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

CEZAR AUGUSTO DA CRUZ AMORIM

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO LEISHMANICIDA *IN VITRO* DE NOVOS DERIVADOS TIAZÓLICOS.

Recife
2020

CEZAR AUGUSTO DA CRUZ AMORIM

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO LEISHMANICIDA *IN VITRO* DE NOVOS DERIVADOS TIAZÓLICOS.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários ao grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas. Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

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

Co-orientadores: Prof. Dr. Jorge Luiz Neves e Prof. Dr. Marcelo Montenegro Rabello

Recife

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Amorim, Cezar Augusto da.
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO LEISHMANICIDA IN VITRO DE NOVOS DERIVADOS TIAZÓLICOS. / Cezar Augusto da Amorim. - Recife, 2020.
143 p : il., tab.

Orientador(a): Maria do Carmo Lima
Cooorientador(a): Jorge Luiz Neves
Cooorientador(a): Marcelo Rabello
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2020.
Inclui referências, anexos.

1. Tiazol. 2. Tiossemicarbazona. 3. Leishmania amazonensis. 4. Quinolina. 5. Docking. 6. COX-1 e 2. I. Lima, Maria do Carmo. (Orientação). II. Neves, Jorge Luiz. (Coorientação). IV. Rabello, Marcelo. (Coorientação). V. Título.

540 CDD (22.ed.)

CEZAR AUGUSTO DA CRUZ AMORIM

"Síntese, caracterização estrutural, estudo *in vitro* e atividade leishmanicida de novos derivados tiossemicarbazônicos e tiazolidínicos"

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

Aprovada em: 25/06/2020.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof.ª Dr.ª Maria do Carmo Alves de Lima (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura (Examinador Interno)
Universidade Estadual da Paraíba

_____

Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva (Examinadora Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Dr. Jamerson Ferreira de Oliveira (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof. Dr. Antônio Sérgio Alves de Almeida Júnior (Examinador Externo)
Universidade Maurício de Nassau

Dedico este trabalho a todas as pessoas que jamais enxergaram o ato de desistir como uma saída para as suas dificuldades e limitações.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela dádiva da vida. Sem Ti, nada seria possível realizar. Gratidão por me permitir reencarnar nestas circunstâncias e contribuir com a Tua obra.

Agradeço aos meus pais, **Antônio Luiz e Silvânia**, por todo o arcabouço moral que se dedicaram, por anos, a construir em nosso lar. Não há dúvidas que seus exemplos, bem como os conselhos, foram fundamentais para eu conquistar as competências extracurriculares necessárias para o desenvolvimento deste trabalho. A vocês, minha eterna gratidão e amor, por sempre acreditarem no meu sonho e na capacidade de realizá-lo. Amo vocês, "Cambão" e "Selva".

Sou grato aos meus irmãos, **Luís Eduardo e Anderson Cruz**, que foram exímios companheiros de incentivo, amparo e distração, nos momentos mais desafiadores desta jornada. Protagonizaram cenas de humor, amor e felicidade quando mais precisei de um local seguro. Obrigado a vocês, "Teta" e "Perna de galinha fina".

À minha amada mulher, **Bárbara Amorim**, que vivenciou meus piores dias, minhas maiores angústias, e esteve ao meu lado incentivando e crendo no meu potencial. Teu apoio, tua presença, teu cuidado, teu amor, muito me acolheu propiciando evolução para concluir esta tese de doutorado. Foste responsável por dias memoráveis dentro dessa trajetória. Amo você e serei eternamente grato por teres permitido que eu faça parte da sua vida. Gratidão, Gorda.

À minha mentora, orientadora, professora e amiga, **Maria do Carmo Alves de Lima (Nena)**. Sem a permissão da senhora, eu nem estaria aqui, escrevendo um tópico de agradecimento. Primeiramente, gostaria que a senhora soubesse o quanto sou grato por tudo que me proporcionou, absolutamente tudo. Aprendi (não apenas profissionalmente) muito sobre a vida e como as pessoas se comportam, conversando e observando suas atitudes para com elas. Foram mais de 7 anos de convivência onde pude ver minha mentora se tornar uma amiga. Um ser humano que sempre abre as portas aos necessitados (como fez comigo sem nem me conhecer) sem esperar contrapartidas. Ensinou-me que as portas podem se fechar, contudo uma janela sempre se abrirá, no momento de Deus, e tudo poderá ser realizado, basta

ter fé e paciência. Ensinamentos que nenhum curso ou disciplina podem ofertar. Aprendi muito com a senhora, Maria. Gratidão imensa.

Às minhas avós, **vovó Hildete** e **vovó Terezinha**, que com o toque que só as avós têm tornaram os encontros mais sábios e menos pesados, pois suas situações de vida sempre faziam o meu obstáculo ser fichinha para os vividos por elas. Amo vocês, Dete e Teca.

Ao meu **vovô Eduardo** (*in memoria*) que sempre dizia que teria um neto mestre e doutor. Tenho certeza que, do plano espiritual, o senhor torceu, comemorou e vibrou com estas conquistas, vô. A saudade é grande, mas a certeza que o senhor está bem, saudável, e que em breve vamos todos nos reencontrar, afaga o coração antes apertado. Amo o senhor, "véi" Duardo.

Aos meus **tios e primos** (tio Gordinho, tia Jane, Rafa, Gabi, tia Conca, Carlos, Victinho, Victórinha, tia Lela, tio Sérgio, tia Lu, Patrick, Pedrinho, Eduardo, Filipe, tio Dodô, Elizama, Jéssica, Kézia, tio Duda, Jane, Nina, Nino, tio Toni, Cheyla, Ruan e Gigi) que sempre torceram e ansiavam, a cada etapa vencida, pela conclusão dos meus desafios acadêmicos e entenderam as ausências em dados momentos. A vocês meu muito obrigado por tudo e pela compreensão.

Aos **amigos do laboratório LQIT** que foram companheiros e parceiros para o desenvolvimento deste trabalho. Se citar nominalmente, acabarei sendo injusto e, por vezes, ingrato. Como não tenho predileções, e vocês sabem disso, sempre mantive um convívio saudável e respeitoso com todos os amigos. Meus agradecimentos e abraço fraterno a cada um de vocês.

Aos meus co-orientadores **Jorge Neves** e **Marcelo Rabelo** pelos ensinamentos, tempo empregado e colaborações para a construção desse trabalho.

Ao pessoal da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, DQF, na figura da querida **Eliete**, pessoa ímpar sempre disposta a ajudar nas análises espectroscópicas.

Aos secretários, **Rilvan** e **Nerilin**, do Programa de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas, por toda atenção, ajuda e conversas descontraídas aos finais de tarde. Vocês são maravilhosos.

RESUMO

As tiossemicarbazonas apresentam uma boa versatilidade como ligantes devido à deslocalização eletrônica e à flexibilidade configuracional de sua cadeia molecular, apresentando alto potencial biológico. Através de uma reação de ciclização, é possível obter uma nova classe de moléculas tiazólicas com atividades antiparasitária, anti-inflamatória e antitumoral. Com isso, as ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), enzimas presentes em processos inflamatórios e associadas à leishmaniose, têm sido amplamente estudadas. A leishmaniose é causada por protozoários flagelados do gênero Leishmania spp., que já demonstram resistência a fármacos como a miltefosina. Desta forma, foram sintetizados quatro derivados tiossemicarbazônicos utilizados como intermediários para a síntese de 16 derivados tiazólicos com potencial leishmanicida, apresentando rendimentos de 40% a 60% após a purificação. A caracterização estrutural foi realizada por técnicas espectroscópicas como RMN (1H, 13C, COSY, HSQC, HMBC) e Infravermelho (IV), destacando-se a molécula LQIT/JF-76, que serviu de referência para as demais. Não foi possível determinar se os isômeros formados durante a síntese eram Z ou E, mas comprovou-se a presença de um confôrmero anti-periplanar em todos os intermediários tiossemicarbazônicos. Estudos teóricos consideraram ambos os isômeros para cálculos do calor de formação, permitindo predizer as estruturas mais estáveis entre as propostas No estudo de docking, todas as moléculas foram testadas frente aos modelos COX-1 e COX-2. O composto LQIT/JF-96 (Z) apresentou o melhor score (86,50) para COX-1, sugerindo uma possível seletividade, já que o valor para COX-2 foi menor (72,59). Estudos in vitro avaliaram a citotoxicidade e a atividade leishmanicida frente às formas promastigota e amastigota de Leishmania amazonensis, utilizando o ensaio de MTT em macrófagos RAW-264.7 com concentrações entre 6 e 200 µg/mL. O controle positivo foi feito com a miltefosina. Os compostos LQIT/JF-77 (CC50 = 605,31 µM; IC50 = 56 µM e 63,9 µM para promastigota e amastigota; IS = 10,81 e 9,47) e LQIT/JF-84 (CC50 = 574,05 µM; IC50 = 81,37 µM e 50,52 µM; IS = 7,05 e 11,36) destacaram-se como os mais promissores em comparação aos demais compostos e à miltefosina (CC50 = 56,67 µM; IC50 para amastigota = 219,05 µM; IS = 0,25). Os resultados obtidos demonstram o potencial leishmanicida dos novos derivados tiazólicos sintetizados, evidenciando sua relevância para o desenvolvimento de terapias contra a leishmaniose.

Palavras-chave: tiossemicarbazona; tiazol; quinolina; docking; COX-1; COX-2; *Leishmania amazonensis.*

ABSTRACT

Thiosemicarbazones exhibit great versatility as ligands due to electronic delocalization and configurational flexibility of their molecular chain, showing high biological potential. Through a cyclization reaction, it is possible to obtain a new class of thiazole molecules with antiparasitic, anti-inflammatory, and antitumor activities. In this context, cyclooxygenases 1 and 2 (COX-1 and COX-2), enzymes involved in inflammatory processes and associated with leishmaniasis, have been widely studied. Leishmaniasis is caused by flagellated protozoa of the genus *Leishmania* spp., which have already shown resistance to drugs such as miltefosine. Thus, four thiosemicarbazone derivatives were synthesized and used as intermediates for the synthesis of 16 thiazole derivatives with leishmanicidal potential, achieving yields ranging from 40% to 60% after purification. Structural characterization was performed using spectroscopic techniques such as NMR (^{1}H, ^{13}C, COSY, HSQC, HMBC) and Infrared (IR), highlighting the molecule LQIT/JF-76, which served as a reference for the others. It was not possible to determine whether the isomers formed during synthesis were *Z* or *E*, but the presence of an anti-periplanar conformer was confirmed in all thiosemicarbazone intermediates. Theoretical studies considered both isomers for heat of formation calculations, allowing the prediction of the most stable structures among the proposed ones. In the docking study, all molecules were tested against COX-1 and COX-2 models. The compound LQIT/JF-96 (*Z*) showed the best score (86.50) for COX-1, suggesting possible selectivity, as the score for COX-2 was lower (72.59). *In vitro* studies evaluated cytotoxicity and leishmanicidal activity against the promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonensis*, using the MTT assay in RAW-264.7 macrophages at concentrations ranging from 6 to 200 µg/mL. Miltefosine was used as a positive control. The compounds LQIT/JF-77 (CC_{50} = 605.31 µM; IC_{50} = 56 µM and 63.9 µM for promastigote and amastigote; IS = 10.81 and 9.47) and LQIT/JF-84 (CC_{50} = 574.05 µM; IC_{50} = 81.37 µM and 50.52 µM; IS = 7.05 and 11.36) stood out as the most promising compared to the other compounds and miltefosine (CC_{50} = 56.67 µM; IC_{50} for amastigote = 219.05 µM; IS = 0.25). The obtained results demonstrate the leishmanicidal potential of the newly synthesized thiazole derivatives, highlighting their relevance for the development of therapies against leishmaniasis.

Keywords: thiosemicarbazone; thiazole; quinoline; docking; COX-1; COX-2; *Leishmania amazonensis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 - Estrutura base de uma tiossemicarbazona 20

Figura 2 - Estrutura do tiazol 20

Figura 3 - Etapas envolvidas no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos (ADME – absorção, distribuição, metabolismo e excreção; NDA – solicitação para um novo fármaco, do inglês new drug application) 22

Figura 4 - Híbridos de quinolina-hidrazona sintetizados por Coa e colaboradores 33

Figura 5 - Ciclo de vida de protozoários do gênero Leishmania sp. Adaptado de (WHO, 2019) 38

Figura 6 - Intermediários tiossemicarbazônicos LQIT-JFs 47

Figura 7 - Estrutura da tiossemicarbazona nas conformações sin e anti-periplanar com destaque para a possibilidade da ligação de hidrogênio da porção tioamida com o nitrogênio da imina 48

Figura 8 - Região do espectro de RMN 1H evidenciando a ocorrência dos hidrogênios diastereotópicos nos intermediários tiossemicarbazônicos 50

Figura 9 - Espectro dos compostos LQIT-JF-73 (em verde) e o LQIT-JF-76 (vermelho) com linhas tracejadas mostrando os deslocamentos dos sinais da tiossemicarbazona com relação ao tiazol. As sinalizações indicam o deslocamento e surgimento de sinais 52

Figura 10 - Espectro de RMN 13C do LQIT-JF-73 (2) e LQIT-JF-76 (1) com sinalizações correspondentes dos picos com os carbonos 54

Figura 11 - Estrutura do composto LQIT-JF-76 54

Figura 12 - HSQC do LQIT-JF-76 55

Figura 13 - HMBC do composto LQIT-JF-76 56

Figura 14 - Espectro de IV do LQIT-JF-75 57

Figura 15 - Comparação entre as soluções de docking com a enzima COX-1 para o composto LQIT-JF-96 74

Figura 16 - Comparação entre as soluções de docking com a enzima COX-1 para o isômero *Z* dos compostos LQIT-JF-96 e LQIT-JF-78 75

Figura 17 - Comparação entre as soluções de docking com o isômero *Z* do composto LQIT-JF-96 frente as enzimas COX-1 e COX-2 76

ESQUEMAS

Esquema 1 - Formas tautoméricas tio e tiona para as tiossemicarbazonas 27

Esquema 2 - Métodos de obtenção de: a) tiossemicarbazida a partir de hidrazina e isotiocianatos substituídos, e b) tiossemicarbazonas a partir da tiossemicarbazida comercial, aldeídos ou cetonas 28

Esquema 3 - Rota sintética de derivados ciclizados da tiossemicarbazona 29

Esquema 4 - Método direto de obtenção de tiossemicarbazonas a partir de derivados carbonilados 30

Esquema 5 - Métodos de obtenção de tiossemicarbazidas a partir de reações da hidrazina com ditiocarbamatos, isotiocianatos e ácido tiocarbamoiltioglicólico 31

Esquema 6 - Metodologia para obtenção dos intermediários tiossemicarbazônicos e dos produtos finais tiazólicos 46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Configuração, conformação e energias de formação dos intermediários tiossemicarbazônicos 49

Tabela 2 - Características físico-química dos compostos intermediários e finais 59

Tabela 3 - Dados físico-químicos das moléculas finais 60

Tabela 4 - Sumário dos resultados de docking para os alvos COX-1 e COX-2 73

Tabela 5 - Resultados citotóxico e leishmanicida dos derivados tiazólicos 77

Tabela 6 - Moléculas com maior potencial leishmanicida frente as duas formas infectantes. 78

Tabela 7 - Estrutura dos compostos que apresentaram elevada citotoxicidade em macrófagos RAW-264.7 80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **19**

2. OBJETIVOS **22**

2.1 OBJETIVO GERAL 22

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 22

3. REVISÃO DA LITERATURA **23**

3.1 DESCOBERTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS 23

3.2 TIOSSEMICARBAZONAS 27

3.2.1 Obtenção direta de tiossemicarbazonas **29**

3.2.2 Obtenção indireta de tiossemicarbazonas **30**

3.3 HETEROCICLOS BIOLOGICAMENTE ATIVOS 31

3.3.1 Quinolinas **32**

3.3.2 Tiazol **33**

3.4 ISOFORMAS DA CICLOXIGENASE 33

3.5 LEISHMANIOSES 35

3.5.1 Ciclo de vida da Leishmania spp **36**

3.5.2 Manifestações clínicas das leishmanioses **38**

3.5.3 Leishmania (L.) amazonenses **39**

3.5.4 Diagnóstico e tratamento **39**

3.5.5 Miltefosina **41**

4. PARTE EXPERIMENTAL **42**

4.1 MATERIAIS E REAGENTES 42

4.2 EQUIPAMENTOS 42

4.3 METODOLOGIA 42

4.3.1 Etapas de síntese dos compostos tiossemicarbazônicos e tiazólicos **43**

4.3.1.1 Síntese dos intermediários tiossemicarbazônicos LQIT-JF 43

4.3.1.2 Síntese dos compostos finais tiazólicos LQIT-JF 44

4.4 MODELAGEM MOLECULAR 44

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA 45

4.5.1 Citotoxicidade **45**

4.5.2 Promastigotas **45**

4.5.3 Amastigotas de Leishmania sp **46**

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO **47**

5.1 DADOS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPOSTOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS E TIAZOLÍNICOS SINTETIZADOS 58

5.2 DADOS ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS DE IV E RMN ^{1}H E ^{13}C 61

5.3 ESTUDO DO DOCKING MOLECULAR 72

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA NA LEISHMANIA AMAZONENSIS 76

6. CONCLUSÕES 82

7. PERSPECTIVAS 84

REFERÊNCIAS 85

ANEXOS A - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-73.1H 96

ANEXOS B - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-73.13.C 97

ANEXOS C - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-74.1H 98

ANEXOS D - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-74.13C 99

ANEXOS E - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-75.1H 100

ANEXOS F - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-75.13C 101

ANEXOS G - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-P0126_39.1H 102

ANEXOS H - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-P0126_39.13C 103

ANEXOS I - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-77.1H 104

ANEXOS J - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-77.13C 105

ANEXOS K - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-78.1H 106

ANEXOS L - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-78.13C 107

ANEXOS M - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-79.1H 108

ANEXOS N - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-79.13C 109

ANEXOS O - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-80.1H 110

ANEXOS P - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-80.13C **111**

ANEXOS Q - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-81.1H **112**

ANEXOS R - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-81.13C **113**

ANEXOS S - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-82.1H **114**

ANEXOS T - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-82.13C **115**

ANEXOS U - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-83.1H **116**

ANEXOS V - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-83.13C **117**

ANEXOS W - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-84.1H **118**

ANEXOS X - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-84.13C **119**

ANEXOS Y - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-85.1H **120**

ANEXOS Z - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-85.13C **121**

ANEXOS AA - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-91.1H **122**

ANEXOS AB - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-91.13C **123**

ANEXOS AC - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-92.1H **124**

ANEXOS AD - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-93.1H **125**

ANEXOS AE - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-93.13C **126**

ANEXOS AF - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-96.1H **127**

ANEXOS AG - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-96.13C **128**

ANEXOS AH - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-97.1H **129**

ANEXOS AI - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-97.13C **130**

ANEXOS AJ - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-99.1H **131**

ANEXOS AK - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-99.13C **132**

ANEXOS AL - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-100.1H **133**

ANEXOS AM - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-100.13C **134**

ANEXOS AN - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-105.1H **135**

ANEXOS AO - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-106.1H **136**

ANEXOS AP - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO COSY DA MOLÉCULA LQIT/JF-81 ..... **137**

ANEXOS AQ - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HSQC DA MOLÉCULA LQIT/JF-81 ..... **138**

ANEXOS AR - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HMBC DA MOLÉCULA LQIT/JF-81 ..... **139**

ANEXOS AS - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO COSY DA MOLÉCULA LQIT/JF-99 ..... **140**

ANEXOS AT - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HSQC DA MOLÉCULA LQIT/JF-99 ..... **141**

ANEXOS AU - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HMBC DA MOLÉCULA LQIT/JF-99 ..... **142**

1. INTRODUÇÃO

Desde o início dos tempos, a humanidade busca por soluções medicamentosas para diversas enfermidades, contudo, contavam apenas com recursos naturais que tivessem tais propriedades terapêuticas. O desenvolvimento das tecnologias e das ciências proporcionou a síntese de moléculas, que passou a predominar como processo de obtenção de compostos terapêuticos para o combate de doenças. Tais fatos deram início a uma revolução no tratamento das doenças porquê a busca por novos medicamentos conta com ferramentas, como a modelagem molecular, o *docking* e os ensaios biológicos *in vitro*, cada vez mais atuais e inovadoras.

O grande desenvolvimento da modelagem molecular nos últimos anos deve-se em grande parte ao avanço dos recursos computacionais em termos de *hardware* (velocidade de cálculo) e de *software* (programas computacionais), além dos avanços em química computacional, ressonância magnética nuclear, cristalografia de raios-X, bioquímica e biologia molecular. Tais avanços contribuíram para a descoberta de candidatos a fármacos, conduzindo a rápidos progressos em pesquisas, despertando o interesse tanto do meio acadêmico como de indústrias farmacêuticas. Como consequência, a elucidação dos mecanismos envolvidos nas ações moleculares dos fármacos pode ser compreendida pela integração de conhecimentos fundamentais de Química Orgânica, Bioquímica, Biologia Molecular e Farmacologia. Os estudos de propriedades estéricas, eletrônicas e físico-químicas, de mecanismo de ação, das relações entre estrutura química e atividade biológica, do inglês *Strcuture Activity Relationship* (SAR) e das interações fármaco/ligante-receptor são aspectos que podem ser explorados através da modelagem molecular (Brown, 2009). Com base em todo este avanço tecnológico, novas entidades químicas que atuem em um ou múltiplos alvos biológicos podem ser descobertas em menos tempo, evitando que inúmeras moléculas sem eficácia terapêutica sejam avaliadas; gerando economia de recursos e investimentos na pesquisa.

As tiossemicarbazonas (TSZs, Figura 1) vem sendo bastante estudadas nos últimos anos em razão de sua vasta aplicação biológica no tratamento de patologias, bem como seu emprego para obter derivados sintéticos a partir do seu *scaffold* principal (NAVEEN et al., 2019).

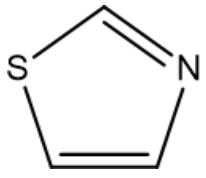
Figura 1 - Estrutura base de uma tiossemicarbazona

R1, R2, R3 e R4 = H, alquil ou aril.

O uso terapêutico relatado na literatura para as tiossemicarbazonas estão relacionados a atividades antibacterianas, antimalárica, antivirais e anti-inflamatórias (BECKFORD et al., 2011; KHANYE et al., 2010; RAWAL et al., 2007; NAVEEN et al., 2019), bem como a atividade antitumoral (HAVRYLIUK et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2015). Entre as razões estruturais que explicariam esse amplo perfil farmacológico destaca-se o fato desses compostos serem bons agentes quelantes, podendo coordenar-se a metais existentes nas estruturas de enzimas, inativando-as. Além disso, o enxofre presente nas tiossemicarbazonas pode se envolver em reações redox no interior do organismo (BERALDO, 2004).

Através de técnicas de modificações moleculares como a hibridação e o bioisosterismo, as tiossemicarbazonas podem ser transformadas em tiazóis (Figura 2), uma classe de compostos heterocíclicos com extensas atividades biológicas, incluindo antitumoral, antifúngica, antimalárica, anti-helmíntica e antiprotozoária (ALANAZI et al., 2015; GOMES et al., 2016; PONTES ESPÍNDOLA et al., 2015; SANTIAGO et al., 2014; TURAN-ZITOUNI et al., 2016). Vários derivados tiazólicos foram sintetizados em nosso grupo de pesquisa, Grupo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – GPIT/UFPE, e avaliados quanto a sua potencialidade anti-inflamatória *in vitro* frente as isoformas enzimáticas da ciclooxigenase 1 e 2 (COX 1 e 2) (OLIVEIRA et al., 2015). Essas evidências direcionaram este trabalho a investigar, especificamente, a eficiência dos derivados tiazólicos contra uma importante parasitose negligenciada: as leishmanioses.

Figura 2 - Estrutura do tiazol



Amplamente disseminadas nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, as leishmanioses representam um conglomerado de doenças parasitárias endêmicas em 98 países e territórios localizados nas Américas, África, Ásia e Europa. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica essas leishmanioses como doenças tropicais negligenciadas (DTN), e apontam-nas como algumas das principais causas de óbitos provocados por doenças infecciosas no mundo (WHO, 2017). Estima-se que anualmente 1,6 milhões de pessoas são infectadas pela doença e o número de óbitos varia entre 20.000 a 40.000 (ALVAR *et al*, 2012).

Por esta razão, os resultados obtidos, por esse grupo de pesquisa, motivou a busca por um grupo de moléculas que poderiam demonstrar tanto atividade anti-inflamatória, sugeridada pelo estudo *in sílico*, quanto a atividade leishmanicida avaliada por meio dos testes *in vitro* realizados.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar novos compostos tiazólicos, e avaliar *in silico* suas interações com as enzimas ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2);

Avaliar o potencial leishmanicida *in vitro* de novos derivados tiazólicos;

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Sintetizar derivados tiossemicarbazônicos (intermediários) e tiazólicos (finais) a partir de aldeídos e cetonas, respectivamente;
- ✓ Determinar as características físico-químicas dos compostos obtidos e caracterizá-los estruturalmente por meio de técnicas espectrométrica de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C e ^{1}H, e Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho médio;
- ✓ Realizar estudo *in silico* por meio do *docking* molecular, das moléculas sintetizadas, com as enzimas COX-1 e COX-2;
- ✓ Avaliar a citotoxicidade *in vitro* dos compostos tiazólicos em células de mamífero (macrófagos da linhagem RAW 264.7) por meio de ensaios com MTT;
- ✓ Avaliar o potencial leishmanicida dos novos compostos tiazólicos, contra a espécie *Leishmania amazonensis*, frente as formas infectantes promastigota e amastigota.

3. REVISÃO DA LITERATURA

As etapas para a descoberta e desenvolvimento de fármacos são complexas, longas e de alto custo, tendo suas matrizes intrinsicamente ligadas às inovações científicas e tecnológicas (GUIDO et al., 2008). As conquistas significativas nos campos da química e biologia e o melhor entendimento dos percursos bioquímicos, alvos moleculares e de mecanismos que direcionam ao aparecimento e desenvolvimento de doenças, tornaram possível a descoberta de inovações terapêuticas notáveis, proporcionando melhorias significativas na qualidade de vida das diversas populações no mundo.

A química medicinal, de notável papel no processo de Pesquisa & Desenvolvimento de fármacos, caracteriza-se por seu relevante caráter multidisciplinar, contemplando múltiplas especialidades, como química orgânica, bioquímica, farmacologia, informática, biologia molecular e estrutural, entre outras. De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, a famosa Iupac – International Union of Pure and Applied Chemistry), a química medicinal é uma disciplina com base em química, que se relaciona com a invenção, a descoberta, o planejamento, a identificação, a preparação e a interpretação do mecanismo de ação molecular de compostos biologicamente ativos. Além da descoberta de entidades químicas com valor biológico, a química medicinal também incorpora os estudos do metabolismo e das relações entre a estrutura química e atividade (WERMUTH, 2003, GUIDO, ANDRICOPULO e OLIVA, 2010). Assim, fica claro o estabelecimento de interfaces fundamentais entre as ciências químicas, biológicas, farmacêuticas, médicas, físicas e computacionais.

3.1 DESCOBERTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS

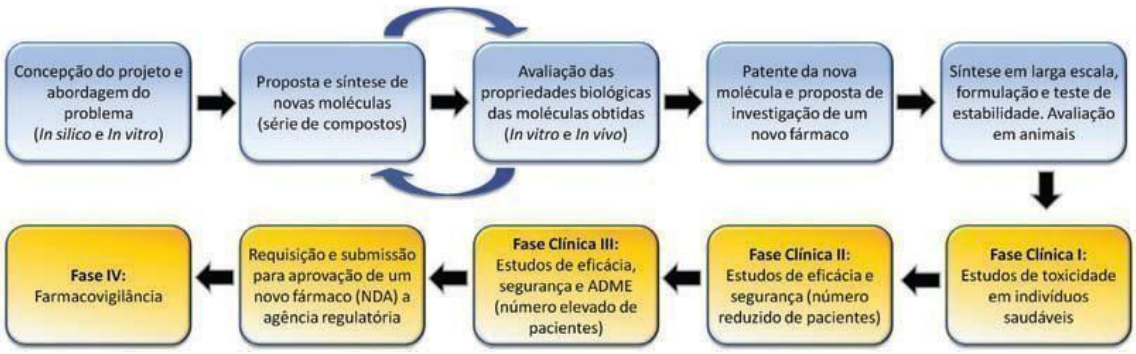
A Química Medicinal caracteriza-se por estudar as razões moleculares da ação dos fármacos, a relação entre a estrutura química e a atividade biológica/farmacológica, além do planejamento racional de novos fármacos. Em função dos múltiplos fatores envolvidos na resposta terapêutica de um fármaco, torna-se necessário a interdisciplinaridade fundamentada na química orgânica, farmacologia e química computacional (BARREIRO, 2002; BARREIRO e BALZANI ,2009).

Na aplicação de estratégias de planejamento de fármacos, os estudos dos processos evolutivos de reconhecimento molecular em sistemas biológicos assumem grande importância, pois constituem as bases fundamentais para o entendimento de propriedades como potência,

afinidade e seletividade. Diante desse complexo paradigma, as ferramentas biotecnológicas associadas aos métodos de química medicinal ganham papel destacado no desenvolvimento de novas moléculas com atividade biológica.

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos, conforme ilustrado na Figura 1, é dividido em duas grandes fases: (i) descoberta (também conhecida como pré-clínica ou pesquisa básica) e (ii) desenvolvimento (ou clínica) (LOMBARDINO & LOWE, 2004). Nos estágios iniciais da fase de descoberta, as pesquisas se concentram geralmente na identificação e otimização de moléculas pequenas capazes de representar novas entidades químicas (NCE, do inglês *New Chemical Entities*) com potencial de desenvolvimento clínico. A validação do alvo molecular selecionado é fundamental por uma série de razões que envolvem desde o estabelecimento de sua relevância no processo fisiopatológico em estudo até a caracterização do impacto de sua modulação seletiva no tratamento ou na cura de doenças ou disfunções em humanos.

Figura 3 - Etapas envolvidas no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos (ADME – absorção, distribuição, metabolismo e excreção; NDA – solicitação para um novo fármaco, do inglês new drug application).



O alvo biológico selecionado (por exemplo, proteína, DNA ou RNA) pode ter a sua estrutura tridimensional (3D) conhecida ou não, fato que determina a priorização de estratégias de planejamento (ANDRICOPULO et al., 2009).

Os grandes avanços da genômica e proteômica, aliados à evolução das técnicas de cristalografia de raios-X e ressonância magnética nuclear (RMN) proporcionam um aumento significativo no número de alvos moleculares com estruturas 3D disponíveis no Banco de Dados de Proteínas (PDB, do inglês Protein Data Bank).

As moléculas bioativas (ou ligantes, do inglês *hits*) podem ser identificadas a partir de triagens reais (por exemplo, biológicas, bioquímicas) ou virtuais (por exemplo, computacionais) de produtos naturais, compostos sintéticos ou coleções combinatórias, ou ainda mediante planejamento racional. Ressalta-se, contudo, que, em todos os casos, as propriedades biológicas devem ser determinadas experimentalmente, sendo necessário o desenvolvimento de ensaios padronizados e validados de alta qualidade. Em geral, nas fases iniciais de planejamento, são identificadas moléculas de baixa potência e afinidade que devem ser otimizadas em relação a uma série de propriedades farmacodinâmicas (por exemplo, potência, afinidade, seletividade) e farmacocinéticas (por exemplo, absorção, metabolismo, biodisponibilidade). Os compostos otimizados são selecionados como compostos líderes (do inglês *lead compounds*) para posterior desenvolvimento de NCE candidatas a fármacos (GUIDO & ANDRICOPULO, 2008).

Com o auxílio de métodos de química medicinal, é possível explorar o imenso espaço químico delineando o trabalho de identificação, seleção e otimização de moléculas capazes de interagir com alta afinidade e seletividade com o alvo molecular selecionado (por exemplo, enzima, receptor), o qual representa o espaço biológico. Várias estratégias podem ser empregadas para a investigação do espaço químico-biológico, tais como: a organização de bases de dados, a aplicação de filtros moleculares, o emprego de triagens biológicas automatizadas em alta escala (HTS, do inglês *high-throughput screening*) e o uso da triagem virtual (VS, do inglês *virtual screening*).

A identificação de compostos bioativos, que possam ser estruturalmente modificadas para adequação de propriedades que conduzam a um elevado potencial terapêutico, é um dos maiores desafios no planejamento racional de novos candidatos a fármacos. Geralmente, o alvo terapêutico é representado por uma enzima ou receptor e o planejamento do novo ligante é realizado introduzindo-se modificações moleculares clássicas no substrato natural e/ou sintético, já conhecido para este receptor (BARREIRO e BALZANI, 2009).

As estratégias clássicas de modificação molecular para o planejamento de ligantes são: bioisosterismo, hibridação molecular, simplificação molecular, química computacional e combinatória (QSAR e modelagem molecular) (SILVA, 2014). Entre as estratégias mais utilizadas encontra-se a hibridação molecular. Essa técnica é baseada no reconhecimento das subunidades farmacofóricas da estrutura química de dois ou mais compostos bioativos conhecidos e que através da fusão dessas subunidades forma-se uma nova entidade química híbrida (NCE, do inglês *new chemical entity*). O composto derivado resultante apresenta o

esqueleto molecular que mantém as características das moléculas originais (SAMALA et al., 2014).

Outras estratégias fundamentadas no conhecimento das estruturas dos alvos moleculares ou dos complexos ligante-receptor permitem o planejamento de fármacos baseado na estrutura do receptor (SBDD, do inglês *structure-based drug design*). Em contraste, quando a estrutura do alvo eleito não é conhecida, métodos de planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante (LBDD, do inglês *ligand-based drug design*) podem ser utilizados. Em muitos casos, o uso integrado de estratégias de SBDD e LBDD pode fornecer informações úteis no planejamento de NCE, por meio da sinergia e complementaridade de conhecimentos entre as estratégias (GUIDO et al., 2008; ANDRICOPULO et al., 2009).

Uma nova abordagem no planejamento de fármacos baseia-se em múltiplos alvos terapêuticos (MTDD, do inglês *multi-target drug design*) e parece ser promissora devido a crescente evidência que doenças complexas multifatorias como as neurológicas, infecciosas e o câncer serem consideradas poligênicas e englobarem várias proteínas sinalizadoras. O desenvolvimento de MTDD baseia-se em duas estratégias: a combinação de farmacóforos de ligantes alvo-único e o *screening* de compostos através da aplicação simultânea de múltiplos modelos computacionais para identificar moléculas bioativas com diferentes atividades biológicas (BOTTEGONI et al., 2012; LAVECCHIA e CARMEN, 2016).

As principais vantagens do MTDD consistem em atenuar os problemas farmacocinéticos, reduzir as interações entre fármacos e amenizar a resistência farmacológica. Diversos trabalhos mostraram que a estratégia MTDD geralmente exibe um maior sinergismo, em comparação com a associação de vários fármacos (LECOUTEY et al., 2014; SHANG et al., 2014).

Embora o MTDD seja potencialmente reconhecido na perspectiva da química medicinal, ainda representa um grande desafio para o planejamento de novos fármacos. Isto se deve aos problemas relacionados com a identificação e otimização de uma série de compostos destinados a múltiplos alvos ainda continuarem insolucionáveis (PRATI, ULIASSI e BOLOGNESI, 2014).

A modelagem molecular (MM), segundo a IUPAC, é a investigação das estruturas e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica visando fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias (CARVALHO et al., 2004). Ela compreende um número de ferramentas e métodos computacionais e teóricos que tem como objetivo entender e prever o

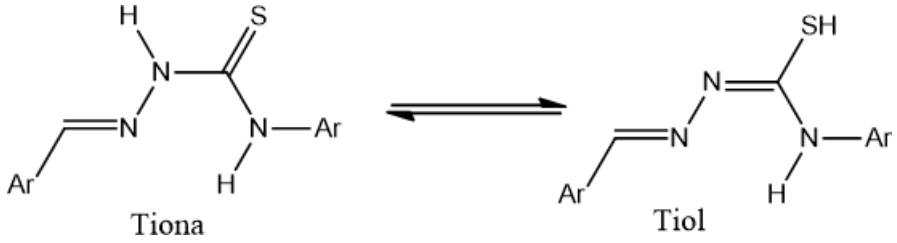
comportamento de sistemas reais, sendo usada para descrever e prever estruturas moleculares, propriedades do estado de transição e equilíbrio de reações, propriedades termodinâmicas, entre outras. Esses métodos abrangem estudos de minimização de energia de moléculas, análise conformacional, simulações de dinâmica molecular, entre outros, sendo aplicáveis desde átomos isolados a biomacromoléculas (KITCHEN et al., 2004; VERLI & BARREIRO, 2005). A modelagem molecular fornece informações importantes para o processo de planejamento de fármacos, pois permite a obtenção de propriedades específicas de um composto que podem influenciar na interação com seu receptor, como por exemplo, o logP, a refratividade molar, o mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica e as energias dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO. Assim, ela tem se tornado uma ferramenta indispensável não somente no processo de planejamento, mas também na otimização de protótipos já existentes (BARREIRO et al., 1997).

3.2 TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas (Figura 2) são compostos orgânicos nitrogenados pertencentes à família das iminas, também denominadas bases de Schiff. Apresentam vários átomos doadores de elétrons e diferentes modos de coordenação, dependendo dos reagentes de partida e das condições de reação para sua obtenção (SILVA, 2013; LOBANA et al., 2009).

Esses compostos nitrogenados têm alta deslocalização eletrônica, principalmente quando possuem grupos aromáticos ligados ao carbono da imina. Dessa forma, podem existir em equilíbrio tautomérico nas formas tiol ou tiona (Esquema 1) (CASAS et al., 2000). Em virtude do aumento nucleofílico do enxofre tiólico sendo comparado com a tiona, a forma tiol explica a versatilidade de serem 1,3-dinucleófilos, os quais podem realizar reações de adição sendo caracterizados como doadores de Michael.

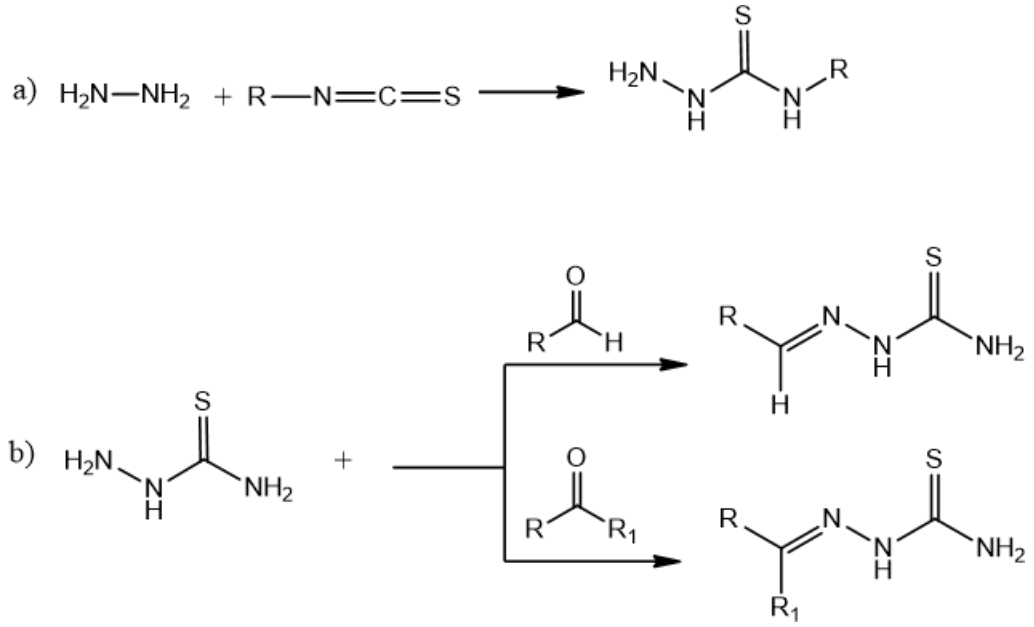
Esquema 1 - Formas tautoméricas tio e tiona para as tiossemicarbazonas



As tiossemicarbazonas podem ser obtidas através de dois métodos: o primeiro de forma direta, a partir de reações quimiosseletivas entre tiossemicarbazidas e aldeídos ou

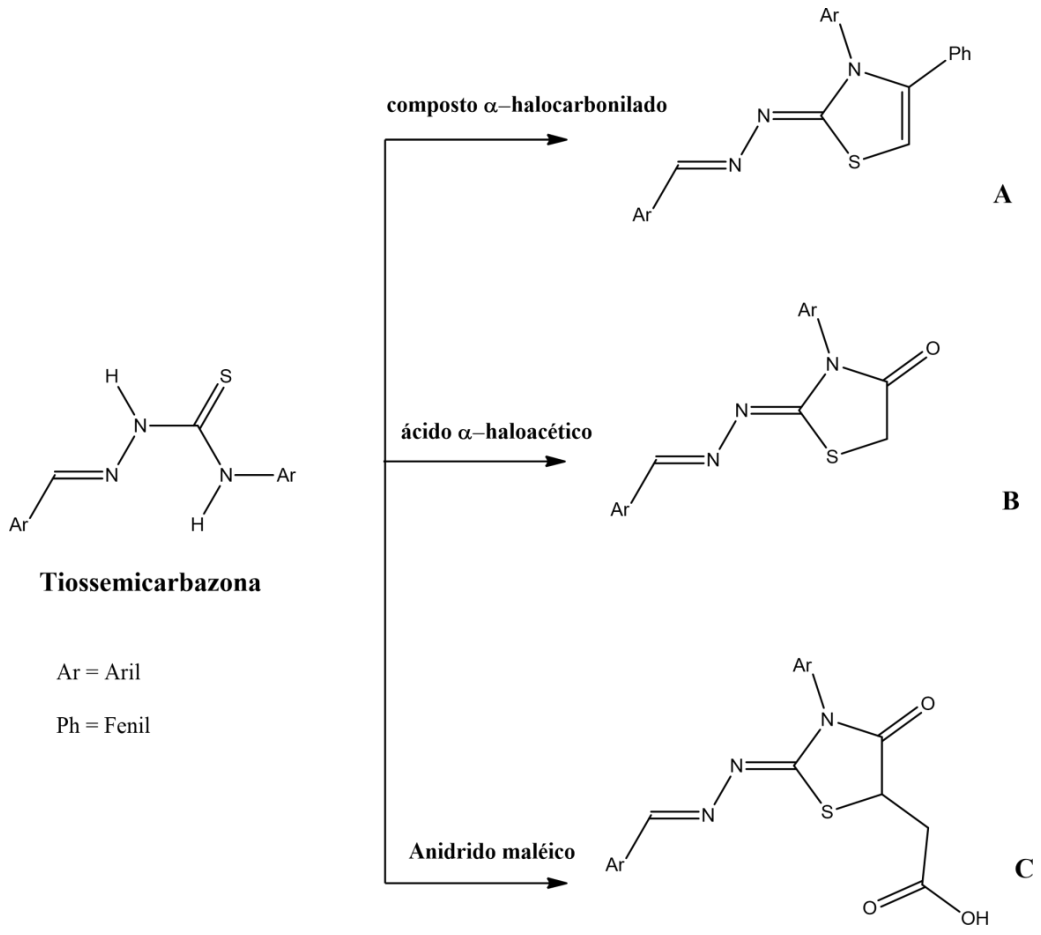
cetonas (SARODINICK et al., 2003; HOLLA et al., 2003); o segundo de forma indireta, onde as tiossemicarbazidas são previamente preparadas a partir de reações da hidrazina, isotiocianatos (PAPASTAIKOUDI et al., 1995; GÜRSOY, TERZIOGLU e ÖTUK, 1997), ditiocarbamatos (ASHTON et al., 1993), ácidos tiocarbamiltioglicólicos ou dissulfeto de carbono, este último em presença de azidas ou aminas primárias (TENÓRIO et al., 2005).

Esquema 2 - Métodos de obtenção de: a) tiossemicarbazida a partir de hidrazina e isotiocianatos substituídos, e b) tiossemicarbazonas a partir da tiossemicarbazida comercial, aldeídos ou cetonas.



Além disso, as tiossemicarbazonas podem servir de *scaffold* para a ciclização de uma ampla variedade de heterocíclicos (Esquema 3), particularmente a síntese de tiazóis (A), 4-tiazolidinonas (B) e derivados tiazolidinônicos substituídos na posição 5 por um grupo acetil (C), envolvendo ácido α-haloacético, compostos α-halocarbonilados e anidrido maleico, respectivamente (DAWOOD et al., 2015).

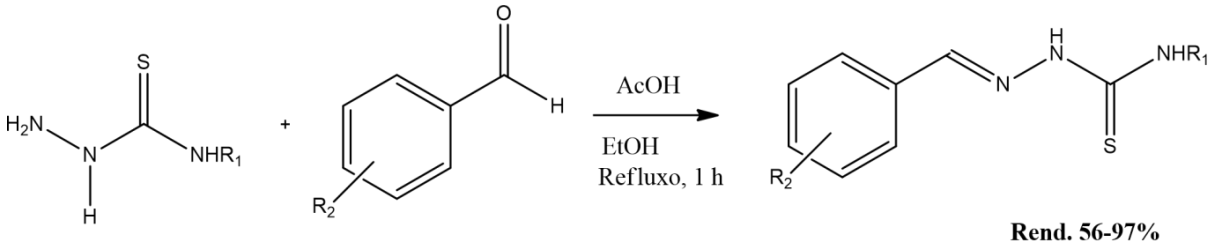
Esquema 3 - Rota sintética de derivados ciclizados da tiossemicarbazona.



3.2.1 Obtenção direta de tiossemicarbazonas

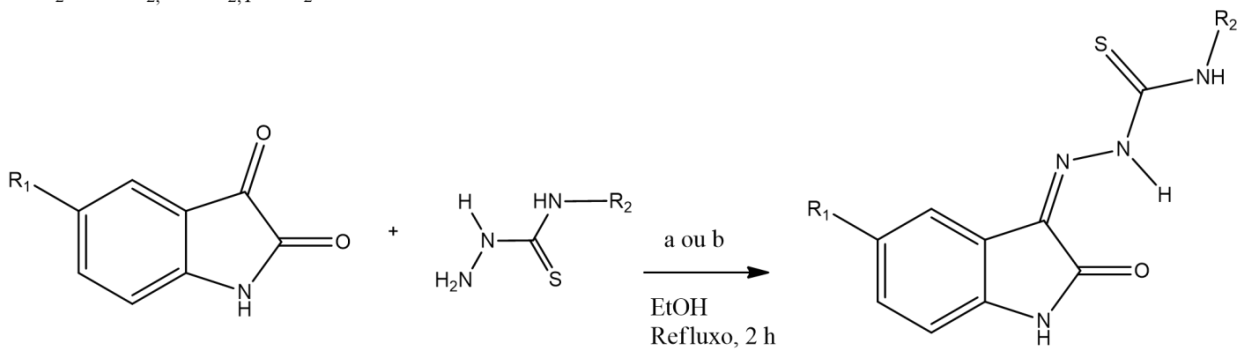
A obtenção direta das tiossemicarbazonas consiste em quantidades equimolares das tiossemicarbazidas com os derivados carbonilados (aldeídos ou cetonas) (Esquema 4). As condições reacionais requerem refluxo do solvente (metanol, etanol, THF e acetonitrila) e a adição de catalisador ácido (ácido de Brönsted) pode ser necessária quando o composto carbonílico está ligado a um grupo retirador de elétrons. Geralmente, esta metodologia sintética é simples, rápida e apresenta altos rendimentos (CUNHA, SANTOS e SILVA, 2011; KARAH, 2002; ALI, et al., 2014; TENÓRIO et al., 2005).

Esquema 4 - Método direto de obtenção de tiossemicarbazonas a partir de derivados carbonilados.



R_1 = H, CH_3, CH_2CH_3, C_6H_5

R_2 = *o*-NO_2, *m*-NO_2, *p*-NO_2



Isatina

a = solução contendo H_2SO_4 **(a) Rend. 97-99%**

b = solução neutra **(b) Rend. 77-94%**

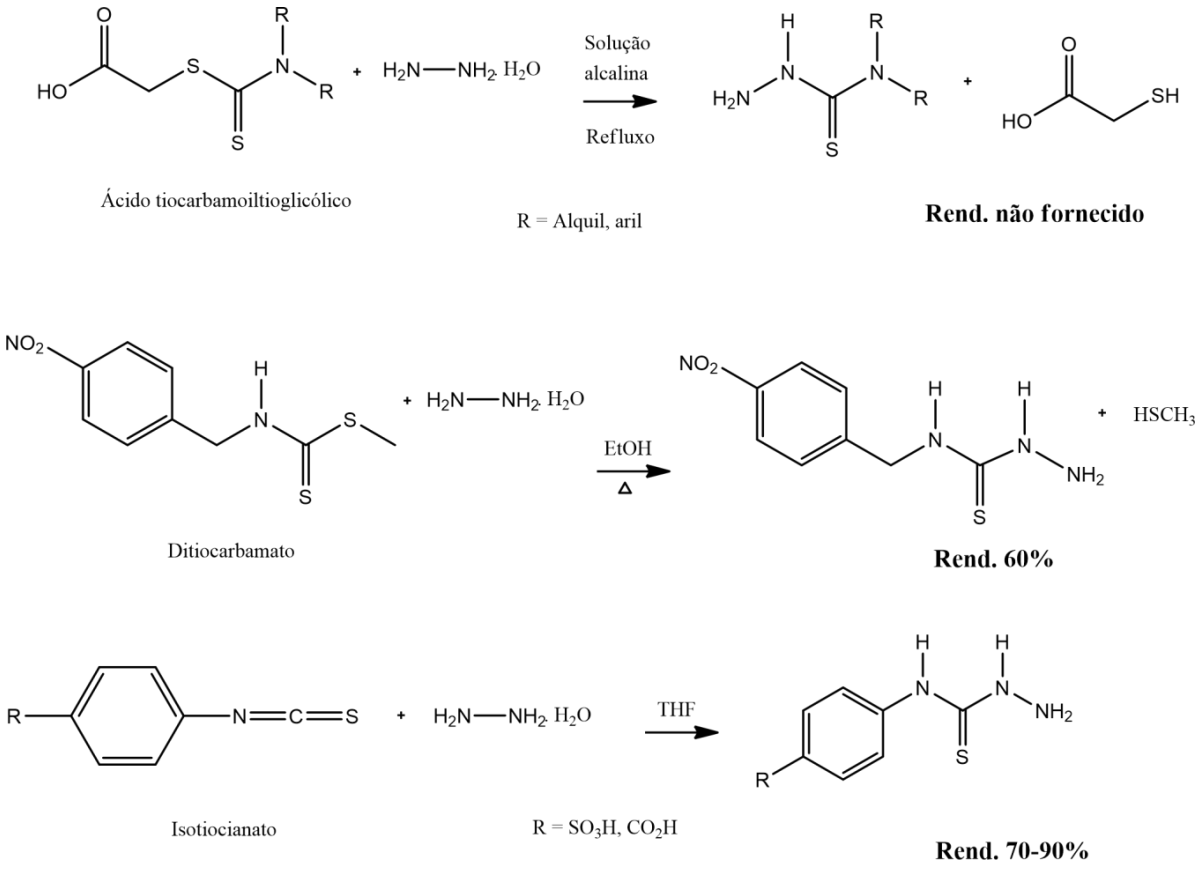
R_1 = H, CH_3, NO_2, F, Cl, I, Br

R_2 = Ph, CH_3, CH_2CH_3

3.2.2 Obtenção indireta de tiossemicarbazonas

A forma indireta de obtenção de tiossemicarbazonas consiste na preparação prévia de tiossemicarbazidas e reação posterior com compostos carbonilados. São três metodologias sintéticas utilizadas para obtenção das tiossemicarbazidas (Esquema 5): o hidrato de hidrazina pode sofrer reações com ácido tiocarbamoiltioglicólico em meio alcalino, bem como com ditiocarbamatos e isotiocianatos em meio etanólico, com rendimentos entre 60-90% (AQUINO, 2007; TENÓRIO et al., 2005).

Esquema 5 - Métodos de obtenção de tiossemicarbazidas a partir de reações da hidrazina com ditiocarbamatos, isotiocianatos e ácido tiocarbamoiltioglicólico.



As tiossemicarbazonas apresentam uma boa versatilidade como ligantes devido a deslocalização eletrônica e flexibilidade configuracional da cadeia molecular desses compostos nitrogenados, de modo a apresentar alto potencial biológico (PRABHAKARAN et al., 2013; MATESANZ, LEITÃO e SOUZA, 2013). Além de relatos na literatura revelarem que a substituição no nitrogênio terminal (*N*-4) das tiossemicarbazonas aumenta a possibilidade da obtenção desses derivados (BERNHARDT et al., 2009) e que as propriedades biológicas dependem principalmente dos diferentes grupos nesta posição. Fato que conduz cada vez mais a tiossemicarbazonas substituídas planejadas com satisfatórias atividades biológicas (OUYANG et al., 2016).

3.3 HETEROCICLOS BIOLOGICAMENTE ATIVOS

O foco deste trabalho estará voltado a três grupos de compostos heterociclos: as quinolinas, os indóis e os tiazóis. Pesquisadores vem demonstrado uma gama de atividades biológicas atribuídas a estes grupos, sendo elas: antifúngica, anticonvulsivante, antimalárica,

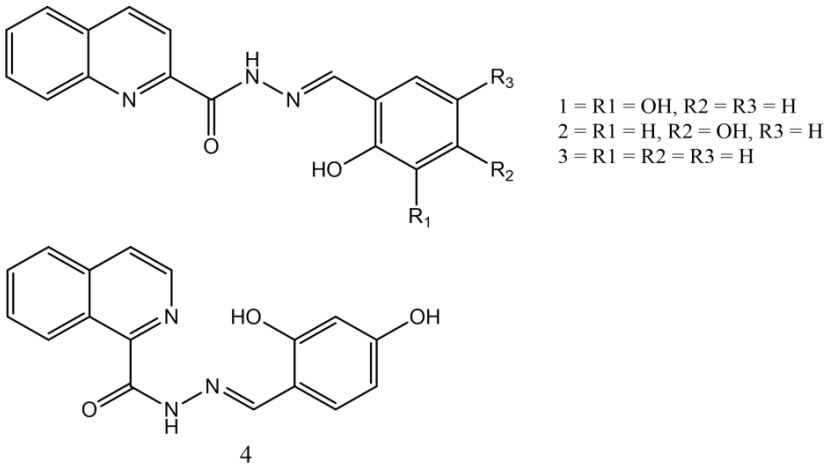
antibacteriana, analgésica, antituberculose (MARELLA, et al., 2013), anti-inflamatória anticâncer, antinocicepitiva, antimicrobiana e antiviral (LIU, et al. 2012). A importância destes três heterociclos está relacionada com os compostos sintetizados neste estudo que, por meio da estratégia de hibridação molecular, apresentam a combinação de dois dos núcleos citados para a obtenção dos derivados tiazólicos.

3.3.1 Quinolinas

A quinolina (Figura 4), ou 1-aza-naftaleno, é um heterociclo aromático que possui um átomo de nitrogênio em sua estrutura, classificada como uma base terciária fraca, pode formar sal na presença de ácidos e sofre reações semelhantes à piridina e benzeno, podendo reagir por substituição nucleofílica ou eletrofílica. Vários compostos de origem natural e substâncias ativas, farmacologicamete, possuem o núcleo quinolínico o qual dispõe de um amplo espectro de atividades biológicas como antimalárica, antibacteriana, antifúngica, anticonvulsivante, anti-inflamatória e analgésica (MARELLA et al., 2013).

Em trabalho apresentado por Coa e colaboradores 2015, dez derivados híbridos de quinolina-hidrazona foram sintetizados e demonstraram potencial leishmanicida e tripanocida (Figura 4). As moléculas sintetizadas foram avaliadas frente a forma infectante amastigota do *L. (V) panamensis,* espécie de Leishmania comum na Colômbia, e *Trypanosoma cruzi* parasito bastante patogênico para humanos. Os compostos 1, 2 e 3 (Figura 4) possuem atividade frente a *L.(V) panamensis* com EC_{50} na faixa de 2,6 – 21,2 mM, enquanto que os compostos 1 e 4 (Figura 4) mostraram melhor atividade contra o *T. cruzi* que o fármaco de referência utilizado (benznidazol), com EC_{50} de 40,3 mM. Estes resultados indicam que estas moléculas, com potencial leishmanicida e tripanocida, podem ser empregadas para o desenvolvimento de novos fármacos biologicamente ativos.

Figura 4 - Híbridos de quinolina-hidrazona sintetizados por Coa e colaboradores.



4

3.3.2 Tiazol

Uma estrutura bastante importante na química dos heterociclos é o núcleo 1,3-tiazol, utilizado, muitas vezes, na estratégia de hibridação molecular com a finalidade de obter novas entidades químicas. O *scaffold* desta classe é encontrado em muitos compostos sintéticos e de origem natural com atividades biológicas diversas, tais como anticâncer, antibacteriana, antidepressiva, anti-inflamatória, herbicida dentre outras FUNAKOSHI et al., 2002; LABER et al., 1999).

O tiazol é um versátil bloco de construção que, permite fácil acesso a diversos derivados. Assim, nos últimos anos, o interesse na síntese de novos derivados de tiazol, com a finalidade de investigação em atividades biológicas, tem crescido consideravelmente (VICINI et al., 2003; HARMET et al., 2004).

3.4 ISOFORMAS DA CICLOXIGENASE

O termo cicloxigenase descreve a enzima que catalisa a complexa formação de peróxidos bicíclicos como produtos iniciais da oxigenação de ácidos graxos poli-insaturados, baseado no mecanismo de biossíntese de prostaglandinas proposto em 1967 por Hamberg e Samuelson, confirmado em estudos posteriores pelos mesmos autores (MARNETT, *et al*, 1999).

Até 1991, apenas uma COX havia sido descrita, a isoenzima hoje chamada COX-1 ou enzima constitutiva. Nessa época pesquisas realizadas por Simmons, Herschman e

colaboradores, utilizando a indução da expressão de um RNA mensageiro, revelaram que esse codificava proteínas tendo uma cadeia de aminoácidos com 60% de identidade com a COX-1. Em trabalho subsequente, foi demonstrado que esta nova proteína, chamada COX-2 ou isoforma induzível, é muito similar a COX-1 quanto a estrutura, mas difere substancialmente no que diz respeito a sua expressão e biologia. A razão para existência de isoformas da COX ainda é desconhecida. Entretanto sabe-se que a COX-1 e a COX-2 são frequentemente co-expressadas na mesma célula e podem atuar como partes separadas de sistemas biossintéticos que funcionam, de alguma forma, independentemente (SMITH *et al.*, 1996). Ambas isoformas são proteínas glicosiladas, homodiméricas, com grupamento heme e com dois sítios catalíticos.

Do ponto de vista genético há muitas diferenças entre as isoformas, a começar pelo fato dos genes que as expressam estarem alocados em cromossomos diferentes. A COX-1 encontra-se no cromossomo 9 e a COX-2 no cromossomo 1. A COX-1 contém 11 exons em 22 Kb, enquanto a COX-2 tem 10 exons em 8,3 Kb. O tamanho relativamente pequeno do genoma da COX-2 encaixa-se como uma característica dos genes de expressão imediata, ou de urgência (LEVAL *et al*., 2000).

As COX-1 e COX-2 são 63% idênticas e 77% similares a nível de aminoácidos. As maiores diferenças na estrutura primária estão nas regiões N-terminal e C-terminal. As estruturas terciárias e quaternárias são visualmente idênticas. O domínio catalítico é altamente conservado, com os resíduos envolvidos na catálise ou ligação com grupo heme; Arg-120, His-206, Tyr-385, His-386 e His-388 todos preservados. Uma diferença estrutural é encontrada na posição 523 do sítio ativo destas enzimas, onde tem-se uma isoleucina na COX-1 e uma valina na COX-2 (PICOT *et al.* 1994 *Apud:* GIERSE *et al.*, 1996). O menor tamanho da valina cria um substancial crescimento na acessibilidade do sítio catalítico permitindo acesso a um bolso lateral no sítio catalítico, conhecido como *side-pocket*. O acesso ao *side-pocket* não é permitido estericamente pela cadeia lateral da isoleucina na COX-1 (VANE *et al.*, 1998).

O mecanismo através do qual as duas isoformas promovem a catálise do ácido araquidônico é praticamente o mesmo, promovem a reação de cicloxigenação (*bis*-oxigenação) que converte o ácido araquidônico em PGG_2, e a peroxidação que reduz a PGG_2 em PGH_2. O sítio ativo é um canal ladeado por resíduos hidrofóbicos e inserido no maior domínio globular da enzima (SMITH *et al.*, 1996).

Contudo, mais tarde constataram que a COX existe em três isoformas distintas, a COX- 1, COX-2 e a COX-3. A principal diferença na estrutura primária destas isoformas é a presença de 17 aminoácidos na porção amino-terminal da COX-1, enquanto a COX-2 apresenta 18 aminoácidos na porção carboxi-terminal. A COX-3 é uma variação do gene da COX-1 e ainda não há muitos estudos sobre ela. Embora sejam muito semelhantes na sua estrutura protéica, essas enzimas são codificadas por genes diferentes (ZHANG, 2009).

A COX-1 é expressa de forma constitutiva, e está presente em órgãos como o estômago e rim, tendo por função garantir a gastroproteção, o controle do fluxo sanguíneo renal, homeostasia dentre outras funções (HILÁRIO et al., 2006).

A COX-2 é a forma induzível que está associada a processos patológicos como inflamação e o câncer, embora também seja expressa de maneira constitutiva em alguns tecidos, como na mácula densa e em células intersticiais da medula renal (KUMMER et al., 2002; REIS et al., 2011, KOWALSKI & STEVENSON, 2013). Já a COX-3 está presente no sistema nervoso central e na aorta.

Estudos demonstram que as diferentes isoformas da ciclooxigenase (COX) diferem em sua expressão, localização tecidual, e indução durante inflamação. A COX-1 é expressa constitutivamente sob condições basais na maioria das células, principalmente em células endoteliais vasculares, plaquetas, túbulos coletores do rim, estômago e músculo liso. A expressão tecidual da COX-1 é consistente com suas funções fisiológicas, visto que, participa da biossíntese de várias prostaglandinas responsáveis pela regulação homeostática na maioria dos sistemas do organismo humano. Sua ativação conduz, a produção de prostaciclina pelas células endoteliais vasculares, que atua como potente inibidor da agregação plaquetária; e quando associada a prostaglandinas da série E, inibem a secreção de ácido gástricos, exibindo então sua ação citoprotetora (WILLOUGHBY, MOORE e COLVILLE-NASH, 2000; VANE e CORIN, 2003).

Adicionalmente, os níveis de COX-2 são reduzidos ou praticamente indetectáveis nos tecidos normais em mamíferos, porém mostram-se elevados nos estados inflamatórios clínicos. A ativação da COX-2 ocorre por meio de diferentes estímulos inflamatórios e citocinas em células migratórias do sistema imunológico (MILLER, 2006).

A ciclooxigenase-2 (COX-2) é considerada uma potente proteína alvo no tratamento da inflamação, e isto se deve a sua superexpressão nos processos inflamatórios (BHAT et al., 2014; BUSKENS et al., 2003).

3.5 LEISHMANIOSES

As leishmanioses são doenças causadas por muitas espécies de protozoários flagelados do gênero *Leishmania spp*. sendo transmitidas a diversas espécies de mamíferos por advento da picada de vetores dípteros oriundos da família Psychodidae. Estas doenças mostram várias manifestações clínicas, desde úlceras localizadas (tegumentar) até lesões nas mucosas ou órgãos internos (visceral) (WHO, 2019). Ambas as formas clínicas são determinadas tanto pela espécie de Leishmania quanto por características do hospedeiro associados à resposta imune (BEVERLEY, 2003). Ademais, a distribuição e gravidade dos sintomas variam geograficamente em resposta às características locais do ciclo de transmissão, tais como, variações ambientais (clima), existência da circulação de outras espécies do parasito na mesma região, mudanças na distribuição de espécies de reservatórios e vetores, migrações humanas, transmissão de outros agentes infecciosos e presença de doenças subjacentes (SVS, 2010).

3.5.1 Ciclo de vida da *Leishmania spp*

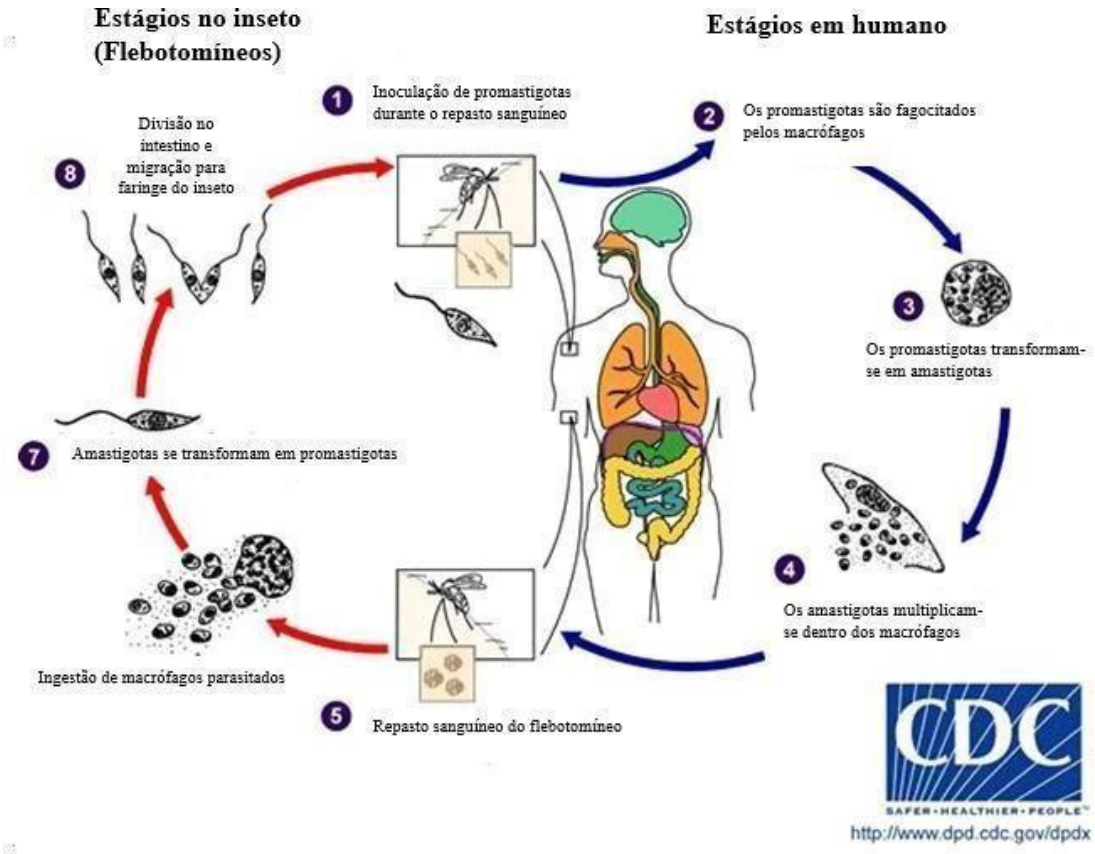
As leishmanioses são principalmente zoonoses de animais silvestres como marsupiais, roedores, desdentados, carnívoros ou primatas, excetuando a transmissão antroponótica (humano – vetor – humano), de várias espécies de *Leishmania* em locais da Ásia e África (READY, 2014; REITHINGER et al., 2010). Animais domésticos podem ser contaminados em menor frequência e os humanos são considerados hospedeiros acidentais e pouco relevantes na manutenção natural dos parasitas (COSTA et al., 2000; QUINNELL AND COURTENAY, 2009; ROQUE et al., 2014; SVOBODOVA et al., 2003).

O parasita em sua forma amastigota (sem flagelo), nos animais vertebrados, localiza-se no interior das células do sistema fagocítico nuclear, majoritariamente nos macrófagos, e depende de um díptero vetor para ser transmitido a outro hospedeiro susceptível. Mais do que 50 espécies de dípteros da família Psychodidae (gênero *Phlebotomus* na Europa, Ásia e África e *Lutzomyia* nas Américas) são apontadas como vetores do parasita (MYLER AND FASEL, 2008). Quando um vetor faz o repasto sanguíneo em um reservatório infectado, as células infectadas lisam liberando as formas amastigotas no tubo digestivo do inseto. Os parasitos amastigotas modificam-se para a forma flagelada (promastigotas procíclicos) com potencial de replicação e adesão ao intestino do vetor (Figura 5). Por vários anos, creditou-se à clonagem a replicação dos promastigotas; contudo existem evidências experimentais que algumas espécies de *Leishmania*, durante seu desenvolvimento no vetor,

realizam intercâmbio genético compatível com um ciclo sexual (AKOPYANTS et al., 2009). Essa forma infectante passa por transformações bioquímicas, genéticas e fisiológicas as quais impedem a proliferação e alteram moléculas da membrana celular, por exemplo, a expressão de lipofosfoglicano (LPG), processo conhecido por metaciclogênese. Os promastigotas metacíclicos viajam do epitélio do intestino médio até a faringe e cavidade bucal do vetor, região onde serão transmitidos ao hospedeiro vertebrado durante o repasto sanguíneo (ANTINORI et al., 2012; BANULS et al., 2007; BEVERLEY, 2003; JHINGRAN et al., 2008) (Figura 5). Após a picada do vetor infectado, os promastigotas metacíclicos adentram na pele dos vertebrados (macrófagos e células de Langerhans), nas células do sistema fagocítico-mononuclear residentes, e em neutrófilos, utilizando principalmente os mecanismos da fagocitose mediada por receptores (de fatores de complemento CR1 e CR3, Fcγ (FcγRII-B2), manose e fibronectina, entre outros) (MARTINEZ & PETERSEN, 2014).

Os promastigotas internalizados, nos macrófagos, localizam-se no fagolisossomo ou vacúolo parasitóforo, vesícula oriunda da fusão do fagossomo e lisossomos (AMER & SWANSON, 2002; VRAY, 2002), onde perdem o flagelo (forma amastigota) e replicam-se até lisarem o macrófago e invadir novas células vulneráveis (macrófagos, células dendríticas, entre outras) (Figura 5). Na etapa seguinte, os amastigotas, localizados dentro das células dendríticas e outras células apresentadoras de antígeno, são levados aos linfonodos de drenagem mais próximos do local da infecção, onde seguem com os ciclos de replicação e reinfecção, favorecendo a disseminação do parasita e o desenvolvimento de uma resposta imune adaptativa dependente de linfócitos B e T (GOLLOB et al., 2014).

Figura 5 - Ciclo de vida de protozoários do gênero Leishmania sp. Adaptado de (WHO, 2019).



3.5.2 Manifestações clínicas das leishmanioses

Leishmaniose cutânea (LC) é uma forma clínica mais comum com sintomas que se manifestam entre dois a três meses após a picada do inseto, entretanto esse tempo pode variar entre duas semanas e dois anos (SVS, 2010). As lesões da LC, no geral, são ulcerativas ou nodulares limitando-se às áreas expostas do corpo perto do local de entrada do parasita e, em boa parte dos casos, curam-se espontaneamente. Já a leishmaniose cutânea difusa (LCD), apresentam lesões nodulares, de tamanho variável, e localizam-se em lugares distantes do local de entrada (REITHINGER et al., 2007; SVS, 2010). Fortuitamente, a doença cutânea evolui e atinge as mucosas, gerando a leishmaniose muco-cutânea (LMC); essas complicações crônicas podem vir à tona meses ou anos após as primeiras feridas terem sido curadas. A origem da LMC não está elucidada, mas sabe-se que a doença destrói os tecidos de nariz, boca, oro e nasofaringe e pálpebras, exibindo complicações frequentes atribuídas as infecções secundárias e a desnutrição; além disso, as lesões são de difícil tratamento (GOTO & LAULETTA LINDOSO, 2012; MCGWIRE & SATOSKAR, 2013). No entanto, algumas

espécies do parasita possuem tropismo por baço e fígado, ocasionando a leishmaniose visceral (LV), manifestação clínica mais severa a qual pode chegar a ser letal caso não seja tratada corretamente. Principalmente em algumas regiões da África e Ásia, os pacientes acometidos com a LV e diagnosticado, previamente, podem apresentar manifestações na derme caracterizadas por máculas, pápulas ou nódulos infiltrados (post-kala-azar ou LPK), avaliada como uma sequela do tratamento das manifestações viscerais (WHO, 2012).

Espécies como a *L. (L.) major* e *L. (L.) tropica*, na Ásia, África e Europa, e *L. (V.) braziliensis, L. (L.) amazonensis, L. (V.) guyanensis, L. (L.) mexicana* e *L. (V.) panamensis*, nas Américas, provocam leishmaniose tegumentar (LC, LCD, LMC) e uma grande diversidade de espécies estão presentes na região amazônica (GOTO & LAULETTA LINDOSO, 2012). Imputa-se à *L. (V.) braziliensis* o maior número de casos registrados de LC nas Américas (OPS, 2014). Essa espécie está relacionada também com o desenvolvimento de LMC, enquanto o principal agente etiológico da LCD é *L. (L.) amazonensis.* Por outro lado, *L. donovani* e *L. chagasi* são as espécies relacionadas mais frequentemente com a ocorrência de LV (WHO, 2019).

3.5.3 *Leishmania (L.) amazonenses*

A *Leishmania (L.) amazonensis*, faz parte do subgênero *Leishmania*, complexo *Leishmania mexicana*, e é uma espécie endêmica em vários países da América, provocando uma vasta diversidade de manifestações clínicas em humanos (leishmaniose cutânea, muco-cutânea, ou, em casos raros, visceral) (SOONG, 2012). A transmissão dessa espécie ocorre, principalmente, em áreas de florestas primárias e secundárias, contudo nos últimos 10 anos houve ocorrência de casos em novas áreas (AZEREDO-COUTINHO et al., 2007), algumas vezes apresentando manifestações clínicas atípicas (SANDOVAL-JUAREZ et al., 2014).

3.5.4 Diagnóstico e tratamento

Controlar a leishmaniose é difícil porque grande parte dos reservatórios possuem hábitos silvestres e a dificuldade em localizar os criadouros dos flebotomíneos na natureza, está atrelada ao pequeno tamanho das formas imaturas (média de 1 mm) e seus hábitos terrestres. Medidas de controle baseadas na redução do contato entre as formas adultas do inseto e os seres humanos, no diagnóstico e tratamento precoce dos casos e nas atividades de educação em saúde, são recomendadas (SVS, 2010; WHO, 2012; WHO, 2019).

Tratar e diagnosticar as leishmanioses torna-se difícil pois necessita-se de métodos dispendiosos e/ou tóxicos; sem mencionar a ausência de uma vacina efetiva para humanos. Somada a isso, a leishmaniose tegumentar possui formas clínicas variáveis que não apresentam sintomatologia específica e podem ser confundidas com outras patologias como a lepra, a sarcoidose, o câncer ou infecções bacterianas e fúngicas (WHO, 2012; WHO, 2019; ZELEDON, 1992). E é por esses motivos que todos os casos prováveis de leishmaniose devem ser confirmados por meio de testes diagnósticos específicos (WHO, 2019). Tais testes são baseados na observação direita do parasita obtido por meio de biopsias, aspirados, raspagens ou esfregaços das lesões. O material coletado pode ser utilizado para análise microscópica, estabelecimento de culturas ou diagnóstico por técnicas moleculares (REITHINGER et al., 2007). A detecção de ácidos nucleicos por métodos moleculares baseados na PCR aumentam a especificidade e sensibilidade do diagnóstico e permitem diferenciar as espécies; esse fato é importante principalmente nas regiões endêmicas onde circulam várias espécies do parasita, mas esses métodos moleculares ainda não são ferramentas custo-efetivas, nem acessíveis para o diagnóstico rotineiro (OPS, 2013). No entanto, nem o teste cutâneo da leishmanina tampouco os testes sorológicos, mostram-se eficientes no diagnóstico da LC; por possuírem baixa sensibilidade e especificidade, além de não diferirem infecções antigas de infecções atuais. E isso é preocupante uma vez que os testes da leishmanina são utilizados nos estudos epidemiológicos como um indicador de exposição à doença. Para diganosticar a LCM, ambos os tipos de testes são úteis e os tipos diretos são importantes para confirmar o diagnóstico da LCD (OPS, 2013; OPS, 2014; WHO, 2019). A visualização microscópica do parasita em aspirados teciduais, os testes sorológicos, a detecção de antígenos e as técnicas moleculares são utilizados como métodos diagnósticos para a LV (OPS, 2013; QUINNELL & COURTENAY, 2009; READY, 2014).

O sucesso no tratamento da leishmaniose tegumentar depende da espécie do parasita envolvida e região geográfica; por exemplo, a maior parte das infecções (particularmente com *L. major*) apresenta percentual de cura espontânea < 50%, todavia a ocorrência de parasitas resistentes aos fármacos de referência é mais recorrente em regiões com transmissão antroponótica, enquanto as formas clínicas mais graves (LMC e LCD) aparecem mais no continente americano. Os tratamentos locais sugeridos incluem a termoterapia e a paramomicina, enquanto as opções disponíveis para o tratamento sistêmico incluem os antimoniais pentavalentes, a pentamidina, o sulfato de paromomicina, a miltefosina e o cetoconazole (OPS, 2013; WHO, 2019).

O tratamento da LV adota como protocolo, há mais de 70 anos, a administração de antimoniais pentavalentes, como primeira escolha, e no caso de ineficácia terapêutica, a pentamidina ou anfotericina B (a anfotericina lipossomal, introduzida em 1994, tem mais eficiência, mas um custo alto). Em 2002, a miltefosina passou a ser utilizada para o tratamento da LV, e o alopurinol, testado como alternativa para o tratamento.

Frequentemente se registram falhas terapêuticas, parasitas resistentes aos fármacos, desistência dos pacientes ao tratamento ou efeitos colaterais graves que dificultam o controle efetivo da doença (OPS, 2013; OUELLETE et al., 2008; ZAULI-NASCIMENTO et al., 2010). Um grande obstáculo a ser superado para controlar a doença é a ausência de estratégias antiparasitárias que incluam os variados tipos de patogênese e considerem variáveis como; densidade parasitária, virulência, citotoxicidade, a natureza da resposta imune, autoimunidade e os efeitos potenciais das doenças subjacentes do hospedeiro (OUELLETE et al., 2008).

3.5.5 Miltefosina

Conhecida no início como hexadecilfosfocolina, há aproximadamente 30 anos, a miltefosina, um éster lipídico largamente empregado na terapêutica oncológica, fez sucesso no tratamento de câncer de mama, onde o alvo farmacológico tratava-se da membrana plasmática ao invés do núcleo (EIBL; UNGER, 1990; WESTPHAL, 1987). No século seguinte, na Índia, a miltefosina foi catalogada como fármaco indicado para tratamento de LV depois de ser submetida a ensaios clínicos e demonstrar atividade terapêutica semelhante a anfotericina B; no entanto havia um diferencial importante entre esses medicamentos, a miltefosina poderia ser administrada por via oral.

A miltefosina é um análogo estrutural de fosfolipídios farmacologicamente ativos contra diversas espécies de *Leishmania*, incluindo as causadoras das formas cutâneas (CROFT; ENGEL, 2006). Segundo Dorlo e colaboradores 2012, atribui-se que a miltefosina atue biologicamente provocando distúrbios na sinalização celular dependente de lipídeos, induzindo a expressão de óxido nítrico sintase 2 para produzir óxido nítrico e formar radicais livres, conduzindo, assim, o parasita à morte (semelhante a apoptose). Ademais, ela também é capaz de reverter a resposta celular em macrófagos infectados para o Th1, auxiliando no combate aos parasitas por meio da indução de IFN-γ (WADAHONE et al., 2009)

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Foram utilizados os seguintes reagentes e solventes para obtenção dos compostos intermediários (tiossemicarbazonas): a tiossemicarbazida comercial, os aldeídos selecionados (2-quinolinacarboxaldeído, 3-quinolinacarboxaldeído, 4-quinolinacarboxaldeído e o 3-indol-carboxaldeído) ácido acético glacial e o etanol. Já para as moléculas finais, os tiazóis, foram utilizados os seguintes insumos: os derivados tiossemicarbazonas obtidos na primeira etapa do trabalho, 2-bromo-acetofenona correspondente, etanol, éter etílico, éter de petróleo, acetona, água deslitada, *n*-hexano e acetato de etila. Todos os materiais e reagente utilizados foram comprados da Sigma-Aldrich, Acros, Vetec e Dinamica estando dentro das especificações para PA ou PS. Na cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura.

4.2 EQUIPAMENTOS

A pesagem dos reagentes foi feita utilizando balança analítica da Bioprecisa, modelo FA2104N com quatro casas decimais de precisão. Para revelar as placas cromatográficas foi utilizada uma câmara de revelação ultravioleta, com dois comprimentos de onda (254 ou 365 nm), da marca Vilber Lourmat modelo CN15.LC (LQIT/UFPE). Utilizou-se um evaporador rotativo da marca IKA moledo RV10.Os pontos de fusão foram determinados em fusiômetro Quimis, modelo 340.27 (LQIT/UFPE) e as amostras foram carregadas em tubo capilar Modelo Quimis 340 (Quimis, Brasil). Já na caracterização estrutural dos compostos intermediários e finais, foram utilizadas as análises de Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^{1}H) e de Carbono (RMN ^{13}C), realizados em aparelhos Varian UnityPlus 400 MHz para ^{1}H e 100 MHz para ^{13}C, e Espectroscopia de absorção vibracional na região do Infravermelho médio com Transformada de Fourier (de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}), em pastilhas de KBr. Para a construção das estruturas químicas foram utilizados o ChemDraw Ultra versão 12.0.2.1076 da CambridgeSoft, e o ChemSkecth / NMR Processor Academic Edition versão 12.01 da Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs), o Avogadro versão 1.2 e o Spartan.

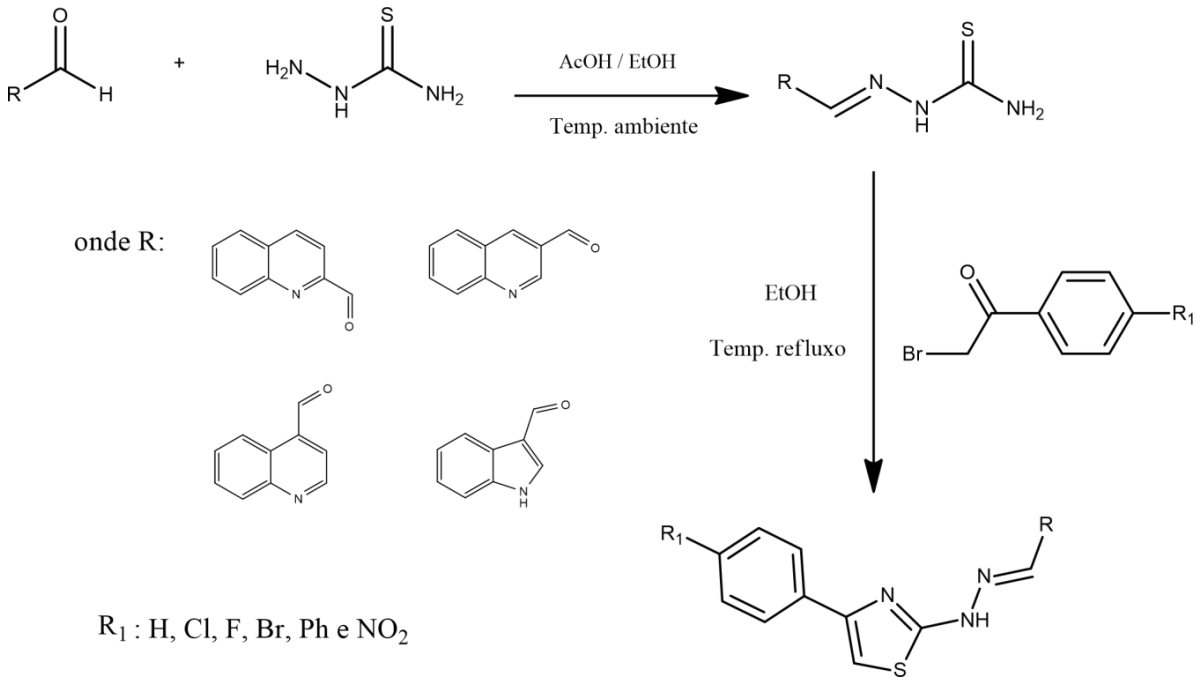
4.3 METODOLOGIA

As etapas da síntese e os dados físico-químicos das novas moléculas tiossemicarbazonas e tiazóis foram realizadas no Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT), do Departamento de Antibióticos – CCB / UFPE. A caracterização estrutural por meio do RMN ^{1}H e ^{13}C, foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental – DQF/ UFPE e no Laboratório de Combustíveis que fica no Departamento de Engenharia Química – DEQ – UFPE, foram feitas as análises de Infravermelho. Até o presente momento foram sintetizadas 50 moléculas nas quais 25 dessas estão com as caracterizações físico-químicas, estrutural e estudo *in silico* completas e descritas neste manuscrito de qualificação.

4.3.1 Etapas de síntese dos compostos tiossemicarbazônicos e tiazólicos.

A síntese das novas entidades químicas foi baseada nas metodologias descritas por OLIVEIRA et al. (2016), para as tiossemicarbazonas, e CARRADORI et al. (2014) para os tiazóis finais (Esquema 6).

Esquema 6 - Metodologia para obtenção dos intermediários tiossemicarbazônicos e dos produtos finais tiazólicos.



4.3.1.1 Síntese dos intermediários tiossemicarbazônicos LQIT-JF

Em um de reação foram adicionados os reagentes tiossemicarbazida/aminotioureia (0,1 mmol), juntamente com o respectivo aldeído aromáticos (0,1 mmol) em 10 mL de etanol

e 15-20 gotas do ácido acético glacial que agiu como catalisador. A reação ocorreu à temperatura ambiente, sob agitação magnética com duração de 2 a 6 horas de reação. Confirmado através de placa CCD (sistema de eluição 1:1 hexano/acetato de etila ou 4:6 hexano/acetato de etila) e com a observação da presença de precipitado no balão, o produto obtido foi filtrado, e quando necessário, lavado com éter etílico ou éter de petróleo. Em seguida foi seco em dessecador para posterior caracterização físico-química e estrutural.

4.3.1.2 Síntese dos compostos finais tiazólicos LQIT-JF

Em um balão de reação foram adicionados os reagentes intermediários tiossemicarbazônicos (0,1 mmol), a 2-bromo-acetofenona correspondente (0,1 mmol) e em seguida 10 mL de etanol. A reação ocorreu sob temperatura de refluxo do EtOH, sob agitação magnética com duração de 4 a 12 horas de reação. Confirmado através de placa CCD (sistema de eluição 6:4 hexano/acetato de etila ou 8:2 hexano/acetato de etila) foi adicionada água destilada ao meio reacional (esse procedimento foi usado apenas nos produtos que não formaram precipitado) para promover precipitação e assim ser possível filtrar o sólido formado (produto final). Ainda assim algumas moléculas formaram um sólido com baixa granulometria os quais passaram pelos poros do papel filtro inviabilizando a técnica de separação empregada. Nesse caso, após a adição da água destilada, os produtos foram evaporados em evaporador rotativo com temperaturas abaixo dos 60º C para a obtenção do precipitado. O produto obtido foi filtrado, e quando necessário lavado com éter etílico ou éter de petróleo. Em seguida, foi seco em dessecador para posterior caracterização físico-química e estrutural.

4.4 MODELAGEM MOLECULAR

As estruturas de todos os 22 compostos foram otimizadas aplicando o método semi-empírico de química quântica RM1 (ROCHA, et al., 2006), disponível no programa SPARTAN 08' ("Spartan '08 Tutorial and User's Guide", 2008), utilizando critérios de convergência padrão.

Os cálculos de *docking* molecular foram realizados frente as enzimas ciclooxigenase-1 (COX-1) e ciclooxigenase-2 (COX-2), utilizando como alvo as estruturas de códigos 5WBE (CINGOLANI *et al*., 2017) e 1PXX (ROWLINSON *et al*., 2003), respectivamente.

Foi realizado um alinhamento prévio entre as estruturas e desta forma, o sítio ativo para ambas as enzimas foi definido como os resíduos de aminoácidos dentro de um raio de 9 Å, a partir do ligante “Mofezolac”, co-cristalizado com a estrutura da enzima COX-1. Os cálculos de *docking* foram realizados utilizando o programa GOLD (JONES *et al.*, 1997).

4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA

4.5.1 Citotoxicidade

A citotoxicidade em células de mamíferos foi avaliada através de ensaios com MTT (3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio). Esse ensaio baseia-se na redução dos sais amarelos de tetrazólio por redutases mitocondriais de células metabolicamente ativas. Cristais de formazan são formados no interior dessas células, que devem ser lisadas para a solubilização e posterior análise por espectrofotometria. Uma vez que a quantidade de formazan produzida é diretamente proporcional ao número de células viáveis, quanto maior for a viabilidade celular, maior será a proporção de redução do MTT e maior será a absorbância.

Os macrófagos da linhagem RAW 264.7 foram soltos das garrafas de cultura e foram plaqueados em placas de 96 poços, fundo reto e incubadas por 24h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO_2, para aderência. Após esse tempo, os compostos foram adicionados nas concentrações de 6 a 200 µg/mL e incubados novamente por um período de 48h. Foram utilizados poços apenas com meio de cultura como controle negativo. Após a incubação foi acrescentado 25µL de MTT a 5mg/mL em PBS, seguida de uma nova incubação por 2h, a 37°C e ao abrigo da luz. Parte do meio de cultura juntamente com o restante de MTT foi aspirado e 100µL de DMSO foi adicionado por poço para solubilização dos cristais de formazan resultantes da redução do MTT. Foi realizada a leitura da absorbância a 570 nm no espectrofotômetro THERMO SCIENTIFIC Multiskan FC. A concentração citotóxica para 50% da cultura (CC_{50}) foi determinada por análise de regressão pelo software GraphPad Prism. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

4.5.2 Promastigotas

Formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/00 LTB 0016) e *L. infantum* (cepa MHOM/MA/67/ITMAP-263) foram mantidas a 26° C em meio Schneider’s

(Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (meio completo). Parasitas na fase exponencial de crescimento foram utilizados em todos os experimentos.

Para o ensaio de atividade leishmanicida, os parasitas foram contados e diluídos em meio Schneider's (Sigma) completo a 1 x 10^6 células/mL. Os parasitas foram incubados a 26°C na presença de diferentes concentrações dos compostos LQIT/JFs (1,5 a 200µg/mL) por 72h. Parasitas incubados apenas com meio de cultura e com Miltefosina foram utilizados como controle negativo e positivo, respectivamente. O crescimento celular foi avaliado e a IC_{50}/72h foi determinada por análise de regressão. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

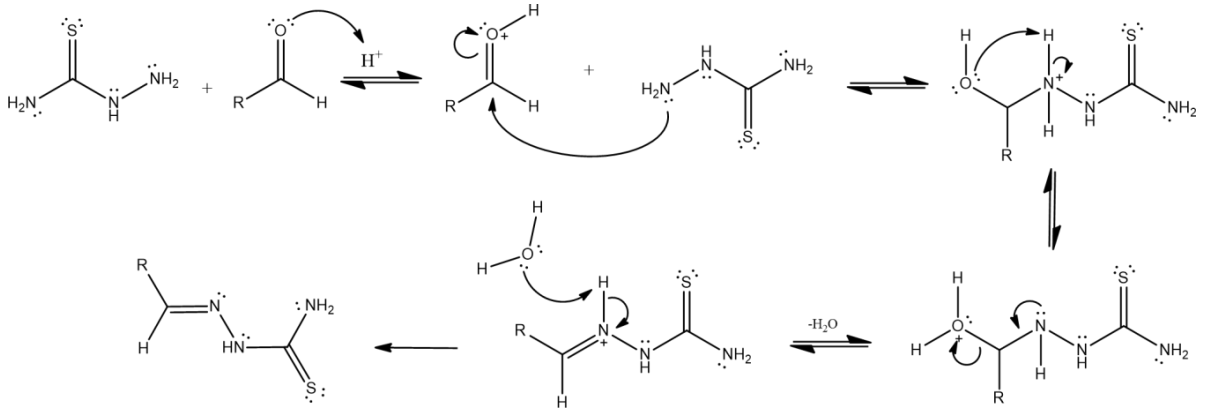
4.5.3 Amastigotas de *Leishmania sp*

Para esta avaliação, macrófagos RAW 264.7 foram distribuídos em placas de 24 poços (3 x 10^5 células/mL) contendo uma lamínula redonda estéril. Os macrófagos foram incubados para aderência por 2h, a 37°C e atmosfera com 5% de CO_2. Após essa incubação inicial foram acrescentadas promastigotas infectivas de *L. amazonensis* na proporção de 8 parasitas/ macrófago, por um período de 6h, a 37°C e 5% de CO_2. Os parasitas não internalizados foram removidos por lavagem e a cultura foi incubada novamente na presença de diferentes concentrações dos compostos (6 a 200 µg/mL) por 24h, a 37°C e 5% de CO_2. A miltefosina foi utilizada como controle positivo, nas mesmas concentrações dos compostos. Após a incubação, as lamínulas contendo a cultura foram lavadas com PBS, coletadas e coradas com kit de coloração Panótico Rápido. A porcentagem de macrófagos infectados, bem como o número de amastigotas/macrófagos foi determinada pela contagem de 100 macrófagos, em duplicata. A atividade leishmanicida dos compostos foi verificada pela diminuição no número de macrófagos infectados e de amastigotas intracelulares nas culturas tratadas em comparação com a cultura controle sem tratamento. Os valores de IC_{50} foram calculados por análise de regressão utilizando o software GraphPad Prism.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

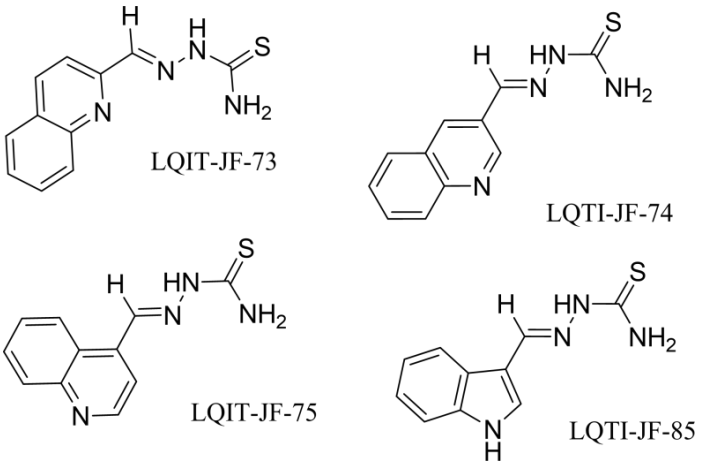
A seguir descreveremos os resultados experimentais do estudo químico, da modelagem molecular e da avaliação biológica dos novos derivados tiazólicos sintetizados.

Esquema 7 - Mecanismo geral para formação dos intermediários tiossemicarbazônicos LQIT-JF.



Na primeira etapa houve a reação da tiossemicarbazida com os aldeídos aromáticos (Esquema 7) selecionados nas condições específica, já demonstradas anteriormente para obtenção das tiossemicarbazonas. A partir deste momento foram obtidas quatro novas tiossemicarbazonas conforme Figura 6.

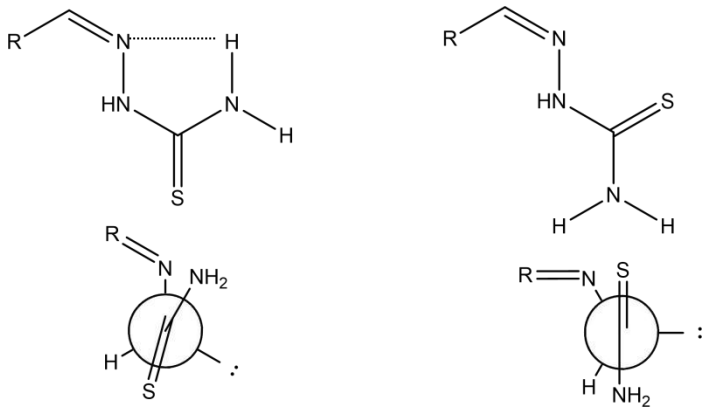
Figura 6 - Intermediários tiossemicarbazônicos LQIT-JFs.



Casas *et al* (2000) mostraram que as tiossemicarbazonas não substituídas na posição N4 apresentam estrutura praticamente planar, com o átomo de enxofre em posição *anti*-

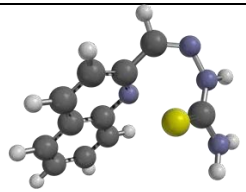
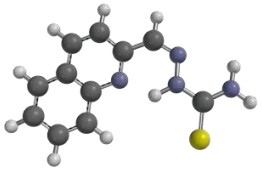
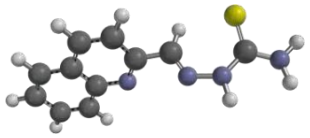
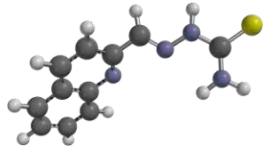
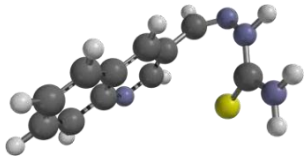
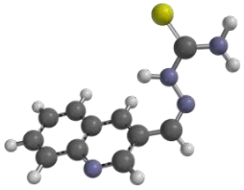
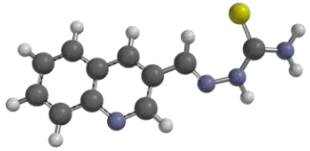
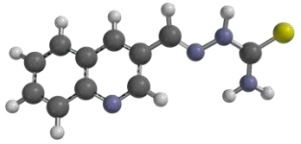
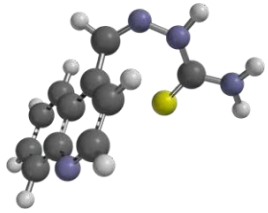
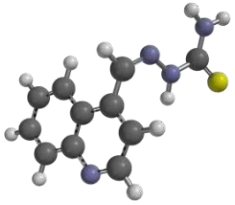
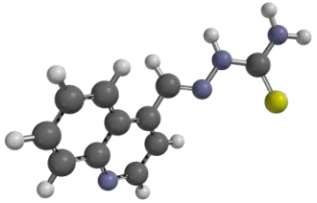
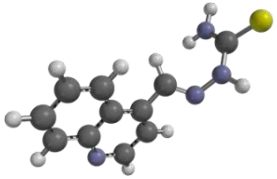
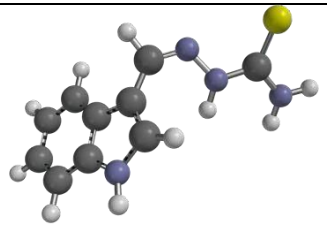
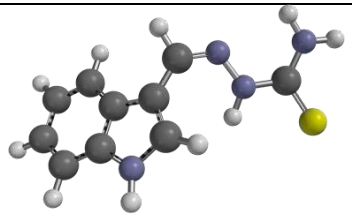
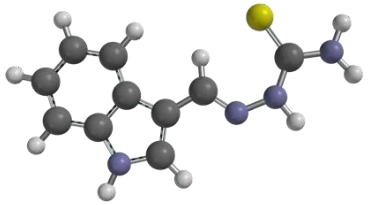
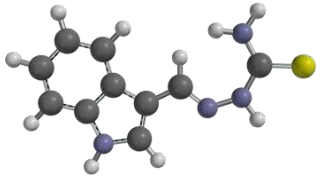
periplanar em relação ao átomo de nitrogênio da imina (Figura 7). Isto ocorre principalmente porque nesta conformação aumentam as chances da ocorrência de ligação de hidrogênio intramolecular entre o nitrogênio da imina e os hidrogênios da porção tioamida, considerando também que os efeitos estéricos e eletrônicos contribuem para chegar a este arranjo estrutural (TENÓRIO et al, 2005; AQUINO 2007). Essas inferências puderam ser confrontadas com os dados teóricos encontrados no estudo computacional dos intermediários que apresentaram menor energia de formação para as configurações e conformações presentes na Tabela 1.

Figura 7 - Estrutura da tiossemicarbazona nas conformações sin e anti-periplanar com destaque para a possibilidade da ligação de hidrogênio da porção tioamida com o nitrogênio da imina.



Anti-periplanar Sin-periplanar

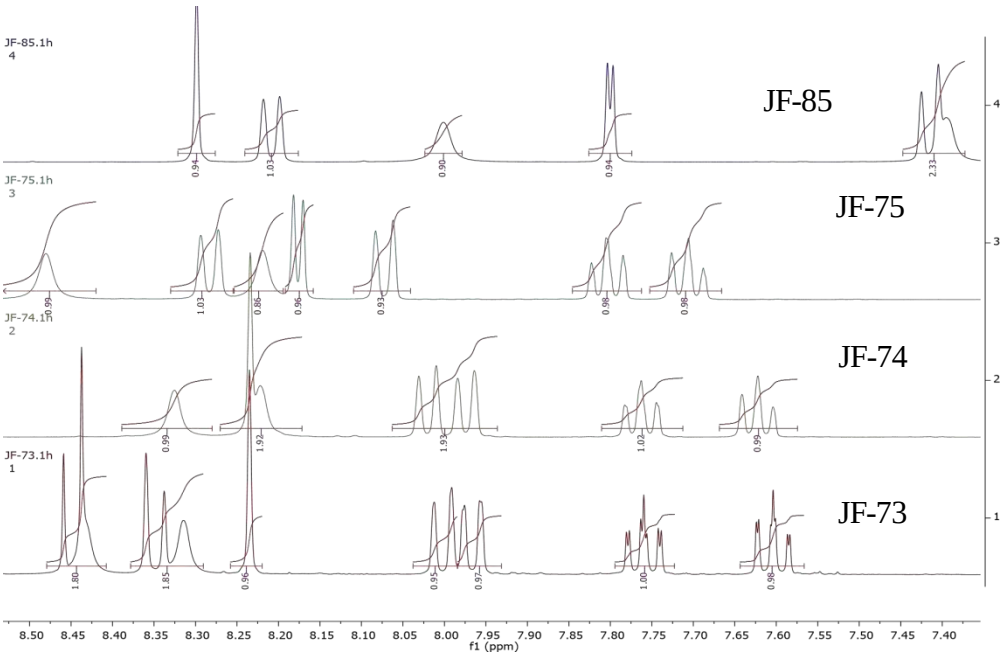
Tabela 1 - Configuração, conformação e energias de formação dos intermediários tiossemicarbazônicos.

Código	Isômero Z		Isômero E	
	Sin	***Anti***	***Sin***	***Anti***
LQIT-JF-73	 385,43 kJ.mol^{-1}	 335,56 kJ.mol^{-1}	 376,21 kJ.mol^{-1}	 361,37 kJ.mol^{-1}
LQIT-JF-74	 387,07 kJ.mol^{-1}	 344,07 kJ.mol^{-1}	 367,46 kJ.mol^{-1}	 353,97 kJ.mol^{-1}
LQIT-JF-75	 393,66 kJ.mol^{-1}	 348,38 kJ.mol^{-1}	 403,62 kJ.mol^{-1}	 376,48 kJ.mol^{-1}
LQIT-JF-85	 342,92 kJ.mol^{-1}	 296,69 kJ.mol^{-1}	 321,57 kJ.mol^{-1}	 320,79 kJ.mol^{-1}

A Tabela 1 apresenta informações que podem ser relacionadas com os achados encontrados por Tenóiro e colaboradores, 2005 e Aquino 2007 que sugerem a conformação *anti*-periplanar, para as tiossemicarbazonas não substituída no nitrogênio imínico (N4), como sendo a conformação de menor energia. Ainda analisando a Tabela 1, A conformação *anti* do isômero *Z* foi a mais estável para os quatro compostos. A diferença energética entre as conformações mais estáveis para cada isômero varia entre 9,90 kJ/mol (LQIT-JF-74) a 28,10 kJ/mol (LQIT-JF-75). Este resultado corrobora com Moreira e colaboradores 2014, em que uma série de 24 moléculas, também da classe das iminas apresentou a configuração *E* como a mais estável espacialmente. É possível observar que todas as estruturas geradas na conformação *anti*-periplanar apresentaram energias mais baixa quando comparadas com sua estrutura análoga na conformação *sin*-periplanar.

Outra forma de evidenciar a preferência por esse arranjo molecular é através da técnica de RMN ^{1}H dos compostos. Na Figura 8 é possível verificar o aparecimento de dois sinais largos com área integral relativa a um hidrogênio para cada sinal nas moléculas LQIT-JF-73, 74, 75 e 85. Apesar de serem hidrogênios oriundos do mesmo átomo de nitrogênio, $S=C-NH_2$, eles estão em ambientes químico e magnético diferentes, possivelmente por causa da conformação adotada em função da ligação de hidrogênio intramolecular que se formar, caracterizando estes prótons como sendo diastereotópicos.

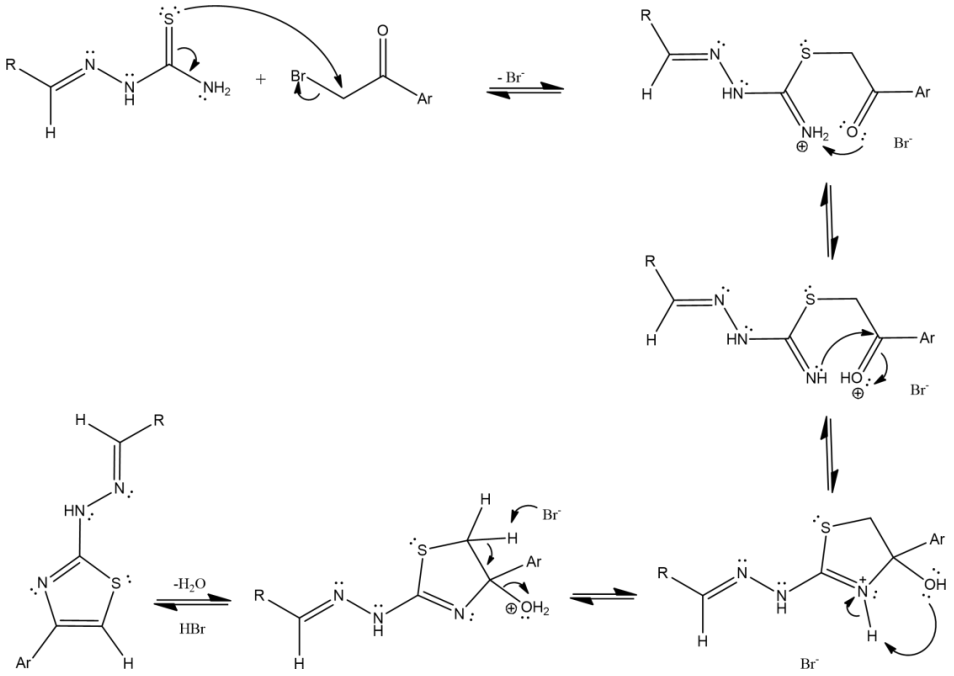
Figura 8 - Região do espectro de RMN 1H evidenciando a ocorrência dos hidrogênios diastereotópicos nos intermediários tiossemicarbazônicos.



Ainda analisando os intermediários, há um sinal crucial no espectro de RMN ^{1}H que indica a formação ou não das tiossemicarbazonas propostas nesse estudo. Com a multiplicidade de singleto e aparecendo numa faixa de 8.20 – 8.89 ppm esse sinal é característico do hidrogênio azometínico formado durante o ataque nucleofílico da porção imina da tiossemicarbazida à carbonila do aldeído (VENKATACHALAM et al., 2017). Este mesmo carbono azometínico contribui para um equilíbrio dinâmico das formas isoméricas Z e *E* contudo, as tiossemicarbazonas obtidas a partir de aldeídos estão majoritariamente na conformação *E* (COSTA et al., 2003; TENÓRIO et al., 2005). Resultados semelhantes relacionados ao isomerismo geométrico encontrado neste trabalho foi reportado por Oliveira e colaboradores 2015, onde a ausência de duplicidade de sinal na região do hidrogênio azometínico sugere a formação de um único isômero de configuração *E*. Nas análises de RMN ^{1}H e ^{13}C para as tiossemicarbazonas LQIT-JF-73, 74, 75 e 85, não foi possível identificar o aparecimento de outras evidências que caracterizassem a formação de isômeros, sugerindo que a estrutura formada tem configuração *E*.

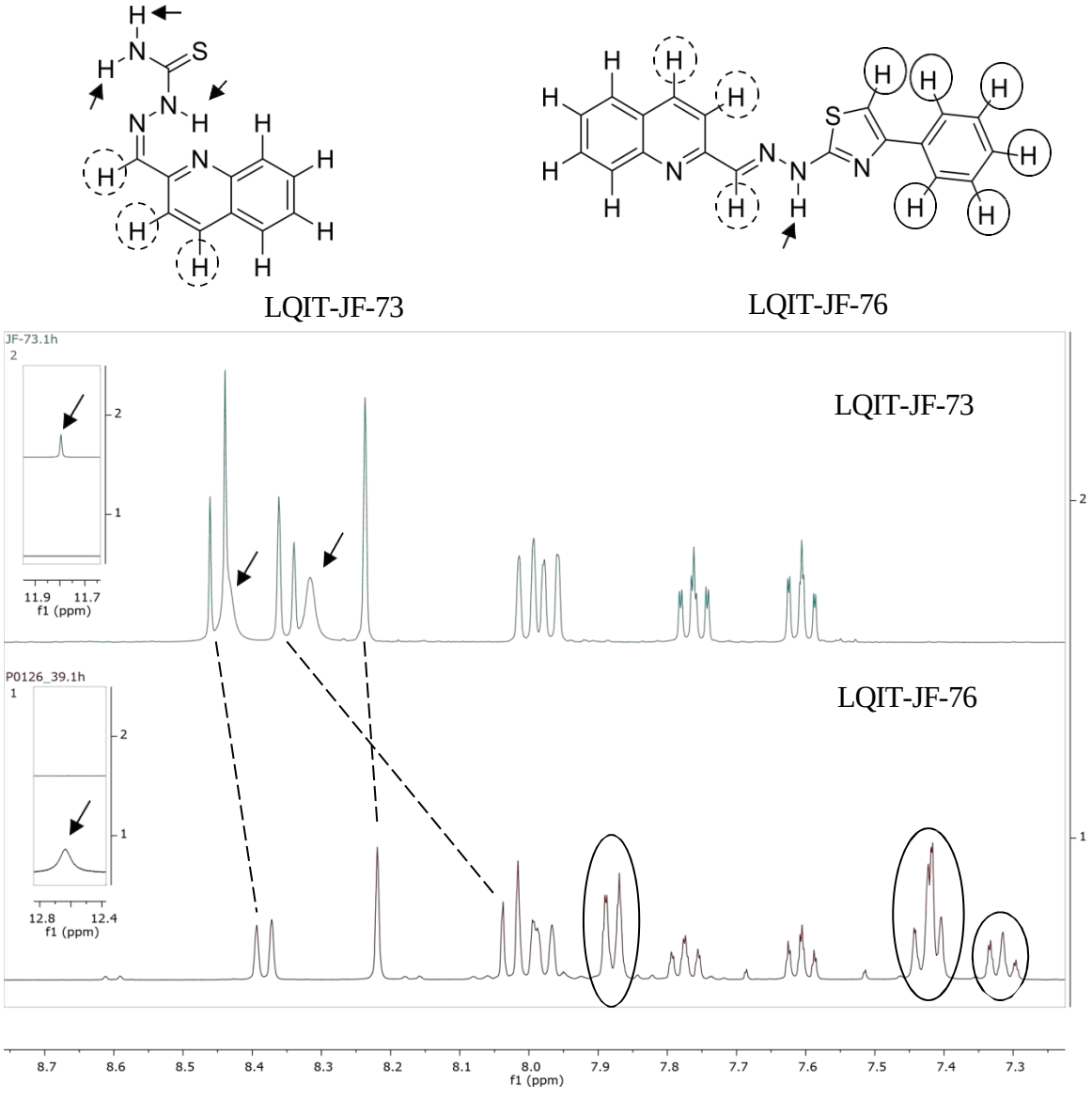
As quatro tiossemicarbazonas obtidas, reagiram com acetofenonas específicas originando novos compostos tiazólicos. A formação destes novos compostos segue o mecanismo de reação proposto por Hantzsch e está representado no Esquema 8.

Esquema 8 - Mecanismo sugerido para formação dos derivados tiazólicos LQIT-JFs.



Afim de elucidar de forma mais exata e precisa as estruturas dos compostos tiazólicos obtidos, foram realizadas análises de RMN de H^1 e C^{13} convencionais e as técnicas bidimensionais homonucleares e heteronucleares COSY, HSQC, HMBC e NOESY dos compostos LQIT-JF-76, LQIT-JF-81 e LQIT-JF-99. Uma análise preliminar dos espectros unidimensionais sugere a formação de uma nova entidade química com quantitativo de hidrogênio correspondente a estrutura proposta para o composto LQIT-JF-76. A Figura 9 mostra o espectro de hidrogênio do composto LQIT-JF-76 junto ao intermediário LQIT-JF-73 evidenciando as semelhanças, diferenças e os indícios da formação de uma nova molécula proposta por este trabalho.

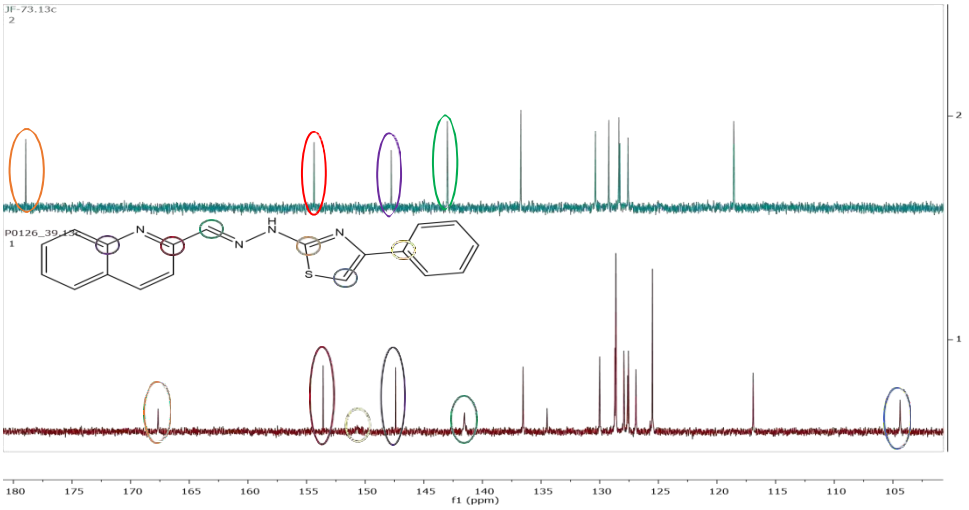
Figura 9 - Espectro dos compostos LQIT-JF-73 (em verde) e o LQIT-JF-76 (vermelho) com linhas tracejadas mostrando os deslocamentos dos sinais da tiossemicarbazona com relação ao tiazol. As sinalizações indicam o deslocamento e surgimento de sinais.



O derivado tiazólico LQIT-JF-76 apresenta novos sinais como o dubleto para dois hidrogênios na posição *orto* próximos a 7.88 ppm, o tripleto para dois hidrogênios em *meta* com deslocamento de 7.42 ppm e o tripleto para um hidrogênio localizado em *para* com valor de 7.31 ppm todos referentes a porção benzilidênica ou benzílica da molécula. Além destes sinais há um singleto um pouco sobreposto na região de 7.42 ppm que fora atribuído ao próton da porção tiazólica da molécula. Esse sinal, especificamente, é um significativo indicador de que a tiossemicarbazona reagiu para formar um composto tiazólico. Também houve alteração no sinal N-H hidrazínico no qual este apresentou elevada desblindagem, deslocando-se de 11.79 ppm para 12.63 ppm quando formado o tiazol. Os outros sinais que não foram destacados na Figura 9, permaneceram sem alterações significativas com a formação do composto LQIT-JF-76.

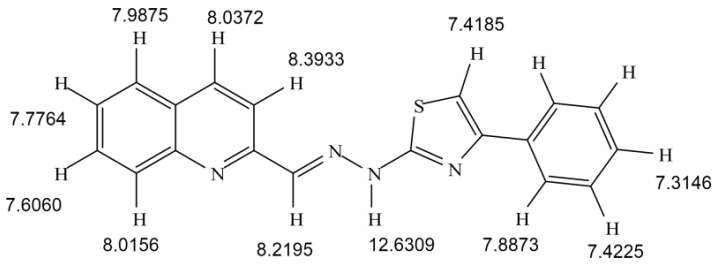
O espectro de RMN ^{13}C para o LQIT-JF-76 é apresentado na Figura 10 com seu respectivo intermediário. Avaliando os sinais presentes no intermediário e no composto final, pode-se observar o sinal em 178.94 ppm (laranja), correspondente ao C da carbotioamida do composto tiossemicarbazônico sendo deslocado, após a ciclização, para 167.64 ppm (laranja) formando uma nova ligação dupla com o C=N do anel tiazólico. Outro importante sinal presente no espectro de ^{13}C está em 104.39 ppm (azul) no espectro 1, este sinal é atribuído ao metileno do tiazol que poderá ser encontrado nos espectros bidimensionais de HSQC e HMBC. Além desses sinais, uma evidência bem sutil, pode ser destacada (em amarelo) no espectro do LQIT-JF-76, posteriormente confirmada no HMBC, o carbono quaternário C4 do anel tiazólico. Esse carbono tem um deslocamento de 150.58 ppm e é bastante discreto no espectro unidimensional, sendo mais um indicativo de que o composto final foi formado. Tais evidências também foram constatadas por Braga *et* al, 2016 que encontrou deslocamentos de 150.7 ppm para o C4 do tiazol e 104.5 ppm para o C-H desta mesma região estudada.

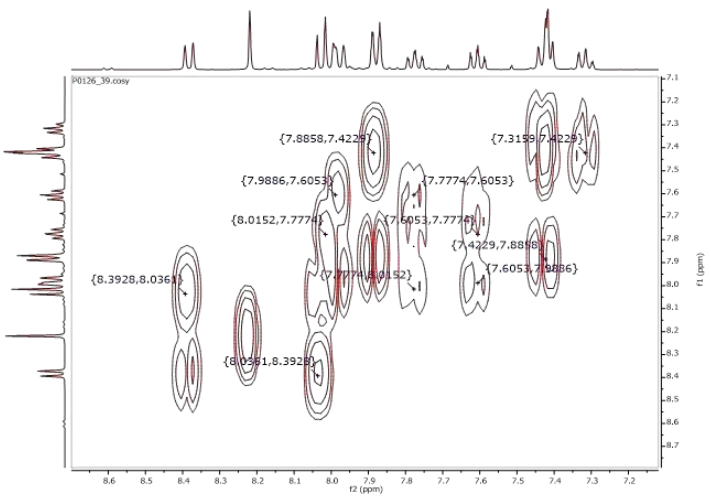
Figura 10 - Espectro de RMN 13C do LQIT-JF-73 (2) e LQIT-JF-76 (1) com sinalizações correspondentes dos picos com os carbonos.



As informações obtidas com a análise do espectro de RMN ^{1}H e ^{13}C indicam a formação de uma nova molécula a qual será reafirmada, com maior precisão, pelas análises dos espectros bidimensionais (COSY, HSQC e HMBC). A Figura 11 apresenta a estrutura da molécula LQIT-JF-76 e o COSY com os referentes picos cruzados indicando os hidrogênios que acoplam há uma distância J^{3} (Figura 11).

Figura 11 - Estrutura do composto LQIT-JF-76.

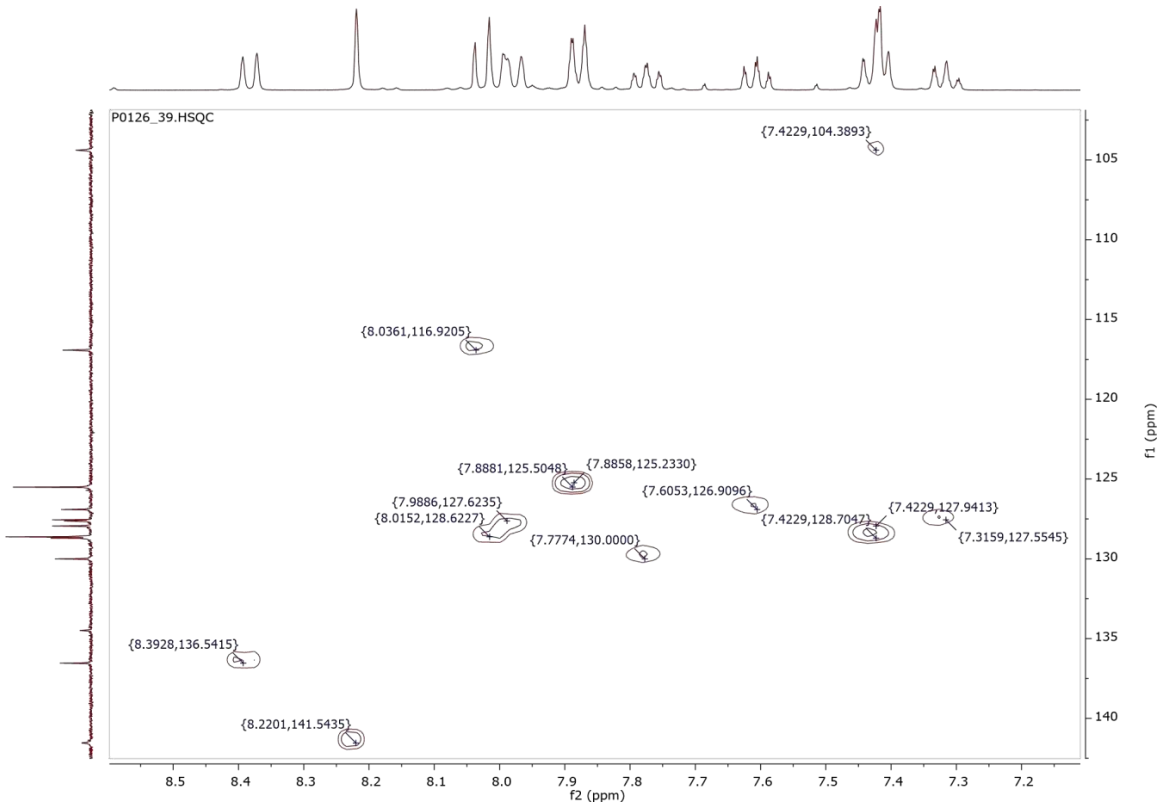




A análise do espectro bidimensional COSY ^{1}H-^{1}H revela que o próton azometínico localizado em 8.21 ppm, conforme estrutura elucidada na Figura 11, bem como o tiazólico em 7.41 ppm, não possuem uma correlação cruzada com nenhum outro hidrogênio presente na molécula proposta. Tais ausências de correlações reforçam as implicações feitas sobre esses sinais no espectro unidimensional de hidrogênio, onde esses se apresentam com multiplicidade de singleto para um hidrogênio cada. Outra correlação importante é entre o sinal em 7.31 ppm (J= 7.52 Hz) com multiplicidade de tripleto para um hidrogênio, e o sinal em 7.42 ppm (J= 7.44 Hz), também um tripleto com integral para dois hidrogênios, indica o acoplamento entre os prótons característicos da região benzilílica da molécula.

O espectro gerado pela técnica do HSQC (Figura 12) revelou, de forma exata, quais carbonos e hidrogênios estão ligados de maneira geminal, ou seja, a uma distância de ligação J^{1}. Com isso foi possível confirmar algumas predições feitas nos espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C onde atribuiu-se os seguintes deslocamentos químicos para os prótons da porção azometínica e tiazolínica.

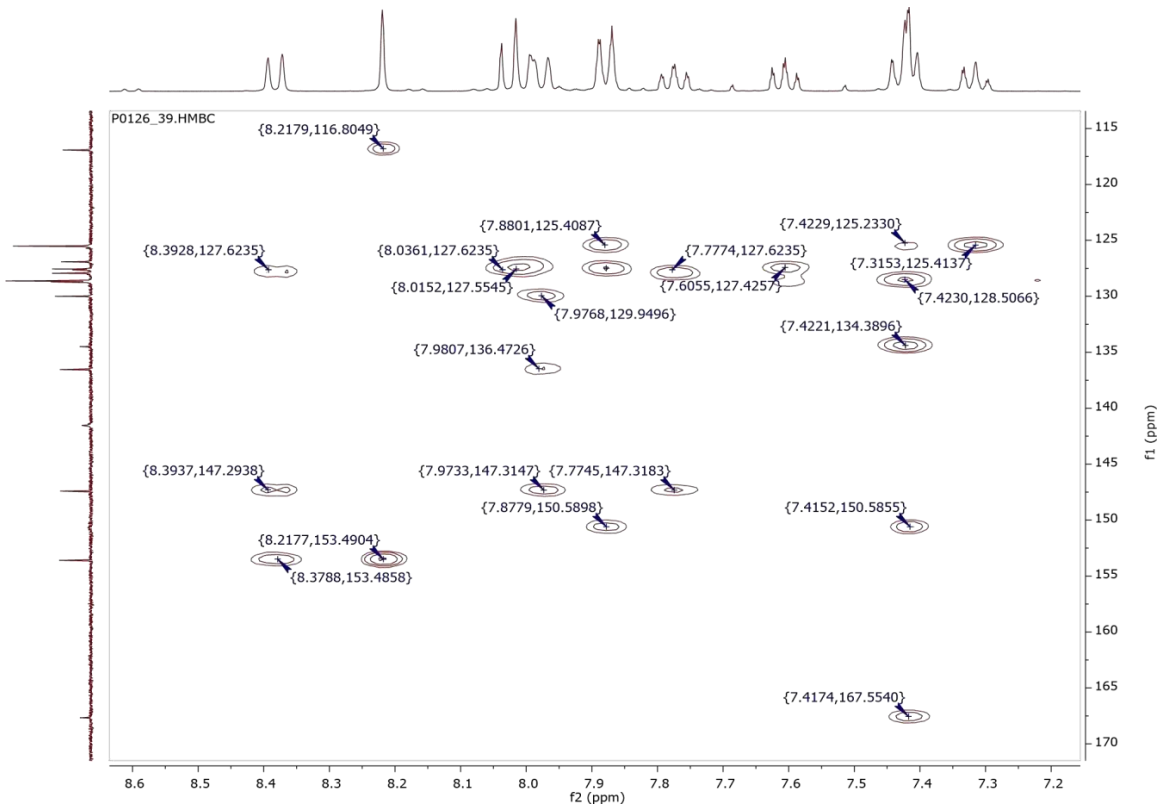
Figura 12 - HSQC do LQIT-JF-76.



As correlações que revelam a formação do composto LQIT-JF-76 são feitas aos seguintes deslocamentos: 8.22 ppm; 141.54 ppm para a porção azometínica da molécula, e a principal, em 7.42 ppm; 104.38 ppm para o C-H presente no heterociclo tizolínico. Os demais sinais, juntamente com as outras técnicas de RMN, auxiliaram na elucidação total da molécula proposta.

O HMBC possibilitou o assinalamento de acoplamentos a longa distância dos prótons a carbonos na molécula LQIT-JF-76. As correlações que provam a formação da molécula final estão, principalmente, entre o hidrogênio tiazolínico em 7.41 ppm acoplando com o C4 do anel tiazolínico 150.58 ppm e este mesmo próton acoplando a uma distância maior com o C2 do tiazol em 167.55 ppm, conforme Figura 13. A correlação entre 7.41 ppm ^{1}H – ^{13}C 150.58 ppm indicou o aparecimento de um carbono quaternário não visto no espectro unidimensional de ^{13}C nem no HSQC que após este achado, tornou-se possível elucidar os principais aspectos da molécula LQIT-JF-76.

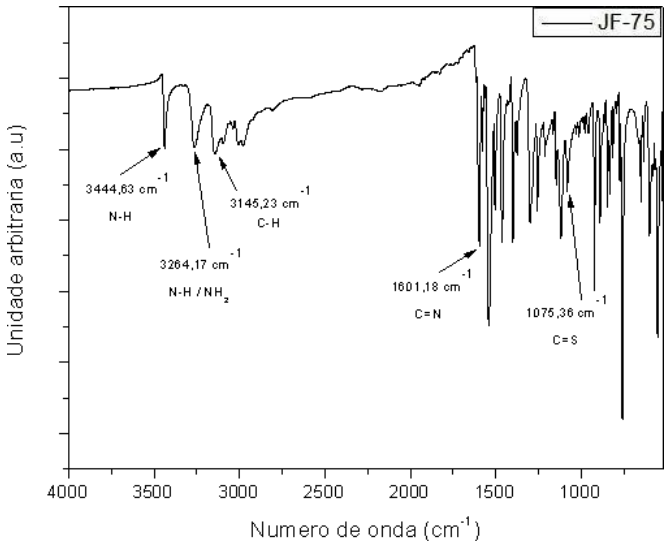
Figura 13 - HMBC do composto LQIT-JF-76.



Também foram feitas análises espectroscópicas de absorção na região do infravermelho para os compostos intermediários e finais. Com esta técnica é possível evidenciar a forma predominante tiona (C=S) para as moléculas intermediárias e as alterações provocadas no espectro de IV após a ciclização das tiossemicarbazonas nos respectivos compostos tiazólicos. Aqui será descrita a caracterização do LQIT-JF-75 a qual servirá como base de entendimento para os demais composto apresentados. Os compostos possuem os mesmos grupos funcionais, basicamente, com apenas algumas diferenças somente vista na região de impressão digital do espectro, o que dificulta uma caracterização mais precisa nesta região de alta frequência vibracional.

A Figura 14 apresenta os valores dos modos vibracionais das ligações N-H de amina primária, N-H de amina secundária, C-H de carbono de natureza sp^2, ligação C=N da função azometínica e, nos compostos finais, dupla ligação endocíclica no anel tiazolínico. Em 3444 cm^{-1} encontra-se a banda de estiramento axial N-H de amina secundária correspondente a porção hidrazínica da molécula. Por volta de 3264 cm^{-1} constata-se a presenta de estiramento N-H sendo desta vez de amina primária correspondente a parte contendo a tioamida da tiossemicarbazona. Em seguida, em 1601 cm^{-1}, a ligação C=N foi assinalada. E por último na região de impressão digital do espectro, o estiramento axial da ligação C=S. A ocorrência dessa ligação reforça os achados encontrados no RMN ^1H que não há, para os compostos aqui apresentados, indícios de formação do equilíbrio tautomérico entre as formas tiol e tiona possíveis para os intermediários sintetizados neste trabalho. Se houvesse tal ocorrência, o espectro de IV apresentaria uma banda com intensidade moderada na região de 2500 a 2000 cm^{-1} característico de ligação S-H.

Figura 14 - Espectro de IV do LQIT-JF-75

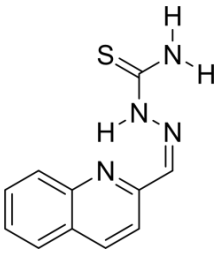


5.1 DADOS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPOSTOS TIOSSEMICARBAZÔNICOS E TIAZOLÍNICOS SINTETIZADOS.

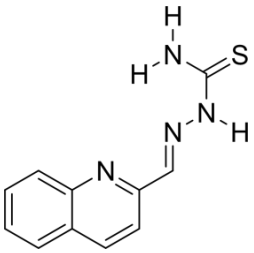
As características físico-químicas de todas as 20 moléculas sintetizadas, dentre elas os 16 tiazóis testados, estão evidenciadas na tabela 2 e 3 onde: P.F significa ponto de fusão; Rdto significa o rendimento da última etapa de síntese; Rf sendo o fator de retenção e S.E corresponde ao sistema de eluição. Todos os compostos, à temperatura ambiente, são sólidos com aspecto, cor e tamanho diferentes entre si.

Tabela 2 -Características físico-química dos compostos intermediários e finais.

Código	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-73	235-237	52.51	0.39	*n*-hex/ AcOEt 4:6

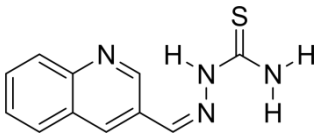


[(Z)-[(quinolin-2-il)metilideno]amino]tiouréia

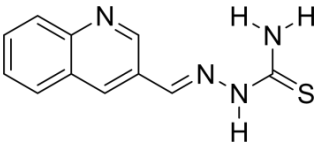


[(E)- [(quinolin-2-il)metilideno]amino]tiouréia

Código	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-74	247-249	61.72	0.33	*n*-hex/ AcOEt 4:6

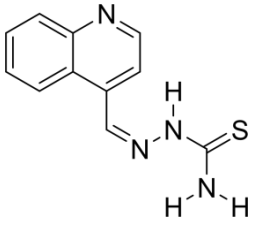


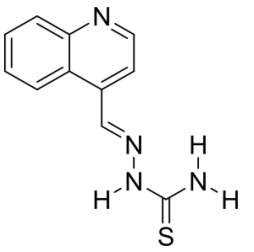
[(Z)-[(quinolin-3-il)metilideno]amino]tiouréia



[(E)-[(quinolin-3-il)metilideno]amino]tiouréia

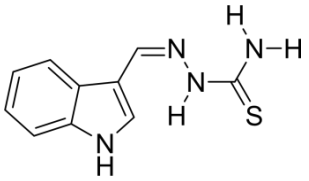
Código	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-75	257-259	50.51	0.38	*n*-hex/ AcOEt 4:6

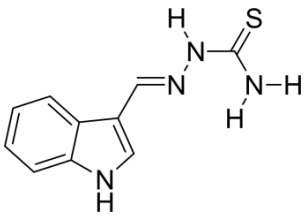




[(Z)-[(quinolin-4-il)metilideno]amino]tiouréia [(E)-[(quinolin-4-il)metilideno]amino]tiouréia

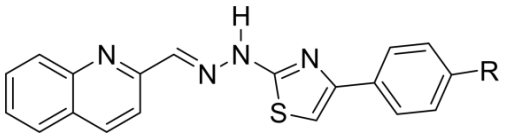
Código	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-85	237-239	65.56	0.48	*n*-hex/ AcOEt 4:6



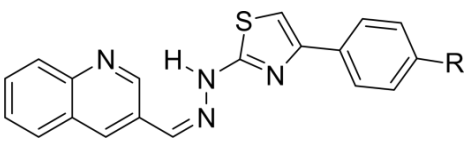


[(Z)-[(1H-indol-3-il)metilideno]amino]tiouréia [(E)-[(1H-indol-3-il)metilideno]amino]tiouréia

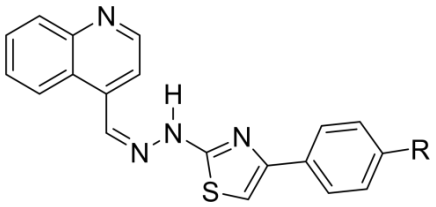
Tabela 3 - Dados físico-químicos das moléculas finais.



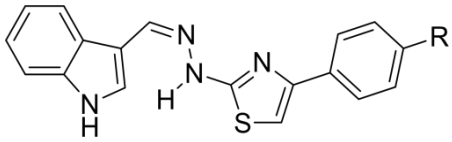
Código	R	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-76	4-H	219-221	68.63	0.62	*n*-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-79	4-Br	253-255	71.44	0.54	*n*-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-82	4-F	243-244	51.36	0.42	*n*-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-91	4-Cl	233-235	42.17	0.47	*n*-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-105	4-NO_2	269-271	47.50	0.61	*n*-hex/ AcOEt 7:3



Código	R	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-77	4-H	120-121	59.09	0.42	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-83	4-F	235-237	36.09	0.45	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-92	4-Cl	254-255	44.90	0.32	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-106	4-NO_2	272-273	60.00	0.44	n-hex/ AcOEt 6:4



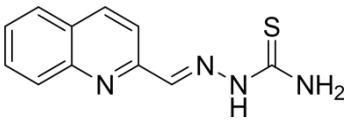
Código	R	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT-JF-78	4-H	138-140	62.00	0.45	n-hex/ AcOEt 4:6
LQIT-JF-81	4-Br	236-238	71.33	0.44	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT-JF-84	4-F	196-198	67.75	0.47	n-hex/ AcOEt 2:8
LQIT-JF-93	4-Cl	223-225	57.70	0.32	n-hex/ AcOEt 6:4



Código	R	P.F (°C)	Rdto (%)	Rf	S. E
LQIT/JF-97	4-H	157-160	57.30	0.37	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-99	4-F	224-226	55.72	0.48	n-hex/ AcOEt 6:4
LQIT/JF-100	4-Cl	200-201	59.34	0.36	n-hex/ AcOEt 6:4

5.2 DADOS ESPECTROSCÓPICOS E ESPECTROMÉTRICOS DE IV E RMN ^{1}H E ^{13}C.

LQIT/JF-73



[(E)-[(quinolin-2-il)metilideno]amino]tiouréia.

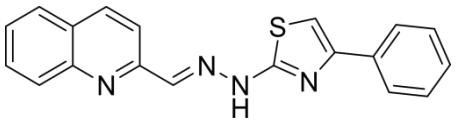
IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3392 (NH), 3262 (NH/NH_2), 1604 (C=N), 1527, 1501 (C=C aromático), 1056 (C=S).

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.79 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.45 (d, 1H, J= 8.68 Hz, CH quinolínico), 8.43 (s, 1H, NH tioamida), 8.35 (d, 1H, J= 8.76 Hz, CH quinolínico), 8.34 (s,

1H, NH tioamida), 8.23 (s, 1H, CH azometínico), 8.01 (d, 1H, J= 8.16 Hz, CH quinolínico), 7.97 (d, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.75 (t, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.60 (t, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico).

RMN 13C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178.94 (tioamida), 154.36 (C2 da quinolina), 147.78 (C9 da quinolina), 142.99 (azometínico).

LQIT/JF-76



2-[(1E)-[2-(4-fenil-1,3-tiazol-2-il)hidrazin-1-ilideno]metil]quinolina.

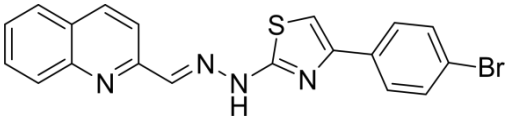
Fórmula molecular: $C_{19}H_{14}N_4S$; Massa molecular: 330.0939 g/mol.

IR, (ῡ/cm–1): 3437 (NH), 3060 (=C-H), 1555 (C=N), 1505, 1443 (C=C aromático)

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.60 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.39 (d, 1H, J= 8.68 Hz, CH quinolínico), 8.21 (s, 1H, CH azometínico), 8.03 (d, 1H, J= 8.64 Hz, CH quinolínico), 8.01 (d, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.98 (d, 1H, J= 8.32 Hz, CH quinolínico), 7.88 (d, 2H, J= 7.24 Hz, CH fenílico), 7.77 (t, 1H, J= 8.24 Hz, CH quinolínico), 7.60 (t, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.41 (s, 1H, CH tiazólico), 7.42 (t, 2H, J= 7.44 Hz, CH fenílico), 7.31 (t, 1H, J= 7.52 Hz, CH fenílico).

RMN 13C (100 MHz, DMSO-d_6): 167.64 (C2 quaternário do tiazol), 153.57 (C2 quaternário da quinolina), 147.39 (C9 quaternário da quinolina), 141.52 (C8 azometínico), 104.38 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-79



2-[(1E)-{2-[4-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}BrN_4S$; Massa molecular: 408.00 g/mol

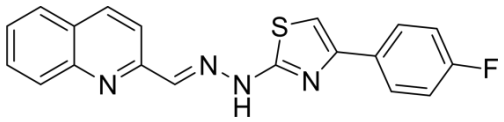
IR, (ῡ/cm–1): 3441 (NH), 3070 (=C-H), 1559 (C=N), 1517, 1444 (C=C aromático)

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.62 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.37 (d, 1H, J= 8.68 Hz, CH quinolínico), 8.20 (s, 1H, CH azometínico), 8.01 (d, 1H, J= 8.60 Hz, CH quinolínico),

8.00 (d, 1H, J= 8.44 Hz, CH quinolínico), 7.97 (d, 1H, J= 8.20 Hz, CH quinolínico), 7.82 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.76 (t, 1H, J= 7.28 Hz, CH quinolínico), 7.60 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.57 (t, 1H, J= não foi possível calcular, sinal sobreposto, CH quinolínico), 7.4787 (s, 1H, CH tiazólico).

RMN 13C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.27 (C2 quaternário do tiazol), 154.00 (C2 quaternário da quinolina), 147.87 (C9 quaternário da quinolina), 142.20 (C azometínico), 105.78 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-82:



2-[(1E)-{2-[4-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

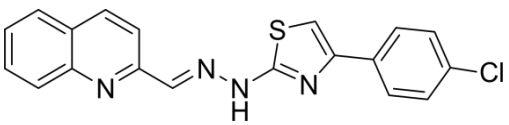
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}FN_4S$; Massa molecular: 348.0845 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3445 (NH), 3058 (=C-H), 1566 (C=N), 1486 (C=C aromático).

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.62 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.37 (d, 1H, J= 8.72 Hz, CH quinolínico), 8.19 (s, 1H, CH azometínico), 8.01 – 7.94 (m, 3H, CH quinolínico), 7.89 (dd, 2H, J= 8.76 Hz e 5.60 Hz, CH fenílico), 7.75 (t, 1H, J= 7.00 Hz, CH quinolínico), 7.58 (t, 1H, J= 7.04 Hz, CH quinolínico), 7.38 (s, 1H, CH tiazólico), 7.23 (t, 2H, J= 8.88 Hz CH fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.16 (C2 quaternário do tiazol), 154.00 (C2 quaternário da quinolina), 147.84 (C9 quaternário da quinolina), 142.06 (C azometínico), 104.66 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-91



2-[(1E)-{2-[4-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

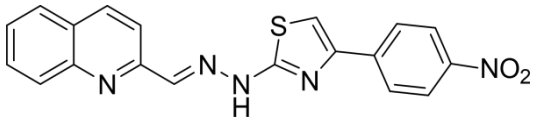
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}ClN_4S$; Massa molecular: 364.05 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3441 (NH), 3066 (=C-H), 1539 (C=N), 1503, 1439 (C=C aromático)

RMN 1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.62 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.38 (d, 1H, J= 8.64 Hz, CH quinolínico), 8.20 (s, 1H, CH azometínico), 8.02 (d, 1H, J= não foi possível calcular, CH quinolínico), 7.98 (d, 1H, J= não foi possível calcular, CH quinolínico), 7.95 (d, 1H, J= não foi possível calcular, CH quinolínico), 7.88 (d, 2H, J= 8.68 Hz, CH fenílico), 7.76 (t, 1H, J= 7.76 Hz, CH quinolínico), 7.59 (t, 1H, J= 7.76 Hz, CH quinolínico), 7.47 (s, 1H, CH tiazólico), 7.45 (d, 2H, J= não foi possível calcular, CH fenílico).

RMN 13C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.33 (C2 quaternário do tiazol), 154.03 (C2 quaternário da quinolina), 147.88 (C9 quaternário da quinolina), 142.18 (C azometínico), 105.68 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-105



2-({2-[4-(4-nitrofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-il}metil)quinolina.

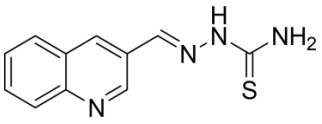
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}N_5O_2S$; Massa molecular: 375.07 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3433 (NH), 3065 (=C-H), 1549 (C=N), 1528, 1313 (N=O grupo nitro), 1510, 1440 (C=C aromático).

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): não apareceu o sinal do H hidrazínico, δ 8.38 (d, 1H, J= 8.76 Hz, CH quinolínico), 8.28 (d, 2H, J= 8.96 Hz, CH fenílico), 8.20 (s, 1H, CH azometínico), 8.12 (d, 2H, J= 8.96 Hz, CH fenílico), 8.02 (d, 1H, J= 8.68 Hz, CH quinolínico), 7.97 (t, 2H, J= 7.40 Hz, CH quinolínico), 7.77 (s, 1H, CH tiazólico), 7.76 (t, 1H, J= 7.00 Hz, CH quinolínico), 7.59 (t, 1H, J= 7.00 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): sinais com baixa intensidade não possibilitando a interpretação dos resultados.

LQIT/JF-74:



[(E)-[(quinolin-3-il)metilideno]amino]tiouréia.

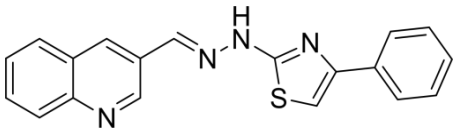
Fórmula molecular: $C_{11}H_{10}N_4S$; Massa molecular: 230.28 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3444 (NH/NH_2), 3264 (NH/NH_2), 1601 (C=N), 1541, 1462, 1401 (C=C aromático), 1056 (C=S).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.62 (s, 1H, NH azometínico), 9.47 (s, 1H, CH quinolínico), 8.59 (s, 1H, CH quinolínico), 8.30 (s, 1H, NH tioamida), 8.23 (s, 1H, CH azometínico), 8.22 (s, 1H, tioamida), 8.03 (d, 1H, J= 8.44 Hz, CH quinolínico), 7.98 (d, 1H, J= 8.44 Hz, CH quinolínico), 7.76 (t, 1H, J= 7.28 Hz, CH quinolínico), 7.62 (t, 1H, J= 7.32 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178.67 (C14 tioamida), 149.34 (C3 da quinolina), 148.15 (C10 da quinolina), 140.24 (C11 azometínico).

LQIT/JF-77



3-[(1E)-[2-(4-fenil-1,3-tiazol-2-il)hidrazin-1-ilideno]metil]quinolina.

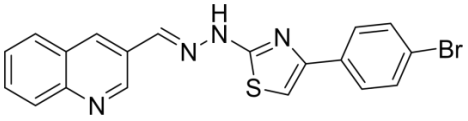
Fórmula molecular: $C_{19}H_{14}N_4S$; Massa molecular: 330.09 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3433 (NH), 3065 (=C-H), 1549 (C=N), 1510, 1440 (C=C aromático)

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 13.26 (s, 1H, NH hidrazínico), 9.20 (d, 1H, J= 5.68 Hz, CH quinolínico), 8.81 (s, 1H, CH azometínico), 8.74 (d, 1H, J = 8.42 Hz, CH quinolínico), 8.27 (d, 1H, J = 8.40 Hz, CH quinolínico), 8.22 (d, 1H, J= 7.80 Hz, CH quinolínico), 8.14 (t, 1H, J= 7.32 Hz, CH quinolínico), 8.00 (t, 1H, J= 7.76 Hz, CH quinolínico), 7.87 (d, 2H, J= 7.32 Hz, CH fenílico), 7.54 (s, 1H, CH tiazólico), 7.43 (t, 2H, J= 7.28 Hz, CH fenílico), 7.33 (t, 1H, J= 7.12 Hz, CH fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 167.13 (C2 quaternário do tiazol), 139.42 (C azometínico), 105.92 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-80



3-[(1E)-{2-[4-(4-bromofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

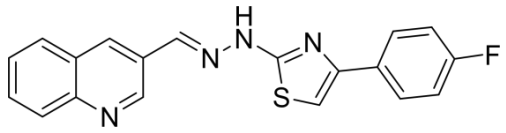
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}BrN_4S$; Massa molecular: 408.00 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3410 (NH), 3047 (=C-H), 1529 (C=N), 1508, 1431 (C=C aromático)

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.42 (s, 1H, NH hidrazínico), 9.24 (d, 1H, J= 2.08 Hz, CH quinolínico), 8.47 (d, 1H, J= 1.96 Hz, CH quinolínico), 8.22 (s, 1H, CH azometínico), 8.03 (d, 2H, J = 8.56 Hz, CH quinolínico), 7.81 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.76 (t, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.62 (t, 1H, J= 8.40 Hz, CH quinolínico), 7.59 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.44 (s, 1H, CH tiazólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.56 (C2 quaternário do tiazol), 139.43 (C azometínico), 105.41 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-83



3-[(1E)-{2-[4-(4-fluorofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

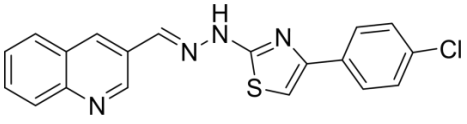
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}FN_4S$; Massa molecular: 348.08 g/mol

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3449 (NH), 3044 (=C-H), 1561 (C=N), 1479 (C=C aromático).

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.42 (s, 1H, NH hidrazínico), 9.26 (s, 1H, CH quinolínico), 8.48 (s, 1H, CH quinolínico), 8.24 (s, 1H, CH azometínico), 8.05 (d, 2H, J = 8.76 Hz, CH fenílico), 7.93 (d, 1H, J= 8.32 Hz, CH quinolínico), 7.89 (d, 1H, J= 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.77 (t, 1H, J= 7.88 Hz, CH quinolínico), 7.64 (t, 1H, J= 7.76 Hz, CH quinolínico), 7.36 (s, 1H, CH tiazólico), 7.24 (t, 2H, J= 8.72 Hz, fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.10 (C2 quaternário do tiazol), 138.81 (C azometínico), 103.77 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-92



3-[(1E)-{2-[4-(4-clorofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-yl]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

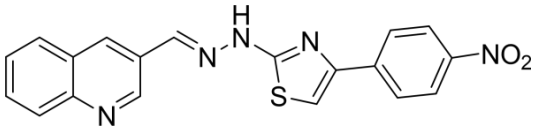
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}ClN_4S$; Massa molecular: 364.05 g/mol

IR, (ῡ/cm–1): 3430 (NH), 3062 (=C-H), 1537 (C=N), 1498, 1429 (C=C aromático)

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.45 (s, 1H, NH hidrazínico), 9.24 (s, 1H, CH quinolínico), 8.47 (s, 1H, CH quinolínico), 8.22 (s, 1H, CH azometínico), 8.02 (d, 2H, J = 8.24 Hz, CH quinolínico), 7.87 (d, 2H, J= 8.16 Hz, CH fenílico), 7.75 (t, 1H, J= 7.64 Hz, CH quinolínico), 7.62 (t, 1H, J= 7.76 Hz, CH quinolínico), 7.46 (d, 2H, J= 8.88 Hz, CH fenílico), 7.44 (s, 1H, CH tiazólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 167.65 (C2 quaternário do tiazol), 141.33 (C azometínico), 105.92 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-106



3-[(1E)-{2-[4-(4-nitrofenil)-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}methyl]quinolina.

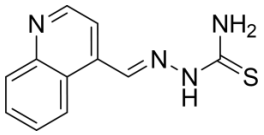
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}N_5O_2S$; Massa molecular: 375.07 g/mol

IR, (ῡ/cm–1): 3433 (NH), 3065 (=C-H), 1549 (C=N), 1538, 1317 (N=O grupo nitro), 1510, 1440 (C=C aromático).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12.51 (s, 1H, NH hidrazínico), 9.25 (d, 1H, J= 2.12 Hz, CH quinolínico), 8.50 (d, 1H, J= 1.95 Hz, CH quinolínico), 8.28 (d, 2H, J= 8.92 Hz, CH fenílico), 8.24 (s, 1H, CH azometínico), 8.12 (d, 2H, J= 8.88 Hz, CH fenílico), 8.03 (d, 2H, J = 8.56 Hz, CH quinolínico), 7.77 (t, 1H, J= 7.08 Hz, CH quinolínico), 7.76 (s, 1H, CH tiazólico), 7.63 (t, 1H, J= 7.88 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): não foi possível analisar.

LQIT/JF-75:



[(E)-[(quinolin-4-il)metilideno]amino]tiouréia.

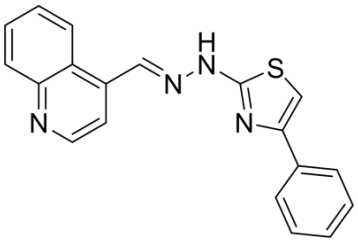
Fórmula molecular: $C_{11}H_{10}N_4S$; Massa molecular: 230.28 g/mol.

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3444 (NH/NH_2), 3145 (NH), 3095 (=C-H), 1601 (C=N), 1537, 1506 (C=C aromático), 1075 (C=S).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.69 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.93 (d, 1H, J= 4.64 Hz, CH quinolínico), 8.87 (s, 1H, CH azometínico), 8.48 (s, 1H, NH tioamida), 8.29 (d, 1H, J = 8.40 Hz, CH quinolínico), 8.21 (s, 1H, NH tioamida), 8.18 (d, 1H, J = 4.56 Hz, CH quinolínico), 8.08 (d, 1H, J= 8.40 Hz, CH quinolínico), 7.80 (t, 1H, J = 6.72 Hz, CH quinolínico), 7.70 (t, 1H, J = 7.76 Hz, CH quinolínico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 178.91 (C14 tioamida), 150.56 (C4 da quinolina), 148.82 (C10 da quinolina), 138.22 (C11 azometínico).

LQIT/JF-78



4-[(1*E*)-[2-(4-fenil-2,3-dihidro-1,3-tiazol-2-il)hidrazin-1-ilideno]metil]quinolina.

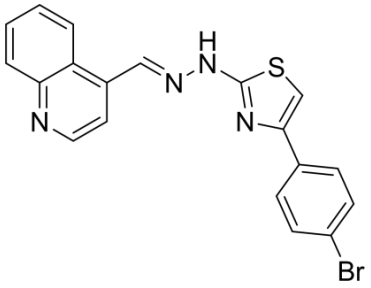
Fórmula molecular: $C_{19}H_{14}N_4S$; Massa molecular: 330,41 g/mol.

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3445 (NH), 3058 (=C-H), 1551 (C=N), 1443 (C=C aromático)

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 12.62 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.95 (d, 1H, J= 4.48 Hz, CH quinolínico), 8.70 (d, 1H, J= 8.48 Hz, CH quinolínico), 8.65 (s, 1H, CH azometínico), 8.01 (d, 1H, 8.36 Hz, CH quinolínico), 7.90 (d, 2H, J= 7.76 Hz, CH fenílico), 7.82 (t, 1H, J= 7.92 Hz, CH quinolínico), 7.77 (d, 1H, 4.48 Hz, CH quinolínico), 7.73 (t, 1H, J= 8.24 Hz, CH quinolínico), 7.45 (t, 2H, J= 8.00 Hz, CH fenílico), 7.43 (s, 1H, CH tiazólico), 7.32 (t, 1H, J= 8.08 Hz, CH fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 167.74 (C2 quaternário do tiazol), 150.80 (C5 quaternário do tiazol), 138.07 (C azometínico), 104.46 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-81



4-[(1Z)-{2-[4-(4-bromofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

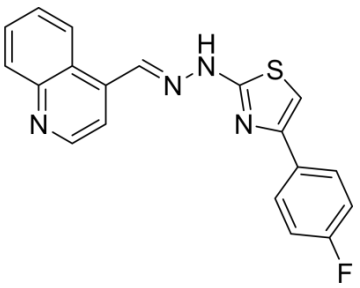
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}BrN_4S$; Massa molecular: 409,31 g/mol.

IR, (ῡ/cm–1): 3446 (NH), 3048 (=C-H), 1531 (C=N), 1453 (C=C aromático).

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 12.6720 (s, 1H, NH hirazínico), 8.9616 (d, 1H, J= 4.56 Hz, CH quinolínico), 8.66 (d, 1H, J= 8.28 Hz, CH quinolínico), 8.64 (s, 1H, CH azometínico), 8.08 (d, 1H, 8.28 Hz, CH quinolínico), 7.84 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.82 (t, 1H, J= 7.13 Hz, CH quinolínico), 7.75 (d, 1H, J= 8.84 Hz, CH quinolínico), 7.73 (t, 1H, J= 7.04 Hz, CH quinolínico), 7.62 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH benzílico), 7.51 (s, 1H, CH tiazólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 167.78 (C2 quaternário do tiazol), 149.48 (C5 quaternário do tiazol), 138.71 (C azometínico), 105.86 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-84



4-[(1Z)-{2-[4-(4-fluorofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinoline.

Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}FN_4S$; Massa molecular: 348,40 g/mol.

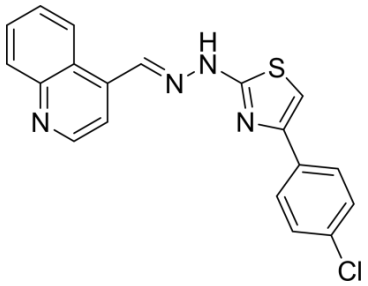
IR, (ῡ/cm–1): 3444 (NH), 3055 (=C-H), 1557 (C=N), 1439 (C=C aromático).

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 12.65 (s, 1H, NH hidrazínico), 8.94 (d, 1H, J= 4.56 Hz, CH quinolínico), 8.67 (d, 1H, J= 8.44 Hz, CH quinolínico), 8.63 (s, 1H, CH azometínico), 8.08 (d, 1H, 8.40 Hz, CH quinolínico), 7.90 (dd, 2H, J= 8.44 Hz, CH fenílico), 7.83 (t, 1H, J=

7.80 Hz, CH quinolínico), 7.76 (d, 1H, J= 4.56 Hz, CH quinolínico), 7.72 (t, 1H, J= 8.16 Hz, CH quinolínico), 7.40 (s, 1H, CH tiazólico), 7.24 (t, 2H, J= 8.84 Hz, CH fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.25 (C2 quaternário do tiazol), 150.70 (C5 quaternário do tiazol), 138.62 (C azometínico), 104.73 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-93



4-[(1Z)-{2-[4-(4-clorofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]quinolina.

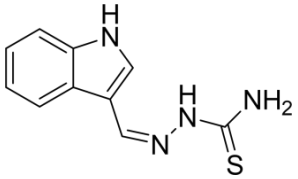
Fórmula molecular: $C_{19}H_{13}ClN_4S$; Massa molecular: 364,85 g/mol.

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3449 (NH), 3050 (=C-H), 1539 (C=N), 1433 (C=C aromático)

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 12.66 (s, 1H, NH hirazínico), 8.94 (d, 1H, J= 4.48 Hz, CH quinolínico), 8.67 (d, 1H, J= 7.68 Hz, CH quinolínico), 8.63 (s, 1H, CH azometínico), 8.08 (d, 1H, 8.32 Hz, CH quinolínico), 7.89 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH fenílico), 7.81 (t, 1H, J= 7.84 Hz, CH quinolínico), 7.75 (d, 1H, J= 4.56 Hz, CH quinolínico), 7.72 (t, 1H, J= 8.28 Hz, CH quinolínico), 7.48 (s, 1H, CH tiazólico), 7.45 (d, 2H, CH fenílico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): 168.32 (C2 quaternário do tiazol), 150.78 (C5 quaternário do tiazol), 138.69 (C azometínico), 105.78 (C4 do tiazol).

LQIT/JF-85



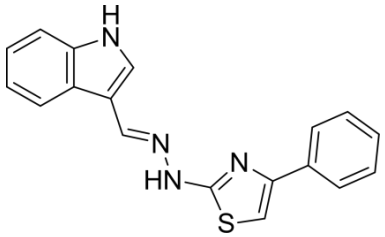
[(Z)-[(1H-indol-3-il)metilideno]amino]tiouréia.

Fórmula molecular: $C_{10}H_{10}N_4S$; Massa molecular: 218,28 g/mol.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.58 (s, 1H, NH hidrazínico), 11.16 (s, 1H, NH indólico), 8.30 (s, 1H, CH azometínico), 8.21 (d, 1H, J= 7.84 Hz, indólico), 8.00 (s, 1H, NH tioamida), 7.79 (d, 1H, J = 2.68 Hz, CH indólico), 7.42 (d, 1H, J= 8.20 Hz, CH indólico), 7.40 (s, 1H, NH tioamida), 7.18 (t, 1H, J= 8.12 Hz, CH indólico), 7.11 (t, 1H, J= 7.96 Hz, CH indólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 176.99 (tioamida), 141.28 (azometínico), 137.50 (C7a indol), 131.21 (C2 indol).

LQIT/JF-97



3-[(1Z)-[2-(4-fenil-1,3-tiazol-2-il)hidrazin-1-ilideno]metil]-1H-indol.

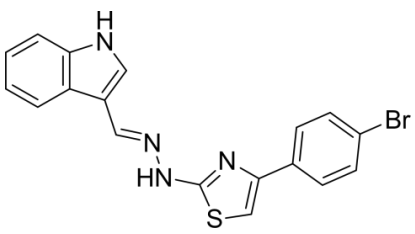
Fórmula molecular: $C_{18}H_{14}N_4S$; Massa molecular: 318,40 g/mol.

IR, (ῡ/cm–1): 3416 (NH), 3052 (=C-H), 1575 (C=N), 1505, 1477 (C=C aromático)

RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 11.79 (s, 1H, NH hidrazínico), 11.50 (s, 1H, NH indólico), 8.26 (s, 1H, CH azometínico), 8.24 (d, 1H, J= 7.64 Hz, indólico), 7.88 (d, 2H, J= 7.68 Hz, CH fenílico), 7.77 (d, 1H, J = 2.48 Hz, CH indólico), 7.46 (d, 1H, J= 7.64 Hz, CH indólico), 7.41 (t, 2H, CH fenílico), 7.26 (s, 1H, CH tiazólico), 7.20 (m, 2H, CH indólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 168.69 (C2 tiazol), 146.01 (C5 tiazol), 139.23 (C azometínico), 137.05 (C8 indol), 128.54 (C2 indol), 102.65 (C4 tiazol).

LQIT/JF-99



3-[(1Z)-{2-[4-(4-bromofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilideno}metil]-1H-indol.

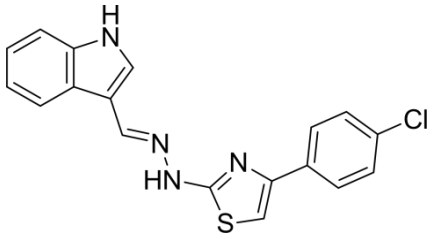
Fórmula molecular: $C_{18}H_{13}BrN_4S$; Massa molecular: 397,29 g/mol.

IR, ($\bar{\upsilon}$/cm–1): 3426 (NH), 3032 (=C-H), 1572 (C=N), 1500, 1479 (C=C aromático)

RMN ^{1}H (400 MHz, dmso): δ (ppm) 11.79 (s, 1H, NH hidrazínico), 11.50 (s, 1H, NH indólico), 8.24 (s, 1H, CH azometínico), 8.23 (d, 1H, J= 7.44 Hz, indólico), 7.80 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH benzílico), 7.75 (d, 1H, J= 2.52 Hz, CH indólico), 7.58 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH benzílico), 7.44 (d, 1H, J= 7.96 Hz, CH indólico), 7.32 (s, 1H, CH tiazólico), 7.18 (t, 2H, CH indólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, dmso): δ (ppm) 169.31 (C2 tiazol), 149.79 (C5 tiazol), 139.79 (C azometínico), 137.53 (C8 indol), 129.90 (C2 indol), 104.01 (C4 tiazol).

LQIT/JF-100



3-[(1Z)-{2-[4-(4-clorofenil)-1,3-tiazol-2-il]hidrazin-1-ilidene}metil]-1H-indol.

Fórmula molecular: $C_{18}H_{13}ClN_4S$; Massa molecular: 352,84 g/mol.

RMN ^{1}H (400 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 11.7935 (s, 1H, NH hidrazínico), 11.5063 (s, 1H, NH indólico), 8.27 (s, 1H, CH azometínico), 8.24 (d, 1H, J= 7.16 Hz, indólico), 7.87 (d, 2H, J= 8.48 Hz, CH benzílico), 7.75 (d, 1H, CH indólico), 7.45 (d, 2H, J= 8.4 Hz, CH fenílico), 7.45 (d, 1H, J= ???, CH indólico), 7.30 (s, 1H, CH tiazólico), 7.18 (m, 2H, CH indólico).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) 169.29 (C2 tiazol), 149.74 (C5 tiazol), 139.83 (C azometínico), 137.52 (C8 indol), 129.92 (C2 indol), 104.01 (C4 tiazol).

5.3 ESTUDO DO *DOCKING* MOLECULAR

Para o estudo de *docking*, analisando de forma global todas as soluções, é possível observar que o composto LQIT/JF-96 se destaca dos demais, conforme Tabela 4. O modo de ligação destes ligantes foi determinado como o maior *score* (mais positivo) entre todas as posições possíveis de cada ligante, geradas de acordo com a função de pontuação ChemPLP (KORB, STÜTZLE E EXNER, 2009).

Considerando os resultados apenas para a COX-1 é possível observar que as duas melhores soluções de *docking* foram obtidas com os isômeros *Z* (86,50) e *E* (75,05) do composto LQIT/JF-96, a diferença de 7,72 no valor de *score* da segunda melhor solução para a terceira (LQIT/JF-105_E) evidencia ainda mais a posição de destaque do composto LQIT/JF-96.

Já para os resultados com a COX-2, o composto LQIT/JF-96 ainda se sobressai, apresentando a melhor solução de *docking* com o isômero *E* (79,81), alcançando também a maior média de *score* (76,20) entre os dois isômeros de cada composto.

Tabela 4 - Sumário dos resultados de docking para os alvos COX-1 e COX-2.

	Isômero *E*		**Isômero *Z***	
Moléculas	**COX-1**	**COX-2**	**COX-1**	**COX-2**
LQIT/JF-73	51,00	57,80	51,54	52,37
LQIT/JF-74	51,09	52,50	53,34	51,95
LQIT/JF-75	57,05	53,46	51,97	56,61
LQIT/JF-76	60,55	70,22	59,20	75,51
LQIT/JF-77	61,80	65,63	63,15	73,55
LQIT/JF-78	57,63	67,93	59,20	70,01
LQIT/JF-79	61,74	68,19	60,61	71,79
LQIT/JF-80	61,48	62,91	56,25	72,25
LQIT/JF-81	60,07	66,47	52,43	72,48
LQIT/JF-82	60,98	69,92	59,65	71,97
LQIT/JF-83	66,04	64,42	62,39	71,63
LQIT/JF-84	60,72	66,56	64,11	70,27
LQIT/JF-85	52,72	51,99	54,04	50,90
LQIT/JF-91	65,11	64,90	60,75	73,93
LQIT/JF-92	65,18	61,39	54,68	72,67
LQIT/JF-93	64,61	68,07	55,79	70,14
LQIT/JF-96	75,05	79,81	86,50	72,59
LQIT/JF-97	57,26	66,31	63,47	68,59
LQIT/JF-99	66,84	67,49	53,05	66,94
LQIT/JF-100	67,24	67,52	63,17	67,63

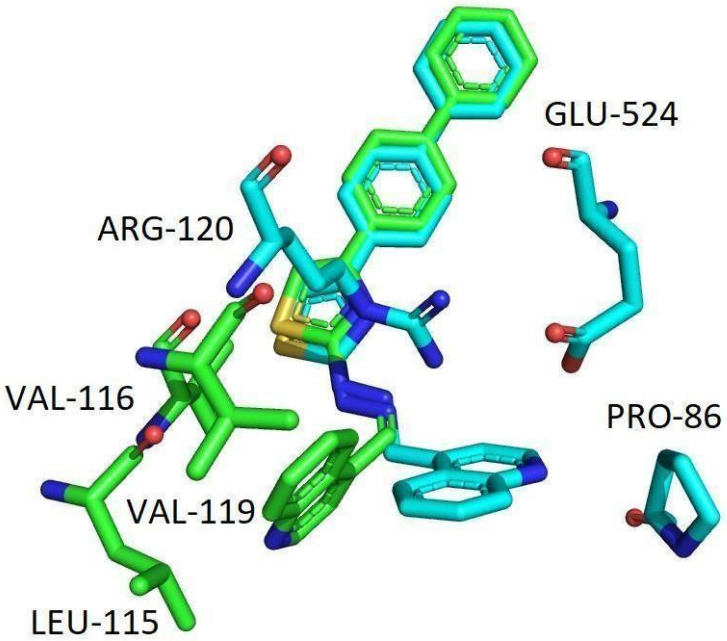
LQIT/JF-105	67,33	65,62	62,33	64,32
LQIT/JF-106	65,31	64,42	57,07	63,35

Com o intuito de compreender as razões intermoleculares que justifiquem esta posição de destaque, uma análise detalhada das soluções de *docking* para o composto LQIT-JF-96 foi realizada.

Uma análise comparativa entre os modos de ligação dos dois isômeros do composto LQIT/JF-96 frente a enzima COX-1, foi realizada com a finalidade de compreender as razões intermoleculares que justifiquem a diferença de *score* (11,45).

Como pode ser visto na Figura 15, a principal diferença no modo de ligação está na posição, dentro do sítio ativo da COX-1, em que o grupo quinolina se encaixa. O isômero *Z* apresenta uma maior afinidade pela COX-1 devido ao posicionamento do anel quinolínico dentro de um bolsão hidrofóbico, representado na figura pelos resíduos de aminoácidos LEU-115, VAL-116 e VAL-119. Já para o isômero *E*, o anel quinolínico se posiciona próximo a resíduos de aminoácidos polares, como ARG-120 e GLU-524, desfavorecendo assim a sua afinidade com a COX-1, quando comparada ao isômero *Z*.

Figura 15 - Comparação entre as soluções de docking com a enzima COX-1 para o composto LQIT-JF-96.



COX 1		
Resíduos	JF-96 E	JF-96 Z
PRO 86	CH	-
ILE 89	CH	CH
LEU 93	CH	CH
LEU 115	-	CH
VAL 116	-	CH
VAL 119	-	CH
ARG 120	Cátion-π	CH
VAL 349	CH	CH
LEU 352	CH	CH
TYR 355	π-T (2,7)	π-T (2,6)
LEU 359	CH	CH
TYR 385	CH	CH
TRP 387	CH	CH
PHE 518	CH	CH
GLY 526	CH	CH
ALA 527	CH	CH
SER 530	CH	CH
Score	75,05	86,50

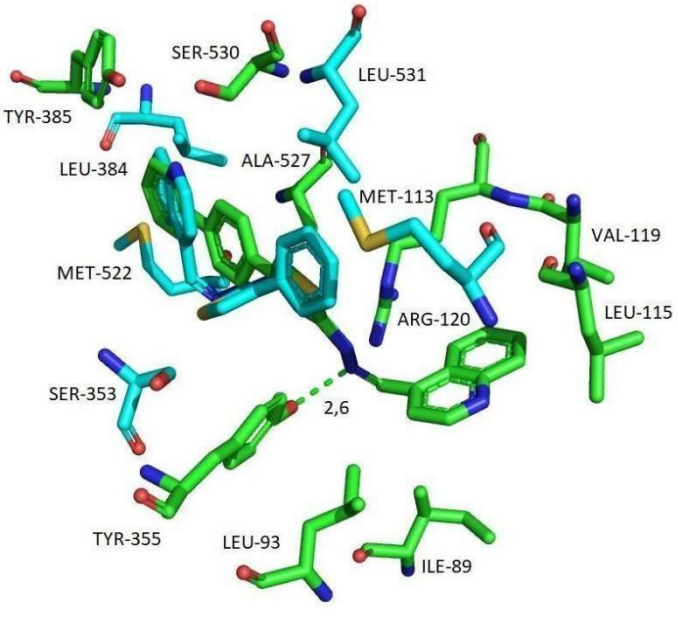
CH significa contatos hidrofóbicos, π-T empilhamento de elétrons π em forma de T, Cátion-π interação entre um cátion e elétrons π de um anel aromático, e os números são as distâncias das ligações de hidrogênio em angstroms.

O composto LQIT-JF-96 foi obtido a partir do intermediário LQIT-JF-75. Todos os compostos derivados deste intermediário apresentam um grupo fenil ligado ao anél tiazol, variando apenas o grupo substituinte na posição *para* deste anel. Portanto, para compreender a importância do substituinte fenil do composto LQIT/JF-96, no modo de ligação com a COX-1, foi feita a comparação deste com o modo de ligação do composto LQIT/JF-78, tendo este apenas um átomo de hidrogênio na mesma posição.

A presença do substituinte fenil faz com que o anel quinolínico do composto JF-96 se posicione dentro de uma cavidade hidrofóbica, representada na Figura 16 pelos resíduos de aminoácidos LEU-93, ILE-89, LEU-115, VAL-119, TYR-355. Esta conformação também permite a formação de uma ligação de hidrogênio com o resíduo TYR-355, com distância de 2,6 Å. Por outro lado, a ausência do grupo fenil no composto JF-78 não proporciona a formação de nenhuma ligação de hidrogênio, além de interagir hidrofobicamente com uma quantidade menor de resíduos de aminoácidos.

É importante destacar a possibilidade de ocorrer uma alternância no resíduo de aminoácido que participa da formação da ligação de hidrogênio com o composto LQIT/JF-96, em um momento sendo o resíduo TYR-355 e em outro o resíduo ARG-120.

Figura 16 - Comparação entre as soluções de docking com a enzima COX-1 para o isômero Z dos compostos LQIT-JF-96 e LQIT-JF-78.



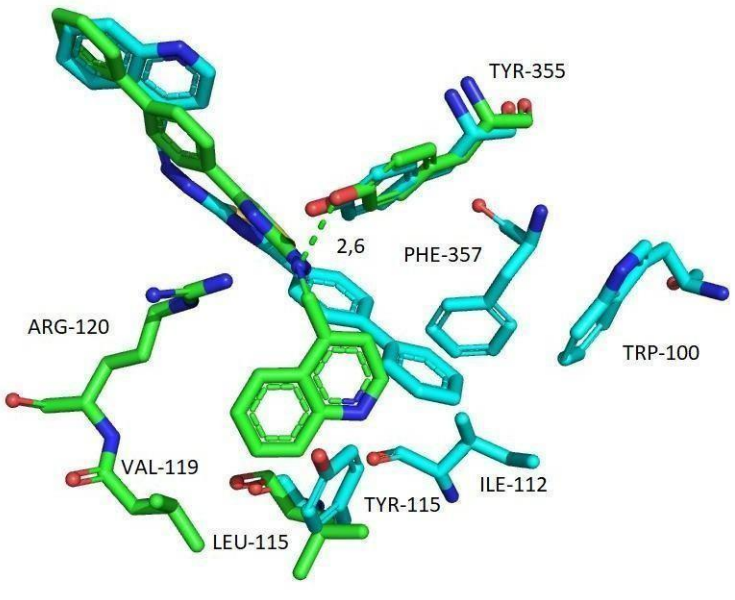
COX 1		
Resíduos	JF-78 Z	JF-96 Z
ILE 89	-	CH
LEU 93	-	CH
MET 113	CH	-
LEU 115	-	CH
VAL 116	CH	CH
VAL 119	-	CH
ARG 120	-	CH
VAL 349	CH	CH
LEU 352	CH	CH
SER 353	CH	-
TYR 355	-	π-T (2,6)
LEU 359	CH	CH
LEU 384	CH	-
TYR 385	-	CH
PHE 518	CH	CH
MET 522	CH	-
GLY 526	CH	CH
ALA 527	-	CH
SER 530	-	CH
LEU 531	CH	-
Score	59,20	86,50

CH significa contatos hidrofóbicos, π-T empilhamento de elétrons π em forma de T e os números são as distâncias das ligações de hidrogênio em angstroms.

A fim de compreender melhor as diferenças entre as enzimas COX-1 e COX-2, e principalmente, a influência dessas diferenças no modo de ligação do composto LQIT-JF-96, também foi realizada uma análise detalhada entre estes modos de ligação, como pode ser visto na Figura 17.

É possível observar que a presença do resíduo de aminoácido maior (tirosina) na posição 115 na enzima COX-2 no lugar de um resíduo de leucina na COX-1, promove um impedimento estérico que provoca uma inversão da orientação do isômero *Z* do composto dentro do sítio ativo destas enzimas. Esta inversão compromete a formação da ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido TYR-355 da COX-2.

Figura 17 - Comparação entre as soluções de docking com o isômero Z do composto LQIT-JF-96 frente as enzimas COX-1 e COX-2.



JF-96 Z		
Resíduos	COX-1	COX-2
ILE/VAL 89	CH	CH
LEU 93	CH	CH
TRP 100	-	CH
ILE 112	-	CH
LEU/TYR 115	CH	CH
VAL 116	CH	CH
VAL/SER 119	CH	-
ARG 120	CH	-
VAL 349	CH	CH
LEU 352	CH	CH
TYR 355	π-T (2,6)	π-T
PHE 357	-	CH
LEU 359	CH	CH
TYR 385	CH	CH
TRP 387	CH	CH
PHE 518	CH	CH
GLY 526	CH	CH
ALA 527	CH	CH
SER 530	CH	CH
Score	86,50	72,59

CH significa contatos hidrofóbicos, π-T empilhamento de elétrons π em forma de T e os números são as distâncias das ligações de hidrogênio em angstroms.

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA NA *LEISHMANIA AMAZONENSIS*.

O resultado da atividade leishmanicida *in vitro* para os derivados tiazólicos sintetizados e a miltefosina, composto de referência para comparação dos resultados estão

exibidos na Tabela 5. Os números demonstram a concentração citotóxica dos compostos em macrófagos, CC_{50}; a concentração necessária para reduzir o crescimento populacional pela metade, IC_{50}, em células do parasita nas formas promastigota e amastigota; bem como o índice de seletividade (IS= CC_{50}/ IC_{50}) entre células sadias de mamíferos e as do parasito. Dentre os dezesseis compostos avaliados, cinco tiveram resultados relevantes frente a forma amastigota (LQIT-JF-76, 77, 78, 84 e 91) e dois (LQIT-JF-77 e 84), desses cinco, apresentaram valores significativos para ambas as formas infectantes quando comparados com o controle positivo. Tal evidência anti-leishmania foi observada por Silva 2003, quando relatou a atividade *in vitro* de compostos Ftalil-hidrazona-tiazóis contra promastigotas da *L. amazonensis*. Os derivados tiazólicos que apresentaram melhores resultados para a atividade leishmanicida, nas duas formas evolutivas, estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 5 - Resultados citotóxico e leishmanicida dos derivados tiazólicos.

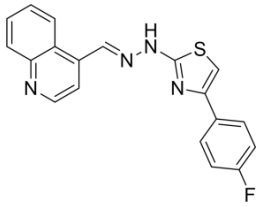
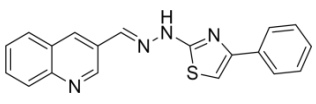
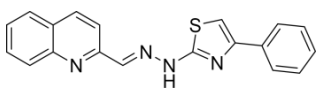
	Concentração (µM)				
Compostos	**CC_{50}** Macrófagos	**IC_{50}** (Promastigota)	**IC_{50}** (Amastigota)	**IS** Promastigota	**IS** Amastigota
Miltefosina	56,67	ND	219,05	-----	0,25
LQIT-JF-76	605,315	605,315	179,658	1,00	3,37
LQIT-JF-77	605,315	55,992	63,891	10,81	9,47
LQIT-JF-78	605,315	605,315	184,228	1,00	3,29
LQIT-JF-79	ND	488,636	62,399	-----	-----
LQIT-JF-81	488,636	488,636	130,759	1,00	3,74
LQIT-JF-82	98,307	182,665	87,400	0,54	1,12
LQIT-JF-83	ND	49,599	142,826	-----	-----
LQIT-JF-84	574,058	81,373	50,517	7,05	11,36
LQIT-JF-91	99,328	121,639	72,769	0,82	1,36
LQIT-JF-92	96,944	548,169	244,428	0,18	0,40
LQIT-JF-93	48,403	548,169	103,741	0,09	0,47
LQIT-JF-97	ND	10,898	38,317	-----	-----
LQIT-JF-99	22,276	9,514	ND	2,34	-----
LQIT-JF-100	ND	9,664	29,560	-----	-----
LQIT-JF-105	28,796	532,760	76,904	0,05	0,37
LQIT-JF-106	44,459	532,760	142,034	0,08	0,31

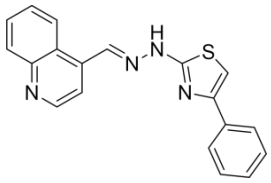
Ainda comparando os dados da Tabela 5, pode-se observar que metade dos tiazóis sintetizados apresentaram citotoxicidade mais baixa (LQIT-JF-92, CC_{50} = 96,94 µM) do que a miltefosina (CC_{50} = 56,67 µM). Ao avaliar o IC_{50}, foi possível constatar que na forma infectante amastigota, pelo menos, o valor encontrado para o fármaco de referência (IC_{50} = 219,05 µM) é maior do que todas as cinco moléculas elencadas (IC_{50} = 184,23 µM) como sendo as mais promissoras. Isso significa que as moléculas sintetizadas apresentam uma

atividade leishmanicida maior do que a miltefosina (para a metodologia empregada nos ensaios), pois necessitam de uma concentração molar menor do que a do fármaco de referência para inibir a proliferação da carga parasitária (Tabela 6).

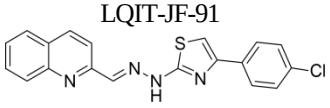
Os tiazóis sintetizados apresentam um baixo grau de liberdade no que diz respeito a rotação das suas ligações químicas. O *scaffold* destas moléculas demostra uma coplanaridade entre o núcleo tiazol e as quinolinas/indóis que podem interferir na atividade leishmanicida destes compostos. Um bom exemplo são os derivados mais ativos da série, o LQIT-JF-84 e 77, os quais apresentam uma variação na posição de substituição do anel quinolínico; onde, no LQIT-JF 84, o C4 do anel quinolínico está ligado a função hidrazínica da molécula; e no LQIT-JF-77, encontra-se substituído na posição C3 do anel. Esta sutil diferença pode ser suficiente para alterar a superfície de contato entre o fármaco e o receptor causando variações no potencial leishmanicida bem como na seletividade das moléculas. É certo que ambas as estruturas possuem um grupo fenil na outra extremidade da molécula com substituintes distintos na posição 4 (flúor e hidrogênio, respectivamente) que poderiam influenciar e tornar melhor a atividade do LQIT-JF-84.

Tabela 6 - Moléculas com maior potencial leishmanicida frente as duas formas infectantes.

Compostos	Concentração (µM)			**IS**	**IS**
	~~CC_{50}~~ Macrófagos	**IC_{50}** (Promastigota)	**IC_{50}** (Amastigota)	Promastigota	Amastigota
Miltefosina	56,67	ND	219,05	-----	0,25
LQIT-JF-84					
	574,58	81,373	50,517	7,05	11,36
LQIT-JF-77					
	605,315	55,992	63,891	10,81	9,47
LQIT-JF-76					
	605,315	605,315	179,658	1,00	3,37
LQIT-JF-78	605,315	605,315	184,228	1,00	3,29



LQIT-JF-91



99,328	121,639	72,769	0,82	1,36

Thomas 2007 evidenciou que o uso de átomos halogênios, como F, Cl e Br, aumentam a hidrofobicidade destes compostos permitindo uma penetração mais eficiente sobre as camadas lipídicas. Desta forma, é razoável admitir que tal característica favoreça a passagem dos compostos LQIT-JFs pela membrana celular do parasita causando danos e os conduzindo à morte. Seguindo esta linha de raciocínio, esperar-se-ia que os compostos LQIT-JF-81 e 93 tivessem atividades semelhantes ao LQIT-JF-84, porém não se observa tal comportamento. A justificativa pode estar associada ao volume dos halogênios empregados, bem como aos efeitos eletrônicos associados a cada um deles. O átomo de flúor, por exemplo, é o que possui menor raio atômico dentre eles (consequentemente um menor volume) e a melhor atividade entre os compostos mencionados.

Outro fator relevante a se destacar é a presença do grupo quinolínico especificamente. Por sua planaridade estrutural sabe-se que estas moléculas dispõem de uma facilidade em interagir com enzimas do tipo topoisomerase. As topoisomerases possuem grande importância em numerosos processos biológicos, como reparação, combinação, transcrição e replicação do DNA. Embora estas enzimas estejam presentes em todos os organismos, as topoisomerases de cinetoplastídeos apresentam algumas especificidades que diferenciam a enzima do parasita de suas contrapartes procarióticas e eucarióticas (DAS et al., 2004). Há dois tipos de topoisomerases que são diferenciadas como a topoisomerase tipo I e a tipo II as quais possuem mecanismos distintos de funcionamento. A tipo I é independente do adenosina-tri-fosfato (ATP) e está presente no cinetoplasto bem como no núcleo. Enquanto que a tipo II pode ou não depender do ATP. Alguns estudos com alcaloides contendo o grupo quinolina (indenoisoquinolina) têm sido descritos na literatura como inibidores de topoisomerases de *Leishmania* (BALAÑA-FOUCE et al., 2012).

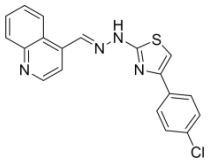
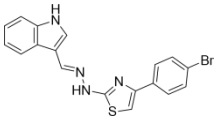
Ao analisar o índice de seletividade (Tabela 5), foi demonstrado que todas as moléculas avaliadas, frente a forma infectante amastigota, foram mais seletivas para o parasita do que para os macrófagos, exceto as não determinadas (ND). As moléculas com maiores IS (LQIT-JF-77, IS = 9,47; LQIT-JF-84, IS = 11,36) também foram aquelas que apresentaram

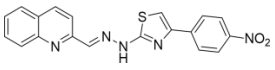
importante potencial anti-leishmania na forma amastigota. Analisando esses índices de seletividade, foi possível constatar que o LQIT-JF-77 é 37 vezes mais seletivo para células infectadas do que a miltefosina (IS = 0,25) e o LQIT-JF-84 demonstra ser 45 vezes mais específico que o fármaco de referência (ambos para a forma amastigota). Valores semelhantes também foram observados na forma promastigota para os mesmos compostos LQIT-JF-77 e LQIT-JF-84, (IS = 10,8 e 7,05 respectivamente), no entanto, para esta forma infecciosa, esses derivados tiazólicos não são os que mostraram a melhor atividade leishmanicida.

As moléculas LQIT-JF-99 e 100, demonstraram concentrações de inibição iguais a 9,51 µM e 9,66 µM, respectivamente, mas não se pode afirmar que estes achados seriam melhores ou piores do que o da miltefosina uma vez que não fora determinada a IC_{50} da miltefosina na forma promastigota.

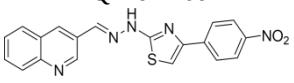
Entretanto, contrapondo-se a valores interessantes de IC_{50} baixos, a CC_{50} do LQIT-JF-99 é mais elevada (22,27 µM, Tabela 7) do que a exibida para a miltefosina (56,67 µM), bem como possui um IS tão baixo quanto o controle positivo. Mesmo com a não determinação dos dados de CC_{50} para o derivado tiazólico LQIT-JF-100 (e IC_{50} amastigota para o LQIT-JF-99), é possível fazer uma extrapolação e sugerir que o resultado esperado possa ser bem próximo do seu análogo estrutural LQIT-JF-99. Isso é visto ao comparar o IC_{50} das moléculas e notar praticamente o mesmo valor para o potencial leishmanicida (Tabela 7).

Tabela 7 - Estrutura dos compostos que apresentaram elevada citotoxicidade em macrófagos RAW-264.7

	Concentração (µM)		
Compostos	**CC_{50}** Macrófagos	**IS** Promastigota	**IS** Amastigota
Miltefosina	56,67	-----	0,25
LQIT-JF-93 	48,403	0,09	0,47
LQIT-JF-99 	22,276	2,34	-----
LQIT-JF-105	28,796	0,05	0,37



LQIT-JF-106



44,459 0,08 0,31

As estruturas diferem uma da outra apenas pelo padrão de substituição do halogênio na posição 4 do anel fenílico, evidenciando que o tamanho do átomo, bem como os efeitos eletrônicos associados a estes, não fora eficiente em causar alterações na seletividade tampouco na atividade leishmanicida. Vale salientar que um critério bastante relevante na pesquisa de novos candidatos a fármaco, com atividade leishmanicida, é a baixa citotoxicidade às células de mamíferos (BHARGAVA; SINGH, 2012) e para alguns compostos deste estudo não foi possível determina-las ou apresentaram baixa seletividade. Derivados substituídos, na posição 3 do anel tiazólico, por radicais 4-nitro-fenzil demonstraram alta citotoxicidade aos macrófagos da linhagem RAW-264.7 e baixo potencial leishmanicida para ambas as formas infectantes de *Leishmania amazonensis*.

6. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados encontrados até o presente momento é possível concluir que a metodologia empregada para a síntese de novos compostos tiossemicarbazônicos e tiazólicos, para a maior parte deles, mostrou-se eficiente com rendimentos variando, em média, entre 40% e 60%. As sínteses não demandam mais que duas horas, para os intermediários, e menos que 24h para os compostos finais, o que é bastante relevante quando levado em conta o número de moléculas já sintetizadas e as que serão obtidas.

A caracterização dos compostos comprova que o equilíbrio tiona / tiol não pode ser detectado, pelas técnicas de FTIR e RMN ^{1}H e ^{13}C. A ausência de sinais nas duas técnicas espectroscópicas para a forma tiol e a ocorrência de bandas e picos que apontam para a forma tiona, comprovam as estruturas elucidadas neste trabalho, incluindo as informações sobre as conformações *sin* e *anti* periplanar para as moléculas tiossemicarbazônicas, como sendo as mais prováveis propostas neste estudo.

Quanto a elucidação estrutural dos compostos dois deslocamentos químicos, no RMN ^{1}H, permitem a confirmação do sucesso nas reações de condensação, para os intermediários, e a cilcização para os compostos finais; estes são dos hidrogênios azometínico e o tiazólico, respectivamente. A configuração das moléculas não pode ser precisada através das técnicas de caracterização empregadas e necessita ser esclarecida visando o ineditismo destes compostos e as atividades biológicas vinculadas a estes. Contudo, fica evidente que há apenas uma forma isomérica presente nos produtos obtidos.

O estudo teórico das estruturas mostra um menor calor de formação para todas as moléculas na configuração *Z* e na conformação *anti*, sugerindo, da perspectiva *in silico*, a preferência por este arranjo molecular. O composto LQIT/JF-96 foi escolhido por apresentar melhor *score* na afinidade tanto pela COX-1 quanto pela COX-2. Seu isômero na configuração *Z* mostrou maior afinidade pelos resíduos de aminoácidos da COX-1 quando comparado com o *E*. Isso pode sugerir uma possível seletividade do LQIT/JF-96 por essa enzima.

A avaliação dos ensaios biológicos *in vitro* mostra que de todos os compostos testados, (18 derivados) metade foi menos citotóxico para células de mamíferos e apresentaram maior atividade leismanicida e seletividade, quando comparados com a miltefosina. Dois compostos (LQIT-JF-77 e 84) apresentaram resultados melhores do que o controle positivo. Estes dados de CC_{50} e IC_{50} evidenciam que além de serem menos citotóxicos do que o fármaco de referência, a atividade leishmanicida, frente ao parasita da espécie *L. amazonensis*, foi maior

para ambas as formas infectantes da doença. Outros três compostos, os LQIT-JF-76, 78 e 91, também apresentaram melhores resultados que a miltefosina, tanto para a citotoxicidade quanto para o potencial anti-leishmania. Isso credencia os compostos sintetizados a avançarem nos estudos biológicos.

7. PERSPECTIVAS

As próximas etapas para a continuação dessa pesquisa serão retomadas imediatamente após as considerações da banca examinadora com as sugestões e correções para a melhoria deste manuscrito.

Os estudos teóricos visando buscar as estruturas mais estáveis terão continuidade para todos os derivados sintetizados ao passo que alguns compostos serão selecionados e terão seus parâmetros calculados pelo método semi-empírico de química quântica RM1. Efetuar cálculos de *docking* molecular flexíveis, considerando assim o ajuste induzido das enzimas COX-1 e COX-2, para os compostos já caracterizados.

Os ensaios *in vitro* com COX-1 e COX-2 deverão ser realizados com base nos compostos que tiveram resultados mais promissores na etapa *in silico* do trabalho, afim de poupar tempo e recurso nesta fase da pesquisa. Algumas moléculas com resultados pouco promissores nos ensaios biológicos também serão testadas *in silico*.

Avançar nos estudos biológicos com os LQIT-JFs afim de testá-los frente a outras espécies de *Leishmania*, avaliando sua citotoxicidade e potencial leishmanicida e buscar elucidar o mecanismo de ação mais provável para sua atividade anti-leishmania.

REFERÊNCIAS

AKOPYANTS, N. S., KIMBLIN, N., SECUNDINO, N., PATRICK, R., PETERS, N., LAWYER, P., DOBSON, D. E., BEVERLEY, S. M., SACKS, D. L. Demonstration of genetic exchange during cyclical development of *Leishmania* in the sand fly vector. **Science** v. *324*, p. 265-268, 2009.

MARELLA, A., O. P. TANWAR, R. SAHA, M. R. ALI, S. SRIVASTAVA, M. AKHTER, M. SHAQUIQUZZAMAN AND M. M. ALAM. "Quinoline: A versatile heterocyclic." **Saudi Pharmaceutical Journal.** v.21(1), p. 1-12, 2013.

COA, J. C., W. CASTRILLÓN, W. CARDONA, M. CARDA, V. OSPINA, J. A. MUÑOZ, I. D. VÉLEZ AND S. M. ROBLEDO. "Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activity of quinolinehydrazone hybrids." **European Journal of Medicinal Chemistry** v. 101, p. 746-753, 2015.

LIU, X.-H., J. LI, J. B. SHI, B.-A. SONG AND X.-B. QI. "Design and synthesis of novel 5-phenyl-N-piperidine ethanone containing 4,5- dihydropyrazole derivatives as potential antitumor agents." **European Journal of Medicinal Chemistry** v. 51, p. 294-299, 2012.

DAS, A., DASGUPTA, A., SENGUPTA, T., MAJUMDER, H. K.. Topoisomerases of kinetoplastid parasites as potential chemotherapeutic targets. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20, n. 8, p. 381-387, 2004.

BALAÑA-FOUNCE, R. CALVO-ÁLVAREZ, E., ÁLVAREZ-VELILLA, R., PRADA, C. F., PÉREZ-PERTEJO, Y., REGUERA, R. M. Role of trypanosomatids arginase in polyamine biosynthesis and pathogenesis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 181, n. 2, p. 85 – 93, 2012.

ALANAZI, A. M. et al. Structure-based design of phthalimide derivatives as potential cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: Anti-inflammatory and analgesic activities. **European Journal of Medicinal Chemistry** v. 92, p. 115–123, 2015.

ALVAR, J. *et al*. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE*, v. 7, n. 5, 2012.

AMER, A. O., SWANSON, M. S. A phagosome of one's own: a microbial guide to life in the macrophage. **Curr Opin Microbiol** 5, 56-61, 2002.

ANDRICOPULO, A. D. et al. Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. **Curr. Top. Med. Chem**., v.9, n.9, p.771-90, 2009.

ANTINORI, S., SCHIFANELLA, L., CORBELLINO, M. Leishmaniasis: new insights from an old and neglected disease. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** *31*, 109-118, 2012.

AQUINO, T.M. Síntese e Avaliação das Atividades Anti-Toxoplasma gondii e Antimicrobiana de Benzaldeído 4-Fenil-3-tiossemicarbazonas e Derivados 2[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

ASHTON, W. T.; CANTONE, C. L.; CHANG, L. L.; HUTCHINS, S. M.; STRELITZ,BARREIRO, E.J. E BALZANI, C.A.M. Biodiversidade: fonte e inspiração para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

AZEREDO-COUTINHO, R. B., CONCEICAO-SILVA, F., SCHUBACH, A., CUPOLILLO, E., QUINTELLA, L. P., MADEIRA, M. F., PACHECO, R. S., VALETE-ROSALINO, C. M., MENDONCA, S. C. First report of diffuse cutaneous *Leishmania*sis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. **Trans R Soc Trop Med Hyg** *101*, 735-737, 2007.

BANULS, A. L., HIDE, M., PRUGNOLLE, F. *Leishmania* and the Leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. **Adv Parasitol** *64*, 1-109, 2007.

BARREIRO, E.J. Estratégia de Simplificação Molecular no Planejamento Racional de Fármacos: A Descoberta de Novo Agente Cardioativo. ***Química Nova,*** v. 25, n. 6, 2002.

BERNHARDT, P.V., SHARPE, P.C.; ISLAM, M.; LOVEJOY, D.S.; KALINOWSKI, D.S.; RICHARDSON, D.R. Iron chelators of the dipyridylketone thiosemicarbazone class: precomplexation and transmetalation effects on anticancer activity. ***Journal of Medicinal Chemistry***, v. 52, p. 407-415, 2009.

BEVERLEY, S. M. Protozomics: trypanosomatid parasite genetics comes of age. **Nat Rev Genet** *4*, 11-19, 2003.

BOTTEGONI, G.; FAVIA, A.D.; RECANATINI, M.; CAVALLI, A The role of fragment-based and computacional methods in polypharmacology. ***Drug Discovery Today***, v. 17, p. 23-34, 2012.

CASAS, J.S.; GARCÍA-TASENDE, M.S.; SORDO, J. Main group metal complexes of semicarbazones and thiosemicarbazones. A structural review. ***Coordination Chemistry Reviews***, v. 209, p. 197–261, 2000.

CHATTOPADHYAY, D.; MAZUMDAR, S. K.; BANERJEE, T.; SHELDRICK, W. S.; **Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun**., 45, 314, 1989.

CINGOLANI, G. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Structural basis for selective inhibition of Cyclooxygenase-1 (COX-1) by diarylisoxazoles mofezolac and 3- (5-chlorofuran-2-yl)-5-methyl-4-phenylisoxazole (P6). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 661–668, 2017.

COSTA, C. H., GOMES, R. B., SILVA, M. R., GARCEZ, L. M., RAMOS, P. K., SANTOS, R. S., SHAW, J. J., DAVID, J. R., MAGUIRE, J. H. Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. **J Infect Dis** *182*, 997-1000, 2000.

CROFT, S.L.; ENGEL, J. Miltefosine-descovery of the antileishmanial activity of phospholipid derivatives. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. v. 1, p. 4-8, 2006.

CUNHA, S.; SANTOS, A.O.; SILVA, T.L. Tiossemicarbazonas: Aspectos Estruturais, Farmacológicos e Sintéticos. ***Revista Processos Químicos***, p. 50-55, 2011.

DAWOOD, D.H.; BATRAN, R.Z.; FARGHALY, T.A.; KHEDR, M.A.; ABDULLA, M.M. New Coumarin Derivatives as Potent Selective COX-2 Inhibitors: Synthesis, Anti-Inflammatory, QSAR, and Molecular Modeling Studies. ***Arch. Pharm. Chem. Life Sci***., v. 348, p. 1–14, 2015.

DORLO, T. P. C.; BALASEGARAM, M.; BEIJNEN, J. H.; VRIES, P. J. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of lesishmaniasis. **J. Antimicrob. Chemother.** v. 67(11), p. 2679 – 97, 2012.

EILB, H.; UNGER, C. Hexadecylphosphocholine: a new and seletive antitumor drug. **Cancer Treat. Ver.** v. 12, p. 233 – 242, 1990.

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

GOLLOB, K. J., VIANA, A. G., DUTRA, W. O. Immunoregulation in human American *Leishmania*sis: balancing pathology and protection. **Parasite Immunol** *36*, 367- 376, 2014.

GOMES, P. A. T. DE M. et al. Phthalimido-thiazoles as building blocks and their effects on the growth and morphology of Trypanosoma cruzi. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. January, p. 1–12, 2016.

GOTO, H., LAULETTA LINDOSO, J. A. Cutaneous and mucocutaneous Leishmaniasis. **Infect Dis Clin North Am** *26*, 293-307, 2012.

GUIDO, R. V. C. et al. Virtual screening and its integration with modern drug design technologies. ***Curr. Med. Chem***., v.15, n.1, p.37-46, 2008.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. ***Rev. Proc. Quim***., v.2, n.4, p.24-26, 2008.

GÜRSOY, A.; TERZIOGLU, N.; ÖTUK, G. Synthesis of Some New Hydrazide-hydrazones, Thiosemicarbazides and Thiazolidinones as Possible Antimicrobials. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 32, p. 753-757, 1997.

HARMET, J. J. et al. Phenolic thiazoles as novel orally-active neuroprotective agents. **Bioorq Med. Chem**. V. 14, 2004.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. ***Journal of Pediatrics***, v.82, n.5, 2006.

HOLLA, B. S.; MALINI, K. V.; RAO, B. S.; SAROJINI, B. K.; KUMARI, N. S. Synthesis of Some New 2,4-Disubstituted Thiazoles as Possible Antibacterial and Anti-inflammatory Agents. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 38, p. 313-318, 2003.

JHINGRAN, A., CHATTERJEE, M., MADHUBALA, R. Leishmaniasis: Epidemiological Trends and Diagnosis, **In: *Leishmania* after the Genome**, P. J. Myler, and N. Fasel, eds. (Norfolk: Caister Academic Press), pp. 307, 2008.

JONES, G. et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. Journal of molecular biology, v. 267, n. 3, p. 727–48, 4 abr. 1997.

KARAH, N. Synthesis and Primary Citotoxicity Evaluation of New 5-Nitroindole-2,3-dione Derivatives. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 37, p. 909-918, 2002.

KORB, O.; STÜTZLE, T.; EXNER, T. E. Empirical scoring functions for advanced protein-ligand docking with PLANTS. Journal of chemical information and modeling, v. 49, n. 1, p. 84–96, jan. 2009.

KRISHNAMOORTHY, S.; HONN, K. Inflammation and disease progression. ***Cancer Metastasis Rev***., 25, 481–491, 2006.

LABER, B. et al. Inhibition of Narcissus pseudonarcissus Phytoene Desaturase by Herbicidal 3-Trifluoromethyl-1 , 1 J -biphenyl Derivatives. v. 184, p. 173–184, 1999.

LAVECCHIA, A.; CARMEN CERCHIA, C. *In silico* methods to address polypharmacology: current status, applications and future perspectives. ***Drug Discovery Today***, v. 21, p. 288-298, 2016.

LECOUTEY, C.; HEDOU, D.; FRERET, T.; GIANNONI, P.; GAVEN, F.; SINCE, M.; BOUET, V.; BALLANDONNE, C.; CORVAISIER, S.; MALZERT FRÉON, A.; MIGNANI, S.; CRESTEIL, T.; BOULOUARD, M.; CLAEYSEN, S.; ROCHAIS C.; DALLEMAGNE, P. Design of donecopride, a dual serotonin subtype 4 receptor agonist/acetylcholinesterase inhibitor with potential interest for Alzheimer's disease treatment. ***Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A***., v. 111, p. 3825-3830, 2014.

LEVAL, X.; DELARGE, J.; SOMERS, F.; TULLIO, P.; HENROTIN, Y.; PIROTTE, B.; DOGNÉ, J.M. **Current Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 1041-1062, 2000.

LOBANA, T.S.; SHARMA, R.; BAWA, G.; KHANNA, S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals—An overview. ***Coordination Chemistry Reviews***, v. 253, p. 977–1055, 2009.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. 3rd. The role of the medicinal chemist in drug discovery then and now. ***Nat. Rev. Drug Discov***., v.3, n.10, p.853-62, 2004.

MARNETT, L.; ROWLINSON, S.W.; GOODWIN, D.C.; KALGUTKAR, A .S.; LANZO, C.A . **The Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 33, p. 22903-22906, 1999.

MARTINEZ, P. A., PETERSEN, C. A. Chronic infection by *Leishmania amazonenses* mediated through MAPK ERK mechanisms. **Immunol Res** *59*, 153-165, 2014.

MATESANZ, A.I.; LEITAO, I.; SOUZA, P. Palladium (II) and platinum (II) bis (thiosemicarbazone) complexes of the 2,6-diacetylpyridine series with high cytotoxic activity in cisplatin resistant A2780cisR tumor cells and reduced toxicity. ***Journal of Inorganic Biochemistry***, v. 125. p. 23-31, 2013.

MCGWIRE, B. S., SATOSKAR, A. R. *Leishmania*sis: clinical syndromes and treatment. **QJM**, 2013.

MOREIRA, D. R. M.; OLIVEIRA, A. D. T.; GOMES, P. A. T. M.; SIMONE, C. A.; VILLELA, F. S.; FERREIRA, R. S.; SILVA, A. C.; SANTOS, T. A. R.; CASTRO, M. C. A. B.; PEREIRA, V. R. A.; LEITE, A. C. L. Conformational restriction of aryl thiosemicarbazones produces potent and selective anti-Trypanosoma cruzi compounds which induce apoptotic parasite death. ***European Journal of Medicinal Chemistry***. v.75, p.467-478. 2014.

MYLER, P. J., FASEL, N. *Leishmania* after the Genome (Norfolk: Caister Academic Press), 2008.

Naveen, R.K.T.; Ghule V.D.; Nikhil Kumar, Lokesh Kumar, Kashmiri Lal, and Ashwini Kumar. Design, Synthesis, Biological Activity, Molecular Docking and Computational Studies on Novel 1,4-Disubstituted-1,2,3-Triazole-Thiosemicarbazone Hybrid Molecules.

OPS. Informe Epidemiológico das Américas., **In: Informe Leishmanioses** N° 2, P.-. OMS, ed. (Organização Pan-Americana da Saúde), pp. 4, 2014.

OPS. *Leishmania*sis en las Américas. Recomendaciones para el Tratamiento, I**n: Enfermedades Transmisibles y Análisis de la Salud, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud**. Ed. (Washington, DC: Organización Mundial de la Salud), pp. 43.

ZELEDON, R. Leishmaniasis in the Caribbean Islands. A review. **Ann N Y Acad Sci** *653*, 154-160, 1992, 2013.

OUELLETE, M., DRUMMELSMITH, J., LEPROHON, P., EL FADILI, K., FOUCHER, A., VERGNES, B., LÉGARÉ, D. Drug Resistance in *Leishmania*, **In: Leishmaniasis after the Genome,** P. J. Myler, N. Fasel, eds. (Norfolk: Caister Academic Press), pp. 307, 2008.

OUYANG, R.; YANG YANG, Y.;XIAO TONG, X.;YAOQIN YANG, Y.; HUIHONG TAO, H.; TIANYU ZONG, T.; KAI FENG, K.; PENGPENG JIA, P.; PENGHUI CAO, P.; NING GUO, N.; HAIZHOU CHANG, H.; SHUANG ZHOU, S.; YUQING MIAO, Y. Potential anti-cancer activity of a novel Bi(III) containing thiosemicarbazone derivative. *Inorganic Chemistry Communications*, v. 73, p. 138-141, 2016.

PAPASTAIKOUDI, T. S.; TSOTINIS, A.; RAPTOPOULOU, C.; SAMBANI, C.; THOMOU, H. Synthesis of New Alkylaminoalkyl Thiosemicarbazones of 3- Acetylindole and their Effect on DNA Synthesis and Cell Proliferation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 30, p. 107-114, 1995.

PICOT, D.; LOLL, P.J.; GARAVITO, R.M. Nature, v. 367, p. 243-249, 1994.

PONTES ESPÍNDOLA, J. W. et al. Synthesis and Structure–Activity Relationship Study of a New Series of Antiparasitic Aryloxyl Thiosemicarbazones Inhibiting T. cruzi cruzain. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 818–835, 2015.

PRABHAKARAN, P.; KALAIVANI, P.; POORNIMA, P.; DALLEMER, F.; HUANG, R.; PADMA, V.V.; NATARAJAN, K.; Synthesis, DNA/protein binding and in vitro cytotoxic studies of new palladium metallothiosemicarbazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 21, p. 6742-6752, 2013.

PRATI, F.; ULIASSI, E.; BOLOGNESI, M.L. Two diseases, one approach: multitarget drug discovery in Alzheimer's and neglected tropical diseases. *Med. Chem. Commun..*, v. 5, p. 853-861, 2014.

QUINNELL, R. J., COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral Leishmaniasis. **Parasitology** *136*, 1915-1934, 2009.

R. A.; MACCOSS, M.; CHANG, R. S. L.; LOTTI, V. J.; FAUST, K. A.; CHEN, T.; BUNTING, P.; SCHORN, T. W.; KIVLIGHN, S. D.; SIEGL, P. K. S. Nonpeptide Angiotensin II Antagonists Derived from 4H-1,2,4-Triazoles and 3H-Imidazo[1,2 b][1,2,4]triazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 36, p. 591-609, 1993.

READY, P. D. Epidemiology of visceral *Leishmania*sis. **Clin Epidemiol** *6*, 147-154, 2014.

REITHINGER, R., DUJARDIN, J. C., LOUZIR, H., PIRMEZ, C., ALEXANDER, B., BROOKER, S. Cutaneous Leishmaniasis. **Lancet Infect Dis** *7*, 581-596, 2007.

REITHINGER, R., MOHSEN, M., LESLIE, T. Risk factors for anthroponotic cutaneous *Leishmania*sis at the household level in Kabul, Afghanistan. **PLoS Negl Trop Dis** *4*, e639, 2010.

ROCHA, G. B. et al. RM1: A Reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I. Journal of Computational Chemistry, v. 2, 2006.

ROQUE, A. L., CUPOLILLO, E., MARCHEVSKY, R. S., JANSEN, A. M. *Thrichomys laurentiu*s (Rodentia; Echimyidae) as a putative reservoir of *Leishmania infantum* and *L. braziliensis*: patterns of experimental infection. **PLoS Negl Trop Dis** *4*, e589, 2014.

ROWLINSON, S. W. et al. A Novel Mechanism of Cyclooxygenase-2 Inhibition Involving Interactions with Ser-530 and Tyr-385. Journal of Biological Chemistry, v. 278, n. 46, p. 45763–45769, 2003.

ROWLINSON, S. W. et al. A Novel Mechanism of Cyclooxygenase-2 Inhibition Involving Interactions with Ser-530 and Tyr-385. Journal of Biological Chemistry, v. 278, n. 46, p. 45763–45769, 2003.

SAMALA, G.; DEVI, P.B.; NALLANGI, R.; SRIDEVI, P. J.; SAXENA, S.; YOGEESWARI, P.; SRIRAM, D. Development of novel tetrahydrothieno[2,3-c]pyridine-3-carboxamide based Mycobacterium tuberculosis pantothenate synthetase inhibitors: Molecular hybridization from known antimycobacterial leds. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry***, v. 22, p. 1938-1947, 2014.

SANDOVAL-JUAREZ, A., MINAYA-GOMEZ, G., ROJAS-PALOMINO, N., FALCONI, E., CACERES, O. [Cutaneous leishmaniosis: unusual clinical manifestation]. **Ver Peru Med Exp Salud Publica** *31*, 595-597, 2014.

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

SARODNICK, G.; HEYDENREICH, M.; LINKER, T.; KLEINPETER, E. Quinoxalines. Part 12: Synthesis and Structural Study of 1-(Thiazol-2-yl)-1Hpyrazolo[3,4-]quinoxalines – The Dehydrogenative Cyclization with Hydroxylamine Hydrochloride. *Tetrahedron*, v. 59, p. 6311- 6321, 2003.

Saulo Feheiberg Pinto Braga, Nayara Cristina Fonseca1, Jonas Pereira Ramos2, Elaine Maria de Souza-Fagundes2, Renata Barbosa de Oliveira1, Synthesis and cytotoxicity evaluation of thiosemicarbazones and their thiazole derivatives. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 52, n. 2, apr./jun., 2016.

SHANG, E.; YUAN, Y.; CHEN, X.; LIU, Y.; PEI, J.; LAI, L. *De novo* design of multitarget ligands with interative fragment-growing strategy. *J. Chem Inf Mode*., v. 54, p. 1235-1241, 2014.

SILVA, C.S. Determinação da estrutura cristalina/molecular de um derivado da tiossemicarbazona com atividade farmacológica, tetralona-tiossemicarbazona. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe. 2013.

SILVA, L.M.M.G. Síntese, determinação estrutural e avaliação citotóxica de novos derivados 5-benzilideno-3-benzil-tiazolidina-2,4-diona. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2014.

SILVA, M. V. Leishmanioses. **Rev. Fac. Ciênc. Med.** Sorocaba, v. 5, o. 13-17, 2003.

Simone Carradori, Dante Rotili, Celeste De Monte, Alessia Lenoci, Melissa D'Ascenzio, Veronica Rodriguez, Patrizia Filetici, Marco Miceli, Angela Nebbioso, Lucia Altucci, Daniela Secci, Antonello Mai. Evaluation of a large library of (thiazol-2-yl)hydrazones and analogues as histone acetyltransferase inhibitors: Enzyme and cellular studies.

SMITH, C.J.; ZHANG, Y.; KOBOLDT, C.M.; MUHAMMAD, J.; SWEIFEL, B.S.; SHAFFER, A.; TALLEY, J.J.; MASFERRER. J.L.; SEIBERT, K.; ISAKSON, P.C. Proc. **Natl. Acad. Sci. USA.,** v. 95, n. 22, p. 13313-13318, 1998.

SOONG, L. Subversion and Utilization of Host Innate Defense by *Leishmania amazonensis*. **Front Immunol** *3*, 58, 2012.

Spartan "08 Tutorial and Users Guide. Irvine, CA, 2008.

SVOBODOVA, M., VOTYPKA, J., NICOLAS, L., VOLF, P. *Leishmania tropica* in the black rat (*Rattus rattus*): persistence and transmission from asymptomatic host to sand fly vector *Phlebotomus sergenti*. **Microbes Infect** *5*, 361-364, 2003.

SVS. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, **In: Série A. Normas e Manuais Técnicos, Ministério da Saúde**, ed. (Brasília: Ministério da Saúde), pp. 179, 2010.

TENÓRIO, R.P.; GÓES, A.J.S.; LIMA. G.J.; FARIA, R.A.; 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.

TURAN-ZITOUNI, G. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Synthesis and biological evaluation of thiazoline derivatives as new antimicrobial and anticancer agents. v. 107, p. 288–294, 2016.

VANE, J.R.; BAKHLE, Y.S.; BOTTING, R.M. Annu. Ver. Pharmacol. Toxicol., v. 38, p. 97-120, 1998

Venkatachalam, T. K.; Paul, V. Bernhardt; Gregory K. Pierens; David C. Reutens. Synthesis and X-ray Crystal Structure of 2 and 4-Trifluoromethyl Substituted Phenyl Semicarbazone and Thiosemicarbazone. **J Chem Crystallogr** v. 47, p. 30–39, 2017.

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

VRAY, B. Macrophages in parasitic infection, **In: The Macrophage**, B. Burke, C. E. Lewis, eds. (New York: Oxford University Press Inc), pp. 253-304, 2002.

WADHONE, P.; MAITI, M.; AGARWAL, R.; KAMAT, V.; MARTIN, S.; SAHA, B. Miltefosine promotes IFN-gamma-dominated anti-leishmanial immune response. **J. Immunol.** v. 182, p. 7146-54, 2009.

WERMUTH, C. G. *The practice of medicinal chemistry*. London: **Academic Press**. 2003

WESTPHAL, O. Ether lipids in oncology – welcoming address. **Lipids**. v.22, p. 787-788, 1987.

WHO (2019). **Leishmaniasis.** Disponível em: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis . Acesso em 22 abril 2020.

WHO. Post-Kala-Azar Dermal *Leishmania*sis: a Manual for Case Management and Control. WHO, ed. (Geneva: **World Health Organization**), pp. 29, 2012.

WHO. WHO: Weekly epidemiological record: Global leishmaniasis update, 2006–2015, a turning point in leishmaniasis surveillance. ***World Health Organization***, v. 92, p. 557–572, 2017.

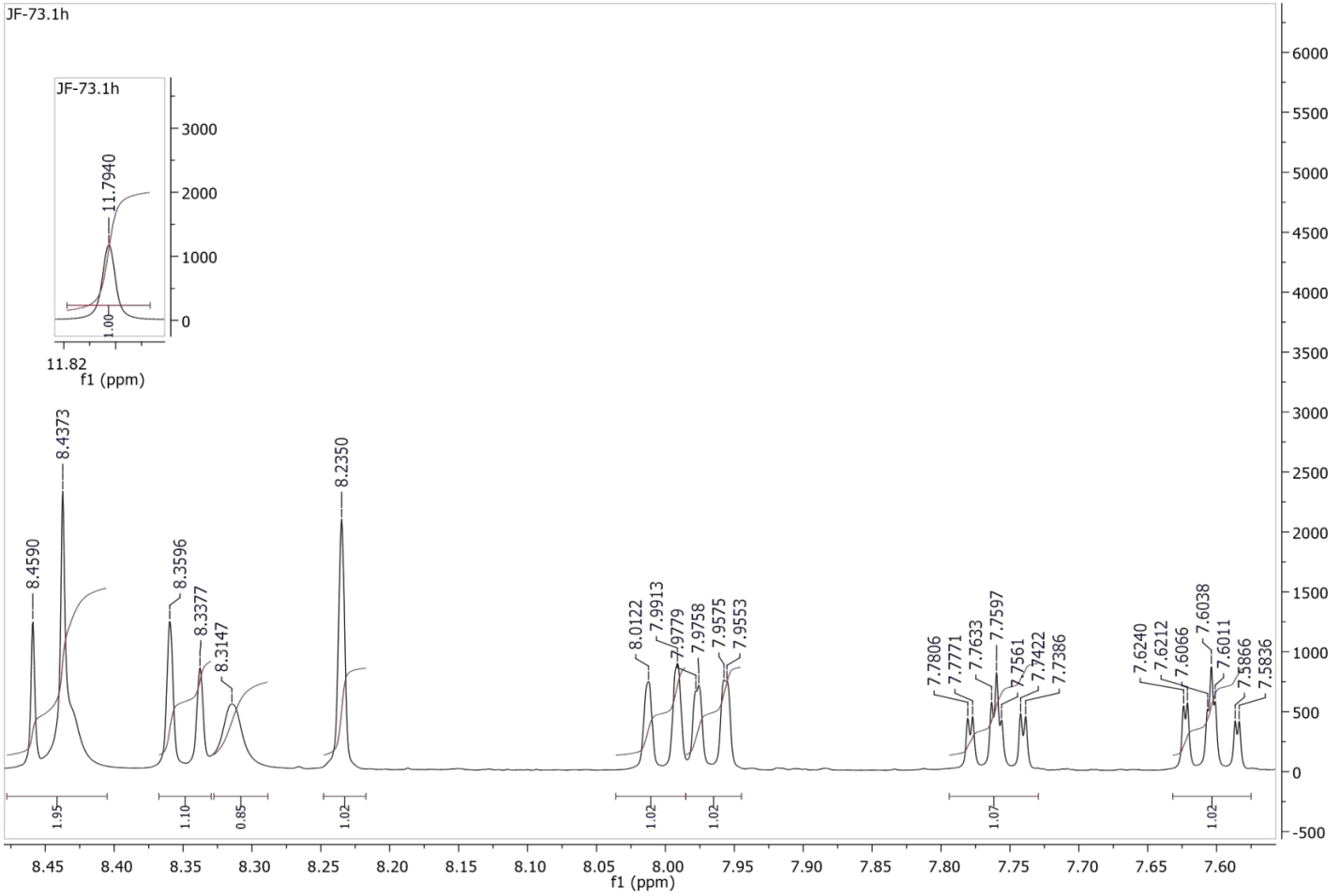
WHO. World Health Organization. **Leishmaniasis**. Disponível em: https://www.who.int/leishmaniasis/en/. Acesso em: 10 dez. 2019.

ZAULI-NASCIMENTO, R. C., MIGUEL, D. C., YOKOYAMA-YASUNAKA, J. K., PEREIRA, L. I., PELLI DE OLIVEIRA, M. A., RIBEIRO-DIAS, F., DORTA, M. L., ULIANA, S. R. *In vitro* sensitivity of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* Brazilian isolates to meglumine antimoniate and amphotericin B. **Trop Med Int Health** *15*, 68-76, 2010.

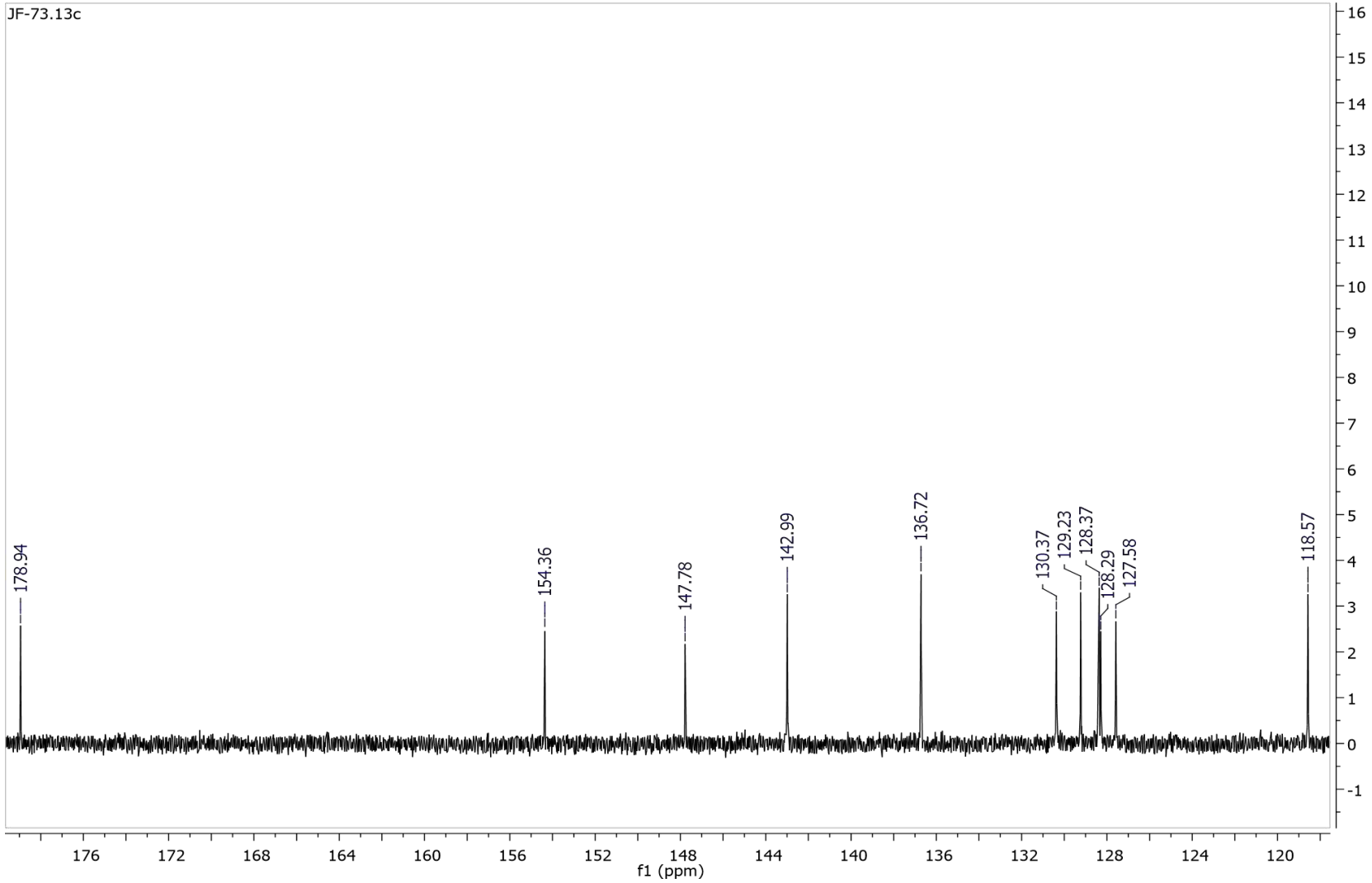
ZHANG, X.; Cao, J.; Zhong, L. Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines, iNOS, and COX-2 expression in human monocytic cells Naunyn-Schmied. Naunyn-Schmiedeberg's **Archives of Pharmacology**. V. 379, p. 581–586. 2009.

ZHANG, Y.; SHAFFER, A.; PORTANOVA, J.; SEIBERT, K.; ISAKSON, P.C. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 283, n. 2, p. 1069-1075, 1997.

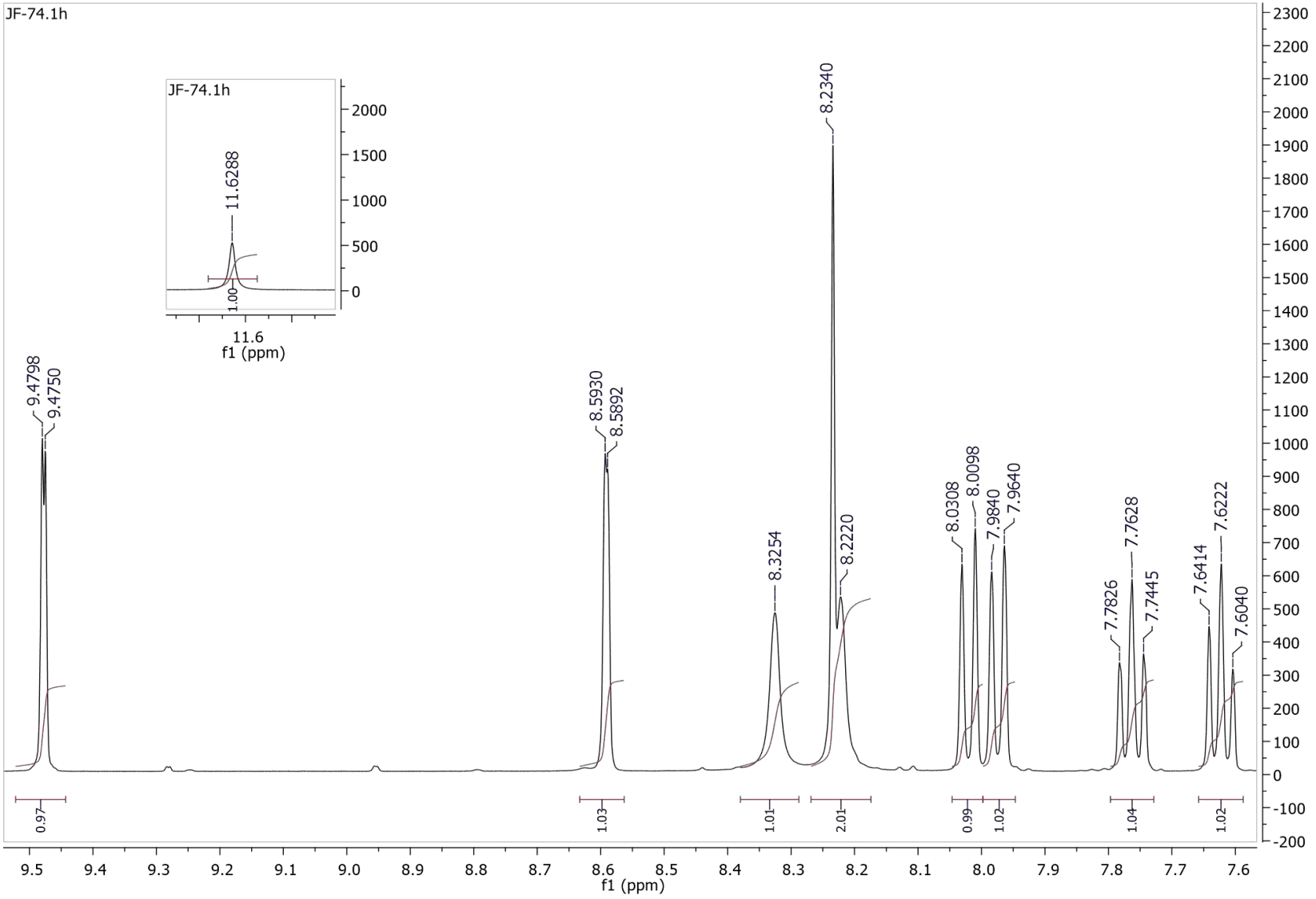
ANEXO A - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-73.1H



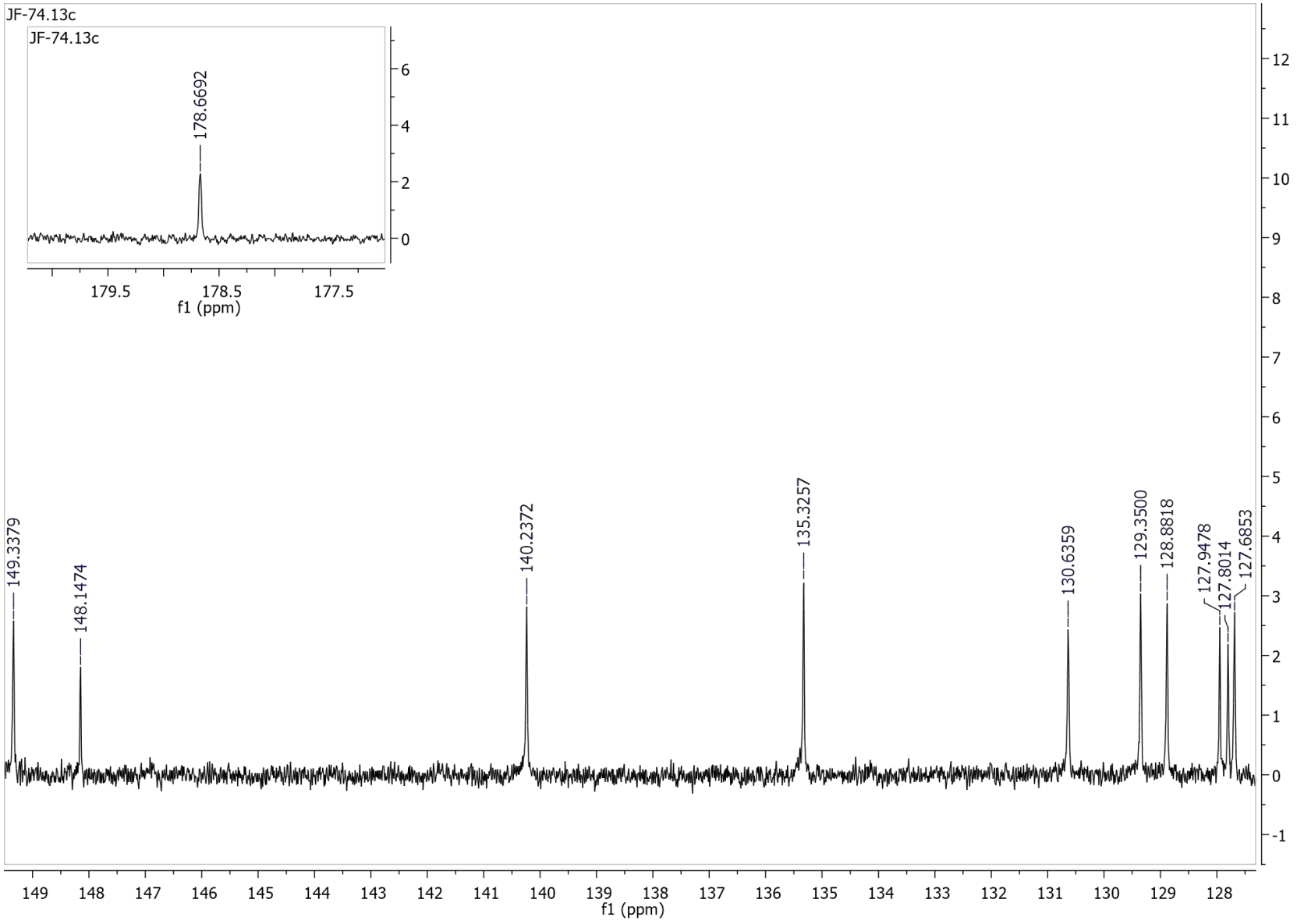
ANEXO B - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-73.13C



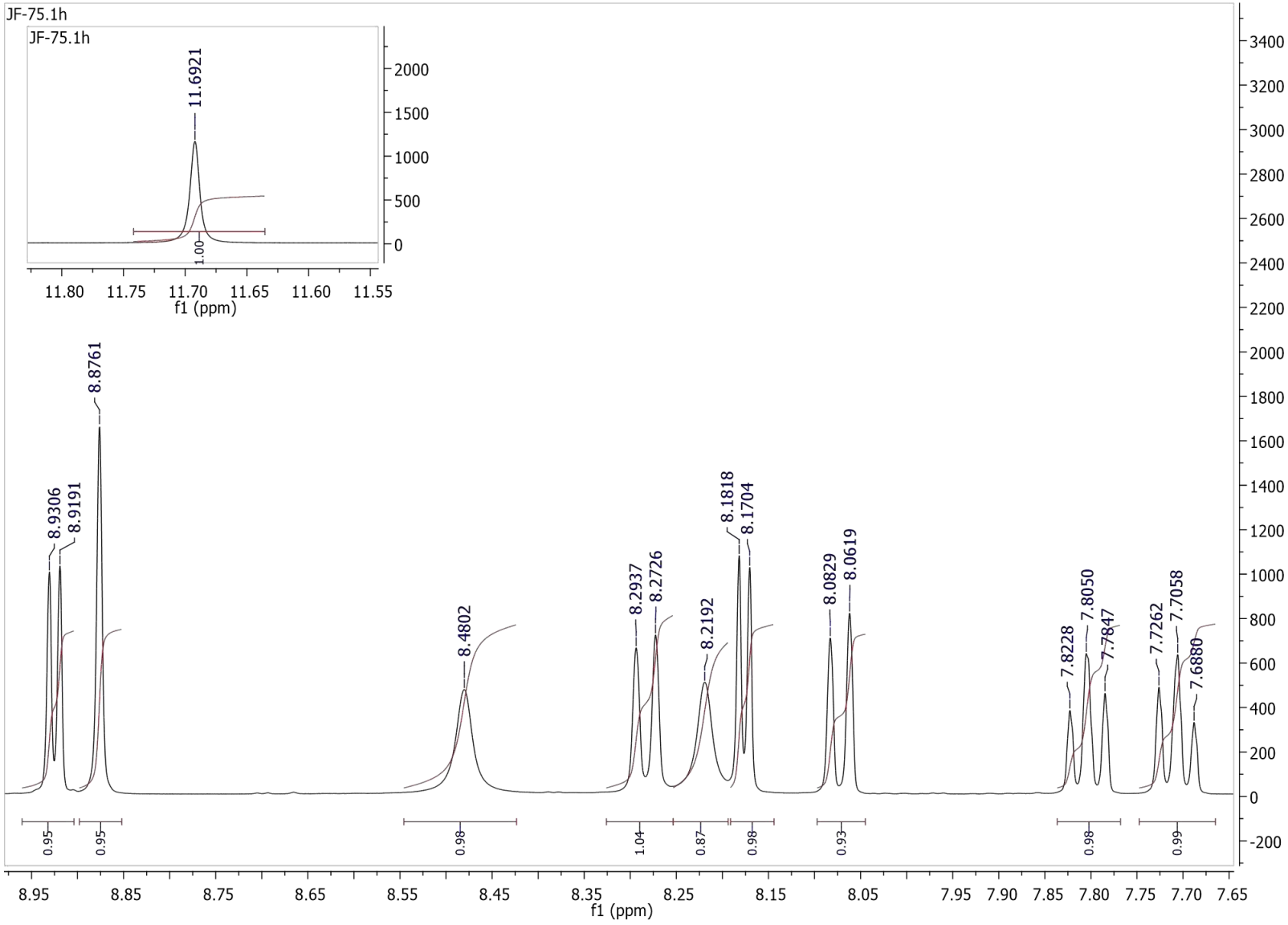
ANEXO C - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-74.1H



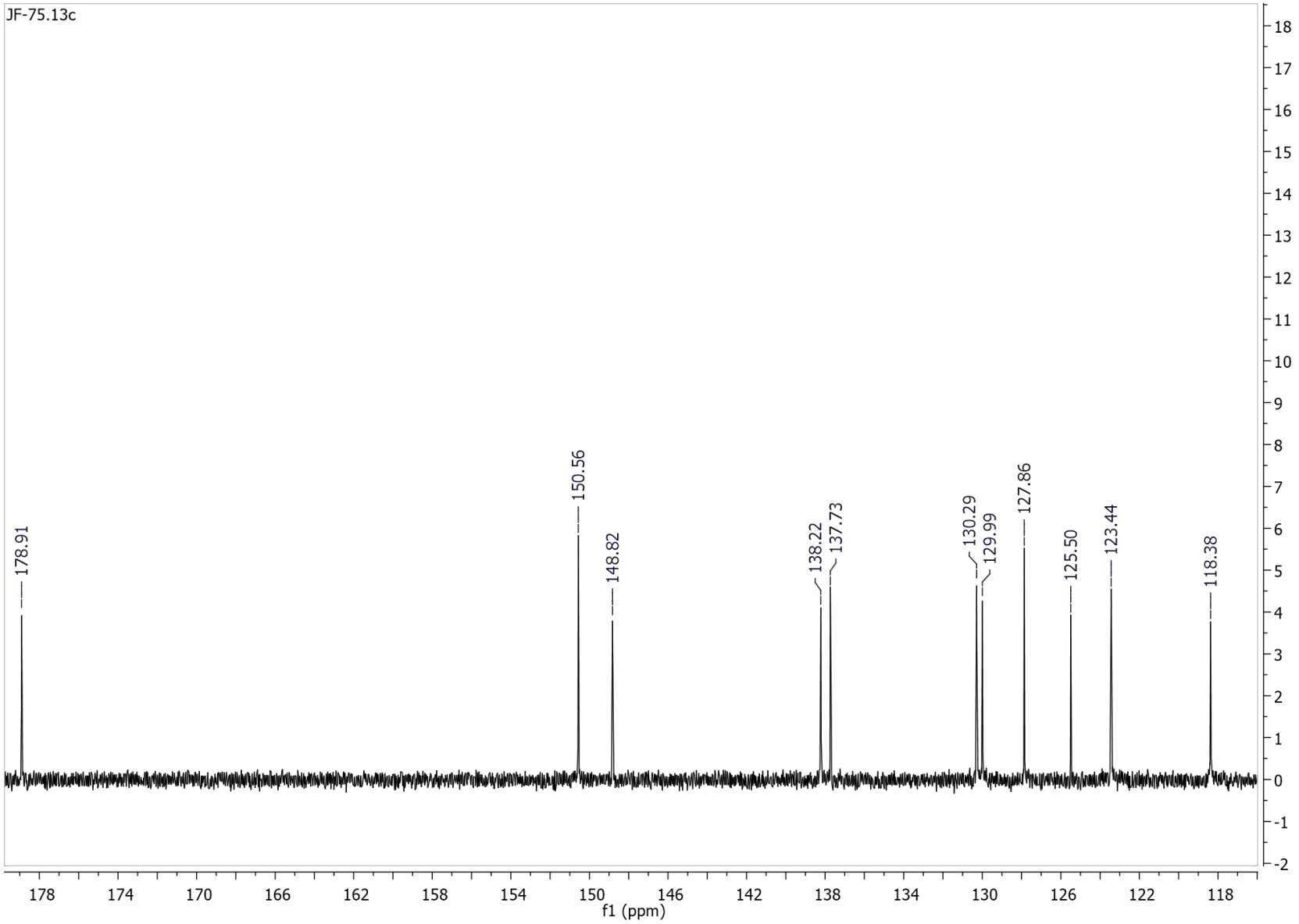
ANEXO D - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-74.13C



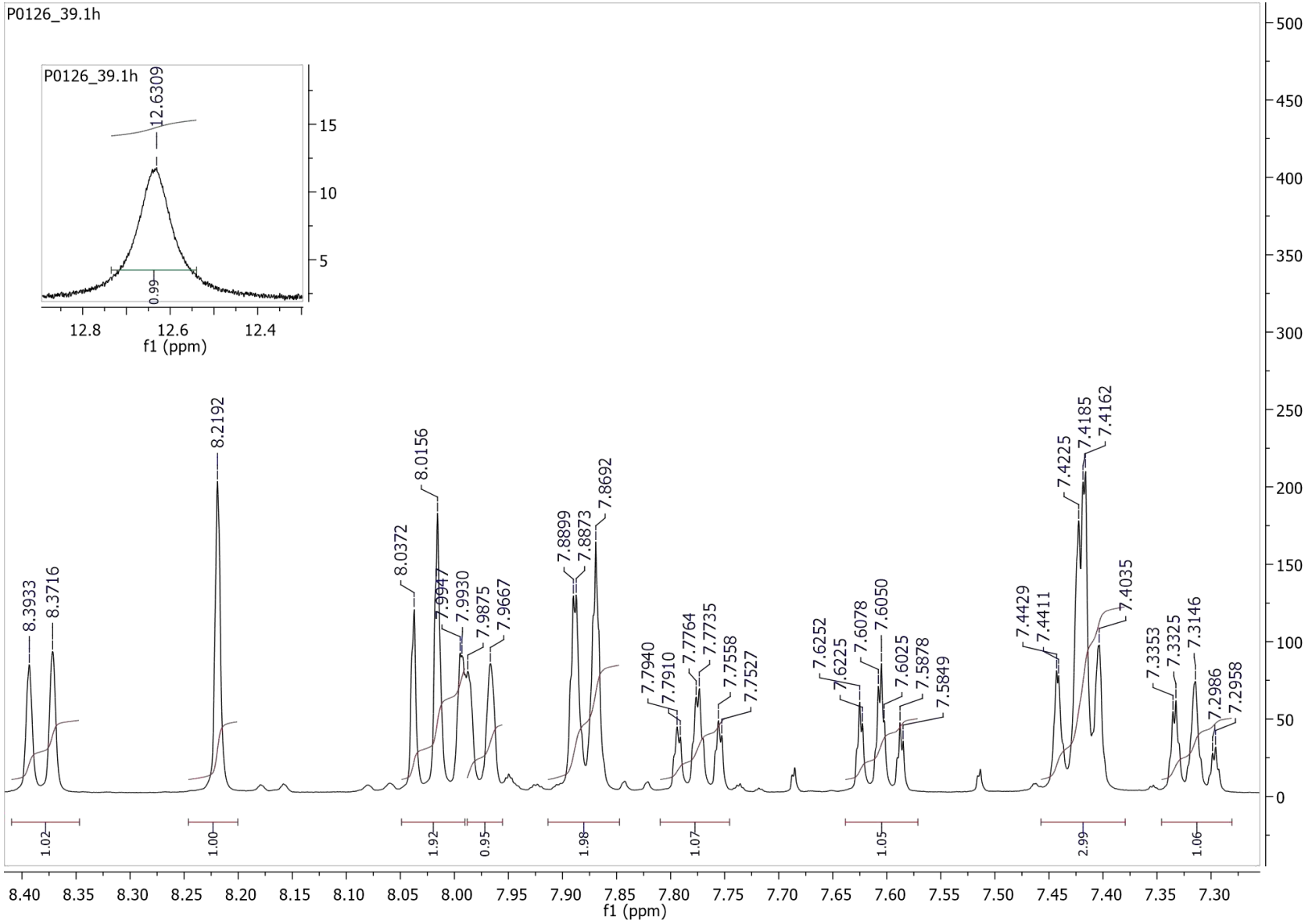
ANEXO E - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-75.1H



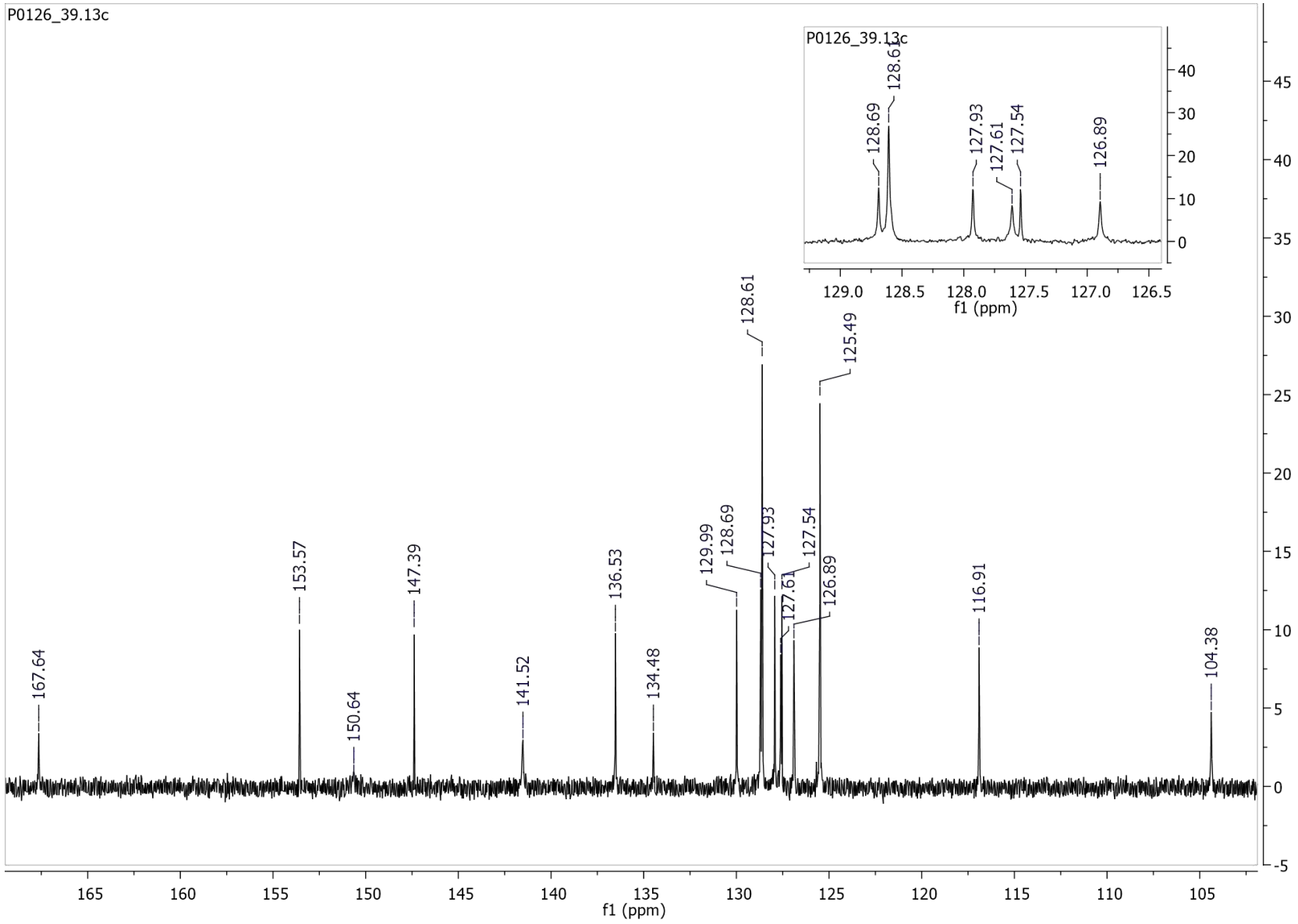
ANEXO F - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-75.13C



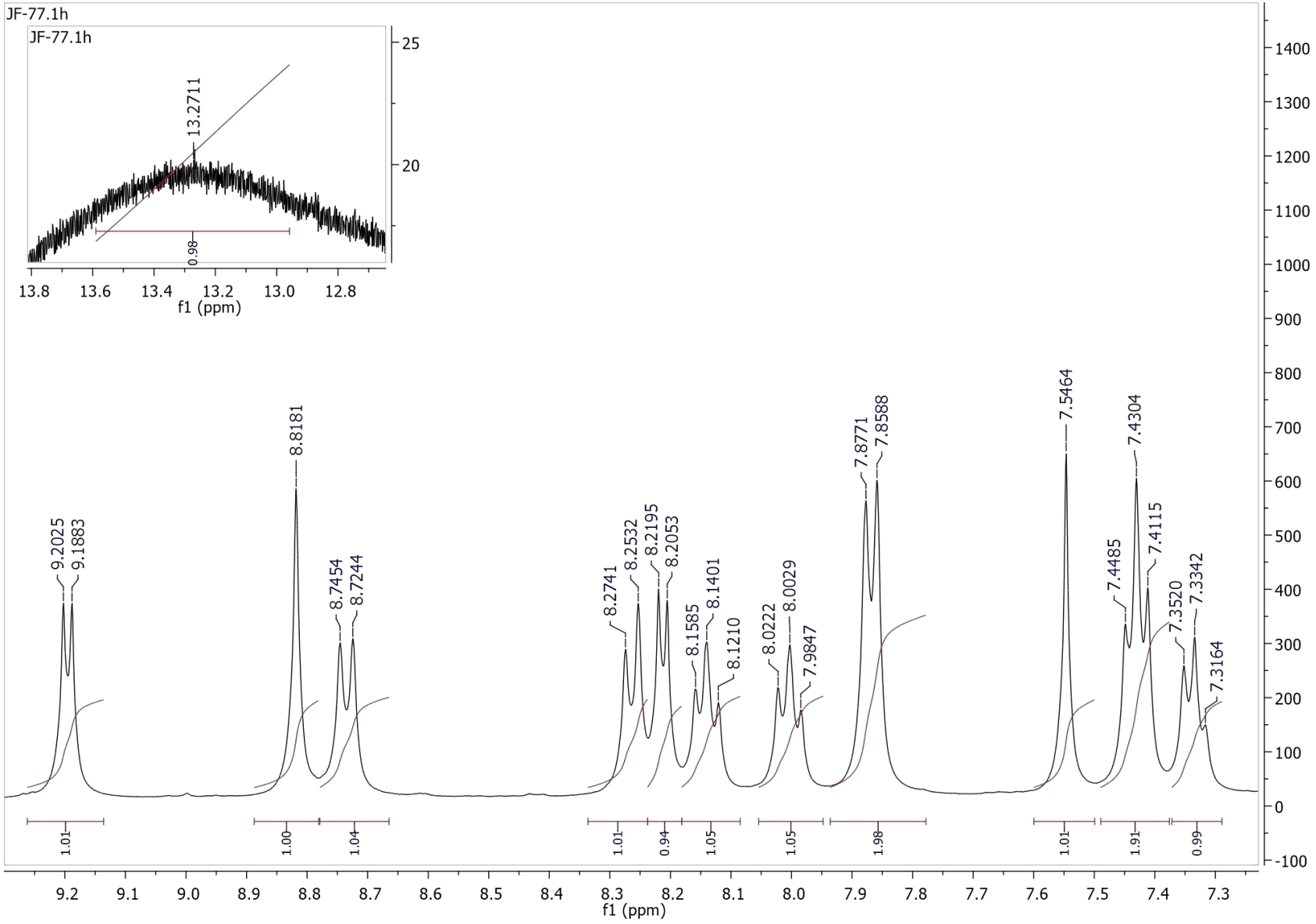
ANEXO G - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/P0126_39.1H



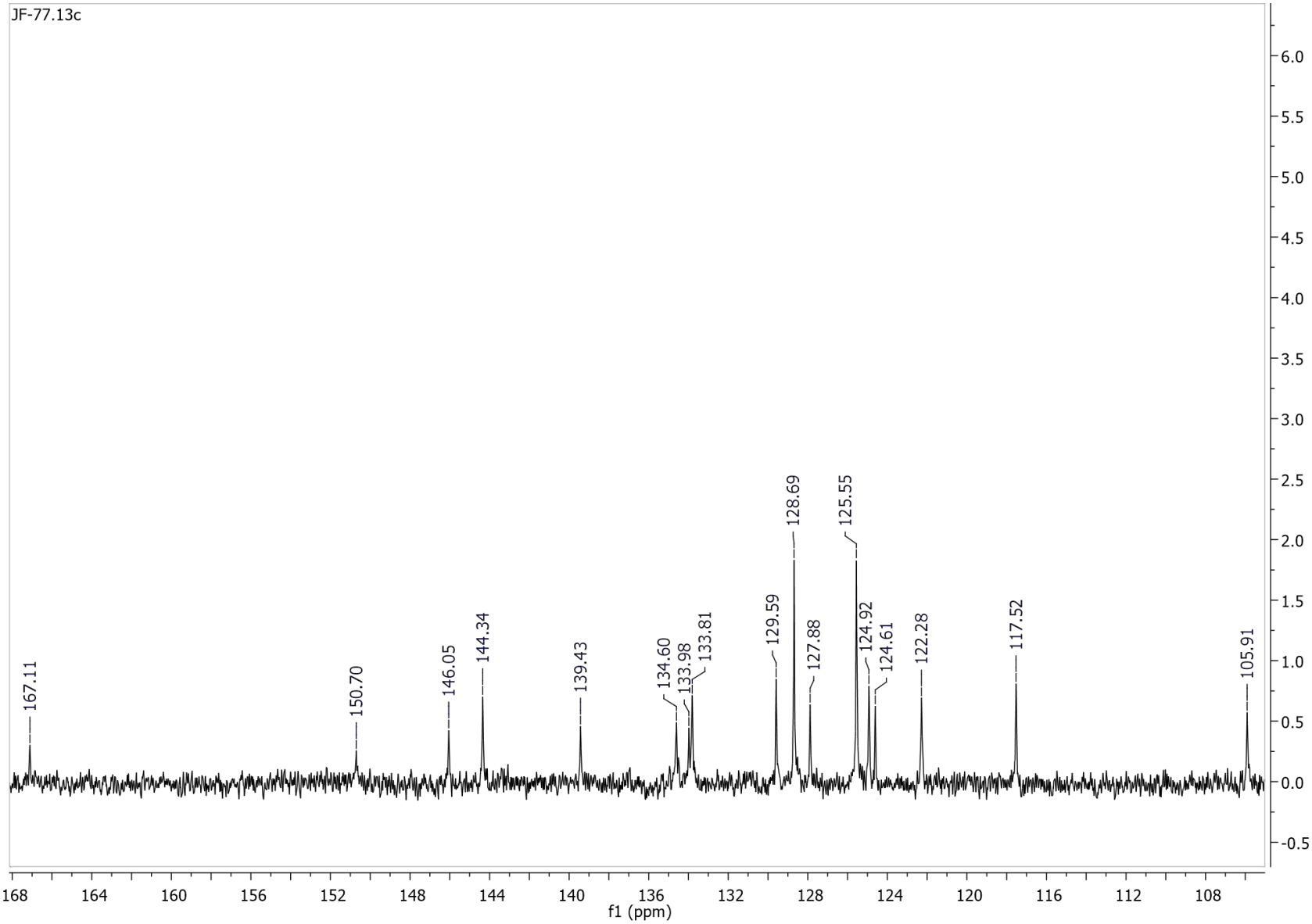
ANEXO H - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/P0126_39.13C



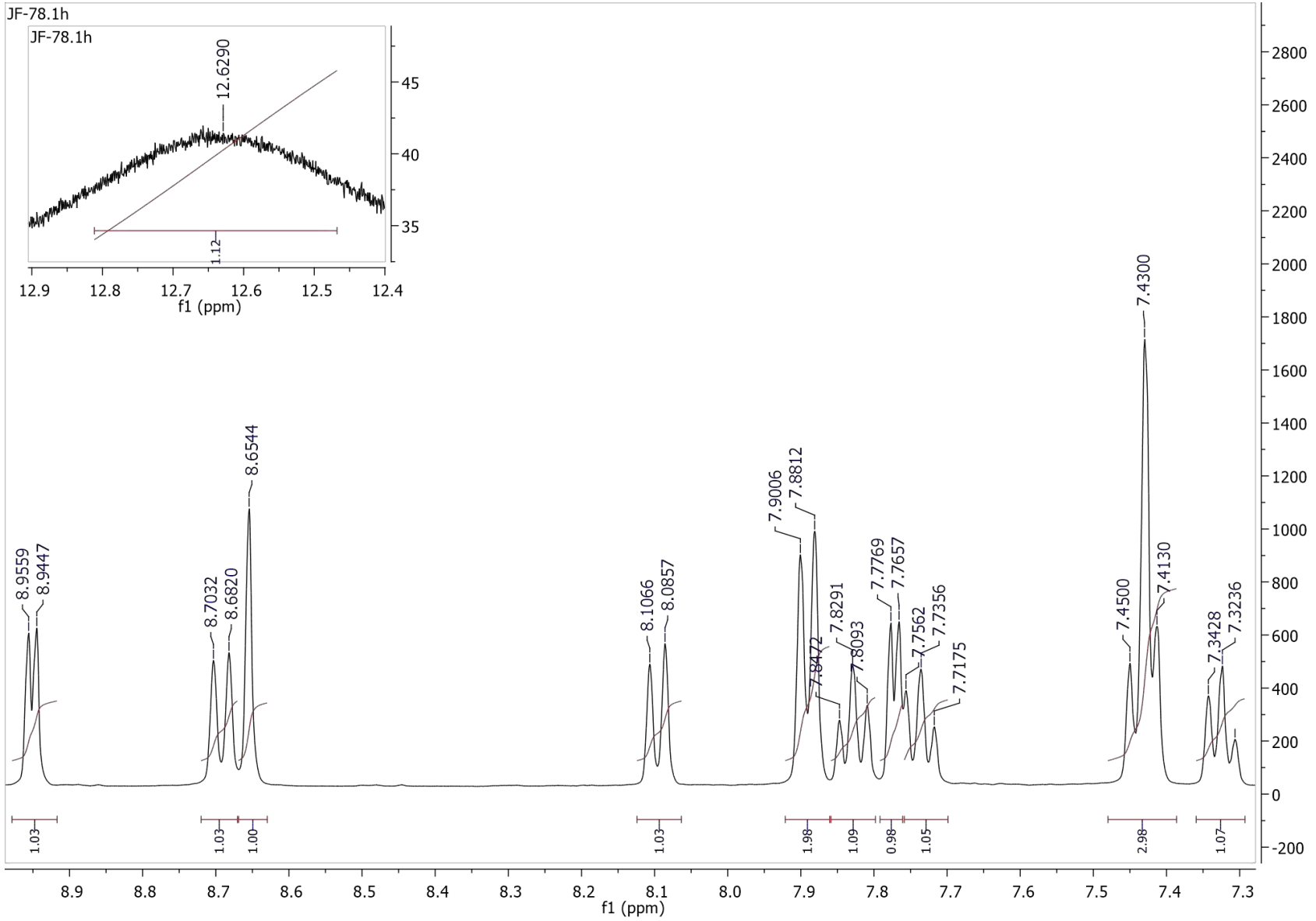
ANEXO I - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-77.1H



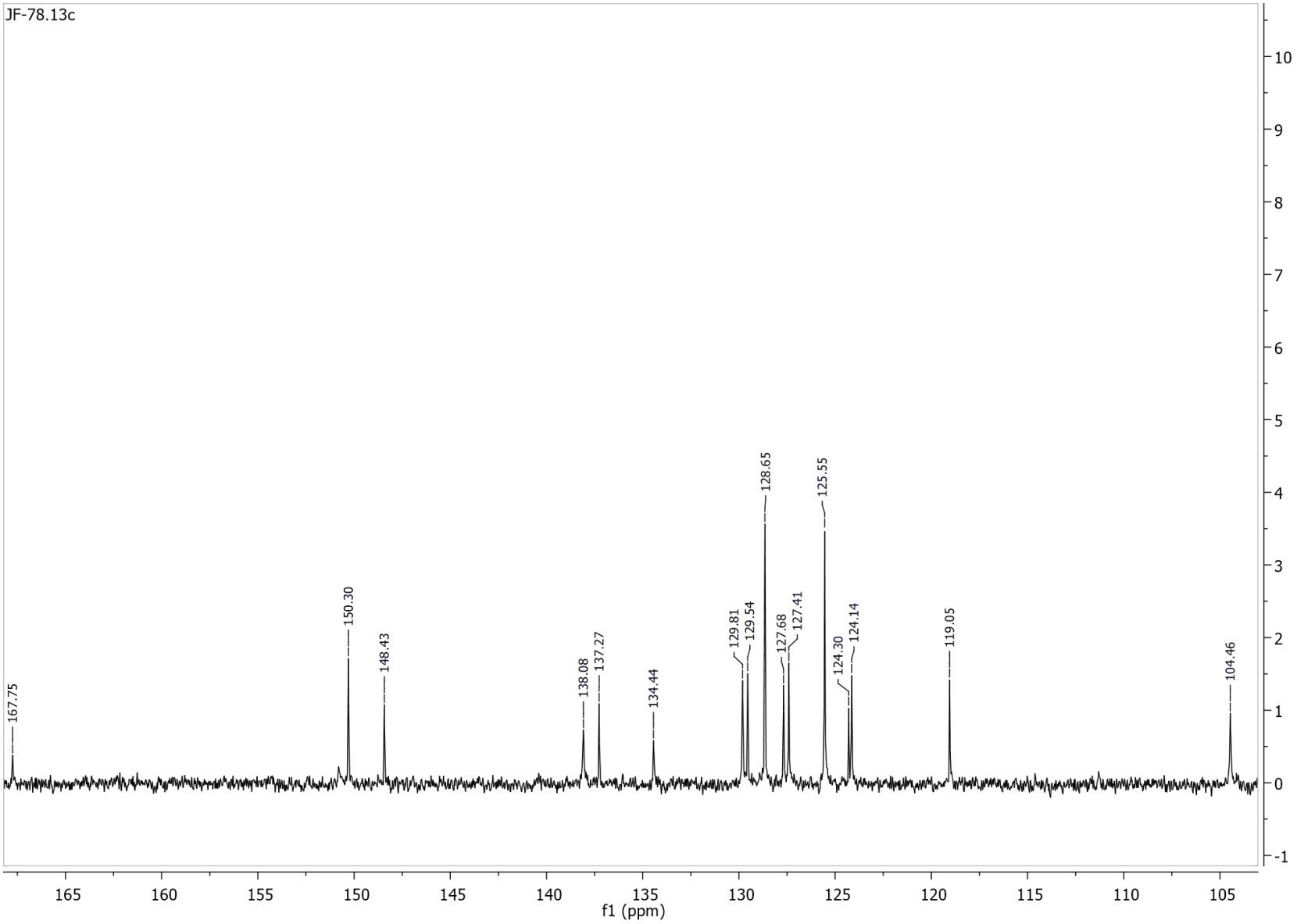
ANEXO J - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-77.13C



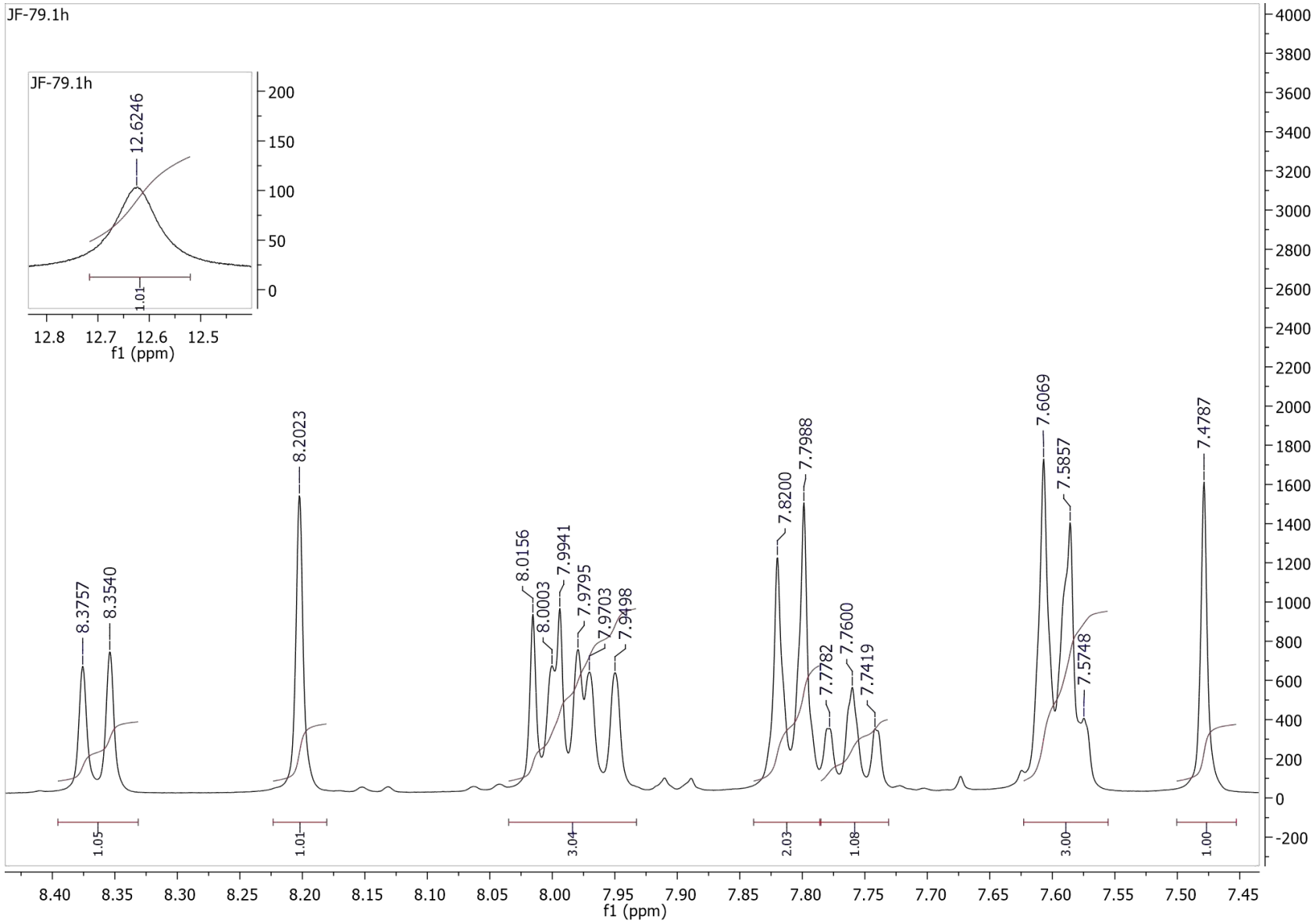
ANEXO K - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-78.1H



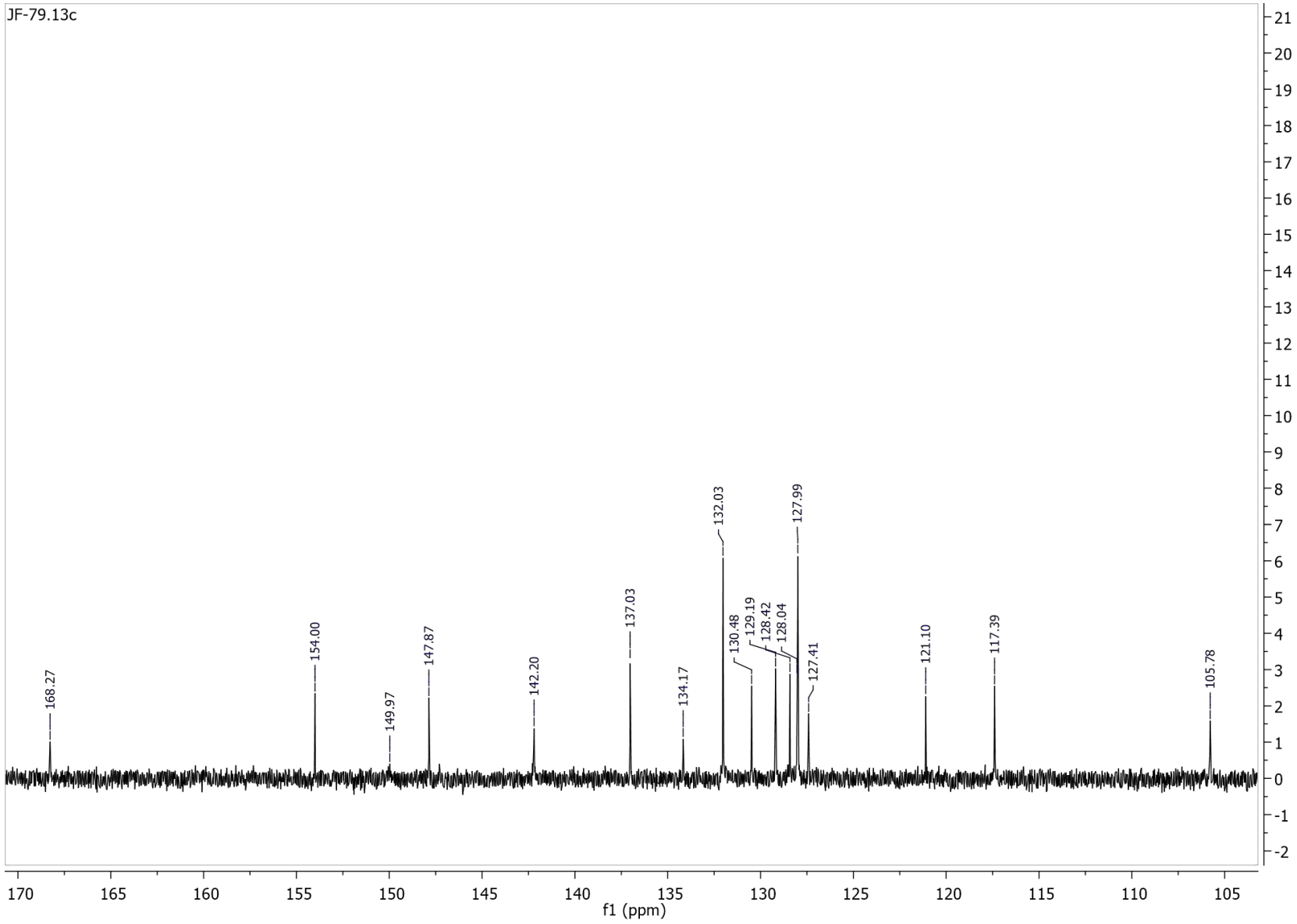
ANEXO L - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-78.13C



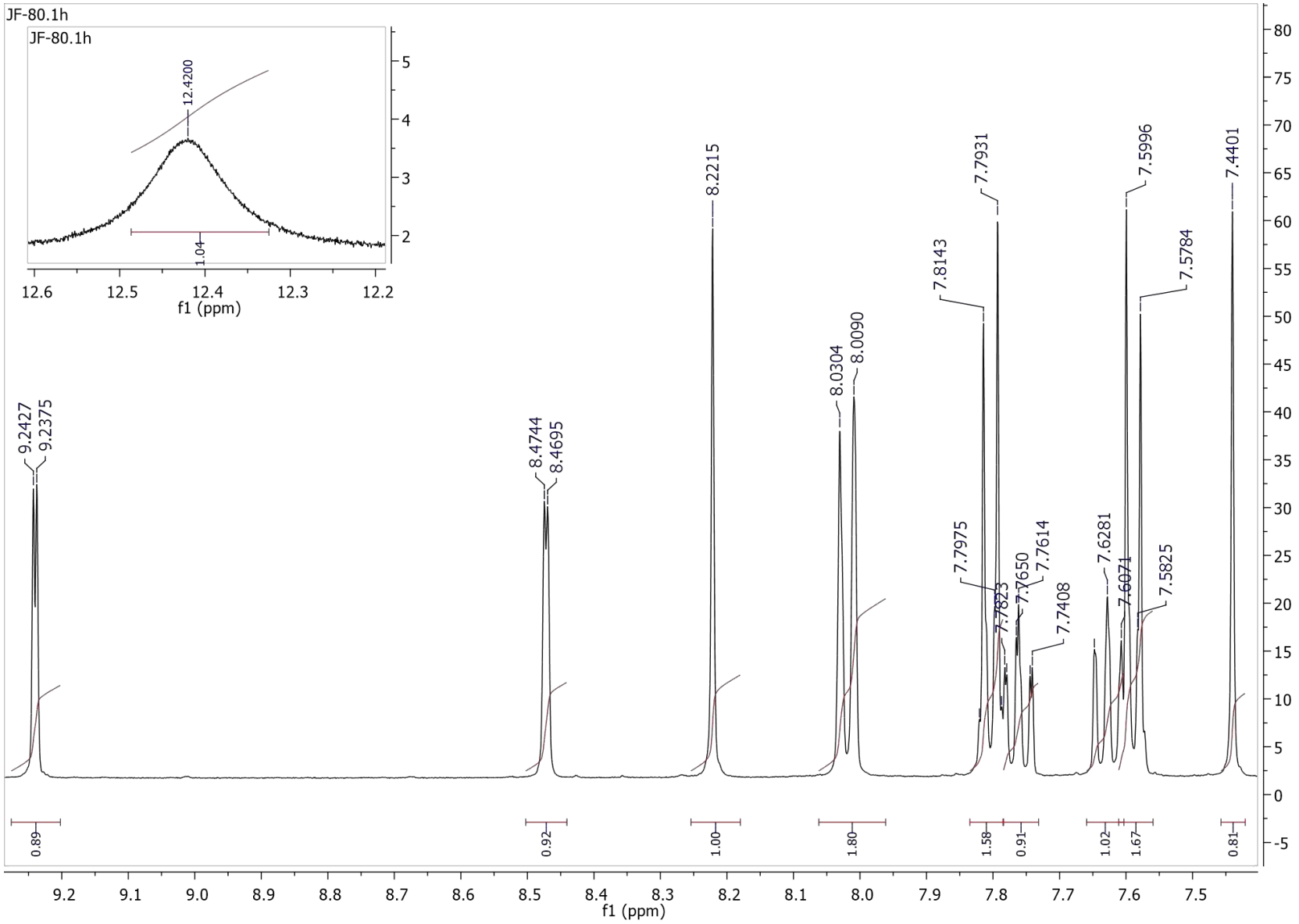
ANEXO M - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-79.1H



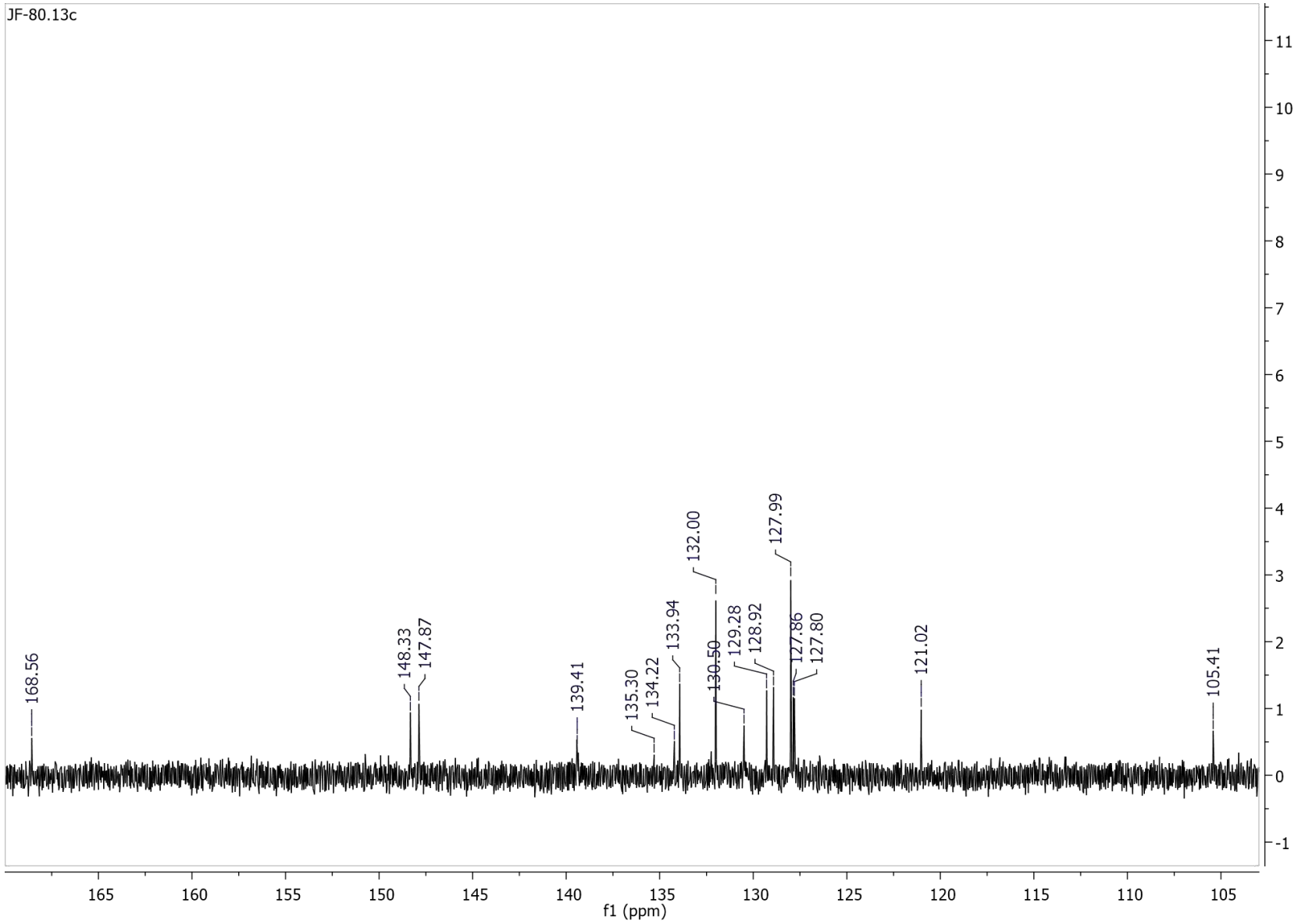
ANEXO N - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-79.13C



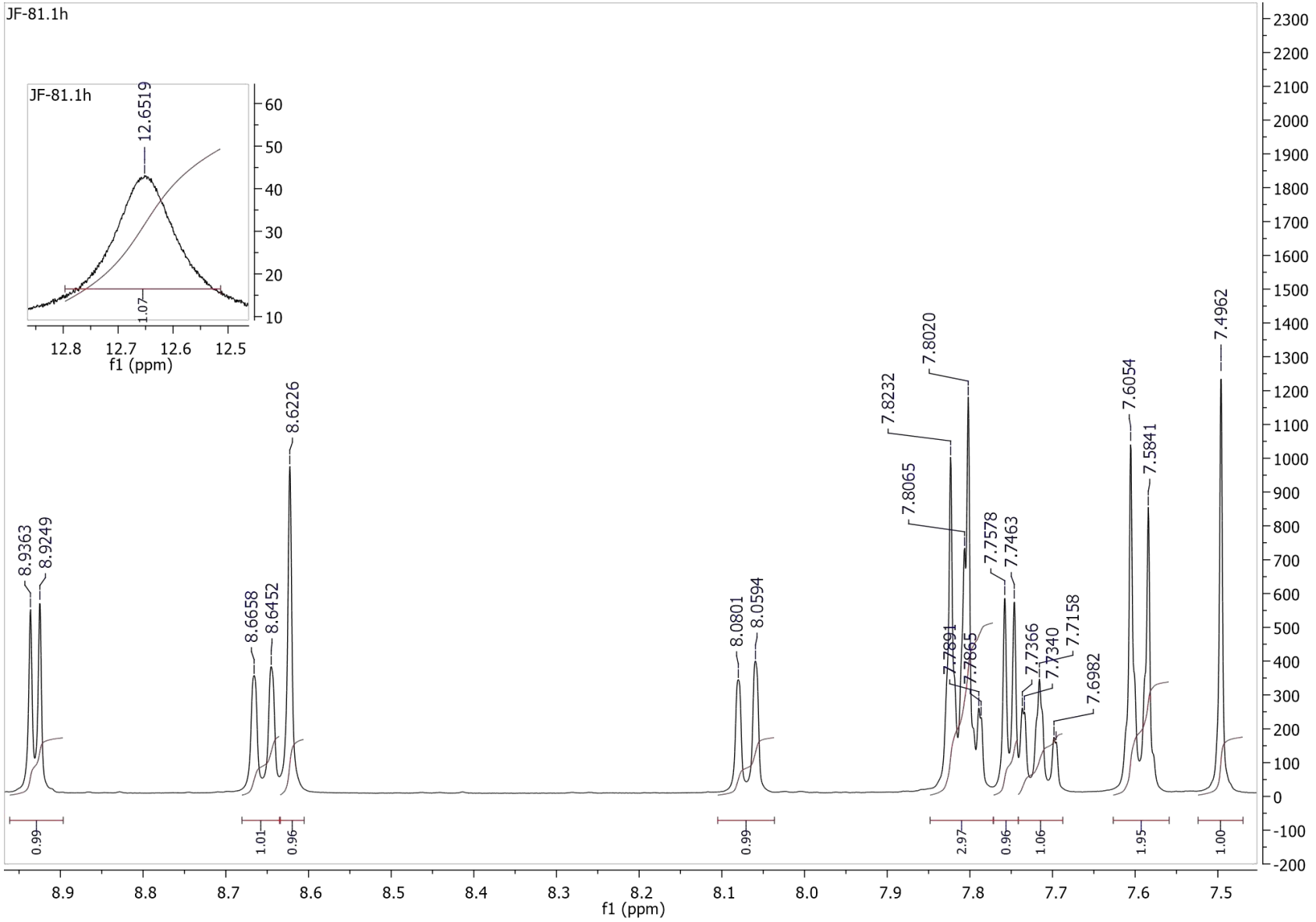
ANEXO O - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-80.1H



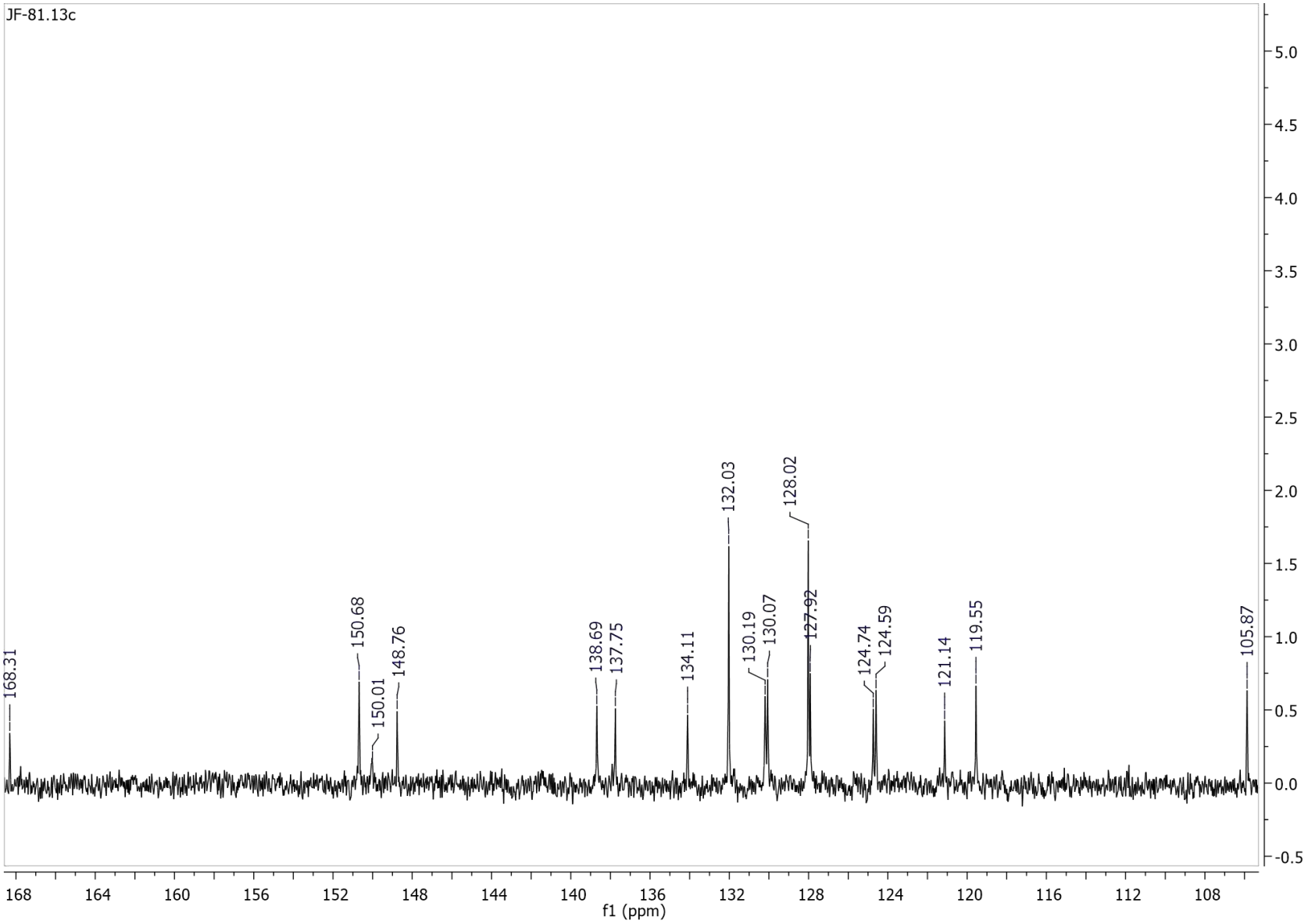
ANEXO P - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-80.13C



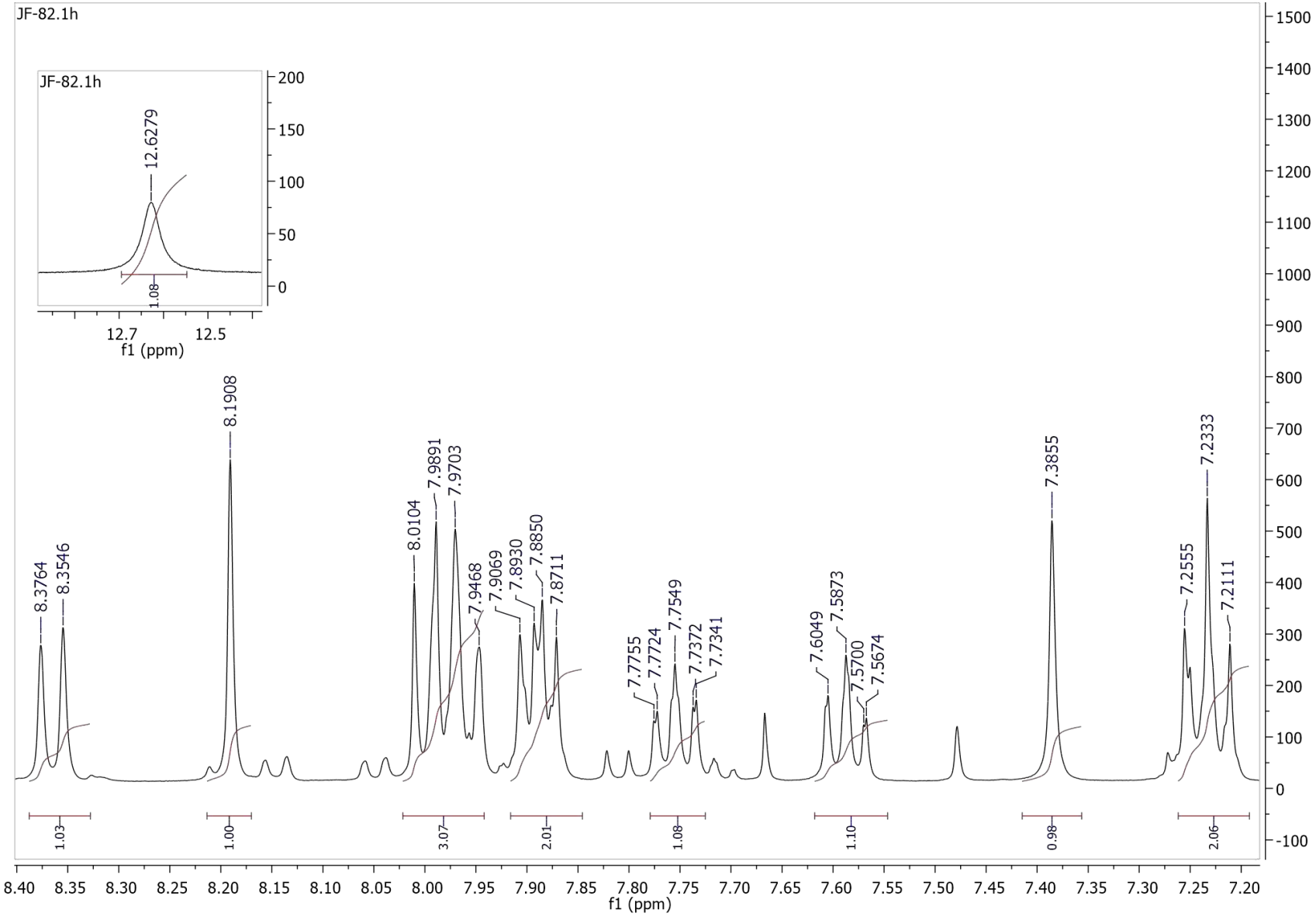
ANEXO Q - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-81.1H



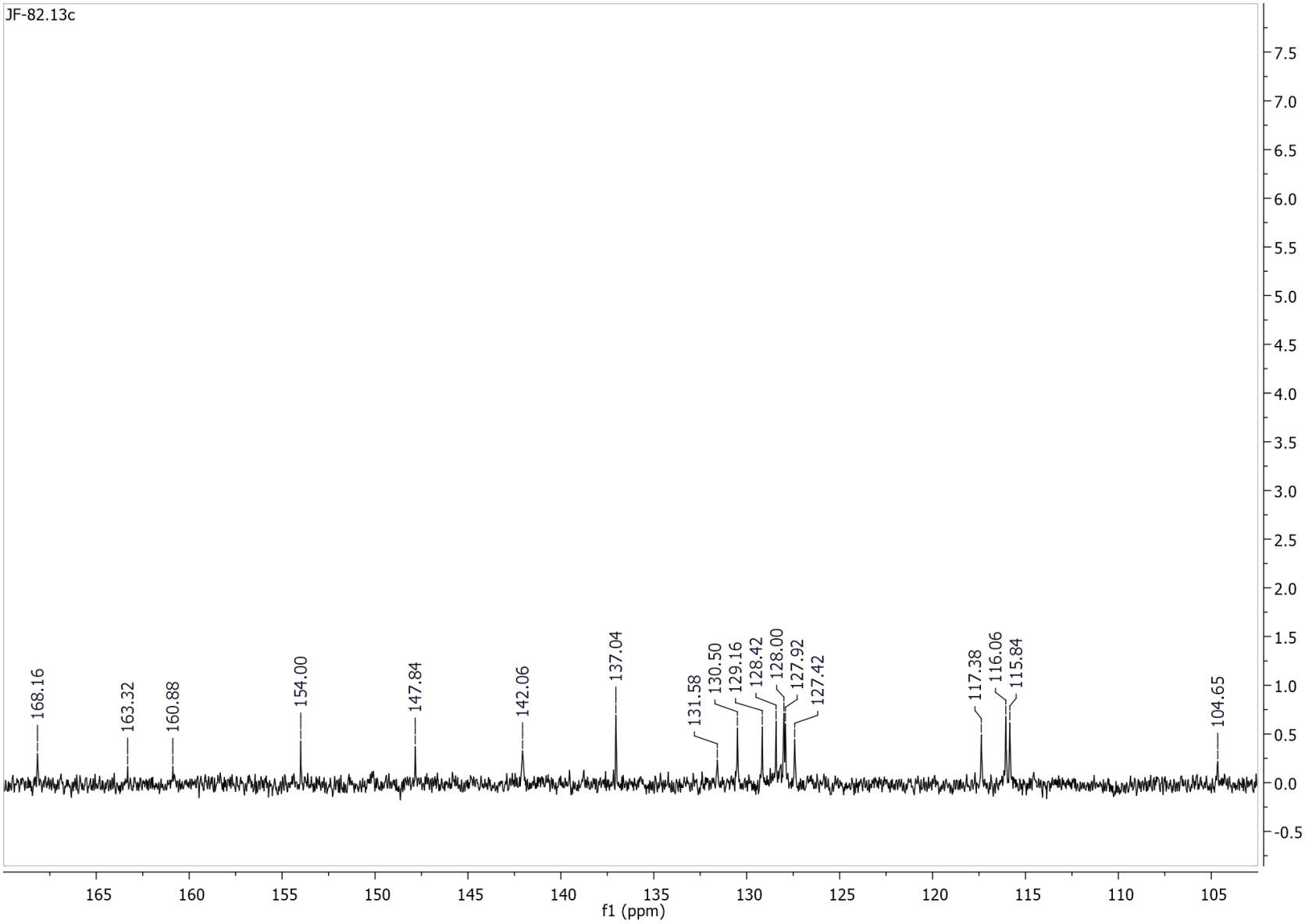
ANEXO R - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-81.13C



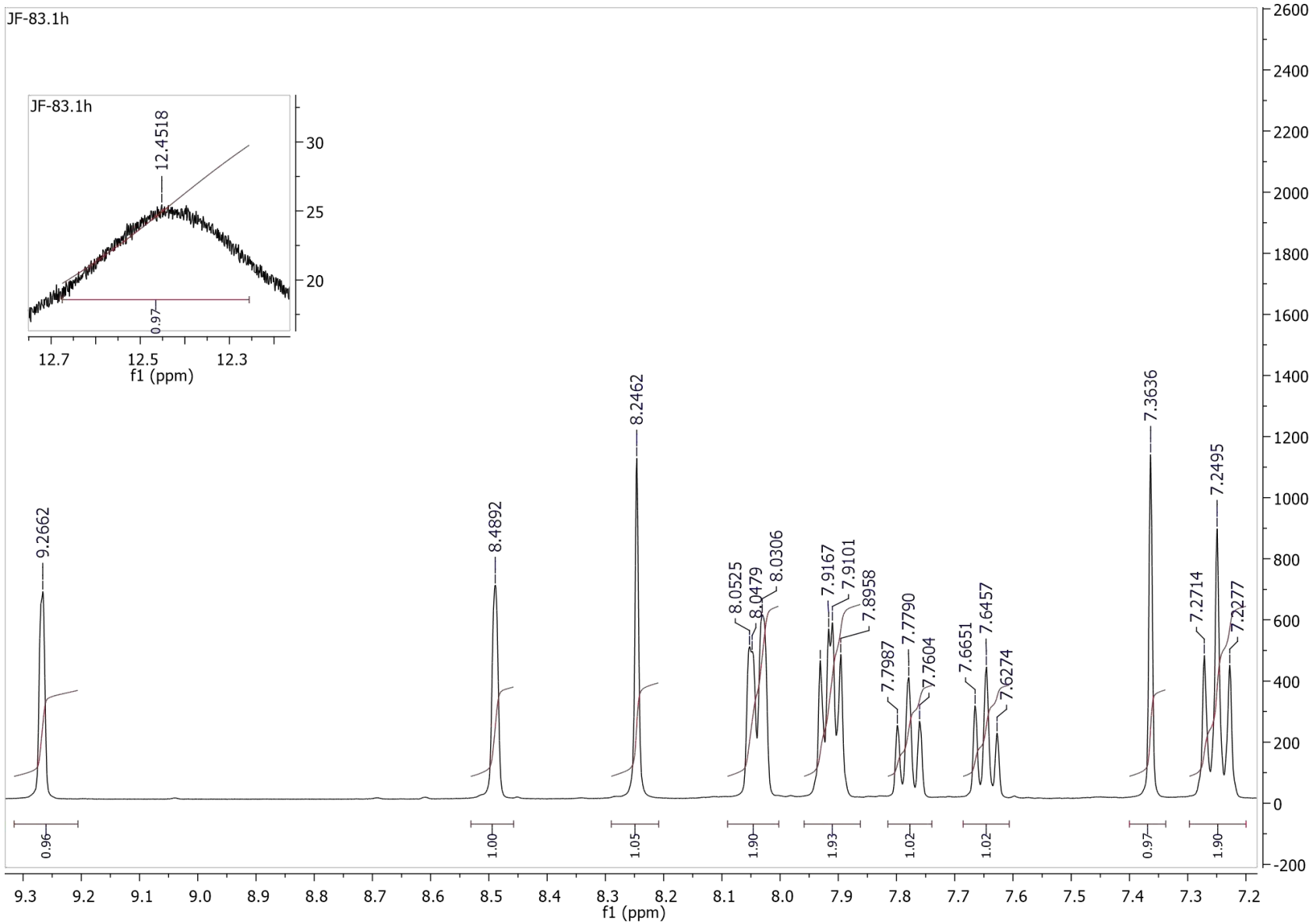
ANEXO S - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-82.1H



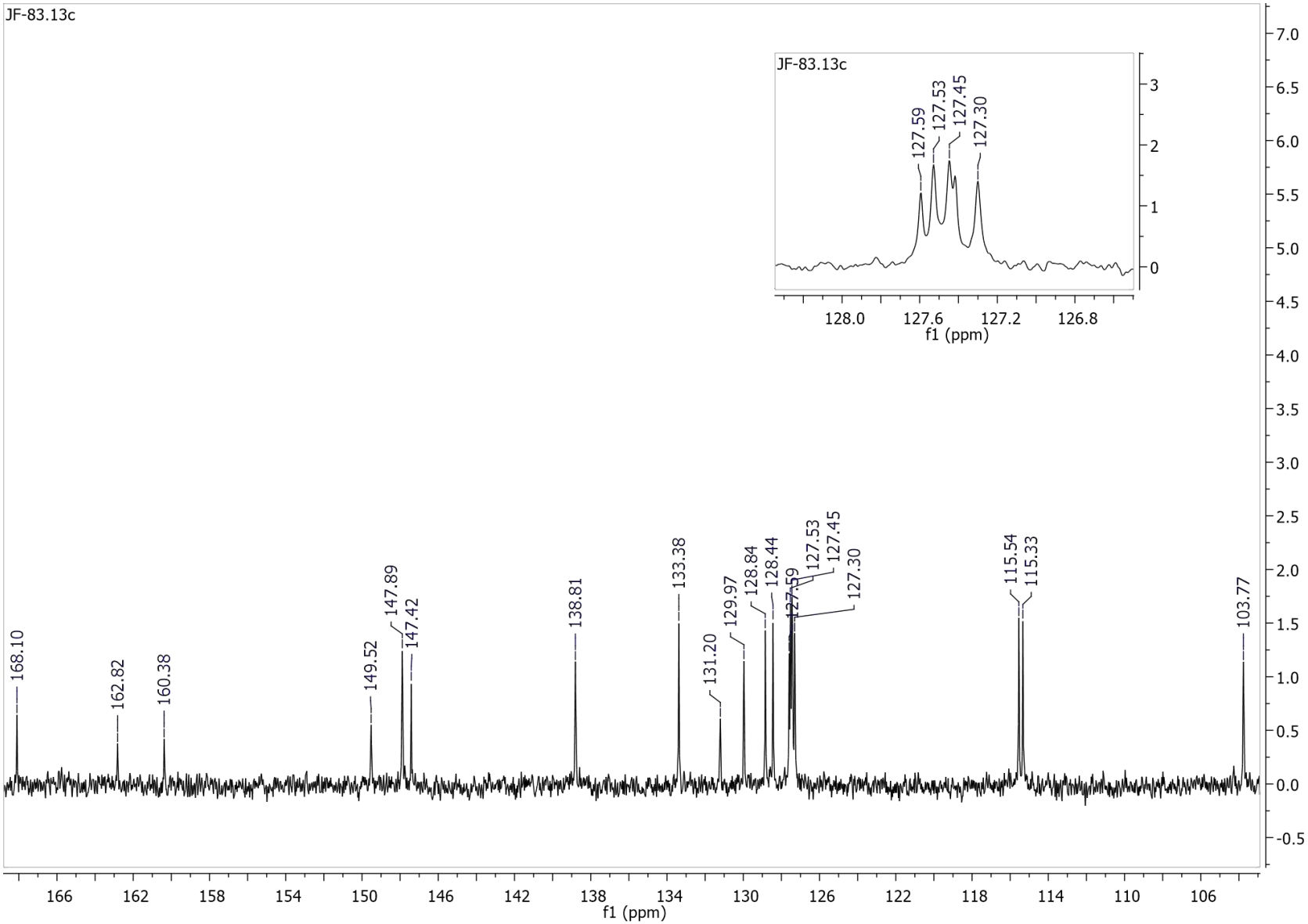
ANEXO T - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-82.13C



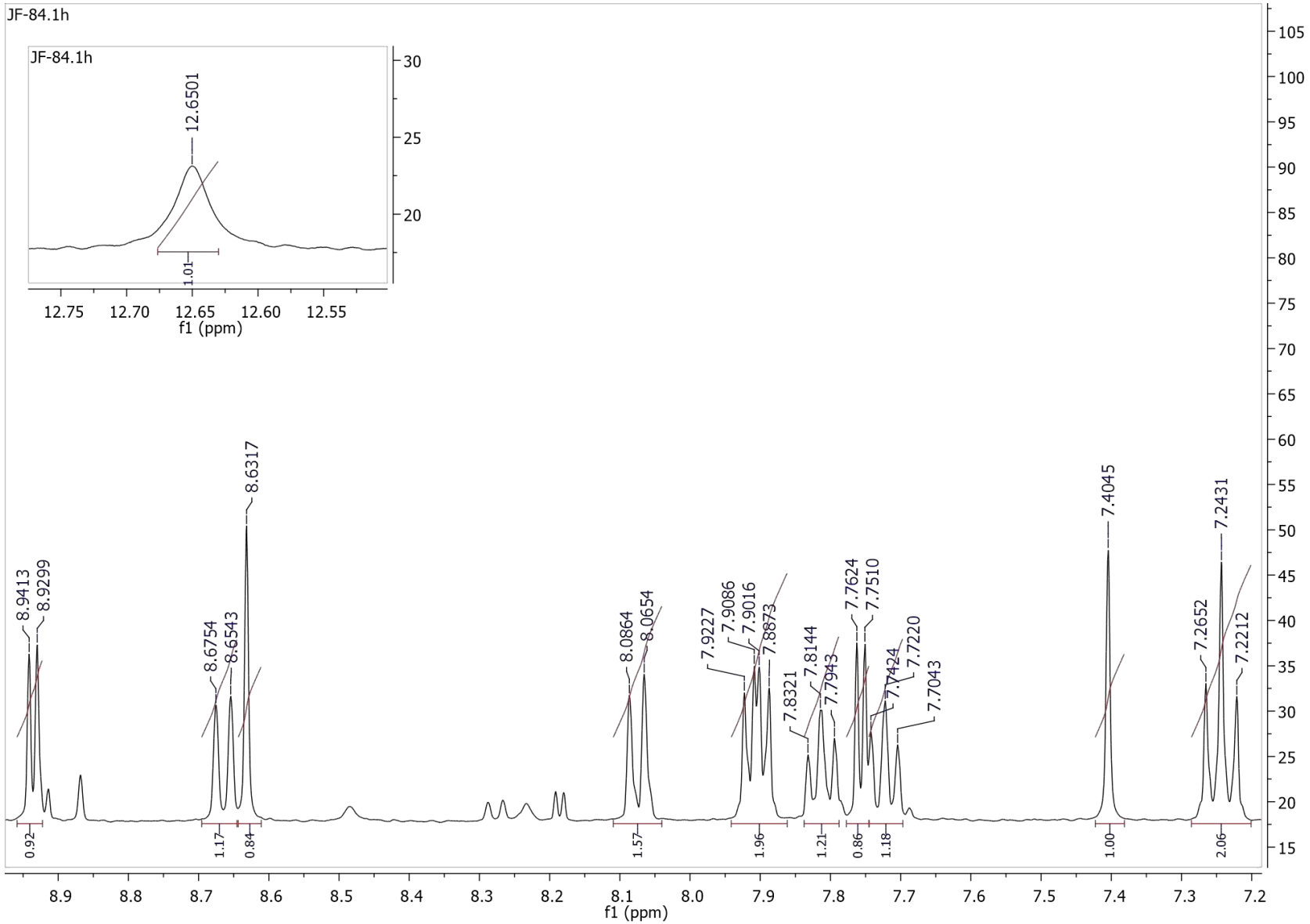
ANEXO U - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-83.1H



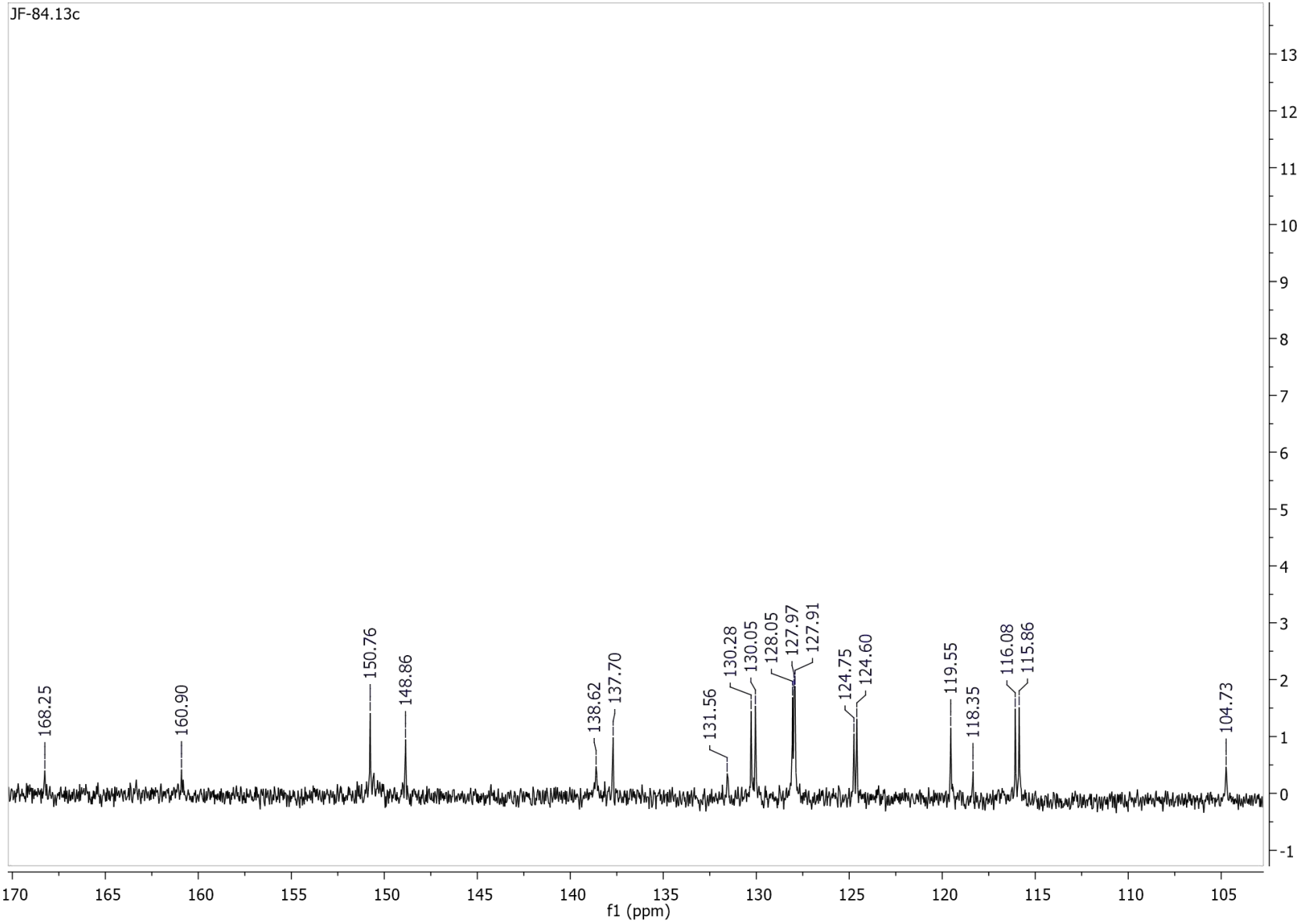
ANEXO V - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-83.13C



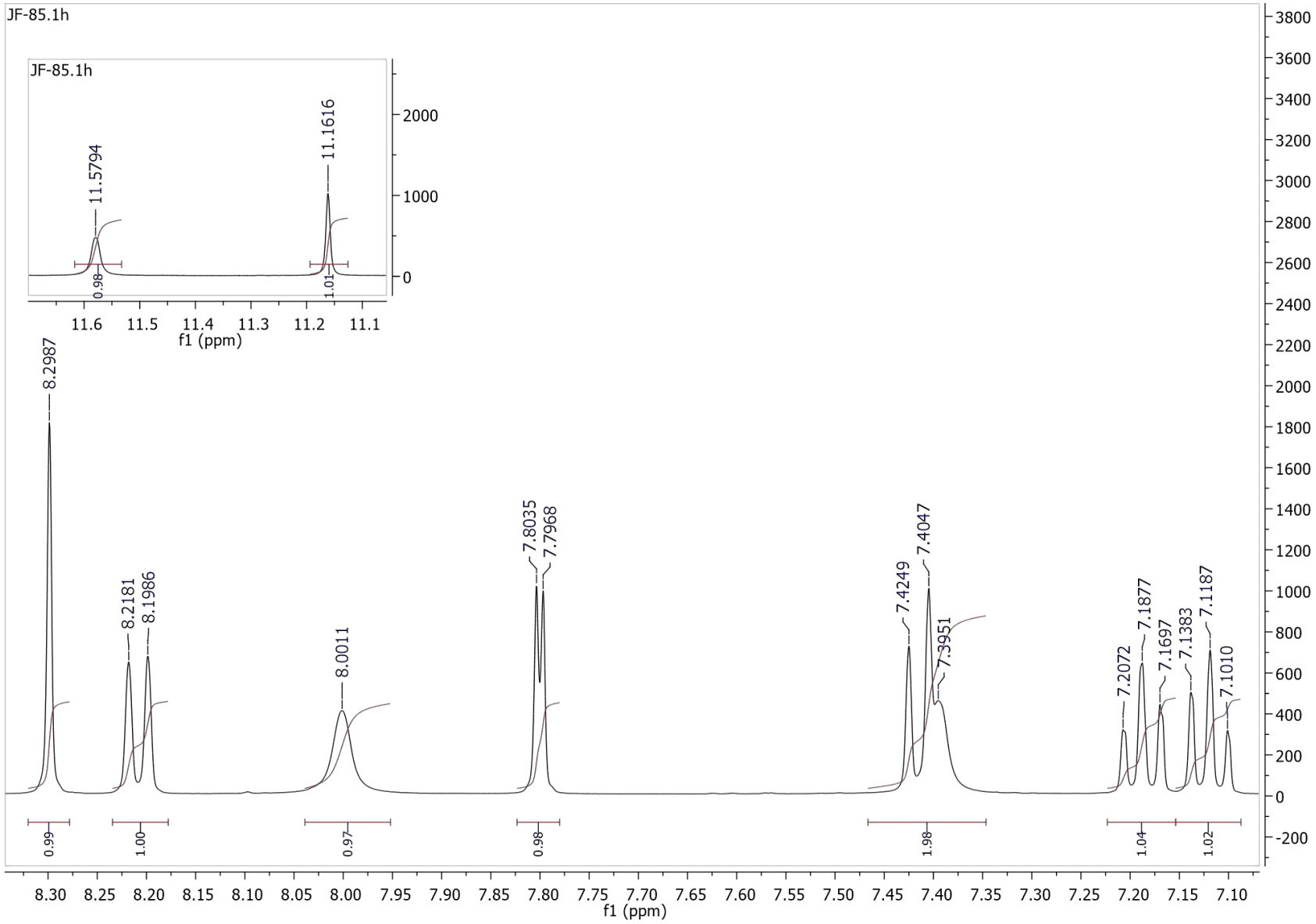
ANEXO W - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-84.1H



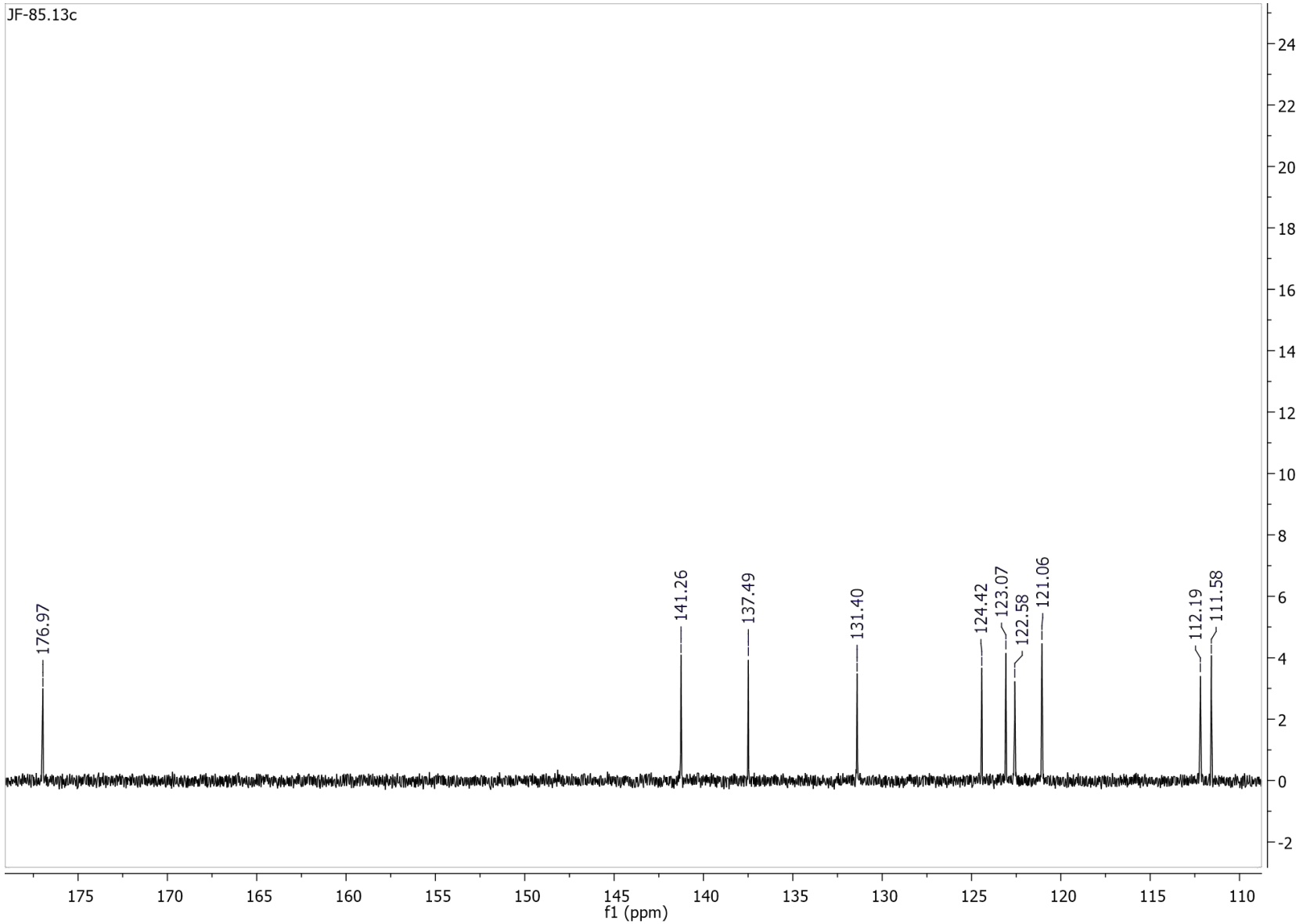
ANEXO X - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-84.13C



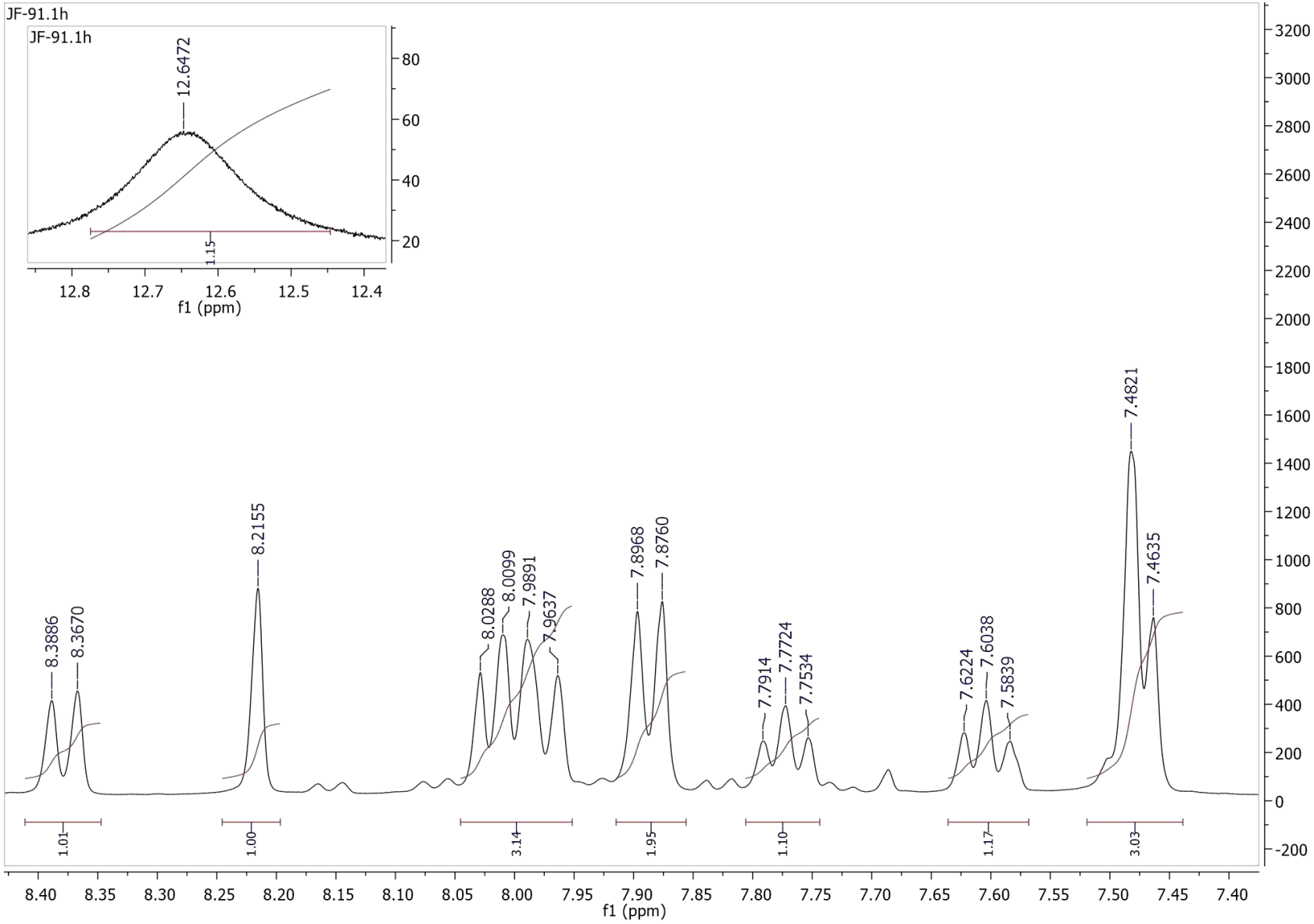
ANEXO Y - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-85.1H



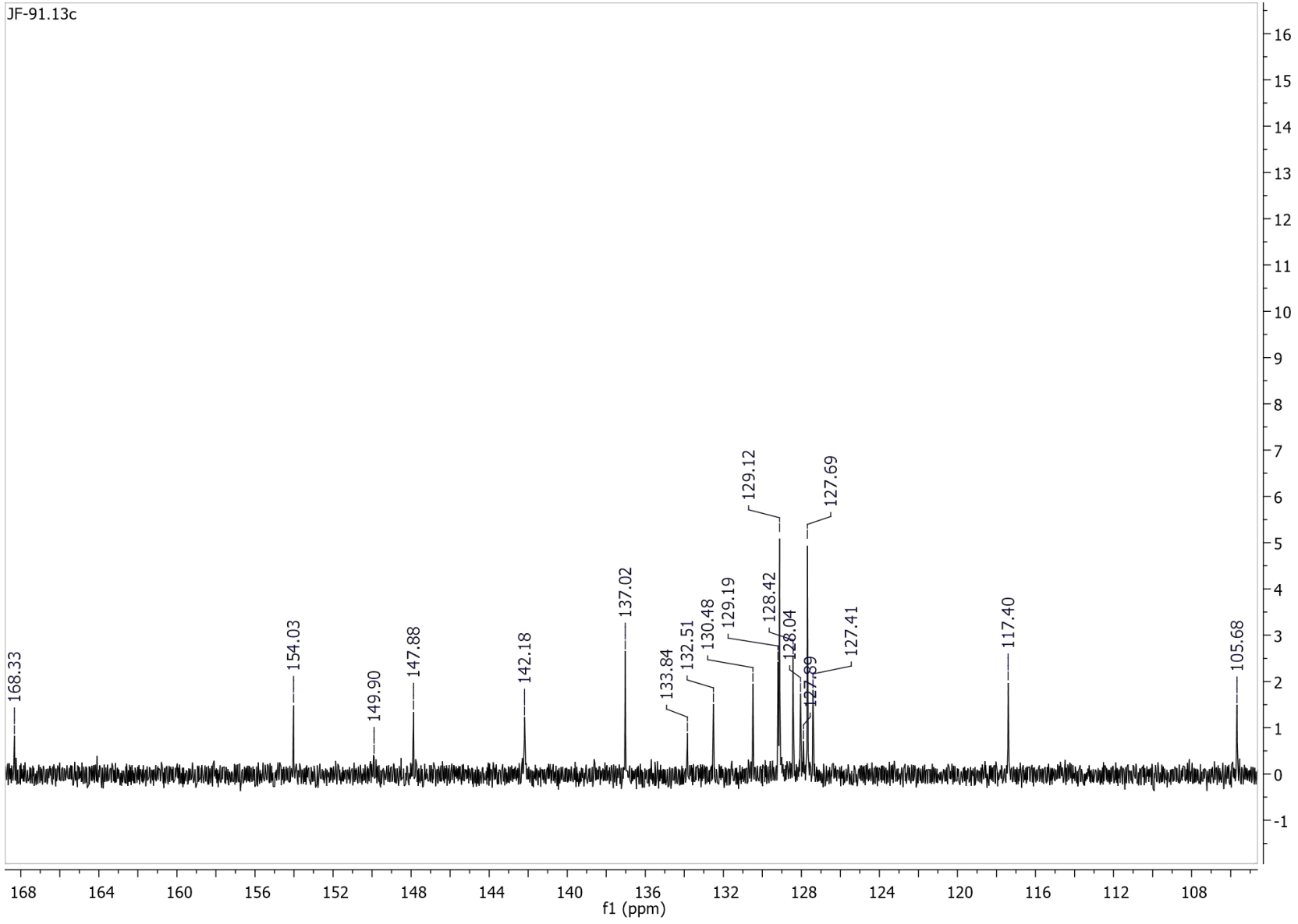
ANEXO Z - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-85.13C



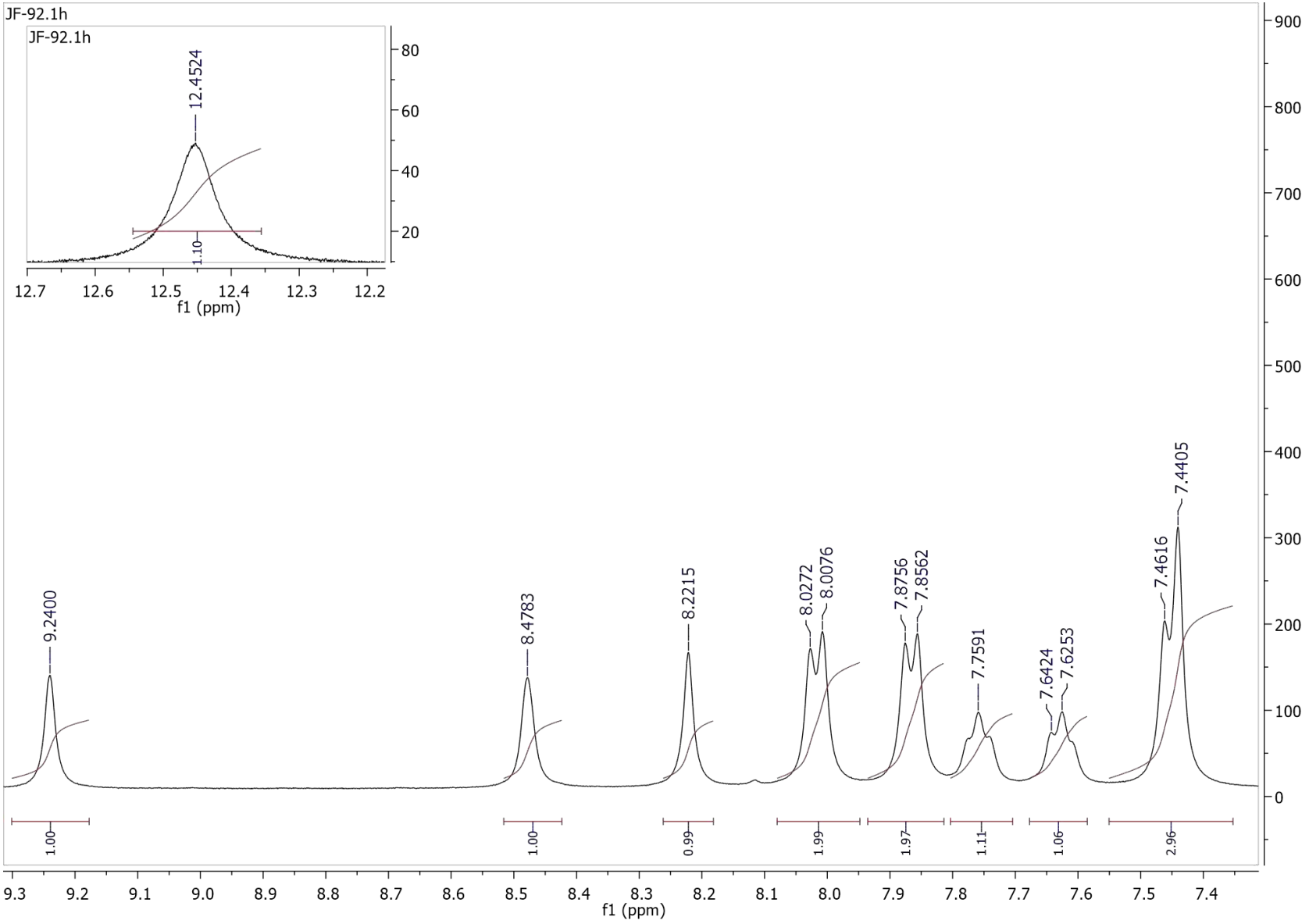
ANEXO AA - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 14 DA MOLÉCULA LQIT/JF-91.H



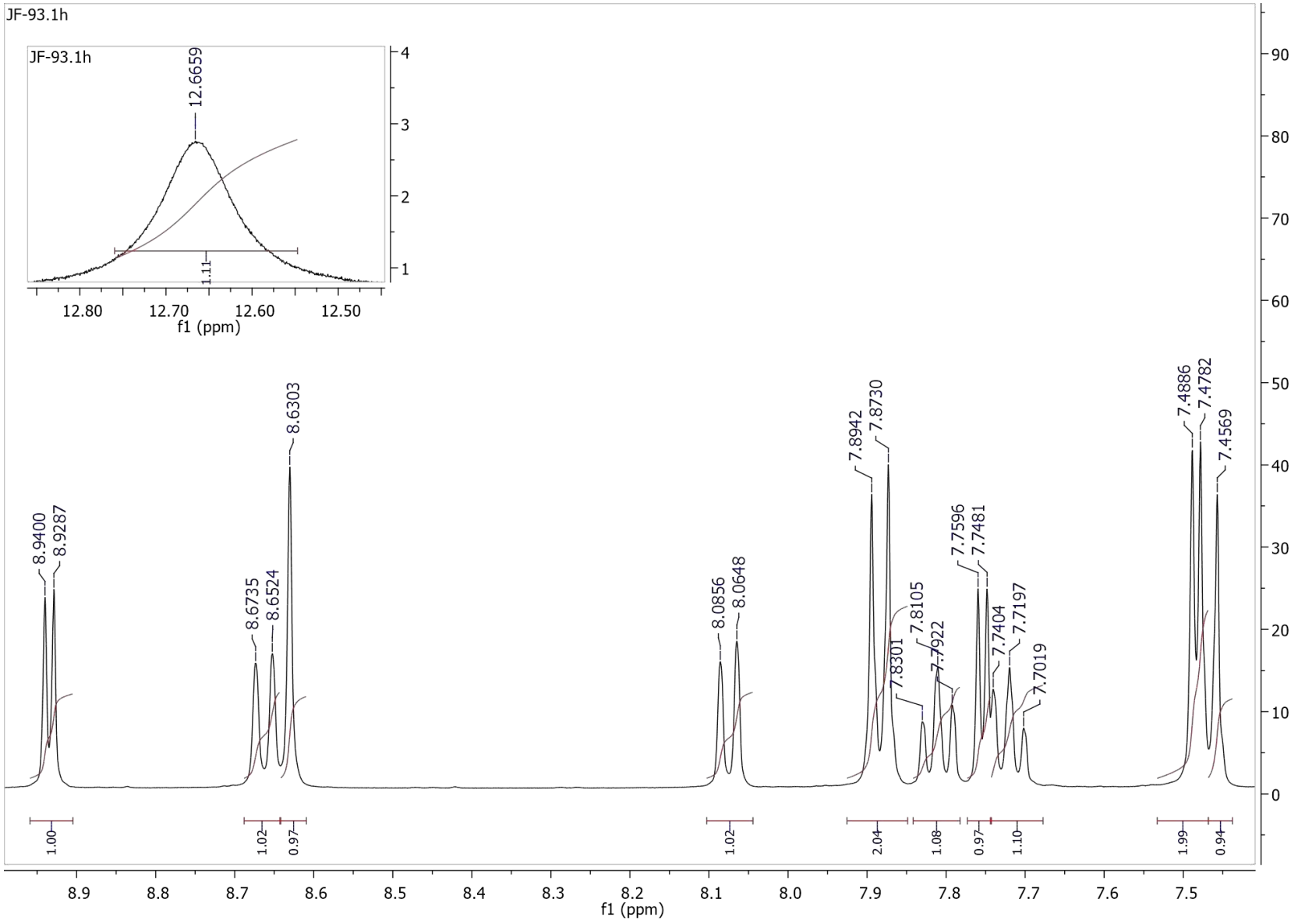
ANEXO AB - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-91.13C



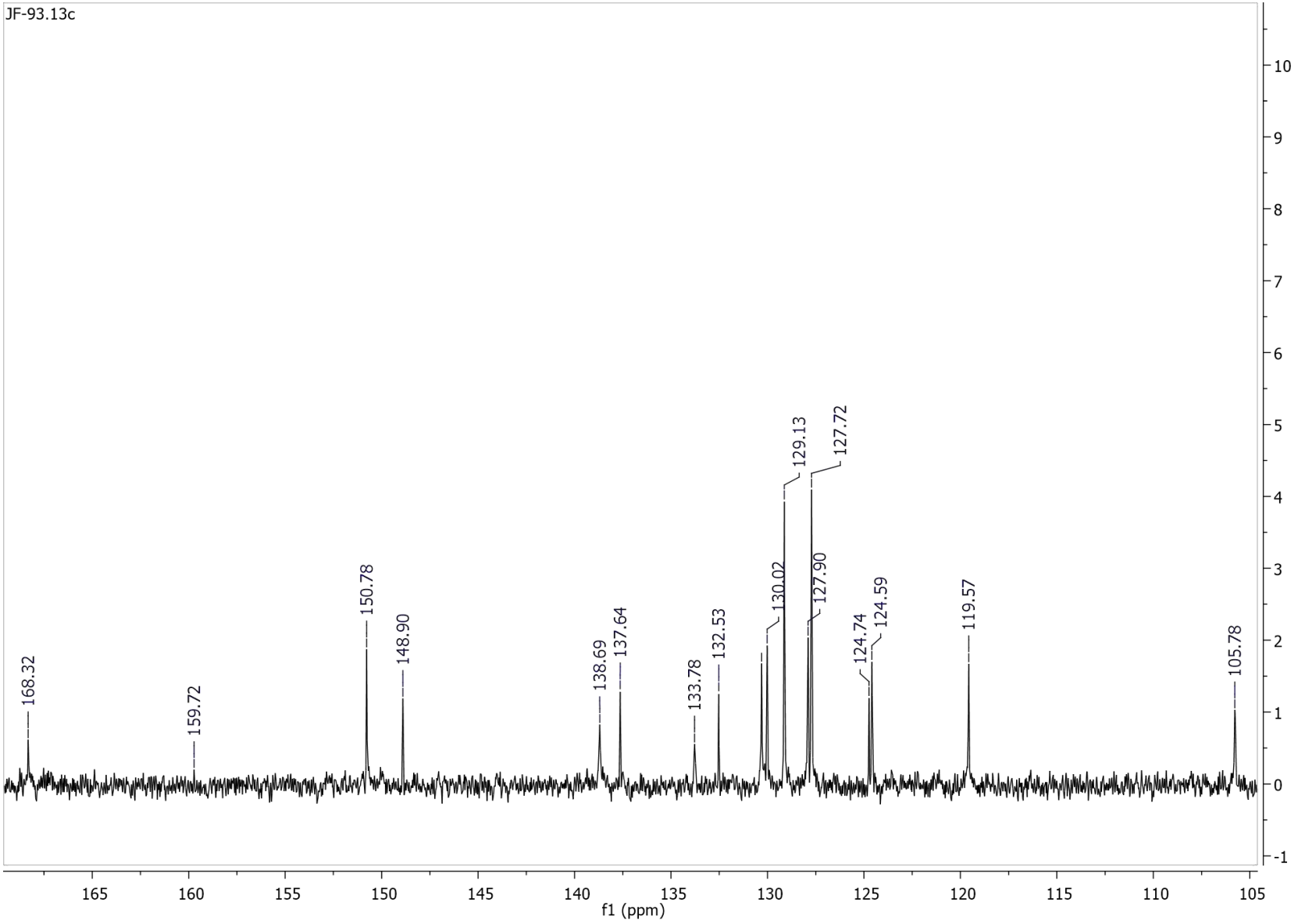
ANEXO AC - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-92.1H



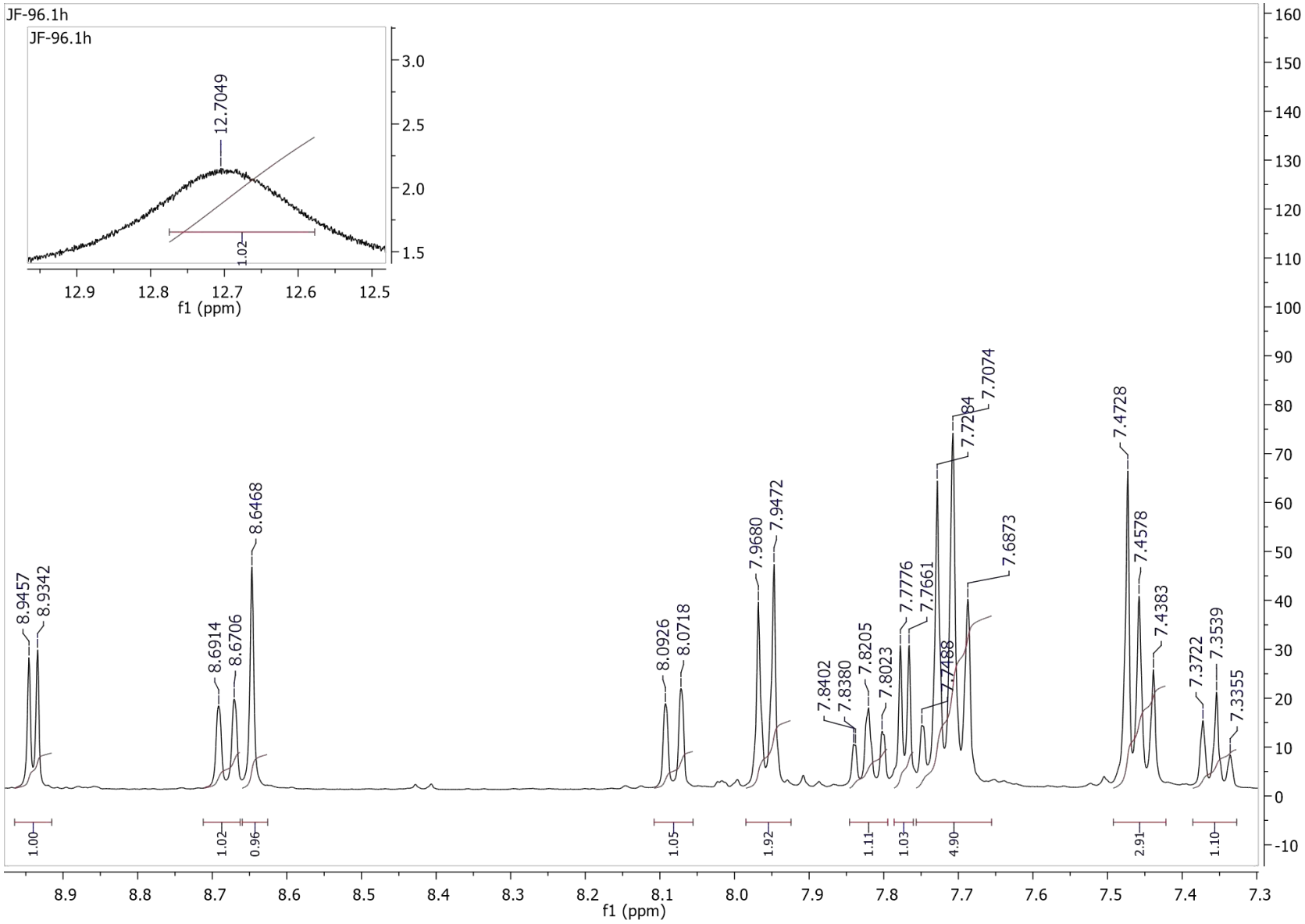
ANEXO AD - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-93.1H



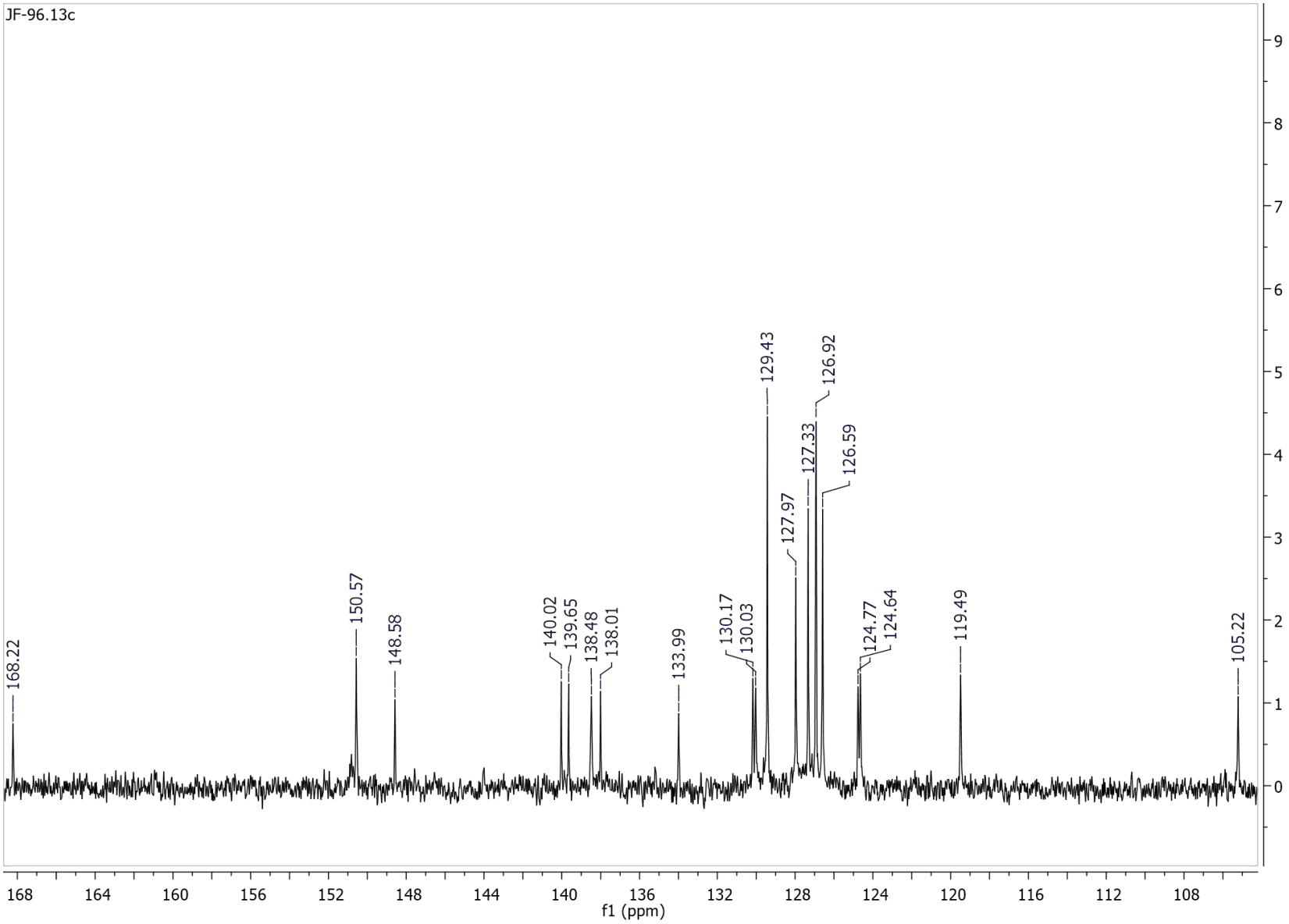
ANEXO AE - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-93.13C



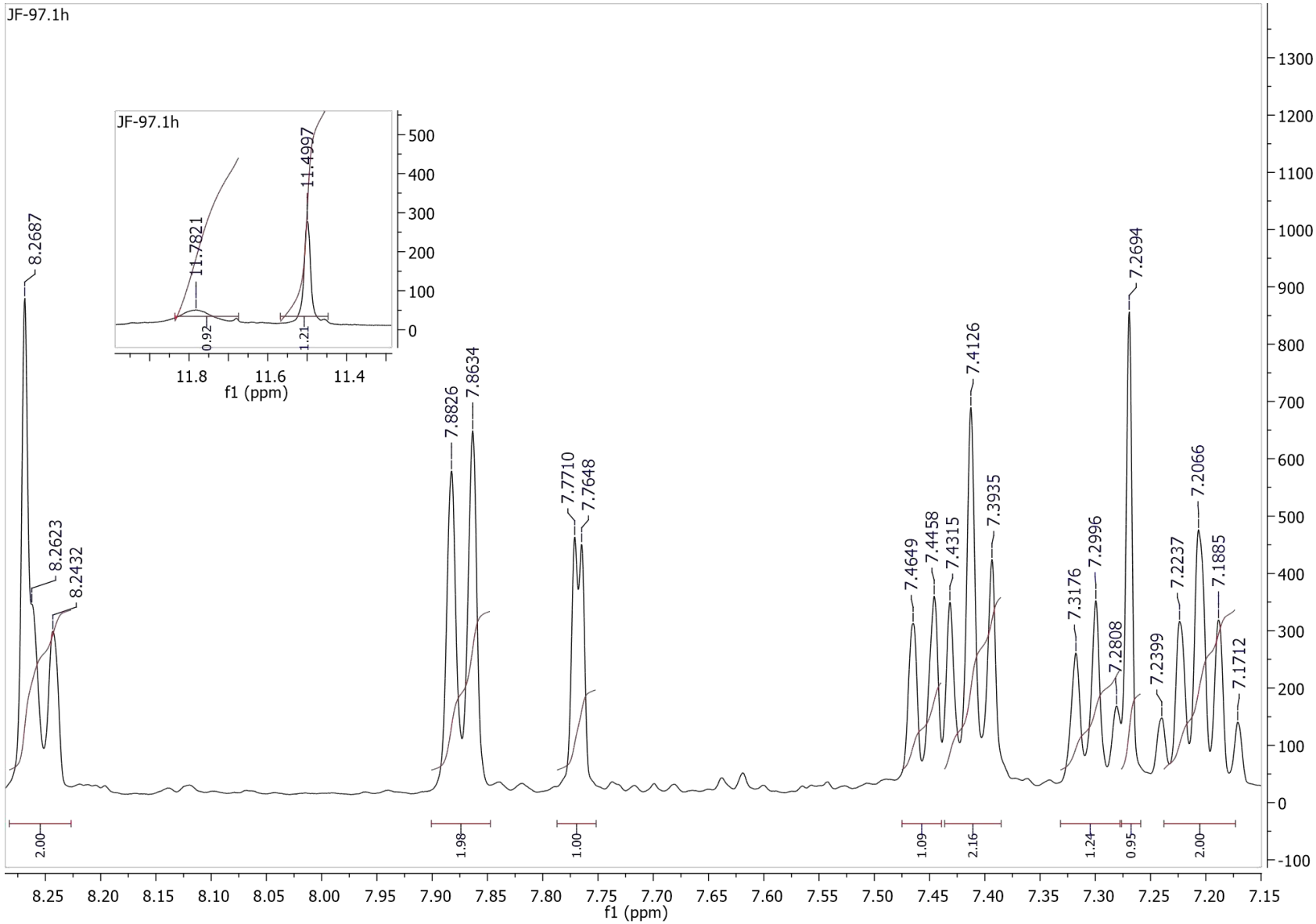
ANEXO AF - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MLÉCULA LQIT/JF-96.1H



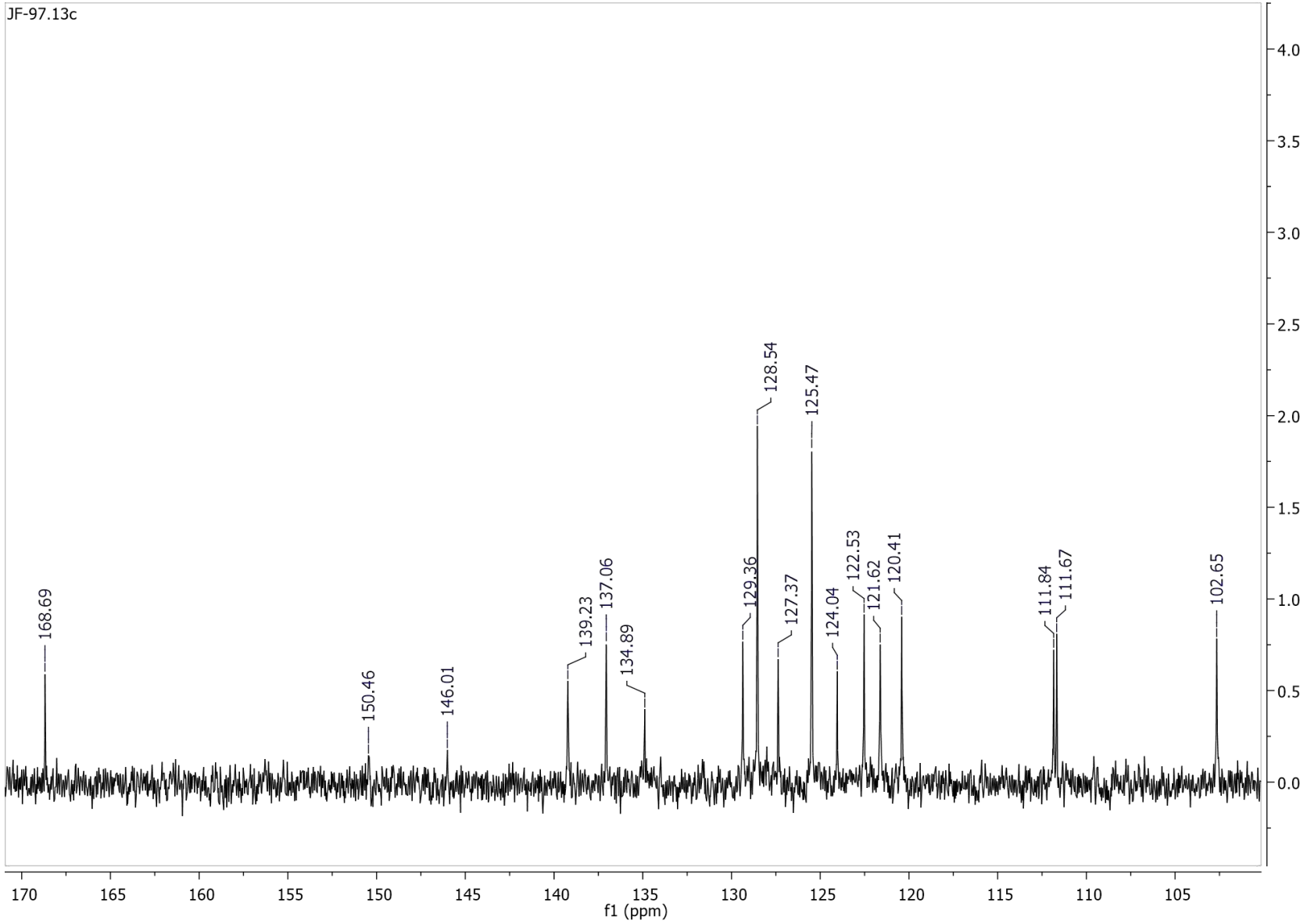
ANEXO AG - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-96.13C



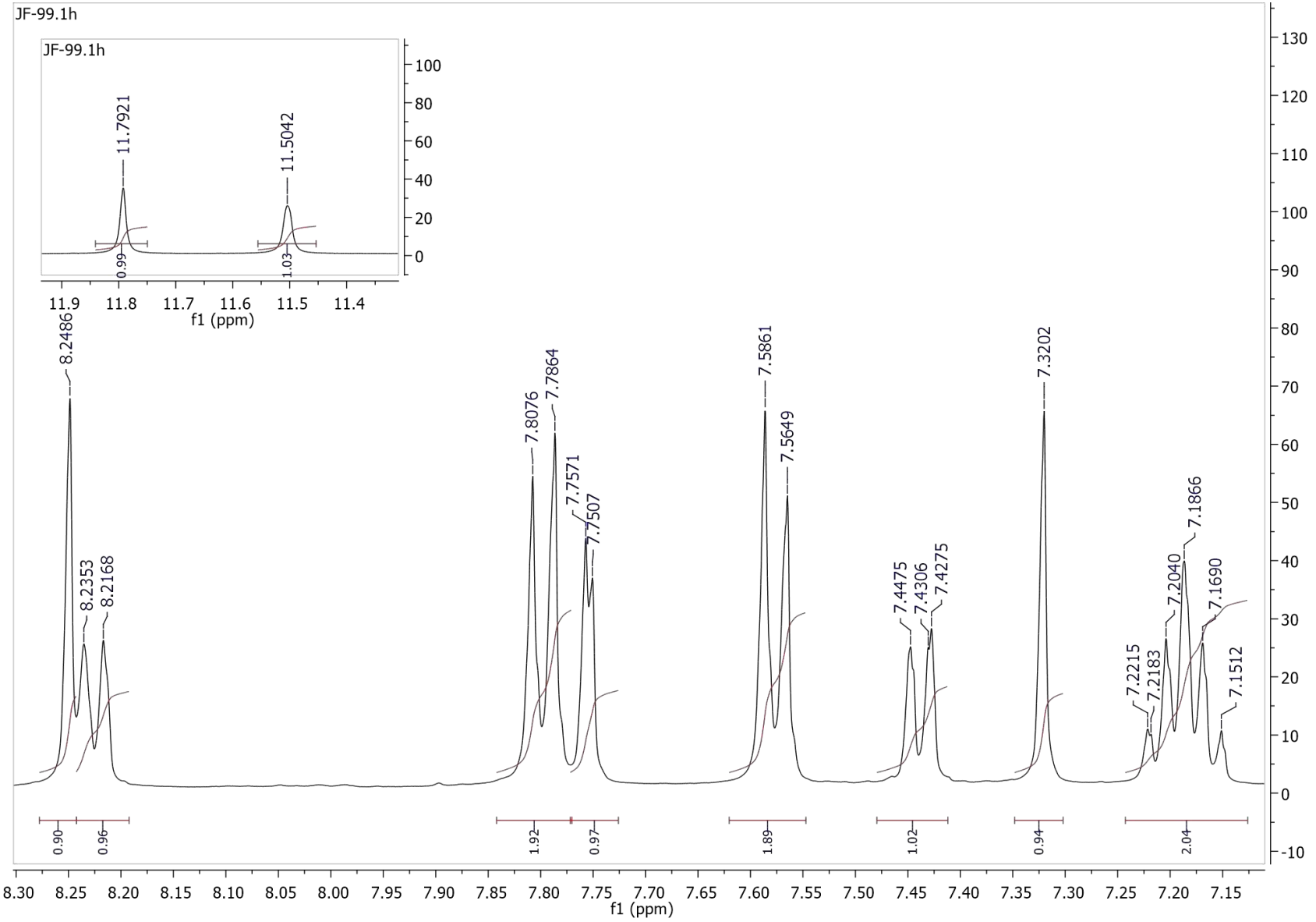
ANEXO AH - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-97.1H



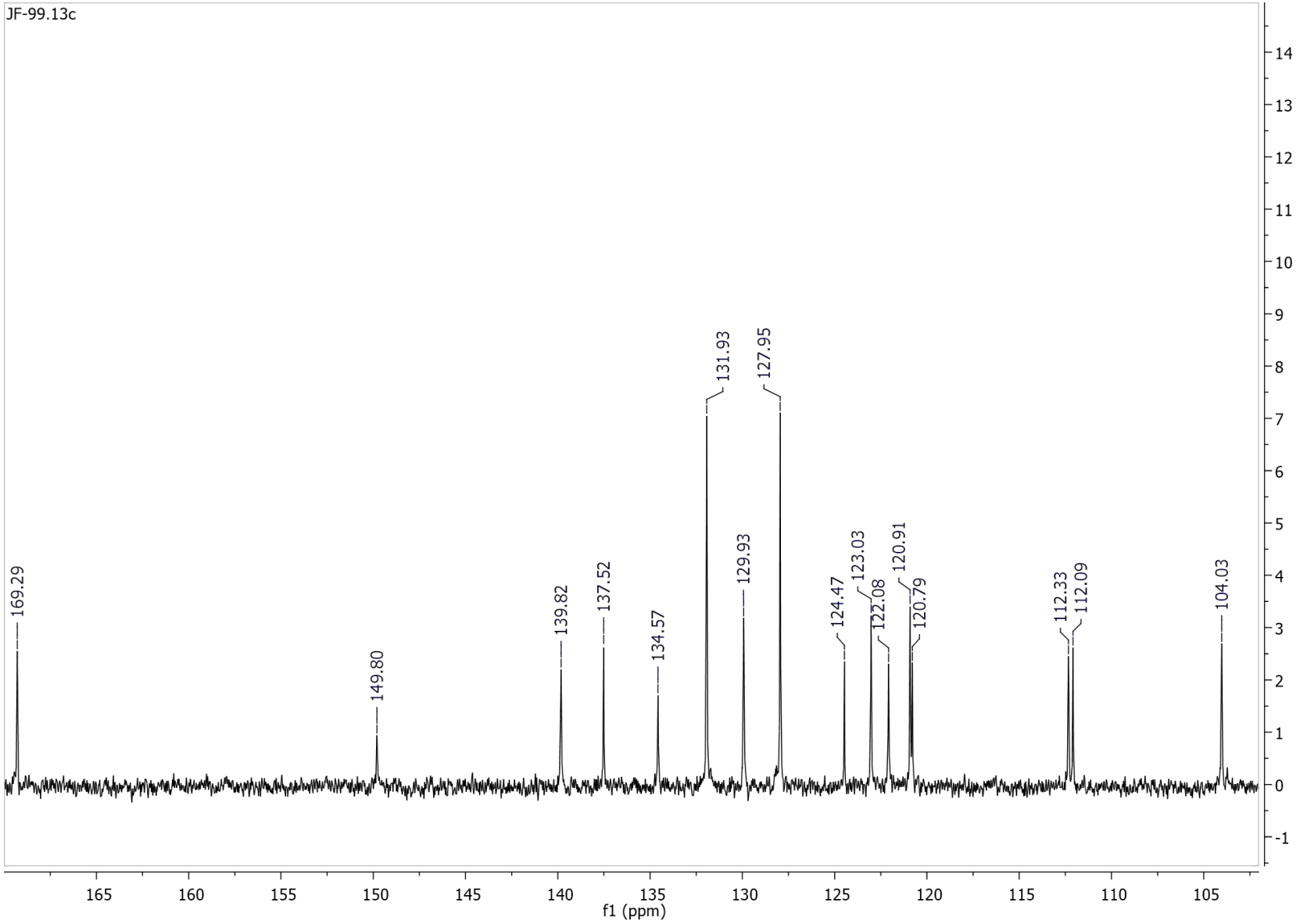
ANEXO AI - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-97.13C



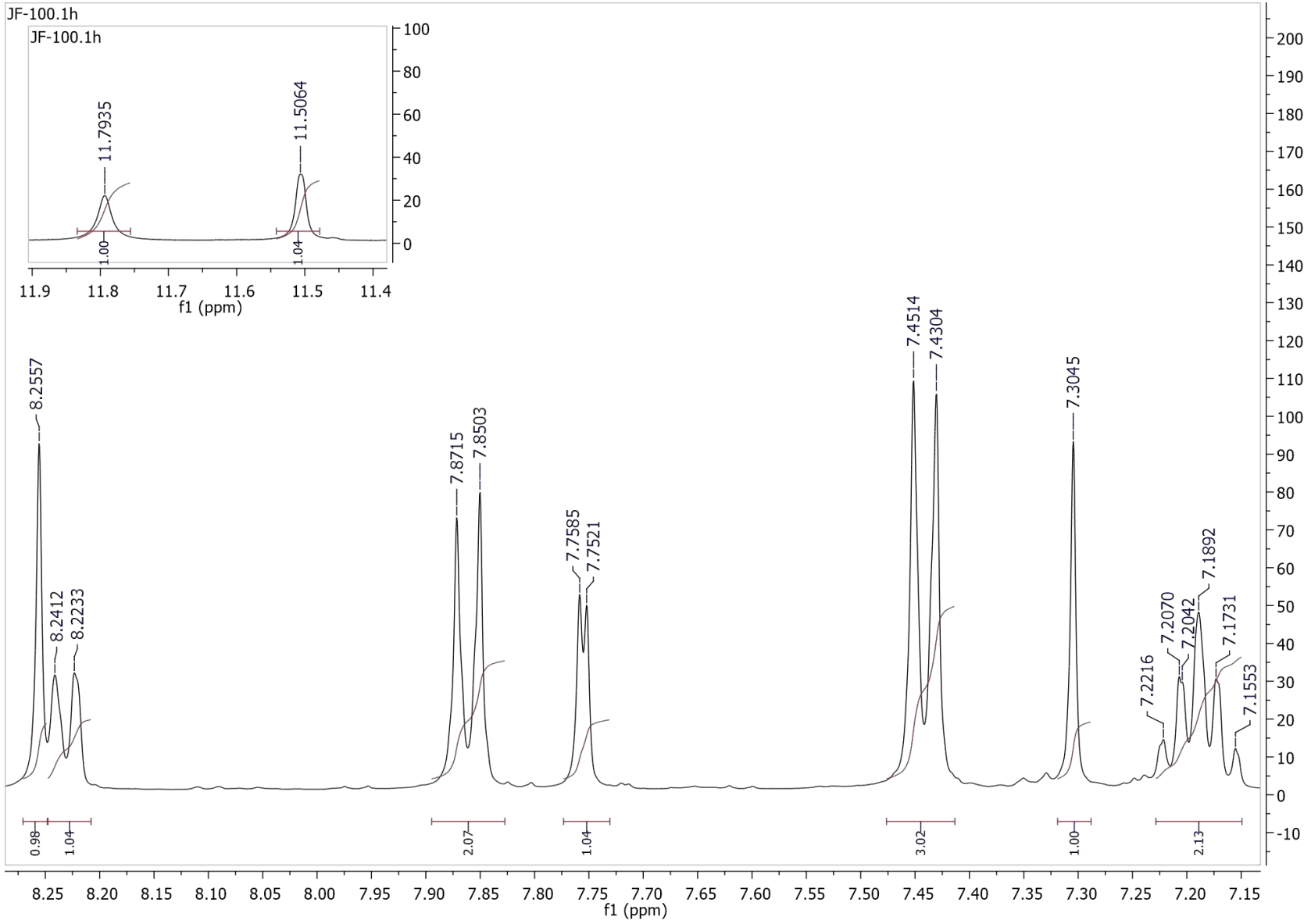
ANEXO AJ - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-99.1H



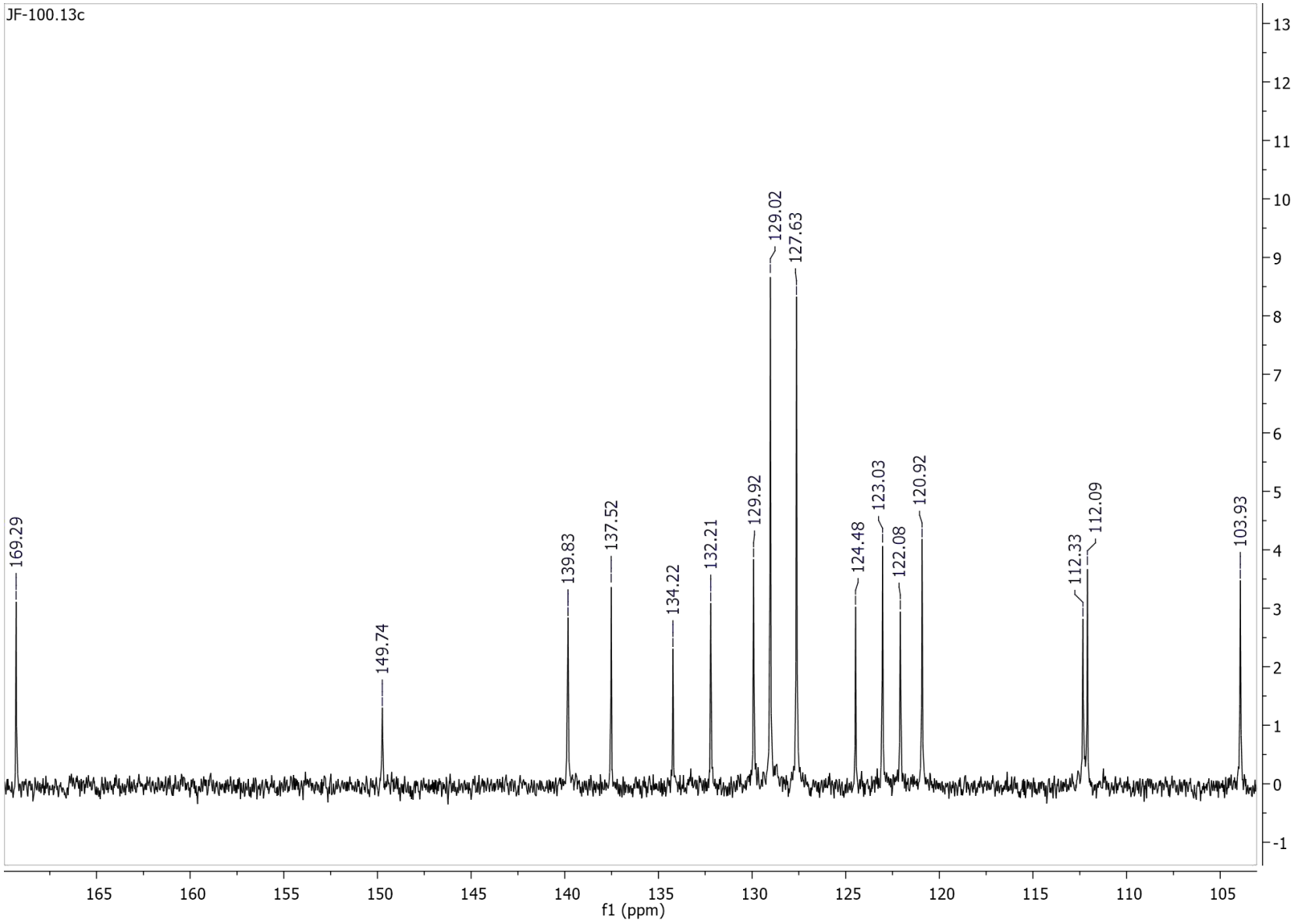
ANEXO AK - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT/JF-99.13C



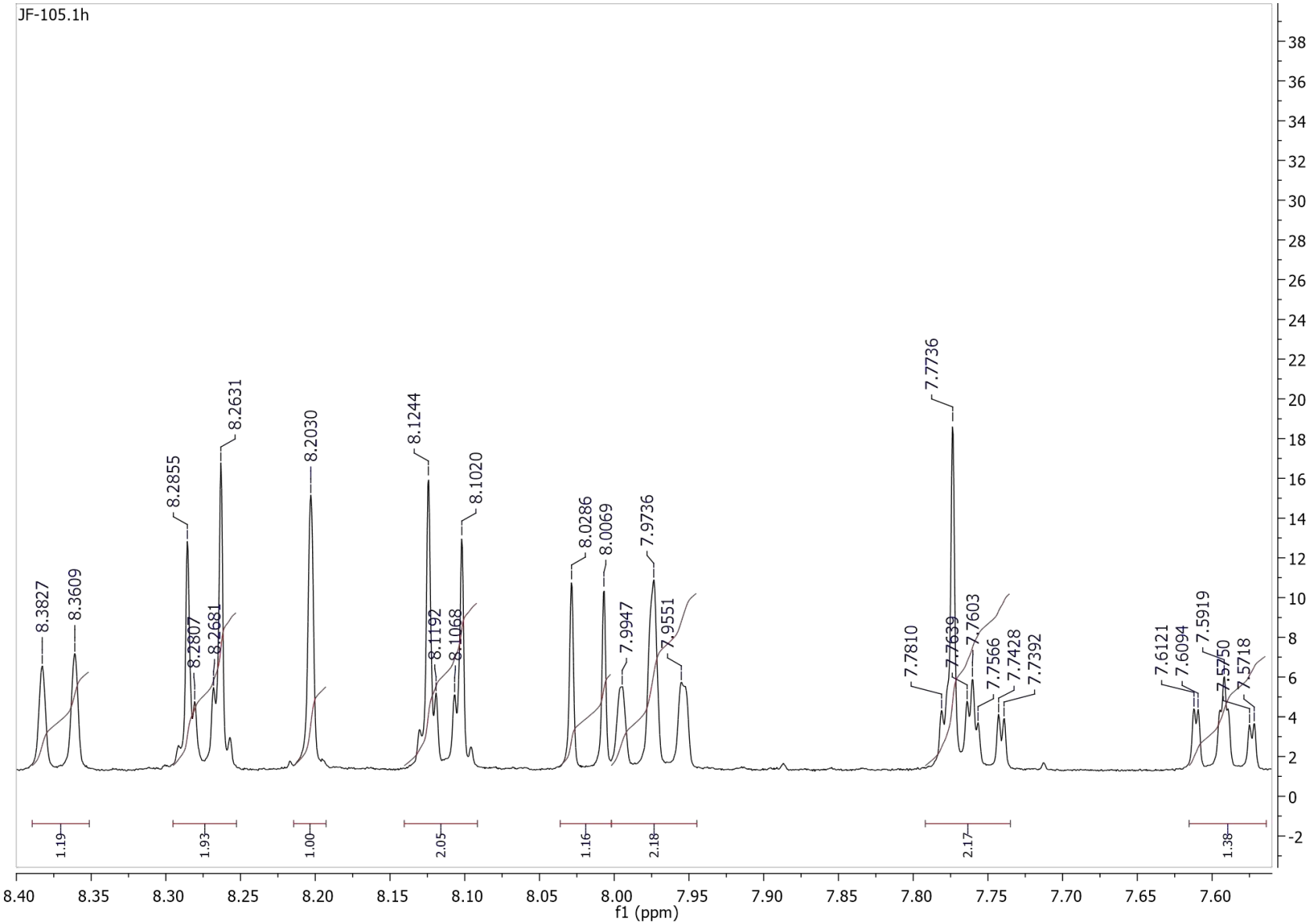
ANEXO AL - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT-JF-100.1H



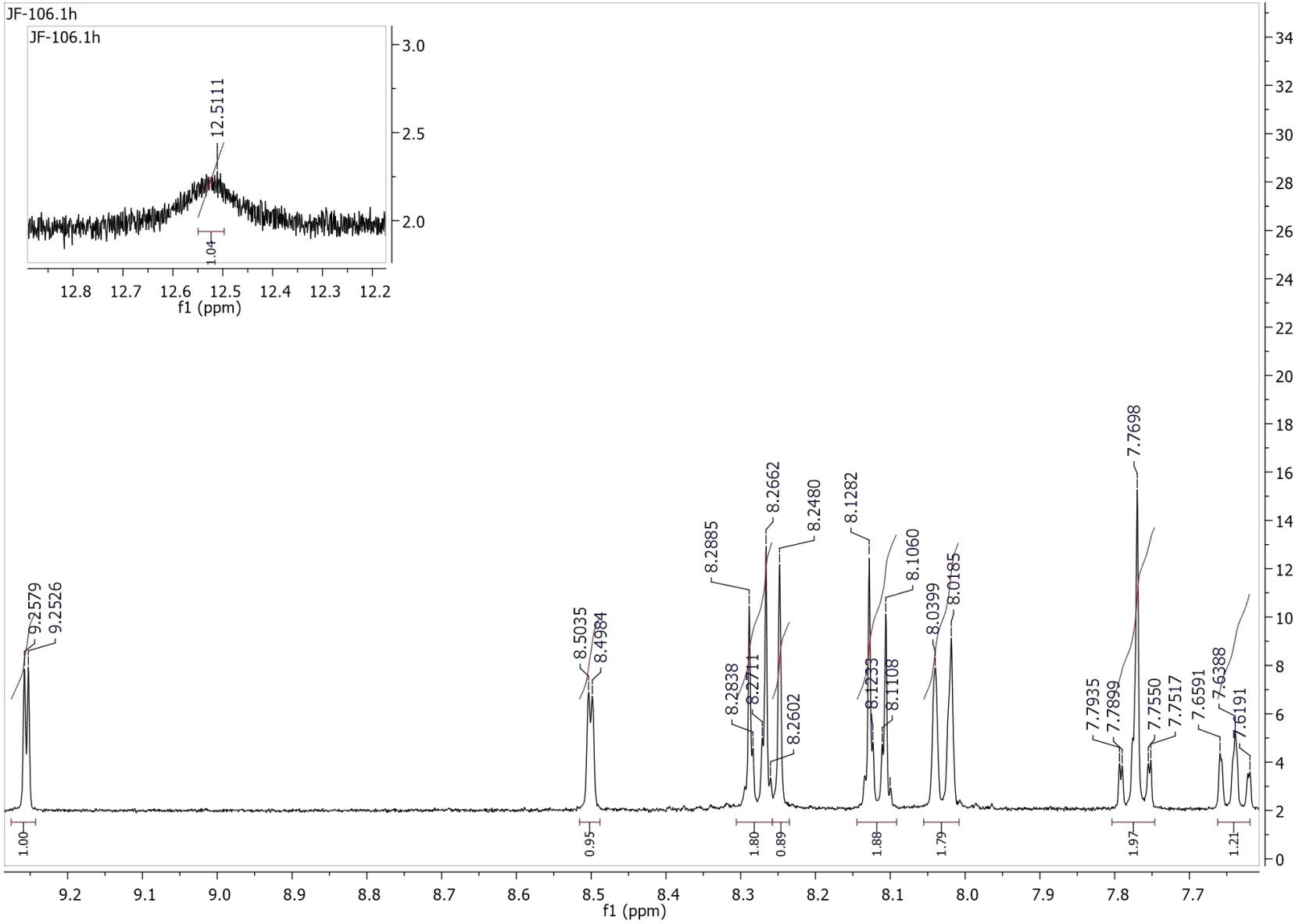
ANEXO AM - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE CARBONO 13 DA MOLÉCULA LQIT-JF-100.13C



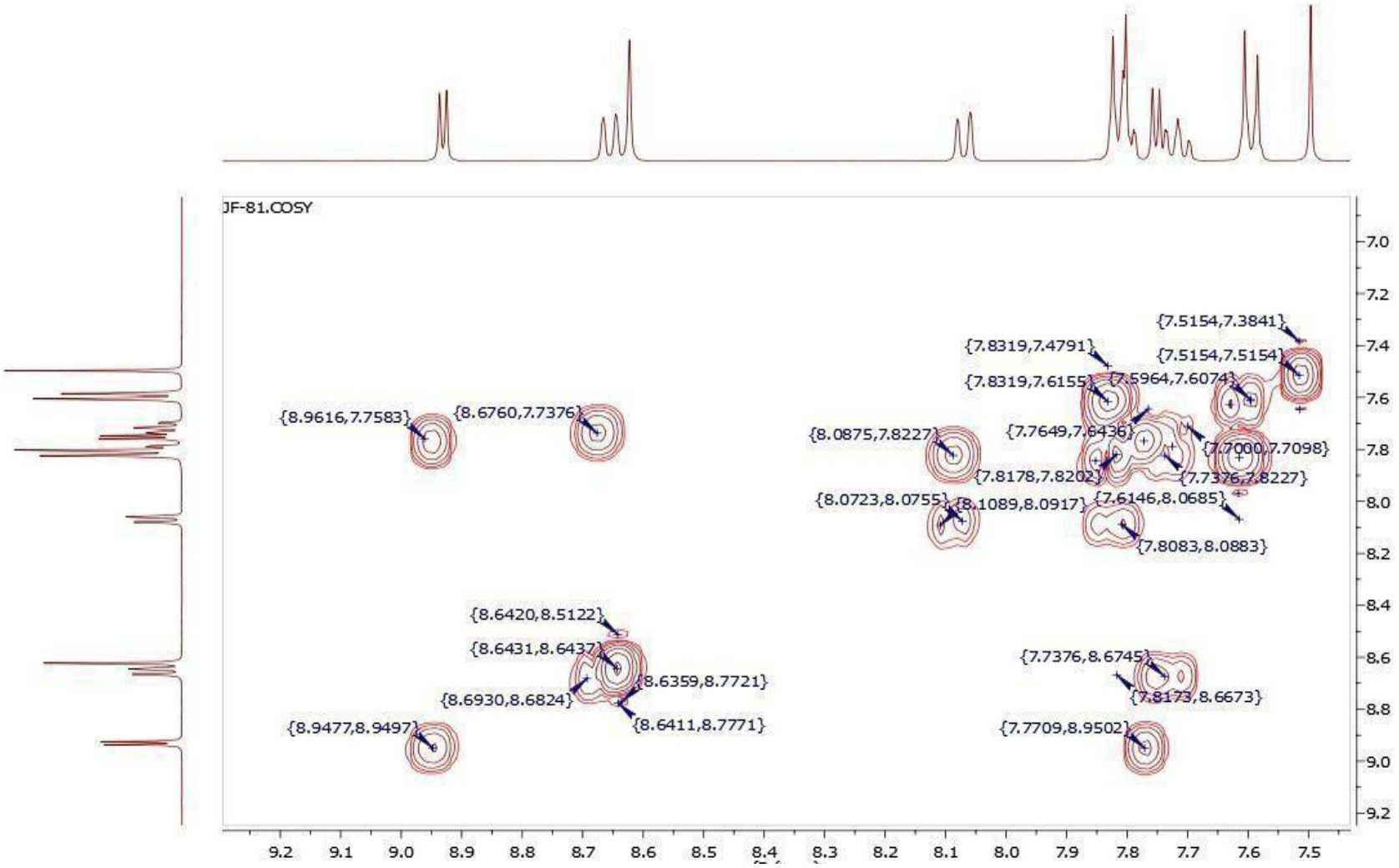
ANEXO AN - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-105.1H



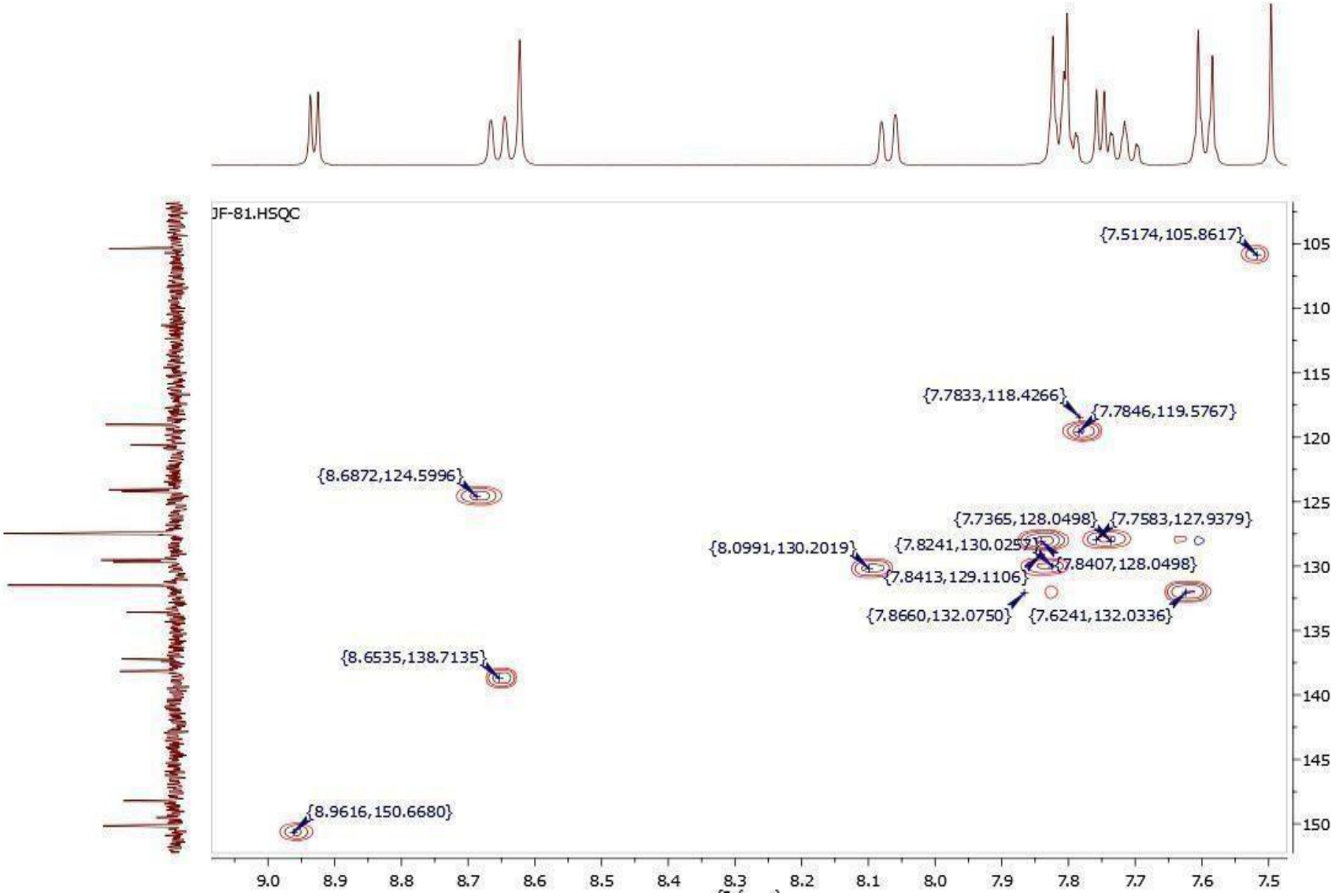
ANEXO AO - ESPECTRO UNIDIMENSIONAL DE HIDROGÊNIO DA MOLÉCULA LQIT/JF-106.1H



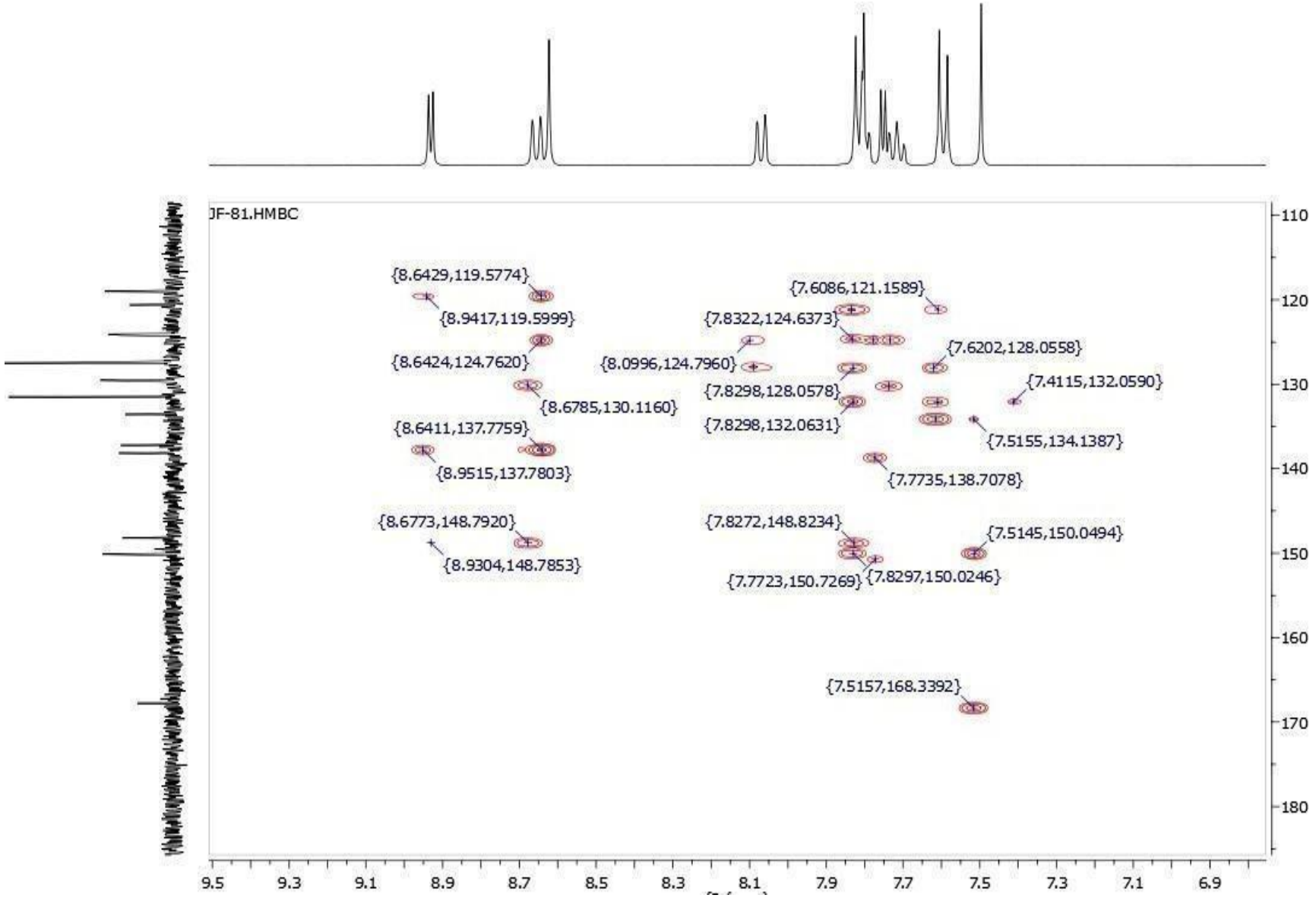
AP - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO COSY DA MOLÉCULA LQIT JF-81



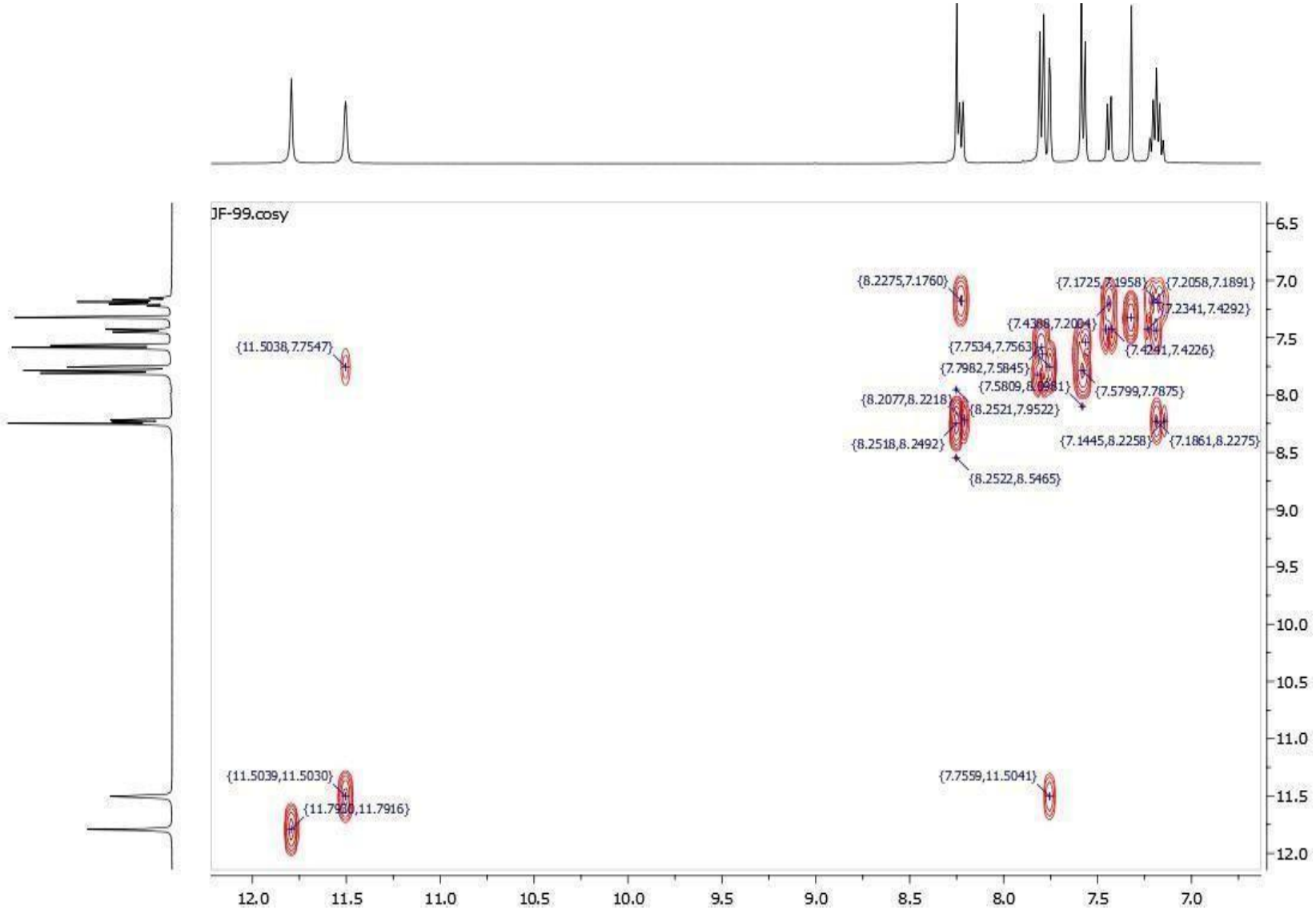
AQ - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HSQC DA MOLÉCULA LQIT JF-81



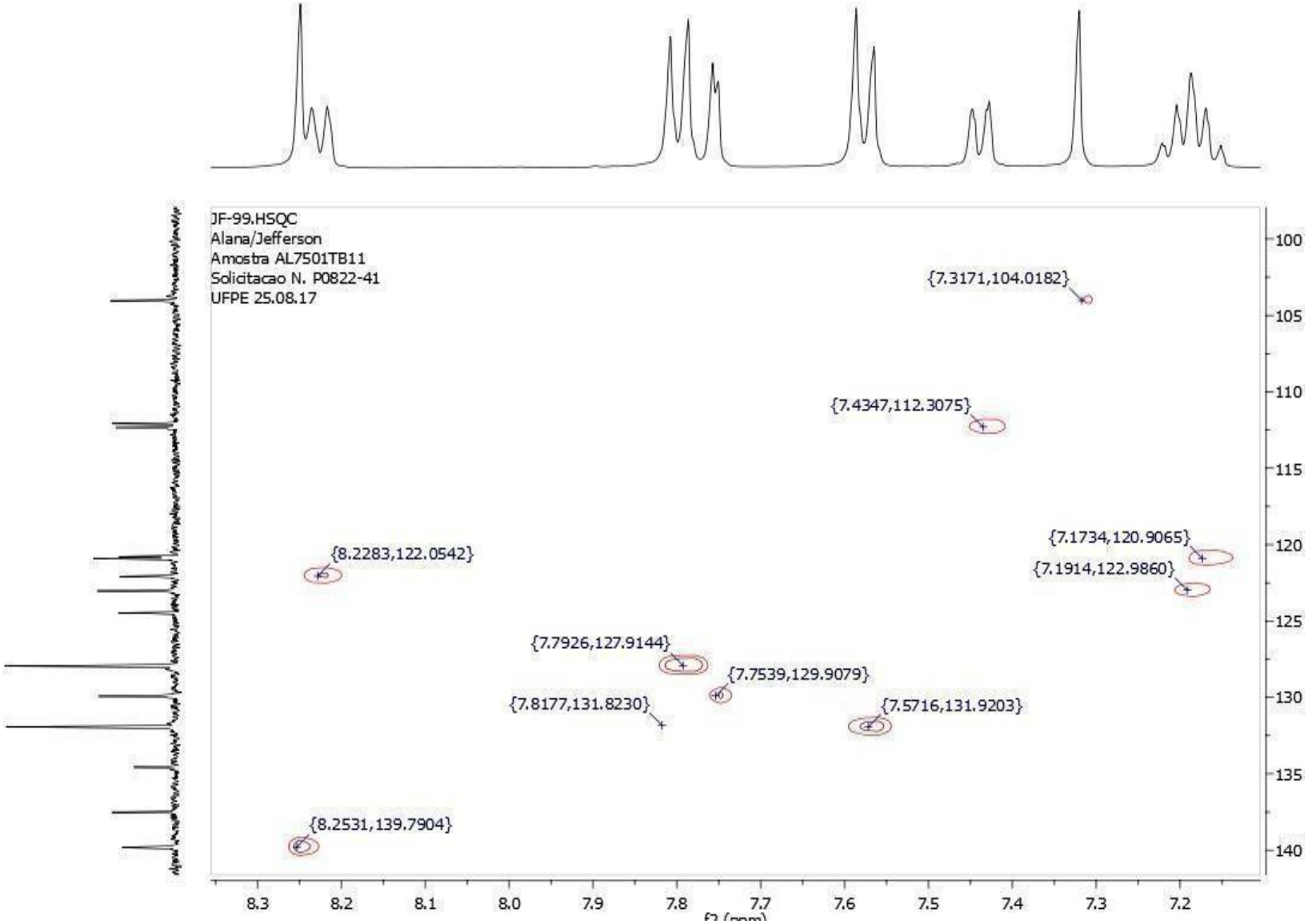
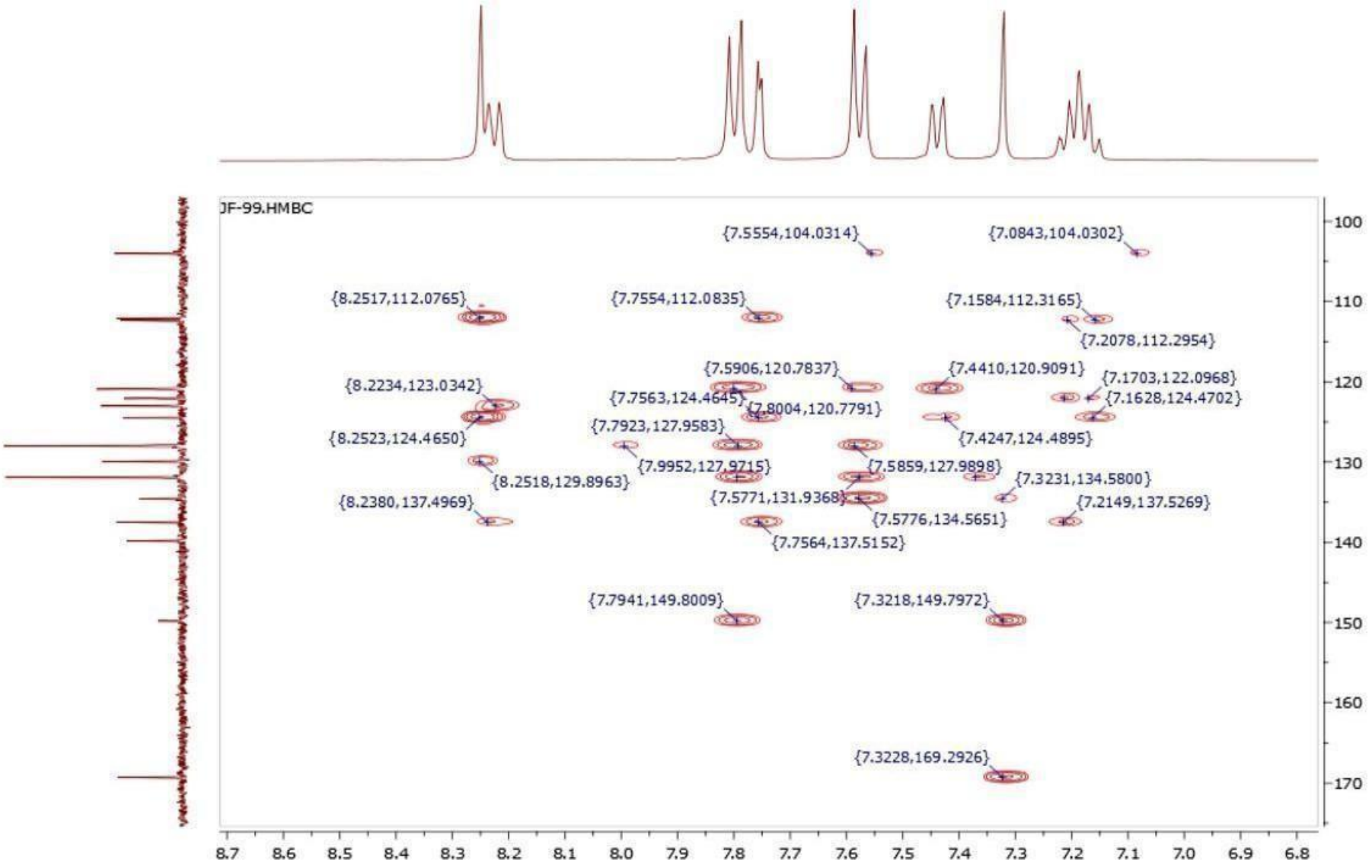
AR - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HMBC DA MOLÉCULA LQIT JF-81



AS - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO COSY DO COMPOSTO LQIT JF-99



AT - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HSQC DA MOLÉCULA LQIT JF-99



AU - ESPECTRO BIDIMENSIONAL DO TIPO HMBC DA MOLÉCULA LQIT JF-99