

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ORGÂNICA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE NOVOS
DERIVADOS HETEROCÍCLICOS DO SISTEMA 1-*H*-
PIRAZOLO[3,4-*b*] PIRIDINA POTENCIALMENTE
LEISHMANICIDAS**

Cláudio Márcio Freitas Lourenço

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós
Graduação em Química Orgânica, como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dra. Aurea Echevarria

Seropédica, Rio de Janeiro

Julho - 2002

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE NOVOS
DERIVADOS HETEROCÍCLICOS DO SISTEMA 1-H-
PIRAZOLO[3,4-*b*]PIRIDINA POTENCIALMENTE
LEISHMANICIDAS**

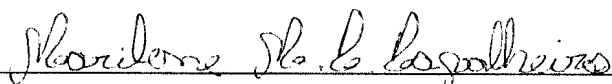
Cláudio Márcio Freitas Lourenço

APROVADO EM 5 / 07 / 02

BANCA EXAMINADORA




Presidente: Prof. Dra. Aurea Echevarria.
Departamento de Química – ICE - UFRRJ.



Dra. Marilene Canto-Cavalheiro
Departamento de Imunologia – FIOCRUZ.



Prof. Dr. Marco Edilson Freire de Lima
Departamento de Química – ICE - UFRRJ.



Suplente: Prof. Dr. João Batista Neves da Costa.
Departamento de Química – ICE - UFRRJ.

547.593 Lourenço, Cláudio Márcio Freitas, 1972-
L892s Síntese e caracterização estrutural de novos
T derivados heterocíclicos do sistema
1-H-Pirazolo[3,4-b] piridina potencialmen-
te leishmanicidas/ Cláudio Márcio Freitas
Lourenço. – 2002.

116f. : il.

Orientador: Aurea Echevarria.

Dissertação (mestrado) – Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de
Ciências Exatas.

Bibliografia: f. 114-116.

1. Compostos heterocíclicos – Teses. 2.
Piridina – Uso terapêutico – Teses. 3. Leish-
maniose – Medicamentos – Teses. I. Echevar-
ria, Aurea. II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Instituto de Ciências Exatas.
III. Título.

Agradecimentos

Aos funcionários Eli, Fábio e Gilson, pelos serviços gentilmente prestados.

Ao colega Paulo Afonso, pela ajuda no laboratório.

Aos professores Marco Edílson e Carlos Maurício, pela contribuição neste trabalho.

À minha orientadora Áurea Echevarria, por toda a sua ajuda e pelo convívio agradável nestes últimos quatro anos.

E especialmente, à professora Aparecida Cayoco Ponzoni, por ter auxiliado o meu ingresso na área de pesquisa.

***“Quanto mais próximo da ciência,
mais indecente é ser cristão”***

Nietzsche

Índice

Assunto	Página
Lista de tabelas	1
Lista de espectros	2
Lista de substancias	7
Lista de abreviaturas	8
Resumo	9
Summary	10
1.0- Introdução	11
1.1 - O sistema heterocíclico 1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridina	11
1.2 - Síntese do sistema 1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridina	13
1.3 - Estudos recentes relativos à atividade biológica do sistema 1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridina	17
1.3.1- Atividade analgésica	17
1.3.2- Atividade sobre a disfunção erética	18
1.3.3- Atividade antimalarial	19
1.4 - Leshmaniose	21
1.4.1- A doença	21
1.4.2- Quimioterapia da leishmaniose	24
1.4.3- Quimioterápicos em fase experimental	27
2.0 - Objetivos	34
3.0 - Materiais e métodos	36

3.1 -Matérias - primas	36
3.2 - Determinação estrutural	36
3.3 -Pontos de fusão	36
3.4 - Cromatografia	37
3.5 - Modelagem molecular	37
3.6 - Síntese dos derivados pirazolopiridínicos	38
3.6.01 - Síntese do composto 1,3-dimetil-5-aminopirazol (C1)	38
3.6.02- Síntese do composto α -carboetoxi- β -(1-metil-3-metil-5-aminopirazolil)acrilato de etila (C2)	39
3.6.03- Síntese do composto 1,3-dimetil-4-cloro-1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboetoxipiridina (C3)	40
3.6.04- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-arilamino- 1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboetoxipiridinas (C4-8)	41
3.6.05- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-amino- 1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboetoxipiridinas (C9-12)	43
3.6.06- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-arilamino- 1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboxipiridinas (C13-17)	46
3.6.07- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-arilamino-1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]piridinas (C18-22) - Método 1	47
3.6.08- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-arilamino- 1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]piridinas (C18-22) - Método 2	49

3.6.09- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-amino-1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboxipiridinas (C23-25)	53
3.6.10- Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-amino-1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]piridinas (C26-28) Método 1	54
3.6.11 - Síntese dos derivados 1,3-dimetil-4-amino-1 <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]piridinas (C26-29) Método 2	55
4.0- Resultados e discussão	57
4.1- Síntese dos derivados 1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridínicos	57
4. I. 1-Derivados ésteres 1,3-dimetil-4-(amino ou anilino)-1- <i>H</i> -pirazolo [3,4- <i>b</i>]-5-carboetoxipiridinas	57
4.1.2- Derivados descarboxilados 1,3-dimetil-4-(amino ou anilino)- -1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridinas	59
4.2- Caracterização estrutural	62
4.2.1-Análise dos espectros de infravermelho	62
4.2.2-Análise dos espectros de RMN de ¹ H	64
4.2.3-Análise dos espectros de RMN de ¹³ C	65
4.2.4-Análise dos espectros de correlação homonuclear (¹ H x ¹ H - COSY)	67
4.2.5- Análise dos espectros de correlação heteronuclear (¹ H x ¹³ C- HETCOSY)	68
4.3-Modelagem molecular	70

5.0- Conclusões	73
6.0- Espectros obtidos	74
7.0- Referencias bibliográficas	114

Lista de Tabelas

Tabela	Página
Tabela 1- Resultado da atividade antimalarial para os derivados pirazolopiridínicos.	20
Tabela 2- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C4-8 .	41
Tabela 3- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C9-12 .	43
Tabela 4- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C13-17 .	46
Tabela 5- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C18-22 .	48
Tabela 6- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C18-22 .	50
Tabela 7- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C23-25 .	53
Tabela 8- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C26-28 .	54
Tabela 9- Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados C26-29 .	56
Tabela 10- Deslocamentos químicos de ^{13}C para os derivados pirazolopiridínicos	66
Tabela 11- Valores de entalpia padrão de reação para os derivados descarboxilados C18-22	72

Lista de Espectros

Substância	Página
1,3-dimetil-5-aminopirazol (C1)	75
Espectro nº 1 - IV	75
Espectro nº 2 -RMN de ¹ H	75
α-carboetoxi-β-(1-metil-3-metil-5-aminopirasolil)	
acrilato de etila (C2)	76
Espectro nº 3 - IV	76
Espectro nº 4 - RMN de ¹ H	76
1,3-dimetil-4-cloro-1-<i>H</i>-pirasolo[3,4-<i>b</i>]	
-5-carboetoxipiridina (C3)	77
Espectro nº 5 - IV	77
Espectro nº 6 - RMN de ¹ H	77
1,3-dimetil-4-[3',-flúor-anilino]-1-<i>H</i>-pirasolo[3,4-<i>b</i>]	
5-carboetoxipiridina (C6)	78
Espectro nº 7 - IV	78
Espectro nº 8 - RMN de ¹ H	78

Espectro nº 9 - RMN de ^{13}C	79
Espectro nº 10 - ^1H x ^1H -COSY	80
Espectro nº 11 - RMN de ^{13}C - DEPT	81
1,3-dimetil-4-piperidinil-1<i>H</i>-pirazolo[3,4-<i>b</i>]	
-5-carboetoxipiridina (C9)	82
Espectro nº 12 - IV	82
Espectro nº 13 - RMN de ^1H	82
Espectro nº 14 - RMN de ^{13}C	83
1,3-dimetil-4-morfolinil-1<i>H</i>-pirazolo[3,4-<i>b</i>]	
-5-carboetoxipiridina (C10)	84
Espectro nº 15 - IV	84
Espectro nº 16 - RMN de ^1H	84
Espectro nº 17 -RMN de ^{13}C	85
Espectro nº 18 - ^1H x ^1H - COSY	86
1,3-dimetil-4-pirrolidinil-1<i>H</i>-pirazolo[3,4-<i>b</i>]	
-5-carboetoxipiridina (C11)	87
Espectro nº 19 - IV	87
Espectro nº 20 - RMN de ^1H	87

Espectro n° 21 - RMN de ^{13}C	88
Espectro n° 22 - ^1H x ^1H - COSY	89
1,3-dimetil-4-cicloexilaminil-1<i>H</i>-pirazolo[3,4-<i>b</i>]	
-5-carboetoxipiridina (C12)	90
Espectro n° 23 - IV	90
Espectro n° 24 -RMN de ^1H	90
Espectro n° 25 - RMN de ^{13}C	91
Espectro n° 26 - RMN de ^{13}C - DEPT	92
1,3-dimetil-4-(4'-metil-anilino)-1<i>H</i>-pirasolo[3,4-<i>b</i>]	
piridina (C18)	93
Espectro n° 27 - IV	93
Espectro n° 28 - RMN de ^1H	93
Espectro n° 29 - RMN de ^{13}C	94
1,3-dimetil-4-anilino-1<i>H</i>-pirazolo[3,4-<i>b</i>] piridina (C19)	95
Espectro n° 30 - IV	95
Espectro n° 31 - RMN de ^1H	95
Espectro n° 32 - RMN de ^{13}C	96
Espectro n° 33 - ^1H x ^1H - COSY	97
Espectro n° 34 - ^1H x ^{13}C -HETCOSY	98

1,3-dimetil-4-(3'-flúor-anilino)-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]

piridina (C20)	99
Espectro nº 35 - IV	99
Espectro nº 36 - RMN de ¹ H	99
Espectro nº 37 - RMN de ¹³ C	100
Espectro nº 38 - ¹ H x ¹ H - COSY	101

1,3-dimetil-4-(4'-hidroxi-anilino)-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]

piridina (C21)	102
Espectro nº 39 - IV	102
Espectro nº 40 - RMN de ¹ H	102
Espectro nº 41 - RMN de ¹³ C	103
Espectro nº 42 - ¹ H x ¹ H - COSY	104
Espectro nº 43 - ¹ H x ¹³ C - HETCOSY	105

1,3-dimetil-4-(4'-hidroxi-anilino)- 1*H*-pirazolo [3,4-*b*]

piridina (C22)	106
Espectro nº 44 - IV	106
Espectro nº 45 - RMN de ¹ H	106
Espectro nº 46 - RMN de ¹³ C	107

1,3-dimetil-4-morfolinil-1H-pirazolo[3,4-b] piridina (C27)	108
Espectro n° 47 - IV	108
Espectro n° 48 - RMN de ^1H	108
Espectro n° 49- RMN de ^{13}C	109
Espectro n° 50 - ^1H x ^1H - COSY	110
Espectro n° 51 - ^1H x ^{13}C - HETCOSY	111

1,3-dimetil-4-cicloexilaminil-1H-pirazolo[3,4-b]

piridina (C29)	112
Espectro n° 52 - IV	112
Espectro n° 53 - RMN de ^1H	112
Espectro n° 54 - RMN de ^{13}C	113

Lista de Substâncias

Substância	Página
Adenina	12
Alopurinol	32
Amodiaquina	33
Citosina	12
Cloroquina	20
Dipirona	17
Glucantime	25
Guanina	12
Mefloquina	20
Mepacrina	27
Nifurtimox	26
Pentamidina	26
Pentostan	25
Purina	32
Sildenafil	19
Tartarato de potássio antimonial trivalente	24
Timina	12
Uracil	12

Lista de Abreviaturas

°C - Graus Célsius

cm⁻¹ - Centímetro recíproco

COSY - Correlated Spectroscopy

DEPT - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DMSO - Dimetil Sulfóxido

EtOH - Etanol

g - Grama

HETCOSY - Heteronuclear Chemical Shift Correlation

Hz - Hertz

IV - Infravermelho

J - Constante de Acoplamento

Lit. - Literatura

mL - Mililitro

pH - Potencial Hidrogeniônico

ppm - Partes por Milhão

RMN de ¹³C - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN de ¹H - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

α - Alfa

β- Beta

δ - Deslocamento Químico

ν - Deformação Axial

Resumo

Devido aos bons resultados da atividade anti-leishmania apresentados por derivados do sistema 1*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridina, obtidos anteriormente por nosso grupo de pesquisa, sintetizou-se novos derivados deste sistema, buscando maior analogia estrutural com a substância anti-parasitária Amodiaquina.

Este trabalho relata a síntese de três novas séries de pirazolopiridinas, obtidas através da rota sintética que envolveu a reação entre o etoximalonato de dietila e o 1,3-dimetil-5-aminopirazol (**C1**) fornecendo o α -carbetoxi- β -(1,3-dimetil-5-aminopirazolil)acrilato de etila (**C2**), posteriormente submetido à ciclização e cloração na presença de POCl₃, gerando assim o sistema pirazolopiridina contendo o grupo éster (**C3**). Este intermediário, em reações com anilinas e aminas, forneceu os derivados pirazolopiridinas anilino e amino-substituídos, respectivamente.

Os derivados 1,3-dimetil-4-[amino ou anilino]- 1*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridinas, foram obtidos mediante duas metodologias de descarboxilação, sendo que na primeira, partiu-se dos respectivos ácidos em refluxo com DowTherm® e, na segunda, diretamente dos respectivos ésteres em refluxo com H₃PO₄ concentrado, sendo que esta apresentou melhores resultados para a série anilino-substituída.

Para se determinar a influência da ligação-hidrogênio entre o nitrogênio amínico e o hidrogênio carboxílico, envolvida nas reações para a obtenção dos derivados descarboxilados, à partir dos ácidos carboxílicos pirazolopiridínicos, foi realizado um estudo de modelagem molecular, utilizando o método semi-empírico AM1 (programa MOPAC). Os resultados obtidos para as energias correspondendo às entalpias de reação, correlacionaram-se com os resultados experimentais indicando a importância dos efeitos eletrônicos dos substituintes no anel anilínico sobre a força da ligação-hidrogênio, cuja quebra está envolvida na reação de descarboxilação.

Summary

Based on our previous results of a significant anti-leishmanial activity of pyrazolopyridine derivatives, new derivatives of this system were synthesized searching for a more similarly structure of anti-parasitic Amodiaquine.

In this work we related the synthesis of 3 new pyrazolopyridine derivatives by synthetical approach involving the 1,3-dimethyl-5-aminopyrazole (**C1**) and diethyl ethoxymalonate to afford diethyl α -carboethoxy- β -(1,3-dimethyl-5-aminopyrazolilacrilate (**C2**) later under POCl_3 reaction furnishing the ester-pyrazolopyridine intermediate (**C3**). This intermediate was treated with appropriate substituted anilines and amines to afford the anilino and amino-pyrazolopyridines, respectively.

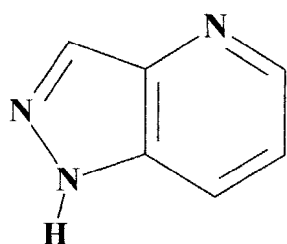
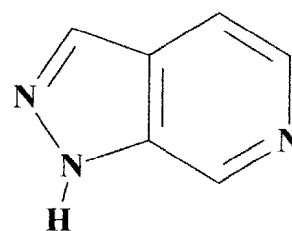
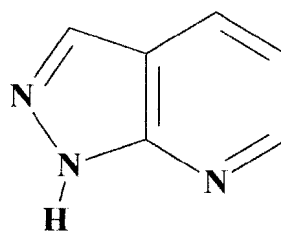
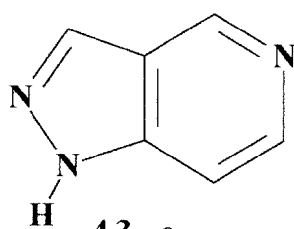
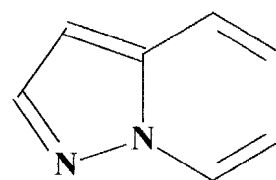
The 1,3-dimethyl-4-[amino or anilino]-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine were obtained by two decarboxylation methods, the first started by the corresponding carboxylic acids at reflux in DowTherm® and, in the second method the corresponding esters were directly refluxed in concentrated phosphoric acid. The second method presented the best results for anilino-pyrazolopyridine series.

The hydrogen bond influence between amine-nitrogen and carboxylic hydrogen, involved in decarboxylation reactions was studied by molecular modelling using the semi-empirical method AM1 (MOPAC program). The values of the reaction enthalpies showed a relationship with the experimental results, indicating the electronic effects importance of moieties in aniline ring on hydrogen bond power whose break is involved in decarboxylation reactions.

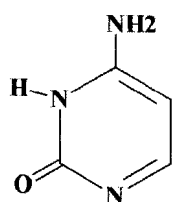
1-Introdução

1.1- O sistema heterocíclico Pirazolo[3,4-*b*]piridina

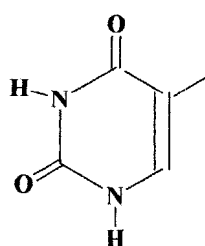
O sistema heterocíclico pirazolopiridina compreende cinco tipos de estruturas, sendo quatro destas isoméricas, possibilitando diversos derivados de origem sintética¹.

4,3 - *b*3,4 - *c*3,4 - *b*4,3 - *c*1,5 - *a*

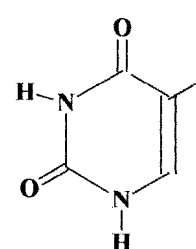
Estes compostos apresentam estruturas que exibem alguma analogia estrutural com determinadas biomoléculas, como os indóis, as bases purínicas - adenina e guanidina, e as bases pirimidínicas - timina, citosina e uracila.



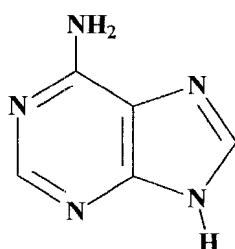
Timina



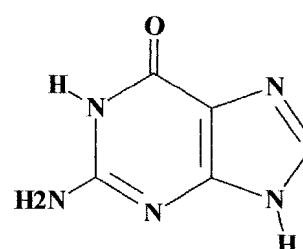
Citosina



Uracila



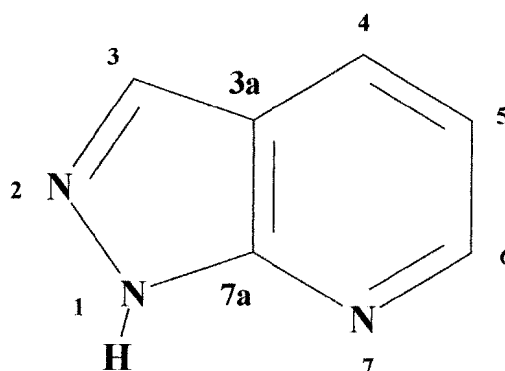
Adenina



Guanina

Devido à semelhança com tais biomoléculas, diversos pesquisadores tiveram a idéia da utilização de derivados de tais sistemas em organismos vivos, nos quais estes compostos poderiam exercer alguma atividade biológica, a qual poderia vir a ser benéfica em relação a diversas enfermidades².

Em relação à numeração, o sistema 1-*H* -pirazolo[3,4-*b*]piridina obedece à seguinte ordem:



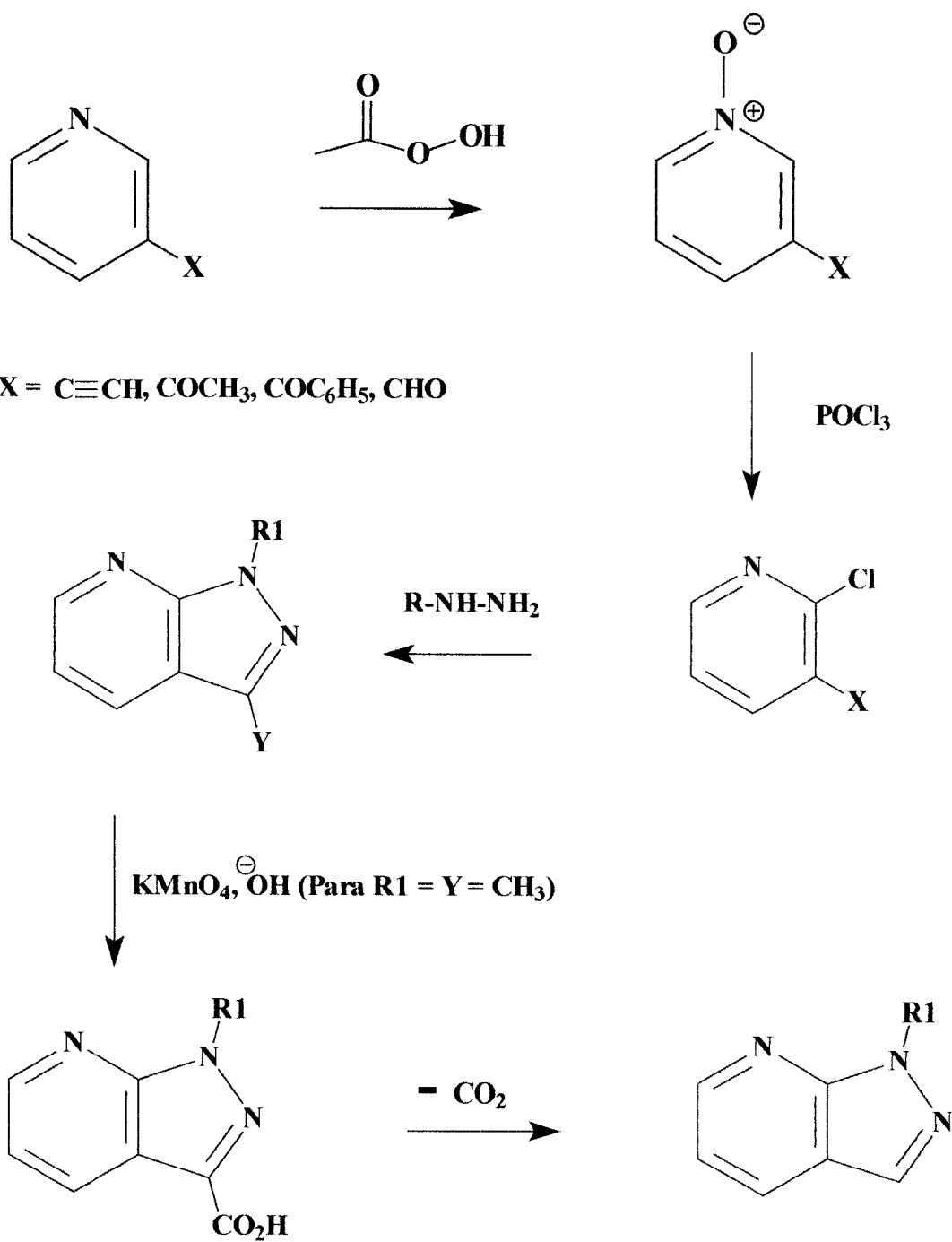
1.2-Síntese do sistema Pirazolo[3,4-*b*]piridina

No que se refere à síntese dos derivados do sistema heterocíclico Pirazolo[3,4-*b*]piridina, existem dois principais métodos, sendo que em ambos ocorrem variações, em relação aos substituintes e reagentes. Tais metodologias são descritas a seguir.

Método 1: Síntese a partir da reação entre piridinas apropriadamente substituídas com hidrazinas³

Tal metodologia de síntese consiste na utilização de piridinas substituídas com um átomo de cloro ligado à posição 2 e um grupo receptor de elétrons na posição 3, para vir a favorecer o ataque nucleofílico promovido pela hidrazina, a qual dá origem ao anel pirazólico. Para favorecer a halogenação na posição 2 do anel piridínico, é necessário que exista deficiência eletrônica no referido anel, o que pode ser adquirido pela oxidação do nitrogênio piridínico, utilizando-se um perácido.

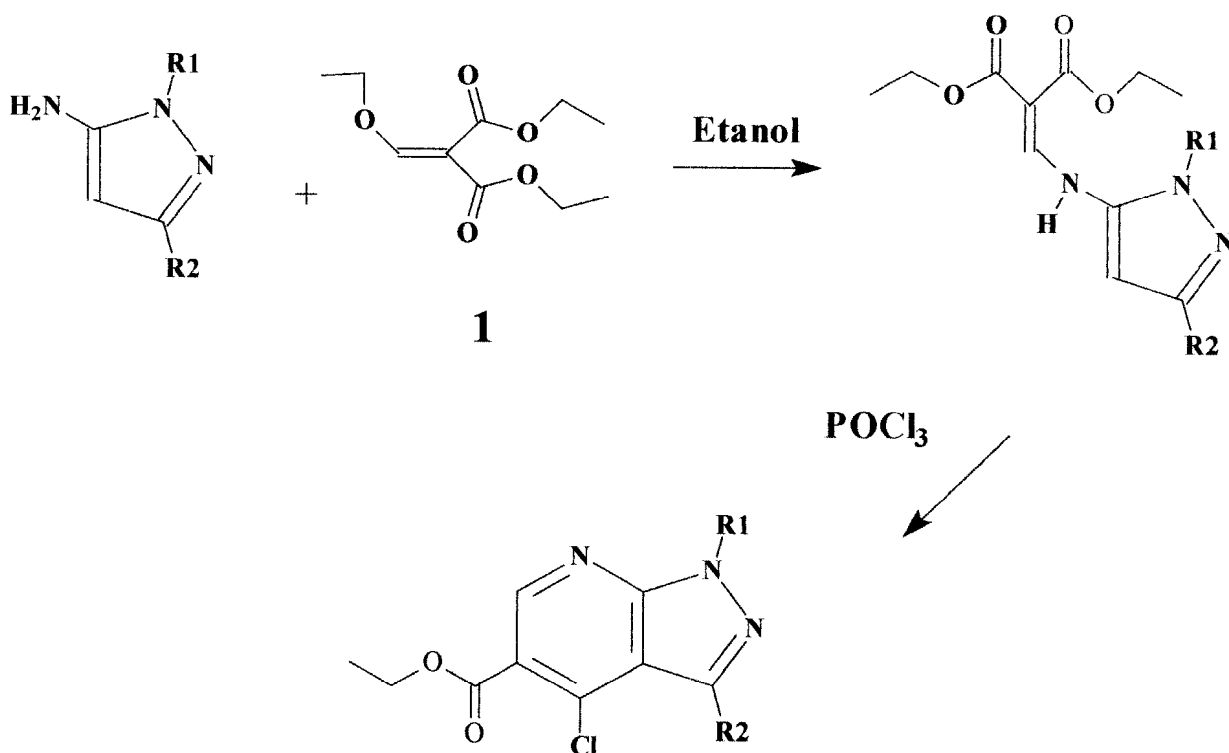
O esquema básico ilustrando esta metodologia aparece a seguir.



Método 2 - A partir de 5-aminopirazóis com posterior formação do anel piridínico^{4,5}

Tal metodologia consiste na reação de 5-aminopirazóis com compostos do tipo 1, com posterior ciclização utilizando-se POCl_3 , resultando no sistema desejado, apresentando um átomo de cloro na posição 4 do anel piridínico, o que se torna interessante, no caso de se desejar uma substituição nucleofílica em tal carbono.

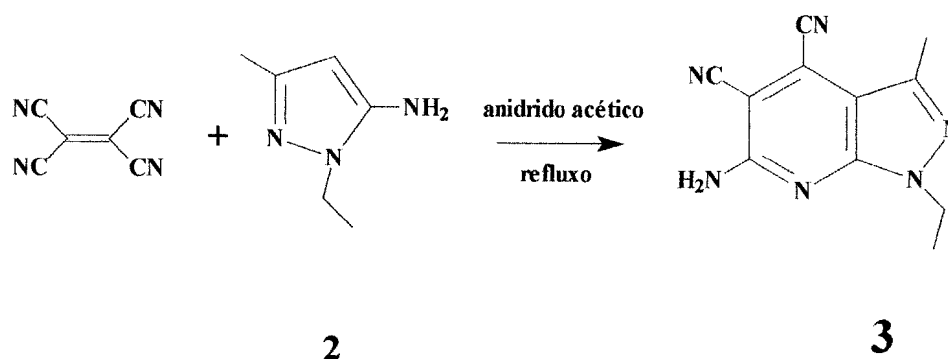
O esquema a seguir ilustra tal metodologia.



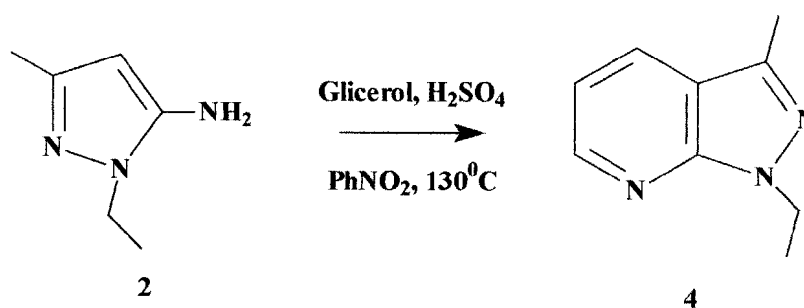
Onde: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$, Alquil ou Aril

Outras alternativas de síntese para o sistema Pirazolo[3,4-*b*]piridina

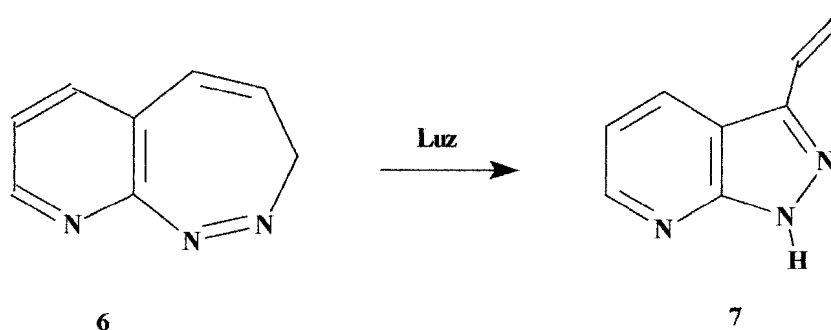
A reação entre tetraciano etileno (TCNE) com o composto 1-etil-3-metil-5-aminopirazol (**2**), em refluxo com anidrido acético gera o derivado **3**⁶.



O 5-aminopirazol **2** quando reação sob as condições de Skraup gera o derivado **4**⁷.



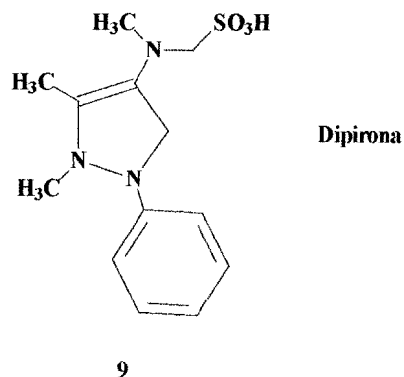
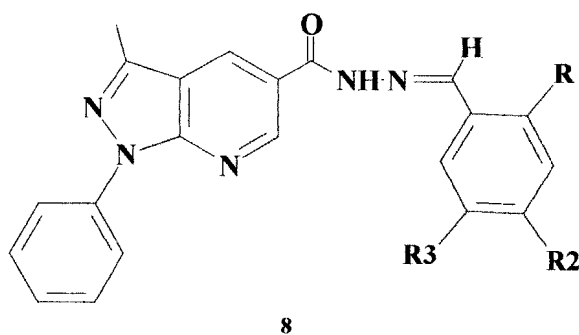
A fotólise da piridodiazepina (**6**) em dicloro metano ou metanol, fornece o derivado pirazolo[3,4-*b*]piridina **7**^{8,9}



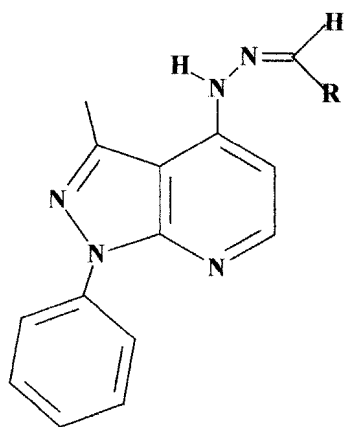
1.3-Estudos sobre a atividade biológica do sistema pirazolo [3,4-*b*] piridina

1.3.1-Atividade analgésica

Foi relatado na literatura ¹⁰ que alguns derivados pirazolopiridina da série **8**, contendo grupos doadores de elétrons no anel benzênico, apresentaram atividade analgésica superior à dipirona **9**, enquanto que os derivados que continham apenas grupos retiradores de elétrons no mesmo anel, tiveram atividade inferior. Os derivados com $R_1 = CF_3$; $R_2 = R_3 = H$ e $R_1 = NO_2$; $R_2 = R_3 = H$ apresentaram atividade inferior à dipirona, e quando os substituintes $R_1 = R_3 = H$; $R_2 = F$ e $R_1 = NO_2$; $R_2 = R_3 = O-CH_2-O$ estiveram presentes, os derivados pirazolopiridina apresentaram atividade analgésica superior à dipirona.

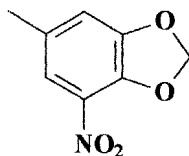


Em trabalho realizado posteriormente pelos mesmos pesquisadores, demonstrou-se que alguns derivados da série **10** pirazolo[3,4-*b*]piridina apresentaram atividade analgésica similar à dipirona¹¹.

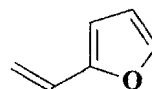


10

Onde: R = p-OCH₃-C₆H₄; p-F-C₆H₄;



(11)



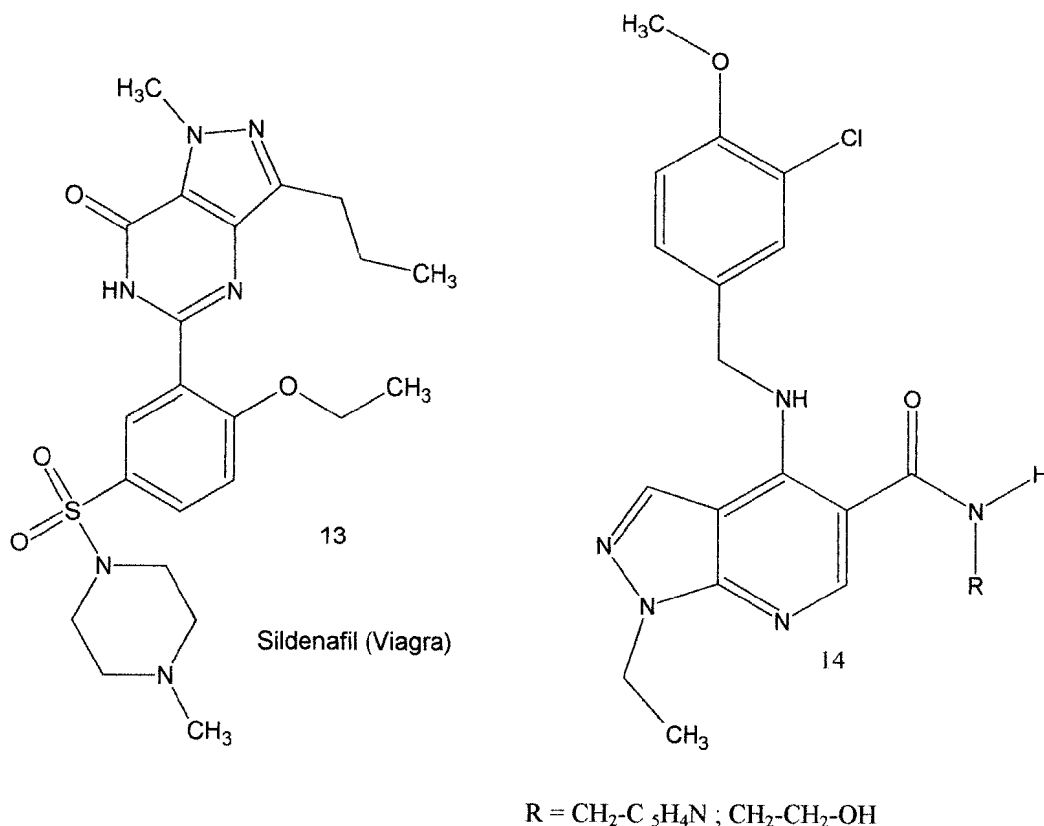
(12)

1.3.2-Atividade sobre a disfunção erétil

O interesse para a busca de novas substâncias para atuação na disfunção erétil surgiu devido aos efeitos colaterais apresentados pelo fármaco Sildenafil (Viagra) **13**, como por exemplo, náuseas, dor de cabeça e rubor. Assim, os pesquisadores tiveram interesse em obter novos compostos para tal finalidade.

A enzima fosfodiesterase tipo 5 (PDE5) é responsável pela desativação por hidrólise das enzimas cGMP e cAMP, sendo estas últimas, mediadores químicos que dão origem a eventos em cadeia que favorecem o processo de ereção peniana.

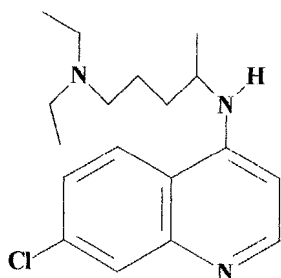
Em ensaios *in vitro*, frente à PDE5, foi verificado que os compostos pertencentes à classe dos pirazolo[3,4-*b*]piridina **14** apresentaram valores de IC₅₀ relativos a tal enzima, de 1,4 nM e 0,8 nM, respectivamente, contra o valor de 1,6 nM, apresentado pelo Sildenafil¹².



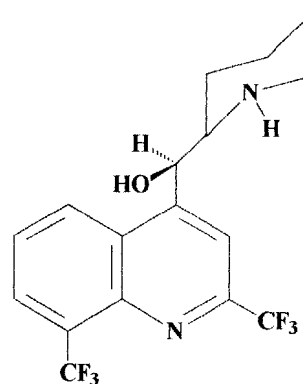
1.3.3-Atividade antimalarial

A malária é uma doença endêmica, causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, que atinge diversas regiões tropicais do planeta. Devido aos efeitos colaterais apresentados pelos enfermos, relativos ao uso dos atuais medicamentos empregados para tal finalidade e a resistência adquirida pelos parasitas frente a tais substâncias, surgiu a necessidade de se obter novas drogas, que venham a ser mais ativas e seletivas frente a tais microorganismos. Como um dos procedimentos utilizados pela química orgânica medicinal é a síntese de substâncias que tenham analogia estrutural com fármacos que já apresentam alguma atividade biológica, surgiu o interesse de se utilizar derivados do sistema pirazolo[3,4-

b]piridina, para esta finalidade, devido à semelhança deste sistema com os fármacos cloroquina **15** e mefloquina **16**, utilizados atualmente no combate à malária¹³.



Cloroquina 15



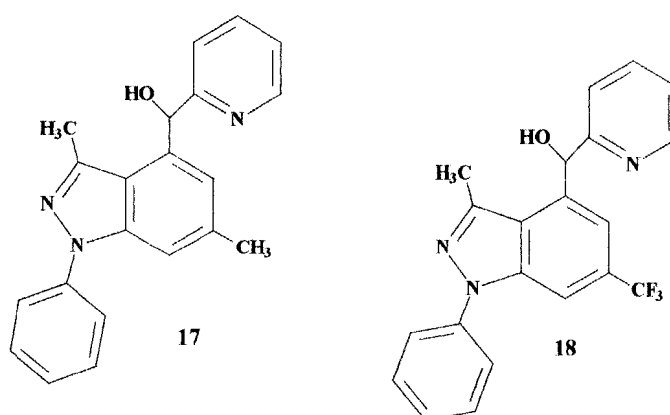
Mefloquina 16

Cientistas brasileiros verificaram que misturas diastereoisoméricas dos compostos **17** e **18** pirazolo[3,4-*b*]piridina, ensaiadas frente a dois tipos de *plasmodium falciparum*, sendo uma variedade resistente à mefloquina e a outra à cloroquina, apresentaram atividades muito interessantes¹⁴. Os resultados estão listados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Resultados da atividade antimalarial para os derivados pirazolopiridínicos.

Composto	<i>Plasmodium falciparum</i>	
	Sensível à cloroquina IC ₅₀ (nM)	Sensível à mefloquina IC ₅₀ (nM)
Cloroquina	0,9	200
Mefloquina	15	8
17 ^c	10,2	13,6
17 ^d	26,0	25,0
18 ^c	15,6	32,0
18 ^d	3,0	2,6

^c Mistura *eritro/treo* : 4 : 1 para 17 e 7 : 3 para 18; ^d Forma *erythro*



1.4- Leishmaniose

1.4.1- A doença

A Leishmaniose é uma doença causada por espécies de protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae, os quais fazem parte do gênero *Leishmania*. Esta moléstia atinge de forma endêmica diversas regiões tropicais do planeta, bem como regiões sub-tropicais, como por exemplo o Oriente médio e a Europa mediterrânea. Estima-se que 12 milhões de pessoas sofrem desta doença, com 400.000 novos casos e 100.000 mortes a cada ano. Cerca de 350 milhões de indivíduos em 88 países estão sob risco de infecção^{15,16}. Tem sido verificado que em algumas regiões o aumento dos casos de leishmaniose está relacionado a fatores que debilitam a defesa do organismo, como a AIDS, a quimioterapia do câncer e transplantes de órgãos¹⁷. Tal doença foi registrada na literatura pela primeira vez em 1903, através de pesquisas realizadas pelos cientistas Leishman e Donovan, os

quais realizaram estudos relativos a forma visceral desta moléstia, denominada Kala-azar, sendo o nome do microrganismo responsável por esta doença dado em homenagem a estes dois pesquisadores¹⁸.

Os vetores de tal doença são insetos pertencentes à ordem dos dípteros, dos gêneros *Lutzomyia* e *Phlebotomus*, sendo que estes ocorrem no Novo e no Velho Mundo, respectivamente. Um destes insetos transmissores é conhecido popularmente no Brasil pelos nomes de Mosquito-palha e Birigui¹⁹. O contágio humano ocorre devido ao fato da fêmea do referido inseto se alimentar de sangue de mamíferos silvestres e também de cães domésticos, ambos contaminados, sendo estes animais os hospedeiros, e posteriormente, picar os seres humanos, dando início ao processo de contaminação. Este protozoário apresenta-se em duas formas na natureza, a forma promastigota e a forma amastigota, sendo que a primeira ocorre no aparelho digestivo do inseto, e a segunda, no organismo contaminado. Quando ocorre a introdução no organismo humano, o parasita na forma promastigota é fagocitado pelos macrófagos, porém não ocorre a destruição do protozoário, sendo que este inicia então a sua reprodução assexuada no interior da referida célula de defesa, passando à forma amastigota, contaminando o organismo²⁰.

A Leishmaniose, dependendo da espécie do parasita, apresenta as seguintes formas clínicas²¹.

Leishmaniose visceral (LV)

Essa doença é causada pelas espécies *L. donovani*, *L. infantum* e *L. chagasi*, sendo esta a forma mais perigosa da doença, gerando lesões no fígado, baço e medula óssea, podendo levar a vítima à morte.

Leishmaniose cutânea (LC)

É causada pelas espécies *L. mexicana*, *L. tropica* e *L. major*, sendo caracterizada por lesões na face, braços e pernas, deixando cicatrizes permanentes.

Leishmaniose muco cutânea (LMC)

É causada pela *L. brasiliensis*, tendo como característica o surgimento de lesões no nariz, orelhas e nas mucosas da garganta, causando deformações na vítima.

Leishmaniose cutânea difusa (LCD)

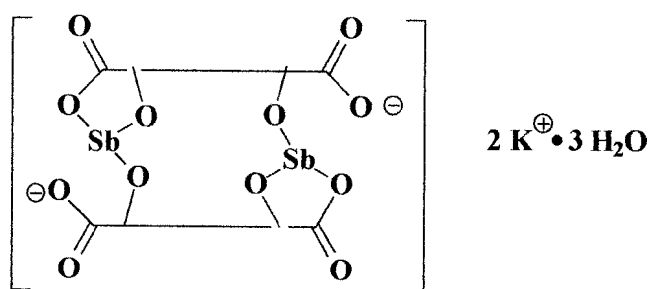
Esta doença atinge a vítima como uma forma de "pós Kala-azar", caracterizada por apresentar lesões cutâneas em todo o corpo, similares a Lepra, sendo esta raríssima no Novo Mundo e de difícil tratamento.

1.4.2-Quimioterapia da leishmaniose

Compostos de origem sintética utilizados em clínica

Antimoniais

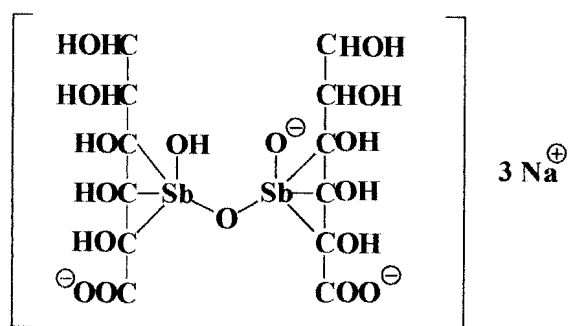
Os sais derivados do antimônio são eficazes principalmente contra a leishmaniose visceral, sendo o primeiro composto a ser utilizado, o tartarato de potássio antimonial trivalente (19)²².



19

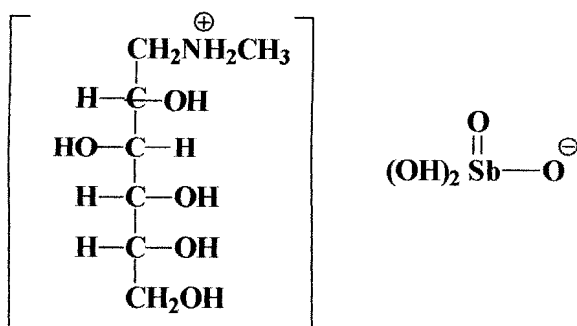
Este composto foi testado pela primeira vez por Gaspar Viana, obtendo-se rápida cicatrização das lesões cutâneas, porém, com o surgimento de efeitos colaterais como a dor de cabeça, tosse e dores no tórax.

O estibogluconato de sódio (Pentostam) (20) foi um dos primeiros compostos de antimônio pentavalente empregados no combate da referida moléstia, sendo que este medicamento mostrou-se eficaz no tratamento da variedade sudanesa do Kalazar, a qual é resistente a outros compostos de antimônio, sendo necessário empregar maiores doses deste²².



Pentostam (20)

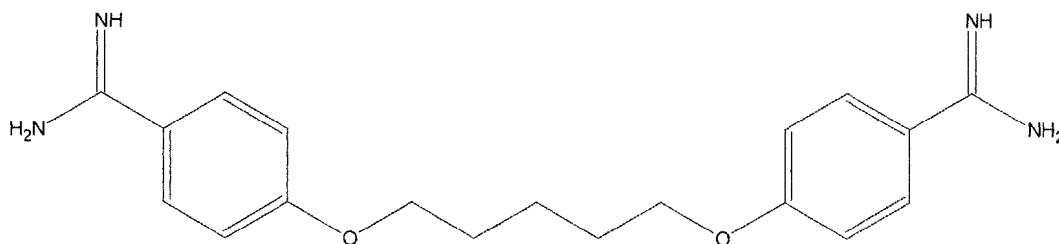
Outro antimonial muito importante é o antimoniato de N-metilglucamina, conhecido como Glucantime **21**, sendo sintetizado pela primeira vez no final da segunda guerra mundial.



Glucantime (21)

Pentamidina (22)

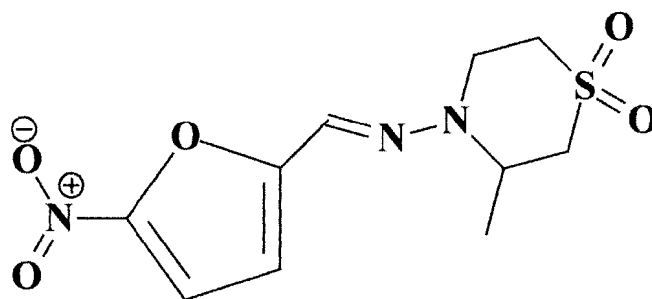
Tal medicamento mostra-se eficaz contra todos os tipos de leishmaniose, embora tenham sido registrados casos no Quênia, Índia e China, em que os parasitas adquiriram resistência a este fármaco.



Este medicamento embora seja de fácil administração, apresenta alta toxicidade, além de ser de difícil eliminação pelo organismo através da urina, podendo causar efeitos negativos como apnéia, tontura, vômitos e taquicardia. Devido a tais efeitos, esta substancia foi considerada um medicamento de segunda linha²³.

Nifurtimox (23)

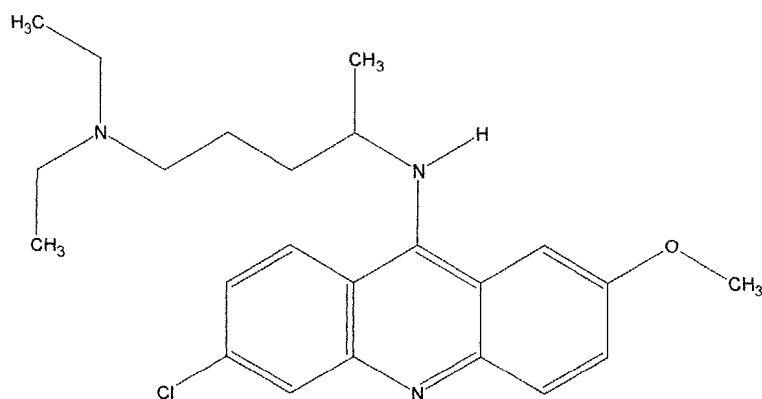
É um tripanocida utilizado em alguns países da América Latina, o qual mostrou-se ativo em relação a leishmaniose do tipo mucocutânea, no Brasil e na Colômbia. Porém, também devido ao seu efeito tóxico, foi considerado medicamento de segunda linha²⁴.



Nifurtimox (23)

Mepacrina (24)

É uma droga útil contra leishmaniose cutânea, com exceção da *L. aethiopica*, *L. amazonensis* e *L. brasiliensis*²⁵.



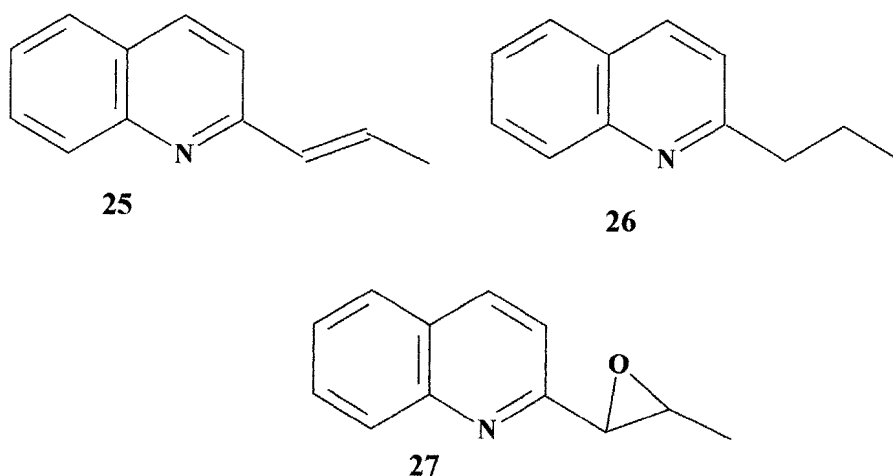
Mepacrina (24)

1.4.3-Quimioterápicos em fase experimental

Substâncias de origem natural

Alcalóides quinolínicos

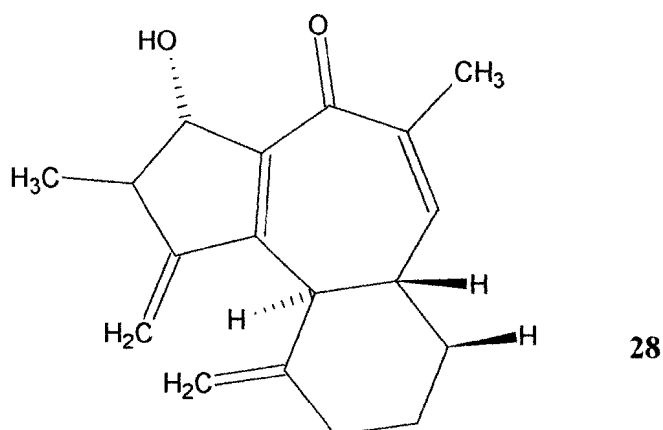
Estes são os compostos naturais com atividade biológica leishmanicida mais importantes. Os compostos 2-propenil quinolina (**25**), 2-propil quinolina (**26**) e 2-*trans* epoxipropil quinolina (**27**), foram isolados do vegetal *Galipea longiflora*, encontrado na Bolívia.



Em ensaios realizados *in vitro*, tais compostos exibiram atividade leishmanicida, sendo os compostos **25** e **27** os mais ativos, apresentando os valores respectivos de IC_{90} de 135 e 147 μM , enquanto que o derivado **26**, menos ativo, apresentou o valor de 292 μM ²⁶.

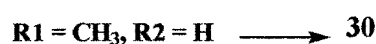
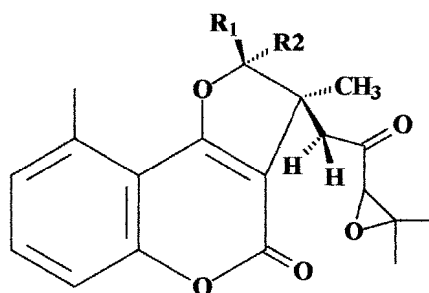
Terpenos

O terpeno **28** isolado do vegetal *Jatropha grossidentata*, mostrou-se ativo contra o referido parasita na forma promastigota, com valor de $IC_{100} = 2,4 \mu\text{M}$ ²⁷, contra 1,6 μM exibido pela pentamidina.



Cumarinas

O composto **29** e seu epímero **30**, isolados das raízes da *Vermonia brachycalyx*, exibiram valores de IC_{50} em relação à *L. major* na forma promastigota, de 39 e 37 μM , respectivamente, contra o valor de 199 μM para o pentostam²⁸.

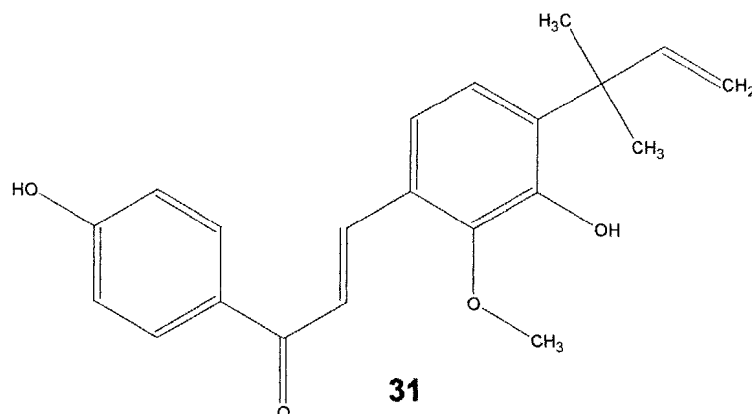


Estas duas cumarinas não apresentaram efeito negativo em relação ao sistema imunológico.

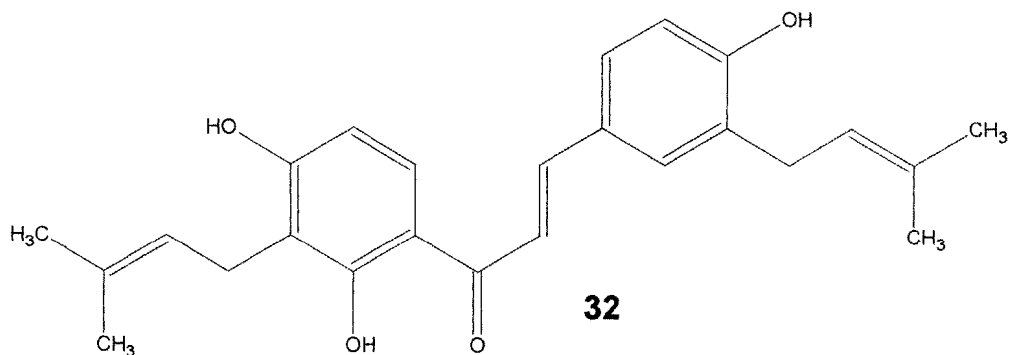
Chalconas

A Licochalcona A (**31**) isolada das raízes das *Glycyrrhiza glabra*, *G. uralensis* e *G. inflata*, mostrou-se ativa contra a *L. major*, na forma amastigota, em ensaios *in vitro* utilizando-se macrófagos humanos contaminados com o parasita²⁹. Porém, estudos posteriores comprovaram que esta chalcona ataca os linfócitos humanos, comprometendo o sistema imunológico, fato este, que deu origem à novas pesquisas no sentido de se

desenvolver derivados de tal sistema que sejam mais seletivos biologicamente.



O composto **32**, isolado da *Glycyrrhiza inflata*, mostrou forte inibição da *L. donovani* na forma promastigota com IC_{90} de $25 \mu M^{30}$.

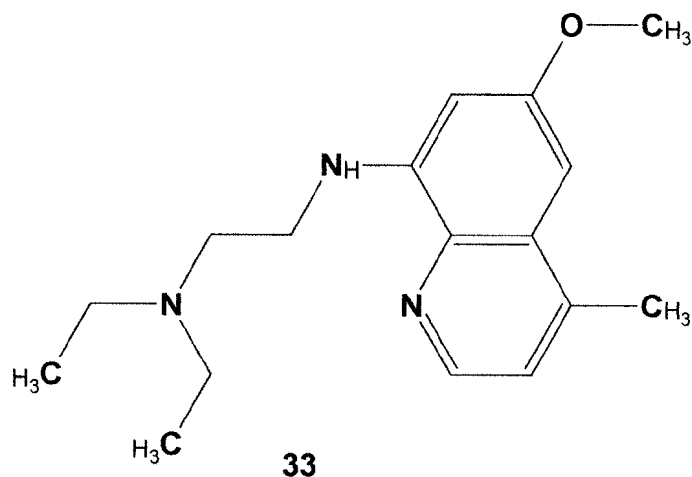


Compostos de origem sintética

8-Aminoquinolinas³¹

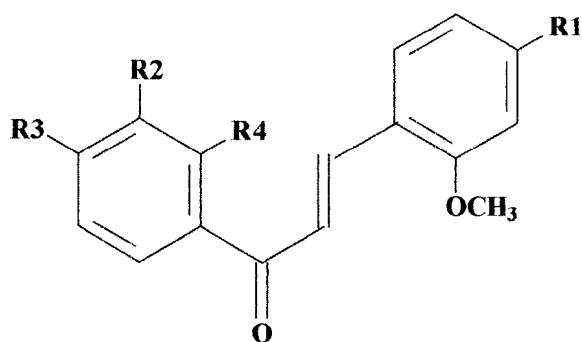
Foi verificado que derivados de tal classe de compostos apresentaram atividade contra *L. donovani* na forma amastigota, através de ensaios *in vivo* utilizando-se hamsters. O derivado **33** mostrou-se ativo em relação

a forma leishmaniose visceral em roedores e cães, porém foi menos ativo frente a leishmaniose cutânea.



Chalconas

Como já foi relatado no presente trabalho, a Licochalcona A, produto de origem natural, apresentou atividade contra a *L. donovani* e a *L. major*, nas formas de promastigota e amastigota, conforme ensaios realizados *in vitro*, porém, também foi observado que a mesma ataca os linfócitos humanos, comprometendo o sistema imunológico. Devido a este lato, iniciou-se uma pesquisa no sentido de se obter derivados deste sistema que venham a ser mais seletivos biologicamente. Os derivados **34**, **35** e **36**, ensaiados *in vitro* tiveram os seguintes valores de IC₅₀ (em relação a leishmania e aos linfócitos, respectivamente: (20; 65), (26; 74) e (49; 111), contra (13; 48) apresentado pela licochalcona A ²² (estrutura 31, pg. 29).



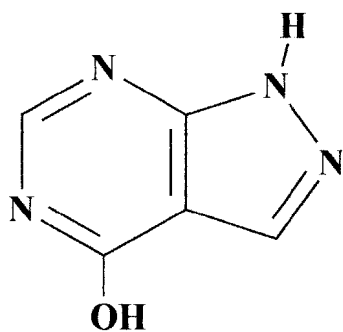
$R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{OC}_9\text{H}_9$, $R_3 = R_4 = \text{H}$ (34)

$R_1 = \text{OCH}_3$; $R_2 = \text{H}$; $R_3 = R_4 = \text{F}$ (35)

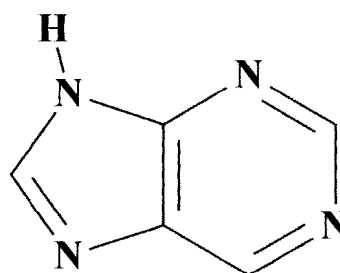
$R_1 = \text{OH}$; $R_2 = R_4 = \text{H}$; $R_3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ (36)

Alopurinol

O interesse no emprego medicinal de tal substância **37**, está baseado no fato do mesmo apresentar analogia estrutural com a purina **38**, a qual é uma das bases nitrogenadas constituintes do RNA do referido parasita, como este microorganismo não possui capacidade para sintetizar tal base nitrogenada, ele precisa encontrá-la em sua dieta, porém, o microorganismo não tem capacidade para diferenciar esta base do medicamento, sendo este último metabolizado, levando o protozoário à morte³².



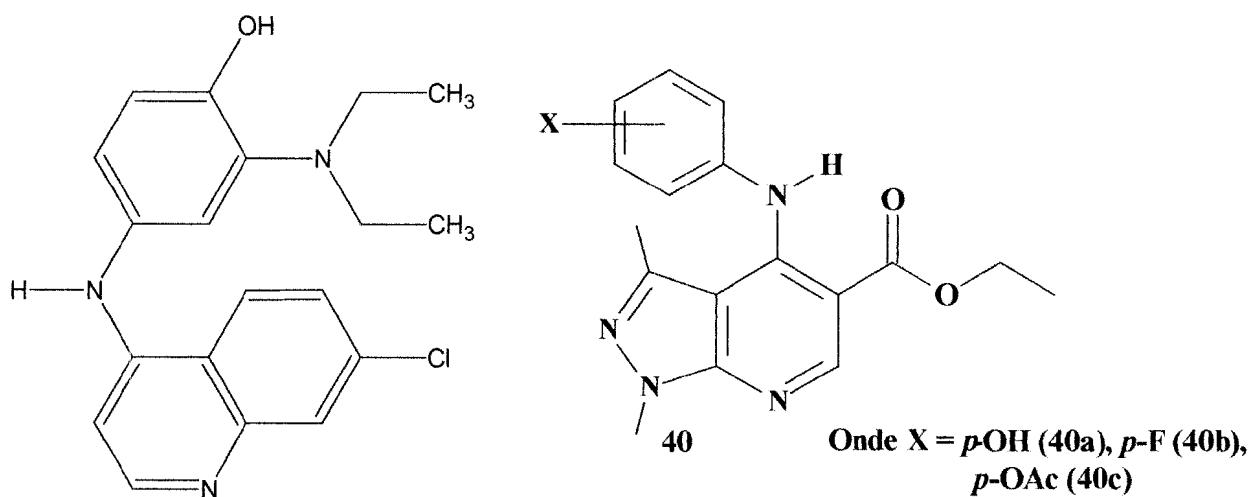
Alopurinol 37



Purina 38

Derivados 1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridínicos

Devido à semelhança estrutural deste sistema com o antimalarial amodiaquina (**39**), recentemente foi desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa um trabalho onde se verificou que derivados do sistema pirazolo[3,4-*b*]piridina, da série **40**, apresentaram bons resultados quando ensaiados *in vitro* frente à *Leishmania amazonensis* na forma de promastigotas, sendo que os derivados **40 a**, **40 b** e **40 c** apresentaram os valores de DL₅₀ (μM) de 10,7; 3,1 e 4,3 respectivamente, contra o valor de 329 μM exibido pelo pentostam.



Amodiaquina (**39**)

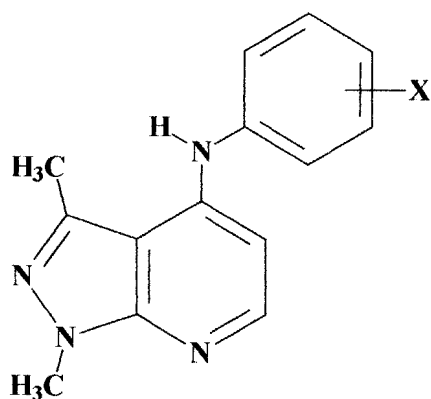
Tais promissores resultados foram a razão pela qual se deu continuidade à pesquisa relativa à obtenção de derivados descarboxilados deste sistema, procurando estabelecer uma maior semelhança em termos de estrutura, ao referido antimalarial. A síntese e determinação estrutural destes novos derivados são o objeto desta dissertação.

2 - Objetivos

Este trabalho tem os seguintes objetivos:

- Sintetizar e caracterizar novos derivados descarboxilados da série 1-*H*-pirazolo-4-anilino[3,4-*b*]piridínicos da série A.

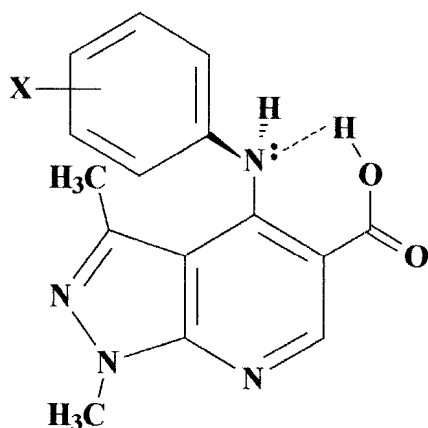
Série A



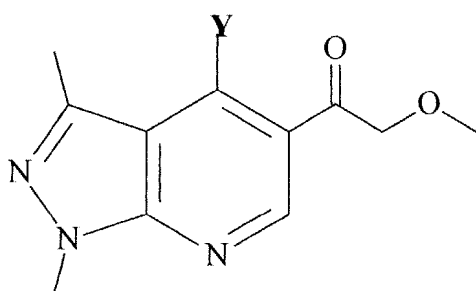
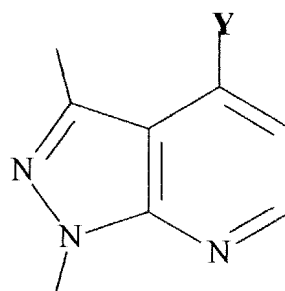
Onde:

- X = *p* - OH
- X = *p* - CH₃
- X = H
- X = *m* - F
- X = *p* - NO₂

- Estudar através de métodos de modelagem molecular utilizando como parâmetros valores de calores de formação calculados de forma semi-empírica, a influência da ligação entre o hidrogênio carboxílico e o nitrogênio anilínico nos derivados da série A, relacionando estes valores com a natureza dos substituintes do anel anilínico e a facilidade de ocorrência da reação de descarboxilação.



- Sintetizar e caracterizar novos derivados ésteres, 1-*H*-pirazolo, 4-amino[3,4-*b*]piridinas da série **B**, e seus correspondentes derivados descarboxilados da série **C**.

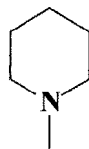
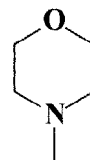
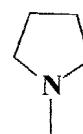
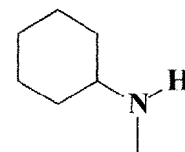
Série B**Série C**

Y = Piperidinil (1)

Y = Morfolinil (2)

Y = Pirrolidinil (3)

Y = Ciclohexilaminil (4)

**1****2****3****4**

3 - Materiais e Métodos

3.1 - Matérias-primas

Os solventes e reagentes utilizados foram das marcas VETEC e ALDRICH, não sendo previamente tratados, com exceção da anilina, a qual foi submetida a refluxo com zinco em pó e ácido clorídrico, com posterior destilação.

3.2 - Determinação estrutural

Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando-se pastilhas de KBr em aparelho da PERKIN-ELEMER, modelo FT 2000. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos em um aparelho BRUCKER, modelo AC 200, utilizando como solvente, clorofórmio e DMSO, ambos deuterados e utilizando TMS como padrão interno. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm.

3.3 - Pontos de fusão

Os pontos de fusão foram obtidos em um aparelho da marca LABORATORY DEVICES, modelo MELT-TEMP II, utilizando-se capilares, e não foram corrigidos.

3.4 - Cromatografia

O acompanhamento das reações foi realizado mediante à análise por cromatografia em camada delgada, utilizando-se cromatofolhas de sílica gel em alumínio, com indicador para UV, da marca MERCK.

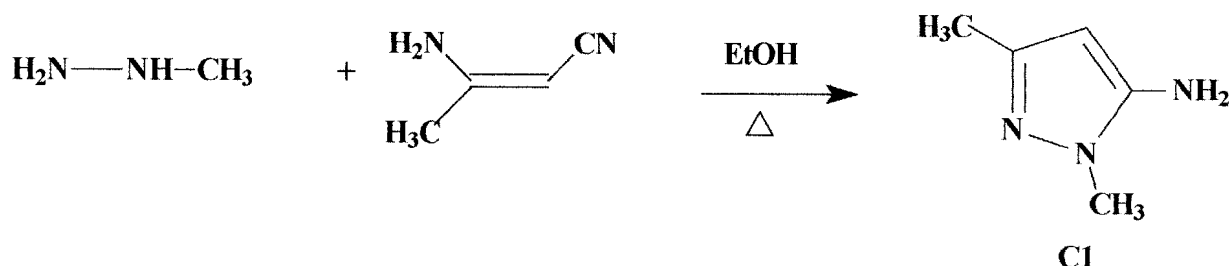
3.5 - Modelagem molecular

As estruturas moleculares foram desenhadas e minimizadas utilizando-se o programa de mecânica molecular PCMODEL 5.13, sendo posteriormente otimizadas pelo programa MOPAC 6.0 / Windows 95, empregando-se o método semi-empírico AM1.

As palavras-chaves utilizadas para os derivados pirazolo-piridínicos foram: AM1 PRECISE NOLOG NOINTER GRAD EF HESS=1.

3.6 - Síntese dos derivados 1*H*-pirazolo[3,4-*b*] piridina

3.6.01 - Síntese do composto 1-metil-5-aminopirazol (C1)³⁵



À uma solução contendo 7,90g (100 mmol) de β-aminocrotonitrila em 36 mL de etanol absoluto foram adicionados 6,90g (150 mmol) de metil-hidrazina. A mistura reacional foi mantida em refluxo durante 12 h. A evaporação do solvente sob pressão reduzida forneceu um resíduo de coloração alaranjada, que foi recristalizado em benzeno, com a utilização de carvão ativo. O produto obtido foi lavado com hexano gelado, dando 50% de rendimento. O ponto de fusão obtido foi 37-39°C (literatura³⁵:80 - 81°C).

Determinação Estrutural (pg 75)

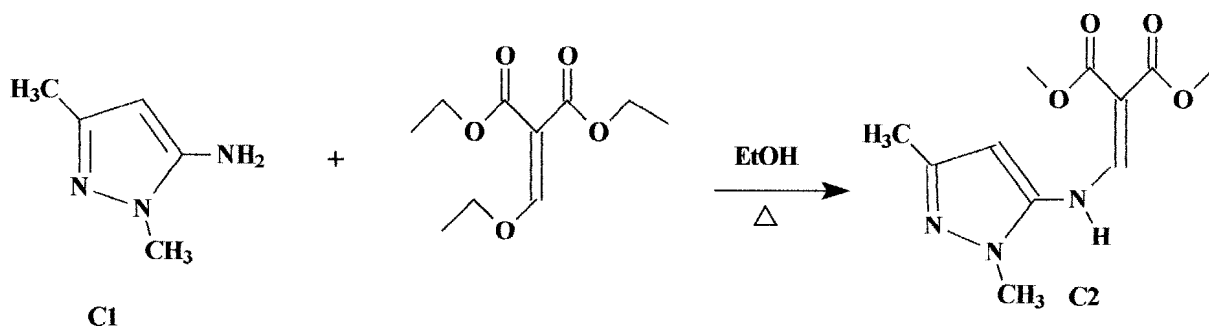
IV (KBr, cm⁻¹) 3322 (ν N-H); 3165 (ν H-C=C); 2926 (ν H-CH₂)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm): 2,1 (s; CH₃-C=C); 3,6 (s; CH₃-N);

5,2 (s; H-C=C)

3.6.02 - Síntese do α -carboetoxi- β -(1-metil-3-metil-5-aminopirazolil)

acrilato de etila (C2)



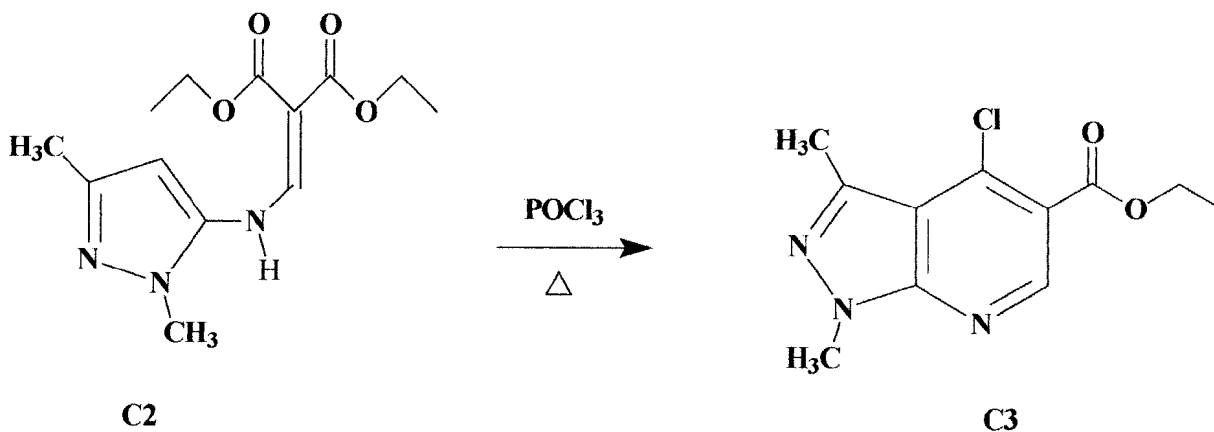
Uma mistura contendo 5,70g (50 mmol) de **C1**, 10,80g (50 mmol) de etoxietilenomalonato de dietila e 20mL de etanol absoluto, foi mantida sob refluxo durante 6 h. Após o resfriamento, a mistura foi vertida em gelo picado e atritada com um bastão de vidro para causar a precipitação do produto, sendo este, recristalizado em etanol, utilizando carvão ativo, dando 71% de rendimento. O ponto de fusão obtido foi 87-88 °C (literatura: 87-88°C³⁷).

Determinação Estrutural (pg 76)

IV (KBr, cm^{-1}): 3248 (ν N-H); 3185 (ν H-C=C); 2926 (ν H-CH₂); 1717 (ν C=O); 1660 (ν C=C), 1227 (ν C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm): 1,3 (t; CH₃-CH₂-O); 2,2 (s; CH₃-C=C); 3,7 (s; CH₃-N); 4,2 (q; CH₃-CH₂-O) 5,8 (s, H-C=C); 8,1 (s; H-C=C); 11,1 (s; N-H)

3.6.03 - Síntese do 1,3-dimetil-4-cloro-1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboetoxipiridina (C3)²



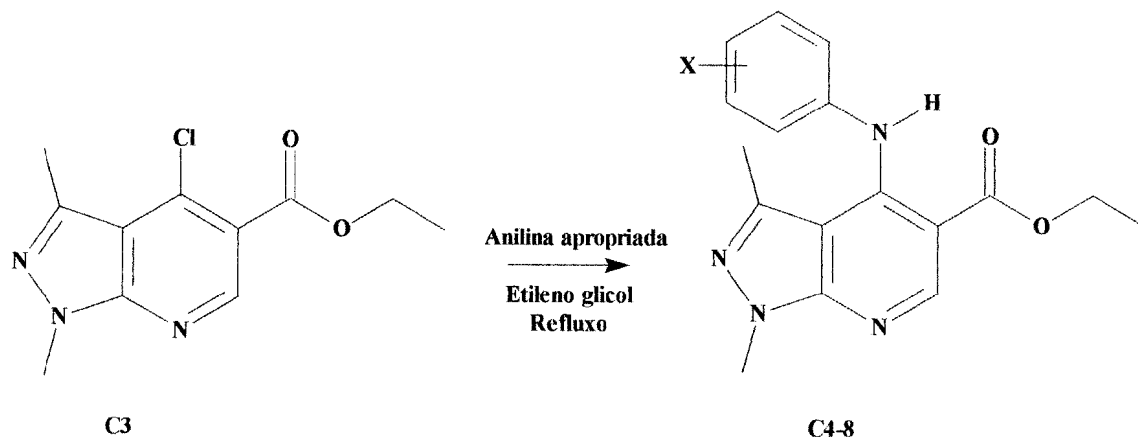
Em balão de fundo redondo, adaptado a condensador de refluxo munido de tubo de secagem contendo cloreto de cálcio anidro, foram dissolvidos 2,8g (10mmol) do composto **C2** em 1mL de oxicloreto de fósforo (POCl₃). A mistura reacional foi mantida sob refluxo durante oito horas, e após o resfriamento, foi vertida em gelo picado, com posterior tratamento com hidróxido de amônio, até atingir pH neutro, sendo então lavado com água destilada e recristalizado utilizando uma mistura de etanol/H₂O (50% v/v) como solvente, dando 80% de rendimento. O ponto de fusão obtido foi 78-80°C (literatura: 89-90°C³⁷).

Determinação Estrutural (pg 77)

IV (KBr, cm⁻¹): 2930 (ν H-CH₂); 1722 (ν C=O); 1558 (ν C:N); 1200 (ν C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, g (ppm): 1,4 (t; CH₃-CH₂-O); 2,7 (s; CH₃-C=C); 4,0 (s; CH₃-N) 4,4 (q; CH₃-CH₂-O); 8,9 (s; H-C=C).

3.6.04 - Síntese das 1,3-dimetil - 4-[4' e 3'-X-anilino]-1*H*-pirazolo[3,4-b]-5- carboetoxipiridinas³⁷



Uma mistura contendo 2,5g (10 mmol) de **C3**, 15 mmol da respectiva anilina em 10mL de etileno glicol, foi mantida sob refluxo durante 5h, sendo então resfriada e vertida em água gelada para ocorrer a precipitação do produto. Logo após foi lavado com água destilada e recristalizado em etanol. A Tabela 2 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

Tabela 2. Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados **C4 - 8**.

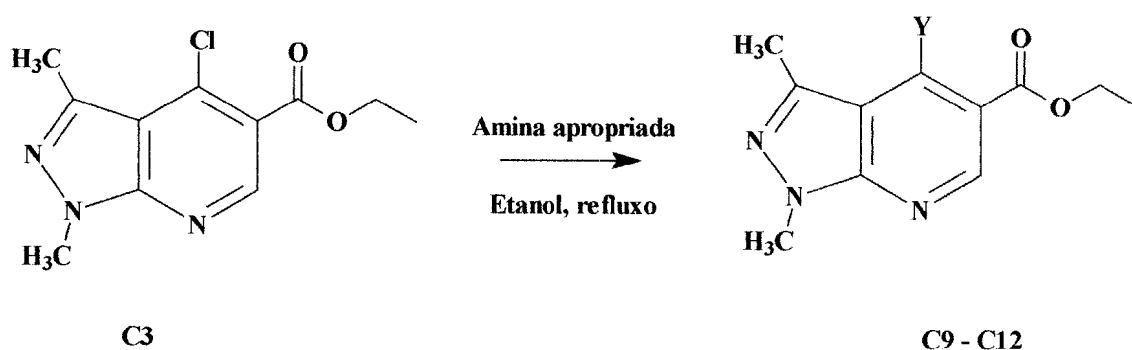
Derivado	X	P.F.-Experimental (°C)	P.F.-Literatura (°C)	Rendimento(%)
C4	<i>p</i> -CH ₃	96-97	175-77 ³⁷	25
C5	H	136-139	137 - 140 ²⁶	77
C6	<i>m</i> -F	115-118	Inédito	85
C7	<i>p</i> -OH	243-245	274 - 276 ²⁶	78
C8	<i>p</i> -NO ₂	116-118	168-70 ³⁷	78

C6 (pg 78)

IV (KBr, cm^{-1}): 3226 (ν N-H); 3053 (ν H-C =C); 2982 (ν H-CH₂); 1670 (ν C=O); 1595 (ν C=C); 1266 (ν C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm): 1,4 (t; CH₃-CH₂-O); 1,8 (s; CH₃-C=C); 4,2 (s; CH₃-N); 4,4 (q; CH₃-CH₂-O); 6,9 – 7,2 (m; C-H anel anilínico); 9,0 (s; C-H anel piridínico); 10,3 (s; N-H)

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm): 14,2 (CH₃-CH₂-O); 15,5 (CH₃-C=); 33,5 (CH₃-N); 104,2 (C5); 105,2 (3A); 109,3 (C2'); 111,7 (C6'); 117,8 (C 5'); 130,8 (C4'); 141,9 (C3); 144,6 (C1'); 150,5 (C4); 152,3 (C6); 153,9 (C7a); 161,0 (C3'); 168,6 (C=O)

3.6.05 - Síntese das 4-amino-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]carboetoxipiridinas

Uma mistura contendo 2,5g (10 mmol) de **C3**, 20mmol das respectivas aminas e 30mL de etanol, foi mantida sob refluxo durante 2h. Logo após o resfriamento foi vertida em água destilada e a fase orgânica extraída com clorofórmio, com posterior evaporação sob pressão reduzida, fornecendo um óleo de coloração alaranjada. Apenas no isolamento do composto **C12** não foi necessária a extração com clorofórmio, já que este precipitou diretamente na água. A **Tabela 3** mostra os rendimentos obtidos.

Tabela 3. Pontos de fusão e rendimentos para os derivados **C9 – 12**.

Composto	Y	P. F. Exp.(^o C)	Rendimento(%)
C9	Piperidinil	Líquido	97
C10	Morfolinil	Líquido	60
C11	Pirrolidinil	Líquido	67
C12	Cicloexilaminil	Sólido (95-97 ^o C)	87

Determinação estrutural

C9 (pg 82)

IV (KBr, cm^{-1}): 2937 (v H-CH₂); 2852 (v H-CH₂); 1712 (v C=O); 1572 (v C=C); 1259 (v C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 1,4 (t.; CH₃-CH₂-O); 1,7 (m; CH₃-CH₂-CH₂); 2,7 (CH₃-C=C); 3,25 (t; N -CH₂-); 3,98 (N-CH₃); 4,3 (CH₃-CH₂-O); 8,5 (C-H anel piridínico)

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 14,3 (CH₃-CH₂-O); 16,0 (CH₂-CH₂-CH₂-N); 24,0 (CH₂-CH₂-CH₂-N); 26,0 (CH₃-C=); 33,5 (CH₃-N); 52,6 (CH₂-CH₂-CH₂-N); 61,2 (CH₃-CH₂-O); 104,2 (C5); 114,1 (3A); 141,7 (C3); 151,5 (C6); 153,5 (C4); 155,5 (C7a); 168,3 (C=O).

C10 (pg 84)

IV (KBr, cm^{-1}): 2967 (v H-CH₂); 1712 (v C=O); 1575 (v C=C); 1261 (v C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 1,4 (t.; CH₃-CH₂-O); ; 2,7 (s; CH₃-C=C); 3,3 (t; N -CH₂-); 3,9 (t, O-CH₂); 4,4 (q; CH₃-CH₂-O); 8,5 (C-H anel piridínico)

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 14,1 (CH₃-CH₂-O); 15,9 (CH₃-C=C); 33,4 (CH₃-N); 51,3 (CH₂-N); 61,3 (-CH₂-O); 66,8 (CH₃-CH₂-O); 110,5 (C5); 114,5 (3A); 140,7 (C3); 151,4 (C6); 153,4 (C4); 154,5 (C7a); 167,8 (C=O).

C11 (pg 87)

IV (KBr, cm^{-1}): 2977 (ν H-CH₂); 2882 (ν H-CH₂); 1695 (ν C=O); 1561 (ν C=C);
1250 (ν C-O)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 1,3 (CH₃-CH₂-O); 1,9 (t; CH₂-CH₂-N); 2,5 (CH₃-C=C); 3,5 (t; CH₂-CH₂-N); 4,1 (CH₃-N); 4,3 (CH₃-CH₂-O); 8,5 (C-H anel piridínico)

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 14,2 (CH₃-CH₂-O); 19,3 (CH₃-C=C); 25,3 (CH₂-CH₂-N); 33,5 (CH₃-N); 54,1 (-CH₂-N); 60,4 (CH₃-CH₂-O); 104,3 (C5); 104,9 (3A); 139,2 (C3); 151,1 (C6); 151,8 (C4); 153,3 (C7a); 167,3 (C=O).

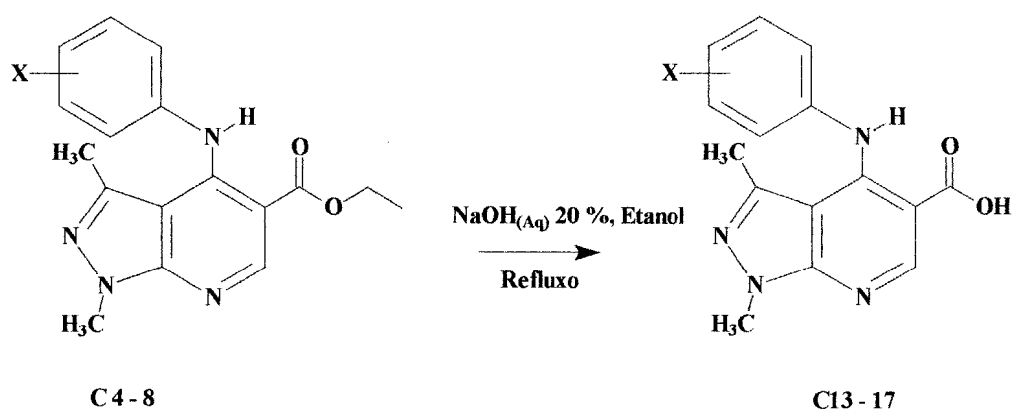
C12 (pg 90)

IV (KBr, cm^{-1}): 3154 (ν N-H); 3053 (ν H-C =C); 2982 (ν H-CH₂); 1663 (ν C=O);
1585 (ν C=C); 1264 (ν C-O).

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 1,4 (CH₃-CH₂-O); 1,6 (m; CH₂-CH₂-CH₂-CH-N); 1,8 (m; CH₂-CH₂-CH₂-CH-N); 2,0 (m; CH₂-CH₂-CH₂-CH-N); 2,6 (CH₃-C=C); 3,9 (m; CH₂-CH₂-CH₂-CH-N); 4,1 (CH₃-N); 4,3 (CH₃-CH₂-O); 8,8 (C-H anel piridínico); 9,7 (s; N-H).

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 14,2 (CH₃-CH₂-O); 18,0 (CH₃-C=C); 24,0 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 24,8 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 33,8 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 35,6 (CH₃-N); 54,4 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 61,0 (CH₃-CH₂-O); 108,8 (C5); 103,2 (3A); 141,2 (C3); 149,1 (C4); 149,9 (C6); 153,9 (C7a); 168,1 (C=O).

3.6.06 - Síntese das 1,3-dimetil- 4-[4' e 3'-X-anilino]-1H-pirazolo[3,4-
b]-5-carboxipiridinas.



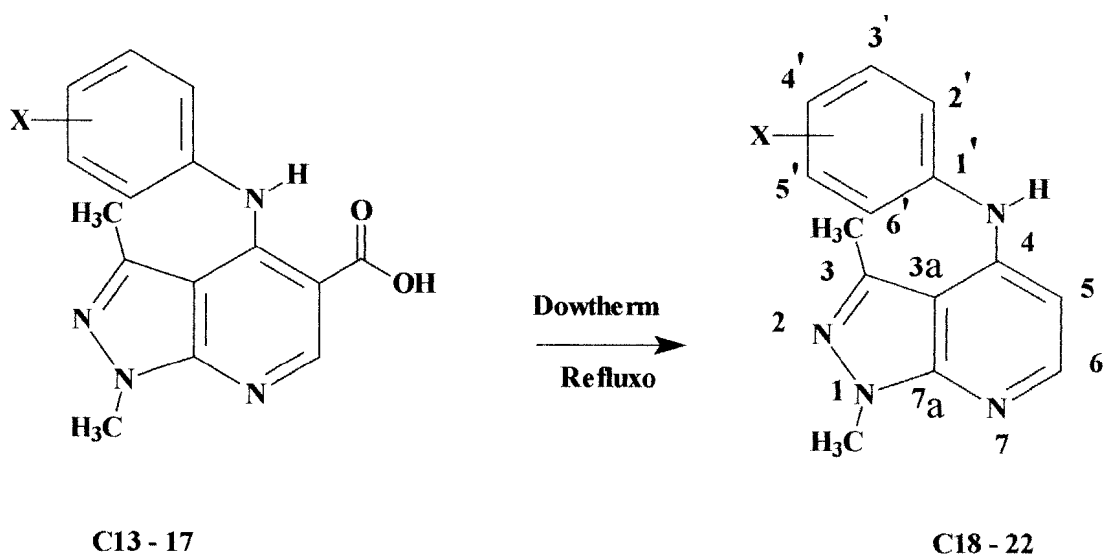
Uma mistura contendo 10 mmol dos respectivos ésteres, 50 mL de etanol e 50mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 20% (p/v), foi mantida sob refluxo durante 3h. Após ser resfriada e diluída com água destilada, foi acidificada com solução aquosa de HCl 1:3 (v/v), para causar a precipitação do ácido. O precipitado foi lavado com água destilada. A tabela 4 indica os rendimentos e pontos de fusão para os derivados sintetizados.

Tabela 4. Pontos de fusão e rendimentos para os derivados C13 - 17.

Derivado	X	P.F. (°C)	Rendimento(%)
C13	<i>p</i> -CH ₃	285-286	82
C14	H	290-292	90
C15	<i>m</i> -F	299-301	88
C16	<i>p</i> -OH	286 - 289	56
C17	<i>p</i> -NO ₂	287-289	71

3.6.07 - Síntese das 1,3-dimetil-4-[4' e 3'-X- anilino]-1H- pirazolo [3,4-b] piridinas.

Método 1



10 mL de Dowtherm (mistura de bifenila e éter difenílico) foram aquecidos em um balão bitubulado, por intermédio de um banho de areia, até a temperatura de 250°C, sendo adicionados então, 5 mmol dos ácidos **C13 - 17** respectivamente. A mistura reacional foi mantida sob refluxo durante duas horas, e após o resfriamento, o produto foi precipitado pela adição de éter de petróleo, e posteriormente lavado com este último. A tabela 5 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

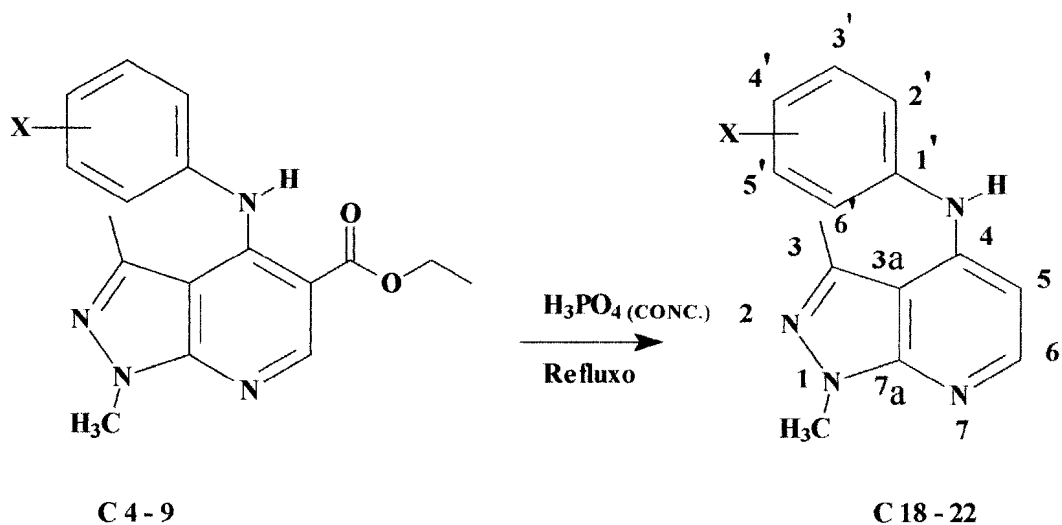
Tabela 5. Pontos de fusão e rendimentos obtidos para os derivados **C18 – 22**

Derivado	X	P.F. (° C)	Rendimento (%)
C18	<i>p</i> -CH ₃	56-60	40
C19	H	NR*	-----
C20	<i>m</i> -F	76-79	24
C21	<i>p</i> -OH	NR*	-----
C22	<i>p</i> -NO ₂	185-188	86

NR = Não reagiu

3.6.08 Síntese das 1,3-dimetil-4-[4' e 3'- X - anilino]-1H- pirazolo [3,4-b] piridinas.

(Método 2)



Uma mistura reacional contendo 3 mmol dos respectivos ésteres e 15mL de ácido fosfórico concentrado, foi mantida sob refluxo durante 15 horas, com temperatura em cerca de 170°C em um banho de areia. Após o referido período de refluxo, o conteúdo foi vertido em água destilada e neutralizado com hidróxido de amônio concentrado, para ocorrer a precipitação do produto, sendo então, lavado com água e recristalizado em metanol. A tabela 6 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

Tabela 6. Pontos de fusão e rendimentos para os derivados **C18 – 22**.

Derivado	X	P.F. (° C)	Rendimento (%)
C18	<i>p</i> -CH ₃	56-60	60
C19	H	84-86	43
C20	<i>m</i> -F	76-79	20
C21	<i>p</i> -OH	259-260	44
C22	<i>p</i> -NO ₂	185-188	46

Determinação estrutural

C18 (pg 93)

IV (KBr, cm⁻¹): 3393 (H₂O); 2928 (ν H-CH₂); 1572 (ν C=C)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 2,3 (CH₃-C=C; anilínico); 2,7 (CH₃-C=C); 4,0 (N-CH₃); 6,5 (d;C-H (C5, anel piridínico)); 6,8 e 7,1 (dd;C-H (anel anilínico)); 8,1 (C-H (anel piridínico)).

RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 15,1 (CH₃-C=C); 20,8 (CH₃-C=C; anilínico); 33,5 (CH₃-N); 97,8 (C5); 104,4 (3A); 129,7 (C2' e C6'); 135,1 (3' e 5'); 136,1 (C 1'); 138,2 (C3); 147,7 (C7A); 149,2 (C4); 150, 0 (C6); 153,0 (C4').

C19 (pg 95)

IV (KBr, cm⁻¹): 3188 (ν N-H); 2931 (ν H-CH₂); 1572 (ν C=C)

RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm): 2,6 (s;CH₃-C=C); 3,85 (N-CH₃); 6,5 (d;C-H (C5, anel piridínico)); 7,1 e 7,4 (m; anel anilínico); 8,5 (d;C-H (C6, anel piridínico)); 8,2 (s;N-H).

RMN ^{13}C (50MHz), CDCl_3 , δ (ppm.): 14,9 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C=}$); 33,1 ($\text{CH}_3\text{-N}$); 99,2 (C5); 104,9 (3A); 121,8 (C2'e C6'); 123,7 (C4'); 129,3 (C3' e C 5'); 138,7 (C1'); 140,6 (C3); 147,0 (C6); 149,3 (C4); 152,9 (C7a).

C20 (pg 99)

IV (KBr, cm^{-1}): 3222 (ν N-H); 3089 (ν $\underline{\text{H-C=}}$); 2931 (ν H- CH_2); 1580 (ν C=C)

RMN ^1H (200 MHz), CDCl_3 , δ (ppm.): 2,7 (s; $\text{CH}_3\text{-C=C}$); 4,9 (s; N- CH_3); 6,6 (d; C-H (C5, anel piridínico)); 6,8 – 7,4 (m; C-H (anel anilnilíco)); 8,5 (d; C- $\underline{\text{H}}$ (anel piridínico))

RMN ^{13}C (50MHz), CDCl_3 , δ (ppm.): 15,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C=}$); 33,5 ($\text{CH}_3\text{-N}$); 98,6 (C5); 105,0 (3A); 109,2 (C2'); 111,5 (C6'); 117,6 (C 4'); 130,7 (C5'); 138,0 (C1'); 140,9 (C3); 146,2 (C4); 150,1 (C6); 154,6 (C7A); 165,8 (C3').

C21 (pg 102)

IV (KBr, cm^{-1}): 3359 (ν O-H); 3027 (ν $\underline{\text{H-C=}}$); 2932 (ν H- CH_2); 2869 (ν H- CH_2); 1587 (ν C=C).

RMN ^1H (200 MHz), $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ (ppm.): 2,7 ($\text{CH}_3\text{-C=C}$); 3,9 (N- CH_3); 6,1 (d; C-H (C5, anel piridínico)); 6,8 e 7,1 (dd; C-H (anel anilnilíco)); 7,9 (C- $\underline{\text{H}}$ (anel piridínico)); 9,5 (s; N-H).

RMN ^{13}C (50MHz), $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ (ppm.): 15,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-C=}$); 33,1 ($\text{CH}_3\text{-N}$); 97,7 (C5); 103,6 (3A); 115,9 (C2'e C6'); 126,5 (3' e 5'); 130,9 (C 1'); 138,7 (C3); 148,9 (C7A); 149,2 (C4); 152,9 (C4'); 155 (C6).

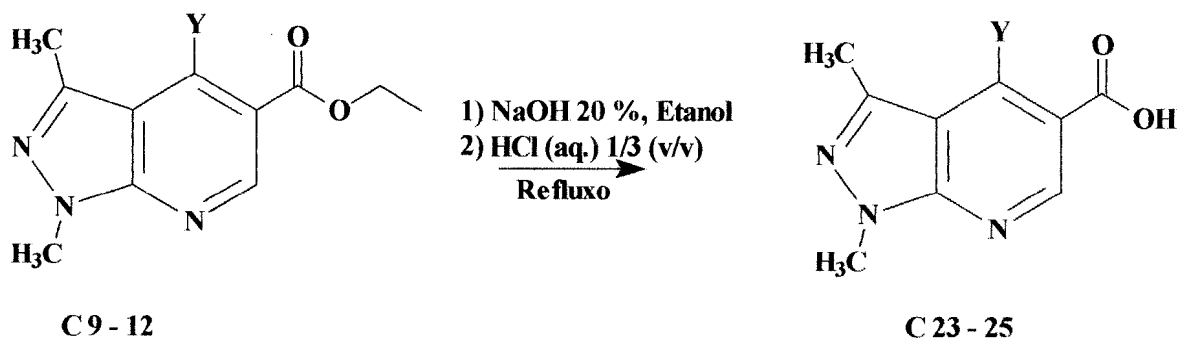
C22 (pg 106)

IV (KBr, cm^{-1}): 2937 (ν H-CH₂); 2852 (ν H-CH₂); 1712 (ν C=O); 1572 (ν C=C); 1259 (ν C-O).

RMN ¹H (200 MHz), (CD₃)₂SO, δ (ppm.): 2,7 (CH₃-C=C); 3,9 (N-CH₃); 6,1 (d; C-H (C5, anel piridínico)); 6,8 e 7,1 (dd; C-H (anel anilnilico)); 7,9 (C-H (anel piridínico)); 9,5 (s; N-H).

RMN ¹³C (50MHz), (CD₃)₂SO, δ (ppm.): 15,1 (CH₃-C=); 33,1 (CH₃-N); 98,0 (C5); 103,6 (3A); 115,9 (C2'e C6'); 126,5 (3' e 5'); 130,9 (C 1'); 138,7 (C3); 148,9 (C7A); 148,0 (C4); 152,9 (C4'); 155 (C6).

3.6.09 - Síntese das 1,3-dimetil-4-amino-1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboxipiridinas.



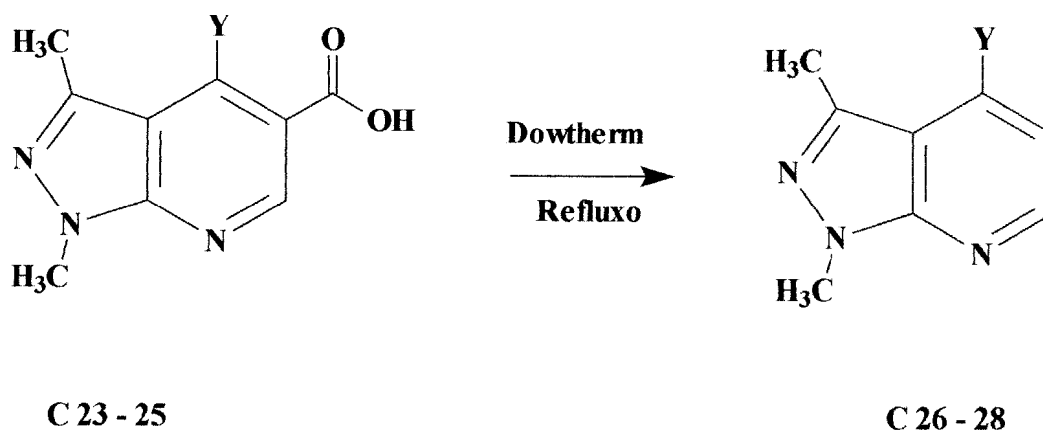
Uma mistura contendo 10 mmol dos respectivos ésteres, 50 mL de etanol e 50mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 20% (p/v), foi mantida sob refluxo durante 3h, sendo então resfriada e diluída com água destilada. Após ter sido acidificada com solução aquosa de HCl 1:3 (v/v), a fase orgânica foi extraída com clorofórmio, com posterior evaporação do solvente sob pressão reduzida, resultando em um sólido de cor amarelada. A tabela 7 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

Tabela 7. Pontos de fusão e rendimentos para os derivados C23- 25

Derivado	Y	P. F. ($^{\circ}\text{C}$)	Rendimento(%)
C23	Piperidinil	163-166	98
C24	Morfolinil	184-186	52
C25	Pirrolidinil	158-162	26

3.6.10 - Síntese das 1,3-dimetil-4-amino-1*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridinas

Método 1



10 mL de Dowtherm (mistura de bifenila e éter difenílico) foram aquecidos em um balão bitubulado, por intermédio de um banho de areia, até a temperatura de 250°C, sendo adicionados então, 5 mmol dos ácidos **C23 - 25** respectivamente. A mistura reacional foi mantida sob refluxo durante duas horas, e após o resfriamento, o produto foi precipitado pela adição de éter de petróleo, e posteriormente lavado com este último. A tabela 8 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

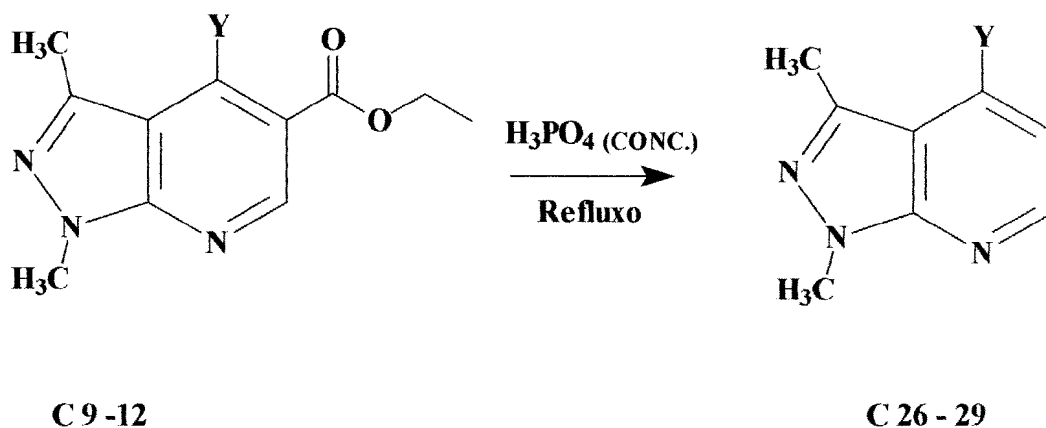
Tabela 8 Pontos de fusão e rendimentos para os derivados **C26-28**

Derivado	Y	P. F. (°C)	Redimento (%)
C26	Piperidinil	NR*	---
C27	Morfolinil	152-155	42
C28	Pirrolidinil	NR*	---

*NR = Não reagiu

3.6.11 Síntese das 4-amino-1*H*-pirazolo [3,4-*b*]piridinas

Método 2



Uma mistura reacional contendo 3 mmol dos respectivos ésteres e 15mL de ácido fosfórico concentrado, foi mantida sob refluxo durante 15 horas, com temperatura em cerca de 170°C em um banho de areia. Após o referido período de refluxo, o conteúdo foi vertido em água destilada e neutralizado com hidróxido de amônio concentrado, sendo a fase orgânica extraída com clorofórmio, com posterior evaporação sob pressão reduzida, obtendo-se um sólido de coloração alaranjada. A tabela 9 mostra os pontos de fusão e os rendimentos obtidos.

Tabela 9. Pontos de fusão e rendimentos para os derivados **C26 – 29**.

Derivado	Y	P. F. (° C)	Rendimento (%)
C26	Piperidinil	NR*	----
C27	Morfolinil	NR*	-----
C28	Pirrolidinil	NR*	----
C29	Ciclohexilaminil	66-70	63

NR = Não reagiu

Determinação estrutural:**C27 (pg 108)**IV (KBr, cm^{-1}) 2973 (ν H-CH₂); 1575 (ν C=C).RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 2,7 (s; CH₃-C=C); 3,3 (t; N-CH₂-); 3,9 (t; O-CH₂).4,0 (s; CH₃-N); 6,4 (C5-H anel piridínico); 8,4 (C-H anel piridínico).RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 17,0 (CH₃-C=C); 34,1 (CH₃-N); 51,5 (CH₂-N); 62,2 (-CH₂-O); 104,5 (C5); 112,0 (3A); 140,7 (C3); 152,5 (C6); 153,4 (C4); 154,5 (C7a).**C29 (pg.112)**IV (KBr, cm^{-1}) : 3244 (ν N-H); 3053 (ν H-C =C); 2924 (ν H-CH₂); 1585 (ν C=C)RMN ¹H (200 MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 0,8 (m; CH₂- CH₂ CH₂- CH-N); 1,2 (m; CH₂-CH₂-CH₂- CH-N); 1,8 (m; CH₂- CH₂- CH₂- CH-N); 2,7 (CH₃-C=C); 3,9 (CH₃-N); 4,7 (m; CH₂- CH₂ CH₂- CH-N); 6,2 (C5-H anel piridínico) 8,1 (C6-H anel piridínico).RMN ¹³C (50MHz), CDCl₃, δ (ppm.): 15,0 (CH₃-C=C); 21,0 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 22,0 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 30,2 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 36,0 (CH₃-N); 54,4 (CH₂CH₂CH₂CH-N); 61,0 (CH₃-CH₂-O); 108,8 (C5); 100,5 (3A); 141,2 (C3); 149,1 (C4); 149,9 (C6); 153,9 (C7a).

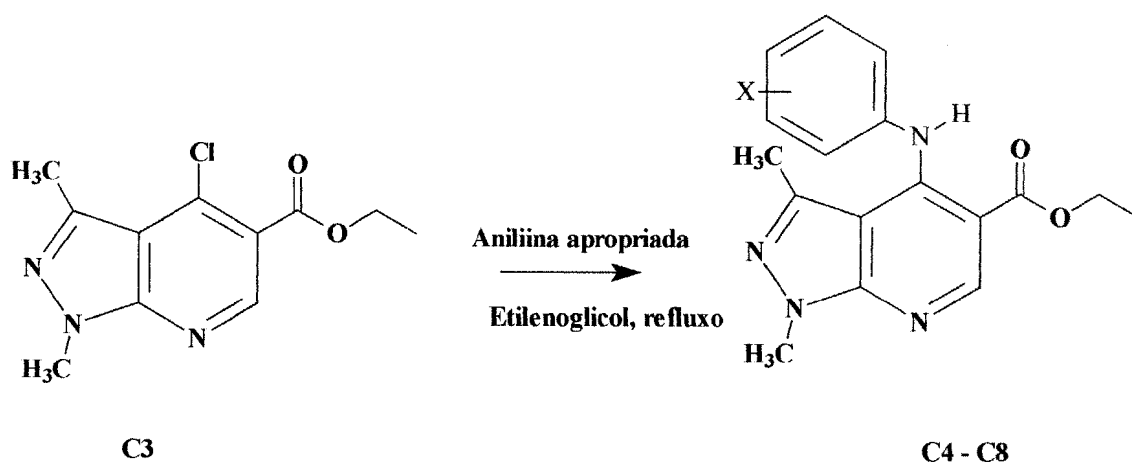
4. Resultados e Discussão

4.1-Síntese dos derivados 1-*H*-pirazolo[3,4-*b*] piridinas

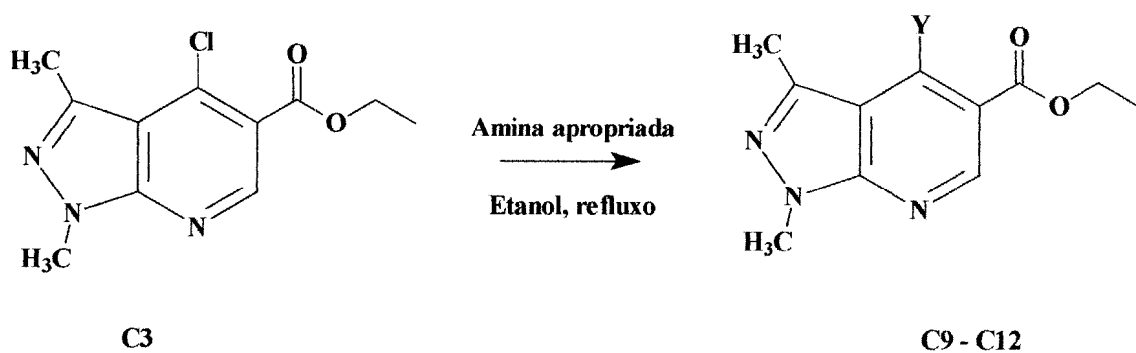
4.1.1-Derivados ésteres 1,3-dimetil-4-[amino ou anilino]-1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboetoxipiridinas

Os derivados da classe 1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridínicos foram obtidos a partir da reação do 1,3-dimetil-5-aminopirazol (**C1**), obtido da condensação entre a metil-hidrazina e β -aminocrotonitrila, e etoxietilenomalonato de dietila em etanol sob refluxo, originando o intermediário **C2**, com 71% de rendimento. Posteriormente, este intermediário foi submetido à reação de ciclização seguida de halogenação, na presença de oxicloreto de fósforo, com rendimento de 80 %, gerando assim **C3**.

Os derivados anilínicos **C4-C8**, com a função éster no carbono 5 do anel pirazolopiridínico, foram obtidos à partir das reações de **C3** com as respectivas anilinas, em condições de refluxo na presença de etileno glicol como solvente. Estes derivados, com exceção do composto **C4**, o qual foi obtido com rendimento de 25%, apresentaram bons rendimentos, entre 76 - 85%.



Os derivados amínicos **C9-C12**, foram obtidos a partir das reações entre o intermediário **C3** com as aminas saturadas piperidina, morfolina, pirrolidina e cicloexilamina, respectivamente. Neste caso, as reações foram realizadas em etanol como solvente, e todos os derivados exibiram bons rendimentos, entre 60 - 97%, além de menor tempo de reação em relação aos derivados arilamino substituídos, provavelmente devido a maior nucleofilicidade das aminas saturadas em relação às anilinas substituídas.



4.1.2-Derivados descarboxilados 1,3-dimetil-4-[amino ou anilino]-1*H*-pirazolo[3,4-*b*] piridinas

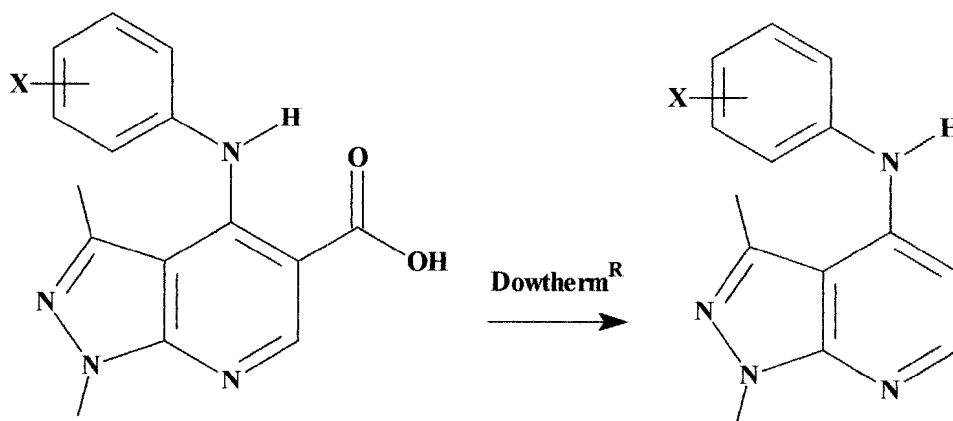
Como um dos objetivos deste trabalho consiste na obtenção de derivados estruturalmente análogos à Amodiaquina, mostrou-se necessário o estudo das reações de descarboxilação do grupamento éster ligado ao carbono 5 do anel pirazolopiridínico dos derivados sintetizados.

Assim, duas metodologias para a descarboxilação do grupo éster foram realizadas. A primeira envolveu inicialmente a hidrólise do grupamento éster, na presença de hidróxido de sódio 20% (m/v) e etanol, e posterior acidificação com solução aquosa de ácido clorídrico 1:3 (v/v). Os derivados ácidos carboxílicos então obtidos, **C13 - C17**, com rendimentos de 56 - 90% e **C23 - C25** com 26-98%, foram caracterizados por ponto de fusão.

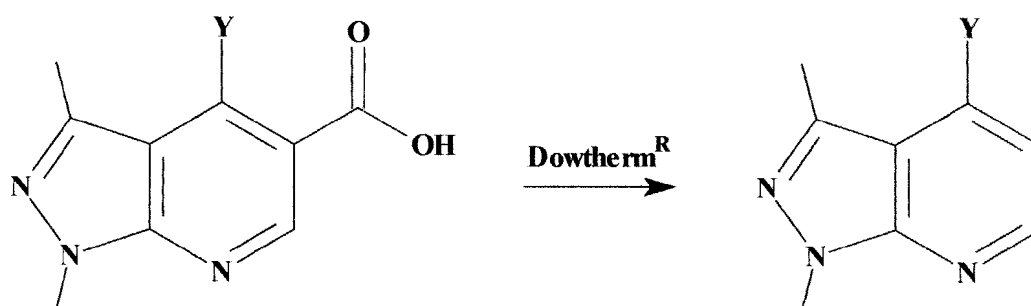
Posteriormente, os derivados ácidos carboxílicos foram submetidos propriamente à descarboxilação na presença de Dowtherm^R, sob refluxo durante oito horas.

Os derivados anilino-substituídos **C18** e **C20** foram obtidos com rendimentos de 40 e 24%, respectivamente, enquanto que o derivado **C22** (*p*-nitro-substituído) com 86%. Dentre os derivados ácidos carboxílicos, **C23 - C25** (amino substituídos), apenas o **C24** (morfolinil substituído)

sofreu descarboxilação por essa metodologia, fornecendo **C27** em 42% de rendimento.



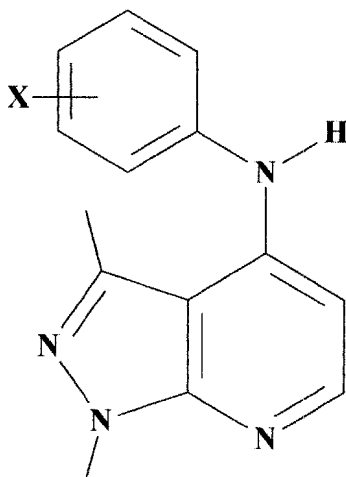
Onde X = *p*-CH₃; H; *p*-OH; *m*-F e *p*-NO₂



Onde Y = Piperidinil, Morfolinil, Pirrolidinil e Cicloexilanfinil

A segunda metodologia utilizada para a descarboxilação do grupamento éster foi realizada em uma única etapa. As reações foram feitas a partir dos ésteres diretamente na presença de ácido fosfórico concentrado a refluxo por quinze horas. Para os derivados anilínicos esta metodologia apresentou melhores resultados, obtendo-se todos os produtos desejados, ao contrário da metodologia anterior, com a qual não foi possível obter os derivados **C19** e **C21**.

A presença do ácido fosfórico permitiu a hidrólise ácida e a imediata descarboxilação, favorecida pela menor facilidade na formação de ligação hidrogênio entre o grupo carboxila e o *N*-amínico, devido a protonação deste último.



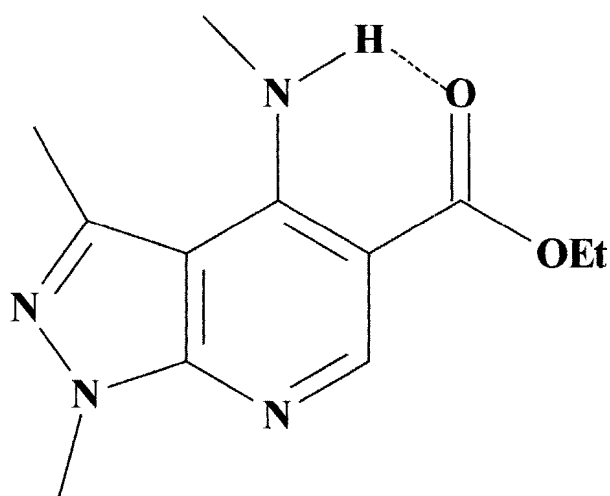
Onde X = H (**C19**) e X = p-OH (**C21**)

Em relação aos derivados amínicos ambas as metodologias utilizadas não mostraram bons resultados, sendo obtidos apenas dois dos quatro derivados desejados, sendo estes, o derivado **C27** pelo primeiro método com 42% de rendimento, e o derivado **C29** pela segunda metodologia, com 39% de rendimento. Neste caso a presença das aminas saturadas pode ter facilitado a decomposição das substâncias em estudo devido à maior reatividade do nitrogênio amínico em meio ácido ou sob alta temperatura.

4.2- Caracterização estrutural

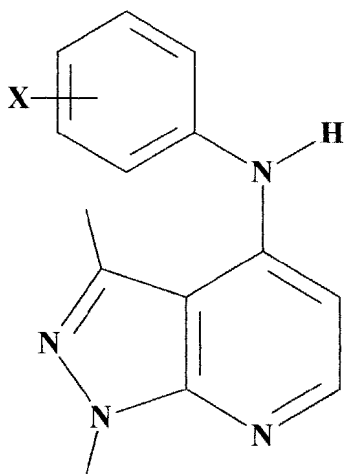
4.2.1- Análise dos espectros de infravermelho

As análises dos espectros de infravermelho, mostraram, com exceção dos derivados **C3**, **C9**, **C10** e **C11**, uma banda larga e intensa, próximo a 3200 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao estiramento N-H. As bandas de absorção atribuídas às carbonilas foram observadas na região próxima a 1670 cm^{-1} , devido à ligação hidrogênio com o grupo N-H e à conjugação com os anéis aromáticos. Os compostos **C3**, **C9**, **C10** e **C11**, sendo estes três últimos derivados ésteres com substituintes provenientes de aminas secundárias, apresentaram bandas de absorção relativas às carbonilas em torno de 1720 cm^{-1} , devido à ausência da referida ligação hidrogênio (espectros 5, 12, 15 e 19, respectivamente).

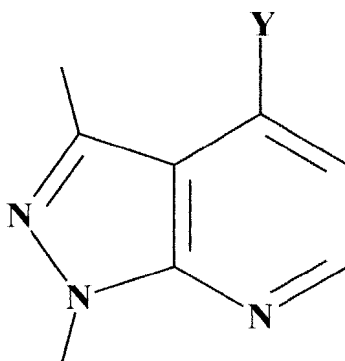


As bandas de absorção relativas ao estiramento C=C do anel anilínico apareceram próximas a 1500 e 1590 cm^{-1} . O desaparecimento das

bandas de absorção próximas a 1670 ou 1720 cm^{-1} para os derivados **C18** – **22**, **C 27** e **C29**, foi uma das evidências que vieram a comprovar o êxito das reações de descarboxilação (espectros 27, 30, 35, 39, 44, 47 e 52, respectivamente).



Onde X= *p*-CH₃ (C18); H (C19); *m*-F (C 20); *p*-OH (C 21) e *p*-NO₂ (C 22)



Onde Y= Piperidinil (C26), Morfolinil (27), Pirrolidinil (28) e Cicloexilaminil (29)

4.2.2 -Análise dos espectros de RMN de ^1H

Nos espectros de RMN de ^1H dos derivados pirazolopiridínicos com a função éster, as absorções relativas aos hidrogênios metálicos que estão ligados aos carbonos metilênicos apareceram na forma de tripleto em torno de 1,5 ppm ($J = 7,0\text{Hz}$), enquanto que os hidrogênios que estão ligados aos carbonos metilênicos absorveram em torno de 4,2 ppm ($J = 7,0\text{Hz}$), na forma de quarteto (espectros nº 8, 13, 16, 20 e 24).

Nos compostos **C1** e **C2** os hidrogênios ligados aos carbonos 3 e 4, absorveram em 5,3 e 5,8 ppm, respectivamente, na forma de singletto (espectros nº 2 e 4).

Nos derivados anilínicos-substituídos, os hidrogênios ligados ao nitrogênio absorveram em torno de 10,0 ppm, na forma de singletto, e os hidrogenios ligados aos carbonos anilínicos absorveram entre 6,8 e 7,4 (espectros nº 8, 28, 31, 36, 40 e 45).

Nos derivados descarboxilados **C14-19**, **C27** e **C29** apresentaram absorções relativas aos hidrogenios ligados aos carbonos 5 e 6 do anel piridínico aparecem em forma de dubleto em torno de 6,1 e 8,0 ppm ($J = 6,0\text{Hz}$), respectivamente (espectros nº 28, 31, 36, 40, 45, 48 e 53, respectivamente).

4.2.3 - Análise dos espectros de RMN de ^{13}C

Os espectros de RMN de ^{13}C e os experimentos utilizando espectros com seqüência de pulso DEPT, permitiram distinguir os sinais correspondentes aos carbonos metílicos, metilênicos e metínicos (espectros nº 11 e 26).

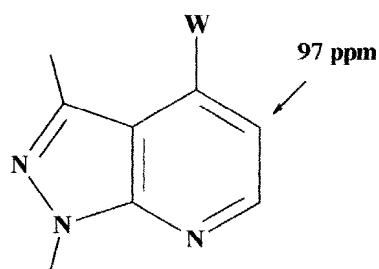
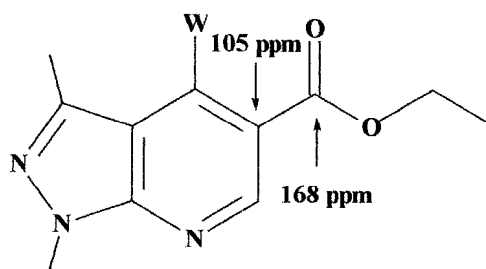
Em relação aos derivados ésteres, as metilas ligadas aos carbonos metilênicos absorveram em cerca de 14,0 ppm, enquanto que estes últimos, em cerca de 60,0 ppm. As metilas ligadas ao carbono 3 absorveram em torno de 15,0 ppm, e as metilas ligadas no nitrogênio 1 em torno de 33,0 ppm. Para o derivado descarboxilado **C 14** a metila ligada ao carbono 4' absorveu em torno de 15,0 ppm (espectros nº 9, 13, 17, 21 e 25).

O carbono 5 dos derivados ésteres foi assinalado em torno de 105,0 ppm, com fraca intensidade de absorção, característica de carbono quaternário. Já nos derivados descarboxilados, o carbono correspondente absorveu em campo ligeiramente mais alto, em torno de 97,0 ppm. O sinal para o carbono 5 dos derivados descarboxilados, além de apresentar maior intensidade, o que sugere a ocorrência de hidrogênio ligado a este, mostrou maior valor de deslocamento químico em função da remoção de um grupo retirador de elétrons neste carbono, que neste caso, seria a carbonila do grupo éster. Fato este, que aliado desaparecimento do grupo etoxi e do sinal

em torno de 168,0 ppm, típico de carbono quaternário, relativo ao grupo carbonila, veio a indicar que a desejada descarboxilação foi alcançada (espectros nº 29, 32, 37, 41, 45, 49 e 54). Os dados para comprovação estão indicados na Tabela 10.

Tabela 10: Deslocamentos químicos de ^{13}C para a comparação entre os derivados pirazolopiridínicos

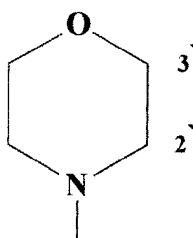
Deslocamentos químicos (ppm)							
	Carbonos do anel 1- <i>H</i> -pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridínico						
Derivados ésteres anilínicos	4	5	6	Derivados descarboxilados anilínicos	4	5	6
C4	150,6	105,2	151,4	C18	149,2	97,8	150,0
C5 ³⁶	151,3	103,4	152,4	C19	149,3	99,2	147,0
C6	150,5	104,2	152,3	C20	146,2	98,6	150,1
C7 ³⁶	151,7	101,9	151,9	C21	149,2	97,7	155,0
C8	148,1	105,9	151,9	C22	148,0	98,0	155,0
Derivados ésteres amínicos	4	5	6	Derivados amínicos descarboxilados	4	5	6
C10	153,4	110,5	151,6	C27	152,6	104,5	152,2
C12	149,1	108,8	149,9	C29	149,1	98,3	149,9



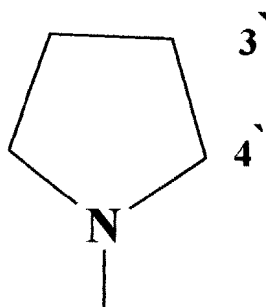
4.2.4 - Análise dos espectros de RMN bidimensionais de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY)

Os espectros de RMN bidimensionais de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY) indicaram para os derivados ésteres a correlação entre os hidrogênios metílicos e os metilênicos do grupo etoxi presente nas referidas moléculas (espectros n° 10, 18 e 22), bem como a correlação entre os hidrogênios ligados aos carbonos C2' e C3' em torno de 7,0 ppm para o derivado descarboxilado **C21** (espectro n° 42) e A correlação entre os hidrogênios ligados aos carbonos 5 e 6 foi assinalada em torno de 6,5 e 8,0 ppm, na forma de dubleto ($J = 6,0\text{Hz}$), o que evidenciou a ocorrência da descarboxilação dos derivados ácidos e ésteres, para fornecer os respectivos derivados descarboxilados (espectros n° 33, 38, 42 e 50).

Os espectros de correlação homonuclear de hidrogênio para o derivado éster **C10** e o seu correspondente derivado descarboxilado **C27**, exibiram a correlação entre os hidrogenios ligados ao carbono 2' e o carbono 3', do anel morfolínico, através dos assinalamentos em torno de 3,4 e 3,8 ppm, respectivamente (espectros n°18 e 50, respectivamente).

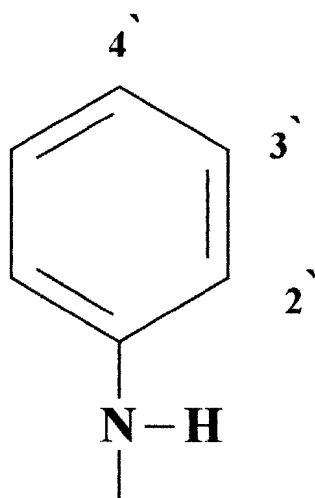


Para o derivado éster **C11**, a correlação entre o carbono 2' e 3' do anel pirrolidínico foi assinalada em tomo de 3,5 e 1,9 ppm (espectro nº 22).

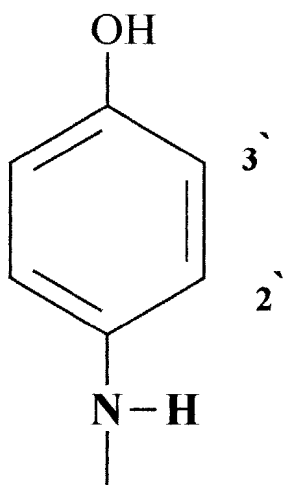


4.2.5 -Análise dos espectros de correlação heteronuclear ($^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HETCOSY, $^1\text{J}_{\text{CH}}$)

O espectro de correlação heteronuclear, mostrou para o derivado descarboxilado **C19** (X = H), assinalamentos referentes 'a metila ligado ao carbono 3 do anel pirazolopiridínico, em 2,6 e 18 ppm, para os hidrogênios e o carbono, respectivamente, enquanto que a metila ligada ao nitrogênio 1 do mesmo anel pirazolopiridínico, exibiu assinalamentos em 3,9 e 33,0 ppm. A correlação entre o carbono 6 e o hidrogênio ligado a este, foi expressa pelos assinalamentos em 149,0 e 8,1 ppm, respectivamente. Em relação ao anel anilínico deste mesmo composto, correlações entre os carbonos aromáticos e seus respectivos hidrogênios, apareceram em 7,2 e 124,0; 7,4 e 122,0; 7,5 e 129,0 ppm, para os hidrogênios e carbonos 2', 4' e 3', respectivamente (espectro nº 34).



Para o derivado anilínico descarboxilado **C21** (X = 4'-OH), a correlação entre os hidrogênios e o carbono metílico ligado ao nitrogênio 1 do anel pirazolopiridínico, aparece através dos assinalamentos em 3,8 e 33,0 ppm, respectivamente, enquanto que os hidrogênios ligados aos carbonos 5 e 6, em 6,2 e 97,0 e 7,9 e 155 ppm, respectivamente, já os hidrogênios e carbonos anilínicos 2' e 3', correlacionaram-se em 6,8 e 132,0 e 127,0, respectivamente (espectro nº 43).



Para o derivado descarboxilado **C27** (Y = morfolinil), os hidrogênios e o carbono metílico ligados ao carbono 3 do anel pirazolopiridínico, correlacionam-se através dos assinalamentos em 4,0 e 20,0 ppm, respectivamente, enquanto que os hidrogenios e os carbonos 2'e 3' do anel morfolínico, aparecem em 3,3 e 37,0 e m 3,9 e 58,0 ppm, respectivamente (espectro n° 51).

4.3-Modelagem molecular

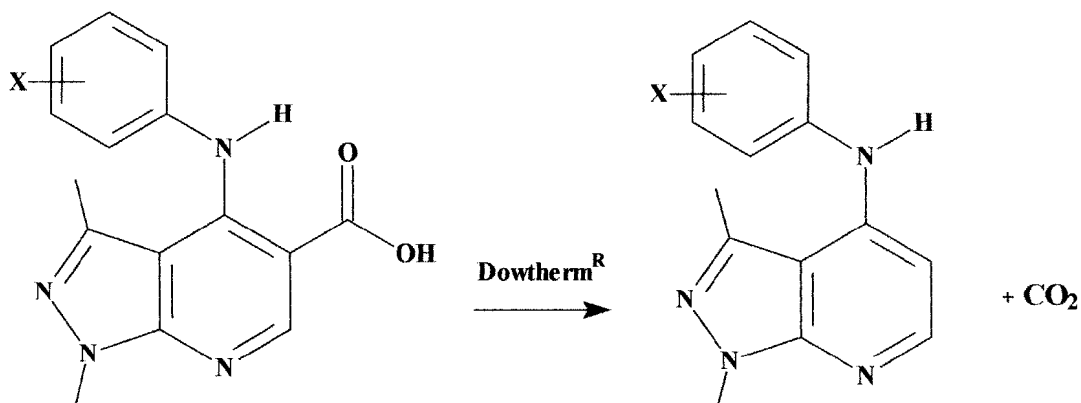
O estudo de modelagem molecular foi realizado para analisar a facilidade de reação de descarboxilação dos derivados 1,3-dimetil-4- ou anilino- 1 -*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboxipiridínicos e seus respectivos produtos descarboxilados foram desenhadas e minimizadas utilizando-se o programa de mecânica molecular PCMODEL versão 5.13. Posteriormente essas estruturas foram otimizadas através do programa MOPAC 6.0 / WINDOWS 95, utilizando o hamiltoniano AM1. As informações otimizadas pelo programa MOPAC foram obtidas através do arquivo de saída ARC e os valores das entalpias padrão de formação dos derivados **C18-22** e **C13-17** foram utilizadas no cálculo das entalpias de reação nas quais estavam envolvidos.

Tal estudo teórico foi realizado considerando-se as condições reacionais relativas a metodologia número um, onde não ocorre a protonação do nitrogênio anilínico.

Os valores de entalpia padrão da reação de descarboxilação dos ácidos pirazolopiridínicos anilino substituídos, **C13-C17**, mostraram-se coerentes com a hipótese formulada referente à influencia da intensidade da ligação hidrogênio entre o nitrogênio anilínico e o hidrogênio carboxílico. Essa intensidade está diretamente relacionada com a basicidade do nitrogênio anilínico, estando desta forma, influenciada pela natureza dos substituintes do anel, os quais podem facilitar ou prejudicar a reação de descarboxilação.

Os compostos **C18** e **C21** apresentaram valores de entalpia de reação relativamente maiores devido ao fato de possuírem grupos doadores de elétrons na posição *para* relativa ao anel anilínico, os quais vem a aumentar a intensidade da referida ligação hidrogênio, requerendo uma maior quantidade de energia para rompe-la, o que não ocorreu no caso dos derivados **C20** e **C22**, os quais apresentam grupos retiradores de elétrons no anel anilínico, ocorrendo fenômeno oposto, fenômeno este, que foi experimentalmente verificado na obtenção do derivado descarboxilado **C22** (substituído com o grupo nitro na posição *para*), o qual, dentre todos os derivados, obteve-se o maior rendimento. Os valores para a entalpia padrão

de reação foram calculados através da equação 1, considerando-se a reação indicada a seguir. Os valores de entalpia padrão de reação estão listados na Tabela 11.



Onde X= *p*-CH₃ (C18); H (C19); *m*-F (C20); *p*-OH (C21) e *p*-NO₂ (C22)

Tabela 11: Valores de entalpia padrão de reação calculados para os derivados descarboxilados C18-22.

Derivado	X	ΔH_f^0 (Kcal/mol)	ΔH_f^0 (Kcal/mol)	ΔH_f^0 (Kcal/mol)
		Derivado ácido	Derivado descarboxilado	Reação
C21	<i>p</i> -OH	-6,69	83,93	11,79
C18	<i>p</i> -CH ₃	29,20	119,82	11,79
C19	H	39,39	127,44	9,22
C20	<i>m</i> -F	-5,48	82,38	9,03
C22	<i>p</i> -NO ₂	39,85	129,82	-1,83

Equação 1:

$$\Delta \Delta H^0 (\text{Reação}) = \Delta H_f^0 (\text{Derivado descarboxilado}) - \Delta H_f^0 (\text{Derivado ácido}) + \Delta H_f^0 (\text{CO}_2)$$

Onde: $\Delta H_f^0 (\text{CO}_2) = -78,83 \text{ Kcal/mol}$

5. Conclusões

As metodologias sintéticas empregadas para a obtenção dos derivados ésteres mostraram-se eficientes, tendo como exceção apenas o composto **C4**.

Dentre as metodologias de descarboxilação empregadas, a que utilizava ácido fosfórico concentrado (número dois) mostrou-se mais eficaz em relação à obtenção dos derivados descarboxilados **C18-22**, do que o uso de Dowtherm (número um). Em relação à obtenção dos derivados descarboxilados **C26-29**, ambas as metodologias não se mostraram eficientes.

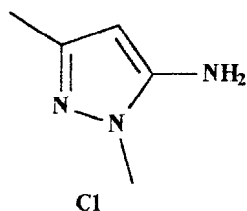
A teoria formulada relativa à obtenção dos derivados descarboxilados da série A foi comprovada teoricamente pela modelagem molecular, e experimentalmente, pelo bom rendimento obtido pelo derivado **C22**.

Todas as estruturas foram caracterizadas de maneira satisfatória pelos experimentos espectrométricos utilizados.

Os novos derivados obtidos no presente trabalho são inéditos na literatura e serão ensaiados frente à *Leishmania amazonensis*, no Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos do Departamento de Imunologia da FIOCRUZ.

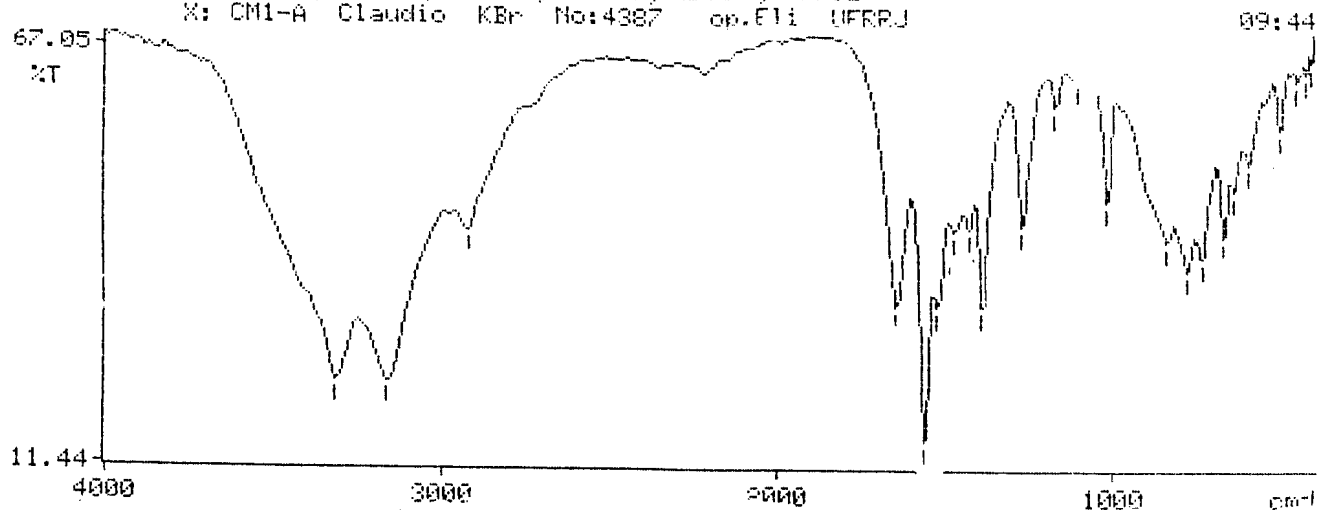
6 – Espectros Obtidos

1,3-dimetil-5-aminopirazol (C1)

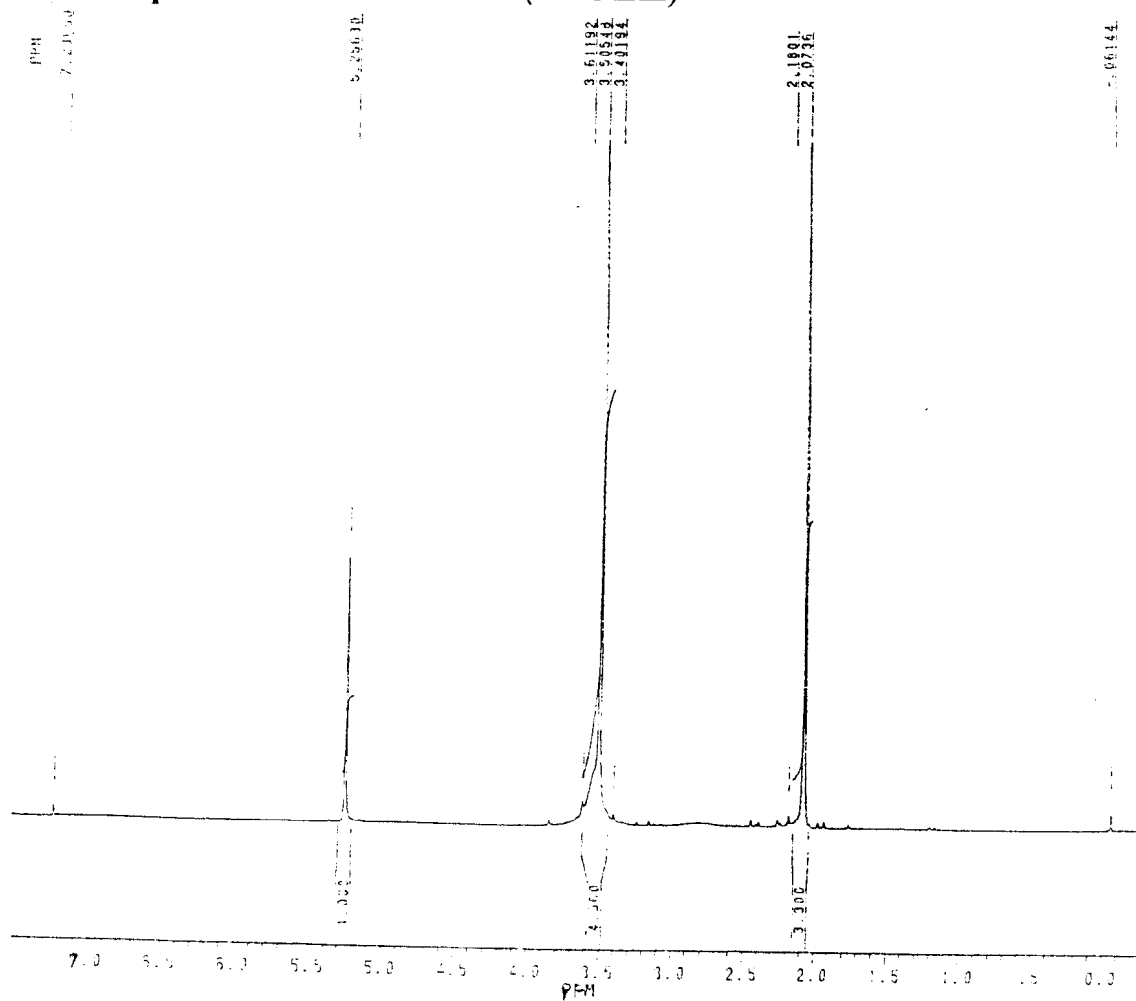


Espectro n^o 1: IV, obtido em pastilha de KBr.

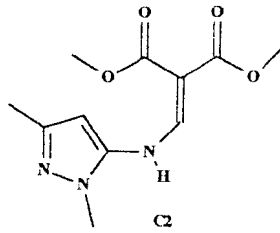
3321.9, 3165.5, 2926.3, 1643.9, 1562.4, 1520.8, 1470.0, 1425.4=
 1388.6, 1267.8, 1166.1, 1101.8, 1012.9, 834.7, 777.6=
 734.4, 669.4, 639.9, 594.1, 502.3, 453.6, 424.3, 409.0=
 X: CM1-A Claudio KBr No:4387 op.Fli UFRPJ



Espectro n^o 2: RMN de ¹H (200MHz)



α -carboetoxi- β -(1-metil-3-metil-5-aminopirazolil)acrilato de etila (C2)

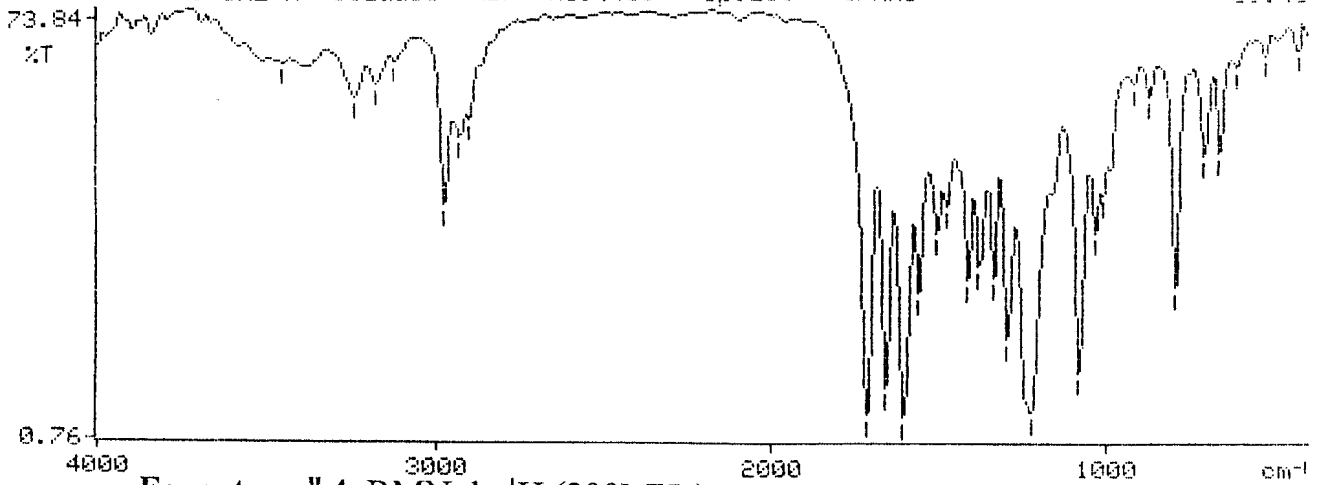


Espectro n^o 3: IV, obtido em pastilha de KBr.

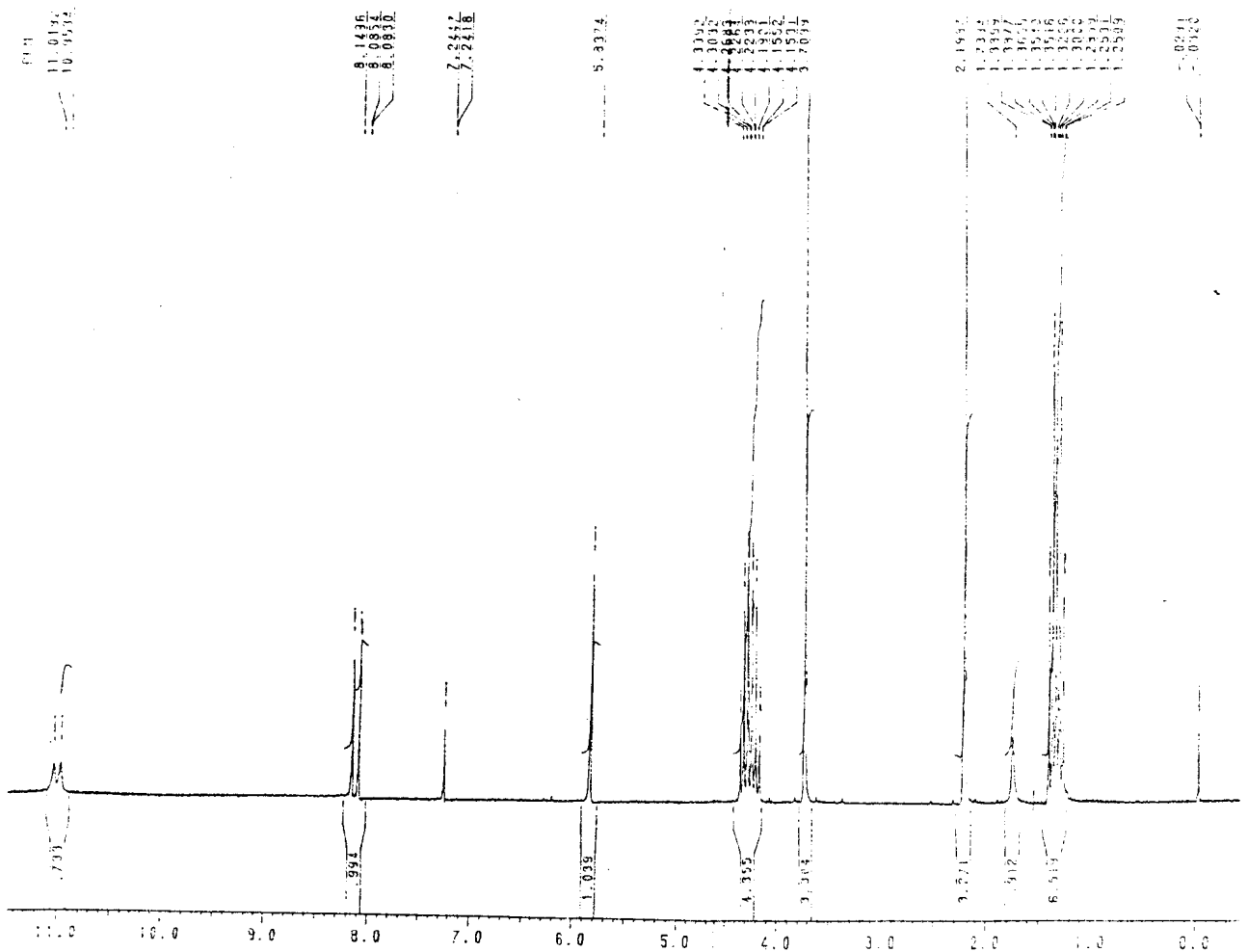
3459.7, 3248.6, 3185.6, 3128.4, 2983.2, 2935.4, 2908.1, 1716.7=
1660.9, 1606.4, 1560.8, 1507.0, 1478.7, 1414.3, 1381.2, 1340.1=
1298.8, 1226.8, 1083.3, 1031.9, 1010.2, 918.2, 869.4, 793.9=
706.1, 659.8, 608.6, 525.4, 426.2=

#: CM2-A Claudio KBr No:4413 op.Eli UFRRJ

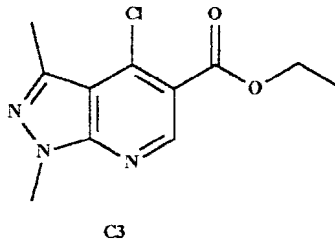
09:40



Espectro n^o 4: RMN de ¹H (200MHz).



1,3-dimetil-4-cloro-1-*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboetoxipiridina (C3)



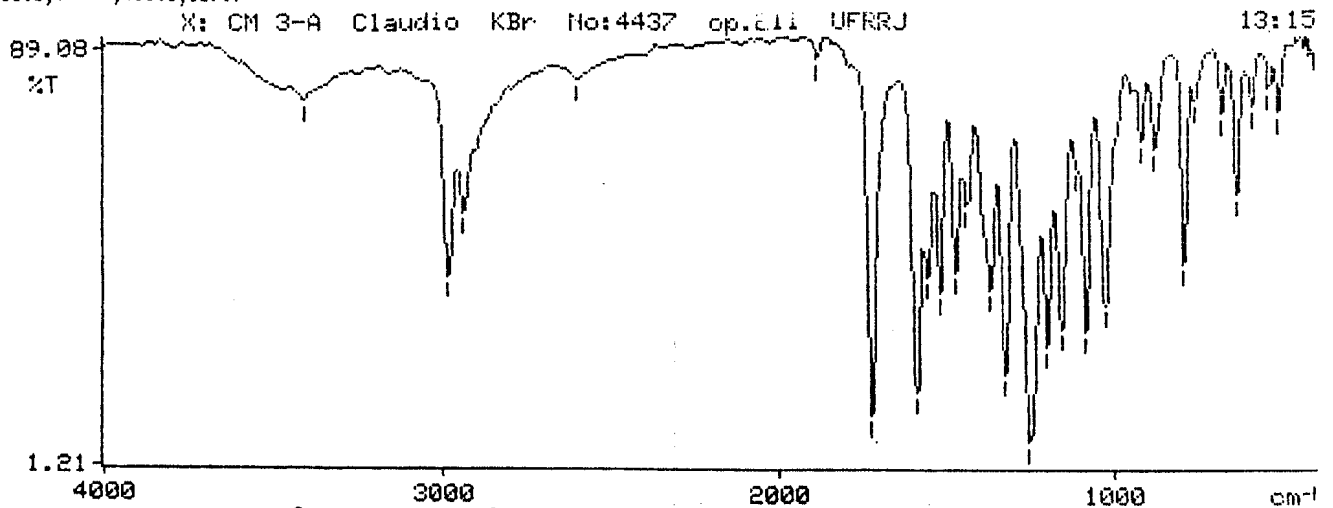
Espectro n^o 5: IV. obtido em nastilha de KBr.

3418.9, 2983.4, 2937.6, 2599.0, 1882.3, 1722.5, 1588.2, 1554.1=

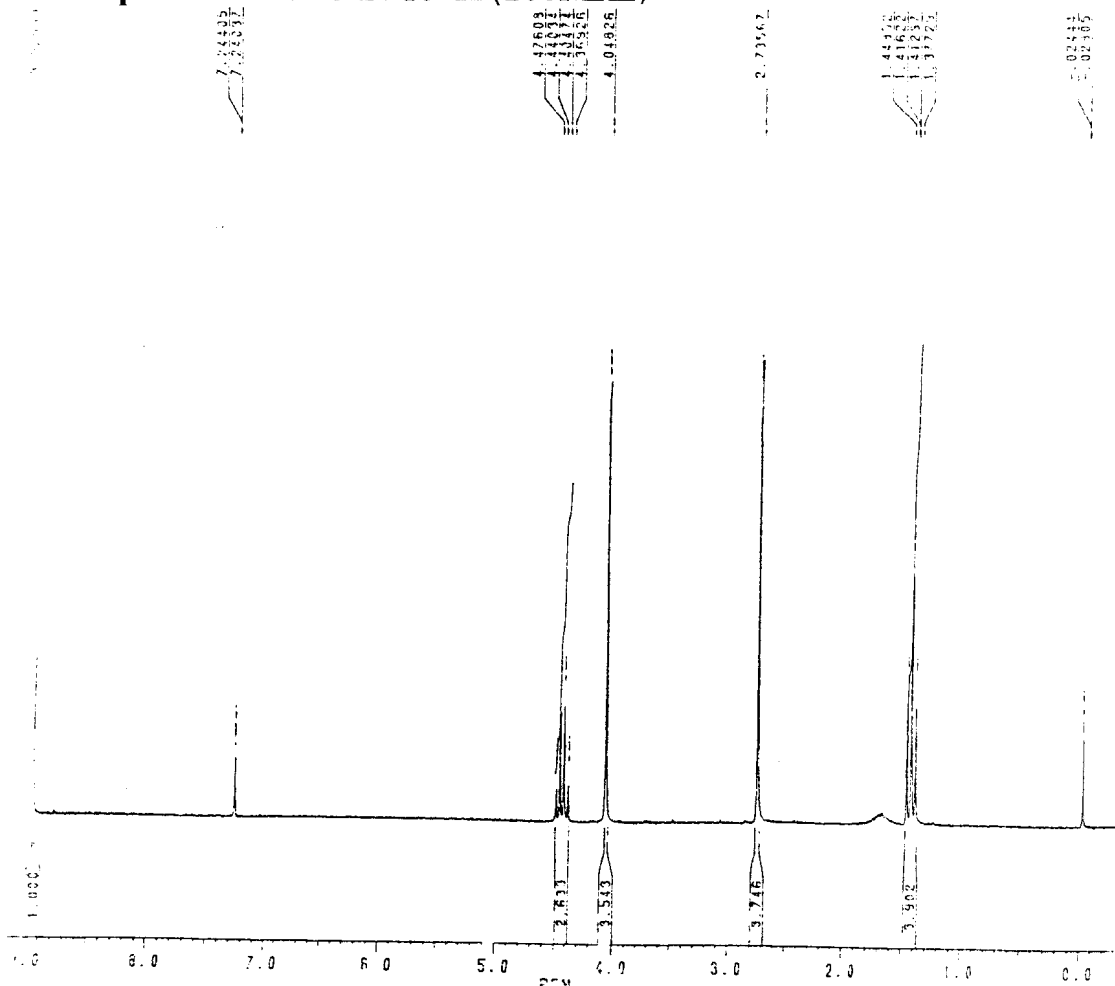
1517.2, 1470.1, 1435.0, 1368.0, 1324.5, 1251.5, 1199.9, 1157.0=

1109.9, 1083.2, 1026.8, 917.9, 876.3, 790.5, 757.6, 677.6=

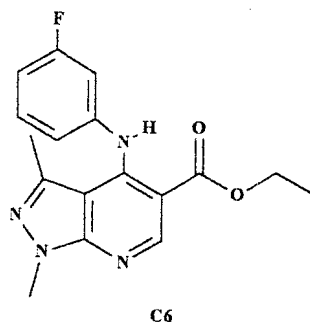
633.0, 586.5, 535.5, 507.7=



Espectro n^o 6: RMN de ¹H (200MHz)



1,3-dimetil-4-[3'-flúor-anilino]-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]5-carboetoxipiridina (C6)

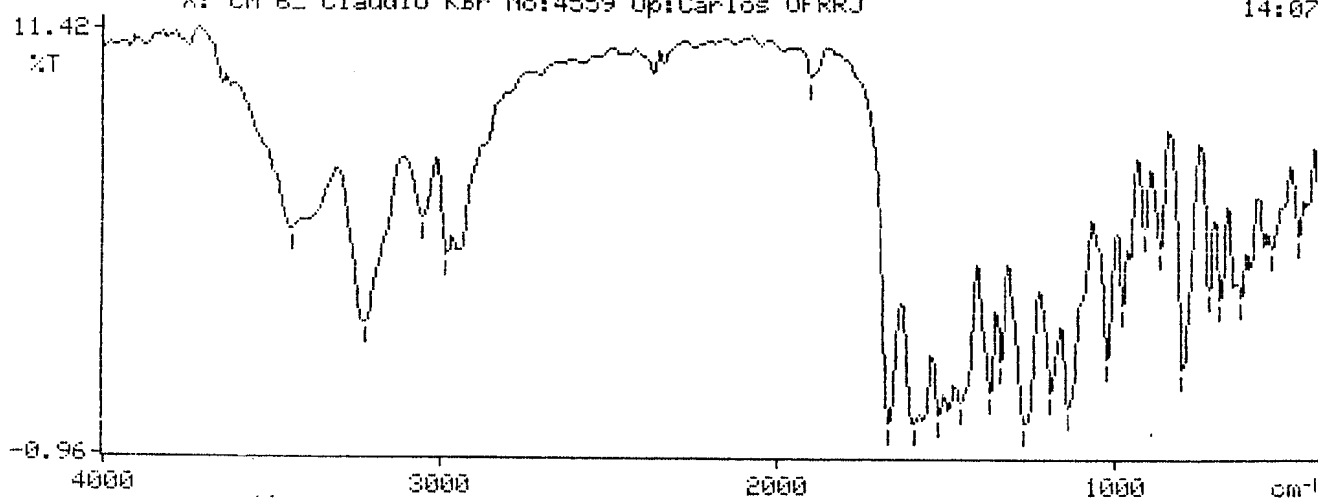


Espectro nº 7: IV, obtido em pastilha de KBr

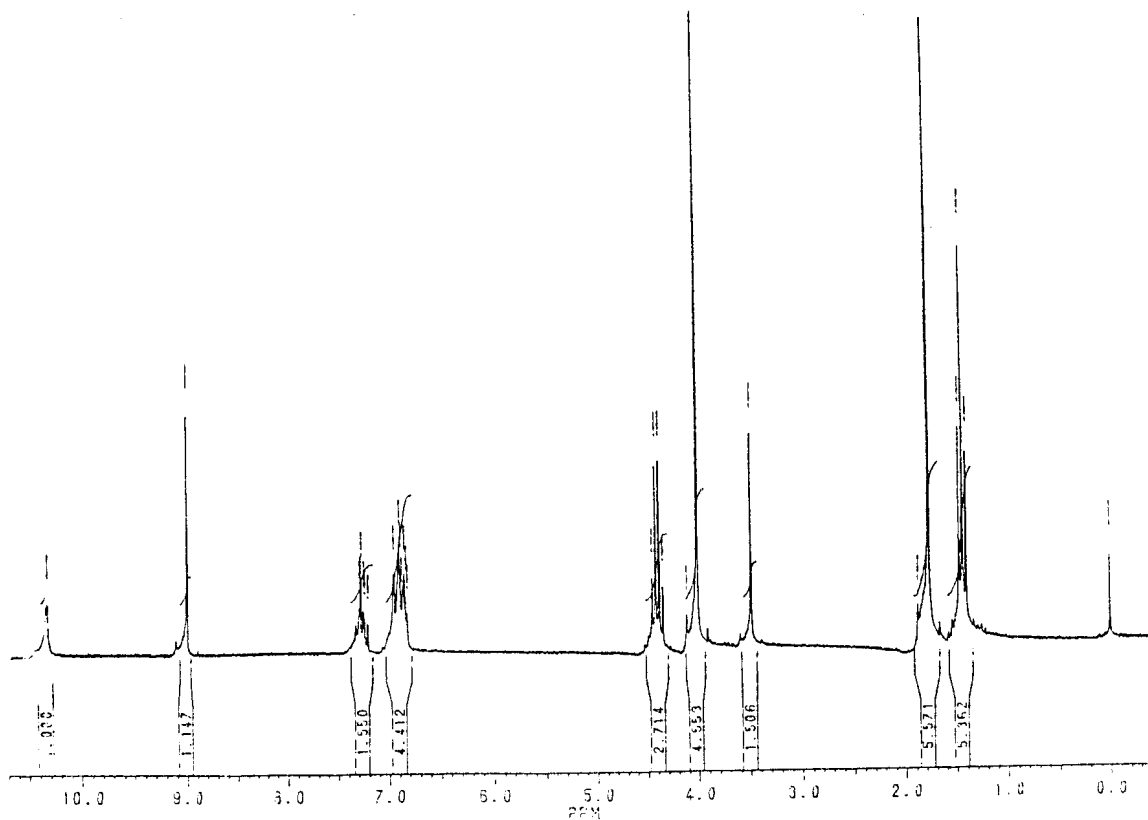
3447.6,3226.4,3053.6,2982.0,1908.3,1670.0,1595.1=
1522.2,1457.6,1371.2,1337.2,1266.9,1191.5=
1141.6,1023.7,979.2,911.1,863.7,797.3=
718.0,683.6,624.1,532.5,454.4=

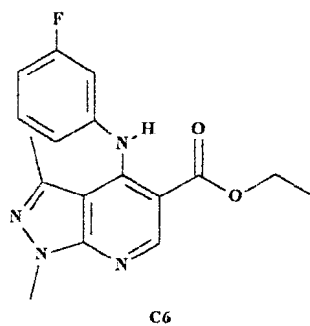
X: CM 6_ Claudio KBr No:4559 Op:Carlos UFRRJ

14:07

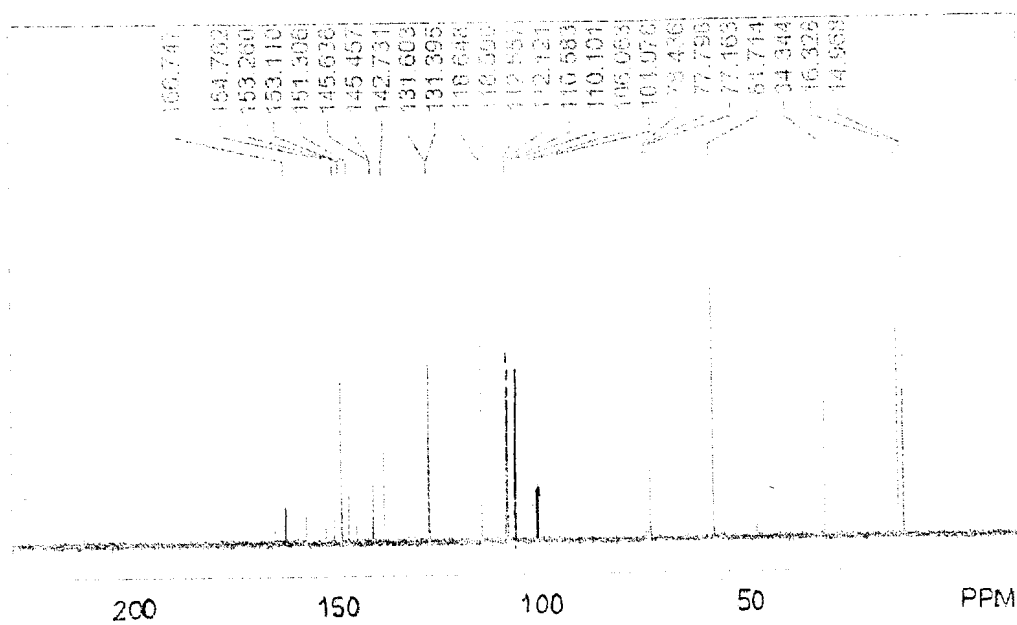


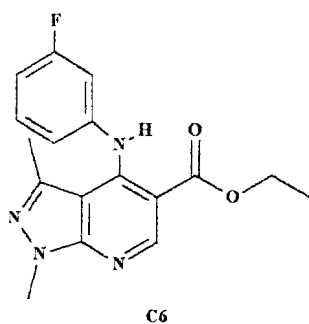
Espectro nº8: RMN de ¹H (200MHz)

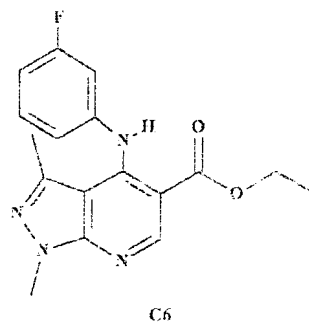




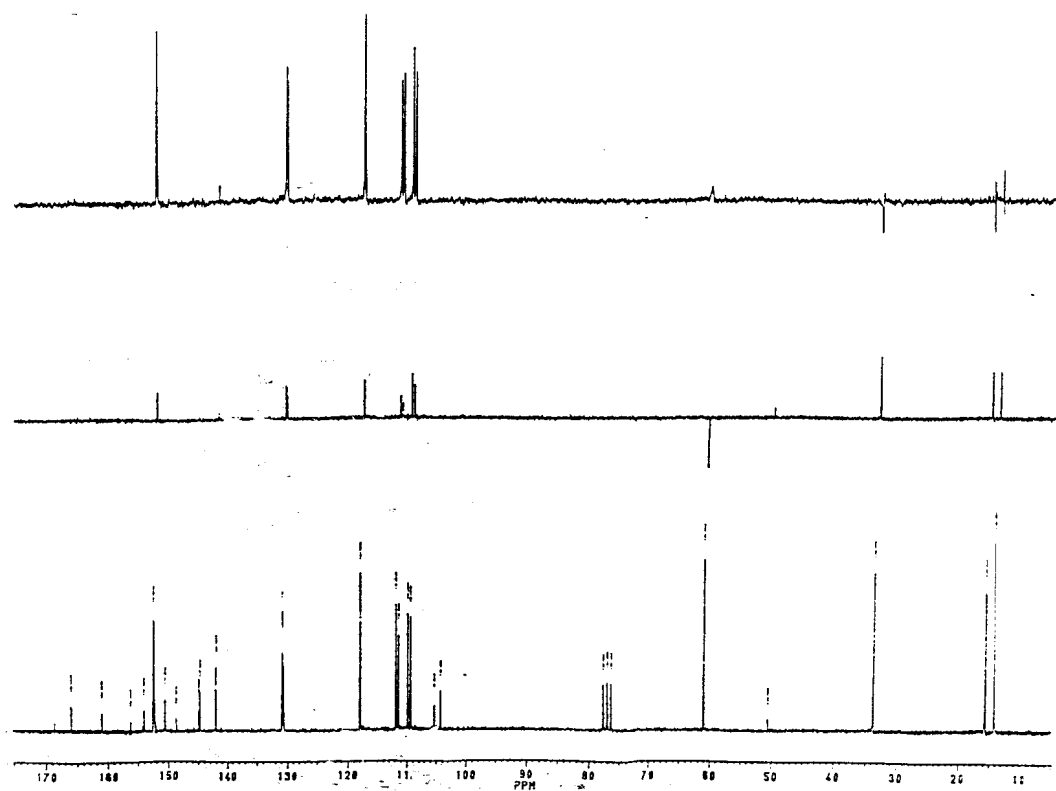
Espectro n^o9: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



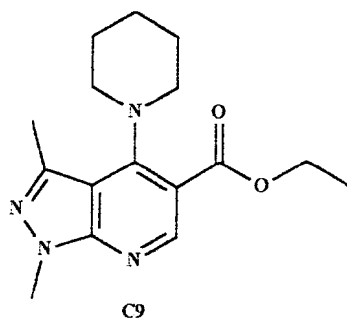
Espectro n^o 10: ¹H x ¹H - COSY



Espectro n^o11: RMN de ¹³C (50,3 MHz), DEPT



1,3-dimetil-4-piperidinil-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]-5-carboetoxipiridina (C9)



Espectro n^o 12: IV, obtido em pastilha de KBr

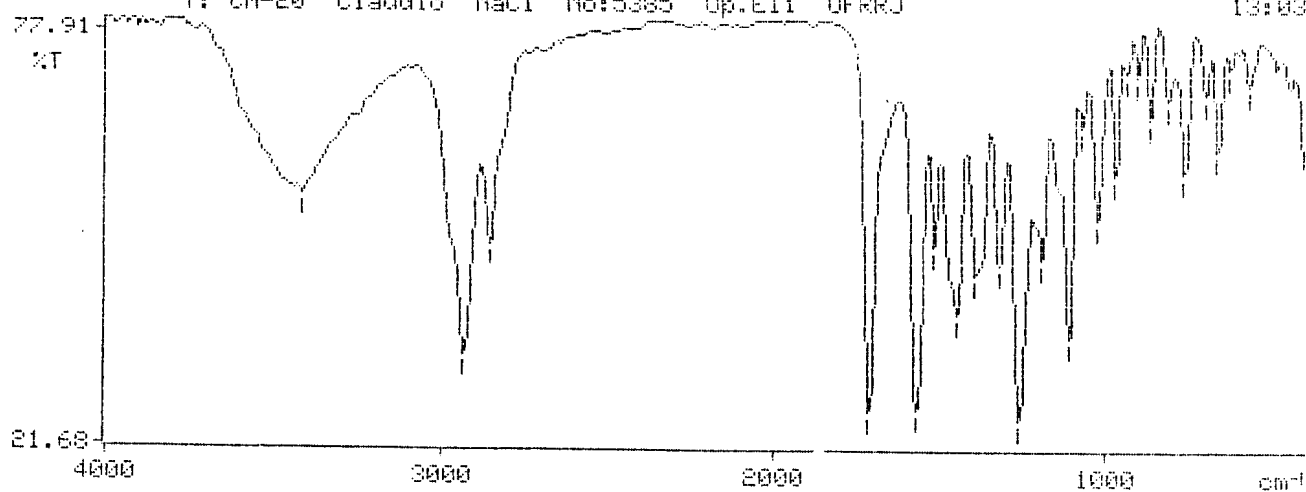
3415.3, 2937.9, 2856.3, 1712.9, 1572.0, 1514.0, 1447.3, 1389.5=

1319.0, 1259.6, 1190.9, 1110.3, 1068.8, 1023.7, 966.2=

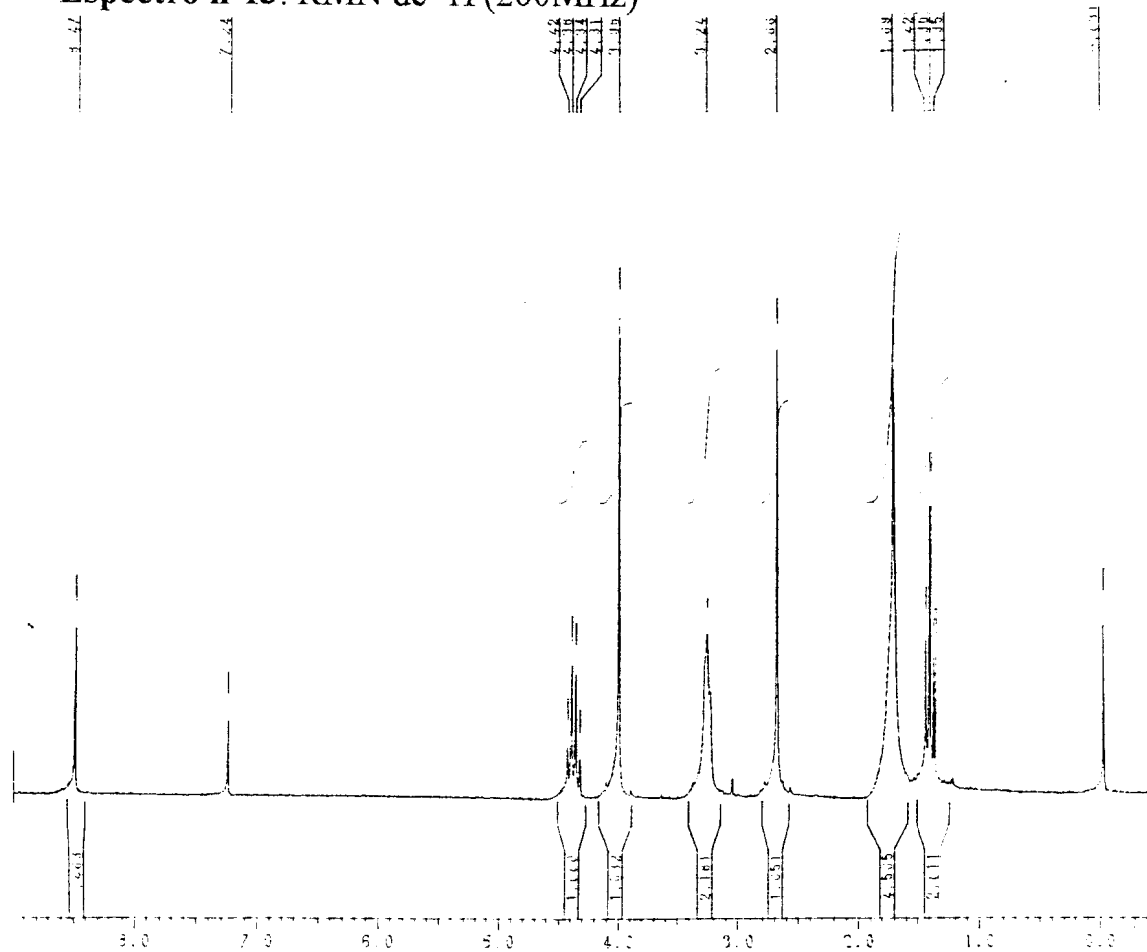
931.0, 898.6, 862.9, 810.7, 758.1, 694.2, 658.5, 621.0, 564.0=

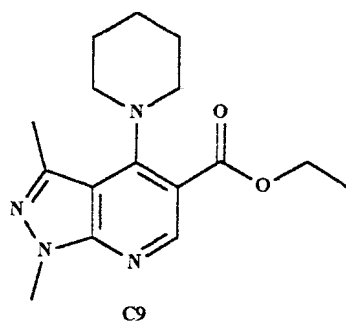
Y: CM-20 Claudio NaCl No:5385 Op.Eli UFRRJ

13:03

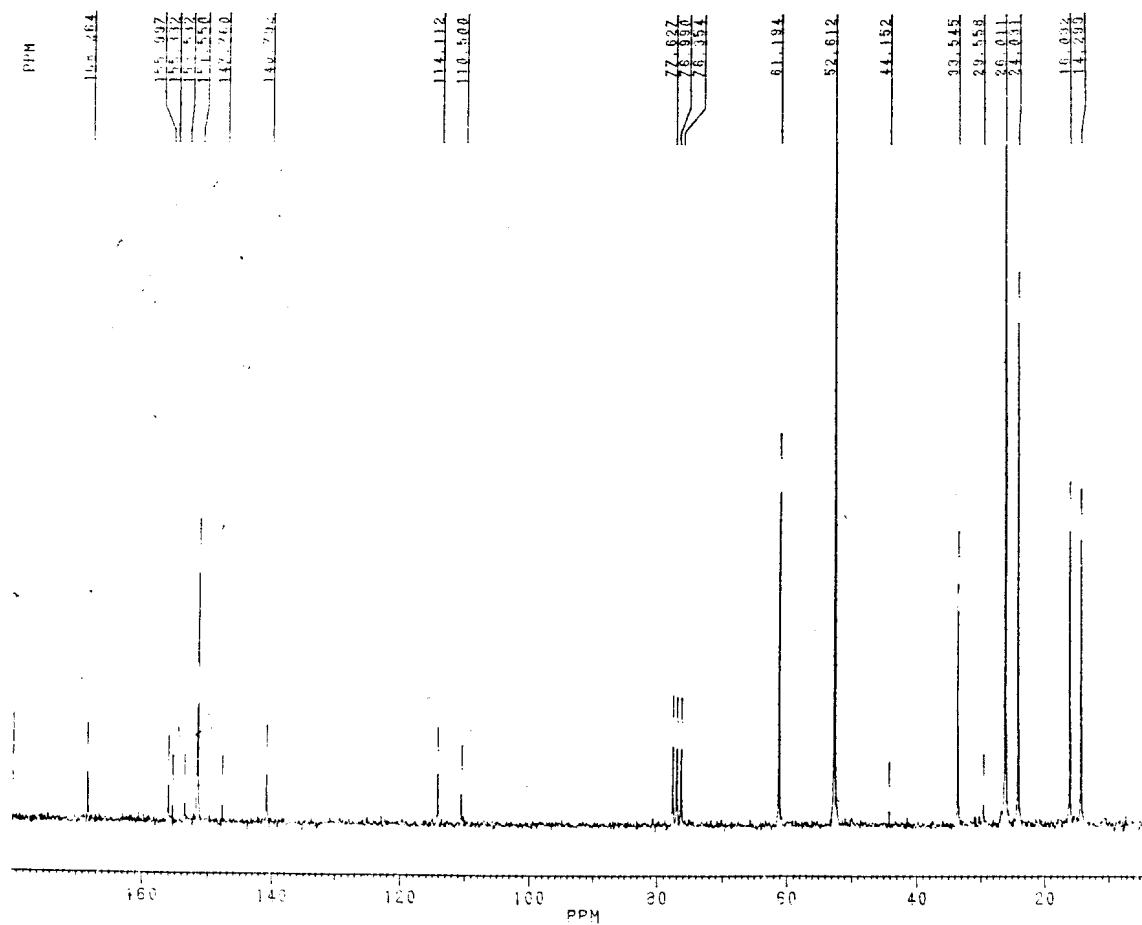


Espectro n^o 13: RMN de ¹H (200MHz)

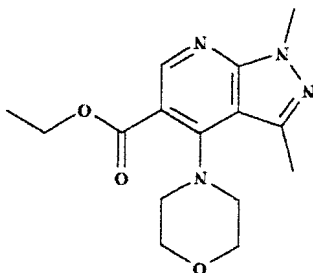




Espectro n° 14: RMN de ^{13}C (50,3 MHz)



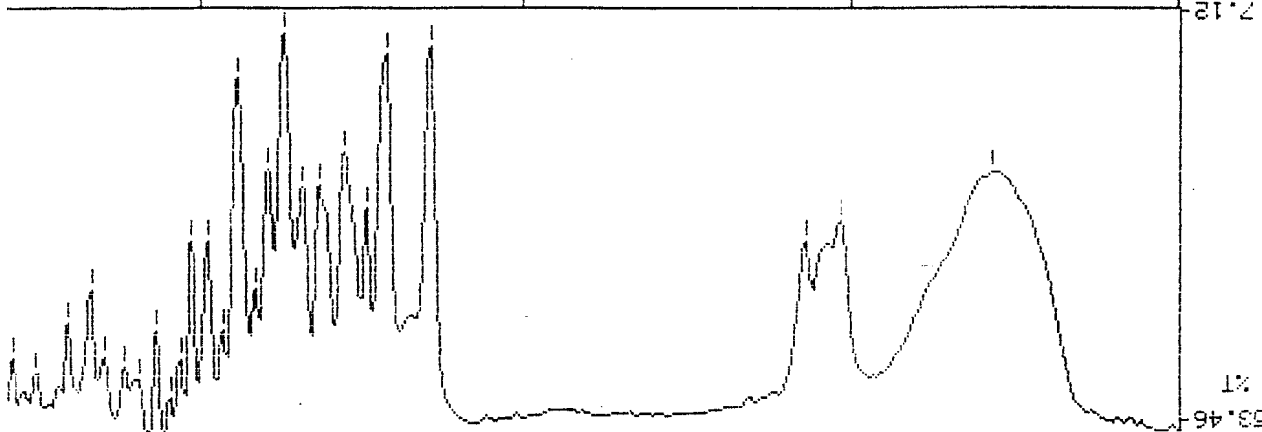
1,3-dimetil-4-morfolinil-1H-pirazolo[3,4-b]-5-carboetoxipiridina (C10)



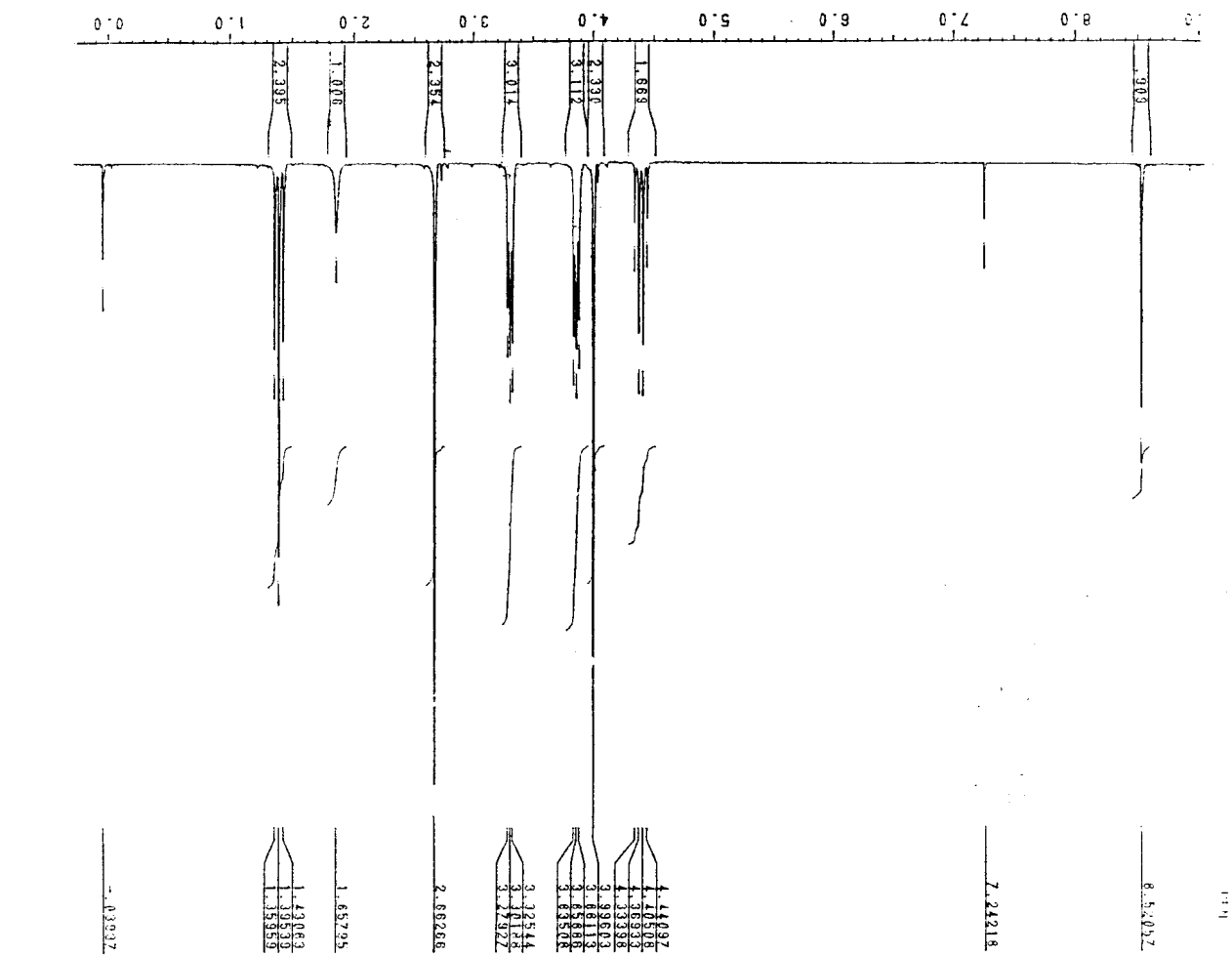
C10

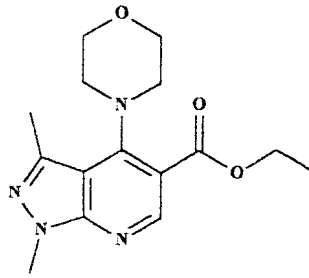
Espectro nº 15: IV, obtido em pastilha de KBr

3441.9, 2967.6, 2859.5, 1712.4, 1575.2, 1514.8, 1448.7, 1370.0 =
 1318.9, 1261.9, 1211.1, 1169.1, 1114.2, 1067.0, 1021.0, 972.3 =
 934.8, 904.9, 864.1, 804.0, 764.0, 701.2, 658.8, 586.2, 488.0, 415.9 =
 Z: CM 21 Claudio Naci No:5470 Op.E11 UFRJ

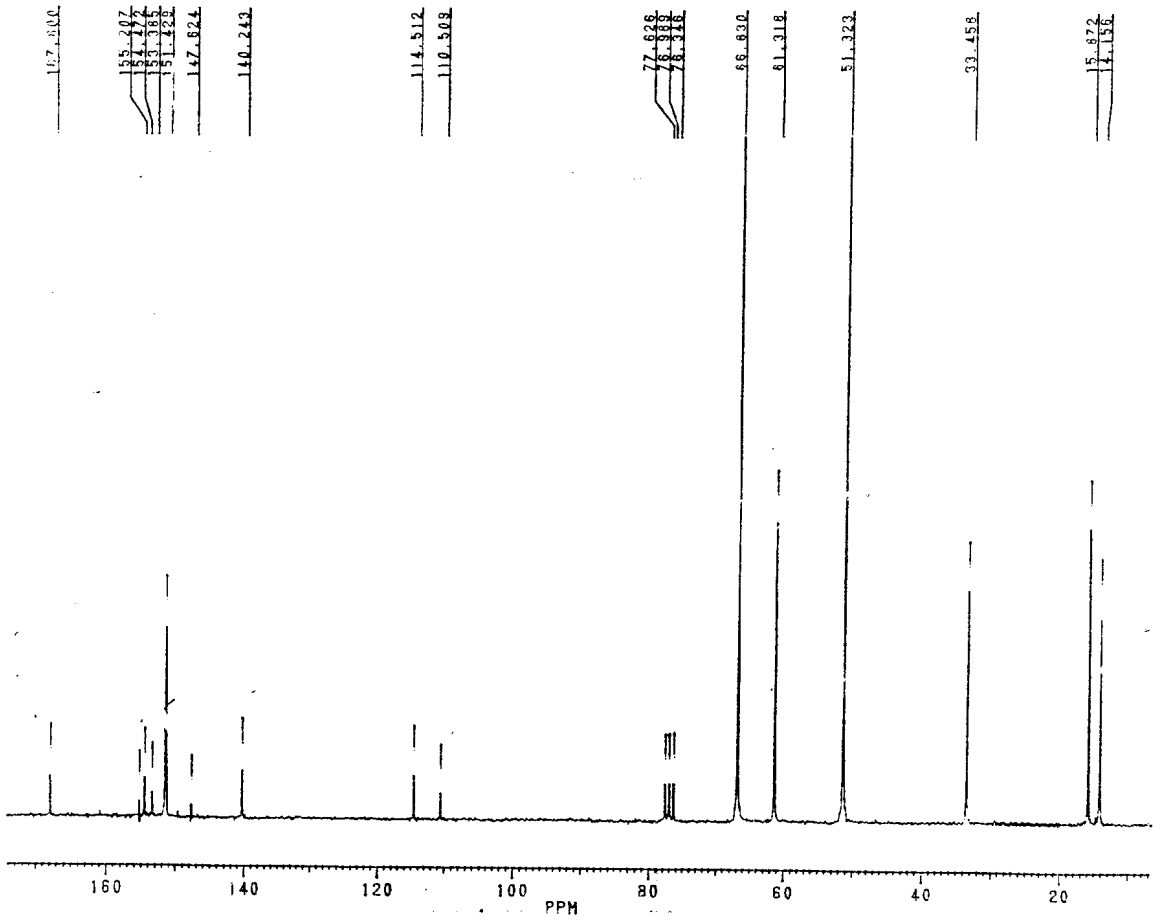


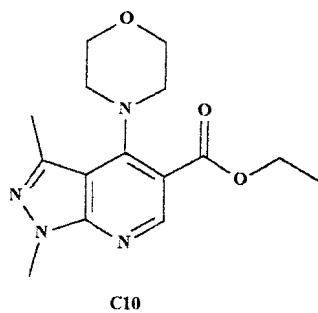
Espectro nº 16: RMN de 1H (200MHz)



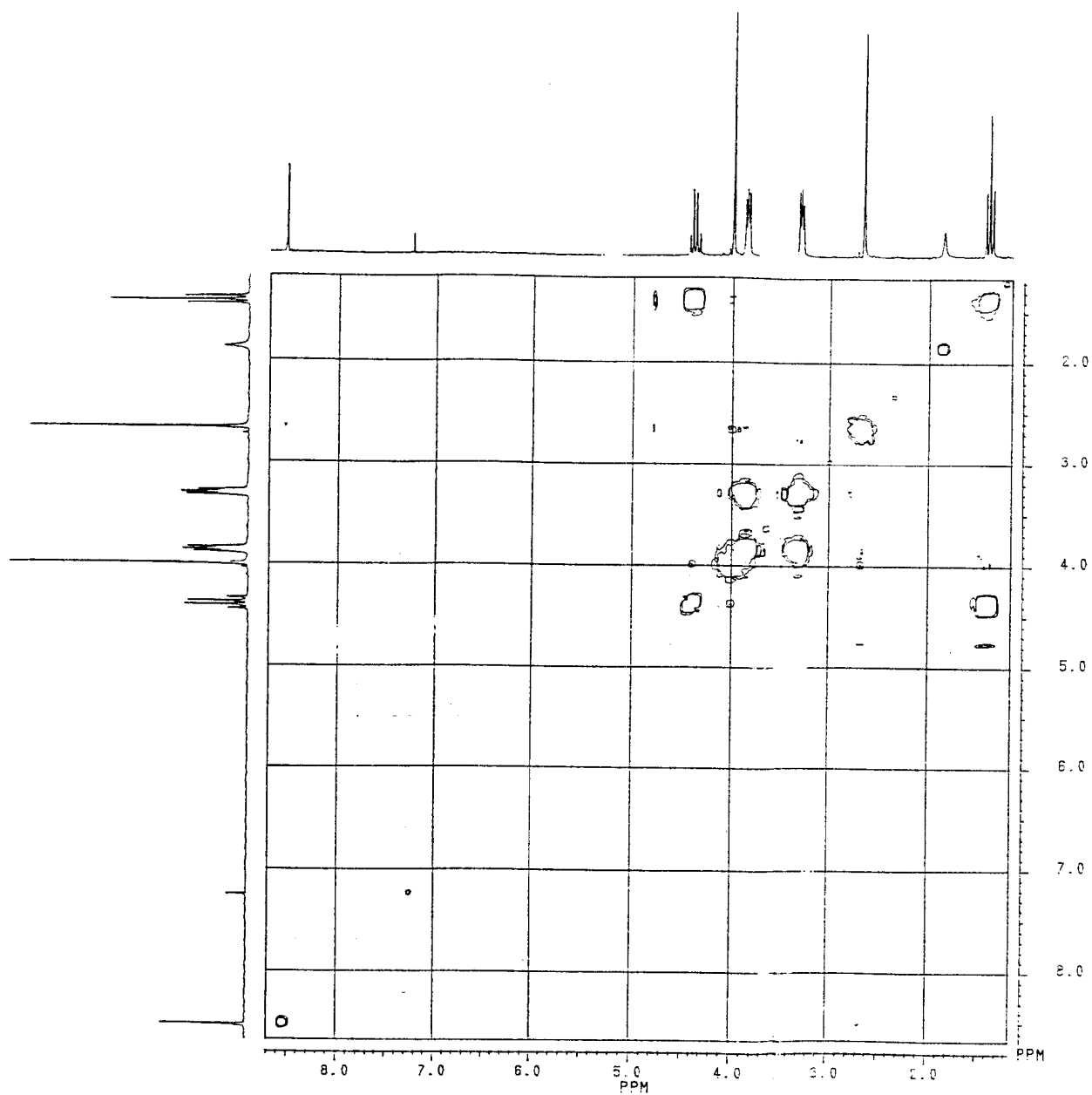


C10

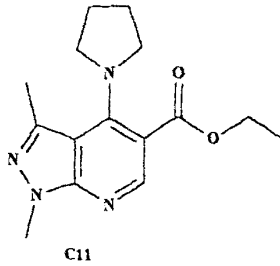
Espectro n^o17: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



Espectro n^o 18: ¹H x ¹H - COSY

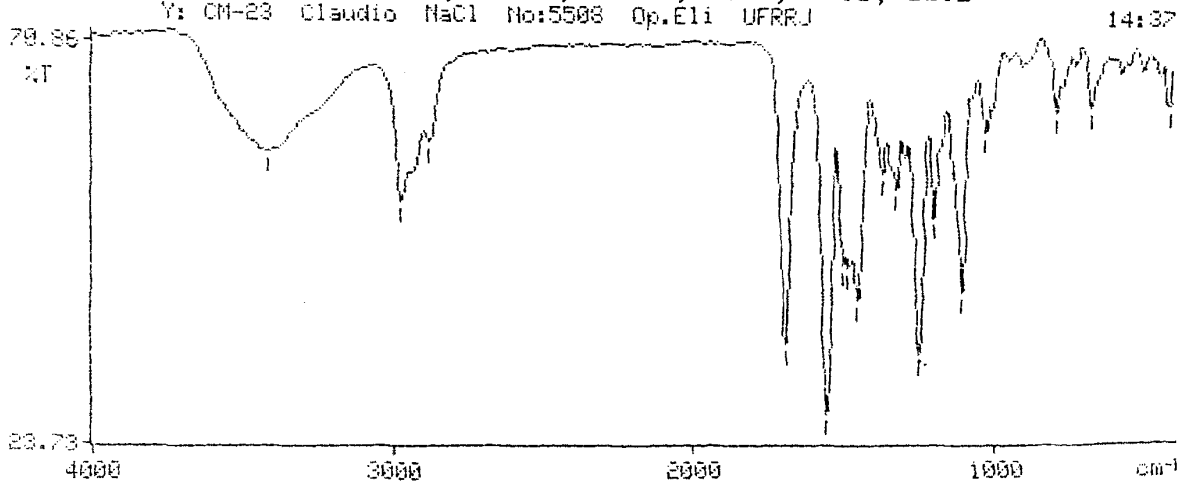


1,3-dimetil-4-pirrolidinil-1H-pirazolo[3,4-b]-5-carboetoxipiridina(C11)

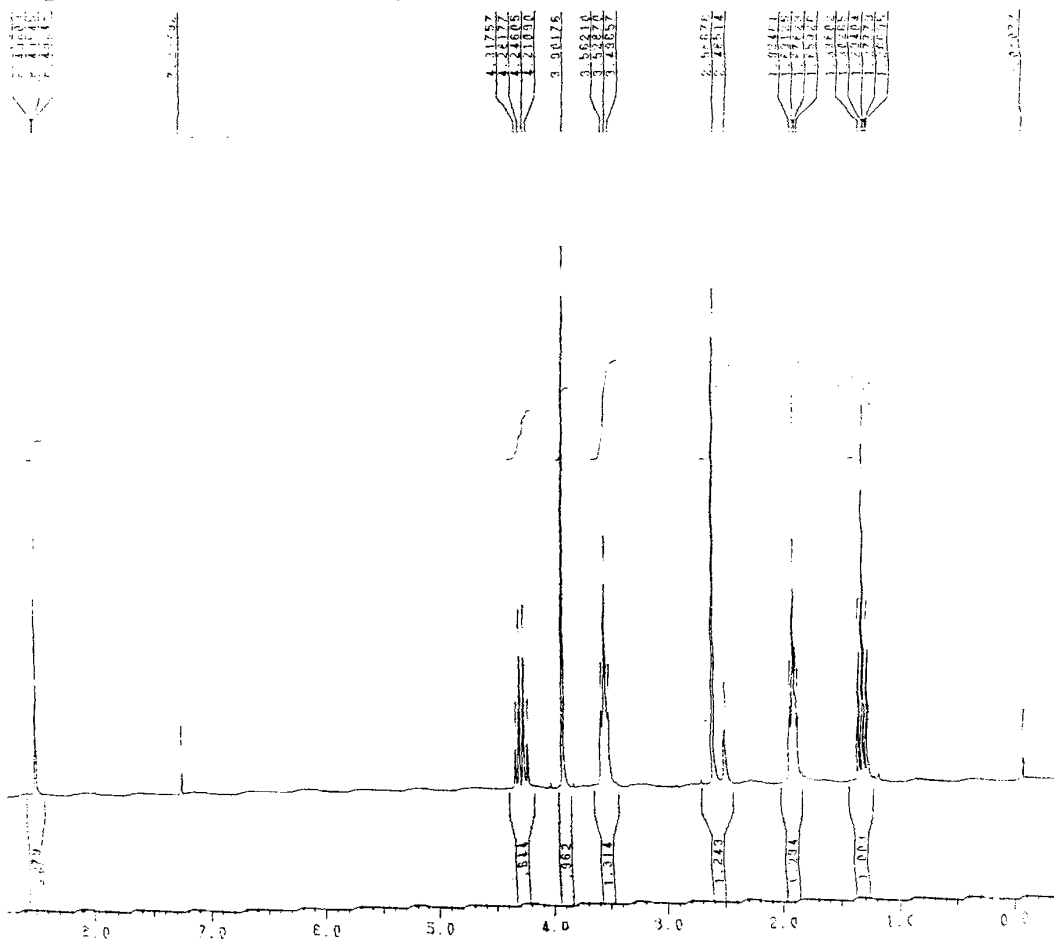


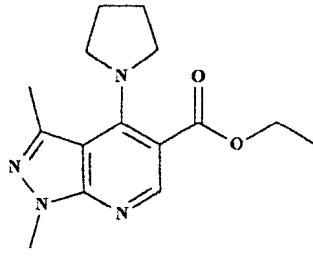
Espectro n^o 19: IV, obtido em pastilha de KBr

3424.8, 2977.3, 2882.2, 1695.2, 1561.2, 1501.6, 1481.3, 1454.6=
1371.7, 1323.1, 1250.8, 1200.2, 1106.7, 1022.8, 783.8, 666.6, 411.2=
Y: CM-23 Claudio NaCl No:5508 Op.Eli UFRRJ

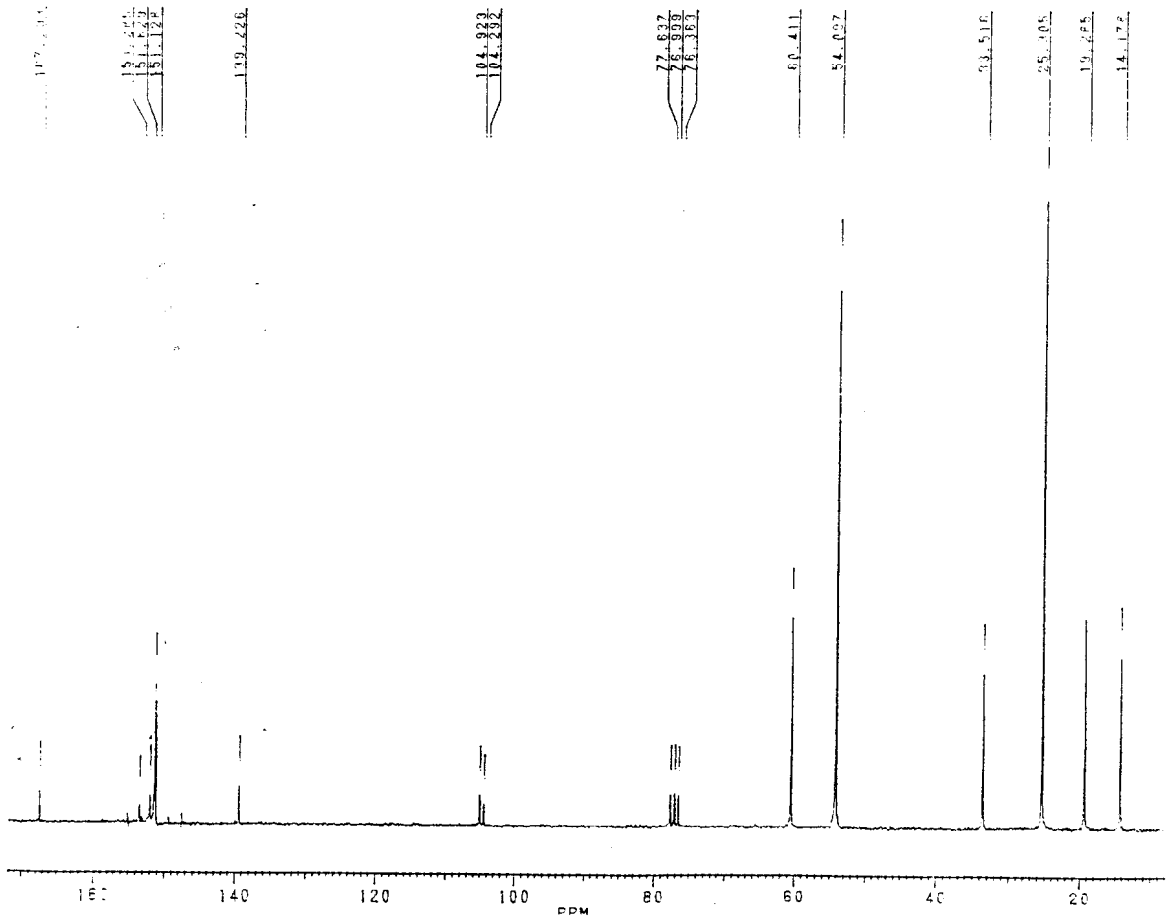


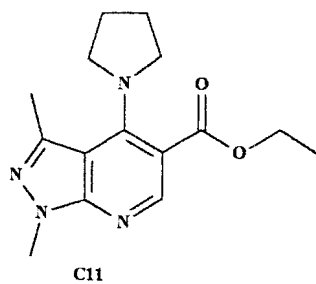
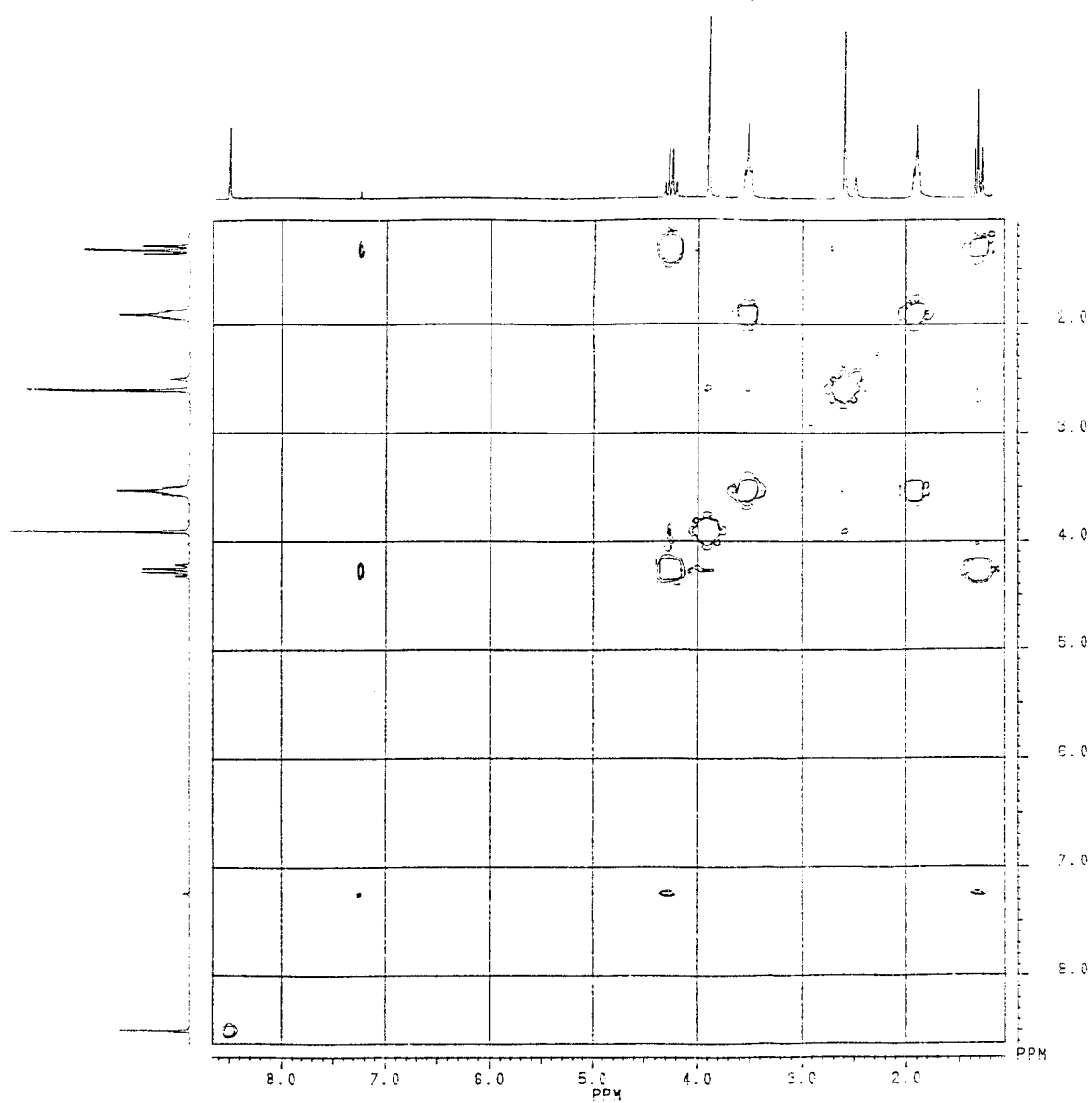
Espectro n^o 20: RMN de ¹H (200MHz)



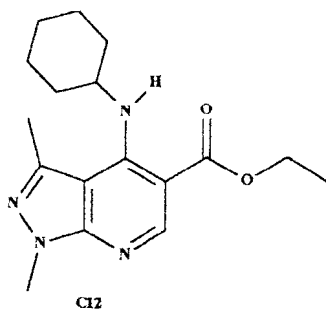


Espectro n°21: RMN de ^{13}C (50,3 MHz)



Espectro n^o 22 - ¹H x ¹H - COSY

1,3-dimetil-4-cicloexilaminil-1H-pirazolo[3,4-b]-5-carboetoxipiridina (C12)

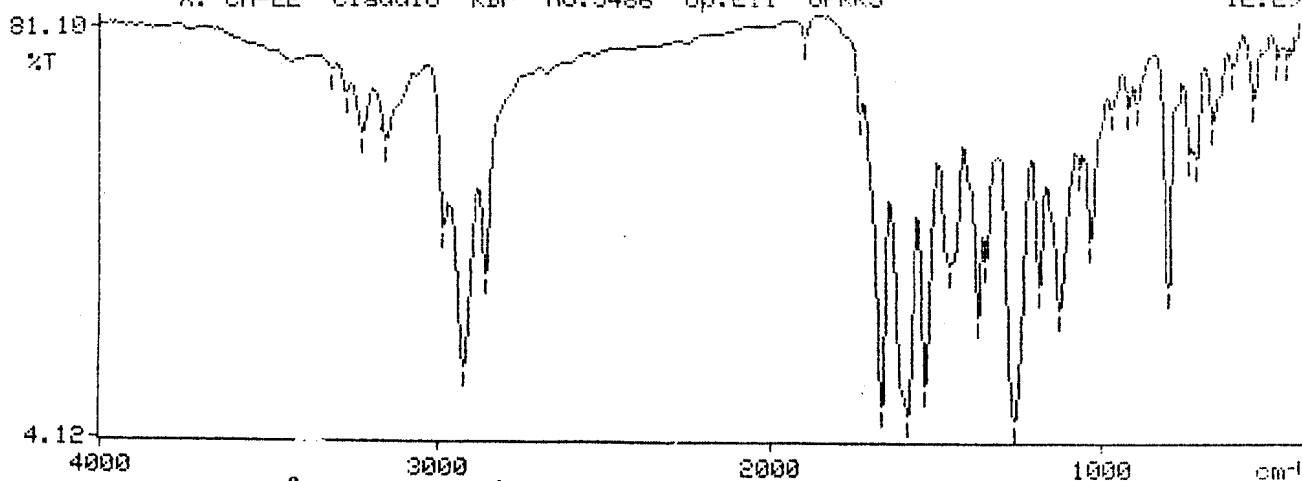


Espectro n^o 23: IV, obtido em pastilha de KBr

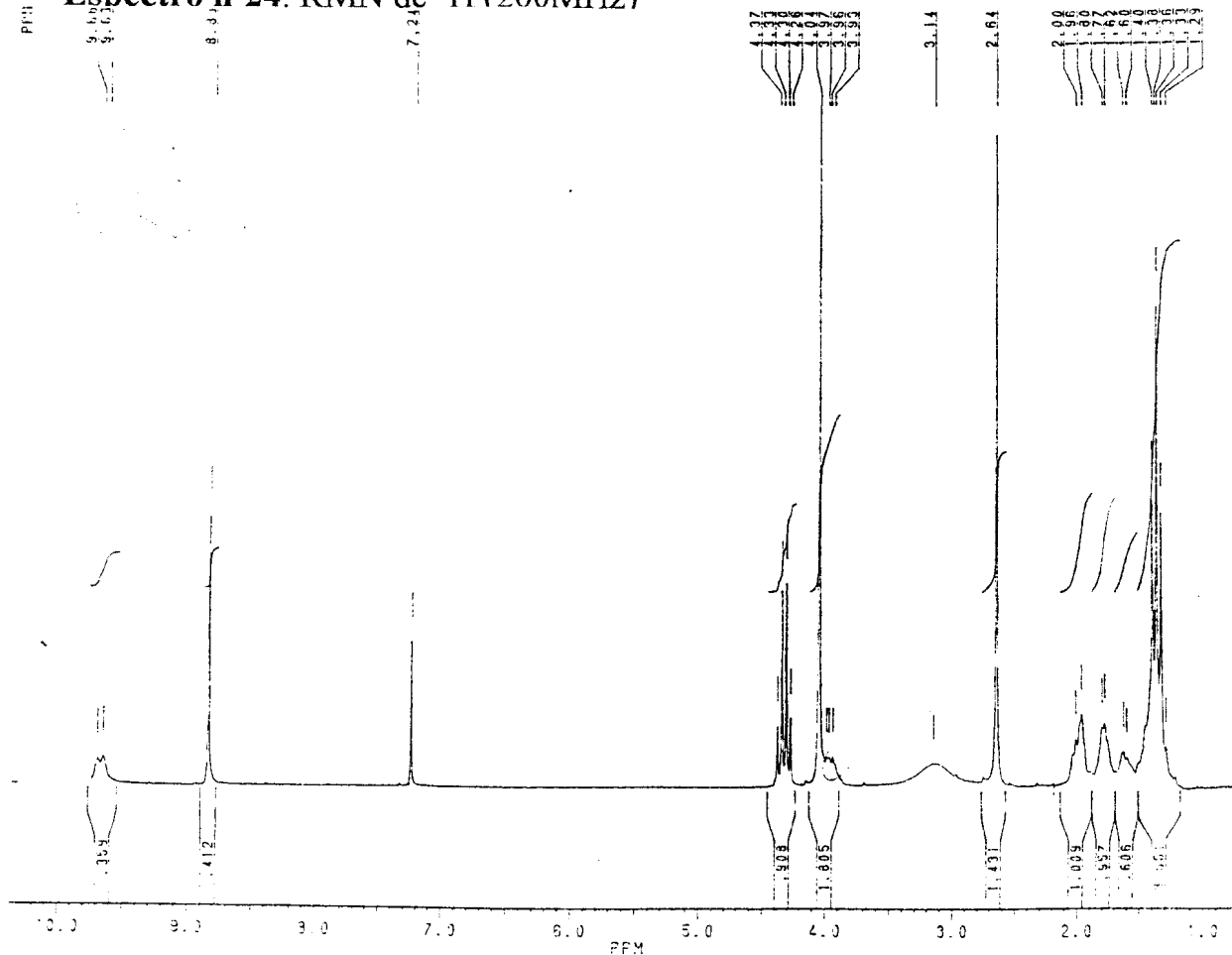
3314.1, 3272.3, 3224.3, 3154.1, 2982.9, 2925.2, 2855.1, 1894.2=
 1726.8, 1663.2, 1585.8, 1531.2, 1451.2, 1370.8, 1345.1, 1264.6=
 1185.3, 1125.7, 1061.7, 1030.2, 964.8, 914.3, 888.0, 795.7=
 729.0, 710.2, 661.3, 598.4, 536.2, 469.1, 439.6=

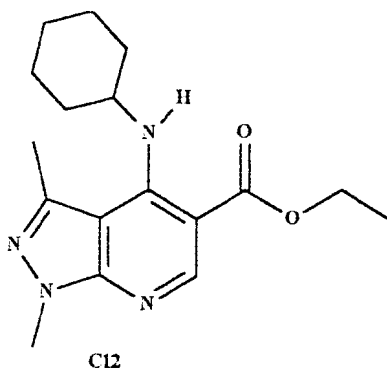
X: CM-22 Claudio KBr No:5486 Op.E11 UFRRJ

12:29

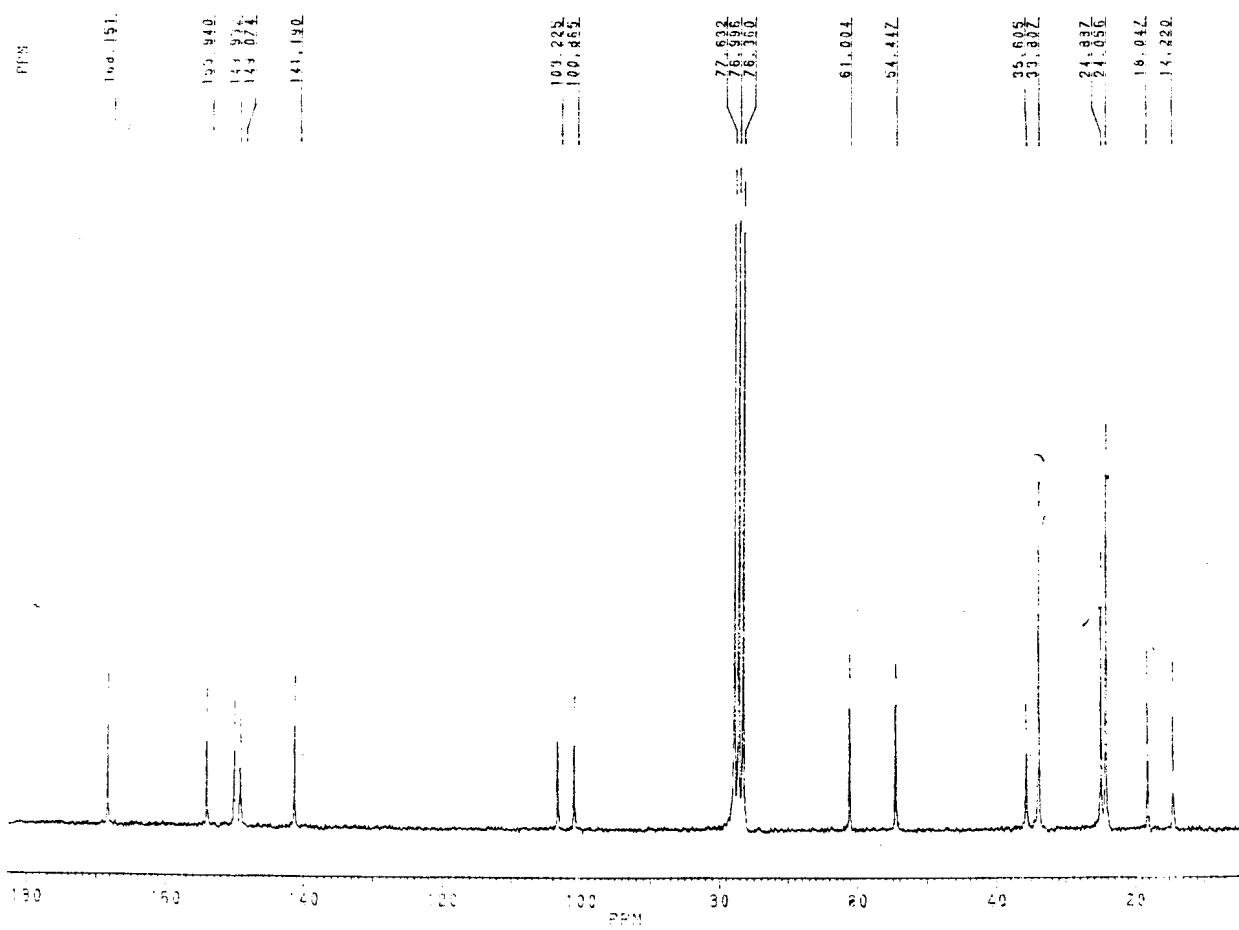


Espectro n^o 24: RMN de ¹H (200MHz)

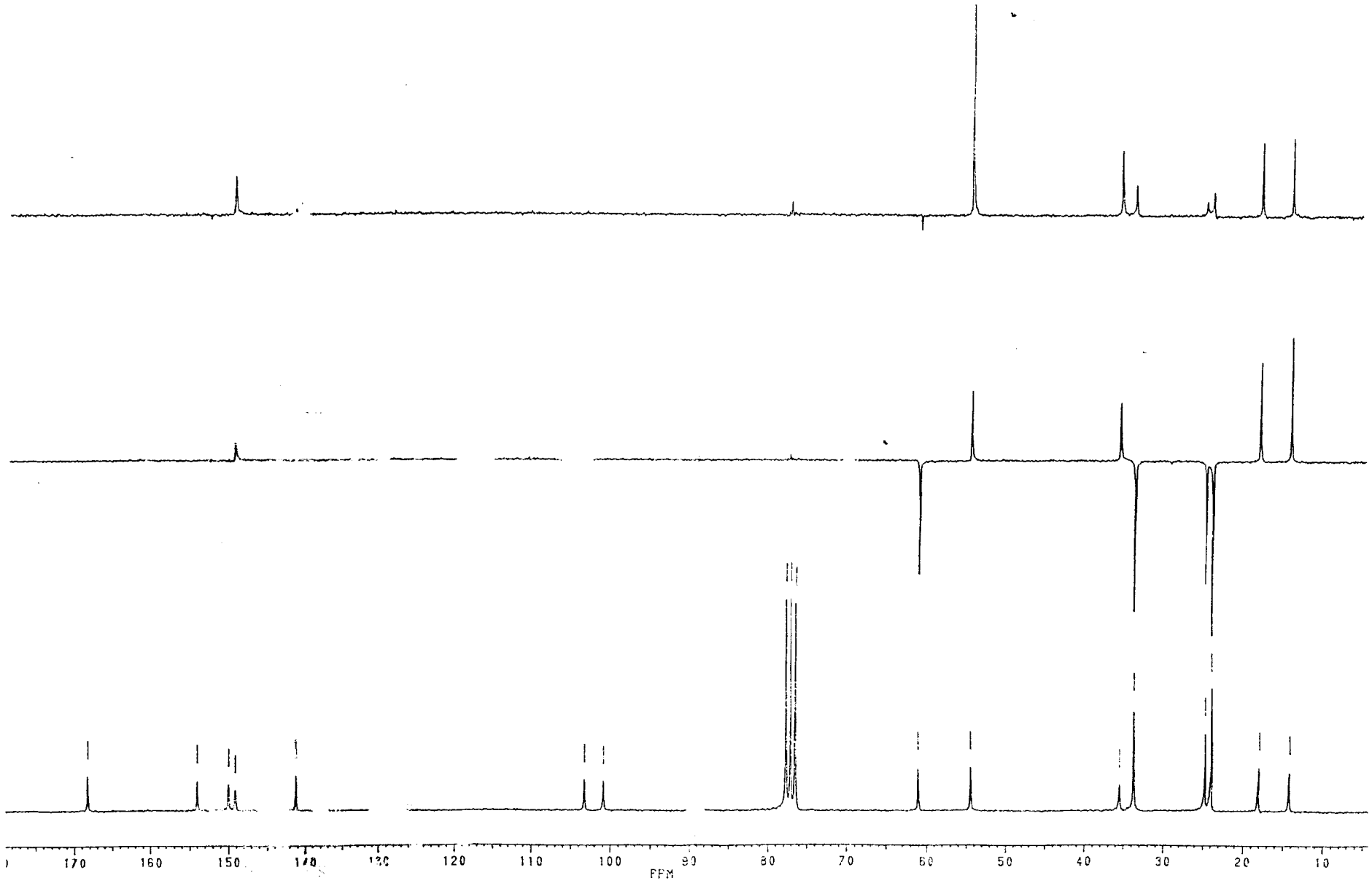




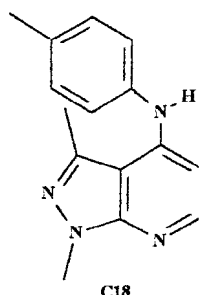
Espectro n^o25: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



Espectro n°26: RMN de ^{13}C (50,3 MHz), DEPT



1,3-dimetil-4-(4'-metil-anilino)-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridina (C18)

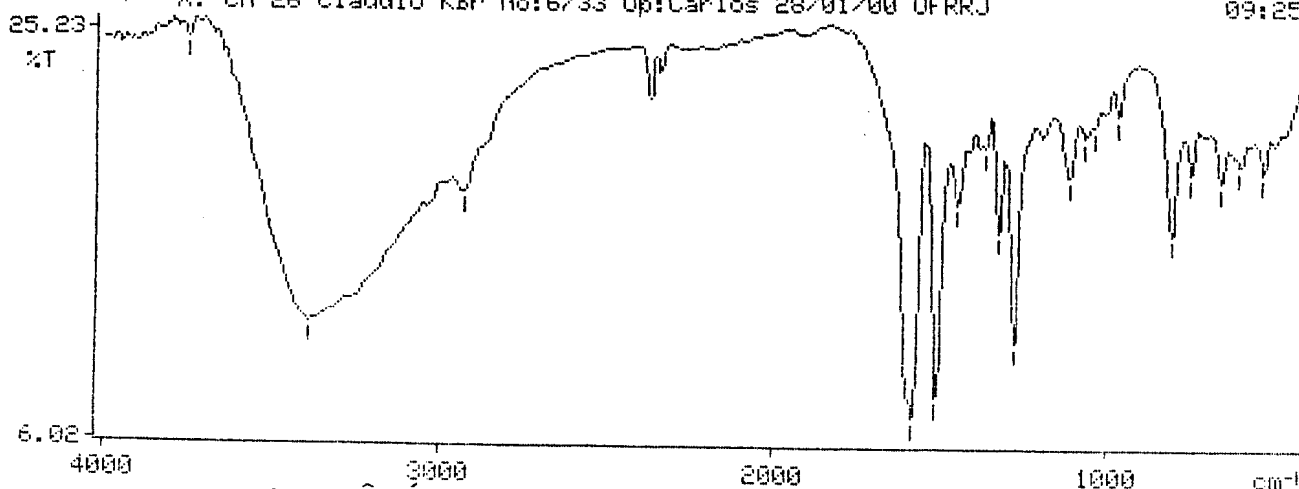


Espectro n^o 27: IV, obtido em pastilha de KBr

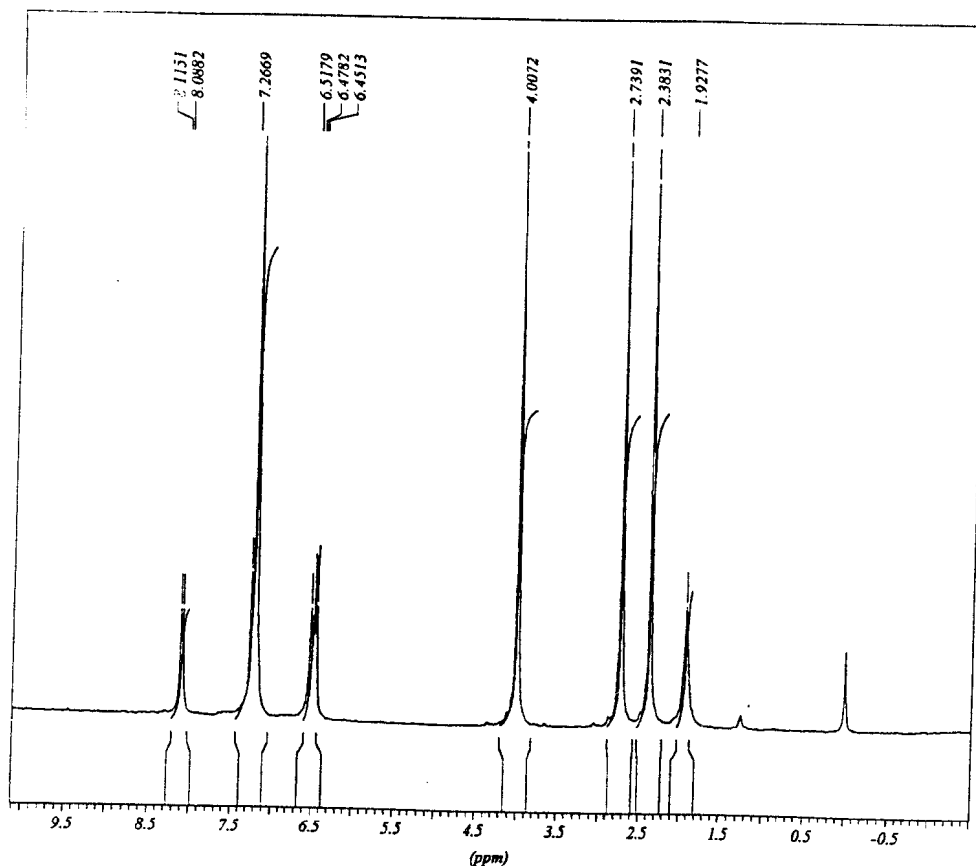
3754.9, 3393.7, 2928.2, 1583.0, 1512.9, 1446.5, 1362.9, 1325.6, 1279.9, 1112.7=
1063.0, 1032.3, 964.3, 804.7, 748.4, 658.7, 599.6, 531.9=

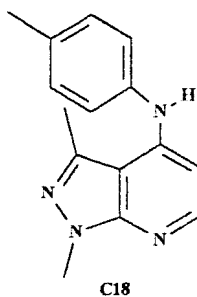
X: CM 26 Claudio KBr No:6733 Op:Carlos 28/01/00 UFRRJ

09:25

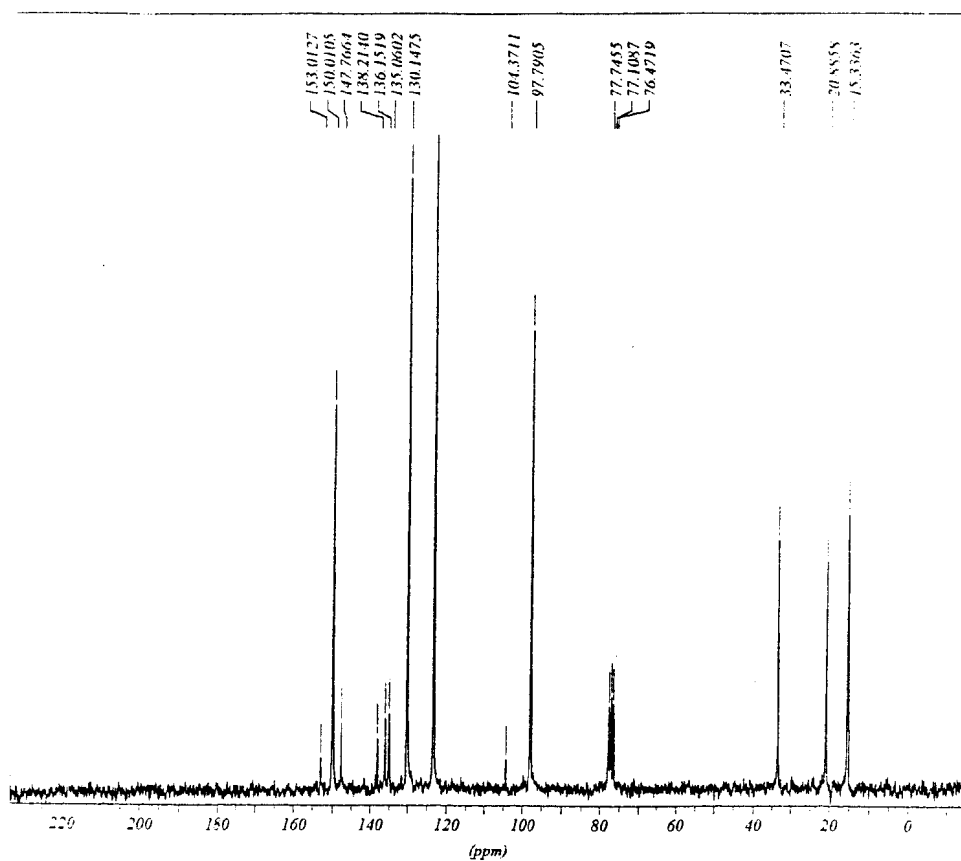


Espectro n^o 28: R^oMN de ¹H (200MHz)

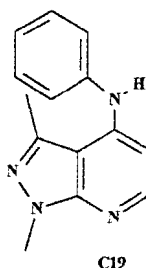




Espectro n^o29: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



1,3-dimetil-4-anilino-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (C19)

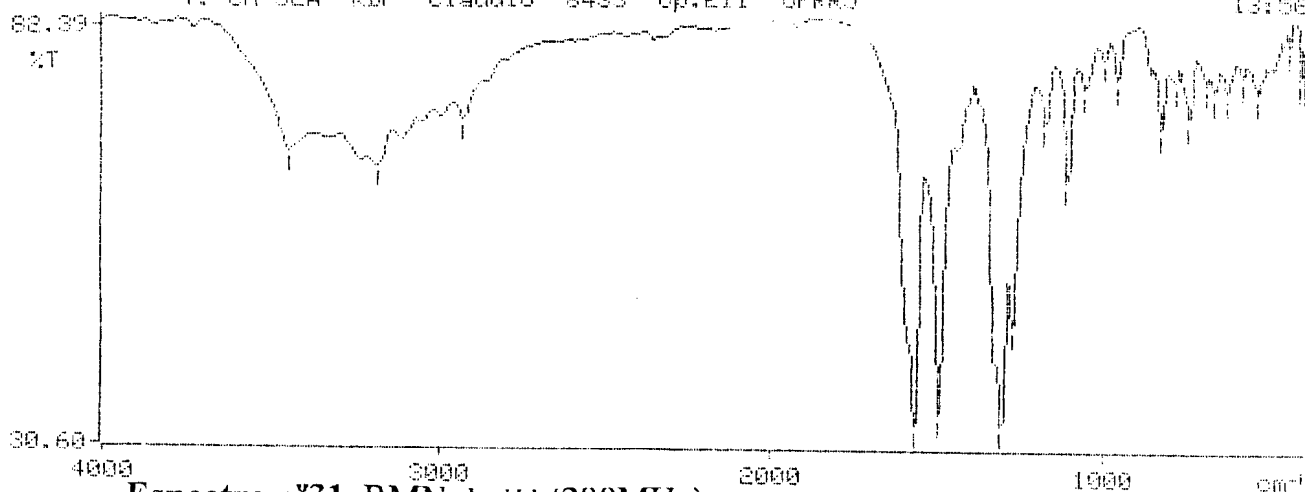


Espectro nº 30: IV, obtido em pastilha de KBr

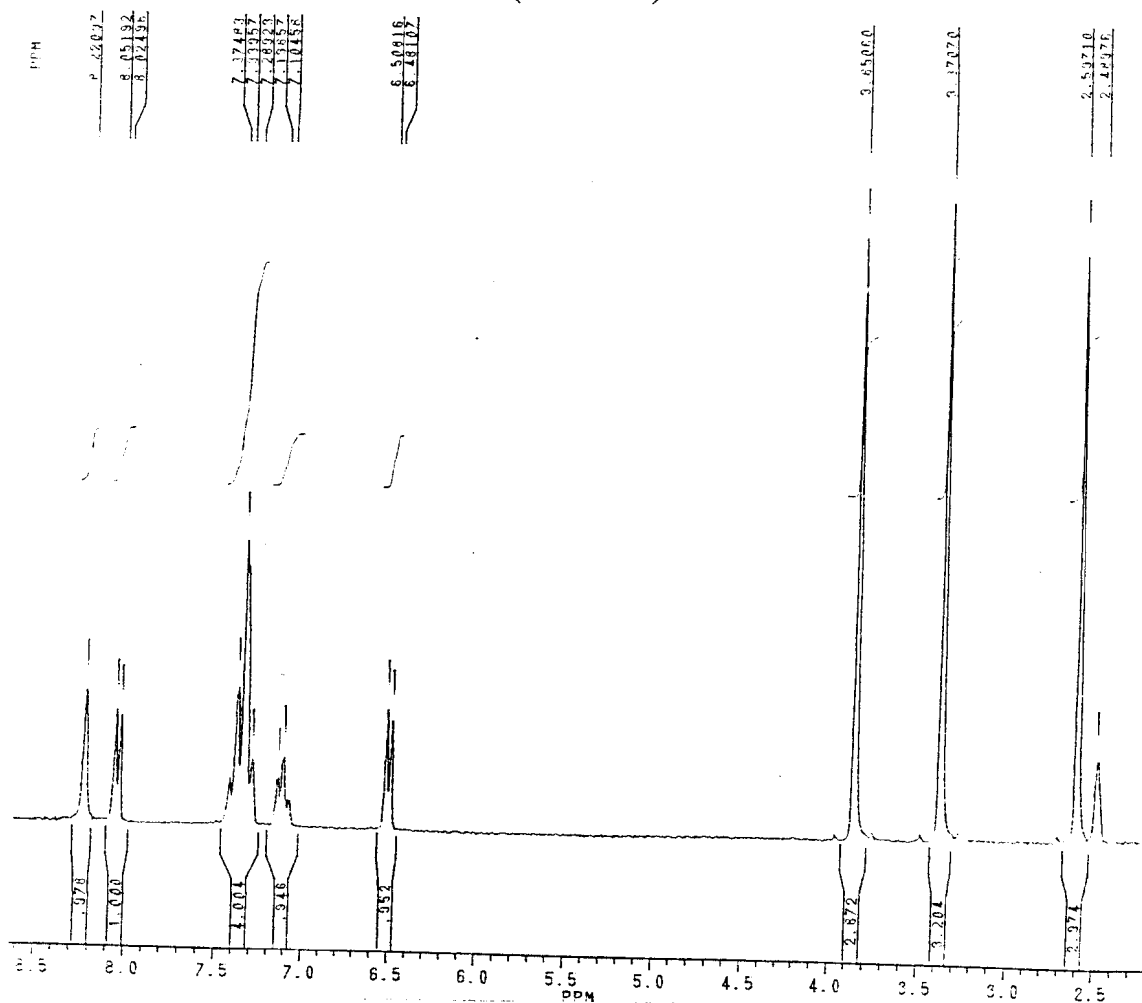
3453.4, 3188.1, 2930.8, 1572.1, 1499.5, 1311.5, 1279.9, 1181.1, 1112.0 =
 1059.8, 1002.8, 963.9, 831.6, 788.2, 744.3, 694.3, 668.4 =
 632.6, 586.3, 539.9, 447.2, 415.8 =

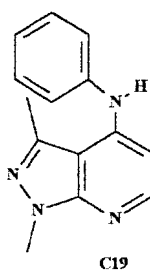
Y: CN 32A KBr Claudio 6433 Op.Eli UFRRJ

13:56

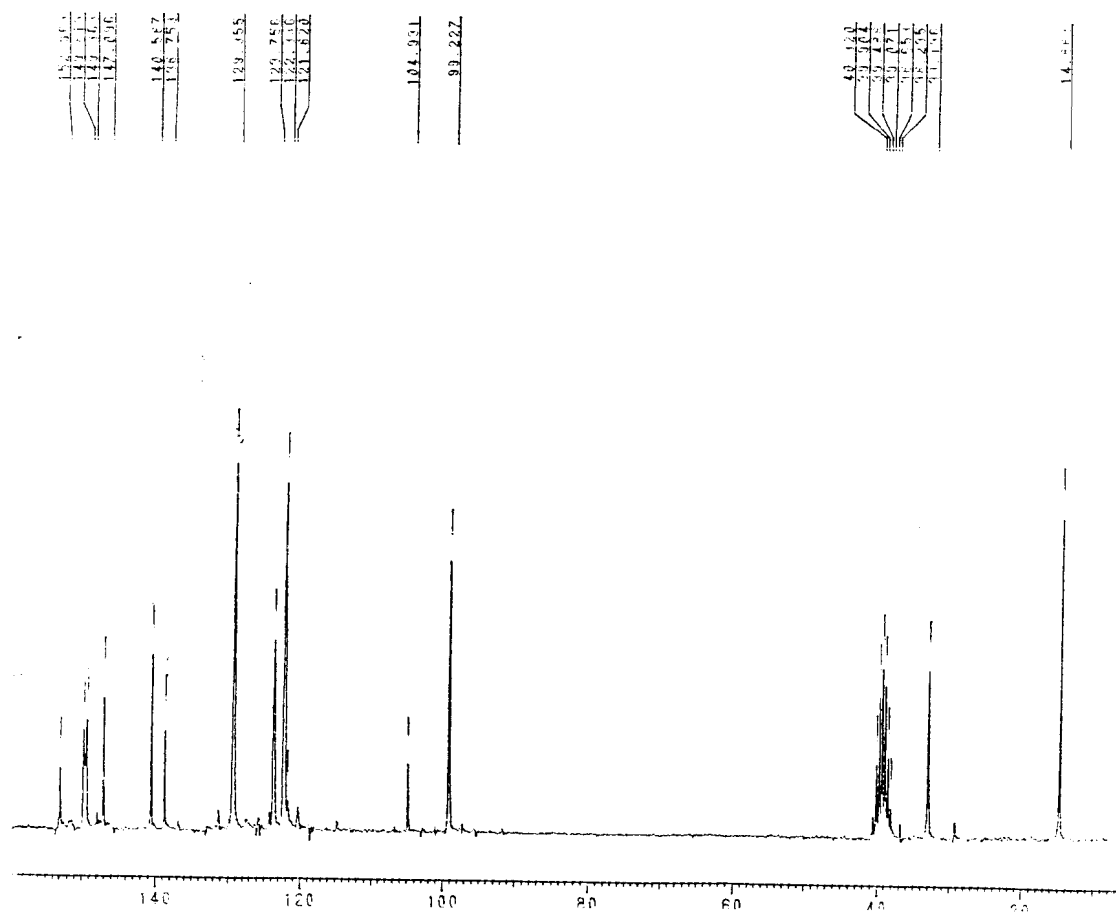


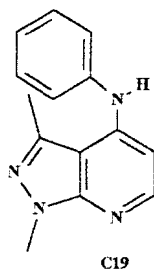
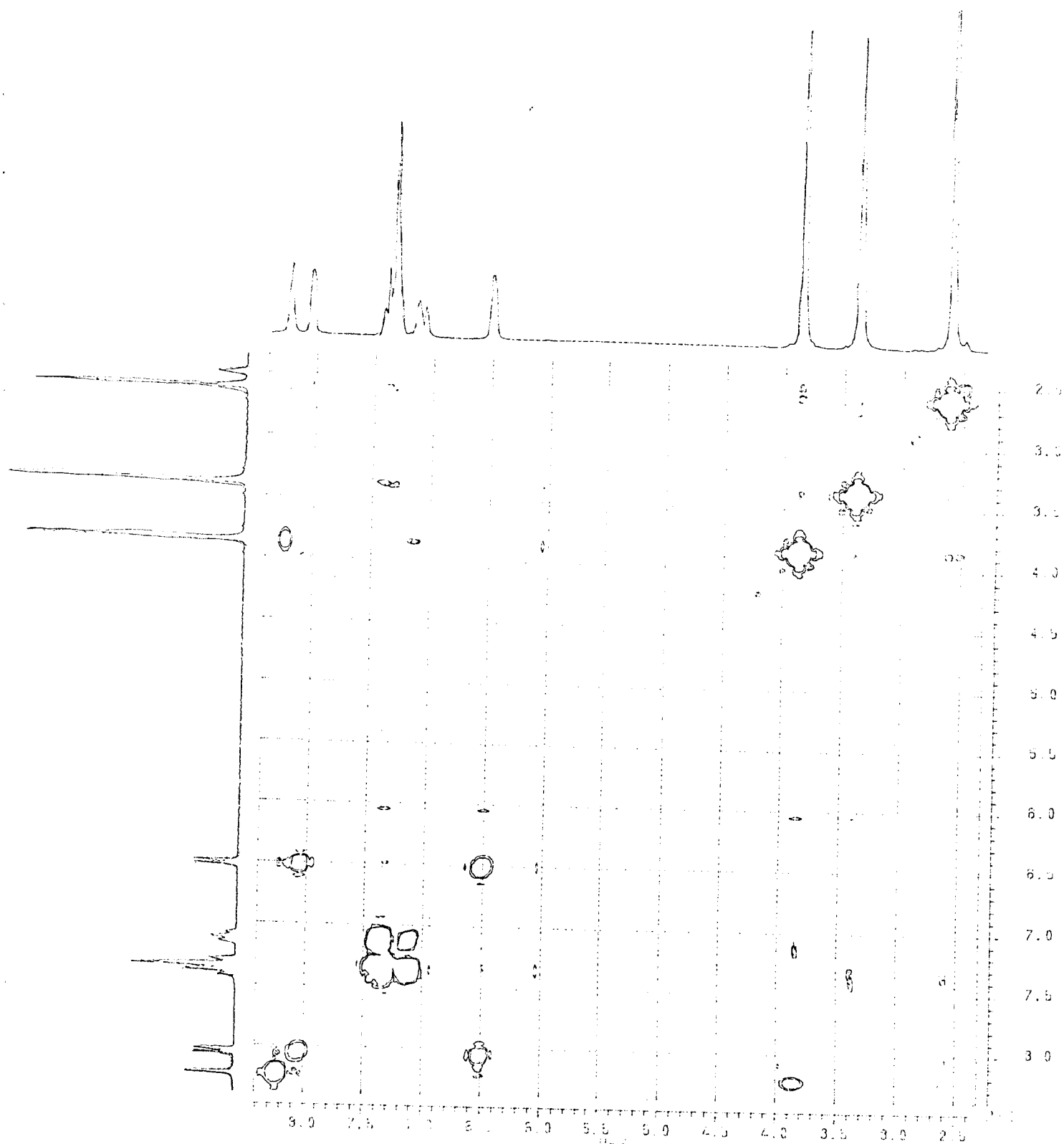
Espectro nº31: RMN de 1H (200MHz)

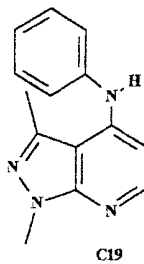
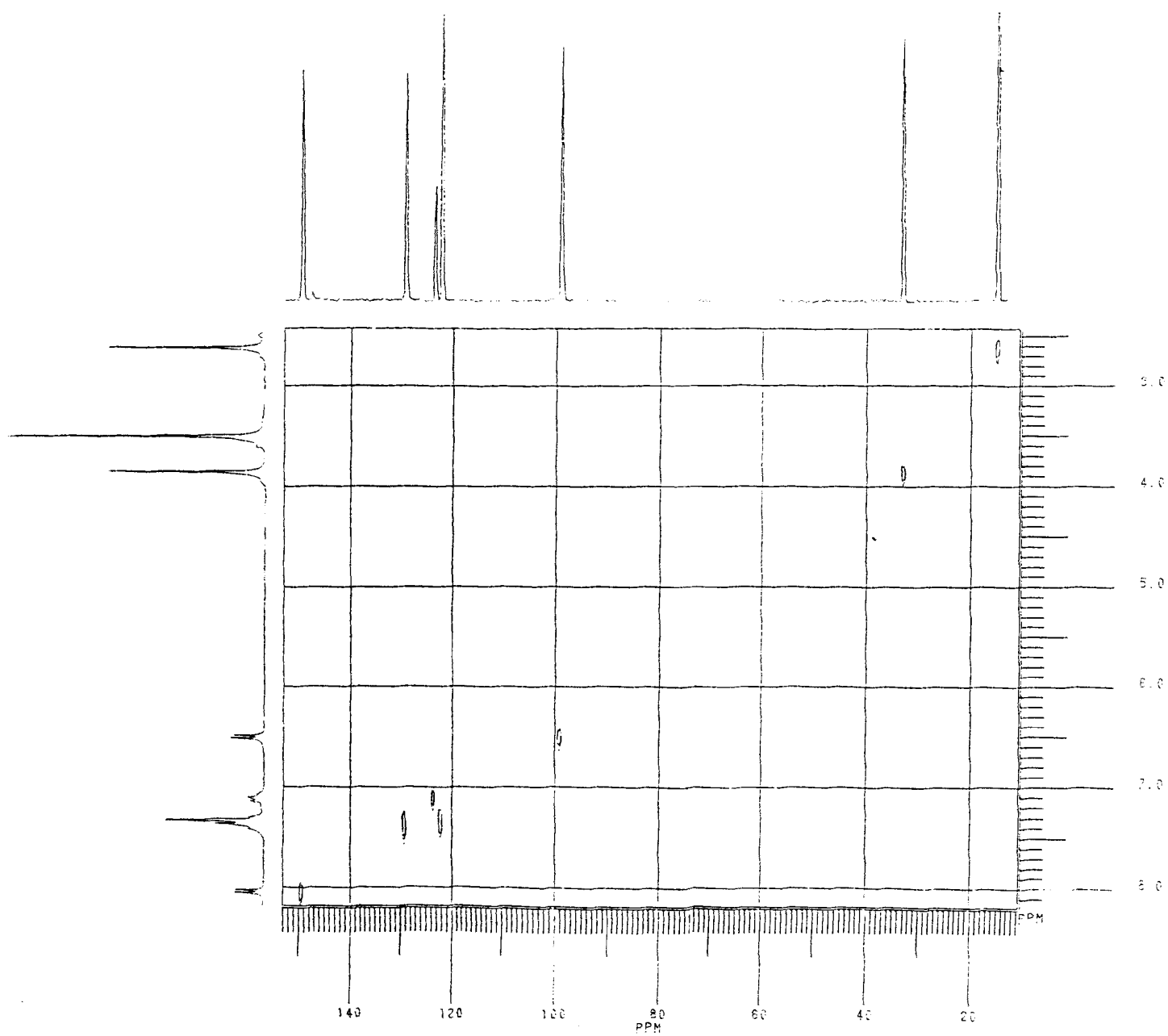




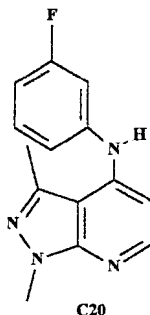
Espectro n^o32: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



Espectro n^o 33 – ¹H x ¹H - COSY

Espectro n^o 34 - ¹H x ¹³C-HETCOSY, ¹J_{CH}

1,3-dimetil-4-(3'-flúor-anilino)-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridina (C20)

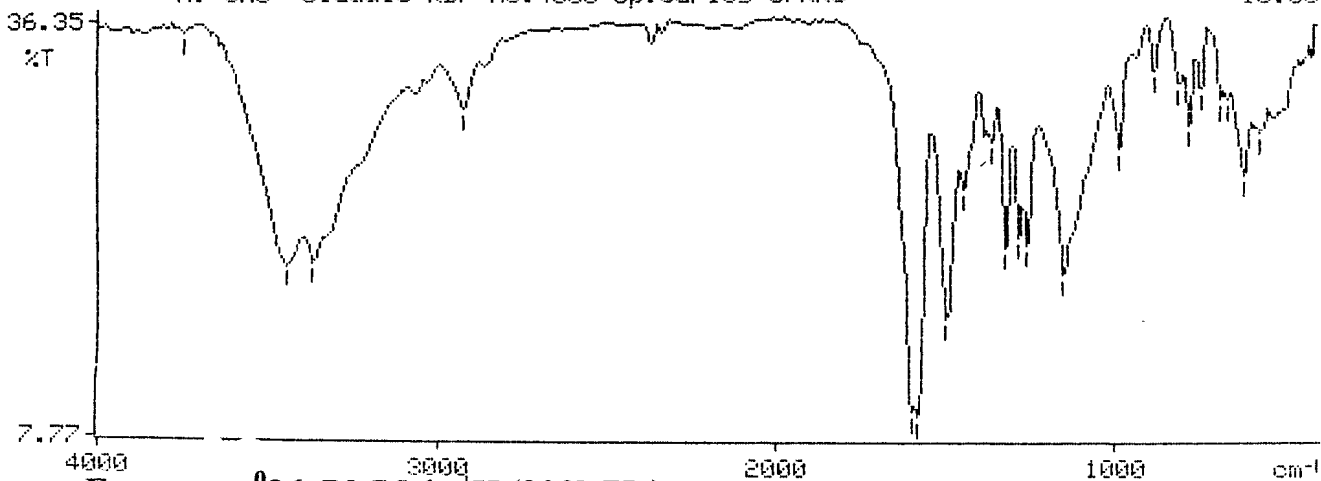


Espectro n^o 35: IV, obtido em pastilha de KBr

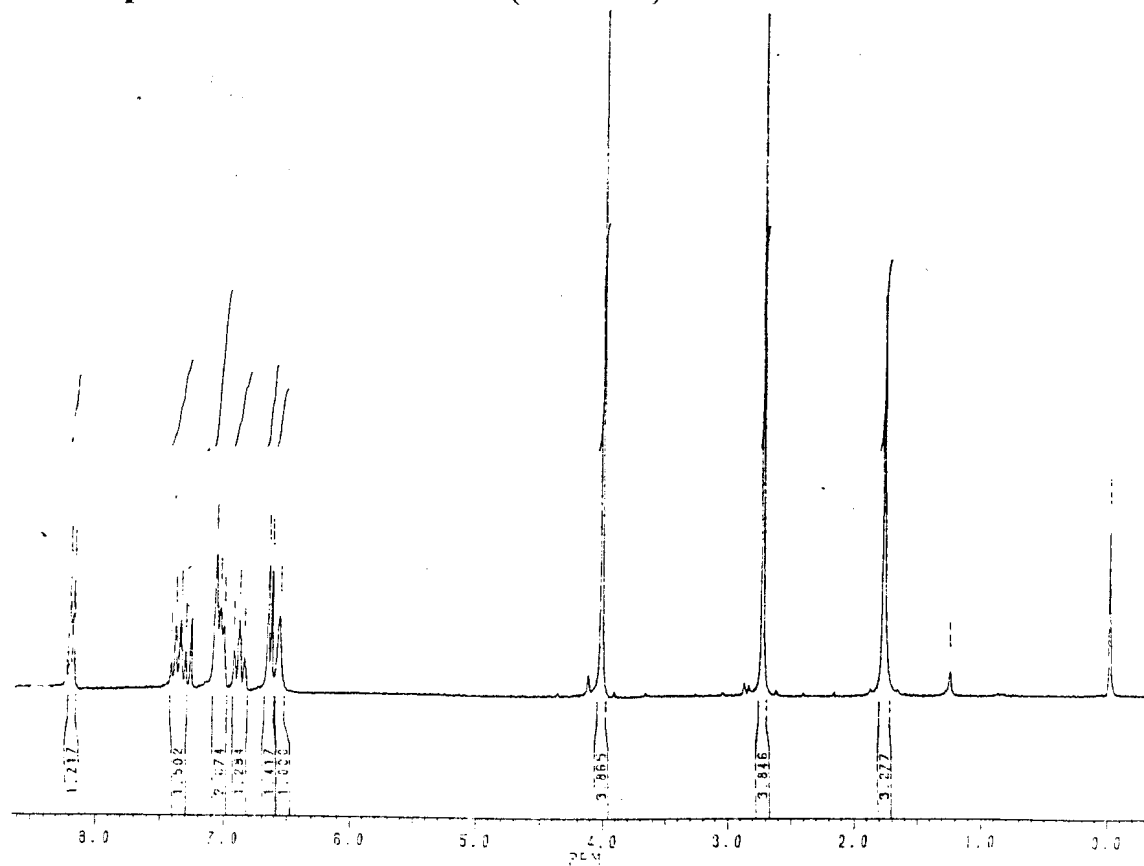
3754.2, 3452.7, 3374.7, 2933.6, 1603.4, 1582.9, 1496.8, 1446.6=
1363.9, 1323.4, 1284.9, 1260.5, 1151.8, 984.6, 880.5=
804.0, 777.0, 741.8, 685.7, 664.3, 617.2, 568.6=

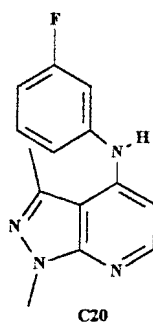
#: CM8 Claudio KBr No:4588 Op:Carlos UFRRJ

13:30

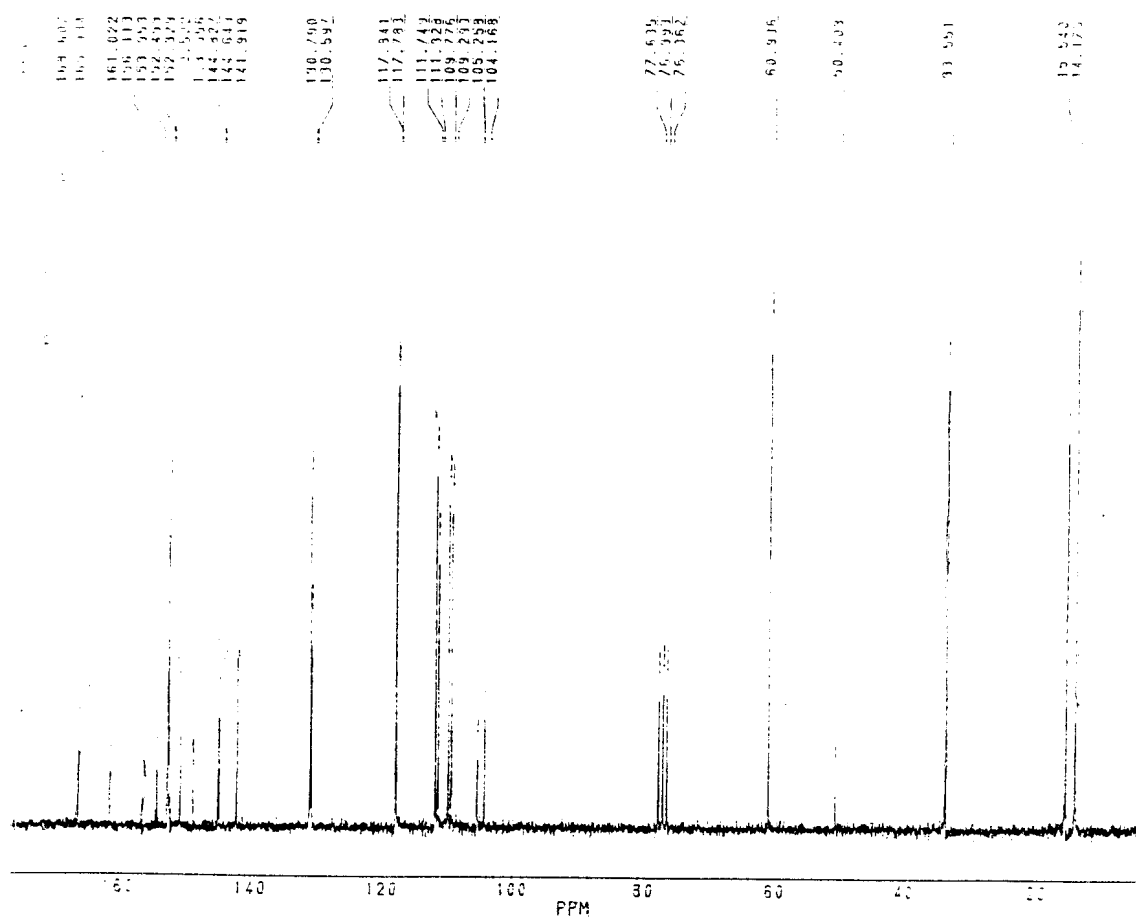


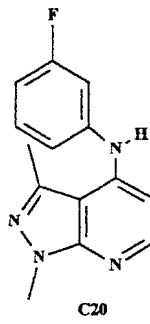
Espectro n^o36: RMN de ¹H (200MHz)



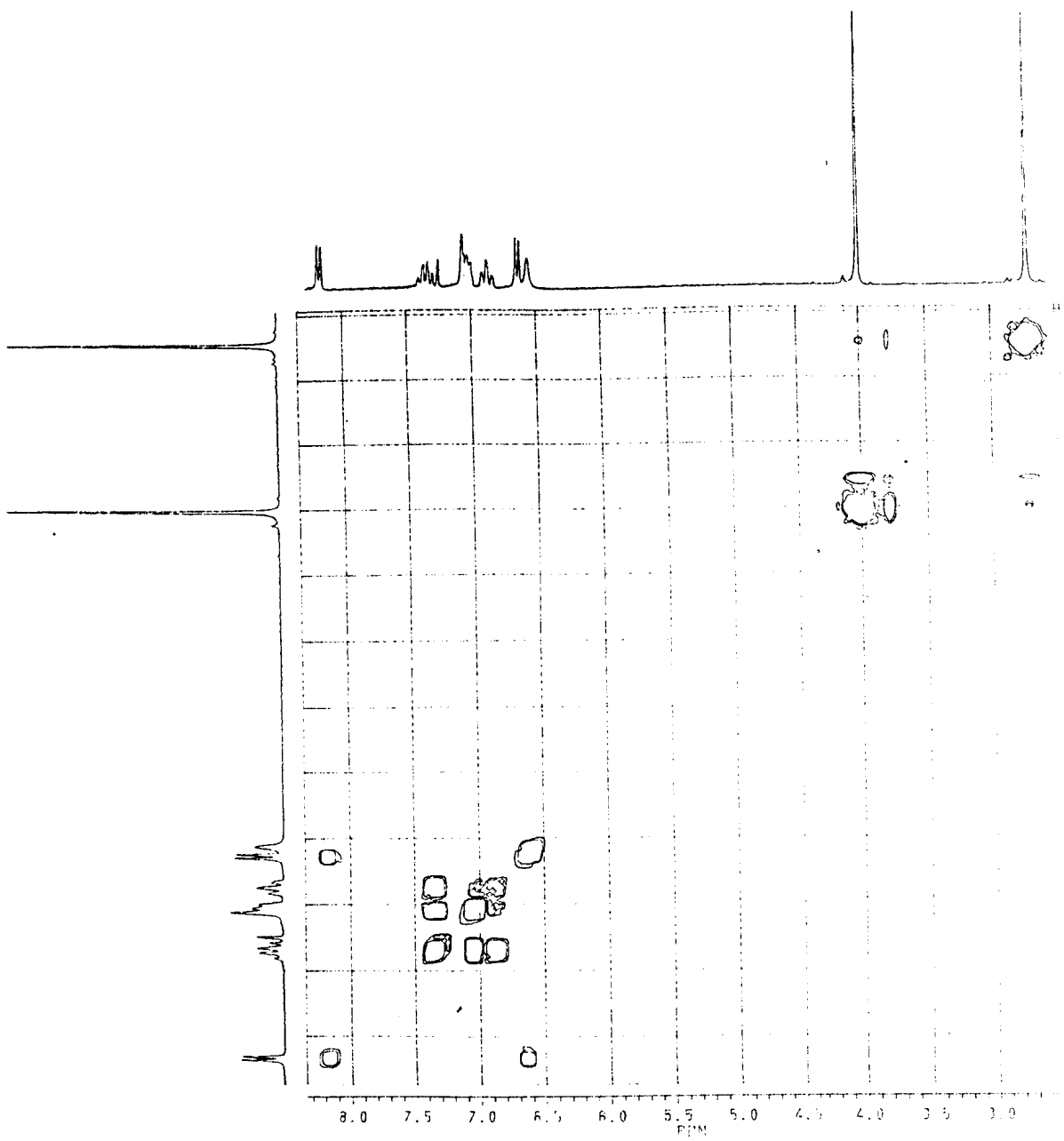


Espectro n^o37: RMN de ¹³C (50,3 MHz)

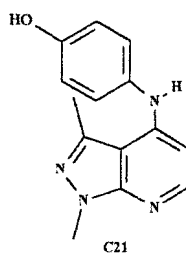




Espectro n^o 38: $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY



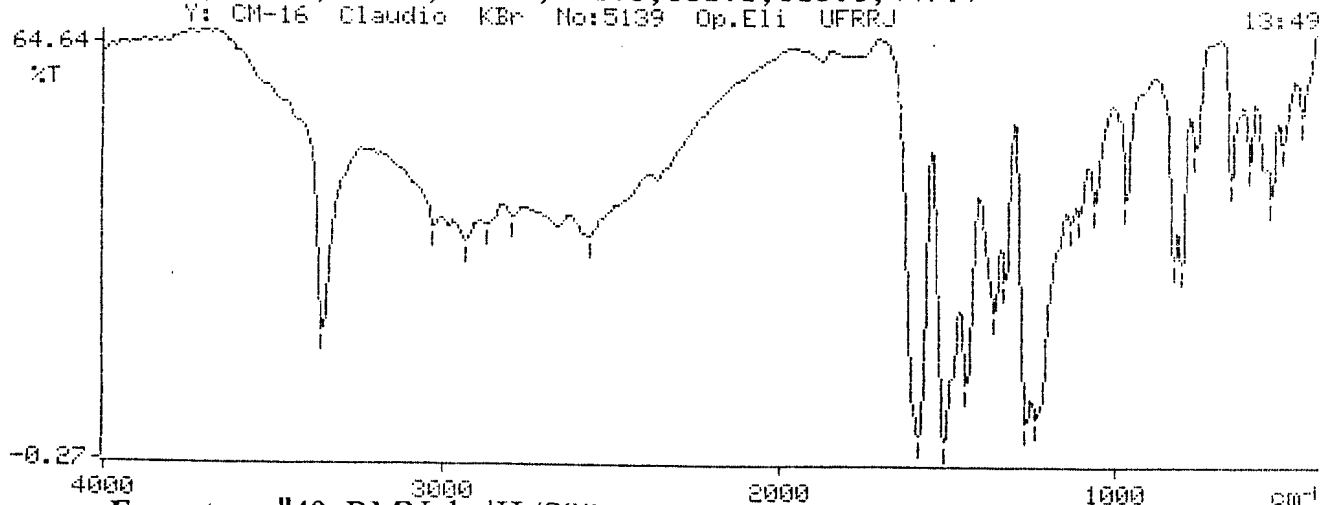
1,3-dimetil-4-(4'-hidroxi-anilino)-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (C21)



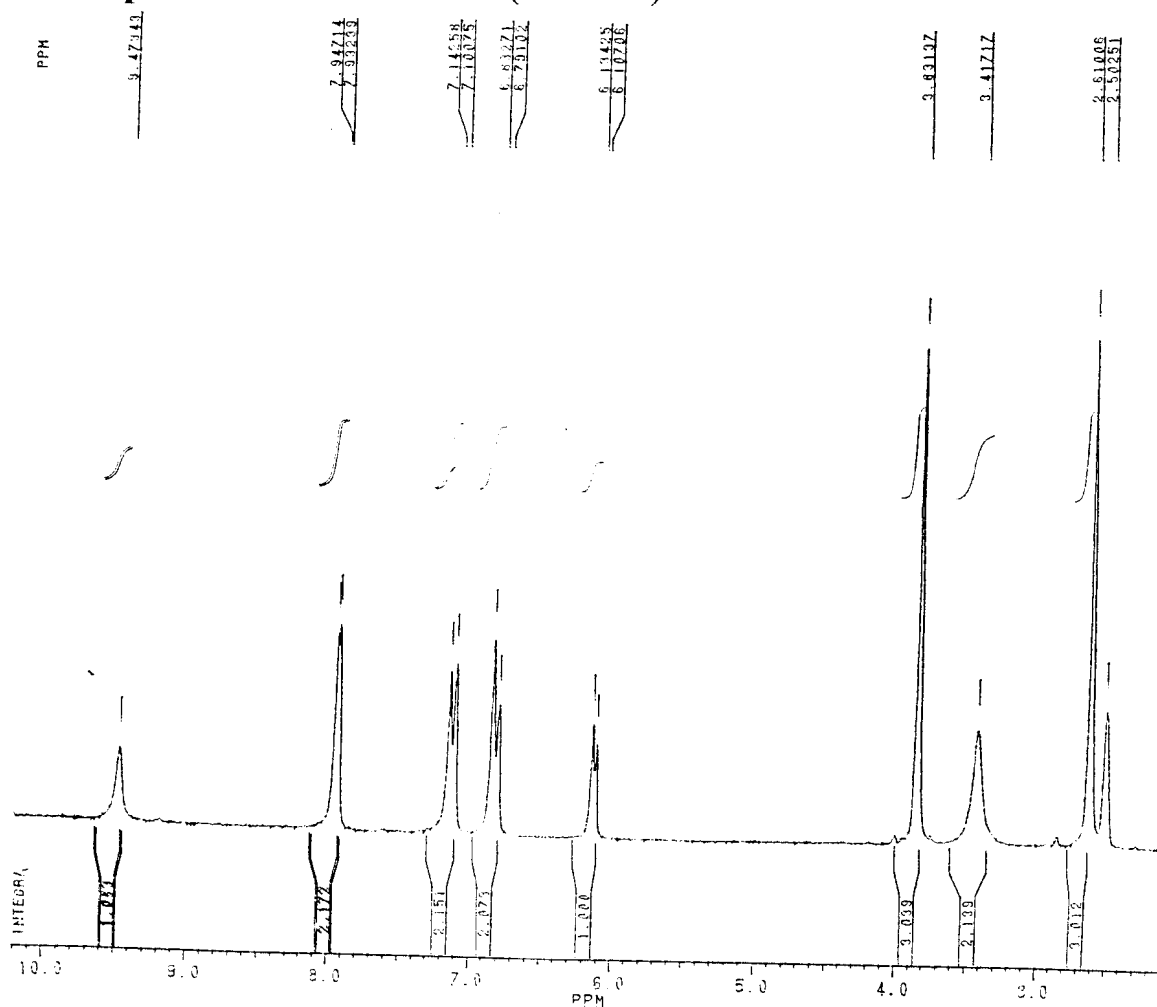
Espectro nº 39: IV, obtido em pastilha de KBr

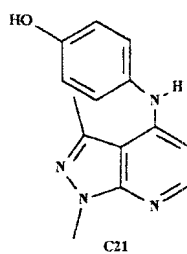
3354.8, 3027.0, 2932.9, 2867.0, 2772.8, 2565.0, 1587.2, 1515.8 =
 1443.8, 1360.2, 1327.5, 1266.2, 1237.7, 1130.7, 1106.8, 1061.6 =
 966.1, 826.6, 803.0, 757.9, 657.1, 600.5, 536.1, 503.5, 447.9 =

Y: CM-16 Claudio KBr No: 5139 Op. Eli UFRRJ

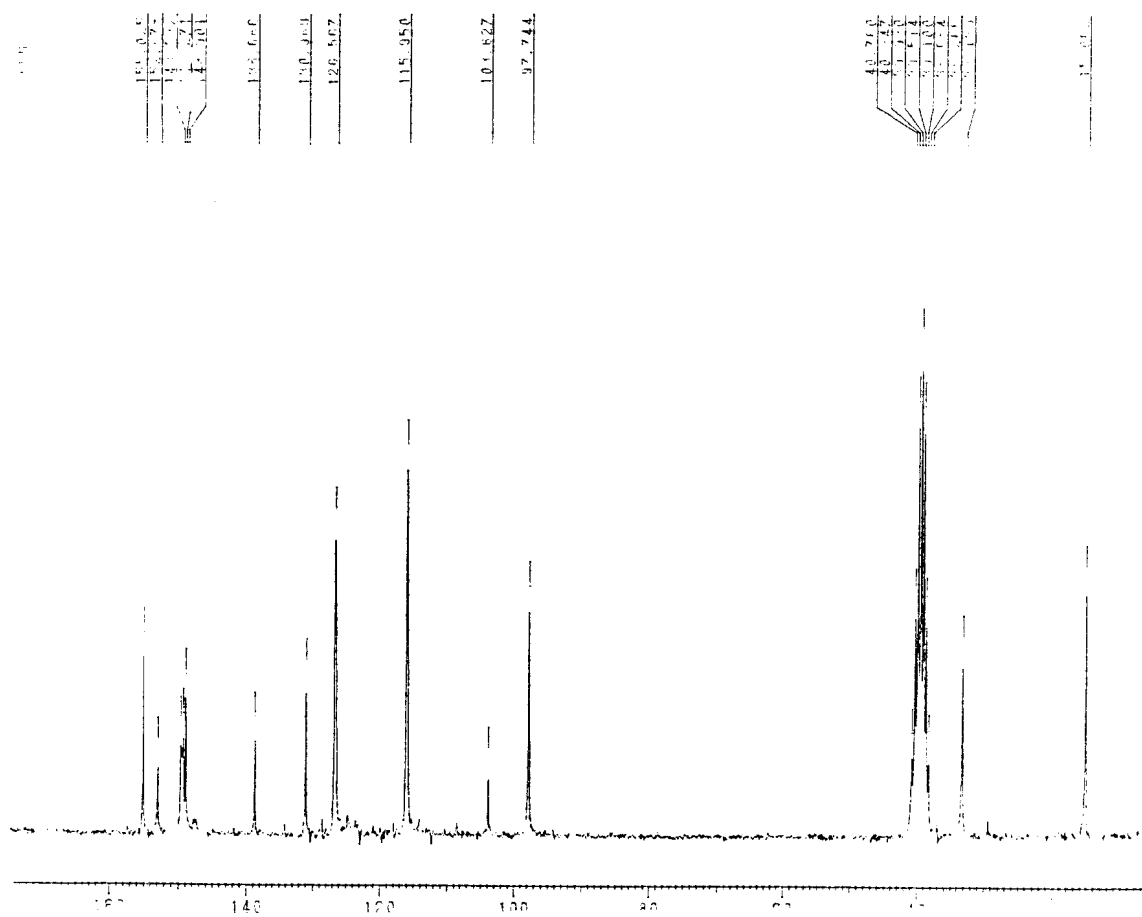


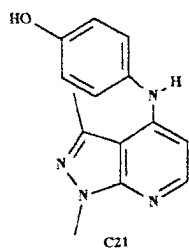
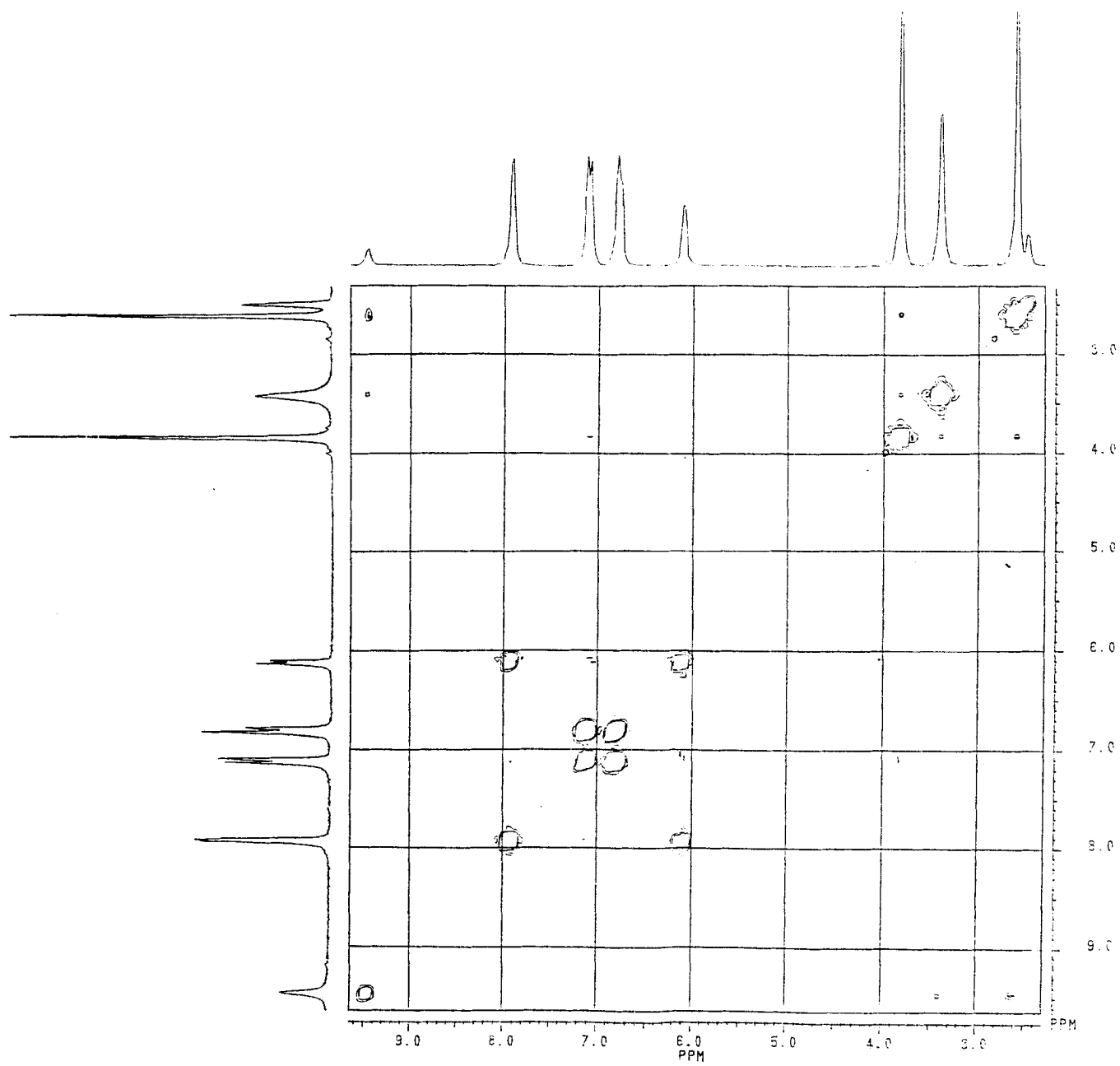
Espectro nº 40: RMN de ¹H (200MHz)

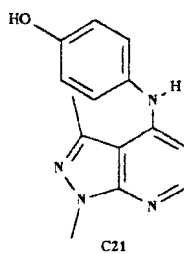




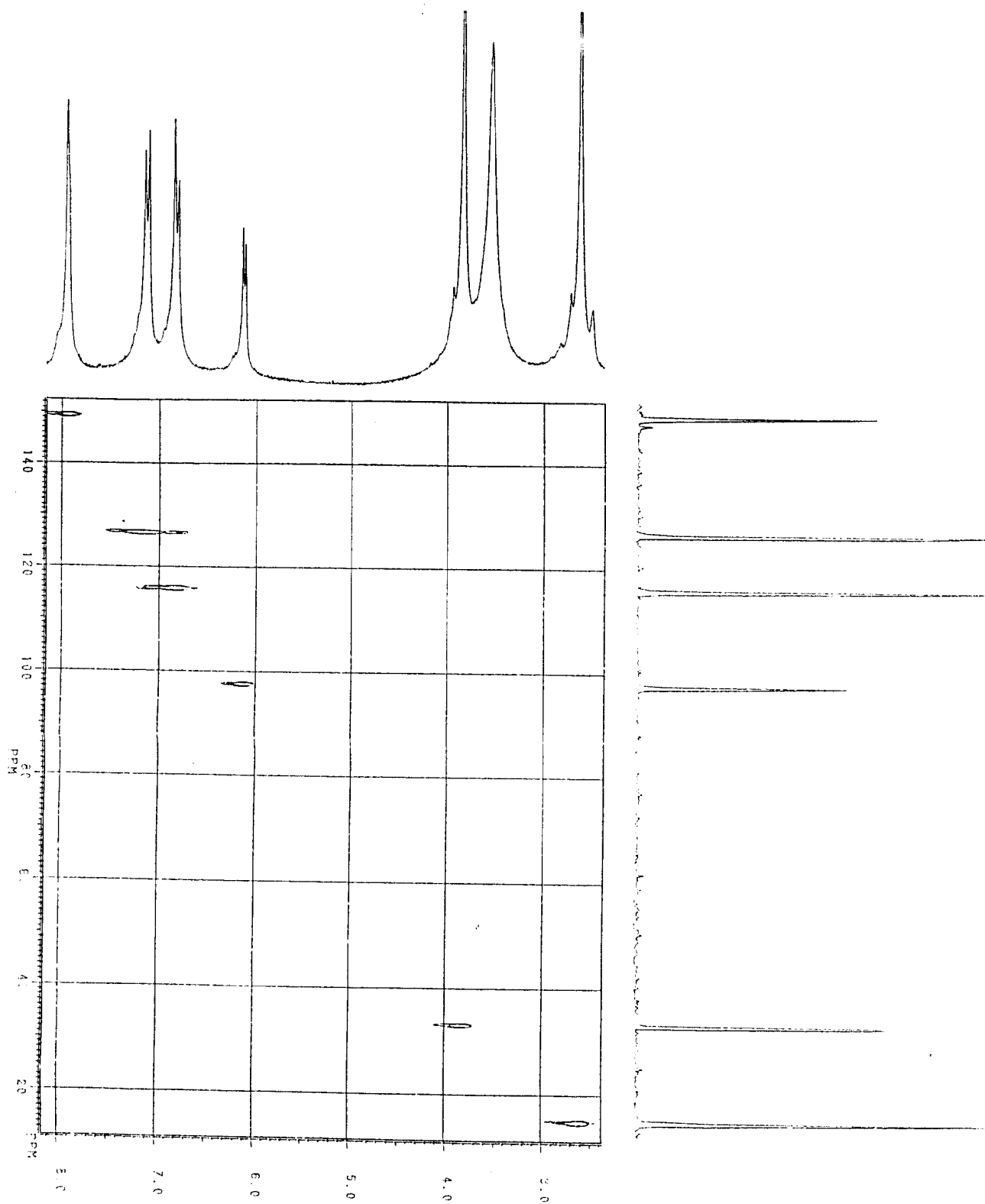
Espectro n^o41: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



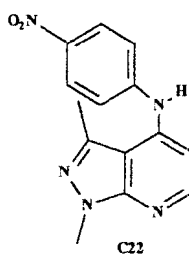
Espectro n^o 42: ¹H x ¹H - COSY



Espectro n° 43: $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HETCOSY, $^1J_{\text{CH}}$



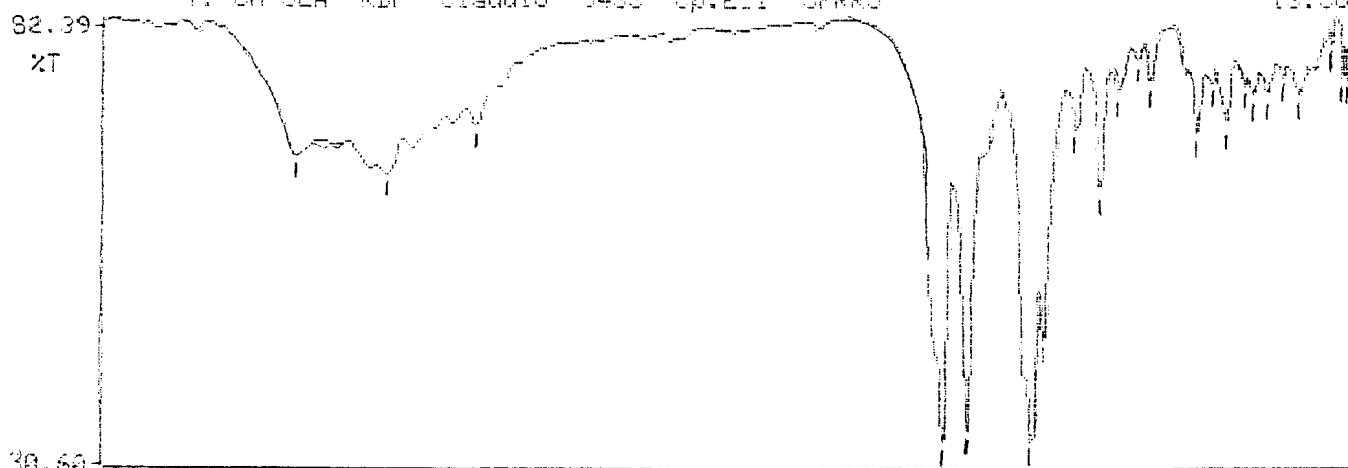
1,3-dimetil-4-(4'-nitro-anilino)-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (C22)



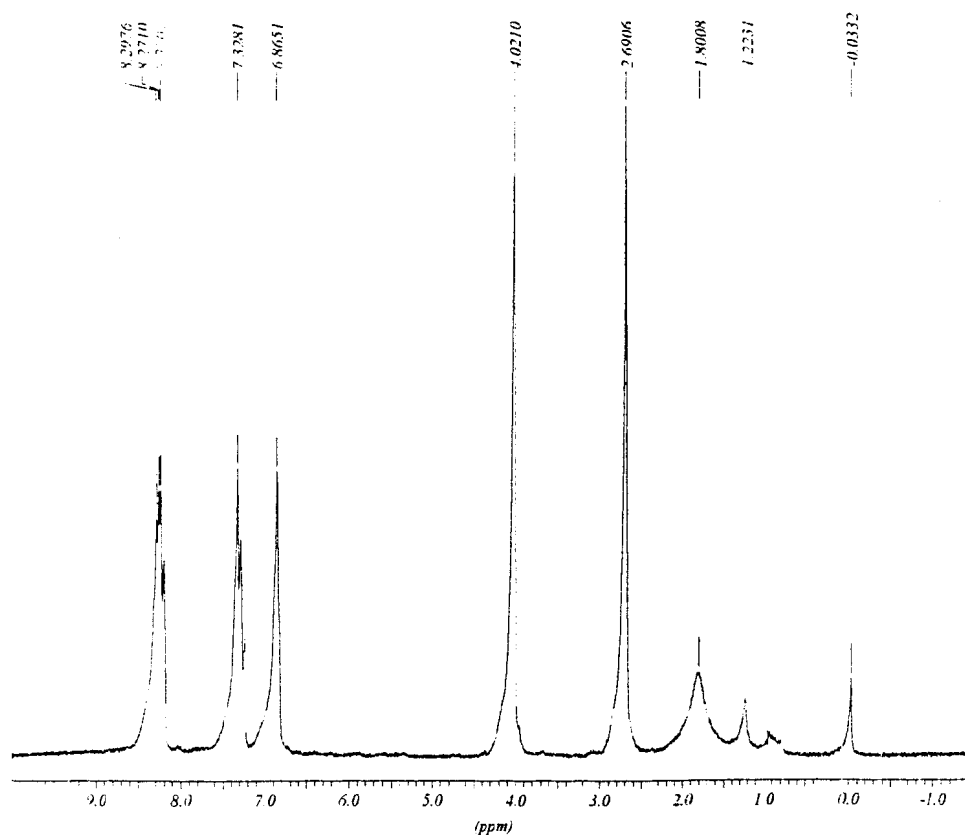
Espectro nº 44: IV, obtido em pastilha de KBr

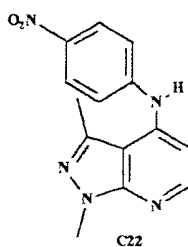
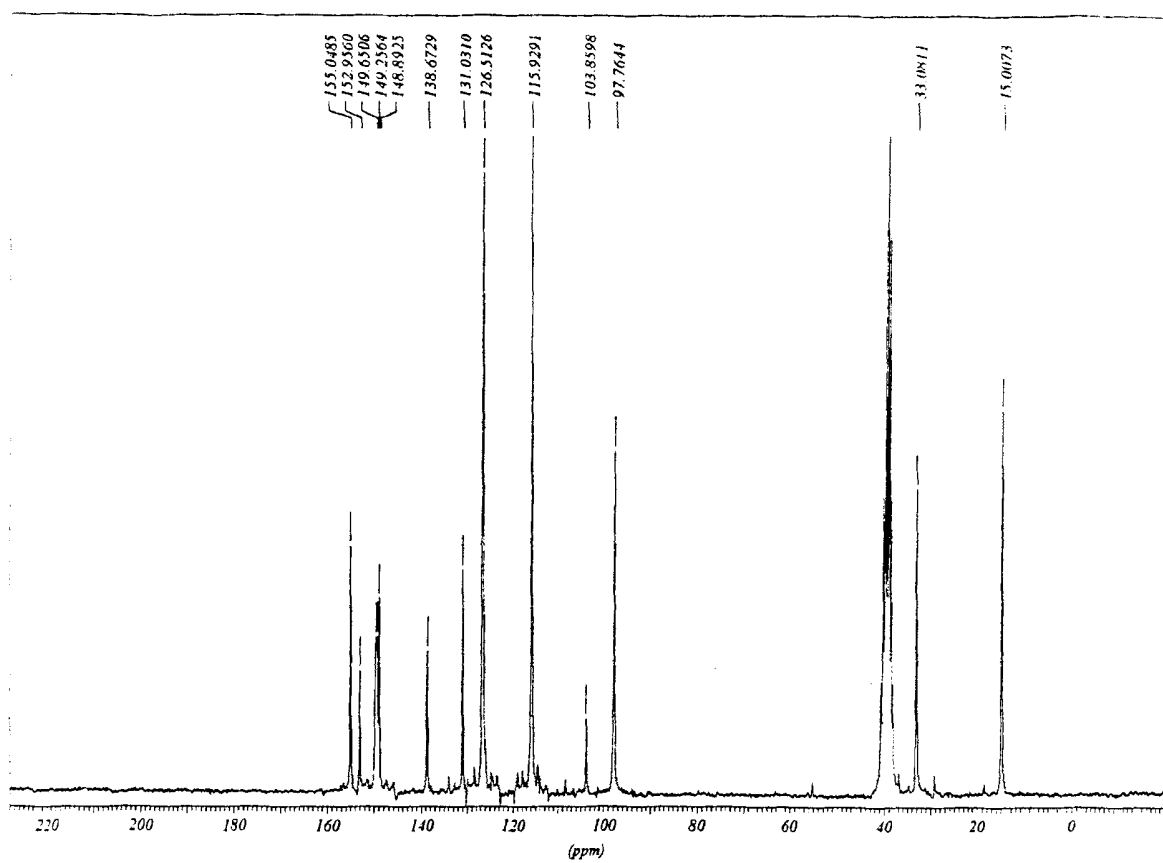
3453.4, 3188.1, 2930.8, 1572.1, 1499.5, 1311.5, 1279.9, 1181.1, 1112.0=
1059.8, 1002.8, 963.9, 831.6, 788.2, 744.3, 694.3, 668.4=
532.6, 586.3, 539.9, 447.2, 415.8=

Vi: CM 32A KBr Claudio 3433 Op.211 JFRU

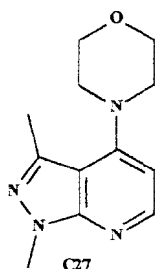


Espectro nº 45: RMN de ¹H (200MHz)



Espectro n^o46: RMN de ¹³C (50,3 MHz)

1,3-dimetil-4-morfolinil-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridina (C27)

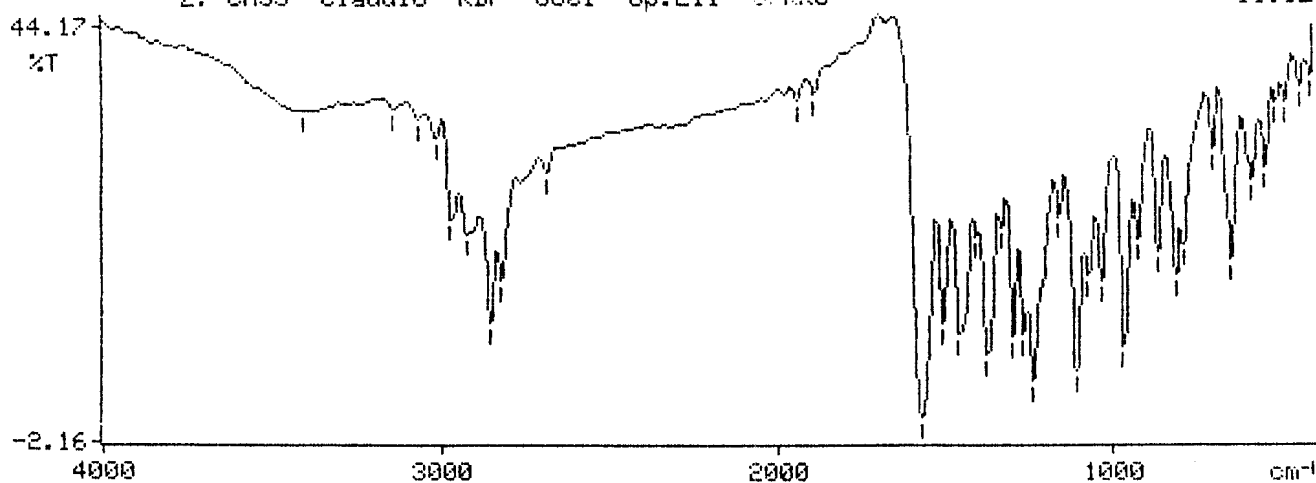


Espectro nº 47: IV, obtido em pastilha de KBr

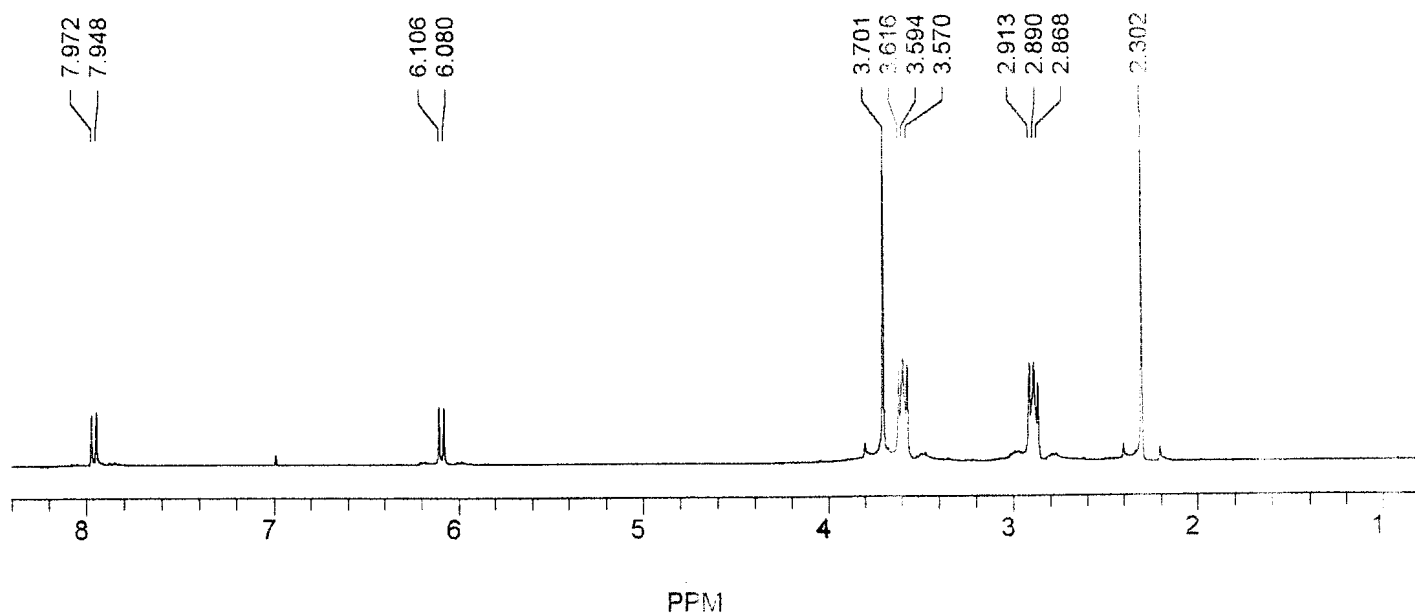
2686.4, 1941.4, 1889.7, 1571.2, 1508.7, 1458.2, 1406.0, 1373.2=
 1332.4, 1300.6, 1269.0, 1239.1, 1159.3, 1111.4, 1073.7, 1033.5=
 966.3, 923.8, 865.0, 810.6, 788.1, 701.5, 645.7, 583.7, 544.9=
 511.8, 485.7, 440.5, 409.7=

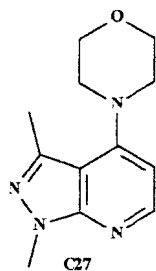
Z: CM35 Claudio KBr 6801 Op.Eli UFRJ

11:32

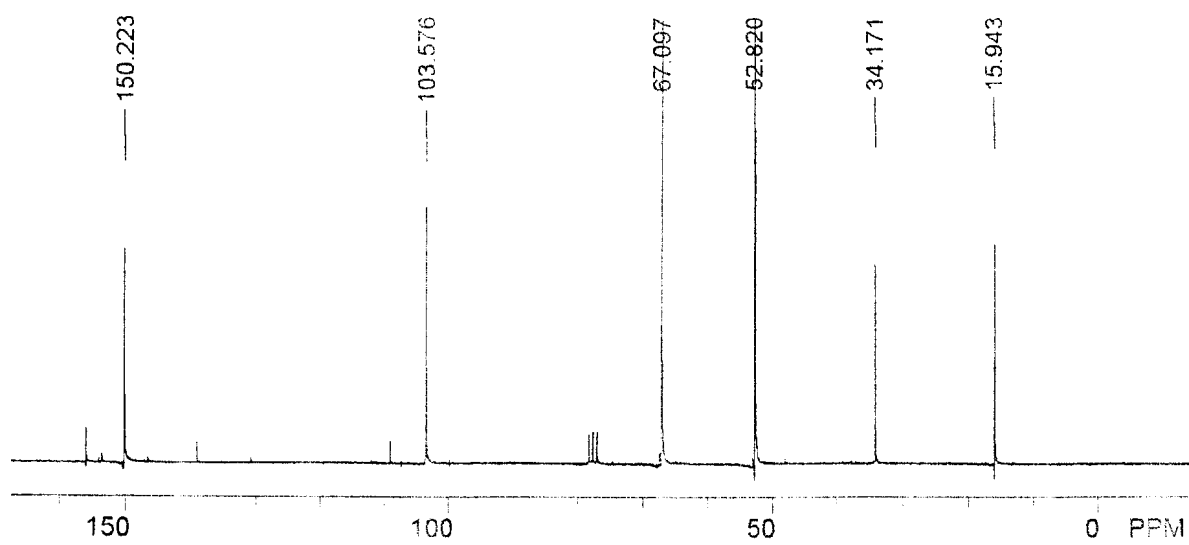


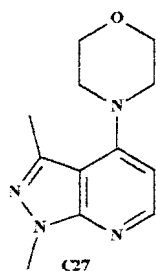
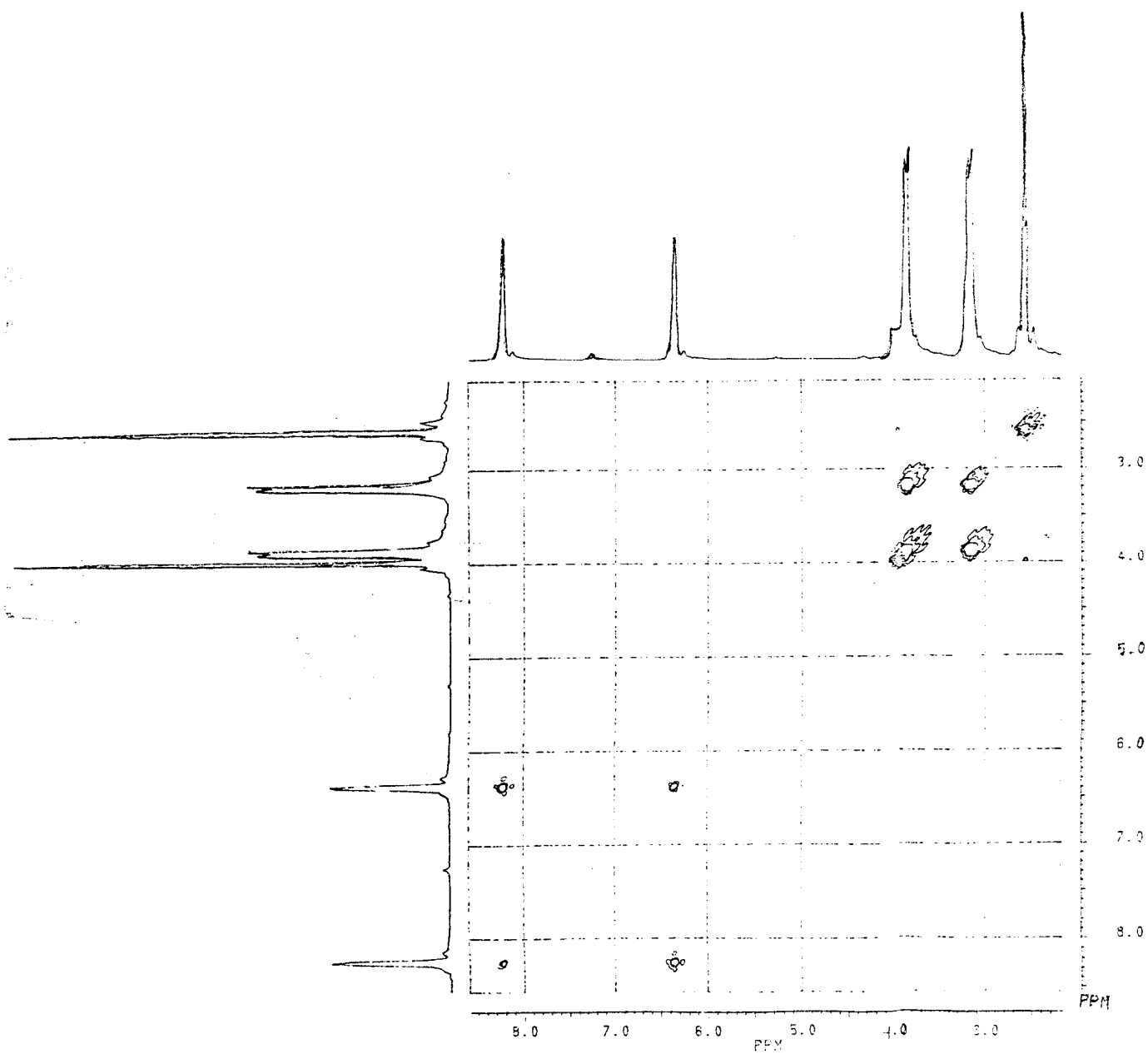
Espectro nº48: RMN de ¹H (200MHz)

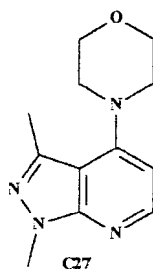




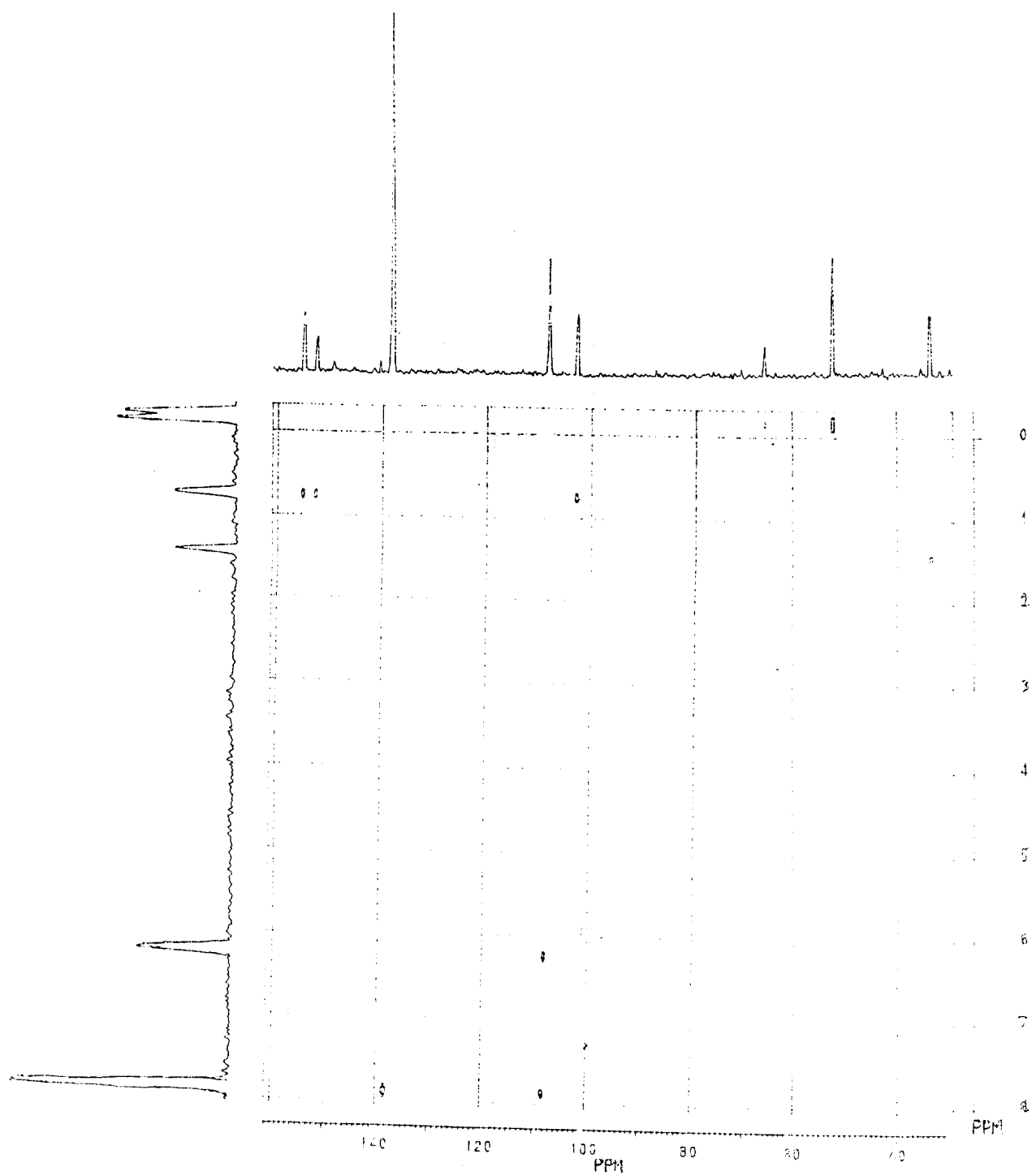
Espectro n^o49: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



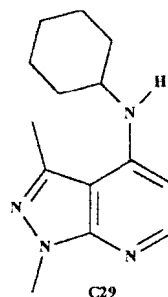
Espectro nº 50: $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY



Espectro n^o 51: ¹H x ¹³C- HETCOSY, ¹J_{CH}



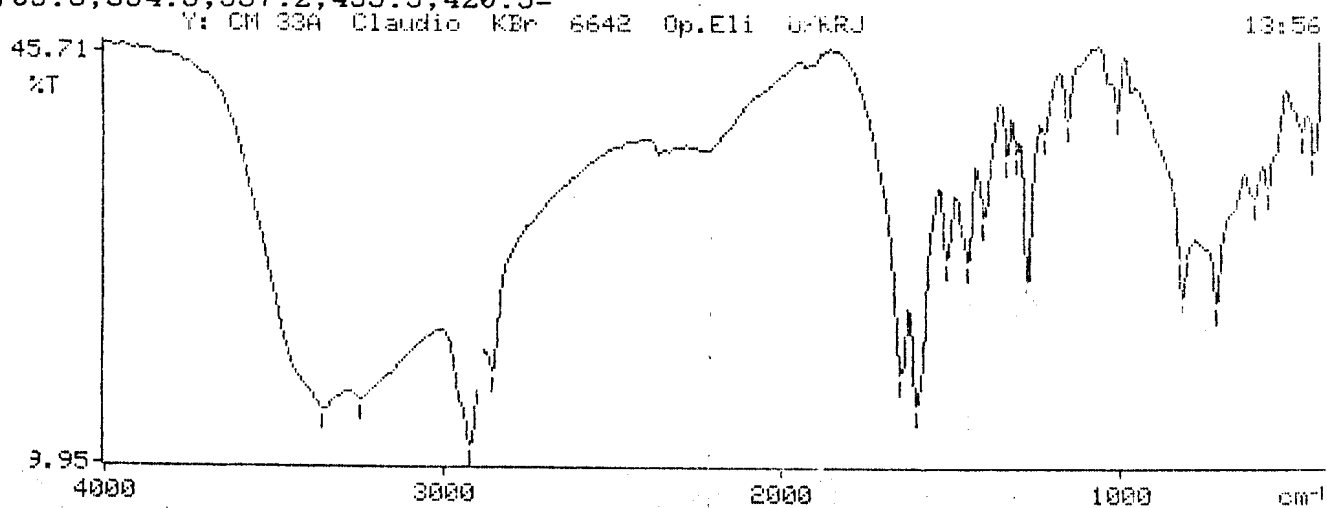
1,3-dimetil-4-cicloexilaminil-1*H*-pirazolo[3,4-*b*]piridina (C29)



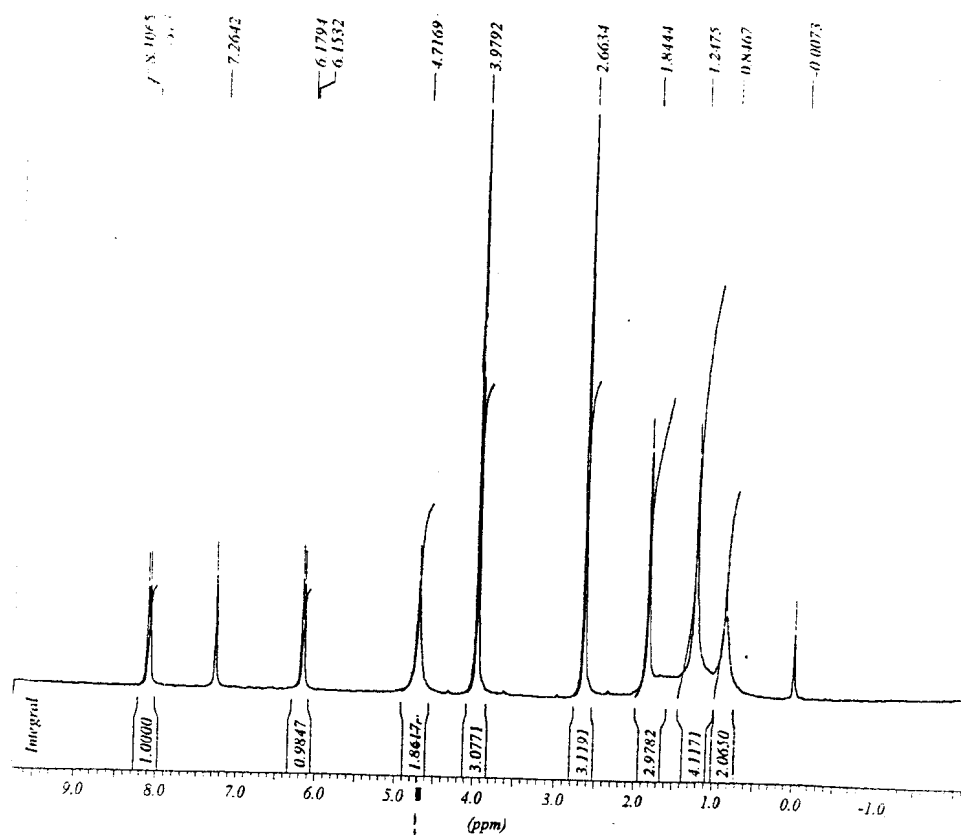
Espectro nº 52: IV, obtido em pastilha de KBr

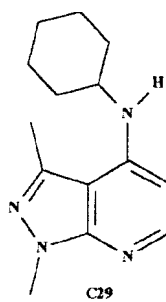
3357.8, 3244.5, 2924.4, 2856.2, 1643.3, 1600.3, 1509.5, 1445.9=
1397.5, 1328.9, 1300.7, 1270.8, 1217.6, 1149.6, 1001.5, 809.8=
709.6, 594.5, 557.2, 455.5, 420.5=

Y: CM 33A Claudio KBr 6642 Op.Eli GFRU

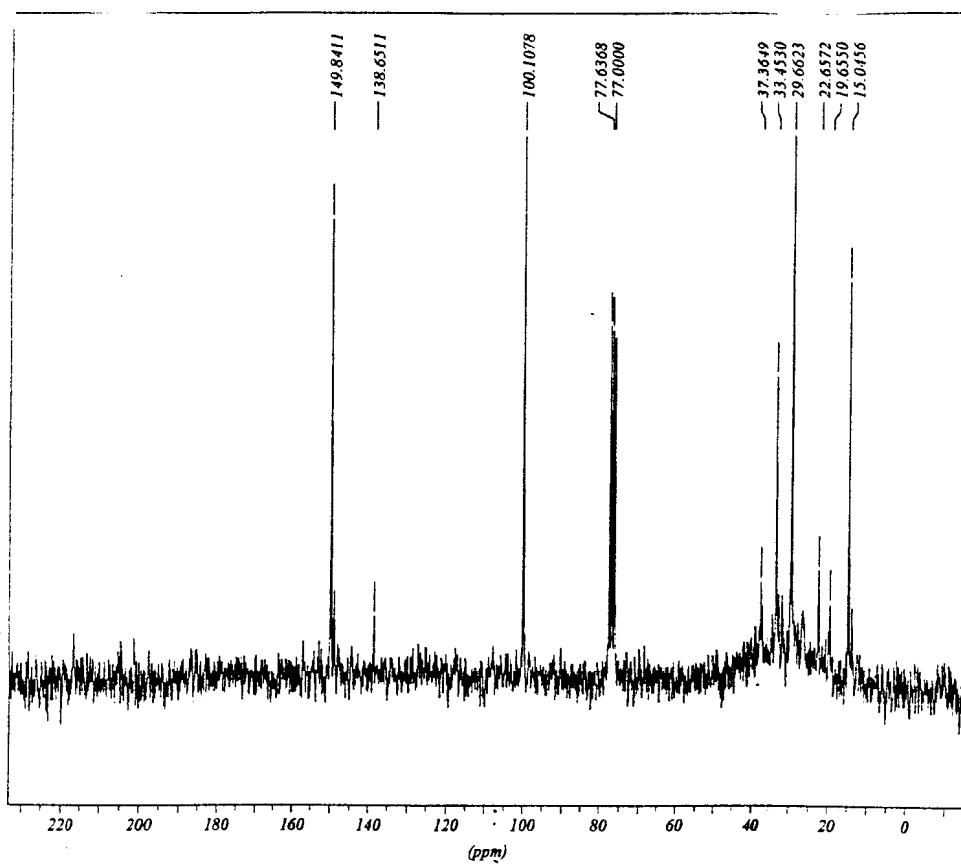


Espectro nº 53: RMN de ¹H (200MHz)





Espectro n^o54: RMN de ¹³C (50,3 MHz)



7- Referencias bibliográficas

- 1) Ortoleva G., *Gazz. Chim. Ital.* **36**, 473 (1906).
- 2) Lynch B. M., Khan M. A., *Can. J. Chem.* **66**, 420 (1988).
- 3) Dorgan R. J. J., Hardy C. R., *J. Chem. Soc.* **1**, 938 (1980).
- 4) Hoehn H., Denzel T. *J. Heterocycl. Chem.* **9**, 235 (1972).
- 5) Chu I. and Lynch B. M. *J. Med. Chem.* **18**, 161, (1975).
- 6) Junek H. and Aigner H. *Chem. Ber.* **106**, 914 (1973).
- 7) Grandberg I. I. *Zh. Obshch. Khim.* **37**, 2307 (1961).
- 8) Higashino T. and Iwoi Y. *Chem. Pharm. Bull.* **25**, 535 (1977).
- 9) Tuchiya T., Enkaku M. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 2188 (1979).
- 10) Dias L. R. S., *Pharm. Acta Helv.* **69**, 163 (1994).
- 11) Gaston M. A., Dias I. R. S., *Pharm. Acta Helv.* **71**, 213 (1996).
- 12) Mason H. J., Wu Ximao, *J. Med. Chem.* **44**, 1025 (2001).
- 13) Brown H. W., *Basic Clinical Parasitology*, Meridith, N.Y., 1969, 3 rd ed.
- 14) Dias R. S., Freitas A. C. C., *Boll. Chim. Farmac.* **1**, 14 (2000).
- 15) Ashford R. W., Desjeux P. *Parasitol. Today* **8**, 104 (1992).
- 16) Olliaro P. L., *Parasitol. Today* **9**, 323 (1993).

- 17) Brener Z., Immunology of Chaga's Disease. In Wyler DI (ed): Modern Parasite Biology: Cellular, Immunological and Molecular Aspects. WH Freeman, New York, 1990.
- 18) Gomes D. C. F., Tese de Doutorado, Rio de Janeiro, UFRRJ, PPGQO, 2000.
- 19) http://www.bionline.net/bio_indicep_protozoario.htm
- 20) <http://www.fiocruz.br/cict/bibmang/seriedoencasleishmaniose.htm>
- 21) <http://www.geocities.com/hotsprings/spa/7804/arquiv53.htm>
- 22) Lewis J. J., Introdução à Farmacologia, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1964, 3^a ed.
- 23) Gadelha A . *An. Bras. Dermatol.* **65**, 198 (1990).
- 24) Reynolds F. Eds. *Martindale – The Extra Pharmacopeia*, 31st ed, London: Royal Pharmaceutical Society, 1996.
- 25) Valle C. M. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **40**, 684 (1996).
- 26) Fournet A . *Journal of Natural Products*, **56**, 1547 (1993).
- 27) Hirschman G. *Phytotherapy Research*, **10**, 375, (1996).
- 28) Rabah H. A . *Journal of Natural Products*, **60**, 1017 (1997).
- 29) Carvalho P. B., *Brasilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **36**, 69 (2000).
- 30) Cheng M., Christensen S. B. *J. Med. Chem.* **37**, 2550 (1993)

- 31) Akendengue B., Laurens A. *Parasite*, **6**,3 (1999).
- 32) Laguna F. *J. Infect.*, **28**, 255 (1994).
- 33) Christensen S. B., *Med. Chem.***41**, 4819 (1998).
- 34) Aurea Echevarria, Heloisa de Mello, Cláudio Márcio Freitas Lourenço, Resumo da 22^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, MG, Brasil, 1999. Livro de resumos volume 1, MD – 004.
- 35) Taylor E. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 2456 (1959).
- 36) Echevarria A. , *Química Nova*, **22**, 26 (1999).
- 37) Mello H., Tese de Doutorado, Rio de Janeiro, UFRRJ, DPGQO, 2000.