Vanessa Fernandes Ferreira

**Tiossemicarbazonas e ditiocarbazatos contendo anel
pirazolínico: obtenção, estudos de atividade tripanocida e de
formação de complexos com gálio**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de São Carlos, da Universidade de
São Paulo como parte dos requisitos para a
obtenção de título de mestre em ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

São Carlos – SP

2015

*Dedico este trabalho a toda minha família pela força que me deram nesses anos,
especialmente minha mãe, Vania, que se dedicou a mim sem medir esforços.*

Vocês são à base do que sou hoje!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

*Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tudo o que proporcionou em minha vida;
Em especial, ao Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon, pela orientação, pelo suporte científico e
principalmente pela paciência e compreensão em todos os momentos;*

*Ao Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro pela
colaboração e suas importantes sugestões para o desenvolvimento deste trabalho;*

*Ao Prof Dr. André Luiz Bogado, da Universidade Federal de Uberlândia pelas análises
elementares;*

*Aos Dr. Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira, Dr^a Milena Botelho Pereira Soares e
Sr Cássio Santana Meira, pela realização dos ensaios biológicos;*

Aos membros da banca, pelas contribuições dadas a esse trabalho;

*A toda minha família por estarem sempre ao lado me dando todo amor, carinho, dedicação e
compreensão;*

*Ao Anderson, que com seu amor fez com que eu aprendesse a enxergar a vida de uma forma
mais simples e bonita;*

*Aos amigos que fazem ou fizeram parte do GQIEB (Carolina, Viviana, Henrique, Amandha,
Murilo, Jocely, Pedro, Rommel, Zumira e Rafaela) por todo o apoio científico e por terem
feito esses dois anos muito especiais!*

*A minha amiga de longa data, Luana, que mesmo distante esteve presente constantemente, me
ajudando e me dando força em todos os momentos;*

*A todos os funcionários do IQSC, técnicos, pessoal da manutenção e da limpeza por toda
atenção;*

*Aos secretários da pós-graduação Andreia, Daniele, Gislei e Gustavo pela eficiência e
atenção em todos os momentos;*

Por fim, a todas as pessoas que de alguma maneira contribuíram para este trabalho.

"Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles."

Augusto Cury

Livro: Nunca desista dos seus sonhos

RESUMO

O presente trabalho consiste na síntese, caracterização e estudos de atividade tripanocida de doze compostos, sendo oito tiossemicarbazonas (TSCs) e quatro ditiocarbazatos (DTCs), contendo anel pirazolínico em suas estruturas, assim como no estudo da formação de complexos de um DTC com Ga^{III} . As TSCs e os DTCs foram obtidos em reações de condensação envolvendo uma β -dicetona e uma tiossemicarbazida ou ditiocarbazato, respectivamente. A partir de 1-fenil-1,3-butanodiona (benzoilacetona) e 4-R-tiossemicarbazida, foram obtidas as TSCs de nome 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1-(4-R-tiossemicarbazona), identificados como H_2bt , H_2bmt , H_2bet e H_2bpt , com R = H, Me, Et e Ph, respectivamente. Mudando a β -dicetona para 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona, foram obtidas as TSCs de nome 5-hidroxi-3-fenil-5-trifluormetil-pirazolina-1-(4-R-tiossemicarbazona), identificados como H_2ft , H_2fmt , H_2fet e H_2fpt , com R = H, Me, Et e Ph, respectivamente. De modo similar, os DTCs de nome 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1-(S-*p*-R-benzilditiocarbazato), H_2bdtc e H_2mbdtc , para R = H e OMe, respectivamente, foram obtidos a partir de benzoilacetona e S-*p*-R-benzilditiocarbazato, enquanto que os DTCs de nome 5-hidroxi-3-fenil-5-trifluormetil-pirazolina-1-(S-*p*-R-benzilditiocarbazato), H_2fdtc e H_2mfdtc , para R = H e OMe, respectivamente, formaram-se quando a 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona foi a β -dicetona utilizada. Os compostos foram caracterizados por diversas técnicas, que incluíram análise elementar, espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e flúor (RMN ^1H e ^{19}F) e difração de raios X em monocristal. As TSCs e os DTCs foram avaliados quanto a suas atividades anti-*T. cruzi* e citotoxicidade frente a células de macrófagos J774, sendo possível avaliar as influências dos grupos periféricos substituintes. Nestes estudos, dois novos compostos, além do H_2bdtc , cuja atividade é conhecida, se mostraram promissores, H_2bt e H_2bmt , apresentando valores de atividade tripanocida $\text{CC}_{50\text{try}} = 9,91$ e $6,85 \mu\text{M}$, respectivamente, para a cepa Y na forma tripomastigota do *T. cruzi*. Ambos foram superiores ao benzonidazol, utilizado como referência ($\text{CC}_{50\text{try}} = 10,6 \mu\text{M}$). Os compostos também se mostraram seletivos, com $\text{CC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ para células de macrófago J774. Estudos de complexação com Ga^{III} utilizando H_2bdtc como agente complexante levaram a dois novos complexos, variando-se as condições reacionais, sendo um mononuclear, $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, e um dinuclear, $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$, os quais foram caracterizados, tanto em solução quanto no estado sólido, tendo tido suas estruturas

determinadas por difração de raios X em monocristal. Ambos apresentam centros de Ga^{III} pentacoordenados, com grau de distorção diferenciado, entre uma geometria de coordenação bipiramidal trigonal e piramidal de base quadrada. Quando dianiônico, o bdtc²⁻ coordenou-se *O,N,S*-tridentado, diferentemente da forma *S,N*-bidentada observa para o DTC, quando coordenado monoaniônico, como bdtc¹⁻.

ABSTRACT

The present work describes the synthesis, structural characterization and trypanocidal activity studies of twelve compounds, eight thiosemicarbazones (TSCs) and four dithiocarbazates (DTCs) containing pyrazoline ring in their structures, as well as in the study of complex formation of a DTC with Ga^{III} . The TSCs and DTCs were obtained from condensation reactions involving a β -diketone and a dithiocarbazate or thiosemicarbazide, respectively. From 1-phenyl-1,3-butanedione (benzoylacetone) and 4-R-thiosemicarbazide were obtained TSCs the name 5-hydroxy-3-methyl-5-phenyl-pyrazoline-1-(4-R-thiosemicarbazone), identified as H_2bt , H_2bmt , H_2bet and H_2bpt , $\text{R} = \text{H}$, Me , Et , Ph , respectively. Changing the β -diketone for 4,4,4-trifluor-1-phenyl-1,3-butanedione result in TSCs the name 5-hydroxy-3-phenyl-5-trifluormethyl-pyrazoline-1-(4-R-thiosemicarbazone), identified as H_2ft , H_2fmt , H_2fet and H_2fpt , $\text{R} = \text{H}$, Me , Et , Ph , respectively. Similarly, the DTCs with name 5-hydroxy-3-methyl-5-phenyl-pyrazoline-1-(S-p-R-benzylidithiocarbazate), H_2bdtc and H_2mbdtc to $\text{R} = \text{H}$ and OMe , respectively, were obtained from benzoylacetone and S-p-R-benzylidithiocarbazate, while DTCs 5-hydroxy-3-phenyl-5-trifluorethyl-pyrazoline-1-(S-p-R-benzylidithiocarbazate), H_2fdtc and H_2mfdtc to $\text{R} = \text{H}$ and OMe , respectively, are formed with 4,4,4-trifluor-1-phenyl-1,3-butanedione. The compounds were characterized by various techniques such as elemental analysis, infrared spectroscopy (IR), mass spectrometry, nuclear magnetic resonance of hydrogen and fluorine (^1H and ^{19}F NMR) and single crystals X-ray diffraction. The TSCs and DTCs were evaluated for their anti-*T. cruzi* activity and cytotoxicity against macrophage cells, making it possible to evaluate the effects of substituent peripheral groups. In these studies, other two new compounds than H_2bdtc whose activity is known, were considered promising, H_2bt and H_2bmt , having superior activity, $\text{CC}_{50\text{try}}$ values 9.91 and 6.85 μM , respectively, compared with benznidazole used as reference ($\text{CC}_{50\text{try}} = 10.6 \mu\text{M}$). The compounds also show selective with $\text{CC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ for J774 macrophage cells. In the complexation studies with Ga^{III} using H_2bdtc it is possible to obtain two new complex, varying the reaction conditions, being a mononuclear, $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})] \cdot \text{H}_2\text{O}$, and other dinuclear $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2] \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$, which were characterized both in solution and in solid state, having their structures determined by single crystals X-ray diffraction. Both having Ga^{III} pentacoordinate, with distortion of coordination geometry between trigonal bipyramidal and square pyramidal. When the ligand bdtc^{2-} coordinated dianionic the form is

O,N,S-tridentate, unlike the form *S,N*-bidentate was observed for the DTC when coordinated monoanionic as bdtc^{1-} .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.1– Mapa apresentando os números estimados de pessoas infectadas com <i>Trypanosoma cruzi</i> em países não endêmicos.....	17
Figura 1.1.2– Inseto Triatomíneo (Barbeiro) e o parasita da doença de Chagas <i>Trypanosoma cruzi</i>	17
Figura 1.1.3– Ciclo de vida do parasita <i>Trypanosoma cruzi</i>	18
Figura 1.1.4– Estruturas moleculares dos fármacos disponibilizados para o tratamento da doença de Chagas.	19
Figura 1.2.1– Estruturas gerais das Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazatos.	21
Figura 1.2.2– Exemplos de complexos formados com diferentes modos de coordenação, monodentada (1), bidentada (2) e tridentada (3).	22
Figura 1.2.3– Estrutura do complexo [Mn(atc-Ph) ₂].	23
Figura 1.2.4– Estruturas de complexos que foram testados contra <i>T. cruzi</i>	23
Figura 1.2.5– Estrutura do ligante NNS.	24
Figura 1.2.6– Estruturas de tiossemicarbazonas ativas contra <i>T. cruzi</i>	25
Figura 1.2.7– Estruturas de tiossemicarbazonas fluoradas ativas contra <i>T. cruzi</i>	25
Figura 1.2.8– Estruturas químicas dos fármacos disponíveis comercialmente, os quais possuem átomos de Flúor.	26
Figura 1.2.9– Cálculo da orientação do composto TSC com o sítio ativo da cruzaina.	27
Figura 1.2.10– Estruturas de ditiocarbazatos ativos contra o <i>T. cruzi</i>	28
Figura 1.2.11– Formas isoméricas de cadeia fechada (pirazolínica) e aberta do composto H ₂ bdtc.	28
Figura 3.3.1.1- Estrutura dos compostos TSCs.	33
Figura 3.3.2.2.1- Estrutura geral dos compostos DTCs.	36
Figura 4.1.1- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do composto H ₂ bt realizado em pastilhas de KBr.	40
Figura 4.1.2- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do composto H ₂ ft realizado em pastilhas de KBr.	42
Figura 4.1.3- Possível equilíbrio estrutural (cíclico-acíclico) que pode ocorrer para as TSCs estudadas, em solução.	43
Figura 4.1.4- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H ₂ bmt em solução de CDCl ₃ (500 MHz).	44

Figura 4.1.5- Espectro bidimensional de COSY para o composto H ₂ bmt em solução de CDCl ₃ (400 MHz).	45
Figura 4.1.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H ₂ fmt em DMSO-d ₆ (500 MHz).....	46
Figura 4.1.7- Espectro bidimensional de COSY para o composto H ₂ fmt em solução de DMSO-d ₆ (400 MHz).	47
Figura 4.1.8- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto NaF (esquerda) e H ₂ fmt (direita) em metanol-d ₄ (376 MHz).....	48
Figura 4.1.9- Espectros de massas ESI-MS [M+H] ⁺ para o composto H ₂ bpt, -experimental e - simulado.	49
Figura 4.1.10- Espectros de massas ESI-MS [M-H] ⁻ para o composto H ₂ fpt, -experimental e - simulado.	50
Figura 4.1.11- Equilíbrio ceto-enólico da Benzoilacetona.	51
Figura 4.1.12- Estrutura cristalina e molecular do composto H ₂ bmt.	51
Figura 4.1.13- Estrutura cristalina e molecular do composto H ₂ fmt.	52
Figura 4.1.14- Equilíbrio ceto-enólico da β-dicetona.....	52
Figura 4.1.15- Ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto H ₂ fmt [O(1)...S(1) = 3,029(2) Å, O(1)-H(1)...S(1) = 141.4 °], [N(3)...S(1)' = 3.496(2) Å, N(3)-H(3)...S(1)' = 136.4 °].....	54
Figura 4.1.16- Estrutura molecular e rede cristalina do composto H ₂ fmt.	55
Figura 4.1.17- Estrutura cristalina e molecular do composto H ₂ ft.	56
Figura 4.1.18- Estrutura cristalina e molecular do composto H ₂ fet.	56
Figura 4.2.1- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do composto H ₂ mbdtc realizado em pastilhas de KBr.	59
Figura 4.2.2- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do composto H ₂ mfdtc realizado em pastilhas de KBr.	60
Figura 4.2.3- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H ₂ bdtc em solução de CDCl ₃ (500 MHz).....	62
Figura 4.2.4- Estrutura cristalina e molecular do H ₂ bdtc com destaque para os átomos de hidrogênio (Hb) e oxigênio (O).....	62
Figura 4.2.5- Estrutura cristalina e molecular do H ₂ bdtc com destaque para os átomos de hidrogênio (Hc e Hd).....	63

Figura 4.2.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H ₂ fdtc em DMSO- <i>d</i> ₆ (500 Hz).....	64
Figura 4.2.7- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H ₂ fdtc (esquerda) e H ₂ mfdtc (direita) em metanol- <i>d</i> ₄ (376 MHz).....	65
Figura 4.2.8- Espectros de massas ESI-MS [M+H] ⁺ para o composto H ₂ mbdtc, (-experimental e -simulado).	66
Figura 4.2.9- Espectros de massas ESI-MS para o composto H ₂ fdtc (esquerda) e H ₂ mfdtc (direita) (-experimental e -simulado).	66
Figura 4.2.10- Estrutura cristalina e molecular do composto H ₂ bdtc [30].	67
Figura 4.2.11- Estrutura do composto H ₂ fdtc.	67
Figura 4.3.1- Cálculo para o índice de seletividade (IS), relação entre a citotoxicidade em células de macrófagos (CC ₅₀) e a atividade tripanocida (CC _{50try}).	69
Figura 5.1.1- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do composto H ₂ bdtc realizado em pastilhas de KBr.	74
Figura 5.1.2- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do complexo [Ga ₂ (bdtc) ₂ (μ-OCH ₃) ₂]·CH ₂ Cl ₂ realizado em pastilhas de KBr.	74
Figura 5.1.3- Estrutura cristalina e molecular do composto [Ga ₂ (bdtc) ₂ (μ-OCH ₃) ₂]·CH ₂ Cl ₂	75
Figura 5.1.4- Cálculo do parâmetro τ para estruturas com centro metálico pentacoordenado, e os respectivos valores obtidos para estruturas ideais com geometria piramidal quadrática (a) e geometria bipiramidal trigonal (b).	76
Figura 5.1.5- Ilustração da geometria de coordenação para o complexo [Ga ₂ (bdtc) ₂ (μ-OCH ₃) ₂]·CH ₂ Cl ₂	76
Figura 5.1.6- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm ⁻¹) do complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O realizado em pastilhas de KBr.	79
Figura 5.1.7- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H ₂ bdtc em solução de CDCl ₃ (500 MHz).....	80
Figura 5.1.8- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O em solução de DMSO- <i>d</i> ₆ (500 MHz).....	81
Figura 5.1.9- Estrutura cristalina e molecular do composto [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O.	82
Figura 5.1.10- Ilustração da geometria de coordenação para o complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O.....	84

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 4.1.1- Resumo das estruturas dos compostos estudados neste trabalho das classes das Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazatos.....	38
Esquema 4.1.2- Síntese dos compostos TSCs.	39
Esquema 4.2.1- Síntese dos compostos DTCs.	58
Esquema 5.1.1- Síntese dos complexos de gálio.	73
Esquema 5.1.2- Síntese dos complexos [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1.1- Bandas no IV (valores em números de onda: cm^{-1}) dos compostos Tiossemicarbazonas.....	41
Tabela 4.1.2- Dados de RMN ^1H para os compostos H_2bmt e H_2fmt com deslocamento químico (ppm) dos sinais e respectivas atribuições. Análise realizada em CDCl_3 e $\text{DMSO}-d_6$ para os respectivos compostos.....	48
Tabela 4.1.3- Comprimentos ($\text{\AA}$) e ângulos de ligação ($^\circ$) selecionados para o H_2fmt	54
Tabela 4.1.4- Comprimentos ($\text{\AA}$) e ângulos de ligação ($^\circ$) selecionados para os compostos H_2ft e H_2fet	57
Tabela 4.2.1- Bandas no IV (valores em números de onda: cm^{-1}) dos compostos Ditiocarbazatos	60
Tabela 4.2.2- Dados de RMN ^1H para os compostos H_2bdtc e H_2fdtc com deslocamento químico (ppm) dos sinais e respectivas atribuições. Análise realizada em CDCl_3 e $\text{DMSO}-d_6$ para os respectivos compostos.....	64
Tabela 4.3.1- Atividade tripanocida avaliada através do CC_{50} e % de inibição do parasita e citotoxicidade em células de macrófagos (CC_{50}) para os compostos sintetizados.	71
Tabela 5.1.1- Comprimentos ($\text{\AA}$) e ângulos de ligação ($^\circ$) selecionados para o $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$	76
Tabela 5.1.2- Dados do espectro na região do infravermelho em (cm^{-1}) para o agente complexante H_2bdtc e para os respectivos complexos $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ e $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, pastilhas feitas em KBr.	79
Tabela 5.1.3- Comprimentos ($\text{\AA}$) e ângulos de ligação ($^\circ$) selecionados para o $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

TSC	Tiossemicarbazona
DTC	Ditiocarbazato
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
DMSO	Dimetilsulfóxido
IV	Infravermelho
RMN	Ressonância magnética nuclear
S	Simpleto
D	Dupleto
T	Tripleto
Q	Quarteto
Dq	Duplo quarteto
M	Multiplete
TMS	Tetrametilsilano
ν	Vibração de estiramento
δ	Deslocamento químico em ppm
J	Constante de acoplamento
S-Bz	S-benzilditiocarbazato
S-MBz	S-benzilmetoxiditiocarbazato
acac	Íon acetilacetato (1-)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Doença de Chagas.....	16
1.2 Tiossemicarbazonas, Ditiocarbazatos e seus derivados como agentes tripanocidas ..	21
2. OBJETIVOS	30
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	31
3.1 <i>Materiais</i>	31
3.2 <i>Análise Instrumental</i>	31
3.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	31
3.2.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H (^1H RMN), ^{19}F (^{19}F RMN) e COSY	31
3.2.3 Análise Elementar.....	31
3.2.4 Espectrometria de Massas	31
3.2.5 Determinação das estruturas cristalinas.....	32
3.2.6 Ensaios para avaliação do potencial tripanocida dos produtos obtidos.....	32
3.2.7 Citotoxicidade dos fármacos em macrófagos J774	32
3.3 <i>Síntese dos compostos</i>	33
3.3.1 Tiossemicarbazonas (TSCs)	33
3.3.2 Ditiocarbazatos (DTCs).....	35
3.3.2.1 <i>Síntese do S-benzilditiocarbazato e S-benzilmetoxiditiocarbazato</i>	35
3.3.2.2 <i>Compostos DTCs</i>	35
3.3.3 Complexos de Gálio	37
3.3.3.1 <i>Procedimento 1</i>	37
3.3.3.2 <i>Procedimento 2</i>	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Tiossemicarbazonas	38
4.2 Ditiocarbazatos	58
4.3 Testes biológicos.....	69
5. RESULTADOS PRELIMINARES DE COMPLEXAÇÃO	72
6. CONCLUSÃO.....	85
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Chagas

As doenças negligenciadas são endêmicas em regiões com populações de baixa renda. Dados revelam que mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo estão infectadas com pelo menos uma doença negligenciada. Os continentes da África, Ásia e América Latina são as regiões mais afetadas [1,2].

Dentre as doenças negligenciadas ditas como alarmantes, se encontram a doença do sono, leishmaniose visceral e a doença de Chagas [1,2]. Esta última, também conhecida como tripanossomíase americana, é uma das mais preocupantes, uma vez que possui alto índice de mortalidade e pouco investimento em pesquisa para a descoberta de novos medicamentos. Esta doença é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) e foi primeiramente descrita por Carlos Chagas em 1909 [3].

Sem dúvida, a América Latina é o continente mais afetado pela doença de Chagas, a qual é responsável por cerca de doze mil mortes por ano nesta região [4]. Além disso, atualmente 2-3 milhões de pessoas se encontram infectadas com o parasita somente no Brasil, o que resulta em seis mil mortes anuais, aproximadamente [2,5]. A situação acaba por se agravar, já que dados da Organização Mundial da Saúde (*WHO – World Health Organization*) mostram que sete milhões de pessoas estão infectadas com o parasita no mundo, sendo detectados nos últimos anos casos em várias regiões não endêmicas, como Estados Unidos, Canadá, e alguns países da Europa [6,7]. Por conseguinte, essa doença é considerada como um grave problema de saúde pública (Figura 1.1.1) [6].

INTRODUÇÃO

Figura 1.1.1–Mapa apresentando os números estimados de pessoas infectadas com *Trypanosoma cruzi* em países não endêmicos.

Fonte: Referência [8].

Quanto às formas de transmissão da doença, o meio mais comum de infecção com o parasita ainda é através dos vetores. Esta contaminação pode acontecer a partir da lesão resultante da picada do inseto, pela mucosa ocular ou via oral, através da ingestão acidental do inseto triturado aos alimentos (como por exemplo, caldo de cana de açúcar, sucos de açaí e goiaba) [8]. Os vetores são insetos hematófagos da classe dos triatomíneos, os quais são popularmente conhecidos como barbeiros [9]. Contudo, existem outras formas de infecção com o *T. cruzi*, como transfusão sanguínea, doação de órgãos e transmissão congênita que consiste na contaminação do filho recém-nascido através da mãe infectada [8]. A Figura 1.1.2 mostra as imagens do inseto hematófago, principal responsável pela transmissão, e o parasita causador da doença de Chagas.

Figura 1.1.2– Inseto Triatomíneo (Barbeiro) e o parasita da doença de Chagas *Trypanosoma cruzi*.

Fonte: Referência [10].

Referência [11].

INTRODUÇÃO

O *T. cruzi* possui variações morfológicas e funcionais durante todo o seu ciclo de vida no organismo do hospedeiro, sendo as três formas principais: epimastigota (forma não infectante e replicativa no inseto), amastigota (forma que sofre divisão binária no mamífero) e tripomastigota (forma infectante e não replicativa) [12]. O ciclo do *T. cruzi* (Figura 1.1.3) inicia-se com a contaminação do inseto (barbeiro) com as formas tripomastigotas do parasita através da picada em um mamífero infectado. Esta forma é transportada para intestino do barbeiro, onde se transforma em epimastigotas. Estes se multiplicam continuamente e, na porção final do intestino se diferenciam novamente na forma infectiva [13,14].

No momento do repasse sanguíneo no hospedeiro, as formas tripomastigotas são liberadas nas fezes do inseto. Esta forma do parasita entra na corrente sanguínea através de alguma lesão ocasionada na pele, sendo capazes de invadir células de macrófago, musculares ou epiteliais do hospedeiro. Na célula, os tripomastigotas se diferenciam para a forma amastigota e após sucessivas multiplicações binárias, ocupam todo o interior do citoplasma. Novamente, os parasitas são transformados na forma infectiva e devido o excesso de protozoários formados e a alta mobilidade que eles possuem, ocorre a ruptura da membrana celular. O *T. cruzi* retorna para a corrente sanguínea e desta maneira pode atacar e infectar outras células do organismo reiniciando o ciclo [13,14].

Figura 1.1.3– Ciclo de vida do parasita *Trypanosoma cruzi*.

Fonte: Adaptação da Referência [15].

Uma vez que o hospedeiro está infectado, a doença pode se manifestar em duas fases, aguda e crônica. Os casos de doença na fase aguda duram cerca de até dois meses após o

momento de infecção com *T. cruzi*, podendo existir com ou sem sintomas. Geralmente, os sintomas são: inchaço no local da infecção, febre, dor de cabeça, gânglios linfáticos aumentados, palidez, dor muscular e dificuldade na respiração, entre outros [6]. Nesta fase, a infecção é muitas vezes diagnosticada, porém, na ausência de um tratamento específico, ocasiona uma taxa de mortalidade de 2-8% dos pacientes, especialmente as crianças [16]. Desta forma, se a doença não for tratada nesta fase, pode evoluir para o estágio crônico, na qual os parasitas se encontram principalmente no coração e nos músculos digestivos. Nestas condições, a maior parte dos pacientes sofrem de distúrbios cardíacos, problemas digestivos, como alargamento de esôfago ou do cólon e, em alguns casos, podem sofrer alterações neurológicas. Além disso, casos extremamente graves da infecção podem levar à morte súbita do indivíduo [6,7].

Para o tratamento da doença de Chagas, nas décadas de 1960 e 1970, foram disponibilizados dois fármacos nitroeterocíclicos, o nifurtimox e o benzonidazol (Figura 1.1.4) [3]. O Nifurtimox atua como agente tripanocida a partir da redução do grupo nitro, presente na molécula, a grupo amino. Este processo ocorre pela ação de enzimas nitrorredutases, originando a formação de radicais livres que danificam a estrutura morfológica do *T. cruzi*. Contudo, este medicamento foi descontinuado em alguns países devido aos seus efeitos colaterais severos como anorexia, náusea, perda de peso expressiva, insônia, problemas digestivos e hepáticos [16-19].

Figura 1.1.4– Estruturas moleculares dos fármacos disponibilizados para o tratamento da doença de Chagas.

Fonte: Referência [7].

Desta forma, o benzonidazol é o único medicamento comercialmente disponível para o tratamento na maioria dos países que convivem com a doença [16]. Acredita-se que seu mecanismo de ação esteja envolvido com as ligações covalentes e interações intermoleculares entre macromoléculas (DNA, RNA e proteínas) e os intermediários obtidos a partir da redução do grupo nitro. As prováveis ligações deste fármaco com as macromoléculas podem estar envolvidas tanto na ação contra o parasita, quanto nos efeitos tóxicos causados nas

células humanas [16]. Desta maneira, este medicamento também apresenta efeitos colaterais evidentes, como dermatites, vômitos, dores abdominais, além de hepatite tóxica [13, 20, 21]. No entanto, numerosos estudos clínicos têm relatado que este medicamento apresenta até 80% de cura parasitológica na fase aguda, enquanto que apenas 5 a 20% dos pacientes são considerados curados na fase crônica [7].

Baseado neste fato, a Organização de Iniciativas de Medicamentos para Doenças Negligenciadas (*DNDi- Drugs for Neglected Diseases initiative*) afirma que há a necessidade de melhores opções de tratamento para ambas as fases da infecção chagásica, uma vez que, os vários efeitos colaterais causados pelo medicamento levam a interrupção do tratamento em 20-30% dos pacientes infectados [4]. Do mesmo modo, é importante destacar que não há fármacos para substituir este medicamento [4]. Assim, partindo desta premissa, o tratamento existente vem se mostrando insatisfatório, uma vez que o medicamento requer longo período de tratamento, possui diversos efeitos colaterais indesejáveis, além de apresentar eficácia variável, sendo dependente da fase da doença [7, 9, 18, 22, 23].

Neste contexto, uma das prioridades da pesquisa em doença de Chagas consiste na descoberta de novos medicamentos, no intuito de melhorar o tratamento atual, ou seja, diminuir o tempo de tratamento, reduzir os efeitos colaterais e, sobretudo, tratar a doença na fase crônica [4]. Logo, vários compostos vêm sendo estudados para esta finalidade, dentre eles destaca-se as classes das tiosemicarbazonas e ditiocarbazatos. Estes compostos já vêm sendo estudados pelo nosso grupo de pesquisa (GQIEB - Química Inorgânica Estrutural e Biológica) e se mostraram biologicamente ativos contra vários tipos de doenças, incluindo a doença de Chagas [22-26]. Estas classes de compostos oferecem a possibilidade de variações estruturais, a partir da simples substituição dos grupos periféricos, resultando em variações nas propriedades físico-químicas, como a lipofilicidade e a hidrofiliabilidade, modificações estas que também podem influenciar na atividade biológica dos mesmos.

1.2 Tiossemicarbazonas, Ditiocarbazatos e seus derivados como agentes tripanocidas

As Tiossemicarbazonas (TSCs) e Ditiocarbazatos (DTCs) vêm sendo investigados por muitas décadas [27]. Estas classes de compostos são bastante estudadas por possuírem alta versatilidade química e estrutural, além de apresentarem atividades biológicas relevantes como a antiviral, antineoplásica, antibacteriana e antiparasitária [26-30]. Estes compostos, do tipo base de Schiff, são preparados através de reações de condensação entre moléculas de cetonas ou aldeídos e os precursores tiossemicarbazidas ou derivados de ditiocarbazatos. Ademais, estes podem formar diversos compostos pela simples modificação dos grupos periféricos R_1 , R_2 e R_3 presentes em suas estruturas moleculares (Figura 1.2.1) [30].

Figura 1.2.1– Estruturas gerais das Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazatos.

Fonte: Referência [30].

Estes compostos são objeto de extensas investigações, visto que representam duas classes de agentes quelantes importantes, possibilitando a formação de uma gama de complexos metálicos. Os derivados destes se apresentam como compostos bastante versáteis devido à presença de átomos doadores de elétrons, como nitrogênio e enxofre, podendo complexar-se em diversos modos de coordenação [29, 31-34].

Dentre os modos de coordenação possíveis destes agentes quelantes, incluem-se principalmente as formas mono, bi- e tridentadas. Esta última, por sua vez, ocorre através de átomos adicionais oriundos do aldeído ou cetona utilizada como precursora na síntese [35]. Ademais, as TSCs e DTCs podem atuar em complexos como ligantes neutros, mono- e dianiônicos [36]. Na Figura 1.2.2 são observados exemplos dos modos de coordenação destas classes de ligantes, em compostos complexos com diferentes íons metálicos.

Figura 1.2.2– Exemplos de complexos formados com diferentes modos de coordenação, monodentada (1), bidentada (2) e tridentada (3).

Fonte: Referência [37, 38 e 22].

É interessante se destacar que, em alguns casos, a eficiência destas bases de Schiff como agentes terapêuticos pode ser aprimorada pela formação de complexos metálicos. Estudos mostram que quando complexados a metais de transição, estes compostos podem ser mais ativos do que o ligante livre, uma vez que o complexo pode intensificar a atuação do ligante, já que o metal pode estar envolvido no mecanismo da ação biológica ou pode atuar como um carreador do ligante [36].

Por exemplo, complexos de Mn^{II} contendo tiosemicarbazonas como agentes quelantes foram testados quanto suas atividades contra *Mycobacterium tuberculosis* [24]. Neste trabalho, variações estruturais nos grupos periféricos das TSCs foram realizadas, verificando que o complexo $[Mn(atc-Ph)_2]$ (Figura 1.2.3) foi o mais promissor dentre a série testada. Este complexo apresenta uma alta atividade contra a bactéria causadora da tuberculose, com um valor de CIM (concentração mínima inibitória) igual a 0,78 $\mu g/mL$ frente cepas do tipo H₃₇Rv [24]. De tal modo, o $[Mn(atc-Ph)_2]$ mostrou-se mais ativo do que o ligante livre HatcPh (CIM =15,6 $\mu g/mL$) e comparável ou melhor do que alguns fármacos utilizados no tratamento da tuberculose, como ciprofloxacina (2 $\mu g/mL$), cicloserina (12,5 - 50 $\mu g/mL$), etambutol (0,94 - 1,88 $\mu g/mL$), canamicina (1,25 - 5,0 $\mu g/mL$), tobramcina (4,0 - 8,0 $\mu g/mL$) e claritromicina (8,0 - 16 $\mu g/mL$) [24].

Figura 1.2.3– Estrutura do complexo $[\text{Mn}(\text{atc-Ph})_2]$.

Fonte: Referência [24].

Ademais, a utilização de complexos metálicos também para estudos contra o *T. cruzi* têm sido idealizado por diferentes estratégias e alguns destes possuem resultados promissores. São conhecidas algumas semelhanças bioquímicas entre os tripanossomas e células tumorais, em termos de metabolismo [16, 39-40]. Desta maneira, estudos dirigidos à utilização de agentes antitumorais como possíveis tripanocidas foram realizados. Os primeiros complexos antitumorais a serem estudados foram a cisplatina e a carboplatina (Figura 1.2.4). Estas duas moléculas apresentaram atividade tripanocida *in vitro*, entretanto não *in vivo* [40]. Logo, foram estudados complexos de rutênio, paládio e platina, os quais já se mostraram ativos em células tumorais. Através da união destes fatores foram testados complexos com estes metais contra o *T. cruzi*, utilizando ligantes semicarbazonas e tiossemicarbazonas com grupos nitrofuril [39]. Estes ligantes foram sintetizados pela analogia deste grupo periférico com nifurtimox, o qual gera espécies de radicais livres tóxicos ao parasita [39].

Figura 1.2.4– Estruturas de complexos que foram testados contra *T. cruzi*.

Fonte: Referência [16, 39].

Os complexos de Pt^{II} e Pd^{II} (Figura 1.2.4) mostraram melhores atividades *in vitro*, em células infectadas com a forma epimastigota do parasita, quando comparadas com células tratadas com os ligantes livres e com o nirfutimox [39, 40].

No entanto, em outros casos, a complexação leva a diminuição destas atividades biológicas. Como exemplo, estudos de complexos de níquel contendo DTCs como ligantes foram realizados e suas atividades biológicas testadas [41]. Tais experimentos foram realizados com células (HT 29) de câncer do cólon de útero e células linfoblásticas leucêmicas (CEM-SS), de forma que o ligante DTC chamado de NNS (Figura 1.2.5) apresenta elevada atividade contra esses tipos de células testadas, enquanto que o seu respectivo complexo não apresentou uma atividade considerada [41].

Figura 1.2.5– Estrutura do ligante NNS.

Fonte: Referência [41].

Desta forma, de acordo com esses trabalhos fica evidente que ambos, ligante e metal, entre outros fatores, poderão influenciar as propriedades do complexo, por exemplo, facilitando ou dificultando a passagem pela membrana celular [24]. Em consequência destes fatores, TSCs e DTCs se mostram interessantes, já que é possível realizar pequenas modificações em suas estruturas moleculares e, conseqüentemente, ter suas características e propriedades físico-químicas modificadas. Por isso, diferenças significativas nas atividades biológicas, tanto do ligante livre como dos complexos metálicos, podem ser observadas [42, 43, 22].

Quanto à atividade contra o parasita causador da doença de Chagas, desde 1974 a atividade tripanocida das TSCs é conhecida, quando Wilson e colaboradores a reportaram [44]. Desde então, o número de estudos nesse tema continua a crescer e estes possuem alta relevância [24-26, 28, 30].

Por conseguinte, em um estudo publicado recentemente, a eficiência de uma série de TSCs como agentes tripanocidas foi analisada [14]. Neste trabalho, a contribuição de

modificações eletrônicas e estéricas na estrutura destes compostos, através da substituição dos grupos periféricos, foi avaliada. Esta avaliação da atividade farmacológica levou à identificação de compostos como os descritos na Figura 1.2.6. Eles se mostraram potentes e seletivos contra o parasita, sendo possível identificar que esta atividade foi altamente dependente da natureza do substituinte empregado [14].

Figura 1.2.6– Estruturas de tiossemicarbazonas ativas contra *T. cruzi*.

Fonte: Referência [14]

Do mesmo modo, grupos periféricos fluorados em TSCs também foram investigados quanto a sua influência na atividade contra o *T. cruzi* [45, 46]. Foi possível observar que as TSCs que possuíam o grupo CF_3 em suas estruturas apresentaram atividades expressivas (Figura 1.2.7) [45]. A eficácia destes compostos foi avaliada em células de macrófagos infectadas com o parasita obtendo valores de atividades superiores, comparadas com células tratadas com o benzonidazol [45].

Figura 1.2.7– Estruturas de tiossemicarbazonas fluoradas ativas contra *T. cruzi*.

Fonte: Referência [45].

É sabido que o flúor está presente em várias classes de fármacos comercialmente disponíveis, como por exemplo, os fármacos Artovastatina e Azetimiba, responsáveis por reduzir os níveis de colesterol no sangue; o 5-Fluoro-uracil, utilizado no tratamento contra o câncer; a Fluoxetina, como antidepressivo, e Efavirenz, utilizado no tratamento contra o vírus HIV (Figura 1.2.8) [47].

Figura 1.2.8– Estruturas químicas dos fármacos disponíveis comercialmente, os quais possuem átomos de Flúor.

Fonte: Referência [47].

Desta maneira, acredita-se que a inserção de halogênios, como o flúor, agregam mudanças significativas, quando avaliadas suas propriedades biológicas. Esta influência pode estar associada com a eletronegatividade e o pequeno raio atômico deste elemento, sendo que estes fatores podem influenciar na atividade biológica destes compostos [48-50]. Assim, houve a motivação de se estudar a influência deste elemento químico neste trabalho, a partir da comparação dos substituintes com flúor e hidrogênio e, desta forma, avaliar suas propriedades quanto à influência na substituição nucleofílica para a formação da imina tanto na atividade tripanocida.

Nesta linha de doença de Chagas, outro estudo muito abordado na literatura é quanto à inibição de uma das proteínas mais importantes do *T. cruzi*, a cruzaina, na qual as TSCs possuem destaque. A cruzaina (ou cruzipaina) é a principal cisteína protease do *T. cruzi*. Esta proteína está presente em todo o ciclo de vida do parasita, atuando principalmente na replicação e diferenciação do mesmo. Através de estudos computacionais, foi possível embasar o mecanismo de ação desses compostos, onde a inibição da cruzaina ocorre através da formação de ligações covalentes entre o grupo tiolato da proteína e o carbono carbonílico da TSC (Figura 1.2.9) [46, 51-53].

Figura 1.2.9– Cálculo da orientação do composto TSC com o sítio ativo da cruzafina.

Fonte: Referência [45].

Acredita-se que a natureza não peptídica destes compostos, acoplado com seu baixo custo de síntese, torna esta classe de inibidores candidatos muito promissores para o desenvolvimento de novos agentes tripanocidas [45].

Igualmente, os ditiocarbazatos e derivados também tem recebido considerável atenção, já que possuem diversas aplicações na medicina, inclusive contra o *T. cruzi* [22, 30, 53]. Neste âmbito de doença de Chagas, estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa mostram a eficiência dos ligantes ditiocarbazatos e seus complexos contra este parasita [22]. Neste último trabalho, complexos de platina e paládio foram estudados juntamente com seus ligantes e os resultados revelaram que alguns complexos metálicos apresentaram atividades biológicas superiores e outros inferiores, quando comparados aos seus ligantes livres [22]. Além disso, dentre os compostos estudados, os que possuíam anel pirazolínico, em especial, se mostraram muito ativos contra o parasita da doença de Chagas [22]. Portanto, acredita-se que este fator é um indício de que esta estrutura ciclizada melhore as propriedades biológicas dos DTCs, facilitando possivelmente a interação com o alvo biológico. Dois exemplos de ligantes ativos estudados neste trabalho são mostrados abaixo na Figura 1.2.10 [22].

Figura 1.2.10– Estruturas de ditiocarbazatos ativos contra o *T. cruzi*.

Fonte: Referência [22].

Dentre os compostos estudados, o H₂bdtc (Figura 1.2.11) foi o composto que teve destaque, visto que possui alta atividade tripanocida, nas formas epimastigotas e amastigotas, mostrando ser três vezes mais ativo quando comparado com as células tratadas com benzonidazol [22]. Além disso, a forma cíclica do composto é observada tanto no estado sólido quanto em solução. No entanto, sabe-se que, na presença de um íon metálico ou com alteração do pH, esta estrutura pode sofrer abertura do anel, coordenando-se na forma isomérica de cadeia aberta [22, 52]. Desta maneira, na complexação aos metais Pt e Pd, este composto se encontra na forma aberta. A Figura 1.2.11 mostra as formas de cadeia cíclica - acíclica do composto estudado, H₂bdtc, e como citado anteriormente, acredita-se que o fator da forma estrutural esteja altamente relacionado com os valores de atividade contra o *T. cruzi*.

Figura 1.2.11– Formas isoméricas de cadeia fechada (pirazolínica) e aberta do composto H₂bdtc.

Fonte: Referência [22].

Devido aos resultados promissores encontrados, estudos posteriores foram feitos com o composto H₂bdtc e respostas expressivas foram obtidas em ensaios *in vitro* com diferentes linhagens de cepas, sendo estas, Tulahuen *LacZ* e *Y* [23]. Por esta razão, estudos *in vivo* foram realizados utilizando o H₂bdtc livre e encapsulado com nanopartículas lipídicas, no intuito de

facilitar a administração oral. O mesmo mostrou-se altamente eficaz quando encapsulado, reduzindo a parasitemia dos camundongos tratados com uma concentração 100 vezes menor, quando comparada com a concentração normalmente utilizada no tratamento com o benzonidazol [23]. Além disso, este composto foi capaz de aumentar significativamente a sobrevida dos camundongos infectados, mostrando melhora na inflamação cardíaca e hepática [23].

Conforme já mencionado, diversos estudos envolvendo ditiocarbazatos e tiossemicarbazonas, quanto ao seu potencial uso medicinal e quanto a sua eficiência como agentes quelantes, vêm sendo conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa (GQIEB). Os estudos com diferentes íons metálicos (Pt, Pd, Mn, Co, Au e Ga, entre outros) mostram que essas classes de ligantes são aptas para formar complexos metálicos estáveis, possuindo atividades biológicas interessantes para diferentes doenças e muitas vezes superiores quando comparados aos ligantes livres [22-26, 54]

A síntese de complexos com o gálio neste trabalho foi incentivada devido ao estudo realizado anteriormente no nosso grupo de pesquisa [54], o qual revelou que complexos com este íon metálico tiveram valores de atividades contra o *T. cruzi* melhores quando comparados com os ligantes livres [54]. Neste caminho, a formação destes compostos estáveis de gálio abriu possibilidades para o estudo da atividade tripanocida, uma vez que na literatura não são encontrados complexos deste metal com estes ligantes e para esta finalidade. Assim, esses fatores foram estimulantes para se dar continuidade aos estudos de complexos com o gálio como íon metálico. Ademais, neste trabalho [54], foram conseguidos complexos aniônicos de gálio com o ligante H₂bdtc, possuindo geometria de coordenação octaédrica para o átomo de gálio. Desta forma, estudos de atividade tripanocida poderão ser realizados de modo comparativo entre os complexos iônicos, já obtidos, com complexos neutros eventualmente sintetizados neste estudo.

Neste trabalho, estudamos a química das classes tiossemicarbazonas e ditiocarbazatos através de modificações estruturais variando os grupos periféricos para, desta forma, se obter compostos com as propriedades mais adequadas para atuarem como agentes contra o *T. cruzi*. Assim, estudos preliminares de complexação foram planejados para confirmar a atuação destes compostos como agente quelantes e posteriormente avaliar suas atividades contra este parasita, uma vez que este estudo poderá contribuir e trazer novidades para a química inorgânica medicinal.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral a síntese e caracterização de compostos TSCs e DTCs contendo anel pirazolínico, no intuito de realizar um estudo estrutural sistemático destas classes através da variação de grupos periféricos, avaliar cada composto quanto a sua atividade tripanocida frente ao parasita *T. cruzi* e sua toxicidade frente a células de macrófagos. Deste modo, podem-se destacar as seguintes metas específicas:

- Sintetizar compostos TSCs e DTCs com diferentes grupos substituintes, de acordo com a escolha dos precursores,

Para as TSCs, 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1-(4-R-tiossemicarbazona), sintetizadas a partir da benzoiacetona e 4-R-tiossemicarbazida ($R = H, Me, Et$ e Ph), são obtidos os compostos H_2bt , H_2bmt , H_2bet e H_2bpt , respectivamente. Mudando a β -dicetona para 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona, são obtidos os compostos com o nome 5-hidroxi-3-fenil-5-trifluormetil-pirazolina-1-(4-R-tiossemicarbazona), H_2ft , H_2fmt , H_2fet e H_2fpt . De modo similar, os DTCs 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1-(S-*p*-R-benzilditiocarbazato) foram sintetizados a partir de benzoiacetona e S-*p*-R-benzilditiocarbazato ($R = H$ e OMe) formando o H_2bdtc e H_2mbdtc , respectivamente, enquanto que para os DTCs 5-hidroxi-3-fenil-5-trifluormetil-pirazolina-1-(S-*p*-R-benzilditiocarbazato) é utilizada a β -dicetona 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona formando o H_2fdtc e H_2mfdtc ;

- Caracterizar os compostos por vários métodos, como ponto de fusão, espectroscopia na região do infravermelho, análise elementar, ressonância magnética nuclear de 1H e ^{19}F , espectrometria de massas e difração de raios X em monocristal;
- Verificar a atividade biológica dos compostos *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi* em cepas do tipo Y (CC_{50try});
- Avaliar a citotoxicidade dos compostos frente a células de macrófagos (CC_{50});
- Avaliar os valores de índice de seletividade dos compostos ($IS = CC_{50}/CC_{50try}$), no intuito de se observar se os mesmos se encontram na faixa terapêutica;
- Realizar estudos preliminares de complexação de um dos DTCs com o íon metálico gálio, a fim de verificar viabilidade de formação de complexos neutros.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais e reagentes

Os reagentes tiossemicarbazida, 4-metil-3-tiossemicarbazida, 4-etil-tiossemicarbazida, 4-fenil-tiossemicarbazida, benzoiacetona, 4,4,4-trifluoro-1-fenil-1,3-butanodiona e tris(acetilacetato)gálio(III) foram obtidos comercialmente e os solventes foram utilizados sem tratamento prévio.

O S-benzilditiocarbazato e S-4-metoxibenzilditiocarbazato foram preparados como reportado previamente [22].

3.2 Análise Instrumental

3.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige-21, do Grupo de Química Inorgânica Estrutural e Biológica (GQIEB), com resolução de 4 cm^{-1} , na região de $4000\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$. As amostras analisadas foram maceradas com KBr, na proporção 1:150 (amostra:KBr) e analisadas na forma de pastilhas.

3.2.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN de ^1H), ^{19}F (RMN de ^{19}F) e COSY

As análises de RMN foram realizadas nos equipamentos Agilent 500/54 e 400/54 Premium Shielded da Central de Análises Químicas do IQSC-USP (CAQI), operando na frequência de 500 MHz para o núcleo de ^1H , em 400 MHz para o COSY e em 376 MHz para o núcleo de ^{19}F .

3.2.3 Análise Elementar

As porcentagens dos elementos C, H e N para os compostos sintetizados foram determinadas utilizando o equipamento Flash 2000 Organic Elemental Analyser CHNS-O, do Laboratório de Compostos Inorgânicos (LCI) da Universidade Federal de Uberlândia - Faculdade de Ciências Integradas do Pontal, por intermédio do Prof. Dr. André Luiz Bogado.

3.2.4 Espectrometria de Massas

Os espectros de massa com ionização em modo positivo (ESI-MS) foram medidos com um equipamento Agilent 6210 ESI-TOF da Central de Análises Químicas do IQSC-USP (CAQI). Todos dados dos espectros de massa são apresentados da seguinte forma: m/z , atribuição.

3.2.5 Determinação das estruturas cristalinas

Os dados de difração de raios X foram coletados no difratômetro BRUKER APEX II Duo, equipado com sistema OXFORD de baixa temperatura. Foi utilizada radiação Mo-K α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) com monocromador de grafite. Foram aplicados procedimentos padronizados para a redução dos dados e correção de absorção. As soluções e refinamento das estruturas foram realizados utilizando os programas SHELXS97 e SHELXL97, respectivamente [55, 56]. As posições dos átomos de hidrogênio foram calculadas em posições idealizadas, sendo tratados com a opção “riding model” do programa SHELXL97.

3.2.6 Ensaios para avaliação do potencial tripanocida dos produtos obtidos

Os experimentos para avaliação do potencial tripanocida in vitro para os compostos sintetizados assim como os ensaios de citotoxicidade in vitro foram realizados no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia – LETI, na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, pela Dr^a Milena Botelho Pereira Soares, Dr. Diogo Rodrigo Magalhaes Moreira e Sr Cássio Santana Meira. Nestes estudos, foram utilizadas as cepas Y, sendo coletadas do sobrenadante de células LLC-MK2 e distribuídas em uma placa de 96 poços para um número de células 4×10^5 células por poço. Cada composto, dissolvido em DMSO e meio RPMI-1640, foi adicionado no respectivo poço. O experimento foi realizado em triplicata. O benzonidazol foi usado como controle positivo. A placa foi então cultivada por 24 horas em 37° C contendo 5 % de CO₂. Após esse tempo, alíquotas de cada poço foram coletadas e o número de parasitas viáveis (ou seja, com mobilidade aparente) foi contado em uma câmara de Neubauer e comparado com o valor de referência do parasita sem tratamento. As curvas dose-respostas foram determinadas e os valores das CC_{50try} foram calculados usando a regressão não-linear (Prism, versão 4.0).

3.2.7 Citotoxicidade dos fármacos em macrófagos J774

As células em meio RPMI-1640 completo foram distribuídas em uma placa de 96 poços para um número de células 1×10^4 células por poço e incubadas por 24 h a 37 °C e 5 % de CO₂. Cada composto, dissolvido em DMSO e meio RPMI - 1640 foi adicionado no respectivo poço. Este experimento foi realizado em triplicata. A violeta de genciana foi usada como controle positivo. A placa foi então cultivada por 72 horas em 37° C contendo 5 % de CO₂, seguida pela adição de AlamarBlue. A placa foi lida no espectrofotômetro (570 e 600 nm), seguindo as recomendações do fabricante. As curvas dose-respostas foram determinadas e os valores das CC₅₀ foram calculados usando a regressão não-linear (Prism, versão 4.0).

3.3 Síntese dos compostos

3.3.1 Tiossemicarbazonas (TSCs)

Os compostos TSCs (Figura 3.3.1.1), H₂bt, H₂ft, H₂bmt, H₂fmt, H₂bet, H₂fet, H₂bpt e H₂fpt, foram sintetizados utilizando quantidades equimolares da β -dicetona escolhida (1mmol), benzoilacetona ou 4,4,4-trifluoro-1-fenil-1,3-butanodiona, com a tiossemicarbazida (1mmol) desejada, onde o grupo chamado de R₃ foi variado por -H, -Me, -Et e -Ph. A reação foi realizada sob refluxo em solução de metanol durante 8 horas. O precipitado obtido foi lavado com metanol e seco á vácuo. Estas reações foram realizadas fundamentando-se em procedimentos já descritos anteriormente [57-59].

Figura 3.3.1.1- Estrutura dos compostos TSCs.

H₂bt: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = H
H₂ft: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = H
H₂bmt: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = Me
H₂fmt: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = Me
H₂bet: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = Et
H₂fet: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = Et
H₂bpt: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = Ph
H₂fpt: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = Ph

H₂bt - Sólido branco cristalino. Rendimento: 74 %. Ponto de Fusão: 159,1 - 160,3 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₁H₁₃N₃OS (235,31 g.mol⁻¹) C, 56,15; H, 5,57; N, 17,86 %. Encontrado C, 56,46; H, 5,46; N, 18,07 %. IV (ν_{máx} / cm⁻¹): ν(O-H): 3406; ν(N-H): 3292-3161; ν(C=N): 1634; ν(C=S): 831. ¹H RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 2,05 (s, 1H, CH₃); 2,99-3,04 (d, ²J = 25 Hz, 1H, CH₂); 3,40-3,45 (d, ²J = 25 Hz, 1H, CH₂); 5,96 (s, 1H, NH); 6,48 (s, 1H, OH); 6,99 (s, 1H, NH); 7,27-7,33 (m, 3H, Ph); 7,36-7,38 (m, 2H, Ph).

H₂ft - Sólido branco cristalino. Rendimento: 51 %. Ponto de Fusão: 145,2 - 147,8 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₁H₁₀F₃N₃OS (289,28 g.mol⁻¹) C, 45,67; H, 3,48; N, 14,53 %. Encontrado C, 46,15; H, 3,38; N, 14,54; %. IV (ν_{máx} / cm⁻¹): ν(O-H): 3437; ν(N-H): 3294-3146; ν(C=N): 1591; ν(C-F): 1186-1150; ν(C=S): 831. ¹H RMN (500 mHz, DMSO-*d*₆; ppm): 3,77-3,82 (dq, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 4,03-4,07 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 7,47-7,53 (m, 3H, Ph); 7,92-7,94 (m, 2H, Ph); 8,49 (s, 2H, NH); 8,82 (s, 1H, OH).

PARTE EXPERIMENTAL

H₂bmt - Sólido branco cristalino. Rendimento: 82 %. Ponto de Fusão: 129,1 - 136,1 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₂H₁₅N₃OS (249,33 g.mol⁻¹) C, 57,81; H, 6,06; N, 16,85 %. Encontrado C, 57,83; H, 6,07; N, 16,87 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3333; $\nu(\text{N-H})$: 3223; $\nu(\text{C=N})$: 1636; $\nu(\text{C=S})$: 827. ¹H RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 2,05 (s, 3H, CH₃); 2,97-3,02 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 3,37-3,41 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 3,09-3,10 (d, ³J = 5 Hz, 3H, CH₃) 7,26-7,31 (m, 3H, Ph); 7,34-7,36 (m, 2H, Ph); 7,38 (s, 1H, NH); 6,60 (s, 1H, OH).

H₂fmt - Sólido branco cristalino. Rendimento: 70 %. Ponto de Fusão: 152 - 155 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₂H₁₂F₃N₃OS (303,30 g.mol⁻¹) C, 47,52; H, 3,99; N 13,85 %. Encontrado C, 48,32; H, 3,94; N, 13,79 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3316; $\nu(\text{N-H})$: 3088; $\nu(\text{C=N})$: 1603; $\nu(\text{C-F})$: 1184-1150; $\nu(\text{C=S})$: 824. ¹H RMN (500 mHz, DMSO-*d*₆; ppm): 3,00-3,01 (d, ³J = 5 Hz, 3H, CH₃); 3,75-3,78 (dq, ²J = 25 Hz, 1H, CH₂); 4,03-4,08 (d, ²J = 25 Hz, 1H, CH₂); 7,48-7,54 (m, 3H, Ph); 7,92-7,94 (m, 2H, Ph); 8,33 (s, 1H, OH); 9,06-9,09 (q, ³J = 5 Hz, 1H, NH).

H₂bet - Sólido branco cristalino. Rendimento: 69 %. Ponto de Fusão: 101 - 105 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₃H₁₇N₃OS (263,36 g.mol⁻¹) C, 59,29; H, 6,51; N, 15,96 %. Encontrado C, 58,99; H, 6,55; N, 16,02 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3375; $\nu(\text{N-H})$: 3275; $\nu(\text{C=N})$: 1636; $\nu(\text{C=S})$: 8265. ¹H RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 1,23-1,26 (t, ³J = 7,5 Hz, 3H, CH₃-CH₂); 2,05 (s, 1H, CH₃); 2,97-3,01 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 3,37-3,41 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 3,55-3,62 (m, 2H, CH₂-CH₃); 6,65 (s, 1H, OH); 7,27-7,35 (m, 5H, Ph); 7,37 (s, 1H, NH).

H₂fet - Sólido branco cristalino. Rendimento: 75 %. Ponto de Fusão: 140 - 145 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₃H₁₄F₃N₃OS (317,33 g.mol⁻¹) C, 49,20; H, 4,45; N, 13,24 %. Encontrado C, 49,85; H, 4,51; N, 13,24 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3310; $\nu(\text{N-H})$: 3088; $\nu(\text{C=N})$: 1528; $\nu(\text{C-F})$: 1177-1155; $\nu(\text{C=S})$: 820. ¹H RMN (500 mHz, DMSO-*d*₆; ppm): 1,16-1,18 (t, ³J = 5 Hz, 3H, CH₃) 3,59-3,61 (m, 2H, CH₂-CH₃); 3,76-3,80 (dq, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 4,07-4,03 (d, ²J = 20 Hz, 1H, CH₂); 7,49-7,55 (m, 3H, Ph); 7,93-7,95 (m, 2H, Ph); 8,39 (s, 1H, OH); 9,10-9,12 (q, ²J = 5 Hz, 1H, NH).

H₂bpt - Sólido branco cristalino. Rendimento: 80 %. Ponto de Fusão: 137,2 - 143,5 °C. Análise Elementar Calculada para C₁₇H₁₇N₃OS (311,40 g.mol⁻¹) C, 65,57; H, 5,50; N, 13,49; %. Encontrado C, 65,52; H, 5,43; N, 13,48 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3335; $\nu(\text{N-H})$: 3279; $\nu(\text{C=N})$: 1639; $\nu(\text{C=S})$: 858. ¹H RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 2.11 (s, 1H, CH₃); 3,05-3,08

(d, $^2J = 15$, 1H, CH₂); 3,44-3,48 (d, $^2J = 15$, 1H, CH₂); 6,67 (s, 1H, OH) 7,16-7,19 (m, 1H, Ph); 7,29-7,39 (m, 7H, Ph); 7,52-7,54 (m, 2H, Ph); 9,14 (s, 1H, NH).

H₂fpt - Sólido branco cristalino. Rendimento: 55 %. Ponto de Fusão: 134 - 137°C. Análise Elemental Calculada para C₁₇H₁₄F₃N₃OS (365,37 g.mol⁻¹) C, 55,88; H, 3,86; N, 11,50 %. Encontrado C, 55,96; H, 4,06; N, 11,67 %. IV ($\nu_{\text{máx}} / \text{cm}^{-1}$): $\nu(\text{O-H})$: 3325; $\nu(\text{N-H})$: 3103; $\nu(\text{C=N})$: 1597; $\nu(\text{C-F})$: 1180-1167; $\nu(\text{C=S})$: 858. ¹H RMN (500 mHz, DMSO-*d*₆; ppm): 3,83-3,86 (dq, $^2J = 15$ Hz, 1H, CH₂); 4,11-4,14 (d, $^2J = 15$ Hz, 1H, CH₂); 7,28-7,54 (m, 8H, Ph); 8,01-8,03 (m, 2H, Ph); 8,39 (s, 1H, OH); 10,64 (s, 1H, NH).

3.3.2 Ditiocarbazatos (DTCs)

3.3.2.1 Síntese do S-benzilditiocarbazato e S-benzilmetoxiditiocarbazato

Primeiramente, foram sintetizados os precursores dos demais derivados de DTCs, S-benzilditiocarbazato (S-Bz) e S-benzilmetoxiditiocarbazato (S-MBz), através da metodologia descrita na literatura [22]. Para isso, partiu-se de uma solução de hidróxido de potássio em etanol, resfriada em gelo. Nesta solução fria, foi adicionado lentamente hidrato de hidrazina, sob agitação. Posteriormente, uma solução de dissulfeto de carbono em etanol foi então adicionada, gota a gota, durante cerca de uma hora. A temperatura da reação se manteve em torno de -5 °C durante a adição. Nesta etapa, foram formadas duas fases, sendo a fase oleosa amarela separada, utilizando um funil de separação e dissolvida em uma solução gelada etanol/água na proporção 4:6. O cloreto de benzila ou cloreto de 4-metoxibenzila (0,2 mol) foi dissolvido em etanol e adicionado lentamente à solução com vigorosa agitação por uma hora. O precipitado formado de coloração amarela pálida foi separado por filtração, lavado com água e seco á vácuo. Este produto foi utilizado para a síntese dos DTCs sem prévia recristalização.

3.3.2.2 Compostos DTCs

A Figura 3.3.2.2.1 exemplifica as estruturas dos compostos H₂bdtc, H₂fdtc, H₂mbdtc e H₂mfdtc, os quais foram preparados baseando-se em metodologias já descritas [22, 54]. Na síntese dos compostos DTCs, a reação equimolar foi realizada utilizando o precursor, S-Bz ou S-MBz (0,1 mmol) previamente sintetizado, dissolvido em metanol. A esta solução foi adicionado 0,1 mmol da β -dicetona desejada. Essa reação foi mantida sob refluxo durante

PARTE EXPERIMENTAL

duas horas à temperatura de 65 °C. O precipitado formado foi filtrado, lavado com metanol e seco a vácuo.

Figura 3.3.2.2.1- Estrutura geral dos compostos DTCs.

H₂bdtc: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = H

H₂fdtc: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = H

H₂mbdtc: R₁ = Ph, R₂ = Me, R₃ = OMe

H₂mfdtc: R₁ = CF₃, R₂ = Ph, R₃ = OMe

H₂bdtc - Cor: amarelo pálido. Rendimento: 78 %. Ponto de fusão: 115 - 120°C. IV ($\nu_{\text{máx}}$ / cm⁻¹): $\nu(\text{O-H})$: 3356; $\nu(\text{C=N})$: 1628; $\nu(\text{C=S})$: 854; $\nu(\text{S-C-S})$: 980. RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 2,12 (s, 3H, CH₃); 3,05-3,08 (d, 2J = 15 Hz, 1H, CH₂); 3,44-3,47 (d, 2J = 15 Hz, 1H, CH₂); 4,30-4,32 (d, 2J = 10 Hz, 1H, SCH₂); 4,42-4,44 (d, 2J = 10 Hz, 1H, SCH₂); 7,24-7,41 (m, 10H, Ph); 6,49 (s, 1H, OH).

H₂fdtc - Cor: branco cristalino. Rendimento: 49 %. Ponto de fusão: 115,1 - 117°C. Análise Elementar Calculada para C₁₈H₁₅F₃N₂OS₂ (396,45 g.mol⁻¹) C, 54,53; H, 3,81; N, 7,07 %. Encontrado C, 54,61; H, 3,88; N, 7,08 %. IV ($\nu_{\text{máx}}$ / cm⁻¹): $\nu(\text{O-H})$: 3154; $\nu(\text{C=N})$: 1597; $\nu(\text{C-F})$: 1190-1155; $\nu(\text{C=S})$: 856; $\nu(\text{S-C-S})$: 1009. ¹H RMN (500 mHz, DMSO-*d*₆; ppm): 3,73-3,77 (d, 2J = 20 Hz, 1H, CH₂); 4,14-4,18 (d, 2J = 20 Hz, 1H, CH₂); 4,35-4,38 (d, 2J = 15 Hz, 1H, SCH₂); 4,38-4,41 (d, 2J = 15 Hz, 1H, SCH₂); 7,28-7,84 (m, 10H, Ph); 8,55 (s, 1H, OH).

H₂mbdtc - Cor: branco cristalino. Rendimento: 76 %. Ponto de fusão: 110 - 113,1°C. Análise Elementar Calculada para C₁₉H₂₀N₂O₂S₂ (372,50 g.mol⁻¹) C, 61,26; H, 5,41; N, 7,52 %. Encontrado C, 61,31; H, 5,33; N, 7,35 %. IV ($\nu_{\text{máx}}$ / cm⁻¹): $\nu(\text{O-H})$: 3318; $\nu(\text{C=N})$: 1622; $\nu(\text{C=S})$: 829; $\nu(\text{S-C-S})$: 984. ¹H RMN (500 mHz, CDCl₃; ppm): 2,10 (s, 3H, CH₃); 3,02-3,07 (d, 2J = 25 Hz, 1H, CH₂); 3,41-3,46 (d, 2J = 25 Hz, 1H, CH₂); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 4,23-4,26 (d, 2J = 15 Hz, 1H, SCH₂); 4,34-4,38 (d, 2J = 15 Hz, 1H, SCH₂); 6,81-7,37 (m, 9H, Ph); 6,48 (s, 1H, OH).

H₂fmdtc - Cor: branco cristalino. Rendimento: 55,8%. Ponto de fusão: 100 - 102°C. Análise Elementar Calculada para C₁₉H₁₇F₃N₂O₂S₂ (426,48 g.mol⁻¹) C, 53,51; H, 4,02; N, 6,57 %. Encontrado C, 53,24; H, 4,07; N, 6,69 %. IV ($\nu_{\text{máx}}$ / cm⁻¹): $\nu(\text{O-H})$: 3073; $\nu(\text{C=N})$: 1607; $\nu(\text{C-F})$: 1182-1161; $\nu(\text{C=S})$: 858; $\nu(\text{S-C-S})$: 1009. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆; ppm): 3,73-3,77 (d, ²*J* = 20 Hz, 1H, CH₂); 4,13-4,17 (d, ²*J* = 20 Hz, 1H, CH₂); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 4,27-4,30 (d, ²*J* = 15 Hz, 1H, SCH₂); 4,30-4,33 (d, ²*J* = 15 Hz, 1H, SCH₂); 6,89-7,83 (m, 9H, Ph); 8,52 (s, 1H, OH).

3.3.3 Complexos de Gálio

3.3.3.1 Procedimento 1

Inicialmente, preparou-se uma solução de 0,06 mmol (24,3 mg) do precursor [Ga(acac)₃] dissolvido em 3 mL de metanol. Em seguida, a essa solução foi adicionado 0,12 mmol (45,3 mg) do agente complexante H₂bdtc previamente dissolvido em 7 mL do mesmo solvente. Verificou-se que após 5 horas de refluxo à temperatura de 70° C, a cor amarela da solução foi intensificada. Ao término da reação, a solução foi seca à vácuo e o sólido foi recristalizado utilizando a mistura dos solventes diclorometano e metanol.

3.3.3.2 Procedimento 2

Foi solubilizada em 5 mL de etanol uma massa de 90,7 mg (0,26 mmol) do ditiocarbazato H₂bdtc. Em seguida, adicionou-se sob agitação constante uma solução 0,13 mmol no mesmo solvente do composto de partida [Ga(acac)₃] (48,4 mg). Esta reação foi mantida sob refluxo durante 3 horas, ocorrendo uma mudança de coloração para amarelo intenso em poucos minutos. Ao final desse período, foi obtido um precipitado de coloração amarela, o qual foi filtrado e seco à vacuo. Esse produto foi então recristalizado de uma mistura de clorofórmio e metanol em uma proporção aproximada de 5:1 dos respectivos solventes. Através da evaporação lenta da solução, foram obtidos monocristais amarelos (Rendimento de 72%).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos tópicos desta seção serão discutidos os resultados obtidos para cada classe de compostos, separadamente. No decorrer do texto serão apresentados somente os espectros para alguns compostos representativos, devido à semelhança com os demais. Os dados experimentais podem ser encontrados na Parte Experimental, enquanto que os espectros de todos os compostos estão localizados nas informações suplementares em anexo: infravermelho (Apêndice A), RMN de ^1H e ^{19}F (Apêndice B), espectrometria de massas (Apêndice C) e difração de raios X (Apêndice D).

4.1 Tiossemicarbazonas

Neste trabalho foram estudadas duas classes de compostos, as Tiossemicarbazonas e os Ditiocarbazatos. No Esquema 4.1.1 é apresentado um resumo das estruturas moleculares de todos os compostos sintetizados.

Esquema 4.1.1- Resumo das estruturas dos compostos estudados neste trabalho das classes das Tiossemicarbazonas e Ditiocarbazatos.

Inicialmente serão apresentados os resultados para as TSCs. Os compostos H₂bt, H₂ft e H₂bpt já possuem sua síntese e alguns métodos de caracterização descritos na literatura [57-59]. Assim sendo, as reações das TSCs estudadas neste trabalho foram baseadas nas referências citadas acima. Estes compostos foram obtidos a partir de reações de condensação entre a β -dicetona desejada e quatro tiossemicarbazidas distintas com grupos R₃ variados. Estas reações foram realizadas em condições de refluxo durante oito horas em solução alcoólica, resultando em sólidos brancos que se apresentam em bons rendimentos (Esquema 4.1.2). Todos os compostos desta classe são solúveis em CHCl₃, CH₂Cl₂ e DMSO e pouco solúveis em MeOH e EtOH.

Esquema 4.1.2- Síntese dos compostos TSCs.

As oito TSCs sintetizadas neste trabalho foram caracterizadas por análise elementar, métodos espectroscópicos (IV, RMN ¹H e ¹⁹F), espectrometria de massas e difração de raios X. Nas Figuras 4.1.1 e 4.1.2 são apresentados os espectros de infravermelho dos compostos H₂bt e H₂ft. São mostrados somente os espectros de IV destes dois compostos, já que os estiramentos dos modos vibracionais característicos são bastante semelhantes para todas as TSCs estudadas (os demais espectros se encontram no apêndice A).

A formação do H₂bt é evidenciada pela presença de uma banda fina e intensa em 3406 cm⁻¹, característica de estiramento ν (O-H) (Figura 4.1.1). No entanto, para alguns compostos não foi possível à identificação exata deste estiramento, uma vez que diversas ligações de hidrogênio estão presentes nas estruturas moleculares dos compostos, como

verificado pelas análises por difração de raios X discutidas com mais detalhes a seguir. Este tipo de ligação faz com que essas bandas se encontrem bastante alargadas sendo, em alguns casos, encobertas por outros estiramentos como, por exemplo, $\nu(\text{N-H})$. Em 3292 e 3161 cm^{-1} se observam bandas fortes referentes ao estiramento $\nu(\text{N-H})$. Em 1634 cm^{-1} é observada uma banda fina atribuída à absorção $\nu(\text{C=N})$, enquanto que as bandas na região de 1497 cm^{-1} referem-se ao estiramento $\nu(\text{C=C})$. O estiramento $\nu(\text{C=S})$ no IV das TSCs pode aparecer em duas regiões distintas no espectro, $1118\text{-}1074\text{ cm}^{-1}$ e $800\text{-}846\text{ cm}^{-1}$, devido a diferentes modos vibracionais [60]. Contudo, a absorção na faixa de $800\text{-}846\text{ cm}^{-1}$ representa melhor o estiramento $\nu(\text{C=S})$, pois na faixa $1118\text{-}1074\text{ cm}^{-1}$ este estiramento pode se encontrar acoplado com outros tipos de vibrações, como o fragmento N-C-N [60]. Além disso, em compostos que possuem átomos de flúor em sua estrutura o modo vibracional $\nu(\text{C=S})$ pode ser encoberto pelo estiramento $\nu(\text{C-F})$ [60].

Figura 4.1.1-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bt realizado em pastilhas de KBr .

As bandas características apresentadas para o H_2bt também são observadas nos espectros dos compostos H_2bmt , H_2bet e H_2bpt (apêndice A). Na Tabela 1 se encontram as principais bandas utilizadas na caracterização de todos os produtos obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1.1- Bandas no IV (valores em números de onda: cm^{-1}) dos compostos Tiosemicarbazonas.

Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C-F})$	$\nu(\text{C=S})$
H₂bt	3406	3292, 3161	1597	1485	----	831
H₂ft	3437	3294, 3146	1591	1460	1186-1150	831
H₂bmt	3333	3223	1636	1539	----	827
H₂fmt	3316	3088	1603	1531	1184-1150	824
H₂bet	3375	3275	1636	1524	----	825
H₂fet	3310	3088	1605	1526	1177-1155	820
H₂bpt	3335	3279	1639	1591	----	858
H₂fpt	3325	3103	1597	1520	1180-1167	858

De modo semelhante, no espectro de infravermelho do composto H₂ft são verificadas bandas que mostram a ocorrência da reação de condensação e, conseqüentemente, a formação da base de Schiff. Esta informação é evidenciada pelo desaparecimento de duas bandas referentes ao estiramento $\nu(\text{N-H})$ na região de 3300 cm^{-1} da tiosemicarbazida precursora, além do desaparecimento do estiramento $\nu(\text{C=O})$ em 1670 cm^{-1} , característico da cetona utilizada como precursora na reação [61]. No espectro da Figura 4.1.2 são analisadas as bandas que indicam a estrutura do composto H₂ft, como por exemplo, o surgimento de uma banda na região de 3437 cm^{-1} que se refere ao estiramento $\nu(\text{O-H})$, enquanto que as absorções relativas ao $\nu(\text{N-H})$ do grupo periférico substituinte NH₂ aparecem em 3294 e 3146 cm^{-1} . É possível observar também bandas fortes e finas em 1591 e 1460 cm^{-1} , indicativas de estiramentos $\nu(\text{C=N})$ e (C=C) , respectivamente. Os modos vibracionais $\nu(\text{C-F})$ são caracterizados por bandas intensas na faixa de $1180\text{-}1150 \text{ cm}^{-1}$, enquanto que o estiramento $\nu(\text{C=S})$ aparece em 831 cm^{-1} (Figura 4.1.2) [60].

Os espectros para os compostos H₂fmt, H₂fet, e H₂fpt possuem bandas análogas às apresentadas para o composto discutido acima e se encontram no apêndice A.

Figura 4.1.2-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2ft realizado em pastilhas de KBr.

Todos os compostos também foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de ^1H . Esta técnica é de grande importância na análise estrutural dos compostos em solução, tornando possível avaliar as possíveis estruturas obtidas para os produtos.

É conhecido que compostos imínicos derivados de β -dicetonas, similares aos compostos estudados neste trabalho, possam apresentar um equilíbrio químico em solução. Deste modo, os mesmos podem ser encontrados como dois isômeros (Figura 4.1.3) [62, 63, 25].

A estrutura cíclica apresentada a seguir pode acontecer devido à reatividade das carbonilas das β -dicetonas precursoras, onde um primeiro ataque nucleofílico ocorre na carbonila mais reativa formando a base de Schiff e, posteriormente, acontece outro ataque do grupo NH na segunda carbonila presente na estrutura. Desta forma, o composto pode ser encontrado na forma ciclizada [58, 63]. Uma discussão mais detalhada sobre a reatividade e substituições nas carbonilas presentes nestes compostos será apresentadas mais a frente.

Figura 4.1.3- Possível equilíbrio estrutural (cíclico-acíclico) que pode ocorrer para as TSCs estudadas, em solução.

As observações feitas a partir das análises realizadas para todos os compostos estudados, sobretudo após as análises feitas em solução (RMN ^1H), mostram que este equilíbrio não ocorre, uma vez que estas TSCs se encontram com a forma estrutural cíclica, tanto no estado sólido quanto em solução. Entretanto, sabe-se que pode ocorrer a abertura do anel pirazolínico quando estes compostos entram em contato com um precursor metálico em solução em uma reação de complexação (como pode ser verificado no Capítulo 5).

As principais evidências no espectro de RMN ^1H que poderiam indicar a presença de da forma aberta (Figura 4.1.3) seria a observação de apenas um hidrogênio para o grupo metino (**CH**) e um sinal adicional referente ao hidrogênio **NH**. Por outro lado, a observação de dois hidrogênios (**H_a** e **H_b**), referentes ao grupo metileno (CH_2) indica que o composto está na sua forma ciclizada. A observação de sinais distintos é devido ao fato destes dois hidrogênios estarem submetidos a ambientes químicos diferenciados.

Na Figura 4.1.4 pode-se observar que o espectro de RMN ^1H para o composto H₂bmt mostra de forma clara que a estrutura em que o mesmo se apresenta em solução é a ciclizada, condizente com o previsto anteriormente pelas análises de IV em estado sólido. Através do espectro de RMN ^1H , para o composto em questão, observa-se um simpleto em 2,05 ppm referente aos 3 hidrogênios do grupo metila. Os deslocamentos químicos em 2,99 e 3,39 ppm mostram dois dupletos relativos aos hidrogênios H_a e H_b respectivamente. Estes deslocamentos diferentes para estes hidrogênios são justificados por possuírem ambientes químicos distintos. O hidrogênio H_b possui deslocamento químico em região de campo mais baixo devido à influência sofrida pelo grupo hidroxila. Este efeito chamado de anisotrópico pode ser explicado devido à eletronegatividade do átomo de oxigênio influenciando na desblindagem diamagnética deste próton H_b [64]. Desta maneira o sinal referente a esse próton é observado em campo mais baixo quando comparado com H_a. Estes hidrogênios possuem uma constante de acoplamento 2J igual a 20 Hz.

Figura 4.1.4- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bmt em solução de CDCl₃ (500 MHz).

Além dos sinais já discutidos, também foi possível observar os sinais para o grupo fenila através de multipletos na região de 7,34 - 7,36 ppm, com integral referente aos 5 átomos de hidrogênio aromáticos. Para o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila, um simpleto é observado em 6,60 ppm e em 3,09 ppm foi observado um duplete referente aos 3 hidrogênios do grupo metila. A multiplicidade deste sinal é justificada pelo acoplamento dos hidrogênios proveniente do grupo metila com o hidrogênio do grupo NH, mostrado em 7,38 ppm através de um sinal alargado. Este acoplamento possui um valor de constante 3J de 5 Hz. Para facilitar a atribuição dos sinais mostrados no espectro, foi realizado um experimento de RMN 2D. Com isso, a partir do espectro de COSY foi possível confirmar as atribuições destes sinais de acoplamento entre os prótons citados acima (Figura 4.1.5).

Figura 4.1.5- Espectro bidimensional de COSY para o composto H₂bmt em solução de CDCl₃ (400 MHz).

O experimento de RMN 2D possibilita verificar correlações entre os núcleos de hidrogênio próximos, especialmente quando no espectro 1D o acoplamento não é tão visível. Como exemplo, o acoplamento do hidrogênio do grupo NH, em 7,38 ppm, com os prótons do grupo metila, em 3,09 ppm, foi confirmado através da observação do sinal enfatizado com a coloração verde na Figura 4.1.5. Do mesmo modo, como já havia sido identificado no espectro de RMN ¹H, os sinais encontrados nas regiões 2,99 ppm e 3,39 ppm correspondem ao acoplamento entre os prótons quimicamente distintos do grupo metileno, H_a e H_b, respectivamente (cores vermelho e azul). Sinais de menor intensidade podem ser observados no espectro da Figura 4.1.5, os quais mostram os acoplamentos dos hidrogênios presentes em 3,36 e 6,59 ppm (azul), assim como em 2,96 e 7,33 ppm (vermelho). Estes dois sinais nos confirmam a interação causada com os grupos periféricos fenila e hidroxila, sendo mostradas através dos deslocamentos químicos dos prótons H_a e H_b, como observado no espectro de RMN ¹H.

As TSCs derivadas da 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona também possuem um perfil de espectro semelhante ao atribuído anteriormente para o composto H₂bmt. Através da análise do espectro de RMN ¹H obtido para o composto H₂fmt, são observados um duplo quarteto na região de 3,77 e um duplete em 4,03 ppm, sinais estes referentes aos hidrogênios H_a e H_b, respectivamente. O sinal na região de 3,77 ppm refere-se ao próton H_a, o qual se

encontra *cis* ao grupo CF₃. Este hidrogênio acopla com os átomos de flúor, fazendo com que o duplete referente ao acoplamento entre H_a e H_b, se desdobre em um duplo quarteto com um valor de constante 4J de 2,5 Hz, assim como observado anteriormente [57]. Já para o hidrogênio H_b é observado como um duplete na região de 4,05 ppm devido ao acoplamento com seu hidrogênio geminal. Estes prótons, H_a e H_b, possuem uma constante de acoplamento de 2J de 25 Hz entre si. Desta forma, se evidenciou que a estrutura deste composto também é cíclica em solução, assim como já verificado anteriormente em estado sólido pela técnica de IV. A análise deste espectro de RMN ¹H também sugere que a formação da imina para este composto ocorreu na carbonila ligada ao grupo fenila, já que é notável a influência sofrida no hidrogênio H_a, pelos átomos de flúor próximos, sendo esta estrutura confirmada pelos dados de difração de raios X mostrado a diante. Foi observado também um duplete referente aos átomos de hidrogênio do grupo metila, em 3,00 ppm, sendo que este sinal é igualmente justificado pelo acoplamento com o hidrogênio do grupo NH. Contudo, desta vez este acoplamento foi confirmado pelo aparecimento de um quarteto em 9,08 ppm para o próton deste grupo. A constante de acoplamento para estes hidrogênios é de $^3J = 5$ Hz (Figura 4.1.6).

Figura 4.1.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂fnt em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sinais referentes aos 5 átomos de hidrogênio do grupo fenila também foram observados, como multipletos na região de 7,48 a 7,92 ppm. O hidrogênio da hidroxila é observado através de um sinal estreito na região de 8,33 ppm.

Assim como para o composto anterior, tanto o acoplamento citado entre os hidrogênios do grupo metileno (H_a e H_b , entre si), como o acoplamento entre os hidrogênios da metila com o próton do grupo NH foram também observados no espectro de COSY para o composto H_2fnt (Figura 4.1.7). Podemos observar que, de forma semelhante ao composto anterior, os prótons do carbono metílico apresentam acoplamento com o hidrogênio proveniente do grupo NH, sendo observado no espectro um sinal para esta interação, marcado com a cor verde. Do mesmo modo, podemos observar que os hidrogênios do grupo metileno, H_a e H_b , acoplam entre si, sendo apresentados os sinais nas regiões de 3,77 e 4,05 ppm (cores vermelho e azul respectivamente). Os sinais e suas respectivas atribuições de RMN 1H para os compostos H_2bmt e H_2fnt estão apresentados na Tabela 4.1.2.

Figura 4.1.7- Espectro bidimensional de COSY para o composto H_2fnt em solução de $DMSO-d_6$ (400 MHz).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1.2- Dados de RMN ^1H para os compostos H_2bmt e H_2fmt com deslocamento químico (ppm) dos sinais e respectivas atribuições. Análise realizada em CDCl_3 e $\text{DMSO}-d_6$ para os respectivos compostos.

Composto	CH_3	CH_3	CH_2	CH (fenil)	OH	NH
H_2bmt	2,05 (s)	3,09 (d) $J^3 = 5 \text{ Hz}$	$\text{H}_a - 2,97 \text{ (d)} J^2 = 20 \text{ Hz}$ $\text{H}_b - 3,37 \text{ (d)} J^2 = 20 \text{ Hz}$	7,34 a 7,37 (m, 5H)	6,60 (s)	7,38 (s) $J^3 = 5 \text{ Hz}$
H_2fmt	---	3,00 (d) $J^3 = 5 \text{ Hz}$	$\text{H}_a - 3,75 \text{ (dq)} J^2 = 25 \text{ Hz}$ $\text{H}_b - 4,03 \text{ (d)} J^2 = 25 \text{ Hz}$	7,48 a 7,94 (m, 5H)	8,33 (s)	9,08 (q) $J^3 = 5 \text{ Hz}$

Para as TSCs H_2ft , H_2fmt , H_2fet e H_2fpt foi utilizada a técnica ressonância magnética nuclear de flúor (RMN ^{19}F). Através desta análise se confirmou a presença dos átomos de flúor referentes ao grupo periférico CF_3 encontradas nestas TSCs. Como referência para estes espectros foi utilizado o composto NaF, para o qual foi feita a análise em solução de metanol- d_4 (Figura 4.1.8 esquerda). Neste espectro, é observado um sinal em -152,83 ppm. Na Figura 4.1.8, à direita, é observado o espectro do H_2fmt , o qual é bastante semelhante às demais TSCs. Este espectro apresenta um simpleto de alta intensidade fazendo referência aos 3 núcleos de flúor encontrados na estrutura molecular do composto. Este sinal é mostrado na região de -80,0 ppm para estas TSCs.

Figura 4.1.8- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto NaF (esquerda) e H_2fmt (direita) em metanol- d_4 (376 MHz).

Devido à semelhança entre os compostos, foram selecionados somente alguns espectros de RMN ^1H e ^{19}F por serem representativos para as outras TSCs estudadas neste trabalho, sendo encontrados todos os espectros no apêndice B.

A técnica de espectrometria de massas com ionização por eletrospray ESI-MS foi realizada para a confirmação da composição química dos compostos. Esta técnica foi

RESULTADOS E DISCUSSÃO

realizada no modo positivo para os derivados da benzoilacetona, como o H₂bpt (Figura 4.1.9), apresentando o pico referente ao íon molecular protonado em 312,11 *m/z* e sua distribuição isotópica, sendo comparada ao espectro simulado apresentado em vermelho. Já para derivados da 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona são verificados picos referentes aos [M-H]⁻, uma vez que esse espectro de massa foi realizado em modo de detecção negativo, com mostrado para o H₂fpt (Figura 4.1.10) com valor de *m/z* 364,08 (Simulado, *m/z* 365). Os espectros referentes aos demais compostos são encontrados no apêndice C.

Figura 4.1.9- Espectros de massas ESI-MS [M+H]⁺ para o composto H₂bpt, -experimental e -simulado.

Figura 4.1.10- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2fpt , -experimental e -simulado.

Monocristais adequados para a difração de raios X foram obtidos para algumas das TSCs apresentadas no trabalho. Foram obtidos cristais incolores dos compostos H_2ft , H_2fmt e H_2fet , a partir de recristalizações feitas em solução de DMSO, enquanto que para o composto H_2bmt , os cristais foram conseguidos através do abaixamento da temperatura da solução reacional. Todos os dados cristalográficos para as estruturas obtidas são apresentados na Tabela D1 encontrada no apêndice D. Através dos resultados obtidos para estes compostos, confirmou-se que as estruturas cristalinas estão de acordo como verificado anteriormente pelas técnicas de espectroscopia na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear de hidrogênio, mostrando que estas TSCs se encontram com a estrutura ciclizada. Observou-se que todos os cristais eram racêmicos e, desta forma possuem dois isômeros ópticos, devido à presença do carbono assimétrico no anel pirazolínico, em igual quantidade.

A análise do monocristal obtido para H_2bmt permitiu verificar a estrutura do composto, porém os dados de refinamento foram ruins, com fatores R finais altos ($R_1 = 0,179$ e $wR_2 = 0,452$). Em razão da má qualidade do cristal, não foi possível avaliar com precisão os comprimentos e ângulos de ligação para este composto. Os cristais geminados foram refinados no sistema monoclinico, com grupo espacial $P2_1$ com geminação por inversão.

A forma cíclica para H_2bmt foi confirmada assim como já prevista anteriormente através das análises em estado sólido e em solução. Observando a estrutura deste composto com mais detalhes, verifica-se que houve a formação da imina na carbonila ligada ao grupo metila. Para os compostos derivados 1,3-dicarbonílicos, comumente existe um equilíbrio das formas ceto-enólicas presentes em solução (Figura 4.1.11). Neste equilíbrio as formas

enólicas predominam sobre a forma cetônica, devido à formação da ligação de hidrogênio intramolecular, proporcionando maior estabilidade às mesmas [65].

Figura 4.1.11- Equilíbrio ceto-enólico da Benzoilacetona.

O produto obtido sugere que a forma enólica B, para a β -dicetona em questão (benzoilacetona), foi predominante nas condições de síntese utilizadas (Figura 4.1.11). A carbonila da espécie B se torna mais reativa, devido à estabilidade causada pelo sistema totalmente conjugado ($\text{Ar-C}=\text{C-C}=\text{O}$) presente na estrutura, assim como a contribuição do efeito estérico causado pelo anel aromático. Desta forma, o primeiro ataque nucleofílico do grupo NH_2 da tiossemicarbazida ocorre na carbonila da cetona ligada ao grupo metila, formando a base de Schiff. Posteriormente, ocorre o ataque ao carbono β , formando o anel pirazolínico, como observado na Figura 4.1.12 [25, 26, 30]. A estrutura do composto apresenta uma desordem no anel aromático, no entanto foi apresentada somente uma posição dos átomos para melhor visualização.

Figura 4.1.12- Estrutura cristalina e molecular do composto H_2bmt .

De modo comparativo, podemos avaliar na Figura 4.1.13 à estrutura molecular do composto H₂fmt. O H₂fmt cristalizou-se no sistema monoclinico, com grupo espacial P2₁/n. Através da estrutura cristalina (Figura 4.1.13), foram observadas as ligações para o composto H₂fmt, como uma ligação dupla C(4)-N(1) com distância de 1,282 Å, formada após a reação de condensação e conseguinte formação da base de Schiff. Nesta estrutura, também são observada as ligações N(1)-N(2), com um comprimento de ligação igual a 1,400 Å, e a ligação C(2)-N(2), formada quando ocorre o fechamento do anel, com uma distância de 1,481 Å, sendo estes valores obtidos característicos para ligação simples.

Figura 4.1.13- Estrutura cristalina e molecular do composto H₂fmt.

É notavel, através da estrutura cristalina, que o ataque nucleofílico do grupo NH₂ da tiossemicarbazida ocorreu na carbonila da β -dicetona ligada ao grupo fenila.

Figura 4.1.14- Equilíbrio ceto-enólico da β -dicetona.

Na literatura, são encontrados estudos da substituição nucleofílica deste tipo de β -dicetona, sendo verificado que, de fato, a espécie A (Figura 4.1.14) é preferencial, porém a substituição na outra carbonila (Estrutura B) também pode ocorrer, mas em uma proporção menor, quando comparado com o produto majoritário [58, 68-70].

O favorecimento da espécie A ocorre devido ao efeito retirador de elétrons do grupo CF_3 e do átomo de oxigênio, desestabilizando a espécie B. Desta maneira, a β -dicetona teria uma preferência em ficar na forma enólica A para minimizar este efeito. Entretanto, a espécie enólica B também pode ocorrer em solução, em menor grau, devido ao sistema formado totalmente conjugado entre Ar-C=C-C=O , o qual confere estabilidade relativa à estrutura, tornando possível também o ataque na carbonila ligada ao CF_3 .

Na literatura, é encontrado o estudo do equilíbrio ceto-enólico, monitorado através da técnica de RMN ^{19}F , para β -dicetonas com CF_3 e grupos aromáticos em suas estruturas, sendo estas bastante semelhantes à utilizada neste trabalho [70]. Foi mostrado que após 24 horas em solução de CDCl_3 surgem dois sinais no espectro de RMN ^{19}F , referentes às formas enólicas da β -dicetona estudada. Este estudo mostra que estas formas (Figura 4.1.14) podem coexistir no meio reacional, na proporção 5:1 (A:B), podendo ocorrer o ataque em ambas as carbonilas [70]. Sobretudo nas condições de síntese realizadas neste trabalho, a forma enólica (A) da cetona em princípio foi favorecida, fazendo com que o produto obtido fosse como apresentado na Figura 4.1.13.

Ademais, na literatura são apresentados também resultados do produto formado quando ocorre o ataque nucleofílico na carbonila da espécie enólica B, próxima ao grupo CF_3 . Esse produto é facilmente desidratado e, conseqüentemente, aromatizado, levando à formação do pirazol [67]. A formação da imina pela reação com a espécie B não pode ser descartada para os compostos estudados, uma vez que os rendimentos para as TSCs com flúor em suas estruturas foram na faixa de 60%. No entanto, possivelmente houve a separação dos diferentes compostos através das técnicas de recristalização realizadas, já que todas as estruturas apresentadas para os compostos estudados são suportadas por diversas técnicas realizadas neste trabalho, confirmando de tal modo que estas se encontram ciclizadas e livre de possíveis subprodutos.

Outros comprimentos de ligação para o composto H_2fmt são observados na Tabela 4.1.3.

Tabela 4.1.3- Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para o H₂fmt.

Comprimentos de ligação	H ₂ fmt
C(2)–O	1,379(3)
C(1)–F(1)	1,328(3)
C(1)–F(2)	1,330(3)
C(1)–F(3)	1,332(3)
C(11)–N(2)	1,360(3)
C(11)–S	1,686(2)
Ângulos de ligação	
O(1)–C(2)–N(2)	114,9(2)
N(1)–N(2)–C(2)	111,74(17)
C(4)–N(1)–N(2)	108,72(18)
O(1)–C(2)–C(1)	110,1(2)
N(3)–C(11)–N(2)	114,94(19)

Na Figura 4.1.15 é mostrado que o composto H₂fmt é estabilizado por uma rede de ligações de hidrogênio intra e intermolecular.

Figura 4.1.15- Ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto H₂fmt [O(1)...S(1) = 3,029(2) Å, O(1)–H(1)...S(1) = 141.4 °], [N(3)...S(1)' = 3,496(2) Å, N(3)–H(3)...S(1)' = 136.4 °].

Operações de simetria usadas ' x-1/2, -y+1/2, z-1/2.

As ligações de hidrogênio intra e intermoleculares entre o hidrogênio da hidroxila H(1) e do grupo NH(3) foram alinhadas em *zigue-zague* na direção da bissetriz formada entre os eixos cristalográficos *a* e *c*, conforme mostrado na Figura 4.1.16. Em ambos os tipos de

ligações de hidrogênio, o átomo aceptor envolvido é o enxofre S(1), sendo as intramoleculares mais fortes do que as intermoleculares, com menor distância entre o doador e o aceptor do átomo de hidrogenio, assim como o ângulo doador-H-aceptor mais próximo da linearidade (Figura 4.1.15).

Figura 4.1.16- Estrutura molecular e rede cristalina do composto H₂fnt.

Os compostos H₂ft e H₂fet também foram analisados por difração de raios X, sendo possível observar que, assim como os demais, estes também se apresentam na forma ciclizada. Estes compostos cristalizaram-se no sistema triclínico com grupo espacial $P\bar{1}$ (Figuras 4.1.17 e 4.1.18).

Dentre as distâncias de ligação, cabe destacar a ligação C(4)-N(1), a qual possui uma distância de 1,282 Å, consistente com caráter de ligação dupla e a ligação C(2)-N(2), referente à ciclização do anel com valor de 1,477 Å, a qual possui caráter de ligação simples, sendo os estes valores para o H₂ft. Já para o composto H₂fet estas ligações foram nomeadas como C(7)-N(1) com valor de 1,275 Å e a distância de ligação C(9)-N(2) possui o valor de 1,473 Å. As ligações de hidrôgenio presentes nas estruturas dos mesmos, juntamente com os dados cristalográficos são apresentadas no apêndice D. Os outros comprimentos de ligação e ângulos para estes dois compostos podem ser analisados na Tabela 4.1.4.

Figura 4.1.17- Estrutura cristalina e molecular do composto H_2ft .

Figura 4.1.18- Estrutura cristalina e molecular do composto H_2fet .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.1.4- Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para os compostos H₂ft e H₂fet.

Comprimentos de ligação	H ₂ ft	Comprimentos de ligação	H ₂ fet
C(2)–O	1,377(2)	C(9)–O	1,385(3)
C(1)–F(1)	1,322(3)	C(10)–F(1)	1,337(4)
C(1)–F(2)	1,325(3)	C(10)–F(2)	1,322(3)
C(1)–F(3)	1,331(3)	C(10)–F(3)	1,320(4)
C(11)–N(2)	1,354(2)	C(11)–N(2)	1,374(3)
C(11)–S(1)	1,693(18)	C(11)–S(1)	1,686(3)
N(1)–N(2)	1,404(19)	N(1)–N(2)	1,403(3)
Ângulos de ligação		Ângulos de ligação	
O(1)–C(2)–N(2)	114,45(17)	O(1)–C(9)–N(2)	114,4(2)
N(1)–N(2)–C(2)	111,88(14)	N(1)–N(2)–C(9)	112,72(19)
C(4)–N(1)–N(2)	108,58(14)	C(7)–N(1)–N(2)	108,4(2)
O(1)–C(2)–C(1)	111,44(18)	O(1)–C(9)–C(10)	109,4(2)
N(3)–C(11)–N(2)	115,70(16)	N(3)–C(11)–N(2)	114,7(2)

4.2 Ditiocarbazatos

A segunda classe de compostos estudada compreende os ditiocarbazatos (DTCs). Os compostos H₂bdtc e H₂mbdtc já possuem suas sínteses descritas na literatura, pelo nosso grupo de pesquisa, de forma que os procedimentos experimentais estão baseados nestas referências [22,54]. Estes compostos são obtidos a partir de reações de condensação, utilizando-se quantidades reacionais equimolares da β -dicetona escolhida e dos precursores de ditiocarbazatos previamente sintetizados, variando o grupo R₃ por H e OCH₃. Nestas reações foram obtidos produtos sólidos com bons rendimentos (Esquema 4.2.1). Todos os compostos desta classe são solúveis em CHCl₃, CH₂Cl₂ e DMSO e pouco solúveis em MeOH e EtOH.

Esquema 4.2.1- Síntese dos compostos DTCs.

Os quatro DTCs sintetizados neste trabalho foram caracterizados por diversas técnicas, dentre elas: análise elementar, métodos espectroscópicos (IV, RMN ¹H e ¹⁹F), e espectrometria de massas. De forma semelhante à outra classe de compostos estudada, serão apresentados os espectros de infravermelho apenas para os compostos H₂mbdtc (Figura 4.2.1) e H₂mfdtc (Figura 4.2.2), uma vez que os espectros para os demais DTCs apresentam bandas características bastante semelhantes às observadas nos espectros discutidos a seguir. No apêndice A são encontrados os espectros de infravermelho para todos os DTCs estudados.

A formação destes compostos é evidenciada através de bandas características para os modos vibracionais ν(O-H) que pode ser observado em 3318 cm⁻¹ para o composto H₂mbdtc. Já para o composto H₂mfdtc este mesmo estiramento ocorre em 3073 cm⁻¹. Para o H₂mfdtc também foram observadas bandas relativas aos modos vibracionais ν(C-F), na faixa de 1184 -

1117 cm^{-1} . Essas bandas são observadas no espectro em intensidade alta, sendo este perfil esperado em compostos que apresentam flúor em sua estrutura. São observados também os estiramentos $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{C}=\text{C})$, respectivamente, em 1622 e 1510 cm^{-1} para o composto H_2mbdtc e em 1607 e 1510 cm^{-1} para o H_2mfdtc . Essas bandas são relevantes já que a partir destes estiramentos é possível verificar a formação das bases de Schiff.

Figura 4.2.1- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2mbdtc realizado em pastilhas de KBr.

Os estiramentos $\nu(\text{SCS})$ e $\nu(\text{C}=\text{S})$ são verificados em 984 e 829 cm^{-1} , respectivamente, para o composto H_2mbdtc . Os mesmos aparecem em 922 e 858 cm^{-1} para o H_2mfdtc . A análise destes modos vibracionais é bastante importante, já que são bandas características para os compostos das classes dos ditiocarbazatos. Além das bandas já mencionadas para estes compostos, são observados os estiramentos referentes ao grupo substituinte OCH_3 , $\nu(\text{Ph-O-C})$, em 1250 e 1254 cm^{-1} para os compostos H_2mbdtc e H_2mfdtc , respectivamente [60].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 4.2.2- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2mfdtc realizado em pastilhas de KBr.

Na Tabela 4.2.1 são descritos os principais modos vibracionais encontrados no espectro de IV utilizados na caracterização dos produtos obtidos.

Tabela 4.2.1- Bandas de IV (valores em números de onda: cm^{-1}) dos compostos ditiocarbazatos.

Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C-F})$	$\nu(\text{SCS})$	$\nu(\text{C=S})$
H_2bdtc	3356	1628	1454	----	980	854
H_2fdtc	3154	1597	1450	1211-1121	1009	856
H_2mbdtc	3318	1622	1510	----	984	829
H_2mfdtc	3073	1607	1510	1184-1117	1009	858

Os ditiocarbazatos derivados de β -dicetonas também podem apresentar um equilíbrio químico em solução entre as formas cíclicas e acíclicas, assim como mostrado na Figura 4.1.3 (página 43) para as tiossemicarbazonas. Do mesmo modo, foi verificado através das técnicas realizadas, que tanto em estado sólido quanto em solução este equilíbrio não acontece, sendo confirmada a presença apenas da forma cíclica para estes compostos.

Através da análise do espectro de RMN ^1H obtido para o H_2bdtc (Figura 4.2.3), confirmou-se a estrutura cíclica pela presença dos sinais relativos ao grupo metileno do anel pirazolínico (H_a , H_b), os quais aparecem em 3,07 e 3,45 ppm, respectivamente. Os dupletos referentes a estes prótons possuem uma constante de acoplamento de 2J igual a 15 Hz. Conforme discutido para as TSCs, a observação de dois dupletos diferentes para estes prótons

se deve a presença de ambientes químicos distintos. Através dos dados obtidos pela difração de raios X, os quais serão apresentados a diante, o efeito anisotrópico do grupo hidroxila no hidrogênio H_b é mostrado de forma evidente na Figura 4.2.4, uma vez que estes átomos, H_b e oxigênio são encontrados no mesmo plano. Adicionalmente, o outro grupo metileno presente nos DTCs estudados neste trabalho é caracterizado através de outros dois dupletos na faixa de 4,30 - 4,44 ppm, referentes ao acoplamento entre os prótons H_c e H_d . Para o composto H_2bdtc este acoplamento possui um valor de 2J igual a 10 Hz. Estes prótons (H_c e H_d) presentes no grupo SCH_2 são analisados através de sinais presentes em campo mais baixo, sendo este fator explicado pelo efeito de desblindagem causado pelo átomo de enxofre próximo aos mesmos. Ademais, o hidrogênio H_c está mais desblindado quando comparado com o hidrogênio H_d . Este feito pode ser mostrado na Figura 4.2.5, sendo possível observar que o anel aromático se encontra inclinado em comparação ao plano dos átomos S1, C11, S2 e C12 com um ângulo de 71° . Desta forma, o hidrogênio H_c está em uma posição mais próxima ao anel e, conseqüentemente, sofre maior influência anisotrópica pelo grupo aromático quando comparado com o hidrogênio H_d . O hidrogênio H_c está situado $0,09 \text{ \AA}$ acima do plano do anel, já a distância entre o plano do grupo aromático com o H_d é maior, sendo de $0,58 \text{ \AA}$. Como esperado, também foram observados multipletos na região de 7,24 - 7,41 ppm, referentes aos 10 núcleos de hidrogênio presentes nos grupos fenila. O sinal indicativo ao próton do grupo hidroxila aparece em 6,49 ppm, enquanto que na região de campo alto foi observado o sinal dos hidrogênios da metila como um simpleto em 2,12 ppm.

Figura 4.2.3- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bdtc em solução de CDCl₃ (500 MHz).

Figura 4.2.4- Estrutura cristalina e molecular do H₂bdtc com destaque para os átomos de hidrogênio (H_b) e oxigênio (O).

Figura 4.2.5- Estrutura cristalina e molecular do H₂bdtc com destaque para os átomos de hidrogênio (H_c e H_d).

Para os DTCs derivados da 4,4,4-trifluor-1-fenil-1,3-butanodiona um perfil de espectro semelhante ao atribuído anteriormente para o composto H₂bdtc foi observado. Através da análise do espectro de RMN ¹H obtido para o composto H₂fdtc (Figura 4.2.6), são observados dupletos na região de 3,75 e 4,16 ppm, sinais estes referentes aos acoplamentos entre os hidrogênios geminais H_a e H_b, respectivamente. O sinal em 3,75 ppm refere-se ao próton H_a, o qual se encontra *cis* ao grupo CF₃. Este hidrogênio acopla com os três átomos de flúor. No entanto, neste espectro a resolução não permitiu que fosse analisada a formação de quartetos nesta região, como verificado para as TSCs. Devido a este fator, o valor da constante de acoplamento entre os átomos de flúor e o H_a não pôde ser calculada. Os hidrogênios H_a e H_b possuem uma constante de acoplamento ²J de 20 Hz. Os prótons presentes no grupo metileno ligados ao átomo de enxofre (H_d e H_c) também são observados através dos dois dupletos na região de 4,36 e 4,39 ppm, respectivamente. Estes hidrogênios possuem um ²J com o valor de 15 Hz. Além dos sinais já discutidos, multipletos são observados na região de 7,28 - 7,84 ppm do espectro fazendo referência aos 10 núcleos de hidrogênio dos grupos fenila. Em 8,55 ppm é observado um sinal intenso característico para hidrogênios do grupo hidroxila.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 4.2.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂fdtc em DMSO-*d*₆ (500 Hz).

Os sinais e suas respectivas atribuições para o espectro de RMN ¹H dos compostos H₂bdtc e H₂fdtc são apresentados também na Tabela 4.2.2.

Tabela 4.2.2- Dados de RMN ¹H para os compostos H₂bdtc e H₂fdtc com deslocamento químico (ppm) dos sinais e respectivas atribuições. Análise realizada em CDCl₃ e DMSO-*d*₆ para os respectivos compostos.

Composto	CH ₃	CH ₂	SCH ₂	CH (fenil)	OH
H ₂ bdtc	2,12 (s)	Ha – 3,07 (d) $J^2 = 15$ Hz	Hd – 4,30 (d) $J^2 = 10$ Hz	7,24 a 7,41 (m, 10H)	6,49 (s)
		Hb – 3,45 (d) $J^2 = 15$ Hz	Hc – 4,44 (d) $J^2 = 10$ Hz		
H ₂ fdtc	---	Ha – 3,75 (d) $J^2 = 20$ Hz	Hd – 4,36 (d) $J^2 = 15$ Hz	7,28 a 7,84 (m, 10H)	8,55 (s)
		Hb – 4,16 (d) $J^2 = 20$ Hz	Hc – 4,39 (d) $J^2 = 15$ Hz		

Assim como foi feito para as TSCs estudadas neste trabalho, também foi utilizada a técnica ressonância magnética nuclear de flúor (RMN ¹⁹F) para os DTCs H₂fdtc e H₂mfdtc. Através desta técnica foi possível confirmar a presença dos átomos de flúor referentes ao grupo periférico CF₃ presente nas estruturas dos mesmos. Foram observados simpletos de alta

intensidade em -79,56 e -81,39 ppm para os compostos H₂fdtc e H₂mfdtc, respectivamente, mostrando que a alteração dos substituintes R₃ tem pouca influência no δ dos átomos de flúor, devido à longa distância entre estes grupos. Na Figura 4.2.7 são mostrados espectros do H₂fdtc e do H₂mfdtc.

Figura 4.2.7- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H₂fdtc (esquerda) e H₂mfdtc (direita) em metanol-*d*₄ (376 MHz).

A técnica de espectrometria de massas com ionização por eletrospray ESI-MS tornou possível a observação das formações dos compostos derivados dos DTCs. Na Figura 4.2.8 é mostrado o espectro do íon molecular protonado [M+H]⁺ para o H₂mbdtc, com o valor de 373,10 m/z com a distribuição isotópica de acordo com o esperado. Na Figura 4.2.9 são mostrados os espectros para os compostos H₂fdtc e H₂mfdtc, os quais apresentam os picos referentes aos íons moleculares [M-H]⁻, com valores *m/z* de 395,04 e 425,06, respectivamente. O espectro de ESI-MS referente ao composto H₂bdtc não foi realizado, já que este composto se encontra bem descrito na literatura [71].

Figura 4.2.8- Espectros de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H_2mbdtc , (-experimental e -simulado).

Figura 4.2.9- Espectros de massas ESI-MS para o composto H_2fdtc (esquerda) e H_2mfdtc (direita) (-experimental e -simulado).

Monocristais adequados para o estudo da difração de raios X não foram obtidos para a os novos ditiocarbazatos sintetizados. Foram conseguidos somente cristais referentes ao H_2bdtc , sendo que a estrutura cristalina para o mesmo já se encontra descrita na literatura [30]. Entretanto, na Figura 4.2.10 é apresentada a estrutura para fins ilustrativos.

Assim como já discutido anteriormente para as TSCs derivadas da benzoiacetona, igualmente, um equilíbrio ceto-enólico da β -dicetona é previsto em solução, nas condições de formação dos DTCs (Figura 4.1.11 - página 51), sendo verificado o primeiro ataque nucleofílico na carbonila ligada ao grupo metila. Acredita-se que a espécie enólica B seja

favorecida pela estabilidade causada pela deslocalização eletrônica através do sistema totalmente conjugado presente nesta espécie, obtendo compostos DTCs como mostrados na Figura 4.2.10.

Figura 4.2.10- Estrutura cristalina e molecular do composto H₂bdtc [30].

Na literatura, segundo nosso conhecimento, não são encontrados estudos da substituição nucleofílica nas carbonilas de β -dicetonas com flúor para a formação dos compostos ditiozarbazatos. Todavia, é conhecido que as formas ceto-enólicas da 4,4,4-trifluoro-1-fenil-1,3-butanodiona (Figura 4.1.14 – página 52) podem coexistir no meio reacional [70]. O primeiro ataque nucleofílico acontece na carbonila distante ao grupo CF₃ e, posteriormente, na carbonila ligada ao mesmo, ciclizando o composto como já verificado [70]. Sobretudo, como já discutido anteriormente, a forma enólica (A) desta β -dicetona foi favorecida, fazendo com que o produto obtido fosse o apresentado na Figura 4.2.11.

Figura 4.2.11- Estrutura do composto H₂fdtc.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Assim, através das técnicas já utilizadas foi possível confirmar a formação do anel pirazolínico para todos os DTCs estudados, tanto em estado sólido e quanto em solução. Foi possível observar também que a formação da imina pode ocorrer de duas diferentes maneiras e como observado, é dependente do grupo periférico presentes na β -dicetona, direcionando desta forma na estrutura dos produtos.

4.3 Testes biológicos

A atividade tripanocida foi determinada para os doze compostos das classes TSCs e DTCs sintetizadas neste trabalho, em ensaios frente à forma tripomastigota do parasita em cepas do tipo *Y*. A atividade é apresentada através dos valores de CC_{50try} , que representa a concentração citotóxica necessária para que ocorra a morte de 50% dos parasitas. Dessa forma, quanto menor o valor de CC_{50try} obtido, maior a atividade do produto analisado frente às cepas do *T. cruzi*.

Os valores da porcentagem de inibição do parasita utilizando a concentração de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ dos compostos também foram avaliados, sendo os valores mais altos os mais interessantes, uma vez que mostram um maior percentual de morte do parasita nesta concentração.

Outro estudo importante foi à avaliação da citotoxicidade dos produtos, quando em contato com células de macrófagos J774. Para este estudo, os valores também são expressos em CC_{50} mas, neste caso, é desejável obter valores de CC_{50} mais altos possíveis uma vez que é determinada a maior concentração do composto capaz de permitir a viabilidade de 50% de células estudadas.

De forma a relacionar os valores de citotoxicidade e atividade tripanocida para os compostos, valores de índice de seletividade (IS) foram calculados. Entretanto, na maioria dos casos, não foi possível obter valores exatos, uma vez que os valores de CC_{50} frente a células de macrófagos não foram calculados, devido à limitação da concentração máxima utilizada de $100 \mu\text{M}$ nestes experimentos, fazendo com que não pudesse ser traçada uma curva adequada que correlacionasse a atividade com a concentração. Este parâmetro é calculado através da divisão do valor de CC_{50} das células macrófagos pelo valor de CC_{50try} da forma tripomastigota (Figura 4.3.1). Valores acima de 10 são considerados promissores para esse parâmetro, podendo viabilizar uma faixa terapêutica, onde o fármaco poderia ser utilizado no combate ao *T. cruzi* em concentrações que não gerassem efeitos tóxicos às células não infectadas.

Figura 4.3.1- Cálculo para o índice de seletividade (IS), relação entre a citotoxicidade em células de macrófagos (CC_{50}) e a atividade tripanocida (CC_{50try}).

$$IS = \frac{CC_{50}}{CC_{50try}}$$

A partir da análise dos dados obtidos para os testes biológicos (Tabela 4.3.1) pode-se observar que todos os produtos sintetizados apresentam valores de citotoxicidade próximos ou superiores a 100 μM , ou seja, os compostos estudados se mostraram pouco tóxicos às células de macrófagos J774.

Em relação à atividade contra o parasita, a maioria dos compostos exibe baixa atividade, estando os valores de $\text{CC}_{50\text{try}}$ superiores a 25 μM , com exceção dos compostos H_2bt e H_2bmt , com valores de 9,91 e 6,85 μM , respectivamente. Estes dois compostos se mostraram mais ativos quando comparados com o fármaco utilizado no tratamento da doença de Chagas, o benzonidazol, o qual apresentou um valor de $\text{CC}_{50\text{try}}$ igual a 10,6 μM , nas mesmas condições.

Com relação aos compostos que possuem flúor em suas estruturas, os valores obtidos de $\text{CC}_{50\text{try}}$ contra o *T. cruzi* não se mostraram promissores, exceto para o H_2fet . Este composto se mostrou razoável, apresentando o valor de 82,3 % de inibição do parasita na concentração de 25 μM do mesmo. Em contrapartida, os valores de $\text{CC}_{50\text{try}}$ para as células contendo o *T. cruzi* e frente a células de macrófagos foram inferiores quando comparados com benzonidazol. Desta forma, verificou-se que os compostos com flúor foram menos ativos que os compostos derivados da benzoilacetona.

Assim, os ensaios *in vitro* contra as cepas *Y* do *T. cruzi* mostraram resultados interessantes para que continue a exploração desses tipos de compostos. Os resultados obtidos apontam dois compostos promissores, H_2bt e H_2bmt , uma vez que além de serem altamente ativos, também apresentam baixa citotoxicidade contra células de macrófagos (valores de CC_{50} superiores a 100 μM) e possuem valores interessantes de $\text{IS} >10,09$ e $>14,59$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 4.3.1- Atividade tripanocida avaliada através do CC_{50try} e % de inibição do parasita e citotoxicidade em células de macrófagos (CC₅₀) para os compostos sintetizados.

Forma tripomastigota			Célula J774	
Composto	% inibição (25 µM)	CC _{50try} (µM)	CC ₅₀ (µM)	IS
H ₂ bt	85,2	9,91	>100	> 10,09
H ₂ ft	20,5	>25	>100	>4,00
H ₂ bmt	85,2	6,85	>100	>14,59
H ₂ fmt	47,0	>25	>100	>4,00
H ₂ bet	41,1	>25	>100	>4,00
H ₂ fet	82,3	23,9	85,5	3,57
H ₂ bpt	42,3	>25	>100	>4,00
H ₂ fpt	15,3	>25	>100	>4,00
H ₂ fdtc	3,8	>25	>100	>4,00
H ₂ mbdte	34,6	>25	>100	>4,00
H ₂ mfdte	0	>25	97,7	>3,90
Benzonidazol		10,6	>100	>9,43

*Valores para o H₂bdte frente à cepa do tipo Y: IC₅₀=0,50 ±0,12 µM [23]

De uma forma geral, não houve uma relação entre as mudanças dos grupos periféricos R₃ com os resultados obtidos para a atividade biológica, enquanto que mudanças nos substituintes R₁ e R₂ modificaram significativamente esses valores, mostrando que as atividades contra o parasita foram dependentes das modificações feitas entre os átomos de hidrogênio e de flúor. Estes fatores podem estar relacionados com formação da imina nas diferentes carbonilas das β-dicetonas, e, conseqüentemente, com os diferentes modos de ciclização. Assim, os compostos com flúor não são análogos aos compostos com hidrogênio devido a esta diferença do ponto de vista estrutural, podendo este fator estar relacionado com os valores de atividade biológica.

5. RESULTADOS PRELIMINARES DE COMPLEXAÇÃO

Neste trabalho foram iniciados estudos preliminares da complexação de um dos ligantes sintetizados (H_2bdtc) com o íon metálico gálio. Esta ideia, como mencionado anteriormente, foi baseada e incentivada por trabalhos realizados no nosso grupo de pesquisa, onde foram obtidos complexos estáveis com esse metal mostrando atividades superiores contra o parasita *T. cruzi* quando comparados com os ligantes livres. Além disso, na literatura poucos trabalhos encontrados mostram complexos de gálio utilizados para esta atividade biológica [72]. Logo, estes fatores nos estimularam a dar continuidade aos estudos. Assim, este estudo inicial tem como objetivo mostrar a eficiência das classes de compostos sintetizados neste trabalho (TSCs e DTCs) como agentes quelantes na obtenção de complexos de gálio neutros para eventualmente serem testados como possíveis agentes tripanocidas.

As reações para a obtenção dos complexos foram iniciadas com o ligante H_2bdtc , uma vez que a química e a atividade farmacológica deste composto está bem descrita pelo nosso grupo. Diversos estudos de complexação com diferentes metais já foram realizados utilizando-se o H_2bdtc como ligante. O mesmo apresenta-se como potencial agente tripanocida quando avaliado tanto em testes *in vitro* quanto *in vivo* [22,23]. Portanto, foram realizadas reações de complexação deste composto com o gálio, sendo testados e modificados vários procedimentos experimentais, com o intuito de obter tais complexos livres de subprodutos. As diversas tentativas são mostradas adiante.

Inicialmente, realizou-se uma reação na proporção estequiométrica 1:2 (metal:ligante), conforme descrito pelo procedimento 1 (Esquema 5.1.1). Na recristalização houve a formação de dois tipos de cristais distintos nas cores laranja e amarelo, os quais foram separados manualmente. Devido à pequena quantidade obtida de cristais, estes foram caracterizados somente pelas técnicas de espectroscopia de infravermelho e difração de raios X.

Esquema 5.1.1- Síntese dos complexos de gálio.

Como foi apresentado nas seções prévias, o agente complexante H_2bdtc apresenta-se originalmente na forma fechada. Contudo, durante a reação de complexação ocorre a abertura do anel pirazolínico permitindo desta forma a coordenação ao centro metálico. As diferenças estruturais que o ligante H_2bdtc apresenta, tanto quando livre (fechado) quanto coordenado (aberto), torna possível verificar a complexação a partir das informações fornecidas pelo espectro de infravermelho. No entanto, somente estes dados não são suficientes para inferir a formação do dímero ou monômero, sendo necessário o auxílio de outras técnicas de caracterização, como por exemplo, a difração de raios X.

Comparando os espectros de IV do ligante livre (Figura 5.1.1) e o espectro dos cristais amarelos referentes ao complexo $[Ga_2(bdtc)_2(\mu-OCH_3)_2] \cdot CH_2Cl_2$ (Figura 5.1.2) pode-se observar o desaparecimento da banda em 3356 cm^{-1} referente ao estiramento $\nu(O-H)$ presente no ligante livre. Esta banda desaparece, pois para a coordenação ao metal de forma diânionica, o H_2bdtc perde o próton da hidroxila e um dos hidrogênios do grupo metileno. Entretanto, as bandas associadas à perda deste próton do grupo metileno e consequente formação do grupo metino são difíceis de distinguir. Os deslocamentos das bandas referentes aos modos vibracionais $\nu(C=N)$ e $\nu(C=C)$ são observados devido os efeitos da coordenação do ligante via átomo de nitrogênio. No ligante livre, estes estiramentos são mostrados em 1628 e 1454 cm^{-1} , respectivamente, e após a complexação estes estiramentos se deslocaram para menores frequências em 1514 e 1452 cm^{-1} . A banda indicativa do estiramento $\nu(C=S)$, observada em torno de 800 cm^{-1} no H_2bdtc , também sofre deslocamento após a coordenação,

surgindo em torno de 775 cm^{-1} , condizente com a complexação do mesmo via átomo de enxofre.

Figura 5.1.1- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bdtc realizado em pastilhas de KBr.

Figura 5.1.2- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do complexo $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ realizado em pastilhas de KBr.

O cristal do complexo $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ foi analisado através da difração de raios X, sendo possível confirmar a estrutura do mesmo. Na Figura 5.1.3 é observado que houve a formação do dímero com íons metóxido em ponte, oriundos do solvente utilizado na reação. Este complexo cristalizou-se no sistema monoclinico com grupo espacial $\text{P2}_1/\text{c}$. Na Tabela D1, presente no apêndice D são encontrados os dados cristalográficos para este complexo.

Figura 5.1.3- Estrutura cristalina e molecular do composto $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

Alguns ângulos e comprimentos de ligação são interessantes de serem analisados, de forma a observar as modificações que ocorrem nos comprimentos de ligações após a coordenação do ligante ao metal. As ligações C(4)-N(1) e C(2)-O(1) no ligante livre aparecem como ligações dupla e simples, com comprimentos de 1,279 e 1,402 Å, respectivamente. No entanto, estas mesmas ligações nomeadas como C(9)-N(1) e C(7)-O(1) aparecem no complexo com comprimentos de 1,316 a 1,320 Å. Esses valores são referentes a comprimentos de ligações intermediárias entre ligações dupla e simples, sendo justificados devido ao efeito de deslocalização eletrônica π que ocorre nos anéis quelatos formados com a coordenação do ligante ao centro metálico. São observadas também as variações dos valores de comprimento da ligação C(11)-S(1) de 1,664 Å no ligante livre para 1,750 Å, devido à coordenação ao gálio via átomo de enxofre, sendo este valor característico para ligação simples.

A geometria estrutural para o $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ foi determinada a partir do cálculo do parâmetro τ . Este parâmetro é importante na determinação da geometria de complexos pentacoordenados, já que ocorre uma proximidade estrutural entre as geometrias piramidal quadrática e bipiramidal trigonal.

O cálculo é realizado subtraindo os valores dos dois maiores ângulos formados pelos átomos doadores com o centro metálico. O valor dessa subtração é então dividido por 60 e, a partir do mesmo, pode ser determinada qual geometria de coordenação predomina. Em estruturas totalmente simétricas, os valores ideais encontrados são de 0 para a geometria piramidal quadrática e de 1 para a geometria bipiramidal trigonal (Figura 5.1.4).

Figura 5.1.4- Cálculo do parâmetro τ para estruturas com centro metálico pentacoordenado, e os respectivos valores obtidos para estruturas ideais com geometria piramidal quadrática (a) e geometria bipiramidal trigonal (b).

Desta maneira, o valor calculado para o complexo $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2] \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ é de 0,67, utilizando os valores de 178,65 e 138,31° para os ângulos das ligações O(2)-Ga(1)-N(1) e O(1)-Ga(1)-S(1), respectivamente.

Assim, a estrutura possui uma geometria de coordenação intermediária entre bipirâmide trigonal e piramidal de base quadrada (Figura 5.1.5). O eixo axial é ocupado pelos átomos de oxigênio do íon metóxido e do nitrogênio referente ao ligante bdtc^{2-} , enquanto que o plano equatorial é formado pelo átomo de oxigênio e enxofre derivado do bdtc^{2-} e o átomo de oxigênio oriundo do outro íon metóxido.

Outros comprimentos de ligação importantes deste complexo, assim como alguns ângulos de ligação são encontrados na Tabela 5.1.1.

Figura 4.1.5- Ilustração da geometria de coordenação para o complexo $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2] \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 5.1.1- Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para o $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

Comprimentos de ligação	$[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$
Ga(1)-O(2)	1.971(3)
Ga(1)-N(1)	2.001(3)
Ga(1)-S(1)	2.2893(12)
Ga(1)-Ga(1)'	2.9874(8)
C(19)-O(2)	1.426(5)
Ga(1)'-O(2)	1.898(3)
Ângulos de ligação	
O(1)-Ga(1)-O(2)	90.09(12)
O(1)-Ga(1)-N(1)	91.04(13)
O(2)-Ga(1)-N(1)	178.65(12)
O(1)-Ga(1)-S(1)	138.31(10)
O(2)-Ga(1)-S(1)	93.89(9)
N(1)-Ga(1)-S(1)	84.77(10)
O(2)'-Ga(1)-Ga(1)'	40.37(8)
O(2)-Ga(1)-Ga(1)'	38.57(7)

Na ideia de se obter somente o dímero como produto, uma reação foi feita em solução de metanol com estequiometria 1:1 dos reagentes, para que a mesma fosse completa e livre de subprodutos. Esta reação foi refluxada durante 5 horas. No entanto, houve a formação de um óleo amarelo, não sendo possível sua precipitação. O óleo foi analisado por IV, sendo observadas bandas referentes tanto ao ligante livre quanto ao dímero, indicando que houve a formação do produto esperado, contudo de forma incompleta. Torna-se necessária a otimização desta reação a fim de obter somente o complexo esperado.

Para o cristal laranja, o outro produto formado pelo procedimento 1, foi realizada a análise de infravermelho, sendo observadas bandas referentes ao monômero, $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]$. Os cristais obtidos não foram adequados para o estudo da difração de raios X. Do mesmo modo, pelo fato da formação de mistura, tentou-se a otimização do procedimento 1 para a obtenção somente do complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]$.

A síntese para o $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]$ feita a partir de modificações do primeiro método realizado está descrita no procedimento 2 (Esquema 5.1.2).

Esquema 5.1.2- Síntese dos complexos [Ga(bdtc)(Hbdtc)].

O espectro de infravermelho para o complexo obtido foi muito semelhante ao complexo da primeira reação (cristais laranja) citada anteriormente, indicando que houve a formação do mesmo produto. As análises de difração de raios X, RMN 1H e IV apresentados a seguir confirmam a formação do complexo pentacoordenado $[Ga(bdtc)(Hbdtc)] \cdot H_2O$.

Na Figura 5.1.6 é observado o espectro de IV do complexo $[Ga(bdtc)(Hbdtc)] \cdot H_2O$ com bandas indicativas da formação do mesmo. O estiramento $\nu(O-H)$ observado no espectro do ligante em 3356 cm^{-1} desaparece devido à sua desprotonação. O estiramento $\nu(C=N)$ é deslocado após a coordenação do ligante ao centro metálico via átomo de nitrogênio. No H_2bdtc este estiramento aparece em 1628 cm^{-1} , se deslocando para 1614 cm^{-1} após a complexação. Outros modos vibracionais indicativos da formação do complexo são os estiramentos $\nu(C=C)$ e $\nu(C=S)$, mostrados respectivamente em 1495 e 854 cm^{-1} no ligante livre. Estes estiramentos se apresentam deslocados, em 1481 e 752 cm^{-1} , no espectro do complexo. Além do mais, nesta síntese um dos ligantes se coordena ao gálio de forma bidentada, monoaniônicamente. Este H_2bdtc perde somente o próton do grupo hidroxila. Desta forma, devido a desprotonação, é observado no espectro de IV do complexo $[Ga(bdtc)(Hbdtc)] \cdot H_2O$ uma banda fina em 1688 cm^{-1} . Este estiramento é referente ao $\nu(C=O)$, uma vez que este átomo de oxigênio não se encontra coordenado ao centro metálico.

Figura 5.1.6- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ realizado em pastilhas de KBr.

De modo comparativo na Tabela 5.1.2 são observados os valores de estiramento para o ligante livre e os complexos derivados.

Tabela 5.1.2- Dados do espectro na região do infravermelho em (cm^{-1}) para o agente complexante H_2bdtc e para os respectivos complexos $[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ e $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, pastilhas feitas em KBr.

Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C=S})$	$\nu(\text{C-S})$
H_2bdtc	3356	-	1628	1495/ 1454	854	-
$[\text{Ga}_2(\text{bdtc})_2(\mu\text{-OCH}_3)_2]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$	-	-	1514	1452/ 1422	-	775
$[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$	-	1688	1614	1481/1454	-	752

Através da técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio ($\text{RMN } ^1\text{H}$), foi possível confirmar a estrutura do complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ em solução. A Figura 5.1.7 mostra o espectro de ^1H do ligante H_2bdtc livre obtido em CDCl_3 . Como já avaliado nas seções anteriores, em solução o ligante se apresenta com a estrutura cíclica, sendo esta confirmada pela presença de dois sinais referentes aos prótons metilênicos (H_a e H_b) que aparecem em 3,06 e 3,45 ppm, respectivamente. Sinais indicativos ao outro grupo metileno do H_2bdtc , (H_d e H_c), também são observados no espectro como dois dupletos na região de 4,31 - 4,43 ppm. Em 6,49 ppm o simpleto faz referência ao próton presente no grupo hidroxila.

Figura 5.1.7- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bdtc em solução de CDCl₃ (500 MHz).

No espectro de RMN ¹H do complexo de gálio [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O (Figura 5.1.8) observa-se a ausência do sinal atribuído ao grupo hidroxila e ao grupo metileno, presentes no espectro do ligante livre e, conseqüente, o surgimento do sinal referente ao grupo metino (5,51 ppm, **H**) para o ligante bdtc²⁻. Para o outro ligante, Hbdtc⁻, o qual se coordenou de forma monoaniônica *N,S*-doadora, são observados no espectro sinais referentes aos prótons do grupo metileno (**H_a** e **H_b**) em 3,19 e 3,34 ppm. Os dois dupletos referentes a estes hidrogênios, **H_a** e **H_b**, possuem um valor de constante de acoplamento ²J de 20 Hz. Já na região de 4,20 - 4,39 ppm são observados os hidrogênio presentes nos grupos SCH₂ com valores de integrais condizentes aos quatro prótons presentes na estrutura do complexo. Em 2,27 e 2,38 ppm, são mostrados dois simpletos com integrais referentes aos 3 hidrogênios dos grupos metilas. Além dos sinais já discutidos, na região de 7,06 - 7,91 ppm são mostrados os sinais indicativos dos 20 prótons presentes nos grupos fenila. Assim, através dos sinais presentes no espectro de RMN ¹H foi observada a formação do complexo monomérico. No entanto, sinais adicionais são encontrados no espectro, representando 21% dos sinais totais.

Figura 5.1.8- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ em solução de $\text{DMSO}-d_6$ (500 MHz).

Os cristais obtidos para o complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ foram medidos, confirmando a sua estrutura cristalina, na qual o átomo de gálio se encontra pentacoordenado (Figura 5.1.9). Estes cristais foram obtidos no sistema triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$. Os dados cristalográficos para este complexo se encontram no apêndice D.

Para o $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, é confirmado (Figura 5.1.8) que um ligante H_2bdtc coordena-se em modo *O,N,S*-doador dianiônico e o outro ligante de forma bidentada pelos átomos de nitrogênio e enxofre, monoaniônicamente, de acordo com o estado de oxidação do gálio^{III}. Para ocorrer a coordenação dessa maneira, houve a abertura dos anéis pirazolínicos e são formados dois anéis de cinco e um anel de seis membros com o íon metálico, após a complexação. No ligante bidentado (monoaniônico), o sistema π deslocalizado não se estende até o átomo de oxigênio, como ocorre no ligante tridentado (dianiônico), desfavorecendo a sua planaridade e, consequentemente, a coordenação do átomo de oxigênio. Provavelmente, devido a efeitos estéricos, o grupo benzoi assumiu a posição *trans* em relação ao átomo de nitrogênio ligado ao nitrogênio azometínico, uma vez mais desfavorecendo a coordenação ao átomo de oxigênio. Com dito anteriormente, estudos prévios realizados com gálio e o H_2bdtc como agente complexante apresentaram a formação de um complexo octaédrico. No entanto,

anteriormente foi utilizada base na reação para forçar a dupla desprotonação de ambos os ligantes. Dessa forma, a coordenação do átomo de oxigênio foi favorecida, sendo então formado um complexo aniônico [54]. Assim sendo, nas condições de síntese realizadas, sem adição de base, foi possível obter e isolar o complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)], sendo sua formação suportada pelas técnicas utilizadas tanto em estado sólido (IV e difração de raios X) quanto em solução (RMN ^1H).

Figura 5.1.9- Estrutura cristalina e molecular do composto [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O.

Os dados de difração de raios X mostram a formação do [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O. Para o ligante bdtc²⁻, o qual se coordenou de forma tridentada ao gálio, são observados comprimentos de ligação intermediários entre ligações duplas e simples, devido ao efeito de deslocalização eletrônica π causado pela coordenação. As ligações C(9)-N(1) e C(7)-O(1) apresentam comprimentos de ligação de 1,314 e 1,301 Å, respectivamente. A ligação C(11)-S(1) possui o valor de 1,752 Å após a complexação, indicando uma ligação simples. Para o ligante bidentado, os comprimentos de ligação C(27)-N(3) e C(29)-S(3) possuem valores de 1,294 Å, condizente com ordem de ligação intermediária entre simples e dupla, e 1,738 Å, condizente com ligação simples, respectivamente. Já para a ligação C(25)=O(2), onde o átomo de oxigênio não se encontra coordenado ao gálio, o comprimento observado é de 1,199 Å, sendo este valor característico de ligação dupla. Na Tabela 5.1.3 são apresentados outros comprimentos e ângulos de ligação para o complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)] H₂O.

Tabela 5.1.3- Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para o [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O.

Comprimentos de ligação	[Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O
Ga(1)-O(1)	1.882(2)
Ga(1)-N(1)	2.017(3)
Ga(1)-N(3)	2.088(3)
Ga(1)-S(1)	2.2779(10)
Ga(1)-S(3)	2.2838(9)
Ângulos de ligação	
O(1)-Ga(1)-N(1)	88.99(11)
O(1)-Ga(1)-N(3)	89.05(10)
N(1)-Ga(1)-N(3)	177.95(10)
O(1)-Ga(1)-S(1)	127.08(8)
N(1)-Ga(1)-S(1)	83.90(8)
N(3)-Ga(1)-S(1)	96.80(8)
O(1)-Ga(1)-S(3)	115.63(8)
N(1)-Ga(1)-S(3)	96.61(9)
S(1)-Ga(1)-S(3)	117.28(4)
N(3)-Ga(1)-S(3)	84.80(7)

A geometria de coordenação para o [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O foi determinada a partir do cálculo do parâmetro τ (Figura 5.1.4).

Desta maneira, o valor calculado para o complexo [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O é de 0,85, sendo portanto a geometria bipiramidal trigonal distorcida atribuída para o mesmo (Figura 5.1.10). Para este cálculo foram utilizados os valores de 177,95 e 127,08° para os ângulos das ligações N(1)-Ga(1)-N(3) e O(1)-Ga(1)-S(1), respectivamente.

O eixo axial para estrutura desse complexo é ocupado pelos átomos de nitrogênio dos ligantes bdtc²⁻ e Hbdtc⁻, enquanto que o plano equatorial é formado pelos átomos de oxigênio e enxofre do bdtc²⁻, juntamente com o átomo de enxofre referente ao Hbdtc⁻.

Figura 4.1.10: Ilustração da geometria de coordenação para o complexo $[\text{Ga}(\text{bdtc})(\text{Hbdtc})]\cdot\text{H}_2\text{O}$.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

De uma maneira geral, os objetivos propostos para esse trabalho foram alcançados. Os compostos TSCs e DTCs de interesse na ação anti-*T. cruzi* foram obtidos em condições brandas de síntese, de maneira pura, com bons rendimentos e caracterizados estruturalmente de maneira inequívoca. As estruturas apresentadas para os doze compostos estudados, tanto TSCs quanto DTCs, são suportadas pelas diversas técnicas realizadas neste trabalho confirmando de tal modo que estas se encontram ciclizadas e livres de possíveis subprodutos. Assim, foi possível observar que a formação da imina é dependente da reatividade da carbonila presente na β -dicetona precursora. Esta substituição nucleofílica pode ocorrer de duas diferentes maneiras e, como observado, é dependente do grupo periférico da β -dicetona, influenciando no modo de ciclização do composto. Desta forma, estes estudos com TSCs e DTCs forneceram a oportunidade de verificar a influência dos grupos periféricos substituintes tanto na sua forma estrutural quanto na atividade biológica dos mesmos. Os testes avaliados mostraram que as atividades biológicas não tiveram uma influência significativa pelas mudanças dos grupos periféricos R₃, mas foram dependentes das modificações feitas nos grupos periféricos entre os átomos de flúor e hidrogênio, mostrando que os compostos derivados da benzoilacetona foram mais seletivos quando comparados com os compostos que possuem o grupo CF₃. Estes fatores podem estar relacionados com essas formas de ciclização e, por conseguinte, estrutura dos anéis pirazolínicos dos compostos.

Todos os compostos mostraram-se pouco tóxicos frente às células de macrófagos. Sobretudo, avaliando a atividade contra o *T. cruzi* em cepas do tipo Y e os valores de IS, dois compostos se mostraram bastante ativos e seletivos. Os compostos H₂bt e H₂bmt, tiveram valores de CC_{50try} e de IS superiores quando comparados com o benzonidazol.

Os compostos promissores devem ser submetidos a novos ensaios biológicos, como por exemplo, inibição da cruzaina e testes *in vivo*. Assim, estes resultados se mostram interessantes para que se continue o estudo destes tipos de compostos, no intuito de compreender o mecanismo de ação dos mesmos e possivelmente se obter um novo fármaco antichagásico no futuro.

Com relação aos estudos preliminares de complexação com o íon metálico gálio, pode-se concluir que é possível se obter complexos neutros com este metal e o ligante H₂bdtc.

7. REFERÊNCIAS

- [1] NEGLECTED tropical diseases: becoming less neglected. **The lancet**, v. 383, editorial. 2014. Disponível em: <[http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(14\)60629-2.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(14)60629-2.pdf)>. Acesso em: 10 jun. 2015.
- [2] FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Doença de chagas**: Fiocruz na vanguarda do estudo da enfermidade. 2013. Disponível em: <<http://www.agencia.fiocruz.br/doenca-de-chagas-fiocruz-na-vanguarda-do-estudo-da-enfermidade>>. Acesso em: 10 jun. 2015.
- [3] CASTRO, J. A.; MECCA, M. M.; BARTEL, L. C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas disease (American trypanosomiasis). **Human & Experimental Toxicology**, v. 25, p. 417-479, 2006.
- [4] DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE. **Whats is chagas diseases?**. 2015. Disponível em: <<http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/chagas.html>> Acesso em: 15 abr. 2014.
- [5] SIQUEIRA, C. A. T.; OLIANI, J.; SARTORATTO, A.; QUEIROGA, C. L.; MORENO, P. R. H.; REIMÃO, J. Q.; TEMPONE, A. G.; FISCHER, D. C. H. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriácea* and in vitro antiprotozoal activity. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 21, p. 33-40, 2011.
- [6] WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas diseases** (American trypanosomiasis). 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en.>> Acesso em: 15 abr. 2014.
- [7] WHO TECHNICAL REPORT SERIES. **Research priorities for chagas disease, human african trypanosomiasis and leishmaniasis**. 2012. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77472/1/WHO_TRS_975_eng.pdf?ua=1> Acesso em: 20 abr. 2014.
- [8] RASSI, A.; RASSI, A.; MARTIN-NETO, J. A. Chagas disease. **Lancet**, v. 375, p 1388-402, 2010.
- [9] URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of chagas disease: controversies and advances. **Trends in Parasitology**, v. 19, p. 495-501, 2003.

REFERÊNCIAS

- [10] CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **DPDx – Laboratory identification of parasitic diseases of public health concern**. American tripanosomiasis. 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/gallery.html#vector>>. Acesso em: 19 mar. 2015.
- [11] ANIMATED life of t. cruzi in the human host. 2012. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=1ais69H0li8>> Acesso em: 20 abr. 2015.
- [12] FRANCO-PAREDES, C.; BOTTAZZI, M.E.; HOTEZ, P.J. The unfinished public health agenda of Chagas disease in the era of globalization. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, p. 470, 2009.
- [13] URBINA, J. A. Chemotherapy of chagas disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, p. 287-295, 2002.
- [14] 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. .L. Conformational restriction o aryl thiosemicarbazones produces potente and selective anti-trypanossoma cruzi compounds which induce apoptotic parasite death. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 75, p. 467-478, 2014.
- [15] MACEDO, A. M.; OLIVEIRA, R. P.; PENA, S.D.J. **Ciclo de vida**: Schematic representation of the life cycle of the flagellate protozoan Trypanosoma cruzi. 2002. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM4_05/S1462399402004118sup002.htm>. Acesso em: 22 maio 2015.
- [16] SÁNCHEZ-SANCHO, F.; CAMPILLO, N. E.; PÁEZ, J. A. Chagas disease: progress and new perspectives. **Current Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 423-452, 2010.
- [17] CASTRO, J. A.; MECCA, M. M.; BARTEL, L. C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas disease (American trypanosomiasis), **Human & Experimental Toxicology**, v. 25, p. 471-479, 2006.
- [18] URBINA, J. A. Specific chemotherapy of Chagas disease: Relevance, current limitations and new approaches. **Acta Tropica**, v. 115, p. 55-68, 2010.

- [19] VEIGA-SANTOS, P.; BARRIAS, E. S.; SANTOS, J. F. C.; MOREIRA, T. L. B.; CARVALHO, T. M. U.; URBINA, J. A.; SOUZA, W. Effects of amiodarone and posaconazole on the growth and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, p. 61-67, 2012.
- [20] MAYA, J. D.; CASSELS, B. K.; ITURRIAGA-VASQUEZ, P.; FERREIRA, J.; FAUNDEZ, M.; GALANTI, N.; FERREIRA, A.; MORELLO, A. mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 146, p. 601-620, 2007.
- [21] DOCAMPO, R. Sensitivity of parasites to free radical damage by antiparasitic drugs. **Chemico-Biological Interactions**, v. 73, p. 1-27, 1990.
- [22] MAIA, P. I. DA S.; FERNANDES, A.G.DE A.; SILVA, J.J.N.; ANDRICOPULO, A.D.; LEMOS, S.S.; LANG, E.S.; ABRAM, U.; DEFLON, V.M. Dithiocarbazate complexes with the $[M(PPh_3)]^{2+}$ (M=Pd or Pt) moiety synthesis, characterization and anti-trypanosoma cruzi activity. **Journal of inorganic Biochemistry**, v. 104, p. 1276-1282, 2010.
- [23] CARNEIRO, Z. A.; MAIA, P. I S.; SESTI-COSTA, R.; LOPES, C. D.; PEREIRA, T. A.; MILANEZI, C. M.; SILVA, M. A. P.; LOPEZ, R. F. V.; SILVA, J. S.; DEFLON, V. M. In vitro and in vivo Trypanocidal activity of H₂bdtc-loaded solid lipid nanoparticles. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 8, p. E2847, 2014.
- [24] OLIVEIRA, C.G.; MAIA, P. I. S.; SOUZA, P. C.; PAVAN, F.R.; LEITE, C.Q.F.; VIANA, R. V.; BATISTA, A.A.; NASCIMENTO, O. R.; DEFLON, V. M. Manganese(II) complexes with thiosemicarbazones as potential anti-*Mycobacterium tuberculosis* agents. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 132, p. 21-29, 2013.
- [25] OLIVEIRA, C.G.; MAIA, P. I. S.; MIYATA, M.; PAVAN, F.R.; LEITE, C.Q.F.; ALMEIDA, E. T.; DEFLON, V. M. Cobalt (III) complexes with Thiosemicarbazones as Potential anti-*Mycobacterium tuberculosis* Agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1848-1856, 2014.
- [26] MAIA, P. I. DA S.; NGUYEN, H. H.; PONADER, D.; HAGENBACH, A.; BERGEMANN, S.; GUST, R.; DEFLON, V. M.; ABRAM, U. Neutral gold complexes with tridentate SNS thiosemicarbazide ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 51, p. 1604-1613, 2012.
- [27] QUIROGA, A. G.; CUBO, L.; MIGUEL, P. J. S.; MONEO, V.; CARNERO, A.; NAVARRO-RANNINGER, C. Isolation of an intermediate in the platination of *p*-nitroacetophenone 4-methylthiosemicarbazone: potential application as an antitumor drug. **European Journal Inorganic Chemistry**, v. 8, p. 1183-1187, 2008.

- [28] ATTIA, S.; KOLESAR, J.; MAHONEN, M.R.; PITOT, H. C.; LAHERU, D.; HEUN, J.; HUANG W.; EICKHOFF, J.; ERLICHMAN, C.; HOLEN, K. D. A phase 2 consortium (P2C) trial of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP) for advanced adenocarcinoma of the pancreas. **Invest New Drugs**, v. 26, p. 369–379, 2008.
- [29] LI, M.A.; MIRZA, A.H.; HAMID, M.H.S.A.; BERNHARDT, P.V.; ATCHADE, O.; SONG, X.; ENG, G.; MAY, L. Synthesis, spectroscopic and structural characterization of diphenyltin(IV) complexes of acetone Schiff bases of S-alkyldithiocarbazates. **Polyhedron**, v. 27, p. 977-984, 2008.
- [30] PAVAN, F.R.; MAIA, P.I. DA S.; LEITE, S.R.A.; DEFLON, V.M.; BATISTA, A.A.; DAISY, N.S.; SCOTT, G.F.; LEITE, C.Q.F. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti-Myco bacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1898-1905, 2010.
- [31] DESSY, G.; FATES, V.; SCARAMUZZA, L.; TOMLINSON, A. A. G.; Complexes with sulphur and selenium donor ligands. Part 8.1 Some 4-phenylthiosemicarbazone complexes of Cobalt(II) and the crystal structure of bis(acetone-4-phenylthiosemicarbazone)cobalt(II) Bromide (Green Form). **Journal of the Chemical Society Dalton transition**, v. 11, p. 1549-54, 1978.
- [32] IVANOVIC, I.; GLIGORIJEVIC, N.; ARANDELOVIC, S.; RADULOVIC, S.; ROLLER, A.; KEPPLER, B.K.; TESIC, Z.L.; GRGURIC-SIPKA, S. New ruthenium (II) – arene complexes bearing hydrazides and the corresponding (thio)semicarbazones of 3- and 4-acetylpyridine: synthesis, characterization, crystal structure determination and antiproliferative activity. **Polyhedron**, v. 61, p. 112-118, 2013.
- [33] KALAIVANI, P.; KAVERI, M.V.; HUANG, R.; STAPLES, R. J.; NATARAJAN, K. Synthesis, spectral, X-ray crystallography, electrochemistry, DNA/protein binding and radical scavenging activity of new palladium (II) complexes containing triphenylarsine. **Inorganica Chimica Acta**, v. 405, p. 415-426, 2013.
- [34] SARNIGUET, C.; TOLOZA, J.; CIPRIANI, M.; LAPIER, M.; VIEITES, M.; TOLEDANO-MAGAÑA, Y.; GARCÍA-RAMOS, J. C.; RUIZ-AZUARA, L.; MORENO, V.; MAYA, J. D.; AZAR, C. O.; GAMBINO, D.; OTERO, L. Water-soluble ruthenium complexes bearing activity against protozoan parasites. **Biological Trace Element Research**, v. 159, p. 372-394, 2014.
- [35] CASTIÑEIRAS, A.; FERNÁNDEZ-HERMIDA, N.; GARCÍA-SANTOS, I.; GÓMEZ-RODRÍGUEZ, L. Neutral, Ni^{II}, Pd^{II} and Pt^{II} NOS-pincer complexes of 5-acetylbarbituric-4N-dimethylthiosemicarbazone: synthesis, characterization and properties. **Dalton Transactions**, v.41, p. 13486, 2012.

- [36] BERALDO, H.; GAMBINO, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 31-39, 2004.
- [37] FERLE, A.; PIZZUTI, L.; INGLEZ, S. D.; CAIRES, A. R. L.; LANG, E. S.; BACK, D. F.; FLORES, A. F. C.; MACHULEK JÚNIOR, A.; DEFLON, V. M.; CASAGRANDE, G. A. The first gold(I) complexes based on thiocarbamoyl-pyrazoline ligands: Synthesis, structural characterization and photophysical properties. **Polyhedron**, v. 63, p. 9-14, 2013.
- [38] NÚÑEZ-MONTENEGRO, A.; CARBALLO, R.; ABRAM, U.; VÁZQUEZ-LÓPEZ, E. M. Preparation and characterization of rhenium (I) complexes with thiosemicarbazone ligands derived from resorcinol. **Polyhedron**, v. 65, p. 221-228, 2013.
- [39] SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; ANZELLOTTI, A. Metal complexes as chemotherapeutic agents against tropical diseases: trypanosomiasis, malaria and leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**. v. 4, p. 23-30, 2004.
- [40]. NAVARRO, M.; GABBIANI, C.; MESSORI, L. GAMBINO, D. Metal-based drugs for malária, trypanosomiasis and leishmaniasis: recente achievements and perspectives. **Drug Discovery Today**. v.15, p. 1070-1078, 2010.
- [41] CROUSE, K. A.; CHEW, K. B.; TARAFDER, M. T. H.; KASBOLLAH, A.; ALI, A. M.; YAMIN, B. M.; FUN, H. K. Synthesis, characterization and bio-activity of S-2-picolylthiocarbamate (S2PDTC), some of its schiff bases and their Ni(II) complexes and X-ray structure of S-2-picolyl- β -N-(2-acetylpyrrole)dithiocarbamate. **Polyhedron**, v.23, p.161-168, 2004.
- [42] MAZUMDER, U.K.; GUPTA, M.; KARKI, S. S.; BHATTACHARYA, S.; RATHINASAMY, S.; THANGAVEL, S. Synthesis, anticancer and antibacterial activity of some novel mononuclear Ru(II) complexes. **Chemical Pharmaceutic Bulletin**, v. 52, p. 178-185, 2004.
- [43] RICHARDSON, D.R.; SHARPE, P. C.; LOVEJOY, D. B.; SENARATNE, D.; KALINOWSKI, D. S.; ISLAM, M.; BERNHARDT, P. V. Dipyridyl Thiosemicarbazone chelators with potent and selective antitumor activity form iron complexes with redox activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.49, p.6510-6521, 2006.
- [44] WILSON, H. R.; REVANKAR, G. R.; TOLMAN, R.L. In vitro and in vivo activity of certain thiosemicarbazones against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 760-761, 1974.

- [45] DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.; MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E. Synthesis and structure- Activity relationship study of potent trypanocidal Thiosemicarbazone inhibitors on the trypanosomal cysteine protease cruzain. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2695-2707, 2002.
- [46] BOECHAT, N.; KOVER, W. B.; BASTOS, M. M.; ROMEIRO, N. C.; SILVA, A. S. C.; SANTOS, F. C.; VALVERDE, A. L.; AZEVEDO, M. L. G.; WOLLINGER, W.; SOUZA, T. M. L.; de SOUZA, S. L. O.; de FRUGULHETTI, I. C. P. P. Design, synthesis, and biological evaluation of new 3-hydroxy-2-oxo-3-trifluoromethylindole as potential HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. **Medical Chemistry Research**, v. 15, p. 492-510, 2007.
- [47] PORTAL DOS FÁRMACOS – **O Flúor na química medicinal**. 2015. Disponível em: <www.portaldosfarmacos.ccs.ufrj.br/resenhas_fluorqm.html#citacoes> Acesso em: 15 jun. 2015.
- [48] SENAWEERA, S. M.; SINGH, A. WEAVER, J. D. Photocatalytic hydrodefluorination: facile access to partially fluorinated aromatics. **Journal of the American Chemical Society**. v. 136, p. 3002-3005, 2014.
- [49] BONACORSO, H. G.; WASTOWSKI, A. D.; ZANATTA, N.; MARTINS, M. A. P.; NAUE, J. A. Haloacetylated enol ethers 10. Condensation of β -alkoxyvinyl trifluoromethyl ketones with thiosemicarbazide. Synthesis of new trifluoromethyl 4,5-dihydro-1H-1-pyrazolethiocarboxyamides. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 92, p. 23-26, 1998.
- [50] BLAU, L.; MENEGON, R. F.; TROSSINI, G. H. G.; MOLINO, J. V. D.; VITAL, D. G.; CICARELLI, M.B.; PASSERINI, G. D. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, p. 142-151, 2013.
- [51] CARDOSO, M. V. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; SILVA, E. B.; COSTA, L. B.; HERNANDES, M. Z.; RABELLO, M. M.; FERREIRA, R. S.; CRUZ, L. F.; MOREIRA, D. R. M.; PEREIRA, V. R. A.; CASTRO, M. C. A. B.; BERNHARDT, P. V.; LEITE, A. C. L. 2-pyridyl thiazoles as novel anti-trypanosoma cruzi agents: Structural design, synthesis and pharmacological evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 86, p. 48-59, 2014.
- [52] BRAK, K.; DOYLE, P. S.; MCKERROW, J.H.; ELLMAN, J.A. Identification of a new class of nonpeptidic inhibitor of cruzain. **Journal American Chemical Society**, v. 130, p. 6404-6410, 2008.

REFERÊNCIAS

- [53] TAMPOURIS, K.; COCO, S.; YANNOPOULOS, A.; KOINIS, S. Palladium(II) complexes with S-benzyl dithiocarbazate and S-benzyl-N-isopropylidenedithiocarbazate: Synthesis, spectroscopic properties and X-ray crystal structures. **Polyhedron**, v. 26, p. 4269-4275, 2007.
- [54] PESCI, R. B. P. **Síntese e caracterização de ligantes bioativos e seus complexos de molibdênio de interesse farmacológico e de índio e gálio como modelos para medicina nuclear**. 2015. 173 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.
- [55] SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallographica**, v. 64, n. 1, p. 112-122, 2007.
- [56] SHELDRICK, G. M. **SHELXL97**: A program for crystal structure refinement. Goettingen: University of Goettingen, 1997. (Release 97-2). Programa de computador.
- [57] GANGULY, B.; FOI, A. DOCTOROVICH, F.; DEY, B.K.; ROY, T.G. 5-Hydroxy-3-methyl-5-phenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide. **Acta Crystallographica Section E**. v. E67, p. 2777, 2011.
- [58] AGGARWAL, R.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; GARG, G. MAHAJAN, R.; SHARMA, J. Synthesis and antibacterial activity of some 5-hydroxy-5-trifluoromethyl-4,5-dihydropyrazol-1-thiocarboxamides, 3-trifluoromethylpyrazol-1-thiocarboxamides and 4-aryl-2-(5(3)-trifluoromethyl-1-pyrazolyl)thiazoles. **Journal of Fluorine Chemistry**. v. 132, p. 965-972, 2011.
- [59] SOUSA, G. F.; MARQUES, D. R.; RESCK, I.S.; SABINO, J.R. Synthesis and crystal structures of the five-coordinate diorganotin (IV) complex $[\text{Ph}_2\text{Sn}(\text{L})]\cdot\text{DMF}$ and its 5-hydroxypyrazoline ligand (H_2L). **Journal Chemical Crystallographic**. v. 41, p. 528-532, 2011.
- [60] SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7 ed. New York: John Wiley, 2005. 550 p.
- [61] SPECTRAL DATABASE FOR ORGANIC COMPOUNDS SDBS. 2015. Disponível em: <http://sdb.db.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi> Acesso em: 09 ago 2015.
- [62] FERNANDES, A. G. A. **Quelato-complexos de rênio e tecnécio com potencial aplicação medicinal**. 2012. 204 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

- [63] CASAS, J.S.; CASTELLANO, E.E.; ELLENA, J.; GÁRCIA-TESENDE, M.S.; PÉREZ-PARALLÉ, M. L.; SÁNCHEZ, A.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, A.; SORDO, J.; TOUCEDA, A. New Pd (II) and Pt (II) complexes with N,S-chelated pyrazolonate ligands: molecular and supramolecular structure and preliminar study of their in vitro antitumoral activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 33-45, 2008.
- [64] JACOBSEN, N. E. **NMR spectroscopy explained**: simplified theory, applications and examples for organic chemistry and structural biology. New York: John Wiley, 2007. 668 p.
- [65] COSTA, P.; PILLI, R.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre: Bookman, 2003. 415 p.
- [66] VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Organic chemistry**: structure and function. 6 ed. New York: Freeman and Company, 2009. 1270 p.
- [67] KUMAR, V. AGGARWAL, R.; SINGH, S. P.; The reaction of hydroxylamine with aryl trifluoromethyl- β -diketones: Synthesis of 5-hydroxy-5-trifluoromethyl- Δ^2 -isoxazolines and their dehydration to trifluoromethylisoxazoles. **Journal of Fluorine Chemistry**. v. 127, p. 880-888, 2006.
- [68] AGGARWAL, R.; KUMAR, R. SINGH, S. P. Some novel observations on the reaction of 2-hydrazino-3-methylquinoxaline with trifluoromethyl- β -diketones. **Journal of Fluorine Chemistry**. V.130, p. 886-893, 2009.
- [69] SINGH, S. P.; KUMAR, V.; AGGARWAL, R.; ELGUERO, J. The reaction of aryl and heteroarylhydrazines with aryl-trifluoromethyl β -diketones. **Journal of heterocyclic chemistry**, v.43, p. 1003-1014 2006.
- [70] SONG, L.; ZHU, S. Regioselective synthesis of fluorinated pyrazol derivatives from trifluoromethyl-1,3-diketone. **Journal of Fluorine Chemistry**. v. 111, p. 201-205, 2001.
- [71] CARNEIRO, Z. A. **Avaliação de atividade tripanocida in vitro e in vivo do composto 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1-(S-benzilditiocarbazato) em meio aquoso e em sistema de liberação de droga**. 2014. 152 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.
- [72] MACHADO, M.; FERNÁNDEZ, M.; BECCO, L.; GARAT, B.; BRISSOS, R. F.; ZABARSKA, N.; GAMEZ, P.; MARQUES, F.; CORREIA, I. PESSOA, J. C.; GAMBINO, D. New metal complexes of NNO tridentate ligands: Effect of metal center and co-ligand on biological activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 420, p. 39-46, 2014.

REFERÊNCIAS

[73] CARROCCIA, M. C. **Complexos de oxovanádio (V) com ligantes hidrazonas bioativos: síntese, caracterização estrutura e estudo da potencial atividade tripanocida.** 2014. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

[74] MAURYA, M. R.; KUMAR, A.; EBEL, M.; REHDER, D. Synthesis, characterization, reactivity, and catalytic potential of model vanadium (IV, V) complexes with benzimidazole-derived ONN donor ligands. **Inorganic Chemistry**. v. 45, p. 5924-5937, 2006.

[75] DIAS, L.C.; DESSOY, M.A. Quimioterapia da doença de chagas: Estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, p. 2444-2457, 2009.

[76] CHATELAIN, E. Chagas diseases drug discovery: toward a new era. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 20, p. 22-35, 2015.

APÊNDICES

ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (APÊNDICE A)

Figura A.1.1-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bt realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.2-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2ft realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.3-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bmt realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.4-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2fmt realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.5-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bet realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.6-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2fet realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.7-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bpt realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.8-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2fpt realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.9-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2bdtc realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.10-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2fdtc realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.11-Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2mbdtc realizado em pastilhas de KBr.

Figura A.1.12- Espectro de absorção na região do infravermelho (cm^{-1}) do composto H_2mfdtc realizado em pastilhas de KBr.

RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HIDROGÊNIO (APÊNDICE B)

Figura B.1.1- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bt em CDCl₃ (500 MHz).

Figura B.1.2- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂ft em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

Figura B.1.3- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bmt em CDCl₃ (500 MHz).

Figura B.1.4- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂fmt em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

Figura B.1.5- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bet em CDCl₃ (500 MHz).

Figura B.1.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bet em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

Figura B.1.7- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H_2bpt em $CDCl_3$ (500 MHz).

Figura B.1.8- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H_2fpt em $DMSO-d_6$ (500 MHz).

Figura B.1.9- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂bdtc em CDCl₃ (500 MHz).

Figura B.1.10- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂fdtc em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

Figura B.1.11- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂mbdtc em CDCl₃ (500 MHz).

Figura B.1.12- Espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para o composto H₂mfdtc em DMSO-*d*₆ (500 MHz).

Figura B.2.1- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H₂ft em metanol-*d*₄ (376 MHz).

Figura B.2.2- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H₂fnt em metanol-*d*₄ (376 MHz).

Figura B.2.3- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H₂fet em metanol-*d*₄ (376 MHz).

Figura B.2.4- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H₂fpt em metanol-*d*₄ (376 MHz).

Figura B.2.5- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H_2fdtc em metanol- d_4 (376 MHz).

Figura B.2.6- Espectro de ressonância magnética nuclear de flúor para o composto H_2mfdtc em metanol- d_4 (376 MHz).

ESPECTROS DE MASSAS ESI-MS (APÊNDICE C)

Figura C.1.1- Espectro de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H_2bt .

Figura C.1.2- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2ft .

Figura C.1.3- Espectro de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H_2bmt .

Figura C.1.4- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2bmt .

Figura C.1.5- Espectro de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H₂bet.

Figura C.1.6- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H₂fet.

Figura C.1.7- Espectro de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H_2bpt .

Figura C.1.8- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2bpt .

Figura C.1.9- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2fdtc .

Figura C.1.10- Espectro de massas ESI-MS $[M+H]^+$ para o composto H_2mbdtc .

Figura C.1.11- Espectro de massas ESI-MS $[M-H]^-$ para o composto H_2mfdtc .

DIFRAÇÃO DE RAIOS X (APÊNDICE D)

Figura D.1.1- Ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto H_2ft [$H(1A)...S(1A) = 2,36$ Å, $O(1)...S(1A) = 3,04(18)$ Å, $O(1A)-H(1A)...S(1A) = 140,7^\circ$, $H(1A')...S(1A') = 2,34$ Å, $O(1A')...S(1A') = 3,03(16)$ Å, $O(1A')-H(1A')...S(1A') = 143,5^\circ$, $[H(3A1)...S(1A') = 2,71$ Å, $N(3A)...S(1A') = 3,420(18)$ Å, $N(3A1)-H(3A1)...S(1A') = 140,4^\circ$] (1), [$H(3A2)...S(1A) = 2,74$ Å, $N(3A)...S(1A) = 3,492(19)$ Å, $N(3A)-H(3A2)...S(1A) = 147,4^\circ$] (2), [$H(3A1')...S(1A) = 2,77$ Å, $N(3A')...S(1A) = 3,484(16)$ Å, $N(3A1')-H(3A1')...S(1A) = 141,5^\circ$] (3), [$H(3A2')...S(1A') = 2,57$ Å, $N(3A')...S(1A') = 3,390(17)$ Å, $N(3A')-H(3A2')...S(1A') = 159,8^\circ$] (4).

Operações de simetria usadas 1 x, y-1, z; 2 -x,y+1,-z; 3 x+1, y, z; 4 -x+1, -y+2, -z.

Figura D.1.2- Ligações de hidrogênio presentes na estrutura cristalina do composto H_2fet [$H(120)...S(12) = 2,30$ Å, $O(12)...S(12) = 3,009$ Å, $O(12)-H(120)...S(12) = 144,9^\circ$].

Operações de simetria usadas x-1, y-1, z.

APÊNDICES

Tabela D1- Dados cristalográficos dos compostos H₂ft, H₂fmt, H₂fet, [Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H₂O e [Ga₂(bdtc)₂(μ-OCH₃)₂]·CH₂Cl₂.

	H ₂ ft	H ₂ fmt	H ₂ fet	[Ga(bdtc)(Hbdtc)]·H ₂ O	[Ga ₂ (bdtc) ₂ (μ-OCH ₃) ₂]·CH ₂ Cl ₂
Fórmula	C ₁₁ H ₁₀ F ₃ N ₃ OS	C ₁₂ H ₁₂ F ₃ N ₃ OS	C ₂₆ H ₂₆ F ₆ N ₆ O ₃ S ₂	C ₃₆ H ₃₅ Ga ₂ N ₄ O ₃ S ₄	C ₃₉ H ₄₀ Cl ₂ Ga ₂ N ₄ O ₄ S ₄
Massa Molecular	289,28	303,31	632,65	769,64	967,33
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico	Triclínico	Triclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P $\bar{1}$	P2 ₁ /n	P $\bar{1}$	P $\bar{1}$	P2 ₁ /c
a (Å)	10,1734(3)	7,6478(2)	7,222(5)	7,7453(2) Å	14,7340(5)
b (Å)	11,2434(3)	18,9380(7)	13,851(5)	12,8488(3)	6,5863(2)
c (Å)	13,6339(4)	9,7766(3)	15,268(5)	19,6820(5)	23,4390(8)
α (°)	67,8990(10)	90	78,470(5)	88,6240(10)	90
β (°)	84,5050(10)	107,665(2)	78,234(5)	78,7570(10)	98,859(2)
γ (°)	63,2540(10)	90	85,995(5)	80,2670(10)	90
V (Å ³)	1285,21(6)	1349,22(8)	1464,4(12)	1893,39(8)	2247,44(13)
Z	4	4	2	2	2
ρ _{calcd} (Mg.m ⁻³)	1,495	1,493	1,435	1,350	1,429
μ (mm ⁻¹)	0,283	0,274	0,256	0,987	1,545
Alcance de Θ para coleta de dados (°)	1,62 a 25,04	2,15 a 25,05	1,39 a 25,40	1,06 a 26,40	1,40 a 26,47
Alcance dos índices	-12←h←12, -8←k←13, -16←l←16	-9←h←9, -22←k←21, -11←l←11	-8←h←8, -16←k←16, -18←l←18	-9←h←9, -16←k←16, -24←l←24	-17←h←18, -8←k←8, -29←l←28
Reflexões coletadas	15312	9285	18754	26970	29888
Reflexões unique/R _{int}	4534 / 0,0183	2385 / 0,0252	5372 / 0,0336	7739 / 0,0264	4643 / 0,0312
Dados/restrições/param.	4534 / 0 / 345	2385 / 0 / 183	5372 / 0 / 383	7739 / 0 / 445	4643 / 2 / 258
Correção de Absorção	Integração	Integração	Integração	Integração	Integração
R ₁ [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0,0358	R ₁ = 0,0396	R ₁ = 0,0473,	R ₁ = 0,0478,	R ₁ = 0,0542,
wR ₂ [I > 2σ(I)]	wR ₂ = 0,0912	wR ₂ = 0,0991	wR ₂ = 0,1177	wR ₂ = 0,1579	wR ₂ = 0,1625
GOF em F ² , S	1,020	1,031	1,048	1,126	1,064