



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

FABIANO AMARO DE SOUSA

**NOVA GERAÇÃO DE DERIVADOS FTALIMIDO-TIAZÓL: Planejamento, Síntese e
Avaliação Biológica**

Recife
2019

FABIANO AMARO DE SOUSA

**NOVA GERAÇÃO DE DERIVADOS FTALIMIDO-TIAZÓL: Planejamento, Síntese e
Avaliação Biológica**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientadora: Prof^ª Dra. Ana Cristina Lima Leite

Recife

2019

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S725n Sousa, Fabiano Amaro de
Nova geração de derivados ftalimido-tiazól: planejamento, síntese e avaliação biológica/ Fabiano Amaro de Sousa. – 2019.
75 f.: il.

Orientadora: Ana Cristina Lima Leite.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Pós-graduação em Odontologia. Recife, 2019.

Inclui referências e apêndice.

1. Estruturas privilegiadas. 2. Doenças negligenciadas. 3. Leishmania. 4. Doenças de Chagas. 5. Ftalimido-tiazól I. Leite, Ana Cristina Lima (Orientadora). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2017-054)

FABIANO AMARO DE SOUSA

**NOVA GERAÇÃO DE DERIVADOS FTALIMIDO-TIAZÓLS: Planejamento, Síntese e
Avaliação Biológica**

Dissertação 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 27/ 02/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Ana Cristina Lima Leite - UFPE
Assinatura

Dra. Míria de Oliveira Barbosa - UFPE
Assinatura

Dr. Paulo André Teixeira de Moraes Gomes
Assinatura

Aos meus pais, esposa, familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente meus pais, por todo apoio e confiança depositados em mim, minha esposa Mary Liu por me incentivar a estudar apesar dos momentos de cansaço e falta de ânimo ela sempre esteve ao meu lado e nunca desistiu de mim.

Aos meus amigos que sempre me ajudaram no que puderam e sempre me davam uma palavra de conforto, em especial Juliana, Ignes, Mabilly, Luiz Alberto, Lizandra, Gedália, Paulo André, Míria, Marcio e Marivalda. Aos amigos que conquistei no laboratório, os quais foram pessoas maravilhosas e excepcionais que levarei no meu coração para sempre, e espero manter essa amizade por muitos anos.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pela oportunidade de aprendizado e realização deste trabalho de pesquisa, à minha orientadora Professora Dra. Ana Cristina, pelo auxílio e compreensão durante a execução das pesquisas. 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 Rivan 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.

A Professora Valéria da Fiocruz - CPqAM, e toda a sua equipe, pela realização dos ensaios de atividade anti-*T.cruzi*. A Central analítica DQF, pelas caracterizações estruturais.

Por fim, a todos que um dia encontrei na caminha, e de alguma forma trouxeram ensinamentos que me ajudaram no crescimento pessoal e profissional.

Muito obrigado!

“Se podes olhar, vê. Se podes ver, repara” (SARAMAGO, 2001, p. 02)

RESUMO

As doenças negligenciadas são um conjunto de doenças infecciosas que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais de países com economias em desenvolvimento. Dentre este conjunto de infecções, destacam-se a Doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e a leishmaniose transmitida pelo mosquito flebótomo. O fármaco atualmente utilizado no tratamento da doença de chagas é o Benzonidazol, mas este não é eficaz em estágios mais avançados da doença. Já no tratamento da leishmaniose os fármacos são Amfotericina B, antimoniais pentavalentes, Pentamidina e Miltefosina, no entanto, não são boas terapias para essas doenças pois desencadeiam muitos efeitos colaterais. Diante disto, fica evidente a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento destas doenças. Nossa proposta consistiu em desenvolver uma série de compostos, utilizando como blocos de construção as estruturas privilegiadas ftalimida e tiazóis, a fim de produzir 10 moléculas híbridas com atividade anti-*T.cruzi* frente às formas epimastigota, tripomastigota e amastigota do *T.cruzi* e leishmanicida frente as formas promastigotas e amastigotas da *L. amazonensis* e *infantum*. Após a síntese da ftalimida, foi realizada reação S_N2 da ftalimida com a 2-bromoacetofenona, seguida de reação de condensação com duas diferentes tiosemicarbazidas e por fim, a ciclização com diferentes halo-acetofenonas, o tempo reacional foi em torno de 6 a 24 horas e os rendimentos variaram entre 28% e 94%. Foram realizados para os compostos finais, testes de Citotoxicidade (CC_{50}) frente às células de linhagem macrófaga e epimastigota, tripomastigota e amastigota de *T.cruzi*, bem como para as formas promastigotas e amastigota da *L. amazonensis* e *infantum*. Como resultado, nove compostos apresentaram IC_{50} abaixo de $100\mu M$ para as tripomastigota *T. cruzi*. Para a leishmânia, o composto FS_{1d}, apresentou IC_{50} de $34\mu M$ (forma amastigota) e foi o mais ativo da serie. Os demais compostos exibiram IC_{50} acima de $100\mu M$ para *L. amazonensis* e *infantum*. A síntese de outros análogos para melhor determinação dos parâmetros da REA é necessária e os dados obtidos aqui serviram de base para direcionamento de perspectivas futuras.

Palavras-chave: Estruturas privilegiadas. Doenças negligenciadas. Leishmania. Doenças de Chagas. Ftalimido-tiazól

ABSTRACT

Neglected diseases are a cluster of infectious diseases that affects tropical and subtropical regions of countries with developing economies. Among this set of infections. Chagas disease caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and leishmaniasis caused by *Phlebotomus*. The drug current used on the treatment of Chagas disease is Benzimidazole, but it is not showed efficacy at advanced stages of the disease. In the treatment of leishmaniasis, Miltefosine, Amphotericin B, Antimonials pentavalents and Pentamidine are commonly used, however all this drug are not a good therapy to the disease, due its high site effect. Therefore, it is evidence and necessary to develop new drugs for the treatment of these diseases. Our propose constitute to develop a series of compounds, using as building blocks, the privileged structures of phthalimide and thiazoles, to produce ten hybrid molecules with *T. cruzi* activity against the forms of epimastigote, amastigote and trypomastigote and antileishmanicidal against the forms of promastigote and amastigote of *L. amazonensis* and *infantum*. After the synthesis of phthalimide, it was made S_N2 reaction of phthalimide with 2-bromoacetophenone, followed by condensation reaction with two different thiosemicarbazide. Finally, a cyclization with different halo-acetophenones, the reactional time was from 6 to 24 hours and the yields vary between 28% and 94%. Were made to the final compounds cytotoxicity tests against macrophagic line cells against the forms epimastigote, trypomastigote and amastigote of *T. cruzi*, following by, the forms of promastigote and amastigote of *L. amazonensis* and *infantum*. As results nine compounds showed IC_{50} below $100\mu M$ to the forms epimastigote, trypomastigote and amastigote of *T. cruzi*. To the *Leishmaniasis*, the compound FS_{1d}, showed IC_{50} $34\mu M$ (amastigote form) most active of the serie. The others showed IC_{50} highest than $100\mu M$ to *L. amazonensis* and *infantum*. The synthesis of other analogues to better determinate the parameters of REA is need and the datas obtained here served as base of orientate future perspectives.

Key-word: Privileged structure. Phthalimide-thiazoles. Neglected disease. Leishmania Chagas Disease. Phthalimide-thiazole

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 - Estrutura principal dos fármacos usados no tratamento da leishmaniose	19
Figura 2 - Ciclo de vida da leishmaniose	20
Figura 3 - Inseto triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros	21
Figura 4 - Formas evolutivas do <i>Trypanossoma cruzi</i>	21
Figura 5 - Ciclo de vida do <i>Tripanossoma cruzi</i>	22
Figura 6 - Medicamentos indicados para o tratamento etiológico da doença de chagas a) Benzimidazol e b) Nifurtimox	22
Figura 7 - Composição estrutural da ftalimida	23
Figura 8 - O núcleo ftalimida e suas principais atividades identificadas na literatura	24
Figura 9 - Estrutura dos compostos 2j e 2m sintetizados por ALIANÇA et al., 2017.....	24
Figura 10 - Estrutura do composto PM01 sintetizado por DA SILVA, 2013	25
Figura 11 - Composto ftalimido-tiosemicarbazonas intentizados por SANTOS 2018	25
Figura 12 - Compostos com atividades tripanocida desenvolvido por GOMES 2014	26
Figura 13 - Esqueleto principal do tiazól	26
Figura 14 - O núcleo tiazól e suas principais atividades identificadas no LpQM e outros	27
Figura 15 - Derivados de tiazóis descritos por LIU et al., 2014	27
Figura 16 - Compostos com melhor atividade leishminacida descritos por BHUNIYA et al., 2015	28
Figura 17 - Estruturado composto mais promissor de CARDOSO, et al., 2017	28
Figura 18 - Derivados de tiazól desenvolvidos por LIU et al., 2014	28
Figura 19 - Piridil-tiazóis com melhores atividades frente a forma tripomastigota de acordo com SILVA et al., 2017.....	29
Figura 20 - Compostos sintetizados por GOMES et al., 2016.....	30

Figura 21 - Estrutura geral dos ftalimido-tiazóis sintetizados neste trabalho	31
Figura 22 - Rota sintética para obtenção dos 1,3-tiazóis	35
Figura 23 - Espectro de RMN ^1H do composto FS _{1c}	41
Figura 24 - Espectro de RMN ^{13}C do composto FS _{1c}	42
Figura 25 - Espectro de RMN ^{13}C do composto FS _{1c}	42
Figura 26 - Espectro de RMN ^1H do composto FS _{2b}	43
Figura 27 - Espectro de RMN ^{13}C do composto FS _{2b}	44
Figura 28 - Espectro de RMN ^{13}C do composto FS _{2b}	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados dos compostos planejados aplicados à “Regra dos 5 e Veber”	31
Tabela 2 - Diferentes tiazóis obtidos nesse trabalho	36
Tabela 3 - Características gerais dos compostos e seus rendimentos	39
Tabela 4 - Resultados obtidos para atividade anti- <i>T-cruzi</i> dos ftalimidos-tiazóis	54
Tabela 5 - Resultados obtidos para atividade leishmanicida dos ftalimido-tiazóis frente às formas promastigota	55
Tabela 6 - Resultados obtidos para atividade leishmanicida dos ftalimidos-tiazóis na forma promastigota	58
Tabela 7 - Resultados obtidos para atividade leishmanicida dos ftalimidos-tiazóis na forma amastigota	59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

CC₅₀	Concentração citotóxica para 50% das células
CCD	Centro de controle de doenças
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfoxido
EMAR	Espectroscopia de massas de alta resolução
IC₅₀	Concentração inibitória para 50% da população
IS	Índice de seletividade
J	Constante de acoplamento
OMS	Organização Mundial da Saúde
PF	Ponto de fusão
Ph	Fenil
m	Multiplete
ND	Não definida
LpQM	Laboratório de Planejamento em Química Medicinal
q	Quarteto
RF	Fator de Retenção
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono -13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio -1
s	Singleto
t	Triplete
WHO	World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)
DN's	Doenças Negligenciadas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1	LEISHMANIOSE	19
3.2	DOENÇA DE CHAGAS	20
3.3	ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS	23
3.4	FTALMIDAS	23
3.4.1	Atividade biológica <i>in vitro</i> de ftalimidas frente à leishmaniose	24
3.4.2	Atividade biológica <i>in vitro</i> de ftalimidas frente à doença de chagas	25
3.5	TIAZÓIS	26
3.5.1	Atividade biológica <i>in vitro</i> dos tiazóis frente à leishmaniose	27
3.5.2	Atividade biológica <i>in vitro</i> dos tiazóis frente à doença de chagas	28
4	PLANEJAMENTO	30
5	METODOLOGIA	34
5.1	MATERIAIS E REAGENTES	34
5.2	ROTA SINTÉTICA	35
5.2.1	Síntese do intermediário 1 (Int. 1)	36
5.2.2	Síntese do intermediário 2 (Int. 2)	36
5.2.3	Síntese do intermediário 3 (Int. 3)	37
5.2.4	Formação dos produtos finais (FS_{1a-e})	37
5.2.5	Formação dos produtos finais (FS_{2a-c})	38
5.3	CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL POR RMN	38
6	RESULTADOS	39
6.1	COMPOSTO FS _{1a}	45
6.2	COMPOSTO FS _{1b}	45
6.3	COMPOSTO FS _{1c}	46
6.4	COMPOSTO FS _{1d}	46
6.5	COMPOSTO FS _{1e}	47

6.6	COMPOSTO FS _{1f}	47
6.7	COMPOSTO FS _{1g}	48
6.8	COMPOSTO FS _{2a}	48
6.9	COMPOSTO FS _{2b}	49
6.10	COMPOSTO FS _{2c}	50
7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA	51
7.1	MATERIAIS E MÉTODOS	51
7.1.1	Avaliação da Atividade Anti-<i>T-cruzi</i>	51
7.1.2	Cultivo das células	51
7.1.3	Avaliação da Citotoxicidade	51
7.1.4	Avaliação Epimastigota	52
7.1.5	Avaliação Amastigota	52
7.1.6	Avaliação Tripomastigota	52
7.1.7	Tripomastigota.....	53
7.1.8	Resultados	53
7.2	ATIVIDADES BIOLÓGICAS FRENTE AS FORMAS PROMASTIGOAS E AMASTIGOTAS (<i>L. amazonenses</i> e <i>infantum</i>	56
7.2.1	Citotoxicidade	56
7.2.2	Promastigota	57
7.2.3	Amastigota	57
7.2.4	Resultados (<i>L. amazonenses</i> e <i>infantum</i>)	58
8	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C	66

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), doenças negligenciadas (ND) são um grupo de doenças parasitárias ou bacterianas que vem afetando mais de um bilhão de pessoas, das quais quase que em sua maioria, são pessoas oriundas de países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos tais como, Brasil, Guiné Bissau etc. Segundo o Centro de Controle de Doenças (CCD) dos Estados Unidos da América (EUA), 100% dos países de baixa renda são afetados por pelo menos cinco doenças tropicais negligenciadas simultaneamente. Em todo o mundo, 149 países e territórios são afetados por pelo menos uma doença negligenciada (DN). Indivíduos são frequentemente afetados por mais de um parasita ou infecção. Ainda de acordo com o CCD o custo do tratamento para a maioria dos programas de administração de medicamentos em massa das DN's é estimados em menos de US\$ 0,50 por pessoa, por ano. (WHO, 2018)

O TRIPANOSOMA CRUZI (*T. cruzi*) é o parasita responsável pela doença de Chagas, também conhecido como tripanosmíase Americana. É uma zoonose endêmica distribuída em toda América latina, considerada como uma doença tropical negligenciada (DTN) segundo a Organização Mundial de Saúde. Estima-se que 7 milhões de pessoas ao redor do mundo estejam infectadas pela doença, e mais de 70 milhões estão em risco de infecção, anualmente a doença causa 7500 mortes. (FIOCRUZ 2013). Em sua fase aguda (doença de Chagas aguda – DCA) pode ou não apresentar sintomas, a DCA pode evoluir para formas mais crônicas se não houver um tratamento precoce com medicamento específico. (BRASIL, 2018)

A infecção tradicional através de vetores triatomíneos (família *Reduviidae*), que são insetos hematófagos conhecidos como barbeiros. Geralmente as principais formas de transmissão aos seres humanos se dá geralmente por ingestão de alimentos contaminados, pela picada do inseto quando este encontra-se infectado por *Trypanosoma cruzi*. No Brasil, entre os anos de 2000 e 2013, as maiores incidências da doença na fase aguda se apresentaram na região Norte, detectando-se surtos. A fonte principal sugerida foi a infecção através da ingestão de frutos contaminados pelo *Trypanosoma cruzi* (BRASIL, 2015).

Para o tratamento da doença de chagas o único fármaco utilizado no Brasil é o Benzinidazol apresenta boa eficácia nos estágios iniciais mas não é muito eficaz no caso de estágios mais avançados da doença de Chagas. O tratamento não pode ultrapassar três meses pois o Benzinidazol é altamente tóxico para células de mamíferos. Sabendo disso, é imperativo

que novos medicamentos para o tratamento da doença de Chagas sejam desenvolvidos (BRASIL, 2015).

De acordo com a organização mundial de saúde morrem entre 20 e 50 mil pessoas por ano com leishmaniose e cerca de 700 mil novos casos são reportados a cada ano. O tratamento da leishmaniose ainda é muito limitado, este inclui drogas como Amfotericina B, Antimoniais pentavalentes e pPentamidina. Miltefosina é atualmente usada, principalmente em crianças. (WHO, 2018)

A infecção ocorre quando o flebótomo pica um indivíduo infectado ou um hospedeiro reservatório aspira macrófagos parasitados ou amastigotas livres no sangue ou mesmo em tecidos. As amastigotas, ao atingirem o intestino médio do inseto, se transformam em promastigotas. Estas formas flagelas, após rápida multiplicação, se convertem nos promastigotas infectantes e migratórios. Do intestino anterior são regurgitadas ou introduzidas na pele do próximo hospedeiro quando o inseto toma uma nova refeição de sangue. (FIOCRUZ 1997)

Tendo em vista a toxicidade de boa parte de fármacos no mercado para o tratamento de doenças negligenciadas muitos centros de pesquisas, na sua maioria, dentro de Universidades começaram a pesquisar as chamadas “Estruturas privilegiadas” que são blocos de construção molecular utilizados no planejamento e síntese de fármacos como uma estratégia para obtenção e otimização de moléculas com atividades farmacológicas direcionadas. Esses núcleos são chamados privilegiados, por terem diversas atividades biológicas já comprovadas e associadas à sua estrutura principal, registradas na literatura. (POLANSKI et al., 2012).

Como exemplo de estruturas privilegiadas, as ftalimidas vem sendo alvo de pesquisa e estudos, há vários registros na literatura de derivados da ftalimida possuírem diferentes tipos de atividade biológica, alguns trabalhos desenvolvidos pelo grupo do Laboratório de Planejamento em Química Medicinal (LpQM) apresentaram atividade biológica enquanto anti-inflamatórios (LEITE et al., 2014), antiproliferativo (CARDOSO et al., 2015), imunomodulador (COÊLHO et al., 2014) (LEITE et al., 2014) (PESSOA et al., 2014), antitumoral (CARDOSO et al., 2015), antiangiogênicos (COSTA et al., 2015), esquistossomicidas (SANTIAGO et al., 2014), antichagásicos (GOMES et al., 2016) e (SANTOS 2018), leishmanicidas (ALIANÇA et al., 2017). Além de muitas outras atividades registradas por outros grupos de pesquisa de vários países.

Os tiazóis, assim como as ftalimidas, possuem enorme gama de atividades biológicas já comprovadas na literatura. Se destacando com potenciais atividades antiparasitária (OLIVEIRA FILHO et al.), antimoral (RODRIGUES 2014) e Anti-*T.cruzi* (BARBOSA 2014 e DA SILVA 2014), leishmanicida (ALIANÇA et. al., 2013), antimalárica reportados por (WALCOURT et al., 2013; Bueno et al., 2016; MJAMBILI et al., 2014 e BEKNIT et al., 2015)

A partir dessas informações nossa proposta consiste em desenvolver uma série de novos ftalimido-tiazóis, com a finalidade de produção de 10 moléculas com potencial atividade anti-*T.cruzi* e leishmanicida.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

- Obtenção de 10 inéditos ftalimido-tiazóis com potencial atividade anti-*t-cruzi*, leishmanicida.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese de 10 ftalimido-tiazóis inéditos;
- Caracterizaçã estrutural dos compostos sintetizados por RMN ^1H e ^{13}C e EMAR;
- Avaliação da citotoxicidade *in vitro* dos derivados ftalimidos- tiazóis em células de linhagem de macrófagos;
- Avaliar a atividade anti-*T-cruzi* e leishmanicida *in vitro* dos novos derivados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

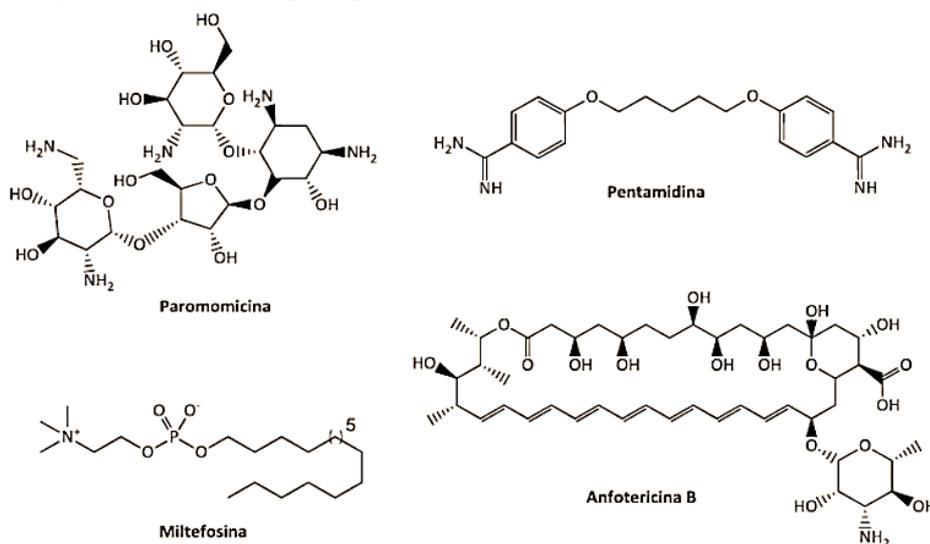
3.1 LEISHMANIOSE

As leishmanioses são um grupo de doenças que afetam em grande parte populações pobres ao redor do mundo, estão associadas a mal nutrição, imunidade baixa e falta de recursos para controle e tratamento da doença. Leishmaniose está dividida em três formas principais: visceral, cutânea e mucocutânea. (CCD, 2018)

A forma visceral, também conhecida como doença de kalazar, é a forma mais séria, é fatal em mais de 95% dos casos se não tratada, é caracterizada por episódios de febre irregular, perda de peso, aumento do baço e fígado e anemia. Já a forma cutânea é a mais comum, causa lesão na pele, principalmente úlceras na parte exposta do corpo, levando a cicatrizes permanentes entre outros. A forma mucocutânea, a qual causa destruição parcial ou total das membranas mucosas do nariz e garganta. (WHO, 2018)

Seu tratamento é muito limitado, entre os fármacos pode-se incluir: Anfotericina B, Antimoniais pentavalentes e Pentamidina e Miltefosina (**Figura 1**) esta ultima é usada recentemente principalmente no tratamento de crianças. Além disso, este fármaco está disponível apenas por via oral, não havendo outro tratamento por outras vias. O que os torna bons fármacos pois a via oral é a melhor para ser administrada. (CCD, 2018)

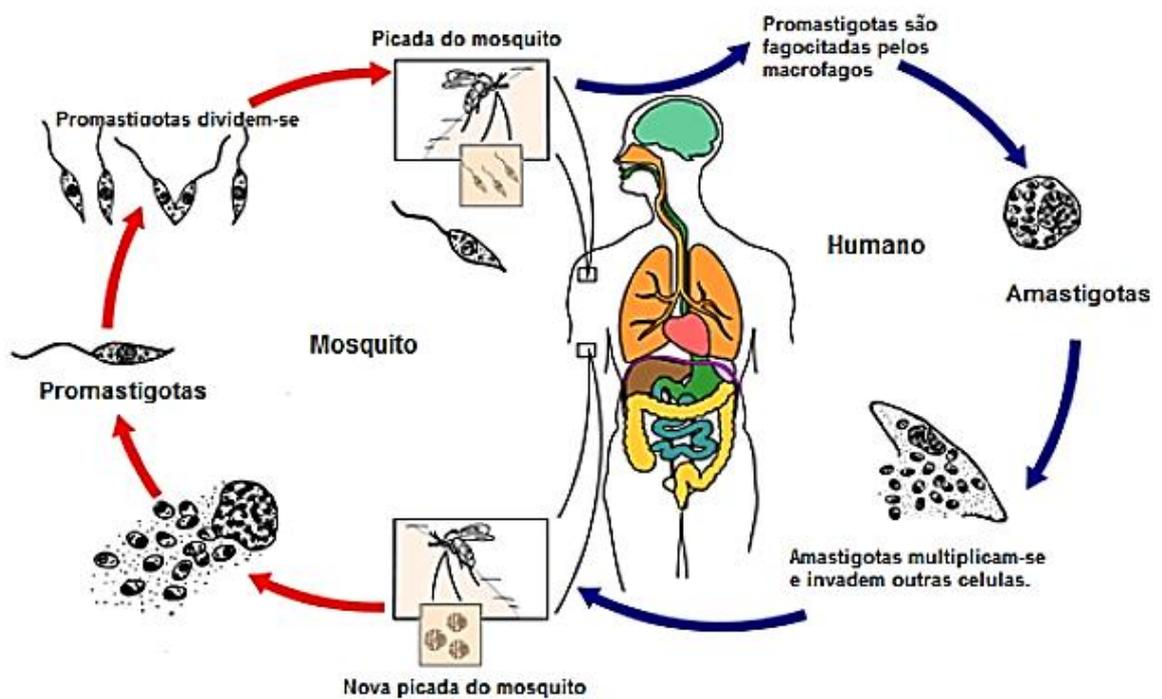
Figura 1: Estrutura dos principais fármacos usados no tratamento da leishmaniose.



Fonte: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/multidisciplinar/leishmaniose.pdf>

A infecção ocorre quando o flebótomo pica um indivíduo infectado ou um hospedeiro reservatório aspira macrófagos parasitados ou amastigotas livres no sangue ou mesmo em tecidos. As amastigotas, ao atingirem o intestino médio do inseto, se transformam em promastigotas. Estas formas flageladas, após rápida multiplicação, se convertem nos promastigotas infectantes e migratórios. Do intestino anterior são regurgitadas ou introduzidas na pele do próximo hospedeiro quando o inseto toma uma nova refeição de sangue (FIOCRUZ 1997). A **Figura 2** abaixo apresenta o ciclo de vida da leishmaniose.

Figura 2: Ciclo de vida da leishmaniose



Fonte: www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis (adaptado)

3.2 DOENÇA DE CHAGAS

Documentada pela primeira vez em 1909, pelo pesquisador e diretor do Instituto Oswaldo Cruz Carlos Chagas a doença de Chagas também é conhecida como tripanossomíase por *Trypanosoma cruzi* ou tripanossomíase americana. Refere-se como tripanossomíase qualquer enfermidade causada por protozoários do gênero *Trypanosoma*, que parasitam o sangue e os tecidos de pessoas e animais. O *Trypanosoma* geralmente é transmitido de um hospedeiro a outro por insetos – no caso humano, o principal vetor é um percevejo

popularmente conhecido como barbeiro ou chupão (insetos das espécies *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*, dentre mais de 300 espécies que podem transmitir o *Trypanosoma cruzi*). (CRUZ, 2018)

O *Trypanosoma cruzi* é transmitido no ato de alimentação do inseto. Assim que o barbeiro (**Figura 3**) termina de se alimentar, ele defeca, eliminando os protozoários e colocando-os em contato com a ferida e a pele da vítima. A doença de Chagas também pode ser transmitida por transfusão de sangue ou durante a gravidez, da mãe contaminada para o filho. Outro modo de transmissão é pela ingestão de alimentos contaminados com vetores triturados ou com seus dejetos. Em ambientes desmatados ou alterados também pode haver transmissão vetorial. Estima-se que existam aproximadamente 12 milhões de portadores da doença crônica nas Américas, cerca de 2 a 3 milhões no Brasil (FIO CRUZ, 2013)

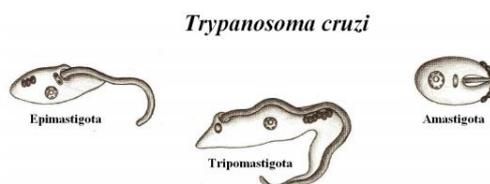
Figura 3: Insetos triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_saude_zoonoses_p1.pdf

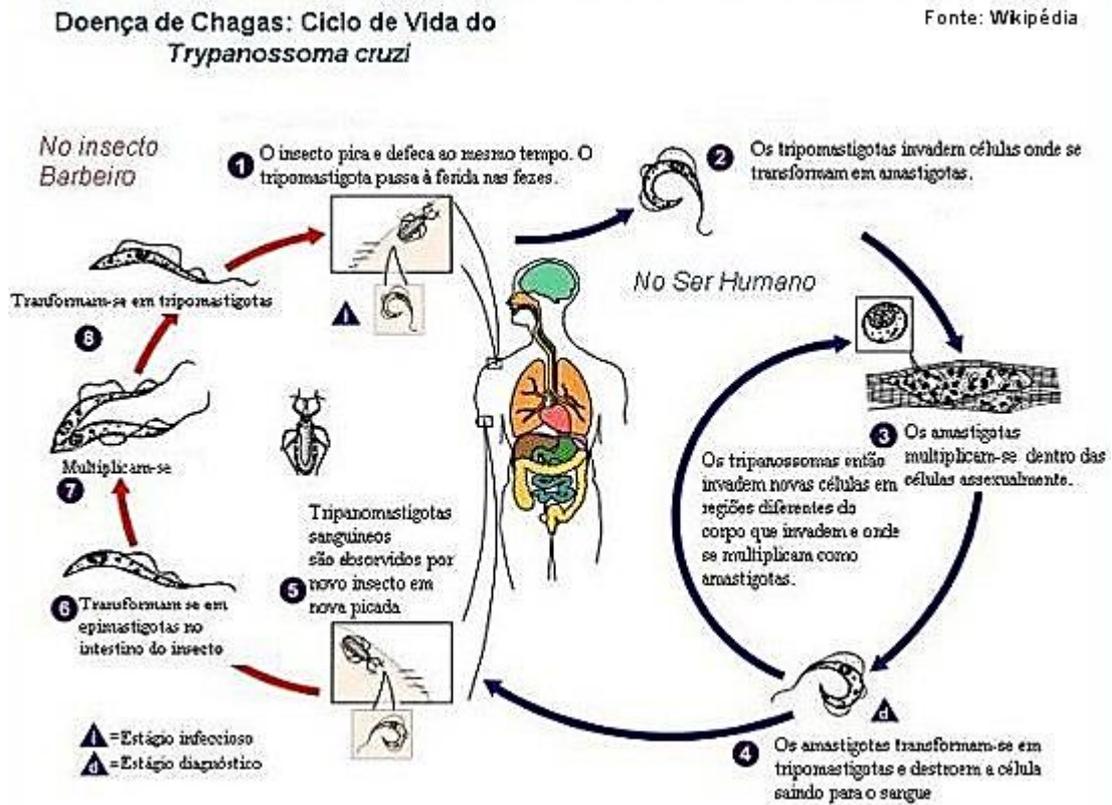
O ciclo de vida do *T. cruzi* (**Figura 5**) é complexo, com vários estágios de desenvolvimento em insetos vetores e hospedeiros mamíferos. Tripomastigotas não replicativos, na corrente sanguínea, e amastigotas intracelulares replicativos, são as formas típicas do organismo, que são identificadas em hospedeiros mamíferos, enquanto epimastigotas replicativos estão presentes no vetor triatomíneo (**Figura 4**) (RASSI et al., 2009).

Figura 4 Formas evolutivas do *Trypanosoma cruzi*



Fonte: MORAIS 2016 –

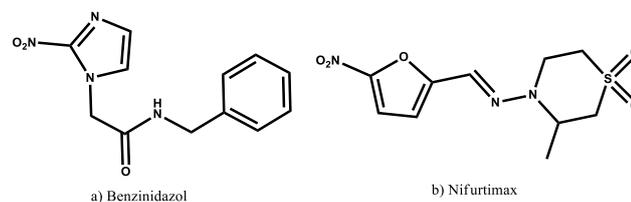
Figura 5: Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*



Fonte: <http://www.ciencias.seed.pr.gov.br/modules/galeria/detalhe.php?foto=2055&evento=3>

Benznidazol e Nifurtimox - NFX (**Figura 6**), são as drogas de primeira e segunda linha utilizadas para o tratamento da DC, respectivamente, foram disponibilizados no mercado na década de 70, e até a presente data, são os dois únicos medicamentos disponíveis para o tratamento de DC no mundo. Infelizmente, na literatura poucas moléculas investigadas com potencial de tripanossomicida, diminuindo a possibilidade de tratamento inovador. (FIO CRUZ, 2018)

Figura 6: Medicamentos indicados no tratamento etiológico da doença de Chagas: a) benznidazol e b) nifurtimox



Fonte: <http://chagas.fiocruz.br/tratamento/> (adaptado)

3.3 ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS

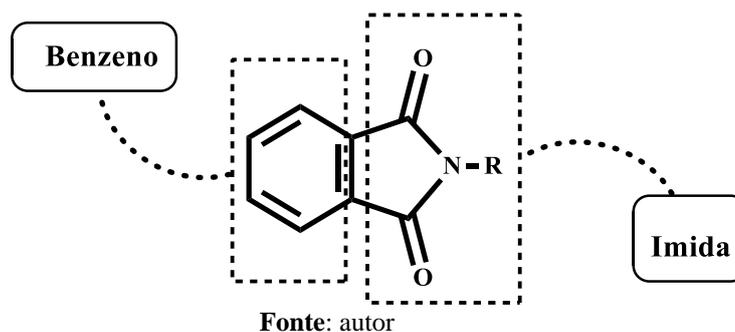
Alguns grupos são consideradas estruturas privilegiadas segundo (DESIMONE et al., 2004). Este tipo de estrutura é utilizado para melhorar a atividade de novas moléculas no planejamento de fármacos (POLANSKI et al., 2012).

Sua estrutura possui um bloco de construção que são apenas uma característica central estrutural comum em um grupo de moléculas, as estruturas privilegiadas se destacam como núcleos que fornecem análogos biologicamente ativos para diversos alvos. Servindo como inspiração para o planejamento de novos fármacos (POLANSKI et al., 2012); (SCHNEIDER; SCHNEIDER, 2017).

3.4 FTALIMIDAS

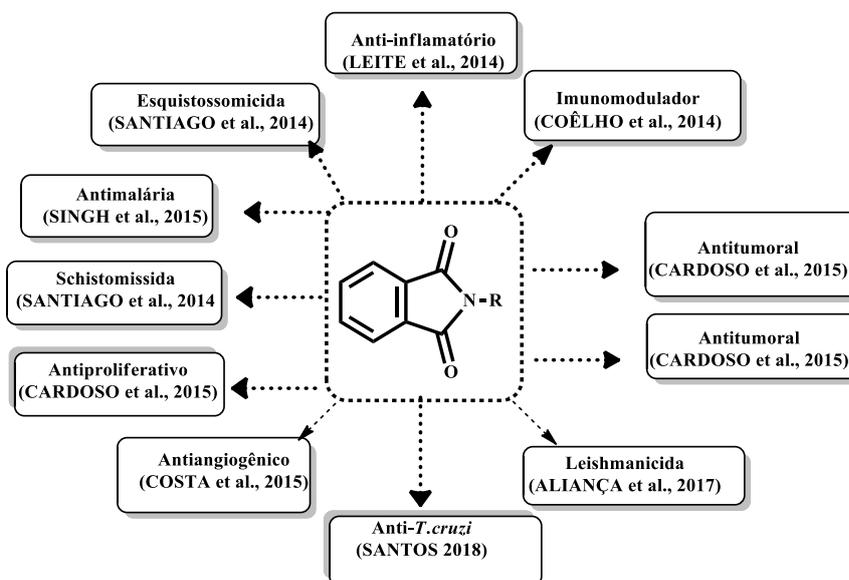
Ftalimidas são compostos heterocíclicos (lactamas) de nitrogênio os quais tem se tornando alvo de muitas pesquisas, possuem em sua estrutura um anel benzeno e uma imida (**Figura 7**) Além disso, já é comprovado que possuem diversas atividades biológicas (**Figura 8**) e por isso, são consideradas estruturas privilegiadas.

Figura 7: composição estrutural da ftalimida



Além de ser considerada uma estrutura privilegiada seu bloco de construção tem sido muito utilizado em síntese orgânica para melhorar a atividade das moléculas e produzir novos compostos com perfis farmacocinéticos de segurança desejáveis, de acordo com as bibliotecas de pesquisa e qualidade. (GOMES et al., 2016) (KUSHUAHA, KAUSHIK, 2016).

Figura 8: O núcleo ftalimida e suas principais atividades identificadas na literatura.

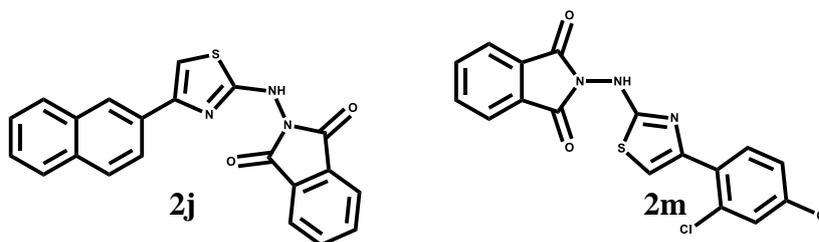


Fonte: autor

3.4.1 Atividade biológica *in vitro* de ftalimidas contra leishmaniose

ALIANÇA et al., 2017 sintetizou uma série de derivados ftalimido-tiazóis contra a forma promastigota e amastigota da *L. infantum*, os compostos mais promissores da série foram o **2j** e **2m** com IC₅₀ de 9,8 µM e 13,9 µM respectivamente, como mostra a **figura 9**.

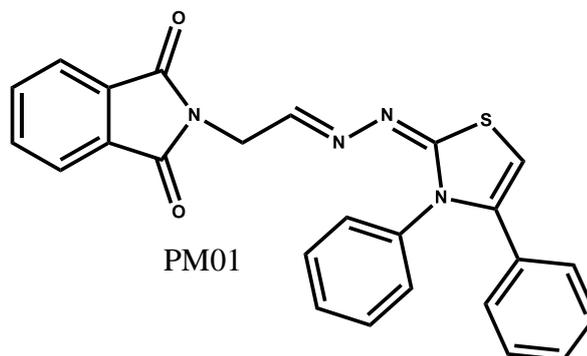
Figura 9: Estrutura dos compostos 2j e 2m sintetizados por ALIANÇA et al., 2017



Fonte: ALIANÇA et al., 2017 (adaptado)

DA SILVA, 2013 também sintetizou uma série de ftalimido-hidrazona-tiazól e obteve como resultado o composto **PM01** com o IC₅₀=7,0µM o qual foi altamente ativo para a forma promastigota da *L. amazonensis* como mostrado na **Figura 10**

Figura 10: Estrutura do composto PM01 sintetizado por DA SILVA, 2013

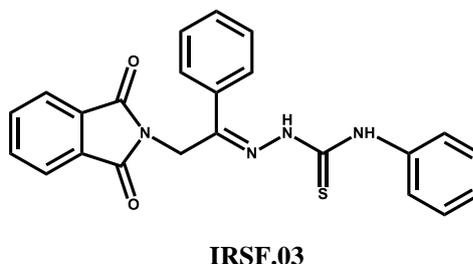


Fonte: SILVA, 2013 (adaptado)

3.4.2 Atividade biológica in vitro de ftalimidas contra doenças de chagas

SANTOS 2018, sintetizou diferentes compostos ftalimido-tiazóis no qual o composto destaque foi o **IRSF.03** (**Figura 11**) com $IC_{50} = 3,60\mu M$ que se mostrou seis vezes mais seletivo para tripomastigotas *T.cruzi* que o Benzonidazol ($IS=11,21$), contra IS de 68,22.

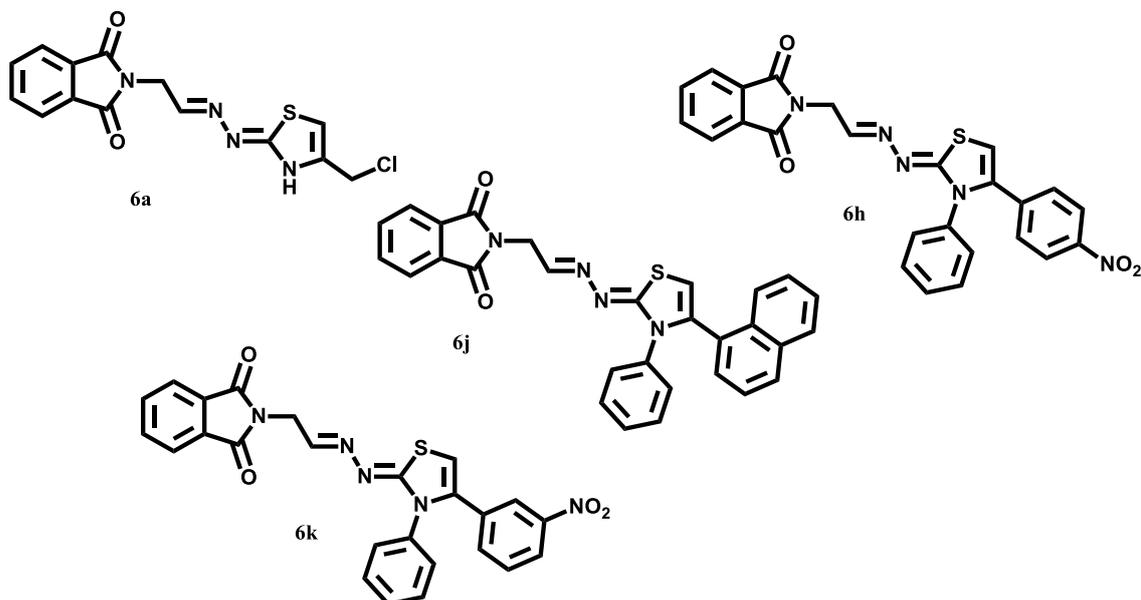
Figura 11: composto ftalimido-tiosemicarbazona sintetizado por SANTOS 2018



Fonte: SANTOS 2018 (adaptado)

Além de SANTOS 2018, GOMES et al. (2016) apresentaram os compostos ftalimido-tiazóis **6a**, **6h**, **6j** e **6k** ($IC_{50} = 2,2\mu M$, $3,2\mu M$, $0,9\mu M$, respectivamente) (**Figura 12**), com importante atividade tripanocida identificada.

Figura 12: compostos com atividades tripanocida desenvolvido por GOMES et al., (2016)

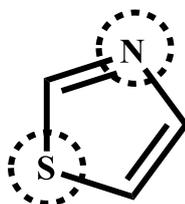


Fonte: GOMES et al., (2016) (adaptado)

3.5 TIAZÓIS

Assim como as ftalimidas, os tiazóis (**Figura 13**) também são considerados estrutura privilegiadas, seu esqueleto possui um nitrogênio e um enxofre além de duas duplas ligações.

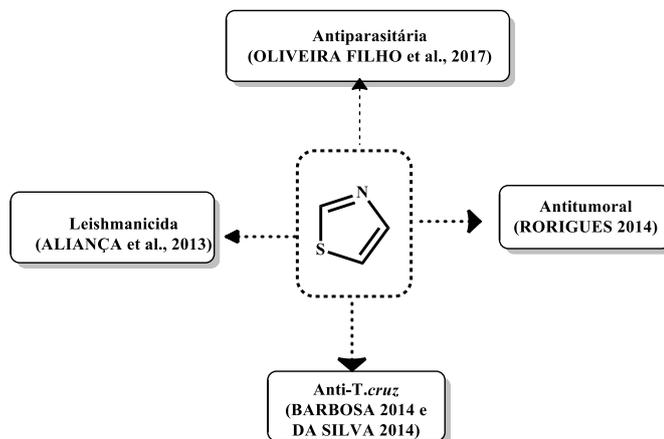
Figura 13: Esqueleto principal do tiazól



Fonte: autor

Além disso, diversos estudos comprovam que os derivados tiazóis possuem diversas atividades biológicas, tais como atividades antichagásica, antitumoral etc. A (**Figura 14**) mostra algumas atividades biológicas já descobertas pelo LpQM.

Figura 14: O núcleo tiazól e suas principais atividades identificadas no LpQM e outros.

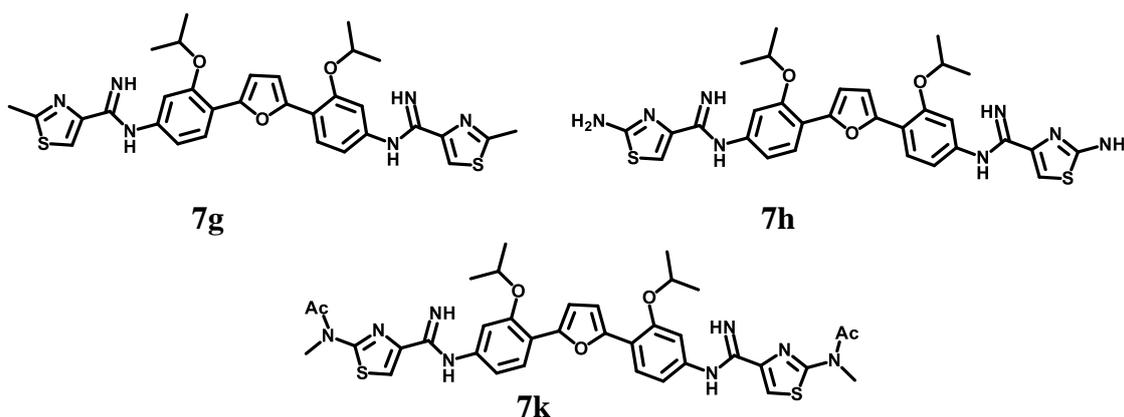


Fonte: autor

3.5.1 Atividade biológica in vitro de tiazóis contra leishmaniose

LIU et al. 2014, sintetizou em seu trabalho uma série de análogos contendo tiazóis terminais na estrutura dos seus compostos frente a *L. amazonensis*, os que mais destacaram foram os compostos **7g**, **7h** e **7k**, seus IC_{50} foram: 0,17; 1,7 e 0,8128 μ M respectivamente, com SI= 27,6; 2,18 e 0,99 respectivamente. (**Figura 15**).

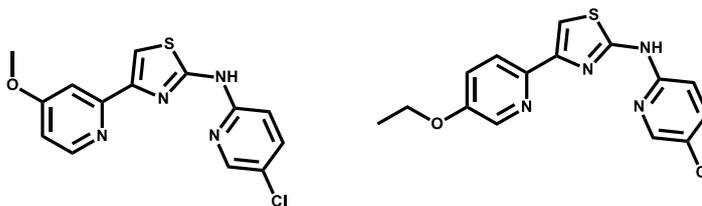
Figura 15: derivados de tiazóis descritos por Liu et al., 2014



Fonte: Liu et al., 2014 (adaptado)

BHUNIYA et al. 2015 testou uma serie de compostos contendo o anel tiazól, dentre os mais promissores se destacaram os compostos **32** e **36** com IC_{50} = 0,003 e 0,28 μ M e SI = 20,93 e 13,5 respectivamente, todos para a forma amastigoda em *L. donovani* (**Figura 16**).

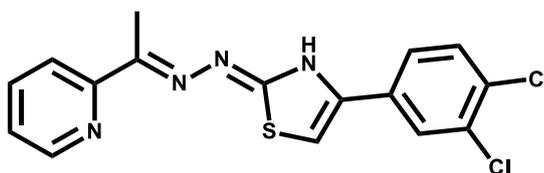
Figura 16: Compostos com melhor atividade leishmanicida descritos por Bhuniya et al., 2015.



Fonte: Bhuniya et. Al., 2015 (adaptado)

CARDOSO, 2014 em sua série de piridil-tiazóis testou seu composto mais promissor **14** (Figura 17) frente a forma tripomastigota do *T. cruzi*, cujo IC₅₀ foi 0,37μM.

Figura 17: Estrutura do composto mais promissor de CARDOSO, 2014

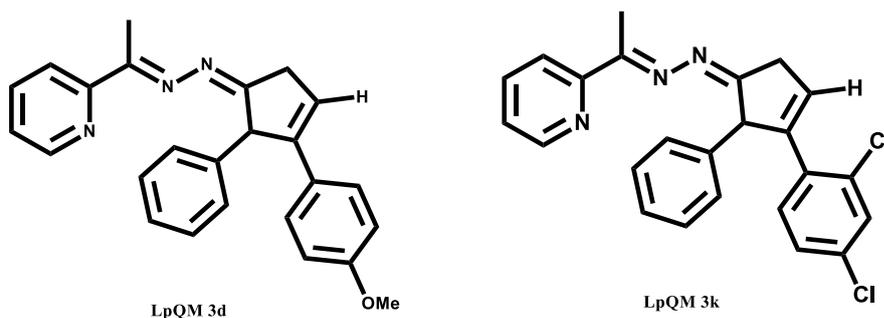


Fonte: CARDOSO, 2014 (adaptado)

3.5.2 Atividade biológica *in vitro* de tiazóis contra doenças de chagas

DA SILVA 2014, testou alguns derivados de piridil 1,3-tiazol para atividades antichagássica, obtendo os compostos mostrados na (Figura 18) LpQM 3d e 3k com o IC₅₀ = 1.2 e 1.6 μM, respectivamente, foram os que mais se destacaram. Estes compostos não apresentaram efeitos citotóxicos nas concentrações tripanocidas frente a forma tripomastigota.

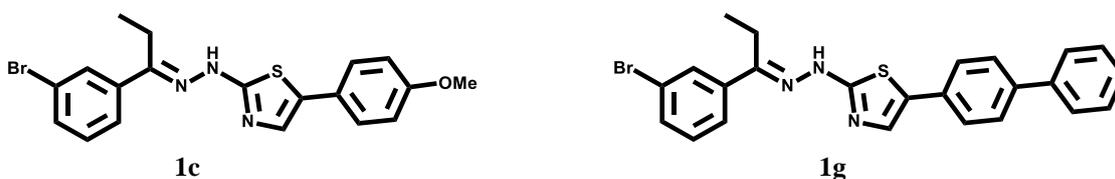
Figura 18: Compostos LpQM 3d e 3k com melhor atividade frente a forma tripomastigota



Fonte: DA SILVA 2014 (adaptado)

Um ano antes, GOMES et al., também sintetizou novos derivados de tiazol cuja melhor atividade foi do composto **1c** (**Figura19**) também frente a forma tropomastigoda apresentando um $IC_{50} = 3,6 \mu M$. Além disso, foi descoberto também que se houver um grupo volumoso na ligado ao C4 do tiazól aumentaria a atividade e isso foi provado por GOMES et al., 2016 com o composto **1g** que apresentou um $IC_{50} = 3.8 \mu M$ também frente a forma tripomastigota.

Figura 19: composto sintetizados por GOMES et al., 2016 com melhor atividade



Fonte: GOMES et al, 2016 (adaptado)

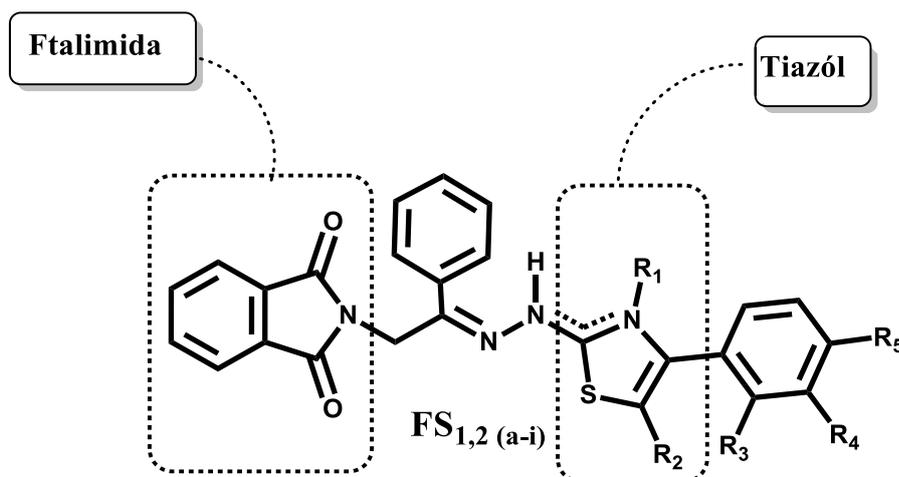
4 PLANEJAMENTO DAS MOLÉCULAS

Os derivados ftalimido-tiazóis obtidos nesse trabalho, foram sintetizados de forma inédita, após a síntese as moléculas foram analisadas quanto a sua atividade biológica, pelo grupo LPqM (Laboratório de Planejamento e Síntese em Química Medicinal).

A pesquisa foi baseada nos trabalhos de feitos por Gomes et al. (2016), Santos 2018 e Oliveira 2018, com atividade promissora comprovada enquanto antiparasitários para *T.cruzi* e *Leishmaniose* respectivamente. Nesses trabalhos os núcleos Ftalimida e Tiazóis foram identificados como promissores para a atividade biológica dessas moléculas.

De forma geral, no planejamento, fixou-se o grupo originário da ftalimida, e as estruturas gerais oriundas dos grupos tiazóis (variando em R₁, R₂, R₃, R₄ e R₅), sendo estas separadas pela estrutura proveniente da halo-acetofenona como mostra a **Figura 21**.

Figura 20 - Estrutura geral das Ftalimido-Tiazóis sintetizadas neste trabalho.

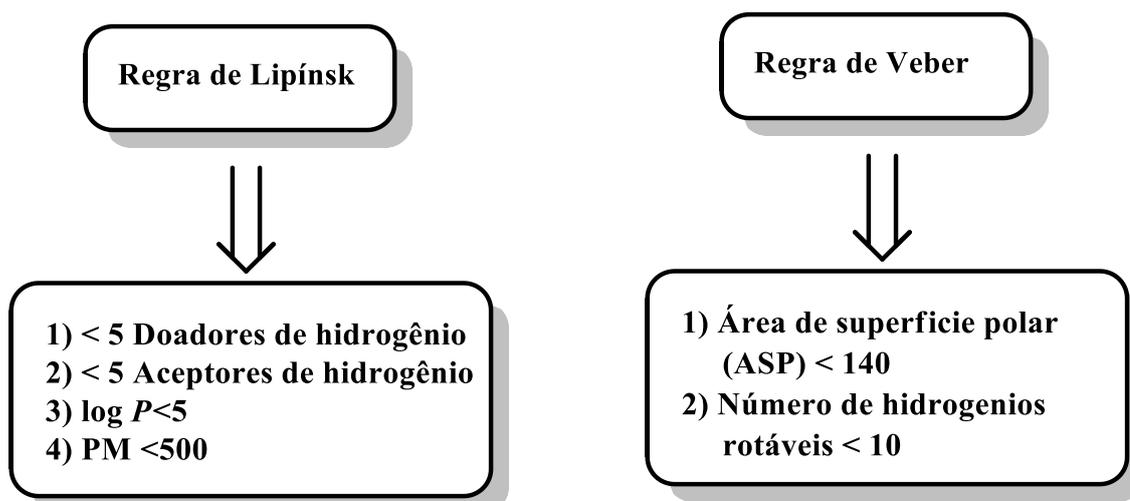


Fonte: Autor

As estruturas dos compostos planejados foram analisadas segundo a “Regra dos 5” de Lipinsk, et al. (1997). Esta regra descreve abordagens experimentais e computacionais para antevê a solubilidade e a permeabilidade de fármacos em desenvolvimento. A “Regra dos 5” (Rule of 5) prevê que candidatos a bioativos devem apresentar quatro características físico-químicas: lipofilicidade, massa molar, numero de doadores e receptores de hidrogênio essas características são comuns em fármacos já existentes (salvo exceções), apresentando resultados com valores múltiplos de cinco. Além da regra de Lipinski, Veber et al. (2002), usou como recurso complementar a Área de Superfície Polar (ASP) e o número de ligações Rotáveis, para

estudar a absorção oral desses mesmos fármacos, todos esses parâmetros juntos, podem nos dar muita informação acerca do composto, a **Figura 21** mostra a regra de Lipinski e os parâmetros de Veber para os fármacos e a **Tabela 1** mostra todos os essenciais parâmetros (Lipinski e Veber) dos compostos sintetizados nesse trabalho.

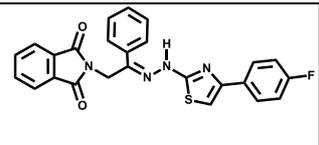
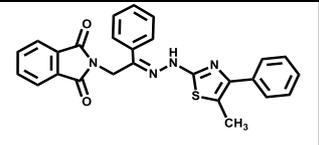
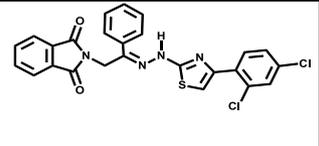
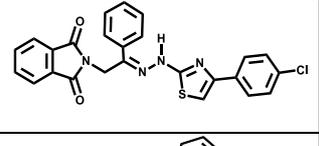
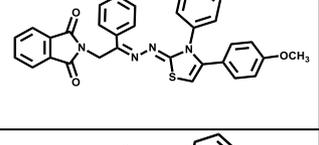
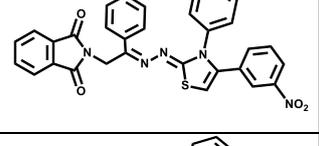
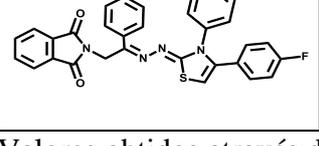
Figura 21 - Regra dos 5, proposta por Lipinski, et al. (1997) e parâmetros adicionais de Veber et al. (2002)



Fonte: Autor

Tabela 1 - Dados dos compostos planejados aplicados à “Regra dos 5 e Veber”

Estrutura	Ref.	$H_A \leq 10$	$H_D \leq 5$	$MLogP \leq 5$	$MM \leq 500$ g/mol	Lig. Rot. ≤ 10	ASP $< 140 \text{Å}^2$
	FS1a	6	1	2,50	483,50	7	148,72
	FS1b	5	1	3,05	468,53	7	112,13
	FS1c	4	1	4,32	507,39	6	102,90

	FS1d	5	1	3,75	456,49	6	102,90
	FS1e	4	0	4,89	452,53	6	102,90
	FS1f	4	1	4,32	507,39	6	102,90
	FS1i	4	1	3,85	472,95	6	102,90
	FS2a	5	0	4,36	544,62	6	95,27
	FS2b	6	0	4,64	559,59	7	141,09
	FS2c	5	0	5,06	532,59	6	95,27

Valores obtidos através do site SwissADME

Como é sabido, as regras de Lipinski e Veber estão relacionadas com a absorção oral do composto, ou seja, os parâmetros estudados por eles se relacionam com o quanto o composto pode ser absorvido oralmente e se poderá ou não ser absorvido pela membrana plasmática e alcançar o alvo.

Como pode-se observar, alguns compostos podem divergir a apenas uma regra ou pode divergir às duas regras, grande parte desses compostos possui massa molar superior a 500g/mol, $\log p > 4,15$ e /ou $ASP > 140\text{\AA}$ como é o caso dos compostos citados na tabela acima, os quais, não se encaixam na regra de Lipinski, e/ou Veber, essas propriedades eram esperadas, visto que são moléculas volumosas e pouco polares, em consequência disso, a administração por via oral se torna difícil. Sendo assim, pode-se observar uma relação inversamente proporcional entre o $\log P$ (que se relaciona com a absorção da membrana plasmática ou seja, se relaciona com a lipofilicidade) e a ASP (que se relaciona com a polaridade da molécula). Portanto, quanto maior a ASP menor será a lipofilicidade e maior a absorção por via oral. Sendo assim, grande parte

dos compostos sintetizados neste trabalho está em concordância com a regra de Lipinski, o que pode ser positivo, visto que estes parâmetros podem ser usados para o planejamento de novas moléculas.

5 METODOLOGIA

5.1 MATERIAIS E REAGENTES

Para as reações, foram utilizados os seguintes solventes: acetona, hexano, acetato de etila, etanol, isopropanol, isobutanol, DMF e metanol, das marcas Dinâmica, Cinética ou Química moderna. Os reagentes utilizados foram: anidrido ftálico, ureia, carbonato de potássio, iodeto de potássio, ácido sulfúrico, tiossemicarbazida, 4-fenil-3-tiossemicarbazida, 2-bromoacetofenona, 2-bromo-3'-nitroacetofenona, 2-bromo-4'-metoxiacetofenona, 2-bromo-3',4'-dicloroacetofenona, 2-bromo-4'-fluoroacetofenona, 2,4'-dibromopropioacetofenona, 2-bromo-4'-nitroacetofenona, 2-bromoacetonaftona, 2-bromo-4'-cloroacetofenona, 2,2',4'-triclouroacetofenona, todos foram adquiridos das marcas Sigma Aldrich, Pró-Químicos, Química Moderna, Vetec ou Cinética Química Ltda. O DMSO deuterado (DMSO-d₆) da marca Sigma-Aldrich foi utilizado para a realização de todos os RMN's.

As reações foram acompanhadas usando CCD, utilizando-se por fase sílica-gel 60 da marca Alugram® com indicador fluorescente F254. Para a leitura das placas cromatográficas foi utilizada uma câmara de radiação ultravioleta, com lâmpadas de 365nm e 254nm, da marca Vilber Lourmat.

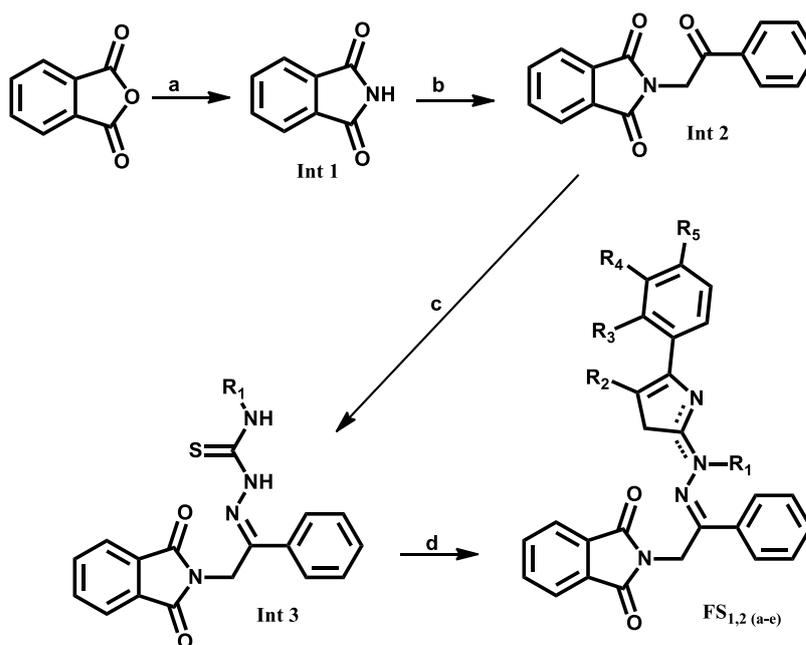
Para realizar algumas etapas das reações foi preciso utilizar banho ultrassônico Unique EM-804, 40kHz de frequência (180W de potência). As chapas aquecedoras cuja marca Fisatom 752A, destilador Quimis®, vidrarias diversas, dessecador e freezer para armazenar os produtos.

O ponto de fusão dos produtos obtidos, foi feito usando fusiômetro Fisatom 430D. As análises espectroscópicas foram realizadas em laboratórios parceiros. Sendo a RMN (¹³C e ¹H e DEPT) realizada na central analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, utilizando os instrumentos da Varian, modelo Unit Plus (400MHz para ¹H e 100MHz para ¹³C) e o equipamento da Bruker AMX (300 MHz para ¹H; 75,5 MHz para ¹³C). O tetrametilsilano foi usado como padrão e o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) como solvente. A análise de Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR) foi realizada no CETENE.

5.2 ROTA SINTÉTICA

A **Figura 22** mostra a rota sintética para a obtenção dos tiazóis. Na primeira etapa da reação, reagiu-se anidrido ftálico com a ureia a uma temperatura de 160° por 3hs. Na segunda etapa, dissolveu-se o intermediário 1 em acetona e adicionou-se a 2-bromoacetofenona e colocou-se para reagir em banho ultrassônico por 6hs, filtrou-se e pesou-se. Na terceira etapa, solubilizou-se o intermediário 2 em etanol e adicionou-se a tiossemicarbazida e a 4-fenil-3-tiossemicarbazida para a obtenção de intermediários 3. Na última etapa, reagiu-se os intermediários 3 com diferentes acetofenonas para produzir os 10 tiazóis listados na tabela abaixo.

Figura 22: rota sintética para obtenção dos 1,3-tiazóis substituídos



Fonte: autor

a) tiouréia, 160° **b)** 2-bromoacetofenna, K₂CO₃, KI, Acetona, Agitação, 24hs **c)** Tiossemicarbazida, ou 4-fenil-tiossemicarbazida, etanol, H₂SO₄, ultrassom ; **d)** 2-bromo-cetonas aromáticas, isopropanol ou isobutanol, .

Tabela 2: diferentes tiazóis obtidos nesse trabalho.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Composto final
H	H	H	NO ₂	H	FS _{1a}
H	H	H	H	OCH ₃	FS _{1b}
H	H	H	Cl	Cl	FS _{1c}
H	H	H	H	F	FS _{1d}
H	CH ₃	H	H	H	FS _{1e}
H	H	Cl	H	Cl	FS _{1f}
H	H	H	NAFTIL		FS _{1h}

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Composto final
Ph	H	H	H	OCH ₃	FS _{2a}
Ph	H	H	NO ₂	H	FS _{2b}
Ph	H	H	H	F	FS _{2c}

5.2.1 Síntese do Intermediário 1 (Ftalimida)

Macerou-se em um gral 4,05g (67,43mmol) de ureia, juntamente com 10,0g (67,52 mmol) de anidrido ftálico. A mistura em forma de pó, foi transferida para um balão de fundo redondo, e deixada em banho de óleo com aquecimento até chegar a temperatura de cerca de 156°C, por aproximadamente 3h com o balão semiaberto. Durante este tempo verificou-se a fusão dos compostos e formação do novo sólido (um pó branco), além do desprendimento de gases. Realizou-se uma CCD com o anidrido ftálico e o produto obtido, utilizando-se como sistema eluente a mistura de Hexano/ Acetato de Etila em proporção de 7:3

Para purificação, o sólido obtido foi lavado com água em sistema de filtração a vácuo. O funil sinterizado contendo o produto foi acondicionado em dessecador por 48h e então pesada a ftalimida (int. 1) para obtenção dos dados de rendimento reacional.

5.2.2 Síntese do Intermediário 2

Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 50mL de acetona P.A., 27 mmol de ftalimida (4,00g), 3,74g de K₂CO₃ e uma ponta de espátula de KI sólido. Deixou-se a mistura sob agitação mecânica, por 30 minutos à temperatura ambiente, para solubilização. Logo após, adicionou-se 5,41g (27,18 mmol) de 2-Bromoacetofenona, e então o sistema permaneceu sob agitação constante por 24hs. Foi necessário adicionar acetofenona em excesso para se conseguir chegar ao final da reação. Para verificação do final da reação foi feito CCD's com os reagentes

e a mistura reacional, utilizando-se Hexano/ Acetato de Etila como fase móvel na proporção de 7:3.

Após confirmação de termino da reação, o produto foi filtrado a vácuo, submetido a lavagem com acetona aquecida e o sobrenadante secado no rotavaporador.

O produto sólido seco, foi submetido lavagem com Álcool Isopropílico em sistema a vácuo. O produto foi levado ao dessecador por 24hs para secagem e posteriormente foi obtido o rendimento reacional.

5.2.3 Síntese dos Inter mediários 3

5,00g (18,9 mmol) de Intermediário foi solubilizado em 50mL de etanol P.A.. Após a solubilização adicionou-se 1,72g (18,81 mmol) de tiosemicarbazida (para produzir os compostos FS_{1a-i}) e 1,72g (10,28mmol) de 4-feniltiosemicarbazida (para produzir os compostos FS_{2a-e}), juntamente com 14 gotas de Ácido Sulfúrico P.A. A mistura foi mantida em ultrassom ou refluxo por cerca de 30min. Após esse tempo, foi adicionado ao sistema quantidade molar equivalente da respectiva tiossemicarbazida 4-feniltiossemicarbazida. O sistema foi deixado em ultrassom (6hs) ou refluxo (24hs). Em todos os casos foi necessário adicionar tiossemicarbazida em excesso para se conseguir chegar ao final da reação. Após realização da CCD para confirmar o fim da reação utilizando-se como fase móvel a mistura Hexano/ Acetato de Etila na proporção de 7:3. O sólido obtido foi filtrado à vácuo e lavado com Álcool Etílico. Em seguida o produto foi levado ao dessecador por 24h e então pesado para obtenção dos dados de rendimento reacional.

5.2.4 Formação do produto final – (FS_{1a-f})

Solubilizou-se 500mg (14,8 mmol) do intermediário 3 em 20mL de isobutanol em refluxo e adicionou-se diferentes acetofenonas como mostrado na tabela 2, após 6hs foi feito uma placa e confirmou-se que a reação tinha chegado ao fim, logo depois o produto foi filtrado e lavado com etanol e levado para o dessecador para posteriormente obter o rendimento reacional.

5.2.5 Formação do produto final – (FS_{2a-c})

Solubilizou-se 500mg (14,8mol) do intermediário 3 em 20mL de isobutanol em refluxo e adicionou-se diferentes acetofenonas como mostrado na tabela 2, após 6hs foi feito uma placa e confirmou-se que a reação tinha chegado ao fim, logo depois o produto foi filtrado e lavado com etanol e levado para o dessecador para posteriormente obter o rendimento reacional.

5.3 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

A caracterização da estrutura química das moléculas foi feita através de análises espectroscópicas dos compostos finais (EMAR e RMN ¹³C e ¹H). Além disso, também foram vistos o ponto de fusão (PF), e o fator de retenção (RF) em cromatografia de camada delgada (CCD) e o rendimento para cada molécula utilizando como sistema eluente a mistura de Hexano (55%) e Acetato de Etila (45%).

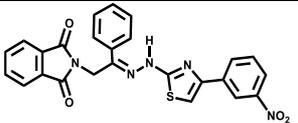
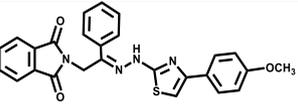
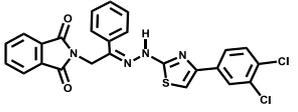
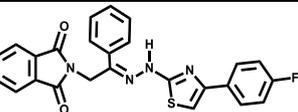
6 RESULTADOS

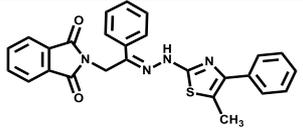
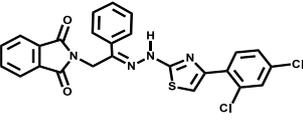
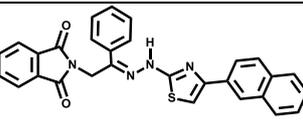
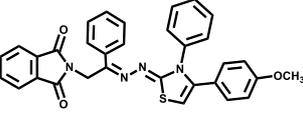
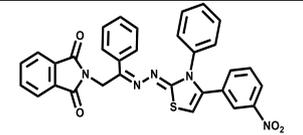
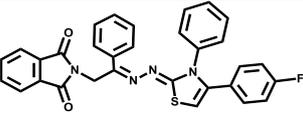
Na obtenção dos produtos foi necessário purificá-los por simples lavagem, não foi preciso recrystalizá-los. Por fim, todos os ftalimido-tiazóis obtidos se apresentaram em forma de pó amorfo colorido.

Tanto nos intermediários quanto nos produtos finais foi necessário adição de excesso de acetofenonas às reações, sendo assim foi necessário a purificação dos produtos obtidos utilizando simples lavagem para retirada do reagente em excesso. Logo após a lavagem e a filtração a vácuo, o produto foi levado ao dessecador para secar e por fim realizar outra placa CCD para confirmar a pureza do produto.

Confirmando a pureza do produto final, foi feito um cálculo do rendimento reacional do reagente limitante que, no caso foi o intermediário 3. Portanto, para um rendimento de 100% o composto final deveria mostrar quantidade equimolar ou seja, 1:1 em relação ao intermediário 3. Os valores obtidos para cada composto na etapa final se apresentaram em torno de 30% a 99%. Para tal, é considerado um bom rendimento valores a partir de 50%. As características e propriedades dos compostos finais aqui obtidos estão dispostas a seguir (**Tabela 3**). Esta apresenta estrutura, ponto de fusão (PF), fator de retenção (RF), e rendimento de cada um dos 10 produtos.

Tabela 3: características gerais dos compostos e rendimentos

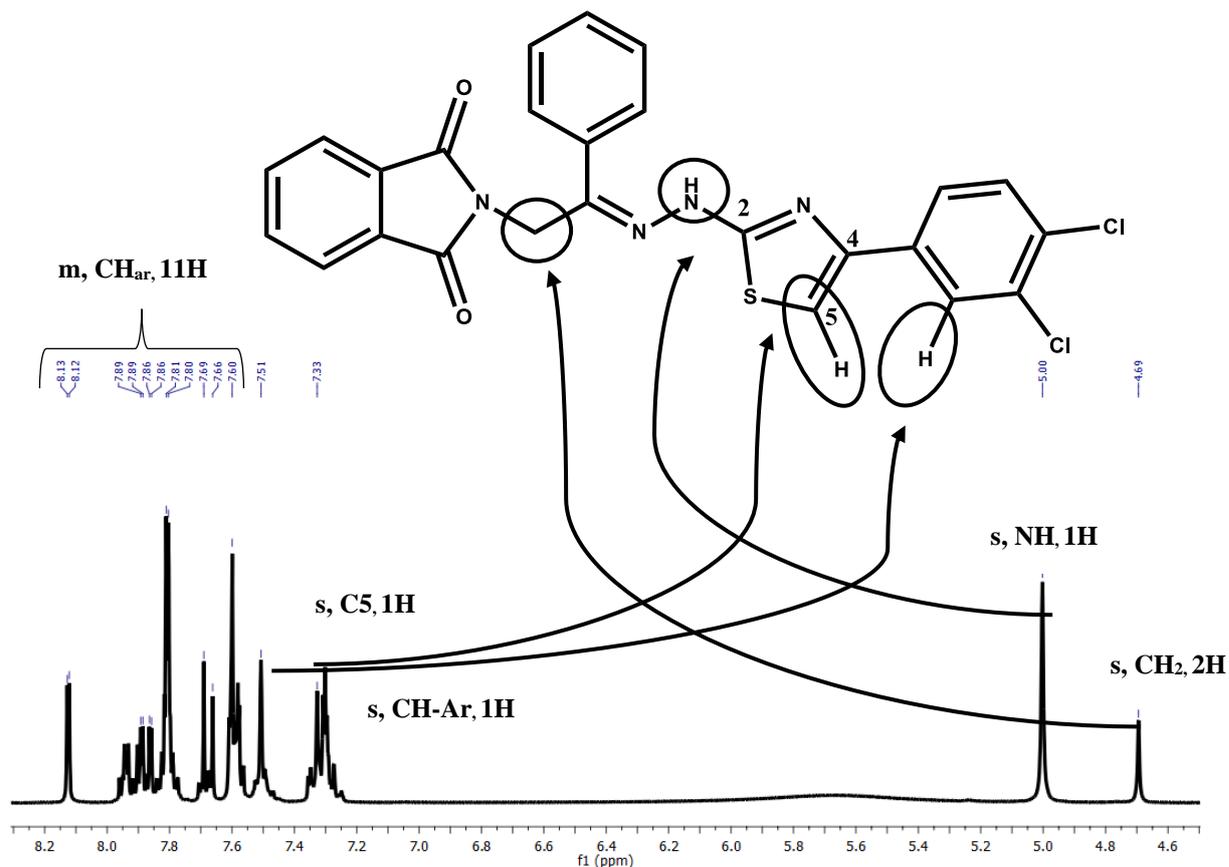
Estrutura Geral da Molécula	Cod.	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	PF (°C)	RF (cm)	Rend. (%)
	FS_{1a}	H	H	H	NO₂	H	198-202	2	81,25
	FS_{1b}	H	H	H	H	OCH₃	174-178	1,8	94,80
	FS_{1c}	H	H	H	Cl	Cl	189-193	2,9	54,32
	FS_{1d}	H	H	H	F	H	180-184	2,6	50,88

	FS_{1e}	CH₃	CH₃	H	H	H	226-230	2,9	53,81
	FS_{1f}	H	H	Cl	H	Cl	165-270	3,5	27,73
	FS_{1g}	H	H	H	NAFTIL		226-228	3,2	52,33
	FS_{2a}	Ph	H	H	H	NO₂	214-216	3,1	34,55
	FS_{2b}	Ph	H	H	NO₂	H	179-181	3,3	59,70
	FS_{2c}	Ph	H	H	H	F	213-216	3,8	59,65

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 ¹H e RMN ¹³C a partir da molécula

A **Figura 23** apresenta o espectro de RMN ¹H do composto FS_{1c}, nele pode-se observar um singlete em 4,69ppm referente aos hidrogênios do grupo -CH₂. Em 5,00 ppm há outro singlete referente ao hidrogênio do grupo amino – NH. Em 7,05 tem-se outro singlete o qual se refere ao hidrogênio do C₅ do tiazól. Além disso, há outro singlete em 7,6 ppm que pertence ao hidrogênio do anel aromático substituinte do tiazól. A região aromática apresenta um multipletto referente a 11H

Figura 23: espectros de RMN ^1H do composto FS_{1c}



Já no espectro de RMN de ^{13}C (**Figuras 24**), encontra-se um pico em 42,35ppm referente ao carbono do grupo CH₂. Em 167,56 e 167,30 percebe-se os picos referentes aos dois carbonos carbonílicos (2C=O). Ainda próximo desses carbonos (169,83ppm) há o carbono C2 do tiazól, o carbono C4 está a 144,01ppm e o carbono C5 está a 106,69ppm. (**Figura 25**) Além dos carbonos do tiazol há também o carbono da imina (C=N) que se encontra a 153,96ppm. Para a região aromática (**Figura 26**) os carbonos estão na faixa entre 135,69 até 123,25ppm.

Figura 24: espectros de RMN ^{13}C do composto FS $_{1c}$

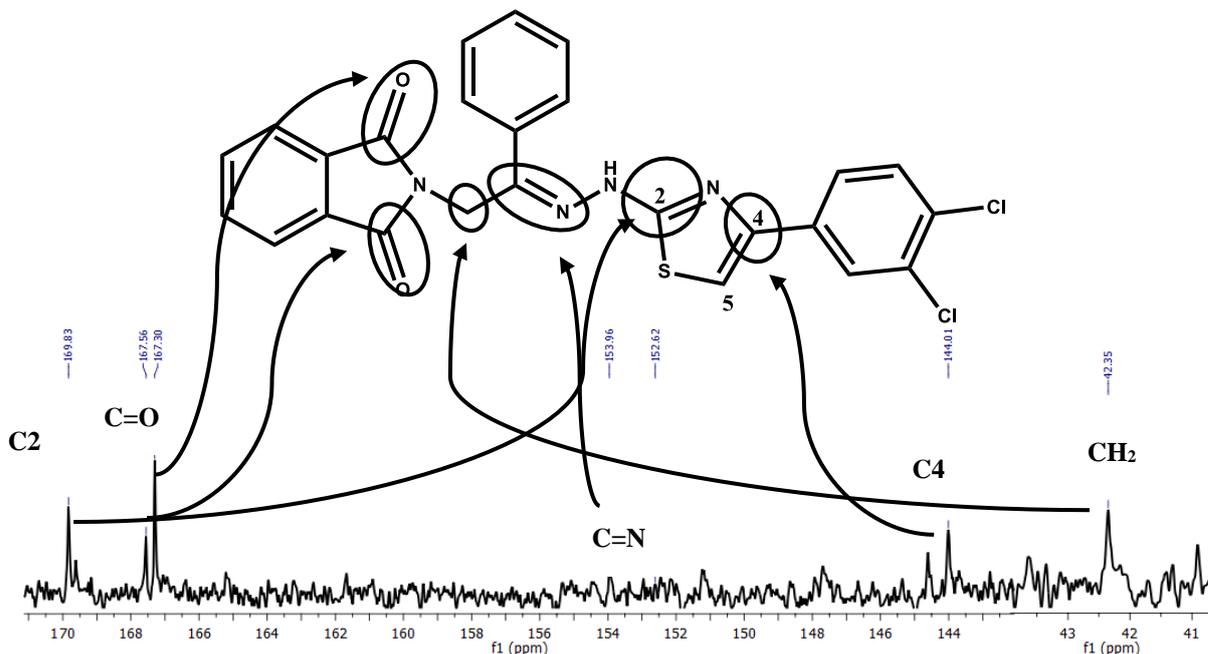
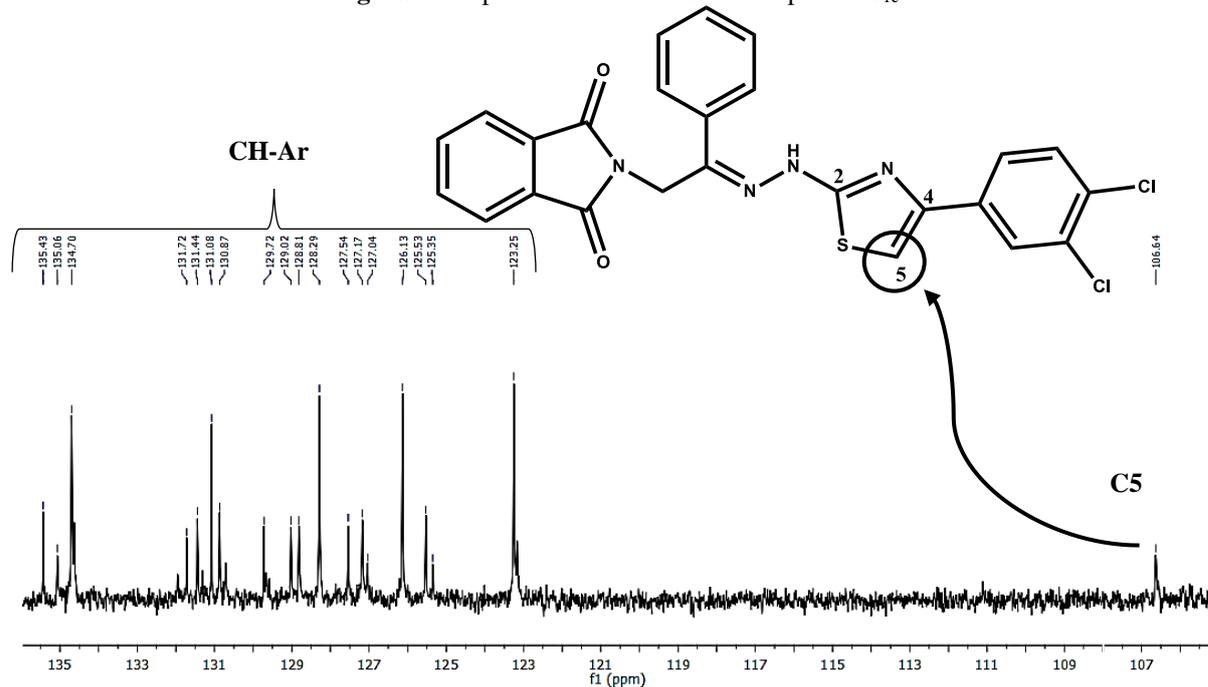


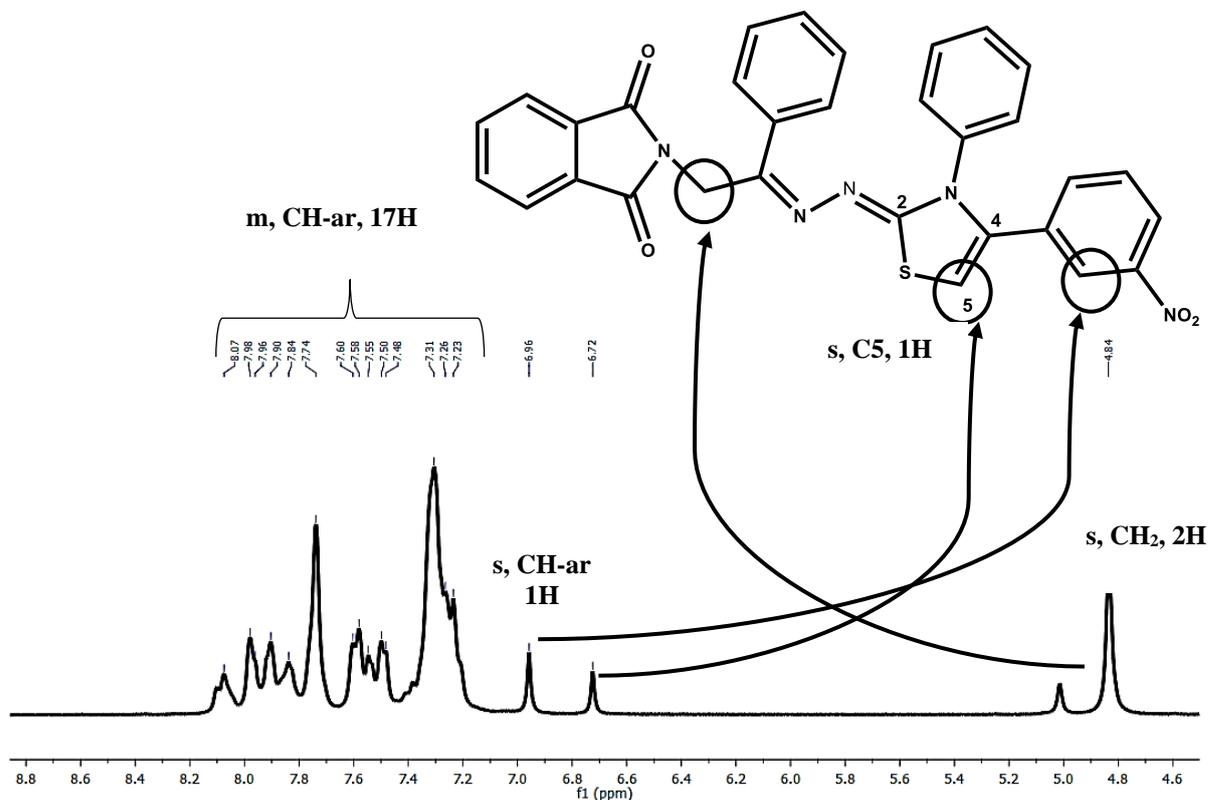
Figura 25: espectros de RMN ^{13}C do composto FS $_{1c}$



A Figura 26 apresenta o espectro de RMN ^1H do composto FS $_{2b}$, nele pode-se observar um singlete em 4,84ppm referente aos hidrogênios do grupo -CH $_2$. Em 6,72ppm há outro singlete referente ao hidrogênio do C5 tiazól. Em 6,96 tem-se outro singlete o qual se refere ao hidrogênio do anel aromático vizinho ao grupo nitro (NO $_2$). Referente aos anéis aromáticos pode-se perceber os picos dos anéis aromáticos, este por sua vez apresenta um multipletto

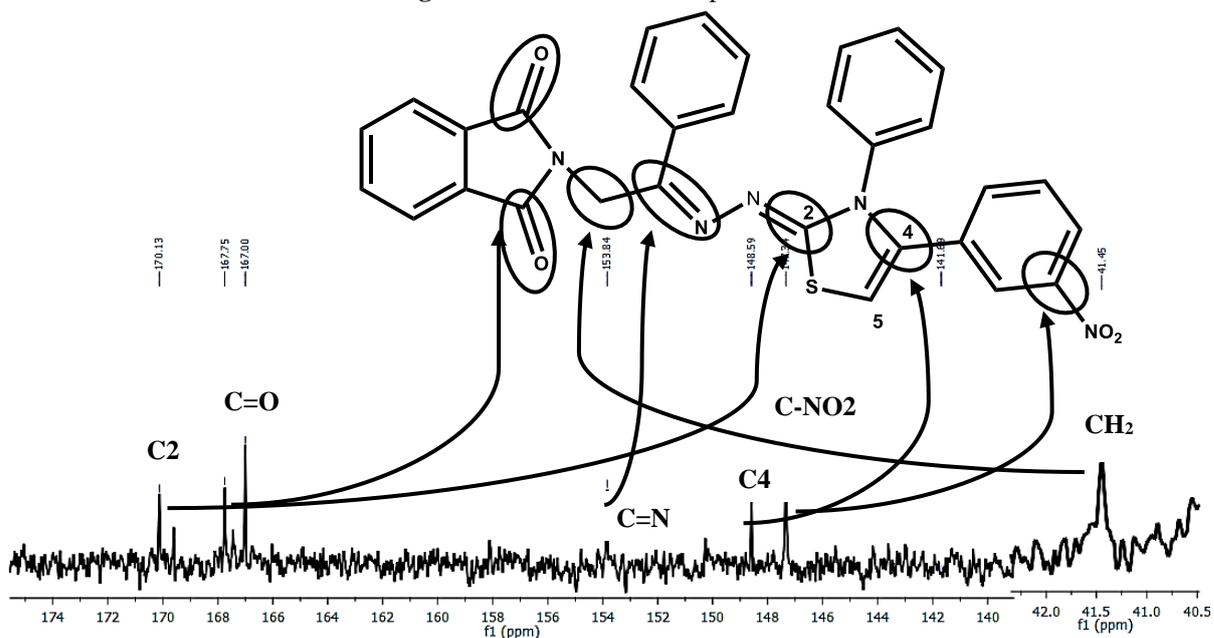
integrando para 17 hidrogênios tendo em vista que há uma certa simetria entre os hidrogênios dos anéis e por isso, não se consegue encontrar os picos separadamente.

Figura 26: espectro de RMN ^1H do composto FS_{2b}



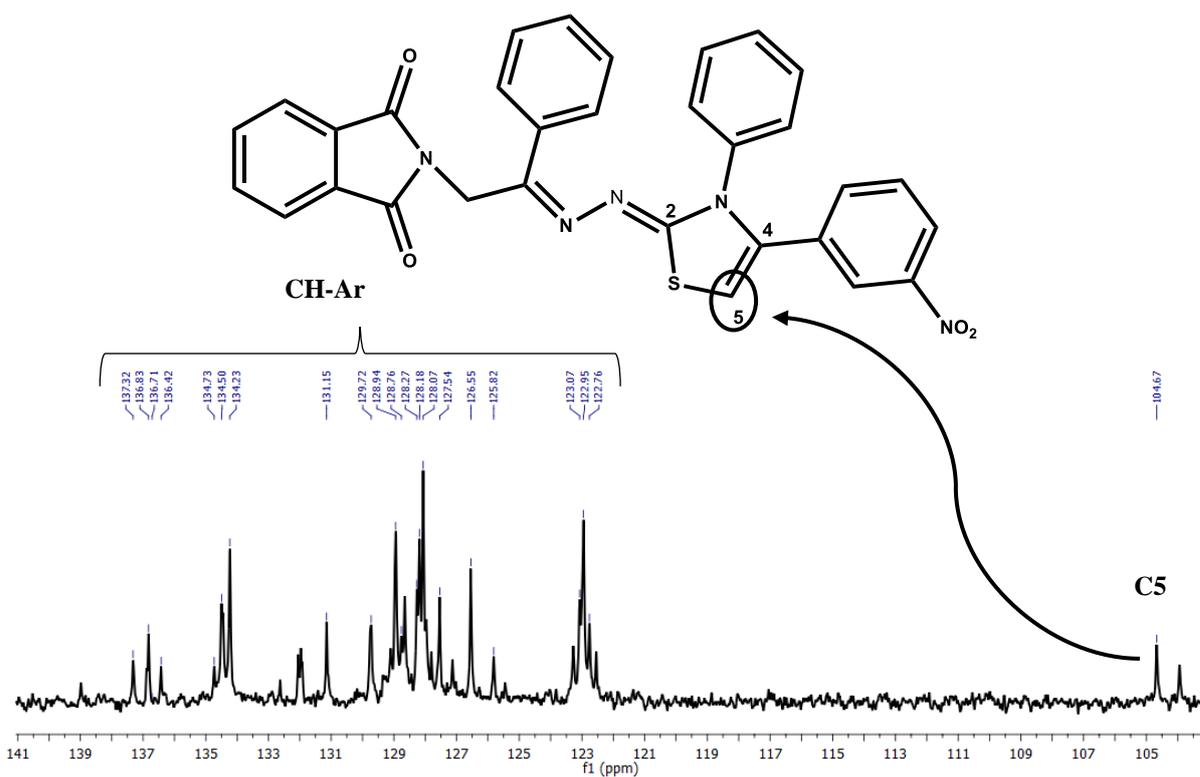
A **Figura 27** apresenta o espectro de RMN ^{13}C para o composto FS_{2b}, pode-se ver que a 167,35 e 167,20ppm encontra-se os carbonos carbinílicos ($2\text{C}=\text{O}$), a 170,13ppm encontra-se o C2 do anel tiazol, também em 147,47ppm encontra-se C4 do anel tiazól. Em 153,34ppm encontra-se o carbono da amina $\text{C}=\text{N}$. Em 148,9 ppm encontra-se o carbono do anel aromático ligado ao grupo nitro (NO_2) e finalmente encontra-se o grupo CH_2 em 41,43ppm.

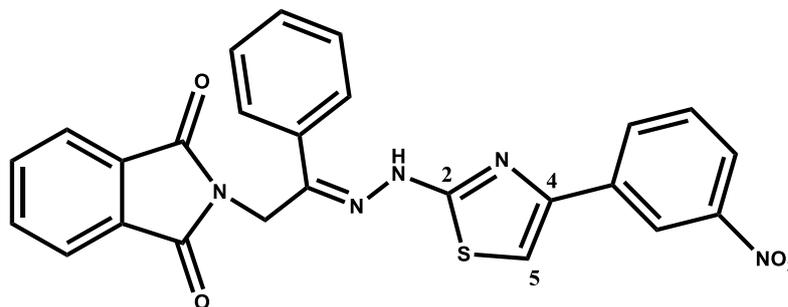
Figura 27: RMN ^{13}C do composto FS_{2b}



A **Figura 28** mostra os picos referentes a região aromática, como podemos observar os aromáticos estão entre 137,32 e 123,27 ppm, além disso, o C5 do anel tizól encontra-se em 104,67ppm.

Figura 28: espectro RMN ^{13}C do composto FS_{2b}



6.1 COMPOSTO FS_{1a}Fórmula Química: C₂₅H₁₇N₅O₄S

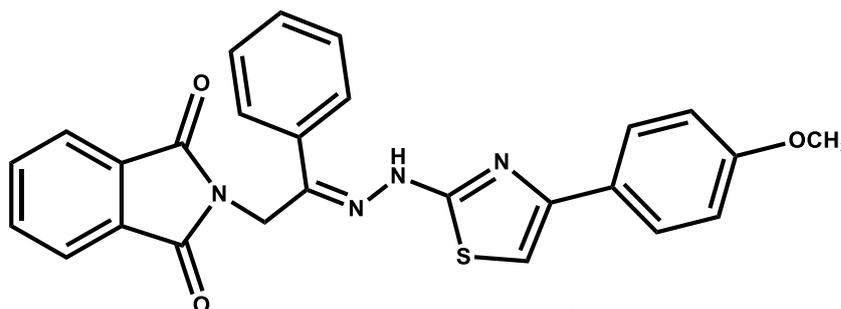
Peso Molecular: 483.50g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm}: 4.70 (s, 2H, CH₂), 5.02 (s, 1H, N-H); 7,43 (s, 1H, C₅-H_{tiazol}); 7,53 (s, 1H, CH_{ar}); 8,74-7,72 (m, 12H, CH-Ar).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm}: 34,24 (-CH₂), 107,16 (C₅tiazol), 143,94 (C=N), [167,56; 167,28] (2C=O), 169,93 (C₂tiazol), 148,28 (C₄tiazol); [136,10; 135,42; 134,7] (CH-Ar); [123,25;122,04;121,90] (CH-Ar), [119,94; 119,80] (CH-ar), [131,07-126,0] (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado [M-H]⁺: 483,10; Encontrado: 481,59

PONTO DE FUSÃO (°C)= 198-202

6.2 COMPOSTO FS_{1b}Fórmula Química: C₂₆H₂₀N₄O₃S

Peso Molecular: 468,53g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm}: 5,01 (s, 2H, CH₂); 3,79 (t, 3H, CH₃); 7,17ppm (C₅-H_{tiazol}); 5,01ppm (N-H); 7,80 -7,6 (m, 12H, C-H_{ar} c).

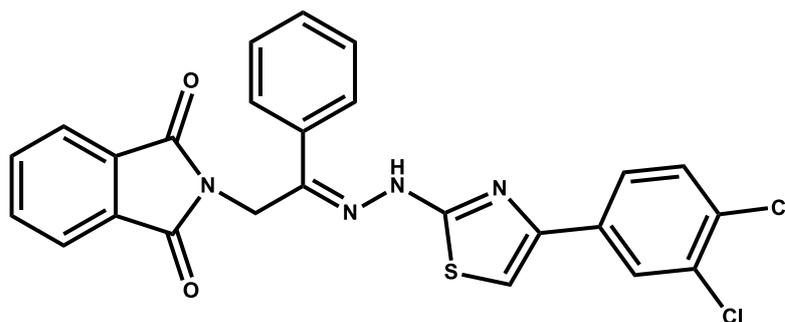
RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm}: 169,82 31 (C₂tiazol); [167,63; 167,40] (2C=O); 159,03 (C₄tiazol); C=N (144,28); C₅tiazol (101,95); 55,62 (CH₂); 34,06 (CH₃); 135,54 (C-OCH₃); 134,69 - 12,318 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[M-H]^+$: 468,13;

Encontrado: Não encontrado

PONTO DE FUSÃO: (°C): 174-178

6.3 COMPOSTO FS_{1c}



Fórmula Química: $C_{25}H_{16}Cl_2N_4O_2S$

Peso Molecular: 507,39g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm} : 4,69 (s, 2H, CH₂); 5,00 (s, 1H, N-H); 7,33 (s, 1H, C₅H_{tiazol}); 7,51 (s, 1H, CH-ar); 7,3 – 7,58 (m, 12H, CH-Ar).

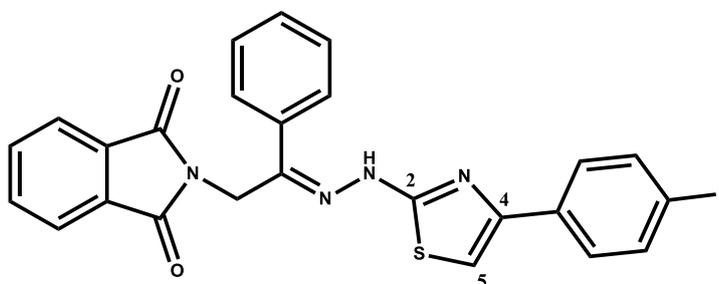
RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm} : [167,56; 167,30] (2C=O); 169,03 (C₂tiazol); 106,72 (C₅tiazol); 144,01 (C₄tiazol); 42,35 (CH₂); 153,96 (C=N); 135,65 – 123,25 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[M-H]^+$: 506,04;

Encontrado: 505,68

PONTO DE FUSÃO: (°C): 189-193

6.4 COMPOSTO FS_{1d}



Fórmula Química: $C_{25}H_{17}FN_4O_2S$

Peso Molecular: 456,49g/mol

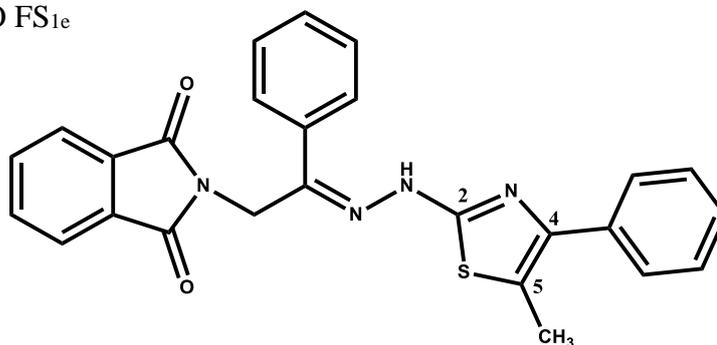
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm} : 4,70 (s, 2H, CH₂); 5,01 (s, 1H, N-H); 7,07 (s, 1H, C₅tiazol); 7,84 - 7,13 (CH-Ar)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ_{ppm} : 169,61($\text{C}_{2\text{tiazol}}$); 167,57; 157,31 ($2\text{C}=\text{O}$); 163,10 ($\text{C}_{4\text{tiazol}}$); 159,88 ($\text{C}_{2\text{tiazol}}$); 144,70 ($\text{C}=\text{N}$); 103,35 ($\text{C}_{6\text{tiazol}}$); 42,34 (CH_2); 134,62 – 115,19 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[\text{M-H}]^+$: 456,49;
Encontrado: Não encontrado

PONTO DE FUSÃO: ($^{\circ}\text{C}$): 180-184

6.5 COMPOSTO FS_{1e}



Fórmula Química: $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$
Peso Molecular: 452,53g/mol

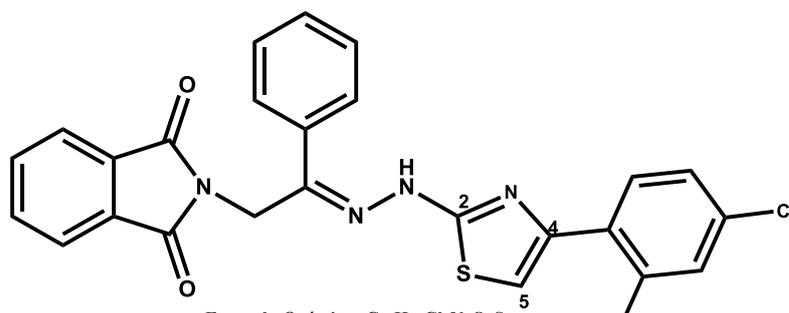
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ_{ppm} : 3,59 (s, 3H, CH_3); 4,97 (s, 2H, CH_2); 7,80 (s, 1H, N-H); 7,90 – 7,27 (m, 14H, CH-Ar).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ_{ppm} : 175,22 ($\text{C}_{2\text{tiazol}}$); 169,35; 167,83 ($2\text{C}=\text{O}$); 144,44 ($\text{C}=\text{N}$); 163,38; ($\text{C}_{4\text{tiazol}}$); 110,27 ($\text{C}_{5\text{tiazol}}$); 62,75 (CH_2); 34,46 (CH_3), 136,22 – 123,17 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[\text{M-H}]^+$:452,13;
Encontrado: Não encontrado

PONTO DE FUSÃO: ($^{\circ}\text{C}$): 226-230

6.6 COMPOSTO FS_{1f}



Formula Química: $\text{C}_{25}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$
Peso Molecular: 507,39g/mol

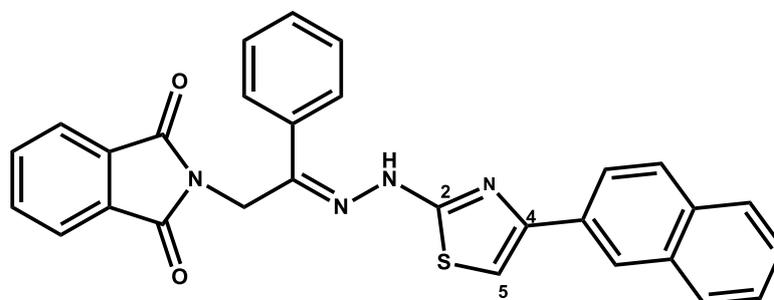
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ_{ppm} : 5,04 (s, 2H, CH_2); 7,28 (s, 1H, $\text{C}5_{\text{tiazól}}$); 8,43 (s, 1H, NH); 8,05 – 7,34 (m, 12H, CH-Ar).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ_{ppm} : 169,76 ($\text{C}2_{\text{tiazól}}$); 167,33 e 167,30 ($2\text{C}=\text{O}$); 149,72 ($\text{C}4_{\text{tiazól}}$); 144,05 ($\text{C}=\text{N}$); 106,03 ($\text{C}5_{\text{tiazól}}$); 61,90 (CH_2); 135,54 – 123,25 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[\text{M}-\text{H}]^+$: 506,04; Encontrado: 505,59

PONTO DE FUSÃO: ($^{\circ}\text{C}$): 165-270

6.7 COMPOSTO FS_{1g}



Formula Química: $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$
Peso Molecular: 488,56g/mol

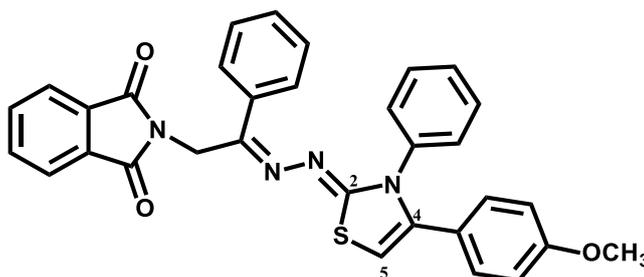
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ_{ppm} : 4,70 (s, 2H, CH_2); 5,03 (s, 1H, N-H); 7,36 (s, 1H, $\text{C}5_{\text{tiazól}}$); 7,53 (s, 1H, CH-Ar); 8,10 – 7,23 (m, 15H, CH-Ar).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz), δ_{ppm} : 169,77 ($\text{C}2_{\text{tiazól}}$); 167,56 e 167,33 ($2\text{C}=\text{O}$); 144,01 ($\text{C}4_{\text{tiazól}}$); 144,75 ($\text{C}=\text{N}$); 106,11 ($\text{C}5_{\text{tiazól}}$); 42,19 (CH_2); 133,09 – 123,00 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado $[\text{M}-\text{H}]^+$: 488,13; Encontrado: 487,98

PONTO DE FUSÃO: ($^{\circ}\text{C}$): 226-228

6.8 COMPOSTO FS_{2a}



Fórmula Química: $\text{C}_{32}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$
Peso Molecular: 544,62g/mol

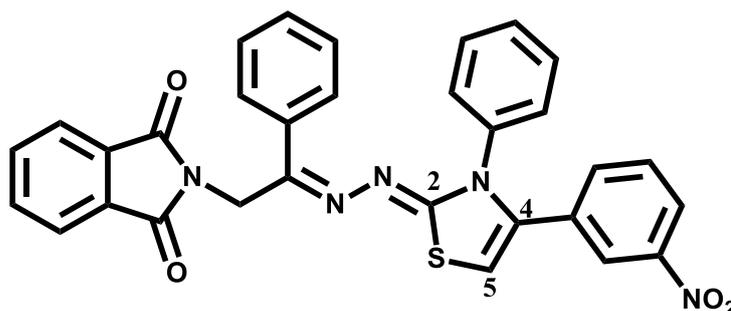
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm}: 3,69 (s, 3H, CH₃); 4,82 (s, 2H, CH₂); 6,55 (s, 1H, C5_{tiazol}) 6,55; 7,74 – 6,78 (m, 14H, CH-Ar).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm}: 167,64 (C2_{tiazol}); 159,50 e 159,40 (2C=O); 153,69 (C4_{tiazol}); 139,99 (C=N); 101, 33 (C5_{tiazol}); (55,54) CH₂; 35,93 (CH₃); 133,64 – 123,44 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado [M-H]⁺: 544,16;
Encontrado: 542,98

PONTO DE FUSÃO: (°C): 214-216

6.9 COMPOSTO FS_{2b}



Fórmula Química: C₃₁H₂₁N₅O₄S

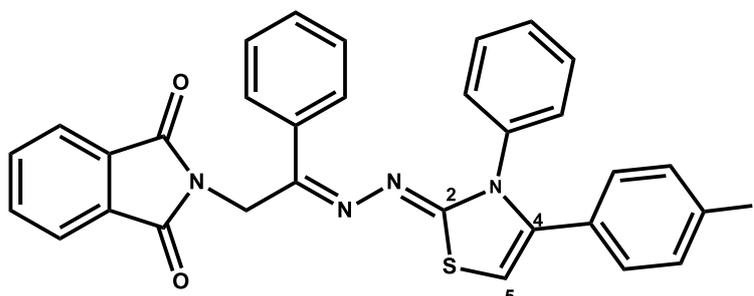
Peso Molecular: 559,59g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm}: 4,84 (s, 2H, CH₂); 6,72 (s, 1H, C5_{tiazol}); 6,96 (s, CH-Ar); 8,10 – 7,23 (m, 17H, CH-Ar).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm}: 170,13 (C2_{tiazol}); 167,75 e 167,00 (2C=O); 153,84 (C4_{tiazol}); 148,59 (C=N); 104,67 (C5_{tiazol}); 41,45 (CH₂); 137,32 – 122,54 (CH-Ar).

EMAR (espectrometria de massas de alta resolução): Calculado [M-H]⁺: 559,13;
Encontrado: 558,01

PONTO DE FUSÃO: (°C): 179-181

6.10 COMPOSTO FS_{2c}

Fórmula Química: C₃₁H₂₁FN₄O₂S
 Peso Molecular: 532,59g/mol

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ_{ppm}: 4,73 (s, 2H, CH₂); 6, (s, 1H, C5_{tiazol}); 7,74 – 7,04 (m, 19H, CH-Ar).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz), δ_{ppm}: 170,42 (C2_{tiazol}); 167,40 e 167,00 (2C=O); 160,24 (C2_{tiazol}); 153,58 (C=N); 138,58 (C4_{tiazol}); 102,23 (C5_{tiazol}); 35,51 (CH₂); 137,12 – 115,01 (C-Ar). **EMAR (espectrometria de massas de alta resolução):** Calculado [M-H]⁺: 532,14; Encontrado: 530,91

PONTO DE FUSÃO: (°C): 213-216

7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

7.1 MATERIAL E MÉTODO

7.1.1 Avaliação da atividade Anti-*T.cruzi*

7.1.2 Cultivo de células

Formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) foram cultivadas em meio LIT (Infusão de fígado, extrato de levedura, hemina e ácido fólico) pH 7,4 suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado (SFB – Gibco) e incubadas a 28 °C. As formas tripomastigotas e amastigotas foram mantidas em meio de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), pH 7,2 suplementado com 10% de SFB e incubadas a 37 °C, com 5% de CO₂.

Células LLC-MK₂ (célula epitelial do rim de macaca [*Macaca mulatta*]; CCL-7; American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA) foram cultivadas em meio DMEM, pH 7,2, suplementado com L-glutamina e 10% de SFB e incubadas a 37 °C em atmosfera de 5% de CO₂.

7.1.3 Avaliação da citotoxicidade das substâncias

A citotoxicidade foi avaliada em células LLC-MK₂ utilizando o ensaio de viabilidade celular através da redução do MTT (MOSSMANN, 1983). Este método se baseia na capacidade das enzimas desidrogenases mitocondriais em converter o sal de tretazólio (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) hidrossolúvel em uma substância púrpura insolúvel, denominada formazan.

Para isso, células LLC-MK₂ ($2,5 \times 10^5$ células mL⁻¹) em meio DMEM suplementado com 10% de SFB foram cultivadas em placas de 96 poços e mantidas a 37 °C e 5% de CO₂ por 24 h. Em seguida, as substâncias foram adicionadas em concentrações crescentes (10, 50, 100, 500 e 1000 µM) e a placa incubada durante 96 h. Após o tratamento, as células foram lavadas com PBS (pH 7,2) e incubadas na presença de MTT (2 mg mL⁻¹) por 4 h. O sobrenadante foi removido, os cristais de formazan foram solubilizados em DMSO e a leitura da absorbância realizada a 570 nm em um espectrofotômetro de placas (Power Wave XS – BioTek). A percentagem de células viáveis foi calculada em relação ao controle. Os valores de CC₅₀ (concentração citotóxica em 50%) foram determinados por análise de regressão logarítmica.

7.1.4 Determinação da atividade antiproliferativa das substâncias em formas epimastigotas

Formas epimastigotas (1×10^6 parasitos mL^{-1}) com cultivo de 96 h foram adicionadas em placa de 96 poços estéril, na presença e ausência das substâncias, diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) a 1%, em seguida incubadas por 96 h a 28 °C. Os tratamentos foram realizados nas concentrações finais de 1, 5, 10, 50 e 100 μM e o ensaio de viabilidade celular através da redução do XTT (MESHULAM, 1995). Este método se baseia na capacidade das enzimas desidrogenases mitocondriais em converter o sal de tretazólio hidrossolúvel (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphenyl)-(2H)-tetrazolium-5-carboxanilide) em uma substância púrpura, denominada formazan. Foram determinadas as concentrações inibitórias para 50% dos parasitos (IC_{50}) (VENDRAMETTO, 2010).

7.1.5 Avaliação da atividade das substâncias na proliferação de amastigotas intracelulares

Células LLC-MK₂ ($2,5 \times 10^5$ células mL^{-1}) em meio DMEM suplementado com 10% de SFB foram dispensadas em lamínulas de vidro redondas, dispostas em placa de 24 poços por um período de 24 h em estufa com 5% de CO_2 a 37 °C. Após esse período, o meio foi retirado para remoção das células não aderidas às lamínulas. Em seguida, foram adicionadas formas tripomastigotas de *T. cruzi* (1×10^7 parasitos mL^{-1}) em meio DMEM, suplementado com 10% de SFB e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de penicilina e estreptomicina, por 24 h. Após a interação entre as células e os parasitos, serão adicionadas as substâncias em diferentes concentrações, e incubados em estufa de CO_2 a 37 °C por 96 h. Após esse período, as lamínulas foram fixada com metanol por 5 min, coradas com solução de Giemsa 5% e montadas sobre lâminas de vidro com Permout®. A visualização de pelo menos 200 células foi realizada em microscópio óptico de luz e o índice de sobrevivência estabelecido (multiplicando-se o percentual de células infectadas pelo número médio de parasitos por célula). Os valores de IC_{50} foram determinados por análise de regressão logarítmica.

7.1.6 Avaliação da atividade das substâncias na viabilidade de formas tripomastigotas

Formas tripomastigotas (1×10^7 parasitos mL^{-1}) em meio DMEM suplementado com 10% de SFB foram adicionadas em microplacas de 96 poços na presença e ausência de concentrações crescentes (1, 5, 10, 50, 100 μM) das substâncias e incubadas por 24 h a 37 °C em atmosfera de 5% de CO_2 . O resultado foi obtido pela observação da motilidade, permitindo a determinação da viabilidade dos parasitos, utilizando o método de Brener (BRENER, 1962). Que consiste na contagem de parasitos de 50 campos de 5 μL da amostra em lâmina-lamínula e por fim, calculado o EC_{50} (concentração efetiva para 50% dos parasitos) por regressão logarítmica.

7.1.7 Tripomastigotas

As formas tripomastigotas (cepa Y) foram obtidas a partir da infecção *in vitro* (107 parasitos) da linhagem de células Vero, após estas obterem confluência em cultura. Para determinar o efeito antiproliferativo para formas tripomastigotas da cepa Y (4×10^6 parasitos/ml), mantidas em meio RPMI+1% de antibiótico+5% de SFB, foram semeadas em placas de 96 poços a 37°C, juntamente com diferentes concentrações dos compostos (0,19; 1,56; 6,25; 25; 100 $\mu\text{g/ml}$) por 24h a atmosfera de 5% de CO_2 . Obteve-se como controle negativo da reação poços sem tratamento e a droga de referência utilizada como controle positivo foi o benzonidazol. Determinou-se a viabilidade parasitária por contagem direta em câmara de Neubauer e, a partir desses valores, obteve-se a IC_{50} . Cada ensaio foi realizado em triplicata.

7.1.8 Resultados

A **Tabela 4** apresenta os valores obtidos de atividade biológica para citotoxicidade frente a células de mamíferos e formas epimastigota e amastigota, (para células LLC-MK₂) e a **Tabela 5** apresenta os valores para as células de macrófagos RAW 264.7 nas formas Tripomastigotas dos 10 compostos

Tabela 4: resultados obtidos para atividade anti *T. cruzi* das ftalimido-tiazóis

Cod.	Citotoxicidade (LLC-MK2) CC50 ***	Epimastigota IC₅₀ µM* <i>T. cruzi</i>	tripomastigota EC₅₀ µM** <i>T. cruzi</i>	Amastigota IC₅₀ µM* <i>T. cruzi</i>
FS _{1a}	551 ± 81	>206	>206	>206
FS _{1b}	555 ± 33	>213	>213	>213
FS _{1c}	507 ± 76	>197	>197	>197
FS_{1d}	241 ± 13	183 ± 22	>219	>219
FS _{1e}	428 ± 62	>224	>224	>224
FS _{1f}	507 ± 45	>230	>230	>230
FS _{1g}	136 ± 9	>197	>197	>197
FS _{2a}	445 ± 29	>211	>211	>211
FS _{2b}	1.025 ± 82	>183	>183	>183
FS _{2c}	633 ± 3	>178	>178	>178
BZD	614,7 ±115,2	6,5 ± 0,7	34,5 ±7,6	19,2 ± 3,0

*Ensaio de citotoxicidade

CC₅₀ = Concentração citotóxica para 50% das células

IC₅₀ = Concentração inibitória para 50% das ceulas

IS = Índice de seletividade frente a promastigota e amastigota

µM = micromolar (10⁶ mol/L)

BZD. = Controle positivo (Benzimidazol)

Para a forma epimastigota, dos 10 compostos testados, apenas o FS_{1d} com IC₅₀=183µM apresentou atividade, no entanto, ao comparar-se com o Benzimidazol (fármaco de referência) IC₅₀=6,5 µM, percebe-se que o BZD é 28x mais ativo que o FS_{1d}. Os outros compostos apresentaram IC₅₀ superior a 197µM.

Para as formas amastigota, todos os compostos testados, nenhum apresentou atividade frente ao *T. cruzi*, todos apresentaram IC₅₀ maior que 197µM

Tabela 5: Resultados obtidos para atividade anti *T. cruzi* das ftalimido-tiazóis para a forma tripomastigota

Composto	Citotoxicidade (CC₅₀)μM* RAW 264.7	Tripomastigotas IC₅₀ <i>T.cruzi</i> μM	IS
FS_{1a}	>413	51,62	>8,00
FS_{1b}	385	8,94	43,06
FS_{1c}	194,44	6,07	32,03
FS_{1d}	>438	14,85	29,50
FS_{1e}	59,7	58,82	0,96
FS_{1f}	>394	28,12	>14,01
FS_{1g}	123	54,01	2,27
FS_{2a}	178	4,48	39,73
FS_{2b}	>357	10,13	>35,24
FS_{2c}	>375	>187,76	<1,99
BZD	1.011,51	6,46	156,50

*Ensaio de citotoxicidade

CC₅₀ = Concentração citotóxica para 50% das células

IC₅₀ = Concentração inibitória para 50% das células

IS = Índice de seletividade frente a promastigota e amastigota

μ M = micromolar (10⁶ mol/L)

BZD. = Controle positivo (Benzimidazol)

Dentre todos os compostos analisados, seis se destacaram por sua atividade contra a forma tripomastigota do parasita. A maioria dos compostos apresentou IC₅₀ menor que o do controle. Essas moléculas apresentaram índices de seletividade maiores que o do Benzonidazol, apenas o FS_{1e} e o FS_{1g} foram menos seletivo que a referencia. Porém, foram 2,66 e 2,89 vezes mais ativo que a referencia respectivamente.

Quanto a citotoxicidade, todos apresentaram para a forma tripomatigota, foram menos promissores que o Benzimidazol. No entanto, o IC₅₀ das formas tripomastigotas dos nove compostos de destaque (FS_{1a}, FS_{1b}, FS_{1c}, FS_{1d}, FS_{1e}, FS_{1f}, FS_{1g}, FS_{2a} e FS_{2b}), faz com que os índices de seletividade dos compostos mostrem-se mais interessante que o Benzonidazol. Os composto FS_{1b} apresenta IS de 43,06 quase sete vezes mais seletivo para a célula do parasito

que para a ceula de mamíferos, enquanto que o Benzimidazol possui IS de 6,46. Assim, nós observamos que os substituintes fortemente ativadores do anel aromático promovem um acréscimo na atividade anti-*T.cruzi*.

Ainda para a forma tripomastigota, foi observado que no conjunto dos nove tiazóis, sete apresentaram atividade com **H** como substituinte no nitrogênio 3, com concentrações inibitórias entre 8,94 μ M e 58,82 μ M (FS_{1a}, FS_{1b}, FS_{1c}, FS_{1d}, FS_{1e} FS_{1f} e FS_{1g} maiores que a do fármaco de referência que é de 156,40 μ M. Os outros dois, apresentaram atividade com **Ph** como substituinte no nitrogênio 3 (FS_{2a} e FS_{2b}) com IC₅₀=4,48 e 10,13 μ M respectivamente. Com isso, baseado nos valores de IC₅₀ inferiores ao Benzimidazol pode-se afirmar que os compostos sintetizados podem ser promissores como agentes anti-*T.cruzi*. No entanto, os valores de CC₅₀ são inferiores ao fármaco de referencia e com isso, são mais tóxicos que o Benzimidazol.

7.2 ATIVIDADE BIOLÓGICA FRENTE AS FORMAS PROMASTIGOTA E AMASTIGOTA (*L. amazonensis* e *infantum*)

7.2.1 Citotoxicidade

A citotoxicidade em células de mamíferos foi avaliada através de ensaios com MTT. Esse ensaio baseia-se na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Cristais de formazan são formados no interior dessas células, que deve ser lisadas para a solubilização e posterior análise por espectrofotometria. Uma vez que a quantidade de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células viáveis, quanto maior for a viabilidade celular, maior será a proporção de redução do MTT e maior será a absorbância.

Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram plaqueados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂, para aderência. Após esse tempo, os compostos foram adicionados nas concentrações de 6 a 200 μ g/mL e incubados novamente por um período de 48h. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25 μ L de MTT (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio) a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2h, a 37°C e ao abrigo da luz. Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100 μ L de DMSO foi adicionado por poço para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT.

Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC₅₀) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

7.2.2 Promastigotas

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/00 LTB 0016) e *L. infantum* (cepa MHOM/MA/67/ITMAP-263) foram mantidas a 26° C em meio Schneider's (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (meio completo). Parasitas na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos.

Para o ensaio de atividade leishmanicida, os parasitas foram contados e diluídas em meio Schneider's (Sigma) completo a 1×10^6 células/mL. Os parasitas foram incubados a 26°C na presença de diferentes concentrações dos compostos (1,5 a 200µg/mL) por 72h. Parasitas incubados apenas com meio de cultura e com Miltefosina foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. O crescimento celular foi avaliado e a IC₅₀/72h foi determinada por análise de regressão. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

7.2.3 Amastigotas

Para esta avaliação, macrófagos RAW 264.7 foram distribuídos em placas de 24 poços (3×10^5 células/mL) contendo uma lamínula redonda estéril. Os macrófagos foram incubados para aderência por 2h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO₂. Após essa incubação inicial foram acrescentadas promastigotas infectivas de *L. amazonensis* ou *L. infantum* na proporção de 8 parasitas/ macrófago, por um período de 6h, a 37°C e 5% de CO₂. Os parasitas não internalizados foram removidos por lavagem e a cultura foi incubada novamente na presença de diferentes concentrações dos compostos (6 a 200 µg/mL) por 24h, a 37°C e 5% de CO₂. A miltefosina foi utilizada como controle positivo, nas mesmas concentrações dos compostos. Após a incubação, as lamínulas contendo a cultura foram lavadas com PBS, coletadas e coradas com kit de coloração Panótico Rápido. A porcentagem de macrófagos infectados, bem como o número de amastigotas/macrófagos foi determinada pela contagem de 100 macrófagos, em duplicata. A atividade leishmanicida dos compostos foi verificada pela diminuição no número de macrófagos infectados e de amastigotas intracelulares nas culturas tratadas em comparação com a cultura controle sem tratamento. Os valores de IC₅₀ foram calculados por análise de regressão utilizando o software GraphPad Prism.

7.2.4 Resultados (*L. amazonensis* e *Infantum*)

Os valores obtidos em testes de atividade biológica para citotoxicidade, IC₅₀ para as formas promastigota da *L. amazonensis* e *infantum*, os 10 compostos estão dispostos na **Tabela 6** e para as formas amastigotas estão na **Tabela 7**.

Tabela 6: Resultados obtidos para atividade leishmanicida dos fitalimido-tiazóis na forma promastigota

*Ensaio de citotoxicidade

Cod.	Citotoxicidade (CC₅₀)µM* RAW 264.7	Promastigota IC₅₀ µM <i>L. amazonensis</i>	Promastigota IC₅₀ µM <i>L. infantum</i>
FS_{1a}	>413	140	121
FS_{1b}	385	>427	>427
FS_{1c}	194,44	197,85	117,11
FS_{1d}	>438	110	71,7
FS _{1e}	59,7	>376	199,57
FS _{1f}	>394	>394	>394
FS _{1g}	123	>409	>409
FS _{2a}	178	>367,22	>367,22
FS _{2b}	>357	>357,40	>357,40
FS _{2c}	>375	>375	>375
Ctr.	56,67	15,82	18,00

CC₅₀ = Concentração citotóxica para 50% das células

IC₅₀ = Concentração inibitória para 50% das ceulas

IS = Índice de seletividade frente a promastigota e amastigota

µM = micromolar (10⁶ mol/L)

Ctr. = Controle positivo (Miltefosina)

Para as formas promastigota, da *L. amazonensis*, apenas os compostos FS_{1a} e FS_{1d} foram os melhores da série com IC₅₀ = 140µM e 110µM respectivamente, esses valores são bem superiores a Miltefosina a qual foi usada como fármaco de referência com IC₅₀ = 15,82µM.

Ainda na forma promastigota mas desta vez para *L. infantum*, os mais ativos foram os compostos: FS_{1a}, FS_{1c} e FS_{1d} com IC₅₀ = 121μM, 117μM e 71μM respectivamente. O mais ativo de todos foi o FS_{1d}, entretanto, não foi mais ativo do que a Miltefosina com IC₅₀= 18,00μM, quase 4x menos ativo que a referência, todos os outros apresentaram IC₅₀ maiores que 200μM.

Quanto a seletividade, nenhum dos compostos sintetizados apresentou seletividade em comparação com o fármaco de referência. Em relação a toxicidade, todos os compostos sintetizados apresentaram CC₅₀ maiores que a referência, sendo assim, todos os compostos mostraram-se pouco citotóxicos, apenas o FS_{1e} apresentou CC₅₀ próximo da referência.

Tabela 7: Resultados obtidos para atividade leishmanicida dos fitalimido-tiazóis na forma amastigota

Cod.	Citotoxicidade (CC₅₀)μM* RAW 264.7	Amastigota IC₅₀ μM <i>L. amazonensis</i>	Amastigota IC₅₀ μM <i>L. infantum</i>
FS_{1a}	>413	171,08	82,68
FS_{1b}	385	244,80	160,56
FS_{1c}	194	186,36	81,14
FS_{1d}	>438	196,41	34,06
FS_{1e}	59,7	243,30	82,58
FS _{1f}	>394	228,23	103,09
FS_{1g}	123	218,80	>409
FS _{2a}	178	>367,22	>367,22
FS _{2b}	>357	>357,40	>357,40
FS _{2c}	>375	>375	>375
Ctr.	56,67	7,07	1,67

Legenda:

*Ensaio de citotoxicidade

CC₅₀ = Concentração citotóxica para 50% das células

IC₅₀ = Concentração inibitória para 50% das células

IS = Índice de seletividade frente a promastigota e amastigota

μM = micromolar (10⁶ mol/L)

Ctr. = Controle positivo (Milttefosina)

Nas formas amastigotas da *L. amazonensis*, apenas o composto FS_{1a} com IC₅₀= 171,08μM foi o mais ativo da série, entretanto ele foi 24x menos ativo que a Miltefosina,

($IC_{50}= 7,07\mu M$). Todos os outros compostos não apresentaram atividade, seus IC_{50} foram maior que $200\mu M$. Quanto a citotoxicidade, todos se apresentaram menos tóxicos que a referência, apenas o FS_{1e} apresentou citotoxicidade próxima da miltefosina $CC_{50}=56,6\mu M$. Além disso, nenhum composto apresentou seletividade em relação a miltefesina.

Já para as formas amastigota da *L. infantum* os compostos mais ativos foram FS_{1a} , FS_{1c} , FS_{1d} e FS_{1e} com $IC_{50} = 82,68$; $81,14$; $34,06$ e $82,58\mu M$ respectivamente, ao compararmos com o da Miltefosina $IC_{50}= 1,67\mu M$ os valores foram muito elevados, quase 30 vezes maior do que o composto FS_{1d} que foi o mais ativo da série. Quanto ao índice de seletividade percebe-se que os compostos também não foram bem seletivos tendo em vista que seus valores são bem inferiores ao da Miltefesina $8,00$ (forma amastigota *L. amazonensis*) e $33,87$ (forma amastigota *L. infantum*).

Uma possível justificativa para a baixa atividade é a substituição nos C5 e C4 do tiazól por substituintes mais volumosos, como no caso de GOMES et al., (2016) que em sua série sintetizou os compostos **6a**, **6j**, **6h** e **6k** os quais foram os mais ativos da série, e nos mostra que possivelmente substituições no anel tiazól por compostos mais volumosos, tais como, benzino e/ou anéis aromáticos substituídos, tendem a ser mais ativos. Além disso, o grupo espaçador não deve ser muito volumoso, pois provavelmente grupos volumosos entre os blocos de construção podem, também, diminuir a atividade, como mostrou SILVA, 2013 em seu composto **PM01**, o grupo espaçador era uma hidrazona, e seu composto foi o melhor de sua série, SANTOS 2018, também mostrou em sua serie o composto **IRSF.03** que tiosemicarbonas substituídas com grupos volumosos apresentam boa atividade. No entanto, ao ciclizar a tiazol, os resultados não foram satisfatórios, reforçando assim que grupos volumosos como agentes espaçadores diminuem a atividade dos tiazóis. Entretanto, não se pode afirmar com certeza se a atividade de uma molécula está ou não relaciona aos seus substituintes ou aos grupos espaçadores entre os blocos de construção.

8 CONCLUSÕES

As comprovações de dados estruturais através de análise de RMN ^1H , RMN ^{13}C , e Espectrometria de Massas de alta resolução, mostram que as 10 ftalimido-tiazóis em rota sintética, foram efetivamente formadas.

Dos 10 compostos sintetizados e testados frente a forma epimastigota, apenas 1 (FS_{1d}) mostrou-se ativo com $\text{IC}_{50} = 183 \mu\text{M}$, porém 2,5x mais toxico que a referência ($\text{CC}_{50} = 241 \mu\text{M}$) e BZD = $614,1 \mu\text{M}$). Além disso, apenas um composto apresentou -se menos toxico que o fármaco de referencia FS_{2b} com $\text{CC}_{50} = 1.025 \mu\text{M}$ 1,66 vezes menos toxico que o BZD. No entanto, este não apresentou atividade frente a nenhuma forma do *T. cruzi*, nenhum composto sintetizado apresentou atividade.

Dentre os 10 compostos finais testados frente a forma promastigota da *L. amazonensis*, apenas 3 apresentam atividade (FS_{1a} $\text{IC}_{50} = 140 \mu\text{M}$; FS_{1c} $\text{IC}_{50} = 198 \mu\text{M}$ e FS_{1d} $\text{IC}_{50} = 110 \mu\text{M}$), seus IC_{50} foram 85, 12,5 e 7,0 vezes maiores do que a Miltefosina $15,82 \mu\text{M}$. Porém dois deles não apresentaram seletividade FS_{1a} e FS_{1d}, apenas o FS_{1c} obteve o IS = 0,98 3x vezes menor que a referencia 3,14.

Para a forma promastigota da *L. infantum*, quatro compostos apresentaram atividade (FS_{1a}, FS_{1c}, FS_{1d} e FS_{1e}) todos com $\text{IC}_{50} = 121 \mu\text{M}$, $117 \mu\text{M}$, $71,7 \mu\text{M}$ respectivamente, o mais ativo dentre os quatro foi o FS_{1e} com $\text{IC}_{50} = 71,7 \mu\text{M}$ quase 4 vezes maior que miltefosina..

Para as formas amastigota da *L. amazonensis* os compostos que apresentaram atividade foram: FS_{1a}; FS_{1b}; FS_{1c}; FS_{1d}; FS_{1e}; FS_{1f} e FS_{1g}, com $\text{IC}_{50} = 171,08$; $244,08$; $186,36$; $196,41$; $243,30$; $228,23$ e $218,80 \mu\text{M}$ respectivamente. No entanto, apenas quatro deles apresentaram índice de seletividade, mas não foram suficientes em comparação com a referência.

Já para as formas amastigota da *L. infantum* apenas seis apresentaram atividade FS_{1a}; FS_{1b}; FS_{1c}; FS_{1d}; FS_{1e} e FS_{1f} com $\text{IC}_{50} = 82,68$; $160,56$; $81,14$; $34,06$; $82,58$ e $102,09$ respectivamente. O composto que mais ativo foi o FS_{1d} com IC_{50} 20 vezes maior que o de referencia 1,67.

Para as formas tripomastigota dos macrófagos RAW 264.7 De forma geral, todos os compostos testados apresentaram-se menos tóxicos que da Miltefosina (para as formas promastigota e amastigota da *L. amazonensis e infantum*), mas apenas 1 apresentou-se pouco toxico para o *T-cruzi*. No entanto, todos os compostos mostraram alto IC_{50}

e o baixo índice de seletividade. Foi demonstrado também que, possivelmente, há uma relação entre os grupos substituintes do C4 e C5 do tiazól com a toxicidade dos compostos, ou seja, quanto mais volumoso for o grupo substituinte no C4 e/ou C5 menos tóxico se torna o composto.

Dante do exposto, é de suma importância o desenvolvimento de novos fármacos (preferencialmente com pouco ou nenhum efeito colateral) para doenças negligenciadas, como por exemplo, leishmaniose e chagas. Nos estágios da doença as chances de tratamento, enquanto a doença está no começo, aumenta consideravelmente as chances de cura.

REFERÊNCIAS

- SILVA, A. C.; **Análise *in vitro* do potencial imunomodulatório e leishmanicida de derivados de tiosemicarbazona e ftalimida**; Universidade Federal De Pernambuco Centro De Ciências Da Saúde / Ufpe- Pernambuco Centro De Ciências Da Saúde / Ufpe-. n. 81, p. 4-7, 2013.
- ABDEL-AZIZ, A. A. -M. et al.; **Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Cyclic-Imides as Hypoglycaemic, Anti-Hyperlipidemic Agents**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.46, p.4324-4329, 2011.
- AKAGÜN, H.; KARAMELEKOGLU, I.; BERK, B.; KURNAZ, I.; SARIBIYIKA, G.; ÖKTEM, S.; KOCAGÖZ, T.; **Synthesis and Antimycobacterial Activity of Some Phthalimide Derivatives**; Bioorganic & Medicinal Chemistry; v.20, p. 4149-4154, 2012.
- ALANAZI, A.; EL-AZAB, A. S.; AL-SUWAIDAN, I. A.; ELTHAIR, K. E. H.; ASIRI, Y. A.; ABDEL-AZIZ, N. I.; ABDEL-AZIZ, A. A.-M.; **Structure-Based Design of Phthalimide Derivatives as Potential Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitors: Anti-Inflammatory and Analgesic Activities**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.92, p.4634-4641, 2015.
- AMARAL, A.T.; ANDRADEB, C.H.; KUMMERLEK, A.E.; GUIDOD, R.V.C.; **A evolução da Química Medicinal no Brasil: Avanços nos 40 Anos da Sociedade Brasileira de Química**; Química Nova, v.40, no. 6, p. 694-700, 2017.
- ARORA, S. et al.; **Anticancer Activities of Thiosemicarbazides/Thiosemicarbazones: A Review**; International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.6, no.9, p.34-41, 2014.
- BELARDO, H.; GRAMBINO, D.; **The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes**; Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, v.4, p.31-39, 2004.
- BRASIL, Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância e Saúde. **Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013**; Boletim Epidemiológico, vol 46, nº 21, 2015.
- CARDOSO, M. V. O. et al.; **Design, Synthesis and Structure-activity Relationship of Phthalimides Endowed With Dual Antiproliferative and Immunomodulatory Activities**; European Journal of Medicinal Chemistry; v. 96, p. 491-503, 2015.
- COELHO, L. C. D. et al.; **Novel Phthalimide Derivatives With TNF- α and IL-1 β Expression Inhibitory and Apoptotic Inducing Properties**; Med. Chem. Commun., v.5, p.758-765, 2014.
- COSTA, P. M. et al.; **Improvement of *in vivo* Anticancer and Antiangiogenic Potential of Thalidomide Derivatives**; Chemico-Biological Interactions, v.239, p.174-183, 2015.
- DeSIMONE, R.W.; CURRIE, K.S.; MITCHELL, S.A.; DARROW, J.W.; PIPPIN, A.; **Privileged Structures: Applications in Drug Discovery**. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, v. 7, p.473-493, 2004.
- DNDi - Drugs for Neglected Diseases initiative; Pacientes negligenciados; Disponível em: <https://www.dndial.org/> ; Acesso em fevereiro de 2018

ESPÍNDOLA, J. W. P. et al.; **Synthesis and Structure-activity Relationship Study of a New Series of Antiparasitic Aryloxyl Thiosemicarbazones Inhibiting *Trypanosoma cruzi* Cruzain**; ; European Journal of Medicinal Chemistry; v. 111, p. 818-835, 2015.

FILHO, G. B. O. et al.; **Structural Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of 4-Thiazolidinones Against *Trypanosoma cruzi***; Bioorganic & Medicinal Chemistry, v.23, p.7478–7486, 2015.

GOMES, P.A.T. de M. et al.; **Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of *Trypanosoma cruzi***; European Journal of Medicinal Chemistry; v. 111, p. 46-57, 2016.

KAMINSKI, K.; OBNISKA, J.; WIKLIK, B.; ATAMANYUK, D.; **Synthesis and Anticonvulsant Properties of New Acetamide Derivatives of Phthalimide, and its Saturated Cyclohexane and Norbornene Analogs**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.46, p.4634-4641, 2011.

KUSHUAHA, N.; KAUSHIK, D.; **Recent Advances and Future Prospects of Phthalimide Derivatives**; Journal of Applied Pharmaceutical Science; v.6(03), p. 159-171, 2016.

LEITE, A. C. L.; et al.; **Phthaloyl Amino Acids as Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Prototypes**; Medicinal Chemistry Research, v.23, p.1701-1708, 2014.

LIPINSKI, C. A. et al.; **Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings**; Advanced Drug Delivery Reviews, v.23, p.3–25, 1997.

MOREIRA et al.; **Conformational Restriction of Aryl Thiosemicarbazones Produces Potent and Selective Anti-*Trypanosoma cruzi* Compounds Which Induce Apoptotic Parasite Death**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.75, p.467-478, 2014.

OLIVEIRA, R. B. et al.; **Synthesis and Antimalarial Activity of Semicarbazone and Thiosemicarbazone Derivatives**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.43, p.1983-1988, 2008.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde; **Relatório da OMS informa progressos sem precedentes contra doenças tropicais negligenciadas**; Disponível em: http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5401:relatorio-da-oms-informa-progressos-sem-precedentes-contradoencas-tropicais-negligenciadas&Itemid=812; Acesso em: 05/12/2017

PESSOA, C. et al.; **Discovery of Phthalimides as Immunomodulatory and Antitumor Drug Prototypes**; ChemMedChem, v.5, p. 523-528, 2010.

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

RASSI, A. Jr. et al.; **Chagas Disease**; Seminar; v.375, p.1388-1402, 2010.

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

SINGH G.; SAROA, A.; GIRDHAR, S.; RANI, S.; SAHOO, S.; CHOQUESILLO-LAZARTE, D.; **Synthesis, Characterization, Electronic Absorption and Antimicrobial Studies of N-(Silatranylpropyl)Phthalimide Derived from Phthalic Anhydride**; Inorganica Chimica Acta, v. 427, p. 232-239, 2015.

SANTIAGO, E. F. et al.; **Evaluation of the Anti-*Schistosoma mansoni* Activity of Thiosemicarbazones and Thiazoles**; Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v.58, n.1, p.352-363, 2014.

TROUILLER, P. et al.; **Drug Development for Neglected Diseases: a Deficient Market and a Public-Health Policy Failure**; Public Health /TheLancet; v.359, p.2188-2194, 2002

VALVERDE, R.; Doenças Negligenciadas; **Agencia Fiocruz de Notícias; Disponível Em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>; Acesso em 28/11/2017**

WILLIAMS, R. et al.; **Synthesis and SAR of Centrally Active mGlu₅ Positive Allosteric Modulators Based on an Aryl Acetylenic Bicyclic Lactam Scaffold**; Bioorg Med Chem Lett, v.21(5), p.1350-1353, 2011.

WHO - World Health Organization; **Chagas Disease (American trypanosomiasis)**; Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>; Acesso em: 05.12.2017

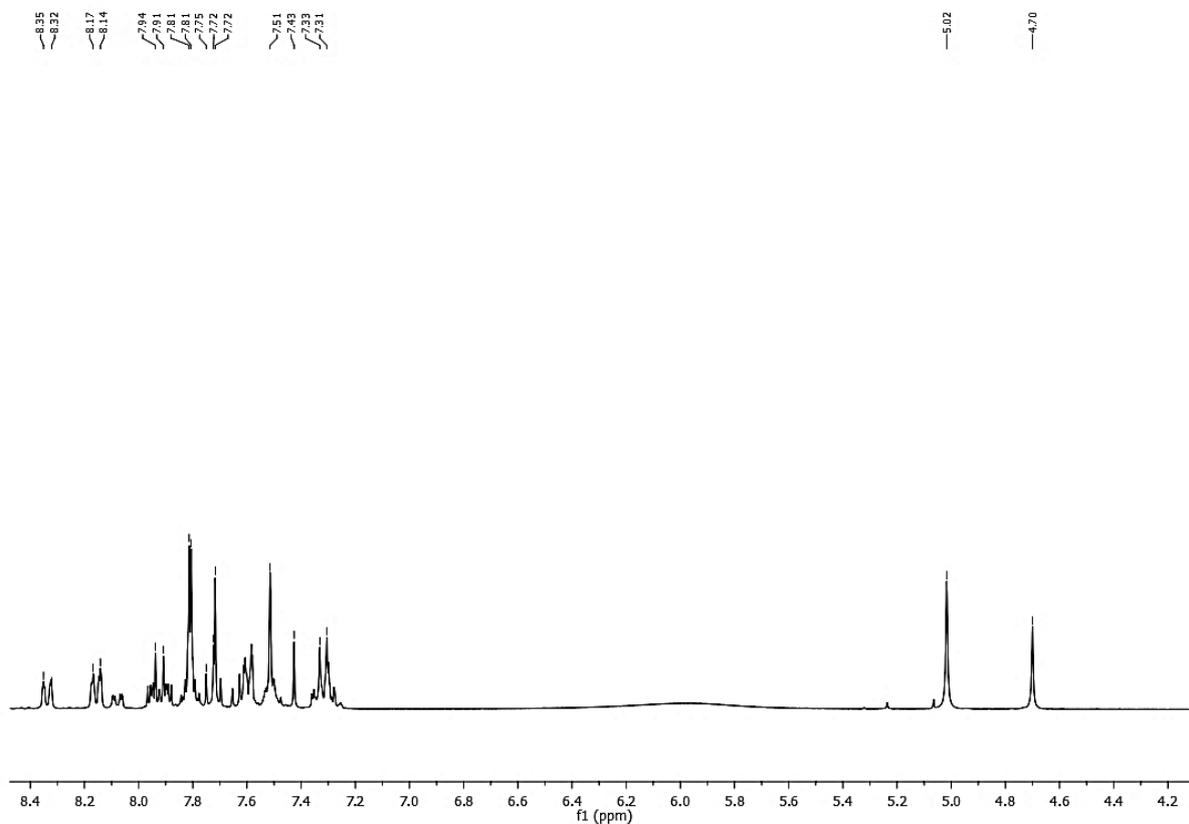
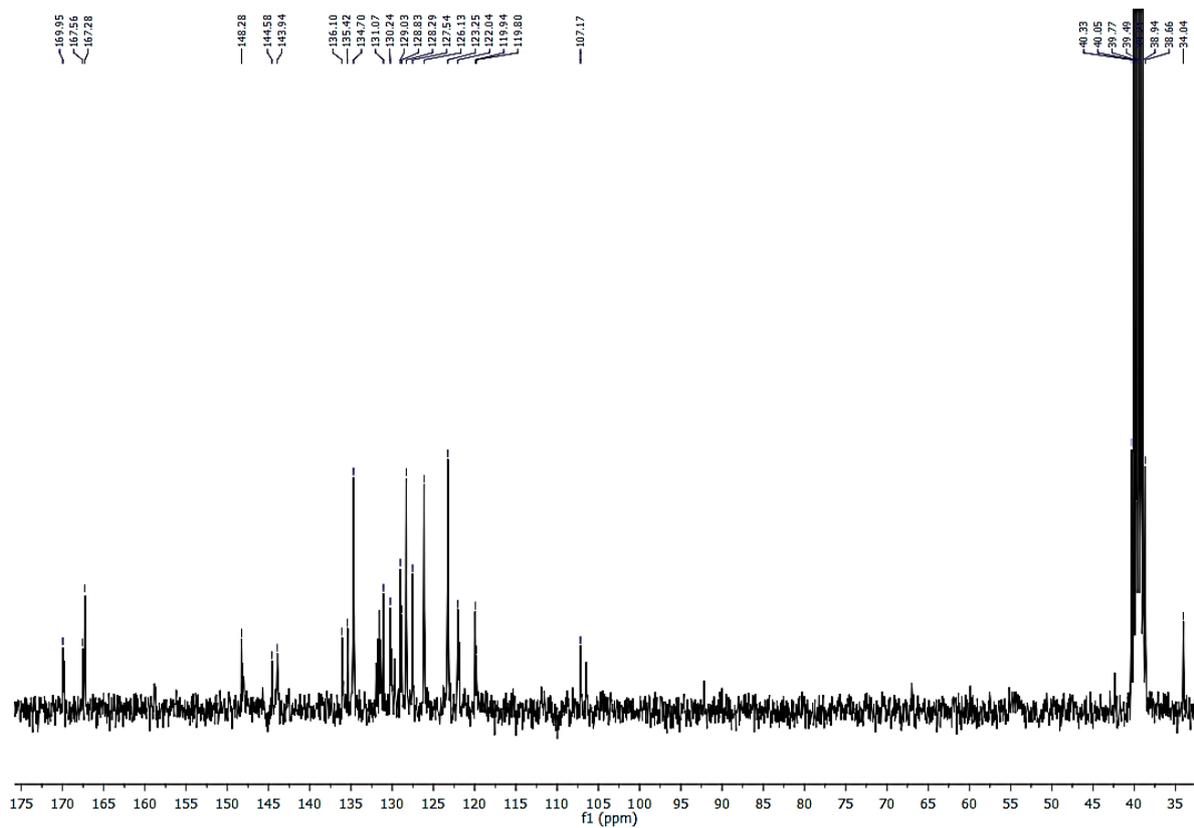
YOGESHWARI, P. et al.; **Anticonvulsant and Neurotoxicity Evaluation of Some 6-Chlorobenzothiazolyl-2-Thiosemicarbazones**; European Journal of Medicinal Chemistry; v.37, p.231-236, 2002.

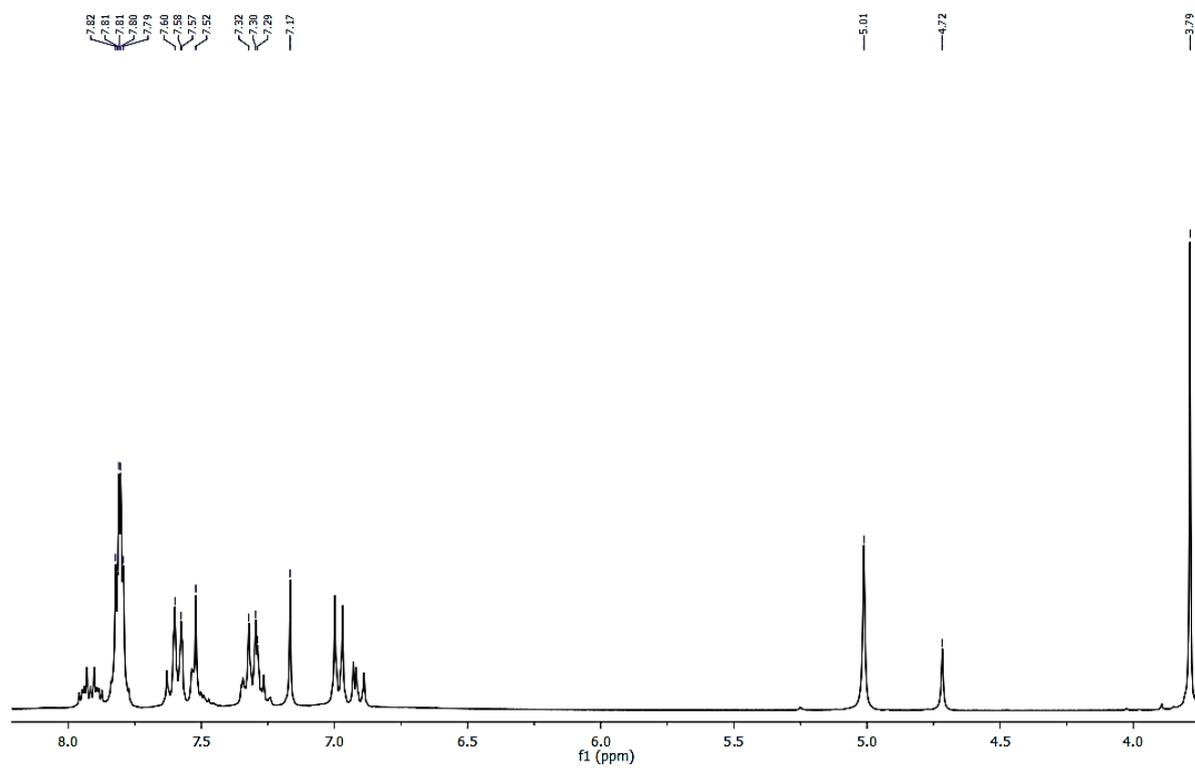
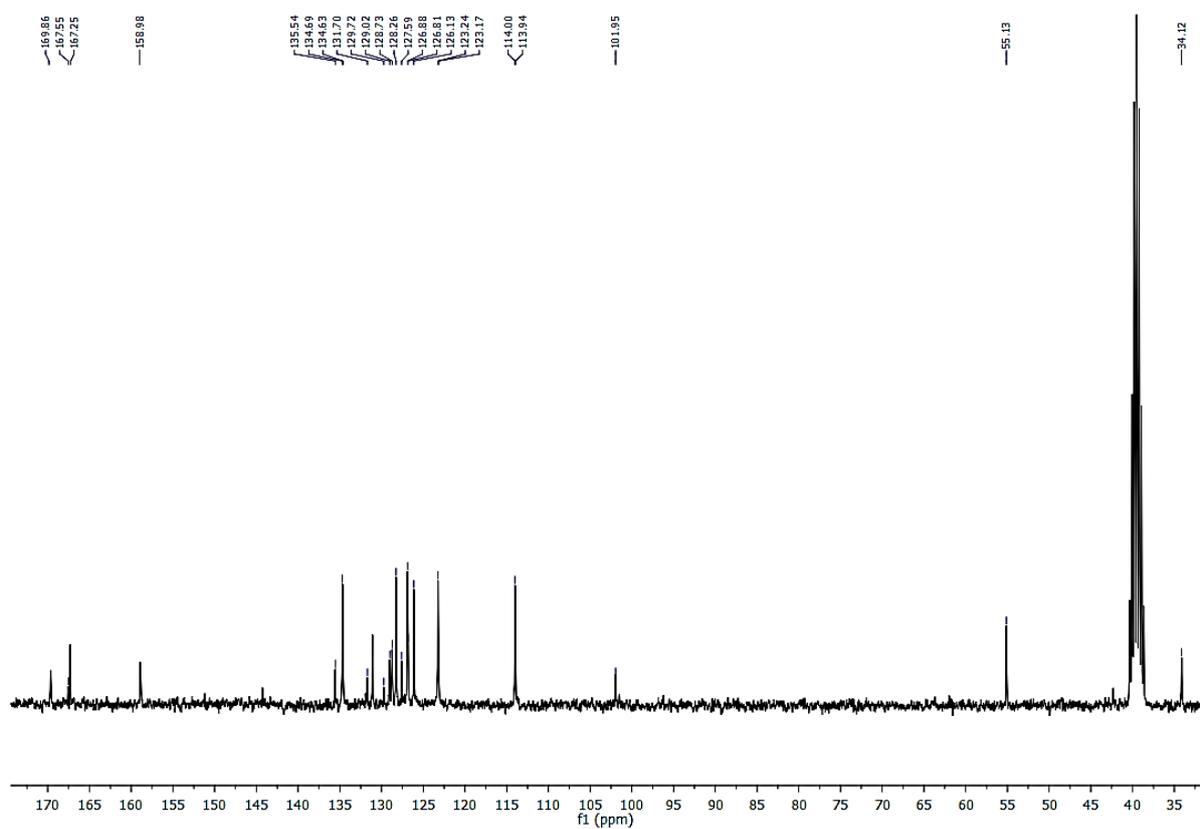
BRENER, Z. Therapeutic activity criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 4, 386-396, 1962.

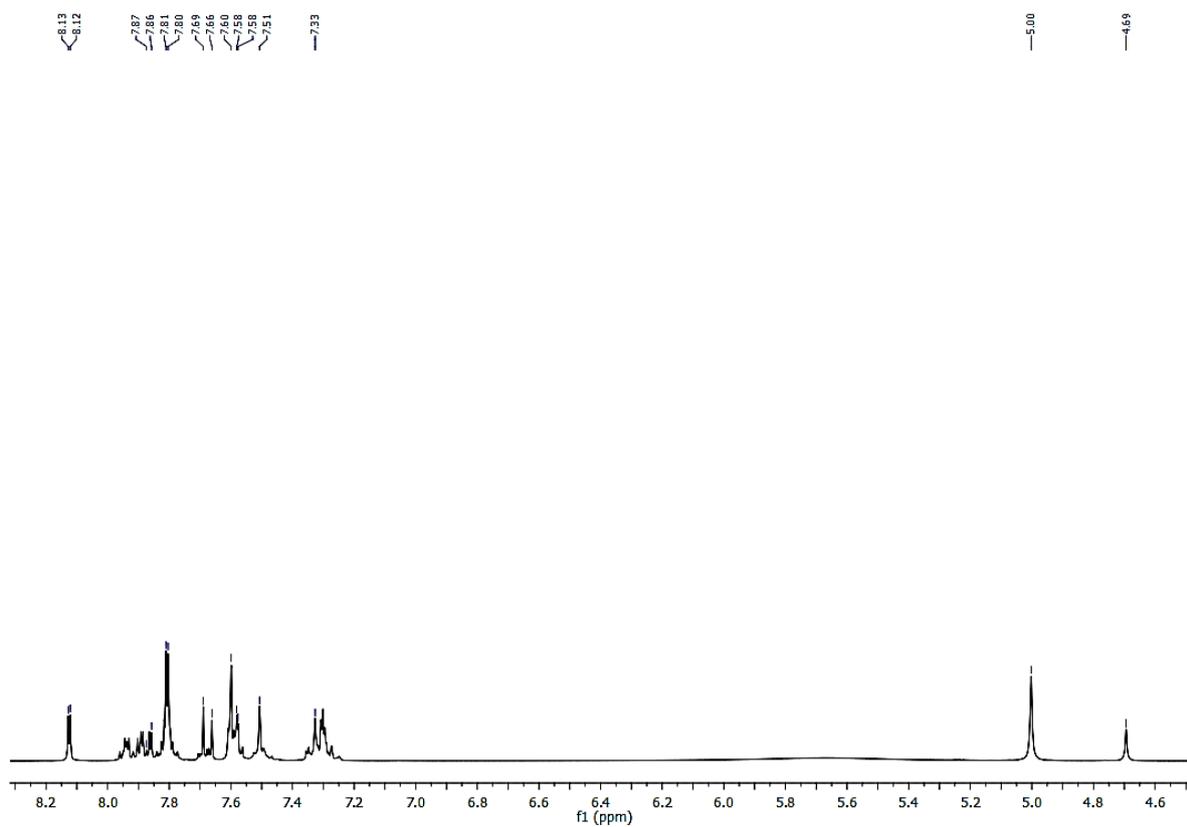
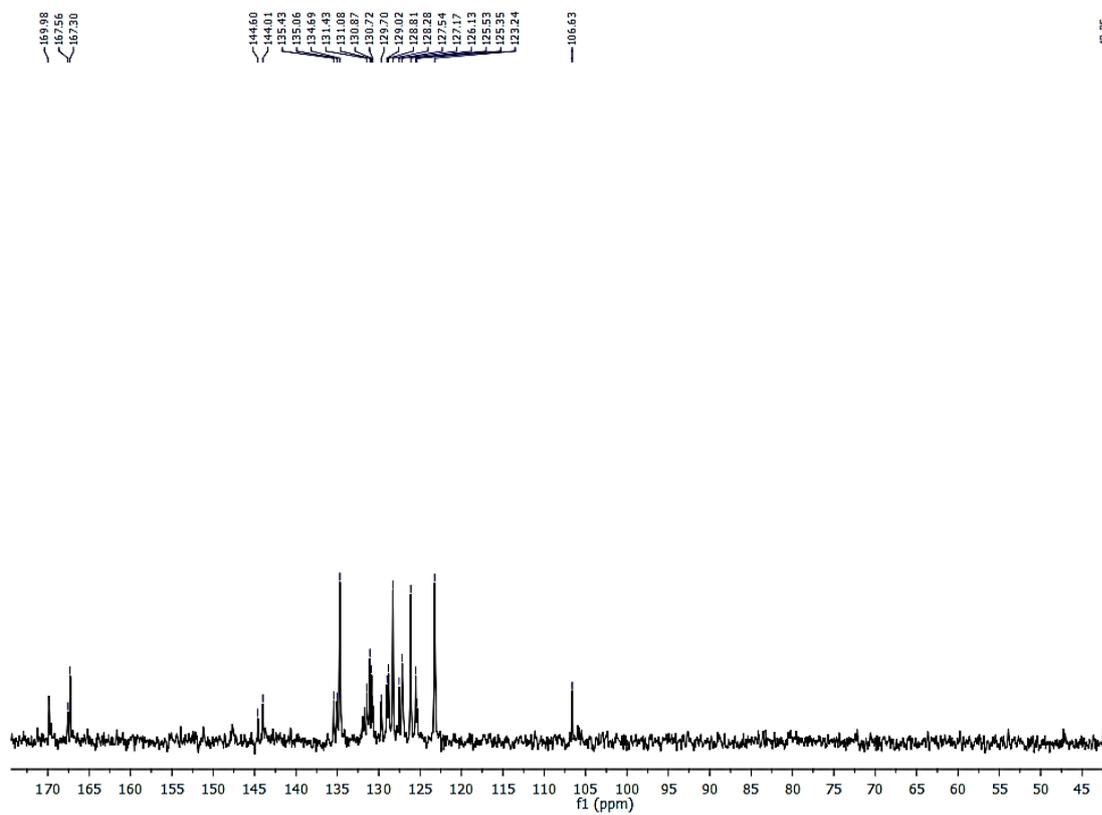
MESHULAM T, LEVITZ SM, CHRISTIN L, DIAMOND RD. A simplified new assay for assessment of fungal cell damage with the tetrazolium dye, (2,3)-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulphenyl)-(2H)-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT). Journal of Infectious Disease. 172 (4), 1153-1156, 1995.

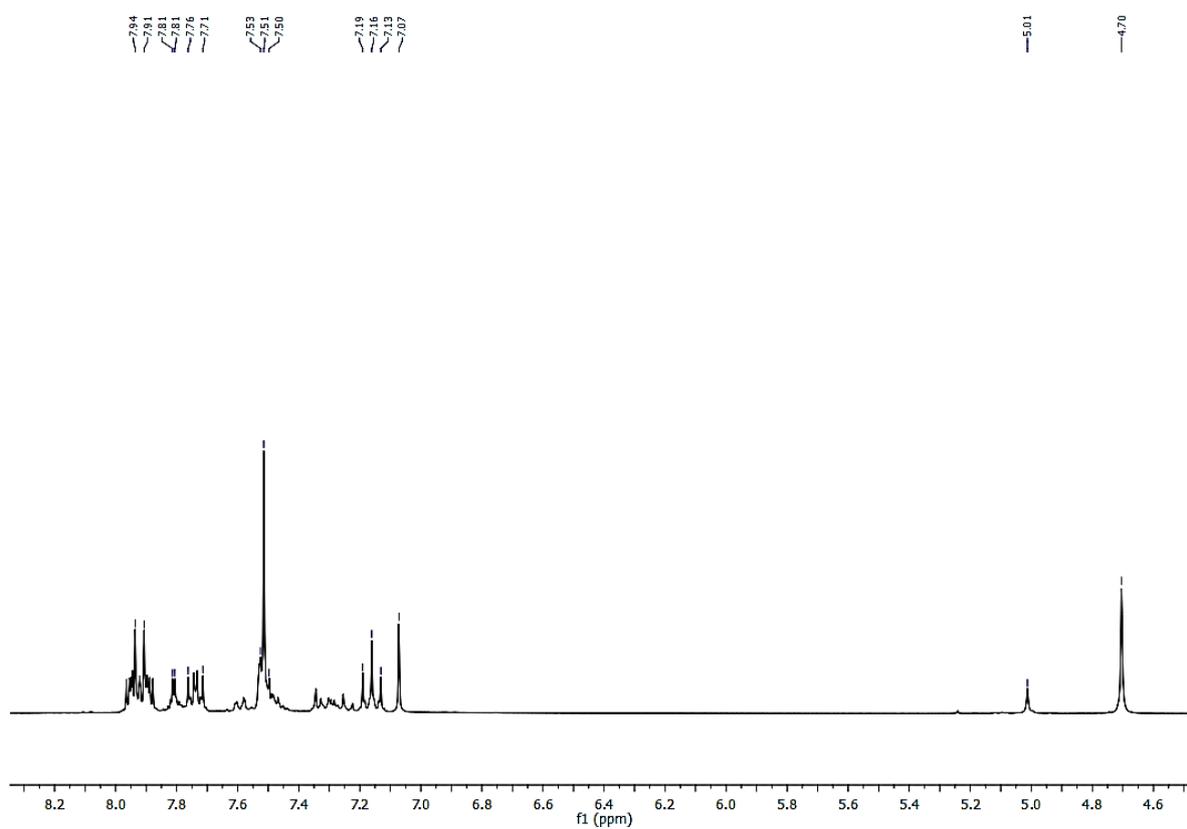
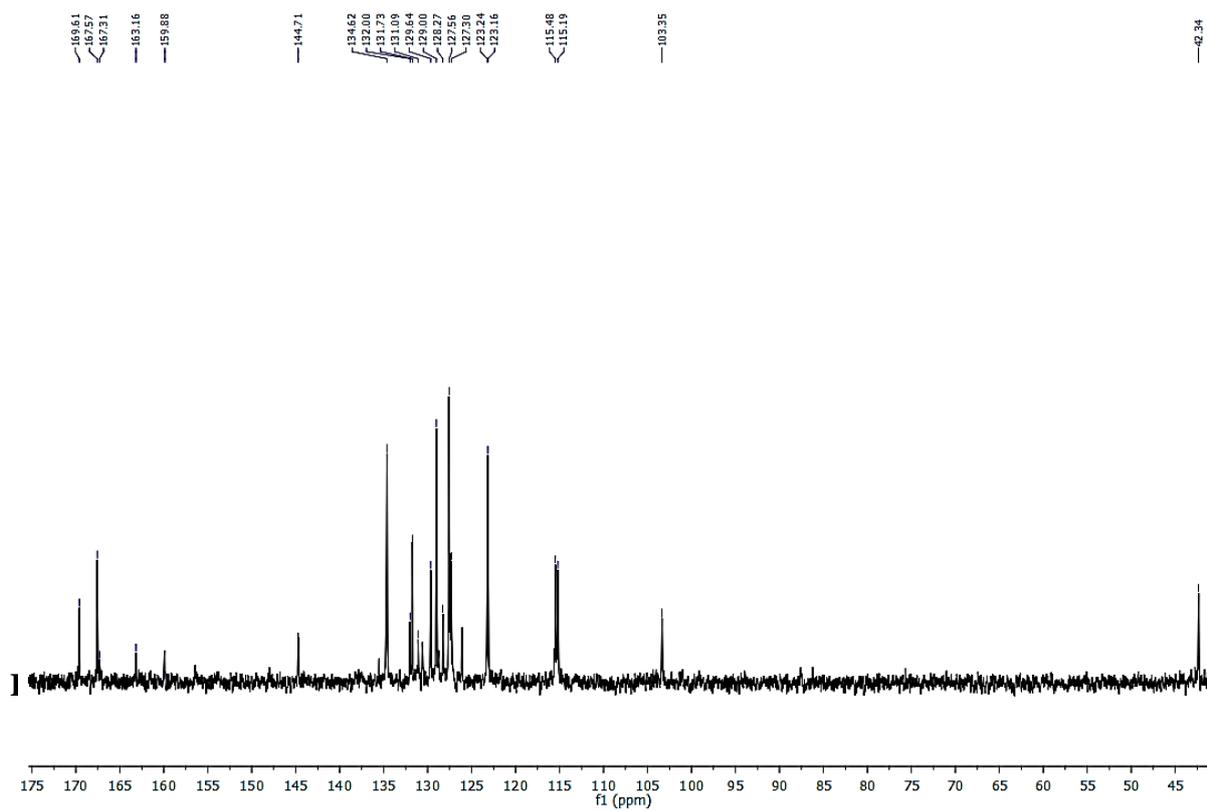
MOSSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods, 65, 55-63, 1983.

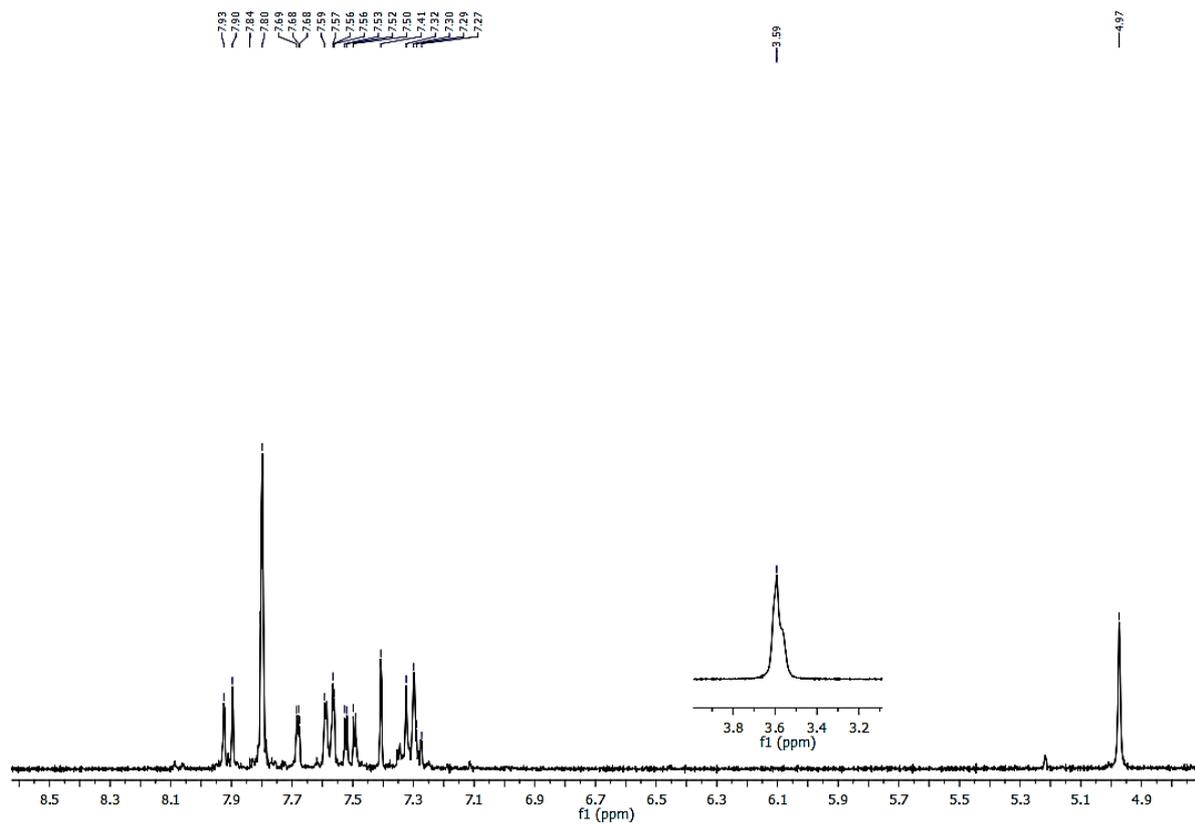
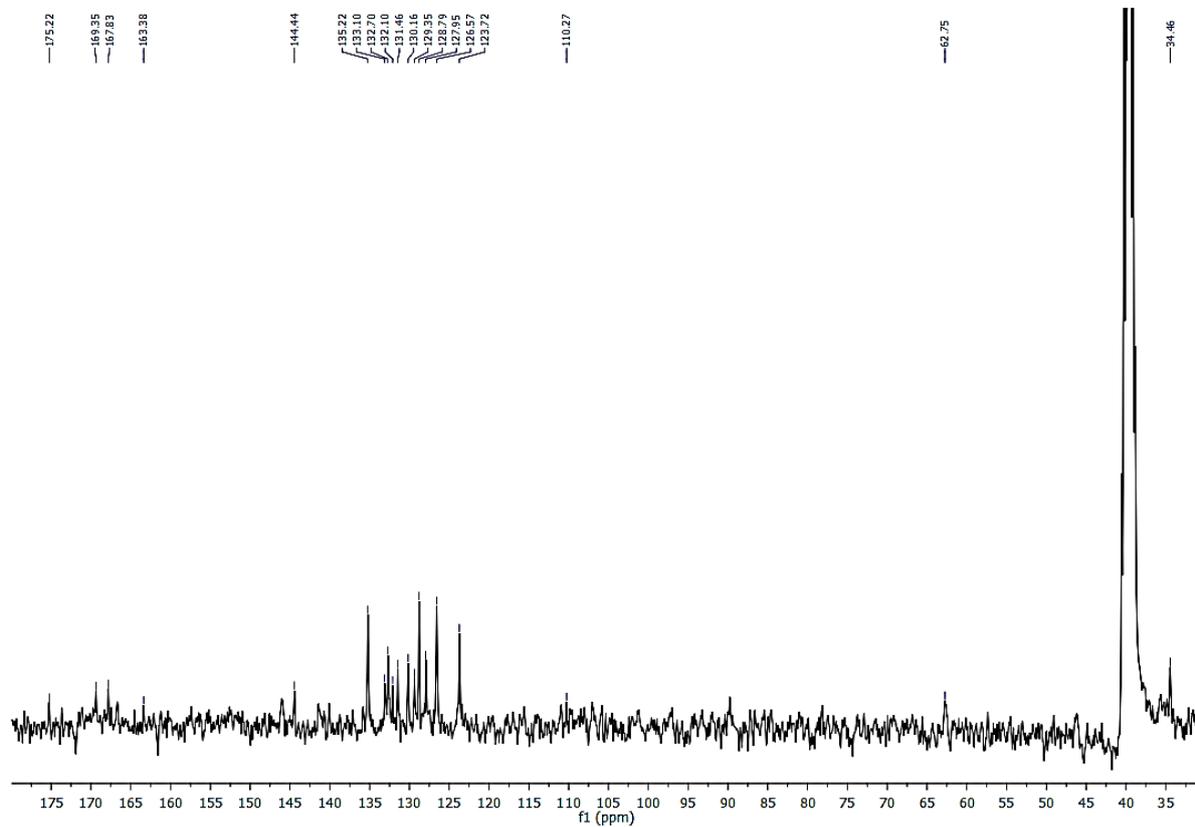
VENDRAMETTO, M. C.; SANTOS A. O.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A.; UEDA-NAKAMURA, T. Evaluation of antileishmanial activity of eupomatenoide-5, a compound isolated from leaves of *Piper regnellii* var. *pallidum*. Parasitology International. 59, 154-158, 2010.

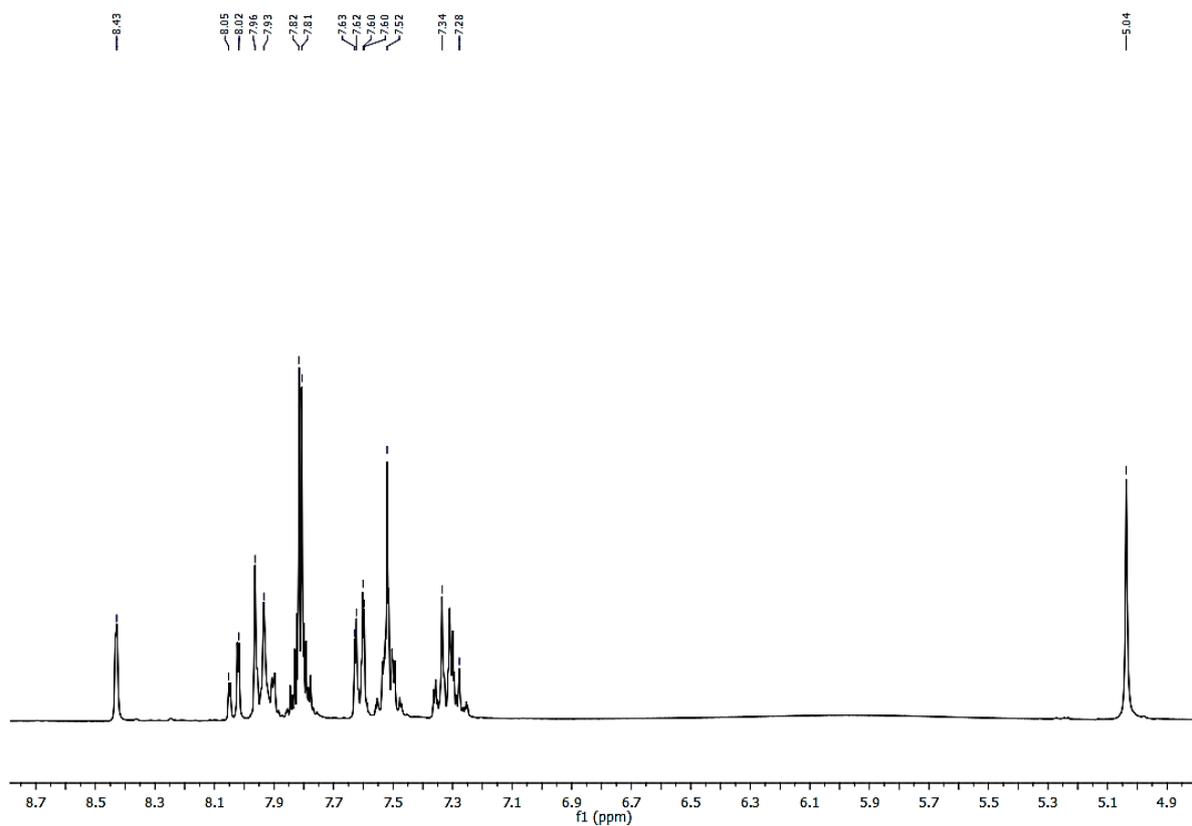
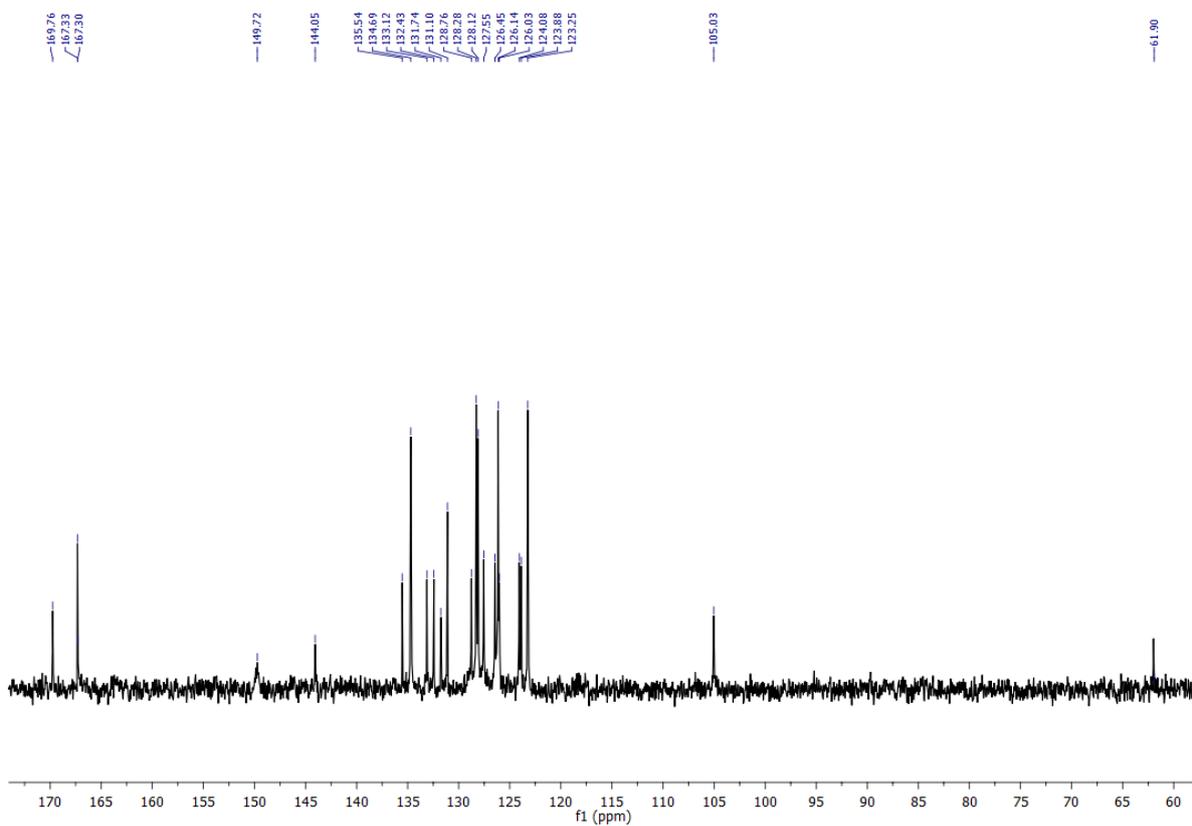
APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C DOS COMPOSTOS FINAISRMN ^1H DO FS $_{1a}$ RMN ^{13}C DO FS $_{1a}$ 

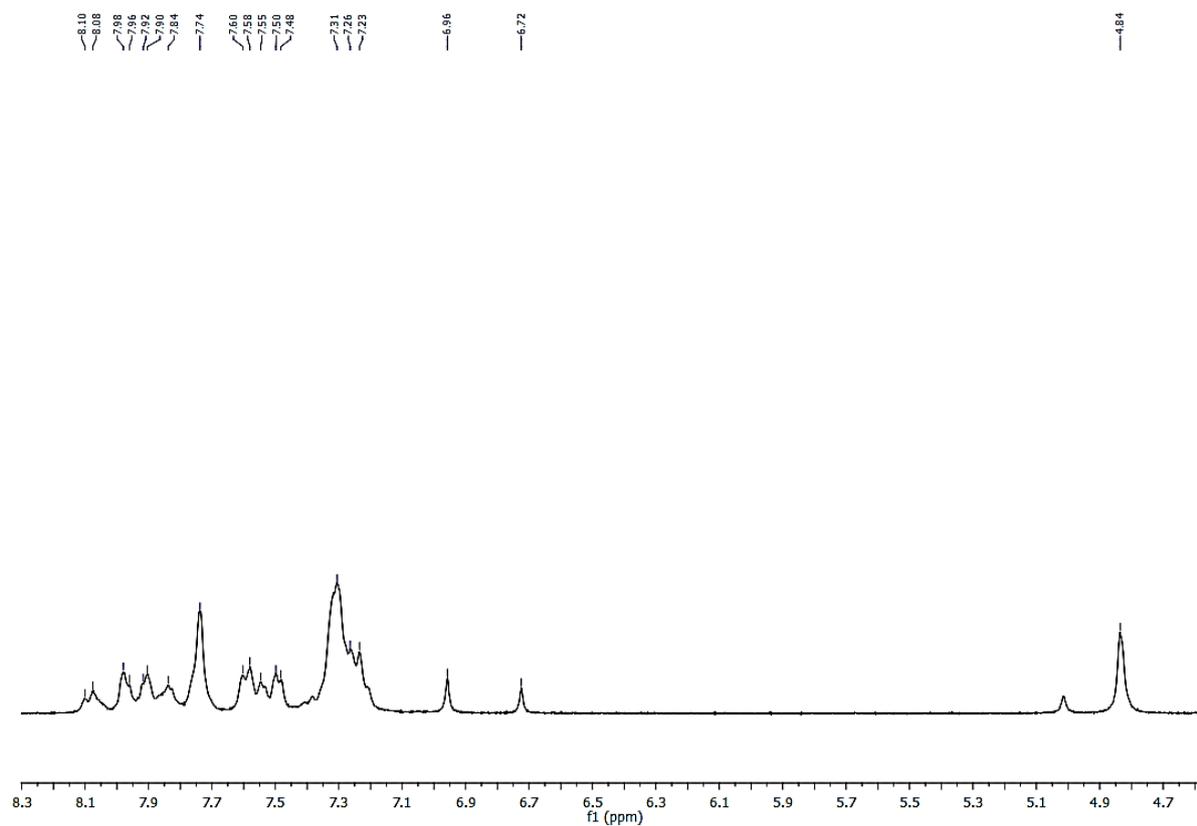
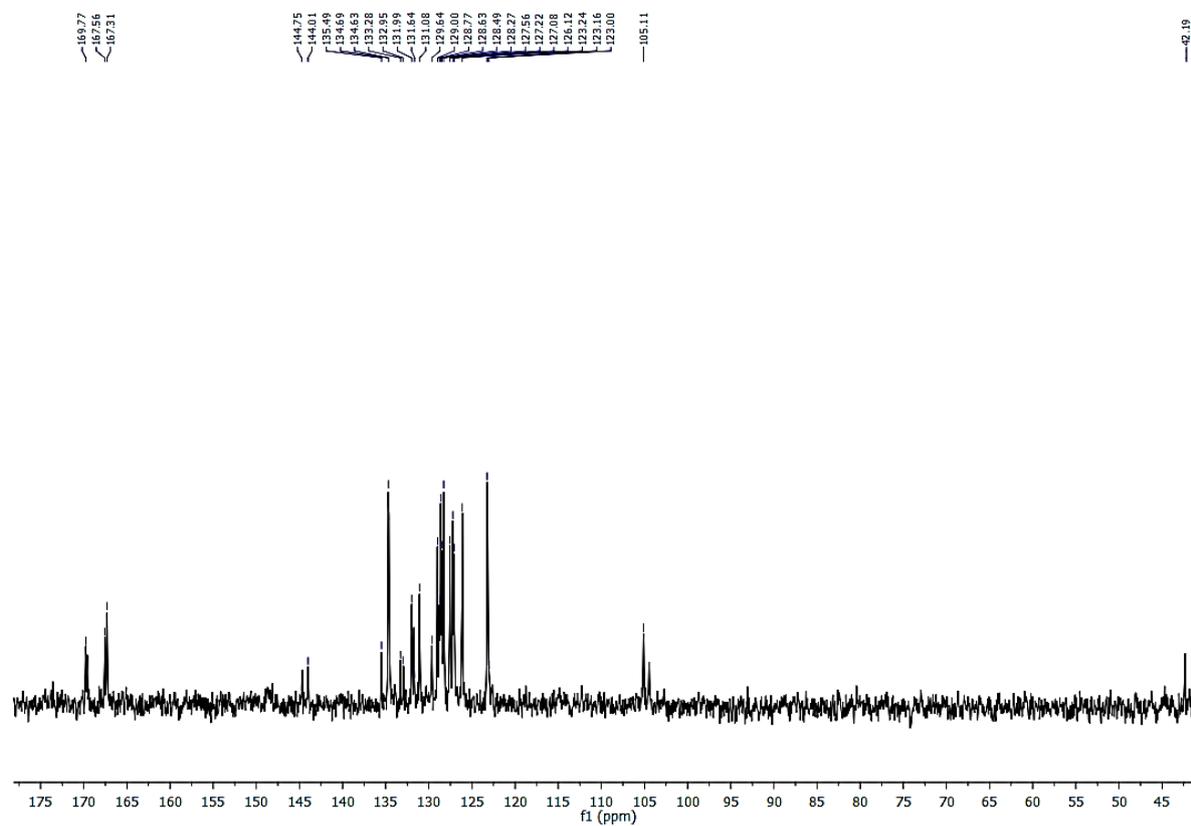
RMN ^1H DO FS_{1b}RMN ^{13}C DO FS_{1b}

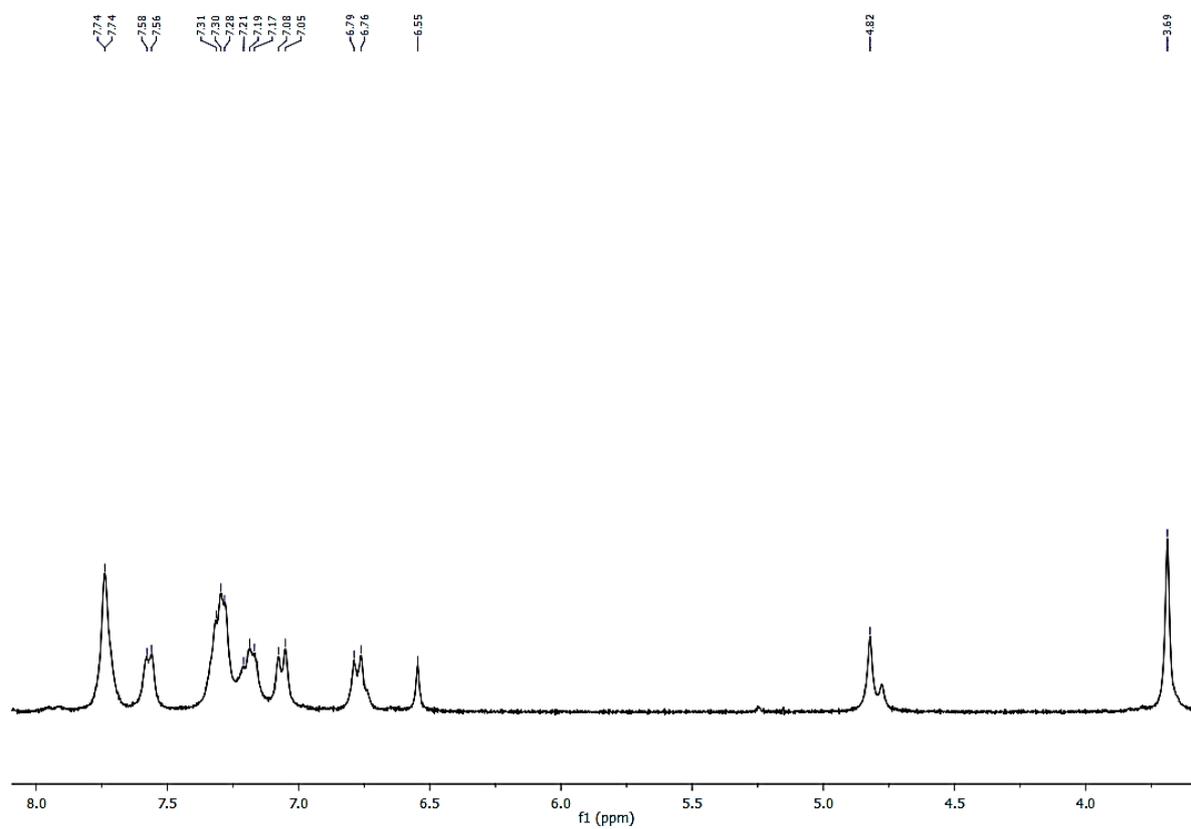
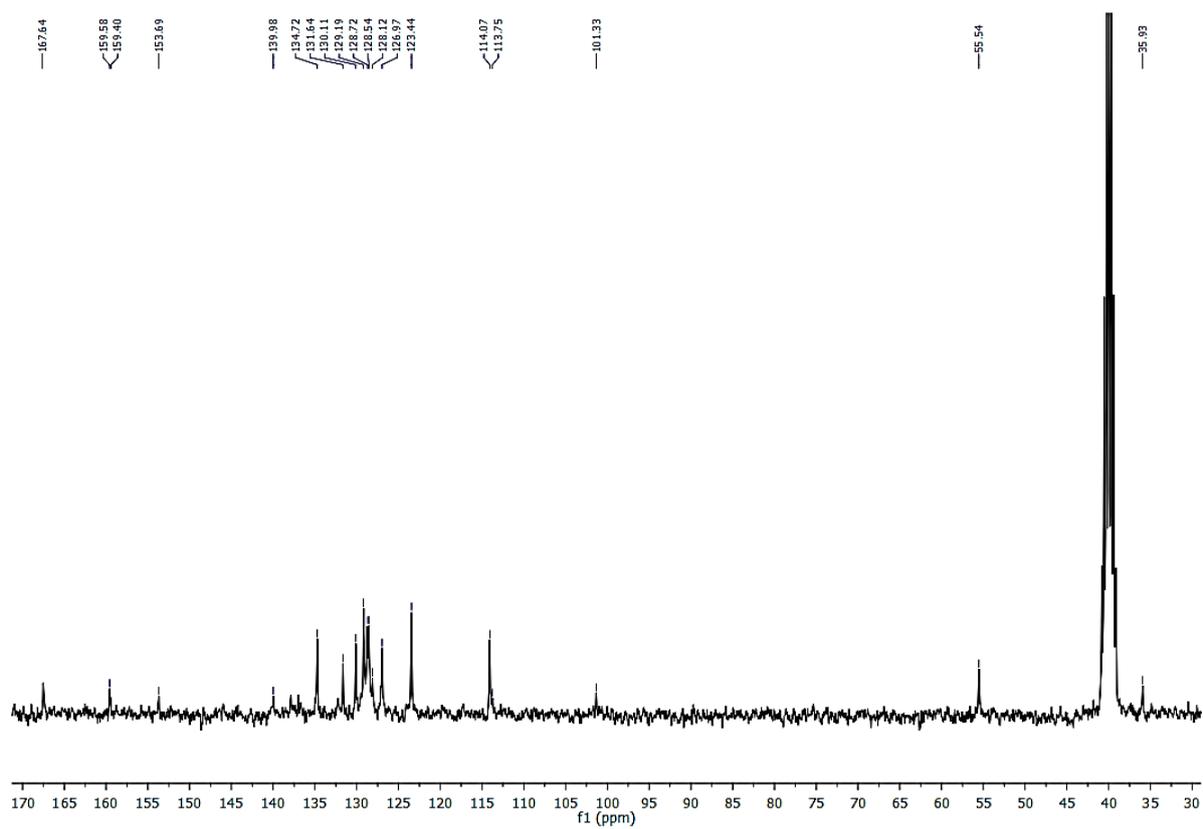
RMN ^1H DO FS_{1c}RMN ^{13}C DO FS_{1c}

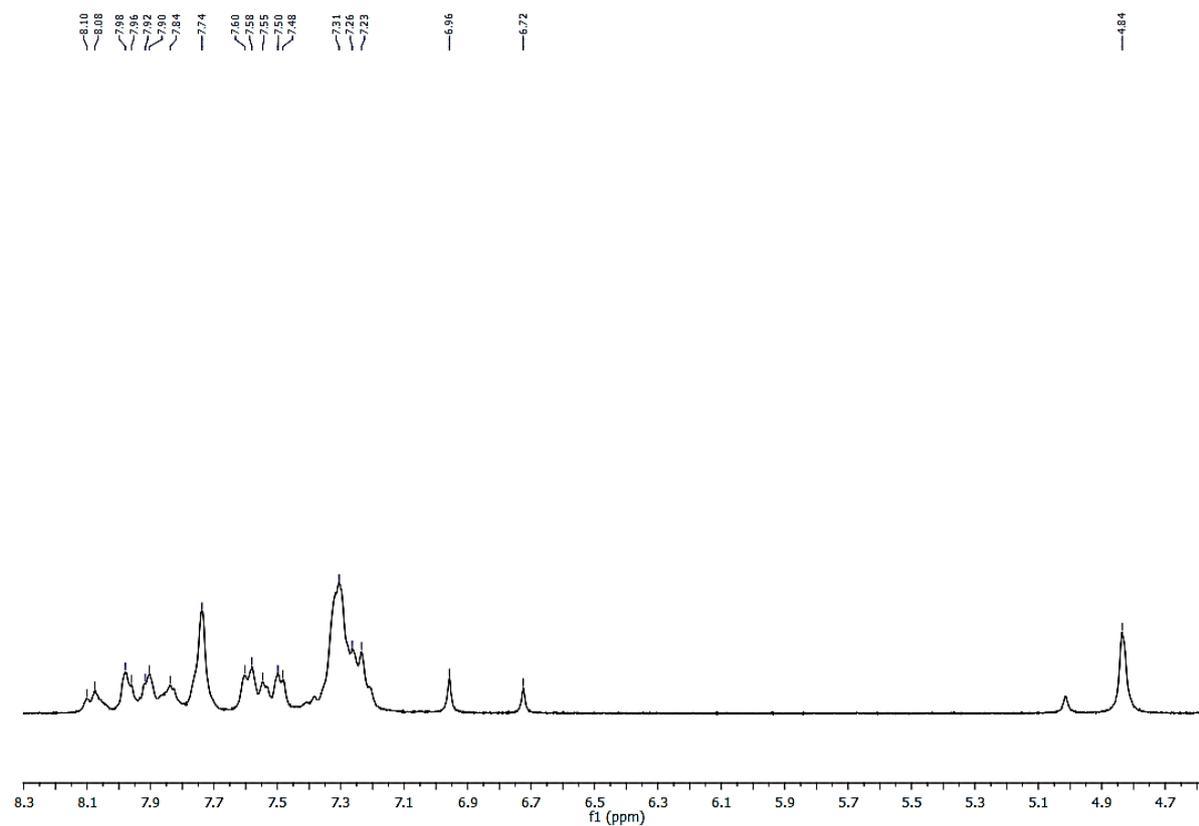
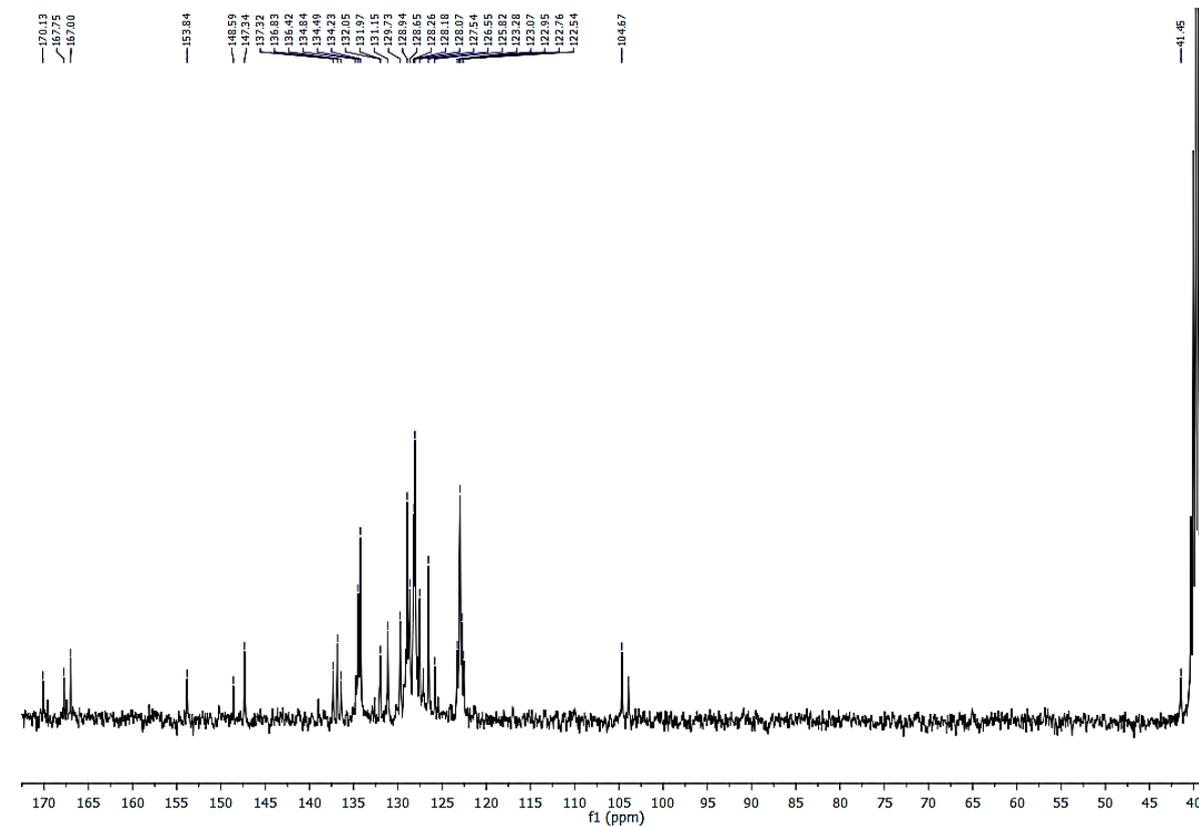
RMN ^1H DO FS_{1d}RMN ^{13}C DO FS_{1d}

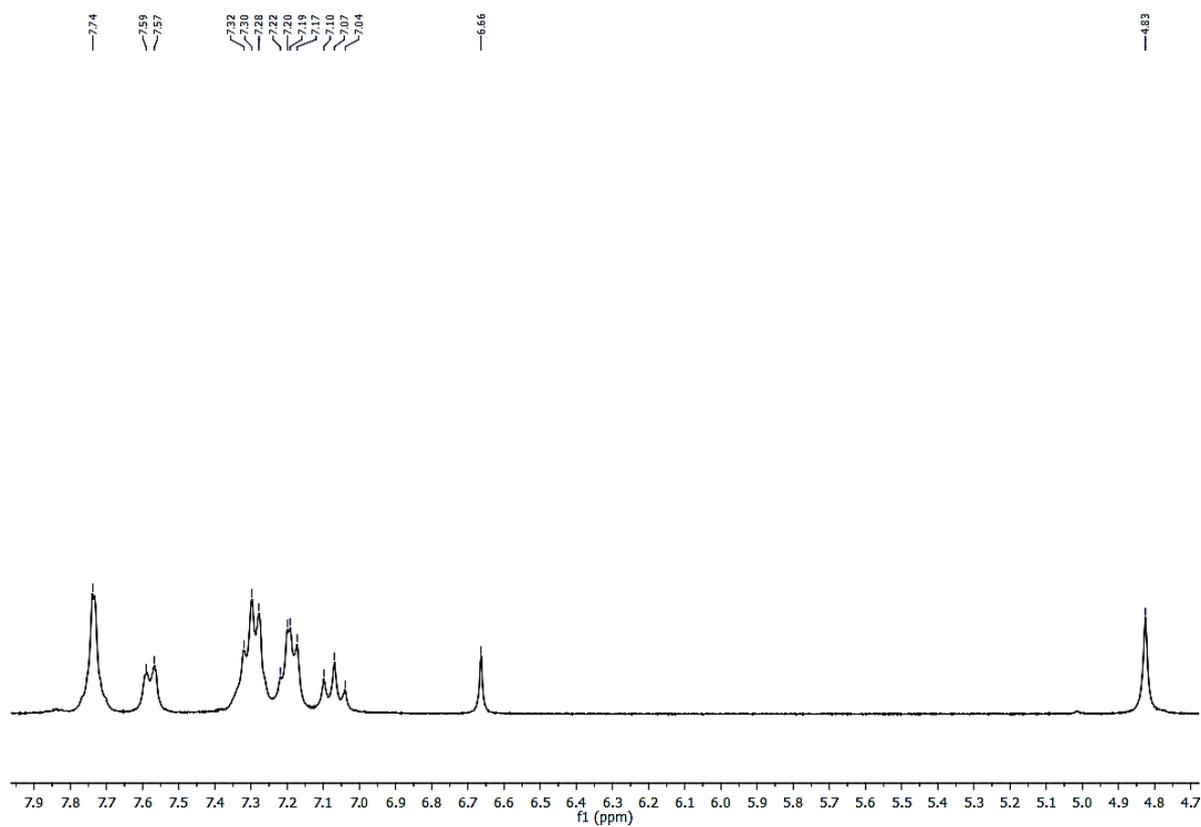
RMN ^{13}C DO FS_{1e}

RMN ^1H do FS_{1f}RMN ^{13}C DO FS_{1f}

RMN 1H do FS_{1g}RMN ¹³C DO FS_{1g}

RMN ^1H do FS_{2a}RMN ^{13}C DO FS_{2a}

RMN ^1H DO FS_{2b}RMN ^{13}C DO FS_{2b}



RMN ^{13}C DO FS_{2c}

