



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JULIANA MARIA DA CONCEIÇÃO

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
LEISHMANICIDA DE NOVOS 1,3-TIAZÓIS**

Recife

2018

JULIANA MARIA DA CONCEIÇÃO

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
LEISHMANICIDA DE NOVOS 1,3-TIAZÓIS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Área de concentração:** Fármacos e Medicamentos

**Orientador:** Prof<sup>ª</sup> Dra. Ana Cristina Lima Leite

**Coorientador:** Prof<sup>ª</sup> Dra. Regina Célia Bressan Q.Figueredo

Recife

2018

Catálogo na Fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

C744p Conceição, Juliana Maria da.  
Planejamento estrutural, síntese e avaliação da atividade leishmanicida de novos 1,3-tiazóis / Juliana Maria da Conceição. – 2018.  
66 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Ana Cristina Lima Leite.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2018.

Inclui referências e anexos.

1. Doenças negligenciadas. 2. Tiazóis. 3. Doenças transmissíveis. 4. Leishmania amazonensis. I. Leite, Ana Cristina Lima (Orientadora). II. Título.

615.1

CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2019-052)

JULIANA MARIA DA CONCEIÇÃO

**PLANEJAMENTO ESTRUTURAL, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
LEISHMANICIDA DE NOVOS 1,3-TIAZÓIS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 24/07/2018

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite (Orientadora/ Presidente)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Gevanio Bezerra de Oliveira Filho (Examinador Externo)  
Instituto Aggeu Magalhães

---

Dra. Aline Caroline da Silva Santos (Examinadora Externa)  
Faculdade de Integração do Sertão

Dedico este trabalho à minha Avó, família e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado nos caminhos corretos.

A minha avó pela educação a mim dispensada e apoio a todos os passos que eu decidi seguir.

Agradeço também aos meus familiares que de alguma forma sempre tiveram envolvidos direta ou indiretamente em meu crescimento pessoal durante toda a minha vida.

Agradeço a minha orientadora Professora Dra. Ana Cristina Lima Leite por todo o auxílio, pela oportunidade e compreensão durante a execução das pesquisas.

A minha co-orientadora Prof<sup>o</sup> Dr. Regina Bressan, pelos ensinamentos e suporte na atividade biológica e toda a sua equipe, em especial Ana Carla pelo apoio nos ensaios de atividade Leishmanicida.

A todos os meus colegas do LpQM, em especial a Gevanio, Miria, Igenes, Mabilly, Fabiano, Luiz Alberto, Carlos, Lizandra, Gedalia, Larissa, Paulo André, Vinicius e Vanessa, pelo apoio nos processos de síntese e pela companhia durante a minha estadia no laboratório.

A todos os meus colegas do LBCP, em especial a Ana Carla, Rogerio, Carina e Vanderlan pelas orientações prestadas e pela companhia durante a minha estadia no laboratório de Biologia Molecular da FIOCRUZ-PE.

A CAPES, pelo apoio financeiro através de bolsa de mestrado durante a vigência do curso.

A todos que trabalham na secretaria do PPGCF/UFPE, em especial a pessoa de Nerilin e Rilvan, pela disponibilidade e apoio aos alunos.

Ao CETENE, pelas análises de caracterização estrutural, principalmente nas pessoas da Júlia Campos e Amanda Felix, pelo auxílio e atenção no transcorrer das análises.

Muito obrigada!

## RESUMO

As doenças tropicais negligenciadas são um grupo de doenças transmissíveis que ocorrem, em sua maioria, em países de climas tropical e subtropical. Nesse contexto, as leishmanioses se destacam como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades. O tratamento ainda é muito limitado, atualmente, são utilizados Antimoniais pentavalentes, porém os seus efeitos tóxicos são bastante pronunciados. Além disso, já é descrito na literatura a presença de cepas resistentes á estes medicamentos. Portanto, há uma necessidade urgente de novas terapias eficazes contra cepas parasitas de *Leishmania*. Nesse sentido, nossa proposta consistiu em desenvolver uma série de compostos, utilizando como núcleo químico o heterocíclico 1,3-tiazóis. A literatura relata que o núcleo tiazol apresenta versatilidade química e ampla gama de atividades biológicas, com destaque para sua potencial atividade antiparasitária. Desta forma, este trabalho apresenta o planejamento, a síntese e avaliação farmacológica de 10 compostos derivados 1,3 tiazóis. Os compostos foram sintetizados, a  $CC_{50}$  determinada frente a células de macrófagos peritoniais e a  $IC_{50}$  frente as formas promastigota de *Leishmania Amazonensis*. Os compostos foram caracterizados por RMN H1, C13 e Espectro de massas. Dentre os 10 compostos testados a maioria apresentou atividade frente a forma promastigota de *Leishmania Amazonensis* e de forma geral, todas as moléculas apresentaram baixa citotoxicidade para células de mamíferos . Pode-se destacar que o JM.07 apresentou  $IC_{50}$  igual a 41,4  $\mu$ M e também o melhor índice de seletividade 4,93, demonstrando que essa classe de compostos possui atividade pronunciada frente a promastigota de *L. Amazonensis*. E por isso , é um bom modelo estrutural para o desenvolvimento de novos protótipos a fármacos anti-leishmania.

Palavras-chave: Doenças Negligenciadas. Tiazóis. Doenças transmissíveis. *Leishmania Amazonensis*.

## ABSTRACT

Tropical neglected diseases are a group of transmissible diseases that occur, majority, in countries with tropical and subtropical weather. At this context, the leishmaniasis stand out as one of six most important Infectious disease, by its High coefficient of detection and capacity to produce deformity. The treatment is very limited, currently, are used pentavalent antimonial, however its toxic effects are very pronounced. Besides, is already described in the literature the presence strains resistant to this drug. Therefore, there is an urgent need of new effective therapies against leishmaniasis parasite strains. At this meaning, our propose consist to develop a series of compounds, using as chemical core the heterocycle 1,3-thiazole. The literature relates that the thiazole nucleus show chemical versatility and wide biological activity, with Highlighted to its powerful anti-parasite activity. This way, this paper show the planning, synthesis and pharmacological activity of 10 compound derivate from 1,3-thiazole. The compounds were synthetized, a CC50 determinate against peritoneal macrophagic cells and the IC50 against promastigote of *Leishmania amazonensis*. The compounds were characterized by NMR  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  and DEPT and mass spectra. Among the 10 compounds tested, the most of them showed activity against promastigote form of *Leishmania amazonensis* and in general, all molecules showed low toxicity to mammalian cells. It might be Highlighted the JM.07 showed  $\text{IC}_{50}=41,4 \mu\text{M}$  and better SI (4,83), it demonstrated that this class of compound has activity against promastigote of *L. amazonensis*. And so, it is a good structural model to develop new prototypes to anti-leishmania drug.

Keywords: Neglected diseases. Thiazoles. communicable diseases. Leishmaniasis Amazonensis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Cerâmicas pré-colombianas com características de Leishmaniose.....	16
Figura 2 -	Distribuição Geográfica Leishmaniose Cutânea e Visceral.....	18
Figura 3 -	Casos de LTA no Brasil (1980-2014).....	19
Figura 4 -	Formas amastigotas (1) e promastigota (2) em Microscopia eletrônica de Varedura de Leishmania amazonenses.....	21
Figura 5 -	Mosquito Flebotomíneo (conhecido como mosquito- palha).....	21
Figura 6 -	Ciclo de vida do protozoário do Gênero Leishmania.....	23
Figura 7 -	Caracterização das diferentes manifestações clínicas da LT. A (forma disseminada); B (forma mucosa); C (forma cutânea, lesão clássica em moldura); D (Forma cutânea lesão bolhosa que se rompeu, originando ulceração rasa, secreção serosa e fundo granuloso com crosta).....	24
Figura 8 -	Estrutura química do núcleo Tiazol.....	27
Figura 9 -	Núcleo Tiazol presente na estrutura química do ftalimido-tiazol sintetizado com atividade Leishmanicida.....	28
Figura 10 -	Potencialização da atividade anti T.cruzi na presença do grupo espaçador(-O-CH <sub>2</sub> -) .....	30
Figura 11 -	Emprego do bioisosterismo para o planejamento dos novos 1,3 tiazóis ..	30
Figura 12 -	Estrutura geral dos 1,3 Tiazóis sintetizados no trabalho.....	31
Figura 13 -	Acetofenonas sintetizadas (Intermediários 1) .....	34
Figura 14 -	Tiossemicarbazonas sintetizadas.....	35
Figura 15 -	Espectro de RMN <sup>1</sup> H da molécula JM.08.....	37
Figura 16 -	Espectro de RMN <sup>13</sup> C da molécula JM.08.....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características gerais dos compostos e rendimentos das reações .....	36
Tabela 2 -	Resultados obtidos para atividade antileishmania dos 1,3 Tiazóis ....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
BDZ	Benzonidazol
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEUA	Comitê de ética em experimentação animal
CC <sub>50</sub>	Concentração que causa a perda de viabilidade em 50% das células
d.	duplete
DMSO	Dimetilsulfoxido
EMAR	Espectroscopia de massas de alta resolução
FT-IR	Fourier Transformed – Infrared
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IS	Índice de Seletividade
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória para 50% da população
LpQM	Laboratório de Planejamento em Química Medicinal
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
MTT	( 3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
m.	multipleto
OMS	Organização Mundial da Saúde
Ph	Fenil
PF	ponto de fusão
q.	quarteto
RF	Fator de Retenção
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono -13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio -1
s.	Singleto
t.	Tripleto

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1</b>	<b>Objetivo.....</b>	<b>15</b>
1.1.1	Objetivo Geral.....	15
1.1.2	Objetivos Específicos.....	15
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Leishmaniose um breve histórico.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA).....</b>	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Agente Etiológico e Vetor.....</b>	<b>19</b>
<b>2.4</b>	<b>Ciclo Biológico.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5</b>	<b>Manifestações Clínicas e diagnóstico.....</b>	<b>23</b>
<b>2.6</b>	<b>Tratamento.....</b>	<b>25</b>
<b>2.7</b>	<b>Novas alternativas terapêuticas para a Leishmaniose.....</b>	<b>26</b>
2.7.1	1,3-Tiazóis.....	26
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO UM: PLANEJAMENTO,SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INÉDITAS 1,3 TIAZÓIS.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1</b>	<b>Planejamento das Moléculas.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2</b>	<b>Metodologia.....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Materiais e Reagentes.....	32
3.2.2	Rota Sintética.....	32
3.2.3	Síntese do Intermediário 1 (Acetofenonas).....	33
3.2.4	Síntese do Intermediário 2 (Tiossemicarbazonas).....	34
3.2.5	Síntese dos Compostos Finais (1,3-Tiazóis).....	35
3.2.6	Caracterização Estrutural.....	36
<b>3.3</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>36</b>
3.3.1	Composto Intermediário (Int.1.1):.....	39
3.3.2	Composto Intermediário (Int . 1.2):.....	39
3.3.3	Composto JM.01:.....	40

3.3.4	Composto JM.02 .....	41
3.3.5	Composto JM.03 .....	42
3.3.6	Composto intermediário (Int.2.1).....	43
3.3.7	Composto intermediário (Int.2.2).....	43
3.3.8	Composto JM.04.....	44
3.3.9	Composto JM.05.....	45
3.3.10	Composto Intermediário (Int. 3.1).....	46
3.3.11	Composto Intermediário (Int.3.2).....	46
3.3.12	Composto Intermediário (Int.3.3).....	47
3.3.13	Composto Intermediário (Int.3.4).....	48
3.3.14	Composto JM.06.....	48
3.3.15	Composto JM.07.....	49
3.3.16	Composto JM.08.....	50
3.3.17	Composto JM .09.....	51
3.3.18	Composto Intermediário (Int.4.1).....	51
3.3.19	Composto Intermediário (Int.4.2) .....	52
3.3.20	Composto JM.10.....	53
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO DOIS: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DERIVADOS 1,3 TIAZÓIS.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1</b>	<b>Material e Método.....</b>	<b>54</b>
4.1.1	Compostos utilizados no tratamento in vitro de <i>L. Amazonensis</i> .....	54
4.1.2	Obtenção de Macrófagos Peritoniais.....	54
4.1.3	Considerações éticas.....	54
4.1.4	Análise da citotoxicidade dos compostos em células de mamífero.....	55
4.1.5	Cultivo dos parasitas.....	55
4.1.6	Atividade Biológica em formas promastigotas de <i>Lamazonensis</i> .....	56
<b>4.2</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>56</b>
4.2.1	Atividade Farmacológica dos 1,3 Tiazóis ( JM.01 a JM.10).....	56
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>
	<b>ANEXO A - DOCUMENTO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....</b>	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos fármacos contra doenças negligenciadas, como a leishmaniose, é uma das prioridades atuais da química medicinal. A dificuldade nesta área de pesquisa está em descobrir novos agentes seletivos ao parasita, capazes de inibir proliferação dos mesmos, mas sem causar toxicidade ao paciente (GUIDO et al 2010),

A Leishmaniose é um conjunto de doenças crônicas provocadas pelo protozoário do gênero *Leishmania* spp. é uma doença de caráter endêmico, e mais observada basicamente em países de clima tropical e sub-tropical (ÖZBILGIN et al., 2017). A *Leishmania amazonensis*, um dos principais agentes causadores desta doença, está associada à leishmaniose tegumentar no Brasil (BAILEY; LOCKWOOD, 2007). A doença apresenta diversas manifestações clínicas, dependendo da espécie de *Leishmania* e da resposta imune hospedeiro (GURUNG E KANNEGANTI, 2015).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a leishmaniose está entre as doenças tropicais mais importantes. É estimado que existem cerca de 1,3 milhões de casos novos a cada ano e que 310 milhões de pessoas estejam sob risco de infecção (BRASIL, 2015).

O Brasil figura dentre os países que apresentam o desenvolvimento dessa doença, principalmente na região norte e nordeste. Dados do ministério da saúde indicam que em 2015 foram registrados 19.395 casos de Leishmaniose Tegumentar, concentrados principalmente na região norte (8.939 casos), nordeste (5.152 casos) e centro-oeste (2.937 casos) (BRASIL, 2015).

O uso da quimioterapia tradicional para o tratamento da leishmaniose ainda é muito limitado, atualmente, são utilizados os fármacos à base de Antimônio pentavalentes ( $Sb^{+5}$ ), a Anfotericina B, Paromomicina e Miltefosina, porém os seus efeitos tóxicos são bastante pronunciados o que faz com que haja abandono do tratamento pelo paciente. (KUMAR et al., 2017). Além disso, já é descrito na literatura a presença de cepas resistentes a medicamentos. (AMATO et al., 2008). Nesse sentido surge a necessidade de busca por novas drogas farmacêuticas com melhor atividade e melhores índices de seletividade (KUMAR et al., 2017).

Os Tiazóis têm despertado o interesse dos químicos medicinais por causa de sua ampla atividade biológica. Eles têm se destacado com passar dos anos devido as suas ações: antibacteriana , antifúngica ,anti-inflamatória e antiparasitária (BONDOCK et al 2007).

Já foi demonstrado por nosso grupo de pesquisa LpQM em trabalhos recentes por ALIANCA et al. (2017) e DA SILVA et al. (2017) o potencial Leishmanicida das tiosemicarbazonas e dos tiazóis. A atividade antiparasitária dos Tiazóis contra *T.cruzi* foi evidenciada também no trabalho de FILHO et al., (2017) .

Nossa proposta consistiu em desenvolver uma série de 1,3-tizóis baseada nos resultados de bioatividade de estruturas presentes em séries anteriormente desenvolvidas pelo grupo LpQM. Com a finalidade de produzir moléculas com potencial atividade leishmanicida frente a forma promastigota do parasita.

## 1.1 Objetivo

### 1.1.1 Objetivo geral

Sintetizar inéditos 1,3- Tiazóis com potencial a atividade antileishmania.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Sintetizar 10 derivados 1,3-tiazóis;
- Caracterizar estruturalmente os compostos sintetizados via RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e EMAR;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos 1,3-Tiazóis em células de linhagem de macrófagos;
- Avaliar a atividade antileishmanicida dos novos 1,3-Tiazóis frente as formas promastigota do parasita.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Leishmaniose um breve histórico

A Leishmaniose é uma doença que acompanha o homem desde a antigüidade, existindo relatos e descrições encontrados desde o séc. I d.C Nas Américas, foram encontradas cerâmicas pré-colombianas, datadas de 400 a 900anos d.C, feitas pelos índios do Peru, que a presentam mutilações de lábios e narizes, características da leishmaniose cutânea-mucosa (**Figura 1**). Posteriormente, através de estudos de paleo medicina, foram descobertas múmias com lesões de pele e mucosas características da leishmaniose (CAMARGO; BARCINSKI, 2003 ).

**Figura 1-** Cerâmicas pré-colombianas com características de Leishmaniose.



Fonte: Livro Parasitologia Médica ( REY,2002)

O parasito foi descrito pela primeira vez em 1903, pelo médico britânico William Leishman e simultaneamente pelo pesquisador Charles Donovan em um caso de Calazar ou febre negra na Índia (LEISHMAN, 1903), daí o seu nome. (TEIXEIRA, et al 2013).

No Brasil, a leishmaniose era conhecida por Cerqueira desde 1855, através do encontro de lesões de pele similares ao botão-do-oriental. Em 1908, durante a construção da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em São Paulo, ocorreram numerosos casos, principalmente na cidade de Bauru, ficando conhecida por úlcera-de-Bauru, os quais foram nominados por Gaspar Vianna, em 1911, como *Leishmaniabraziliensis*. (NEVES, 2004)

Somente em 1922, Aragão demonstrou o papel do flebotomíneo na transmissão das Leishmanioses cutânea e mucocutânea. A forma visceral da *Leishmania*, foi diagnosticado o primeiro caso em 1913, pelo médico Migone em necrópsia de um paciente proveniente do Estado do Mato Grosso. Somente depois de 1930 é que o inseto *Lutzomyia longipalpus* foi identificado como vetor da *L. brasiliensis*, neste momento, começaram também a descobrir os primeiros casos de leishmaniose canina (TEIXEIRA, et al 2013).

Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente na Região Nordeste (BRASIL, 2003).

## **2.2 Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)**

Segundo a OMS, as doenças tropicais negligenciadas (NTDs, do inglês *Neglected Tropical Diseases*) são um grupo de doenças transmissíveis que ocorrem, em sua maioria, em países de climas tropical e subtropical e que afetam principalmente as populações que vivem na pobreza, sem saneamento adequado e em contato próximo com os vetores transmissores. Nesse contexto, as leishmanioses se destacam como uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2007). As Leishmanioses são antropozoonoses consideradas um grande problema de saúde pública, representam um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. Em 2017 foi estimado que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco com registro aproximado de 2 milhões de novos casos das diferentes formas clínicas ao ano (BRASIL, 2017).

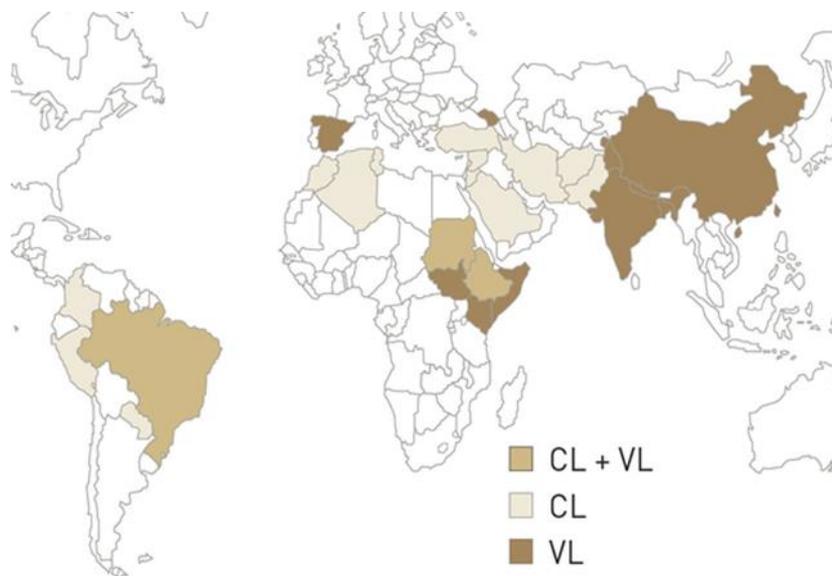
A Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil tem sido associada a sete espécies de *Leishmania* pertencentes a dois subgêneros: (1) *Viannia* que incluem as espécies *L. brasiliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. naiffi*, *L. shawi* e *L. lindenbergi*, (2) *Leishmania* representado pela espécie *L. amazonensis* (DE BRITO et al., 2012).

A doença, possui caráter endêmico e característico de regiões tropicais e subtropicais, que são os locais com maior facilidade de proliferação do vetor. Estima-se que 12 milhões de pessoas no mundo sofrem dessa doença (MONTEIRO et al., 2017).

A leishmaniose tegumentar esta presente em 88 países, distribuídos em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia), com registro anual de 1 - 1,5 milhões de casos. No entanto, a subnotificação é um fato presente, pois dos 88 países considerados endêmicos, a notificação é obrigatória em apenas 32 deles, incluindo o Brasil (WHO, 2010).

A leishmaniose cutânea difusa (LCD) é considerada uma forma rara de apresentação clínica da LTA, com cerca de 350 casos descritos na literatura mundial. Existem relatos de seu encontro no continente Africano e nas Américas, destacando-se o primeiro com maior número de casos (**Figura 2**). No Brasil, o agente etiológico responsável pela LCD é a *L. amazonensis* (Brasil, 2006).

**Figura 2-** Distribuição Geográfica Leishmaniose Cutânea e Visceral



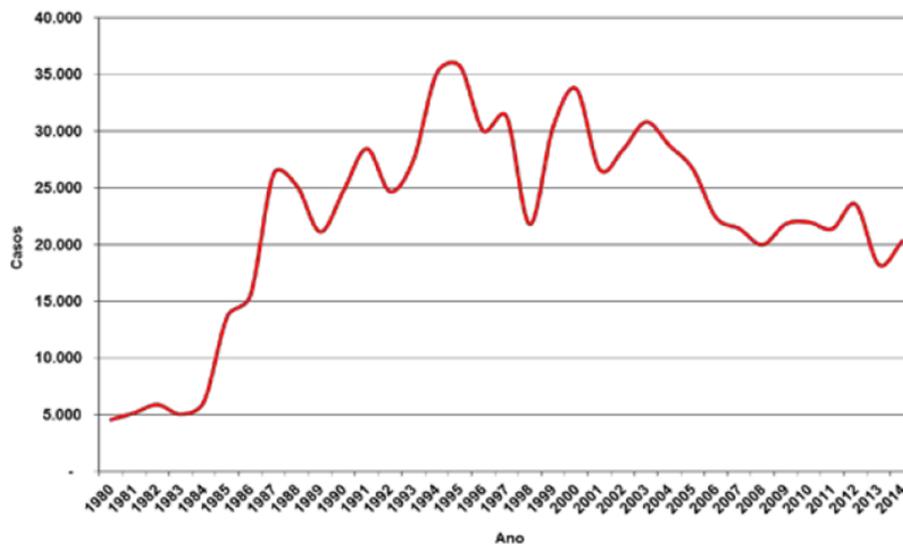
Fonte: <https://www.dndi.org/diseases-projects/leishmaniasis>

Dados do ministério da saúde indicam que em 2015 foram registrados 19.395 casos de Leishmaniose Tegumentar, concentrados principalmente na região norte (8.939 casos),

nordeste (5.152 casos) e centro-oeste (2.937 casos)(BRASIL, 2015). Em Pernambuco a LTA incide em todo o estado, com predominância (mais de 60% dos casos) na região correspondente a Zona da Mata Atlântica, sendo a quase totalidade na forma cutânea localizada (BRANDÃO-FILHO et al., 1999).

No período de 1980 a 2014 a LTA apresentou aumento no número de casos registrados, variando de 3.000 (1980) a 35.748 (1995). Observam-se picos de transmissão a cada cinco anos. No período de 1995 a 2014, verifica-se uma média anual de 25.763 casos novos registrados (**Figura 3**) (Brasil, 2017).

**Figura.3-** Casos de LTA no Brasil (1980-2014)



Fonte:Sinan/SVS/MS

### 2.3 Agente Etiológico e Vetor

As leishmaniose são doenças parasitárias que apresentam como agente etiológico o protozoário do gênero *Leishmania*. No Brasil, foram identificadas 7 espécies, sendo 6 do subgênero *Vianniae* e uma do subgênero *Leishmania*. As 3 principais espécies são: *Leishmania*

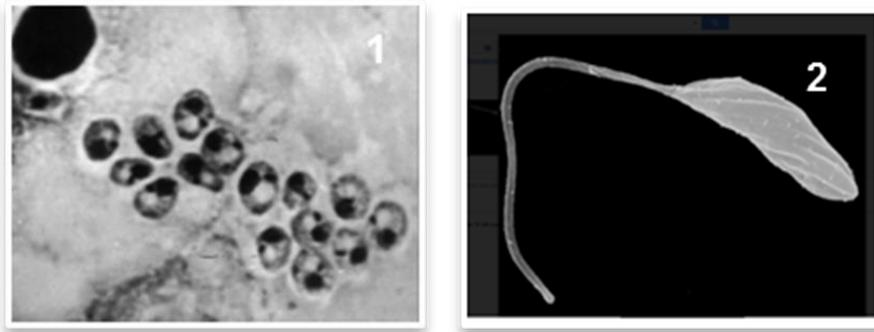
(*Leishmania*) amazonenses; *Leishmania* (Viannia) *guyanensis* e *Leishmania* (Viannia) *brazileinsis*(BRASIL, 2017).

O gênero *Leishmania* pertence a ordem Kinetoplastida, à família *Trypanosomatidae* e agrupa espécies de protozoários unicelulares, digenéticos seu ciclo de vida se completa em dois diferentes hospedeiros. No caso, um vertebrado e um inseto, encontradas nas formas promastigota e paramastigota, flageladas livres ou aderidas ao trato digestivo dos hospedeiros invertebrados, e amastigota, sem flagelo livre, parasito intracelular obrigatório. A reprodução ocorre por divisão binária simples em ambos os hospedeiros. (SANTOS; YOSHIOKA;MIYAGUI, 2008) (NEVES , 2004)

As formas flageladas, promastigotas são divididas em duas: as promastigotasprociclica forma não infectiva localizada no intestino do hospedeiro invertebrado e as promastigotas metacíclicas , infectiva , não proliferativa, localizada no lúmen do intestino médio do hospedeiro invertebrado.(REY ,2002)

As promastigotas são alongadas, com um flagelo, livres e longas, emergindo do corpo do parasito na sua porção anterior. As promastigotas apresentam uma variabilidade muito grande nas medidas do corpo, cujos diâmetros podem ser observados entre 10,0 a 40,0 e 1,5 a 3,0 pm. O flagelo apresenta sempre medidas iguais ou superiores ao maior diâmetro do corpo. As paramastigotas são pequenas e arredondadas ou ovais. O flagelo é curto, exterioriza se na região anterior do corpo os diâmetros das paramastigotas variam de 5,0 a 10,0 e 4,0 a 6,0 pm. As promastigotas metacíclicos possuem os diâmetros do corpo nos menores limites apresentados pelos promastigotas e o flagelo muito longo, cerca de duas vezes o comprimento do corpo, possuem mobilidade intensa e são encontrados livres nas porções anteriores do trato digestivo do inseto, nunca foram encontradas em divisão. As formas flageladas se diferenciam da forma amastigota essencialmente pelo prolongamento do flagelo, que se exterioriza para além da bolsa flagelar (**Figura 4**) (NEVES, 2004).

**Figura 4-** Formas amastigotas intracelular (1) e promastigota(2) em Microscopia eletrônica de Varredura MEV de *Leishmania amazonensis*.



Fonte: Formas Amastigota intracelular (Rey 2002) e promastigota (Doutora Carina Helena do Laboratório de Biologia Celular , FIOCRUZ-PE).

Os hospedeiros vertebrados incluem uma grande variedade de mamíferos. Embora as infecções por esses parasitos sejam mais comuns nos roedores e canídeos, são conhecidas também entre edentados, marsupiais, procionídeos, ungulados primitivos, primatas e, entre estes, o homem. Como hospedeiros invertebrados são identificados, exclusivamente, fêmeas de insetos hematófagos conhecidos como flebotomíneos (**Figura 5**) (NEVES, 2004).

**Figura 5-** Mosquito Flebotomíneo (conhecido como mosquito- palha ou birigui)



Fonte: <http://indidogs.com/mitos-y-verdades-sobre-la-leishmaniosis/>

Os flebotomíneos estão divididos em seis gêneros pelo mundo: *Lutzomyia*, *Brumptomyia* e *Warleyia* que são encontrados no novo mundo; e os gêneros *Phlebotomus*, *Sergentomyia* e *Chinius*, encontrados no velho mundo (SHIMABUKURO et al., 2011)

Popularmente, os flebotomíneos são conhecidos como “mosquito palha”, “asa dura” ou “birigui” entre outras denominações comuns. São insetos de pequeno porte (1 a 3 milímetros), com dois pares de asas que lhes permitem deslocamento por saltitos, são frágeis, pilosos, de atividade crepuscular ou noturna (uma exceção ocorre com *Lutzomyia wellcomei*, que permanece ativa durante o período diurno), baixa capacidade de bater asas e naturalmente silvestres (BRAZIL & BRAZIL, 2003).

## 2.4 Ciclo Biológico

Os hospedeiros vertebrados são infectados quando formas promastígotas metacíclicas são inoculadas pelas fêmeas dos insetos vetores, durante o repasto sanguíneo. A saliva do inseto é inoculada neste ambiente e exerce papel importante como anticoagulante vasodilatadora e antiagregação de plaquetas, favorecendo o fluxo de sangue e a linfa intersticial para o alimento. Além destes efeitos, sabe-se que fatores presentes na saliva de flebotomíneos têm ação quimiotática para monócitos e imunorregulador, com capacidade de interagir com os macrófagos, aumentando sua proliferação e impedindo a ação efetora destas células na destruição dos parasitos. (NEVES, 2004)(KAYE; SCOTT, 2011).

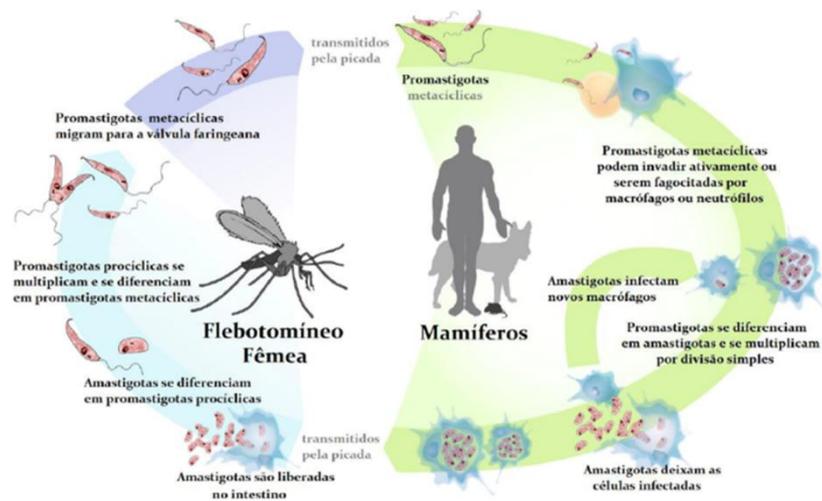
Durante o processo de endocitose do parasito, por causas fisiológicas, a célula hospedeira aumenta intensamente sua atividade respiratória. Os produtos liberados deste processo, como a formação de óxido nítrico, dos radicais livres, hidroxilas, hidróxidos e superóxidos ( $O^-$ ,  $OH^-$ ,  $H^+$  e  $H_2O_2$ ), são conhecidos por serem altamente lesivos para membranas celulares. Os parasitos necessitam da utilização de mecanismos de escape a este ataque. Além disto, a saliva do inseto, presente neste ambiente, exerce ação inibidora da estimulação dos macrófagos, reduzindo a capacidade destas células de produzir Óxido nítrico. Entretanto, a internalização é também um mecanismo de defesa. Após a internalização, o promastigota metacíclico é encontrado dentro do vacúolo parasitóforo (NEVES, 2004).

Nas células do hospedeiro mamífero a promastígota se diferencia em amastígota, capaz de desenvolver e multiplicar no meio ácido encontrado no vacúolo digestivo. Mantendo o controle das condições ambientais internas do vacúolo, a amastígota inicia o processo de sucessivas multiplicações. Na ausência do controle parasitário pela célula hospedeira, esta se

rompe e as amastígotas liberadas serão, por mecanismo semelhante, internalizadas por outros macrófagos. (**Figura 6**) (KAYE; SCOTT, 2011)

O ciclo de transmissão está completo quando fagócitos infectados são ingeridos por outro flebotomíneo ao realizar o repasto sanguíneo. Os flebotomíneos são contaminados a partir de animais infectados, que são fundamentais para o estabelecimento da doença humana. (BATES, 2004).

**Figura 6-** Ciclo de vida do protozoário do Gênero *Leishmania*



Fonte: Trends in Parasitology (2011).

## 2.5 Manifestações Clínicas e diagnóstico

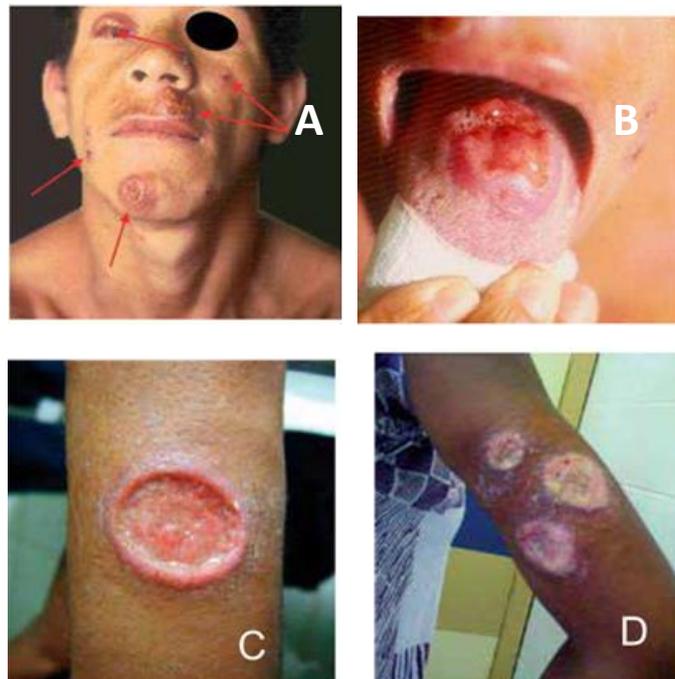
A leishmaniose Tegumentar ou cutânea (LC) é uma doença associada à pobreza que se apresenta como forma de úlceras, nódulos, pápulas e placas nas partes expostas do corpo (braços, pernas, face) (MEARS, 2015). O primeiro sinal de infecção aparece como um pequeno eritema que se desenvolve no local da picada do flebotomíneo e avança dentro de algumas semanas ou meses. As lesões muitas vezes se tornam crônicas depois que o eritema inicial se desenvolve em uma pápula, então um nódulo que pode ulcerar um período de duas semanas a seis meses antes de se tornar a lesão característica. Cada lesão é representativa de uma picada do mosquito independente, mas, em casos raros, a doença pode se manifestar como doença disseminada chamada de Leishmaniose cutânea disseminada (BRASIL, 2017).

A forma disseminada da LC é uma expressão incomum que pode ser observada em até 2% dos casos. As duas espécies reconhecidas como causadoras desta síndrome são

*Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*, embora a maioria dos casos relatados na literatura seja infecção por *L. (V.) braziliensis*. (BRASIL, 2017).

Essa forma de apresentação é caracterizada pelo aparecimento de múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme que acometem vários segmentos corporais, envolvendo com frequência a face e o tronco (**Figura 7**). O fenômeno de disseminação ocorre posteriormente ao desenvolvimento das lesões primárias, provavelmente por disseminação do parasito por via hemática ou via linfática, mais ou menos aguda, que se estabelece em poucos dias, às vezes em 24 horas, causando lesões distantes do local da picada. A disseminação pode ocorrer após tratamento já iniciado para a forma cutânea localizada (BRASIL, 2017).

**Figura7-** Caracterização das diferentes manifestações clínicas da LT. A (forma disseminada); B (forma mucosa); C (forma cutânea, lesão clássica em moldura); D (Forma cutânea lesão bolhosa que se rompeu, originando ulceração rasa, secreção serosa e fundo granuloso com crosta)



Fonte: Manual de Vigilância da leishmaniose tegumentar americana

O paciente com LC pode apresentar também manifestações sistêmicas, como febre, mal-estar geral, dores musculares, emagrecimento, anorexia, entre outros, que podem ocorrer

em alguns casos, sugerindo que há parasitemia. Também pode haver acometimento da região nasofaríngea, laringe e cavidade oral (BRASIL, 2017).

## 2.6 Tratamento

As atuais terapias medicamentosas antileishmania são inadequadas. Desde a década de 1940, as terapias padrão para a leishmaniose incluem antimoniais pentavalentes, como o estibogluconato de sódio (Pentostam) e antimoniato de meglumina (Glucantime). Ambos os fármacos estão sujeitos a uma resistência generalizada e são altamente tóxicos, pelo que o tratamento isolado pode levar à mortalidade (SHYAM et al, 2015).

A pentamidina diamidina, que tem desvantagens semelhantes aos antimoniais, tem sido outra droga de escolha para o tratamento da leishmaniose cutânea por várias décadas. Medicamentos mais novos incluem a anfotericina B, especialmente na formulação lipossomal (Ambisome), o aminoglicosídeo paromomicina e a fosfolípídeo miltefosina, que receberam a aprovação da FDA em 2014 (SHYAM et al, 2015).

O esquema terapêutico varia muito no Brasil, o tratamento com antimonial é feito durante 10 dias, até completa cicatrização da úlcera. A via de administração é geralmente intramuscular, mas também pode ser feito endovenoso ou local. Os antimonias não deve ser utilizada em pacientes cardíacos e nem em mulheres grávidas, pois elas apresentam efeitos teratogênicos, além disso, o antimônio pode provocar alterações cardiovasculares (NEVES,2004)

No entanto, o Ministério da Saúde preconiza o uso de  $20\text{mgSb}^{5+}/\text{kg}$  em sol/dia, durante 20 dias, para a leishmaniose cutânea e 30 dias para leishmaniose cutaneomucosa. Este antimonial é indicado para o tratamento de todas as formas de leishmaniose tegumentar, embora as formas mucosas exija maior cuidado, podendo apresentar respostas mais lentas e maior possibilidade de recidivas. As lesões ulceradas podem sofrer contaminação secundária, razão pela qual devem ser prescritos cuidados locais como limpeza com água e sabão e se possível compressas com  $\text{KMnO}_4$  (permanganato de potássio) na diluição de 1:15.000ml de água. Em casos de resistência ao tratamento, pode ser utilizado isotianato de pentamidina ou a anfotericina B (NEVES, 2004) (BRASIL,2017).

Podem ocorrer um ou mais dos seguintes efeitos adversos durante o tratamento sistêmico artralgia, mialgia, anorexia, náuseas, vômitos, plenitude gástrica, epigastria, pirose, dor abdominal, pancreatite, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitação,

insônia, nervosismo, choque pirogênico, edema e insuficiência renal aguda (IRA). Os eventos adversos são geralmente leves ou moderados e raramente exigem a suspensão do tratamento. Porém, particularmente na dose de 20 mg Sb<sup>+5</sup>/kg/dia, o antimonial pode atingir seu limiar de toxicidade, levando a alterações cardíacas, hepáticas, pancreáticas ou renais que indiquem modificação ou interrupção do tratamento. (BRASIL, 2017)

Entretanto, nenhum desses medicamentos está perto do ideal. Todos eles têm toxicidade moderada a alta, precisam ser administrados por várias semanas e sofrem com o aumento da resistência aos medicamentos. Apenas a miltefosina, um teratôgeno conhecido que não é adequado para pacientes grávidas, pode ser administrada por via oral (SHYAM et al, 2015).

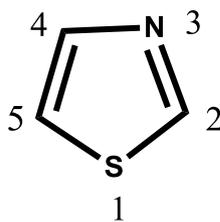
Neste cenário a Leishmaniose tem sido caracterizada como um grande problema de saúde pública, e até agora não há tratamento satisfatório. Portanto, há uma necessidade urgente de novas terapias que sejam seguras, potentes, biodisponíveis oralmente, tenham um baixo custo de produtos e sejam eficazes contra cepas de parasitas de *Leishmania* resistentes a medicamentos.

## 2.7 Novas alternativas Terapêuticas para a Leishmaniose

### 2.7.1 1,3-Tiazóis

Os derivados tiazólicos são conhecidos como uma classe de compostos com um amplo espectro de atividades biológicas, dentre as quais podem ser citadas a atividade antibacteriana, anti-inflamatória, imunomoduladora, anti-hipertensiva, anticonvulsivante, antidepressiva e anticâncer (MESHRAM *et al.*, 2012)

Os Tiazóis (**Figura 8**) são compostos heterocíclicos que apresentam um anel de cinco membros que contém três carbonos, um átomo de enxofre e um átomo de nitrogênio (KASHYAP et al., 2011)

**Figura 8-** Estrutura química do núcleo Tiazol

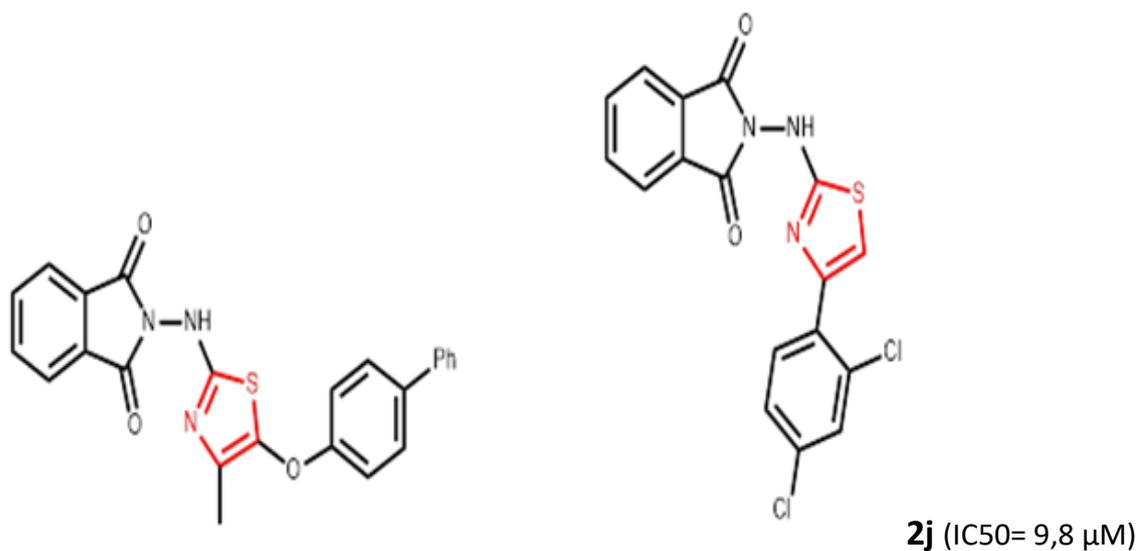
Tiazol

Fonte: Autor

O núcleo tiazol é frequentemente encontrado em vários compostos com potente atividade biológica, como sulfatiazol um antimicrobiano e Ritonavirum antiviral (KASHYAP et al., 2012). Estudos do nosso grupo de pesquisa revelaram que de uma série de 26 piridil-tiazóis, 20 compostos apresentaram ser agentes tripanocidas mais potentes que o BDZ. (CARDOSO et al 2014). Caputo e colaboradores desenvolveram uma série de compostos como núcleo tiazol na sua estrutura, os quais apresentaram excelente atividade in vitro contra cepas de epimastigota, tripomastigota e amastigota do *T. cruzi* (CAPUTTO 2011 e 2012).

Em trabalho realizado por Aliança *et al* (2017) os resultados mostram que os ftalimido-tiazóis produzidos, em especial os que contêm os substituintes aromáticos, são potentes agentes antiparasitários. Exibindo propriedades leishmanicidas substanciais contra *L. infantum*, com dano celular observado microscopicamente e baixa toxicidade para células de mamíferos. Da série se destacaram os compostos **2j** ( $IC_{50}$  9,8  $\mu$ M) e **2m** ( $IC_{50}$  27,8  $\mu$ M) (**Figura 10**) como os mais promissores. Esses estudos indicam que o núcleo tiazol é bastante importante como um protótipo estrutural a fármaco antiparasitário.

**Figura 9** – Núcleo Tiazol presente na estrutura química do ftalil-tiazol sintetizado por (ALIANÇA et al., 2017) com atividade Leishmanicida



Fonte: Aliança et al. (2017) (Adaptado)

Nesse contexto, devido à versatilidade do núcleo tiazol, esse anel heterocíclico vem sendo alvo de diversos estudos para explorar as suas funcionalidades, sendo uma estrutura privilegiada de bastante interesse para a química medicinal.

### 3 CAPÍTULO UM: PLANEJAMENTO, SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE INÉDITAS 1,3 TIAZÓIS

#### 3.1 Planejamento das Moléculas

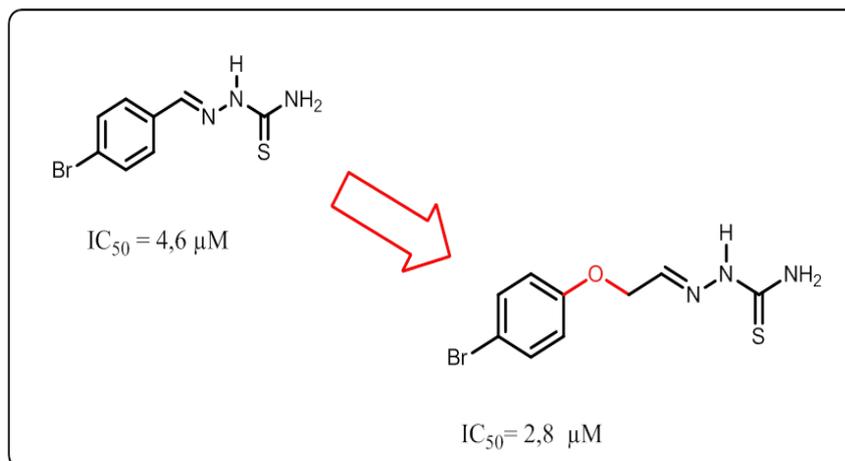
O planejamento da série de moléculas 1,3-tiazóis obtidas nesse trabalho, foi feito partindo de moléculas anteriormente desenvolvidas, e analisadas quanto a sua atividade biológica, pelo grupo LPqM (Laboratório de Planejamento e Síntese em Química Medicinal).

Foram norteadores desse trabalho, os resultados obtidos da síntese das aril-tiossemicarbazonas de Moreira et al. (2014) e Espíndola et al. ( 2010 e 2015 ) com atividade promissora comprovada antiparasitária para *T.cruzi*.

Uma modificação estrutural explorada pelo nosso grupo de pesquisa em algumas aril-tiossemicarbazonas e que fez parte da estrutura dos 1,3 tiazóis planejados neste trabalho é a presença do grupamento espaçador (-O-CH<sub>2</sub>-) entre o anel fenílico e a porção tiossemicarbazona (um grupamento fenóxi), presente no trabalho de Espindola (2010) obtidas através da estratégia de homologação molecular .

Em seu trabalho Espindola comparou a atividade antiproriflerativa frente as formas epimastigotas de aril-tios semicarbazonas contendo o grupamento espaçador e os análogos desprovidos deste grupamento. De modo geral a presença do grupo espaçador potencializou a atividade tripanocida (**FIGURA 10**) (ESPÍNDOLA ,2010).

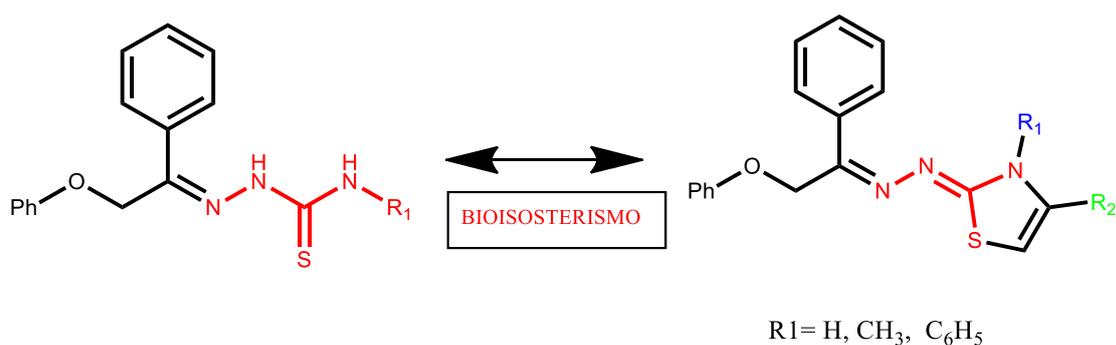
**Figura 10** - Potencialização da atividade anti *T.cruzi* na presença do grupo espaçador (-O-CH<sub>2</sub>-) adaptado.



Fonte: ESPÍNDOLA ,2010 (adaptado)

Outra forma de funcionalização das tiossemicarbazonas que nosso grupo tem explorado e obtido compostos com melhor atividade antiparasitária e melhor perfil citotóxico em células saudáveis é através do uso das tiossemicarbazonas e seus bioisômeros cíclicos (4-tiazolidinonas e 1,3 tiazóis) (**Figura 11**).

**Figura 11**- Emprego do bioisosterismo para o planejamento dos novos 1,3 tiazóis



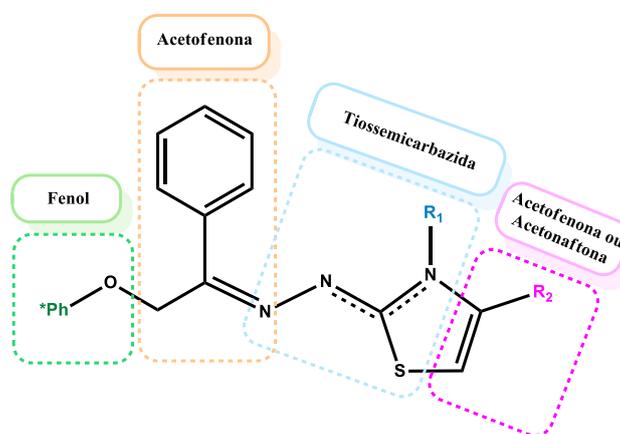
Fonte: Autor

Escolheu-se realizar também modificações estruturais como por exemplo, as substituições diversas no anel heterocíclico, adicionados na posição **C4**. A substituição em **C4** já foi relatada por nosso grupo de pesquisa em trabalhos anteriores, onde essa inserção foi benéfica (OLIVEIRA FILHO, et al 2012). Foram realizadas também modificações estruturais, através da inserção de substituintes na posição **N3** devido a resultados obtidos em trabalhos

recentes, onde derivados com grupo fenila ou metila em **N3** apresentaram-se potentes agentes antiparasitários (MOREIRA, et al 2012).

No total, 10 compostos foram sintetizados e avaliados frente as formas promastigotas de *Leishmania Amazonensis*. De forma geral, na série planejada fixou-se os grupos provenientes da 2-bromoacetofenona, diferentes tiossemicarbazidas: 4-metil-3-tiossemicarbazida, Tiossemicarbazida e 4-fenil-tiossemicarbazona (variando em R<sub>1</sub>), diferentes fenóis (variando entre 3-OCH<sub>3</sub>Ph; 2,3-DiCl-Ph; 3,4-DiClPh e 4-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ph) e diferentes halo-acetofenonas (variando em R<sub>2</sub>) para a obtenção 10 novos 1,3-tiazóis (FIGURA).

**Figura 12-** Estrutura geral dos 1,3 Tiazóis sintetizadas no trabalho.



Fonte: Autor

Utilizando-se a variação dos fenóis substituídos, pode-se avaliar importância da contribuição hidrofóbica e do efeito indutivo dos grupamentos para a atividade biológica, tendo em vista que há uma variação dos grupos substituintes no anel aromático. Uma vez que o planejamento estrutural foi realizado, seguimos em direção à síntese dos compostos almeçados

## 3.2 Metodologia

### 3.2.1 Materiais e Reagentes

Para as reações, foram utilizados os solventes: Acetona, Hexano, Acetato, Etanol, Isopropanol, DMF, e Metanol, provenientes das marcas Dinâmica, Cinética ou Química moderna. Os reagentes utilizados na síntese foram adquiridos das marcas Sigma Aldrich, Pro Químicos, Química Moderna, Vetec ou Cinética Química Ltda. O DMSO deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) da marca Sigma-Aldrich foi utilizado para a realização de todos os RMNs.

As reações, em laboratório, foram acompanhadas a partir de cromatografia em camada delgada (CCD), na qual a fase estacionária utilizada foi a sílica-gel 60 da Alugram® com indicador fluorescente F254. Para a visualização das placas cromatográficas foi utilizada uma câmara de radiação ultravioleta que possuía duas lâmpadas: Uma com 365 e outra com 254 nm.

O banho ultrassônico, utilizado para auxiliar nos processos reacionais, era da marca Unique EM-804, com frequência de 40 KHz (180W de potência).

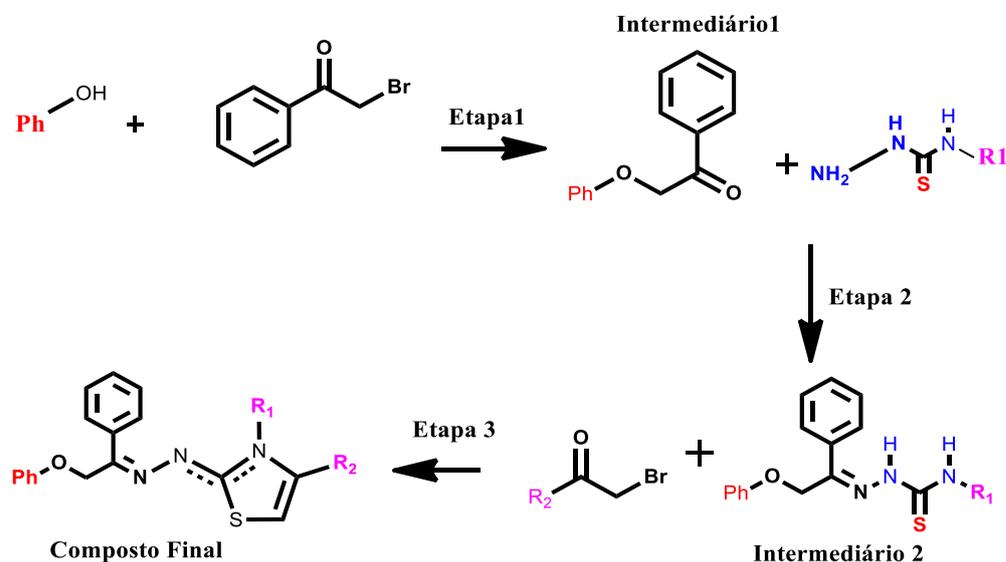
A aferição do ponto de fusão dos produtos obtidos, foi feita através do equipamento fusiômetro da marca Fisatom, modelo 430D.

As análises espectroscópicas foram realizadas em parceria com outros laboratorios. A Ressonância Magnética Nuclear (<sup>13</sup>C e <sup>1</sup>C e DEPT) foi realizada na central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizando os instrumentos da Varian, modelo Unit Plus (400MHz para <sup>1</sup>H e 100MHz para <sup>13</sup>C) e o equipamento da Bruker AMX (300 MHz para <sup>1</sup>H ; 75,5 MHz para <sup>13</sup>C), utilizando-se o tetrametilsilano como padrão e o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>). E a análise de espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) foi realizada no CETENE.

### 3.2.2 Rota Sintética

A síntese dos compostos finais foi realizada através da execução de três etapas reacionais. síntese das acetofenonas (intermediário 1) e a síntese das tiossemicarbazonas (intermediário 2), e a síntese dos 1,3 Tiazóis, conforme é apresentado no esquema como ilustrado no **Esquema 1**.

**Esquema 1.** Processo de síntese das 1,3-Tiazóis (**Composto JM01-10**); Reagentes e condições: **Etapa 1:** K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KI, Acetona, T.A., 4 h; **Etapa 2:** int.1, Etanol, ácido sulfúrico, PA, ultrassom, 6h; **Etapa 3:** int.2, Haloacetofenonas, Isopropanol, 24-48h.



COMPOSTOS	Ph	R1	R2
JM.01	(3-OCH <sub>3</sub> -Ph)	H	Ph
JM.02	(3-OCH <sub>3</sub> -Ph)	H	4-Ph-Ph
JM.03	(3-OCH <sub>3</sub> -Ph)	H	2-Naft
JM.04	(2,3-diCl-Ph)	H	Ph
JM.05	(2,3-diCl-Ph)	H	2-Naft
JM.06	(3,4-diCl-Ph)	H	Ph
JM.07	(3,4-diCl-Ph)	H	2-Naft
JM.08	(3,4-diCl-Ph)	CH <sub>3</sub>	Ph
JM.09	(3,4-diCl-Ph)	Ph	Ph
JM.10	(4-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ph)	Ph	Ph

### 3.2.3 Síntese do Intermediário 1 (Acetofenonas)

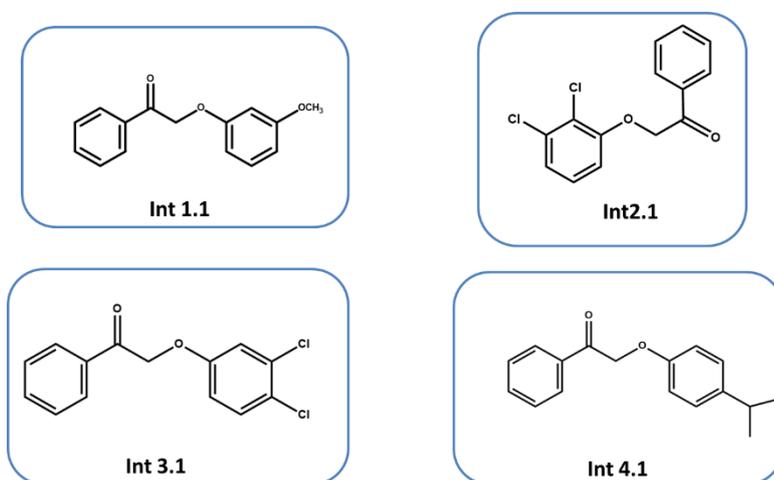
Em um balão de fundo redondo, previamente pesado, adicionou-se 25 mL de acetona P.A., juntamente com 5,4 mmol do fenol (3-OCH<sub>3</sub>Ph; 2,3-DiCl-Ph; 3,4-DiCl Ph e 4-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ph), 5,4 mol de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,75 g) e uma ponta de espátula de KI sólido. Deixou-se o sistema homogeneizando, sob agitação vigorosa, por 30 minutos à temperatura ambiente.

Após esse tempo, adicionou-se à mistura 3,6 mmol de 2-Bromo acetofenona (1,0 g) e então o sistema permaneceu sob agitação constante por 4h. Para verificar a formação dos produtos, realizou-se uma CCD com os reagentes e a mistura reacional, utilizando-se como eluente o Tolueno P.A.

Para purificação e obtenção do produto na forma sólida, a mistura foi rotaevaporada e o produto sólido seco foi submetido a três lavagens sucessivas com éter etílico e secagem em evaporador rotatório. O balão foi acondicionado em dessecador por 24h e então pesado para que fossem obtidos dados de rendimento reacional.

Foram sintetizados 4 intermediários 1 nessa etapa conforme a figura abaixo.

**Figura13** - Acetofenonas Sintetizadas (intermediários 1)



Fonte : autor

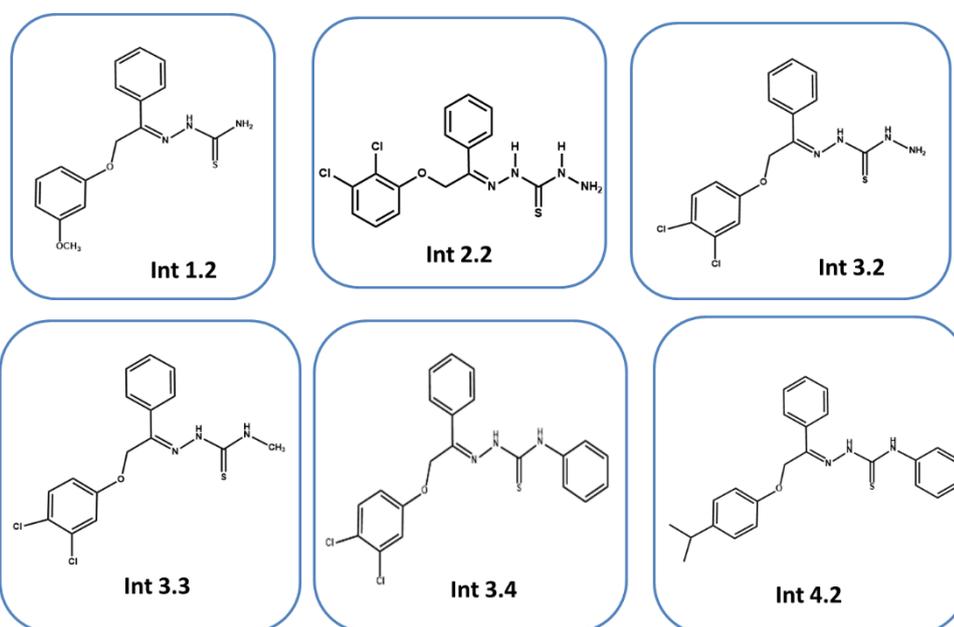
### 3.2.4 Síntese do Intermediário 2 (Tiossemicarbazonas)

Em um balão de fundo redondo, contendo 20 mL de álcool etílico P.A., adicionou-se 1,06 mmol do intermediário 1, juntamente com 7 gotas de ácido sulfúrico P.A. (usado aqui como catalisador). A mistura foi sonicada até a total solubilização do sólido (cerca de 30 minutos). Após esse tempo, foi adicionado ao sistema 1,06mmol de diferentes tiossemicarbazidas (tiossemicarbazida,4-feniltiossemicarbazida,4-metil-3-tiossemicarbazida) e em seguida o balão foi levado ao refluxo temperatura de 250 graus celsius durante 4 hrs.

O sistema foi deixado em ultrassom (12h) ou refluxo (48h). Em todos os casos foi necessário adicionar tiossemicarbazida em excesso para se conseguir chegar ao final da reação. O final da reação foi determinado por CCD com os reagentes e a mistura reacional, utilizando-se como solvente eluente a mistura Acetato de Etila e Hexano na proporção de 3:7. O sólido obtido foi filtrado à vácuo e lavado com Álcool Etílico. O funil sinterizado contendo o sólido filtrado foi acondicionado em dessecador e então pesado o produto final para obtenção dos dados de rendimento reacional.

Foram sintetizados 6 intermediários 2 nessa etapa conforme mostrado na figura abaixo.

**Figura14-** Tiossemicarbazonas sintetizadas



Fonte : autor

### 3.2.5 Síntese dos Compostos Finais (1,3-Tiazóis)

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 25 mL de álcool isopropílico P.A., 1,06 mmol do intermediário **2** e foi adicionado ao sistema 2,12 mmol de alfa-Halo-acetofenonas específico para formar cada composto final. A reação foi deixada sob condições de refluxo e agitação por 48h, e então após a formação do precipitado, o sistema foi filtrado e tanto do sobrenadante quanto do precipitado foram feitas placas de CCD para verificar a formação do composto final. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 24h. A massa obtida do composto foi então anotada, para posteriores cálculos de rendimento reacional.

### 3.2.6 Caracterização Estrutural

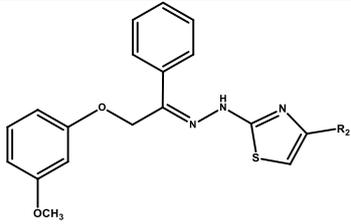
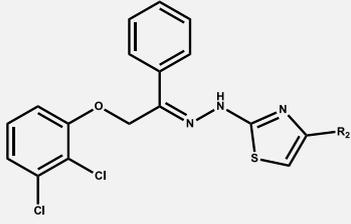
A verificação da estrutura química das moléculas foi realizada através de análises espectroscópicas dos compostos finais (EMAR e RMN  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ ). Além disso, também foram vistos o ponto de fusão (PF), e o fator de retenção (RF) destas moléculas em CCD, utilizando como sistema eluente a mistura de Acetato de Etila (45%) e Hexano (55%).

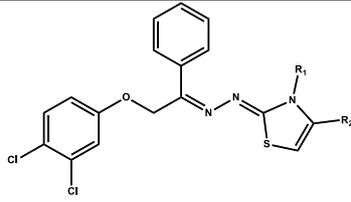
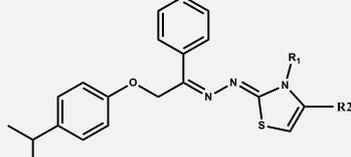
### 3.3 Resultados

Os 1,3-tiazóis propostos foram preparados segundo a metodologia descrita por Hantzsch, em agitação magnética, sob refluxo, com isopropanol como solvente, em até 24 horas. Os compostos foram obtidos como sólidos, após evaporação a baixa pressão e posterior filtração, com rendimentos satisfatórios. Em todas as etapas houve necessidade de purificação dos produtos, sendo estes processos simples de lavagem. Não houve necessidade de recristalização ou realização de coluna cromatográfica.

Na Tabela 1 estão listadas as principais propriedades dos compostos sintetizados, bem como os rendimentos reacionais o ponto de fusão (PF) e fator de retenção (RF) de cada um dos 10 produtos. O cálculo do rendimento foi procedido a partir dos valores do reagente limitante, que no caso foram os intermediários 2. Sendo assim, para um rendimento de 100%, o composto final deveria apresentar quantidade equimolar (de 1:1) com relação a utilizada de Intermediário 2.

**Tabela 1.** Características gerais dos compostos finais e rendimento das reações

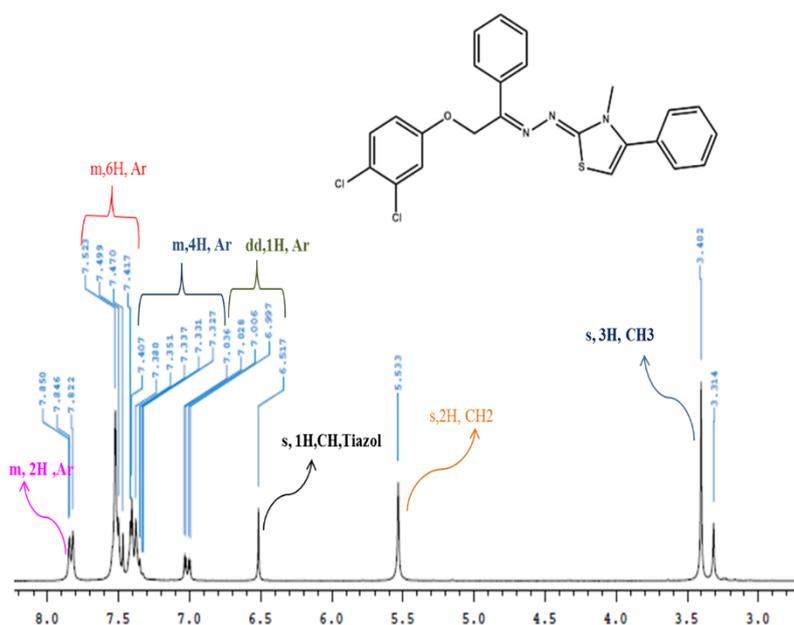
Estrutura Geral da Molécula	Composto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	PF (°C)	RF	Rendimento (%)
	JM.01	H	Ph	152-154	0,64	63,99
	JM.02	H	4-Ph-Ph	163-165	0,59	59,62
	JM.03	H	2-Naft	214-216	0,56	65,75
	JM.04	H	Ph	210-212	0,69	74,89
	JM.05	H	2-Naft	200-202	0,66	79,58

	<b>JM.06</b>	<b>H</b>	<b>Ph</b>	<b>224-225</b>	<b>0,66</b>	<b>77,33</b>
	<b>JM.07</b>	<b>H</b>	<b>2-Naft</b>	<b>218-220</b>	<b>0,68</b>	<b>59,62</b>
	<b>JM.08</b>	<b>CH<sub>3</sub></b>	<b>Ph</b>	<b>229-231</b>	<b>0,75</b>	<b>61,42</b>
	<b>JM.09</b>	<b>Ph</b>	<b>Ph</b>	<b>210-211</b>	<b>0,59</b>	<b>75,44</b>
	<b>JM.10</b>	<b>Ph</b>	<b>Ph</b>	<b>155-157</b>	<b>0,75</b>	<b>85,67</b>

Os rendimentos dos intermediários (1 e 2) foram na faixa de 78 a 93%. Já os compostos finais, apresentaram rendimento de 59-85%. Todos os compostos finais foram obtidos na forma de um pó sólido amorfo de cores variadas.

A estrutura química dos compostos foi confirmada através dos dados espectroscópicos obtidos. Estes corroboram para a formação dos produtos planejados, de acordo com os espectros demonstrados abaixo, que mostra o processo de caracterização por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  a partir da molécula **JM.08**.

**Figura 15**-Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da molécula JM.08.

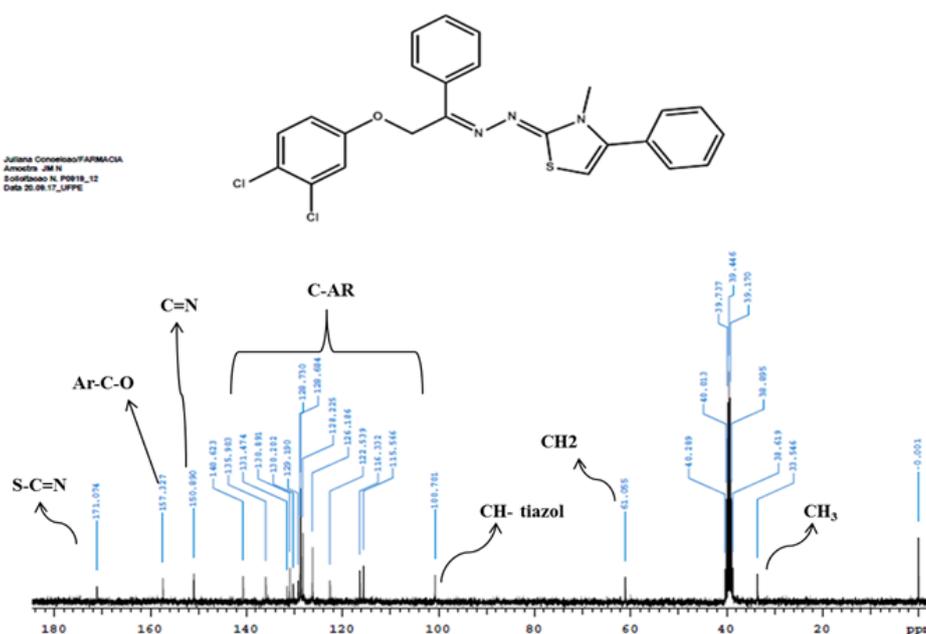


Fonte: Autor.

**Figura 15** apresenta um exemplo de espectro de RMN  $^1\text{H}$  para serie do derivados 1,3 tiazóis (JM.01-10) onde foi constatada a presença de um singlete em 3.4ppm, integrando para três hidrogênios, referente ao único grupo metila da molécula. Em 5.5ppm temos outro singlete integrando para dois hidrogênios referente ao C ligado ao metileno. Em 6.5 ppm, observamos um singlete integrando para 1 hidrogênio que corresponde ao C5 do anel tiazol. Em 7.01 e 6,90 ppm encontramos um duplo dubleto integrando para 1 hidrogênio aromático. Em 7.327-7.407 ppm, identificamos multiplete integrando para quatro hidrogênios do anel aromático. E em 7.417-7.523 encontramos multiplete integrando para 6 hidrogênios correspondente ao anel aromático. E em 7.94-8.02 ppm encontramos um multiplete integrando para 2 hidrogênios do anel aromático.

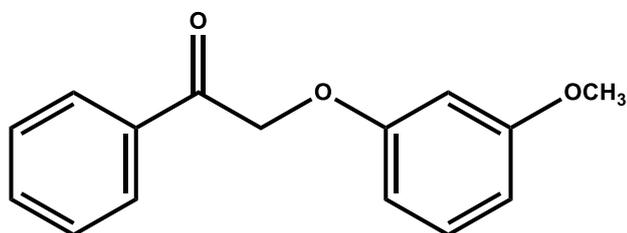
A **Figura 16** exemplifica o RMN  $^{13}\text{C}$  do Composto **JM.08**, utilizado como referencia. O pico em 100.4 ppm corresponde ao carbono 5 do heterocíclico, confirmando a formação do anel tiazol. O pico em 171,0 ppm corresponde ao carbono da ligação S-C=N do anel tiazol e 150.8ppm corresponde ao Carbono da ligação C=N. Em 157,3 ppm temos o carbono da ligação (C-O, Ar). O pico 61,0 ppm corresponde ao  $\text{CH}_2$  ligado ao Oxigênio. E por fim em 33,5 ppm há o carbono da  $\text{CH}_3$  ligado que pertence ao grupo metila. E os picos no intervalo 115,5 - 140,6 ppm correspondem aos carbonos dos anéis aromáticos.

**Figura 16-** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  da molécula JM.08.



Fonte: Autor

## 3.3.1 Composto Intermediário (Int.1.1)



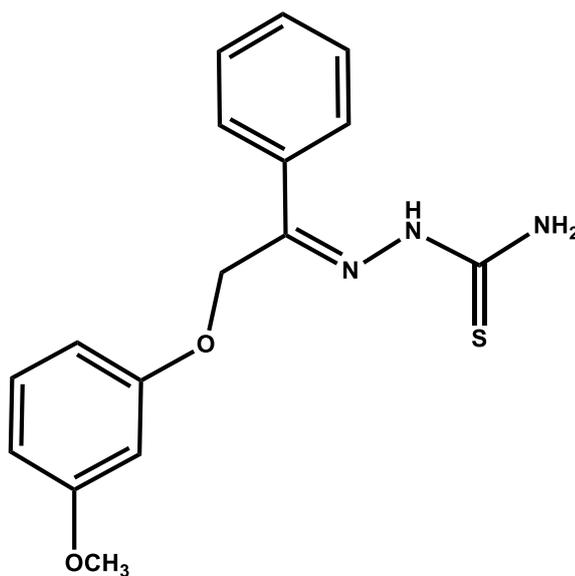
**Fórmula Molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

**Massa Molar:** 242,09 g/mol

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz), δ ppm:** 5,24 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,61 (d, J=7,9 Hz, 2H, CH-Ar), 7,72 (d, 1H, CH-Ar), 7,93 (d, J=7,5 Hz, 4H, CH-Ar), 8,1 (d, J=7,2 Hz, 2H, CH-Ar);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 75MHz) δ ppm:** 44,48 (CH<sub>2</sub>), 123,37 (C-Ar), 128,23 (C-Ar), 128,99 (C-Ar), 131,52(C-Ar), 133,91 (C-Ar), 134,30 (C-Ar), 134,79 (C-Ar), 167,49 (C=O), 192,32 (C=O).

## 3.3.2 Composto Intermediário (Int . 1.2)



**Fórmula Molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa Molar:** 315,39 g/mol

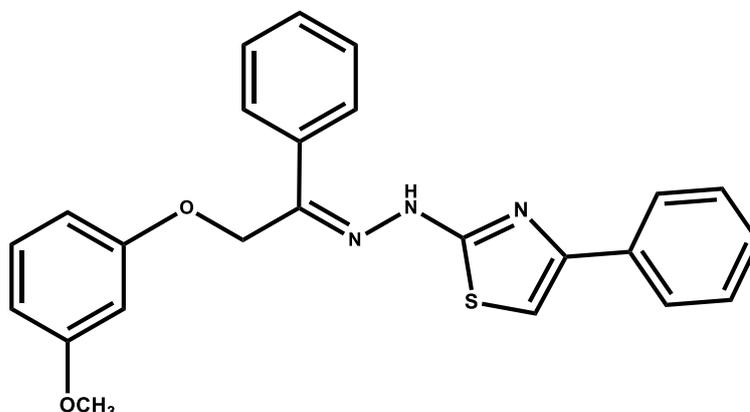
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz), δ<sub>ppm</sub>:** 4,9 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,34 (m, 3H, CH-Ar), 7,79 (m, 6H, CH-Ar), 8,45 (s, 1H, NH<sub>2</sub>), 10,67 (s, 1H, NH);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 75MHz) δ<sub>ppm</sub>:** 34,42 (CH<sub>2</sub>), 123,76 (C-Ar), 127,39 (C-Ar), 128,57 (C-Ar), 129,87(C-Ar), 131,56 (C-Ar), 135,21 (C-Ar), 135,74 (C-Ar), 145,19 (C=N), 167,90 (C=O), 179,79 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>: 338,084 ; Valor encontrado: 339,09

### 3.3.3 Composto JM.01



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa Molar:** 415,51 g/mol

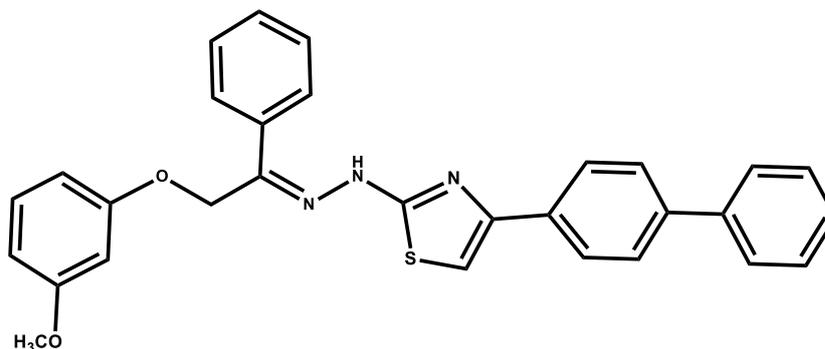
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 300MHz), δ<sub>ppm</sub>:** 3,71 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O), 5.30(CH<sub>2</sub>-O), 6.56 (m, 5H, Ar);7.19 (t, J=4.2Hz, 1H, Ar);7.36 (m, 5H, Ar); 7.77(d, J=3.6Hz, 2, Ar);7.86 (d, J=3.8Hz, 2H, Ar)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 75MHz) δ<sub>ppm</sub>:** 55,55 (CH<sub>3</sub>-O), 61,0 (CH<sub>2</sub>-O), 101,2 (CH-tiazol),107,4(CH, tiazol),136,5 (C<sub>4</sub>, Heterociclico), 120,9 (C-Ar), 125,9 (C-Ar), 126,6(C-Ar),127,5 (2 C-Ar),128,8 (C-Ar), 128,1 (C-Ar), 129,0 (4C-Ar), ,130,3 (2C-Ar) 133,0 (2C-AR) ,159,6(C=N), 160,8(N=C-S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

Valor calculado [M-H]<sup>+</sup>= 416,45

## 3.3.4 Composto JM.02



**Fórmula Molecular:** C<sub>30</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa Molar:** 491,60 g/mol

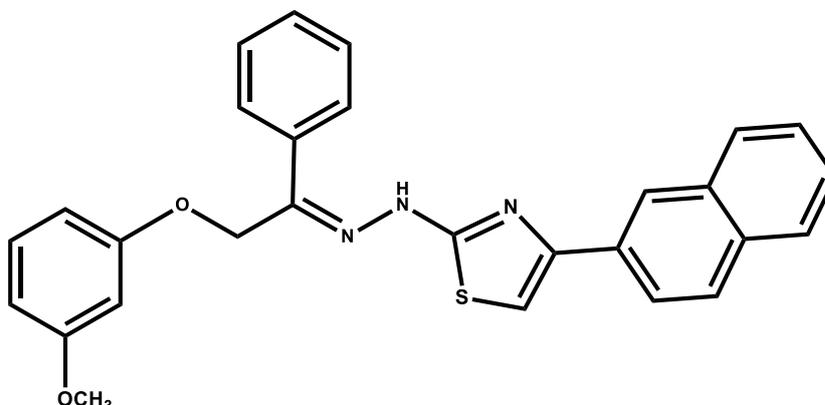
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz) δ ppm:** 3,80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O), 4,15(s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 6,55 (t, 3H, H-Ar), 11,25 (s, 1H, NH), 7,23(s, 1H-Ar), 7,28(s, H, tiazol), 7,52(m, 5 H -Ar), 7,52(t, 3H-Ar), 7,95 (2H-Ar), 7,85(d, 2H-Ar), 8,30(d, 2 H -Ar)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) δ ppm:** 55,4 (CH<sub>3</sub>-O), 74,0(CH<sub>2</sub>-O), 100,4 (C-Ar), 105,0(C5 -tiazol), 106,3(2C-Ar), 127,2 (5C-Ar), 128,3 (2C-Ar), 129,1 (C-Ar), 129,3 (C-Ar), 129,6 (C-Ar), 128,2(4C-Ar), 131,8 (2C-Ar), 140,8 (C-Ar), 150,0 (C4, tiazol), 160,0 (2 C-Ar), 160,8(C=N), 165,2 (N=C-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 490,04**

## 3.3.5 Composto JM.03



**Fórmula Molecular:**  $C_{28}H_{23}N_3O_2S$

**Massa Molar:** 465,57 g/mol

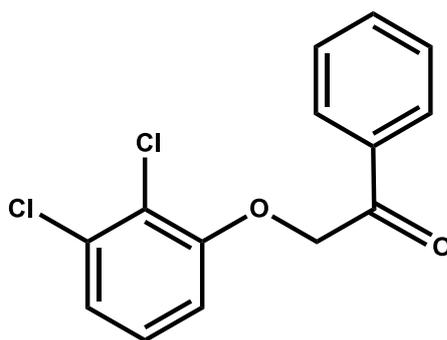
**RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz)  $\delta$  ppm:** 3,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-O), 4,50(s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 6,55 (t, 3H, H-Ar), 8.25 (s, 1H, NH), 7,23(s,1H-Ar), 7,23(d,H-Ar) 7,28(s,H ,tiazol), 7,52(m, 3 H – Ar), 7,59(t, 2H-Ar), 7,87 (m, 2H-AR) 7, 95 (d,2H-Ar), 8,00( d, 2H-Ar), 8.34(d, H –Ar)

**RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 100MHz)  $\delta$  ppm:** 55,0 (CH<sub>3</sub>-O), 74,1 (CH<sub>2</sub>-O), 105,0(CH-tiazol), 106,0(C-Ar), 123,7 (C-Ar), 126,0(3C-Ar), 127,9 (3C-Ar), 128,0 (2C-Ar), 128,2,3 (4C-Ar), 129,9 (C-Ar), 131,10 (C-Ar), 130,4 (C-Ar), 134,7 (C-Ar), 150,2 (C-tiazol), ), 155,4 (C=N), 159,3 (C-O), 171,4(N=C-S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 465,07**

## 3.3.6 Composto intermediário (Int.2.1)



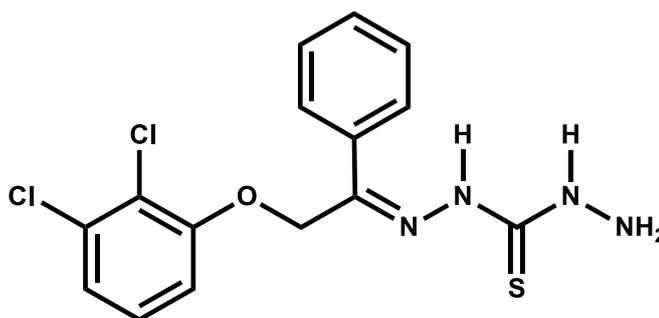
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz), δ<sub>ppm</sub>:** 4,90 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,49 (d, J=8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,67 (m, 2H, CH-Ar), 7,77 (m, 4H, CH-Ar), 8,49 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 10,69 (s, 1H, NH);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) δ<sub>ppm</sub>:** 33,65 (CH<sub>2</sub>), 123,32 (C-Ar), 128,99 (C-Ar), 131,02 (C-Ar), 131,09(C-Ar), 134,62 (C-Ar), 134,76 (C-Ar), 143,21 (C=N), 167,45 (C=O), 179,33 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>:415,994; Valor encontrado: 416,979

## 3.3.7 Intermediário (Int.2.2):



**Fórmula Molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>OS

**Massa Molar:**369,27g/mol

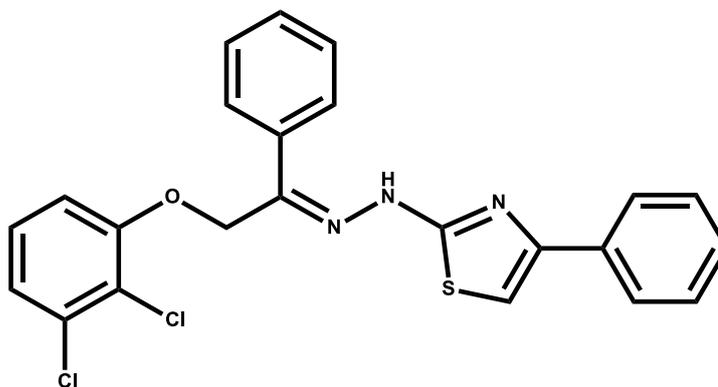
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz), δ<sub>ppm</sub>:** 4,99 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,23 (m, 1H, CH-Ar), 7,34 (m, 4H, CH-Ar), 7,38 (m, 2H, CH-Ar), 7,54 (m, 2H, CH-Ar), 7,84 (m, 4H, CH-Ar), 10,20 (s, 1H, NH), 11,05 (s, 1H, NH);

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz)  $\delta$  ppm:** 33,97 (CH<sub>2</sub>), 122,95 (C-Ar), 123,39 (C-Ar), 125,63 (C-Ar), 126,12(C-Ar), 128,14 (C-Ar), 129,27(C-Ar), 131,07 (C-Ar), 131,13 (C-Ar), 134,47 (C-Ar), 134,84 (C-Ar), 139,02 (C-Ar), 144,13 (C=N), 167,55 (C=O), 177,47 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>:492,026; Valor encontrado: 493,003

### 3.3.8 Composto JM.04



**Fórmula Molecular:** C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 454,37g/mol

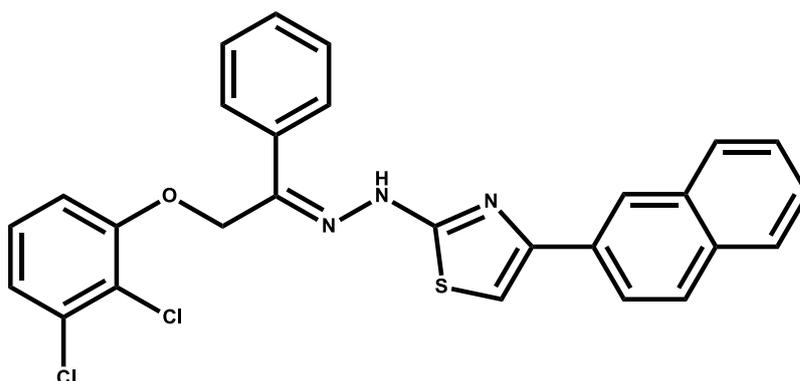
**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz)  $\delta$  ppm:**4.55 (s, H, CH<sub>2</sub>-O), 7.28 (s. CH, Tiazol), 7,41 ( d, H-Ar), 7.51 (d, 2H , H- Ar), 7,79 (d, 2H , H-Ar), 7.0(s, H-N) 7,52( d ,3H, H-Ar), 7,04 ( s, 2H, H-Ar),7,16( s, H, H-AR)7,35(s, H, H-Ar),7,94 (d, 2 H-Ar).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) )  $\delta$ ppm:** 75,4( CH<sub>2</sub>-O), 107,0 (CH-tiazol), 122,5(C-Ar)122,7(C-Cl ), 127,7(2C-Ar), 128,3( 4C-Ar) ,129, 7 (C-Ar)), 130,2(C-Ar), 131,2(C-Ar), 133,2( C-Ar),136,1(C-Cl) 150,2(CH-Heterocíclico) ,159,9 (C-O) ,156,7(C=N), 171,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M-H]<sup>+</sup>= 453,40

## 3.3.9 Composto JM.05



**Fórmula Molecular:**  $C_{27}H_{19}Cl_2N_3OS$

**Massa Molar:** 504,43g/mol

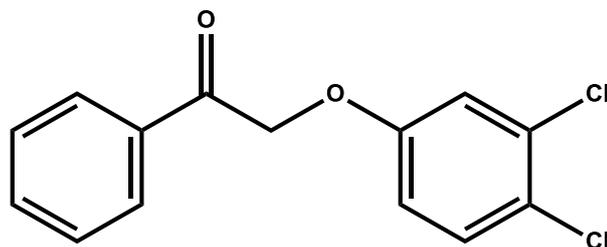
**RMN  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz)  $\delta$  ppm:** 4,55 (s, H, CH 2-O), 7,28 (s, H, Tiazol), 9,16(s, 1 H, H-N) 7,08( d ,1H,H-Ar), 7,16 ( t, 1H, H-Ar),7,59 (d, 2H , H-Ar), 7,35( d, 1H, H-Ar),7,87( m, 2H, H-AR),8,12(m,2 H, H-Ar), 8,34(d, 1H,H-Ar).

**RMN  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 100MHz):**74,4( CH<sub>2</sub>-O), 105,0 (CH-tiazol), 122,5(C-Ar), 122, 7 (C-Cl ),126,(3C-Ar),128,1(2C-Ar), 127,7(3C-Ar), 128,3( 4C-Ar) ,129, 7 (C-Ar)), 130,2(C-Ar), 131,2(C-Ar), 133,2( C-Ar),136,1(C-Cl) 150,2(CH-Heterocíclico) ,159,9 (C-O) ,156, 7 (C=N), 171,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H] $^+$  = 505,61**

## 3.3.10 Composto Intermediário (Int. 3.1)



**Fórmula Molecular:** C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Massa Molar:** 281,13 g/mol

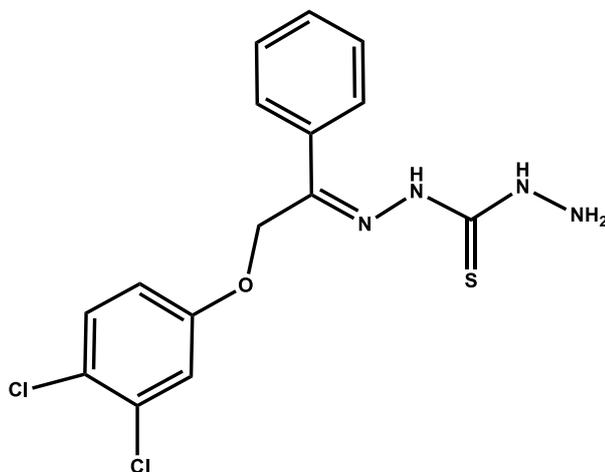
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz), δ ppm:** 4,92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,15 (t, J=8,8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,83 (m, 6H, CH-Ar), 8,47 (s, 1H, NH), 10,67 (s, 2H, NH<sub>2</sub>);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) δ ppm:** 34,31 (CH<sub>2</sub>), 115,34 (C-Ar), 123,61 (C-Ar), 129,66 (C-Ar), 132,27(C-Ar), 134,98 (C-Ar), 143,97 (C=N), 146,58 (C-Ar), 161,85 (C-F), 167,90 (C=O), 179,74 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>: 218,13; Valor encontrado:219,071

## 3.3.11 Composto Intermediário (Int.3.2)



**Fórmula Molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Massa Molar:** 369,27 g/mol

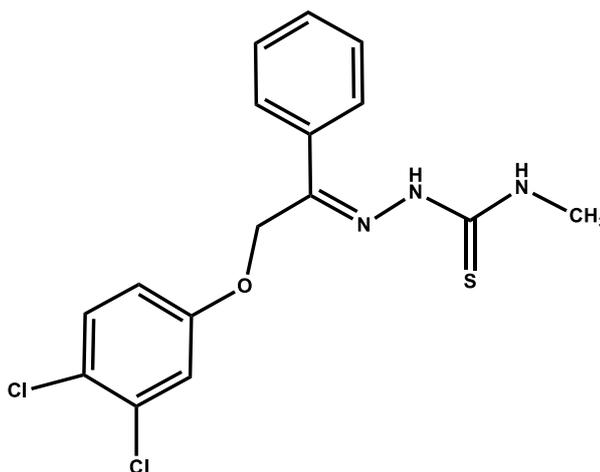
**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz),  $\delta$  ppm:** 5,00 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,21 (m, 2H, CH-Ar), 7,39 (m, 2H, CH-Ar), 7,5 (m, 2H, CH-Ar) 7,58 (d, J=8 Hz, 2H, CH-Ar), 7,83 (m, 4H, CH-Ar), 7,90 (m, 2H, CH-Ar), 10,18 (s, 1H, NH), 11,01 (s, 1H, NH);

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz)  $\delta$  ppm:** 34,63 (CH<sub>2</sub>), 115,39 (C-Ar), 123,80 (C-Ar), 125,99 (C-Ar), 126,45 (C-Ar), 128,55 (C-Ar), 129,96 (C-Ar), 132,10 (C-Ar), 132,12 (C-Ar), 135,24 (C-Ar), 139,48 (C-Ar), 144,82 (C=N), 164,45 (C-F), 167,98 (C=O), 178,88 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>: 369,106;

### 3.3.12 Composto Intermediário (Int.3.3)



**Fórmula Molecular:** C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 368,28 g/mol

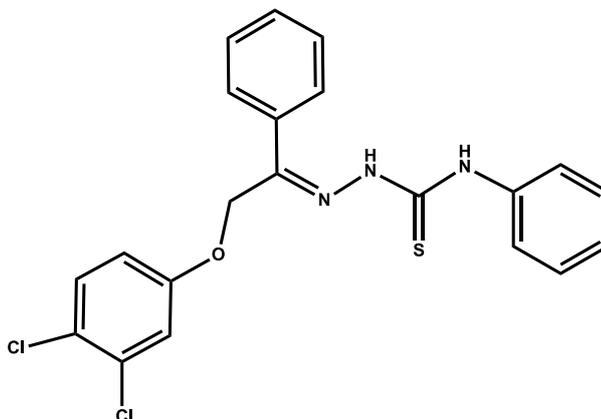
**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz),  $\delta$  ppm:** 3,06 (d, J=4,8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,92 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,17 (t, J=9 Hz, 2H, CH-Ar), 7,84 (m, 6H, CH-Ar), 8,58 (d, J=4 Hz, 1H, NH), 10,69 (s, 1H, NH);

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz)  $\delta$  ppm:** 31,12 (CH<sub>3</sub>), 33,86 (CH<sub>2</sub>), 114,86 (C-Ar), 123,13 (C-Ar), 129,14 (C-Ar), 131,04 (C-Ar), 131,82 (C-Ar), 134,51 (C-Ar), 143,32 (C=N), 161,34 (C-F), 167,43 (C=O), 178,83 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M+H]<sup>+</sup>: 370,090; Valor encontrado: 371,100

## 3.3.13 Composto Intermediário (Int.3.4)



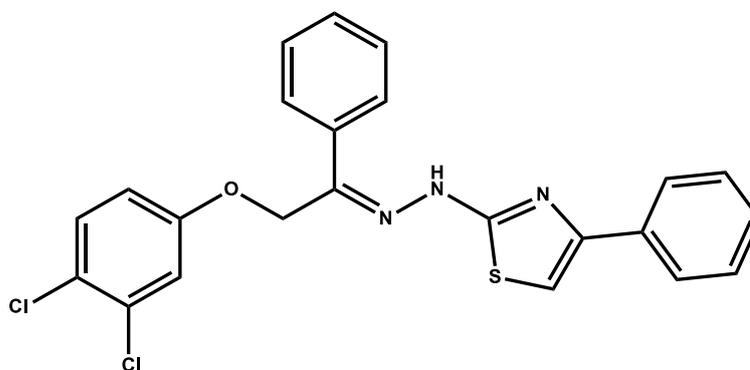
**Fórmula Molecular:** C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 430,35g/mol

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz), δ ppm:** 3,88 (s, 3H, CH<sub>2</sub>), 5,18 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,21 (d, J=2 Hz, 2H, CH-Ar), 7,93 (m, 4H, CH-Ar), 8,08 (d, J=2 Hz, 2H, CH-Ar);

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz) δ ppm:** 44,12 (CH<sub>2</sub>), 55,63 (CH<sub>3</sub>-O), 114,18 (C-Ar), 123,29 (C-Ar), 126,08 (C-Ar), 130,59 (C-Ar), 131,52 (C-Ar), 134,71 (C-Ar), 173,87, (C-O), 167,51 (C=O), 190,37 (C=O).

## 3.3.14 Composto JM.06



**Fórmula Molecular:** C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa Molar:** 454,37g/mol

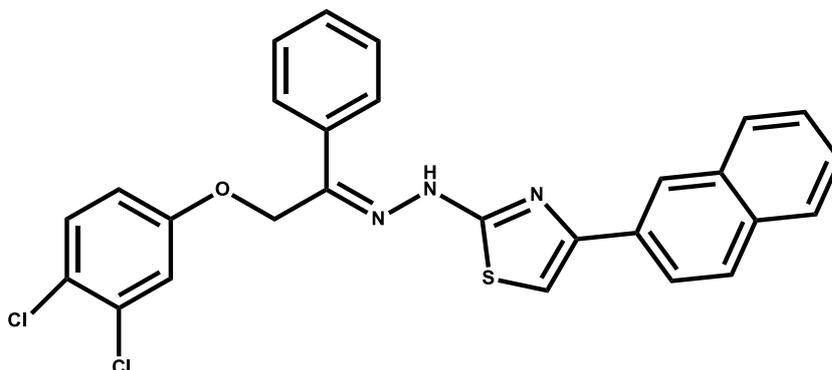
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):** 4.55 (s, H, CH<sub>2</sub>-O), 7.28 (s. CH, Tiazol), 7,41 (d, H-Ar), 7.51 (d, 2H, H-Ar), 7,79 (d, 2H, H-Ar), 7.0(s, H-N) 7,52( d, 3H, H-Ar), 7,04 (s, 2H, H-Ar), 7,16( s, H, H-AR) 7,35(s, H, H-Ar), 7,94 (d, 2 H-Ar).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz):** 75,4( CH<sub>2</sub>-O), 107,0 (CH-tiazol), 122,5(C-Ar) 125, 7 (C-Cl), 127,7(2C-Ar), 128,3( 4C-Ar), 129, 7 (C-Ar), 130,2(C-Ar), 131,2(C-Ar), 133,2( C-Ar), 134,4(C-Cl) 150,22(CH-Heterocíclico), 159,9 (C-O), 156, 7 (C=N), 171,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 453,47**

### 3.3.15. Composto JM.07



**Fórmula Molecular:** C<sub>27</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 504,43g/mol

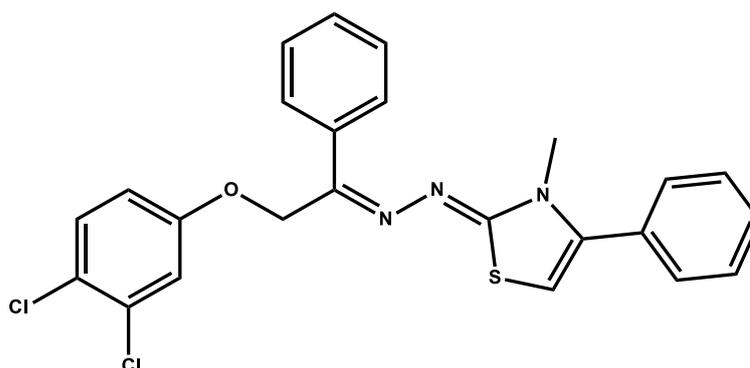
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):** 4,55 (s, H, CH<sub>2</sub>-O), 7.28 (s. H, Tiazol), 9,16(s, 1 H, H-N) 7,08( d, 1H, H-Ar), 7,16 ( t, 1H, H-Ar), 7,59 (d, 2H, H-Ar), 7,35( d, 1H, H-), 7,87( m, 2H, H-AR), 8,12(m, 2 H, H-Ar), 8,34(d, 1H, H-Ar).

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz):** 74,4( CH<sub>2</sub>-O), 105,0 (CH-tiazol), 122,53(C-Ar), 125, 7(C-Cl), 126,2(3C-Ar), 128,1(2C-Ar), 127,7(3C-Ar), 128,3(4C-Ar), 129,72(CAr), 130,2(C-Ar), 131,2(C-Ar), 133,2( -Ar), 134,1(C-Cl) 150,2(CH-Heterocíclico), 159,9 (C-O), 156, 7 (C=N), 171,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 506,03**

### 3.3.16 Composto JM.08



**Fórmula Molecular:** C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 468,40 g/mol

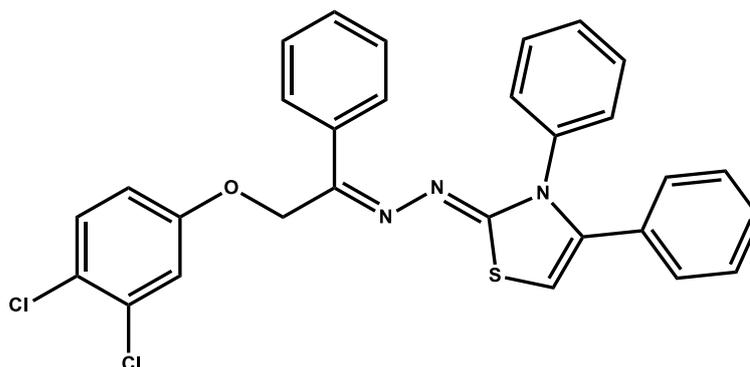
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):** 3,23 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>), 4,05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 6,95 (d, CH, Tiazol), 6,91 (t, 1H, H-Ar), 7,13 (s, 1H, H-Ar), 7,33 (d, 1H, H-Ar), 7,40 (m, 2H, H-Ar), 7,52 (d, 3H, Ar), 7,64 (m, 1H, Ar), 7,94 (d, 2H, Ar), 7,71 (m, 2H, H-Ar)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz):** 29,2 (N-CH<sub>3</sub>), 75,4 (CH<sub>2</sub>-O), 108,0 (CH-tiazol), 122,5 (C-Ar), 125,7 (C-Cl), 127,7 (2C-Ar), 128,3 (4C-Ar), 129,7 (C-Ar), 130,2 (C-Ar), 131,21 (C-Ar), 133,2 (C-Ar), 134,4 (C-Cl), 150,2 (CH-Heterocíclico), 159,9 (C-O), 164,7 (C=N), 158,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 469,41**

## 3.3.17 Composto JM .09



**Fórmula Molecular:** C<sub>29</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

**Massa Molar:** 530,47 g/ml

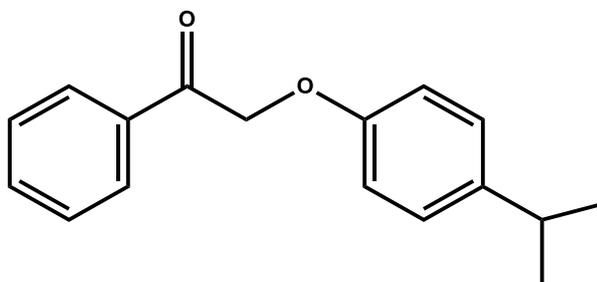
**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):** 4.05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 6.95 (d, CH, Tiazol), 6,81(m,1H,Ar), 6,91(t, 1H, H-Ar), 7,13(s,1H, H-Ar), 7,20(m, 2H, Ar), 7,33(d, 1 H, H- Ar), 7,40(m, 2H, H-Ar), 7,49(m, 2H,Ar), 7,52(d, 3H, Ar) ,7,64(m, 1H, Ar), 7,71(m, 2H-H-Ar), 7,94 (d, 2H, Ar),

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz):** 75,4( CH<sub>2</sub>-O), 108,0 (CH-tiazol), 122, 4 (C-Ar), 122,5(C-Ar), 122, 8(3C-Ar), 125, 7 (C-Cl ), 127,7(2C-Ar), 128,3( 4C-Ar) ,129, 7 (C-Ar)), 130,2(C-Ar), 131,2(C-Ar), 133,2( C-Ar), 134,4(C-Cl), 139.6 (C, Ar), 160,9 (C-O) ,164, 7 (C=N), 158,7 (C=N-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

**[M-H]<sup>+</sup> = 531,09**

## 3.3.18 Composto Intermediário (Int.4.1)



**Fórmula Molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

**Massa Molar:** 254,13 g/ml

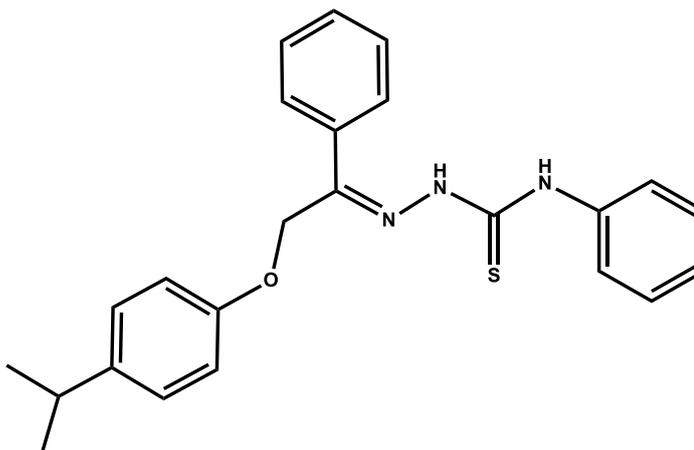
**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 300MHz),  $\delta$  ppm:** 5,00 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,61 (m, 2H, CH-Ar), 7,89 (m, 2H, CH-Ar), 8,26 (m, 2H, CH-Ar), 8,58 (m, 2H, CH-Ar), 8,76 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 10,79 (s, 1H, NH);

**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 75MHz)  $\delta$  ppm:** 44,71 ( $\text{CH}_2$ ), 123,31 (C-Ar), 128,32 (C-Ar), 130,76 (C-Ar), 131,44(C-Ar), 134,47 (C-Ar), 137,18 (C-Ar), 141,87 (C=N), 147,88 (C-Ar), 167,53 (C=O), 179,45 (C=s).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

Valor calculado  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 383,069; Valor encontrado: 384,057

### 3.3.19 Composto Intermediário (Int.4.2)



**Fórmula Molecular:**  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{OS}$

**Massa Molar:** 403,54 g/ml

**RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz),  $\delta$  ppm:** 5,08 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,24 (m, 1H, CH-Ar), 7,41 (m, 2H, CH-Ar), 7,54 (d,  $J=7,2$  Hz, 2H, CH-Ar), 7,85 (m, 4H, CH-Ar), 8,17 (d,  $J=8,4$  Hz, 2H, CH-Ar), 8,39 (d,  $J=8$  Hz, 2H, CH-Ar), 10,33 (s, 1H, NH), 11,12 (s, 1H, NH);

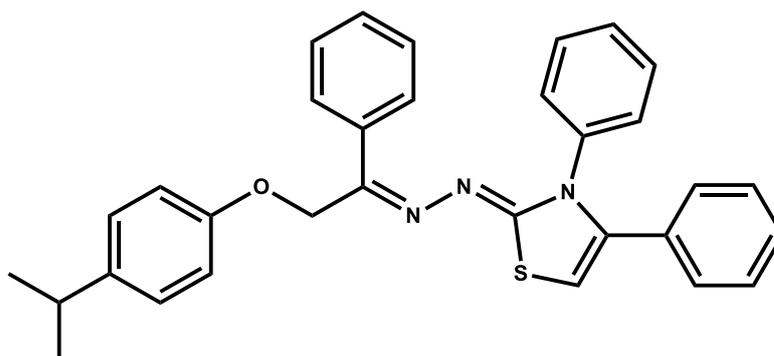
**RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 100MHz)  $\delta$  ppm:** 33,96 ( $\text{CH}_2$ ), 121,95 (C-Ar), 123,38 (C-Ar), 125,74 (C-Ar), 126,21 (C-Ar), 128,17 (C-Ar), 129,61 (C-Ar), 131,16(C-Ar), 133,65 (C-Ar), 134,80

(C-Ar), 137,05 (C-Ar), 139,00(C-Ar), 142,78 (C=N), 147,87 (C-N), 167,63 (C=O), 177,65 (C=S).

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

Valor calculado [M+H]<sup>+</sup>: 403,54 Valor encontrado: 460,098

### 3.3.20 Composto JM.10



**Fórmula Molecular:** C<sub>32</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>OS

**Massa Molar:** 503,66 g/mol

**RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):** 1,20 (d, 6H, CH<sub>3</sub>), 2, 87 (m, 1H, H-Ar), 4,38(s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 6,86 (m, 1 H, H-Ar), 7,20(m, 2H, Ar) ,7,39 (d, 2H, Ar), 7,40(m, 3H, Ar), 7,49(m, 2H, H-Ar) 6,90(d, 1H, Ar), 6,96(m, 2H, H-Ar), 7,52 (,m, 3H, H-Ar) ,7,71 (t, 2H, Ar) ,7,94(d, 2H, H-Ar)

**RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100MHz):** 24,5 (6C, CH<sub>3</sub>) 33,2 (C-H), 65,5 ( CH<sub>2</sub>-O), 106,33(c-Tiazol), 114,0(2C-AR), 122,8(3C-Ar), 127,7(C-Ar), 128,3(4C-Ar), 128,3(5C-Ar), 131,3(4C-Ar), 134,02(2C-AR), 140,71(C-Ar), 141,23(C-Ar), 143,36(C-Heterociclo), 167,3(C-O), 170,2(N=C-S)

**Principais sinais na EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):**

[M-H]<sup>+</sup> = 505,23

## 4. CAPÍTULO DOIS: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DERIVADOS 1,3 TIAZÓIS

### 4.1 Material e Método

#### 4.1.1 Compostos utilizados no tratamento *in vitro* de *L. Amazonensis*

Para a realização dos testes, os compostos 1,3 tiazóis (JM.01-10) foram solubilizados em 1mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Esta solução foi então dissolvida em meio de cultura adequado para cada ensaio (RPMI para ensaios com macrófagos e Schneider's para ensaios com promastigotas), para a obtenção das diferentes concentrações testadas nos experimentos.

O preparo das soluções de uso foi feito sempre no momento da realização do experimento para garantir a estabilidade dos compostos. Parasitos incubados apenas com meio de cultura foram utilizados como controle negativo.

#### 4.1.2 Obtenção de Macrófagos Peritoneiais

A coleta de macrófagos peritoneiais foi realizada em camundongos BALB/c machos. Os animais foram eutanasiados por asfixia em câmara de CO<sub>2</sub> e foi realizada assepsia dos mesmos com álcool 70%. Dentro da cabine de fluxo laminar, cada animal foi fixado à prancha de dissecação pelas patas com auxílio de agulha. Foi realizada a exposição do peritônio e a injeção de 10 mL de meio RPMI e seguida de coleta desse meio. O lavado foi acondicionado em frasco de vidro estéril a 4°C. Uma alíquota da suspensão de células foi diluída em azul de tripan e as células viáveis foram contadas em câmara de Neubauer (iNCYTO C-Chip DHC-N01, Cheonan-Si, Korea®).

#### 4.1.3 Considerações éticas

Os procedimentos realizados com animais neste trabalho possuem aprovação pelo Comitê de ética para o uso de animais (CEUA/FIOCRUZ 119/2017) (**Anexo 1**).

#### 4.1.4 Análise da citotoxicidade dos compostos em células de mamífero

Para a análise da citotoxicidade foi realizado o teste 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) que se baseia na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Formam-se, intracelularmente, cristais azuis que são solubilizados e posteriormente analisados por espectrofotometria UV/visível. Deste modo, quanto menor for a viabilidade celular, menor será a redução do MTT e menor o sinal espectrofotométrico.

As células macrófagos foram tripsinizados e contados em câmara de Neubauer (iNCYTO C-Chip DHC-N01, Cheonan-Si, Korea®). As células de macrófagos peritoneais foram semeados em placas de 96 poços na concentração de  $1 \times 10^6$  células/poço e incubados em uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C.

Após 24 horas, o meio foi removido e as células foram incubadas na presença das concentrações testes (6.25 a 100 µg/mL) dos compostos 1,3-tiazóis por 48 horas. Após este período, o meio foi novamente retirado e adicionado o MTT diluído em meio RPMI sem vermelho de fenol, a uma concentração de 5 mg/mL. As células foram incubadas por mais 3 horas nas mesmas condições de cultivo. Após incubação, a solução do MTT foi retirada cuidadosamente e adicionado 100 µL de DMSO por poço para a solubilização dos cristais derivados da redução do MTT. A leitura da absorbância dos cristais de formazan solubilizados foi realizada utilizando o leitor de ELISA Benchmark Plus (Bio-Rad, Califórnia, EUA) com comprimento de onda de 570 nm. A porcentagem de células viáveis em relação às células controles foi estimada. A concentração capaz de causar a perda de viabilidade em 50% (CC<sub>50</sub>) das células foi determinada por análise de regressão linear dos dados obtidos pelo software SPSS 8.0 para Windows. Cada experimento foi realizado independente e em triplicata.

O índice de seletividade (ISE) foi determinado como a razão entre os valores de CC<sub>50</sub> e IC<sub>50</sub>, em µg/mL, para cada composto analisado.

#### 4.1.5 Cultivo dos parasitas

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa LTB0016) foram antidas 26°C em meio Schneider's suplementado com 10% de sorofetal bovino. Parasitas na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos. Parasitos na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos com repiques a cada três dias.

#### 4.1.6 Atividade Biológica em formas promastigotas de *Lamazonensis*

Visando realizar um “screening” inicial dos compostos com atividade leishmanicida, formas promastigotas foram contadas e diluídas em meio Schneider’s (Sigma) suplementado com 10% de SFB a  $1 \times 10^6$  células/mL.

Os parasitas foram incubados a 26°C na presença de diferentes concentrações de 1,3 – tiazóis (6,25 a 100µg/mL) por 48hrs. Parasitas incubados apenas com meio de cultura foram utilizados como controle negativo. Foi realizada também incubação com a mesma faixa de concentração de DMSO (0,01 a 1%) presente na diluição dos compostos.

O crescimento celular foi avaliado e a  $IC_{50/48h}$  foi determinada por análise de regressão linear. As concentrações usadas para a determinação da  $IC_{50}$  (concentração capaz de inibir em 50% o crescimento dos parasitas) foram: **6.25, 12,5,25,50 e 100 µg/mL**. Cada ensaio foi realizado em duplicata de quadruplicata.

## 4.2 Resultados

### 4.2.1 Atividade Farmacológica dos 1,3 Tiazóis ( JM.01 a JM.10)

Com o objetivo de identificar os compostos mais promissores contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*, foi realizado inicialmente um “screening” com todos os compostos sintetizados.

Todas as moléculas foram testadas quanto à citotoxicidade e frente à forma promastigota de *Leishmania Amazonensis* (cepa LTB 0016) os resultados foram expostos no Tabela abaixo. Os valores obtidos foram expostos em  $CC_{50}$  (concentração citotóxica 50%),  $IC_{50}$  (concentração inibitória 50%) em promastigota e IS (índice de seletividade) dos 10 compostos testados. Nossos resultados demonstram que todos os compostos foram capazes de inibir o crescimento das formas promastigotas, com valores de  $IC_{50}$  variando entre 41,4 e 484 µM dados mostrados na **Tabela.2**.

**Tabela.2.** Resultado Atividade antileishmania dos 1,3 Tiazóis

Composto	PM (g/mol)	IC <sub>50</sub> (µM)	Citotoxicidade (CC <sub>50</sub> ) µM	IS
		(Promastigota)		
<b>JM.01</b>	<b>415,51</b>	ND	379,5	ND
<b>JM.02</b>	<b>491,6</b>	484,8	543,1	1,12
<b>JM.03</b>	<b>465,57</b>	150,1	ND	ND
<b>JM.04</b>	<b>530,47</b>	274,8	112,7	0,41
<b>JM.05</b>	<b>504,43</b>	335,6	153,6	0,46
<b>JM.06</b>	<b>454,37</b>	87,4	ND	ND
<b>JM.07</b>	<b>504,43</b>	41,4	204,4	4,93
<b>JM.08</b>	<b>468,4</b>	ND	ND	ND
<b>JM.09</b>	<b>530,47</b>	326,1	ND	ND
<b>JM.10</b>	<b>503,66</b>	257,3	508,3	1,98

CC<sub>50</sub>=Concentração capaz de causar efeitos citotóxicos em 50% dos macrófagos. Citotoxicidade por MTT em (µM)

IC<sub>50</sub>= Concentração que inibe em 50% do crescimento das formas promastigotas de *L. amazonensis* (µM)

Índice de Seletividade = calculado por : CC<sub>50</sub>/IC<sub>50</sub>

\*ND= Valores não determinados , pois mesmo tendo os resultados individuais nas concentrações estudadas , não foi possível obter os dados de regressão na curva analítica.

Os compostos que apresentaram uma maior inibição do crescimento, com menor valor de IC<sub>50</sub> foram o **JM.07**(41,4µM), e **JM.06** (87,4µM). Oito compostos (**JM.01** , **JM.02**, **JM.03**, **JM.04**, **JM.05**, **JM.8** , **JM.09** e **JM10**) apresentaram atividade intermediária com valores variando entre 150,1 e 484,8 µM se mostraram menos efetivos contra o parasita.

Alguns compostos nas concentrações analisadas apresentaram baixa citotoxicidade frente á células de mamíferos. Os valores de CC<sub>50</sub> para as células de macrófagos variaram de 112,7 e 543,1 µM. (**Tabela2**).

Quando analisamos o índice de seletividade (IS= CC<sub>50</sub>/ IC<sub>50</sub>), que consiste na razão entre a concentração citotóxica 50% para células de mamíferos e IC50% para célula de parasito. O composto que teve maior inibição do crescimento sobre promastigota de *L. Amazonensis* foi o (**JM.07**)e foi também o que apresentou maior índice de seletividade IS de 4,93 vezes mais seletivo para a célula do parasito que para a célula de mamíferos . Os compostos **JM.01** e **JM.10** também se mostraram hábeis em inibir o crescimento das promastigotas, e apresentaram índice de seletividade de 1,12 e 1.98 respectivamente(**Tabela 2**).

Em alguns compostos (**JM.03, JM.08 e JM.09**) não foi possível determinar o valor de  $IC_{50}$ , nem da Citotoxicidade, pois mesmo tendo os resultados individuais nas concentrações estudadas, não foi possível obter os dados de regressão na curva analítica.

Os compostos que apresentaram atividade leishmanicida foi observado que possuíam o radical fenil (Ph) e Naftil na porção C4 do anel tiazol **JM.06 e JM.07**, esse resultado sugere que a ciclização e a presença de grupamentos volumosos substituindo o anel tiazol está envolvido na atividade antileishmania. Pinto et al. (2014) sugere que a presença deste radical torna o composto mais hidrofóbico e isto facilita a penetração do composto na membrana do parasito .

Esses dados também corroboram com trabalho de Gomes et al. (2016) e Manda et al (2014) que relatam também a presença radical naftil nos melhores compostos. Pode-se sugerir então que grupamentos volumosos e hidrofóbicos como o Nftil possa estar envolvido com a ação contra os tripanosomatídeos testados.

Com relação aos valores de  $CC_{50}$ , foi observado que em média, o conjunto das tiossemicarbazonas substituídas com o grupo **H** foi menos citotóxico para as células testadas do que as substituídas com o grupo **CH<sub>3</sub>** que por sua vez foram menos tóxicos que conjunto das oito tiossemicarbazonas substituídas com **Ph**. De acordo com os valores do índice de seletividade nossos compostos oferecem um direcionamento mais eficiente para as células do parasito que para as células de mamíferos o que os tornam bastante promissores tendo em vista sua propriedade leishmanicida.

Os compostos disubstituídos no grupo arila **JM04, JM.05, JM.06, JM.07, JM.08, JM.09** obtiveram respostas diferentes em sua atividade . A melhor resposta foi obtida para os compostos onde as substituições foram realizadas em meta e para.

De forma geral, todas as moléculas apresentaram baixos valores de citotoxicidade em macrófago, o que os torna bem tolerável pelas células saudáveis de mamíferos. Para escolha de composto com potencial quimioterápico deve-se levar em consideração sua ação frente ao microrganismo, assim como, a sua citotoxicidade.

## 5 CONCLUSÃO

As comprovações de dados estruturais através de análise de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , e Espectrometria de Massas de alta resolução, mostram que os 10 Tiazóis propostos em rota sintética, foram efetivamente formados.

Todos os compostos sintetizados foram testados enquanto sua atividade antileishmanicida frente as formas promastigota, assim como a citotoxicidade para macrófagos.

Dentre os 10 tiazóis sintetizados e testados frente a forma promastigota, apenas o composto JM.07 apresentou ser o mais seletivo com  $\text{IS} = 4,93$ ,  $\text{IC}_{50} = 41,4 \mu\text{M}$ ,  $\text{CC}_{50} = 204 \mu\text{M}$ .

**REFERÊNCIAS**

ALIANÇA, A. S. DOS S. et al. **In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives.** European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 105, n. January, p. 1–10, 2017.

BATES, P.A., ROGERS, M.E. **New insights into the development biology and transmission mechanisms of Leishmania.** Curr Mol Med. 4, 601-609. 2004

BARREIRO, E. J. **Sobre a química dos remédios, dos fármacos e dos medicamentos.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, v. 3, p. 4–9, 2001.

BARREIRO, E.J. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos.** 2ed. Porto Alegre. 2008

BAILEY ,MS. LOCKWOOD, DNJ . **Cutaneous leishmaniasis.** ClinDermatol 25: 203-211.2007.

BRANDÃO-FILHO, S.P. et al. **Epidemiological Surveys confirm an increasing burden of cutaneous leishmaniasis in north-east Brazil.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v.93, p.488-494, 1999.

BONDOCK, S.; KHALIFA, W.; FADDA, A. A. **Synthesis and antimicrobial evaluation of some new thiazole, thiazolidinone and thiazoline derivatives starting from 1-chloro-3,4-dihydronaphthalene-2-carboxaldehyde,** European Journal of Medicinal Chemistry, 42 (7), 948-954, 2007.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.** [s.l: s.n.]. v. 1a edição

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde**. Brasília. 2017. 1 ed. Vol 3

BRASIL. CENTRO DE OPERAÇÕES DE EMERGÊNCIAS EM SAÚDE PÚBLICA SOBRE FEBRE AMARELA. 2017b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Coefficiente de detecção de casos de Leishmaniose Tegumentar por 100.000 habitantes**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2015. Sinan/SVS/MS, p. 2015, 2015.

BRASIL, M. DE S. DO. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. [s.l: s.n.]. 2.<sup>a</sup> ed. Atualizada 2007.

BRASIL, M. DE S. DO. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar**. [s.l: s.n.]. 2.<sup>a</sup> ed. Atualizada 2017.

BRASIL, M. da Saúde. **Atlas de leishmaniose tegumentar americana: diagnósticos clínico e diferencial** /Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – Brasília: Editora do Ministério da Saúde,.136 p.: il. color. ,2006.

CAMARGO, L. M. A.; BARCINSKI, M. A. **Leishmanioses, feridas bravas e kalazar**.Ciência e Cultura, São Paulo, v.1, p.34-37, 2003.

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-Trypanosomacruzi agents**. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 19 (22), 6818-6826, 2011.

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 thiazolylhydrazone derivatives as anti-Trypanosomacruzi agents**. European Journal of Medicinal Chemistry, 55, 155-163, 2012.

CARDOSO, M. V. O. et al. **2-Pyridyl thiazoles as novel anti-Trypanosomacruzi agents:**

**Structural design, synthesis and pharmacological evaluation.** European Journal of Medicinal Chemistry, v. 86, p. 48-59, 2014

DA SILVA, A. C. et al. **Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities** against *L. amazonensis*. Experimental Parasitology, v. 177, p. 57–65, 2017.

DE BRITO, M. E. et al. **Cutaneous leishmaniasis in northeastern Brazil: a critical appraisal of** studies conducted in State of Pernambuco. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, v. 45, n. 4, p. 425-429, 2012.

ESPÍNDOLA, J. W. P. **Síntese de derivados hidrazônicos como possíveis candidatos a inseticidas larvais frente ao *Aedes aegypti* e a fármacos para o tratamento da doença de Chagas.** 173f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

FILHO, G.B. **Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*.** European Journal of Medicinal Chemistry.141-346-347.2017.

FUNAKOSHI, T. et al. **In vitro and in vivo pharmacological profile of ( NRA0562 ), a novel and putative atypical antipsychotic.** v. 71, p. 1371–1384, 2002.

GOMES, P.A.T. DE M., OLIVEIRA, A.R., DE OLIVEIRA CARDOSO, M.V., DE FARIAS SANTIAGO, E., DE OLIVEIRA BARBOSA, M., DE SIQUEIRA, L.R.P., MOREIRA, D.R.M., BASTOS, T.M., BRAYNER, F.A., SOARES, M.B.P., DE OLIVEIRA MENDES, A.P., DE CASTRO, M.C.A.B., ALVES PEREIRA, V.R., LEITE, A.C.L. **Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi*.** Eur. J. Med. Chem. 1–12. doi:10.1016/j.ejmech.2016

GILANI, S. J. et al. **Benzothiazole incorporated thiazolidin-4-ones and azetidin-2-ones derivatives: Synthesis and in vitro antimicrobial evaluation.** Arabian Journal of Chemistry, v. 9, p. S1523–S1531, 2016.

GURUNG, P. KANNEGANT, T. **Innate Immunity against Leishmania Infections.** Cell Microbiol. 2015 September ; 17(9): 1286–1294

KATRITZKY, A. R. **Introduction Heterocycles**. v. 104, n. 5, 2004.

KUMAR, V. et al. **Biochemical and inhibition studies of glutamine synthetase from Leishmaniadonovani**. *Microbial Pathogenesis*, v. 107, p. 164–174, 2017.

LEISHMAN, W.B. (1903). **On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in Índia**. *British Medical Journal* 1: 1252-1254.

LIÑHARES, G. E. G.; RAVASCHINO, E. L.; RODRIGUEZ, J. B. **Progresses in the Field of Drug Design to Combat Tropical Protozoan Parasitic Diseases**. *Current Medicinal Chemistry*, Schiphol, v. 13, p. 335-360, 2006.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2004.

MANDA S, KHAN SI, JAIN SK, MOHAMMED S, TEKWANI BL, KHAN I A., VISHWAKARMA R A., BHARATE SB. **Synthesis, antileishmanial and antitrypanosomal activities of N-substituted tetrahydro- $\beta$ -carbolines**. *Bioorganic Med Chem Lett* 24:3247–3250. 2014.

MEARS, E.R, et al **A Review: The Current In Vivo Models for the Discovery and Utility of New Anti-leishmanial Drugs Targeting Cutaneous Leishmaniasis**. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 2015.

MESHARAM, H. M.; THAKUR, P. B.; BABU, B. M.; BANGALE, V. M. **Convenient and simple synthesis of 2-aminothiazoles by the reaction of -halo ketone carbonyls with ammonium thiocyanate in the presence of N-methylimidazole**. *Tetrahedron Letters*, v. 53, p. 5265-5269, 2012

MOREIRA, D. R. M. M.; COSTA, S. P. M.; HERNANDES; M. Z.; RABELLO, M. M.; OLIVEIRA FILHO, G. B.; MELO, C. M. L.; ROCHA, L. F.; SIMONE, C. A.; FERREIRA, R.; FRADICO, J. R. B.; MEIRA, C. S.; GUIMARÃES, E. T.; SRIVASTAVA, R. M.; PEREIRA, V.; SOARES, M. B. P. S.; LEITE, A. C. L. L. **Structural Investigation of Anti-Trypanosomacruzi 2-Iminothiazolidin-4-ones Allows the Identification of Agents with Efficacy in Infected Mice**. *Journal of Medical Chemistry*, 55 (24), 10918-10936, 2012.

MONTEIRO, L. M. et al. **Targeting Leishmaniaamazonensisamastigotes through macrophage internalisation of a hydroxymethylnitrofurazone nanostructured polymeric system.** International Journal of Antimicrobial Agents, v. 50, n. 1, p. 88–92, 2017.

ÖZBILGIN, A. et al. **Leishmaniasis in Turkey: Visceral and cutaneous leishmaniasis caused by Leishmaniadonovani in Turkey.** ActaTropica, v. 173, n. May, p. 90–96, 2017.

PINTO EG, SANTOS IO, SCHMIDT TJ, BORBOREMA SET, FERREIRA VF, ROCHA DR,TEMPONE AG. **Potential of 2-hydroxy-3-phenylsulfanylmethyl-[1,4]-naphthoquinones against Leishmania (L.) infantum: biological activity and structureactivity relationships.**PLoS One 9:e105127.2014.

POLANSKY, J.; KUREZYK, A.; BAK, A.; MUSIOL, R.; **Privileged Structures – Dream or Reality: Preferential Organization of Azanaphtalene Scaffold.** Current Medicinal Chemistry, v. 19, no. 1, 2012.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SANTOS, T.A.B., YOSHIOKA, M.K., MIYAGUI, M. L.; AL., E. **Leishmaniose visceral.**PubVet, 2008.

SHYAM et al .**An Update on Pharmacotherapy for Leishmaniasis.** Expert OpinPharmacother. (16) 2. 2015.

SOUZA AZEREDO BASTOS ORIENTADOR, T.; FONTGALLAND COELHO LINHARES, G. **Estudos Introdutórios Sobre Flebotomíneos.** 2012.

SCHNEIDER, P.; SCHNEIDER, G.; **Privileged Structures Revisited; AngewandtChemie International Edition;** v. 56, p. 7971-7974, 2017.

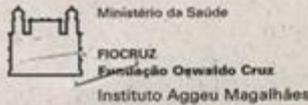
Teixeira, D. E et al. **Atlas didático: Ciclo de vida da Leishmania.** – Rio de Janeiro : Fundação CECIERJ, Consórcio CEDERJ, 1ª edição. 64p. : il. Colo .2013

WERMUTH, C. G. **The practice of medicinal chemistry.** 3 ed. Academic Press. 2008.

WHO - World Health Organization. **Control of the leishmaniases**: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26 March 2010. Disponível em : [http://www.who.int/neglected\\_diseases/resources/who\\_trs\\_949/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/resources/who_trs_949/en/) <http://.>; Acesso em : 10.06.2018

VICINI, P. et al. **Synthesis and biological evaluation of benzo[d]isothiazole, benzothiazole and thiazole Schiff bases**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 11, n. 22, p. 4785–4789, nov. 2003.

## ANEXO A - DOCUMENTO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificado de Aprovação

Certificamos que o projeto intitulado "PROSPECÇÃO DE NOVAS SÉRIES DE THIOSSEMICARBAZONAS CANDIDATAS A FÁRMACOS CONTRA A DOENÇA DE CHAGAS: AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL IMUNOMODULADOR E TRIPANOCIDA DE TIAZÓIS E TIAZOLINONAS" protocolado sob nº 119/2017 pelo (a) pesquisador (a) Regina Célia Bressan Queiroz de Figueiredo está de acordo com a Lei 11.794/2008 e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS do Instituto de Pesquisas Aggeu Magalhães / Fundação Oswaldo Cruz (CEUA/IAM). Na presente versão, este projeto está licenciado e tem validade até 21 de dezembro de 2021 com a finalidade de pesquisa científica. Esses animais são advindos do Biotério de criação do Instituto de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE. É responsabilidade do coordenador do projeto notificar à CEUA de quaisquer alterações em relação ao projeto. O coordenador concorda que nenhuma dessas mudanças serão implementadas antes de serem aprovadas pela CEUA/IAM.

Quantitativo de Animais Aprovados	
Espécie/Linhagem/Raça	Nº de Animais/Peso/Idade/Sexo
Camundongo isogênico (Balb/C)	113 (20-25gr/ 4 semanas/ machos)
Camundongo heterogênico (Swiss)	48 (25-30 gr/ 4 semanas/machos)
<b>Total</b>	<b>161</b>

Recife (PE, Brasil), 21 de dezembro de 2017

  
 Dra Maria Edileuza Felinto de Brito  
 Vice- Coordenadora CEUA/IAM

Maria Edileuza Felinto de Brito  
 Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no  
 Uso de Animais do IAM/Fiocruz-PE  
 Mat. Sape 0464741  
 E-mail: britomef@cpqam.fiocruz.br

Av. Professor Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária - Campus da UFPE  
 Recife - PE - CEP: 50.670-420  
 Telefone: (81) 2101-2500/2101-2600 Fax: (81) 3453-1911  
 www.cpqam.fiocruz.br