UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Farmácia

Área de Toxicologia e Análises Toxicológicas

Compostos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas sintéticas como antiparasitários

Fernando De Moura Gatti

Tese para obtenção do título de DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini

São Paulo

2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Farmácia

Área de Toxicologia e Análises Toxicológicas

Compostos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas sintéticas como antiparasitários

Fernando De Moura Gatti

Versão corrigida da tese

conforme Resolução CoPGr 6018, de 13/10/2011

Tese para obtenção do título de DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira – CRB – 8/5562

G263c

Gatti, Fernando de Moura
Compostos carbonílicos a,b-insaturados e hidrazonas sintéticas como antiparasitários / Fernando de Moura Gatti. - São Paulo, 2019.
190 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Trossini, Gustavo Henrique Goulart

1. Química Farmacêutica. 2. Planejamento de Fármacos. 3. Doenças Parasitárias. 4. Quimioterapia. 5. Síntese Orgânica. I. T. II. Trossini, Gustavo Henrique Goulart , orientador.

Fernando de Moura Gatti

Compostos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas sintéticas como antiparasitários

Comissão Julgadora

da

Tese para obtenção do título de DOUTOR

Professor Doutor Gustavo Henrique Goulart Trossini

_____

Professora Doutora Lilian Sibelle Campos Bernardes

1° examinador

_____

Professora Doutora Wanda Pereira Almeida

2° examinador

_____

Professor Doutor Cristiano Raminelli

3° examinador

São Paulo, 18 de dezembro de 2019.

Dedicatória

Dedico este trabalho principalmente à minha família, mãe Maria Renata de Moura, pai Luiz Gatti, irmãs Daniela de Moura Gatti, Camila de Moura Gatti e esposa Elys J. Cardoso Lima. São pessoas especiais em minha vida, e a eles que devo total dedicação e respeito. Tiveram paciência e companheirismo ao me apoiar nos momentos que mais foi preciso, tanto de estresse, como de alegria, e me incentivaram para que fosse possível concluir mais essa conquista.

Ofereço também, a meu orientador e amigo, Gustavo H. G. Trossini, o qual abriu as portas para que eu entrasse na vida acadêmica e para que pudéssemos desenvolver juntos um vínculo de trabalho de cerca de 6 anos, pela paciência ao aceitar meu modo de trabalhar e pelos ensinamentos e conselhos prestados.

E por último, a todos meus amigos de antes do mestrado, do mestrado e do doutorado, amigos que fui adicionando à minha vida. Bons amigos que mesmo com minha ausência nos períodos de muito trabalho, não hesitaram em proporcionar momentos de lazer e confraternizações sempre que possível, permitindo-me relaxar e distrair a cabeça, e dando força para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

À agência de fomento CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, por ter me concedido a bolsa de estudos para estágio no exterior como apoio financeiro durante a realização do trabalho, e ao serviço de intercâmbio acadêmico, DAAD – Deutscher Akademischer Austauschdienst, pela oportunidade da realização de dois meses do curso de língua alemã na CDC – Carl Duisberg Center – Colônia, Alemanha e pelo auxílio financeiro de dois meses.

Ao Prof. Dr. Bernhard Wünsch e a Dra. Anna Junker, a minha profunda gratidão por serem meus mentores e terem me recebido com muito respeito e atenção na Universidade de Münster – Alemanha. Além de me darem a oportunidade de trabalhar em um projeto do grupo AK Wünsch, me proporcionaram muitos ensinamentos, discussões, aprendizado, assim como me motivar durante o ano de doutorado Sanduíche no exterior.

Aos profissionais da Universidade de Münster, técnica Kirstin Lehmkuhl pelos cromatogramas de *HPLC*, Sra. Laura Prause por gerenciar todas as formalidades com agilidade e eficácia, Dr. Dirk Schepmann pelos seus esclarecimentos de segurança laboratorial, Sra. Claudia Thier pelos espectros de RMN registrados, ao amigo Luciano Sales do Centro Brasileiro em Münster, responsável por facilitar todos os processos de registro e burocráticos na Alemanha e à todos os membros do AK Wünsch por serem tão receptivos e solícitos para tudo que fosse necessário e me receber de forma acolhedora.

Agradeço imensamente a Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP) por ter me permitido realizar o presente trabalho dentro de suas instalações.

Aos profissionais do Bloco 13 da FCF-USP, a Dra. Maria Inês de Almeida Gonçalves responsável pelas análises de RMN e a Dra. Mônica Zannini pelas colaborações nas análises, aos técnicos Charles Brito e Elisabete pelo suporte laboratorial, à Samantha de Sá, Elaine Ychico pelos serviços e assistência com a burocracia na secretaria de pós-graduação, à Sra. Dora pelos cafezinhos diários, o pessoal da segurança pelo convívio dos dia-a-dia e o pessoal da limpeza que manteve tudo limpo e organizado para que pudéssemos trabalhar.

Aos alunos de iniciação científica, Chaudia Abiarraj, Helena Infanti, Rodrigo Heleno e Carmen Castiñneira, os quais trabalharam junto a mim desenvolvendo a parte sintética desta tese de doutorado, por serem dedicados e por me proporcionarem o exercício da orientação.

Aos colegas do grupo Litec, Prof. Gustavo Trossini pelo convívo de 7-8 anos desde a época da faculdade e pelos conselhos ao longo desse período, Renan Augusto pela parceria em trabalhos e congressos e os demais membros que tornaram um grupo de pesquisa agradável e de fácil convívio, entre eles Raisa Calil, Witor Ferraz, André Novaes, Evelin Fornari, Adriano Cabral, Juliana Mello e Vinicius Maltarollo

Aos amigos de laboratório, pelo apoio e ensinamentos, pois sem eles não seria possível desenvolver esse trabalho, e ainda assim, pela companhia agradável no laboratório ao longo dos 7 nos de FCF-USP. Citando em especial Marco Arribas e Natanael Segretti, por seus ensinamentos de síntese, à Lorena Paes pela paciência em ministrar o manuseio do *HPLC* e pelos diversos churrascos cedidos em sua casa, Alfredo Souza por sua alegria e bom astral no dia-a-dia, Gustavo Vasco pelo convívio agradável e prazeroso, Micael Cunha e Nuno Tavares pelas discussões de síntese e procedimentos laboratoriais, Thais Fernandes, Karinne Prado e Rodrigo Gonzaga, pela convivência diária agradável.

Aos amigos, Drielli Fujii pelas orientações desde a época do mestrado até o doutorado referente aos mais diversos temas, Gláucio Ferreira pelas discussões de projetos, experimentos enzimáticos e computacionais e Jefferson Pereira e Silva pela companhia desde o início do doutorado, ensinamentos nos mais diversos temas e pela grande amizade pessoal e profissional que desenvolvemos durante esse período.

Aos amigos feitos no período sanduíche, Juliana e Mariana Nascimento de Paula, Sâmella Russo, Daniel Gedder, Felipe Teixeira, Anderson da Silva Rego, pelos bons momentos juntos e pelo suporte psicológico para enfrentar momentos difíceis no exterior.

Às amigas Karen Oleuia Torres, Denise Ilari e Elena Bechthold, amigas que com toda sua bondade, amizade e gentileza nos acolheu e nos guiou durante o período sanduíche, tornando o dia-a-dia mais prazeroso.

À Elys J. Cardoso Lima, minha esposa, colega de profissão e alicerce, a qual me fortalece cada dia mais com sua bondade, carinho e companheirismo. E à minha família os quais devo tudo que tenho hoje e por me tornarem uma pessoa melhor a cada dia.

“A mente que abre a uma nova ideia,
jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Eisntein

RESUMO

GATTI, F. de M. **Compostos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas sintéticas como antiparasitários**. 2019. 179f**.** Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Apesar da grande relevância médica e social, e por serem responsáveis por grande parte das mortes em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento as doenças negligenciadas (DN), ainda, não apresentam terapêutica eficaz. Dentre as diversas DN, doenças como a doença de Chagas, a Leishmaniose visceral e a malária, se destacam no cenário nacional, por terem alta incidência e prejuízos sociais. Os fármacos disponíveis para o tratamento destas parasitoses, apresentam alta toxicidade e, em alguns casos, resistência por parte dos parasitas. Assim sendo, faz-se necessário o planejamento e desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos mais seguros e eficazes. Dentre as diferentes estratégias de planejamento de fármacos, selecionamos o planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante - LBDD (*Ligand-Based Drug Design*) - como base para desenvolvimento deste trabalho. Nesta estratégia, utiliza-se o conhecimento de moléculas (ligantes) e de suas atividades biológicas conhecidas previamente determinadas experimentalmente, como protótipos para a busca de novas entidades químicas com atividade biológica semelhante ou melhorada. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo a síntese e avaliação biológica de moléculas bioativas para o tratamento de doenças parasitárias. Baseando-se no conhecimento prévio da atividade antiparasitária de compostos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas, foram sintetizados séries de compostos destas classes químicas na busca de novos agentes quimioterápicos. Os compostos obtidos foram avaliados contra a forma epimastigota de *Trypanosoma cruzi*, promastigota de *Leishmania donovani*, amastigota de *Leishmania infantum* e, também, determinou-se o seu grau de citotoxicidade (CC_{50}) frente a células de macrófago humanos diferenciado (THP-1). As 31 moléculas obtidas foram caracterizadas por técnicas de ponto de fusão, RMN ^{1}H e RMN ^{13}C e avaliada sua pureza por *HPLC*. Os compostos da classe da cinamoil-hidrazonas apresentaram-se como promissores antiparasitários, mostrando atividade frente a forma promastigota (*Leishmania donovani*), 4 dos 12 compostos foram ativos (IC_{50}= 1,27 – 13,68 µM) e frente a forma amastigota (*Leishmania infantum*), 10 dos 12 compostos apresentaram atividade (9,09 – 63,5 µM). Mesmo apresentando citotoxicidade moderada (CC_{50} = 8,83 – 87,47 µM), os compostos obtiveram valores inferiores ao fármaco de referência (doxorubicina: CC_{50} = 0,26 µM). Diante do exposto, o planejamento de fármacos realizado por *LBDD* mostrou-se bem-sucedido, pois a classe de cinamoil-hidrazonas mostrou-se promissora como antiparasitários, visto sua atividade na escala de baixo micromolar e moderada citotoxicidade em células humanas. Esses resultados assinalam que a classe de compostos descrita está passível a continuar sendo investigada no intuito de aprimorar os protótipos obtidos na busca de novos agentes quimioterápicos antiparasitários e desvendar os mecanismos de ação leishmanicida.

Palavras-Chave: antiparasitários, chalconas, cinamoil-hidrazonas, tiazolo[3,2-*b*][triazol]-6(5H)-onas, citotoxicidade

ABSTRACT

GATTI, F. de M. **α,β-Unsaturated carbonyl compounds and Synthetic hydrazones as antiparasitics**. 2019. 179p**.** Thesis (PhD degree) – Faculty of Pharmaceuticals Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

Despite to the great medical and social relevance and the amount of deaths in underdeveloped and developing countries, neglected diseases (ND) still do not have an effective therapy. Among the various ND, illnesses such as Chagas disease, visceral leishmaniasis and malaria holds a great importance in the Brazilian scenario due to high incidence and social damage. The drugs available for the treatment of these parasitosis present high toxicity and, in some cases, resistance by the pathogens. Thus, the planning and development of new, safer and more effective chemotherapeutic substances are urgent needed. Among the different drug planning strategies, we selected ligand-based drug design (LBDD) as the basis for the development of this work. In this strategy, we use the knowledge of molecules (ligands) and their known biological activities previously determined experimentally, as prototypes to search for new chemical entities with similar or improved biological activity. Therefore, the present work aimed the synthesis and biological evaluation of bioactive molecules for the treatment of parasitic diseases. Based on previous knowledge of the antiparasitic activity of α,β-unsaturated and hydrazone carbonyl compounds, series of compounds of these chemical classes were synthesized in search of new chemotherapeutic agents. The compounds obtained were evaluated against the epimastigote form of *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani* promastigote, *Leishmania infantum* amastigote and their cytotoxicity (CC_{50}) against differentiated human macrophages (THP-1). The 31 molecules obtained were characterized by melting point, ^{1}H NMR and ^{13}C NMR techniques and their purity were characterized by HPLC. The cinnamoyl hydrazone class compounds showed promising antiparasitic activity, showing activity against promastigote form (*L. donovani*), 4 of 12 compounds were active (IC_{50} = 1.27 - 13.68 µM) and amastigote form (*L. infantum*), 10 of the 12 compounds showed activity (9.09 - 63.5 µM). Even presenting moderate cytotoxicity (CC_{50} = 8.83 - 87.47 µM), the compounds had values below the reference drug (doxorubicin: CC_{50} = 0.26 µM). Considering the results, LBDD drug planning proved to be successful and the class of cinnamoyl hydrazones were promising as antiparasitics due to its activity in low micromolar scale and moderate cytotoxicity in human cells. These results indicate that the described class of compounds can be further investigated in order to improve the prototypes obtained in the search for new antiparasitic chemotherapeutic agents and to unravel the mechanisms of action of leishmanicidal molecules.

Keywords: antiparasitics, chalcones, cinnamoyl hydrazones, thiazolo[3,2-*b*][triazolo]-6(5H)-ones, citotoxicity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Financiamento investido mundialmente em bilhões de dólares (US$) na pesquisa em doenças negligenciadas entre os de 2008 a 2017 por diferentes entidades..... 27

Figura 2 - Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Trypanosoma cruzi*..... 30

Figura 3 - Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Leishmania sp*..... 32

Figura 4 - Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Plasmodium falciparum*..... 35

Figura 5 - Planejamento das moléculas com base na estrutura de ligantes (LBDD), com atividade antiparasitária conhecida, utilizados na proposição de moléculas com possível atividade antiparasitária..... 42

Figura 6 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **2**..... 67

Figura 7 - Estruturas possíveis para os compostos N-acil-hidrazônicos, exemplicado pelo composto **3a**: *E/trans-amida*, *E/cis-amida*, *Z/trans-amida*, *Z/cis-amida*..... 70

Figura 8 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **3a**..... 72

Figura 9 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **3a**, em diferentes temperaturas, 28 °C (temperatura ambiente), 40 °C, 50 °C, 60°C, 70°C, 80 °C e 30 °C. 73

Figura 10 - Espectro de NOEdiff do composto **3a**..... 74

Figura 11 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **5a**..... 77

Figura12 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **6a**..... 81

Figura 13 - Espectro de RMN ^{1}H dos compostos **8** (superior) e **9** (inferior)..... 85

Figura 14 - Espectro de RMN ^{1}H do composto **10a**..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método A da análise de *HPLC*..... 47

Tabela 2 - Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método B da análise de *HPLC*..... 48

Tabela 3 - Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método C da análise de *HPLC*..... 49

Tabela 4 - Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das *N*-acil-hidrazonas derivadas do ácido trans-cinâmico e os resultados obtidos na etapa de síntese etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica..... 63

Tabela 5 - Resultados obtidos na etapa de síntese das *N*-acil-hidrazonas, temperatura, duração, rendimento da reação e o solvente de recristalização utilizado..... 69

Tabela 6 - Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das chalconas, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica..... 75

Tabela 7 - Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das pirazolínas, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica..... 79

Tabela 8 - Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica..... 82

Tabela 9 - Resultados dos ensaios celulares realizado para os compostos da classe das N-acil-hidrazonas (**3a-l**). Estrutura geral dos compostos com seus substituintes, concentração inibitória 50% (IC_{50}) para os ensaios em *L. infantum*, *l. donovani* e *T. cruzi*, concentração citotóxica 50% (CC_{50}) e índice de seletividade calculado..... 90

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Mecanismo de adição de Michael..... 38

Esquema 2 - Esquema de síntese proposto para os derivados N-acil-hidrazonas derivados do ácido trans-cinâmico..... 51

Esquema 3 - Esquema de síntese proposto para os derivados da classe das chalconas e pirazolinas..... 52

Esquema 4 - Esquema de síntese proposto para os análogos tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona..... 53

Esquema 5 - Mecanismo de reação de substituição nucleofílica à carbonila via agente condensante DCC e HOBt, entre o ácido trans-cinâmico e hidrazina para formação de cinamoil-hidrazida..... 66

Esquema 6 - Mecanismo de reação de substituição nucleofílica à carbonila com perda de oxigênio carbonílico, entre cinamoil-hidrazida e aldeídos ou cetonas para formação de N-acil-hidrazonas..... 68

Esquema 7 - Mecanismo de condensação cruzada (ou reação aldólica) entre cetona aromáticas e aldeídos via formação de íon enolato, entre o 3,4-dimetoxi-acetofenona e tiofeno-2-carboxaldeido para formação da chalcona..... 76

Esquema 8 - Mecanismo simplificado para formação de pirazolinas por meio da ciclização de chalconas e hidrazina..... 80

Esquema 9 - Mecanismo para formação do 2-benzoil-hidrazinocarbotioamida..... 83

Esquema 10 - Mecanismo sugerido para formação do fenil-1H-1,2,4-triazolo-5-tiol... 84

Esquema 11 - Mecanismo para formação da tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona..... 87

SUMÁRIO

1 Introdução..... 26
1.1 Doenças Negligenciadas..... 26
1.1.1 Doença de chagas..... 28
1.1.2 Leishmanioses..... 30
1.1.3 Malária..... 32
1.2 Planejamento de Fármacos..... 35
1.2.1 Modificação molecular..... 36
1.2.2 Avaliação biológica e avaliação de toxicidade..... 37
1.3 Plano de Trabalho..... 40
2 Objetivos..... 43
3 Materiais e Métodos..... 43
3.1 Material..... 43
3.1.1 Reagentes, solventes e matérias-primas..... 43
3.1.2 Equipamentos..... 44
3.2 Métodos..... 45
3.2.1 Técnicas gerais de trabalho..... 45
3.2.2 Procedimentos sintéticos..... 50
3.2.2.1 Síntese dos compostos N-acil-hidrazônicos derivados do ácido trans-cinâmico..... 50
3.2.2.2 Síntese de chalconas e pirazolinas 52
3.2.2.3 Síntese dos análogos tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona..... 53
3.2.3 Ensaios biológicos e de toxicidade..... 55
3.2.3.1 Ensaios *in vitro* contra o parasita *Trypanosoma cruzi*..... 55
3.2.3.2 Ensaios *in vitro* contra parasita *Leishmania sp*..... 56
3.2.3.3 Ensaios *in vitro* contra parasita *Plasmodium falciparum*..... 59
4 Resultados e discussão..... 62
4.1 Síntese e caracterização das moléculas planejadas..... 62
4.1.1 Síntese e caracterização dos compostos N-acil-hidrazonas do ácido cinâmico. 63
4.1.2 Síntese e caracterização das chalconas..... 74
4.1.3 Síntese e caracterização das pirazolinas..... 78
4.1.4 Síntese e caracterização dos compostos tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona..... 81
4.2 Avaliação biológica..... 89
5 Conclusões..... 93
Referências..... 95
Anexos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Negligenciadas

Diversas enfermidades afetam populações menos favorecida e com dificuldade de acesso a saúde básica necessária, dentre elas, deparamos com as doenças negligenciadas (DN), também conhecidas como doenças tropicais negligenciadas. Essas doenças são denominadas assim pela Organização Mundial da Saúde – OMS (ou *World Health Organization*, acrônimo em inglês – WHO), por afetarem principalmente pessoas em situações de pobreza, em áreas remotas e zonas de conflito, sob inadequados padrões de saneamento básico e em contato direto com doenças infecciosas e/ou de terapêutica ineficaz, ainda que de grande relevância médica (AERTS et al., 2017; WHO, 2018a).

As DN são causadas por diferentes agentes, sendo eles, vírus, como a dengue e a raiva, por bactérias, como a hanseníase e o tracoma, e, majoritariamente deparamos com doenças causadas por parasitas, como a esquistossomose, a doença de Chagas, as leishmanioses, a tripanossomiase humana africana (também conhecida como doença do sono), a malária (atualmente não mais classificada como negligenciada), entre outras (DNDI, 2019; VALVERDE, 2019; WHO, 2018a).

As DN estão presentes principalmente em regiões de clima tropical e subtropical como o continente africano e sul-americano, onde predominam países com populações de média-baixa ou de baixa renda (O'CONNELL, 2007; DNDI, 2017a; WHO, 2018a).

Estima-se que as DN afetem mais de um bilhão de pessoas no mundo, aproximadamente 1/6 da população mundial, e são causa de significante morbidade e mortalidade. A necessidade de desenvolvimento de terapias efetivas tornou-se urgente, sendo que, entre os anos de 2000-2011, estimou-se que estas representaram cerca de 11% da carga global de doenças. Mesmo com esse panorama, dos 850 novos produtos terapêuticos aprovados pela agência de saúde dos Estados Unidos - FDA (*Food and Drug Administration*) e pela Agência Européia de Medicamentos – EMA (*European Medicines Agency*), somente 4% foram indicados para tais doenças, sendo que apenas 1% consistia em novas entidades moleculares (*New Chemical Entities – NCE*) (MORAN et al., 2009; O'CONNELL, 2007; PEDRIQUE et al., 2013).

Em contraponto, de 2015 a 2017, notou-se um grande progresso no controle e desenvolvimento das terapias contra DN, reduzindo o número de pessoas que necessitam do tratamento contra tais doenças (BALAKRISHNAN, 2017). Tal avanço, é consequência do

constante estímulo da OMS, por mais de uma década, a governos (entre eles, Estados Unidos, Reino Unido e de países europeus), organizações como a fundação Bill e Melinda Gates, o DNDi e diversas companhias farmacêuticas, por investir em doenças negligenciadas (BALAKRISHNAN, 2017; MAXMEN, 2019).

Como consequência direta desses investimentos, resultados concretos da pesquisa, prevenção, controle e tratamento das DN foram obtidos, como exemplo podemos citar: a redução da Leishmaniose visceral na Ásia, redução da raiva nas Américas, eliminação da elefantíase em alguns países da África e mais recentemente, em 2018, a aprovação pela EMA do primeiro medicamento oral no tratamento dos estágios inicial e tardio da doença do sono, causada pelo *Trypanossoma brucei* (BALAKRISHNAN, 2017; MAXMEN, 2019).

Apesar de companhias farmacêuticas ainda serem relutantes ao investimento em pesquisa de novos tratamentos para DN, principalmente devido à baixa capacidade de pagamento do seguro de saúde e dos consumidores, alguns dos progressos foram obtidos de parcerias público-privada. Entretanto, a maior parcela, quase 2/3 do investimento na pesquisa em DN, vem do setor público (financiamento sobretudo dos governos do Reino Unido, da União Europeia, Alemanha, Índia e África) (Figura 1). No ano de 2017, o investimento atingiu o recorde de 3,5 bilhões de dólares. Os demais investimento vieram de instituições filantrópicas, companhias farmacêuticas e outras fontes de financiamento (AERTS et al., 2017; MAXMEN, 2019).

Figura 1 – Financiamento investido mundialmente em bilhões de dólares (US$) na pesquisa em doenças negligenciadas entre os de 2008 a 2017 por diferentes entidades.

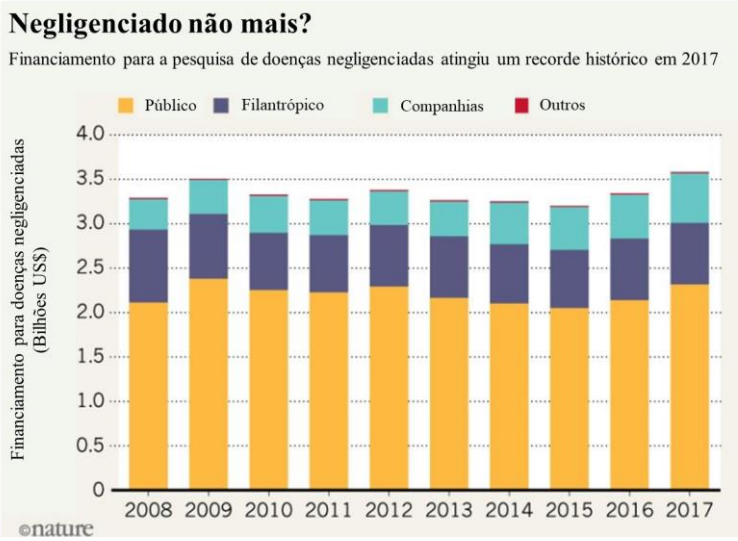


Figura adaptada de MAXMEN, 2019.

Apesar de muitos avanços, as DN abrangem uma grande gama de doenças sendo necessário dar sequência às pesquisas. Dentre todas as enfermidades citadas anteriormente, foram abordadas neste estudo as parasitoses, tal como a doença de Chagas e as Leishmanioses, as quais podem ser fatais, acometem milhões de pessoas nas regiões endêmicas e em situação de pobreza, ou ainda há dificuldade de acesso aos tratamentos pelo elevado custo, ou não possuem tratamento e/ou vacina eficaz e segura (APT, 2017; LIST et al., 2016; WHO, 2018b; WHO, 2018c). Não obstante, também destacamos a malária, a qual possui elevada taxa de mortalidade e alta incidência de casos infecciosos, que apesar de possuir terapêutica disponível para uso, esta apresenta alto custo de produção e elevada toxicidade, além de terem sido reportados casos de resistência frente aos fármacos disponíveis (WHO, 2019a).

1.1.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas é uma protozoose, causada pelo parasita *Trypanossoma cruzi* (MURILLO-GODÍNEZ, 2018; URBINA, 2015). Sua transmissão ocorre principalmente por meio do vetor, insetos triatomíneos conhecidos como “barbeiro”. Porém, já são conhecidas formas alternativas de transmissão tais como: congênita (da mãe para o filho), por transfusão sanguínea, transplantes de órgãos, e também casos de contaminação alimentar, decorrente da ingestão do parasita, contaminados com o vetor, encontrados dispersos em sucos de cana e açaí (CARDOSO et al., 2006; DNDI, 2019; MATTHEWS, 2013; WHO, 2018b; PAHO, 2019; ROQUE et al., 2008).

Conhecida, também, como tripanossomíase americana, estima-se que seja endêmica em 21 países da América Latina. Entretanto, devido a processos migratórios e por meio de transfusão sanguínea, a situação mundial agravou-se, sendo possível diagnosticar pessoas infectadas pelo *T. cruzi* em países europeus e norte-americanos. Mundialmente, cerca de 6 a 8 milhões de pessoas estão infectadas pelo *T. cruzi*, mais de 70 milhões de indivíduos encontram-se sob o risco de infecção e acredita-se, ainda, que seja responsável por 10 a 14 mil mortes anualmente só na América Latina (ANGHEBEN et al., 2015; CASTILLO-RIQUELME, 2017; WHO,2018b; DNDI, 2019).

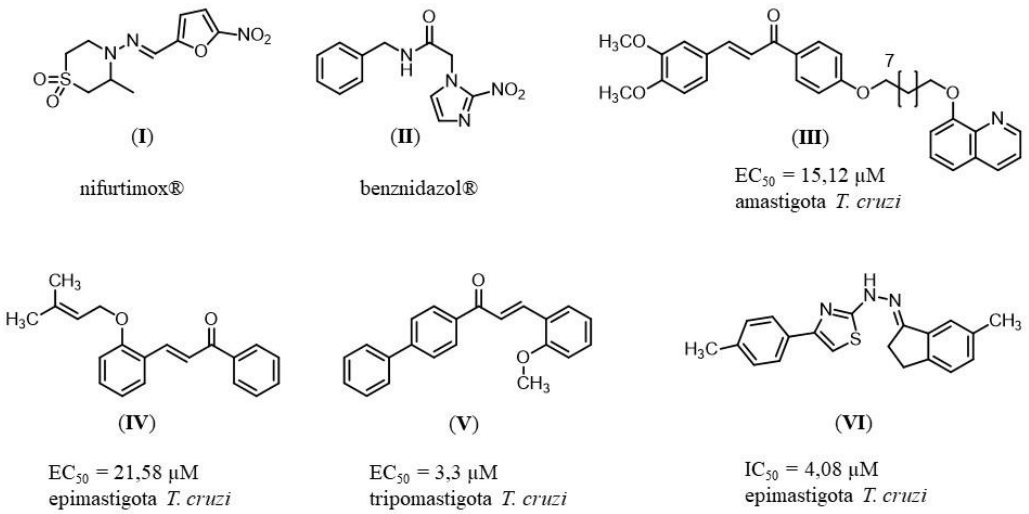
Frente à tais estatísticas, medidas eficazes de controle e prevenção à doença vem sendo aplicadas, como: a melhoria das habitações para prevenir a infestação do vetor (com paredes de reboco ou concreto); melhorias nas práticas de higiene na preparação, armazenamento,

transporte e consumo de alimentos; aplicação de inseticidas ao redor de áreas com alta incidência do vetor; triagem dos doadores de sangue; entre outros. No entanto, a terapêutica atual carece quanto à eficácia e segurança no tratamento dos pacientes, principalmente na fase crônica da doença , (DNDI, 2019; PAHO, 2019a; WHO, 2018b).

Apesar de enormes esforços nas pesquisas de novos agentes antichagásicos, em sua maioria realizada no âmbito acadêmico, somente dois fármacos estão disponíveis especificamente para o tratamento da doença, o Nifurtimox® (**I**) e o Benznidazol® (**II**) (Figura 2), sendo que no Brasil o uso do Nifurtimox® foi descontinuado desde 1980 devido à toxicidade. Esses fármacos, apesar de diminuírem a parasitemia, causam graves efeitos adversos, os mais frequentes são: anorexia, náuseas, dores de cabeça, perda de peso, astenia, além de sintomas gastrointestinais, neurológicos e musculo-esquelético. Ambos atuam quase que exclusivamente na fase aguda e não são eficazes em todas as cepas do *T. cruzi*, o que demonstra a necessidade urgente de descoberta e desenvolvimento de novos antichagásicos (BUCKNER; URBINA, 2012; COA et al., 2017; FORSYTH et al., 2016; NUNES et al., 2013; PINAZO et al., 2013; PINHATTI et al., 2016, CDC, 2019).

As pesquisas realizadas para a obtenção de fármacos contra a doença de Chagas, abordam diferentes classes químicas. A Figura 2, ilustra estruturas de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade significativa contra as formas celulares de tripanossomatídeos. Dentre as classes, encontra-se derivados de chalconas (cetonas α,β-insaturadas) (**III, IV e V**) (COA et al., 2017; GOMES et al., 2019; PASSALACQUA et al., 2015) e derivados de hidrazonas (**VI**) (NOGUERA et al., 2015). Tais classes químicas despertaram o interesse em nosso grupo de pesquisa por serem moléculas simples, pequenas (baixo peso molecular), reagentes usuais, facilmente obtidos comercialmente e de fácil obtenção sintética.

Figura 2 – Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Trypanosoma cruzi*.



1.1.2 Leishmanioses

As leishmanioses são um conjunto de doenças infecciosas causadas por protozoários intracelulares do gênero *Leishmania*. As espécies mais conhecidas causadoras da doença são a *L. donovani*, *L. major*, *L. brasilienses*, *L. infantum*, *L. mexicana*, dentre as mais de 20 espécies catalogadas (WHO, 2019b, CDC, 2018a; DNDI, 2016). Sua transmissão se dá por insetos flebotomíneos conhecidos como mosquito-palha ou birigui (em inglês, chamados de *sandflies*), encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais. As fêmeas dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia* têm transmissão da doença para seres humanos comprovada, podendo estas doenças serem transmitida por mais de 90 espécies desses insetos (CDC, 2018a; DNDI, 2016; WHO, 2019b; DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012).

As leishmanioses apresentam características epidemiológicas e clínicas peculiares dependendo da área geográfica onde se desenvolvem, por isso são consideradas doenças distintas, sendo reunidas em quatro grupos: leishmaniose cutânea; leishmaniose mucocutânea (ou cutâneo-mucosa); leishmaniose cutâneo-difusa e leishmaniose visceral (ou calazar). Dentre elas, a leishmaniose cutânea é a forma mais comum, características por causar lesões na pele e úlceras. A leishmaniose visceral é a mais grave, entre os sintomas estão a perda de peso, aumento do baço e fígado. Ambas as formas da doença destacam-se pel elevado número de casos (ARAUJO, 2013; WHO/PAHO, 2019, WHO, 2019b).

A leishmaniose visceral recebe notoriedade por ser responsável pelo elevado índice de morbidade e mortalidade nas comunidades afetadas, predominantemente no leste do continente Africano, na Índia e no Brasil. Tais índices ocorrem principalmente por afetar o sistema fagocítico mononuclear (SFM) do baço, do fígado, da medula óssea e dos tecidos linfoides e por consequência reduz o número de glóbulos brancos no sangue (leucopenia) e de glóbulos vermelhos (anemia), muitas vezes havendo co-infecção com outras doenças, principalmente HIV, sendo fatal em 95% dos casos se não for tratada (WHO, 2019b, CDC, 2018a; DNDI, 2016).

As Leishmanioses geralmente são caracterizadas por grandes surtos em cidades densamente povoadas, associadas à má-nutrição, pessoas com sistema imune debilitado e a falta de recursos financeiros. Há também relação entre o crescimento da doença com mudanças ambientais e climáticas: como o desmatamento, construção de barragens, urbanização, mudanças na temperatura e aumento de chuvas e umidade. A OMS estima que ocorra 700 mil a 1 milhão de novos casos de leishmanioses e ocorra em 98 países, sendo que 1 bilhão de pessoas ao redor do mundo estão sob risco. Somente para Leishmaniose visceral, estima-se de 50 a 90 mil novos casos por ano e calcula-se que de 25 – 45% dos casos são reportados, sendo que dentre esses, 20 a 30 mil mortes ocorram anualmente (WHO/PAHO, 2019; WHO, 2019b; DNDI, 2018).

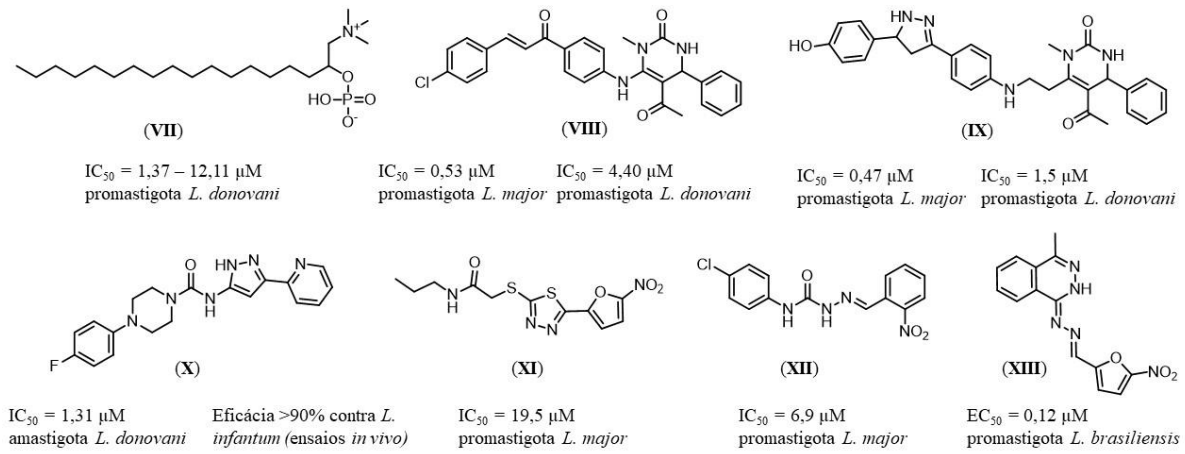
As leishmanioses são tratáveis e curáveis, isso quando os pacientes são diagnosticados e tratados no início da infecção e para isso faz-se necessário um sistema imune competente. Os tratamentos mais utilizados são: antimoniais pentavalentes (estibogluconato de sódio), pentamidinas, anfotericina B, imiquimode, azóis e imunoterapias (CROFT; OLLIARO, 2011; DNDI, 2016; DNDi, 2017; MCGWIRE; SATOSKAR, 2014; WHO, 2019b; MOHAPATRA, 2014). Apesar do número de tratamentos ter aumentado na última década, ainda existem muitos inconvenientes como dificuldade de administração, duração do tratamento, alta toxicidade, custo elevado e resistência dos parasitas frente aos medicamentos, assim o desenvolvimento de um tratamento curto e seguro se faz necessário (DNDI, 2016; DNDi, 2017; DNDI, 2018; MOHAPATRA, 2014; WHO, 2019b). (DNDI, 2018). Algumas estruturas químicas dos protótipos em estudo podem ser observadas na Figura 3.

Em 2014, o FDA aprovou a Miltefosina (**VII**) (Impavido® - nome comercial) (Figura 3), primeiro medicamento oral disponível para as três principais formas de Leishmaniose (visceral, cutânea e mucosa). Esse fármaco (Hexadecil-fosfocolina) é um análogo alquil-fosfolipídico e apresentou atividade frente os estágios promastigota e amastigota de espécies de *Leishmania* e foi aprovado nos testes clínicos provando ser seguro e efetivo e com efeitos

adversos limitados (P&T COMMUNITY, 2014; PIJPERS et al., 2019; PRAJAPATI et al., 2013).

No âmbito acadêmico algumas classes que vem sendo estudadas apresentaram resultados relevantes, como exemplo, ilustrado na Figura 3, temos: as chalconas (**VIII**) (COA et al., 2017; ESPINOZA-HICKS et al., 2019; PASSALACQUA et al., 2015; RASHID et al., 2016), pirazolinas (**IX**) (RASHID et al., 2016), amino-pirazol ureias (**X)** (MOWBRAY et al., 2015), 1,3,4-tiadiazol-2-il-tio)acetamidas derivados do 5-nitrofurano (**XI**) (VOSOOGHI et al., 2015), semicarbazonas (**XII**) (ALVES et al., 2015) e ftalanizinil-hidrazonas (**XIII**) (ROMERO et al., 2017).

Figura 3 – Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Leishmania sp*.



1.1.3 Malária

A malária é uma doença infecciosa causada por parasitas do gênero *Plasmodium*, da família *Plamodiidae*, a qual é transmitida por insetos do gênero *Anopheles* (PHILLIPS et al., 2017; WHO, 2018a). Atualmente são conhecidas mais de 100 espécies do gênero *Plasmodium*, entretanto, somente cinco são descritas como parasitárias em humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P.ovale*, *P. malarie* e *P. knowlesi* (FRANÇA; DOS SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008; PHILLIPS et al., 2017; WHO, 2019a). Dentre as espécies infecciosas, *P. falciparum* e *P. vivax* são as espécies de maior destaque devido acarretarem as maiores complicações da doença, de modo que o *P. falciparum* predomina no continente africano (99,7% dos casos) e o *P. vivax* no continente americano (74,1% dos casos). Faz-se importante conhecimento da predominância

de cada espécie devido as diferenças biológicas entre as duas, tornando um desafio particular no controle e eliminação da doença (PHILLIPS et al., 2017; RECHT et al., 2017, WHO, 2019a).

O agente causador da forma grave da doença é o *P. falciparum*, pois 10% dos casos evoluem para a forma grave da doença, afetando o cérebro, pulmões e rins (PAHO, 2019b; PHILLIPS et al., 2017). O *P. falciparum* é dominante na África, porém, vem sendo disseminada para outras regiões, tornando-as endêmicas por meio de viajantes e imigrantes que retornam de países onde este tipo de malária é endêmico. A malária causada pelo *P. vivax* por um bom tempo foi considerada "benigna" em termos de severidade da doença comparada a malária causada pelo *P. falciparum*, porém hoje em dia é de conhecimento que ambas espécies são capazes de causar os sintomas severos da doença, sendo o *P. vivax*, predominante em países da região amazônica (CDC, 2018b; FRANÇA; DOS SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008; PHILLIPS et al., 2017; WHO, 2019a).

Como medidas profiláticas de sucesso e as mais efetivas conhecidas até o momento estão no controle do vetor, seja por barreiras físicas e/ou por meio de inseticidas, no entanto alguns insetos já apresentam resistência. A indicação do uso de antimalárico para viajantes de áreas endêmicas e o direcionamento do tratamento quimioterápico à maneira de conter a forma grave da doença também vem promovendo avanços no controle da mesma, mas também, algumas cepas já se apresentam resistentes aos tratamentos disponíveis. Sendo uma doença que pode ser curável (terapia medicamentosa combinada) e prevenida (vacina – ainda que limitada ao uso e em estudo quanto à eficácia, segurança e efeitos colaterais), tais motivos colaboraram com sua retirada das doenças consideradas como negligenciada pela OMS (CDC, 2018b; HUANG; TATEM, 2013; MITA et al., 2014; PHILLIPS et al., 2017; WHO, 2018d).

Relatos de 2017 indicam incidência de malária mundial, estando presente em cerca de 87 países distribuídos nos cinco continentes, sendo o continente africano o que desperta maior preocupação (CDC, 2018b; WHO, 2019). Ainda no ano de 2017, segundo dados da OMS, 90% dos casos de malária estavam concentrados em países africanos, e 92% destes casos terminam em óbito. Em áreas de alta transmissão da malária, crianças com menos de 5 anos são as mais suscetíveis, estimando-se 306 mil crianças mortas globalmente devido a esta doença, atingindo números extremos de uma criança morta a cada 2 minutos (WHO, 2019a; WHO, 2018d).

No continente sul-americano, a maioria dos casos ocorre nos países da região Amazônica, onde registrou-se um declínio de 43% nos casos da malária entre 2000 e 2009, subsequente a um decréscimo de 62% em 2015. Os dados indicam uma significativa melhora no cuidado à saúde em relação a população das áreas endêmicas (PAHO, 2019b; RECHT et al., 2017; WHO, 2019a). Entretanto, apesar do decréscimo nos casos de malária, os quais eram na

maioria dos países causados por *P. vivax*, alerta-se o aumento da incidência do *P. falciparum* em países como Colômbia, Equador, Venezuela, Honduras e Peru, sendo a Venezuela o país com a situação mais crítica (PAHO, 2019b; RECHT et al., 2017; WHO, 2019a).

A OMS preconiza, quanto as terapias quimioterápicas, que em regiões de alto risco, seja feito tratamento preventivo com sulfadoxima-pirimetamina, pois ainda sim a prevenção é a melhor forma de evitar possíveis fatalidades. Já para o tratamento após infecção pelo *Plasmodium*, indica-se o uso de associação de medicamentos para quimioterapia antimalárica, conhecida como terapias combinadas com artesiminina (*Artemisinin Combination Therapies* – ACT). As terapias combinadas são ministradas, no intuito de evitar a resistência parasitária e para o tratamento precoce (detectado recentemente após a infecção), a terapia é mais eficaz, diminuindo a duração do tratamento, prevenindo complicações e evitando mortes (PAHO, 2019b; RECHT et al., 2017; WHO, 2019a).

Entre as classes químicas de antimaláricos utilizados temos: 4-aminoquinolinas, 8-aminoquinolinas, lactonas sesquiterpênicas, naftoquinonas e algumas sulfas. Antibióticos como a doxiciclina, tetraciclina e clindamicina também podem ser utilizados em associação com quinina, por exemplo, principalmente em casos de resistência do *P. falciparum* à cloroquina (WHO, 2019a; WHO, 2018d, PAHO, 2019b; RECHT et al., 2017).

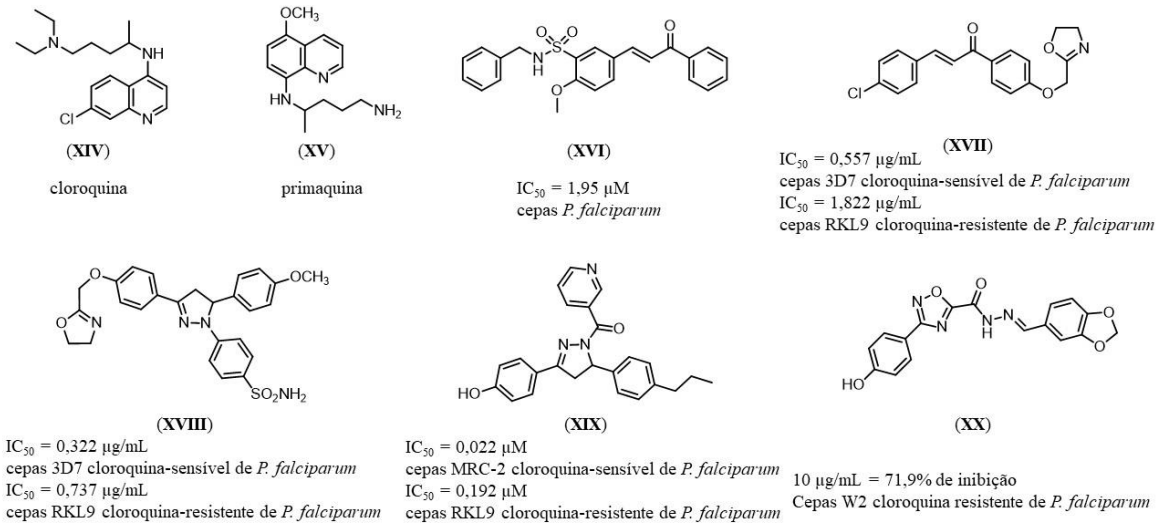
Na América Latina, contra o *P. vivax*, a cloroquina (**XIV**) é amplamente utilizada e a primaquina (**XV**) é indicada em situações de co-infecção com o *P. malariae* (Figura 4) (KAUR et al., 2010; RECHT et al., 2017).

As pesquisas na busca de antimaláricos, focam em contornar o possível surgimento de resistência, principalmente a cloroquina. Essas pesquisas, utilizam de uma diversidade de moléculas de variadas classes químicas, como por exemplo destacamos compostos da classe das chalconas (**XVI** e **XVII**) (DE OLIVEIRA et al., 2013; GUANTAI et al., 2011; PANDEY et al., 2016; PÉREZ et al., 2013; TADIGOPPULA et al., 2013), pirazolinas (**XVIII** e **XIX**) (KARAD et al., 2016; MISHRA et al., 2017) e *N*-acil-hidrazonas (**XX**) (DOS SANTOS FILHO et al., 2016) (Figura 4).

Dentre as iniciativas positivas na busca de novos antimaláricos podemos citar o programa Medicamentos para o Risco da Malária (*Medicines for Malaria Venture – MMV)*, que compreende um conjunto de indústrias farmacêuticas e organizações de saúde que dispõem um portfólio de compostos que se encontram em estudos clínicos (PHILLIPS et al., 2017). Também, a Iniciativa Fármacos para Doenças Negligenciadas (*Drugs for Neglected Diseases initiative* - DNDi), tem corroborado em conjunto com indústrias farmacêuticas para os ensaios clínicos de compostos candidatos a antimaláricos ou, especialmente, de associações com

artemisinina (DNDi, 2017). Tais iniciativas reforçam a necessidade de avanços e desenvolvimentos de novos quimioterápicos ativos contra as cepas resistentes ao atual tratamento.

Figura 4 – Estrutura de moléculas de diferentes classes químicas que apresentaram atividade contra parasitas *Plasmodium falciparum*.



1.2 Planejamento de fármacos

O planejamento de fármacos consiste em um processo dinâmico que integra métodos experimental e teórico, além de abranger as múltiplas áreas do conhecimento, como biologia, genética, farmacologia, química, física, bioquímica, química computacional, entre outras (KHAN et al., 2011; V. C. GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011). Entre os conceitos clássicos usualmente abordados no planejamento de fármacos temos, o *SBDD* (do inglês, *structure based drug design*) e o *LBDD* (*ligand based drug design*) (PATRICK, 2009a; BARREIRO, FRAGA, 2009; DAVIS; TEAGUE; KLEYWEGT, 2003).

O *SBDD* baseia-se no conhecimento estrutural do alvo bioquímico (enzimas, canais iônicos, proteínas de membrana, etc) no planejamento de fármacos. As informações estruturais podem ser obtidas por técnicas computacionais (modelagem molecular por homologia, modelagem comparativa), ou por técnicas experimentais (ressonância magnética de proteínas ou cristalografia), e como posterior etapa, a síntese de moléculas visando a complementaridade

a este alvo (PATRICK, 2009a; V. C. GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011; BARREIRO, FRAGA, 2009; DAVIS; TEAGUE; KLEYWEGT, 2003; SAMS-DODD, 2007).

O *LBDD* utiliza do conhecimento de moléculas com atividade biológica conhecida (protótipo ou "*hit"*) como base para o planejamento de uma nova molécula promissora para determinada doença. Para isso, utiliza-se de diferentes técnicas na proposição de novas entidades químicas que possuam propriedades estéricas e/ou eletrônicas similares ao protótipo, buscando otimizar as propriedades biológicas desejadas. As moléculas planejadas por *SBDD* ou *LBDD* deverão posteriormente ser sintetizadas e avaliadas quanto sua atividade biológica (PATRICK, 2009a; GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011; BARREIRO, FRAGA, 2009; SAMS-DODD, 2007).

Ambos, *SBDD* e *LBDD*, podem ser assistidos por métodos computacionais de desenvolvimento de fármaco - *CADD* (do inglês, *computer assisted drug design*). O *CADD* é amplamente aplicado na atualidade e utiliza de algoritmos e dados estatísticos para obtenção de modelos teóricos matemáticos, os quais favorecem o embasamento às estratégias do planejamento de fármacos clássico, como exemplo podemos citar a triagem virtual, ancoragem molecular e dinâmica molecular (PATRICK, 2009b; MOITESSIER et al., 2008; TANG et al., 2006).

1.2.1 Modificação Molecular

A modificação molecular está entre os métodos tradicionais mais utilizados no desenvolvimento racional de um fármaco, assim como, a utilização de produtos naturais, química combinatória, *High-throughput screening* (HTS), entre outras. Entre os fármacos introduzidos na terapêutica, uma das mais profícuas estratégias está modificação molecular, apesar de não utilizar as bases moleculares das doenças como suporte para o planejamento de novos fármacos (BARREIRO, FRAGA, 2009; WERMUTH, 2008).

Das diferentes formas de aplicar-se a modificação molecular conhecemos: simplificação molecular, bioisosterismo, hibridação molecular, adição molecular, latenciação, fechamento e abertura de anel, entre outros métodos (PATRICK, 2009a; GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011; BARREIRO, FRAGA, 2009; SAMS-DODD, 2007).

Utilizada principalmente no desenvolvimento de análogos, tal estratégia aplica-se com diferentes objetivos, entre eles, busca-se a melhora de propriedades farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas de um protótipo, obter propriedades similares de interação com o alvo e em

alguns casos, revelar uma atividade inesperada em outro alvo (GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011).

Tais modificações podem ser alcançadas por meio de processos laboratoriais sintéticos como: substituição de elementos ou pequenos grupos estruturais, troca de fragmentos da molécula, substituição do esqueleto original do análogo, introdução e retirada de grupos químicos, fechamento e abertura de anéis, entre outros. (GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011; WERMUTH, 2008). Como consequência, tem-se a participação determinante na atividade biológica, podendo assim auxiliar nas interações farmacodinâmicas com o receptor ou alterando propriedades farmacocinéticas, melhorando a qualidade do protótipo.

1.2.2 Avaliação Biológica e Avaliação de Toxicidade

Tratando-se ainda de planejar novos fármacos, seletivos, seguros e de baixa toxicidade, deve ser dada a devida atenção aos chamados alertas estruturais ou toxicóforos. Esses, são subestruturas de moléculas corelacionadas com as propriedades tóxicas. A identificação desses grupos no início do planejamento de fármacos pode prevenir a toxicidade e reduzir seu potencial mutagênico, hepatotóxico, cardiotóxico e citotóxico, como exemplo podemos citar estruturas nitro-aromáticas, aminas aromáticas, epóxidos, aldeídos α,β-insaturados, hidrazidas, halogenetos alifáticos, hidroquinonas, entre outros (HAKIMELAHI; KHODARAHMI, 2005; NOGUEIRA; ROSÁRIO, 2010; SILVA; TROSSINI, 2014; WILLIAMS; NAISBITT, 2002).

Quando buscamos tratamento quimioterápico contra doenças parasitárias, ambiciona-se que o composto estudado apresente atividade antiparasitária e que não apresente toxicidade às células do hospedeiro, em outras palavras, a molécula em estudo deve possuir uma alta seletividade (NOGUEIRA; ROSÁRIO, 2010; OKOMBO; CHIBALE, 2017). O processo de avaliação da atividade biológica frente as células do parasita garantem que o composto ultrapasse obstáculos, tal qual a permeação no parasita e biodegradação por outras enzimas parasitárias (DA SILVA et al., 2013; OKOMBO; CHIBALE, 2017; SILVA et al., 2016).

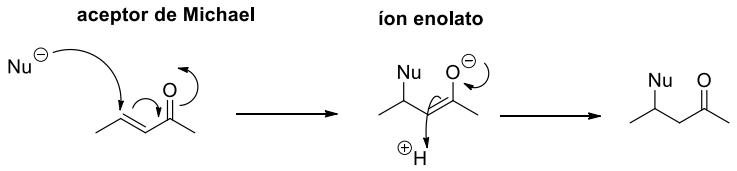
Com a mesma relevância, a avaliação da toxicidade potencial de uma molécula em estudo é uma ferramenta de boa relação custo-benefício quando se objetivam promissores candidatos para o tratamento de uma doença. A realização dos testes de toxicidade, quando a molécula ainda está em fase de desenvolvimento, garante a segurança da mesma, poupa esforços e evita trabalhos dispendiosos futuros (DA SILVA et al., 2013; NOGUEIRA; ROSÁRIO, 2010; OKOMBO; CHIBALE, 2017; SILVA et al., 2016).

Quando falamos dos mecanismos de toxicidade de uma entidade química, a toxicidade da mesma costuma ser mediada pela reação com uma molécula-alvo, como os ácidos nucléicos, proteínas e membranas. Dos tipos de reações que possam ocorrer são: as ligações não-covalentes, em alvos como receptores de membrana, receptores intracelulares, canais iônicos e enzimas; ligações covalentes, comum ocorrer entre compostos eletrofílicos (não iônicos e catiônicos e cátions radicalares), ácidos nucléicos e proteínas; abstração de hidrogênio, proveniente de radicais livres neutros em reação com átomos nucleofílicos presentes nas proteínas e ácidos nucléicos; reações enzimáticas, quando reagem com proteínas-alvo específicas; e por transferência de elétron (KLAASSEN, CURTIUS D.; WATKINS III, 2012).

Em química medicinal geralmente grupos funcionais eletrofílicos são evitados por serem suscetíveis a ataques nucleofílícos, como a enzima glutationa-S-transferase (GST). Grupos como metilsulfona e sulfonamida e/ou grupos de saída, ligados a sistemas heteroaromáticos deficiente de elétrons (piridina, piridona, benzotiazol, tiadiazol, indol, entre outros), também fazem parte das estruturas que podem sofrer ataque nucleofílicos e reações de substituição nucleofílica aromática e que possam vir a acarretar efeitos tóxicos das moléculas (APTULA; ROBERTS, 2006; KALGUTKAR, 2011; RICHARZ et al., 2014).

Um dos mecanismos químicos de ação que pode ocorrer é a adição de Michael (Esquema 1), onde ocorre a reação entre compostos eletrofílicos e nucleófilos endógenos. No caso, o nucleófilo (Nu^{θ}) promove o ataque no carbono β (C-β) à carbonila, na dupla ligação eletrofílica, que por consequência forma um íon enolato e por fim origina o produto substituído com o nucleófilo. Esses compostos eletrofílicos são conhecidos com aceptores de Michael e possuem em sua estrutura ligações duplas ou triplas adjacentes a substituintes retiradores de elétrons como -CHO, -COR, $-CO_2R$, -CN, $-SO_2R$, $-NO_2$ e podem também serem anéis heterocíclicos como 2-piridino, 4-piridino (APTULA; ROBERTS, 2006; KALGUTKAR, 2011; RICHARZ et al., 2014).

Esquema 1 – Mecanismo de adição de Michael.



Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 22, p. 499)

Uma conhecida classe de aceptores de Michael são as chalconas, as quais possuem um sistema carbonílico α,β-insaturado (aceptor de Michael), passível a efeitos desejáveis e indesejáveis, impactando com efeitos específicos benefícos e/ou de toxicidade as células humanas. Entretanto, os diferentes substituintes adjacentes a região α,β-insaturada da chalconas influenciam na toxicidade celular ou em outros efeitos celulares (ZENGER et al., 2015).

De acordo com estudos de Zenger e colaboradores, 2015, grupos hidroxilas ligado ao esqueleto estrutural de chalconas estão correlacionados a efeitos citotóxicos e anti-proliferativo em células normais, assim como em células cancerígenas. Um exemplo clássico de toxicofóro é o grupo nitro ($-NO_2$), um grupamento elétron atraente forte, o qual tem a capacidade de criar sítios localizados deficientes de elétron aptos a sofrerem ataques nucleofílicos. Grupos $-NO_2$ também podem sofrer reduções e gerar espécies reativas com efeitos biológicos. Por conta disso, moléculas que possuem grupamentos nitro são evitadas em fármacos, simultaneamente, a toxicidade seletiva forma a base da quimioterapia, que é consequência do dano causado às bactérias, parasitas e células tumorais, sem prejudicar as células normais (NEPALI; LEE; LIOU, 2019; ZENGER et al., 2015).

Como falado anteriormente, estruturas conhecidas como toxicóforos são evitadas no desenvolvimento de fármacos, no entanto evitá-los pode levar a perda de oportunidade de desenvolver protótipos importantes. Porém, vale ressaltar, que alguns efeitos farmacológicos de medicamentos são resultado da formação de metabólitos reativos, atributo que é alcançado através da introdução de um toxicóforo na estrutura química (KALGUTKAR, 2011; STEPAN et al., 2011).

Uma classe bastante explorada são as sulfonamidas, os quais são utilizadas como antibacteriano (Sulfatiazol, Sulfafenazol), antibiótico (Ftalilsulfatiazol), diurético (Metolazona, Hidroflumetiazida), anti-inflamatório (Sulfasalazina), entre outras diversas aplicações (SULFONAMIDES, 2016). Com isso, a retirada de toxicóforos de moléculas em estudo pode acarretar a perda de importantes informações da atividade biológica das mesmas. Contudo, a investigação desses grupos faz-se necessária para certificarmos-nos de que nenhuma atividade promissora esteja sendo desperdiçada.

Portanto, há uma diversidade grande de grupos que são considerados toxicóforos e ainda assim, permanece a dúvida entre evitá-los ou adicioná-los aos protótipos no desenvolvimento de novos fármacos. O fato é que, quando tratamos de quimioterápicos como os antiparasitários, existe uma relação estreita entre a atividade antiparasitária buscada e a toxicidade em células humanas. O uso de compostos que possuem toxicóforos em suas estruturas como agentes quimioterápicos permite-nos estudar propriedades químicas e a reatividade dessas estruturas

frente a molécula-alvo (APTULA; ROBERTS, 2006; KALGUTKAR, 2011; NEPALI; LEE; LIOU, 2019; VALSECCHI et al., 2019).

1.3 Plano de Trabalho

Na busca por novas moléculas que possam ser utilizadas na terapêutica das doenças parasitárias, como a doença de chagas, leishmanioses e malária, o presente trabalho embasou-se no *LBDD*, abordagem do planejamento de fármacos a qual usa-se de compostos com atividade conhecida para o desenvolvimento de moléculas mais promissoras (PATRICK, 2009a; SAMS-DODD, 2007; GUIDO; OLIVA; D. ANDRICOPULO, 2011, BARREIRO; FRAGA, 2009).

Para o planejamento das moléculas, consideramos as que apresentavam grupamentos eletrofílicos em sua estrutura. Dentre os compostos estudados, utilizou-se carbonilas α,β-insaturadas e hidrazonas (-NH-N=C-), sendo que moléculas com esses grupos em sua constituição já foram descritos ativos frente aos três parasitas sob investigação, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania sp.* e *Plasmodium falciparum*.

Na Figura 5 podemos observar os protótipos e o planejamento das moléculas propostas neste projeto, para avaliação antiparasitária e de citotoxicidade. Os grupamentos realçados com cores vermelho e azul, foram mantidos na estrutura dos compostos planejados e para a obtenção dos mesmos procedeu-se com diferentes métodos sintéticos. Sendo assim, propusemos 4 classes de moléculas a serem obtidas.

A primeira classe planejada é a das N-acil-hidrazonas derivadas do ácido *trans*-cinâmico. Propôs-se a obtenção de moléculas a partir da hibridação molecular entre o ácido *trans*-cinâmico ((*E*)-3-fenil-2-ácido propenóico), porção carbonílica α,β-insaturados (azul), com hidrazonas (vermelha) através do seu grupo amino (ALVES et al., 2015; DOS SANTOS FILHO et al., 2016; GOMES et al., 2019; PANDEY et al., 2016; PASSALACQUA et al., 2015; RASHID et al., 2016).

A segunda classe de compostos é a classe das chalconas (cetonas aromáticas α,β-insaturadas), uma classe amplamente estudada e que apresentou atividade antiparasitária contra os três parasitas em estudo diferentes, dependendo dos substituintes ligado a região cetonas aromática e à região α,β-insaturada. Na região aromática preservou-se o grupo benzo[*d*][1,3]dioxol, farmacóforo presente em moléculas com ampla atividade, como aplicações contra o câncer, tuberculose e também contra doença parasitária (esquistossomicida)

(BORSARI et al., 2017; CARVALHO et al., 2012; DOS SANTOS FILHO et al., 2012; GOMES et al., 2019; RASHID et al., 2016).

Outra classe que foi estudada, é a classe das pirazolinas, as quais possuem um grupamento hidrazona cíclica e são originados de chalconas em reação com hidrazina para o fechamento do sistema cíclico. As pirazolinas apresentam a região eletrofílica no carbono da ligação dupla (-NH-N=C-), o qual pode sofrer ataques nucleofílicos de biomoléculas do parasita e humana. Algumas pirazolinas tri-substituídas mostraram-se ativas contra os parasitas em estudo, principalmente como antimaláricas. As pirazolinas por nós propostas possuem apenas dois substituintes aromáticos e o nitrogênio hidrazídico sem substituinte (-NH-N=CR) (HAVRYLYUK et al., 2014; INSUASTY et al., 2015; MISHRA et al., 2017; PANDEY et al., 2016; RAGHUVANSHI et al., 2019).

Por fim, a quarta e última série tem como esqueleto o grupo thiazolo[3,2-*b*][triazol]-6(5*H*)-ona. Tal classe de compostos possui um aduto de Michael (carbonila α,β-insaturada), suscetível a ataques nucleofílicos, inserido à um grupamento heterocíclico tiazolínico fundido a estrutura de 1,2,4-triazol, atribuindo propriedades estéricas e eletrônicas à região aceptora de Michael e que serão avaliadas no trabalho. Até o momento, os compostos dessa classe foram estudados quanto a sua atividade biológica frente a ação anti-inflamatória, antimicrobiana, antimicobacteriana e anticonvulsivante, de modo que ainda não há na literatura investigação quanto a ação antiparasitária desses compostos (MANJUNATHA et al., 2011; SEELAM et al., 2016; TOZKOPARAN et al., 2011; VIJAYA RAJ; NARAYANA, 2006).

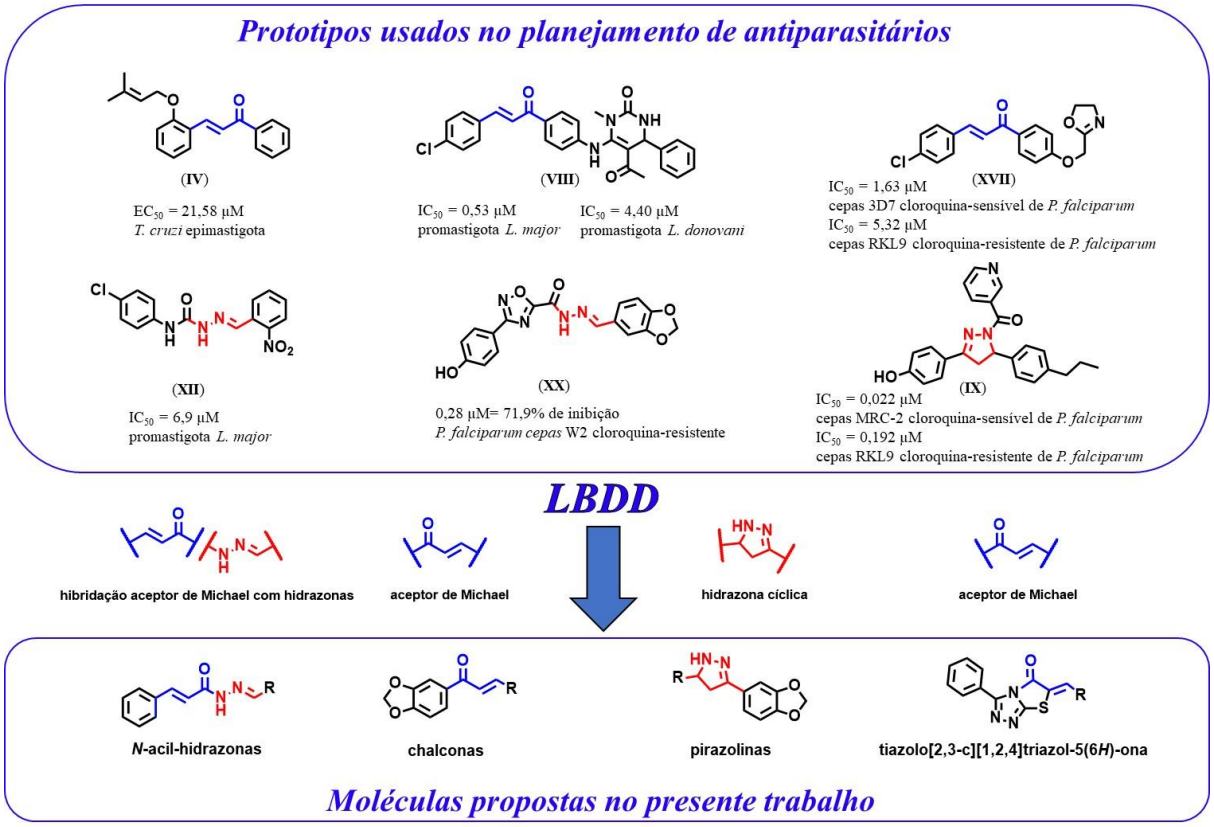
Para avaliar a influência dos substituintes adjacentes aos grupamentos carbonílicos α,β-insaturados e hidrazonas, diferentes anéis aromáticos substituídos e heteroaromáticos foram propostos, os quais estão frequentemente presentes em moléculas ativas e apresentam propriedades estéricas e eletrônicas variadas. Entre eles propusemos heteroaromáticos de cinco membros (tiofeno, furano e pirrol), anéis aromáticos ricos e anéis aromáticos deficiente de elétrons, e com substituintes retiradores de elétrons (ex: nitro substituídos) e doadores de elétrons (ex: *p*-dimetilamina) em diferentes posições.

A avaliação biológica nas formas celulares dos parasitas, são de grande relevância assim como a avaliação de citotoxicidade para garantir a segurança dos protótipos desde o início de seu desenvolvimento (NOGUEIRA; ROSÁRIO, 2010; OKOMBO; CHIBALE, 2017).

Assim sendo, propôs-se realizar os ensaios *in vitro* nas formas parasitárias e ensaios de citotoxicidade para ter-se um índice de seletividade para os compostos planejados. Tais procedimentos contaram com a colaboração de outros laboratórios certificados.

O ensaio nas formas celulares de *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania sp.* foram realizados em colaboração com o Dr. Leonardo Luiz Gomes Ferreira e o Professor Dr. Adriano Andricopulo, do Laboratório de Química Medicinal e Computacional (LQMC) do Instituto de Física de São Carlos – IFSC-USP, já os ensaios antimaláricos em cepas de *P. falciparum*, está sendo realizado em colaboração com a Dra. Amanda Luisa da Fonseca, pós-doutoranda pelo grupo do Prof. Fernando Varotti e Prof. Alex Taranto da Universidade Federal de São João Del-Rei.

Figura 5 – Planejamento das moléculas com base na estrutura de ligantes (LBDD), com atividade antiparasitária conhecida, utilizados na proposição de moléculas com possível atividade antiparasitária.



2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo geral a síntese de compostos da classe das chalconas, cinamoil-hidrazonas e tiazolo[3,2-*b*][triazol]-6(5H)-onas. Avaliar a atividade antiparasitária frente aos parasitas *Trypanossoma cruzi*, *Leishmania sp.* e *Plasmodium falciparum* e avaliar a citoxicidade, para verificar a relação entre a segurança e seletividade desses compostos.

Como objetivos específicos do presente projeto de doutorado buscou-se:

- Sintetizar moléculas bioativas através da estratégia de *LBDD*;
- Caracterizar as estruturas obtidas na síntese por técnicas espectroscópicas;
- Realizar a avaliação biológica dos compostos obtidos diante de cepas de *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania sp.* e *Plasmodium falciparum*;
- Avaliar da toxicidade celular dos compostos obtidos

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Reagentes, solventes e matérias-primas

Quadro 1 - Discriminação dos reagentes, solventes e matérias-primas utilizadas no desenvolvimento de toda a parte experimental do trabalho

2-acetilfurano (Sigma-Aldrich®)	ácido clorídrico concentrado (Synth®)	hexano (Synth®)
2-acetiltiofeno (Sigma-Aldrich®)	ácido sulfúrico concentrado (Merck®)	hidrato de hidrazina 80% (Riedel-Haën®)
2-clorobenzaldeído	ácido trifluoroacético 99,9% (Sigma-Aldrich®)	hidroxibenzotriazol (Merck®)
2,4-dinitro-fenil-hidrazida (Merck®)	ácido-trans cinâmico (Sigma-Aldrich®)	hidróxido de amônio (Synth®)
3’,4’-(metilenodioxi)acetofenona (Sigma-aldrich®)	ciclohexano (Alfa-Aesar®)	hidróxido de sódio (Synth®)
4-acetilpiridina (Merck®)	carbonato de sódio (Synth®)	indol-3-carboxaldeído (Merck®)

4-(dimetilamino)benzaldeído (Riedel-Haën®)	cloreto de 4-acetamido benzenossulfonila (Sigma-Aldrich®)	metanol (Synth®)
4-(fenil-tio)benzaldeído	cloreto de 4-cloro benzenossulfonila (Sigma-Aldrich®)	metanol grau hplc (Merck®)
4-imidazol-carboxaldeído (Sigma-Aldrich®)	cloreto de 4-toluenossulfonila (Sigma-Aldrich®)	molibdato de amônio tetra hidratado (Alfa-aesar®)
5-nitrofurano-2-carboxaldeído (Sigma-Aldrich®)	cloreto de sódio (Synth®)	N,N'-diciclohexil-carbodiimida (Merck®)
5-nitrotiofeno-2-carboxaldeído (Sigma-Aldrich®)	cloridrato de aminoguanidina (Sigma-Aldrich®)	ninidrina (Merck®)
acetonitrila (Synth®)	cloridrato de semicarbazida (Sigma-Aldrich®)	pirrol-2-carboxaldeído (Sigma-Aldrich®)
acetato de amônio (Synth®)	clorofórmio (Synth®)	sulfato de cérico IV (Alfa-aesar®)
acetato de etila (Synth®)	clorofórmio deuterado (Cambridge Isotope Laboratories Inc.)	sulfato de sódio anidro (Synth®)
acetato de sódio anidro (Synth®)	diclorometano (Synth)	tetrahidrofurano (Synth®)
acetona (Synth®)	dimetilsulfóxido deuterado (Cambridge Isotope Laboratories Inc.)	tiofeno-2-carboxaldeído (Sigma-Aldrich®)
acetofenona (Sigma-Aldrich®)	dimetilsulfóxido (Synth®)	tiosemicarbazida (Sigma-Aldrich®)
acetonitrila (Synth®)	etanol absoluto(Synth®)	trietilamina (Synth®)
ácido acético glacial(Synth®)	furano-2-carboxaldeído ou furfural (Sigma-Aldrich®)	vanilina (Quimex®)

3.1.2 Equipamentos

Quadro 2 - Discriminação dos equipamentos utilizados nos procedimentos de sínteses e caracterizações das moléculas

Agitadores magnéticos - Fisatom e IKA
Aparelho capilar Büchi para determinação de faixa de fusão
Balança semi-analítica
Barra magnética
Bomba de alto vácuo, EDWARDS modelo nXDS6
Bomba de vácuo/compressor de ar - Vacuubrand – ME 1C
Câmara de ultra-violeta (UV)

Coluna para CLAE Phenomenex, C-18 Gemini; 5µ; 110Å; 150 x 4,60mm; 5 micron
Cromatoplacas de sílica-gel 60 F_{254nm} - Macherey-Nagel, Alugram® (20cm x 20cm x 0,20 mm).
Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) – Shimatzu
Espectrofotômetro de ultravioleta/fluorescência – TECAN – Infinite® 200 PRO
Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear 300 MHz BRUKER, modelo Advance DPX-300
Evaporador rotatório modelo R-215 – Büchi
Lâmpada de radiação ultravioleta Spectroline, modelo ENF-260C
Mantas de aquecimento – Fisatom
Soprador térmico - Instruterm – AS-300-220
Tubo capilar sem heparina (Precision Glass Inc.)
Ultrafiltrador Gehaka

3.2 Métodos

3.2.1 Técnicas gerais de trabalho

Reações sensíveis a oxigênio e umidade foram realizadas em vidraria anidra (submetido a pressão reduzida e aquecimento, seguido de fluxo de nitrogênio – adaptação de sistema de *Schlenk* para reações em sistema inerte). Agitadores magnético foram usados em todas as reações. Todos os processos sintéticos foram monitorados por cromatografia de camada delgada (CCD).

Solventes

Os solventes foram adquiridos comercialmente com qualidade satisfatória (para analise – p.a.), não necessitando de prévia purificação. Nas reações que utilizaram furfural, o mesmo foi previamente destilado à vácuo e quando necessário a retirada de água dos solventes, esta foi feita conforme procedimentos descritos por Armarego & Chai (2009). Solventes de alto grau de pureza (conhecido como grau *HPLC*) foram utilizados para as análises de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (em inglês HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) e a água ultra-pura foi obtida por ultrafiltrador Gehaka. Todos eluentes foram degaseificados em sonicador antes do uso.

Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para monitoramento das reações. Foram realizadas em placas de sílica-gel 60 F_{254nm} (Macherey-Nagel, Alugram®) em cubas de vidro e atmosfera saturada à temperatura ambiente. A visualização das manchas características dos reagentes e produtos formados foi feita por lâmpadas ultra-violeta (UV) (254 nm e 365 nm) e, também, quando necessário, as placas foram imergidas em soluções reveladoras seguidas de aquecimento com soprador térmico até colorir as manchas (JORK et al., 1990).

Solução de vanilina

Vanilina (1g), EtOH (45 mL), H_2O (45 mL) e H_2SO_4 (10 mL)

Solução de ninidrina

Ninidrina (0,3g), H_3CCOOH (3 mL) e EtOH (97 mL)

Solução de 2,4-dinitrofenil hidrazina (2,4-DNPH)

2,4-DNPH (6g), EtOH (100 mL), H_2O (40 mL) e H_2SO_4 (30 mL)

Solução de molibdato cérico

$Ce(SO_4)_2$ (1,8g), $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ x 4 H_2O (45g) e H_2SO_4 concentrado em H_2O (900 mL)

Cromatografia líquida em coluna (Cromatografia *Flash*)

As amostras brutas foram purificadas por cromatografia líquida em coluna (*Flash*) em sílica gel Merck®, sílica gel 60, 40 – 63 μM). Utilizou-se ar comprimido ou nitrogênio para controle da velocidade de eluição. O diâmetro e volume das frações, assim como o fator de retenção (do acrônimo em inglês, *Retention fator* - Rf) são descritos na metodologia de cada composto.

Ponto de fusão

Para obtenção do ponto de fusão dos compostos utilizou-se capilares abertos em aparelho de fusão capilar Büchi – M565.

Cromatografia líquida de alta eficiência (*HPLC*)

A pureza dos compostos testados foi determinada por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (ou do inglês, *High performance liquid cromatography – HPLC*). As análises foram realizadas por dois diferentes aparelhos e métodos.

Método A:

Foi realizado em cromatógrafo líquido LC-20AT (Shimadzu), integrado com degaseificador DGU-20A$_5$ (Shimadzu), controlador CBM-20A (Shimadzu), sistema de dispensação de solventes múltiplo, amostrador automático SIL-10AD (Shimadzu) e detector UV/VIS SPD-20A (Shimadzu). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna C_{18} (150 x 4,60 mm, 5 µm, 110 Å Phenomenex – Gemini).

Temperatura média da coluna: 25 °C

Solvente:

Componente A: H_2O

Componente B: ACN

Fluxo: 1,0 mL/ minuto

Volume de injeção: 25 µL

Diluição da amostra: 1mg/ mL

Gradiente:

Tabela 1: Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método A da análise de *HPLC*

Tempo (minutos)	Componente A (%)	Componente B (%)
0,0	50	50
5,0	50	50
9,0	10	90
17,0	10	90
25,0	50	50
30,0	50	50

Detecção: 254 nm, tempo de aquisição: 25 minutos

Integração: Subtração manual do branco para a mesma série

Método de cálculo: área em %

Método B:

Foi realizado em cromatógrafo líquido LC-10AD (Shimadzu), integrado com degaseificador DGU-14A-VP (Shimadzu), controlador SCL-10ª-VP (Shimadzu), sistema de dispensação de solventes múltiplo, amostrador automático SIL-10AD-VP (Shimadzu), forno de coluna CTO-10AS-VP e detector RF10A-VP (Shimadzu). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna Waters (WAT027324, C_{18} µBondpack™, 300 x 3,90 mm).

Temperatura média da coluna: 28 °C

Solvente:

Componente A: H_2O bidestilada + 0,05% (V/V) ácido trifluoracético (TFA)

Componente B: ACN + 0,05% (V/V) TFA

Fluxo: 1,0 mL/ minuto

Volume de injeção: 25 µL

Diluição da amostra: 1mg/ mL

Gradiente:

Tabela 2: Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método B da análise de *HPLC*

Tempo (minutos)	Componente A (%)	Componente B (%)
0,0	90	10
4,0	90	10
29,0	0	100
31,0	0	100
31,5	90	10
40,0	90	10

Detecção: 210 nm, tempo de aquisição: 30 minutos

Integração: Subtração manual do branco para a mesma série

Método de cálculo: área em %

Método C:

Foi realizado em cromatógrafo líquido Hitachi® (Merck), integrado com bomba L-7100 (Merck), controlador D-7000 (Merck), amostrador automático L-7200 (Merck), degaseificador

L-7614 (Merck), detector UV L-7400 (Merck) e software: HSM D7000). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna LiChrospher®60 RP-select B (5 µM) com LiCroCart® 250-4 mm.

Temperatura média da coluna: 23 °C

Solvente:

Componente A: H_2O bidestilada + 0,05% (V/V) ácido trifluoracético (TFA)

Componente B: ACN + 0,05% (V/V) TFA

Fluxo: 1,0 mL/ minuto

Volume de injeção: 5 µL

Diluição da amostra: 1mg/ mL

Gradiente:

Tabela 3: Gradiente de eluição dos solventes utilizados no Método C da análise de *HPLC*

Tempo (minutos)	Componente A (%)	Componente B (%)
0,0	90	10
4,0	90	10
29,0	0	100
31,0	0	100
31,5	90	10
40,0	90	10

Detecção: 210 nm, tempo de aquisição: 30 minutos

Integração: Subtração manual do branco para a mesma série

Método de cálculo: área em %

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear foi realizada em aparelho *Bruker ADVANCE DPX-300*. Para RMN de hidrogênio (RMN ^{1}H) em campo contínuo operando a 300 MHz de frequência. Para RMN de carbono 13 (RMN ^{13}C) foram empregadas medidas de 75 MHz. Em alguns casos, a espectroscopia de RMN foi realizada em um aparelho *Unity Mercury Plus 400 NMR spectrometer* (Varian®), utilizando 400 MHz para RMN ^{1}H e 100 MHz para RMN ^{13}C ou Agilent 600-MR, utilizando 600 MHz para RMN ^{1}H e 151 MHz para RMN ^{13}C.

Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em partes por milhão (ppm) e calibrados de acordo com o sinal do solvente deuterado utilizado. Exceto quando citado foi utilizado o padrão interno TMS (0 ppm).

RMN ^{1}H:
δ (DMSO-d6) – 2,51 ppm ; H_2O – 3,30 ppm
δ ($CDCl_3$) – 7,26 ppm; H_2O – 1,56 ppm

RMN ^{13}C:
δ (DMSO-d6) – 39,5 ppm
δ ($CDCl_3$) – 77,16 ppm

As abreviações usadas para a multiplicidade do pico são: singleto (s), singleto largo (sl), dupleto (d), duplo dupleto (dd), tripleto (t), quarteto (q) e multipleto (m) e a constante de acoplamento (*J*) é dada em Hertz (Hz). Para consulta dos sinais de possíveis interferência de solventes nas análises de RMN utilizou o trabalho de FULMER e colaboradores, 2010.

A espectroscopia de RMN realizada no equipamento disponível no Departamento de Farmácia – FCF-USP, foi registrada pela técnica de nível superior Dr. Maria Inês de Almeida Gonçalves. A espectroscopia de RMN realizada no estágio no exterior, foi realizada pela técnica Claudia Thier, do Insitut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie – WWU Münster.

Todos os espectros foram analisados com o programa MestReNova versão ≥ 7.1.1 (*MestReLab Research Software*, Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Química Orgânica, Espanha).

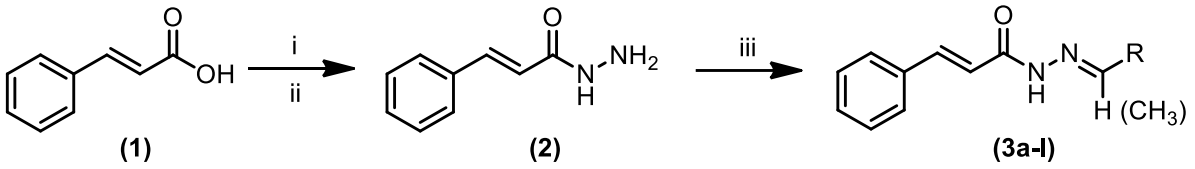
3.2.2 Procedimentos Sintéticos

3.2.2.1 Síntese dos compostos N-acil-hidrazônicos derivados do ácido trans-cinâmico

Os compostos da classe das N-acil-hidrazonas derivados do ácido trans-cinâmico (Esquema 2), foram realizados em duas etapas. Iniciou-se com a reação entre ácido do trans-cinâmico **(1)** com hidrato de hidrazina (80%) via agente condensante N',N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e hidroxi-benzotriazol (HOBt) para a formação da cinamoil-hidrazida **(2)**. Na segunda etapa, para obtenção do derivado N-acil-hidrazônico **(3a-l)**, reagiu-se a cinamoil-hidrazida com aldeídos ou cetonas aromáticos. O procedimento foi modificado

baseando-se na referência (ELSHAARAWY; JANIAK, 2011; FIGUEIREDO et al., 2000) e os detalhes de cada reação estão descritos em Anexos.

Esquema 2: Esquema de síntese propostos para os derivados N-acil-hidrazonas derivados do ácido trans-cinâmico.



Condições reacionais: **(i)** 1,2 eq. DCC, 1,2 eq. HOBt, ACN, t. a., 1-2 h; **(ii)** 2,0 eq. $N_2H_4.H_2O$ (80%)/ACN, 0 °C/5 °C/T °C amb., 6h; **(iii)** 1,0 eq. aldeídos ou cetonas, MeOH, H_3CCOOH cat., T °C amb. – refluxo.

Este procedimento foi adaptado de. (ELSHAARAWY; JANIAK, 2011; FIGUEIREDO et al., 2000). Realizou-se a primeira etapa da reação, reagindo-se 1,0 equivalente (eq.) de ácido trans-cinâmico **(1)** em presença do agente condensante N',N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e hidroxi-benzotriazol (HOBt) em acetonitrila (ACN). A mistura reacional foi submetida a agitação em temperatura ambiente (28 °C) até que todo ácido fosse consumido, monitorado por cromatografia de camada delgada (CCD). Em seguida, submeteu-se a mistura a banho de gelo ao qual adicionou-se lentamente uma solução de $N_2H_4.H_2O$ (excesso) em ACN por um período aproximado de 30 minutos de adição. Manteve-se a mistura reacional a 0 ºC durante toda a adição, ao fim da adição, deixou-se a mistura reacional atingir lentamente a temperatura ambiente e reagiu-se até observar a formação do produto, determinando por CCD. A mistura foi filtrada a pressão reduzida para remoção do precipitado, N,N'-diciclohexilureia (DCU) (subproduto oriundo do DCC). O filtrado foi diluído em água destilada e submetido a extração líquido-líquido utilizando acetato de etila (AcOEt). A fase orgânica foi lavada consecutivamente com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), seguido de uma solução saturada de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$ sat.) e por fim, secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). Removeu-se o solvente a pressão reduzida em rota-evaporador e realizou-se a retirada dos resíduos de solvente em bomba de alto vácuo para obtenção do produto bruto. Para isolamento do produto desejado, realizou-se coluna cromatográfica *Flash*, obtendo assim a cinamoil-hidrazida **(2)**, caracterizada por ponto de fusão e RMN ^{1}H.

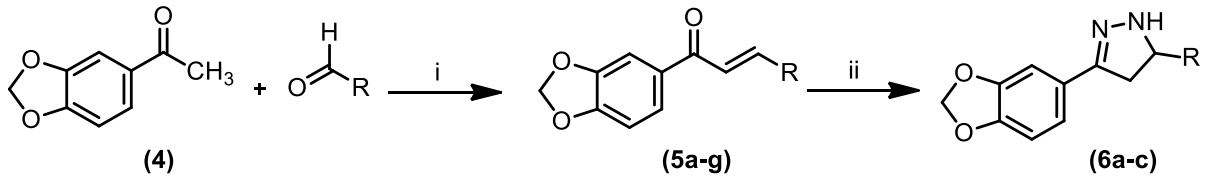
Na segunda etapa de reação (Esquema 2), reagiu-se a cinamoil-hidrazida (1,0 eq.) com aldeídos ou cetonas aromáticas. A reação foi realizada em MeOH e ácido acético glacial

(H_3CCOOH) como catalisador. A mesma foi submetida a agitação magnética em temperatura ambiente (± 28 °C) e acompanhada por CCD para determinação do fim da reação. Ao fim, reduziu-se a metade o solvente da mistura reacional à pressão reduzida e, em seguida, resfriou-se em banho de gelo; quando necessário a solução foi submetida a refrigeração por 24 horas para que ocorresse a precipitação total do produto. O sólido formado foi filtrado a pressão reduzida e em seguida, submetido à bomba de alto vácuo para retirada dos resíduos de solvente. O sólido isolado **(3a-l)** foi recristalizado no solvente adequado e em seguida analisado quanto seu ponto de fusão, RMN ^{1}H e *HPLC*, obtendo assim os derivados N-acil-hidrazônicos.

3.2.2.2 Síntese de chalconas e pirazolinas.

Os compostos planejados foram obtidos por meio de uma condensação aldólica. A reação ocorreu entre a 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona **(4)** e diferentes aldeídos aromáticos, dando origem as chalconas **(5a-g)**. Posterior a esta etapa, algumas das chalconas obtidas foram reagidas com hidrazina para a formação dos compostos da classe das pirazolinas **(6a-c)** (esquema 3) (SINGH; RAGHAV, 2013; VERCOUILLIE et al., 2007).

Esquema 3: Esquema de síntese propostos para os derivados da classe das chalconas e pirazolinas.



Condições reacionais: **(i)** KOH (1 M), EtOH absoluto, t. a., 1-3 h; **(ii)** 2,0 eq. $N_2H_4.H_2O$ (80%)/EtOH, refluxo, 1h.

A síntese das chalconas foi realizada utilizando quantidades equimolares 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona e do aldeído em meio básico de hidróxido de potássio (KOH) (1M) e etanol absoluto (EtOH). Procedeu-se com a reação sob agitação em temperatura ambiente (25 °C) e a análise da formação do produto foi realizada por CCD. Após o término da reação, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), e em seguida adicionou-se água gelada até precipitação do produto. O sólido formado foi filtrado a frio e sob pressão reduzida, seguido de lavagem com H_2O deionizada gelada em abundância. Posteriormente secou-se o sólido obtido a pressão reduzida em bomba de alto vácuo.

Prosseguiu-se as análises de ponto de fusão e de RMN ^{1}H e RMN ^{13}C com o produto isolado, os quais indicaram a formação da chalcona planejada.

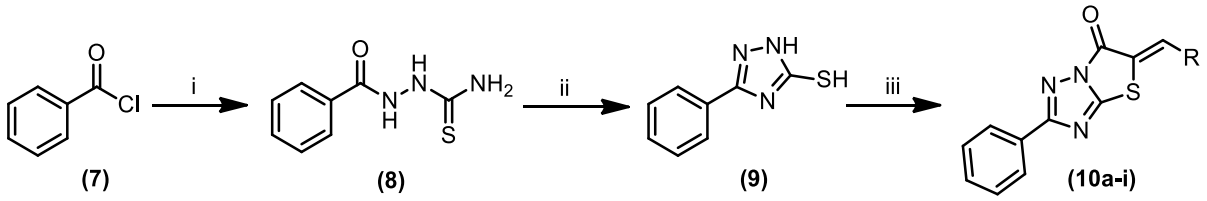
A síntese da pirazolina foi realizada em um balão de fundo redondo (50 mL) adaptado com sistema de refluxo, contendo a chalcona sintetizada na etapa anterior (1 eq.), excesso de hidrato de hidrazina 80% ($N_2H_4.H_2O$) (cerca de 2 equivalentes) em EtOH. A mistura reacional foi mantida sob agitação e aquecimento até alcançar a temperatura de refluxo. A mistura reacional foi mantida até o total consumo de um dos materiais de partida acompanhado por CCD para determinação do consumo da chalcona da reação. Ao final, a mistura reacional foi submetida a refrigeração por 24 horas até precipitação. Procedeu-se com filtração a pressão reduzida, com lavagem do sólido com H_2O deionizada gelada e EtOH gelado e posteriormente foi feita a retirada de resíduos de solvente por bomba de alto vácuo durante 24 horas.

Para caracterização do composto obtido realizou-se ponto de fusão e RMN ^{1}H, por meio do quais obtivemos indicativos de formação do produto desejado e para determinação da pureza o produto foi analisado por *HPLC*.

3.2.2.3 Síntese dos análogos tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona

A obtenção dos análogos thiazolo[3,2-*b*][triazol-6(5H)-ona, foi realizada em três etapas sintéticas (esquema 4)

Esquema 4: Esquema de síntese proposta para os análogos tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona.



Condições reacionais: **(i)** 2,0 eq. tiossemicarbazida, THF anidro, 10 °C/ t. a., 2-3 h, **(ii)** NaOH (1M), reflux, 5 h; **(iii)** 1,5 eq. ácido 2-cloroacético, 2,4 eq. H_3COONa, 1,6 eq. anidrido acético, 3,5 eq. H_3COOH, reflux, 1-2 h.

A etapa inicial, consistiu na reação entre o cloreto de benzoíla **(7)** e tiossemicarbazida para a obtenção do 2-benzoil-hidrazinocarbotioamida **(8)** em tetraidrofurano (THF) (PLUMITALLO et al., 2004; RIVERA; BALSELLS; HANSEN, 2006). Na segunda etapa da

reação, efetuou-se a ciclização de **(8)** em meio básico aquoso de hidróxido de sódio 1M (NaOH), resultando na formação do 3-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-tiol **(9)** (SEELAM et al., 2016; TOZKOPARAN et al., 2011). Na última etapa para obtenção dos análogos desejados, realizou-se uma reação multicomponente, entre o produto **(9)**, ácido cloroacético e diferentes aldeídos aromáticos, na presença de anidrido acético e acetato de sódio anidro (H_3COONa anidro), em ácido acético glacial (H_3CCOOH), obtendo assim os análogos tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona **(10a-i)** (ALI; BAYOUMI MOSTAFA; SOLIMAN, 1976; TOZKOPARAN et al., 2011).

A síntese do 2-benzoil-hidrazinocarbotioamida (**8**) foi realizada em ambiente anidro e inerte, com atmosfera de nitrogênio, em balão bitubular de fundo redondo adaptado com funil de adição e septo de borracha. Ao balão, adicionou-se THF anidro e tiossemicarbazida (2 eq.), os quais foram submetidos a agitação magnética em banho de gelo. Em seguida, solubilizou-se o cloreto de benzoíla (1 eq.) em THF anidro, os quais foram adicionados ao funil de adição. Prosseguiu-se com a adição do cloreto de acila lentamente à solução de tiossemicarbazida sob vigorosa agitação (em média 15 minutos de adição), evitando que houvesse o aquecimento da reação. Ao fim da adição, retirou-se o banho de gelo, alcançando a temperatura ambiente (25 °C) e o final da reação foi observado por CCD (duração de 2 a 3 horas de reação). Ao fim da reação, a mistura reacional foi cessada com solução saturada de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$ sat.) e prosseguiu-se com extração líquido-líquido de acetato de etila. A fase orgânica foi lavada na sequência com solução de $NaHCO_3$ sat., solução saturada NaCl e em seguida seca com Na_2SO_4 anidro. A fase orgânica foi filtrada e o solvente removido à pressão reduzida. O produto bruto obtido foi seco por bomba de alto vácuo durante 24 horas e em seguida purificado por recristalização em MeOH. Posteriormente, o sólido obtido foi submetido a análises de caracterização de RMN ^1H e RMN ^{13}C.

A síntese do 3-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-tiol (**9**) foi realizada em um balão de fundo redondo adaptado com sistema de refluxo, contendo **(8)**, NaOH 1M em H_2O, manteve-se a mistura sob agitação e sob refluxo. A reação foi monitorada por CCD, até o consumo total do material de partida. Ao final, observou-se a formação de sólidos brancos, em seguida a mistura reacional foi submetida a filtração a pressão reduzida e lavagem com H_2O gelada em abundância e EtOH gelado. Posteriormente retirou-se os resíduos de solvente por bomba de alto vácuo durante 24 horas. O sólido obtido foi submetido a análises de caracterização de RMN ^1H e RMN ^{13}C.

A reação dos análogos tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona (**10a-i**) foi realizada em balão bitubular de fundo redondo e ambiente anidro e inerte (atmosfera de nitrogênio). Adicionou-se, a temperatura ambiente, os reagentes na seguinte ordem: H_3COOH, H_3COONa anidro, **(9)**, ácido 2-cloroacético, anidrido acético e por fim o aldeído aromático. Submeteu-se todos os componentes à agitação sob refluxo. A reação foi acompanhada por CCD. Ao fim, o produto foi esfriado a temperatura ambiente, e o precipitado formado foi filtrado e lavado com água gelada. O composto obtido foi seco em dessecador com cloreto de cálcio anidro por 24h horas. Para purificação realizou-se recristalização em ácido acético e o solvente residual foi removido por bomba de alto vácuo por 24h horas. O sólido obtido foi submetido a análises de caracterização por ponto de fusão e de RMN ^{1}H e RMN ^{13}C e sua pureza foi verificada por *HPLC*, confirmando assim os análogos tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-ona **(10a-i)**.

3.2.3 Ensaios biológicos e de toxicidade

3.2.3.1 Ensaios *in vitro* contra o parasita *Trypanosoma cruzi*

O ensaio *in vitro* na forma amastigota de *Trypanosoma cruzi* foi realizado em colaboração com o Dr. Leonardo Luiz Gomes Ferreira e o Professor Dr. Adriano Andricopulo, no Laboratório de Química Medicinal e Computacional (LQMC) do Instituto de Física de São Carlos – IFSC-USP.

Procedimentos de cultura e cultivo dos parasitas *T. cruzi*

Os ensaios foram realizados utilizando cepas Tulahuen dos parasitas de *Trypanossoma cruzi* geneticamente modificados para expressar o gene β-galactosidade de *Escherichia coli*, LacZ, o qual catalisa a reação colorimétrica do galactopiranosídio vermelho de clorofenol (CPRG, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) como substrato. As culturas avaliadas quanto a atividade da β-galactosidase foram cultivadas em meio RPMI1640, sem vermelho de fenol, mais soro fetal bovino à 10%, penicilina e estreptomicina. Os tripomastigotas foram cultivados

em monocamadas de fibroblasto humano com soro fetal bovino à 10%, penicilina e estreptomicina.

Ensaios intracelular frente a forma amastigota de *T. cruzi* (Tulahuen LacZ)

A triagem das moléculas frente as cepas de *T. cruzi* que expressam a β-galactosidase foi feito de acordo com procedimento descrito por BUCKNER e colaboradores, (1996). Os ensaios foram realizados em placas de cultura de tecidos de 96 poços (meio Becton Dickinson). Os fibroblastos humanos foram semeados à 2,0 x 10^3 por poço em volumes de 80 µL (RPMI 1640 sem vermelho de fenol) e incubou-se de um dia para o outro. No dia seguinte, os tripomastigotas que expressam β-galactosidase (cepa Tulahuen), foram adicionados à 1,0 x 10^4 por poço em volumes de 20 µL (RPMI 1640 sem vermelho de fenol). Após 24 horas, as moléculas a serem avaliadas foram adicionadas em diluições seriadas em volumes de 50 µL, cobrindo uma faixa de 100 a 0,13 µM. Cada diluição foi realizada em triplicata. Previamente, foram preparadas soluções estoque em DMSO e diluídas em RPMI 1640 sem vermelho de fenol. Após 72 horas de incubação, as placas foram inspecionadas sob um microscópio invertido para garantir o crescimento de controles e de esterilidade. Em seguida, 50 µL de substrato contendo CPRG e NOnidet P-40 (concentração final 0,1%) foram adicionados em todos os poços. Em poços com atividade de β-galactosidase, o meio mudou de cor do amarelo para o vermelho, e a mudança de coloração foi mensurada a 570 nm em um leitor automático de microplata. Os dados foram transferidos para o *Sigma Plot* para determinar os valores de IC_{50} (metade da concentração inibitória máxima). O fármaco Beznidazol foi utilizado como controle positivo (IC_{50} = 4,49 µM) e culturas de parasitas não tratados foram usados como controle negativo (FERREIRA et al., 2014).

3.2.3.2 Ensaios *in vitro* contra parasita *Leishmania sp*.

O ensaio *in vitro* nas formas celulares de *Leishmania sp.*, assim como o ensaio de toxicidade celular para mensuração do índice de seletividade dos compostos foram realizados em colaboração com o Dr. Leonardo Luiz Gomes Ferreira e o Professor Dr. Adriano

Andricopulo, no Laboratório de Química Medicinal e Computacional (LQMC) do Instituto de Física de São Carlos – IFSC-USP.

Procedimentos de cultura e cultivo de promastigotas de *Leishmania donovani*, amastigotas de *Leishmania infantum*, e macrófagos humanos.

Culturas axênicas de Leishmania donovani (cepa MHOM/ET/67/HU3) foram mantidas em meio M199 (pH 7,4) suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado pelo calor e crescidos a 28 °C. Células de leucemia humana (linhagem THP-1) foram mantidas em RPMI-1640 (soro fetal bovino inativado à 10%) e cresceram a 37 °C e 5% de gás carbônico (CO_2). Soluções estoque dos compostos foram preparados em DMSO 100% a 10mM e testados em diluições seriadas (10 concentrações) em microplacas de 96 poços e fundo chato (ORTEGA et al., 2019).

Ensaio *in vitro* em promastigotas de *L. donovani*

Para o ensaio em promastigota, as células de *Leishmania donovani* da cultura axênica foram cultivadas em crescimento logarítmico a 1,0 x 10^5 por poço (M199, 80 µL) e os compostos foram adicionados em diluições seriadas (20 µL). Todas as placas incluíram o controle negativo (100% do crescimento do parasita) e miltefosina como controle positivo. Após 72 horas de incubação a 28 °C, adicionou-se 10 µL de AlamarBlue® (12,5 mg resazurina/ 100 mL de água destilada) em cada um dos poços e em seguida as placas foram incubadas por 3 horas. O indicador de viabilidade celular permeia nos parasitas viáveis, o qual é reduzido pelas enzimas NADPH e NADH no composto resorufina altamente fluorescente. Após a incubação, as placas foram lidas por fluorímetro de microplata sob comprimento de onda de excitação de 536 nm e emissão no comprimento de onda de 588 nm. Se o composto teste for inativo contra o *L. donovani*, os parasitas permanecem viáveis, capazes de converter resazurina em resorufina, resultando em emissão de fluorescência. Se o composto for ativo, o número de parasitas viáveis é reduzido, resultando em diminuição de fluorescência. A inibição do crescimento foi expressa como a porcentagem de fluorescência dos poços com controle

negativo. Os valores de IC_{50} foram determinados utilizando o SigmaPlot. As curvas dose-resposta foram ajustadas utilizando log (concentração do inibidor) *versus* a resposta normalizada (entre 0% - 100%) com a inclinação variável e valores de IC_{50} calculados automaticamente (ORTEGA et al., 2019).

Ensaio *in vitro* em amastigotas intracelulares de *L. infantum*

No ensaio em amastigotas intracelulares, as células THP-1 foram cultivadas à 2,0 x 10^4 por poço (RPMI-1640, 100 µL) com Phorbol-12-miristato-13-acetato (PMA) à 30 ng/ mL para a diferenciação em macrófagos. Após a incubação de 72 horas (5% CO_2, 37 °C), o meio foi aspirado e em seguida promastigotas em estágio avançado foram adicionados (2 x 10^5/ por poço, 100µL). Após 24 horas de incubação, o meio foi aspirado para eliminar os parasitas extracelulares, então os compostos foram adicionados em diluições seriadas (100 µL) e as placas foram incubadas por 120 horas. Todas as placas incluiram controles, negativo (100% de crescimento do parasita) e positivo (miltefosina). Após incubação, o meio foi removido e as células foram fixadas em MeOH e coradas com Giemsa. A média do número de amastigotas intracelular por células de THP-1 foi determinada usando microscópio invertido e um contador de células. A inibição do crescimento foi expressada como porcentagem da média do número de amastigotas por macrófago nos poços de controle negativo. Os valores de IC_{50} foram determinadas conforme descritos no ensaio de promastigota.

Ensaio *in vitro* em macrófagos humano

Para o ensaio em macrófagos humanos, células THP-1 foram cultivadas à 2,0 x 10^4/ por poço (RPMI-1640, 100 µL) com PMA à 20 ng/ mL para ocorrer a diferenciação em macrófagos. Após incubação de 72 horas (5% CO_2, 37 °C), aspirou-se o meio, e os compostos foram adicionados em diluições seriadas (100 µL) e as placas foram incubadas por 120 horas. Todas as placas incluíram controle negativo e doxorubicina como controle positivo. Após a incubação, 10 µL de AlamarBlue foi adicionado em cada um dos poços e depois as placas foram incubadas por 3 horas. Em seguida, as placas foram lidas por fluorímetro de microplata, utilizando como

comprimento de onda de excitação, 536 nm e comprimento de onda de emissão, 588 nm. A inibição do crescimento foi expressa como a porcentagem da fluorescência do controle negativo. Os valores de IC_{50} foram determinados conforme descrito anteriormente para os ensaios em promastigotas e amastigotas (ORTEGA et al., 2019)

3.2.3.3 Ensaios *in vitro* contra parasita *Plasmodium falciparum*

O ensaio antimalárico *in vitro* nas formas celulares de *Plasmodium falciparum*, assim como o ensaio de toxicidade celular para mensuração do índice de seletividade dos compostos está sendo realizado em colaboração com a Dr. Amanda Luisa da Fonseca, pós doutoranda pelo grupo do Professor Fernando Varotti, no Laboratório de Bioquímica Medicinal (LBqM), Universidade Federal de São João Del-Rei, UFSJ – MG. Utilizou-se os procedimentos conforme a literatura (DA SILVA et al., 2019; NUNES et al., 2019; VELASQUES et al., 2018).

Cultivo *in vitro* das fases intraeritrocitárias de *Plasmodium falciparum*

Cepas de *Plasmodium falciparum* cloroquina-resistente (W2) foram cultivadas em hemácias humanas sob condições estabelecidas TRAGER e JENSEN, 1976. Elas foram mantidas em placas de petri com meio RPMI-1640 suplementado com 25mM de Hepes, 21mM de bicarbonato de sódio, 300µM de hipoxantina, 2g/L e 1g/L de glicose, 40µg/ml de gentamicina, 10% (v/v) de plasma humano A+ inativado (meio completo) e hematócrito a 5%. As hemácias humanas eram obtidas do Hemocentro de Divinópolis lavadas com meio RPMI incompleto através de centrifugação a 2000 rpm por 30 minutos para retirada das células brancas. As placas de petri contendo os parasitos foram condicionadas à 37 °C em dessecadores, nos quais a concentração adequada de O_2 foi obtida pela combustão de uma vela. Diariamente foi realizada a troca de meio completo do cultivo.

Determinação da parasitemia

A parasitemia foi monitorada diariamente através de esfregaços sanguíneos em lâminas, secos ao ar, fixados com metanol e corados com Giemsa 0,93% em água tamponada pH=6,8 (5

gotas de corante para cada 1mL de água tamponada). Após 20 minutos com o corante, o esfregaço foi lavado em água corrente, seco ao ar novamente e levado ao microscópio óptico com aumento de 1000x para proceder à contagem. A parasitemia foi determinada pela contagem de hemácias parasitadas e expressas em porcentagem de hemácias totais.

Sincronização dos parasitos

Antes de cada teste de atividade antimalárica, os parasitos cultivados foram sincronizados pelo método do sorbitol (LAMBROS; VANDERBERG, 1979). Na placa de cultivo contendo o parasito, retirou-se o meio e adicionou-se 10 mL de sorbitol e homogenizou-se. Incubou-se a placa de petri em dessecador com níveis adequados de oxigênio a 37 ºC por 10 minutos. Após esse tempo, transferiu-se todo o conteúdo para um tubo falcon de 15mL e centrifugou-se por 5 min. O sobrenadante foi retirado e o sedimento ressuspendido com meio RPMI suplementado com soro humano A+ inativado, ajustando-se o hematócrito para 5%. Posteriormente, foi realizado um esfregaço sanguíneo para determinação da parasitemia. O hematócrito e a parasitemia, ambos a 2%, foram ajustados com a adição de hemácias e meio RPMI completo em quantidades adequadas. Esse método permite selecionar os trofozoítos jovens (anéis) e assim garantir que a droga teste atue logo no início do ciclo eritrocítico.

Testes esquizonticidas in vitro com *Plasmodium falciparum* utilizando microteste tradicional

As culturas sincronizadas com 2% de parasitemia no estágio de anel e 2% de hematócrito foram distribuídas em microplacas de 96 poços (Corning/EUA)/200Vl por poço (volume final). Os compostos a serem testados foram adicionados a diferentes concentrações na placa contendo os parasitos. Inicialmente foi feita uma triagem com duas concentrações, 50 e 25µg/mL, para verificar se os compostos apresentavam atividade. Em cada placa de teste havia poços controles constituídos por hemácias infectadas (controle positivo) em meio de cultivo sem adição de compostos-teste. A cloroquina foi utilizada em cada experimento como droga padrão. Para determinação do IC50 os compostos foram testados nas concentrações 5 µg/ml a 0,03 µg/ml. Após 48 horas de incubação em dessecadores a 37 °C, com troca diária de meio completo, foram confeccionados esfregaços correspondentes a cada poço. Depois de fixados com metanol e corados com Giemsa, os esfregaços foram utilizados para proceder à contagem da parasitemia ao microscópio óptico (1000x). A atividade dos compostos foi

expressa pela porcentagem de redução da parasitemia em relação aos controles sem fármacos, que foi considerada como 100% de crescimento do parasito. Os experimentos foram realizados em duplicatas e a leitura através de lâminas codificadas. A parasitemia foi calculada conforme a fórmula a seguir:

$$Redução\ de\ Parasitemia\ (\%) = 100 - \left(\frac{parasitemia\ do\ composto\ x\ 100}{parasitemia\ controle}\right)$$

Cultivo de linhagens celulares para ensaio de toxicidade

Para o cultivo, foi utilizado a linhagem celular humana WI-26VA-4 (fibroblasto de pulmão ATCC CCL-95.1). Tal linhagem faz parte do banco de células animais do Serviço de Biologia Celular (SBC) da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) / Belo Horizonte, no qual possui um laboratório com certificação ABNT NBR ISO 9001/2008 e se destaca no suporte ao desenvolvimento de projetos de pesquisa os quais requerem o acesso às técnicas de cultivo de células e tecidos, consolidando-se como referência em cultivo de células animais. O conteúdo do criotubo (linhagem celular com 5% de DMSO e meio completo), mantido em nitrogênio líquido no banco de criopreservação (CryoPlus 7405/ThermoScientific, EUA), foi transferido para um tubo de centrifuga de 15 mL, contendo 2 mL de meio de cultura e então submetido à centrifugação durante cinco minutos. Posteriormente o sobrenadante foi descartado e a massa celular presente no fundo do tubo ressuspendida em 5mL do meio de cultura 90% de RPMI, 10% Soro Fetal Bovino (SFB). A suspensão celular foi devidamente colocada em garrafa plástica de cultivo celular, tratada para promover a adesão celular, T75 (75cm^2) (Corning Costar Inc., EUA) e mantida a 37ºC em estufa com atmosfera úmida de 5% de CO_2.

Para a manutenção da linhagem, após a adesão celular, o meio foi trocado a cada 48 horas para garantir a renovação dos nutrientes. Através do microscópio invertido em aumento de 40x (mod. Olympus, CKX 41) passível de se observar contaminações, morfologia celular e formação de monocamada. Quando a cultura apresentava formação de monocamada com 80% de confluência, repicava-se a cultura utilizando a enzima tripsina (1:250 Sigma) para remover as células aderidas do fundo da garrafa. As células soltas foram ressupendidas em 5mL de meio e recolhidas em tubo de centrifuga. O material foi centrifugado por 5 minutos a 2000 rpm e o sobrenadante descartado. A massa celular ressuspendida em 5mL de meio novo e 50µL da suspensão foi retirada para misturar com 50µL de azul de tripan para contagem manual de células viáveis em câmara de neubauer. O azul de tripan cora citoplasma de células mortas,

possibilitando a contagem de células viáveis utilizando a câmara de neubauer ao microscópio óptico 40x. Após contagem, as células serão distribuídas em placas de 96 poços para realização do ensaio de viabilidade celular.

Ensaio de viabilidade celular

Para avaliar a citotoxicidade dos compostos fornecidos, utilizou-se do ensaio redução do MTT (3-(4,5dimetiltiazol-2il)-2,5 difeniltetrazólico). O MTT consiste em um sal tetrazólico, que por meio da ação das redutases mitocondriais geram o formazan em forma de um cristal de cor violeta, o qual é liberado por exocitose pelas células vivas, possibilitando assim, aferir a quantidade de células viáveis por meio de ensaio colorimétrico (CARMICHAEL *et al*., 1987; PARK *et al*., 1987). Posteriormente a viabilidade celular é calculada utilizando um leitor de placas de Elisa, em leitura da absorbância à 550 nm . As células foram incubadas por 24h em estufa a 37ºC e atmosfera úmida de CO_2 a 5%. Após esse período as células foram lavadas com solução salina tamponada (PBS). O teste de viabilidade celular, consiste em transferir as células em uma placa de 96 poços na concentração de $1x10^5$ células/poço. As moléculas testadas foram diluídas em meio de cultivo fresco, contendo 1% de soro fetal bovino e adicionado a placa. Após 48 horas de incubação, foram adicionados 100µl do sal tetrazólico MTT na concentração de 5mg/mL. As placas foram incubadas por 3 horas. Após este tempo retirou-se o sobrenadante e aplicou-se 50µl de DMSO em cada poço para solubilizar os cristais de formazan. A leitura será realizada em leitor de microplacas. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados em triplicatas. Todas as concentrações obtidas foram comparadas com células cultivadas sem a presença de compostos (considerada 100% de viabilidade).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e caracterização das moléculas planejadas

Foram obtidos no total 31 compostos, divididos em 12 compostos da classe das N-acil-hidrazonas do ácido cinâmico **(3a-l)**, 7 chalconas **(5a-g)**, 3 pirazolinas **(6a-c)**, e 9 compostos da classe das tiazolo[3,2-b][triazol]-6(5H)-onas **(10a-i)**. Os compostos foram caracterizados por

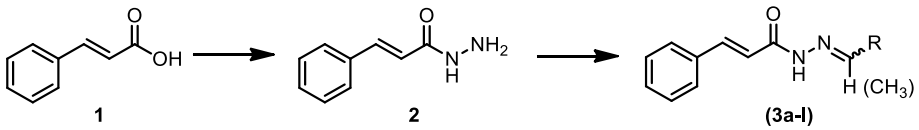
ponto de fusão e ressonância magnética nuclear (RMN) e a determinação de pureza foi realizada por *HPLC*.

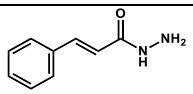
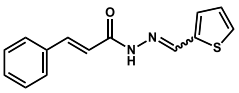
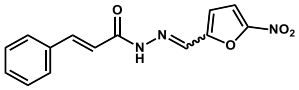
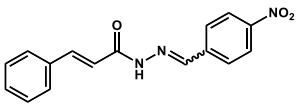
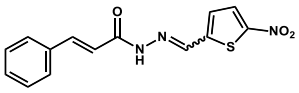
A síntese detalhada, os dados de caracterização (espectros de RMN, corrida cromatográfica) e os dados de referência de cada composto (quando existente), estão disponíveis nos Anexos do trabalho.

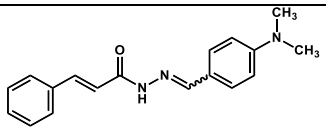
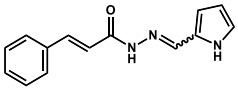
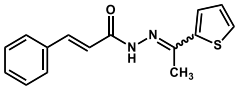
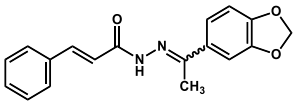
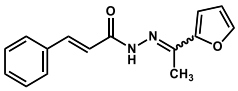
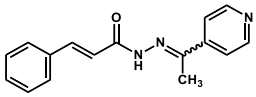
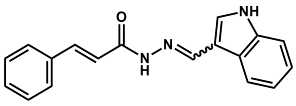
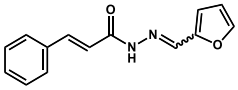
4.1.1 Síntese e caracterização dos compostos N-acil-hidrazonas do ácido cinâmico

A tabela 4 a seguir, apresenta o esquema geral de síntese e descreve os resultados de rendimento de reação, CCD (Rf), o ponto de fusão (p.f.) e a pureza por *HPLC* dos compostos obtidos.

Tabela 4 – Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das *N*-acil-hidrazonas derivadas do ácido trans-cinâmico e os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica.



	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(2)		77	EtOAc 9:1 MeOH (0,14)	103-118	-
(3a)		68	EtOAc 9:1 MeOH (0,44)	232 - 244	97
(3b)		73	EtOAc 9:1 MeOH (0,78)	221 - 238	76
(3c)		70	EtOAc 9:1 MeOH (0,73)	225-244	99
(3d)		43	EtOAc 9:1 MeOH (0,67)	232 - 246	99

	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(3e)		71	HEX 3:7 EtOAc (0,48)	235-248	99
(3f)		34	HEX 2:8 EtOAc (0,70)	220 - 231	99
(3g)		20	HEX 2:8 EtOAc (0,80)	225-244	95
(3h)		39	EtOAc 9:1 MeOH (0,72)	180 - 192	99
(3i)		48	HEX 2:8 EtOAc (0,52)	206-220	99
(3j)		24	EtOAc 9:1 MeOH (0,32)	220-226	98
(3k)		72	HEX 2:8 EtOAc (0,40)	253-259	99
(3l)		48	HEX 2:8 EtOAc (0,65)	207-216	99

Os compostos N-acil-hidrazonas derivadas do ácido cinâmico foram obtidos com sucesso. A síntese consistiu em duas etapas (conforme o esquema geral da Tabela 4), sendo a primeira etapa a formação da cinamoil-hidrazida **(2)** e a segunda etapa, a formação das N-acil-hidrazonas **(3a-l)**. As análises de ponto de fusão dos compostos **3a-l** mostraram-se inconsistentes, visto que apresentaram faixas de fusão ampla, com diferença de 6 ºC a 20 ºC, entretanto os compostos apresentaram-se com pureza cromatográfica satisfatória (> 95%, exceto o composto **3b**). Diante destes resultados, novas análises serão realizadas e precisaram ser investigados.

A reação para obtenção de **2**, utilizou como agente condensante N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), e como catalisador da reação utilizou-se hidroxibenzotriazol (HOBt), os quais favorecem a reação da hidrazina com ácido carboxílico.

A síntese de **2** ocorre por meio de uma substituição nucleofílica no carbono carbonílico, a partir do ácido trans-cinâmico e hidrato de hidrazina (Esquema 5). O mecanismo de

substituição à carbonila ocorre em duas etapas, sendo a primeira a adição do nucleófilo ao carbono carbonílico, formando um intermediário tetraédrico e a segunda etapa a eliminação do grupo de saída. Para que a reação ocorra, deve possuir um bom grupo de saída ligado ao carbono tetraédrico. Grupos de saída podem ser ânions ou moléculas neutras que são expelidos da molécula e carregam consigo a carga negativa. O favorecimento da reação se dá dependendo da estabilidade do ânion formado do grupo de saída, os átomos eletronegativos suportam bem uma carga negativa, o que os torna bons grupo de saída, como outros exemplos temos acetatos ($^{-}$OAc), tosilatos ($^{-}$OTs), cianetos ($^{-}$CN), entre outros.

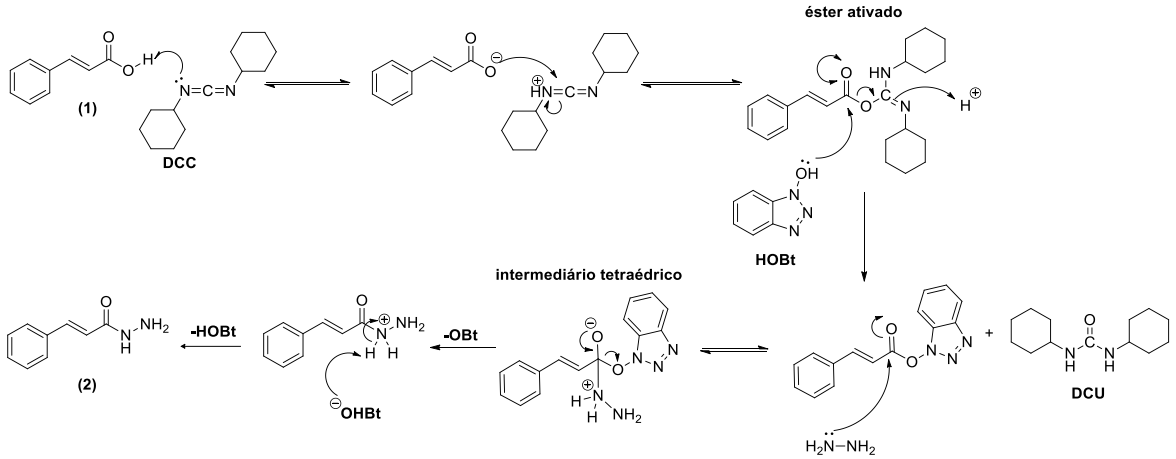
Como ácidos carboxílicos são pouco reativos com aminas primárias, por não possuírem um bom grupo de saída, busca-se promover a ativação da carbonila do ácido carboxílico. Dentre as formas de ativação está a transformação do ácido carboxílico em cloretos de ácidos ou também pode-se ativá-la por formação de ésteres alifáticos (etil éster, metil éster e etc), por estes gerarem melhores grupos de saída. Neste trabalho, ambas as formas de ativação foram previamente testadas para a formação da cinamoil-hidrazida, porém não obtivemos sucesso nas reações devido a formação de subprodutos indesejados. Outra forma bastante utilizada para aumentar a reatividade é utilizando agentes condensantes (ou reagentes de acoplamento), os quais tornam a carbonila do ácido carboxílico mais reativo pela formação de um éster ativado (Esquema 5) (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012).

Uma das classes de agentes condensantes são as carbodiimidas, os quais possui um grupo reativo em sua estrutura (-N=C=N-). Utilizamos como agente condensante o DCC, nessa reação a carbodiimida após reagir com o ácido carboxílico do ácido trans-cinâmico, forma um grupamento éster ativado, mais reativo que o ácido carboxílico. O éster ativado tende a sofrer o ataque nucleofílico mais facilmente da amina primária, pois forma um bom grupo de saída, um derivado de uréia estável (N,N’-’dicicloexilurea – DCU). O HOBt, é um reagente bastante comum em reações de formação de amida que utilizam agente condensante, ou reações de acoplamento de aminoácidos. Esses tipos de reações são acelerados quando na presença de HOBt, favorecendo o ataque nucleofílico da amina (no caso, hidrazina) e evitando formar subprodutos, dando origem ao intermediário *N*-acil-hidrazônico. No caso dos aminoácidos, o HOBt também tem a função de evitar a racemização, pois intercepta o éster ativado formado pelo DCC antes que a racemização ocorra. O mecanismo reacional é apresentado no Esquema 5 a seguir (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012; AL-WARHI; AL-HAZIMI; EL-FAHAM, 2012; EL-FAHAM; ALBERICIO, 2011).

A metodologia para a síntese realizada apresentou-se eficaz na obtenção do produto desejado. Obteve-se um sólido amarelo com ponto de fusão de 103-118 °C, apresentando-se

valores aproximados aos valores de referência (Ref.: sólido branco, p.f. 116-118 °C) (JASIAK; KUDELKO, 2015). Obteve-se rendimento aproximado de 70% e o produto foi analisado por RMN ^{1}H, e os sinais apresentaram indicam a formação cinamoil-hidrazida (figura 6).

Esquema 5: Mecanismo de reação de substituição nucleofílica à carbonila via agente condensante DCC e HOBt, entre o ácido trans-cinâmico e hidrazina para formação de cinamoil-hidrazida.

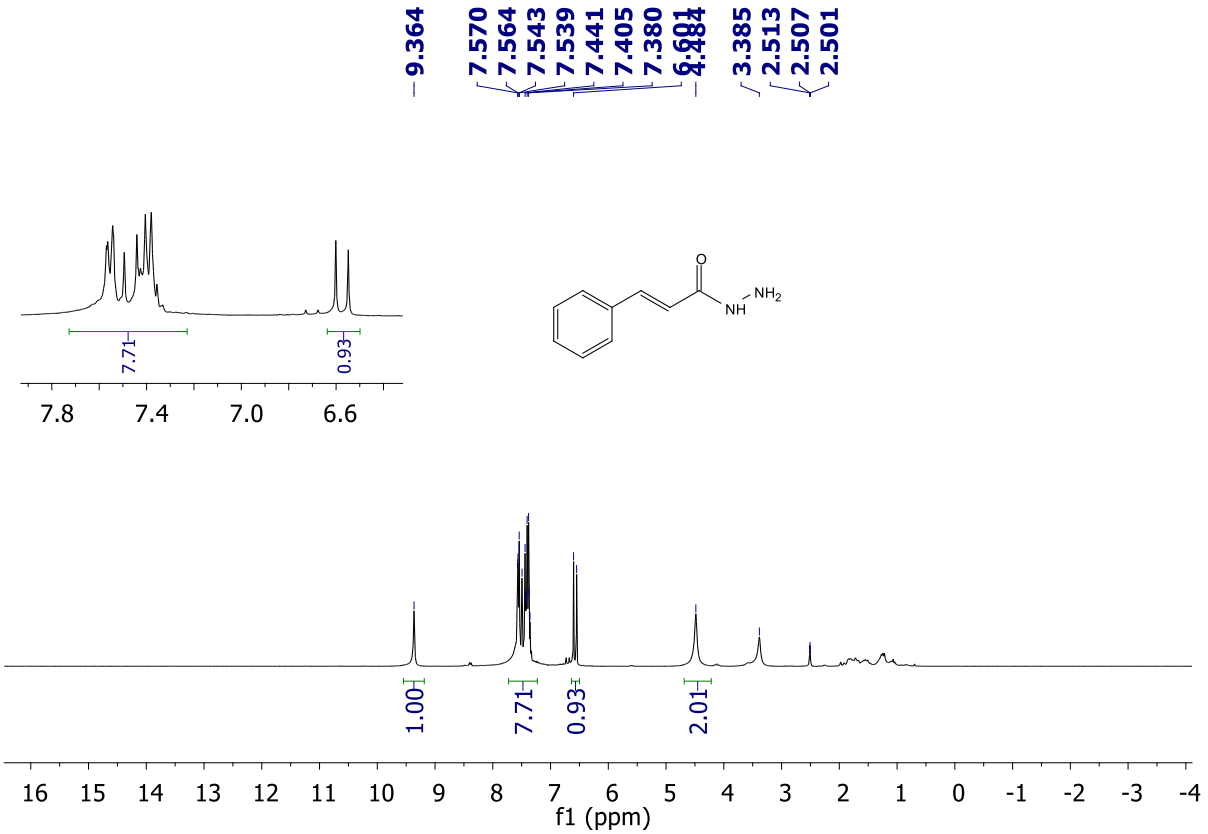


Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 10, p. 200; c. 29, p. 747)

O espectro de RMN ^{1}H apresentou os sinais correspondentes à formação do produto (Figura 6). Observa-se o dupleto do hidrogênio do carbono α a 6,57 ppm com constante de acoplamento com J = 15,8 Hz condizendo com a configuração trans do ácido trans-cinâmico. Observa-se também, um singleto largo a 4,48 ppm correspondente ao NH_2 hidrazida e comprovando a formação da ligação hidrazídica, o sinal do hidrogênio da amida, o qual encontra-se desblindado, registrado a 9,36 ppm. Podemos também observar os sinais desblindado relacionados aos hidrogênios do anel aromático e também o hidrogênio do carbono β à carbonila, todos entre 7,57 a 7,38 ppm. Além dos sinais que caracterizam o composto desejado, nota-se no espectro a presença de sinais de impurezas, entre 1 e 2 ppm, os quais sugerem resquícios de impurezas de DCU na amostra, e na região dos hidrogênios do anel aromático, resultando em hidrogênio à mais na integral do multipleto entre 7,57 e 7,38 ppm. O produto não teve sua pureza determinada por CLAE, no entanto, o mesmo foi utilizado na próxima etapa de síntese sem posterior purificação, visto a dificuldade de retirada do subproduto (DCU) da amostra, mesmo após purificação por coluna cromatográfica.

O RMN ^{1}H apresentou sinais referente à resíduos do subproduto de reação DCU, região do espectro 0,5 a 2,5 ppm (mais detalhes do RMN ^{1}H podem ser visto na Figura 6 a seguir). O processo de remoção do DCU nesta reação, foi feito por precipitação em ACN a frio, e depois o produto foi isolado por coluna cromatográfica. No entanto, quantidades pequenas de impurezas ainda permaneceram na amostra. O DCU, subproduto da reação, é conhecido por ser de difícil remoção durante a purificação, entretanto deu-se procedência com a metodologia planejada, devido a disponibilidade do reagente em nosso laboratório, pelo baixo custo, além de ser um eficiente reagente acoplante.

Figura 6 –Espectro de RMN ^{1}H do composto **2**

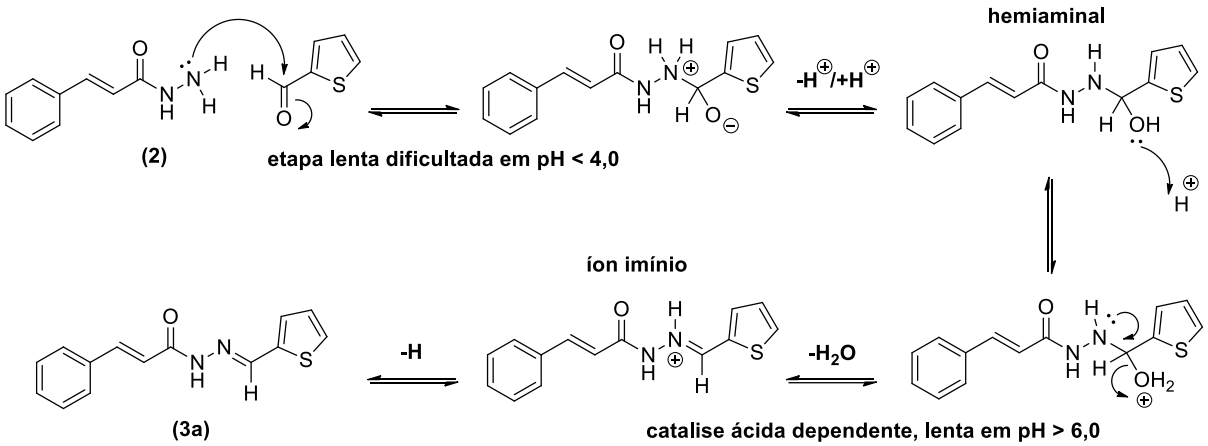


RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6), δ (ppm)

As N-acil-hidrazonas (**3a-l**) sãos formadas pelo mecanismo de formação de iminas (esquema 6). A reação ocorre por meio de uma substituição nucleofílica entre o grupo amina da hidrazida e o carbono carbonílico do aldeído ou cetona utilizada, com perda do oxigênio carbonílico na forma de H_2O. Sendo esta, uma reação reversível, a hidrólise do produto obtido pode ocorrer. As hidrazonas, assim como as iminas, possuem uma dupla ligação (-C=N-), no

mecanismo de formação ocorre primeiro a adição do nucleófilo seguido da liberação do grupo de saída, como no mecanismo citado anteriormente. Nesse caso, a primeira etapa de formação obtém-se um intermediário hemiacetal, o qual sofre desidratação (segunda etapa), formando o íon imínio, por fim dando origem a imina. A segunda etapa é indispensável ser feita por catálise ácida (pH ≤ 6), entretanto, o ácido do meio dificulta que ocorra a primeira etapa (pH ≤ 4), logo, existe uma faixa de pH entre 4-6 ideal para que a reação ocorra. O mecanismo reacional é representado no Esquema 6 a seguir, exemplificado pela reação com o tiofeno-2-carboxaldeído **(3a)** (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012).

Esquema 6: Mecanismo de reação de substituição nucleofílica à carbonila com perda de oxigênio carbonílico, entre cinamoil-hidrazida e aldeídos ou cetonas para formação de N-acil-hidrazonas.



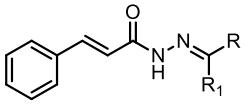
Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 11, p. 231)

Para o processo da reação de formação de imina se faz necessário a acidificação do meio reacional (pH~6,0). A acidificação se faz necessária para que o próton do meio seja adicionado ao grupo hidroxila do intermediário hemiaminal, tornando este, um bom grupo de saída, permitindo assim, a formação da dupla ligação entre nitrogênio e carbono. Neste caso, realizamos a acidificação utilizando H_3CCOOH (1-3 gotas) (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012b).

De acordo com os resultados apresentados na etapa de síntese das N-acil-hidrazonas (Tabela 5), os compostos derivados de aldeídos aromáticos **(3a-f, 3k, 3l)** foram obtidos sem necessidade de aquecimento e a maioria obtidos em poucas horas de reação (duração de 1 a 5 horas). Exceto no caso do **3f** e **3k**, nos quais foi necessário maior tempo de reação (16-18 horas),

provavelmente devido à menor reatividade dos aldeídos pirrolil e indolil, respectivamente. Por consequência, sabendo que as cetonas aromáticas são menos reativas que os aldeídos, na reação utilizando o acetil-2-tiofeno **(3e)**, elevou-se a temperatura para 60 °C no intuito de verificar se com aquecimento brando seria o suficiente para obter curto tempo de reação. No caso, foram necessárias 24 horas para o final da reação do **3e**, logo as demais cetonas foram submetidas a refluxo (90 °C). Entretanto, apenas na reação com 4-piridinocarboxaldeído **(3j)**, reagiu em 1 hora a refluxo, os demais (**3h** e **3i**) reagiram após 24 horas. Com isso, observou-se a diminuída reatividade das cetonas aromáticas quando comparadas com aldeídos na reação de formação de imina. Tal reatividade também refletiu no rendimento das reações, sendo que as reações com aldeídos tiveram maiores rendimentos.

Tabela 5 – Resultados obtidos na etapa de síntese das *N*-acil-hidrazonas, temperatura, duração, rendimento da reação e o solvente de recristalização utilizado.



(3a-l)

	R	R_1	Temperatura (°C)	Duração (horas)	Solvente de recristalização
(3a)	2-tiofenil	H	30	1	EtOH
(3b)	5-NO_2-2-furil	H	30	1	MeOH
(3c)	p-NO_2	H	30	1	MeOH
(3d)	5-NO_2-2-tiofenil	H	30	5	MeOH
(3e)	p-$N(CH_3)_2$	H	30	1	MeOH
(3f)	2-pirrolil	H	30	16	EtOH
(3g)	2-tiofenil	CH_3	60	24	MeOH
(3h)	1-benzodioxolil	CH_3	90 (refluxo)	24	MeOH
(3i)	2-furil	CH_3	90 (refluxo)	24	MeOH
(3j)	4-piridinil	CH_3	90 (refluxo)	1	MeOH
(3k)	3-indolil	H	30	18	MeOH
(3l)	2-furil	H	30	2	MeOH

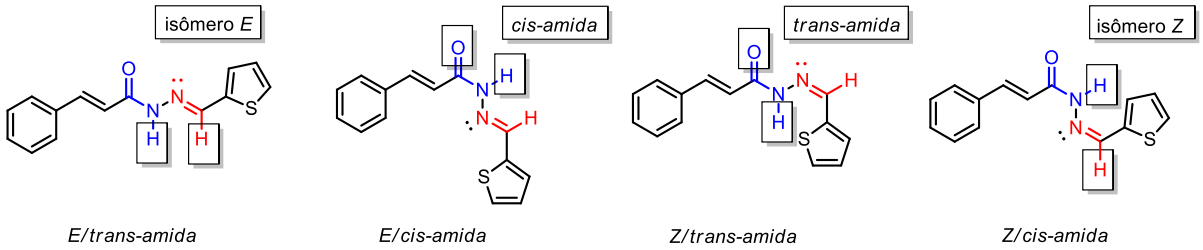
De acordo com a literatura, compostos da classe das N-acil-hidrazonas podem estar presentes como isômeros geométricos *E/Z* da ligação dupla carbono-nitrogênio (-C=N-) ou confôrmeros *cis/trans* da ligação amídica (C(O)-N-). Quanto tratamos de confôrmeros *cis* e

trans, refere-se à rotação espacial que ocorre na ligação simples da amida, relacionando a disposição da carbonila e os substituintes ligados ao nitrogênio da amida. O fenômeno da presença de isômeros em amostras de amidas vem sendo reportado na literatura (DE KONING; VAN OTTERLO; MICHAEL, 2003; LOPES et al., 2013).

Quanto a configuração *E*/*Z*, normalmente, as N-acil-hidrazonas apresentam-se como isômero mais estável o de configuração *E*, pois os isômeros *Z* são desfavorecidos por repulsão estérica. Em estudos fotoquímicos, o isômeros *E* são compostos termodinâmicos estáveis, podendo sofrer isomerização para o isômero *Z* apenas quando estimulada pela luz visível (UVvis), enquanto o isômero *Z*, pode ser isomerizado por UVvis e/ou por aquecimento (BAI et al., 2017; HAMZI; BARHOUMI-SLIMI; ABIDI, 2016; HU; GRICE; LEY, 2012; LOPES et al., 2013; VAN DIJKEN et al., 2015).

Sendo assim, poderíamos obter 4 estruturas diferentes, divididos entre dois confôrmeros (*cis/trans amida*) e dois isômeros (*E/Z*): *E/trans-amida*, *E/cis-amida*, *Z/trans-amida*, *Z/cis-amida*, ilustradas a seguir (Figura 7).

Figura 7 – Estruturas possíveis para os compostos N-acil-hidrazônicos, exemplificado pelo composto **3a**: *E/trans-amida*, *E/cis-amida*, *Z/trans-amida*, *Z/cis-amida*



Fonte: Adaptado de HAMZI; BARHOUMI-SLIMI; ABIDI, 2016.

Uma característica observada inicialmente foi que o registro dos sinais no espectro de RMN esperados para os hidrogênios de formação do produto desejado (-N=CH-; -C(O)NH-), apresentaram-se duplicados. Sendo assim, fez-se a atribuição dos mesmos de forma que somados, correspondessem a um hidrogênio de integral, feito isso, observou-se que os demais sinais correspondiam aos hidrogênios da estrutura de apenas uma molécula.

Contudo, conforme análise do RMN ^{1}H foram obtidos os 12 compostos (**3a-l**), os quais apresentam dois sinais característicos da formação do esqueleto estrutural da *N*-acil-hidrazona: sendo eles, o hidrogênio ácido (desblindado) ligado ao nitrogênio vizinho a carbonila, registrado acima de 10,0 ppm; também é possível observar o hidrogênio do carbono imínico

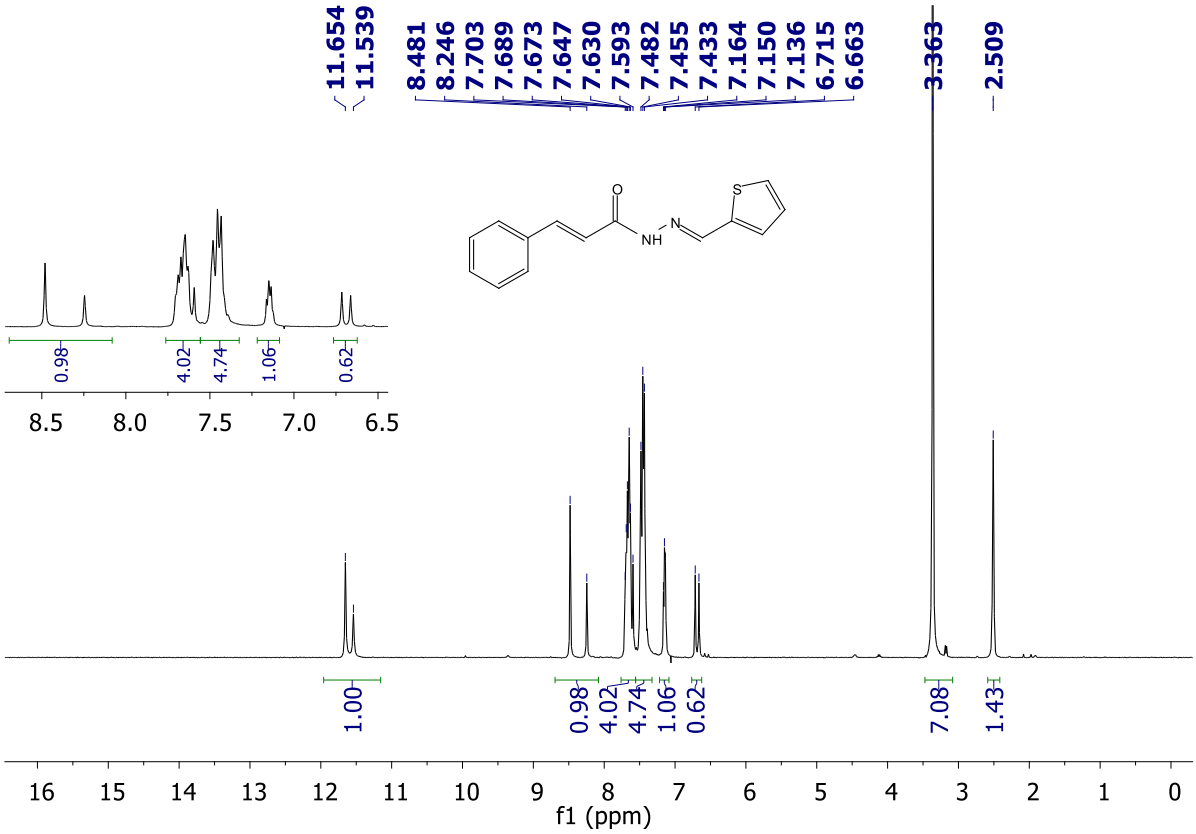
para os compostos obtidos a partir da reação com aldeído (**3a-f, 3k e 3l**), os quais aparecem próximo de 8,0 e 8,5 ppm, e para os compostos obtidos a partir da reação com cetona (**1i-l**), observa-se o sinal correspondente aos 3 hidrogênios da metila no carbono imínico, registrados em torno de 2,0 – 3,0 ppm.

Corroborando com a identificação dos produtos obtidos, observa-se o registro do dupleto dos hidrogênios em posição trans da dupla ligação carbono-carbono, sendo o hidrogênio do carbono α registrado na região do 6,0 – 7,0 ppm e o hidrogênio do carbono β pouco mais desblindado, registrado na região dos hidrogênios aromáticos, em torno de 8,0 ppm, ambos acoplados com uma constante em torno de J = 15,0- 16,0 Hz. Os demais hidrogênios, aromáticos, são registrados entre 7,0 e 8,0 ppm. Como ilustração do espectro de RMN ^{1}H para essa classe de compostos utilizou-se o espectro do composto **(3a)** (Figura 8).

No espectro do composto **3a** é possível observar o hidrogênio hidrazídico (C(O)NH-N) em 11,6 e 11,5 ppm e o hidrogênio imínico foi registrado em 8,48 e 8,25 ppm. Observa-se também o dubleto referente ao hidrogênio do carbono α (Cα-H), em 6,69 ppm, o qual acopla com frequência de J = 15,8 Hz, equivalente constante de acoplamento dos hidrogênios em posição trans- do ácido cinâmico. Acredita-se que o hidrogênio ligado ao Cα-H, sofra interferência dos diferentes confôrmeros da amida, pois o mesmo é registrado com ½ hidrogênio (6,69 ppm), e o outro ½ hidrogênio observa-se no multipleto de 7,48 – 7,43 ppm (Figura 8).

Prosseguindo com identificação estereoquímica da amostra, decidiu-se realizar dois procedimentos. O primeiro, analisar a amostra por RMN ^{1}H em diferentes temperaturas, afim de verificar se o aquecimento da amostra supera barreiras enérgicas de possíveis rotâmeros. O segundo, o experimento de RMN ^{1}H diferencial do efeito nuclear *Overhause* - NOEdiff (do inglês, *Nuclear Overhauser effect* – NOE), o qual verifica a proximidade espacial entre ^{1}H – ^{1}H. Antecipando, acredita-se ter obtido compostos de configuração *E*, e dois possíveis confôrmeros na amostra, sendo eles os rotâmeros *cis-amida* e *trans*-amida (DE KONING; VAN OTTERLO; MICHAEL, 2003; HU; GRICE; LEY, 2012; LOPES et al., 2013).

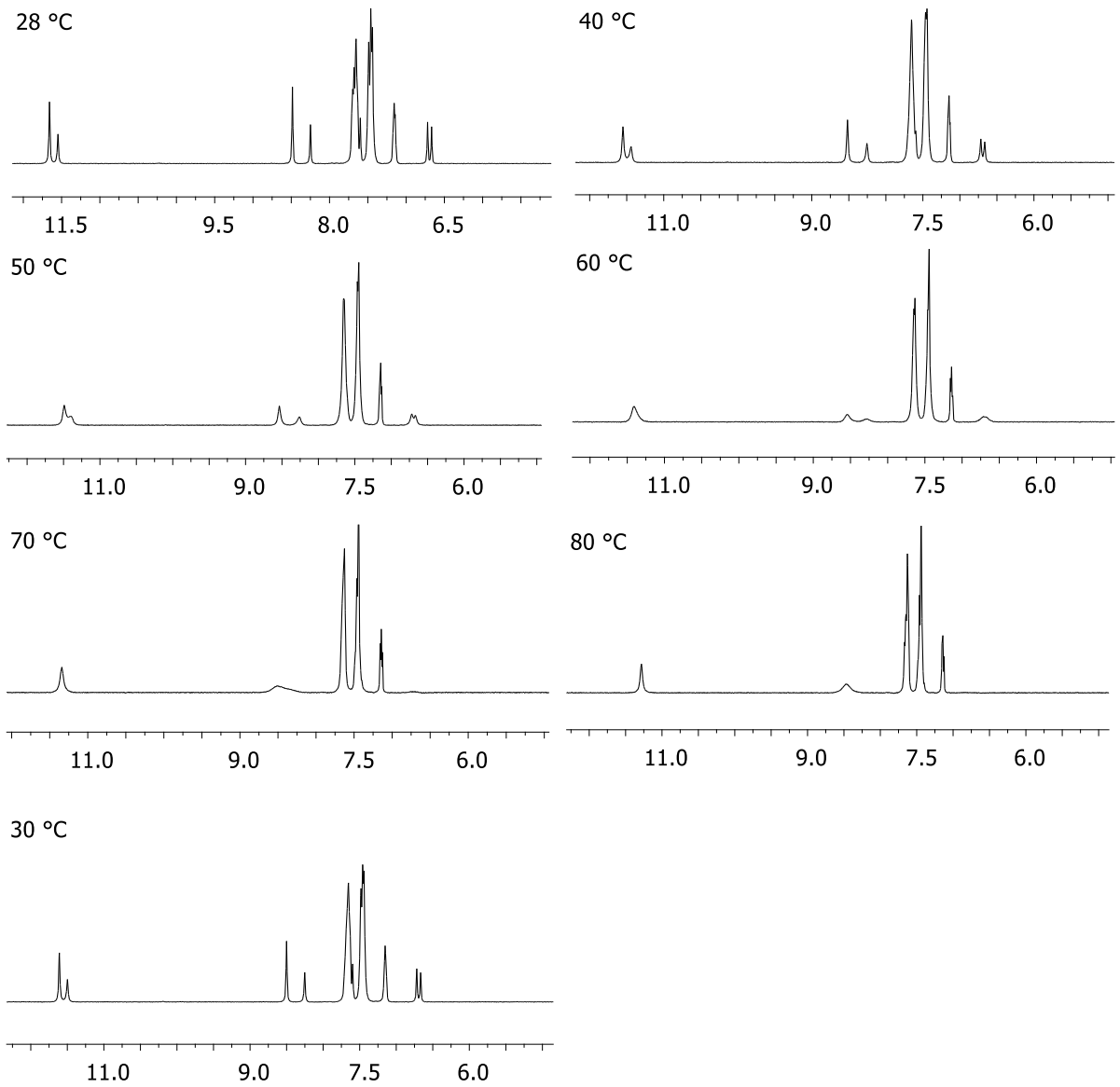
Figura 8 –Espectro de RMN ^{1}H do composto **3a**



RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6), δ (ppm)

Primeiramente, foi feita a análise nas diferentes temperaturas: 28 °C, 40 °C, 50 °C, 60°C, 70°C, 80 °C e por último realizou a análise a uma temperatura de 30 °C. No espectro foram registrados dois singletos desblindados, 11,65 ppm e 11,54 ppm referentes ao hidrogênio hidrazídico (C=ONH) e observa-se também em 8,48 ppm e 8,25 ppm, dois singletos do hidrogênio da ligação imínica, à medida que se aumenta a temperatura, os sinais duplicados coalescem totalmente, e quando retorna-se a temperatura ambiente, os sinais voltam a ser registrados duplicados. Acredita-se que o aquecimento da amostra, supera a barreira de energia rotacional, interconvertendo um confôrmero no outro, indicando-nos a presença de apenas um composto em duas possíveis conformações na amostra (Figura 9) (LOPES et al., 2013).

Figura 9 –Espectro de RMN ^{1}H do composto **3a**, em diferentes temperaturas, 28 °C (temperatura ambiente), 40 °C, 50 °C, 60°C, 70°C, 80 °C e 30 °C.



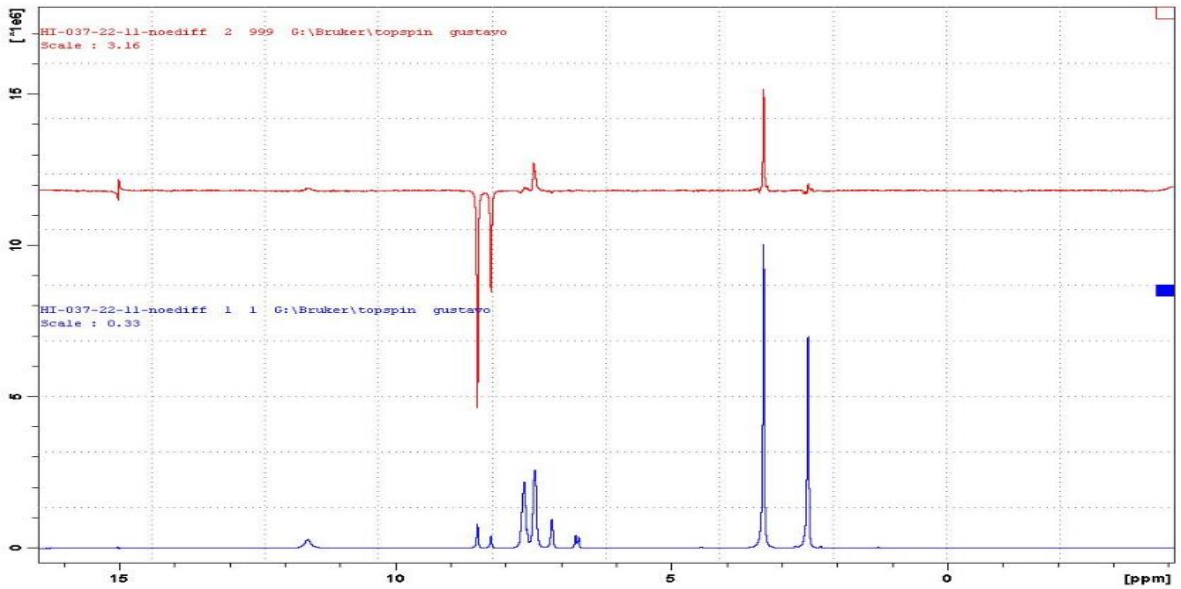
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6), δ (ppm)

Realizamos também a análise de RMN ^{1}H em diferentes temperaturas para os compostos **3f e 3h**, os quais tiveram espectros com as mesmas características que o composto **3a**. Os sinais duplicados coaslescem quando aquecidos (espectros ilustrados em Anexos)

Subsequente, realizou-se a análise de NOEdiff (Figura 10), sendo que nessa análise, irradiou-se o átomo de hidrogênio em 8,48 ppm do carbono imínico, por esse estar

aparentemente estar duplicado. O sinal irradiado muda de fase no espectro, sendo registrado para baixo da linha de base, por consequência, os sinais espectroscopicamente equivalente também mudam de fase, no caso, o sinal em 8,25 ppm, também muda, logo o mesmo corresponde a presença de confôrmeros na amostra e não à presença de diastereoisomeros. Contudo, mais análises serão realizadas para determinação do diastereoisômero das cinaoil-hidrazonas (HU; GRICE; LEY, 2012; LOPES et al., 2013).

Figura 10 –Espectro de NOEdiff do composto **3a**.

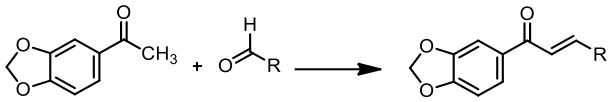


Por fim, de acordo com a análise por *HPLC*, é possível observar a presença de apenas um sinal, corroborando com a presença de confôrmeros da ligação amida das N-acil-hidrazonas. Aferiu-se grau de pureza superior a 95% para 11 análogos, exceto o composto **2b** (76 %) não alcançou a pureza desejada. O composto 1b, segundo a análise por *HPLC* apresentou dois sinais sendo o sinal majoritário equivalente a 76% da área em relação ao sinal minoritário. No entanto, o espectro de RMN ^{1}H, apresentou sinais referentes à estrutura química da molécula idealizada (Anexos), sendo assim, todos foram enviados para ensaio biológico.

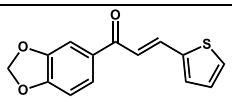
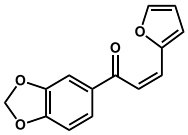
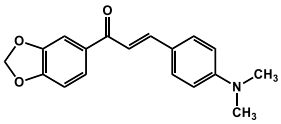
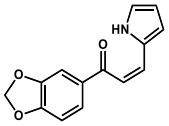
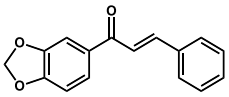
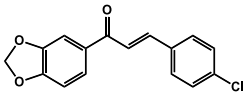
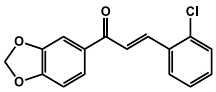
4.1.2 Síntese e caracterização das chalconas

A Tabela 6 a seguir, apresenta o esquema geral de síntese e descreve os resultados de rendimento de reação, CCD (Rf), o ponto de fusão e a pureza por *HPLC* dos compostos obtidos para a classe das chalconas.

Tabela 6 – Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das chalconas, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica.



(4) (5a-g)

	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(5a)		42	HEX 6:4 EtOAc (0,39)	104-106	98
(5b)		80	HEX 6:4 EtOAc (0,20)	104-106	99
(5c)		67	HEX 8:2 EtOAc (0,31)	250 decomp.	93
(5d)		41	HEX 5:5 EtOAc (0,58)	198 decomp.	96
(5e)		45	HEX 7:3 EtOAc (0,60)	96-98	98
(5f)		80	HEX 7:3 EtOAc (0,50)	163-165	97
(5g)		87	HEX 7:3 EtOAc (0,50)	115-117	98

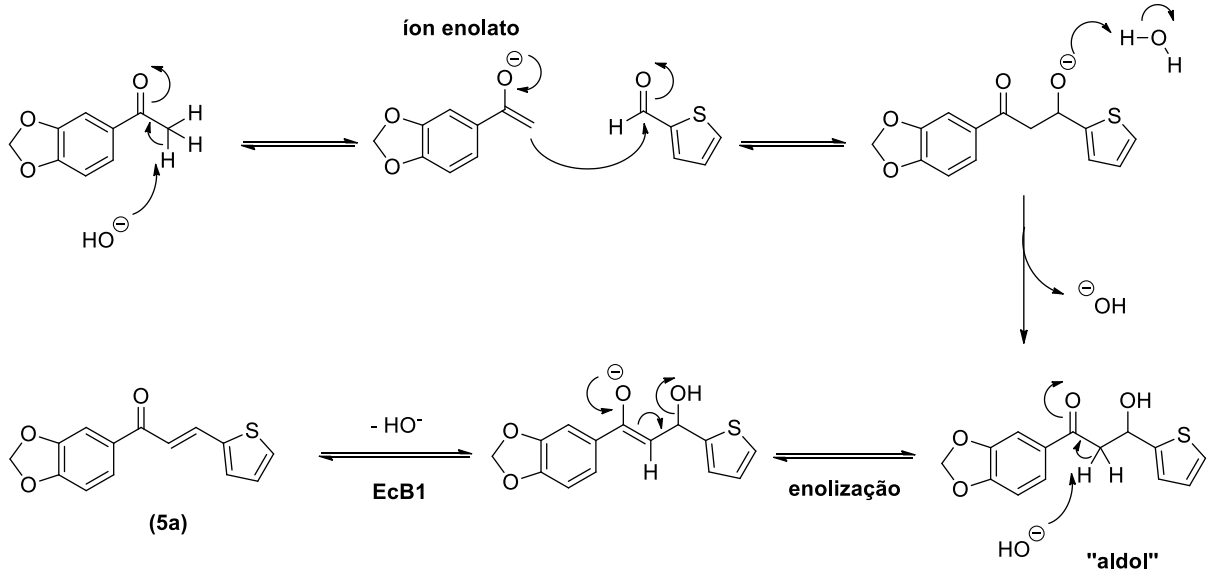
As chalconas (**5a-g**) foram obtidas com sucesso. No processo de síntese foram utilizadas condições brandas, sendo essas: temperatura ambiente e tempo curto de reação (de 1 – 3 horas). Nestas condições consideramos bons os rendimentos alcançados, entre 41% e 87%. Uma exceção foi o análogo pirrólico o qual a reação perdurou por 24 horas para completa formação do produto. Todos os compostos tiveram seu ponto de fusão determinado, com faixa de fusão estreita e valores próximos ao de referência (3 – 5 °C de diferença). Apenas o composto **5c** diferiu da referência, onde obtivemos a decomposição do composto a 250 °C (Ref. 135-137 °C,

(CHIARADIA et al., 2012), entretanto, pelos outros métodos de caracterização foi possível a comprovação do composto desejado. A pureza cromatográfica para esses compostos foi atingida com sucesso (>95%).

A reação de formação de chaconas ocorre pela reação de enolatos com compostos carbonílcos, conhecida como condensação cruzada ou condensação aldólica (Esquema 7). O enolatos são ânios formados de compostos carbonílicos em presença de uma base capaz de desprotonar o carbono α à carbonila, formando uma ligação dupla entre o carbono carbonílico e o carbono α. A base ($^{-}$OH) da reação age como catalisador, sendo que a mesma é regenerada após realizada a reação. O enolato formado é capaz de realizar um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico ocorrendo a formação de "aldol", esse também sofre enolização nas condições da reação resultando em um composto carbonílico insaturado estável.

Normalmente, a eliminação de água a partir de álcool ("aldol") não ocorre em condições básicas, no entanto, a eliminação que ocorre nesse tipo de mecanismo é uma eliminação unimolecular de base conjugada (EcB1), que primeiro acontece pela abstração do próton do C-α gerando um ânion estável, o qual desloca-se para o átomo vizinho liberando o grupo de saída formando uma ligação dupla, resultando em um produto carbonílico α,β-insaturado. O mecanismo da reação aldólica está ilustrado a seguir, utilizando como exemplo o composto **5a** (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012).

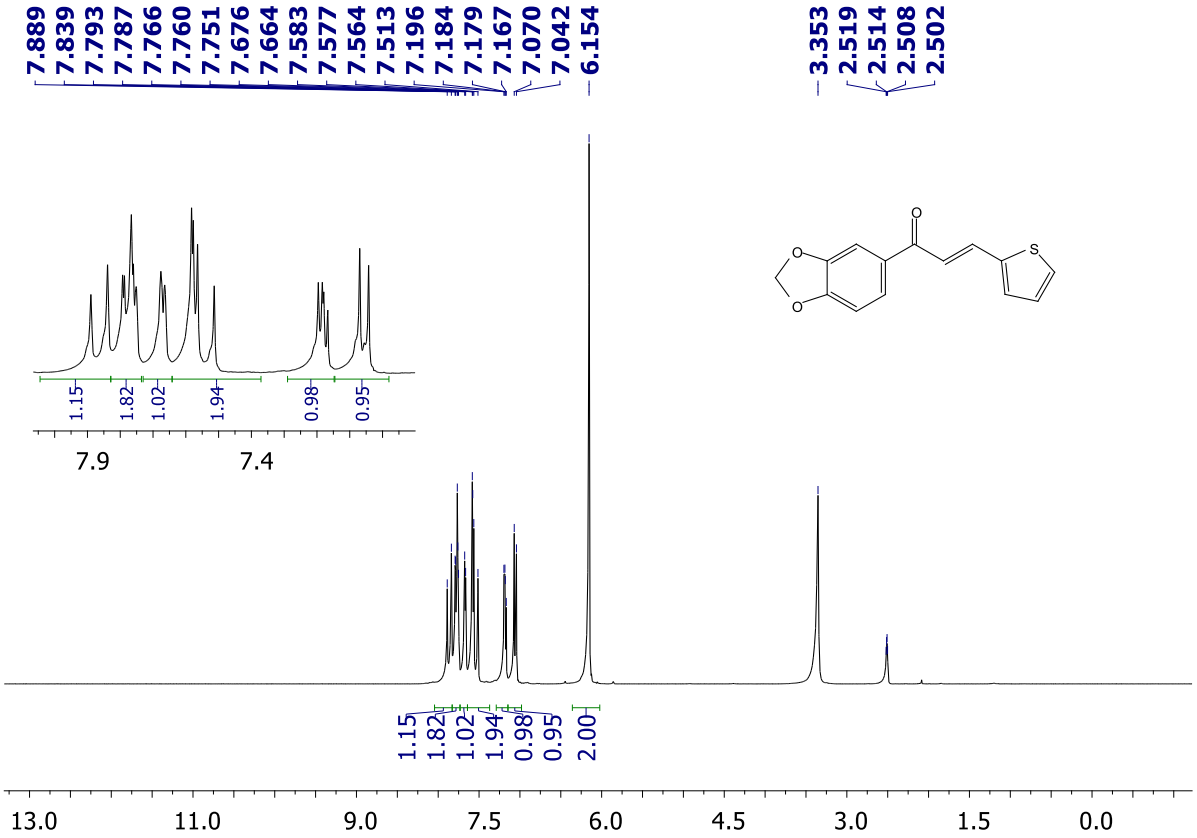
Esquema 7: Mecanismo de condensação cruzada (ou condensação aldólica) entre cetonas aromáticas e aldeídos via formação de íon enolato, entre o 3,4-dimetoxi-acetofenona e tiofeno-2-carboxaldeido para formação da chalcona **5a**



Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 26, p. 619).

De acordo com a análise de RMN ^{1}H, os sinais registrados nos espectros correspondem à formação dos produtos, na Figura 11 a seguir, utilizamos como exemplo o espectro de RMN ^{1}H do composto **5a**. No espectro foi possível observar os sinais de formação da ligação cetona α,β-insaturada através registro de um dupleto desblindado em 7,86 ppm (*J* = 15,2 Hz), correspondente ao hidrogênio do carbono β (C-β) da dupla ligação carbono-carbono e que indica que o composto tem configuração trans (*E*), e o outro dubleto da ligação dupla é registrado em 7,59 – 7,52 ppm, o qual aparece inserido no multipleto junto ao hidrogênio do anel benzodioxólico. Corroborando com a identificação da estrutura, observamos um duplo dubleto em 7,18 ppm (*J* = 3,68 Hz e 4,98 Hz), referente ao hidrogênio ligado ao carbono vizinho ao enxofre do anel tiofênico, enquanto que o sinal referente a ponte metilênica do benzodioxol aparece em 6,15 ppm, como um singleto com dois hidrogênios, indicando a obtenção do derivado chalcona desejado.

Figura 11 –Espectro de RMN ^{1}H do composto **5a**



Os demais compostos da série foram avaliados da mesma forma e o perfil dos espectros de RMN ^{1}H se repete. É comum e amplamente registrado na literatura, que a configuração *trans* é mais estável para essa classe de compostos (BORSARI et al., 2017; MISHRA et al., 2017; RAGHUVANSHI et al., 2019; RASHID et al., 2016; WANARE et al., 2010).

Para esta série, 5 dos 7 compostos apresentaram configuração *trans* (**5a**, **5c**, **5d-g**). No entanto, os compostos **5b** e **5d** apresentaram-se a configuração *cis* como a mais estável na análise de RMN ^{1}H, realizada em DMSO-d6. Tal fato foi atribuído pois os espectros de 5b e 5d não apresentam o mesmo perfil dos demais e também não foi registrado dubletos com J = 15,0 Hz, característicos de hidrogênios de duplas ligações em posição *trans*. Esses análogos possuem ligados ao C-β, o furano (**3b**) e o pirrol (**3d**). Acredita-se que o composto **3d** esteja na configuração *cis* por estar estabilizado por uma ligação de hidrogênio entre o oxigênio da carbonila e o heteroátomo do anel, enquanto que para o composto **3b** serão necessários mais estudos para definir o motivo da confiração *cis* apresentar-se mais estável. Os espectros de ambos estão em Anexos.

Para a série das chalconas também se realizou RMN ^{13}C, os espectros podem ser observados em Anexos. No espectro de RMN ^{13}C desses análogos possui um perfil comum, sendo possível a identificação de apenas um carbono carbonílico na região dos 180 – 190 ppm, o que nos indica que houve a reação, entre aldeído e cetona, sugerindo a formação do produto.

Com isso, além do RMN de ^{1}H e RMN ^{13}C, aferiu-se o ponto de fusão das mesmas, e a pureza por *HPLC*, os quais mostraram-se adequados para a caracterização dos compostos e os mesmos estão sendo avaliados quanto a sua atividade biológica antiparasitária e citotoxicidade humana.

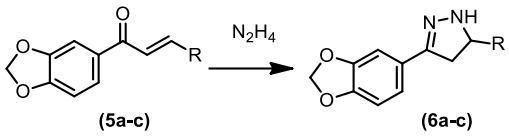
5.1.3 Síntese e caracterização das pirazolinas

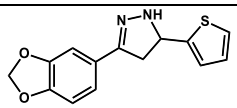
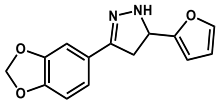
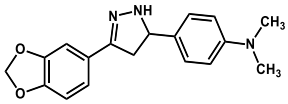
A Tabela 7, apresenta o esquema geral de síntese e descreve os resultados de rendimento de reação, CCD (Rf), o ponto de fusão e a pureza por *HPLC* dos compostos obtidos para a classe das pirazolinas.

Conforme a literatura, a reação de formação de pirazolinas ocorre por meio da mistura dos dois reagentes, a chalcona da etapa anterior e hidrato de hidrazina em solvente polar prótico, sob refluxo (SINGH; RAGHAV, 2013). Os análogos pirazolínicos (**6a-c**), foram obtidos com sucesso, a síntese mostrou-se eficiente, com bons rendimentos (47%, 63% e 76%, respectivamente). A análise de ponto de fusão mostrou que os derivados obtidos se apresentaram aparentemente puros, com faixa de fusão de 2 °C e os sólidos obtidos tinham

forma cristalina. Em relação a pureza dos compostos, os compostos **6a** e **6c** tiveram >95% de pureza, enquanto o composto **6b** (92%). Entretanto, quando analisamos os espectros de RMN ^{1}H, observa-se pequenos sinais na amostra, com característica de impurezas na mesma.

Tabela 7 – Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das pirazolinas, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica.



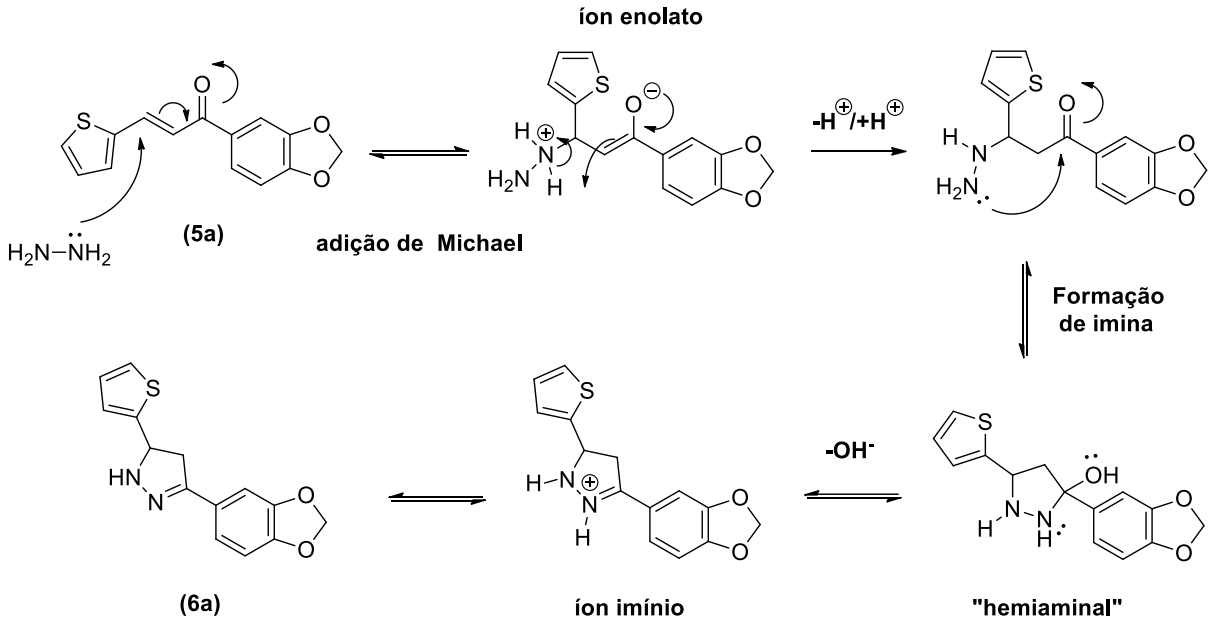
	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(6a)		47	HEX 6:4 EtOAc (0,53)	108 °C decomp.	96
(6b)		63	HEX 8:2 EtOAc (0,52)	93-95	92
(6c)		76	HEX 7:3 EtOAc (0,33)	123-125	98

Conforme os dados de caracterização dos três análogos (**6a-c)**, suspeita-se que os compostos dessa classe sejam instáveis em solução ou em presença de água, visto que o composto **3c** apresentou ponto de fusão com faixa estreita, pureza cromatográfica de 98%, e ainda sim muitos sinais de impureza são observados no espectro de RMN ^{1}H para a mesma substância. Suspeitando dessa instabilidade e futuros problemas com os ensaios biológicos, pois os compostos-teste são solubilizados em DMSO e solução aquosa ou tampão, a série se delimitou apenas a esses três análogos. Decidiu-se envia-los para ensaio biológico para uma triagem inicial afim de verificar se os compostos são promissores, caso sejam, vale-se trabalhar buscando minimizar a possível instabilidade desses compostos.

A reação de obtenção das pirazolinas, acontece a partir da ciclização de chalconas em reação com hidrato de hidrazina. Sugere-se que a reação o etacorra por duas etapas mecanísticas, sendo a primeira, por meio de uma adição de Michael (adição conjugada 1,4), via formação de íon enolato, a qual apresenta mecanismo semelhante ao de formação da chalconas (esquema 7, p. 67) e a segunda etapa procede com mecanismo de formação de imina (Esquema

6, p. 58), onde ocorre o ataque nucleoífilico intramolecular da amina primaria à carbonila (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012; HAWAIZ; OMER; AHMAD, 2012). O esquema 8 a seguir, ilustra o mecanismo sugerido para a formação de pirazolinas.

Esquema 8: Mecanismo simplificado para formação de pirazolinas por meio da ciclização de chalconas e hidrazina (**6a**)

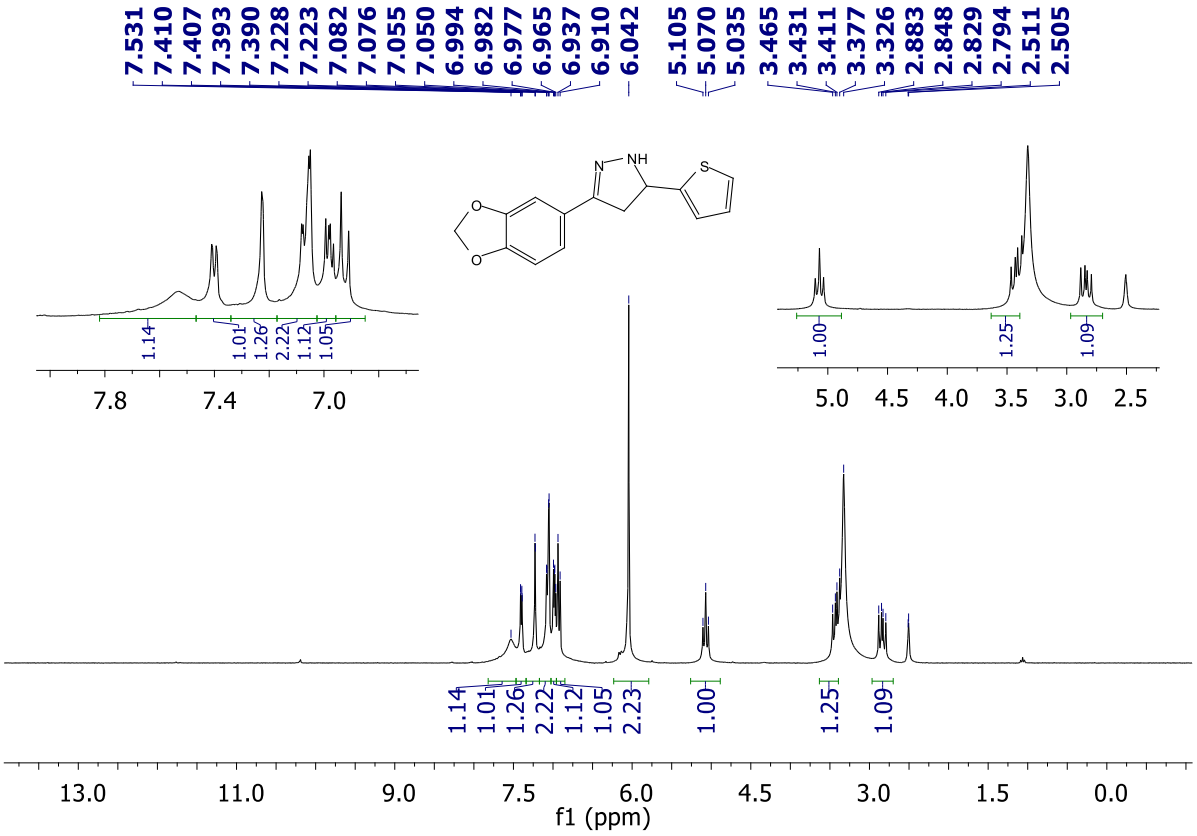


Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 26, p. 614; c. 11, p. 230) e HAWAIZ; OMER; AHMAD, 2012.

De acordo com a análise de RMN ^{1}H, os sinais registrados nos espectros correspondem à formação dos produtos. Na Figura 12, utilizamos como exemplo o espectro de RMN ^{1}H do composto **6a**. No espectro é possível evidenciar a formação do produto desejado, o registro de um tripleto em 5,07 ppm, é referente ao hidrogênio do C-β à imina, o qual acopla com constante de J = 10,4 Hz, a dois sinais, um em 3,44 ppm e outro a 3,84 ppm, ambos sinais são referentes aos hidrogênios do CH_2 da ponte metilênica do anel pirazolínico. O sinal em 3,44 ppm é observado junto ao sinal da H_2O presente no DMSO-d6, enquanto o sinal em 3,84 ppm, registrado como um duplo dubleto com constante de acolamento de J =10,5 Hz, indicando o acoplamento com hidrogênio do C-β à imina. Por fim, observa-se um singleto largo em 7,53 ppm, referente a um hidrogênio do N-H pirazolínico e o desaparecimento do dubleto do C-β da chalcona (J = 15,2 Hz), corrobora com a obtenção da pirazolina.

Os hidrogênios da ponte metilênica da pirazolina foram registrados em diferentes regiões do espectro mesmo estando ligados ao mesmo carbono, esses hidrogênios são denominados diasterotópicos, isso acontece em moléculas que possuem carbono quiral, entretanto não possuem um plano de simetria que intercepta os hidrogênios da ponte metilênica, e com isso os hidrogênios encontram-se em ambientes químicos diferentes, gerando dois sinais em regiões diferentes no espectro (REICH, 2013)

Figura 12 –Espectro de RMN ^{1}H do composto **6a**

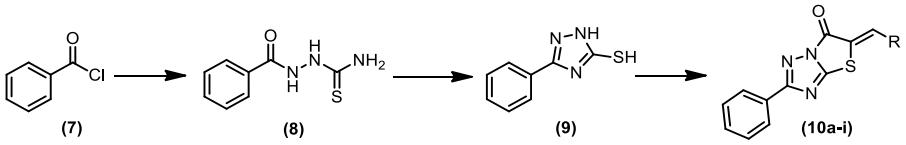


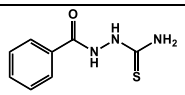
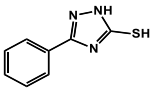
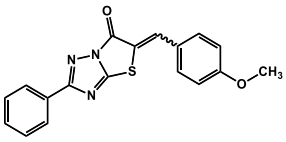
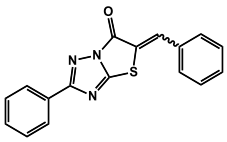
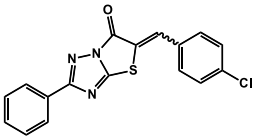
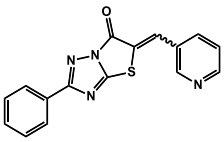
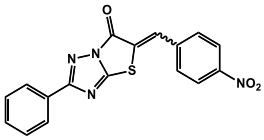
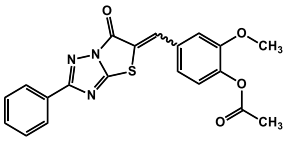
4.1.4 Síntese e caracterização dos compostos tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona

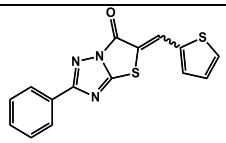
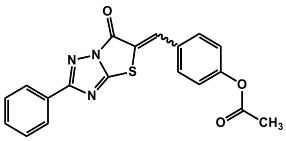
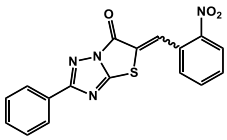
A obtenção dos compostos desta série, teve supervisão do Prof. Dr. Bernhard Wünsch, no período sanduíche realizado nas dependências do *Intitut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität Münster* (WWU Münster) – Alemanha. Para a obtenção dos análogos thiazolo[3,2-*b*][triazol-6(5H)-ona, os compostos foram obtidos de três etapas sintéticas (Esquema 4).

A Tabela 8, apresenta o esquema geral de síntese e descreve os resultados de rendimento de reação, CCD (Rf), o ponto de fusão e a pureza por *HPLC* dos compostos obtidos.

Tabela 8 – Esquema geral de síntese, estrutura dos compostos obtidos da classe das tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona, os resultados obtidos na etapa de síntese, ponto de fusão e pureza cromatográfica.



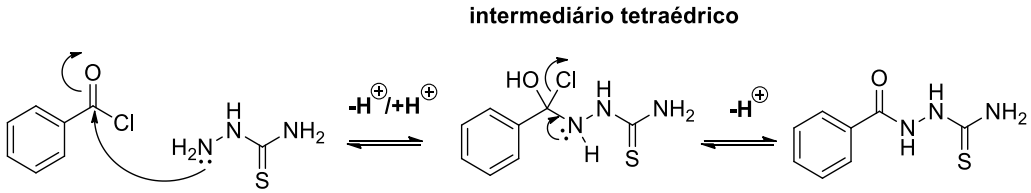
	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(8)		66	EtOAc 9:1 MeOH (0,75)	191-193	-
(9)		94	EtOAc 9:1 MeOH (0,93)	257-259	-
(10a)		42	HEX 3:7 EtOAc (0,60)	236-238	98
(10b)		15	HEX 3:7 EtOAc (0,60)	237-239	97
(10c)		7	HEX 3:7 EtOAc (0,60)	276-278	96
(10d)		30	HEX 3:7 EtOAc (0,30)	228-230	99
(10e)		51	HEX 3:7 EtOAc (0,45)	306-308	96
(10f)		47	HEX 3:7 EtOAc (0,93)	228-230	96

	Molécula	Rendimento (%)	CCD (Rf)	p.f. (°C)	*HPLC* (%)
(10g)		26	HEX 3:7 EtOAc (0,58)	271-273	97
(10h)		26	HEX 3:7 EtOAc (0,62)	202-204	96
(10i)		59	HEX 3:7 EtOAc (0,38)	261-263	92

A síntese do composto **8** foi realizada de acordo com a metodologia de Plumitallo e colaboradores, 2004 e Rivera; Balsells; Hansen, 2006. O produto foi obtido como um sólido branco, com bom rendimento (66%), com duração de 3 horas e foi isolado por meio de extração líquido-líquido. O resultado de ponto de fusão apresentou faixa estreita de temperatura, próximo ao valor de referência relação a referência (198 °C) (PLUMITALLO et al., 2004). Nos espectros de RMN ^{1}H é possível identificar o produto desejado e estimar a ausência de impurezas (Figura 13, a seguir).

A reação ocorre via formação de uma amida, reagindo-se tiosemicarbazida e o cloreto de ácido, por meio de uma substituição nucleofílica à carbonila com perda do cloreto que atua como grupo de saída (CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012). O mecanismo ocorre conforme ilustrado no Esquema 9 a seguir.

Esquema 9: Mecanismo para formação do 2-benzoil-hidrazinocarbotioamide (**8**).

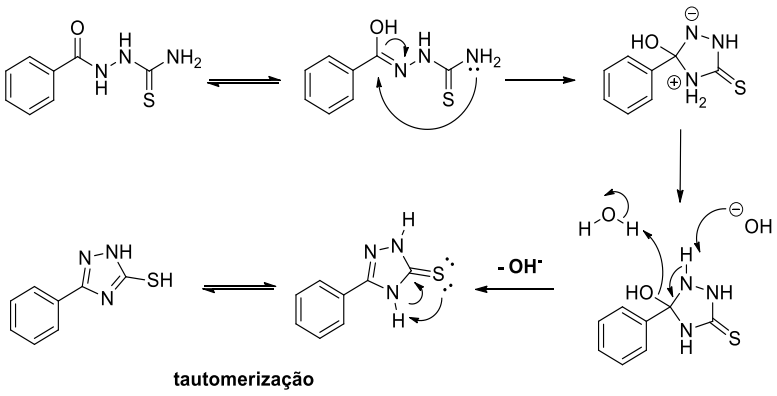


Fonte: Mecanismo de reação adaptado de CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012 (c. 15, p. 347)

A reação de ciclização da n-acil-tiossemicarzida **(8)**, foi realizada de acordo com procedimento da literatura (ALI; BAYOUMI MOSTAFA; SOLIMAN, 1976; BRITSUN et al.,

2005; CURTIS; JENNINGS, 1960). A metodologia mostrou-se adequada, com excelente rendimento (94%), rápida (1 hora) e de fácil isolamento sem necessidade de purificação posterior. Ao fim da reação o sólido branco formado foi filtrado e lavado com H_2O. A análise de ponto de fusão corrobora com a literatura (257-259 °C). Pela análise e RMN ^1H e ^{13}C, comprovou-se a obtenção do produto e foram discutidos a seguir (Figura 13). O mecanismo de formação do composto **9** não foi encontrado descrito na literatura, porém por meio de mecanismos de compostos semelhantes, sugeriu-se o mecanismo ilustrado a seguir no Esquema 10 (BERMEJO et al., 2016; CRETU et al., 2010; CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012). Acredita-se que o mecanismo ocorra por meio de uma substituição nucleofílica intramolecular da amina primária no carbono carbonílico, em meio básico, formando o 3-fenil-1H-1,2,4-triazolo-5-tiol **(9)**.

Esquema 10: Mecanismo sugerido para formação do fenil-1H-1,2,4-triazolo-5-tiol (**9**)

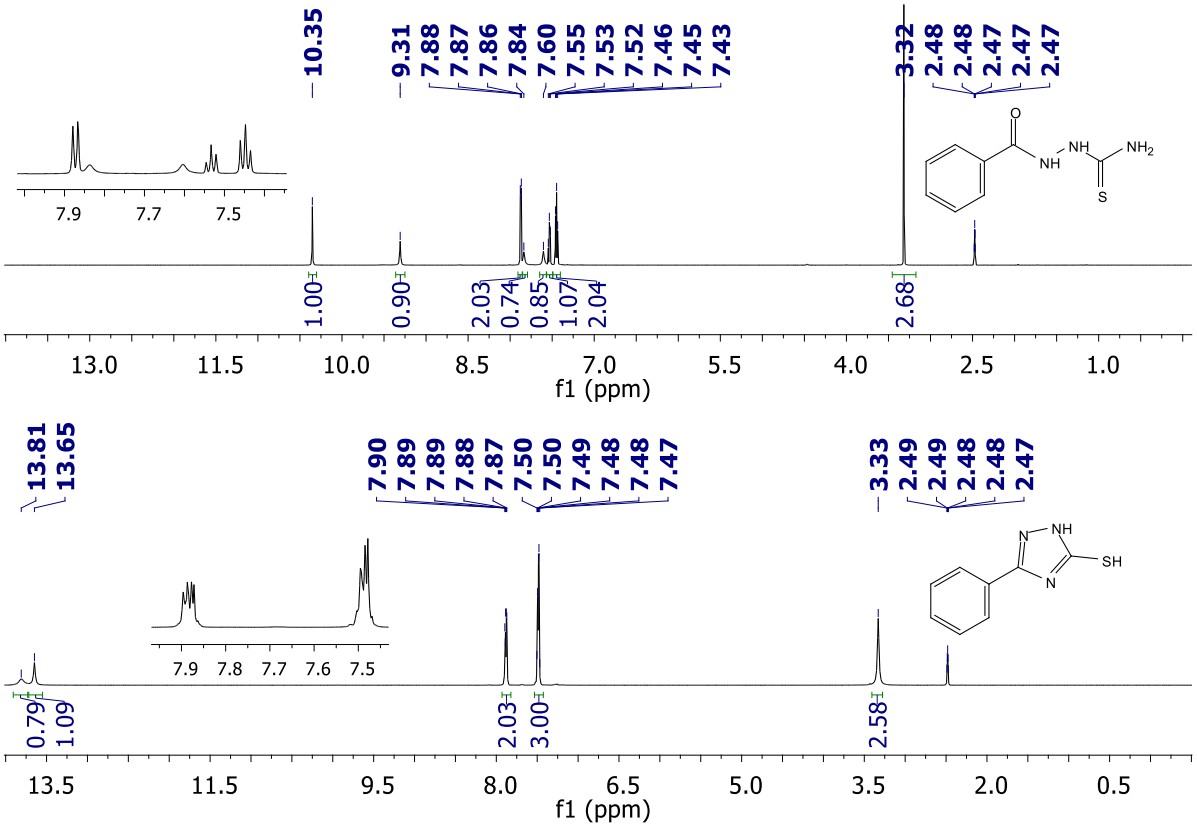


Os espectros de RMN ^1H, para os compostos **8** e **9** estão compilados na Figura 13, a seguir. De acordo com os espectros, a formação do produto **8** é evidenciada pelo registro dos sinais de um hidrogênio ligado ao nitrogênio vizinhos à carbonila e o vizinho a tionila, em 10,3 ppm e 9,31 ppm, respectivamente. Observa-se também os sinais do anel aromático entre 7,00 e 8,00 ppm e dois outros sinais nessa região registrados como singleto largo (ou banda), um 7,84 ppm e outro em 7,60 ppm. Tais sinais referem-se aos hidrogênios da amina primária vizinha a tionila, os quais são registrados em campo diferente pois um deles está sobre a influência do átomo de enxofre mais fortemente que o outro, alterando o ambiente espacial dos hidrogênios da amina primária de forma diferente, resultando em dois sinais.

O espectro de RMN ^1H do composto **9**, Figura 13 (espectro inferior), evidencia a formação do produto pois percebe-se o deslocamento dos hidrogênios ligado ao nitrogênio

vizinhos à carbonila e o vizinho a tionila do composto **8** para campo mais baixo, sendo registrado no espectro do composto **9** dois singletos mais desblindados em 13,5 e 13,8 ppm. Por ser uma molécula que possui um sistema ressonante complexo entre os heteroátomos do anel aromático, não podemos afirmar em quais átomos os hidrogênio desblindados estão ligados por meio dessa análise, entretanto acredita-se que a molécula esteja na forma ilustrada no espectro (Figura 13), e que o hidrogênio em 13,8 ppm, um pequeno singleto largo, esteja ligado ao enxofre (-SH), e o sinal em 13,8 ppm, um singleto mais fino, esteja ligado ao nitrogênio vizinho ao outro nitrogênio do anel triazólico (-N-NH-). Ainda assim, os sinais dos hidrogênios da amina primária desaparecem no espectro de **9**, indicando que houve a ciclização da molécula.

Figura 13–Espectro de RMN ^{1}H dos compostos **8** (superior) e **9** (inferior)



Conforme os resultados de RMN ^{1}H, os compostos **8** e **9** foram obtidos com sucesso, logo procedeu-se com a obtenção dos compostos **10a-i**.

Os compostos foram sintetizados a partir de uma reação multicomponente (três componentes), realizadas em tempo curto de reação (de 1 – 3 horas), a altas temperaturas (110 °C) porém sem necessidade de procedimentos laboriosos de extração e purificação. O

isolamento do produto é feito por filtração a pressão reduzida e a purificação dos mesmos foi feita por recristalização em ácido acético. Apesar deste ser um solvente não muito comum para realizar a recristalização, o mesmo mostrou-se muito eficiente, visto que os produtos foram obtidos em pureza adequada maior que 95%, exceto para o composto **10i** (92%).

Como ponto negativo, as reações tiveram baixo rendimento, a maioria abaixo de 50% (7% – 59%), porém por ser uma reação multicomponente, acredita-se que tais valores sejam aceitáveis. Outro problema encontrado foi em relação a baixa solubilidade de alguns análogos (solúveis em DMSO e pouco solúveis em $CHCl_3$, com algumas exceções), dificultando as análises de RMN e *HPLC*, como no caso da análise de *HPLC* dos compostos **10a, 10c, 10e e 10g,** para os quais obtivemos sinais de baixa intensidade. No entanto apesar da análise de *HPLC* apresentar tais problemas, acredita-se que o cálculo de pureza dos compostos não tenha sido comprometido, pois as outras análises de caracterização indicam estarmos tratando com compostos com pureza adequada, ponto de fusão com estreita faixa de fusão e RMN de alta frequência não apresentarem sinais impurezas.

A fim de contornar tal problema, a medida que foi observado da baixa solubilidade de alguns análogos, como os compostos **10c** (4-Cl-fenil) e **10e** (4-NO_2-fenil), a proposta dos análogos foi conduzida visando o aumento da solubilidade dos mesmos, como exemplo, análogos acetil-substituídos (**10f** e **10h**) e piridínico (**10d**), resultaram numa melhoria desta propriedade.

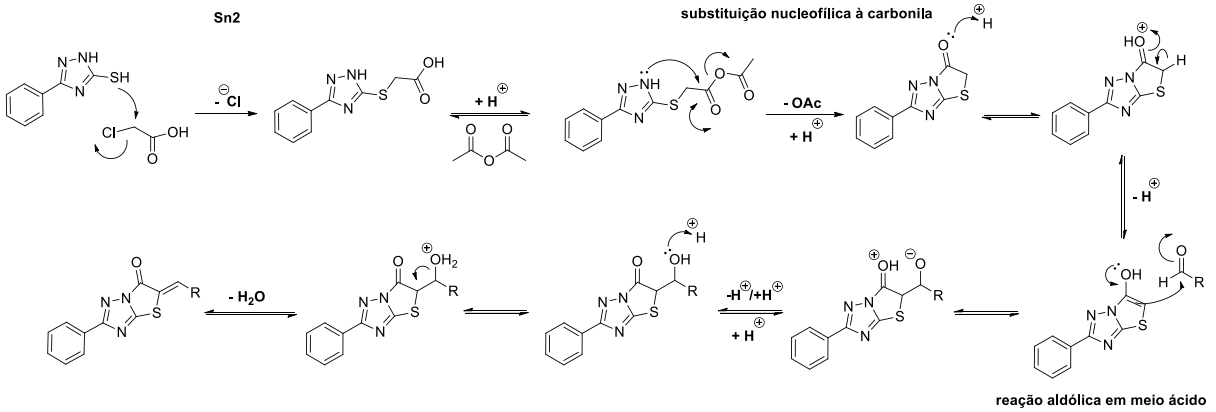
Por último, por reação multicomponente entre **9**, ácido-2-cloroacético e aldeídos aromáticos, em presença de anidrido acético, acetato de sódio e ácido acético, obtemos os análogos esqueleto tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona.

As reações multicomponentes têm recebido atenção pelos químicos medicinais, na síntese de moléculas bioativas. Por definição, as reações multicomponentes, são processos que envolvem mais de dois reagentes originando uma molécula que contenha a maioria dos átomos empregados. No caso, utilizamos uma reação multicomponete do tipo dominó, que todos os reagentes da reação são adicionados juntos desde o início da reação. A reação começa por meio de materiais iniciais simples e dão origem a esqueletos privilegiados de estrutura complexa. Entre as vantagens desse tipo de reação estão a redução dos números de etapas de procedimentos de purificação, a simplicidade de operação, a eficiência energética (reações com tempos reduzidos), e em alguns casos pode envolver a química sustentável e a química “verde” (BANERJEE, 2017; LEVI; MÜLLER, 2016)

Apesar de encontrar informações sobre síntese e caracterização para compostos da classe, o mecanismo de reação envolvido nesta última etapa não foi encontrado na literatura.

Alguns autores sugerem o mecanismo para moléculas semelhantes, e com base nisso, acredita-se que os seguintes mecanismos possam estar envolvidos na reação: substituição nucleofílica do grupo tiol ao cloreto de ácido; ciclização do esqueleto tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona por substituição nucleofílica à carbonila catalisado por anidrido acético em meio ácido (via enolato) e adição aldólica (ALI; BAYOUMI MOSTAFA; SOLIMAN, 1976; CRETU et al., 2010; CLAYDEN, GREEVES, WARREN, 2012). O esquema do mecanismo sugerido está ilustrado a seguir no esquema 11.

Esquema 11: Mecanismo para formação da tiazolo[3,2-b][triazol-6(5H)-ona (**10a-i**).

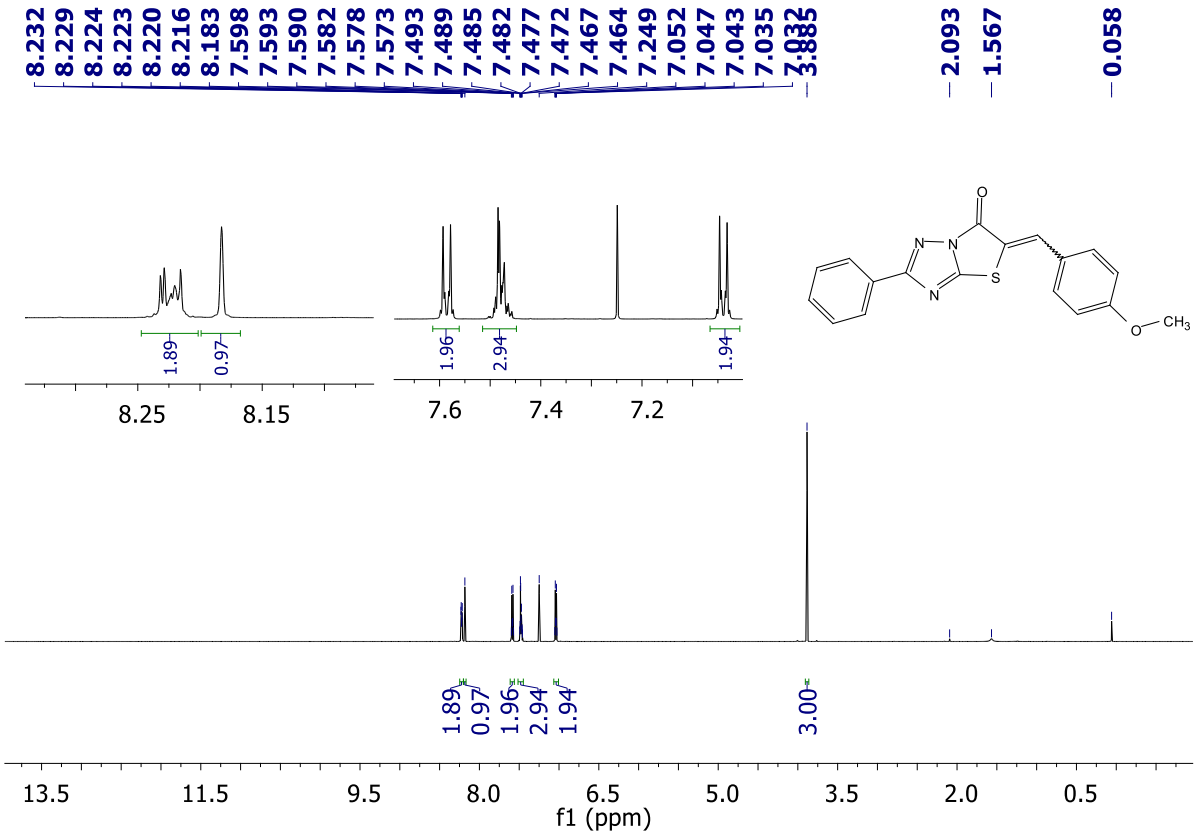


A identificação dos compostos foi feita por RMN ^{1}H, como ilustração utilizamos o espectro de RMN ^{1}H do composto **10a** como modelo desta série (Figura 14). Conforme o espetro, podemos observar o sinal em 3,88 ppm com 3 hidrogênios referente a metila (-OCH_3), os sinais do anel aromático ligado ao triazol, 3 hidrogênios entre 7,45 – 7,50 ppm, e dois hidrogênios entre 8,20 e 8,25 ppm, observamos dois dubletos do anel para substituído em 7,25 ppm e 7,60 ppm, e por fim, confirmando a obtenção do produto, o hidrogênio da ligação dupla é registrado como um singleto com um hidrogênio em 8,18 ppm. A seguir a Figura 14 ilustra o espectro de RMN ^{1}H do composto **10a**.

Nos espectros de RMN ^{1}H de todos os compostos dessa série, é possível observar sinais na região de 2,0 ppm, que se referem a presença de resíduos de ácido acético, e a remoção desses resíduos foram de difícil remoção (FULMER et al., 2010). Os resíduos são oriundos da purificação por recristalização em ácido acético, que apesar de não ser um solvente comum para esse tipo de purificação, foi o único que viabilizou a recristalização. Outros solventes foram testados, como EtOH, MeOH, ACN, isopropanol e tolueno, entretanto não foram eficazes.

Logo, foi necessário que todos os compostos após recristalização fossem submetidos a bomba de alto vácuo por um período mínimo de 24 horas para garantir a total remoção do ácido acético.

Figura 14–Espectro de RMN ^{1}H do composto **10a**



De todos os compostos sintetizados, alguns estão reportados na literatura e a esses comparou-se os dados de caracterização para confirmação das moléculas, os demais compostos não reportados na literatura (inéditos) ou sem dados de caracterização, vão ser submetidos a completa caracterização por infravermelho (IV), cromatografia gasosa ou cromatografia líquida acoplado à espectro de massas (CG-EM ou CL-EM) e espectrometria de massas de alta resolução ou análise elementar para as moléculas inéditas.

Contudo, os procedimentos sintéticos aplicados e as metodologias de caracterização utilizadas permitiram a elucidação das estruturas em questão. A determinação de pureza dos compostos planejados mostrou-se suficiente, sendo possível a submissão dos mesmos para a avaliação da atividade biológica e citotoxicidade.

4.2 Avaliação biológica

Conforme as metodologias descritas no item 4.2.3 deste trabalho, todos os compostos foram enviados à avaliação antiparasitária e estudo de citotoxicidade. Contudo, serão discutidos apenas os resultados obtidos para os compostos **3a-l** da classe das N-acil-hidrazonas frente as atividades em leishmanicida e tripanomicida.

A avaliação biológica frente ao parasita do *Plasmodium falciparum*, assim como a avaliação dos compostos **5a-g**, **6a-c** e **10a-i** frente a todos os parasitas objeto de estudo deste trabalho está sendo realizado, porém não foram concluídos. No entanto, decidiu-se manter as informações quanto ao levamento bibliográfico, planejamento, síntese e avaliação biológica dos compostos citados acima e da avaliação biológica contra o *Plasmodium falciparum*, pois a proposta do trabalho se embasa num conjunto de informações contendo todos esses tópicos. Acredita-se que os dados metodológicos de avaliação *in vitro* e resultados experimentais de síntese sejam de utilidade para pesquisas no campo e servem de fonte para os interessados no tema. As expectivas quanto a atividade antiplasmodial dos derivados obtidos neste trabalho, se baseiam em resultados anteriores obtidos em nosso grupo, no qual derivados sulfonil-hidrazônicos, bioisósteros dos compostos aqui apresentados, apresentaram excelente atividade contra cepas resistentes e não resistentes a cloroquina no *P. falciparum* (GATTI, 2015).

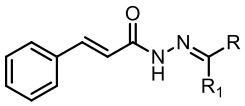
Sendo assim, todas as N-acil-hidrazonas foram triadas *in vitro* em cultura de células leucêmicas de macrófagos humanos diferenciados (THP-1) infectados com as formas amastigotas intracelular de *Leishmania infantum.* Os compostos foram triados em diluições seriadas (2 vezes) para determinação da concentração inibitória a 50% (IC_{50}), utilizando como concentração máxima 64 µM e como concentração mínima 0,12 µM. O fármaco de referência para análise comparativa foi a miltefosina (IC50 = 0.45 ± 0.02 µM). Também foi feita a triagem em culturas de células leucêmicas de macrófagos humanos diferenciados (THP-1) não infectados para avaliar a seletividade dos compostos, neste caso utilizou-se como controle positivo o fármaco doxorrubicina (CC_{50} = 0,26 ± 0,04). O índice de seletividade (IS) foi calculado pela divisão dos valores de CC_{50} em THP-1 pelo IC_{50} de amastigotas intracelulares de *L. infantum*. O IS nos indica o quanto um composto é seletivo, e quanto maior o IS, menor é a probabilidade de o composto causar citotoxicidade, podendo ser considerada com importante métrica de segurança.

Realizou-se também a triagem *in vitro* em culturas celulares de promastigotas de *Leishmania donovani* (MHOM/ET/67/HU3). Os testes utilizaram diluições seriadas (3 vezes)

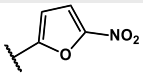
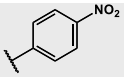
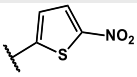
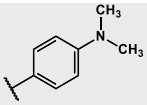
para determinação do IC_{50}, concentração máxima de 50 µM e concentração mínima de 0,07 µM. O fármaco de referência utilizado foi a Anfotericina B (IC_{50} = 0,12 µM).

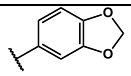
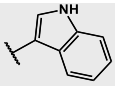
Avaliou-se, ainda, os compostos quanto a atividade tripanomicida. Este foi realizado *in vitro* em culturas de *Tripanosoma cruzi* (Tulahuen LacZ) entre as concentrações de 0,13 µM (concentração mínima) e 100 µM (concentração máxima). Os compostos foram testados em diluições seriadas para determinação da concentração inibitória a 50% (IC_{50}), e utilizou-se como referência benznidazol (IC_{50} = 4,49 µM). Os resultados obtidos dos ensaios celulares estão dispostos na tabela 9.

Tabela 9 – Resultados dos ensaios celulares realizado para os compostos da classe das N-acil-hidrazonas (**3a-l**). Estrutura geral dos compostos com seus substituintes, concentração inibitória 50% (IC_{50}) para os ensaios em *L. infantum*, *l. donovani* e *T. cruzi*, concentração citotóxica 50% (CC_{50}) e índice de seletividade calculado.



(3a-l)

	R	R_1	IC_{50} (µM) amastigotas intracelulares (*l. infantum*)	IC_{50} (µM) promastigotas (*l. donovani*)	IC_{50} (µM) amastigotas (*T. cruzi*)	CC_{50} (µM) THP-1	Índice de seletividade[a]
(3a)		H	19,24 ± 0,38	1,27 ± 0,52	>100	35,25 ± 6,09	1,68
(3b)		H	9,09 ± 0,24	>50	>100	8,83 ± 0,17	0,97
(3c)		H	>64	>50	>100	ND	-
(3d)		H	23,04 ± 0,13	>50	>100	ND	-
(3e)		H	63,25 ± 1,45	2,34 ± 0,76	>100	89,47 ± 6,49	1,41
(3f)		H	37,58 ± 4,47	>50	>100	44,88 ± 1,49	1,19
(3g)		CH_3	12,45 ± 0,27	>50	>100	13,55 ± 1,01	1,08

	R	R_1	IC_{50} (µM) amastigotas intracelulares (*l. infantum*)	IC_{50} (µM) promastigotas (*l. donovani*)	IC_{50} (µM) amastigotas (*T. cruzi*)	CC_{50} (µM) THP-1	Índice de seletividade[a]
(3h)		CH_3	29,78 ± 1,25	>50	>100	37,90 ± 1,30	1,27
(3i)		CH_3	>64	>50	>100	ND	-
(3j)		CH_3	14,31 ± 1,32	>50	>100	ND	-
(3k)		H	36,55 ± 0,75	19,53 ± 1,05	>100	16,96 ± 0,73	0,46
(3l)		H	59,51 ± 1,71	13,68 ± 0,85	>100	ND	-
	miltefosina		0,45 ± 0,02	-	-	-	-
	anfotericina B		-	0,12	-	-	-
	benznidazol		-	-	4,49	-	-
	doxorubicina		-	-	-	0,26 ± 0,04	-

Os dados são mostrados como média ± DP (n = 2 replicatas biológicas)

ND: não determinado

[a] Índice de seletividade = CC_{50} (THP-1) / IC_{50} de amastigotas intracelulares de *L. infantum*.

Os ensaios contra parasita do gênero *Leishmania*, foram realizados contra as formas promastigotas, o estágio infectante e amastigotas, as formas intracelulares do parasita. Considera-se as formas amastigotas clinicamente mais relevantes, visto que se reproduzem no macrófago, podendo romper a célula e infectar as células dos arredores. Todavia, a obtenção da atividade frente as duas formas do parasita nos dispõem de informações importantes para poder guiar-nos a elucidar os mecanismos de ação dos compostos avaliados (ORTEGA et al., 2019).

De acordo com a tabela 9, os compostos testados exerceram maior influência nas cepas de amastigota e nas células não infectadas de macrófago humano, sendo 10 dos 12 compostos apresentaram IC_{50} inferior a 64 µM no parasita, exceto os compostos **3i** e **3c**, no entanto, 7 dos 12 também foram citotóxicos (**3a**, **3b**, **3e-h**, **3k**) .

Os compostos apresentaram atividade considerável frente a forma amastigota, na escala baixo micromolar (IC_{50} < 65 µM), mesmo sendo menos ativos que o fármaco de referência miltefosina. A atividade dos compostos variou de 9,09 µM a 63,25 µM, dentre os mais ativos, os compostos **3b**, **3g** e **3j**, apresentaram valores de IC_{50} inferiores a 20 µM. Já os compostos

menos ativos foram **3c**, **3e**, **3i** e **3l**, com valores de IC_{50} superior 40 µM, e os demais compostos, **3a**, **3d**, **3f**, **3h** e **3k**, tiveram atividade intermediária, entre 20 – 40 µM.

Em relação a toxicidade dos compostos, obtivemos valores de CC_{50} entre 8,83 – 89,47 µM, sendo que 5 dos 12 compostos não foi possível determinar o CC_{50} (**3c**, **3d**, **3i**, **3j** e **3l**). Entre os compostos mais tóxicos estão os compostos **3b**, **3g** e **3k**, com IC_{50} = 8,83 µM, 13,55 µM e 16,96 µM, respectivamente. O composto menos tóxico foi o composto **3e**, com IC_{50} = 89,47 µM. Quanto ao índice de seletividade, os resultados obtidos não foram muito promissores, com valores entre 1,0 e 2,0, o que nos indica que os compostos não são seletivos e não são seguros. Apesar disso, além dos compostos apresentarem boa atividade na forma clinicamente interessante do parasita *Leishmania infantum*, os mesmos tiveram valores de CC_{50} melhores que os valores do fármaco de referência (doxorrubicina – CC_{50} = 0,26 ± 0,04), não descartando tais composto como possíveis protótipos.

Ao compararmos os dados de IC_{50} do ensaio em amastigota e o CC_{50}, os compostos dessa classe apresentam uma relação direta entre a atividade e a citotoxicidade, sendo que os compostos mais ativos (**3b** e **3g**) foram também os mais citotóxicos, e o menos ativo (**3e**), o menos tóxico, o que nos sugere que a atividade leishmanicida desses compostos esteja envolvida em algum mecanismo de morte celular e a existência de uma relação entre a atividade leishmanicida e a reatividade dos compostos do estudo.

Avaliando a diferença estrutural entre os compostos em relação à atividade dos mesmos, algumas características podem ser observadas. Os compostos originados de cetonas aromáticas (**3g-j**), os quais possuem uma metila na ligação imínica apresentaram boa atividade (IC_{50} < 20 µM). Uma exceção foi o composto **3i**, substituído com o anel furano e metila na ligação imínica, o qual não apresentou atividade. Em contrapartida, o outro análogo substituído apenas com o anel furano (**3l**) também apresentou baixa atividade (IC_{50} = 59,51 µM), o que nos permiti inferir que tal metila na ligação imínica favorece a atividade leishmanicida, enquanto o anel furano interfere negativamente na atividade dos compostos.

Quanto aos compostos substituídos com anel tiofênico (**3a** e **3g**), ambos foram ativos com IC_{50} = 19,24 µM e 12,45 µM, respectivamente, sugerindo que tal substituinte favoreça a atividade. Em relação aos compostos nitro-aromáticos (**3b**, **3c** e **3d)**, observou-se que os nitro-aromático de 5 membros favorecem a atividade, enquanto o 4-nitro-fenil, desfavorecem. Os compostos substituídos com pirrol (**3f**) e indol (**3k**), obtiveram uma atividade intermediária, porém menor que os mais ativos da série. Por fim o composto menos ativo e menos tóxico (**3e**) com o substituinte 4-fenil-dimetilamina, apresentou-se com menor influência na atividade.

No que se refere aos ensaios nas formas promastigotas de *L. donovani*, dos 12 compostos 4 foram ativos, sendo eles o composto **3a, 3e, 3k e 3l** com IC_{50} = 1,27 µM, 2,34 µM, 19,53 µM e 13,68 µM, respectivamente. Os valores de atividade foram de baixo micromolar (IC_{50} entre 1,27 e 19,53 µM), que apesar de não atingir o valor de atividade do fármaco referência (anfotericina B – IC_{50} = 0,12µM), os mesmos mantiveram atividade equivalente ao protótipo mais ativo, com IC_{50} = 6,9 µM (protótipo **XII –** figura 3**)**, sendo os compostos **3a** e **3e** os mais ativos. Dentre esses, o composto **3e**, substituído com o anel 4-fenil-dimetilamina, mostrou-se mais promissor frente as formas promastigotas pois também apresentou baixa toxicidade (CC_{50} = 89,47 µM). Em relação a diferença estrutural e a atividade dos compostos dessa série não foi possível verificar a influência da substituição no carbono imínico, seria necessário estudos mais específicos quanto as propriedades eletrônicas desses análogos para verificar o que está favorecendo a atividade leishmanicida e a reduzida toxicidade.

Em relação ao ensaio de atividade frente ao parasita *T. cruzi*, os compostos da série não apresentaram atividade (IC_{50} > 100 µM). Um ponto notável é que, com base no mecanismo de ação esperado para essa classe de compostos, uma vez que são aceptores de Michael, esperava-se que eles fossem ativos para ambos os protozoários por inibição covalente de resíduos nucleofílicos catalíticos de biomoléculas do parasita. No entanto, como pode ser observado nenhum composto foi eficaz contra *T. cruzi*, sugerindo que o bioisosterismo do grupo aril ligado ao carbono imínico pode fornecer um perfil seletivo para a atividade leishmanicida. Esses resultados se apresentam como positivo vista que temos seletividade para um dos parasitas, tornando esses compostos um ponto de partida na otimização e busca de novos agentes leishmanicidas.

5 CONCLUSÕES

Para a presente tese, o planejamento e síntese das moléculas foi realizado com a finalidade de obtenção de quatro classes de compostos distintas, no intuito de avaliar a atividade antiparasitária e citotóxica.

As metodologias de síntese aplicadas apresentaram-se adequadas e eficazes. Para a série da classe das *N*-acil-hidrazonas, obtivemos 12 compostos os quais foram caracterizados por ponto de fusão, RMN ^{1}H, tiveram sua pureza cromatográfica avaliada e mostraram-se adequados para realização dos ensaios biológicos (pureza maior que 95%), com exceção do composto **3b** que apresentou 76% de pureza.

Quatro dos doze compostos projetados para esta classe são inéditos (**3g-j**), enquanto os demais já se encontram descritos na literatura, entretanto a atividade leishmanicida e tripanomicida ainda não haviam sido relatadas.

Os ensaios antiparasitários mostraram que os compostos (**3a**, **3b**, **3d-h**, **3j-l**) apresentam atividade leishmanicida frente as formas amastigotas de *Leishmania infatum*, porém com baixa segurança. O mais ativo e mais tóxico foi o composto **3a**, substituído com o anel furânico, enquanto o composto mais seguro foi o **3e** porém com atividade leishmanicida reduzida.

Para os ensaios frente as formas promastigota, 4 dos 12 foram ativos (**3a**, **3e**, **3k** e **3l**). O composto mais promissor foi o **3e**, substituído com o anel 4-fenil-dimetilamina, apresentando boa atividade e reduzida toxicidade (IC_{50} = 2,34; CC_{50} = 89,47 µM).

Em testes contra *T. cruzi* os compostos não foram ativos. Contudo, as cinamoil-hidrazonas substituídas mostraram-se seletivas quanto a atividade parasitária, já que apresentam atividade anti-leishmania, porém não foram ativos contra *T. cruzi*.

Quanto a série das chalconas, foram obtidos 7 compostos com pureza maior que 95%, caracterizados por ponto de fusão, RMN ^{1}H e ^{13}C e *HPLC* demonstrando que a metodologia sintética aplicada é eficaz. Tais compostos foram enviados para avaliação biológica para verificar como os mesmos se comportam frente aos diferentes parasitas.

As chalconas obtidas (**3a-c**), foram submetidas a ciclização para assim obtermos os compostos da classe das pirazolinas. Foram obtidos os três análogos, por meio de metodologia simples e com bons rendimentos. Os análogos pirazolínicos aparentemente são instáveis em solução aquosa, porém estudos aprofundados devem ser realizados para nos certificar sobre a estabilidade de tais compostos

Por fim, obtivemos 9 compostos tiazolo[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona, por meio de uma reação multicomponente, as quais apresentaram baixo rendimento (7 – 59%) porém considera-se uma boa metodologia sintética, visto que a reação é realizada por processos simples, curto tempo de reação, fácil purificação e que gerou um esqueleto estrutural privilegiado. A metodologia aplicada foi adequada, sendo possível a caracterização dos mesmos por ponto de fusão, RMN ^{1}H e RMN ^{13}C e com pureza cromatográfica avaliada e dentro de padrões aceitáveis para serem ensaiadas.

6 REFERÊNCIAS

AERTS, C. et al. Are public-private partnerships the solution to tackle neglected tropical diseases? A systematic review of the literature. **Health Policy**, v. 121, n. 7, p. 745–754, 2017.

AL-WARHI, T. I.; AL-HAZIMI, H. M. A.; EL-FAHAM, A. Recent development in peptide coupling reagents. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 16, n. 2, p. 97–116, 2012.

ALI, M. I.; BAYOUMI MOSTAFA, A.; SOLIMAN, A. A. Reactions with Thiazolo[3,2-b]-s-triazol-3(2H)-ones. **Journal für Praktische Chemie**, v. 318, n. 1, p. 12–18, 1976.

ALVES, M. A. et al. Design, synthesis and in vitro trypanocidal and leishmanicidal activities of novel semicarbazone derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 100, p. 24–33, 12 jun. 2015.

ANGHEBEN, A. et al. Chagas disease and transfusion medicine: A perspective from non-endemic countries. **Blood Transfusion**, v. 13, n. 4, p. 540–550, 2015.

APT, W. Treatment of Chagas disease. In: **American Trypanosomiasis Chagas Disease: One Hundred Years of Research: Second Edition**. [s.l: s.n.]. p. 751–771.

APTULA, A. O.; ROBERTS, D. W. Mechanistic applicability domains for nonanimal-based prediction of toxicological end points: General principles and application to reactive toxicity. **Chemical Research in Toxicology**, v. 19, n. 8, p. 1097–1105, 2006.

ARAUJO, T. **Agência Fiocruz de Notícias**. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/leishmaniose>. Acesso em: 15 nov. 2019.

BAI, B. et al. E-Z isomerization of the-C=N-bond in anthracene-based acylhydrazone derivatives under visible light. **Chemical Communications**, v. 53, n. 18, p. 2693–2696, 2017.

BALAKRISHNAN, V. S. Ending neglected tropical diseases. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 17, n. 6, p. 584–585, 2017.

BANERJEE, B. Recent developments on ultrasound-assisted one-pot multicomponent synthesis of biologically relevant heterocycles. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 15–35, 2017.

BERMEJO, E. et al. In situ generation of functionalized 1,2,4-triazole-5-thiones containing pyridine or pyrazine moieties and their coordination to HgII. **CrystEngComm**, v. 18, n. 19, p. 3428–3446, 2016.

BORCHHARDT, D. M. et al. Biochemical evaluation of a series of synthetic chalcone and hydrazide derivatives as novel inhibitors of cruzain from trypanosoma cruzi. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 1, p. 142–150, 2010.

BORSARI, C. et al. Methoxylated 2’-hydroxychalcones as antiparasitic hit compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 126, p. 1129–1135, 2017.

BRITSUN, V. N. et al. Aminolysis of 2-aryl-5-R-5,6-dihydro-7H-[1,2,4]triazolo[5,1-b]1,3]thiazin- 7-ones. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 41, n. 10, p. 1334–1338, out. 2005.

BUCKNER, F. S. et al. Efficient Technique for Screening Drugs for Activity against. **Microbiology**, v. 40, n. 11, p. 2592–2597, 1996.

BUCKNER, F. S.; URBINA, J. A. Recent developments in sterol 14-demethylase inhibitors for Chagas disease. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**Elsevier Ltd, , 2012.

CARDOSO, A. V. N. et al. Survival of Trypanosoma cruzi in sugar cane used to prepare juice. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 48, n. 5, p. 287–289, 2006.

CARVALHO, S. A. et al. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 512–521, 2012.

CASTILLO-RIQUELME, M. Chagas disease in non-endemic countries. **The Lancet Global Health**, v. 5, n. 4, p. e379–e380, 2017.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Center of Disease Control and Prevention - Chagas Disease**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/>. Acesso em: 15 nov. 2019.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **CDC - Malaria - About Malaria**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/malaria/about/index.html#>. Acesso em: 16 nov. 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; GLOBAL HEALTH, D. OF P. D. **CDC - Leishmaniasis**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 15 nov. 2019.

CHIARADIA, L. D. et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of chalcone derivatives as potent inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatases (PtpA and PtpB). **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 390–402, 2012.

COA, J. C. et al. Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activities of quinoline-chalcone and quinoline-chromone hybrids. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, n. 7, p. 1405–1414, 1 jul. 2017.

CRETU, O. D. et al. Synthesis and characterization of some 1,2,4-triazole-3-thiones obtained from intramolecular cyclization of new 1-(4-(4-X-phenylsulfonyl)benzoyl)-4-(4- iodophenyl)-3-thiosemicarbazides. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 75, n. 11, p. 1463–1471, 2010.

CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy-challenges and opportunities. **Clinical Microbiology and Infection**Blackwell Publishing Ltd, , 2011.

CURTIS, A. D. M.; JENNINGS, N. 1,2,4-TRIAZOLE. **Organic Syntheses**, v. 40, n. September, p. 99, 1960.

DA SILVA, G. N. S. et al. Two series of new semisynthetic triterpene derivatives: Differences in anti-malarial activity, cytotoxicity and mechanism of action. **Malaria Journal**, v. 12, n. 1, 2013.

DA SILVA, N. C. et al. In vitro and in vivo antimalarial activity of the volatile oil of cyperus articulatus (Cyperaceae). **Acta Amazonica**, v. 49, n. 4, p. 334–342, 2019.

DAVIS, A. M.; TEAGUE, S. J.; KLEYWEGT, G. J. Application and limitations of x-ray crystallographic data in structure-based ligand and drug design**. Angewandte Chemie - International Edition**, 23 jun. 2003.

DE KONING, C. B.; VAN OTTERLO, W. A. L.; MICHAEL, J. P. Amide rotamers of N-

acetyl-1,3-dimethyltetrahydroisoquinolines: Synthesis, variable temperature NMR spectroscopy and molecular modelling. **Tetrahedron**, v. 59, n. 42, p. 8337–8345, 2003.

DE OLIVEIRA, M. E. et al. Antimalarial activity of 4-metoxychalcones: Docking studies as falcipain/plasmepsin inhibitors, ADMET and lipophilic efficiency analysis to identify a putative oral lead candidate. **Molecules**, v. 18, n. 12, p. 15276–15287, dez. 2013.

DNDI. Leishmaniasis - Disease Factsheet. p. 1–2, 2018.

DNDI. **Doença de Chagas – DNDi América Latina**. Disponível em: <https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>. Acesso em: 15 nov. 2019.

DNDI - DRUG FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE. **About Leishmaniasis - DNDi**. Disponível em: <https://www.dndi.org/diseases-projects/leishmaniasis/>. Acesso em: 15 nov. 2019.

DOS SANTOS FILHO, J. M. et al. Optimization of anti-Trypanosoma cruzi oxadiazoles leads to identification of compounds with efficacy in infected mice. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 21, p. 6423–6433, 1 nov. 2012.

DOS SANTOS FILHO, J. M. et al. Conjugation of N-acylhydrazone and 1,2,4-oxadiazole leads to the identification of active antimalarial agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 22, p. 5693–5701, 2016.

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. Leishmania development in sand flies: Parasite-vector interactions overview. **Parasites and Vectors**, 2012.

DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE. **Diseases and Projects**. Disponível em: <https://www.dndi.org/diseases-projects/>. Acesso em: 14 nov. 2019.

EL-FAHAM, A.; ALBERICIO, F. Peptide coupling reagents, more than a letter soup. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 11, p. 6557–6602, 2011.

ELSHAARAWY, R. F. M.; JANIAK, C. 2-Thiophenecarbohydrazides: A Novel Efficient Method for the Synthesis of 2-Thiophenecarbohydrazide. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://znaturforsch.com>. Acesso em: 2 nov. 2019.

ESPINOZA-HICKS, J. C. et al. Novel prenyloxy chalcones as potential leishmanicidal and trypanocidal agents: Design, synthesis and evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 167, p. 402–413, 2019.

FERREIRA, R. S. et al. Synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of potent noncovalent and nonpeptidic cruzain inhibitors as anti-Trypanosoma cruzi agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 2380–2392, 2014.

FIGUEIREDO, J. M. et al. Design and Synthesis of Novel Potent Antinociceptive Agents : Methyl-imidazolyl N -Acylhydrazone Derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. v. 8, p. 2243–2248, 2000.

FORSYTH, C. J. et al. Safety Profile of Nifurtimox for Treatment of Chagas Disease in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 63, n. 8, p. 1056–1062, 2016.

FRANÇA, T. C. C.; DOS SANTOS, M. G.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: Aspectos históricos e quimioterapia**. Quimica Nova**Sociedade Brasileira de Quimica, , 2008.

FULMER, G. R. et al. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist.

Organometallics, v. 29, n. 9, p. 2176–2179, 10 maio 2010.

GATTI, F. DE M. **Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásicos.** 2015. 89p. Dissertação (Mestrado, em Fármacos e Medicamentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São paulo, São Paulo, 2015.

GOMES, K. S. et al. Structure-activity relationship study of antitrypanosomal chalcone derivatives using multivariate analysis. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 12, p. 1459–1462, 2019.

GUANTAI, E. M. et al. Enone- and chalcone-chloroquinoline hybrid analogues: In silico guided design, synthesis, antiplasmodial activity, in vitro metabolism, and mechanistic studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3637–3649, 26 maio 2011.

HAKIMELAHI, G. H.; KHODARAHMI, G. A. The identification of toxicophores for the prediction of mutagenicity, hepatotoxicity and cardiotoxicity. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 2, n. 4, p. 244–267, dez. 2005.

HAMZI, I.; BARHOUMI-SLIMI, T. M.; ABIDI, R. Synthesis, Characterization, and Conformational Study of Acylhydrazones of α,β-Unsaturated Aldehydes. **Heteroatom Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 139–148, maio 2016.

HAVRYLYUK, D. et al. Synthesis of pyrazoline-thiazolidinone hybrids with trypanocidal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 85, p. 245–254, 6 out. 2014.

HAWAIZ, F. E.; OMER, S. A.; AHMAD, M. S. Synthesis and Spectroscopic Investigation of Some New Chalcones and their transformation to pyrazoline derivatives. **Journal of Kirkuk University Scientific Studies**, v. 7, n. 1, p. 50–66, 2012.

HU, D. X.; GRICE, P.; LEY, S. V. Rotamers or diastereomers? An overlooked NMR solution. **Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 5198–5202, 2012.

HUANG, Z.; TATEM, A. J. Global malaria connectivity through air travel. **Malaria Journal**, v. 12, n. 1, 2013.

INSUASTY, B. et al. An efficient synthesis of new caffeine-based chalcones, pyrazolines and pyrazolo[3,4- b][1,4]diazepines as potential antimalarial, antitrypanosomal and antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 93, p. 401–413, 2015.

JASIAK, K.; KUDELKO, A. Oxidative cyclization of N-aroylhydrazones to 2-(2-arylethenyl)-1,3,4-oxadiazoles using DDQ as an efficient oxidant. **Tetrahedron Letters**, v. 56, n. 43, p. 5878–5881, 21 out. 2015.

JORK, H. et al. Thin-layer chromatography. Reagents and detection methods. Physical and chemical detection methods: fundamentals, reagents I. Volume 1a. **Analytica Chimica Acta**, v. 237, p. 511–512, 1990.

KALGUTKAR, A. S. Handling reactive metabolite positives in drug discovery: What has retrospective structure-toxicity analyses taught us? **Chemico-Biological Interactions**, v. 192, n. 1–2, p. 46–55, 2011.

KARAD, S. C. et al. Novel morpholinoquinoline nucleus clubbed with pyrazoline scaffolds: Synthesis, antibacterial, antitubercular and antimalarial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 112, p. 270–279, 13 abr. 2016.

KAUR, K. et al. Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials. **European**

Journal of Medicinal Chemistry Elsevier Masson SAS, , 2010.

KHAN, F. et al. Modern Methods & Web Resources in Drug Design & Discovery. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 8, n. 5, p. 469–490, 1 jun. 2011.

KLAASSEN, CURTIUS D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em Toxicologia de Casaret e Doull**. 2ª ed. Porto Alegre, Brasil: AMGH Editora Ltda., 2012.

LAMBROS, C.; VANDERBERG, J. P. Synchronization of Plasmodium falciparum Erythrocytic Stages in Culture. **The Journal of Parasitology**, v. 65, n. 3, p. 418, jun. 1979.

LEVI, L.; MÜLLER, T. J. J. Multicomponent syntheses of functional chromophores. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 10, p. 2825–2846, 2016.

LIST, W. H. O. M. et al. Leishmaniasis Access to essential antileishmanial medicines and treatment. p. 2010–2011, 2016.

LOPES, A. B. et al. Characterization of amide bond conformers for a novel heterocyclic template of N-acylhydrazone derivatives. **Molecules**, v. 18, n. 10, p. 11683–11704, 2013.

MANJUNATHA, K. et al. Three-component reaction: Synthesis, characterization, and biological study of some fused bridgehead nitrogen heterocyclic systems containing 4-methylthiophenyl moiety. **Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements**, v. 186, n. 3, p. 526–532, mar. 2011.

MATTHEWS, K. R. Controlling and Coordinating Development in Vector-Transmitted Parasites. **Science**, v. 331, n. 6021, p. 1149–1153, 4 mar. 2011.

MAXMEN, A. Neglected-disease research funding hits record high. **Nature**, 23 jan. 2019.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. **QJM**, v. 107, n. 1, p. 7–14, 2014.

MISHRA, V. K. et al. Synthesis of 1,3,5-trisubstituted pyrazolines as potential antimalarial and antimicrobial agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 1949–1962, 2017.

MITA, T. et al. Ordered accumulation of mutations conferring resistance to sulfadoxine-pyrimethamine in the plasmodium falciparum parasite. **Journal of Infectious Diseases**, v. 209, n. 1, p. 130–139, 1 jan. 2014.

MOHAPATRA, S. Drug resistance in leishmaniasis: Newer developments. **Tropical Parasitology**, v. 4, n. 1, p. 4, 2014.

MOITESSIER, N. et al. Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: A long way to go. **British Journal of Pharmacology**. v. 153, n. 1, 2008

MORAN, M. et al. Neglected disease research and development: How much are we really spending? **PLoS Medicine**, v. 6, n. 2, p. 0137–0146, 2009.

MOWBRAY, C. E. et al. Novel Amino-pyrazole Ureas with Potent in Vitro and in Vivo Antileishmanial Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 24, p. 9615–9624, 2015.

MURILLO-GODÍNEZ, G. Chagas disease (American trypanosomiasis). **Medicina Interna de Mexico**, v. 34, n. 6, p. 959–970, 2018.

NEPALI, K.; LEE, H. Y.; LIOU, J. P. Nitro-Group-Containing Drugs. **Journal of Medicinal Chemistry**American Chemical Society, , 28 mar. 2019.

NOGUEIRA, F.; ROSÁRIO, V. E. DO. Methods for assessment of antimalarial activity in the different phases of the Plasmodium life cycle. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 3, p. 109–124, 2010.

NOGUERA, G. J. et al. QSAR study and conformational analysis of 4-arylthiazolylhydrazones derived from 1-indanones with anti-Trypanosoma cruzi activity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, p. 190–197, 31 jul. 2015.

NUNES, M. C. P. et al. Chagas disease: An overview of clinical and epidemiological aspects. **Journal of the American College of Cardiology**, 27 ago. 2013.

NUNES, R. R. et al. Brazilian malaria molecular targets (BraMMT): Selected receptors for virtual high-throughput screening experiments. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, n. 2, p. 1–10, 2019.

O'CONNELL, D. Neglected diseases. **Nature**, v. 449, n. 7159, p. 157, 2007.

OKOMBO, J.; CHIBALE, K. Insights into Integrated Lead Generation and Target Identification in Malaria and Tuberculosis Drug Discovery. **Accounts of Chemical Research**, v. 50, n. 7, p. 1606–1616, 2017.

ORTEGA, H. E. et al. Antifungal compounds from Streptomyces associated with attine ants also inhibit Leishmania donovani. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. e0007643, 2019.

P&T COMMUNITY. **FDA Approves Impavido (Miltefosine) to Treat Tropical Parasitic Disease**. Disponível em: <https://www.ptcommunity.com/news/20140320/fda-approves-impavido-miltefosine-treat-tropical-parasitic-disease>. Acesso em: 15 nov. 2019.

PAHO. **PAHO/WHO | Malaria: General information**. Disponível em: <https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2573:2010-general-information-malaria&Itemid=2060&lang=en>. Acesso em: 16 nov. 2019.

PAHO. **PAHO/WHO | General Information - Chagas Disease**. Disponível em: <https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856:2011-informacion-general-enfermedad-chagas&Itemid=40370&lang=en>. Acesso em: 15 nov. 2019.

PANDEY, A. K. et al. 4, 5-Dihydrooxazole-pyrazoline hybrids: Synthesis and their evaluation as potential antimalarial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 123, p. 476–486, 2016.

PASSALACQUA, T. G. et al. Synthesis and evaluation of novel prenylated chalcone derivatives as anti-leishmanial and anti-trypanosomal compounds. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 16, p. 3342–3345, 3 jul. 2015.

PEDRIQUE, B. et al. The drug and vaccine landscape for neglected diseases (2000â€"11): a systematic assessment. **The Lancet Global Health**, v. 1, p. e371–e379, 2013.

PÉREZ, B. C. et al. N-Cinnamoylated chloroquine analogues as dual-stage antimalarial leads. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 2, p. 556–567, 24 jan. 2013.

PHILLIPS, M. A. et al. Malaria. p. 17050, 2017.

PIJPERS, J. et al. The safety and efficacy of miltefosine in the long-term treatment of post-kala-azar dermal leishmaniasis in South Asia – a review and meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, p. 1–14, 2019.

PINAZO, M. J. et al. Benznidazole-related adverse drug reactions and their relationship to serum drug concentrations in patients with chronic chagas disease. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 390–395, 2013.

PINHATTI, V. R. et al. Cytotoxic, mutagenicity, and genotoxicity effects of guanylhydrazone derivatives. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 806, p. 1–10, 1 ago. 2016.

PLUMITALLO, A. et al. Synthesis and anti-microbial activity evaluation of some new 1-benzoyl-isothiosemicarbazides. **Farmaco**, v. 59, n. 12, p. 945–952, 2004.

PRAJAPATI, V. K. et al. In vitro susceptibility of leishmania donovani to miltefosine in Indian visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, n. 4, p. 750–754, 2013.

RAGHUVANSHI, D. S. et al. Synthesis of thymol-based pyrazolines: An effort to perceive novel potent-antimalarials. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, 1 jul. 2019.

RASHID, U. et al. Structure based medicinal chemistry-driven strategy to design substituted dihydropyrimidines as potential antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 115, p. 230–244, 2016.

RECHT, J. et al. Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: Current challenges in malaria control and elimination. **Malaria Journal.** BioMed Central Ltd., 4 jul. 2017.

REICH, H. Symmetry in NMR Spectra. **Extracts**, p. 3, 2013.

RICHARZ, A. N. et al. Experimental verification of structural alerts for the protein binding of sulfur-containing compounds. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 25, n. 4, p. 325–341, 2014.

RIVERA, N. R.; BALSELLS, J.; HANSEN, K. B. Synthesis of 2-amino-5-substituted-1,3,4-oxadiazoles using 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin as oxidant. **Tetrahedron Letters**, v. 47, n. 28, p. 4889–4891, 2006.

ROMERO, A. H. et al. Design, synthesis, structure-activity relationship and mechanism of action studies of a series of 4-chloro-1-phthalazinyl hydrazones as a potent agent against Leishmania braziliensis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 127, p. 606–620, 2017.

ROQUE, A. L. R. et al. Trypanosoma cruzi transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted chagas disease outbreaks. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 5, p. 742–749, nov. 2008.

SAIKACHI, H.; ARAMAKI, Z.; AOKI, T. Synthesis of Furan Derivatives. XIV. Condensation of 2-(5-Nitro) furylacrolein and 2-(5-Nitro) furaldehyde with Hydrazides. **Pharmaceutical Bulletin**, v. 3, n. 3, p. 194–199, 1955.

SAMS-DODD, F. Research & market strategy: how choice of drug discovery approach can affect market position. **Drug Discovery Today**, abr. 2007.

SEELAM, N. et al. Synthesis and in vitro study of some fused 1,2,4-triazole derivatives as antimycobacterial agents. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 20, n. 4, p. 411–418, 2016.

SILVA, F. T. et al. Design, synthesis and antitrypanosomal activity of some nitrofurazone 1,2,4-triazolic bioisosteric analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 553–560, 2016.

SILVA, F.; TROSSINI, G. The Survey of the Use of QSAR Methods to Determine Intestinal Absorption and Oral Bioavailability During Drug Design. **Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 441–448, 31 maio 2014.

SINGH, M.; RAGHAV, N. In-vitro inhibition studies on endogenous proteolysis of liver homogenate in presence of synthesized pyrazoles. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. SUPPL 3, p. 365–368, 2013.

STEPAN, A. F. et al. Structural alert/reactive metabolite concept as applied in medicinal chemistry to mitigate the risk of idiosyncratic drug toxicity: A perspective based on the critical examination of trends in the top 200 drugs marketed in the United States. **Chemical Research in Toxicology**, 19 set. 2011.

SULFONAMIDES. **Drugbank.ca**. 2016. Disponível em: < https://www.drugbank.ca/categories/DBCAT000514>. Acesso em: 13 de jan. de 2020.

TADIGOPPULA, N. et al. Synthesis and insight into the structure-activity relationships of chalcones as antimalarial agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 31–45, 10 jan. 2013.

TANG, Y. et al. New technologies in computer-aided drug design: Toward target identification and new chemical entity discovery. **Drug Discovery Today: Technologies**, set. 2006.

TOZKOPARAN, B. et al. Synthesis and Evaluation of Anti-Inflammatory Activity of Some Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-ones and Their Michael Addition Products. **Arzneimittelforschung**, v. 49, n. 12, p. 1006–1011, 28 dez. 2011.

TRAGER, W.; JENSEN, J. B. Human malaria parasites in continuous culture. **Science**, v. 193, n. 4254, p. 673–675, 1976.

URBINA, J. A. Recent clinical trials for the etiological treatment of chronic chagas disease: Advances, challenges and perspectives. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 149–156, 2015.

V. C. GUIDO, R.; OLIVA, G.; D. ANDRICOPULO, A. Modern Drug Discovery Technologies: Opportunities and Challenges in Lead Discovery. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 14, n. 10, p. 830–839, 3 out. 2011.

VALSECCHI, C. et al. Structural alerts for the identification of bioaccumulative compounds. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 15, n. 1, p. 19–28, 2019.

VALVERDE, R. **Agência Fiocruz de Notícias**. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doenças-negligenciadas>. Acesso em: 14 nov. 2019.

VAN DIJKEN, D. J. et al. Acylhydrazones as Widely Tunable Photoswitches. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 47, p. 14982–14991, 2015.

VELASQUES, K. et al. Co-nanoencapsulation of antimalarial drugs increases their in vitro efficacy against Plasmodium falciparum and decreases their toxicity to Caenorhabditis elegans. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 118, n. November 2017, p. 1–12, 2018.

VERCOUILLIE, J. et al. New fluoro-diphenylchalcogen derivatives to explore the serotonin transporter by PET. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 17, p. 4991–4995, 2007.

VIJAYA RAJ, K.; NARAYANA, B. The one step synthesis of 2-(2-bromo-5-methoxyphenyl)-5-(3-arylidene)-1,3- thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazol-6-(5H)-ones and the evaluation of the

anticonvulsant activity. **Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements**, v. 181, n. 9, p. 1971–1981, 2006.

VOSOOGHI, M. et al. Synthesis, antileishmanial activity and QSAR study of (1,3,4-thiadiazol-2-ylthio) acetamides derived from 5-nitrofuran. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 2, p. 891–900, 2015.

WANARE, G. et al. Synthesis of novel α-pyranochalcones and pyrazoline derivatives as Plasmodium falciparum growth inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 15, p. 4675–4678, 1 ago. 2010.

WHO/PAHO. Leishmaniases: Epidemiological Report of the Americass Nº 7 - Março, 2019. **Informe de Leishmanioses Nº 7 - Março, 2019**, v. 1, p. 1–27, 2019.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis- Epidemiological situation**. Disponível em: <https://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>. Acesso em: 15 nov. 2019a.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malaria - Fact sheet**. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/malaria>. Acesso em: 14 nov. 2019b.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis - Fact Sheet**. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 15 nov. 2019c.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neglected tropical diseases**. Disponível em: <https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/>. Acesso em: 14 nov. 2019.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018B. **Epidemiology - Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <https://www.who.int/chagas/epidemiology/en/>. Acesso em: 15 nov. 2019d.

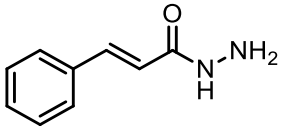
WILLIAMS, D. P.; NAISBITT, D. J. Toxicophores: groups and metabolic routes associated with increased safety risk. **Current opinion in drug discovery & development**, v. 5, n. 1, p. 104–15, jan. 2002.

WORLD MALARIA REPORT 2018 ISBN 978 92 4 156565 3. [s.l: s.n.].

ZENGER, K. et al. In vitro structure-toxicity relationship of chalcones in human hepatic stellate cells. **Toxicology**, v. 336, p. 26–33, 2015.

ANEXOS

cinamoil-hidrazida **(2)**

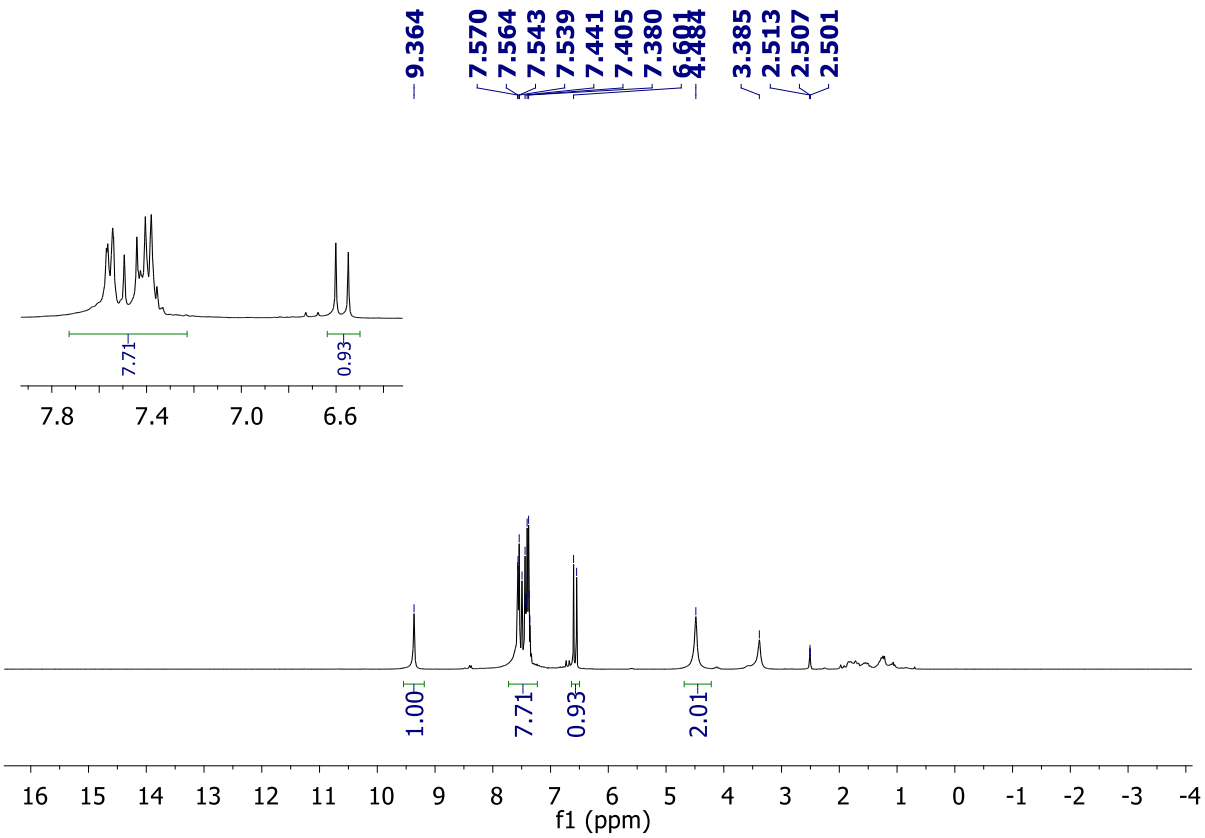


Ácido trans-cinâmico (5,92g, 40 mmol, 1,0 eq.), acetonitrila (ACN) (80 mL), o agente condensante N',N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (9,90g, 48 mmol, 1,2 eq.) e hidroxi-benzotriazol (HOBt) (10,8g, 48 mmol, 1,2 eq.) foram submetido a agitação em temperatura ambiente (28 °C). A mistura reacional permaneceu sob agitação até que todo ácido fosse consumido (4 horas). Posteriormente, a mistura reacional foi submetida em banho de gelo e água (0 ºC) ao qual adicionou-se lentamente uma solução de $N_2H_4.H_2O$ (4 mL, 80 mmol, 2,0 eq.) em ACN (40 mL) por um período aproximado de 30 minutos de adição. Manteve-se a mistura reacional a 0 ºC durante toda a adição. Após total adição, reagiu-se a mistura por mais uma hora à 0 °C, seguido de uma hora reagindo a 5 °C e por fim, 3 horas em temperatura ambiente (28 °C), determinando o fim da reação por CCD. A mistura foi filtrada a vácuo para remoção do precipitado, N,N'-diciclohexilureia (DCU) (subproduto oriundo do DCC). O filtrado foi diluído em água destilada (40 mL) e submetido a extração líquido-líquido utilizando acetato de etila (AcOEt) (100 mL). A fase orgânica foi lavada consecutivamente com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) (2 x 25 mL) e solução saturada de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$ sat.) (2 x 25 mL). Em seguida, secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), removeu-se o solvente a pressão reduzida em rota-evaporador e realizou-se a retirada dos resíduos de solvente em bomba de alto vácuo para obtenção do produto bruto como um óleo viscoso amarelado.

Para isolamento do composto obtido, realizou-se coluna cromatográfica *Flash* (AcOEt 100% → AcOEt: MeOH = 97,5: 2,5, diâmetro = 4 cm, altura = 30 cm, volume da fração = 15 mL), para obtenção da cinamoil-hidrazida (m = 4,54 g, rendimento ≅ 77%) como um sólido amarelo.

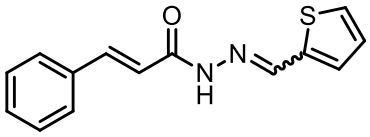
Sólido amarelo, rendimento ≅ 77%/ Ref.: sólido branco, rendimento 75%
CCD: (Rf = 0,14, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: amarelo
Ponto de fusão 103-118 °C/ Ref.: 118 °C
Pureza (HPLC): não calculada

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6), δ (ppm) 9,36 (s, 1H, C=ONH-), 7,57-7,36 (m, fenil-CH, Cβ-H), 6,57 (d, 1H, J= 15,8 Hz, Cα-H) 4,48 (s, 2H, NH_2).



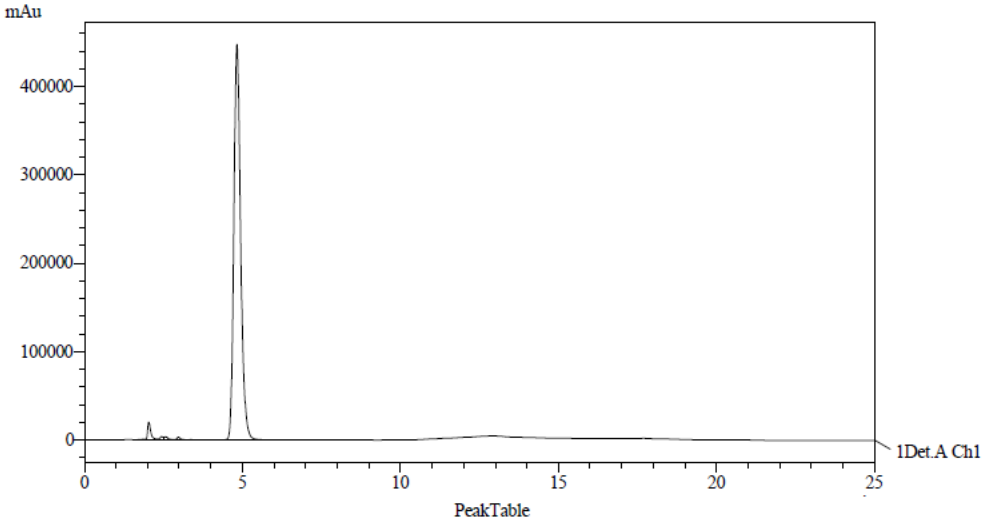
Ref.: (JASIAK; KUDELKO, 2015), CAS: 3538-69-0.

N'-(tiofen-2-ilmetileno)cinamoil-hidrazida **(3a)**



Uma solução de cinamoil-hidrazida (164,8 mg, 1,01 mmol, 1,00 eq.), 2-tiofeno carboxaldeído (99 µL, 1,03 mmol, 1,01 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (50 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em EtOH resultando um sólido amarelo claro (m = 175,4 mg, rendimento = 68%).

Sólido amarelo claro, rendimento: 68%/ Ref.: sólido branco, rendimento 96%
CCD: (Rf = 0,44, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: amarelo
Ponto de fusão 232-244 °C/ Ref.: 217-219 °C
Pureza (HPLC): 97%, tempo de retenção 4,82 minutos (método A)

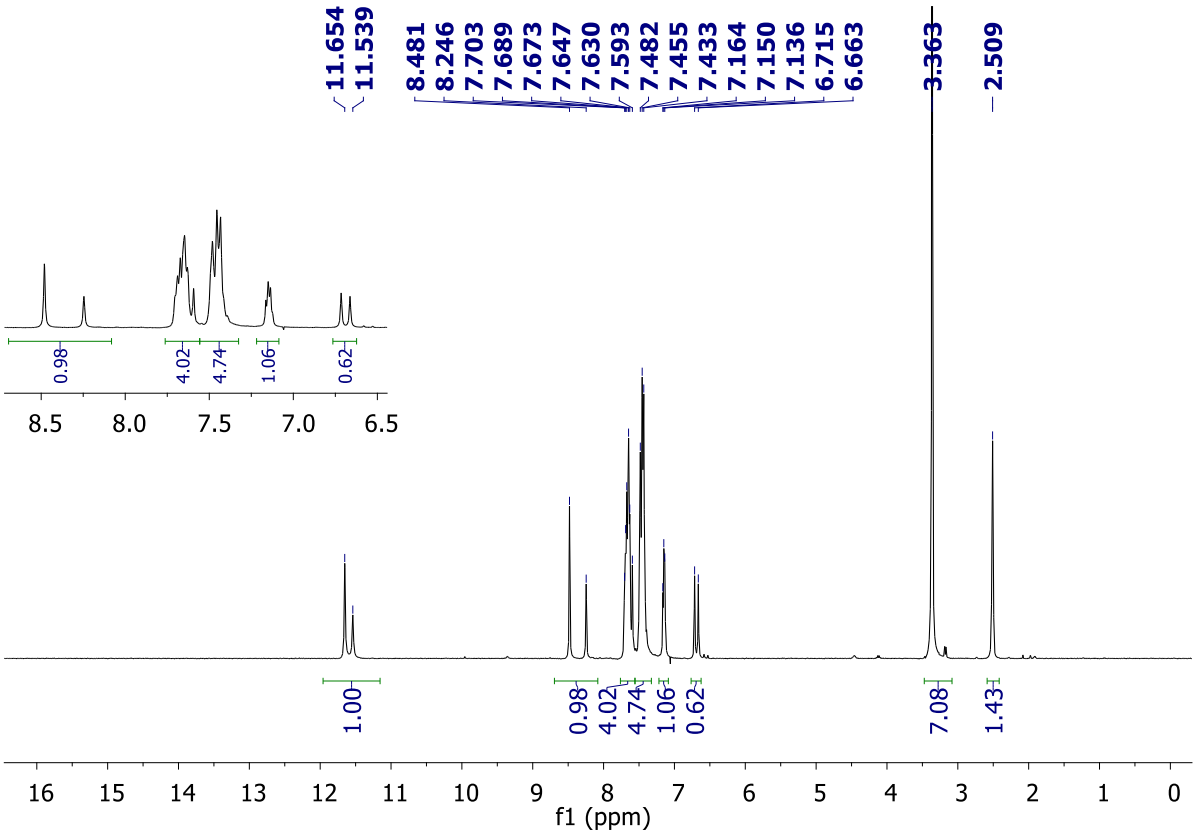


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Resolution	Tailing Factor	Width at 50% Height
1	2.032	149879	0.000	2.048	0.097
2	2.441	28438	1.654	0.000	0.000
3	2.569	29721	0.400	0.000	0.000
4	2.966	24017	1.522	0.000	0.106
5	3.358	2846	1.311	0.000	0.000
6	4.822	6685584	3.713	1.258	0.224
Total		6920484			

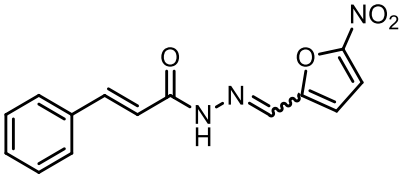
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,65 (s, C=ONH*), 11,54 (s, C=ONH*), 8,48 (s, N=CH*), 8,25 (s, N=CH*), 7,70-7,65 (m, 4H, 2H fenil-CH, 1H tiofeno-SCH, 1H Cβ-H), 7,48-7,43 (m, 4½H, 3H fenil-CH, 1H tiofeno-CH, ½H Cα-H*), 7,14 (dd, *J*= 8,28 Hz, 1H, tiofeno-CH), 6,69 (d, *J*= 15,8 Hz, ½H, Cα-H*).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



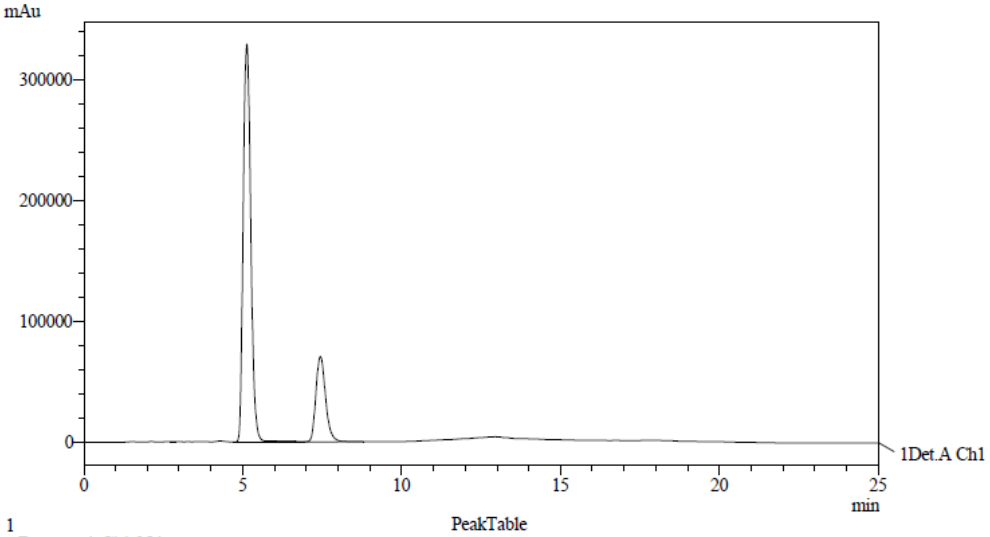
Ref.: (JASIAK; KUDELKO, 2015), CAS: 463331-51-3.

N'-((5-nitrofuran-2-il)metileno)cinamoil-hidrazida **(3b)**



Uma solução de cinamoil-hidrazida (102,5 mg, 0,63 mmol, 1,00 eq.), 5-nitro-2-furaldeído (66 µL, 0,63 mmol, 1,00 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido amarelo intenso (m = 131,2 mg, rendimento = 73%).

Sólido amarelo intenso, rendimento: 73%/ Ref.: sólido cristalino amarelo, rendimento 36%
CCD: (Rf = 0,78, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: marrom
Ponto de fusão 221-238 °C/ Ref.: 217°C
Pureza (HPLC): 76%, tempo de retenção 5,12 minutos (método B)

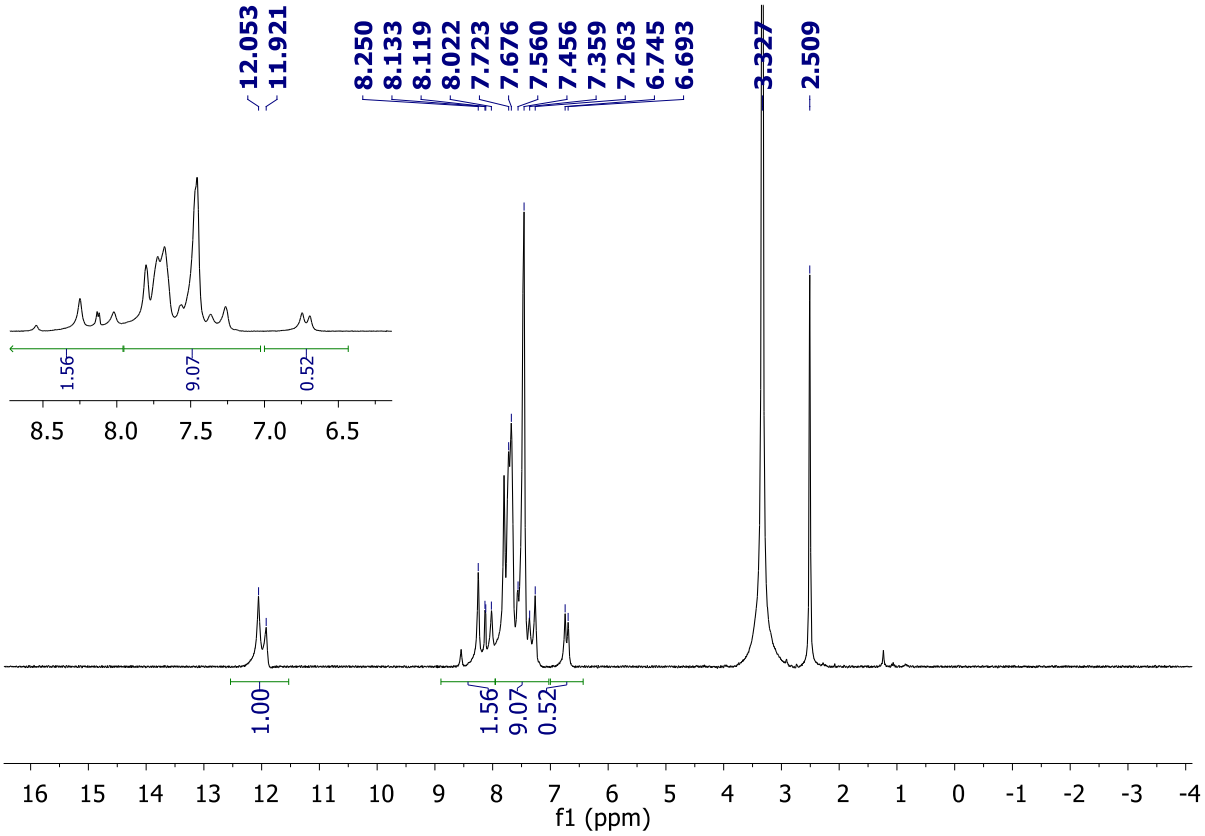


1
PeakTable
Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.813	178	32	0.086	0.000	1.003	0.003	0.000
2	5.126	5471790	328575	0.260	7.845	1.209	78.442	0.000
3	5.915	2738	138	0.310	1.680	2.752	0.039	0.000
4	7.440	1500860	70528	0.325	2.884	1.256	21.516	0.000
Total		6975565	399273				100.000	

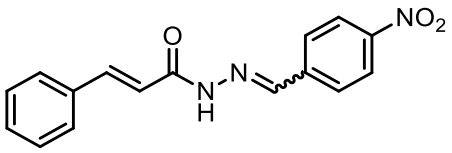
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm), 12,0 (s, C=ONH*), 11,9 (s, C=ONH*), 8,25 – 8.02 (m, 1 ½H, 1H N=CH, ½H Cβ-H***)**, 7,72 – 7,26 (m, furano-CH, fenil-CH), 6,72 (d, *J*= 15,6 Hz, Cα-H).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



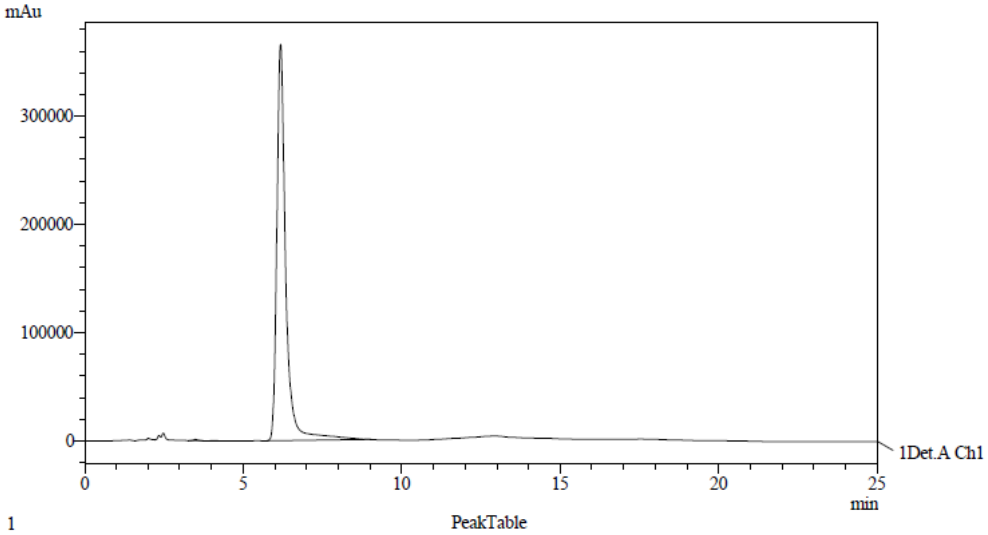
Ref.: (SAIKACHI; ARAMAKI; AOKI, 1955), CAS: 683800-65-9.

N'-(4-nitrobenzilideno)cinamoil-hidrazida **(3c)**



Uma solução de cinamoil-hidrazida (100,1 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.), 4-nitrobenzaldeído (93,7 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido branco (m = 128,1 mg, rendimento = 70%).

Sólido branco, rendimento: 70%/ Ref.: sólido amarelo, rendimento 86%
CCD: (Rf = 0,73, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: não revela
Ponto de fusão 225-244 °C/ Ref.: 231-233 °C
Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 6,18 minutos (método B)

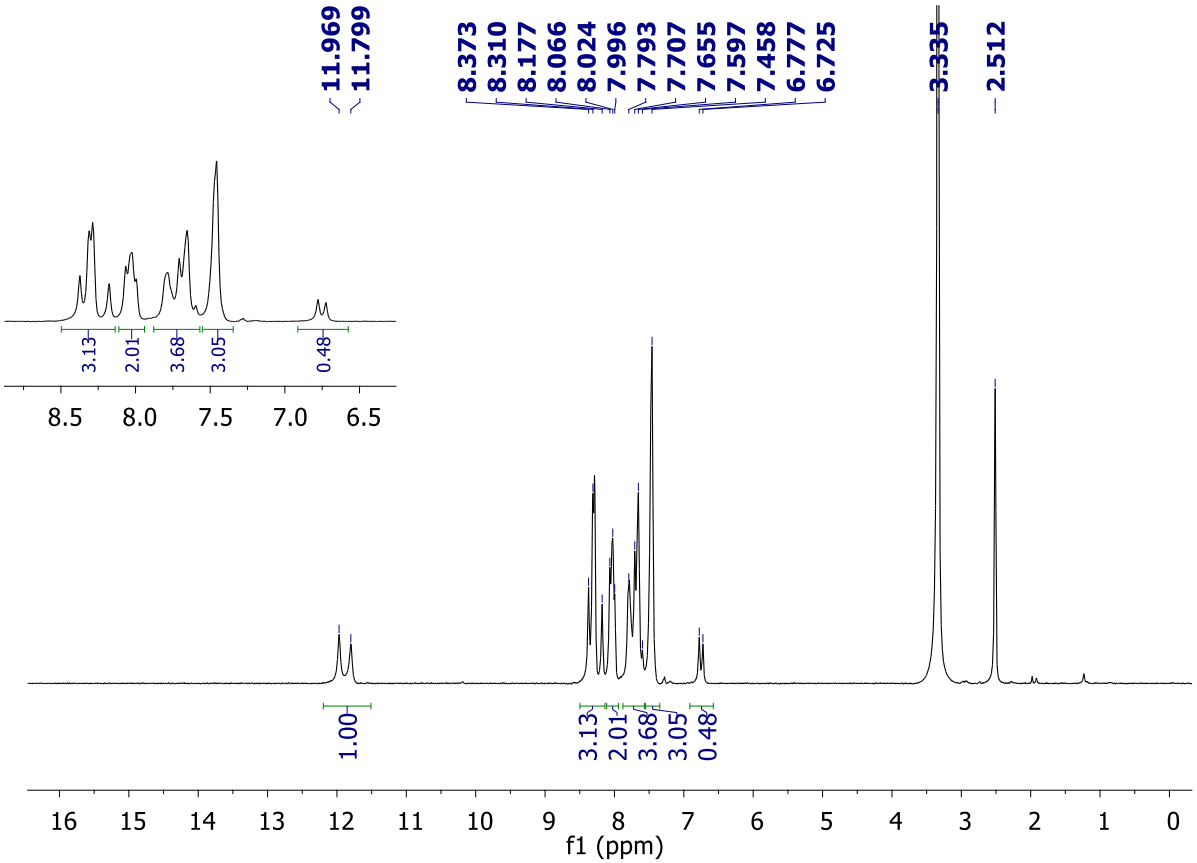


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	3.485	10475	1065	0.149	0.000	1.272	0.145	0.000
2	4.073	3092	201	0.245	1.709	1.271	0.043	0.000
3	6.176	7185713	366088	0.265	4.781	1.438	99.812	0.000
Total		7199280	367355				100.000	

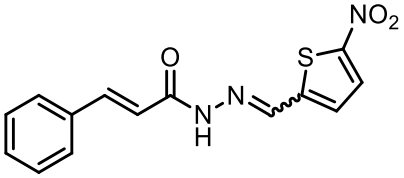
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 12,0 (s, C=ONH-*), 11,8 (s, C=ONH-*), 8,29 (m, 3H, 1H N=CH*; 2H fenil-CH-NO_2), 8,07-8,00 (m, 2H, fenil-CH), 7,79-7,60 (m, 3½H, 2H fenil-CH; 1H Cβ-H, ½H Cα-H*), 7,46 (s, 3H, fenil-CH), 6,75 (d, *J*= 15,3 Hz, ½H, Cα-H*).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: (JASIAK; KUDELKO, 2015), CAS: 1394115-16-2.

N'-((5-nitrotiofen-2-il)metileno)cinamoil-hidrazida **(3d)**



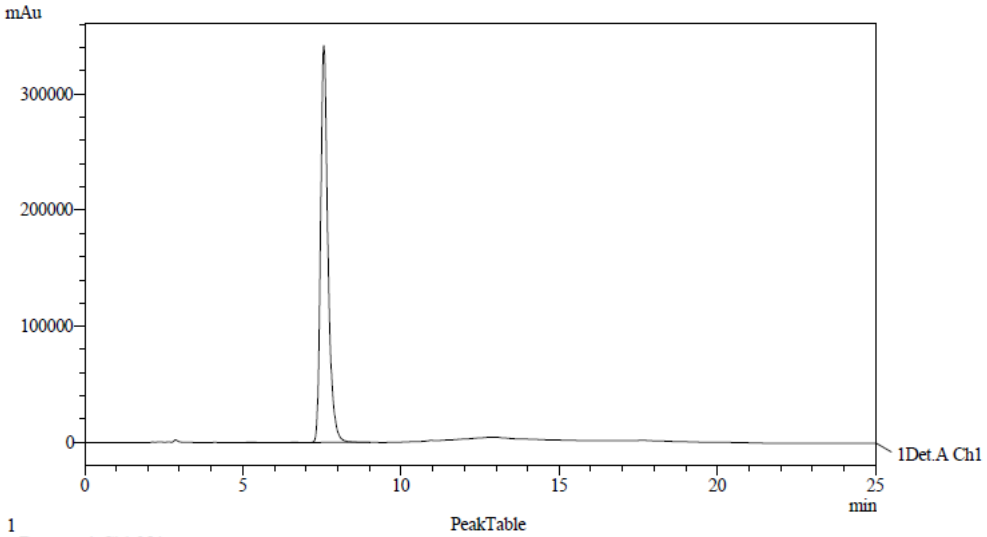
Uma solução de cinamoil-hidrazida (97,3 mg, 0,60 mmol, 1,00 eq.), 5-nitro-2-tiofenocarboxaldeído (94,3 mg, 0,60 mmol, 1,00 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 5 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido laranja intenso (m = 77,7 mg, rendimento = 43%).

Sólido laranja intenso, rendimento: 43%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,67, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: não revela

Ponto de fusão 232-246 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 7,56 minutos (método B)



1

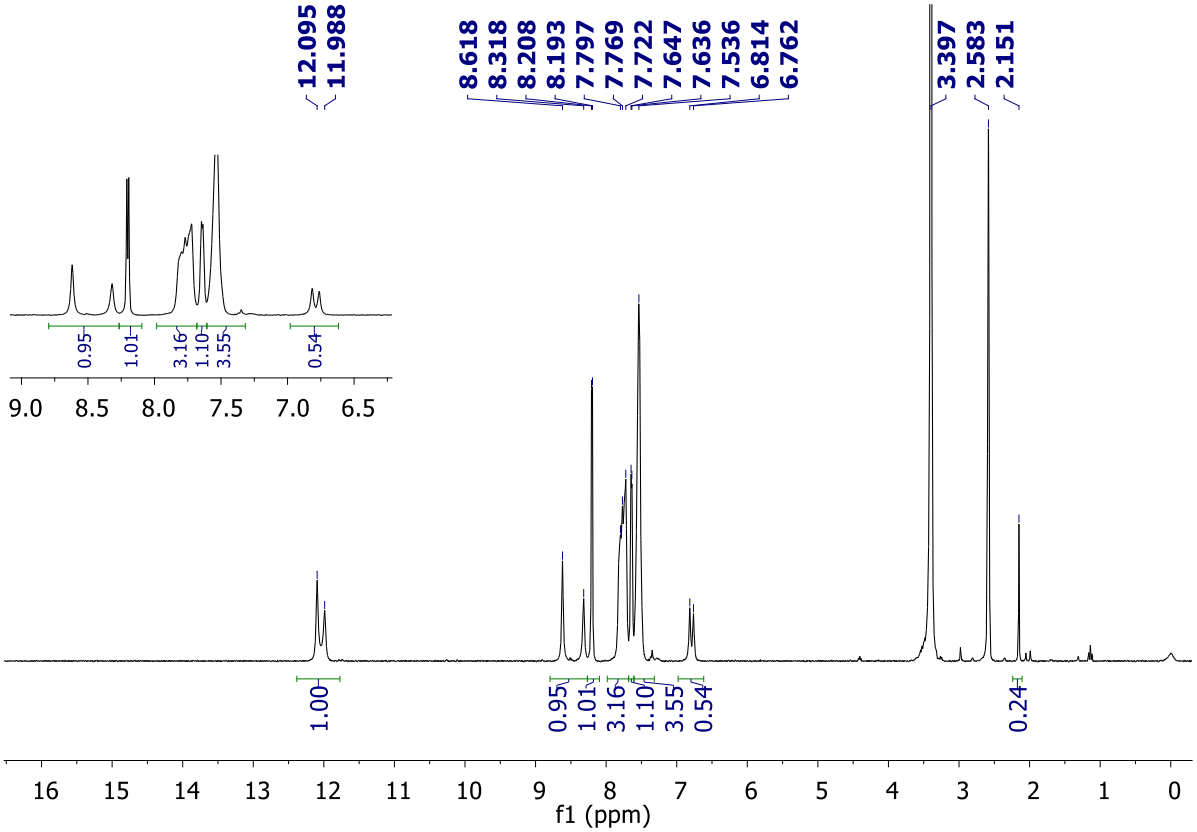
PeakTable

Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	5.245	4459	248	0.271	0.000	1.216	0.080	0.000
2	6.622	3103	214	0.219	3.267	1.307	0.056	0.000
3	7.556	5576114	341918	0.237	2.372	1.370	99.865	0.000
Total		5583676	342380				100.000	

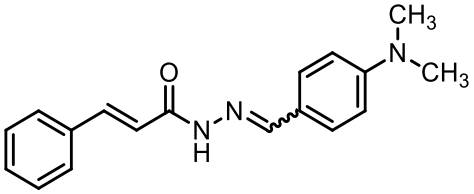
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 12,1 (s, C=ONH-*), 12,0 (s, C=ONH-*), 8,62 (s, N=CH*), 8,32 (s, N=CH*), 8,20 (s, 1H, tiofeno-CH), 7,80-7,72 (m, 3H, 2H fenil-CH; 1H Cβ-H**),** 7,64 (d, 1H, *J*= 3,46 Hz, furano-CH), 7,54 (s, 3½H, 3H fenil-CH, ½H Cα-H*), 6,79 (d, *J*= 15,6 Hz, ½H, Cα-H*).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 898168-15-5

N'-(4-(dimetilamino)benzilideno)cinamoil-hidrazida **(3e)**



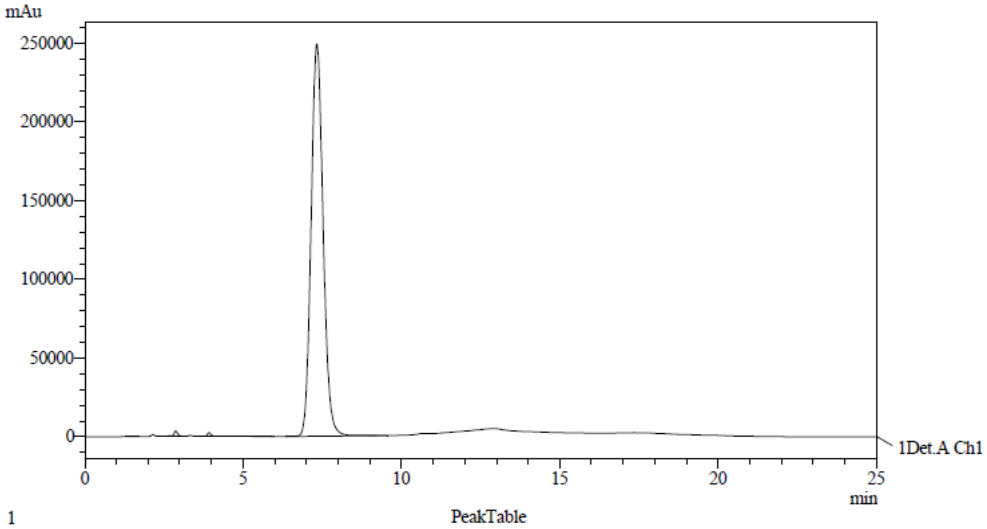
Uma solução de cinamoil-hidrazida (99,5 mg, 0,61 mmol, 1,00 eq.), 4-(dimetilamino)-benzaldeído (93,0 mg, 0,62 mmol, 1,02 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido amarelo intenso (m = 127,0 mg, rendimento = 71%).

Sólido amarelo intenso, rendimento: 71%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,48, Hex: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: amarelo

Ponto de fusão 235-248 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 7,32 minutos (método B)



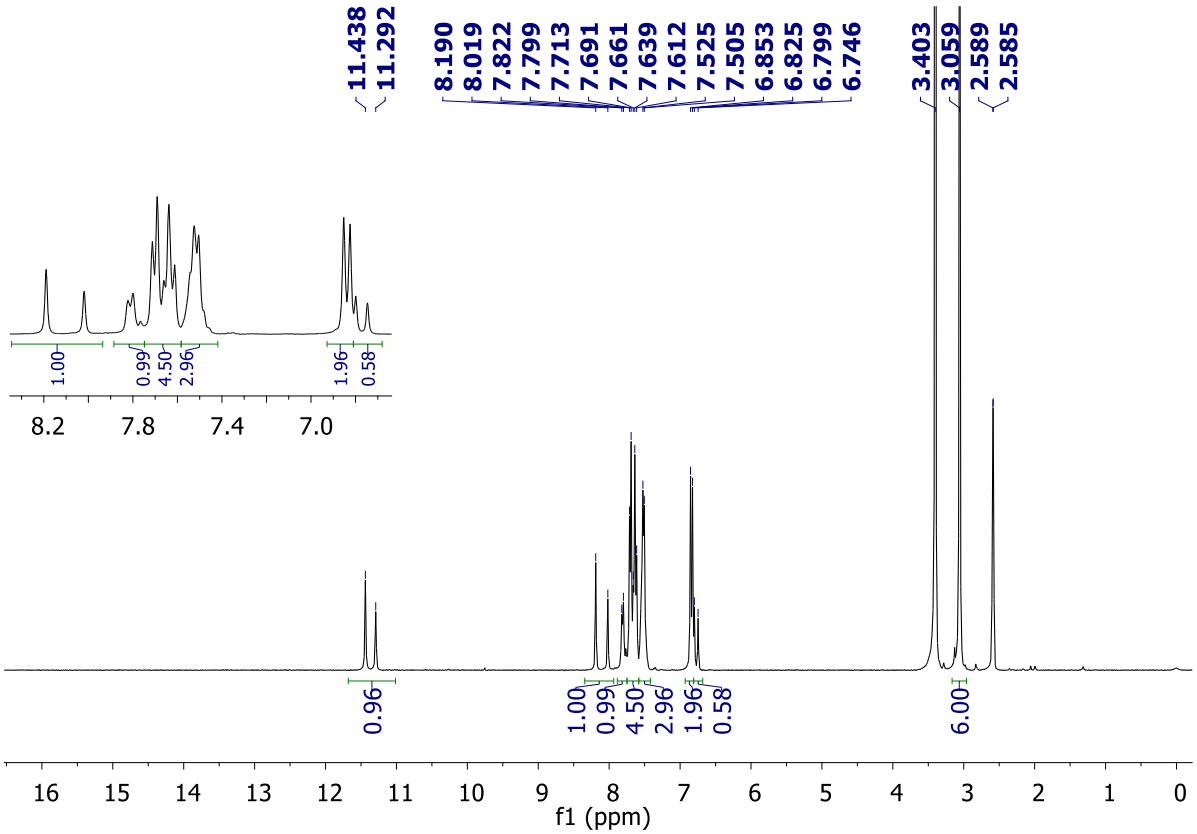
1 PeakTable

Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	1.542	1079	99	0.159	0.000	0.863	0.016	0.000
2	2.667	3437	453	0.000	4.208	0.000	0.052	0.000
3	2.868	28039	3417	0.123	0.844	0.000	0.422	0.000
4	3.918	19398	2292	0.119	4.790	1.750	0.292	0.000
5	4.483	3103	217	0.225	1.864	0.000	0.047	0.000
6	4.926	4311	223	0.000	0.876	0.000	0.065	0.000
7	5.244	3852	165	0.000	0.411	0.000	0.058	0.000
8	7.324	6584817	249367	0.404	2.582	1.135	99.049	0.000
Total		6648035	256233				100.000	

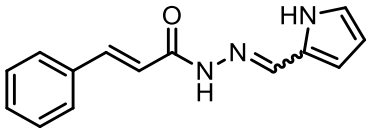
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,4 (s, C=ONH-*), 11,3 (s, C=ONH-*), 8,19 (s, N=CH*), 8,11 (s, N=CH*), 7,81 (m, 1H, Cβ-H), 7,71-7,61 (m, 4½H, 4H fenil-CH, ½H Cα-H*), 7,52-7,51 (m, 3H, fenil-CH), 6,84 (d, *J*= 8,33 Hz, 2H, fenil-CH-), 6,77 (d, *J*= 15,8 Hz, ½H, Cα-H*), 3,06 (s, 6H, 2x CH_3).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 25330-04-5

N'-((1H-pirrol-2-il)metileno)cinamoil-drazida **(3f)**



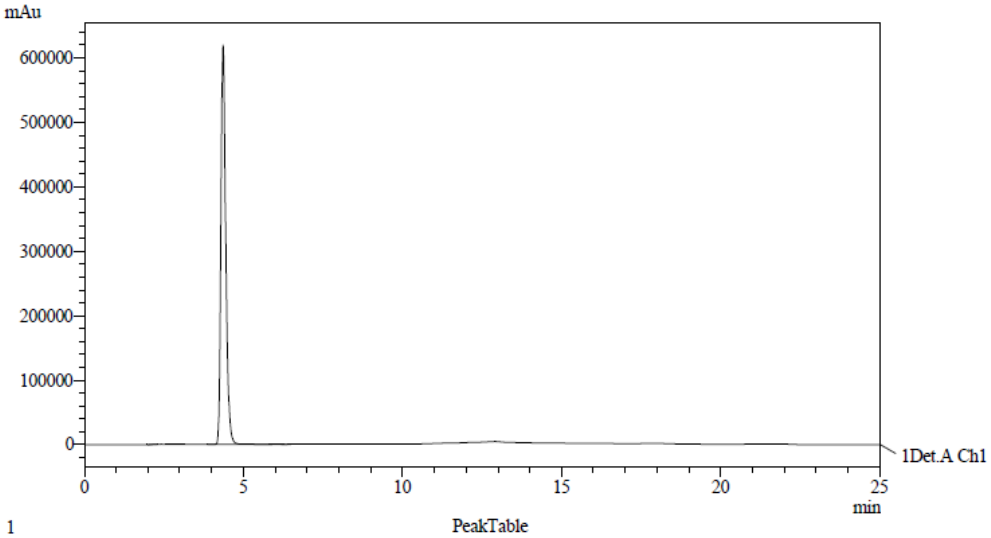
Uma solução de cinamoil-hidrazida (100,7 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.), pirrol-2-carboxaldeído (60,5 mg, 0,64 mmol, 1,03 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 16 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas, porém não foi observada precipitação. A solução foi rota-evaporada até remoção total do solvente. O sólido formado foi recristalizado em EtOH resultando um sólido verde claro (m = 50,4 mg, rendimento = 34%).

Sólido verde, rendimento: 34%/ Ref.: sólido branco, rendimento 84%

CCD: (Rf = 0,70, Hex: EtOAc = 2:8), revelador ninidrina: amarelo

Ponto de fusão 220-231°C/ Ref.: 212-214 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 4,35 minutos (método B)



1

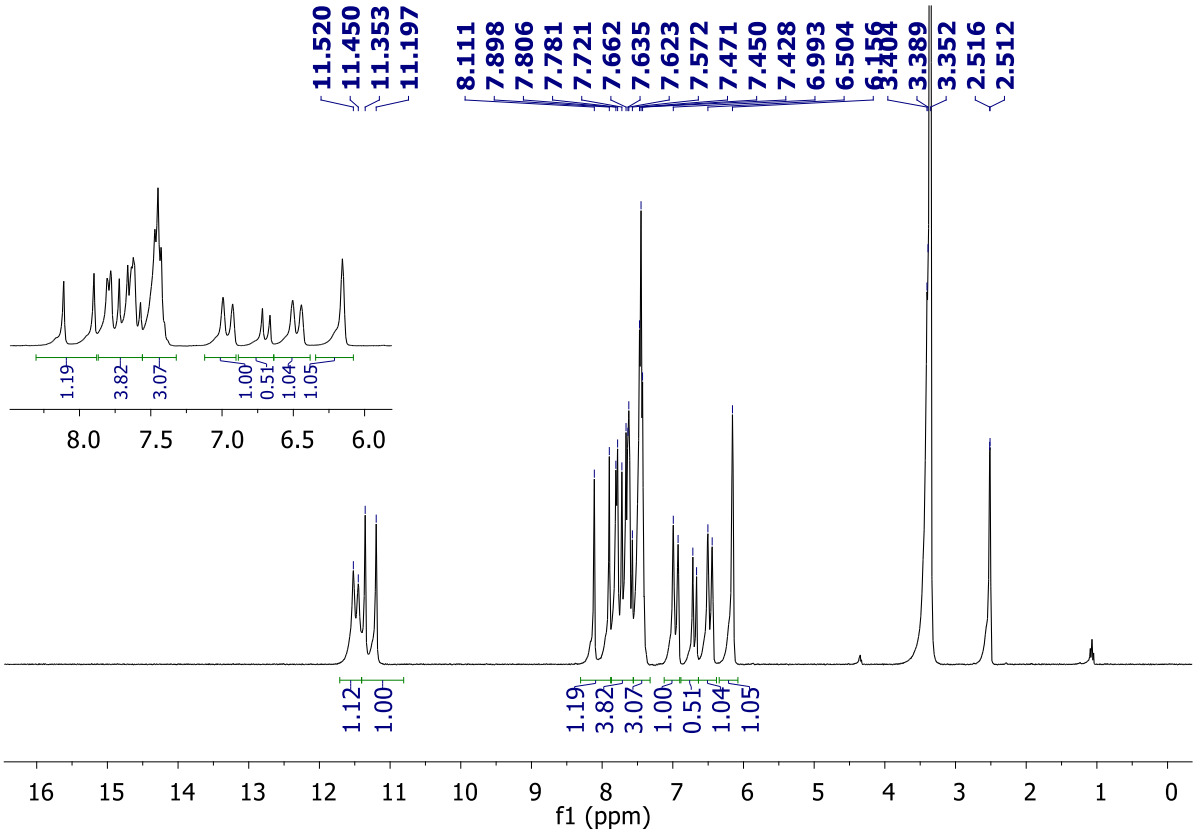
PeakTable

Detector A Ch1 254nm

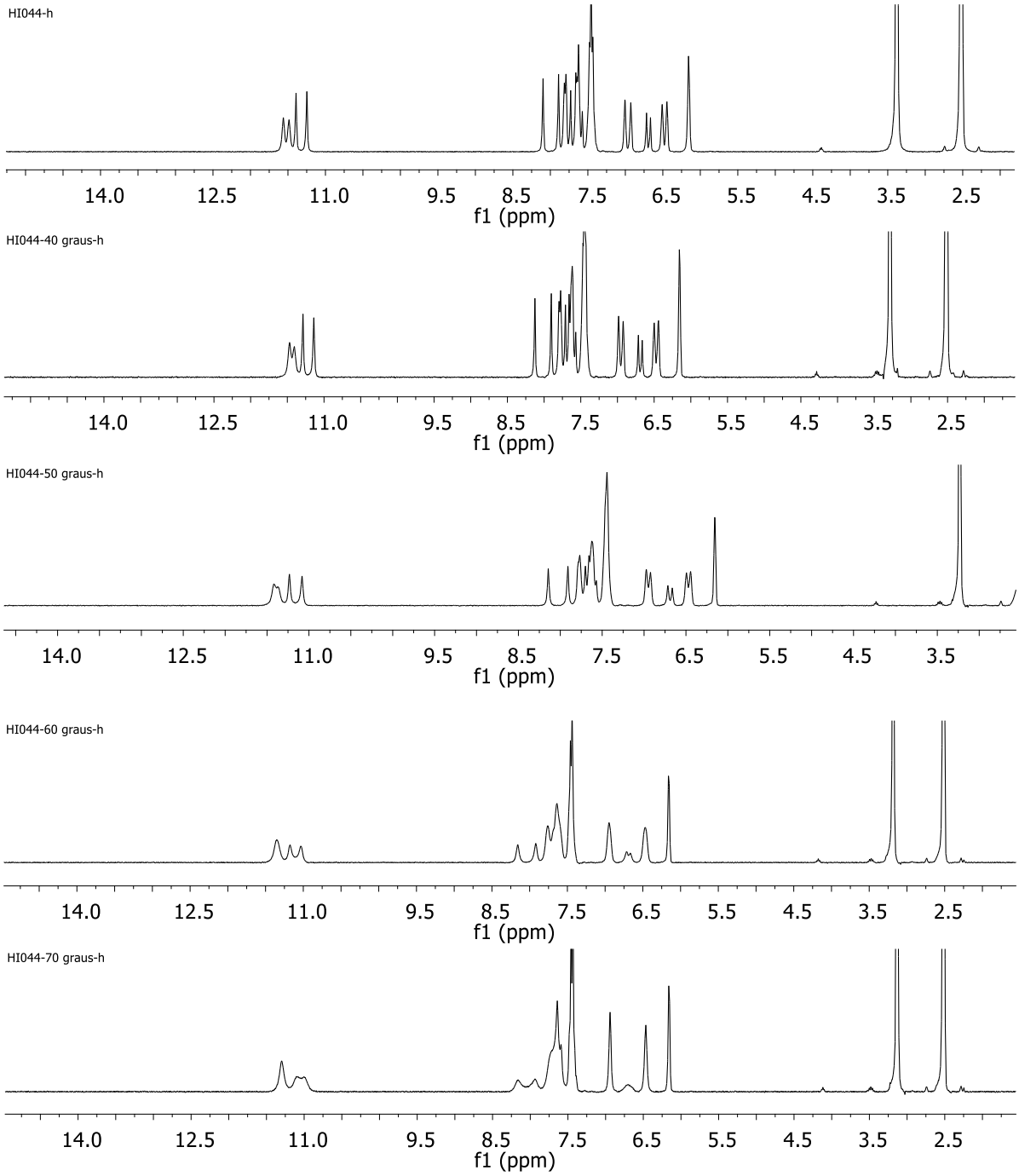
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.138	859	122	0.102	0.000	1.012	0.013	0.000
2	2.686	3002	334	0.147	2.410	0.000	0.045	0.000
3	2.857	1253	154	0.000	0.478	0.000	0.019	0.000
4	4.355	6590415	619898	0.159	4.077	1.350	99.842	0.000
5	5.997	2487	194	0.196	5.259	1.322	0.038	0.000
6	7.971	2816	175	0.247	5.129	1.214	0.043	0.000
Total		6600831	620878				100.000	

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,5 (s, pirrol-NH*), 11,4 (s, pirrol-NH*), 11,4 (s, C=ONH-*), 11,2 (s, C=ONH-*), 8,11 (s, N=CH-*), 7,90 (s, N=CH-*), 7,80-7,57 (m, 3½H, 1H Cβ-H, 2H fenil-CH), 7,47-7,43 (m, 3H, fenil-CH), 6,99 (s, pirrol-NCH*), 6,92 (s, pirrol-NCH*), 6,69 (d, *J*= 15,8 Hz, ½H Cα-H), 6,50 (s, 1H, pirrol-CH*), 6,44 (s, 1H, pirrol-CH*), 6,16 (s, 1H, pirrol-CH).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.

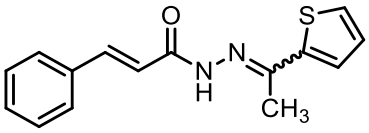


RMN ^{1}H comparação em diferentes temperaturas (25, 40, 50, 60 e 70 °C)



Ref.: (JASIAK; KUDELKO, 2015), CAS: 1811517-29-9

N'-(1-(tiofen-2-il)etilideno)cinamoil-hidrazida **(3g)**



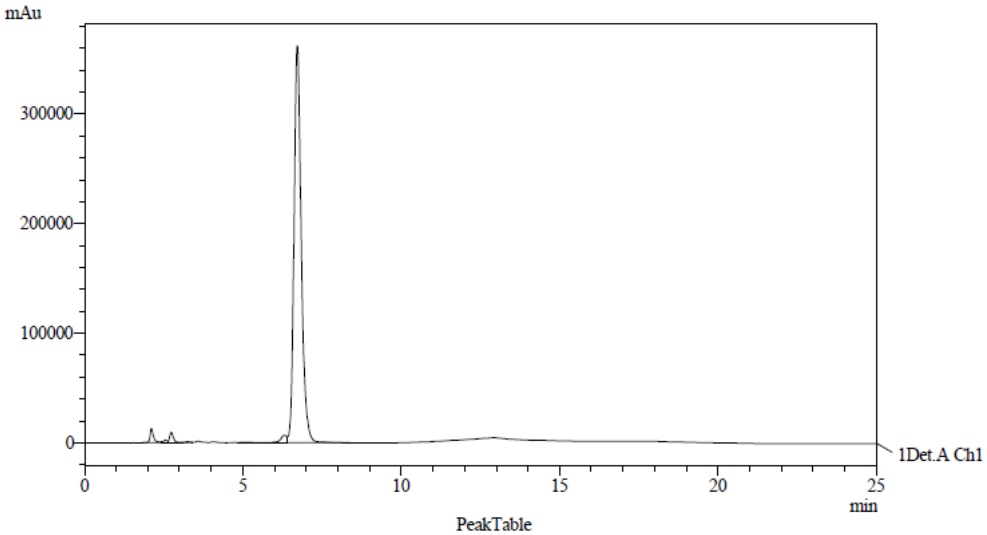
Uma solução de cinamoil-hidrazida (100,0 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.), 2-acetil-tiofeno (68 µL, 0,63 mmol, 1,01 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado sob aquecimento (60 °C) por 24 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido amarelo claro (m = 33,5 mg, rendimento = 20%).

Sólido amarelo claro rendimento: 20%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,80 Hex: EtOAc = 2:8), revelador vanilina: amarelo

Ponto de fusão 225-244 °C

Pureza (HPLC): 95%, tempo de retenção 6,71 minutos (método B)

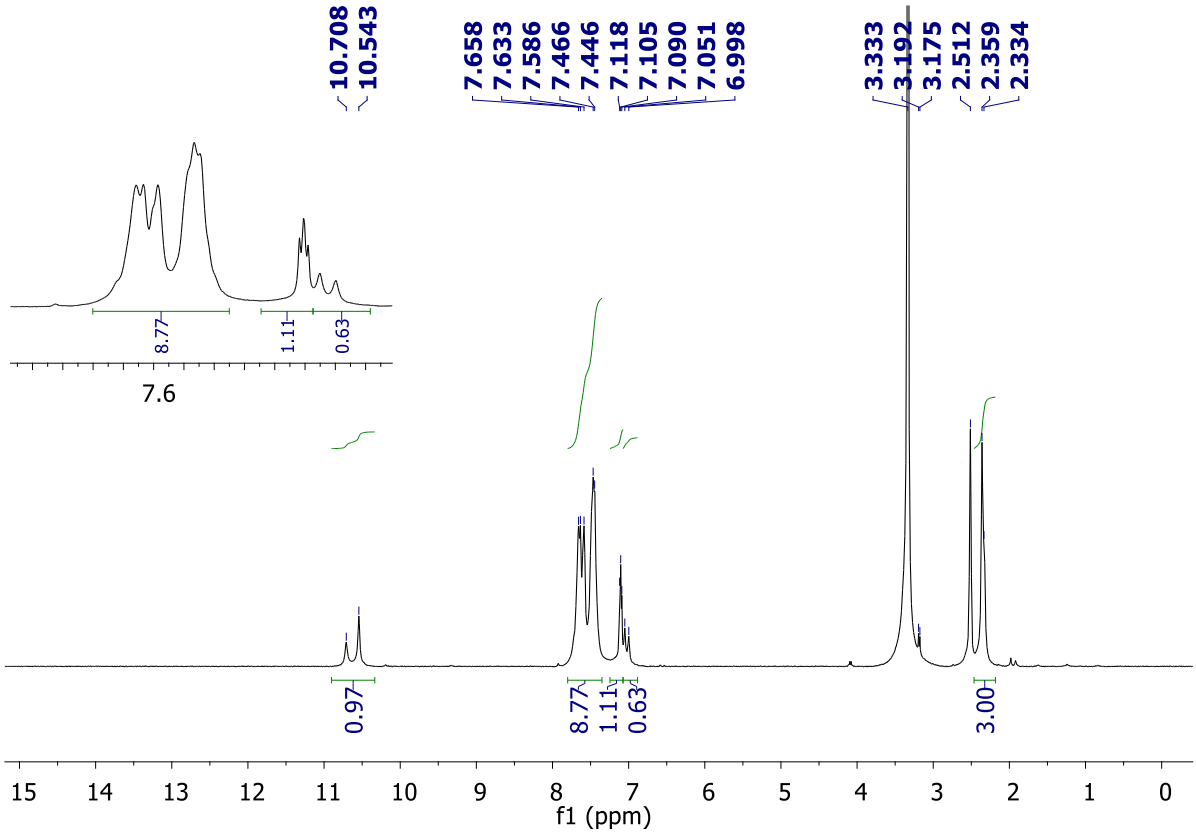


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.107	101635	13082	0.103	0.000	1.620	1.677	0.000
2	2.545	18002	2225	0.000	1.860	0.000	0.297	0.000
3	2.737	75890	9447	0.117	0.773	0.000	1.252	0.000
4	3.246	5447	722	0.117	2.380	0.000	0.090	0.000
5	5.086	5299	274	0.282	5.092	1.665	0.087	0.000
6	6.308	93625	6859	0.000	2.323	0.000	1.545	0.000
7	6.715	5760036	362354	0.236	0.856	1.262	95.051	0.000
Total		6059934	394964				100.000	

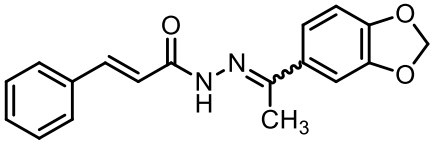
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 10,7 (s, C=ONH*), 10,5 (s, C=ONH*), 7,66-7,45 (m, 8½H, 5H fenil-CH; 1H Cβ-H; 2H tiofeno-SCH, ½H Cα-H*), 7,45 (m, 4H, 3x fenil-CH; tiofeno-CH), 7,12-7,09 (m, 1H, tiofeno-CH), 7,02 (d, ½H, *J*= 15,6 Hz, Cα-H*), 2,36 (s, 3H, CH_3).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: composto inédito

N'-(1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)etilideno)cinamoil-hidrazida **(3h)**



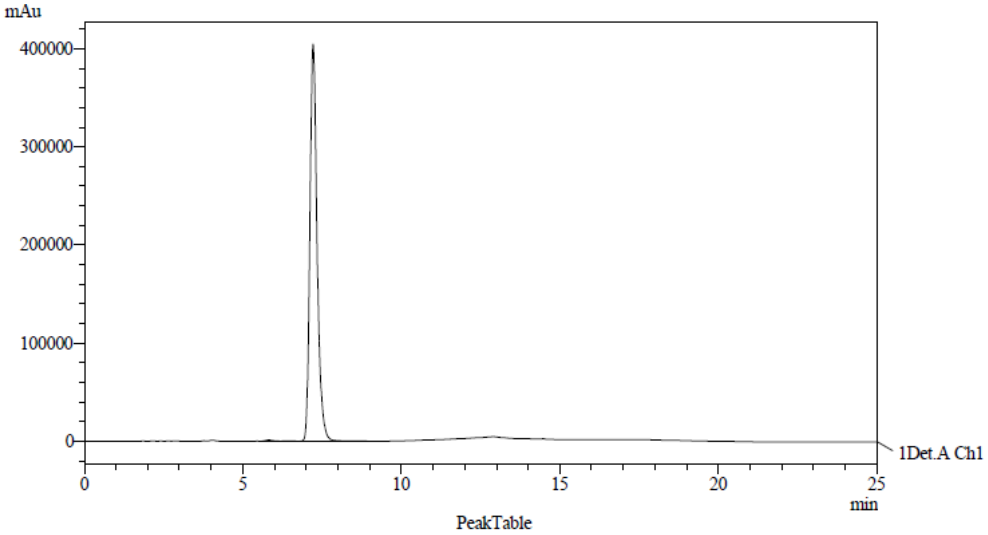
Uma solução de cinamoil-hidrazida (171,0 mg, 1,05 mmol, 1,00 eq.), 3’,4’-(mettilenodioxi)acetofenona (169,7 mg, 1,06 mmol, 1,01 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (50 mL) foi agitado sob refluxo (90 °C) por 24 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido amarelo claro (m = 126,5 mg, rendimento = 39%).

Sólido amarelo claro, rendimento: 39%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,72, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador vanilina: amarelo

Ponto de fusão 180-192 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 7,21 minutos (método B)

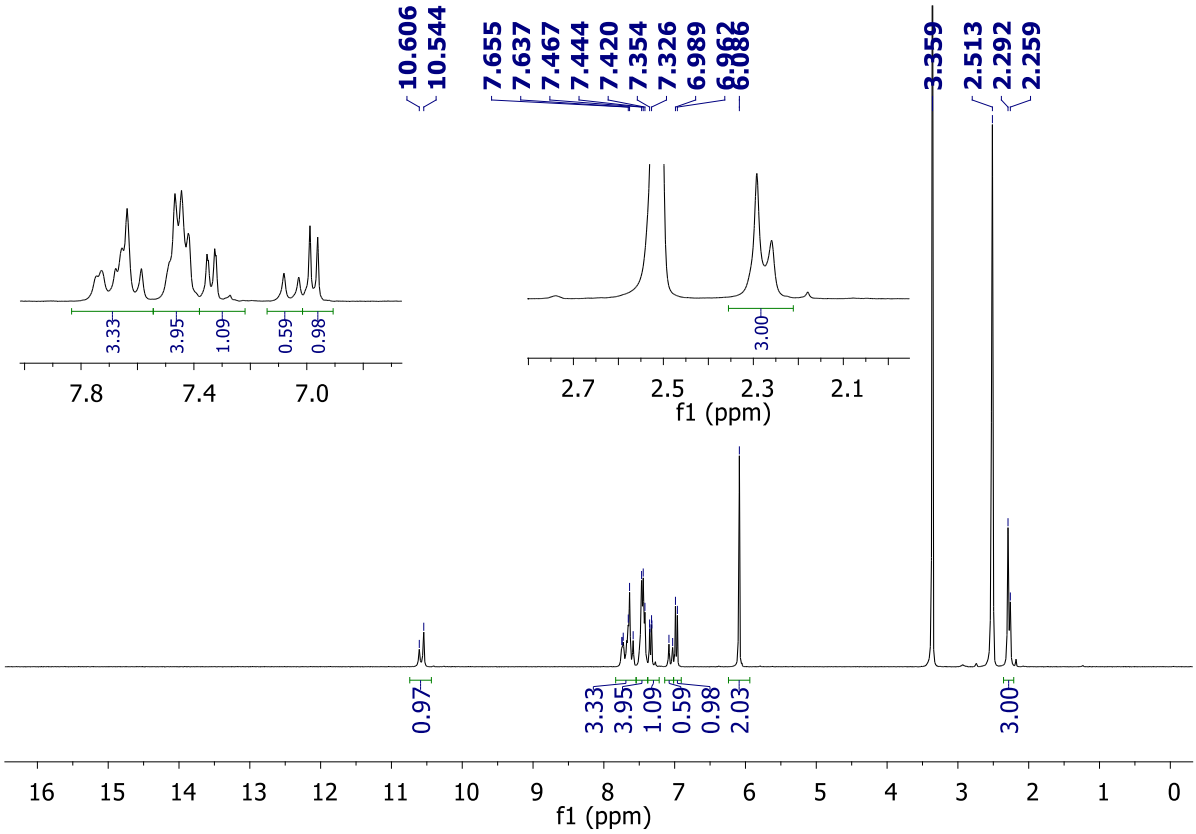


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	5.806	17192	1202	0.212	0.000	1.351	0.269	0.000
2	6.426	3015	143	0.340	1.309	0.000	0.047	0.000
3	7.214	6369686	404747	0.233	1.606	1.297	99.684	0.000
Total		6389892	406093				100.000	

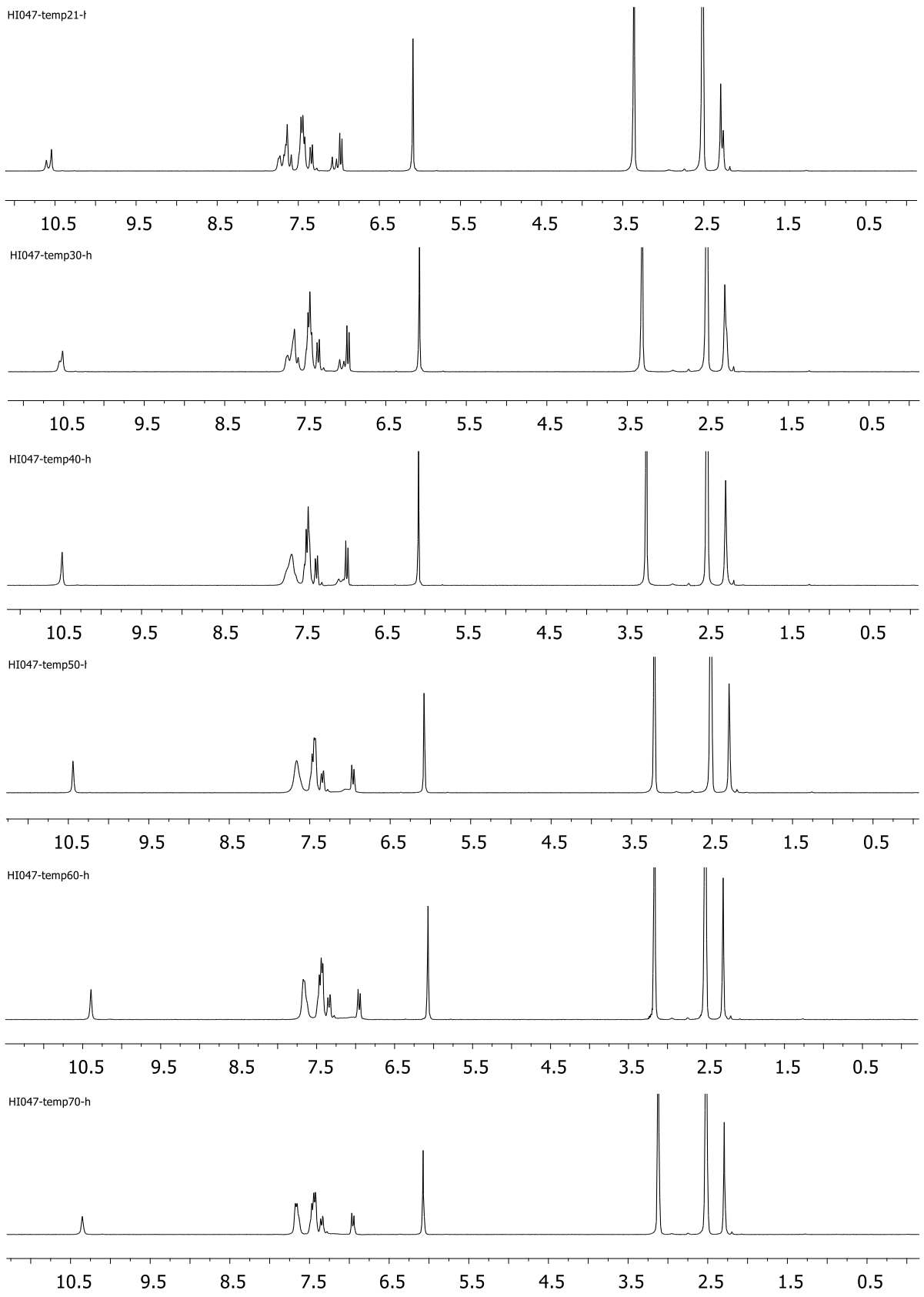
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 10,6 (s, C=ONH-*), 10,5 (s, C=ONH-*), 7,74-7,59 (m, 3½H, 2H fenil-CH; 1H Cβ-H; ½H Cα-H*), 7,47-7,42 (m, 4H, 3H fenil-CH, 1H benzodioxolil-CH), 7,34 (dd, *J*= 8,18 Hz, *J*= 1,51 Hz, 1H benzodioxolil-CH), 7,08-7,02 (d, *J*= 18,9 Hz, ½H Cα-H*), 6,97 (d, *J*= 8,17 Hz, 1H, benzodioxolil-C-H), 6,08 (s, 2H, OCH_2O), 2,29 (s, CH_3*), 2,26 (s, CH_3*).

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.

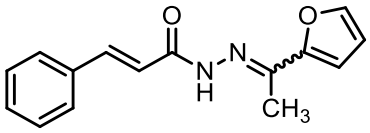


Ref.: composto inédito

RMN ^{1}H comparação em diferentes temperaturas (21 °C, 30°C, 40°C, 50°C, 60°C e 70 °C)



N'-(1-(furan-2-il)etilideno)cinamoil-hidrazida **(3i)**



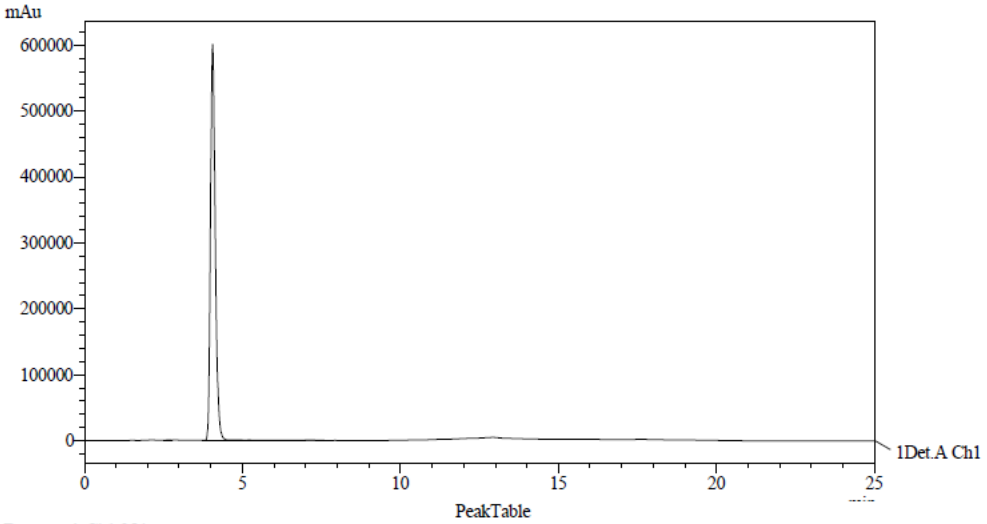
Uma solução de cinamoil-hidrazida (100,0 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.), 2-acetilfurano (63 µL, 0,63 mmol, 1,01 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado sob refluxo (90 °C) por 24 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido bege (m = 126,1 mg, rendimento = 48%).

Sólido bege, rendimento: 48 %/ Ref.: sólido branco, rendimento 96%

CCD: (Rf = 0,52, Hex: EtOAc = 2:8), revelador vanilina: amarelo

Ponto de fusão 206-220 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 4,03 minutos (método B)

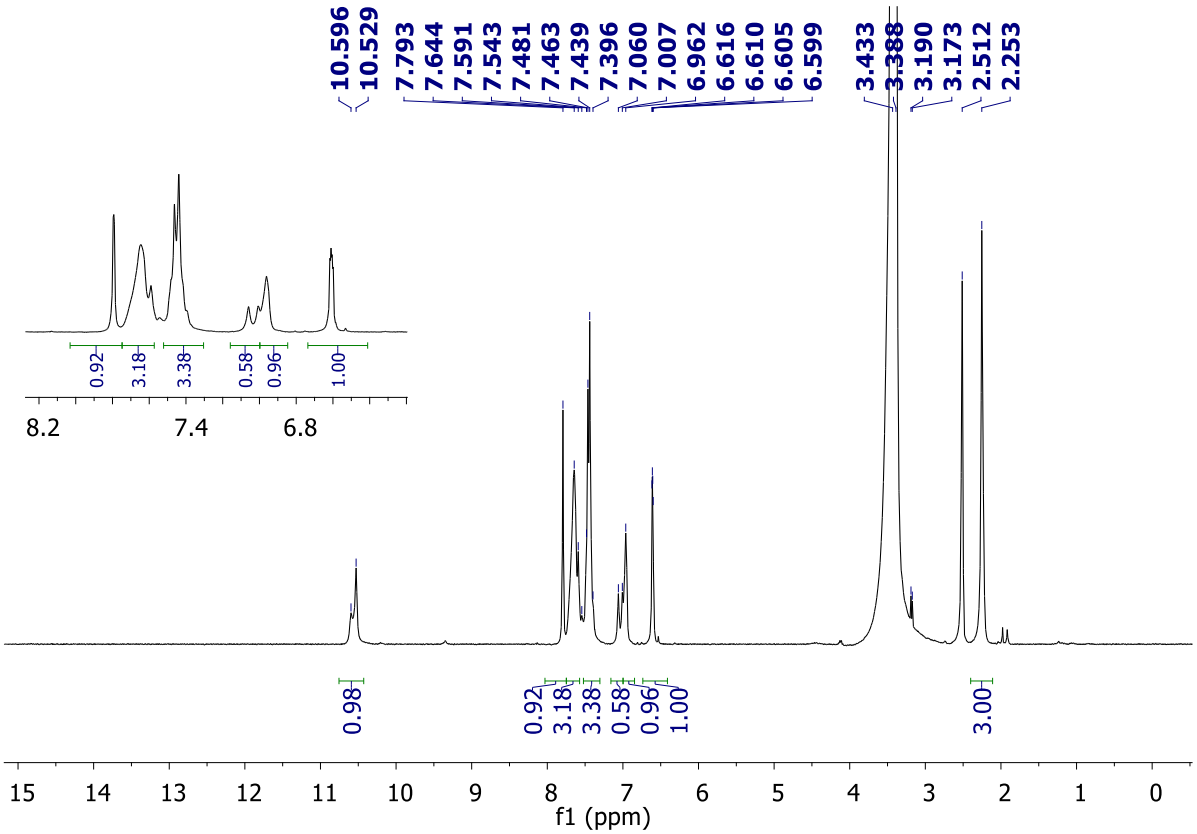


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.680	3108	346	0.154	0.000	0.788	0.049	0.000
2	4.053	6356875	601371	0.159	5.203	1.301	99.766	0.000
3	5.219	1708	121	0.230	3.492	0.000	0.027	0.000
4	5.723	2358	192	0.197	1.391	1.356	0.037	0.000
5	6.466	5305	291	0.285	1.797	1.259	0.083	0.000
6	7.267	2427	143	0.255	1.728	1.196	0.038	0.000
Total		6371782	602464				100.000	

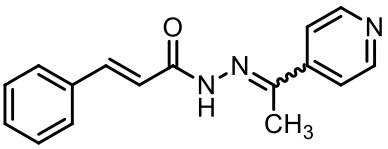
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 10,6 (s, C=ONH-*), 10,5 (s, C=ONH-*), 7,80 (s, 1H, furano-OCH), 7,64-7,59 (m, 3H, 2H fenil-CH, 1H Cβ-H), 7,46-7,44 (m, 3½H, 3H fenil-CH, ½H Cα-H*), 7,03 (d, *J*= 15,7 Hz, ½H Cα-H*), 6,96 (sl, 1H, furano-CH), 6,61 (dd, 1H, *J*= 1,70 Hz, *J*= 3,26 Hz, furano-CH), 2,25 (s, 3H, CH_3)

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: composto inédito

N'-(1-(piridin-4-il)etilideno)cinamoil-hidrazida **(3j)**



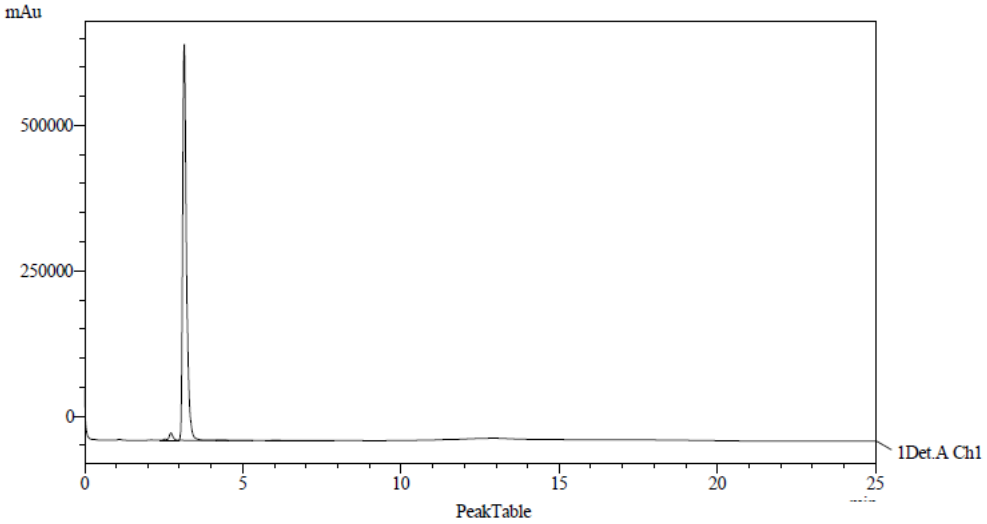
Uma solução de cinamoil-hidrazida (171,4 mg, 1,06 mmol, 1,00 eq.), 4-acetilpiridina (130 µL, 1,18 mmol, 1,11 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (50 mL) foi agitado sob refluxo (90 °C) por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido cristalino branco (m = 68,3 mg, rendimento = 24%).

Sólido cristalino branco, rendimento: 24%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,32, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador vanilina: amarelo

Ponto de fusão 220-226°C

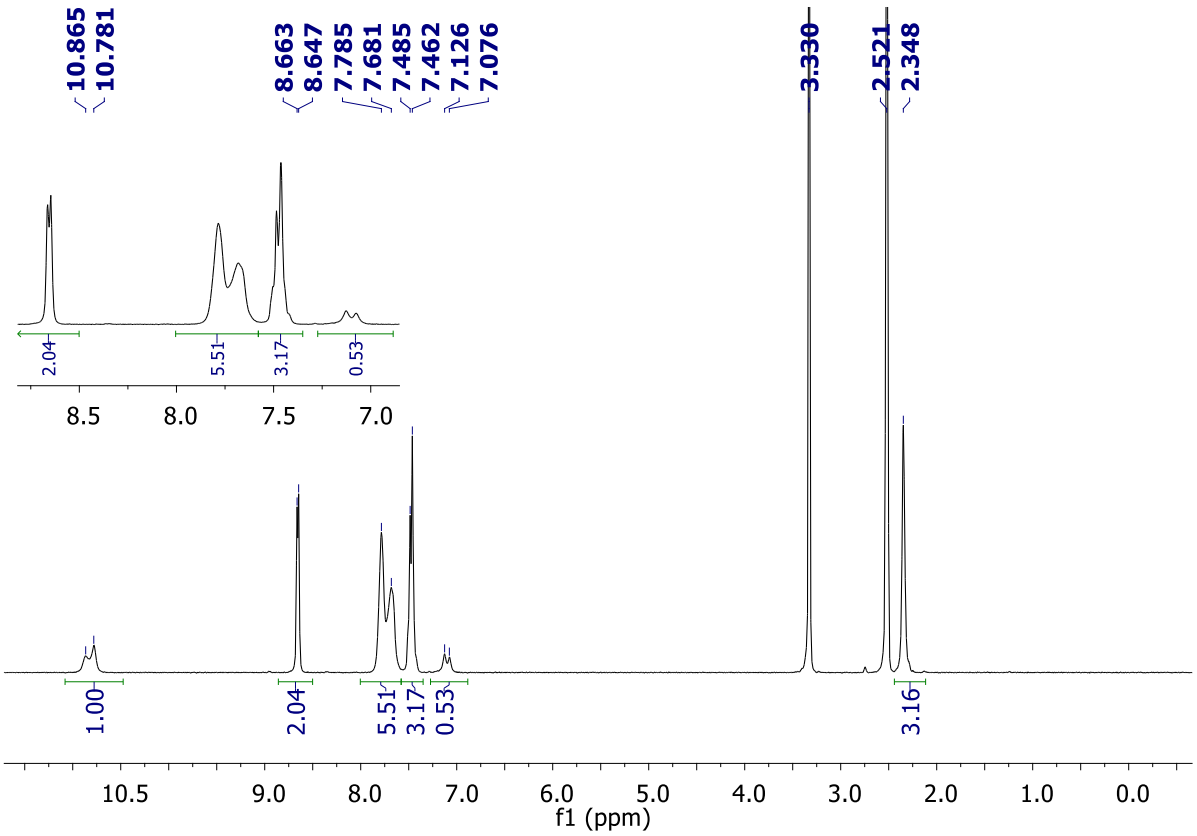
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 3,14 minutos (método B)



Detector A Ch1 254nm

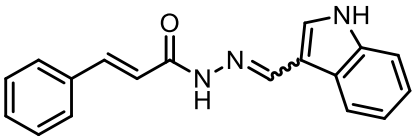
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.540	15910	2200	0.000	0.000	0.000	0.271	0.000
2	2.724	102118	12874	0.116	0.538	0.000	1.737	0.000
3	3.144	5739446	681160	0.122	1.927	1.557	97.600	0.000
4	4.303	4454	470	0.153	4.781	1.227	0.076	0.000
5	6.014	14133	923	0.228	5.180	1.352	0.240	0.000
6	6.805	3293	205	0.243	1.930	1.246	0.056	0.000
7	7.528	1208	68	0.288	1.619	1.183	0.021	0.000
Total		5880562	697901				100.000	

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 10,9 (s, C=ONH-*), 10,8 (s, C=ONH-*), 8,65 (, 2H, *J*= 4,92 Hz, piridinil-CH), 7,78 – 7,68 (m, 5H, 2H fenil-CH; 1H Cβ-H, 2H piridinil-CH), 7,68 (sl, 2H, piridinil-CH), 7,48 – 7,46 (m, 3H, fenil-CH), 7,10 (s, *J*= 14,7 Hz, ½H, Cα-H*), 2,35 (s, 3H, CH_3).



Ref.: composto inédito

N'-(1-(1H-indol-3-il)metilideno)cinamoil-hidrazida **(3k)**



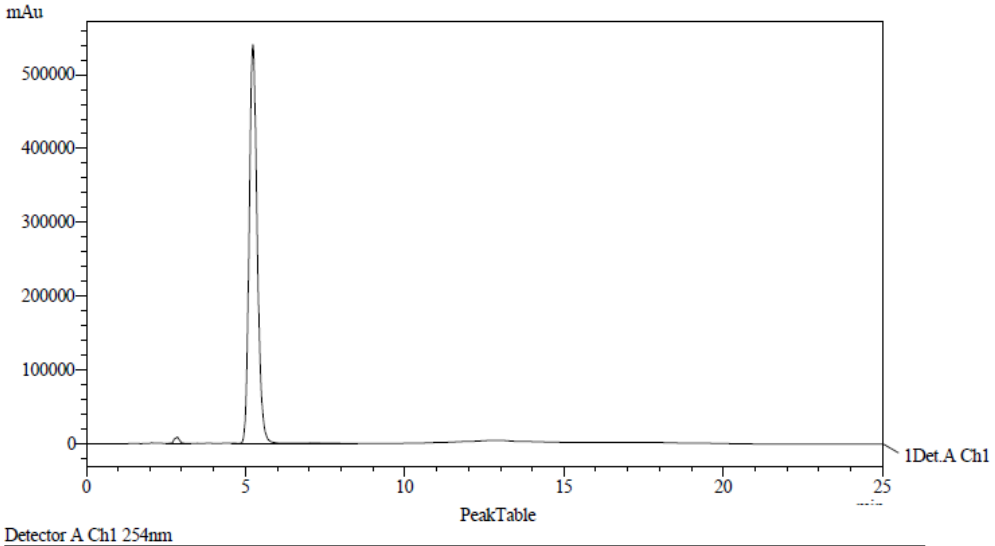
Uma solução de cinamoil-hidrazida (97,3 mg, 0,60 mmol, 1,00 eq.), indol-3-caboxaldeído (87,2 mg, 0,60 mmol, 1,00 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado em temperatura ambiente (30 °C) por 18 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido amarelo intenso (m = 125.0 mg, rendimento = 72%).

Sólido amarelo intenso, rendimento: 72%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,40, HEX: EtOAc = 2:8), revelador vanilina: marrom

Ponto de fusão 253-259 °C

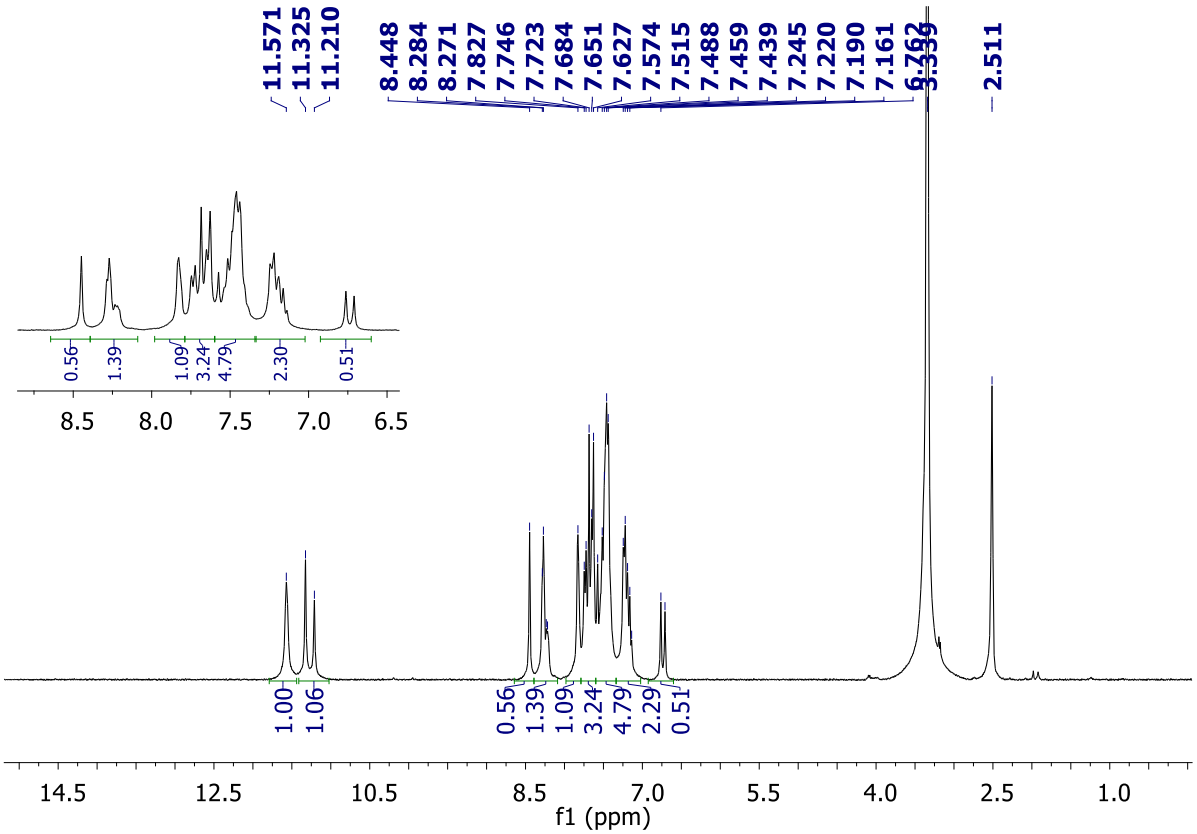
Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 5,23 minutos (método B)



Detector A Ch1 254nm

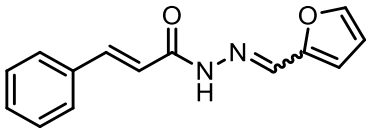
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.856	100309	8562	0.191	0.000	0.995	1.045	0.000
2	4.645	1077	153	0.119	7.168	1.278	0.011	0.000
3	5.228	9482313	540606	0.266	1.772	1.203	98.825	0.000
4	6.430	3159	195	0.263	2.661	1.486	0.033	0.000
5	7.214	1605	122	0.000	1.277	0.000	0.017	0.000
6	7.532	4256	225	0.000	0.455	0.000	0.044	0.000
7	7.875	2377	145	0.000	0.487	0.000	0.025	0.000
Total		9595097	550009				100.000	

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,6 (s, 1H, indol-NH), 11,3 (s, C=ONH-*), 11,2 (s, C=ONH-*), 8,45 (s, ½H, N=CH*), 8,27-8,22 (m, 1½H, ½H N=CH*, 1H indol-CH), 7,83 (s, 1H, indol-NCH), 7,74-7,62 (m, 3H, 2H fenil-CH; 1H Cβ-H), 7,58-7,44 (m, 4½H, 3H fenil-CH, 1H indol-CH, ½H Cα-H*), 7,24-7,13 (m, 2H, indol-CH), 6, 74 (d, *J*= 15,7 Hz, ½H, Cα-H*). (*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



Ref.: sem referência de caracterização/ CAS: 384844-36-4

N'-(1-(furan-2-il)etilideno)cinamoil-hidrazida **(3l)**



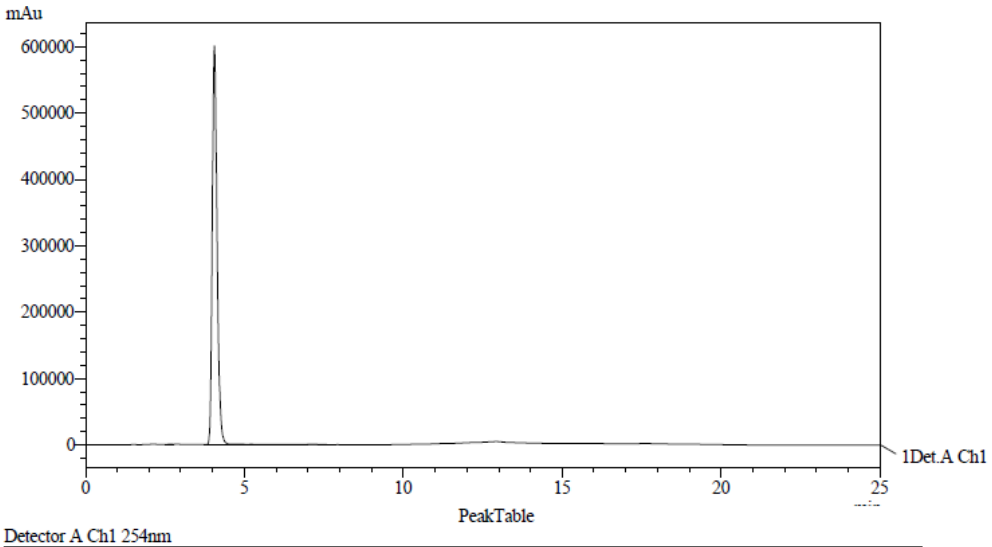
Uma solução de cinamoil-hidrazida (100,0 mg, 0,62 mmol, 1,00 eq.), furan-2-carboxaldeído (65 µL, 0,78 mmol, 1,26 eq.) e ácido acético glacial (1-3 gotas) em MeOH (25 mL) foi agitado a temperatura ambiente (30 °C) por 2 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com MeOH e água gelados e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em MeOH resultando um sólido branco (m = 71,2 mg, rendimento = 48 %).

Sólido branco, rendimento: 48%/ Ref.: sólido bege, rendimento 92%

CCD: (Rf = 0,65, HEX: EtOAc = 2:8), revelador vanilina: amarel

Ponto de fusão 207-216 °C/ Ref.: 219-221 °C

Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 4,05 minutos (método B)

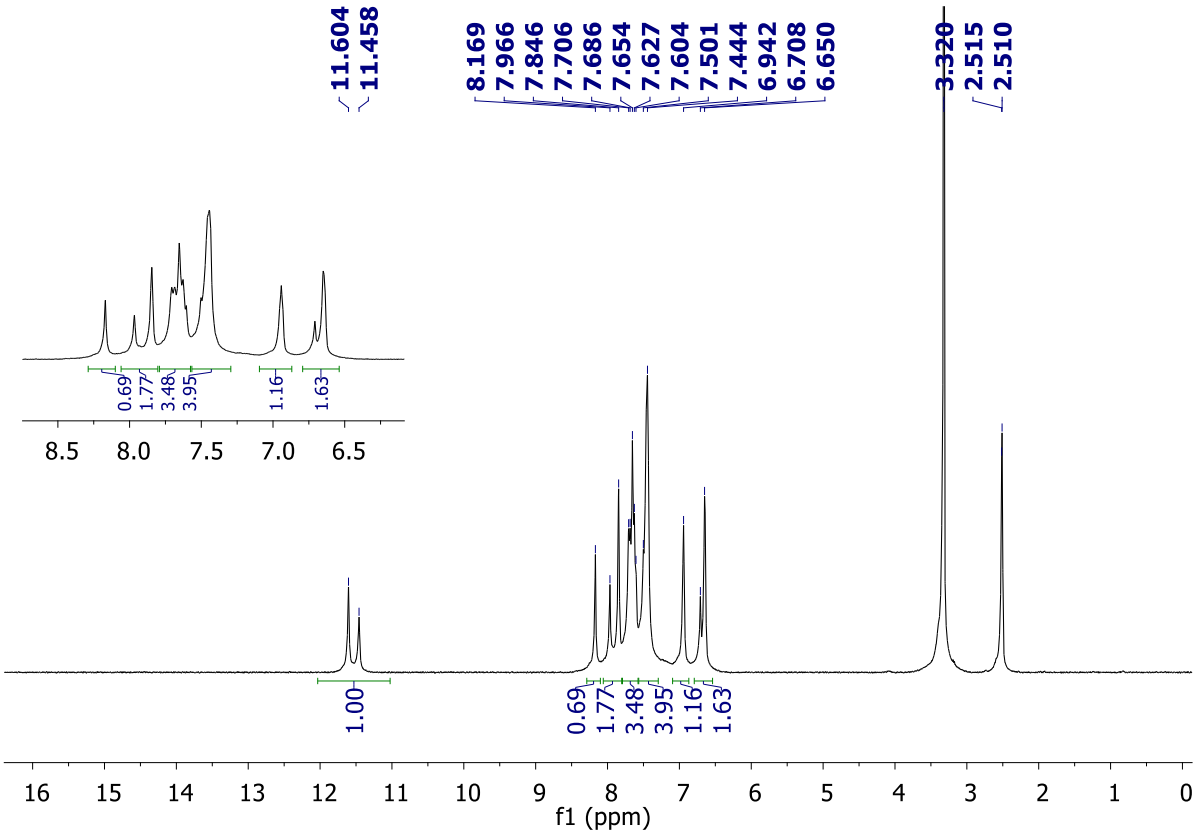


Detector A Ch1 254nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Width at 50% Heigh	Resolution	Tailing Factor	Area %	Conc. %
1	2.680	3108	346	0.154	0.000	0.788	0.049	0.000
2	4.053	6356875	601371	0.159	5.203	1.301	99.766	0.000
3	5.219	1708	121	0.230	3.492	0.000	0.027	0.000
4	5.723	2358	192	0.197	1.391	1.356	0.037	0.000
5	6.466	5305	291	0.285	1.797	1.259	0.083	0.000
6	7.267	2427	143	0.255	1.728	1.196	0.038	0.000
Total		6371782	602464				100.000	

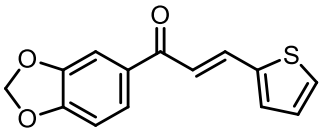
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,6 (s, C=ONH-*), 11,5 (s, C=ONH-*), 8,17 (s, ½H, N=CH*), 7,97 (½H N=CH*) 7,85 (s, 1H, furano-OCH), 7,71-7,60 (m, 3½H, 2H fenil-CH, 1H Cβ-H, ½H Cα-H*), 5,50-7,44 (m, 4H, 3H fenil-CH, 1H furano-CH), 6,94 (s, 1H, furano-CH), 6,68 (d, *J*= 17,5 Hz, Cα-H), 6.65 (s, 1H, furano-CH)

(*) - corresponde aos sinais dos confôrmeros trans/cis-amida.



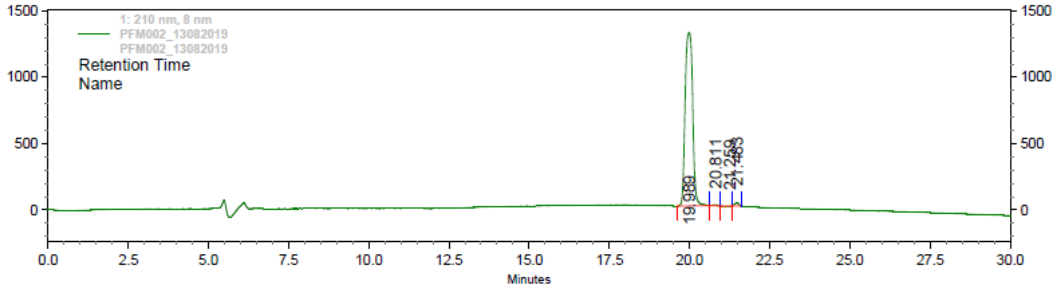
Ref.: (JASIAK; KUDELKO, 2015), CAS: 25252-83-9

(*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona **(5a)**



Tiofeno-2-carboxaldeído (228,0 mg, 2,03 mmol, 1,00 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (336,4 mg, 2,05 mmol, 1,01 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 1 hora a temperatura ambiente (30 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido esverdiado (m = 220,4 mg, rendimento = 42%).

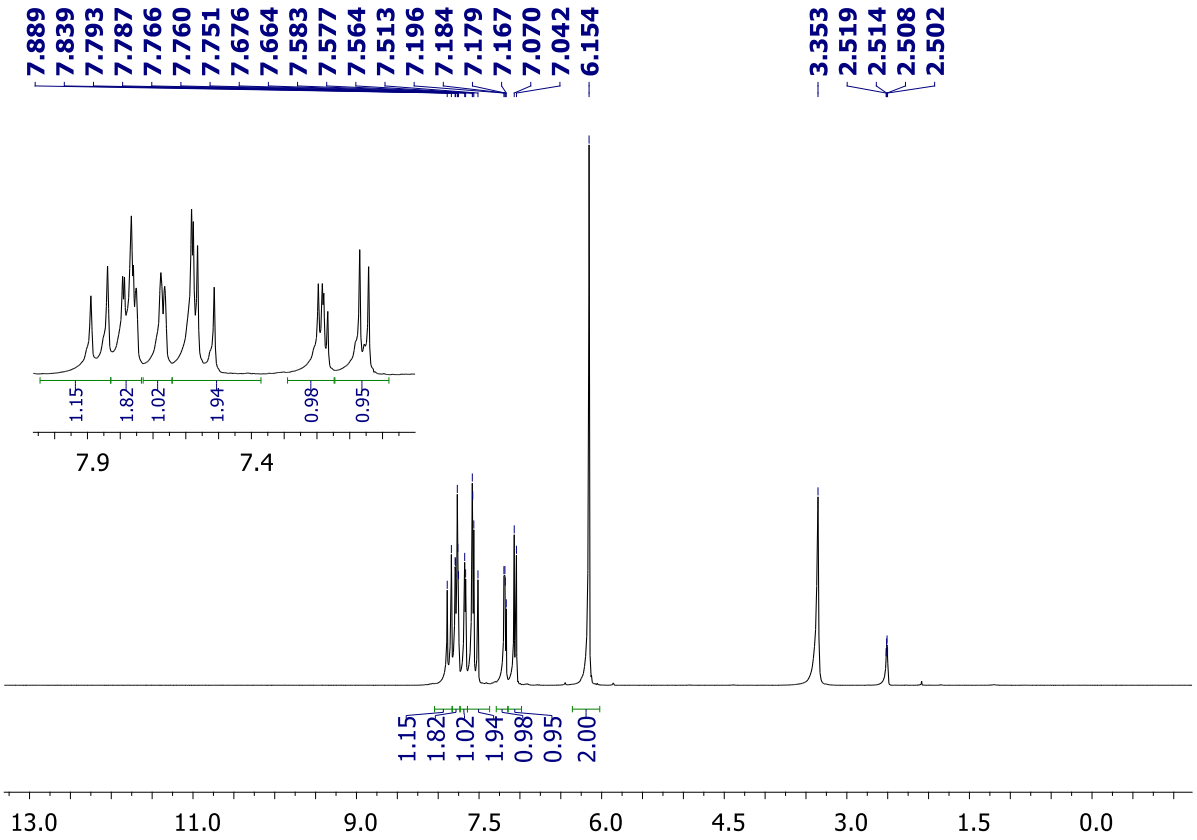
Sólido esverdiado, rendimento: 42%/ Ref.: sólido bege, rendimento 87%
CCD: (Rf = 0,39, HEX: EtOAc = 6:4), revelador 2,4-DNPH: rosa
Ponto de fusão 104-106 °C/ Ref.: 101-103 °C
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 19,99 minutos (método B)



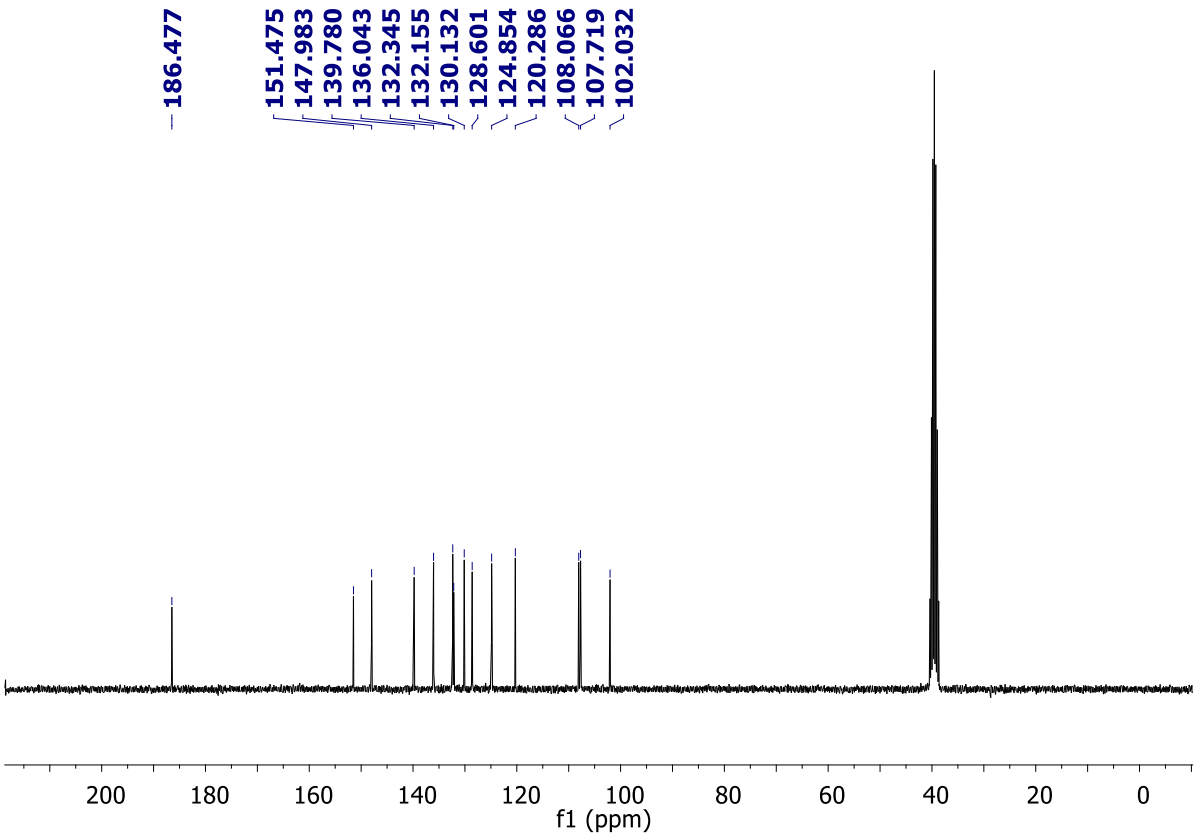
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		19.989	21214247	98.48	97.52
2		20.811	61614	0.29	0.46
3		21.259	50237	0.23	0.27
4		21.483	215457	1.00	1.76
Totals			21541555	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 7,86 (d, *J* = 15,25 Hz, 1H, Cβ-H), 7,77 (m, 2H, 1H tienil-SCH, 1H benzodioxolil-CH), 7,67 (d, *J* = 3,43 Hz, 1H, tienil-CH), 7,56 (m, 2H, 1H benzodioxolil-CH, 1H Cα-H), 7,18 (dd, *J*= 3,68 Hz, 1H, tienil-CH), 7,06 (d, *J* = 8,17 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,15 (s, 2H, OCH_2O).

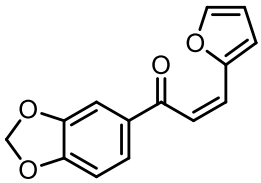


RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 186,5, 151,5, 148,0, 139,8, 136,0, 132,3, 132,2, 130,1, 128,6, 124,8, 120,3, 108,1, 107,7, 102,0.



Ref.: (BORCHHARDT et al., 2010)/ CAS: 1265608-57-8

(*Z*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona (5b)



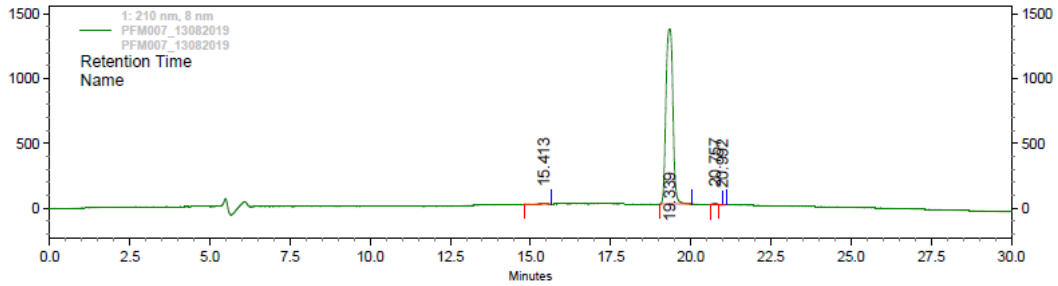
Furano-2-carboxaldeído (492,2,0 mg, 5,12 mmol, 1,02 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (50 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (820,9 mg, 5,00 mmol, 1,00 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 1 hora a temperatura ambiente (22 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido esverdiado (m = 972,0 mg, rendimento = 80%).

Sólido esverdiado, rendimento: 80%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,20, HEX: EtOAc = 6:4), revelador 2,4-DNPH: marrom

Ponto de fusão 104-106 °C

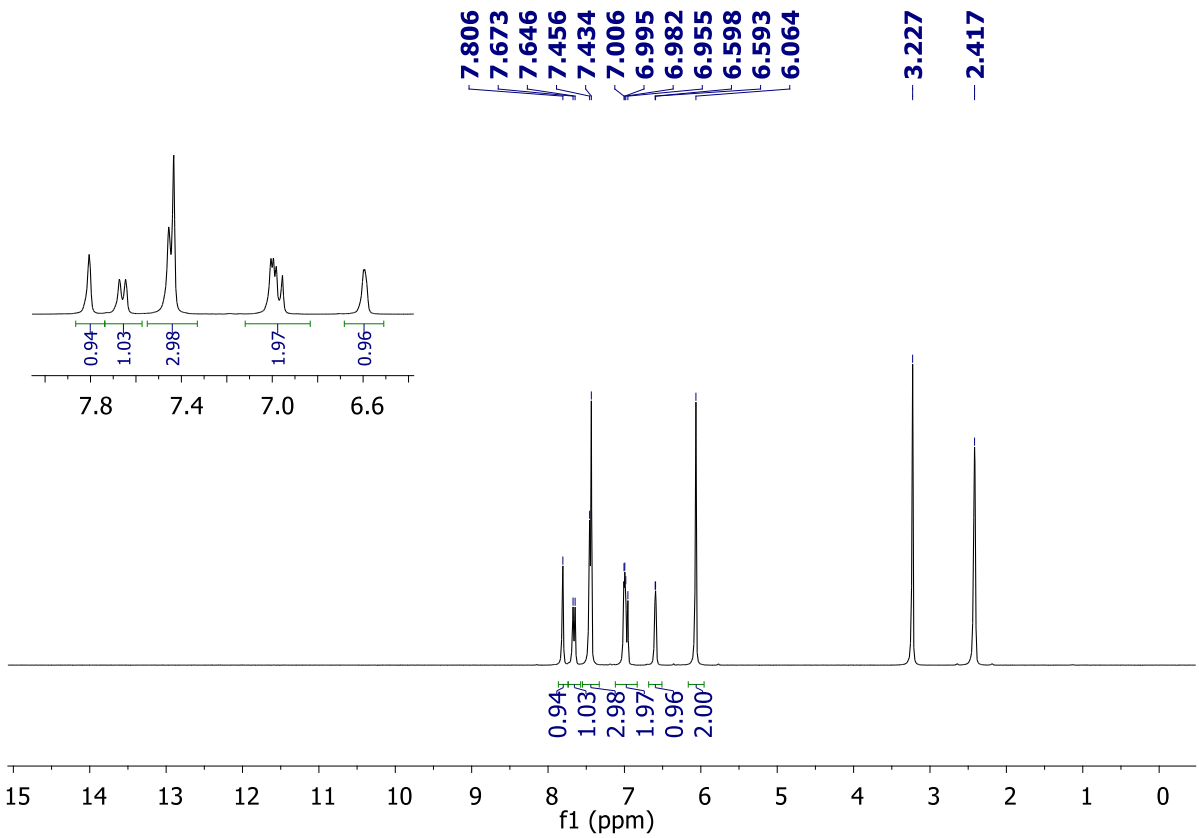
Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 19,34 minutos (método B)



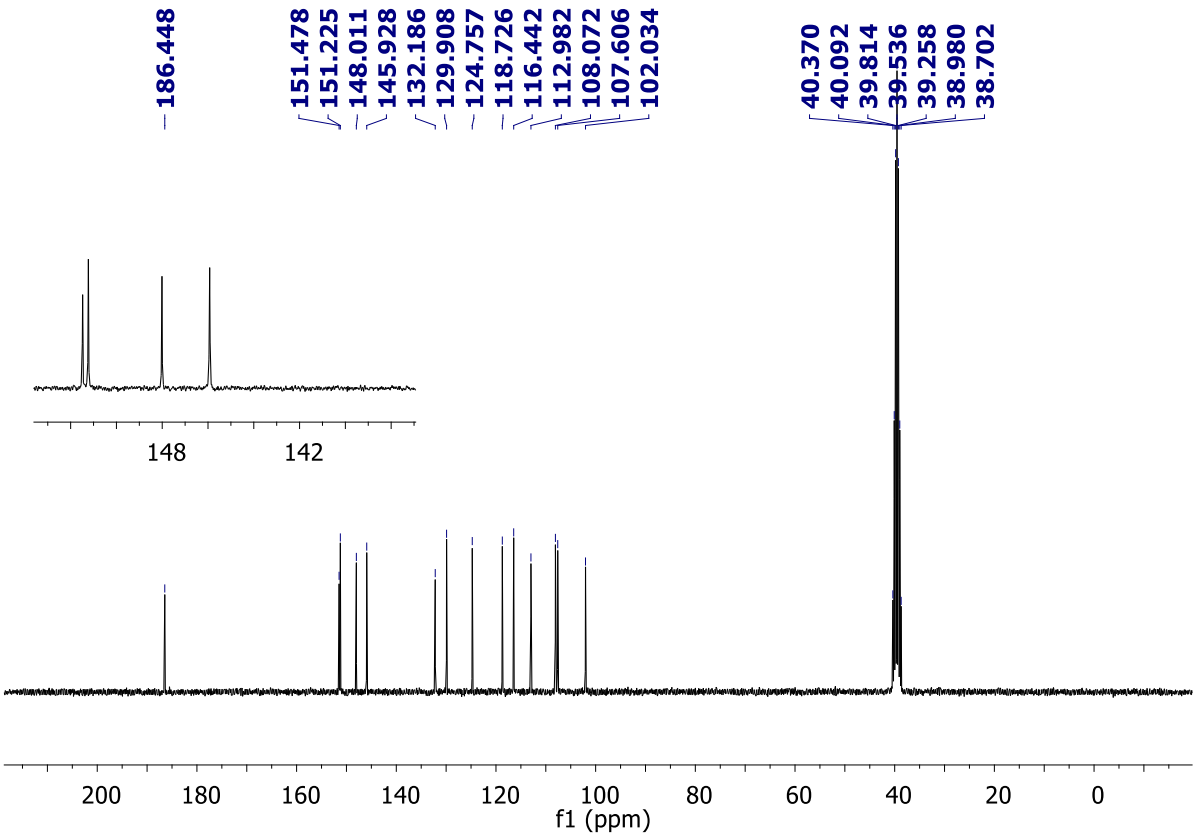
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.413	48986	0.24	0.25
2		19.339	20201700	99.29	99.01
3		20.757	75162	0.37	0.60
4		20.992	20925	0.10	0.14
Totals			20346773	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d6) (δ ppm), 7,81 (s, 1H, furil-OCH), 7,66 (dd, *J* = 8,10 Hz, *J*= 1,52 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 7,45 – 7,43 (m, 3H, 1H benzodioxolil-CH, 1H Cβ-H, 1H furil-CH), 7,00 – 6,95 (m, 2H, furil-CH, 1H Cα-H), 6,60 (m, 1H, furil-CH), 6,15 (s, 2H, OCH_2O).

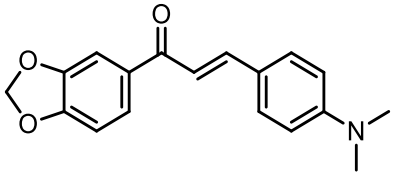


RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d6) (δ ppm) 186,4, 151,5, 151,2, 148,0, 145,9, 132,2, 129,9, 124,8, 118,7, 116,4, 113,0, 108,1, 107,6, 102,0.



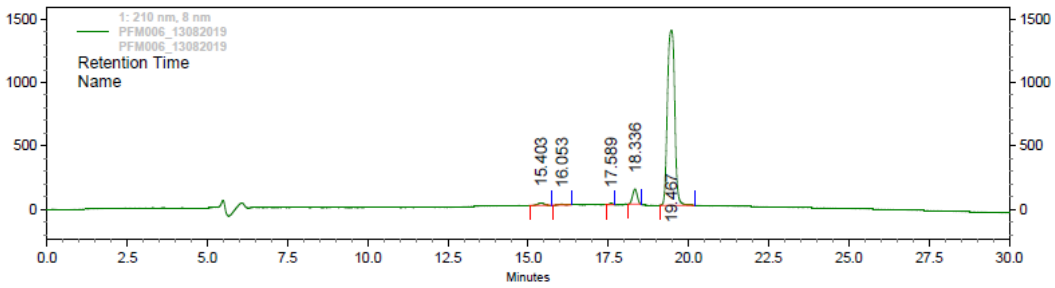
Ref.: sem referência de caracterização/ CAS: 943423-26-5

(*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(4-(dimetilamino)fenyl)prop-2-en-1-ona **(5c)**



4-(dimetilamino)benzaldeído (297,4 mg, 1,99 mmol, 1,00 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (338,6 mg, 2,06 mmol, 1,04 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 3 horas a temperatura ambiente (30 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido laranja intenso (m = 396,4 mg, rendimento = 67%).

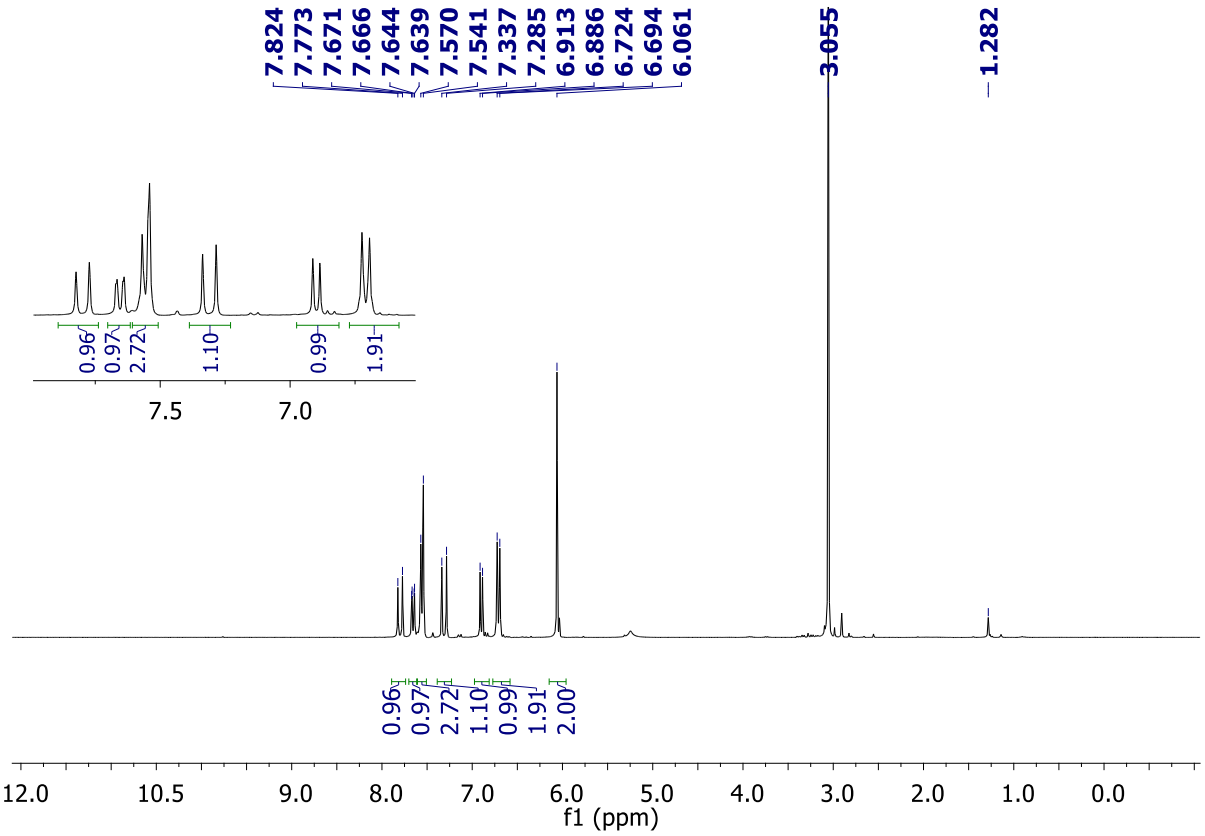
Sólido laranja intenso, rendimento: 67%/ Ref.: sólido amarelo ouro, rendimento 53%
CCD: (Rf = 0,31, HEX: EtOAc = 8:2), revelador 2,4-DNPH: laranja
Ponto de fusão 250 °C decomposição/ Ref.: 135-137 °C
Pureza (HPLC): 93%, tempo de retenção 19,47 minutos (método B)



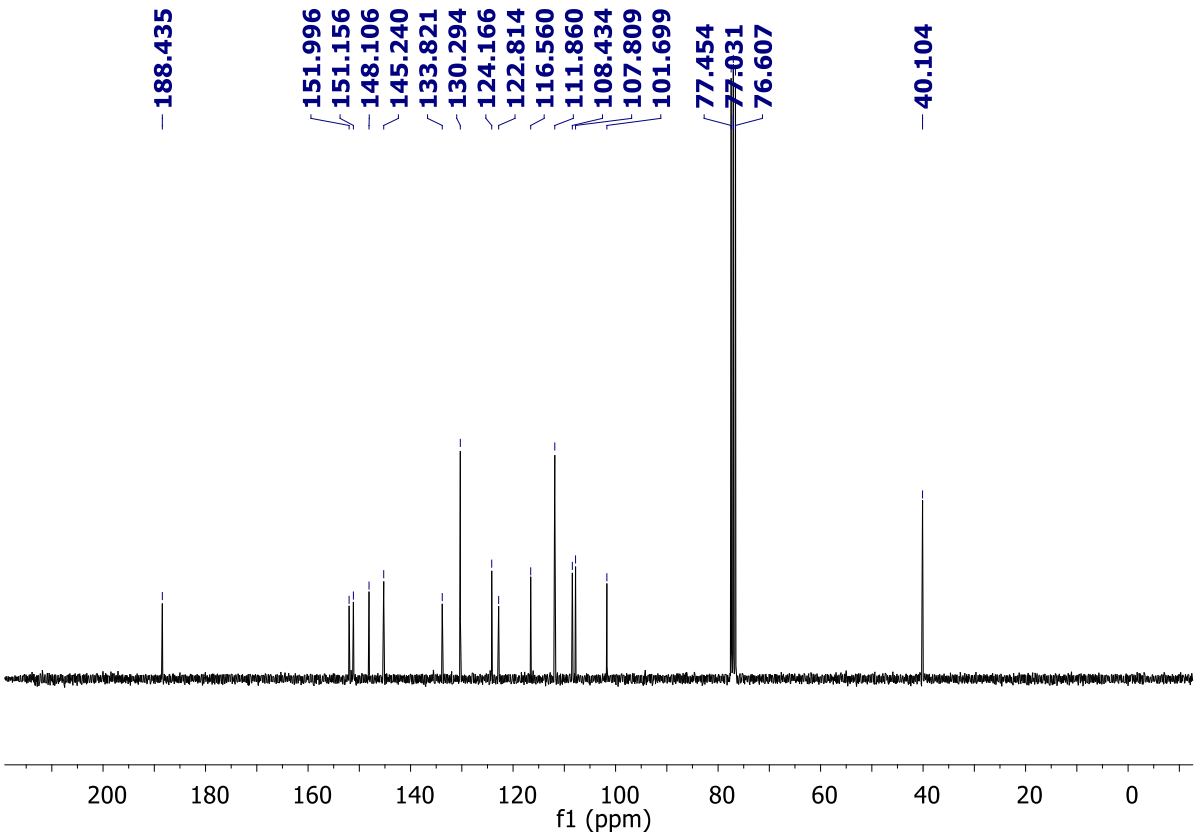
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.403	250320	1.07	1.19
2		16.053	98022	0.42	0.51
3		17.589	68041	0.29	0.54
4		18.336	1184430	5.07	7.72
5		19.467	21768493	93.15	90.04
Totals			23369306	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 7,80 (d, 1H, *J* = 15,4 Hz**,** Cβ-H), 7,65 (d, *J* = 8,14 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 7,56 – 7,54 (m, 3H, 1 H benzodioxolil-CH, 2H fenil-CH), 7,31 (d, *J* = 15,70 Hz, 1H, Cα-H), 6,90 (d, *J* = 8,13 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,71 (d, *J* = 8,80 Hz, 2H, fenil-CH), 6,06 (s, 2H, OCH_2O), 3,05 (s, 6H, 2x CH_3).

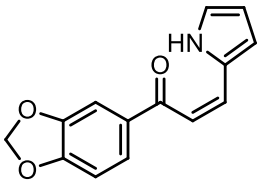


RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl3) (δ ppm), 188,4, 152,0, 151,2, 148,1, 145,2, 133,8, 130,3, 124,2, 122,8, 116,6, 111,9, 108,4, 107,8, 101,7, 40,1.



Ref.: (CHIARADIA et al., 2012)/ CAS: 928843-51-0

(*Z*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(1H-pirrol-2-il)prop-2-en-1-ona **(5d)**



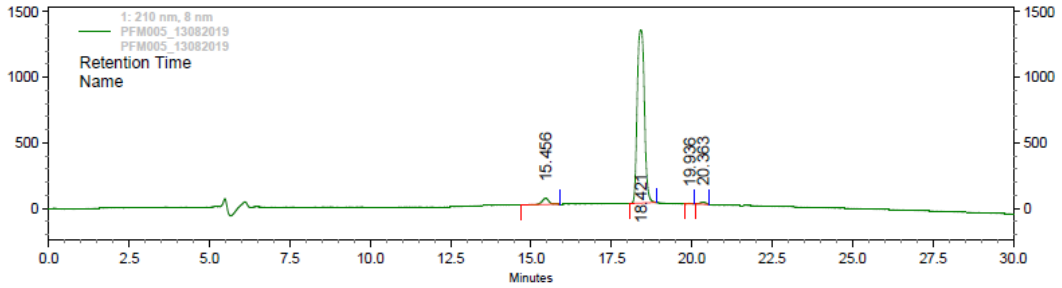
Pirrol-2-carboxaldeído (203,5 mg, 2,14 mmol, 1,03 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3’,4’-(metilenodioxi)acetofenona (342,4 mg, 2,08 mmol, 1,02 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 24 horas a temperatura ambiente (30 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido amarelo (m = 202,5 mg, rendimento = 41%).

Sólido amarelo, rendimento: 41%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,58, HEX: EtOAc = 5:5), revelador 2,4-DNPH: roxo

Ponto de fusão 198 °C decomposição

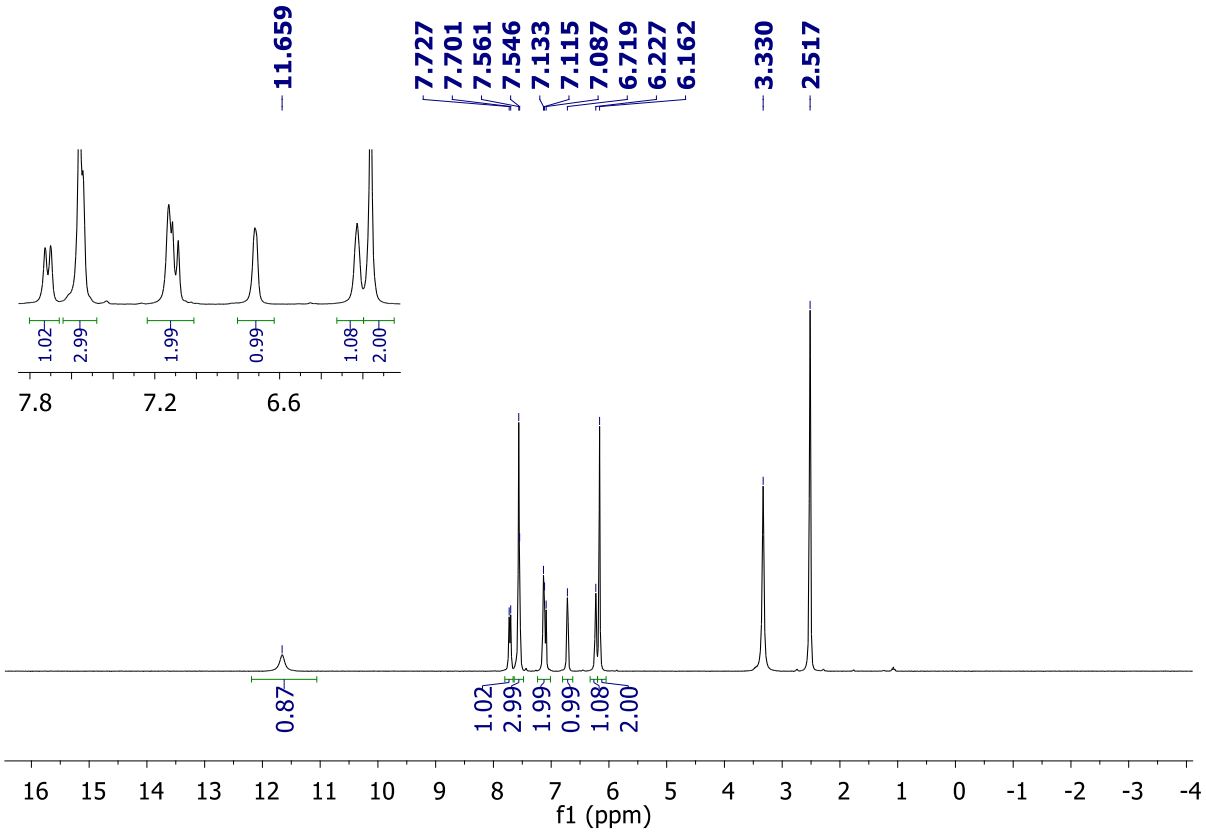
Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 18,42 minutos (método B)



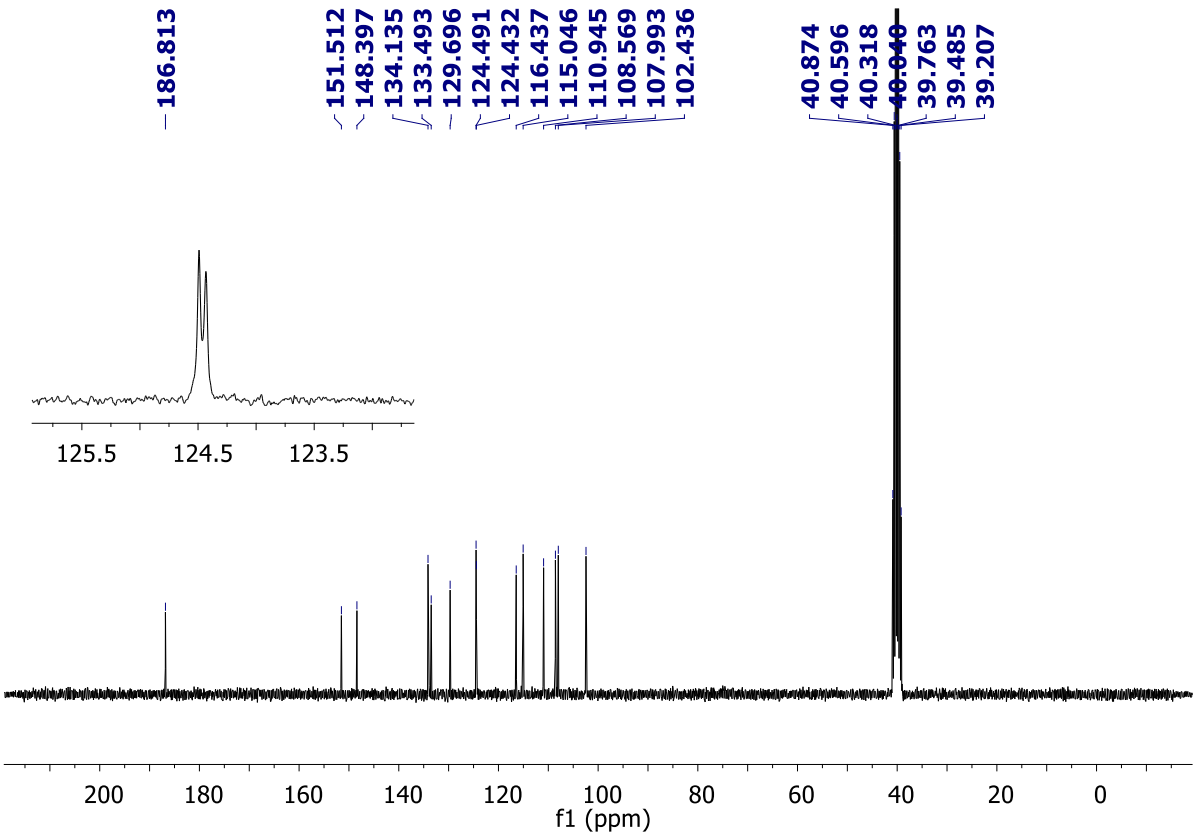
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.456	673763	3.15	3.43
2		18.421	20502331	95.73	95.13
3		19.936	42218	0.20	0.33
4		20.363	199200	0.93	1.11
Totals			21417512	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 11,7 (s, 1H, pirrol-NH), 7,71 (d, *J* = 8,01 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 7,56 – 7,55 (m, 3H, 1H benzodioxolil-CH, 1 H Cβ-H, 1H pirrolil-NCH), 7,13 – 7,09 (m, 2H, 1H benzodioxolil-CH, 1H Cα), 6,72 (s, 1H, pirrolil-CH), 6,23 (s, 1H, pirrolil-CH), 6,16 (s, 2H, OCH_2O).

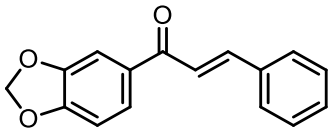


RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d6) (δ ppm) 186,8, 151,5, 148,4, 134,1, 133,5, 129,7, 124,5, 124,4, 116,4, 115,5, 110,9, 108,6, 108,0, 102,4.



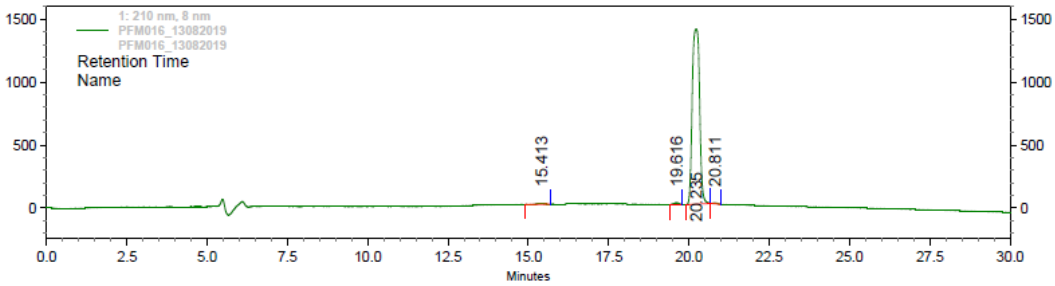
Ref.: composto inédito

(*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona **(5e)**



Benzaldeído (220 µL, 2,16 mmol, 1,07 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (329,5 mg, 2,01 mmol, 1,00 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 2 horas a temperatura ambiente (24 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido amarelado (m = 230,2 mg, rendimento = 45%).

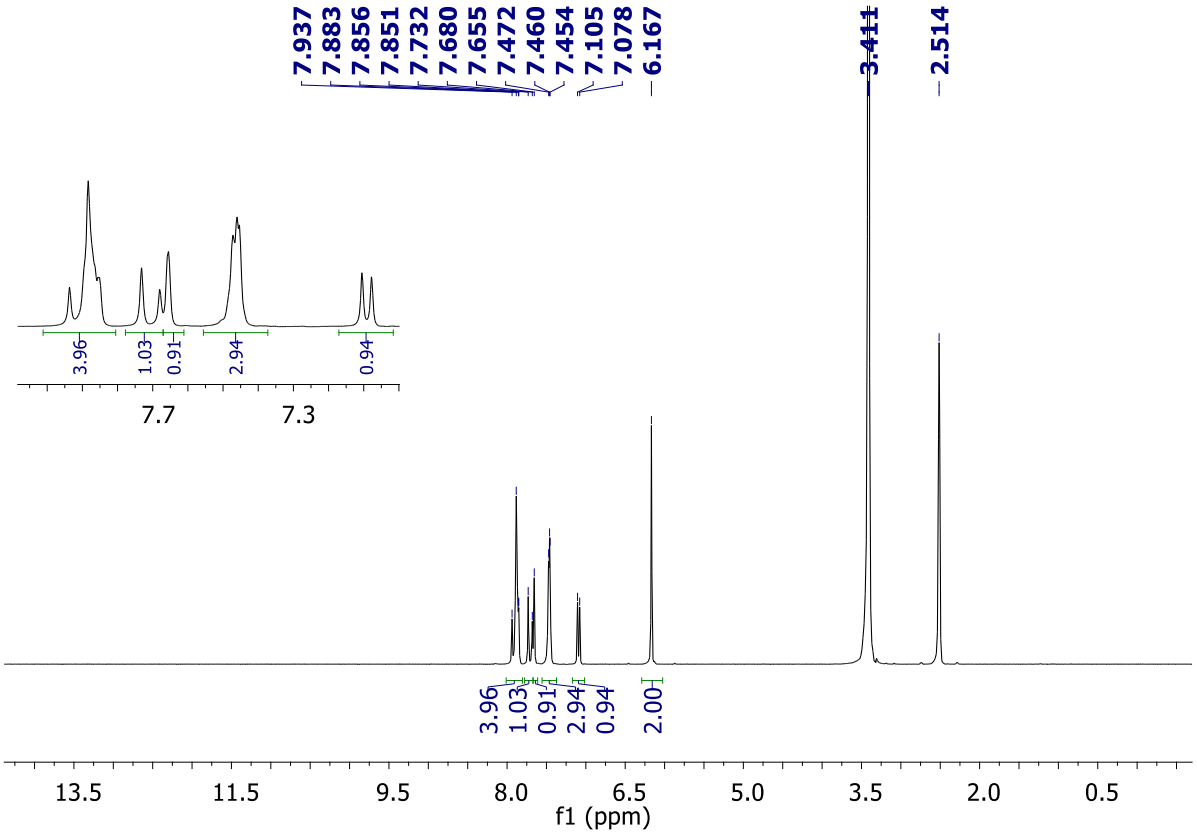
Sólido amarelado, rendimento: 45%/ Ref.: sólido creme, rendimento 61%
CCD: (Rf = 0,60, HEX: EtOAc = 7:3), revelador vanilina: rosa
Ponto de fusão 96-98 °C/ Ref.: 92-94 °C
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 20,23 minutos (método B)



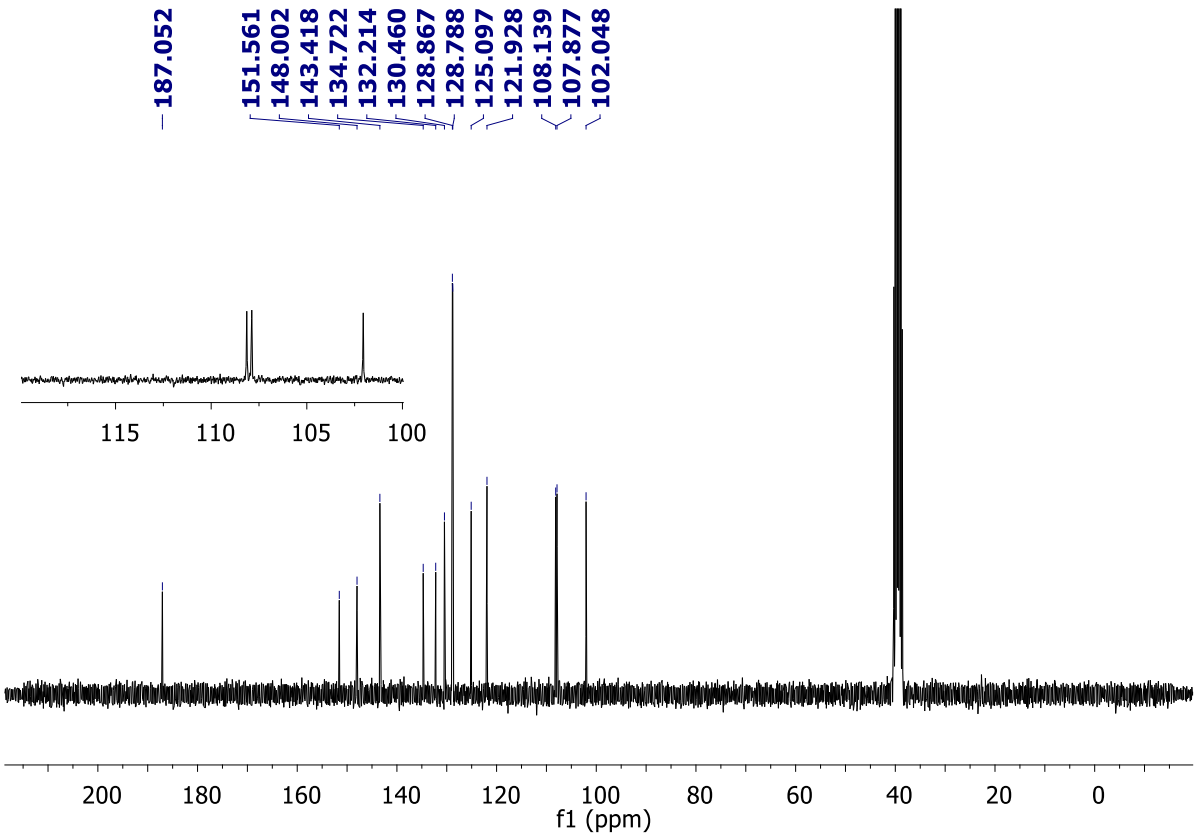
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.413	115102	0.51	0.57
2		19.616	153025	0.68	1.02
3		20.235	22085264	98.54	97.97
4		20.811	59760	0.27	0.44
Totals			22413151	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d6) (δ ppm), 7,93 – 7,85 (m, 4H,1H Cβ-H, 1H benzodioxolil-CH, 2H fenil-CH), 7,71 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, Cα-H), 7,66 (s, 1H, benzodioxolil-CH), 7,47 – 7,45 (m, 3H, fenil-CH), 7,09 (d, *J* = 8,18 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,17 (s, 2H, -OCH_2O-).

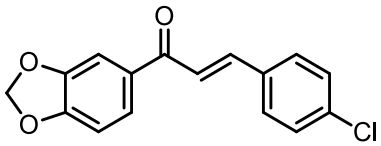


RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d6) 187,0, 151,7, 148,0, 143,4, 134,7 (s), 132,2, 130,5, 128,9, 128,8, 125,1, 121,9, 108,1, 108,9, 102,0.



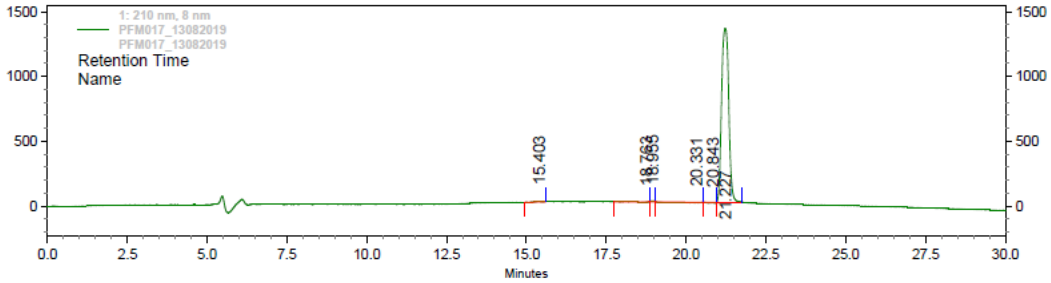
Ref.: (CHIARADIA et al., 2012)/ CAS: 111038-89-2

(*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(4-clorofenil)prop-2-en-1-ona **(5f)**



4-clorobenzaldeído (282,0 mg, 2,01 mmol, 1,06 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4 M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (311,6 mg, 1,90 mmol, 1,00 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 2 horas a temperatura ambiente (27 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido branco cristalino (m = 435,6 mg, rendimento = 80%).

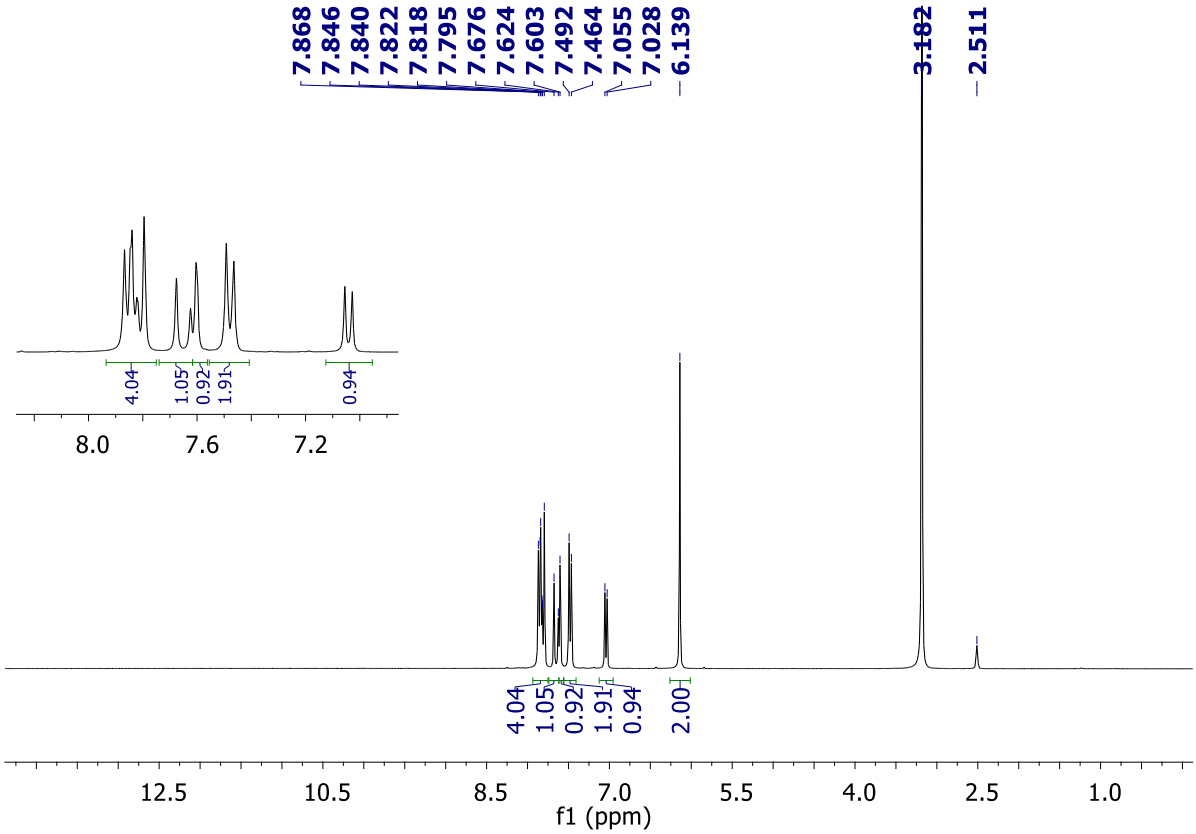
Sólido branco cristalino, rendimento: 80%/ Ref.: sólido creme, rendimento 93%
CCD: (Rf = 0,50, HEX: EtOAc = 7:3), revelador vanilina: laranja
Ponto de fusão 163-165 °C/ Ref.: 162-163 °C
Pureza (HPLC): 97%, tempo de retenção 21,23 minutos (método B)



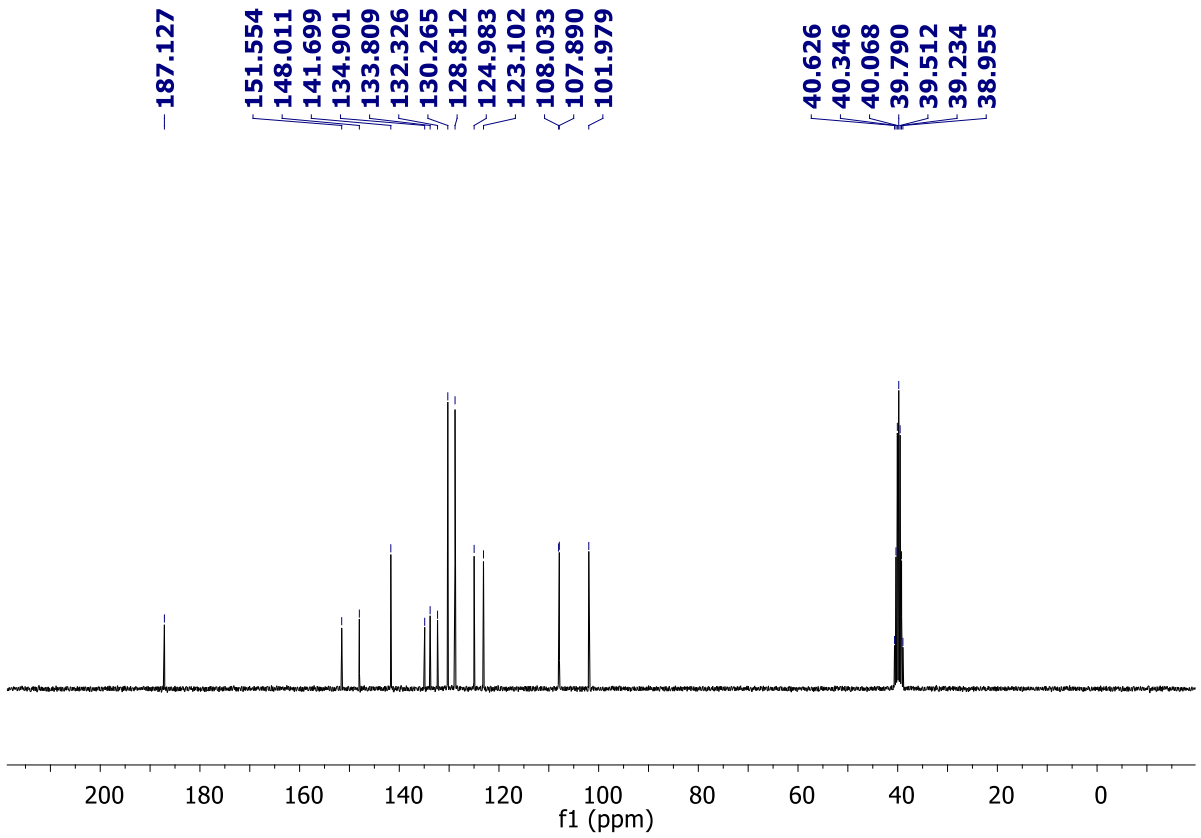
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.403	71123	0.33	0.38
2		18.763	82009	0.38	0.22
3		18.955	47398	0.22	0.47
4		20.331	388204	1.80	0.38
5		20.843	126957	0.59	0.57
6		21.227	20872026	96.68	97.99
Totals			21587717	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, DMSO-d6) (δ ppm) 7,83 (m, 4H, 1H benzodioxolil-CH, 2H fenil-CH, 1H Cβ-H), 7,65 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, Cα-H), 7,60 (s, 1H, benzodioxolil-CH), 7,48 (d, *J* = 8,42 Hz, 2H, fenil-CH), 7,04 (d, *J* = 8,16 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,14 (s, 2H, -OCH_2O-).

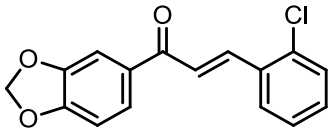


RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d6) (δ ppm) 187,1, 151,6, 148,0, 141,7, 134,9, 133,8, 132,3, 130,3, 128,8, 125,0, 123,1, 108,0, 107,9, 102,0.



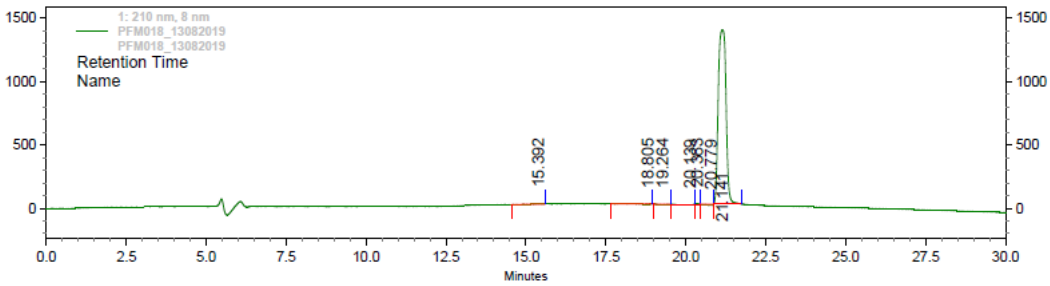
Ref.: (CHIARADIA et al., 2012)/ CAS: 501676-50-2

(*E*)-1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-3-(2-clorofenil)prop-2-en-1-ona **(5g)**



2-clorobenzaldeído (226 µL, 2,01 mmol, 1,04 eq.) foi adicionado lentamente a uma solução de KOH 0,4M em etanol absoluto (25 mL) sob banho de gelo (0 °C) e agitação. Em seguida, adicionou-se lentamente 3',4'-(metilenodioxi)acetofenona (317,8 mg, 1,94 mmol, 1,00 eq.) por um período de 30 minutos. A mistura foi agitada por 30 minutos a 0 °C e 2 horas a temperatura ambiente (28 °C). Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi neutralizada com uma solução de HCl (2 M) sob banho de gelo (0 °C), adicionou-se água gelada até precipitação completa do produto. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com água gelada (5 °C), EtOH gelado (-20 °C) e seco em vácuo. O produto foi obtido com um sólido branco cristalino (m = 309,6 mg, rendimento = 56%).

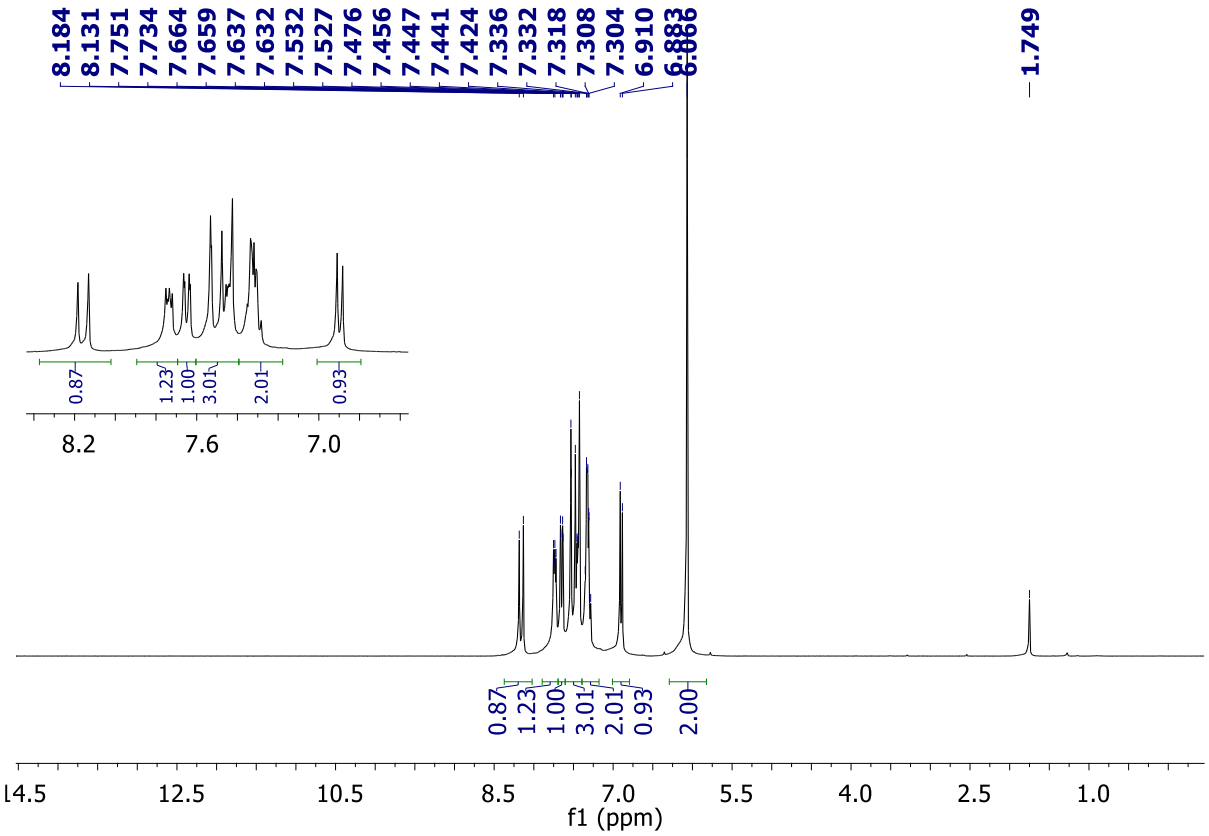
Sólido branco cristalino, rendimento: 56%/ Ref.: sólido bege, rendimento 87%
CCD: (Rf = 0,50, HEX: EtOAc = 7:3), revelador vanilina: laranja
Ponto de fusão 115-117 °C/ Ref.: 112-113 °C
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 21,14 minutos (método B)



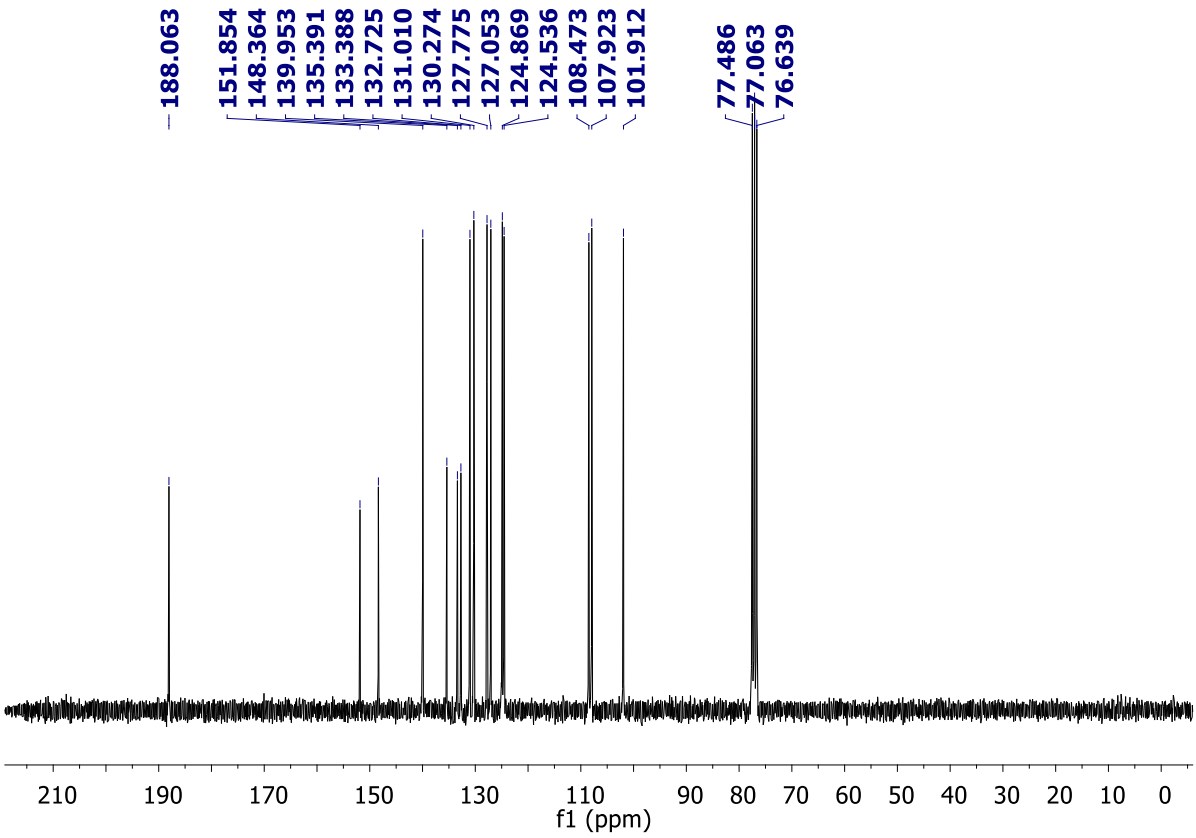
1: 210 nm, 8 nm

Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		15.392	46811	0.20	0.20
2		18.805	65337	0.28	0.18
3		19.264	68188	0.29	0.23
4		20.139	162961	0.69	0.37
5		20.363	19109	0.08	0.25
6		20.779	134548	0.57	0.63
7		21.141	23081199	97.89	98.15
Totals			23578153	100.00	100.00

RMN ^{1}H (300MHz, $CDCl_3$) (δ ppm) 8,16 (d, *J* = 15,7 Hz, 1H, Cβ-H), 7,74 (dd, *J* = 3,41 Hz, 1H, fenil-CH), 7,65 (dd, *J* = 1,59 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 7,47 (m, 3H, 1H benzodioxolil-CH, 1H fenil-CH, 1H Cα-H), 7,32 (m, 2H, fenil-CH), 6,90 (d, 1H, *J* = 8,14 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,07 (s, 2H, -OCH_2O-).

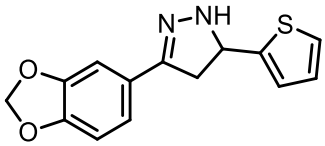


RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) (δ ppm) 188,1, 151,8, 148,4, 134,0, 135,4, 133,4, 132,7, 131,0, 130,3, 127,8, 127,0, 124,9, 124,5, 108,5, 107,9, 101,9.



Ref.: (BORCHHARDT et al., 2010)/ CAS: 876544-59-1

3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol **(6a)**



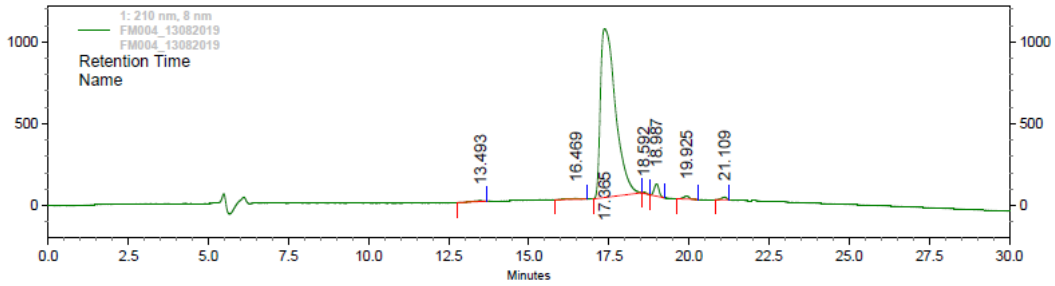
Uma solução de **(5a)** (122,3 mg, 0,47 mmol, 1,00 eq.), hidrazina hidrato (95 µL, 1,96 mmol, 4,16 eq.) em etanol absoluto (25 mL) foi agitado sob refluxo por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com EtOH gelado, água gelada e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em EtOH resultando um sólido cristalino perolado (m = 60,2 mg, rendimento = 47%).

Sólido cristalino perolado rendimento: 47%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,52, HEX: EtOAc = 6:4), revelador vanilina: vermelho

Ponto de fusão 108 °C decomposição

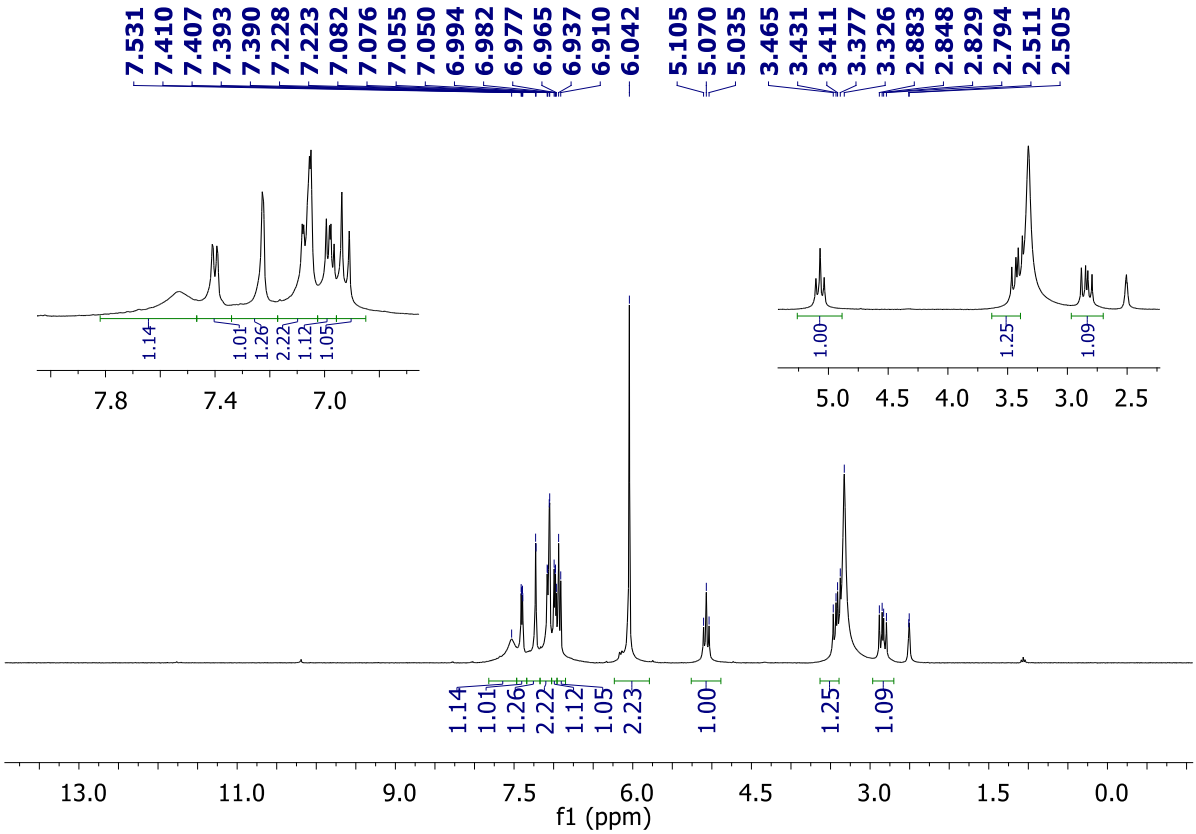
Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 17,37 minutos (método B)



1: 210 nm, 8 nm

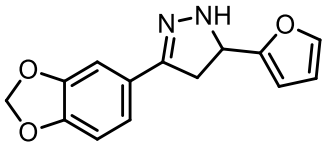
Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		13.493	102972	0.29	0.36
2		16.469	135788	0.39	0.50
3		17.365	33728032	95.91	89.24
4		18.592	42754	0.12	0.40
5		18.987	759994	2.16	6.53
6		19.925	224705	0.64	1.62
7		21.109	173860	0.49	1.36
Totals			35168105	100.00	100.00

RMN ^{1}H (DMSO-d6, 300 MHz) δ (ppm) 7,53 (sl, 1H, pirazolinil-NH), 7,40 (dd, *J*= 5,02 Hz, *J*= 1,07 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 7,23 (d, *J*= 1,45 Hz, 1H, tiofenil-SCH), 7,08-7,05 (m, 2H, 1H benzodioxolil-CH, 1H tiofenil-CH), 6,98 (dd, *J*= 5,02 Hz; *J*= 3, 48 Hz, 1H, tiofenil-CH), 6,92 (d, *J*= 8,07 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,04 (s, 2H, OCH_2O), 5,07 (t, *J*= 10,4 Hz, 1H, pirazolinil-CH), 3,44 (m, 1H, pirazolinil-CH), 2,84 (q, *J*= 10,6 Hz, 1H, pirazolinil-CH).



Ref.: composto inédito.

3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-5-(furan-2-il)-4,5-di-hidro-1*H*-pirazol **(6b)**



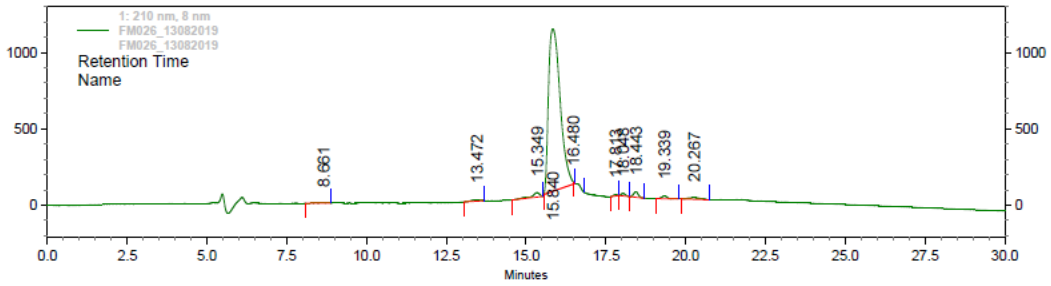
Uma solução de **(5b)** (246,8 mg, 1,02 mmol, 1,00 eq.), hidrazina hidrato (223 µL, 4,49 mmol, 4,40 eq.) em etanol absoluto (25 mL) foi agitado sob refluxo por 24 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com EtOH gelado, água gelada e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em EtOH resultando um sólido branco (m = 158,5 mg, rendimento = 63%).

Sólido branco, rendimento: 63%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,52, HEX: EtOAc = 8:2), revelador vanilina: amarelo

Ponto de fusão 93-95 °C

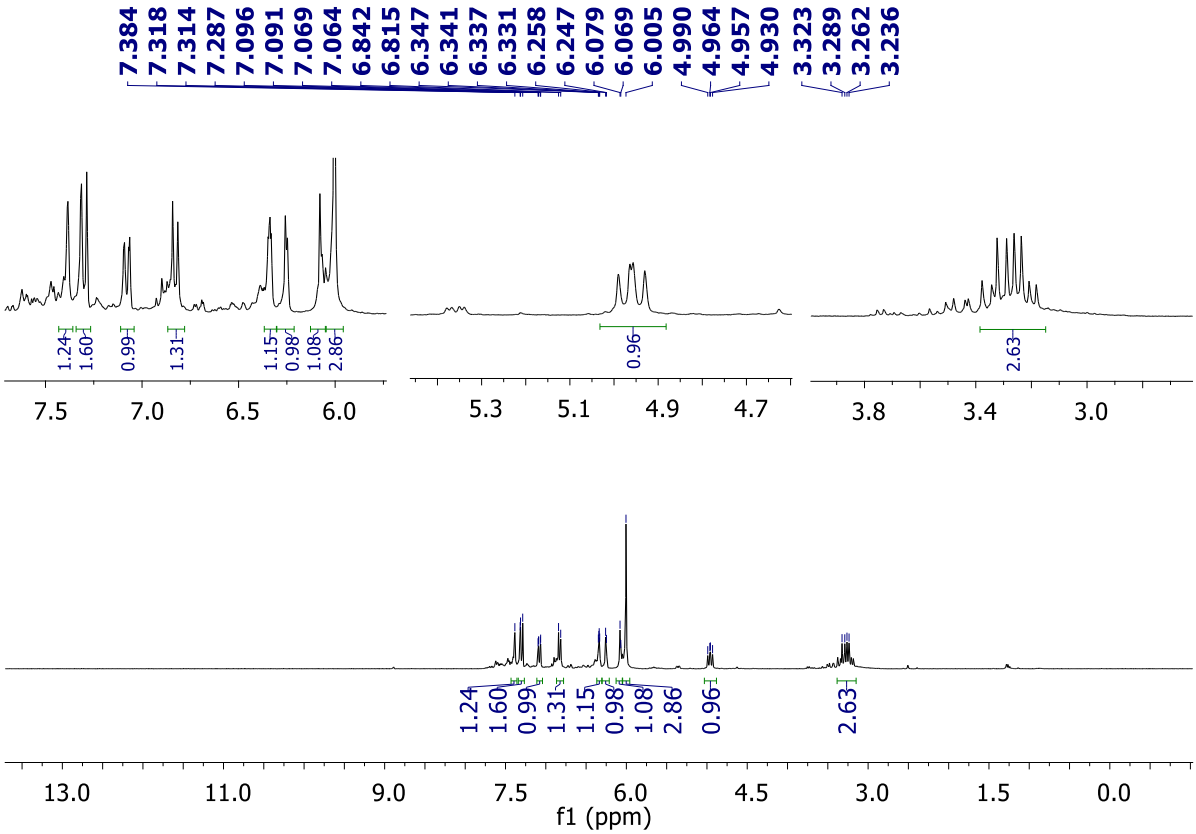
Pureza (HPLC): 92%, tempo de retenção 15,84 minutos (método B)



1: 210 nm, 8 nm

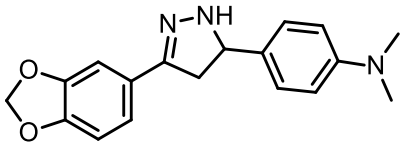
Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		8.661	20376	0.07	0.06
2		13.472	184673	0.63	0.77
3		15.349	488097	1.66	2.41
4		15.840	27006329	92.09	87.93
5		16.480	522041	1.78	1.17
6		17.813	70105	0.24	0.76
7		18.048	154347	0.53	1.41
8		18.443	362149	1.23	3.01
9		19.339	206202	0.70	1.52
10		20.267	312987	1.07	0.97
Totals			29327306	100.00	100.00

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm): 7,38 (sl, 1H, pirazolinil-NH), 7,32 – 7,29 (m, 1H, furil-OCH), 7,08 (dd, 1H, *J*= 8,07 Hz, benzodioxolil-CH), 6,84 – 6,82 (d, *J*= 8,07 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,35 – 6,33 (m, 1H, furil-CH), 6,26 – 6,25 (m, 1H, furil-CH), 6,08 – 6,07 (m, 1H, benzodioxolil-CH), 6,00 (s, 2H, $-OCH_2O-$), 4,96 (dd, *J*= 7,88 Hz, *J*= 10,1 Hz, pirazolinil-CH), 3,32 – 3,24 (m, 2H, pirazolinil-CH_2).



Ref.: composto inédito.

4-(3-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazol-5-il N)-N,N-dimetilanilina **(6c)**



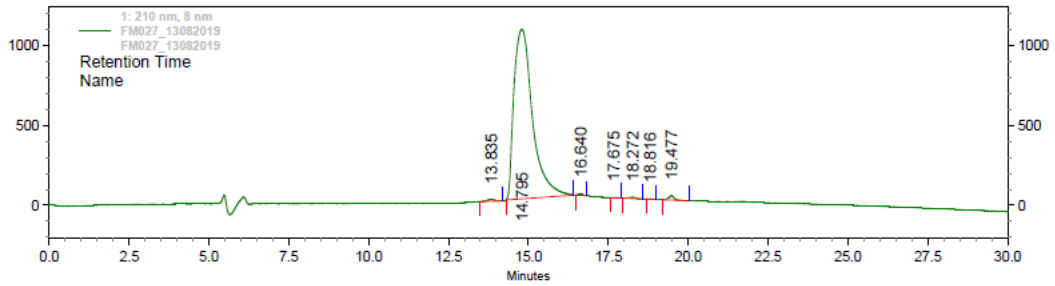
Uma solução de **(5c)** (223,0 mg, 0,75 mmol, 1,00 eq.), hidrazina hidrato (298 µL, 6,00 mmol, 8,00 eq.) em metanol (25 mL) foi agitado sob refluxo por 24 horas. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada em freezer (- 20 °C) por um período de 24 horas para ocorrer a precipitação. O sólido formado foi filtrado a frio, lavado com metanol gelado, água gelada e seco em vácuo. O produto foi purificado por recristalização em EtOH resultando um sólido cristalino amarelado (m = 177,3 mg, rendimento = 76%).

Sólido amarelado, rendimento: 76%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,33, HEX: EtOAc = 7:3), revelador 2,4-DNPH: rosa

Ponto de fusão 123-125 °C

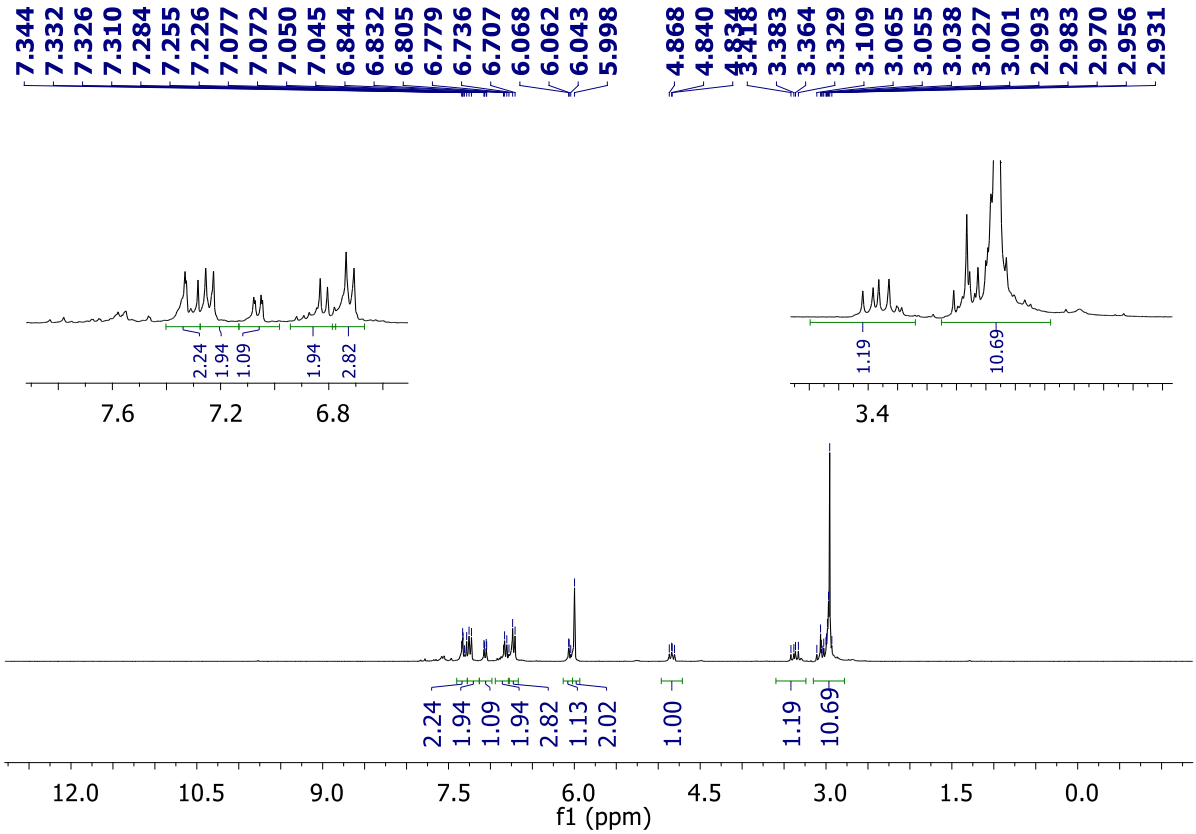
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 14,80 minutos (método B)



1: 210 nm, 8 nm

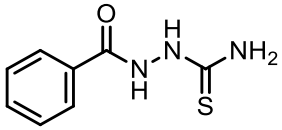
Pk #	Name	Retention Time	Area	Area Percent	Height Percent
1		13.835	200515	0.46	0.99
2		14.795	42744838	98.24	94.69
3		16.640	94778	0.22	0.99
4		17.675	14242	0.03	0.11
5		18.272	116913	0.27	0.70
6		18.816	17656	0.04	0.17
7		19.477	321557	0.74	2.36
Totals			43510499	100.00	100.00

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) δ (ppm) 7,32 (m, 2H, 1H pirazolinil-NH, 1H benzodioxolil-CH), 7,24 (d, *J*= 8,69 Hz, 2H fenil-CH), 7,06 (dd, *J*= 8,07 Hz, *J*= 1,63 Hz, 1H, benzodioxolil-CH), 6,82 (m, benzodioxolil-CH), 6,72 (d, 6,04, *J*= 8,76 Hz, 2H, fenil-CH), (s, 2H, OCH_2O), 4,84 (d, *J*= 10,4 Hz, 1H, pirazolinil-CH), 3,37 (m, 1H, pirazolinil-CH), 2,84 (q, *J*= 10,6 Hz, 1H, pirazolinil-CH), 2,96 (s, 6H, 2x CH_3).



Ref.: composto inédito.

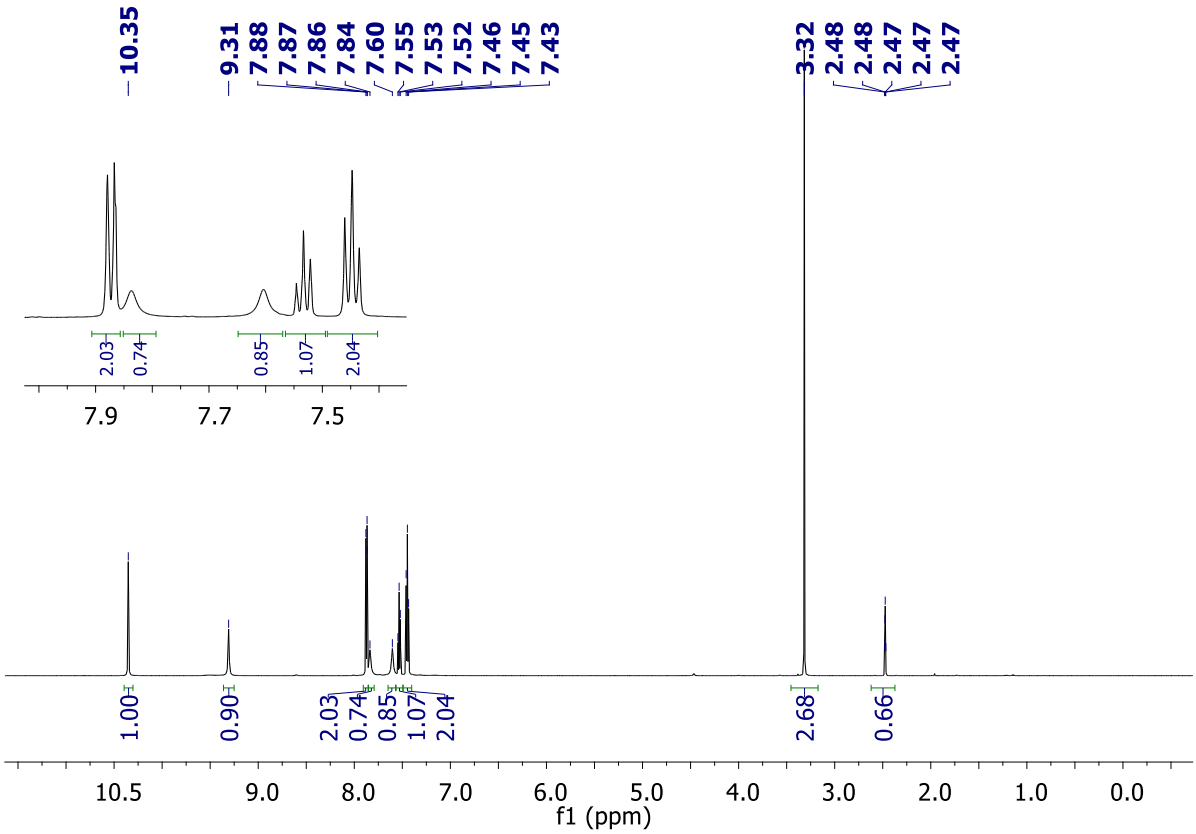
2-benzoil-hidrazinacarbotioamida **(8)**



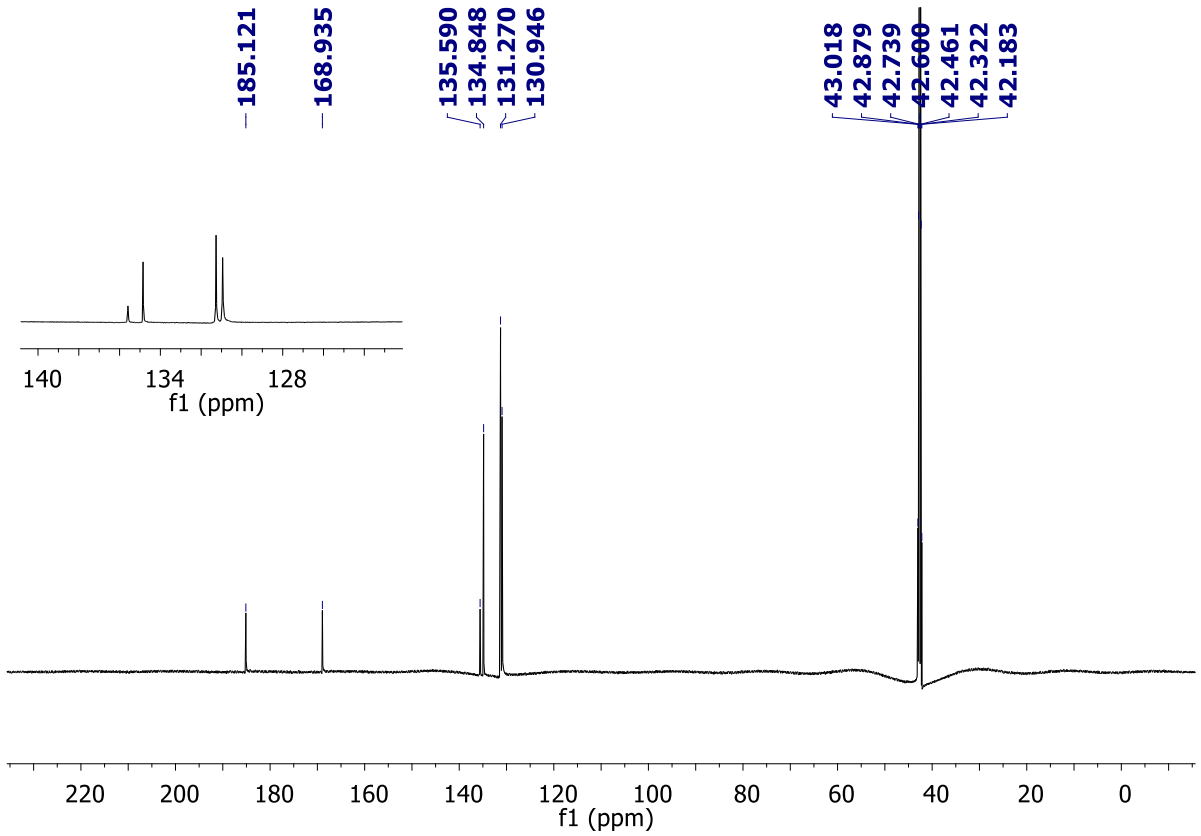
Cloreto de benzila (10 mL, 86,1 mmol, 1,00 eq.) foi dissolvido em THF anidro (200 mL), resfriado em banho de gelo (15 °C) e submetido a vigorosa agitação. Tiosemicarbazida (15,70 g, 172,2 mmol, 2,00 eq.) foi adicionada em duas porções (intervalo de 15 minutos). O banho de gelo foi retirado e a reação permaneceu sob agitação por 3 horas. Determinado o fim da reação por CCD, os sólidos brancos suspenso na solução foram filtrados e lavado com H_20 destilada gelada. O sólido filtrado foi suspenso em solução de $NaHCO_3$ saturada, filtrado, lavado com H_20 destilada gelada e seco em dessecador com sílica gel por 24 horas. O produto foi obtido como sólido branco (m = 11,10 g, rendimento = 66%).

Sólido branco, rendimento: 66%/ Ref.: sólido branco, rendimento: 88%
CCD: (Rf = 0,75, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: não revela
Ponto de fusão 191-193 °C/ Ref: 198 °C
Pureza (HPLC): não foi realizada

RMN ^{1}H (600 MHz, DMSO-d6) δ (ppm) 10,35 (s, 1H, C(O)N-H), 9,31 (s, 1H, C(S)N-H), 7,88 – 7,86 (m, 2H, fenil-CH), 7,84 (sl, 1H, NH_2), 7.60 (sl, 1H, NH_2), 7,53 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, fenil-CH), 7,45 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, fenil-CH).

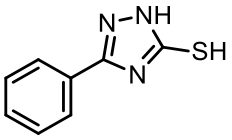


RMN ^{13}C (DMSO-d6, 151 MHz) δ (ppm) 185,1, 168,9, 135,6, 134,9, 131,3, 131,0.



Ref.:(PLUMITALLO et al., 2004; RIVERA; BALSELLS; HANSEN, 2006), CAS: 5351-66-6

3-fenil-1H-1,2,4-triazol-5-tiol **(9)**



O composto **(8)** (2,18 g, 11,1 mmol, 1,00 eq.) em uma solução de NaOH 1M (20 mL), foi agitado sob refluxo por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, a solução foi resfriada a temperatura ambiente, seguido de banho de gelo (± 5 °C) e foi diluída em H_20 (50 mL). A mistura foi acidificada com HCl concentrado (2,0 – 2,5 mL) e o sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e seco em dessecador com sílica gel por 24 horas. O produto foi obtido como sólido branco (m = 1,85 g, rendimento = 94%).

Sólido branco, rendimento: 94%/ Ref.: rendimento: 69%

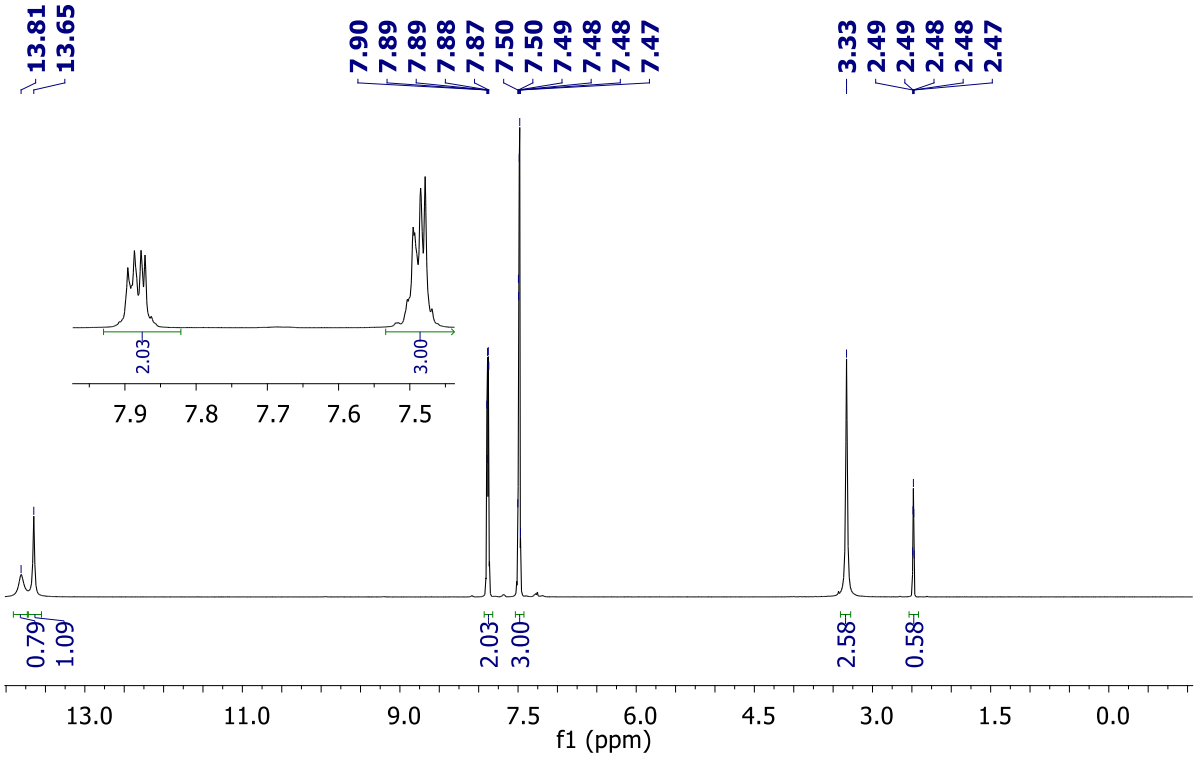
CCD: (Rf = 0,93, EtOAc: MeOH = 9:1), revelador ninidrina: rosa

Ponto de fusão 257-259 °C/ Ref: 258-260 °C

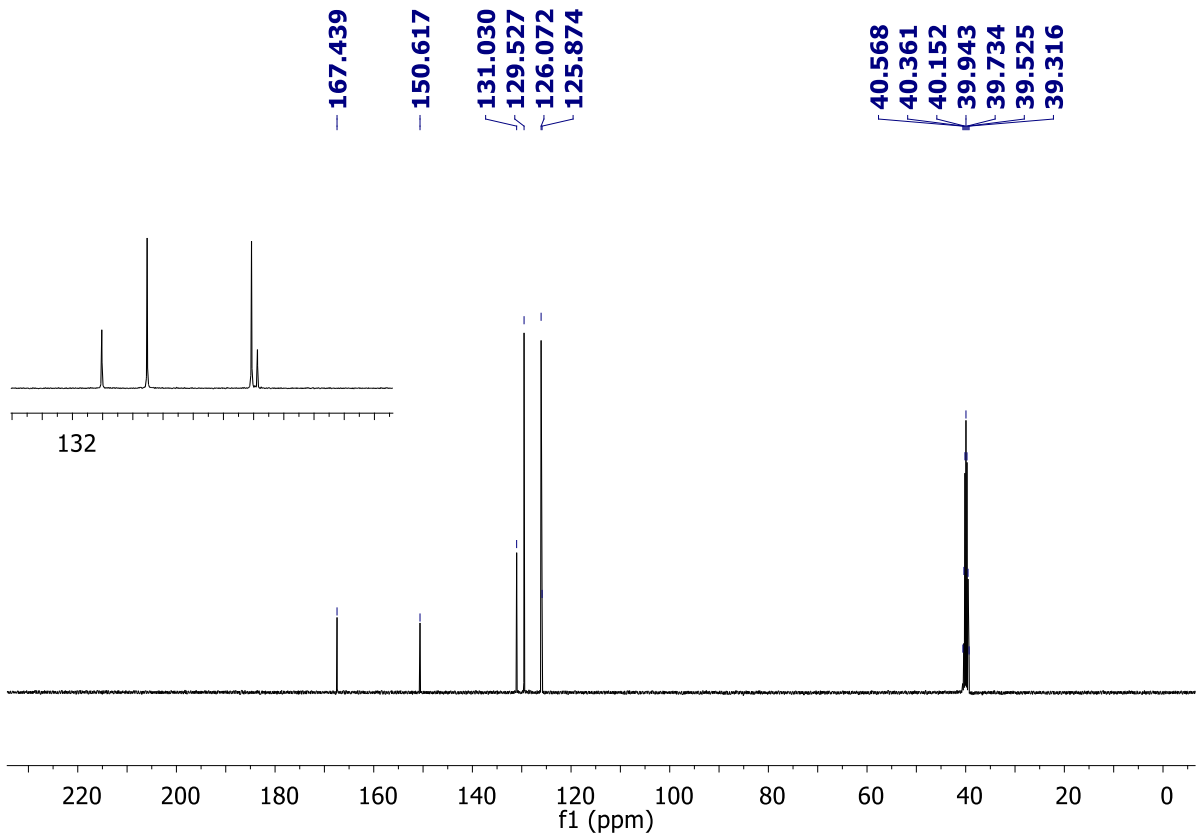
Pureza (HPLC): não foi realizada

RMN ^{1}H (DMSO-d6, 400 MHz) δ (ppm) 13,8 (sl, 1H, N-NH), 13,6 (s, 1H, -SH), m (

10,3 (s, 1H, (s, N-NH), 7,90-7,87 (m, 2H, fenil-CH), 7,50-7,47 (m, 3H, fenil-CH).

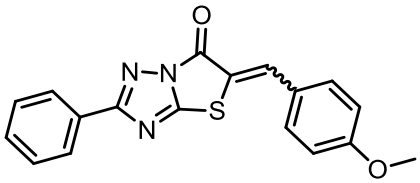


RMN ^{13}C (DMSO-d6, 101 MHz) δ (ppm) 167,4, 150,6, 131,0, 129,5, 126,1, 125,9.



Ref.: (BRITSUN et al., 2005), CAS: 3414-94-6

5-(4-metoxibenzilideno)-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10a)**



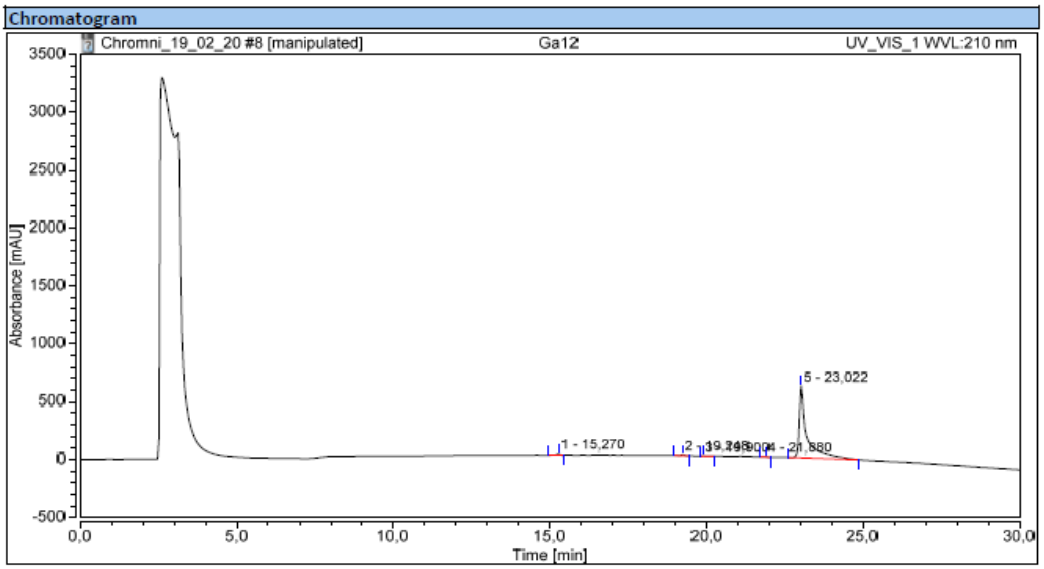
Uma mistura de **(9)** (178,9 mg, 1,01 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (199,4 mg, 2,43 mmol, 2,43 eq.), ácido cloroacético (152.2 mg, 1,61 mmol, 1,61 eq.), anidrido acético (1,5 mL, 15,9 mmol, 15,9 eq.) e 4-metoxi-benzaldeído (123 µL, 1, 01 mmol, 1,00 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido cristalino marrom (m = 142,9 mg, rendimento = 42%).

Sólido cristalino marrom, rendimento: 42%/ Ref.: rendimento: 29%

CCD: (Rf = 0,60, HEX: EtOAc = 3:7), revelador molibdato: amarelo

Ponto de fusão 236-238 °C/ Ref: 235 °C

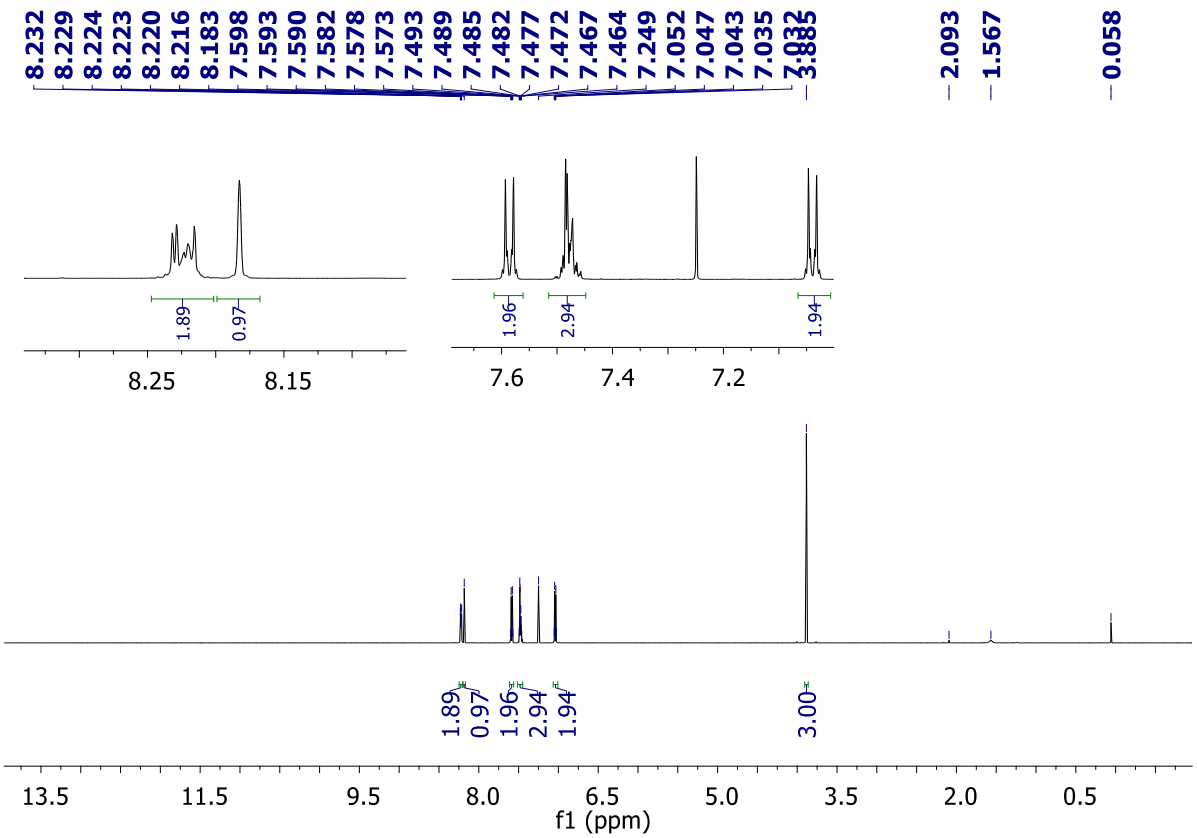
Pureza (HPLC): 98%, tempo de retenção 23,02 minutos (método C)



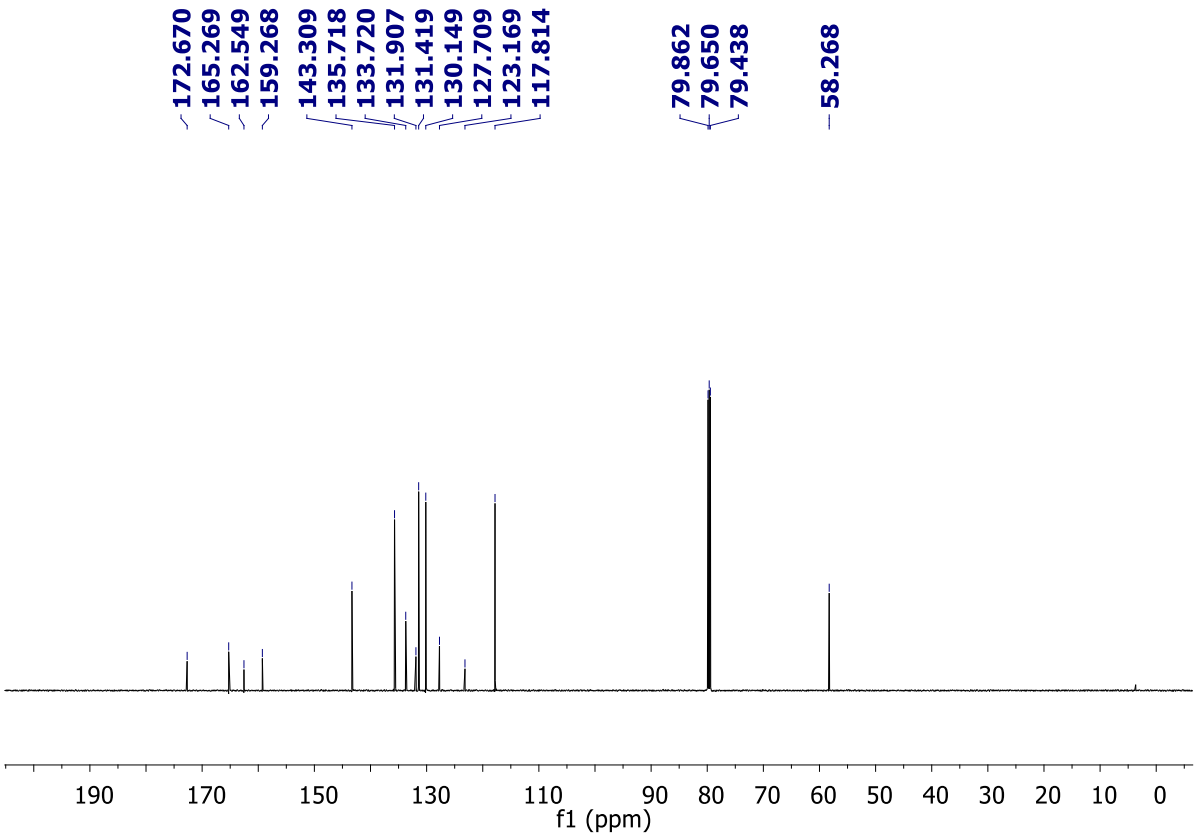
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		15,270	1,394	12,483	0,76	1,92	n.a.
2		19,248	1,142	9,171	0,62	1,41	n.a.
3		19,900	0,483	1,639	0,26	0,25	n.a.
4		21,880	0,345	3,217	0,19	0,49	n.a.
5		23,022	180,896	624,625	98,17	95,93	n.a.
Total:			**184,261**	**651,135**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,25-8,20 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 8,18 (s, 1H, Cβ-H), 7,61 – 7,56 (m, 2H, 4-metoxifenil-CH), 7,49 – 7,46 (m, 3H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,05 – 7,03 (m, 2H, 4-metoxifenil-CH), 3,88 (s, 3H).

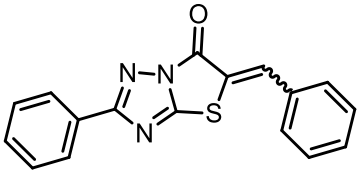


RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 151 MHz) δ (ppm) 172,7, 165,3, 162,6, 159,3, 143,3, 135,7, 133,7, 131,9, 131,4, 130,2, 127,7, 123,2, 117,8, 58,3.



Ref.:(TOZKOPARAN et al., 2011), CAS: 58755-08-1

5-(benzilideno)-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10b)**



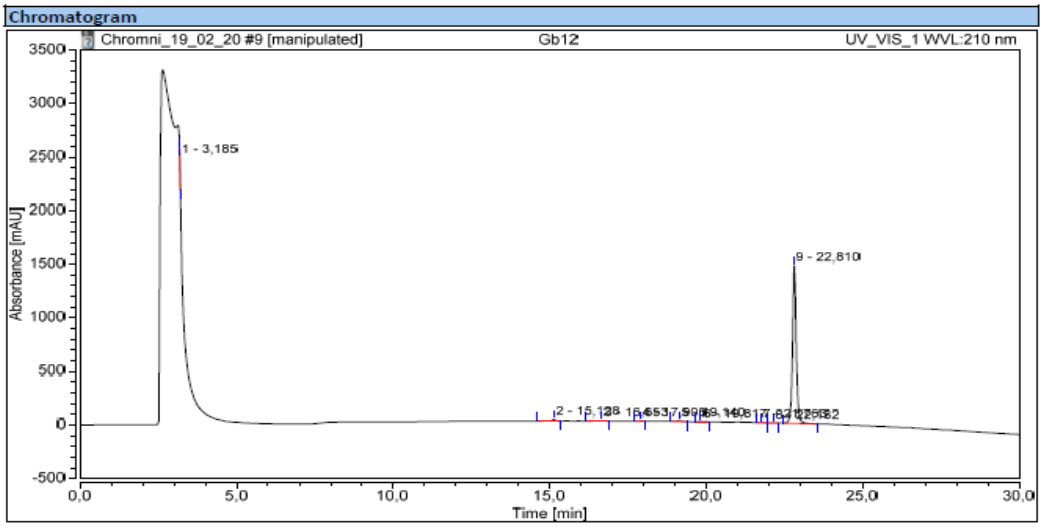
Uma mistura de **(9)** (104,6 mg, 0,59 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (115,4 mg, 1,41 mmol, 2,39 eq.), ácido cloroacético (86,4 mg, 0,91 mmol, 1,54 eq.), anidrido acético (87 µL, 0,92 mmol, 1,56 eq.) e benzaldeído (65 µL, 0,64 mmol, 1,08 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 2 horas. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido amarelo claro (m = 26,9 mg, rendimento = 15%).

Sólido amarelo claro, rendimento: 15%/ Ref.: rendimento: 29%

CCD: (Rf = 0,60, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: laranja

Ponto de fusão 237-239 °C/ Ref: 235 °C

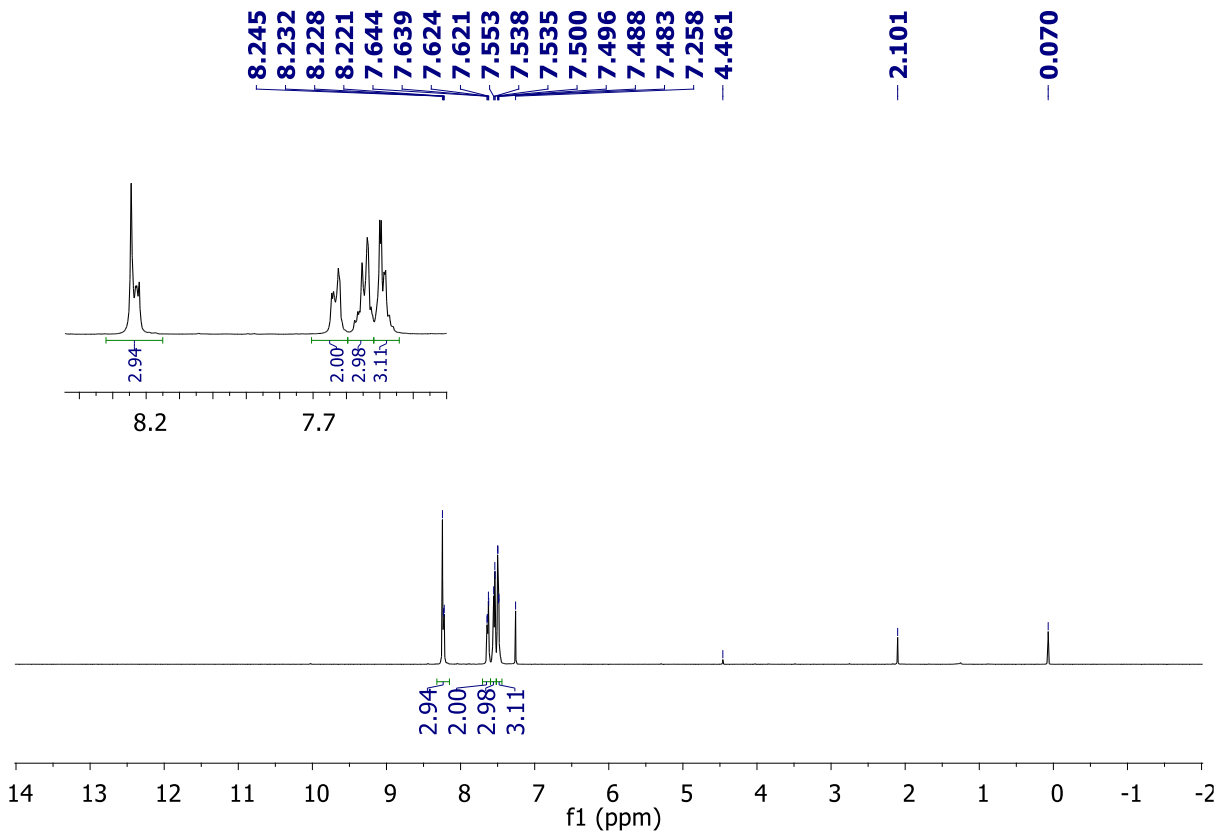
Pureza (HPLC): 97%, tempo de retenção 22,81 minutos (método C)



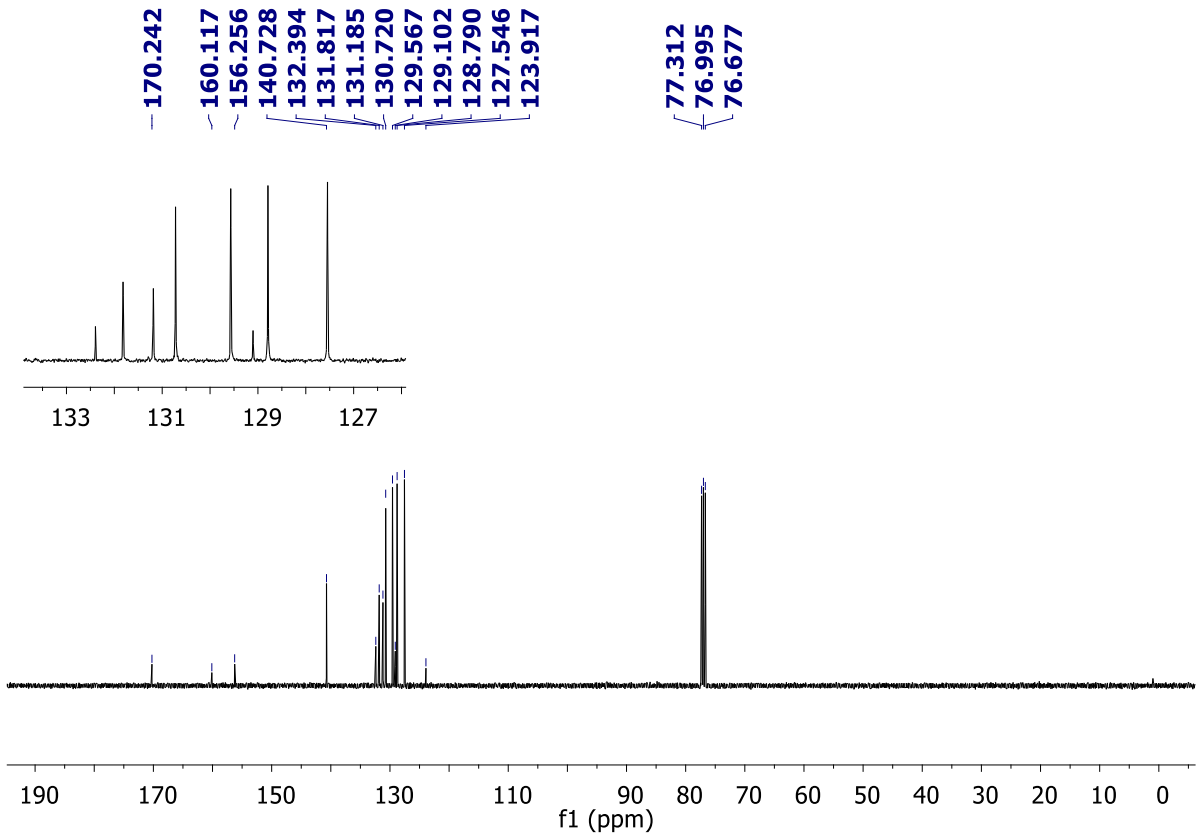
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3,185	0,738	49,571	0,35	3,17	n.a.
2		15,128	2,334	17,122	1,12	1,09	n.a.
3		16,653	1,150	3,882	0,55	0,25	n.a.
4		17,905	0,433	3,813	0,21	0,24	n.a.
5		19,140	1,086	9,002	0,52	0,58	n.a.
6		19,817	0,482	2,065	0,23	0,13	n.a.
7		21,763	0,357	3,239	0,17	0,21	n.a.
8		22,132	0,233	1,971	0,11	0,13	n.a.
9		22,810	201,202	1473,087	96,73	94,20	n.a.
Total:			208,014	1563,751	100,00	100,00	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 400 MHz) δ (ppm) 8,24 – 8,22 (m, 3H, 1H Cβ-H, 2H 1,3,4-triazolil-fenil-CH,), 7,63 (dd, *J* = 1,81 Hz, *J* = 7,55 Hz, 2H, fenil-CH), 7,55 – 7,54 (m, 3H, fenil-CH), 7,50 – 7,48 (m, 3H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH).

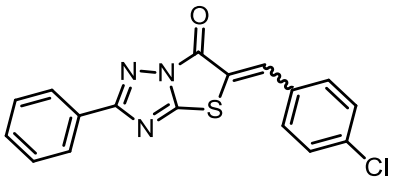


RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 101 MHz) δ (ppm) 170,2, 160,1, 156,3, 140,7, 132,4, 131,8, 131,2, 130,7, 129,6, 129,1, 128,8, 127,6, 123,9, 77,3, 70,7, 76,7.



Ref.: (TOZKOPARAN et al., 2011), CAS: 58755-07-0

5-(4-clorobenzilideno)-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10c)**



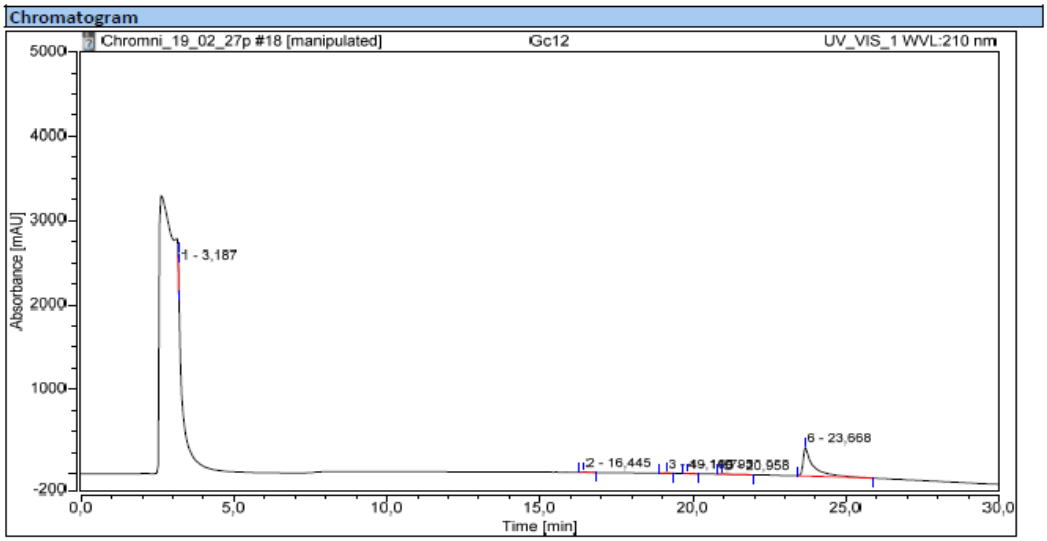
Uma mistura de **(9)** (101,9 mg, 0,58 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (111,5 mg, 1,28 mmol, 2,21 eq.), ácido cloroacético (89,9 mg, 0,95 mmol, 1,64 eq.), anidrido acético (87 µL, 0,92 mmol, 1,59 eq.) e 4-clorobenzaldeído (86,7 mg, 0,62 mmol, 1,07 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido verde (m = 40,3 mg, rendimento = 7%).

Sólido branco, rendimento: 7%/ Ref.: rendimento: 10%

CCD: (Rf = 0,60, HEX: EtOAc = 7:3), revelador ninidrina: laranja

Ponto de fusão 276-278 °C/ Ref: 269 °C

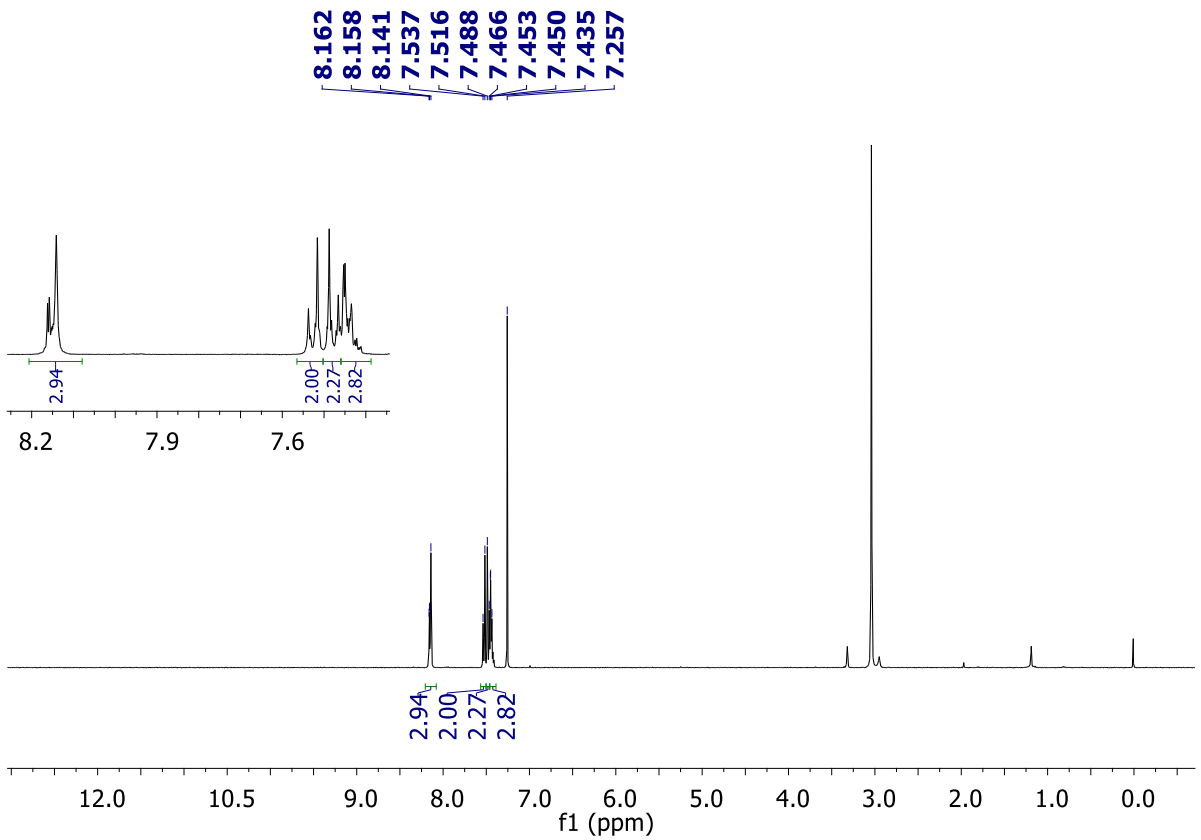
Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 23,67 minutos (método C)



Integration Results

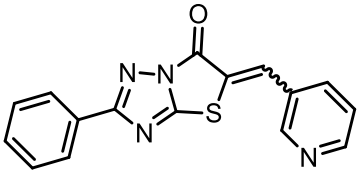
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3,187	1,197	86,620	0,88	19,43	n.a.
2		16,445	1,225	6,183	0,90	1,39	n.a.
3		19,140	1,133	9,080	0,83	2,04	n.a.
4		19,793	0,498	1,623	0,36	0,36	n.a.
5		20,958	1,366	3,117	1,00	0,70	n.a.
6		23,668	131,116	339,194	96,03	76,08	n.a.
Total:			**136,534**	**445,818**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,16 – 8,14 (m, 3H, 2H 1,3,4-triazolil-fenil-CH, 1H Cβ-H), 7,53 (d, *J* = 8,55 Hz, 2H, 4-Cl-fenil-CH), 7,48 (d, *J* = 8,68 Hz, 2H, 4-Cl-fenil-CH), 7,45-7,44 (m, 3H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH).



Ref.: (TOZKOPARAN et al., 2011), CAS: 58755-11-6.

2-fenil-5-(piridin-3-ilmetileno)tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10d)**



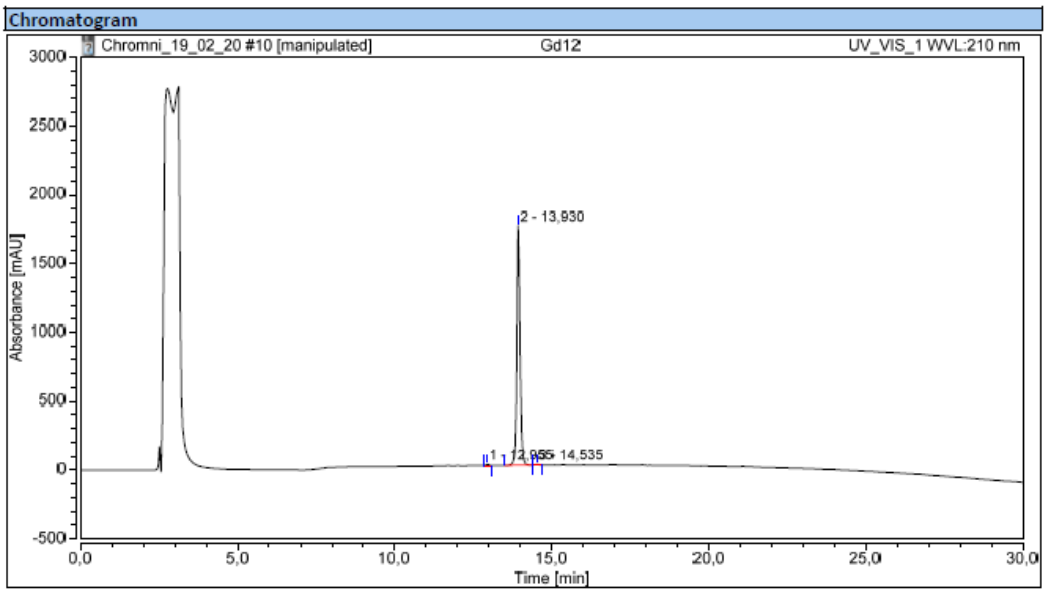
Uma mistura de **(9)** (100,3 mg, 0,57 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (114,1 mg, 1,40 mmol, 2,21 eq.), ácido cloroacético (92,0 mg, 0,97 mmol, 1,64 eq.), anidrido acético (87 µL, 0,92 mmol, 1,61 eq.) e 3-piridincarboxaldeído (55 µL, 0,59 mmol, 1,07 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 2 horas e 30 minutos. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido marrom (m = 52,5 mg, rendimento = 30%).

Sólido marrom, rendimento: 30%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,30, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: rosa

Ponto de fusão 228-230 °C

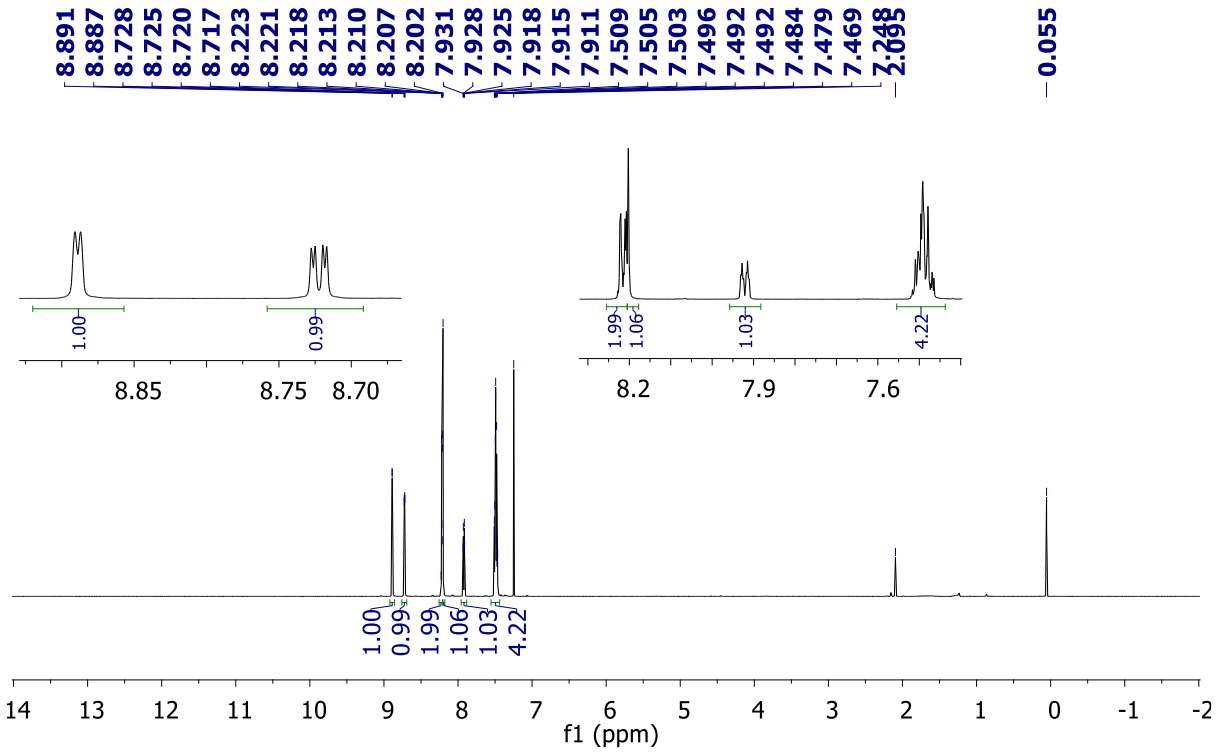
Pureza (HPLC): 99%, tempo de retenção 13,93 minutos (método C)



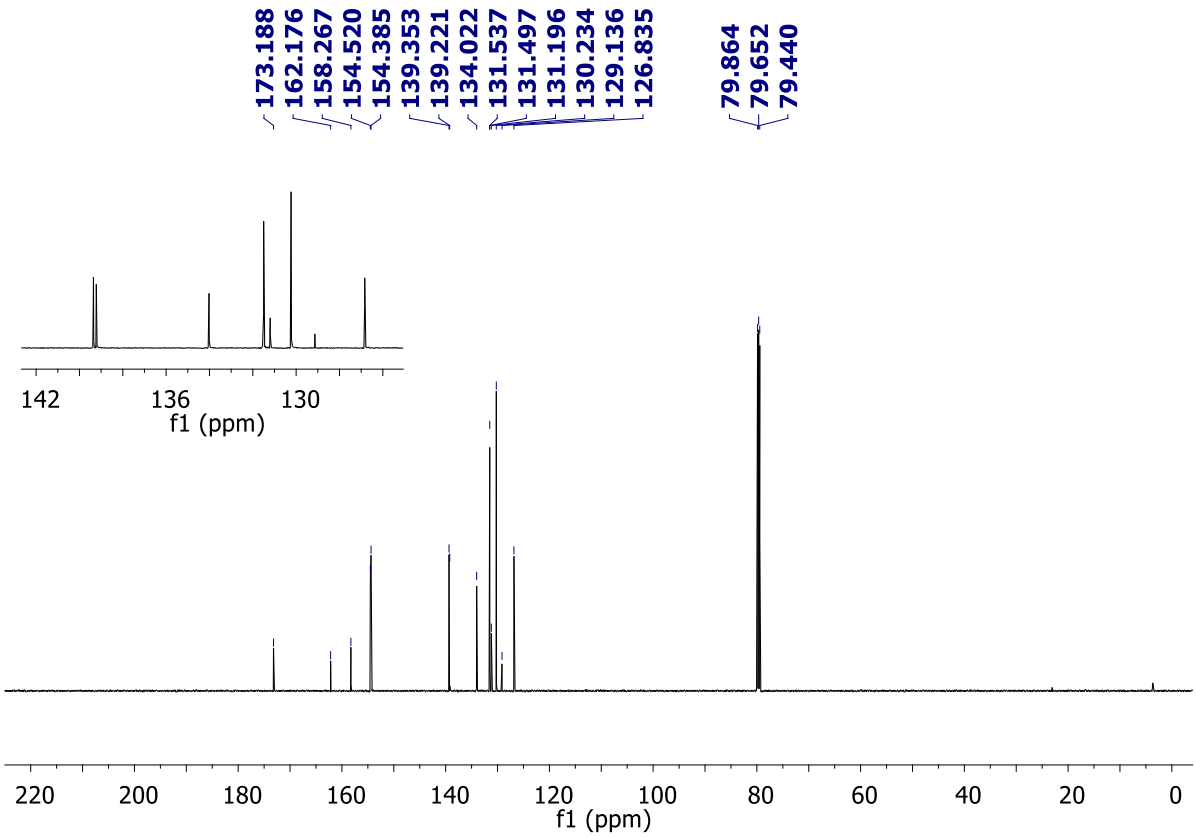
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		12,955	0,791	8,345	0,39	0,48	n.a.
2		13,930	203,286	1739,526	99,26	99,14	n.a.
3		14,535	0,717	6,807	0,35	0,39	n.a.
Total:			**204,794**	**1754,678**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,89 (d, *J* = 2,30 Hz, 1H, piridinil-CH), 8,72 (dd, *J* = 1,53 Hz, *J* = 4,81 Hz, 1H, piridinil-CH), 8,23 – 8,21 (m, 2H 1,3,4-triazolil-fenil-CH) 8,20 (s, 1H, Cβ-H), 7,92 (d, *J* = 7,80 Hz, *J* = 3,60 Hz, 1H, piridinil-CH), 7,49 (m, 4H, 3H 1,3,4-triazolil-fenil-CH, 1H piridinil-CH).

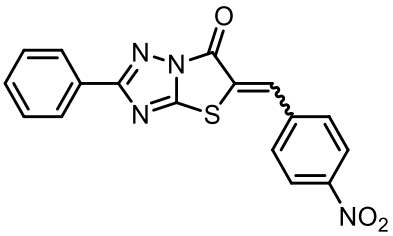


RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 151 MHz) δ (ppm) 173,2, 162,2, 158,3, 154,5, 154,4, 139,4, 139,2, 134,0, 131,6, 131,5, 131,2, 130,2, 129,1, 126.8.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 606960-26-3

5-(4-nitrobenzilideno)-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10e)**



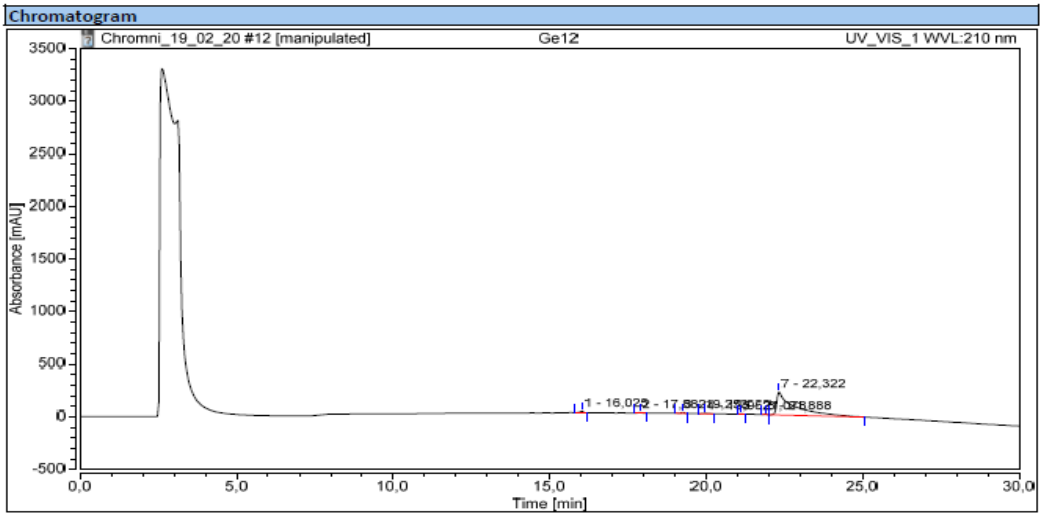
Uma mistura de **(9)** (102,3 mg, 0,58 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (118,7 mg, 1,45 mmol, 2,50 eq.), ácido cloroacético (88,1 mg, 0,93 mmol, 1,60 eq.), anidrido acético (90 µL, 0,95 mmol, 1,64 eq.) e 4-nitrobenzaldeído (55 µL, 0,59 mmol, 1,02 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido amarelo (m = 103,4 mg, rendimento = 51%).

Sólido amarelo, rendimento: 51%/ Ref.: rendimento: 76%

CCD: (Rf = 0,45, HEX: EtOAc = 3:7)), revelador ninidrina: não revela, 2,4-DNPH: amarelo

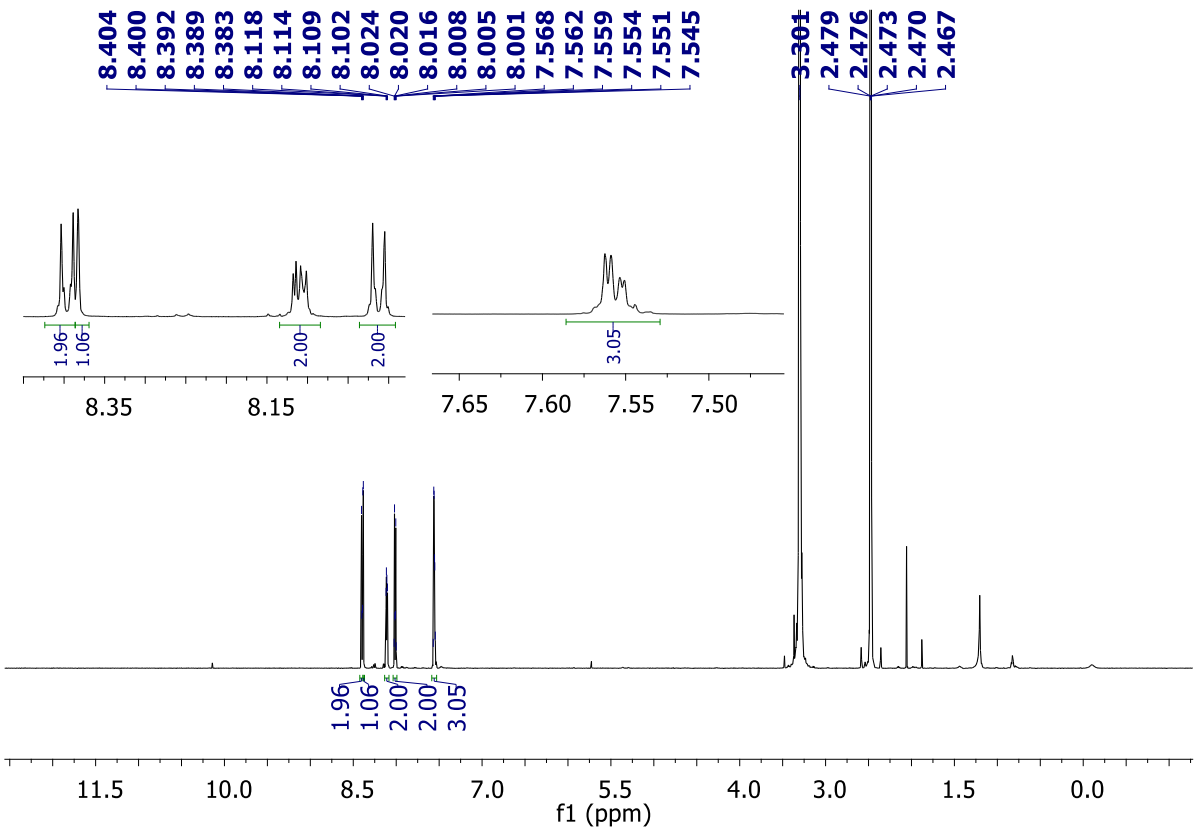
Ponto de fusão 306-308 °C/ Ref.: 284 °C

Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 22,32 minutos (método C)

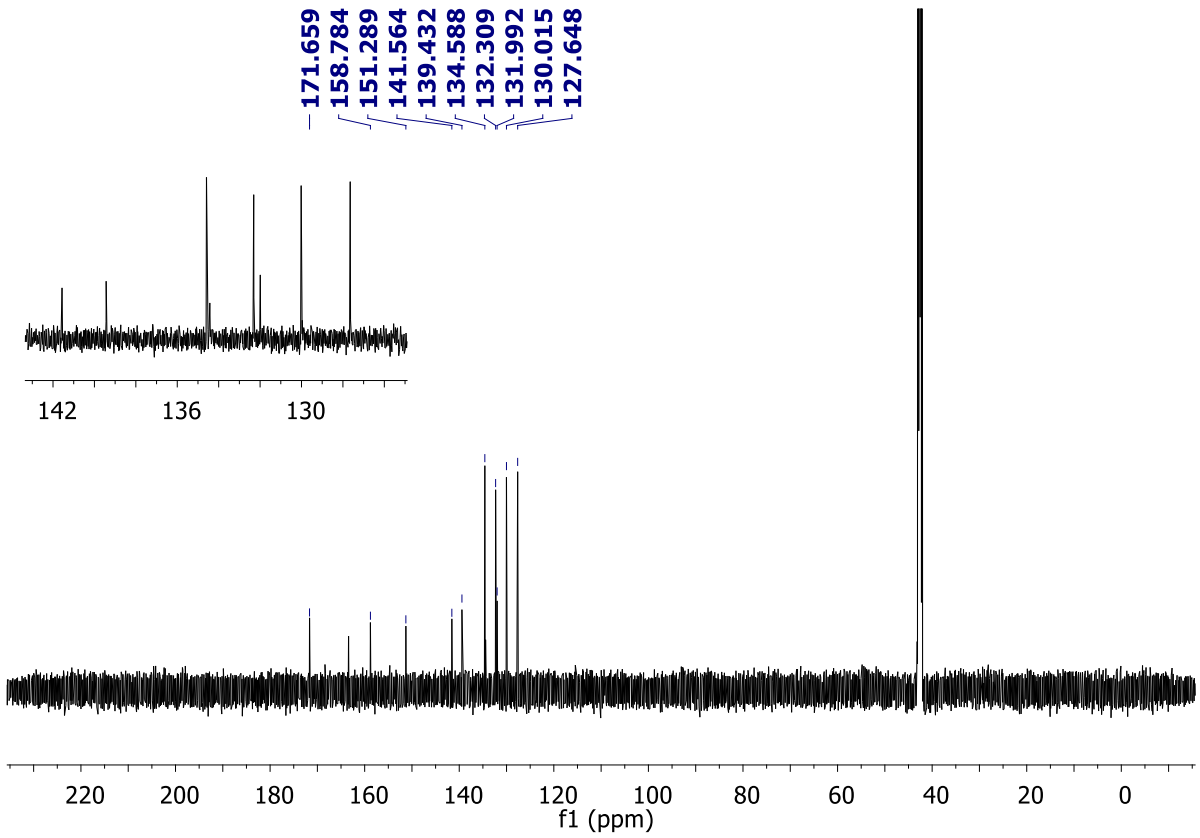


Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		16,025	1,692	16,354	1,16	6,22	n.a.
2		17,882	0,691	6,340	0,47	2,41	n.a.
3		19,253	1,084	8,976	0,74	3,41	n.a.
4		19,952	0,874	4,902	0,60	1,86	n.a.
5		21,078	0,362	3,136	0,25	1,19	n.a.
6		21,888	0,453	4,230	0,31	1,61	n.a.
7		22,322	140,855	219,102	96,47	83,30	n.a.
Total:			**146,010**	**263,040**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H (DMSO-d6, 600 MHz) δ (ppm) 8,41-8,39 (m, 2H, 4-NO_2-fenil-CH), 8,38 (s, 1H, Cβ-H), 8,11 – 8,10 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 8,02 – 8,00 (m, 2H, 4-NO_2-fenil-CH), 7,57 – 7,54 (m, 3H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH).

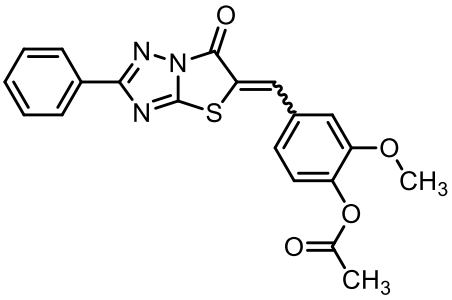


RMN ^{13}C (DMSO-d6, 151 MHz) δ (ppm) 171,7, 158,8, 151,3, 141,6, 139,4, 134,6, 132,3, 132,0, 130,0, 127,6.



Ref.: (ALI; BAYOUMI MOSTAFA; SOLIMAN, 1976), CAS: 58755-09-2

2-metoxi-4-((6-oxo-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-5(6H)-ilideno)metil)fenil acetato **(10f)**



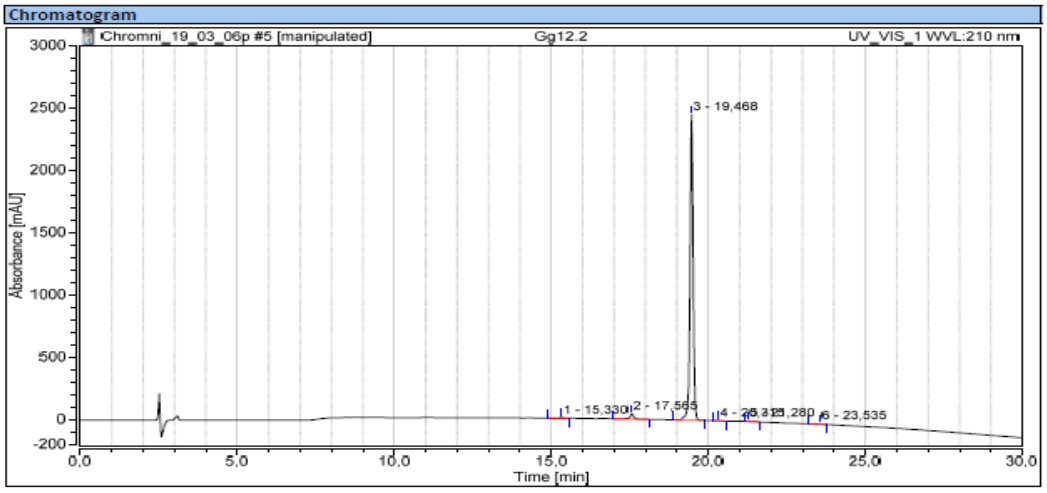
Uma mistura de **(9)** (177,7 mg, 1,00 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (199,2 mg, 2,43 mmol, 2,43 eq.), ácido cloroacético (141,8 mg, 1,50 mmol, 1,50 eq.), anidrido acético (1,5 mL, 15,9 mmol, 15,9 eq.) e 4-hidroxi-3-metoxibenzadeído (154,8 mg, 1,00 mmol, 1,00 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido amarelo (m = 165,5 mg, rendimento = 47%).

Sólido amarelo, rendimento: 47%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,93, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: laranja

Ponto de fusão 228-230 °C

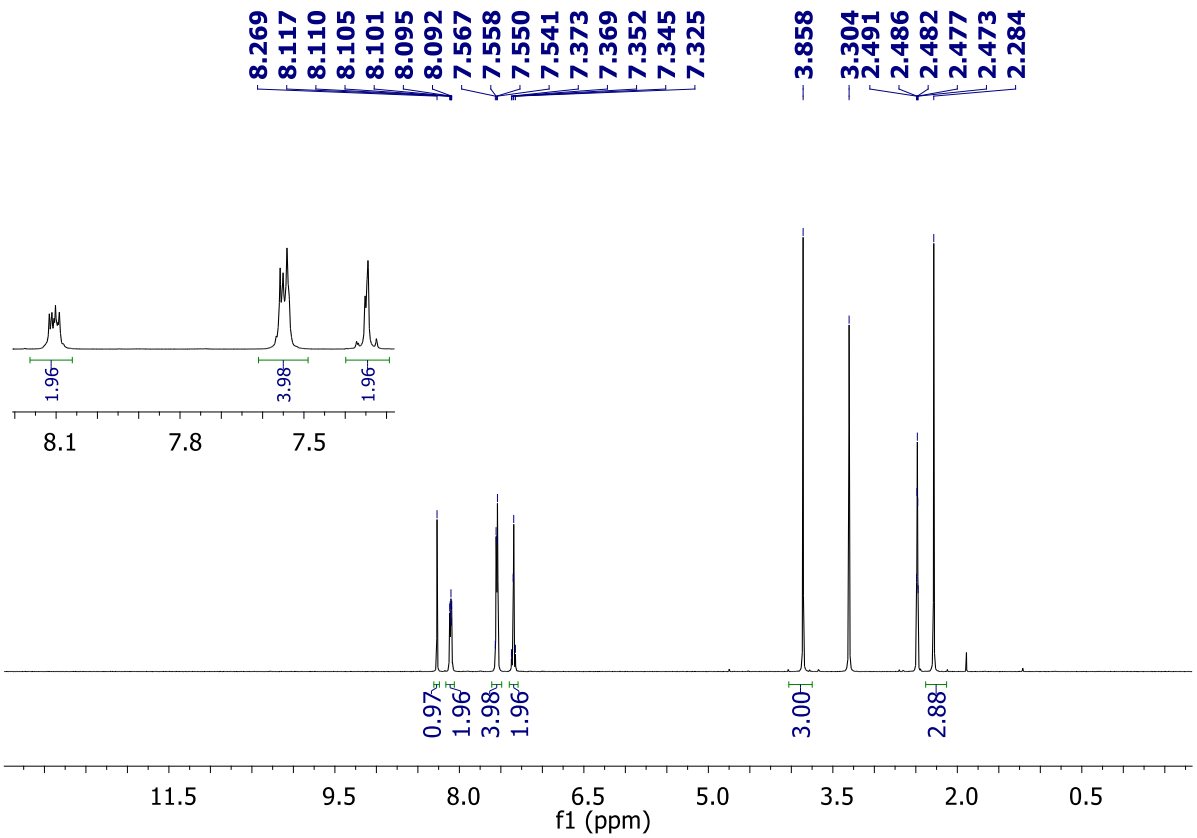
Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 19,47 minutos (método C)



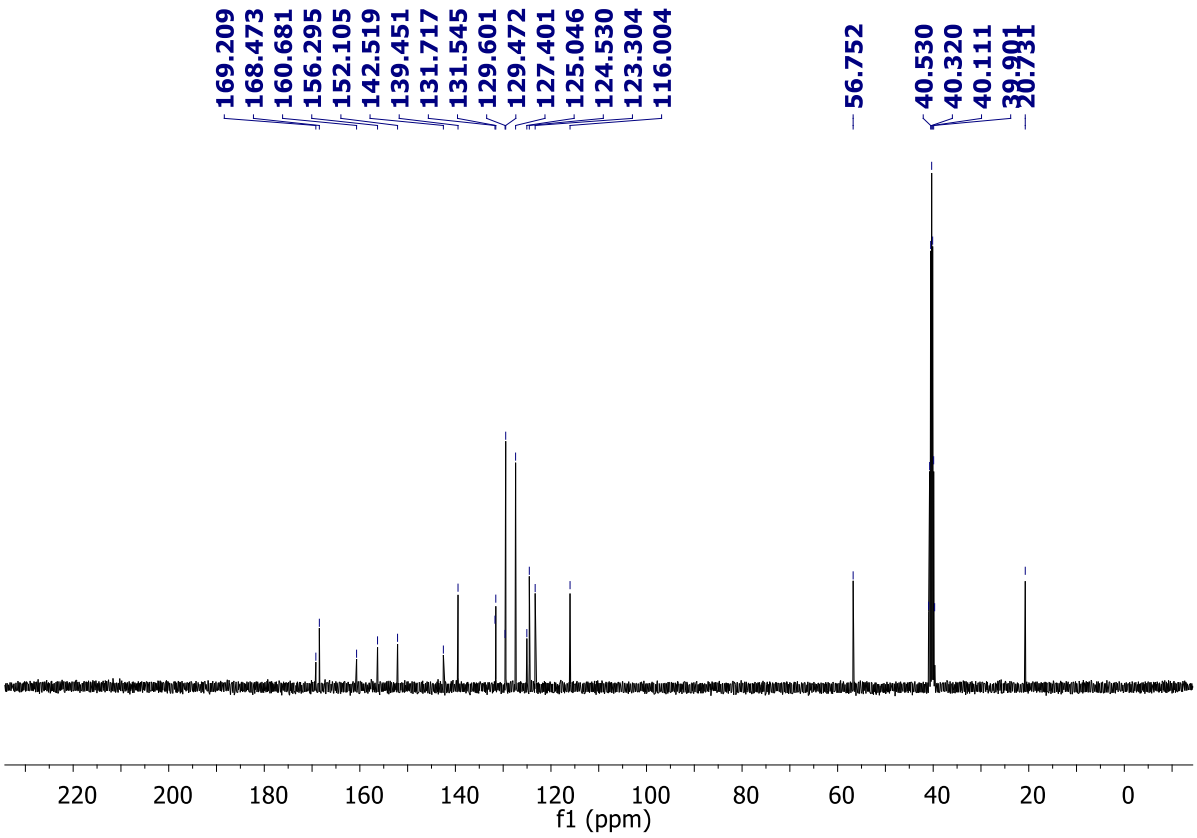
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		15,330	1,328	7,984	0,46	0,32	n.a.
2		17,565	6,519	45,818	2,23	1,82	n.a.
3		19,468	281,442	2450,535	96,48	97,22	n.a.
4		20,315	0,629	5,979	0,22	0,24	n.a.
5		21,280	0,935	5,828	0,32	0,23	n.a.
6		23,535	0,871	4,489	0,30	0,18	n.a.
Total:			**291,723**	**2520,633**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H (DMSO-d6, 400 MHz) δ (ppm) 8,27 (s, 1H, Cβ-H), 8,12 – 8,09 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,57 – 7,54 (m, 4H, 3H 1,3,4-triazolil-fenil-CH, 1H fenil-CH), 7,37 – 7,32 (m, 2H, fenil-CH), 3,86 (s, 1H, 3H, -OCH_3), 2,28 (s, 3H, acetil-CH_3).

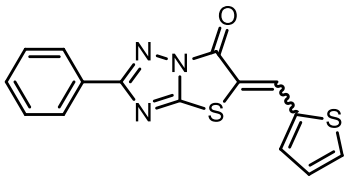


RMN ^{13}C (DMSO-d6, 101 MHz) δ (ppm) 169,2, 168,5, 156,3, 152,1, 142,5, 139,4, 131,7, 131,5, 129,6, 129,5, 127.4, 125,0, 124,5, 123,3, 116,0, 56,8, 20,7.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 606959-97-1

2-fenil-5-(tiofen-2-ilmetileno)tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona (10g)



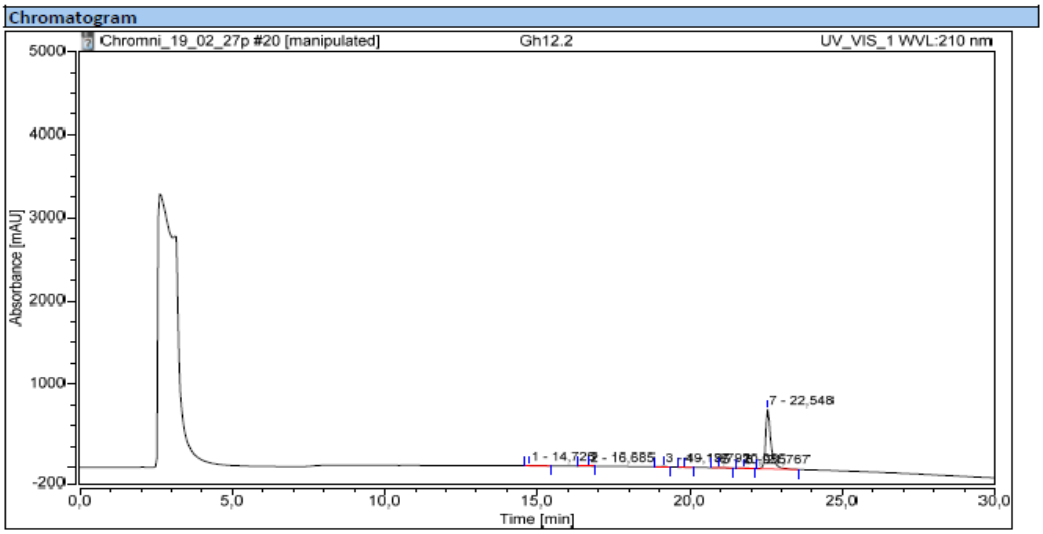
Uma mistura de **(9)** (179,4 mg, 1,01 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (204,8 mg, 2,50 mmol, 2,50 eq.), ácido cloroacético (159,3 mg, 1,69 mmol, 1,69 eq.), anidrido acético (1,5 mL, 15,9 mmol, 15,9 eq.) e tiofeno-2-carboxaldeído (120 µL, 1,28 mmol, 1,28 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido cristalino dourado (m = 83,5 mg, rendimento = 26%).

Sólido cristalino dourado, rendimento: 26%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,58, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: rosa

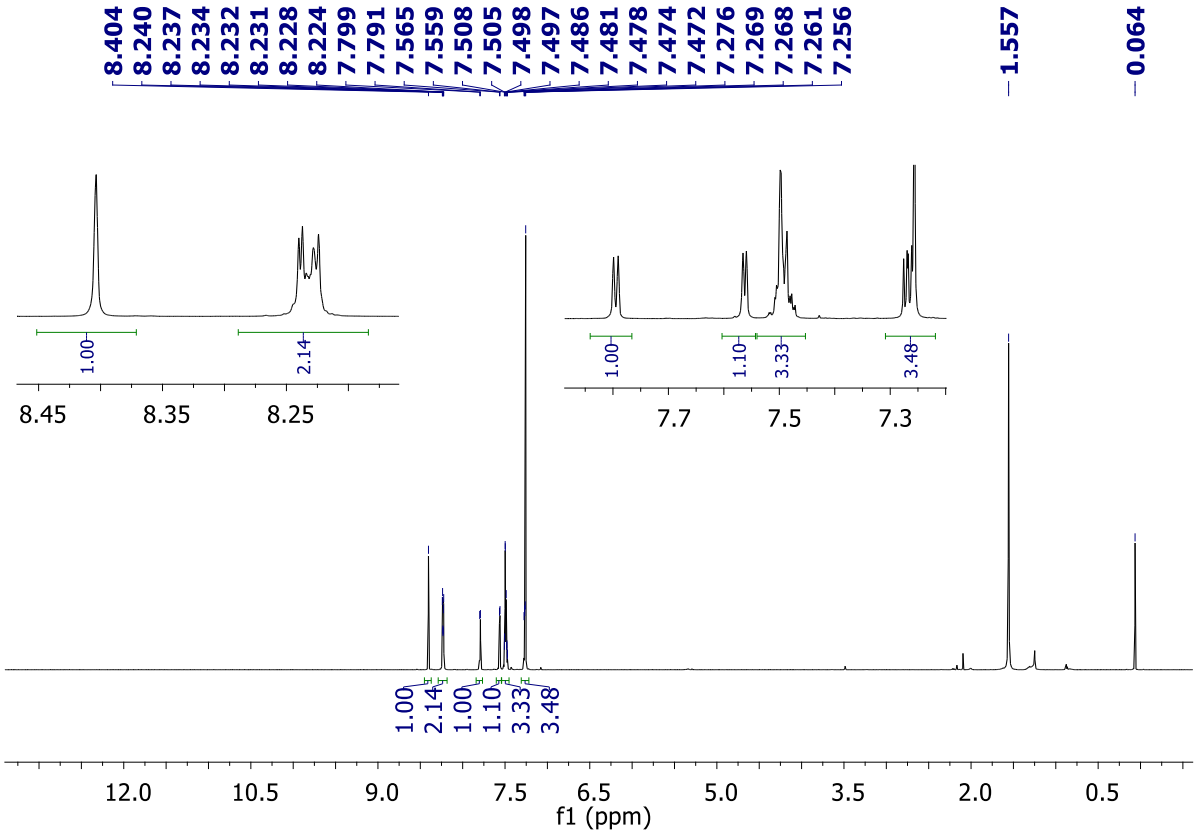
Ponto de fusão 271-273°C

Pureza (HPLC): 97%, tempo de retenção 22,55 minutos (método C)

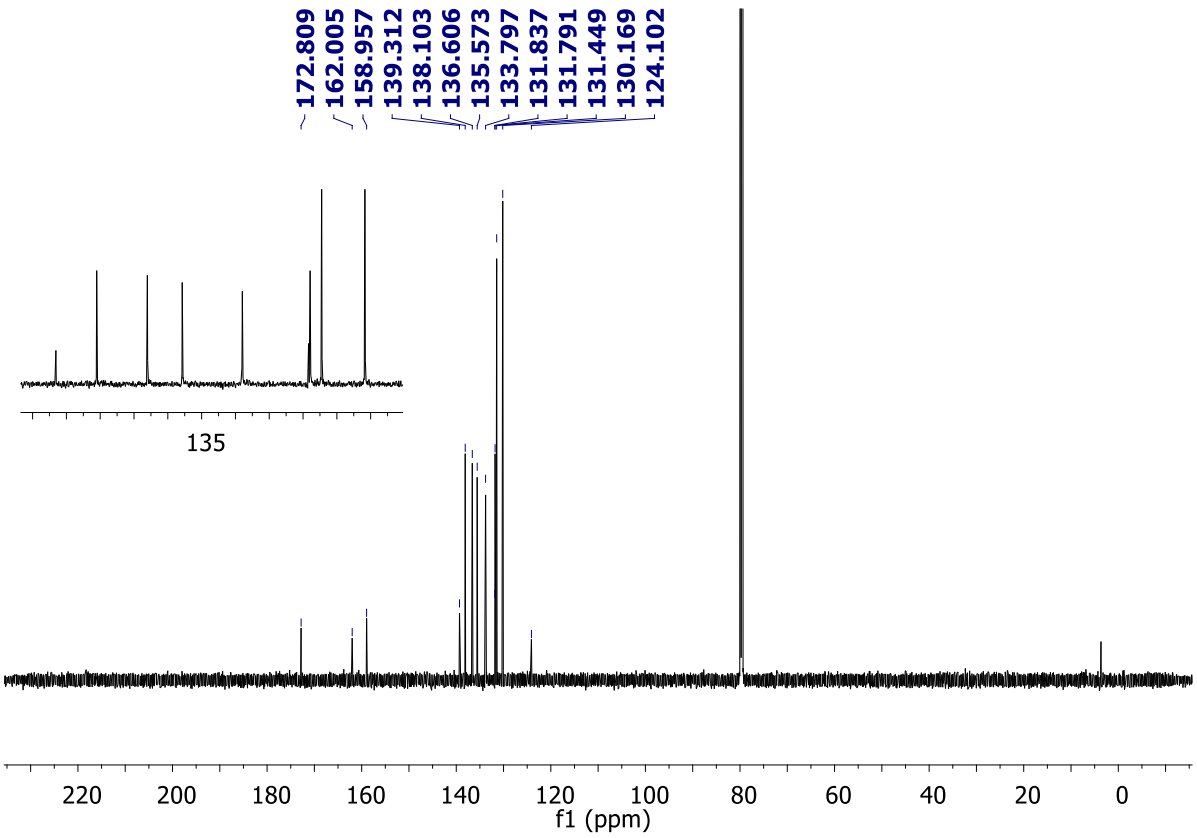


Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		14,725	0,837	4,665	0,57	0,63	n.a.
2		16,685	0,627	2,302	0,43	0,31	n.a.
3		19,137	1,161	9,317	0,79	1,26	n.a.
4		19,792	0,470	1,589	0,32	0,22	n.a.
5		20,955	0,591	3,054	0,40	0,41	n.a.
6		21,767	0,604	3,300	0,41	0,45	n.a.
7		22,548	143,264	714,138	97,09	96,72	n.a.
Total:			147,555	738,365	100,00	100,00	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,40 (s, 1H, Cβ-H), 8,24 – 8,22 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,79 (d, *J* = 4,99 Hz, 1H, tienil-SCH), 7,56 (d, *J* = 4,99 Hz, 1H, tienil-CH), 7,50 – 7,49 (m, 3H 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,28 – 7,26 (m, 2H, tienil-CH).

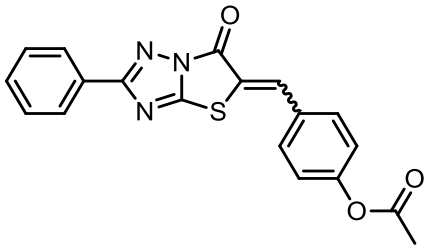


RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 151 MHz) δ (ppm) 172,8, 162,0, 159,0, 139,3, 138,1, 136,6, 135,6, 133,8, 131,8, 131,8, 131,4, 130,2, 124,1.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 324561-39-9

4-((6-oxo-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-5(6H)-ilideno)metil)fenil acetato **(10h)**



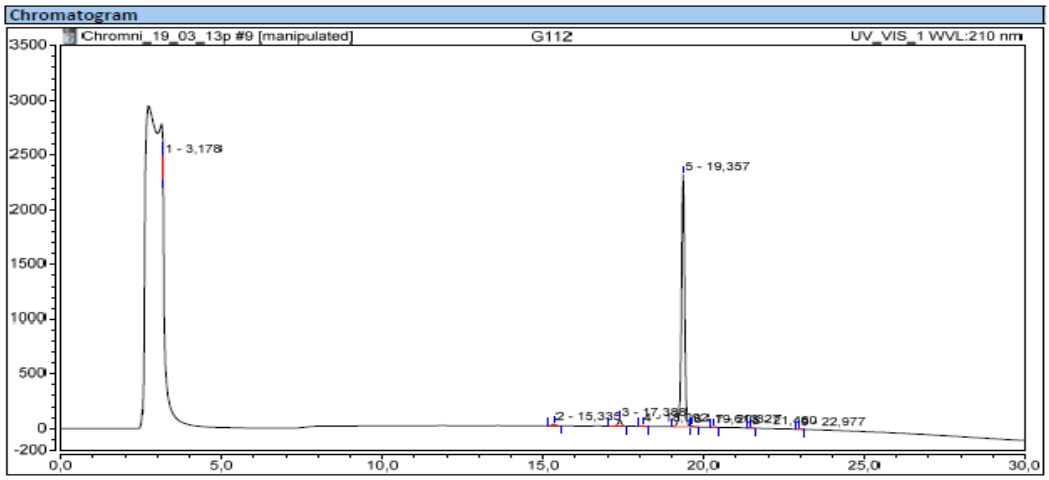
Uma mistura de **(9)** (179,0 mg, 1,01 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (209,7 mg, 2,56 mmol, 2,56 eq.), ácido cloroacético (169,0 mg, 1,79 mmol, 1,79 eq.), anidrido acético (1,5 mL, 15,9 mmol, 15,9 eq.) e 4-hidroxibenzaldeído (147,5 mg, 1,21 mmol, 1,21 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido amarelo opaco (m = 93,3 mg, rendimento = 26%).

Sólido amarelo opaco, rendimento: 26%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,62, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: não revela

Ponto de fusão 202-204 °C

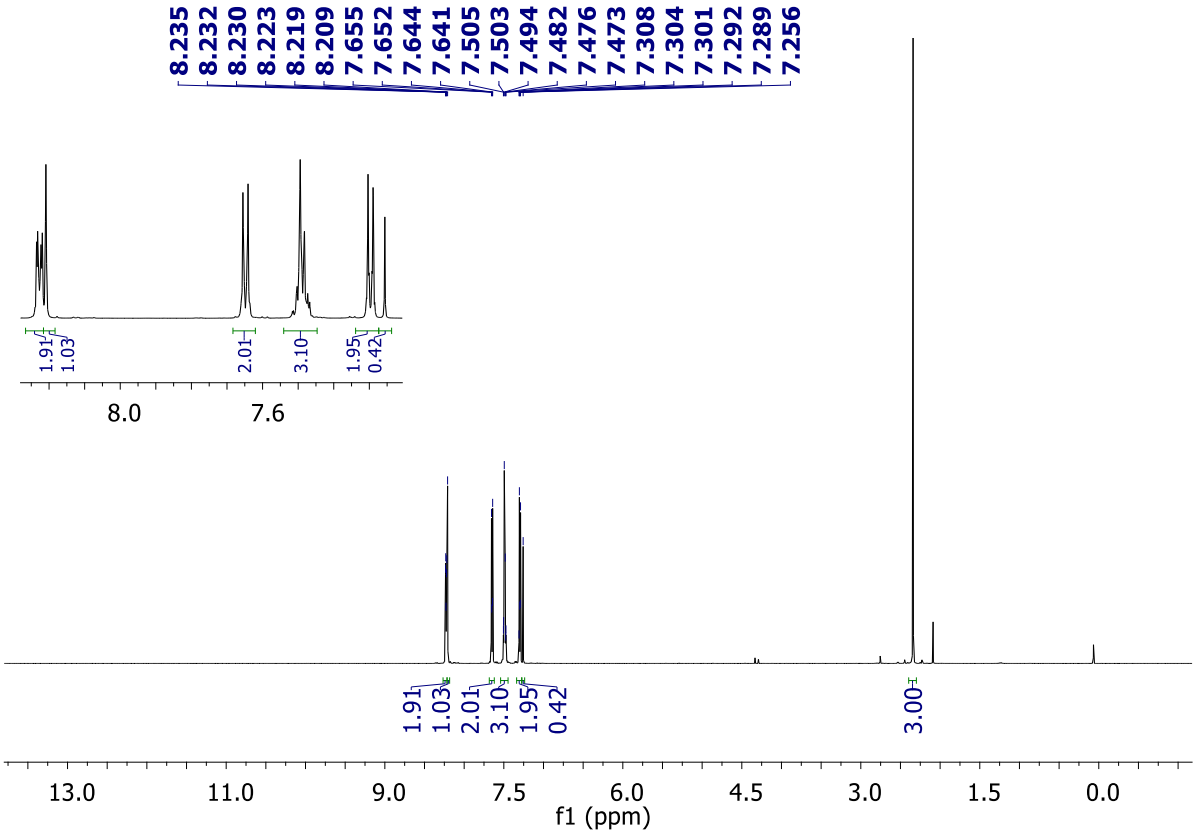
Pureza (HPLC): 96%, tempo de retenção 19,36 minutos (método C)



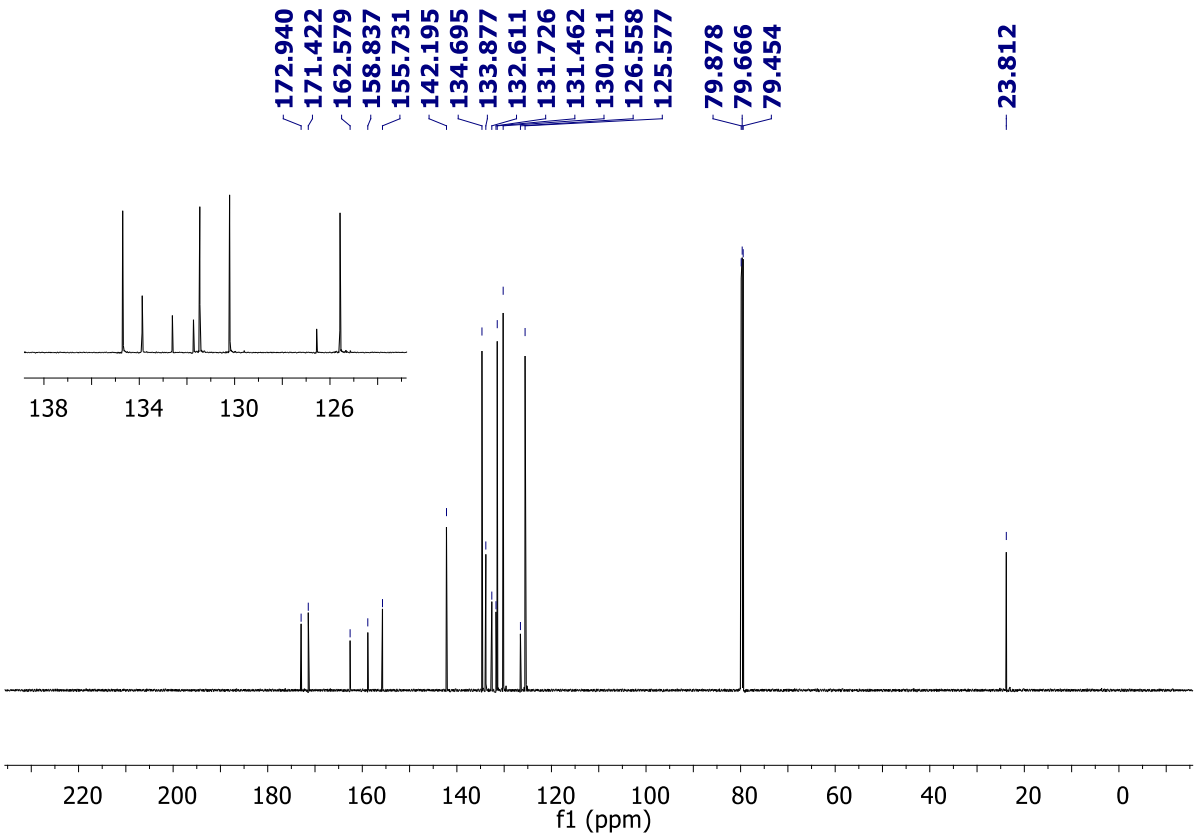
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		3,178	0,199	51,445	0,07	2,09	n.a.
2		15,335	2,018	16,589	0,73	0,67	n.a.
3		17,388	6,931	61,414	2,51	2,49	n.a.
4		18,092	0,706	6,709	0,26	0,27	n.a.
5		19,357	264,579	2305,320	95,66	93,64	n.a.
6		19,613	1,001	8,449	0,36	0,34	n.a.
7		20,327	0,416	4,264	0,15	0,17	n.a.
8		21,460	0,457	4,520	0,17	0,18	n.a.
9		22,977	0,277	3,067	0,10	0,12	n.a.
Total:			**276,583**	**2461,777**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,24 – 8,22 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 8,21 (s, 1H, Cβ-H), 7,65 (m, *J* = 8,40 Hz, 2H, 4-acetil-fenil-CH), 7,50 – 7,47 (m, 3H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,30 (d, *J* = 9,00 Hz, 2H, 4-acetil-fenil-CH).

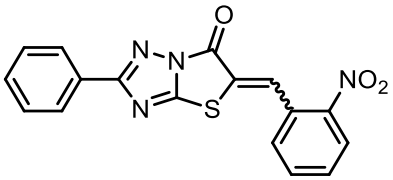


RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 151 MHz) δ (ppm) 172,9, 171,4, 162,6, 158,8, 155,7, 142,2, 134,7, 133,9, 132,6, 131,7, 131,5, 130,2, 126,6, 125,6, 23,8.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 606960-45-6

5-(2-nitrobenzilideno)-2-fenil-tiazol[3,2-*b*][1,2,4]triazol-6(5H)-ona **(10i)**



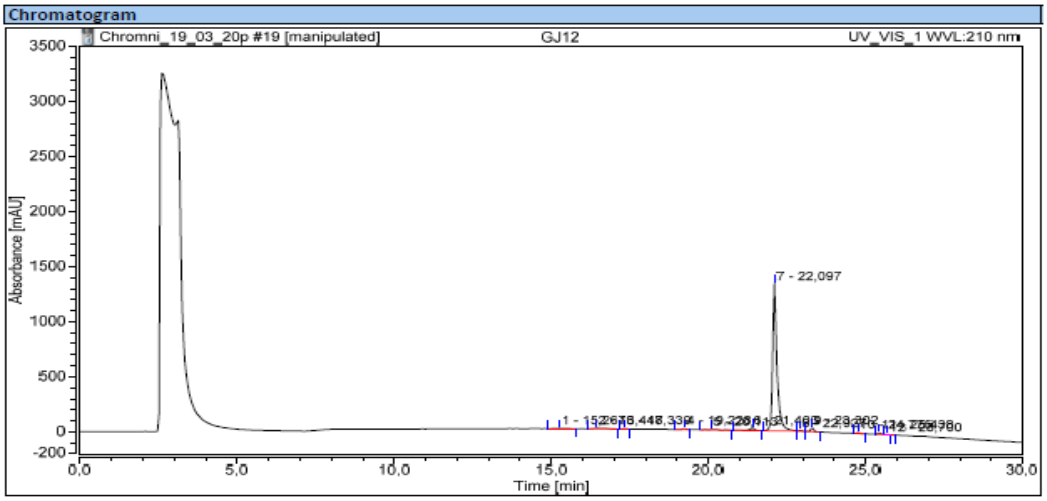
Uma mistura de **(9)** (180,0 mg, 1,02 mmol, 1,00 eq.), NaOAc anidro (207,1 mg, 2,52 mmol, 2,47 eq.), ácido cloroacético (156,9 mg, 1,66 mmol, 1,63 eq.), anidrido acético (1,5 mL, 15,9 mmol, 15,6 eq.) e 2-nitrobenzaldeído (167,3 mg, 1,11 mmol, 1,09 eq.) em ácido cético glacial (2 mL), foi aquecida à 110 °C por 1 hora. Determinado o fim da reação por CCD, H_2O gelada (± 5 mL) foi adicionada a mistura reacional. O sólido formado foi filtrado, lavado com H_2O gelada e os resíduos de solvente foram removidos em bomba de alto vácuo por 24 horas. O produto foi purificado por recristalização em ácido acético glacial resultando um sólido cristalino dourado (m = 209,2 mg, rendimento = 59%).

Sólido cristalino dourado, rendimento: 59%/ Ref.: não encontrado

CCD: (Rf = 0,38, HEX: EtOAc = 3:7), revelador ninidrina: não revela

Ponto de fusão 261-263 °C

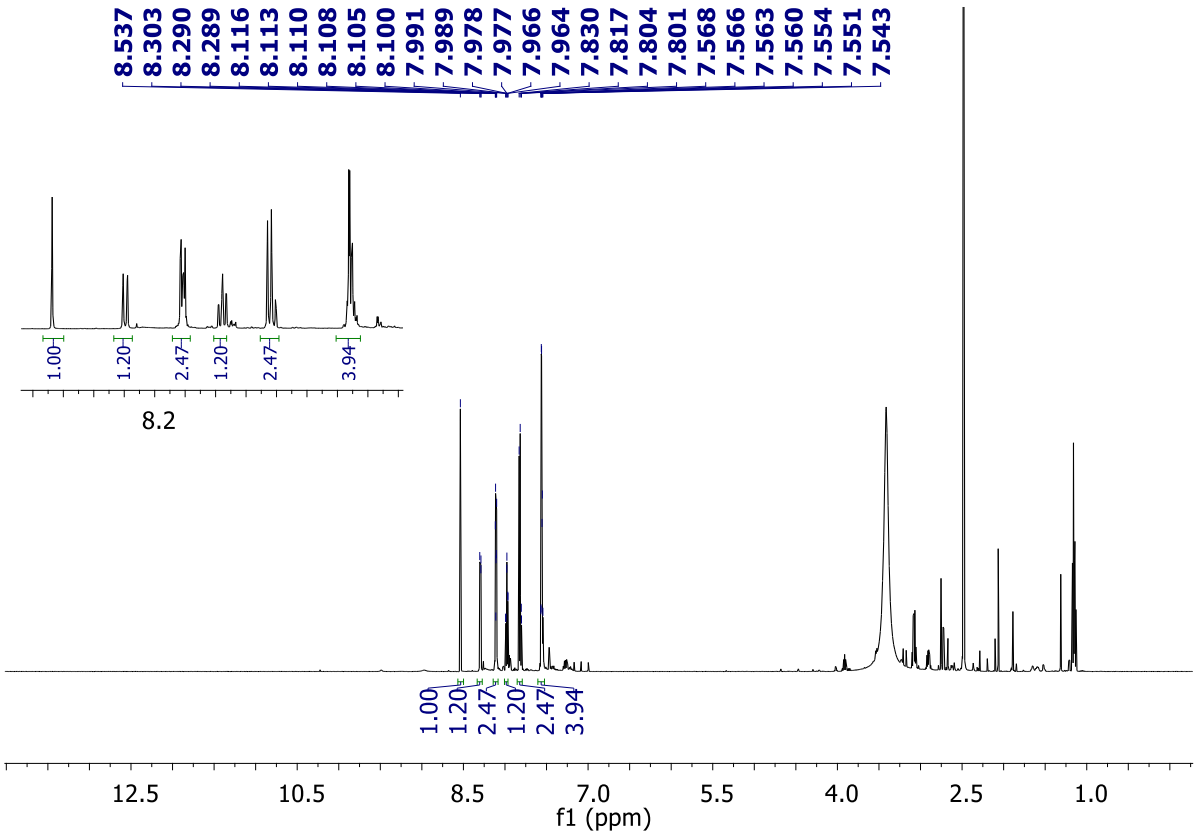
Pureza (HPLC): 92%, tempo de retenção 22,10 minutos (método C)



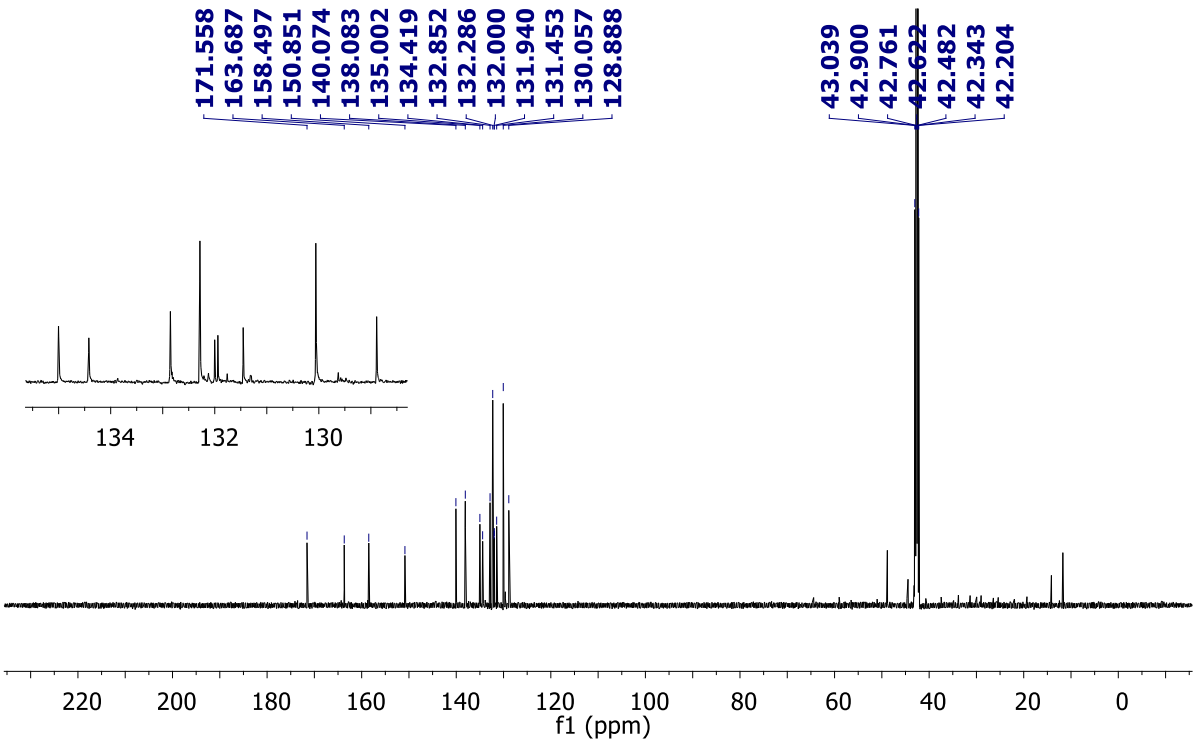
Integration Results

No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount n.a.
1		15,267	1,434	5,250	0,62	0,36	n.a.
2		16,448	1,731	5,747	0,74	0,39	n.a.
3		17,330	0,425	2,777	0,18	0,19	n.a.
4		19,228	1,023	8,888	0,44	0,61	n.a.
5		20,113	1,541	4,506	0,66	0,31	n.a.
6		21,403	4,370	24,637	1,87	1,69	n.a.
7		22,097	214,820	1338,817	92,17	92,01	n.a.
8		22,927	0,958	7,652	0,41	0,53	n.a.
9		23,302	4,073	34,694	1,75	2,38	n.a.
10		24,775	0,952	7,986	0,41	0,55	n.a.
11		25,438	1,654	13,214	0,71	0,91	n.a.
12		25,700	0,081	0,837	0,03	0,06	n.a.
Total:			**233,061**	**1455,006**	**100,00**	**100,00**	

RMN ^{1}H ($CDCl_3$, 600 MHz) δ (ppm) 8,54 (s, 1H, Cβ-H), 8,29 (d, *J* = 8,40 Hz, 2H, 2-NO_2-fenil-CH), 8,11 – 8,10 (m, 2H, 1,3,4-triazolil-fenil-CH), 7,98 (td, *J* = 1,20 Hz, *J* = 7,80 Hz, 2H, 2-NO_2-fenil-CH), 7,82 (d, *J* = 7,70 Hz, 2H, 2-NO_2-fenil-CH), 7,57 – 7,54 (m, 4H, 3H 1,3,4-triazolil-fenil-CH, 1H 2-NO_2-fenil-CH).



RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 151 MHz) δ (ppm) 171,6, 163,7, 158,5, 150,8, 140,1, 138,1, 135,0, 134,4, 132,8, 132,3, 132,0, 131,9, 131,4, 130,1, 128,9.



Ref.: sem referência de caracterização, CAS: 606957-85-1

Currículo Lattes

Imprimir currículo

Fernando de Moura Gatti

Endereço para acessar este CV: **http://lattes.cnpq.br/2571096503881670**

Última atualização do currículo em 11/09/2019

Resumo informado pelo autor

Graduado em Farmácia e Bioquímica - Faculdades Oswaldo Cruz (2010), possui mestrado em Fármacos e Medicamentos (2015), pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas na Universidade de São Paulo. Trabalhou inicialmente com fitoquímica e técnicas cromatográficas de isolamento e purificação de substâncias de extratos vegetais. No mestrado, atuou na área de planejamento de fármacos, onde realizou a síntese de compostos orgânicos e avaliação biológica frente à proteases parasitárias. Atualmente, cursando doutorado pelo Programa de Toxicologia e Análises Toxicológicas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, atuando na síntese de compostos orgânicos para avaliação da atividade antiparasitária frente aos causadores da doença de Chagas, Malária e Leishmanioses. No doutorado, realizou período Sanduíche de um ano, no Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie na Westfälische Wihelms - Universtät Münster (WWU Münster), onde realizou a síntese de composto antagonista seletivo de receptores de quimiocinas subtipo 2 e 5.

(Texto informado pelo autor)

Nome civil

Nome Fernando de Moura Gatti

Dados pessoais

Nascimento 06/03/1987 - São Paulo/SP - Brasil

CPF 318.440.848-50

Formação acadêmica/titulação

2015 Doutorado em Ciências Farmacêuticas.
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil
com **período sanduíche** em University of Münster (Orientador: Bernhard Wünsch)
Título: Desenvolvimento de moléculas funcionalizadas para a utilização no planejamento racional de compostos: Síntese e avaliação da seletividade em cisteíno-proteases, parasitárias e humanas e relação entre atividade antiparasitária e citotoxicidade

Orientador: Gustavo Henrique Goulart Trossini
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2013 - 2015 Mestrado em Ciências Farmacêuticas.
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil
Título: "Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásicos", Ano de obtenção: 2015

Orientador: Gustavo Henrique Goulart Trossini
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2006 - 2011 Graduação em Farmácia e Bioquímica.
Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Sao Paulo, Brasil
Título: AYAHUASCA: Farmacologia e seus efeitos no sistema serotoninérgico e relações neurológicas
Orientador: Dra. Edna Bertini

Formação complementar

2017 - 2017 Programa de Aperfeiçoamento de Ensino - PAE. . (Carga horária: 120h).
Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP, FCF-USP, Brasil
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2014 - 2014 Programa de Aperfeiçoamento de Ensino - PAE. . (Carga horária: 120h).
Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP, FCF-USP, Brasil
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2012 - 2013 Prática Profissionalizante. . (Carga horária: 120h).
Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP, FCF-USP, Brasil

2009 - 2009 Curso de curta duração em XX curso de Toxicologia Clínica. (Carga horária: 20h).
Instituto da Criança - HCFMUSP, HCFMUSP, Brasil

2008 - 2008 Curso de curta duração em Técnicas de Expressão Oral. (Carga horária: 4h).
Instituto Biológico, IB, Sao Paulo, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em II Curso de Pericia Criminal.
Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Sao Paulo, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em Responsabilidade Social e Prevenção ao Uso de Drog. (Carga horária: 4h).
Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Sao Paulo, Brasil

Atuação profissional

1. Westfalische-Wihelms - Universität Münster - WWU

Vínculo institucional

2018 - 2019 Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Doutorando Sanduíche , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

2. Universidade de São Paulo - USP

Vínculo institucional

2015 - Atual Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Aluno de Doutorado , Carga horária: 40, Regime: Integral
Outras informações:
Título do projeto: Desenvolvimento de blocos de construção molecular na busca de inibidores seletivos de cisteíno-proteases parasitárias

2013 - 2015 Vínculo: Bolsista , Enquadramento funcional: Mestre , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva
Outras informações:
"Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásicos"

Atividades

07/2015 - Atual Pesquisa e Desenvolvimento, Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Linhas de pesquisa:
Desenvolvimento de blocos de construção molecular na busca de inibidores seletivos de cisteíno-proteases parasitárias

02/2013 - 07/2015 Pesquisa e Desenvolvimento, Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Linhas de pesquisa:
Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásicos

3. WELEDA - Pompéia - WELEDA

Vínculo institucional

2011 - 2012 Vínculo: Celetista , Enquadramento funcional: Farmacêutico Substituto , Carga horária: 44, Regime: Dedicação exclusiva
Outras informações:
Farmacêutico Substituto responsável pelo laboratório de manipulação de medicamentos Homeopáticos e Antroposóficos.

4. Instituto Biológico - IB

Vínculo institucional

2007 - 2010 Vínculo: bolsista PIBIC , Enquadramento funcional: estagiario , Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva
Outras informações:
"Avaliação Fitoquímica do Látex de Cróton celtidifolius (Euphorbiaceae)" "Estudo Fitoquímico de Extratos Ativos de Casearia sylvestris (Flacourtiaceae)" "Avaliação Fitoquímica das Frações Ativas do Extrato de Casearia sylvestris (FLACOURTIACEAE)" Atividades: Preparação de extratos vegetais; Fracionamento dos extratos e Análises Qualitativas e Quantitativas; Teste de atividade antifúngica em ensaios microbiológicos; Pesquisa e desenvolvimento de extrato vegetal por diferentes métodos cromatográficos para isolamento, purificação e identificação de compostos ativos do extrato vegetal(látex). Orientadora: Dra Maria Helena Rossi

Linhas de pesquisa

1. Desenvolvimento de blocos de construção molecular na busca de inibidores seletivos de cisteíno-proteases parasitárias
2. Síntese e avaliação biológica de sulfonil-hidrazonas análogos do nitrofural como candidatos a antichagásicos

Producão

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. doi SHAMIM, ANWAR; SOUZA, FREDERICO B.; TROSSINI, GUSTAVO H. G.; **GATTI, FERNANDO M.**; STEFANI, HÉLIO A.
Synthesis of C-glycosyl-bis-1,2,3-triazole derivatives from 3,4,6-tri- $$□arvec{O}$$ O -acetyl-D-glucal. MOLECULAR DIVERSITY. JCR, v.19, p.423 - 434, 2015.

2. doi KVIECINSKI, MAICON ROBERTO; FELIPE, KARINA BETTEGA; GOMES CORREIA, JOÃO FRANCISCO; FERREIRA, EDUARDO ANTONIO; ROSSI, MARIA HELENA; **MOURA GATTI, FERNANDO DE**; FILHO, DANILO WILHELM; CURI PEDROSA, ROZANGELA
Brazilian *Bidens pilosa* Linné yields fraction containing quercetin-derived flavonoid with free radical scavenger activity and hepatoprotective effects. Libyan Journal of Medicine. JCR, v.6, p.5651 - , 2011.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **GATTI, Fernando de M.**; HELENO, Rodrigo A.; FERREIRA, L.; ANDRICOPULO, A. D.; TROSSINI, GUSTAVO H. G.
Hybridization Approach for Drug Design in Anti-leishmanial Cinnamoylhydraones In: 9th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2019, Pirenópolis.
Hybridization Approach for Drug Design in Anti-leishmanial Cinnamoylhydraones. , 2019.

2. GOMES, R. A.; **GATTI, Fernando de M.**; FONSECA, A. L.; VAROTTI, F. P.; TROSSINI, GUSTAVO H. G.
Sulfonylhydrazones as novel antimalarial scaffold: design, synthesis, biological evaluation and machine learning models for structure-activity relathionship interpretation In: 9th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry, 2019, Pirenópolis.
Sulfonylhydrazones as novel antimalarial scaffold: design, synthesis, biological evaluation and machine learning models for structure-activity relathionship interpretation. , 2019.

3. **GATTI, Fernando de M.**; FONSECA, A. L.; VAROTTI, F. P.; TARANTO, A. G.; TROSSINI, G. H . G.

Biological Evaluation Against P. falciparum resistant and sensitive strains of synthetic sufonylhydrazones In: 11th International Conference of Pharmaceutical Sciences, 2017, Ribeirão Preto - SP.
11th International Conference of Pharmaceutical Sciences. , 2017.

4. **GATTI, Fernando de M.**; FONSECA, A. L.; VAROTTI, F. P.; TARANTO, A. G.; TROSSINI, G. H . G.
Biological evaluation against P. falciparum resistant and sensitive strains of synthetic sulfonylhydrazones In: 46th World Chemistry Congress, 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química & IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo - SP.
46th World Chemistry Congress, 40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química & IUPAC 49th General Assembly. , 2017.

5. **GATTI, Fernando de M.**; TROSSINI, GUSTAVO H. G.; FONSECA, A. L.; TARANTO, A. G.; VAROTTI, F. P.; DAMASCENO, F.; RAPADO, L. N.; SILBER, A. M.
Design, synthesis and biological evaluation of sulfonyl hydrazones derivatives as antiparasite, T. cruzi and P. falciparum, cadidates In: IV International Symposium on Drug Discovery, 2015, Araraquara - SP.
IV International Symposium on Drug Discovery. , 2015.

6. UEHARA, L. Y.; **GATTI, Fernando de M.**; PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T.; TROSSINI, G. H. G.
Síntese e avaliação da atividade inibitória da cruzaína de bioisósteros sulfonilhidrazônicos do NF, planejados como candidatos antichagásicos In: 36a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013, Águas de Lindóia.
36a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. , 2013.

7. **GATTI, Fernando de M.**; TROSSINI, G. H . G.
Sulfonylhydrazones analogues synthesis and biological evaluation against T. cruzi and P. falciparum. In: III International Symposium on Drug Discovery, 2013, Araraquara - SP.
III International Symposium on Drug Discovery. , 2013.

8. **GATTI, Fernando de M.**; PEDROSA, R. C.; GONZALEZ, E.; FELICIO, J. D.; ROSSI, MARIA HELENA
Avaliação Fitoquímica do Látex de Croton celtidifolius (Euphorbiaceae) In: 8o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais - 8o CICAM, 2010, São Paulo.
8o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais - 8o CICAM. , 2010.

9. FELIPE, K. B.; KVIECINSKI, MAICON ROBERTO; BISCARO, F.; PARISOTTO, E. B.; **GATTI, Fernando de M.**; ROSSI, MARIA HELENA; PEDROSA, R. C.
Cytotoxicity, Antiproliferative and Proapoptotic Effects of Casearia sylvestris (Flacourtiaceae) In: XXXIX Annual Meeting of The Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society, 2010, Foz do Iguaçu.
XXXIX Annual Meeting of The Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society. , 2010.

10. KVIECINSKI, MAICON ROBERTO; FELIPE, KARINA BETTEGA; GOMES CORREIA, JOÃO FRANCISCO; FERREIRA, EDUARDO ANTONIO; **GATTI, Fernando de M.**; ROSSI, MARIA HELENA; FELICIO, J. D.; GONZALEZ, E.; PEDROSA, R. C.
Efeito oxidante e hepatoprotetor de flavonóides monoglicosilados derivados da quercetina identificados em Bidens pilosa l. (Astraceae) In: 33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - 33a RASBQ, 2010, Águas de Lindóia - SP.
33a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - 33a RASBQ. , 2010.

11. **GATTI, Fernando de M.**; FELIPE, K. B.; PEDROSA, R. C.; GONZALEZ, E.; FELICIO, J. D.; ROSSI, M. H.
Avaliação fitoquímica das frações ativas do extrato de Casearia sylvestris (Flacourtiaceae) In: 7o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambieintais - 7o CICAM, 2009, São Paulo - SP.
7o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambieintais - 7o CICAM. , 2009.

12. **GATTI, Fernando de M.**; FELIPE, K. B.; PEDROSA, R. C.; ROSSI, MARIA HELENA
Avaliação Fitoquímica de Casearia sylvestris, espécie com potencial atividade antitumoral In: 6o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais - 6o CICAM, 2008, São Paulo.
6o Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais - 6o CICAM. , 2008.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. **GATTI, Fernando de M.**; UEHARA, L. Y.; TROSSINI, G. H. G.
Design and Synthesis of the sulfonylhydrazones derivatives as T. cruzi cruzain inhibitors In: III International Symposium on Drug Discovery, 2013, Araraquara.
Design and Synthesis of the sulfonylhydrazones derivatives as T. cruzi cruzain inhibitors. , 2013.

2. UEHARA, L. Y.; **GATTI, Fernando de M.**; TROSSINI, G. H. G.
Synthesis and Biological evaluation of allylic sulfonylhydrazones derivatives as antichagasic candidates In: III International Symposium on Drug Discovery, 2013, Araraquara.
Synthesis and Biological evaluation of allylic sulfonylhydrazones derivatives as antichagasic candidates. , 2013.

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Iniciação científica

1. Carmem Castiñeira. **Desenvolvimento de blocos de construção molecular na busca de inibidores seletivos de cisteíno-proteases parasitárias**. 2017. Iniciação científica (Farmácia e Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP

2. Rodrigo Alves Heleno. **Planejamento, síntese e avaliação biológica de N-acil-hidrazonas do ácido cinâmico como candidatos a antichagásicos**. 2016. Iniciação científica (Farmácia) - Faculdades Oswaldo Cruz

3. Carmem Castiñeira. **Síntese e avaliação da inibição de cruzaína de derivados bioisostéricos do nitrofural**. 2016. Iniciação científica (Farmácia e Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP

4. Helena Esther Fontans Fontan Infanti. **Avaliação da inibição de cruzaína por derivados bioisostéricos do nitrofural**. 2015. Iniciação científica (Farmácia) - Faculdades Oswaldo Cruz

5. Claudia Abiarraj Teixeira. **Planejamento, Síntese e avaliação biológica de semicarbazonas cinâmicas como candidatos a antichagásicos**. 2015. Iniciação científica (Farmácia) - Faculdades Oswaldo Cruz

6. Andreas de Ungaro dos Santos. **Síntese de análogos sulfonamídicos do nitrofural como candidatos a antichagásicos**. 2014. Iniciação científica (Farmácia e Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP

7. Prisicila Falango Milsoni. **Planejamento por hibridação molecular e síntese de chalconas nitro-aromáticas como antichagásicos**. 2013. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade Presbiteriana Mackenzie

8. Leila Yumi Uehara. **Síntese de análogos sulfonamídicos de NF comocandidatos a antichagásico**. 2013. Iniciação científica (Farmácia) - Universidade Presbiteriana Mackenzie

9. Anderson de Oliveira Costa. **Síntese de espaçantes peptídicos seletivos pela cruzaína de Trypanosoma cruzi**. 2013. Iniciação científica (Farmácia e Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 26/11/2019 às 01:36:21.

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9141 - 8178427/1 - Fernando de Moura Gatti

Email:	mouragatti@usp.br
Data de Nascimento:	06/03/1987
Cédula de Identidade:	RG - 43.538.245-7 - SP
Local de Nascimento:	Estado de São Paulo
Nacionalidade:	Brasileira
Graduação:	Farmacêutico - Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas - Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil - 2011
Mestrado:	Mestre em Ciências - Área: Insumos Farmacêuticos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2015

Curso:	Doutorado
Programa:	Toxicologia e Análises Toxicológicas
Data de Matrícula:	29/07/2015
Início da Contagem de Prazo:	29/07/2015
Data Limite para o Depósito:	26/11/2019
Orientador:	Prof(a). Dr(a). Gustavo Henrique Goulart Trossini - 29/07/2015 até o presente. Email: trossini@usp.br
Proficiência em Línguas:	Inglês, Aprovado em 29/07/2015
Prorrogação(ões):	120 dias Período de 29/07/2019 até 26/11/2019
Data de Aprovação no Exame de Qualificação:	Aprovado em 19/09/2017
Estágio no Exterior:	Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Alemanha - Período de 01/04/2018 até 31/03/2019
Data do Depósito do Trabalho:	
Título do Trabalho:	
Data Máxima para Aprovação da Banca:	
Data de Aprovação da Banca:	
Data Máxima para Defesa:	
Data da Defesa:	
Resultado da Defesa:	
Histórico de Ocorrências:	Primeira Matrícula em 29/07/2015 Prorrogação em 12/05/2019

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2019

Impresso em: 26/11/2019 01:41:25

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9141 - 8178427/1 - Fernando de Moura Gatti

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBC5802-3/7	Tópicos Avançados em Toxicologia I	04/08/2015	16/11/2015	15	1	90	A	N	Concluída
FBC5803-3/6	Sistemas de Garantia da Qualidade em Laboratórios de Ensaio	18/08/2015	31/08/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBF5822-1/1	Tópicos Avançados em Fármaco e Medicamentos (Calorimetria e Termodinâmica no Desenho de Novos Fármacos)	02/09/2015	08/09/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBC5784-3/8	Tópicos Avançados em Toxicologia II	08/03/2016	20/06/2016	15	1	100	A	N	Concluída
FBF5805-2/2	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	10/03/2016	19/05/2016	90	6	100	A	N	Concluída
QFL5933-10/1	Fundamentos da Química Orgânica (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	14/03/2016	26/06/2016	150	10	100	B	N	Concluída
FBF5824-1/1	Introdução à Modelagem Molecular como Ferramenta no Estudo e Desenvolvimento de Moléculas Bioativas	04/07/2016	24/07/2016	90	6	100	A	N	Concluída
FBA5728-4/3	Aprimoramento Pedagógico	16/08/2016	12/09/2016	60	4	100	A	N	Concluída
FBC5813-6/1	Aplicações de Cromatografia e Espectrometria de Massas em Análises Toxicológicas	06/03/2017	27/03/2017	60	0	-	-	N	Turma cancelada
FBC5747-2/2	Toxicologia Forense	15/05/2017	18/06/2017	60	4	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	36
Estágios:			
Total:	0	20	36

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2019
Impresso em: 26/11/2019 01:41:25

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9141 - 8178427/1 - Fernando de Moura Gatti

Comissão julgadora da tese de doutorado:

NUSP	Nome	Vínculo	Função
3578907	Gustavo Henrique Goulart Trossini	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2019
Impresso em: 26/11/2019 01:41:25