



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
LpQM – LABORATÓRIO DE PLANEJAMENTO EM QUÍMICA MEDICINAL

PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE 4-TIAZOLIDINONAS PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS

Gevanio Bezerra de Oliveira Filho

Recife, PE

2017

Gevanio Bezerra de Oliveira Filho

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO
FARMACOLÓGICA DE 4-TIAZOLIDINONAS PARA O
TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Lima Leite

Co-orientador: Dr.^o Diogo Rodrigo Magalhães Moreira

Co-orientador: Dr.^o Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso

Recife, PE

2017

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

O48p Oliveira Filho, Gevanio Bezerra de.
Planejamento estrutural, síntese e avaliação farmacológica de 4-tiazolidinonas para o tratamento da doença de Chagas / Gevanio Bezerra de Oliveira Filho. – 2017.
162 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Ana Cristina Lima Leite.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2017.
Inclui referências e apêndices.

1. Doença de Chagas. 2. Trypanosoma cruzi. 3. Desenho de drogas. 4. Tiossemicarbazonas. 5. Tiazolidinas. I. Leite, Ana Cristina Lima (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-308)

GEVANIO BEZERRA DE OLIVEIRA FILHO

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA
DE 4-TIAZOLIDINONAS PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 20/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Lima Leite (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^o Dr.^o Sebastião José de Melo (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^o Dr.^o Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior (Examinador Externo)
Universidade Estadual da Paraíba

Prof.^o Dr.^o Lindomar José Pena (Examinador Externo)
Fundação Oswaldo Cruz

Prof.^a Dr.^a Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof.º Dr.º Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA

Prof.ª Dr.ª Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof.º Dr.º Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof.º Dr.º Antônio Rodolfo de Faria

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof.º Dr.º Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof.º Dr.º Rafael Matos Ximenes

Aos meu pais Gevanio
e Argentina.

"Nunca se vai muito longe quando
não se sabe para onde se está indo."

Goethe (1749-1832)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois sem ele nada seria possível.

Agradeço a minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Lima Leite, pelo papel de mãe, não só científica, pois o carinho, o afeto, a amizade, os conselhos, os ensinamentos e as cobranças transcenderam a barreira orientador/orientado, e são de uma mãe para com seu filho. Muito obrigado pelo imenso respeito e ajuda ao longo destes oito anos que integro o LpQM, talvez não existam palavras suficientes e significativas que me permitam agradecer a você com justiça, com o devido merecimento. Sua ajuda e seu apoio foram para mim de valor inestimável. Muito obrigado!

Aos meus co-orientadores, Prof.^o Dr.^o Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira e Prof.^o Dr.^o Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso, acima de tudo grandes amigos, que me fazem crescer bastante a cada dia. Obrigado por acreditar em mim quando eu achei difícil acreditar em mim mesmo. Obrigado por dizer, algumas vezes, o que eu realmente precisava ouvir, em vez do que eu queria que vocês dissessem, e por terem me mostrado outro lado a considerar. Obrigado!

A Prof.^a Dr.^a Maria de Nazaré Correia Soeiro por ter me acolhido em seu laboratório e proporcionado seis meses de puro aprendizado: científico, humano e pessoal. E a todos que fazem o LBC (IOC-FIOCRUZ-RJ), vocês me acolheram com todo o afeto, como se fosse um irmão de quem se tem muitas saudades. Fizeram de vossa família a minha também e me presentearam com um ambiente fraterno. Jamais poderei esquecer os sorrisos e bons momentos vividos. Muito obrigado!

Aos funcionários da Central Analítica do DQF (UFPE), em especial a Eliete Barros e Abene Ribeiro, pelas análises espectroscópicas, paciência, solicitude e amizade desenvolvida nesses anos todos. Muito obrigado!

Aos meus amigos do LpQM (DCFAR, UFPE); eu poderia aproveitar estas últimas palavras para recordar tudo o que aprendi aqui profissionalmente que me será útil futuramente. Mas, nesta experiência, o que eu levo de mais positivo são as lembranças do companheirismo e a amizade de todos vocês. Vou embora, por agora, mas levo comigo um grande sentimento de gratidão. Colegas como vocês serão sempre difíceis de encontrar. Muitas felicidades para todos!

A minha família, pois família não é uma coisa importante. É tudo! E se cheguei até aqui, devo isso a vocês, pois são fonte de inspiração, e me dão forças para seguir correndo atrás dos objetivos. Muito obrigado!

A todos os meus amigos, não dá para listar, pois sempre faltaria alguém, cada um de vocês tem um papel importante na pessoa que me transformei. Muito obrigado!

A minha namorada Laryssa, pelo amor, compreensão e companheirismo. Por aguentar meus estresses, e por ser essa pessoa especial que me faz um bem danado. Muito obrigado!

Aos professores, pesquisadores e funcionários do DCFAR e do PPGCF, e a todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização desse trabalho.

A FACEPE, pela concessão da bolsa de Doutorado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (UFPE).

Ao CNPq e a FACEPE, pelo suporte financeiro ao LpQM (DCFAR, UFPE).

RESUMO

A doença de Chagas é uma infecção parasitária sistêmica causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, a qual afeta entre 7 a 8 milhões de pessoas em todo o mundo. O Benzonidazol é o único fármaco aprovado para o tratamento durante a fase aguda e crônica assintomática, contudo não é eficaz durante a fase crônica sintomática. Desta maneira, o desenvolvimento de novos fármacos úteis para o tratamento da doença de Chagas é necessário. O objetivo deste trabalho foi identificar fármacos tripanocidas, o planejamento estrutural e a síntese de inéditas aril-4-tiazolidinonas (**26a–o**) e seus análogos estruturais do tipo 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a–z e 27 α – γ**) foram realizado. As aril-4-tiazolidinonas e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas foram planejadas com intuito de identificar compostos tão potentes em inibir o parasito quanto os compostos protótipos (4-tiazolidinonas **5-7**). Almejamos também compreender a relação estrutura-atividade anti-*T. cruzi* para essa classe de 4-tiazolidinonas e por isso, foram realizadas modificações na porção aril da série (**26a–o**), alternando os substituintes cloro nas posições 2,4; 2,5 e 2,3,4 do anel; bem como substituintes diversos foram inseridos na posição C5 do anel heterocíclico (metil, etil, isopropil, fenil). Para série (**27a–z e 27 α – γ**) fixamos o anel 3,4-diclorobenzil e fizemos modificações especificamente na posição C5 do anel 4-tiazolidinona (anéis aromáticos com substituintes *orto*, *meta*, *para* e policíclicos como o naftil, antracênil, bifenil ou heterocíclicos como piridinil). Os compostos (**26a–o**, rend: 37-84%) e (**27a–z e 27 α – γ** , rend: 10-93%) foram sintetizados e caracterizados por RMN ¹H e ¹³C, IV, AE e massas. Os compostos (**26e** CC₅₀= 14 μ M, e **26m** CC₅₀= 12 μ M) foram os mais ativos das séries, demonstraram ser equipotentes ao Bdz, possuindo o (2,4-dicloro e fenila) e (2,3,4-tricloro e etila) como substituintes, respectivamente. O composto (**27z** CC₅₀= 26 μ M), duas vezes menos potente que o Bdz, possui um grupo ferrocenil como substituinte. Esses compostos apresentaram baixa toxicidade para células de linhagem (L929) e para células do músculo cardíaco de camundongos (cardiomiócitos – tecido mais afetado pela infecção por *T. cruzi*). Esses resultados comprovam a atividade tripanocida e seletividade dessa classe de heterocíclicos, e demonstra que deve ser ainda mais estudada em busca de novos protótipos a fármacos antichagásicos, com maior seletividade e atividade.

Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Desenho de drogas. Tiossemicarbazonas. Tiazolidinas.

ABSTRACT

Chagas disease is a parasitic infection caused by protozoan *T. cruzi*, which affects around 7 to 8 million people worldwide. Benznidazole is the sole drug approved for treatment during the acute and asymptomatic chronic phases, however it has no efficacy during the symptomatic chronic phase. Therefore, the development of new medicines is needed. To identify new trypanocidal compounds, we performed a structural planning and synthesis of new aryl-4-thiazolidines (**26a-o**) and their structurally-related analogs such as the 5-benzilidene-4-thiazolidines (**27a-z e 27 α - γ**). Aryl-4-thiazolidines (**26a-o**) and 5-benzilidene-4-thiazolidines (**27a-z e 27 α - γ**) were designed with the aim to identify more potent trypanocidal agents than the aryl-4-thiazolidines (**5-7**). We also aimed to understand the structure-anti-*T. cruzi* activity relationships for this class of thiazolidines. To this end, modifications were made in the aryl moiety of the series (**26a-o**) alternately chlorine substituents in positions 2,4; 2,5 and 2,3,4 ring; and various substituents have been inserted at the C5 position of the heterocycle ring (methyl, ethyl, phenyl). For series (**27a-z e 27 α - γ**) pinned 3,4-dichlorobenzyl ring and modifications made specifically at the C5 position of the 4-thiazolinone ring (with various substituents in position 4 of the ring benzilidenes and inserting aromatics substituted *ortho*, *meta* and *para*, and polycyclic aromatic such as naphthyl, anthracenyl, biphenyl or heterocyclic groups such as pyridyl). Compounds (**26a-o**, yield: 37-84%) and (**27a-z** and **27 α - γ** , yield: 10-93%) were synthesized and characterized by ^1H and ^{13}C NMR, IR, EA and mass. The compounds (**26e** EC_{50} = 14 μM , and **26m** EC_{50} = 12 μM) were the most powerful the series, shown to be equipotent to Bdz, they have (2,4-dichloro and phenyl) and (2,3,4-trichloro and ethyl) as substituents respectively. The compound **27z**, which was two times less potent than Bdz, has a ferrocenyl group as the substituent. These compounds had low toxicity to (L929) and to cardiac muscle cells of mice (cardiomyocytes - tissue most affected by *T. cruzi* infection). These results confirm the activity and selectivity of this class of heterocyclics, and further studies seeking for new prototypes for antichagasic drugs with greater selectivity and activity are warranted.

Keywords: Chagas disease. *Trypanosoma cruzi*. Drug design. Thiosemicarbazones. Thiazolidines.

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 1 | Introdução..... | 23 |
| 2 | Objetivos..... | 29 |
| 3 | Revisão da Literatura..... | 31 |
| 3.1 | P&D de Novos Candidatos a Fármacos para Doença de Chagas.... | 32 |
| 3.1.1 | Reposicionamento de Fármacos..... | 33 |
| 3.2 | Alvos Terapêuticos..... | 37 |
| 3.2.1 | Cisteína Protease..... | 38 |
| 3.2.2 | Tiosemicarbazonas e 4-tiazolidinonas..... | 40 |
| 4 | Resultados e Discussão..... | 44 |
| 4.1 | Planejamento Estrutural..... | 45 |
| 4.2 | Síntese dos Compostos..... | 48 |
| 4.2.1 | Síntese das aril-4-tiazolidinonas (26a-o)..... | 49 |
| 4.2.2 | Síntese dos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (27a-z e 27α-γ)..... | 56 |
| 4.3 | Avaliação Farmacológica..... | 67 |
| 4.4 | Discussão..... | 73 |
| 5 | Conclusões..... | 76 |
| 6 | Parte Experimental..... | 79 |
| 6.1 | Generalidades..... | 80 |
| 6.2 | Metodologias Sintéticas e Dados Espectroscópicos..... | 81 |
| 6.2.1 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-hidrazina-1-carbotioamida (Int-1)..... | 81 |
| 6.2.2 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-<i>N</i>-metilhidrazina-1-carbotioamida (Int-2; GT-03)..... | 82 |
| 6.2.3 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-<i>N</i>-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-3; GT-02)..... | 83 |
| 6.2.4 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno]-<i>N</i>-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-4; SV-03)..... | 84 |
| 6.2.5 | 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno]-<i>N</i>-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-5; SV-02)..... | 85 |
| 6.2.6 | <i>N</i>-fenil-2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno]-hidrazina-1-carbotioamida (Int-6; SV-01)..... | 86 |
| 6.2.7 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidina-4-ona (Int-7; | |

| | | |
|--------|--|-----|
| | GT-04) | 87 |
| 6.2.8 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-metiltiazolidin-4-ona (Int-8; GT-06) | 88 |
| 6.2.9 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (Int-9; GT-05) | 89 |
| 6.2.10 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26a; SV-03A) | 90 |
| 6.2.11 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26b; SV-03B) | 91 |
| 6.2.12 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26c; SV-03C) | 92 |
| 6.2.13 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26d; SV-03D) | 93 |
| 6.2.14 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,-difeniltiazolidin-4-ona (26e; SV-03E) | 94 |
| 6.2.15 | 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26f; SV-02A) | 95 |
| 6.2.16 | 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26g; SV-02B) | 96 |
| 6.2.17 | 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26h; SV-02C) | 97 |
| 6.2.18 | 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26i; SV-02D) | 98 |
| 6.2.19 | 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,-difeniltiazolidin-4-ona (26j; SV-02E) | 99 |
| 6.2.20 | 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26k; SV-01A) | 100 |
| 6.2.21 | 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26l; SV-01B) | 101 |
| 6.2.22 | 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26m; SV-01C) | 102 |
| 6.2.23 | 2-[1-(2,3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26n; SV-01D) | 103 |
| 6.2.24 | 2-[1-(2,3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,-difeniltiazolidin-4- | |

| | | |
|--------|--|-----|
| | ona (26o; SV-01E)..... | 104 |
| 6.2.25 | 5-(benzilideno)-2-((1-(3,4-diclorofenil)etilideno)hidrazona)- tiazolidin-4-ona (27a; BZ-03)..... | 105 |
| 6.2.26 | 5-(benzylidene)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3- metiltiazolidin-4-ona (27b; BZ-01)..... | 106 |
| 6.2.27 | 5-(benzilideno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3- feniltiazolidin-4-ona (27c; BZ-02)..... | 107 |
| 6.2.28 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-metilbenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27d; BZ-18)..... | 108 |
| 6.2.29 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-fluorobenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27e; BZ-12)..... | 109 |
| 6.2.30 | 5-{3-clorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]- tiazolidin-4-ona (27f; BZ-11)..... | 110 |
| 6.2.31 | 5-{4-clorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]- tiazolidin-4-ona (27g; BZ-29)..... | 111 |
| 6.2.32 | 5-{3,4-diclorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno- hidrazona]tiazolidin-4-ona (27h; BZ-09)..... | 112 |
| 6.2.33 | 5-{4-bromobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]- tiazolidin-4-ona (27i; BZ-13)..... | 113 |
| 6.2.34 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-hidroxibenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27j; BZ-32)..... | 114 |
| 6.2.35 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxibenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27k; BZ-14)..... | 115 |
| 6.2.36 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(dimetilamino)- benzilideno}tiazolidin-4-ona (27l; BZ-19)..... | 116 |
| 6.2.37 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-metoxibenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27m; BZ-08)..... | 117 |
| 6.2.38 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-metoxibenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27n; BZ-30)..... | 118 |
| 6.2.39 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(metiltio)- benzilideno}tiazolidin-4-ona (27o; BZ-07)..... | 119 |
| 6.2.40 | 5-{4-(tert-butil)benzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno- hidrazona]tiazolidin-4-ona (27p; BZ-04)..... | 120 |
| 6.2.41 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-nitrobenzilideno)- | |

| | | |
|--------|---|-----|
| | tiazolidin-4-ona (27q; BZ-21)..... | 121 |
| 6.2.42 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-nitrobenzilideno)- tiazolidin-4-ona (27r; BZ-05)..... | 122 |
| 6.2.43 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(dimetilamino)-2- nitrobenzilideno}tiazolidin-4-ona (27s; BZ-23)..... | 123 |
| 6.2.44 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxi-3- metoxibenzilideno)tiazolidin-4-ona (27t; BZ-34)..... | 124 |
| 6.2.45 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxi-3- nitrobenzilideno)tiazolidin-4-ona (27u; BZ-24)..... | 125 |
| 6.2.46 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4- morfolinobenzilideno)tiazolidin-4-ona (27v; BZ-06)..... | 126 |
| 6.2.47 | 5-[[1,1'-bifenil]-4-ilmetileno]-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno- hidrazona]tiazolidin-4-ona (27w; BZ-20)..... | 127 |
| 6.2.48 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(piridin-3-ilmetileno)- tiazolidin-4-ona (27x; BZ-33)..... | 128 |
| 6.2.49 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(piridin-4-ilmetileno)- tiazolidin-4-ona (27y; BZ-22)..... | 129 |
| 6.2.50 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(ferrocenilmetileno)- tiazolidin-4-ona (27z; BZ-26)..... | 130 |
| 6.2.51 | 5-((1H-indol-3-il)metileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno- hidrazona]tiazolidin-4-ona (27α; BZ-31)..... | 131 |
| 6.2.52 | 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno- hidrazona]tiazolidin-4-ona (27β; BZ-28)..... | 132 |
| 6.2.53 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(naftalen-1-ilmetileno)- tiazolidin-4-ona (27λ; BZ-16)..... | 133 |
| 6.2.54 | 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(naftalen-2-ilmetileno)- tiazolidin-4-ona (27ω; BZ-17)..... | 134 |
| 6.2.55 | 5-(antracén-9-ilmetileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]- tiazolidin-4-ona (27γ; BZ-15)..... | 135 |
| 6.3 | Ensaïos biol3gicos..... | 136 |
| 6.3.1 | Drogas..... | 136 |
| 6.3.2 | Culturas de células de mamíferos..... | 136 |
| 6.3.3 | Parasitas..... | 137 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 6.3.4 | Ensaio de citotoxicidade | 137 |
| 6.3.5 | Análise tripanocidas | 138 |
| | Referências | 139 |
| | Apêndices | 157 |
| | Apêndice A: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of 4-thiazolidinones against <i>Trypanosoma cruzi</i> | 158 |
| | Apêndice B: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against <i>Trypanosoma cruzi</i> | 159 |
| | Apêndice C: Synthesis and structure-activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxy thiosemicarbazones inhibiting <i>Trypanosoma cruzi</i> | 160 |
| | Apêndice D: Compound profiling and 3D-QSAR studies of hydrazone derivatives with activity against intracellular <i>Trypanosoma cruzi</i> | 161 |
| | Apêndice E: Evaluation of a new generation of 4-thiazolidinones against <i>Trypanosoma cruzi</i> | 162 |

Lista de Esquemas

| | | |
|-------------------|--|----|
| Esquema 1: | Obtenção das tiossemicarbazonas Int-4-6 | 49 |
| Esquema 2: | Obtenção dos acetatos α -halogenados..... | 50 |
| Esquema 3: | Obtenção das tiossemicarbazonas Int-1-3 | 56 |
| Esquema 4: | Obtenção das 4-tiazolidinonas Int-7-9 | 57 |
| Esquema 5: | Metodologias empregadas na reação de condensação aldólica para a síntese da série 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27a-z e 27α-γ)..... | 58 |
| Esquema 6: | Esquema de síntese das 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (27a-z e 27α-γ)..... | 60 |

Lista de Figuras

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1: | Distribuição dos casos de infecção por <i>Trypanossoma cruzi</i> , baseado em estimativas oficiais e status da transmissão vetorial, em todo o mundo. Segundo relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas 2013..... | 24 |
| Figura 2: | Estrutura química do Benzonidazol (1) e Nifurtimox (2), opções atuais para o tratamento da doença de Chagas..... | 25 |
| Figura 3: | Estrutura química do Posaconazol (3) e E1224 (4), compostos que falharam em ensaios clínicos recentes..... | 26 |
| Figura 4: | Tiazolidinonas (5-7) com propriedades tripanocidas. Valores de CI_{50} relativos a tripomastigotas da cepa Y do <i>T. cruzi</i> | 27 |
| Figura 5: | Ensaio clínico CHAGASAZOL, avaliou potencial antichagásico do Posaconazol VS Benzonidazol..... | 34 |
| Figura 6: | Ensaio clínico E1224, avaliou potencial antichagásico do E1224 (pró-fármaco do Ravuconazol) VS Benzonidazol, uma tentativa clara de reposicionamento de fármacos..... | 35 |
| Figura 7: | Estrutura do Fexinidazol (8), fármaco em ensaio clínico..... | 36 |
| Figura 8: | Inibidores da enzima alvo de diferentes classes químicas..... | 39 |
| Figura 9: | Representativas tiossemicarbazonas que são inibidoras da cruzaina..... | 41 |
| Figura 10: | Tiossemicarbazona (23), e seu bioisómero clássico pirazolina (22), e seu bioisómero não clássico 4-tiazolidinona (24)..... | 41 |
| Figura 11: | Estrutura de alguns dos principais protótipos a fármacos antichagásicos baseados em 4-tiazolidinonas..... | 42 |
| Figura 12: | Tiazolidinonas (5-7) com propriedades tripanocidas. Valores de CC_{50} relativos a tripomastigotas da cepa Y do <i>T. cruzi</i> | 43 |
| Figura 13: | Emprego do bioisosterismo para o planejamento das aril-4-tiazolidinonas 26-o..... | 45 |
| Figura 14: | Emprego do bioisosterismo para o planejamento das 5-benzilideno-4-tiazolidinonas 27a-γ..... | 46 |
| Figura 15: | Rota sintética para obtenção das aril-4-tiazolidinonas (26a-o) e | |

| | | |
|--------------------|---|----|
| | 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (27a–γ)..... | 47 |
| Figura 16: | Estrutura das acetofenonas substituídas e da 4-fenil-3-tiossemicarbazida..... | 48 |
| Figura 17: | (Esquerda) Estrutura química do Int-4. (Direita) projeção ORTEP-3 do Int-4 mostrando elipsóides de numeração atômica e deslocamento ao nível de probabilidade de 50%..... | 49 |
| Figura 18: | Exemplo de espectro de IV da série 26 (composto 26b)..... | 52 |
| Figura 19A: | Exemplo de espectro de RMN de 1H da série 26 (26I)..... | 53 |
| Figura 19B: | Ampliação 1 - Exemplo de espectro de RMN de 1H da série 26 (composto 26I)..... | 53 |
| Figura 19C: | Ampliação 2 - Exemplo de espectro de RMN de 1H da série 26 (composto 26I)..... | 54 |
| Figura 20A: | Exemplo de espectro de RMN de 13C da série 26 (26I)..... | 54 |
| Figura 20B: | Exemplo de espectro de DEPT de 13C da série 26 (26I)..... | 55 |
| Figura 21: | Isomerismo <i>Z</i> ou <i>E</i> em 4-tiazolidinonas..... | 55 |
| Figura 22: | Estrutura das acetofenonas substituídas e da 4-fenil-3-tiossemicarbazida..... | 56 |
| Figura 23: | Espectro de IV para a 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f)..... | 61 |
| Figura 24A: | Espectro de RMN 1H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f).... | 62 |
| Figura 24B: | Ampliação - Espectro de RMN 1H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f)..... | 62 |
| Figura 24C: | Ampliação - Espectro de RMN 1H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f)..... | 62 |
| Figura 25A: | Espectro de RMN 13C para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f).. | 63 |
| Figura 25B: | Espectro de DEPT de 13C para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f)..... | 64 |
| Figura 26: | Estruturas teóricas dos diastereoisômeros <i>Z</i> e <i>E</i> para as 4-tiazolidinonas da série 27a-z e 27α–γ | 65 |
| Figura 27: | Deslocamentos químicos de H-6 e C-6 presentes no grupo arilideno dos isômeros <i>Z</i> em 5-arylideno-2,4-tiazolidinadionas.... | 65 |
| Figura 28: | Configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e deslocamentos químicos de seus respectivos prótons benzilidênicos..... | 66 |
| Figura 29: | Sugestão da configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e | |

| | | |
|-------------------|---|----|
| | deslocamentos químicos de seus respectivos prótons e carbonos benzilidênicos (série 27a-z e 27)..... | 67 |
| Figura 30: | Resumo das REAs para série 26a-o | 73 |
| Figura 31: | Resumo das REAs para série 27a-z e 27α-γ | 74 |
| Figura 32: | Comparação entre gerações de 4-tiazolidinonas..... | 75 |

Lista de Tabelas

| | | |
|------------------|---|----|
| Tabela 1: | Síntese das aril-4-tiazolidinonas (23a–o) e descrição dos substituintes, rendimento (%) e propriedades físicas..... | 51 |
| Tabela 2: | Série 26a-o : Toxicidade <i>in vitro</i> frente células L929 (24 e 96 h). Atividade <i>in vitro</i> (valores de CC ₅₀ e CC ₉₀ em µM) e índice de seletividade (IS= DL _{50L929} /CC _{50tripo}) dos compostos testados sobre tripomastigotas sanguíneas da cepa Y do <i>Trypanosoma cruzi</i> . Percentual de inibição com uma dose simples de 10µM sobre formas intracelulares (Tulahuen) do <i>T cruzi</i> (incubação de 96 h)..... | 69 |
| Tabela 3: | Série 27a-z e 27α–γ : Toxicidade <i>in vitro</i> frente células L929 (24 e 96 h). Atividade <i>in vitro</i> (valores de CC ₅₀ e CC ₉₀ em µM) e índice de seletividade (IS= DL _{50L929} /CC _{50tripo}) dos compostos testados sobre tripomastigotas sanguíneas da cepa Y do <i>Trypanosoma cruzi</i> . Percentual de inibição com uma dose simples de 10µM sobre formas intracelulares (Tulahuen) do <i>T cruzi</i> (96 h)..... | 70 |
| Tabela 4: | Toxicidade <i>in vitro</i> contra cardiomiócitos (24 e 48 h)..... | 72 |

Lista de Abreviaturas

))) - irradiação no ultrassom

Ar - aromático

Bdz (1) - Benzonidazol

CCD - cromatografia de camada delgada

CDCl₃ – clorofórmio deuterado

d - dubleto

dd - duplo dupleto

dec - decomposição

DMSO - dimetilsulfóxido

DNDi - “Drugs for Neglected Diseases Initiative”

EMAR - espectro de massas de alta resolução

ESI - técnica de ionização por electrospray

FDA - “Food and Drug Administration”

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz

Hz - Hertz

IV - Infravermelho

LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

m - multiplete.

OMS - Organização Mundial de Saúde

OPAS - Organização Pan-Americana de Saúde

P&D - Pesquisa & Desenvolvimento

PCR - reação em cadeia da polimerase

PF - ponto de fusão

Ph - fenil

ppm - partes por milhão

q - quarteto

REA - relações estruturas-atividades

Rend. - rendimento reacional

R_f - fator de retenção

RMN ¹³C - ressonância magnética nuclear de carbono treze

RMN ¹H - ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s - singleto

t - tripleto

T. - *Trypanosoma*

TA - temperatura ambiente

TZHs - Tiazolilhidrazonas

WIPO - "World Intellectual Property Organization"

1. Introdução

1. Introdução

A doença de Chagas (DC), ou tripanossomíase americana, é o resultado da infecção humana pelo protozoário parasita *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) (RASSI et al., 2012). Mais de um século depois de sua primeira descrição por Carlos Chagas (CHAGAS, 1909), a doença é endêmica em 21 países latino-americanos, sendo a Bolívia o país com a mais alta carga da doença (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2006; HOTEZ et al., 2008; SAMUELS et al., 2013).

Ela continua a ser um importante problema de saúde pública na América Latina; no entanto, os casos de DC estão sendo cada vez mais detectados nos Estados Unidos, Canadá, em muitos países europeus, e em alguns países do Pacífico Ocidental, devido a um aumento nos movimentos de população entre a América Latina e de outros continentes (**Figura 1**) (GASCON et al., 2010; BERN, 2011; JACKSON et al., 2014).



Figura 1: Distribuição dos casos de infecção por *Trypanosoma cruzi*, baseado em estimativas oficiais e status da transmissão vetorial, em todo o mundo. Segundo relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas 2013. Fonte: OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

De acordo com estimativas da Organização Mundial da Saúde, o número de pessoas infectadas em escala global ascende de 7 para 8 milhões, e mais de 10.000

mortes ocorrem anualmente (NAVARRO et al., 2012). No entanto, números exatos de morbidade e mortalidade são difíceis de determinar com precisão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). Relatórios recentes indicam que DC tem importante contribuição para a carga global de doença cardiovascular (LOZANO et al., 2012; MARTINS-MELO et al., 2012).

As opções atuais de tratamento para a DC estão limitadas a apenas duas drogas nitroheterocíclicas: Benzonidazol (1) (Rochagan/LAFEPE e Abarax/ELEA) e Nifurtimox (2) (LAMPIT/Bayer) (**Figura 2**). Os efeitos colaterais desses medicamentos, incluindo dermatite alérgica, prurido, febre, intolerância gastrointestinal, entre outros, estão bem documentados e têm limitado uma utilização mais ampla, especialmente em populações adultas (CASTRO et al., 2006; VIOTTI et al., 2009; GUEDES et al., 2011). O acesso a tratamentos atualmente disponíveis, incluindo um processo mais claro para obtê-los, também tem sido um problema. Desta maneira, o número real de pacientes tratados permanece muito baixo (PINTO DIAS et al., 2014).

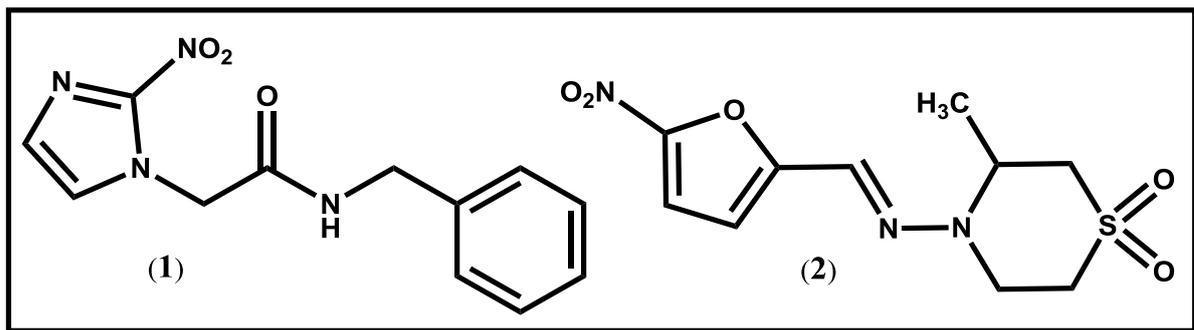


Figura 2: Estrutura química do Benzonidazol (1) e Nifurtimox (2), opções atuais para o tratamento da doença de Chagas. Fonte: Autor.

O Benzonidazol (1) único fármaco utilizado no Brasil, sendo recomendado para pacientes com a doença de Chagas nas fases aguda e crônica indeterminada (RASSI et al., 2010). O tratamento com Benzonidazol tem uma taxa de cura de 70% nos pacientes com a fase aguda da infecção. Entretanto, a taxa de cura em pacientes na fase crônica indeterminada é baixa, variando entre 10–33% (BERN, 2011; COURA; BORGES-PEREIRA, 2011).

A maior preocupação é com os pacientes chagásicos na fase crônica sintomática. Em torno de 30–40 % dos pacientes infectados evoluem para a fase crônica sintomática, resultando em cardiomiopatias. O BENEFIT, um ensaio clínico de fase 3 de longa duração, demonstrou que o tratamento com Benzonidazol não

o momento, três cisteíno proteases do *T. cruzi* foram caracterizadas bioquimicamente: cruzaina (gp57/51), catepsina B (*TccatB*) e autofagina-4 (*TcAtg4*) (ALVAREZ et al., 2012).

A cruzaina é a principal cisteíno protease do parasita *Trypanosoma cruzi*. Ela é expressa em todas as fases do ciclo de vida do parasita e desempenha um papel fundamental durante a infecção de células hospedeiras, replicação e de metabolismo (MCKERROW et al., 2006). Por esse motivo é considerada um alvo importante para o desenvolvimento de novos agentes anti-*Trypanosoma cruzi* (BRAK et al., 2008).

Tiossemicarbazonas e seus bioisómeros cíclicos (4-tiazolidinonas e 1,3-tiazóis) tem apresentado atividade contra *T. cruzi* e cruzaina (DU et al., 2002; CHIYANZU et al., 2003; GREENBAUM et al., 2004; FUJII et al., 2005; LEITE et al., 2006, 2007; GUIDO et al., 2008; TROSSINI et al., 2009; ZALDINI HERNANDES et al., 2010; CAPUTTO et al., 2011, 2012; PIZZO et al., 2012; MERLINO et al., 2012).

Ao longo dos anos, nosso grupo descreveu a síntese e atividade anti-*T. cruzi* de várias aril-4-tiazolidinonas (LEITE et al., 2006; LEITE et al., 2007; HERNANDES et al., 2010; MOREIRA et al., 2012). Após algumas modificações moleculares, foram identificados recentemente os compostos orgânicos sintéticos, denominados aqui como as tiazolidinonas (**5-7**) (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015). Essas tiazolidinonas apresentam melhores propriedades tripanocidas que o Benzonidazol, inibindo o parasita axênico, com a vantagem de serem pouco tóxicas para macrófagos humanos. Consistente com esses resultados, nós também observamos que estas tiazolidinonas (**5-7**) são eficazes em remover o parasita em macrófagos. Nos ensaios *in vivo* destacou-se o composto (**7**), que conseguiu reduzir a parasitemia sanguínea em camundongos infectados (**Figura 4**).

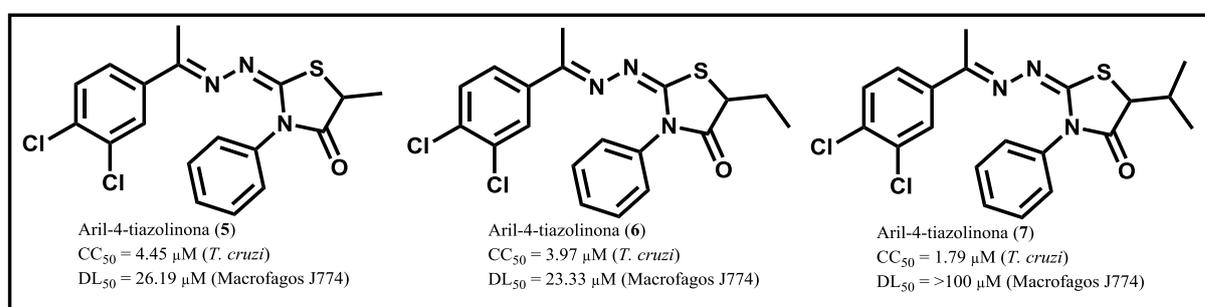


Figura 4: Tiazolidinonas (**5-7**) com propriedades tripanocidas. Valores de CC₅₀ relativos a tripomastigotas da cepa Y do *T. cruzi*. Fonte: Autor (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

Diante das necessidades de identificar novos candidatos a fármacos úteis no tratamento da doença de Chagas, e por outro lado, em virtude da semelhança estrutural e funcional entre tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas, este trabalho descreve o planejamento estrutural, a síntese, a avaliação farmacológica das propriedades tripanocidas e as REAs (relações estruturas-atividades) de novas 4-tiazolidinonas e análogos estruturais.

2. Objetivos

2. Objetivos

Os objetivos deste trabalho englobam o planejamento estrutural e a síntese de inéditas 4-tiazolidinonas e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas, bem como a avaliação farmacológica das propriedades tripanocidas e o estudo das relações estrutura-atividade. De maneira mais específica tem-se:

- O planejamento estrutural e a síntese de quinze 4-tiazolidinonas (**26a-o**) e de trinta e uma 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27 α - γ**) inéditas;
- A avaliação da atividade tripanocida em tripomastigotas sanguíneas (cepa Y) e frente a formas intracelulares do *T. cruzi* (cepa Tulahuen);
- Determinação da citotoxicidade em fibroblastos de camundongos (linhagem celular L929) e em células cardíacas (cardiomiócitos) de camundongos para os compostos mais ativos;
- Avaliação da eficácia dos compostos em reduzir a parasitemia em modelos de infecção *in vitro* (cardiomiócitos), para os compostos mais promissores;
- Realização de estudo comparativo das atividades tripanocidas e das relações estrutura-atividade entre as classes de moléculas avaliadas.

3. Revisão da Literatura

3. Revisão da Literatura

3.1 Pesquisa e Desenvolvimento de Novos Candidatos a Fármacos para Doença de Chagas

Há 17 anos os esforços para oferecer novos candidatos a fármacos para DC eram muito limitados, e existia um número pequeno de pesquisadores envolvidos na descoberta dessas drogas (CLAYTON, 2010). De fato, nessa época, as atividades em curso em todo o mundo eram geralmente com baixa massa crítica, e trabalhavam em apenas alguns compostos. Além disso, havia problemas associados com a toxicidade e drogabilidade dos compostos que estavam sendo avaliados, entre eles: naftoquinonas, diamidinas, nitroimidazóis e compostos relacionados, e complexos de rutênio (SOEIRO et al., 2009; BUCKNER; NAVABI, 2010; SILVA et al., 2010; SOEIRO; DE CASTRO, 2011; DEMORO et al., 2013).

Abordagens baseadas em ensaios fenotípicos e alvos biológicos do parasita foram utilizadas, concentrando-se em alvos e vias com potencial importância para o *T. cruzi*, tais como as cisteinil proteases, a tripanotiona redutase e a síntese do ergosterol. Ensaios fenotípicos eram geralmente disponíveis em formato de baixa produtividade, permitindo teste de apenas alguns compostos a cada vez (MOREIRA et al., 2009; DUSCHAK, 2011). Essas abordagens tinham claras limitações, era escasso o número de alvos bem validados e muitas vezes não podiam ser traduzidos para ensaios fenotípicos.

Houve três principais avanços durante os últimos anos: (1) o aparecimento de novos pesquisadores em cenário mundial, (2) avanços tecnológicos em pesquisa e desenvolvimento (P&D) que permitiram testar novas estratégias para doença Chagas e (3) a avaliação da eficácia de novas entidades químicas para o tratamento de pacientes com DC na fase indeterminada da doença, os primeiros ensaios clínicos para a doença em 40 anos (CHATELAIN, 2015).

Mudanças significativas ocorreram no âmbito clínico nos últimos anos. Antes desse período, a má qualidade e inconsistência dos dados gerados requeria cautela necessária para a interpretação, tal como indicado nos relatórios de Cochrane de 2014 (VILLAR et al., 2014). A duração do tratamento e a dose da droga utilizada como padrão (Benzonidazol (1) e/ou Nifurtimox (2)) foram determinadas

empiricamente, mas deveriam ter sido determinadas com base em dados de segurança e eficácia. Além disso, esses fármacos têm uma “má reputação”, tanto em termos de segurança como de eficácia; já que é bem conhecido e descrito que o tratamento com esses está associado com efeitos colaterais severos (CHATELAIN, 2015).

O BENEFIT, um ensaio clínico de fase 3 de longa duração, teve início em 2005, para averiguar o potencial benefício clínico do tratamento com Benzonidazol em pacientes com cardiomiopatia chagásica, principalmente sobre a prevenção da progressão da doença cardíaca e da morte (MARIN-NETO et al., 2008, 2009). No entanto, o tratamento com Benzonidazol não resultou em uma melhoria estatisticamente significativa nos resultados clínicos cardíacos para os quase 3000 pacientes (da ordem de 5% a 15%), desses, 17% a 18% morreram durante um período de cinco anos, a maioria devido à complicações cardíacas (PECOUL et al., 2016).

3.1.1 Reposicionamento de Fármacos

Numa tentativa de reposicionamento de fármacos, outros dois ensaios clínicos para avaliar o potencial de azóis como agentes antichagásicos foram concluídos.

O primeiro, CHAGASAZOL, comparou o Posaconazol (**3**) com o Benzonidazol (**1**) (**Figura 5**), administrados em duas doses durante 60 dias, em um grupo de 78 pacientes. O resultado desse estudo mostrou o fracasso do Posaconazol em manter uma resposta sustentada durante o acompanhamento após o final do tratamento, conforme determinado por PCR (MOLINA et al., 2014). Por outro lado, todos, exceto um paciente tratado com Benzonidazol (**1**) mostrou resposta sustentada (isto é, sem recaída).

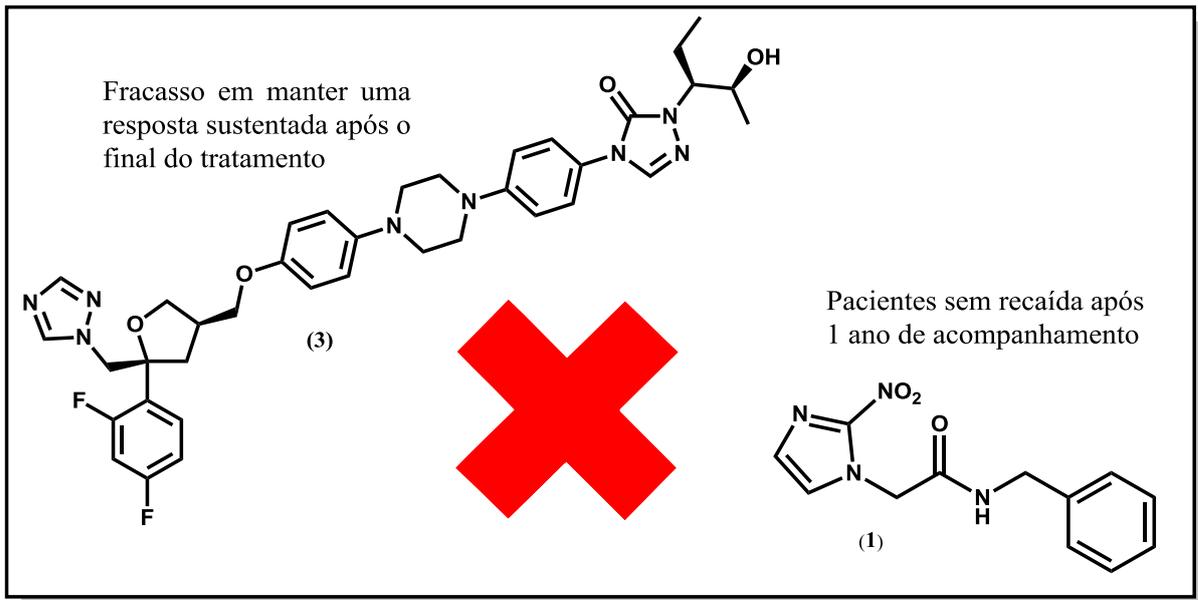


Figura 5: Ensaio clínico CHAGASAZOL, avaliou potencial antichagásico do Posaconazol VS Benzonidazol. Fonte: Autor (MOLINA et al., 2014)

O ensaio clínico do E1224 (4) (ClinicalTrials.gov Identificador NCT01489228) foi realizado para avaliar a eficácia do outro azol, o Ravuconazol (8) (composto E1224 (4) é o pró-fármaco da unidade ativa), em comparação com o placebo e o Benzonidazol (1) (Figura 6), em um grupo de 231 pacientes (TORRICO, 2011). Embora o E1224 tenha demonstrado ser eficaz na eliminação do parasita com boa segurança, em exames realizados 1 ano após o final do tratamento foi demonstrado ter pouca ou nenhuma eficácia sustentada. Comparado com 80% de eficácia sustentada do Benzonidazol (1) em eliminar o parasita, tal como determinado por PCR (DNDi/Eisai triagem de fase 2 do E1224 (4), apresentado no Simpósio ASTMH, em 14 de novembro de 2013, Washington, D.C. / Estudo do uso do E1224 para tratar pacientes adultos com Doença de Chagas) (TORRICO, 2013).

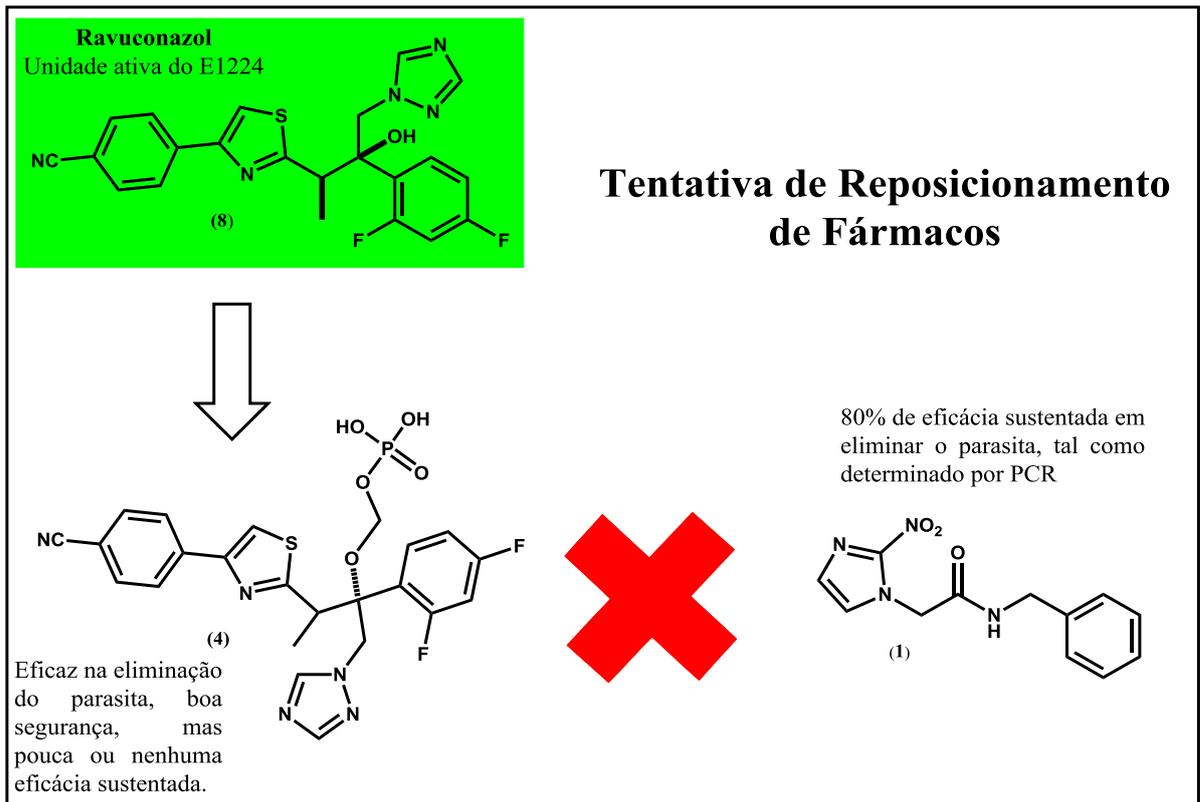


Figura 6: Ensaio clínico E1224, avaliou potencial antichagásico do E1224 (pró-fármaco do Ravuconazol) VS Benzonidazol, uma tentativa clara de reposicionamento de fármacos. Fonte: Autor (TORRICO, 2013)

O ensaio clínico STOPCHAGAS, patrocinado pela Merck, comparando Posaconazol (3) ao placebo e incluindo uma combinação de Benzonidazol/Posaconazol foi finalizado, tendo apenas 15.6% dos participantes tratados com Posaconazol com uma resposta bem sucedida medida por PCR. Já a combinação Benzonidazol/Posaconazol apresentou sucesso em 82.1% dos pacientes, e o tratamento apenas com Benzonidazol apresentou 86.7% de sucesso (STOP CHAGAS (P05267), 120 pacientes participaram desse ensaio - Estudo do uso do Posaconazol no tratamento da Doença de Chagas na fase crônica indeterminada) (MERCK SHARP & DOHME CORP, 2015).

Em curso, tem-se o ensaio clínico para avaliar regimes de dosagem de Fexinidazol (8) (Figura 7) para o tratamento de pacientes adultos com doença de Chagas, foi proposto em 2014, e está recrutando participantes atualmente. A hipótese é avaliar se o tratamento com Fexinidazol conduzirá a uma depuração mais sustentada dos parasitas nos 6 meses de seguimento quando comparado com o

placebo em doentes com DC crônica indeterminada (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02498782) (DNDI, 2014).

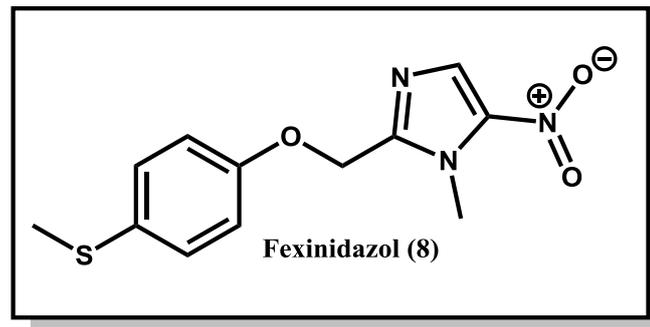


Figura 7: Estrutura do Fexinidazol (8), fármaco atualmente em ensaio clínico. Fonte: Autor (DNDI, 2014)

Sendo assim, os ensaios finalizados que examinaram a eficácia de azóis em pacientes com a Doença de Chagas na fase indeterminada e determinada mostram que: 1º) os azóis não são eficazes como monoterapia para o tratamento de pacientes com DC na fase indeterminada da doença; e 2º) o Benzonidazol demonstrou ser um medicamento de eficácia sustentada por manter a eliminação do parasita mesmo após um ano durante a fase indeterminada da doença (CHATELAIN, 2015); e 3º) o tratamento com Benzonidazol não resultou em uma melhoria estatisticamente significativa nos resultados clínicos cardíacos de pacientes com a fase crônica da doença (PECOUL et al., 2016).

Considerando-se que o número de pacientes com Doença de Chagas PCR-positivos é muito variável (no melhor dos casos, até 60%) (SABINO et al., 2013), e que a eliminação do parasita sustentada (no sangue) não pode ser associada com a evolução clínica (ou seja, parar a progressão da doença, como demonstrado no BENEFIT), o Benzonidazol (1) permanecerá como droga indicada para o tratamento Doença de Chagas nos próximos anos devido à falta de outras alternativas válidas.

No entanto, claramente essa não é uma afirmação definitiva, e é de fundamental importância o desenvolvimento de fármacos eficazes na fase crônica da doença e com menos e/ou nenhum efeito colateral, bem como a pesquisa e o desenvolvimento de novos protótipos a fármacos para tratamento dessa doença.

3.2 Alvos Terapêuticos

Os fatores mais importantes na descoberta de novos fármacos envolvem o desenho, a síntese, identificação e caracterização de novos compostos, bem como de suas propriedades moleculares e cinéticas (LOCKMAN AND HAMILTON, 2005).

A descoberta de novos alvos depende, em grande parte, da interpretação de informações contidas no genoma do *T. cruzi*. O sequenciamento e entendimento do genoma do parasita devem conduzir ao conhecimento aprofundado da relação estrutura-função de proteínas e exploração dos mecanismos de resistência a fármacos, diversidade antigênica, interação parasita-hospedeiro e patologia da doença (LOCKMAN AND HAMILTON, 2005).

Vários critérios devem ser considerados na seleção de inibidores potenciais. O alvo a ser explorado deve ser encontrado preferencialmente no parasita e, portanto, ausente na célula do hospedeiro; deve ser também essencial para o desenvolvimento do parasita em um dos estágios de seu ciclo replicativo. O uso de enzimas e metabólitos como alvos terapêuticos permite melhor investigação em termos mecanísticos e estruturais, além de contribuir significativamente para o planejamento racional de fármacos (EL-SAYED et al., 2005).

Os alvos identificados que têm sido explorados para o planejamento racional de fármacos antichagásicos envolvem a inibição seletiva de enzimas fundamentais no desenvolvimento do parasita, entre elas vale mencionar:

- **Tripanotiona redutase**, relacionada ao estresse oxidativo.
- **Trans-sialidase**, envolvida na glicosilação de mucinas de âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) para reconhecimento e adesão do parasita na célula do hospedeiro.
- **C₁₄D^{24,25}-esterol metiltransferase**, essencial na biossíntese de ergosterol.
- **Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase**, presente na via glicolítica.
- **Cisteína protease (Cruzipaína)**, relacionadas à atividade proteolítica e penetração do parasita na célula do hospedeiro.

- **Diidrofolato redutase**, responsável pela geração de cofator na síntese “de novo” de timidina.
- **Prolil endopeptidase**, envolvida na clivagem de pequenos peptídeos biologicamente ativos.
- **Hipoxantina-fosforibosiltransferase**, essencial na síntese de nucleotídeos purínicos.
- **DNA topoisomerases I e II**, enzimas essenciais que catalisam alterações topológicas na molécula de DNA. Elas desempenham um papel fundamental no metabolismo do DNA, incluindo replicação, transcrição, recombinação e condensação.
- **Farnesilpirofosfato sintase**, envolvida na biossíntese de uma variedade de esteroides e poliisoprenoides a partir de farnesilpirofosfato.

3.2.1 Cisteína Protease

Conhecida como cruzaina (EC 3.4.22), também chamada de cruzipaina ou GP57/51, constitui a mais abundante proteína da família das cisteíno proteases do *T. cruzi*, tem sido muito explorada levando à descoberta de vários inibidores potentes e seletivos. Das patentes depositadas através da Organização Mundial da Propriedade Intelectual (WIPO - *World Intellectual Property Organization*) sobre moduladores de rotas metabólicas do *T. cruzi*, os inibidores de cruzaina merecem especial destaque, sendo assim, um alvo viável na terapêutica (URBINA AND DOCAMPO, 2003). Sua atividade está relacionada ao desenvolvimento do parasita e na diferenciação de vários estágios de seu ciclo biológico, na invasão no hospedeiro e na alteração da resposta imune do hospedeiro (MCKERROW et al., 2009).

Essa enzima faz parte da família das papaínas C1 das cisteíno-proteases com especificidade intermediária entre as catepsinas L e B, e expressa em diferentes níveis por diferentes estágios do parasita, sendo codificada por um alto número de genes (MCKERROW et al., 2009).

As principais classes de inibidores desta enzima incluem (**Figura 8**): (i) derivados peptídicos (**9** e **10**) (MCKERROW et al., 2008); (ii) derivados não-peptídicos (triazóis **11**, pirimidinas **12**, chalconas **13**, tiossemicarbazonas **14**, 4-

tiazolidinonas **15** e 1,3-tiazóis **16**) (SAJID AND MCKERROW, 2002; BRAK et al., 2008; ZANATTA et al., 2008; MOREIRA et al., 2009, 2012, 2014; CARDOSO et al., 2014); (iii) complexos de rênio e ouro (oxorênios **17** e ciclometalados de ouro **18**) (FRICKER et al., 2008).

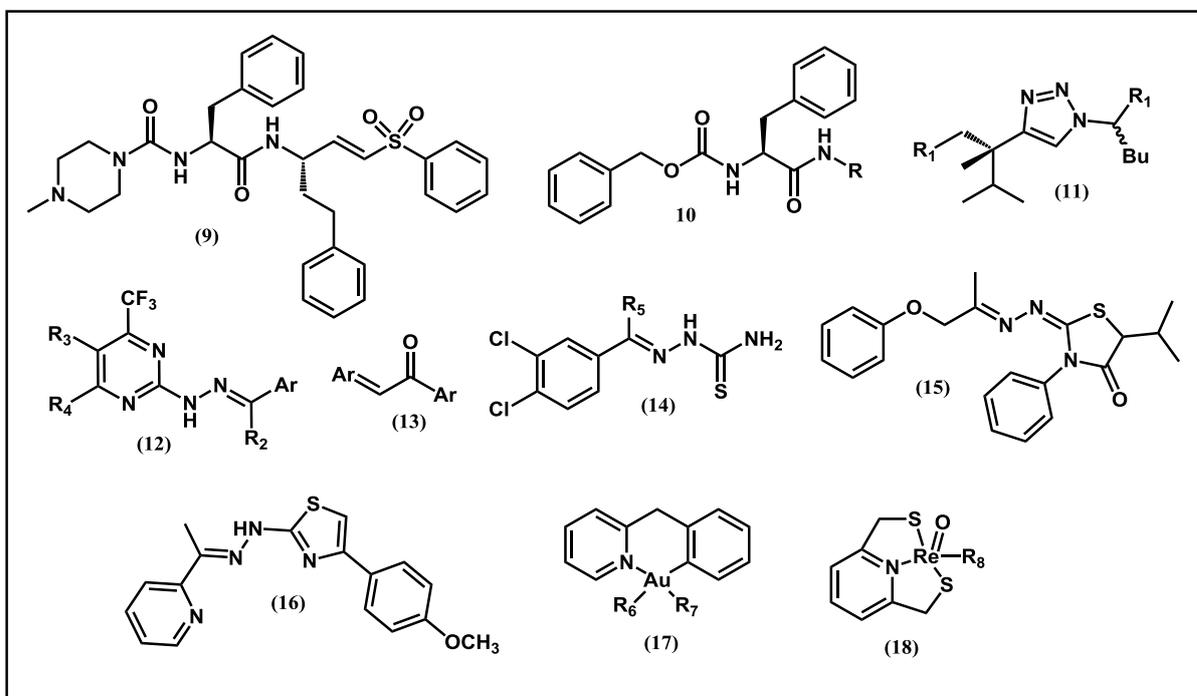


Figura 8: Inibidores da enzima alvo de diferentes classes químicas. Fonte: Autor.

Esses inibidores da cruzaina provocam mudança na localização da enzima dentro do complexo de Golgi, reduzindo em 70% o transporte destas para os lisossomos. Com a diminuição da catálise e digestão dessa, há acúmulo de cruzaina no interior da célula, diminuindo mobilidade das membranas do complexo de Golgi e resultando em distensão periférica de suas cisternas. Tais alterações provocariam a morte do parasita (DIAS et al., 2009).

A diversidade química dos inibidores da **Figura 8** representa o espaço químico biológico que pode ser explorado, valorizando o papel da síntese orgânica como fontes valiosas de moléculas privilegiadas capazes de interagir com sistemas biológicos complexos.

Uma ênfase especial tem sido aplicada para identificar inibidores não peptídicos. Com base na relação bioisostérica conhecida entre ligações peptídicas e ureias, os primeiros inibidores não peptídicos da cruzaina identificados foram aril-ureias e tioureias, que exibiram uma afinidade moderada contra cruzaina e atividade

antiproliferativa em culturas de formas amastigotas (DU et al., 2000). Após essas constatações, tiossemicarbazonas e seus pirazolina-1-tiocarboxamida bioisómeros foram explorados como inibidores potenciais da cruzaina, uma vez que tioureias e tiossemicarbazonas são classicamente consideradas como bioisómeros. Essa abordagem rendeu agentes altamente eficazes na enzima e nas culturas de células do parasito. Inspiradas pela potência de tiossemicarbazonas, outras classes de inibidores não peptídicos cruzaina têm sido desenvolvidas, explorando amidas funcionalizadas, hidrazonas, 4-tiazolidinonas, 1,3-tiazóis e triazóis/triazinas, N-acilhidrazonas, vinilsulfonas, e chalconas como protótipos estruturais (ZALDINI HERNANDES et al., 2010).

3.2.2 Tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas

Um grande número de trabalhos tem descrito a potente atividade inibitória de tiossemicarbazonas frente ao *T. cruzi* (**Figura 9**) (DU et al., 2002; FUJII et al., 2005; SILES et al., 2006; MAGALHAES MOREIRA et al., 2014). Por exemplo, Du e colaboradores descreveram a 3'-bromopropilfenona-tiossemicarbazona (**20**) e a 3,4-dicloroacetofenona (**14**) como uns dos mais eficazes inibidores da cruzaina, com atividade tripanocida em níveis que não são tóxicos para células de mamíferos (DU et al., 2002). Para comparar esses resultados, Fujii et al., investigaram tiossemicarbazonas que possuem maiores grupos alquila adjacentes a hidrazona, e relataram que eles são mais ativos com um grupo n-butila ligado ao radical 3,4-diclorobenzoíla (**19**) (FUJII et al., 2005). Siles et al., posteriormente sintetizaram uma série de derivados tiossemicarbazônicos com anéis fundidos (**21**), e descobriram novos compostos líderes, que são mais potentes do que os análogos não-fundidos, os quais ficaram conhecidos como sendo os compostos mais ativos baseados em tiossemicarbazonas inibidoras da cruzaina (SILES et al., 2006).

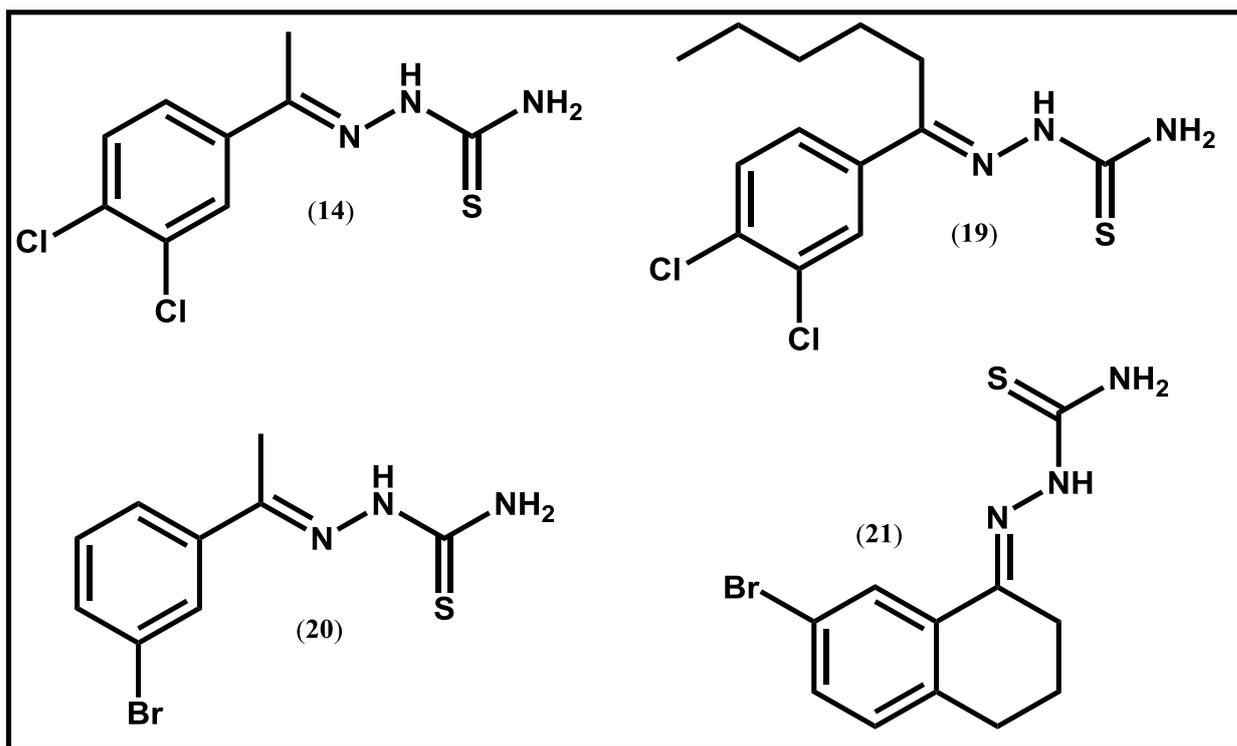


Figura 9: Representativas tiossemicarbazonas que são inibidoras da cruzaina. Fonte: Autor.

Esses estudos de relação estrutura-atividade biológica não incluem investigações sobre a substituição do grupo amino terminal da tioamida de tiossemicarbazonas por um sistema de anel heterocíclico.

Tiossemicarbazonas (**23**) podem ser vistas como bioisómeros acíclicos e não clássicos de 4-tiazolidinonas (**24**), e como bioisómeros acíclicos e clássicos para 2-pirazolina-1-tiocarboxamidas (**22**) (também descritas como potentes inibidores da cruzaina) (DU et al., 2002), conforme ilustrado na (**Figura 10**) (LIMA AND BARREIRO, 2005). Por outro lado, derivados de 4-tiazolidinonas foram descritos como tendo atividade antitumoral (LIMA LEITE et al., 2006), antibacteriana (ANDRES et al., 2000), antifúngica (KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006), e como agentes antiprotozoários (ALVES et al., 1993).

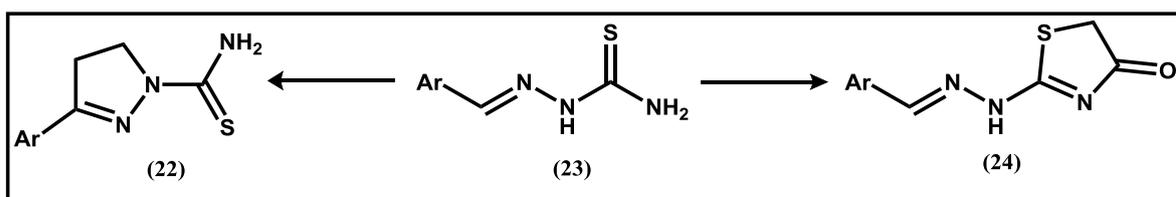


Figura 10: Tiossemicarbazona (**23**) (centro) e seu bioisómero clássico pirazolina (**22**), e seu bioisómero não clássico 4-tiazolidinona (**24**). Fonte: Autor.

Em estudos posteriores Lima Leite e colaboradores descreveram que compostos da classe das 4-tiazolidinonas são ativos contra *T. cruzi* nos ensaios *in vitro*, e em concentrações não tóxicas para células de mamíferos (esplenócitos de ratos), e que sua atividade foi comparável ao fármaco de referência Benzonidazol. Isso indicou que essa classe de compostos eram promissores candidatos a fármacos tripanocidas (LEITE et al., 2006, 2007; ZALDINI HERNANDES et al., 2010).

Em relatos mais recentes, Moreira e colaboradores comprovaram a atividade *anti-T. cruzi* das 4-tiazolidinonas, esses novos compostos foram hábeis em inibir a atividade da cruzaina e a proliferação das epimastigotas do *T. cruzi*, e foram fatais para as tripomastigotas nos ensaios *in vitro* em concentrações não tóxicas para esplenócitos de camundongos. Nos ensaios *in vivo* destacou-se o composto (15), que conseguiu reduzir a parasitemia sanguínea em camundongos infectados. Isso indica que as 4-tiazolidinonas se configuram como os mais novos protótipos estruturais a fármacos antichagásicos (MOREIRA et al., 2012). A **Figura 11** apresenta a estrutura de alguns dos principais protótipos estruturais baseados em 4-tiazolidinonas.

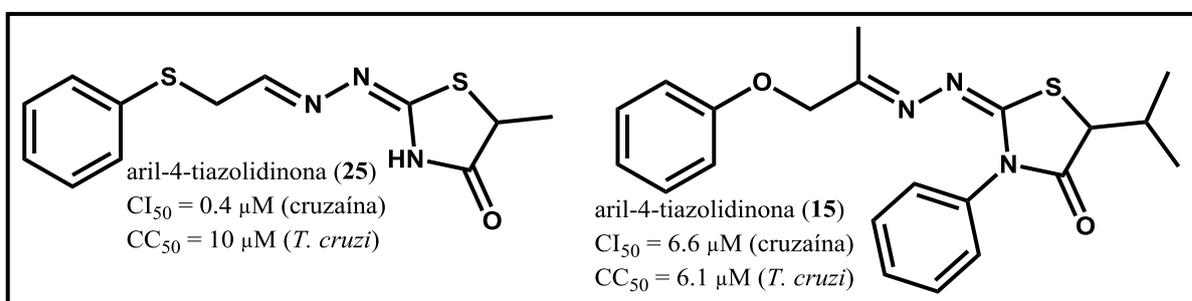


Figura 11: Estrutura de alguns dos principais protótipos a fármacos antichagásicos baseados em 4-tiazolidinonas. Fonte: Autor (25) (LEITE et al., 2006) e (15) (MOREIRA et al., 2012).

Em recente projeto, identificamos tiazolidinonas que apresentam melhores propriedades tripanocidas que o Benzonidazol em inibir o parasita axênico, com a vantagem de serem pouco tóxicas para macrófagos humanos. Consistente com estes resultados, nós também observamos que estas tiazolidinonas (5-7) são eficazes em remover o parasita em macrófagos. Nos ensaios *in vivo* destacou-se o composto (7), que conseguiu reduzir a parasitemia sanguínea em camundongos infectados. Esses compostos não foram eficazes em inibir a cruzaina, o que indica

que atuam em outro alvo do parasita. A **Figura 12** apresenta a estrutura desses compostos baseados em 4-tiazolidinonas (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

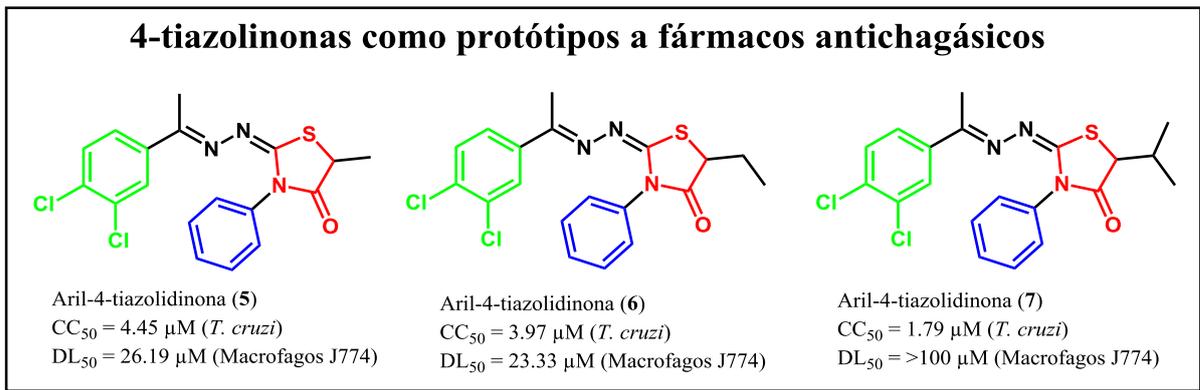


Figura 12: Tiazolidinonas (5-7) com propriedades tripanocidas. Valores de CC_{50} relativos a tripomastigotas da cepa Y do *T. cruzi*. Fonte: Autor (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

4. Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1 Planejamento Estrutural

Em 2002 Du e colaboradores descreveram que o anel 3,4-dicloroacetofenona incrementava a atividade das tiossemicarbazonas frente ao *T. cruzi* e a cruzaina. Nosso trabalho recente corroborou (exceto com relação a cruzaina) com este relato, com a vantagem de nossas tiazolidinonas (**5-7**) não serem tóxicas frente a macrófagos como as tiossemicarbazonas previamente descritas (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

Os compostos (**5-7**), **Figura 12**, pág 42, possuem uma fenila em N3 e uma metila, uma etila e uma isopropila, respectivamente, na posição C5. Análogos desses compostos desprovidos de fenila em N3 ou de substituintes alquilas em C5 foram menos potentes e até inativos (MOREIRA et al., 2012; DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015). Tendo em mente esses resultados, para o planejamento da série de tiazolidinonas **26a-o** (**Figura 13**) visamos manter o heterocíclico 4-tiazolidinona com substituinte fenila na posição N3, e priorizamos a inserção de substituintes alifáticos e aromáticos na posição C5 da série, pois substituições nessas posições demonstraram melhorar a atividade biológica (MOREIRA et al., 2012; DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015). Almejamos também modificações nas posições *orto*, *meta* e *para* da porção arila, mantendo o halogênio cloro como substituinte, e com isso investigar a influência do halogênio cloro em outras posições do anel para atividade tripanocida.

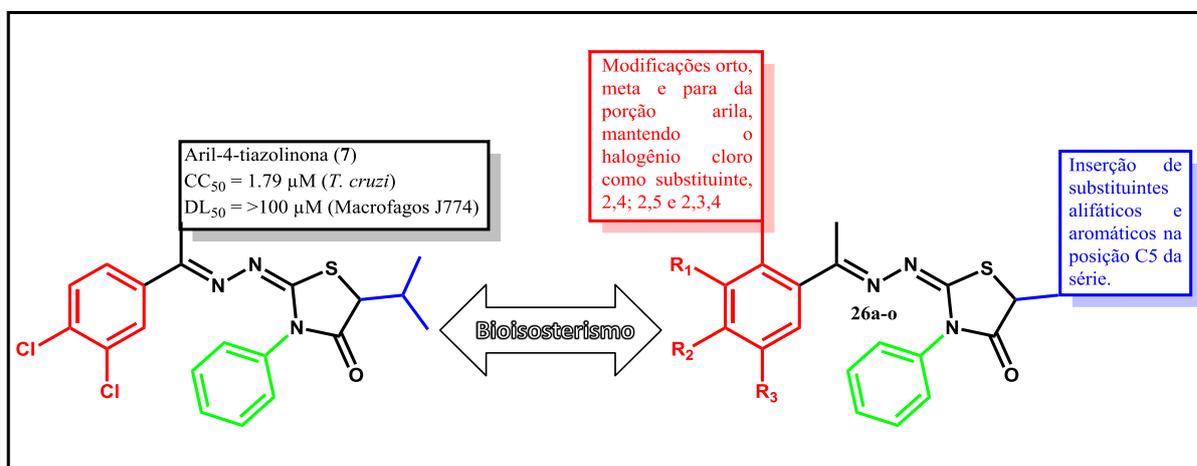


Figura 13: Emprego do bioisosterismo para o planejamento das aril-4-tiazolidinonas **26-o**. Fonte:

Autor.

Por fim, uma vez que substituições na posição C5 do heterocíclico 4-tiazolidinona demonstraram incrementar atividade tripanocida, nós almejamos realizar substituições pontuais no C5 do heterocíclico. Mantendo o anel 3,4-dicloroacetofenona, e realizando modificações em C5, inserindo anéis aromáticos mono, di-, tri-substituídos, policíclicos e heterocíclicos aromáticos, culminando assim com a construção estrutural da série de 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27α-γ**) (**Figura 14**)

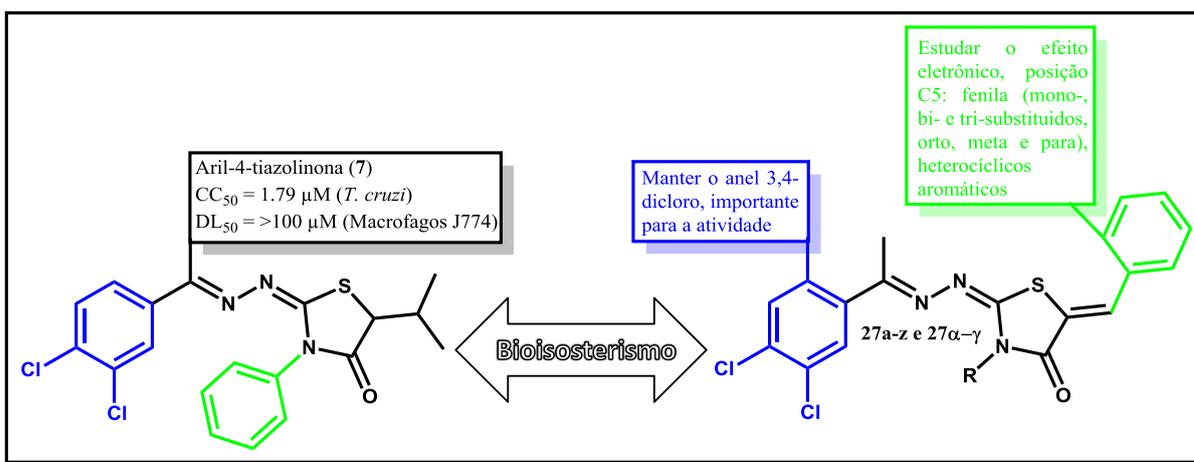


Figura 14: Emprego do bioisosterismo para o planejamento das 5-benzilideno-4-tiazolidinonas **27a-z**.

Fonte: Autor.

O planejamento da série (**27a-z** e **27α-γ**) possibilita estudar o efeito eletrônico de substituintes localizados na posição C5 do anel tiazolidinico partindo da fenila como anel aromático de referência e inserção diversos substituintes no anel fenílico (mono-, bi- e tri-substituições nas posições *orto*, *meta* e *para*), além de anéis policíclicos e heterocíclicos aromáticos, tais como a 4-piridina.

Uma vez que o planejamento estrutural foi realizado, seguimos em direção à síntese dos compostos almejados. A **Figura 15** apresenta a sequencia das reações envolvidas na síntese das aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**) e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27α-γ**).

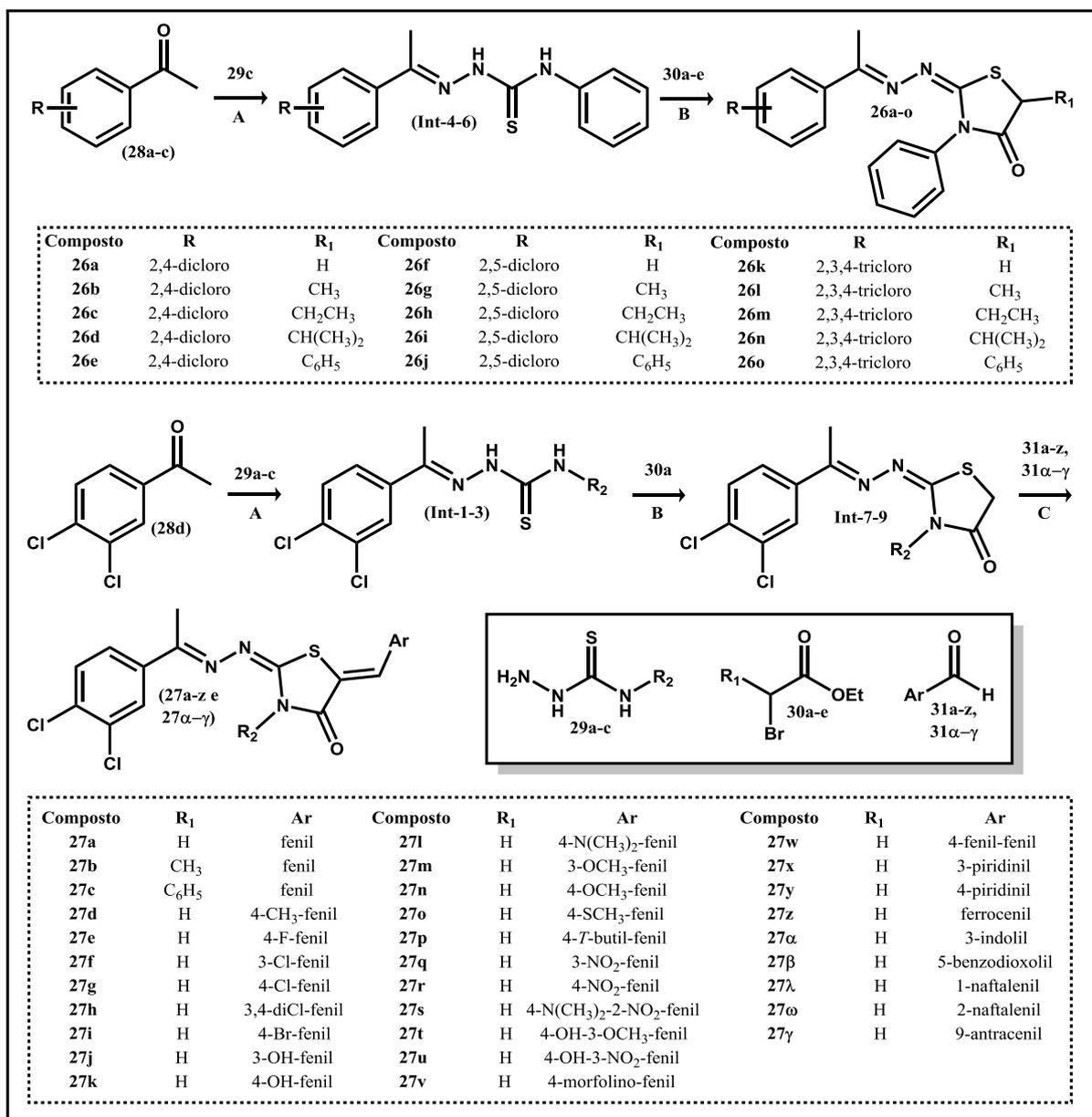


Figura 15: Rota sintética para obtenção das aril-4-tiazolidinonas (**26a–o**) e 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a–z** e **27α–γ**). Reagentes e condições: **(A)** di- e tri- cloroacetofenonas (**28a–d**), tiossemicarbazidas (**29a–c**), EtOH, H₂SO₄, ou HCl, banho de ultrassom, temperatura ambiente., 1-2 h, rendimentos de 61-89%; **(B)** 2-bromoacetato de etila ou 2-substituídos-2-bromoacetates de etila (**30a–e**); NaOAc, EtOH, refluxo, overnight, rendimentos de 37-84%; **(C)** 4-tiazolidinonas (**Int-7-9**), aldeídos aromáticos (**31a-z** e **31α–γ**), EtOH, morfolina, refluxo, 4-6 h, rendimentos de 10-93%; Fonte: Autor.

4.2 Síntese dos Compostos

4.2.1 Síntese das aril-4-tiazolidinonas (26a–o)

A série (26a–o) tem como ponto de partida a síntese das tiossemicarbazonas (Int-4-6). Para a síntese das tiossemicarbazonas (Int-4-6), a tiossemicarbazida substituída (29c) e as acetofenonas (28a-c) (Figura 16) foram adquiridas de fontes comerciais e seguiu-se com as reações.

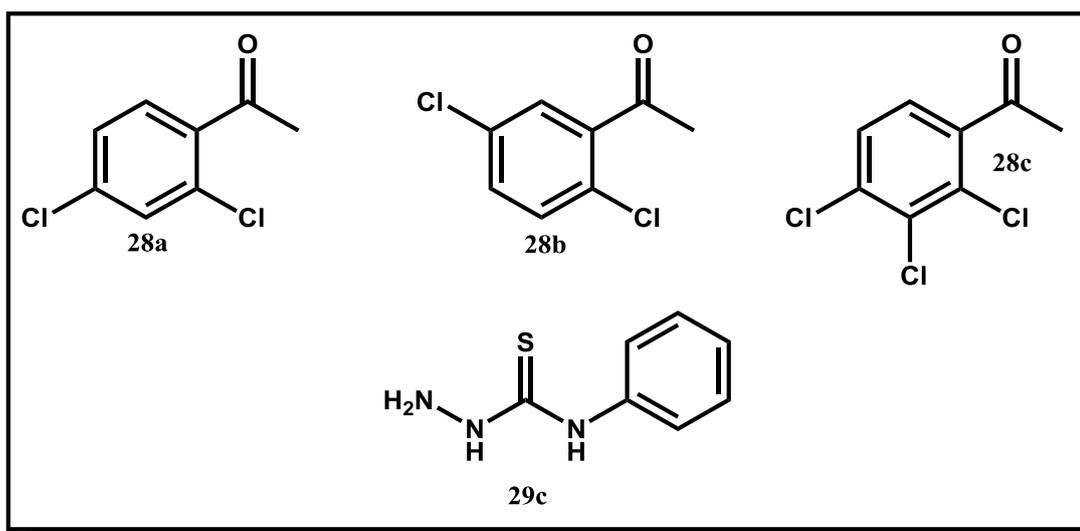


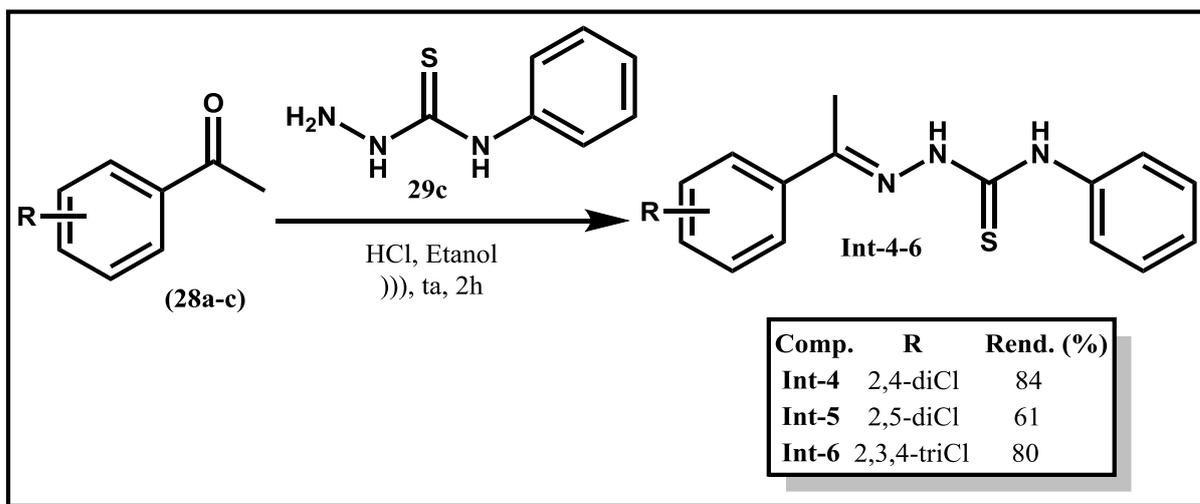
Figura 16: Estrutura das acetofenonas substituídas e da 4-fenil-3-tiossemicarbazida. Fonte: Autor.

As tiossemicarbazonas (Int-4-6) foram preparadas a partir da condensação das diferentes acetofenonas (28a-c) com a 4-fenil-3-tiossemicarbazida (29c) a temperatura ambiente em um banho de ultrassom (BU et al., 2006; MOREIRA et al., 2012, 2014; CARDOSO et al., 2014). Os produtos obtidos (Int-4-6) foram recristalizados em tolueno a quente, obteve-se cristais incolores com pureza e rendimentos satisfatórios (Esquema 1, pág 48).

Conforme descrito no Esquema 1, pág 48, as reações para as tiossemicarbazonas (Int-4-6) foram realizadas na presença de ácido clorídrico (HCl), a temperatura ambiente, em um banho de ultrassom (LEITE et al., 2008; MOREIRA et al., 2012, 2014; CARDOSO et al., 2014). Nestas condições, foi possível sintetizar três tiossemicarbazonas (Int-4-6) com rendimentos satisfatórios (61-84%) e tempo reacional de até 2h.

As tiossemicarbazonas (Int-4-6) foram caracterizadas por técnicas espectrométricas (RMN de ¹H e ¹³C, IV). Nos espectros de IV, a ausência de

absorção na região de estiramento axial de carbonilas ($1790\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$) foi um indício importante da formação da ligação $\text{C}=\text{N}$.



Esquema 1: Obtenção das tiossemicarbazonas **Int-4-6**. Fonte: Autor.

As tiossemicarbazonas (**Int-4-6**) são sólidos cristalinos, para definir a configuração relativa da ligação imínica realizamos a difração de raios X de monocristais do **Int-4**. Conforme observado na **Figura 17**, este composto adota uma *E*-geometria, isto também foi observado em compostos cristalizados anteriores pelo nosso grupo (LEITE et al., 2006; MOREIRA et al., 2012; DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

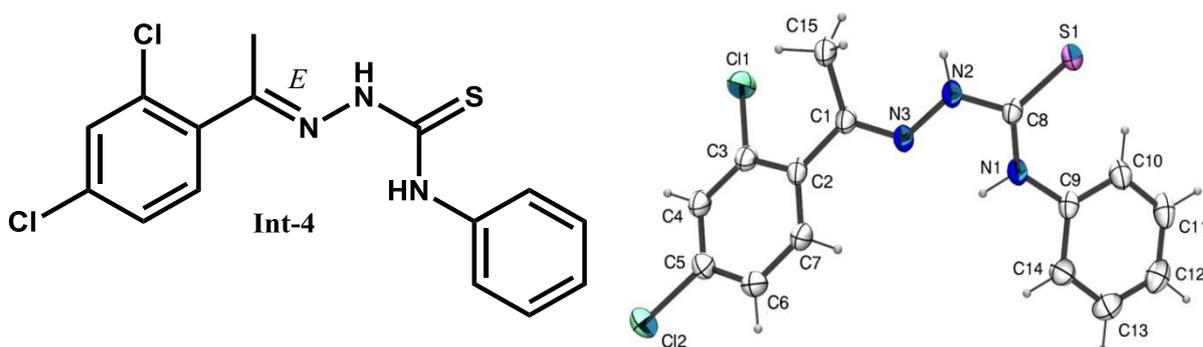
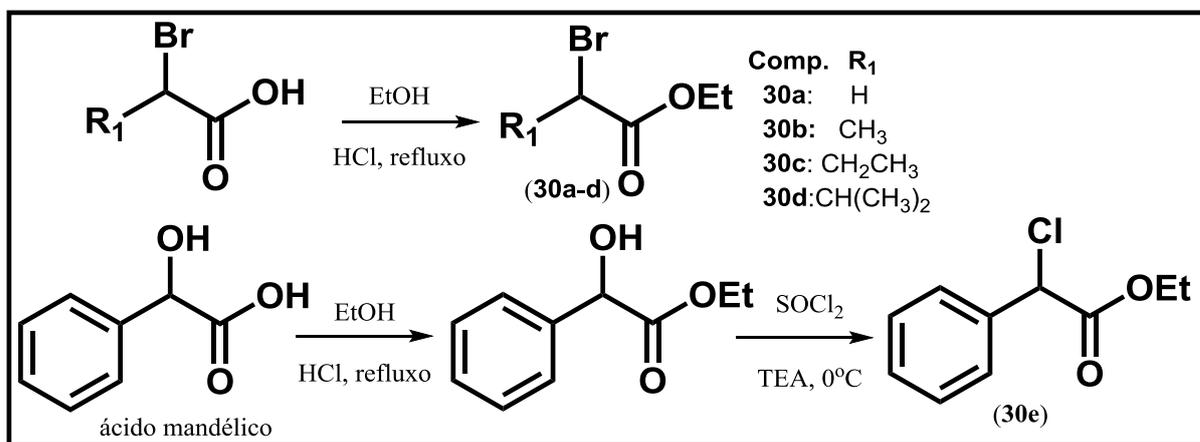


Figura 17: (Esquerda) Estrutura química do **Int-4**. (Direita) projeção ORTEP-3 do **Int-4** mostrando elipsóides de numeração atômica e deslocamento ao nível de probabilidade de 50%. Fonte: Autor.

Antes de seguir com a preparação das aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**), foi necessário preparar os acetatos α -halogenados (**30a-e**). Os compostos (**30a-d**)

foram obtidos a partir da esterificação dos ácidos α -haloacéticos disponíveis comercialmente. Os compostos (**30a–d**) foram utilizados na etapa posterior sem prévia purificação (**Esquema 2**). Já o composto (**30e**) foi preparado em duas etapas partindo do ácido mandélico (racêmico), com rendimento de 61% (ORGANIC SYNTHESIS COLLECTION, 1925).



Esquema 2: Obtenção dos acetatos α -halogenados. Fonte: Autor.

As aril-4-tiazolidinonas (**26a–o**) foram então sintetizadas através da reação entre a respectiva tiossemicarbazona (**Int-4-6**) com os respectivos acetatos α -halogenados (**30a–e**). Estas reações foram realizadas em etanol absoluto, com excesso de acetato de sódio anidro, a temperatura de refluxo e agitação magnética vigorosa. As reações foram acompanhadas por CCD que mostraram o consumo dos materiais de partida (tiossemicarbazonas) após 16–20 horas de reação (**Tabela 1**).

Após recristalização em tolueno, ciclohexano, ou mistura de ambos, os compostos (**26a–o**) foram isolados como sólidos cristalinos incolores e rendimentos que variaram de 37 a 84 %. Os substituintes e propriedades físicas das aril-4-tiazolidinonas (**26a–o**) estão listados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Síntese das aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**) e descrição dos substituintes, rendimento (%) e propriedades físicas. Fonte: Autor.

$\text{Int-4-6} + \text{X-CH(R}_1\text{)-CO}_2\text{Et} \xrightarrow[\text{Refluxo, 16-20h}]{\text{AcO}^-\text{Na}^+, \text{Etanol}}$

$\text{X} = \text{Br (30a-d), Cl (30e)}$

| Estrutura | R ₁ | Código | PF (°C) | Rend. (%) |
|-----------|-----------------------------------|------------|---------|-----------|
| | H | 26a | 114-116 | 84 |
| | CH ₃ | 26b | 125 | 70 |
| | CH ₂ CH ₃ | 26c | 116 | 43 |
| | CH(CH ₃) ₂ | 26d | 124 | 37 |
| | C ₆ H ₅ | 26e | 128-130 | 62 |
| | H | 26f | 110 | 76 |
| | CH ₃ | 26g | 132-135 | 67 |
| | CH ₂ CH ₃ | 26h | 153-155 | 48 |
| | CH(CH ₃) ₂ | 26i | 205-207 | 46 |
| | C ₆ H ₅ | 26j | 197-199 | 56 |
| | H | 26k | 209-211 | 71 |
| | CH ₃ | 26l | 142-143 | 68 |
| | CH ₂ CH ₃ | 26m | 110-112 | 65 |
| | CH(CH ₃) ₂ | 26n | 144 | 58 |
| | C ₆ H ₅ | 26o | 211-213 | 62 |

Tal como as tiossemicarbazonas (**Int-4-6**), as aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**) foram caracterizadas por técnicas espectrométricas (RMN de ¹H e ¹³C, IV). A pureza foi confirmada pela análise elementar de C, N, H e S.

Uma característica espectroscópica dos compostos (**26a-o**) é a presença de absorções na região de estiramento axial de carbonilas nos espectros de IV,

confirmando assim a formação do anel tiazolidínico. O sinal referente ao carbono da carbonila foi também localizado na RMN de ^{13}C e DEPT.

Com a análise do espectro de IV (**Figura 18**), observamos em 1712 cm^{-1} o estiramento de $\text{C}=\text{O}$, sinal diagnóstico de formação do anel 4-tiazolidinona. Em 1609 e 1571 cm^{-1} observamos também os estiramentos $\text{C}=\text{N}$.

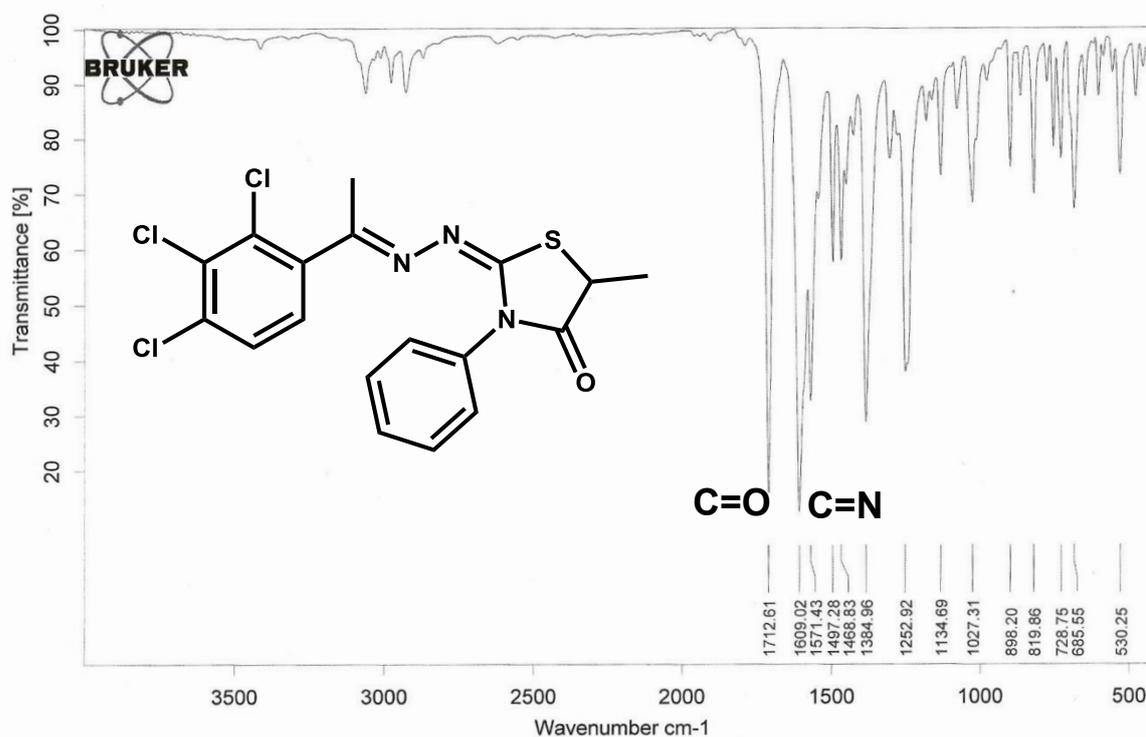


Figura 18: Exemplo de espectro de IV da série **26** (composto **26I**). Fonte: Autor.

A **Figura 19A-C** apresenta um exemplo de espectro de RMN ^1H para a série **26a-o** (composto **26I**), onde foi constatada a presença de um dubleto em 1.58 ($J=7.2$ Hz), integrando para três hidrogênios, referente ao grupo metila da posição 5 do anel heterocíclico. Em 2.07 ppm, identificamos um singleto, integrando para três hidrogênios, referente ao outro grupo metila da molécula. Em 4.39 ppm, identificamos um quarteto ($J=6.9$ Hz), integrando para um hidrogênio, correspondente ao hidrogênio do anel 4-tiazolidinona. Em 7.38 ppm, observamos um dubleto ($J=8.1$ Hz), integrando para um hidrogênio, correspondente ao hidrogênio da posição 6 do anel 2,3,4-triclorobenzil. Entre 7.40-7.54 ppm, identificamos um multiplete, integrando para cinco hidrogênios, correspondendo aos hidrogênios do anel aromático ligado ao N3 do anel 4-tiazolidinona. Por fim, em 7.71 ppm, identificamos outro dubleto ($J=8.7$ Hz), integrando para um hidrogênio, correspondente ao hidrogênio da posição 5 do anel 2,3,4-triclorobenzil.

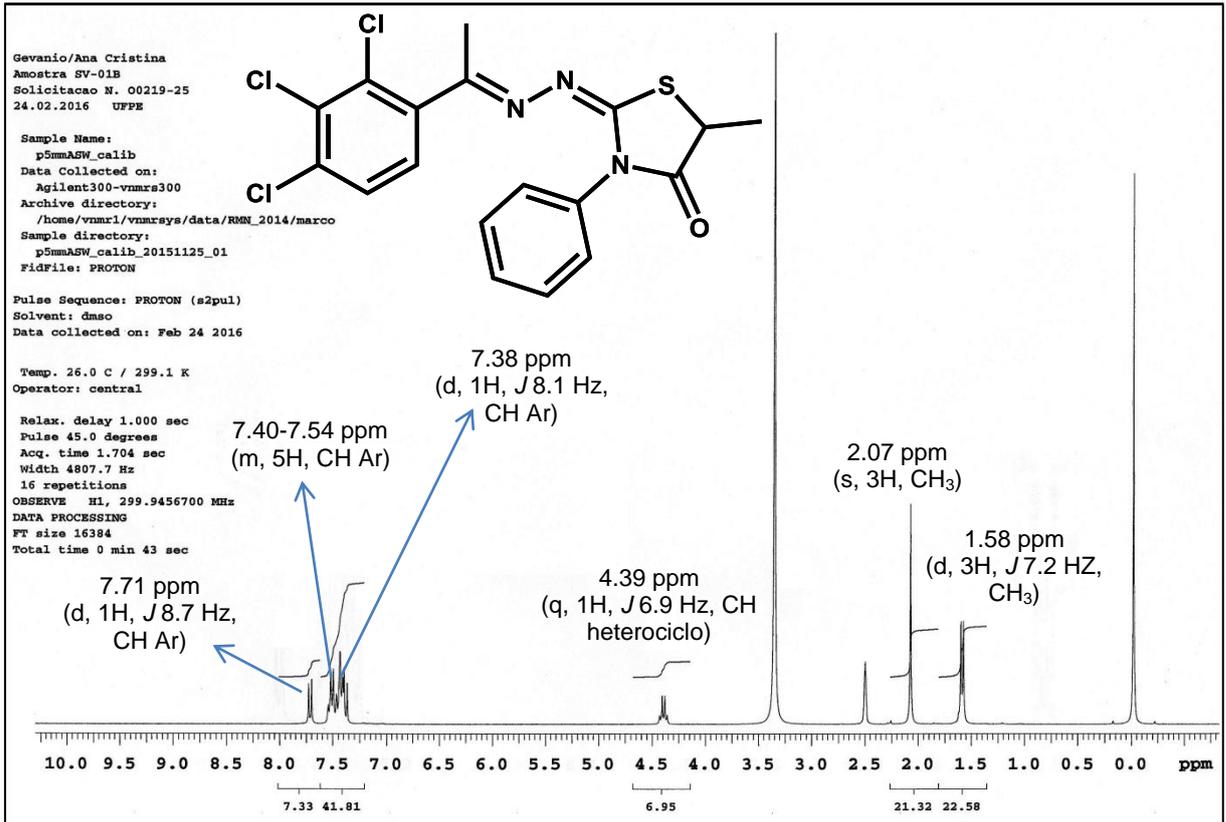


Figura 19A: Exemplo de espectro de RMN de ¹H da série 26 (composto 26). Fonte: Autor.

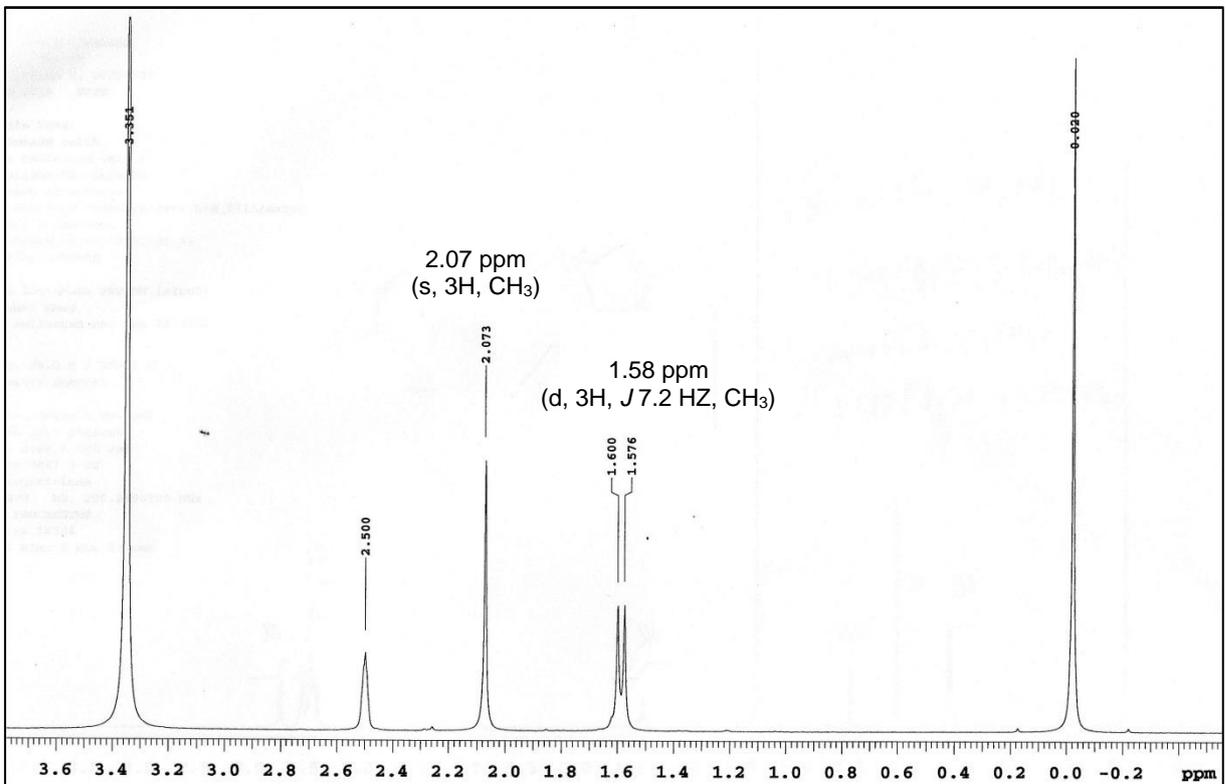


Figura 19B: Ampliação 1 - Exemplo de espectro de RMN de ¹H da série 26 (composto 26). Fonte: Autor.

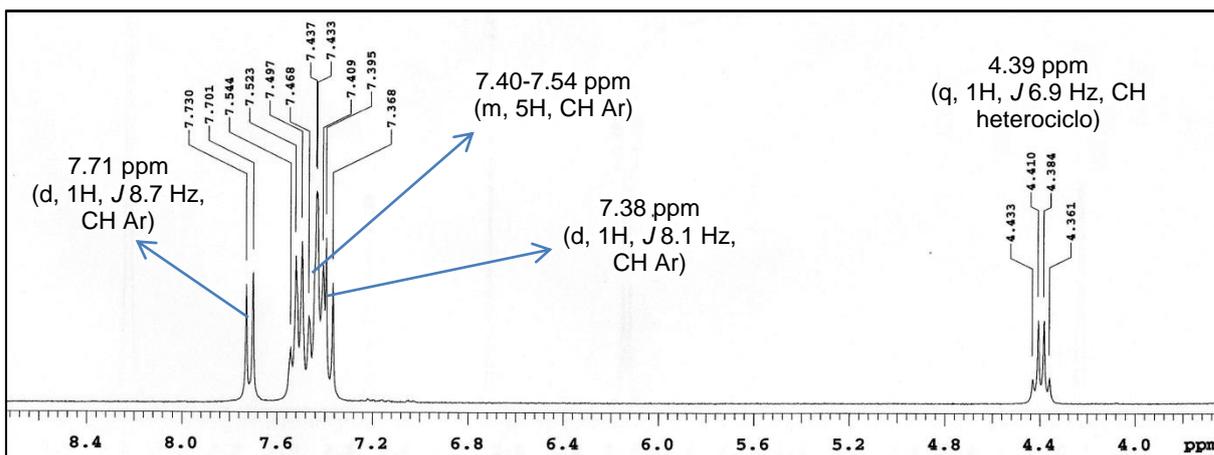


Figura 19C: Ampliação 2 - Exemplo de espectro de RMN de ^1H da série **26** (composto **26I**). Fonte: Autor.

A **Figura 20A-B** exemplifica os resultados de outra técnica utilizada, a ressonância magnética nuclear de carbono 13 e DEPT. Com ela, identificamos os sinais dos carbonos das metilas da molécula em 18.5 ppm (ligada ao C5 do heterocíclo) e 18.7 ppm (ligada a C=N). O sinal do carbono (CH heterociclo) da posição 5 do anel 4-tiazolidinona em 41.4 ppm. Em: 128.0, 128.6, 128.9, 129.1 e 130.7 ppm, identificamos os sinais dos carbonos (CH) aromáticos. Em, 131.0, 133.1 ppm, 135.0 e 139.2 ppm, identificamos os carbono quaternários aromáticos. O C=N ligado a metila foi identificado em 162.4 ppm. Em 163.1 ppm identificamos o C=N do heterociclo. Por fim, em 174.8 ppm, identificamos o carbono da carbonila.

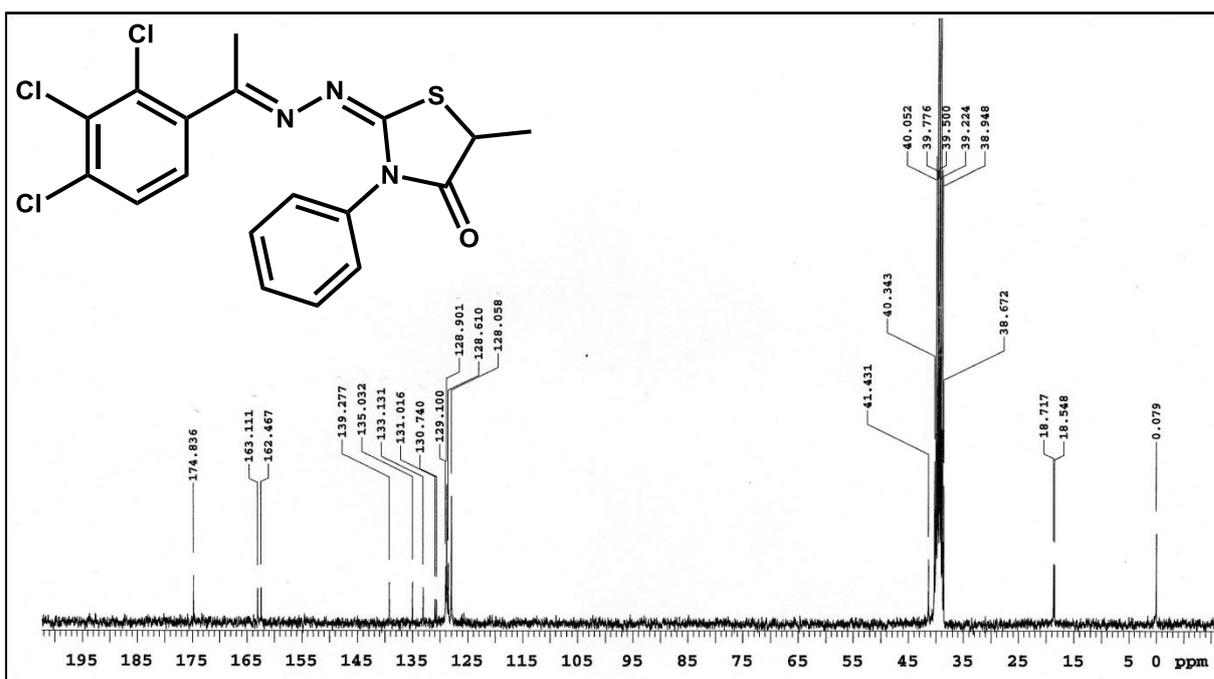


Figura 20A: Exemplo de espectro de RMN de ^{13}C da série **26** (composto **26I**). Fonte: Autor.

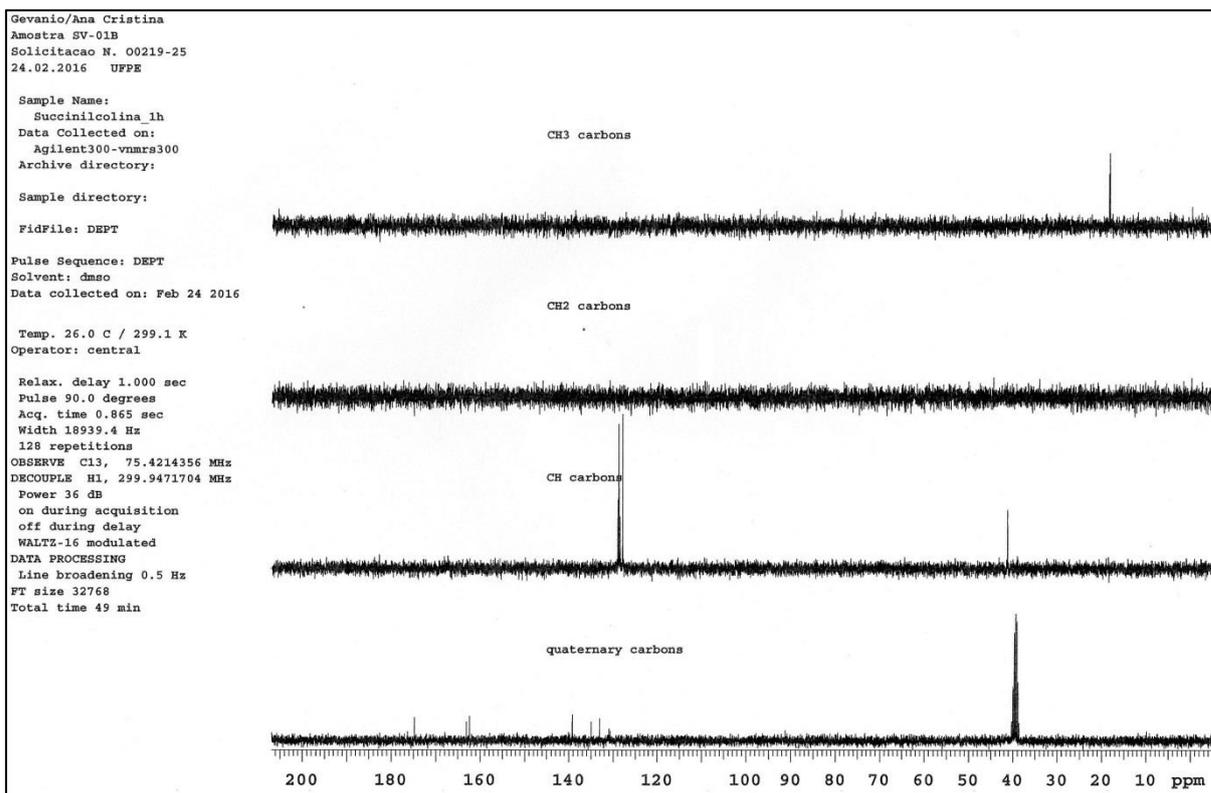


Figura 20B: Exemplo de espectro de DEPT de ^{13}C da série 26 (**composto 26I**). Fonte: Autor.

Outra característica estrutural importante desses compostos é a configuração da ligação imina, para uma atribuição inequívoca desta conexão, também tentamos obter cristais dos compostos (**26a-o**) adequados para a difração de raios-X, mas não obtivemos sucesso. Mas em nosso trabalho anterior (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015), identificamos por cristalografia de raios-x que a ligação imina adota uma geometria *E* também para os derivados 4-tiazolidinonas. Além disso, observou-se que a ligação imínica no anel heterocíclico da 4-tiazolidinona também adota uma geometria *E* (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015), portanto, sugerimos que para estes novos compostos (**26a-o**) isso deve se repetir (**Figura 21**).

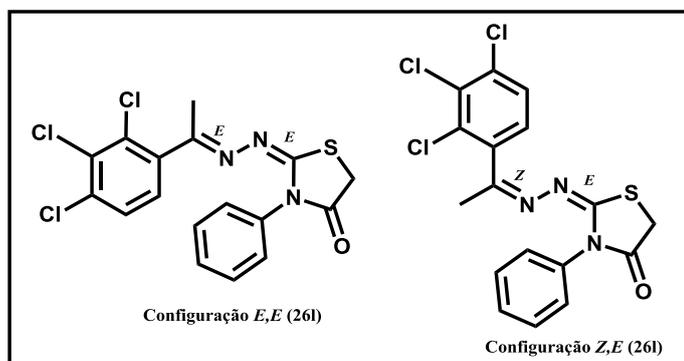


Figura 21: Isomerismo *Z* ou *E* em 4-tiazolidinonas. Fonte: Autor.

4.2.2 Síntese dos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (27a-z e 27α-γ)

A série (27a-z e 27α-γ) tem como ponto de partida a síntese das tiossemicarbazonas (Int-1-3). Para a síntese das tiossemicarbazonas (Int-1-3), a tiossemicarbazida (29a-c) e a 3',4'-dicloroacetofenona (28d) (Figura 22) foram adquiridas de fontes comerciais e seguiu-se com as reações.

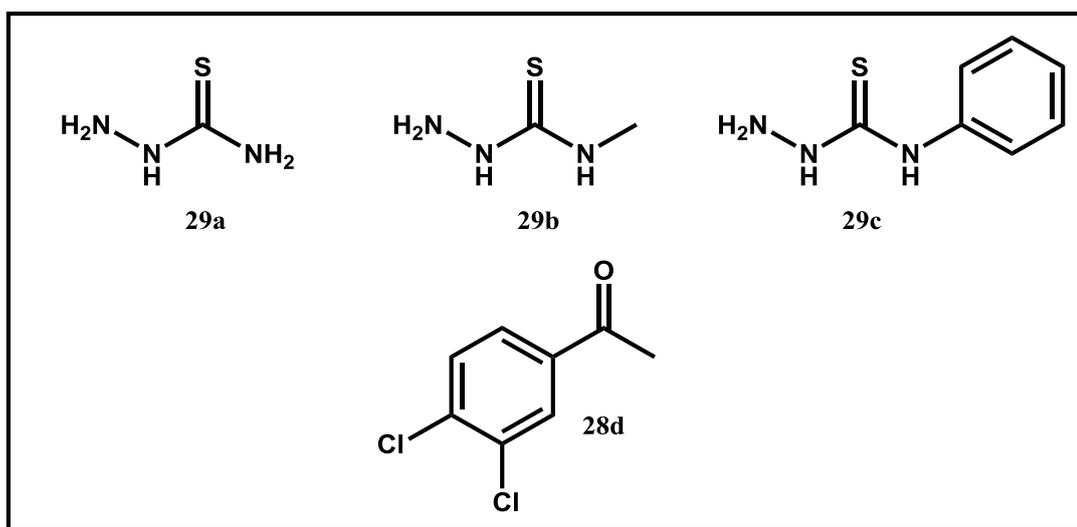
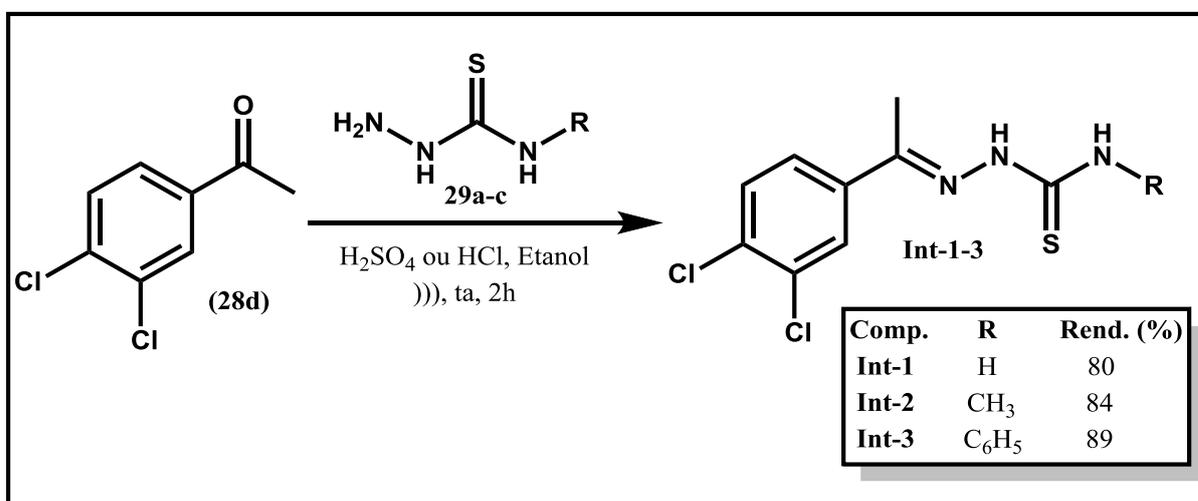


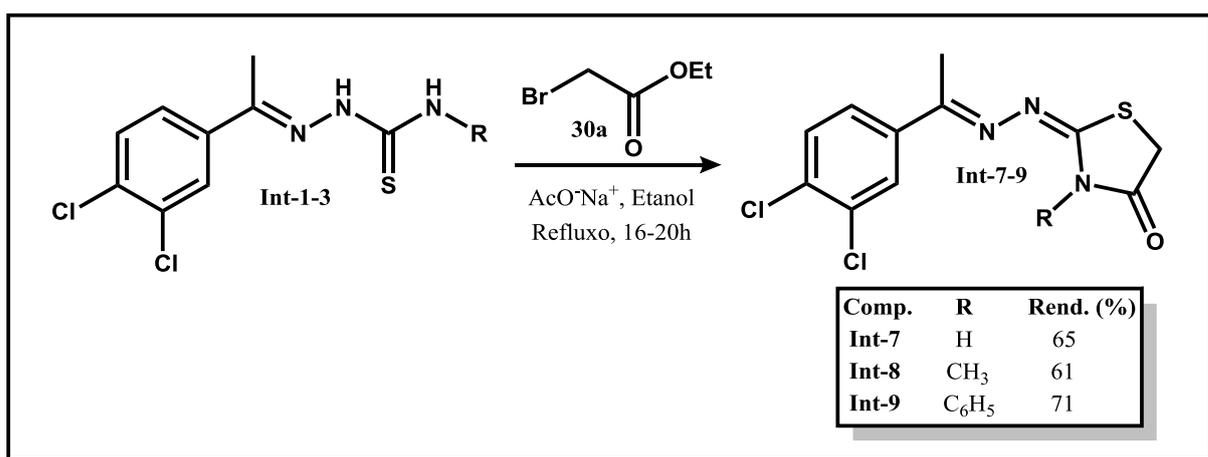
Figura 22: Estrutura das acetofenonas substituídas e da 4-fenil-3-tiossemicarbazida. Fonte: Autor.

As tiossemicarbazonas (Int-1-3) foram preparadas a partir da condensação da 3',4'-dicloroacetofenona (28d) com as diferentes tiossemicarbazidas (29a-c) a temperatura ambiente em um banho de ultrassom (BU et al., 2006; MOREIRA et al., 2012, 2014; CARDOSO et al., 2014). Os produtos obtidos (Int-1-3) foram recristalizados em tolueno a quente, obteve-se cristais incolores com pureza e rendimentos satisfatórios (80-89%) (Esquema 3).



Esquema 3: Obtenção das tiossemicarbazonas Int-1-3. Fonte: Autor.

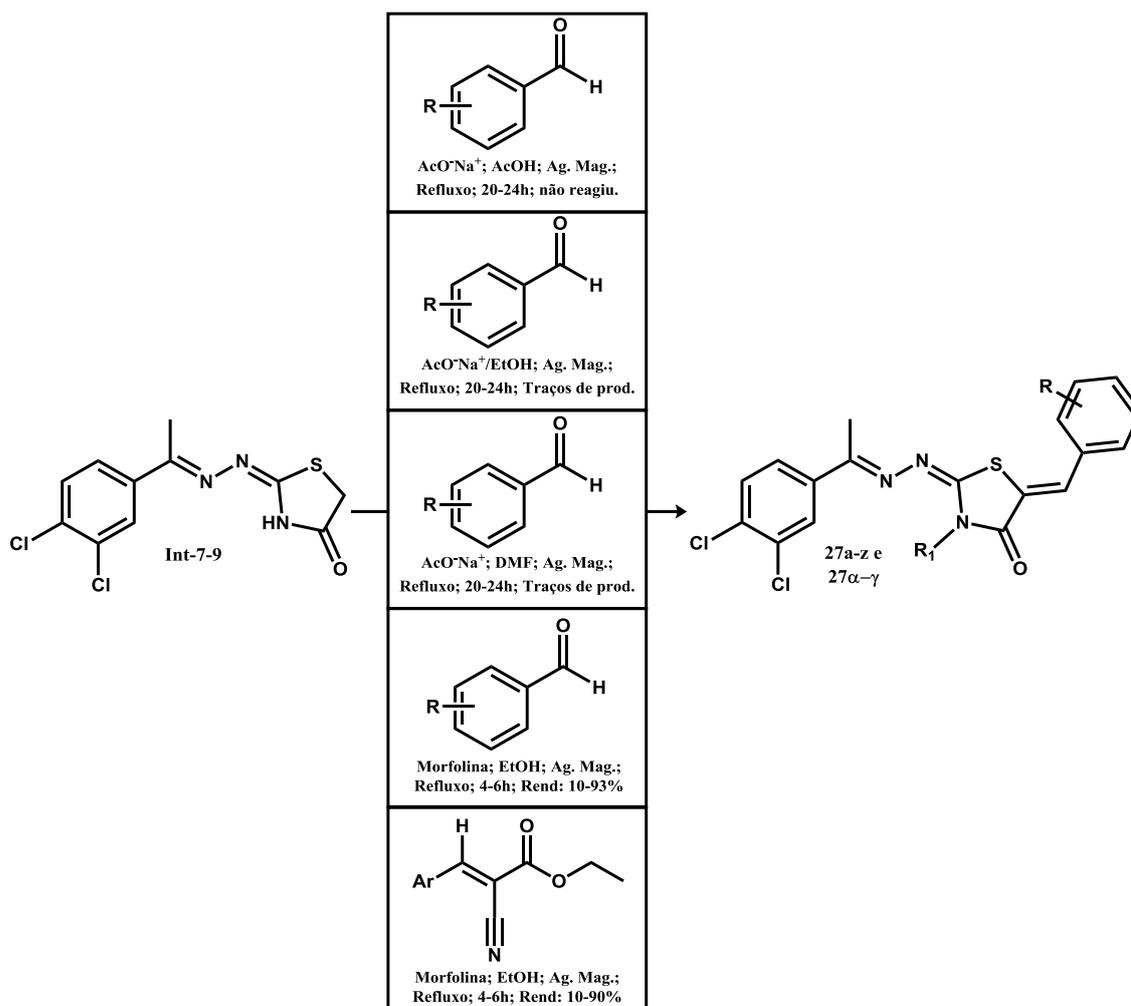
As aril-4-tiazolidinonas (**Int-7-9**) foram sintetizadas através da reação entre a respectiva tiossemicarbazona (**Int-1-3**) com o bromoacetato de etila (**30a**). Estas reações foram realizadas em etanol absoluto, com excesso de acetato de sódio anidro, a temperatura de refluxo e agitação magnética vigorosa. As reações foram acompanhadas por CCD que mostraram o consumo dos materiais de partida (tiossemicarbazonas) após 16–20 horas de reação (**Esquema 4**).



Esquema 4: Obtenção das 4-tiazolidinonas **Int-7-9**. Fonte: Autor.

Após recristalização em tolueno, ciclohexano, ou mistura de ambos, os compostos (**Int-7-9**) foram isolados como sólidos cristalinos incolores e rendimentos que variaram de 65 a 71 %. Após a síntese dos **Int-7-9**, seguimos para síntese das 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27 α - γ**).

Compostos do tipo 5-benzilideno-4-tiazolidinona, resultantes de uma condensação aldólica entre o grupo metileno do anel 4-tiazolidinona com o grupo carbonila de aldeídos e cetonas, foram preparados por diversas metodologias (BROWN, 1961; FEITOZA et al., 2012), com diferentes solventes e catalisadores, dentre elas: acetato de sódio anidro em ácido acético; acetato de sódio anidro em etanol; amônia e cloreto de amônio em etanol; acetato de sódio em DMF; e morfolina em solução etanólica (**Esquema 5**).



Esquema 5: Metodologias empregadas na reação de condensação aldólica para a síntese da série 5-benzilideno-4-tiazolidinona (**27a-z** e **27α-γ**). Fonte: Autor.

Na primeira tentativa de síntese dos compostos **27a-z** e **27α-γ**, utilizamos catálise de acetato de sódio anidro e ácido acético como solvente, em refluxo e agitação magnética, para condensação do **Int-7** com respectivo aldeído aromático. Verificamos que a mistura reacional adquiria coloração avermelhada com a adição do aldeído aromático, mas não observamos surgimento de um novo produto na CCD. Aumentamos o tempo reacional (até 24h), a quantidade de base (4 eq. de AcO⁻Na⁺), a quantidade do aldeído aromático (até 4 eq.) e, mesmo assim não observamos formação de um novo produto. Então, resolvemos descartar essa metodologia sintética e partir para outra.

Utilizamos catálise de AcO⁻Na⁺ em meio etanólico na segunda metodologia implementada. Como no exemplo anterior, a mistura reacional adquiria coloração avermelhada após adição do aldeído aromático. Com essa metodologia observamos

a formação de um novo produto na CCD. Mas o ponto do novo produto formado sempre ficava muito fraco na placa, então aumentamos a quantidade de base (até 4eq.), e de aldeído aromático (até 4 eq.), mas não obtivemos resposta positiva quanto a formação de produto em maior quantidade. As placas cromatográficas apresentavam apenas traços dos produtos, e em sua maioria apresentavam impurezas de partida (**Int-7** e aldeídos aromáticos), então seguimos para outra metodologia.

A metodologia com catálise de AcO^-Na^+ e DMF como solvente, apresentou as mesmas limitações da anterior, formação de traços de produtos nas placas cromatográficas e grande quantidade de impurezas de partida (**Int-7** e aldeídos aromáticos).

Outra metodologia para síntese de compostos 5-benzilideno-4-tiazolidinonas é através da reação do anel 4-tiazolidinona com 2-ciano-3-fenilacrilatos de etila, com catálise de morfolina em meio etanólico (DABOUN et al., 1982). Para tentar melhorar rendimentos dos compostos nós testamos essa metodologia, ela apresentou rendimentos na faixa de 10-90%, similares aos da metodologia que escolhemos para sintetizar a série de compostos, essa metodologia tinha a desvantagem de preparar previamente os 2-ciano-3-fenilacrilatos de etila.

Desta forma, as 5-benzilideno-4-tiazolidinonas **27a-z** e **27 α - γ** foram preparadas em agitação magnética, sob refluxo, com etanol como solvente e morfolina como catalisador (FEITOZA et al., 2012), em 4 à 6h de reação. A reação apresentou características parecidas com as anteriormente testadas, mudança de coloração (do amarelo ao vermelho) após adição do aldeído a mistura reacional, só que diferia no fato de que observamos na CCD a formação do produto, um ponto forte que é observado na placa a luz visível e absorve em tanto em 265 e 365 nm. Os compostos foram obtidos como sólidos cristalinos, recristalizados em etanol a quente, com rendimentos entre 10 à 93% (**Esquema 6**).

Para investigar o efeito de substituintes inseridos na posição N3 para a atividade farmacológica, nós preparamos as 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27b**) e (**27c**) (**Esquema 6**, destacados em vermelho).

As estruturas das 5-benzilideno-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27 α - γ**) foram confirmadas por IV, RMN (^1H , ^{13}C e DEPT quando necessário). Nos espectros de IV, observamos que a 4-tiazolidinona (**Int-7**) demonstrou forte banda de absorção em 1715 cm^{-1} , características de vibração de estiramento para carbonila (C=O). Já nos derivados benzilidênicos apareceram entre $1710\text{-}1698\text{ cm}^{-1}$ (KÜÇÜKGÜZEL et al., 2006; VICINI et al., 2006). Em geral, este pequeno efeito batocrômico ocorreu devido a conjugação da carbonila destes últimos compostos com a dupla ligação C=CH exocíclica, a qual enfraquece a ligação C-O. Por fim, o estiramento referente a esta dupla ligação carbono-carbono foi caracterizado pelas bandas que apareceram entre $1608\text{-}1562\text{ cm}^{-1}$. A **figura 23** ilustra o espectro de IV do composto **27f**.

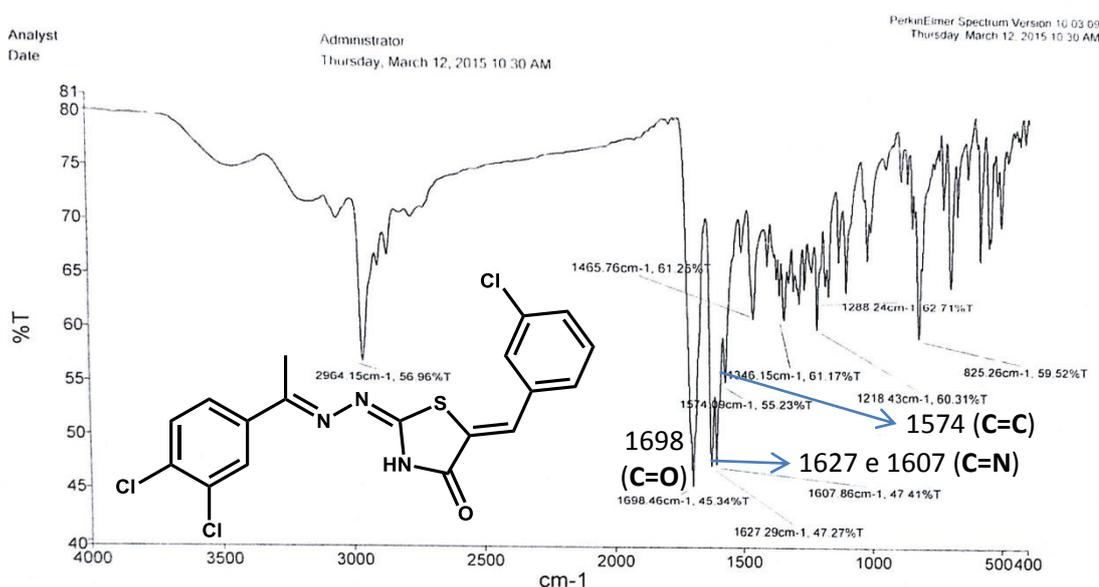


Figura 23: Espectro de IV para a 5-benzilideno-4-tiazolidinona (**27f**). Fonte: Autor.

Na análise dos espectros de RMN de ^1H para a série dos benzilidenos, observamos o desaparecimento do singlete referente ao grupo metileno na posição do anel tiazolidínico do (**Int-7**) em 3.89 ppm, bem como a presença de um singlete em 7.70 ppm no espectro do composto **27f** referente ao hidrogênio do CH=C do benzilideno, confirmaram a estrutura do composto em questão (**Figura 24A-C**).

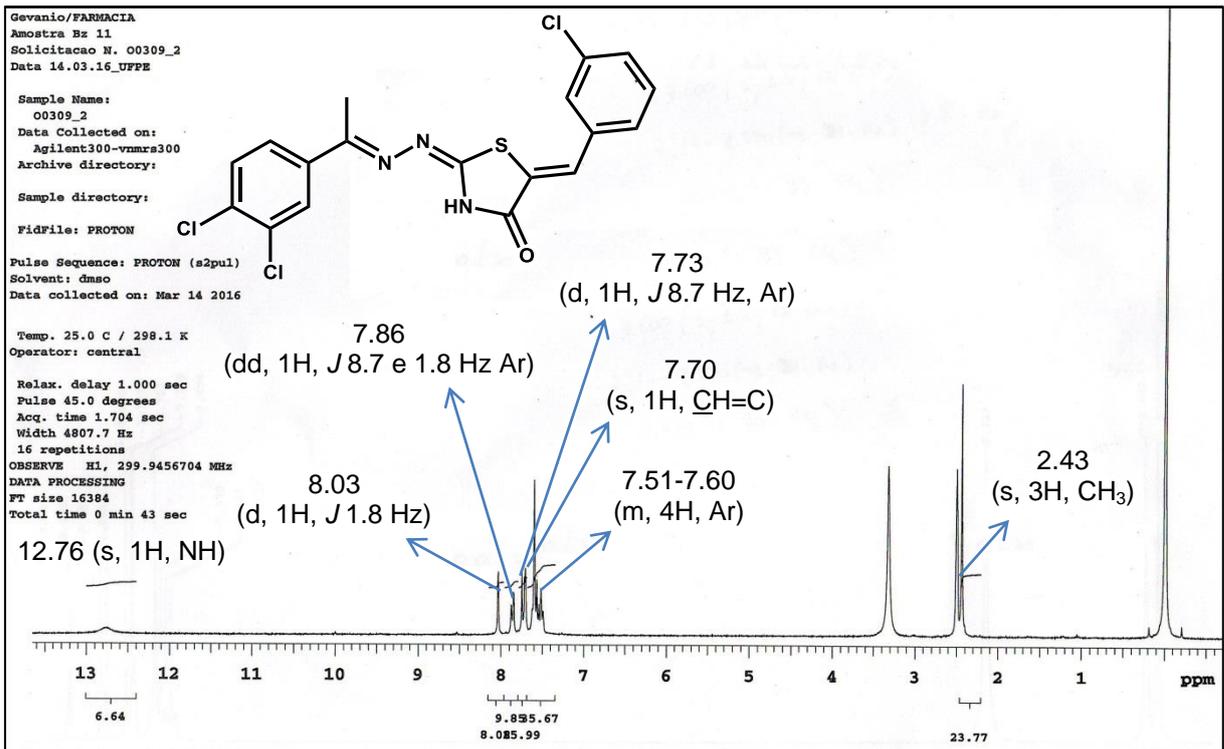


Figura 24A : Espectro de RMN ¹H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f). Fonte: Autor.

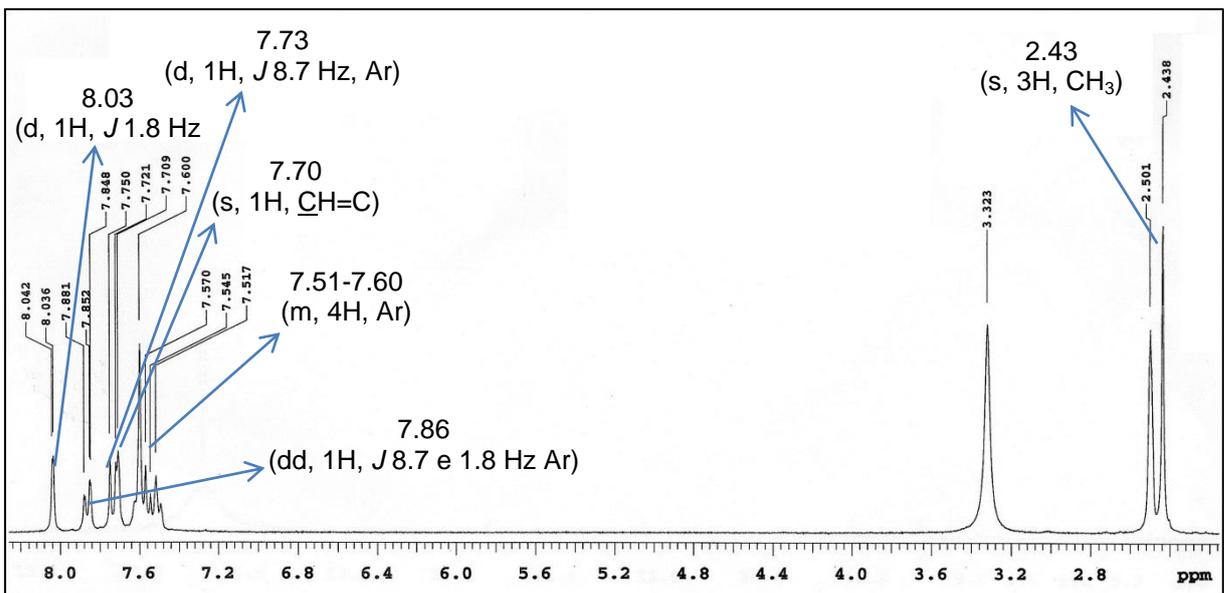


Figura 24B : Ampliação - Espectro de RMN ¹H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f). Fonte: Autor.

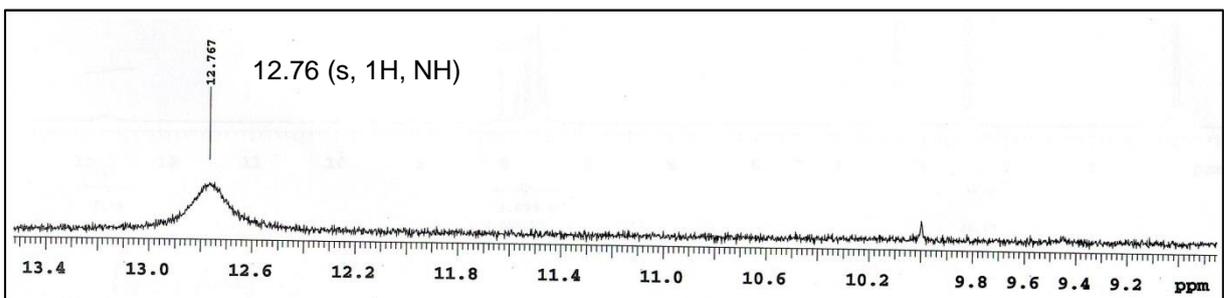


Figura 24C : Ampliação - Espectro de RMN ¹H para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (27f). Fonte: Autor.

Na **Figura 24A-C** observamos ainda, a presença de um singlete em 2.43 ppm, integrando para três hidrogênios, referente grupo metila adjacente a C=N. Em 7.51-7.60 ppm, observamos um multiplete integrando para quatro hidrogênios aromáticos, pertencentes ao anel aromático inserido na posição 5 da 4-tiazolidinona. Em 7.70 ppm, identificamos um singlete, integrando para um hidrogênio, diagnóstico da formação do benzilideno, correspondente ao hidrogênio do CH=C. Em 7.73, observamos um dubleto (J 8.7 Hz) integrando para um hidrogênio, correspondente ao hidrogênio da posição 5 do anel 3,4-diclorobenzil. Em 7.86 ppm, identificamos um duplodubleto (J 8.7 e 1.8 Hz) integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio da posição 6 do anel 3,4-diclorobenzil. Em 8.03 ppm, identificamos outro dubleto (J 1.8 Hz) integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio da posição 2 do anel 3,4-diclorobenzil. E por fim, em 12.76 ppm, observamos um singlete integrando para um hidrogênio, correspondendo ao hidrogênio de N3.

Outra técnica utilizada foi a ressonância magnética nuclear de carbono 13. A figura abaixo ilustra o espectro de RMN ^{13}C para o composto (**27f**) (**Figura 25A-B**). Os espectros em questão apresentam ressonâncias em 124.9 e 130.8 ppm, assinaladas aos átomos de carbono endo e exocíclico da dupla ligação benzilidênica, respectivamente, bem como picos referentes aos carbonos aromáticos entre 126.4-137.9. Tais deslocamentos, juntamente com os espectros de RMN ^1H , indicam a evidência confirmatória da introdução do grupo *m*-clorobenzilideno durante a síntese do composto em questão.

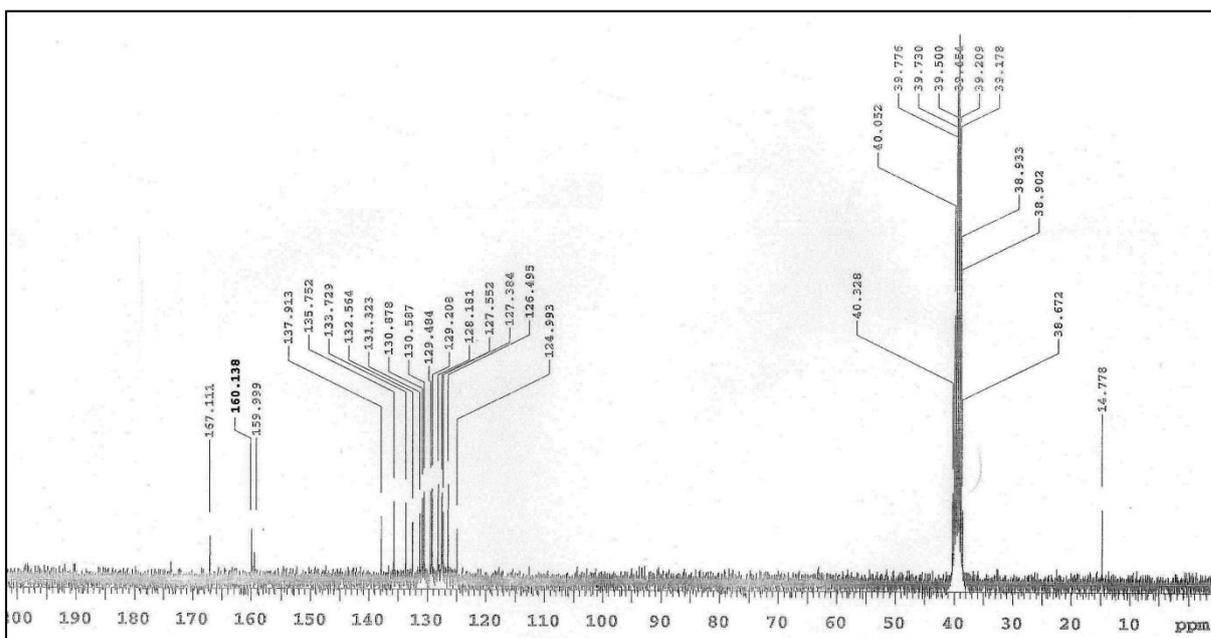


Figura 25A : Espectro de RMN ^{13}C para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (**27f**). Fonte: Autor.

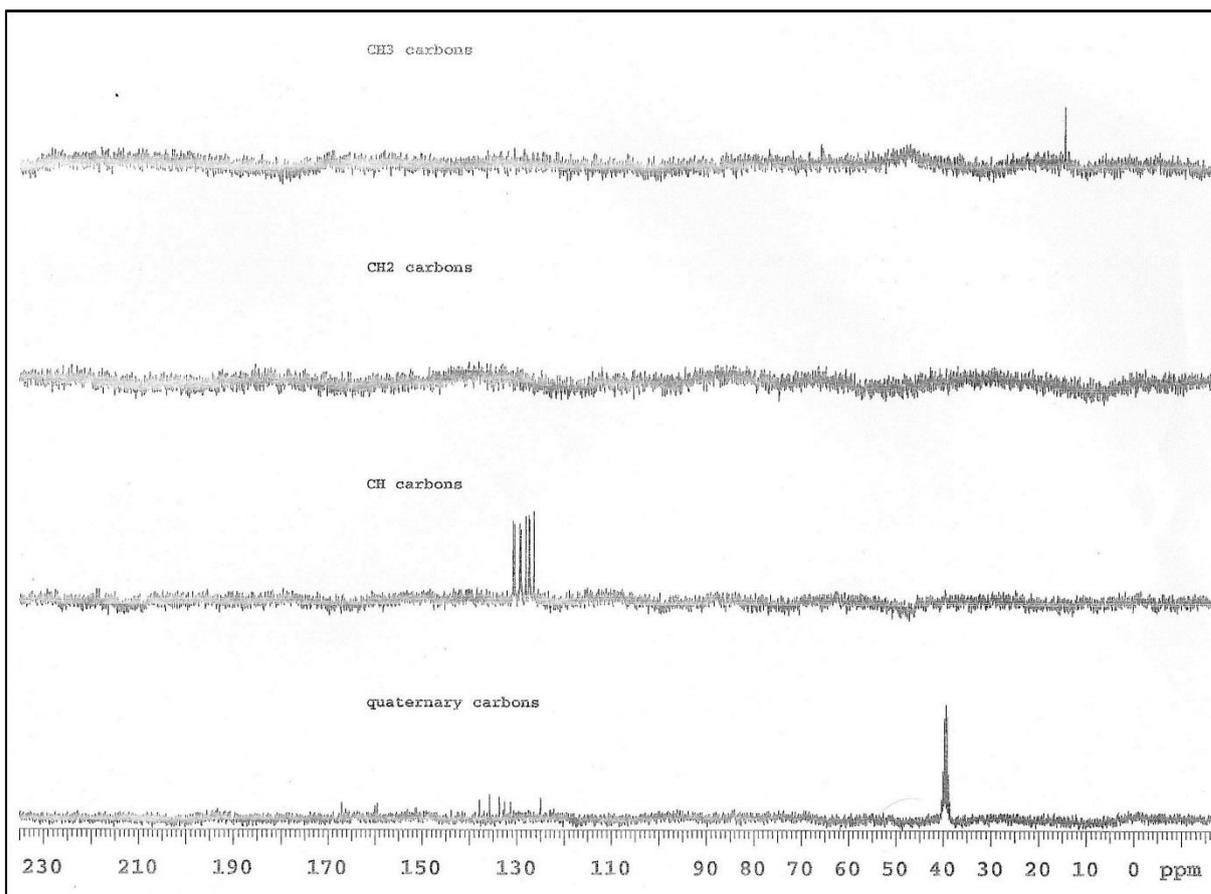


Figura 25B : Espectro de DEPT de ^{13}C para 5-benzilideno-4-tiazolidinona (**27f**). Fonte: Autor.

Analisando o espectro do **composto 27f** (**Figura 25A-B**), observamos: um sinal de carbono em 14.7 ppm confirma a presença da metila ligada ao C=N. O sinal do carbono da posição 5 da 4-tiazolidinona aparece em 124.9 ppm. No intervalo de 126.4-130.5 e 131.3-137.9 aparecem os carbonos aromáticos. Em 130.8 identificamos o $\text{CH}=\text{C}$. Em 159.9 ppm identificamos o C=N ligado a metila. Em 160.1 identificamos o S-C=N, e em 167.1 ppm identificamos o sinal da carbonila do anel heterocíclico.

Outra característica estrutural importante desses compostos é a configuração da dupla ligação benzilidênica. As 4-tiazolidinonas podem sofrer condensação com aldeídos aromáticos, conduzindo a formação de derivados α,β -insaturados. Estes derivados, teoricamente, podem existir nas configurações diastereoisoméricas *Z* e *E*. A figura abaixo ilustra as estruturas destes diastereoisômeros para as 4-tiazolidinonas desta série (**Figura 26**).

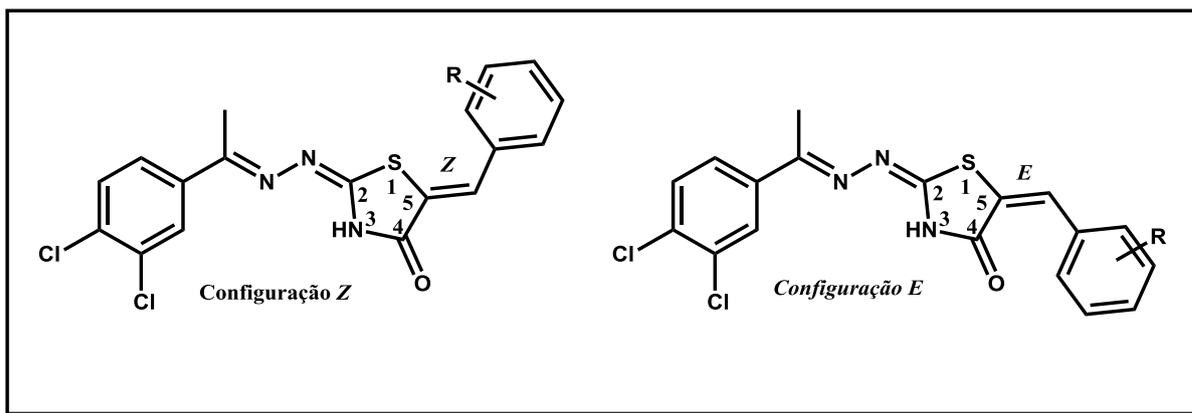


Figura 26: Estruturas teóricas dos diastereoisômeros *Z* e *E* para as 4-tiazolidinonas da série **27a-z** e **27 α - γ** . Fonte: Autor.

Bruno et al., 2002, determinaram a configuração da dupla ligação exocíclica em derivados 5-arilideno-2,4-tiazolidinadiona. Apenas para um dos compostos da série sintetizada, esta configuração foi determinada por difração de Raio-X, sendo designada como *Z*. As outras moléculas da mesma série foram analisadas baseadas em seus dados espectrais de RMN ^{13}C e ^1H (**Figura 27**) (BRUNO et al., 2002). Segundo os autores, nos espectros de RMN ^1H em presença de reagente de deslocamento $\text{Eu}(\text{fod})_3$, ocorreram mudanças no deslocamento químico do próton benzilidênico em todas as moléculas analisadas, bem como não foi identificado a presença de isômeros *E*, sob diferentes condições de síntese. Em conclusão, apenas o sinal do próton de configuração *Z* foi detectado, apresentando deslocamentos químicos na faixa de 7.72-7.97 ppm. Nos espectros de RMN ^{13}C , os sinais do CH arilideno apareceram na faixa de 130.1-132.8 ppm (BRUNO et al., 2002).

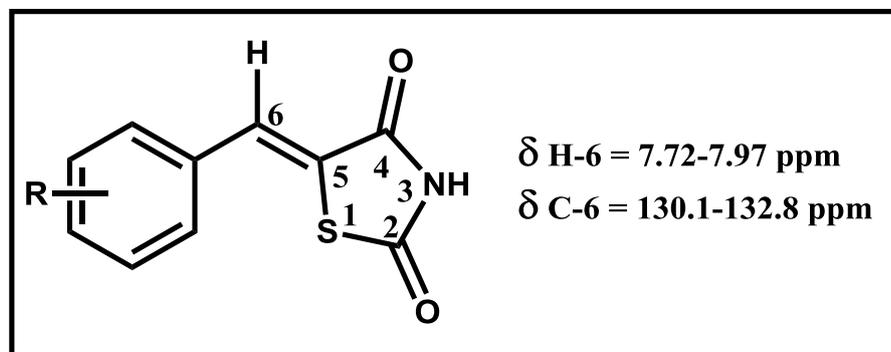


Figura 27: Deslocamentos químicos de H-6 e C-6 presentes no grupo arilideno dos isômeros *Z* em derivados 5-arilideno-2,4-tiazolidinadiona. Fonte: Autor (BRUNO et al., 2002).

Os dados obtidos neste último estudo foram utilizados por outros autores na determinação da configuração dos análogos 5-arylideno-2-imino-4-tiazolidinonas e 5-arylideno-2-tiazolimino-4-tiazolidinonas, obtidos a partir de reações de derivados 2-imino-4-tiazolidinonas com aldeídos aromáticos (**Figura 28**) (OTTANÀ et al., 2005; VICINI et al., 2006). As moléculas sintetizadas apresentaram deslocamentos químicos referentes ao próton benzilidênico variando entre 7.63-7.97 ppm, característicos de isômeros de configuração Z.

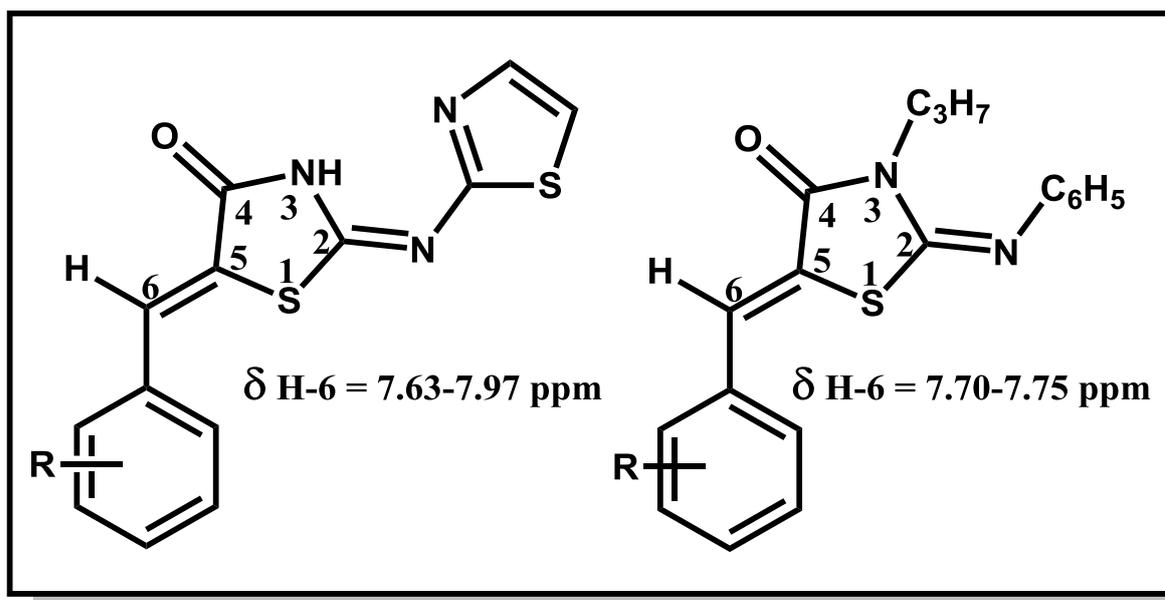


Figura 28: Configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e deslocamentos químicos de seus respectivos prótons benzilidênicos. Fonte: Autor (OTTANÀ et al., 2005; VICINI et al., 2006).

Em nosso trabalho, as moléculas sintetizadas apresentaram deslocamentos químicos referentes ao próton benzilidênico variando entre 7.22-7.77 ppm, e nos espectros de RMN ^{13}C , os sinais do CH arilideno apareceram na faixa de 130.2-134.8 ppm (**Figura 29**). Observamos que para alguns compostos os deslocamentos do próton benzilidênico foram identificados em campo mais baixo quando comparado a literatura 7.63-7.97 ppm. Mas que o sinais do CH arilideno no espectro de ^{13}C aparecem dentro da faixa característica de isômeros de configuração Z.

Como esses compostos tem NH livre, podemos sugerir estar ocorrendo ressonância com a carbonila, o que é dificultada quando temos substituintes alquil ou fenil em N3, e esse seria um dos motivos para que o sinal do próton benzilidênico aparecer mais blindado.

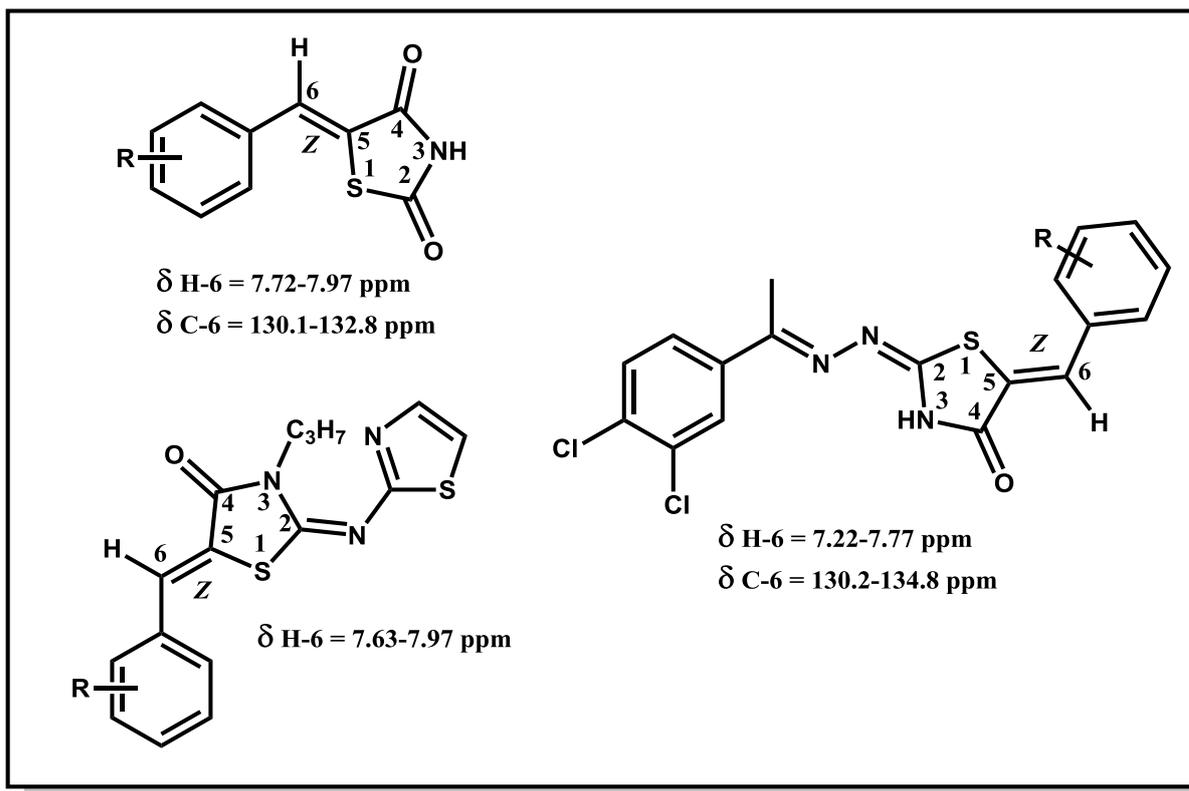


Figura 29: Sugestão da configuração de derivados 4-tiazolidinônicos e deslocamentos químicos de seus respectivos prótons e carbonos benzilidênicos (série **27a-z** e **27**). Fonte: Autor.

De acordo com o discutido acima, podemos sugerir que as moléculas analisadas possuem a configuração *Z*, onde este diastereoisômero é obtido pela rota sintética utilizada.

4.3 Avaliação farmacológica

A avaliação das atividades biológicas foi realizada no Laboratório de Biologia Celular da Fundação Oswaldo Cruz, campus Manguinhos – RJ, sob a coordenação da Dr.^a Maria de Nazaré Correia Soeiro.

As 4-tiazolidinonas (**26a–o**) e (**27a-z** e **27 α – γ**) foram inicialmente avaliadas, *in vitro*, quanto as propriedades tripanocidas em modelos experimentais frente às formas evolutivas tripomastigotas das cepas Y do *T. cruzi*. Nesses ensaios, os valores de CC_{50} (μM) foram calculados (**Tabela 2**).

Nos ensaios com tripomastigotas, a forma evolutiva infectante em mamíferos, o valor da CC_{50} reflete o efeito do composto em reduzir a viabilidade celular do

parasita quando comparado com o controle negativo. Nesse ensaio, os compostos (**26a-o**) e (**27a-z** e **27 α - γ**) foram incubados na presença de tripomastigotas sanguíneas da cepa Y por vinte e quatro horas.

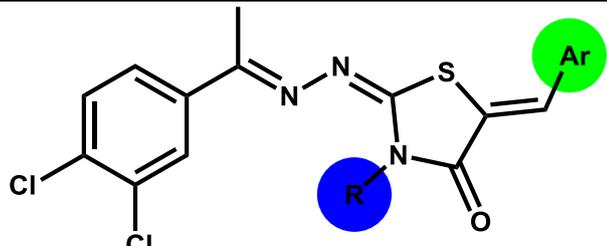
Para determinar a seletividade, os compostos (**26a-o**) e (**27a-z** e **27 α - γ**) foram testados em ensaios com células de mamíferos. O efeito na viabilidade celular (toxicidade) destes compostos em células de linhagem L929 (fibroblastos de camundongos) foi avaliado. Como este ensaio é de viabilidade celular, as células L929 foram incubadas na presença dos compostos (**26a-o**) e (**27a-z** e **27 α - γ**) por até noventa e seis horas. Os valores de DL₅₀ (em μ M) foram determinados (**Tabela 2 e 3**).

Os compostos (**26a-o**) e (**27a-z** e **27 α - γ**) foram avaliados ainda frente às formas intracelulares da cepa Tulahuen (**lacZ C4**) do *T. cruzi*, uma cepa transfectada que expressa o gene da β -galactosidase. Os compostos foram triados a 10 μ M nestes ensaios (CC₉₀ do Bdz) (**Tabela 2 e 3**). Para a triagem dos compostos tripanocidas mais potentes, os valores de CC₅₀ foram comparados com o fármaco Bdz (**1**). O índice de seletividade também foi determinado (IS = DL₅₀ L929 24h / CC₅₀ tripomastigotas) (**Tabela 2 e 3**). Os compostos mais ativos foram testados em ensaios com cardiomiócitos (células de músculo cardíaco de camundongos), tecido celular que mimetiza o principal tecido geralmente atingido pela infecção pelo *T. cruzi* (**Tabela 4**).

O estudo de relação estrutura-atividade para os compostos **26a-o** começa com duas modificações: uma no anel aromático: modificações *orto*, *meta* e *para* da porção arila com o halogênio cloro como substituinte (nas posições: 2,4, 2,5 e 2,3,4) e o outro no heterocíclico 4-tiazolidinona: substituições na posição C5 (inserção de substituintes alifáticos e aromáticos) Estas modificações produziram os compostos **26a-o**. Entre os compostos testados, os compostos **26e** e **26m** foram os antiparasitários mais potentes, com um valor CC₅₀ de 14 \pm 3 e 12 \pm 2 μ M para tripomastigotas sanguíneas (cepa Y) do *T. cruzi*, respectivamente. Estes compostos apresentaram propriedades antiparasitárias equipotentes com Benzonidazol. Vale destacar que eles não afetaram a viabilidade das células hospedeiras em concentrações até 200 μ M (**Tabela 2**).

eletrônico dessas substituições nessa posição. O composto **27z** apresentou a melhor atividade contra tripomastigotas sanguíneas com $CC_{50} = 26 \pm 3 \mu\text{M}$, duas vezes menos potente que o Benzonidazol, este composto também não afetou a viabilidade das células L929 em concentrações até $200 \mu\text{M}$ (**27a-z** e **27 α - γ**) (Tabela 3).

Tabela 3: Série **27a-z** e **27 α - γ** : Toxicidade *in vitro* frente células L929 (incubação de 24 e 96 h). Atividade *in vitro* (valores de CC_{50} e CC_{90} em μM) e índice de seletividade ($IS = DL_{50L929}/CC_{50\text{tripo}}$) dos compostos testados sobre tripomastigotas sanguíneas da cepa Y do *Trypanosoma cruzi*. Percentual de inibição com uma dose simples de $10 \mu\text{M}$ sobre formas intracelulares da cepa Tulahuen do *T cruzi* (incubação de 96 h).

| Comp. | Ar | R | DL _{50L929} (μM) | | CC _{50tripo} | CC _{90tripo} | Tula (% inibição) | IS |
|---|---|-------|--|----------|------------------------|------------------------|--------------------------|------|
| | | | 24 h | 96 h | (μM) 24 h | (μM) 24 h | Dose de $10 \mu\text{M}$ | |
|  | | | | | | | | |
| 27a | Fenil | H | 110 ± 20 | 76 ± 12 | 38 ± 0.2 | 49 | 0 | 2.9 |
| 27b | Fenil | Metil | >200 | >200 | >50 | >50 | 3 ± 3 | >4 |
| 27c | Fenil | Fenil | >200 | >200 | >50 | >50 | 2 ± 2 | >4 |
| 27d | 4-CH ₃ -fenil | H | 147 ± 50 | 47 ± 15 | 33 ± 7 | 47 ± 1 | 2 ± 1 | 4.4 |
| 27e | 4-F-fenil | H | 96 ± 26 | 65 ± 17 | 32 ± 10 | 48 ± 4 | 1 ± 1 | 3 |
| 27f | 3-Cl-fenil | H | 79 ± 13 | 40 ± 2 | 31 ± 8 | 50 ± 0.7 | 2 ± 1 | 2.5 |
| 27g | 4-Cl-fenil | H | 38 ± 0.6 | 35 ± 2 | 36 ± 6 | >50 | 0 | 1 |
| 27h | 3,4-diCl-fenil | H | >200 | 103 ± 44 | >50 | >50 | 4 ± 2 | >4 |
| 27i | 4-Br-fenil | H | 101 ± 20 | 38 ± 1 | 35 ± 11 | >50 | 5 ± 5 | 2.9 |
| 27j | 3-OH-fenil | H | 80 ± 11 | 65 ± 13 | 41 ± 4 | >50 | 0 | 1.9 |
| 27k | 4-OH-fenil | H | 79 ± 34 | 65 ± 7 | 37 ± 0.2 | 48 ± 0.2 | 3 ± 3 | 2.1 |
| 27l | 4-N(CH ₃) ₂ -fenil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 0 ± 1 | >4 |
| 27m | 3-(OCH ₃)-fenil | H | >200 | 163 ± 26 | >50 | >50 | 9 ± 2 | >4 |
| 27n | 4-(OCH ₃)-fenil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 2 ± 1 | >4 |
| 27o | 4-(SCH ₃)-fenil | H | >200 | 84 ± 3 | 45 ± 0.4 | >50 | 5 | >4.4 |
| 27p | 4- <i>t</i> -butil-fenil | H | 109 ± 26 | 73 ± 6 | 44 ± 9 | >50 | 4 ± 3 | 2.5 |
| 27q | 3-NO ₂ -fenil | H | >200 | 81 ± 0.8 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27r | 4-NO ₂ -fenil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 10 ± 3 | >4 |
| 27s | 4-N(CH ₃) ₂ -2-NO ₂ -Ph | H | 60 ± 26 | 16 ± 3 | 37 ± 2 | >50 | 9 ± 2 | 1.6 |

| | | | | | | | | |
|------------|----------------------------------|---|---------|----------|----------|----------|---------|------|
| 27t | 4-OH-3-(OCH ₃)-fenil | H | >200 | 55 ± 28 | 30 ± 11 | 46 ± 4 | 0 | 6.7 |
| 27u | 4-OH-3-NO ₂ -fenil | H | >200 | 147 ± 16 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27v | 4-morfolinil-fenil | H | >200 | 103 ± 18 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27w | 4-fenil-fenil | H | >200 | 185 ± 21 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27x | 3-piridinil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27y | 4-piridinil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 0 | >4 |
| 27z | Ferrocenil | H | >200 | >200 | 26 ± 3 | >50 | 0 | >7.7 |
| 27α | 3-indolil | H | >200 | 127 ± 22 | 43 ± 1 | >50 | 3 ± 3 | >4.6 |
| 27β | 5-benzodioxolil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 4 | >4 |
| 27λ | 1-naftalenil | H | 81 ± 10 | 42 ± 3 | 39 ± 0.4 | >50 | 2 ± 2 | 2 |
| 27ω | 2-naftalenil | H | >200 | 48 ± 16 | 39 ± 11 | >50 | 0 | 5.1 |
| 27γ | 9-antracenil | H | >200 | >200 | >50 | >50 | 3 ± 1 | >4 |
| Bdz | - | - | > 1000 | >200 | 13±1 | 23 ± 0.3 | 81 ± 11 | 77 |

Dentre estes três compostos, os mais ativos foram **26e** e **26m** e ambos também exibiram os maiores índices de seletividade (14,3 e 16,7, respectivamente). Os compostos (**26a–o**) e (**27a–z** e **27α–γ**) não exibiram atividade significativa na concentração de 10 μM contra formas intracelulares de *T. cruzi* (cepa Tulahuen) (**Tabela 2 e 3**).

Comparando-se as tiossemicarbazonas **Int-4-6**, observa-se que a porção arila 2,4-dicloro-substituída (**Int-4**) apresentou a melhor atividade contra a tripomastigotas sanguíneas com $CC_{50} = 5 \pm 0,2 \mu M$, indicando que as substituições nestas posições podem ser importantes para a atividade tripanocida. Esta tendência não é observada para os derivados cíclicos (**26a-o**), por outro lado, observa-se uma melhoria no perfil de toxicidade com a ciclização da tioamida a 4-tiazolidinona, os compostos **Int-4-6** afetam a viabilidade das células L929 com 96 h de tratamento, enquanto que seus bioisómeros cíclicos (**26a-o**) não (**Tabela 2**).

A boa atividade tripanocida observada para a tiossemicarbazona não substituída **Int-4** não foi mantida em seus derivados cíclicos (**26a**, **26f** e **26k**), no entanto, a menor citotoxicidade das 4-tiazolidinonas **26a-o** para as células L929, em oposição ao (**Int-4**), também foi observado em trabalho anterior, onde a ciclização diminuiu a toxicidade dos compostos, mas também eliminava a atividade tripanocida (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015). Entre os derivados cíclicos, apenas os

compostos **26e** e **26m** apresentaram atividade tripanocida comparável a tiossemicarbazona **Int-4**.

De maneira geral, para os derivados cíclicos (**26a-o**), as substituições em C5 (alquila ou fenila) melhoraram a atividade antiparasitária, os compostos mais potentes, **26e** e **26m**, têm um grupo fenila e etila, respectivamente, em C5 de heterocíclico.

Para a série (**27a-z** e **27 α - γ**), apenas o derivado **27z** (ferrocenil) demonstrou atividade tripanocida significativa, possivelmente por causa da inserção do grupo ferrocenil, que é descrito devido a suas atividades biológicas (VESSIE et al., 2005; PLAZUK et al., 2010; DOS SANTOS FILHO et al., 2016). A inserção de aromáticos mono-, di- e tri-substituídos, policíclicos heterocíclicos aromáticos não beneficiou satisfatoriamente a atividade tripanocida.

Após observar a seletividade desses compostos contra tripomastigotas sanguíneas do *T. cruzi*, examinamos em seguida a toxicidade em cardiomiócitos (células de músculo cardíaco, tecido mais comumente afetado por *T. cruzi*), para os compostos mais ativos (**Tabela 4**).

Tabela 4: Toxicidade *in vitro* contra cardiomiócitos (24 e 48 h).

| Cpd. | DL _{50CM} (μ M) | |
|--------------|-------------------------------|--------------|
| | 24 h | 48 h |
| Int-4 | >200 | 39 \pm 0.5 |
| 26e | 142 \pm 42 | 90 \pm 12 |
| 26m | >200 | >200 |
| 27z | >200 | >200 |
| Bdz | >1000 | >1000 |

Anova statistical analysis: **($p < 0.05$).

Como observado para as células L929, os compostos cíclicos (**26e**, **26m** e **27z**) apresentaram menor toxicidade frente as células cardíacas quando comparados com a tiossemicarbazona não substituída **Int-4**. Esses resultados corroboram com dados da literatura, que demonstram que a ciclização de tiossemicarbazonas em seus bioisómeros cíclicos do tipo 4-tiazolidinona fornecem compostos mais seletivos para o parasita (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

4.4 Discussão

Aqui nós examinamos a química e farmacologia de derivados 4-tiazolidinonas. A rota empregada para preparação dos compostos foi eficiente para produzir os compostos com aceitável rendimento e pureza. Com a variação dos substituintes ligados aos anéis arila e heterocíclico foi possível identificar os principais determinantes estruturais dessas 4-tiazolidinonas para atividade anti-*T. cruzi*.

Nós observamos para série **26a-o**, que compostos não substituídos em C5 da 4-tiazolidinona (**26a**, **26f** e **26k**) apresentaram pobre atividade antiparasitária. Por outro lado, 4-tiazolidinonas substituídas no heterocíclico (**26c**, **26d**, **26e**, **26g**, **26h**, **26i**, **26m** e **26o**) exibiram melhores propriedades tripanocidas, isso também foi observado em nosso trabalho anterior (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015). Não observamos uma tendência geral de influência de substituintes para série, os compostos **26e** e **26m** (**Figura 30**) foram os mais ativos da série, equipotentes ao Benzonidazol, eles possuem uma fenila e uma metila inseridos em C5, respectivamente.

Também não observamos modificação significativa na atividade entre as subséries com substituições 2,4-dicloro, 2,5-dicloro e 2,3,4-tricloro no anel aromático, os compostos **26e** e **26m** (**Figura 30**), mais ativos da série, apresentam, respectivamente, 2,4-dicloro e 2,3,4-tricloro como substituintes no anel aril. É importante mencionar que esses compostos cíclicos (**26a-o**) apresentaram baixa toxicidade tanto para células de linhagem L929, quanto para células do músculo cardíaco de camundongos, isso também tinha sido observado anteriormente (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2015) (**Figura 30**).

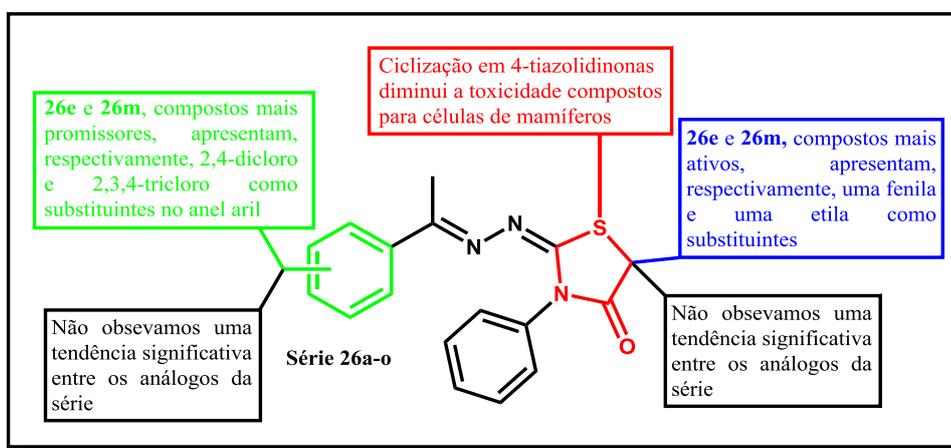


Figura 30: Resumo das REAs para série **26a-o**.

Para a série (**27a-z** e **27 α - γ**), a inserção de anéis aromáticos mono-, di- e tri-substituídos, policíclicos e heterocíclicos aromáticos não beneficiou satisfatoriamente a atividade tripanocida dos compostos **27a-z** e **27 α - γ** , apenas o derivado **27z** (ferrocenil) demonstrou considerável atividade tripanocida, possivelmente por causa do grupo ferrocenil, que é descrito com consideráveis atividades biológicas (VESSIE et al., 2005; PLAZUK et al., 2010; DOS SANTOS FILHO et al., 2016). Análogos com metila e fenila em N3 foram sintetizados (**27b** e **27c**), mas demonstraram menor atividade tripanocida que seu análogo não substituído (**27a**) (**Figura 31**).

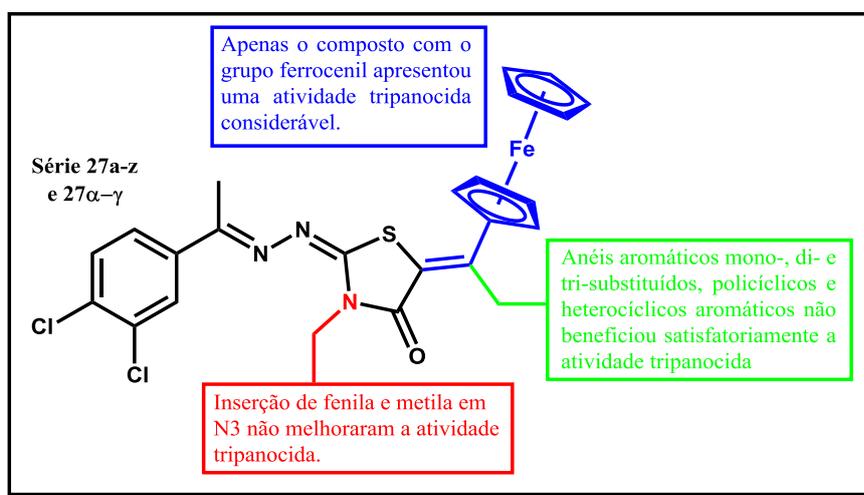


Figura 31: Resumo das REAs para série **27a-z** e **27 α - γ** .

Comparando essas novas gerações de 4-tiazolidinonas (**26a-o**) e (**27a-z** e **27 α - γ**) com nosso trabalho anterior, observamos que a ciclização gerou compostos menos tóxicos para células de mamíferos como observado em nossos resultados prévios. Não conseguimos identificar uma tendência geral de contribuição estrutural nas substituições com grupos alquila e fenila em C5, também não observamos uma tendência nas substituições em 2,4-dicloro, 2,5-dicloro e 2,3,4-tricloro no anel arila, mas conseguimos identificar os compostos **26e** e **26m**, equipotentes ao Benzonidazol, fármaco referência. O composto **26e** é 2,4-dicloro substituído no anel arila e possui uma fenila no C5 do heterocíclico, já o composto **26m** é 2,3,4-tricloro substituído no anel arila e possui um grupamento etila em C5 (**Figura 32**).

Para série (**27a-z** e **27 α - γ**) observamos que mesmo mantendo o anel 3,4-diclorado, não conseguimos manter a atividade tripanocida. Compostos com fenila em N3 também não demonstraram boa atividade. Entre as substituições realizadas

em C5, apenas a inserção do grupo ferrocenil demonstrou-se promissora para essa série de compostos.

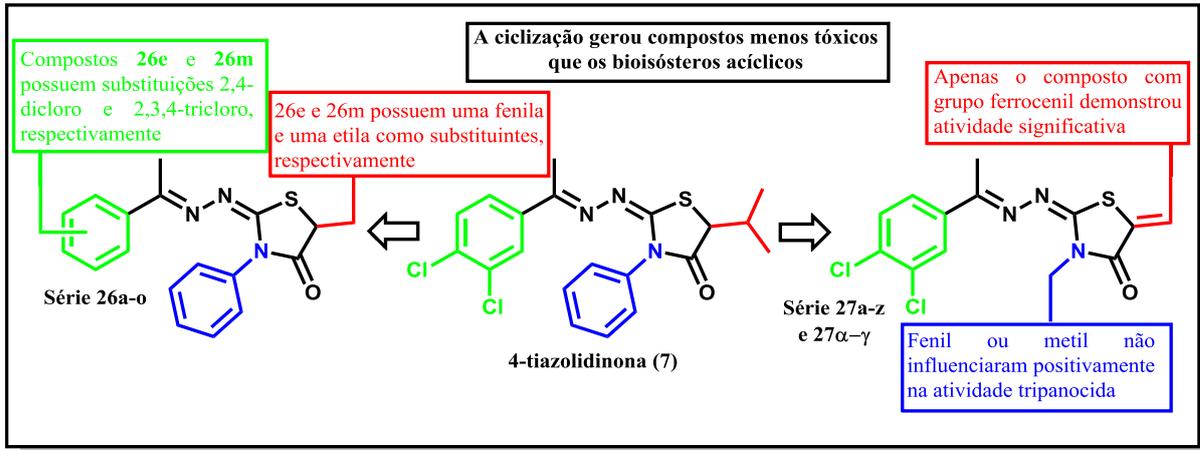


Figura 32: Gerações de 4-tiazolidinonas.

Por fim, conseguimos identificar 2 compostos (**26e** e **26m**) equipotentes ao Bdz (fármaco referência), e um 2 vezes menos potente **27z**. Isso comprova a atividade tripanocida dessa classe de heterocíclicos, e demonstra que deve ser ainda mais estudada em busca de novos protótipos a fármacos antichagásicos, com maior seletividade e atividade.

5. Conclusões

5 Conclusões

A elaboração estrutural das aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**) e 5-benzilideno-tiazolinas (**27a-z** e **27 α - γ**) foi fundamentada na tentativa de identificar compostos que mantivessem ou melhorassem a atividade tripanocida, com relação aos protótipos **5-7**.

Com estas metas, as aril-4-tiazolidinonas (**26a-o**) foram sintetizadas a partir das tiossemicarbazonas (**Int-4-6**), através de metodologias sintéticas já implementadas em nosso laboratório. As condições reacionais utilizadas resultaram em rendimentos (37-84%) e pureza adequada. As estruturas foram confirmadas por I.V., RMN de ^1H e ^{13}C , análise elementar.

Os 5-benzilidenos-4-tiazolidinonas (**27a-z** e **27 α - γ**) foram sintetizados a partir das 4-tiazolidinonas (**Int-7-9**) com rendimento entre 10-93%. Por se tratar da implementação de uma nova metodologia de síntese, várias tentativas foram realizadas (AcO^-Na^+ em AcOH; AcO^-Na^+ em EtOH; AcO^-Na^+ em DMF, todas em refluxo) até encontrarmos as condições ideais (morfolina em EtOH, refluxo). As estruturas foram confirmadas por I.V., RMN de ^1H e ^{13}C , análise elementar.

A metodologia em com morfolina em EtOH e refluxo, demonstrou ser a melhor testada, com identificação de formação dos produtos e rendimentos entre 10-93%. Os compostos apresentam absorção tanto no visível quanto em 265 e 365 nm.

Tentamos ainda a metodologia com substituição dos aldeídos aromáticos por metacrilatos, mas ambas apresentaram rendimentos parecidos, por isso a série foi sintetizada com aldeídos aromáticos, pois a metodologia com metacrilatos aumentava uma etapa de síntese (preparação dos metacrilatos).

De acordo com os dados espectroscópicos obtidos, podemos sugerir que os compostos da série (**27a-z** e **27 α - γ**) analisados possuem a configuração Z, onde este diastereoisômero é obtido pela rota sintética utilizada.

Nós observamos para série **26a-o**, que compostos não substituídos em C5 da 4-tiazolidinona apresentaram fraca atividade antiparasitária. Por outro lado, 4-tiazolidinonas contendo um grupo alquila ou fenila no heterocíclico exibiram melhores propriedades tripanocidas.

Também observamos que substituições em 2,4-dicloro, 2,5-dicloro e 2,3,4-tricloro no anel aromático não demonstraram ser mais significativas uma em relação a outra.

Esses compostos cíclicos (**26a-o**) apresentaram baixa toxicidade tanto para células de linhagem L929, quanto para células do músculo cardíaco de camundongos.

Para a série (**27a-z** e **27 α - γ**), a inserção de anéis aromáticos mono-, di- e tri-substituídos, policíclicos e heterocíclicos aromáticos não beneficiou satisfatoriamente a atividade tripanocida dos compostos **27a-z** e **27 α - γ** .

Apenas o derivado **27z** (ferrocenil) demonstrou considerável atividade tripanocida, possivelmente por causa do grupo ferrocenil.

Análogos com metila e fenila em N3 foram sintetizados (**27b** e **27c**), mas demonstraram menor atividade tripanocida que seu análogo não substituído (**27a**).

Por fim, conseguimos identificar dois compostos (**26e** e **26m**) equipotentes ao Bdz (fármaco referência), e um 2 vezes menos potente (**27z**). Isso comprova a atividade tripanocida dessa classe de heterocíclicos, e demonstra que deve ser ainda mais estudada em busca de novos protótipos a fármacos antichagásicos, com maior seletividade e atividade.

6. Parte Experimental

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Generalidades

Os reagentes foram adquiridos da Acros Organics, Fluka, Vetec ou Sigma-Aldrich, enquanto que os solventes foram provenientes da Vetec ou Dinâmica. Os solventes deuterados (DMSO- d_6) são da marca CIL (Tedia Brazil). Tiossemicarbazida foi adquirida pela Sigma-Aldrich. O acetato de sódio foi fundido em bico de Bunsen antes do uso.

As reações foram acompanhadas em cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando sílica-gel 60 contendo indicador fluorescente F_{254} . As placas cromatográficas foram visualizadas em uma lâmpada ultravioleta (com duplo comprimento de onda 365 ou 254nm).

As reações mediadas pela irradiação no ultrassom foram realizadas em banho de ultrassom modelo Unique EM-804 TGR usando frequência de 40 KHz (180 W). Em todas as reações no ultrassom, não houve aquecimento externo.

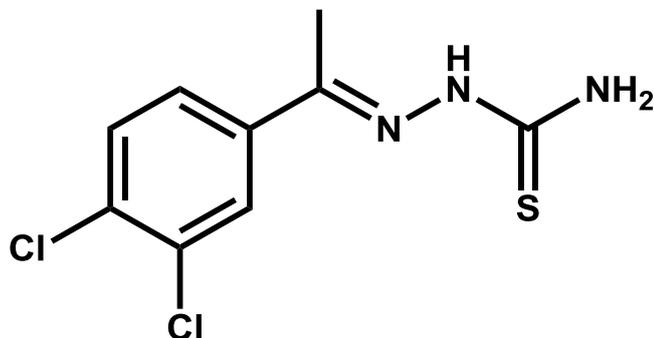
Os pontos de fusão foram medidos em capilares usando um aparelho de Thomas Hoover e os valores não foram posteriormente corrigidos. Quando não especificado pela abreviação "dec" (decomposição), os valores indicam que os produtos se fundiram sem aparente decomposição da amostra.

Para todos os compostos foram feitas as análises de RMN de ^1H e ^{13}C e quando necessário a análise bidimensional (DEPT). Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram adquiridos nos instrumentos Varian modelo Unity Plus (400 MHz para ^1H ; 100 MHz para ^{13}C) ou Bruker AMX (300 MHz para ^1H e 75.5 MHz para o ^{13}C), usando o tetrametilsilano como padrão interno. A multiplicidade dos sinais nos espectros de RMN ^1H foram designadas da seguinte forma: s / singleto; d / dubleto; t / tripleto; dd / duplo dupleto; q / quarteto; m / multipleto.

Para os espectros no infravermelho, utilizou-se o instrumento Bruker (Modelo IFS 66) usando pastilhas de KBr. As micro-análises para C, N, H, S foram feitas em um analisador elementar Carlo Erba (modelo EA 1110). Para os espectros de massas de alta-resolução (EMAR), usou-se a técnica de ionização por electrospray (ESI) nos modos positivos (ESI+) ou negativo (ESI-) com detecção no modo "time-of-flight" (TOF), medidos nos aparelhos LC-IT-TOF da Shimadzu.

6.2 Metodologias Sintéticas e Dados Espectroscópicos

6.2.1 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-hidrazina-1-carbotioamida (Int-1; GT-01)



6.2.1.1 Sob agitação magnética: em um balão de 100 mL, foram adicionados 1.06 mmol (0.097 g) de tiossemicarbazida, 20 mL de etanol, 1.06 mmol (0.2 g) da 3',4'-dicloroacetofenona e 4 gotas de ácido sulfúrico. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética em refluxo (90 °C) durante 20 horas. O precipitado formado foi filtrado em funil sinterizado lavando-se com etanol. O produto foi recristalizado com tolueno a quente.

Cristais incolores; PF:187-189 °C; Rend.: 0.10 g (38%).

6.2.1.2 Ultrassom: em um tubo de centrifuga, foram adicionados 1,06 mmol (0.2 g) da 3',4'-dicloroacetofenona, 1,06 mmol (0.097 g) de tiossemicarbazida, 3 mL de etanol e 5 gotas de ácido sulfúrico. A mistura foi mantida sob banho de ultrassom a temperatura ambiente por 30 minutos. Após isso, o precipitado formado foi filtrado em funil sinterizado, lavado com etanol e seco no dessecador sob vácuo. O produto foi recristalizado com tolueno a quente.

Cristais incolores; P.F.: 187-189 °C; Rend.: 0.22 g (80%); $R_f = 0.56$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.1.3 Análise elementar para $C_9H_9Cl_2N_3S$: Teórico: C, 41.23; H, 3.46; N, 16.03; S, 12.23. Calculado: C, 41,21; H, 3,61; N, 16,36; S, 12,78.

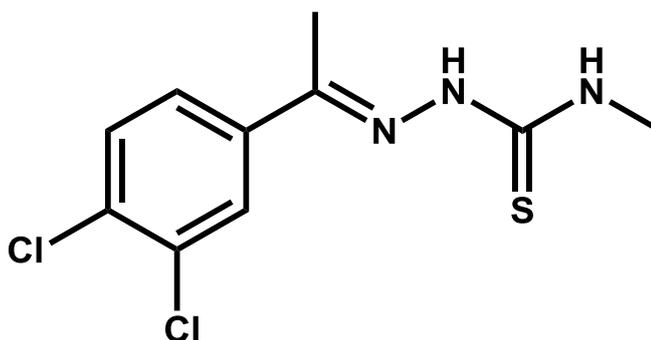
6.2.1.4 IV, principais sinais: 3427 (NH), 3399 (NH), 3138 (C-H), 1591 (C=N) cm^{-1} .

6.2.1.5 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.27 (s, 3H, CH₃), 7.58 (d, 1H, Ar), 7.86 (dd, 1H, Ar), 8.18 (s, 1H, NH₂), 8.26 (d, 1H, Ar), 8.36 (s, 1H, NH₂), 10.29 (s, 1H, NH). Os sinais com δ em 8.18, 8.36 e 10.29 ppm desaparecem após adição de D₂O.

6.2.1.6 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 13.8 (CH_3), 126.7 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 130.2 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.6 (3CIC, Ar), 138.2 (4CIC, Ar), 145.312 (C=N), 179.0 (C=S).

6.2.1.7 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_9\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$ $[\text{M}-\text{H}]^+$: 259.98; encontrado 259.9565.

6.2.2 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-*N*-metilhidrazina-1-carbotioamida (Int-2; GT-03)



6.2.2.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item 6.2.1.2: 1.06 mmol (0.2 g) da 3',4'-dicloroacetofenona, 1.06 mmol (0.111 g) de 4-metil-3-tiossemicarbazida, 5 mL de etanol e 5 gotas de ácido sulfúrico. O produto foi recristalizado em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 195-197 °C; Rend.: 0.24 g (84%); R_f = 0.7 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.2.2 Análise elementar para $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{S}$: Teórico: C, 43.49; H, 4.01; N, 15.21; S, 11.61. Calculado: C, 43.34; H, 3.98; N, 15.55; S, 11.74.

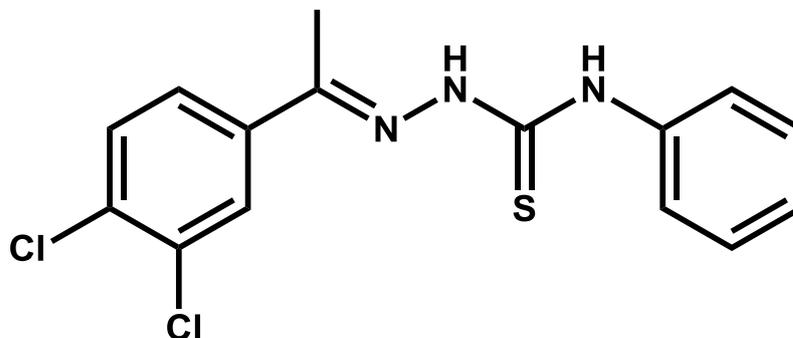
6.2.2.3 IV, principais sinais: 3343 e 3219 (NH), 1547 (C=N) cm^{-1} .

6.2.2.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.28 (s, 3H, CH_3), 3.04 (d, 3H, N- CH_3 , acoplamento com o N-H), 7.63 (d, 1H, Ar), 7.88 (dd, 1H, Ar), 8.23 (d, 1H, Ar), 8.61 (d largo, 1H, CH_3 -NH), 10.33 (s, 1H, NH).

6.2.2.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 13.8 (CH_3), 31.1 (N- CH_3), 126.7 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 130.2 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.5 (3CIC, Ar), 138.3 (4CIC, Ar), 145.0 (C=N), 178.6 (C=S).

6.2.2.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{10}H_{12}Cl_2N_3S$ $[M+H]^+$: 276.01; encontrado 275.9475.

6.2.3 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno]-*N*-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-3; GT-02)



6.2.3.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.1.2**: 1.06 mmol (0.2 g) da 3',4'-dicloroacetofenona, 1.06 mmol (0.177 g) de 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 5 mL de etanol e 5 gotas de ácido clorídrico. O produto foi recristalizado em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 200-202 °C; Rend.: 0.32 g (89%); R_f = 0.73 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.3.2 Análise elementar para $C_{15}H_{13}Cl_2N_3S$: Teórico: C, 53.26; H, 3.87; N, 12.42; S, 9.48. Calculado: C, 53.23; H, 3.84; N, 12.31; S, 9.32.

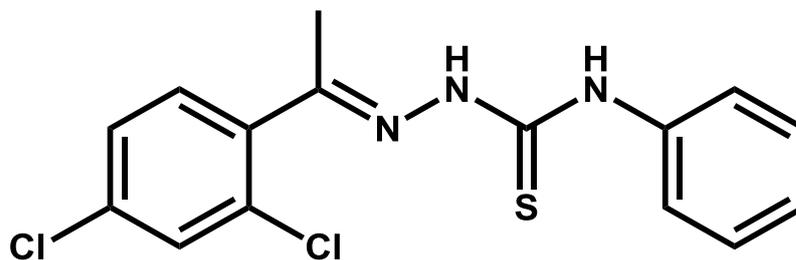
6.2.3.3 IV, principais sinais: 3309 e 3239 (NH), 3046 (C-H), 1523 (C=N) cm^{-1} .

6.2.3.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH₃), 7.23 (t, 1H, Ar), 7.38 (t, 2H, Ar), 7.51 (d, 2H, Ar), 7.64 (d, 1H, Ar), 7.97 (dd, 1H, Ar), 8.34 (d, 1H, Ar), 10.18 (s, 1H, NH), 10.66 (s, 1H, ArNH).

6.2.3.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.2 (CH₃), 125.6 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 130.2 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.8 (3CIC, Ar), 138.1 (4CIC, Ar), 139.2 (C-N, Ar), 146.3 (C=N), 177.3 (C=S).

6.2.3.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{15}H_{14}Cl_2N_3S$ $[M+H]^+$: 338.03; encontrado 337.9678.

6.2.4 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno]-N-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-4; SV-03)



6.2.4.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.1.2**: 10.58 mmol (2 g) da 2',4'-dicloroacetofenona, 10.58 mmol (1.769 g) de 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 20 mL de etanol e 7 gotas de ácido clorídrico. O produto foi recristalizado em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 119-121 °C; Rend.: 2.88 g (84%); $R_f = 0.75$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.4.2 Análise elementar para $C_{15}H_{13}Cl_2N_3S$: Teórico: C, 53.26; H, 3.87; N, 12.42; S, 9.48. Calculado: C, 53.22; H, 3.80; N, 12.21; S, 9.37.

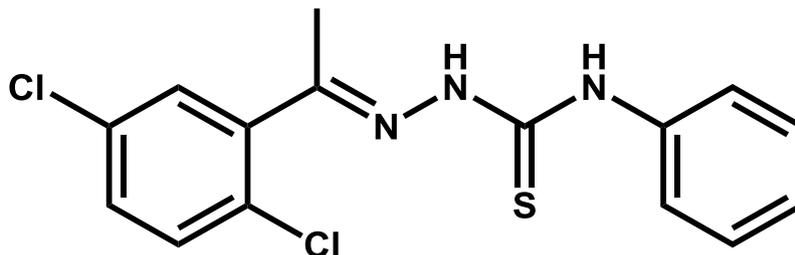
6.2.4.3 IV, principais sinais: 3300 e 3250 (NH), 1551 (C=N) cm^{-1} .

6.2.4.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 7.17 (t, 1H, J 8.0 Hz, Ar), 7.33 (t, 2H, J 8.0 Hz, Ar), 7.48 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.55 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.65 (d, 2H, J 8.0 Hz, Ar), 7.68 (s, 1H, Ar), 9.95 (s, 1H, NH), 10.78 (s, 1H, Ar-NH).

6.2.4.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 18.5 (CH_3), 125.1 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 129.2 (CH, Ar), 132.1 (CH, Ar), 132.3 (C, Ar), 133.9 (C, Ar), 137.3 (C, Ar), 138.8 (C-N, Ar), 148.2 (C=N), 177.1 (C=S).

6.2.4.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{15}H_{14}Cl_2N_3S$ $[M+H]^+$: 338.03; encontrado 338.129.

6.2.5 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno]-*N*-fenilhidrazina-1-carbotioamida (Int-5; SV-02)



6.2.5.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.1.2**: 10.58 mmol (2 g) da 2',5'-dicloroacetofenona, 10.58 mmol (1.769 g) de 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 20 mL de etanol e 7 gotas de ácido clorídrico. O produto foi recristalizado em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 104-106 °C; Rend.: 1.71 g (61%); $R_f = 0.71$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.5.2 Análise elementar para $C_{15}H_{13}Cl_2N_3S$: Teórico: C, 53.26; H, 3.87; N, 12.42; S, 9.48. Calculado: C, 53.29; H, 3.54; N, 12.55; S, 9.70.

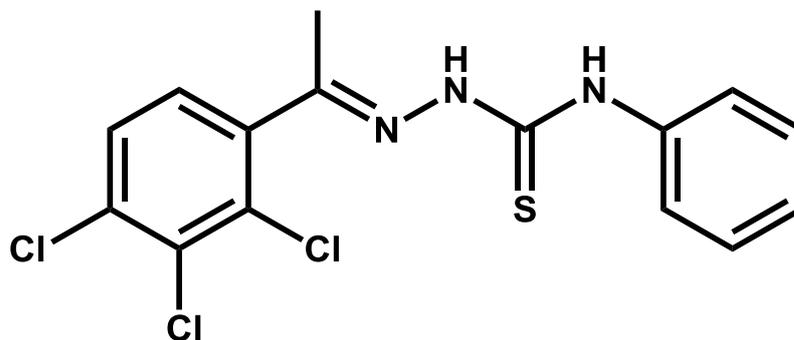
6.2.5.3 IV, principais sinais: 3316 e 3294 (NH), 1523 (C=N) cm^{-1} .

6.2.5.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 7.18 (t, 1H, J 7.6 Hz, Ar), 7.34 (t, 2H, J 7.6 Hz, Ar), 7.49 (dd, 1H, J 8.4 and 2.4 Hz, Ar), 7.54 (d, 2H, J 7.6 Hz, Ar), 7.55 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.71 (d, 1H, J 2.4 Hz, Ar), 10.01 (s, 1H, NH), 10.76 (s, 1H, ArNH).

6.2.5.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 18.5 (CH_3), 125.3 (CH, Ar), 125.5 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 129.9 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 130.3 (CH, Ar), 131.3 (C, Ar), 131.8 (C, Ar), 138.9 (C, Ar), 140.0 (C-N, Ar), 148.0 (C=N), 177.2 (C=S).

6.2.5.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{15}H_{14}Cl_2N_3S$ $[M+H]^+$: 338.03; encontrado 338.111.

6.2.6 N-fenil-2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno]-hidrazina-1-carbotioamida (Int-6; SV-01)



6.2.6.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.1.2**: 8.95 mmol (2 g) da 2',3',4'-tricloroacetofenona, 8.95 mmol (1.5 g) de 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 20 mL de etanol e 7 gotas de ácido clorídrico. O produto foi recristalizado em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 138-139 °C; Rend.: 2.68 g (80%); $R_f = 0.79$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.6.2 Análise elementar para $C_{15}H_{12}Cl_3N_3S$: Teórico: C, 48.34; H, 3.25; N, 11.27; S, 8.60. Calculado: C, 48.23; H, 3.34; N, 11.31; S, 9.01.

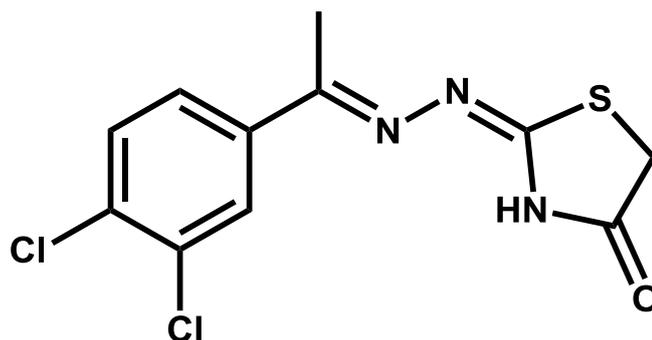
6.2.6.3 IV, principais sinais: 3368 e 3274 (NH), 1544 (C=N) cm^{-1} .

6.2.6.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 7.17 (t, 1H, J 7.6 Hz, Ar), 7.33 (t, 2H, J 7.6 Hz, Ar), 7.54 (d, 2H, J 7.6 Hz, Ar), 7.60 (d, 1H, J 8.0 Hz, Ar), 7.70 (d, 1H, J 8.0 Hz, Ar), 9.96 (s, 1H, NH), 10.82 (s, 1H, ArNH).

6.2.6.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 18.5 (CH_3), 125.2 (CH, Ar), 125.3 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 132.9 (C, Ar), 138.8 (C, Ar), 139.6 (C, Ar), 145.1 (C-N, Ar), 148.0 (C=N), 177.2 (C=S).

6.2.6.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{15}H_{13}Cl_3N_3S$ $[M+H]^+$: 371.9896; encontrado 372.007.

6.2.7 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidina-4-ona (Int-7; GT-04)



6.2.7.1 Sob agitação magnética: em um balão de 100 mL, foram adicionados 3.81 mmol (1.0 g) do composto (**GT-01**), 30 mL de etanol e 15.24 mmol (1.25 g) de acetato de sódio anidro. Após aquecimento por cerca de 15 minutos, foram adicionados 5.73 mmol (0.8 g) de bromoacetato de etila e a reação foi então mantida sob refluxo (90 °C) durante 20 horas (monitorada por CCD). Após esse tempo, o precipitado formado foi separado em funil de Büchner com filtro sinterizado, lavado com etanol resfriado e depois transferido para o dessecador sob vácuo. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 234-236 °C; Rend.: 0.75 g (65%); R_f: 0.53 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.7.2 Análise elementar para C₁₁H₉Cl₂N₃OS: Teórico: C, 43.72; H, 3.00; N, 13.91; S, 10.61. Calculado: C, 44.00; H, 3.20; N, 13.47; S, 10.11.

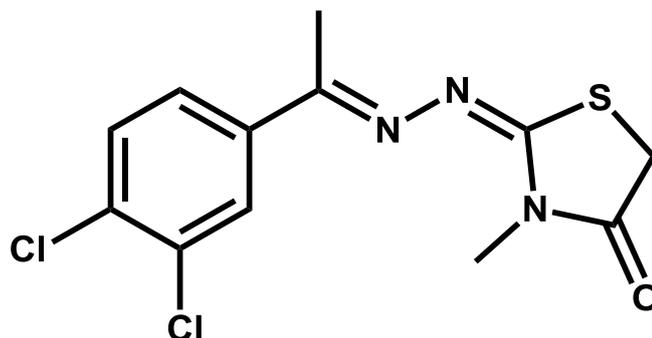
6.2.7.3 IV, principais sinais: 3143 (NH), 2985 (C-H), 1715 (C=O), 1628 (C=N) cm⁻¹.

6.2.7.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.36 (s, 3H, CH₃), 3.89 (s, 2H, S-CH₂), 7.69 (d, 1H, Ar), 7.80 (d, 1H, Ar), 8.00 (s, 1H, Ar), 12.06 (s, 1H, NH).

6.2.7.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.8 (CH₃), 33.3 (CH₂, heterociclo), 126.8 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 131.0 (CH, Ar), 131.8 (C, Ar), 132.7 (3CIC, Ar), 138.7 (4CIC, Ar), 158.6 (C=N), 166.0 (S-C=N), 174.3 (C=O).

6.2.7.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₁H₁₀Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 301.99; encontrado 301.9364.

6.2.8 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-metiltiazolidin-4-ona (Int-8; GT-06)



6.2.8.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 3.62 mmol (1.0 g) do composto (**GT-03**), 40 mL de etanol, 14.48 mmol (1.187 g) de acetato de sódio e 5.43 mmol (0.754 g) de bromoacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 197 °C; Rend.: 0.70 g (61%); R_f : 0.73 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.8.2 Análise elementar para $C_{12}H_{11}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 45.58; H, 3.51; N, 13.29; S, 10.14. Calculado: C, 45.48; H, 3.33; N, 13.18; S, 9.90.

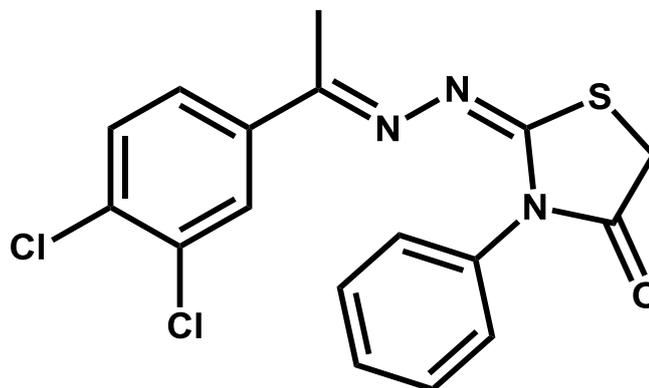
6.2.8.3 IV, principais sinais: 2942 (C-H), 1717 (C=O), 1613 e 1570 (C=N) cm^{-1} .

6.2.8.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.43 (s, 3H, CH_3), 3.20 (s, 3H, N- CH_3), 3.95 (s, CH_2 heterociclo), 7.72 (d, 1H, Ar), 7.83 (dd, 1H, Ar), 8.03 (d, 1H, Ar).

6.2.8.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 14.2 (CH_3), 29.2 (N- CH_3), 32.0 (CH_2 heterociclo), 126.3 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 130.5 (CH, Ar), 131.2 (C, Ar), 132.3 (3CIC, Ar), 138.1 (4CIC, Ar), 159.4 (C=N), 164.5 (S-C=N), 172.0 (C=O).

6.2.8.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{12}H_{12}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 316.01; encontrado 315.9498.

6.2.9 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (Int-9; GT-05)



6.2.9.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.96 mmol (1.0 g) do composto (**GT-02**), 80 mL de etanol, 11.84 mmol (0.970 g) de acetato de sódio e 4.44 mmol (0.616 g) de bromoacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 232-233 °C; Rend.:0.8 g (71%); R_f: 0.79 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.9.2 Análise elementar para C₁₇H₁₃Cl₂N₃OS: Teórico: C, 53.98; H, 3.46; N, 11.11; S, 8.48. Calculado: C, 53.68; H, 3.42; N, 10.89; S, 7.94.

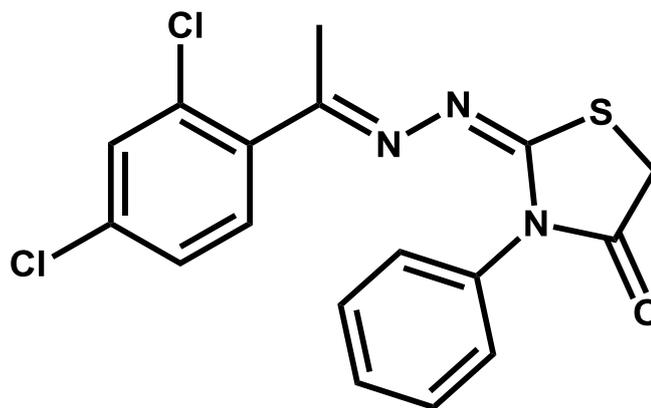
6.2.9.3 IV, principais sinais: 2970 (C-H), 1728 (C=O), 1606 e 1562 (C=N) cm⁻¹.

6.2.9.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.16 (s, 3H, CH₃), 4.10 (s, 2H, CH₂ heterociclo), 7.41 (d, 2H, Ar), 7.45 (t, 1H, Ar), 7.53 (t, 1H, Ar), 7.70 (d, 1H, Ar), 7.79 (d, 1H, Ar), 7.99 (s, 1H, Ar).

6.2.9.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.3 (CH₃), 32.2 (CH₂), 126.3 (CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 130.5 (CH, Ar), 134.9 (C, Ar), 136.8 (C, Ar), 163.0 (C=N), 171.6 (S-C=N), 198.6 (C=O).

6.2.9.6 EMAR (ESI):Calculado para C₁₇H₁₄Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 378.0235; encontrado 377.9950.

6.2.10 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26a; SV-03A)



6.2.10.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.95 mmol (1.0 g) do composto (**SV-03**), 30 mL de etanol, 11.8 mmol (0.967 g) de acetato de sódio e 5.9 mmol (0.820 g) de bromoacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 114-116 °C; Rend.: 0.93 g (84%); R_f: 0.77 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.10.2 Análise elementar para C₁₇H₁₃Cl₂N₃OS: Teórico: C, 53.98; H, 3.46; N, 11.11; S, 8.48. Calculado: C, 53.86; H, 3.24; N, 10.98; S, 8.49.

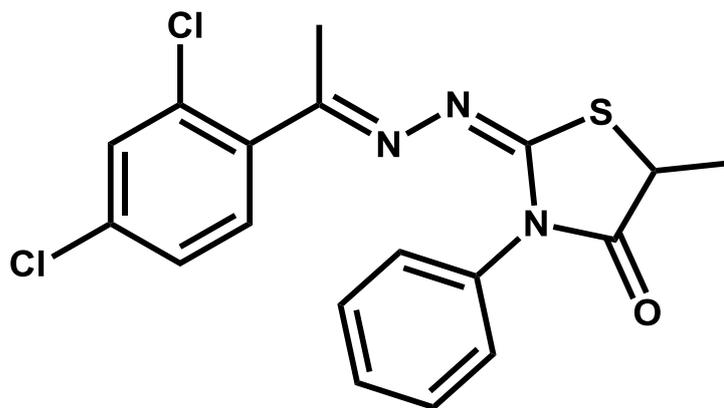
6.2.10.3 IV, principais sinais: 2977 (C-H), 1738 (C=O), 1617 e 1565 (C=N) cm⁻¹.

6.2.10.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.12 (s, 3H, CH₃), 4.06 (s, 2H, CH₂ heterociclo), 7.44-7.60 (m, 8H, Ar).

6.2.10.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.1 (CH₃), 32.1 (CH₂), 126.3 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 129.3 (C, Ar), 131.4 (C, Ar), 164.0 (C=N), 171.9 (S-C=N), 205.9 (C=O).

6.2.10.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₇H₁₄Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 378.0235; encontrado 380.024.

6.2.11 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26b; SV-03B)



6.2.11.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.95 mmol (1.0 g) do composto (**SV-03**), 30 mL de etanol, 11.8 mmol (0.967 g) de acetato de sódio e 5.9 mmol (0.985 g) de 2-bromopropionato de metila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano \ tolueno 3:1 a quente.

Cristais incolores; PF: 125 °C; Rend.: 0.80 g (70%); R_f : 0.80 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.11.2 Análise elementar para $C_{18}H_{15}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 55.11; H, 3.85; N, 10.71; S, 8.17. Calculado: C, 55.38; H, 3.78; N, 10.67; S, 8.10.

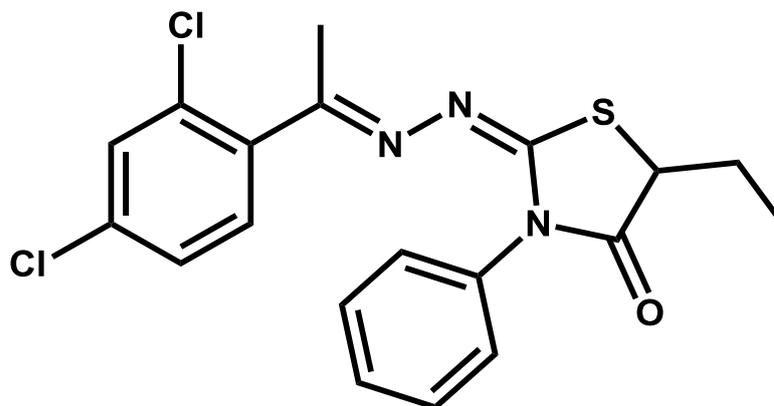
6.2.11.3 IV, principais sinais: 1722 (C=O), 1609 e 1571 (C=N) cm^{-1} .

6.2.11.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.60 (d, 3H, J 7.2 Hz, CH_3), 2.08 (s, 3H, CH_3), 4.39 (q, 1H, J 7.2 Hz, CH heterociclo), 7.40-7.55 (m, 7H, Ar), 7.68 (s, 1H, Ar).

6.2.11.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 18.5 (CH_3), 18.7 (CH_3), 41.3 (CH heterociclo), 127.4 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 131.3 (CH, Ar), 134.0 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 137.2 (C, Ar), 162.4 (C=N), 162.6 (S-C=N), 174.8 (C=O).

6.2.11.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{18}H_{16}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 392.0391; encontrado 392.008.

6.2.12 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26c; SV-03C)



6.2.12.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.95 mmol (1.0 g) do composto (**SV-03**), 30 mL de etanol, 11.8 mmol (0.967 g) de acetato de sódio e 5.9 mmol (0.985 g) de 2-bromobutanoato de etila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 116 °C; Rend.: 0.51 g (43%); R_f : 0.84 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.12.2 Análise elementar para $C_{19}H_{17}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 56.16; H, 4.22; N, 10.34; S, 7.89. Calculado: C, 56.48; H, 4.41; N, 10.13; S, 7.72.

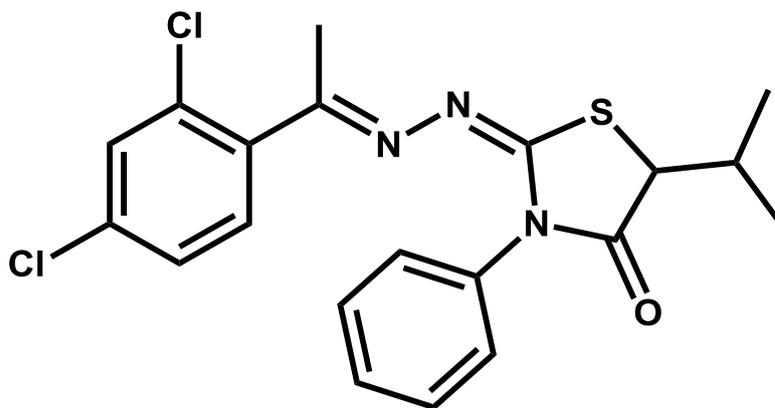
6.2.12.3 IV, principais sinais: 1718 (C=O), 1610 e 1570 (C=N) cm^{-1} .

6.2.12.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.01 (t, 3H, J 7.8 Hz, CH_3), 1.95 (m, 1H, CH_2), 2.07 (m, 1H, CH_2), 2.09 (s, 3H, CH_3), 4.41 (dd, 1H, J 7.8 Hz, CH heterociclo), 7.40-7.55 (m, 7H, Ar), 7.68 (s, 1H, Ar).

6.2.12.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 10.2 (CH_3), 18.5 (CH_3), 25.6 (CH_2), 48.2 (CH heterociclo), 127.4 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 131.3 (CH, Ar), 131.9 (C, Ar), 134.1 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 137.2 (C, Ar), 162.4 (C=N), 162.6 (S-C=N), 173.9 (C=O).

6.2.12.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{19}H_{18}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 406.0548; encontrado 405.954.

6.2.13 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26d; SV-03D)



6.2.13.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.36 mmol (0.8 g) do composto (**SV-03**), 25 mL de etanol, 9.44 mmol (0.744 g) de acetato de sódio e 4.72 mmol (0.854 g) de ácido 2-bromo-3-metilbutílico. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 124 °C; Rend.: 0.37 g (37%); R_f : 0.89 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.13.2 Análise elementar para $C_{20}H_{19}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 57.15; H, 4.56; N, 10.00; S, 7.63. Calculado: C, 56.95; H, 4.12; N, 10.02; S, 7.80.

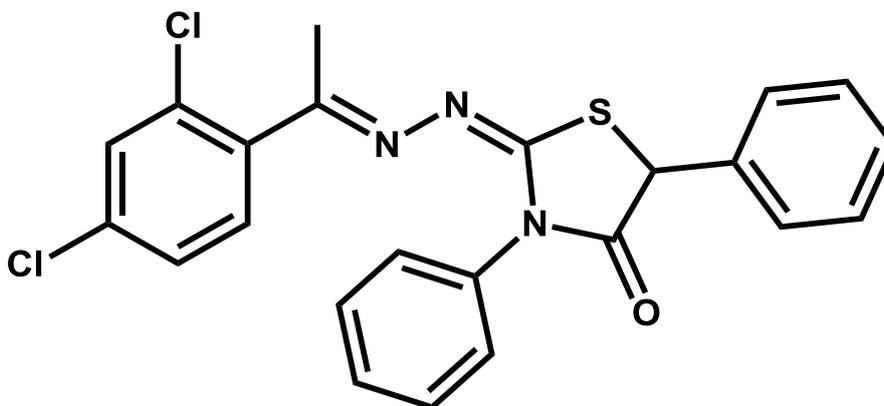
6.2.13.3 IV, principais sinais: 2974 (C-H), 1729 (C=O), 1608 e 1573 (C=N) cm^{-1} .

6.2.13.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 0.96 (d, 3H, J 7.2 Hz, CH_3), 1.02 (d, 3H, J 7.2 Hz, CH_3), 2.08 (s, 3H, CH_3), 2.42-2.47 (m, 1H, CH), 4.50 (d, 1H, J 4.2 Hz, CH heterociclo), 7.30-7.56 (m, 7H, Ar), 7.68 (s, 1H, Ar).

6.2.13.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 16.5 (CH_3), 18.6 (CH_3), 20.1 (CH_3), 30.4 (CH), 53.7 (CH heterociclo), 127.3 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 128.2 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 129.2 (CH, Ar), 131.4 (C, Ar), 134.8 (C, Ar), 137.1 (C, Ar), 162.6 (C=N), 162.8 (S-C=N), 173.4 (C=O).

6.2.13.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{20}H_{20}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 420.0704; encontrado 419.930.

6.2.14 2-[1-(2,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,5-difeniltiazolidin-4-ona (26e; SV-03E)



6.2.14.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.53 mmol (0.5 g) do composto (**SV-03**), 30 mL de etanol, 6.13 mmol (0.502 g) de acetato de sódio e 3.06 mmol (0.575 g) de 2-cloro-2-fenilacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 128-130 °C; Rend.: 0.43 g (62%); R_f: 0.9 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.14.2 Análise elementar para C₂₃H₁₇Cl₂N₃OS: Teórico: C, 60.80; H, 3.77; N, 9.25; S, 7.06. Calculado: C, 60.68; H, 3.38; N, 9.09; S, 7.24.

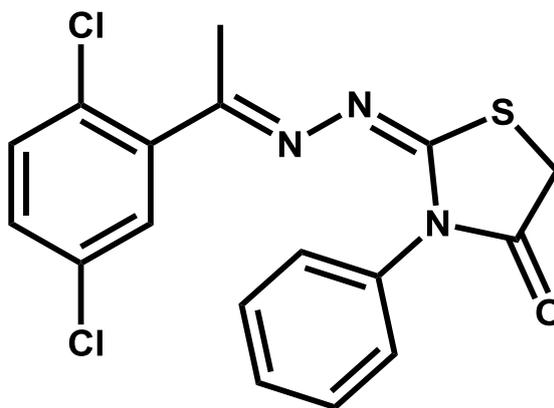
6.2.14.3 IV, principais sinais: 3065 (C-H), 1717 (C=O), 1615 e 1577 (C=N) cm⁻¹.

6.2.14.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.25 (s, 3H, CH₃), 5.55 (s, 1H, CH heterociclo), 7.17-7.58 (m, 13H, Ar).

6.2.14.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.9 (CH₃), 51.4 (CH heterociclo), 127.5 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.2 (CH, Ar), 129.4 (CH, Ar), 129.7 (CH, Ar), 130.2 (CH, Ar), 132.3 (C, Ar), 133.4 (C, Ar), 135.5 (C, Ar), 135.8 (C, Ar), 136.4 (C, Ar), 137.8 (C, Ar), 164.0 (C=N), 173.3 (S-C=N), 206.2 (C=O).

6.2.14.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₃H₁₈Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 454.0548; encontrado 453.745.

6.2.15 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26f; SV-02A)



6.2.15.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.95 mmol (1.0 g) do composto (**SV-02**), 30 mL de etanol, 11.8 mmol (0.967 g) de acetato de sódio e 5.9 mmol (0.820 g) de bromoacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 110 °C; Rend.: 0.85 g (76%); R_f : 0.75 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.15.2 Análise elementar para $C_{17}H_{13}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 53.98; H, 3.46; N, 11.11; S, 8.48. Calculado: C, 53.99; H, 3.34; N, 11.13; S, 8.54.

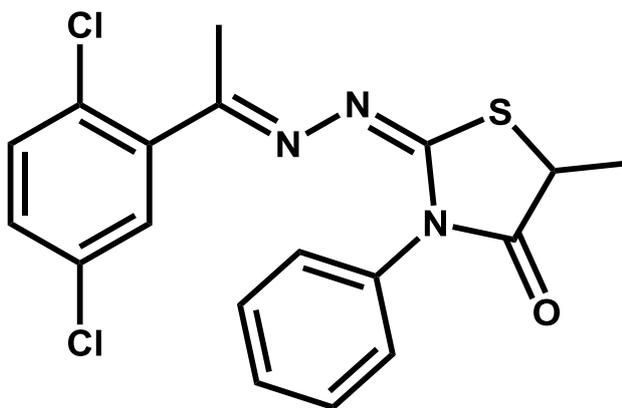
6.2.15.3 IV, principais sinais: 2975 (C-H), 1740 (C=O), 1619 e 1563 (C=N) cm^{-1} .

6.2.15.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.09 (s, 3H, CH_3), 4.08 (s, 2H, CH_2 heterociclo), 7.40-7.57 (m, 8H, Ar).

6.2.15.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 18.4 (CH_3), 32.3 (CH_2 heterociclo), 128.0 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.5 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.7 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 139.8 (C, Ar), 162.2 (C=N), 164.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.15.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{17}H_{14}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 378.0235; encontrado 378.000.

6.2.16 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26g; SV-02B)



6.2.16.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.53 mmol (0.5 g) do composto (**SV-02**), 30 mL de etanol, 6.13 mmol (0.503 g) de acetato de sódio e 3.06 mmol (0.512 g) de 2-bromopropionato de metila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano \ tolueno 3:1 a quente.

Cristais incolores; PF: 132-135 °C; Rend.: 0.40 g (67%); R_f: 0.78 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.16.2 Análise elementar para C₁₈H₁₅Cl₂N₃OS: Teórico: C, 55.11; H, 3.85; N, 10.71; S, 8.17. Calculado: C, 55.38; H, 3.50; N, 10.81; S, 8.24.

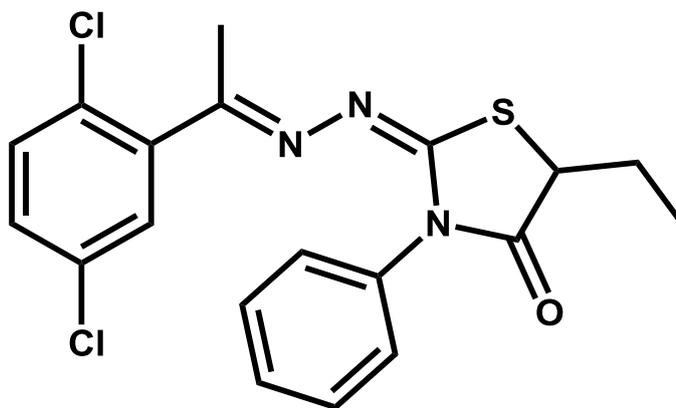
6.2.16.3 IV, principais sinais: 1717 (C=O), 1629 e 1558 (C=N) cm⁻¹.

6.2.16.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.60 (d, 3H, *J* 6.8 Hz, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 4.39 (q, 1H, *J* 6.8 Hz, CH heterociclo), 7.10-7.55 (m, 8H, Ar).

6.2.16.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.8 (CH₃), 23.1 (CH₃), 41.3 (CH heterociclo), 127.3 (CH, Ar), 127.8 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 130.2 (C, Ar), 131.5 (C, Ar), 134.4 (C, Ar), 139.5 (C, Ar), 161.0 (C=N), 162.2 (S-C=N), 174.5 (C=O).

6.2.16.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₆Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 392.0391; encontrado 391.979.

6.2.17 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26h; SV-02C)



6.2.17.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.53 mmol (0.5 g) do composto (**SV-02**), 50 mL de etanol, 6.13 mmol (0.502 g) de acetato de sódio e 3.06 mmol (0.554 g) de 2-bromobutanoato de etila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 153-155 °C; Rend.: 0.30 g (48%); R_f: 0.81 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.17.2 Análise elementar para C₁₉H₁₇Cl₂N₃OS: Teórico: C, 56.16; H, 4.22; N, 10.34; S, 7.89. Calculado: C, 56.03; H, 4.56; N, 10.57; S, 8.00.

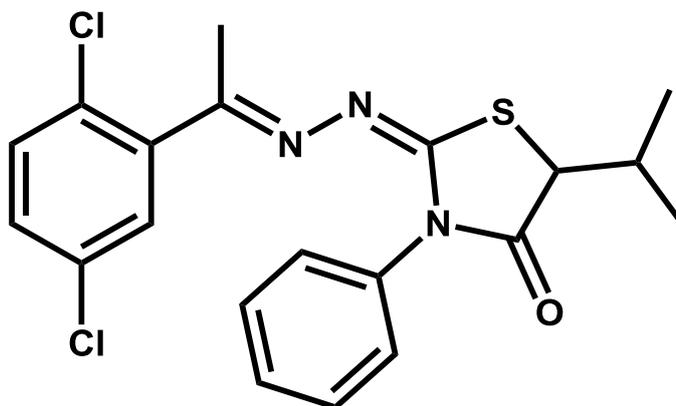
6.2.17.3 IV, principais sinais: 1727 (C=O), 1616 e 1580 (C=N) cm⁻¹.

6.2.17.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.00 (t, 3H, *J* 7.6 Hz, CH₃), 1.93 (sex, 1H, *J* 7.6 Hz, CH₂), 2.06 (sex, 1H, *J* 7.6 Hz, CH₂), 2.08 (s, 3H, CH₃), 4.42 (dd, 1H, *J* 7.6 Hz, CH heterociclo), 7.38-7.55 (m, 8H, Ar).

6.2.17.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.2 (CH₃), 18.4 (CH₃), 25.6 (CH₂), 48.2 (CH heterociclo), 127.9 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.5 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.7 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 139.8 (C, Ar), 162.4 (C=N), 162.9 (S-C=N), 173.9 (C=O).

6.2.17.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₉H₁₈Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 406.0548; encontrado 406.000.

6.2.18 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26i; SV-02D)



6.2.18.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 2.95 mmol (1.0 g) do composto (**SV-02**), 30 mL de etanol, 11.8 mmol (0.967 g) de acetato de sódio e 5.9 mmol (1.068 g) de ácido 2-bromo-3-metilbutílico. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 205-207 °C; Rend.: 0.56 g (46%); R_f: 0.88 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.18.2 Análise elementar para C₂₀H₁₉Cl₂N₃OS: Teórico: C, 57.15; H, 4.56; N, 10.00; S, 7.63. Calculado: C, 57.31; H, 4.34; N, 9.99; S, 7.39.

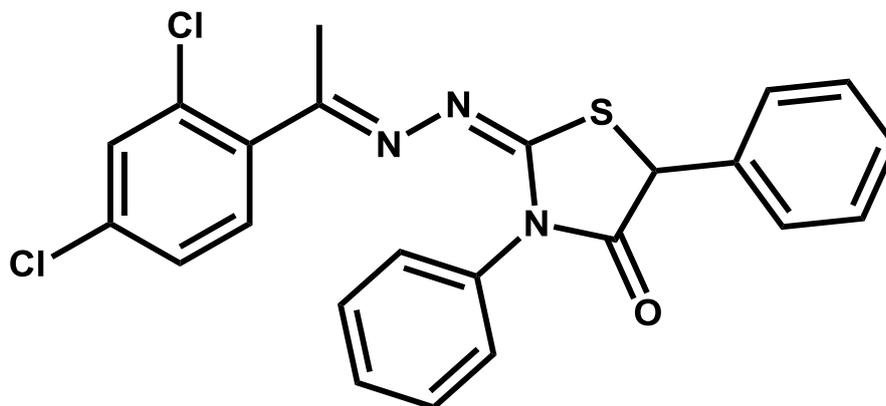
6.2.18.3 IV, principais sinais: 2977 (C-H), 1729 (C=O), 1618 e 1577 (C=N) cm⁻¹.

6.2.18.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 0.97 (d, 3H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 1.03 (d, 3H, *J* 6.9 Hz, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.42-2.48 (m, 1H, CH), 4.51 (d, 1H, *J* 3.3 Hz, CH heterociclo), 7.36-7.54 (m, 8H, Ar).

6.2.18.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 16.5 (CH₃), 18.4 (CH₃), 20.0 (CH₃), 30.4 (CH), 53.7 (CH heterociclo), 127.9 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 129.5 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 131.5 (C, Ar), 131.7 (C, Ar), 134.8 (C, Ar), 139.8 (C, Ar), 162.6 (C=N), 162.9 (S-C=N), 173.4 (C=O).

6.2.18.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₀H₂₀Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 420.0704; encontrado 419.925.

6.2.19 2-[1-(2,5-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,5-difeniltiazolidin-4-ona (26j; SV-02E)



6.2.19.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.53 mmol (0.5 g) do composto (**SV-02**), 30 mL de etanol, 6.13 mmol (0.502 g) de acetato de sódio e 3.06 mmol (0.575 g) de 2-cloro-2-fenilacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 197-199 °C; Rend.: 0.39 g (56%); R_f: 0.83 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.19.2 Análise elementar para C₂₃H₁₇Cl₂N₃OS: Teórico: C, 60.80; H, 3.77; N, 9.25; S, 7.06. Calculado: C, 60.76; H, 3.79; N, 8.95; S, 7.08.

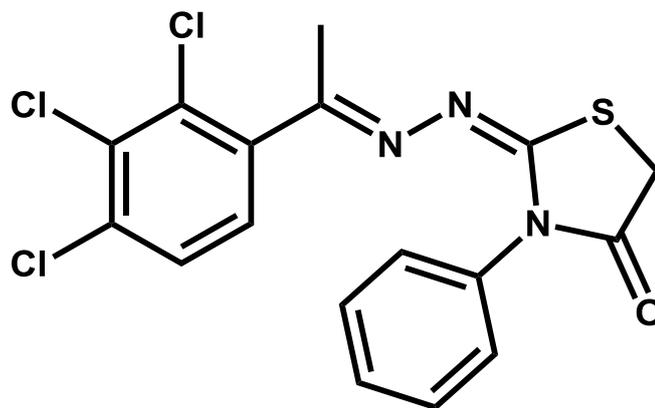
6.2.19.3 IV, principais sinais: 3067 (C-H), 1717 (C=O), 1615 e 1568 (C=N) cm⁻¹.

6.2.19.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.13 (s, 3H, CH₃), 5.67 (s, 1H, CH heterociclo), 7.35-7.70 (m, 13H, Ar).

6.2.19.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.6 (CH₃), 50.2 (CH heterociclo), 128.1 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.81 (CH, Ar), 128.87 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.03 (CH, Ar), 129.06 (CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 131.0 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 136.5 (C, Ar), 139.1 (C, Ar), 162.7 (C=N), 162.9 (S-C=N), 172.6 (C=O).

6.2.19.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₃H₁₈Cl₂N₃OS [M-H]⁺: 452.0391; encontrado 451.823.

6.2.20 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (26k; SV-01A)



6.2.20.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.37 mmol (0.5 g) do composto (**SV-01**), 30 mL de etanol, 5.51 mmol (0.453 g) de acetato de sódio e 2.75 mmol (0.383 g) de bromoacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 209-211 °C; Rend.: 0.40 g (71%); R_f: 0.72 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.20.2 Análise elementar para C₁₇H₁₂Cl₃N₃OS: Teórico: C, 49.47; H, 2.93; N, 10.18; S, 7.77. Calculado: C, 49.63; H, 3.11; N, 10.19; S, 7.48.

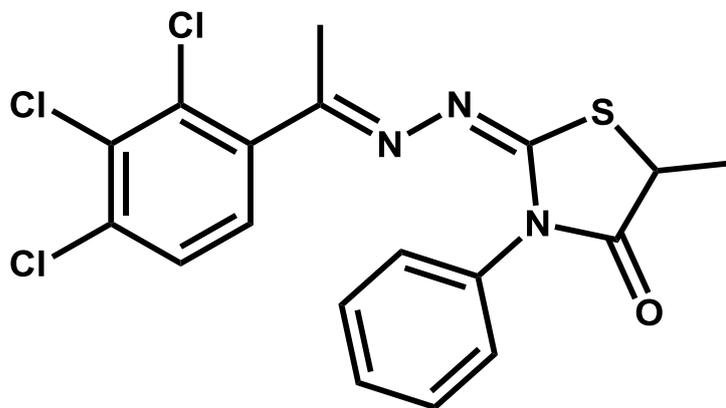
6.2.20.3 IV, principais sinais: 2978 (C-H), 1757 (C=O), 1617 e 1573 (C=N) cm⁻¹.

6.2.20.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.08 (s, 3H, CH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂ heterociclo), 7.37-7.73 (m, 7H, Ar).

6.2.20.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.5 (CH₃), 32.3 (CH₂ heterociclo), 128.0 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 131.0 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 139.2 (C, Ar), 162.3 (C=N), 164.5 (S-C=N), 171.8 (C=O).

6.2.20.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₇H₁₃Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 411.9845; encontrado 411.941.

6.2.21 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-metil-3-feniltiazolidin-4-ona (26I; SV-01B)



6.2.21.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.37 mmol (0.5 g) do composto (**SV-01**), 30 mL de etanol, 5.51 mmol (0.453 g) de acetato de sódio e 2.75 mmol (0.461 g) de 2-bromopropionato de metila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano \ tolueno 3:1 a quente.

Cristais incolores; PF: 142-143 °C; Rend.: 0.40 g (68%); R_f: 0.77 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.21.2 Análise elementar para C₁₈H₁₄Cl₃N₃OS: Teórico: C, 50.66; H, 3.31; N, 9.85; S, 7.51. Calculado: C, 50.68; H, 3.49; N, 9.96; S, 7.78.

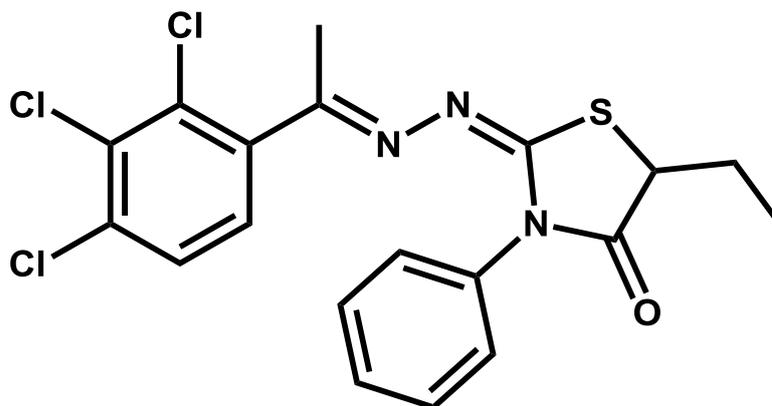
6.2.21.3 IV, principais sinais: 1717 (C=O), 1629 e 1558 (C=N) cm⁻¹.

6.2.21.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.58 (d, 3H, *J* 7.2 Hz, CH₃), 2.07 (s, 3H, CH₃), 4.39 (q, 1H, *J* 6.9 Hz, CH heterociclo), 7.39 (d, 1H, *J* 8.1 Hz, Ar), 7.40-7.54 (m, 5H, Ar), 7.71 (d, 1H, *J* 8.7 Hz, Ar).

6.2.21.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 18.5 (CH₃), 18.7 (CH₃), 41.4 (CH heterociclo), 128.0 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.1 (CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 131.0 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 139.2 (C, Ar), 162.4 (C=N), 163.1 (S-C=N), 174.8 (C=O).

6.2.21.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₅Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 426.0001; encontrado 425.854.

6.2.22 2-[1-(2,3,4-triclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-etil-3-feniltiazolidin-4-ona (26m; SV-01C)



6.2.22.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.53 mmol (0.5 g) do composto (**SV-01**), 50 mL de etanol, 5.51 mmol (0.453 g) de acetato de sódio e 2.75 mmol (0.497 g) de 2-bromobutanoato de etila. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 110-112 °C; Rend.: 0.39 g (65%); R_f: 0.79 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.22.2 Análise elementar para C₁₉H₁₆Cl₃N₃OS: Teórico: C, 51.78; H, 3.66; N, 9.53; S, 7.27. Calculado: C, 52.00; H, 3.71; N, 9.20; S, 7.33.

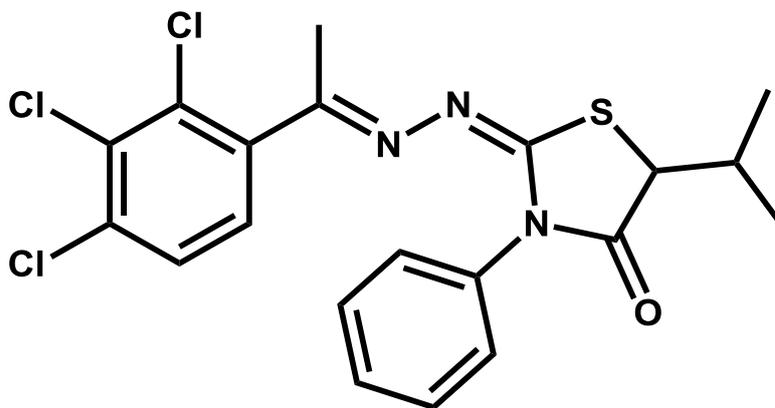
6.2.22.3 IV, principais sinais: 1730 (C=O), 1620 e 1577 (C=N) cm⁻¹.

6.2.22.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.00 (t, 3H, *J* 7.8 Hz, CH₃), 1.93 (m, 1H, CH₂), 2.05 (m, 1H, CH₂), 2.08 (s, 3H, CH₃), 4.42 (dd, 1H, *J* 7.8 Hz, CH heterociclo), 7.38-7.73 (m, 7H, Ar).

6.2.22.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10.2 (CH₃), 18.5 (CH₃), 25.6 (CH₂), 48.2 (CH heterociclo), 128.0 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 130.7 (C, Ar), 131.0 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 134.9 (C, Ar), 139.2 (C, Ar), 162.6 (C=N), 163.1 (S-C=N), 173.9 (C=O).

6.2.22.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₉H₁₇Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 440.0158; encontrado 439.759.

6.2.23 2-[1-(2,3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-isopropil-3-feniltiazolidin-4-ona (26n; SV-01D)



6.2.23.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.37 mmol (0.5 g) do composto (**SV-01**), 50 mL de etanol, 5.51 mmol (0.453 g) de acetato de sódio e 2.75 mmol (0.497 g) de ácido 2-bromo-3-metilbutílico. O produto foi purificado por recristalização em ciclohexano a quente.

Cristais incolores; PF: 144 °C; Rend.: 0.36 g (58%); R_f : 0.86 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.23.2 Análise elementar para $C_{20}H_{18}Cl_3N_3OS$: Teórico: C, 52.82; H, 3.99; N, 9.24; S, 7.05. Calculado: C, 53.08; H, 4.31; N, 9.47; S, 7.12.

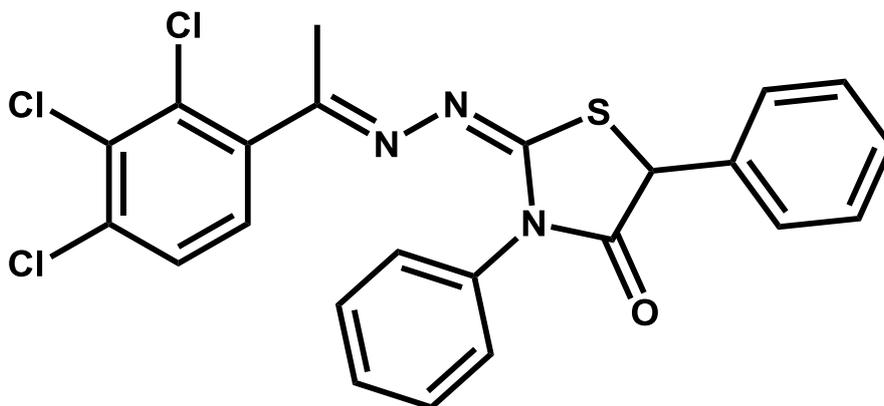
6.2.23.3 IV, principais sinais: 2981 (C-H), 1727 (C=O), 1616 e 1567 (C=N) cm^{-1} .

6.2.23.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 0.95 (d, 3H, J 6.9 Hz, CH_3), 1.02 (d, 3H, J 6.9 Hz, CH_3), 2.08 (s, 3H, CH_3), 2.47 (m, 1H, CH), 4.51 (d, 1H, J 3.3 Hz, CH heterociclo), 7.36-7.73 (m, 7H, Ar).

6.2.23.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 16.5 (CH_3), 18.5 (CH_3), 20.1 (CH_3), 30.3 (CH), 53.8 (CH heterociclo), 127.9 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 131.0 (C, Ar), 133.1 (C, Ar), 134.7 (C, Ar), 139.2 (C, Ar), 162.8 (C=N), 163.0 (S-C=N), 173.5 (C=O).

6.2.23.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{20}H_{19}Cl_3N_3OS$ $[M+H]^+$: 454.0314; encontrado 454.0320.

6.2.24 2-[1-(2,3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3,5-difeniltiazolidin-4-ona (26o; SV-01E)



6.2.24.1 Procedimento experimental semelhante ao descrito no item **6.2.7.1**: 1.37 mmol (0.5 g) do composto (**SV-01**), 50 mL de etanol, 5.51 mmol (0.453 g) de acetato de sódio e 2.75 mmol (0.517 g) de 2-cloro-2-fenilacetato de etila. O produto foi purificado por recristalização em tolueno a quente.

Cristais incolores; PF: 211-213 °C; Rend.: 0.42 g (62%); R_f: 0.81 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.24.2 Análise elementar para C₂₃H₁₆Cl₃N₃OS: Teórico: C, 56.52; H, 3.30; N, 8.60; S, 6.56. Calculado: C, 56.86; H, 3.03; N, 8.76; S, 6.66.

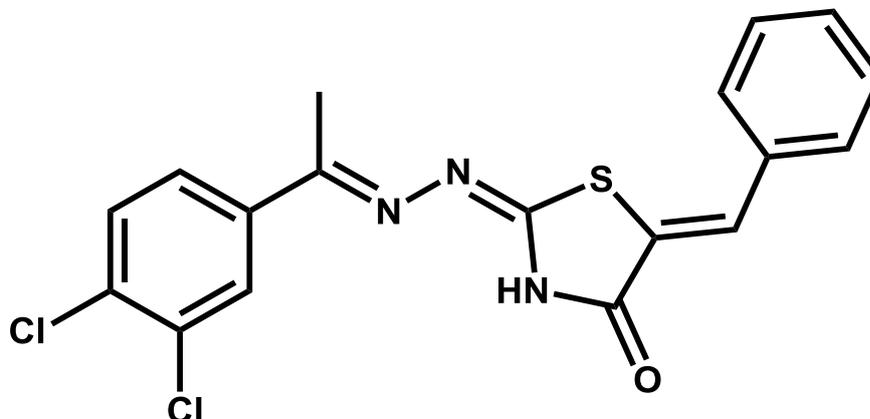
6.2.24.3 IV, principais sinais: 3083 (C-H), 1720 (C=O), 1617 e 1578 (C=N) cm⁻¹

6.2.24.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.13 (s, 3H, CH₃), 5.68 (s, 1H, CH heterociclo), 7.39-7.54 (m, 12H, Ar).

6.2.24.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-d₆): δ 18.0 (CH₃), 55.4 (CH heterociclo), 127.8 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 129.1 (CH, Ar), 129.4 (CH, Ar), 129.6 (CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 131.4 (C, Ar), 133.5 (C, Ar), 135.0 (C, Ar), 136.9 (C, Ar), 139.5 (C, Ar), 162.6 (C=N), 163.0 (S-C=N), 173.6 (C=O).

6.2.24.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₃H₁₇Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 488.0158; encontrado 488.0050.

6.2.25 5-(benzilideno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27a; BZ-03)



6.2.25.1 Sob agitação magnética: em um balão de 100 mL, foram adicionados 2.65 mmol (0.8 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol e 5 gotas de morfolina. Após aquecimento por cerca de 15 minutos, foram adicionados 5.3 mmol (0.562 g) de aldeído benzóico e a reação foi então mantida sob refluxo (90 °C) durante 4 horas (monitorada por CCD). Após a adição de todos os reagentes a reação adquiriu coloração amarelo ovo, e houve formação de um precipitado da mesma cor. O precipitado formado foi filtrado em funil sinterizado com etanol gelado. Posteriormente o produto foi purificado por recristalização etanol a quente.

Cristais amarelo ovo; PF: 196-198 °C; Rend.: 0.44 g (43%); R_f: 0.65 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.25.2 Análise elementar para C₁₈H₁₃Cl₂N₃OS: Teórico: C, 55.40; H, 3.36; N, 10.77; S, 8.21. Calculado: C, 55.15; H, 3.23; N, 10.41; S, 8.13.

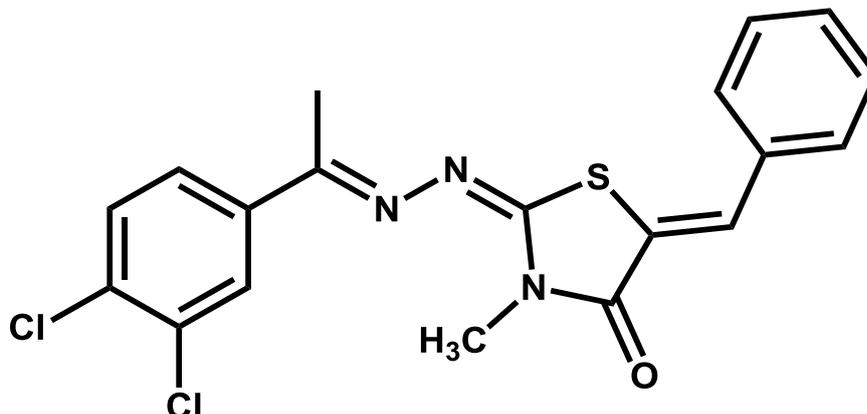
6.2.25.3 IV, principais sinais: 1706 (C=O), 1629 (C=N) e 1530 (C=C) cm⁻¹.

6.2.25.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 7.38 (t, 1H, *J* 7.2 Hz, Ar), 7.46 (s, 1H, CH exocíclico), 7.49 (t, 2H, *J* 7.2 Hz, Ar), 7.62 (d, 2H, *J* 7.2 Hz), 7.69 (d, 1H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.84 (d, 1H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.99 (s, 1H, Ar), 9.93 (s, 1H, NH).

6.2.25.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.6 (CH₃), 126.2 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 129.4 (CH, Ar), 130.5 (CH, Ar), 131.2 (C=CH, C5 heterocyclic), 131.8 (C, Ar), 132.6 (C=CH, CH exocíclico), 134.5 (3CIC, Ar), 138.6 (4CIC, Ar), 156.8 (C=N), 167.3 (S-C=N), 171.9 (C=O).

6.2.25.6 EMAR (ESI):Calculado para $C_{18}H_{12}Cl_2N_3OS$ $[M-H]^+$: 388,0078; encontrado 388.186.

6.2.26 **5-(benzylidene)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-metiltiazolidin-4-ona (27b; BZ-01)**



6.2.26.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 6.16 mmol (0.600 g) do aldeído benzóico, 25 mL de etanol, 3.16 mmol (1.0 g) do composto (**GT-06**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 193-195 °C; Rend.: 0.53 g (45%); R_f : 0.85 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.26.2 Análise elementar para $C_{19}H_{15}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 56.44; H, 3.74; N, 10.39; S, 7.93. Calculado: C, 56.50; H, 3.68; N, 10.34; S, 7.61.

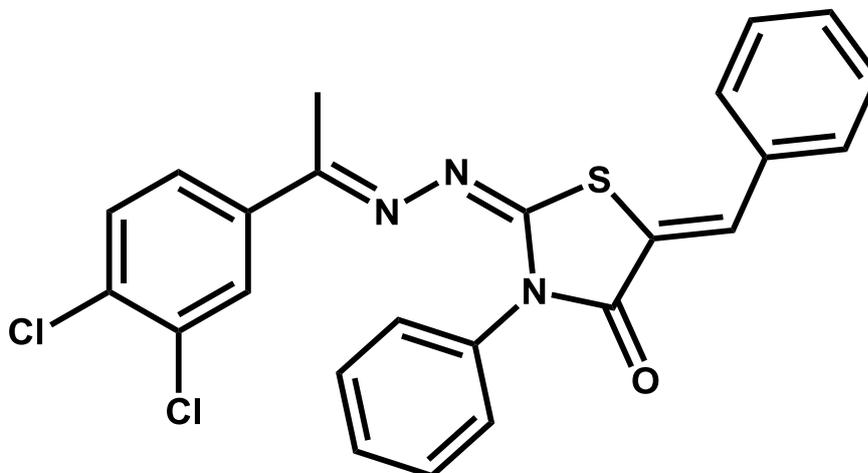
6.2.26.3 IV, principais sinais: 1710 (C=O), 1621 e 1605 (C=N), 1568 (C=C) cm^{-1} .

6.2.26.4 RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ 2.47 (s, 3H, CH_3), 3.47 (s, 3H, N- CH_3), 7.26-7.40 (m, 1H, Ar); 7.48 (s, 1H, CH exocíclico), 7.482-7.73 (m, 6H, Ar), 7.96 (s, 1H, Ar).

6.2.26.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, $CDCl_3$): δ 14.88 (CH_3), 29.93 (N- CH_3), 121.9 ($C=CH$, C5 heterociclo), 125.9 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar); 129.7 (CH, Ar); 130.0 (CH, Ar); 130.3 (CH, Ar); 130.9 ($C=CH$, CH exocíclico); 132.6 (C, Ar), 133.8 (C, Ar), 134.0 (3CIC, Ar), 137.8 (4CIC, Ar), 159.6 (C=N), 161.1 (S-C=N), 166.8 (C=O).

6.2.26.6 EMAR (ESI):Calculado para $C_{19}H_{16}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 404.0391; encontrado 403.006.

6.2.27 5-(benzilideno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-3-feniltiazolidin-4-ona (27c; BZ-02)



6.2.27.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 5.29 mmol (0.561 g) do aldeído benzóico, 25 mL de etanol, 2.645 mmol (1.0 g) do composto (**GT-05**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 225-227 °C; Rend.: 0.86 g (75%); $R_f = 0.87$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.27.2 Análise elementar para $C_{24}H_{17}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 61.81; H, 3.67; N, 9.01; S, 6.87. Calculado: C, 61.68; H, 3.42; N, 9.19; S, 6.94.

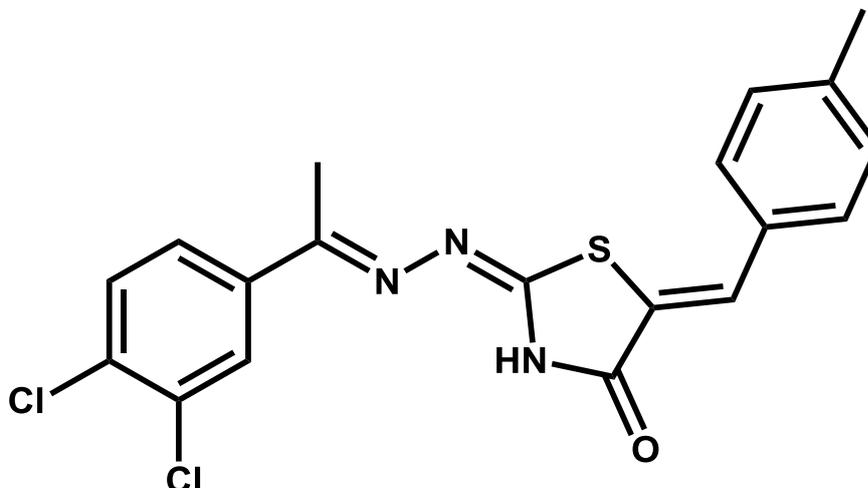
6.2.27.3 IV, principais sinais: 1727 (C=O), 1606 (C=N), 1562 (C=C) cm^{-1} .

6.2.27.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.11 (s, 3H, CH₃), 6.92-7.31 (m, 5H, Ar), 7.41 (s, 1H, CH exocíclico), 7.415-7.84 (m, 8H, Ar).

6.2.27.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 15.1 (CH₃), 121.6 (C=CH, C5 heterociclo), 125.8 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 128.5 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 129.1 (CH, Ar), 129.8 (CH, Ar), 130.1 (C=CH, CH exocíclico), 130.3 (CH, Ar), 131.5 (CH, Ar), 132.6 (CH, Ar), 133.9 (C, Ar), 134.6 (3CIC, Ar), 137.8 (4CIC, Ar), 159.3 (C=N), 161.6 (S-C=N), 166.3 (C=O).

6.2.27.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{24}H_{18}Cl_2N_3OS$ [M+H]⁺: 466.0548; encontrado 465.975

6.2.28 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-metilbenzilideno)tiazolidin-4-ona (27d; BZ-18)



6.2.28.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.48 mmol (0.177 g) de 4-metil-benzaldeído, 15 mL de etanol, 0.74 mmol (0.224 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização etanol a quente.

Cristais vermelhos; PF.: 234 °C; Rend.: 0.03 g (10%); R_f: 0.62 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.28.2 Análise elementar para C₁₉H₁₅Cl₂N₃OS: Teórico: C, 56.44; H, 3.74; N, 10.39; S, 7.93. Calculado: C, 56.14; H, 3.50; N, 10.33; S, 7.81.

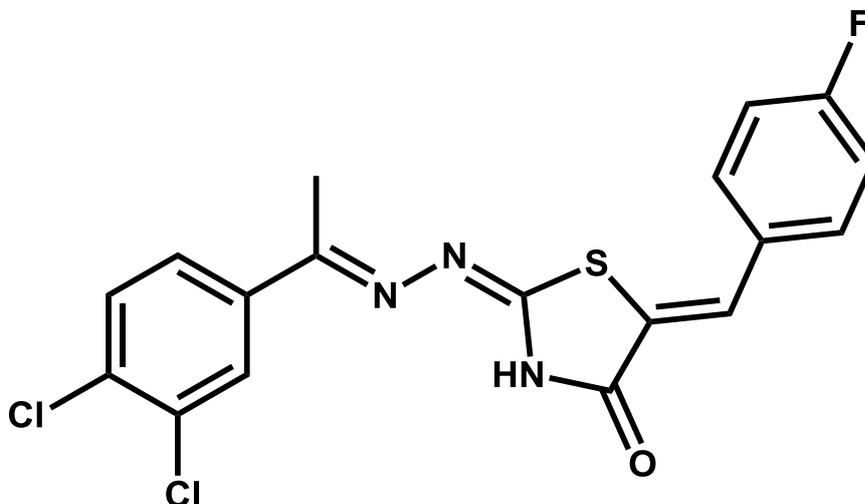
6.2.28.3 IV, principais sinais: 1705 (C=O), 1630 (C=N) e 1530 (C=C) cm⁻¹.

6.2.28.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.47 (s, 3H, CH₃), 7.20 (d, 2H, J 7.8 Hz, Ar), 7.35 (d, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 7.42 (d, 2H, J 7.8 Hz, Ar), 7.58 (d, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 7.65 (s, 1H, CH exocíclico), 7.83 (s, 1H, Ar), 9.63 (s, 1H, NH).

6.2.28.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 15.0 (CH₃), 21.6 (CH₃), 124.0 (C=CH, C5 heterociclo), 126.5 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 128.7 (C, Ar), 129.3 (CH, Ar), 131.0 (CH, Ar); 132.4 (C, Ar); 132.5 (C, Ar); 132.7 (C=C, CH exocíclico); 137.7 (C, Ar), 156.3 (C=N), 163.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.28.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₉H₁₆Cl₂N₃OS [M+H]⁺: 404.0391; encontrado 404.2414.

6.2.29 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-fluorobenzilideno)tiiazolidin-4-ona (27e; BZ-12)**



6.2.29.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol, 2.48 mmol (0.308 g) de 4-fluoro-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais laranja; PF.: 233-234 °C; Rend.: 0.20 g (30%); R_f: 0.60 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.29.2 Análise elementar para C₁₈H₁₂Cl₂FN₃OS: Teórico: C, 52.95; H, 2.96; N, 10.29; S, 7.85. Calculado: C, 53.07; H, 3.19; N, 10.45; S, 7.72.

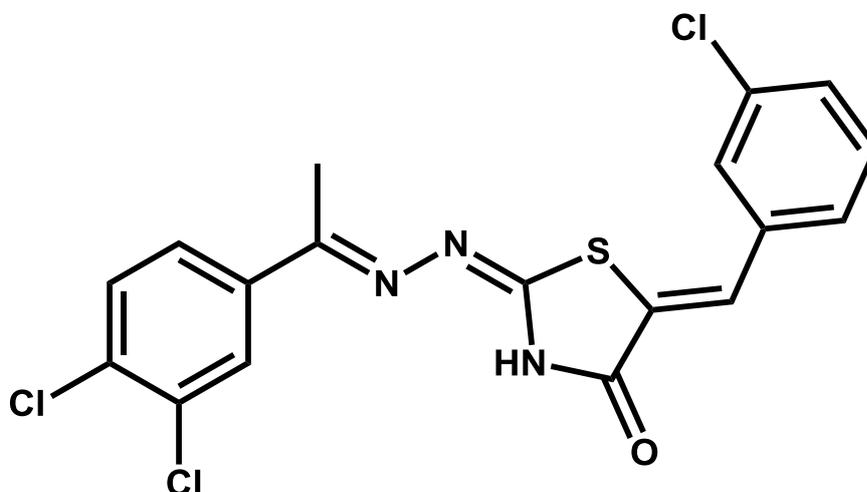
6.2.29.3 IV, principais sinais: 2936 (CH), 1595 (C=O), 1547 (C=N) e 1514 (C=C) cm⁻¹.

6.2.29.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 6.95 (d, 2H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.44 (s, 1H, CH exocíclico), 7.46 (d, 1H, *J* 8 Hz, Ar), 7.55 (d, 2H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.78 (d, 1H, *J* 8 Hz, Ar), 7.95 (s, 1H, Ar).

6.2.29.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.5 (CH₃), 115.0 (CH, Ar), 124.4 (C=CH, C5 heterociclo), 124.8 (CH, Ar), 125.6 (CH, Ar), 126.9 (CH, Ar); 128.2 (CH, Ar); 130.1 (C, Ar); 131.3 (C, Ar); 132.3 (C, Ar), 132.8 (C=CH, CH exocíclico); 138.9 (C, Ar), 151.6 (C=N), 155.4 (S-C=N), 173.1 (C-F), 179.9 (C=O).

6.2.29.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₃Cl₂FN₃OS [M+H]⁺: 408.0140; encontrado 408.1170.

6.2.30 5-{3-clorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27f; BZ-11)



6.2.30.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item 6.2.25.1, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol, 2.48 mmol (0.308 g) de 3-cloro-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF.: 219 °C; Rend.: 0.41 g (60%); R_f: 0.61 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.30.2 Análise elementar para C₁₈H₁₂Cl₃N₃OS: Teórico: C, 50.90; H, 2.85; N, 9.89; S, 7.55. Calculado: C, 50.78; H, 3.06; N, 9.73; S, 7.27.

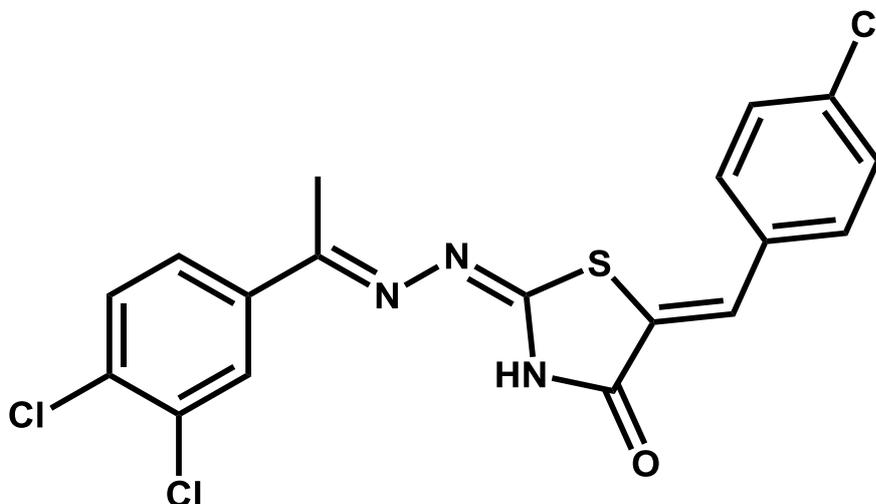
6.2.30.3 IV, principais sinais: 2964 (CH), 1698 (C=O), 1627 e 1607 (C=N) e 1574 (C=C) cm⁻¹.

6.2.30.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.43 (s, 3H, CH₃), 7.51-7.60 (m, 4H, Ar), 7.70 (s, 1H, CH exocíclico), 7.73 (d, 1H, *J* 8.7 Hz, Ar), 7.86 (dd, 1H, *J* 8.7 and 1.8 Hz, Ar), 8.03 (d, 1H, *J* 1.8 Hz, Ar), 12.76 (s, 1H, NH).

6.2.30.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.7 (CH₃), 124.9 (C=CH, C5 heterociclo), 126.4 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar); 128.1 (CH, Ar); 129.2 (CH, Ar); 129.4 (CH, Ar); 130.5 (C, Ar), 130.8 (C=CH, CH exocíclico); 131.3 (C, Ar), 132.5 (C, Ar), 135.7 (C, Ar), 137.9 (C, Ar), 159.9 (C=N), 160.1 (S-C=N), 167.1 (C=O).

6.2.30.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₃Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 423.9845; encontrado 423.9681.

6.2.31 5-{4-clorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27g; BZ-29)



6.2.31.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 0.66 mmol (0.2 g) do composto (**GT-04**), 15 mL de etanol, 1.32 mmol (0.311 g) de 4-cloro-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF.: 263-265 °C; Rend.: 0.14 g (49%); R_f: 0.65 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.31.2 Análise elementar para C₁₈H₁₂Cl₃N₃OS: Teórico: C, 50.90; H, 2.85; N, 9.89; S, 7.55. Calculado: C, 50.88; H, 2.77; N, 10.02; S, 7.62.

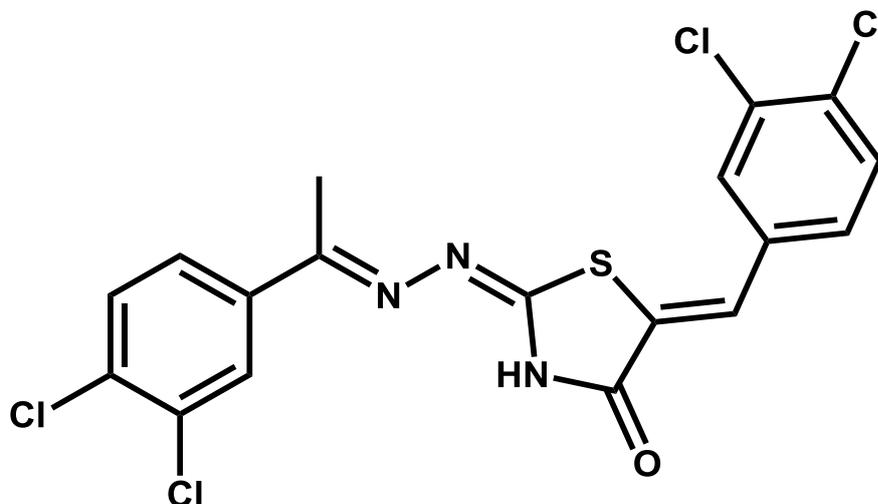
6.2.31.3 IV, principais sinais: 1700 (C=O), 1617 (C=N) e 1534 (C=C) cm⁻¹.

6.2.31.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.44 (s, 3H, CH₃), 7.60 (d, 2H, J 8.7 Hz, Ar), 7.61 (s, 1H, CH exocíclico), 7.67 (d, 2H, J 9 Hz, Ar), 7.74 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.88 (dd, 1H, J 8.7 and 2.4 Hz, Ar), 8.03 (d, 1H, J 2.4 Hz, Ar), 12.73 (s, 1H, NH).

6.2.31.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.9 (CH₃), 123.9 (C=CH, C5 heterociclo), 126.6 (CH, Ar), 127.9 (C, Ar), 128.3 (CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 130.7 (CH, Ar), 131.4 (CH, Ar); 132.5 (C, Ar); 132.6 (C, Ar), 134.2 (C=CH, CH exocíclico), 138.0 (C, Ar); 149.4 (C, Ar), 160.2 (C=N), 164.1 (S-C=N), 173.1 (C=O).

6.2.31.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₃Cl₃N₃OS [M+H]⁺: 423.9845; encontrado 423.9681.

6.2.32 5-{3,4-diclorobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27h; BZ-09)



6.2.32.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol, 2.48 mmol (0.308 g) de 3,4-dicloro-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF.: 176 °C; Rend.: 0.65 g (85%); R_f: 0.59 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.32.2 Análise elementar para C₁₈H₁₁Cl₄N₃OS: Teórico: C, 47.08; H, 2.41; N, 9.15; S, 6.98. Calculado: C, 46.92; H, 2.20; N, 9.17; S, 7.11.

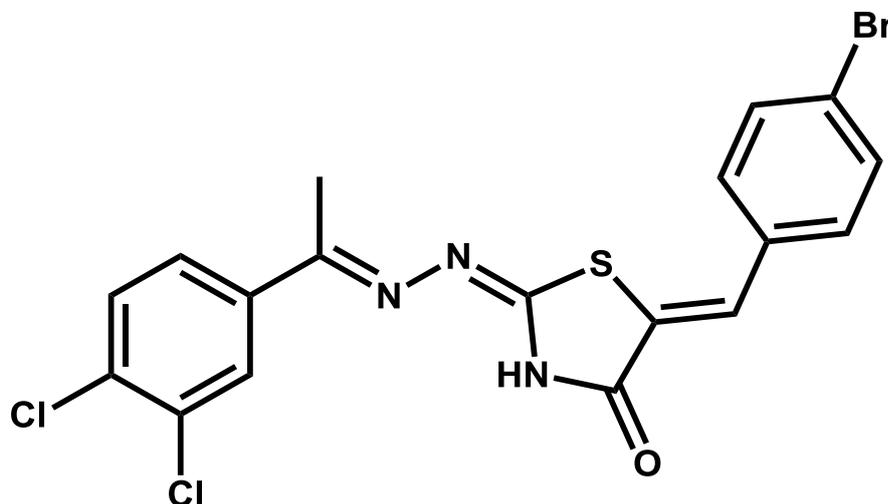
6.2.32.3 IV, principais sinais: 2944 (CH), 1707 (C=O), 1647 (C=N) e 1563 (C=C) cm⁻¹.

6.2.32.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.42 (s, 3H, CH₃), 7.56 (s, 1H, CH exocíclico), 7.61 (dd, 1H, J 8.1 and 1.8 Hz, Ar), 7.72 (d, 1H, J 9 Hz, Ar), 7.78 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 7.84 (dd, 1H, J 9 and 1.5 Hz, Ar), 7.90 (d, 1H, J 1.5 Hz, Ar), 8.02 (d, 1H, J 1.8 Hz, Ar), 8.50 (s, 1H, NH).

6.2.32.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 15.1 (CH₃), 123.4 (C=CH, C5 heterociclo), 126.5 (CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 130.2 (C=CH, CH exocíclico); 130.3 (CH, Ar); 130.4 (CH, Ar); 131.0 (CH, Ar); 132.2 (C, Ar); 132.3 (C, Ar), 132.4 (C, Ar), 132.5 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 136.8 (C, Ar), 156.3 (C=N), 163.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.32.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{18}H_{12}Cl_4N_3OS$ $[M+H]^+$: 457.9455; encontrado 457.9807.

6.2.33 **5-{4-bromobenzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27i; BZ-13)**



6.2.33.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol, 2.48 mmol (0.308 g) de 4-bromo-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF.: 239-241 °C; Rend.: 0.3 g (39%); R_f : 0.59 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.33.2 Análise elementar para $C_{18}H_{12}BrCl_2N_3OS$: Teórico: C, 46.08; H, 2.58; N, 8.96; S, 6.83. Calculado: C, 46.00; H, 2.64; N, 8.97; S, 6.81.

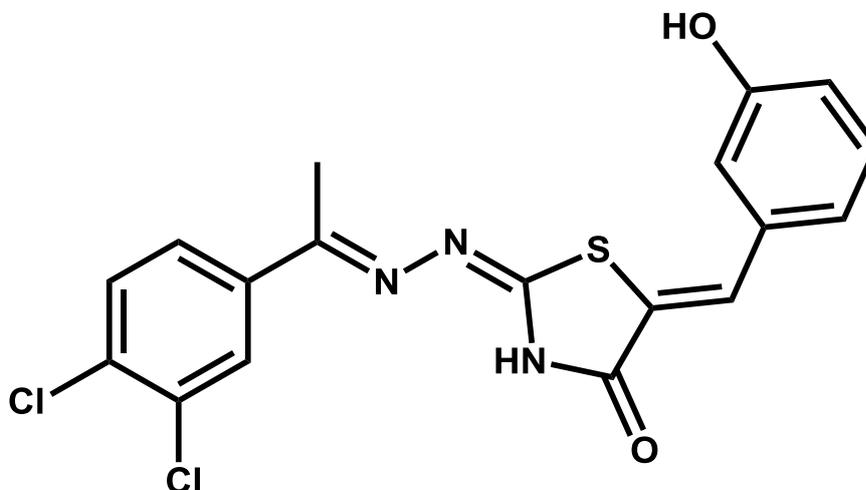
6.2.33.3 IV, principais sinais: cm^{-1} : 2930 (CH), 1703 (C=O), 1627 (C=N) e 1530 (C=C) cm^{-1} .

6.2.33.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.40 (s, 3H, CH_3), 7.48 (s, 1H, CH exocíclico), 7.56 (d, 2H, J 8.7 Hz, Ar), 7.69 (d, 3H, J 7.5 Hz, Ar), 7.84 (dd, 1H, J 8.1 and 1.8 Hz, Ar), 7.99 (d, 1H, J 1.8 Hz, Ar), 8.45 (s, 1H, NH).

6.2.33.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.7 (CH_3), 122.5 ($C=CH$, C5 heterociclo), 125.9 (CH, Ar), 126.4 (CH, Ar), 128.1 (CH, Ar); 129.4 (CH, Ar); 130.5 (CH, Ar); 131.3 (C, Ar); 131.8 (C, Ar), 132.0 ($C=CH$, CH exocíclico); 132.2 (C, Ar), 133.3 (C, Ar), 138.3 (C, Ar), 158.4 (C=N), 162.5 (S-C=N), 169.6 (C=O).

6.2.33.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{18}H_{13}BrCl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 467.9340; encontrado 467.9471.

6.2.34 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-hidroxibenzilideno)tiazolidin-4-ona (27j; BZ-32)**



6.2.34.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 0.66 mmol (0.2 g) do composto (**GT-04**), 15 mL de etanol, 1.32 mmol (0.305 g) de 3-hidroxi-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF.: 239-240 °C; Rend.: 0.18 g (69%); R_f: 0.55 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.34.2 Análise elementar para C₁₈H₁₃Cl₂N₃O₂S: Teórico: C, 53.21; H, 3.23; N, 10.34; S, 7.89. Calculado: C, 53.13; H, 3.27; N, 10.37; S, 7.91.

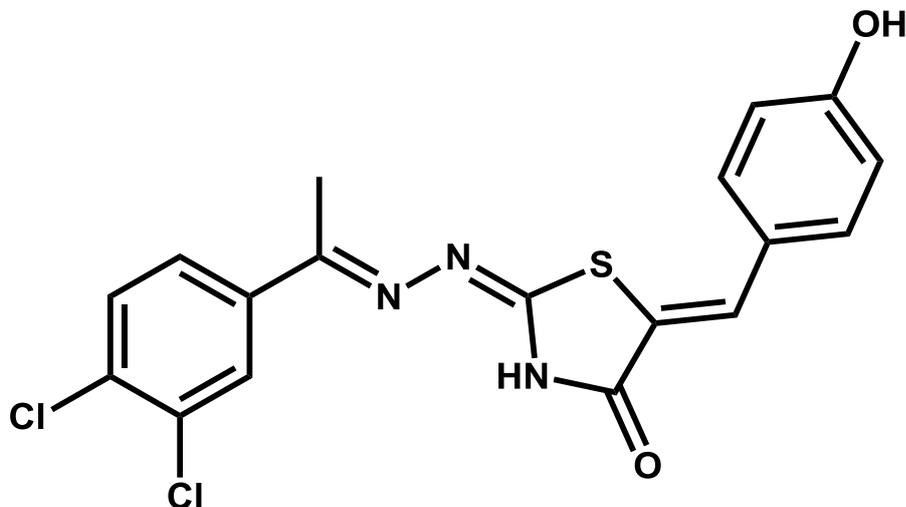
6.2.34.3 IV, principais sinais: cm⁻¹: 1708 (C=O), 1650 (C=N) e 1530 (C=C) cm⁻¹.

6.2.34.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.45 (s, 3H, CH₃), 6.86 (d, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 7.04 (s, 1H, Ar), 7.07 (d, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 7.32 (t, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 7.51 (s, 1H, CH exocíclico), 7.74 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.87 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 8.03 (s, 1H, Ar), 9.82 (s, 1H, NH), 12.62 (s, 1H, NH).

6.2.34.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.9 (CH₃), 115.7 (CH, Ar), 117.1 (CH, Ar), 121.1 (C=CH, C5 heterociclo), 122.8 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar), 129.5 (CH, Ar), 130.2 (C, Ar), 130.7 (C, Ar); 132.6 (C=CH, CH exocíclico); 134.7 (C, Ar), 138.0 (C, Ar); 157.7 (C=N), 160.1 (S-C=N), 167.2 (C=O).

6.2.34.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₄Cl₂N₃O₂S [M+H]⁺: 406.0184;

6.2.35 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxibenzilideno)tiazolidin-4-ona (27k; BZ-14)**



6.2.35.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 15 mL de etanol, 4.96 mmol (0.606 g) de 4-hidroxi-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais marrons; P.F: 259-261 °C; Rend.: 0.40 g (60%); R_f: 0.57 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.35.2 Análise elementar para C₁₈H₁₃Cl₂N₃O₂S: Teórico: C, 53.21; H, 3.23; N, 10.34; S, 7.89. Calculado: C, 52.90; H, 3.02; N, 10.14; S, 7.68.

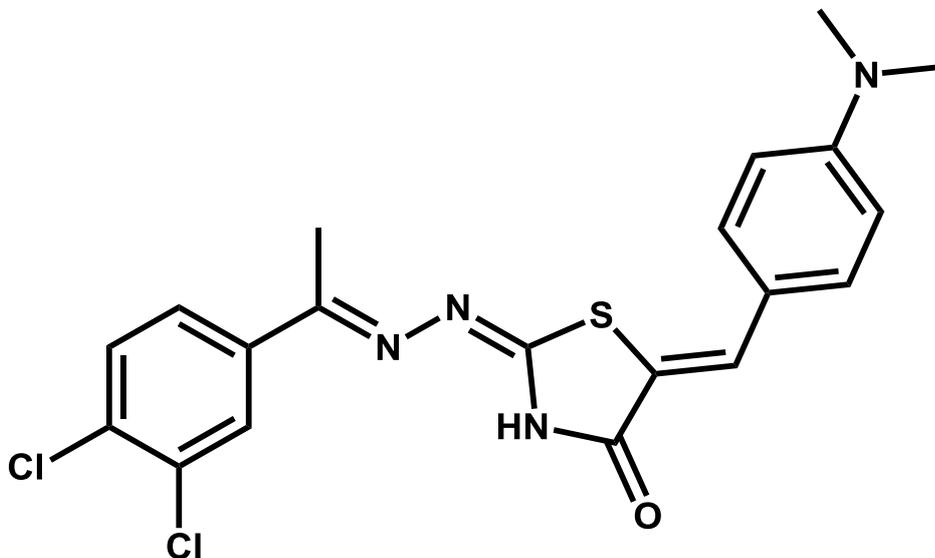
6.2.35.3 IV, principais sinais: 1695 (C=O), 1625 e 1578 (C=N) e 1513 (C=C) cm⁻¹.

6.2.35.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 6.91 (d, 2H, *J* 9 Hz, Ar), 7.49 (d, 2H, *J* 9 Hz, Ar), 7.51 (s, 1H, CH exocíclico), 7.71 (d, 1H, *J* 9 Hz, Ar), 7.87 (dd, 1H, *J* 9 and 3 Hz, Ar), 8.01 (d, 1H, *J* 3 Hz, Ar), 8.35 (s, 1H, NH), 10.19 (s, 1H, OH).

6.2.35.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 14.8 (CH₃), 115.8 (CH, Ar), 116.2 (CH, Ar), 118.5 (C=CH, C5 heterociclo), 124.4 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar); 129.9 (C, Ar); 130.6 (C, Ar); 131.3 (C, Ar); 132.0 (C, Ar), 132.5 (C=C₂H, CH exocíclico); 138.1 (C, Ar), 159.3 (C=N), 159.7 (C-OH, Ar), 159.8 (S-C=N), 167.4 (C=O).

6.2.35.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₄Cl₂N₃O₂S [M+H]⁺: 406.0184; encontrado 406.0150.

6.2.36 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(dimetilamino)benzilideno}tiazolidin-4-ona (27I; BZ-19)**



6.2.36.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 15 mL de etanol, 3.31 mmol (0.494 g) de 4-dimetilamino-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais vermelhos; P.F: 243 °C; Rend.: 0.49 g (68%); R_f: 0.56 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.36.2 Análise elementar para C₂₀H₁₈Cl₂N₄OS: Teórico: C, 55.43; H, 4.19; N, 12.93; S, 7.40. Calculado: C, 55.77; H, 4.20; N, 13.17; S, 7.19.

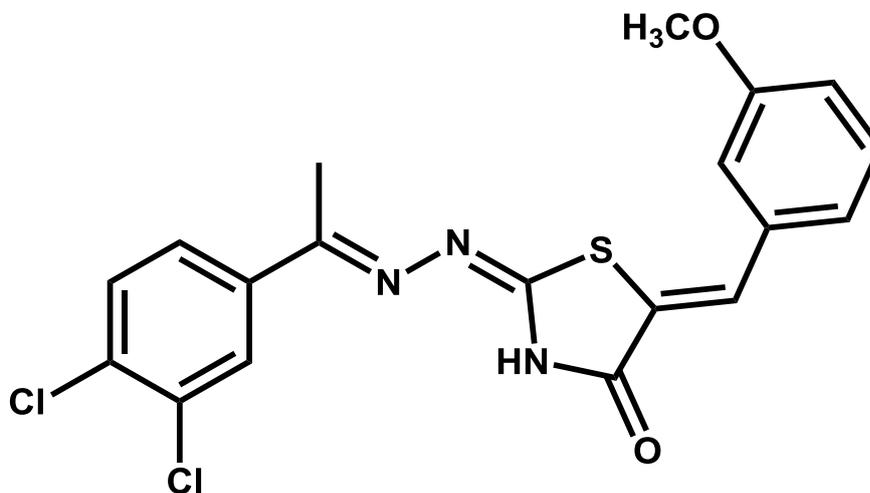
6.2.36.3 IV, principais sinais: 1699 (C=O), 1627 e 1578 (C=N) e 1531 (C=C) cm⁻¹.

6.2.36.4 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 2.35 (s, 3H, CH₃), 2.97 (s, 6H, N-CH₃), 6.80 (d, 2H, J 8.4 Hz, Ar), 7.22 (s, 1H, CH exocíclico), 7.45 (d, 2H, J 8.4 Hz, Ar), 7.67 (d, 1H, J 8.8 Hz, Ar), 7.83 (dd, 1H, J 8.8 and 2 Hz, Ar), 7.98 (d, 1H, J 2 Hz, Ar).

6.2.36.5 RMN de ¹³C e DEPT (100 MHz, DMSO-d₆): δ 14.0 (CH₃), 44.2 (N-CH₃), 112.0 (CH, Ar), 122.9 (C, Ar), 124.2 (C=CH, C5 heterociclo), 124.7 (CH, Ar), 125.6 (CH, Ar), 127.2 (CH, Ar); 130.3 (CH, Ar); 130.4 (C, Ar); 130.7 (C, Ar); 131.0 (C=CH, CH exocíclico), 139.5 (C, Ar); 149.9 (C-N, Ar), 152.1 (C=N), 172.7 (S-C=N), 177.7 (C=O).

6.2.36.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₀H₁₉Cl₂N₄OS [M+H]⁺: 433.0657; encontrado 433.0573.

6.2.37 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-metoxibenzilideno)tiazolidin-4-ona (27m; BZ-08)**



6.2.37.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**), 25 mL de etanol, 3.12 mmol (0.450 g) de 3-metóxi-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; P.F: 215 °C; Rend.: 0.65 g (93%); R_f: 0.65 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.37.2 Análise elementar para C₁₉H₁₅Cl₂N₃O₂S: Teórico: C, 54.30; H, 3.60; N, 10.00; S, 7.63. Calculado: C, 54.10; H, 3.56; N, 10.47; S, 7.39.

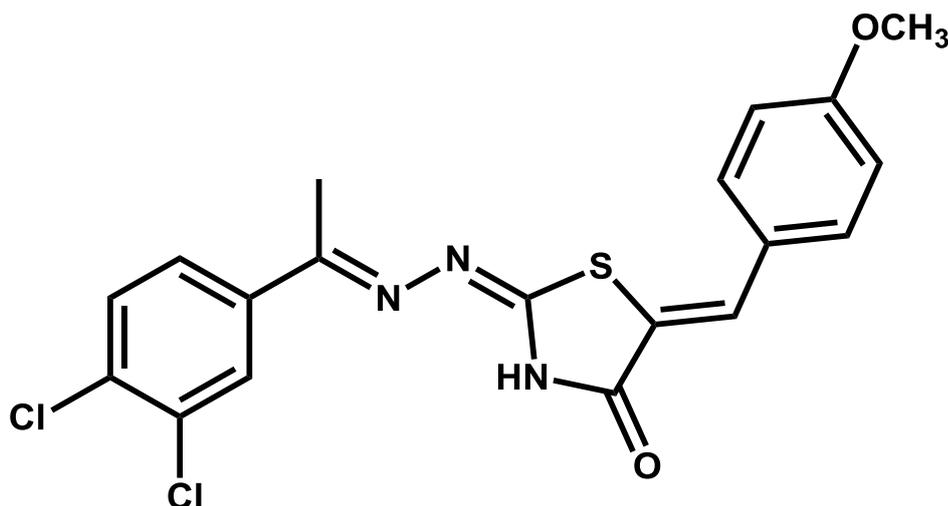
6.2.37.3 IV, principais sinais: 1704 (C=O), 1624 e 1602 (C=N) e 1576 (C=C) cm⁻¹.

6.2.37.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 3.80 (s, 3H, O-CH₃), 6.99-7.46 (m, 4H, Ar), 7.57 (s, 1H, CH exocíclico), 7.70 (d, 1H, *J* 8.2 Hz, Ar), 7.83 (d, 1H, *J* 8.2 Hz, Ar), 8.01 (s, 1H, Ar), 9.96 (s, 1H, NH).

6.2.37.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ 15.2 (CH₃), 55.2 (CH₃), 114.7 (CH, Ar), 115.4 (CH, Ar), 123.3 (CH, Ar), 123.4 (C=CH, C5 heterociclo), 126.5 (CH, Ar); 128.2 (CH, Ar); 130.2 (C=C_H, CH exocíclico); 131.0 (CH, Ar); 132.4 (C, Ar); 132.5 (C, Ar), 133.2 (C, Ar), 134.2 (C, Ar), 156.3 (C=N), 159.6 (C-O, Ar), 163.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.37.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{19}H_{16}Cl_2N_3O_2S$ $[M+H]^+$: 420.0340; encontrado 420.0786.

6.2.38 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-metoxibenzilideno)tiazolidin-4-ona (27n; BZ-30)**



6.2.38.1 Sob agitação magnética: Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.25.1**, 0.66 mmol (0.2 g) do composto (**GT-04**), 15 mL de etanol, 1.32 mmol (0.306 g) de 4-metóxi-benzaldeído e 5 gotas de morfolina. O produto foi purificado por recristalização em etanol a quente.

Cristais amarelos; P.F: 232-235 °C; Rend.: 0.16 g (59%); R_f : 0.60 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.38.2 Análise elementar para $C_{19}H_{15}Cl_2N_3O_2S$: Teórico: C, 54.30; H, 3.60; N, 10.00; S, 7.63. Calculado: C, 54.15; H, 3.76; N, 10.25; S, 7.61.

6.2.38.3 IV, principais sinais: 1704 (C=O), 1624 e 1602 (C=N) e 1576 (C=C) cm^{-1} .

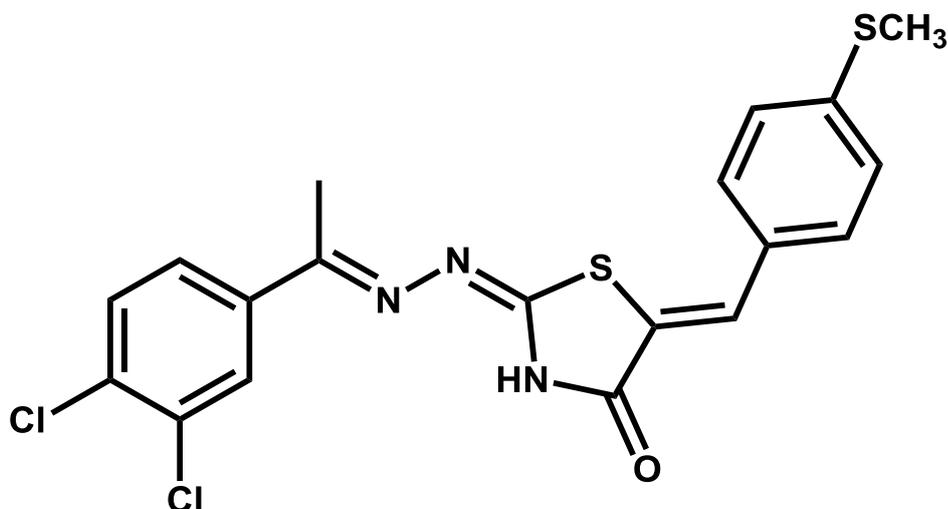
6.2.38.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.44 (s, 3H, CH₃), 3.83 (s, 3H, O-CH₃), 7.11 (d, 2H, J 8.7 Hz, Ar), 7.58 (s, 1H, CH exocíclico), 7.61 (d, 2H, J 8.7 Hz, Ar), 7.74 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 7.89 (dd, 1H, J 8.1 and 2.4 Hz, Ar), 8.04 (d, 1H, J 2.4 Hz, Ar), 12.57 (s, 1H, NH).

6.2.38.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.8 (CH₃), 55.4 (O-CH₃), 114.8 (CH, Ar), 119.9 ($\underline{C}=\underline{CH}$, C5 heterociclo), 126.0 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 128.3

(CH, Ar), 129.3 (CH, Ar), 130.7 (C, Ar), 131.3 (C, Ar); 131.7 (C, Ar); 132.6 (C, Ar), 134.2 (C=CH, CH exocíclico), 138.1 (C, Ar); 159.8 (C-O, Ar), 160.5 (C=N), 164.1 (S-C=N), 174.1 (C=O).

6.2.38.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{19}H_{16}Cl_2N_3O_2S$ $[M+H]^+$: 420.0340; encontrado 420.0786.

6.2.39 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(metiltio)benzilideno}tiazolidin-4-ona (27o; BZ-07)**



6.2.39.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 3.31 mmol (0.504 g) do 4-(metilmercapto)-benzaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 210 °C; Rend.: 0.64 g (88%); $R_f = 0.50$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.39.2 Análise elementar para $C_{19}H_{15}Cl_2N_3OS_2$: Teórico: C, 52.30; H, 3.46; N, 9.63; S, 14.69. Calculado: C, 52.52; H, 3.43; N, 9.86; S, 14.61.

6.2.39.3 IV, principais sinais: 1701 (C=O), 1626 (C=N) e 1586 (C=C) cm^{-1} .

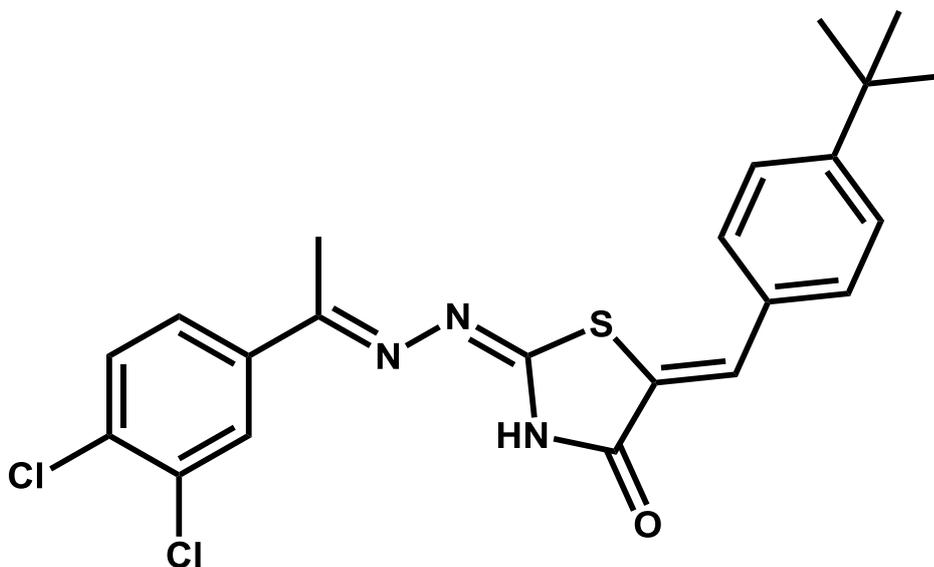
6.2.39.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 2.50 (s, 3H, S-CH₃), 7.35-7.42 (m, 2H, Ar), 7.54 (s, 1H, CH exocíclico), 7.68-7.86 (m, 4H, Ar), 8.00 (s, 1H, Ar), 9.89 (s, 1H, NH).

6.2.39.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.0 (CH₃), 14.8 (S-CH₃), 121.6 (C=CH, C5 heterociclo), 125.7 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar); 128.9

(CH, Ar); 129.8 (CH, Ar); 130.2 (C, Ar); 130.6 (C=C \underline{H} , CH exocíclico); 131.3 (C, Ar), 132.5 (3C \underline{I} C, Ar), 138.0 (4C \underline{I} C, Ar), 141.3 (C-S, Ar), 159.6 (C=N), 159.9 (S-C=N), 167.3 (C=O).

6.2.39.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₉H₁₆Cl₂N₃OS₂ [M+H]⁺: 436.0112; encontrado 436.0087.

6.2.40 **5-{4-(tert-butil)benzilideno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27p; BZ-04)**



6.2.40.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 6.6 mmol (1.07 g) do 4-*t*-butil-benzaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente. Cristais laranja; P.F.: 206 °C; Rend.: 0.68 g (92%); R_f= 0.62 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.40.2 Análise elementar para C₂₂H₂₁Cl₂N₃OS: Teórico: C, 59.20; H, 4.74; N, 9.41; S, 7.18. Calculado: C, 59.00; H, 4.56; N, 9.31; S, 7.16.

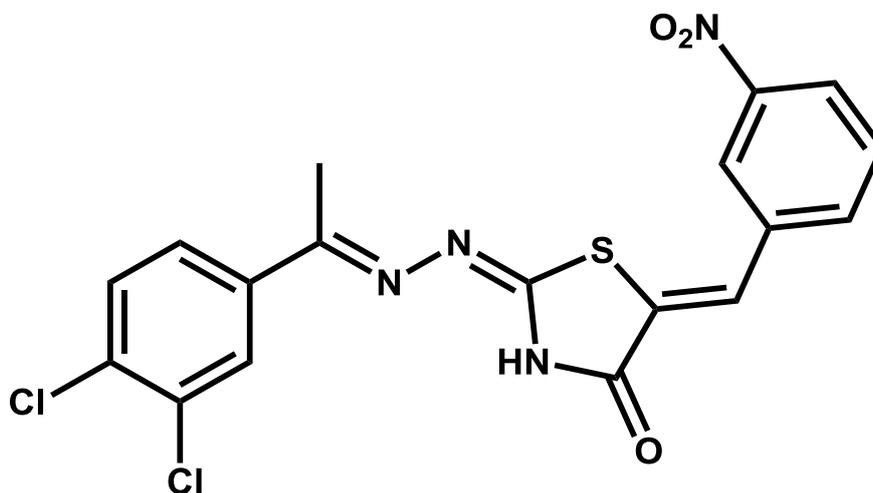
6.2.40.3 IV, principais sinais: 2964 (C-H), 1698 (C=O), 1627 e 1607 (C=N) e 1574 (C=C) cm⁻¹.

6.2.40.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.28 (s, 9H, CH₃), 2.41 (s, 3H, CH₃), 7.50 (d, 2H, *J* 8.7 Hz, Ar), 7.53 (s, 1H, CH exocíclico), 7.59 (d, 1H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.81 (d, 2H, *J* 8.7 Hz, Ar), 7.85 (dd, 1H, *J* 8.4 and 1.8 Hz, Ar), 8.00 (d, 1H, *J* 1.8 Hz, Ar), 9.94 (s, 1H, NH).

6.2.40.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.3 (CH_3), 31.2 (CH_3), 35.4 ($\text{C}-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$), 122.4 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 126.4 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar); 129.8 (CH, Ar); 130.2 (CH, Ar); 131.2 (C, Ar); 131.8 ($\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$, CH exocíclico); 133.0 (C, Ar), 134.3 (3CIC, Ar), 138.5 (4CIC, Ar), 153.2 ($\underline{\text{C}}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, Ar), 158.2 ($\text{C}=\text{N}$), 160.3 ($\text{S}-\text{C}=\text{N}$), 167.7 ($\text{C}=\text{O}$).

6.2.40.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 446.0861; encontrado 446.0746.

6.2.41 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(3-nitrobenzilideno)tiazolidin-4-ona (27q; BZ-21)



6.2.41.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 4.3 mmol do 3-nitro-benzaldeído, 25 mL de etanol, 2.15 mmol (0.65 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; P.F.: 184-187 °C; Rend.: 0.48 g (51%); $R_f = 0.62$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.41.2 Análise elementar para $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$: Teórico: C, 49.67; H, 2.78; N, 12.87; S, 7.37. Calculado: C, 49.70; H, 3.10; N, 13.07; S, 7.47.

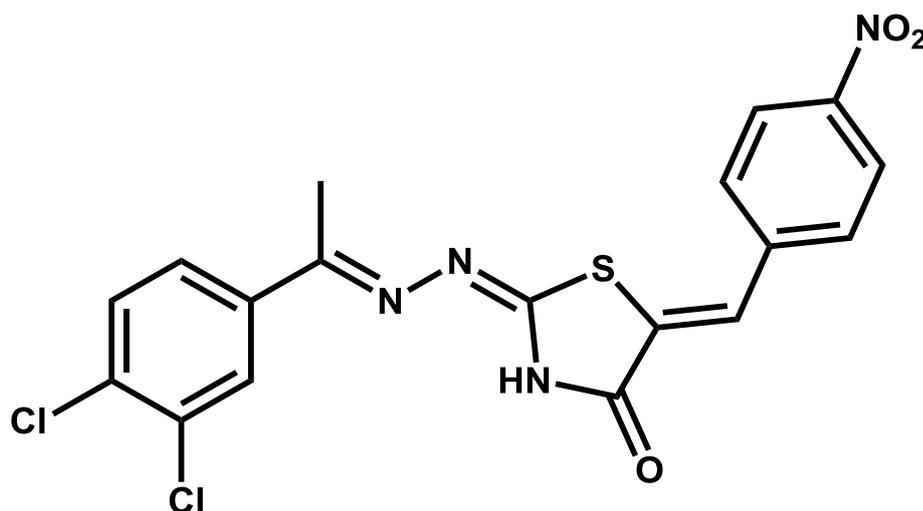
6.2.41.3 IV, principais sinais: 2977 (C-H), 1701 ($\text{C}=\text{O}$), 1627 e 1607 ($\text{C}=\text{N}$) e 1574 ($\text{C}=\text{C}$) cm^{-1} .

6.2.41.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.37 (s, 3H, CH₃), 7.36 (s, 1H, CH exocíclico), 7.67 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.74 (t, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.79 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 8.03 (m, 2H, Ar), 8.14 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 8.48 (s, 1H, Ar).

6.2.41.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.1 (CH₃), 119.5 (CH, Ar), 121.8 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 122.5 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 130.2 (CH, Ar); 130.4 (CH, Ar); 130.9 (CH, Ar); 131.1 ($\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$, CH exocíclico); 135.2 (C, Ar), 135.6 (C, Ar), 137.9 (C, Ar), 139.5 (C, Ar); 148.1 ($\underline{\text{C}}-\text{NO}_2$, Ar), 152.3 (C=N), 174.5 (S-C=N), 179.1 (C=O).

6.2.41.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₃Cl₂N₄O₃S [M+H]⁺: 435.0085

6.2.42 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-nitrobenzilideno)tiazolidin-4-ona (27r; BZ-05)



6.2.42.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 6.6 mmol (1.0 g) do 4-nitro-benzaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais laranja; PF: 255 °C; Rend.: 0.21 g (29%); R_f = 0.51 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.42.2 Análise elementar para C₁₈H₁₂Cl₂N₄O₃S: Teórico: C, 49.67; H, 2.78; N, 12.87; S, 7.37. Calculado: C, 49.53; H, 3.12; N, 12.47; S, 7.40.

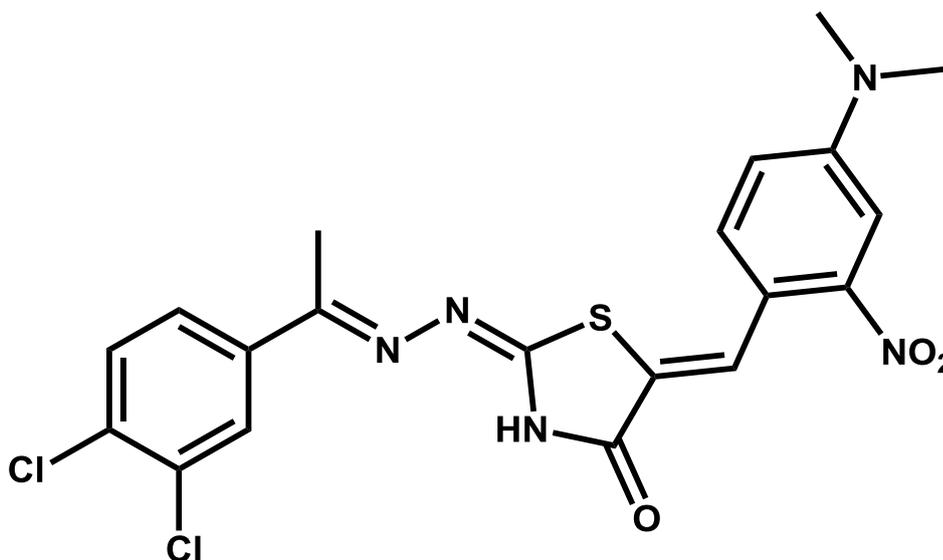
6.2.42.3 IV, principais sinais: 3419 (NH), 1722 (C=O), 1633 e 1608 (C=N) e 1592 (C=C) cm⁻¹.

6.2.42.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.41 (s, 3H, CH_3), 7.55 (s, 1H, CH exocíclico), 7.69 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 7.86 (d, 3H, J 8.4 Hz, Ar), 8.00 (s, 1H, Ar), 8.31 (d, 2H, J 8.4, Ar).

6.2.42.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.7 (CH_3), 122.4 ($\text{C}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 124.1 (CH, Ar), 126.3 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar); 130.2 (CH, Ar); 130.5 (CH, Ar); 131.3 ($\text{C}=\text{CH}$, CH exocíclico); 138.4 (C,Ar); 141.1 (C, Ar), 146.4 (C, Ar), 138.5 (C, Ar), 153.2 ($\text{C}-\text{NO}_2$, Ar), 158.2 (C=N), 160.3 (S-C=N), 167.7 (C=O).

6.2.42.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 435.0085; encontrado 435.0014.

6.2.43 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-{4-(dimetilamino)-2-nitrobenzilideno}tiazolidin-4-ona (27s; BZ-23)



6.2.43.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.74 mmol (0.224 g) do 4-dimetilamino-2-nitro-benzaldeído, 15 mL de etanol, 1.48 mmol (0.287 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 268 °C; Rend.: 0.13 g (36%); R_f = 0.60 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.43.2 Análise elementar para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$: Teórico: C, 50.22; H, 3.58; N, 14.64; S, 6.70. Calculado: C, 50.00; H, 3.32; N, 14.47; S, 6.75.

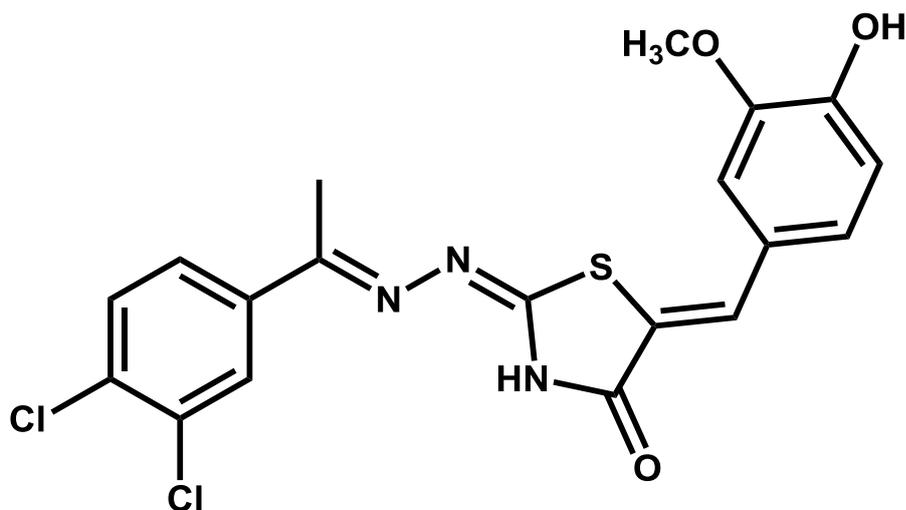
6.2.43.3 IV, principais sinais: 1710 (C=O), 1637 e 1608 (C=N) e 1572 (C=C) cm^{-1} .

6.2.43.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.37 (s, 3H, CH_3), 3.03 (s, 6H, N- CH_3), 7.13 (dd, 1H, J 9 and 3 Hz, Ar), 7.20 (d, 1H, J 2.7 Hz, Ar), 7.35 (s, 1H, CH exocíclico), 7.68 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.70 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.82 (dd, 1H, J 8.4 and 2.1 Hz, Ar), 7.97 (d, 1H, J 2.1 Hz, Ar).

6.2.43.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.0 (CH_3), 40.7 (N- CH_3), 109.0 (CH, Ar), 109.4 (CH, Ar), 121.0 (C, Ar), 123.6 (C, Ar), 126.3 ($\text{C}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 126.5 (CH, Ar), 130.0 (CH, Ar), 130.4 (CH, Ar), 131.0 (CH, Ar); 132.4 ($\text{C}=\text{CH}$, CH exocíclico); 132.5 (C, Ar), 133.2 (C, Ar); 145.4 ($\text{C}-\text{NO}_2$, Ar), 152.1 ($\text{C}-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 156.3 (C=N), 163.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.43.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 478.0507

6.2.44 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxi-3-metoxibenzilideno)tiiazolidin-4-ona (27t; BZ-34)**



6.2.44.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 1.12 mmol (0.278 g) do 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldeído, 10 mL de etanol, 0.56 mmol (0.17 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 246-248 °C; Rend.: 0.10 g (40%); R_f = 0.45 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.44.2 Análise elementar para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$: Teórico: C, 52.30; H, 3.47; N, 9.63; S, 7.35; S, 6.70. Calculado: C, 52.45; H, 3.57; N, 9.66; S, 7.41.

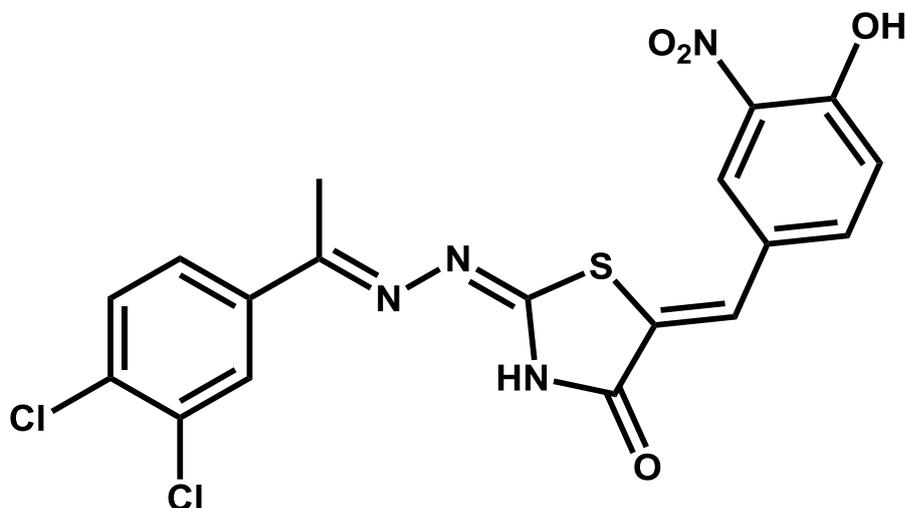
6.2.44.3 IV, principais sinais: 1702 (C=O), 1627 e 1606 (C=N) e 1560 (C=C) cm^{-1} .

6.2.44.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.41 (s, 3H, CH_3), 3.86 (s, 3H, O- CH_3), 6.92 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 7.12 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.25 (s, 1H, Ar), 7.46 (s, 1H, CH exocíclico), 7.72 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.84 (dd, 1H, J 9 and 1,8 Hz, Ar), 8.07 (d, 1H, J 1.8 Hz, Ar), 9.71 (s, 1H, OH).

6.2.44.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.0 (CH_3), 56.2 (O- CH_3), 113.0 (CH, Ar), 116.2 (CH, Ar), 123.4 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 124.8 (C, Ar), 126.5 (CH, Ar), 127.8 (C, Ar); 130.2 ($\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}$, CH exocíclico), 130.4 (CH, Ar), 131.0 (CH, Ar), 132.4 (C, Ar); 132.5 (C, Ar), 133.2 (C, Ar); 147.9 ($\underline{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_3$, Ar), 148.6 ($\underline{\text{C}}-\text{OH}$, Ar), 156.3 (C=N), 163.4 (S-C=N), 171.7 (C=O).

6.2.44.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 436.0289; encontrado 435.0014.

6.2.45 **2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-hidroxi-3-nitrobenzilideno)tiiazolidin-4-ona (27u; BZ-24)**



6.2.45.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.99 mmol (0.165 g) do 4-hidroxi-3-nitro-benzaldeído, 10 mL de etanol, 0.49 mmol (0.15 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 210 $^{\circ}\text{C}$; Rend.: 0.13 g (58%); R_f = 0.61 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.45.2 Análise elementar para C₁₈H₁₂Cl₂N₄O₄S: Teórico: C, 47.91; H, 2.68; N, 12.42; S, 7.10. Calculado: C, 47.99; H, 2.26; N, 12.47; S, 7.16.

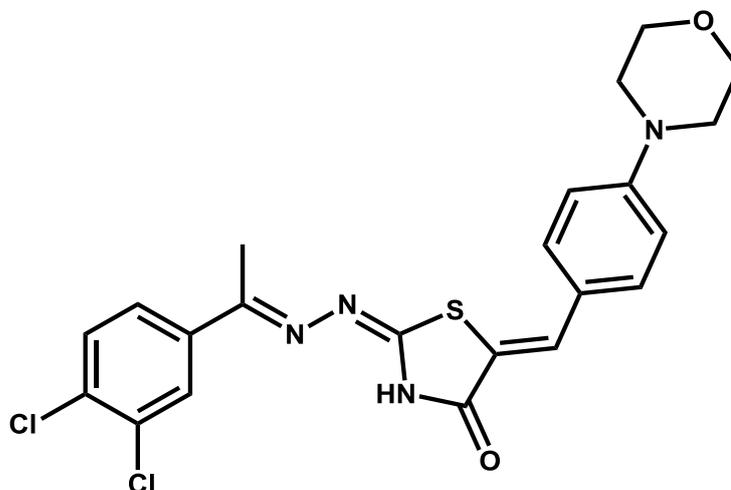
6.2.45.3 IV, principais sinais: 1709 (C=O), 1628 e 1605 (C=N) e 1571 (C=C) cm⁻¹.

6.2.45.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.36 (s, 3H, CH₃), 7.37 (s, 1H, CH exocíclico), 7.70 (d, 1H, *J* 8.4 Hz, Ar), 7.73 (d, 1H, *J* 7.5 Hz, Ar), 7.80 (dd, 1H, *J* 8.1 and 1.5 Hz, Ar), 7.85 (dd, 1H, *J* 8.4 and 1.8 Hz, Ar), 8.00 (d, 1H, *J* 1.8 Hz, Ar), 8.04 (d, 1H, *J* 1.8 Hz, Ar).

6.2.45.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 14.3 (CH₃), 120.9 (CH, Ar), 121.8 (C=CH, C5 heterociclo), 122.5 (CH, Ar), 126.3 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 130.6 (CH, Ar); 131.3 (C, Ar); 132.2 (C=C₂H, CH exocíclico), 137.9 (C, Ar), 138.3 (C, Ar); 149.5 (C-NO₂, Ar), 151.2 (C-OH, Ar), 158.0 (C=N), 163.5 (S-C=N), 174.1 (C=O).

6.2.45.6 EMAR (ESI): Calculado para C₁₈H₁₃Cl₂N₄O₄S [M+H]⁺: 451.0035.

6.2.46 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(4-morfolinobenzilideno)tiazolidin-4-ona (27v; BZ-06)



6.2.46.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 3.31 mmol (0.633 g) do 4-(4-morfolinil)-benzaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais laranja; PF: 275 °C; Rend.: 0.54 g (70%); R_f= 0.48 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.46.2 Análise elementar para C₂₂H₂₀Cl₂N₄O₂S: Teórico: C, 55.58; H, 4.24; N, 11.79; S, 6.74. Calculado: C, 55.63; H, 4.29; N, 11.87; S, 6.41.

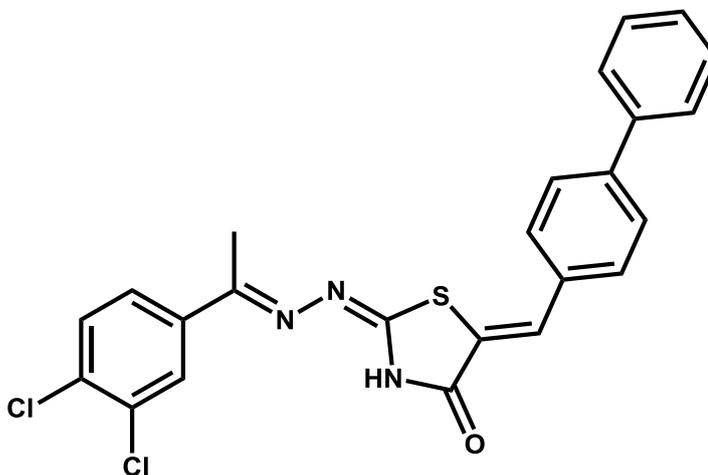
6.2.46.3 IV, principais sinais: 1702 (C=O), 1626 e 1588 (C=N), e 1515 (C=C) cm⁻¹.

6.2.46.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.43 (s, 3H, CH₃), 3.26 (t, 4H, *J* 4.1 Hz, CH₂), 3.74 (t, 4H, *J* 4.1 Hz, CH₂), 7.08 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, Ar), 7.50 (s, 1H, CH exocíclico), 7.52 (d, 2H, *J* 8.8 Hz, Ar), 7.74 (d, 1H, *J* 7.9 Hz, Ar), 7.88 (dd, *J* 7.9 and 2.6 Hz, 1H, Ar), 8.04 (d, 1H, *J* 2.6 Hz, Ar), 9.73 (s, 1H, NH).

6.2.46.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 15.2 (CH₃), 47.4 (N-CH₂), 66.3 (O-CH₂), 114.8 (CH, Ar), 122.4 (C=CH, C5 heterociclo), 126.4 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar); 129.8 (CH, Ar); 131.1 (CH, Ar); 131.8 (C, Ar); 131.9 (C=CH, CH exocíclico); 133.0 (C, Ar), 134.3 (C, Ar), 138.7 (4CIC, Ar), 152.0 (C-N, Ar), 158.2 (C=N), 160.3 (S-C=N), 167.7 (C=O).

6.2.46.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₂H₂₁Cl₂N₄O₂S [M+H]⁺: 475.0762; encontrado 475.0136.

6.2.47 5-{[1,1'-bifenil]-4-ilmetileno}-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27w; BZ-20)



6.2.47.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 1.48 mmol (0.269 g) do 4-(bifenil)-benzaldeído, 10 mL de etanol, 0.74 mmol (0.224 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 235-237 °C; Rend.: 0.16 g (46%); R_f= 0.70 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.47.2 Análise elementar para C₂₄H₁₇Cl₂N₃OS: Teórico: C, 61.81; H, 3.67; N, 9.01; S, 6.87. Calculado: C, 61.88; H, 3.60; N, 9.07; S, 6.87.

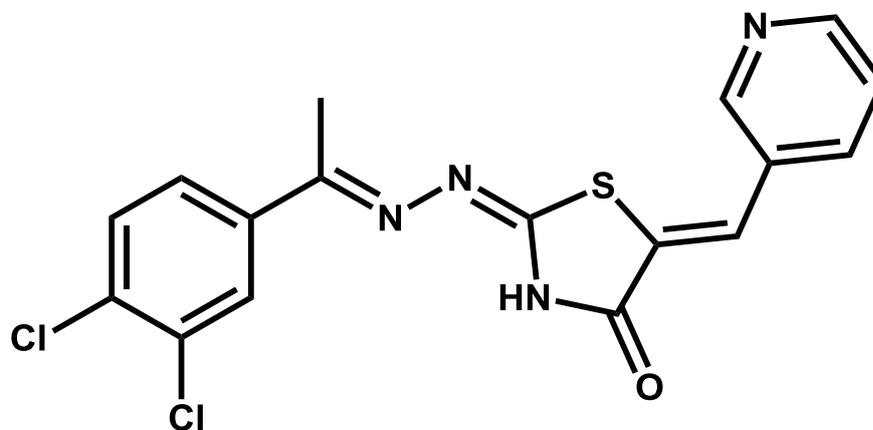
6.2.47.3 IV, principais sinais: 1703 (C=O), 1626 e 1588 (C=N), e 1530 (C=C) cm⁻¹.

6.2.47.4 RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.43 (s, 3H, CH₃), 7.34-8.05 (m, 13H, Ar), 9.63 (s, 1H, NH).

6.2.47.5 RMN de ¹³C e DEPT (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ 15.0 (CH₃), 124.0 (C=CH, C5 heterociclo), 126.5 (CH, Ar); 126.9 (CH, Ar), 127.7 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar); 128.8 (CH, Ar), 129.4 (C, Ar), 130.4 (CH, Ar); 131.0 (CH, Ar), 132.4 (C, Ar), 132.5 (C, Ar), 132.7 (C=C_H, CH exocíclico); 133.2 (C, Ar), 139.1 (C, Ar), 144.7 (C, Ar), 156.3 (C=N), 163.9 (S-C=N), 171.4 (C=O).

6.2.47.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₄H₁₆Cl₂N₃OS [M-H]⁺: 464.0391; encontrado 464.4347.

6.2.48 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(piridin-3-ilmetileno)-tiazolidin-4-ona (27x; BZ-33)



6.2.48.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.8 mmol (0.161 g) do 3-piridinil-carboxialdeído, 25 mL de etanol, 0.39 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 257 °C; Rend.: 0.12 g (79%); R_f= 0.47 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.48.2 Análise elementar para C₁₇H₁₂Cl₂N₄OS: Teórico: C, 52.19; H, 3.09; N, 14.32; S, 8.19. Calculado: C, 52.10; H, 3.29; N, 14.47; S, 8.11.

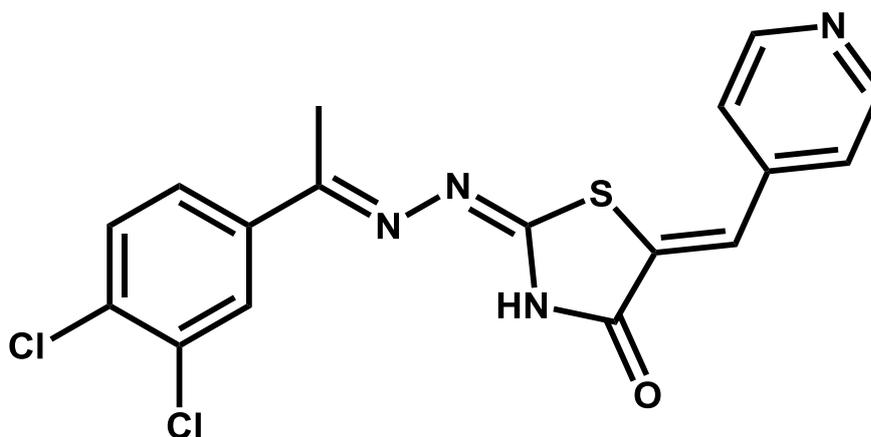
6.2.48.3 IV, principais sinais: 1701 (C=O), 1627 e 1608 (C=N), e 1575 (C=C) cm^{-1} .

6.2.48.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.46 (s, 3H, CH_3), 7.26 (s, 1H, CH exocíclico), 7.75 (d, 1H, J 9 Hz, Ar), 7.87 (t, 1H, J 7.2 Hz, Ar), 7.91 (dd, 1H, J 8.7 and 1.8 Hz, Ar), 8.05 (d, 1H, J 1,5 Hz, Ar), 8.37 (d, 1H, J 7.5 Hz, Ar), 8.75 (d, 1H, J 7.2 Hz, Ar), 9.03 (s, 1H, Ar).

6.2.48.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.8 (CH_3), 123.4 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 129.5 (C, Ar); 130.4 (CH, Ar), 131.0 (CH, Ar), 131.3 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 132.4 (C, Ar), 132.5 (C, Ar), 133.1 (C= $\underline{\text{C}}\text{H}$, CH exocíclico), 133.2 (C, Ar); 133.9 (C, Ar), 149.4 (C-N, Ar); 150.0 (C-N, Ar), 160.5 (C=N), 164.1 (S-C=N), 174.1 (C=O).

6.2.48.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 391.0187.

6.2.49 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(piridin-4-ilmetileno)-tiazolidin-4-ona (27y; BZ-22)



6.2.49.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.66 mmol (0.070 g) do 4-piridinil-carboxialdeído, 25 mL de etanol, 0.33 mmol (0.1 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: 244-245 $^{\circ}\text{C}$; Rend.: 0.10 g (81%); R_f = 0.35 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.49.2 Análise elementar para $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}$: Teórico: C, 52.19; H, 3.09; N, 14.32; S, 8.19. Calculado: C, 52.15; H, 3.39; N, 14.37; S, 8.21.

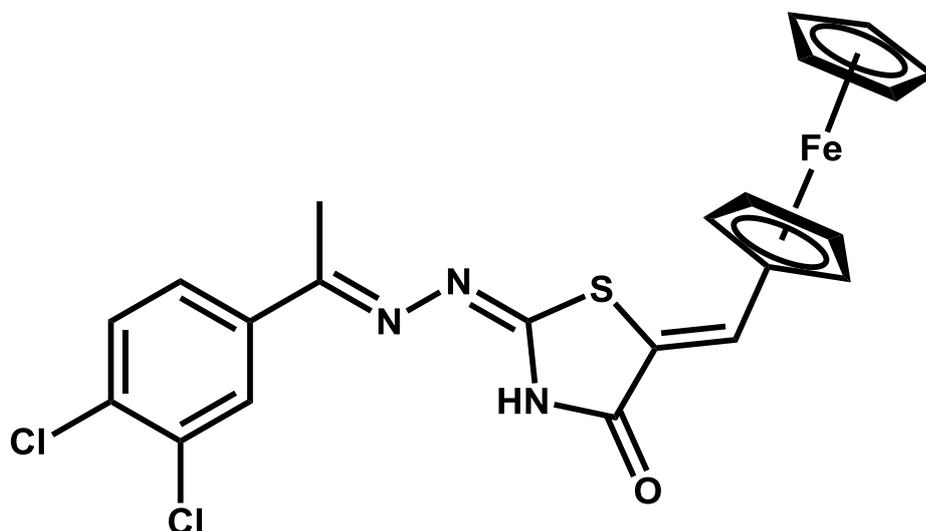
6.2.49.3 IV, principais sinais: 1706 (C=O), 1626 e 1607 (C=N), e 1535 (C=C) cm^{-1} .

6.2.49.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 7.45 (d, 2H, J 5.7 Hz, Ar), 7.67 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.69 (s, 1H, CH exocíclico), 7.76 (dd, 1H, J 8.7 and 1.8 Hz, Ar), 7.93 (d, 1H, J 1.8 Hz, Ar), 8.56 (d, 2H, J 6 Hz, Ar), 12.11 (s, 1H, NH).

6.2.49.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.4 (CH_3), 120.9 (CH, Ar), 121.8 ($\text{C}=\text{CH}$, C5 heterociclo), 122.5 (CH, Ar), 126.3 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 130.6 (CH, Ar); 131.2 (C, Ar); 132.2 ($\text{C}=\text{CH}$, CH exocíclico), 137.9 (C, Ar), 138.2 (C, Ar); 149.5 (C-N, Ar), 151.2 (C-N, Ar), 156.7 (C=N), 166.5 (S-C=N), 171.1 (C=O).

6.2.49.6 EMAR (ESI): Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 391.0187.

6.2.50 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(ferrocenilmetileno)tiiazolidin-4-ona (27z; BZ-26)



6.2.50.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.662 mmol (0.141 g) do ferrocenocarboxialdeído, 15 mL de etanol, 0.33 mmol (0,100 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais marrons; PF: 195-196 °C; Rend.: 0.13 g (77%); R_f = 0.65 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.50.2 Análise elementar para $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{FeN}_3\text{OS}$: Teórico: C, 53.04; H, 3.44; N, 8.43; S, 6.44. Calculado: C, 53.00; H, 3.37; N, 8.52; S, 6.34..

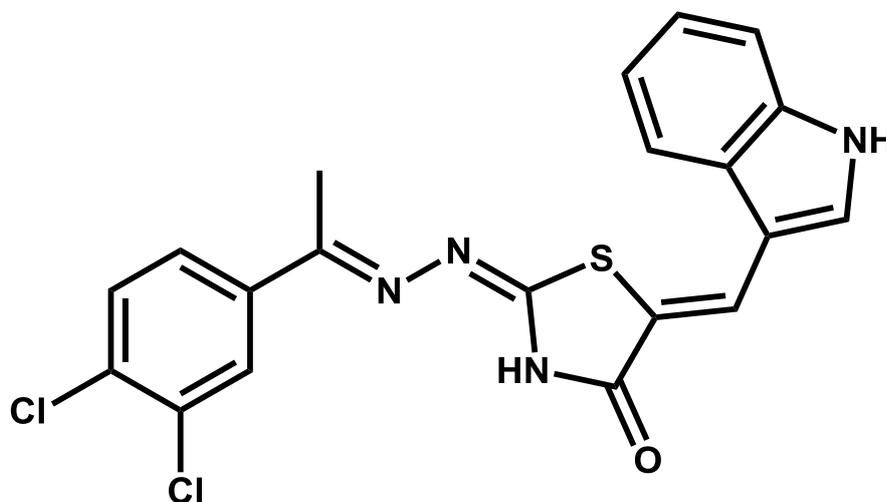
6.2.50.3 IV, principais sinais: 1707 (C=O), 1646 e 1628 (C=N), e 1530 (C=C) cm^{-1} .

6.2.50.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.42 (s, 3H, CH₃), 4.21 (s, 5H, Fe-CH), 4.58 (s, 2H, Fe-CH), 4.7 (s, 2H, Fe-CH), 7.41 (s, 1H, CH exocíclico), 7.76 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.91 (d, 1H, J 8.1 Hz, Ar), 8.05 (s, 1H, Ar), 9.89 (s, 1H, NH).

6.2.50.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ .

6.2.50.6 EMAR (ESI): Calculado para C₂₂H₁₈FeCl₂N₃OS [M+H]⁺: 497.9897.

6.2.51 5-((1H-indol-3-il)metileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-tiazolidin-4-ona (27 α ; BZ-31)



6.2.51.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 1.0 mmol (0.254 g) do indolcarboxialdeído, 25 mL de etanol, 0.50 mmol (0.15 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente. Cristais amarelos; PF: 255-256 °C; Rend.: 0.08 g (39%); R_f = 0.56 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.51.2 Análise elementar para C₂₀H₁₆Cl₂N₄OS: Teórico: C, 55.69; H, 3.74; N, 12.99; S, 7.43. Calculado: C, 55.79; H, 3.56; N, 13.17; S, 7.58.

6.2.51.3 IV, principais sinais: 1702 (C=O), 1626 e 1588 (C=N), e 1515 (C=C) cm⁻¹.

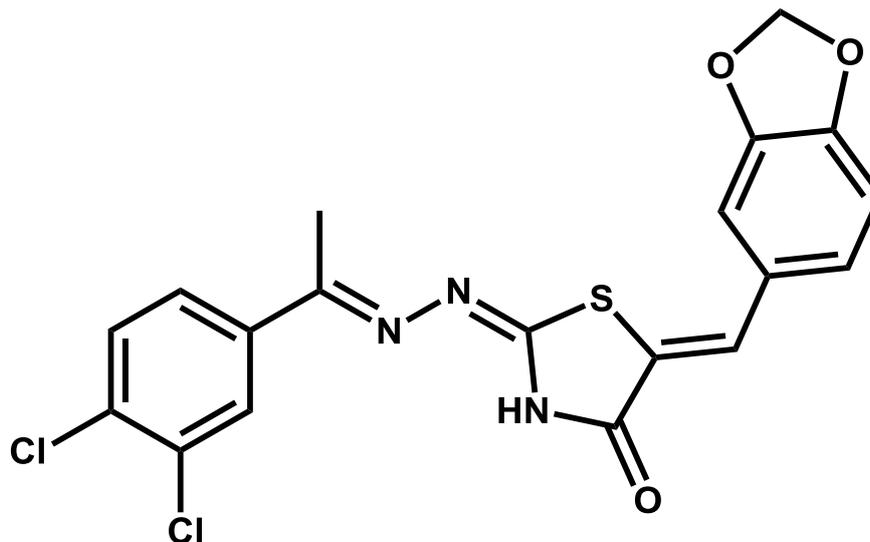
6.2.51.4 RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.45 (s, 3H, CH₃), 7.18-7.26 (m, 2H, Ar), 7.50 (d, 1H, Ar), 7.71-7.92 (m, 5H), 8.07 (s, 1H, Ar), 12.02 (s, 1H, NH), 12.38 (s, 1H, NH).

6.2.51.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.7 (CH₃), 110.6 (C, Ar), 112.2 (CH, Ar), 116.0 (CH, Ar), 118.2 (CH, Ar), 120.7 (CH, Ar), 121.7 (CH, Ar), 122.8

(C=CH, CH exocíclico), 126.6 (CH, Ar), 126.7 (CH, Ar), 128.0 (CH, Ar), 128.2 (C, Ar); 130.6 (C, Ar); 131.3 (C=CH, C5 heterociclo); 132.4 (C, Ar), 136.1 (C, Ar), 138.2 (C, Ar), 159.1 (C=N), 160.1 (S-C=N), 167.3 (C=O).

6.2.51.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{20}H_{17}Cl_2N_4OS$ $[M+H]^+$: 431.0500.

6.2.52 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]tiazolidin-4-ona (27 β ; BZ-28)



6.2.52.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 0.66 mmol (0.099 g) do dioxolcarboxialdeído, 10 mL de etanol, 0.33 mmol (0.100 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais amarelos; PF: não observado até 300 °C; Rend.: 0.09 g (62%); R_f = 0.65 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.52.2 Análise elementar para $C_{19}H_{13}Cl_2N_3O_3S$: Teórico: C, 52.55; H, 3.02; N, 9.68; S, 7.38. Calculado: C, 52.17; H, 3.32; N, 9.49; S, 7.17.

6.2.52.3 IV, principais sinais: 1701 (C=O), 1640 e 1628 (C=N), e 1540 (C=C) cm^{-1} .

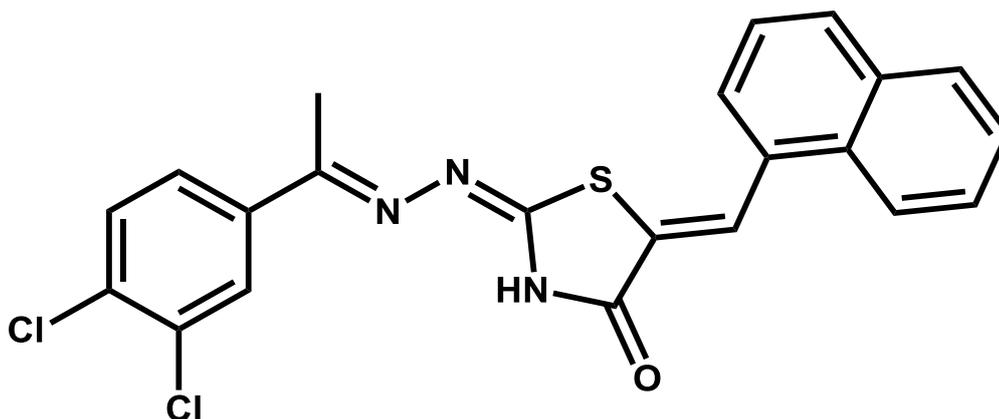
6.2.52.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.44 (s, 3H, CH₃), 6.13 (s, 2H, CH₂), 7.10 (d, 1H, J 8.7 Hz, Ar), 7.20 (m, 2H, Ar), 7.54 (s, 1H, CH exocíclico), 7.75 (d, 1H, J 8.1, Ar), 7.88 (dd, 1H, Ar), 8.04 (d, 1H, J 1.8 Hz, Ar).

6.2.52.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 15.3 (CH₃), 101.2 (O-CH₂-O), 109.4 (CH, Ar), 110.7 (CH, Ar), 123.4 (C=CH, C5 heterociclo), 124.6 (CH, Ar), 126.5 (CH, Ar), 129.3 (C, Ar), 130.2 (C=CH, CH exocíclico); 130.4 (CH, Ar); 131.0 (CH, Ar),

132.4 (C, Ar), 132.5 (C, Ar); 133.2 (C, Ar), 148.1 (C-O, Ar), 148.8 (C-O, Ar), 156.3 (C=N), 163.4 (S-C=N), 171.1 (C=O).

6.2.52.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{19}H_{14}Cl_2N_3O_3S$ $[M+H]^+$: 434.0133.

6.2.53 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(naftalen-1-ilmetileno)-tiazolidin-4-ona (27λ; BZ-16)



6.2.53.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 4.96 mmol (0.775 g) do 1-naftaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais marrons; PF: 267-268 °C; Rend.: 0.16 g (22%); R_f = 0.79 (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.53.2 Análise elementar para $C_{22}H_{15}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 60.01; H, 3.43; N, 9.54; S, 7.28. Calculado: C, 60.00; H, 3.55; N, 9.48; S, 7.13.

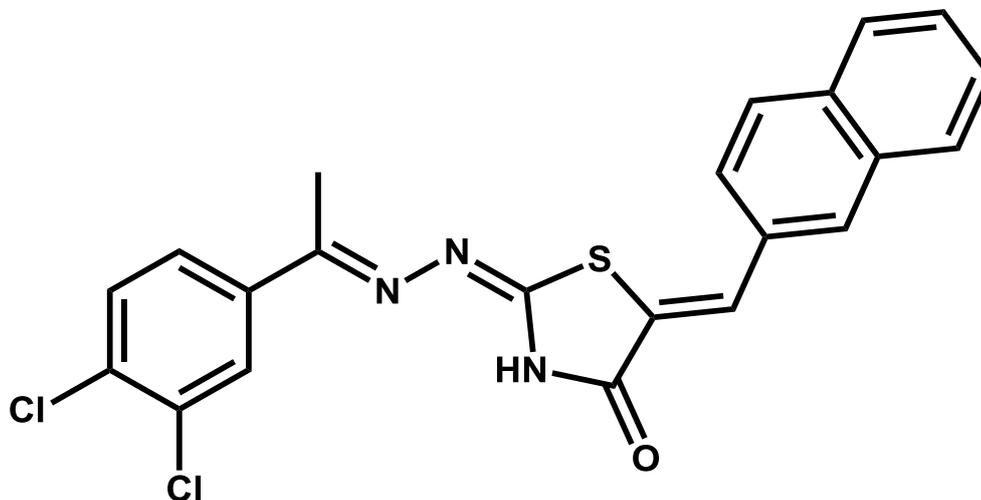
6.2.53.3 IV, principais sinais: cm^{-1} : 1707 (C=O), 1637 e 1601 (C=N), e 1540 (C=C) cm^{-1} .

6.2.53.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.36 (s, 3H, CH_3), 7.58-7.66 (m, 4H, Ar), 7.67 (s, 1H, CH exocíclico), 7.78-7.99 (m, 6H, Ar).

6.2.53.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.3 (CH_3), 119.2 (CH, Ar); 123.2 ($C=CH$, C5 heterociclo), 125.4 (CH, Ar), 125.6 (CH, Ar), 125.8 (CH, Ar), 126.2 (CH, Ar); 126.7 (CH, Ar); 127.4 (CH, Ar); 128.7 (C, Ar), 130.4 (C, Ar), 131.1 ($C=CH$, CH exocíclico), 132.7 (C, Ar), 133.3 (C, Ar), 139.3 (C, Ar), 156.3 (C=N), 163.8 (S-C=N), 171.4 (C=O).

6.2.53.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{22}H_{14}Cl_2N_3OS$ $[M-H]^+$: 438.0235; encontrado 438.032.

6.2.54 2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-5-(naftalen-2-ilmetileno)-tiazolidin-4-ona (27 ω ; BZ-17)



6.2.54.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 1.48 mmol (0.231 g) do 2-naftaldeído, 10 mL de etanol, 0.74 mmol (0.224 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais marrons; PF: 242 °C; Rend.: 0.09 g (27%); $R_f = 0.75$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.54.2 Análise elementar para $C_{22}H_{15}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 60.01; H, 3.43; N, 9.54; S, 7.28. Calculado: C, 60.17; H, 3.75; N, 9.38; S, 7.42.

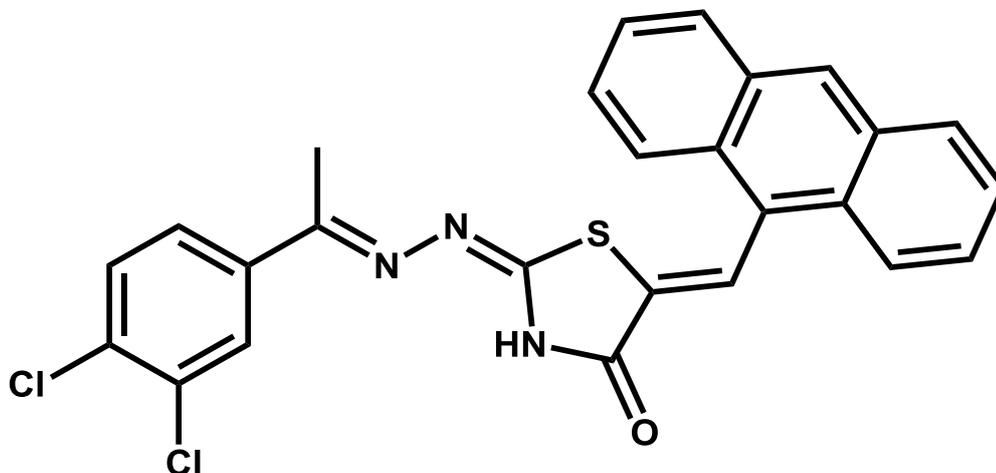
6.2.54.3 IV, principais sinais: cm^{-1} : 1703 (C=O), 1640 e 1607 (C=N), e 1560 (C=C) cm^{-1} .

6.2.54.4 RMN de 1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 2.45 (s, 3H, CH_3), 7.59-7.62 (m, 2H, Ar), 7.74-7.75 (m, 2H, Ar), 7.77 (s, 1H, CH exocíclico), 7.90-8.07 (m, 5H, Ar), 8.21 (s, 1H, Ar).

6.2.54.5 RMN de ^{13}C e DEPT (75.5 MHz, DMSO- d_6): δ 14.8 (CH_3), 126.0 ($C=CH$, C5 heterociclo), 126.6 (CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 127.6 (CH, Ar), 128.3 (CH, Ar); 128.5 (CH, Ar); 128.8 (CH, Ar); 129.2 (CH, Ar), 130.3 (C, Ar), 130.7 (C, Ar), 131.2 (C, Ar), 132.6 ($C=CH$, CH exocíclico); 132.7 (C, Ar), 132.9 (C, Ar), 156.3 (C=N), 163.9 (S-C=N), 171.4 (C=O).

6.2.54.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{22}H_{16}Cl_2N_3OS$ $[M+H]^+$: 440.0391; encontrado 440.0950.

6.2.55 5-(antracen-9-ilmetileno)-2-[1-(3,4-diclorofenil)etilideno-hidrazona]-tiazolidin-4-ona (27 γ ; BZ-15)



6.2.55.1 Procedimento reacional semelhante ao descrito no item **6.2.26.1**, 4.96 mmol (1.02 g) do 9-antracenaldeído, 25 mL de etanol, 1.65 mmol (0.5 g) do composto (**GT-04**) e 5 gotas de morfolina. O produto foi recristalizado em etanol a quente.

Cristais laranjas; PF: 268 °C; Rend.: 0.35 g (44%); $R_f = 0.79$ (Tolueno / Acetato de etila 6:4).

6.2.55.2 Análise elementar para $C_{26}H_{17}Cl_2N_3OS$: Teórico: C, 63.68; H, 3.49; N, 8.57; S, 6.54. Calculado: C, 63.70; H, 3.76; N, 8.66; S, 6.62.

6.2.55.3 IV, principais sinais: cm^{-1} : 1703 (C=O), 1640 e 1607 (C=N), e 1560 (C=C) cm^{-1} .

6.2.55.4 RMN de 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.34 (s, 3H, CH₃), 7.49 (d, 1H, J 8.4 Hz, Ar), 7.55 (dd, 1H, J 8.4 and 1.6 Hz, Ar), 7.56-7.57 (m, 1H, Ar), 7.58 (s, 1H, CH exocíclico), 7.75 (d, 1H, J 1.6 Hz, Ar), 7.99-8.02 (m, 2H, Ar), 8.15-8.18 (m, 2H, Ar), 8.25 (s, 1H, Ar), 8.70 (s, 1H, NH).

6.2.55.5 RMN de ^{13}C e DEPT (100 MHz, DMSO- d_6): δ 14.5 (CH₃), 125.2 (C=CH, C5 heterociclo), 125.7 (CH, Ar), 125.9 (CH, Ar), 126.6 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 128.9 (CH, Ar); 130.4 (C, Ar); 130.8 (C, Ar); 131.1 (C, Ar); 131.8 (C, Ar), 134.2 (C=CH, CH exocíclico); 138.2 (C, Ar), 163.9 (C=N), 178.7 (S-C=N), 181.2 (C=O).

6.2.55.6 EMAR (ESI): Calculado para $C_{26}H_{18}Cl_2N_3OS$ [M+H]⁺: 490.0548; encontrado 490.0287.

6.3 Ensaios biológicos

6.3.1 Drogas: As soluções estoque dos compostos (20 mM) foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e adicionadas previamente às culturas numa concentração final de solvente não tóxica para células (<1%, v/v). O Benzonidazol (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, Brasil) foi utilizado como fármaco referência.

6.3.2 Culturas de células de mamíferos: Culturas primárias de cardiomiócitos embrionários (CM) foram obtidas de camundongos suíços como descrito anteriormente (MEIRELLES et al., 1986). Após a sua purificação, as culturas de CM foram mantidas em meio Eagle's modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com CaCl₂ 2,5 mM, L-glutamina 1 mM, 5% de soro fetal bovino inativado pelo calor a (FBS) (30 min, 56 °C) e 2% de extrato de embrionário de pinto. As culturas de CM foram mantidas a 37 °C numa atmosfera umidificada de 5% de CO₂.

Os fibroblastos L929 de murino foram cultivados em frascos de cultura de plástico (75 cm²) utilizando Meio Mínimo Essencial (MEM) sem vermelho de fenol e suplementados conforme relatado (FONSECA-BERZAL et al., 2014) (MEMS) ou RPMI-1640 sem vermelho de fenol suplementado com 10% de FBS inativado pelo calor e 2 mM de glutamina (RPMIS). As culturas L929 foram mantidas numa atmosfera umidificada a 5% de CO₂ a 37 °C e subpassadas uma vez por semana. Utilizou-se 0,03% de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) e 0,05% de tripsina em solução salina tamponada com fosfato (PBS) para desprendimento de células.

6.3.3 Parasitas: As formas tripomastigotas sanguíneas (BT) da cepa Y do *T. cruzi*, originalmente isoladas de um caso agudo humano (L. H. SILVA; NUSSENZWEIG, 1957) e a cepa Tulahuen, estavelmente transfectadas com gene *lacZ* da *Escherichia coli* β -galactosidase (BUCKNER et al., 1996) foram utilizadas ao longo dos experimentos.

Tripomastigotas sanguíneas (BT) da cepa Y foram obtidas por punção cardíaca de camundongos suíços infectados, realizada no dia do pico de parasitemia, e depois da sua purificação, foram suspensas em meio RPMI suplementado com FBS inativado com calor a 5%.

Em relação aos parasitas da cepa Tulahuen, as tripomastigotas derivadas de cultura de tecidos (TCT) desta cepa transfectada com o gene da β -galactosidase foram colhidas no sobrenadante de culturas L929 previamente infectadas com formas invasivas de *T. cruzi*, e mantidas em meio RPMIS a 37 °C numa atmosfera umidificada a 5% de CO₂ (ROMANHA et al., 2010).

O efeito contra as formas intracelulares foi investigado através da utilização de linhagens de células L929 infectadas com tripomastigotas derivadas de cultura de tecidos (cepa Tulahuen que expressa o gene da β -galactosidase de *E. coli*), utilizando uma razão parasita/célula hospedeira 10:1. A incubação com os compostos testados foi realizada durante 96 h, seguindo protocolos previamente estabelecidos (ROMANHA et al., 2010).

6.3.4 Ensaios de citotoxicidade: Para detectar qualquer potencial de toxicidade em relação à célula hospedeira, culturas de CM e L929 foram incubadas com estes compostos e a função metabólica celular foi medida na presença de indicadores baseados em resazurina (PrestoBlue[®] e AlamarBlue[®], respectivamente).

De acordo com isto, 100 μ L de DMEM contendo 6×10^4 CM por poço foram semeados em microplacas de 96 poços previamente revestidas com gelatina e incubadas durante a noite a 37 °C numa atmosfera umidificada a 5% de CO₂.

Posteriormente, o meio foi substituído por soluções de cada composto em DMEM fresco e as placas foram incubadas por 24 ou 48 h nas condições acima mencionadas. Cada concentração foi avaliada em triplicata e os controles de crescimento celular foram incluídos em todas as placas. Uma vez concluída a incubação, tanto a morfologia celular quanto a capacidade de contração foram examinadas por microscopia óptica e viabilidade celular avaliadas adicionando-se 10 μ L do indicador redox PrestoBlue[®] de acordo com as instruções do fabricante. Após 5 h de incubação a 37 °C numa atmosfera umidificada a de 5% de CO₂, a absorbância foi lida a 570 e 600 nm e os resultados foram expressos como a percentagem de citotoxicidade em CM (%C_{CM}) (ROMANHA et al., 2010).

Além disso, a citotoxicidade sobre L929 foi realizada em placas de 96 poços semeando 4×10^3 em 100 μ L de MEM por poço. A morfologia das células foi avaliada por microscopia óptica e a viabilidade celular determinada por um ensaio colorimétrico utilizando 20 μ L AlamarBlue[®] (Invitrogen) adicionado a cada poço.

Após incubação durante 24 ou 96 h, a absorbância foi determinada (a 570 e 600 nm) e os resultados foram determinados seguindo as instruções do fabricante.

Para ambos os ensaios, a concentração que inibe 50% de crescimento celular (DL_{50}) foi estimada traçando concentrações de fármaco vs %C (ROMANHA et al., 2010; FONSECA-BERZAL et al., 2015).

6.3.5 Análise tripanocidas:

As formas tripomastigotas sanguíneas da cepa Y (5×10^6 por mL) foram incubadas durante 24 horas a 37 °C em RPMI na presença de diluições seriadas dos compostos (0 a 50 μ M), os parasitas incubados apenas com o meio de cultura foram usados como controle.

Após a incubação do composto, as taxas de mortalidade do parasita foram determinadas por microscopia óptica através da quantificação direta do número de parasitas vivos usando uma câmara de Neubauer e a CC_{50} (concentração de composto que reduz 50% do número de parasitas) foi calculada. Além disso, o CC_{90} (concentração de composto que reduz 90% do número de parasitas) foi adicionalmente calculado nos ensaios utilizando a cepa Y (TIMM et al., 2014).

Para o ensaio em formas intracelulares, células de linhagem L929 foram utilizadas como hospedeiras para a infecção utilizando a cepa Tulahuen. Resumidamente, as culturas de L929 infectadas com Tulahuen foram expostas a 10 μ M dos compostos (correspondendo ao valor CC_{90} de Bdz), conforme relatado por (TIMM et al., 2014). Após 96 h de incubação dos compostos a 37 °C, adicionou-se o glicosídeo vermelho de clorofenol (500 μ M) - (Sigma Aldrich) a cada poço e a placa foi incubada por 8 h at 37°C. Em seguida, mediu-se a absorbância a 570 nm. As culturas não infectadas e infectadas com *T. cruzi* submetidas à exposição do veículo e Bdz, respectivamente, foram executadas em paralelo. Os resultados são expressos como a percentagem de inibição do crescimento de *T. cruzi* em células testadas em comparação com as células infectadas e células não tratadas (ROMANHA et al., 2010). As amostras foram testadas em triplicata executadas na mesma placa, e pelo menos dois ensaios foram realizados para cada análise.

Referências

Referências

ALVAREZ, V. E.; NIEMIROWICZ, G. T.; CAZZULO, J. J. The peptidases of *Trypanosoma cruzi*: digestive enzymes, virulence factors, and mediators of autophagy and programmed cell death. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1824, n. 1, p. 195–206, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21621652>>.

ALVES, A. J.; LEITE, A. C.; DE SANTANA, D. P.; BELTRAO, T. M.; COELHO, M. R.; GAYRAL, P. Synthesis of some 4-oxo-delta 2-thiazolin-2-ylhydrazones as potential antiprotozoal agents. **Farmaco (Societa chimica italiana: 1989)**, v. 48, n. 8, p. 1167–71, ago. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8216678>>.

ANDRES, C. J.; BRONSON, J. J.; D'ANDREA, S. V.; DESHPANDE, M. S.; FALK, P. J.; GRANT-YOUNG, K. A.; HARTE, W. E.; HO, H.-T.; MISCO, P. F.; ROBERTSON, J. G.; STOCK, D.; SUN, Y.; WALSH, A. W. 4-Thiazolidinones: novel inhibitors of the bacterial enzyme murB. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 10, n. 8, p. 715–717, abr. 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X00000731>>.

BERN, C. Antitrypanosomal therapy for chronic Chagas' disease. **The New England journal of medicine**, v. 364, n. 26, p. 2527–34, 30 jun. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21714649>>.

BRAK, K.; DOYLE, P. S.; MCKERROW, J. H.; ELLMAN, J. A. Identification of a new class of nonpeptidic inhibitors of cruzain. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 20, p. 6404–10, 21 maio 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18435536>>.

BROWN, F. C. 4-thiazolidinones. **Chemical reviews**, v. 61, n. 5, p. 463–521, 1961. Disponível em: <https://scholar.google.com.br/scholar?q=Chemical+reviews%2C+v.+61%2C+p.+463-521%2C+1961+&btnG=&hl=pt-BR&as_sdt=0%2C5>. Acesso em: 7 fev. 2017.

BRUNO, G.; COSTANTINO, L.; CURINGA, C.; MACCARI, R.; MONFORTE, F.; NICOLÓ, F.; OTTANÀ, R.; VIGORITA, M. G. Synthesis and aldose reductase

inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 10, n. 4, p. 1077–84, abr. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11836118>>.

BU, X.; JING, H.; WANG, L.; CHANG, T.; JIN, L.; LIANG, Y. Organic base catalyzed O-alkylation of phenols under solvent-free condition. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 259, n. 1–2, p. 121–124, nov. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381116906009241>>.

BUCKNER, F. S.; NAVABI, N. Advances in Chagas disease drug development: 2009-2010. **Current opinion in infectious diseases**, v. 23, n. 6, p. 609–16, dez. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20885320>>.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C. L.; LA FLAMME, A. C.; VAN VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 40, n. 11, p. 2592–7, nov. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8913471>>.

CAPUTTO, M. E.; CICCARELLI, A.; FRANK, F.; MOGLIONI, A. G.; MOLTRASIO, G. Y.; VEGA, D.; LOMBARDO, E.; FINKIELSZTEIN, L. M. Synthesis and biological evaluation of some novel 1-indanone thiazolyldrazones as anti-*Trypanosoma cruzi* agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 55, p. 155–63, set. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22840495>>.

CAPUTTO, M. E.; FABIAN, L. E.; BENÍTEZ, D.; MERLINO, A.; RÍOS, N.; CERECETTO, H.; MOLTRASIO, G. Y.; MOGLIONI, A. G.; GONZÁLEZ, M.; FINKIELSZTEIN, L. M. Thiosemicarbazones derived from 1-indanones as new anti-*Trypanosoma cruzi* agents. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, n. 22, p. 6818–26, 15 nov. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22000947>>.

CARDOSO, M. V. de O.; SIQUEIRA, L. R. P. de; SILVA, E. B. da; COSTA, L. B.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; FERREIRA, R. S.; DA CRUZ, L. F.; MAGALHÃES MOREIRA, D. R.; PEREIRA, V. R. A.; DE CASTRO, M. C. A. B.; BERNHARDT, P. V.; LEITE, A. C. L. 2-Pyridyl thiazoles as novel anti-*Trypanosoma cruzi* agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. **European**

Journal of Medicinal Chemistry, v. 86, p. 48–59, out. 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523414007399>>.

CASTRO, J. A.; DE MECCA, M. M.; BARTEL, L. C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human & experimental toxicology**, v. 25, n. 8, p. 471–9, ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16937919>>.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 2, p. 159–218, ago. 1909. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761909000200008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

CHATELAIN, E. Chagas Disease Drug Discovery: Toward a New Era. **J Biomol Screen**, v. 20, n. 1, p. 22–35, 2015.

CHIYANZU, I.; HANSELL, E.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J. H.; CHIBALE, K. Synthesis and evaluation of isatins and thiosemicarbazone derivatives against cruzain, falcipain-2 and rhodesain. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 13, n. 20, p. 3527–30, 20 out. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14505663>>.

CLAYTON, J. Chagas disease: pushing through the pipeline. **Nature**, v. 465, n. 7301, p. S12-5, 24 jun. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20571548>>.

COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 6, p. 641–645, set. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22012216>>.

DE OLIVEIRA FILHO, G. B.; DE OLIVEIRA CARDOSO, M. V.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; FERREIRA, L. F. G. R.; DE SIMONE, C. A.; FERREIRA, R. S.; COELHO, P. L.; MEIRA, C. S.; MAGALHAES MOREIRA, D. R.; SOARES, M. B. P.; LIMA LEITE, A. C. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of 4-thiazolidinones

against *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 23, p. 7478–7486, dez. 2015. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089615301243>>.

DEMORO, B.; ROSSI, M.; CARUSO, F.; LIEBOWITZ, D.; OLEA-AZAR, C.; KEMMERLING, U.; MAYA, J. D.; GUISET, H.; MORENO, V.; PIZZO, C.; MAHLER, G.; OTERO, L.; GAMBINO, D. Potential mechanism of the anti-trypanosomal activity of organoruthenium complexes with bioactive thiosemicarbazones. **Biological trace element research**, v. 153, n. 1–3, p. 371–81, jun. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23564472>>.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R.; YASUDA, M. A. S. The present situation, challenges, and perspectives regarding the production and utilization of effective drugs against human Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 123–5, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603750>>.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444–2457, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000900038&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

DNDI. **Study to Evaluate Fexinidazole Dosing Regimens for the Treatment of Adult Patients With Chagas Disease - Full Text View - ClinicalTrials.gov**. Disponível em: <<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02498782?term=Fexinidazole+AND+Chagas&rank=1#contacts>>. Acesso em: 7 fev. 2017.

DOS SANTOS FILHO, J. M.; DE QUEIROZ E SILVA, D. M. A.; MACEDO, T. S.; TEIXEIRA, H. M. P.; MOREIRA, D. R. M.; CHALLAL, S.; WOLFENDER, J. L.; QUEIROZ, E. F.; SOARES, M. B. P. Conjugation of N-acylhydrazones and 1,2,4-oxadiazole leads to the identification of active antimalarial agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 22, p. 5693–5701, 2016.

DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.;

MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thio semicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. **Journal of medicinal chemistry**, v. 45, n. 13, p. 2695–707, 20 jun. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12061873>>.

DU, X.; HANSELL, E.; ENGEL, J. C.; CAFFREY, C. R.; COHEN, F. E.; MCKERROW, J. H. Aryl ureas represent a new class of anti-trypanosomal agents. **Chemistry & biology**, v. 7, n. 9, p. 733–42, set. 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10980453>>.

DUSCHAK, V. G. A decade of targets and patented drugs for chemotherapy of Chagas disease. **Recent patents on anti-infective drug discovery**, v. 6, n. 3, p. 216–59, 1 set. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21824073>>.

EL-SAYED, N. M.; MYLER, P. J.; BARTHOLOMEU, D. C.; NILSSON, D.; AGGARWAL, G.; TRAN, A.-N.; GHEDIN, E.; WORTHEY, E. A.; DELCHER, A. L.; BLANDIN, G.; WESTENBERGER, S. J.; CALER, E.; CERQUEIRA, G. C.; BRANCHE, C.; HAAS, B.; ANUPAMA, A.; ARNER, E.; ASLUND, L.; ATTIPOE, P.; BONTEMPI, E.; BRINGAUD, F.; BURTON, P.; CADAG, E.; CAMPBELL, D. A.; CARRINGTON, M.; CRABTREE, J.; DARBAN, H.; DA SILVEIRA, J. F.; DE JONG, P.; EDWARDS, K.; ENGLUND, P. T.; FAZELINA, G.; FELDBLYUM, T.; FERELLA, M.; FRASCH, A. C.; GULL, K.; HORN, D.; HOU, L.; HUANG, Y.; KINDLUND, E.; KLINGBEIL, M.; KLUGE, S.; KOO, H.; LACERDA, D.; LEVIN, M. J.; LORENZI, H.; LOUIE, T.; MACHADO, C. R.; MCCULLOCH, R.; MCKENNA, A.; MIZUNO, Y.; MOTTRAM, J. C.; NELSON, S.; OCHAYA, S.; OSOEGAWA, K.; PAI, G.; PARSONS, M.; PENTONY, M.; PETTERSSON, U.; POP, M.; RAMIREZ, J. L.; RINTA, J.; ROBERTSON, L.; SALZBERG, S. L.; SANCHEZ, D. O.; SEYLER, A.; SHARMA, R.; SHETTY, J.; SIMPSON, A. J.; SISK, E.; TAMMI, M. T.; TARLETON, R.; TEIXEIRA, S.; VAN AKEN, S.; VOGT, C.; WARD, P. N.; WICKSTEAD, B.; WORTMAN, J.; WHITE, O.; FRASER, C. M.; STUART, K. D.; ANDERSSON, B. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. **Science (New York, N.Y.)**, v. 309, n. 5733, p. 409–15, 15 jul. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16020725>>. Acesso em: 7 fev. 2017.

FAUSTINO TORRICO. **Drug Trial for Leading Parasitic Killer of the Americas**

Shows Mixed Results but Provides New Evidence for Improved Therapy – DNDi (“E1224—results of proof-of-concept clinical trial in patients with chronic indeterminate Chagas disease”). Disponível em: <<http://www.dndi.org/2013/media-centre/press-releases/e1224/>>. Acesso em: 7 fev. 2017.

FEITOZA, D. D.; ALVES, A. J.; LIMA, J. G. de; ARAÚJO, J. M.; AGUIAR, J. S.; RODRIGUES, M. do D.; SILVA, T. G.; NASCIMENTO, S. C. do; GÓES, A. J. da S. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of 5-benzylidene-2-[(pyridine-4-ylmethylene)hydrazono]-thiazolidin-4-one and 2-[(pyridine-4-ylmethylene)hydrazono]-thiazolidin-4-one derivatives. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 694–698, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000400007&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

FONSECA-BERZAL, C.; ESCARIO, J. A.; ARÁN, V. J.; GÓMEZ-BARRIO, A. Further insights into biological evaluation of new anti-*Trypanosoma cruzi* 5-nitroindazoles. **Parasitology research**, v. 113, n. 3, p. 1049–56, mar. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24435615>>.

FONSECA-BERZAL, C.; PALMEIRO-ROLDÁN, R.; ESCARIO, J. A.; TORRADO, S.; ARÁN, V. J.; TORRADO-SANTIAGO, S.; GÓMEZ-BARRIO, A. Novel solid dispersions of benznidazole: preparation, dissolution profile and biological evaluation as alternative antichagasic drug delivery system. **Experimental parasitology**, v. 149, p. 84–91, fev. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25583295>>.

FRICKER, S. P.; MOSI, R. M.; CAMERON, B. R.; BAIRD, I.; ZHU, Y.; ANASTASSOV, V.; COX, J.; DOYLE, P. S.; HANSELL, E.; LAU, G.; LANGILLE, J.; OLSEN, M.; QIN, L.; SKERLJ, R.; WONG, R. S. Y.; SANTUCCI, Z.; MCKERROW, J. H. Metal compounds for the treatment of parasitic diseases. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 102, n. 10, p. 1839–45, out. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18684510>>.

FUJII, N.; MALLARI, J. P.; HANSELL, E. J.; MACKEY, Z.; DOYLE, P.; ZHOU, Y. M.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J. H.; GUY, R. K. Discovery of potent thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 15, n. 1, p. 121–3, 3 jan. 2005. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15582423>>.

GASCON, J.; BERN, C.; PINAZO, M.-J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. **Acta tropica**, v. 115, n. 1–2, p. 22–7, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19646412>>.

GREENBAUM, D. C.; MACKEY, Z.; HANSELL, E.; DOYLE, P.; GUT, J.; CAFFREY, C. R.; LEHRMAN, J.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J. H.; CHIBALE, K. Synthesis and structure-activity relationships of parasitocidal thiosemicarbazone cysteine protease inhibitors against Plasmodium falciparum, Trypanosoma brucei, and Trypanosoma cruzi. **Journal of medicinal chemistry**, v. 47, n. 12, p. 3212–9, 3 jun. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15163200>>.

GUEDES, P. M. M.; SILVA, G. K.; GUTIERREZ, F. R. S.; SILVA, J. S. Current status of Chagas disease chemotherapy. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 9, n. 5, p. 609–20, maio 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21609270>>.

GUIDO, R. V. C.; TROSSINI, G. H. G.; CASTILHO, M. S.; OLIVA, G.; FERREIRA, E. I.; ANDRICOPULO, A. D. Structure-activity relationships for a class of selective inhibitors of the major cysteine protease from Trypanosoma cruzi. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 23, n. 6, p. 964–73, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19005945>>.

HOTEZ, P. J.; BOTTAZZI, M. E.; FRANCO-PAREDES, C.; AULT, S. K.; PERIAGO, M. R. The Neglected Tropical Diseases of Latin America and the Caribbean: A Review of Disease Burden and Distribution and a Roadmap for Control and Elimination. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 9, p. e300, 24 set. 2008. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0000300>>.

JACKSON, Y.; PINTO, A.; PETT, S. Chagas disease in Australia and New Zealand: risks and needs for public health interventions. **Tropical medicine & international health: TM & IH**, v. 19, n. 2, p. 212–8, fev. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24299280>>.

KÜÇÜKGÜZEL, G.; KOCATEPE, A.; DE CLERCQ, E.; ŞAHİN, F.; GÜLLÜCE, M. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived

from diflunisal hydrazide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 353–359, mar. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523405003144>>.

L. H. SILVA; NUSSENZWEIG, V. “Sobre uma cepa de Trypanosoma cruzi altamente virulenta para o camundongo branco.” **Folha Clinica e Biologica**, v. 20, p. 191–207, 1957.

LEITE, A. C. L.; DE LIMA, R. S. R. S.; MOREIRA, D. R. de M.; CARDOSO, M. V. de O.; GOUVEIA DE BRITO, A. C.; FARIAS DOS SANTOS, L. M.; HERNANDES, M. Z.; KIPERSTOK, A. C.; DE LIMA, R. S. R. S.; SOARES, M. B. P. P. Synthesis, docking, and in vitro activity of thiosemicarbazones, aminoacyl-thiosemicarbazides and acyl-thiazolidones against Trypanosoma cruzi. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 11, p. 3749–3757, jun. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089606000629>>.

LEITE, A. C. L.; DE M. MOREIRA, D. R.; DE O. CARDOSO, M. V.; HERNANDES, M. Z.; ALVES PEREIRA, V. R.; SILVA, R. O.; KIPERSTOK, A. C.; DA S. LIMA, M.; SOARES, M. B. P. Synthesis, Cruzain Docking, and in vitro Studies of Aryl-4-Oxothiazolyhydrazones Against Trypanosoma cruzi. **ChemMedChem**, v. 2, n. 9, p. 1339–1345, 10 set. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cmdc.200700022>>.

LEITE, A. C. L.; MOREIRA, D. R. de M.; COELHO, L. C. D.; DE MENEZES, F. D.; BRONDANI, D. J. Synthesis of aryl-hydrazones via ultrasound irradiation in aqueous medium. **Tetrahedron Letters**, v. 49, n. 9, p. 1538–1541, fev. 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004040390702583X>>.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. **Current medicinal chemistry**, v. 12, n. 1, p. 23–49, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15638729>>.

LIMA LEITE, A. C.; SANTOS, L. M. F.; BARBOSA, F. F.; DE OLIVEIRA CARDOSO, M. V.; MOREIRA, D. R. M.; DE SOUZA, I. A. Synthesis of aminoacyl thiazolidones as potential antitumour agents. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 60, n. 3, p. 121–126, abr. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S075333220600014X>>.

LOCKMAN, J. W.; HAMILTON, A. D. Recent developments in the identification of chemotherapeutics for Chagas disease. **Current medicinal chemistry**, v. 12, n. 8, p. 945–59, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15853707>>.

LOZANO, R.; NAGHAVI, M.; FOREMAN, K.; LIM, S.; SHIBUYA, K.; ABOYANS, V.; ABRAHAM, J.; ADAIR, T.; AGGARWAL, R.; AHN, S. Y.; ALVARADO, M.; ANDERSON, H. R.; ANDERSON, L. M.; ANDREWS, K. G.; ATKINSON, C.; BADDOUR, L. M.; BARKER-COLLO, S.; BARTELS, D. H.; BELL, M. L.; BENJAMIN, E. J.; BENNETT, D.; BHALLA, K.; BIKBOV, B.; BIN ABDULHAK, A.; BIRBECK, G.; BLYTH, F.; BOLLIGER, I.; BOUFOUS, S.; BUCELLO, C.; BURCH, M.; BURNEY, P.; CARAPETIS, J.; CHEN, H.; CHOU, D.; CHUGH, S. S.; COFFENG, L. E.; COLAN, S. D.; COLQUHOUN, S.; COLSON, K. E.; CONDON, J.; CONNOR, M. D.; COOPER, L. T.; CORRIERE, M.; CORTINOVIS, M.; DE VACCARO, K. C.; COUSER, W.; COWIE, B. C.; CRIQUI, M. H.; CROSS, M.; DABHADKAR, K. C.; DAHODWALA, N.; DE LEO, D.; DEGENHARDT, L.; DELOSSANTOS, A.; DENENBERG, J.; DES JARLAIS, D. C.; DHARMARATNE, S. D.; DORSEY, E. R.; DRISCOLL, T.; DUBER, H.; EBEL, B.; ERWIN, P. J.; ESPINDOLA, P.; EZZATI, M.; FEIGIN, V.; FLAXMAN, A. D.; FOROUZANFAR, M. H.; FOWKES, F. G. R.; FRANKLIN, R.; FRANSEN, M.; FREEMAN, M. K.; GABRIEL, S. E.; GAKIDOU, E.; GASPARI, F.; GILLUM, R. F.; GONZALEZ-MEDINA, D.; HALASA, Y. A.; HARING, D.; HARRISON, J. E.; HAVMOELLER, R.; HAY, R. J.; HOEN, B.; HOTEZ, P. J.; HOY, D.; JACOBSEN, K. H.; JAMES, S. L.; JASRASARIA, R.; JAYARAMAN, S.; JOHNS, N.; KARTHIKEYAN, G.; KASSEBAUM, N.; KEREN, A.; KHOO, J.-P.; KNOWLTON, L. M.; KOBUSINGYE, O.; KORANTENG, A.; KRISHNAMURTHI, R.; LIPNICK, M.; LIPSHULTZ, S. E.; OHNO, S. L.; MABWEIJANO, J.; MACINTYRE, M. F.; MALLINGER, L.; MARCH, L.; MARKS, G. B.; MARKS, R.; MATSUMORI, A.; MATZOPOULOS, R.; MAYOSI, B. M.; MCANULTY, J. H.; MCDERMOTT, M. M.; MCGRATH, J.; MENSAH, G. A.; MERRIMAN, T. R.; MICHAUD, C.; MILLER, M.; MILLER, T. R.; MOCK, C.; MOCUMBI, A. O.; MOKDAD, A. A.; MORAN, A.; MULHOLLAND, K.; NAIR, M. N.; NALDI, L.; NARAYAN, K. M. V.; NASSERI, K.; NORMAN, P.; O'DONNELL, M.; OMER, S. B.; ORTBLAD, K.; OSBORNE, R.; OZGEDIZ, D.; PAHARI, B.; PANDIAN, J. D.; RIVERO, A. P.; PADILLA, R. P.; PEREZ-RUIZ, F.; PERICO, N.; PHILLIPS, D.; PIERCE, K.; POPE, C. A.; PORRINI, E.; POURMALEK, F.; RAJU, M.; RANGANATHAN, D.; REHM, J. T.; REIN, D. B.; REMUZZI, G.; RIVARA, F. P.;

ROBERTS, T.; DE LEÓN, F. R.; ROSENFELD, L. C.; RUSHTON, L.; SACCO, R. L.; SALOMON, J. A.; SAMPSON, U.; SANMAN, E.; SCHWEBEL, D. C.; SEGUI-GOMEZ, M.; SHEPARD, D. S.; SINGH, D.; SINGLETON, J.; SLIWA, K.; SMITH, E.; STEER, A.; TAYLOR, J. A.; THOMAS, B.; TLEYJEH, I. M.; TOWBIN, J. A.; TRUELSEN, T.; UNDURRAGA, E. A.; VENKETASUBRAMANIAN, N.; VIJAYAKUMAR, L.; VOS, T.; WAGNER, G. R.; WANG, M.; WANG, W.; WATT, K.; WEINSTOCK, M. A.; WEINTRAUB, R.; WILKINSON, J. D.; WOOLF, A. D.; WULF, S.; YEH, P.-H.; YIP, P.; ZABETIAN, A.; ZHENG, Z.-J.; LOPEZ, A. D.; MURRAY, C. J. L.; ALMAZROA, M. A.; MEMISH, Z. A. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet (London, England)**, v. 380, n. 9859, p. 2095–128, 15 dez. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23245604>>.

MAGALHAES MOREIRA, D. R.; DE OLIVEIRA, A. D. T.; TEIXEIRA DE MORAES GOMES, P. A.; DE SIMONE, C. A.; VILLELA, F. S.; FERREIRA, R. S.; DA SILVA, A. C.; DOS SANTOS, T. A. R.; BRELAZ DE CASTRO, M. C. A.; PEREIRA, V. R. A.; LEITE, A. C. L. Conformational restriction of aryl thiosemicarbazones produces potent and selective anti-Trypanosoma cruzi compounds which induce apoptotic parasite death. **European journal of medicinal chemistry**, v. 75, p. 467–78, 21 mar. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24561675>>.

MARIN-NETO, J. A.; RASSI, A.; AVEZUM, A.; MATTOS, A. C.; RASSI, A.; MORILLO, C. A.; SOSA-ESTANI, S.; YUSUF, S.; BENEFIT INVESTIGATORS. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104 Suppl, p. 319–24, jul. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19753491>>.

MARIN-NETO, J. A.; RASSI, A.; MORILLO, C. A.; AVEZUM, A.; CONNOLLY, S. J.; SOSA-ESTANI, S.; ROSAS, F.; YUSUF, S.; BENEFIT INVESTIGATORS. Rationale and design of a randomized placebo-controlled trial assessing the effects of etiologic treatment in Chagas' cardiomyopathy: the BENznidazole Evaluation For Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT). **American heart journal**, v. 156, n. 1, p. 37–43, jul. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18585495>>.

MARTINS-MELO, F. R.; ALENCAR, C. H.; RAMOS, A. N.; HEUKELBACH, J. Epidemiology of mortality related to Chagas' disease in Brazil, 1999-2007. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 2, p. e1508, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22348163>>.

MCKERROW, J. H.; CAFFREY, C.; KELLY, B.; LOKE, P.; SAJID, M. Proteases in parasitic diseases. **Annual review of pathology**, v. 1, p. 497–536, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18039124>>.

MCKERROW, J. H.; DOYLE, P. S.; ENGEL, J. C.; PODUST, L. M.; ROBERTSON, S. A.; FERREIRA, R.; SAXTON, T.; ARKIN, M.; KERR, I. D.; BRINEN, L. S.; CRAIK, C. S. Two approaches to discovering and developing new drugs for Chagas disease. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104 Suppl, p. 263–9, jul. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19753483>>.

MCKERROW, J. H.; ROSENTHAL, P. J.; SWENERTON, R.; DOYLE, P. Development of protease inhibitors for protozoan infections. **Current opinion in infectious diseases**, v. 21, n. 6, p. 668–72, dez. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18978536>>.

MEIRELLES, M. N.; DE ARAUJO-JORGE, T. C.; MIRANDA, C. F.; DE SOUZA, W.; BARBOSA, H. S. Interaction of *Trypanosoma cruzi* with heart muscle cells: ultrastructural and cytochemical analysis of endocytic vacuole formation and effect upon myogenesis in vitro. **European journal of cell biology**, v. 41, n. 2, p. 198–206, ago. 1986. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3093234>>.

MERCK SHARP & DOHME CORP. **A Study of the Use of Oral Posaconazole (POS) in the Treatment of Asymptomatic Chronic Chagas Disease (P05267) - Study Results - ClinicalTrials.gov**. Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01377480?sect=X75#more>>. Acesso em: 7 fev. 2017.

MERLINO, A.; BENITEZ, D.; CAMPILLO, N. E.; PÁEZ, J. A.; TINOCO, L. W.; GONZÁLEZ, M.; CERECETTO, H. Amidines bearing benzofuroxan or benzimidazole 1,3-dioxide core scaffolds as *Trypanosoma cruzi*-inhibitors: structural basis for their interactions with cruzipain. **Med. Chem. Commun.**, v. 3, n. 1, p. 90–101, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C1MD00223F>>.

MOLINA, I.; GÓMEZ I PRAT, J.; SALVADOR, F.; TREVIÑO, B.; SULLEIRO, E.; SERRE, N.; POU, D.; ROURE, S.; CABEZOS, J.; VALERIO, L.; BLANCO-GRAU, A.; SÁNCHEZ-MONTALVÁ, A.; VIDAL, X.; PAHISSA, A. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease. **The New England journal of medicine**, v. 370, n. 20, p. 1899–908, 15 maio 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24827034>>.

MOREIRA, D. R. M.; COSTA, S. P. M.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; DE OLIVEIRA FILHO, G. B.; DE MELO, C. M. L.; DA ROCHA, L. F.; DE SIMONE, C. A.; FERREIRA, R. S.; FRADICO, J. R. B.; MEIRA, C. S.; GUIMARÃES, E. T.; SRIVASTAVA, R. M.; PEREIRA, V. R. A.; SOARES, M. B. P.; LEITE, A. C. L. Structural Investigation of Anti- Trypanosoma cruzi 2-Iminothiazolidin-4-ones Allows the Identification of Agents with Efficacy in Infected Mice. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 24, p. 10918–10936, 27 dez. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm301518v>>.

MOREIRA, D. R. M.; LEITE, A. C. L.; DOS SANTOS, R. R.; SOARES, M. B. P. Approaches for the development of new anti-Trypanosoma cruzi agents. **Current drug targets**, v. 10, n. 3, p. 212–31, mar. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19275558>>.

MOREIRA, D. R. M.; LIMA LEITE, A. C.; CARDOSO, M. V. O.; SRIVASTAVA, R. M.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; DA CRUZ, L. F.; FERREIRA, R. S.; DE SIMONE, C. A.; MEIRA, C. S.; GUIMARAES, E. T.; DA SILVA, A. C.; DOS SANTOS, T. A. R.; PEREIRA, V. R. A.; PEREIRA SOARES, M. B. Structural design, synthesis and structure-activity relationships of thiazolidinones with enhanced anti-Trypanosoma cruzi activity. **ChemMedChem**, v. 9, n. 1, p. 177–188, 2014.

NAVARRO, M.; NAVAZA, B.; GUIONNET, A.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Chagas disease in Spain: need for further public health measures. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 12, p. e1962, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23301105>>.

ORGANIC SYNTHESIS COLLECTION. ACETYLMANDELIC ACID and ACETYLMANDELYL CHLORIDE. **Organic Syntheses**, v. 4, p. 1, 1925. Disponível em: <<http://orgsyn.org/demo.aspx?prep=CV1P0012>>.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M. L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREA, S.; VIGORITA, M. G. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 13, p. 4243–4252, 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089605003548>>.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Americas. **Organización Panamericana de la Salud**, v. OPS/HDM/CD, 2006.

PECOUL, B.; BATISTA, C.; STOBBAERTS, E.; RIBEIRO, I.; VILASANJUAN, R.; GASCON, J.; PINAZO, M. J.; MORIANA, S.; GOLD, S.; PEREIRO, A.; NAVARRO, M.; TORRICO, F.; BOTTAZZI, M. E.; HOTEZ, P. J. The BENEFIT Trial: Where Do We Go from Here? **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004343, 25 fev. 2016. Disponível em: <<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0004343>>.

PIZZO, C.; FARAL-TELLO, P.; SALINAS, G.; FLÓ, M.; ROBELLO, C.; WIPF, P.; GRACIELA MAHLER, S. Selenosemicarbazones as potent cruzipain inhibitors and their antiparasitic properties against *Trypanosoma cruzi*. **MedChemComm**, v. 3, n. 3, p. 362, 2012. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2md00283c>>.

PLAZUK, D.; TOP, S.; VESSIÈRES, A.; PLAMONT, M.-A.; HUCHÉ, M.; ZAKRZEWSKI, J.; MAKAL, A.; WOŹNIAK, K.; JAOUEN, G. Organometallic cyclic polyphenols derived from 1,2-(alpha-keto tri or tetra methylene) ferrocene show strong antiproliferative activity on hormone-independent breast cancer cells. **Dalton transactions (Cambridge, England : 2003)**, v. 39, n. 32, p. 7444–50, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20614088>>.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARCONDES DE REZENDE, J. American trypanosomiasis (Chagas disease). **Infectious disease clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 275–91, jun. 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22632639>>.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **The Lancet**, v. 375, n. 9723, p. 1388–1402, abr. 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361060061X>>.

ROMANHA, A. J.; CASTRO, S. L. de; SOEIRO, M. de N. C.; LANNES-VIEIRA, J.; RIBEIRO, I.; TALVANI, A.; BOURDIN, B.; BLUM, B.; OLIVIERI, B.; ZANI, C.; SPADAFORA, C.; CHIARI, E.; CHATELAIN, E.; CHAVES, G.; CALZADA, J. E.; BUSTAMANTE, J. M.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; ROMERO, L. I.; BAHIA, M. T.; LOTROWSKA, M.; SOARES, M.; ANDRADE, S. G.; ARMSTRONG, T.; DEGRAVE, W.; ANDRADE, Z. de A. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 233–8, mar. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20428688>>.

SABINO, E. C.; LEE, T.-H.; MONTALVO, L.; NGUYEN, M. L.; LEIBY, D. A.; CARRICK, D. M.; OTANI, M. M.; VINELLI, E.; WRIGHT, D.; STRAMER, S. L.; BUSCH, M.; NHLBI RETROVIRUS EPIDEMIOLOGY DONOR STUDY-II (REDS-II) INTERNATIONAL PROGRAM. Antibody levels correlate with detection of *Trypanosoma cruzi* DNA by sensitive polymerase chain reaction assays in seropositive blood donors and possible resolution of infection over time. **Transfusion**, v. 53, n. 6, p. 1257–65, jun. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23002996>>.

SAJID, M.; MCKERROW, J. H. Cysteine proteases of parasitic organisms. **Molecular and biochemical parasitology**, v. 120, n. 1, p. 1–21, mar. 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11849701>>.

SAMUELS, A. M.; CLARK, E. H.; GALDOS-CARDENAS, G.; WIEGAND, R. E.; FERRUFINO, L.; MENACHO, S.; GIL, J.; SPICER, J.; BUDDE, J.; LEVY, M. Z.; BOZO, R. W.; GILMAN, R. H.; BERN, C.; WORKING GROUP ON CHAGAS DISEASE IN BOLIVIA AND PERU. Epidemiology of and impact of insecticide spraying on Chagas disease in communities in the Bolivian Chaco. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 8, p. e2358, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23936581>>.

SILES, R.; CHEN, S.-E.; ZHOU, M.; PINNEY, K. G.; TRAWICK, M. L. Design, synthesis, and biochemical evaluation of novel cruzain inhibitors with potential application in the treatment of Chagas' disease. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 16, n. 16, p. 4405–9, 15 ago. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16781147>>.

SILVA, J. J. N.; GUEDES, P. M. M.; ZOTTIS, A.; BALLIANO, T. L.; NASCIMENTO SILVA, F. O.; FRANÇA LOPES, L. G.; ELLENA, J.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D.; FRANCO, D. W.; SILVA, J. S. Novel ruthenium complexes as potential drugs for Chagas's disease: enzyme inhibition and in vitro/in vivo trypanocidal activity. **British journal of pharmacology**, v. 160, n. 2, p. 260–9, maio 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20105182>>.

SOEIRO, M. de N. C.; DANTAS, A. P.; DALIRY, A.; SILVA, C. F. da; BATISTA, D. G.; SOUZA, E. M. de; OLIVEIRA, G. M.; SALOMÃO, K.; BATISTA, M. M.; PACHECO, M. G.; SILVA, P. B. da; SANTA-RITA, R. M.; BARRETO, R. F. M.; BOYKIN, D. W.; CASTRO, S. L. de. Experimental chemotherapy for Chagas disease: 15 years of research contributions from in vivo and in vitro studies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 301–310, jul. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762009000900040&lng=en&nrm=iso&tlng=en>.

SOEIRO, M. de N. C.; DE CASTRO, S. L. Screening of Potential anti-Trypanosoma cruzi Candidates: In Vitro and In Vivo Studies. **The open medicinal chemistry journal**, v. 5, p. 21–30, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21629508>>.

TIMM, B. L.; DA SILVA, P. B.; BATISTA, M. M.; DA SILVA, F. H. G.; DA SILVA, C. F.; TIDWELL, R. R.; PATRICK, D. A.; JONES, S. K.; BAKUNOV, S. A.; BAKUNOVA, S. M.; SOEIRO, M. de N. C. In vitro and in vivo biological effects of novel arylimidamide derivatives against Trypanosoma cruzi. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 7, p. 3720–6, jul. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24752263>>.

TORRICO, F. Rationale and design of a proof-of-concept phase II clinical study of E1224, a new drug candidate for chronic chagas disease. **Tropical Medicine & International Health**, v. 16, n. Supp. I, p. 21–22, 2011.

TROSSINI, G. H. G.; GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; FERREIRA, E. I.; ANDRICOPULO, A. D. Quantitative structure-activity relationships for a series of inhibitors of cruzain from Trypanosoma cruzi: molecular modeling, CoMFA and CoMSIA studies. **Journal of molecular graphics & modelling**, v. 28, n. 1, p. 3–11,

ago. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19376735>>.

URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. **Trends in parasitology**, v. 19, n. 11, p. 495–501, nov. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14580960>>.

VESSIE, A.; TOP, S.; PIGEON, P.; HILLARD, E.; BOUBEKER, L.; SPERA, D. Modification of the Estrogenic Properties of Diphenols by the Incorporation of Antiproliferative Effects in Vitro. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 48–51, 2005.

VICINI, P.; GERONIKAKI, A.; ANASTASIA, K.; INCERTI, M.; ZANI, F. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 14, n. 11, p. 3859–64, 1 jun. 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16488614>>.

VILLAR, J. C.; PEREZ, J. G.; CORTES, O. L.; RIASTE, A.; PEPPER, M.; MARINETO, J. A.; GUYATT, G. H. Trypanocidal drugs for chronic asymptomatic *Trypanosoma cruzi* infection. **The Cochrane database of systematic reviews**, n. 5, p. CD003463, 27 maio 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24867876>>.

VIOTTI, R.; VIGLIANO, C.; LOCOCO, B.; ALVAREZ, M. G.; PETTI, M.; BERTOCCHI, G.; ARMENTI, A. Side effects of benznidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 7, n. 2, p. 157–163, mar. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19254164>>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Distribution of cases of *Trypanosoma cruzi* infection, based on official estimates and status of vector transmission, worldwide, 2006-2009.** Disponível em: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_chagas_2009.png>.

Acesso em: 7 fev. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO | Epidemiology.**

ZALDINI HERNANDES, M.; MONTENEGRO RABELLO, M.; CRISTINA LIMA LEITE, A.; VERÍSSIMO OLIVEIRA CARDOSO, M.; RODRIGO MAGALHAES MOREIRA, D.;

JOSÉ BRONDANI, D.; ALBERTO SIMONE, C.; CAMPOS REIS, L.; ASSIS SOUZA, M.; REGO ALVES PEREIRA, V.; SALGADO FERREIRA, R.; HOBSON MCKERROW, J. Studies toward the structural optimization of novel thiazolylhydrazone-based potent antitrypanosomal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 7826–7835, 2010.

ZANATTA, N.; AMARAL, S. S.; DOS SANTOS, J. M.; DE MELLO, D. L.; FERNANDES, L. da S.; BONACORSO, H. G.; MARTINS, M. A. P.; ANDRICOPULO, A. D.; BORCHHARDT, D. M. Convergent synthesis and cruzain inhibitory activity of novel 2-(N'-benzylidenehydrazino)-4-trifluoromethyl-pyrimidines. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 16, n. 24, p. 10236–43, 15 dez. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996017>>.

Apêndices

Apêndice A

Bioorganic & Medicinal Chemistry 23 (2015) 7478–7486



Contents lists available at ScienceDirect

Bioorganic & Medicinal Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmc

Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of 4-thiazolidinones against *Trypanosoma cruzi*



Gevanio Bezerra de Oliveira Filho^{a,*}, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso^a, José Wanderlan Pontes Espíndola^a, Luiz Felipe Gomes Rebello Ferreira^a, Carlos Alberto de Simone^b, Rafaela Salgado Ferreira^c, Pollyanne Lacerda Coelho^c, Cássio Santana Meira^d, Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira^d, Milena Botelho Pereira Soares^{d,e}, Ana Cristina Lima Leite^a

^a Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-520 Recife, PE, Brazil

^b Departamento de Física e Informática, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

^c Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^d Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, CEP 40296-710, Salvador, BA, Brazil

^e Centro de Biologia e Terapia Celular, Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 August 2015

Revised 20 October 2015

Accepted 31 October 2015

Available online 2 November 2015

Keywords:

Chagas disease
Trypanosoma cruzi
Thiosemicarbazones
Thiazolidinones
Biososterism

ABSTRACT

Chagas disease is an infection caused by protozoan *Trypanosoma cruzi*, which affects approximately 8–10 million people worldwide. Benznidazole is the only drug approved for treatment during the acute and asymptomatic chronic phases of Chagas disease; however, it has poor efficacy during the symptomatic chronic phase. Therefore, the development of new pharmaceuticals is needed. Here, we employed the biososterism to modify a potent antiparasitic and cruzain-inhibitor aryl thiosemicarbazone (4) into 4-thiazolidinones (7–21). Compounds (7–21) were prepared by using a straightforward synthesis and enabled good to excellent yields. As a chemical elucidation tool, X-ray diffraction of compound (10) revealed the geometry and conformation of this class compounds. The screening against cruzain showed that 4-thiazolidinones were less active than thiosemicarbazone (4). However, the antiparasitic activity in Y strain trypomastigotes and host cell cytotoxicity in J774 macrophages revealed that compounds (10 and 18–21) are stronger and more selective antiparasitic agents than thiosemicarbazone (4). Specifically, compounds (18–20), which carry a phenyl at position N3 of heterocyclic ring, were the most active ones, suggesting that this is a structural determinant for activity. In infected macrophages, compounds (18–20) reduced intracellular amastigotes, whereas Benznidazole did not. In *T. cruzi*-infected mice treated orally with 100 mg/kg of compound (20), a decreased of parasitemia was observed. In conclusion, we demonstrated that the conversion of thiosemicarbazones into 4-thiazolidinones retains pharmacological property while enhances selectivity.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

It is estimated that 5–10% of the Latin American population has Chagas disease, which is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*.¹ This situation is alarming, because there are no vaccines available and the current treatment using Benznidazole is of low efficacy and followed by several side effects.^{2,3} Benznidazole has antiparasitic effects against bloodstream parasites, but its activity is limited against parasites in tissues.^{4,5} Additionally, many

patients experience drug intolerance and adverse effects.⁶ Thus, new drugs to treat Chagas disease are necessary.

To address this need, a number of molecular targets for anti-*T. cruzi* drugs have been investigated, increasing the quality of drug identification for Chagas disease treatment. Examples of such targets are the lanosterol 14- α -demethylase,⁷ trypanothione reductase,⁸ cruzain,⁹ trans-sialidase,¹⁰ phosphatidylinositol 3-kinase¹¹ and cytochrome b.¹² By using structure-based drug design, two small-molecules were developed and are considered strong drug candidates: **K11777**, a vinyl sulfone peptide that inhibits cruzain,¹³ and **VNI**, an oxadiazole derivative inhibitor of 14- α -demethylase activity.^{14,15}

More recently, compound **VFV** reveals a broader antiprotozoal spectrum of action. It has stronger antiparasitic activity in cellular

* Corresponding author. Tel.: +55 81 21268511; fax: +55 81 21268510.

E-mail addresses: gev_filho@hotmail.com, ac1b2003@yahoo.com.br (G.B. de Oliveira Filho).

Apêndice B

European Journal of Medicinal Chemistry 141 (2017) 346–361



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Research paper

Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*

Gevanio Bezerra de Oliveira Filho ^{a,b,*}, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso ^c, José Wanderlan Pontes Espíndola ^a, Dayane Albuquerque Oliveira e Silva ^a, Rafaela Salgado Ferreira ^d, Pollyanne Lacerda Coelho ^d, Pâmela Silva dos Anjos ^e, Emanuelle de Souza Santos ^e, Cássio Santana Meira ^e, Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira ^e, Milena Botelho Pereira Soares ^{e,f}, Ana Cristina Lima Leite ^a

^a Laboratório de Planejamento em Química Medicinal - LpQM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, 50740-520, Recife, PE, Brazil

^b Faculdade de Integração do Sertão - FIS, Rua João Luiz de Melo, 2110, COHAB, Serra Talhada, PE, Brazil

^c Colégio de Nutrição, Universidade de Pernambuco, CEP 56328-903, Petrolina, PE, Brazil

^d Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, CEP 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^e Instituto Gançálio Moritz, Fundação Orvaldo Cruz, CEP 40295-710, Salvador, BA, Brazil

^f Centro de Biotecnologia e Terapia Celular, Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 July 2017

Received in revised form

29 August 2017

Accepted 21 September 2017

Available online 22 September 2017

Keywords:

Chagas disease

Thiosemicarbazones

Thiazoles

Trypanosoma cruzi

ABSTRACT

Chagas disease is one of the most significant health problems in the American continent. benznidazole (BDZ) and nifurtimox (NFX) are the only drugs approved for treatment and exhibit strong side effects and ineffectiveness in the chronic stage, besides different susceptibility among *T. cruzi* DTUs (Discrete Typing Units). Therefore, new drugs to treat this disease are necessary. Thiazole compounds have been described as potent trypanocidal agents. Here we report the structural planning, synthesis and anti-*T. cruzi* evaluation of a new series of 1,3-thiazoles (7–28), which were designed by placing this heterocycle instead of thiazolidin-4-one ring. The synthesis was conducted in an ultrasonic bath with 2-propanol as solvent at room temperature. By varying substituents attached to the phenyl and thiazole rings, substituents were observed to retain, enhance or greatly increase their anti-*T. cruzi* activity. In some cases, methyl at position 5 of the thiazole (compounds 9, 12 and 23) increased trypanocidal property. The exchange of phenyl for pyridinyl heterocycle resulted in increased activity, giving rise to the most potent compound against the trypomastigote form (14, IC₅₀tryp = 0.37 μM). Importantly, these new thiazoles were toxic for trypomastigotes without affecting macrophages and cardiomyoblast viability. The compounds were also evaluated against cruzain, and five of the most active compounds against trypomastigotes (7, 9, 12, 16 and 23) inhibited more than 70% of enzymatic activity at 10 μM, among which compound 7 had an IC₅₀ in the submicromolar range, suggesting a possible mechanism of action. In addition, examination of *T. cruzi* cell death showed that compound 14 induces apoptosis. We also examined the activity against intracellular parasites, revealing that compound 14 inhibited *T. cruzi* infection with potency similar to benznidazole. The antiparasitic effect of 14 and benznidazole in combination was also investigated against trypomastigotes and revealed that they have synergistic effects, showing a promising profile for drug combination. Finally, in mice acutely-infected with *T. cruzi*, 14 treatment significantly reduced the blood parasitaemia and had a protective effect on mortality. In conclusion, we report the identification of compounds (7), (12), (15), (23) and (26) with similar trypanocidal activity of benznidazole; compounds (9) and (21) as trypanocidal agents equipotent with BDZ, and compound 14 with potency 28 times better than the reference drug without affecting macrophages and cardiomyoblast viability. Mechanistically, the

* Corresponding author. Laboratório de Planejamento em Química Medicinal - LpQM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, 50740-520, Recife, PE, Brazil.

E-mail addresses: gev_filho@hotmail.com (G.B. de Oliveira Filho), acfb2003@yahoo.com.br (A.C.L. Leite).

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.09.047>

0223-5234/© 2017 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Apêndice C

European Journal of Medicinal Chemistry 101 (2015) 818–835



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Medicinal Chemistry

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ejmech>

Research paper

Synthesis and structure–activity relationship study of a new series of antiparasitic aryloxy thiosemicarbazones inhibiting *Trypanosoma cruzi* cruzain



José Wanderlan Pontes Espíndola ^a, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso ^a,
 Gevany Bezerra de Oliveira Filho ^a, Dayane Albuquerque Oliveira e Silva ^a,
 Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira ^b, Tanira Matuño Bastos ^b, Carlos Alberto de Simone ^c,
 Milena Botelho Pereira Soares ^{b,e}, Filipe Silva Villela ^d, Rafaela Salgado Ferreira ^d,
 Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro ^f, Valéria Rego Alves Pereira ^f,
 Silvane Maria Fonseca Murta ^g, Policarpo Ademar Sales Junior ^g, Alvaro José Romanha ^g,
 Ana Cristina Lima Leite ^{a,*}

^a Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-520, Recife, PE, Brazil

^b Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 40296-750, Salvador, BA, Brazil

^c Departamento de Física e Informática, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil

^d Departamento de Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brazil

^e Centro de Biotecnologia e Terapia Celular, Hospital São Rafael, 41253-190, Salvador, BA, Brazil

^f Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 50670-420, Recife, PE, Brazil

^g Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
 Received 30 April 2015
 Received in revised form
 25 June 2015
 Accepted 26 June 2015
 Available online 3 July 2015

Keywords:
 Chagas disease
Trypanosoma cruzi
 Conformationally constrained analogs
 Thiosemicarbazone
 Cruzain
 Necrosis

ABSTRACT

The discovery of new antiparasitic compounds against *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease, is necessary. Novel aryloxy(aryl) thiosemicarbazone-based conformationally constrained analogs of thiosemicarbazones (1) and (2) were developed as potential inhibitors of the *T. cruzi* protease cruzain, using a rigidification strategy of the iminic bond of (1) and (2). A structure–activity relationship analysis was performed in substituents attached in both aryl and aryloxy rings. This study indicated that apolar substituents or halogen atom substitution at the aryl position improved cruzain inhibition and antiparasitic activity in comparison to unsubstituted thiosemicarbazone. Two of these compounds displayed potent inhibitory antiparasitic activity by inhibiting cruzain and consequently were able to reduce the parasite burden in infected cells and cause parasite cell death through necrosis. In conclusion, we demonstrated that conformational restriction is a valuable strategy in the development of antiparasitic thiosemicarbazones.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi*, represents a serious and alarming health problem [1]. It affects approximately 5–10% of the population of Latin America, but even after more than 100 years since its discovery, the specific treatment of *T. cruzi* remains uncertain [2,3]. Benznidazole, the drug of choice for the

treatment of Chagas disease, is able to eliminate the parasite during the acute phase; however, it is poorly effective during the chronic phase, even after long-term administration, and it causes a high dropout rate during treatment due to side effects [4,5]. Human vaccination against *T. cruzi* infection is not available; thus, other therapies aiming to control infection or reduce clinical symptoms are being investigated [6–8].

Knowledge of molecular targets related to various parasite processes has significantly contributed to this investigation. Key enzymes, such as cysteine proteases, are among the preferred targets for the development of new drugs. The structural and

* Corresponding author.
 E-mail address: acilb2003@yahoo.com (A.C.L. Leite).

Apêndice D

Bioorganic & Medicinal Chemistry 24 (2016) 1608–1618



Contents lists available at ScienceDirect

Bioorganic & Medicinal Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmc



Compound profiling and 3D-QSAR studies of hydrazone derivatives with activity against intracellular *Trypanosoma cruzi*



Lívia Bandeira Costa ^{a,1}, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso ^{a,1}, Gevanio Bezerra de Oliveira Filho ^a, Paulo André Teixeira de Moraes Gomes ^a, José Wanderlan Pontes Espíndola ^a, Thays Gabrielle de Jesus Silva ^a, Pedro Henrique Monteiro Torres ^b, Floriano Paes Silva Junior ^b, Julio Martin ^c, Regina Célia Bressan Queiroz de Figueiredo ^d, Ana Cristina Lima Leite ^{a,*}

^a Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-520 Recife, PE, Brazil

^b Laboratório de Bioquímica Experimental e Computacional de Fármacos, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, 21040-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Molecular Discovery Research, Tres Cantos Medicines Development Campus, GlaxoSmithKline, Tres Cantos, Spain

^d Departamento de Microbiologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, 50670-420 Recife, PE, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 December 2015

Revised 15 February 2016

Accepted 21 February 2016

Available online 23 February 2016

Keywords:

Chagas disease

Hydrazones

Thiosemicarbazones

Thiazoles

3D-QSAR

Drug design

ABSTRACT

Chagas disease is a tropical disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, which is endemic in Central and South America. Few treatments are available with effectiveness limited to the early (acute) stage of disease, significant toxicity and widespread drug resistance. In this work we report the outcome of a HTS-ready assay chemical library screen to identify novel, nontoxic, small-molecule inhibitors of *T. cruzi*. We have selected 50 compounds that possess hydrazone as a common group. The compounds were screened using recombinant *T. cruzi* (Tulahuen strain) expressing beta-galactosidase. A 3D quantitative structure–activity relationship (QSAR) analysis was performed using descriptors calculated from comparative molecular field analysis (CoMFA). Our findings show that of the fifty selected hydrazones, compounds LpQM-19, 28 and 31 displayed the highest activity against *T. cruzi*, leading to a selectivity index (SI) of 20-fold. The 3D-QSAR analysis indicates that a particular electrostatic arrangement, where electron-deficient atoms are aligned along the molecule main axis positively correlates with compound biological activity. These results provide new candidate molecules for the development of treatments against Chagas disease.

© 2016 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Chagas disease, or American trypanosomiasis, is a devastating neglected disease with no satisfactory treatment.¹ Currently, the World Health Organization estimates that 8–10 million people are infected with *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of this illness.^{2,3} Benznidazole and nifurtimox are the two drugs available for the treatment of Chagas disease. These archaic drugs are associated with severe side effects that cause discontinuation of treatment and limit their long-standing use. Furthermore, their efficacy in the chronic phase of the disease is still controversial, and drug-resistant strains have been observed.^{4,5} Hence, the discovery of non-toxic and more effective drugs to combat *T. cruzi* is urgently needed.^{3,5} However, the research for new drugs against many neglected diseases, such as Chagas disease, has faced several draw-

backs in drug discovery programs, such as the complex biology of parasites and different life cycle stages.⁴

High-throughput screening (HTS) is an important tool that allows drug discovery through the identification of active compounds (hits) from a large number of candidates.^{6,7} HTS assays have been restricted to pharmaceutical companies due to the high costs associated with the drug screening experiments. However, with the increasing interest in the development of new platforms for drug prospecting, this method has become more accessible and thus has also been used in academic research.⁸

In recent years, there have been significant advances in automated microscopy that enable the testing of compounds against intracellular parasites in high-throughput mode.^{9–11} Since the advent of the 'classical' screening assay for *T. cruzi* based on absorbance readout developed by Fred Buckner and collaborators and used by numerous laboratories on a small scale, advances have been made in terms of the HTS format.¹²

The Chagas disease drug discovery efforts have been facilitated by the development of recombinant *T. cruzi* parasites used as tools

* Corresponding author. Tel.: +55 81 2126 8511; fax: +55 81 2126 8510.

E-mail address: acilb2003@yahoo.com.br (A.C.L. Leite).

¹ Both authors contributed equally to the work.

Apêndice E

Evaluation of a new generation of 4-thiazolidinones against *Trypanosoma cruzi*

Gevanio Bezerra de Oliveira Filho,^{a,*} Marcos Verissimo de Oliveira Cardoso,^a Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira,^b Raiza Brandão Peres,^c Marcos Meuser Batista,^c Patricia Bernardino da Silva,^c Cristiane França da Silva,^c Camila Cardoso Santos,^c Denise da Gama Jaén Batista,^c Carlos Alberto de Simone,^d Maria de Nazaré Correia Soeiro,^c Ana Cristina Lima Leite^{a,*}

^a Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-520, Recife, PE, Brazil.

^b Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, CEP 40296-710, Salvador, BA, Brazil.

^c Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação OswaldoCruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

^d Departamento de Física e Informática, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Brazil.

*To whom correspondence should be addressed: phone +55 81-21268511, fax +55 81-21268510; e-mail: gev_filho@hotmail.com and acllb2003@yahoo.com.br