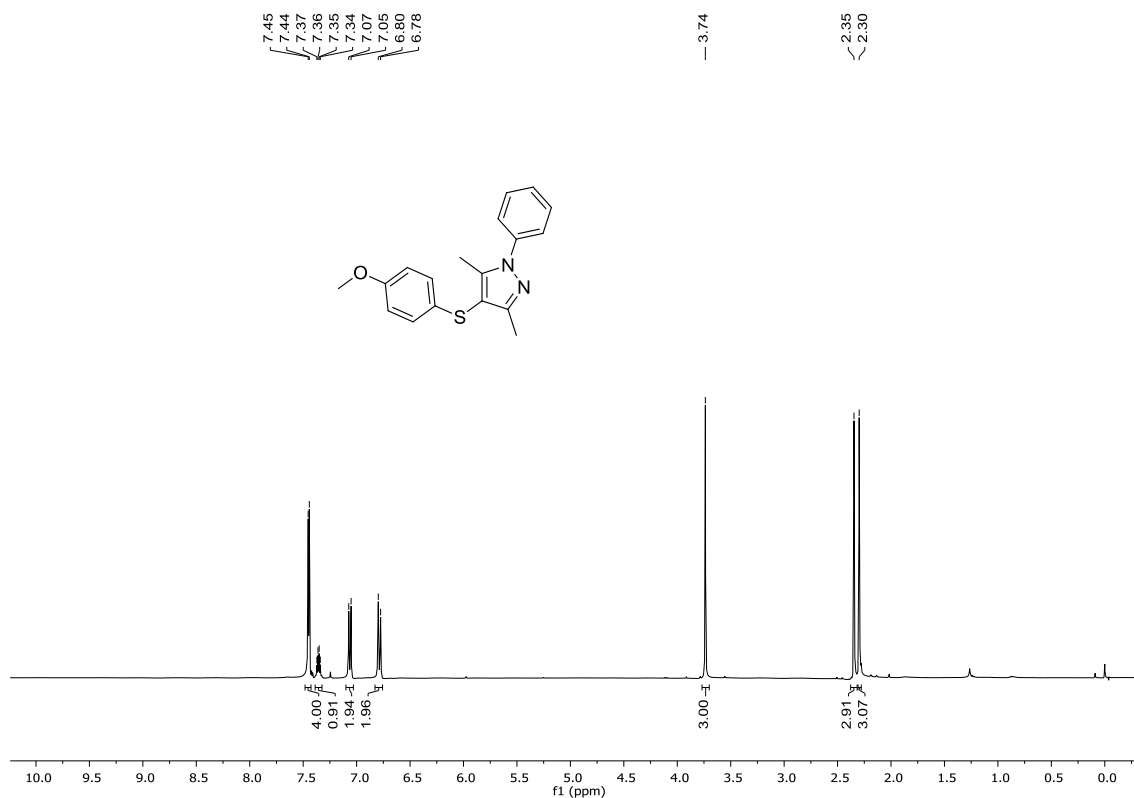


Figura 64. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 4-(4-metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **5k** em CDCl₃.

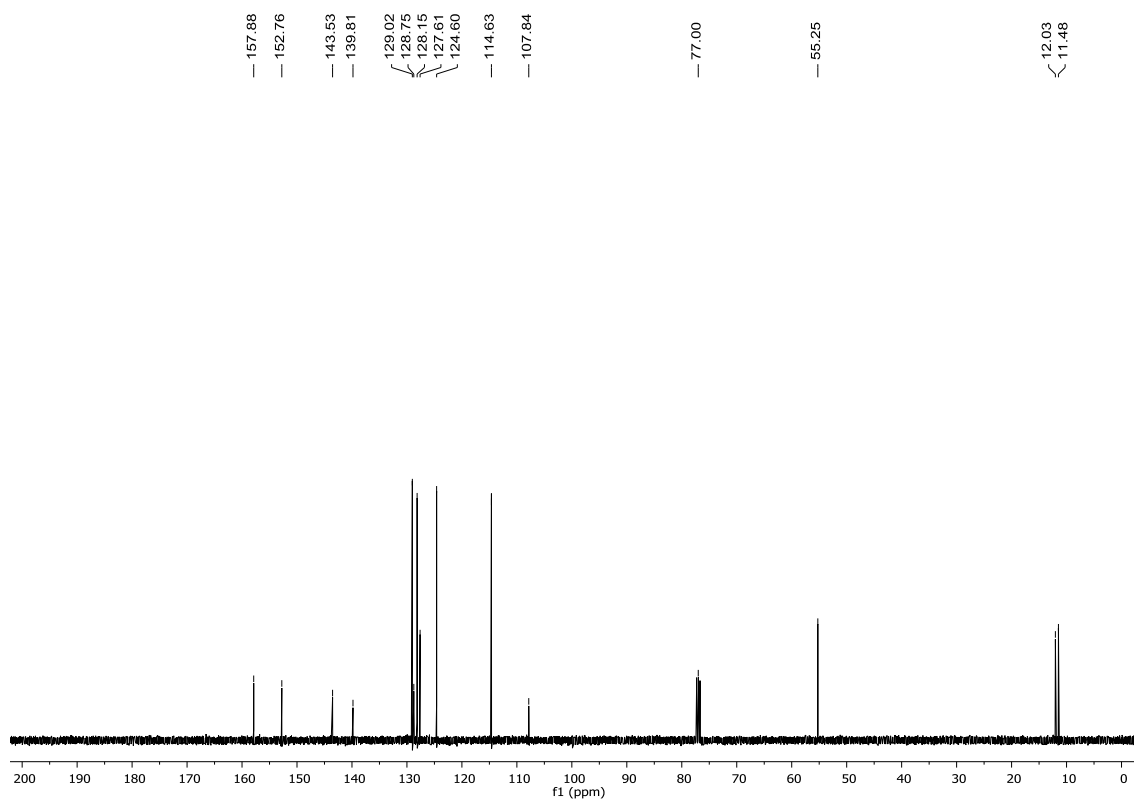


Figura 65. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 4-(4-metoxifeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **5k** em CDCl₃.

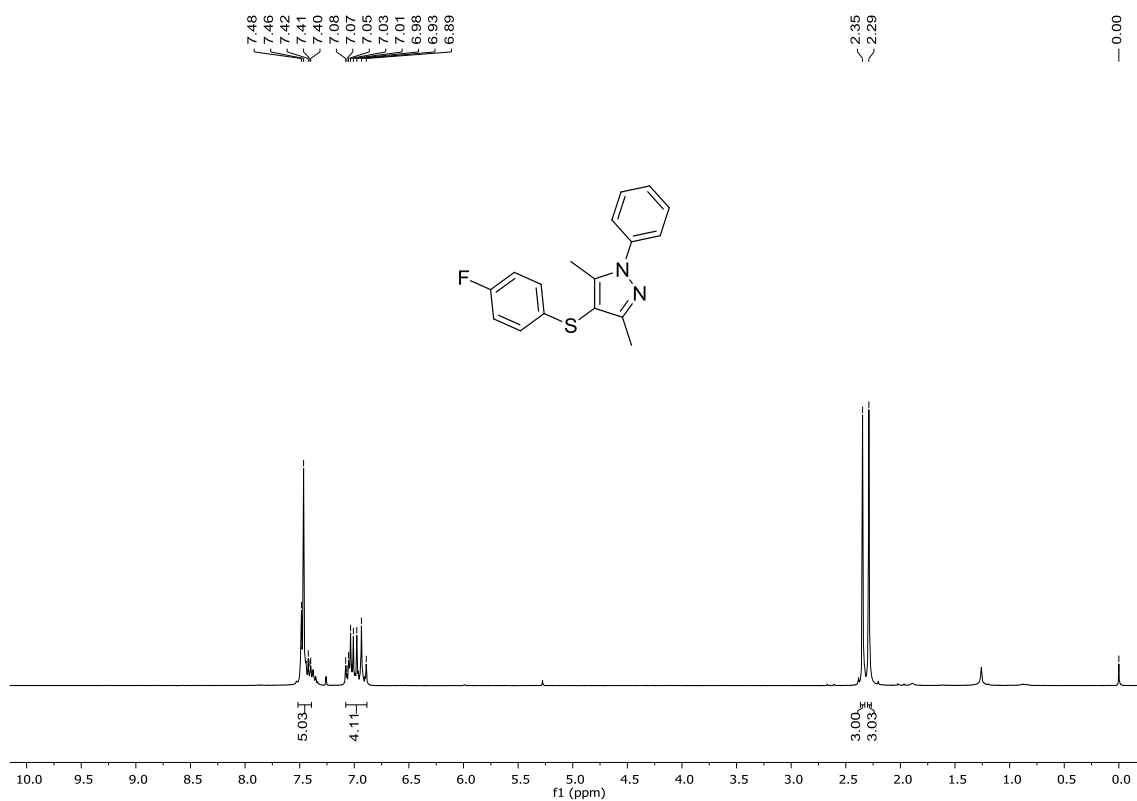


Figura 66. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 4-(4-fluorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol **5I** em CDCl₃.

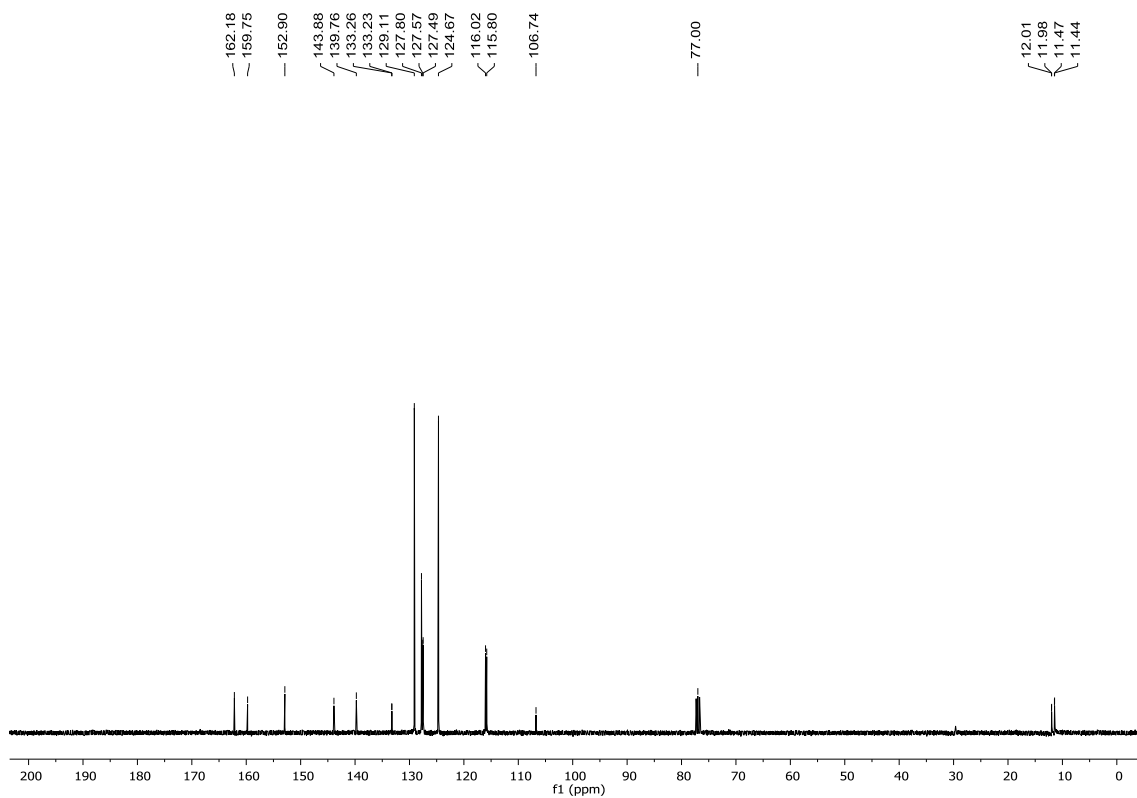


Figura 67. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 4-(4-fluorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol **5I** em CDCl₃.

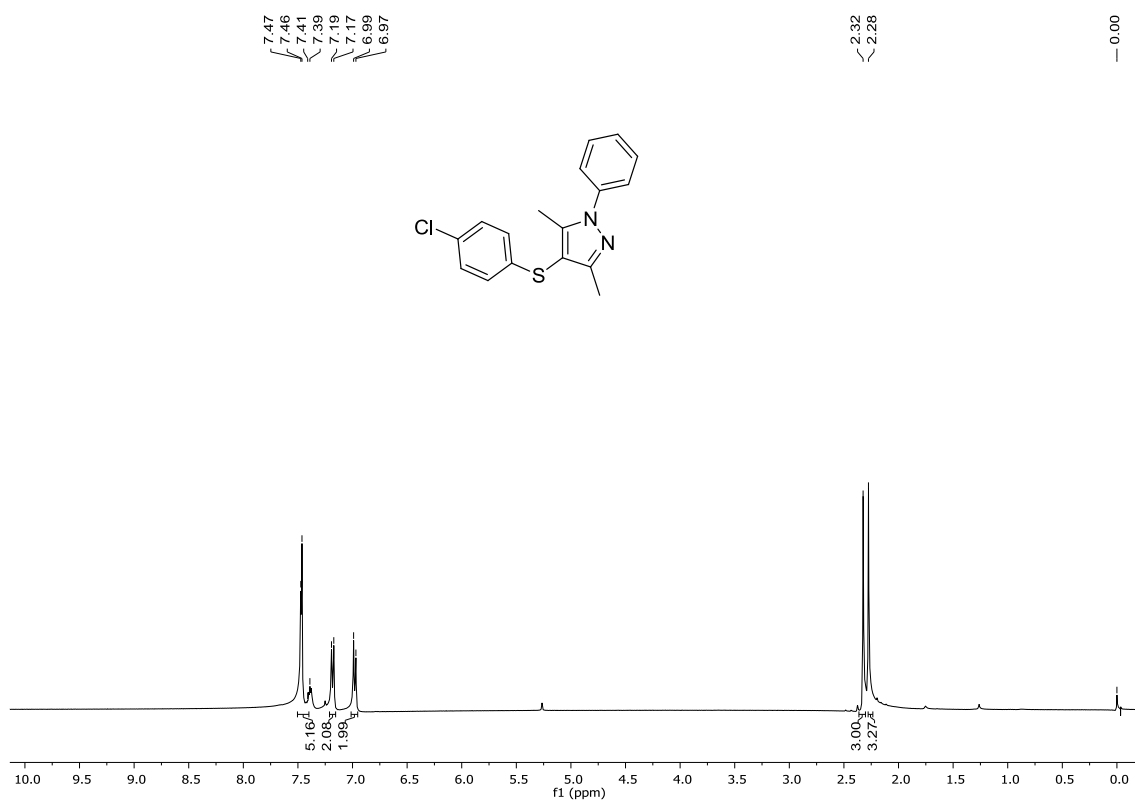


Figura 68. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol **5m** em CDCl₃.

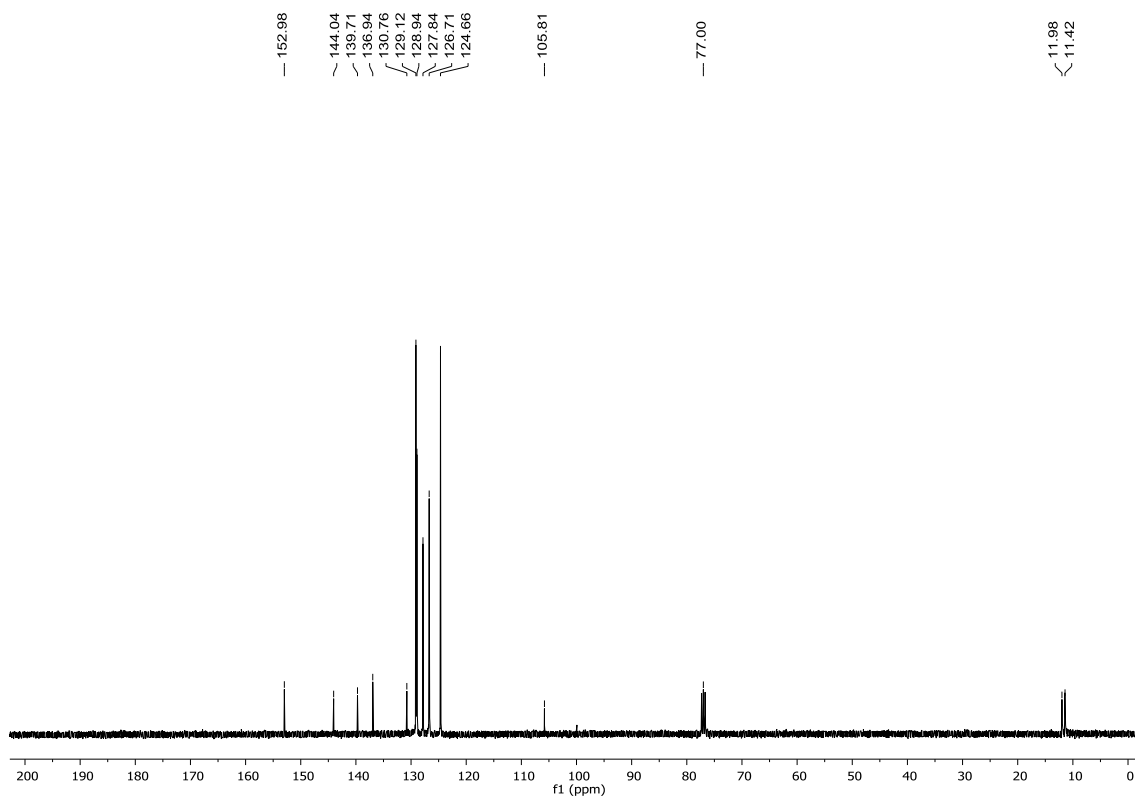


Figura 69. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 4-(4-clorofeniltio)-3,5-dimetil-1-fenil-1*H*-pirazol **5m** em CDCl₃.

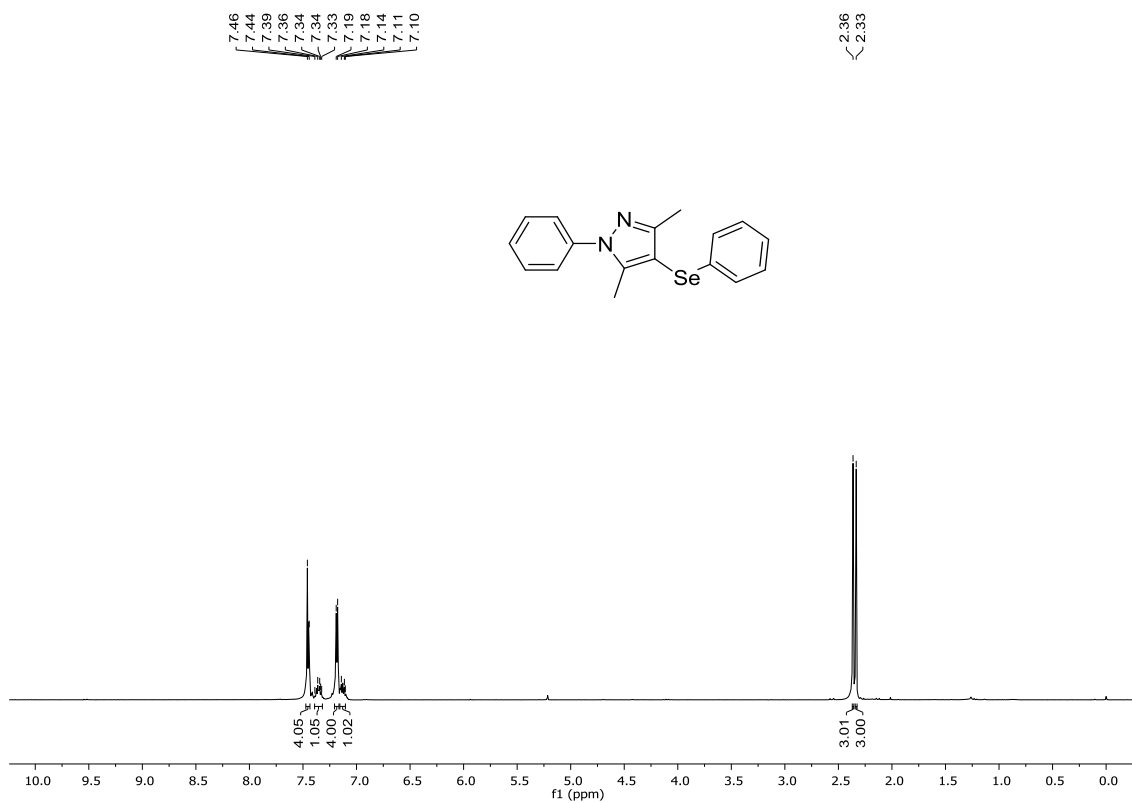


Figura 70. Espectro de RMN ¹H (200 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7a** em CDCl₃.

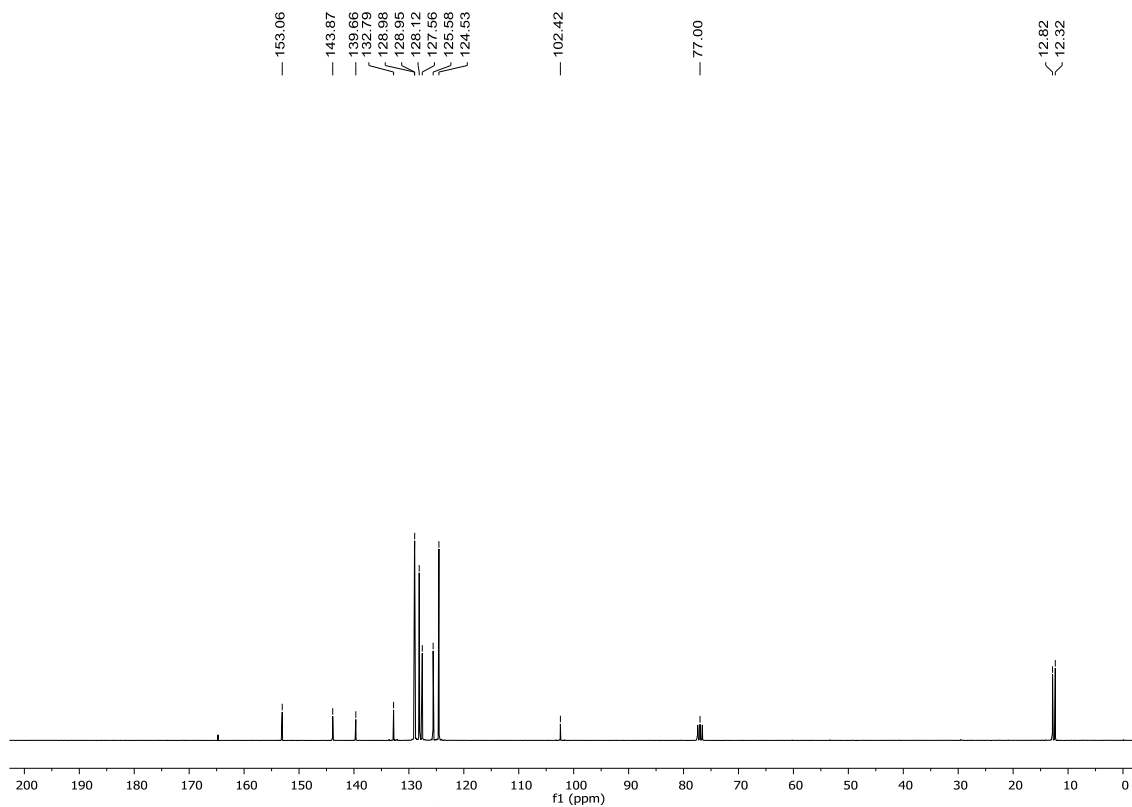


Figura 71. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7a** em CDCl₃.

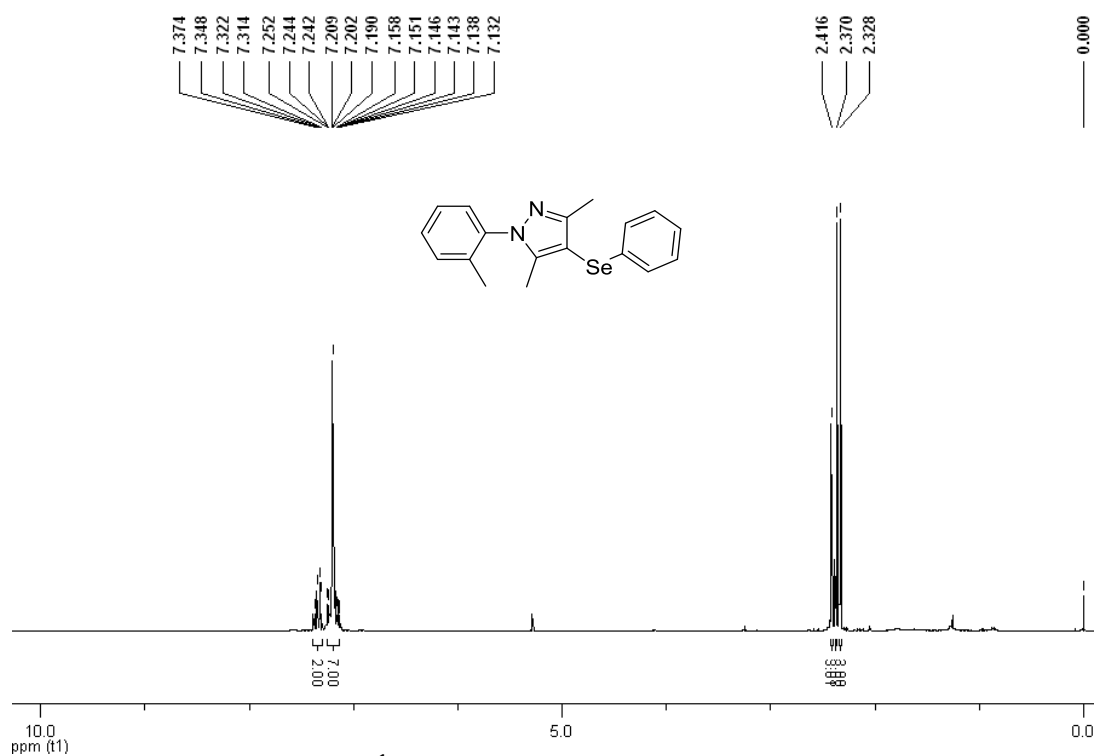


Figura 72. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-*o*-toluil-1*H*-pirazol **7b** em CDCl₃.

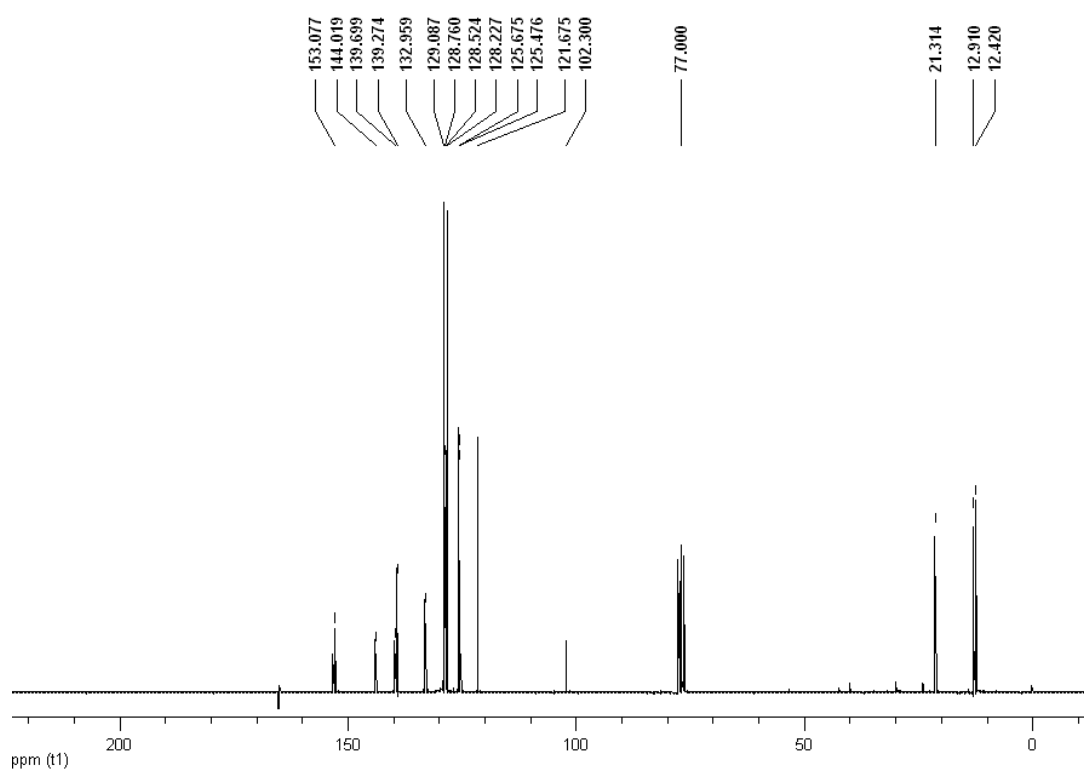


Figura 73. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-*o*-toluil-1*H*-pirazol **7b** em CDCl₃.

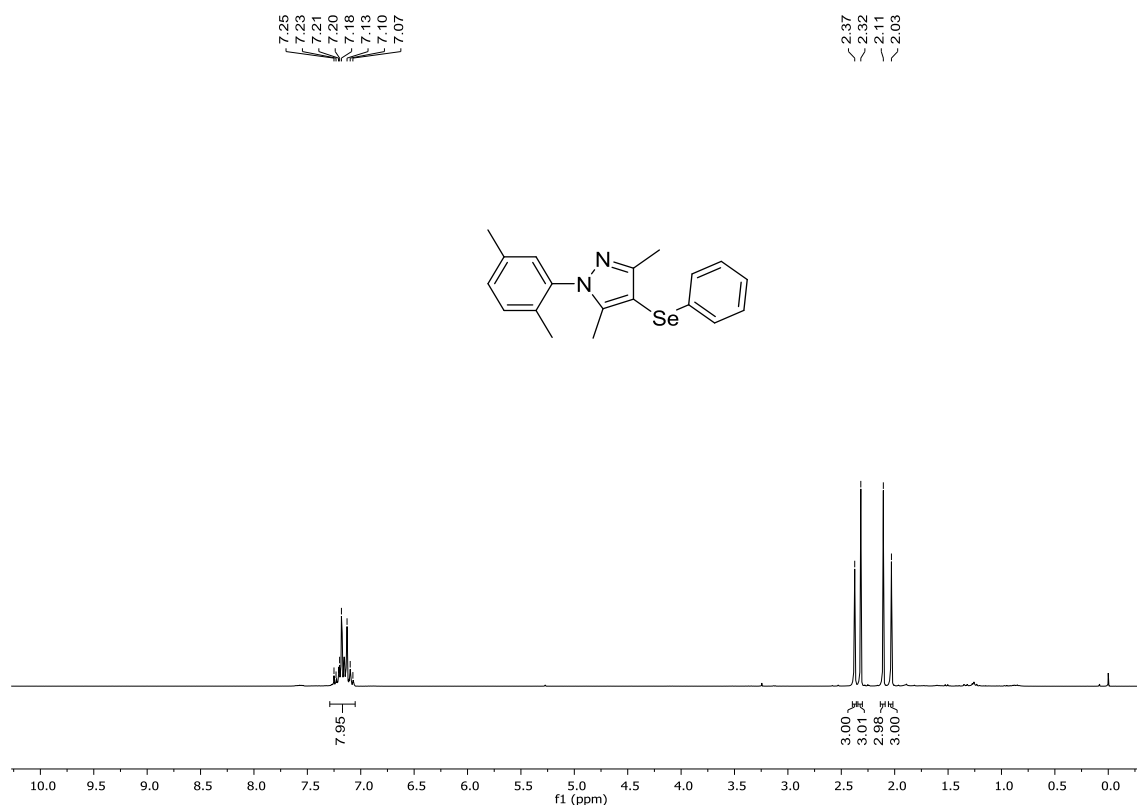


Figura 74. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7c** em CDCl₃.

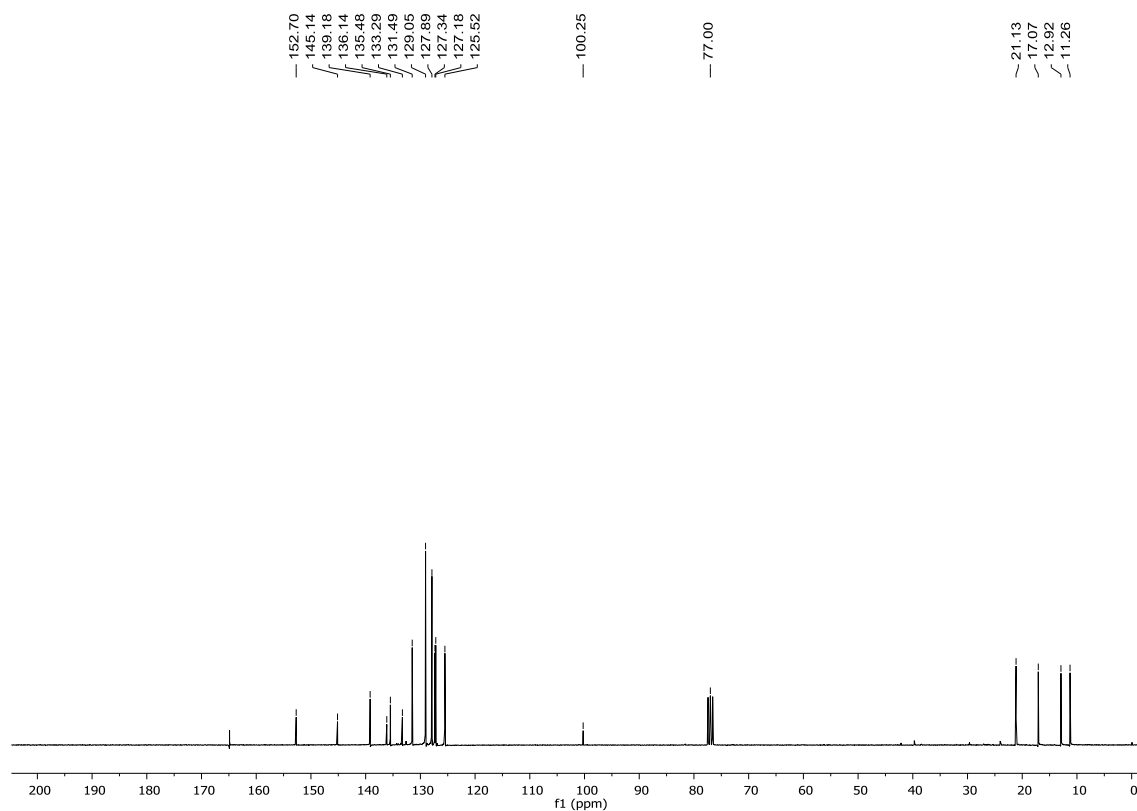


Figura 75. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 1-(2,5-dimetilfenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7c** em CDCl₃.

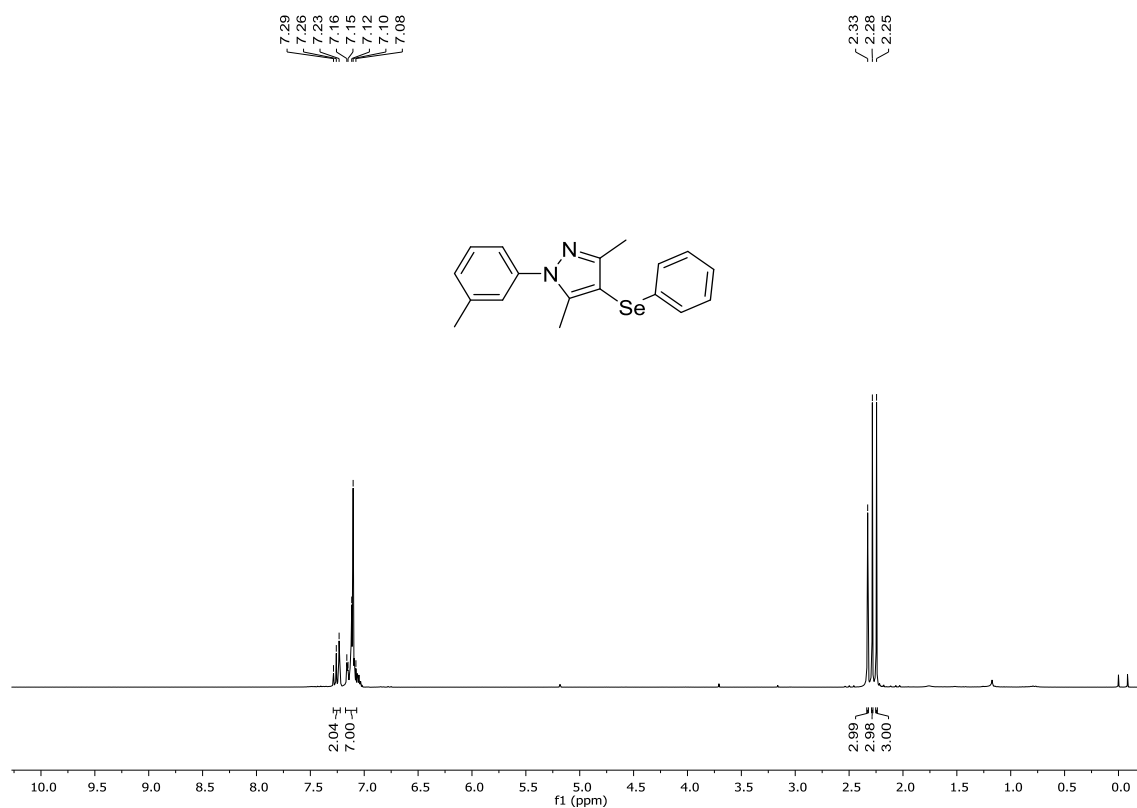


Figura 76. Espectro de RMN ^1H (300 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-*m*-toluil-1*H*-pirazol **7d** em CDCl_3 .

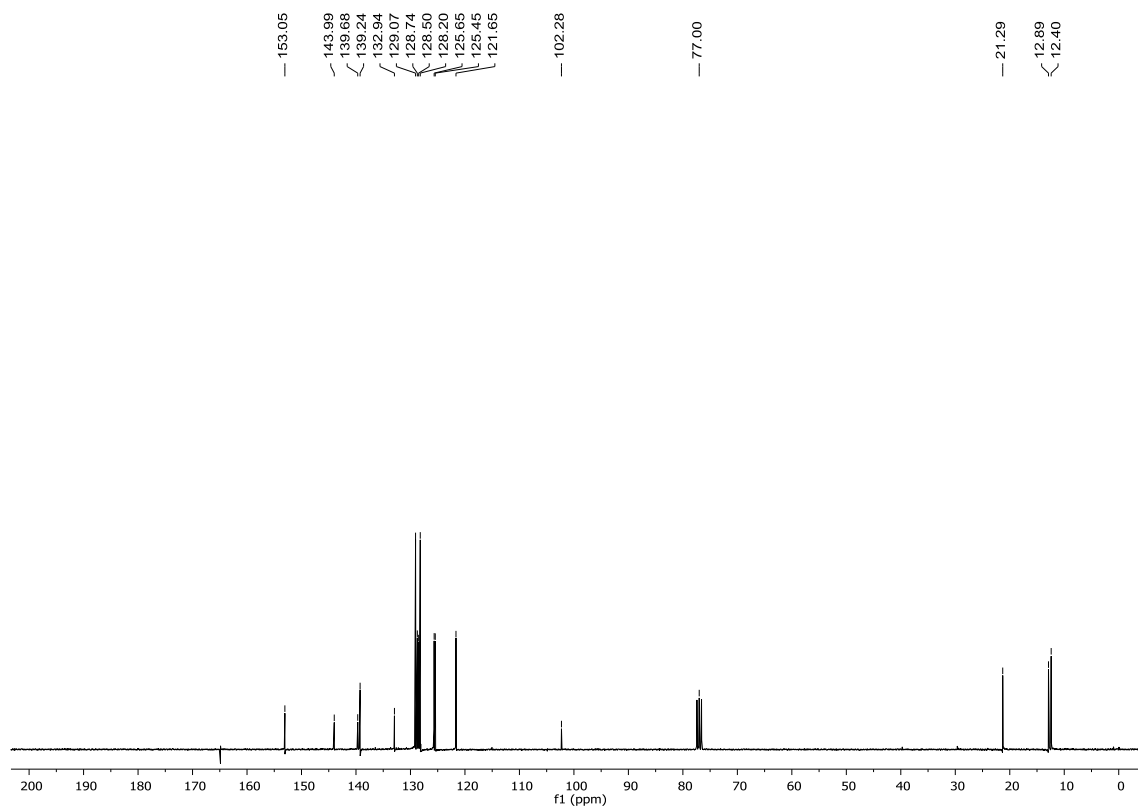


Figura 77. Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1-*m*-toluil-1*H*-pirazol **7d** em CDCl_3 .

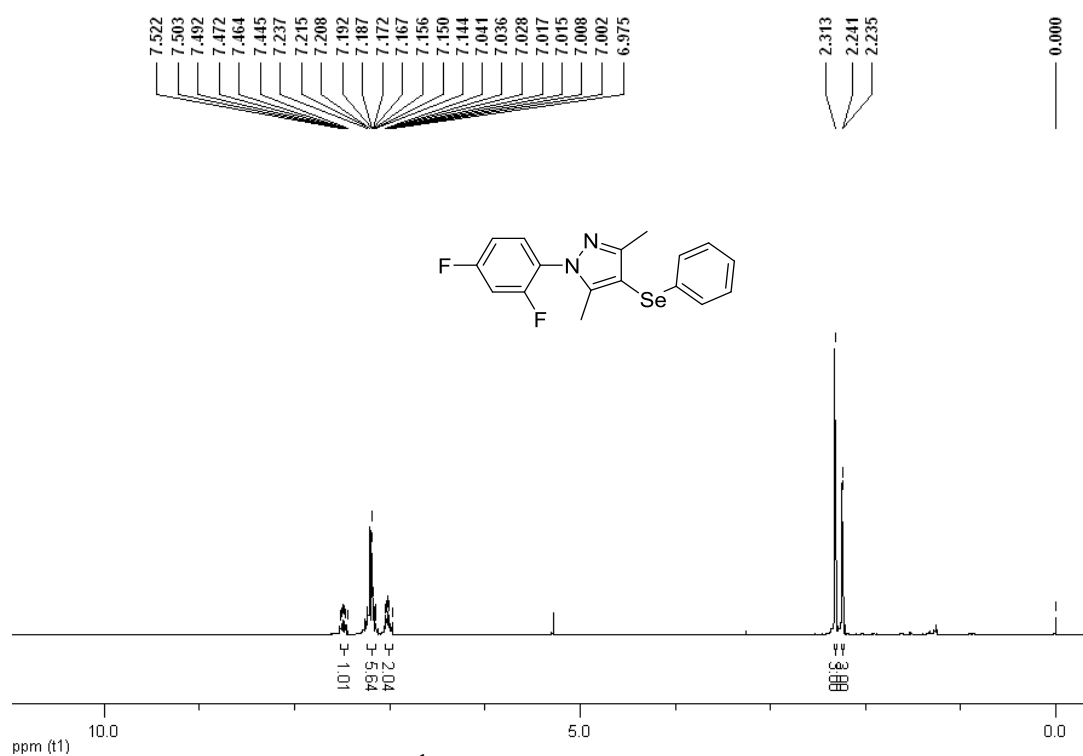


Figura 78. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanyl)-1*H*-pirazol **7e** em CDCl₃.

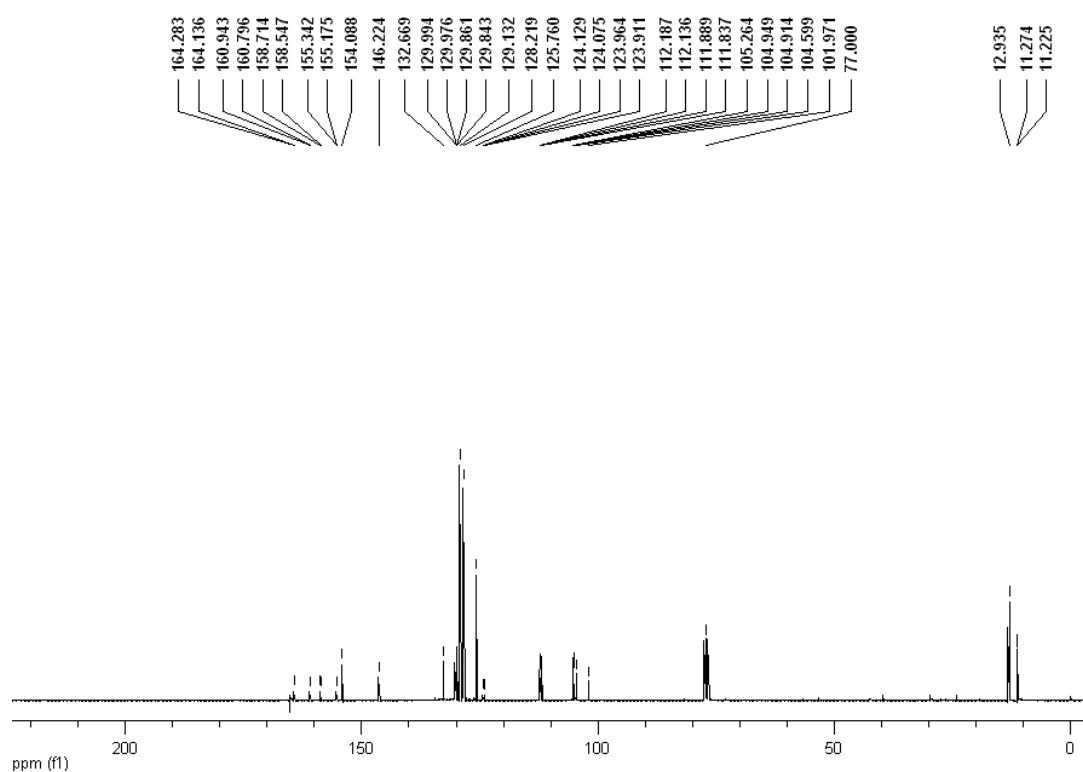


Figura 79. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 1-(2,4-difluorofenil)-3,5-dimetil-4-(fenilselanyl)-1*H*-pirazol **7e** em CDCl₃.

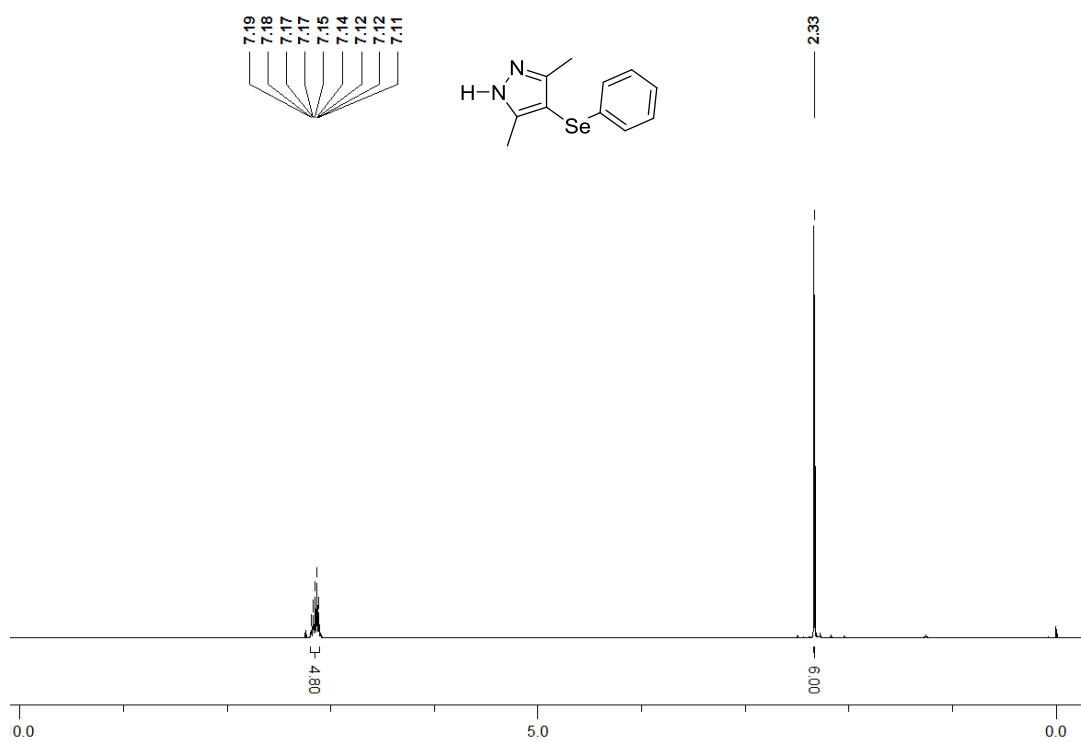


Figura 80. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselânil)-1*H*-pirazol **7f** em CDCl₃.

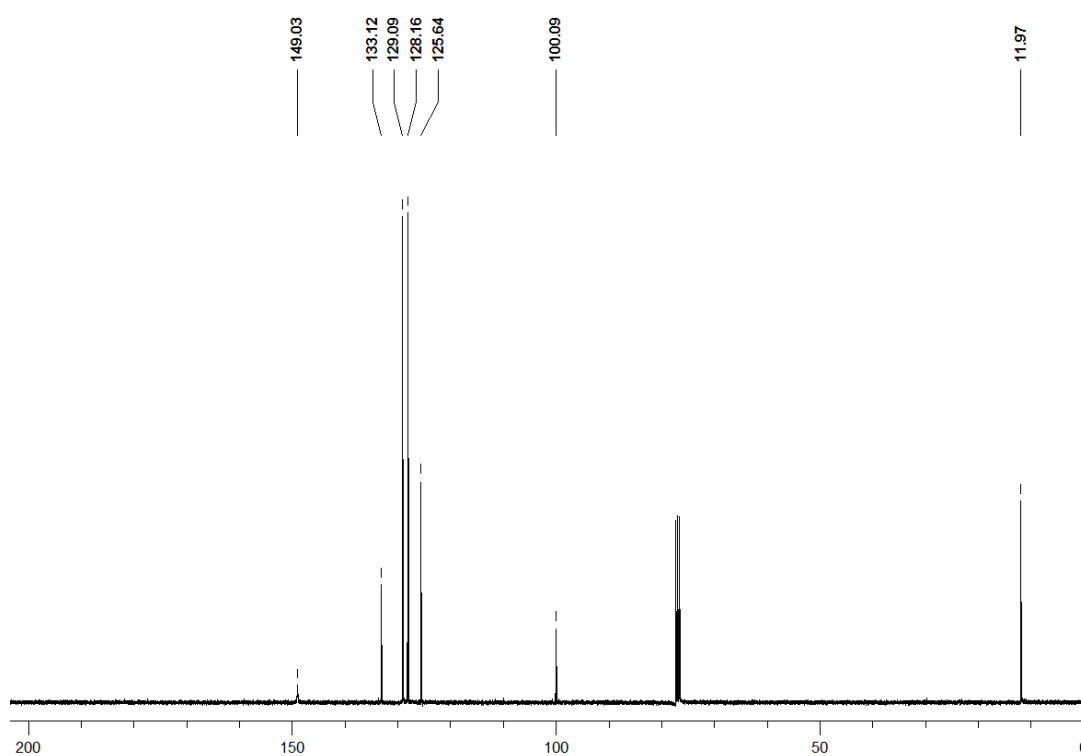


Figura 81. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-4-(fenilselânil)-1*H*-pirazol **7f** em CDCl₃.

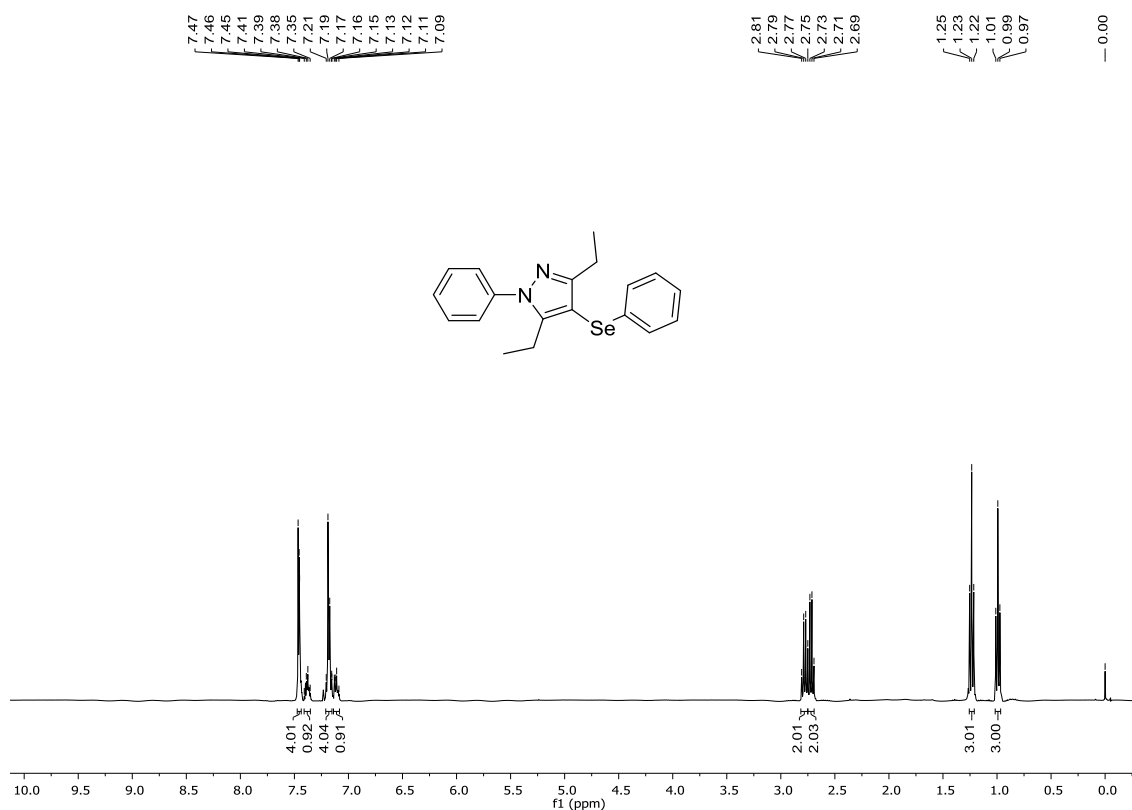


Figura 82. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 3,5-dietil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7g** em CDCl₃.

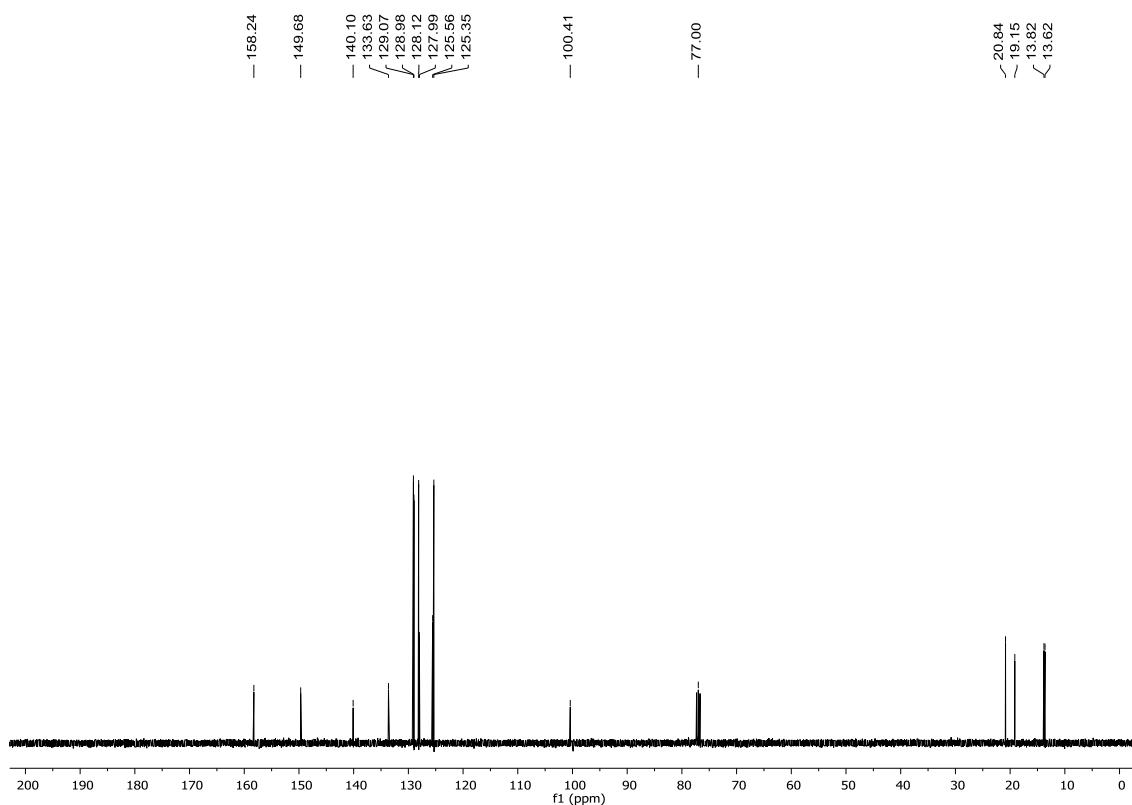


Figura 83. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dietil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7g** em CDCl₃.

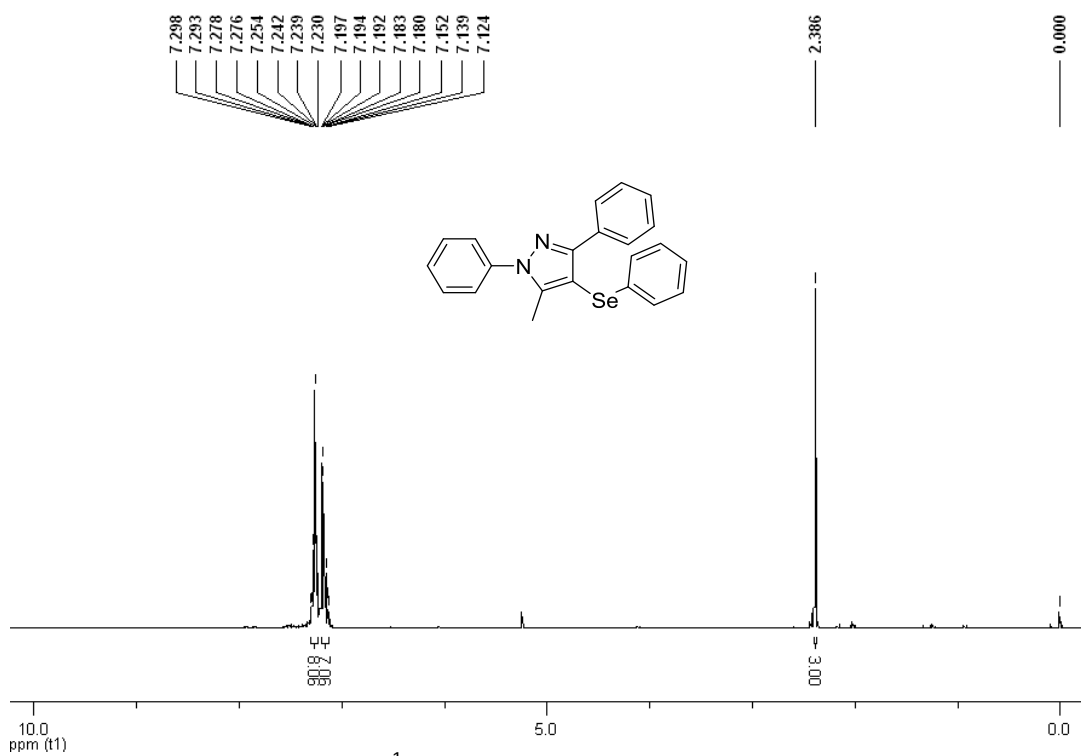


Figura 84. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7j** em CDCl₃.

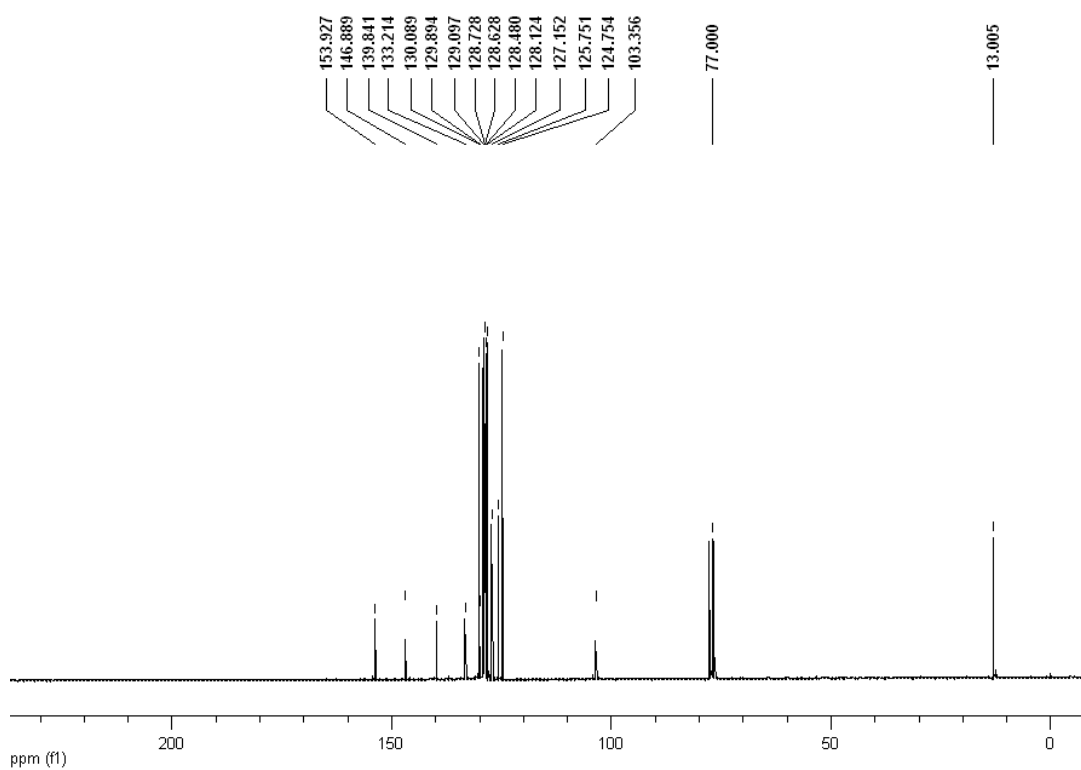


Figura 85. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 5-metil-1,3-difenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol **7j** em CDCl₃.

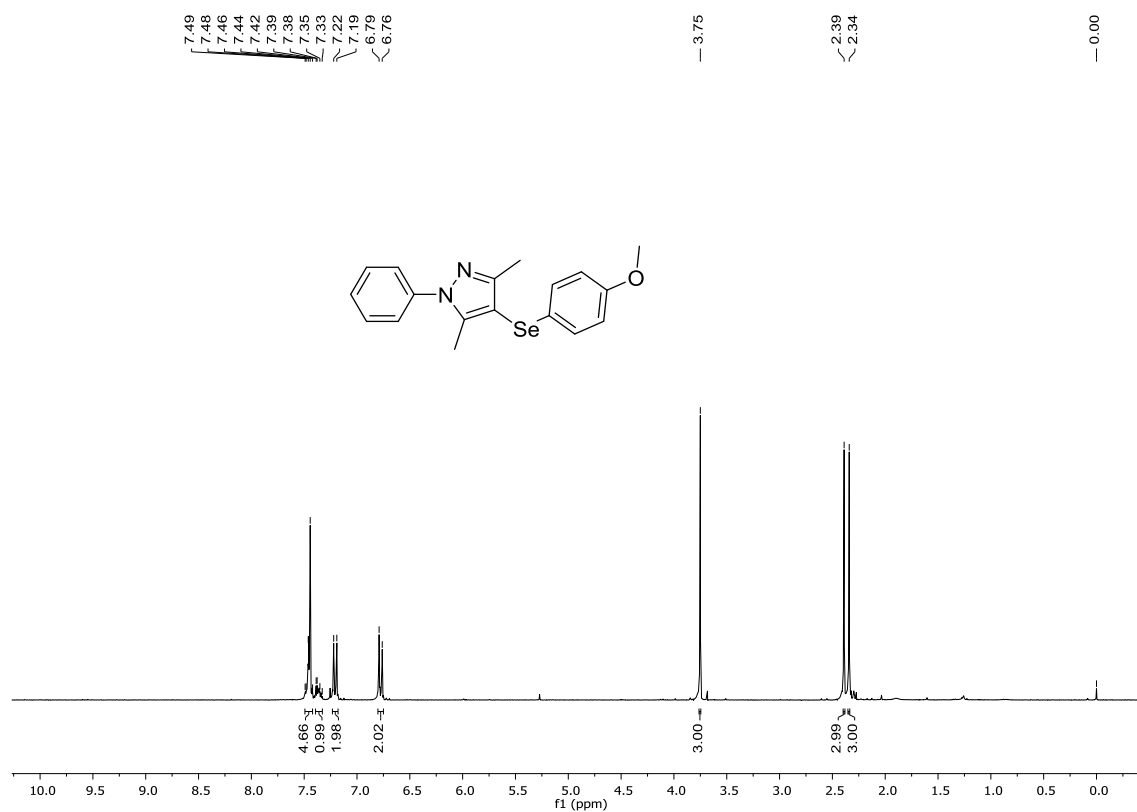


Figura 86. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 4-(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7K** em CDCl₃.

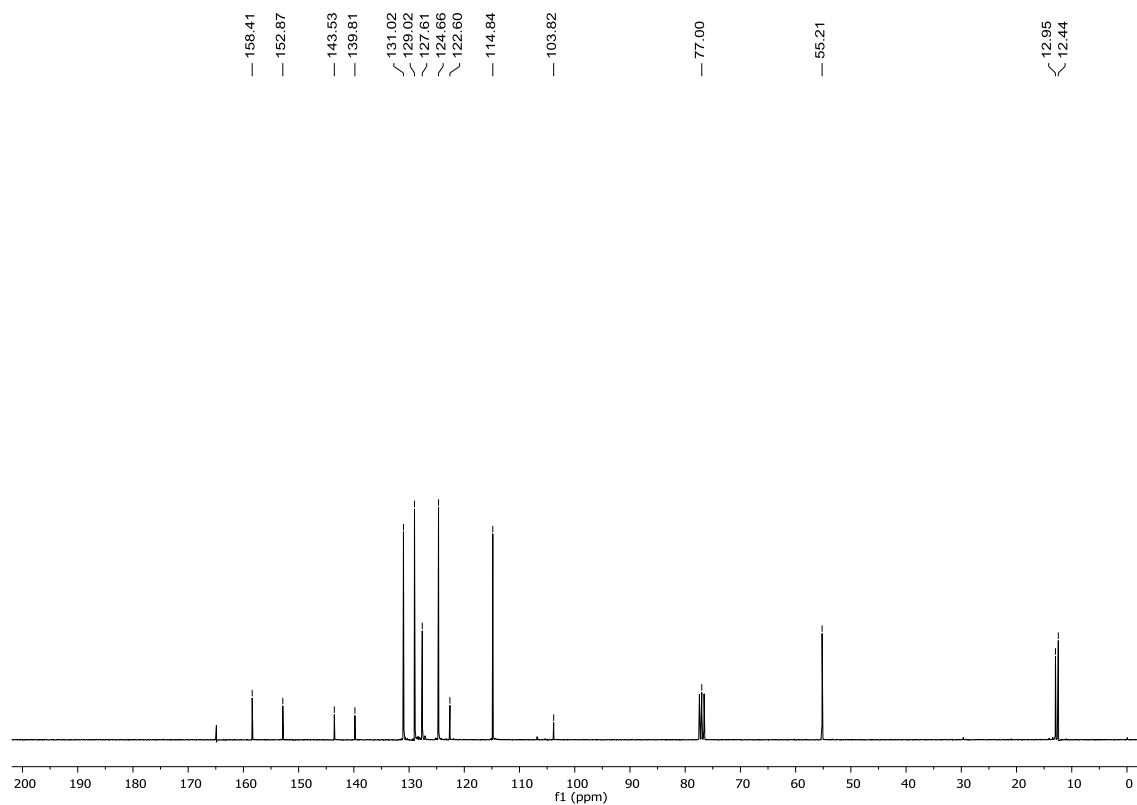


Figura 87. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 4-(metoxifenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7K** em CDCl₃.

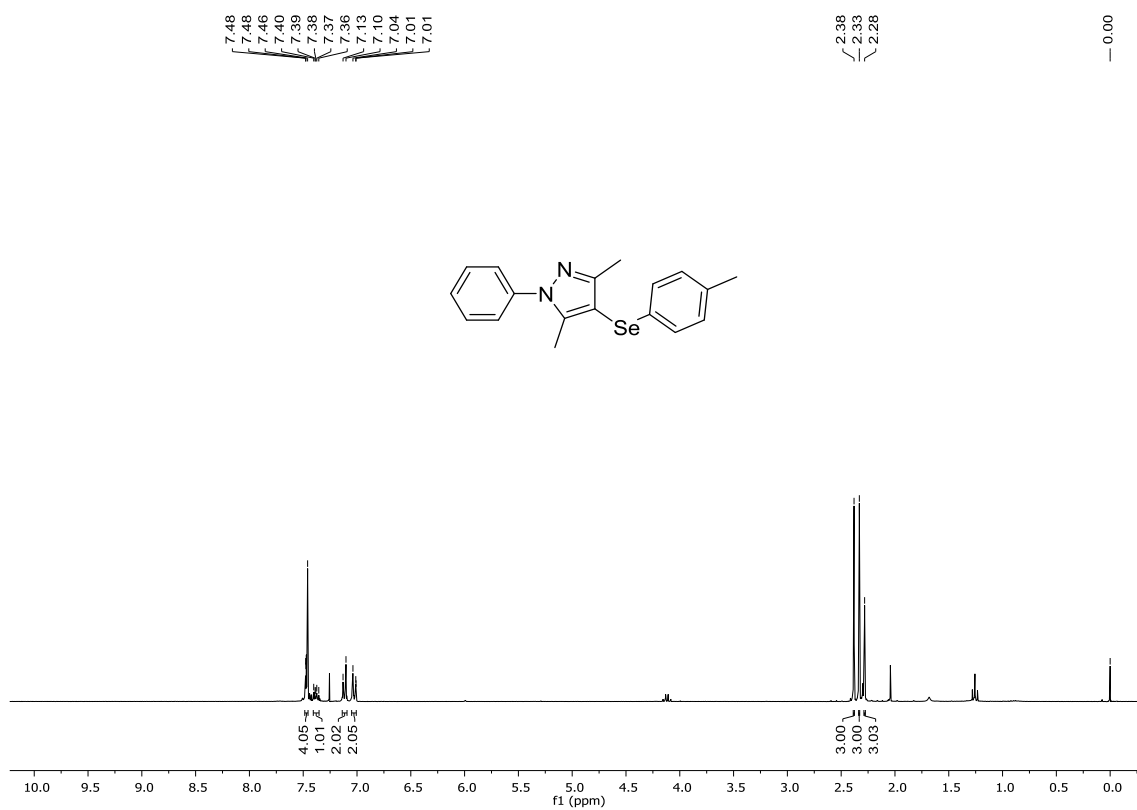


Figura 88. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*p*-toluilselaniil)-1*H*-pirazol **71** em CDCl₃.

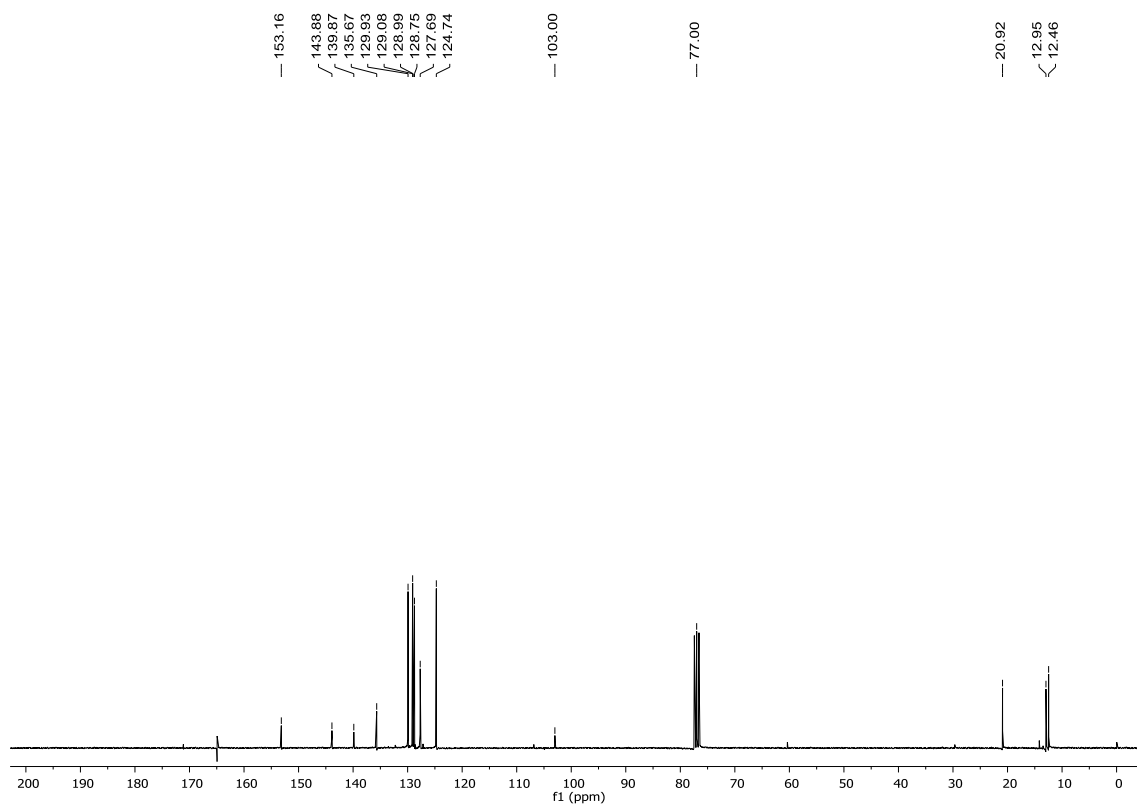


Figura 89. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-(*p*-toluilselaniil)-1*H*-pirazol **71** em CDCl₃.

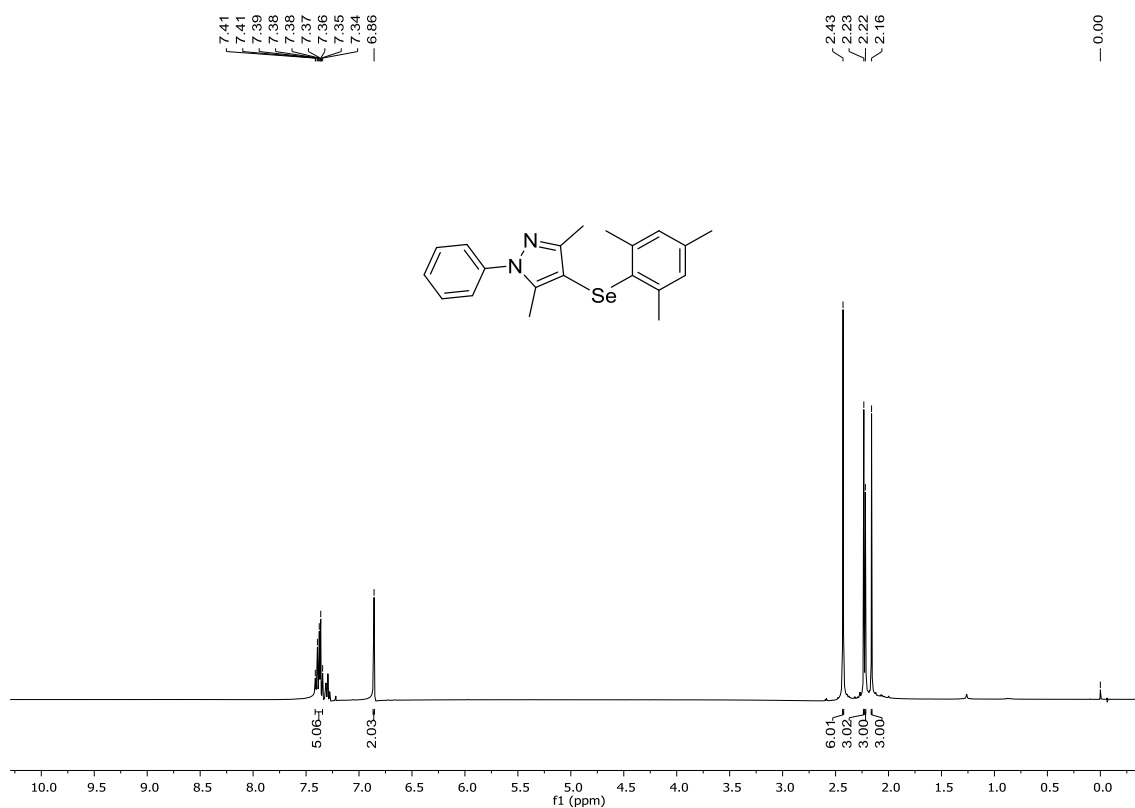


Figura 90. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 3-(mesitilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7m** em CDCl₃.

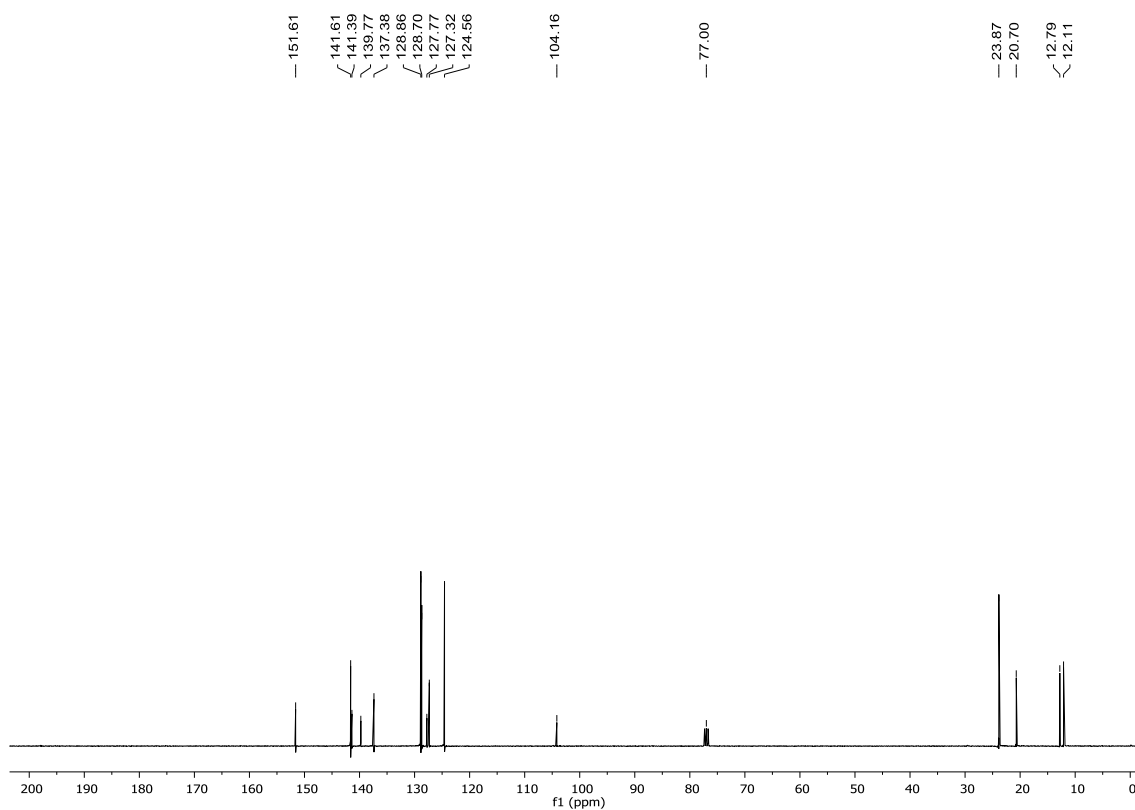


Figura 91. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3-(mesitilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7m** em CDCl₃.

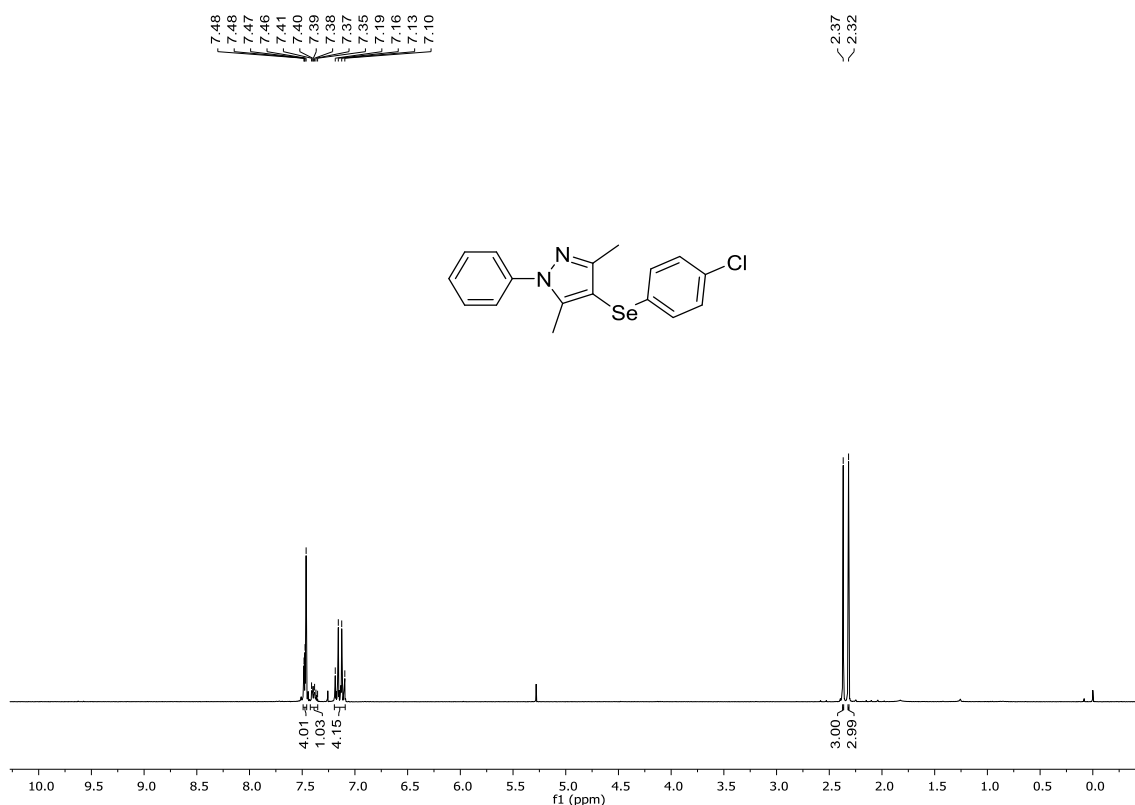


Figura 92. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7n** em CDCl₃.

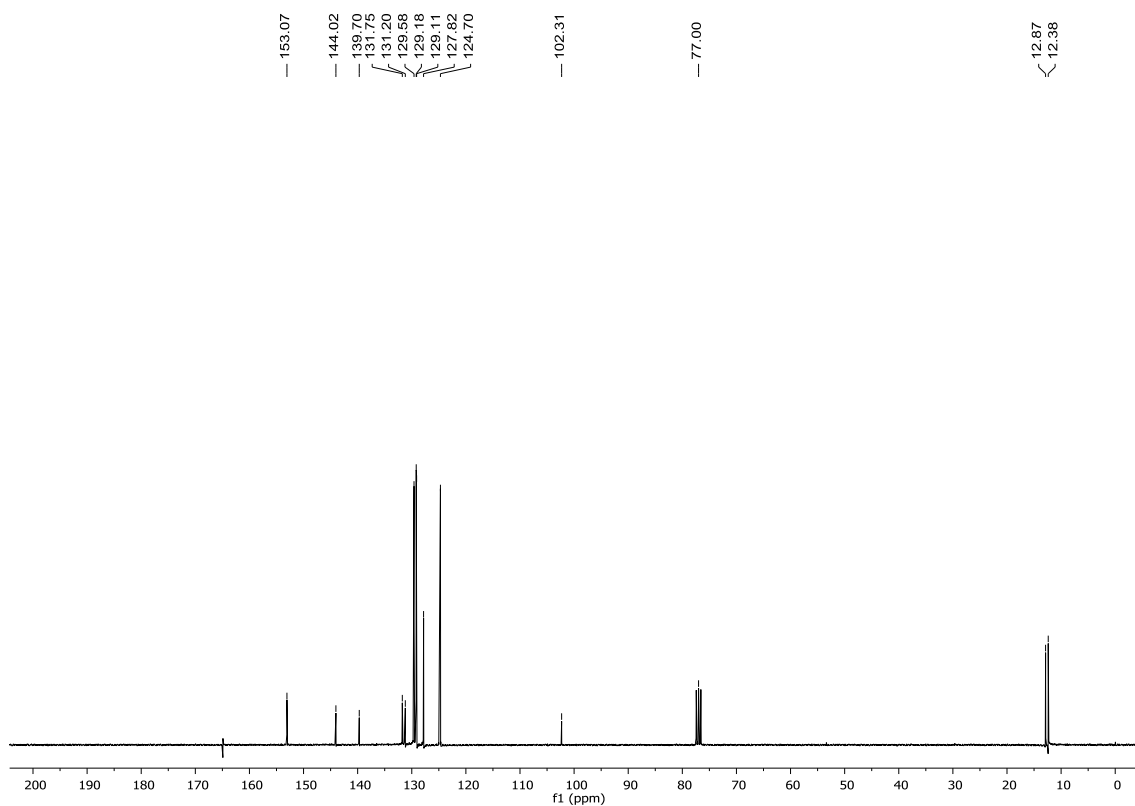


Figura 93. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 4-(4-clorofenilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7n** em CDCl₃.

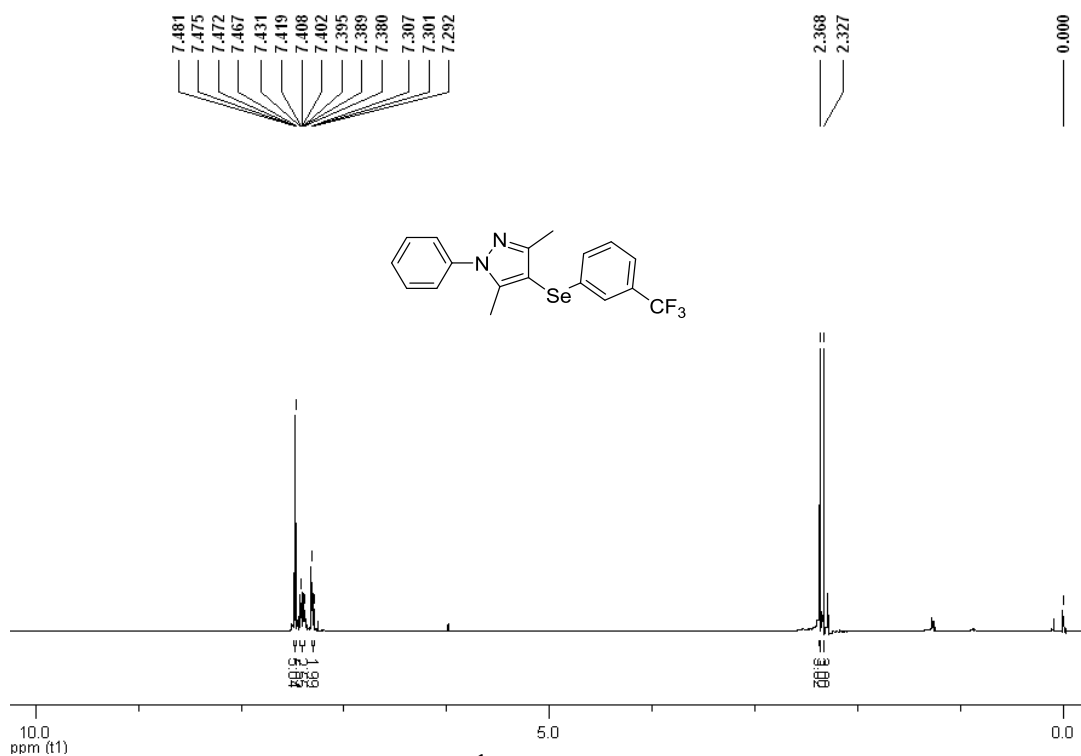


Figura 94. Espectro de RMN ¹H (400 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-((4-trifluorometil)fenilselanil)-1*H*-pirazol **7o** em CDCl₃.

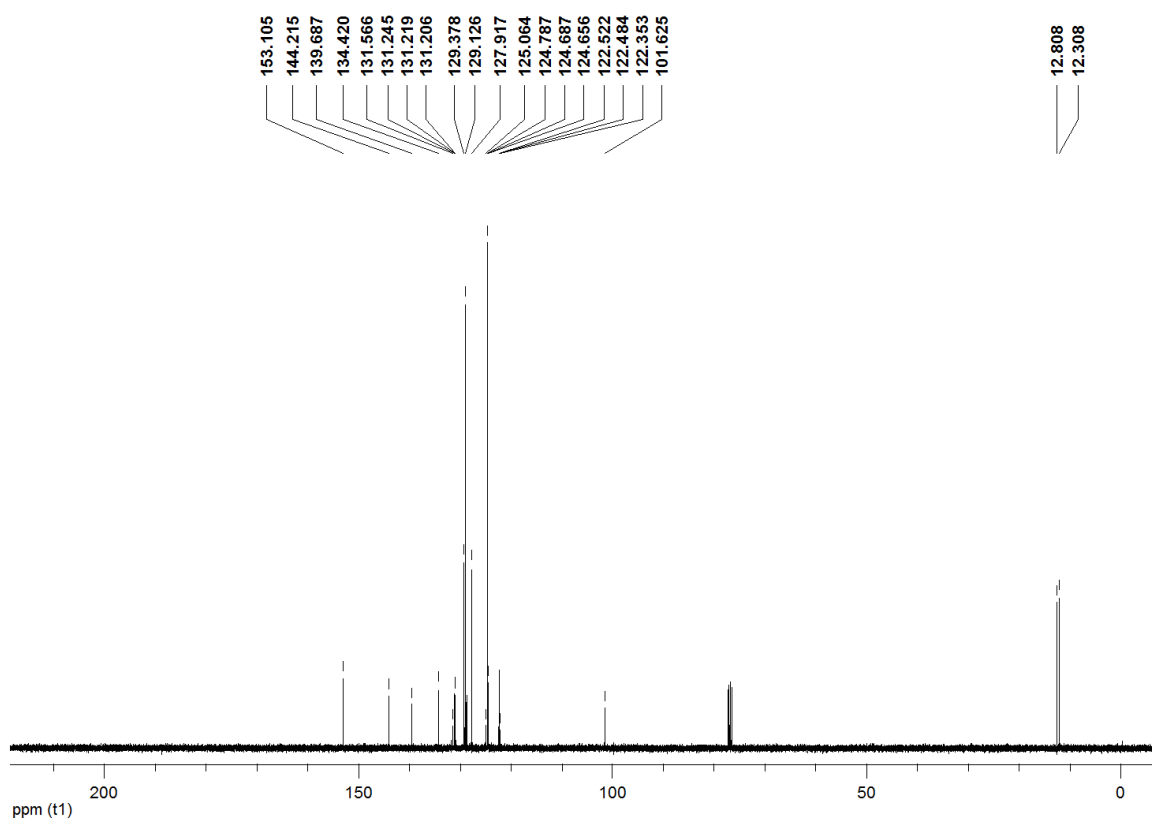


Figura 95. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz) do 3,5-dimetil-1-fenil-4-((4-trifluorometil)fenilselanil)-1*H*-pirazol **7o** em CDCl₃.

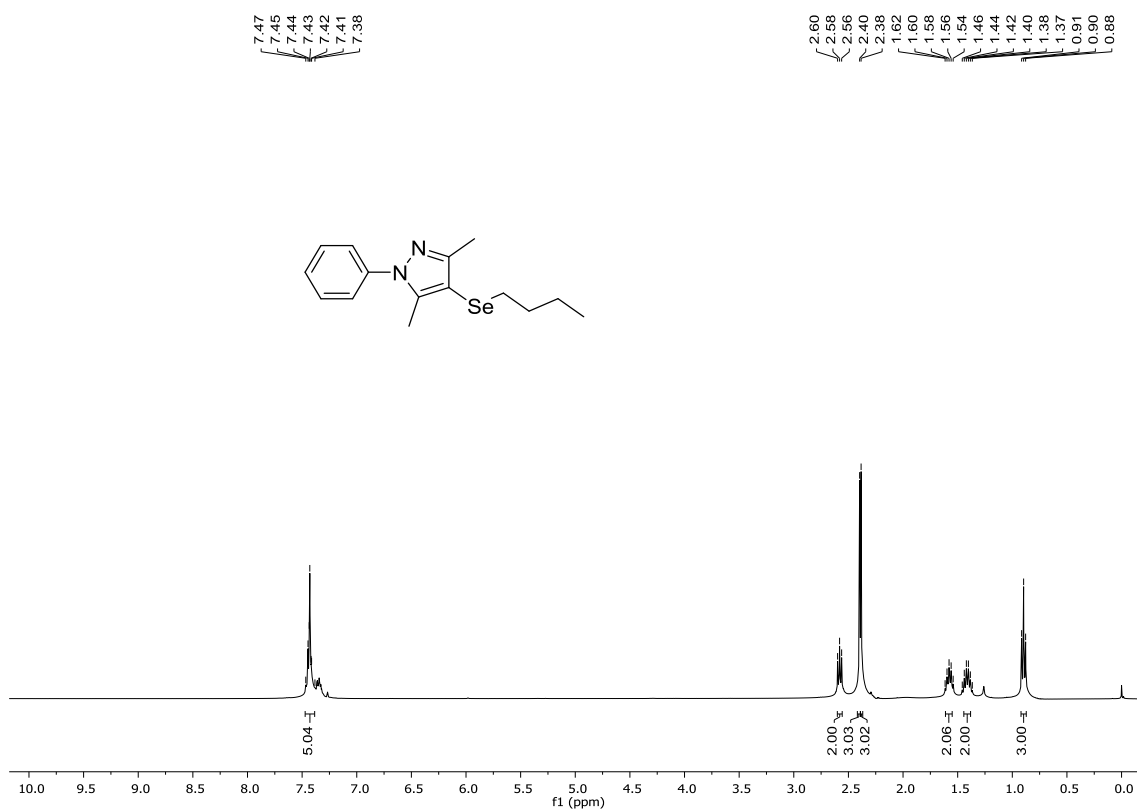


Figura 96. Espectro de RMN ¹H (300 MHz) do 4-(butilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7p** em CDCl₃.

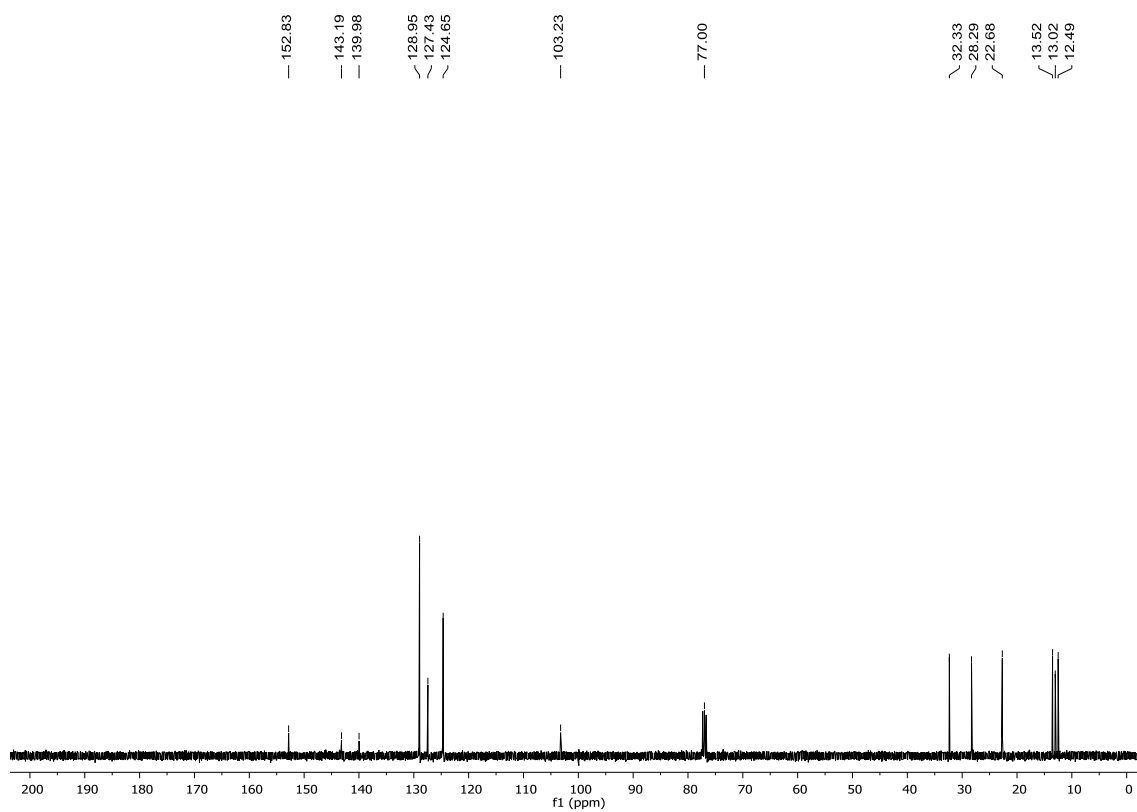


Figura 97. Espectro de RMN ¹³C (75 MHz) do 4-(butilselanil)-3,5-dimetil-1-fenil-1H-pirazol **7p** em CDCl₃.

Anexo I



Pelotas, 16 de maio de 2016

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação da ação antinociceptiva de 4-arilcalcogenopirazóis em camundongos**", registrada com o nº23110.001904/2016-86, sob a responsabilidade de **Raquel Guimarães Jacob** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 09/05/2016. **Porém, indicamos a necessidade de prorrogação do prazo de execução por, pelo menos, mais um ano, considerando o número de animais e a disponibilidade de fornecimento pelo Biotério Central da UFPEL.**

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	17/05/2016 a 17/05/2017
Espécie/linhagem/raça	<i>Mus musculus</i> /Swiss
Nº de animais	858
Idade	60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPEL

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 1904-2016).

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA

Ciente em: ____/____/2016

Assinatura do Professor Responsável: _____