

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS:
SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

Recife
2020

PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS: SÍNTESE,
ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima

Co-orientadora: Prof. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Nascimento, Pedro Henrique do Bomfim

Novos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis : síntese, elucidação estrutural e avaliação da atividade antimicrobiana / Pedro Henrique do Bomfim Nascimento. - 2020.

124 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima.

Coorientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Alves de Lima.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Recife, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Drogas – Resistência em micro-organismos. 2. Farmacologia. 3. Tiazóis. I. Lima, Gláucia Manoella de Souza (orientadora). II. Lima, Maria do Carmo Alves de (coorientadora). III. Título.

616.9041

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-036

PEDRO HENRIQUE DO BOMFIM NASCIMENTO

**NOVOS DERIVADOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E TIAZÓIS: SÍNTESE,
ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em: 20/02/2020

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dra. Norma Buarque de Gusmão
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dra. Anekécia Lauro da Silva
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

A meu avô Gonçalo Bomfim (*In memoriam*), por toda as suas lutas e batalhas vencidas para proporcionar um futuro digno, não só aos seus filhos e netos, mas a todos que estavam a sua volta.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo que fez e faz em minha vida e pelo desenvolvimento do presente trabalho, pois sei, que sem ele, eu não sou nada.

A minha orientadora Prof^ª Dr^ª Glaucia Manoella por seu acolhimento, ensinamentos, compromisso, compreensão e companheirismo no desenvolvimento deste trabalho.

A minha co-orientadora e mãe científica Prof^ª Dr^ª Maria do Carmo (Nena) por todos estes anos de ensinamentos, puxões de orelha, companheirismo, compromisso e nunca ter deixado de acreditar em mim.

Gostaria de agradecer aos meus pais Gilson Antônio e Maria de Fátima, por todo apoio na minha vida pessoal, profissional e acadêmica, pelo amor, carinho, respeito, paciência e dedicação que têm para comigo e por nossa família ao decorrer de toda a nossa vida.

Aos meus avós Gonçalo Bomfim (*In memoriam*) e Rita Bomfim por todo o ensinamento, principalmente em seguir os caminhos de Deus. A minha irmã Laís Bomfim e toda a minha família tios, tias, primos e primas por todo carinho, paciência e respeito.

A minha amada e melhor amiga Beatriz Coelho que sempre ficou ao meu lado nos bons e maus momentos, por sua paciência, compreensão e amor ao longo destes anos juntos.

Aos meus amigos da infância, Marcos, Mariana, Tony, Mara, Myne, Leyne, Álvaro e Antônio (Netão), por todo apoio durante estes anos. Ao meu eterno Terceirão e amigos, Hebert, Isabela, Gabriel, Mayda, Sandryelle, Larissa, Juca e tia Jane, por toda compreensão, companheirismo e apoio.

Aos meus amigos do LQIT, em especial Amélia, Cleberson, Cezar, Hanna, Iris, Natanael, Paula, Suellen e a minha querida amiga Keriolaine que esteve e está comigo desde os tempos da graduação, por todo o apoio, companheirismo e ensinamentos. Aos meus amigos do LabGem, em especial Ana, Bruna, Diego, Iranildo, Luana, Michelle e Richardson, por todo apoio e companheirismo.

Aos técnicos e responsáveis pela Coleção e Cultura de Micro-organismos da UFPE, Allana, Amanda, Luiz Carlos, Fatima e Marcela, pelo suporte prestado no desenvolvimento do presente trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Antibióticos, Betânia, Ivana, Klayton, Sandra e Romênia e a todos que direto e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES e ao CNPq por todo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

O grau de severidade das infecções microbianas pode ser influenciado pela presença de fatores de virulência, bem como pelo desenvolvimento de resistência intrínseca e extrínseca aos antimicrobianos. Tais características têm sido uma das principais razões para o insucesso dos antibióticos no tratamento de infecções. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver novos agentes antimicrobianos, frente a isolados clínicos de bactérias e fungos. Os compostos testados foram obtidos em três etapas: na primeira foram produzidas as tiossemicarbazidas, posteriormente as tiossemicarbazonas e por fim o tiazol. Os rendimentos obtidos foram satisfatórios de 51 a 97%. Os compostos foram caracterizados e identificados por meio de técnicas de espectroscopia infravermelho e ressonância magnética nuclear do H e C, depois foram determinadas as concentrações mínimas inibitórias (CMI) e mínimas bactericidas (CMB), destacando os compostos da série: LQIT/PB-02 (37,5 µg/mL), LQIT/PBT-08 (75 µg/mL), LQIT/PBT-09 (75 µg/mL), LQIT/PBT-10 (75 µg/mL) com eficácia de inibição para a cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina, e os compostos LQIT/PB-02 (12,5 µg/mL), LQIT/PBT-04 (25 µg/mL) e LQIT/PBT-05 (25 µg/mL) com eficácia de inibição para cepa *Candida albicans*. Os compostos apresentaram baixo teor citotóxico, destacando o composto LQIT/PB-02 com 67,6% de viabilidade celular da linhagem de macrófagos. Os compostos LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 através da técnica de tempo de morte, foi determinada a eficácia de inibição da cepa *Staphylococcus aureus* resistente a oxacilina desde as primeiras horas de tratamento, bem como através da técnica de sinergismo, estes compostos apresentaram efeitos “parcialmente sinérgicos”, aumentando os efeitos da Oxacilina com diminuição da dose em até seis vezes do seu valor de CMI, que antes era de 512 µg/mL para 8 µg/mL. Através das técnicas espectroscópicas propostas, foi possível a identificação da estrutura dos compostos tiossemicarbazonas e tiazóis, sendo promissores candidatos a novos fármacos antimicrobianos para tratamento de cepas resistentes.

Palavras-chave: Resistência Microbiana; Antimicrobianos; Tiossemicarbazonas; Tiazóis.

ABSTRACT

The degree of severity of microbial infections can be influenced by the presence of virulence factors, as well as by the development of intrinsic and extrinsic resistance to antimicrobials. Such characteristics have been one of the main reasons for the failure of antibiotics to treat infections. Therefore, the present study aimed to develop new antimicrobial agents, against clinical isolates of bacteria and fungi. The tested compounds were obtained in three stages: in the first, thiosemicarbazide were produced, then thiosemicarbazones and finally thiazole. The yields obtained were satisfactory from 51 to 97%. The compounds were characterized and identified using infrared spectroscopy and H and C nuclear magnetic resonance techniques, then the minimum inhibitory (MIC) and minimum bactericidal (MBC) concentrations were determined, highlighting the compounds in the series: LQIT/PB-02 (37.5 µg/mL), LQIT/PBT-08 (75 µg/mL), LQIT/PBT-09 (75 µg/mL), LQIT/PBT-10 (75 µg/mL) with inhibitory efficacy for oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* strain, and the compounds LQIT/PB-02 (12.5 µg/mL), LQIT/PBT-04 (25 µg/mL) and LQIT/PBT-05 (25 µg/mL) with effective inhibition of *Candida albicans* strain. The compounds showed low cytotoxic rate, highlighting the compound LQIT/PB-02 with 67.6% of cell viability from the macrophage lineage. The compounds LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 highlighted by the time-kill technique, the inhibition efficacy against oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* was determined from the first hours of treatment, as well as through the synergism technique showed “partially synergistic” effects, increasing the effects of Oxacillin with the reduction of the dose up to six times of its MIC value, from 512 µg/mL to 8 µg/mL. Through the suggested spectroscopic techniques it was possible to identify the structure of the thiosemicarbazone and thiazole compounds, which are promising candidates for new antimicrobial drugs for the treatment of resistant strains.

Keywords: Microbial resistance; Antimicrobials; Thiosemicarbazones; Thiazoles.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Taxa de resistência de patógenos Gram-negativos resistentes a carbapenêmicos no mundo.....	19
Figura 2 - Funcionamento do sistema <i>adeABC</i> de bomba de efluxo em <i>A. baumannii</i>	23
Figura 3 - Percentagem (%) de isolados invasores com resistência à meticilina (MRSA), por país da UE, 2017.....	27
Figura 4 - Representação geral das tiossemicarbazonas.....	31
Figura 5 - Estrutura dos compostos 2-(4-hidroxibenzilideno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida e N-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida respectivamente.....	32
Figura 6 - Obtenção do núcleo Tiazol.....	33
Figura 7 - Fórmulas estruturais dos fármacos com a presença do anel tiazol (destacado em vermelho).....	34
Figura 8 - Espectros de IV do composto LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02.....	51
Figura 9 - Caracterização de RMN ¹ H do composto LQIT/PB-01.....	52
Figura 10 - Caracterização de RMN ¹ H do composto LQIT/PB-02.....	53
Figura 11 - Espectro de RMN ¹³ C dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02.....	54
Figura 12 - Espectro de IV do composto LQIT/PBT-01.....	62
Figura 13 - Espectro de RMN de ¹ H do composto LQIT/PBT-03.....	63
Figura 14 - Espectro de RMN de ¹³ C do composto LQIT/PBT-04.....	64
Figura 15 – Tempo de Morde de <i>S. aureus</i> UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PB-02. Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de <i>S. aureus</i>	73
Figura 16 – Tempo de Morde de <i>S. aureus</i> UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-08. Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de <i>S. aureus</i>	74
Figura 17 – Tempo de Morde de <i>S. aureus</i> UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-09. Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de <i>S. aureus</i>	74
Figura 18 – Tempo de Morde de <i>S. aureus</i> UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-10. Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de <i>S. aureus</i>	75

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Mecanismo reacional para obtenção da tiossemicarbazidas substituídas.....	38
Esquema 2 – Mecanismos reacionais das tiossemicarbazonas.....	39
Esquema 3 - Mecanismo reacional para obtenção do núcleo tiazol.....	40
Esquema 4 – Rota Geral de síntese dos novos derivados Tiazol.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de 12 bactérias e famílias bacterianas, para promover pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos. Dividida em três categorias: prioridade crítica, alta e média.....	20
Tabela 2 - Derivados do tiazol e suas respectivas atividades antimicrobianas.....	36
Tabela 3 – Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobianos.....	44
Tabela 4 - Característica físico-químicas dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02.....	48
Tabela 5 - Principais frequências de absorção observadas nos espectros de absorção no IV para os compostos 4-hidroxibenzilideno-hidrazina-carbotioamidas.....	50
Tabela 6 - Características físico-químicas dos tiazóis.....	55
Tabela 7 - Principais frequências observadas nos espectros de absorção no IV para os compostos Feniltiazol-hidrazinas.....	61
Tabela 8 - Principais picos da caracterização de RMN de ^1H e ^{13}C do anel tiazol.....	65
Tabela 9 – Resultado da viabilidade celular dos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis frente a linhagem J774 de macrófagos.....	66
Tabela 10 - CMI dos compostos Antibioticos padrões e dos compostos das series LQIT/PB e LQIT/PBT nas concentrações de $\mu\text{g/mL}$ frente as cepas bacterianas padrões e isolados clínicos.....	69
Tabela 11 – CMB e proporção CMB/CMI dos compostos da serie LQIT/PB e LQIT/PBT nas concentrações de $\mu\text{g/mL}$ frente as cepas bacterianas padrões e isolados clínicos.....	70
Tabela 12 - CMI dos compostos das series LQIT/PB, LQIT/PBT e do Fluconazol na concentração de $\mu\text{g/mL}$ frente as leveduras padrões e isolados clínicos.....	71
Tabela 13 – Resultados da CMI individual dos compostos e oxacilina, concentrações cruzadas e do FICL.....	76

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1 RESISTÊNCIA MICROBIANA	18
3.2 <i>Acinetobacter baumannii</i>	22
3.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
3.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.5 LEVEDURAS	29
3.6 TIOSSEMICARBAZONAS	30
3.7 TIAZOL	32
3.8 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZIDAS....	37
3.9 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS..	38
3.10 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DOS TIAZOIS.....	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
4.1 ESTUDO QUÍMICO.....	41
4.1.1 Reagentes e Solventes.....	41
4.1.2 Síntese dos novos derivados Tiazóis.....	41
4.1.3 Características físico-químicas.....	42
4.1.4 Espectroscopia de Infravermelho, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	42
4.1.5 Lopofilicidade ($\log p$).....	43
4.2 ESTUDO BIOLÓGICO.....	43
4.2.1 Citotoxicidade <i>in vitro</i> em linhagens J774 de macrófagos.....	43
4.2.2 Cepas microbianas.....	43
4.2.3 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI).....	44
4.2.4 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB).....	45
4.2.5 Tempo de morte.....	45
4.2.6 Sinergismo.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48

5.1 ESTUDO QUÍMICO.....	48
5.1.1 Características Físico-químicas das 4-hidroxibenzilideno-hidrazina-carbotioamidas.....	48
5.1.2 Caracterização estrutural IV, RMN de ¹H e ¹³C dos compostos 4-hidroxibenzilideno-hidrazina-carbotioamidas.....	49
5.1.2.1 (E)-2-(4-hidroxibenzilideno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida(LQIT/PB-01).	49
5.1.2.2(E)-N-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida(LQIT/PB-02)..	49
5.1.2.3 Caracterização IV.....	49
5.1.2.4 Caracterização RMN ¹ H e RMN ¹³ C.....	51
5.1.5 Características físico-químicas dos tiazóis.....	54
5.1.6 Caracterização estrutural de IV, RMN de ¹H e ¹³C dos tiazóis.....	56
5.1.6.1 4-((E)-((Z)-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-01).....	56
5.1.6.2 4-((E)-((Z)-(3,4-di(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-02).....	56
5.1.6.3 4-((E)-((Z)-(4-(4-clorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol2(3H)ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-03).....	57
5.1.6.4 4-((E)-((Z)-(4-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-04).....	57
5.1.6.5 4-((E)-((Z)-(4-(4-fluorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-05).....	58
5.1.6.6 4-((E)-((Z)-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-06).....	58
5.1.6.7 4-((E)-((Z)-(3-(4-clorofenil)-4-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT-07).....	59
5.1.6.8 4-((E)-((Z)-(3,4-di(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT -08).....	59
5.1.6.9 4-((E)-((Z)-(4-(4-bromofenil)-3-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT -09).....	60
5.1.6.10 4-((E)-((Z)-(3-(4-clorofenil)-4-(4-fluorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (PBT -10).....	60
5.1.6.11 Caracterização de IV.....	61
5.1.6.12 Caracterização de RMN ¹ H e ¹³ C	62

5.2 ESTUDO BIOLÓGICO.....	65
5.2.1 Citotoxicidade <i>in vitro</i> em linhagens J774 de macrófagos.....	65
5.2.2 Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Bactericida.....	67
5.2.3 Tempo de Morte.....	72
5.2.4 Sinergismo.....	76
6 CONCLUSÃO E PESTECTIVA.....	78
6.1 CONCLUSÕES.....	78
6.2 PERSPECTIVAS.....	78
REFERÊNCIAS.....	79
ANEXOS.....	95
ANEXO A - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PB-01 E LQIT/PB-02.....	95
ANEXO B - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-01 E LQIT/PBT-02..	96
ANEXO C - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-03 E LQIT/PBT-04..	97
ANEXO D - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-05 E LQIT/PBT-06..	98
ANEXO E - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-07 E LQIT/PBT-08..	99
ANEXO F -ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-09 E LQIT/PBT-10.	100
ANEXO G - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PB-01.....	101
ANEXO H - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PB-02.....	102
ANEXO I - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-01.....	103
ANEXO J - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-02.....	104
ANEXO K - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-03.....	105
ANEXO L - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-04.....	106
ANEXO M - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-05.....	107
ANEXO N - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-06.....	108
ANEXO O - ESPECTRO DE RMN DE 1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-07.....	109
ANEXO P - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-08.....	110
ANEXO Q - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-09.....	111
ANEXO R - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO COMPOSTO LQIT/PBT-10.....	112
ANEXO S - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO COMPOSTO LQIT/PB-01.....	113
ANEXO T - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO COMPOSTO LQIT/PB-02.....	114
ANEXO U - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO COMPOSTO LQIT/PBT-01.....	115
ANEXO V - ESPECTRO DE RMN DE 13C DO COMPOSTO LQIT/PBT-02.....	116
ANEXO W - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO COMPOSTO LQIT/PBT-03.....	117

ANEXO X - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-04.....	118
ANEXO Y - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-05.....	119
ANEXO Z - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-06.....	120
ANEXO AA - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-07.....	121
ANEXO BB - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-08.....	122
ANEXO CC - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-09.....	123
ANEXO DD - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-10.....	124

1 INTRODUÇÃO

O aparecimento de cepas microbianas resistentes aos antimicrobianos e com aumento de virulência está cada vez mais presente na clínica médica humana e veterinária. Estas cepas ocasionam quadros de infecções onde não existe um tratamento eficaz, uma vez que as propriedades de multirresistência desses microrganismos anulam as ações dos antibióticos vigentes (Organização Pan-Americana de Saúde/Organização Mundial da Saúde, 2017).

De acordo com o *Global Antimicrobial Surveillance System* (GLASS, 2017), entre 500 mil pessoas com quadro de infecção bacteriana existem a ocorrência resistência aos antibióticos, em países desenvolvidos e em desenvolvimento. No ano de 2018, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou os primeiros dados de vigilância sobre resistência aos antibióticos entre os anos de 2016 e 2017. Estes dados apresentam a alta incidência de resistência bacteriana a uma série de antibióticos em uso em diversos países.

A resistência aos antibióticos leva a óbito cerca de 700 mil pessoas a cada ano em todo o mundo, e alguns especialistas preveem que esse número atinja 10 milhões de mortes em 2050, se não forem feitos esforços para reduzir a resistência microbiana ou desenvolver novos agentes antimicrobianos (WILLYARD, 2017). O que levou a OMS nos anos de 2017 e 2018 iniciar o programa de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de novos compostos para o combate a resistência apresentada pelas diferentes classes de microrganismos.

A busca e o desenvolvimento por novos compostos com a ação antimicrobiana podem estar relacionadas, a prospecção biológica ou química. A prospecção biológica através do uso de organismos vivos para a produção de tais compostos, como as plantas, e a química buscando por via sintética, estruturas modulares que apresentem uma possível interação com os alvos biológicos.

Deste modo as tiossemicarbazonas são moléculas que possuem diversas atividades biológicas descritas na literatura como: anticâncer, antiparasitária, antiviral e antimicrobiana (KHAN et al., 2008; BLAU et al., 2013; KHAN & ASIRI, 2018; RODRIGUES et al., 2018). Tendo então esta classe de moléculas uma promissora atividade antimicrobiana. Estes compostos além de serem potenciais agentes antimicrobianos, podem ser utilizados como intermediários para a síntese de núcleos terapêuticos, como as tiazolidinas, tiazolidinonas e os tiazóis (MISHRA, KUMARI & TIWARI, 2015).

Os derivados tiazóis desempenham diversos efeitos biológicos: anti-inflamatória, anti-hipertensivo, anti-HIV (SENGEL & SAHINER, 2017; NALAWADE, et al., 2019) e

antibacteriano e antifúngico (NURAL et al., 2018; LINO et al., 2018; OLAWODE, et al., 2019). Apesar deste núcleo já ser bastante conhecido na literatura, seu potencial antimicrobiano é pouco explorado. Neste sentido, estudos mais aprimorados sobre seus efeitos de interação molecular, atividade frente a cepas multirresistentes e seus efeitos de seletividade frente aos alvos biológicos, poderão esclarecer sua potencial atividade antimicrobiana.

Portanto, o presente trabalho tem por objetivo desenvolver novos agentes tiossemicarbazonas e tiazóis com potencial atividade frente a isolados clínicos de bactérias e leveduras. Demonstrando assim o seu potencial efeito antimicrobiano dos derivados tiossemicarbazonas (E)-2-(4-hidroxibenzilideno)-hidrazinacarbotoamida e novos derivados tiazóis 4-((E)-((Z)-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol e 4-((E)-((Z)-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver derivados tiossemicarbazonas e novos derivados tiazóis, avaliando seu potencial antimicrobiano frente a cepas padrões e isolados clínicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a síntese, elucidação estrutural e determinação das características físico-químicas dos novos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis.
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos novos derivados frente a linhagens J774 de macrófagos de camundongo.
- Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos novos derivados obtidos frente a cepas microbianas de *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida spp.*
- Determinar o tempo de morte dos microrganismos na presença dos novos derivados obtidos.
- Avaliar a interação dos novos derivados com antibióticos presentes na clínica, através da técnica de sinergismo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 RESISTÊNCIA MICROBIANA

No decorrer dos anos é crescente a dificuldade nos tratamentos das infecções microbianas, devido à alta incidência de resistência bacteriana a uma série de antibióticos (OMS, 2018). A resistência microbiana ameaça à saúde pública e é impulsionada pelo uso inadequado de medicamentos antimicrobianos utilizados na saúde humana e animal (OMS, 2012).

O uso inadequado dos antibióticos pode gerar uma pressão seletiva nos microrganismos do ambiente, já que 30 e 90% dos antibióticos ingeridos por humanos e animais são excretados pelas fezes e urina (DU & LIU, 2012), tornando-os poluentes mais comuns em ambientes aquáticos e terrestres (FANG et al., 2015). Tal poluição ambiental por antibióticos tem atraído grande atenção devido à sua possível influência nos genes de resistência a antibióticos e o aparecimento bactérias resistentes (LIU et al., 2019).

Recentes estudos sobre a presença dos antibióticos no ambiente, sugerem que mesmo em baixas concentrações os antimicrobianos geram seleção constante sobre as populações bacterianas (HILLER, et al., 2019), o que de fato representa uma séria ameaça à saúde pública. A resistência em comunidades microbianas pode surgir também através características de virulência e mecanismos de transferência de genes tais como:

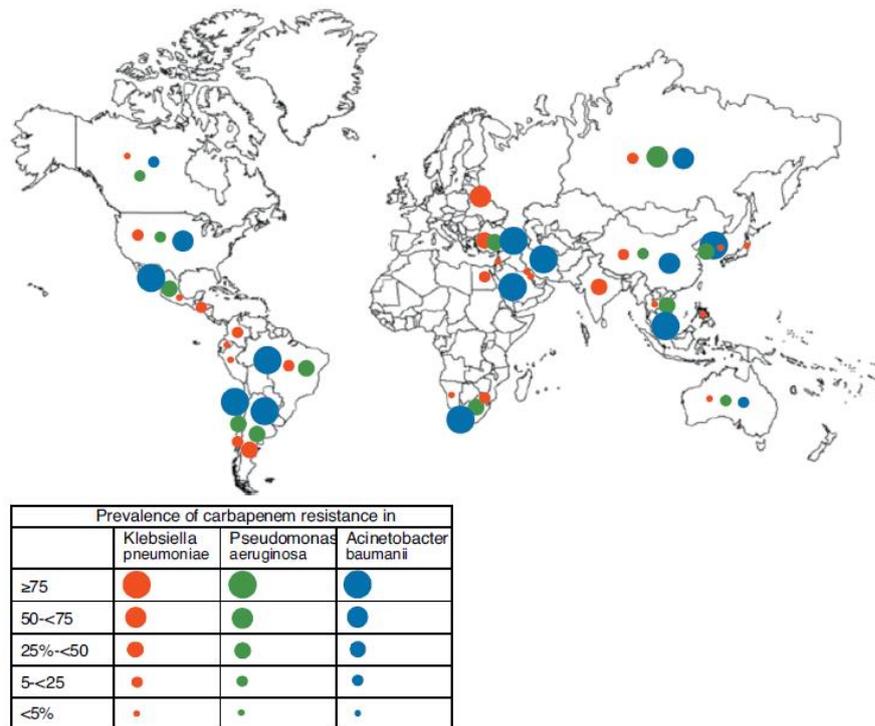
“Degradação microbiana de antibióticos, isto é, transformação química do antibiótico por uma enzima existente da célula; pode ocorrer por mutação espontânea ou aquisição de genes de resistência aos antibióticos de outras células por transferência lateral do gene; e ou remoção física de antibiótico intracelular pela ativação de bombas de efluxo de membrana” (VILA-COSTA et al., 2017).

O surgimento de bactérias resistentes vem se tornando cada vez mais recorrente, dados da *Global Antimicrobial Surveillance System* (GLASS, 2017), demonstram que a cada 500 mil pessoas com suspeita de infecção bacteriana, existe uma prevalência de cepas resistentes aos antibióticos. De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS/OMS Brasil, 2017) novos mecanismos de resistência emergem e se espalham globalmente todos os dias, ameaçando nossa capacidade de tratar doenças infecciosas comuns.

Nos Estados Unidos mais de 2 milhões de pessoas sofrem com a resistência microbiana, levando a morte de 25 mil pessoas ao ano. Na Índia a taxa de mortalidade por doenças infecciosas é estimada em 416,75 pessoas em 100 mil habitantes (PATWARDHAN & PAYYAPPALLI, 2018). A resistência aos antibióticos mata cerca de 700 mil pessoas a cada ano em todo o mundo, e alguns especialistas preveem que esse número atinja 10 milhões em 2050, se não forem feitos esforços para reduzir a resistência ou desenvolver novos antibióticos (WILLYARD, 2017).

A extensão deste problema pode afetar a todos em um mundo globalizado (Figura 1), levando a uma preocupação severa em certas regiões do mundo, como Ásia, sudeste da Europa, América do Sul e África, pela presença de patógenos Gram-negativos resistentes (THEURETZBACHER, 2017).

Figura 1 - Taxa de resistência de patógenos Gram-negativos resistentes a carbapenêmicos no mundo.



Current Opinion in Microbiology

Fonte: Theuretzbacher, 2017

Na União Europeia (UE) mais de 2,5 milhões de pessoas contraem infecções nosocomiais por ano, dentre as quais a resistência aos antibióticos é elevada, e as infecções bacterianas são a causa de 25 mil mortes na UE todos os anos (CASSINI et al., 2016). No ano

de 2014 dentre as principais causas de morte na UE, a resistência aos antimicrobianos encontrava-se nas sete principais causas, junto com os acidentes de transporte, suicídio, doenças no sistema nervoso, doenças respiratórias, câncer e doenças cardiovascular (MOL et al., 2018).

No ano de 2017 a OMS divulgou uma lista com 12 bactérias e ou famílias bacterianas resistentes a antibióticos, nela encontram-se as bactérias com maior representatividade de ameaça à saúde humana (Tabela 1). A lista foi elaborada para orientar e promover pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos, como parte dos esforços da OMS para enfrentar a crescente resistência. As bactérias foram divididas em três categorias: Crítica (que se enquadram as bactérias multirresistente presentes em hospitais), Alta e Média (bactérias causadoras de infecções leves a graves).

Tabela 1 - Lista de 12 bactérias e famílias bacterianas, para promover pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos. Dividida em três categorias: Crítica, Alta e Média.

Bactéria ou família bacteriana	Resistência
Prioridade: Crítica	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carbapenem
<i>Enterobacteriaceae</i>	Carbapenem
Prioridade: Alta	
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Metilina, Vancomicina
<i>Helicobacter pylori</i>	Claritromicina
<i>Campylobacter spp.</i>	Fluoroquinolona
<i>Salmonellae</i>	Fluoroquinolona
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cefalosporina, Fluoroquinolona
Prioridade: Médio	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Não suscetível à penicilina
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilina
<i>Shigella spp</i>	Fluoroquinolona

Fonte: OMS, 2017.

A cada ano, milhões de pacientes em todo o mundo são internados em unidades de terapia intensiva (UTI), este ambiente hospitalar é frequentemente chamado de epicentro de infecções oportunistas e da propagação de microrganismos multirresistentes (JOHANI et al., 2018). Cepas bacterianas enquadradas dentre as prioridades da OMS, geralmente são encontrados nos ambientes hospitalares. *Acinetobacter spp.* são grandes causadores de

infecções hospitalares adquiridas, capazes de colonizar e infectar vários locais, possuindo a característica peculiar de serem resistentes a múltiplos fármacos (PATEL et al., 2019).

Pseudomonas aeruginosa tem sido reconhecida como uma bactéria mais comum associada a infecções nosocomiais. Além disso, apresenta resistência a uma variedade de antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, quinolonas e β -lactâmicos, sendo listada como prioridade crítica pela OMS no desenvolvimento de novos antibióticos (PANG et al., 2019). Cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* vêm causando muitos danos a pacientes hospitalizados, sendo a principal causa de doenças infecciosas disseminadas e potencialmente letais, incluindo pneumonia necrotizante, endocardite, osteomielite e bacteremia (TAFVIZI et al., 2019).

Muitos quadros de infecções hospitalares são provindos de bactérias multirresistentes, levando a um maior tempo de tratamento das infecções, Kato et al. (2018) observaram que o uso prolongado dos antibióticos pode gerar infecções nosocomiais de origem fúngica, dentre as quais 20 espécies de *Candida* estão associadas. Dentre elas, a *Candida albicans* é o principal agente causador da candidíase, o patógeno fúngico mais comum em humanos (YING et al., 2019), sendo ela o principal patógeno identificado em Candidemia (podendo ocorrer presenças de *Candidas spp* não-*albicans*, como *Candida tropicalis*).

Chew et al. (2019) realizaram um estudo com três pacientes com sepse, onde *Candida tropicalis*, *Trichosporon asahii* e *Candida glabrata* foram identificados levando os pacientes a óbito pois os tratamentos utilizados não surtiram efeitos, alertando assim a uma possível resistência das cepas aos antifúngicos. O número de isolados clínicos resistentes, vem crescendo a cada ano, e tal característica está ligeiramente associada à resistência cruzada entre os antifúngicos, aumento no número de pacientes imunocomprometidos e uso prolongado ou incorreto desses medicamentos pela população (BIANCHIN et al., 2019).

De acordo com um relatório dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA, *C. glabrata* é considerada uma ameaça crescente devido a sua frequente resistência aos antifúngicos (ALNAJJAR et al., 2018). A terapia disponível para o tratamento de infecções por *Candida spp*. atualmente está restrito a 4 principais classes de fármacos antifúngicos, que inclui as azóis, polienos, fluoropirimidinas, que muitas cepas possuem resistência intrínseca, e as equinocandinas que são utilizados como uma alternativa para os isolados que apresentam resistência aos anteriores (EL-HOUSSAINI, et al., 2019).

De acordo com a OMS a resistência é um problema que ameaça a saúde pública, devido ao surgimento de cepas bactérias e fúngicas resistentes aos antimicrobianos

convencionais, portanto a pesquisa e o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas tornam-se necessária ao combate a estes organismos.

Nos itens a seguir vamos descrever características sobre as bactérias (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) e as leveduras (espécies de *Candida*) que apresentam resistências aos antibiomicrorganismos.

3.2 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii é um dos grandes causadores de infecção hospitalar no mundo, segundo a OMS (2017) este organismo se encontra na categoria de estado crítico, junto com *P. aeruginosa* e a família das *Enterobacteriaceae*, para novas abordagens de pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos efetivos. Kolk et al. (2019) destacam que *A. baumannii* provavelmente evoluiu para um sério patógeno de infecção animal, havendo relatos de cepas similares ou mesmo idênticas encontradas em humanos e animais, levando a possibilidade de existir infecção cruzada.

A bactéria é altamente bem-sucedida em persistir e se espalhar no ambiente hospitalar, assim, pode sobreviver em condições ambientais severas e desidratadas (TAYEBI et al., 2019). Além da persistência no ambiente, estudos recentes revelam que esta bactéria apresenta multirresistência pré-existente ou adquirida a várias categorias de antibióticos, incluindo fluoroquinolonas, carbapenêmicos, aminoglicosídeos e tetraciclinas (ARDEHALI, et al., 2019).

Rahbar et al. (2019) destacam que *A. baumannii* apresenta características bem definidas para a sua ancoragem no hospedeiro, por possuir adesinas (proteínas que auxiliam na ligação bactéria-tecido), tal característica cooperam para a formação dos biofilmes na superfície celular do hospedeiro. Além das adesinas, as proteínas de associação a biofilme (PAB ou Bap), coordenam a sua ligação à superfície e a ligação célula-a-célula das cepas de *A. baumannii* e de outras bactérias para a formação do biofilme (TIWARI, PATEL & TIWARI, 2018).

As cepas de *Acinetobacter* spp. são capazes de gerar aglomerados em superfícies bióticas e abióticas que geram durabilidade e tolerância a longo prazo em ambientes secos (biofilme) (BABAPOUR et al., 2016). A capacidade, principalmente de *A. baumannii*, em formar biofilme são fortes fatores de virulência da cepa, bem como desempenha um papel

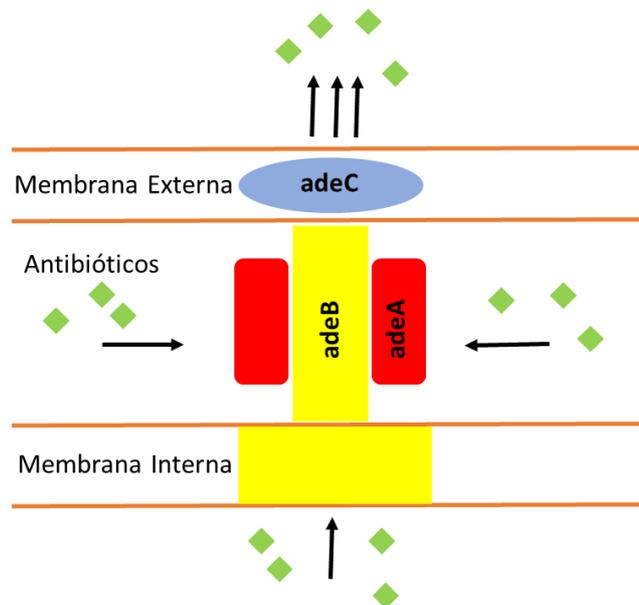
muito importante na resistência aos antimicrobianos que não são capazes de quebrar esta forte barreira de proteção celular (DRAUGHN et al., 2018).

A resistência aos antimicrobianos apresentada por esta bactéria pode surgir de diversas formas, dentre as quais:

“Mutação nos genes que confere uma resistência intrínseca aos β-lactâmicos e aminoglicosídeos; Características de virulência como formação de biofilme; Defeitos de permeabilidade por perda e porinas (transportadoras de substâncias); E sistema de bombas de efluxo de membrana, que leva a expulsão dos antimicrobianos” (GORDON & WAREHAM, 2010).

O sistema *adeABC* de bomba de efluxo de membrana foi o primeiro e principal mecanismo de resistência descoberto em *A. baumannii*, segundo Xu, Bilya & Xu (2019) o sistema é dividido em três partes (Figura 2): proteína de membrana externa (*adeC*), transportador de múltiplas drogas (*adeB*) e proteína de fusão de membrana (*adeA*). Este complexo sistema apresenta um perfil de substrato amplo que pode diminuir a suscetibilidade aos aminoglicosídeos, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol, trimetoprim, fluoroquinolonas e alguns β-lactâmicos (WIECZOREK et al., 2013).

Figura 2 – Funcionamento do sistema *adeABC* de bomba de efluxo em *A. baumannii*.



A *adeA* atua como proteína de fusão de membrana, *adeB* como transportador de múltiplas drogas e *adeC* como proteína da membrana externa. O *adeB* captura antibióticos na membrana interna ou do citoplasma, em seguida, transporta os substratos para fora pelo *adeC* (proteína do canal de membrana). Figura e descrição adaptados de Xu, Bilya & Xu, 2019.

Liu et al. (2019) isolaram *A. baumannii* do Rio Tarim na China e realizaram o sequenciamento do genoma, podendo assim observar as características da bactéria. Após uma busca minuciosa, foi observado que 3.815 pares de bases codificavam proteínas, dentre elas 7,6% e 8,2% foram relacionados a genes de virulência e genes de resistência respectivamente. Levando a preocupação na contaminação e colonização de pacientes hospitalizados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) que convivem no ambiente com a bactéria com as principais características de resistência (YASIR et al., 2019).

Na UTI, 30% de isolados clínicos de *A. baumannii* são resistentes a pelo menos três classes de antibióticos (KEMPF & ROLAIN, 2014). Os pacientes internados principalmente em UTI são frequentemente colonizados por cepas de *A. baumannii* podendo assim gerar infecções. Thorne et al. (2019) nos estudos de casos, observaram que 37,6% das bactérias isoladas da região do trato respiratório e pele de pacientes internados eram de *A. baumannii*, e que os quadros e infecções destes pacientes estavam relacionados a esta bactéria.

Devido ao surgimento de mais cepas de *A. baumannii* resistentes a múltiplos fármacos e potenciais formadores de biofilme, alternativas como o sinergismo entre antibióticos, imunização e ou novas fontes terapêuticas se fazem necessária (BEGANOVIC et al., 2019; SHEWEITA et al., 2019).

3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Nos últimos anos *P. aeruginosa* tem sido estudada extensivamente e intensivamente, por sua grande dificuldade no tratamento de infecções hospitalares. Esta bactéria é atribuída à sua extraordinária capacidade de adaptação e sobrevivência em ambientes severos, desenvolvimento de resistência aos antibióticos e sua diversidade de fatores de virulência (PAN et al., 2017). *P. aeruginosa* é a segunda causa mais comum de bactérias patogênicas em cirurgia e a terceira causa de infecção hospitalar, após *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (NEZHAD et al., 2018).

De acordo com o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos Da América (CCD EUA) *P. aeruginosa* se torna uma grande ameaça à saúde pública, por apresentar resistência a múltiplos antibióticos, sendo ainda destacada como uma bactéria “ESKAPE”, que são bactérias causadoras de infecções hospitalares que apresentam diversos mecanismos de virulência e resistência que resistem e escapam dos antibióticos (BOTELHO, GROSSO & PEIXE, 2019).

O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (2017) realizou a vigilância anual de controle a resistência aos antibióticos, na União Europeia (UE) dentre os isolados de *P. aeruginosa* 30,8% eram resistentes as classes de antibióticos testados (fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e carbapenêmicos), 18,3% dos isolados eram resistentes a duas ou mais classes dos antibióticos testados, se tornando uma ameaça constante, principalmente para pacientes que sofreram queimaduras e imunocomprometidos que estão internados.

Em *P. aeruginosa* os principais mecanismos para combater a ação de antibióticos podem ser classificados em resistência intrínseca, adquirida e adaptativa. A resistência intrínseca inclui baixa permeabilidade da membrana externa, expressão de bombas de efluxo que expõem antibióticos para fora da célula e a produção de enzimas inativadoras de antibióticos. A resistência adquirida pode ser obtida por transferência horizontal de genes de resistência ou por alterações mutacionais. E a resistência adaptativa ocorre em resposta à presença de agentes antimicrobianos ou outros estresses ambientais (PANG et al., 2019)

Azam & Khan (2019) demonstram que: A resistência antimicrobiana intrínseca em *P. aeruginosa* envolve vários mecanismos, incluindo uma diminuição na permeabilidade da membrana externa, expressão de bombas de efluxo e produção de enzimas inativadoras de antibióticos. Um dos mecanismos mais frequentes de resistência adquirida as fluoroquinolonas são as mutações cromossômicas nos genes que codificam as subunidades das enzimas DNA girase e topoisomerase IV. A resistência adaptativa inclui vários fatores ambientais: como choque térmico, estresse por DNA, poliaminas, deficiências nutricionais, biocidas, anaerobiose, níveis de cátions e mudanças nas fontes de carbono. E comportamentos sociais, como a formação de biofilme.

De acordo com Ullah et al. (2017) os genes de virulência em *P. aeruginosa*, têm um nível diferente de expressão intrínseca, o que leva a uma variável de patogenicidade em indivíduos infectados. Tais níveis conferem o surgimento e a persistência crônica das infecções pelos fatores de resistência a drogas e a formação do biofilme. A sua capacidade de formar biofilme desempenha papel significativo em infecções graves e recalcitrantes (AGHAMALI et al., 2018).

P. aeruginosa é capaz de produzir vários fatores de virulência, incluindo a piocianina, bem como LasR e RhlR, que têm uma função na formação de biofilme através de quorum-sensing (ELLAPPAN, NARASIMHA & KUMAR, 2018). O Quorum-sensing, mecanismo importante na formação e manutenção de biofilmes, que permite o reconhecimento da densidade populacional, sejam quais forem as condições ambientais em que as células são

encontradas, proporcionando as mudanças necessárias para garantir sua sobrevivência, através da produção de pequenas moléculas de comunicação (LIMA et al., 2018).

O biofilme formado por *P. aeruginosa* na sua composição os exopolissacarídeo, ajudam na rigidez e aderência desta estrutura. O alginato é um exopolissacarídeo secretado por *P. aeruginosa* que produz um biofilme heterogêneo altamente estruturado. Este componente desempenha um papel crucial na adesão celular, agregação, conectividade entre as células e o biofilme, progressão do biofilme, fornecendo força e rigidez e formando a estrutura tridimensional por quelação de cálcio (PATEL et al., 2019).

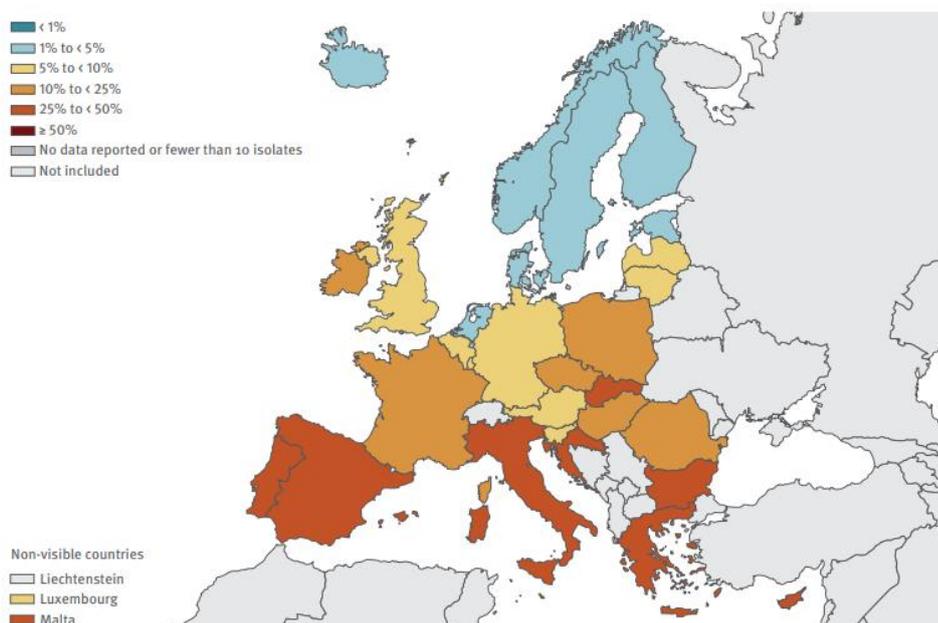
P. aeruginosa está entre os patógenos mais comuns e também a principal causa de infecções crônicas na fibrose cística (devido à considerável produção de alginato), a estrutura do alginato corrobora diretamente para a patogenicidade das cepas, sendo a sua enzima produtora (alginato liase) um alvo crucial na terapia frente a formação do biofilme em *P. aeruginosa* e estruturas de virulência (TAVAFI et al., 2018).

3.4 *Staphylococcus aureus*

A OMS (2017) aponta *S. aureus* como uma das bactérias categorizadas como prioridade alta, pelo grande aparecimento e desenvolvimento de cepas resistentes a Meticilina e Vancomicina. Infecção da ferida, dermatite, abscesso, síndrome da pele escaldada estafilocócica, *S. aureus* é responsável pela maioria destas doenças inflamatórias da pele hospitalares, especialmente é o patógeno com crescente aparecimento de cepas resistentes em todo o mundo (LEI, et al., 2018).

O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças no ano de 2017 realizou a vigilância da resistência antimicrobiana na Europa, tal vigilância observou que entre os anos de 2014 a 2017, dentre as principais bactérias resistentes *S. aureus* (resistente a metilina) apareceu entre 1 a 44,4% dos países da Europa (Figura 3), sendo este patógeno o causador de infecções graves, com grande taxa de morbidade e mortalidade.

Figura 3 - Percentagem (%) de isolados invasores com resistência à meticilina (MRSA), por país da UE, 2017.



Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças, 2017.

Para Ghahremani, Jazani & Sharifi (2018) a resistência a meticilina em *S. aureus* surgiu através da adaptação e pressão seletiva dos antibióticos utilizados na clínica. A resistência à esta classe é codificada e regulada por uma sequência de genes (*mecA* e o *mecC* recém-descrito) encontrados no cromossomo em uma região chamada cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCC*mec*), e a expressão desses genes produz uma proteína específica de ligação à penicilina (PBP2a) com afinidade reduzida para antibióticos β -lactâmicos.

A resistência apresentada por esta bactéria não se restringi apenas a classe dos β -lactâmicos, mas possuem genes de resistências a todas as classes de agentes antimicrobianos aprovados para uso em humanos e animais, como antibióticos tetraciclina, macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas, fenicóis, aminoglicosídeos, pleuromutilinas, oxazolidinonas, diaminopirimidinas, sulfonamidas, entre outros (FEßLER, et al., 2018).

S. aureus desenvolveu mecanismos eficazes de resistência aos antibióticos, a hidrólise enzimática ou a modificação do antibiótico e bombas de efluxo são seus principais meios de defesas frente aos antibióticos (PAJARES-CHAMORRO et al., 2019). De acordo com Yılmaz & Aslanta (2017) estes mecanismos incluem a limitação da absorção, modificação do alvo, inativação enzimática e efluxo ativo do fármaco, dependendo do antimicrobiano envolvido, as bactérias podem usar um ou vários desses mecanismos de resistência.

Além dos mecanismos de resistência, apresentam fatores de virulência, estes são determinados pela presença de genes específicos, os quais, por sua vez, são determinados por reguladores transcricionais (CHUA et al., 2014). PARK et al. (2019) realizaram um estudo de sequenciamento dos genes de isolados clínicos de *S. aureus*, e observaram que dentre as cepas existia um perfil genômico para produção de adesinas de superfície, vários tipos de enterotoxinas, polissacarídeos capsulares e hemolisinas.

O genoma de *S. aureus* contém genes específicos de adaptação ao hospedeiro, onde muitos destes são controlados pelo sistema regulador do gene acessório (*arg*) (AMISSAH et al., 2017). O sistema *agr* é um sistema autocatalítico controlado de forma dependente da densidade celular através da produção e detecção de peptídeos auto-indutores, em alta densidade celular, o sistema *agr* aumenta a produção de muitos fatores de virulência secretados, incluindo toxina da síndrome do choque tóxico, delta-hemolisina e toxinas esfoliativas A e B (MALEKI et al., 2019).

De acordo com Tan et al. (2018) o sistema *agr* pode regular positivamente as expressões de várias exoproteínas, lipases, modulinas solúveis em fenol e toxinas, entretanto a repressão de *arg* se faz essencial para a formação do biofilme em *S. aureus*. Mas tal sistema se torna essencial para a dispersão dos biofilmes contribuindo positivamente para o aumentando a secreção de proteases extracelulares.

Os fatores de virulência em *S. aureus*, ajudam principalmente na infecção e permanência nos hospedeiros. Em hospedeiros com diabetes, fatores como adesinas ajudam na aderência a fissuras na pele e as modulinas corroboram com a inflamação e morte celular, levando a fixação da infecção (TUCHSCHERR et al., 2018). As cepas de *S. aureus* podem variar as expressões de fatores de virulência de acordo com o quadro de imunidade do hospedeiro ou até mesmo a faixa etária, sendo recém-nascidos os mais afetados.

Isolados clínicos neonatais de *S. aureus* mostraram taxas aumentadas de morte celular, formação de biofilme e atividade hemolítica em comparação com outras faixas etárias, indicando que os recém-nascidos no ambiente hospitalar podem ser colonizados por cepas mais virulentas (DEINHARDT-EMMER et al., 2018). Além disso, devido ao seu sistema imunológico imaturo, recém-nascidos, prematuros e crianças são particularmente suscetíveis a infecções.

A OMS (2017) destaca que o combate a cepas de *S. aureus* resistente vem se tornando um problema no mundo inteiro e que este quadro pode ser revertido através de medidas preventivas, principalmente, no desenvolvimento e pesquisas de novos agentes frente a esta

bactéria. Younis, Taj & Rashid (2019) citam que fatores de virulência podem se tornar alvos da ação de novos agentes antimicrobianos, evitando assim fatores que influenciam na adesão, colonização, aquisição de nutrientes, formação de biofilme e evasão bacteriana do sistema imune do hospedeiro.

3.5 LEVEDURAS

Candida albicans vive como comensal na cavidade oral de 25% a 50% da população saudável, mas pode se tornar patogênica sob condições específicas, como uma resposta imune comprometida (DUTREIX et al., 2018), por quadros de imunodepressão de pacientes hospitalizados, onde a *C. albicans* torna-se um dos principais agentes causadores de infecções adquiridas nos hospitais, juntamente com espécies não-albicans como: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* (ZHANG et al., 2019). *Candida* spp. pode causar infecções nosocomiais graves e representam o quarto agente mais frequente isolado de infecções da corrente sanguínea em muitas regiões (SAVASTANO, et al., 2016).

O tratamento de infecções por *Candida* spp. se torna difícil pela presença dos fatores de virulência, bem como o surgimento de resistência aos antifúngicos. A capacidade de aderir a células epiteliais bucais humanas e células endoteliais, a transição levedura para pseudo-hifas, a produção de enzimas hidrolíticas extracelulares, formação de biofilme e a capacidade de evitar o ataque de células do sistema imunológico (PINTO et al., 2019; ARUMUGAM et al., 2019) são características que contribuem na efetivação da infecção no hospedeiro, bem como na dificuldade do tratamento.

Atualmente, os agentes antifúngicos da classe dos azóis são amplamente utilizados na terapia antifúngica, e o fluconazol é o fármaco mais comumente utilizado no tratamento da *C. albicans* (CUI et al., 2018), junto com o voriconazol, são indicados principalmente para o tratamento de infecções sistêmicas (MIRANDA-CADENA et al., 2018). Segundo Emami, et al. (2019) o fluconazol tem um espectro de atividade relativamente limitado, sendo predominantemente ativo contra espécies de *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma*, espécies de *Blastomyces* e *Coccidioides*.

Apesar de sua boa eficácia para *Candida* spp. o uso indiscriminado dos azóis é citado como uma das principais causas para a emergência de resistência em espécies de *Candida albicans* e de cepas não-*albicans* (ANDRADE NETO et al., 2018). A classe dos azóis, na qual o fluconazol é representante, seu mecanismo de ação está voltado em inibir a enzima

lanosterol 14- α -desmetilase, que catalisa um passo essencial na biossíntese do ergosterol a partir do lanosterol (HOCHART et al., 2008), composto essencial para a manutenção da integridade da membrana dos fungos.

Tantivitayakul et al. (2019) a partir de relatos da literatura observaram que os sistemas de resistência a azóis em *Candida* spp. variam entre três principais mecanismos: mutações nos genes ERG11 (lanosterol 14- α -desmetilase) e ERG3 3 (C-5 esterol dessaturase); Aumento de bombas de efluxo incluindo cassetes de ligação ao ATP (CDR1 e CDR2) e proteínas transportadoras da superfamília facilitadora principal, que são responsáveis por expulsar os azóis de dentro da célula fúngica; Resistência intrínseca aos azóis identificada em *C. krusei* que possui baixa afinidade da enzima lanosterol 14- α -desmetilase aos azóis, impedindo assim a inibição da mesma.

O número de relatos de resistência ao fluconazol é crescente nos últimos anos entre espécies que são tipicamente suscetíveis ao fluconazol, como *C. albicans* (KAUR et al., 2016). Em *C. albicans* os principais mecanismos que contribuem para a resistência a drogas em isolados clínicos são a superexpressão de bombas de efluxo (LO et al., 2015). *C. glabrata* é uma das *Candidas* spp. mais comuns, sendo a principal espécie que exhibe resistência intrínseca aos azóis e resistência as equinocandinas (FARMAKIOTIS & KONTOYIANNIS, 2017). Resistência as equinocandinas em *C. glabrata* envolve mutações nos FKS1 e FKS2 genes, que codificam β -1,3-D-glucano sintase, e pode prever a falhas do tratamento (BISWAS, et al., 2017).

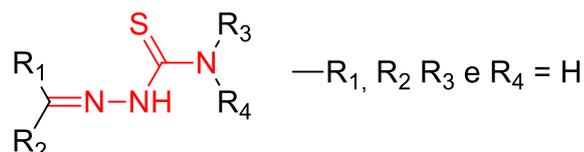
Segundo Abdelrahman et al. (2018) e Łukowska-Chojnacka, et al. (2019) corroboram que para evitar a resistência das cepas microbianas de *Candida* spp. novos candidatos a fármacos devem ser introduzidos, contendo características químicas que diferem daquelas dos medicamentos atuais, principalmente apresentando biodisponibilidade acessível e baixas interações medicamentosas adversas.

3.6 TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas (Figura 4) correspondem a uma classe de moléculas orgânicas constituída pela presença de heteroátomos de nitrogênio e enxofre, das quais se destacam as porções hidrazônica (HC=N-NH-) e tioamida (S=C-N-). Esta classe apresenta uma facilidade em sua obtenção e à versatilidade em seu emprego como composto final ou como intermediárias para a síntese de outras classes orgânicas.

As tiossemicarbazonas podem ser obtidas de duas principais formas: Direta - pela reação quimiosseletiva de aldeídos e/ou cetonas com as tiossemicarbazidas, e obtenção Indireta - através da preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina (NH₂-NH₂), seguida de condensação com os derivados carbonilados (TENÓRIO et al., 2005).

Figura 4 - Representação geral das tiossemicarbazonas



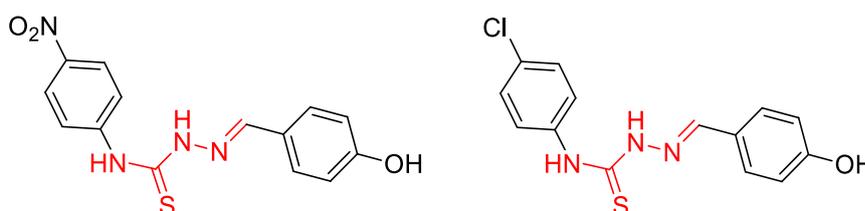
A atividade antimicrobiana desta classe de molécula é bastante promissora, visto que se forem adicionadas de forma semissintéticas com compostos naturais, como esteroides, conferem um potencial atividade frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* (KAN et al., 2008). Formas complexadas com metais, esteroides-tiossemicarbazona, foram estudadas posteriormente, mostrando mais uma vez seu potencial ação para as mesmas cepas, com concentrações menores que 32µg mL⁻¹ (KHAN & ASIRI, 2018). Formar complexos metálicos é uma das características químicas das tiossemicarbazonas, tal característica confere uma melhor atividade bacteriana, sendo mais eficazes frente a cepas virulentas como a *Mycobacterium tuberculosis* (MAIA et al., 2009).

A atividade antifúngica também é bastante promissora, apresentando atividade a cepas patogênicas de *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans* (ARAÚJO-NETO et al., 2017). Outros derivados Naftaleno-tiossemicarbazonas, também apresentaram efeitos promissores para cepas de *C. albicans* e quando avaliada a citotoxicidade e genotoxicidades, não apresentaram efeitos tóxicos ou mutagênicos em células de fibroblasto humano (ALTINTOP et al., 2016) mostrando uma seletividade promissora destes compostos no combate aos organismos patogênicos.

Os compostos 2-(4-hidroxibenzilideno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida e N-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida (Figura 5) foram primeiro sintetizados por Krishnan, et al. (2008). Neste trabalho exploraram a capacidade de inibição da enzima ribonucleotideo redutase, catalisa a redução dos ribonucleótidos e os seus desoxirribonucleótidos correspondentes, que são os blocos de construção do DNA em quase todas as células vivas, onde o composto 2-(4-hidroxibenzilideno)-N-(4-

nitrofenil)hidrazinacarbotoamida apresentou grande potencial na inibição da enzima, demonstrando seu potencial biológico.

Figura 5 – Estrutura dos compostos 2-(4-hidroxibenzilideno)-*N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida e *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida respectivamente.



Leigh, et al. (2011) produziram o composto *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida e realizaram interação com a enzima xantina oxidase, envolvida no catabolismo de purinas alimentares e endógenas, catalisando a hidroxilação da hipoxantina em xantina e xantina em ácido úrico, produzindo reativos de oxigênio que podem levar a danos no tecidos saudáveis. O composto foi destaque com inibição a 50µM de 98% da enzima, sendo um excelente candidato a fármaco anti-inflamatório associados à artrite inflamatória (gota).

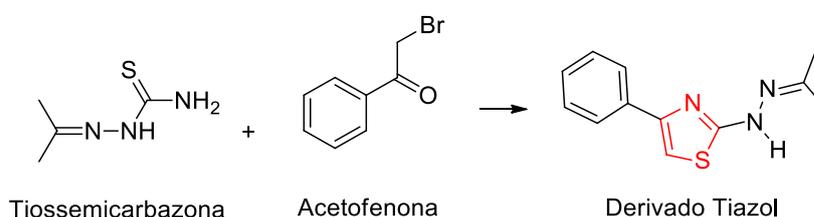
No presente trabalho os compostos 2-(4-hidroxibenzilideno)-*N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotoamida e *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotoamida, o seu potencial antimicrobiano estão sendo explorados, bem como foram utilizados como intermediários para gerar uma série de compostos inéditos tiazóis, utilizando o método de Hantzsch, sendo este o método mais comum para a síntese de tiazóis que envolve ciclização e condensação de halocetonas com tiossemicarbazonas (MISHRA, KUMARI & TIWARI, 2015).

3.7 TIAZOL

Uma vez sintetizadas as tiossemicarbazonas apresentam diversas atividades biológicas, mas estes compostos podem servir como intermediários para a síntese de núcleos heterocíclicos que possuem atividades e interações com macromoléculas dos seres vivos. As reações de ciclização induzidas nas tiossemicarbazonas podem formar núcleos como: as tiazolidinas, tiazolidinonas e os tiazóis.

O tiazol é um composto orgânico heterocíclico que possui uma estrutura de anel molecular de cinco membros com fórmula molecular C_3H_3NS . Possui tanto um grupo doador de elétrons (-S-) quanto um grupo deceptor de elétrons (CN) (MISHRA, KUMARI & TIWARI, 2015). Este núcleo é obtido através da reação de ciclização entre derivados tiossemicarbazonas com diferentes acetofenonas substituídas (Figura 6). Esta reação acontece quando tiossemicarbazona reage com a 2-bromoacetofenonas substituídas, na presença de carbonato de cálcio em álcool apropriado (OLIVEIRA, 2016).

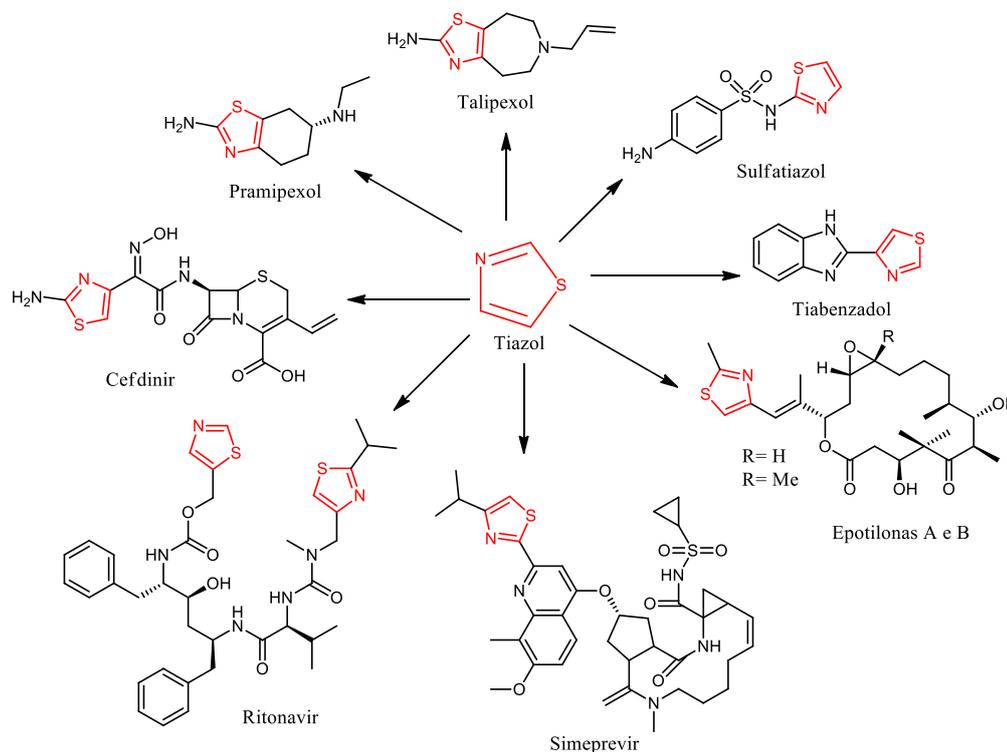
Figura 6 - Obtenção do núcleo Tiazol.



Os compostos heterocíclicos têm papel crucial no nosso sistema biológico, eles estão presentes em grande diversidade de candidatos a fármacos como antibiótico, anti-tumoral, anti-inflamatório, antiviral, antimicrobiano, antifúngico e antidiabético (MANJAL, et al., 2017). Ouf et al. (2018) denotaram que o núcleo tiazol é um dos compostos heterocíclicos mais importantes utilizados na fabricação de produtos farmacêuticos, estando presente nos compostos o talipexol e o pramipexol (Antiparkinsonianos) com uma porção 2-aminotiazole que são utilizados no tratamento da doença de Parkinson.

O núcleo também se faz presente nos fármacos e agonistas da dopamina como: Sulfatiazol (Antimicrobiano), Tiabenzadol (Antifúngico), Ritonavir (Antirretroviral), Cefdinir (Antibiótico bactericida da classe das cefalosporinas), Epotilonas A e B (Fármacos anticancerígenos), e Simeprevir (Fármaco utilizado no tratamento e cura de Hepatite C) (Figura 7).

Figura 7 – Fórmulas estruturais dos fármacos com a presença do anel tiazol (destacado em vermelho).



Fonte: Adaptado de Ouf et al.,2018.

O núcleo tiazol é uma molécula não carcinogênica que pode ser facilmente metabolizada por reações bioquímicas de rotina e exibem uma variedade de atividades biológicas manifestadas por sua presença em muitos compostos biologicamente ativos (EL-ACHKAR, et al., 2015). Para Babu et al. (2019) os heterocíclicos azóis são importantes construções químicas para o desenvolvimento e melhoramento de compostos bioativos, dentre eles se destacam o núcleo tiazol como importante componente de produtos naturais e fármacos utilizados na clínica que desempenhando uma ampla versatilidade de atribuições biológicas.

Devido à sua versatilidade na síntese e amplo efeito farmacológico, o tiazol tem demonstrado atenção, atuando como um andaime de múltiplos alvos em diversos compostos naturais e sintéticos (SIQUEIRA, et al., 2019). Compostos como as Epotilonas (compostos com a presença do tiazol), isolados primeiramente do fungo *Sorangium cellulosum*, desempenha atividade antifúngica, que através de modificações estruturais de semisíntese, apresentam atividades promissoras frente a células cancerígenas e bactérias com alto fator de resistência (ROUF & TANYELI, 2015).

O tiazol é um promissor composto orgânico com diversas atividades biológicas descritas: antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, anti-HIV, herbicida, inseticida (SENGEL & SAHINER, 2017; NALAWADE, et al., 2019). Além de estar presente em muitas moléculas biologicamente ativas, que estão em uso terapêutico como: Sulfatiazol® (antimicrobiano), Ritonavir® (antirretroviral), Abafungina® (antifúngico), Tiazofurina® (antineoplásico), Meloxicam® (anti-inflamatório), Nitazoxanida® (antiprotozoário), e em muitos produtos naturais contendo o anel, onde a maioria deles apresenta considerável citotoxicidade e potencial antitumoral (ZABLOTSKAYA, et al., 2013).

O seu potencial antimicrobiano foi demonstrado através de estudos químicos de formar anéis híbridos de tiazol, onde a junção com núcleos imidazol promoveram efeitos antimicrobianos frente a cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. (ANDREANI et al., 2001; SHANKERRAO, BODKE & SANTOSHKUMAR, 2017). Em 2015 Mohammad et al. realizaram a síntese de novos derivados tiazol, e observaram que os compostos foram capazes de inibir o crescimento de cepas de *S. aureus* resistente a múltiplos antibióticos.

Olawode et al. (2019) desenvolveram híbridos de 1,4-naphthoquinona e 2,4-tiazol e observaram que os compostos apresentaram diversas atividade biológicas, dentre elas a atividade frente a cepas de *P. aeruginosa*, destacando a substituição na posição 4 do tiazol por um halogênio, obtendo assim melhores resultados na dose resposta. B'Bhatt & Sharma (2017) observaram que os compostos heterocíclicos que possuem em sua estrutura o benzotiazol, apresentam melhores atividade antimicrobianas frente a *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus* e *M. tuberculosis*.

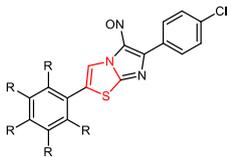
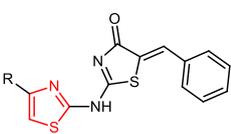
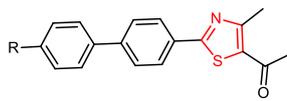
A atividade antifúngica dos compostos tiazol vem se mostrando bastante promissora para cepas de *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus gatti*, *Cryptococcus neoformans* e *Paracoccidioides brasiliensis*, estes derivados ainda apresentaram baixa citotoxicidade para células renais embrionárias, mostrando uma seletividade dos compostos para células fúngicas (LINO et al., 2018). Complexos metálicos realizados com derivados Tiazol-pirrolidina mostram efeitos biológicas bastante satisfatórios para cepas fúngicas de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, bem como apresentou uma atividade bastante promissora para *M. tuberculosis* com um MIC de $0,98\mu\text{g mL}^{-1}$ (NURAL et al., 2018).

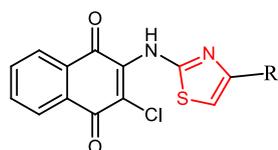
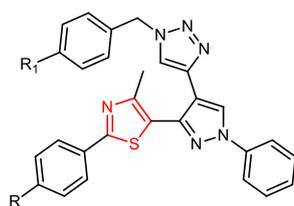
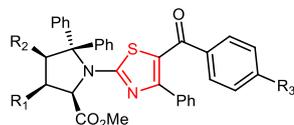
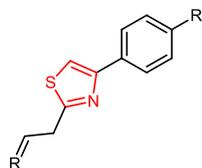
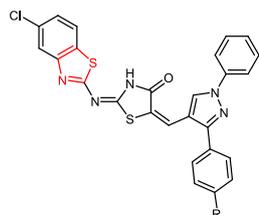
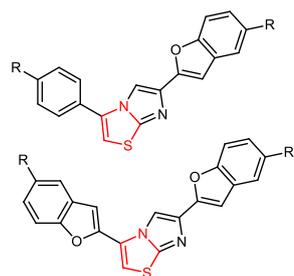
Nalawade et al. (2019) produziram uma série de novos derivados tiazolil-pirazolil-1,2,3-tiazol, capazes de inibir o crescimento das cepas: *C. albicans*, *A. niger*, *Rhodotorula glutinis*. Os autores também relataram que os compostos foram capazes de inibir a síntese do ergosterol (componente da parede celular dos fungos) em *A. niger*, sendo esta uma promissora via de ação dos derivados do tiazol frente a fungos leveduriformes e filamentosos.

Derivados 5-arylideno-2- (1,3-tiazol-2-illimino)-1,3-tiazolidin-4-onas além de apresentarem atividade antifúngica frente a *Penicillium funiculosum*, *Penicillium ochrochloron*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus flatus*, apresentaram efeitos anti-inflamatórios reduzindo o edema de pata em camundongos (APOSTOLIDIS, et al., 2013).

Compostos heterocíclicos, particularmente aqueles com átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre dentre eles o tiazol, foram identificados como tendo o espectro mais abrangente de atividades biológicas, principalmente com as bases Schiff em sua estrutura, pois acarretam em uma atividade antimicrobiana efetiva (THAKKAR, et al., 2017). Segue abaixo a tabela com os derivados que apresentaram atividades antimicrobianas (Tabela 2).

Tabela 2 – Derivados do tiazol e suas respectivas atividades antimicrobianas.

Derivados tiazol	Atividade Antimicrobiana	Referência
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	ANDREANI, et al., 2001.
	<i>Penicillium funiculosum</i> , <i>Penicillium ochrochloron</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> e <i>Aspergillus flatus</i> .	APOSTOLIDIS, et al., 2013.
	<i>S. aureus</i> MRSA	MOHAMMAD et al., 2015.



SHANKERRA

Staphylococcus aureus, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

O, BODKE & SANTOSHKU MAR, 2017.

S. aureus, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus* e *M. tuberculosis*.

B'BHATT & SHARMA, 2017.

Candida albicans, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus gatti*, *Cryptococcus neoformans* e *Paracoccidioides brasiliensis*.

LINO et al., 2018.

C. albicans, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *M. tuberculosis*.

NURAL et al., 2018.

C. albicans, *A. niger*, *Rhodotorula glutinis*.

NALAWADE et al., 2019.

Pseudomonas aeruginosa.

OLAWODE et al., 2019.

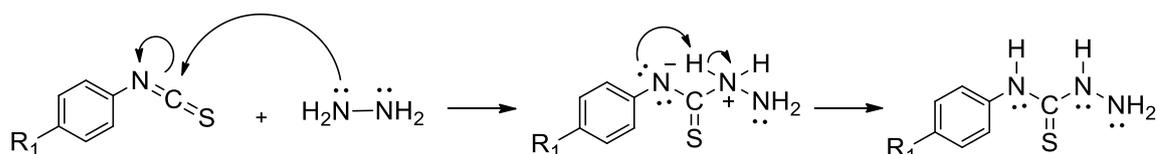
3.8 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZIDAS

Para a obtenção das tiossemicarbazidas são utilizados derivados hidrazínicos e isotiocianatos substituídos (TENÓRIO et al., 2005). A reação inicia com ataque simultâneo do nitrogênio da hidrazina ao carbono da tiocarbonila e a migração dos elétrons pi para o nitrogênio vizinho, ocorrendo a formação do intermediário instável. Neste momento ocorre o

rearranjo de hidrogênio oriundo do nitrogênio da hidrazina para o nitrogênio da tioamida, estabilizando a molécula e formando a tiossemicarbazidas (Esquema 1).

Esquema 1 – Mecanismo reacional para obtenção da tiossemicarbazidas substituídas.

R₁: Cl, NO₂

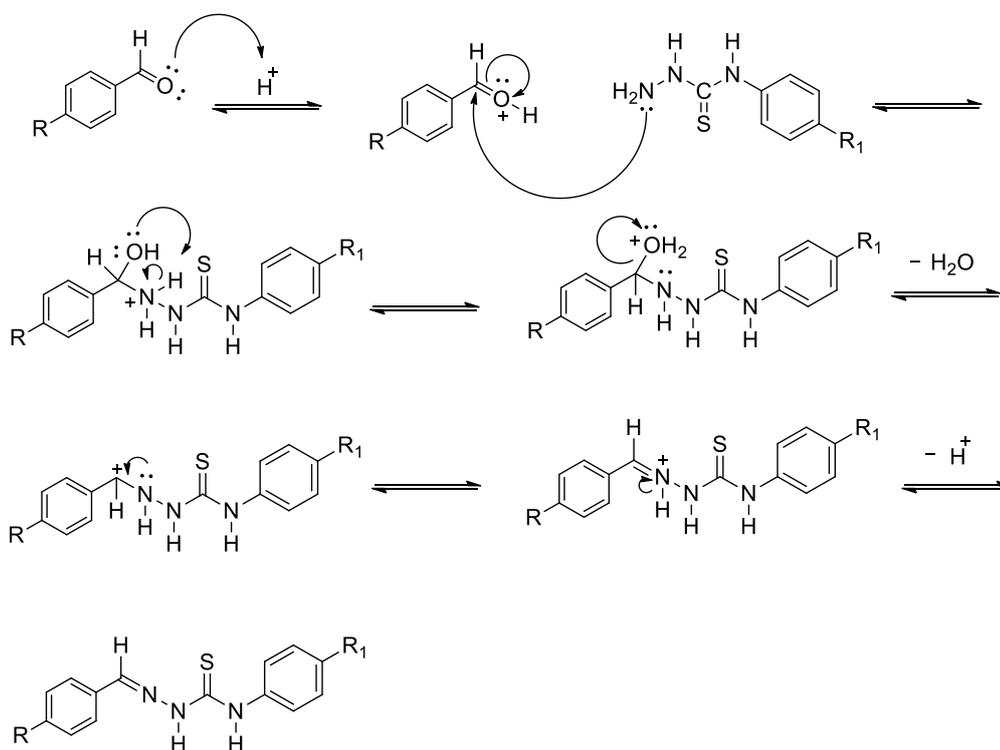


3.9 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DAS TIOSSEMICARBAZONAS

A síntese dos intermediários tiossemicarbazonas ocorre através da reação de condensação entre as tiossemicarbazidas substituídas e os aldeídos carbonilados. A reação necessita de um catalisador, podendo ser um ácido orgânico ou inorgânico. Posteriormente acontece um ataque nucleofílico dos pares de elétrons do nitrogênio da extremidade da tiossemicarbazida, ao carbono parcialmente positivo da carbonila formando um hemiaminal protonado e uma rápida transferência do próton do nitrogênio para o oxigênio, fenômeno denominado prototropismo (PEDROSA, 2017).

Após a água é liberada ao meio reacional, formando um carbocátion que é estabilizado com a migração dos pares de elétrons do nitrogênio vizinho formando uma ligação pi, deixando o mesmo instável, ocorrendo assim a liberação do próton estabilizando a molécula e formando os intermediários tiossemicarbazonas (Esquema 2).

Esquema 2 – Mecanismos reacionais das tiossemicarbazonas



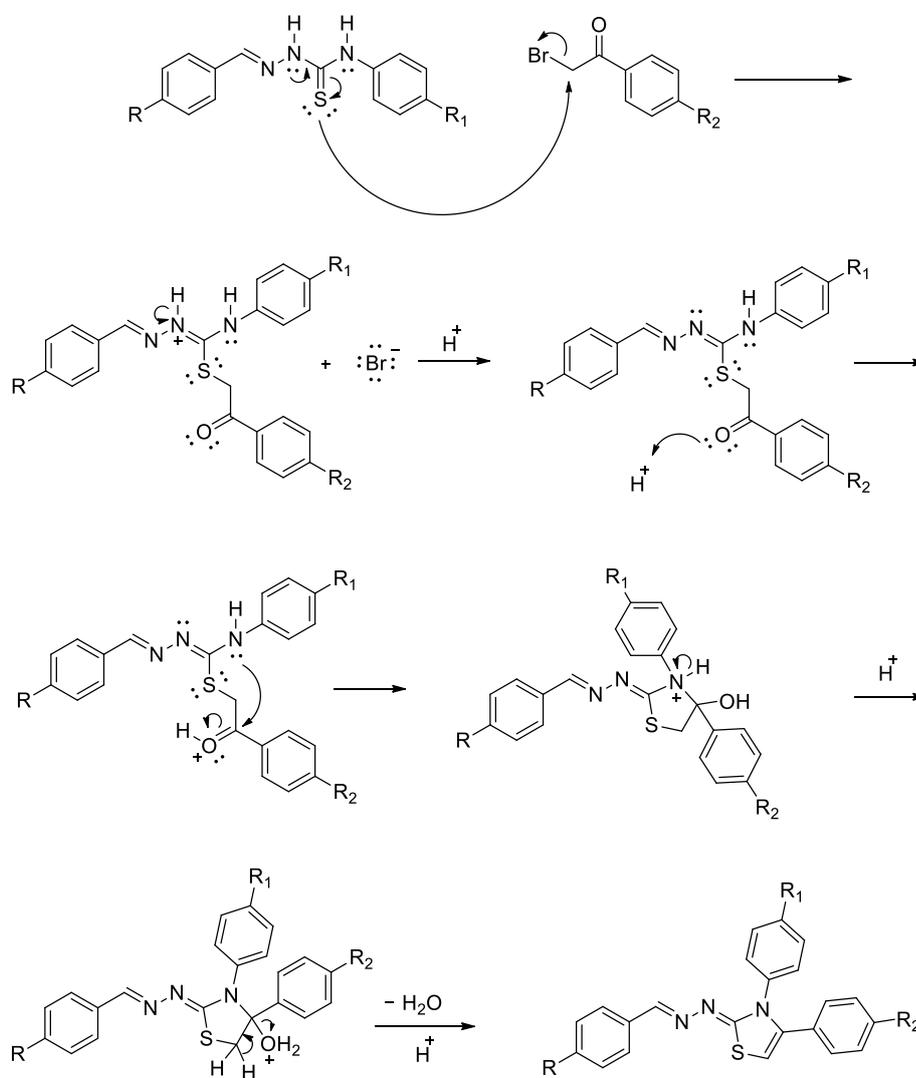
3.10 MECANISMO REACIONAL PARA OBTENÇÃO DOS TIAZOIS

O mecanismo reacional para obtenção dos derivados tiazóis foi descrita inicialmente por Hantzsch em 1887 (SOUZA et al., 2005). Síntese de Hantzsch é o método mais comum para a síntese de tiazóis que envolve ciclização e condensação de halocetonas com tioamida. A reação prossegue com o ataque nucleofílico do átomo de enxofre da tioamida no átomo de carbono α da α -halocetona com formação de intermediário α -tioacetona e após a desidratação gera os tiazóis correspondentes (MISHRA, KUMARI & TIWARI, 2015).

A obtenção do núcleo tiazol também ocorre por meio de uma reação de ciclização intramolecular utilizando compostos α -halocarbonílicos com tiossemicarbazonas substituídas (CARDOSO, et al., 2014). A síntese inicialmente ocorreu um ataque nucleofílico do enxofre da tioamida ao carbono α -halogenado da acetofenona, levando a formação do intermediário e liberação do brometo. Em seguida um próton é liberado, promovendo a estabilização do nitrogênio. Após ocorre o ataque nucleofílico da carbonila aos prótons presentes no meio reacional, deixando oxigênio instável, onde posteriormente o par de elétrons do nitrogênio atacam o carbono parcialmente positivo, levando a formação de um anel heterocíclico de cinco membros, estabilizando o oxigênio na forma de uma hidroxila.

Para estabilização do nitrogênio heterocíclico, ocorre liberação de próton ao meio reacional, levando a quebra da ligação entre o nitrogênio e hidrogênio, consequentemente estabilização do anel de cinco membros. A hidroxila ligada ao anel heterocíclico promove um ataque nucleofílico aos prótons presentes no meio reacional, formando uma molécula de água intramolecular, que atua como um grupo de saída. Após a liberação da água, o carbono ao qual a mesma estava ligada apresenta-se deficiente de elétrons. Para que ocorra a estabilização, o carbono vicinal, libera seu hidrogênio, levando a um rearranjo dos elétrons e formação da ligação pi presente no anel tiazol (Esquema 4).

Esquema 3 – Mecanismo reacional para obtenção do núcleo tiazol.



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ESTUDO QUÍMICO

4.1.1 Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes utilizados foram: 2-bromo acetofenona, 2-bromo-4-nitro acetofenona, 2-bromo-4-cloro acetofenona, 2,4-dibromo acetofenona, 2-cloro-4-fluor acetofenona, 4-clorofenil isotiocianato, 4-nitrofenil isotiocianato, 4-hidroxi-benzaldeído, água destilada, ácido acético, acetato de etila, dicloro metano, etanol, éter etílico, dimetilsulfóxido, *n*-hexano, hidrazina. Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos e suas análises pertencem aos fabricantes Sigma®, Aldrich®, Acros®, Merck®, Vetec® ou Quimis®.

4.1.2 Síntese dos novos derivados Tiazóis

Etapa 1 (Esquema 4) as obtenções das tiossemicarbazidas foi realizada através de reação de adição nucleofílica entre a hidrazina com os isotiocianatos: 4-cloro-fenil isotiocianato e 4-nitro-fenil isotiocianato, sendo utilizado como solvente o dicloro metano, em um balão de fundo redondo, a temperatura ambiente, sobre agitação magnética por 1 hora.

Etapa 2 (Esquema 4) a obtenção dos derivados tiossemicarbazonas procedeu da seguinte forma: Em um balão de fundo redondo foram adicionados o solvente de reação (Etanol), após foi adicionado o 4-hidroxbenzaldeído sobre agitação magnética, até a solubilização do composto, 15 gotas de ácido acético (catalizador da reação) foram adicionadas, passados 5 minutos, as tiossemicarbazidas foram adicionadas. Através da reação de condensação entre os reagentes 4-hidroxbenzaldeído e tiossemicarbazidas, durante 1 hora em temperatura ambiente e sendo acompanhados por cromatografia em camada delgada (CCD) durante o período reacional, obteve-se os derivados tiossemicarbazonas.

Etapa 3 (Esquema 4) a obtenção dos novos derivados tiazóis, seguiu da seguinte forma: Em um balão de fundo redondo foi adicionado o solvente da reação (Etanol), posteriormente foram adicionadas as acetofenonas com os substituintes na posição 4 do anel: Cl, Br, F, NO₂ e uma sem substituição (H), posteriormente foram adicionados os derivados tiossemicarbazonas, a reação ocorreu a temperatura de 70° C (em refluxo) durante 2 horas.

Durante o período reacional, foram retiradas líquotas para a CCD e acompanhar a formação dos novos derivados tiazol.

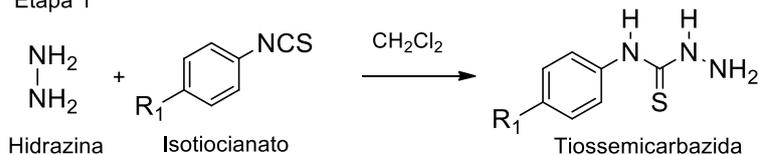
Esquema 4 - Rota Geral de síntese dos novos derivados Tiazol.

Posições:

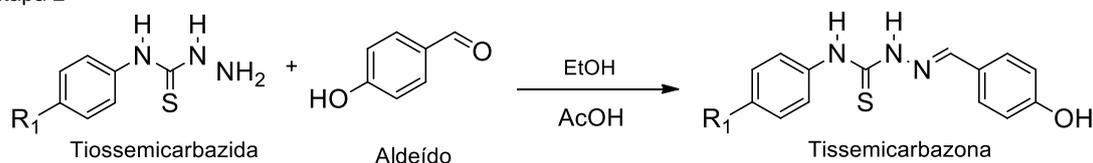
R₁: NO₂, Cl.

R₂: NO₂, Cl, H, F, Br.

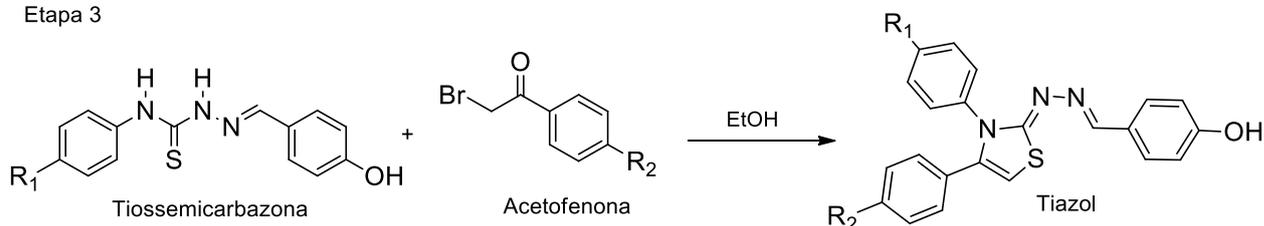
Etapa 1



Etapa 2



Etapa 3



4.1.3 Características físico-químicas

Os pontos de fusão dos compostos sintetizados foram determinados em aparelho Fisatom Modelo 431D. Cromatografia em camada delgada foi realizada em placas Merck silicagel 60 F₂₅₄, de 0,25 mm de espessura, reveladas em luz ultravioleta (254 ou 366 nm).

4.1.4 Espectroscopia de Infravermelho, Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C

A caracterização dos novos derivados foi realizada em espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV) em espectrofotômetro FTIR Bruker Modelo IFS 66, em pastilhas de

KBr. Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrofotômetros Varian Modelo Plus 300 MHz utilizado como solvente DMSO.

4.1.5 Lipofilicidade (*log p*)

As previsões da Lipofilicidade (*log p*) dos compostos foram realizadas de acordo com as regras de Lipinski, utilizando os dados farmacocinéticos *in silico* estimados nos webservices SwissADME. Tais dados *in silico* demonstram a capacidade de os compostos permearem as membranas biológicas (Moraes, et al., 2018).

4.2 ESTUDO BIOLÓGICO

4.2.1 Citotoxicidade *in vitro* em linhagens J774 de macrófagos

As células J774 foram cultivadas em placas de 96 poços na concentração de 1×10^5 células/poço e incubadas em atmosfera de 5% de CO_2 a 37°C por 24 horas. Passadas as 24 horas o sobrenadante foi removido e as células foram incubadas na presença dos compostos nas concentrações de $150\ \mu\text{g/mL}$ por 48 horas em meio RPMI. Passados este período foram adicionadas em cada poço $20\ \mu\text{L}$ da solução de MTT (3-(4,5-Dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium, 3-(4,5-Dimetil-tiazol-2-il)-difenil-tetrazolium bromide) a uma concentração de $5\ \text{mg/mL}$ diluindo em tampão PBS (Solução Tamponada de Fosfato), e as células foram incubadas por 3 horas nas mesmas condições de cultivo. Após o tempo de incubação, o sobrenadante foi retirado e os cristais de formazan formados foram diluídos em $20\ \mu\text{L}$ de DMSO. A leitura da absorbância dos cristais de formazan foi realizada através de leitor ELISA Benchmark Plus (Bio-Rad), no comprimento de onda de $590\ \text{nm}$. Após foram obtidos os percentuais de viabilidade celular. Os testes foram realizados em triplicata. Metodologia adaptada de Aliança, A. S. S., et al., 2017.

4.2.2 Cepas microbianas

As cepas microbianas (bactérias e leveduras) utilizadas no presente estudo foram obtidas na Coleção e Cultura de Microrganismos, do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Para esse trabalho foram selecionados dois grupos de microrganismos cepas padrões e cepas de isolados clínicos (Tabela 3).

Tabela 3 – Microrganismos utilizados nos testes de atividade antimicrobianos.

Cepas Padrões	Isolados Clínicos
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA-02	<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-69
<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-138	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-261
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-416	<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA-709
<i>Candida albicans</i> UFPEDA-1007	<i>Acinetobacter baumannii</i> UFPEDA-1024
	<i>Candida guilliermondii</i> UFPEDA-6390
	<i>Candida glabrata</i> UFPEDA-6393

4.2.3 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A CMI foi determinada através da técnica de microdiluição em placa de 96 poços, seguindo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100, 2017 para bactérias & CLSI M60, 2018 para as leveduras). Esses ensaios foram realizados de acordo com a cepa microbiana.

Para as cepas bacterianas, foram distribuídos volumes de 170 µL de meio líquido Mueller-Hinton, na coluna 1 e 100 µL nas demais colunas. Em seguida, foram adicionados 30 µL derivados de tiossemicarbazonas e tiazóis nos poços da coluna 1 realizando a microdiluição (150 - 0,58 µg /mL). Após diluição, cada poço foi inoculado com 10 µL da suspensão microbiana, com a concentração final do poço foi de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL. As demais colunas foram utilizadas como controle do solvente e controle da Gentamicina a 64 µg/mL. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24h. Após esse período foi utilizado o corante resazurina a 1% para avaliar a presença ou ausência das bactérias nos poços. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Os ensaios para leveduras foram feitos com algumas modificações, quando comparados aos realizados com as cepas bacterianas. Inicialmente foram distribuídos volumes de 180 µL de meio líquido RPMI, na coluna 1 e 100 µL nas demais colunas. Em seguida, foram adicionados 20 µL dos derivados nos poços da coluna 1 e realizando a microdiluição (100 - 0,39 µg /mL). Após diluição, cada poço foi inoculado com 10 µL da suspensão microbiana com a concentração final de $1,5 \times 10^3$ UFC/mL. As demais colunas foram utilizadas como controle do solvente e controle do Fluconazol a 32 µg/mL. O ensaio foi realizado em duplicata para cada microrganismo teste e as microplacas incubadas a 30 °C por

48h. Para leveduras não foi necessário utilizar o corante, pois o meio RPMI já proporciona esta análise.

4.2.4 Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB)

A CMB foi definida como a menor concentração de cada composto que resultou em redução de > 99,9% na UFC do inóculo inicial utilizando a metodologia adaptada de Jones, 2006 e Trotsko, et. al., 2018. Passadas 24h da CMI foram recolhidos 10 µL de cada poço, que apresentou inibição visível do crescimento microbiano e inoculados em ágar Mueller-Hinton, após as placas foram incubadas a 37 °C por 24h.

4.2.5 Tempo de morte

A curva de crescimento foi acompanhada por 24 horas em microplacas de 96 poços segundo protocolo adaptado de Tiwari et al. (2015). As bactérias foram expostas a diferentes concentrações dos compostos tiazóis e tiossemicarbazonas (0,5xCMI, 1xCMI, 2xCMI) e também na ausência do composto (controle do crescimento microbiano).

100 µL de meio de cultura foram distribuídos nas colunas 1, 2, 3, 4, 5 e 6 e nas linhas A, B e C. Na linha A foram adicionados mais 80 µL distribuídos das colunas 1, 2 e 3. 20 µL dos compostos tiazóis e tiossemicarbazonas foram adicionados nas colunas 1, 2 e 3 com a concentração de 2xCMI e foi realizada a microdiluição dos compostos para obter as concentrações de 1xCMI e 0,5xCMI.

Após foram adicionados 10 µL do inóculo na concentração de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL em todos os poços das colunas 1, 2, 3 e 5. As colunas 4, 5 e 6 foram utilizadas como controles: 4 como controle do meio de cultura + substâncias nas concentrações das linhas 2xCMI, 1xCMI e 0,5xCMI, 5 como controle do crescimento microbiano controle e 6 com apenas o meio de cultura.

O tempo de morte foi determinado pela redução da viabilidade celular nos intervalos 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 h e comparado com o tempo 0 h. As leituras das absorbâncias foram realizadas em leitor de microplacas polaris®, Modelo EE-Leitora de Microplacas Elisa, Nº série: EE001000046. Os dados das absorbâncias foram tratados no programa Microsoft office Excel 2013 para Windows.

4.2.6 Sinergismo

O sinergismo antimicrobiano foi determinado por meio da técnica de Checkerboard (padrão de microdiluição em placa de 96 poços em tabuleiro de xadrez) método adaptado de Bonapace et. al, 2002, Doutherty, et. al, 1977 e Lorian, V., 2005. Após conhecimento das CMI's dos compostos tiazóis e tiossemicarbazonas e oxacilina, o método inicia com o preparo das soluções mães com a concentração de 4xCMI (quatro vezes a CMI dos compostos).

Separadas 2 placas de 96 poços foram adicionados 100 µL de caldo Mueller-Hinton nos poços das colunas 1-10 na placa 1 e nos poços das colunas 1-8 da placa 2. A oxacilina foi diluída na placa 1, onde 100 µL da solução mãe (4 vezes o valor da CMI) foram adicionados nos poços da placa apenas na linha A e nas colunas de 1-8, após foi realizada a microdiluição do antibiótico até a linha G. Na placa 2 os compostos foram diluídos, onde 100 µL da solução mãe das tiossemicarbazonas e tiazóis foram adicionados apenas na coluna 8 nas linhas de A-H da placa de 96 poços, posteriormente foi realizada a microdiluição partindo da coluna 8 até a coluna 2.

Realizadas a microdiluição tanto de antibiótico quanto dos compostos (tiossemicarbazonas e tiazóis), 100 µL restantes nos poços da coluna 8 da placa 2 foram retirados e adicionados na coluna 8 da placa 1, homogeneizando e desprezando, restando apenas os 100 µL na placa 1, porém com as concentrações cruzadas entre o antibiótico diluído na placa 1 com os compostos diluídos na placa 2. O método foi repetido em todas as colunas das placas até a coluna 1 de ambas as placas. Ao final do cruzamento das concentrações apenas a placa 1 foi utilizada para as análises e placa 2 descartada.

Após as concentrações do antibiótico e dos compostos foram cruzadas, o microrganismo foi adicionado na concentração de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL, nas colunas de 1-9 da placa 1. Após a placa foi incubada a 37 °C, por 24 horas. Passadas o tempo de incubação foi adicionado 20 µL de resazurina a 1% para avaliar a presença ou ausência das bactérias, após a placa foi levada para incubação a 37 °C por 2 horas. Passado esse período a leitura foi realizada e calculada através da fórmula do Índice de Concentração Inibitória da Fração (Fraction Inhibitory Concentration Index – FICI).

$$FICI = FIC_A + FIC_B$$

$$FIC_A = CMI_{(A+B)} / CMI_A \quad FIC_B = CMI_{(A+B)} / CMI_B$$

FICI = Fraction Inhibitory Concentration Index

FIC_A = Fraction Inhibitory Concentration do antibiótico

FIC_B = Fraction Inhibitory Concentration do composto tiossemicarbazona ou tiazóis

Foram utilizados os seguintes parâmetros para a análise do efeito sinérgico ou antagônico de acordo com a metodologia adaptada de Bonapace et. al, 2002, Doughterty, et. al, 1977 e Lorian, V., 2005:

$FICI < 0,5$ = Efeito Sinérgico

$0,5 \leq FICI \leq 0,75$ = Efeito Parcialmente Sinérgico

$0,75 < FICI < 2$ = Efeito Aditivo

$2 \leq FICI \leq 4$ = Efeito Indiferente

$FICI > 4$ = Efeito Antagônico

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ESTUDO QUÍMICO

5.1.1 Características Físico-químicas das 4-hidroxibenzilideno-hidrazina-carbotioamidas

Os compostos 2-(4-hidroxibenzilideno)-*N*-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida e *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida, que correspondem aos códigos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 no presente estudo (Tabela 4), foram descritos primeiramente por Krishnan et. al., 2008, estes compostos apresentaram divergências em suas características físico-químicas, com rendimentos de 62% e faixas de pontos de fusão 165-166° C e 166-169° C para as duas moléculas respectivamente.

Leigh et. al. em 2011 também trabalharam com moléculas tiossemicarbazonas dentre as quais o composto *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida, estava presente na série em questão, os resultados físico-químicos obtidos para o composto corroboram com os encontrados no presente trabalho (Tabela 4), com fator de retenção (Rf) de 0,57 e ponto de fusão na faixa 199° - 200° C. Em relação os rendimentos obtidos neste trabalho, foram superiores aos trabalhos já descritos na literatura, 90 a 97%, apresentando resultados satisfatórios em relação a sua produção, sendo a rota de síntese empregado no presente estudo a mais eficaz para a produção dos compostos tiossemicarbazonas.

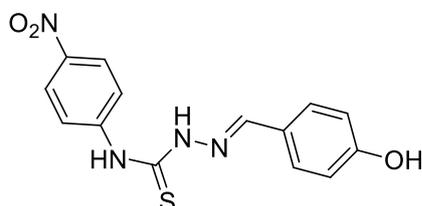
Tabela 4 – Característica físico-químicas dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02

Compostos	Aspecto	^a Log <i>p</i>	Rf	Rendimento %	Ponto de Fusão
LQIT/PB-01	Sólido Laranja	1,32	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,54	97%	190° C
LQIT/PB-02	Sólido Verde	2,80	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 1:1 - 0,58	90,13%	204° C

^a SwissADME Moriguchi log do coeficiente de partição *n*-octanol-água.

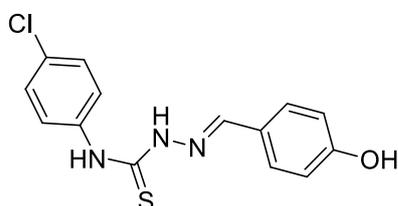
5.1.2 Caracterização estrutural IV, RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos 4-hidroxi-benzilideno-hidrazina-carbotioamidas

5.1.2.1 2-(4-hidroxi-benzilideno)-N-(4-nitrofenil)hidrazinacarbotioamida (LQIT/PB-01)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ Massa Molecular: 316,06 Infravermelho (IV): 3558 cm^{-1} (OH), 3303 a 3143 cm^{-1} (-NH), 1607 cm^{-1} (N=C), 1552 a 1505 cm^{-1} (-NO₂). RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.83 (d, 2H, J= 7,2Hz, CH-Fenol), 7.74 (d, 2H, J= 6,3Hz, CH-Fenol), 8.07 a 8.24 (m, 5H, N=CH, CH-Ar-Nitro), 10,00 (s, 1H, OH), 10,31 (s, 1H, N-NH), 11,99 (s, 1H, HN-C=S). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 115.628, 123.705, 124.104, 124.610, 129.744, 143.293, 144.626, 145.515, 159.800, 174.652.

5.1.2.2 N-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxi-benzilideno)hidrazinacarbotioamida (LQIT/PB - 02)



Fórmula Molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{OS}$, Massa Molecular: 305,04 Infravermelho (IV): 3568 cm^{-1} (-OH), 3310 a 3167 cm^{-1} (-NH), 1604 cm^{-1} (N=C), 1544 cm^{-1} (C=S), 764 cm^{-1} (-Cl). RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.80 (d, 2H, J= 8,7Hz, CH-Fenol), 7.40 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 7.63 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Ar-Cl), 7.72 (d, 2H, J= 8,4Hz, CH-Ar-Cl), 8.07 (s, 1H, N=CH), 9.94 (s, 1H, OH), 10.00 (s, 1H, N-NH), 11.71 (s, 1H, HN-C=S). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 115.567, 124.870, 127,246, 127.890, 129.085, 129.514, 138.143, 143.692, 159.539, 175.387.

5.1.2.3 Caracterização IV

Os compostos hidrazinas-carbotioamidas (tiosemicarbazonas), apresentam grupos funcionais que são característicos (tio-amidas, tio-carbonila e aminas terciárias) em sua

região. Os compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 foram caracterizados por espectro de IV e as bandas encontradas estão descritas na tabela 5 e demonstrados na figura 8.

Tabela 5 – Principais frequências de absorção observadas nos espectros de absorção no IV para os compostos 4-hidroxibenzilideno-hidrazina-carbotioamidas.

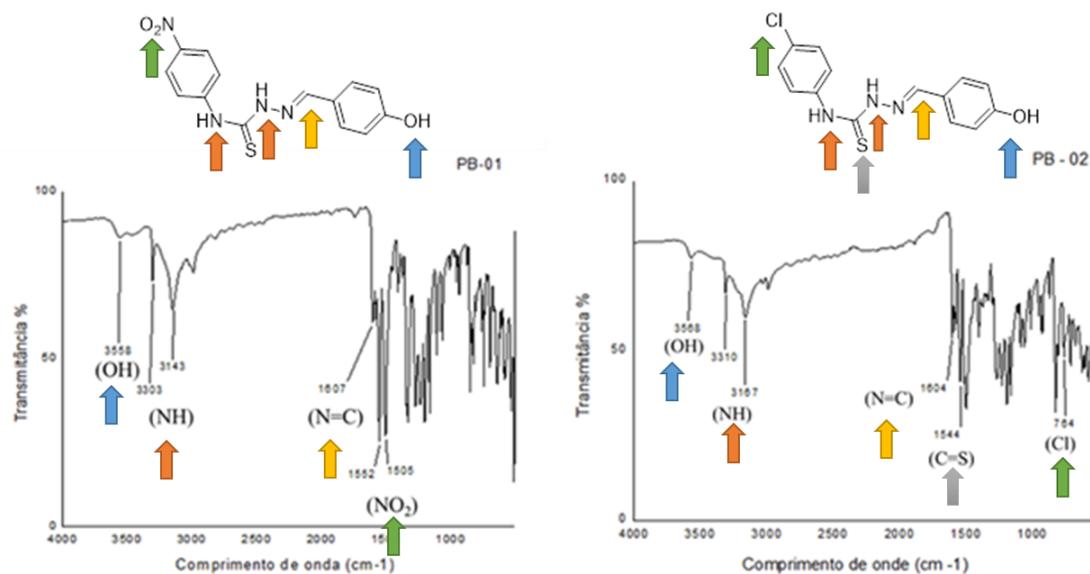
Compostos	OH	NH	N=C	NO ₂	Cl
LQIT/PB-01	3558 cm ⁻¹	3303 a 3143 cm ⁻¹	1604 cm ⁻¹	1552 a 1505 cm ⁻¹	-
LQIT/PB-02	3568 cm ⁻¹	3310 a 3167 cm ⁻¹	1607 cm ⁻¹	-	764 cm ⁻¹

As tiossemicarbazonas sintetizadas no presente estudo foram obtidas de forma indireta de síntese, através da tiossemicarbazidas (LQIT/LT-NO₂ e LQIT/LT-02) e a reação de condensação por um aldeído (4-hidroxbenzaldeído), o aparecimento das bandas na região correspondente as iminas de carbonos sp² em 1604 cm⁻¹ e 1607 cm⁻¹ para os compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 respectivamente, comprovam efetivação da formação da porção tiossemicarbazonas, que também apresentaram bandas características em regiões das amidas secundarias 3310 a 3167 cm⁻¹ e 3303 a 3143 cm⁻¹.

Islam et al. (2019) também realizaram estudos de caracterização de IV para as moléculas tiossemicarbazonas, onde fora encontrado comprimentos de onda semelhantes aos encontrados no presente estudo para porção tiossemicarbazonas, onde a banda de NH apareceu no intervalo de 3118-3351 cm⁻¹, enquanto que o alongamento da banda entre 1562 e 1587 cm⁻¹ demonstrou a presença de C=N ligação em tiossemicarbazonas. Jawaria et. al., 2019 avaliaram a estrutura molecular das tiossemicarbazonas caracterizando-as encontraram bandas características de tais compostos: 3335 a 3249 cm⁻¹ para NH e 1525 cm⁻¹ para C=N.

O composto *N*-(4-clorofenil)-2-(4-hidroxibenzilideno)hidrazinacarbotioamida (LQIT/PB-02) foi caracterizado por IV por trabalhos (Leigh et al., 2011) onde os valores de comprimento de ondas corroboram com os encontrados (Tabela 5) nas regiões dos grupos funcionais da molécula: 3301 cm⁻¹ para OH, 3172 cm⁻¹ para N-H e 1602 cm⁻¹ para C=N.

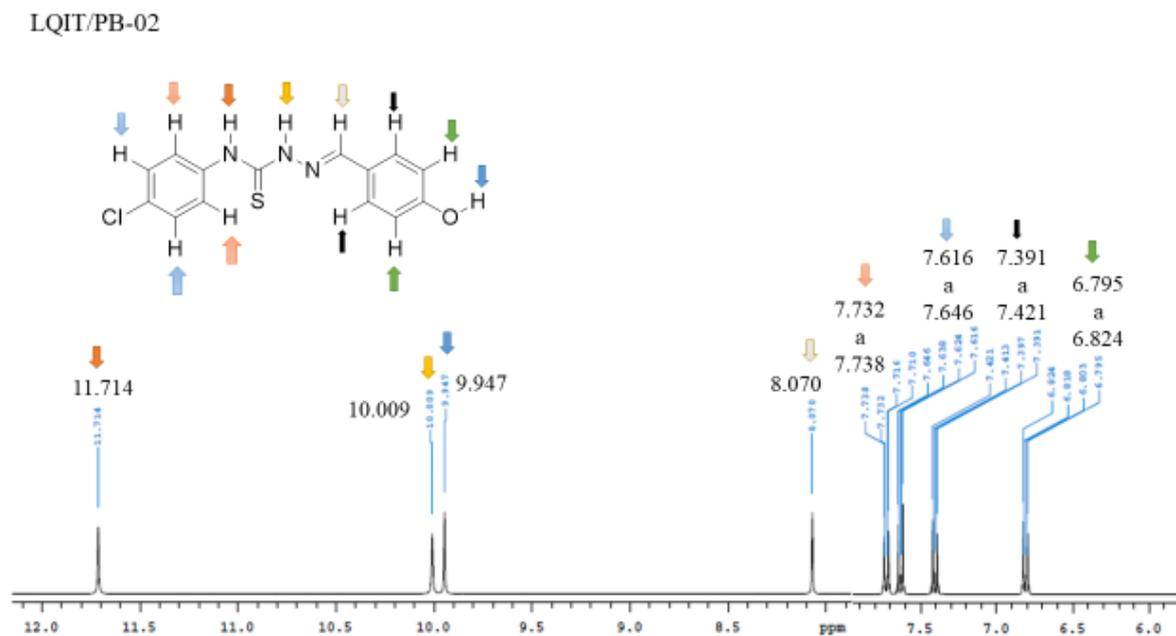
Figura 8 – Espectros de IV do composto LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02



5.1.2.4 Caracterização RMN ^1H e RMN ^{13}C

Os hidrogênios dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 foram identificados através da técnica de RMN ^1H , foram identificados na região de hidrogênios de carbono sp^2 em campos menos blindados do espectro. As hidrazinas-carbotioamidas (LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02) pode-se dividi-las em três partes, a porção do anel aromático substituído por uma hidroxila, a porção da tiossemicarbazona e a porção do anel aromático substituído com o grupamento nitro (LQIT/PB-01) ou um halogênio cloro (LQIT/PB-02).

O composto LQIT/PB-01 todos os hidrogênios presentes na molécula apresentaram-se no espectro, no campo menos blindado da região, dois dupletos caracterizando 4 hidrogênios ligados ao anel aromático da hidroxila, na região de 6.81 a 6.84 ppm apresentam-se dois hidrogênios mais próximos da hidroxila do anel, em 6.81 a 6.84 os hidrogênios mais próximos do grupo imina da tiossemicarbazona. Após esta região apresentam-se um singlete e dois dupletos, o singlete caracterizando o hidrogênio ligado ao carbono da imina em 8.07 ppm, o duplete alocado na região menos desblindada próximo da imina, caracteriza os hidrogênios presentes do anel aromático ligado ao grupamento nitro, na região mais próxima da tio-amida em 8.10 a 8.21 ppm, o segundo duplete aparente caracteriza os hidrogênios mais próximos ao grupamento nitro do anel em 8.22 a 8.24 ppm, sendo está uma região mais desblindada por interferência do efeito mesomérico retirador apresentado por tal grupamento. Nas regiões mais desblindadas do espectro em 10.00 ppm o hidrogênio da hidroxila

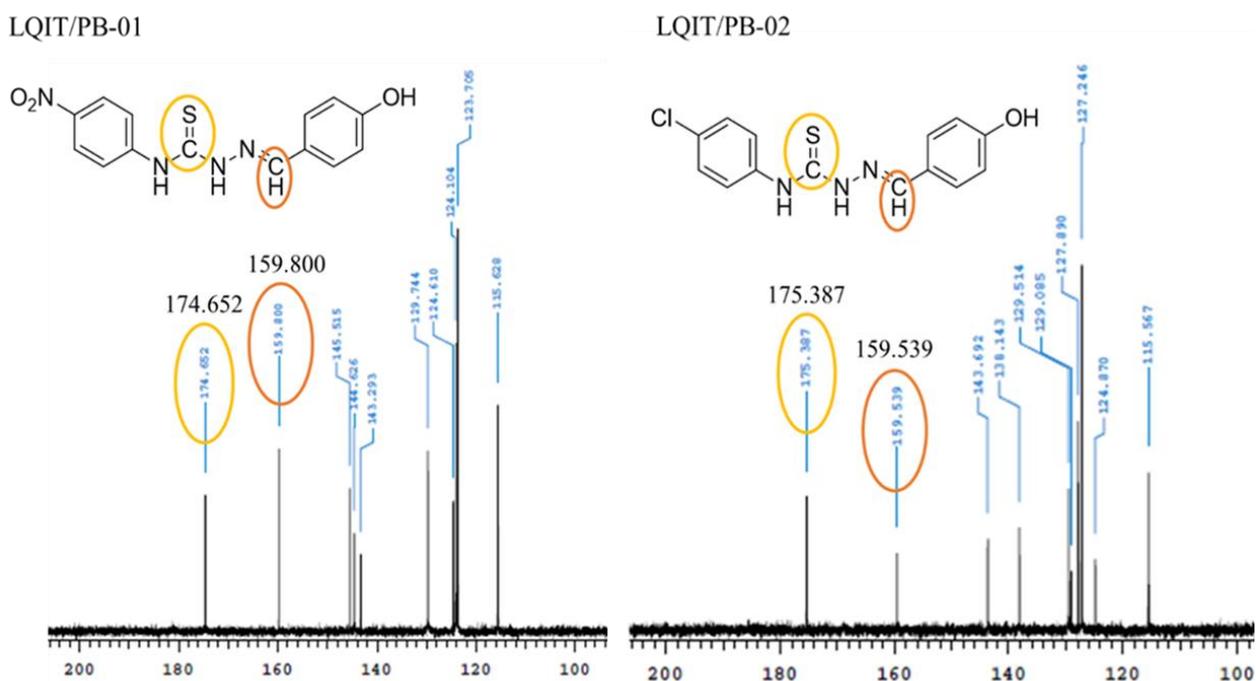
Figura 10 – Caracterização de RMN ^1H do composto LQIT/PB-02

Na análise de RMN de ^1H foi possível identificar dos hidrogênios presentes nas moléculas, relatos da literatura corroboram com os resultados encontrados para a região tiossemicarbazona dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02, onde os hidrogênios presentes no grupo imínico aparecem como um singleto nas regiões de 7 a 8 ppm (SENS et al., 2018), para os hidrogênios da tioamidas $\text{NH-N}=\text{C}$ e $\text{NH-C}=\text{S}$ aparecendo simpletos a partir de 9,68 a 10,82 ppm (SINNIAH et al., 2017). Os sinais pertencentes aos hidrogênios das hidroxilas podendo ser encontrados como um singleto na região 11,39-11,84 ppm (SUBHASHREE et al., 2017). Leigh et. al. em 2011 realizaram a caracterização do composto 4b (correspondente do LQIT/PB-02) e seus resultados são condizentes com os encontrados neste trabalho: 6.81 (d, 2H, $J=8.2$ Hz), 7.41 (d, 2H, $J=8.4$ Hz), 7.63 (d, 2H, $J=8.4$ Hz), 7.73 (d, 2H, $J=8.2$ Hz), 8.07 (s, 1H, CHN), 9.95 (s, 1H, OH/NH), 10.02 (s, 1H, OH/NH), 11.74 ppm (s, 1H, NH).

Nos espectros de RMN ^{13}C não foi possível identificar todos os carbonos, principalmente os carbonos presentes nos anéis aromáticos dos compostos, necessitando de análises espectroscópicas mais precisas em suas identificações. Entretanto todos os sinais correspondentes aos carbonos presentes na molécula apareceram na região de carbonos sp^2 em: 115.628, 123.705, 124.104, 124.610, 129.744, 143.293, 144.626, 145.515, 159.800, 174.652 ppm para o composto LQIT/PB-01 e 115.567, 124.870, 127,246, 127.890, 129.085, 129.514, 138.143, 143.692, 159.539, 175.387 ppm para o composto LQIT/PB-02. Os

carbonos presentes na porção da tiossemicarbazona foram possíveis de identificar, nas regiões de campo baixo em 159.800 e 159.539 ppm para os compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 respectivamente, encontra-se o carbono da imina, que comprova a formação da porção tiossemicarbazona através da síntese proposta no presente trabalho, corroborando com os resultados encontrados por Mohamed et. al. em 2014 que atribuem os picos na região 166 ppm ao carbono do grupo imina (N=CH), podendo ainda ser encontrados nas regiões entorno de 151.0-157.1 ppm (SUBHASHREE et. al., 2017). Nas regiões de 174.652 e 175.387 ppm encontra-se o carbono da tiocarbonila nos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 (Figura 11) respectivamente, essa região do espectro os sinais em 175.61-179.06 ppm são atribuídos a tiocarbonila (SINNIHAH et. al., 2017). Leigh et. al., 2011 para o composto 4b (correspondente do LQIT/PB-02) identificou os carbonos da imina e da tiocarbonila, em 159.6 e 175.4 ppm respectivamente, em regiões semelhantes aos do presente estudo.

Figura 11 – Espectro de RMN ^{13}C dos compostos LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02



5.1.5 Características físico-químicas dos tiazóis

Os compostos da série 3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno) hidrazina) metil) fenol e da série 3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno) hidrazina) metil) fenol as suas características físico-químicas estão apresentadas na tabela 6.

Tabela 6 – Características físico-químicas dos tiazóis.

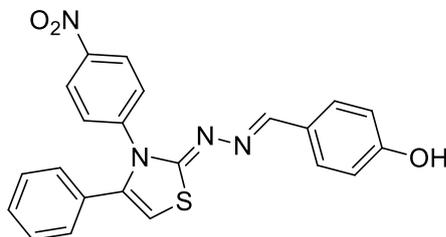
Compostos	Aspecto	^a Log <i>p</i>	Rf	Rendimento %	Ponto de Fusão
LQIT/PBT-01	Sólido Laranja	2,83	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 1:1 - 0,54	95,36%	232°-233° C
LQIT/PBT-02	Sólido Laranja	1,98	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,54	81,50%	224°-225° C
LQIT/PBT-03	Sólido Amarelo	3,31	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52	68,90%	246°-247° C
LQIT/PBT-04	Sólido Amarelo	3,42	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 7:3 - 0,40	51,37%	275°-276° C
LQIT/PBT-05	Sólido Amarelo	3,20	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52	54,80%	249°-250° C
LQIT/PBT-06	Sólido Branco	4,27	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 7:3 - 0,52	89,12%	254°-255° C
LQIT/PBT-07	Sólido Amarelo	3,31	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52	96,90%	256°-257° C
LQIT/PBT-08	Sólido Verde	4,74	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,47	98,50%	252°-253° C
LQIT/PBT-09	Sólido Verde	4,85	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,52	69%	267°-268° C
LQIT/PBT-10	Sólido Verde	4,64	Sistema <i>n</i> -hexano/Acetado de Etila 6:4 - 0,48	84,05%	245°-246° C

^a SwissADME Moriguchi log do coeficiente de partição *n*-octanol-água.

Os compostos tiazóis apresentam aspectos sólidos após a precipitação, os compostos que possuem o grupamento nitro (NO₂) em sua estrutura (LQIT/PBT-01, 02, 03 04, 05 e 07) obtiveram cores entre o amarelo e laranja, os demais compostos apresentaram tonalidades brancas e próximas a cor verde. Os rendimentos dos compostos variaram entre 51,37% a 98,50%. As faixas de fusão dos compostos apresentarem bem próximas, demonstrando a pureza dos compostos após procedimentos de purificação realizados (lavagens a quente, recristalização com solventes de diferentes polaridades e extração).

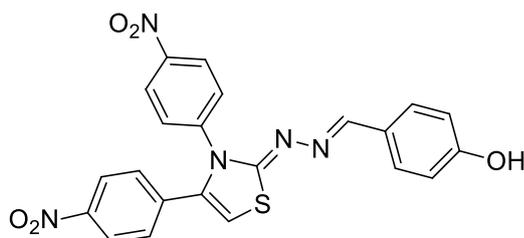
5.1.6 Caracterização estrutural de IV, RMN de ^1H e ^{13}C dos tiazóis

5.1.6.1 4-(3-(4-nitrofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT – 01)



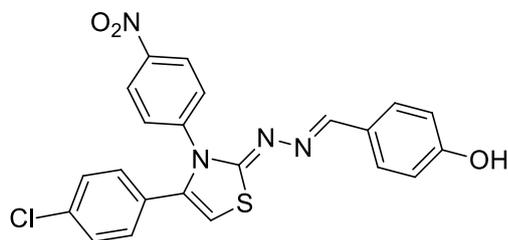
Fórmula Molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ Massa Molecular: 416,45 RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.80 (s, 1H, CH-S), 6.82 (d, 2H, $J=9\text{Hz}$, CH-Fenol), 7.17 a 7.29 (m, 5H, CH-Ar), 7.55 (d, 2H, $J=8,4\text{Hz}$, CH-Fenol), 7.61 (d, 2H, $J=8,7\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.22 (d, 2H, $J=9\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 103.704, 115.705, 124.211, 125.483, 128.365, 128.533, 128.855, 129.070, 129.974, 138.986, 142.680, 146.312, 152.949, 159.570, 167.785, 190.975. Infravermelho (IV): 3363 cm^{-1} (-OH), 3065 cm^{-1} (C=C-H), 1600 cm^{-1} (N=C), $1518\text{ a }1491\text{ cm}^{-1}$ (-NO₂), 1349 cm^{-1} (N-C).

5.1.6.2 4-(3,4-di(4-nitrofenil)thiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT - 02)



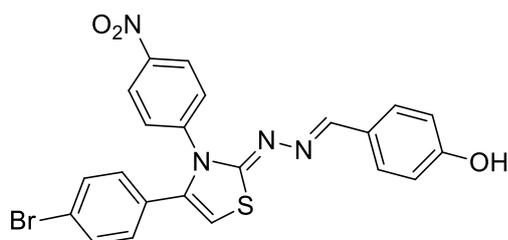
Fórmula Molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}$ Massa Molecular: 461,08 RMN ^1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (d, 2H, $J=8,7\text{Hz}$, CH-Fenol), 7.05 (s, 1H, CH-S), 7.44 (d, 2H, $J=8,7\text{Hz}$, CH-Fenol), 7.55 (d, 2H, $J=9\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 7.61 (d, 2H, $J=9,3\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 8.11 (d, 2H, $J=9,3\text{Hz}$, CH-Ar-Nitro), 8.23 (d, 2H, $J=8,7\text{ Hz}$, CH-Ar-Nitro). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 107.183, 115.720, 115.889, 123.552, 123.751, 124.364, 125.606, 125.698, 129.131, 129.177, 129.698, 129.913, 142.726, 153.593, 159.570, 167.341. Infravermelho (IV): 3623 cm^{-1} (-OH), 3080 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1512 cm^{-1} (-NO₂), 1342 cm^{-1} (C-N).

5.1.6.3 4-(4-(4-clorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol2(3H)ilideno)hidrazina)metil)fenol
(LQIT/PBT – 03)



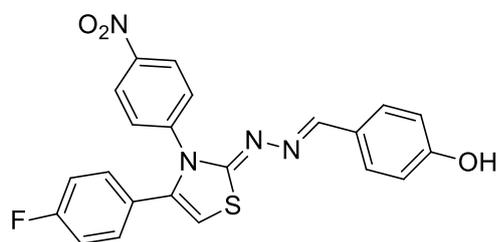
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClN_4O_3S$ Massa Molecular: 450,06 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Fenol), 6.86 (s, 1H, CH-S), 7.20 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Cl), 7.35 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Cl), 7.54 (d, 2H, $J= 9Hz$, CH-Fenol), 7.62 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.24 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Nitro). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.424, 115.689, 124.288, 125.437, 128.595, 128.840, 129.054, 129.913, 130.112, 133.484, 137.699, 142.465, 146.328, 153.072, 159.570, 167.601. Infravermelho (IV): 3066 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1518 a 1486 cm^{-1} (-NO₂), 1354 cm^{-1} (N-C).

5.1.6.4 4-(4-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol
(LQIT/PBT – 04)



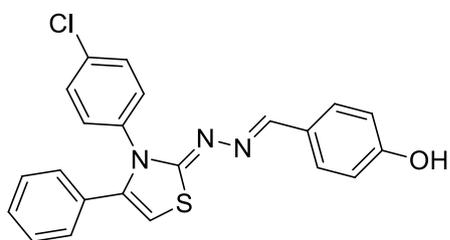
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}BrN_4O_3S$ Massa Molecular: 494,35 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.81 (t, 3H, $J= 8,7Hz$, CH-Fenol, CH-S), 7.13 (d, 2H, $J= 8,4Hz$, CH-Ar-Br), 7.48 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Br), 7.54 (d, 2H, $J= 9Hz$, CH-Fenol), 7.61 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Nitro), 8.12 (s, 1H, N=CH), 8.24 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Nitro). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.363, 115.674, 122.157, 124.273, 125.483, 129.039, 129.238, 129.882, 130.281, 131.507, 137.714, 142.542, 146.297, 153.102, 159.539, 167.586. Infravermelho (IV): 3068 cm^{-1} (C=C-H), 1601 cm^{-1} (N=C), 1515 a 1491 cm^{-1} (-NO₂), 1351 cm^{-1} (N-C).

5.1.6.5 4-(4-(4-fluorofenil)-3-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT – 05)



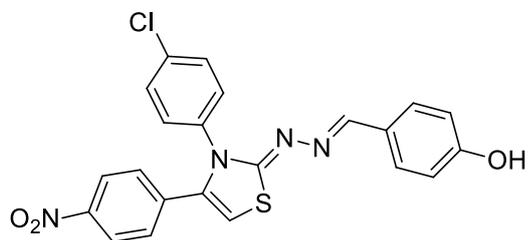
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}FN_4O_3S$ Massa Molecular: 434,08 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.69 (s, 1H, CH-S), 6,804 (d, 2H, $J= 8,1Hz$, CH-Fenol) 7.09 a 7.26 (m, 5H, CH-Fenol, CH-Ar-F), 7.52 a 7.57 (m, 3H, CH-Fenol, CH- NO_2), 8.09 (s, 1H, N=CH) 8.22 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar- NO_2), 9.91 (s, 1H, -OH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 102.907, 115.383, 115.613, 115.674, 124.012, 128.917, 129.867, 130.465, 130.572, 137.469, 143.109, 145.929, 152.995, 159.356, 167.448. Infravermelho (IV): 1594 cm^{-1} (N=C), $1533\text{ a }1505\text{ cm}^{-1}$ (- NO_2), 1344 cm^{-1} (N-C), 1011 cm^{-1} (-F).

5.1.6.6 4-(3-(4-clorofenil)-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT – 06)



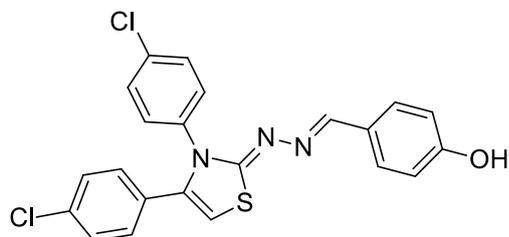
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{16}ClN_3OS$ Massa Molecular: 405,07 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.85 (d, 2H, $J= 8,1Hz$, CH-Fenol), 6.98 (s, 1H, CH-S), 7.18 a 7.30 (m, 5H, CH-Ar) 7.45 a 7.57 (m, 6H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl), 8.20 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.501, 115.812, 124.717, 128.365, 128.871, 129.100, 129.192, 129.376, 129.545, 130.602, 133.790, 134.603, 140.381, 152.290, 159.938, 168.460. Infravermelho (IV): 3063 cm^{-1} (C=C-H), 2599 cm^{-1} (C-S), $1600\text{ a }1576\text{ cm}^{-1}$ (N=C), 746 cm^{-1} (-Cl).

5.1.6.7 4-(3-(4-clorofenil)-4-(4-nitrofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT – 07)



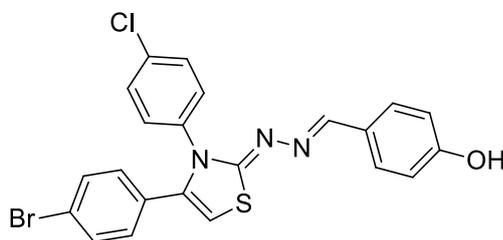
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClN_4O_3S$ Massa Molecular: 450,06 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.83 (d, 2H, $J= 8,4Hz$, CH-Fenol), 7.10 (s, 1H, CH-S), 7.42 a 7.56 (m, 8H, CH-Ar-Cl, CH-Ar-Cl, CH-Fenol, CH-Ar-Nitro), 8.12 (d, 2H, $J= 8,4Hz$, CH-Ar-Nitro), 8,15 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 106.693, 115.735, 123.537, 125.223, 129.085, 129.468, 129.560, 130.434, 133.254, 135.231, 136.105, 137.775, 147.063, 152.811, 159.677, 168.122. Infravermelho (IV): 3630 cm^{-1} (-OH), 3112 cm^{-1} (C=C-H), 1600 cm^{-1} (N=C), 1516 a 1494 cm^{-1} (-NO₂), 1346 cm^{-1} (N-C).

5.1.6.8 4-(3,4-di(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol (LQIT/PBT – 08)



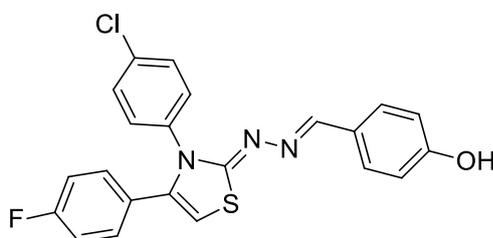
Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}Cl_2N_3OS$ Massa Molecular: 439,03 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 5.36 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Fenol), 6.96 (s, 1H, CH-S), 7.21 (d, 2H, $J= 8,7Hz$, CH-Ar-Cl), 7.37 (d, 2H, $J= 8,4Hz$, CH-Ar-Cl), 7.45 a 7.56 (m, 6H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl) 8,16 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.624, 115.781, 124.962, 128.487, 129.146, 129.530, 130.541, 130.587, 133.591, 133.775, 134.817, 138.879, 152.428, 159.815, 168.337. Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3051 cm^{-1} (C=C-H), 1598 cm^{-1} (N=C).

5.1.6.9 4-(4-(4-bromofenil)-3-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol
(LQIT/PBT – 09)



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClBrN_3OS$ Massa Molecular: 482,98 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.23 (s, 1H, -OH), 6.83 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Fenol), 6.94 (s, 1H, CH-S), 7.14 (d, 2H, J= 9Hz, CH-Ar-Cl), 7.41 a 7.56 (m, 8H, CH-Fenol, CH-Ar-Cl, CH-Ar-Br), 8,15 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.486, 115.751, 122.449, 125.039, 128.917, 129.116, 129.499, 130.572, 130.694, 131.399, 133.484, 134.925, 138.864, 152.428, 159.769, 168.322. Infravermelho (IV): 3651 cm^{-1} (-OH), 3088 cm^{-1} (C=C-H), 1602 cm^{-1} (N=C).

5.1.6.10 4-(3-(4-clorofenil)-4-(4-fluorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina)metil)fenol
(LQIT/PBT -10)



Fórmula Molecular: $C_{22}H_{15}ClFN_3OS$ Massa Molecular: 423,06 RMN 1H (300 MHz, DMSO) δ : 6.84 (d, 2H, J= 8,1Hz, CH-Fenol), 6.99 (s, 1H, CH-S), 7.12 a 7.28 (m, 4H, CH-r-F) 7.46 a 7.57 (m, 6H, CH-Ar-Cl, CH-Fenol), 8.19 (s, 1H, N=CH). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ : 104.685, 115.337, 115.628, 115.827, 124.748, 129.238, 129.637, 130.664, 131.292, 131.415, 133.898, 134.495, 139.323, 152.351, 159.969, 168.383. Infravermelho (IV): 3648 cm^{-1} (-OH), 3126 cm^{-1} (C=C-H), 1599 cm^{-1} (1599).

5.1.6.11 Caracterização de IV

Os compostos Feniltiazol-hidrazinas foram submetidos a caracterização por IV, a tabela 7 mostra as principais frequências de absorção dos compostos. Foi possível observar bandas características das hidroxilas nos compostos, demonstrando a integridade desta região dos compostos finais ciclizados, corroborando com George, et. al., 2019 que observou as bandas a $3444-3421\text{ cm}^{-1}$ correspondente as hidroxilas. Bandas entre $1690-1590\text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas para os grupos iminas presentes nos compostos, as bandas características de alongamento observadas entre $1620-1438\text{ cm}^{-1}$ são atribuídas ao grupo C=N (SAĞLIK, et. al., 2019). Os compostos LQIT/PBT-01, 02, 03, 04, 05 e 07 que apresentam o grupamento nitro ($-\text{NO}_2$), demonstraram bandas fortes características do $-\text{NO}_2$ nas regiões $1533-1491\text{ cm}^{-1}$.

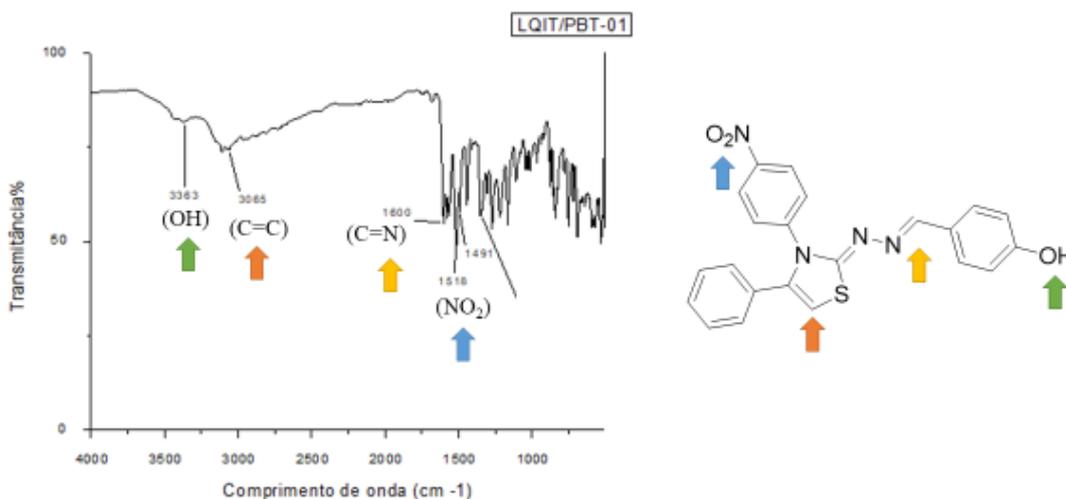
Tabela 7 – Principais frequências observadas nos espectros de absorção no IV para os compostos Feniltiazol-hidrazinas.

Compostos	-OH	C=CH-S	N=CH	-NO ₂
LQIT/PBT-01	3363 cm^{-1}	3065 cm^{-1}	1600 cm^{-1}	$1518\text{ a }1491\text{ cm}^{-1}$
LQIT/PBT-02	3623 cm^{-1}	3080 cm^{-1}	1601 cm^{-1}	1512 cm^{-1}
LQIT/PBT-03	-	3066 cm^{-1}	1601 cm^{-1}	1518 cm^{-1}
LQIT/PBT-04	-	3068 cm^{-1}	1601 cm^{-1}	$1515\text{ a }1491\text{ cm}^{-1}$
LQIT/PBT-05	-	-	1594 cm^{-1}	$1533\text{ a }1505\text{ cm}^{-1}$
LQIT/PBT-06	-	3063 cm^{-1}	1600 cm^{-1}	-
LQIT/PBT-07	3630 cm^{-1}	3112 cm^{-1}	1600 cm^{-1}	$1516\text{ a }1494\text{ cm}^{-1}$
LQIT/PBT-08	3651 cm^{-1}	3051 cm^{-1}	1598 cm^{-1}	-
LQIT/PBT-09	3651 cm^{-1}	3088 cm^{-1}	1602 cm^{-1}	-
LQIT/PBT-10	3648 cm^{-1}	3126 cm^{-1}	1599 cm^{-1}	-

Os espectros de IV do composto LQIT/PBT-01, demonstrado abaixo, representa os demais compostos da série feniltiazol-hidrazinas. O espectro demonstra uma banda larga referente a hidroxila do composto em 3363 cm^{-1} , posteriormente a banda em 3065 cm^{-1} caracteriza o carbono que realiza a dupla ligação do núcleo tiazol. O grupo imina apresenta-se

em 1600 cm^{-1} , após com duas bandas fortes aproximadas características do grupamento nitro na região de 1518 a 1491 cm^{-1} .

Figura 12 – Espectro de IV do composto LQIT/PBT-01



5.1.6.12 Caracterização de RMN ^1H e ^{13}C

Os compostos foram submetidos as análises de RMN de ^1H e ^{13}C , para representar esta série de moléculas serão demonstrados os espectros dos compostos LQIT/PBT-03 para RMN de ^1H e LQIT/PBT-04 para o RMN de ^{13}C .

Os hidrogênios do composto LQIT/PBT-03 foram todos caracterizados na região de hidrogênios de carbonos sp^2 . Na região mais blindada do espectro apareceu um duplete em 6.80 a 6.83 ppm, tais sinais correspondentes os hidrogênios da porção fenólica mais próximos da hidroxila, estes hidrogênios foram caracterizados nesta região por estarem sofrendo forte efeito mesomérico promovido pela hidroxila do anel.

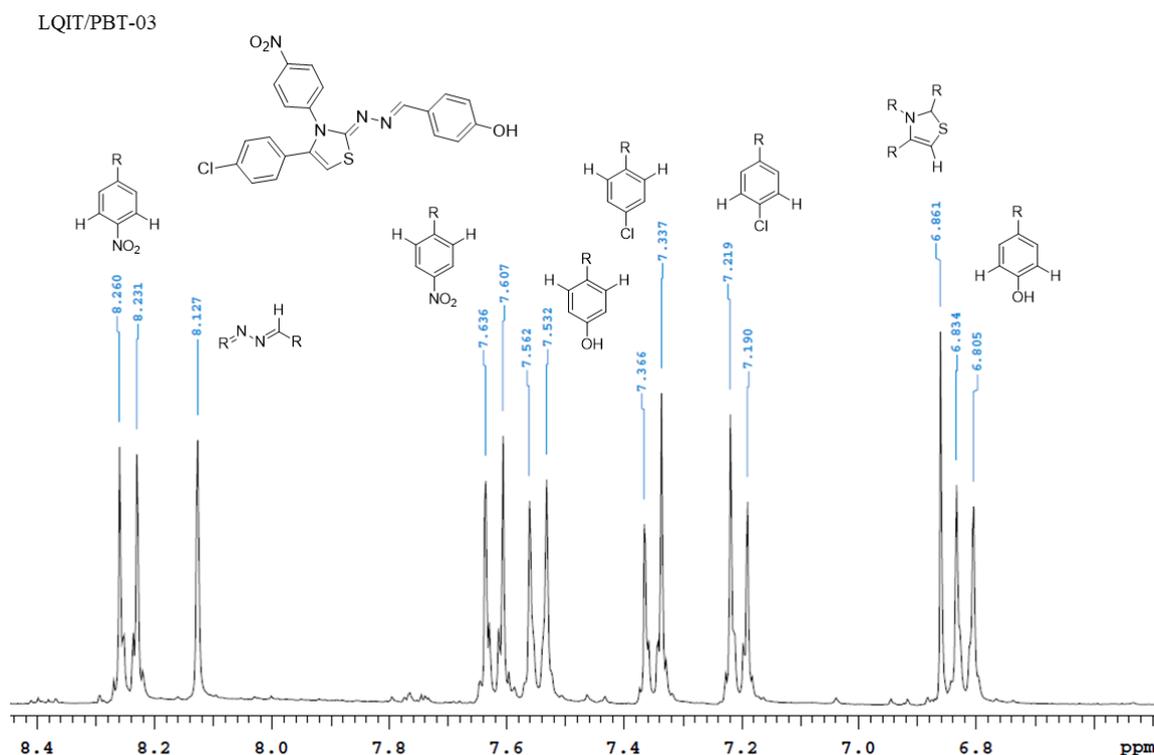
Após surge um singlete em 6.86 ppm (tabela 7 com os sinais dos demais compostos), que é característico do hidrogênio presente no anel tiazol, dados de Silva et. al., 2017 também observaram um singlete em torno de 6.46 ppm. A presença de sinais em torno de 7.0 ppm confirmam a formação da porção tiazol através da ciclização das tiossemicarbozanas, correspondendo ao hidrogênio da região $\text{C}=\text{CH}-\text{S}$ do anel tiazol (LINO et al., 2018).

Dois dupletos surgiram na região de 7.19 a 7.21 ppm e 7.33 a 7.36 ppm, tais sinais sendo correspondentes aos hidrogênios do anel aromático que contém o cloro como

substituente, na região mais blindada os hidrogênios mais próximos do cloro (recebendo efeito mesomérico fraco, porém capazes de blindar estes dois hidrogênios) e mais desblindada os hidrogênios mais próximos do núcleo tiazol.

Após esta região surgiram dois dupletos, um correspondente aos hidrogênios do fenol mais próximos da porção imina da molécula em 7.53 a 7.56 ppm, e em 7.60 a 7.63 ppm se encontram os hidrogênios do anel aromática que contém o grupamento nitro, nesta região menos desblindada (para estes hidrogênios) se encontro os hidrogênios mais próximos da região do núcleo tiazol. Nas regiões mais desblindadas do espectro surge um simpleto em 8.12 ppm característico do hidrogênio imínico e em 8.23 a 8.26 ppm aparecem os hidrogênios do anel aromático que contém o nitro, mais próximos a este grupo, sendo o grupamento nitro forte influenciador do efeito mesomérico retirador (Figura 13).

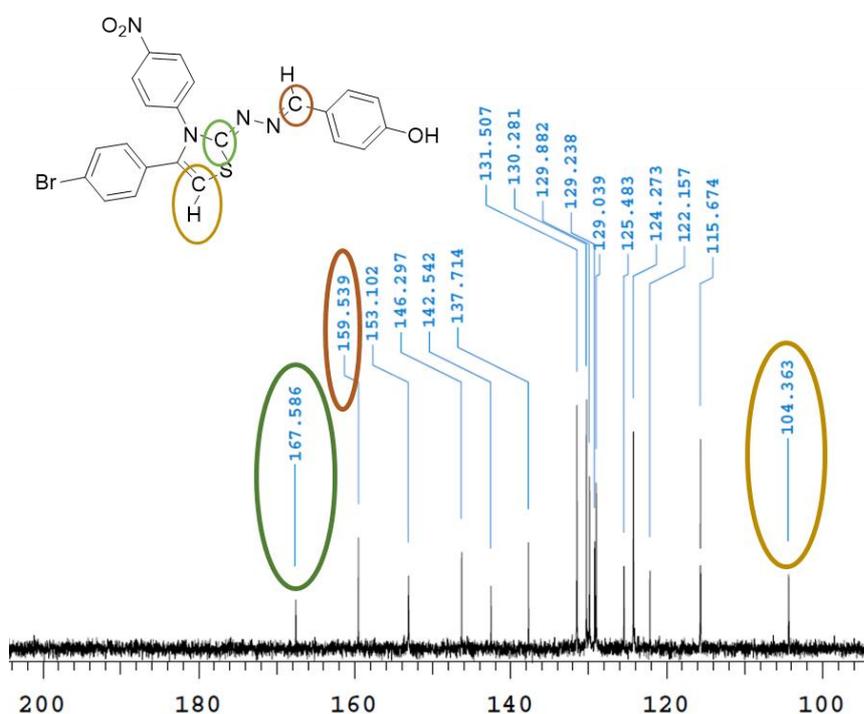
Figura 13 – Espectro de RMN de ^1H do composto LQIT/PBT-03



Através dos espectros de RMN de ^{13}C não foi possível identificar todos os carbonos presente nos compostos, entretanto os sinais que seriam correspondentes todos os carbonos apareceram, na região dos carbonos sp^2 acima de 100 ppm. Para o composto LQIT/PBT-04 o sinal em 104.363 ppm é correspondente ao carbono do tiazol (Tabela 7 sinais dos demais

compostos da série), o carbono metínico do anel tiazol é fácil de localizar nas regiões de 101 a 117 ppm (OLIVEIRA FILHO, et. al., 2017). Na região de campo alto do espectro surge o sinal de 167.586 ppm, tal sinal é atribuído ao carbono C=N presente no anel, os sinais referentes a estes carbonos exibem sinais em 166.000 a 168.800 ppm (ASIF, et. al., 2017). O desaparecimento dos sinais em torno de 175 ppm no espectro de RMN ^{13}C indica o desaparecimento do grupo C=S, presentes no progenitor tiossemicarbazona, confirmando assim ciclização da porção tiossemicarbazona em tiazol (SILVA et. al., 2017). Segundo Santana, et. al., 2018 a presença de picos em torno de 109,7 e 145,8 ppm confirmam a ciclização e formação do tiazol (Figura 14).

Figura 14 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto LQIT/PBT-04



A tabela 8 abaixo demonstra os principais picos do RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos da série LQIT/PBT referentes a caracterização do anel tiazol, confirmando a formação do anel tiazol através da síntese proposta neste trabalho.

Tabela 8 – Principais picos da caracterização de RMN de ^1H e ^{13}C do anel tiazol.

Compostos	RMN de ^1H C=C-H	RMN de ^{13}C C=C-H	RMN de ^{13}C N-C-S
LQIT/PBT-01	6.806 ppm	103.704 ppm	167.785 ppm
LQIT/PBT-02	7.053 ppm	107.183 ppm	167.341 ppm
LQIT/PBT-03	6.861 ppm	104.424 ppm	167.601 ppm
LQIT/PBT-04	6.853 ppm	104.363 ppm	167.586 ppm
LQIT/PBT-05	6.695 ppm	102.907 ppm	167.448 ppm
LQIT/PBT-06	6.988 ppm	104.501 ppm	168.460 ppm
LQIT/PBT-07	7.100 ppm	106.693 ppm	168.122 ppm
LQIT/PBT-08	6.961 ppm	104.654 ppm	168.337 ppm
LQIT/PBT-09	6.943 ppm	104.486 ppm	168.322 ppm
LQIT/PBT-10	6.990 ppm	104.685 ppm	168.383 ppm

5.2 ESTUDO BIOLÓGICO

5.2.1 Citotoxicidade *in vitro* em linhagens J774 de macrófagos

Segundo Mohammad et. al., 2015 a toxicidade seletiva é uma propriedade importante que os antibióticos aprovados e os novos compostos antimicrobianos devem possuir. A capacidade dos agentes antimicrobianos de exibir sua atividade no microrganismo alvo sem causar danos aos tecidos do hospedeiro é importante para verificar no início do processo de descoberta de um medicamento.

Os compostos tiossemicarbonas apresentaram os melhores resultados em relação a viabilidade celular da linhagem J774. O composto LQIT/PB-02 apresentou 67,6% de viabilidade celular (Tabela 9) resultado superior aos compostos padrões a Gentamicina e o Fluconazol que obtiveram 34,7% e 33,7% respectivamente. Os compostos finais tiazóis

apresentaram-se muito tóxicos para a linhagem escolhida, tais resultados podem ser justificados pela alta concentração administrada e tempo de exposição as células.

Tabela 9 – Resultado da viabilidade celular dos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis frente a linhagem J774 de macrófagos.

Compostos	% Viabilidade Celular
LQIT/PB-01	30
LQIT/PB-02	67,6
LQIT/PBT-01	2,3
LQIT/PBT-02	0
LQIT/PBT-03	0
LQIT/PBT-04	1
LQIT/PBT-05	2,6
LQIT/PBT-06	1
LQIT/PBT-07	1,4
LQIT/PBT-08	0
LQIT/PBT-09	0
LQIT/PBT-10	3
Gentamicina	34,7
Fluconazol	33,7

Mirza et. al., 2017 destacam que os compostos tiazóis com substituições de halogênios na posição *para* do anel podem apresentar alta citotoxicidade frente a algumas linhagens celulares transformadas e não transformadas, destacando que tais resultados não interferem no potencial vasto de atividade apresentado por estes compostos. Destacando que os compostos da série no presente estudo apresentaram grupos neutros e doadores de elétrons o que acarretam em um fraco desempenho na citotoxicidade (BAIG, et al., 2018), podendo apresentar altos percentuais de viabilidade para outras linhagens celulares de humanos.

5.2.2 Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Bactericida

De acordo com Jones, 2006 e Trotsko, et. al., 2018 os compostos tiossemicarbazonas e tiazóis foram classificados como bacteriostáticos quando a razão CMB/CMI era ≥ 8 e bactericidas quando a razão CMB/CMI era ≤ 4 .

Os compostos tiossemicarbazonas LQIT/PB-01 e LQIT/PB-02 apresentaram atividade antimicrobiana frente as cepas testadas, destacando o composto LQIT/PB-02 que apresentou atividade tanto para bactérias Gram-positivas, quanto para Gram-negativas, sendo a sua CMI de 37,5 $\mu\text{g/mL}$ superior aos antibióticos Cefoxitina 256 $\mu\text{g/mL}$ e Oxacilina 512 $\mu\text{g/mL}$ para cepas de *A. baumannii* UFPEDA-1024 e *S. aureus* UFPEDA-709 respectivamente. Outro destaque para o composto LQIT/PB-02 está na atividade antifúngica, onde apresentou resultados de CMI de 12,5, 50 e 12,5 $\mu\text{g/mL}$ para as cepas de *C. albicans* UFPEDA-1007, *C. glabrata* UFPEDA-6393, *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 respectivamente, obtendo um resultado superior ao Fluconazol de 16 $\mu\text{g/mL}$ para a cepa *C. albicans* UFPEDA-1007.

O composto LQIT/PB-02 apresentou a razão CMB/CMI de 1 para *A. baumannii* UFPEDA-1024, 1 para *E. faecalis* UFPEDA-69, 4 para *E. faecalis* UFPEDA-138, 2 para *P. aeruginosa* UFPEDA-261, 2 para *P. aeruginosa* UFPEDA-416, 4 para *S. aureus* UFPEDA-02 e 2 para *S. aureus* UFPEDA-709, sendo classificado como composto com característica bactericida para as cepas testadas.

Os compostos tiazóis apresentaram resultados promissores, destacando os resultados obtidos pelos compostos LQIT/PBT-01 e LQIT/PBT-09 com CMI de 75 $\mu\text{g/mL}$ para *A. baumannii* UFPEDA-1024 que foram superiores a Cefoxitina 256 $\mu\text{g/mL}$, e para a cepa *S. aureus* UFPEDA-709 destacando os compostos LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 com CMI de 75 $\mu\text{g/mL}$, superiores a Oxacilina 512 $\mu\text{g/mL}$. O composto LQIT/PBT-01 com proporção CMB/CMI de 2 para UFPEDA-1024 apresentou característica bactericida para esta cepa, já o composto LQIT/PBT-09 não entrou nos padrões proposto, sendo alocado como efeito bacteriostático para *A. baumannii* UFPEDA-1024.

Os compostos LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 apresentaram razão de CMB/CMI de 2, sendo então classificados como bactericidas frente a *S. aureus* UFPEDA-709. Todos os compostos tiazóis da serie proposta apresentaram atividade para *P. aeruginosa* UFPEDA-261 e *P. aeruginosa* UFPEDA-416, apresentando razão de CMB/CMI que variaram de 1 a 2, sendo classificados como compostos bactericidas para as duas cepas de *P. aeruginosa*.

A atividade antifúngica dos tiazóis foi bastante promissora na inibição do crescimento de *C. albicans* UFPEDA-1007 e *C. guilliermondii* UFPEDA-6390. Os compostos LQIT/PBT-04, LQIT/PBT-05 apresentaram CMI de 25 µg/mL e os compostos LQIT/PBT-01, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09, LQIT/PBT-10 apresentaram CMI de 50 µg/mL para *C. albicans* UFPEDA-1007. Todos os tiazóis da série foram capazes de inibir o crescimento de *C. guilliermondii* UFPEDA-6390 com CMI que variaram de 100 a 12,5 µg/mL, evidenciando o composto LQIT/PBT-05 que apresentou CMI de 12,5 µg/mL.

A tabela 10 demonstra os resultados de CMI obtidos pelos compostos tiossemicarbazonas e tiazóis e a tabela 11 demonstram os resultados de CMB e razão CMB/CMI frente as cepas padrões e isolados clínicos: *A. baumannii*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. E A tabela 12 demonstra a CMI obtida pelos compostos tiossemicarbazonas e tiazóis frente a *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. guilliermondii*.

Tabela 10 – CMI dos compostos Antibióticos padrões e dos compostos das series LQIT/PB e LQIT/PBT nas concentrações de µg/mL frente as cepas bacterianas padrões e isolados clínicos.

Compostos	<i>A. baumannii</i> UFPEDA-1024	<i>E. faecalis</i> UFPEDA-69	<i>E. faecalis</i> UFPEDA-138	<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-261	<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-416	<i>S. aureus</i> UFPEDA-02	<i>S. aureus</i> UFPEDA-709
LQIT/PB - 01	75	ND	ND	75	150	150	ND
LQIT/PB - 02	37,5	150	37,5	37,5	37,5	37,5	37,5
LQIT/PBT – 01	75	ND	ND	37,5	37,5	ND	ND
LQIT/PBT – 02	150	ND	ND	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 03	150	ND	ND	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 04	150	ND	ND	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 05	150	ND	150	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 06	150	ND	150	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 07	150	ND	150	75	75	ND	ND
LQIT/PBT – 08	150	ND	150	37,5	75	150	75
LQIT/PBT – 09	75	ND	ND	75	37,5	150	75
LQIT/PBT – 10	150	ND	ND	75	75	150	75
Amp+Sulbac*	16						
Cefoxitina	256						
Gentamicina		8	8	0,5	0,5	0,25	
Oxacilina							512

*Ampicilina + Sulbactam, Não Detectada (ND)

Tabela 11 – CMB e proporção CMB/CMI dos compostos da serie LQIT/PB e LQIT/PBT nas concentrações de µg/mL frente as cepas bacterianas padrões e isolados clínicos.

Compostos	<i>A. baumannii</i> UFPEDA-1024		<i>E. faecalis</i> UFPEDA-69		<i>E. faecalis</i> UFPEDA-138		<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-261		<i>P. aeruginosa</i> UFPEDA-416		<i>S. aureus</i> UFPEDA-02		<i>S. aureus</i> UFPEDA-709	
	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI	CMB	CMB/ CMI
LQIT/PB - 01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	75	1	150	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PB - 02	37,5	1	150	1	150	4	75	2	75	2	150	4	75	2
LQIT/PBT – 01	150	2	ND	ND	ND	ND	75	2	75	2	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 03	150	1	ND	ND	ND	ND	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 04	150	1	ND	ND	ND	ND	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 05	150	1	ND	ND	150	1	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 06	150	1	ND	ND	150	1	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 07	150	1	ND	ND	150	1	75	1	75	1	ND	ND	ND	ND
LQIT/PBT – 08	150	1	ND	ND	150	1	75	2	75	1	ND	ND	150	2
LQIT/PBT – 09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	75	1	75	2	150	1	150	2
LQIT/PBT – 10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	75	1	75	1	ND	ND	150	2

* Não Detectada (ND)

Tabela 12 – CMI dos compostos das series LQIT/PB, LQIT/PBT e do Fluconazol na concentração de µg/mL frente as leveduras padrões e isolados clínicos.

Compostos	<i>C. albicans</i> UFPEDA-1007	<i>C. glabrata</i> UFPEDA-6393	<i>C. guilliermondii</i> UFPEDA-6390
LQIT/PB - 01	ND	ND	ND
LQIT/PB - 02	12,5	50	12,5
LQIT/PBT – 01	50	ND	50
LQIT/PBT – 02	ND	ND	25
LQIT/PBT – 03	ND	ND	100
LQIT/PBT – 04	25	ND	50
LQIT/PBT – 05	25	ND	12,5
LQIT/PBT – 06	ND	ND	100
LQIT/PBT – 07	ND	ND	25
LQIT/PBT – 08	50	ND	25
LQIT/PBT – 09	50	ND	50
LQIT/PBT – 10	50	ND	25
Fluconazol	16	8	4

*Não Detectada (ND)

As tiossemicarbazonas são compostos que interagem com os meios biológicos, por sua capacidade de formar interações químicas com as enzimas (ligações de hidrogênio). Grupos presentes nas estruturas como OH, NH e CN são postulados para contribuir para a estabilização de interações polares entre os inibidores e resíduos de aminoácidos no canal de acesso das enzimas biológicas (LEIGH et al., 2011). Os complexos metálicos formados por interações químicas destes compostos são bastante interessantes para atividade antimicrobiana, pois o mecanismo de ação das tiossemicarbazonas podem ocorrer através da coordenação de metais presentes na estrutura de enzimas necessárias ao microrganismo (BERALDO, 2004).

Os compostos tiazóis são derivados da ciclização da região tiossemicarbazona com as acetofenonas (mecanismo demonstrado da sessão anterior), possuem em sua estrutura as bases de Schiff com o grupo azometina ($-C=N-$) que são encontradas em muitos compostos ativos devido às suas atividades fisiológicas e farmacológicas, nos compostos tiazóis que apresentam tal grupo desempenha melhores atividades antimicrobianas (AYATI, et al., 2015), o que corrobora que as atividades apresentadas pelos compostos tiazóis no presente estudo, apesar de ter diminuído o CMI em alguns microrganismos comparado aos seus percussores

tiossemicarbazonas, por perda de grupos de forte interação como os NH através da formação do anel tiazol.

As cadeias laterais dos compostos podem contribuir efetivamente com a atividade antimicrobiana, segundo Mohammad et al. (2015) a substituição de cadeias laterais de derivados tiazol por substituintes polares hidrofóbicos, como um grupo acetila, um flúor ou um grupo trifluoro-metil resultam em compostos com promissores resultados antimicrobianos. As porções fenólicas também corroboram com uma melhor atividade, por suas interações com os sítios chaves das enzimas (LEIGH et al., 2011). A presença de halogênios, ajudam os grupos fenólicos a obter uma melhor atividade antimicrobiana (ZHAO, T., CHEN, Q., 2016). A introdução de substituintes de átomos de flúor nos anéis de benzeno numa série de derivados, melhoram efetivamente a atividade antibacteriana (Huang, et al., 2013).

Para a atividade antifúngica podemos observar que a presença do anel tiazol se torna primordial para que a atividade aconteça, onde o composto LQIT/PB-01 não apresentou atividade para leveduras testadas e seus derivados tiazóis correspondentes apresentaram atividades bastante promissoras, os mesmos resultados foram observados por Lino et al. (2018), onde a presença do anel tiazol foi essencial para a atividade antifúngica, uma vez que as correspondentes tiossemicarbazonas foram inativas. Além de observarem que a presença do Cloro no anel aromático potencializou a atividade, corroborando com os resultados no presente trabalho, onde os compostos LQIT/PB-02 e seus derivados tiazóis obtiveram resultados promissores (Tabela 10). Se torna evidente que o papel principal na atividade antifúngica além da presença do anel tiazol, os substituintes flúor, cloro, bromo, metoxi e metil corroboram efetivamente com esta atividade (Łączkowski, et al., 2018).

5.2.3 Tempo de Morte

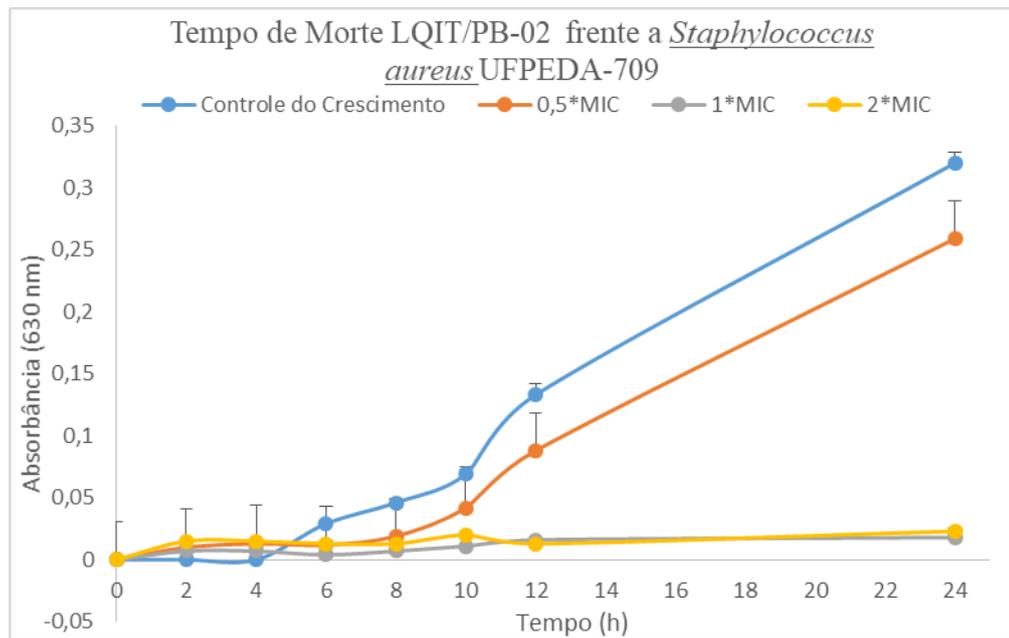
Através da atividade antibacteriana dos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis foram geradas curvas de morte dos derivados frente a cepa *S. aureus* UFPEDA-709. Os compostos LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09, LQIT/PBT-10 foram selecionados pois apresentaram os melhores resultados para esta cepa, definida com resistente a Oxacilina (CLSI M100, 2018), observando a capacidade de inibição de crescimento durante as 12 primeiras horas e após 24 horas.

Todos os compostos testados foram capazes em inibir o crescimento de *S. aureus* UFPEDA-709 nas primeiras 12 horas de estudos. Após as 24 horas de estudo o composto

LQIT/PB-02 nas concentrações de 75 (2xCMI) e 37,5 (1xCMI) $\mu\text{g/mL}$ foram capazes de inibir o crescimento da cepa, na concentração de 18,75 $\mu\text{g/mL}$ (0,5xMIC) o composto foi capaz de diminuir a quantidade celular em relação ao controle do crescimento do microrganismo, demonstrando assim ser um candidato promissor a se tornar um antimicrobiano frente a *S. aureus* (Figura 15).

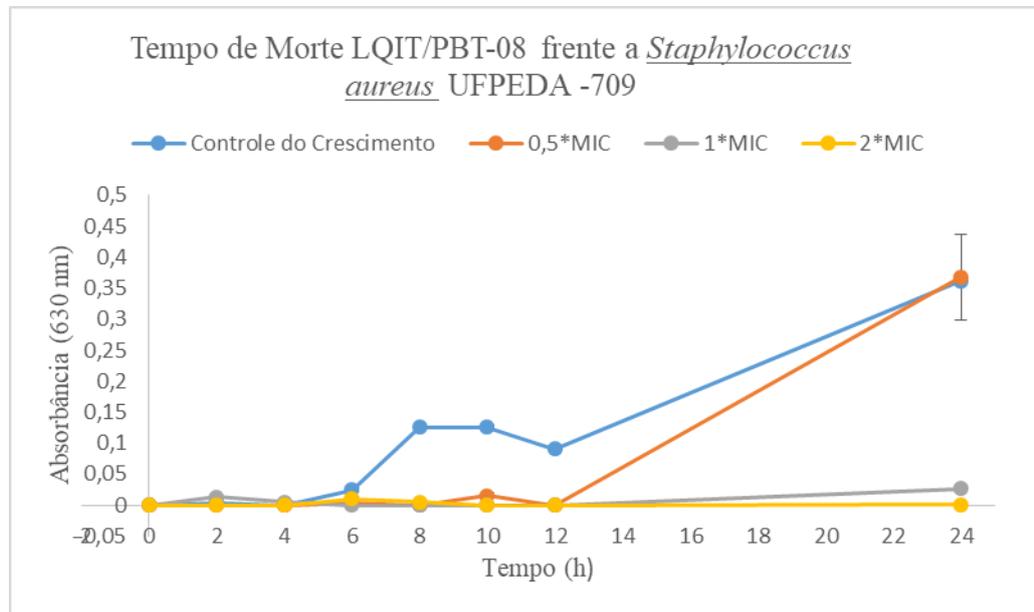
Figura 15 – Tempo de Morde de *S. aureus* UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PB-02.

Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de *S. aureus*.



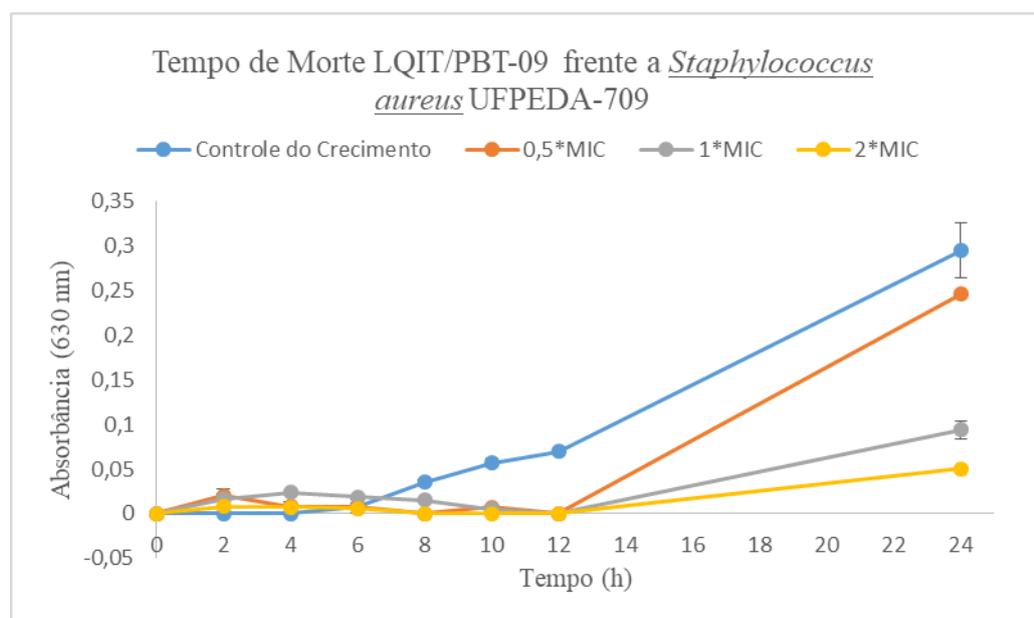
Os LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 foram testados nas concentrações de 150 (2xCMI), 75 (1xCMI) e 37,5 (0,5xCMI) $\mu\text{g/mL}$ frente a cepa de *S. aureus* UFPEDA-709. O composto LQIT/PBT-08 as concentrações 150 e 75 $\mu\text{g/mL}$ foram capazes de inibir o crescimento por 24 horas, na concentração de 37,5 $\mu\text{g/mL}$ conseguiu inibir o crescimento celular por 12 horas, após as 24 horas concentração celular se equiparou com o controle do crescimento (Figura 16).

Figura 16 – Tempo de Morde de *S. aureus* UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-08.
Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de *S. aureus*.



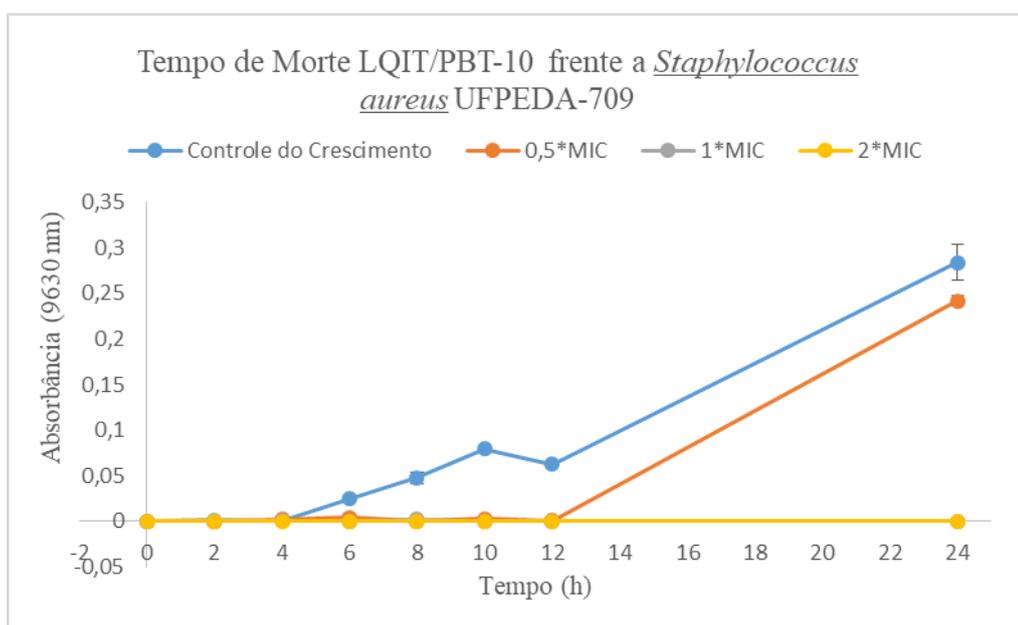
O composto LQIT/PBT-09 nas primeiras 12 horas conseguiu inibir o crescimento da cepa, as concentrações de 150 e 75 $\mu\text{g/mL}$ após as 24 horas foram capazes de reduzir o crescimento de *S. aureus* UFPEDA-709, entretanto foram detectados baixos níveis de crescimento celular (Figura 17).

Figura 17 – Tempo de Morde de *S. aureus* UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-09.
Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de *S. aureus*.



O composto LQIT/PBT-10 desde as 0 a 12 horas foi capaz de reduzir o crescimento celular, nas concentrações de 150 e 75 $\mu\text{g/mL}$ conseguiram reduzir a completamente a nível indetectável, a concentração de 37,5 $\mu\text{g/mL}$ também foi capaz de reduzir o crescimento celular após 24 horas, deixando o nível celular um pouco a baixo do controle do crescimento da cepa de *S. aureus* UFPEDA-709 (Figura 18).

Figura 18 – Tempo de Morde de *S. aureus* UFPEDA-709 frente ao composto LQIT/PBT-10. Gráfico gerado através das absorbâncias em 630 nm do crescimento celular de *S. aureus*.



O tempo de morte determina a rapidez com que um material antimicrobiano pode matar as bactérias (LI, et al., 2013). Os compostos LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 foram capazes de inibir o crescimento nas primeiras horas frente a *S. aureus* UFPEDA-709 resistente a oxacilina, demonstrando serem promissores candidatos a fármacos antimicrobianos com rápida resposta da atividade. A atividade rápida é considerada um fator crítico para retardar o surgimento de resistência bacteriana a um agente antimicrobiano e é importante clinicamente na prevenção da disseminação de uma infecção (MOHAMMAD et al., 2015).

O tempo de morte permite aprofundar a interação dinâmica *in vitro* entre o crescimento microbiano e as mudanças nas concentrações de fármacos, encontradas durante a terapia medicamentosa prolongada, sem qualquer interferência do sistema imunológico do hospedeiro (VADDADY, et al., 2019). Entretanto os dados *in vitro* podem correlacionar bem

com as eficiências de relatos *in vivo* (YAGI & ZURENKO, 2003), demonstrando que os compostos da série proposta são promissores candidatos a fármacos para a terapia de cepas resistentes aos múltiplos antimicrobianos.

5.2.4 Sinergismo

Os compostos selecionados para realizar o sinergismo frente a *S. aureus* UFPEDA-709 resistente a Oxacilina (CLSI M100, 2017) foram os LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 que apresentaram os melhores índices de inibição para este microrganismo. Os resultados foram expressos na tabela 13, com os resultados individuais da CMI dos compostos e do antibiótico, bem como as concentrações cruzadas, o FICI encontrado de cada composto em conjunto com a oxacilina e o efeito exercido pelo cruzamento das concentrações.

Tabela 13 – Resultados da CMI individual dos compostos e oxacilina, concentrações cruzadas e do FICI.

<i>S. aureus</i> UFPEDA-709					
	CMI do Compostos	CMI da Oxacilina	Concentração Sinérgica	FICI	Efeito sinérgico ou antagônico
LQIT/PB-02	37,5	512	18,75/8	0,51	Parcialmente sinérgico
LQIT/PBT-08	75	512	75/8	1	Aditivo
LQIT/PBT-09	75	512	75/128	1,25	Aditivo
LQIT/PBT-10	75	512	37,5/8	0,51	Parcialmente sinérgico

Os compostos selecionados (LQIT/PB-02, LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09, LQIT/PBT-10) foram capazes de potencializar o efeito da oxacilina frente a *S. aureus* UFPEDA-709 em 6x (seis vezes) o seu valor de CMI, demonstrando potencial efeito sinérgico em conjunto com o antibiótico. De acordo com Bonapace et. al, 2002, Doughterty, et. al, 1977 e Lorian, V., 2005, os compostos da série proposta obtiveram FICI entre 0,51 e 1,25.

Os compostos LQIT/PB-02 e LQIT/PBT-10 apresentaram FICI de 0,51, apresentando a características de compostos “Parcialmente Sinérgicos” diminuindo a CMI da oxacilina em 6 vezes o seu valor, que antes era de 512 µg/mL, para 8 µg/mL, bem como diminuindo as suas CMI antes de 37,5 µg/mL e 75 µg/mL, para 18,75 µg/mL e 37,5 µg/mL respectivamente. Os compostos LQIT/PBT-08 e LQIT/PBT-09 apresentaram FICI de 1 e 1,25 respectivamente,

sendo classificados como “Efeito Aditivo”, entretanto o LQIT/PBT-08 conseguiu diminuir a CMI da oxacilina para 8 µg/mL, efeito pouco conquistado pelo LQIT/PBT-09, que apresentou capacidade de diminuir para 128 µg/mL, porém mantendo suas respectivas CMI.

Negi et al. (2016) demonstram que a combinação de compostos da classe dos azóis com a oxacilina ou com outros β-lactâmicos acarretam no efeito sinérgico, onde os compostos azóis auxiliam na inibição da Proteína de Ligação à Penicilina 2a (PBP2a), levando os β-lactâmicos a interromperem a síntese da parede celular em *S. aureus*, como consequência o não desenvolvimento dos microrganismos.

Segundo Wagner & Efferth (2017) o desenvolvimento de novos fármacos através da combinação de compostos sintéticos e antibióticos vem sendo relatada por vários autores, evidenciando que combinações híbridas realmente melhoram a atividade farmacológica simultânea dos compostos envolvidos, bem como minimizam os efeitos colaterais tóxicos das drogas sintéticas.

6 CONCLUSÃO E PESTECTIVA

6.1 CONCLUSÕES

- ✓ Os compostos da série proposta foram sintetizados com metodologia de síntese eficiente, onde apresentaram rendimentos satisfatórios. Todos os compostos foram caracterizados físico-quimicamente e suas estruturas foram definidas através das técnicas espectroscópicas, onde os espectros gerados favoreceram a confirmação das estruturas propostas.
- ✓ Dentre os compostos trabalhados, o composto derivado tiossemicarbazona LQIT/PB-02 se destacou nas atividades *in vitro* propostas, apresentando um amplo espectro de atividade antimicrobiana frente a cepas padrões e isolados clínicos de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e leveduras.
- ✓ Os compostos LQIT/PBT-08, LQIT/PBT-09 e LQIT/PBT-10 foram os compostos finais que apresentaram as melhores atividades *in vitro*, sendo classificados como compostos com características bactericidas para cepas de *P. aeruginosa* e *S. aureus*, sendo estes fortes candidatos a novos fármacos.
- ✓ Os compostos tiossemicarbazonas e tiazóis além de apresentarem características antimicrobianas promissoras, em conjunto com antibióticos presentes na clínica possuem propriedades de potencializar seus efeitos frente a microrganismos resistentes como cepas de *S. aureus* definidas como multidroga resistentes.

6.2 PERSPECTIVAS

- ✓ Realizar a espectroscopia de massas dos compostos;
- ✓ Realizar a citotoxicidade *in vitro* dos derivados tiossemicarbazonas e tiazóis frente a outras linhagens celulares;
- ✓ Realizar a análise ultraestrutural das cepas microbianas tratadas com os compostos por Microscopia Eletrônica de Transmissão e Varredura;
- ✓ Realizar os ensaios de atividade *in vitro* de antiformação de biofilme e erradicação do biofilme.

REFERÊNCIAS

Abd-Elzaher, M. Labib, A. A., Mousa H. A., Moustafa, S. A., Ali, M. M., El-Rashedy, A. A. Synthesis, anticancer activity and molecular docking study of Schiff base complexes containing thiazole moiety. **Beni – suef University journal of basic and applied sciences**, n. 5, p. 85–96, 2016.

Abdul Rouf, Cihangir Tanyeli. Bioactive thiazole and benzothiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, n. 5, p. 911-927, 2015.

Aghamalia, M., Rezaee, M. A., Taghizadeh, S., Aghazadeh, M., Hasani, A., Rahbar, M., Tanomand, A., Kafil, H. S. Evaluation of two novel biofilm-specific antibiotic resistance genes in clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. **Gene Reports**, v. 13, p. 99-103, 2018.

Alla Zablotskaya, Izolda Segal, Athina Geronikaki, Tatiana Eremkina, Sergey Belyakov, Marina Petrova, Irina Shestakova, Liga Zvejniece, Vizma Nikolajeva. Synthesis, physicochemical characterization, cytotoxicity, antimicrobial, anti-inflammatory and psychotropic activity of new N-[1,3-(benzo)thiazol-2-yl]- ω -[3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl]alkanamides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 70, p. 846-856, 2013.

Aldo Andreani, Massimiliano Granaiola, Alberto Leoni, Alessandra Locatelli, Rita Morigi, Mirella Rambaldi. Synthesis and antitubercular activity of imidazo[2,1-b]thiazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, n. 9, p. 743-746, 2001.

Aliança, Amanda Silva Dos Santos; Oliveira, Arsênio Rodrigues ; Feitosa, Ana Paula Sampaio ; Ribeiro, Karla Raíza Cardoso ; De Castro, Maria Carolina Accioly Brelaz ; Leite, Ana Cristina Lima ; Alves, Luiz Carlos ; Brayner, Fábio André. In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 1-10, 2017.

Alnajjar, L. M., Bulatova, N. R., Darwish, R. M. Evaluation of four calcium channel blockers as fluconazole resistance inhibitors in *Candida glabrata*. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, n. 14, p. 185–189, 2018.

Altıntop, M. D.; Atl, O.; Ilgin, S.; Demirel, R.; Özdemir, A.; Kaplancıklı, Z. A. Synthesis and biological evaluation of new naphthalene substituted thiosemicarbazone derivatives as potent antifungal and anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2015.

Amanda Thorne, Ting Luo, Navin Kumar Durairajan, Keith S. Kaye, Betsy Foxman. Risk factors for endemic *Acinetobacter Baumannii* colonization: A case–case study. **American Journal of Infection Control**, 2019.

Amissah, N. A., Chlebowicz, M. A., Ablordey, A., Tetteh, C. S., Prah, I., van der Werf, T. S., Friedrich, P. A. W., van Dijl, J. M., Stienstra, Y., John W. Rossen, J. W. Virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from Buruli ulcer patients. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 307, n. 4–5, p. 223-232, 2017.

Andrea T. Feßler, Jun Li, Kristina Kadlec, Yang Wang, Stefan Schwarz. Chapter 4 - Antimicrobial Resistance Properties of *Staphylococcus aureus*. **Staphylococcus aureus**, p. 57-85, 2018.

Antunes, A.L., Trentin, D.S., Bonfanti, J.W., Pinto, C.C., Perez, L.R., Macedo, A.J., Barth, A. L. Application of a feasible method for determination of biofilm antimicrobial susceptibility in Staphylococci. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, n. 118, p. 873–877, 2010.

Apostolidis, I., Liaras, K., Geronikaki, A., Hadjipavlou-Litina, D., Gavalas, A., Soković, M., Glamočlija, J., Ćirić, A. Synthesis and biological evaluation of some 5-arylidene-2-(1,3-thiazol-2-ylimino)-1,3-thiazolidin-4-ones as dual anti-inflammatory/antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 532-539, 2013.

Araújo-Neto, L. N.; Lima, M. C. A.; Oliveira, J. F.; Souza, E. R.; Buonafina, M. D. S.; Anjos, M. N. V.; Brayner, F. A.; Alves, L. C.; Neves, R. P.; Mendonça-Junior, F. J. B. Synthesis, cytotoxicity and antifungal activity of 5-nitro-thiophenethiosemicarbazones derivatives. **Chemico-Biological Interactions**, n. 272, p. 172-181, 2017.

Ardehali, S. H., Azimi, T., Fallah, F., Owrang, M., Aghamohammadi, N., Azimi, L. Role of efflux pumps in reduced susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter baumannii*. **New Microbes and New Infections**, v. 30, n. C, 2019.

Asif, M., Ali, A., Zafar, A., Farhanb, M., Khanama, H., Hadi, S. M., Shamsuzzaman. Microwave-assisted one pot synthesis, characterization, biological evaluation and molecular docking studies of steroidal thiazoles. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, n. 166, p. 104–115, 2017.

Ayati, A., Emami, S., Asadipour, A., Shafiee, A., Foroumadi, A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 97, p. 699-718, 2015.

Azam, M. W., Khan, A. U. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 1, p. 350-359, 2019.

Baig, M. F., V., Nayak, L., Budaganaboyina, P., Mullagiri, K., Sunkari, S., Gour, J., Kamal, A. Synthesis and biological evaluation of imidazo[2,1-b]thiazole-benzimidazole conjugates as microtubule-targeting agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 77, p. 515-526, 2018.

Beena Negi, Deepak Kumar, Widuranga Kumbukgolla, Sampath Jayaweera, Prija Ponnann, Ramandeep Singh, Sakshi Agarwal, Diwan S. Rawat. Anti-methicillin resistant *Staphylococcus aureus* activity, synergism with oxacillin and molecular docking studies of metronidazole-triazole hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 115, v. 10, p. 426-437, 2016.

Begüm Nurlpelin Sağlık, Betül Kaya Çavuşoğlu, Derya Osmaniyea, Serkan Leventa, Ulviye Acar Çevika, Sinem Ilgın, Yusuf Özkaya, Zafer Asım Kaplancıklı, Yusuf Öztürkd. In vitro and in silico evaluation of new thiazole compounds as monoamine oxidase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, n. 85, p. 97–108, 2019.

Benjamin J. Privett, Steven T. Nutz, Mark H. Schoenfisch. Efficacy of surface-generated nitric oxide against *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. **NIH Public Access**, v. 26, n. 8, p. 973–983, 2010.

Bianchin, M. D., Borowicz, S. M., Machado, G. R. M., Pippic, B., Guterres, S. S., Pohlmann, A. R., Fuentefria, A. M., Külkamp-Guerreiro, I. C. Lipid core nanoparticles as a broad strategy to reverse fluconazole resistance in multiple *Candida* species. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n. 175, p. 523–529, 2019.

Bhushan Patwardhan, Unnikrishnan Payyappalli. Ayurveda and anti-microbial resistance. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, n. 9, p. 85-86, 2018.

Blau, L.; Menegon, R. F.; Trossini, G. H. G.; Molino, J. V. D.; Vital, D. G.; Cicarelli, R. M. B.; Passerini, G. D.; Bosquesi, P. L.; Chin, C. M. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl-thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 67, p. 142-151, 2013.

Bonapace, C. R.; Bosso, J. A.; Friedrich, L. V.; White, R. L. Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 44, p. 363-366, 2002.

C. Biswas, S.C.-A. Chen, C. Halliday, K. Kennedy, E. G. Playford, D. J. Marriott, M. A. Slavin, T.C. Sorrell, V. Sintchenko. Identification of genetic markers of resistance to echinocandins, azoles and 5-fluorocytosine in *Candida glabrata* by next-generation sequencing: a feasibility study. **Clinical Microbiology and Infection**, n. 23, p. 676.7-676.10, 2017.

C. Xu, S. R. Bilya and W. Xu. adeABC efflux gene in *Acinetobacter baumannii*. **New Microbe and New Infect**, 2019.

C. X. Hiller, U.Hübner, S. Fajnorova, T. Schwartz, J.E. Drewes. Antibiotic microbial resistance (AMR) removal efficiencies by conventional and advanced wastewater treatment processes: A review. **Science of the Total Environment**, n. 685, p. 596–608, 2019.

Cassini A, Plachouras D, Eckmanns T, Abu Sin M, Blank HP, et al. Burden of Six Healthcare-Associated Infections on European Population Health: Estimating Incidence-Based Disability-Adjusted Life Years through a Population Prevalence-Based Modelling Study. *PLOS Medicine*, v. 13, n. 10 2016.

Catarina Savastano, Elisa de Oliveira Silva, Lindyanne Lemos Gonçalves, Jéssica Maria Nery, Naiara Chaves Silva, Amanda Latercia Tranches Dias. *Candida glabrata* among *Candida* spp. from environmental health practitioners of a Brazilian Hospital. **Brazilian Journal of microbiology**, n. 47, p. 367–372, 2016.

Cassandra Willyard. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. **All rights reserved**, v. 543, 2017.

Chandra Bhushan Mishra, Shikha Kumari, Manisha Tiwari. Thiazole: A promising heterocycle for the development of potent CNS active agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 92, 6 March 2015, p. 1-34, 2015.

Chang-Yi Cui, Jun Liu, Hong-Bo Zheng, Xue-Yang Jin, Xiao-Yu Zhao, Wen-Qiang Chang, Bin Sun, Hong-Xiang Lou. Diversity-oriented synthesis of pyrazoles derivatives from flavones and isoflavones leads to the discovery of promising reversal agents of fluconazole resistance in *Candida albicans*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 28, p. 1545–1549, 2018.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

Dias, C.; Borges, A.; Saavedra, M. J.; Simões, M. Biofilm formation and multidrug-resistant *Aeromonas* spp. from wild animals. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, p. 227–234, 2018.

Dimitrios Farmakiotis, Dimitrios P. Kontoyiannis. Epidemiology of antifungal resistance in human pathogenic yeasts: current viewpoint and practical recommendations for management. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 50, p. 318–324, 2017.

Donya Taghizadeh Maleki, Zohreh Ghalavand, Maisem Laabei, Bahram Nikmanesh, Hamidreza Hourii, Mansoor Kodori, Ali Hashemi, Hiva Kadkhoda, Gita Eslami. Molecular analysis of accessory gene regulator functionality and virulence genes in *Staphylococcus aureus* derived from pediatric wound infections. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 73, p. 255-260, 2019.

Dougherty P. F., Yotter D. W, Matthews TR. Microdilution transfer plate technique for determining in vitro synergy of antimicrobial agents. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 11, n. 2, p. 225-8, 1977.

Du, Liu. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review. **Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA**, n. 37, p. 309-327, 2012.

Dušan Ušjak, Branka Ivković, Dragana D. Božić, Lidija Bošković, Marina Milenković. Antimicrobial activity of novel chalcones and modulation of virulence factors in hospital strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 186-196, 2019.

Ebru Şebnem Yılmaz, Özkan Aslantaş. Antimicrobial resistance and underlying mechanisms in *Staphylococcus aureus* isolates. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 11, p. 1059-1064, 2017.

Edyta Łukowska Chojnacka, Anna Kowalkowska, Małgorzata Gizińska, Mirosława Koronkiewicz, Monika Staniszewska. Synthesis of tetrazole derivatives bearing pyrrolidine scaffold and evaluation of their antifungal activity against *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 164, n. 15, p. 106-120, 2019.

Elany Barbosa da Silva, Dayane Albuquerque Oliveira e Silva, Arsênio Rodrigues Oliveira, Carlos Henrique da Silva Mendes, Thiago Andre Ramos dos Santos, Aline Caroline da Silva, Maria Carolina Acioly de Castro, Rafaela Salgado Ferreira, Diogo Rodrigo Magalhães Moreira, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso, Carlos Alberto de Simone, Valeria Rego Alves Pereira, Ana Cristina Lima Leite. Design and synthesis of potent anti-*Trypanosoma cruzi* agents new thiazoles derivatives which induce apoptotic parasite death. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 130, p. 39-50, 2017.

Emmanuel O. Olawode, Roman Tandlich, Earl Prinsloo, Michelle Isaacs, Heinrich Hoppec, Ronnett Seldon, Digby F. Warner, Vanessa Steenkamp, Perry T. Kaye. Synthesis and biological evaluation of 2-chloro-3-[(thiazol-2-yl)amino]-1,4-naphthoquinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 13, p. 1572-1575, 2019.

European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European **Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)**, 2017.

Fang Li, Michael D. Weir, Ashraf F. Fouad, Hockin H. K. Xu. Time-kill behaviour against eight bacterial species and cytotoxicity of antibacterial monomers. **Journal of dentistry**, n. 41, 881-891, 2013.

Flaviana R. F. Dias, Juliana S. Novais, Talita A. do Nascimento Santos Devillart, Wanderson Amaral da Silva, Matheus O. Ferreira, Raquel de S. Loureiro, Vinícius R. Campos, Vitor F. Ferreira, Maria C. B.V. de Souza, Helena C. Castro, Anna C. Cunha. Synthesis and antimicrobial evaluation of amino sugar-based naphthoquinones and isoquinoline-5,8-diones and their halogenated compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 156, p. 1-12, 2018.

G. R. Subhashree, J. Haribabu, S. Saranya, P. Yuvaraj, D. Anantha Krishnan, R. Karvembu, D. Gayathri. *In vitro* antioxidant, antiinflammatory and *in silico* molecular docking studies of thiosemicarbazones. **Journal of Molecular Structure**, n. 1145, p. 160-169, 2017.

G. Logan Draughn, Morgan E. Milton, Erik A. Feldmann, Benjamin G. Bobay, Braden M. Roth, Andrew L. Olson, Richele J. Thompson, Luis A. Actis, Christopher Davies, John Cavanagh. The Structure of the Biofilm-controlling Response Regulator BfmR from *Acinetobacter baumannii* Reveals Details of Its DNA-binding Mechanism. **J Mol Biol**, n. 430, p. 806–821, 2018.

Ganeshkumar Arumugam, Rajaram Rajendran, Nasreen Syed Khaleelullah, Sharmila Ramanathan. Anti-candidal and anti-virulence efficiency of selected seaweeds against azole resistance *Candida albicans*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, 2019.

Gevanio Bezerra de Oliveira Filho, Marcos Veríssimo de Oliveira Cardoso, José Wanderlan Pontes Espíndola, Dayane Albuquerque Oliveira e Silva, Rafaela Salgado Ferreira, Pollyanne Lacerda Coelho, Pâmela Silva dos Anjos, Emanuelle de Souza Santos, Cassio Santana Meira, Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira, Milena Botelho Pereira Soares, Ana Cristina Lima Leite. Structural design, synthesis and pharmacological evaluation of thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 141, p. 346-361, 2017.

Ghewa A. El-Achkar, Mariam Jouni, May F. Mrad, Taghreed Hirz, Nehme El Hachem, Ali Khalafe, Soukaina Hammoud, Hussein Fayyad-Kazanf, Assaad A. Eidg, Bassam Badranh, Raghida Abou Merhi, Ali Hachem, Eva Hamade, Aïda Habib. Thiazole derivatives as inhibitors of cyclooxygenases *in vitro* and *in vivo*. **European Journal of Pharmacology**, v. 750, n. 5, p. 66-73, 2015.

H. B'Bhatt, S. Sharma. 2-(5-Chlorobenzo[d]thiazol-2-ylimino)thiazolidin-4-one derivatives as an antimicrobial agente. **Arabian Journal of Chemistry**. v. 10, p. S531-S538, 2017.

Hadis Tavafi, Ahya Abdi Ali, Parinaz Ghadam, Sara Gharavi. Screening, cloning and expression of a novel alginate lyase gene from *P. aeruginosa* TAG 48 and its antibiofilm effects on *P. aeruginosa* biofilm. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 356-364, 2018.

Hao Zhang, Jingwen Tan, Dimitrios P. Kontoyiannis, Yabin Zhou, Weixia Liu, Pengfei Zhu, Xiuyan Shi, Zhe Wan, Ruoyu Li, Wei Liu. Screening the *in vitro* susceptibility of posaconazole in clinical isolates of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. and analyzing the

sequence of ERG11 or CYP51A in non-wild-type isolates from China. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, 2019.

Hang Liu, Huifang Sun, Meng Zhang, Yu Liu. Dynamics of microbial community and tetracycline resistance genes in biological nutrient removal process. **Journal of Environmental Management**, n. 238, p. 84–91, 2019.

Haroon Mohammad, P.V. Narasimha Reddy, Dennis Monteleone, Abdelrahman S. Mayhoub, Mark Cushman, Mohamed N. Seleem. Synthesis and antibacterial evaluation of a novel series of synthetic phenylthiazole compounds against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 94, p. 306-316, 2015.

Hay, R. Superficial fungal infections, *Medicine*, 2017.

Hideaki Kato, Yukihiro Yoshimura, Yoshihiro Suido, Kazuo Ide, Yoshifumi Sugiyama, Kasumi Matsuno, Hideaki Nakajima. Prevalence of, and risk factors for, hematogenous fungal endophthalmitis in patients with *Candida* bloodstream infection. **Infection**, n. 46, p. 635–640, 2018.

Hildebert Wagner, Thomas Efferth. Introduction: Novel hybrid combinations containing synthetic or antibiotic drugs with plant-derived phenolic or terpenoid compounds. **Phytomedicine**, v. 37, n. 15, p. 1-3, 2017

Houdaii H. El-Houssaini, Omnia M. Elnabawy, Hebatallah A. Nasser, Walid F. Elkhatab. Correlation between antifungal resistance and virulence factors in *Candida albicans* recovered from vaginal specimens. **Microbial Pathogenesis**, n. 128, p. 13–19, 2019.

Hua Fang, Huifang Wang, Lin Cai, Yunlong Yu. Prevalence of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Pathogens in Long-Term Manured Greenhouse Soils As Revealed by Metagenomic Survey. **Environmental Science Technology**, n. 49, p. 1095–1104, 2015.

Hsiu-Jung Lo, Kuo-Yun Tsenga, Yeong-Yi Kao, Ming-Yang Tsao, Han-Lun Lo, Yun-Liang Yang, Cph1p negatively regulates MDR1 involved in drug resistance in *Candida albicans*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 45, n. 6, p. 617-621, 2015.

J. H. van der Kolk, A. Endimiani, C. Graubner, V. Gerber, V. Perreten. *Acinetobacter* in veterinary medicine, with an emphasis on *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, n. 16, p. 59–71, 2019.

Jadhav, S.; Shah, R. M.; Bhave, M; Palombo, E. Inhibitory activity of yarrow essential oil on *Listeria* Planktonic cells and biofilms. **Food Control**, n. 29, p. 125 – 130, 2013.

Jailton Lobo da Costa Lima, Lilian Rodrigues Alves, Paula Regina Luna de Araújo Jacomé, João Pacífico Bezerra Neto, Maria Amélia Vieira Maciel, Marcia Maria Camargo de Moraes.

Biofilm production by clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and structural changes in LasR protein of isolates non biofilm-producing. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 22, Issue 2, p. 129-136, 2018.

Jamal, M.; Ahmad, W.; Andleeb, S.; Jalil, F.; Imran, M.; Nawaz, M. A.; Hussain, T.; Ali, M.; Rafiq, M.; Kamil, M. A. Bacterial biofilm and associated infections. **Journal of the Chinese Medical Association**, n. 81, p. 7-11, 2018.

Jianyi Pan, Zhenzhong Zha, Pengfei Zhang, Ran Chen, ChenvYe, Ting Ye. Serine/threonine protein kinase PpkA contributes to the adaptation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, 2017.

Jitendra Nalawade, Abhijit Shinde, Abhijit Chavan, Sachin Patil, Manjusha Suryavanshi, Manisha Modakc Prafull, Choudharid Vivek, D. Bobade, Pravin C. Mhaske. Synthesis of new thiazolyl-pyrazolyl-1,2,3-triazole derivatives as potential antimicrobial agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 179, n. 1, p. 649-659, 2019.

João Botelho, Filipa Grosso, Luísa Peixe. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – Mechanisms, epidemiology and evolution. **Drug Resistance Updates**, v. 44, 2019.

Johani, k.; Abualsaud, D.; Costa, D. M.; Hu, H.; Whiteley, G.; Deva, A.; Vickery, K. Characterization of microbial community composition, antimicrobialresistance and biofilm on intensive care surfaces. **Journal of Infection and Public Health**, n. 11, p. 418–424, 2018.

Ka Lip Chew, Sophie Octavia, Raymond Tzer Pin Lin, Gabriel Zherong Yan, Jeanette Woon Pei Teo. Delay in effective therapy in anidulafungin-resistant *Candida tropicalis* fungaemia: Potential for rapid prediction of antifungal resistance with whole-genome sequencing. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, n. 16, p. 105–107, 2019.

Kalaiarasan Ellappan, Harish Belgod, Narasimhaa Saravana Kumar. Coexistence of multidrug resistance mechanisms and virulence genes in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from a tertiary care hospital in South India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, p. 37-43, 2018.

Kayathi Narendra Babu, Ummadi Nagarjuna, Guda Dinneswara Reddy, Adivireddy Padmaja, Venkatapuram Padmavathi. Synthesis and antimicrobial activity of benzazolyl azolyl urea derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1198, n. 15, 2019.

Khan, S. A.; Kumar, P.; Joshi, R.; Iqbal, P. F.; Saleem, K. Synthesis and in vitro antibacterial activity of new steroidal thiosemicarbazone derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 43, p. 2029-2034, 2008.

Khan, S. A.; Asiri, A. M. Multi-step synthesis, spectroscopic studies of biological activesteroidal thiosemicarbazones and their palladium (II) complex as macromolecules. *International Journal of Biological Macromolecules*, n. 107, p. 105–111, 2018.

Katherine Miranda-Cadena, Cristina Marcos-Arias, Estibaliz Mateo, José Manuel Aguirre, Guillermo Quindós, Elena Eraso. Prevalence and antifungal susceptibility profiles of *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and their close-related species in oral candidiasis. *Archives of Oral Biology*, n. 95, p. 100–107, 2018.

Krishna Kumar Patel, Muktanand Tripathi, Nidhi Pandey, Ashish Kumar Agrawal, Shilpkala Gadea, Meraj Anjuma Ragini Tilak, Sanjay Singh. Alginate lyase immobilized chitosan nanoparticles of ciprofloxacin for the improved antimicrobial activity against the biofilm associated mucoid *P. aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 563, n. 30 p. 30-42, 2019.

Krzysztof Z. Łączkowski, Anna Biernasiuk, Angelika Baranowska-Łączkowska, Olga Zavyalova, Małgorzata Redka, Anna Malm. Synthesis, lipophilicity determination, DFT calculation, antifungal and DPPH radical scavenging activities of tetrahydrothiophen-3-one based thiazoles. *Journal of Molecular Structure*, n. 1171, p. 717-725, 2018.

Kyung-Hwa Park, Kerryl E. Greenwood-Quaintance, Scott A. Cunningham, Govindarajan Rajagopalan, Nicholas Chi, Patricio R. Jeraldo, Jayawant Mandrekar, Robin Patel. Lack of correlation of virulence gene profiles of *Staphylococcus aureus* bacteremia isolates with mortality. *Microbial Pathogenesis*, v. 133, 2019.

Kyra Y. L. Chua, Benjamin P. Howden, Jih-Hang Jiang, Timothy Stinear, Anton Y. Peleg. Population genetics and the evolution of virulence in *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 21, p. 554-562, 2014.

Kesavan Krishnan, Kumari Prathiba, Venkatesan Jayaprakash, Arijit Basu, Nibha Mishra, Bingsen Zhou, Shuya Hub, Yun Yen. Synthesis and Ribonucleotide reductase inhibitory activity of thiosemicarbazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 6248–6250, 2008.

Larissa Sens, Ana Caroline Arruda de Souza, Lucas Antonio Pacheco, Angela Camila Orbem Menegatti, Mattia Mori, Alessandra Mascarello, Ricardo José Nunes, Hernán Terenzi. Synthetic thiosemicarbazones as a new class of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase A inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, n. 26, p. 5742–5750, 2018.

Li Tan, Si Rui Li, Bei Jiang, Xiao Mei Hu, Shu Li. Therapeutic Targeting of the *Staphylococcus aureus* Accessory Gene Regulator (agr) System. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, n. 55, 2018.

Li Ying, Shan Mingzhu, Yan Mingju a, Xu Ye, Wang Yuechen, Chen Ying, Gu Bing, Li Hongchun, Zhu Zuobin. The inhibition of trans-cinnamaldehyde on the virulence of *Candida albicans* via enhancing farnesol secretion with low potential for the development of resistance. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, n. 515, p. 544-550, 2019.

Lino, C. I.; Souza, I. G.; Borelli, B. M.; Matos, T. T. S.; Teixeira, I. N. S.; Ramos, J. P.; Fagundes, E. M. S.; Fernandes, P. O.; Maltarollo, V. G.; Johann, S.; Oliveira, R. B. Synthesis, molecular modeling studies and evaluation of antifungal activity of a novel series of thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 151, p. 248-260, 2018.

Liu, W.; Chen, J.; Shen, Y.; Jin, J.; Wu, J.; Sun, F.; Wu, Y.; Xie, L.; Zhang, Y.; Zhang, W. Phenotypic and genotypic characterization of pyrazinamide resistance among multidrugresistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in Hangzhou, China. **Clinical Microbiology and Infection**, 2018.

Lorena Tuchscher, Èva Korpos, Hélènevan de Vyver, Clais Findeisen, Salome Kherkheulidze, Anke Siegmund, Stefanie Deinhardt-Emmer, Olaf Bache, Martin Rinderte, Alexander Mellmannf, Cord Sunderkötterg, Georg Petersd, Lydia Sorokin, Bettina Löffler. *Staphylococcus aureus* requires less virulence to establish an infection in diabetic hosts. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, n. 7, p. 761-769, 2018.

Lorian, Victor. Antibiotics in Laboratory Medicine. 5 ed. Williams & Wilkins, London 2005.

Luciana Magalhães Pinto, Francisco de Assis Bezerra Neto, Mariana Araújo Paulo de Medeiros, Diana Luzia Zuza Alves, Guilherme Maranhão Chaves. *Candida* species isolated from pigeon (*Columba livia*) droppings may express virulence factors and resistance to azoles. **Veterinary Microbiology**, v. 235, p. 43-52, 2019.

Lucianna Rabelo Pessoa de Siqueira, Paulo André Teixeirade Moraes Gomes, Larissa Pelágia de Lima Ferreira, Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo, Ana Cristina Lima Leite. Multi-target compounds acting in cancer progression: Focus on thiosemicarbazone, thiazole and thiazolidinone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 170, n. 15, p. 237-260, 2019.

M. Sadeqi Nezhad, H. Pordeli, N. Ghasemi, A. Ahani. Evaluation of multidrug resistance patterns in siderophore-producing *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and environmental samples in Gorgan, Iran. **New Microbes and New Infections**, v. 24, p. 38-41, 2018.

Maarten L. De Mol, Nico Snoeck, Sofie L. De Maeseneire, Wim K. Soetaert. Hidden antibiotics: Where to uncover?. **Biotechnology Advances**, n. 36, p. 2201–2218, 2018.

Maia, P. I. S.; Pavan, F. R.; Leite, C. Q. F.; Lemos, S. S.; Sousa, G. F.; Batista, A. A.; Nascimento, O. R.; Ellena, J.; Castellano, E. E.; Niquet, E.; Deflon, V. M. Vanadium

complexes with thiosemicarbazones: Synthesis, characterization, crystal structures and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity. **Polyhedron**, n. 28, p. 398–406, 2009.

Maria Leigh, Daniel J. Raines, Carmen E. Castillo, Anne K. Duhme-Klair. Inhibition of Xanthine Oxidase by Thiosemicarbazones, Hydrazones and Dithiocarbazates Derived from Hydroxy-Substituted Benzaldehydes. **Chem Med Chem**, v. 6, p. 1107 – 1118, 2011.

Marie Kempf, Jean-Marc Rolain. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 39, p. 105– 114, 2012.

Mina Aghamali, Mohammad Ahangarzadeh Rezaee, Sepehr Taghizadeh, Mohammad Aghazadeh, Alka Hasani, Mohammad Rahbar, Asghar Tanomand, Hossein Samadi Kafil. Evaluation of two novel biofilm-specific antibiotic resistance genes in clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates. **Gene Reports**, v. 13, p. 99-103, 2018.

Mirza, S., Naqvi, S. A., Khan, K. M., Salar, U., Choudhary, M. I. Facile synthesis of novel substituted aryl-thiazole (SAT) analogs via one-pot multi-component reaction as potent cytotoxic agents against cancer cell lines. **Bioorganic Chemistry**, v. 70, p. 133-143, 2017.

Mohd W. Azam, Asad U. Khan. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 1, p. 350-359, 2019.

Morio, F.; Jensen, R. H.; Pape, P. L.; Arendrup, M. C. Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2017.

Mohammad Reza Rahbar, Mahboubeh Zarei, Abolfazl Jahangiri, Saeed Khalili, Navid Nezafata, Manica Negahdaripoura, Yaser Fattahian, Younes Ghasemi. Trimeric autotransporter adhesins in *Acinetobacter baumannii*, coincidental evolution at work. **Infection, Genetics and Evolution**, n. 71, p. 116–127, 2019.

Muhammad Islama, Ajmal Khan, Muhammad Tariq Shehzad, Abdul Hameed, Nadeem Ahmed, Sobia Ahsan Halim, Mohammed Khiat, Muhammad Usman Anwar, Javid Hussain, René Csuke, Zahid Shafiq, Ahmed Al-Harrasi. Synthesis and characterization of new thiosemicarbazones, as potent uréase inhibitors: *In vitro* and *in silico* studies. **Bioorganic Chemistry**, n. 87, n. 155–162, 2019.

Muhammad Yasir, Muhammad Waseem Shah, Asif A. Jiman-Fatani, Saad B. Almasaudi, Hussain Ahmad, Maha Alawi, Esam I. Azhar. Draft genome sequence of a clinical *Acinetobacter baumannii* isolate of new sequence type ST1688 from Saudi Arabia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, 2019.

Nadia A. Mohamed, Riham R. Mohamed, Rania S. Seoudi. Synthesis and characterization of some novel antimicrobialthiosemicarbazone O-carboxymethyl chitosan derivatives.

International Journal of Biological Macromolecules, n. 63, p. 163–169, 2014.

Nana Ama Amissah, Monika A. Chlebowicz, Anthony Ablordey, Caitlin S. Tetteh, Isaac Prah, Tjip S. van der Werf, Alex W. Friedrich, Jan Maarten van Dijl, Ymkje Stienstra, John W. Rossen. Virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from Buruli ulcer patients.

International Journal of Medical Microbiology, v. 307, p. 223-232, 2017.

Natalia Pajares-Chamorro, John Shook, Neal D. Hammer, Xanthippi Chatzistavrou. Resurrection of antibiotics that methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resists by silver-doped bioactive glass-ceramic microparticles. **Acta Biomaterialia**, v. 96, n. 15, p. 537-546, 2019.

Nicola C. Gordon, David W. Wareham. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 35, p. 219–226, 2010.

Nian Liu, Liying Zhu, Zhidong Zhang, He Huang, Ling Jiang. Draft genome sequence of a multidrug-resistant bla_{OXA-69}-producing *Acinetobacter baumannii* L13 isolated from Tarim River sample in China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, 2019.

Nural, Y.; Gemili, M.; Ulger, M.; Sari, H.; Coen, L. M.; Sahin, E. Synthesis, antimicrobial activity and acid dissociation constants of methyl 5,5-diphenyl-1-(thiazol-2-yl)pyrrolidine-2-carboxylate derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 28, p. 942–946, 2018.

Oliveira, J. F. Síntese, Caracterização Estrutural E Avaliação Da Atividade Antitumoral E Anti-Inflamatória De Novos Derivados 2-Tiofenotiossemicarbazonas. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

Organização Mundial de Saúde. A crescente ameaça da resistência antimicrobiana. Departamento de Publicações da OMS, Organização Mundial da Saúde, 20 Avenue Appia, 1211 Genebra 27, Suíça, 2012.

Pavan K. Vaddadya, Ashit Trivedia, Chetan Rathia, Dora B. Madhuraa, Jiuyu Liub, Richard E. Leeb, Bernd Meibohma. Dynamic time-kill curve characterization of spectinamide antibiotics 1445 and 1599 for the treatment of tuberculosis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 127, p. 233–239, 2019.

Pillai, S.K., Moellering, R.C., Eliopoulos, G.M. Antimicrobial Combinations. In: Lorian, V., Ed., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 5th Edition, the Lippincott Williams & Wilkins Co., Philadelphia, 365-440, 2005.

Piotr Wieczorek, Paweł Sacha, Sławomir Czaban, Tomasz Hauschild, Dominika Ojdana, Oksana Kowalczyk, Robert Milewski, Bogusław Poniąkowski, Jacek Nikliński, Elżbieta Tryniszewska. Distribution of AdeABC efflux system genes in genotypically diverse strains of clinical *Acinetobacter baumannii*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, n. 77, p. 106–109, 2013.

Pornpen Tantivitayakula, Jinthana Lapirattanakul, Rattiporn Kaypetch, Thaniya Muadcheingka. Missense mutation in CgPDR1 regulator associated with azole-resistant *Candida glabrata* recovered from Thai oral candidiasis patients. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, n. 17, p. 221–226, 2019.

Ravinder Kaur, Megh Singh Dhakad, Ritu Goyal, Rakesh Kumar. Emergence of non-albicans *Candida* species and antifungal resistance in intensive care unit patients. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 455-460, 2016.

Rajiv V. Patel, Jasmit S. Shah, Gunturu Revathi, Wangari Siika, Reena Shah. *Acinetobacter* Infections: A Retrospective Study To Determine In – Hospital Mortality Rate And The Clinical Factors Associated With Mortality. **Infection Prevention in Practice**, 2019.

Riham F. George, Eman M. Samir, Mennatullah N. Abdelhamed, Hatem A. Abdel-Aziz, Safinaz E-S. Abbas. Synthesis and anti-proliferative activity of some new quinoline based 4,5-dihydropyrazoles and their thiazole hybrids as EGFR inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, n. 83, p. 186–197, 2019.

Rifat Jawaria, Mazhar Hussain, Muhammad Khalid, Muhammad Usman Khan, Muhammad Nawaz Tahir, Muhammad Moazzam Naseere, Ataulpa Albert Carmo Bragaf, Zahid Shafiq. Synthesis, crystal structure analysis, spectral characterization and nonlinear optical exploration of potent thiosemicarbazones based compounds: A DFT refine experimental study. **Inorganica Chimica Acta**, n. 486, p. 162–171, 2019.

Rodrigues, B. S.; Ávila, R. I.; Benfica, P. L.; Bringel, L. P.; Oliveira, C. M. A.; Vandresen, F.; Silva, C. C.; Valadares, M. C. 4-Fluorobenzaldehyde limonene-based thiosemicarbazone induces apoptosis in PC-3 human prostate cancer cells. **Life Sciences**, n. 203, p. 141–149, 2018.

Ronald N. Jones. Microbiological Features of Vancomycin in the 21st Century: Minimum Inhibitory Concentration Creep, Bactericidal/Static Activity, and Applied Breakpoints to Predict Clinical Outcomes or Detect Resistant Strains. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, p. S13–S24, 2006.

S. Deinhardt-Emmera, S. Sachsea, J. Geracia, C. Fischera, A. Kwetkatc, K. Dawczynskid, L. Tuchscherab, B. Löfflerab. Virulence patterns of *Staphylococcus aureus* strains from nasopharyngeal colonization. **Journal of Hospital Infection**, v. 100, n. 3, p. 309-315, 2018.

Sabina Herrera, Paolo Pavone, Deepali Kumar, Lianne Singer, Atul Humar, Cecilia Chaparro, Shaf Keshavjee, Shahid Husain, Coleman Rotstein. Chronic *Candida dubliniensis* meningitis in a lung transplant recipient. **Medical Mycology Case Reports**, v. 24, p. 41-43, 2019.

Saima Younis, Sameera Taj, Sajid Rashid. Structural studies of *Staphylococcus aureus* Sortase inhibitor via Conus venom peptides. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 671, n. 15, p. 87-102, 2019.

Saravana Kumar Sinniah, Kae Shin Sim, Seik Weng Ng, Kong Wai Tan. Structural and cytotoxic studies of cationic thiosemicarbazones. **Journal of Molecular Structure**, n. 1137, p. 253-259, 2017.

Shankerrao, S.; Bodke, Y. D.; Santoshkumar, S. Synthesis and antimicrobial activity of some imidazothiazole derivatives of benzofuran. **Arabian Journal of Chemistry**, 2017.

Shima Tafvizi, Parvin Shariati, Atefeh Sharifirad, Behnam Maleki, Farhang Aliakbari, Guanna Christiansen, Dina Morshedi. Antibiotic hypersensitivity in MRSA induced by special protein aggregates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, n. 15, p. 528-536, 2019.

Stamatis Karakonstantis, Dimitra Kalemaki. Antimicrobial overuse and misuse in the community in Greece and link to antimicrobial resistance using methicillin-resistant *S. aureus* as an example. **Journal of Infection and Public Health**, v. 12, n. 4, p. 460-464, 2019.

Sundeeep Kaur Manjal, Ramandeeep Kaur, Rohit Bhatia, Kapil Kumara, Virender Singh, Ravi Shankar, Rupinder Kaur, Ravindra K. Rawal. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. **Bioorganic Chemistry**, v. 75, p. 406-423, 2017.

Sultan Butun Sengel & Nurettin Sahiner. Poly((Thiazol-2-yl) acrylamide), p(ATA) microgel: Synthesis, characterization and versatile applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, n. 522, p. 272-278, 2017.

Sybelle Christianne Batista De Lacerda Pedrosa. Síntese, Caracterização Estrutural E Estudos Do Mecanismo De Ação Antitumoral De Derivados Indólicos. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

Temístocles Italo de Santana, Miria de Oliveira Barbosa, Paulo Andre Teixeira de Moraes Gomes, Anne Cecília Nascimento da Cruz, Teresinha Gonçalves da Silva, Ana Cristina Lima Leite. Synthesis, anticancer activity and mechanism of action of new thiazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 144, p. 874-886, 2018.

Tenório, R. P.; Góes, A. J. S.; Lima, J. G.; Faria, A. R.; Alves, A. J.; Aquino, T. M. Tiossemicarbazonas: Métodos de Obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. *Química Nova*, v. 28, n. 6, p. 1030-1037, 2005.

Tiwari, K, Raj, V. S., Upadhyay, D.J; Gupt, R.K. In vitro activity of bioactive extracts from rare actinomycetes against multi-drug resistant *Streptococcus pneumoniae*. **Journal of Applied Microbiology**, n. 118, p. 1306-1314, 2015.

Trotsko, N., Kosikowska, U., Paneth, A., Plech, T., Malm, A., Wujec, M. Synthesis and Antibacterial Activity of New Thiazolidine-2,4-dione-Based Chlorophenylthiosemicarbazone Hybrids. **Molecules**, v. 23, n. 5, 2018.

Ursula Theuretzbacher. Global antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens and clinical need. **Current Opinion in Microbiology**, n. 39, p. 106–112, 2017.

Venkateshan Jagannathan & Pragasa Viswanathan. Proanthocyanidins Will they effectively restrain conspicuous bacterial strains devolving on urinary tract infection? **Journal of Basic Microbiology**, p. 1-12, 2018.

Vila-Costa, M.; Gioia, R.; Acena, J.; S Perez, S.; Casamayor, E. O.; Dachs, J. Degradation Of Sulfonamides as a Microbial Resistance Mechanism. **Water Research**, 2017.

Waheed Ullah, Muhammad Qasimb, Hazir Rahman, Yan Jiec, Noor Muhammad. Beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: Phenotypic characteristics and molecular identification of virulence genes. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 80, n. 3, p. 173-177, 2017.

World Health Organization. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2016-2017. Geneva: World Health Organization; 2018.

World Health Organization. Integrating neglected tropical diseases into global health and development: fourth WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization, 2017.

WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. GENEVA, 2017. Acesso em: 14/08/2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.

Xing Zhang, Omar Khalidi, So Young Kim, Ruitong Wang, Victor Schultz, Brady F. Cress, Richard A. Gross, Mattheos A. G. Koffas, Robert J. Linhardt. Synthesis and biological evaluation of 5,7-dihydroxyflavanone derivatives as antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, n. 26, p. 3089–3092, 2016.

Yagi B. H.; Zurenko G. E. An in vitro time-kill assessment of linezolid and anaerobic bacteria. **Anaerobe**, v. 9, p. 1-3, 2003.

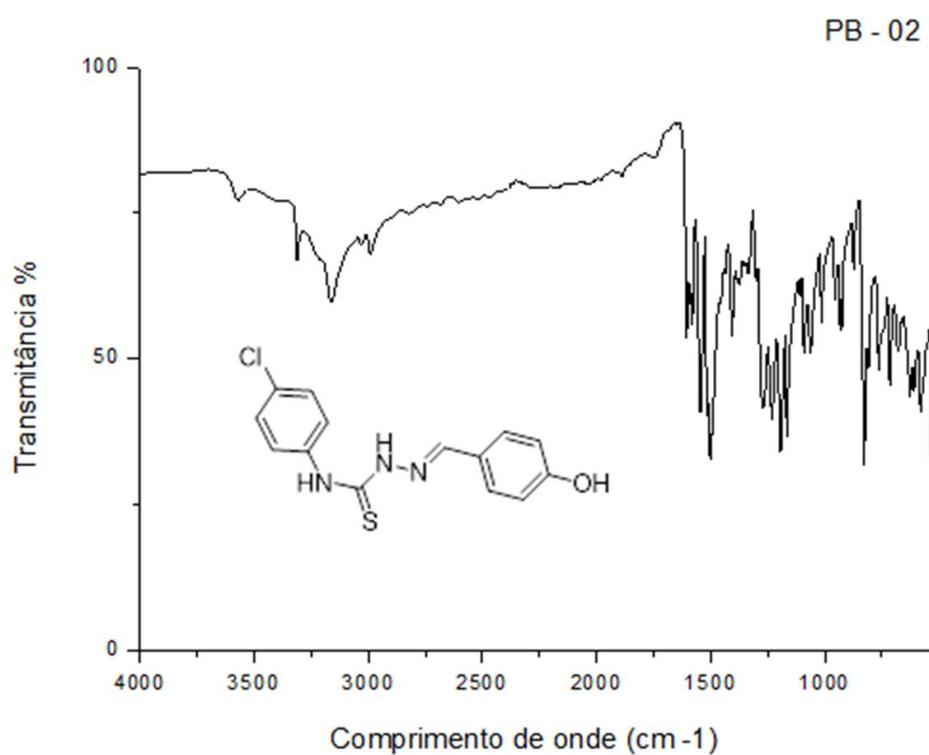
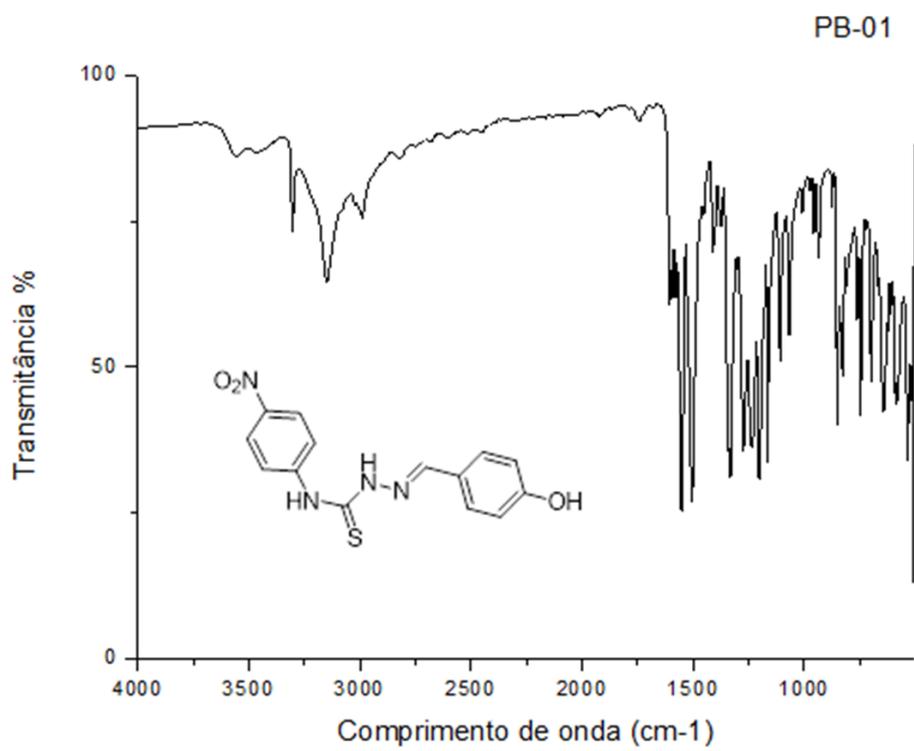
Zahra Tayebi, Reza Hosseini Doust, Mohammad Karim Rahimi, Seyed Davar Siadat, Mehdi Goudarzi. Distribution of different carbapenemase genes in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated from intensive care: A two year multi-center study in Tehran, Iran. **Gene Reports**, n. 15, 2019.

Zhiqiang Lei, Ding Zhang, Boyong Lu, Wenjiang Zhou, Decheng Wang. Activation of mast cells in skin abscess induced by *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) infection in mice. **Research in Veterinary Science**, v. 118, p. 66-71, 2018.

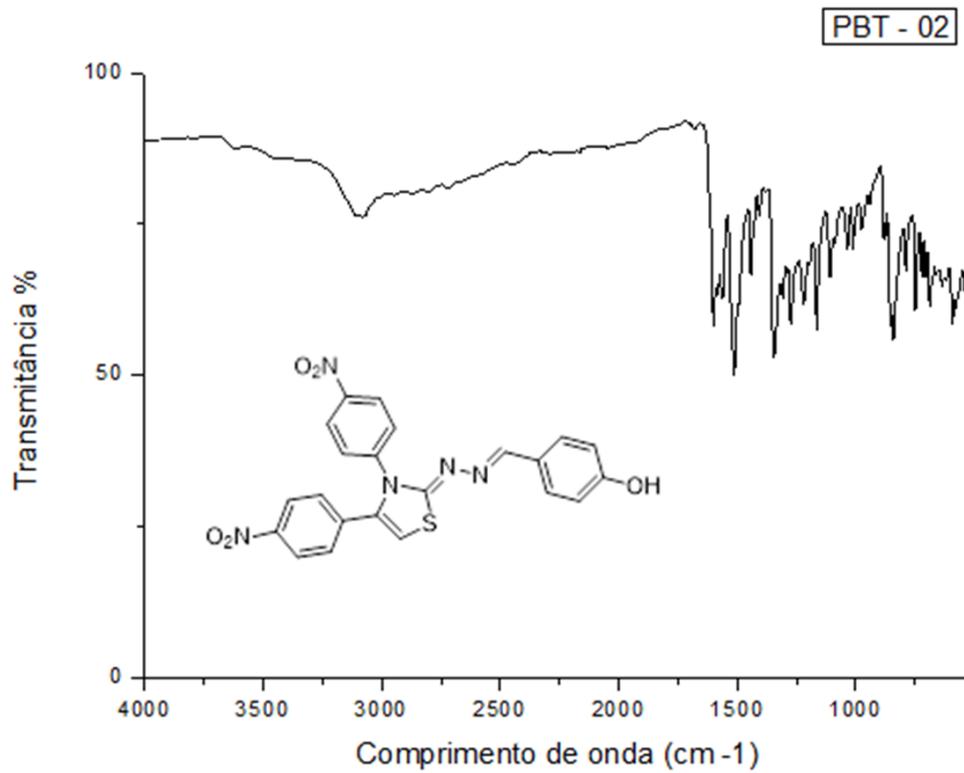
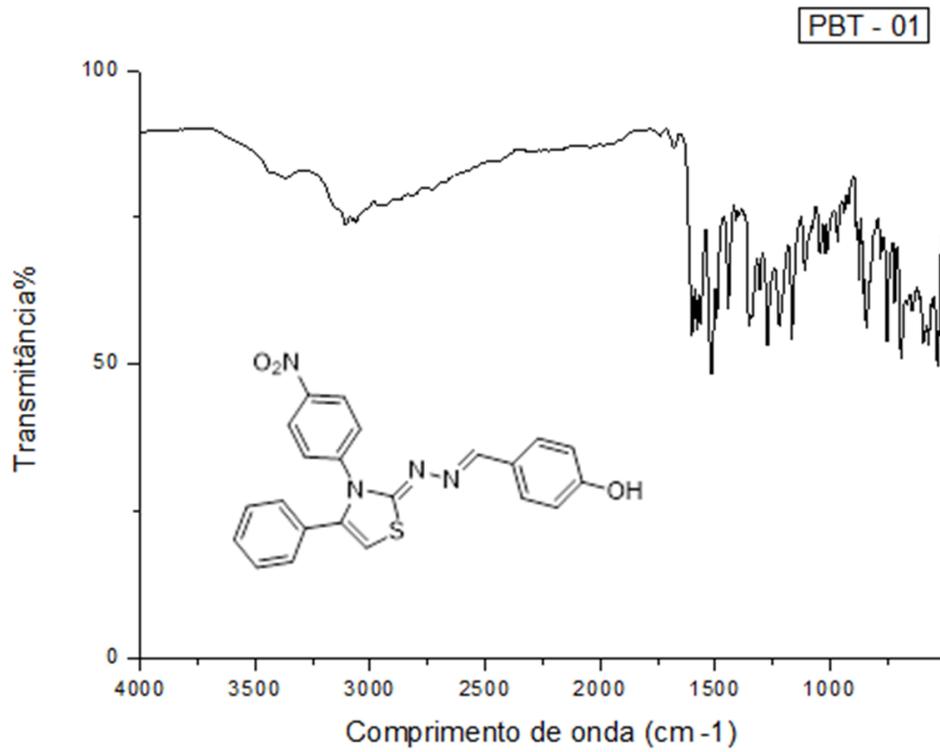
Zheng Pang, Renee Raudonis, Bernard R. Glick, Tong-Jun Lina, Zhenyu Cheng. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**, n. 37, p. 177–192, 2019.

ANEXOS

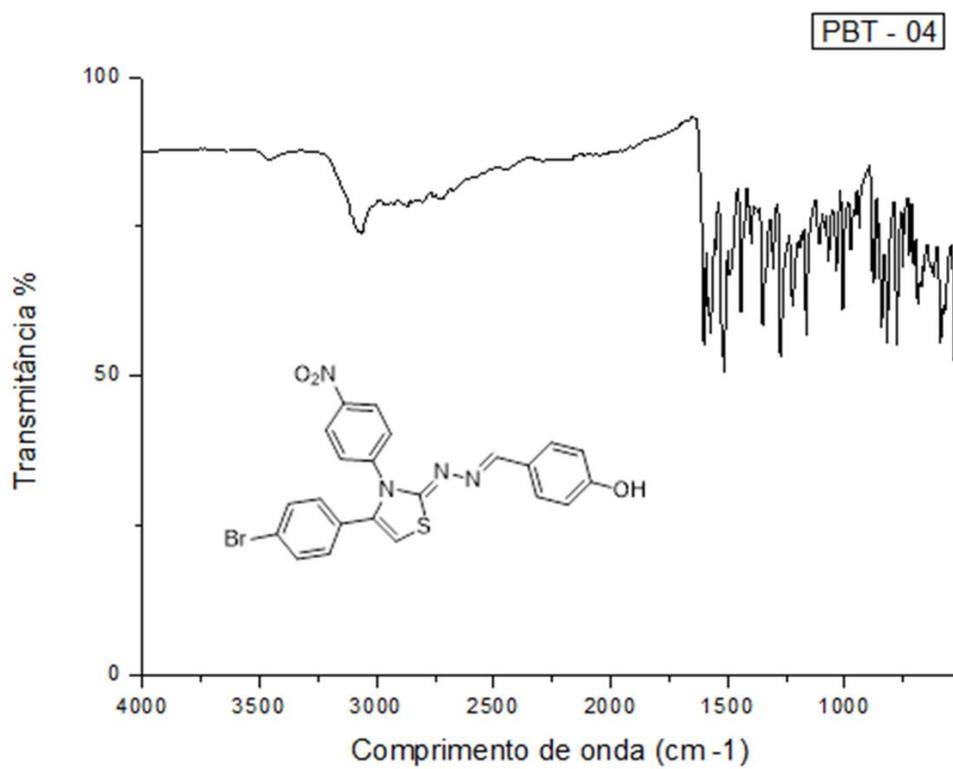
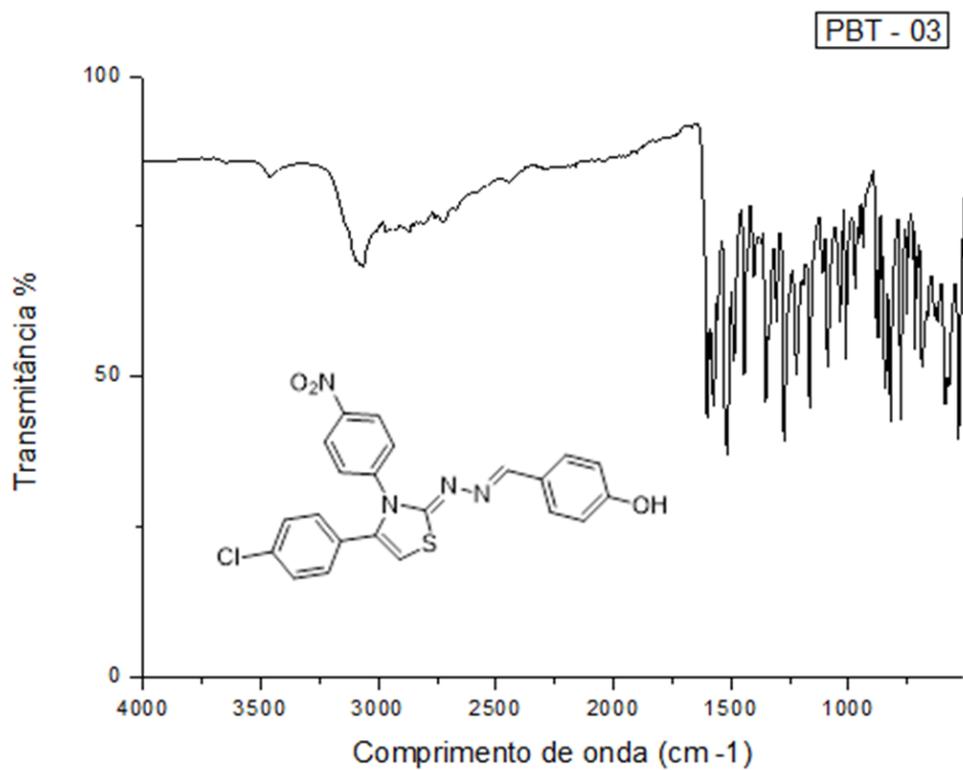
ANEXO A - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PB-01 E LQIT/PB-02



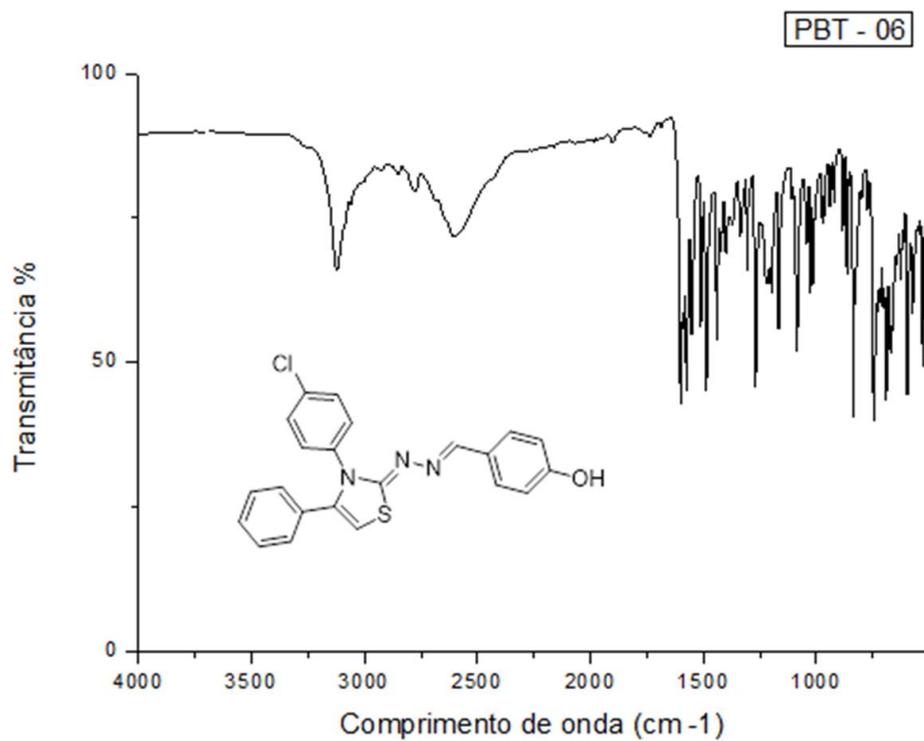
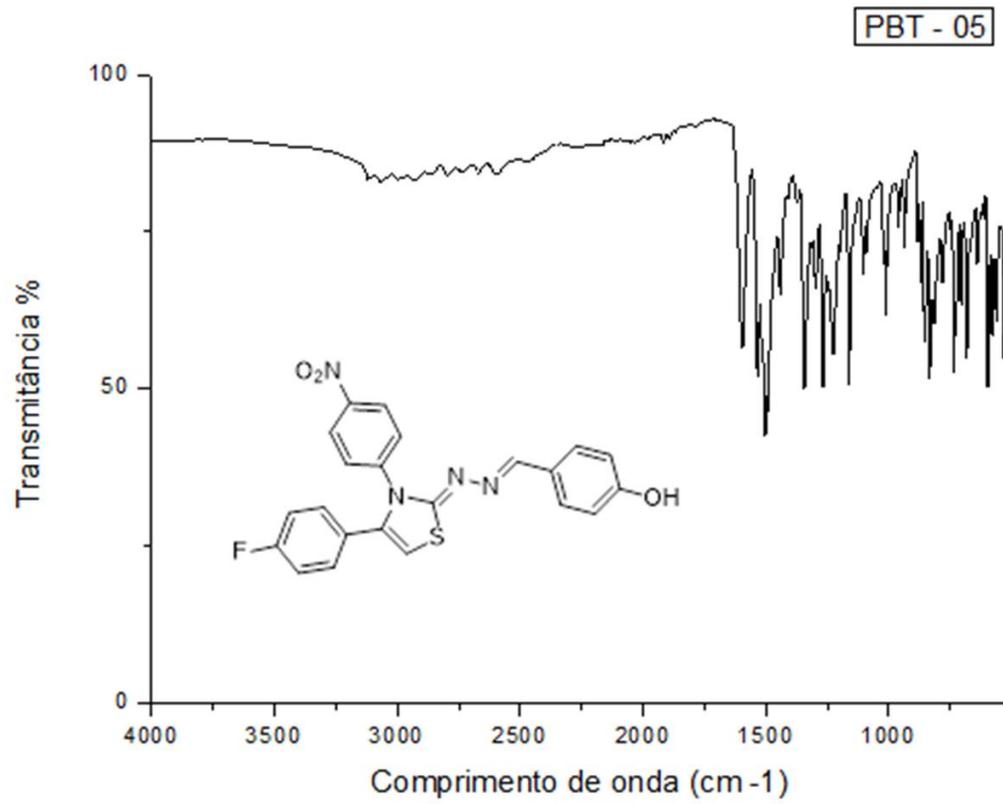
ANEXO B - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-01 E LQIT/PBT-02



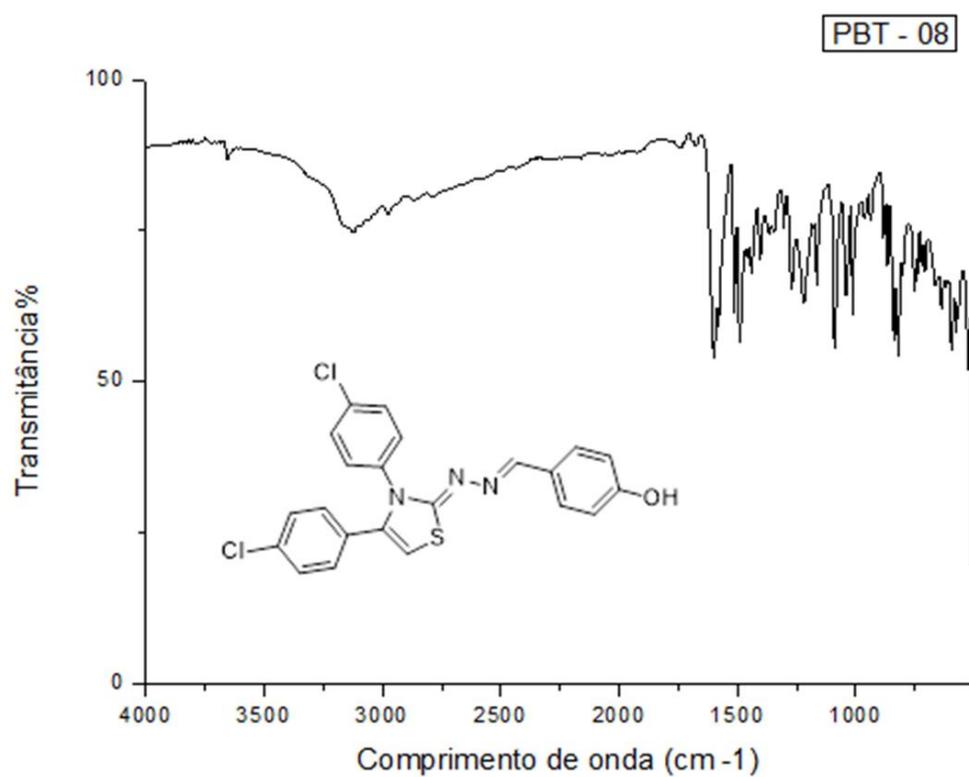
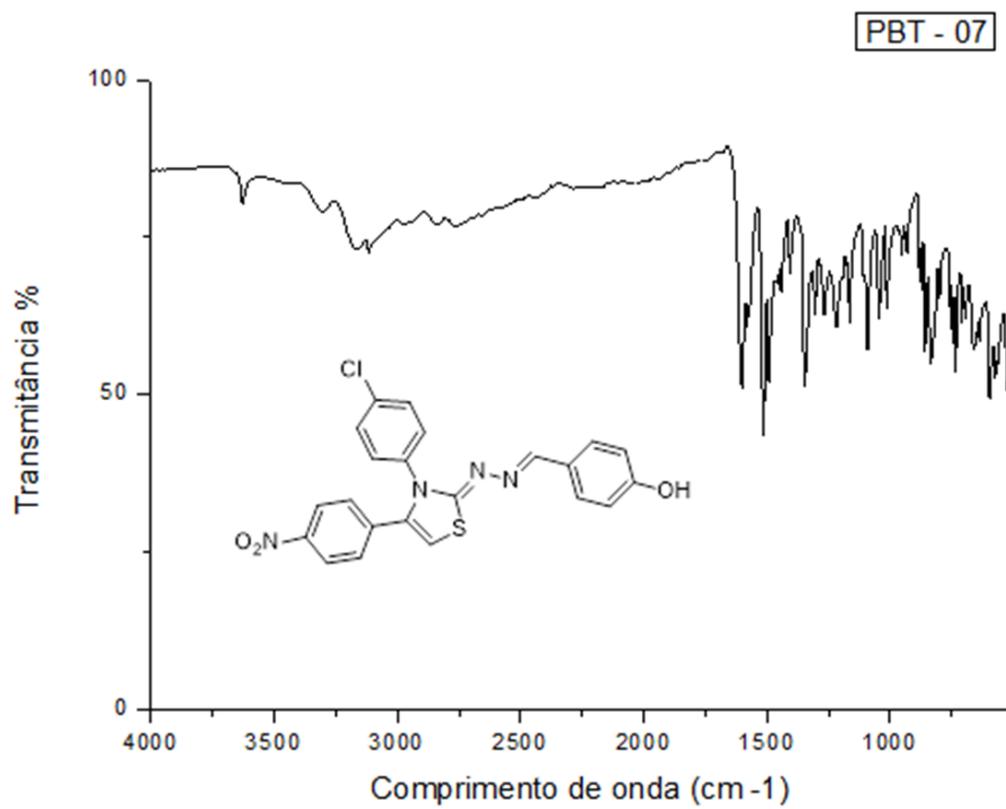
ANEXO C - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-03 E LQIT/PBT-04



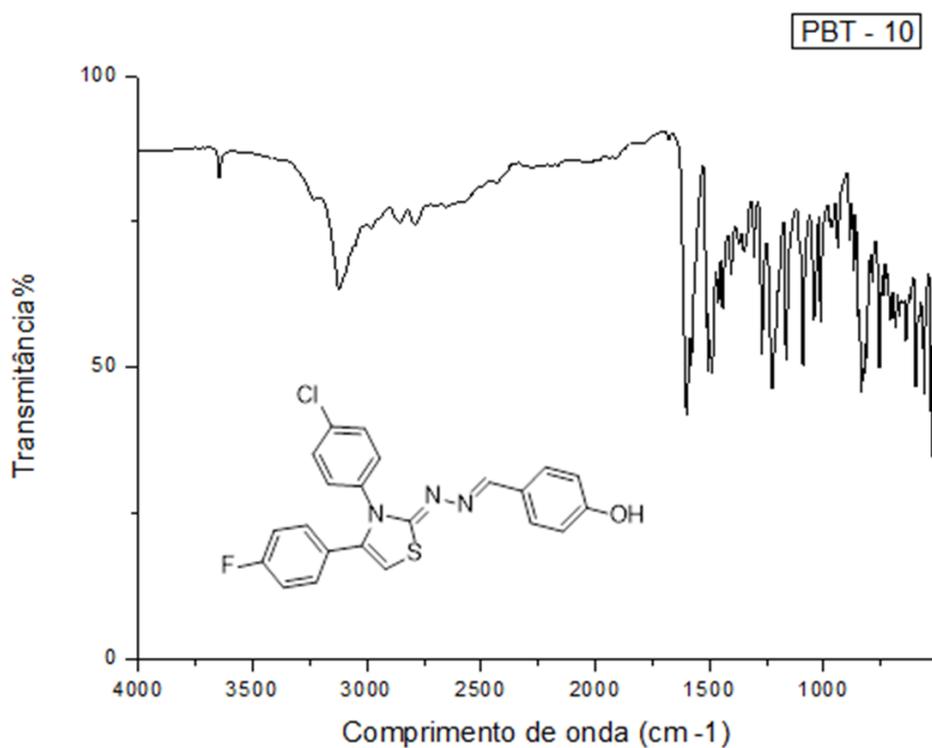
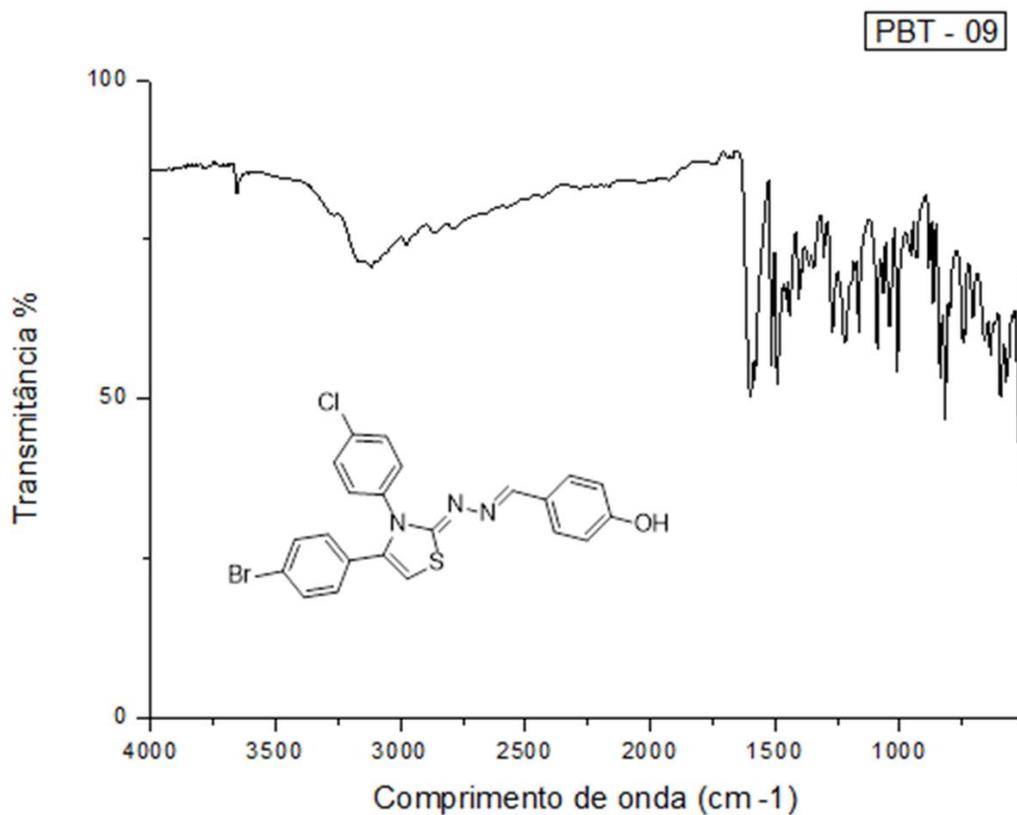
ANEXO D - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-05 E LQIT/PBT-06



ANEXO E - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-07 E LQIT/PBT-08

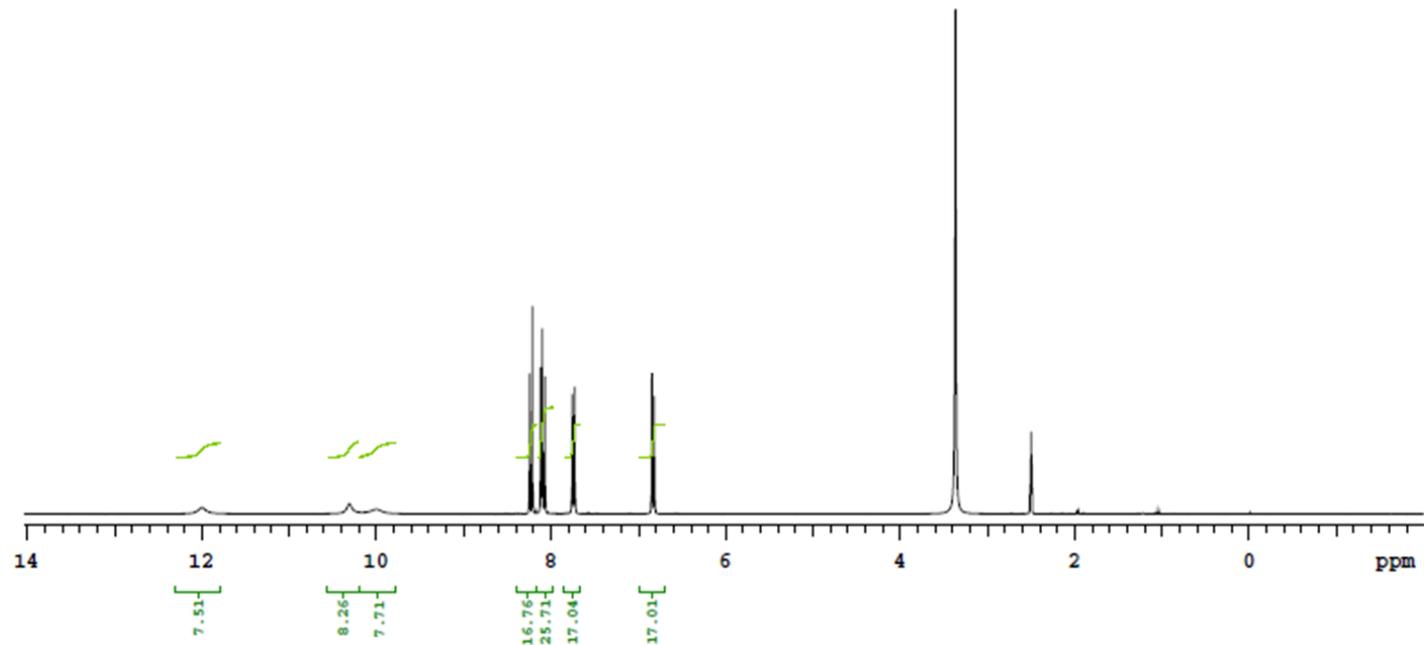


ANEXO F - ESPECTRO DE IV DOS COMPOSTOS LQIT/PBT-09 E LQIT/PBT-10



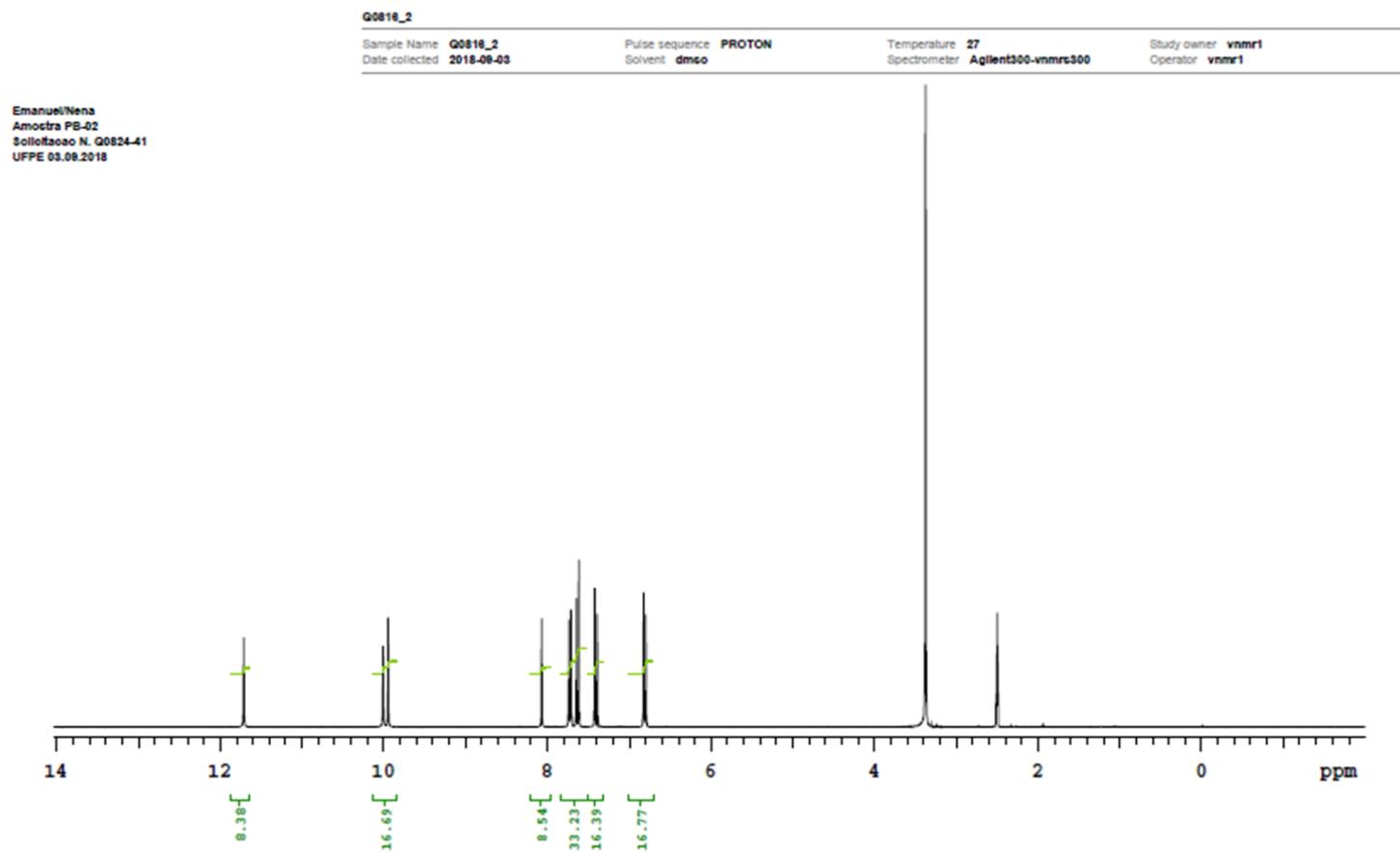
ANEXO G - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PB-01

p6mmA8W_calib

Sample Name: p6mmA8W_calib
Date collected: 2018-09-03Pulse sequence: PROTON
Solvent: dmsoTemperature: 27
Spectrometer: Agilent300-nmrc300Study owner: vnmr1
Operator: vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PB-01
Sollottoao N. Q0824-40
UFPE 03.09.2018

Data file: exp

Plot date: 2018-09-03

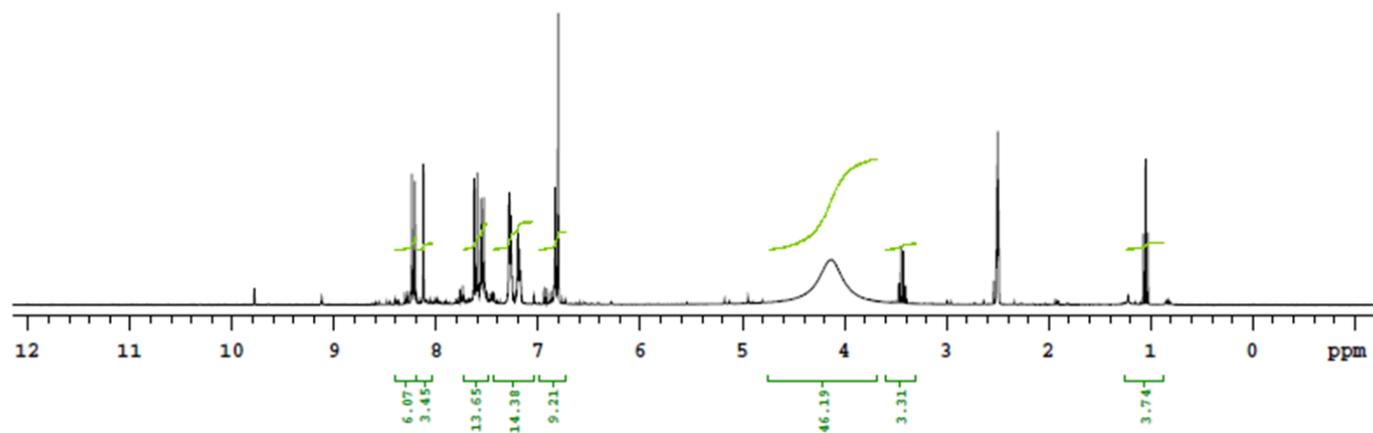
ANEXO H - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PB-02

Data file exp

Plot date 2018-09-03

ANEXO I - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-01

G0818_2

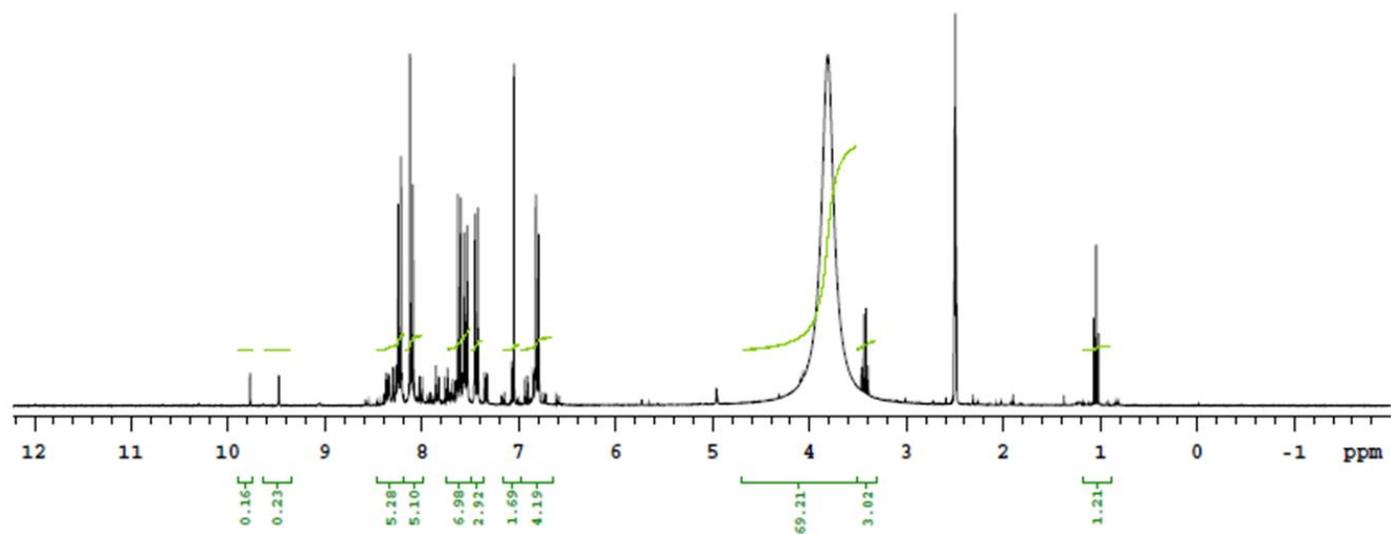
Sample Name G0818_2
Date collected 2018-09-03Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel Nena
Amocra PST-01
Soliloquio N. G0824-42
UFPE 03.09.2018

Data file exp

Plot date 2018-09-03

ANEXO J - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-02

Q0818_2

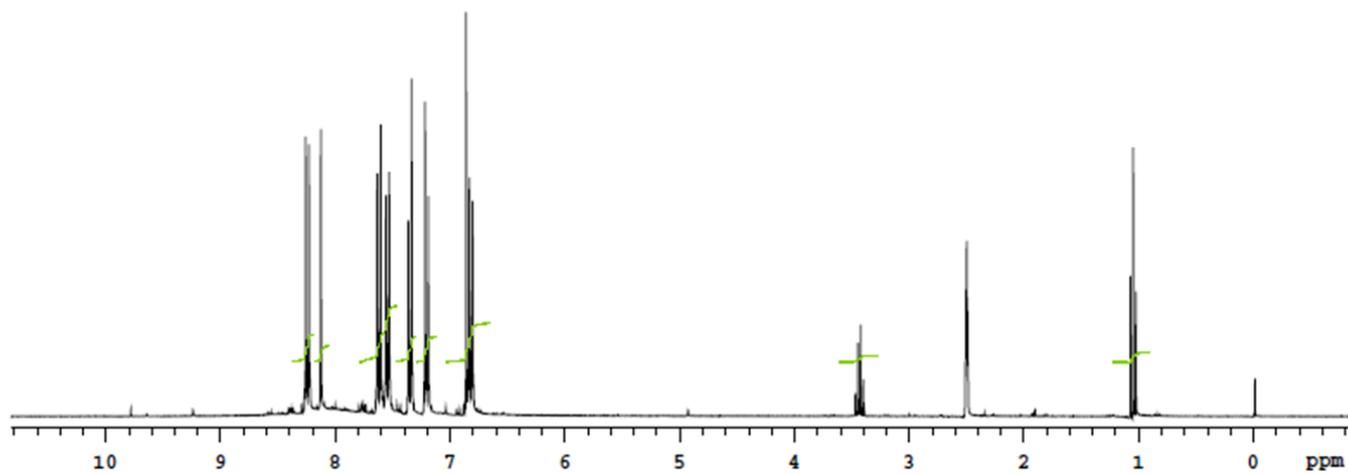
Sample Name Q0818_2
Date collected 2018-09-04Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmr300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-02
Solfotacao N. Q0824-43
UFPE 04.09.2018

Data file exp

Plot date 2018-09-04

ANEXO K - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-03

p6mmA3W_oalib

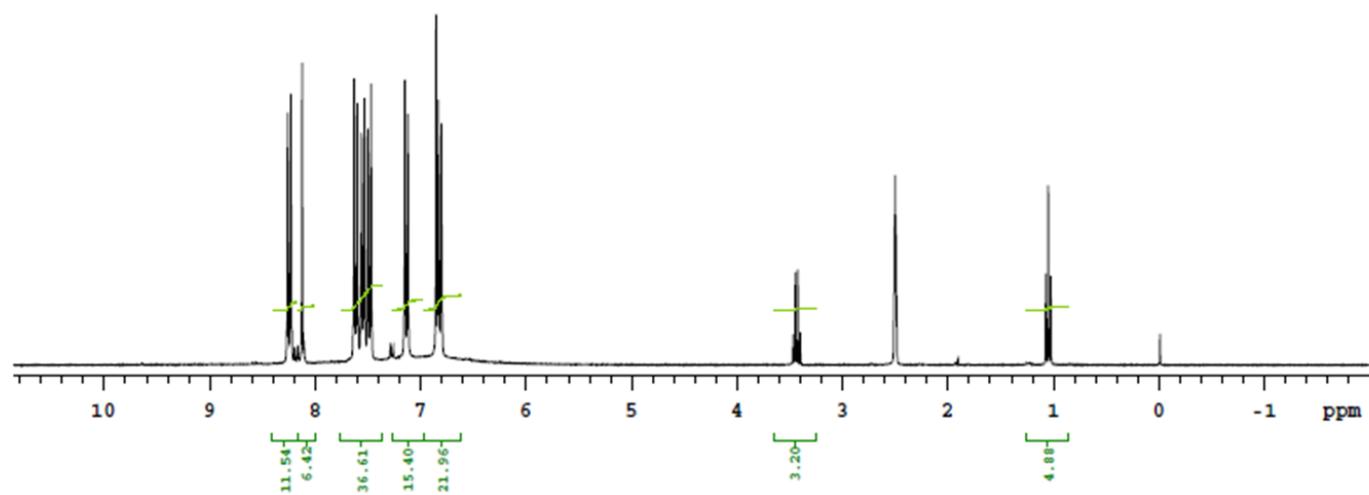
Sample Name p6mmA3W_oalib
Date collected 2018-08-12Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrs300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel Nena
Amostra PBT-03
Soluçao N. Q0824-44
UFPE 12.08.2018

Data file esp

Plot date 2018-09-12

ANEXO L - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-04

p6mmASW_oalib

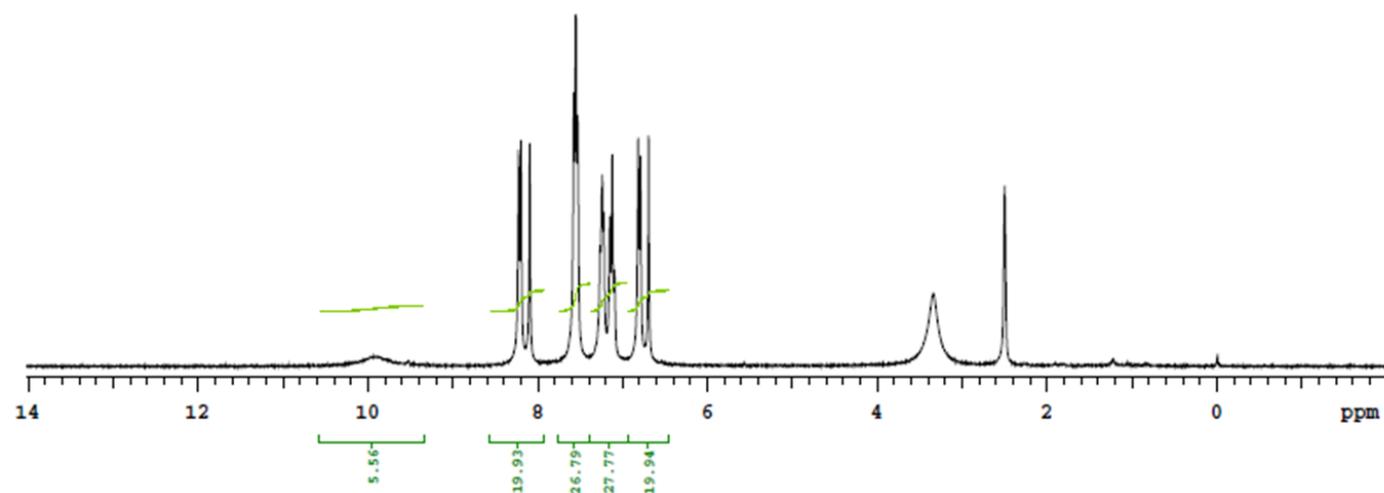
Sample Name p6mmASW_oalib
Date collected 2018-08-12Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-vnmr300Study owner vnmr1
Operator vnmr1EmanuelNena
Amostra PBT-04
Solucao N. Q0824-46
UFPE 12.08.2018

Data file exp

Plot date 2018-09-12

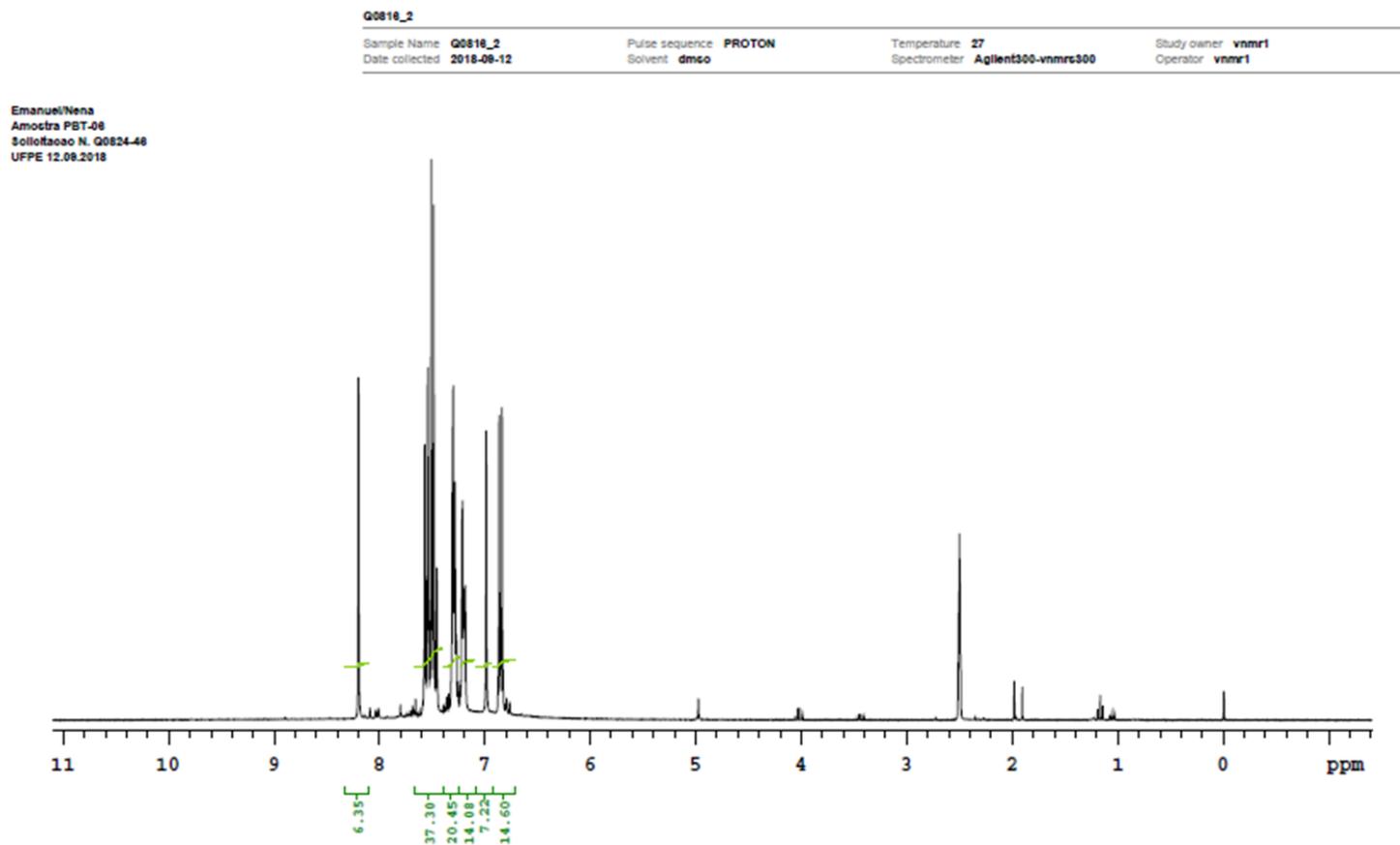
ANEXO M - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-05

p6mmASW_calib

Sample Name: p6mmASW_calib
Date collected: 2018-09-13Pulse sequence: PROTON
Solvent: dmscTemperature: 25
Spectrometer: Agilent300-nmrs300Study owner: vnmr1
Operator: vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-05
Sollotaoao N. G0824-51
UFPE 13.09.2018

Data file: exp

Plot date: 2018-09-13

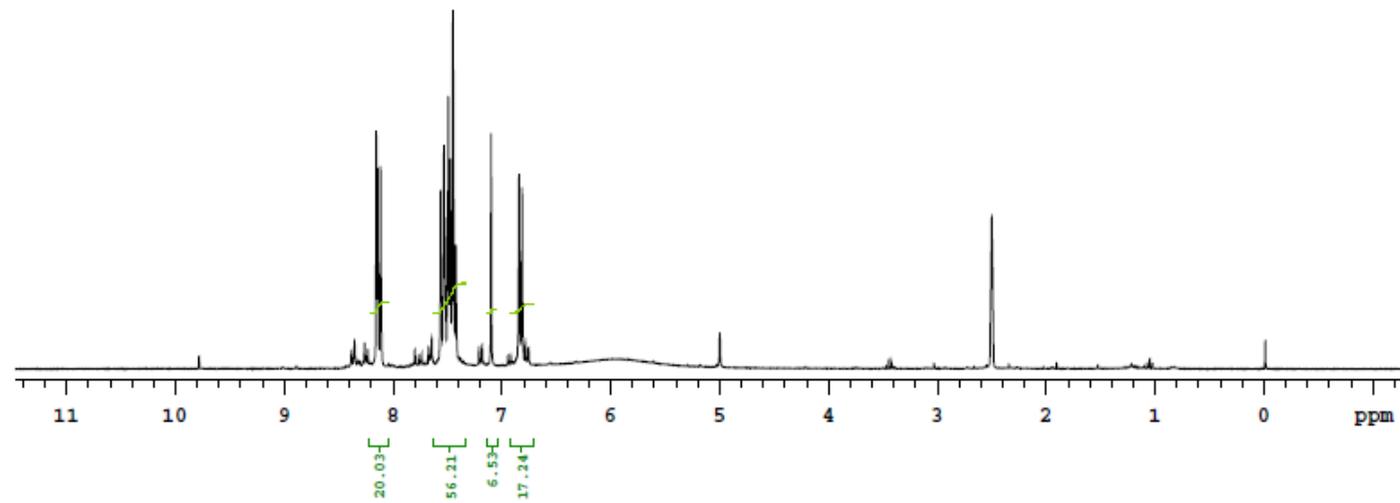
ANEXO N - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-06

Data file exp

Plot date 2018-09-12

ANEXO O - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-07

p6mmASW_calib

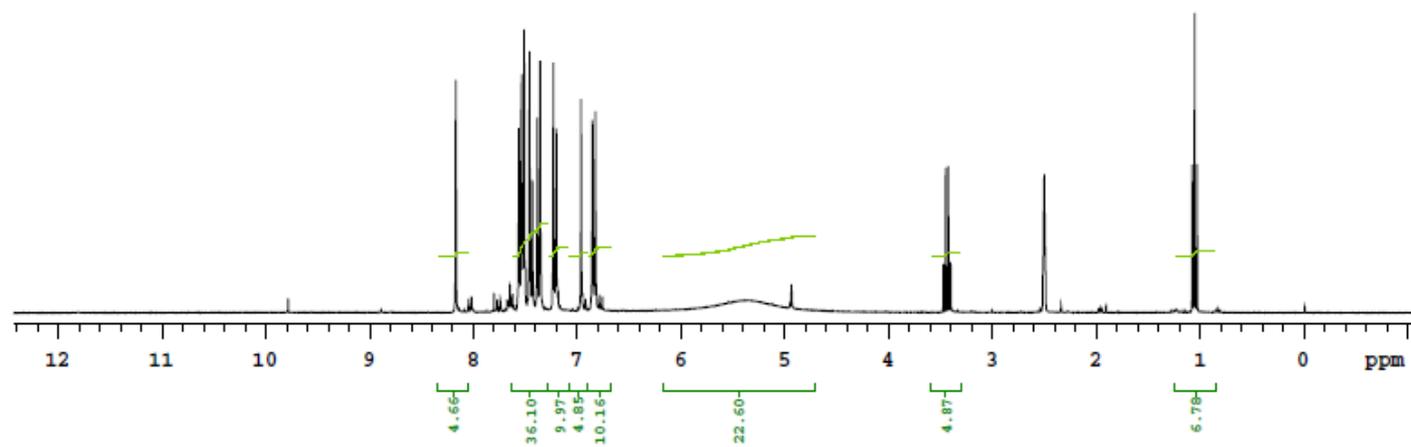
Sample Name p6mmASW_calib
Date collected 2018-09-12Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-07
Solucao N. Q0824-47
UFPE 12.08.2018

Data file /home/central/vnmr/sys/data/RMN_2018/Setembro/Q0824_47_1h.fid

Plot date 2018-09-13

ANEXO P - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-08

p6mmASW_oalib

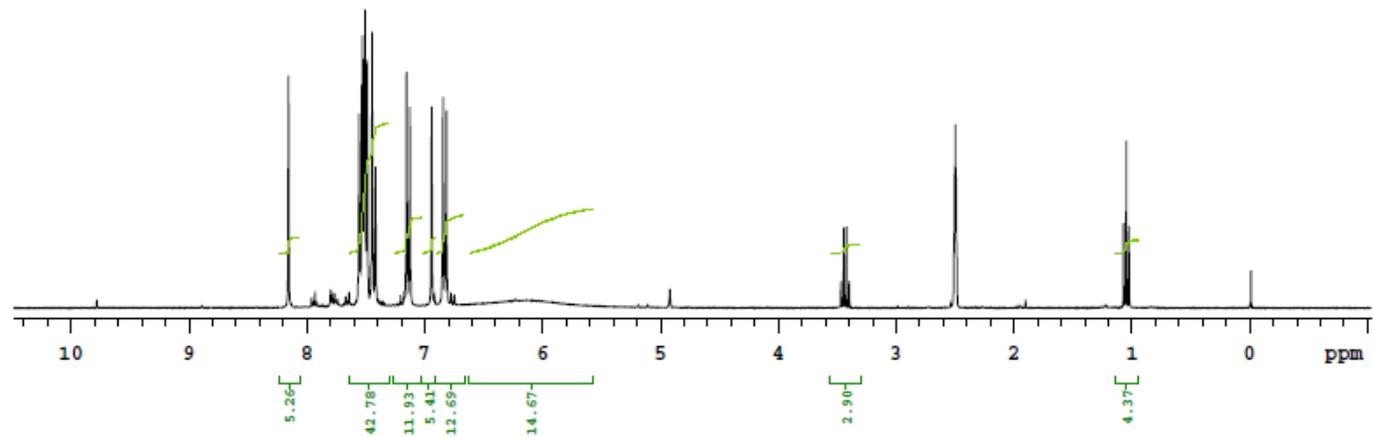
Sample Name p6mmASW_oalib
Date collected 2018-08-12Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrs300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-08
Solofaccao N. Q0824-48
UFPE 12.08.2018

Data file /home/central/nmrsys/data/RMN_2018/Selembro/Q0824_48.1h.fid

Plot date 2018-09-13

ANEXO Q - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-09

p6mmASW_oalib

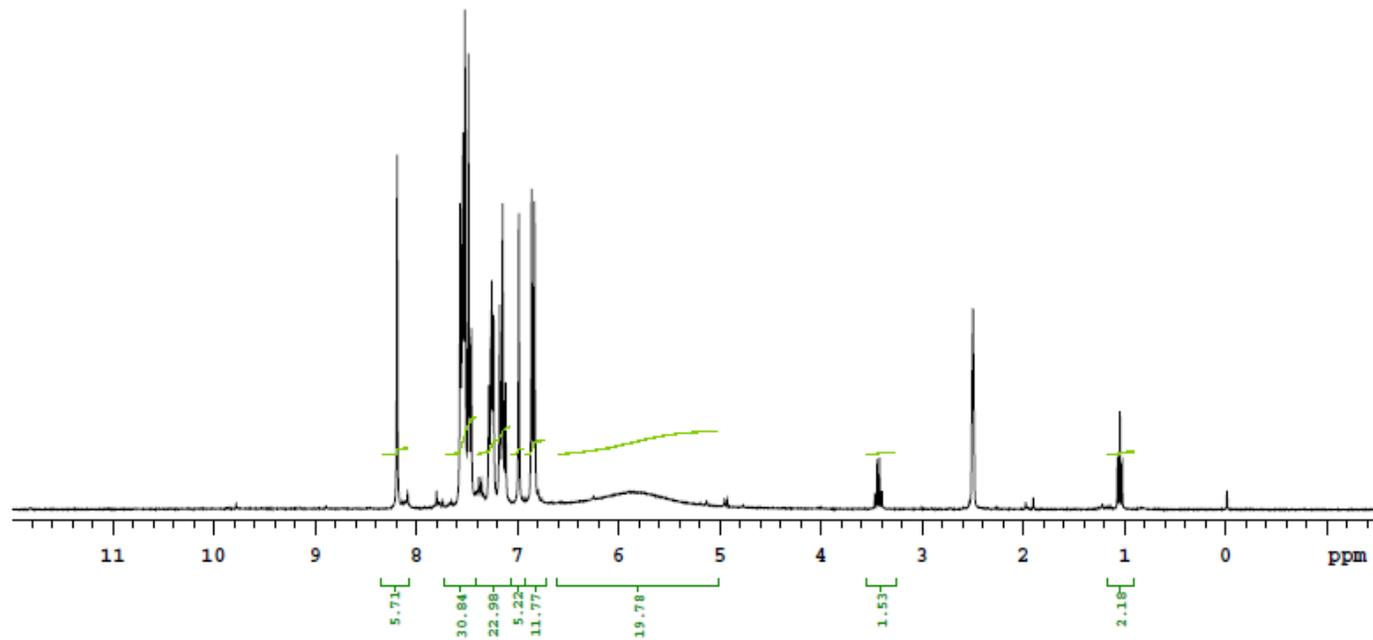
Sample Name p6mmASW_oalib
Date collected 2018-09-13Pulse sequence PROTON
Solvent dmscoTemperature 25
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel Nena
Amostra PBT-09
Solicitação N. Q0824-09
UFPE 13.08.2018

Data file exp

Plot date 2018-09-13

ANEXO R - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DO COMPOSTO LQIT/PBT-10

p6mmA8W_oalib

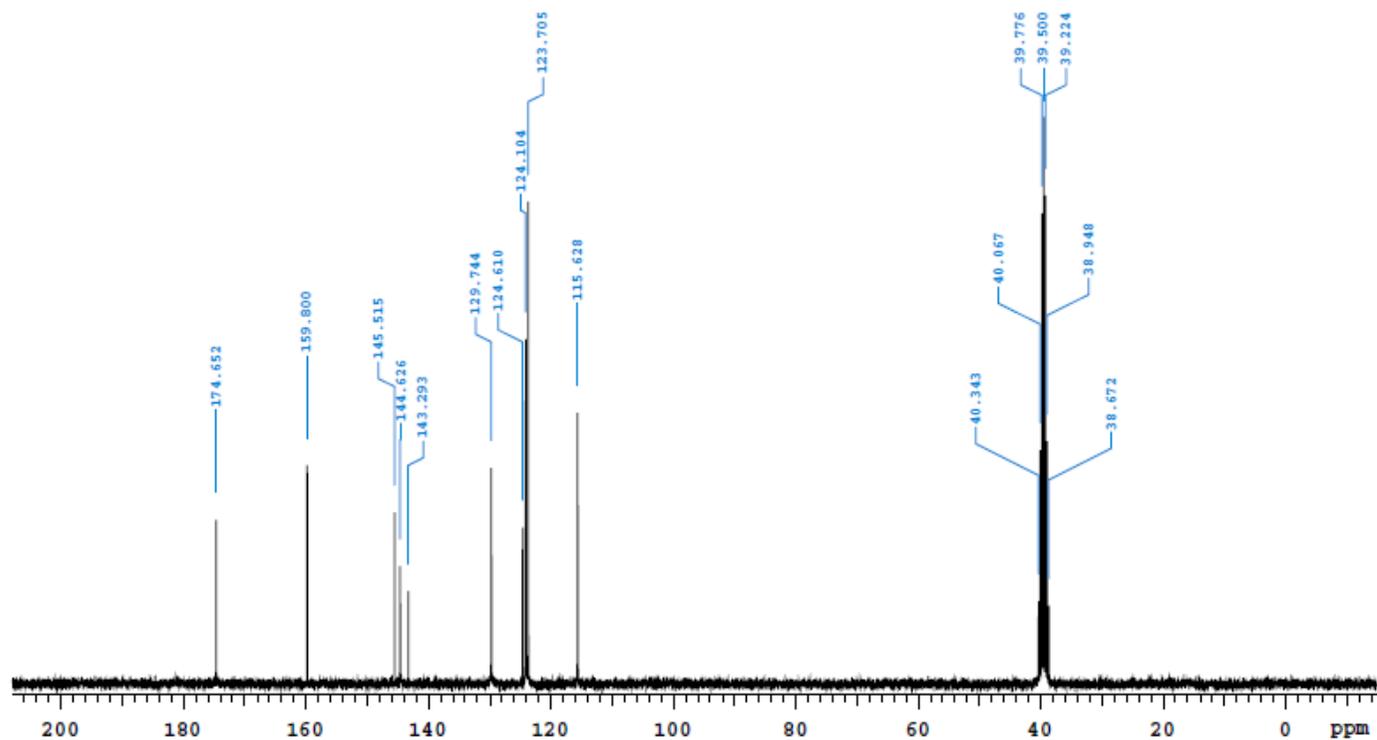
Sample Name p6mmA8W_oalib
Date collected 2018-08-13Pulse sequence PROTON
Solvent dmscTemperature 25
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-10
Solitoacao N. G0824-60
UFPE 12.08.2018

Data file exp

Plot date 2018-09-13

ANEXO S - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PB-01

Q0818_2

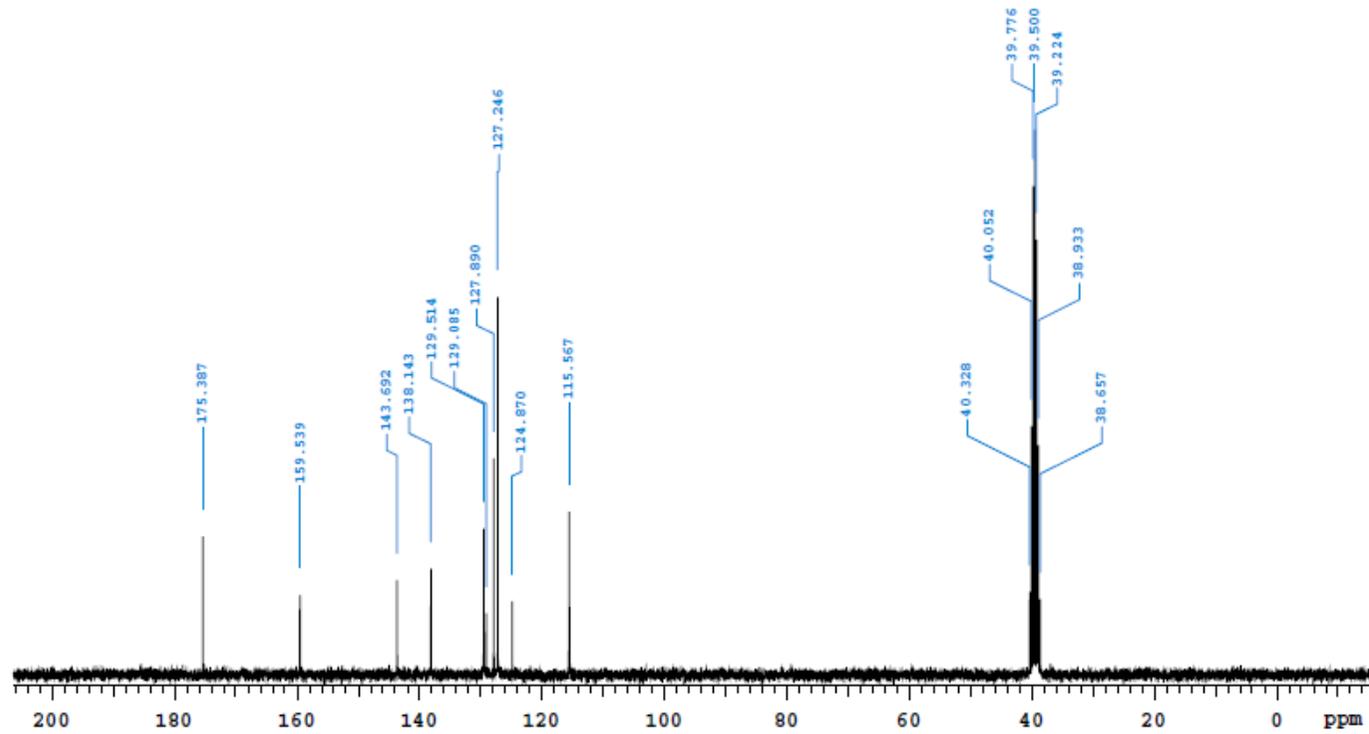
Sample Name Q0818_2
Date collected 2018-08-03Pulse sequence CARBON
Solvent dmsoTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PB-01
Solicitacao N. Q0824-40
UFPE 03.08.2018

Data file: exp

Plot date: 2018-09-03

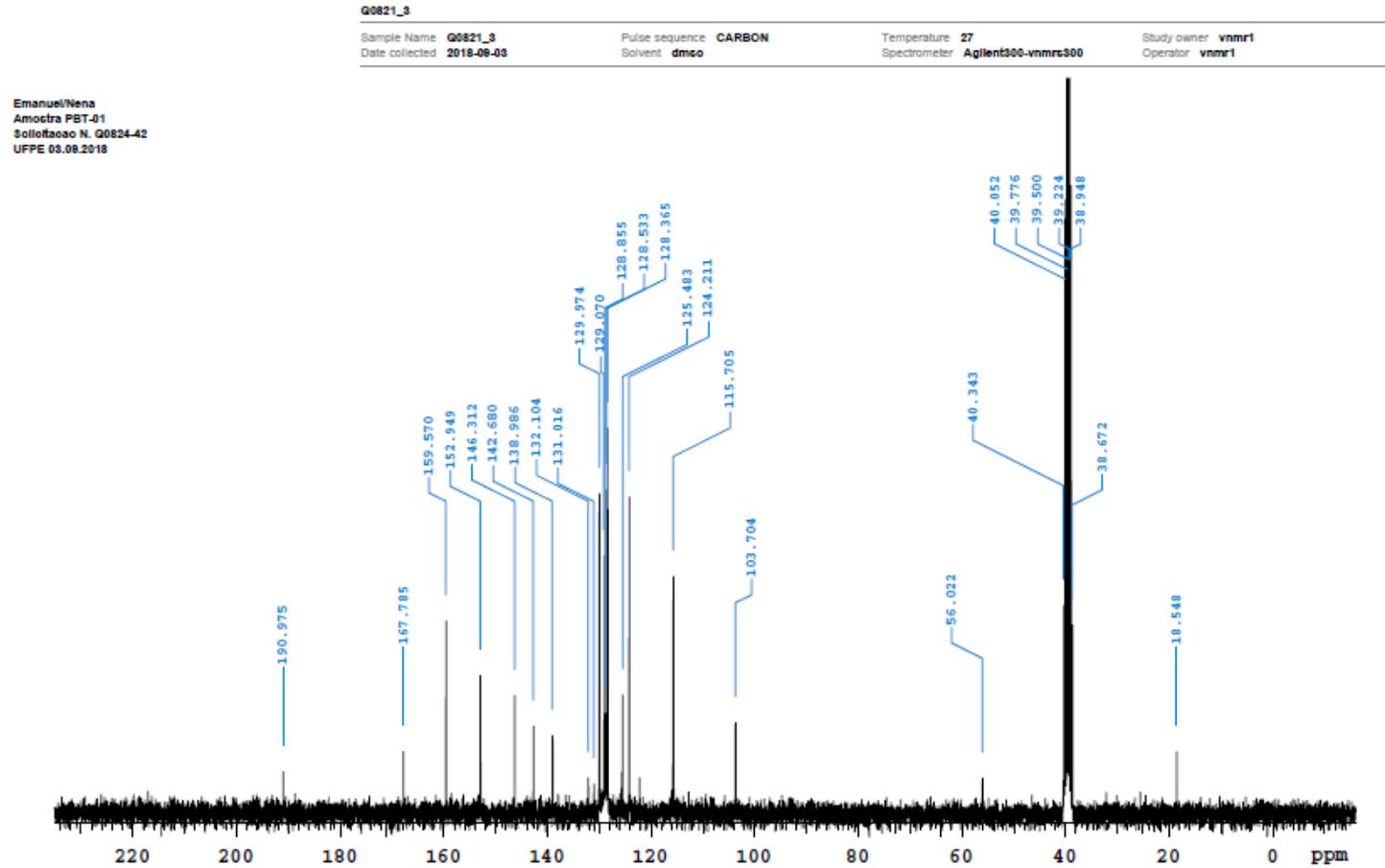
ANEXO T - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PB-02

Q0818_2

Sample Name Q0818_2
Date collected 2018-09-03Pulse sequence CARBON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmr300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel Nena
Amocira PB-02
Solucao N. Q0824-41
UFPE 03.08.2018

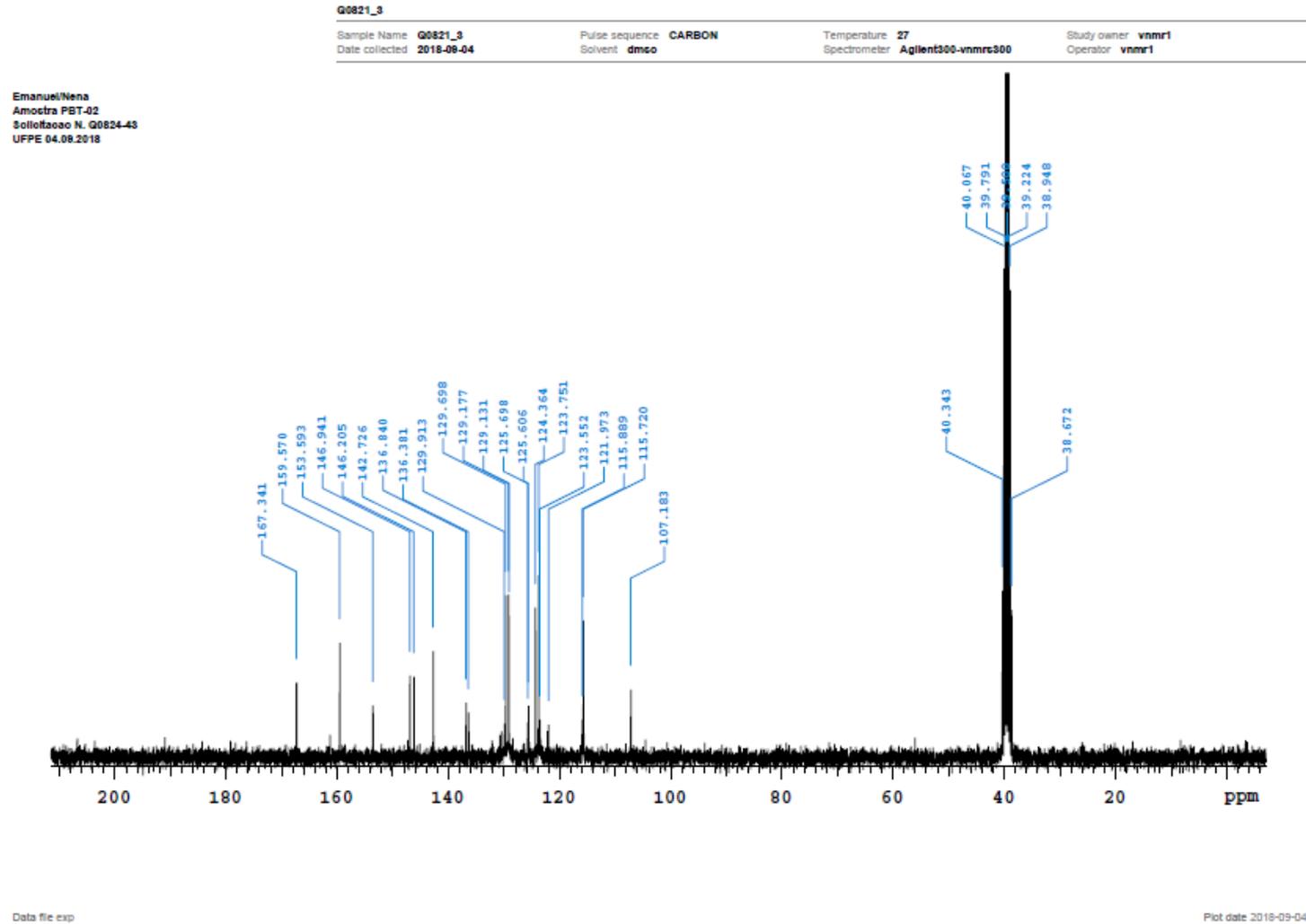
Data file exp

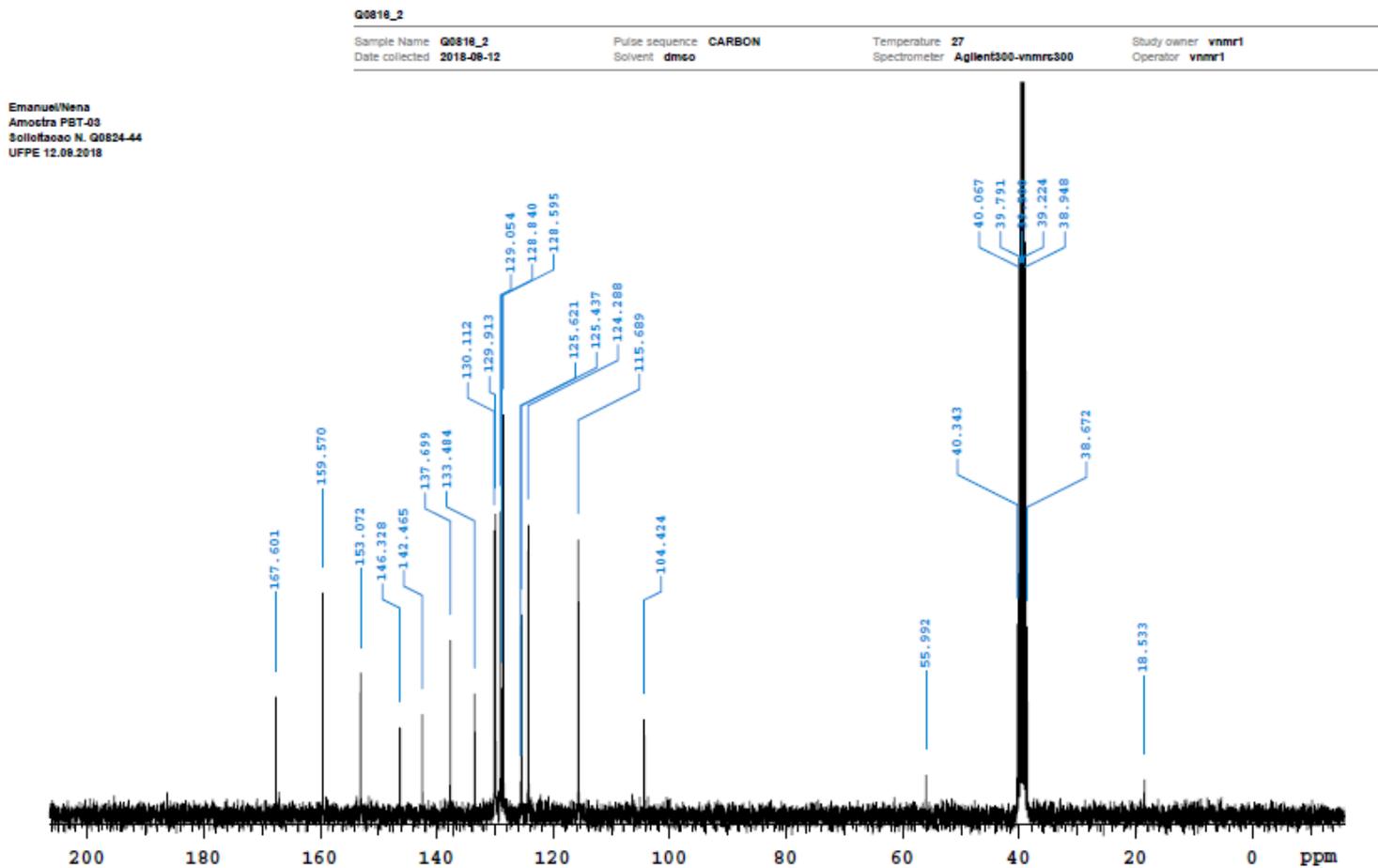
Plot date 2018-09-03

ANEXO U - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-01

Data file /home/central/vnmr/sys/data/RMN_2018/Setembro/Q0824_42.13c.fid

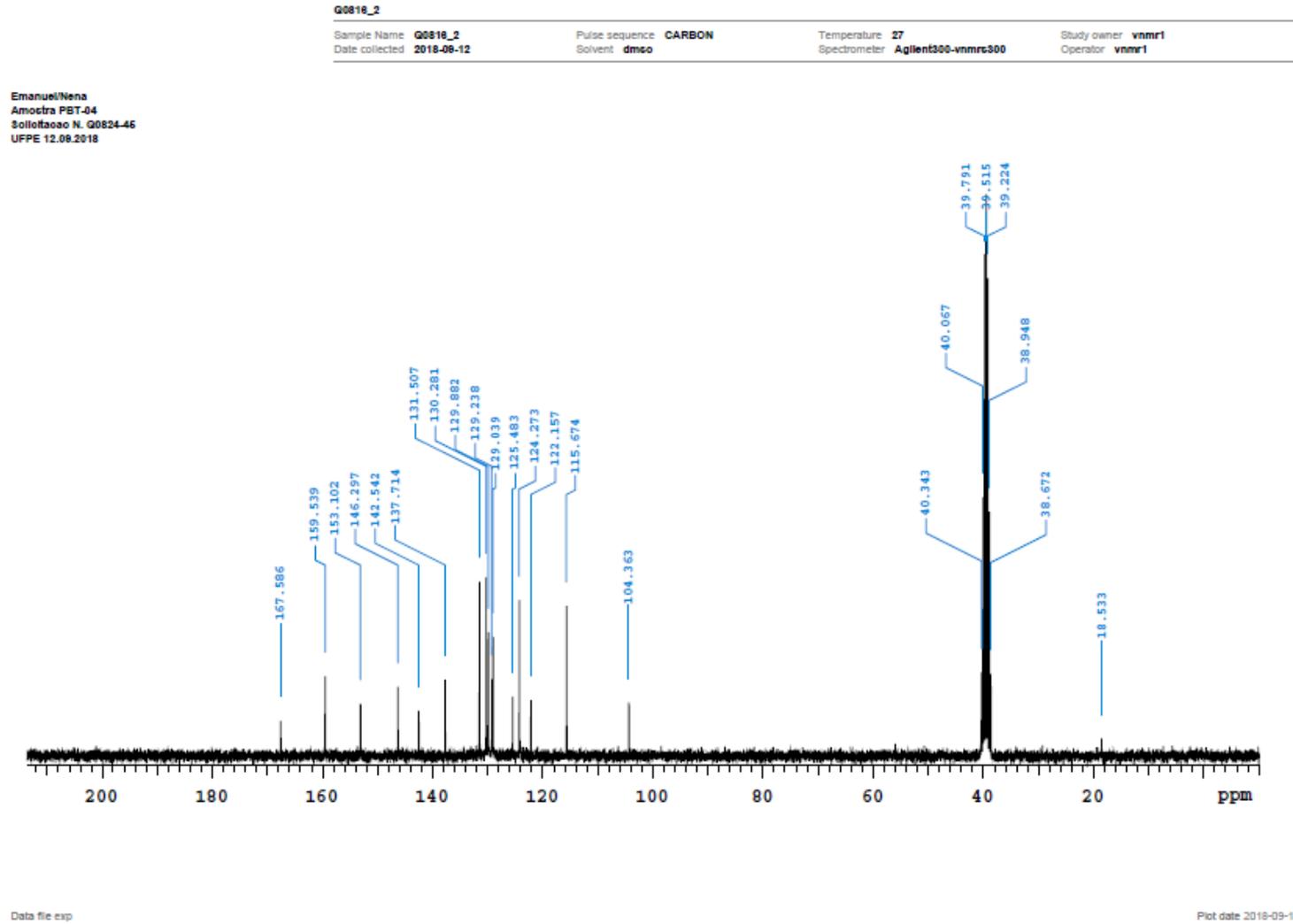
Plot date 2018-09-04

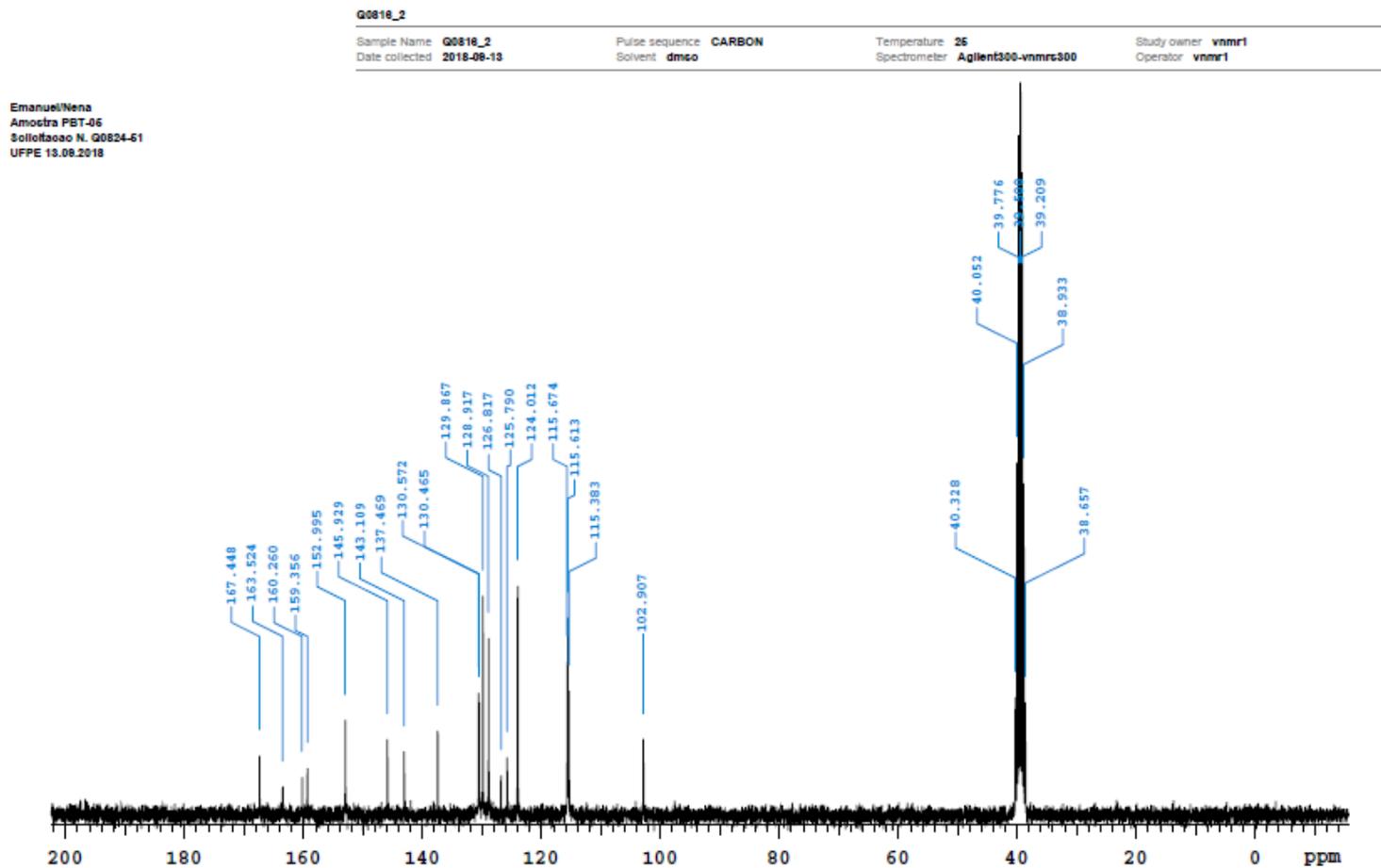
ANEXO V - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-02

ANEXO W - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-03

Data file exp

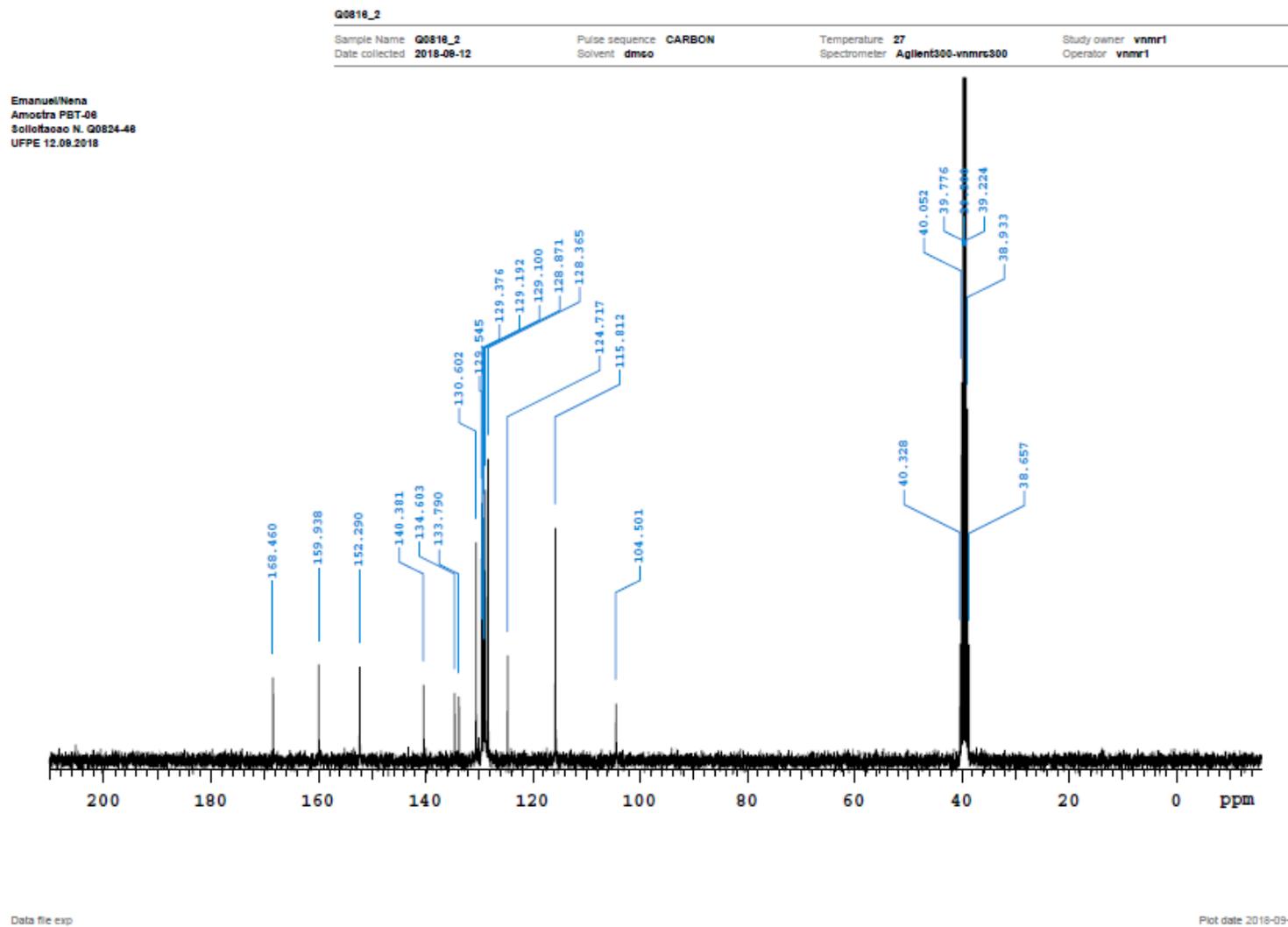
Plot date 2018-09-12

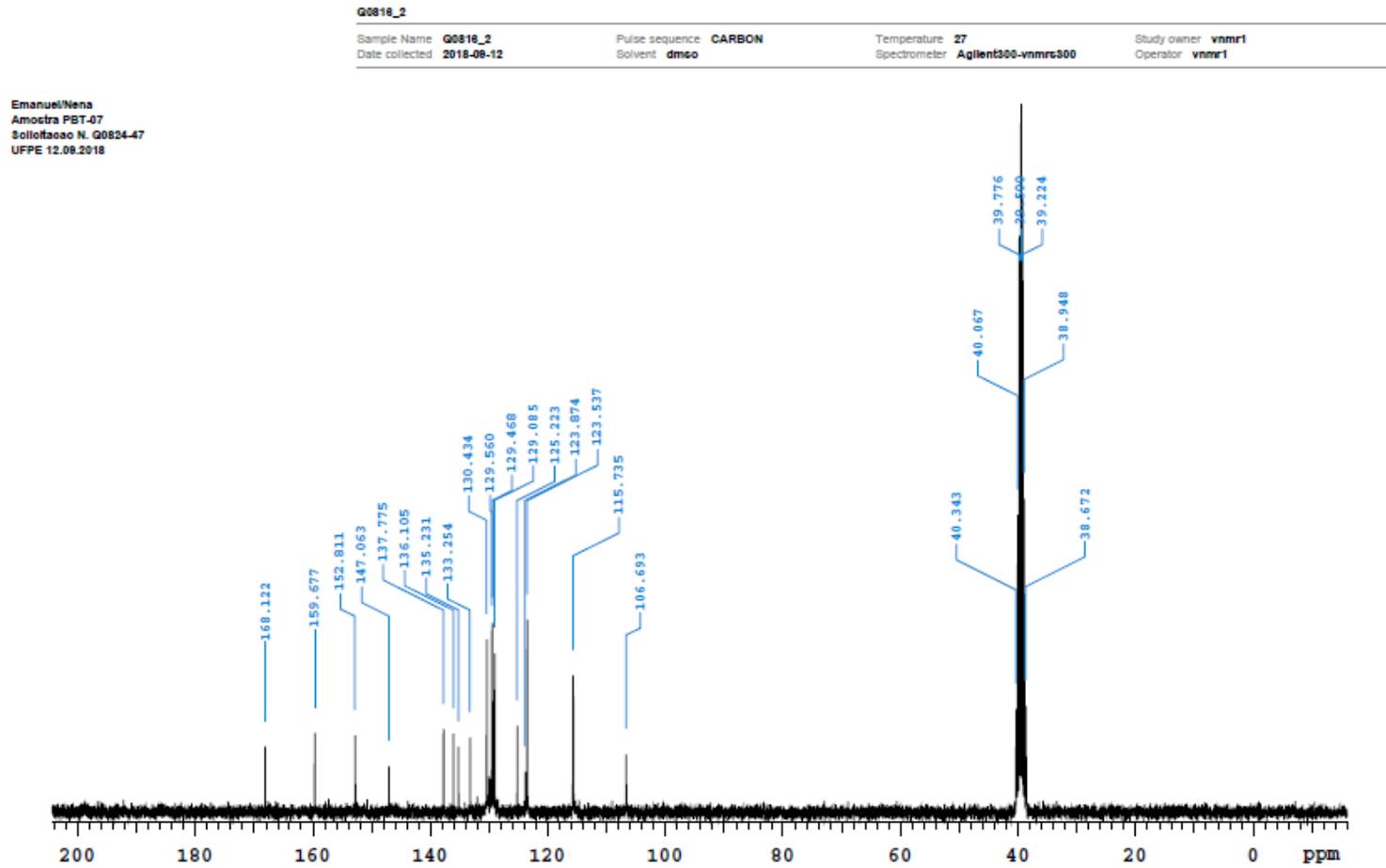
ANEXO X - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-04

ANEXO Y - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-05

Data file exp

Plot date 2018-09-13

ANEXO Z - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-06

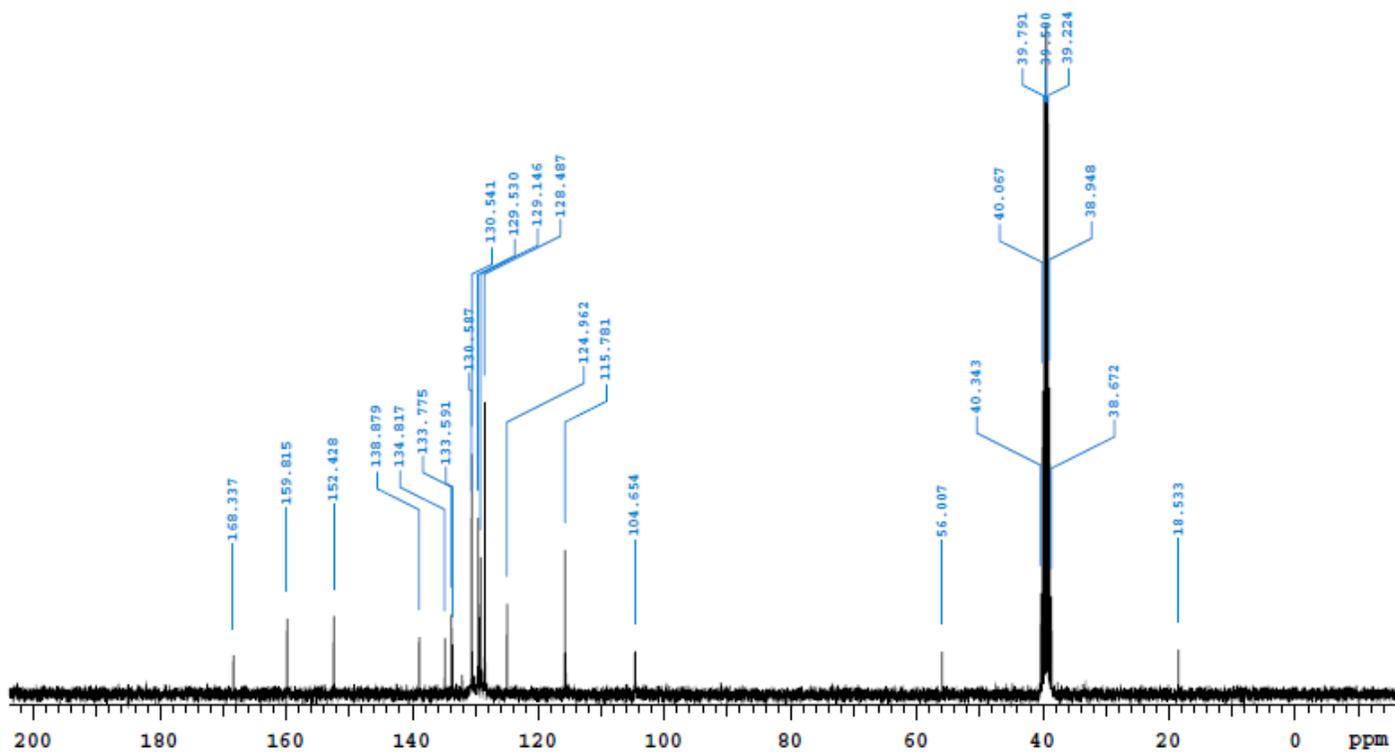
ANEXO AA - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-07

Data file /home/central/vnmrsys/data/RMN_2018/Setembro/Q0824_47.13c.fid

Plot date 2018-09-13

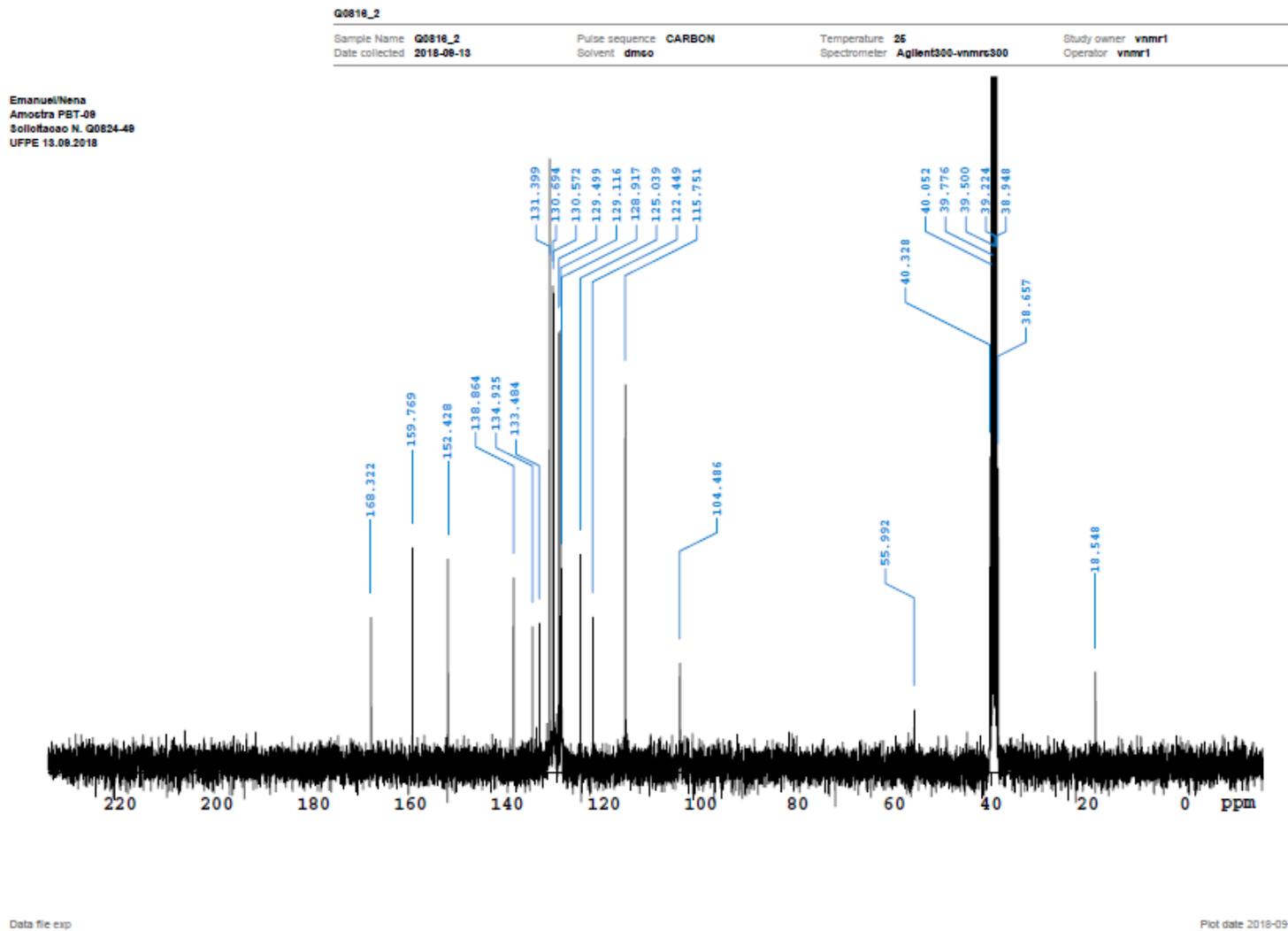
ANEXO BB - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-08

Q0816_2

Sample Name Q0816_2
Date collected 2018-08-12Pulse sequence CARBON
Solvent dmscTemperature 27
Spectrometer Agilent300-nmrc300Study owner vnmr1
Operator vnmr1Emanuel/Nena
Amostra PBT-08
Soluto/tao N. Q0824-48
UFPE 12.08.2018

Data file: /home/central/vnmr/sys/data/RMN_2018/Setembro/Q0824_48.13c.fid

Plot date: 2018-09-13

ANEXO CC - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-09

ANEXO DD - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DO COMPOSTO LQIT/PBT-10