UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
LQOF & RMN – Laboratório de Química Orgânica Fina e Ressonância Magnética Nuclear
POSMAT – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais

EDUARDO HENRIQUE ZAMPIERI

ESTUDO POR RMN E DRX DAS REAÇÕES DE BROMAÇÃO DE GUANIDINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEISHMANIA

Orientador: Prof. Dr. Eduardo René Pérez González

Presidente Prudente
2024

Eduardo Henrique Zampieri

ESTUDO POR RMN E DRX DAS REAÇÕES DE BROMAÇÃO DE GUANIDINAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEISHMANIA

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais (POSMAT), área de concentração Química dos Materiais, sob a orientação do Prof. Dr. Eduardo René Pérez González.

Presidente Prudente

2024

Zampieri, Eduardo Henrique.
Estudo por RMN e DRX das reações de bromação de guanidinas com potencial atividade antileishmania / Eduardo Henrique Zampieri, 2024
126 f. : il.

Tese (Doutorado)–Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências, Bauru
Orientador: Eduardo René Pérez González

1. Guanidinas. 2. Bromação. 3. NBS. 4. SCDRX. 5. RMN. 6. Estudo conformacional. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE EDUARDO HENRIQUE ZAMPIERI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 17 dias do mês de outubro do ano de 2024, às 14:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de EDUARDO HENRIQUE ZAMPIERI, intitulada **Estudo por RMN e DRX das reações de bromação de guanidinas com potencial atividade antileishmania**. A Comissão Examinadora foi constituida pelos seguintes membros: Prof. Dr. EDUARDO RENE PEREZ GONZALEZ (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Química e Bioquímica / Faculdade de Ciências e Tecnologia - Unesp/Câmpus de Presidente Prudente, Prof. Dr. MARCUS TULLIUS SCOTTI (Participação Virtual) do(a) Departamento de Química / Universidade Federal da Paraíba - UFPB , Prof. Dr. SERGIO ANTONIO MARQUES DE LIMA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Física, Química e Biologia / Faculdade de Ciências e Tecnologia - Unesp/ Câmpus de Presidente Prudente, Prof. Dr. LUIZ CARLOS DA SILVA FILHO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Química / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru, Prof. Dr. PAULO NORONHA LISBOA FILHO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Física / Faculdade de Ciências - Unesp/Câmpus de Bauru. Após a exposição pelo doutorando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final:_ _ _ **APROVADO** _ _ . Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. EDUARDO RENE PEREZ GONZALEZ

gov.br Documento assinado digitalmente
EDUARDO RENE PEREZ GONZALEZ
Data: 16/12/2024 20:53:40-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela força, sabedoria e serenidade concedidas durante toda esta trajetória.

Ao meu orientador, Eduardo R. P. González, pela orientação incansável, pelos conselhos valiosos e pela insistência durante todo o processo. Suas orientações foram fundamentais para o desenvolvimento e conclusão desta tese. Agradeço também ao coorientador, Alviclér Magalhães, por suas contribuições e suporte.

Agradeço profundamente ao Prof. Dr. Javier Ellena e ao pós-doutorando Pedro Henrique de Oliveira Santiago por suas valiosas colaborações que contribuíram significativamente para o avanço deste trabalho.

Aos meus amigos do laboratório, pelas conversas produtivas, brincadeiras descontraídas e pelo apoio moral. A convivência com vocês tornou esta jornada mais leve e inspiradora.

Agradeço também à empresa Bruker® e a todos que colaboraram com a instalação do equipamento de Ressonância Magnética Nuclear e os ensinamentos tanto sobre o equipamento quanto ao seu uso, em especial ao David, Mábio e Guilherme.

Aos professores e funcionários da UNESP, que sempre se mostraram solícitos e dispostos a ajudar em todas as necessidades administrativas e acadêmicas. Suas contribuições foram essenciais para o andamento deste trabalho.

Agradeço especialmente à minha família, por todo amor, compreensão e suporte. Aos meus pais, Otavino e Rosilei, por acreditarem em mim e me apoiarem incondicionalmente. Ao meu irmão, Gabriel, pelo encorajamento e por estarem sempre ao meu lado.

A minha esposa, Lorena, por sua paciência, compreensão e amor inabalável durante os momentos mais desafiadores desta jornada. Sua presença foi fundamental para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus amigos, pela compreensão nas ausências, pelo apoio emocional e pelas palavras de incentivo nos momentos de dúvida e cansaço.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Materiais. Agradeço a Capes pelo suporte financeiro.

Por fim, agradeço a todas as pessoas e instituições que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. A cada um de vocês, minha sincera gratidão.

Quando você sair da tempestade, você não será a mesma pessoa que era quando entrou. Esse é o objetivo dessa tempestade.

- Haruki Murakami

RESUMO

As leishmanioses são um complexo de doenças infecciosas tropicais negligenciadas, causadas por protozoários parasitas, que afetam milhares de pessoas anualmente, representando uma grande preocupação para a saúde global. Entre as manifestações, a leishmaniose visceral é a forma mais grave. Os tratamentos disponíveis para leishmaniose são baseados em medicamentos antigos, frequentemente associados a graves efeitos tóxicos. Além disso, o surgimento de cepas resistentes tornou urgente a busca por novos tratamentos que sejam seguros e eficazes. Compostos guanidínicos têm demonstrado resultados promissores no combate à leishmaniose, como é o caso dos compostos LQOF-G2, que possui um átomo de bromo na posição *para* da porção anilina, e LQOF-G6, que contém um grupo *terc*-butil na mesma posição. Ambos mostraram eficácia significativa em ensaios *in vivo* contra *Leishmania amazonensis* e *in vitro* contra *Leishmania infantum*. A presença do átomo de bromo no LQOF-G2 parece estar associada a uma atividade antileishmania expressiva, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Com o objetivo de entender melhor a influência dos átomos de bromo nos compostos guanidínicos, este estudo avaliou como a quantidade e a posição desses átomos afetam a dinâmica estrutural e conformacional dos compostos. Para isso, foi realizada reação de bromação nos compostos guanidínicos utilizando N-Bromosucinimida (NBS) ativado por luz infravermelha (IV) de 150 Watts em diclorometano como solvente, durante 12 horas de exposição. Os resultados confirmaram a eficiência do método, com até dois átomos de bromo sendo adicionados a uma única molécula. A caracterização dos compostos bromados foi realizada por ressonância magnética nuclear (RMN – 500 MHz) de ^{1}H, ^{13}C, e ^{15}N e, quando possível, por difração de raios X de monocristais (SCDRX). Observou-se que a bromação foi seletiva para a porção de anilina em todas as guanidinas estudadas. Com o aumento do número de átomos de bromo, ocorreu uma inversão preferencial de conformação dos compostos, passando do isômero *Z* para o isômero *E*. A proporção de cada isômero foi determinada por RMN de ^{1}H em solução a -10°C. O SCDRX corroborou a inversão preferencial para o isômero *E* em compostos polibromados no estado sólido. Os compostos polibromados foram avaliados preliminarmente quanto à sua atividade antileishmania e apresentaram baixa eficácia. Esses resultados sugerem que o aumento no número de átomos de bromo na fração anilina das guanidinas investigadas e as consequentes mudanças conformacionais, não contribuíram para a melhoria da atividade biológica.

Palavras-chave: Guanidinas. Bromação. NBS. SCDRX. RMN. Estudo conformacional.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a complex of neglected tropical infectious diseases caused by parasitic protozoa that affect thousands of people annually and represent a major concern for global health. Among the manifestations, visceral leishmaniasis is the most severe form. Available treatments for leishmaniasis are based on old drugs, often associated with severe toxic effects. In addition, the emergence of resistant strains has made it urgent to search for new treatments that are safe and effective. Guanidine compounds have shown promising results in combating leishmaniasis, such as the compounds LQOF-G2, which has a bromine atom in the *para* position of the aniline moiety, and LQOF-G6, which contains a *tert*-butyl group in the same position. Both showed significant efficacy in *in vivo* assays against *Leishmania amazonensis* and *in vitro* against *Leishmania infantum*. The presence of the bromine atom in LQOF-G2 appears to be associated with significant antileishmanial activity, both *in vitro* and *in vivo*. To better understand the influence of bromine atoms in guanidine compounds, this study evaluated how the quantity and position of these atoms affect the structural and conformational dynamics of the compounds. For this purpose, a bromination reaction was performed on the guanidine compounds using N-Bromosuccinimide (NBS) activated by infrared (IR) light of 150 Watts in dichloromethane as solvent, for 12 hours of exposure. The results confirmed the efficiency of the method, with up to two bromine atoms being added to a single molecule. The characterization of the brominated compounds was performed by nuclear magnetic resonance (NMR – 500 MHz) of ^{1}H, ^{13}C, and ^{15}N and, when possible, by single crystal X-ray diffraction (SCDRX). It was observed that the bromination was selective for the aniline moiety in all guanidines studied. With the increase in the number of bromine atoms, a preferential inversion of the conformation of the compounds occurred, passing from the *Z* isomer to the *E* isomer. The proportion of each isomer was determined by ^{1}H NMR in solution at -10°C. SCDRX corroborated the preferential inversion to the *E* isomer in polybrominated compounds in the solid state. The polybrominated compounds were preliminarily evaluated for their antileishmania activity and showed low efficacy. These results suggest that the increase in the number of bromine atoms in the aniline fraction of the investigated guanidines, along with the resulting conformational changes, did not contribute to the improvement of biological activity.

Keywords: Guanidines; Bromination; NBS; SCXRD; NMR; Conformational Study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de transmissão da leishmaniose. 18

Figura 2 – Representação esquemática geral do núcleo guanidínico. 21

Figura 3 – Estruturas dos compostos guanidínicos LQOF-G2 e LQOF-G6, promissores no combate à leishmaniose. 22

Figura 4 – Estruturas tautoméricas de interconversão em equilíbrio químico do núcleo guanidínico.. 23

Figura 5 – Estabilização dos isômeros E e Z de compostos guanidínicos por meio da formação de um pseudociclo de seis membros. 24

Figura 6 – Estruturas dos isômeros (E) e (Z) do acetato de Guanabenz. 25

Figura 7 – Estruturas dos isômeros (E) e (Z) dos compostos aminoalquil indenos 4 (R = H) e 5 (R = Me). 25

Figura 8 – Estrutura do composto bromado 12 com atividade antileishmania e antimalárica. 26

Figura 9 – Estruturas dos compostos bromados com maior atividade antiparasitária. 27

Figura 10 – Estrutura geral das guanidinas previamente sintetizadas no LQOF. 28

Figura 11 – Densidade de cargas parciais na estrutura do NBS. 29

Figura 12 – Mecanismo de bromação por reação de adição com formação do íon bromônio. 30

Figura 13 – Bromação através do mecanismo de radical livre. 31

Figura 14 – Mecanismo de bromação via substituição eletrofílica. 32

Figura 15 – Esquema reacional da síntese das guanidinas com formação das tiouréias intermediárias. 36

Figura 16 – Esquema reacional da bromação das guanidinas. 37

Figura 17 – Esquema reacional de proteção da benzilamina com Boc_2O de ambos os métodos testados e seus rendimentos. 45

Figura 18 – Mecanismo da reação de proteção do grupo amino com Boc..... 45

Figura 19 – Proposta de mecanismo de fragmentação para o composto benzilamina protegida com Boc e seu Espectro EI-MS (70 eV)..... 47

Figura 20 – Espectro de RMN do composto benzilamina protegido com Boc, a 25ºC em $CDCl_3$. A) ^1H RMN; B) ^{13}C RMN..... 48

Figura 21 – Espectro de HRESI-MS (70 eV) do composto Benzilamina protegido com Boc após reação de bromação com NBS ativado por luz infravermelha..... 50

Figura 22 – Espectro de RMN do composto benzilamina protegido com Boc bromado, a 25ºC em DMSO-d6. A) ^1H RMN; B) ^{13}C DEPT-135 RMN..... 50

Figura 23 – Esquema da reação de bromação dos compostos guanidínicos com NBS ativada por luz infravermelha..... 52

Figura 24 – Mecanismo de formação da espécie in situ Br_2 para bromação através da N-Bromosucinimida (NBS) ativada por irradiação infravermelha..... 53

Figura 25 – Esquema geral para as estruturas dos compostos guanidínicos estudados, com a conformação predominante em solução a -10°C indicada entre parênteses (E/Z). 54

Figura 26 – Proposta de mecanismo de fragmentação dos principais íons presentes em todas as guanidinas estudadas, m/z 91, m/z 105 e m/z 122 e o espectro EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G2 comum para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G36..... 56

Figura 27 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G36-Br. 57

Figura 28 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G6..... 58

Figura 29 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G6-Br. 58

Figura 30 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G35-Br. 59

Figura 31 – Espectro de HRESI-MS do composto LQOF-G35-Br. 60

Figura 32 – Representação estrutural dos isômeros E/Z para o composto guanidínico LQOF-G2..... 62

Figura 33 – Espectros de RMN de hidrogênio (^1H) do composto LQOF-G2 variando a temperatura de 25ºC à -10ºC em $CDCl_3$. 63

Figura 34 – Espectro de RMN de hidrogênio (^{1}H) do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. 63

Figura 35 – Espectros de RMN de carbono (^{13}C) do composto LQOF-G2 variando a temperatura de 25ºC à -10ºC em $CDCl_3$. 64

Figura 36 – Espectro de RMN de carbono (^{13}C) do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Espectro total; B) Zoom na região aromática entre 118,0 ~ 142,0 ppm. 65

Figura 37 - Espectro de RMN HMBC ^{1}H-^{15}N do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. 66

Figura 38 – Espectro de RMN Seletive-HSQC ^{1}H-^{13}C do composto LQOF-G2 à -10ºC $CDCl_3$. A) Zoom na região alifática do núcleo de carbono; B) Zoom na região aromática do núcleo de carbono (setas vermelhas representam as correlações diretas C-H do isômero minoritário E). 66

Figura 39 – Espectro de RMN Seletive-HMBC ^{1}H-^{13}C do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Zoom na região alifática do núcleo de carbono; B) Zoom na região aromática do núcleo de carbono. 68

Figura 40 – Espectros de RMN bidimensionais NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. 71

Figura 41 – Representação estrutural dos isômeros E e Z para o composto guanidínico LQOF-G35.. 72

Figura 42 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$. A) ^{1}H RMN; B) ^{13}C RMN; C) ^{13}C RMN zoom na região aromática. 73

Figura 43 – Espectro de RMN HMBC ^{1}H-^{15}N do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$..... 75

Figura 44 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Seletive-HSQC ^{1}H-^{13}C; B) HMBC ^{1}H-^{13}C. 75

Figura 45 – Espectro de RMN NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$. 76

Figura 46 – Estrutura química do composto guanidínico LQOF-G35, em sua conformação predominante, isômero Z, à -10ºC, as setas representam as principais correlações espaciais NOE..... 77

Figura 47 – Espectro de RMN de ^{1}H do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$. 79

Figura 48 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$. A) HSQC ^{1}H-^{13}C; B) HMBC ^{1}H-^{13}C. 80

Figura 49 – A) Espectro de RMN de NOESY ^{1}H-^{1}H para o composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$. B) Comparação entre as correlações espaciais mais intensas para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br. 81

Figura 50 – Representação tipo ORTEP da unidade assimétrica do LQOF-G35, com elipsóides térmicos representados com 50% de probabilidade. Os átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono foram omitidos para maior clareza. 86

Figura 51 – Representação tipo ORTEP da unidade assimétrica do LQOF-G35-Br. Os elipsóides térmicos são representados com 50% de probabilidade. 87

Figura 52 – Superfície de Hirshfeld do LQOF-G35 mapeada com dnorm. As moléculas nomeadas na análise SCDRX sem sufixo e com os sufixos a e b foram denominadas Molécula 1, 2 e 3, respectivamente. 88

Figura 53 – Superfície de Hirshfeld do LQOF-G35-Br mapeada com dnorm. 89

Figura 54 – Rede unidimensional para LQOF-G35-Br obtida através das interações intermoleculares N H···O e Br···π, visualizadas na direção [010]. 90

Figura 55 – Padrões DRX calculados e experimentais dos compostos guanidínicos LQOF-G35 (isômero Z) e LQOF-G35-Br (isômero E). 91

Figura 56 – Mecanismo proposto para alterações conformacionais de LQOF-G35 para LQOF-G35-Br na bromação com NBS. 92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais correlações espaciais e troca química observadas por NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G2 em diferentes temperaturas e diferentes tempos de mistura. 69

Tabela 2 – Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN (500 MHz) de ^{1}H e ^{13}C dos compostos guanidínicos, a -10ºC em $CDCl_3$. 83

Tabela 3 – Proporção dos isômeros E/Z (%) dos compostos guanidínicos calculados por RMN ^{1}H a 253K (-10ºC). 84

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DNDi: Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas

ASMQ: combinação terapêutica de Artesunato e Mefloquina para malária

OPAS: Organização Pan-Americana da Saúde

OMS: Organização Mundial da Saúde

LC: Leishmaniose Cutânea

LM: Leishmaniose Mucocutânea

LV: Leishmaniose Visceral

FDA: Food and Drug Administration

LQOF: Laboratório de Química Orgânica Fina

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

IV: Infra-vermelho

DRX: Difração de Raios X

SCDRX: Difração de Raios X de monocristal

NBS: N-Bromo Succinimida

$CHCl_3$: clorofórmio

CH_2Cl_2: diclorometano

$CDCl_3$: clorofórmio deuterado

DMSO: Dimetilsulfóxido

ESI-MS: Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray

HRESIMS: Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray de Alta Resolução

TOF: analisador de tempo de voo.

ESI: ionização por eletrospray.

EI: Ionização Eletrônica

DI: Introdução Direta

eV: elétron Volt.

m/z: relação massa/carga

v/v: razão volume/volume

m/m: razão massa/massa

IC_{50}: mínima concentração necessária para inibir 50%

CC_{50}: concentração que implica em 50% da viabilidade celular (citotoxicidade)

RMN de ^{1}H: Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN de ^{13}C: Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

TMS: tetrametilsilano

δ = deslocamento químico (em RMN)

E/Z: isômeros de tipo Entgegen e Zusammen.

IFAs: ingrediente farmacêutico ativo

µs: microssegundos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
1.1 Doenças Negligenciadas 16
1.1.1 Leishmaniose 17
1.2 Guanidinas 20
1.2.1 Classificação das guanidinas 21
1.3 Principais utilizações para compostos guanidínicos 21
1.4 Isomerismo *E/Z* 23
1.5 Compostos Bromados 26
1.6 Guanidinas alvo 27
1.7 Estudo da reação de bromação em compostos guanidínicos 28
2 OBJETIVOS 34
2.1 Objetivo geral 34
2.2 Objetivos específicos 34
3 MATERIAIS E MÉTODOS 35
3.1 Materiais 35
3.2 Síntese das guanidinas 35
3.3 Reação de Bromação com NBS ativada por irradiação IV. 36
3.4 Cristalização 37
3.5 Ponto de fusão 37
3.6 Análise de Ressonância Magnética Nuclear. 38
3.7 Análise de Difração de Raios X. 38
3.7.1 Difração de raios X de monocristal (SCDRX) 39
3.7.2 Análises de superfície de Hirshfeld 39
3.8 Análise de Espectrometria de Massas 40
3.8.1 Espectrometria de massa de ionização eletrônica 40
3.8.2 HRESIMS 40
3.9 Dados dos compostos 41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 44
4.1 Estudo de bromação da benzilamina 44
4.2 Reações de bromação dos compostos guanidínicos 51
4.3 Estudo dos compostos guanidínicos por EI-MS. 54
4.3.1 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos monobromados 55
4.3.2 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos dibromados. 57
4.3.3 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos tribromados. 59
4.4 Estudo dos compostos guanidínicos por RMN. 61

4.5 Estudo dos compostos guanidínicos por DRX. 85
5 CONCLUSÕES 93
6 PERSPECTIVAS FUTURAS 94
7 REFERÊNCIAS 95
APÊNDICE A: Seção de espectros. 104

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Negligenciadas

As doenças negligenciadas são aquelas causadas por agentes infecciosos ou parasitas que afetam predominantemente populações de baixa renda em regiões tropicais, como África, Ásia e América Latina. Exemplos dessas doenças incluem a malária, doença de Chagas, doença do sono (tripanossomíase humana africana), leishmaniose, filariose linfática, dengue e esquistossomose [1,2]. Essas enfermidades são responsáveis por uma alta carga de morbidade e mortalidade, incapacitando ou matando milhões de pessoas a cada ano, sendo que a doença de chagas, a doença do sono e a leishmaniose visceral são as três com as mais altas taxas de morte [3,4].

Apesar de sua gravidade, as doenças negligenciadas recebem pouca atenção e investimento em comparação com outras enfermidades, como AIDS, tuberculose e malária [5]. Esse desinteresse das indústrias farmacêuticas ocorre porque o mercado para essas doenças, predominantemente em países pobres, não oferece um retorno financeiro significativo. Como resultado, as indústrias privadas preferem focar em doenças globais para as quais medicamentos podem ser produzidos e comercializados com lucro [2,5].

Diante desse cenário, foi criada em 2003 a iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas (DNDi), uma organização de pesquisa e desenvolvimento sem fins lucrativos. A DNDi trabalha para oferecer novos tratamentos para doenças negligenciadas e colabora com diversos parceiros, incluindo a Fiocruz, e possui um escritório regional na América Latina, localizado no Rio de Janeiro. Um dos marcos dessa colaboração foi a transferência de tecnologia do medicamento ASMQ (artesunato (AS) e mefloquina (MQ)), uma combinação terapêutica para malária, para a empresa farmacêutica Cipla, na Índia. Além disso, a DNDi e seus parceiros estão envolvidos em estudos clínicos para avaliar novos tratamentos para doenças negligenciadas, incluindo um medicamento para malária cerebral [5].

Em 2024, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) convocam líderes e comunidades a "Participar, Agir e Eliminar" as Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) para melhorar as condições de vida para as comunidades. No Brasil, o Ministério da Saúde, com apoio da OPAS, promove um seminário em janeiro com profissionais de saúde, pesquisadores e organizações que têm contribuído significativamente no enfrentamento dessas doenças. A OPAS apoia os países das Américas no fortalecimento da implementação, monitoramento e avaliação de programas para controlar e eliminar as doenças tropicais negligenciadas. Isso é feito por meio de cooperação técnica, desenvolvimento de diretrizes, capacitação, além da doação de medicamentos e ferramentas médicas, como testes

diagnósticos. A Organização também lidera uma iniciativa para eliminar cerca de 30 doenças infecciosas e condições relacionadas até 2030 [6,7].

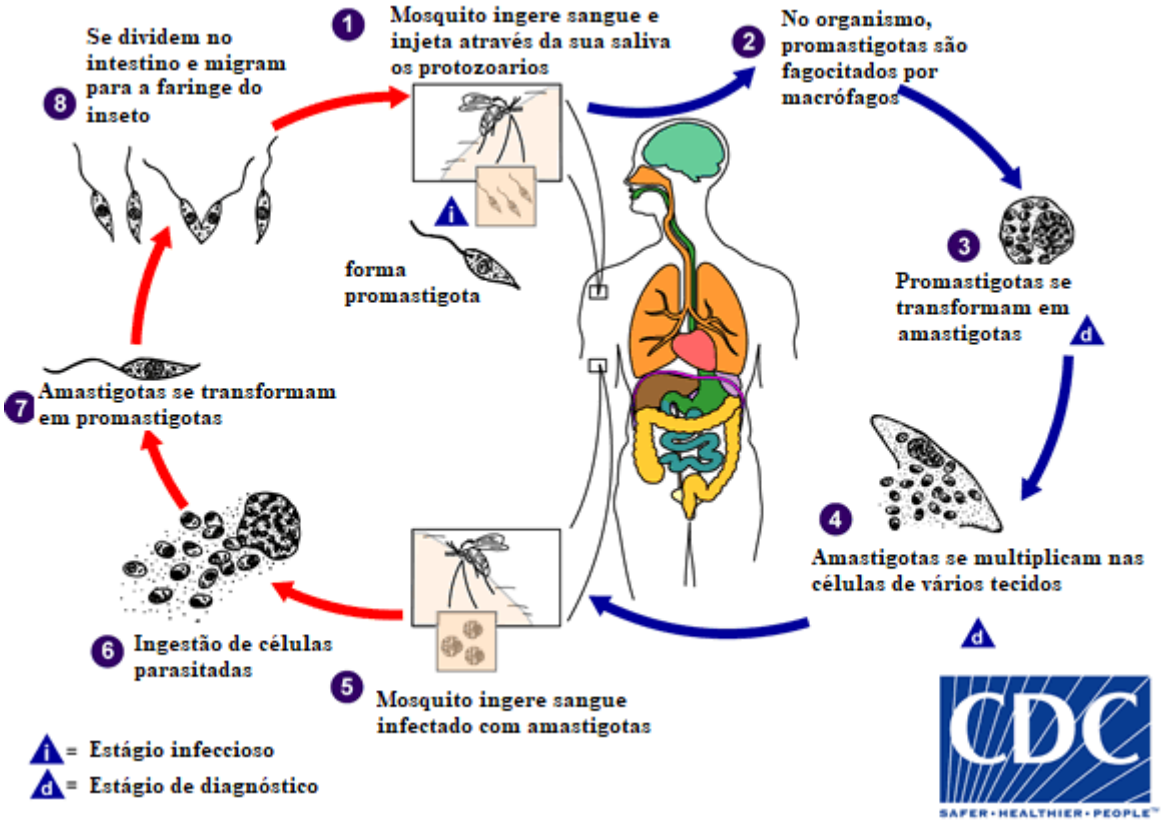
1.1.1 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença grave que continua sendo um problema de saúde significativo em quatro regiões ecoepidemiológicas: Américas, África Oriental, Norte da África e, Oeste e Sudeste Asiático. Nas Américas, as leishmanioses são doenças zoonóticas transmitidas por vetores com um ciclo de transmissão complexo, envolvendo uma variedade de parasitas, reservatórios e vetores. Elas são causadas por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos a animais e humanos pela picada de insetos da família *Psychodidae*, conhecidos como mosquitos-palha [8-10].

Existem três formas principais da doença: leishmaniose visceral, cutânea e mucocutânea. A leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, é a forma mais grave, caracterizada por febre irregular, perda de peso, hepatoesplenomegalia e anemia, podendo levar à morte em mais de 90% dos casos não tratados. A leishmaniose mucocutânea, se não tratada, pode causar a destruição das membranas mucosas do nariz e da boca, resultando em grave incapacidade. A leishmaniose cutânea é a forma mais comum, provocando lesões ulcerativas que deixam cicatrizes permanentes [10].

A transmissão ocorre quando flebotomíneos fêmeas infectadas picam humanos, principalmente à noite, injetando a forma infectante do parasita (promastigota) no hospedeiro. O ciclo de transmissão é demonstrado na Figura 1. No interior do corpo, os promastigotas são fagocitados por macrófagos, onde se transformam em amastigotas e se multiplicam, rompendo as células hospedeiras e disseminando a infecção. O ciclo se completa quando outro mosquito se alimenta de um hospedeiro infectado, ingere as amastigotas, que se diferenciam em promastigotas no inseto e, posteriormente, são transmitidos a um novo hospedeiro durante a próxima picada [10].

Figura 1 – Ciclo de transmissão da leishmaniose.



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [10].

Anualmente, estima-se que ocorram 1,3 milhões de novos casos de leishmaniose, resultando em 20 a 30 mil mortes, afetando principalmente populações pobres em áreas tropicais e subtropicais, onde a doença está associada à desnutrição, sistema imunológico enfraquecido e condições precárias de moradia e saneamento [8-10].

A leishmaniose cutânea (LC) é a forma mais comum da doença, caracterizada por úlceras nas áreas expostas do corpo, como rosto, braços e pernas. Essas úlceras podem ser numerosas e resultar em cicatrizes permanentes, causando incapacidades graves e estigmatização social. Estima-se que entre 0,7 e 1,2 milhão de novos casos de LC ocorram anualmente em todo o mundo, principalmente nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente Médio e na Ásia Central. Em 2021, um total de 51 países notificaram à Organização Mundial de Saúde cerca de 222.000 novos casos. Dez países, incluindo Brasil, Colômbia e Peru, respondem por 70-75% dos casos globais de LC [9,11,12].

Nas Américas, a epidemiologia da leishmaniose cutânea é complexa, com variações nos ciclos de transmissão, espécies de parasitas, hospedeiros e mosquitos vetores, além de diferenças nas manifestações clínicas e na resposta ao tratamento. Essa diversidade torna o controle da doença um grande desafio na região.

A leishmaniose mucocutânea (LM), outra forma da doença, é mais grave e pode levar à destruição parcial ou total das membranas mucosas do nariz, boca e garganta, causando deficiências severas. Aproximadamente 90% dos casos de leishmaniose mucocutânea ocorrem na Bolívia, Brasil e Peru [11,12].

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é uma doença parasitária grave que pode ser fatal em mais de 95% dos casos se não tratada. Ela é caracterizada por febre irregular, perda de peso, aumento do baço e do fígado, e anemia. A maioria dos casos ocorre no Brasil, África Oriental e Índia, com estimativas de 50.000 a 90.000 novos casos anuais, dos quais apenas 25-45% são notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) [11].

A LV é transmitida pela picada de fêmeas infectadas de flebotomíneos, como o mosquito-palha, no Brasil, a principal espécie responsável pela transmissão é a *Lutzomyia longipalpis*. Afeta principalmente crianças menores de cinco anos, adultos maiores de 50 anos, e pessoas com imunidade comprometida, como portadores de HIV. Os agentes etiológicos da LV são protozoários tripanosomatídeos do gênero Leishmania, parasita intracelular obrigatório sob forma aflagelada ou amastigota das células do sistema fagocítico mononuclear. Dentro do tubo digestivo do vetor, as formas amastigotas se diferenciam em promastigotas. Nas Américas, a *Leishmania chagasi* é a espécie comumente envolvida na transmissão da LV [13,14].

Nos últimos cinco anos, foram registrados, em média, 2.850 casos de LV, com uma taxa de letalidade de 8,2%. Embora 93% dos casos de LV ocorram no Brasil, a doença está se expandindo para áreas urbanas de médio e grande porte, o que deve acarretar um aumento do número de casos. Mesmo com o tratamento disponível gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS), ele não elimina completamente o parasita em humanos e cães, e a eutanásia de cães infectados é recomendada como medida de controle [13,14].

A infecção de leishmania em humanos é causada por cerca de 21 das 30 espécies que infectam mamíferos. Estes incluem o complexo *L. donovani* com 3 espécies (*L. donovani, L. infantum e L. chagasi*); o complexo *L. mexicana* com 3 espécies principais (*L. mexicana, L. amazonensis e L. venezuelensis*); *L. tropical; L. maior; L. aethiopica*; e o subgênero *Viannia* com 4 espécies principais (*L. (V.) braziliensis, L. (V.) guyanensis, L. (V.) panamensis e L. (V.) peruviana*). As diferentes espécies são morfologicamente indistinguíveis, mas podem ser diferenciadas por análise isoenzimática, métodos moleculares ou anticorpos monoclonais. [10]

O tratamento das leishmanioses é desafiador devido à diversidade de espécies e manifestações clínicas. Existem cerca de 25 compostos com atividade antileishmania, mas apenas alguns são aprovados para uso humano.

Os antimoniais pentavalentes (antimoniato de N-metilglucamina e estibogliconato de sódio) foram o tratamento principal por quase 75 anos, mas a resistência e a toxicidade grave

desses medicamentos geraram a necessidade de alternativas. A anfotericina B é uma opção de segunda linha, administrada em três doses semanais de até 1 mg/kg/dia, e é usada quando a terapia com antimoniais falha ou não é indicada, especialmente em pacientes com problemas renais ou gestantes. A pentamidina é outro fármaco de segunda linha e também está associada a efeitos tóxicos, incluindo problemas renais, hepáticos e cardíacos, além de efeitos adversos como dor no local da aplicação, abscessos, náuseas e tontura [15,16].

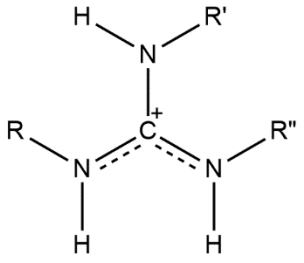
Em 2014, a FDA (do inglês: Food and Drug Administration) aprovou a miltefosina, um fármaco oral, para tratamento de LC, LM e LV causadas por espécies específicas de Leishmania em pacientes com pelo menos 12 anos e 30 kg. Outros medicamentos, como desoxicolato de anfotericina B e isetionato de pentamidina, estão disponíveis nos EUA, mas não têm indicações aprovadas para leishmaniose. No Brasil, o antimoniato de meglumina (Glucantime) é o principal tratamento para leishmanioses, com a anfotericina B e a pentamidina como alternativas, todas essas drogas têm toxicidade considerável. O estibogliconato de sódio, embora utilizado globalmente, não está disponível no Brasil, apesar de ser padronizado pela OMS [15,16].

Recentemente, Ferreira et al. (2024) identificaram no Brasil uma cepa de *Leishmania amazonensis* resistente à anfotericina B. O caso envolveu um paciente com leishmaniose cutânea difusa, uma forma rara e difícil de tratar, agravada pela coinfecção com HIV. O paciente havia sido tratado com antimoniato de meglumina e anfotericina B, ambos comumente usados no Brasil, sem sucesso. Foram realizados ensaios *in vitro* e *in vivo* com a cepa isolada. Em testes com camundongos, a cepa resistente mostrou resistência à anfotericina B, enquanto reagiu de forma semelhante à cepa sensível quando tratada com miltefosina e paromomicina. Esses resultados destacam a necessidade urgente de novos fármacos para tratar leishmaniose cutânea difusa no Brasil, uma vez que a anfotericina B, uma das poucas opções disponíveis, falhou no tratamento desta cepa resistente [17].

1.2 Guanidinas

A classe de compostos conhecidos como guanidinas é caracterizada pela presença do núcleo guanidínico (Figura 2) em sua estrutura, que consiste em um carbono quaternário ligado covalentemente a outros três átomos de nitrogênio. Esses compostos podem ser encontrados na natureza [18] e possuem grande importância na ciência de materiais, com diversas aplicações.

Figura 2 – Representação esquemática geral do núcleo guanidínico.



Esta classe de compostos é conhecida há mais de 150 anos, a primeira síntese descrita foi preparada em 1861 por A. Strecker, que oxidou guanina com ácido clorídrico e clorato de potássio [19].

1.2.1 Classificação das guanidinas

As estruturas guanidínicas podem ser classificadas em três tipos, de acordo com a substituição dos grupamentos R observados na Figura 2: monossubstituídas, dissubstituídas e trissubstituídas. No presente trabalho, optou-se por estudar as guanidinas tri substituídas.

Além dos parâmetros de substituição, não há classificações mais específicas. Contudo, ao explorar o assunto, observa-se uma divisão baseada no tipo de substituinte empregado e no foco de aplicação.

Os substituintes podem variar amplamente, incluindo grupamentos benzílicos [20,21], alifáticos [22], sulfônicos [23,24], fosfóricos [25,26,27], acilas [28,29], entre outros, além de estruturas químicas mais elaboradas e complexas.

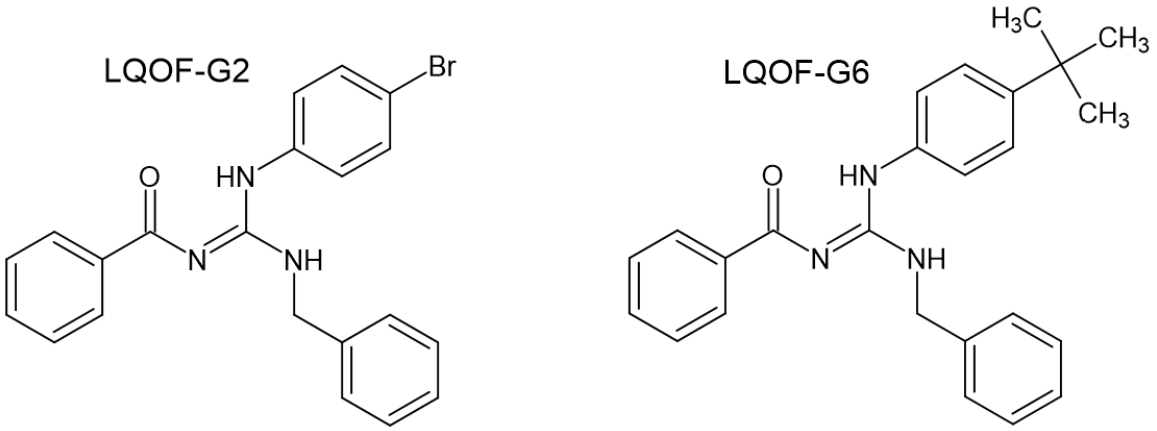
1.3 Principais utilizações para compostos guanidínicos

Os diferentes compostos guanidínicos despertam interesse tanto científico quanto comercial devido à sua alta diversidade de aplicações. Resultados positivos publicados relatam usos variados, como na captura de CO_2 [30-32] e como potentes inibidores da arginase 1 em humanos [33]. Guanidinas do tipo bicíclica, monocíclica e acíclica são destacadas como poderosos organocatalisadores [34-37]. Guanidinas contendo tiazol e acetil-guanidinas são úteis no tratamento de doenças cognitivas, Alzheimer, neurodegeneração e demência [38]. Além disso, são empregadas como ativos farmacêuticos (IFAs) em medicamentos, incluindo dilatadores cardiovasculares [39], anti-histamínicos e antidiabéticos [40], agentes anti-inflamatórios [41,42], anticancerígenos [43-46], bactericidas [47-50], antifúngicos [51,52], antiprotozoários [53,54], antiparasitários [55] e antivirais [56,57].

Com o objetivo de buscar novos potenciais fármacos contra doenças negligenciadas, mais especificamente, contra leishmaniose, em trabalhos anteriores realizados no nosso grupo de pesquisa, LQOF, foram sintetizadas guanidinas tri substituídas e testadas contra diferentes tipos de leishmaniose [20,58-60], apresentando resultados promissores.

Dentre os compostos de guanidina já estudados pelo grupo de pesquisa LQOF destacam-se os compostos LQOF-G2 e LQOF-G6, cujas estruturas estão representadas na Figura 3.

Figura 3 – Estruturas dos compostos guanidínicos LQOF-G2 e LQOF-G6, promissores no combate à leishmaniose.



Espírito Santo et al. (2019) investigaram a atividade leishmanicida de uma série de compostos guanidínicos. Dentre os dez compostos analisados, todos contendo uma estrutura guanidínica com grupos benzoíla, benzila e fenil substituídos, o composto LQOF-G2, que possui um átomo de bromo na posição "para" da porção anilina, demonstrou resultados promissores em ensaios *in vivo* contra *Leishmania amazonensis*. Esse composto apresentou valores de IC_{50} de 19,6 µM em promastigotas e 5,6 µM em amastigotas, além de baixa citotoxicidade para células hospedeiras, evidenciada pelo seu alto índice de seletividade. Em comparação à anfotericina B, atualmente utilizada no tratamento da leishmaniose, o LQOF-G2 mostrou maior eficácia e seletividade [20].

Almeida et al. (2023) investigaram os efeitos citotóxicos de compostos guanidínicos em *Leishmania infantum* nas formas promastigota e amastigota *in vitro*, bem como sua citotoxicidade em células humanas. As guanidinas LQOFG-2 e LQOFG-6 demonstraram valores de IC_{50} de 12,7 µM e 24,4 µM, respectivamente, em promastigotas. Esses compostos também mostraram atividade citotóxica em amastigotas, com valores de 26,1 µM e 21,1 µM,

respectivamente. Importante destacar que não foi observada citotoxicidade aparente desses compostos em células de doadores saudáveis [58].

Moreira et al. (2022) investigaram a ação do composto LQOF-G6, que demonstrou inibição seletiva da cisteína protease LmCPB2.8ΔCTE (CPB) de *Leishmania major*. O composto inibiu a enzima em aproximadamente 73%, com um IC_{50} de 6,0 μM, e não apresentou sinais de citotoxicidade em concentrações de até 200 μM [59].

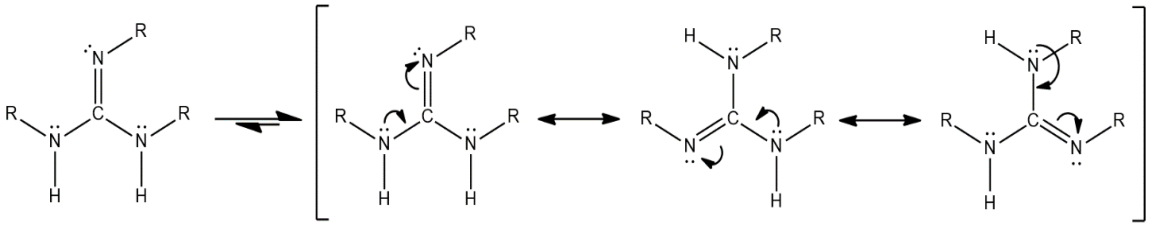
Dos Anjos et al. (2024) investigaram o impacto de sete compostos guanidínicos no parasita *Leishmania (Viannia) braziliensis* e na infecção *in vitro* de macrófagos por esse parasita, além de avaliar a citotoxicidade em modelos *in vitro* de células e tecidos hospedeiros de mamíferos. Os compostos LQOF-G2 e LQOF-G6 demonstraram resultados promissores, com valores de IC_{50} de 5,4 μM e 5,9 μM contra promastigotas, e 5,0 μM e 4,3 μM contra amastigotas, respectivamente. Notavelmente, não foi observada toxicidade em linhagens celulares humanas, como HEK-293, CaCo-2 e A549, em concentrações superiores a 500 μM. Esses dados fornecem evidências claras da eficácia desses compostos contra *L. (V.) braziliensis*, um dos agentes causadores da Leishmaniose Tegumentar e da Leishmaniose Mucocutânea na América [60].

Os dados até o presente momento sugerem que os compostos de guanidina são potenciais moléculas antileishmania, e mais estudos precisam ser realizados para entender completamente seu mecanismo de ação uma vez que esses compostos podem se tornar medicamentos.

1.4 Isomerismo *E/Z*

Substâncias biologicamente importantes podem apresentar isomerização, e conhecer as formas isoméricas dessas substâncias é crucial na elaboração de novos fármacos. A partir da ligação π presente no núcleo guanidínico, somada à sua capacidade de estabilizar carga positiva (Figura 4), ocorrem estruturas isoméricas do tipo *E/Z* (entgegen, do alemão "oposto"; zusammen, do alemão "junto").

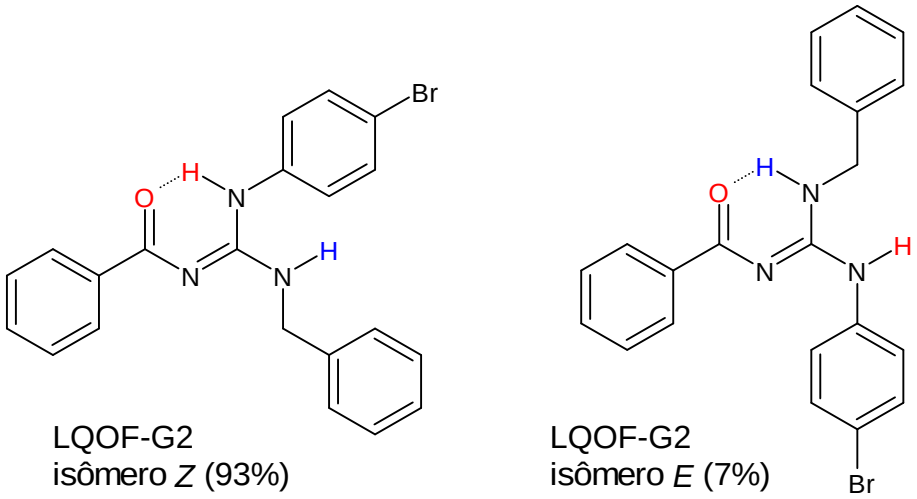
Figura 4 – Estruturas tautoméricas de interconversão em equilíbrio químico do núcleo guanidínico.



A compreensão estrutural e conformacional de compostos é essencial para o entendimento de inúmeras funções biológicas e do funcionamento de sistemas *in vivo*. Isso é particularmente importante devido à especificidade de interação fármaco-receptor.

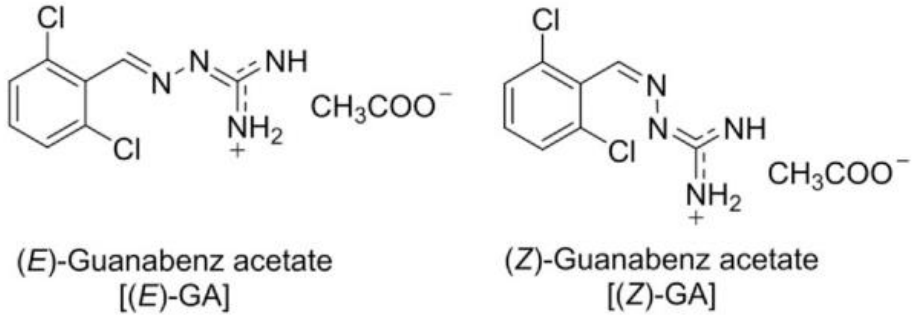
No caso das guanidinas, apesar da estabilização das estruturas tautoméricas pelo efeito de ressonância, a configuração dos isômeros *E/Z* é determinada pela dupla ligação entre o carbono central do núcleo guanidínico e o nitrogênio ligado à carbonila. Os isômeros *E* e *Z* são ambos estabilizados pela formação de uma ligação de hidrogênio entre o átomo de oxigênio e o hidrogênio de uma das aminas, resultando em um pseudociclo de seis membros, conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5 – Estabilização dos isômeros *E* e *Z* de compostos guanidínicos por meio da formação de um pseudociclo de seis membros.



Xie et al. (2021) [61] relataram pela primeira vez um método confiável e sensível por LC-MS/MS para a determinação simultânea dos isômeros (*E*)- e (*Z*)-guanabenz (estruturas apresentadas na Figura 6). Este método foi completamente validado em plasma de camundongos, utilizando um procedimento simples e de baixo volume de precipitação de proteínas no plasma, apoiando o estudo farmacocinético nesses animais. O método bioanalítico desenvolvido foi aplicado com sucesso para explorar os perfis DMPK (Metabolismo de Medicamentos e Farmacocinética) de (*E*)-GA e (*Z*)-GA, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Este é também o primeiro relatório que documenta os comportamentos DMPK do (*Z*)-guanabenz, distinguindo-o do já bem estudado (*E*)-guanabenz.

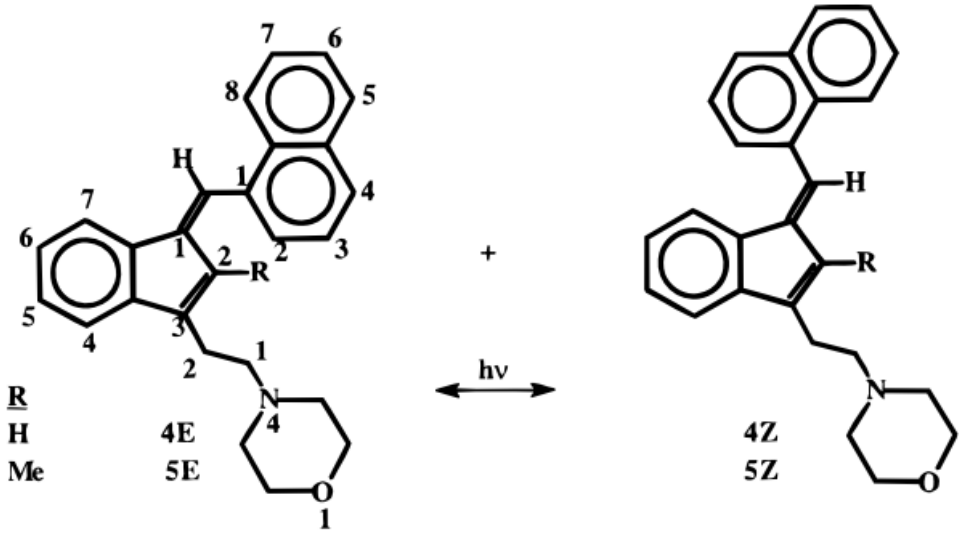
Figura 6 – Estruturas dos isômeros (E) e (Z) do acetato de Guanabenz.



Fonte: Retirado de Xie, J. et al. (2021) [61].

P. H. Reggio et al. (1998) [62] relataram a diferença na atividade dos isômeros *E/Z* em relação aos receptores canabinoides, que são parte do sistema endocanabinoide dos vertebrados, pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G e possuem sete domínios transmembranares. Existem dois subtipos principais de receptores: CB1, expresso principalmente no cérebro, pulmões, fígado e rins; e CB2, encontrado principalmente no sistema imunológico, células hematopoiéticas e algumas partes do cérebro. Nos compostos aminoalquil indenos estudados, os isômeros geométricos *E* dos compostos 4 (R = H) e 5 (R = Me) apresentam maior afinidade e valores médios de potência farmacológica mais elevados no receptor CB1 em comparação com seus correspondentes isômeros geométricos *Z*. Da mesma forma, os resultados mostram que os isômeros geométricos *E* também possuem maior afinidade no receptor CB2 do que seus isômeros *Z* correspondentes. As estruturas dos compostos estão ilustradas na Figura 7.

Figura 7 – Estruturas dos isômeros (*E*) e (*Z*) dos compostos aminoalquil indenos 4 (R = H) e 5 (R = Me).



Fonte: Retirado de P. H. Reggio, et al. (1998) [62].

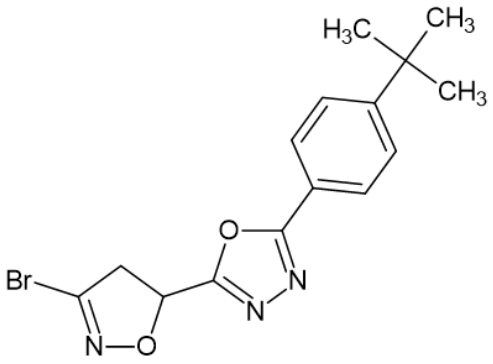
Diversos estudos relatam diferenças na atividade de isômeros geométricos do tipo *E/Z*, demonstrando que essa variação não se restringe apenas a compostos guanidínicos. Portanto, entender e identificar qual isômero *E/Z* é predominante em cada situação é fundamental para modelar com precisão a interação fármaco-receptor [63,64].

1.5 Compostos Bromados

Diversos estudos têm demonstrado o potencial de compostos bromados no combate à Leishmania, incluindo guanidínicos como o composto já citado LQOF-G2. Carballeira, N. M. et al. (2019) realizaram uma comparação entre análogos de ácidos 2-alil-3-halo-2-nonadecenoicos, contendo Bromo e Cloro. O composto bromado mostrou citotoxicidade seletiva contra amastigotas de *Leishmania infantum* ($IC_{50} = 2{,}5$ μM) em relação às promastigotas ($IC_{50} > 25$ μM), enquanto o análogo clorado apresentou menor eficácia (IC_{50} = 18,5 μM em amastigotas e $IC_{50} > 250$ μM em promastigotas) [65].

Galbiati, A. et al. (2021) investigaram 23 compostos potenciais para o tratamento da malária e leishmaniose, incluindo *L. infantum* e *L. tropica*. Dentre esses, o composto bromado 12 destacou-se por sua atividade micromolar contra Leishmania e potência nanomolar contra malária [66].

Figura 8 – Estrutura do composto bromado 12 com atividade antileishmania e antimalárica.



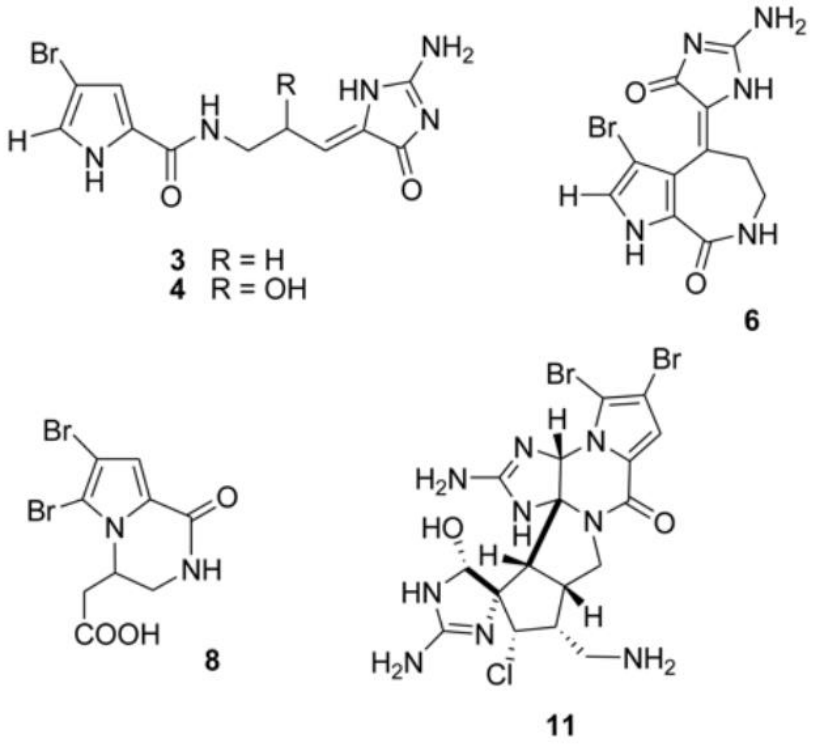
ANTIMALARIA
IC_{50} = 0.035 uM

ANTILEISHMANIA
IC_{50} = 0,29 uM (*L. Infantum*)
IC_{50} = 0,31 uM (*L. Tropica*)

Fonte: Adaptado de Galbiati, A. et al. (2021) [66].

Scala et al. (2010) avaliaram a atividade *in vitro* de compostos bromados contra quatro protozoários parasitas: *Trypanosoma brucei rhodesiense, T. cruzi, Leishmania donovani e Plasmodium falciparum* (uma cepa de malária resistente à cloroquina). Os compostos longamida B (8) e dibromopalau'amina (11) mostraram-se promissores como agentes tripanocidas e antileishmania, enquanto dispacamida B (3) e espongiacidina B (6) apresentaram significativa atividade antimalárica, com baixa ou nenhuma toxicidade para células de mamíferos [67].

Figura 9 – Estruturas dos compostos bromados com maior atividade antiparasitária.

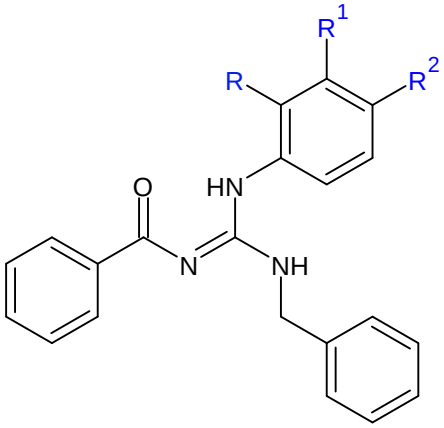


Fonte: Adaptado de Scala et al. (2010) [67].

1.6 Guanidinas alvo

Considerando que o composto bromado LQOF-G2 e o composto não bromado LQOF-G6, dentre todos os compostos de guanidina estudados pelo grupo de pesquisa LQOF, se destacam, juntamente com outros compostos bromados promissores relatados na literatura, este trabalho foca no estudo de guanidinas trissubstituídas que já possuem átomos de bromo em suas estruturas, conforme mostrado na Figura 10. Além disso, foram realizadas reações de bromação para introduzir átomos de bromo adicionais nesses compostos.

Figura 10 – Estrutura geral das guanidinas previamente sintetizadas no LQOF.



LQOF-G2	R=R^1=**H**	R^2=**Br**
LQOF-G6	R=R^1=**H**	R^2=***t*-Bu**
LQOF-G35	R^1=R^2=**H**	R=**Br**
LQOF-G36	R=R^2=**H**	R^1=**Br**
LQOF-G30	R^1=**H**	R=R^2=**Br**

Essas guanidinas foram previamente sintetizadas no Laboratório de Química Orgânica Fina e Ressonância Magnética Nuclear (LQOF-RMN) sob a coordenação do Professor Dr. Eduardo René Pérez González, localizado na UNESP (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho") campus de Presidente Prudente.

1.7 Estudo da reação de bromação em compostos guanidínicos

O processo de bromação se caracteriza pela reação química resultante na adição de um ou mais átomos de bromo em um composto orgânico, conferindo ao produto novas propriedades. Essa reação é amplamente utilizada em diversas indústrias químicas como um passo intermediário em inúmeras sínteses. A adição de um átomo de bromo ao composto inicial permite sua substituição futura por outros grupos funcionais ou até mesmo por um esqueleto de carbono [68]. Portanto, a reação de bromação é empregada em larga escala na produção de compostos químicos em geral [69-72].

As ligações entre os átomos de carbono-bromo (C-Br) são formadas a partir do ataque eletrofílico a ligações π (duplas ou triplas) quando esse processo é realizado por reações de adição eletrofílica. A molécula de bromo (Br_2) é um eletrófilo moderadamente forte cuja reatividade pode ser aumentada com ácidos ou agentes oxidantes fortes. A oxidação pode ser uma reação colateral nas bromações eletrofílicas. O bromo pode ser introduzido por meio de mecanismos do tipo SN_2 usando fontes de ânion brometo ou, mais comumente, via desoxibromação. A reação de bromação radical também é uma via comum para brometos de alila e benzila. Vários reagentes de bromação podem atuar como fontes eletrofílicas e radicais de "Br", dependendo das condições de reação e da presença ou ausência de iniciadores radicais [73].

A molécula de bromo (Br_2) dificilmente é utilizada como fonte de bromo devido às suas propriedades físicas e químicas indesejáveis: é um líquido denso (3,1 g/cm³), fumegante (alta pressão de vapor), com odor desagradável e sufocante, além de ser corrosivo para o tecido humano na forma líquida e seus vapores irritarem os olhos e a garganta. A inalação de vapores de bromo é altamente tóxica, causando tosse, queimação na garganta, respiração ofegante e até asfixia [69].

Em busca de métodos mais seguros e "verdes" para realizar reações de bromação, que evitem o excesso molar de bromo e utilizem uma fonte de bromo menos reativa, um processo reacional com menores problemas de segurança e geração controlada de resíduos perigosos, o NBS (N-bromo succinimida) se destaca. NBS é um sólido cristalino branco com ponto de fusão de 175-180 °C, fácil de manusear e frequentemente utilizado como agente de bromação e oxidação em várias reações de adição eletrofílica, adição radicalar e substituição eletrofílica [73-75].

No entanto, a utilização de NBS também cria subprodutos, como a succinimida e o ácido bromídrico, além de ter uma economia de átomos reduzida, já que apenas um átomo de bromo dos 12 átomos totais na molécula de NBS é utilizado na bromação. Devido à maior eletronegatividade do nitrogênio, o átomo de bromo do NBS fica parcialmente carregado positivamente e, portanto, eletrofílico, pronto para ser atacado por um nucleófilo (por exemplo, um alceno). A figura abaixo ilustra a densidade de carga na ligação N-Br.

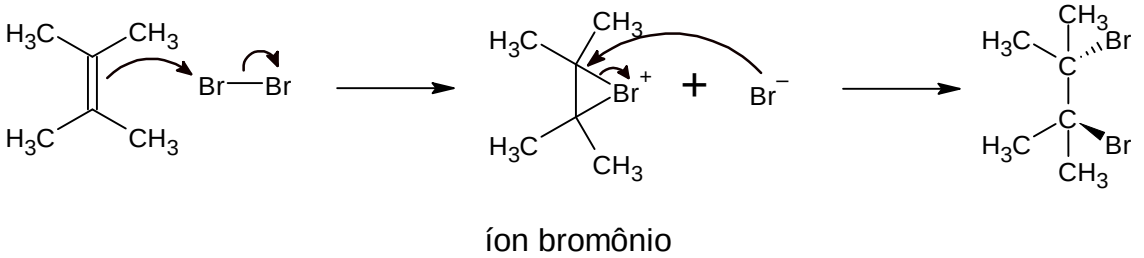
Figura 11 – Densidade de cargas parciais na estrutura do NBS.

Este método proporciona um meio mais seguro e ambientalmente amigável para realizar reações de bromação, minimizando os riscos e resíduos associados ao uso de Br_2.

O mecanismo da reação de bromação pode ocorrer de diferentes maneiras: por adição, por um mecanismo de radical livre ou por substituição eletrofílica.

A bromação por meio de uma reação de adição [55] ocorre em compostos insaturados através do intermediário íon bromônio. Esta reação é comumente utilizada para verificar a presença de insaturação em compostos.

Figura 12 – Mecanismo de bromação por reação de adição com formação do íon bromônio.



Fonte: Mecanismo adaptado de Slebocka-Tilk, H. et al. 1985 [76].

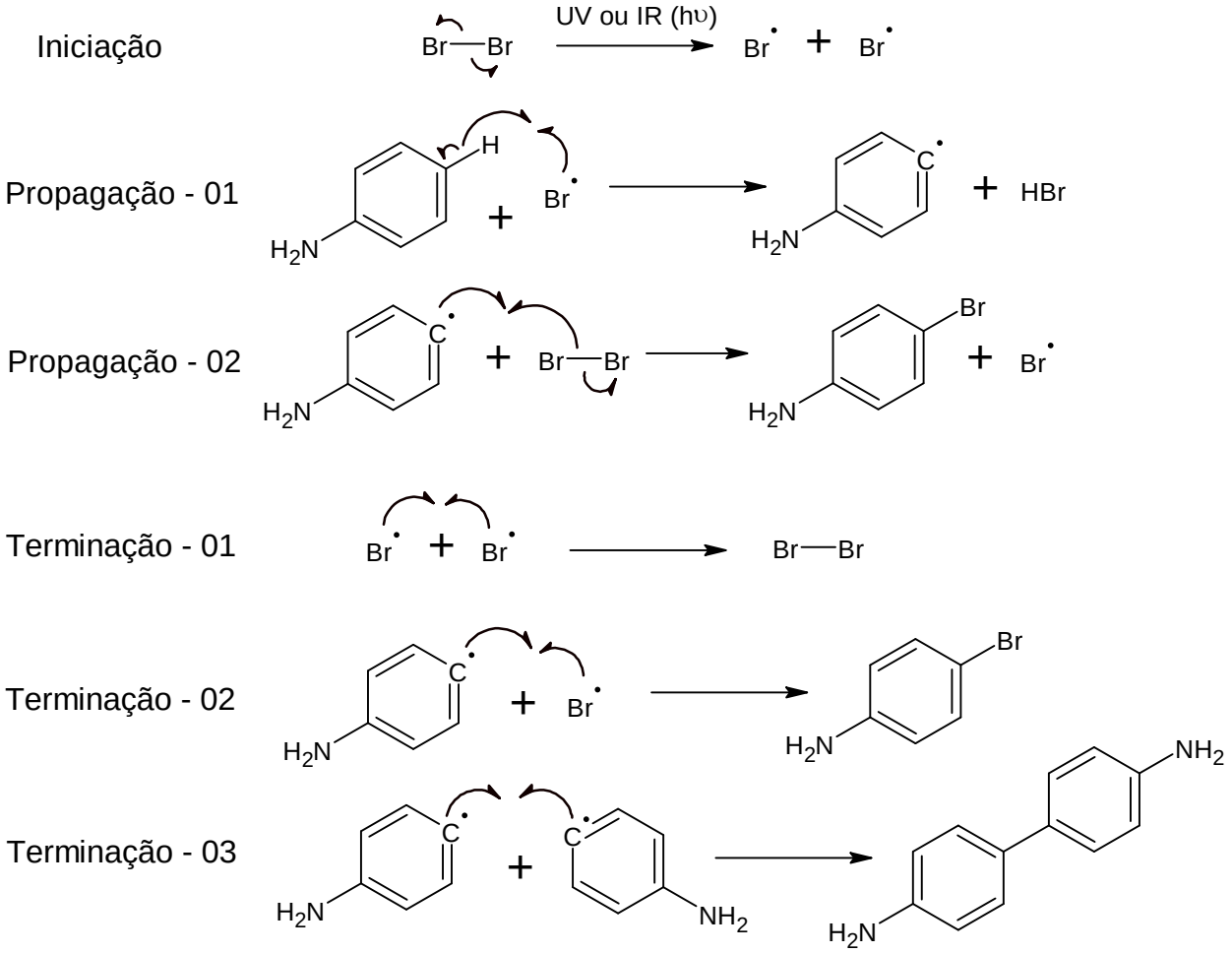
A reação bromação realizada por meio do mecanismo de radical livre [77,78] pode ocorrer em compostos tanto saturados quanto insaturados e depende da formação do bromo radicalar, que pode ser realizada através de aquecimento ou radiação luminosa.

Na etapa de iniciação, a ligação Br-Br da espécie bromo *in situ* sofre fissão homolítica, resultando na formação de dois radicais de bromo. Nessa etapa, a fonte de irradiação ou calor atua como agente ativador.

Na etapa de propagação, um radical de bromo é protonado pelo composto reagente, formando ácido bromídrico e o composto reagente radicalar. Em seguida, o composto radicalar abstrai um átomo de bromo de uma molécula de bromo, produzindo o composto bromado. Esta etapa está associada à regeneração dos átomos de bromo e é repetida várias vezes até a reação chegar ao término.

Na etapa de terminação, um átomo de bromo pode se combinar com outro átomo de bromo para produzir Br_2, um átomo de bromo pode reagir com o composto radicalar para formar o composto bromado, ou ainda, dois compostos reagentes radicalares podem se ligar entre si para produzir um novo composto.

Figura 13 – Bromação através do mecanismo de radical livre.

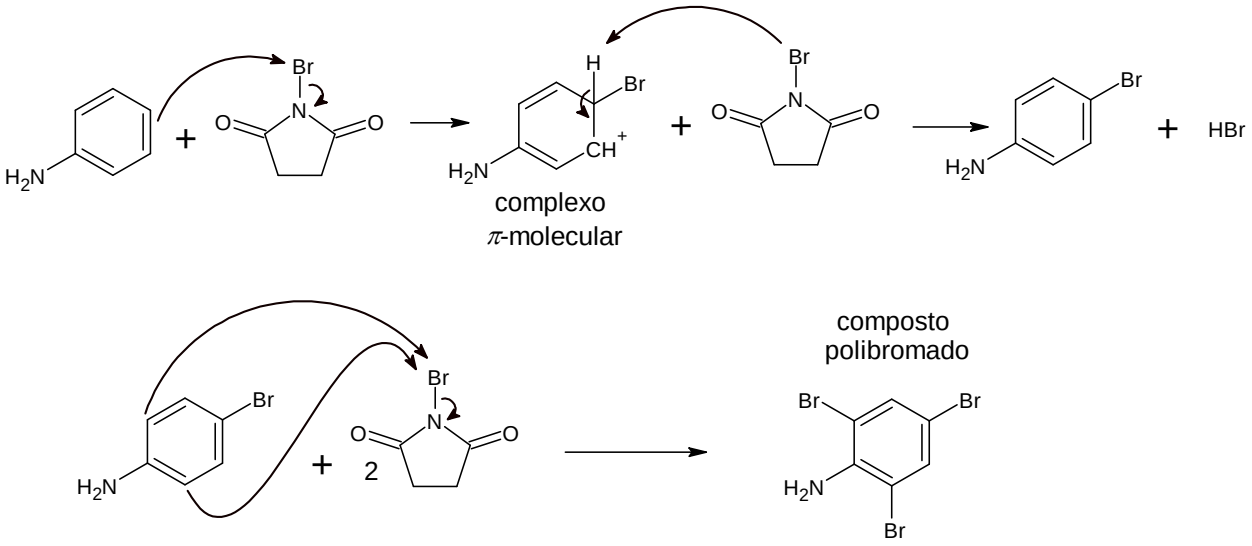


Fonte: Adaptado de McMillen, D. W. et al. 1994 [78].

Por fim, na reação de bromação por um mecanismo de substituição eletrofílica [79], o composto reagente atua como nucleófilo e a fonte de bromo como eletrófilo. Como já comentado, o bromo na molécula de NBS está parcialmente carregado positivamente devido à alta eletronegatividade do nitrogênio e, portanto, pode atuar como eletrófilo.

O benzeno, por exemplo, no composto reagente, é rico em elétrons e pode atacar o bromo eletrofílico. Esta etapa produz um carbocátion intermediário. Por fim, o anel é desprotonado pela própria succinimida para restaurar sua aromatização.

Figura 14 – Mecanismo de bromação via substituição eletrofílica.



Fonte: Adaptado de R. S. Brown. 1997 [79].

Esta revisão detalha os mecanismos fundamentais da bromação, ressaltando as diferentes etapas e processos envolvidos, proporcionando uma compreensão abrangente das reações químicas associadas.

Além disso, foi relatado que a bromação com NBS na presença de um catalisador ácido frequentemente ocorre via mecanismo de substituição eletrofílica em compostos aromáticos [80]. Para as reações de bromação dos compostos guanidínicos, optou-se pelo uso do NBS como fonte de bromo, devido às suas vantagens em relação ao uso direto da espécie in situ Br_2. O uso do NBS é oportuno devido à sua ampla aplicação em bromações de compostos orgânicos insaturados na posição alílica ou benzílica (ou na posição α da cadeia lateral de outros compostos aromáticos) [81].

A literatura cita a utilização de NBS combinado com o cátion tritil ($TrBF_4$) como organocatalisador seletivo, ativado por irradiação de luz fluorescente (55W FL) à temperatura ambiente [82]. Também é mencionada a bromação de hidrocarbonetos com CBr_4 como fonte de bromo, induzida por irradiação com diodo emissor de luz (LED) sem a necessidade de aditivos, catalisadores, aquecimento ou condições inertes [83]. Outra reação de bromação benzílica relatada utiliza NBS e é ativada por LED em reatores de fluxo contínuo, conforme descrito por David Cantillo et al. [84], usando acetonitrila como solvente, a reação se completa em minutos sob condições suaves, sem a necessidade de iniciadores radicais.

Como podemos observar, há uma ampla possibilidade de ativação da reação de bromação utilizando NBS. Além disso, existe uma grande variedade de procedimentos

publicados que empregam diferentes solventes, como CCl_4, $CHCl_3$, CH_2Cl_2, hexano, ciclohexano, DMF, CH_3CN, CH_3OH e THF [85-90].

Para a ativação da reação de bromação com NBS, optou-se pela utilização de uma lâmpada de infravermelho de 150 Watts. Apesar da necessidade de energia, essa lâmpada simula a radiação solar, sendo que já foi reportado que, com o auxílio de lentes convergentes, foi possível realizar a bromação de compostos com NBS à luz solar [91].

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elucidar questões estruturais e conformacionais de compostos guanidínicos através de estudos de ressonância magnética nuclear (RMN) e difração de raios X de monocristal (SCDRX).

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a bromação dos compostos guanidínicos.
- Caracterizar os compostos guanidínicos utilizando RMN e SCDRX.
- Medir a proporção (%) entre os isômeros E/Z para cada composto em solução, sem a necessidade de atingir temperaturas muito baixas.
- Avaliar a influência dos grupos substituintes na dinâmica estrutural dos compostos.
- Aumentar a quantidade de átomos de bromo nos compostos guanidínicos através de reações de bromação.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Os compostos guanidínicos alvos deste trabalho foram sintetizados no Laboratório de Química Orgânica Fina e Ressonância Magnética Nuclear (LQOF e RMN) sob a coordenação do professor Dr. Eduardo René Pérez González. Os reagentes e solventes utilizados nas sínteses foram obtidos da Sigma-Aldrich e utilizados sem nenhuma purificação prévia. Para as análises de RMN foi utilizado o equipamento de ressonância magnética nuclear RMN – AVANCE-III HD – BRUKER ® – 500 MHz, de campo magnético de 11,746 teslas. Como solvente deuterado para realização das análises foi utilizado clorofórmio $CDCl_3$, 99,8% atom %D, contendo 0,03% de tetrametilsilano (TMS) adquirido da Sigma-Aldrich.

3.2 Síntese das guanidinas

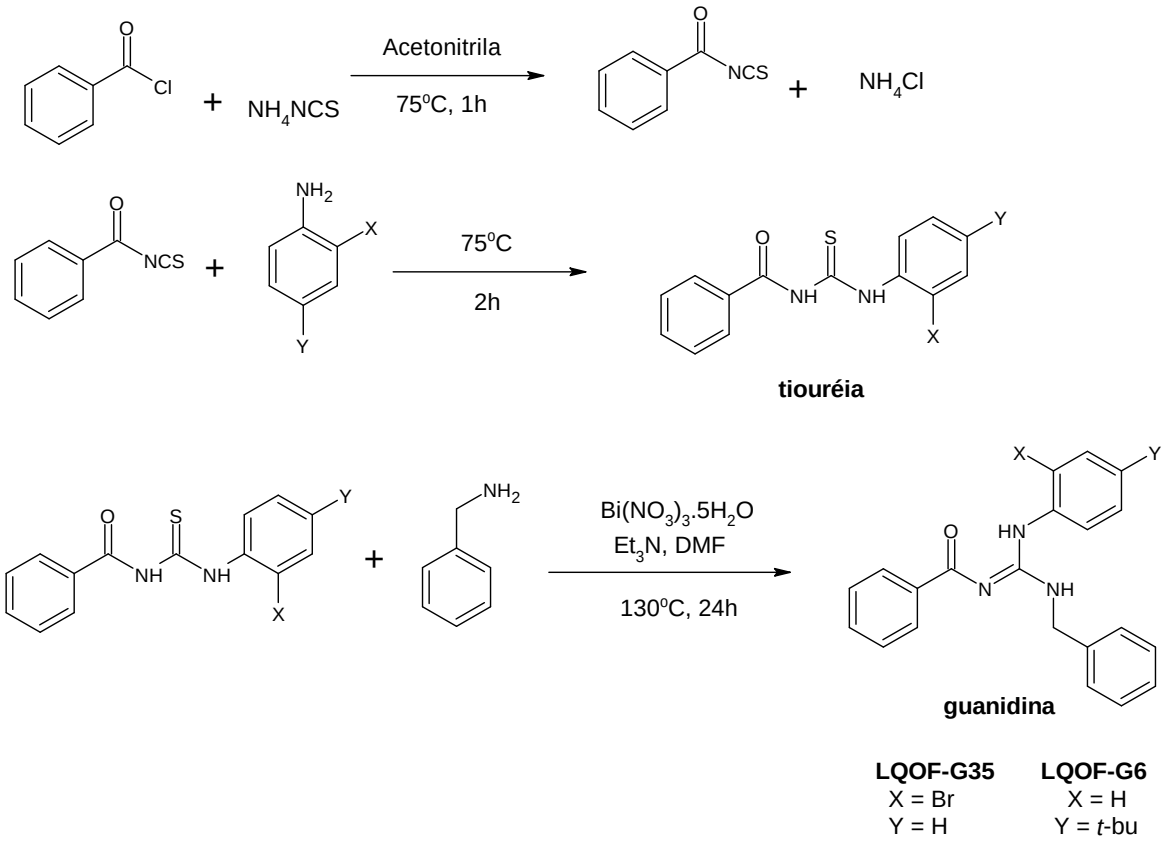
As guanidinas utilizadas neste estudo já haviam sido sintetizadas previamente no nosso grupo de pesquisa LQOF. Contudo para as guanidinas LQOF-G35 e LQOF-G6 foi necessária a realização de nova síntese.

Para a síntese das guanidinas é realizada a síntese das tiouréias intermediárias. Em um balão de fundo redondo, isotiocianato de amônio (10 mmol) foi dissolvido em acetonitrila (~ 20 mL) e então adicionou-se lentamente o cloreto de benzoíla (1.40 g, 10 mmol). Em poucos instantes observou-se a formação de um sólido branco (cloreto de amônio), e então deixou-se a mistura resultante sob agitação e refluxo por 1 hora a 75°C. Ao término do tempo, a solução foi filtrada utilizando um funil de Buchner e papel de filtro, removendo-se o cloreto de amônio formado. Em seguida, adicionou-se 10 mmol de uma das anilinas sobre a solução de isotiocianato de benzoíla em acetonitrila. Em poucos instantes, nota-se a formação de um precipitado (que corresponde à respectiva tiouréia). A mistura reacional ficou sob agitação e refluxo por duas horas, quando a agitação foi interrompida e deixou-se esfriar até atingir a temperatura ambiente. Então o balão foi colocado no congelador por 10 minutos e realizou-se a filtragem utilizando-se um funil de Buchner e papel de filtro. O sólido no papel de filtro foi lavado com pequenas porções de acetonitrila gelada, e então obteve-se o resíduo cru em bons rendimentos.

A partir da tiouréia intermediaria segue-se com a síntese da respectiva guanidina. Para uma solução de 1 mmol de tiouréia dissolvido em 5 mL de DMF, foi adicionado 2 mmol de benzilamina, 4 mmol de trietilamina e 1 mmol de $Bi(NO_3)_3.5H_2O$. A solução ficou preta após poucos minutos e a mistura foi aquecida e agitada por 24 horas a 120°C. Após o tempo de reação, esperou-se a solução atingir temperatura ambiente e a suspensão foi filtrada usando um

bloco de celite em um funil de Buchner de vidro com placa porosa. Esse bloco foi lavado com ~ 20 mL de diclorometano. O filtrado foi transferido para um funil de separação onde se realizou a remoção das impurezas através de extração com água (4 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, e após filtragem foi evaporada. O resíduo cru obtido após a evaporação do solvente foi recristalizado em uma mistura éter etílico/éter de petróleo (4:1 v/v).

Figura 15 – Esquema reacional da síntese das guanidinas com formação das tiouréias intermediárias.



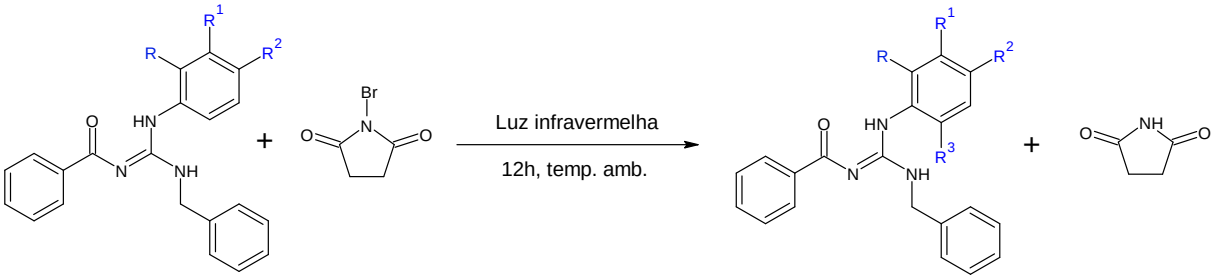
Fonte: Adaptado de Cunha S. et al. (2002) [92].

3.3 Reação de Bromação com NBS ativada por irradiação IV.

Para as reações de bromação dos compostos, foi utilizado o reagente N-bromossuccinimida (NBS) com ativação por infravermelho. A ativação da reação foi realizada utilizando uma lâmpada infravermelha de 150 Watts, posicionada a 10 cm do balão de reação, durante o tempo de reação. A razão molar guanidina utilizada foi de 1,0 mol de guanidina para 1,4 mol de NBS. Para cada guanidina foi utilizado aproximadamente 1mmol, ou seja, para LQOF-G2, LQOF-G35 e LQOF-G36 foi utilizado 400 mg, LQOF-G6, 380 mg e, LQOF-G30, 480 mg em cada reação bromação. Após 12 horas, a mistura reacional foi resfriada a 10°C e lavada com água. Em seguida, a camada orgânica (diclorometano) foi separada e seca sobre

sulfato de magnésio. A solução orgânica seca foi filtrada, o solvente evaporado, e o produto purificado a partir de uma mistura de éter de petróleo e éter dietílico (9:1 v/v). A suspensão resultante foi filtrada e o sólido seco sob pressão reduzida. O produto foi então solubilizado em etanol com auxílio de ultrassom e cristalizado em etanol [93].

Figura 16 – Esquema reacional da bromação das guanidinas.



Guanidinas de partida			Guanidinas bromadas		
LQOF-G2	R=R^1=H	R^2=**Br**	**LQOF-G2-Br**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G6	R=R^1=H	R^2=***t*-Bu**	**LQOF-G6-Br**	R^1=H	R^2=***t*-bu**; R=R^3=**Br**
LQOF-G35	R^1=R^2=H	R=**Br**	**LQOF-G35-Br**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G36	R=R^2=H	R^1=**Br**	**LQOF-G36-Br**	R=R^2=H	R^1=R^3=**Br**
LQOF-G30	R^1=H	R=R^2=**Br**			

Fonte: Autoria própria.

3.4 Cristalização

Para a obtenção de monocristais dos compostos guanidínicos e posterior análise por SCDRX, cada composto, previamente purificado e seco (~30 mg), foi dissolvido em etanol (~5 mL) dentro de um béquer. A solubilização completa foi alcançada utilizando um banho de ultrassom com aquecimento a 50°C por aproximadamente 30 minutos. Após a dissolução, um vidro de relógio foi colocado sobre o béquer para minimizar a evaporação do etanol, e a solução foi armazenada em um congelador frost free (<4°C) por cerca de 15 dias. Os cristais formados foram então coletados, secos e preparados para as análises subsequentes.

3.5 Ponto de fusão

Os pontos de fusão (pf) foram determinados usando um aparelho Quimis Q-340 M com microprocessador WRS-2. As amostras foram colocadas em tubos capilares fechados em uma das extremidades. As temperaturas de pré-aquecimento e final da rampa foram selecionadas como 60 ºC e 300 ºC, respectivamente. A taxa de aquecimento utilizada foi de 2,0 ºC/min.

3.6 Análise de Ressonância Magnética Nuclear.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma ferramenta essencial na ciência para a identificação, elucidação e quantificação de compostos em fases líquida e sólida. Permite determinar a estrutura química dos compostos e também fornece informações sobre a conectividade dos átomos, as configurações espaciais e até mesmo as dinâmicas moleculares em solução [20,93-96].

O equipamento de RMN utilizado foi o Bruker Avance III-HD – 500 MHz, com campo magnético de 11,746 teslas. A sonda utilizada nas análises foi a Smart Probe BBFO-Z plus broadband, com diâmetro de 5 mm para amostras líquidas, capaz de analisar núcleos de ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N, ^{19}F e ^{31}P. O equipamento possui gradiente de campo magnético e opera na faixa de temperatura de -40 a 80°C. Este equipamento de RMN está localizado no Laboratório de Química Orgânica Fina e RMN, na UNESP, campus de Presidente Prudente, sob a responsabilidade do professor Dr. Eduardo R. P. González. Todas as análises foram realizadas pelo próprio aluno.

Os espectros de RMN de ^{1}H, ^{13}C e ^{15}N foram obtidos a 500,16 MHz, 125,765 MHz e 50,681 MHz, respectivamente. Os deslocamentos químicos para os espectros de ^{1}H e ^{13}C foram referenciados utilizando tetrametilsilano (TMS). As análises foram realizadas em solução de $CDCl_3$, com variação de temperatura para cada experimento. Todos os sinais (deslocamentos químicos) foram reportados em ppm. Os dados foram apresentados da seguinte forma: deslocamento químico (δ), multiplicidade (s = singlete, d = dublete, dd = dubleto de dubletes, t = triplete, qua = quadruplete, qu = quintete, m = multiplete, br s = singlete largo), integração e constante de acoplamento (em Hertz).

Para a determinação das proporções entre os isômeros E/Z em solução para cada composto guanidínico, inicialmente foi preciso determinar com precisão o deslocamento dos sinais dos hidrogênios do centro guanidínico para cada isômero (NH1 e NH2 para o isômero Z; NH1' e NH2' para o isômero E). Esses sinais foram confirmados por meio de correlações heteronucleares 1H-13C. A proporção de cada isômero em solução foi então obtida a partir das integrais absolutas de cada sinal, ou seja, somaram-se as integrais dos hidrogênios do centro guanidínico de ambos os isômeros, e, posteriormente, calculou-se a porcentagem de cada isômero individualmente.

3.7 Análise de Difração de Raios X.

As análises de Difração de Raios X foram realizadas em parceria com o Professor Javier Alcides Ellena, do Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da Universidade de São Paulo

(USP). O aluno de pós-doutorado Pedro Henrique de Oliveira Santiago foi o responsável pelas análises de DRX, bem como pelo tratamento dos resultados.

3.7.1 Difração de raios X de monocristal (SCDRX)

A difração de raios X (DRX) é uma técnica poderosa e amplamente utilizada para a caracterização estrutural de materiais cristalinos. Baseia-se no princípio de que, quando raios X incidem sobre um material cristalino, eles são difratados pelos átomos dispostos em padrões regulares, gerando um padrão característico de reflexões que pode ser analisado para determinar a estrutura atômica tridimensional do material [93].

As análises de DRX de monocristais foram realizadas a 100 K utilizando um difratômetro Rigaku XtaLAB Synergy-S Dualflex equipado com detector HyPix 6000HE e radiação Cu Kα (1,54184 Å). A coleta de dados, refinamento celular, redução de dados e correção de absorção foram realizadas utilizando o software CrysAlisPro [81]. O método de faseamento intrínseco do programa SHELXT-2018/2 [82] foi utilizado para resolver as estruturas, enquanto o refinamento dos átomos não-hidrogênio foi realizado com minimização não linear de mínimos quadrados em F2, utilizando o programa SHELXL-2019/2 [83], considerando parâmetros de deslocamento anisotrópico. Os átomos de hidrogênio foram posicionados em locais idealizados utilizando o modelo de equitação, e suas posições, especialmente as dos hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio do grupo guanidina, foram confirmadas por meio de análises dos mapas de densidade eletrônica. O software Olex2 [84] foi utilizado tanto para a solução e refinamento das estruturas quanto para a geração das ilustrações gráficas.

Os dados cristalográficos dos compostos estudados encontram-se em arquivos CIF para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br que foram depositados no Cambridge Structural Data Base, CCDC 2320314 e 23200315, respectivamente. Esses dados podem ser obtidos gratuitamente via http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html.

3.7.2 Análises de superfície de Hirshfeld

As superfícies de Hirshfeld das guanidinas e seus gráficos de impressões digitais 2D foram gerados a partir dos Arquivos de Informações Cristalográficas (CIFs), utilizando o pacote de programas CrystalExplorer 17.5 [97]. As superfícies foram mapeadas usando o parâmetro dnorm, nas escalas de -0,56 (vermelho) a 1,61 (azul) para LQOF-G35, e de -0,21 (vermelho) a 1,30 (azul) para LQOF-G35-Br. Os gráficos de impressões digitais 2D foram obtidos combinando as distâncias di e de, usando uma escala de 0,4 a 3,0 Å.

3.8 Análise de Espectrometria de Massas

3.8.1 Espectrometria de massa de ionização eletrônica

A espectrometria de massas é uma técnica analítica poderosa utilizada para identificar compostos químicos com base na massa molecular e na estrutura de suas moléculas. Ela opera pelo princípio de ionizar a amostra, separar e detectar íons com base em suas massas e razões massa/carga, permitindo a identificação precisa de compostos, mesmo em misturas, e proporcionando informações detalhadas sobre sua composição molecular e estrutural.

Os espectros de massa das guanidinas foram adquiridos por introdução direta (DI) utilizando a espectrometria de massas com um equipamento Shimadzu QP-2010 Plus equipado com ionização eletrônica (EI). Os parâmetros da análise foram configurados da seguinte forma: temperatura da interface a 240 °C; câmara de ionização a 300 °C; tempo de corte do solvente de 0,5 minutos; tempo inicial de 0,7 minutos; tempo final de 25 minutos. O programa de temperatura DI foi iniciado a 50 °C, com um aquecimento de 20 °C/min até 350 °C, seguido por um tempo de espera de 10 minutos. A análise foi realizada utilizando acetonitrila e diclorometano como solventes, e a energia de ionização aplicada foi de 70 eV.

3.8.2 HRESIMS

As análises de espectrometria de massas com ionização por eletrospray de alta resolução (HRESIMS) foram conduzidas em colaboração com o Professor Dr. Eduardo Cilli Maffud do Instituto de Química da UNESP de Araraquara.

A análise UPLC-ESI-QTOF-MS/MS foi realizada utilizando um sistema UHPLC Waters, composto por uma bomba quaternária QSM Acquity® HClass, um amostrador automático Acquity® Sample Manager – FTM e um detector de arranjo de diodos Acquity® PDAeλ, acoplado ao espectrômetro de massas Waters Xevo® G2-XS. Este espectrômetro é equipado com uma fonte de ionização por eletrospray (ESI), um analisador quadrupolo, uma célula de colisão e um analisador de tempo de voo (TOF). A separação cromatográfica foi realizada em modo gradiente, utilizando uma solução de ácido fórmico a 0,1% (v/v) como fase móvel, com água ultrapura (componente A) e acetonitrila acidificada com ácido fórmico a 0,1% (v/v) como componente B. As corridas cromatográficas foram conduzidas com uma vazão de 0,5 mL/min, começando com 5% do componente B. A força de eluição foi programada para aumentar o %B para 100% ao longo de 5 minutos.

A separação foi realizada em uma coluna de fase reversa Waters Acquity® UPLC HSS T3 (C18), com partículas de 1,8 μm, 2,1 mm de diâmetro interno e 100 mm de comprimento.

O volume de injeção foi de 0,2 µL. Os espectros foram adquiridos no modo positivo, na faixa de m/z 100 a 1500. As tensões capilares de eletropulverização e cone de transferência foram ajustadas para +2,5 kV e 20 V, respectivamente. As temperaturas da fonte ESI e do gás de dessolvatação foram configuradas para 120,0 °C e 350,0 °C, respectivamente. A aquisição dos espectros MS/MS foi realizada no modo Fast DDA (Data Dependent Acquisition), com fragmentação de íons somente para aqueles com intensidade acima de 100. A fragmentação foi conduzida aplicando uma rampa de tensão, variando de 10 a 40 eV para m/z 100 e de 40 a 70 eV para m/z 1500.

3.9 Dados dos compostos

***terc*-butil benzil carbamato (Benzilamina+Boc).** Rendimento do produto isolado 95%. MM: 207.27 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 54.6-55.3 °C. ^{1}H RMN 298K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.32 – 7.22 (m, 5H), 4.99 (s, 1H), 4.28 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 155.9 (C=O), 139.0 (C), 128.6 (CH), 127.4 (CH), 79.4 (C), 44.6 (CH), 28.4 (CH). EI-MS (m/z 192).

***terc*-butil [(2-bromofenil)metil]carbamato (Benzilamina+Boc+Br).** Rendimento 60%. MM: 285.03 g.mol^{-1}. Sólido translúcido. Ponto de fusão: 162,5 e 164,3 ºC. ^{1}H RMN 298K (600.13 MHz, DMSO-d6) δ = 11.03 (s, 2H), 5.71 (s, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.55 (s, 9H). ^{13}C DEPT 135 RMN (39.51 MHz, DMSO-d6) δ = 179.7 (C), 29.7 (C).

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(4-bromofenil)guanidina LQOF-G2). Rendimento do produto isolado 69%. MM: 407.06 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 101.5-101.8 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.21 (s, 1H), 8.28 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.50 (q, 2H), 7.44 (t, 3H), 7.40 – 7.34 (m, 4H), 7.33 (m, 1H), 7.16 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 5.23 (t, 1H), 4.82 (d, J = 4,2 Hz, 2H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 177.8 (C=O), 158.2 (C=N), 138.2 (C), 137.9 (C), 134.6 (C), 133.2 (CH), 131.4 (CH), 129.0 (CH), 128.8 (CH), 128.7 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (CH), 127.3 (CH), 127.2 (CH), 120.1 (C-Br), 45.1 (N-CH2). δ *E* isômero = 11.25 (s, 1H). EI-MS (m/z 406).

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(2-bromofenil)guanidina (LQOF-G35). Rendimento do produto isolado 83%. MM: 407.06 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 103-104 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.33 (s, 1H), 8.30 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7.69

(d, J = 7,9 Hz, 1H), 7.50 (q, 2H), 7.43 (t, 3H), 7.41 – 7.34 (m, 4H), 7.31 (m, 1H), 7.16 (t, 1H), 5.19 (t, 1H), 4.84 (d, J = 5,4 Hz, 2H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 177.7 (C=O), 158.1 (C=N), 138.2 (C), 137.8 (C), 134.6 (C), 134.0 (CH), 131.4 (CH), 129.1 (CH), 128.8 (CH), 128.7 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (CH), 127.5 (CH), 127.4 (CH), 121.2 (C-Br), 45.0 (N-CH2). δ *E* isômero = 11.28 (s, 1H). EI-MS (m/z 406). ESI(+)-MS m/z encontrado 408.0705, m/z calculado [$C_{21}H_{18}BrN_3O$ + H]+: 408.0706; ESI(+)-MS/MS: M+H – $C_6H_5CONH_2$]+ m/z 287.0175, [M+H–$C_{15}H_{12}N_2O$]+ m/z 171.9757, [M+H–$C_{13}H_{12}BrN_2$]+ m/z 122.0603.

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(2,4-dibromofenil)guanidina (LQOF-G30). Rendimento do produto isolado 71%. MM: 487.19 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 130.6 – 131.4 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.34 (s, 1H), 8.31 (d, 2H), 7.84 (s, 2H), 7.71 – 7.24 (m, 19H), 5.10 (t, 1H), 4.83 (d, 2H), 4.67 (t, 2H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 177.9 (C=O), 157.9 (C=N), 138.0 (C), 137.8 (C), 136.4 (C), 134.0 (CH), 131.7 (CH), 129.1 (CH), 128.8 (CH), 128.3 (CH), 127.9 (CH), 127.7 (CH), 127.1 (CH), 122.1 (CH), 121.0 (C-Br), 45.2 (N-CH2). δ *E* isômero = 11.37 (s, 1H). LC-UV/MS: 99.82%; ESI(+)-MS: m/z encontrado 485.9812, m/z calculado [$C_{21}H_{16}Br_2N_3O$+H]+: 487.9790; ESI(+)-MS/MS [M+H–$C_6H_5C(O)NH_2$]+ m/z 366.9258.

(*E*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(2,4,6-tri-bromofenil)guanidina (LQOF-G35-Br). Rendimento do produto isolado 60%. MM: 566.09 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 148-149 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *E* isômero 9.64 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.29 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 7.78 – 7.64 (m, 4H), 7.61 – 7.53 (m, 4H), 7.53 – 7.22 (m, 20H) 7.16 (t, 1H), 5.31 (t, 1H), 4.83 (d, J = 3,8 Hz, 2H); δ *Z* isômero 12.26 (s, 1H), 5.31 (s, 1H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 166.8 (C=O), 144.4 (C=N), 143.3 (C-Br), 138.0 (C), 134.5 (CH), 133.2 (CH), 132.6 (C), 129.1 (CH), 128.6 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (CH), 127.0 (CH), 119.3 (C), 115.4 (2C-Br), 45.0 (N-CH2). δ *Z* isomer = 12.26 (s, 1H), 5.31 (s, 1H). EI-MS (m/z 565): 77, 91, 105, 122, 285, 406, 486. HRESI-MS m/z encontrado 565.8898 [M+H]+ (calculado $C_{21}H_{16}Br_3N_3O_1$, 566.091, Δ= -0.2012 ppm). Fragmento iônico observado ESI(+)-MS/MS: [M+H–$C_{14}H_{11}BrN_2O$]+ m/z 486.5555.

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(4-*t*-butilfenil)guanidina (LQOF-G6). Rendimento do produto isolado 70%. MM: 385.51 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 122-125 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12,09 (s, 1H), 8,29 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 7,50 – 7,46 (m, 1H), 7,44 – 7,41 (m, 4H), 7,38 (m, 4H), 7,31 (s, 1H), 7,20 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 5,35 (s, 1H), 4.79 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 1.31 (s, 9H); ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 177.4 (C=O), 158.7

(C=N), 150.1 (C), 138.6 (C), 138.2 (C), 132.5 (C), 131.2 (CH), 128.9 (CH), 128.6 (CH), 127.8 (CH), 127.5 (CH), 127.4 (CH), 127.0 (CH), 125.4 (CH), 44.8 (N-CH2), 34.5 (C), 31.1 (CH3). EI-MS (m/z 384).

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(2,6-dibromofenil 4-*t*-butilfenil)guanidina (LQOF-G6-Br). Rendimento do produto isolado 60%. MM: 543.30 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 195.3-195.9 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.29 (s, 1H), 8.43 (d, 2H), 7.61 – 7.25 (m, 10H), 5.05 (s, 1H), 4.80 (d, 2H). ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 178.0 (C=O), 158.4 (C=N), 154.6 (C), 138.3 (C), 138.2 (C), 138.0 (C), 132.9 (CH), 131.3 (CH), 130.3 (CH), 129.6 (CH), 128.6 (CH), 127.8 (CH), 127.6 (CH), 127.2 (CH), 124.2 (C), 118.6 (C), 45.1 (N-CH2), 30.9 (CH3), 29.7 (C). δ *E* isômero = 8.43 (s, 1H). EI-MS (m/z 543).

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(4-bromofenil)guanidina (LQOF-G36). Rendimento do produto isolado 72%. MM: 407.06 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 86.2-86.6 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.30 (s, 1H), 8.25 (s, J = 7,3 Hz, 2H), 7.48 (m, 3H), 7.42 (m, 1H), 7.41 (m,1H), 7.39 (m, 1H), 7.37 (m, 4H), 7.31 (m, 1H), 7.19 (s, 1H), 4.78 (d, J = 5,3 Hz, 2H); ^{13}C NMR (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ ppm = 178.02 (C=O), 158.34 (N=C), 138.22 (C), 131.42 (C), 131.19 (C), 129.21 (2CH), 128.91 (3CH), 127.94 (2CH), 127.78 (1CH), 127.58 (3CH), 45.34 (CH2). δ *E* isômero = 11.25 (s, 1H). EI-MS (m/z 406); LC-UV/MS: 99.65%; ESI(+)-MS m/z encontrado 408.0705, m/z calculado $[C_{21}H_{18}BrN_3O+H]+$: 408.0706; ESI(+)-MS/MS: $M+H–C_6H_5CONH_2]+$ m/z 287.0169, $[M+H–C_{15}H_{12}N_2O]+$ m/z 171.9755, $[M+H–C_{13}H_{12}BrN_2]+$ m/z 122.0602.

(*Z*)-N-benzoil-N'-benzil-N"-(3,6-dibromofenil)guanidina (LQOF-G36-Br). Rendimento do produto isolado 63%. MM: 487.19 g.mol^{-1}. Sólido branco. Ponto de fusão: 124.6 – 128.6 °C. ^{1}H RMN 263K (500.16 MHz, $CDCl_3$) δ *Z* isômero = 12.42 (s, 1H), 9.33 (s, 2H), 8.28 (d, 2H), 7.61 – 7.28 (m, 17H), 5.36 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), ^{13}C RMN (125.765 MHz, $CDCl_3$) δ = 178.3 (C=O), 138.3 (C=N), 157.9 (C), 157.7 (C), 154.4 (C), 138.0 (C), 137.4 (C), 135.6 (C), 133.2 (CH), 132.7 (CH), 131.6 (CH), 129.1 (CH), 128.8 (CH), 127.9 (CH), 127.6 (CH), 127.4 (CH), 126.4 (CH), 125.6 (CH), 45.2 (N-CH2). δ *E* isômero = 11.40 (s, 1H), 4.58 (s, 2H). EI-MS (m/z 487).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em trabalhos anteriores no grupo LQOF, R. D. E. Santo et al. (2013) [98] estudaram o isomerismo *E/Z* de compostos guanidínicos tri substituídos utilizando técnicas de RMN (HSQC, HMBC e NOESY) a temperaturas de -60°C, e encontraram que para a molécula LQOF-G2, o isômero Z é predominante. Concluíram que compostos com *p*-substituintes na porção anilina, como *p*-Cl e *p*-Br, existem principalmente como isômeros *Z*, com uma pequena proporção do isômero *E*.

Diante desses resultados iniciais, decidimos expandir a investigação sobre derivados guanidínicos, focando na influência do bromo nesses compostos. Assim, sintetizamos os compostos LQOF-G2, LQOF-G6, LQOF-G30, LQOF-G35 e LQOF-G36, anteriormente preparados pelo grupo de pesquisa LQOF. Realizamos a bromação desses compostos utilizando NBS ativado por luz infravermelha de 150 Watts (Seção 3.3) para examinar a influência da quantidade e posição dos átomos de bromo no isomerismo *E/Z* de cada composto.

4.1 Estudo de bromação da benzilamina

Antes de iniciar os estudos de caracterização dos compostos guanidínicos, tanto antes quanto após a reação de bromação com NBS, decidimos por estudar o composto de partida utilizado na síntese das guanidinas trissubstituídas propostas neste trabalho: a benzilamina.

O objetivo de estudar a benzilamina por meio da reação de bromação é avaliar a possibilidade de bromação no carbono benzílico. Devido ao tamanho reduzido da molécula, a visualização da formação de um produto bromado quiral seria mais facilitada, caso ocorresse.

Para realizar o estudo de bromação na benzilamina, protegemos o grupo amina utilizando Boc_2O, uma estratégia amplamente utilizada na química orgânica para evitar reações indesejadas no grupo funcional durante etapas subsequentes de síntese. A proteção de aminas com Boc_2O é um procedimento bem estabelecido e confiável, sendo uma etapa crítica para assegurar o teste de seletividade da reação de bromação.

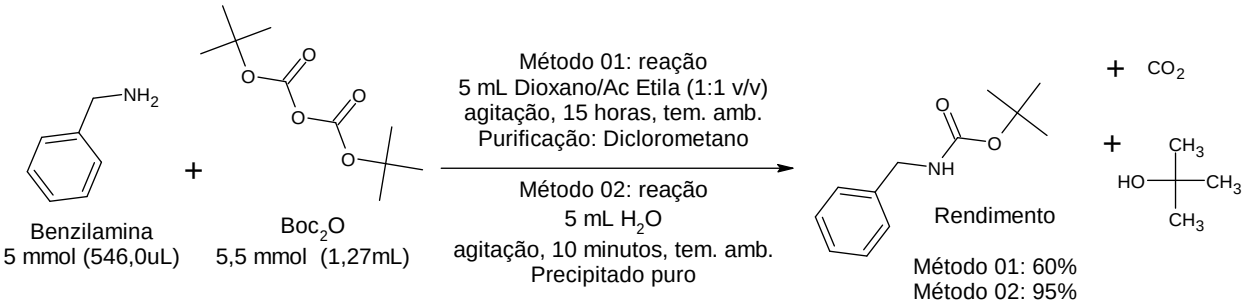
Decidimos testar dois métodos eficientes para a proteção da amina com Boc_2O, ambos já descritos na literatura. Esses métodos foram escolhidos com base em sua eficiência e em suas condições experimentais, que são compatíveis com os compostos guanidínicos.

No primeiro método escolhido, descrito por V. Perron et al. (2009) [99], a proteção da benzilamina é realizada utilizando o agente protetor di-tert-butyl pyrocarbonate (Boc_2O). A reação ocorre em uma mistura de solventes Dioxano/Acetato de Acila (1:1), sob condições de temperatura ambiente e agitação contínua por 15 horas. Após o término da reação, o produto protegido é obtido através da evaporação do solvente para concentrar a solução. Em seguida, o

produto é purificado por extração com diclorometano, um processo que ajuda a remover impurezas e a isolar o composto protegido.

No segundo método escolhido, descrito por S. V. Chankeshwara e A. K. Chakraborti (2006) [100], a proteção da benzilamina também é realizada com o di-tert-butyl pyrocarbonate (Boc_2O), mas utiliza-se água (H_2O) como solvente. A reação ocorre em temperatura ambiente e sob agitação por apenas 10 minutos. Ao final da reação, o produto protegido, que é insolúvel em água, precipita-se em sua forma pura. Este método simplifica o processo de purificação, pois o produto pode ser diretamente filtrado e seco, eliminando a necessidade de etapas adicionais de purificação com solventes orgânicos.

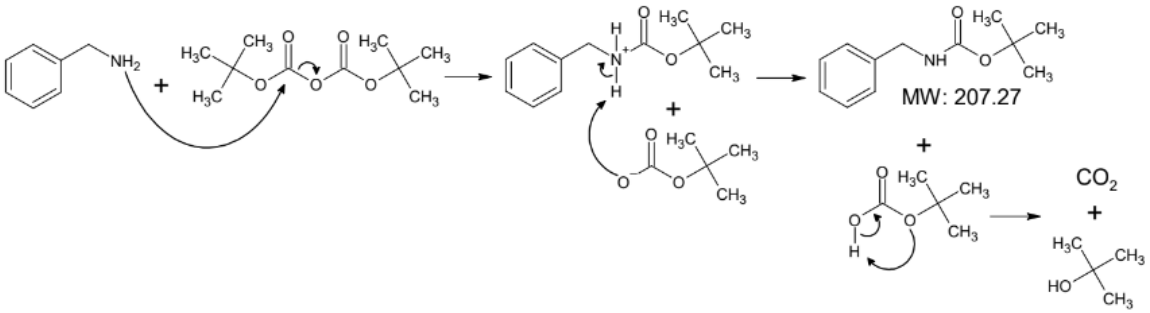
Figura 17 – Esquema reacional de proteção da benzilamina com Boc_2O de ambos os métodos testados e seus rendimentos.



Fonte: Adaptado de V. Perron et al. (2009) [99] e S. V. Chankeshwara e A. K. Chakraborti. (2006) [100].

Na Figura 18, podemos observar o mecanismo da reação de proteção utilizando Boc_2O na formação do composto benzilamina protegido.

Figura 18 – Mecanismo da reação de proteção do grupo amino com Boc.



Fonte: Adaptado de S. V. Chankeshwara e A. K. Chakraborti. (2006) [100].

A benzilamina protegida com Boc utilizando o método 01 apresentou um rendimento inferior (60%) em comparação ao método 02, que alcançou um rendimento de 95%. No entanto, após a purificação, ambos os produtos mostraram características semelhantes, incluindo pontos de fusão próximos: 54,6 – 55,3 ºC para o método 01 e 54,0 – 56,8 ºC para o método 02.

Com as análises realizadas por EI-MS (Espectrometria de Massas por Ionização Eletrônica) e RMN (Ressonância Magnética Nuclear), foi possível verificar que, para ambos os métodos de proteção do grupo amina com Boc, o produto desejado foi efetivamente formado e purificado. No entanto, o método utilizando água (H_2O) como solvente [100] demonstrou ser mais eficiente, uma vez que exigiu menos tempo de reação e não necessita o uso de solvente orgânico, além de resultar em um produto já cristalino sem a necessidade de métodos de recristalização.

Na análise por EI-MS, a identificação da benzilamina protegida foi confirmada a partir do fragmentograma da Figura 19, que também ilustra os mecanismos propostos para a formação dos fragmentos por clivagem. A fragmentação da molécula revelou um pico de íon base em m/z 57, correspondente ao cátion 2-metilpropano, originado pela quebra da ligação C-O, além de um fragmento em m/z 150, resultante da perda do grupo *terc*-butil. Ambos os íons competem com probabilidades semelhantes. A soma das massas desses fragmentos principais corresponde à massa molecular da benzilamina protegida com Boc, m/z 207.

O fragmento em m/z 192 resulta da perda de um grupo metil. Devido à alta energia envolvida na técnica de ionização eletrônica, a clivagem de grupos metil ($–CH_3$) é um processo comum, pois as ligações C–C adjacentes a grupos metil são relativamente fracas. Isso torna a perda de metil uma fragmentação frequente em compostos que possuem uma abundância desses grupos. Adicionalmente, o íon em m/z 91 corresponde ao íon tropílio, enquanto o fragmento em m/z 106 resulta da clivagem entre o grupo amina e o carbono carbonílico.

Figura 19 – Proposta de mecanismo de fragmentação para o composto benzilamina protegida com Boc e seu Espectro EI-MS (70 eV).

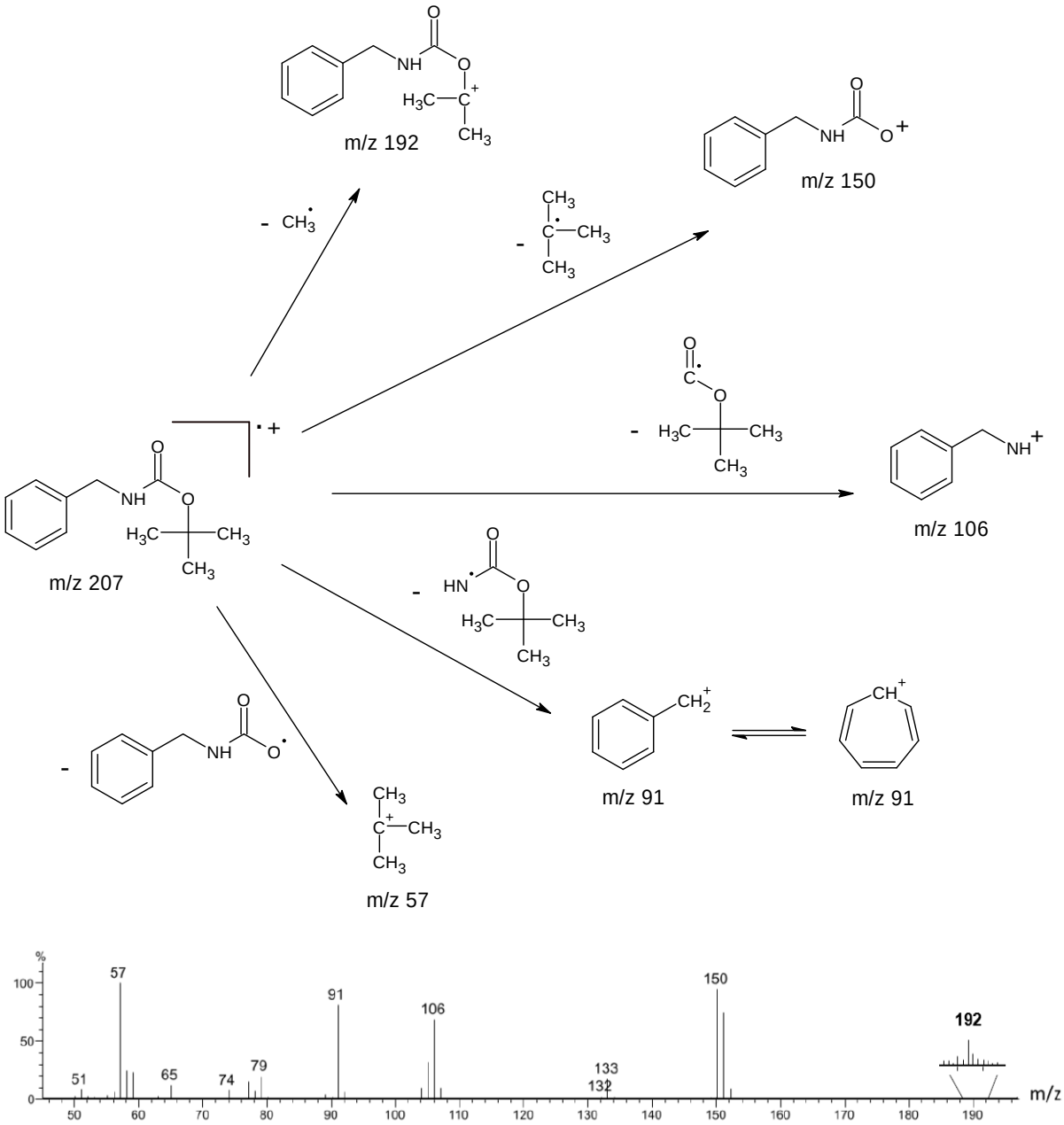
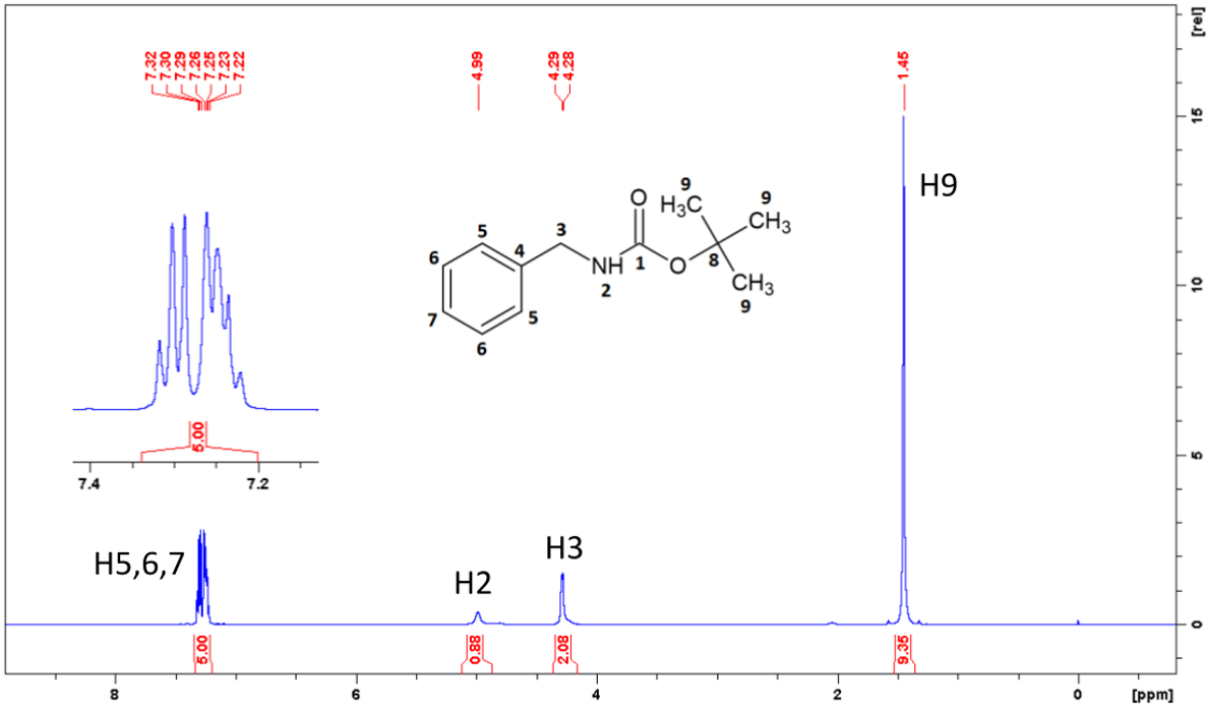
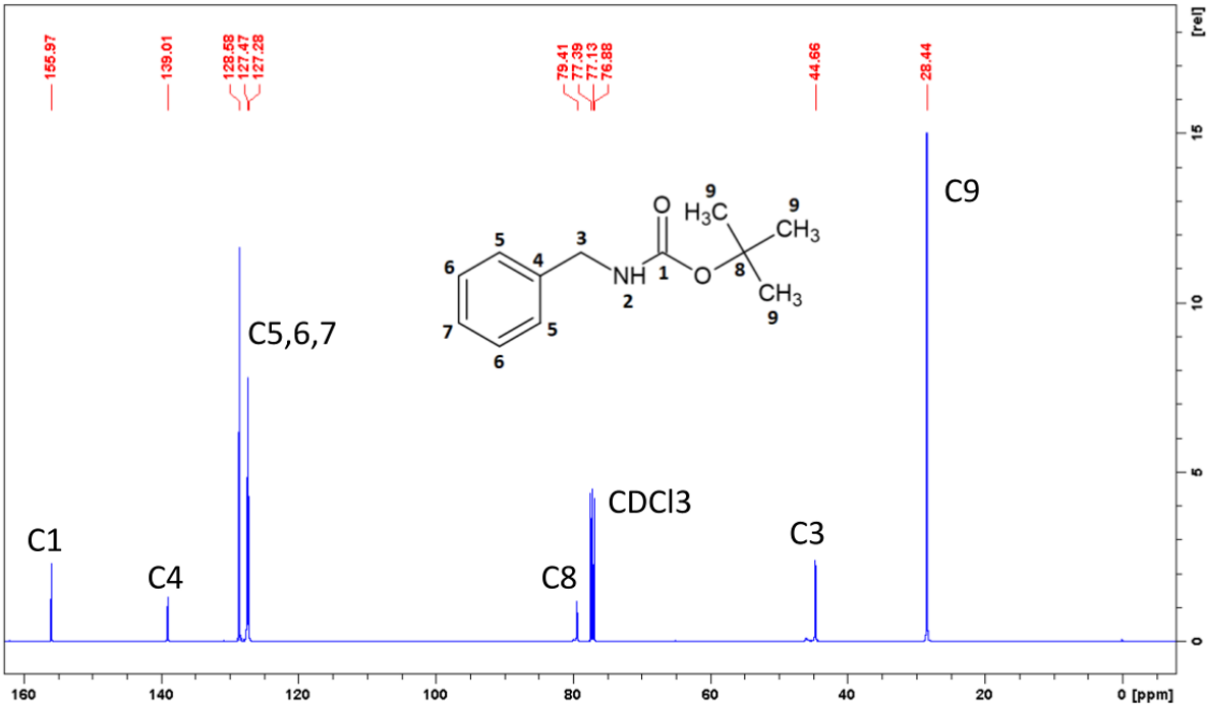


Figura 20 – Espectro de RMN do composto benzilamina protegido com Boc, a 25ºC em $CDCl_3$. A) ^1H RMN; B) ^{13}C RMN.

A) ^{1}H RMN



B) ^{13}C RMN



O estudo de RMN confirmou a estrutura e a pureza do composto protegido, com todos os sinais de ^1H e ^{13}C sendo observados e corretamente atribuídos (Figura 20). A análise detalhada dos espectros permitiu validar a formação do produto protegido e assegurar sua

qualidade. Os sinais de ^{1}H correspondentes aos nove hidrogênios dos grupos metileno foram observados em 1,45 ppm. O sinal do hidrogênio da amina, com integral 1, foi identificado em 4,99 ppm, confirmando a inserção do grupo protetor Boc na amina. Os sinais de ^{13}C correspondentes aos grupos metileno foram observados em 28,4 ppm, enquanto o carbono quaternário C8 foi observado em 79,4 ppm.

O objetivo de estudar a benzilamina por meio da reação de bromação é avaliar a possibilidade de bromação no carbono benzílico. Devido ao tamanho reduzido da molécula, a visualização da formação de um produto bromado quiral seria mais facilitada, caso ocorresse.

Após a proteção do grupamento amina da benzilamina com Boc_2O, foi realizado um estudo de bromação do composto utilizando diclorometano como solvente. Para a reação, foram utilizados 1 mmol de benzilamina protegida (0,208 g) e 1,4 mmol de N-bromossuccinimida (NBS) (0,249 g). A purificação foi conduzida por lavagem com o próprio diclorometano, uma vez que o produto se tornou insolúvel no solvente.

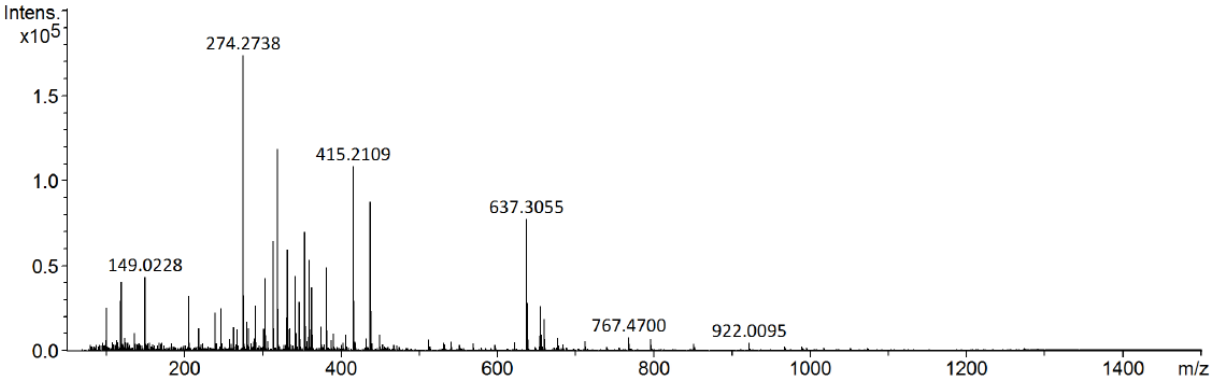
Antes da bromação, a benzilamina protegida apresentava-se como um sólido branco, com ponto de fusão de 54,6–55,3 ºC. Após a bromação, o produto adquiriu um aspecto de cristais translúcidos, com ponto de fusão na faixa de 162,5–164,3 ºC.

De acordo com a literatura, compostos de benzilamina protegida com Boc e monobromados em diferentes posições do anel benzênico (orto, meta e para) apresentam coloração amarela e pontos de fusão específicos: 50–54 ºC na posição orto (CAS No. 162356-90-3), 59–60 ºC na posição meta (CAS No. 171663-13-1), e 86–88 ºC na posição para (CAS No. 68819-84-1).

Com base nesses dados, pode-se inicialmente inferir que a bromação ocorreu, mas o produto obtido não é monobromado, podendo tratar-se de um composto polibromado no anel aromático ou de um derivado resultante da bromação no carbono benzílico. Para confirmar essas hipóteses, foram realizadas análises por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear.

A análise por HRESI-MS revelou um espectro com uma mistura complexa de sinais, tornando impossível identificar com precisão a posição ou as posições dos átomos de bromo no composto após a reação de bromação. O sinal do íon molecular não foi assegurado, o que pode ser atribuído à formação de múltiplos produtos de reação.

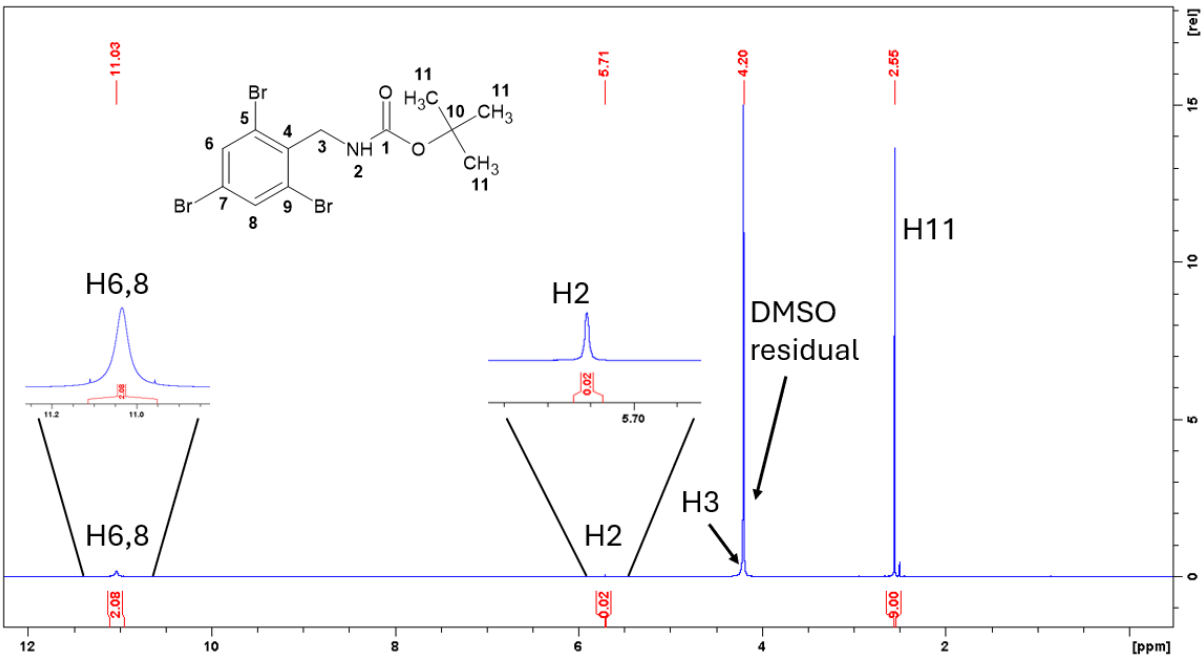
Figura 21 – Espectro de HRESI-MS (70 eV) do composto Benzilamina protegido com Boc após reação de bromação com NBS ativado por luz infravermelha.



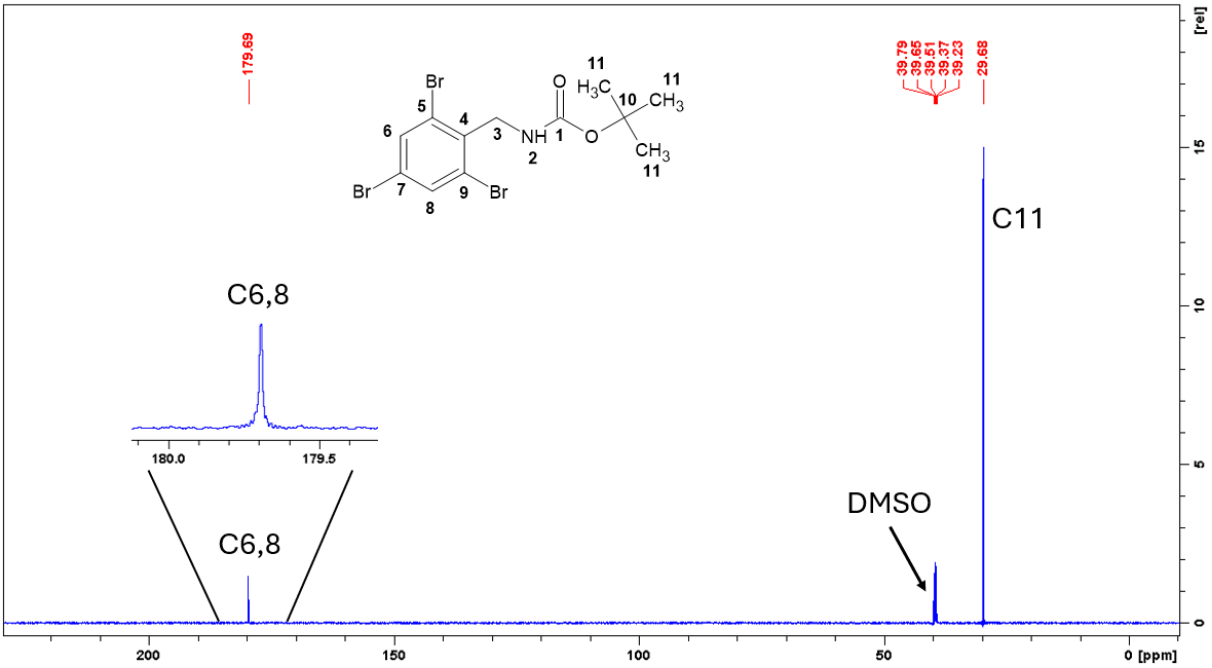
Para complementar esses dados demos sequência com o estudo por RMN, a caracterização foi realizada em um equipamento de RMN - 600 MHz e foi conduzida à 298 K (25°C) em DMSO-d6.

Figura 22 – Espectro de RMN do composto benzilamina protegido com Boc bromado, a 25ºC em DMSO-d6. A) ^{1}H RMN; B) ^{13}C DEPT-135 RMN.

A) ^{1}H RMN



B) ^{13}C DEPT-135 RMN



A análise do espectro de ^{1}H RMN revelou sinais de fácil atribuição, como os hidrogênios metilênicos H11, com uma integral de 9. Um sinal pequeno em 5,71 ppm atribuído ao hidrogênio lábil H2, ligado ao nitrogênio. Os hidrogênios benzílicos H3 aparecem sobrepostos ao sinal residual do solvente. Na região aromática em 11,0 ppm, observa-se um único sinal com integral 2, atribuído à equivalência dos hidrogênios H6 e H8. Essa evidência sugere que o produto mais provável da reação de bromação é um composto tribromado no anel aromático.

Na análise de ^{13}C DEPT-135 RMN, foram observados os sinais dos carbonos ligados a hidrogênios. Em 29,7 ppm, identificou-se o carbono C11, com um único sinal. O sinal de C3, assim como o H3, ficou sobreposto ao sinal do solvente DMSO. Na região aromática, foi observado um único sinal em 179,7 ppm, atribuído aos carbonos equivalentes C6 e C8.

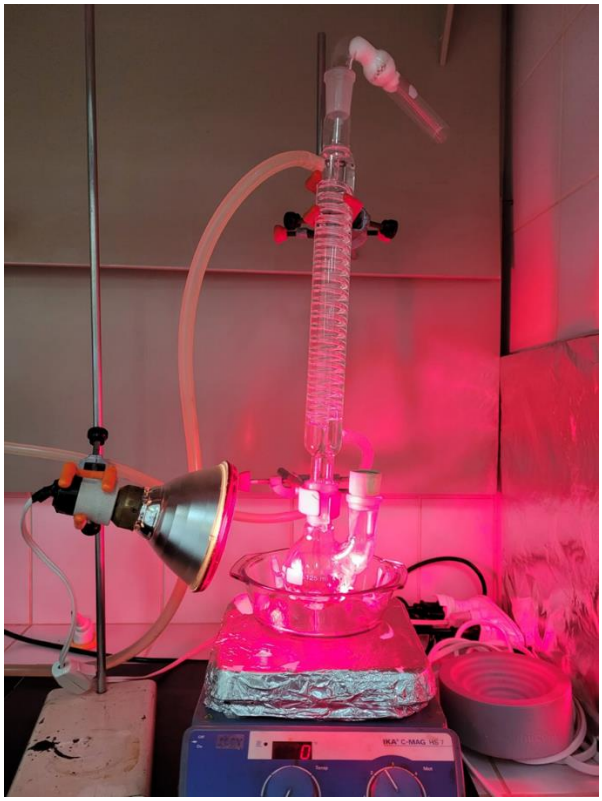
Esses resultados são importantes, pois indicam que não houve bromação no carbono benzílico para este composto, assim como não ocorreu com as guanidinas estudadas, o que será discutido em detalhes na seção 4.3. Além disso, a tribromação do composto foi confirmada. No entanto, com base no espectro de HRESI-MS, espera-se a presença de subprodutos. A polibromação também foi observada nos compostos guanidínicos.

4.2 Reações de bromação dos compostos guanidínicos

Como mencionado na Seção 3.3, as reações de bromação foram realizadas utilizando NBS como fonte de bromo, ativada por luz infravermelha de 150 Watts durante todo o tempo

reacional. O esquema da reação pode ser observado na Figura 23, onde é utilizado um condensador para evitar a perda de solvente e uma armadilha com peneira molecular no topo para impedir a entrada de água na reação. Durante todo o processo, a solução é mantida em agitação constante.

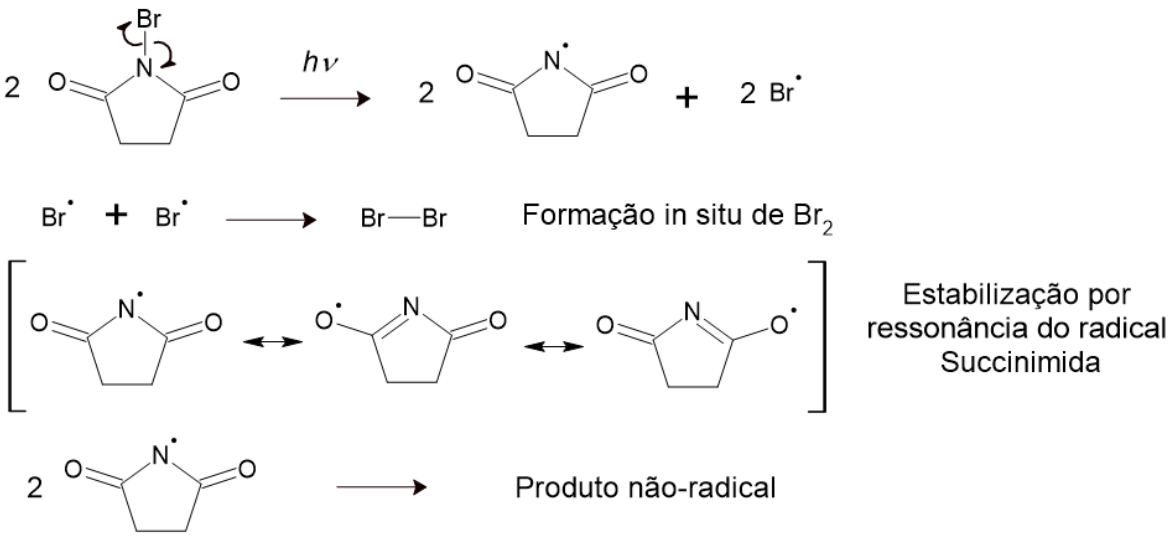
Figura 233 – Esquema da reação de bromação dos compostos guanidínicos com NBS ativada por luz infravermelha.



Fonte: Autoria própria.

O uso de NBS (N-Bromosuccinimida) como fonte de bromo foi escolhido para induzir a monobromação dos compostos guanidínicos. A NBS é amplamente reconhecida como um método eficaz para a bromação de compostos orgânicos, tanto alifáticos quanto aromáticos [101-103]. Como já discutido na Seção 1.5, seu mecanismo de ação pode ocorrer por mecanismo de adição, substituição eletrofílica ou através da formação de radicais livres. Com a ativação do NBS pela energia da radiação infravermelha é esperado que ocorra a geração *in situ* da espécie Br_2 [104], como ilustrado na Figura 24. Este método de bromação, conhecido como bromação de Wohl-Ziegler, envolve a adição eletrofílica através da espécie Br_2 em solução. Para garantir a eficiência da reação, foi utilizado NBS em excesso.

Figura 244 – Mecanismo de formação da espécie *in situ* Br_2 para bromação através da N-Bromosucinimida (NBS) ativada por irradiação infravermelha.



Fonte: Adaptado de Incremona, J.H. e Martin, J.C. (1970) [104].

Com o mecanismo ilustrado, podemos observar que a irradiação com luz infravermelha inicia a reação, gerando espécies radicalares de bromo que tendem a formar *in situ* a espécie Br_2. A succinimida radicalar é estabilizada por suas estruturas de ressonância e, mesmo com essas variações, forma um produto não radicalar ao reagir com outra succinimida radicalar. Desta forma, temos a espécie de bromo in situ formada e pronta para reagir com os compostos guanidínicos.

Para estudar melhor a reação de bromação em compostos guanidínicos, optamos por utilizar solventes polares e apolares. Já foi reportado que a seletividade da ligação do bromo em carbonos alifáticos é favorecida pelo uso de solventes apolares, tais como cicloexano, benzeno e hexano, enquanto a bromação em carbonos aromáticos é favorecida por solventes polares, como diclorometano, clorofórmio e tetracloreto de carbono [101,103].

Para a primeira guanidina bromada, LQOF-G2, que possui um bromo na posição *para* do anel anilínico, testamos duas reações utilizando diclorometano (polar) e cicloexano (apolar) como solventes. Observamos que a variação da polaridade do solvente não interferiu na formação do produto bromado para essa classe de guanidinas, resultando no mesmo produto em ambos os solventes.

Para a segunda guanidina bromada, LQOF-G35, que possui um bromo na posição *orto* do anel anilínico, realizamos reações utilizando diclorometano (polar) e acetonitrila (polar) como solventes. Embora tenhamos obtido o mesmo produto bromado em ambos os solventes, a purificação foi mais rápida e fácil quando utilizamos diclorometano em comparação com

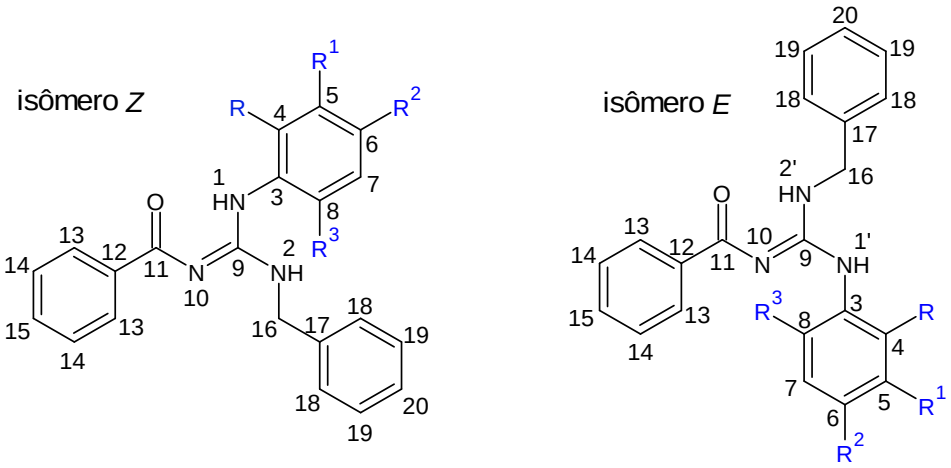
acetonitrila. É importante ressaltar que as guanidinas LQOF-G2 e LQOF-G35 resultaram no mesmo produto bromado em todas essas reações [93].

Diante desses resultados, optamos por realizar as demais reações de bromação das guanidinas utilizando diclorometano como solvente. Essa escolha se deve à eficiência observada na formação do produto e à facilidade de purificação proporcionada por este solvente. Os resultados dos compostos bromados serão discutidos com mais detalhes nas Seções subsequentes.

4.3 Estudo dos compostos guanidínicos por EI-MS.

As estruturas dos compostos guanidínicos antes e após a reação de bromação podem ser observadas no esquema geral da Figura 25, logo abaixo. Com este estudo, foi possível observar que os compostos não bromados (LQOF-G6) e monobromados (LQOF-G2, LQOF-G35 e LQOF-G36) existem principalmente como isômero Z. Após a reação de bromação desses compostos, a quantidade de átomos de bromo na porção anilínica das guanidinas aumentou, resultando em um aumento significativo da proporção do isômero E, chegando a inverter a preferência para o isômero E dos compostos LQOF-G6-Br e LQOF-G35-Br. Essas proporções foram determinadas através do estudo por RMN e será mais bem discutido na Seção 4.4.

Figura 255 – Esquema geral para as estruturas dos compostos guanidínicos estudados, com a conformação predominante em solução a -10°C indicada entre parênteses (*E*/*Z*).



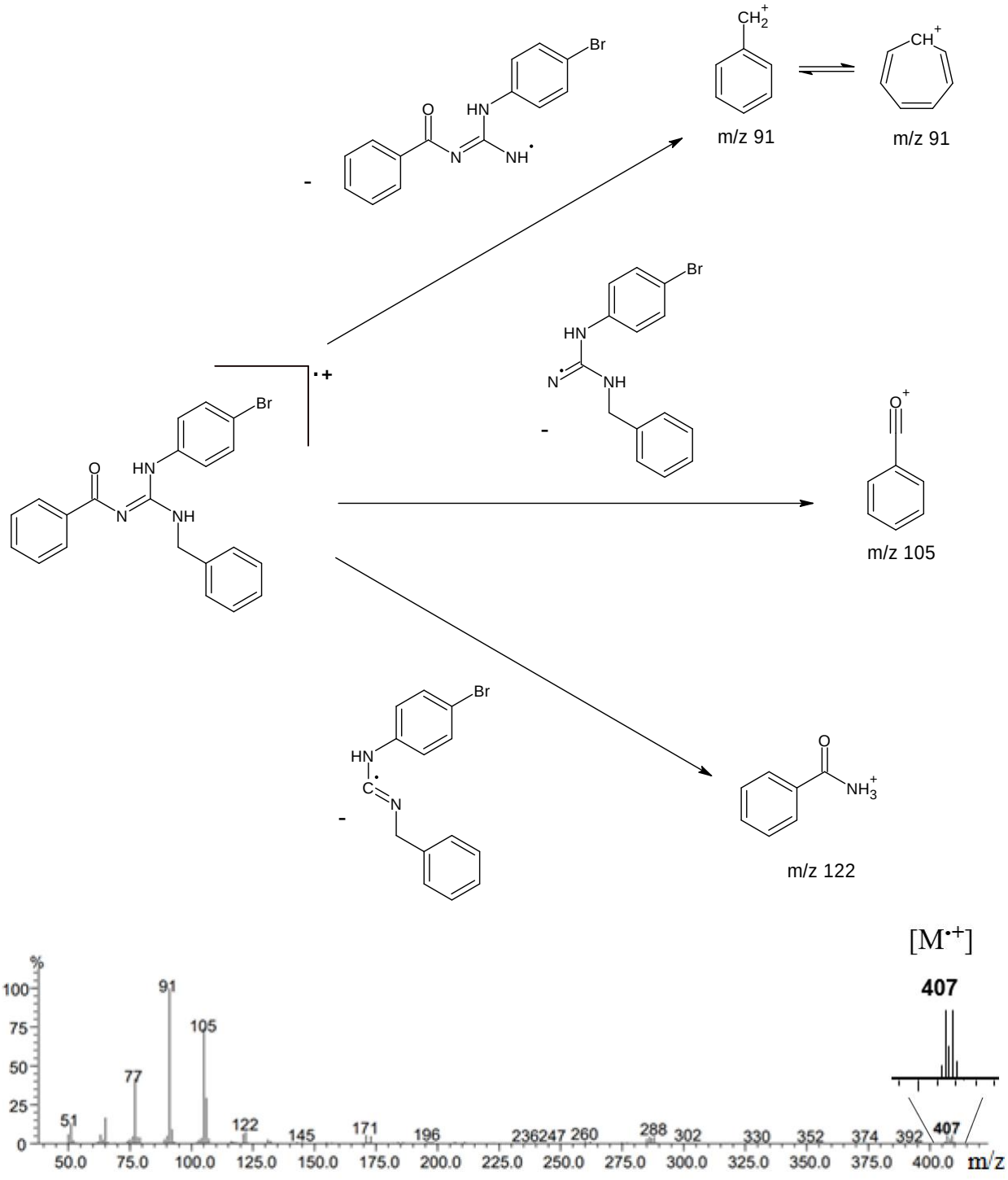
LQOF-G2 (*Z*)	R=R^1=R^3=H	R^2=**Br**	**LQOF-G2-Br (*E*)**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G6 (*Z*)	R=R^1=R^3=H	R^2=***t*-Bu**	**LQOF-G6-Br (*E*)**	R^1=H	R^2=***t*-bu**; R=R^3=**Br**
LQOF-G35 (*Z*)	R^1=R^2=R^3=H	R=**Br**	**LQOF-G35-Br (*E*)**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G36 (*Z*)	R=R^2=R^3=H	R^1=**Br**	**LQOF-G36-Br (*Z*)**	R=R^2=H	R^1=R^3=**Br**
LQOF-G30 (*Z*)	R^1=R^3=H	R=R^2=**Br**			

Podemos observar que todos os compostos guanidínicos foram caracterizados por Espectrometria de Massas com ionização eletrônica (EI-MS) e possuem o substituinte benzila. Esta técnica permitiu a detecção dos compostos exibindo os correspondentes padrões isotópicos dos íons, especialmente quando havia a presença de bromo na estrutura.

4.3.1 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos monobromados

Os compostos guanidínicos LQOF-G2, LQOF-G35 e LQOF-G36, que são isômeros de posição com bromo ligado em diferentes posições do anel anilínico, apresentaram o mesmo espectro de EI-MS, com íon molecular [$M^{\cdot+}$] 407 m/z. Além disso, estes compostos também apresentaram íons fragmentados m/z 77, m/z 91, m/z 105 e m/z 122, correspondendo aos cátions fenila, tropílio, benzoíla e benzamida, respectivamente. O fragmentograma mostrado na Figura 26, referente ao composto LQOF-G2, representa os mesmos resultados encontrados para LQOF-G35 e LQOF-G36. Junto é possível observar a proposta de mecanismo por clivagem para os principais fragmentos que aparecem em todos os EI-MS das guanidinas estudadas.

Figura 266 – Proposta de mecanismo de fragmentação dos principais íons presentes em todas as guanidinas estudadas, m/z 91, m/z 105 e m/z 122 e o espectro EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G2 comum para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G36.



O íon fragmento de m/z 91 é gerado através da clivagem do nitrogênio alquílico, seguido da perda da N-(*p*-substituído)fenil-N-(benzoil) guanidina e corresponde ao pico base para todos os compostos guanidínicos avaliados (exceto para LQOF-G6 não bromada, LQOF-G6-Br e LQOF-G30, onde o pico base observado foi o m/z 105). Os íons fragmentos de m/z 105 e 122

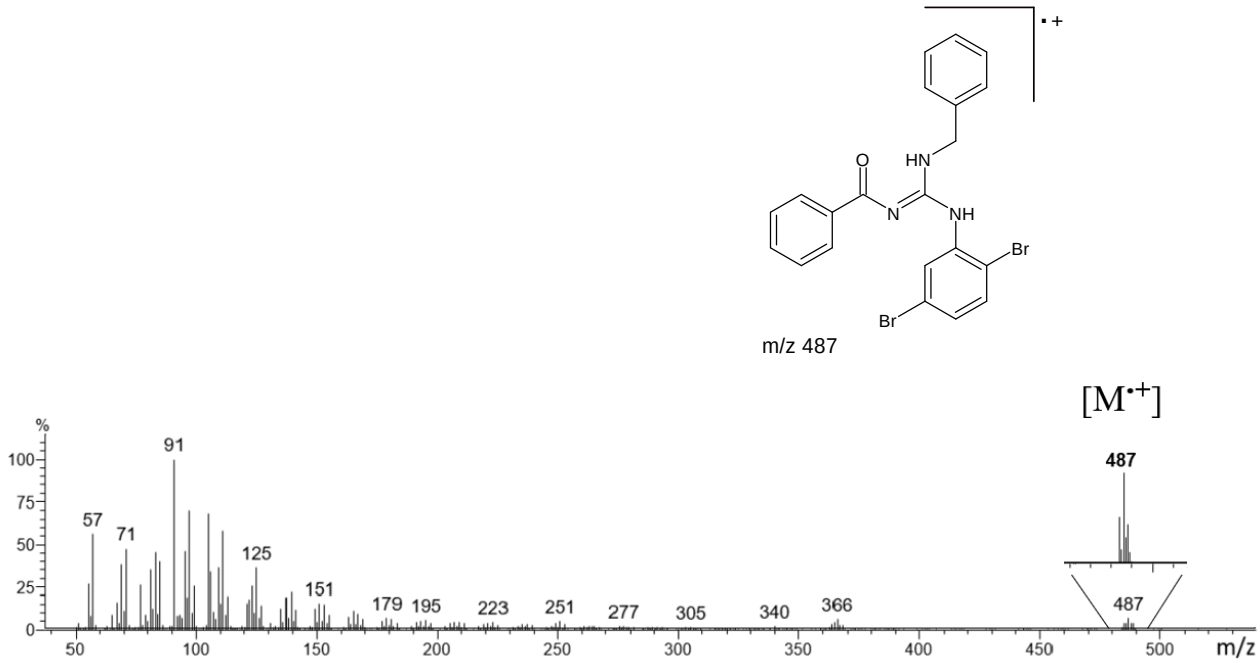
são gerados pela clivagem do nitrogênio da amida, onde o íon de m/z 105 está associado com a perda de N-(*p*-substituído)fenil-N-(benzil) guanidina, e o íon de m/z 122 envolve a eliminação da molécula de N-(*p*-substituído)fenil-N-(benzil) carbodiimida.

4.3.2 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos dibromados.

A bromação do composto monobromado LQOF-G36 resultou na inserção de apenas mais um átomo de bromo na estrutura, diferentemente do observado para os compostos LQOF-G2 e LQOF-G35 apresentados na sequência. Portanto, o LQOF-G36-Br, quando analisado por EI-MS, apresentou, além dos padrões de íons fragmentados em m/z 77, m/z 91, m/z 105 e m/z 122, o íon molecular [$M^{\cdot+}$] 487 m/z, como mostrado na Figura 27. Quando a guanidina possui um bromo na posição *meta* do anel anilínico, a reação de bromação foi seletiva para monobromação, provavelmente devido ao impedimento estérico das posições dos bromos. Isso demonstra a seletividade da reação para a entrada do bromo na porção anilínica das guanidinas.

O composto LQOF-G30, que também apresenta dois bromos em sua estrutura, nas posições *orto* e *para* do anel anilínico, é um isômero de posição em relação ao composto LQOF-G36-Br. Portanto, seu fragmentograma foi similar ao do composto LQOF-G36-Br.

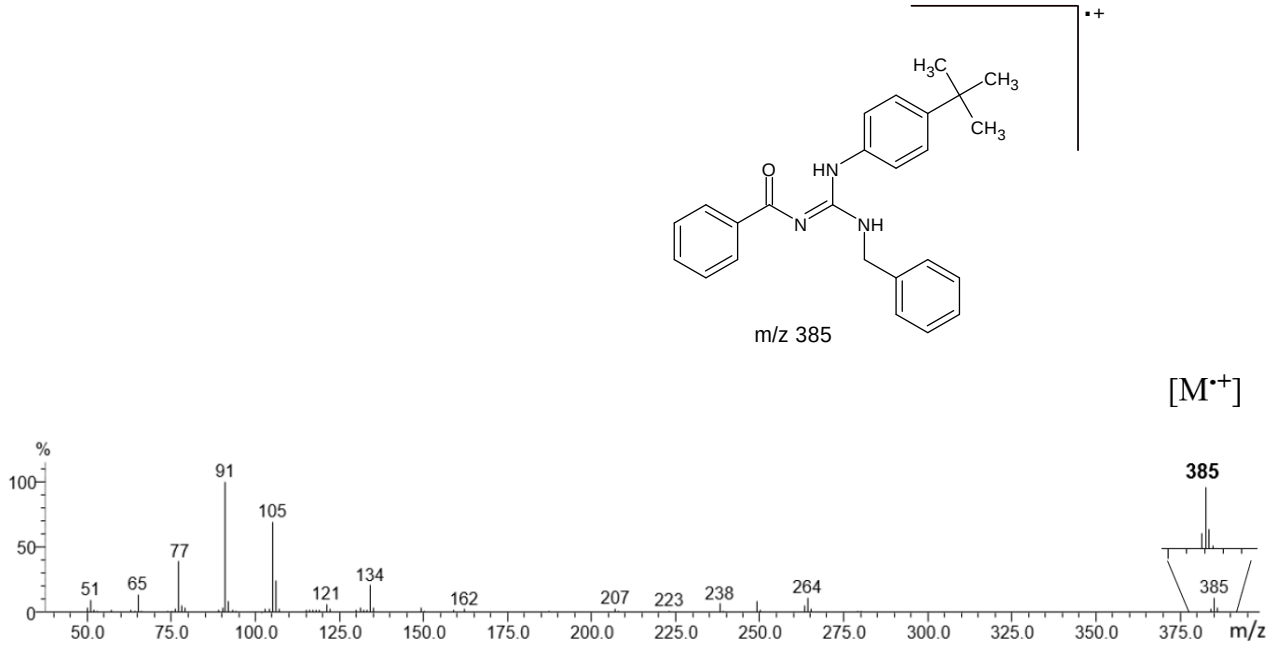
Figura 277 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G36-Br.



O composto LQOF-G6 é a única guanidina deste trabalho que não possui bromo em sua estrutura e foi utilizado como parâmetro de referência. Em vez disso, ele apresenta um grupamento *terc*-butila na posição *para* do anel anilínico. Esse grupo, assim como o bromo, é

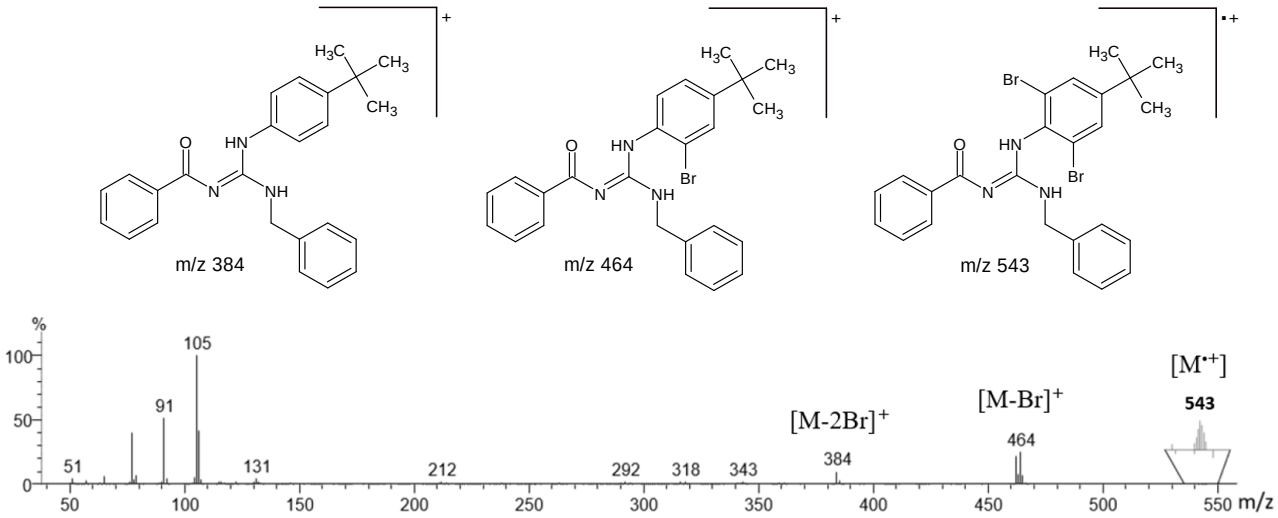
ativante para o anel da anilina, pois doa densidade eletrônica ao anel. No fragmentograma por EI-MS do LQOF-G6, podemos observar o íon molecular [M·+] m/z 385.

Figura 28 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G6.



Após a bromação do composto LQOF-G6, foi obtido o produto bromado LQOF-G6-Br. Por meio do fragmentograma por EI-MS, observamos que ocorreu dibromação, apresentando o íon molecular [M·+] 543 m/z. Os íons fragmentados foram observados em m/z 464, indicando a perda de um átomo de bromo, e em m/z 384, correspondendo à perda de dois átomos de bromo, conforme ilustrado na Figura 29.

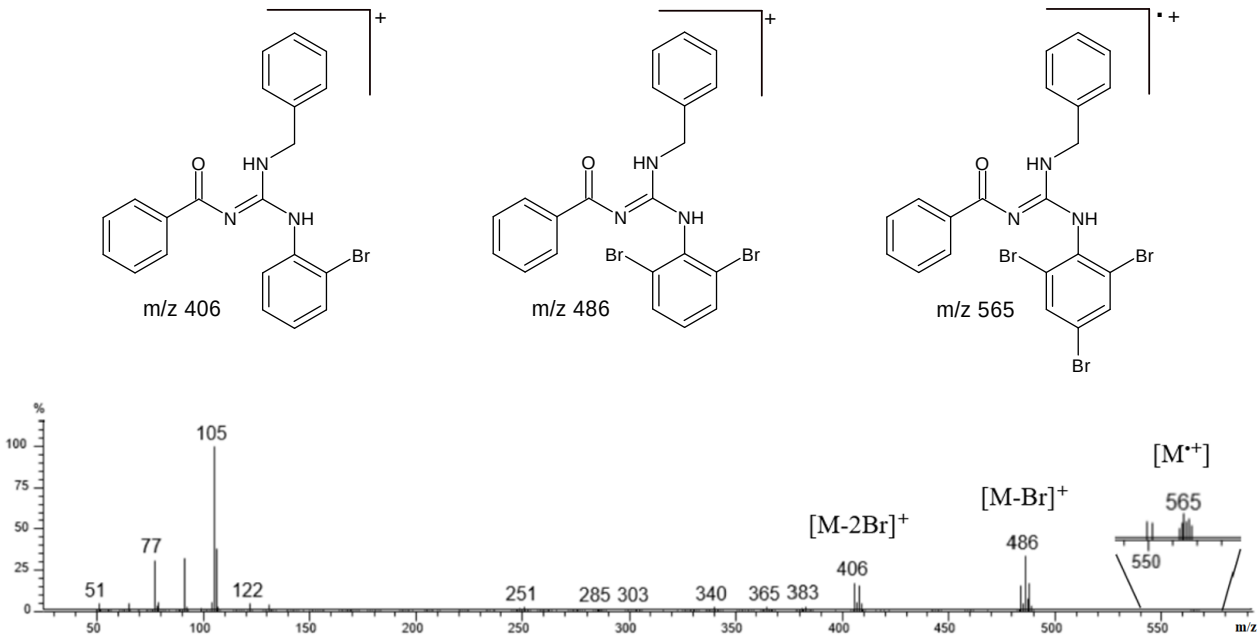
Figura 29 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G6-Br.



4.3.3 Estudo EI-MS dos compostos guanidínicos tribromados.

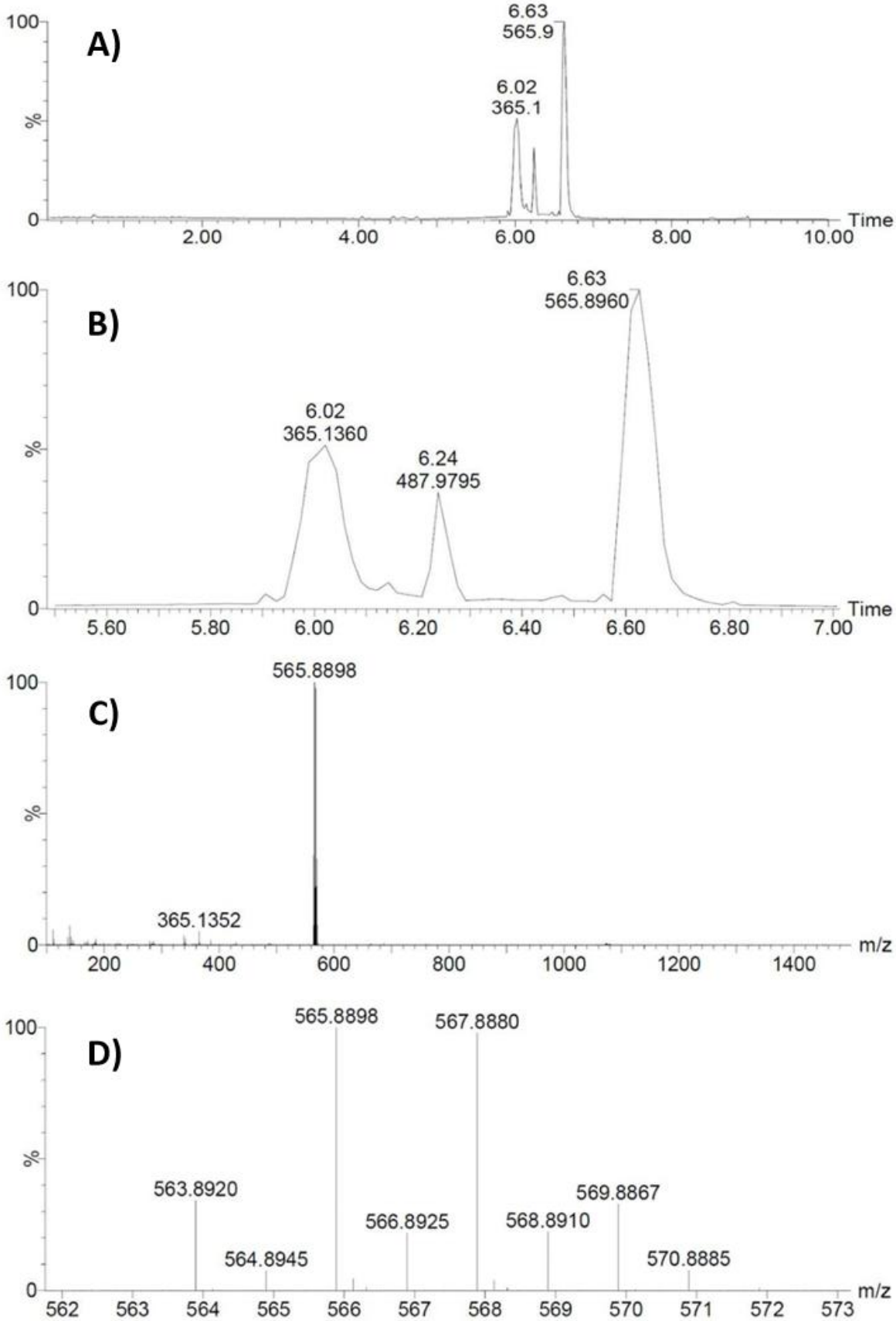
A bromação dos compostos LQOF-G2 e LQOF-G35 resultaram na formação do mesmo produto, o composto tribromado LQOF-G2-Br e/ou LQOF-G35-Br, que são idênticos. Foi possível observar por EI-MS a ligação de dois novos átomos de bromo no composto representados pelos íons fragmentados m/z 486 e íon molecular [$M^{\cdot+}$] 565 m/z além de apresentarem o padrão isotópico do bromo, como demonstrado na Figura 30.

Figura 300 – Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G35-Br.



Além do EI-MS, a guanidina bromada LQOF-G35-Br foi também caracterizada por Espectrometria de Massas usando Ionização por Eletrospray de alta resolução em modo iônico positivo (HRESI(+)-MS), que permitiu a detecção dos compostos como moléculas protonadas intactas com os correspondentes padrões isotópicos dos íons. As moléculas protonadas foram selecionadas e fragmentadas por experimentos de MS sequencial (ESI(+)-MS/MS). A Figura 31 apresenta os espectros de HRESI(+)-MS e HRESI(+)-MS/MS do composto LQOF-G35-Br de $[M+H]^+$ = 565,8898, onde o experimento de HRESI(+)-MS/MS produziu íons fragmentados em m/z 487 e 365 que concordam com a formação do produto polibromado.

Figura 311 – Espectro de HRESI-MS do composto LQOF-G35-Br.



Devido à relativa fraqueza das ligações C–Br, a perda de átomos de bromo, seja como radicais ($Br^{\cdot}$) ou íons (Br^{-}), é um processo de fragmentação comum. Assim, nos dois primeiros espectros da Figura 31 (espectros A e B), podemos observar a perda sequencial de átomos de bromo, com sinais correspondentes a três diferentes tempos de retenção: 6,02 para o composto monobromado (365,1360 m/z), 6,24 para o dibromado (487,9795 m/z) e 6,63 para o tribromado (565,8960 m/z), sendo este último o íon molecular $[M^{+}H]^{+}$ (espectro C da Figura 31). No espectro ampliado para o íon molecular (espectro D da Figura 31), é possível identificar múltiplos picos que seguem o padrão isotópico característico de compostos polibromados, com abundâncias semelhantes dos isótopos ^{79}Br e ^{81}Br, onde observamos os picos mais intensos em 565,8898 e 567,8880 m/z.

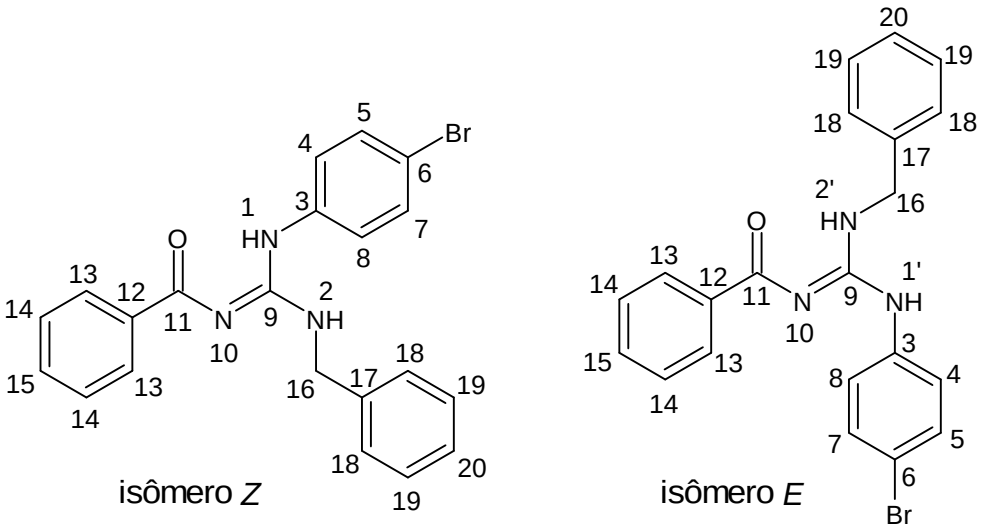
4.4 Estudo dos compostos guanidínicos por RMN.

Após a análise inicial dos compostos por espectrometria de massas, os estudos prosseguiram utilizando técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensionais e bidimensionais. Os compostos LQOF-G2 e LQOF-G35, previamente reportados por R. D. E. Santo et al. [98] com estudos de RMN a -60°C em um espectrômetro de 400 MHz, foram analisados em um espectrômetro de 500 MHz, variando a temperatura do experimento entre 25°C e -10°C.

Essas análises são de grande importância para a caracterização das guanidinas em temperaturas menos agressivas do que as já reportadas. Para isso, os compostos foram submetidos às técnicas de RMN unidimensionais de ^{1}H e ^{13}C, bem como às técnicas bidimensionais ^{1}H-^{13}C HSQC e HMBC, e ^{1}H-^{15}N HMBC.

Na Figura 32, podem-se observar as representações das duas estruturas isoméricas *E/Z* para o composto LQOF-G2. É importante ressaltar que, em solução a -10°C, o composto LQOF-G2 encontra-se predominantemente como isômero *Z* (92,98%) e, em temperaturas superiores não foi possível quantificar a presença do isômero *E*. A isomeria *E/Z* desses compostos depende da dupla ligação presente entre o nitrogênio N10 e o carbono quaternário C9. Os isômeros são estabilizados pela formação de um pseudociclo de seis membros entre o oxigênio e o hidrogênio NH1 para o isômero *Z*, ou o hidrogênio NH2’ para o isômero *E*.

Figura 322 – Representação estrutural dos isômeros *E/Z* para o composto guanidínico LQOF-G2.



A concentração molar do composto LQOF-G2 em solução foi mantida constante em 74,50 mmol/L (15,2 mg solubilizados em 500 µL), enquanto a temperatura do experimento foi variada. Com o experimento unidimensional de RMN realizado em diferentes temperaturas, de 25°C a -10°C, foi possível observar que, conforme a temperatura da solução diminuía, apareceram sinais nas regiões de 11,23 e 8,15 ppm (indicados por setas na Figura 33) que correspondem ao isômero minoritário *E*. Portanto, ao reduzir a energia do sistema, começamos a visualizar os sinais correspondentes aos dois isômeros *E* e *Z* separadamente. Isso demonstra que há um equilíbrio dinâmico entre eles, permitindo-nos identificar as respectivas proporções de cada isômero em solução através da integral absoluta desses sinais.

Essas observações são cruciais, pois fornecem uma visão detalhada do comportamento dos isômeros em diferentes condições térmicas. A capacidade de distinguir os sinais dos isômeros *E* e *Z* em temperaturas mais baixas oferece uma compreensão mais profunda da dinâmica estrutural desses compostos.

Figura 333 – Espectros de RMN de hidrogênio (^{1}H) do composto LQOF-G2 variando a temperatura de 25ºC à -10ºC em $CDCl_3$.

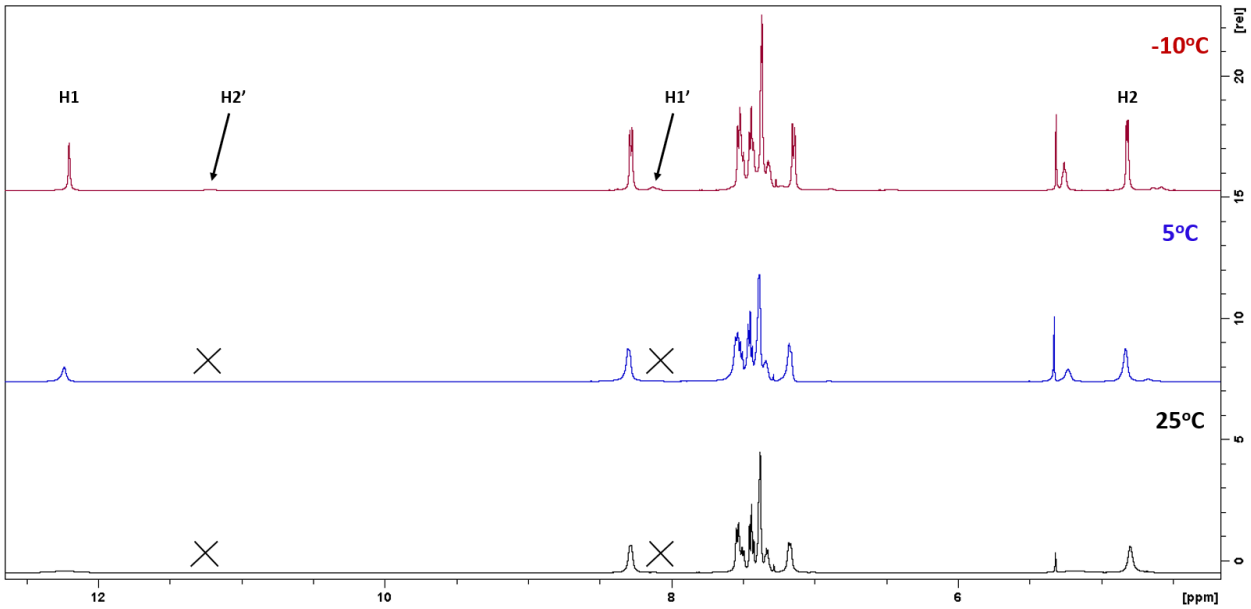
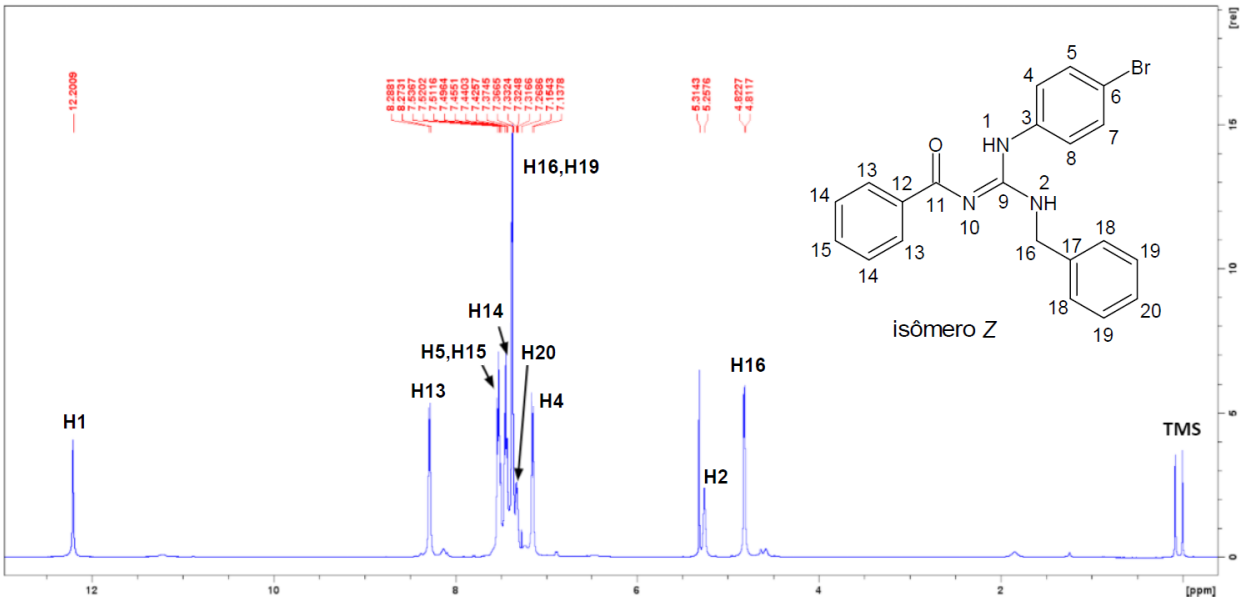


Figura 344 – Espectro de RMN de hidrogênio (^{1}H) do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.



Mesmo com o aparecimento dos sinais correspondentes ao isômero *E*, a predominância em solução a -10°C é do isômero *Z*. Podemos constatar isso através da diferença entre as integrais absolutas destes sinais. Dessa forma, verificamos que a LQOF-G2 em solução a -10°C encontra-se 7,02% na conformação do isômero *E* e 92,98% na conformação *Z*. Ou seja, a presença do isômero *E* para o composto LQOF-G2 é praticamente uma impureza em solução.

Os experimentos de RMN de ^{13}C também revelaram que, a -10°C, todos os sinais no espectro encontram-se mais bem definidos, como podemos observar na diferença dos espectros (Figura 35) com zoom na região aromática. Conforme diminuímos a temperatura foi possível a caracterização completa dos sinais do isômero majoritário *Z*. Em temperaturas mais altas como em 10 e 25ºC, o equilíbrio conformacional entre os isômeros *E/Z* afeta diretamente a resolução dos sinais, mesmo que o isômero *E* tenha uma baixa população. Esse efeito é observado em outros compostos de maneira ainda mais acentuada, à medida que a proporção dos isômeros *E* e *Z* em solução tende a se equilibrar.

Figura 355 – Espectros de RMN de carbono (^{13}C) do composto LQOF-G2 variando a temperatura de 25ºC à -10ºC em $CDCl_3$.

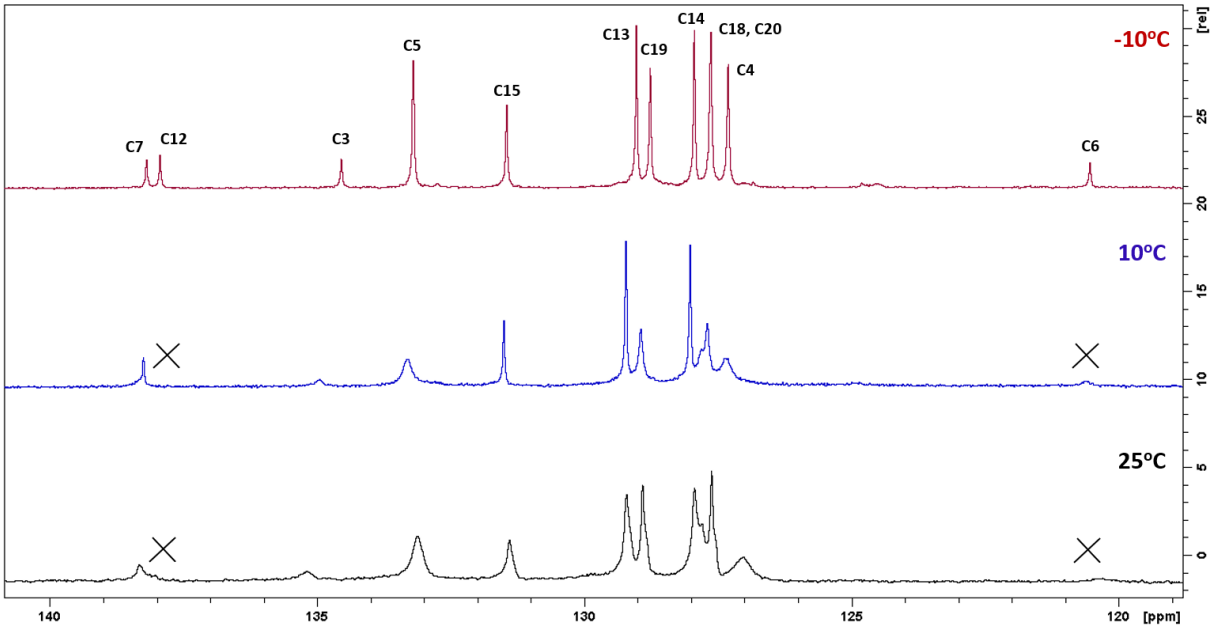
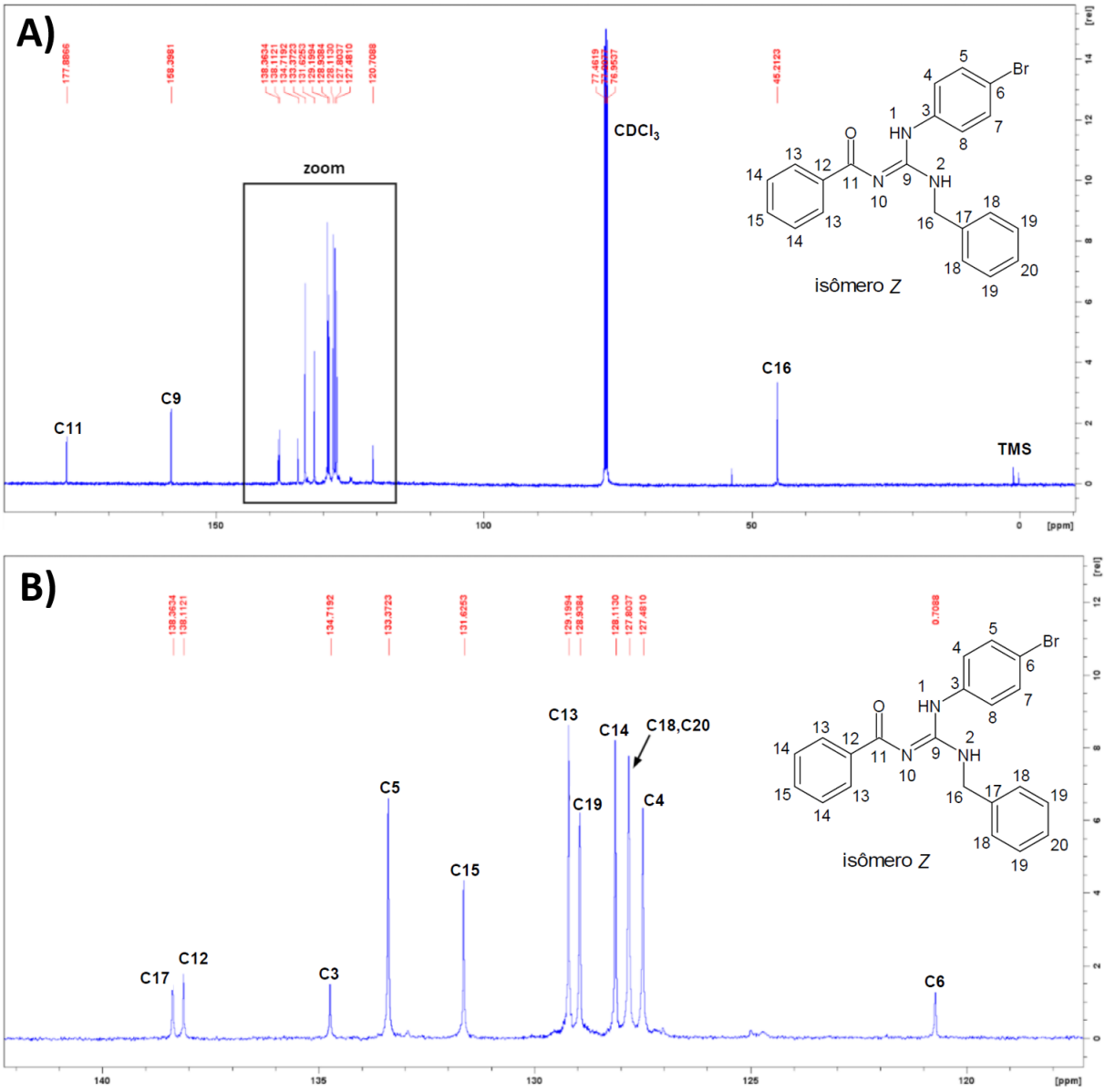
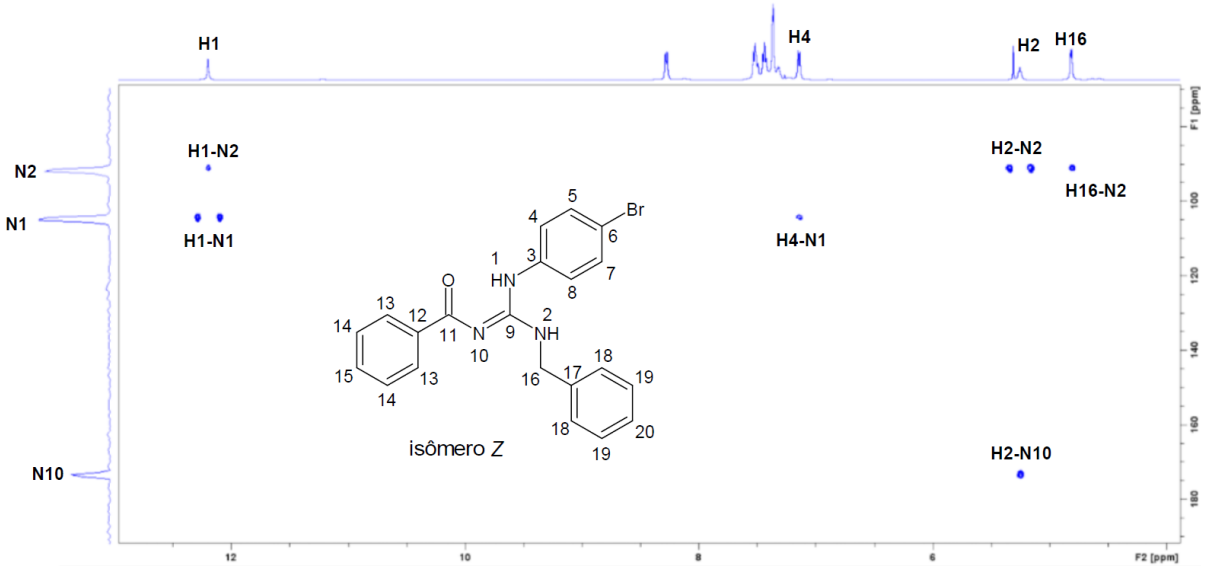


Figura 366 – Espectro de RMN de carbono (^{13}C) do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Espectro total; B) Zoom na região aromática entre 118,0 ~ 142,0 ppm.



Para a confirmação das atribuições dos sinais, além de basear-se na caracterização realizada por R. D. E. Santo et al. [98], que diferiu pela temperatura (-60°C) e pelo equipamento de RMN (400 MHz), foram realizados experimentos bidimensionais do tipo HSQC e HMBC de ^{1}H-^{13}C. Além disso, foram conduzidos experimentos do tipo HMBC ^{1}H-^{15}N para a confirmação dos sinais pertencentes ao núcleo guanidínico. Esses experimentos bidimensionais são essenciais para a correta atribuição dos sinais, pois permitem a correlação entre os núcleos de hidrogênio e carbono, e entre hidrogênio e nitrogênio, respectivamente. Para iniciar o mapeamento dos sinais, optou-se pelo experimento envolvendo o núcleo de nitrogênio, conforme ilustrado na Figura 37.

Figura 377 - Espectro de RMN HMBC ^{1}H-^{15}N do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.

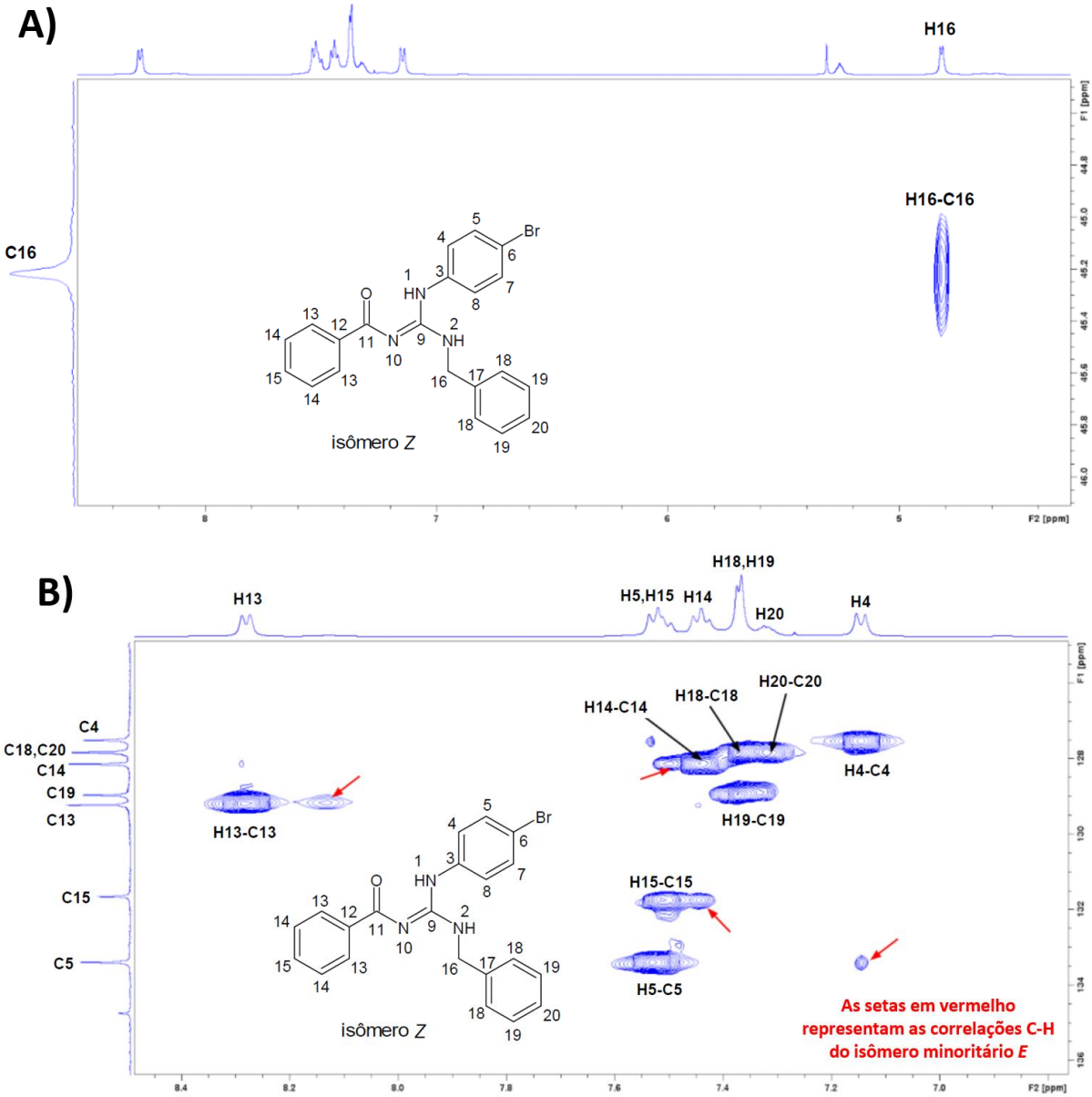


Com o experimento HMBC ^{1}H-^{15}N, foi possível observar e atribuir com precisão os sinais correspondentes aos hidrogênios H1, H2 e H4, além dos nitrogênios N1, N2 e N10. Essas observações permitiram identificar as interações intramoleculares entre os núcleos de hidrogênio (^{1}H) e nitrogênio (^{15}N), confirmando a presença do núcleo guanidínico na estrutura. As correlações que apresentaram um dupleto indicam acoplamento escalar, significando que os núcleos estão diretamente ligados, como nos sinais de H1-N1 e H2-N2. O nitrogênio com deslocamento químico de 173 ppm não apresenta acoplamento escalar, indicando que é um nitrogênio sp2, correspondente ao nitrogênio de amida N10.

As atribuições de todos os núcleos de hidrogênio foram confirmadas por experimentos bidimensionais ^{1}H-^{13}C HSQC e ^{1}H-^{13}C HMBC. Além dos experimentos padrões HSQC e HMBC, foram realizados experimentos do tipo seletivo. Esses experimentos seletivos apresentaram maior resolução dos sinais observados, pois são capazes de restringir a janela de excitação. Dessa forma, esses experimentos auxiliaram na interpretação dos espectros nas regiões aromáticas, onde os sinais dessas moléculas estão naturalmente sobrepostos.

Figura 388 – Espectro de RMN Seletive-HSQC ^{1}H-^{13}C do composto LQOF-G2 à -10ºC $CDCl_3$. A) Zoom na região alifática do núcleo de carbono; B) Zoom na região aromática do

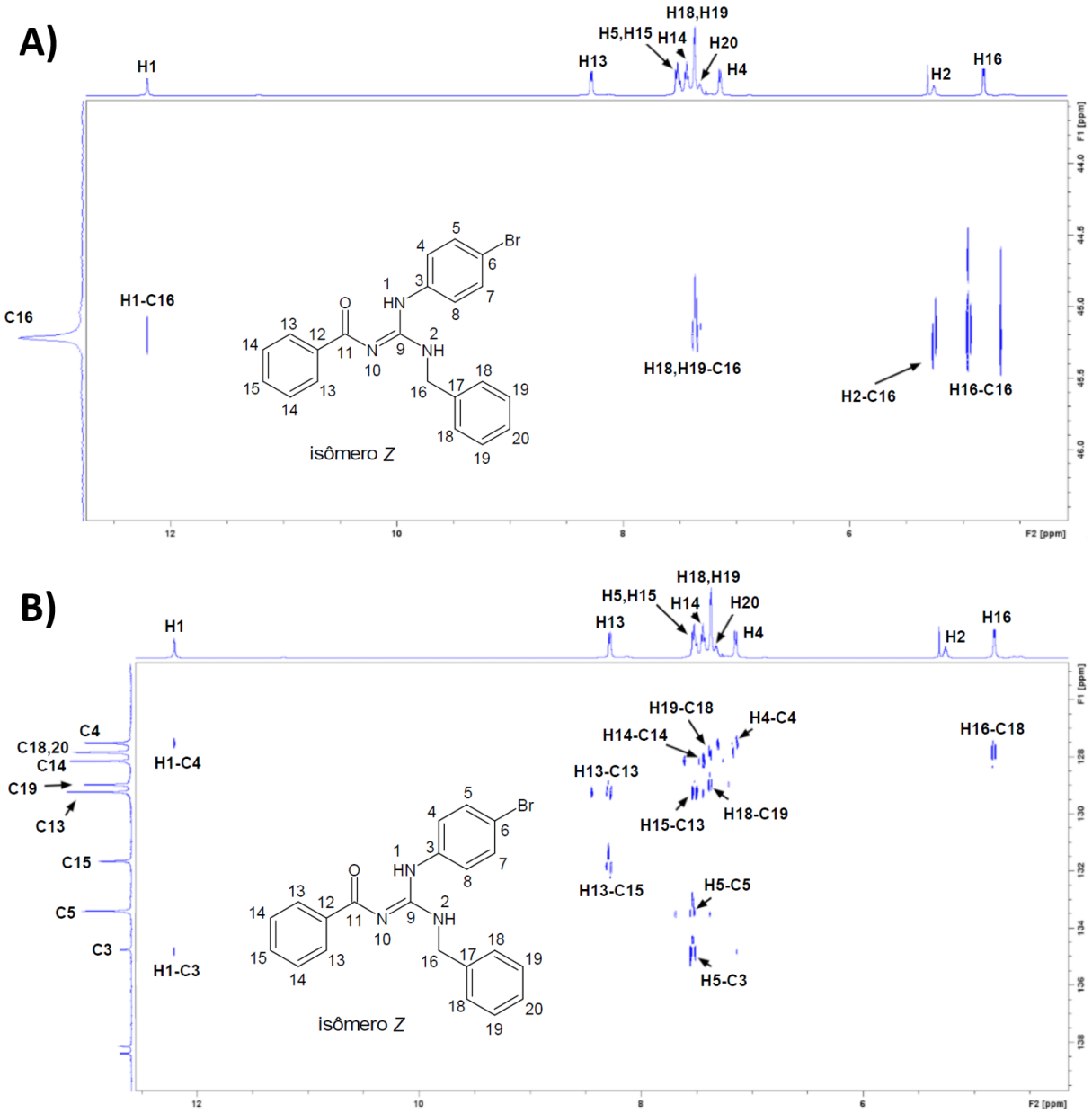
núcleo de carbono (setas vermelhas representam as correlações diretas C-H do isômero minoritário *E*).



Com o experimento de HSQC ^{1}H-^{13}C seletivo, foi possível confirmar a correlação entre os núcleos de hidrogênio (^{1}H) e carbono (^{13}C) geminais, ou seja, diretamente ligados. Além dos sinais correspondentes ao isômero predominante *Z*, também foram observados sinais indicados por setas vermelhas, que correspondem às correlações diretas entre os núcleos na conformação *E*, não atribuídos.

Este resultado é altamente relevante, pois demonstra que é possível observar a diferença nos sinais dos dois isômeros sem a necessidade de alcançar temperaturas extremamente baixas, como -60°C. Isso facilita a análise e a caracterização dos compostos em condições mais acessíveis e menos agressivas.

Figura 39 – Espectro de RMN Seletive-HMBC ^{1}H-^{13}C do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Zoom na região alifática do núcleo de carbono; B) Zoom na região aromática do núcleo de carbono.



Com os experimentos de HMBC ^{1}H-^{13}C seletivo, foi possível confirmar a atribuição dos principais sinais que correlacionam interações intramoleculares a longa distância (até quatro ligações). Portanto, com a soma dos experimentos de RMN realizados, tanto unidimensionais quanto bidimensionais, foi possível caracterizar e atribuir completamente os sinais de ^{1}H, ^{13}C e ^{15}N para o isômero predominante do composto LQOF-G2 sem equívoco à temperatura de -10°C.

Nos experimentos unidimensionais, principalmente de hidrogênio (^{1}H), foi possível constatar e quantificar a presença do isômero *E* em solução a -10°C. Devido ao efeito de conversão conformacional entre os isômeros *E/Z* ser um processo dinâmico, podemos observar, de forma semi-quantitativa, as correlações espaciais de NOESY variando a temperatura e o parâmetro experimental "tempo de mistura". O "tempo de mistura" no experimento de NOESY refere-se ao intervalo de tempo, em segundos, durante o qual as magnetizações dos núcleos são permitidas a interagir entre si através do efeito nuclear Overhauser (NOE). Este efeito é baseado na transferência de magnetização entre núcleos próximos no espaço, geralmente a uma distância de até 5 Å. Durante o tempo de mistura, os núcleos próximos no espaço podem trocar magnetização através de interações dipolares, resultando em picos de correlação cruzada no espectro. Esses picos fornecem informações sobre a proximidade espacial dos núcleos, permitindo a determinação de distâncias interatômicas aproximadas. Para moléculas muito grandes, é possível inferir a distância entre os átomos a partir da integral das correlações NOESY de forma quantitativa. No entanto, para as guanidinas, isso não foi possível, embora algumas correlações tenham mostrado uma tendência linear com o aumento do tempo de mistura no experimento.

A proporção de sinais nos experimentos NOESY das guanidinas mostrou um aumento significativo em temperaturas reduzidas, devido a diminuição dos movimentos moleculares, tornando possível observar mais acoplamentos dipolares com a lenta troca de prótons, além de um aumento proporcional nas integrais com o aumento do tempo de mistura no experimento. Os dados obtidos das correlações NOESY para LQOF-G2 a diferentes temperaturas (microssegundos – µs) estão contidos na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais correlações espaciais e troca química observadas por NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G2 em diferentes temperaturas e diferentes tempos de mistura.

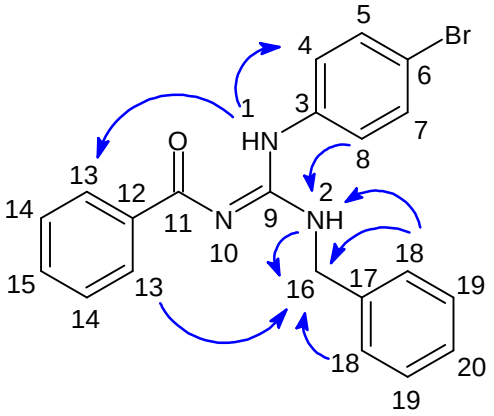
LQOF-G2 CORRELAÇÕES NOESY ^{1}H-^{1}H a 35°C.			
Tempos de mistura (s)	Correlações NOESY ^{1}H-^{1}H		
0,1 ~ 0,5	1-2	13-16	
0,6 ~ 0,8	1-2	13-16	2-16
0,9 ~ 1,2	1-2	13-16	2-16
LQOF-G2 CORRELAÇÕES NOESY ^{1}H-^{1}H a 25°C.			

Tempos de mistura (s)	Correlações NOESY ^{1}H-^{1}H					
0,1 ~ 0,5	1-2		13-16	16-18	4-1	
0,6 ~ 0,8	1-2	2-16	13-16	16-18	4-1	
0,9 ~ 1,2	1-2	2-16	13-16	16-18	4-1	4-2

LQOF-G2 CORRELAÇÕES NOESY ^{1}H-^{1}H a -10°C.

Tempos de mistura (s)	Correlações NOESY ^{1}H-^{1}H								
0,1 ~ 0,5	1-2		13-16	16-18	4-1				
0,6 ~ 0,8	1-2	2-16	13-16	16-18	4-1	4-2	13-2	18-1	16-1
0,9 ~ 1,2	1-2	2-16	13-16	16-18	4-1	4-2	13-2	18-1	16-1

PRINCIPAIS E MAIS INTENSAS CORRELAÇÕES ESPACIAIS NOE a -10°C.



isômero *Z*

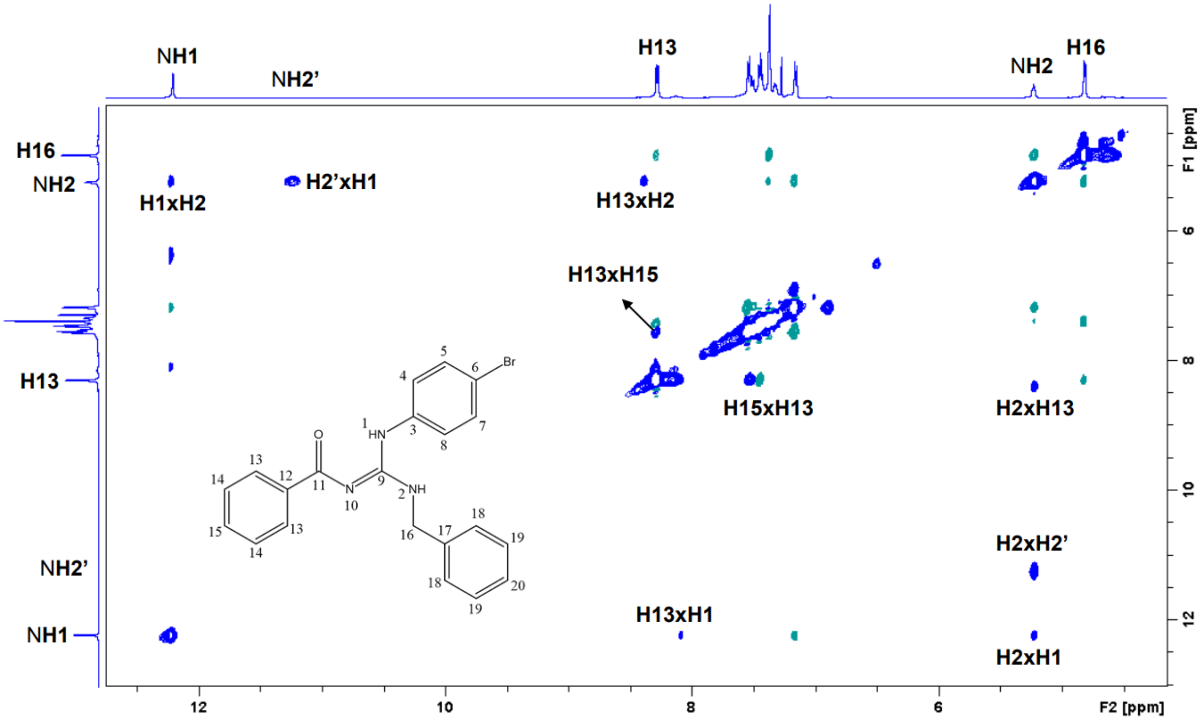
No primeiro experimento a 35°C, observamos poucos sinais de correlação NOE, como para os núcleos H13 e H16, que apresentaram uma tendência quase linear de aumento de intensidade com o aumento do tempo de mistura. Contudo, também foi possível observar sinais de troca química (sinais cruzados com a mesma fase que a diagonal), que apresentaram um perfil de evolução com maiores tempos de mistura. Esses sinais representam o dinamismo entre os núcleos H1-H2, indicando a troca entre os isômeros *E* e *Z* em solução. Curiosamente, há também sinais de troca química entre os núcleos H1-H16, representando as geometrias *E/Z*, mas sem a formação do pseudociclo de seis membros para o isômero *E*.

Em experimentos conduzidos a 25°C, uma maior e significativa quantidade de sinais NOE pôde ser acompanhada, incluindo os núcleos H4-H1, H4-H2, H18-H16 e H13-H16.

Também foi possível observar uma competição entre os sinais de troca química dos núcleos H1-H2 e H1-H16, sendo muito mais favorável a troca entre H1-H2. Esse favorecimento pode ser devido à formação do pseudociclo de seis membros entre os hidrogênios em troca química com o núcleo de oxigênio da benzoíla, formando, portanto, uma ligação de hidrogênio.

Sequencialmente, optou-se pela realização destes experimentos a -10°C, pois nesta temperatura foi possível quantificar os isômeros *E/Z*.

Figura 40 – Espectros de RMN bidimensionais NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G2 à -10°C em $CDCl_3$.



Na temperatura de -10°C, onde já podiam ser observados sinais correspondentes ao isômero não dominante E, foi possível acompanhar vários sinais NOE. Novamente, observou-se uma relação temporal com as trocas químicas, sendo a troca mais favorável entre H1-H2.

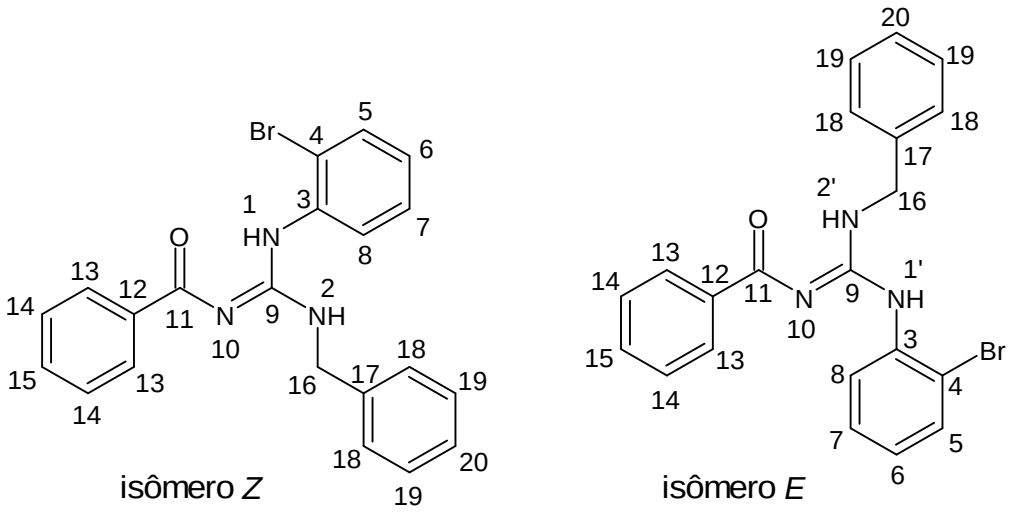
Para as correlações espaciais do tipo NOE, foram acompanhadas as interações entre H2-H16, H1-H16, H4-H2, H4-H1, H13-H16, H13-H1, H18-H2 e H18-H16. Essas interações correspondem espacialmente ao isômero predominante *Z*, como demonstrado na figura representada na Tabela 1.

A observação de múltiplas correlações NOE a -10°C fornece uma visão detalhada das interações espaciais entre os núcleos de hidrogênio, permitindo uma caracterização mais precisa da estrutura do isômero *Z*. Além disso, a identificação de trocas químicas e correlações espaciais

específicas entre os núcleos ajuda a elucidar o comportamento dinâmico dos isômeros em solução.

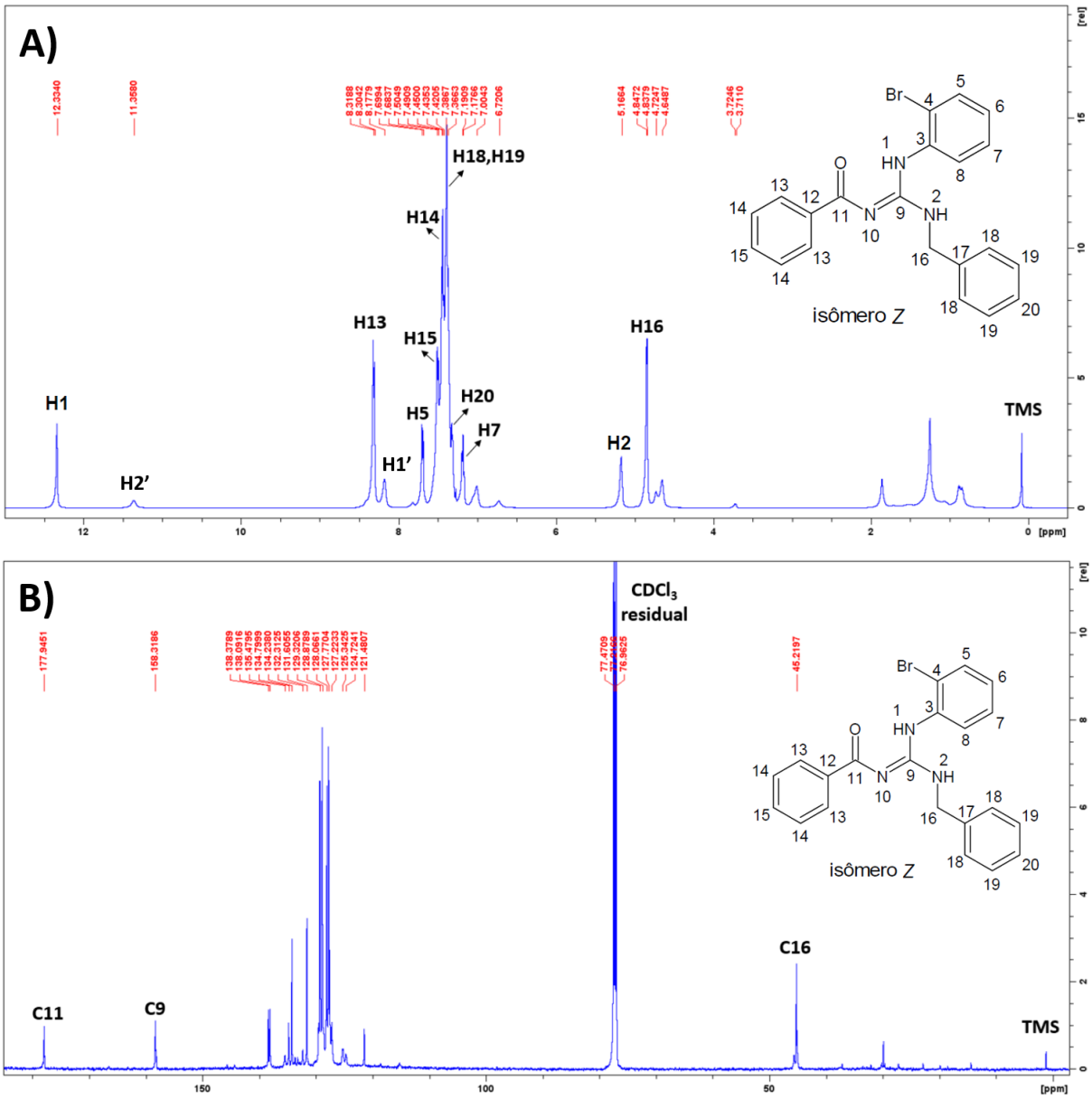
Sequencialmente, as medidas de RMN para os demais compostos guanidínicos foram realizadas a -10°C (253 K). Para o composto LQOF-G35, sua concentração molar foi mantida constante em 91,90 mmol/L (18,75 mg solubilizados em 500 µL). O LQOF-G35 difere do composto já estudado LQOF-G2 apenas pela posição do substituinte bromo no anel aromático. Na Figura 41, é possível observar a representação das duas estruturas isoméricas *E/Z* para o composto LQOF-G35. É importante ressaltar que, em solução a -10°C, o composto LQOF-G35 encontra-se predominantemente como isômero *Z* (82,93%) e, conforme a temperatura do experimento é aumentada proporção do isômero *E* passa a ser insignificante.

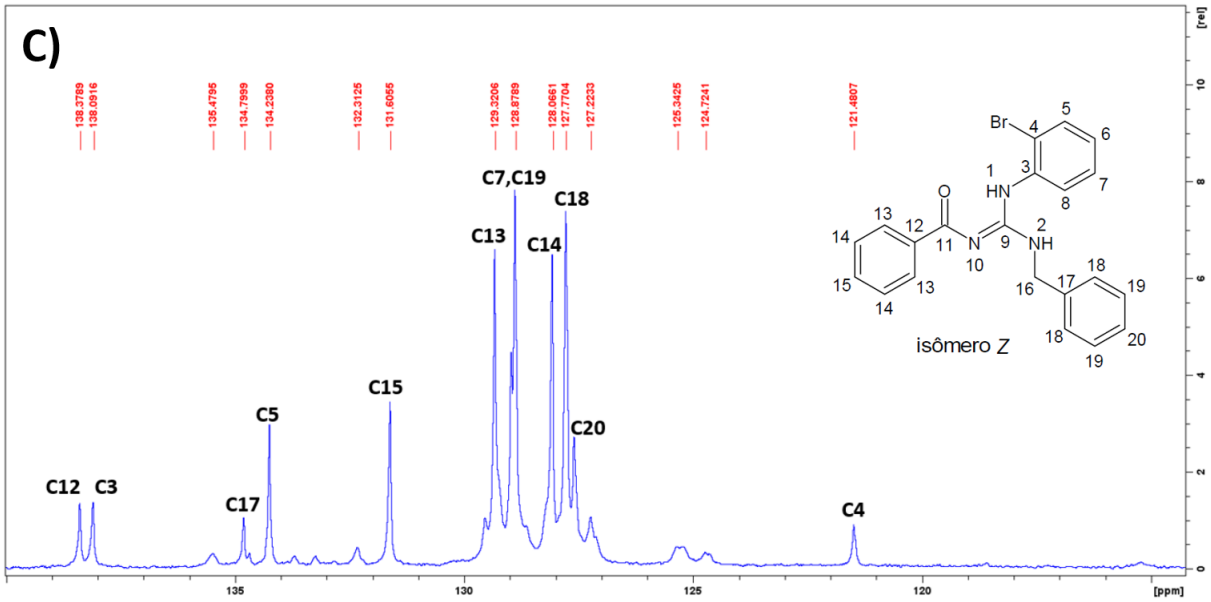
Figura 41 – Representação estrutural dos isômeros *E* e *Z* para o composto guanidínico LQOF-G35.



À temperatura de -10°C, foi possível observar todos os sinais de hidrogênio e carbono para o isômero majoritário *Z*, bem como o surgimento dos sinais correspondentes ao isômero minoritário *E*. Nas figuras abaixo, é possível visualizar os espectros unidimensionais de ^{1}H e ^{13}C, já atribuídos com base nas correlações observadas nos espectros bidimensionais mostrados na sequência.

Figura 422 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$. A) ^{1}H RMN; B) ^{13}C RMN; C) ^{13}C RMN zoom na região aromática.

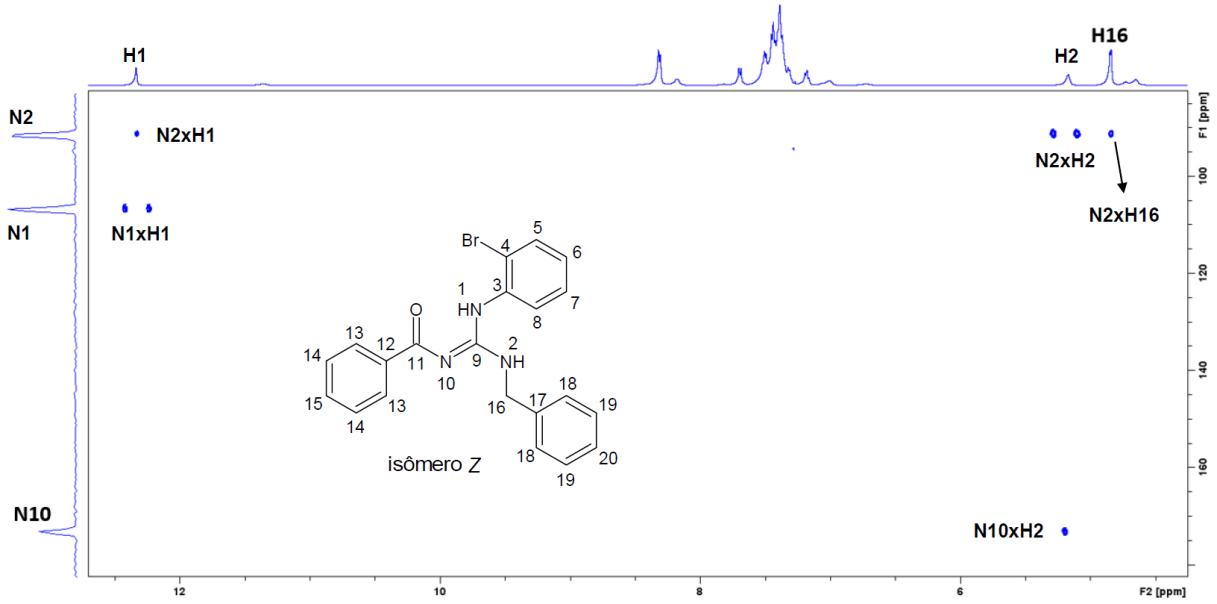




Novamente, observamos o aparecimento de sinais de baixa intensidade correspondentes ao isômero minoritário *E*, enquanto a grande predominância em solução à temperatura de -10°C é do isômero *Z*. Essa predominância foi confirmada pela diferença entre as integrais absolutas dos sinais correspondentes: 12,33 e 5,16 ppm (H1 e H2 – isômero *Z*) e 11,35 e 8,30 ppm (H2' e H1' – isômero *E*). Observamos que, em comparação com os sinais H2' e H1' da LQOF-G2, que exibiam baixa intensidade, a ponto de se assemelharem a ruídos e resultarem em aproximadamente 7% do isômero *E* em solução, na LQOF-G35 esses sinais aparecem com maior intensidade. Após quantificação da LQOF-G35, a proporção entre as conformações foi determinada como 17,07% para a conformação E e 82,93% para a conformação *Z*.

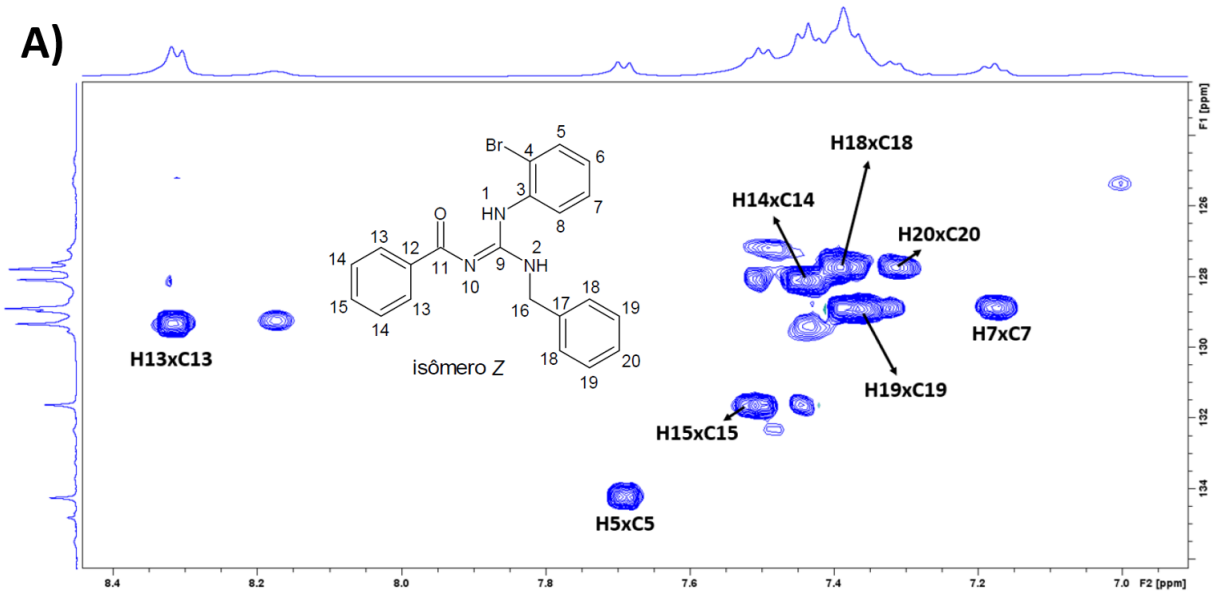
Nas figuras a seguir, podem ser observados os espectros bidimensionais de HSQC ^{1}H-^{13}C seletivo para a região aromática e HMBC ^{1}H-^{13}C e ^{1}H-^{15}N. Assim como para o composto LQOF-G2, através desses experimentos foi possível atribuir de forma inequívoca os sinais do isômero majoritário *Z*.

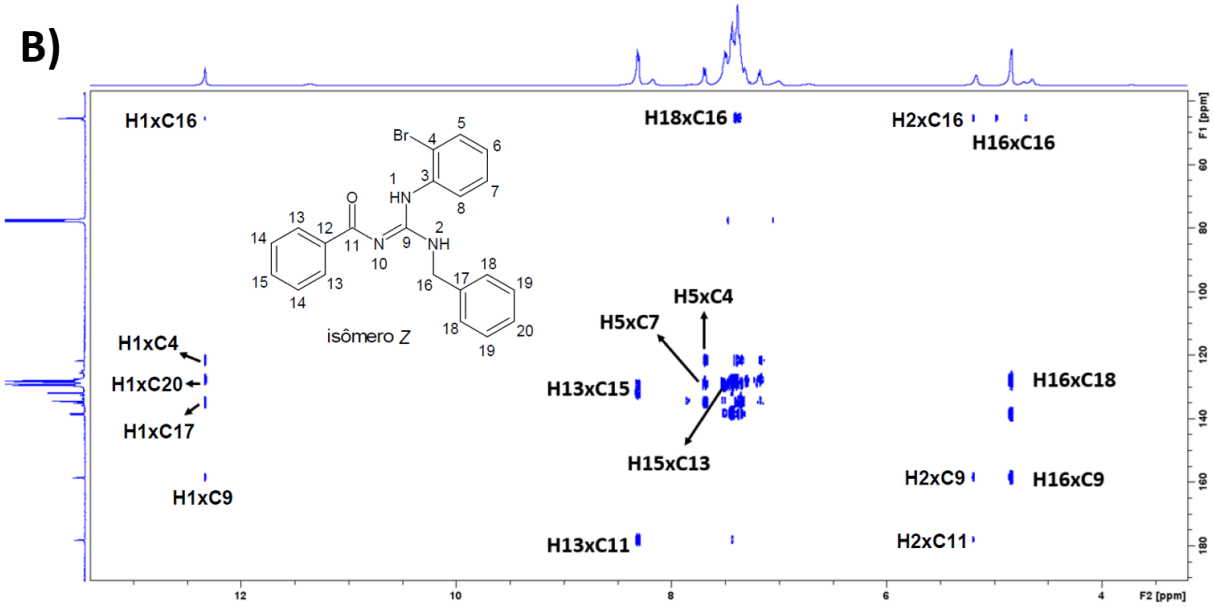
Figura 433 – Espectro de RMN HMBC ^{1}H-^{15}N do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



Na Figura 43, referente ao experimento HMBC ^{1}H-^{15}N, foi possível observar e atribuir os sinais correspondentes aos hidrogênios H1, H2 e H16, e, consequentemente, atribuir os nitrogênios N1, N2 e N10. Esse experimento confirmou a presença do núcleo guanidínico e possibilitou a identificação dos sinais correspondentes aos nitrogênios com base nas correlações de acoplamento escalar (dubletes).

Figura 44 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$. A) Seletive-HSQC ^{1}H-^{13}C; B) HMBC ^{1}H-^{13}C.

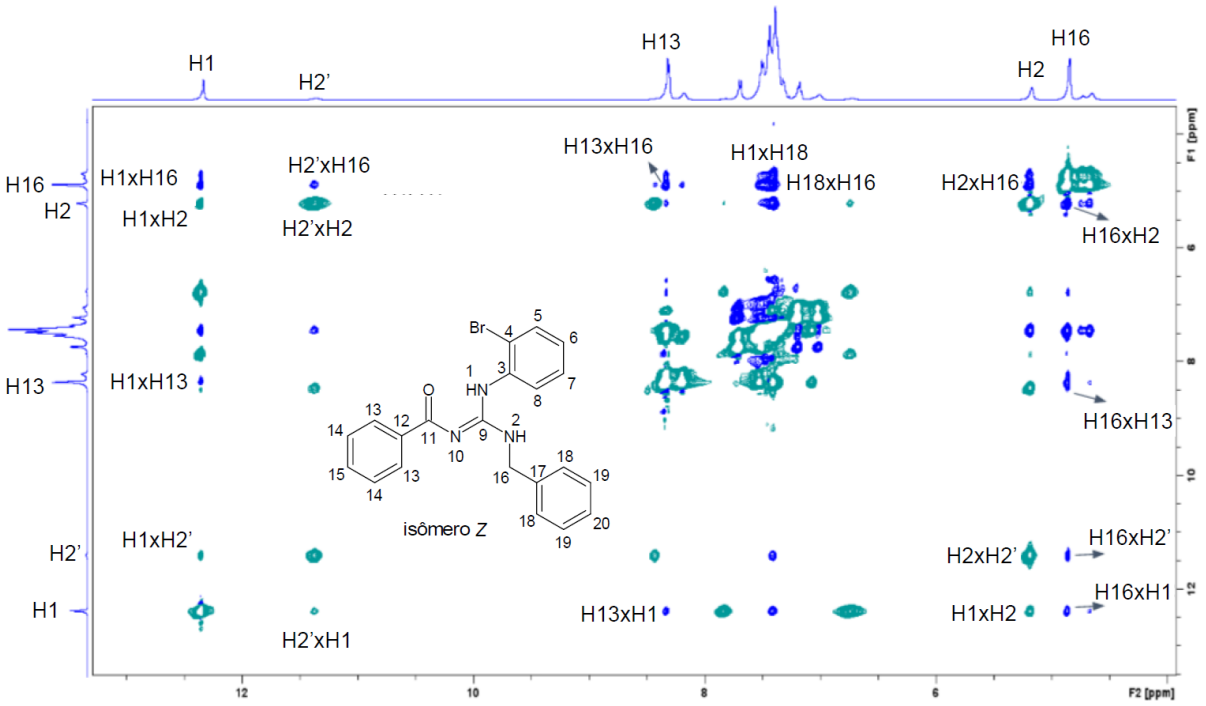




Através das correlações diretas (HSQC) e à distância (HMBC) entre os núcleos ^{1}H-^{13}C, foi possível confirmar as atribuições dos sinais para o composto LQOF-G35.

Em seguida, foram realizados experimentos espaciais do tipo NOESY para confirmar, assim como para o LQOF-G2, o isômero majoritário *Z*. Esses experimentos foram conduzidos variando o tempo de mistura experimental e mantendo a temperatura fixada a -10°C.

Figura 45 – Espectro de RMN NOESY ^{1}H-^{1}H do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.

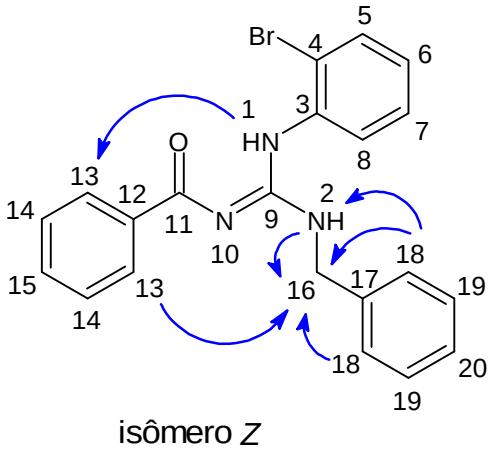


A -10°C, temperatura na qual já era possível observar sinais correspondentes ao isômero minoritário *E*, foi possível acompanhar os sinais NOE de interconversão *E/Z* e as correlações espaciais NOE para o isômero predominante *Z*.

Assim como observado para o composto LQOF-G2, para o LQOF-G35 também foi identificada uma relação temporal nos sinais de interconversão estrutural (trocas químicas), com a troca mais favorável entre os núcleos H1-H2. A estabilização conformacional é promovida pela formação de um pseudociclo de seis membros formado pela ligação de hidrogênio entre H1 (isômero Z) ou H2' (isômero *E*) e o núcleo de oxigênio da benzoíla, aumentando assim a estabilidade.

Para as correlações espaciais do tipo NOE, foram acompanhadas as interações entre os núcleos H1-H16, H1-H13, H2-H16, H2'-H16, H13-H16 H18-H2 e H18-H16. Essas interações confirmam que a principal conformação em solução é o isômero *Z*. Outras intercorrentes não apresentaram resolução suficiente para distinguir e aferir com exatidão o núcleo correspondente, indicando a necessidade de técnicas adicionais para uma análise mais precisa das correlações.

Figura 46 – Estrutura química do composto guanidínico LQOF-G35, em sua conformação predominante, isômero *Z*, à -10ºC, as setas representam as principais correlações espaciais NOE.



Com esses resultados preliminares, foi possível observar a viabilidade de identificar e caracterizar os sinais dos isômeros *E* e *Z* da família de compostos guanidínicos em temperaturas menos agressivas do que as previamente reportadas para essa finalidade.

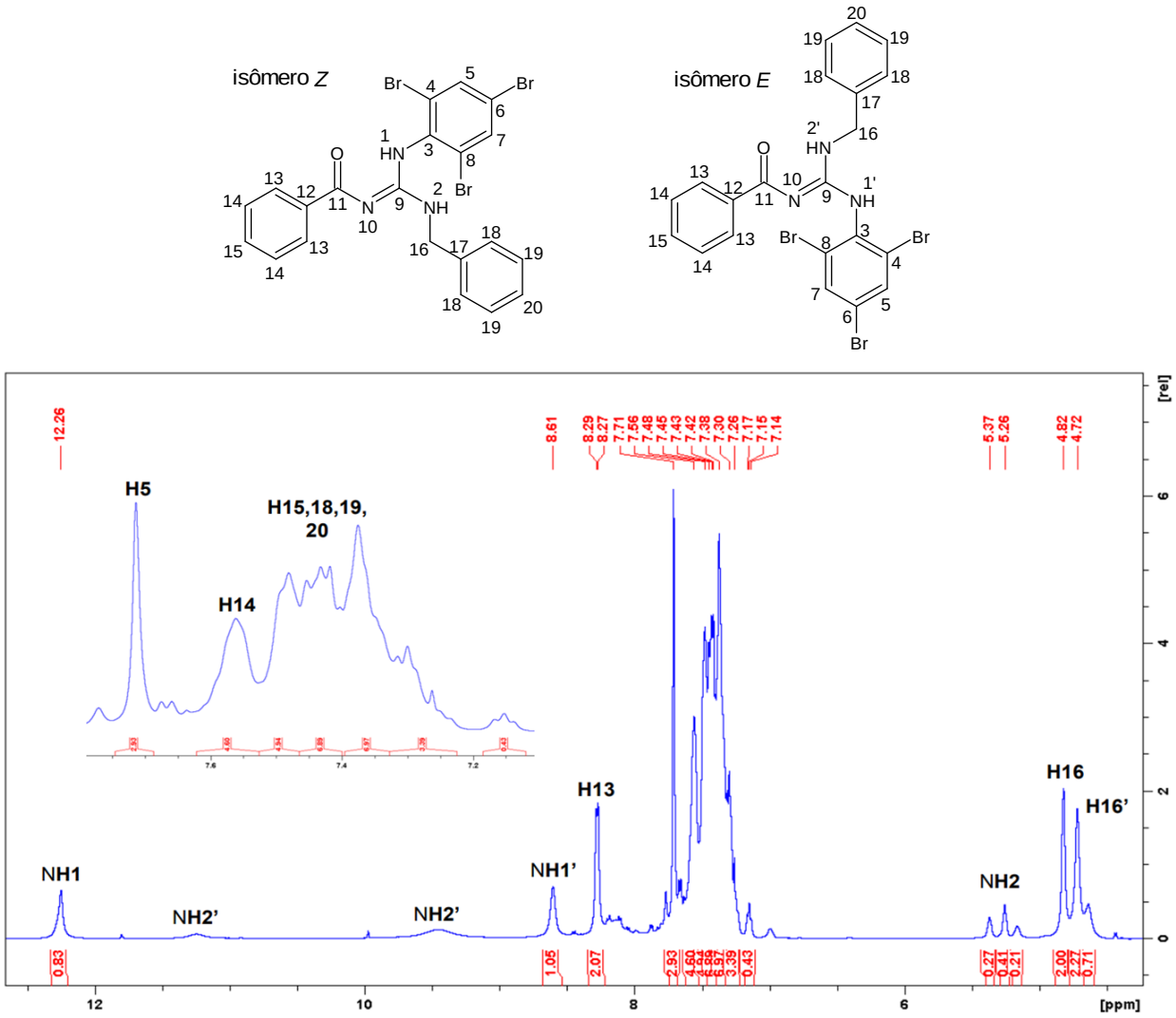
Sequencialmente, foram realizadas medidas de RMN para os demais compostos guanidínicos propostos a 263 K (-10ºC), mantendo a concentração molar em torno de 90 mmol/L em $CDCl_3$. Os resultados referentes às proporções dos isômeros *E* e *Z* para cada

composto estão apresentados na Tabela 3. Este estudo permitiu verificar o comportamento estrutural de cada guanidina proposta com o aumento do número de átomos de bromo na porção da anilina, observando um aumento significativo na população do isômero *E* proporcional à quantidade de átomos de bromo.

Para o composto LQOF-G35-Br, que possui a maior quantidade de bromo na estrutura (tribromado), o experimento unidimensional de RMN ^{1}H (Figura 47) revelou um singlete que integra dois hidrogênios em 7,73 ppm. Esse sinal está associado aos hidrogênios H5/H7, confirmando a simetria do anel tribromado da anilina. Essa observação foi apoiada pela análise HMBC ^{1}H-^{13}C, que mostrou correlações com quatro sinais de ^{13}C, sendo três desses sinais associados a carbonos quaternários (C4/C8 a 115,4 ppm, C3 a 119,3 ppm e C6 a 143,6 ppm), além do carbono C5/C7, observado a 134,6 ppm.

Os hidrogênios alifáticos (H16) foram identificados pelo sinal a 4,7 ppm e corroborados pelo estudo HSQC ^{1}H-^{13}C. Já os hidrogênios aromáticos foram observados na região de 7,0–8,5 ppm.

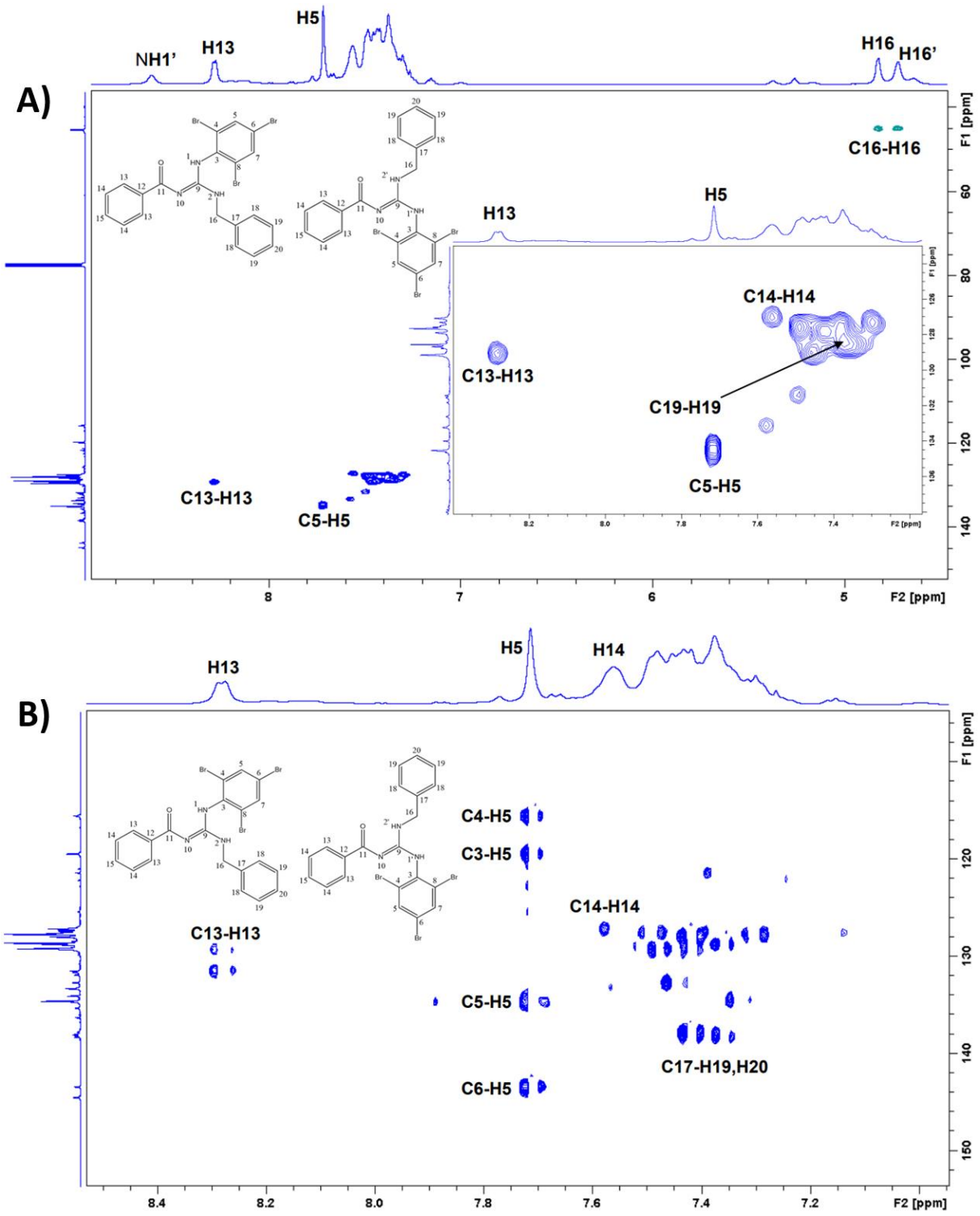
Figura 47 – Espectro de RMN de ^{1}H do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$.



A análise de RMN ^{13}C revelou o sinal alifático atribuído ao C16 para ambos os compostos. Nas regiões variando de 115 a 166 ppm, foram observados os sinais de todos os carbonos restantes. No entanto, para o composto LQOF-G35-Br, que possui dois átomos de bromo adicionais em comparação com o LQOF-G35 monobromado, foi observado apenas um sinal adicional de carbono quaternário.

O surgimento desse sinal adicional de carbono quaternário confirma a simetria do anel tribromado da anilina, observada após a dibromação. A presença dos bromos nas posições *orto* e *para* da anilina contribui para essa simetria, resultando na formação de um ambiente químico mais uniforme para os carbonos adjacentes. Este comportamento é consistente com a observação de um sinal adicional de carbono quaternário e reforça a ideia de que a substituição dos bromos influencia a estrutura do composto, mantendo a simetria no anel aromático.

Figura 48 – Espectro de RMN do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$. A) HSQC ^1H-^{13}C; B) HMBC ^1H-^{13}C.

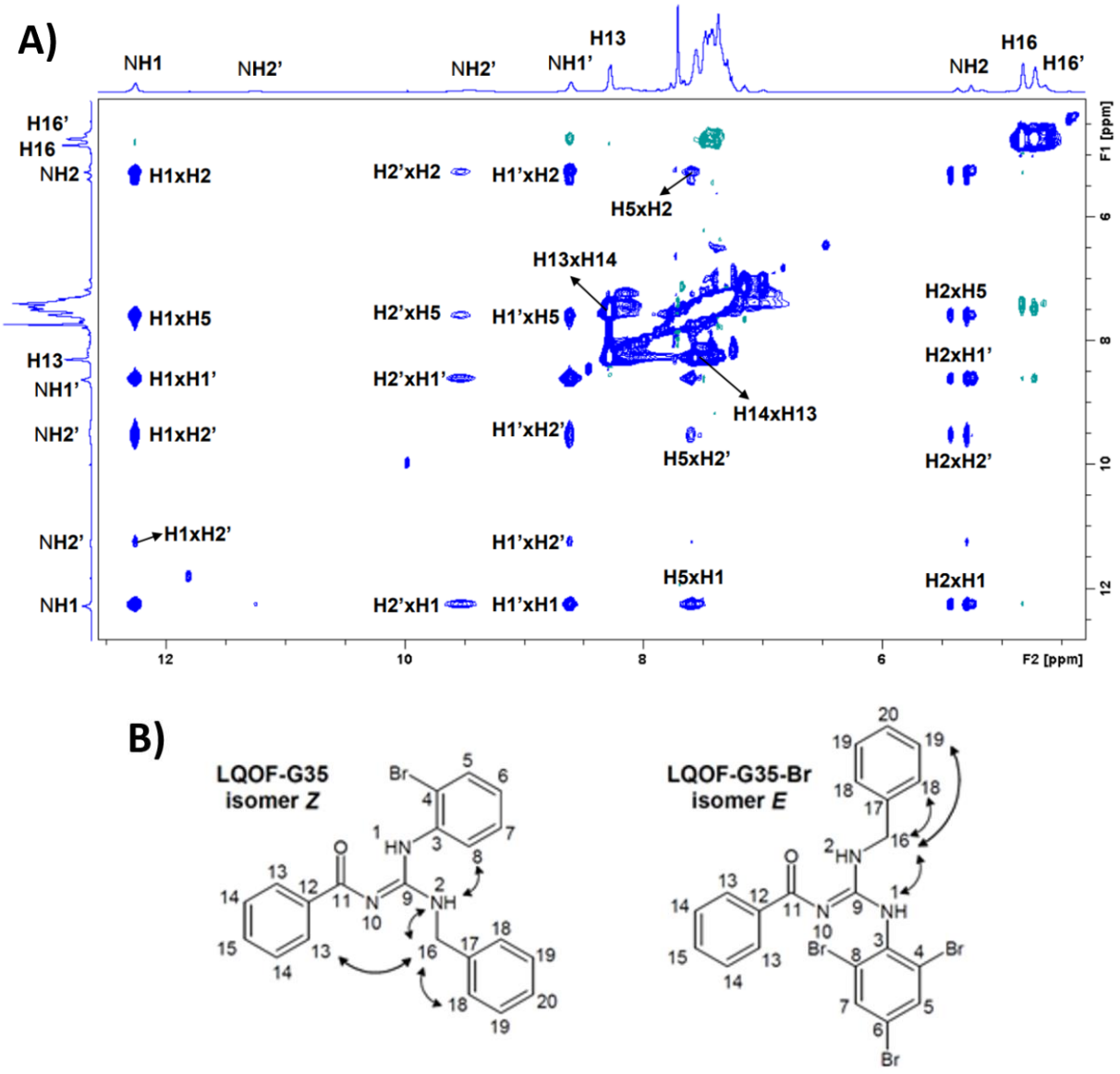


Através das correlações bidimensionais, foi possível confirmar as atribuições dos sinais de ^1H e ^{13}C. Em conjunto com essas análises, foi realizado um estudo NOESY ^1H-^1H para confirmar as correlações espaciais.

Para o composto LQOF-G35, as correlações intensas observadas foram entre H2-H16 e H18-H16, com destaque para as correlações H13-H16 e H8-H2, que indicam a conformação *Z*. Essas correlações espaciais fornecem uma visão clara das interações entre os núcleos de hidrogênio e corroboram a presença predominante da conformação *Z*.

Para o composto LQOF-G35-Br, foram observadas correlações intensas entre H1-H16, H18-H16 e H19-H16, indicando a conformação *E*. Essas observações foram destacadas na Figura 49, e confirmam a conformação *E* com base nas interações espaciais observadas.

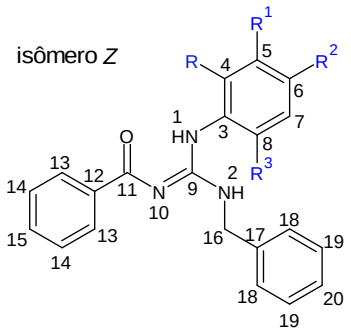
Figura 49 – A) Espectro de RMN de NOESY ^{1}H-^{1}H para o composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$. B) Comparação entre as correlações espaciais mais intensas para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br.

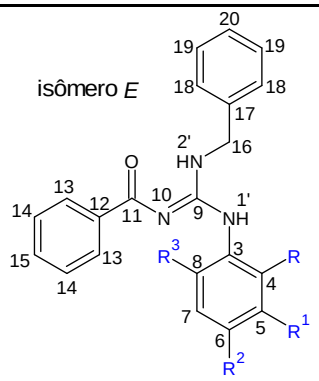


Podemos observar que, ao compararmos a LQOF-G2 com a LQOF-G35, a proximidade do bromo ao nitrogênio da anilina contribuiu para a desestabilização da ligação de hidrogênio entre o hidrogênio da anilina e o oxigênio da carbonila, responsável pela formação de um pseudociclo de seis membros que estabiliza a conformação majoritária *Z*. No caso da LQOF-G35-Br, o aumento da quantidade de átomos de bromo no anel da anilina intensificou essa desestabilização, favorecendo uma maior estabilidade para a conformação *E*, que agora é estabilizada pelo pseudociclo de seis membros envolvendo o hidrogênio da aminobenzila e o oxigênio da carbonila.

Para investigar a influência das mudanças de conversão conformacional produzidas a partir do aumento do número de átomos de bromo nos compostos guanidínicos, foram realizados estudos de RMN unidimensionais de ^{1}H e de ^{13}C, DEPTq 135, e bidimensionais HSQC ^{1}H-^{13}C, HMBC ^{1}H-^{13}C, ^{1}H-^{15}N e NOESY ^{1}H-^{1}H. Os espectros de RMN para os demais compostos estão disponíveis na Seção 8. Apêndice A, e os dados mais relevantes para comparação entre os compostos estão destacados na Tabela 2.

Tabela 2 – Deslocamentos químicos (ppm) obtidos por RMN (500 MHz) de ^{1}H e ^{13}C dos compostos guanidínicos, a -10ºC em $CDCl_3$.





LQOF-G2 (*Z*)	R=R^1=R^3=H	R^2=**Br**	**LQOF-G2-Br (*E*)**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G6 (*Z*)	R=R^1=R^3=H	R^2=***t*-Bu**	**LQOF-G6-Br (*E*)**	R^1=H	R^2=***t*-bu**; R=R^3=**Br**
LQOF-G35 (*Z*)	R^1=R^2=R^3=H	R=**Br**	**LQOF-G35-Br (*E*)**	R^1=H	R=R^2=R^3=**Br**
LQOF-G36 (*Z*)	R=R^2=R^3=H	R^1=**Br**	**LQOF-G36-Br (*Z*)**	R=R^2=H	R^1=R^3=**Br**
LQOF-G30 (*Z*)	R^1=R^3=H	R=R^2=**Br**			

HIDROGÊNIOS

	H1	H2	H1’	H2’	H5	H8	H13	H14	H16	H18
LQOF-G2	12.21	5.23	-	11.25	7.55	7.15	8.28	7.44	4.82	7.38
LQOF-G35	12.33	5.19	-	11.28	7.68	7.31	8.30	7.43	4.76	7.38
LQOF-G36	12.30	7.41	-	-	-	7.31	8.25	7.48	4.78	7.37
LQOF-G30	12.34	5.10	-	11.37	7.84	-	8.31	7.45	4.83	7.45
LQOF-G35-Br	12.26	5.31	8.61	9.64	7.71	-	8.28	7.48	4.82	7.56
LQOF-G36-Br	12.42	5.34	-	11.45	-	-	8.28	-	4.83	-
LQOF-G6	12.10	5.60	-	-	7.42	7.20	8.29	7.44	4.80	7.36
LQOF-G6-Br	12.29	5.05	8.43	-	-	-	8.31	-	4.85	-

CARBONOS

	C3	C4	C6	C8	C9	C11	C12	C13	C14	C16	C17	C18
LQOF-G2	134.6	127.3	120.6	-	158.2	177.8	138.0	129.0	127.9	45.1	138.2	127.6
LQOF-G35	134.8	121.5	-	-	158.1	177.7	138.1	129.3	128.1	45.0	138.4	127.8
LQOF-G36	131.2	-	-	127.6	158.3	178.0	131.4	129.2	127.9	45.3	-	127.6
LQOF-G30	134.0	122.1	121.0	-	157.9	177.9	137.7	127.9	129.1	45.2	138.0	127.7
LQOF-G35-Br	119.3	115.4	143.3	115.4	144.4	166.8	132.6	127.0	127.6	45.0	138.0	129.1
LQOF-G36-Br	125.6	-	157.9	137.7	168.3	177.9	127.9	127.5	127.5	45.2	138.0	127.9
LQOF-G6	132.5	125.3	150.1	125.3	158.6	177.4	138.2	129.3	127.9	44.8	138.6	128.6
LQOF-G6-Br	138.2	118.6	154.6	-	158.4	178.0	124.2	127.4	127.4	45.1	138.3	129.6

Os espectros unidimensionais de RMN ^{1}H dos compostos guanidínicos revelam os principais sinais dos hidrogênios aromáticos na região de 7,0 a 8,6 ppm. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios NH foram observados aproximadamente em ~5 e 12 ppm para o isômero *Z*, e ~8 e 11 ppm para o isômero *E*. Esses sinais apresentaram-se como largos e de baixa intensidade devido à rápida conversão entre os isômeros *E* e *Z*. Outro sinal relevante é o dos hidrogênios metilênicos H16, que, para todos os compostos, foi observado na região de 4,8 ppm.

Com a identificação dos hidrogênios dos grupamentos NH, foi possível calcular a proporção entre os isômeros *E* e *Z* para cada composto à temperatura de -10°C. Os resultados dessas proporções estão detalhados na Tabela 3.

Tabela 3 – Proporção dos isômeros *E/Z* (%) dos compostos guanidínicos calculados por RMN ^{1}H a 253K (-10ºC).

Composto	Bromo	Isômero E %	Isômero Z %
LQOF-G2	1x em *para*	7.02	92.98
LQOF-G35	1x = *orto*	17.07	82.93
LQOF-G36	1x = *meta*	0	100
LQOF-G30	2x = *orto/para*	36.14	63.86
LQOF-G35-Br	3x = 2*orto/para*	53.54	46.46
LQOF-G36-Br	2x = *meta/orto*	48.68	51.32
LQOF-G6	-	0	100
LQOF-G6-Br	2x = *orto*	54.48	45.52

Os sinais dos hidrogênios NH, que foram confirmados pelo experimento HMBC ^{1}H-^{15}N, indicam que os compostos LQOF-G2, LQOF-G35, LQOF-G36 e LQOF-G6 estão preferencialmente na conformação do isômero *Z*. Em contraste, os compostos LQOF-G30, LQOF-G35-Br, LQOF-G36-Br e LQOF-G6-Br, que possuem mais de um átomo de bromo na

porção anilínica, mostraram sinais em 5 e 12 ppm (NH1 e NH2) e também apresentaram sinais de alta intensidade em 8 e 11 ppm (NH1' e NH2'). Esses sinais adicionais indicam a presença significativa da conformação do isômero *E*. Entre esses, LQOF-G35-Br e LQOF-G6-Br destacam-se pela inversão da preferência em proporção para o isômero *E*.

A diferença nos deslocamentos químicos observados para NH1 e NH2 se deve à estabilização das conformações *Z* e *E* pela formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular. Esta ligação ocorre entre o átomo de hidrogênio dos grupos NH da anilina ou benzila e o átomo de oxigênio da carbonila, formando um pseudociclo de seis membros. O átomo de hidrogênio NH envolvido na ligação de hidrogênio intramolecular fica menos protegido, resultando em deslocamentos químicos diferentes. A mudança conformacional de *Z* para *E*, observada após a polibromação, do composto LQOF-G35-Br foi confirmada pelo estudo de DRX (Seção 4.5).

Os espectros unidimensionais de RMN ^{13}C dos compostos guanidínicos foram atribuídos e confirmam suas estruturas. Um sinal comum a todas as guanidinas testadas é o do carbono alifático C16, observado em 45 ppm. Os principais carbonos aromáticos e quaternários foram atribuídos na região de 120 a 180 ppm. É importante destacar a mudança no deslocamento químico dos carbonos que se ligam a átomos de bromo. Essa mudança é acompanhada por uma alteração na fase observada no experimento DEPTq 135, indicando que o carbono está menos desblindado e seu deslocamento químico varia levemente para frequências mais baixas ou, em sentido de campo alto.

Além disso, todos os compostos foram caracterizados através da confirmação dos sinais utilizando as técnicas de HSQC ^{1}H-^{13}C, HMBC ^{1}H-^{13}C, e ^{1}H-^{15}N. Essas análises forneceram uma confirmação abrangente das estruturas dos compostos e suas conformações.

4.5 Estudo dos compostos guanidínicos por DRX.

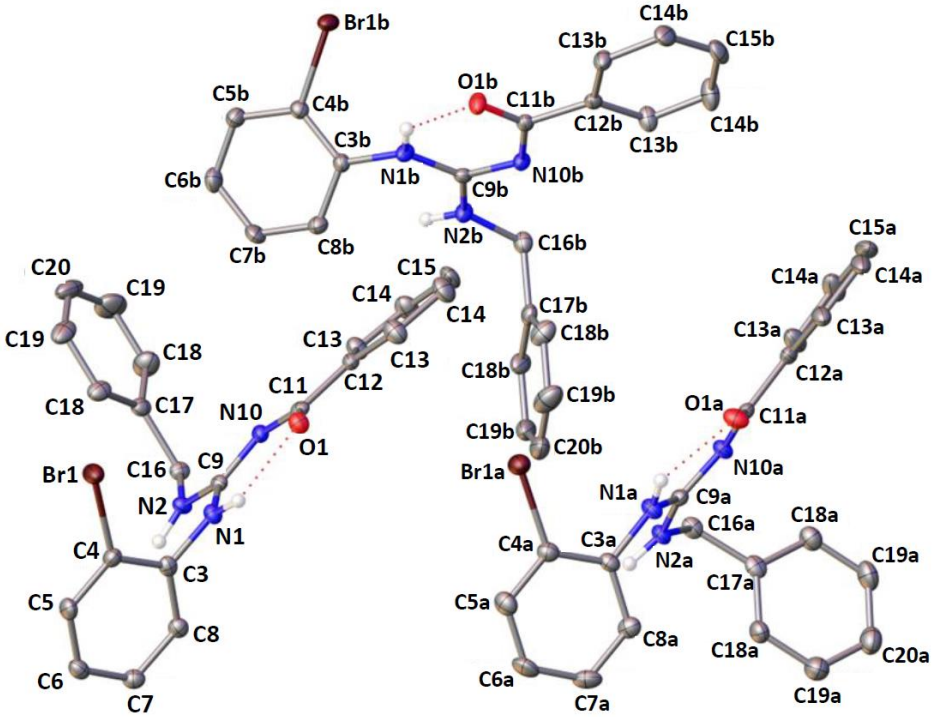
Para validar os resultados de RMN em solução, foram realizados estudos adicionais por Difração de Raios X (DRX), que permitiram a confirmação da conformação preferencial dos compostos guanidínicos em estado sólido.

Os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br formaram monocristais e foram analisados utilizando a técnica de Difração de Raios X de Cristal Único (SCDRX). O composto LQOF-G35 (Figura 50) cristaliza apresentando três moléculas independentes na unidade assimétrica, que diferem principalmente nos ângulos de rotação dos anéis aromáticos. A análise SCDRX do composto LQOF-G35 revela que o grupo guanidina adota uma estrutura ressonante, com

distâncias de ligação C–N variando de 1,330 Å a 1,357 Å, evidenciando a contribuição dos diferentes híbridos de ressonância.

Conforme indicado pelas análises de RMN, LQOF-G35 exibe a conformação Z em estado sólido. O grupo amina da anilina está estabilizado por uma ligação de hidrogênio intramolecular formando um anel de seis membros (N1–H1⋯O1). A presença dos átomos de hidrogênio ligados aos átomos de nitrogênio dos grupos anilina e aminobenzila também foi confirmada pela análise SCDRX, através da avaliação dos mapas de densidade eletrônica. Estes resultados confirmam a conformação observada em solução e fornecem uma visão detalhada da estrutura dos compostos guanidínicos em estado sólido.

Figura 50 – Representação tipo ORTEP da unidade assimétrica do LQOF-G35, com elipsóides térmicos representados com 50% de probabilidade. Os átomos de hidrogênio ligados aos átomos de carbono foram omitidos para maior clareza.

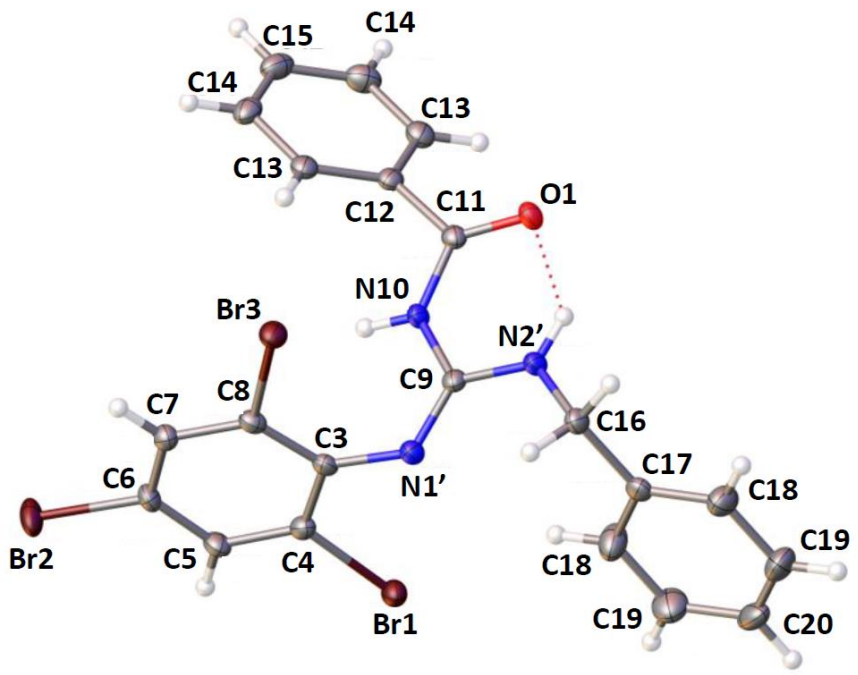


Fonte: Retirado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

Por outro lado, o composto tribromado LQOF-G35-Br cristalizou contendo apenas uma molécula por unidade assimétrica (Figura 51). A análise dos comprimentos das ligações C–N do grupo guanidina revelou C9–N1 a 1,290 (3) Å, C9–N10 a 1,409 (3) Å e C9–N2 a 1,348 (3) Å. Esses comprimentos indicam que a ligação dupla não está em ressonância no caso do LQOF-G35-Br, envolvendo apenas os átomos C9 e N1.

Além disso, foi observada uma inversão na posição dos grupos anilina e aminobenzila na estrutura do LQOF-G35-Br, resultando na conformação *E* em torno do C9–N10. Esta conformação é estabilizada por uma nova ligação de hidrogênio intramolecular, formando um anel de seis membros que envolve N2'–H⋯O1. A análise dos mapas de densidade eletrônica confirmou a presença dos átomos de hidrogênio ligados aos átomos de nitrogênio N10 e N2', corroborando a estrutura observada.

Figura 51 – Representação tipo ORTEP da unidade assimétrica do LQOF-G35-Br. Os elipsóides térmicos são representados com 50% de probabilidade.



Fonte: Retirado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

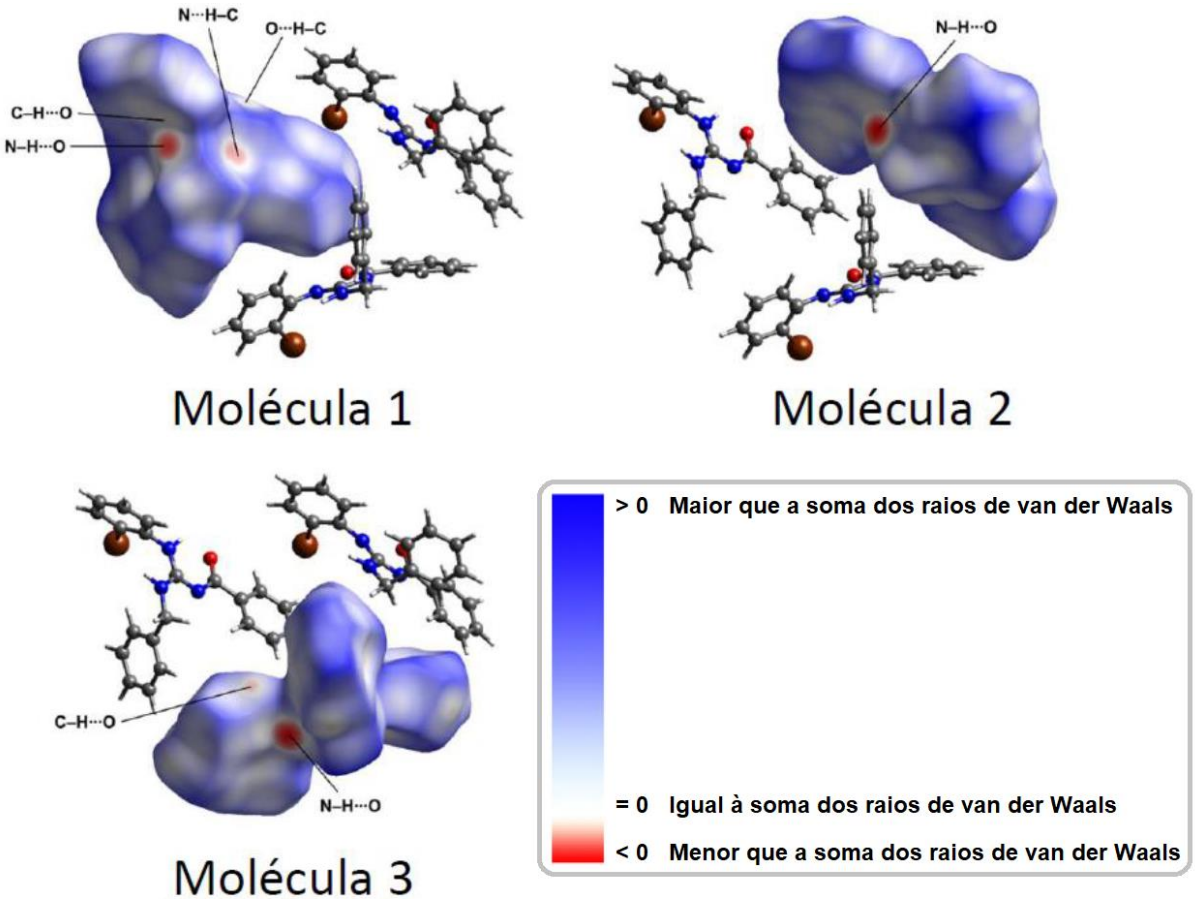
A análise da superfície de Hirshfeld (HS) é uma ferramenta valiosa para compreender as interações intermoleculares em estruturas cristalinas. A função dnorm, que é a combinação das distâncias normalizadas do átomo mais próximo dentro (di) e fora (de) da superfície, permite mapear essas interações usando tons de vermelho, branco e azul. Esses tons representam, respectivamente, os contatos mais curtos, mais próximos e mais longos em relação ao limite de van der Waals.

As Figuras 53 e 54 mostram as superfícies de Hirshfeld para os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br. No caso do LQOF-G35, a análise revela a presença de regiões vermelhas intensas que correspondem às interações intermoleculares N–H⋯O. Essas interações são fundamentais para a formação de cadeias unidimensionais no arranjo cristalino do LQOF-G35.

Além disso, algumas regiões vermelhas menos intensas indicam a presença de ligações de hidrogênio não clássicas fracas, como C–H···O, C–H···C, C–H···N e C–H···Br, que também contribuem para a organização estrutural das moléculas no cristal.

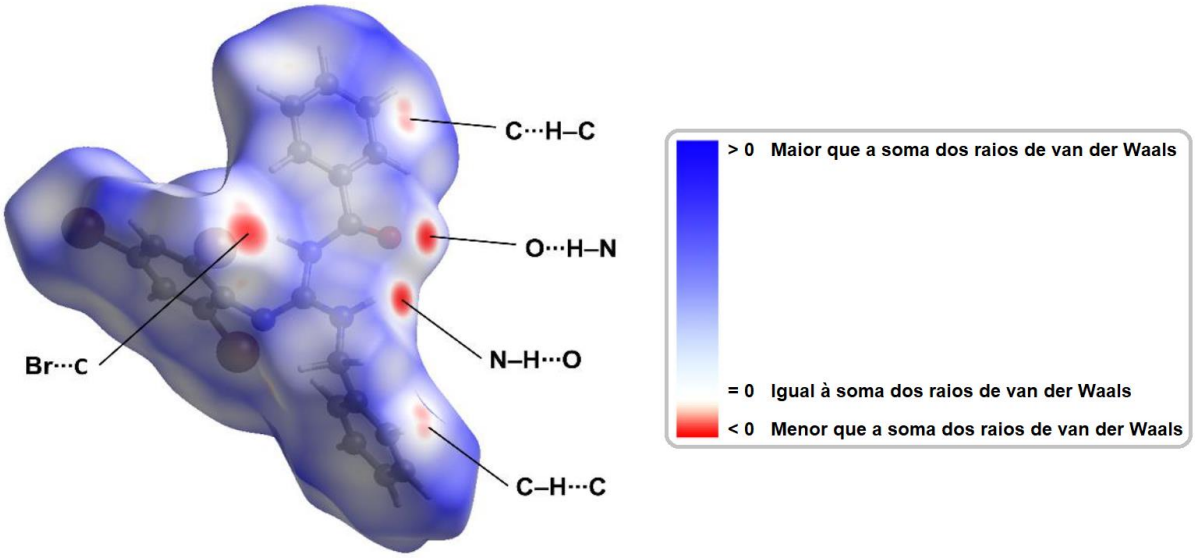
Por outro lado, para o LQOF-G35-Br, a função dnorm mapeada mostra diferenças em comparação com o LQOF-G35, refletindo a alteração nas interações intermoleculares devido à presença adicional dos átomos de bromo. Essas alterações podem influenciar a organização e a estabilidade da estrutura cristalina do composto tribromado.

Figura 52 – Superfície de Hirshfeld do LQOF-G35 mapeada com dnorm. As moléculas nomeadas na análise SCDRX sem sufixo e com os sufixos a e b foram denominadas Molécula 1, 2 e 3, respectivamente.



Fonte: Adaptado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

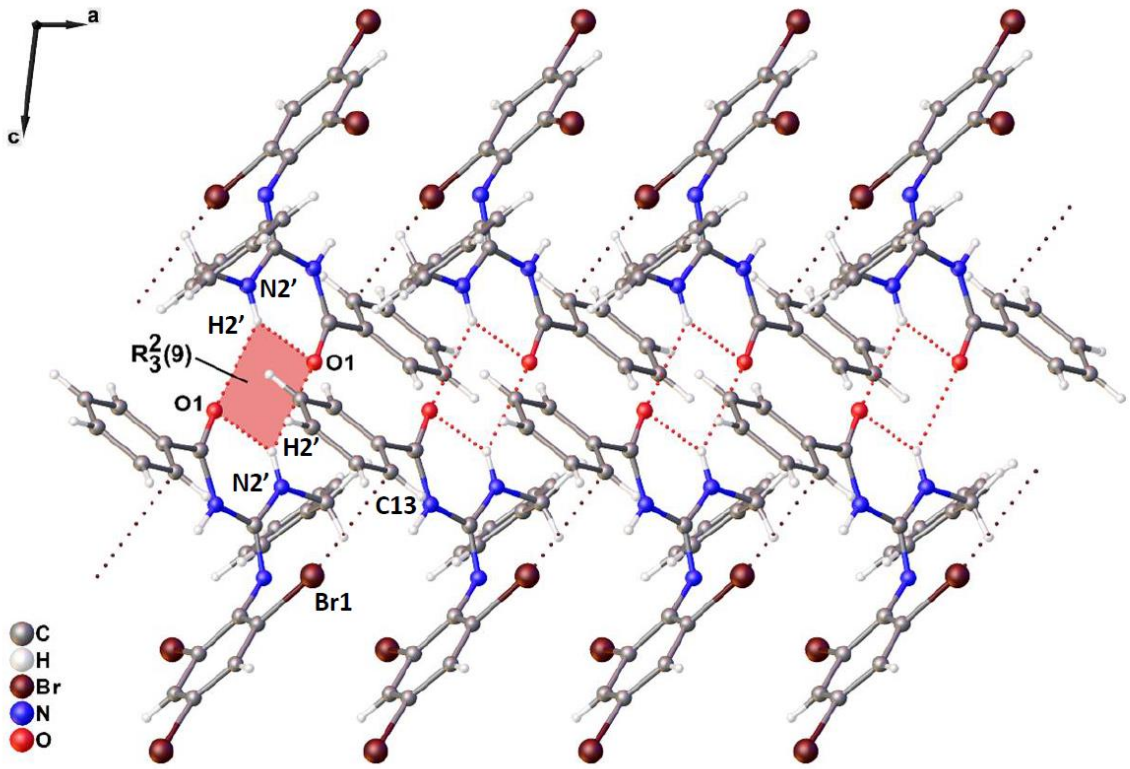
Figura 53 – Superfície de Hirshfeld do LQOF-G35-Br mapeada com dnorm.



Fonte: Adaptado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

O HS do LQOF-G35-Br também possui regiões vermelhas correspondentes às ligações de hidrogênio N–H···O e às interações não clássicas C–H···O, C–H···C, C–H· ··N e C–H···Br, com as interações intermoleculares N2'–H2'···O1. Vale ressaltar a presença de algumas regiões vermelhas intensas indicando a ocorrência de interação halogênio···π, que ocorre entre o átomo Br1 de uma molécula de LQOF-G35-Br e o átomo C13 de outra molécula [105], com distância de 3,225(1) Å, sendo responsável pela ligação dos pseudodímeros formados pelas ligações de hidrogênio intermoleculares N2'–H2'···O1 em uma rede unidimensional (Figura 54).

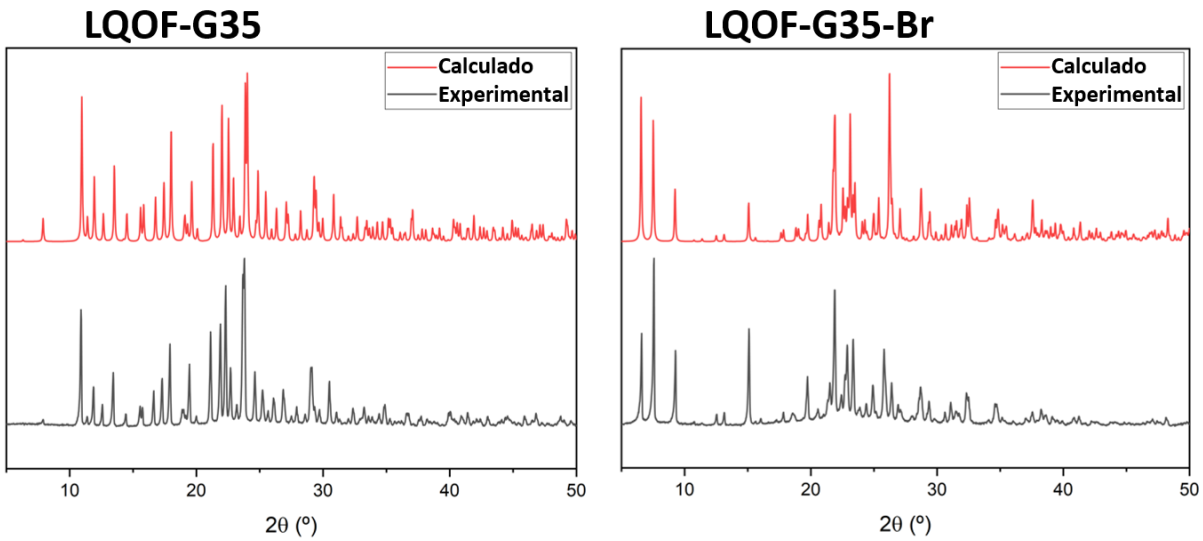
Figura 54 – Rede unidimensional para LQOF-G35-Br obtida através das interações intermoleculares N H···O e Br···π, visualizadas na direção [010].



Fonte: Retirado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

A cristalização das guanidinas também foi avaliada por difração de raios X em pó, onde os compostos LQOF-G35 e LQOF-G35-Br foram analisados, e seu padrão de raios X foram comparados com aqueles obtidos no SCDRX. É importante destacar que as análises de DRX em pó foram realizadas com o objetivo de confirmar os resultados obtidos por SCDRX e investigar a possível presença de uma fase secundária. Para isso, os compostos foram analisados antes da formação dos cristais de cada guanidina. Os difratogramas experimentais apresentaram boa concordância com os difratogramas calculados, que foram gerados a partir dos dados CIF obtidos experimentalmente por SCXRD. Pequenas diferenças foram observadas, atribuídas à intensidade decorrente de orientação preferencial e ao deslocamento na posição de alguns picos, causado pela diferença de temperatura entre as medições de SCXRD (100 K) e DRX (temperatura ambiente). Este resultado mostra claramente que apenas uma única fase para cada guanidina foi obtida no estado sólido e essa fase concorda com a obtida por SCDRX.

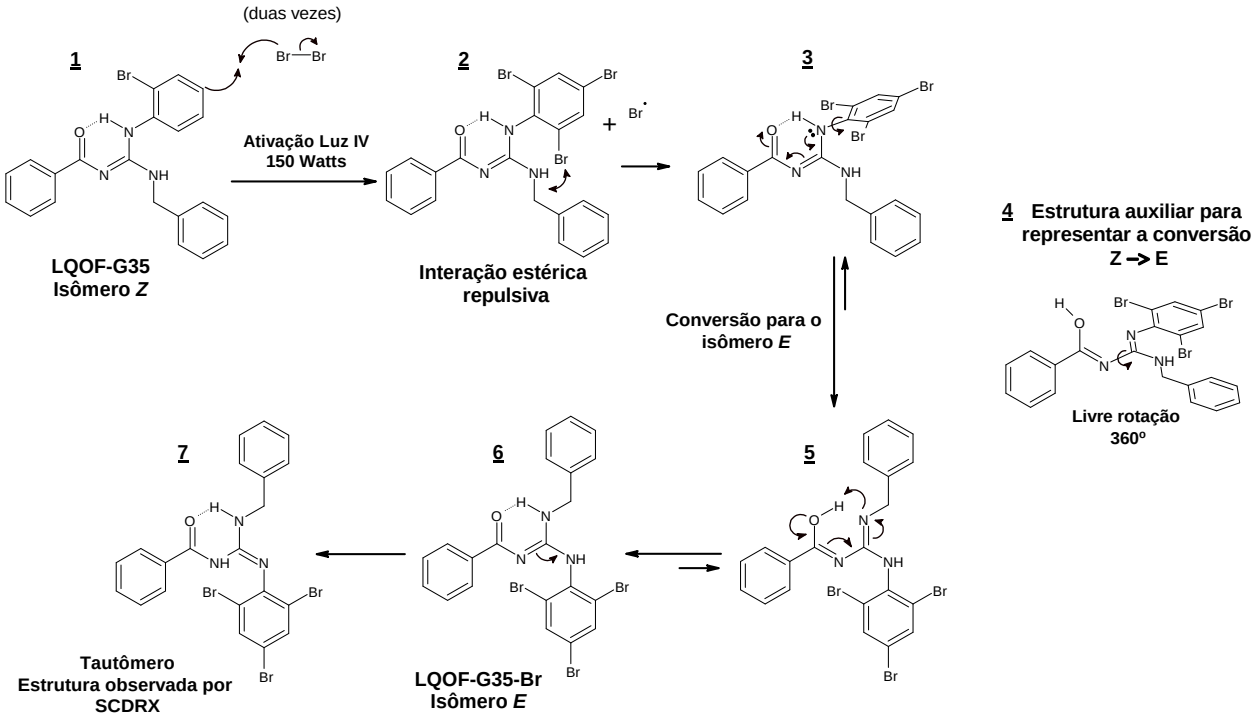
Figura 55 – Padrões DRX calculados e experimentais dos compostos guanidínicos LQOF-G35 (isômero *Z*) e LQOF-G35-Br (isômero *E*).



Fonte: Retirado de Zampieri, E.H., et al. (2024) [93].

A relação conformacional *E/Z* está diretamente associada à posição da ligação dupla N10=C9, como ilustrado na representação das guanidinas na Figura da Tabela 2. A adição de um segundo átomo de bromo na porção anilina provocou a rotação do anel anilina e a ruptura da conjugação π do nitrogênio da anilina com a nuvem π-aromática, devido à perda da sobreposição dos orbitais p-p (Estrutura 3 na figura 56). Isso permitiu que o par de elétrons livres do nitrogênio se conjugasse com o carbono central da guanidina, promovendo a migração dos elétrons π até a abertura da ligação dupla da carbonila e resultando na formação de um enolato. Consequentemente, a ligação N10-C9 tornou-se uma ligação sigma, permitindo que a rotação atingisse a conformação E como podemos observar pela estrutura auxiliar 4, com a ligação dupla da carbonila (forma ceto) regenerada e a ligação dupla N10=C9 restaurada (Estrutura 6 na Figura 56). Finalmente, o tautômero formado a partir do isômero E do composto LQOF-G35-Br foi cristalizado, e o monocristal correspondente foi analisado por difração de raios X (SCDRX), conforme mostrado na Estrutura 7 da Figura 56.

Figura 56 – Mecanismo proposto para alterações conformacionais de LQOF-G35 para LQOF-G35-Br na bromação com NBS.



Fonte: Mecanismo adaptado de Zampieri, E.H.; dos Anjos, L. R.; Santiago, P. H. dO.; Nascimento, T. R. dS.; Ellena, J.; Gonzalez, E. R. P. NMR and X-ray diffraction conformational study of guanidines, **Journal of Molecular Structure**, 1315, 2024 [93].

5 CONCLUSÕES

Caracterizou-se os compostos guanidínicos por RMN identificando os isômeros *Z* e *E* a temperaturas de -10°C. Os compostos guanidinicos estudados foram sintetizados com rendimentos satisfatórios e foram caracterizados por SCDRX confirmando as estruturas propostas.

Os compostos monobromados LQOF-G2, LQOF-G35, LQOF-G36 e o não bromado LQOF-G6 apresentaram preferencialmente a conformação *Z* em solução a -10°C, com proporções de 92,98%, 82,93%, 100% e 100%, respectivamente. Por outro lado, os compostos com mais de um átomo de bromo na porção anilina, LQOF-G30, LQOF-G36-Br, LQOF-G6-Br e LQOF-G35-Br, exibiram uma distribuição conformacional mista (*E* e *Z*) em solução a -10°C. Destacam-se os compostos LQOF-G35-Br (com três átomos de bromo) e LQOF-G6-Br (com dois átomos de bromo e um grupo *t*-butil), que demonstraram uma maior quantidade de seus respectivos isômeros *E* em solução a -10°C, com proporções de 53,54% e 54,48%, respectivamente. A análise de SCDRX revelou que o composto LQOF-G35-Br, com três átomos de bromo no anel de anilina, cristalizou como um tautômero originado diretamente formado do isômero *E*.

Os compostos bromados apresentaram respostas distintas dependendo da posição inicial do átomo de bromo no anel anilínico. Nas posições orto e para, observou-se a formação do mesmo produto, enquanto na posição meta (LQOF-G36), ocorreu a incorporação de apenas um átomo de bromo. Ao comparar o composto LQOF-G36 com o LQOF-G30, verificou-se que a presença de um átomo de bromo na posição meta resultou em uma maior proporção de isômeros E em solução, passando de 36,14% para 48,68%.

Os compostos LQOF-G30 e LQOF-G35-Br foram considerados pouco ativos a partir de resultados preliminares da avaliação da atividade antileishmania. Isso sugere que o aumento do número de átomos de bromo na fração anilina das guanidinas investigadas e as consequentes mudanças conformacionais não resultam na melhoria da atividade biológica, comparando LQOF-G2 e LQOF-G35 com LQOF-G30 e LQOF-G35-Br. No entanto, para uma discussão mais aprofundada sobre os resultados de atividade desses compostos, são necessários estudos adicionais, devido à grande variedade de espécies de *Leishmania* e às diferenças entre as formas amastigota e promastigota.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como observado nos compostos guanidínicos que foram realizadas as reações de bromação, estes já possuíam grupos ativadores na porção anilínica (presença do ligante bromo ou *terc*-butil). O próximo passo é testar a reação de bromação, realizando o mesmo procedimento nas mesmas condições, em guanidinas com um grupo desativador ligado na porção anilínica, como o grupo nitro (NO_2) por exemplo, para verificar se a seletividade da reação é mantida ou se a localização da inserção do átomo de bromo na estrutura será alterada.

Os compostos bromados LQOF-G36-Br e LQOF-G6-Br formaram monocristais e foram enviados para fazer as medidas correspondentes de difração de raios X de monocristal (SCDRX).

Com o objetivo de desenvolver novos compostos potenciais para o tratamento de doenças negligenciadas, as guanidinas bromadas apresentadas neste estudo serão futuramente investigadas, com foco principal em diferentes formas de *Leishmania* e outros parasitas.

Além da inserção de átomos de bromo nos compostos guanidínicos, estudos futuros incluirão a introdução de átomos de flúor e cloro, não apenas para aprofundar a compreensão estrutural e avaliar a influência desses grupos na dinâmica entre os isômeros E/Z e sua preferência, mas também para investigar sua contribuição na atividade biológica contra parasitas.

É importante destacar que as principais descobertas deste trabalho resultaram na publicação de um artigo científico na revista *Journal of Molecular Structure* em 2024. Além disso, os resultados estruturais curiosos que surgiram durante a pesquisa, e que nos levaram a explorar as perspectivas futuras mencionadas, geraram novas propostas de pesquisa as quais serão aprofundadas em estudos subsequentes.

7 REFERÊNCIAS

1- World Health Organization: Neglected tropical diseases. http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/ (acessado em agosto de 2024).

2- Johnston, K. L.; Ford, L.; Taylor, M. J.; Overcoming the challenges of drug discovery for neglected tropical diseases: the A-WOL Experience. **J. Biomol. Screen**, 19, 335-343, 2014.

3- Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Neglected Tropical Diseases: Multi-Target-Directed Ligands in the Search for Novel Lead Candidates against Trypanosoma and Leishmania. **J. Med. Chem.** 52, 7339–7359, 2009.

4- Hotez, P. J.; Molyneux, D. H.; Fenwick, A.; Kumaresan, J.; Sachs, S. E.; Sachs, J. D.; Savioli, L.; Control of neglected tropical diseases. **N. Engl. J. Med.** 357, 1018–1027, 2007.

5- Agência FIOCRUZ de Notícias: Doenças Negligenciadas. https://agencia.fiocruz.br/doenças-negligenciadas (acessado em agosto de 2024).

6- Organização Pan-Americana da Saúde https://www.paho.org/pt/noticias/30-1-2024-doencas-tropicais-negligenciadas-dia-mundial-chama-atencao-para-fortalecimento (acessado em agosto de 2024).

7- Biblioteca Virtual em Saúde https://bvsalud.org/vitrinas/post_vitrines/doencas-negligenciadas/ (acessado em agosto de 2024).

8- Organização Pan-Americana da Saúde https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose (acessado em agosto de 2024).

9- World Health Organization https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1 (acessado em agosto de 2024).

10- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Leishmaniasis. https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html (acessado em agosto de 2024).

11- World Health Organization https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis (acessado em agosto de 2024).

12- Organização Pan-Americana da Saúde https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-cutanea-e-mucosa (acessado em agosto de 2024).

13- Organização Pan-Americana da Saúde https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-visceral (acessado em agosto de 2024).

14- Portal GOV: Ministério da Saúde https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral (acessado em agosto de 2024).

15- Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Clinical Care of Leishmaniasis https://www.cdc.gov/leishmaniasis/hcp/clinical-care/index.html (acessado em agosto de 2024).

16- FIOCRUZ: Leishmaniose https://portal.fiocruz.br/doenca/leishmaniose#:~:text=fontes%20de%20infecção.-,Tratamento,essas%20drogas%20têm%20toxicidade%20considerável (acessado em agosto de 2024).

17- Ferreira BA, Coser EM, de la Roca S, Aoki JI, Branco N, Soares GHC, et al. (2024) Amphotericin B resistance in Leishmania amazonensis: In vitro and in vivo characterization of a Brazilian clinical isolate. **PLoS Negl Trop Dis.** 18(5): e0012175, 2024.

18- S.S. Ebada and P. Proksch. Chemical and Pharmacological Significance of Natural Guanidines from Marine Invertebrates. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, 11, 225-246, 2011.

19- D. Strecker, Ann. **Chem. Pharm**. 72, 27, 1850.

20- do Espírito Santo, R.D. et al. N, N', N''-trisubstituted guanidines: Synthesis, characterization and evaluation of their leishmanicidal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 171, 116-128, 2019.

21- S. Cunha et al. Bismuth nitrate pentahydrate: a new and environmentally benign reagent for guanidylation of N-benzoylthioureas. **Tetrahedron Letters**, 43, 49–52, 2002.

22- Yoshihiro Sohtome et al. Guanidine-Thiourea Bifunctional Organocatalyst for the Asymmetric Henry (Nitroaldol) Reaction. **Adv. Synth. Catal**. 347, 1643 – 1648, 2005.

23- Zheng-Yang Gu et al. Cobalt(II)-Catalyzed Synthesis of Sulfonyl Guanidines via Nitrene Radical Coupling with Isonitriles: A Combined Experimental and Computational Study. **ACS Catal**. 7, 3893−3899, 2017.

24- Yue Fang et al. Cobalt-catalyzed condensation of sulfonyl azides with o-diisocyanoarenes and anilines: a new approach to N-sulfonyl guanidines. **Org. Chem. Front.** 6, 3383-3386, 2019.

25- E. S. Dyudeeva et al. Physicochemical Properties of the Phosphoryl Guanidine Oligodeoxyribonucleotide Analogs. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, 45, 709–718, 2019.

26- A.A. Lomzov et al. Diastereomers of a mono-substituted phosphoryl guanidine trideoxyribonucleotide: Isolation and properties. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 513, 807-811, 2019.

27- R.R. Garafutdinov et al. Prevention of DNA multimerization using phosphoryl guanidine primers during isothermal amplification with Bst exo- DNA polymerase. **Biochimie**, 168, 259-267, 2020.

28- Samuel W. Gerritz et al. Acyl Guanidine Inhibitors of β-Secretase (BACE-1): Optimization of a Micromolar Hit to a Nanomolar Lead via Iterative Solid- and Solution-Phase Library SynthesisJ. **Med. Chem.** 55, 9208−9223, 2012.

29- Daniel R.Goldberg et al. Discovery of acyl guanidine tryptophan hydroxylase-1 inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 26, 2855–2860, 2016.

30- Charles A. Seipp et al. CO2 Capture from Ambient Air by Crystallization with a Guanidine Sorbent. **Angew. Chem.** 128, 1 – 5, 2016.

31- Zhang, S., & He, L.-N. Capture and Fixation of CO2 Promoted by Guanidine Derivatives. **Australian Journal of Chemistry**, 67, 980, 2014.

32- Custelcean, R., Garrabrant, K. A., Agullo, P., & Williams, N. J. Direct air capture of CO2 with aqueous peptides and crystalline guanidines. **Cell Reports Physical Science**, 2, 100385, 2021.

33- Roman Blaszczyk, Joanna Brzezinska, Barbara Dymek, Paulina S. Stanczak, Marcin Mazurkiewicz, Jacek Olczak, Julita Nowicka, Karolina Dzwonek, Agnieszka Zagozdzon, Jakub Golab, and Adam Golebiowski. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, 11, 433-438, 2020.

34- H. Ube, M. Terada. Enantioselective Henry (nitroaldol) reaction catalyzed by axially chiral guanidines. Bioorg. **Med. Chem. Lett.** 19, 3895–3898, 2009.

35- Yoshihiro Sohtome, Takahisa Yamaguchi, Shinji Tanaka and Kazuo Nagasawa. Sequential enantiodivergent organocatalysis: reversibility in enantioswitching controlled by a conformationally flexible guanidine/bisthiourea organocatalyst. **Org. Biomol. Chem.** 11, 2780–2786, 2013.

36- Keisuke Hosoya, Minami Odagi, Kazuo Nagasawa. Guanidine organocatalysis for enantioselective carbon-heteroatom bond-forming reactions. **Tetrahedron Letters,** 59, 687–696, 2018.

37- Shunxi Dong, Xiaoming Feng and Xiaohua Liu. Chiral guanidines and their derivatives in asymmetric synthesis. **Chem. Soc. Rev.** 47, 8525, 2018.

38- Astrazeneca Pharmaceuticals LP. WO2007120096 THIAZOL-GUANIDINE DERIVATIVES USEFUL AS A (BETA)- RELATED PATHOLOGIES. **US0298340**; 2010.

39- A. Popolo et al. L-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. **Amino Acids**, 46, 2271–2286, 2014.

40- Nabil, S., El-Rahman, S. N. A., Al-Jameel, S. S., & Elsharif, A. M. Conversion of Curcumin into Heterocyclic Compounds as Potent Anti-diabetic and Anti-histamine Agents. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 41, 1071–1077, 2018.

41- Hyeon-Young Kim et al. Protective Effects of Nintedanib against Polyhexamethylene Guanidine Phosphate-Induced Lung Fibrosis in Mice. **Molecules**, 23, 1974, 2018.

42- Ribeiro M.M.B., Pinto A.R.T., Domingues M.M., et al. Chemical conjugation of the neuropeptide kyotorphin and ibuprofen enhances brain targeting and analgesia. **Mol Pharm**, 8, 1929-40, 2011.

43- José M. Calderón-Montaño et al. Guanidine-reactive agent phenylglyoxal induces DNA damage and cancer cell death. **Pharmacological Reports**, 64, 1515-1525, 2012.

44- J. Krzywik et al. Synthesis and antiproliferative screening of novel doubly modified colchicines containing urea, thiourea and guanidine moieties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 47, 128197, 2021.

45- Kumaramangalam Jeyalakshmi et al. Coordination Behavior of N,N′,N″-Trisubstituted Guanidine Ligands in Their Ru−Arene Complexes: Synthetic, DNA/Protein Binding, and Cytotoxic Studies. **Organometallics**, 38, 753−770, 2019.

46- Luis Octávio Regasini et al. Cytotoxic Guanidine Alkaloids from Pterogyne nitens. **Journal of Natural Products**, 72, 473-476, 2009.

47- D. Wei et al. Structural characterization and antibacterial activity of oligoguanidine (polyhexamethylene guanidine hydrochloride). **Materials Science and Engineering C**, 29, 1776–1780, 2009.

48- P. Li et al. Developing of a novel antibacterial agent by functionalization of graphene oxide with guanidine polymer with enhanced antibacterial activity. **Applied Surface Science**, 355, 446–452, 2015.

49- Hua Han et al. Inherent Guanidine Nanogels with Durable Antibacterial and Bacterially Antiadhesive Properties. **Adv. Funct. Mater.** 1806594, 2018.

50- Huan Yu et al. Water-Insoluble Polymeric Guanidine Derivative and Application in the Preparation of Antibacterial Coating of Catheter. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, 10, 39257−39267, 2018.

51- H. Choi et al. Antifungal activity of the cationic antimicrobial polymer-polyhexamethylene guanidine hydrochloride and its mode of action. **Fungal Biology**, 121, 53-60, 2017.

52- Issei Kato et al. Identification of Thiazoyl Guanidine Derivatives as Novel Antifungal Agents Inhibiting Ergosterol Biosynthesis for Treatment of Invasive Fungal Infections. **J. Med. Chem.** 64, 10482−10496, 2021.

53- R.K. Arafa et al. Novel linear triaryl guanidines, N-substituted guanidines and potential prodrugs as antiprotozoal agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 43, 2901-2908, 2008.

54- Kaidu H. Barrosa et al. Alchornedine, a New Anti-Trypanosomal Guanidine Alkaloid from Alchornea glandulosa. **Planta Med.** 80, 1310-1314, 2014.

55- Ligia F. Martins et al. Analogues of Marine Guanidine Alkaloids Are in Vitro Effective against Trypanosoma cruzi and Selectively Eliminate Leishmania (L.) infantum Intracellular Amastigotes. **J. Nat. Prod.** 79, 2202−2210, 2016.

56- B.L. Hurst et al. Evaluation of antiviral therapies in respiratory and neurological diseasemodels of Enterovirus D68 infection in mice. **Virology**, 526, 146–154, 2019.

57- El-Demerdash, A. et al. Comprehensive Virtual Screening of the Antiviral Potentialities of Marine Polycyclic Guanidine Alkaloids against SARS-CoV-2 (COVID-19). **Biomolecules**, 11, 460, 2021.

58- Almeida, F.S.; Moreira, V.P.; Silva, E.d.S.; Cardoso, L.L.; de Sousa Palmeira, P.H.; Cavalcante-Silva, L.H.A.; Araújo, D.A.M.d.; Amaral, I.P.G.d.; González, E.R.P.; Keesen, T.S.L. Leishmanicidal Activity of Guanidine Derivatives against Leishmania infantum. **Trop. Med. Infect. Dis.** 8, 141, 2023.

59- Moreira, V.P.; da Silvae Mela, M.F.; Anjos, L.R.d.; Saraiva, L.F.; Arenas Velásquez, A.M.; Kalaba, P.; Fabisiková, A.; Clementino, L.d.C.; Aufy, M.; Studenik, C.; et al. Novel Selective and Low-Toxic Inhibitor of LmCPB2.8ΔCTE (CPB) One Important Cysteine Protease for Leishmania Virulence. **Biomolecules**, 12, 1903, 2022.

60- dos Anjos, L.R. et al. Evidence of Guanidines Potential against Leishmania (Viannia) braziliensis: Exploring In Vitro Effectiveness, Toxicities and of Innate Immunity Response Effects. **Biomolecules**, 14: 26, 2024.

61- J. Xie, R. Jiang, W. Xie et al. LC-MS/MS determination of guanabenz E/Z isomers and its application to in vitro and in vivo DMPK profiling studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 205, 114331, 2021.

62- P. H. Reggio, et al. The Bioactive Conformation of Aminoalkylindoles at the Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors: Insights Gained from (E)- and (Z)-Naphthylidene Indenes. **J. Med. Chem.** 41, 5177-5187, 1998.

63- Wei Lv, Jinzhong Liu, Deshun Lu, David A. Flockhart, and Mark Cushman. Synthesis of Mixed (E,Z)-, (E)-, and (Z)-Norendoxifen with Dual Aromatase Inhibitory and Estrogen Receptor Modulatory Activities. **Journal of Medicinal Chemistry,** 56, 4611-4618, 2013.

64- Edith Gößnitzer, Gebhard Feierl, Ute Wagner. Synthesis, structure investigations, and antimicrobial activity of selected s-trans-6-aryl-4-isopropyl-2-{2-[(E)-1-phenylalkylidene]-(E)-hydrazino}-1,4-dihydropyrimidine hydrochlorides. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 15, 49-61, 2002.

65- Carballeira, Néstor M. et al. Synthesis of a novel brominated vinylic fatty acid with antileishmanial activity that effectively inhibits the *Leishmania* topoisomerase IB enzyme mediated by halogen bond formation. **Pure and Applied Chemistry,** 91, 1405-1416, 2019.

66- Galbiati, A. et al. Development of Potent 3-Br-isoxazoline-Based Antimalarial and Antileishmanial Compounds. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, 12, 1726-1732, 2021.

67- Scala, F. et al. Bromopyrrole Alkaloids as Lead Compounds against Protozoan Parasites. **Mar. Drugs**, 8, 2162-2174, 2010.

68- Liang, D.; Liu, D.; Yang, S.; Lu, C.; Xie, Q.; Liu, J. Effects of Bromination-Dehydrobromination on the Microstructure of Isotropic Pitch Precursors for Carbon Fibers. **Polymers**, 12, 3059, 2020.

69- O. N. Singh, P. Fabian. Reactive Halogen Compounds in the Atmosphere, **Springer**, 2013, 4 ed.

70- F. Javier Benitez, Juan L. Acero, Francisco J. Real, Gloria Roldan, Francisco Casas. Bromination of selected pharmaceuticals in water matrices. **Chemosphere**, 85, 1430-1437, 2011.

71- Walter Vetter. Chapter 3 - Polyhalogenated Alkaloids in Environmental and Food Samples. The Alkaloids: **Chemistry and Biology**, 71, 211-276, 2012.

72- Ron Wever, Bea E. Krenn, Rokus Renirie. Chapter Six - Marine Vanadium-Dependent Haloperoxidases, Their Isolation, Characterization, and Application. **Methods in Enzymology**, 605, 141-201, 2018.

73- Glen A. Russell, Charles. DeBoer, and Kathleen M. Mechanisms of Benzylic Bromination. **Desmond Journal of the American Chemical Society**, 85, 365-366, 1963.

74- P. S. Skell, D. L. Tuleen, and P. D. Readio. The Mechanism of Aliphatic Bromination by N-Bromosuccinimide. **Journal of the American Chemical Society**, 85, 2850-2851, 1963.

75- Michael E. Jung and Jeffrey A. Hagenah. Mechanism of bromination of 1,5-diacetoxynaphthalene. **The Journal of Organic Chemistry**, 48, 5359-5361, 1983.

76- Slebocka-Tilk, H., Ball, R. G., & Brown, R. S. The question of reversible formation of bromonium ions during the course of electrophilic bromination of olefins. The crystal and molecular structure of the bromonium ion of adamantylideneadamantane. **Journal of the American Chemical Society**, 107, 4504–4508, 1985.

77- Ajda Podgoršek, Stojan Stavber, Marko Zupan, Jernej Iskra. Environmentally benign electrophilic and radical bromination ‘on water’: H2O2–HBr system versus N-bromosuccinimide. **Tetrahedron**, 65, 4429-4439, 2009.

78- McMillen, D. W., & Grutzner, J. B. Radical Bromination of Cyclohexene in CCl4 by Bromine: Addition versus Substitution. **The Journal of Organic Chemistry**, 59, 4516–4528, 1994.

79- R. S. Brown. Investigation of the Early Steps in Electrophilic Bromination through the Study of the Reaction with Sterically Encumbered Olefins. **Accounts of Chemical Research**, 30, 131-137, 1997.

80- Sivakamasundari, S., & Ganesan, R. Kinetics and mechanism of the bromination of aromatic compounds by N-bromosuccinimide in solution. **International Journal of Chemical Kinetics**, 12, 837–850, 1980.

81- Wang, Zerong. Wohl-Ziegler Bromination. Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents. **Wiley**, 2010.

82- Luu, T.G.; Jung, Y.; Kim, H.-K. Visible-Light-Induced Catalytic Selective Halogenation with Photocatalyst. **Molecules**, 26, 7380, 2021.

83- Nishina, Y.; Ohtani, B.; Kikushima, K. Beilstein. Bromination of hydrocarbons with CBr4, initiated by light-emitting diode irradiation. **J. Org. Chem**. 9, 1663–1667, 2013.

84- David Cantillo, Oscar de Frutos, Juan A. Rincon, Carlos Mateos, and C. Oliver Kappe. A Scalable Procedure for Light-Induced Benzylic Brominations in Continuous Flow. **The Journal of Organic Chemistry**, 79, 223-229, 2014.

85- Djerassi, C. Brominations with N-Bromosuccinimide and Related Compounds. The Wohl-Ziegler Reaction. **Chem. Rev**. 43, 271, 1948.

86- Smith, K., James, D. M., Mistry, A. G., Bye, M. R., & Faulkner, D. J. A new method for bromination of carbazoles, β-carbolines and iminodibenzyls by use of N-bromosuccinimide and silica gel. **Tetrahedron**, 48, 7479–7488, 1992.

87- Yuri Goldberg and Howard Alper. Biphasic electrophilic halogenation of activated aromatics and heteroaromatics with N-halosuccinimides catalyzed by perchloric acid. **The Journal of Organic Chemistry**, 58 (11), 3072-3075, 1993.

88- Reginald H. Mitchell, Yee-Hing Lai, and Richard V. Williams. N-Bromosuccinimide-dimethylformamide: a mild, selective nuclear monobromination reagent for reactive aromatic compounds. **The Journal of Organic Chemistry**, 44, 4733-4735, 1979.

89- Bovonsombat, P., & Mcnelis, E. Ring Halogenations of Polyalkylbenzenes withN-Halosuccinimide and Acidic Catalysts. **Synthesis**, 02, 237–241, 1993.

90- H. M. Gilow and D. Edward Burton. Bromination and chlorination of pyrrole and some reactive 1-substituted pyrroles. **The Journal of Organic Chemistry,** 46, 2221-2225, 1981.

91- Saurabh Deshpande, Balu Gadilohar, Yogesh Shinde, Dipak Pinjari, Aniruddha Pandit, Ganapati Shankarling. Energy efficient, clean and solvent free photochemical benzylic bromination using NBS in concentrated solar radiation (CSR). **Solar Energy**, 113, 332-339, 2015.

92- Silvio Cunha, Byanka R de Lima, Aparecido R de Souza. Bismuth nitrate pentahydrate: a new and environmentally benign reagent for guanidylation of N-benzoylthioureas. **Tetrahedron Letters**, 43, 49-52, 2002.

93- Zampieri, E.H.; dos Anjos, L. R.; Santiago, P. H. dO.; Nascimento, T. R. dS.; Ellena, J.; Gonzalez, E. R. P. NMR and X-ray diffraction conformational study of guanidines. **Journal of Molecular Structure**, 1315, 2024.

94- Ion Ghiviriga, Bahaa El-Dien M. El-Gendy, Peter J. Steel and Alan R. Katritzky. Tautomerism of guanidines studied by 15N NMR: 2-hydrazono-3-phenylquinazolin-4(3H)-ones and related compounds. **Org. Biomol. Chem**. 7, 4110-4119, 2009.

95- PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. Introdução a Espectroscopia. Tradução da 4º Ed. Norte-Americana. São Paulo: **Cengage Learning**, 2010.

96- Stefanos Mourdikoudis, Roger M. Pallares and Nguyen T. K. Thanh. Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. **Nanoscale**, 10, 12871–12934, 2018.

97- M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, P.R. Spackman, D. Jayatilaka, M.A. Spackman. **CrystalExplorer**, 17, 2017.

98- R. D. E. Santo, et al. Experimental NMR and MS study of benzoylguanidines. Investigation of E/Z isomerism. **J. Phys. Org. Chem**. 26 315-321, 2013.

99- V. Perron, S. Abbott, N. Moreau, D. Lee, C. Penney, B. Zacharie. A Method for the Selective Protection of Aromatic Amines in the Presence of Aliphatic Amines. **Synthesis**, 283-289, 2009.

100- S. V. Chankeshwara, A. K. Chakraborti,Catalyst-Free Chemoselective N-tert-Butyloxycarbonylation of Amines in Water. **Org. Lett**. 8, 3259-3262, 2006.

101- Sivakamasundari, S., & Ganesan, R. Kinetics and mechanism of the bromination of aromatic compounds by N-bromosuccinimide in solution. **International Journal of Chemical Kinetics**, 12, 837–850, 1980.

102- Appa, R.M., Naidu, B.R., Lakshmidevi, J. et al. Added catalyst-free, versatile and environment beneficial bromination of (hetero)aromatics using NBS in WEPA. **SN Appl. Sci**. 1, 1281, 2019.

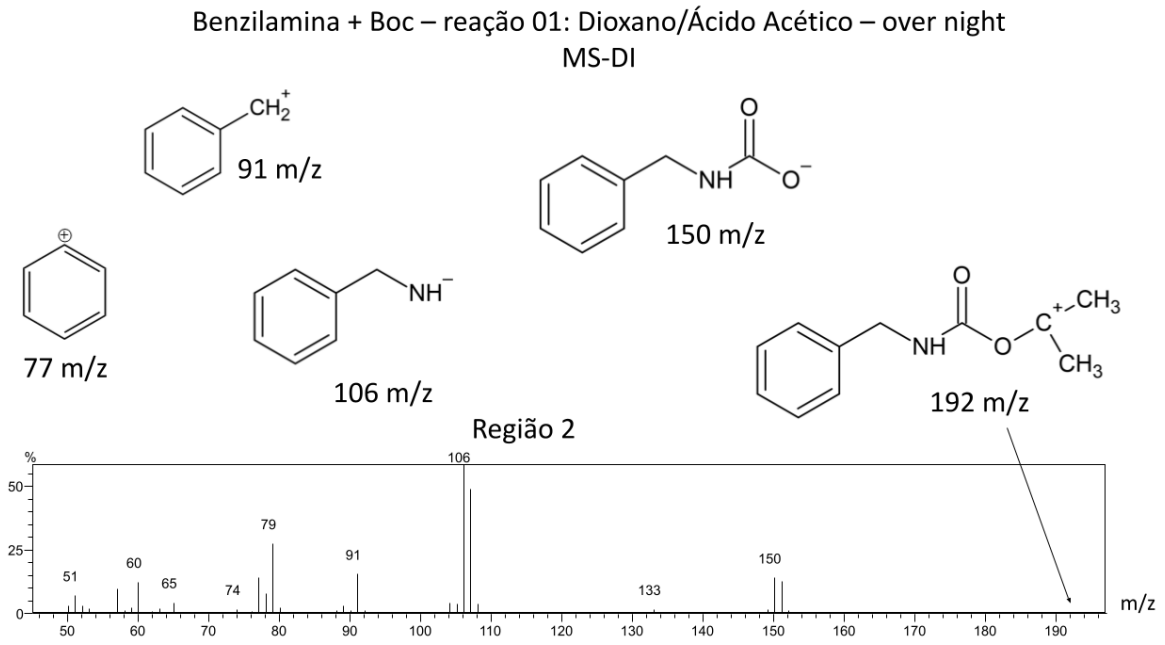
103- Sanghyuck Lee, and Choon Sup Ra. Benzylic Brominations with N-Bromosuccinimide in 1,2-Dichlorobenzene: Effective Preparation of (2-Bromomethyl-phenyl)-Methoxyiminoacetic Acid Methyl Ester. **Clean Technol**. 22, 269-273, 2016.

104- Incremona, J.H.; Martin, J.C. "N-Bromosuccinimide. Mechanisms of Allylic Bromination and Related Reactions". **J. Am. Chem. Soc**. 92, 627–634, 1970.

105- S. Naskar, R. Moi, I. Das, K. Biradha. Halogen···halogen and halogen···π interactions enabled reversible photo-oligomerization of conjugated dienones: visible light triggered single-crystal-to-single-crystal transformation. **Angew. Chem. Int. Ed**. 61, 2022.

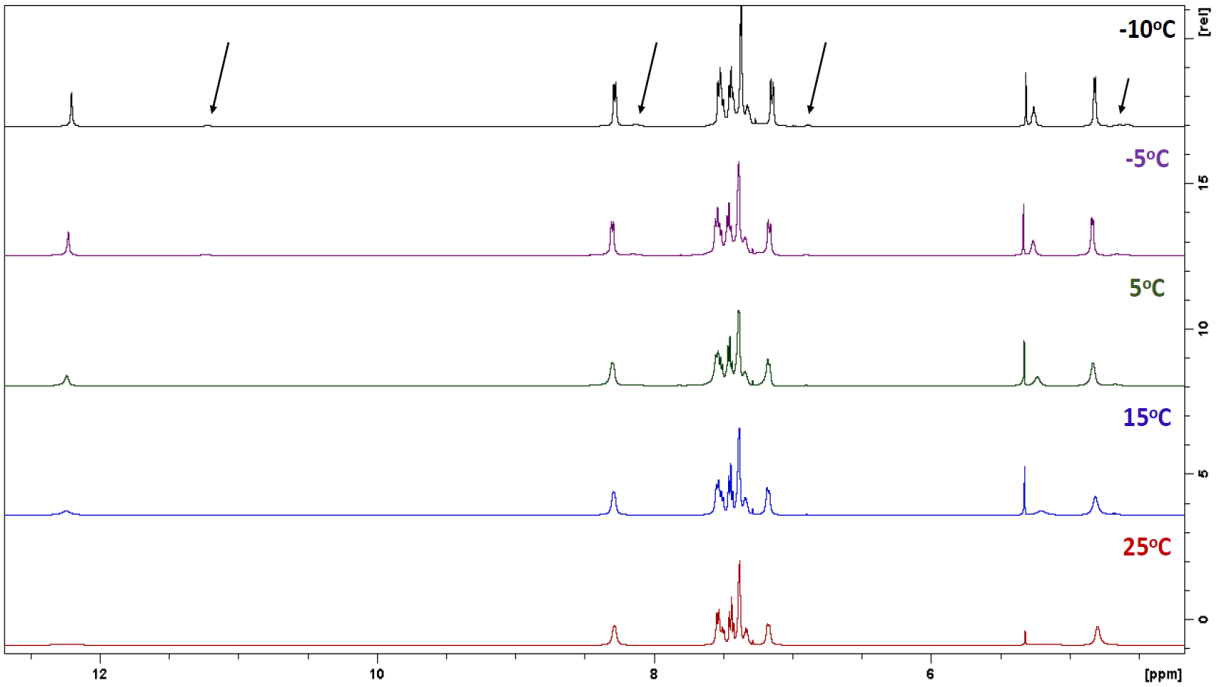
APÊNDICE A: Seção de espectros.

tert-butyl benzyl carbamate (Benzilamina+Boc)

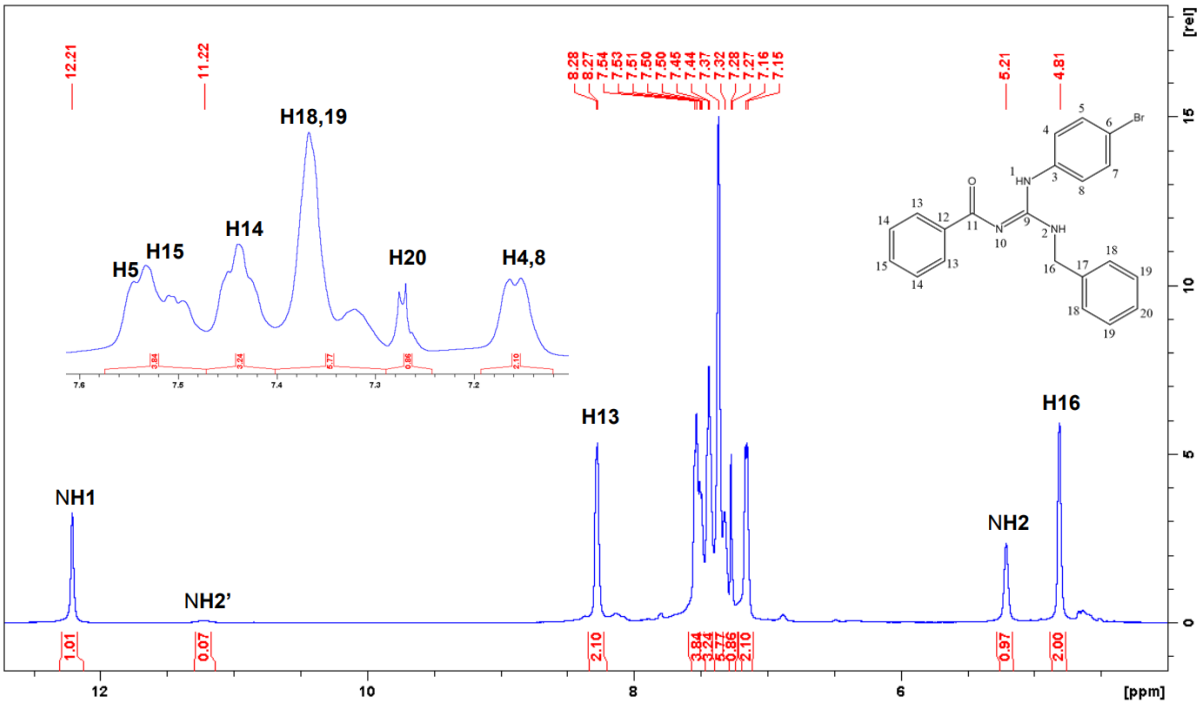


Espectro de EI-MS (70 eV) do composto Benzilamina protegido com Boc através da reação pelo método de V. Perron et al. (2009) [62].

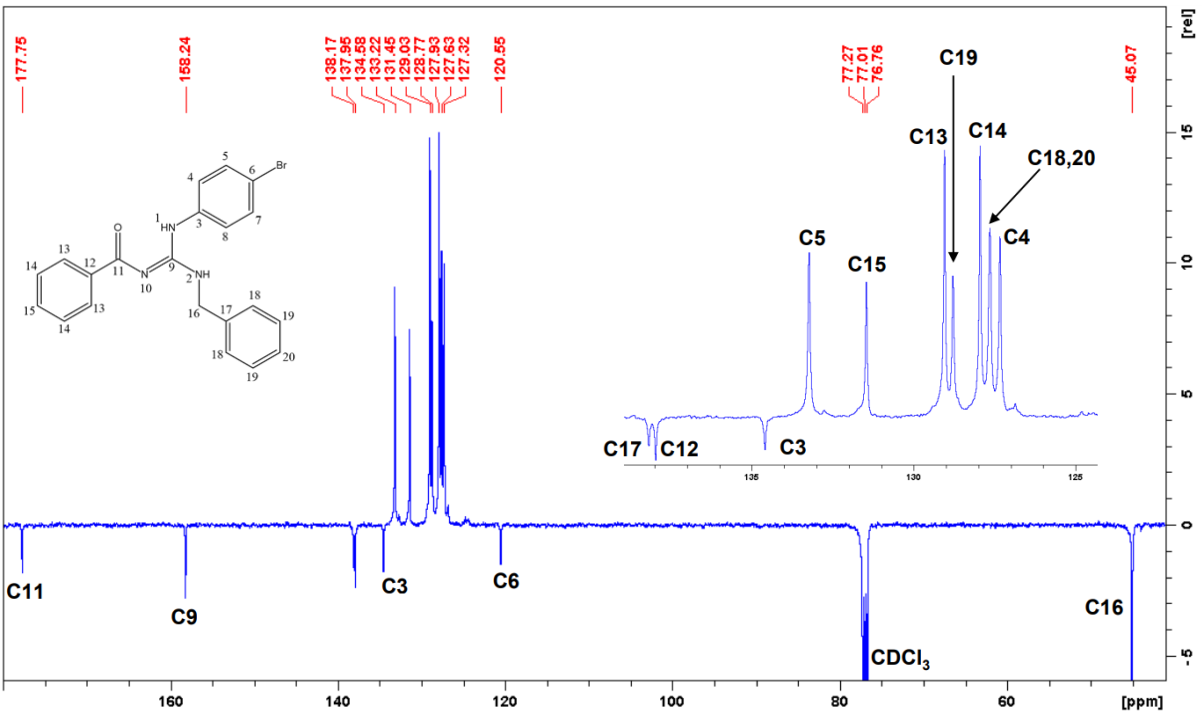
(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(4-bromophenyl)guanidine (LQOF-G2)



Espectros de RMN de hidrogênio (^{1}H) do composto LQOF-G2 variando a temperatura de 25ºC à -10ºC.



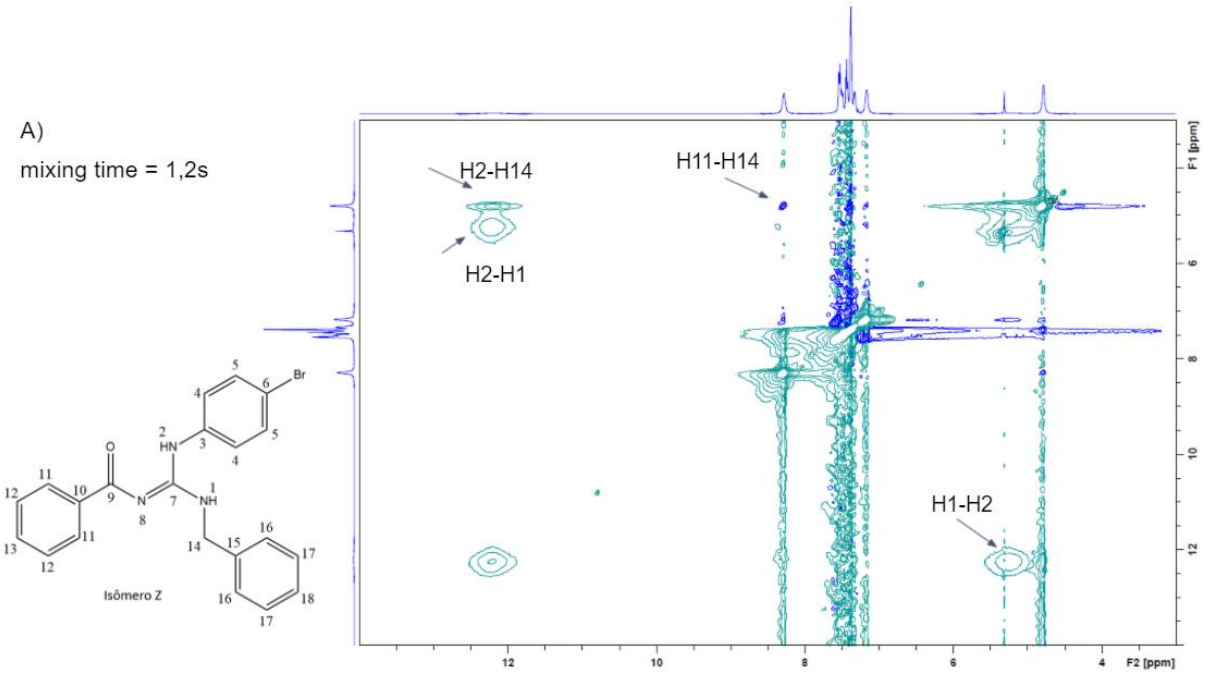
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.

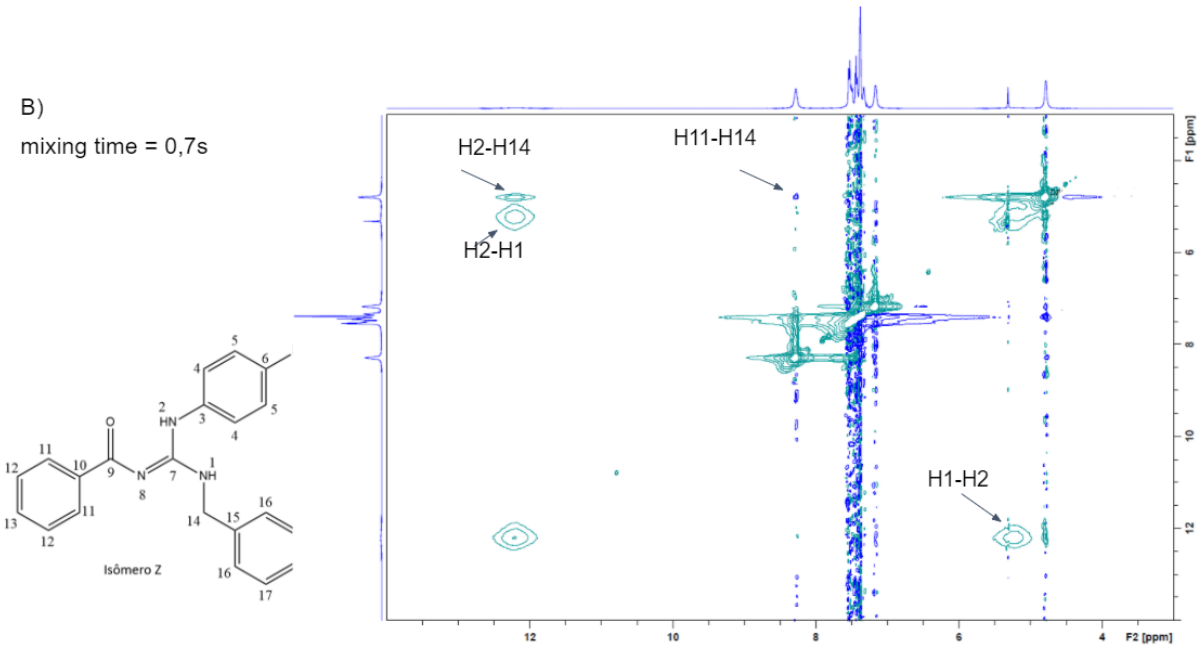
A)

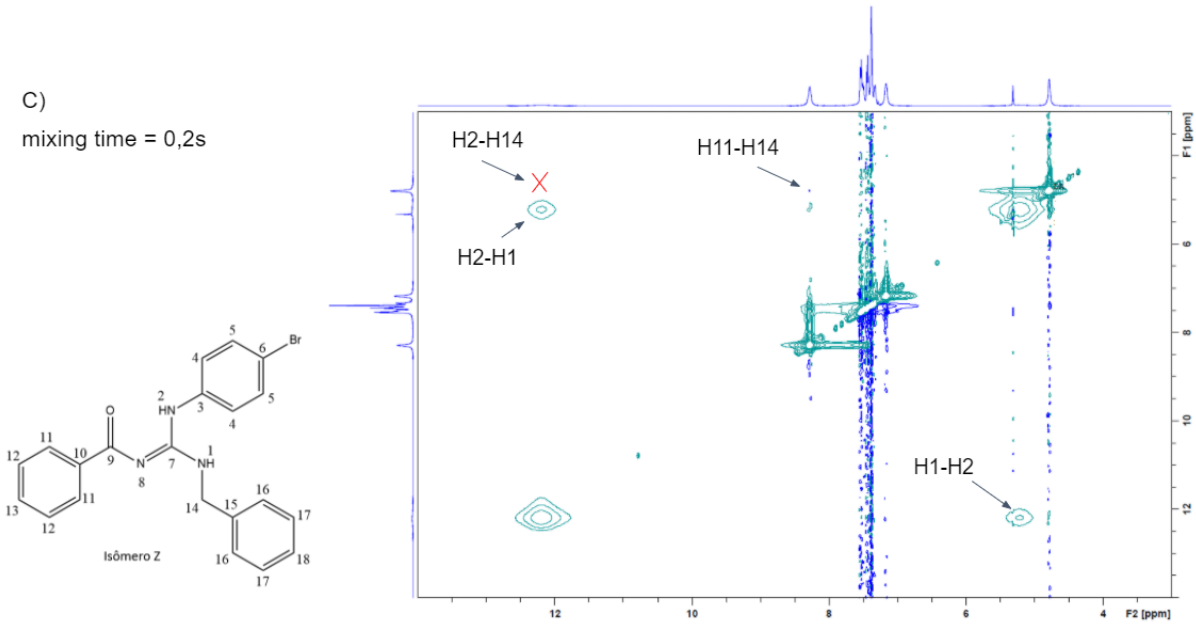
mixing time = 1,2s



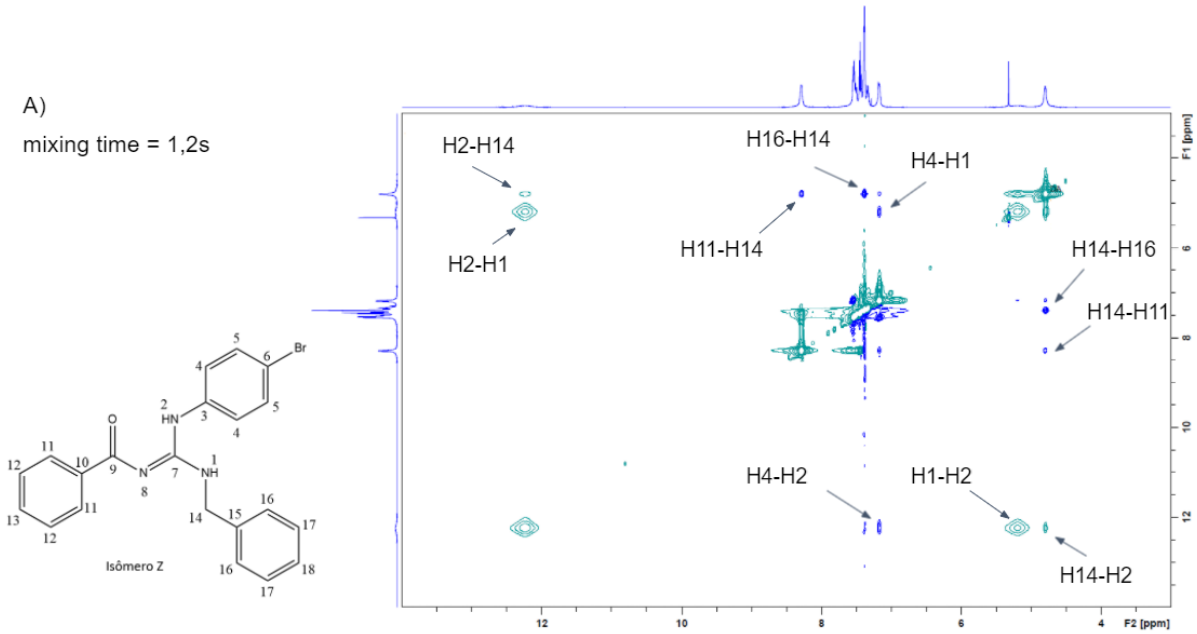
B)

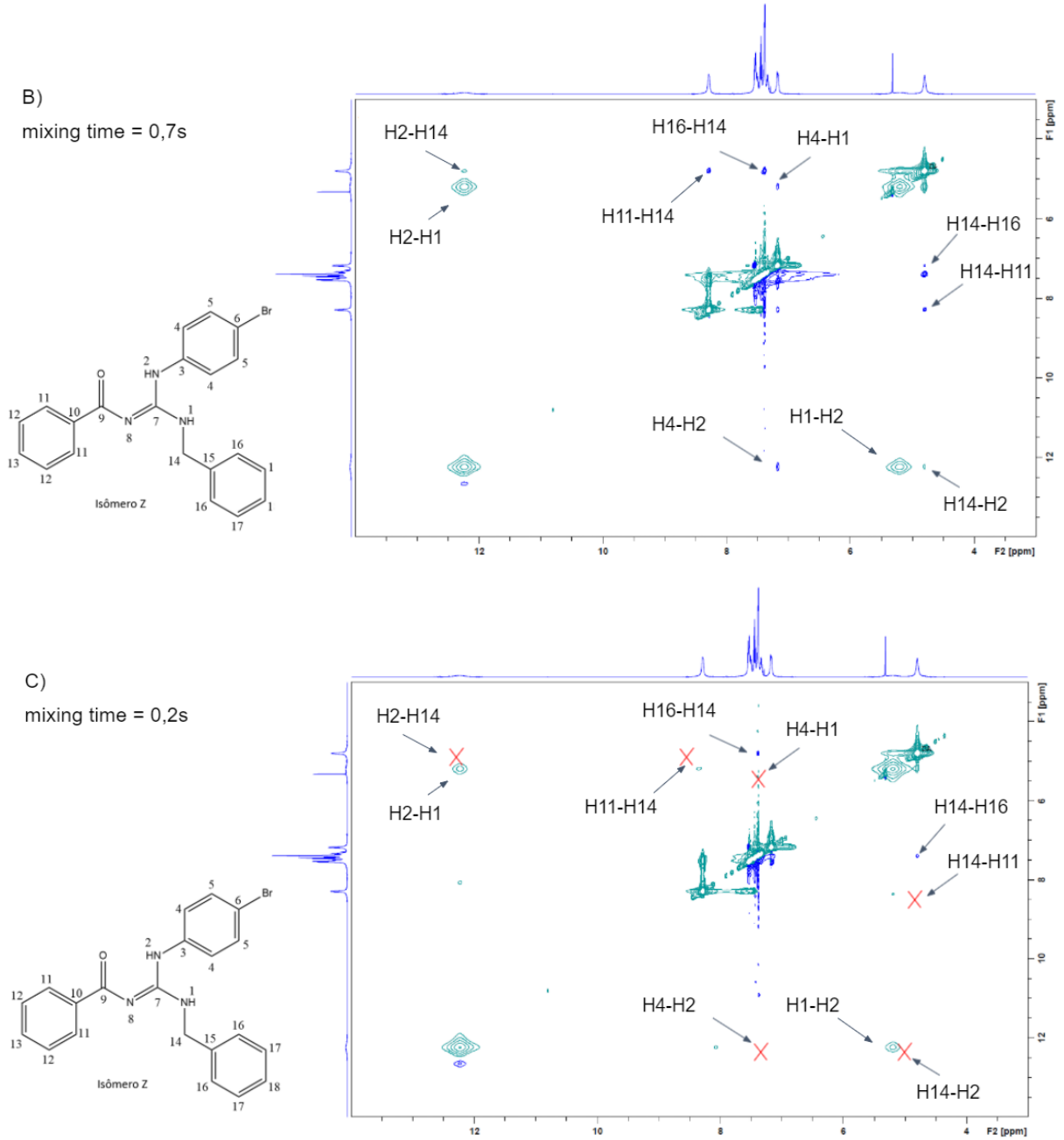
mixing time = 0,7s



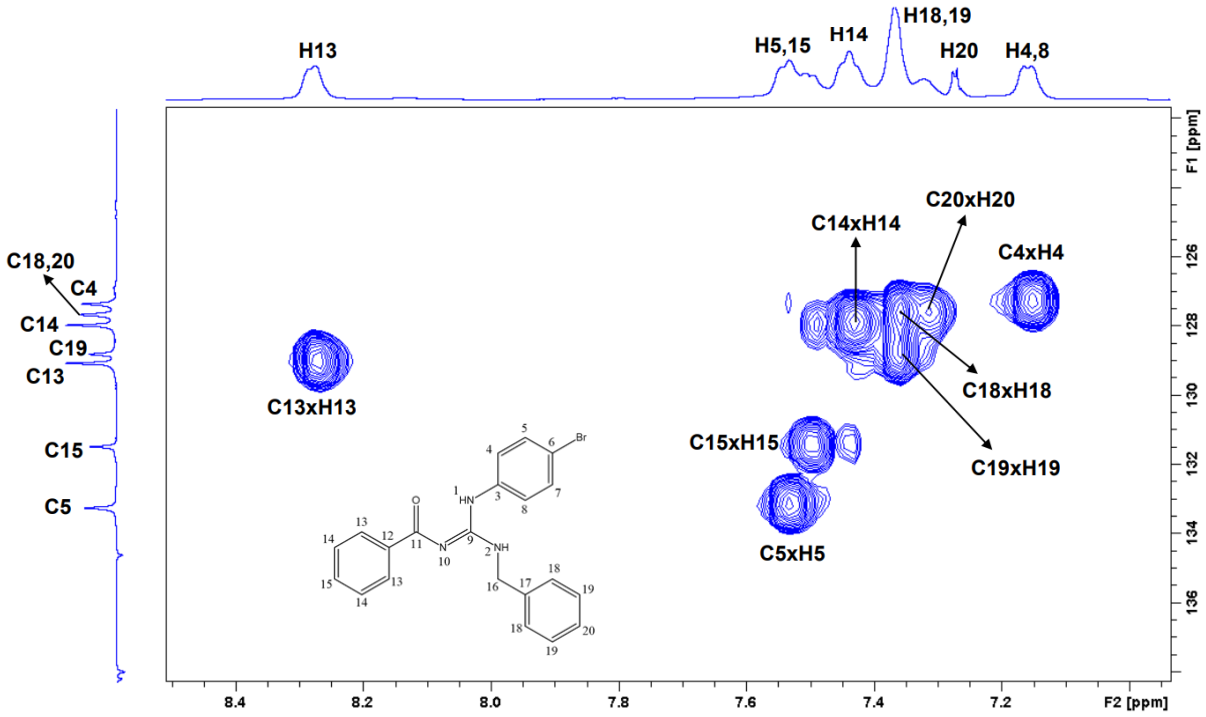


Espectros de RMN bidimensionais NOESY ^{1}Hx^{1}H do composto LQOF-G2 à 35ºC em diferentes "tempos de mistura". **A)** 1,2s; **B)** 0,7s e **C)** 0,2s.

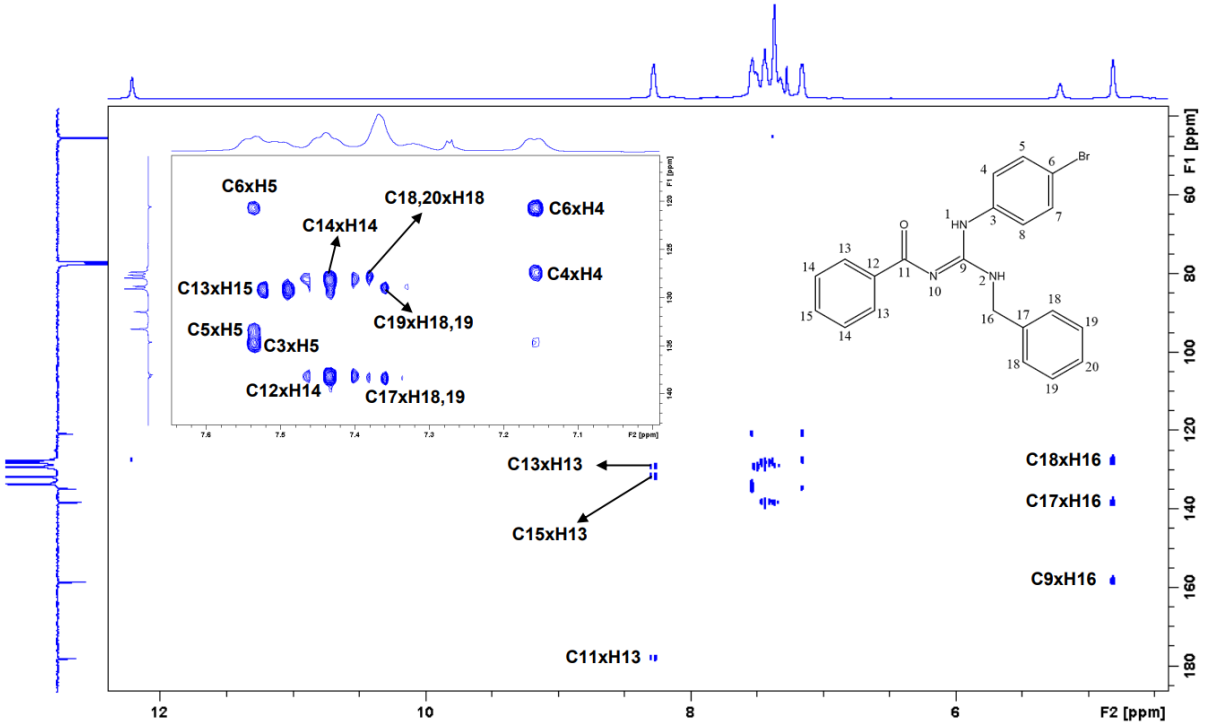




Espectros de RMN bidimensionais NOESY ^{1}Hx^{1}H do composto LQOF-G2 à 25ºC em diferentes "tempos de mistura". **A)** 1,2s; **B)** 0,7s e **C)** 0,2s.

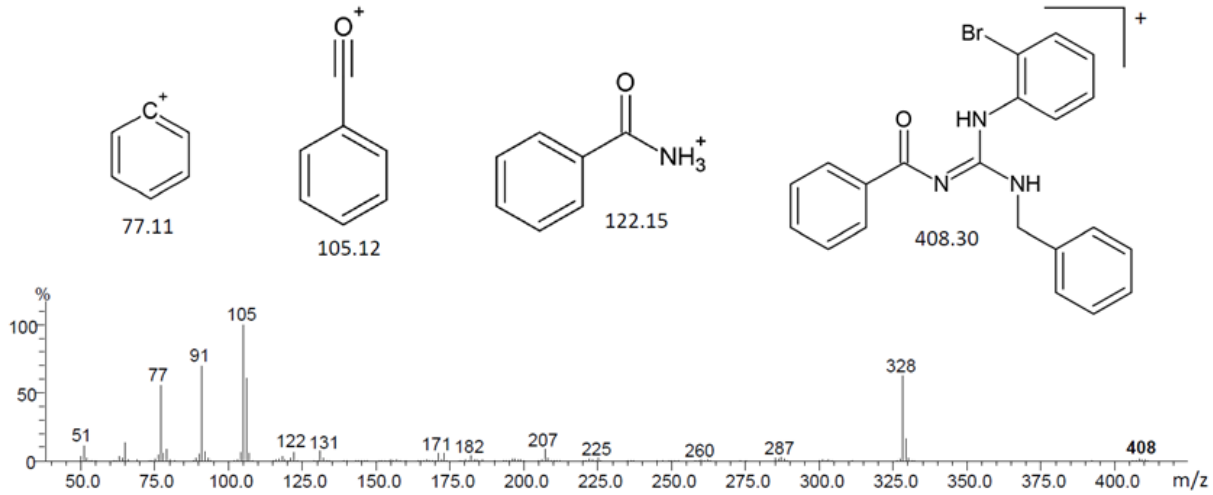


Espectro de RMN de HSQC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.

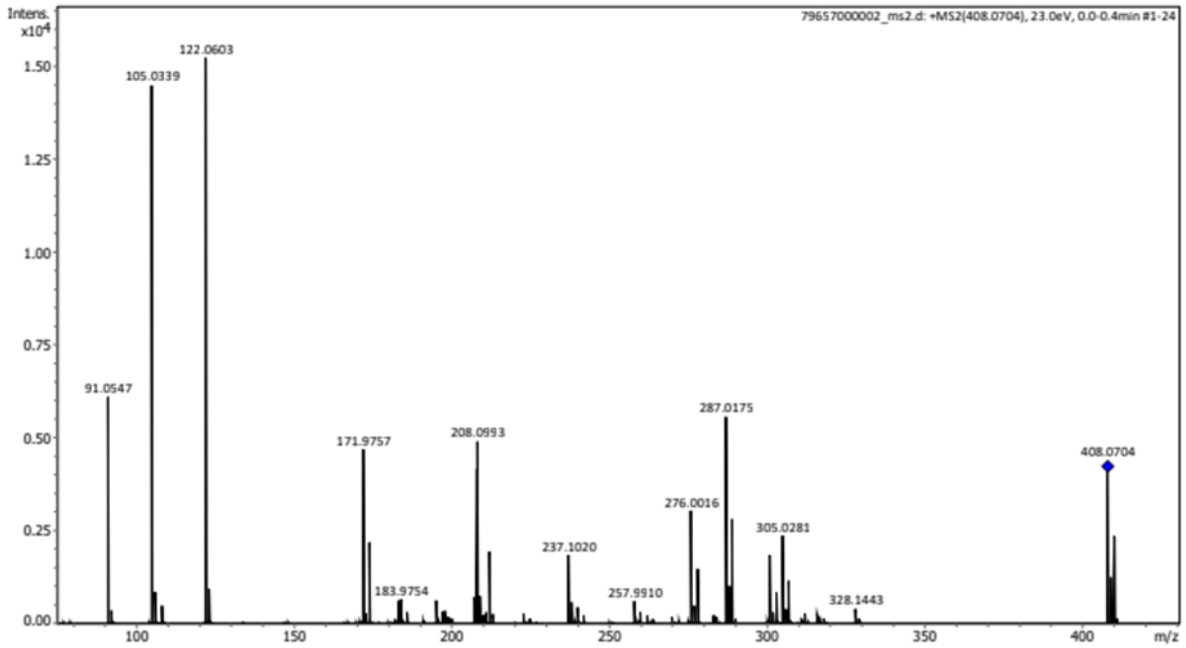


Espectro de RMN de HMBC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G2 à -10ºC em $CDCl_3$.

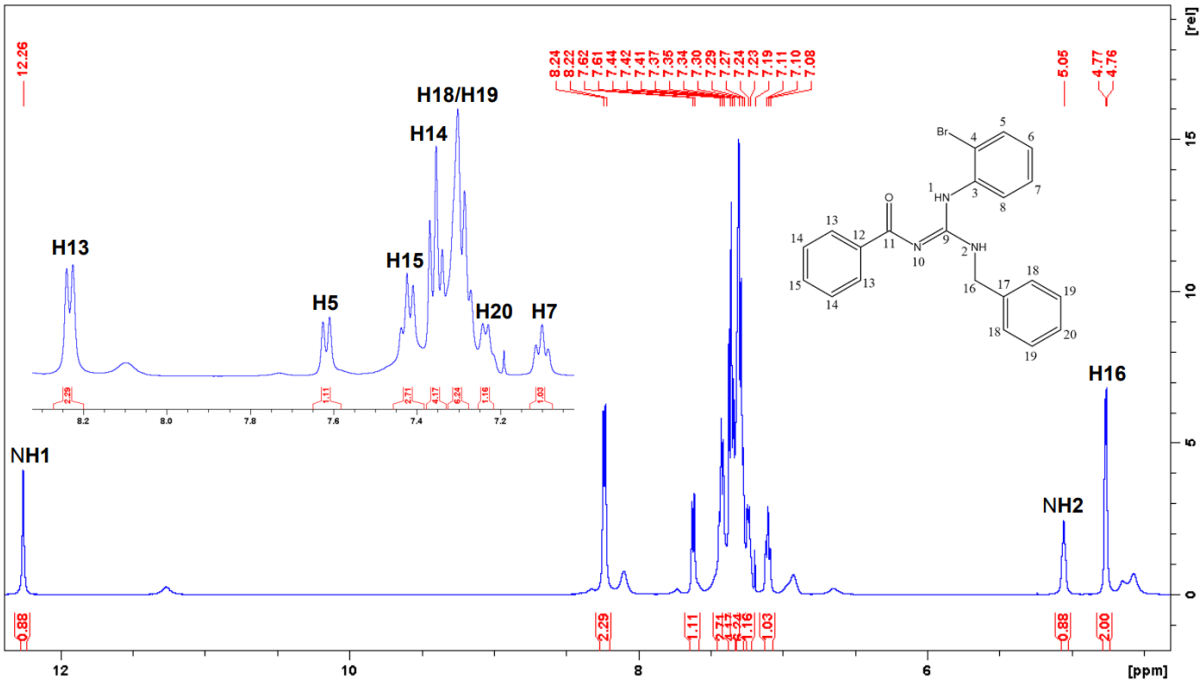
(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(2-bromophenyl)guanidine (LQOF-G35)



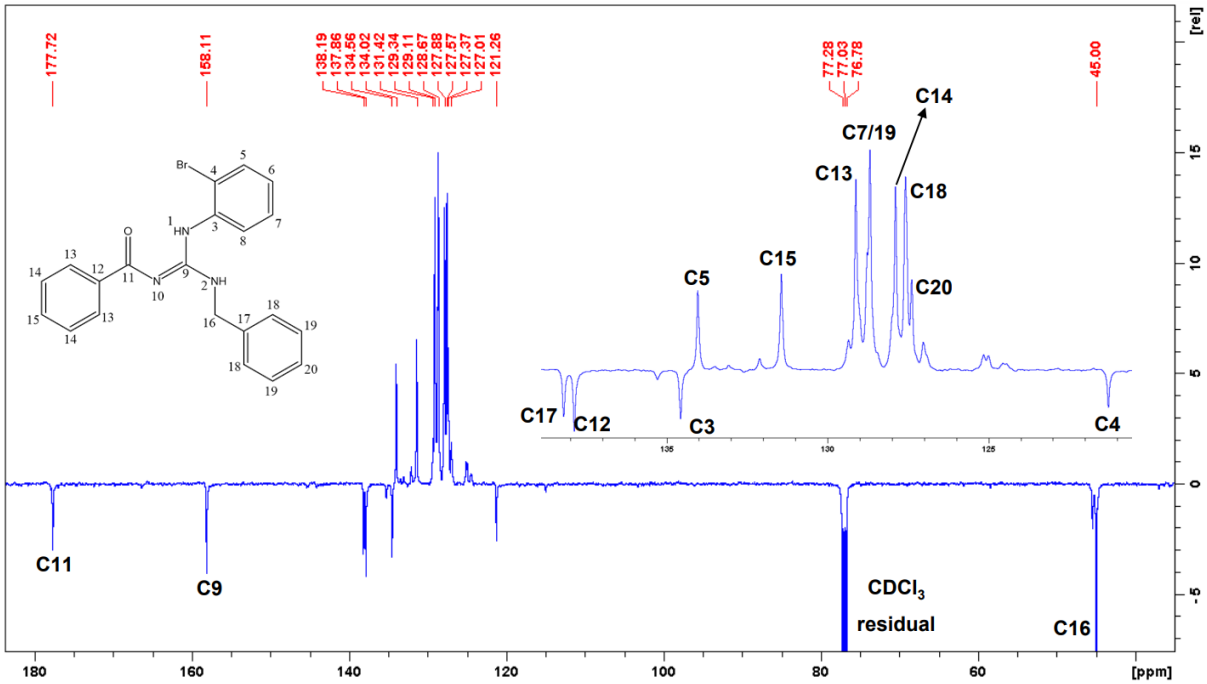
Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G35.



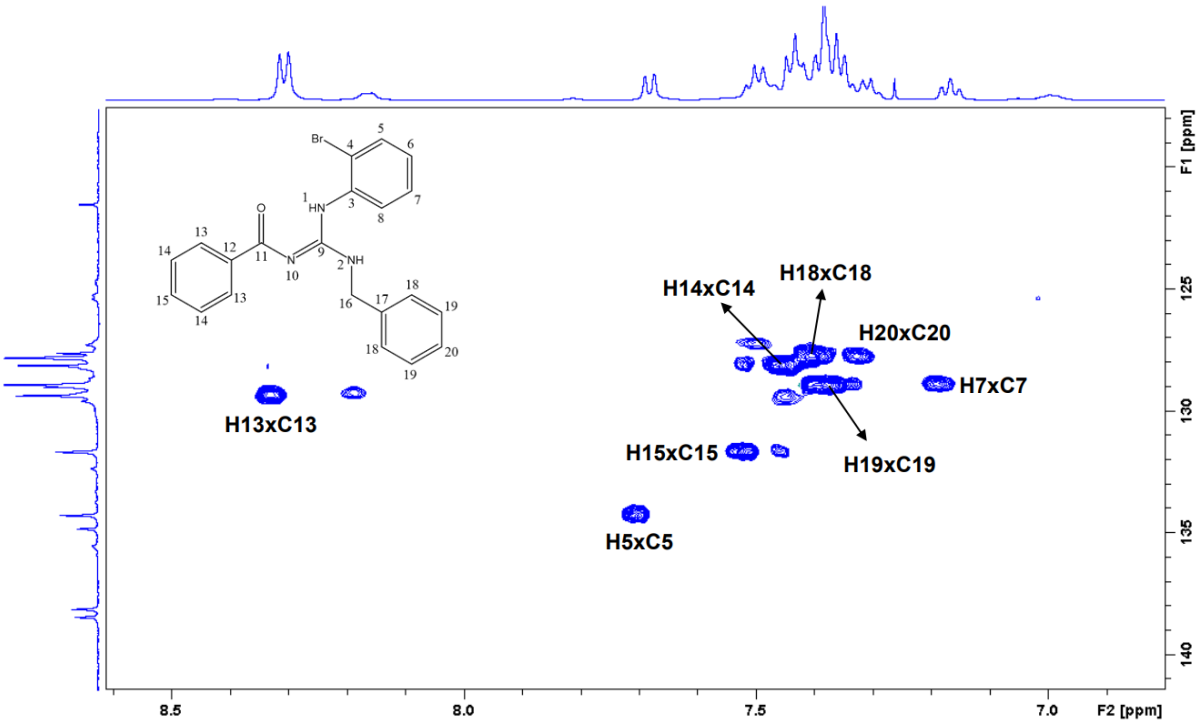
Espectro de HRESI-(+) MS/MS do composto LQOF-G35.



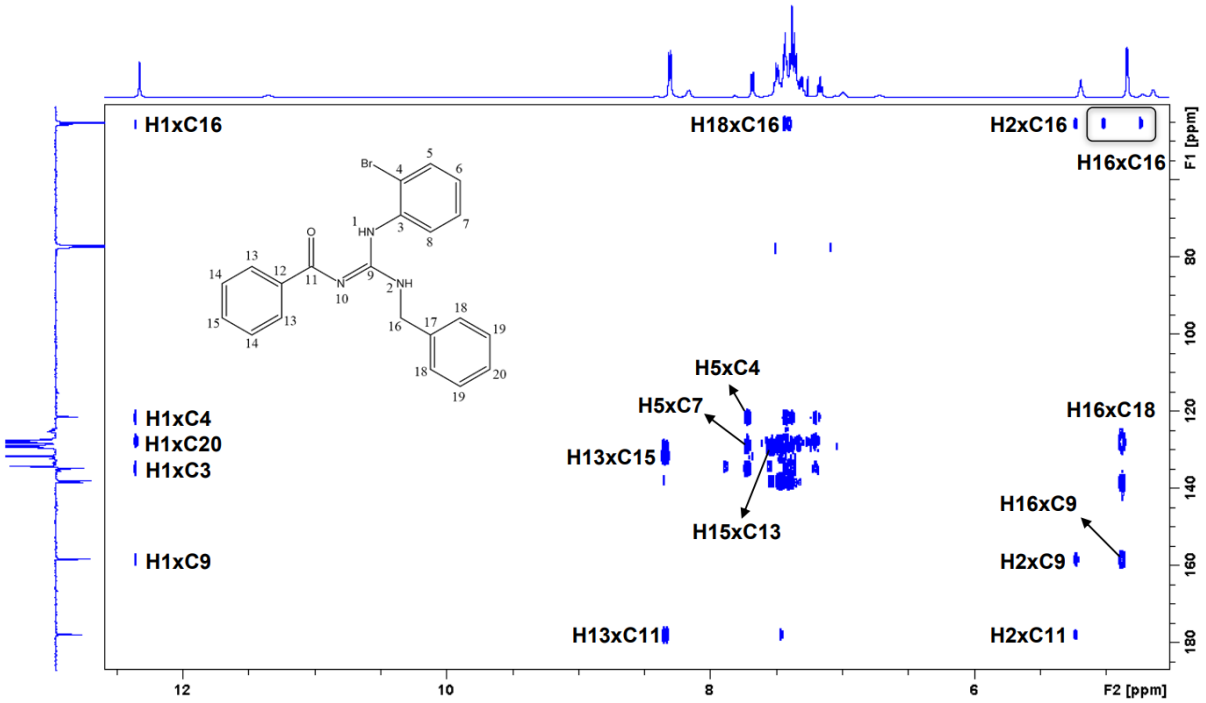
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



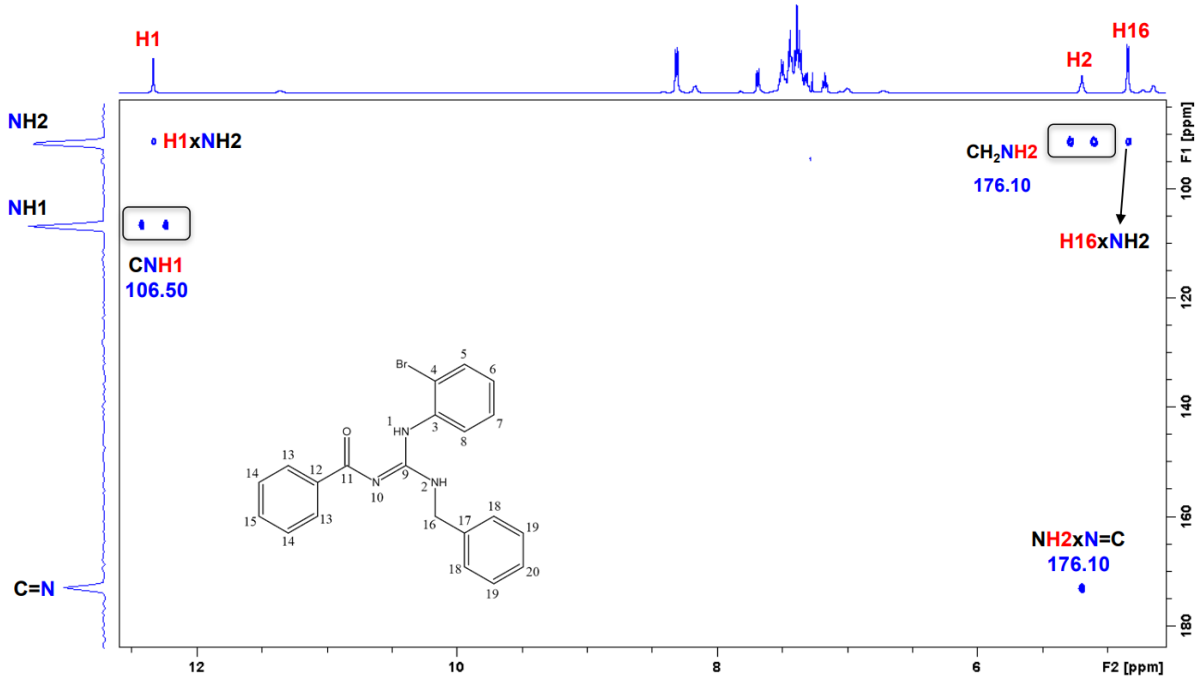
Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



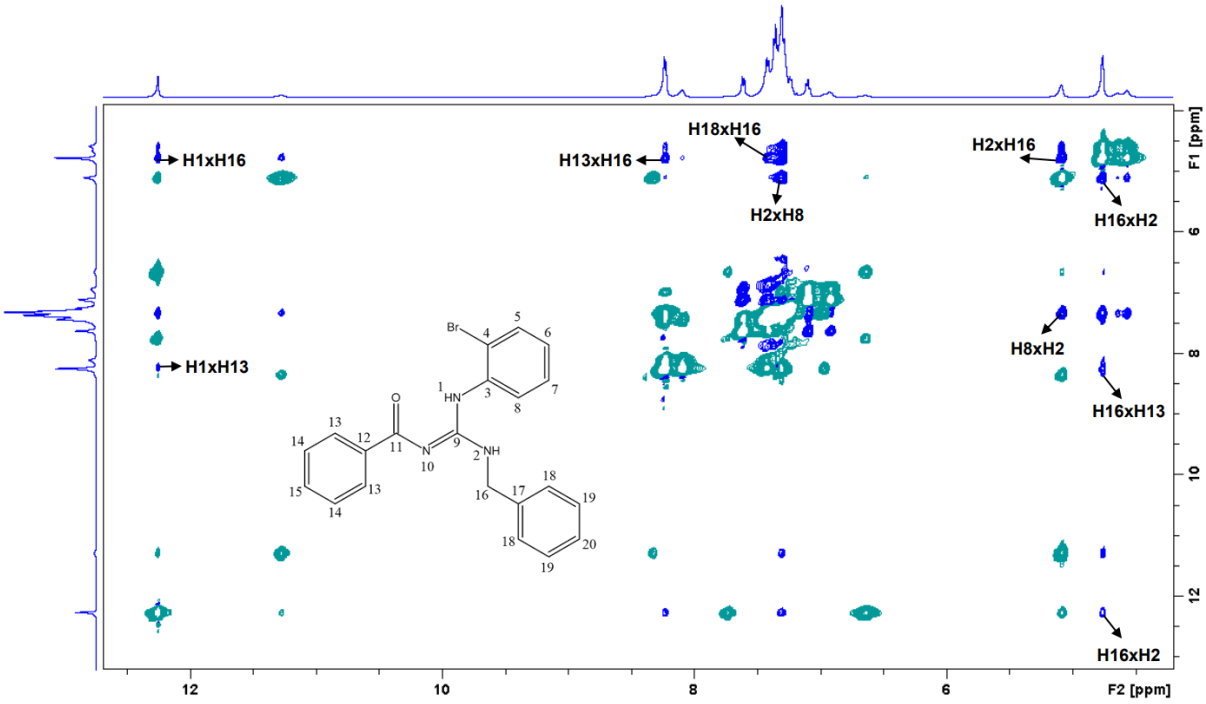
Espectro de RMN de HSQC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



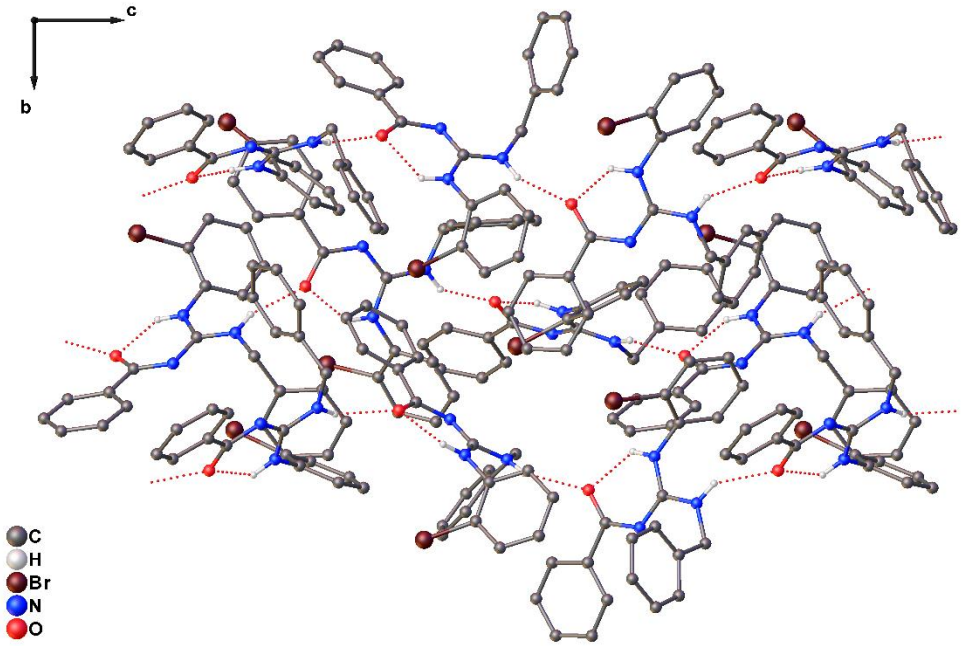
Espectro de RMN de HMBC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN de HMBC $^{1}Hx^{15}N$ do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN de NOESY $^{1}Hx^{1}H$ do composto LQOF-G35 à -10ºC em $CDCl_3$.



Cadeias unidimensionais formadas para LQOF-G35 através das interações intermoleculares N H···O, vistas na direção [100].

Relatório CHECKCIF do composto LQOF-G35

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) 20230801eg01_autored

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

Datablock: 20230801eg01_autored

```
Bond precision:   C-C = 0.0067 A          Wavelength=1.54184

Cell:              a=16.1319(1)      b=16.1319(1)      c=18.6340(1)
                   alpha=90          beta=90           gamma=120
Temperature:       100 K

                 Calculated                  Reported
Volume           4199.60(6)                  4199.60(6)
Space group      P 32                        P 32
Hall group       P 32                        P 32
Moiety formula   C21 H18 Br N3 O             3(C21 H18 Br N3 O)
Sum formula      C21 H18 Br N3 O             C63 H54 Br3 N9 O3
Mr               408.28                      1224.88
Dx,g cm-3        1.453                       1.453
Z                9                           3
Mu (mm-1)        3.112                       3.112
F000             1872.0                      1872.0
F000'            1870.30
h,k,lmax         19,19,22                    19,19,22
Nref             10598[ 5299]                9905
Tmin,Tmax        0.759,0.859                 0.911,1.000
Tmin'            0.719

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.911 Tmax=1.000
AbsCorr = GAUSSIAN

Data completeness= 1.87/0.93        Theta(max)= 70.036

R(reflections)= 0.0222( 9850)                    wR2(reflections)=
                                                  0.0517( 9905)
S = 1.025                  Npar= 704
```

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format
test-name_ALERT_alert-type_alert-level.
Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level C

```
PLAT090_ALERT_3_C Poor Data / Parameter Ratio (Zmax > 18) ........      7.52 Note
PLAT341_ALERT_3_C Low Bond Precision on  C-C Bonds ...............   0.00667 Ang.
PLAT790_ALERT_4_C Centre of Gravity not Within Unit Cell: Resd.  #         1 Note
             C21 H18 Br N3 O
```

Alert level G

```
PLAT007_ALERT_5_G Number of Unrefined Donor-H Atoms ..............         6 Report
PLAT045_ALERT_1_G Calculated and Reported Z Differ by a Factor ...         3 Check
PLAT143_ALERT_4_G s.u. on c - Axis Small or Missing ..............   0.00010 Ang.
PLAT720_ALERT_4_G Number of Unusual/Non-Standard Labels ..........         3 Note
PLAT790_ALERT_4_G Centre of Gravity not Within Unit Cell: Resd.  #         2 Note
             C21 H18 Br N3 O
PLAT870_ALERT_4_G ALERTS Related to Twinning Effects Suppressed ..         ! Info
PLAT910_ALERT_3_G Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta(Min).         3 Note
PLAT916_ALERT_2_G Hooft y and Flack x Parameter Values Differ by .      0.13 Check
PLAT931_ALERT_5_G CIFcalcFCF  Twin Law ( 0 0 1)         Est.d BASF      0.25 Check
PLAT931_ALERT_5_G CIFcalcFCF  Twin Law ( 0 1 0)         Est.d BASF      0.10 Check
```

```
   0 ALERT level A = Most likely a serious problem - resolve or explain
   0 ALERT level B = A potentially serious problem, consider carefully
   3 ALERT level C = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
  10 ALERT level G = General information/check it is not something unexpected

   1 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
   1 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
   3 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
   5 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
   3 ALERT type 5 Informative message, check
```

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

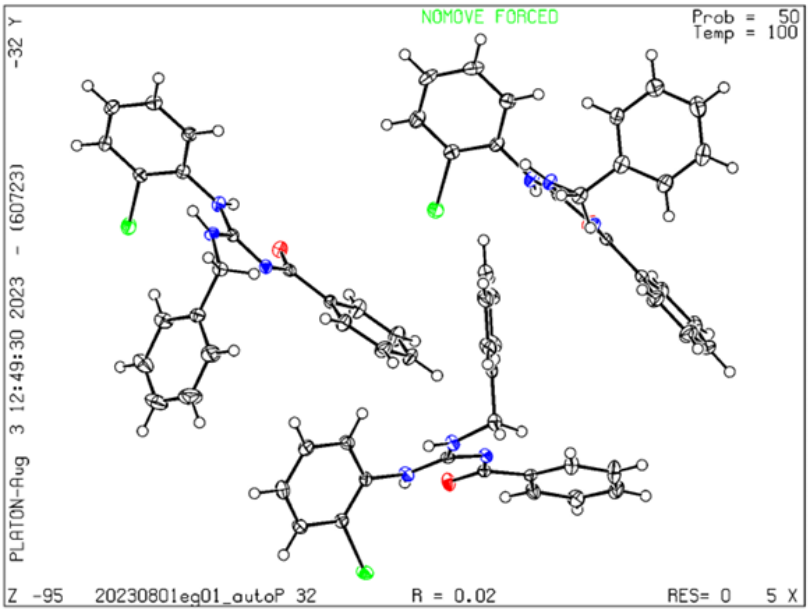
A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

Publication of your CIF in other journals

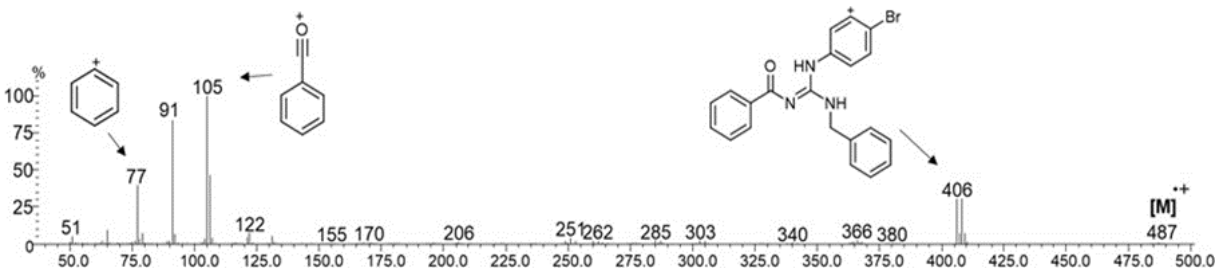
Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 06/07/2023; check.def file version of 30/06/2023

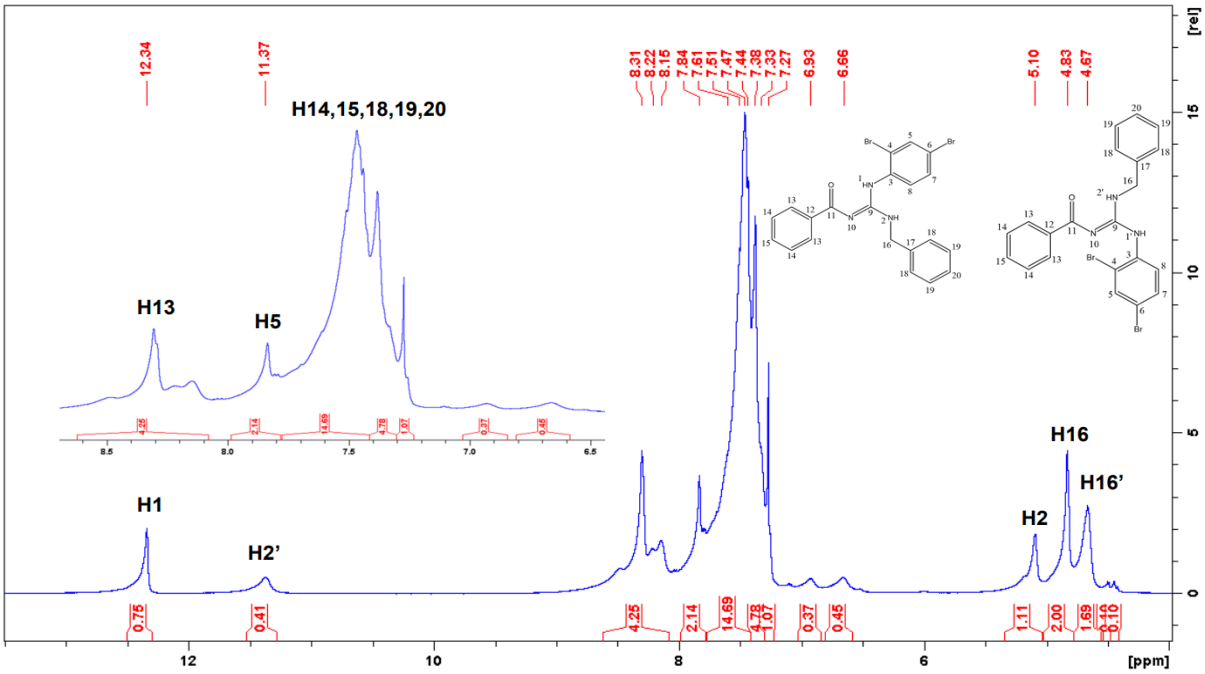
Datablock 20230801eq01_autored - ellipsoid plot



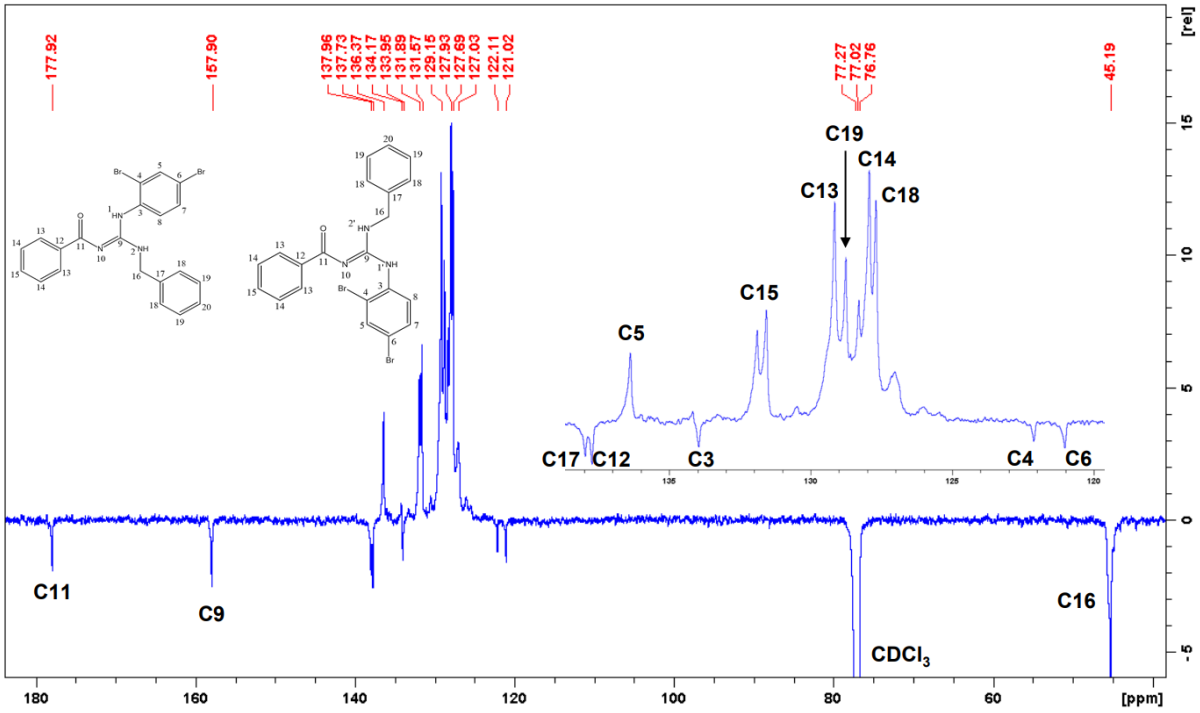
(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(2,4-dibromophenyl)guanidine (LQOF-G30)



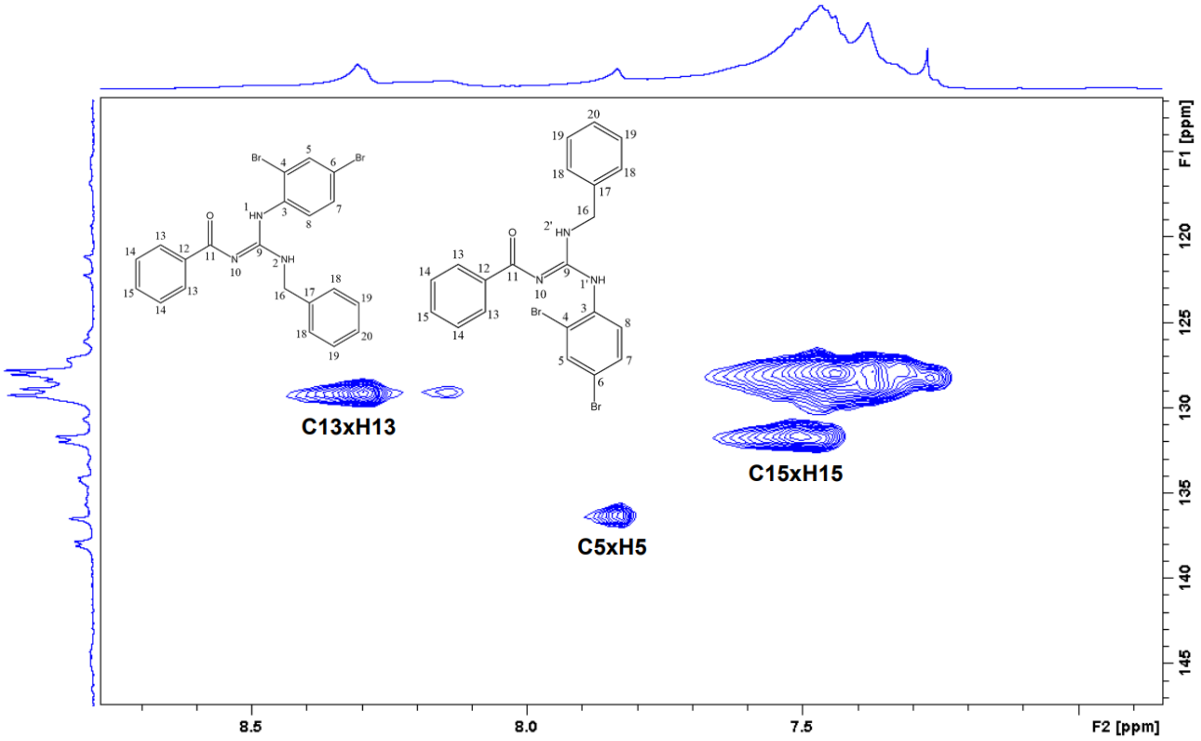
Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G30



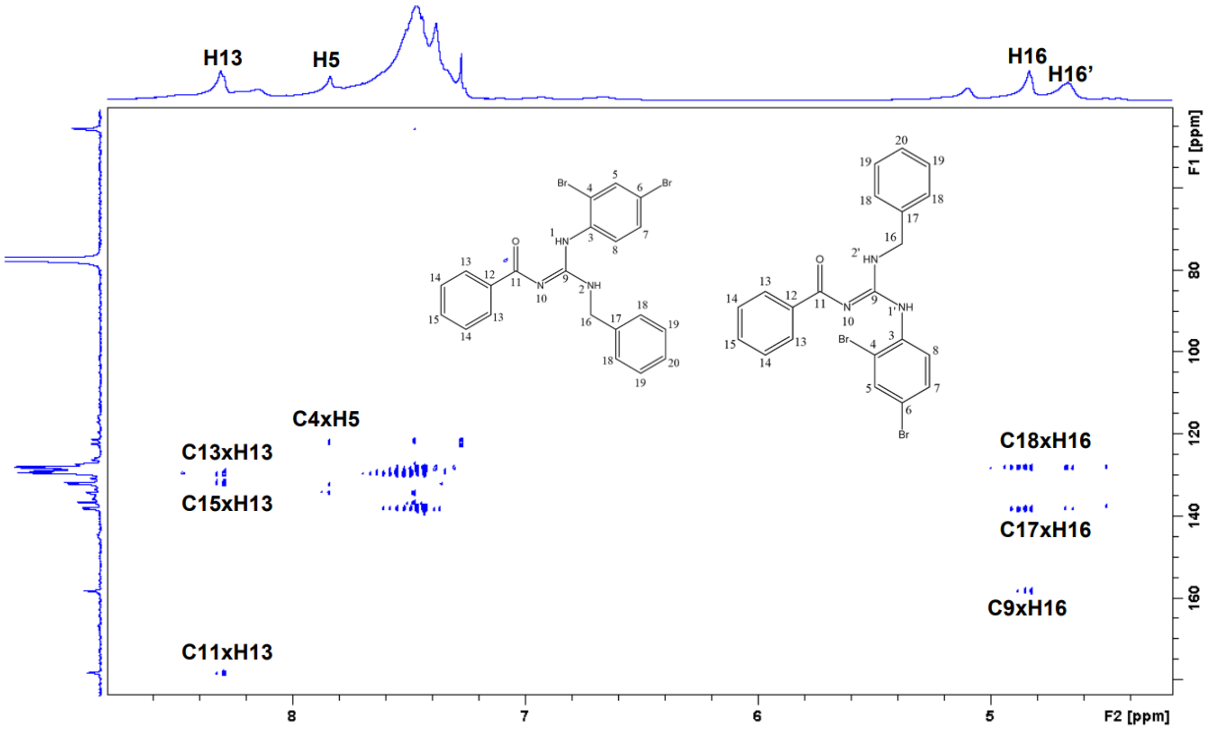
Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G30 à -10ºC em $CDCl_3$.



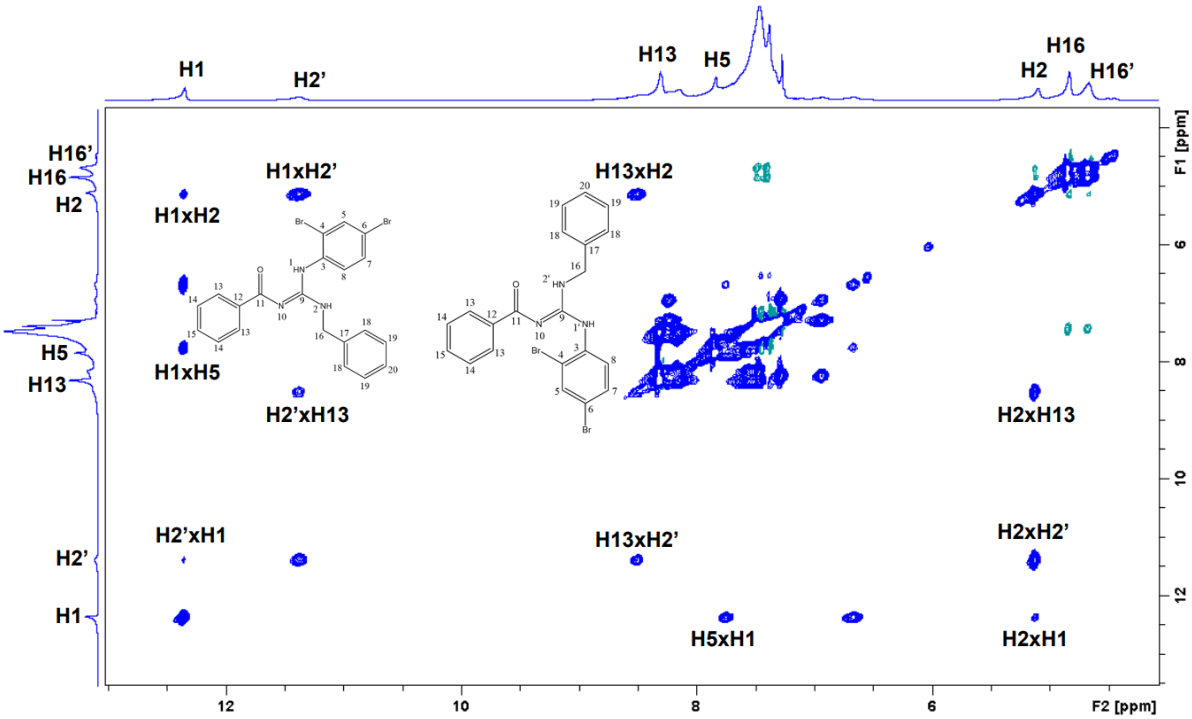
Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G30 à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN de HSQC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G30 à -10ºC em $CDCl_3$.

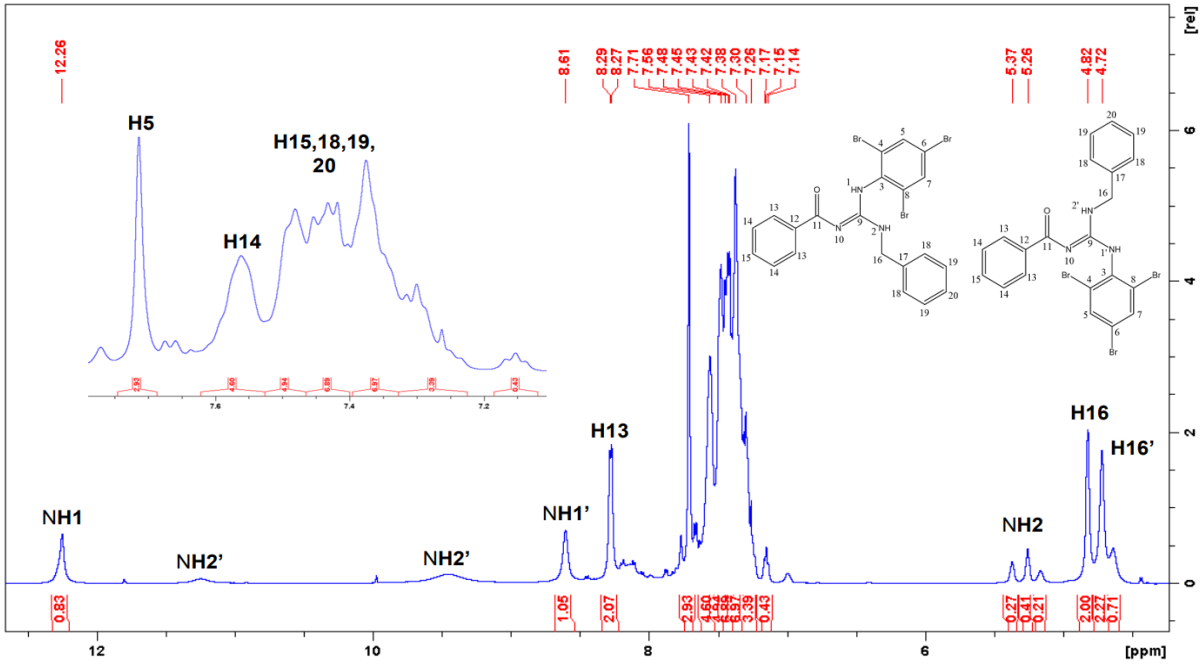


Espectro de RMN de HMBC $^{1}Hx^{13}C$ do composto LQOF-G30 à -10ºC em $CDCl_3$.

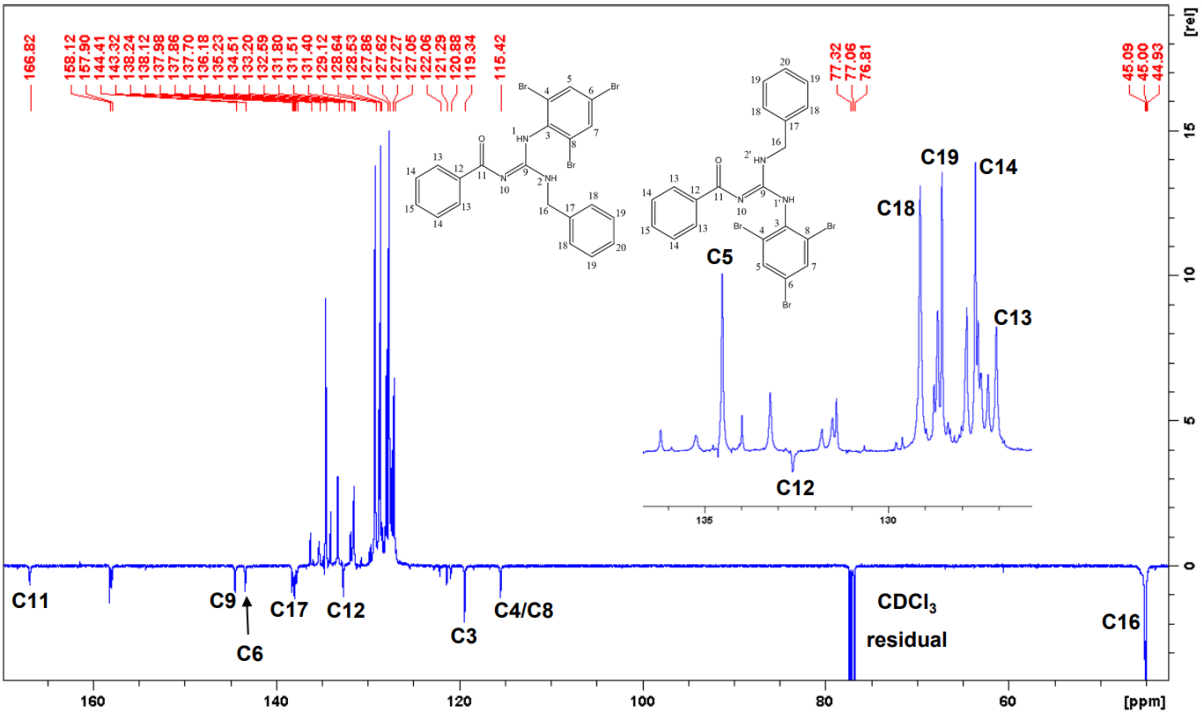


Espectro de RMN de NOESY ^{1}Hx^{1}H do composto LQOF-G30 à -10ºC em $CDCl_3$.

(E)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(2,4,6-tri-bromophenyl)guanidine (LQOF-G35-Br)



Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G35-Br à -10ºC em $CDCl_3$.

Relatório CHECKCIF do composto LQOF-G35-Br

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) lqof-g35-br

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

Datablock: lqof-g35-br

```
Bond precision:   C-C = 0.0037 A          Wavelength=1.54184

Cell:             a=5.1805(1)     b=23.4855(3)        c=16.5670(2)
                  alpha=90        beta=96.843(1)      gamma=90
Temperature:      100 K

                 Calculated                  Reported
Volume           2001.29(5)                  2001.29(5)
Space group      P 21/c                      P 1 21/c 1
Hall group       -P 2ybc                     -P 2ybc
Moiety formula   C21 H16 Br3 N3 O            C21 H16 Br3 N3 O
Sum formula      C21 H16 Br3 N3 O            C21 H16 Br3 N3 O
Mr               566.07                      566.10
Dx,g cm-3        1.879                       1.879
Z                4                           4
Mu (mm-1)        7.619                       7.619
F000             1104.0                      1104.0
F000'            1097.88
h,k,lmax         6,28,20                     6,28,20
Nref             3814                        3812
Tmin,Tmax        0.760,0.859                 0.680,0.964
Tmin'            0.504

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.680 Tmax=0.964
AbsCorr = GAUSSIAN

Data completeness= 0.999          Theta(max)= 70.070

R(reflections)= 0.0249( 3532)                wR2(reflections)=
                                             0.0681( 3812)
S = 1.072                 Npar= 253
```

```
The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format
      test-name_ALERT_alert-type_alert-level.
Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level C
PLAT420_ALERT_2_C D-H Bond Without Acceptor  N2       --H2       .     Please Check

Alert level G
PLAT007_ALERT_5_G Number of Unrefined Donor-H Atoms .............          2 Report
PLAT432_ALERT_2_G Short Inter X...Y Contact  Br3      ..C14      .       3.22 Ang.
                                                 1+x,y,z  =      1_655 Check
PLAT910_ALERT_3_G Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta(Min).          2 Note
PLAT978_ALERT_2_G Number C-C Bonds with Positive Residual Density.          9 Info

   0 ALERT level A = Most likely a serious problem - resolve or explain
   0 ALERT level B = A potentially serious problem, consider carefully
   1 ALERT level C = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
   4 ALERT level G = General information/check it is not something unexpected

   0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
   3 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
   1 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
   0 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
   1 ALERT type 5 Informative message, check
```

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

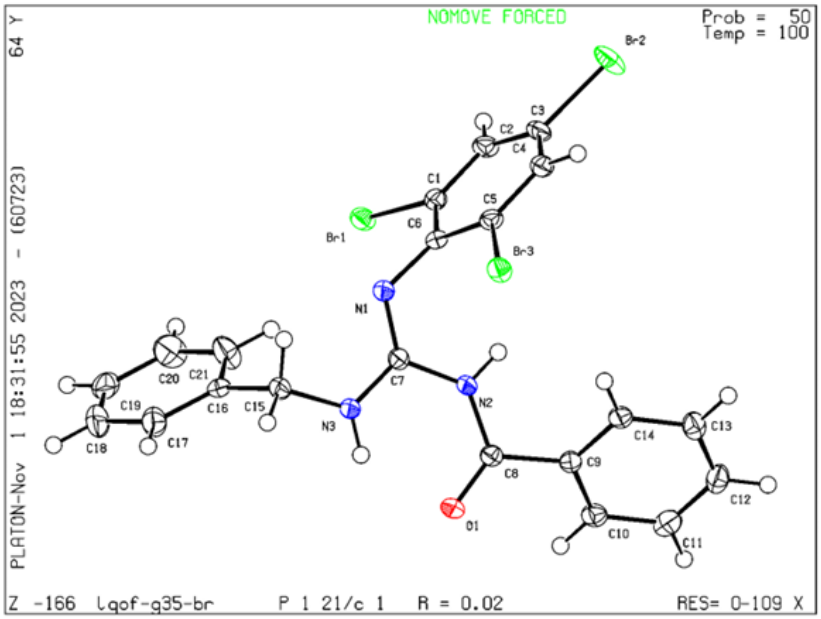
A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

Publication of your CIF in other journals

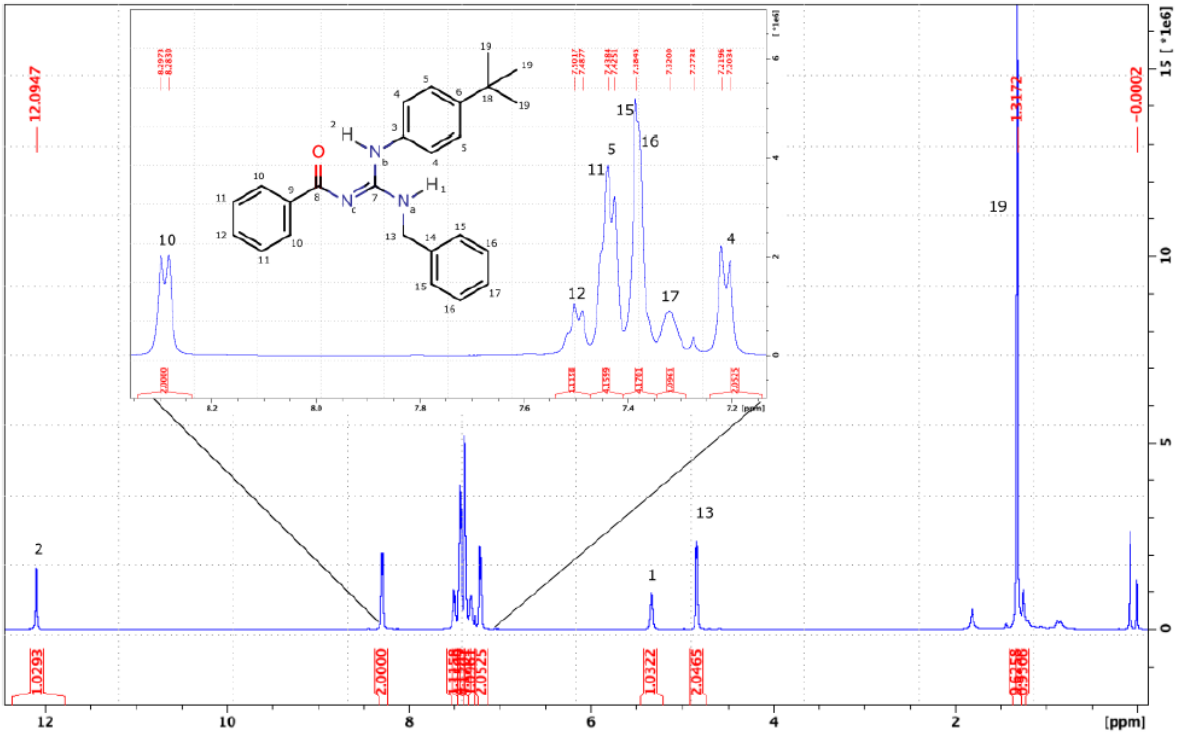
Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 06/07/2023; check.def file version of 30/06/2023

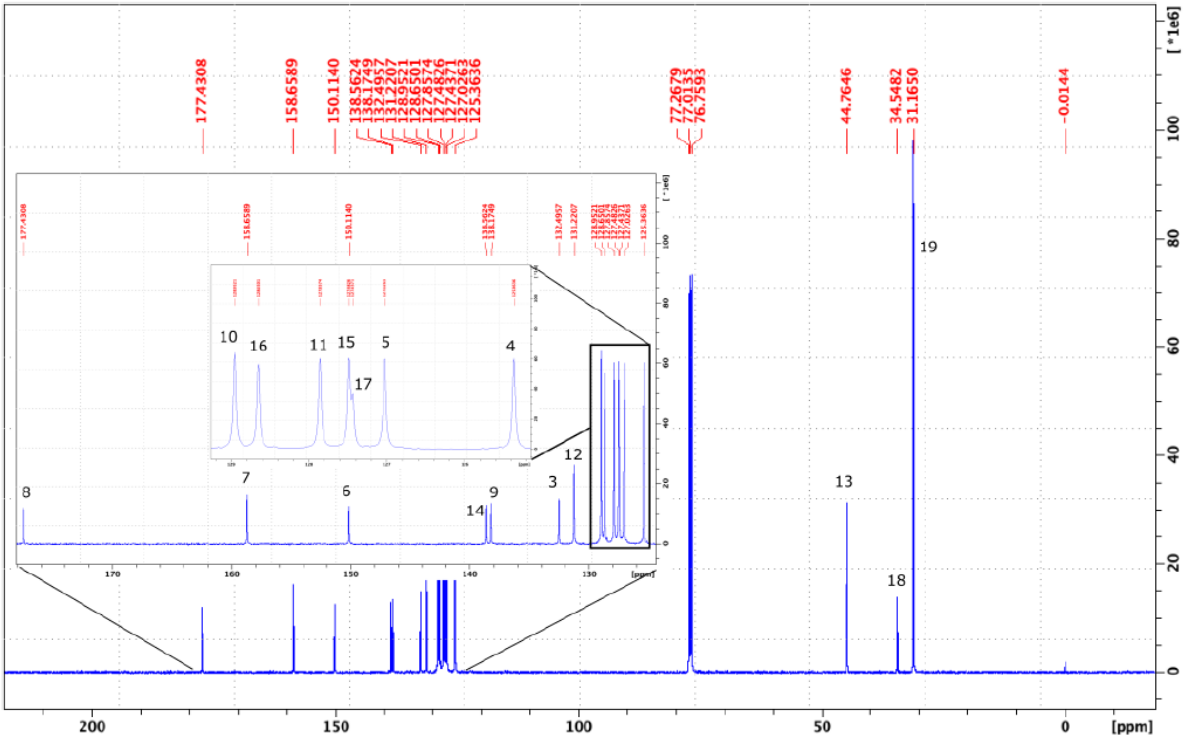
Datablock lqof-g35-br - ellipsoid plot



(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(4-*t*-butylphenyl)guanidine (LQOF-G6)

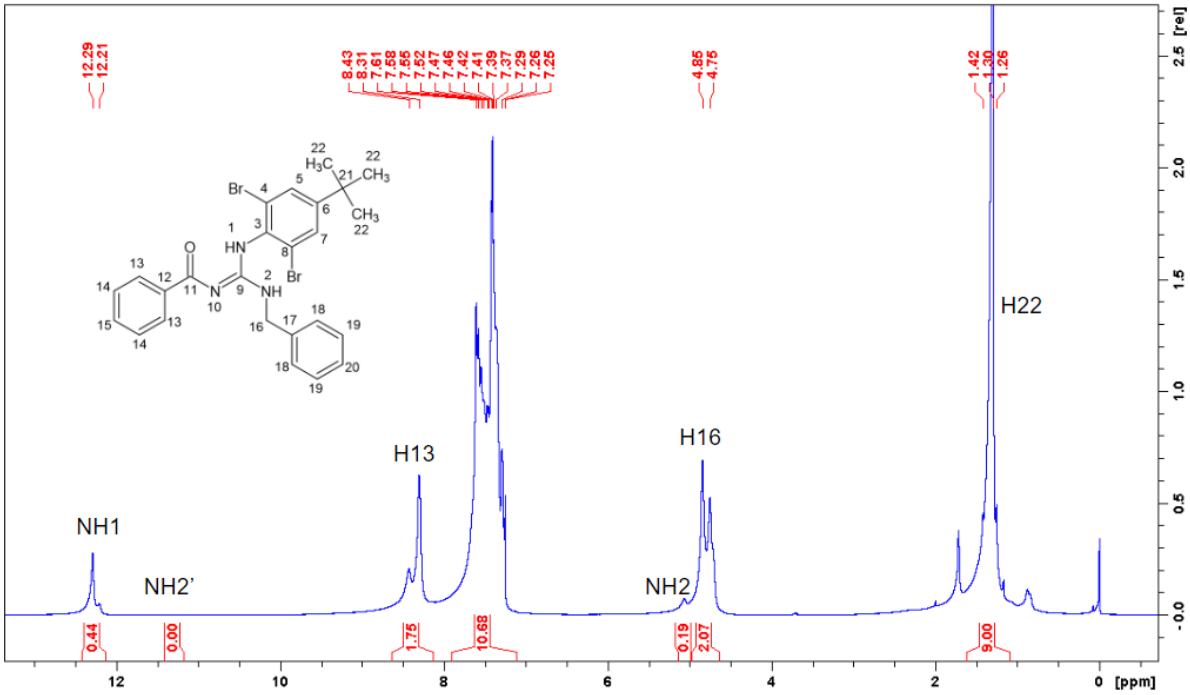


Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G6 à -10ºC em $CDCl_3$.

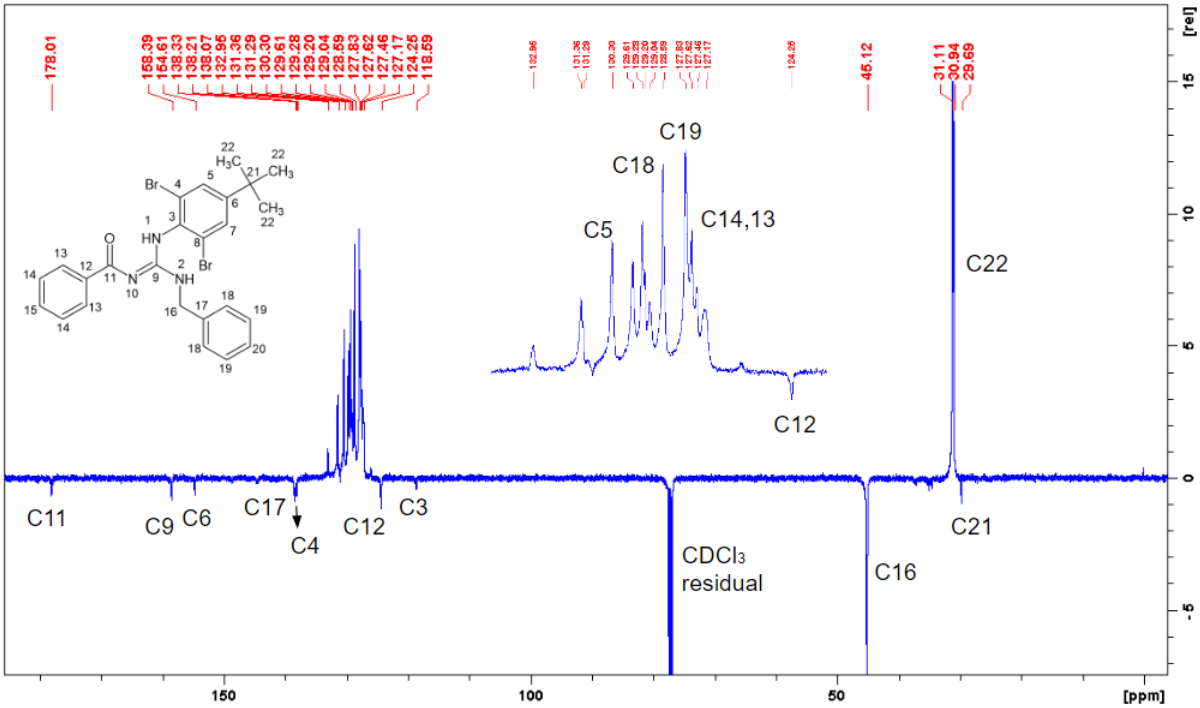


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G6 à -10ºC em $CDCl_3$.

(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(2,6-dibromophenyl 4-*t*-butylphenyl)guanidine (LQOF-G6-Br)

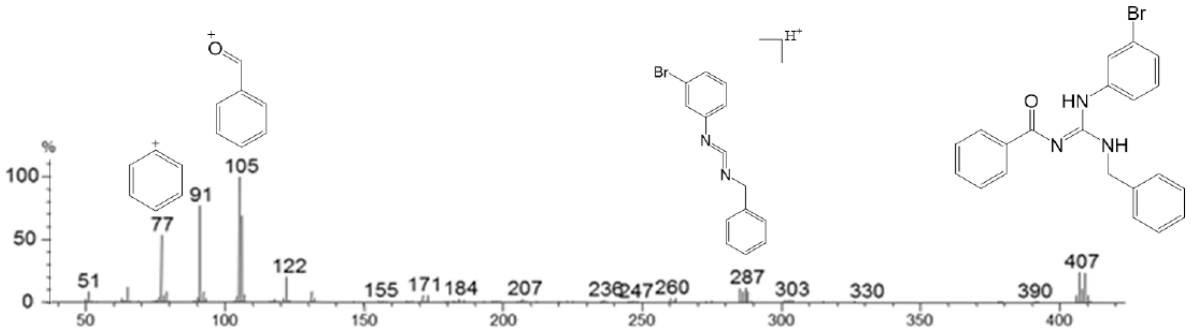


Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G6-Br à -10ºC em $CDCl_3$.

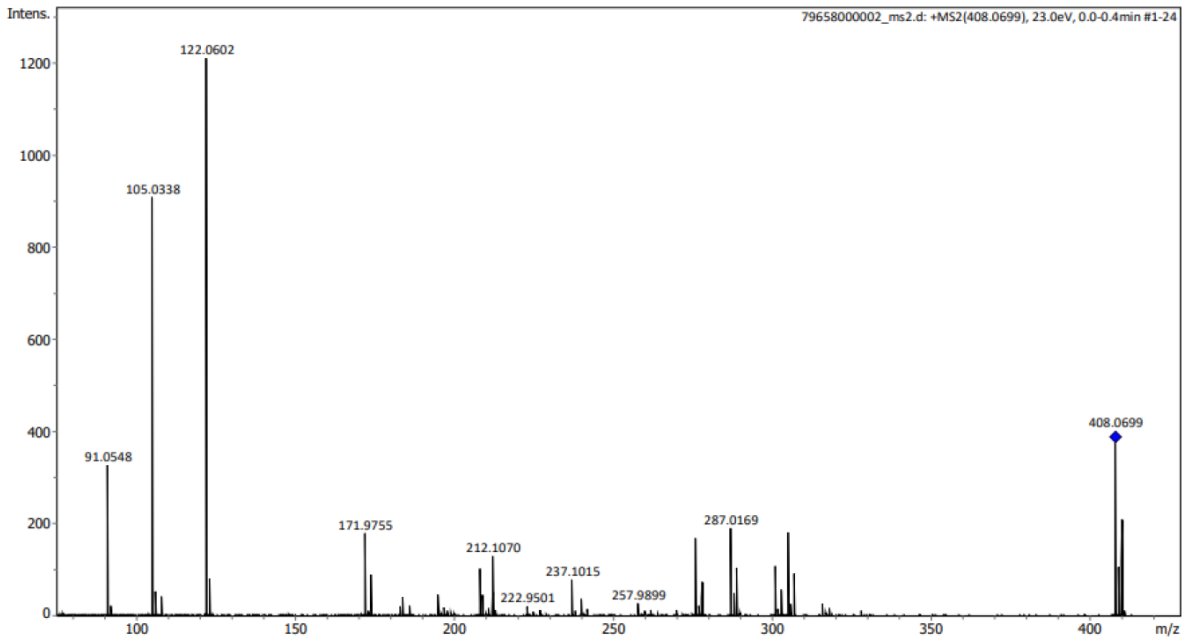


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G6-Br à -10ºC em $CDCl_3$.

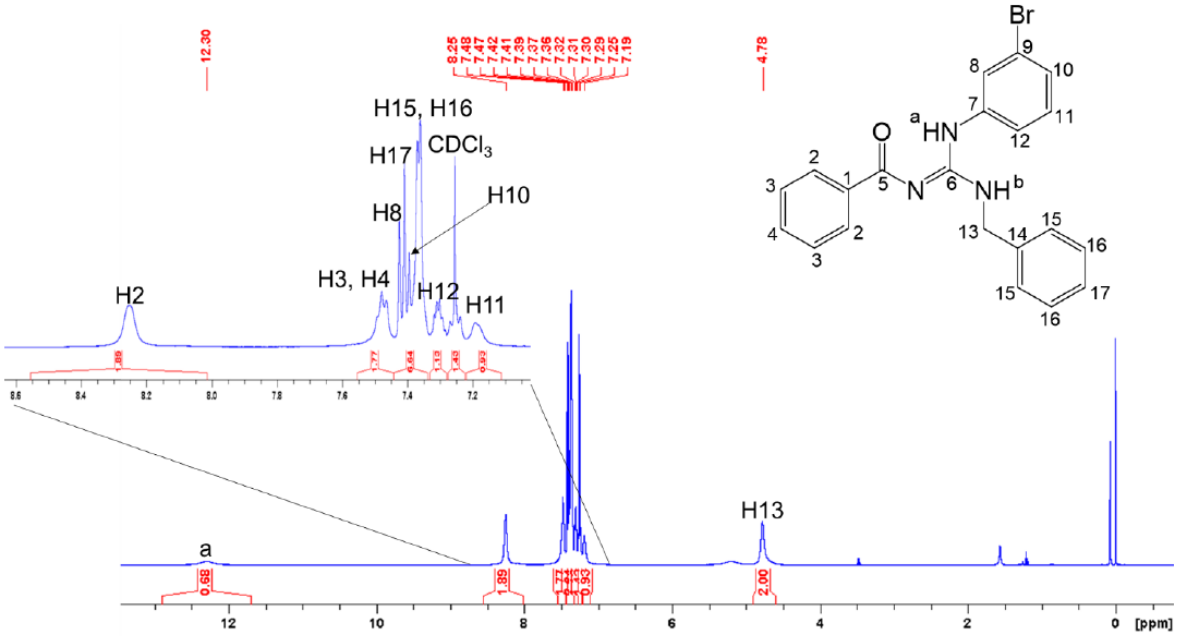
(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(4-bromophenyl)guanidine (LQOF-G36)



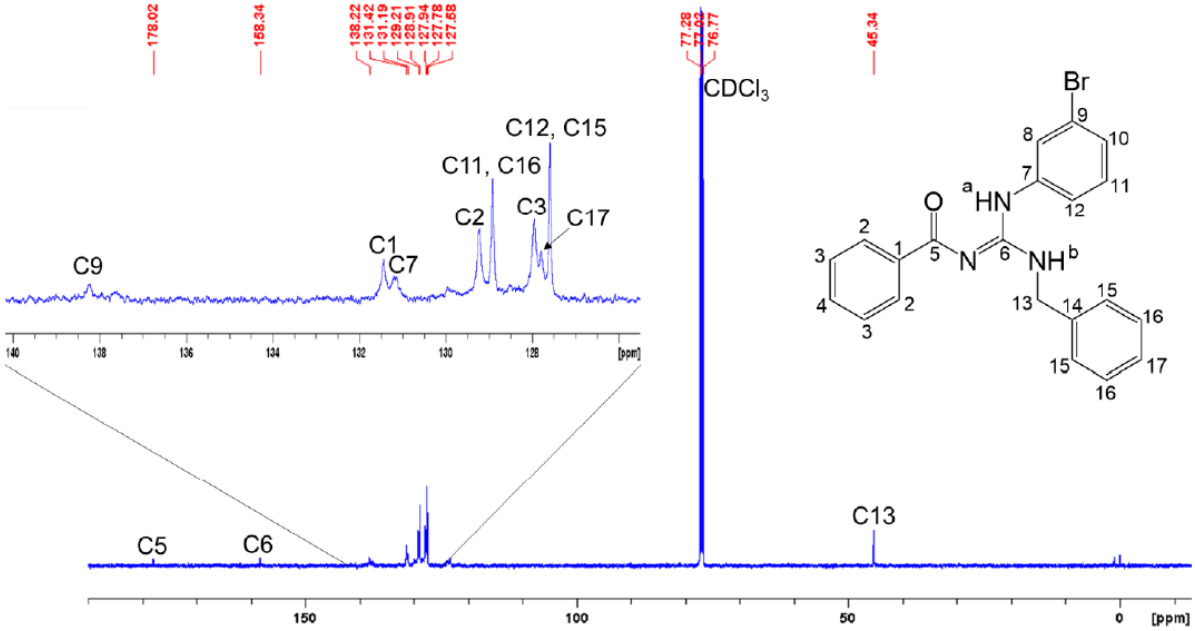
Espectro de EI-MS (70 eV) do composto LQOF-G36.



Espectro de HRESI-(+) MS/MS do composto LQOF-G36.

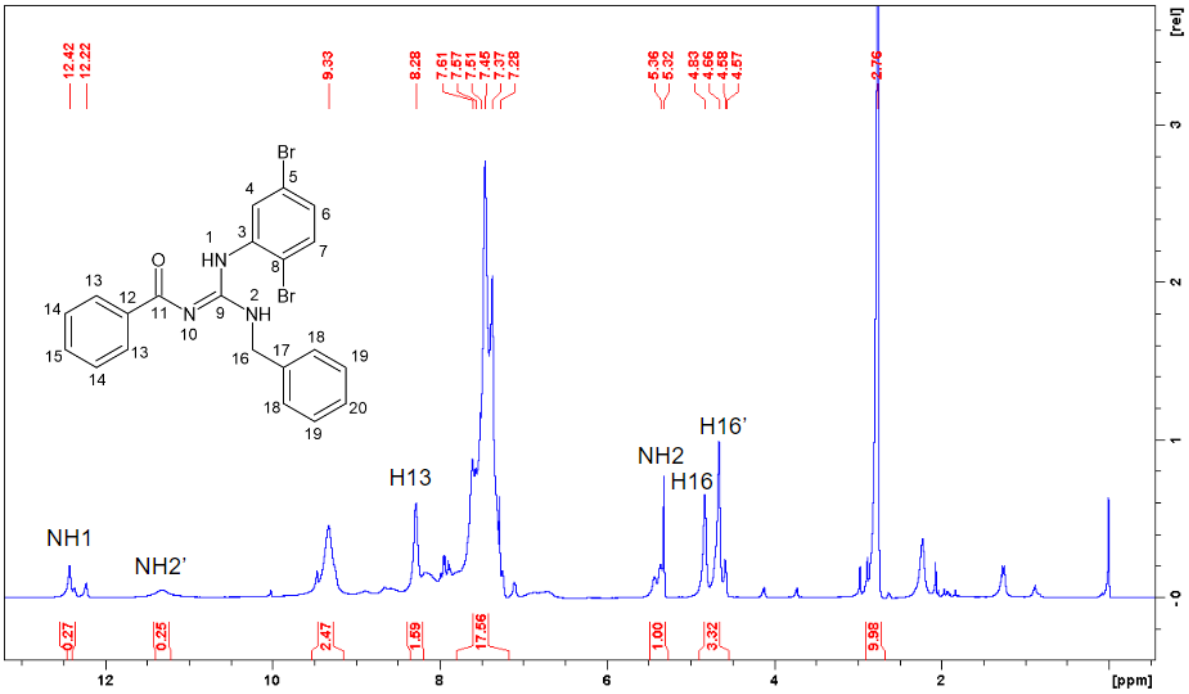


Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G36 à -10ºC em $CDCl_3$.

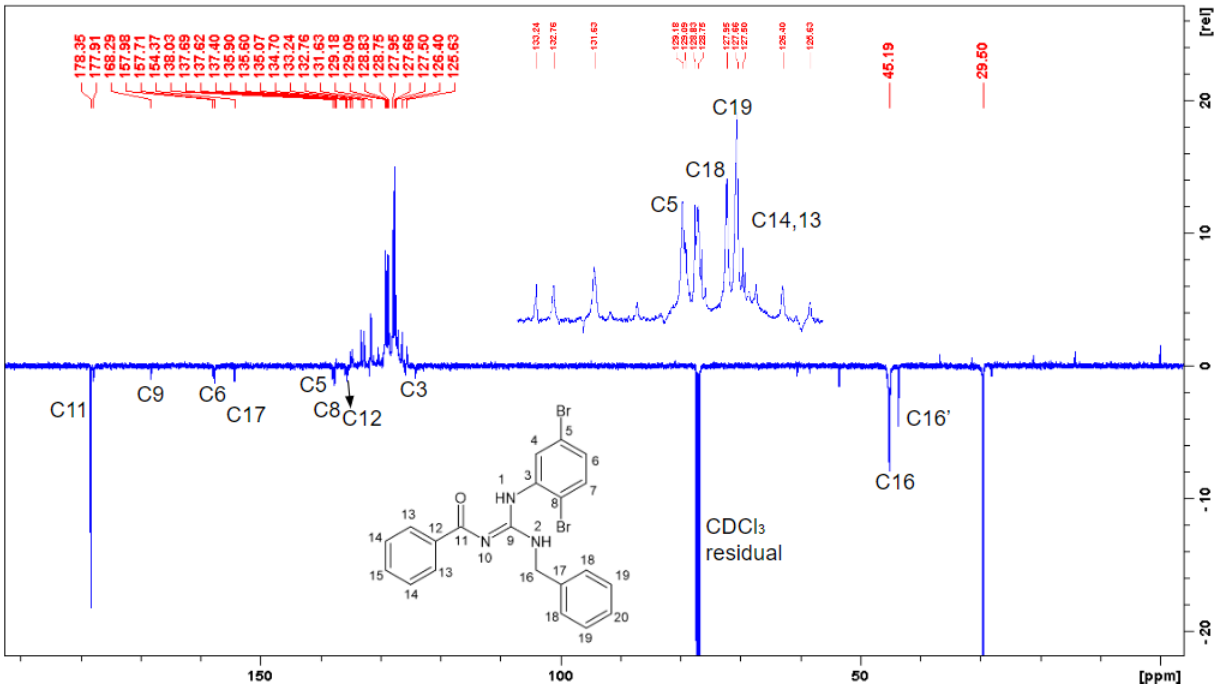


Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G36 à -10ºC em $CDCl_3$.

(Z)-N-benzoyl-N'-benzyl-N"-(3,6-dibromophenyl)guanidine (LQOF-G36-Br)



Espectro de RMN ^{1}H do composto LQOF-G36-Br à -10ºC em $CDCl_3$.



Espectro de RMN ^{13}C do composto LQOF-G36-Br à -10ºC em $CDCl_3$.