

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - PPGQB

IGOR JOSÉ DOS SANTOS NASCIMENTO

**Síntese, Avaliação Biológica e Estudos *in silico* de Novos Compostos Tiazólicos e
Tiadiazínico com Potencial Frente ao *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis***

Volume I

Maceió

2022

IGOR JOSÉ DOS SANTOS NASCIMENTO

Síntese, Avaliação Biológica e Estudos *in silico* de Novos Compostos Tiazólicos e Tiadiazínico com Potencial Frente ao *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis*

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia, do Instituto de Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como objetivo parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino
Coorientador: Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior

Volume I

Maceió
2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

N244s Nascimento, Igor José dos Santos.

Síntese, avaliação biológica e estudos *in silico* de novos compostos tiazólicos e tiadiazínico com potencial frente ao *Trypanosoma cruzi* e *leishmania amazonensis* / Igor José dos Santos Nascimento. – 2022.

179 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientador: Thiago Mendonça de Aquino.

Coorientador: João Xavier de Araújo Júnior.

Tese (doutorado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 155-169.

Apêndice: f. 170-179.

1. *Trypanosoma cruzi*. 2. *Leishmania amazonensis*. 3. Cruzaína. 4. Cistaína proteases. 5. Fármacos - Planejamento. 6. Desenho de fármacos. I. Título.

CDU: 615.2:616.993.161:593.161



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **Igor José dos Santos Nascimento** intitulada: “**Síntese, Avaliação Biológica e Estudos *in silico* de Novos Compostos Tiazólicos e Tiadiazínico com Potencial Frente ao *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania amazonensis***”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 21 de fevereiro de 2022, às 9h, por meio de videoconferência.

Maceió, 21 de fevereiro de 2022.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino
Orientador - PPGQB/IQB/UFAL

Prof. Dr. João Xavier de Araújo Junior
PPGQB/ICF/UFAL

Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes
PPGCF/UFPE

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior
PPGCF/UEPB

Prof. Dr. Edeildo Ferreira da Silva Júnior
PPGQB/IQB/UFAL

Profa. Dra. Isis Martins Figueiredo
PPGQB/IQB/UFAL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à minha família, meus pais Leones e Vânia, e a minha irmã Vanessa, por todo o apoio incentivo desde sempre.

Aos professores Dr. Thiago Aquino, por aceitar a orientação, o compromisso para com o trabalho e por todo o incentivo, dedicação e apoio; Dr. João Xavier, pela oportunidade de participar do grupo de pesquisa; e ao Dr. Edeildo Ferreira por todos os ensinamentos que contribuíram com minha formação como pesquisador.

Aos professores da banca avaliadora: Dr. Alexandre Góes, Dr. Francisco Jaime, e Dra. Isis Figueiredo por aceitarem o convite e pelas importantes contribuições, sendo de extrema importância para a excelência deste trabalho.

Ao professor Dr. Klinger Rodrigues por viabilizar os ensaios leishmanicidas dos compostos apresentados neste trabalho;

Aos meus amigos de laboratório Érica Rodrigues, Paulo Fernando e Manuele Figueiredo, por todo o apoio e incentivo mesmo nos momentos mais difíceis

Ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD-SP), pela disponibilização de seus recursos nos ensaios de dinâmica molecular

Ao Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN), por disponibilizar seus recursos nas análises de RMN.

A Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB).

A CAPES, CNPq e FAPEAL pelo apoio financeiro da pesquisa.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração desse trabalho.

*“E aqueles que foram vistos dançando foram julgados insanos
por aqueles que não podiam escutar a música”*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

As doenças negligenciadas são um grupo de doenças parasitárias e infecciosas que afetam mais de um bilhão de pessoas no mundo, afetando países tropicais e subtropicais, principalmente a população que vive na pobreza. A doença de Chagas faz parte desse grupo de doenças. É causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, sendo uma antroponose de ampla incidência tanto no Brasil quanto no mundo. Apesar de apresentar alta incidência, o tratamento é limitado a dois fármacos que apresentam severos efeitos colaterais e inefetivos em alguns casos, necessitando de investimento na pesquisa de novos compostos que possam ser utilizados como escolha terapêutica. As leishmanioses também fazem parte das doenças negligenciadas, apresentando altas taxas de morbimortalidade, sendo um problema de saúde pública em diversos países do mundo, com arsenal terapêutico limitado justificando a necessidade da descoberta de novas terapias. Estudos apontam tiazóis e tiadiazinas como compostos promissores para o tratamento destas doenças, onde o derivado **8c**, publicado recentemente por nosso grupo de pesquisa (constituído de um híbrido molecular de tiazol e tiofeno), apresentou resultados promissores contra *T. cruzi* e que pode ser um *lead* importante no desenvolvimento de novos compostos. Baseando-se nessa molécula, os objetivos deste trabalho foram realizar alterações no composto **8c**, sintetizando duas novas séries de tiazóis e tiadiazinas, com o objetivo de verificar a influência na atividade biológica, bem como determinar o mecanismo de inibição por meio de estudos computacionais (*docking*, DFT e dinâmica molecular). A metodologia de síntese mostrou-se eficaz com a obtenção de 11 compostos intermediários e 99 compostos finais, com rendimentos satisfatórios variando entre 50-95%. As técnicas de RMN 2D HMBC e NOESY foram precisas em confirmar a conectividade dos compostos, conduzindo a confirmação estrutural dos tiazóis *N*-etila, *N*-alila e *N*-benzila substituídos, por HMBC, e dos derivados *N*-fenila substituídos por NOESY. O método de teoria do funcional de densidade (DFT) foi eficiente em explicar a regioselectividade observada para os compostos *N*-fenila substituídos, por meio de cálculos de otimização geométrica e orbitais moleculares de fronteira, propondo o mecanismo de reação e a formação dos compostos principais. Com relação aos ensaios frente a *Leishmania amazonensis*, foram encontrados 42 compostos ativos, com CI_{50} entre 1,37-9,67 μ M contra formas amastigotas, com baixa citotoxicidade e ótimos valores de índice de seletividade. Dentre esses compostos, **2f**, **3f**, **5c** e **11f** foram os mais ativos (CI_{50} de 1,78, 1,37, 2,09, e 1,85 μ M, respectivamente). Por fim, *docking* molecular mostrou que os compostos são capazes de interagir com resíduos críticos da enzima (Cys¹⁵³ e His²⁸⁹), similar a um inibidor encontrado na literatura. Além disso, simulações de dinâmica molecular demonstraram a estabilidade dos compostos em complexo com a CPLa. Mais além, *docking* molecular na cruzaina mostrou afinidade e interações importantes (Cys²⁵ e His¹⁵⁹), mostrando que são compostos potenciais contra este alvo. A validação das regras de Lipinski e Veber por meio de estudos computacionais também mostrou que os compostos respeitam todos os critérios e podem apresentar boas propriedades biofarmacêuticas.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*; *Leishmania amazonensis*; cruzaina; CPB; planejamento de fármacos; modelagem molecular.

ABSTRACT

The neglected diseases are a group of parasitic and infectious diseases that affect more than one billion people worldwide, affecting tropical and subtropical countries, mainly the population living in poverty. Chagas disease is part of this group of diseases. It is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, which is an anthroponosis of wide incidence both in Brazil and in the world. Despite having a high incidence, the treatment is limited to two drugs that have severe side effects and are ineffective in some cases, requiring investment in the research of new compounds that can be used as a therapeutic choice. Leishmaniasis is also part of the neglected diseases, presenting high rates of morbidity and mortality, being a public health problem in several countries of the world, with a limited therapeutic arsenal, justifying the need to discover new therapies. Studies point to thiazoles and thiadiazines as promising compounds for the treatment of these diseases, in which the compound **8c**, recently published by our research group (consisting of a molecular hybrid of thiazole and thiophene), showed promising results against *T. cruzi* and that can be an important *lead* in the drug development. Based on this molecule, the objectives of this work were to make changes in compound **8c**, synthesizing two new series of thiazoles and thiadiazines, to verify the influence on biological activity, as well as determining the inhibition mechanism through computational studies (docking, DFT, and molecular dynamics). The synthesis methodology proved to be efficient, obtaining 11 intermediate compounds and 99 final compounds, with satisfactory yields ranging from 50 - 95%. The HMBC and NOESY 2D NMR techniques were accurate in confirming the connectivity of the compounds, leading to structural confirmation of N-ethyl, N-allyl, and N-benzyl thiazoles by HMBC, and N-phenyl derivatives by NOESY. The density functional theory (DFT) method was efficient in explaining the regioselectivity observed for the substituted N-phenyl compounds, employing geometric optimization calculations and molecular orbitals, proposing the reaction mechanism and the formation of the main compounds. Regarding the assays against *Leishmania amazonensis*, 42 active compounds were found, with IC₅₀ between 1.37 – 9.67 μM against amastigote forms, with low cytotoxicity and excellent selectivity index values. Among these compounds, **2f**, **3f**, **5c**, and **11f** were the most active (IC₅₀ of 1.78, 1.37, 2.09, and 1.85 μM, respectively). Finally, molecular docking showed that the compounds can interact with critical residues of the enzyme (Cys¹⁵³ and His²⁸⁹), similar to an inhibitor found in the literature. In addition, molecular dynamics simulations demonstrated the stability of compounds in complex with CPLA. Furthermore, molecular docking in the cruzain showed important affinity and interactions (Cys²⁵ and His¹⁵⁹), showing that they are potential compounds against this target. The validation of Lipinski and Veber's rules through computational studies also showed that the compounds meet all the criteria and can present good biopharmaceutical properties.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*; *Leishmania amazonensis*; cruzain, CPB; drug discovery; molecular modeling.

LISTA DE ABREVIATURAS

CADD	Planejamento de fármacos assistida por computador
SBDD	Planejamento de fármacos baseada em estrutura
LBDD	Planejamento de fármacos baseados em ligantes
PDD	Planejamento de fármacos baseada em fenótipo
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
DBU	1,8-diazabicycloundec-7-eno
TBHP	<i>Terc</i> -butil-hidroperóxido
CI ₅₀	Concentração inibitória para 50% de uma resposta
EC ₅₀	Concentração efetiva para 50% de uma resposta
HTS	Triagem de alto rendimento
DFT	Teoria do funcional de densidade
DM	Dinâmica molecular
ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
RMSD	Desvio quadrado médio da raiz
RMSF	Flutuação quadrática média
R _g	Raio de Giro
SASA	Área de Superfície Acessível a Solventes
TPSA	Área de Superfície Polar Topológica
HSQC	Coerência quântica única heteronuclear
HMBC	Correlação Heteronuclear de Ligações Múltiplas
NOESY	Espectroscopia de efeito de exaustão nuclear
HOMO	Orbital Molecular Ocupado mais Alto
LUMO	Orbital Molecular não Ocupado mais Baixo
PDB	Protein Data Bank
CCD	Cromatografia em camada delgada
PF	Ponto de fusão
MM	Massa Molecular
μ	Momento dipolar

HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
Rf	Fator de retenção
ChemPLP	<i>Chemical Piecewise Linear Potential</i>
<i>J</i>	Constante de acoplamento
ns	Nanossegundos
ps	Picosegundo
ppm	Parte por milhão
DMSO-d6	Dimetil sulfoxido delterado
NVT	Número de partículas, volume e temperatura constantes.
NPT	Número de partículas, pressão e temperatura constantes.
DLH	Doador de ligação de hidrogênio
ALH	Aceptor de ligação de hidrogênio
LR	Ligações rotativas
AM1	Austin Model 1
SPC	Carga de ponto único
DCM	Diclorometano
LH	Ligação de hidrogênio
LCH	Ligação de carbono-hidrogênio
VDW	Van der Waals
BAF	Bromoacetofenona
R.T.	Temperatura ambiente
CPB	Cisteíno Protease B
CPla	Cisteíno Protease <i>Leishmania amazonensis</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Inseto triatomíneo transmissor da doença de Chagas	23
Figura 2. Ciclo biológico do <i>Trypanosoma cruzi</i>	24
Figura 3. Sinal de Romanã; Cardiomegalia	25
Figura 4. Estrutura química do Nifurtimox e Benznidazol	25
Figura 5. Procedimento geral de <i>docking</i> molecular	28
Figura 6: Subsítios S1, S1', S2, S3 e tríade catalítica (Cys ²⁵ , His ¹⁵⁹ e Asn ¹⁷⁵) da cruzaina.....	30
Figura 7: Modelo da CPB de <i>Leishmania amazonensis</i> construído por meio do servidor da web Swiss-Model.	31
Figura 8. Compostos ativos frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i> e <i>Leishmania</i>	32
Figura 9. Deslocalização de um dos pares de elétrons do enxofre e região de protonação.....	33
Figura 10. Principais métodos utilizados na síntese de tiazóis.....	34
Figura 11. Compostos tiazólicos promissores frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i>	35
Figura 12. Método de síntese das tiadiazinas	36
Figura 13. Tiadiazinas com atividade tripanocida.....	37
Figura 14. Compostos inicialmente planejados	38
Figura 15. Compostos tiadiazínicos planejados	39
Figura 16. Esquema geral para a síntese dos compostos tiazólicos	48
Figura 17. Esquema geral para a síntese das tiadiazinas	49
Figura 18. Método para a obtenção do 2-aminobenzil álcool	49
Figura 19. Método para a obtenção das tioureias substituídas (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12)	50
Figura 20. Síntese da tioureia não-substituídas (composto 6).....	55
Figura 21. Método para a obtenção dos derivados benzênicos	56
Figura 22. Método para a obtenção dos derivados piridínicos	76
Figura 23. Método para a obtenção da 4-benzil-3-tiossemicarbazida.....	92
Figura 24. Método de Obtenção das tiadiazinas N-metil e N-fenil-substituídas.....	93
Figura 25. Método para a obtenção das tiadiazinas N-benzil-substituídas (15a-g).....	100
Figura 26. Método para a obtenção das tiadiazinas não-substituídas (16a-f).....	103
Figura 27. Compostos inicialmente sintetizados	110
Figura 28. Derivado quinazolínico obtido pelo método <i>One-Pot</i> na tentativa de síntese de um derivado tiazólico planejado.....	112
Figura 29. Reação de síntese do isotiocianato	112
Figura 30. Mecanismo de formação da tioureia (I).	113

Figura 31. Nova rota sintética explorada para obtenção da tioureia, utilizando-se dissulfeto de carbono	114
Figura 32. Síntese do isotiocianato utilizando-se dicarbonato de di-terc-butila como reagente	114
Figura 33. Hidrólise da quinazolina	115
Figura 34. Redução com LiAlH ₄ e formação da função álcool.....	115
Figura 35. Síntese dos primeiros compostos utilizando o 2-aminobenzil álcool	116
Figura 36. Síntese das tioureas utilizando o 2-aminobenzil álcool como reagente.....	117
Figura 37. Compostos planejados e sintetizados	117
Figura 38. Mecanismo de reação para a síntese das tioureas (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12)	118
Figura 39. Mecanismo de reação para a síntese da tioureia não-substituída.....	118
Figura 40. Espectros de RMN H ¹ para a caracterização do composto 4	119
Figura 41: Mecanismo de reação proposto para a síntese dos compostos tiazólicos N-substituídos	120
Figura 42. Estruturas de ressonância e possíveis configurações <i>E/Z</i> das tioureas.	121
Figura 43. Estabilização por aromaticidade dos tiazóis não-substituídos	121
Figura 44. Confirmação por RMN de ¹ H da aromaticidade dos compostos não-substituídos.....	122
Figura 45. Espectro de RMN de ¹ H para a caracterização do composto 6a	123
Figura 46. Mecanismo de ciclização pelos nitrogênios da tioureia.....	123
Figura 47. Espectro RMN 2D HMBC para o composto 4e.....	124
Figura 48. Espectro RMN 2D HMBC para o composto 8e.....	125
Figura 49: Espectro RMN 2D HMBC para o composto 5a.....	125
Figura 50. Considerações sobre a reatividade das tioureas	126
Figura 51. Espectro de RMN de ¹ H que mostra uma mistura de regioisômeros do composto 9c	127
Figura 52. Espectro de RMN 2D NOESY para o composto 9e	128
Figura 53. Mecanismo de reação para os derivados piridínicos-tiazólicos N-fenil substituídos	129
Figura 54. Produto esperado (A) e produto secundário (B) dos derivados piridínicos N-fenil substituídos	130
Figura 55. HOMO-LUMO para os compostos 9b.1, 9b.2, 9e.1 e 9e.2.....	131
Figura 56. Mecanismo de reação para a síntese da 4-benzil-3-tiossemicarbazida	132
Figura 57. Mecanismo de reação para a formação das tiadiazinas.....	133

Figura 58. Caracterização das tiadiazinas.....	133
Figura 59. RMN 2D HSQC para o composto 16c.....	134
Figura 60. Relação estrutura-atividade dos compostos tiazólicos.....	137
Figura 61: Alinhamento global da CPLa com a cruzaina.....	145
Figura 62: Gráfico de Ramachandran para o CPLa (A) e superposição da cruzaina e CPLa (B)	146
Figura 63. Gráficos de RMSD para a cruzaina (linha preta) e CPLa (linha vermelha) após uma simulação de dinâmica molecular de 100 ns (A) e gráficos de Ramachandran para cruzaina (B) e CPLa (C)......	147
Figura 64: Principais interações do inibidor padrão (A) e compostos mais ativos 2f (B) e 3f (C) no sítio ativo da CPLa	148
Figura 65: Resultados da simulação de dinâmica molecular dos complexos com 2f e 3f: A) RMDS de C α ; B) RMSD dos ligantes; C) RMSF; D) R $_g$; E) SASA da proteína; F) SASA dos ligantes.....	149

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros reacionais alterados na reação entre 2-aminobenzoato de etila e o isotiocianato de alila	111
Tabela 2: Energia molecular para os compostos N-fenil substituídos.....	130
Tabela 3. Energia HOMO-LUMO.....	131
Tabela 4. Atividade leishmanicida dos derivados tiazólicos contra <i>Leishmania amazonensis</i>	138
Tabela 5. Validação da regra de Lipinski e de Veber para os compostos tiazólicos.....	141
Tabela 6: Validação da regra de Lipinski e de Veber para os compostos tiadiazínicos.....	143
Tabela 7: Valores de RMSD obtidos por <i>redocking</i> nas quatro funções de pontuação	144
Tabela 8. Resultados de <i>docking</i> molecular dos compostos tiazólicos	150

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1 Família <i>Trypanosomatidae</i>	22
2.2 Doença de Chagas (<i>Trypanosoma cruzi</i>).....	22
2.2.1 Ciclo biológico	23
2.2.2 Sintomatologia.....	24
2.2.3 Tratamento.....	25
2.3 Leishmanioses (<i>Leishmania spp.</i>).....	25
2.4 – Abordagens utilizadas na descoberta de compostos tripanocidas e leishmanicidas.....	26
2.5 Técnicas computacionais aplicadas no desenvolvimento de fármacos	27
2.6 Alvos moleculares utilizando no planejamento de fármacos tripanocidas leishmanicidas.	29
2.6.1 – Cruzaína.....	29
2.6.2 Cisteíno protease (CP) B	30
2.7 Planejamento de fármacos frente à Doença de Chagas, Doença do Sono e Leishmanioses (família <i>Trypanosomatidae</i>).	31
2.8 Compostos tiazólicos.....	33
2.8.1 Aspectos gerais.....	33
2.8.2 – Métodos de síntese.....	33
2.8.3 Compostos tiazólicos promissores frente ao <i>Trypanosoma cruzi</i>	34
2.9 Compostos tiadiazínicos	36
2.9.1 Aspectos gerais, métodos de obtenção e compostos tripanocidas.....	36
2.10 Fundamentação teórica para a síntese dos compostos e hipóteses do trabalho.	37
3. Objetivos	41
3.1 Objetivo Geral	41
3.2 Objetivos Específicos	41
4 - MATERIAIS E MÉTODOS	43

4.1 – Cromatografia em camada delgada (CCD)	43
4.2 – Ponto de fusão	43
4.3 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).	43
4.4 – Espectroscopia RMN ¹ H, ¹³ C, HSQC, HMBC e NOESY	43
4.5 - Reagentes e solventes.....	44
4.6 – Estudos de modelagem molecular	44
4.6.1 – Descrição computacional.....	44
4.6.2 Modelagem por homologia.....	44
4.6.3 Simulação de dinâmica molecular para a cruzaina e CPlA	45
4.6.4 Estudos de <i>docking</i> molecular.	46
4.6.5 Cálculos para a validação da regra de Lipinski e Veber.....	46
4.6.6 Estudo de regioseletividade através dos cálculos de DFT.	47
4.7 Estratégia geral para a síntese dos compostos tiazólicos.....	47
4.8 Estratégia geral para a sínteses das tiadiazinas.....	48
4.9 Procedimentos experimentais para a síntese dos tiazóis.	49
4.9.1 Método para a obtenção do álcool 2-aminobenzílico	49
4.9.2 – Método para obtenção das tioureias substituídas (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12).	50
4.9.3 Método para a obtenção de tioureias não-substituídas (6).	54
4.9.4 Método para a obtenção dos derivados benzênicos (1a-f, 2a-f, 3a-f, 4a-f, 5a-f, 11a-f e 12a-f).	55
4.9.5 Método para a obtenção dos derivados piridínicos.	76
4.10 Procedimentos Experimentais para a Síntese das Tiadiazinas	92
4.10.1 – Método para a obtenção das tiosemicarbazidas substituídas	92
4.10.2 Método para a obtenção das tiadiazinas <i>N</i> -metila e <i>N</i> -fenila substituídas (13a-g e 14a-g).	92
4.10.3 Método para a obtenção das tiadiazinas <i>N</i> -benzila-substituídas (15a-g).	99
4.10.4 Método para a Obtenção das Tiadiazinas Não-Substituídas (16a-f).	103
4.11 Métodos aplicados na avaliação leishmanicida dos compostos.	106

4.11.1 Manutenção de macrófagos e parasitos	106
4.11.2 Preparo dos compostos	106
4.11.3 Atividade contra formas promastigotas	107
4.11.4 Atividade contra formas amastigotas	107
4.11.5 Atividade citotóxica em macrófagos	108
4.11.6 Análise estatística	108
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	110
5.1 Compostos inicialmente sintetizados.....	110
5.2 Síntese dos intermediários tioureicos	117
5.2.1 Mecanismo de reação dos intermediários tioureicos (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12). ..	117
5.2.2 – Mecanismo de reação do intermediário tioureico não substituído (5).....	118
5.2.3 – Caracterização dos intermediários tioureicos	118
5.3 Síntese dos compostos tiazólicos (2a-f, 3a-f, 4a-f, 5a-f, 7a-f, 8a-f, 9a-f, 10a-f, 11a-f, e 12a-f).	119
5.3.1 Mecanismo de reação dos compostos tiazólicos <i>N</i> -substituídos (2a-f, 3a-f, 4a-f, 5a-f, 7a-f, 8a-f, 9a-f, 10a-f, 11a-f, e 12a-f)	119
5.3.2 Considerações sobre a configuração <i>E/Z</i> dos compostos.	120
5.3.3 Considerações sobre a aromaticidade dos compostos (1a-f e 6a-f).	121
5.3.4 – Caracterização dos compostos tiazólicos <i>N</i> -benzila, <i>N</i> -alila e <i>N</i> -etila substituídos (2a-f, 4a-f, 5a-f, 7a-f, 8a-f, e 10a-f).....	122
5.3.5 – Considerações sobre a reatividade.....	126
5.3.6 – Síntese dos compostos derivados piridínicos-tiazólicos <i>N</i> -fenil substituídos (9a-f)..	126
5.3.7 – Caracterização dos compostos derivados piridínicos-tiazólicos <i>N</i> -fenila substituídos através de RMN 2D NOESY.....	127
5.3.8 – Mecanismo de reação para os compostos piridínicos-tiazólicos <i>N</i> -fenil substituídos (9a-f).....	128
5.4 Estudos de DFT para os tiazóis <i>N</i> -fenila-substituídos (9a-f).....	129
5.4.1 – Otimização geométrica (energia molecular).....	129

5.4.2 – Orbitais moleculares de fronteira (HOMO-LUMO)	130
5.5 Síntese das tiadiazinas (13a-g, 14a-g, 15a-g e 16a-f).....	132
5.5.1 Mecanismo de reação para as tiossemicarbazidas substituídas (15)	132
5.5.2 Mecanismo de reação das tiadiazinas (13a-g, 14a-g, 15a-g e 16a-f).....	132
5.5.3 – Caracterização das tiadiazinas (13a-g, 14a-g, 15a-g e 16a-f).....	133
5.5.4 – Caracterização das tiadiazinas 16b, 16c e 16e	134
5.6 Avaliação biológica dos compostos	134
5.6.1 – Avaliação dos derivados tiazólicos frente a formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i>	134
5.7 Estudos de modelagem molecular.	141
5.7.1 Perfil ADME dos compostos seguindo as regras de Lipinski e de Veber.....	141
5.7.2 Validação do protocolo de <i>docking</i> contra cruzaina: Escolha do PDB e algoritmo.....	144
5.7.3 Construção do modelo de homologia entre cruzaina e cisteíno protease de <i>Leishmania amazonensis</i> (CPla)	145
5.7.4 Simulações de dinâmica molecular (DM)	146
5.7.5 <i>Docking</i> molecular dos mais ativos contra CPla.	147
5.7.6 Simulação de dinâmica molecular para os complexos com 2f e 3f	148
5.7.7 <i>Docking</i> dos compostos contra cruzaina	149
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	153
REFERÊNCIAS	155
APÊNDICE A – Capítulos de livro publicados versando sobre temas relacionados à presente tese, como planejamento de fármacos contra doenças negligenciadas, anti-Chagas, e técnicas em modelagem molecular.	170
Apêndice B: Artigos de revisão de literatura publicados relacionados com a referida tese, apresentando estratégias em planejamento de fármacos, modelagem molecular e planejamento de inibidores de enzimas chave de alguns patógenos.	173
Apêndice C: Artigos experimentais publicados utilizando técnicas de modelagem molecular apresentados nessa tese, como <i>docking</i> e dinâmica molecular, na descoberta de novos compostos ou <i>insights</i> para o planejamento de fármacos.	177

Apêndice D: Trabalhos completos publicados em anais de eventos internacionais versando sobre inibidores de cruzáina úteis contra Doença de Chagas.....	179
---	------------

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas são grupos de doenças infecciosas e parasitárias que afetam mais de um bilhão de pessoas no mundo, acometendo principalmente a população que vive na pobreza, sem saneamento básico, custando bilhões de dólares às economias dos países (WHO, 2022a). O termo “doenças negligenciadas” se deve ao baixo investimento da indústria farmacêutica no setor de inovação e desenvolvimento de fármacos para essas condições clínicas, visto que as mesmas são mais proeminentes na população de baixo poder aquisitivo e sem influência política, que por sua vez não irão gerar o devido retorno financeiro para os cofres das empresas, sendo negligenciadas por parte do empresariado farmacêutico (BRASIL, 2022a).

A doença de Chagas faz parte desse grupo, sendo causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, que é uma antropozoonose de ampla incidência tanto no Brasil quanto no mundo (BRASIL, 2022b). Estima-se que cerca de 6 a 7 milhões de infectados e aproximadamente 10 mil pessoas morram por ano por conta das manifestações clínicas, estando cerca de 75 milhões em de risco de contraí-la (WHO, 2022b). As estimativas para o Brasil indicam que existem cerca de um milhão de infectados em todo o território nacional, principalmente nas regiões Norte-Nordeste, mostrando que o país apresenta uma alta incidência dessa doença e que é preciso investimento para combatê-la (BRASIL, 2022b).

As leishmanioses também fazem parte das doenças negligenciadas, apresentando altas taxas de morbimortalidade, sendo um problema de saúde pública em diversos países do mundo (CDC, 2022a). Globalmente as leishmanioses são endêmicas em aproximadamente 98 países, apresentando cerca de 0,7-1,2 milhões de novos casos de leishmaniose cutânea, e 0,2-0,4 milhões de leishmaniose visceral por ano, causando a morte de 20.000-40.000 indivíduos por ano (KONE *et al.*, 2016).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2012, aproximadamente 300 mil indivíduos foram acometidos pela forma visceral da leishmaniose. Dentre estes, 20 mil chegaram ao óbito (WHO, 2022c). No Brasil, dados do ministério da saúde mostraram que durante o ano de 2013, foram registrados cerca de 3,2 mil casos, sendo que destes, 1,7 mil foram na região Nordeste, caracterizando esta região como a mais acometida (BRASIL, 2022c).

O arsenal terapêutico para o tratamento dessas doenças é bem restrito, baseado em fármacos desenvolvidos na década de 60 e que apresentam várias limitações. Para o tratamento da doença de Chagas, existem apenas dois fármacos (nifurtimox e benzonidazol)

(NASCIMENTO *et al.*, 2021). Por outro lado, para leishmaniose apenas cinco (Antimoniato de meglumina; Anfotericina B; Pentamidina; Miltefosina; e Paromomicina), que apesar de efetivos, apresentam alta incidência de efeitos colaterais, necessitando assim de uma escolha terapêutica de maior eficácia e menos efeitos maléficos ao organismo. Além disso, a alta incidência de resistência aos fármacos atuais limita a terapia contra leishmaniose, surgindo a necessidade de novas alternativas que superem essa limitação (ALMEIDA E SANTOS, 2011).

A doença de Chagas e leishmanioses, por serem doenças endêmicas no Brasil, vêm ganhando grande destaque na área de desenvolvimento de fármacos. Existe hoje um arsenal terapêutico restrito para o tratamento desta doença, sendo necessário investimento em pesquisas visando novas alternativas terapêuticas, sendo de fundamental importância o desenvolvimento de um novo protótipo com baixa toxicidade, e que futuramente possa ser usado como medicamento de escolha, objetivando um tratamento mais eficaz e de menor custo, protegendo a população carente da região, que vem sendo afetada nos últimos anos. Finalmente, aqui será apresentado uma breve abordagem sobre essas doenças, destacando fisiopatologia e principais desenvolvimentos em planejamento de fármacos, seguido do planejamento racional de novos protótipos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Igor J. S. Nascimento

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Família *Trypanosomatidae*

A família *Trypanosomatidae* pertence ao gênero *Trypanosoma*, com ampla distribuição geográfica, responsável pela infecção em hospedeiros vertebrados e invertebrados (YURCHENKO *et al.*, 2021). Os agentes infecciosos mais conhecidos desta família são *Trypanosoma cruzi*, responsável por causar a doença de Chagas, e o *Trypanosoma brucei*, relacionado à tripanossomíase africana humana, as diferentes espécies causadoras das leishmanioses (THAIJARERN *et al.*, 2019). Todos esses tripanossomatídeos compartilham uma ordem genômica altamente conservada (sintenia), bem como o genoma geral. Além disso, esses patógenos compartilham um alto grau de homologia em seus alvos biológicos, justificando o planejamento de um fármaco que possa ser útil contra ambos os parasitas. (ENNES-VIDAL *et al.*, 2021). Dessa forma, nos tópicos seguintes, serão abordadas uma breve introdução sobre doença de Chagas e leishmanioses, e as estratégias utilizadas em descoberta de fármacos.

2.2 Doença de Chagas (*Trypanosoma cruzi*)

A doença de Chagas, também chamada de tripanossomíase americana, é uma doença transmitida de animais para os seres humanos por meio de vetores ou de forma congênita, encontrada no continente americano, e principalmente nas regiões rurais mais pobres da América Latina (CDC, 2022b). Devido a globalização e os crescentes meios de viagens, a doença se alastrou para outros continentes, sendo estimados cerca de 75 milhões de pessoas em situação de risco de contraí-la (WHO, 2022b).

A forma mais comum de transmissão ocorre por meio de fezes infectadas do triatomíneo (Figura 1), que para se alimentar, ele pica áreas expostas dos seres humanos, normalmente no rosto, de forma que após sua alimentação, o mesmo defeca no local próximo a picada, isso induz a uma reação instintiva de coceira, que coloca as fezes em contato com o local da picada, gerando a infecção do indivíduo (WHO, 2022d). A infecção também pode ocorrer por meio de contato do parasita com a mucosa dos olhos, boca ou lesões cutâneas; alimentos contaminados com fezes do vetor; ou mesmo por meio de transfusões com sangue contaminado (WHO, 2022d).

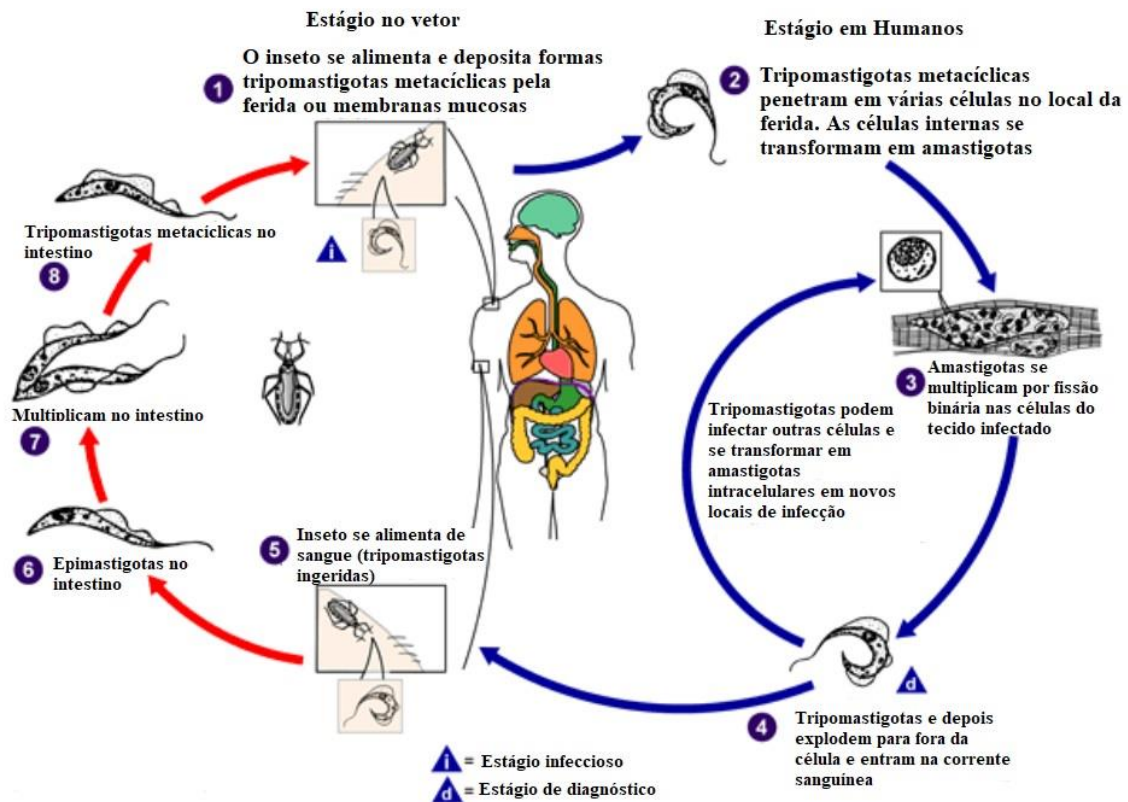
Figura 1. Inseto triatomíneo transmissor da doença de Chagas



Fonte: CDC, 2022.

2.2.1 Ciclo biológico

O ciclo biológico do parasita é mostrado na figura 2. O inseto triatomíneo infectado, durante sua alimentação, libera as formas tripomastigotas em suas fezes próximo ao local da picada. Assim, as formas tripomastigotas infectam o hospedeiro, invadem células próximas ao local de entrada e se diferenciam em formas amastigotas intracelulares. Essas formas se multiplicam por meio de fissão binária diferenciando-se em tripomastigotas, sendo liberadas na corrente sanguínea, que serão responsáveis pela infecção de vários outros tecidos. O inseto ao se alimentar de sangue contaminado com formas tripomastigotas, e tanto de humanos quanto de animais, será infectado. As tripomastigotas ingeridas geram as epimastigotas no intestino do vetor. Estas se multiplicam e se diferenciam no intestino do vetor, formando as tripomastigotas metacíclicas no intestino posterior, que pode infectar outros indivíduos (CDC, 2019c).

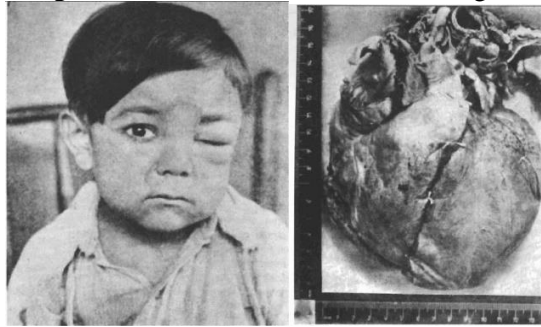
Figura 2. Ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi*

Fonte: Autor, 2022 (Adaptado de: CDC, 2022)

2.2.2 Sintomatologia

A doença pode se manifestar de maneira sintomática ou assintomática a depender do estado imunológico do hospedeiro. A fase aguda sintomática é caracterizada pelo sinal de Romanã (Figura 3) ou chagoma de inoculação, que é quando o inseto morde e penetra na conjuntiva ou na pele. As manifestações clínicas gerais são febres, edema localizado e generalizado, poliadenia, hepatomegalia, esplenomegalia, além de insuficiência cardíaca e até danos neurológicos. As principais manifestações da fase crônica sintomática são cardiopatia chagásica crônica, caracterizada pela cardiomegalia (Figura 3), bem como, a forma digestiva da doença com megaesôfago e megacólon, aumentando o risco de morte dos pacientes (LANA e TAFURI, 2005; CDC, 2019d).

Figura 3. Sinal de Romanã; Cardiomegalia

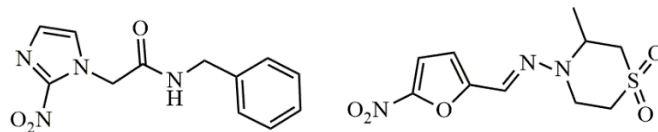


Fonte: LANA e TAFURI, 2005.

2.2.3 Tratamento.

O tratamento é indicado com urgência na fase aguda da doença, para que a infecção não seja reativada, pois a eficácia diminui à medida que a doença progride (WHO, 2022e). Apenas dois medicamentos estão aprovados para o tratamento, Nifurtimox e Benznidazol (Figura 4), com duração de tratamento de 60 a 90 dias, durante a fase aguda da doença, principalmente em neonatos e crianças com transmissão congênita (GUARNER *et al.*, 2019; KRATZ *et al.*, 2019). O problema encontra-se na fase crônica da doença, em que os compostos apresentam eficácia inadequada, além de causarem efeitos colaterais severos (distúrbios cutâneos e gastrointestinais), e serem contraindicados em algumas ocasiões, tais como em casos de insuficiência renal e gravidez, necessitando assim de novas alternativas mais efetivas (KRATZ *et al.*, 2019).

Figura 4. Estrutura química do Nifurtimox e Benznidazol



Fonte: KRATZ *et al.*, 2019

2.3 Leishmanioses (*Leishmania spp.*)

A leishmaniose é uma zoonose que faz parte do grupo das doenças tropicais negligenciadas, sendo um problema de saúde pública tanto no Brasil quanto nos diversos países do mundo (METZDORF *et al.*, 2017). Essa parasitose é transmitida por meio de um vetor, onde os parasitas infectam obrigatoriamente o meio intracelular dos macrófagos, causando diversos danos à saúde (ORYAN & AKBARI, 2016).

O gênero *Leishmania* é da ordem dos *Kinetoplastida*, e pertence à família *Trypanosomatidae*, sendo um grupo de espécies de protozoários unicelulares digenéticos

(heteróxenos), encontrada em duas principais formas: amastigotas, que é forma do parasito intracelular e não flagelada; e promastigota, ou paramastigota, forma flagelada, presente no trato digestivo do hospedeiro (MICHALICK, 2005).

A infecção em vertebrados ocorre através de insetos fêmeas, onde o principal agente transmissor é o *Lutzomyia longipalpis*, que funciona como vetor, inoculando as formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro (LARA-SILVA *et al.*, 2015). Em seguida, essas formas são fagocitadas pelos macrófagos, que para se adaptar ao novo ambiente, transformam-se em formas amastigotas que podem se multiplicar no meio ácido do vacúolo digestivo. O aumento dessa multiplicação causa o rompimento da célula e liberação das formas amastigotas, que por sua vez, irão ser internalizadas por outros macrófagos (MICHALICK, 2005; CDC 2022e).

Quando o hospedeiro invertebrado (vetor) volta a se alimentar desse indivíduo infectado, o sangue aspirado acompanha as formas amastigotas, que vão para o intestino médio do inseto e lá se transformam em formas flageladas pequenas, ovoides e pouco móveis, que após alguns dias de multiplicação intensa, transformam-se em formas promastigotas delgadas e longas que serão multiplicadas e inoculadas no hospedeiro vertebrado (MICHALICK 2005; CDC 2022e).

Semelhante à doença de Chagas, o arsenal terapêutico contra as leishmanioses é bem restrito, sendo baseado em compostos que foram desenvolvidos na década de 60, os quais apresentam baixa seletividade e alto índice de resistência. Os antimoniais pentavalentes são a principal linha para o tratamento, entretanto, o protozoário pode apresentar resistência aos fármacos desta classe, tendo como segunda linha de tratamento a anfotericina B, pentamidina miltefosina, e paromomicina (AQUINO *et al.*, 2022)

2.4 – Abordagens utilizadas na descoberta de compostos tripanocidas e leishmanicidas.

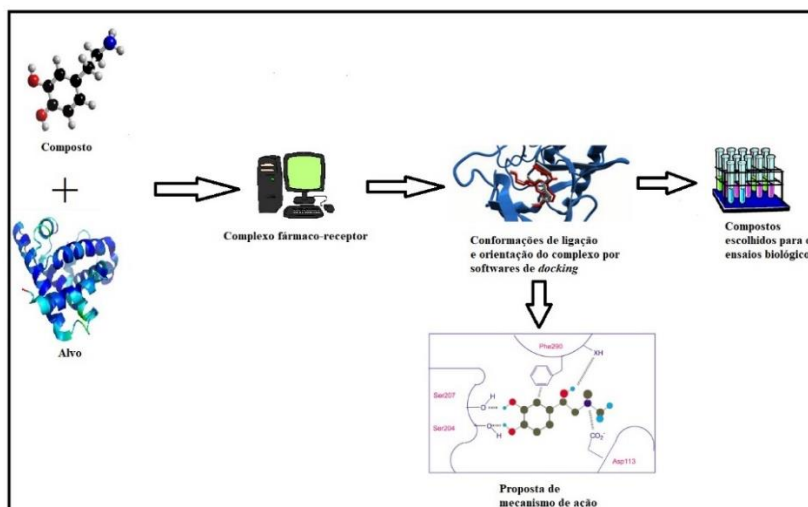
Devido ao baixo arsenal terapêutico disponível para o tratamento destas doenças e a baixa efetividade dos fármacos em determinadas condições clínicas, existe então a necessidade da descoberta de novos compostos, e nesse contexto, a necessidade de novas abordagens para tais estudos (MELO-FILHO *et al.*, 2019; MATTHEWS, 2015). Atualmente, a abordagem de planejamento de fármacos auxiliado por computador (do inglês *Computer-aided drug design*, CADD) apresenta-se como uma estratégia promissora na descoberta de novos compostos frente ao *Trypanosoma cruzi* (NJOGU *et al.*, 2015).

Dentro de uma campanha de descoberta de fármacos, as principais abordagens baseadas em CADD são: planejamento de fármacos com base em um alvo (do inglês *Structure-based drug design*, SBDD); e planejamento de fármacos com base em um ligante (do inglês, *Ligand-based drug design*, LBDD). A primeira estratégia é utilizada quando se tem um alvo conhecido e que apresenta um ligante co-cristalizado. Já a segunda abordagem é utilizada quando não se tem conhecimento sobre o alvo ou não existe estrutura cristalizada do alvo, sendo baseada somente na estrutura do ligante (NJOGU *et al.*, 2015).

Uma abordagem que foi bastante utilizada é a descoberta de fármacos baseada em fenótipo (do inglês *Phenotype-based drug design*, PDD), que não se baseia em um alvo específico, de forma que todos os alvos e vias biológicas do organismo são avaliados. Devido ao crescimento das abordagens SBDD e LBDD, alguns grupos de pesquisa deixaram essa abordagem um pouco de lado. Entretanto, o número de publicações utilizando essa estratégia PDD aumentou nos últimos anos (SCARIM *et al.*, 2018).

2.5 Técnicas computacionais aplicadas no desenvolvimento de fármacos

Atualmente, na área de química medicinal, podemos considerar que as técnicas computacionais de *docking*, dinâmica molecular (DM) e teoria do funcional de densidade (do inglês, Density Functional Theory, DFT) apresentam grande destaque no desenvolvimento de fármacos. A técnica de *docking* molecular está em ascensão desde a década de 60, fato esse inteiramente ligado ao crescente desenvolvimento da física, química, bioquímica e tecnologia da informação, sendo uma ferramenta poderosa e essencial aos laboratórios de desenvolvimento de fármacos. Nesse sentido, o atual cenário da abordagem CADD é dominado por essa técnica, baseada no encaixe de pequenas moléculas em macromoléculas seguindo a técnica de descoberta de fármacos baseado em estrutura, SBDD (CHEN, 2015; GUPTA *et al.*, 2018). Por meio dessa abordagem, pode-se prever as conformações e energias livres de ligação de um ligante em um alvo específico, gerando a predição de mecanismos de ação (Figura 5), por isso é amplamente utilizado no planejamento de novos fármacos (HIRAYAMA, 2016).

Figura 5. Procedimento geral de *docking* molecular

Fonte: Autor, 2022 (adaptado de KOLB et al., 2009)

A teoria do funcional da densidade vem ganhando cada vez mais espaço na química medicinal, sendo um método químico quântico de alta aplicabilidade, por apresentar baixo custo e desempenho satisfatório, em que a densidade eletrônica de uma molécula determina a energia do estado fundamental e diferentes propriedades moleculares (REZANIA *et al.*, 2018; TANDON *et al.*, 2019). Assim, esse método pode ser utilizado para a predição de características estruturais, frequência vibracional e energia das moléculas, além de outras propriedades relacionadas, de forma que passam ser usados para prever reatividade química e para estudos envolvendo interações entre uma substância e um receptor biológico (DEMIRCIOGLU *et al.*, 2015; JIN *et al.*, 2018).

Simulações de dinâmica molecular não são novidade, sendo utilizadas desde a década de 50. Esses experimentos começaram a aparecer com mais frequência em artigos científicos nos últimos anos por ser uma ferramenta bastante eficiente, principalmente quando se trata da otimização de novos *leads* (HOLLINGSWORTH *et al.*, 2018). Isso porque a maioria dos protocolos de *docking* molecular prevê o encaixe ideal do ligante em um alvo específico, considerando o alvo biológico como estrutura rígida. Dessa maneira, torna-se importante a simulação de dinâmica, pois ela considera as interações de maneira mais eficiente e próxima do real, sendo uma poderosa ferramenta quando utilizada em conjunto com procedimentos de *docking*, aumentando a probabilidade de descoberta de novos compostos, e determinando os mecanismos de inibição (GANESAN *et al.*, 2017; ŚLEDŹ *et al.*, 2017; MORTIER *et al.*, 2015).

2.6 Alvos moleculares utilizando no planejamento de fármacos tripanocidas leishmanicidas.

A maior parte dos estudos de planejamento de fármacos voltados para o tratamento da doença de Chagas são realizados baseados em um alvo específico (SBDD), isso principalmente devido ao *Trypanosoma cruzi* ser um organismo diferente de outros eucariotos, apresentando vias metabólicas e enzimas exclusivas, que já são bem descritas na literatura e que podem ser usadas como base para o desenvolvimento de novos compostos (KRATZ, 2019; BERMUDEZ *et al.*, 2015). Dessa forma, os principais alvos e vias metabólicas descritos para o desenvolvimento de novos compostos são: nitroredutases; via da síntese de ergosterol; topoisomerase; trans-sialidase; mitocôndrias; peroxidação do heme; tripanotiona redutase; e por fim, a cruzaina, principal alvo estudado e que será abordado na próxima seção (BERMUDEZ *et al.*, 2015; SCARIM *et al.*, 2018).

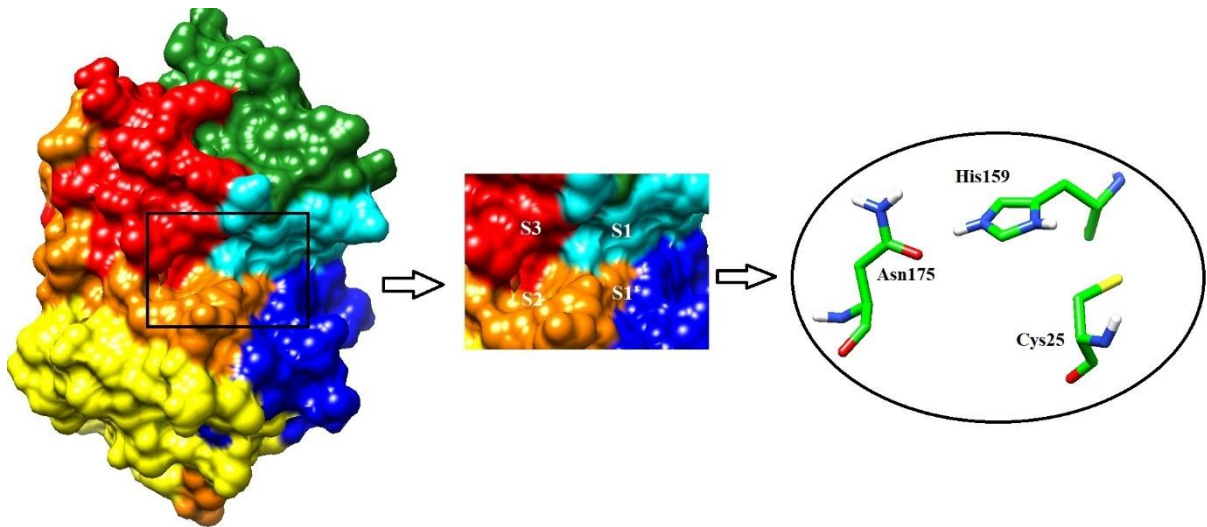
Com relação aos alvos e vias metabólicas explorados contra leishmanioses, a inibição da produção de tripanotiona é uma das mais exploradas, principalmente devido a ser um produto exclusivo de tripanossomas. Assim, a inibição de lutationil espermidina sintetase (GspS), tripanotiona sintetase-amidase (TS) e tripanotiona redutase (TR) é bastante atraente na busca de fármacos leishmanicidas (SARAVANAN *et al.*, 2018). Além disso, proteinases constituem alvos importantes contra leishmanioses, em especial as cisteíno proteases, devido a sua função na interação célula-parasita no hospedeiro. As cisteíno proteases das leishmanioses são classificadas em dois tipos: CPA e CPB, semelhantes à catepsina L e CPC semelhante à catepsina B. Por apresentarem alto nível de homologia com cisteíno proteases de outros membros da família *Trypanosomatidae*, são alvos potenciais na busca de compostos contra leishmanioses e *Trypanosoma cruzi* (CHAWLA *et al.*, 2010).

2.6.1 – Cruzaína

Dentre os alvos moleculares relacionados ao *Trypanosoma cruzi*, cruzaina é o principal. É uma cisteína protease expressa em todos os estágios de vida do parasita, e está relacionada com a replicação e diferenciação de epimastigotas na forma infecciosa metacíclica, além de evasão imune e interações parasita-hospedeiro (SCARIM *et al.*, 2018; SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2017). Dessa maneira, a cruzaina é o alvo mais estudado no planejamento de fármacos antitripanossomas. Basicamente, os compostos são planejados de acordo o preenchimento dos subsítios S1, S1', S2 e S3, bem como sua capacidade de interação com resíduos de aminoácidos responsáveis pela atividade catalítica da cruzaina, que

são Cys²⁵; His¹⁵⁹ e Asn¹⁷⁵, como mostrados na figura 6 (SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2017; Nascimento *et al.*, 2021).

Figura 6: Subsítios S1, S1', S2, S3 e tríade catalítica (Cys²⁵, His¹⁵⁹ e Asn¹⁷⁵) da cruzaina

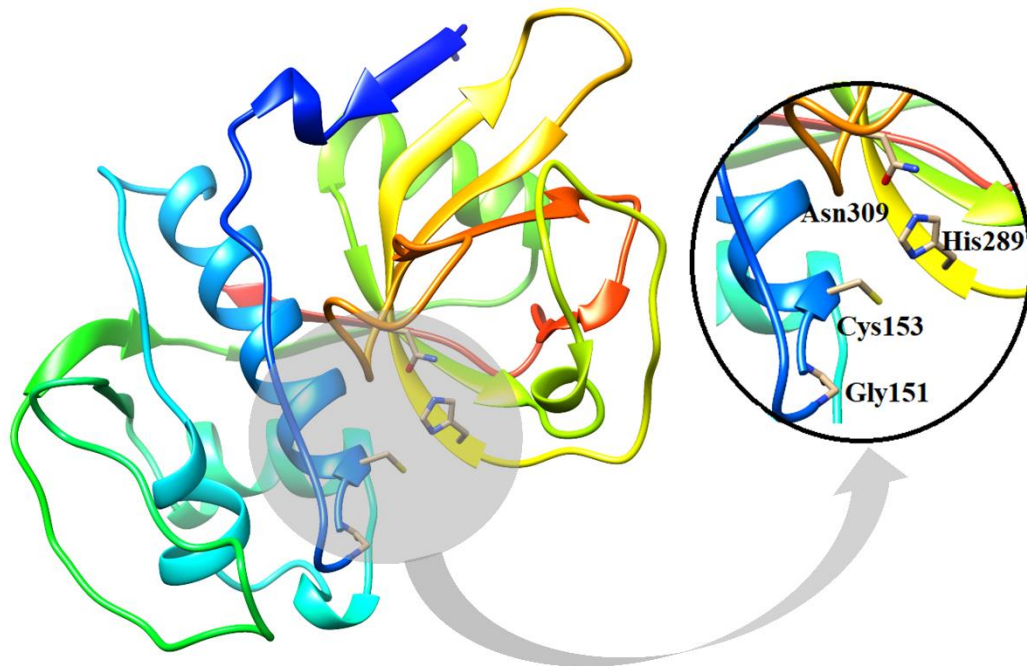


Fonte: Autor, 2022 (Adaptado de Silva-Júnior *et al.*, 2017)

2.6.2 Cisteíno protease (CP) B

Semelhante a cruzaina, a cisteíno protease (CP) B está presente principalmente em forma amastigotas, relacionadas ao crescimento celular e evasão ao sistema imune do hospedeiro. Dessa forma, inibidores de CP inibem o crescimento celular de formas amastigotas, reduzindo a infectividade por leishmanioses, destacando seu potencial como alvo de fármacos (MOTTRAM *et al.*, 1998). Como até o momento não existe estrutura cristalizada desse alvo, estudos de planejamento baseado em estrutura são realizados por meio da construção de um modelo utilizando modelagem por homologia, com base em outras cisteíno proteases, como a cruzaina (JUDICE *et al.*, 2021). Além disso, por se tratar de uma cisteíno protease, apresenta uma tríade catalítica composta por cisteína, histidina e asparagina, nas respectivas posições 153, 289, e 309 (Figura 7). Estudos apontam que a glicina na posição 151 (Figura 7) também é importante na estabilização do substrato (LASAKOSVITSCH *et al.*, 2003). Dessa forma, planejamento de um inibidor focados na interação com estes resíduos é fundamental na descoberta de novos compostos contra esta enzima.

Figura 7: Modelo da CPB de *Leishmania amazonensis* construído por meio do servidor da web Swiss-Model.



Fonte: Autor, 2022 (figura elaborada por meio do software Chimera®)

2.7 Planejamento de fármacos frente à Doença de Chagas, Doença do Sono e Leishmanioses (família *Trypanosomatidae*).

Por meio da análise genômica dos parasitos da família *Trypanosomatidae*, composta pelos protozoários *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei* e *Leishmania spp.*, foi possível mostrar que os mesmos apresentam uma proteômica central conservada com aproximadamente 6.200 genes entre eles. Assim, com um genoma altamente semelhante, existe uma suposição de que o planejamento de novos compostos para essas doenças pode ser conjunto, podendo apresentar resultados promissores frente as três espécies, considerando suas proteases como os principais alvos moleculares (ALVES et al., 2015).

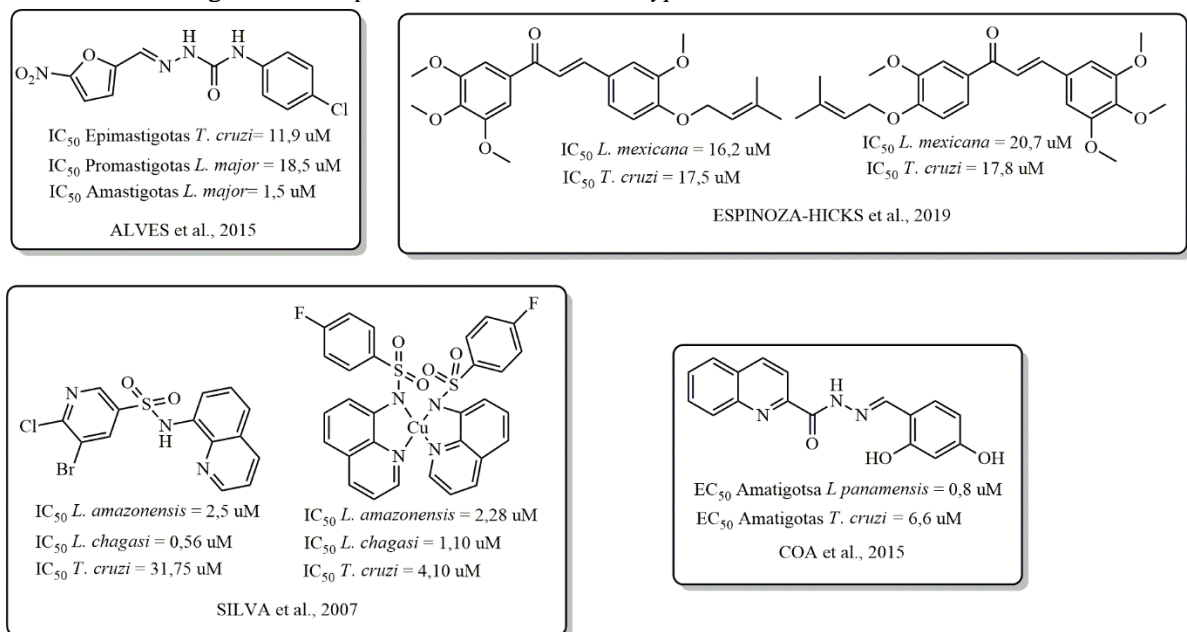
Os avanços atuais em genética, bioquímica e biologia celular desses parasitas permitiram identificar enzimas em comum que podem ser utilizadas como alvo no desenvolvimento de novos compostos (ROMERO et al., 2017; FREITAS et al., 2018 KHAN et al., 2007). Dessa maneira, as principais em comum entre eles são superóxido dismutase (Fe-SOD); tripanotiona redutase (TryR), cisteíno proteases (CP), diidrofolato redutase (DHFR), pteridina redutase 1 (PTR1), enzimas relacionadas à síntese de ergosterol; óxido nítrico sintase (iNOS) e dentre outras (ROMERO et al., 2017; KHAN et al., 2007). Essas enzimas são fundamentais para a sobrevivência dos parasitos, sendo alvos de grande

importância no desenvolvimento de fármacos anti-chagásicos e anti-leishmania (ROMERO et al., 2017).

Devido a essa alta similaridade, diversos estudos são realizados de forma que os compostos planejados são testados frente ao *T. cruzi* e diferentes tipos de leishmania (Figura 8), apresentando resultados promissores, com IC₅₀ variando entre 0,56 – 20,7 µM, o que demonstra que a descoberta de novos compostos para o tratamento da leishmaniose e da doença de Chagas pode ser de maneira conjunta (ALVES et al., 2015; ESPINOZA-HICKS et al., 2019; SILVA et al., 2007; COA et al., 2015).

Em adição, existe uma alta similaridade estrutural entre a cruzaina do *T. cruzi* e a CPB da leishmania. Como será abordado posteriormente, a maioria dos compostos planejados e sintetizados neste trabalho se deu baseando-se no fato dos mesmos apresentarem a cruzaina como alvo principal e conseqüentemente a atividade anti-*T. cruzi* destes compostos. Neste sentido, a similaridade comentada nos levou a pensar que estes mesmos compostos poderiam inibir também a CPB, e conseqüentemente levar a uma atividade leishmanicida.

Figura 8. Compostos ativos frente ao *Trypanosoma cruzi* e Leishmania



Fonte: Autor, 2022.

2.8 Compostos tiazólicos.

2.8.1 Aspectos gerais.

Tiazóis são compostos heterocíclicos de cinco membros apresentando os átomos de nitrogênio e enxofre. Tanto tiazóis quanto compostos relacionados também são conhecidos como 1,3-azóis (apresentando nitrogênio e um outro heteroátomo em um anel de cinco membros). São compostos aromáticos, pois apresentam deslocalização eletrônica de um dos pares de elétrons do enxofre (Figura 9), caráter esse confirmado por meio de estudos de espectroscopia de RMN (Ressonância Magnética Nuclear), em que o deslocamento químico dos hidrogênios varia entre 7,27 e 8,77 ppm, mostrando um forte efeito diamagnético. Cálculos de densidade de elétrons π indicam que o C-5 é o local primário de substituição eletrofílica aromática e o C-2 de substituição nucleofílica aromática. Com relação ao caráter ácido-base, os tiazóis são protonados sob condições ácidas, como mostrado na figura 9 (AYATI *et al.*, 2014)

Figura 9. Deslocalização de um dos pares de elétrons do enxofre e região de protonação



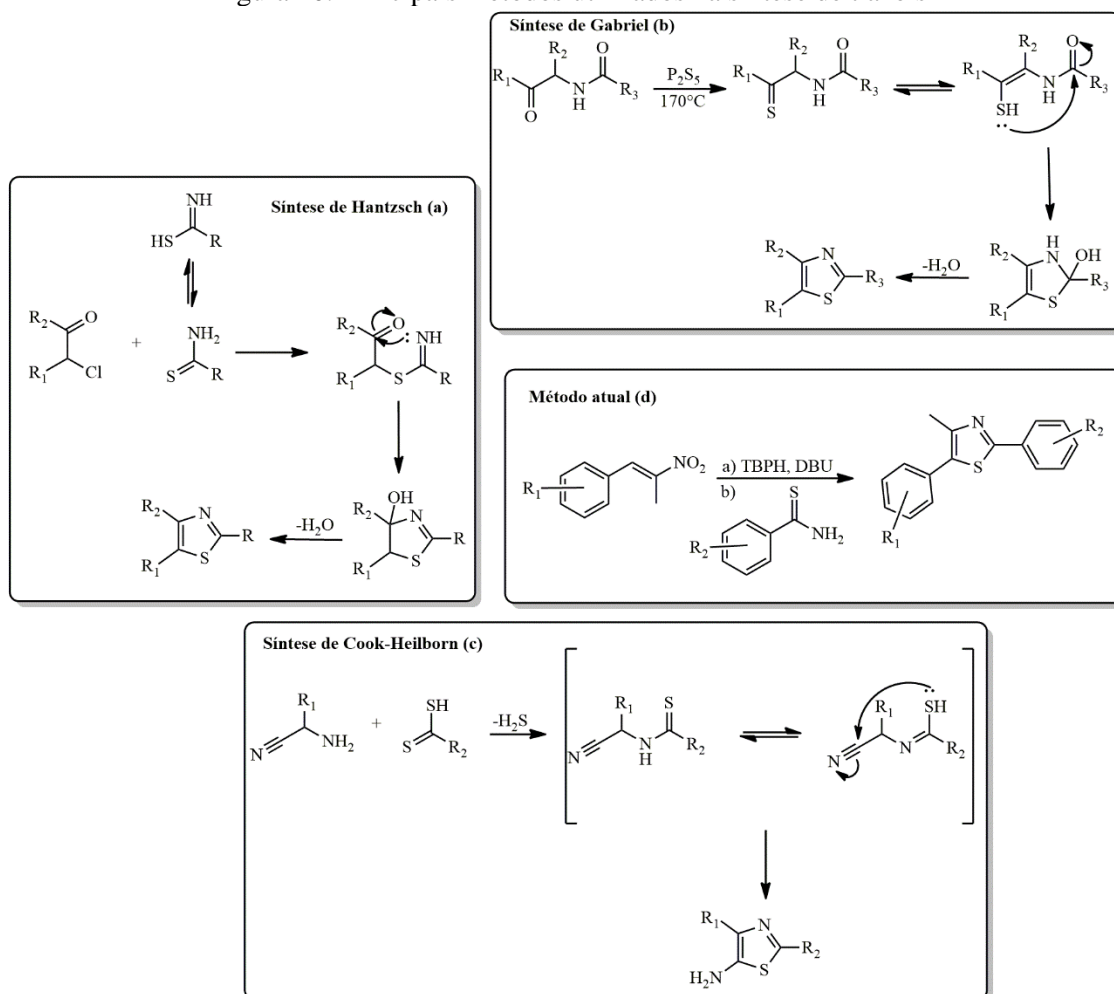
Fonte: Autor, 2022 (adaptado de AYATI *et al.*, 2014)

2.8.2 – Métodos de síntese.

Existe um grande interesse dos químicos medicinais em explorar a atividade biológica dos derivados tiazólicos, sendo os principais métodos de obtenção desses compostos explorados por Hantzsch, Gabriel e Cook-Heilborn, apresentados na figura 7 (MISHRA *et al.*, 2015). O método mais utilizado é a síntese de Hantzsch (figura 10A), baseado na ciclização e condensação de halocetonas com tioamida, em que ocorre o ataque do enxofre ao carbono da α -halocetona, formando uma α -tioacetona, que após uma reação de desidratação gera o correspondente tiazol. Um outro método é a síntese de Gabriel (Figura 10B), que envolve o tratamento de α -acilaminocetonas com quantidades estequiométricas de P_2S_5 . Já o método de

síntese de Cook-Heilborn (Figura 10C) promove a obtenção de aminotiazóis substituídos, a partir da reação com α -aminonitrilas com ditioácidos ou ésteres, dissulfeto de carbono, sulfeto de carbonila ou isotiocianatos em condições brandas. Recentemente foi desenvolvido um método (figura 10D) que utiliza nitro-olefinas e DBU (1,8-diazabicycloundec-7-eno) como organocatalisador, envolvendo a epoxidação da nitro-olefina com TBHP (*tert*-butil-hidroperóxido) e reação com uma tiobenzamida (MISHRA *et al.*, 2015; FRIJA *et al.*, 2015).

Figura 10. Principais métodos utilizados na síntese de tiazóis



Fonte: Autor, 2022 (adaptado de MISHRA *et al.*, 2015 e FRIJA *et al.*, 2015)

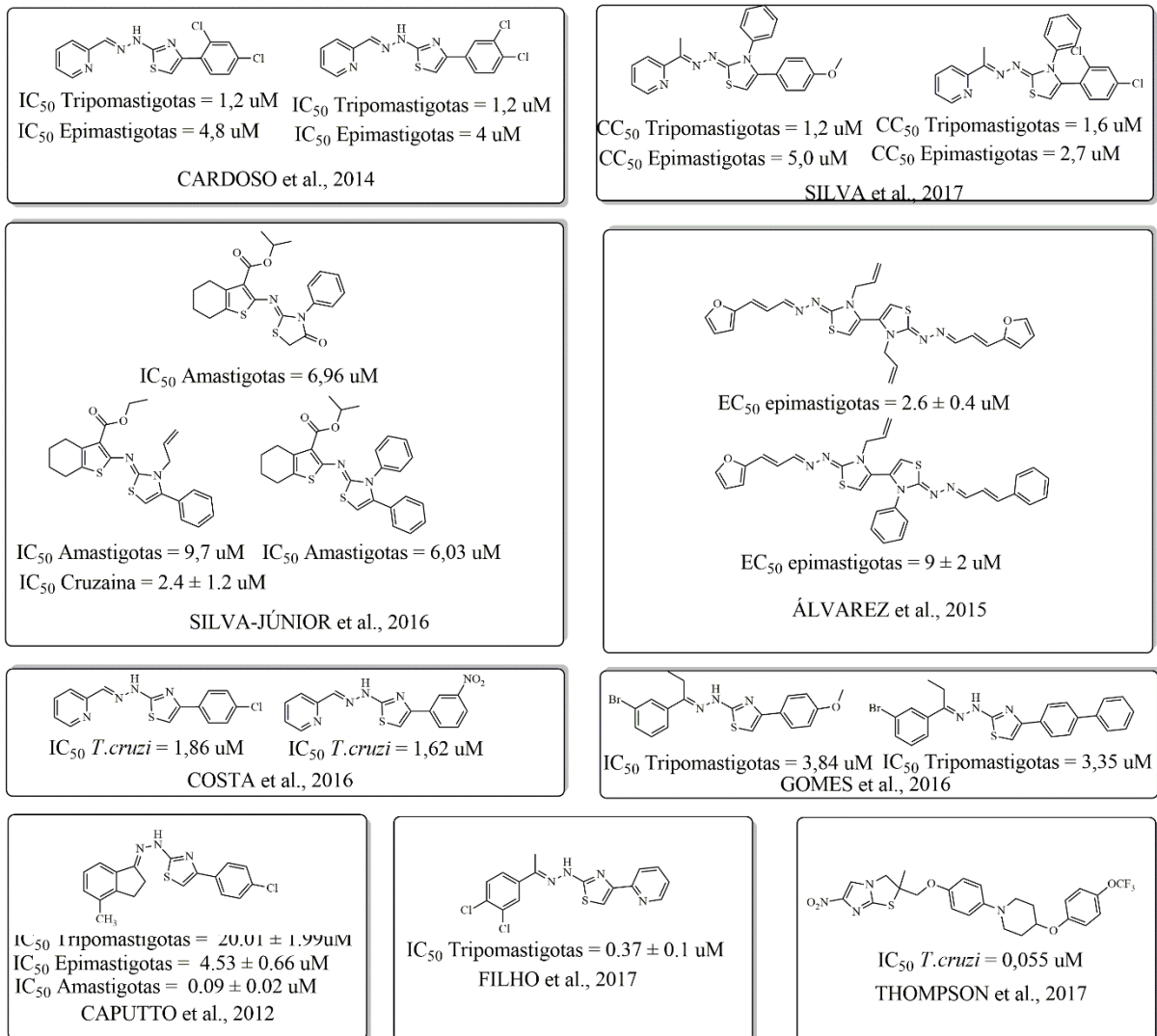
2.8.3 Compostos tiazólicos promissores frente ao *Trypanosoma cruzi*.

Os compostos tiazólicos são heterocíclios de grande interesse na química medicinal, sendo estas substâncias de ampla ocorrência natural e de grande versatilidade, o que permite a obtenção de diferentes *leads* com atividade biológica promissora, bem como sua fácil otimização (SILVA *et al.*, 2017; GOMES *et al.*, 2016). Esses compostos também são conhecidos pela sua possibilidade de interações importantes com diferentes alvos biológicos,

principalmente aqueles relacionados com doenças parasitárias, demonstrado em estudos *in vitro* e *in vivo* (SILVA *et al.*, 2017; GOMES *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, os estudos buscando novos compostos tiazólicos com atividade frente ao *Trypanosoma cruzi* aumentou esporadicamente, demonstrando o interesse da comunidade científica nessa classe de compostos (SCARIM *et al.*, 2019). A figura 11 mostra os principais compostos tiazólicos descobertos com atividade tripanocida, em que se pode observar compostos com atividade de IC₅₀ variando entre 0,055 – 20,01 μM, frente a diferentes formas do parasita, demonstrado que são compostos promissores na descoberta de fármacos frente à doença de Chagas.

Figura 11. Compostos tiazólicos promissores frente ao *Trypanosoma cruzi*



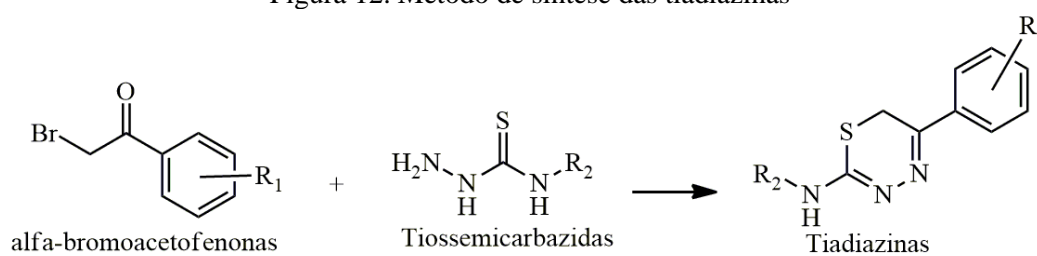
Fonte: Autor, 2022.

2.9 Compostos tiadiazínicos

2.9.1 Aspectos gerais, métodos de obtenção e compostos tripanocidas.

As tiadiazinas são compostos heterocíclicos de 6 membros que apresentam dois átomos de nitrogênio e um de enxofre. São compostos de grande importância na química medicinal, apresentando atividade antifúngica, antimicrobiana, antiviral, antioxidante, anticâncer e mais recentemente atividade frente ao *Trypanosoma cruzi* (MISHRA *et al.*, 2018; GUERRA *et al.*, 2017). A síntese dessa classe de moléculas é bem conhecida, e foi primeiramente reportada por Bose em 1924. É baseada na reação de uma α -bromoacetofenona com tiosemicarbazidas, mostrada na figura 12 (SHUBAKAR *et al.*, 2013). Recentemente, alguns autores reportaram a síntese dessa classe de moléculas realizada em solventes próticos, tais como MeOH ou EtOH, ou ainda em condições ácidas utilizando ácido clorídrico diluído, sob temperatura ambiente ou refluxo, gerando os compostos finais sem maiores dificuldades (YAZICI *et al.*, 2006; GU *et al.*, 2014; HAMMOUD *et al.*, 2018).

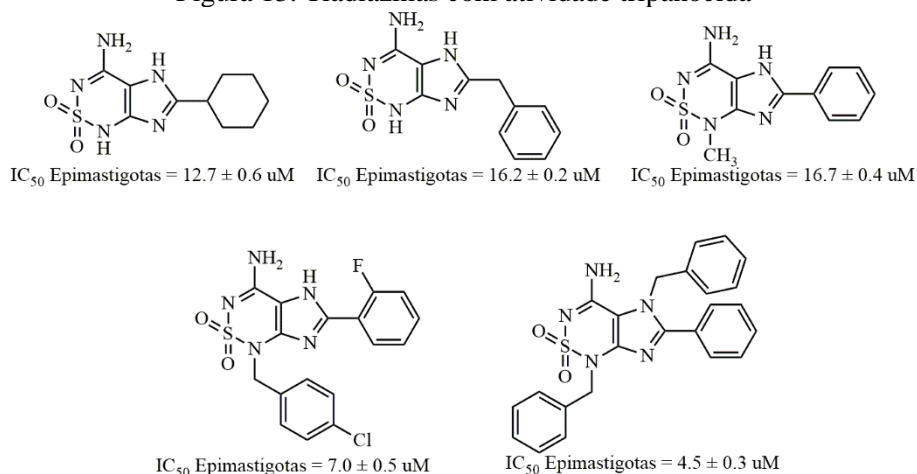
Figura 12. Método de síntese das tiadiazinas



Fonte: Autor, 2022.

Com relação à atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*, a figura 13 mostra algumas tiadiazinas sintetizadas por Guerra e colaboradores (2017), em que as cinco mais promissoras apresentaram IC₅₀ entre 4,5 – 16,7 μ M frente a formas epimastigotas. Tal classe pôde apresentar resultados promissores na descoberta de novos compostos para o tratamento da doença de Chagas.

Figura 13. Tiadiazinas com atividade tripanocida



GUERRA et al., 2017

Fonte: Autor, 2022.

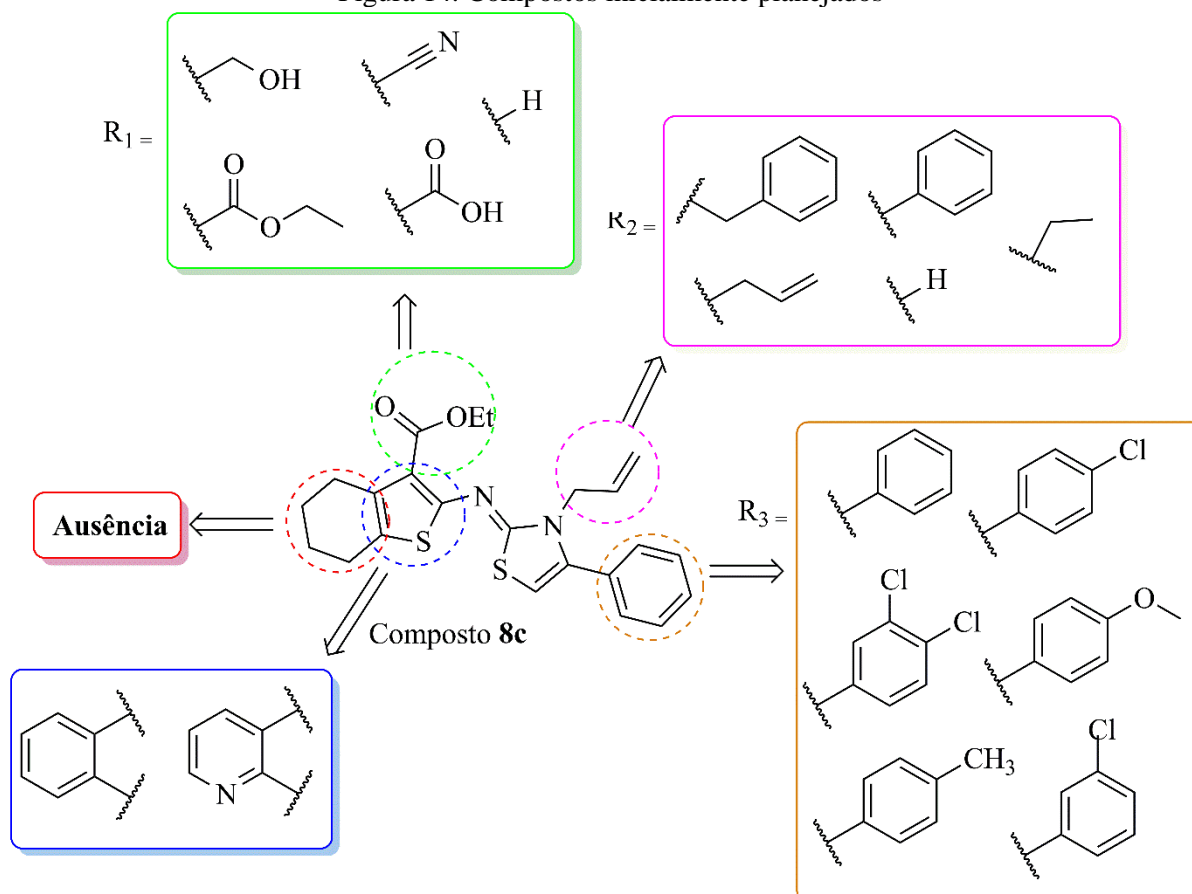
2.10 Fundamentação teórica para a síntese dos compostos e hipóteses do trabalho.

Em um recente trabalho publicado por nosso grupo de pesquisa, uma série de derivados tiofeno-2-iminotiazolidinas foi sintetizada e avaliada frente ao *T. cruzi* e a enzima cruzaina. Dentre os derivados avaliados, o composto **8c** (um derivado tiofeno-2-iminotiazol) se destacou, o qual apresentou atividade frente a formas amastigotas ($CI_{50} = 9,7 \mu\text{M}$) e frente à cruzaina ($CI_{50} = 2,4 \mu\text{M}$). Neste sentido, no intuito de descobrir compostos que apresentassem uma melhor atividade (ou potência) quando comparados com o derivado **8c**, objetivamos a síntese de 3 novas séries de moléculas: (i) série de novos derivados tiofênicos, alterando substituintes em diversas posições da molécula (este trabalho faz parte de uma outra tese de doutorado de nosso grupo de pesquisa); (ii) série de derivados piridínicos bioisómeros não-clássicos ao anel tiofeno; (iii) série de derivados do benzeno também bioisómeros não-clássicos do anel tiofênico. Para estas duas séries de compostos planejados e sintetizados neste trabalho, foram realizadas diversas substituições (R_1 , R_2 e R_3 ; figura 14), com os seguintes objetivos:

1. Verificar a influência na atividade biológica de substituintes no anel aromático ligado ao carbono 4 do anel tiazolidínico;
2. Verificar a influência na atividade biológica de substituintes na posição 3 do anel tiazolidínico;
3. Verificar a influência na atividade biológica a substituição do anel tiofênico por outros ciclos bioisómeros, incluindo benzeno e piridina;
4. Verificar a influência na atividade biológica do grupo álcool na posição 3 do anel benzeno.

Em adição, apenas com a atividade biológica do composto **8c** frente a cruzaina não é suficiente para precisarmos esta enzima como o alvo principal destas classes de moléculas. Neste sentido, a avaliação biológica desta nova série de compostos, incluindo atividade frente ao parasita e frente à enzima isolada, poderá suportar esta hipótese do trabalho.

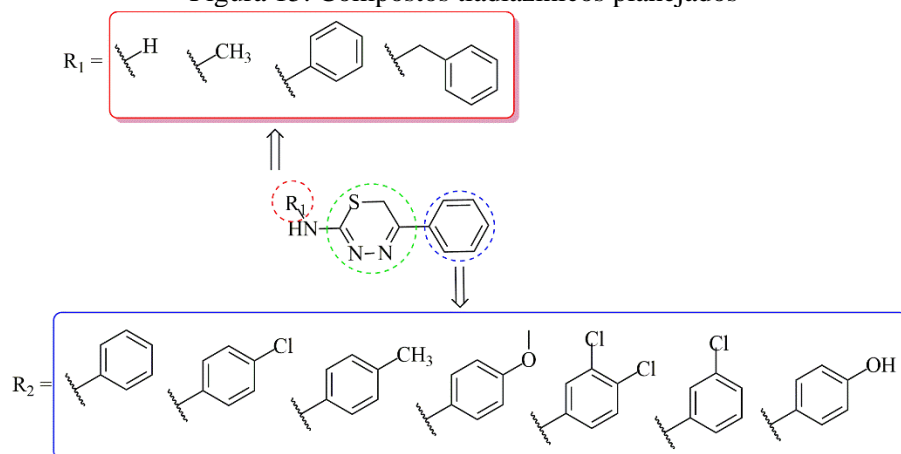
Figura 14. Compostos inicialmente planejados



Fonte: Autor, 2022.

Na segunda parte deste trabalho, foram exploradas modificações em outra classe de compostos, no caso as tiadiazinas, uma vez que as mesmas podem ser consideradas análogos rigidificados das tiossemicarbazonas, e existem vários relatos na literatura que tiossemicarbazonas são ativas frente diferentes espécies de leishmania e *T. cruzi*. Dessa forma, a figura 15 apresenta as alterações propostas em R_1 , com aumento do volume do substituinte, e ainda a substituição em R_2 no anel aromático por grupos doadores e retiradores de elétrons, além de grupos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio, e assim verificar a influência dessas substituições na atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*.

Figura 15. Compostos tiadiazínicos planejados



Fonte: Autor, 2022.

Por fim, o presente trabalho visa responder as seguintes questões:

1. As substituições descritas anteriormente na série das tiazolidinas poderá levar à descoberta de um ou mais compostos mais ativo que o derivado **8c**?
2. A avaliação da atividade frente ao parasita *T. cruzi* e a cruzaina poderá nos dar informações no intuito de se confirmar a cruzaina como o alvo principal desta classe de compostos?
3. A similaridade estrutural entre a cruzaina e a CPB, caso a cruzaina for o alvo principal destes compostos, poderá resultar em uma atividade dos mesmos frente à *Leishmania amazonensis*?
4. O fato das tiadiazinas serem análogos estruturais das tiossemicarbazonas poderá influenciar a atividade frente os dois parasitas testados?

OBJETIVOS

Igor J. S. Nascimento

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Planejamento, síntese, estudos *in silico* e avaliação do potencial biológico frente ao *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania amazonensis* e enzimas alvo de novos derivados tiazólicos e tiadiazínicos

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar duas novas séries de compostos tiazólicos e tiadiazínicos;
- Caracterizar os compostos por RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, NOESY;
- Realizar um estudo de DFT para explicar a regioselectividade obtida na síntese dos tiazóis derivados de piridina *N*-fenil-substituídos;
- Avaliar *in vitro* os compostos frente a formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*;
- Avaliar *in vitro* os compostos contra a enzima cisteíno protease B de *Leishmania amazonensis*;
- Determinar os parâmetros físico-químicos dos compostos sintetizados seguindo as regras de Lipinski e de Veber;
- Realizar um estudo de validação do protocolo de *docking* molecular;
- Construir a estrutura da cisteíno protease B de *Leishmania amazonensis* por meio de modelagem por homologia;
- Realizar simulações de dinâmica molecular envolvendo os complexos dos compostos mais ativos com a cisteíno protease B e cruzaina;
- Realizar *docking* e avaliar as principais interações dos compostos ativos frente à cruzaina e a cisteíno protease B;
- Avaliar *in vitro* os compostos frente a formas amastigotas e tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*.
- Avaliar *in vitro* os compostos contra a cruzaina do *Trypanosoma cruzi*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Igor J. S. Nascimento

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Cromatografia em camada delgada (CCD)

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de Sílica Gel 60 F254 da MERCK® de 0,25 mm de espessura com suporte de alumínio. A revelação das mesmas para interpretação dos resultados foi realizada através de luz emissora de radiação ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254 nm.

4.2 – Ponto de fusão

Para a determinação dos pontos de fusão, foi utilizando equipamento *MSTecnopon*®, modelo *PFMII Digital*, em tubos capilares contendo cada uma das amostras individualmente, não calibrado.

4.3 – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

As análises por cromatografia líquida de alta pressão (do inglês: High performance liquid chromatography, HPLC) foram realizadas no aparelho Shimadzu®, modelo SIL-20AHT, com detector de ultravioleta (UV) em 254 nm, sendo a coluna C-18 Supelco Discovery®, 25 cm x 4,6 mm, 5 μ M. A fase móvel foi composta por um sistema isocrático MeOH, volume de injeção de 1 μ L, fluxo de 1 mL por minuto, com tempo das análises de 12 minutos.

4.4 – Espectroscopia RMN ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e NOESY

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C e 2D foram obtidos em equipamento *Bruker*®, modelo *Avance DRX 600 MHz – UltraShield*®, utilizando DMSO- d_6 e CDCl_3 como solventes deuterados. Os deslocamentos químicos (δ) foram computados em partes por milhão (ppm), onde foi empregado tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As constantes de acoplamento (J) inerentes aos sinais de RMN de ^1H foram computadas em Hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais foram instituídas da seguinte maneira: simpleto (*s*), simpleto largo (*sl*), duplete (*d*), duplo duplete (*dd*), tripleto (*t*), quarteto (*q*), quinteto (*qi*), sexteto (*sex*), septeto (*sep*), e multiplete (*m*) triplo tripleto (*tt*); duplo-duplo duplete (*ddd*); duplo tripleto (*dt*), e duplo quarteto (*dq*).

4.5 - Reagentes e solventes.

Os reagentes utilizados nas sínteses foram do fabricante *Sigma-Aldrich* (grau de pureza >98%). Os solventes utilizados foram padrão P.A. (Para análise) dos fabricantes *Synth*, *dinâmica e Sigma-Aldrich*.

4.6 – Estudos de modelagem molecular

4.6.1 – Descrição computacional.

As simulações de dinâmica molecular e os cálculos de DFT foram realizados numa Workstation Precision, modelo T3600 6C, da fabricante DELL[®], com processador Intel[®] Xeon E5-1660, CPU 3,3 GHz (12 CPUs), memória RAM de 16 GB, sob o sistema operacional Linux[®]. Adicionalmente alguns experimentos de dinâmica molecular foram realizados utilizando os recursos da Central Nacional de Processamento de Alto Desempenho – CENAPAD, constituído de um sistema Dell AMD Epyc 7662/NVIDIA Tesla A100, com 65 nós de processamento, sendo 58 nós com 2 processadores AMD Epyc 7662 e 512 GB de memória RAM, 5 nós com 2 processadores AMD Epyc 7662, 2 gpus NVIDIA Tesla A100 e 512 GB de memória RAM, e 2 nós com 2 processadores AMD Epyc 7H12 e 2 TB de memória RAM

Os demais experimentos, incluindo *docking* molecular e cálculos semi-empíricos (minimização das energias das moléculas) foram realizados em um notebook da fabricante DELL[®], modelo inspiron 7520, com processador Intel[®] Core™ i7-3632QM CPU 2,2GHz (8 CPUs), memória RAM de 8 GB, sob o sistema operacional Windows[®] versão 10.

4.6.2 Modelagem por homologia

No sentido de que não existe estrutura cristalográfica da cisteína protease da *Leishmania amazonensis* (CPla), optou-se então pela modelagem comparativa e assim a construção do modelo baseado nos estudos de Freitas *et al.* (2018) e Fujii (2018). Inicialmente, a sequência de aminoácidos referentes a requeria cisteína protease foi obtida na base de dados *National Center for Biotechnology Information Search database* (NCBI, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), sob o código AAP21894, constituída de 353 aminoácidos. Em seguida, foi realizada uma busca de proteínas com identidade estrutural por meio do servidor *Basic local alignment search tool* (BLAST, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Assim, a busca revelou 100 sequencias homólogas, de forma que a que apresentava o melhor

alinhamento foi com a cruzaina do *T. cruzi* (PDB: 1aim), utilizando-a como molde. Por fim, o modelo foi construído por meio do web software *Swiss-Model* (<https://swissmodel.expasy.org/>) e validado por meio do gráfico de *Ramachandran* gerado pelo web software *SAVES* (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). Por fim, o modelo gerado foi alinhado com o PDB original (1aim) por meio do software *PyMol* e calculado o valor de *Root Mean Square deviation* (RMSD) para a validação final do modelo.

4.6.3 Simulação de dinâmica molecular para a cruzaina e CPla

O procedimento de dinâmica molecular da cruzaina foi realizado seguindo a metodologia proposta por OLIVEIRA (2018). A estrutura cristalográfica da cruzaina foi obtida através da base de dados *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank* – RCSB PDB, depositada com o código 1AIM. A escolha o PDB foi realizada após um protocolo de validação por *re-docking* (tópico seguinte). A simulação dinâmica foi realizada através do software *GROMACS*[®], em que foram removidas as moléculas de água co-cristalizadas, e adicionados os átomos de hidrogênio. Utilizou-se então o campo de força CHARMM36, adicionando a enzima em uma caixa cúbica de 1 nm em condições fisiológicas neutras. Em seguida, foram adicionadas 9.064 moléculas de água e 13 íons de sódio pelo método SPC (*Single Point Charge*) para a distribuição das moléculas através do sistema. Após o sistema solvatado e montado, é necessário garantir que não ocorram problemas estéricos e nem geometria inadequada, sendo necessária uma minimização da energia do sistema. Logo após a minimização, solvente e íons foram equilibrados ao redor da proteína. Esse equilíbrio foi conduzido em duas fases: NVT (Número de partículas, volume e temperatura constante) e NPT (Número de partículas, pressão e temperatura constante). Os equilíbrios NVT e NPT foram realizados a uma temperatura de 300K e pressão de 1 bar a 100 ps. Com o sistema bem equilibrado à temperatura e pressão desejados, realizou-se então a simulação dinâmica à 100 ns. Ao finalizar a simulação, foi gerado o gráfico de RMSD através do software *Xmgrace*[®], sendo comprovada a estabilidade da enzima nas condições propostas pela simulação. Após a simulação da dinâmica molecular, foi realizada uma análise dos *clusters* do arquivo gerado pela dinâmica através do software *Chimera*[®] em que foi escolhido aquele que apresentou maior representatividade. Por fim, realizou-se a validação da dinâmica molecular através da obtenção do gráfico de Ramachandran por meio do *SAVES*[®] para comprovação da qualidade do modelo gerado.

4.6.4 Estudos de *docking* molecular.

Inicialmente, foi necessário validar o protocolo de triagem para a escolha da estrutura cristalográfica e função de pontuação mais adequados. Assim, realizou-se um *re-docking* para o cálculo de RMSD em cada uma das funções de pontuação disponíveis no software *GOLD*[®] (ChemPLP, GoldScore, ChemScore e ASP) em 26 estruturas cristalográficas da enzima cruzaina disponíveis na base de dados Protein Data Bank (PDB). O PDB id 1AIM foi selecionado a partir do mapa de calor gerado pelo *Microsoft Excel*[®] usando o algoritmo ChemPLP (RMSD de 0,238) como o procedimento mais apropriado. Este protocolo está seguindo os descritos anteriormente por nosso grupo de pesquisa (NASCIMENTO *et al.*, 2021; NASCIMENTO *et al.*, 2022). A enzima foi submetida a simulações de dinâmica molecular a 100 ns para obtenção da forma nativa (conformação mais estável). Paralelamente, foram geradas 10 conformações para cada ligante por meio do software *MarvinSketch*[®], em que a mais estável foi otimizada geometricamente utilizando o software *ArgusLab*[®] pelo método semi-empírico AM1 (Austin Model 1). Para o *docking*, hidrogênios foram adicionados e uma região de seis Å em torno do ligante co-cristalizado. Assim, dez poses de ligação foram geradas para cada ligante, e a pose de valor de pontuação de ajuste mais significativo foi escolhida. Por fim, os diagramas 2D das interações realizadas com o sítio catalítico foram gerados através do software *Discovery Studio*[®] e as figuras das superfícies hidrofóbicas foram geradas pelo software *Chimera*[®].

4.6.5 Cálculos para a validação da regra de Lipinski e Veber.

Para a validação das regras de Lipinski e de Veber, todos os compostos foram desenhados através do software *MarvinSketch*[®], e suas estruturas 3D geradas através do *ChemDraw 3D*[®]. Todos os compostos foram submetidos ao software da web *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/index.php>) (DAINA *et al.*, 2017), no qual os parâmetros foram avaliados de acordo com a regra de Lipinski (MM < 500; Log P < 5; menos que 5 átomos doadores de ligação de hidrogênio (DLH) e menos que 10 aceptores de ligação de hidrogênio (ALH)). Além disso, foram calculados filtros Veber, constituído de menos que 10 ligações rotativas (LR) e área de superfície polar topológica (TPSA) menor que 140 Å.

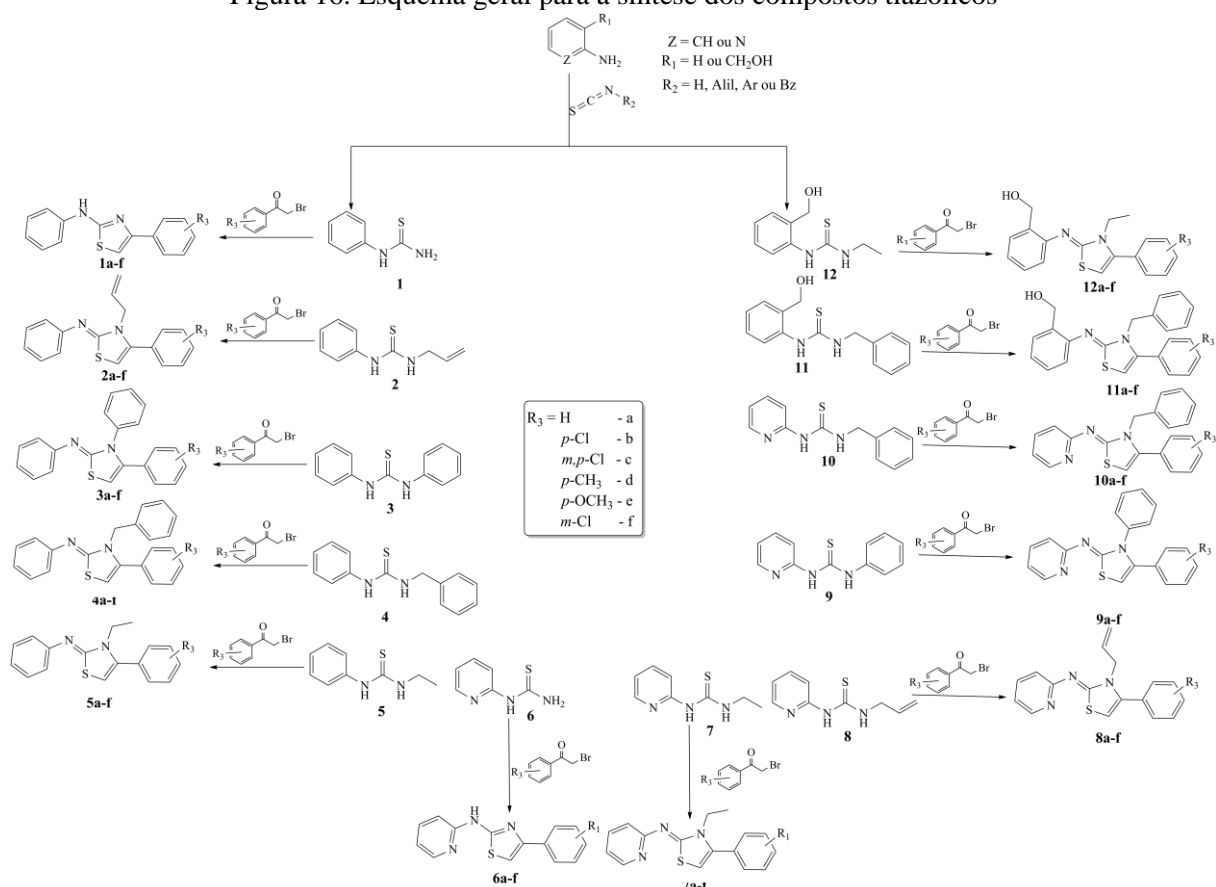
4.6.6 Estudo de regioseletividade através dos cálculos de DFT.

Os cálculos de DFT (Teoria do Funcional de Densidade) foram realizados através do *software ORCA® 4.1.2*, submetido a densidade híbrida corrigida por gradiente B3LYP. A otimização da geometria foi realizada por def2-QZVP. Os cálculos foram realizados em equilíbrio geométrico e meio aquoso. Em seguida obteve-se os valores das energias de HOMO-LUMO de cada molécula, bem como a energia da estrutura molecular. As figuras de intervalo HOMO-LUMO foram geradas a partir do *software Avogadro®*. Para os cálculos de estado de transição, B3LYP foi utilizado com otimização de geometria por meio de 6-31G. Os gráficos de estado de transição foram gerados por meio do *software ChemDraw®*.

4.7 Estratégia geral para a síntese dos compostos tiazólicos.

As requeridas tiouréias foram sintetizadas a partir da requerida amina (Anilina, 2-aminopiridina, 2-aminofenilmetanol, e 2-aminopiridina-3-il-metanol) e do isotiocianato substituído, gerando os compostos intermediários **1-12** (Figura 16). Em seguida, os intermediários foram submetidos a reação com as requeridas α -bromoacetofenonas gerando os produtos finais substituídos.

Figura 16. Esquema geral para a síntese dos compostos tiazólicos

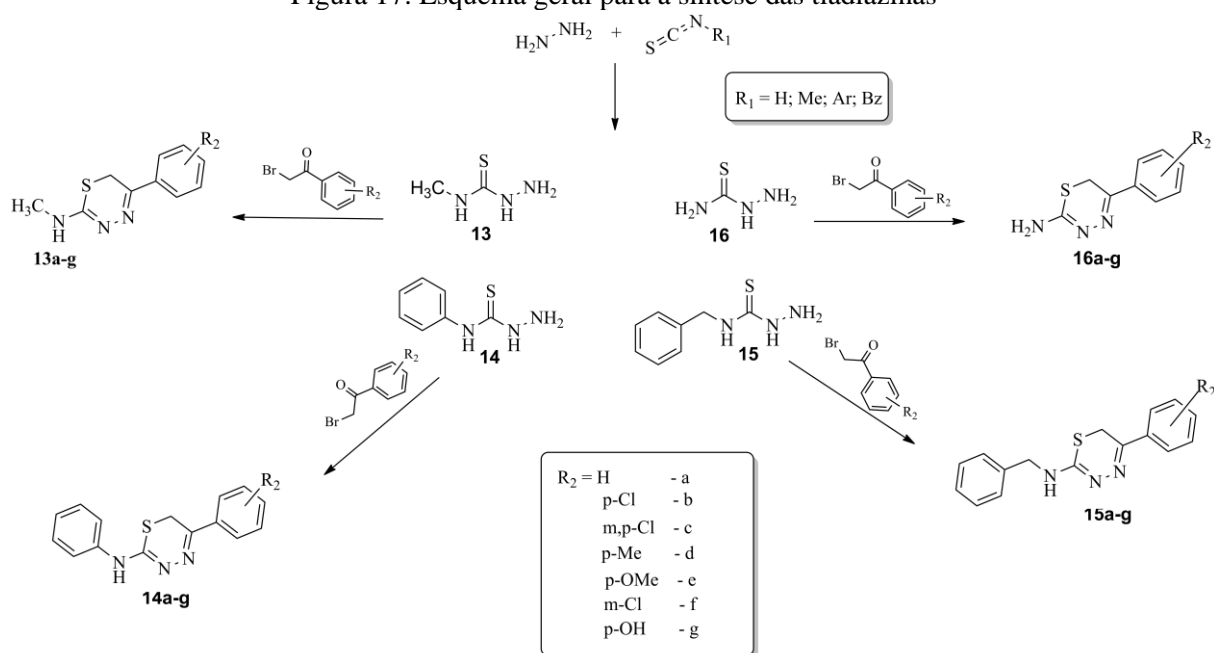


Fonte: Autor, 2022.

4.8 Estratégia geral para a sínteses das tiadiazínas.

As tiossemicarbazidas *N*-substituídas foram obtidas a partir da reação da hidrazina com o requerido isotiocianato. Em seguida, as tiossemicarbazidas *N*-substituídas ou tiossemicarbazida não-substituídas foram reagidas com as α -bromoacetofenonas substituídas, gerando a obtenção das tiadiazinas, como mostrado na figura 17.

Figura 17. Esquema geral para a síntese das tiadiazinas



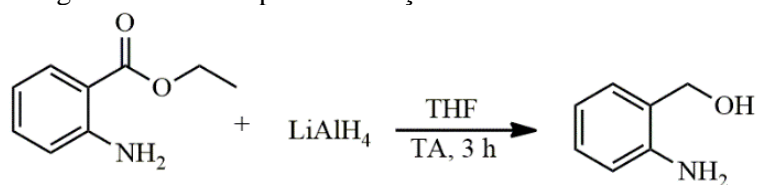
Fonte: Autor, 2022

4.9 Procedimentos experimentais para a síntese dos tiazóis.

4.9.1 Método para a obtenção do álcool 2-aminobenzílico

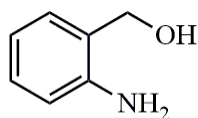
Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 1 mmol do 2-aminobenzoato de etila em 20 mL de THF, sob agitação em temperatura de 0 °C até a completa solubilização. Em seguida, adicionou-se lentamente 2 mmol de hidreto de lítio e alumínio à solução, em temperatura ambiente, deixado reagir durante 3 horas. Após o término da reação (acompanhado por CCD), lentamente adicionou-se 20 mL de água. A suspensão resultante foi filtrada, e o líquido coletado foi evaporado e submetido a uma extração líquido-líquido em água/AcOEt. A fase orgânica foi coletada, tratada com Na_2SO_4 e evaporada, gerando o álcool 2-aminobenzílico (Figura 18).

Figura 18. Método para a obtenção do 2-aminobenzil álcool



Fonte: Autor, 2022.

4.9.1.1 - Dados físico-químicos do 2-aminobenzil álcool.

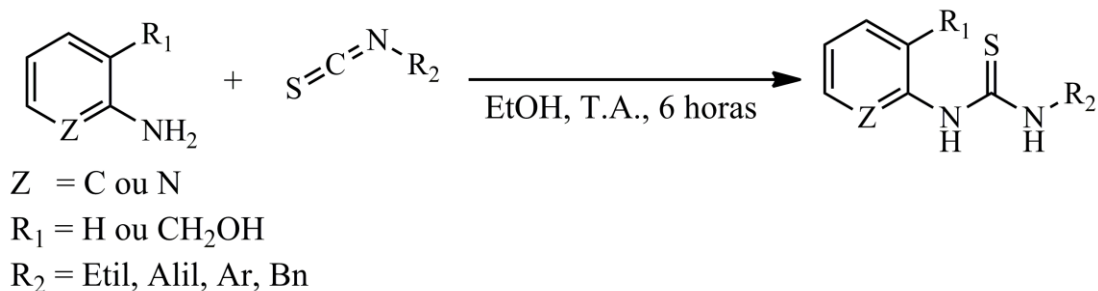


- Sólido amarelo; P.F. 81-82 °C; MM: 123,06 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,4.
- HPLC-UV: 2,82 min (pureza: 95%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,37 (*d*, 2H, *J* = 5,17 Hz, CH₂); 4,89 (*s*, 2H, NH₂); 4,99 (*t*, 1H, *J* = 5,17 Hz, OH); 6,51 (*t*, 1H, *J* = 7,48 Hz, H-Ar); 6,61 (*d*, 1H, *J* = 7,87 Hz, H-Ar); 6,95 (*t*, 1H, *J* = 7,32 Hz, H-Ar); 7,04 (*d*, 1H, *J* = 7,32 Hz, H-Ar).

4.9.2 – Método para obtenção das tioureias substituídas (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12).

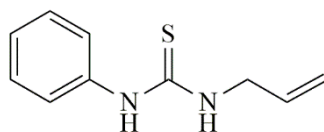
Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 1 mmol da requerida amina e 10 mL de EtOH, e a solução resultante foi agitada na temperatura ambiente até a completa dissolução. Sucedeu-se a adição do requerido isotiocianato, durante a agitação continuou por mais 6 horas, onde foi verificado o término da reação por CCD. Por fim, o precipitado formado foi coletado e lavado com EtOH e água (Figura 19).

Figura 19. Método para a obtenção das tioureias substituídas (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12)



Fonte: Autor, 2022.

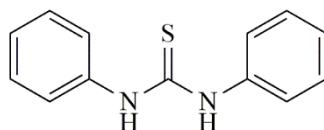
4.9.2.1 - Dados físico-químicos do composto 1-alil-3-feniltiourea (2)



- Sólido amarelo; P.F. 97-98%; MM: 192,07 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,4.
- HPLC-UV: 3,29 min (pureza: 96%).

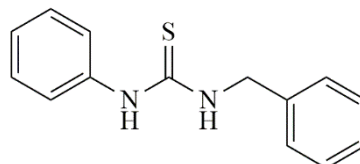
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,13 (*t*, 2H, $J = 5,05$ Hz, $\text{CH}=\underline{\text{CH}_2}$); 5,10 (*dq*, 1H, $J = 1,58$ e $10,26$ Hz, CH_2a); 5,18 (*dq*, 1H, $J = 1,69$ e $17,25$ Hz, CH_2b); 7,1 (*t*, 1H, $J = 7,37$ Hz, H-Ar); 7,31 (*t*, 2H, $J = 7,37$ Hz, H-Ar); 7,41 (*d*, 2H, $J = 7,67$ Hz, H-Ar); 7,81 (*s*, 1H, NH); 9,52 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 46,0; 115,7; 123,2; 124,1; 128,5; 134,7; 139,2; 180,5.

4.9.2.2 - Dados físico-químicos do composto 1,3-difeniltiourea (3).



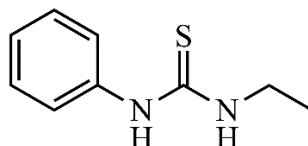
- Sólido branco; P.F. 164-165 °C; MM: 228,07 g/mol; Rendimento: 90%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,30 min (pureza: 97%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7,12 (*t*, 2H, $J = 7,46$ Hz, H-Ar); 7,32 (*t*, 4H, $J = 7,76$ Hz, H-Ar); 7,48 (*d*, 4H, $J = 8,09$ Hz, H-Ar); 9,77 (*s*, 2H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 123,6; 124,3; 128,3; 139,4; 179,6.

4.9.2.3 - Dados físico-químicos do composto 1-benzil-3-feniltiourea (4)



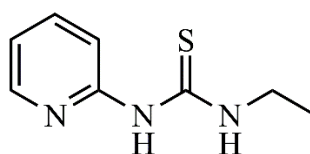
- Sólido branco; P.F. 142-143 °C; MM: 242,09 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,33 min (pureza: 100%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,74 (*d*, 2H, $J = 5,59$ Hz, CH_2); 7,11 (*tt*, 1H, $J = 7,32$ e $1,08$ Hz, H-Ar); 7,23-7,27 (*m*, 1H, H-Ar); 7,29-7,34 (*m*, 6H, H-Ar) 7,43 (*d*, 2H, $J = 8,13$ Hz, H-Ar); 8,15 (*s*, 1H, NH); 9,60 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 47,1; 123,2; 124,2; 126,8; 127,4; 128,2; 128,5; 138,9; 139,1; 180,7.

4.9.2.4 - Dados físico-químicos do composto 1-etil-3-feniltiourea (5).



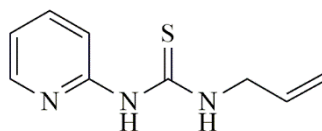
- Sólido cinza; P.F. 89-90 °C; MM: 180,07 g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6
- HPLC-UV: 2,87min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,19 (*t*, 3H, *J* = 7,40 Hz, CH₃); 3,68 (*q*, 2H, *J* = 6,85 Hz, CH₂); 6,02 (*s*, 1H, NH), 7,22 (*d*, 2H, *J* = 7,72 Hz, H-Ar); 7,31 (*t*, 1H, *J* = 7,72 Hz, H-Ar); 7,44 (*t*, 1H, *J* = 7,72 Hz, H-Ar); 8,07 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14,2; 40,3; 125,2; 127,2; 130,2; 136,1; 180,4.

4.9.2.5 - Dados físico-químicos do composto 1-etil-3-(piridin-2-il)tiourea (7).



- Sólido branco; P.F. 94-95 °C; MM: 181,06 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2 R_f: 0,5
- HPLC-UV: 3,08 min (pureza 96%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,35 (*t*, 3H, *J* = 7,29 Hz, CH₃); 3,79 (*q*, 2H, *J* = 7,29 Hz, CH₂); 6,87 (*d*, 1H, *J* = 8,34 Hz, H-piridina); 6,95 (*t*, 1H, *J* = 6,48 Hz, H-piridina); 7,64 (*t*, 1H, *J* = 8,34 Hz, H-piridina); 8,18 (*d*, 1H, *J* = 5,19 Hz, H-piridina); 9,08 (*s*, 1H, NH); 11,64 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14,1; 40,4; 112,1; 117,8; 138,6; 145,7; 153,5; 179,2.

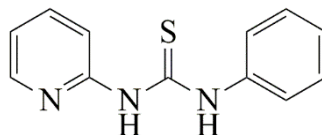
4.9.2.6 - Dados físico-químicos do composto 1-alil-3-(piridina-2-il)tiourea (8)



- Sólido amarelo; P.F. 102-103 °C; MM: 193,07 g/mol; Rendimento: 92%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,4.
- HPLC-UV: 3,35 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,29 (*tt*, 2H, *J* = 1,80 e 5,34 Hz, CH=CH₂); 5,15 (*dq*, 1H, *J* = 1,63 e 10,42 Hz, CH₂a); 5,23 (*dq*, 1H, *J* = 1,80 e 17,26 Hz, CH₂b); 5,93-6,02 (*m*, 1H, CH); 7,03 (*ddd*, 1H, *J* = 1,0, 5,11 e 2,22 Hz, H-piridina); 7,17 (*tt*, 1H, *J* = 0,96 e 8,45 Hz, H-piridina); 7,77 (*ddd*, 1H, *J* = 2,03, 6,81 e 1,0 Hz, H-piridina); 8,21 (*ddd*, 1H, *J* = 0,69, 2,03 e 3,11 Hz, H-piridina); 10,62 (*s*, 1H, NH); 11,77 (*t*, 1H, *J* = 5,34 Hz, NH).

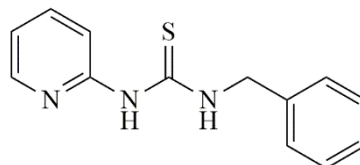
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 46,6; 112,5; 115,7; 117,7; 134,1; 138,9; 145,5; 153,7; 179,8.

4.9.2.7 - Dados físico-químicos do composto 1-fenil-3-(piridina-2-il)tiourea (**9**).

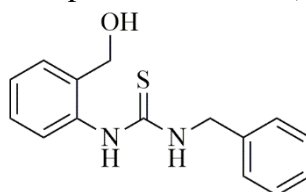


- Sólido branco; P.F. 161-162 °C; MM: 229,07 g/mol; Rendimento: 92%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,45 min (pureza: 96%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7,10 (*t*, 1H, $J = 6,33$ Hz, H-piridina); 7,20-7,27 (*m*, 2H, H-Ar e H-piridina); 7,39 (*t*, 2H, $J = 7,74$ Hz, H-Ar); 7,69 (*d*, 2H, $J = 7,74$ Hz, H-Ar); 7,84 (*ddd*, 1H, $J = 6,64$ e 1,84 Hz, H-piridina); 8,32 (*d*, 1H, $J = 5,38$ Hz, H-piridina); 10,89 (*s*, 1H, NH); 13,84 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 112,9; 118,1; 124,1; 125,4; 128,4; 138,7; 139,3; 145,5; 153,5; 178,2.

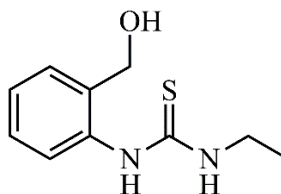
4.9.2.8 - Dados físico-químicos do composto 1-benzil-3-(piridina-2-il)tiourea (**10**)



- Sólido branco; P.F. 172-173 °C; MM: 243,08 g/mol; Rendimento: 90%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 8,01 min (pureza: 95%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,91 (*d*, 2H, $J = 5,77$ Hz, CH_2); 7,02(*ddd*, 1H, $J = 0,96$, 5,13 e 2,21 Hz, H-piridina); 7,19 (*d*, 1H, $J = 8,41$ Hz, H-piridina); 7,24-7,28 (*m*, 1H, H-Ar); 7,32-7,38 (*m*, 4H, H-Ar); 7,77 (*ddd*, 1H, $J = 1,96$, 6,79 e 1,99 Hz, H-piridina); 8,16 (*dd*, 1H, $J = 5,11$ e 1,66 Hz, H-piridina); 10,72 (*s*, 1H, NH); 12,09 (*t*, 1H, $J = 5,77$ Hz, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 48,2; 113,0; 118,3; 127,5; 127,6; 128,9; 138,8; 139,5; 146; 154,2; 180,5.

4.9.2.9 – Dados físico-químicos do composto 1-benzil-3-(2-(hidroximetil)fenil)tiourea (**11**)

- Sólido branco; P.F. 96-97 °C; MM: 272,09 g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f 0,5.
- HPLC-UV: 2,83 min/99%
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,47 (*s*, 2H, CH₂); 4,71 (*s*, 2H, CH₂); 5,22 (*t*, 1H, *J* = 4.70 Hz, OH); 7,22-7,26 (*m*, 3H, H-Ar); 7,30-7,34 (*m*, 5H, H-Ar); 7,44-7,46 (*m*, 1H, H-Ar); 8,12 (*sl*, 1H, NH); 9,1 (*sl*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 181,5; 139,1; 137,9; 135,7; 128,1; 127,1; 126,9; 126,6; 125,9; 59,5; 47,3.

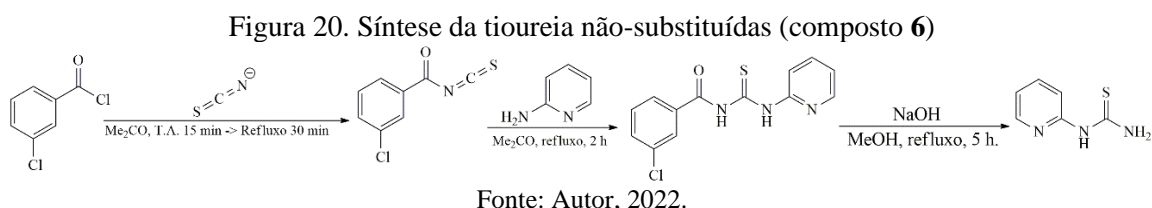
4.9.2.10 – Dados físico-químicos do composto 1-etil-3-(2-(hidroximetil)fenil)tiourea (**12**).

- Sólido bege; P.F. 93-94 °C; MM: 210,08 g/mol; Rendimento: 90%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,77min (pureza 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,17 (*t*, 3H, *J* = 7,30 Hz, CH₃); 3,62 (*s*, 2H, CH₂); 4,65 (*s*, 1H, OH); 6,04 (*s*, 1H, NH); 7,30 – 7,31 (*m*, 2H, H-Ar); 7,37 (*t*, 1H, *J* = 7,55 Hz, H-Ar); 7,44 – 7,45 (*m*, 1H, H-Ar); 8,39 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 14,3; 40,2; 62; 126,5; 127,7; 129,2; 130,2; 135; 136,4; 180,5.

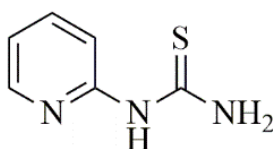
4.9.3 Método para a obtenção de tioureas não-substituídas (**6**).

Seguindo a metodologia proposta por Thanigaimalai e colaboradores (2010), em um balão de fundo redondo, foram adicionados 1 mmol de cloreto de 3-clorobenzoila, e 1,2 mmol de isotiocianato de potássio, deixados reagir em 15 mL de acetona, sob agitação magnética em temperatura ambiente durante 15 minutos. Em seguida, a reação foi levada para refluxo

durante 30 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 1 mmol da 2-amino-piridina para reagir durante 2 horas. Adicionou-se água na reação e o precipitado foi coletado. Sucedeu-se então uma hidrólise com NaOH durante 5 horas (acompanhado por CCD). Ao término da reação, a solução foi acidificada com HCl 2M, seguido pela adição de uma solução de amônia até o pH ser ajustado para 10. Por fim, o precipitado formado foi coletado e lavado com EtOH e água (Figura 20).



4.9.3.1 – Dados físico-químicos do composto 1-(piridin-2-il)tiourea (**6**)

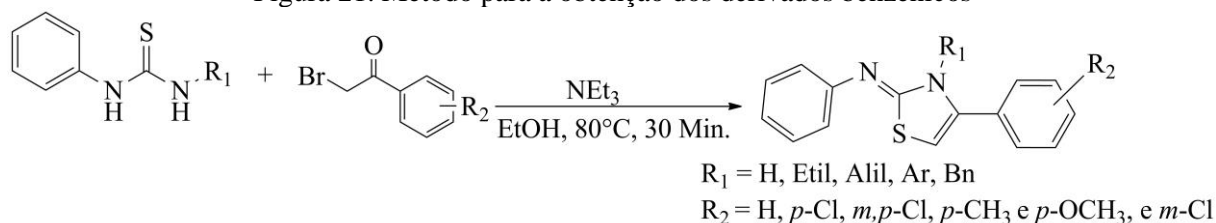


- Sólido branco; P.F. 137-138 °C; MM: 153,04 g/mol; Rendimento: 50 %; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,21 min (pureza 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 7,03 (*ddd*, 1H, *J* = 0,85, 5,10 e 2,26 Hz, H-piridina); 7,15 (*d*, 1H, *J* = 8,41 Hz, H-piridina); 7,76 (*ddd*, 1H, *J* = 1,89, 6,91 e 2,05 Hz, H-piridina); 8,22 (*d*, 1H, *J* = 5,13, H-piridina); 8,87 (*s*, 1H, NH); 10,52 (*sl*, 1H, NH); 10,57 (*sl*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 181,0; 154,0; 146,5; 139,3; 118,4; 113,1.

4.9.4 Método para a obtenção dos derivados benzênicos (**1a-f**, **2a-f**, **3a-f**, **4a-f**, **5a-f**, **11a-f** e **12a-f**).

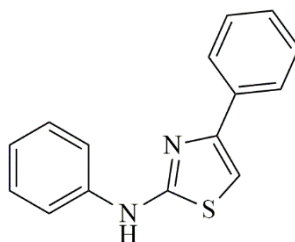
Em um tubo de ensaio, adicionou-se quantidades equimolares da requerida tiourea, α-bromoacetofenona e trietilamina em 5 mL de EtOH, sob agitação constante a uma temperatura de 80 °C, durante 30 minutos (acompanhado por CCD). Em seguida, o solvente foi evaporado por pressão reduzida. Realizou-se então uma extração líquido-líquido em acetato de etila/água, coletou-se a fase orgânica, que foi tratada com NaSO₄, o solvente foi evaporado e o precipitado formado foi lavado com EtOH e água (Figura 21).

Figura 21. Método para a obtenção dos derivados benzênicos



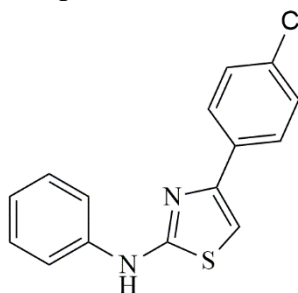
Fonte: Autor, 2022.

4.9.4.1 – Dados físico-químicos do composto *N*-4-difeniltiazol-2-amina (**1a**)



- Sólido cinza; PF: 138-139 °C; MM: 252,07 g/mol; Rendimento: 62%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,73 min (pureza: 98%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,96 (*tt*, 1H, $J = 1,03$ e 7,31 Hz, H-Ar); 7,29-7,37 (*m*, 4H, H-Ar e H-tiazol); 7,43 (*tt*, 2H, $J = 1,72$ e 7,31 Hz, H-Ar); 7,73 (*dd*, 2H, $J = 1,1$ e 8,8 Hz, H-Ar); 7,92 (*dd*, 2H, $J = 1,1$ e 8,8 Hz, H-Ar); 10,25 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 102,8; 116,8; 121,1; 125,6; 127,5; 128,9; 134,5; 141,1; 150,0; 163,0.

4.9.4.2 - Dados físico-químicos do composto 4-(4-clorofenil)-*N*-feniltiazol-2-amina (**1b**)

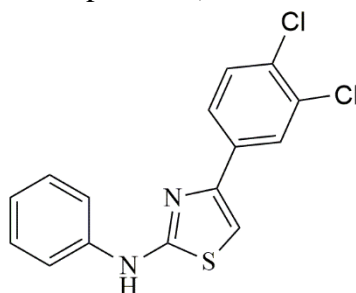


- Sólido verde; PF: 113-115 °C; MM: 286,03 g/mol; Rendimento: 73%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,5.
- HPLC-UV: 3,97 min (pureza: 95%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,97 (*tt*, 1H, $J = 1,03$ e 7,31 Hz, H-Ar); 7,32-7,36 (*m*, 2H, H-Ar); 7,39 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,48 (*dt*, 2H, $J = 2,5$ e 8,69 Hz, H-Ar);

7,71 (*dd*, 2H, $J = 1,1$ e $8,89$ Hz, H-Ar); 7,93 (*dt*, 2H, $J = 2,56$ e $8,69$ Hz, H-Ar); 10,27 (*s*, 1H, NH).

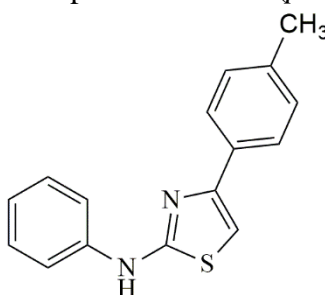
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 103,6; 116,8; 121,2; 127,3; 128,6; 128,9; 131,9; 133,3; 141,1; 148,8; 163,2.

4.9.4.3 - Dados físico-químicos do composto 4-(3,4-diclorofenil)-*N*-feniltiazol-2-amina (**1c**)



- Sólido verde; P.F. 86-87 °C; MM: 319,99 g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f :0,6.
- HPLC-UV: 9,36 min (pureza: 100%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,97 (*tt*, 1H, $J = 0,91$ e $7,40$ Hz, H-Ar); 7,32-7,37 (*m*, 2H, H-Ar); 7,55 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,68-7,71 (*m*, 3H, H-Ar); 7,91(*dd*, 1H, $J = 2,04$ e $8,44$ Hz, H-Ar); 8,13 (*d*, 1H, $J = 2,04$ Hz, H-Ar); 10,31 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 105,1; 116,9; 121,4; 125,7; 127,1; 129,0; 129,7; 130,8; 131,4; 135,0; 141,9; 147,5; 163,4.

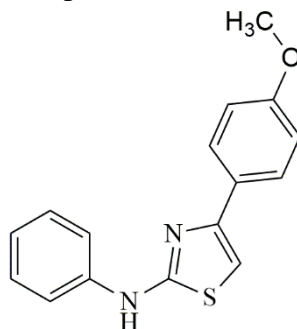
4.9.4.4 - Dados físico-químicos do composto *N*-fenil-4-(*p*-toluil)tiazol-2-amina (**1d**)



- Sólido amarelo; P.F. 88-89 °C; MM: 266,09 g/mol; Rendimento: 40%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,5.
- HPLC-UV: 3,89 min (pureza: 100%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,32 (*s*, 3H, CH_3); 6,96 (*tt*, 1H, $J = 1,05$ e $7,38$ Hz, H-Ar); 7,22-7,25 (*m*, 3H, H-Ar e H-tiazol); 7,32-7,36 (*m*, 2H, H-Ar); 7,72 (*dt*, 2H, $J = 2,12$ e $8,08$ Hz, H-Ar); 7,80 (*dt*, 2H, $J = 2,12$ e $8,08$ Hz, H-Ar); 10,22 (*s*, 1H, NH).

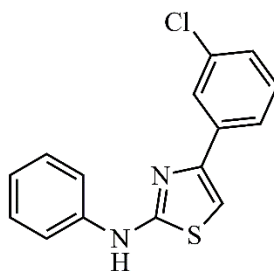
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 20,7; 101,9; 116,7; 121,1; 125,5; 128,9; 129,1; 131,9; 136,8; 141,2; 150,1; 162,9.

4.9.4.5 – Dados físico-químicos do composto 4-(4-metoxifenil)-*N*-feniltiazol-2-amina (**1e**)



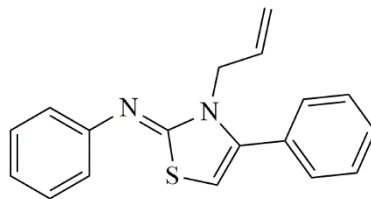
- Sólido amarelo; P.F. 139-140 °C; MM: 282,08 g/mol; Rendimento: 59 %; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,4.
- HPLC-UV: 3,58 min (pureza: 97%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3,79 (*s*, 3H, OCH₃); 6,93-7,01 (*m*, 3H, H-Ar); 7,15 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,31-7,35 (*m*, 2H, H-Ar); 7,71 (*d*, 2H, $J = 8,86$ Hz, H-Ar); 7,85 (*dt*, 2H, $J = 8,94$ e 2,90 Hz, H-Ar); 10,22 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 163,4; 159,3; 150,4; 141,7; 129,4; 127,9; 127,4; 121,5; 117,2; 114,4; 101,1; 55,6.

4.9.4.6 - Dados físico-químicos do composto 4-(3-clorofenil)-*N*-feniltiazol-2-amina (**1f**)



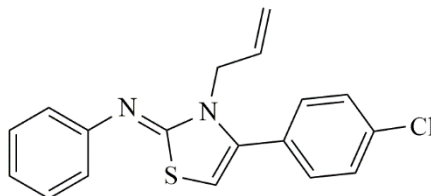
- Sólido bege; P.F. 66-67 °C; MM: 286,03 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,69 min (pureza 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 6,85 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,11-7,13 (*m*, 1H, H-Ar); 7,29-7,31 (*m*, 1H, H-Ar); 7,34 (*t*, 1H, $J = 7,93$ Hz, H-Ar); 7,39-7,41 (*m*, 4H, H-Ar); 7,74 (*dt*, 1H, $J = 1,33$ e 7,65 Hz, H-Ar); 7,86 (*t*, 1H, $J = 1,83$ Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 164,8; 149,5; 139,9; 135,6; 134,6; 129,9; 129,6; 129,5; 127,9; 126,2; 124,1; 123,4; 118,4; 102,7.

4.9.4.7 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2a**)



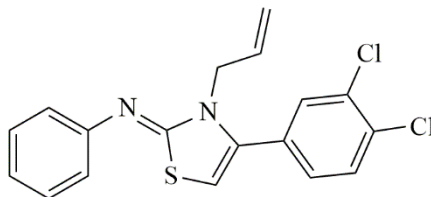
- Sólido amarelo; P.F. 105-106 °C; MM: 292,10 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 8,61 min (pureza: 95%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,41 (*d*, 2H, *J* = 4,7 Hz, CH₂); 4,90 (*d*, 1H, *J* = 17,32 Hz, CH=CH_{2a}); 5,09 (*d*, 1H, *J* = 10,43 Hz, CH=CH_{2b}); 5,78-5,87 (*m*, 1H, CH); 6,22 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,96-7,03 (*m*, 3H, H-Ar); 7,34 (*t*, 2H, *J* = 7,69 Hz, H-Ar); 7,43-7,48 (*m*, 5H, H-Ar).
- RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 46,8; 96,0; 116,0; 121,0; 122,6; 128,64; 128,63; 129,1; 129,4; 131,0; 133,0; 139,6; 151,2; 158,4.

4.9.4.8 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2b**).



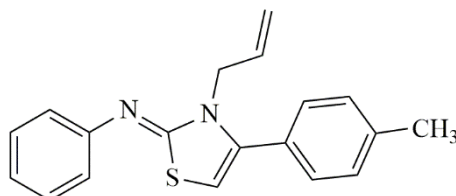
- Sólido branco; P.F. 88-89 °C; MM: 326,06 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 8,70 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,39-4,40 (*m*, 2H, CH₂); 4,90 (*dq*, 1H, *J* = 17,2 e 1,4 Hz, CH=CH_{2a}); 5,09 (*dq*, 1H, *J* = 10,4 e 1,4 Hz, CH=CH_{2b}); 5,79-5,85 (*m*, 1H, CH); 6,28 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,96 (*d*, 2H, *J* = 7,53 Hz, H-Ar); 7,01 (*t*, 1H, *J* = 7,67Hz, H-Ar); 7,47 (*dt*, 2H, *J* = 8,5 e 2,3 Hz, H-Ar); 7,54 (*dt*, 2H, *J* = 8,5 e 2,3Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 158,8; 151,6; 138,9; 134,4; 133,4; 130,9; 130,3; 129,9; 129,2; 123,1; 121,4; 116,6; 97,2; 47,3.

4.9.4.9 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-alil-4-(3,4-diclorofenil)thiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2c**).



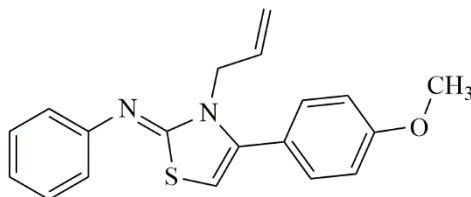
- Sólido amarelo; P.F. 68-69 °C; MM: 360,03 g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 9,08 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,41-4,42 (*m*, 2H, CH₂); 4,93 (*dq*, 1H, *J* = 17,27 e 1,51 Hz, CH=CH₂a); 5,11 (*dq*, 1H, *J* = 10,45 e 1,40 Hz, CH=CH₂b); 5,79-5,89 (*m*, 1H, CH); 6,38 (*s*, 1H, H-thiazol); 6,94-6,97 (*m*, 3H, H-Ar); 7,01 (*tt*, 1H, *J* = 1.18 e 7,37 Hz, H-Ar); 7,30-7,34 (*m*, 2H, H-Ar); 7,46 (*dd*, 1H, *J* = 2,15 e 8,34 Hz, H-Ar); 7,73-7,76 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 46,9; 97,8; 116,2; 120,9; 122,7; 128,7; 129,4; 130,4; 130,8; 131,3; 131,4; 131,9; 133,0; 137,2; 151,0; 158,2.

4.9.4.10 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-alil-4-(*p*-tolil)thiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2d**).



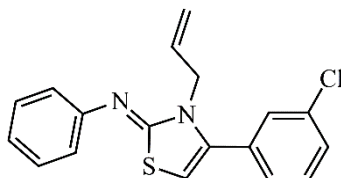
- Sólido amarelo; P.F. 88-89 °C; MM: 306,12 g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 9,03 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,35 (*s*, 3H, CH₃); 4,38 (*d*, 2H, *J* = 4,62 Hz, CH₂); 4,90 (*d*, 1H, *J* = 17,40 Hz, CH=CH₂a); 5,09 (*d*, 1H, *J* = 10,38 Hz, CH=CH₂b); 5,77-5,87 (*m*, 1H, CH); 6,15 (*s*, 1H, H-thiazol); 6,95-7,02 (*m*, 3H, H-Ar); 7,26-7,34 (*m*, 6H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 20,8; 46,8; 95,5; 116,0; 121,0; 122,5; 128,1; 128,5; 129,1; 129,3; 133,0; 138,7; 139,7; 151,2; 158,4.

4.9.4.11 – Dados Físico-químicos do composto (Z)-N-(3-allyl-4-(4-metoxifenil)thiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2e**).



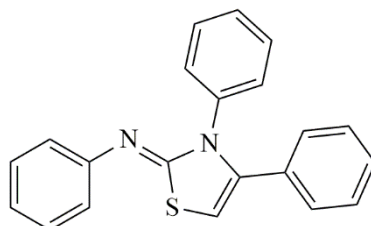
- Sólido Amarelo; P.F. 95-96 °C; MM: 322,11g/mol; Rendimento: 57 %; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,71 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,79 (*s*, 3H, OCH₃); 4,37-4,38 (*m*, 2H, CH₂); 4,91 (*dq*, 1H, *J* = 1,51 e 17,16 Hz, CH=CH_{2a}); 5,1 (*dq*, 1H, *J* = 1,48 e 10,42 Hz, CH=CH_{2b}); 5,78-5,87 (*m*, 1H, CH); 6,13 (*s*, 1H, H-thiazol); 6,94-7,04 (*m*, 5H, H-Ar); 7,29-7,33 (*m*, 2H, H-Ar); 7,37 (*dt*, 2H, *J* = 2,90 e 8,84 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,3; 158,8; 151,7; 140,0; 133,6; 130,6; 129,9; 123,7; 123,0; 121,5; 116,4; 114,5; 95,6; 55,7; 47,2.

4.9.4.12 – Dados Físico-químicos do composto (Z)-N-(3-allyl-4-(3-clorofenil)thiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**2f**)



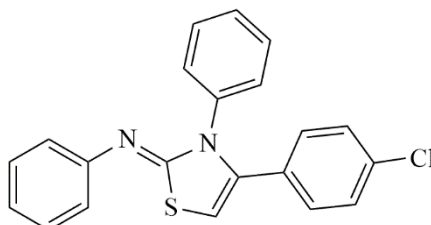
- Sólido amarelo; P.F. 204-205 °C; MM: 326,06 g/mol; Rendimento: 74%; Sistema: Hexano/AcOEt; 8:2; R_f:0,6.
- HPLC-UV: 3,45 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ(ppm): 5,13 (*dt*, 1H, *J* = 1,63 e 17,8 Hz, CH_{2a}); 5,32 (*dt*, 1H, *J* = 1,49 e 10,63 Hz, CH_{2b}); 5,37-5,38 (*m*, 2H, CH); 6,74 (*s*, 1H, H-thiazol); 7,3 (*dt*, 1H, *J* = 1,2 e 7,71 Hz, H-Ar); 7,36 (*tt*, 1H, *J* = 1,03 e 7,45 Hz, H-Ar); 7,39 (*t*, 1H, *J* = 1,80 Hz, H-Ar); 7,43-7,47 (*m*, 3H, H-Ar); 7,54-7,56 (*m*, 1H, H-Ar); 7,60-7,62 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ(ppm): 168,9; 141,1; 137,6; 135,3; 131,2; 130,5; 130,2; 129,6; 129,4; 129,3; 128,7; 127,6; 124,3; 118,9; 105,4; 51,1.

4.9.4.13 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3,4-difeniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (3a).



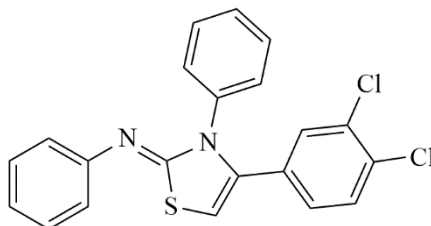
- Sólido amarelo; P.F. 201-202 °C; MM: 328,10 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,58 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,45 (s, 1H, H-tiazol); 6,89-6,91 (m, 2H, H-Ar); 7,0 (tt, 1H, J = 1,01 e 7,33 Hz, H-Ar); 7,14-7,16 (m, 2H, H-Ar); 7,21-7,24 (m, 3H, H-Ar); 7,25-7,29 (m, 5H, H-Ar); 7,32-7,37 (m, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 98,2; 121,4; 123,3; 128,0; 128,61; 128,69; 128,8; 129,2; 129,5; 129,9; 131,6; 138,3; 139,6; 151,8; 159,9.

4.9.4.14 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(4-(4-clorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (3b).



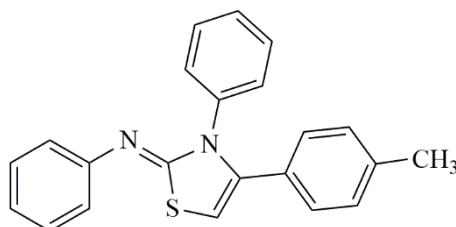
- Sólido amarelo; P.F. 195-197 °C; MM: 362,06 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,69 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,48 (s, 1H, H-tiazol); 6,88 (d, 2H, J = 8,06Hz, H-Ar); 7,0 (t, 1H, J = 7,61 Hz, H-Ar); 7,15 (d, 2H, J = 8,47 Hz, H-Ar); 7,25-7,30 (m, 7H, H-Ar); 7,35-7,39 (m, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 98,5; 120,8; 123,1; 127,7; 128,2; 128,90; 128,97; 129,5; 129,8; 129,8; 131,1; 137,5; 137,9; 151,3; 164,5; 169,1.

4.9.4.15 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(4-(3,4-diclorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**3c**).



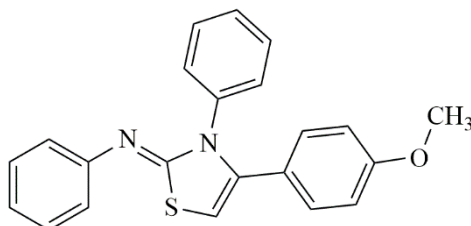
- Sólido amarelo; P.F. 166-167 °C; MM: 396,03 g/mol; Rendimento: 87%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,61 min (pureza: 95%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,65 (s, 1H, H-tiazol); 6,90 (dd, 2H, J = 1,81 e 8,55 Hz, H-Ar); 7,01 (tt, 1H, J = 1,11 e 7,40 Hz, H-Ar); 7,07 (dd, 1H, J = 2,05 e 8,33Hz, H-Ar); 7,29-7,33 (m, 5H, H-Ar); 7,38-7,41 (m, 2H, H-Ar); 7,45 (d, 1H, J = 2,05 Hz, H-Ar); 7,49 (d, 1H, J = 8,33 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,4; 151,6; 137,9; 137,0; 132,0; 131,48; 131,45; 130,7; 130,4; 130,0; 129,49; 129,48; 128,7; 128,3; 123,5; 121,3; 100,1.

4.9.4.16 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-fenil-4-(p-tolil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**3d**).



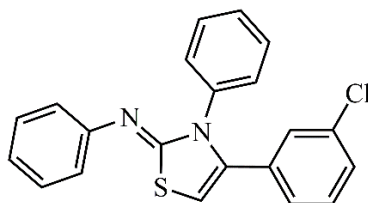
- Sólido branco; P.F. 169-170 °C; MM: 342,12 g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,76 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,21 (s, 3H, CH₃); 6,37 (s, 1H, H-tiazol); 6,90 (d, 2H, J = 7,95 Hz, H-Ar); 6,98-7,03 (m, 5H, H-Ar); 7,25-7,37 (m, 7H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 20,6; 97,0; 120,9; 122,8; 127,5; 127,9; 128,2; 128,7; 129,0; 129,4; 137,8; 137,9; 139,1; 151,3; 159,3.

4.9.4.17 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(4-metoxifenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**3e**).



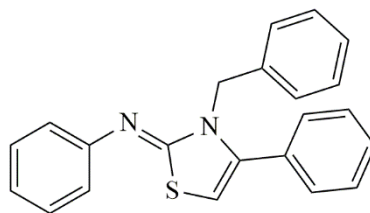
- Sólido amarelo; P.F. 186-187 °C; MM: 358,11 g/mol; Rendimento: 81%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,98 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,68 (*s*, 3H, OCH₃); 6,35 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,78 (*dt*, 2H, *J* = 2,95 e 8,87 Hz, H-Ar); 6,91 (*d*, 2H, *J* = 7,67 Hz, H-Ar); 7,01 (*t*, 1H, *J* = 7,44 Hz, H-Ar); 7,07 (*dt*, 2H, *J* = 2,95 e 8,87 Hz, H-Ar); 7,27-7,31 (*m*, 5H, H-Ar); 7,35-7,38 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,6; 159; 151; 138,9; 137,7; 129,5; 129,4; 129; 128,7; 127,5; 123,8; 122,8; 120,9; 113,5; 96,4; 54,9.

4.9.4.18 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(3-clorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**3f**).



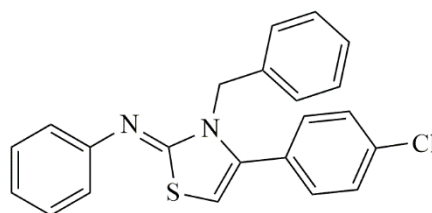
- Sólido amarelo; P.F. 245-246 °C; MM: 362,06 g/mol; Rendimento: 99%; Sistema: Hexano/AcOEt; 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,62 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, MEOH-d₄) δ (ppm): 7,2-7,22 (*m*, 2H, H-Ar e H-tiazol); 7,29 (*t*, 1H, *J* = 7,92 Hz, H-Ar); 7,33 (*t*, 1H, *J* = 1,80 Hz, H-Ar); 7,38-7,40 (*m*, 1H, H-Ar); 7,51 (*tt*, 1H, *J* = 1,31 e 7,26 Hz, H-Ar); 7,55-7,56 (*m*, 2H, H-Ar); 7,58-7,61 (*m*, 2H, H-Ar); 7,62-7,66 (*m*, 5H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, MEOH-d₄) δ (ppm): 171; 141,4; 137,6; 134; 133,4; 131,4; 131,3; 130,5; 130,2; 130,1; 129,79; 129,76; 129,3; 129; 128,3; 127,9; 125; 105,8.

4.9.4.19 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4a**).



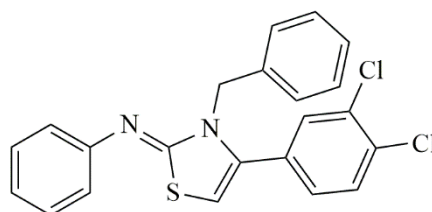
- Sólido branco; P.F. 152-153 °C; MM: 342,12 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,74 min (pureza: 97%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 5,06 (s, 2H, CH₂); 6,27 (s, 1H, H-tiazol); 6,94-7,03 (m, 5H, H-Ar); 7,18-7,33 (m, 7H, H-Ar); 7,38-7,43 (m, 3H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 47,7; 96,4; 120,9; 122,7; 126,4; 126,9; 128,3; 128,61; 128,64; 129,1; 129,4; 130,9; 137,2; 139,7; 151,1; 158,9.

4.9.4.20 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4b**).



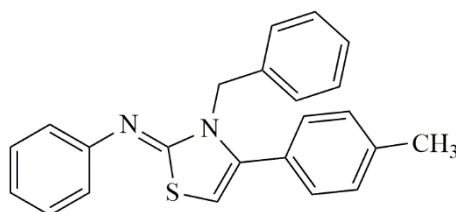
- Sólido branco; P.F. 143-144 °C; MM: 376,08 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,15 min (pureza: 98%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 5,06 (s, 2H, CH₂); 6,31 (s, 1H, H-tiazol); 6,94-7,05 (m, 5, H-Ar); 7,19-7,36 (m, 7H, H-Ar); 7,45-7,47 (m, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 47,6; 97,1; 120,9; 122,7; 126,4; 127,0; 128,3; 128,6; 129,4; 129,8; 130,4; 133,9; 137,1; 138,4; 151,0; 158,9.

4.9.4.21 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(3,4-diclorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4c**).



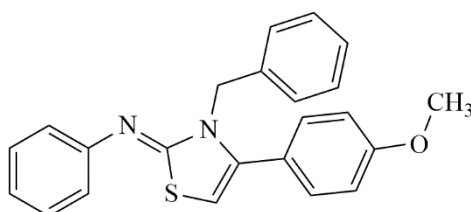
- Sólido amarelo; P.F. 74-75 °C; MM: 410,04 g/mol; Rendimento: 54%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 9,73 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 5,07 (s, 2H, CH₂); 6,42 (s, 1H, H-tiazol); 6,94-6,97 (m, 2H, H-Ar); 7,0-7,06 (m, 3H, H-Ar); 7,20-7,24 (m, 1H, H-Ar); 7,27-7,35 (m, 5H, H-Ar); 7,55 (d, 1H, J = 2,12 Hz, H-Ar); 7,65 (d, 1H, J = 8,32 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 48,3; 98,7; 121,4; 123,3; 126,9; 127,5; 128,9; 129,2; 130,9; 131,2; 131,81; 131,88; 132,4; 137,6; 137,7; 151,4; 159,3.

4.9.4.22 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-benzil-4-(p-tolil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4d**).



- Sólido branco; P.F. 95-96 °C; MM: 356,13 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,20 min (pureza: 97%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,31 (s, 3H, CH₃); 5,04 (s, 2H, CH₂); 6,21 (s, 1H, H-tiazol); 6,93 (d, 2H, J = 7,85 Hz, H-Ar); 6,98-7,05 (m, 3H, H-Ar); 7,18-7,22 (m, 5H, H-Ar); 7,25-7,32 (m, 4H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 20,7; 47,6; 95,9; 120,9; 122,6; 126,3; 126,9; 128,1; 128,3; 129,1; 129,4; 137,3; 138,7; 139,7; 151,1; 158,9.

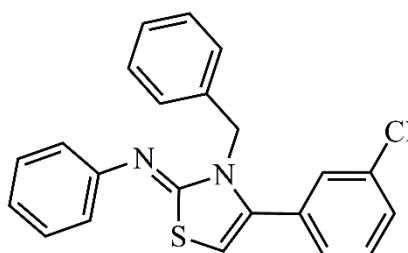
4.9.4.23 – Dados físico químicos do composto (Z)-N-(3-benzil-4-(4-metoxifenil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4e**).



- Sólido branco; P.F.112-113 °C; MM: 372,48 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt; 8/2; R_f: 0.5.
- HPLC-UV: 8,53 min (pureza: 99%).

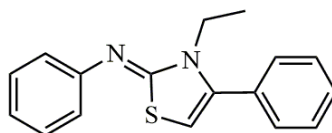
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3,76 (*s*, 3H, OCH₃); 5,03 (*s*, 1H, CH₂); 6,18 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,94 (*t*, 4H, $J = 7,70$ Hz, H-Ar); 6,99 (*t*, 1H, $J = 7,36$ Hz, H-Ar); 7,04 (*d*, 2H, $J = 7,61$ Hz, H-Ar); 7,19-7,32 (*m*, 7H, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160,3; 159,3; 151,6; 140; 137,8; 130,6; 129,9; 128,8; 127,4; 126,8; 123,6; 123,1; 121,4; 114,5; 96; 55,7; 48,1.

4.9.4.24 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(3-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**4f**).



- Sólido amarelo; P.F. 148-149 °C; MM: 376,08 g/mol; Rendimento: 73%; Sistema: Hexano/AcOEt; 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 4,12 min (pureza: 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 5,17 (*s*, 2H, CH₂); 5,9 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,09-7,13 (*m*, 6H, H-Ar); 7,25 (*t*, 1H, $J = 1,83$ Hz, H-Ar); 7,25-7,31 (*m*, 4H, H-Ar); 7,36-7,40 (*m*, 3H, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 139,3; 136,9; 134,5; 132,9; 129,8; 129,5; 129,3; 129,1; 128,5; 127,3; 127,1; 127; 123,5; 121,6; 97,5; 48,9.

4.9.4.25 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**5a**).

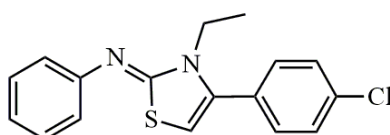


- Sólido bege; P.F. 215-216°C; MM: 280,10 g/mol; Rendimento: 92%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,74 min (pureza: 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 1,32 (*t*, 3H, $J = 7,02$ Hz, CH₃); 4,71 (*q*, 2H, $J = 7,02$ Hz, CH₂); 6,59 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,35 (*t*, 1H, $J = 7,57$ Hz, H-Ar); 7,37-7,39 (*m*,

2H, H-Ar); 7,44 (*t*, 2H, $J = 7,64$ Hz, H-Ar); 7,53 (*t*, 2H, $J = 7,64$ Hz, H-Ar); 7,56-7,59 (*m*, 2H, H-Ar).

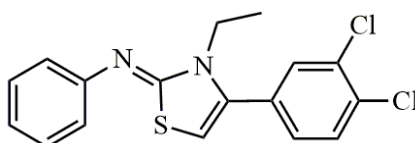
- RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_3$) δ (ppm): 168,3; 143,2; 137,9; 131; 130,1; 129,5; 129,3; 128,5; 128,1; 124,5; 104,4; 44,8; 13,7.

4.9.4.26 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(4-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**5b**).



- Sólido amarelo; P.F. 98-99°C; MM: 314,06 g/mol; Rendimento: 55%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,92 min (pureza: 96%)
- RMN ^1H (600 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_3$) δ (ppm): 1,23 (*t*, 3H, $J = 7,08$ Hz, CH_3); 3,98 (*q*, 2H, $J = 7,08$ Hz, CH_2); 5,84 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,10 (*t*, 1H, $J = 7,44$ Hz, H-Ar); 7,16 (*d*, 2H, $J = 7,75$ Hz, H-Ar); 7,34 (*dt*, 2H, $J = 2,35$ e 8,51 Hz, H-Ar); 7,36–7,38 (*m*, 2H, H-Ar); 7,45 (*dt*, 2H, $J = 2,35$ e 8,51 Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_3$) δ (ppm): 160,5; 150; 139,3; 135,5; 130,2; 129,8; 129,5; 129,1; 123,7; 121,9; 97,2; 40,9; 13,5.

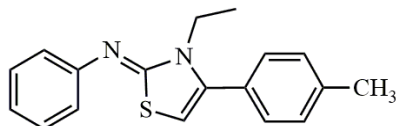
4.9.4.27 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(3,4-diclorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**5c**).



- Sólido amarelo; P.F. 235-237°C; MM: 348,02 g/mol; Rendimento: 70 %; Sistema: Hexano/AcOEt; 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 4,24min (pureza: 95%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 1,20 (*t*, 3H, $J = 6,97$ Hz, CH_3); 4,09 (*q*, 2H, $J = 6,65$ Hz, CH_2); 7,13 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,43 (*t*, 1H, $J = 6,96$ Hz, H-Ar); 7,49 – 7,50 (*m*, 2H, H-Ar); 7,58 – 7,59 (*m*, 3H, H-Ar); 7,86 (*d*, 1H, $J = 8,19$ Hz, H-Ar); 7,90 (*s*, 1H, H-Ar).

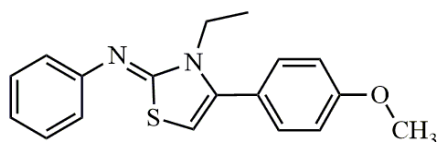
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 13,3; 42,8; 106,8; 124,7; 128,3; 129,7; 130,5; 130,8; 131,7; 132,2; 132,3; 133,8; 139,2.

4.9.4.28 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-(*p*-tolil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)anilina (**5d**).



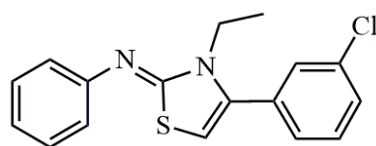
- Sólido cinza; P.F. 221-222 °C; MM: 294,11 g/mol; Rendimento: 97%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 4,01min (pureza: 97%)
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3 - d_3) δ (ppm): 1,34 (*t*, 3H, $J = 7,11\text{ Hz}$, CH_2CH_3); 2,46 (*s*, 3H, CH_3); 4,73 (*q*, 2H, $J = 7,11\text{ Hz}$, CH_2); 6,53 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,27 (*m*, 2H, H-Ar); 7,33-7,38 (*m*, 3H, H-Ar); 7,47 (*t*, 2H, $J = 7,70\text{ Hz}$, H-Ar); 7,66 (*d*, 2H, $J = 7,85\text{ Hz}$, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3 - d_3) δ (ppm): 168,2; 143,4; 141,4; 137,8; 130,1; 130; 129,4; 128,5; 125,4; 124,5; 103,8; 44,8; 21,4; 13,7.

4.9.4.29 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-(4-metoxifenil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)anilina (**5e**).



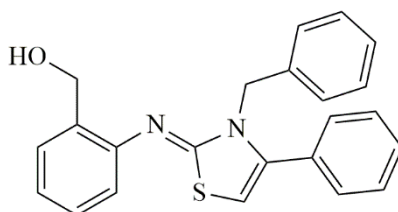
- Sólido bege; P.F. 234-235 °C; MM: 310,11 g/mol; Rendimento: 75%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 3,73min (pureza: 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3 - d_3) δ (ppm): 1,34 (*t*, 3H, $J = 7,18\text{ Hz}$, CH_3); 4,71 (*q*, 2H, $J = 7,18\text{ Hz}$, CH_2); 6,53 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,03 (*dt*, 2H, $J = 2,67$ e $8,68\text{ Hz}$, H-Ar); 7,31 (*dt*, 2H, $J = 2,67$ e $8,68\text{ Hz}$, H-Ar); 7,36 (*t*, 1H, $J = 7,36\text{ Hz}$, H-Ar); 7,46 (*t*, 2H, $J = 7,69\text{ Hz}$, H-Ar); 7,65 (*d*, 2H, $J = 7,69\text{ Hz}$, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3 - d_3) δ (ppm): 168,1; 161,5; 143,2; 137,8; 131; 130,1; 128,4; 124,5; 119,9; 114,7; 103,8; 55,5; 44,7; 13,7.

4.9.4.30 – Dados físico químicos do composto (Z)-N-(4-(3-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)anilina (**5f**).



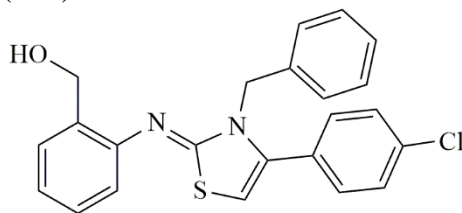
- Sólido bege; P.F. 219-220 °C; MM: 314,06 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,56min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,34 (*t*, 3H, *J* = 7,09 Hz, CH₃); 4,72 (*q*, 2H, *J* = 7,09 Hz, CH₂); 6,63 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,30 (*d*, 1H, *J* = 7,41 Hz, H-Ar); 7,37 (*t*, 1H, *J* = 7,41 Hz, H-Ar); 7,41 (*t*, 1H, *J* = 1,73 Hz, H-Ar); 7,44-7,50 (*m*, 3H, H-Ar); 7,56-7,57 (*m*, 1H, H-Ar); 7,64 (*d*, 2H, *J* = 7,82 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 168,6; 141,7; 137,9; 135,6; 131,4; 130,9; 130,4; 129,8; 129,5 (HMBC); 128,8; 127,8; 124,7; 105,4; 45,2; 13,9.

4.9.4.31 – Dados físico-químicos do composto (Z)-2-((3-benzil-4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)amina)fenil)metanol (**11a**).



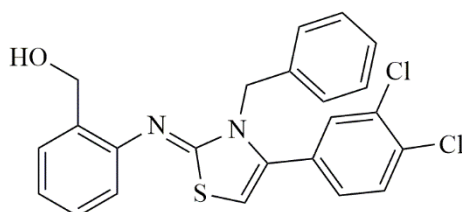
- Sólido laranja; P.F. 83-84 °C; MM: 372,12g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 5:5; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,30 min (pureza: 96%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,24 (*s*, 2H, CH₂); 4,85 (*s*, 1H, OH); 5,06 (*s*, 2H, CH₂); 6,29 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,96 (*d*, 1H, *J* = 7,97 Hz, H-Ar); 7,02-7,06 (*m*, 3H, H-Ar); 7,18-7,23 (*m*, 2H, H-Ar); 7,27-7,30 (*m*, 2H, H-Ar); 7,34-7,36 (*m*, 2H, H-Ar); 7,39-7,45 (*m*, 4H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 167,0; 159,1 (HMBC); 148,1 (HMBC); 144,5; 140,3 (HMBC); 137,7 (HMBC); 135,2 (HMBC); 134,4; 131,5 (HMBC); 130,2; 128,8; 128; 126,8 (HMBC); 123,1 (HMBC); 122,8 (HMBC); 118,2; 69,7; 27,8; 19,1.

4.9.4.32 – Dados físico-químicos do composto (Z)-2-((3-benzil-4-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)amina)fenil)metanol (**11b**).



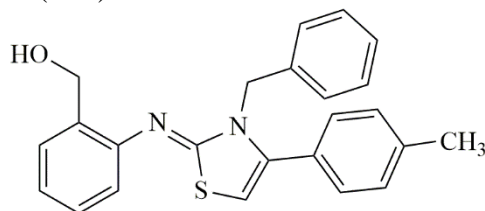
- Sólido branco; P.F.187-188°C; MM: 406,09g/mol; Rendimento: 93%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,31min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,36 (s, 2H, CH₂); 5,29 (s, 2H, CH₂); 6,93 (s, 1H, H-tiazol); 7,07 (d, 2H, J = 7,29 Hz, H-Ar); 7,28-7,31 (m, 1H, H-Ar); 7,33-7,35 (m, 3H, H-Ar); 7,37-7,42 (m, 4H, H-Ar); 7,51 (dt, 2H, J = 2,58 e 8,46 Hz, H-Ar); 7,59 (d, 1H, J = 7,50 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 140,6 (HMBC); 140; 138,4 (HMBC); 138,1; 135,4 (HMBC); 135 (HMBC); 134,9; 134,3; 131,1; 129,1 (HMBC); 128,8; 128,7; 128,3; 127,7; 126,6 (HMBC); 126,1; 58,7; 49,9.

4.9.4.33 - Dados físico-químicos do composto (Z)-2-((3-benzil-4-(3,4-diclorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)amina)fenil)metanol (**11c**).



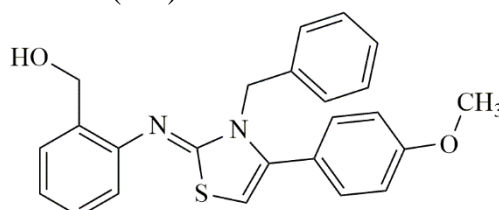
- Sólido branco; P.F. 204-205 °C; MM: 440,05g/mol; Rendimento: 97%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,70min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,38 (s, 2H, CH₂); 5,32 (s, 2H, CH₂); 7,04 (s, 1H, H-tiazol); 7,09 (d, 2H, J = 7,38 Hz, H-Ar); 7,29-7,32 (m, 1H, H-Ar); 7,34-7,37 (m, 4H, H-Ar); 7,42 (m, 2H, H-Ar); 7,61 (d, 2H, J = 2,09 Hz, H-Ar); 7,71 (d, 1H, J = 8,36 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 139,0; 133,3; 132,4; 131,9; 131,6; 131,4; 130,8; 129,9; 129,2; 128,96; 128,91; 128,6; 128,2; 128,1; 127,7; 127,5; 126,8; 126,7; 59,2; 49,8.

4.9.4.34 - Dados físico-químicos do composto (Z)-2-((3-benzil-4-(*p*-tolil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)amino)fenil)metanol (**11d**).



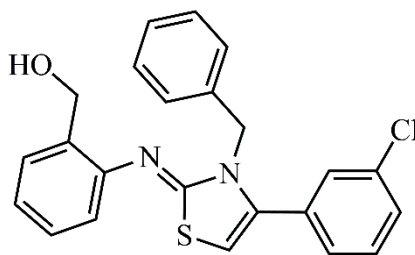
- Sólido amarelo; P.F. 90-91 °C; MM: 386,14 g/mol; Rendimento: 51%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,51min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,31 (s, 3H, CH₃); 4,23 (s, 2H, CH₂); 4,81 (s, 1H, OH); 5,04 (s, 2H, CH₂); 6,22 (s, 1H, H-tiazol); 6,94 (d, 1H, J = 7,84 Hz, H-Ar); 7,02 (t, 1H, J = 7,42 Hz, H-Ar); 7,06 (d, 2H, J = 7,32 Hz, H-Ar); 7,17-7,23 (m, 6H, H-Ar); 7,29 (t, 2H, J = 7,28 H-Ar); 7,42 (d, 1H, J = 7,65 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 147,7; 140,3; 139,2; 137,8; 135,3; 129,7; 128,9; 128,8; 128,5; 127,7; 127,4; 127,1; 126,7; 126,6; 123,1; 119,0; 96,5; 59,4; 48,3; 21,2.

4.9.4.35 - Dados físico-químicos do composto (Z)-2-((3-benzil-4-(4-metoxifenil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)amino)fenil)metanol (**11e**).



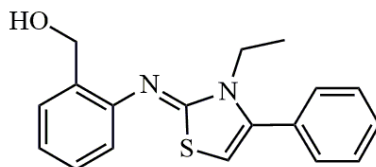
- Sólido amarelo; P.F. 123-124 °C; MM: 402,14g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,31min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,76 (s, 3H, OCH₃); 4,22 (s, 2H, CH₂); 4,83 (s, 1H, OH); 5,03 (s, 2H, CH₂); 6,19 (s, 1H, H-tiazol); 6,94-6,96 (m, 3H, H-Ar); 7,02 (t, 1H, J = 7,43 Hz, H-Ar); 7,06 (d, 2H, J = 7,29 Hz, H-Ar); 7,17-7,24 (m, 2H, H-Ar); 7,25-7,31 (m, 4H, H-Ar); 7,42 (d, 1H, J = 7,29 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 167; 160,2 (HMBC); 159,3 (HMBC); 148,1 (HMBC); 144,5; 140 (HMBC); 137,6 (HMBC); 135,7 (HMBC); 134,4; 130,2; 128,8; 128; 127,1 (HMBC); 123,4 (HMBC); 123,4 (HMBC); 118,2; 114,8; 70,6; 27,8; 19,1.

4.9.4.36 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-(2-((3-benzil-4-(3-clorofenil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)amino)fenil)metanol (**11f**).



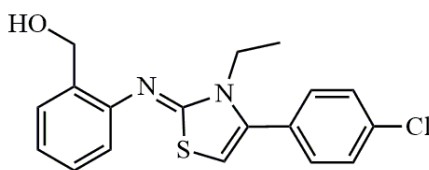
- Sólido bege; P.F. 187-188 °C; MM: 408,10 g/mol; Rendimento: 99%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,42min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 4,64 (*s*, 2H, CH₂); 5,90 (*s*, 2H, CH₂); 6,60 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,17 (*d*, 2H, *J* = 7,36 Hz, H-Ar); 7,24 (*d*, 1H, *J* = 7,36 Hz, H-Ar); 7,32-7,40 (*m*, 7H, H-Ar); 7,45 (*t*, 1H, *J* = 7,78 Hz, H-Ar); 7,50-7,54 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 142,4; 136,8; 135,4; 132,8; 131,2; 131,1; 130,6; 129,7; 129,6; 129,4; 129,2; 128,8; 127,6; 127,1; 124,6; 104,8; 61,2; 52,3.

4.9.4.37 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-(2-((3-etil-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12a**).



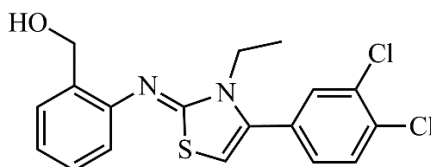
- Sólido marrom; P.F. 162-163 °C; MM: 310,11 g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 9:1; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,18min (pureza: 96%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,35 (*t*, 3H, *J* = 7,19 Hz, CH₃); 4,52 (*q*, 2H, *J* = 7,19 Hz, CH₂CH₃); 4,76 (*s*, 2H, CH₂); 6,59 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,38-7,45 (*m*, 5H, H-Ar); 7,52-7,55 (*m*, 2H, H-Ar); 7,57-7,60 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 168,8; 143,1; 137,6; 135,6; 131,4; 130,9; 129,7; 129,6; 129,4; 129,3; 128; 125,8; 104,8; 60,8; 44,4; 13,8.

4.9.4.38 – Dados físico químicos do composto (Z)-(2-((4-(4-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12b**).



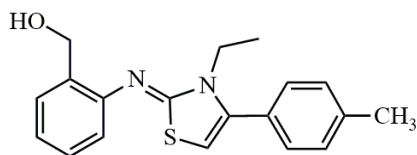
- Sólido bege; P.F. 173-174 °C; MM: 344,07 g/mol; Rendimento: 97%; Sistema: Hexano/AcOEt 9:1; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,31min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,34 (*t*, 3H, *J* = 6,86 Hz, CH₃); 4,5 (*q*, 2H, *J* = 6,86 Hz, CH₂CH₃); 4,76 (*s*, 2H, CH₂); 6,59 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,38-7,44 (*m*, 5H, H-Ar); 7,52 (*d*, 2H, *J* = 7,94 Hz, H-Ar); 7,58 (*d*, 1H, *J* = 7,37 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 169,4; 141,8; 137,7; 137,4; 135,6; 131,5; 131,1; 129,8; 129,7; 129,5; 126,4; 125,9; 105,3; 60,9; 44,5; 13,9.

4.9.4.39 – Dados físico químicos do composto (Z)-(2-((4-(3,4-diclorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12c**).



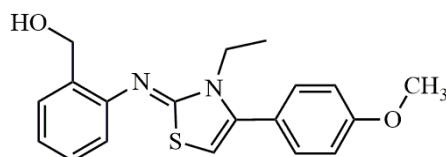
- Sólido branco; P.F. 205 – 206 °C; MM: 378,03 g/mol; Rendimento: 72 %; Sistema: Hexano/AcOEt; 9:1; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,55min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 1,21 (*t*, 3H, *J* = 7,21 Hz, CH₃); 4,05 (*q*, 2H, *J* = 7,21 Hz, CH₂); 4,57 (*s*, 2H, CH₂); 7,04 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,43 – 7,47 (*m*, 3H, H-Ar); 7,58 (*dd*, 1H, *J* = 1,99 e 8,29 Hz, H-Ar); 7,66 (*d*, 1H, *J* = 7,51 Hz, H-Ar); 7,86 (*d*, 1H, *J* = 8,29 Hz, H-Ar); 7,91 (*d*, 1H, *J* = 1,99 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 13,4; 42,6; 59,4; 106,6; 126; 129,2; 129,8; 130,4; 131,6; 132,2; 133,7; 139,1.

4.9.4.40 – Dados físico químicos do composto (Z)-(2-((3-etil-4-(*p*-tolil)thiazol-2(3H)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12d**).



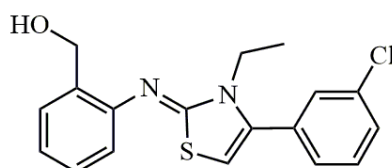
- Sólido amarelo; P.F. 176-177 °C; MM: 324,12 g/mol; Rendimento: 80%; Sistema: Hexano/AcOEt 9:1; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,96min (pureza: 97%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,36 (*t*, 3H, *J* = 7,20 Hz, CH₂CH₃); 2,4 (*s*, 3H, CH₃); 4,54 (*q*, 2H, *J* = 7,20 Hz, CH₂CH₃); 4,76 (*s*, 2H, CH₂); 6,53 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,31-7,35 (*m*, 4H, H-Ar); 7,38-7,42 (*m*, 3H, H-Ar); 7,58-7,60 (*m*, 1H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 168,7; 143,3; 141,4; 137,6; 135,6; 131,5; 130; 129,7; 129,5; 125,7; 125; 118,8; 104,3; 60,8; 44,4; 21,4; 13,8.

4.9.4.41 – Dados físico químicos do composto (Z)-2-((3-etil-4-(4-metoxifenil)thiazol-2(3H)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12e**).



- Sólido amarelo; P.F. 164-165 °C; MM: 340,12 g/mol; Rendimento: 92%; Sistema: Hexano/AcOEt 9:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,53min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,37 (*t*, 3H, *J* = 7,07 Hz, CH₂CH₃); 3,89 (*s*, 3H, OCH₃); 4,52 (*q*, 2H, *J* = 7,07 Hz, CH₂CH₃); 4,75 (*s*, 2H, CH₂); 6,5 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,03 (*d*, 2H, *J* = 8,38 Hz, H-Ar); 7,35-7,42 (*m*, 5H, H-Ar); 7,58 (*d*, 1H, *J* = 7,58 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 168,5; 161,5; 143,1; 137,6; 135,6; 131,5; 131,1; 129,7; 129,4; 125,7; 119,9; 114,7; 104,3; 60,8; 55,5; 44,3; 13,8.

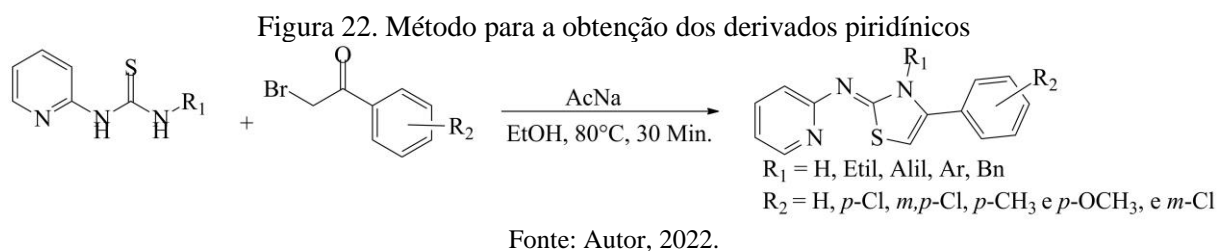
4.9.4.42 – Dados físico químicos do composto (Z)-2-((4-(3-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3H)-ilideno)amino)fenil)metanol (**12f**).



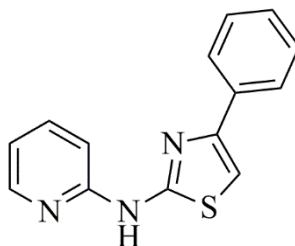
- Sólido branco; P.F. 180-181 °C; MM: 344,85 g/mol; Rendimento: 90%; Sistema: Hexano/AcOEt 9:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,27 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,37 (*t*, 3H, *J* = 7,21 Hz, CH₃); 4,54 (*q*, 2H, *J* = 7,21Hz, CH₂CH₃); 4,77 (*s*, 2H, CH₂); 6,6 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,38-7,44 (*m*, 4H, H-Ar); 7,48-7,52 (*m*, 2H, H-Ar); 7,57-7,61 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 168,5; 141,5; 137,7; 135,6; 135,4; 131,5; 131,2; 130,6; 129,9; 129,7; 129,6; 129,5; 127,8; 125,8; 105,4; 60,9; 44,6; 13,9.

4.9.5 Método para a obtenção dos derivados piridínicos.

Em um tubo de ensaio, adicionou-se quantidades equimolares da tiourea e α-bromoacetofenona (1 mmol), seguido de 1,5 mmol de acetato de sódio, em 5mL de EtOH, sob agitação magnética durante uma hora (Acompanhado por CCD). Em seguida o solvente da reação foi evaporado por pressão reduzida e ao precipitado foi feita uma extração líquido-líquido com AcOEt/água, onde foi coletada a fase orgânica, tratada com NaSO₄ evaporada e o precipitado lavado com EtOH (Figura 22). Para os compostos N-fenil substituídos, a reação foi realizada na ausência de acetato de sódio, e purificada por recristalização MeOH/água.



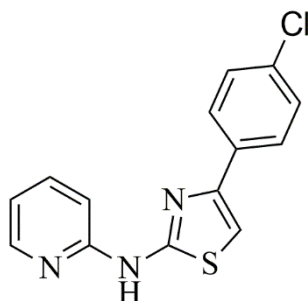
4.9.5.1 – Dados físico-químicos do composto *N*-(4-feniltiazol-2-il)piridin-2-amina (**5a**)



- Sólido amarelo; P.F. 169-179 °C; MM: 253,07 g/mol; Rendimento: 55%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.

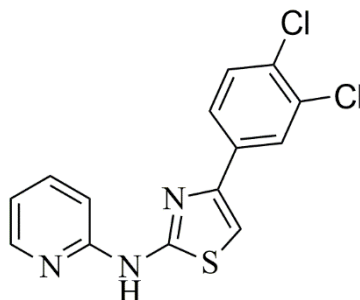
- HPLC-UV: 8,63 min (pureza: 95%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,93 (*ddd*, 1H, $J = 0,84, 5,01$ e $2,16$ Hz, H-piridina); 7,1 (*dt*, 1H, $J = 0,84$ e $8,42$ Hz, H-piridina); 7,29 (*tt*, 1H, $J = 7,33$ e $1,14$ Hz, H-Ar); 7,39-7,43 (*m*, 3H, H-Ar e H-tiazol); 7,70 (*ddd*, 1H, $J = 1,91, 6,84$ e $1,97$ Hz, H-piridina); 7,89-7,92 (*m*, 2H, H-Ar); 8,30 (*ddd*, 1H, $J = 0,72, 1,92$ e $3,12$ Hz, H-piridina); 11,39 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159,9; 152,3; 149,0; 146,9; 138,3; 135,2; 129,0; 127,9; 126,0; 116,4; 111,2; 106,3.

4.9.5.2 Dados físico-químicos do composto *N*-(4-(4-clorofenil)tiazol-2-il)piridin-2-amina (**5b**).



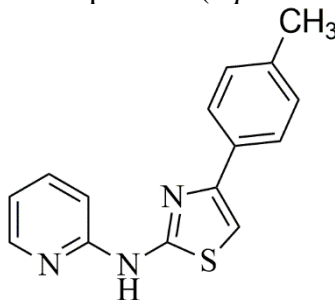
- Sólido branco; P.F. 186-187 °C; MM: 287,03 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,4
- HPLC-UV: 3,90 min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 6,93 (*ddd*, 1H, $J = 0,87, 5,04$ e $2,07$ Hz, H-piridina); 7,09 (*dt*, 1H, $J = 0,87$ e $8,37$ Hz, H-piridina); 7,43-7,49 (*m*, 3H, H-Ar e H-tiazol); 7,71 (*ddd*, 1H, $J = 1,89, 6,80$ e $2,04$ Hz, H-piridina); 7,92 (*dt*, 2H, $J = 2,58$ e $8,66$ Hz, H-Ar); 8,30 (*ddd*, 1H, $J = 0,76, 1,99$ e $3,12$ Hz, H-piridina); 11,42 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160,1; 152,2; 147,8; 146,9; 138,4; 134,1; 132,3; 129,1; 127,7; 116,5; 111,2; 107,1.

4.9.5.3 – Dados físico-químicos do composto *N*-(4-(3,4-diclorofenil)tiazol-2-il)piridin-2-amina (**5c**).



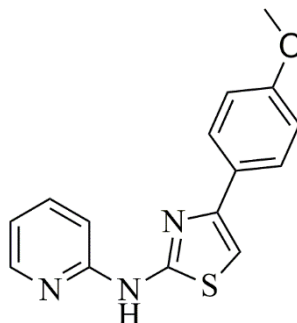
- Sólido branco; P.F. 167-168 °C; MM: 320,99 g/mol; Rendimento: 75%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,26 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,94 (*ddd*, 1H, *J* = 0,92, 5,08 e 2,14 Hz, H-piridina); 7,09 (*d*, 1H, *J* = 8,32 Hz, H-piridina); 7,64 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,68 (*d*, 1H, *J* = 8,38 Hz, H-Ar); 7,72 (*ddd*, 1H, *J* = 1,94, 6,79 e 1,99 Hz, H-piridina); 7,89 (*dd*, 1H, *J* = 2,02 e 8,49 Hz, H-Ar); 8,15 (*d*, 1H, *J* = 2,02 Hz, H-Ar); 8,31 (*d*, 1H, *J* = 5,13 Hz, H-piridina); 11,46 (*s*, 1H, NH)
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,3; 151,8; 146,5; 146,2; 139; 135,6; 131,9; 131,3; 130,1; 127,7; 126,1; 116,7; 111,6; 108,7.

4.9.5.4. – Dados físico-químicos do composto *N*-(4-*p*-toliltiazol-2-il)piridin-2-amina (**5d**)



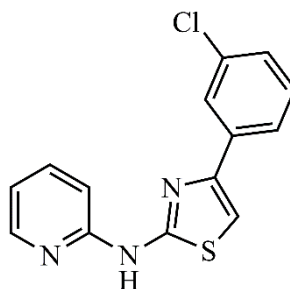
- Sólido amarelo; P.F. 137-138 °C; MM: 267,08 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,87 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,30 (*s*, 3H, CH₃); 6,92 (*ddd*, 1H, *J* = 1,0, 5,05 e 2,17 Hz, H-piridina); 7,09 (*dt*, 1H, *J* = 0,89 e 8,35 Hz, H-piridina); 7,22 (*d*, 2H, *J* = 7,91 Hz, H-Ar); 7,33 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,70 (*ddd*, 1H, *J* = 1,79, 6,78 e 1,99 Hz, H-piridina); 7,79 (*d*, 2H, *J* = 7,91 Hz, H-Ar); 8,30 (*ddd*, 1H, *J* = 0,77, 2,0 e 3,04 Hz, H-piridina); 11,37 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,8; 152,3; 149,1; 146,9; 138,3; 137,1; 132,6; 129,6; 125,9; 116,3; 111,2; 105,4; 21,6.

4.9.5.5 – Dados físico-químicos do composto *N*-(4-(4-metoxifenil)tiazol-2-il)piridin-2-amina (**5e**)



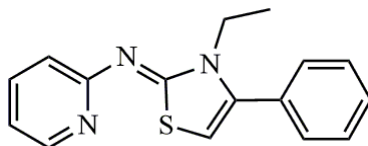
- Sólido amarelo; P.F. 188-189 °C; MM: 283,08 g/mol; Rendimento: 50 %; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,41min (pureza: 98%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,78 (*s*, 3H, OCH₃); 6,91 (*ddd*, 1H, *J* = 0,84, 5,07 e 2,22 Hz, H-piridina); 6,97 (*dt*, 2H, *J* = 8,90 e 2,96 Hz, H-Ar); 7,08 (*d*, 1H, *J* = 8,31Hz, H-Ar); 7,25 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,70 (*ddd*, 1H, *J* = 1,86, 6,80 e 2,04 Hz, H-piridina); 7,83 (*dt*, 2H, *J* = 8,90 e 2,96 Hz, H-Ar); 8,30 (*ddd*, 1H, *J* = 0,72, 1,82 e 3,10 Hz, H-piridina); 11,37 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,2; 158,6; 151,7; 148,3; 146,3; 137,1; 127,5; 126,7; 115,8; 113,8; 110,6; 103,7; 54,9.

4.9.5.6 – Dados físico-químicos do composto 4-(3-clorofenil)-*N*-(piridin-2-il)tiazol-2-amina (**5f**).



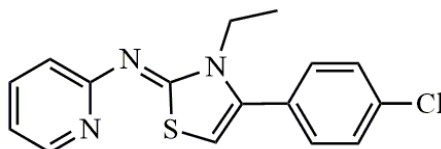
- Sólido amarelo; P.F. 257-258 °C; MM: 2,87,02 g/mol; Rendimento: 99%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,75min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 7,4-7,44 (*m*, 2H, H-Ar); 7,46-7,49 (*m*, 2H, H-Ar); 7,67 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,96 (*dt*, 1H, *J* = 1,38 e 7,84 Hz, H-piridina); 8,05 (*t*, 1H, *J* = 1,82 Hz, H-piridina); 8,31 (*ddt*, 1H, *J* = 1,64, 8,04 e 1,53 Hz, H-piridina); 8,53 (*m*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 139,2; 136,9; 134,5; 132,9; 129,8; 129,5; 129,3; 129,1; 128,5; 127,3; 127,1; 127; 123,5; 121,6.

4.9.5.7 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**7a**).



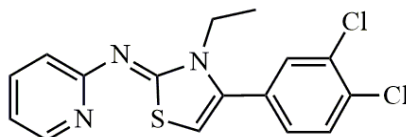
- Sólido amarelo; P.F. 219-220 °C; MM: 281,09 g/mol; Rendimento: 96%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,94min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,33-1,34 (*m*, 3H, CH₃); 4,99 (*m*, 2H, CH₂); 6,83 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,16 (*s*, 1H, H-Ar); 7,40-7,58 (*m*, 5H, H-Ar); 7,84 (*s*, 1H, H-Ar); 8,41-8,68 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 160,3; 149,1; 144,8; 141,4; 138,9; 130,7; 129,6; 129,3; 128,3; 120,2; 115,5; 110,4; 45,2; 14,7.

4.9.5.8 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(4-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**7b**).



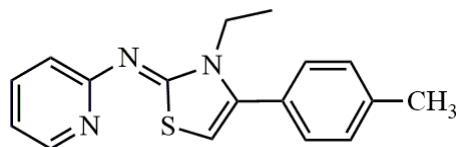
- Sólido amarelo; P.F. 118-119 °C; MM: 315,05 g/mol; Rendimento: 49%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 4,14min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,25 (*t*, 3H, *J* = 7,10 Hz, CH₃); 4,10 (*q*, 2H, *J* = 7,10 Hz, CH₂); 6,17 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,85 (*t*, 1H, *J* = 6,18 Hz, H-piridina); 7,12 (*d*, 1H, *J* = 8,23 Hz, H-piridina); 7,36 (*dt*, 2H, *J* = 2,31 e 8,43 Hz, H-Ar); 7,46 (*dt*, 2H, *J* = 2,31 e 8,43 Hz, H-Ar); 7,59-7,62 (*m*, 1H, H-piridina); 8,4-8,46 (*m*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 159,3; 158,8; 145,8; 137,2; 136,9; 135,2; 130,54; 130,50; 128,9; 119,5; 115,9; 103,4; 41,0; 13,9.

4.9.5.9 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(3,4-diclorofenil)-3-etiltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridin-2-amino (**7c**).



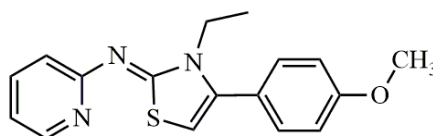
- Sólido amarelo; P.F. 151 – 153 °C; MM: 349,02 g/mol; Rendimento: 80 %; Sistema: Hexano/AcOEt; 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 4,59min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,36 (*t*, 3H, *J* = 7,17 Hz, CH₃); 5,02 (*m*, 2H, CH₂); 6,92 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,18 (*t*, 1H, *J* = 5,98 Hz, H-piridina); 7,28 – 7,30 (*m*, 1H, H-piridina); 7,55 (*d*, 1H, *J* = 1,67 Hz, H-Ar); 7,65 (*d*, 1H, *J* = 8,17 Hz, H-piridina); 7,84 (*s*, 1H, H-Ar); 8,40 – 8,41 (*m*, 1H, H-piridina); 8,68 (*s*, 1H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 14,2; 45,5; 111,8; 115,6; 120,5; 128; 128,7; 131,4; 131,5; 133; 133,9; 135,7; 138,8; 144,8; 148,7; 160.

4.9.5.10 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-(*p*-tolil)thiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**7d**).



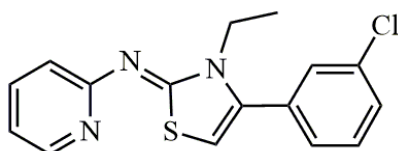
- Sólido amarelo; P.F. 204-205 °C; MM: 295,11 g/mol; Rendimento: 99%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,21min (pureza: 95%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,34 (*s*, 3H, CH₂CH₃); 2,47 (*s*, 3H, CH₃); 5,0 (*s*, 2H, CH₂); 6,8 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,18-7,35 (*m*, 5H, H-Ar e H-piridina); 7,83 (*m*, 1H, H-piridina); 8,41 (*m*, 1H, H-piridina); 8,7 (*m*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 159,8; 149,9; 144,9; 141,6; 141,2; 138,8; 129,9; 129,6; 125,3; 120,1; 115,6; 110,1; 45,3; 21,4; 14,2.

4.9.5.11 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-etil-4-(4-metoxifenil)thiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**7e**).



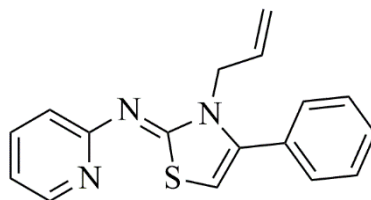
- Sólido amarelo; P.F. 210-211 °C; MM: 311,10 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,87min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,34 (*t*, 3H, *J* = 6,58 Hz, CH₂CH₃); 3,9 (*s*, 3H, OCH₃); 4,99 (*m*, 2H, CH₂); 6,79 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,04 (*d*, 2H, *J* = 8,48 Hz, H-Ar); 7,17 (*t*, 1H, *J* = 5,83 Hz, H-piridina); 7,32 (*d*, 2H, *J* = 8,48 Hz, H-Ar); 7,82 (*t*, 1H, *J* = 7,63 Hz, H-piridina); 8,40 (*d*, 1H, *J* = 5,05 Hz, H-piridina); 8,69 (*d*, 1H, *J* = 7,19 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 161,1; 159,7; 149,1; 144,9; 141,4; 138,8; 131,1; 120,1; 115,6; 114,7; 110; 55,5; 45,2; 14,1.

4.9.5.12 – Dados físico químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(3-clorofenil)-3-etiltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**7f**).



- Sólido amarelo; P.F. 231-232 °C; MM: 315,05 g/mol; Rendimento: 97%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,04min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 1,35 (*m*, 3H, CH₃); 4,92 (*m*, 2H, CH₂); 6,84 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,18 (*s*, 1H, H-piridina); 7,31-7,57 (*m*, 5H, H-Ar e H-piridina); 7,87 (*s*, 1H, H-piridina); 8,41 (*s*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃-d₃) δ (ppm): 160,6; 153,8; 149,6; 143,9; 139,8; 135,4; 131,0; 130,6; 130,1; 129,7; 127,7; 119,5; 115,4; 110; 45; 14,2.

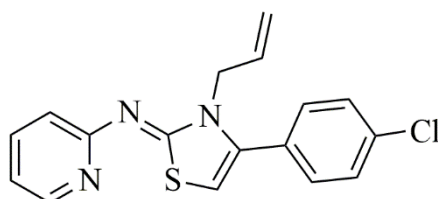
4.9.5.13 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-alil-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**8a**).



- Sólido amarelo; P.F. 48-49 °C; MM: 293,09 g/mol; Rendimento: 54%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 4,04 min (pureza: 99%)

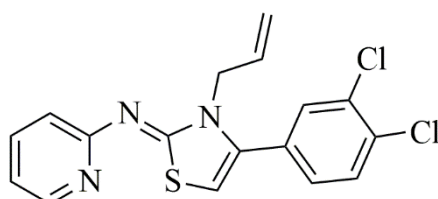
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,65-4,67 (*m*, 2H, CH_2); 4,77 (*dq*, 1H, $J = 1,54$ e 17,22 Hz, $\text{CH}=\underline{\text{CH}_2\text{a}}$); 5,03 (*dq*, 1H, $J = 1,54$ e 10,41 Hz, $\text{CH}=\underline{\text{CH}_2\text{b}}$); 5,79-5,89 (*m*, 1H, CH); 6,58 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,89 (*ddd*, 1H, $J = 1,05$, 4,91 e 2,10 Hz, H-piridina); 7,0 (*dt*, 1H, $J = 1,01$ e 8,10 Hz, H-piridina); 7,45-7,50 (*m*, 5H, H-Ar); 7,64 (*ddd*, 1H, $J = 2,10$, 6,62, e 2,04 Hz, H-piridina); 8,37 (*ddd*, 1H, $J = 0,88$, 2,04, e 2,85 Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159,3; 158,5; 146,3; 138,6; 137,7; 133,6; 131,6; 129,6; 129,5; 129,0; 119,7; 116,6; 116,4; 103,7; 47,9.

4.9.5.14 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-(4-clorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**8b**).



- Sólido amarelo; P.F. 62-63 °C; MM: 327,06 g/mol; Rendimento: 61%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,4.
- HPLC-UV: 4,23 min (pureza: 98%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,65-4,66 (*m*, 2H, CH_2); 4,77 (*dq*, 1H, $J = 1,45$ e 17,29 Hz, $\text{CH}=\underline{\text{CH}_2\text{a}}$); 5,05 (*dq*, 1H, $J = 1,40$ e 10,42 Hz, $\text{CH}=\underline{\text{CH}_2\text{b}}$); 5,80-5,87 (*m*, 1H, CH); 6,64 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,89 (*ddd*, 1H, $J = 0,97$, 4,92 e 2,15 Hz, H-piridina); 7,0 (*dt*, 1H, $J = 8,2$ e 0,89 Hz, H-piridina); 7,5 (*dt*, 2H, $J = 2,32$ e 8,65 Hz, H-Ar); 7,55 (*dt*, 2H, $J = 2,32$ e 8,65 Hz H-Ar); 7,65 (*ddd*, 1H, $J = 1,98$, 6,51 e 2,09 Hz, H-piridina); 8,37 (*ddd*, 1H, $J = 0,76$, 2,04 e 3,99 Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 47,9; 104,4; 116,5; 116,6; 119,7; 129,1; 130,4; 131,3; 133,6; 134,4; 137,3; 137,7; 146,3; 158,4; 159,2.

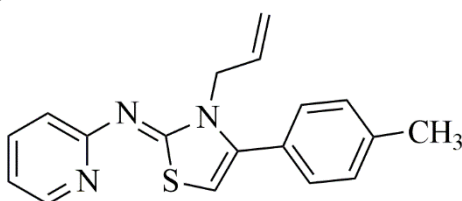
4.9.5.15 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-(3,4-diclorofenil)tiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**8c**).



- Sólido amarelo; P.F. 159-160 °C; MM: 361,02g/mol; Rendimento: 81%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f : 0.6.

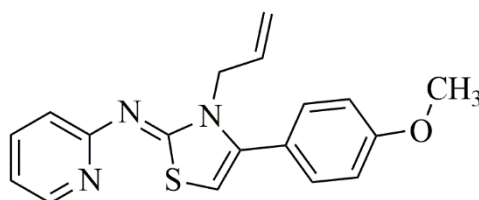
- HPLC-UV: 3,82min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,78-3,85 (*m*, 2H, CH₂); 4,91-4,95 (*m*, 2H, CH=CH₂); 5,77-5,58 (*m*, 1H, CH); 6,94-6,97 (*m*, 2H, H-piridina); 7,14 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,48 (*dd*, 1H, *J* = 2,19 e 8,51 Hz, H-Ar); 7,65-7,68 (*m*, 2H, H-Ar e H-piridina); 7,73 (*d*, 1H, *J* = 2,19Hz, H-Ar); 8,29-8,31 (*m*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,9; 159,7; 146,8; 144,1; 138,1; 135; 131,37; 131,34; 130,8; 129,1; 127,3; 119,7; 118,3; 116,6; 91,7; 47; 42,6.

4.9.5.16 – Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-(*p*-tolil)tiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**8d**).



- Sólido amarelo; P.F. 55-56 °C; MM: 307,41 g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 4,23 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,36 (*s*, 3H, CH₃); 4,63-4,65 (*m*, 1H, CH₂); 4,78 (*dq*, 1H, *J* = 1,6 Hz, CH=CH₂a); 5,05 (*dq*, 1H, *J* = 1,5 Hz, CH=CH₂b); 5,79-5,88 (*m*, 1H, CH); 6,53 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,88 (*ddq*, 1H, *J* = 1,0 Hz, H-piridina); 6,99 (*dt*, 1H, *J* = 1,0 Hz, H-piridina); 7,27-7,36 (*m*, 4H, H-Ar); 7,64 (*ddq*, 1H, *J* = 2,0 e 1,0 Hz, H-piridina); 8,36-8,38 (*m*, 1H, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 21,3; 47,9; 103,3; 116,4; 116,5; 119,7; 128,7; 129,9; 129,6; 133,7; 137,7; 138,6; 139,1; 146,3; 158,5; 159,3.

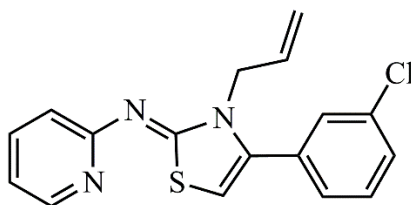
4.9.5.17 – Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3-alil-4-(4-metoxifenil)tiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**8e**).



- Sólido Amarelo; P.F. 85-86 °C; MM: 323,11g/mol; Rendimento: 59%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,4.
- HPLC-UV: 3,90 min (pureza: 97%).

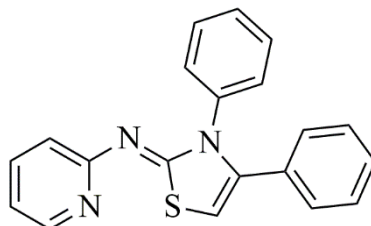
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3,80 (*s*, 3H, OCH₃); 4,63-7,64 (*m*, 2H, CH₂); 4,77 (*dq*, 1H, $J = 1,49$ e 17,27 Hz, CH=CH_{2a}); 5,05 (*dq*, 1H, $J = 1,49$ e 10,42 Hz, CH=CH_{2b}); 5,80-5,89 (*m*, 1H, CH); 6,50 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,87 (*ddd*, 1H, $J = 1,0$, 4,86 e 2,29 Hz, H-piridina); 6,99 (*dt*, 1H, $J = 0,98$ e 8,21 Hz, H-piridina); 7,03 (*dt*, 2H, $J = 2,91$ e 8,78 Hz, H-Ar); 7,39 (*dt*, 2H, $J = 2,99$ e 8,74 Hz, H-Ar); 7,63 (*ddd*, 1H, $J = 1,99$, 6,68 e 2,14 Hz, H-piridina); 8,36 (*ddd*, 1H, $J = 0,69$, 1,98 e 3,01 Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160,2; 159,3; 158,6; 146,3; 138,4; 137,6; 133,7; 130,9; 123,7; 119,7; 116,5; 116,3; 114,4; 103,0; 55,7; 47,9.

4.9.5.18 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-3-alil-4-(3-clorofenil)-2-(piridina-2-ilmetileno)-2,3-dihidrotiazole (**8f**).



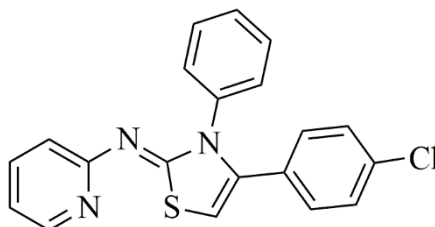
- Sólido amarelo; P.F. 179-180 °C; MM: 327,05 g/mol; Rendimento: 51%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2 R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,98min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 4,98 (*d*, 1H, $J = 16,97$ Hz, CH_{2a}); 5,28 (*d*, 1H, $J = 10,03$ Hz, CH_{2b}); 5,68 – 5,69 (*m*, 2H, CHCH₂); 5,92 – 5,97 (*m*, 1H, CH); 6,91 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,16 (*t*, 1H, $J = 6,65$ Hz, H-piridina); 7,30 (*d*, 1H, $J = 7,65$ Hz, H-piridina); 7,40 (*t*, 1H, $J = 1,84$ Hz, H-Ar); 7,46 (*t*, 1H, $J = 7,84$ Hz, H-Ar); 7,54 (*d*, 1H, $J = 8,27$ Hz, H-piridina); 7,83 (*s*, 1H, H-Ar); 8,39 – 8,40 (*m*, 1H, H-piridina); 8,57 (*s*, 1H, H-Ar);
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 51,3; 111; 115,5; 118,3; 120,4; 127,7; 129,7; 129,9; 130; 130,4; 131; 135,2; 138,9; 140,2; 144,9; 148,8; 160,6.

4.9.5.19 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(3,4-difeniltiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**9a**).



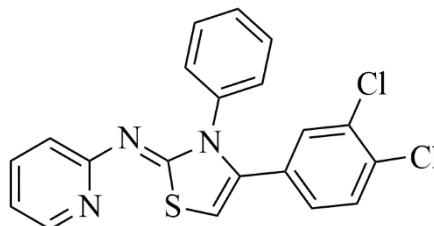
- Sólido amarelo; P.F. 135-136 °C; MM: 229,01 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 8,12 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,75-6,78 (*m*, 2H, H-piridina e H-tiazol); 6,89 (*ddd*, 1H, *J* = 1,02, 4,97 e 2,7 Hz, H-piridina); 7,15-7,18 (*m*, 2H, H-Ar); 7,21-7,24 (*m*, 3H, H-Ar); 7,26-7,28 (*m*, 2H, H-Ar); 7,30-7,34 (*m*, 1H, H-Ar); 7,36-7,40 (*m*, 2H, H-Ar); 7,59 (*ddq*, 1H, *J* = 2,0, 6,68 e 2,04 Hz, H-piridina); 8,39 (*ddd*, 1H, *J* = 0,84, 2,04 e 3,04 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,4; 158,3; 146,3; 138,7; 138,1; 137,1; 131,6; 129,7; 129,2; 129,0; 128,7; 128,6; 128,3; 119,9; 116,8; 104,7.

4.9.5.20 - Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(4-(4-clorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**9b**).



- Sólido amarelo; P.F. 205-206 °C; MM: 363,06 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,93 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ(ppm): 6,78 (*d*, 1H, *J* = 7,97 Hz, H-tiazol); 6,85 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,91 (*t*, 1H, *J* = 6,06 Hz, H-piridina); 7,17 (*d*, 2H, *J* = 8,53 Hz, H-Ar); 7,29 (*t*, 4H, *J* = 8,53 Hz, H-Ar); 7,35-7,36 (*m*, 1H, H-Ar); 7,40 (*t*, 2H, *J* = 7,39Hz, H-Ar); 7,60 (*t*, 1H, *J* = 7,83 Hz, H-piridina); 8,36 (*d*, 1H, *J* = 5,06 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,4; 158,1; 146,2; 138,5; 137,8; 136,9; 133,5; 130,8; 130,5; 129,7; 129,3; 128,6; 128,5; 119,8; 117; 105,5.

4.9.5.21 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(4-(3,4-diclorofenil)-3-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**9c**).



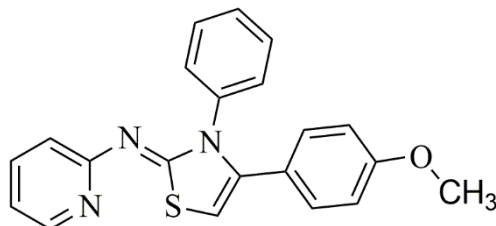
- Sólido amarelo; P.F. 182-183 °C; MM: 397,02 g/mol; Rendimento: 80 %; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f:0,5.
- HPLC-UV: 3,61 min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,79 (*d*, 1H, *J* = 8,19 Hz, H-piridina); 6,91 (*ddd*, 1H, *J* = 1,03, 4,94, e 2,18 Hz, H-piridina); 6,98 (*s*, 1H, H-tiazol); 7,10 (*dd*, 1H, *J* = 2,13 e 8,50 Hz, H-Ar); 7,32-7,33 (*m*, 2H, H-Ar); 7,37 (*tt*, 1H, *J* = 1,28 e 7,46 Hz, H-Ar); 7,41-7,45 (*m*, 3H, H-Ar); 7,5 (*d*, 1H, *J* = 8,50 Hz, H-Ar); 7,60 (*ddd*, 1H, *J* = 2,0, 6,54, e 2,09 Hz, H-piridina), 8,40 (*ddd*, 1H, *J* = 0,82, 2,02, e 3,03 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,4; 158,1; 146,2; 138,5; 137,8; 135,6; 132,1; 131,4; 131,3; 130,8; 130,7; 129,7; 129,3; 128,6; 128,5; 119,8; 117; 105,5.

4.9.5.22 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-fenil-4-(*p*-tolil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**9d**).



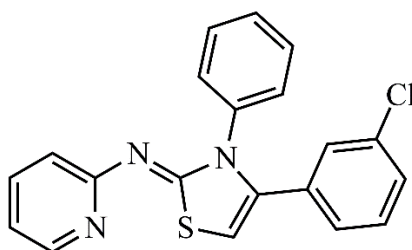
- Sólido amarelo; P.F. 133-134 °C; MM: 343,11 g/mol; Rendimento: 40%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,46 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,23 (*s*, 3H, CH₃); 6,64 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,76 (*d*, 1H, *J* = 8,14 Hz, H-piridina); 6,86-6,89 (*m*, 1H, H-piridina); 7,01-7,07 (*m*, 4H, H-Ar); 7,25 (*d*, 2H, *J* = 7,22 Hz, H-Ar); 7,30-7,33 (*m*, 1H, H-Ar); 7,36-7,40 (*m*, 2H, H-Ar); 7,57 (*ddd*, 1H, *J* = 1,97, 6,92, e 1,09 Hz, H-piridina); 8,38 (*ddd*, 1H, *J* = 1,88, 1,01 e 4,04 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 21,0; 103,9; 116,7; 119,8; 128,2; 128,92; 128,96; 129,0; 129,1; 129,7; 137,5; 138,1; 138,3; 139,0; 146,2; 158,6; 160,6.

4.9.5.23 – Dados físico-químicos do composto (Z)-N-(4-(4-metoxifenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)piridina-2-amina (**9e**).



- Sólido amarelo; P.F. 184-185 °C; MM: 359,11 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 2,99 min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,68 (s, 3H, OCH₃); 6,67 (s, 1H, H-tiazol); 6,75 (dt, 1H, J = 0,92 e 8,16 Hz, H-piridina); 6,77 (dt, 2H, J = 3,02 e 8,88 Hz, H-Ar); 6,88 (ddd, 1H, J = 1,12, 4,95 e 2,16 Hz, H-piridina); 7,07 (dt, 2H, J = 3,02 e 8,88 Hz, H-Ar); 7,25-7,278 (m, 2H, H-Ar); 7,33 (tt, 1H, J = 1,23 e 7,45 Hz, H-Ar); 7,38 -7,40 (m, 2H, H-Ar); 7,58 (ddd, 1H, J = 2,01, 6,68 e 2,0 Hz, H-piridina); 8,38 (ddd, 1H, J = 0,81, 2,0 e 3,01 Hz, H-piridina).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 159,2; 158,6; 151,7; 148,3; 146,3; 146,2 (HSQC); 137,7; 130,6 (HSQC); 127,5; 126,7; 123,8 (HSQC); 113,8; 110,6; 103,7; 54,9.

4.9.5.24 – Dados físico-químicos do (Z)-N-(4-(3-clorofenil)-3-feniltiazol-2(3H)-ilideno)piridin-2-amina (**9f**).

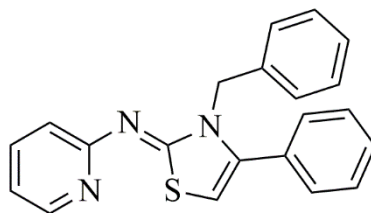


- Sólido amarelo; P.F. 138-139 °C; MM: 363,05 g/mol; Rendimento: 74%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2 R_f: 0,6.
- HPLC-UV: 3,62min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 6,44 (s, 1H, H-tiazol); 6,88 (ddd, 1H, J = 0,86, 5,06 e 2,33 Hz, H-piridina); 6,93 (dt, 1H, J = 1,25 e 7,66 Hz, H-piridina); 7,02 (d, 1H, J = 7,79 Hz, H-Ar); 7,11 (t, 1H, J = 7,89 Hz, H-Ar); 7,19 (t, 1H, J = 1,75 Hz, H-Ar); 7,21-7,22 (m, 1H, H-Ar); 7,27-7,29 (m, 2H, H-Ar); 7,34-7,36 (m, 1H, H-Ar);

7,39-7,41 (*m*, 2H, H-Ar); 7,55-7,58 (*m*, 1H, H-piridina); 8,46 (*ddd*, 1H, $J = 0,72, 2,12$ e $3,07$ Hz, H-piridina).

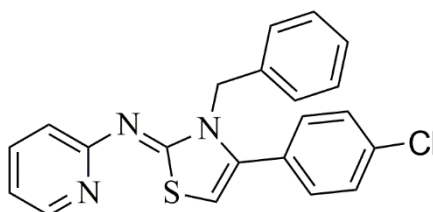
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160,2; 158; 145,5; 137,9; 137,2; 137; 134; 133,2; 129,3; 129; 128,9; 128,5; 128,3; 128; 126,6; 120; 116,7; 104,9.

4.9.5.25 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-feniltiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**10a**).



- Sólido Amarelo; P.F. 113-114 °C; MM: 343,11 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 4,14 min (pureza: 98%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 5,33 (*s*, 2H, CH_2); 6,63 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,90 (*ddd*, 1H, $J = 1,02, 5,05$ e $2,08$ Hz, H-piridina); 6,93-6,96 (*m*, 3H, H-Ar e H-piridina); 7,15-7,24 (*m*, 3H, H-Ar); 7,33-7,36 (*m*, 2H, H-Ar); 7,39-7,46 (*m*, 3H, H-Ar) 7,63 (*ddd*, 1H, $J = 2,01, 6,56$ e $2,03$ Hz, H-piridina); 8,39 (*ddd*, 1H, $J = 0,78, 2,03$ e $5,05$ Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 48,7; 104,1; 116,5; 119,7; 126,9; 127,4; 128,8; 129,0; 129,53; 129,58; 131,5; 137,7; 137,8; 138,6; 146,3; 158,4; 159,8.

4.9.5.26 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(4-clorofenil)thiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**10b**).

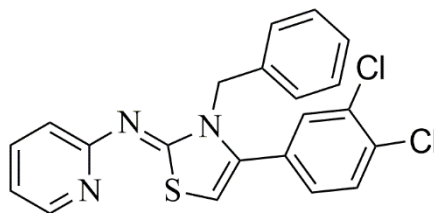


- Sólido Amarelo; P.F. 171-172 °C; MM: 337,08 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 4,30 min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 5,33 (*s*, 2H, CH_2); 6,66 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,90 (*ddd*, 1H, $J = 0,98, 4,95$ e $2,28$ Hz, H-piridina); 6,93-6,98 (*m*, 3H, H-Ar e H-piridina); 7,17-7,24 (*m*, 3H; H-Ar); 7,36 (*dt*, 2H, $J = 2,52$ e $8,49$ Hz, H-Ar); 7,46 (*dt*,

2H, $J = 2,52$ e $8,49$ Hz, H-Ar) 7,63 (*ddd*, 1H, $J = 2,0$, $6,52$ e $2,08$ Hz, H-piridina); 8,38 (*ddd*, 1H, $J = 0,69$, $2,08$ e $2,91$ Hz, H-piridina).

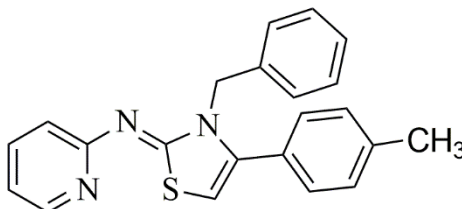
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 48,6; 104,8; 116,6; 119,7; 126,8; 127,5; 128,8; 129,1; 130,4; 131,3; 134,3; 137,3; 137,6; 137,8; 143,3; 158,4; 159,8.

4.9.5.27 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(3,4-diclorofenil)thiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**10c**).



- Sólido amarelo; P.F. 126-127 °C; MM: 411,04 g/mol; Rendimento: 49%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,4.
- HPLC-UV: 8,26 min (pureza: 97%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 5,34 (*s*, 2H, CH_2), 6,76 (*s*, 1H, H-thiazol); 6,91 (*ddd*, 1H, $J = 1,02$, $4,97$ e $2,10$ Hz, H-piridina); 6,94-6,99 (*m*, 3H, H-Ar e H-piridina); 7,17-7,26 (*m*, 3H, H-Ar); 7,32 (*dd*, 1H, $J = 2,05$ e $8,36$ Hz, H-Ar); 7,57 (*d*, 1H, $J = 2,05$ Hz, H-Ar); 7,62-7,66 (*m*, 2H, H-Ar e H-piridina); 8,39 (*ddd*, 1H, $J = 0,84$, $2,05$ e $2,97$ Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159,7; 158,3; 146,3; 137,8; 137,6; 136,1; 132,4; 132,0; 131,7; 131,3; 131,1; 129,6; 128,9; 127,5; 126,8; 119,8; 116,7; 105,8; 48,8.

4.9.5.28 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(*p*-tolil)thiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**10d**).

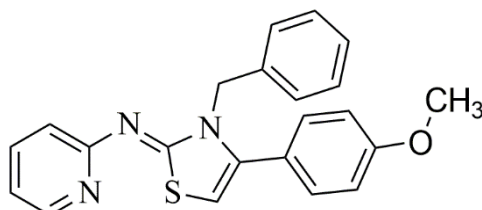


- Sólido Amarelo; P.F. 158-159 °C; MM: 357,13 g/mol; Rendimento: 67%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,6.
- HPLC-UV: 8,04 min (pureza: 98%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,32 (*s*, 3H, CH_3); 5,31 (*s*, 2H; CH_2); 6,57 (*s*, 1H, H-thiazol); 6,88 (*ddd*, 1H, $J = 1,08$, $5,03$ e $2,14$ Hz, H-piridina); 6,93-6,96 (*m*,

3H, H-Ar e H-piridina); 7,17-7,24 (*m*, 7H, H-Ar); 7,62 (*ddd*, 1H, $J = 2,03, 6,62$ e $2,00$ Hz, H-piridina); 8,37 (*ddd*, 1H, $J = 0,79, 2,05$ e $2,96$ Hz, H-piridina).

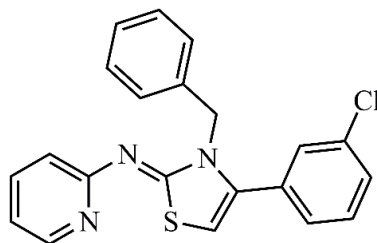
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 21,2; 48,6; 103,7; 116,5; 119,7; 126,8; 127,4; 128,6; 128,8; 129,4; 129,6; 137,7; 137,8; 138,6; 139,1; 143,3; 158,5; 159,8.

4.9.5.29 – Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(4-metoxifenil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)piridina-2-amina (**10e**).



- Sólido amarelo; P.F. 126-127 °C; MM: 373,12 g/mol; Rendimento: 59%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,33 min (pureza: 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3,76 (*s*, 3H, OCH₃); 5,30 (*s*, 2H, CH₂); 6,55 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,88 (*ddd*, 1H, $J = 1,04, 4,97$ e $2,12$ Hz, H-piridina); 6,93-6,97 (*m*, 4H, H-Ar e H-piridina); 7,16-7,18 (*m*, 1H, H-Ar); 7,21-7,24 (*m*, 2H, H-Ar); 7,26 (*dt*, 2H, $J = 2,95$ e $8,77$ Hz, H-Ar); 7,61 (*ddd*, 1H, $J = 2,0, 6,72$ e $2,03$ Hz, H-piridina); 8,37 (*ddd*, 1H, $J = 0,80, 2,0$ e $2,99$ Hz, H-piridina).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160,2; 159,7; 158,5; 146,3; 138,4; 137,9; 137,7; 130,9; 128,8; 127,4; 126,8; 123,6; 119,7; 116,5; 114,4; 103,4; 55,7, 48,6.

4.9.5.30 - Dados físico-químicos do composto (*Z*)-*N*-(3-benzil-4-(3-clorofenil)tiazol-2(3*H*)-ilideno)piridin-2-amina (**10f**).



- Sólido amarelo; P.F. 93-94 °C; MM: 377,07 g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2 R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,93min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl₃- d_3) δ (ppm): 5,36 (*s*, 2H, CH₂); 6,25 (*s*, 1H, H-tiazol); 6,83 (*t*, 1H, $J = 7,67$ Hz, H-piridina); 7,04-7,05 (*m*, 2H, H-Ar); 7,09 (*d*, 1H, $J = 7,67$

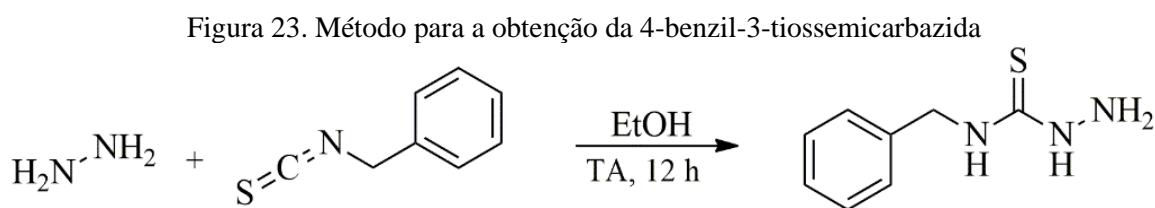
Hz, H-piridina); 7,19-7,25 (*m*, 4H, H-Ar); 7,27-7,30 (*m*, 2H, H-Ar); 7,28-7,39 (*m*, 1H, H-Ar); 7,62 (*t*, 1H, $J = 7,67$ Hz, H-piridina); 8,47-8,48 (*m*, 1H, H-piridina).

- RMN ^{13}C (150 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_3$) δ (ppm): 160; 158,5; 145,7; 137,3; 137,1; 134,4; 133,3; 129,7; 129,5; 129,2; 128,6; 128,4; 127,4; 127,2; 127,1; 119,6; 116,3; 104; 49,2.

4.10 Procedimentos Experimentais para a Síntese das Tiadiazinas

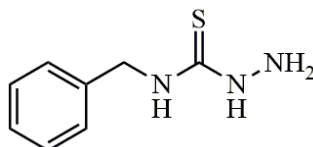
4.10.1 – Método para a obtenção das tiossemicarbazidas substituídas

Foram reagidos 1 mmol de hidrazina, com 1mmol do benzilisotiocianato em 15 mL de EtOH, e temperatura ambiente durante 12 horas. Ao verificar o término da reação por CCD, a mistura foi recristalizada em EtOH/água e o precipitado foi coletado e lavado com água, resultado no composto final com rendimento satisfatório (Figura 23).



Fonte: Autor, 2022.

4.10.1.1 – Dados físico-químicos do composto *N*-benzilhidrazinacarbotoioamida (**15**).



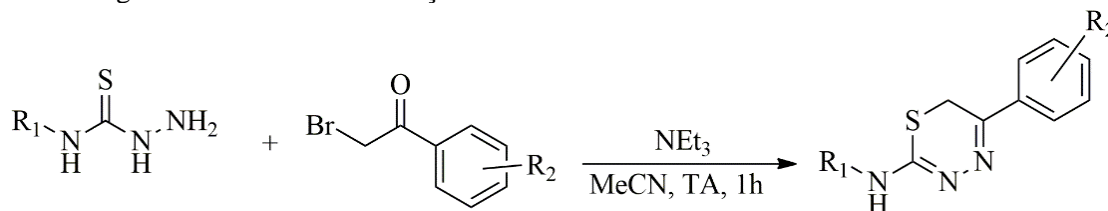
- Sólido branco; P.F. 129-130 °C; MM: 181,06 g/mol; Rendimento: 95%; Sistema: Hexano/AcOEt 8:2; R_f : 0,5.
- HPLC-UV: 2,99 min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 4,72 (*d*, 2H, $J = 5,77$ Hz, CH_2); 7,21 (*tt*, 1H, $J = 1,37$ e 7,21 Hz, H-Ar); 7,27 (*t*, 2H, $J = 7,21$ Hz, H-Ar); 7,30-7,33 (*m*, 2H, H-Ar); 8,60 (*s*, 1H, NH); 9,47 (*s*, 1H, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 183,1; 139,5; 128,4; 127,7; 127; 47,4.

4.10.2 Método para a obtenção das tiadiazinas *N*-metila e *N*-fenila substituídas (**13a-g** e **14a-g**).

Foi preparada uma solução da 4-metiliossemicarbazida ou 4-feniltiossemicarbazida (1mmol) com a requerida α -bromoacetofenona (1mmol) e trietilamina (1mmol) em 15 mL de

acetonitrila, deixada sob em agitação constante e temperatura ambiente durante 1 hora. Após o término da reação (Acompanhado por CCD), o precipitado formado foi coletado e lavado com etanol e água (Figura 24).

Figura 24. Método de Obtenção das tiadiazinas *N*-metila e *N*-fenila-substituídas

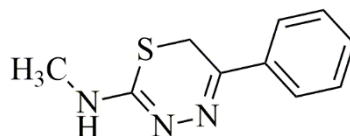


$R_1 = \text{Me ou Ar}$

$R_2 = \text{H, p-Cl, m,p-Cl, p-Me, p-OMe, m-Cl ou p-OH}$

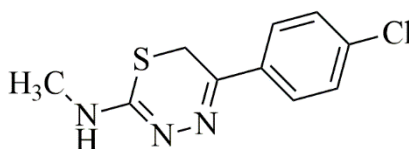
Fonte: Autor, 2022.

4.10.2.1 - Dados Físico-químicos do composto *N*-metil-5-fenil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13a**)



- Sólido amarelo; P.F. 128-129 °C; MM: 205,06 g/mol; Rendimento: 87%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; Rf: 0,5.
- HPLC-UV: 2,88 min (pureza: 100%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,90 (*s*, 3H, CH₃); 3,69 (*s*, 2H, CH₂); 7,41-7,46 (*m*, 3H, H-Ar); 7,88-7,90 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 148,7; 147,1; 136,6; 129,6; 129; 126,7; 29,72; 21,83.

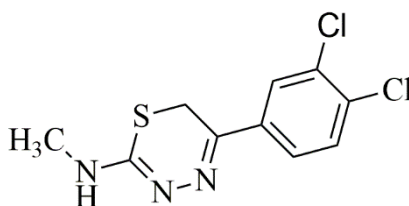
4.10.2.2 - Dados Físico-químicos do composto 5-(4-clorofenil)-*N*-metil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13b**)



- Sólido amarelo; P.F. 140-141 °C; MM: 239,02 g/mol; Rendimento: 80%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; Rf: 0,5.
- HPLC-UV: 3,01 min (pureza: 95%).

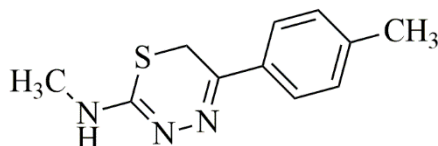
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,90 (*s*, 3H, CH₃); 3,69 (*s*, 2H, CH₂); 7,13 (*s*, 1H, NH); 7,51 (*dt*, 2H, *J* = 2,6 e 8,69 Hz, H-Ar); 7,91 (*dt*, 2H, *J* = 2,6 e 8,69 Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 148,8; 146,2; 135,4; 134,3; 129; 128,4; 29,6; 21,6.

4.10.2.3 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3,4-diclorofenil)-*N*-metil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13c**)



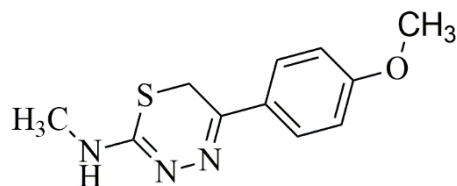
- Sólido amarelo; P.F. 149-150 °C; MM: 272,98 g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,28 min (pureza: 96%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,91 (*s*, 3H, CH₃); 3,71 (*s*, 2H, CH₂); 7,25 (*dt*, 1H, NH); 7,71 (*d*, 1H, *J* = 8,5 Hz, H-Ar); 7,88 (*dd*, 1H, *J* = 8,5 e 2,16 Hz, H-Ar); 8,11 (*d*, 1H, *J* = 2,16 Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 149,4 (HMBC); 145,5 (HMBC), 137,2; 132,06; 132,00; 131,2; 128,3; 126,7; 29,6; 21,4.

4.10.2.4 - Dados Físico-químicos do composto *N*-metil-5-(*p*-tolil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13d**)



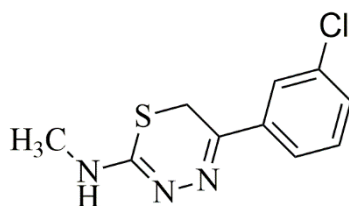
- Sólido amarelo; P.F. 144-145 °C; MM: 219,08 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 2,96 min (pureza: 100%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 2,34 (*s*, 3H, CH₃); 2,90 (*s*, 3H, CH₃); 3,67 (*s*, 2H, CH₂); 7,25 (*d*, 2H, *J* = 8,25 Hz, H-Ar); 7,78 (*d*, 2H, *J* = 8,25 Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 148,9; 147,2; 139,3; 133,7; 129,6; 126,7; 29,8; 21,3.

4.10.2.5 - Dados Físico-químicos do composto 5-(4-metoxifenil)-*N*-metil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13e**)



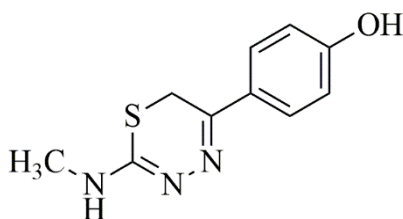
- Sólido amarelo; P.F. 139-140 °C; MM: 235,07 g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 2,86 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,89 (*s*, 3H, CH₃); 3,65 (*s*, 2H, CH₂); 3,80 (*s*, 3H, CH₃); 7,05 (*dt*, 2H, *J* = 2,70 e 9,16 Hz, H-Ar); 7,85 (*dt*, 2H, *J* = 2,70 e 9,16 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,6; 148,4; 146,8; 128,9; 128,2; 114,4; 55,7; 29,7; 21,8.

4.10.2.6 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3-clorofenil)-*N*-metil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**13f**).



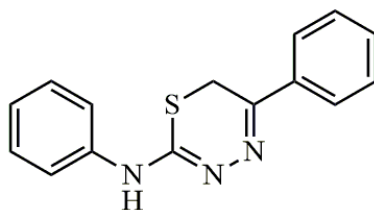
- Sólido amarelo; P.F. 56-57 °C; MM: 239,02 g/mol; Rendimento: 80%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 3,01 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,91 (*s*, 3H, CH₃), 3,74 (*s*, 2H, CH₂); 7,47-7,48 (*m*, 2H, H-Ar); 7,84-7,86 (*m*, 1H, H-Ar); 7,93 (*m*, 1H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 149; 146; 138,7; 133,9; 130,9; 129,3; 126,3; 125,3; 29,6; 21,6.

4.10.2.7 - Dados Físico-químicos do composto 4-(2-(metilamino)-6H-1,3,4-tiadiazina-5-il)fenol (**13g**)



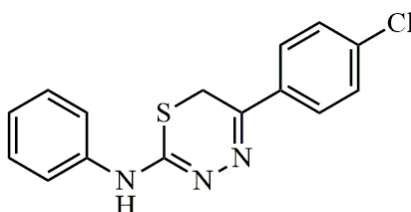
- Sólido laranja; P.F. 125-126 °C; MM: 221,06 g/mol; Rendimento: 40%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0,5.
- HPLC-UV: 2,70 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,02 (s, 3H, CH₃); 4,07 (s, 2H, CH₂); 6,89 (dt, 2H, J = 2,75 e 8,87 Hz; H-Ar); 7,77 (dt, 2H, J = 2,75 e 8,87 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,7; 151; 129,1; 127,9; 124,6; 116,2; 125,3; 29,6; 21,6

4.10.2.8 - Dados Físico-químicos do composto N,5-difenil-6H-1,3-tiazina-2-amina (**14a**).



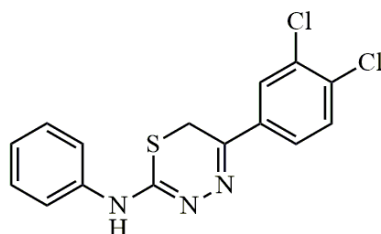
- Sólido amarelo; P.F. 182-183 °C; MM: 267,08 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 3,11 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,29 (s, 2H, CH₂); 7,35-7,41 (m, 3H, H-Ar); 7,48-7,51 (m, 2H, H-Ar); 7,54-7,58 (m, 4H, H-Ar); 7,92-7,94 (m, 2H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 133,4; 131,9; 130,7; 130,0; 129,9; 129,5; 129,1; 127,5; 124,9; 123,9; 23,1.

4.10.2.9 – Dados Físico-químicos do composto 5-(4-clorofenil)-N-fenil-6H-1,3,4-tiadiazin-2-amina (**14b**).



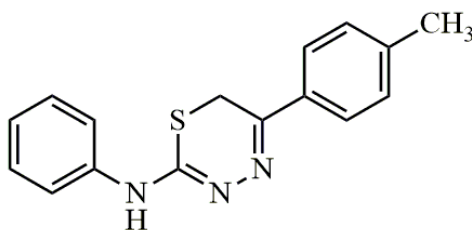
- Sólido amarelo; P.F. 179-180 °C; MM: 301,04g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.5.
- HPLC-UV: 3,27min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,74 (*s*, 2H, CH₂); 7,06 (*dd*, 2H, *J* = 1,18 e 8,62 Hz, H-Ar); 7,18 (*tt*, 1H, *J* = 1,18 e 7,46 Hz, H-Ar); 7,37 (*dtq*, 2H, *J* = 1,95, 8,62 e 0,76 Hz, H-Ar); 7,43 (*dt*, 2H, *J* = 2,58 e 8,70Hz, H-Ar); 7,71 (*dt*, 2H, *J* = 2,58 e 8,70Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 153.4; 145.9; 145.5; 136.1; 133.0; 129.1; 129.0; 127.4; 124.7; 122.4; 23.2.

4.10.2.10 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3,4-diclorofenil)-*N*-fenil-6*H*-1,3-tiazin-2-amina (**14c**)



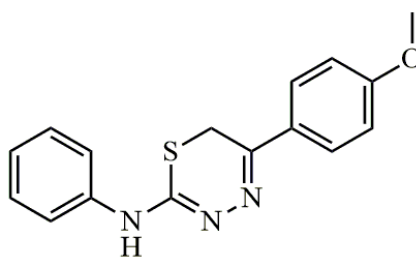
- Sólido amarelo; P.F. 177-178 °C; MM: 335,00 g/mol; Rendimento: 98%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 3,50 min (pureza: 100%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,98 (*s*, 2H, CH₂); 7,05 (*t*, 1H, *J* = 7,43 Hz, H-Ar); 7,22 (*dtd*, 1H, *J* = 1,97; 7,97; 1,24Hz, H-Ar); 7,31 (*dtd*, 2H, *J* = 1,97; 7,94; 0,90Hz, H-Ar); 7,48 (*d*, 1H, *J* = 8,05Hz, H-Ar); 7,73 (*d*, 1H, *J* = 8,53Hz, H-Ar); 7,86 (*d*, 1H, *J* = 8,05Hz, H-Ar); 8,07 (*s*, 1H, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 142,6; 136,2; 132,3; 132,1; 131,3; 130,7; 128,9; 128,4; 126,5; 123,5; 121,7; 116,8; 22,3.

4.10.2.11 – Dados Físico-químicos do composto *N*-fenil-5-(*p*-tolil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**14d**).



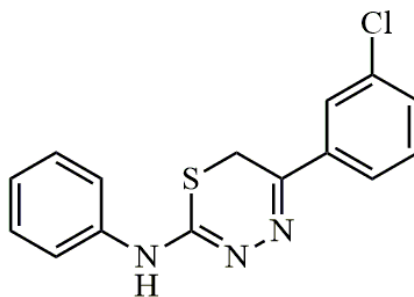
- Sólido amarelo; P.F. 180-181 °C; MM: 281,09 g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f:0.6.
- HPLC-UV: 3,18min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,39 (s, 3H, CH₃); 4,29 (s, 2H, CH₂); 7,35-7,38 (m, 3H, H-Ar); 7,42-7,43 (m, 2H, H-Ar); 7,50 (t, 2H, J = 8,09 Hz, H-Ar); 7,84 (d, 2H, J = 8,3 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 142,3; 130,6; 130,1; 130; 129,2; 127,7; 127,6; 124,8; 123,9; 23,1; 21,5.

4.10.2.12 – Dados Físico-químicos do composto 5-(4-metoxifenil)-*N*-fenil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**14e**)



- Sólido amarelo; P.F. 187-188 °C; MM: 297,09 g/mol; Rendimento: 56%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.5.
- HPLC-UV: 7,84 min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 3,85 (s, 3H, OCH₃); 4,30 (s, 2H, CH₂); 7,12 (dt, 2H, J = 3,10 e 8,95 Hz, H-Ar); 7,34 (t, 1H, J = 7,38 Hz, H-Ar); 7,45-7,50 (m, 4H, H-Ar); 7,92 (dt, 2H, J = 3,10 e 8,95 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 162,2; 154,4; 151,5; 137,7; 129,4; 129,2; 126,7; 123,9; 123,3; 114,5; 114,1; 55,5; 22,7.

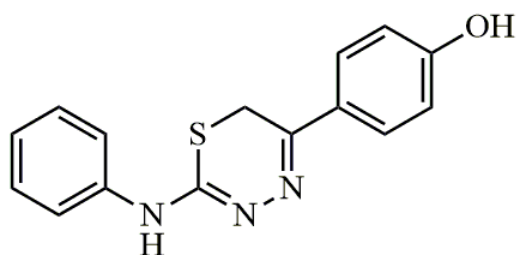
4.10.2.13 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3-clorofenil)-*N*-fenil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**14f**).



- Sólido amarelo; P.F. 185-186 °C; MM: 301,04 g/mol; Rendimento: 78%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.

- HPLC-UV: 3,25min (pureza: 99%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 4,21 (*s*, 2H, CH_2); 7,31-7,36 (*m*, 3H, H-Ar); 7,47 (*t*, 2H, $J = 8,01$ Hz, H-Ar); 7,57 (*t*, 1H, $J = 7,89$ Hz, H-Ar); 7,62-7,63 (*m*, 1H, H-Ar); 7,88 (*dt*, 1H, $J = 1,14$ e $7,89$ Hz, H-Ar); 7,95 (*t*, 1H, $J = 1,75$ Hz, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159,0; 149,4; 136,1; 134,2; 131,3; 131,1; 130,7; 129,9; 127,1; 127, 125,9; 124,4; 22,9.

4.10.2.14 - Dados Físico-químicos do composto 4-(2-(fenilamina)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-5-il)fenol (**14g**).

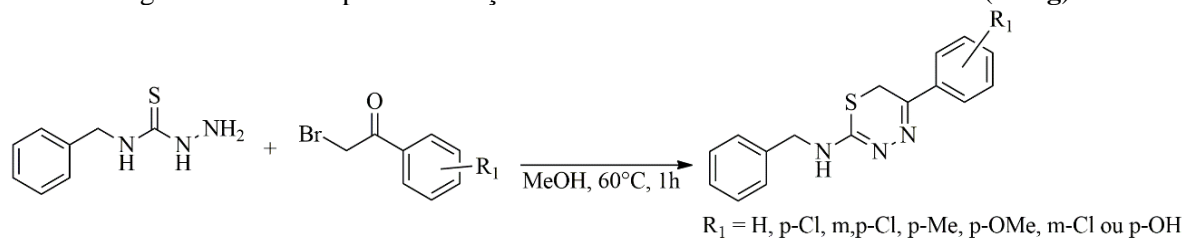


- Sólido amarelo; P.F. 111-112 °C; MM: 283,07g/mol; Rendimento: 60%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f : 0.5.
- HPLC-UV: 2,85 min (pureza: 100%)
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 3,82 (*s*, 2H, CH_2); 6,82 (*dt*, 3H, $J = 2,86$ e $8,86$ Hz, H-Ar); 7,01 (*t*, 1H, $J = 7,46$ Hz, H-Ar); 7,28 (*dt*, 3H, $J = 1,84$ e $8,01$ Hz, H-Ar); 7,70 (*s*, 2H, H-Ar); 9,87 (*s*, 1H, NH); 10,12 (*s*, 1H, OH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159,3; 147,2; 129,1; 128,2; 126,4; 123,1; 122,0; 116,5; 115,9; 115,5; 22,6.

4.10.3 Método para a obtenção das tiadiazinas *N*-benzila-substituídas (**15a-g**).

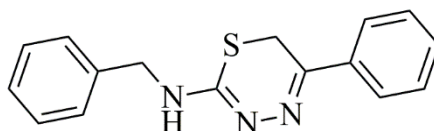
Foi preparada uma solução de 4-benzil-3-tiossemicarbazida (1mmol) com a requerida bromoacetofenona (1mmol), em 20 mL de MeOH, sob refluxo durante uma hora. Após o término da reação (acompanhado por CCD), a solução foi recristalizada em MeOH/água, em que o precipitado formado foi coletado e lavado com MeOH, gerando os produtos finais (Figura 25).

Figura 25. Método para a obtenção das tiadiazinas *N*-benzila-substituídas (**15a-g**).



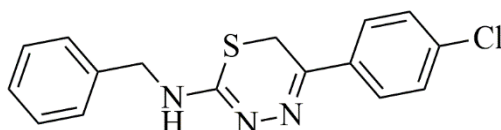
Fonte: Autor, 2022

4.10.3.1 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-fenil-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**15a**).



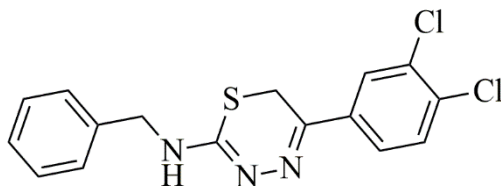
- Sólido amarelo; P.F. 194-195 °C; MM: 281,09g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f : 0.4.
- HPLC-UV: 2,71min (pureza: 95%).
- RMN ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,98 (*s*, 2H, CH_2); 6,64 (*d*, 2H, $J = 6,14$ Hz, CH_2); 7,30-7,33 (*m*, 1H, H-Ar); 7,35-7,37 (*m*, 4H, H-Ar); 7,45 (*t*, 2H, $J = 7,81$ Hz, H-Ar); 7,5 (*tt*, 1H, $J = 1,06$ e 7,38 Hz, H-Ar); 7,78 (*m*, 2H, H-Ar); 11,47 (*t*, 1H, $J = 6,14$ Hz, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 22,5; 49,5; 126,9; 127,7; 128,7; 129,1; 129,2; 131,8; 132,2; 134,2; 148,6; 166,4.

4.10.3.2 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-(4-clorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**15b**).



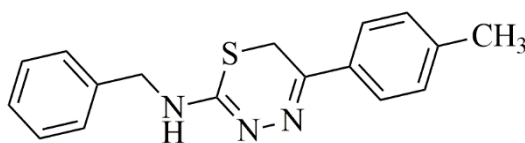
- Sólido amarelo; P.F. 188 – 189 °C; MM: 301,04g/mol; Rendimento: 56%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f : 0.4.
- HPLC-UV: 3,10min (pureza: 99%).
- RMN ^1H (600 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 4,00 (*s*, 2H, CH_2); 4,65 (*d*, 2H, $J = 6,16$ Hz, CH_2); 7,36-7,37 (*m*, 4H, H-Ar); 7,42 (*dt*, 2H, $J = 2,49$ e 8,78 Hz, H-Ar); 7,45-7,48 (*m*, 1H, H-Ar); 7,72 (*dt*, 2H, $J = 2,49$ e 8,78 Hz, H-Ar); 11,35 (*t*, 1H, $J = 6,16$ Hz, NH).
- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm): 22,5; 49,7; 127,7; 128,2; 128,7; 129,2; 129,4; 130,7; 134,1; 138,2; 147,7; 166,3.

4.10.3.3 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-(3,4-diclorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**15c**).



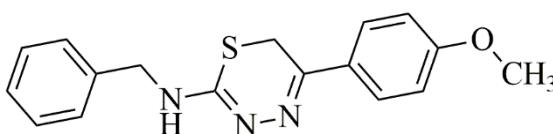
- Sólido amarelo; P.F. 186-187 °C; MM: 349,02g/mol; Rendimento: 65%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 3,05min (pureza: 99%)
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,92 (*s*, 2H, CH₂); 4,68 (*d*, 2H, *J* = 6,00 Hz, CH₂); 7,35-7,41 (*m*, 5H, H-Ar); 7,56 (*d*, 2H, *J* = 8,44 Hz, H-Ar); 7,64 (*dd*, 1H, *J* = 2,16 e 8,44 Hz, H-Ar); 7,88 (*d*, 1H, *J* = 2,16Hz, H-Ar); 11,59 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 166; 146,2; 136,4; 133,9; 133,8; 132,1; 131,2; 129,3; 128,9; 128,6; 127,7; 125,8; 49,8; 22,1.

4.10.3.4 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-(*p*-tolil)-6*H*-1,3,4-tiadiazin-2-amina (**15d**)



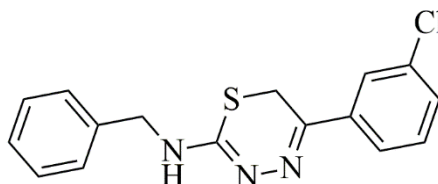
- Sólido amarelo; P.F. 167-168 °C; MM: 281,09g/mol; Rendimento: 56%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 3,03 min (pureza: 100%)
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2,38 (*s*, 3H, CH₃); 4,31 (*s*, 2H, CH₂); 4,77 (*s*, 2H, CH₂); 7,36 (*d*, 3H, *J* = 7,74 Hz, H-Ar); 7,42 (*d*, 4H, *J* = 4,82 Hz, H-Ar); 7,81 (*d*, 2H, *J* = 7,74 Hz, H-Ar); 10,71 (*s*, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 160,5; 152,8; 142,2; 135,5; 130,5; 129,2; 129,1; 128,5; 127,4; 47,7; 22,6; 21,4.

4.10.3.5 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-(4-metoxifenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**15e**).



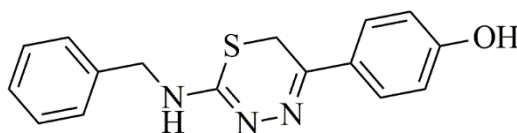
- Sólido amarelo; P.F. 190-191 °C; MM: 297,09g/mol; Rendimento: 56%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,99min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,85 (s, 3H, OCH₃); 3,93 (s, 2H, CH₂); 4,63 (d, 2H, J = 6,2 Hz, CH₂); 6,65 (d, 2H, J = 8,96 Hz, H-Ar); 7,32-7,37 (m, 5H, H-Ar); 7,74 (d, 2H, J = 8,96 Hz, H-Ar); 11,35 (t, 1H, J = 6,2 Hz, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 166,2; 162,2; 148,3; 134,3; 129,2; 128,7; 128,6; 127,6; 124,4; 114,5; 55,5; 49,4; 22,3.

4.10.3.6 – Dados Físico-químicos do composto *N*-benzila-5-(3-clorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**15f**)



- Sólido amarelo; P.F. 204-205 °C; MM: 233,49g/mol; Rendimento: 56%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,93min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,92 (s, 2H, CH₂); 4,65 (d, 2H, J = 6,12 Hz, CH₂); 7,33-7,40 (m, 6H, H-Ar); 7,47 (d, 1H, J = 8,11 Hz, H-Ar); 7,65 (d, 1H, J = 8,11 Hz, H-Ar); 7,75 (s, 1H, H-Ar); 11,50 (s, 1H, NH); 13,34 (s, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 22,3; 49,7; 125; 126,9; 127,7; 128,8; 129,3; 130,4; 131,8; 134; 147,2; 166,2.

4.10.3.7 - Dados Físico-químicos do composto 4-(2-(benzilamino)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-5-il)fenol (**15g**).



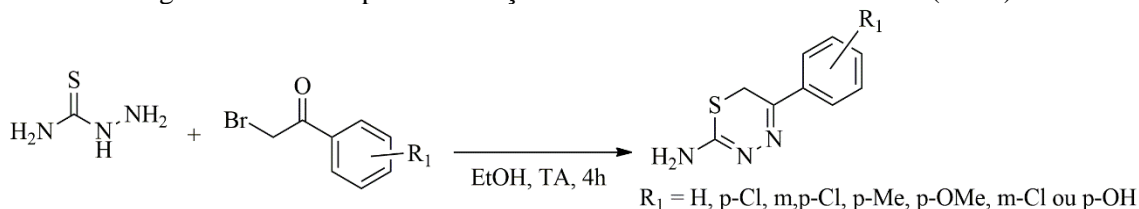
- Sólido amarelo; P.F. 177-178 °C; MM: 283,07g/mol; Rendimento: 70%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,31min (pureza: 98%).
- RMN ¹H (600 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,26 (s, 2H, CH₂); 4,73 (s, 2H, CH₂); 6,91 (d, 2H, J = 8,47 Hz, H-Ar); 7,35-7,42 (m, 5H, H-Ar); 7,78 (d, 2H, J = 8,47 Hz, H-Ar); 10,31 (s, 1H, NH); 10,54 (s, 1H, OH).

- RMN ^{13}C (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 22,6; 47,6; 116,3; 123,5; 128,5; 129,2; 129,5; 135,8; 161,3; 134,4 (HMBC); 152,2 (HMBC); 160,2 (HMBC).

4.10.4 Método para a Obtenção das Tiadiazinas Não-Substituídas (**16a-f**).

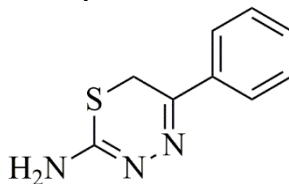
Seguindo a metodologia proposta por GU *et al.*, 2014, em um balão de fundo redondo adicionou-se a tiossemicarbazida (1mmol) e a requerida bromoacetifenona (1mmol), em temperatura ambiente e 20 mL de EtOH durante 4 horas. Após todos os reagentes serem consumidos (acompanhado por CCD), o solvente o evaporado sob pressão reduzida e adicionou-se MeCN. O precipitado formado foi coletado e lavado com MeCN gerando os produtos finais (Figura 26).

Figura 26. Método para a obtenção das tiadiazinas não-substituídas (**16a-f**)



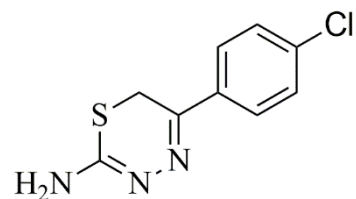
Fonte: Autor, 2022.

4.10.4.1 – Dados Físico-químicos do composto 5-fenil-6H-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16a**).



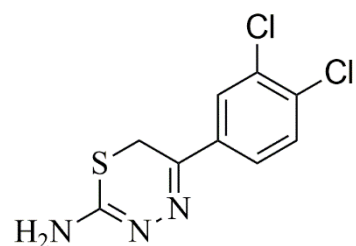
- Sólido cinza; P.F. 196-197 °C; MM: 191,05g/mol; Rendimento: 84%; Sistema: Hexano/AcOEt 7/3; R_f : 0.6.
- HPLC-UV: 2,27min (pureza: 98%).
- RMN ^1H (600 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 4,23 (*s*, 2H, CH_2), 7,50-7,52 (*m*, 2H, H-Ar); 7,56 (*tt*, 1H, $J = 1,21$ e $7,37$ Hz, H-Ar); 7,92-7,94 (*m*, 2H, H-Ar).
- RMN ^{13}C (150 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 21,9; 126,8; 128,7; 131,3; 132,8; 151,6; 165,2.

4.10.4.2 – Dados Físico-químicos do composto 5-(4-clorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16b**).

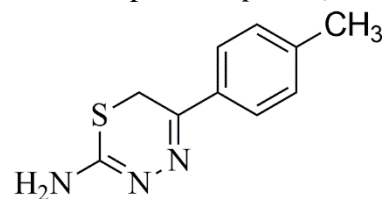


- Sólido branco; P.F. 178-179 °C; MM: 225,01g/mol; Rendimento: 82%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 3,05min (pureza: 95%).
- RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 3,67 (*d*, 1H, *J* = 12,49 Hz, CH_{2a}); 3,81 (*d*, 1H, *J* = 12,49 Hz, CH_{2b}); 7,49 (*dt*, 2H, *J* = 2,54 e 8,73 Hz, H-Ar); 7,57 (*dt*, 2H, *J* = 2,54 e 8,73 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 173; 138,5; 136,9; 130,4; 131,1; 129,2; 128,8; 97,7; 41,6.

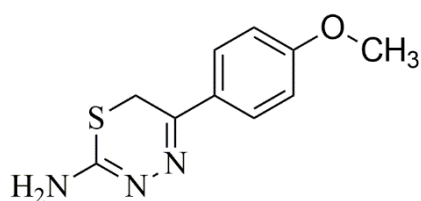
4.10.4.3 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3,4-diclorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16c**).



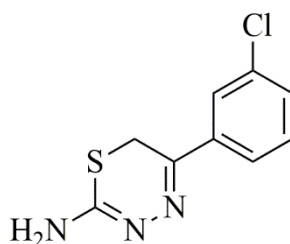
- Sólido cinza; P.F. 185-186 °C; MM: 258,97g/mol; Rendimento: 87%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,27 min (pureza: 98%).
- RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 3,71 (*d*, 1H, *J* = 12,28 Hz, CH_{2a}); 3,88 (*d*, 1H, *J* = 12,28 Hz, CH_{2b}); 7,52 (*dd*, 1H, *J* = 2,30 e 8,46 Hz, H-Ar); 7,67 (*d*, 1H, *J* = 8,46 Hz, H-Ar); 7,83 (*d*, 1H, *J* = 2,30 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 39,8; 95,6; 125,2; 128,5; 130,9; 132,7; 133,4; 138,9; 171,6.

4.10.4.4 – Dados Físico-químicos do composto 5-(*p*-tolil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16d**).

- Sólido cinza; P.F. 212-213 °C; MM: 205,06g/mol; Rendimento: 63%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,84min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 2,39 (*s*, 3H, CH₃); 4,17 (*s*, 2H, CH₂); 7,31 (*d*, 2H, *J* = 8,15 Hz, H-Ar); 7,80 (*dt*, 2H, *J* = 2,11 e 8.15 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 166,6; 153,1; 143,8; 131,5; 130,8; 128,3; 23,3; 21,6.

4.10.4.5 – Dados Físico-químicos do composto 5-(4-metoxifenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16e**).

- Sólido amarelo; P.F. 144-145 °C; MM: 221,06g/mol; Rendimento: 50%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.4.
- HPLC-UV: 2,09min (pureza: 96%)
- RMN ¹H (600 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 3,66 (*d*, 1H, *J* = 12,37 Hz, CH_{2a}); 3,81 (*d*, 1H, *J* = 12,37 Hz, CH_{2b}); 3,85 (*s*, 3H, OCH₃); 7,04 (*dt*, 2H, *J* = 3,21 e 8.93 Hz, H-Ar); 7,51 (*dt*, 2H, *J* = 3,21 e 8,93 Hz, H-Ar).
- RMN ¹³C (150 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 40,2; 54,5; 96,7; 114,1; 127,2; 129,8; 160,7; 171,1.

4.10.4.6 – Dados Físico-químicos do composto 5-(3-clorofenil)-6*H*-1,3,4-tiadiazina-2-amina (**16f**)

- Sólido marrom; P.F. 230-231 °C; MM: 255,01g/mol; Rendimento: 51%; Sistema: Hexano/AcOEt 8/2; R_f: 0.6.
- HPLC-UV: 2,94min (pureza: 99%).
- RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 4,30 (s, 2H, CH₂); 7,58 (t, 1H, J = 7,92 Hz, H-Ar); 7,64-7,66 (m, 1H, H-Ar); 7,86 (d, 1H, J = 7,92 Hz, H-Ar); 7,94 (t, 1H, J = 1,72 Hz, H-Ar); 9,34 (s, 1H, NH); 10,12 (s, 1H, NH).
- RMN ¹³C (150 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 164,6; 150,4; 134,6; 134,3; 134,6; 131,4; 127,1; 126,1; 22,5.

4.11 Métodos aplicados na avaliação leishmanicida dos compostos.

4.11.1 Manutenção de macrófagos e parasitos

A linhagem celular de macrófagos murinos RAW 264.7 foi conservada em frascos de cultura celular de 750 cm² (Corning Glass Workers – New York – USA) em meio DMEM suplementado (10 % de SFB, 1% de antibiótico - 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL estreptomicina) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), pH 7, a 37 °C, 5 % de CO₂ com 80 % de umidade. Os repiques foram realizados após as células atingirem a confluência, caracterizada pela formação de uma monocamada de células em torno de 48 a 72 h após o acondicionamento.

Parasitos da espécie *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), foram mantidos *in vitro* na sua forma promastigota em meio Schneider suplementado [20% de soro fetal bovino (SFB) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina] (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), pH 7, a 26 ± 1 °C em incubadora *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) (Eletrolab EL202, São Paulo, Brasil) e repicadas semanalmente.

4.11.2 Preparo dos compostos

Para os testes *in vitro*, foram preparadas soluções-estoque das substâncias nas concentrações de 40 mg/mL em dimetilsulfóxido – (DMSO) (Mallinckrodt Chemicals, St. Louis, EUA). Para cada teste a solução-estoque foi diluída nos meios de cultura apropriados até atingir as concentrações finais desejadas.

4.11.3 Atividade contra formas promastigotas

A inibição do crescimento de formas promastigotas foi avaliada com base em Nunes et al. (2021). Formas promastigotas em fase logarítmica de crescimento foram cultivadas em placas de 96 poços (1×10^6 parasitos/poço) contendo 100 μL de meio Schneider suplementado, em triplicata, contendo concentrações seriadas das substâncias-teste (25 a 1,56 μM). As placas foram incubadas em BOD a 26 °C por 72 h. Após o período de tratamento, 10 μL de MTT (5 mg/mL) foram aplicados em cada poço para estabelecer a avaliação colorimétrica da inibição de crescimento. Em seguida a placa foi novamente incubada por mais 4 h, seguidamente recebendo a adição de 50 μL de solução de dodecil sulfato de sódio (DSS) a 10 % (p/v em água destilada) para a solubilização dos cristais de formazan. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de microplacas a 540 nm (modelo Biosystems ELx800, Curitiba, PR, Brasil). O controle negativo foi realizado com meio Schneider suplementado e contendo 0,2 % de DMSO, considerado como 100 % de viabilidade das leishmanias.

4.11.4 Atividade contra formas amastigotas

Macrófagos, na concentração de 1×10^6 células/mL de meio DMEM completo, foram adicionados a placas de cultura com 24 poços contendo lamínulas estéreis redondas de 13 mm. As placas foram incubadas a 37 °C e 5% de CO_2 por 3 h para a adesão celular. Após este período, o meio foi aspirado e um novo meio foi adicionado contendo formas promastigotas de *L. amazonensis* em fase estacionária de crescimento, na proporção de 10 promastigotas para 1 macrófago em cada poço. Após 3 h de incubação a 37 °C e 5% de CO_2 , o meio foi aspirado para remover macrófagos e promastigotas livres e realizadas três lavagens com PBS pré-aquecido a 37 °C. Em seguida, 1 mL de DMEM completo foi adicionado em cada poço contendo concentrações seriadas de 0,78 a 25 μM das substâncias-teste em triplicata. As culturas foram então incubadas a 37 °C e 5% de CO_2 por 72 h, ao final do qual as lamínulas foram removidas, fixadas e coradas com Panótico rápido (Laborclin®, Paraná, BRA) e montadas em lâminas permanentes com o uso de Entelan® (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Para cada lamínula, 300 macrófagos e o número de amastigotas em cada macrófago foram quantificados por microscopia óptica com aumento de 1000x. O controle negativo foi realizado com meio DMEM completo a 0,5% de DMSO.

4.11.5 Atividade citotóxica em macrófagos

Em uma placa de 96 poços foram colocados 100 μL de meio DMEM suplementado e 1×10^5 macrófagos RAW 264.7 por poço. Após 4 h de incubação a 37 °C e 5 % de CO_2 para adesão celular foram realizadas três lavagens com PBS estéril. Em seguida, foram adicionados 100 μL de meio DMEM suplementado contendo diferentes concentrações das substâncias (200 a 1,56 μM) e incubados por um período de 72 h. No final do período foi aplicado 10 μL de MTT (5 mg/mL) e incubado por mais de 4 h. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e adicionado 100 μL de DMSO em todos os poços. Após 30 min de agitação, a leitura foi realizada a 540 nm em uma leitora de placa. Meio DMEM suplementado e contendo 0,5 % de DMSO foi usado como controle negativo e considerado como 100 % de viabilidade de macrófagos (NUNES et al., 2021).

4.11.6 Análise estatística

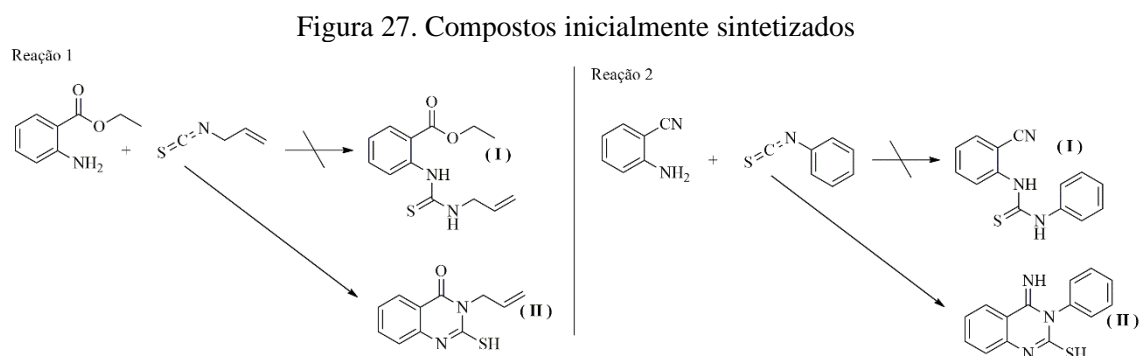
As diferentes concentrações médias sobre formas promastigotas (CI_{50}) e macrófagos (CC_{50}) foram calculadas por regressão não linear. Para comparações entre grupos foram realizadas as análises de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey através de um programa estatístico, tomando-se o valor de $p < 0,05$ como nível máximo de significância estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Compostos inicialmente sintetizados.

Os compostos foram inicialmente sintetizados a partir da reação do 2-aminobenzoato de etila com isotiocianato de alila (reação 1, Figura 27) e 2-aminobenzonitrila com isotiocianato de fenila (reação 2, figura 27), obtendo-se assim as primeiras tioureias intermediárias. Como mostrado na figura 27, o produto esperado para essa reação era a tioureia (I), entretanto, o espectro de RMN de ^1H foi condizente com o composto (II). Tal composto foi formado pelo ataque do nitrogênio ligado aos grupos alila e fenila na carbonila do grupo éster vizinho, gerando as respectivas quinazolininas como único produto reacional.



Fonte: Autor, 2022

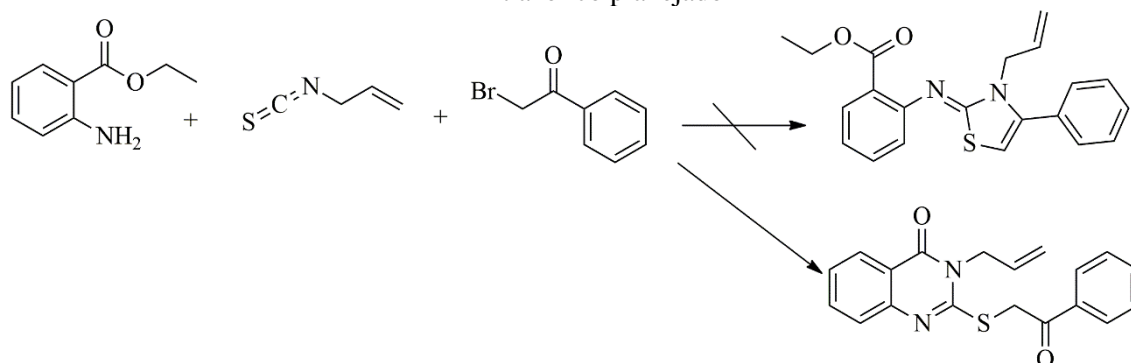
Na tentativa de se obter o intermediário tioureico como produto principal da reação, diferentes condições reacionais foram testadas, incluindo a variação de temperatura (refluxo ou ambiente), solvente utilizado (polar prótico ou aprótico) e tempo reacional, como mostrado na tabela 1. É possível observar que todas as situações conduziram à formação do derivado quinazolínico com altos rendimentos. Realizou-se ainda uma tentativa de reação *One-Pot*, onde os reagentes 2-aminobenzoato de etila, isotiocianato de alila e a α -bromoacetofenona foram submetidos de forma simultânea a reação, entretanto, como mostrado na figura 28, o produto obtido e caracterizado por RMN de ^1H foi novamente a quinazolinina. Esses resultados corroboram com os dados de Rocco e colaboradores (2004), os quais explicam que o ataque do nitrogênio e fechamento do anel quinazolínico acontece naturalmente utilizando-se altas temperaturas.

Tabela 1. Parâmetros reacionais alterados na reação entre 2-aminobenzoato de etila e o isotiocianato de alila

Solvente	Temperatura	Tempo (horas)	Produto	Rendimento
Metanol	Refluxo	24	Quinazolina	99%
Metanol	Ambiente	24	Quinazolina	99%
Metanol	0°C	12	Quinazolina	95%
Etanol	Refluxo	12	Quinazolina	95%
Etanol	Ambiente	12	Quinazolina	95%
Isopropanol	Refluxo	12	Quinazolina	96%
Isopropanol	Ambiente	12	Quinazolina	95%
Tolueno	Refluxo	12	Quinazolina	90%
Tolueno	Ambiente	24	Quinazolina	90%
THF	Refluxo	12	Não houve reação	---
THF	Ambiente	12	Não houve reação	---
DMF	Refluxo	12	Quinazolina	90%
DMF	Ambiente	24	Quinazolina	90%
DCM	Ambiente	12	Quinazolina	90%

Fonte: Autor, 2022.

Figura 28. Derivado quinazolínico obtido pelo método *One-Pot* na tentativa de síntese de um derivado tiazólico planejado

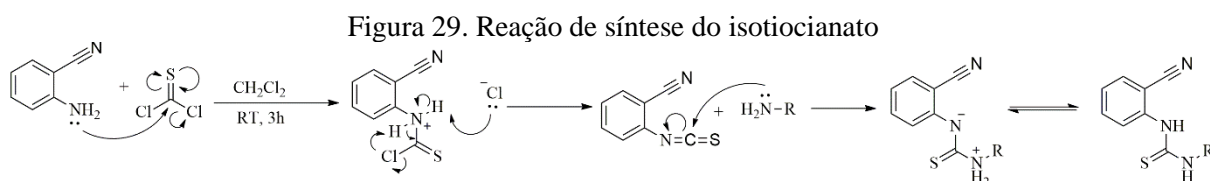


Fonte: Autor, 2022.

Como a conversão no derivado quinazolínico é favorecida por altas temperaturas, optou-se por utilizar temperatura ambiente, entretanto, o núcleo quinazolínico ainda era formado com altos rendimentos. Esse fenômeno é explicado por Vassilev (2007) em que a conversão em quinazolina também ocorre naturalmente em temperatura ambiente. Utilizamos ainda solventes polares apróticos (DMF e THF) e apolares (tolueno), no entanto o mesmo composto quinazolínico (**II**) foi obtido ou a reação não ocorreu.

A síntese desse composto tioureico (**I**) (Figura 27) foi inicialmente descrita por Taylo e Ravindranathan (1961). Os autores relataram que reagindo-se 2-aminobenzonitrila com fenil isotiocianato na temperatura abaixo de 50 °C e na ausência de solvente, o intermediário tioureico (**I**) é obtido em altos rendimento. Porém, em nosso trabalho, utilizando esse método, o mesmo intermediário quinazolínico (**II**) foi obtido em altos rendimentos, tanto utilizando temperaturas entre 40-50 °C, quanto em temperatura ambiente ou em temperatura de 0°C.

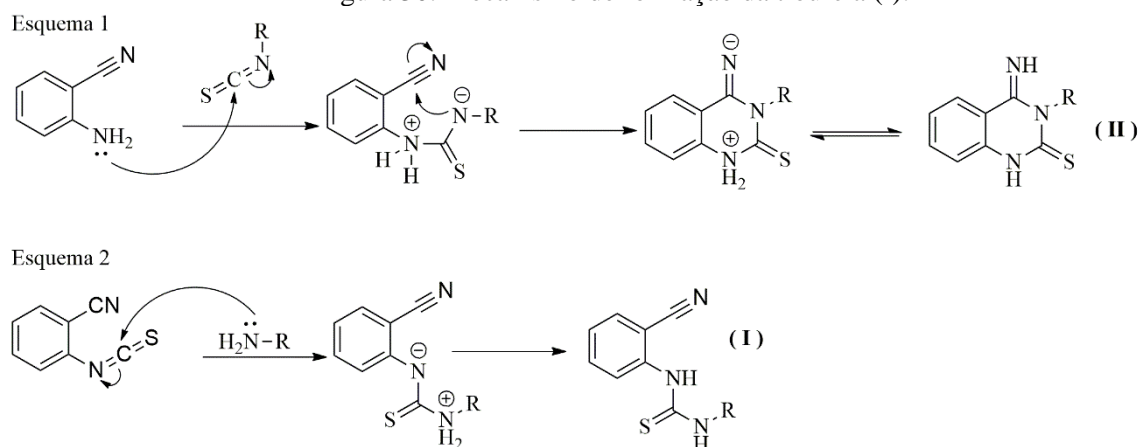
Durante a busca na literatura, foi encontrado um estudo publicado Pazdera e colaboradores (1988), onde os autores investigaram essa mesma reação e constataram que o método de Taylo e Ravindranathan (1961) não funcionava para a obtenção da tioureia (**I**). Dessa forma, os autores propuseram uma nova rota, a partir da reação da conversão da 2-aminobenzonitrila em um isotiocianato, empregando-se tiofosfênio (Figura 29). Esse método pode ser utilizado tanto para os compostos substituídos com éster quanto para os compostos substituídos com amida.



Fonte: Autor, 2022

O método para a síntese do isotiocianato utilizando tiofosfênio mostra-se versátil e eficaz, no qual conduz ao produto final em altos rendimentos (Steinebach *et al.*, 2016; Calestani *et al.*, 2001). Pazdera e colaboradores (1988) explicam que essa rota sintética é mais eficaz por conta da alta reatividade do nitrogênio do isotiocianato, que ao reagir com o 2-aminobenzonitrila (Figura 30, esquema 1), assume a carga negativa possibilitando assim o ataque ao carbono da nitrila, conduzindo a formação da quinazolína (II). Esse problema é contornado utilizando o 2-isotiocianatobenzonitrila e a requerida amina (Figura 30, esquema 2), onde é observada a diminuição da reatividade da amina terminal, possibilitando o isolamento da tioureia. No entanto, não foi possível a utilização desse método devido à dificuldade de obtenção do reagente tiofosfênio.

Figura 30. Mecanismo de formação da tioureia (I).

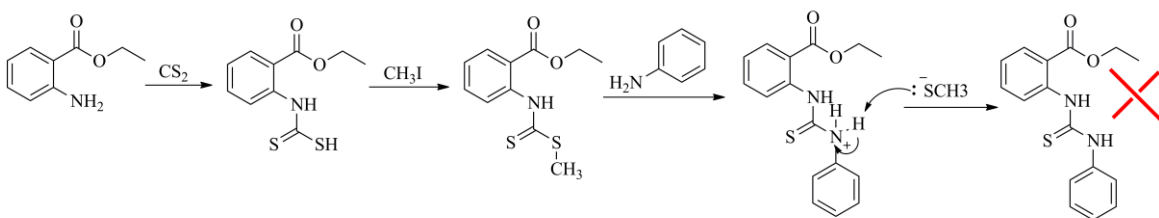


Fonte: Autor, 2022

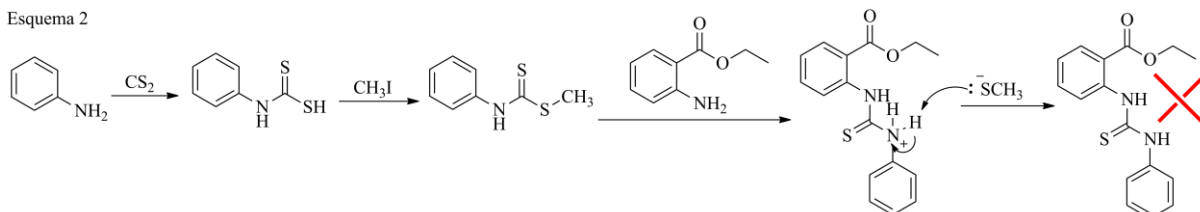
Devido à dificuldade de se obter o produto desejado e o conhecimento sobre o mecanismo da reação, foi testada uma nova rota sintética na qual a carga negativa não se concentra no nitrogênio *N*-substituído. O esquema reacional é mostrado na figura 31 (esquema 1), onde se utilizou o 2-aminobenzoato em reação com dissulfeto de carbono seguido da reação com iodeto de metila, com a finalidade de tornar o enxofre um bom grupo de saída no intuito de favorecer a reação com a anilina. Dessa forma o nitrogênio *N*-terminal ficaria menos reativo e não formaria a quinazolína. Entretanto, o produto esperado não foi observado por meio da análise do espectro de RMN de ^1H . Outra rota foi realizada (Figura 31, esquema 2), a partir da reação da anilina e o dissulfeto de carbono, seguido da adição do iodeto de metila e do etil-2-aminobenzoato. Semelhante ao que ocorreu no esquema 1, o produto final não foi obtido.

Figura 31. Nova rota sintética explorada para obtenção da tioureia, utilizando-se dissulfeto de carbono

Esquema 1



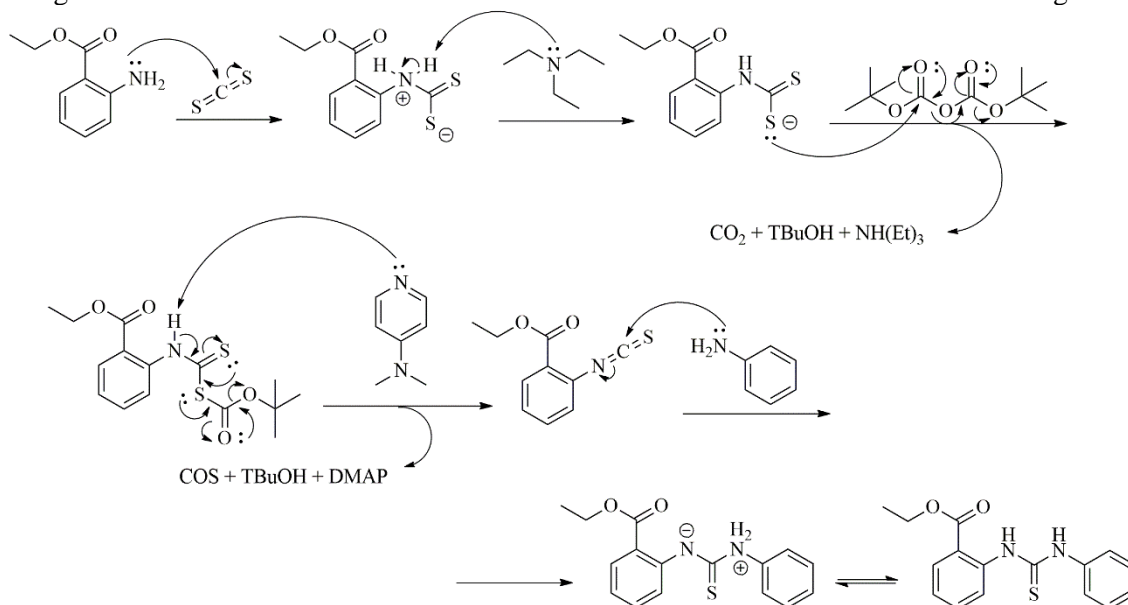
Esquema 2



Fonte: Autor, 2022.

Outro método para a síntese de isotiocianatos a partir de aminas primárias e dicarbonato de di-*terc*-butila foi proposto por Munch e colaboradores (2008). Foram reagidos o etil-2-aminobenzoato com dissulfeto de carbono, seguido da adição do dicarbonato de di-*terc*-butila. Observe no mecanismo de reação mostrado na figura 32, que ao sintetizar o isotiocianato e reagi-lo com a requerida amina, o nitrogênio assume a carga positiva, impossibilitando a formação da quinazolina. Entretanto, em nosso trabalho, o produto observado no espectro de RMN ^1H não foi o esperado.

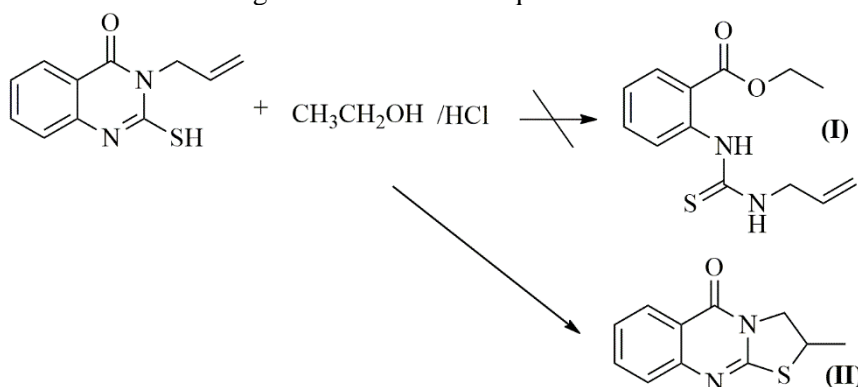
Figura 32. Síntese do isotiocianato utilizando-se dicarbonato de di-*terc*-butila como reagente



Fonte: Autor, 2022.

Um outro método testado foi a hidrólise da quinazolina com etanol e ácido clorídrico, como mostrado na figura 33. A proposta era que, usando um meio ácido, a carbonila da quinazolina fosse protonada, o que permitiria o ataque do etanol, quebrando o ciclo e gerando a formação da tioureia (**I**). Entretanto, o produto isolado com alto rendimento e confirmado por RMN de ^1H foi o produto (**II**) (Figura 33), formado pela reação de adição do enxofre a ligação dupla do rufo alila, formando um ciclo de 5 membros.

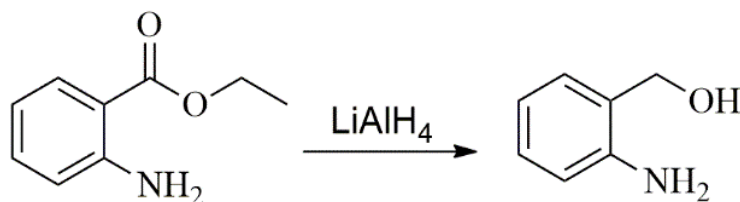
Figura 33. Hidrólise da quinazolina



Fonte: Autor, 2022.

Devido às dificuldades apresentadas, optou-se então por sintetizar uma outra série de moléculas, a partir da conversão do éster etil-2-aminobenzoato em um álcool primário (Figura 34), utilizando uma reação de redução com hidreto de lítio e alumínio. Dessa forma, não ocorreria a formação do anel quinazolínico pois a função álcool não é um centro eletrofílico como o éster ou a nitrila, utilizados nas reações anteriores.

Figura 34. Redução com LiAlH_4 e formação da função álcool

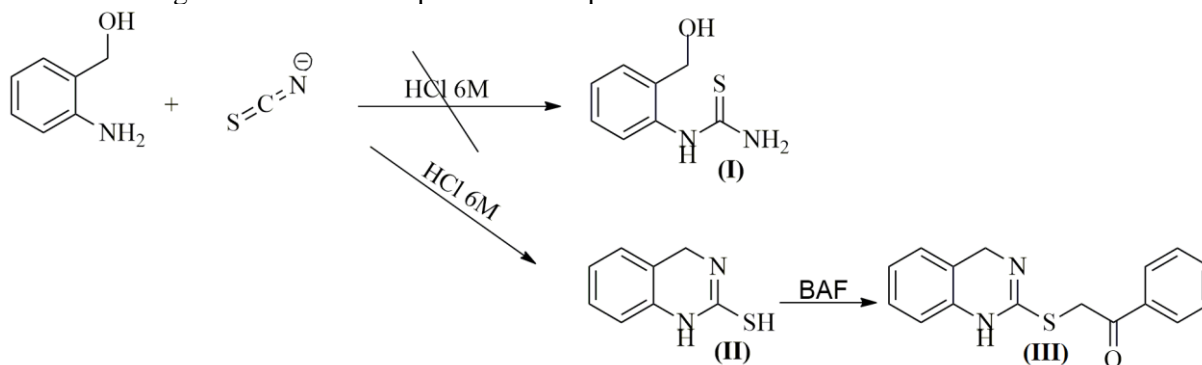


Fonte: Autor, 2022.

A síntese das tioureias foi realizada por meio da reação do álcool 2-aminobenzílico com isotiocianato de potássio, como mostrado na figura 35. O método testado foi em meio ácido com a finalidade de diminuir a reatividade do nitrogênio do isotiocianato. A primeira impressão foi que a reação teria ocorrido e o produto (**I**) teria sido obtido. Entretanto o

espectro de RMN de ^1H não apresentou os sinais referentes aos hidrogênios ligados aos heteroátomos, assim tanto para o produto **(I)** quanto para o produto **(II)** o espectro poderia apresentar mesma multiplicidade para os sinais dos hidrogênios. Para a confirmação, realizou-se a segunda reação, com a bromoacetofenona (BAF), sendo observado no espectro que o produto era condizente com o composto **(III)** da figura 35. Assim o produto obtido na reação anterior foi o derivado quinazolínico **(II)**. Dessa forma, a proposição foi de que o ácido tornou a hidroxila um bom grupo de saída, possibilitando a formação da quinazolina **(II)** em altos rendimentos. Ao realizar essa reação na ausência de ácido, e em solventes tais como MeOH ou THF, a reação também não ocorreu.

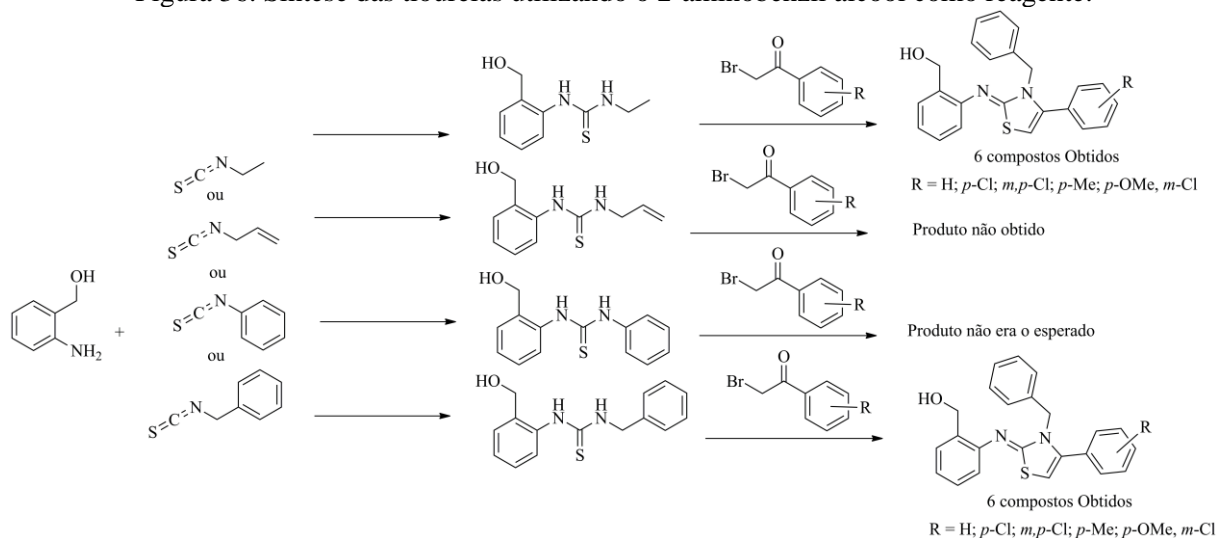
Figura 35. Síntese dos primeiros compostos utilizando o 2-aminobenzil álcool.



Fonte: Autor, 2022.

Ao realizar a reação do álcool 2-aminobenzílico com isotiocianatos de alila, fenila e benzila (Figura 36), em meio etanólico e na temperatura ambiente, os intermediários tioureicos foram obtidos com altos rendimentos, como apresentado na figura 36. Entretanto, para os compostos *N*-alila substituídos, utilizando diferentes solventes, a reação não ocorria e os produtos não foram isolados. Para as tioureias *N*-fenil substituídas, os produtos finais foram isolados, no entanto não eram os produtos esperados pois o espectro de RMN de ^1H dos compostos não apresentavam o sinal característico do anel tiazólico. E por fim, utilizando as tioureias *N*-benzila e *N*-etila substituídas, foram obtidos os 6 compostos finais planejados para cada série.

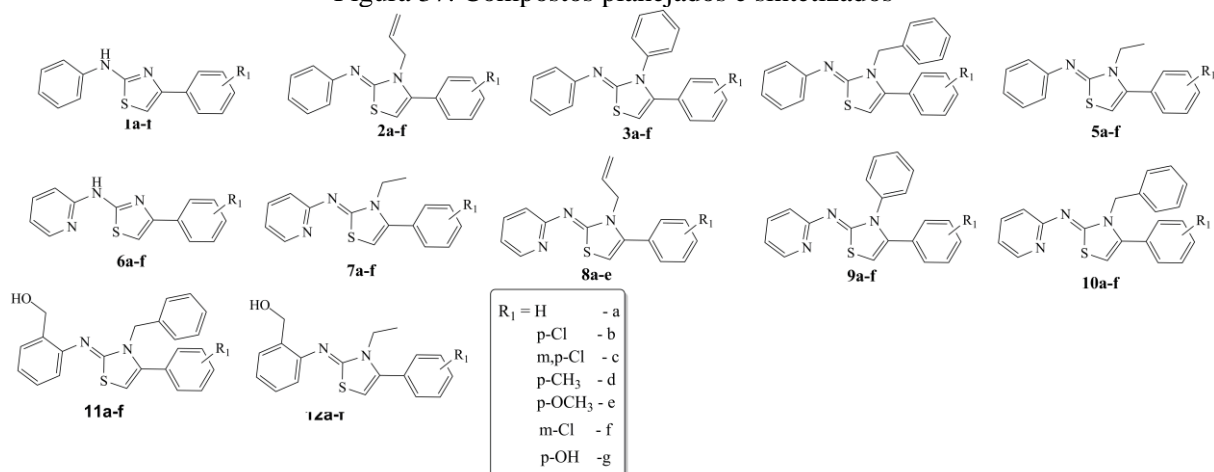
Figura 36. Síntese das tioureias utilizando o 2-aminobenzil álcool como reagente.



Fonte: Autor, 2022.

Dando continuidade ao trabalho, a próxima série sintetizada apresentava hidrogênio na posição 2 do anel benzeno e na posição 3 do anel piridínico, conduzindo à formação das requeridas tioureias, seguido das reações de ciclização e formação dos derivados tiazólicos (Figura 37). Dessa forma, os próximos tópicos irão abordar a síntese desses análogos.

Figura 37. Compostos planejados e sintetizados



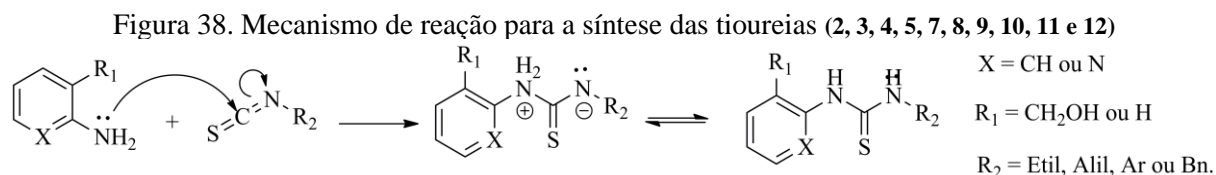
Fonte: Autor, 2022.

5.2 Síntese dos intermediários tioureicos

5.2.1 Mecanismo de reação dos intermediários tioureicos (2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12).

Um dos métodos mais eficazes para a síntese de tioureias é a partir da reação entre aminas primárias e isotiocianatos (SMITH e MARCH, 2001). O mecanismo se inicia com o

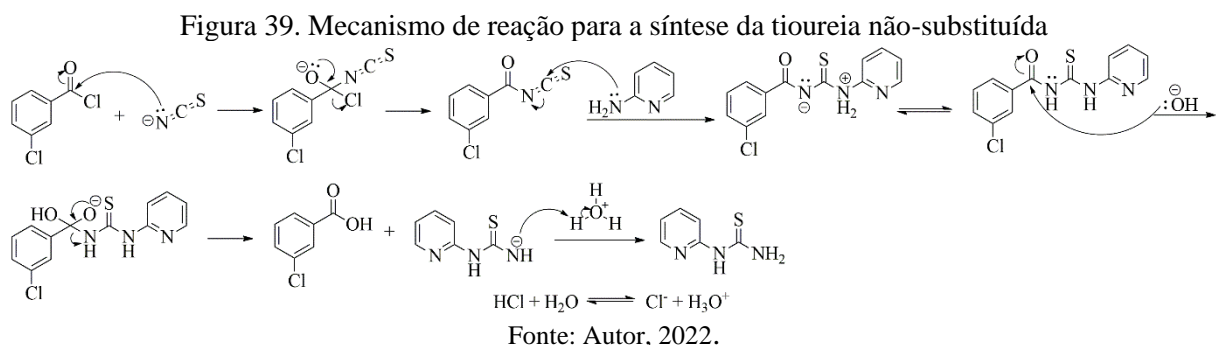
ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono do isotiocianato (Figura 38). Como discutido anteriormente, por ser um átomo mais eletronegativo a carga negativa se concentra no nitrogênio. Por fim, ocorre uma transferência de hidrogênio intramolecular para a estabilização do composto e formação da requerida tioureia (BEDANE et al., 2015; SMITH e MARCH, 2001).



Fonte: Autor, 2022.

5.2.2 – Mecanismo de reação do intermediário tioureico não substituído (5).

Partindo do isotiocianato de potássio e o cloreto de 3-clorobenzoíla, o mecanismo inicia com o ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono da carbonila gerando um intermediário acilisotiocianato, como mostrado na figura 39. Em seguida, o nitrogênio da 2-aminopiridina ataca o carbono de hibridização *sp* gerando uma tiocarbonila. Adicionou-se hidróxido de sódio em uma reação quimiosseletiva com a finalidade de hidrolisar a amida, gerando um ácido carboxílico e a requerida tioureia. Por fim, adicionou-se uma solução de HCl 6M, em que o íon hidrônio foi utilizado para a estabilização da tioureia (BEDANE *et al.*, 2015)

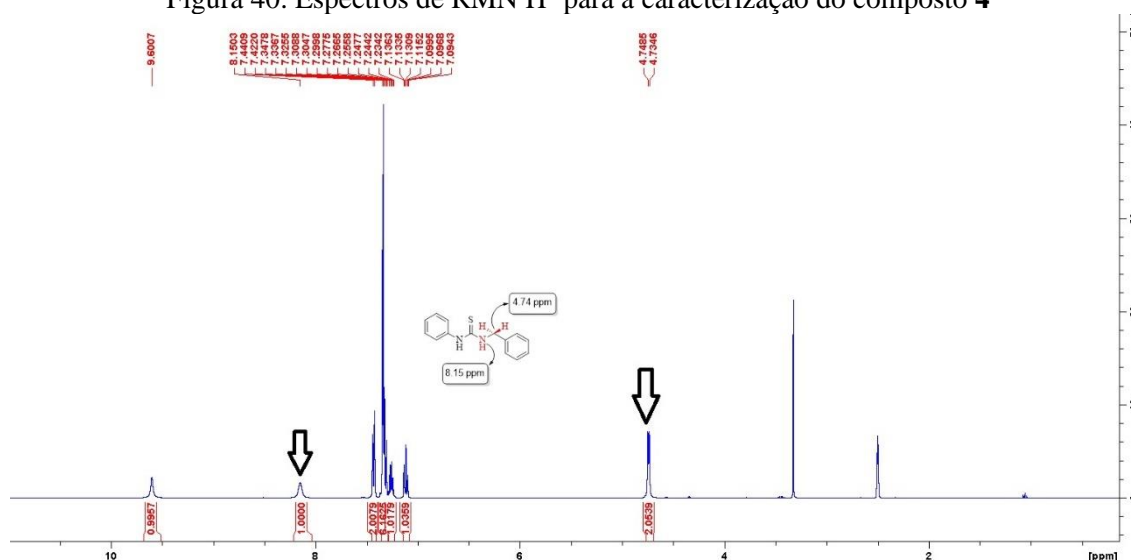


5.2.3 – Caracterização dos intermediários tioureicos

A figura 40 mostra a caracterização por RMN de ¹H para o composto 4. A confirmação do composto ocorreu por meio da observação do duplete em 4,74 ppm referente

aos hidrogênios metilênicos do grupo benzila, juntamente com o singlete em 8,15 ppm referente ao hidrogênio NH-benzila, além dos sinais referentes ao anel aromático, caracterizando assim o composto. Por meio do espectro de RMN de ^{13}C , também foi possível confirmar o referido composto pelo sinal em 47,1 ppm referente ao carbono metilênico do grupo benzila (tópico 1.3.2, volume II). Para os compostos **2**, **3**, **4**, **5**, **7**, **8**, **9**, **10**, **11**, e **12** a caracterização foi semelhante, com a confirmação no espectro de RMN de ^1H dos sinais de cada um dos substituintes, podendo ser hidrogênio, etila, alila, fenila ou benzila, bem como, a presença dos sinais de todos os carbonos no espectro de RMN de ^{13}C . Todos os espectros se encontram no material suplementar desta tese.

Figura 40. Espectros de RMN H^1 para a caracterização do composto **4**



Fonte: Autor, 2022.

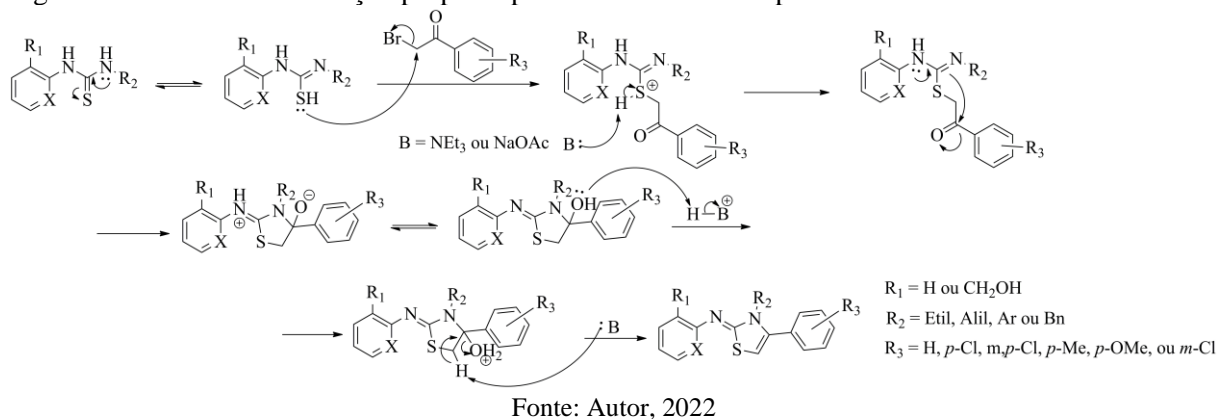
5.3 Síntese dos compostos tiazólicos (2a-f, 3a-f, 4a-f, 5a-f, 7a-f, 8a-f, 9a-f, 10a-f, 11a-f, e 12a-f).

5.3.1 Mecanismo de reação dos compostos tiazólicos *N*-substituídos (2a-f, 3a-f, 4a-f, 5a-f, 7a-f, 8a-f, 9a-f, 10a-f, 11a-f, e 12a-f)

O mecanismo para a síntese dos tiazóis é mostrado na figura 41. Inicialmente ocorre um equilíbrio tautomérico da forma tiona e tiol, que por ser mais reativo é responsável por fazer o ataque ao carbono α -halogenado da bromoacetofenona por meio de um mecanismo de reação $\text{S}_{\text{N}}2$. A base é utilizada para desprotonar o enxofre e estabilizar o intermediário. Em seguida, o par de elétrons do nitrogênio ligado ao anel aromático é disponibilizado para fazer uma ligação dupla, o que resulta no ataque do nitrogênio *N*-substituído ao carbono carbonílico

fechando o anel de cinco membros. Por fim, a hidroxila é protonada, formando um bom grupo de saída para a etapa de eliminação, em que a base captura o próton do carbono β , gerando uma ligação π e eliminando uma molécula de água, conduzindo à formação dos derivados tiazólicos (SHIRAN *et al.*, 2015; MISHRA *et al.*, 2015).

Figura 41: Mecanismo de reação proposto para a síntese dos compostos tiazólicos *N*-substituídos

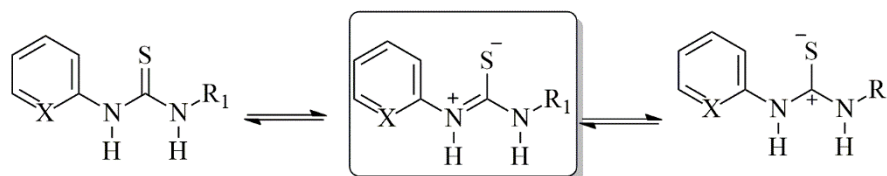


5.3.2 Considerações sobre a configuração *E/Z* dos compostos.

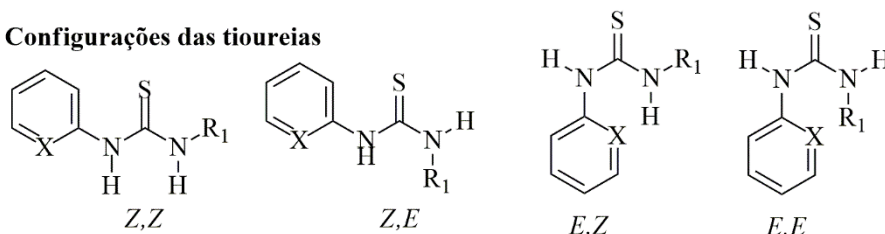
As tioureias podem ser obtidas em até quatro arranjos configuracionais, como mostrado na figura 42 (FERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Essas configurações são propostas devido a alguns estudos de cristalografia demonstrarem que existe grande contribuição de orbitais híbridos sp^2 do carbono central e dos átomos de nitrogênio, como mostrado nas estruturas de ressonância da figura 42 (FERNÁNDEZ *et al.*, 2000). Assim, alguns autores como Fernández e colaboradores (2000) sugerem que existem quatro arranjos configuracionais, dos quais o principal obtido é o *Z,Z* por apresentar menor impedimento estérico e que a configuração *E,E* dificilmente será obtida, por apresentar alto impedimento estérico. Dessa forma, pode-se propor que os produtos tiazólicos sintetizados neste trabalho também são obtidos em configuração *Z* na ligação dupla exocíclica do anel tiazólico, partindo do pressupostos de que a configuração da tioureia obtida seja *Z,Z* por ser a mais estável. Essa informação é confirmada por meio dos estudos de ALY *et al.*, 2019 e SHIRAN *et al.*, 2015, e GOMES *et al.*, 2016, por meio da estrutura cristalográfica. Assim, como o método utilizado neste trabalho é semelhante ao método de trabalhos anteriores, pode-se propor que a configuração da ligação dupla seja *Z*. Entretanto, é necessário um método experimental para tal confirmação.

Figura 42. Estruturas de ressonância e possíveis configurações *E/Z* das tioureias.

Estruturas de ressonância das tioureias



Configurações das tioureias

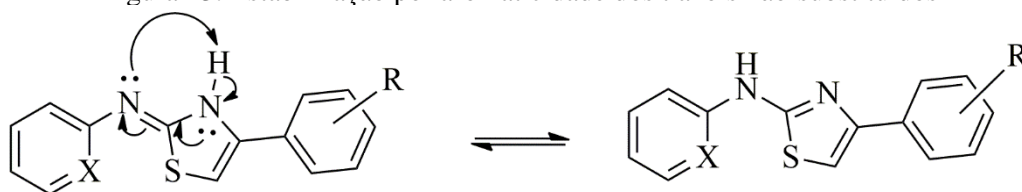


Fonte: Autor, 2022.

5.3.3 Considerações sobre a aromaticidade dos compostos (1a-f e 6a-f).

Para os compostos não substituídos, o mecanismo de reação é o mesmo mostrado para a síntese dos tiazóis *N*-substituídos na figura 41. Entretanto, é possível observar que existe um equilíbrio tautomérico entre os nitrogênios, como mostrado na figura 43, de forma que o tautômero principal é o composto em que a ligação dupla é endocíclica devido a estabilização por aromaticidade.

Figura 43. Estabilização por aromaticidade dos tiazóis não-substituídos



X = CH ou N

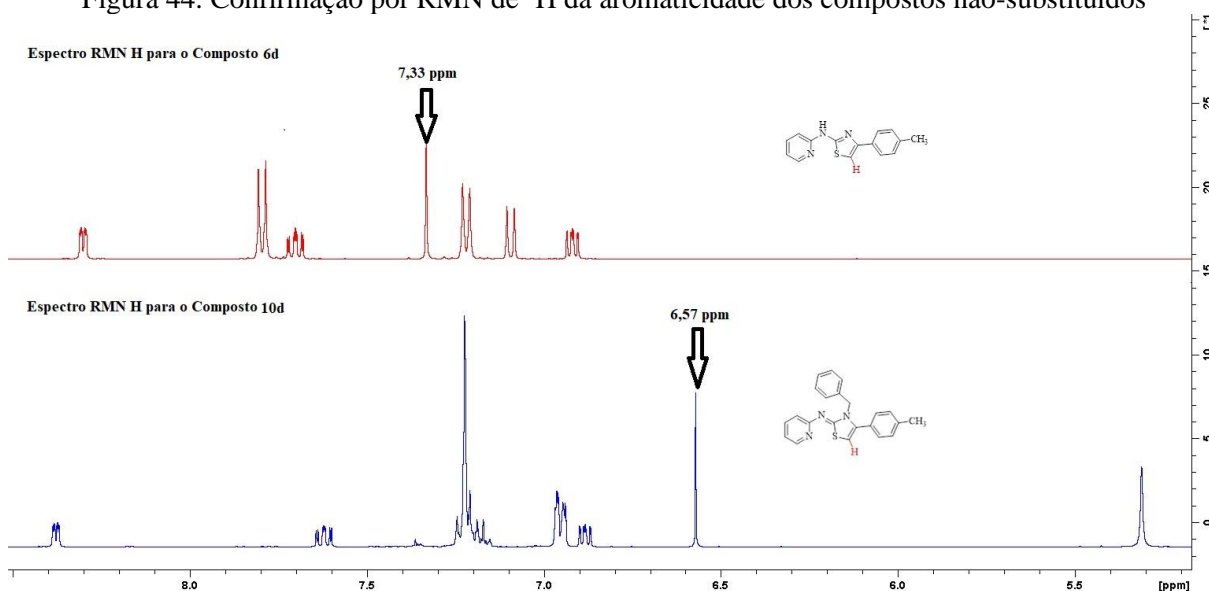
R = H; p-Cl; m,p-Cl; p-Me; p-OMe

Fonte: Autor, 2022.

Essa proposição é apoiada pelo experimento de RMN ^1H (Figura 44), utilizando como exemplo o composto **10d**, constituído de um tiazol *N*-benzil substituído, em que sinal referente ao hidrogênio tiazólico está em campo mais alto (6,57 ppm), enquanto que o mesmo sinal no composto **6d**, constituído de um tiazol não substituído, é observado em campo mais baixo (7,33 ppm). Isso ocorre porque compostos aromáticos apresentam deslocamento químico em campo mais baixo por apresentar uma corrente anelar diamagnética (CAREY *et*

al., 2007). Dessa maneira, para os compostos **1a-f** e **6a-f**, o sinal referente ao anel tiazólico apresenta deslocamento químico entre 7,15 – 7,45 ppm, o que confirma que para essas séries de compostos, o equilíbrio prevalece no sentido da formação da ligação dupla endocíclica ao anel tiazólico.

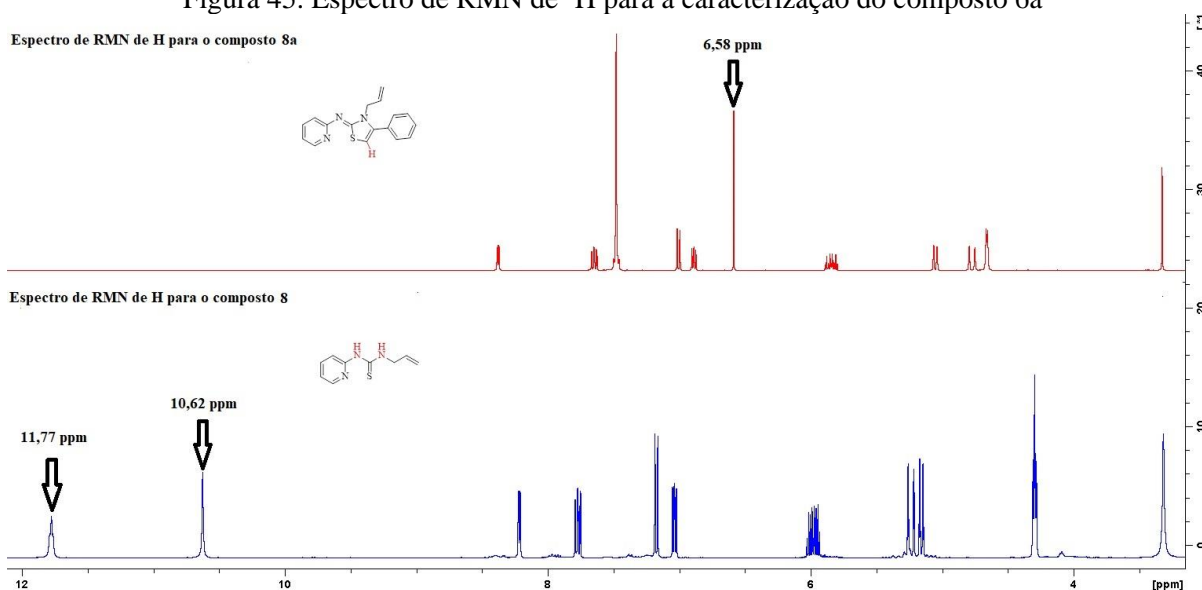
Figura 44. Confirmação por RMN de ^1H da aromaticidade dos compostos não-substituídos



Fonte: Autor, 2022.

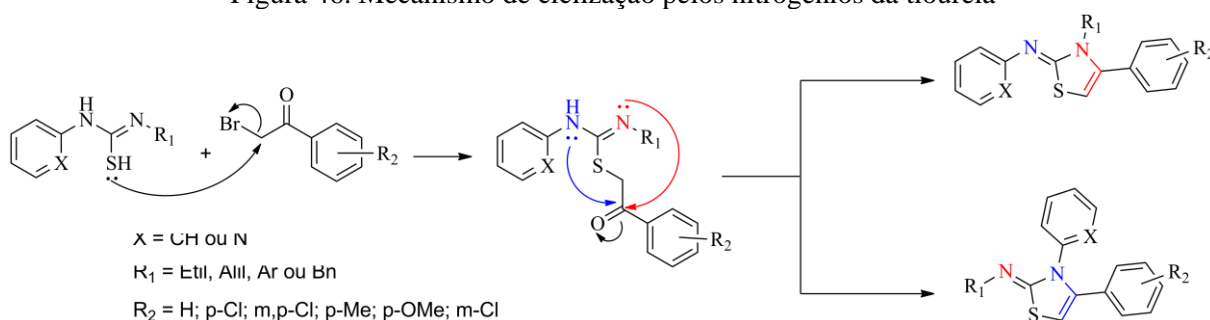
5.3.4 – Caracterização dos compostos tiazólicos *N*-benzila, *N*-alila e *N*-etila substituídos (**2a-f**, **4a-f**, **5a-f**, **7a-f**, **8a-f**, e **10a-f**)

Como citado no tópico anterior, a caracterização para esses compostos foi realizada por meio da confirmação do simpleto referente ao fechamento do anel tiazólico na região aromática no espectro de RMN de ^1H . A figura 55 mostra o espectro de RMN ^1H tomando como exemplo o composto **8a**. É possível observar a presença do simpleto em 6,58 ppm, característico da formação do anel tiazólico, bem como a supressão dos sinais NH (10,62 e 11,77 ppm), presentes na tioureia intermediária. Os espectros de carbono estão disponíveis no material suplementar.

Figura 45. Espectro de RMN de ^1H para a caracterização do composto 6a

Entretanto, apenas os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C não foram suficientes para a confirmação estrutural exata. Observe a figura 46, em que para os compostos *N*-alila, *N*-etila e *N*-benzila e até mesmo para os *N*-fenila substituídos, o ataque pode ser realizado pelos dois nitrogênios da tioureia, o que pode gerar a possibilidade de formação de dois regioisômeros que apresentariam o mesmo padrão de multiplicidade no espectro de RMN de ^1H . Dessa forma foi necessário um experimento de RMN 2D HMBC para confirmar a conectividade dos compostos *N*-alila, *N*-etila e *N*-benzila substituídos. Para os compostos não substituídos, essa análise não foi necessária, pois os compostos formados preferencialmente são estabilizados por aromaticidade, como discutido anteriormente. Para os compostos *N*-fenila substituídos, o experimento de RMN 2D HMBC não foi conclusivo, necessitando da análise de RMN 2D NOESY, abordada no tópico 5.3.7.

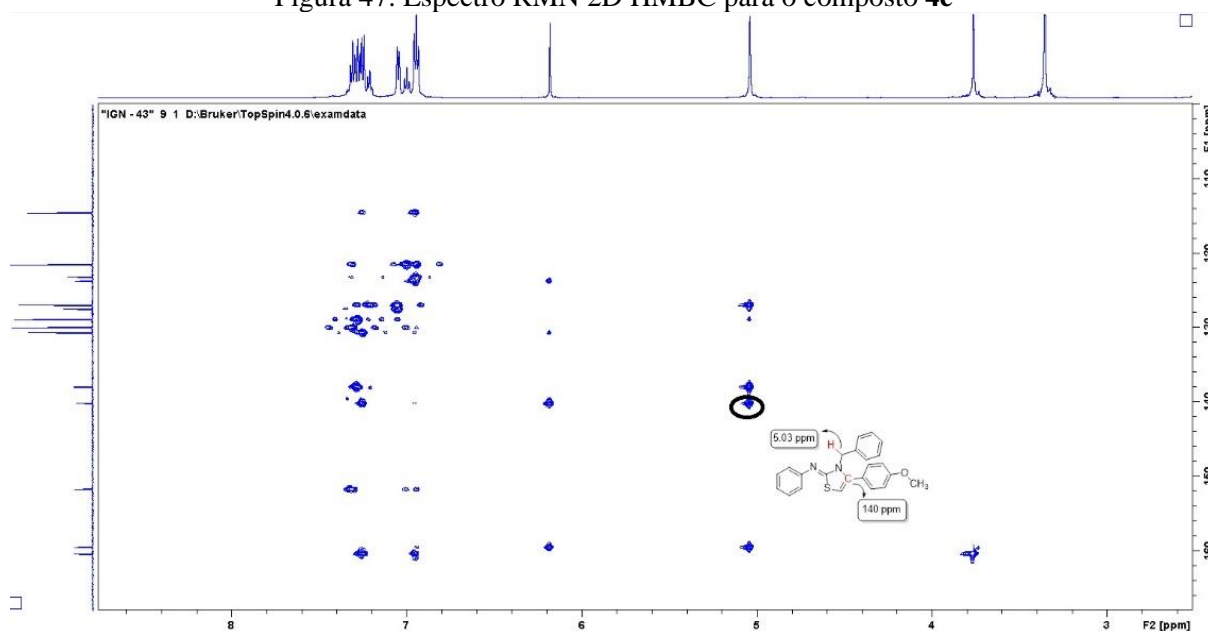
Figura 46. Mecanismo de ciclização pelos nitrogênios da tioureia



Fonte: Autor, 2022.

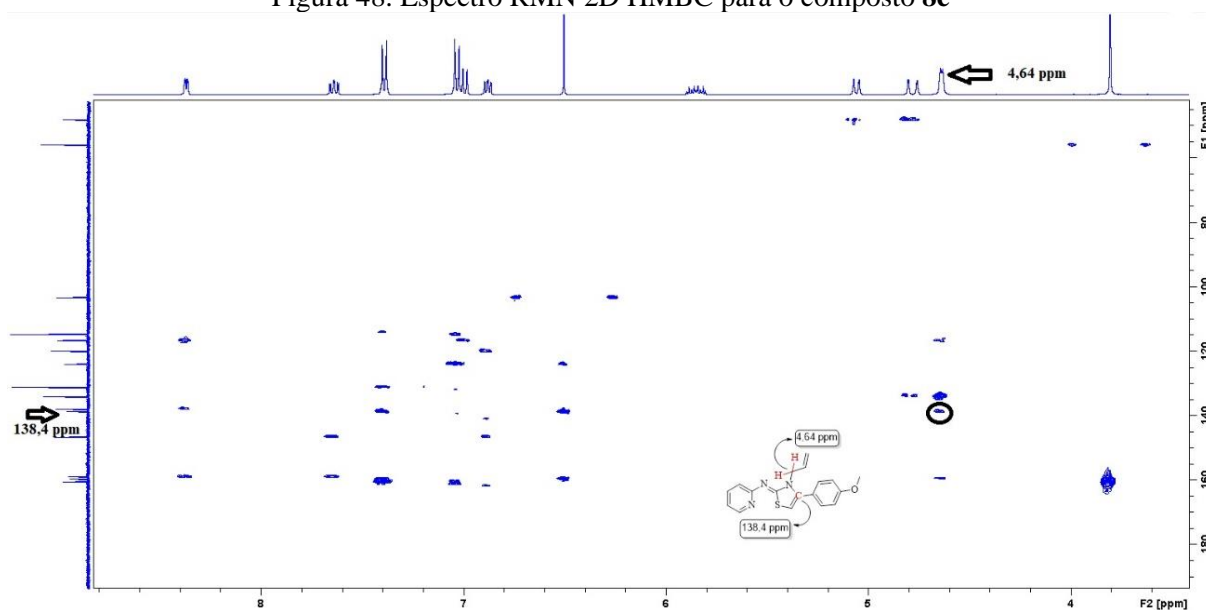
A confirmação da conectividade para os compostos *N*-benzila substituídos foi realizada por meio do espectro de RMN 2D HMBC, mostrado na figura 47 utilizando o composto **4e** como exemplo. A conectividade do composto foi confirmada a partir do acoplamento entre os hidrogênios metilênicos da benzila (5,03 ppm) com o carbono do anel tiazólico (140 ppm). Esse acoplamento não seria possível caso fosse o produto secundário, confirmando assim a que o ciclo formado era o produto reacional esperado. Esse experimento foi realizado para os compostos **4e**, **10e** e **11a**, disponíveis no material suplementar.

Figura 47. Espectro RMN 2D HMBC para o composto **4e**



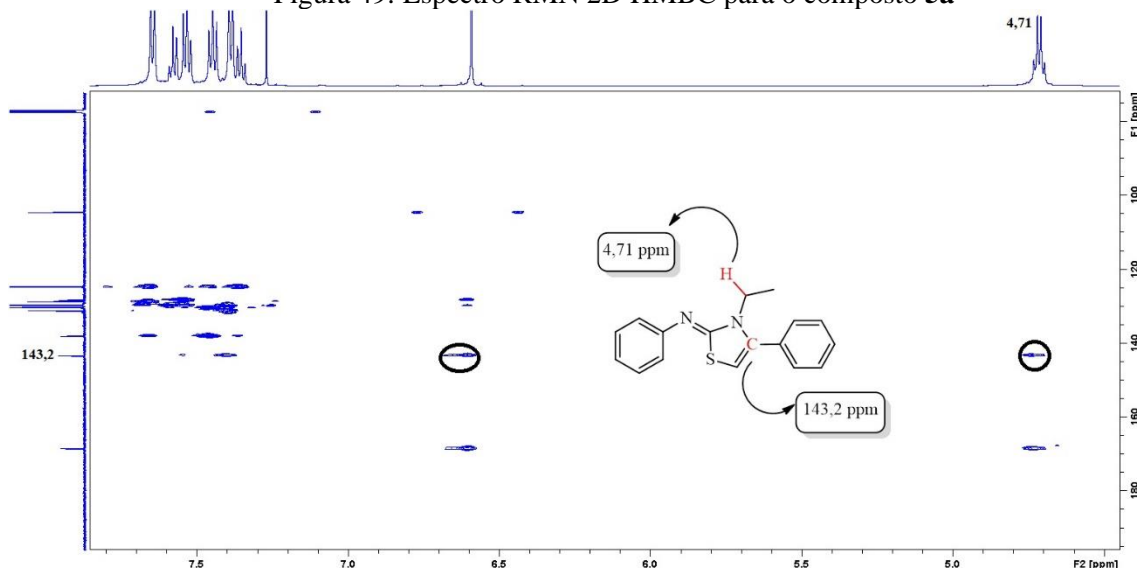
Fonte: Autor, 2022.

Para os compostos *N*-alila substituídos, a confirmação da conectividade é mostrada para o composto **8e**, na figura 48. Observe que a confirmação foi através do acoplamento dos hidrogênios metilênicos alílicos em 4,64 ppm, com o carbono do anel tiazólico em 138,4 ppm, confirmando a conectividade dos compostos. Os experimentos de RMN 2D HMBC foram realizados para os compostos **2e**, **8b**, e **8e** e estão disponíveis no material suplementar.

Figura 48. Espectro RMN 2D HMBC para o composto **8e**

Fonte: Autor, 2022.

Por fim, a figura 49 mostra a confirmação por RMN 2D HMBC para os compostos *N*-etila substituídos, exemplificado pelo composto **5a**. Assim, a confirmação da conectividade entre os átomos e consequente caracterização do composto foi realizada por meio do acoplamento entre o quarteto em 4,71 ppm, referente aos hidrogênios do grupo CH₂ com o carbono em 143,1 ppm, referente ao carbono do ciclo tiazólico. Os espectros de HMBC também foram realizados para os compostos **5a**, **5b**, **5c**, **5d**, **5e**, **5f**, **7d**, e **7e** disponíveis no material suplementar dessa tese.

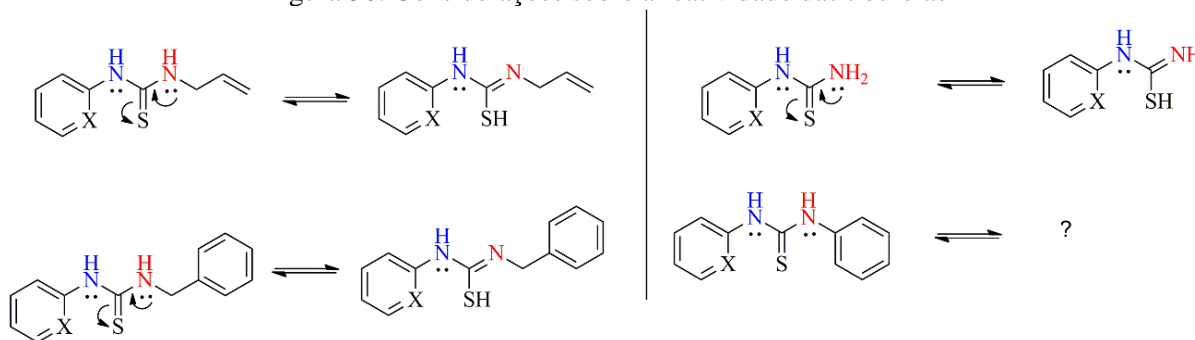
Figura 49: Espectro RMN 2D HMBC para o composto **5a**

Fonte: Autor, 2022.

5.3.5 – Considerações sobre a reatividade.

Como citado anteriormente, a primeira etapa no mecanismo reacional é o equilíbrio tautomérico para a formação do tiol, que apresenta maior reatividade que a tiona. Observe na figura 50 que, para as tioureias *N*-alila, *N*-benzila e não-substituídas, o par de elétrons do nitrogênio em azul é menos reativo, pois existe a possibilidade de ressonância com o anel aromático. Já o par de elétrons do nitrogênio em vermelho está mais disponível para participar do equilíbrio tautomérico, e em seguida fazer o ataque nucleofílico, o que explica a obtenção dos produtos principais nas reações com as tioureias *N*-alila, *N*-benzila e não-substituídas. Entretanto, para os compostos *N*-fenila substituídos em que “X” é um nitrogênio (anel piridínico), os pares de elétrons dos dois nitrogênios podem estar conjugados com o anel aromático e com o anel piridínico, sendo necessária uma outra análise que explique a obtenção do produto principal. Essa análise será abordada no próximo tópico.

Figura 50. Considerações sobre a reatividade das tioureias

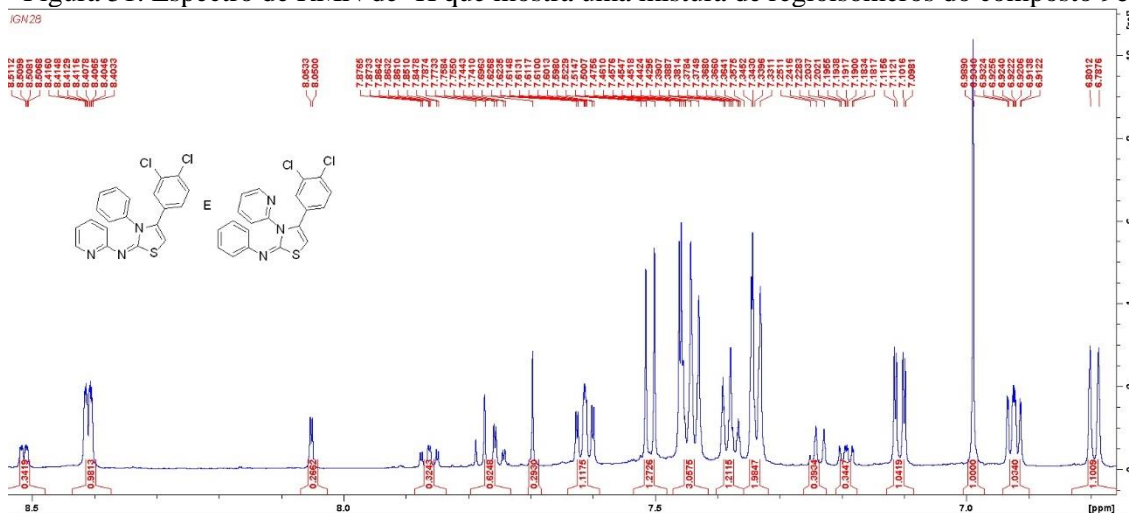


Fonte: Autor, 2022.

5.3.6 – Síntese dos compostos derivados piridínicos-tiazólicos *N*-fenil substituídos (9a-f)

O primeiro método testado foi utilizando proporção de 1:1:1 da feniltioureia, α -bromoacetofenona e NEt_3 como base, em EtOH como solvente e temperatura de refluxo. Observe na figura 51 que o espectro de RMN de ^1H do produto isolado apresenta vários sinais que mostram que ao invés de obter o produto esperado, obteve-se uma mistura de regioisômeros.

Figura 51. Espectro de RMN de ^1H que mostra uma mistura de regioisômeros do composto **9c**

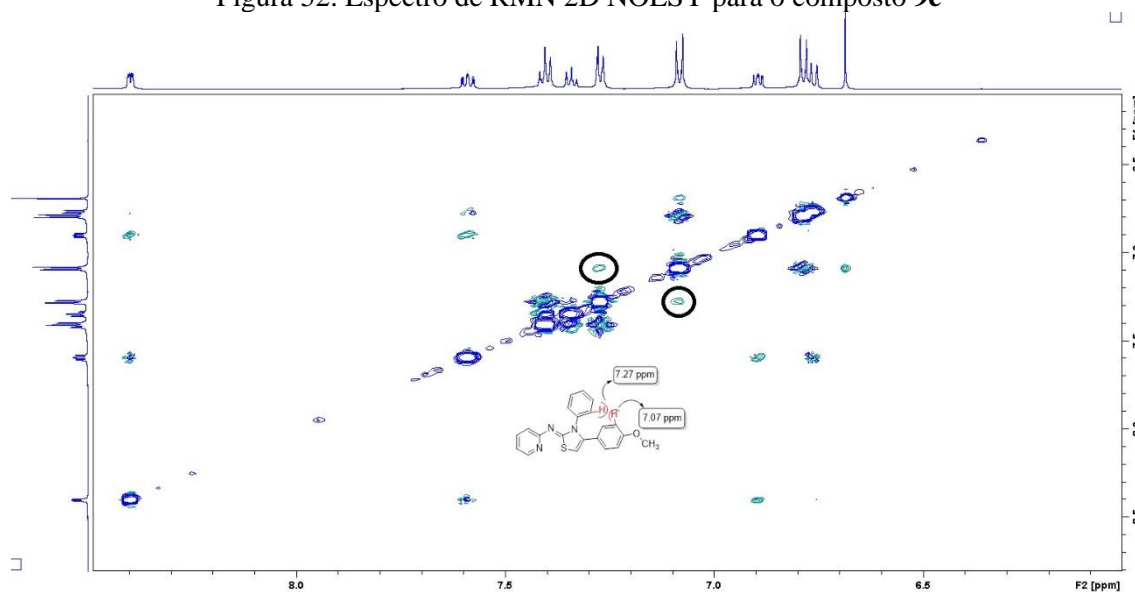


Fonte: Autor, 2022.

Assim, semelhante às tentativas mostradas na tabela 1 e com uso de trietilamina ou acetato de sódio como base, eram obtidas mistura de regioisômeros difíceis de serem separados. Até que o método com ausência de base, utilizando proporção de 1:1 dos reagentes, EtOH como solvente e temperatura ambiente durante 1 hora de reação, o produto secundário foi formado em menor quantidade e pode ser separado através de uma recristalização, obtendo espectro de RMN ^1H e ^{13}C (tópicos 3.21.1 e 3.21.2 do volume II) com apenas um dos regioisômeros. Entretanto, os dois regioisômeros apresentariam mesmo padrão de multiplicidade no espectro de RMN de ^1H . Assim, para a confirmação da conectividade, realizou-se então o experimento de RMN 2D HMBC, entretanto, não foi conclusivo em determinar a estrutura dos compostos. Dessa forma, optou-se por realizar o experimento de RMN 2D NOESY, abordado no próximo tópico.

5.3.7 – Caracterização dos compostos derivados piridínicos-tiazólicos *N*-fenila substituídos através de RMN 2D NOESY.

Por meio do experimento de NOESY para o composto **9e**, mostrado na figura 52, foi possível observar o acoplamento entre os hidrogênios do anel aromático *para*-substituído (7,07 ppm), com o sinal do aromático *N*-fenila (7,27 ppm), confirmando assim a estrutura do produto. Esse experimento também foi realizado para o composto **9b**, confirmando assim sua conectividade (tópico 3.20.3 do volume II).

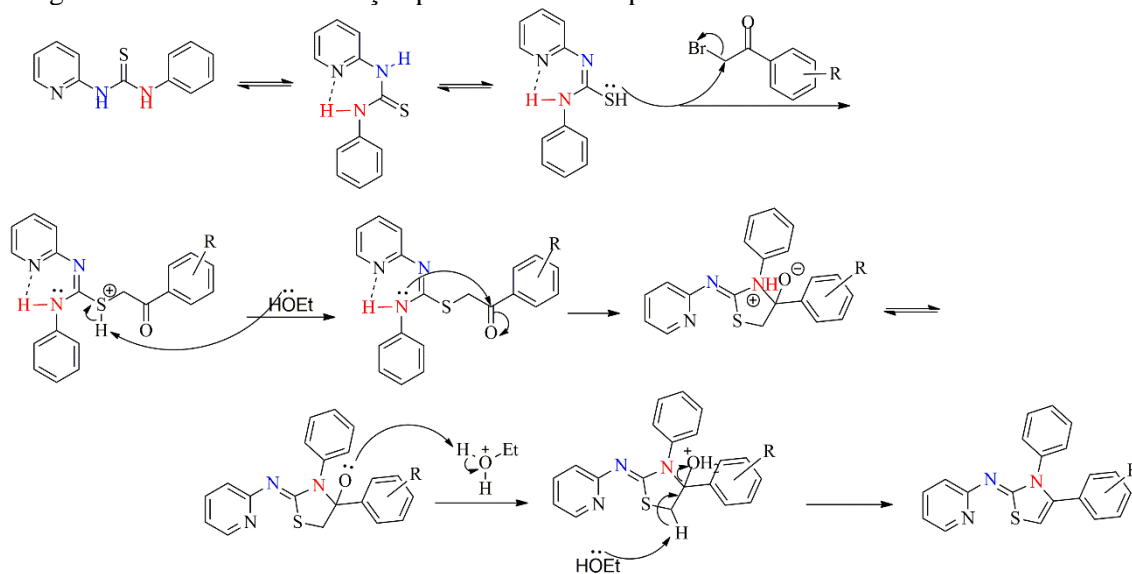
Figura 52. Espectro de RMN 2D NOESY para o composto **9e**

Fonte: Autor, 2022.

5.3.8 – Mecanismo de reação para os compostos piridínicos-tiazólicos *N*-fenil substituídos (**9a-f**).

Com a conectividade dos compostos piridínicos-tiazólicos *N*-fenila substituídos (**9a-f**) confirmada, foi necessário então explicar a regioseletividade obtida. A figura 53 mostra a proposta de mecanismo de reação. A diferença está no fato de que a tioureia intermediária apresenta a possibilidade de uma ligação de hidrogênio intramolecular (ELTSOV *et al.*, 2004). Dessa forma, o hidrogênio ligado ao *N*-aromático tende a fazer uma ligação de hidrogênio intramolecular, formando um ciclo de seis membros, e o hidrogênio do *N*-piridina que tende a participar do equilíbrio tautomérico. Observe que os pares de elétrons dos dois nitrogênios continuam com a possibilidade de conjugação com o anel aromático. Entretanto, aminas hibridizadas em sp^3 tendem a ser mais reativas que aminas hibridizadas em sp^2 (CLAYDEN, 2012). Assim o ataque tende a ser realizado pelo *N*-aromático conduzindo a formação do composto caracterizado por RMN de ^1H e NOESY.

Figura 53. Mecanismo de reação para os derivados piridínicos-tiazólicos *N*-fenila substituídos



Fonte: Autor, 2022.

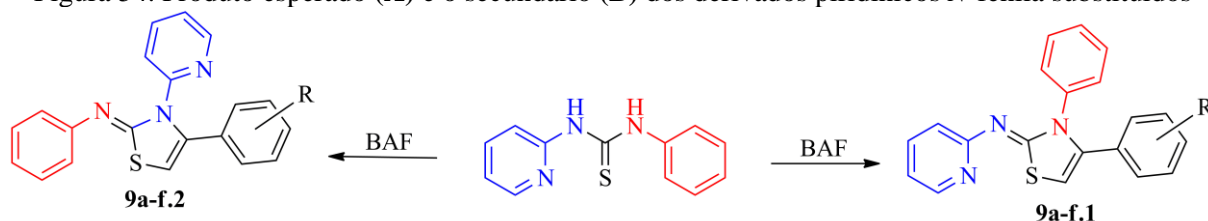
Interessados em investigar o mecanismo acima, e explicar de maneira prática o mecanismo proposto, um estudo computacional baseado em cálculos de DFT foi realizado, para explicar a regioseletividade obtida, bem como a proposta de mecanismo e reação, que será abordado no próximo tópico.

5.4 Estudos de DFT para os tiazóis *N*-fenila-substituídos (9a-f).

5.4.1 – Otimização geométrica (energia molecular)

Inicialmente foram realizados os cálculos de DFT para a otimização geométrica, a fim de prever a estabilidade molecular, pois o produto majoritário tende ser aquele que possui menor energia e, conseqüentemente, uma maior estabilidade (ENGVIST et al., 2018). Assim, foram realizados os cálculos de DFT submetido à densidade híbrida corrigida por gradiente B3LYP e otimização da geometria por def2-QZVP do produto esperado (9a-f.1) e do produto não esperado (9a-f.2), mostrados na figura 54. O objetivo desse estudo foi de prever qual seria o produto mais estável sendo assim o produto preferencial.

Figura 54. Produto esperado (A) e o secundário (B) dos derivados piridínicos *N*-fenila substituídos



Fonte: Autor, 2022.

De acordo com os dados da tabela 6, os compostos que apresentam o ciclo entre o enxofre e o nitrogênio substituído com o anel aromático (**9a-f.1**) apresentam menor energia, com uma diferença de energia entre o produto preferencial (A) e o secundário (B) variando entre 26 e 33 kJ/mol, mostrando uma maior estabilidade, o que sugere ser o produto regioisomérico preferencial.

Tabela 2: Energia molecular para os compostos *N*-fenila substituídos

Composto	Energia (kJ/mol)	Composto	Energia (kJ/mol)	Diferença (kJ/mol)
9a.1	-3501122,883497639	9a.2	-3501095,736920334	27,146577305
9b.1	-4707752,34483924	9b.2	-4707719,304913314	33,039925926
9c.1	-5914375,386910007	9c.1	-5914342,796192904	32,590717103
9d.1	-3604335,568771963	9d.2	-3604305,9362531705	29,632518793
9e.1	-3801808,1886688503	9e.2	-3801781,287468874	26,901199976

Fonte: Autor, 2022

5.4.2 – Orbitais moleculares de fronteira (HOMO-LUMO)

Além da energia molecular, outro estudo que pode ajudar a explicar a regioseletividade obtida nesses compostos é por meio do cálculo do intervalo HOMO-LUMO dos compostos, de forma que o produto mais estável e preferencial normalmente é aquele que apresenta uma maior diferença entre a energia de HOMO e LUMO (HAZHAZI et al., 20218; HORCHANI et al., 2020). Observe que o intervalo HOMO-LUMO dos compostos mais estáveis (**9a-f.1**) varia entre 3,9-4,21 eV, e para os produtos menos estáveis (**9a-f.2**) a variação foi entre 3,736 – 4,067 eV. É possível observar que para todos os compostos esperados os valores de intervalo HOMO-LUMO foram maiores, e conseqüentemente pode-se

propor que apresentam maior estabilidade molecular, o que justifica serem os produtos preferenciais da reação.

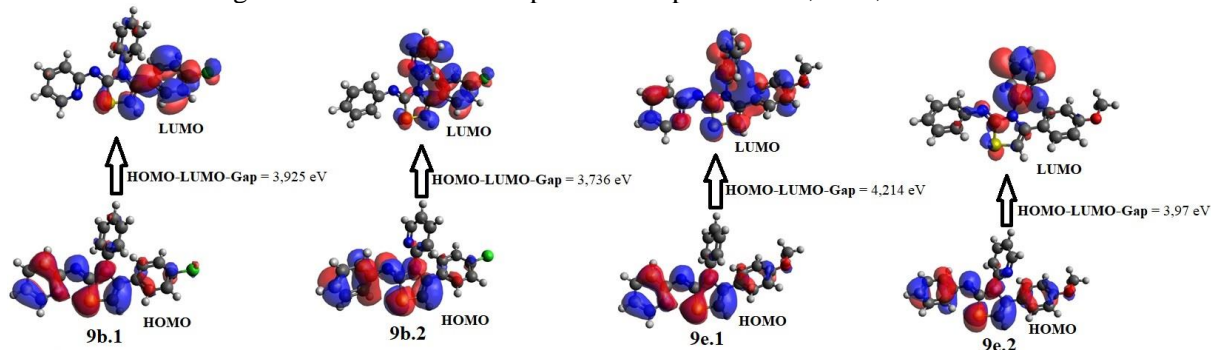
Tabela 3. Energia HOMO-LUMO

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Inter. (eV)	Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	Inter. (eV)
9a.1	-5,202	-1,151	4,051	9a.2	-5,244	-1,224	4,02
9b.1	-5,299	-1,374	3,925	9b.2	-5,245	-1,509	3,736
9c.1	-5,399	-1,499	3,9	9c.2	-5,393	-1,501	3,892
9d.1	-5,164	-0,965	4,199	9d.2	-5,236	-1,169	4,067
9e.1	-5,107	-0,893	4,214	9e.2	-5,130	-1,160	3,97

Fonte: Autor, 2022.

A distribuição HOMO-LUMO (compostos **9b.1**, **9b.2**, **9e.1** e **9e.2**) é apresentada na figura 55. A análise da distribuição HOMO-LUMO pode ser utilizada para explicar as diferenças observadas entre os valores de intervalo HOMO-LUMO dos compostos (FARAG *et al.*, 2019). Assim, para os compostos mais estáveis **9b.1** e **9e.1**, a densidade de orbitais HOMO e LUMO é melhor distribuída através da estrutura, o que gera maiores valores de intervalo HOMO-LUMO, sugerindo uma maior estabilidade molecular, enquanto que para os compostos menos estáveis **9b.2** e **9e.2**, a densidade dos orbitais fica concentrada em uma só região da molécula, o que reflete menores valores de intervalo HOMO-LUMO, sugerindo uma menor estabilidade molecular

Figura 55. HOMO-LUMO para os compostos **9b.1**, **9b.2**, **9e.1** e **9e.2**

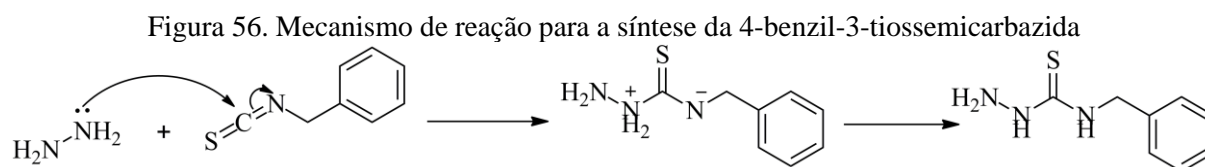


Fonte: Autor, 2022. Ilustração elaborada utilizando o software Avogadro®

5.5 Síntese das tiadiazinas (13a-g, 14a-g, 15a-g e 16a-f).

5.5.1 Mecanismo de reação para as tiossemicarbazidas substituídas (15)

Um dos métodos mais eficientes para o preparo de tiossemicarbazidas substituídas é baseado na reação da hidrazina com isotiocianatos substituídos (METWALLY *et al.*, 2011). Semelhante ao que ocorre no mecanismo de reação das tioureias, a etapa inicial é a reação de adição nucleofílica da hidrazina ao carbono hibridizado em *sp* do isotiocianato substituído. Por fim, ocorre uma transferência de hidrogênio intramolecular gerando as tiossemicarbazidas (BEDANE *et al.*, 2015; SMITH e MARCH, 2001). A figura 56 mostra o mecanismo de formação para o composto **15**.

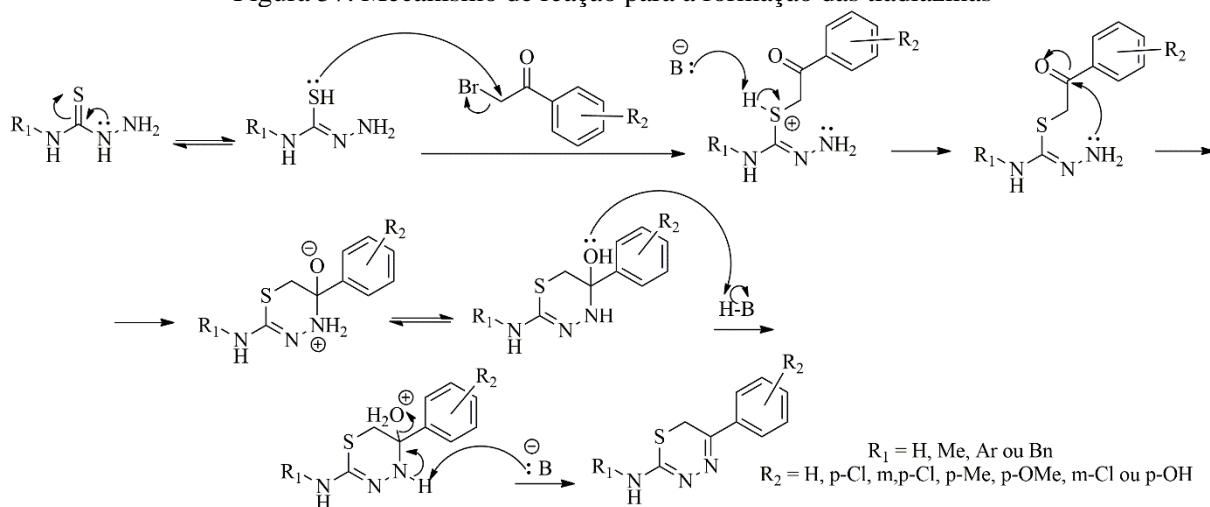


Fonte: Autor, 2022.

5.5.2 Mecanismo de reação das tiadiazinas (13a-g, 14a-g, 15a-g e 16a-f)

O mecanismo de reação para a síntese das tiadiazinas é mostrado na figura 57. Semelhante ao mecanismo da síntese de tiazóis, a requerida tiossemicarbazida tautomeriza assumindo a forma tiol, responsável pelo ataque do tiol ao carbono α -halogenado em um mecanismo de reação S_N2 . A base captura o próton do tiol estabilizando o intermediário. Em seguida, o NH_2 faz o ataque ao carbono carbonílico gerando um ciclo de seis membros. Por fim, a hidroxila é protonada e realizada uma reação de eliminação com a abstração do hidrogênio do nitrogênio, gerando a ligação dupla e a eliminação de uma molécula de água, conduzindo a formação dos compostos tiadiazínicos (METWALLY *et al.*, 2011).

Figura 57. Mecanismo de reação para a formação das tiadiazinas

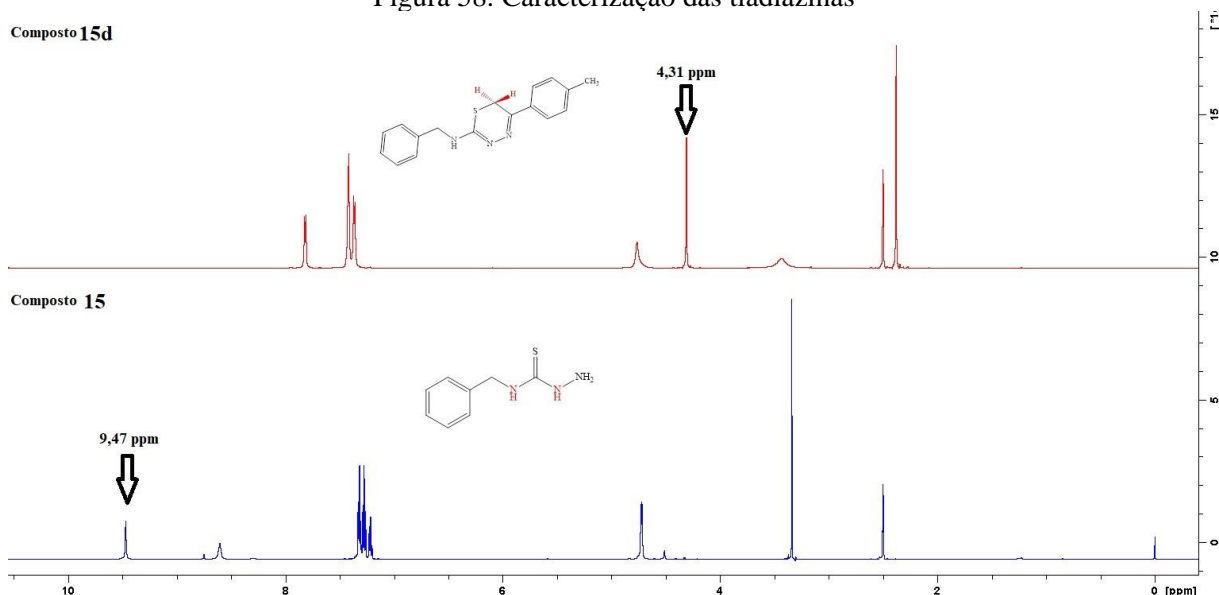


Fonte: Autor, 2022

5.5.3 – Caracterização das tiadiazinas (**13a-g**, **14a-g**, **15a-g** e **16a-f**).

A figura 58 mostra a caracterização das tiadiazinas por RMN de ^1H utilizando como exemplo o composto **15d**. Observe que a confirmação da formação do anel tiadiazínico foi por meio do simpleto referente ao CH_2 em 4,31 ppm, bem como, a supressão do sinal de NH em 9,47 ppm. Os compostos também foram confirmados por RMN de ^{13}C , por meio do sinal em 22,6 ppm referente ao carbono alifático do anel tiadiazínico (espectro disponível no tópico 4.18.2, volume II).

Figura 58. Caracterização das tiadiazinas

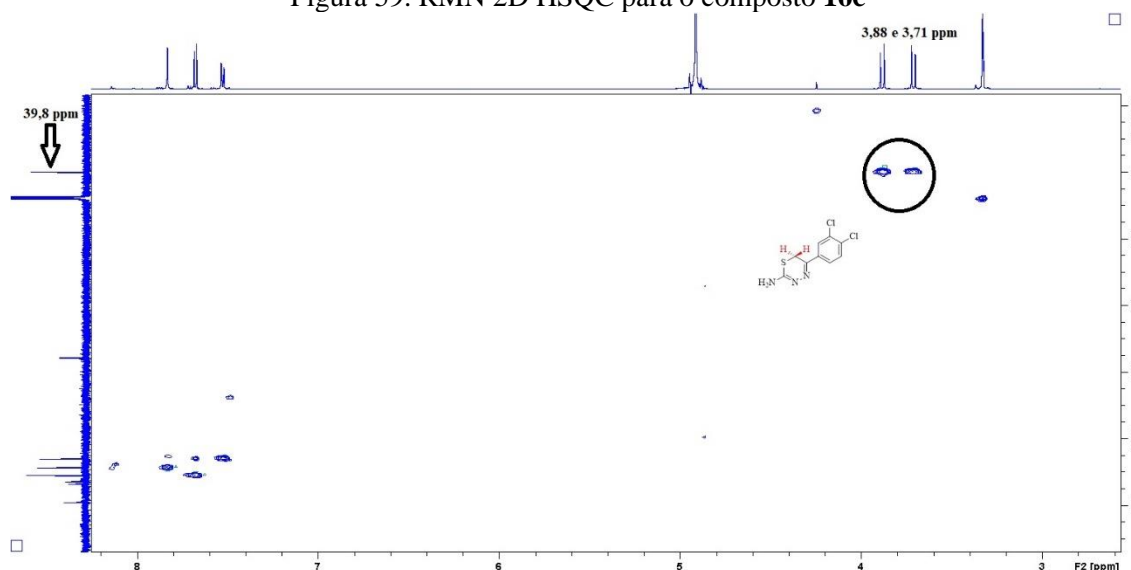


Fonte: Autor, 2022.

5.5.4 – Caracterização das tiadiazinas **16b**, **16c** e **16e**.

Para os compostos **16b**, **16c** e **16e**, ao invés de um simpleto para o CH₂, observou-se na mesma região dois dupletos com integral para um hidrogênio e mesmo valor da constante de acoplamento (*J*). Dessa forma, foi necessário um experimento de RMN 2D HSQC (Figura 59, para o composto **16c**) para confirmar a conectividade desses hidrogênios, em que se observou o acoplamento dos dois dupletos com o carbono do CH₂ do ciclo tiadiazínico, confirmando assim a formação do composto. Essa multiplicidade foi observada devido ao fato de a tiadiazina não ser um ciclo aromático, apresentando uma estrutura molecular rígida, que em alguns casos torna os hidrogênios metilênicos não-equivalentes, gerando um sinal para cada um deles em acoplamento geminal (FRIEBOLIN, 2013).

Figura 59. RMN 2D HSQC para o composto **16c**



Fonte: Autor, 2022.

5.6 Avaliação biológica dos compostos

5.6.1 – Avaliação dos derivados tiazólicos frente a formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Inicialmente, apenas as substâncias com inibição acima de 50% do crescimento de promastigotas em concentração de 10 μM foram avaliadas contra amastigotas. Todos os compostos foram submetidos ao ensaio de citotoxicidade pelo método de MTT, utilizando a linhagem celular de macrófagos RAW 264.7 e a anfotericina B e antimoniato de meglumina como padrões. As cédulas hospedeiras tratadas com os compostos foram comparadas com 0,5

% de DMSO, usado como diluente. Os compostos não-tóxicos foram submetidos ao ensaio de amastigotas na concentração de 10 μM . Foram considerados ativos aqueles com inibição acima de 50% de crescimento de amastigotas. Para esses compostos, foi determinada a concentração inibitória média (CI_{50}), a concentração citotóxica média (CC_{50}) e índice de seletividade (IS, calculado pela relação CC_{50} por CI_{50}). Todos os resultados são apresentados na tabela 4.

O análogo tiazol não-substituído **1a** foi considerado o ponto de partida para a elucidação das relações estrutura atividade dessa série de compostos. De acordo com a tabela 4, o análogo **1a** apresentou apenas 37,29 % de inibição do crescimento de formas promastigotas. A substituição no nitrogênio tiazólico por um grupo alila conduzindo a **2a** produziu diminuição na inibição do crescimento de promastigota (11,31 %). Por outro lado, a substituição com fenila com **3a** aumentou para 42,33 %, porém, a adição de um carbono produzindo o substituinte benzila (**4a**) tornou o análogo menos ativo (5,14 %). Curiosamente, a modificação de **4a** com a substituição do hidrogênio na posição 2 do anel aromático por um CH_2OH produziu o análogo **11a** com ótima atividade (CI_{50} de 5,58 μM), baixa toxicidade (79,13 μM) e ótimo índice de seletividade (13,93). Mais além, a substituição de **1a** com etila, produzindo **5a**, gerou um análogo mais ativo, com 96,1 % de inibição de promastigotas; 100 % de inibição de amastigotas, e CI_{50} de 2,3 μM . Além disso, o composto não foi tóxico para macrófagos ($\text{CC}_{50} = 72,49 \mu\text{M}$) e índice de seletividade satisfatório (31,52). Similar à **11a**, a substituição do hidrogênio na posição 2 do anel aromático de **5a** com um grupo CH_2OH produziu **12a**, com atividade contra amastigotas similar (CI_{50} de 5,61 μM), e melhora na toxicidade (CC_{50} de 107,39 μM) e IS (19,14).

Além disso, a influência na atividade leishmanicida das substituições do anel benzênico de **1a** pelo anel piridínico também foram avaliadas. Desse modo, a substituição do benzeno em **1a** por piridina produzindo **6a** mostrou redução da atividade de inibição de promastigotas (2,8 %). Por outro lado, a substituição do nitrogênio tiazólico de **6a** pelo grupo etila, produzindo **7a** melhorou a atividade, com 84,8 % de inibição de promastigotas; 92,45 % de inibição de amastigotas; CI_{50} de 4,83 μM , sem toxicidade (CC_{50} de 72,49) e ótimo IS (15,01). De fato, a substituição da etila por alila produzindo **8a** ocorre incremento na atividade (CI_{50} de 2,85 μM), menor toxicidade (89,54 μM) e melhora o IS (31,42). Entretanto, a adição de uma fenila e benzila conduzindo à **9a** e **10a**, respectivamente, diminui drasticamente a atividade (inibição de 15,9 % e 5,23 de promastigotas, respectivamente).

Ainda explorando o arcabouço estrutural de **1a**, de acordo com a substituições no anel aromático ligado ao grupo tiazólico, o análogo **1f** com um Cl na posição *meta* mostrou melhor

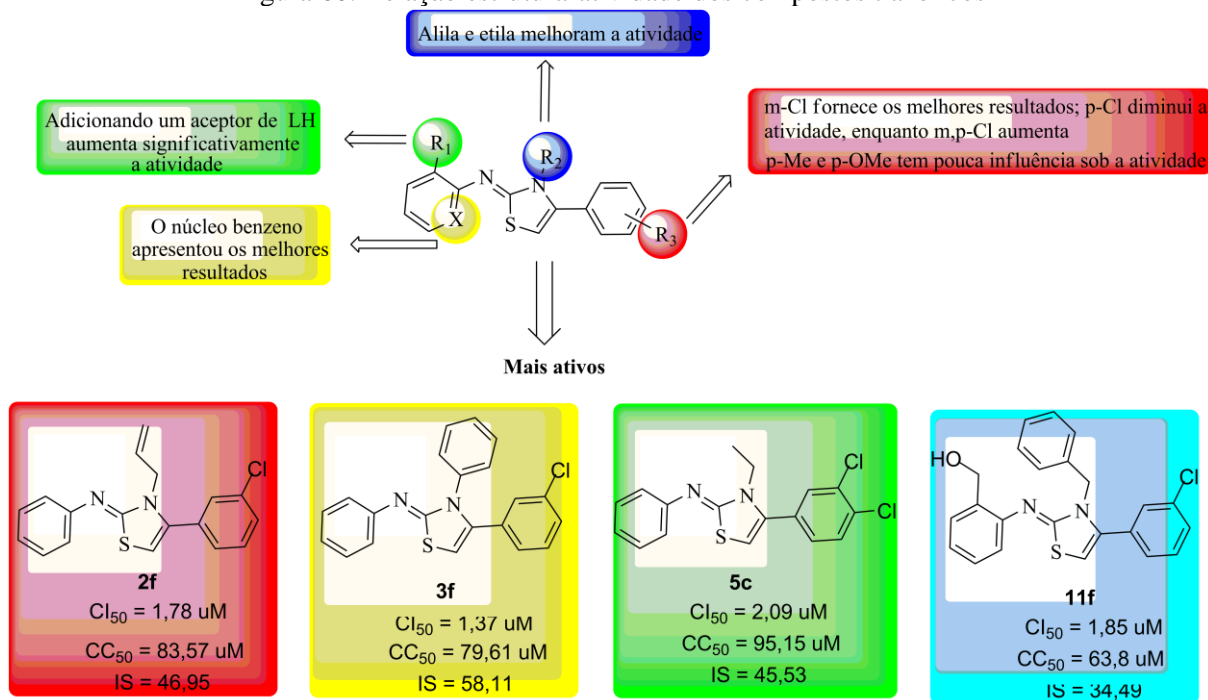
atividade contra formas amastigotas (CI₅₀ de 3,7 µM) comparado análogo **1b** com Cl em *para* (8,61 µM), o análogo **1c** com *m,p*-Cl (6,19 µM) e **1d** com um CH₃ em *para* (6,07 µM). De forma similar, o análogo de **2a** mais ativo, **2f**, foi uma das moléculas mais ativas do trabalho, com Cl na posição *meta* do anel aromático ligado ao tiazol (CI₅₀ de 1,78 µM; CC₅₀ de 83,57 µM; IS de 46,95), enquanto que os análogos *p*-Cl (**2b**) e *m,p*-Cl (**2c**) mostraram menor atividade (7,98 e 3,2 µM, respectivamente), e os análogos *p*-CH₃ (**2d**) e *p*-OCH₃ (**2e**) não foram ativos. Para os análogos de **3a**, apenas o *m*-Cl (**3f**) foi ativo (CI₅₀ de 1,37 µM, CC₅₀ de 79,61 µM; IS de 58,11), sendo a molécula mais ativa do estudo. Para os derivados de **4a**, a substituição mais vantajosa foi em **4c**, com *m,p*-Cl (CI₅₀ de 3,87 µM; CC₅₀ de 68,8 µM; e IS de 17,78), seguida do análogo **4e**, com o grupo *p*-OCH₃ (CI₅₀ de 9,14 µM; CC₅₀ de 166,2 µM; e IS de 18,22) enquanto que **4b** (*p*-Cl) e **4f** (*m*-Cl) foram inativos. Finalmente, todos os análogos de **5a** substituídos no anel aromático ligado ao tiazol foram ativos. A substituição com *m,p*-Cl (**5c**) conduziu ao análogo mais ativo da série (CI₅₀ de 2,09 µM), com baixa toxicidade (CC₅₀ de 95,15 µM) e melhor IS (45,53).

Em geral, os análogos apresentando o anel piridínico formam menos ativos. Para os derivados de **6a** substituídos no anel aromático ligado ao tiazol apenas o análogo **6f**, substituído com um *p*-Cl apresentou atividade (CI₅₀ de 3,18 µM; CC₅₀ de 102,53; e IS de 32,24). Por outro lado, aos substituir o anel *N*-tiazólico de **6a** com uma etila conduzindo ao **7a**, todos os seus análogos substituídos no anel aromático forma ativos, porém, menos ativos que o não substituído. O análogo **7b**, com um *p*-Cl mostrou ótima atividade (CI₅₀ de 5,18 µM), mas a adição com um Cl em *meta* (**7c**) ou mesmo mover o Cl da posição *para* para *meta* (**7f**) diminui a atividade (CI₅₀ de 8,12 e 8,93 µM, respectivamente), enquanto que a substituição com *p*-CH₃ ou *p*-OCH₃ produzindo **7d** e **7e** (CI₅₀ de 5,04 e 5,6 µM, respectivamente) foi melhor que a substituição com Cl. A substituição do *N*-tiazol com o grupo alila (**7a-f**) produziu análogos mais ativos, mas a substituição no anel aromático diminuiu as atividades, em que o análogo *m*-Cl (**8f**) foi inativo, *p*-Cl (**8b**) mostrou CI₅₀ de 2,96 µM, e a adição de outro átomo de Cl (**8c**) diminuiu a atividade (CI₅₀ de 5,37 µM). A substituição com *p*-CH₃ (**8d**) e *p*-OCH₃ (**8e**) foi prejudicial a atividade (CI₅₀ de 4,02 e 9,67 µM, respectivamente). Mais além, os análogos de piridina *N*-fenila substituídos foram inativos, excerto o **9f** (*m*-Cl), com CI₅₀ de 2,74 µM; CC₅₀ de 83,5 µM; e IS de 30,47. De forma similar, os análogos *N*-benzila substituídos também foram inativos, excerto por **10f** (*m*-Cl), com CI₅₀ de 2,9 µM; CC₅₀ de 94,89 µM; e IS de 32,72.

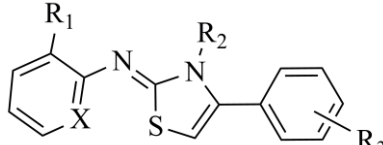
Finalmente, a relação estrutura-atividade geral para esses compostos é mostrada na figura 60. De fato, os compostos derivados de benzeno mostraram os melhores resultados.

Isso pode estar atrelado a maior polaridade da piridina, o que dificulta a passagem pelas membranas, resultando em moléculas menos ativas. Com relação ao *N*-tiazol, os análogos de alila ou etila foram mais promissores, quando comparados com benzila ou fenila. A menor solubilidade desses compostos pode estar relacionada com a menor atividade, quando comparados com os análogos de alila e etila. Além disso, a substituição do benzeno com CH_2OH mostrou incremento na atividade. Finalmente, os análogos com aromático ligado ao tiazol substituídos com *m*-Cl foram os mais ativos. No geral, mover o cloro para a posição *para* ou adicionar um grupo *m,p*-Cl não incrementa a atividade. Grupos mais polares como *p*- OCH_3 , ou menos hidrofóbicos como *p*- CH_3 não incrementam a atividade. Esses achados podem guiar químicos medicinais na busca de novos compostos contra as leishmanioses.

Figura 60. Relação estrutura-atividade dos compostos tiazólicos



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 4. Atividade leishmanicida dos derivados tiazólicos contra *Leishmania amazonensis*


The chemical structure shows a thiazole ring system. The thiazole ring has a nitrogen atom at position 2 (labeled N) and a sulfur atom at position 4 (labeled S). The nitrogen at position 5 (labeled N') is substituted with R₂. The thiazole ring is connected at position 4 to a phenyl ring substituted with R₃. The thiazole ring also has a substituent X at position 6 and a substituent R₁ at position 5.

Composto	X	R ₁	R ₂	R ₃	% Inibição Promastigotas	% Inibição de Amastigotas	CI ₅₀ (μM) em Amastigotas	CC ₅₀ (μM)	IS
1a	CH	H	H	H	37,29	---	---	---	----
1b	CH	H	H	<i>p</i> -Cl	68,95	71,11	8,61	127,34	14,79
1c	CH	H	H	<i>m,p</i> -Cl	88,02	84,79	6,19	94,47	15,26
1d	CH	H	H	<i>p</i> -CH ₃	82,48	83,63	6,07	126,9	20,91
1e	CH	H	H	<i>p</i> -OCH ₃	6,47	---	---	---	---
1f	CH	H	H	<i>m</i> -Cl	94,13	96,7	3,7	86,2	23,30
2a	CH	H	Alila	H	11,31	---	---	---	---
2b	CH	H	Alila	<i>p</i> -Cl	66,7	75,9	7,98	148,37	18,59
2c	CH	H	Alila	<i>m,p</i> -Cl	88,2	92,45	3,2	69,5	21,72
2d	CH	H	Alila	<i>p</i> -CH ₃	12,6	---	---	---	---
2e	CH	H	Alila	<i>p</i> -OCH ₃	0	---	---	---	---
2f	CH	H	Alila	<i>m</i> -Cl	95,25	100	1,78	83,57	46,95
3a	CH	H	Fenila	H	42,33	---	---	---	---
3b	CH	H	Fenila	<i>p</i> -Cl	1,25	---	---	---	---
3c	CH	H	Fenila	<i>m,p</i> -Cl	2,3	---	---	---	---
3d	CH	H	Fenila	<i>p</i> -CH ₃	60,62	47,78	---	---	---
3e	CH	H	Fenila	<i>p</i> -OCH ₃	12,4	---	---	---	---
3f	CH	H	Fenila	<i>m</i> -Cl	99,5	100	1,37	79,61	58,11
4a	CH	H	Benzila	H	5,14	---	---	---	---
4b	CH	H	Benzila	<i>p</i> -Cl	1,9	---	---	---	---

4c	CH	H	Benzila	<i>m,p</i> -Cl	73,86	90,04	3,87	68,8	17,78
4d	CH	H	Benzila	<i>p</i> -CH ₃	11,06	-	-	-	-
4e	CH	H	Benzila	<i>p</i> -OCH ₃	70,39	62,4	9,14	166,52	18,22
4f	CH	H	Benzila	<i>m</i> -Cl	0	-	-	-	-
5a	CH	H	Etila	H	96,1	100	2,3	72,49	31,52
5b	CH	H	Etila	<i>p</i> -Cl	95,93	98,76	2,74	91,97	33,57
5c	CH	H	Etila	<i>m,p</i> -Cl	97,83	100	2,09	95,15	45,53
5d	CH	H	Etila	<i>p</i> -CH ₃	95,78	93,59	3,86	110,39	28,60
5e	CH	H	Etila	<i>p</i> -OCH ₃	98,12	98,38	2,97	98,72	33,24
5f	CH	H	Etila	<i>m</i> -Cl	96,24	89,3	4,5	114,56	25,46
6a	N	H	H	H	2,8	---	---	---	---
6b	N	H	H	<i>p</i> -Cl	0	-	-	-	-
6c	N	H	H	<i>m,p</i> -Cl	53,31	46,2	-	-	-
6d	N	H	H	<i>p</i> -CH ₃	8,04	-	-	-	-
6e	N	H	H	<i>p</i> -OCH ₃	17,37	-	-	-	-
6f	N	H	H	<i>m</i> -Cl	98,4	100	3,18	102,53	32,24
7a	N	H	Etila	H	84,8	92,45	4,83	72,49	15,01
7b	N	H	Etila	<i>p</i> -Cl	69,26	89,35	5,18	84,68	16,35
7c	N	H	Etila	<i>m,p</i> -Cl	76,15	76,8	8,12	120,94	14,89
7d	N	H	Etila	<i>p</i> -CH ₃	75,84	90,61	5,04	96,2	19,09
7e	N	H	Etila	<i>p</i> -OCH ₃	88,21	89,9	5,6	108,3	19,34
7f	N	H	Etila	<i>m</i> -Cl	83,28	75,12	8,93	124,27	13,92
8a	N	H	Alila	H	96,84	100	2,85	89,54	31,42
8b	N	H	Alila	<i>p</i> -Cl	90,06	97,41	2,96	74,2	25,07
8c	N	H	Alila	<i>m,p</i> -Cl	66,07	83,49	5,37	128,2	23,87
8d	N	H	Alila	<i>p</i> -CH ₃	91,04	94,28	4,02	110,8	27,56
8e	N	H	Alila	<i>p</i> -OCH ₃	73,2	53,4	9,67	157,38	16,28
8f	N	H	Alila	<i>m</i> -Cl	7,68	-	-	-	-

9a	N	H	Fenila	H	15,9	---	---	---	---
9b	N	H	Fenila	<i>p</i> -Cl	0	---	---	---	---
9c	N	H	Fenila	<i>m,p</i> -Cl	7,05	---	---	---	---
9d	N	H	Fenila	<i>p</i> -CH ₃	92	45,2	---	---	---
9e	N	H	Fenila	<i>p</i> -OCH ₃	64,98	48,5	-	-	-
9f	N	H	Fenila	<i>m</i> -Cl	98,15	100	2,74	83,5	30,47
10a	N	H	Benzila	H	5,23	---	---	---	---
10b	N	H	Benzila	<i>p</i> -Cl	0	---	---	---	---
10c	N	H	Benzila	<i>m,p</i> -Cl	88,4	24,46	---	---	---
10d	N	H	Benzila	<i>p</i> -CH ₃	17,17	---	---	---	---
10e	N	H	Benzila	<i>p</i> -OCH ₃	5,1	-	-	-	-
10f	N	H	Benzila	<i>m</i> -Cl	99,07	100	2,9	94,89	32,72
11a	CH	CH ₂ OH	Benzila	H	92,88	90,34	5,68	79,13	13,93
11b	CH	CH ₂ OH	Benzila	<i>p</i> -Cl	86,07	78,9	8,13	134,8	16,58
11c	CH	CH ₂ OH	Benzila	<i>m,p</i> -Cl	0	-	-	-	-
11d	CH	CH ₂ OH	Benzila	<i>p</i> -CH ₃	73,01	89,5	6,46	95,44	14,77
11e	CH	CH ₂ OH	Benzila	<i>p</i> -OCH ₃	87,24	91,5	4,35	84,4	19,40
11f	CH	CH ₂ OH	Benzila	<i>m</i> -Cl	97,26	100	1,85	63,8	34,49
12a	CH	CH ₂ OH	Etila	H	90,92	87,93	5,61	107,39	19,14
12b	CH	CH ₂ OH	Etila	<i>p</i> -Cl	68,7	81,4	6,77	81,62	12,06
12c	CH	CH ₂ OH	Etila	<i>m,p</i> -Cl	83,02	85,98	6,49	94,15	14,51
12d	CH	CH ₂ OH	Etila	<i>p</i> -CH ₃	74,6	82,51	6,59	117,64	17,85
12e	CH	CH ₂ OH	Etila	<i>p</i> -OCH ₃	82,6	88,7	6,15	122,6	19,93
12f	CH	CH ₂ OH	Etila	<i>m</i> -Cl	95,47	98,73	2,14	69,3	32,38
Ant. meglumina	-	-	-	-	-	-	763,6	16433	21,5
Anfotericina B	-	-	-	-	-	-	0,32	0,38	1,18

Fonte: Autor, 2022.

5.7 Estudos de modelagem molecular.

5.7.1 Perfil ADME dos compostos seguindo as regras de Lipinski e de Veber.

As propriedades físico-químicas relacionadas a regra dos cinco de Lipinski e aos filtros de Veber foram calculadas a partir de ferramentas computacionais. Os resultados são apresentados nas tabelas 5, para os compostos tiazólicos e 6 para as tiadiazinas. De fato, a maior parte dos compostos está de acordo com ambos os autores. Dessa forma, podem apresentar boas propriedades farmacocinéticas e biodisponibilidade oral aceitável, caso prossigam nos estudos e sejam testadas *in vivo*. Essa validação é cada vez mais frequente no planejamento de fármacos, pois esses parâmetros são importantes a fim de evitar problemas relacionados a liberação do composto ativo bem como sua capacidade de permeabilização através das membranas (ABBASI *et al.*, 2019; ROSKOSKI, 2020; HALAWA *et al.*, 2020; MAHAR *et al.*, 2019; REHMAN *et al.*, 2018).

Os compostos apresentaram massa molecular (MM) variando entre 205,28 – 412,33 g/mol (valor padrão até 500 g/mol); Log P entre 1,17 – 6,10 (valor padrão até 5); átomos doadores de ligação de hidrogênio (DLH) entre 0 - 2 (padrão de até 5); átomos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) entre 2 – 5 (padrão de até 10); ligações rotáveis (LR) entre 1 – 6 (padrão de até 10) e área de superfície polar (do inglês: polar surface área, PSA) entre 45,53 - 96,27 Å (padrão de até 100 Å). Alguns compostos apresentaram valores de Log P fora dos padrões, mas apesar disso, estão de acordo com as propriedades físico-químicas restantes. Alguns autores destacam que apesar de essas regras serem importantes nas etapas iniciais do planejamento de novas moléculas, alguns fármacos aprovados para uso clínico violam alguns desses parâmetros (ZHANG *et al.*, 2007; MULLARD 2018). Nesse contexto, acreditamos que os compostos podem apresentar propriedades farmacocinéticas aceitáveis, uma vez que os valores de Log P não foram exorbitantes e estão de acordo com os outros parâmetros.

Tabela 5. Validação da regra de Lipinski e de Veber para os compostos tiazólicos

Composto	MM (g/mol)	PSA (Å ²)	Log P	DLH	ALH	LR
1a	252,33	53,16	3,84	1	3	3
1b	296,78	53,16	4,38	1	3	3
1c	321,22	53,16	4,60	1	3	3
1d	266,33	53,16	4,17	1	3	3
1e	282,36	62,39	3,83	1	4	4
1f	286,78	53,16	4,37	1	3	3
2a	292,40	45,53	4,36	0	3	4
2b	326,84	45,53	4,88	0	3	4
2c	361,29	45,53	5,39	0	3	4

2d	306,42	45,53	4,69	0	3	4
2e	322,42	54,76	4,37	0	4	5
2f	326,84	45,53	4,89	0	3	4
3a	328,43	45,53	4,98	0	3	3
3b	362,88	45,53	5,52	0	3	3
3c	397,32	45,53	5,99	0	3	3
3d	342,46	45,53	5,32	0	3	3
3e	358,46	54,76	4,96	0	4	4
3f	362,88	45,53	5,50	0	3	4
4a	342,46	45,53	5,03	0	3	4
4b	376,90	45,53	5,59	0	3	4
4c	411,35	45,53	6,10	0	3	4
4d	356,48	45,53	5,41	0	3	4
4e	372,48	54,76	5,03	0	4	5
4f	376,90	45,53	5,58	0	3	4
5a	280,39	45,53	4,18	0	3	3
5b	314,83	45,53	4,71	0	3	3
5c	349,28	45,43	5,22	0	3	3
5d	294,41	45,43	4,52	0	3	3
5e	310,41	54,76	4,17	0	4	4
5f	314,83	45,53	4,72	0	3	3
6a	253,32	66,05	3,12	1	3	3
6b	287,77	66,05	3,67	1	3	3
6c	322,21	66,05	4,27	1	3	3
6d	267,35	66,05	3,45	1	3	3
6e	283,35	75,28	3,11	1	4	4
6f	287,77	66,05	3,67	1	3	3
7a	281,38	58,42	3,57	0	3	3
7b	315,82	58,42	4,12	0	3	3
7c	350,27	58,42	4,62	0	3	3
7d	295,40	58,42	3,91	0	3	3
7e	311,40	67,65	3,55	0	4	4
7f	315,82	58,42	4,11	0	3	3
8a	293,39	58,42	3,75	0	3	4
8b	327,83	58,42	4,28	0	3	4
8c	362,28	58,42	4,81	0	3	4
8d	307,41	58,42	4,08	0	3	4
8e	323,41	67,65	3,76	0	4	5
8f	327,83	58,42	4,28	0	3	4
9a	329,42	58,42	4,36	0	3	3
9b	363,86	58,42	4,91	0	3	3
9c	398,31	58,42	5,42	0	3	3
9d	343,44	58,42	4,75	0	3	3
9e	359,44	67,65	4,36	0	4	4
9f	363,86	58,42	4,90	0	3	3
10a	343,44	58,42	4,51	0	3	4
10b	377,89	58,42	4,96	0	3	4
10c	412,33	58,42	5,49	0	3	4
10d	357,47	58,42	4,84	0	3	4
10e	373,47	67,65	4,52	0	3	5

10f	377,89	58,42	4,98	0	3	4
11a	372,48	65,76	4,58	1	4	5
11b	406,93	65,76	5,11	1	4	5
11c	441,37	65,76	5,63	1	4	5
11d	386,51	65,76	4,93	1	4	5
11e	402,51	74,99	4,53	1	5	6
11f	406,93	65,76	5,12	1	4	5
12a	310,41	65,76	3,66	1	4	4
12b	344,86	65,76	4,21	1	4	4
12c	379,30	65,76	4,74	1	4	4
12d	324,44	65,76	4,07	1	4	4
12e	340,44	74,99	3,70	1	5	5
12f	344,86	65,76	4,23	1	4	4

Fonte: Autor, 2022.

Tabela 6: Validação da regra de Lipinski e de Veber para os compostos tiadiazínicos

Composto	MM (g/mol)	PSA (Å ²)	Log P	DLH	ALH	LR
13a	205,28	62,05	1,98	1	4	2
13b	239,72	62,05	2,52	1	4	2
13c	274,17	62,05	3,04	1	4	2
13d	219,31	62,05	2,29	1	4	2
13e	235,31	71,28	1,96	1	5	3
13f	239,72	62,05	2,51	1	4	2
13g	221,28	82,28	1,55	2	5	2
14a	267,35	62,05	3,23	1	4	3
14b	301,79	62,05	3,79	1	4	3
14c	336,24	62,05	4,28	1	4	3
14d	281,38	62,05	3,55	1	4	3
14e	297,37	71,28	3,20	1	5	4
14f	301,79	62,05	3,76	1	4	3
14g	283,35	82,28	2,81	2	5	3
15a	281,38	62,05	3,26	1	4	4
15b	315,82	62,05	3,80	1	4	4
15c	350,27	62,05	4,32	1	4	4
15d	295,40	62,05	3,50	1	4	4
15e	311,40	71,28	3,27	1	5	5
15f	315,82	62,05	3,81	1	4	4
15g	297,37	82,28	2,85	2	5	4
16a	191,25	76,04	1,61	1	4	1
16b	225,70	76,04	2,15	1	4	1
16c	260,14	76,04	2,66	1	4	1
16d	205,28	76,04	1,95	1	4	1
16e	221,28	85,27	1,59	1	5	2
16f	225,70	76,04	2,15	1	4	1
16g	207,25	96,27	1,17	2	5	1

Fonte: Autor, 2022.

5.7.2 Validação do protocolo de *docking* contra cruzaina: Escolha do PDB e algoritmo

Para a validação do protocolo de *docking* molecular, 26 estruturas da cruzaina complexadas com inibidores foram obtidas no site do PDB para a escolha da estrutura cristalográfica mais adequada para as simulações. Posteriormente, simulações de *redocking* molecular foram realizadas usando para a escolha da função de pontuação mais adequada (ChemPLP, GoldScore, ChemScore e ASP), do software *GOLD*[®]. Assim, os valores de RMSD foram calculados variando de 0,238 a 4,839 Å (Tabela 7). De acordo com os resultados de *redocking*, valores adequados são menores de 2 Å, enquanto que valores entre 2 – 3 Å podem ser aceitáveis e acima de 3 pouco adequados (Silva *et al.*, 2021). Com os valores obtidos, a função de pontuação ChemPLP com a estrutura codificada como 1AIM mostrou-se a mais adequada (RMSD = 0,238), sendo utilizados nos protocolos de dinâmica e *docking* molecular apresentados nos próximos tópicos.

Tabela 7: Valores de RMSD obtidos por *redocking* nas quatro funções de pontuação

PDB	ChemPLP	GoldScore	ChemScore	ASP
1AIM	0,238	0,344	0,909	0,361
1EWL	1,374	2,520	2,114	2,551
1EWM	2,662	0,277	2,704	2,433
1EWO	0,684	0,441	2,485	0,662
1EWP	0,502	0,270	0,720	2,100
1F2A	4,367	1,831	1,862	1,862
1F2B	2,655	0,710	2,712	3,241
1F2C	4,206	4,427	2,762	3,472
1F29	2,597	0,734	2,134	3,138
1ME3	0,242	0,388	1,677	1,832
1ME4	0,413	0,341	0,542	2,937
1U9Q	1,972	1,042	3,683	1,049
2AIM	2,904	3,030	2,433	1,452
2OZ2	2,252	1,238	1,066	4,839
3HD3	1,097	0,267	1,596	0,401
3I06	1,882	1,783	0,733	0,523
3IUT	2,712	0,207	1,990	2,160
3KKU	2,097	3,523	1,711	1,728
3LXS	0,996	1,884	1,921	3,076
4KLB	2,379	1,522	1,399	2,317
4PI3	0,754	3,457	1,482	2,106
4QH6	1,642	1,036	1,852	2,351
4W5B	0,347	1,655	0,212	1,714
4W5C	1,286	1,048	1,041	0,705

4XUI	4,087	2,086	2,549	4,057
------	-------	-------	-------	-------

Fonte: Autor, 2022.

5.7.3 Construção do modelo de homologia entre cruzaína e cisteína protease de *Leishmania amazonensis* (CPla)

O modelo da cisteína protease da *Leishmania amazonensis* (CPla) foi construído utilizando com molde a estrutura cristalográfica da cruzaína do *T. cruzi* (PDB:1AIM). Como mostrado na figura 61, o alinhamento global revelou 59,91% de identidade, de maneira que valores acima de 30% pressupõe a homologia entre as proteínas (CAVASOTTO *et al.*, 2009). Observe que o modelo gerado apresentou resultados de GMQE e QMEAN satisfatórios (0.52 e -0.36, respectivamente), mostrando que o modelo apresenta alto índice de confiabilidade, haja vista que o valor de GMQE foi próximo de 1, e alto grau de natalidade entre as proteínas, relevado pelo valor de QMEAN em torno de zero (WATERHOUSE *et al.*, 2018).

Figura 61: Alinhamento global da CPla com a cruzaína

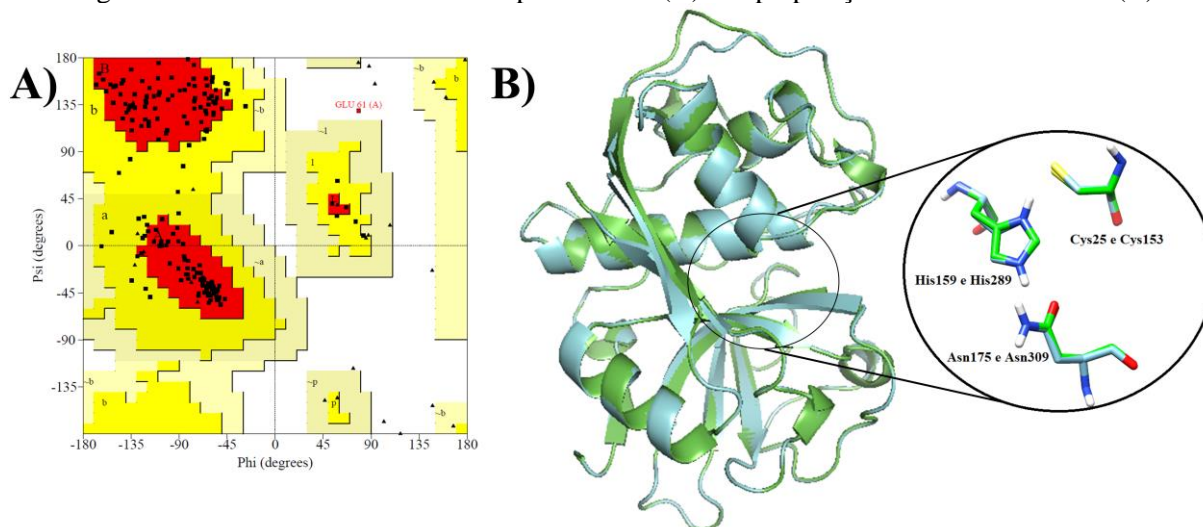
CPla	MARRNPLLFAIVVTILFVVCYGSALIAQTPPAVDNDFVASAHYGSFKKRHSKAFGGDAEEGHRFNAFKQNMQTAYFLNTQN
Cruzaína	-----
CPla	PHAHYDVSGKFADLTPQEFAKLYLNPDYTSHLKDHKEDVHVDDSAPSGVMSVDWRDKGAVTPVKNQGLCGSCWAFSAIG
Cruzaína	-----APAAVDWRARGAVTAVKDDQGCSCWAFSAIG
CPla	NIEGQWAASGHSLSVLSLSEQMLVSCDNVDEGCNGLMDQAMNWIQSHNGSV-FTEASYPYTSGGGTRPPCHDEGE-VGAK
Cruzaína	NVECQWFLAGHPLTNLSEQMLVSCDKTDSGCSGGLMNAFEWIVQE-NNGAVYTEDSYPYASGEGISPPCTTSGHTVGAT
CPla	ITGFLSLPHDEERIADWVEKRGPVAVAVDATTWQLYFGGVVSLCLAWSLNHGVLIVGFNKNAPPYWIVKNSWSSWGEEK
Cruzaína	ITGHVELPQDEAQIAAWLAVNGPVAVAVDASSWMTYTGGVMTSCVSEALDHGVLIVGYNDSAAVPYWIKNNSWTTQWGEE
CPla	GYIRLAMGSNQCMKKNYPVSATVESPHTPHVPTTTA
Cruzaína	GYIRIAKGSNQCLVKEEASSAVV-----

Fonte: Autor, 2022 (dados gerados a partir do servidor *Swiss-model*)

A validação do modelo por meio do gráfico de Ramachandran (Figura 62A) mostrou que 85,9% dos resíduos estão em regiões favoráveis, 13,6% em regiões adicionais permitidas, 0,0 % em regiões generosamente permitidas e apenas 0,6 % em regiões não permitidas. Nesse sentido, o resíduo que se encontra em região não permitida é um glutamato, o que não interfere na região catalítica da enzima, demonstrando assim a validade do modelo. Além disso, foi realizado o alinhamento entre a CPla e a cruzaína para a validação pelo cálculo de RMSD, bem como análise visual da superposição das estruturas. Como observado na figura 62B, foi obtido um RMSD de 0.1, em que não ocorre mudanças nas posições dos resíduos de

aminoácidos, principalmente na região catalítica, demonstrando a conservação desses resíduos e mostrando mais uma vez a validade do modelo e sua homologia com a cruzaina do *T. cruzi*.

Figura 62: Gráfico de Ramachandran para o CPLa (A) e superposição da cruzaina e CPLa (B)

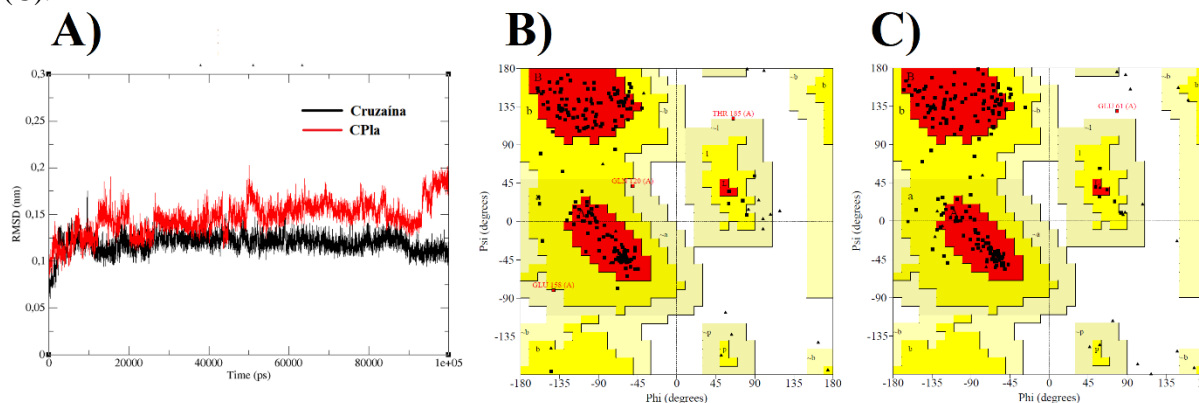


Fonte: Autor, 2022.

5.7.4 Simulações de dinâmica molecular (DM)

Após a escolha da estrutura cristalizada mais adequada da cruzaina e a construção do modelo da CPLa, o próximo passo foi realizar uma simulação de dinâmica molecular de ambas para a obtenção das estruturas mais estáveis. Dessa forma, um protocolo de DM em 100 ns foi realizado e o resultado de RMSD de C_{α} mostrado na figura 63A. De fato, ambas foram estáveis durante todo o tempo de simulação, com valores de RMSD entre 0,05 – 2 nm. Para a cruzaina, a estabilidade foi alcançada em torno de 20 ns, permanecendo até 100 ns. Por outro lado, para a CPLa, a melhor estabilidade foi em torno de 30 ns. Além disso, os gráficos de Ramachandran para ambas as estruturas mais estáveis (Figura 63B e C) demonstraram a qualidade stereoquímica e ângulos diedros ψ and ϕ dos resíduos. Para a cruzaina, 88 % dos resíduos encontram-se em regiões permitidas, 10,4 % em regiões permitidas adicionais, 1,1 % em regiões generosamente permitidas, e 0,5 % em regiões não-permitidas. Para a CPLa, foram 85,9 % em regiões permitidas, 13,6 % em regiões permitidas adicionais, 0 % em regiões generosamente permitidas e 0,6 % em regiões não-permitidas. Finalmente, comprovada a qualidade das estruturas, essas foram usadas nos ensaios de *docking* descritos no próximo tópico.

Figura 63. Gráficos de RMSD para a cruzaina (linha preta) e CPLa (linha vermelha) após uma simulação de dinâmica molecular de 100 ns (A) e gráficos de Ramachandran para cruzaina (B) e CPLa (C).

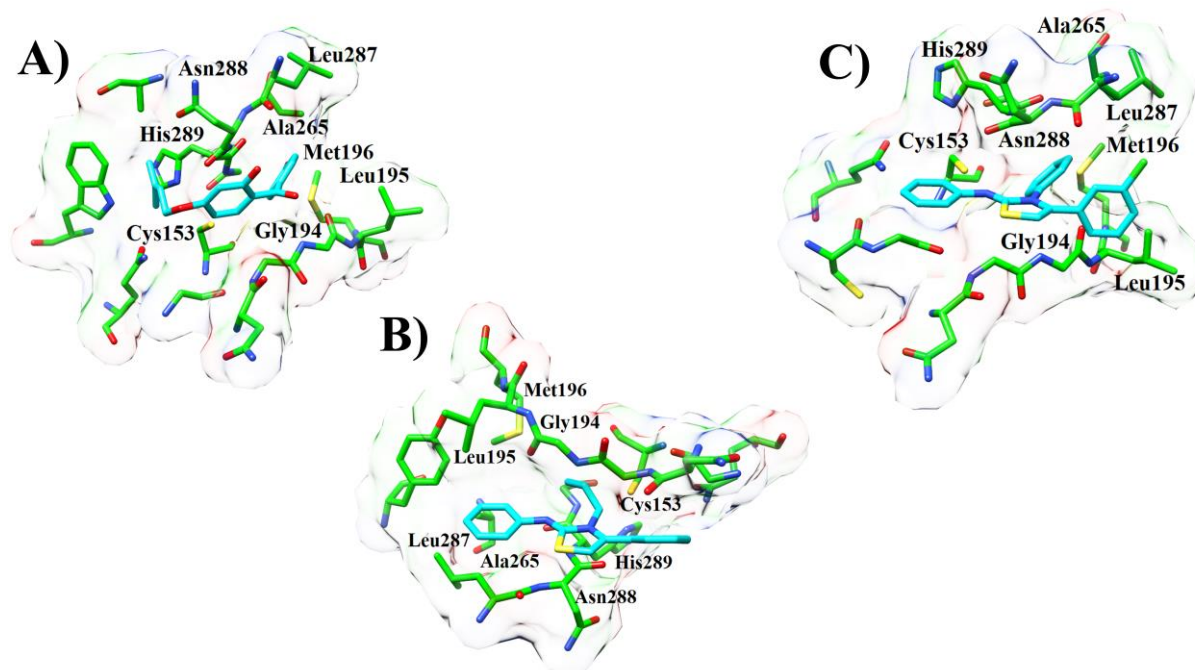


Fonte: Autor, 2022

5.7.5 Docking molecular dos mais ativos contra CPLa.

Após a obtenção da estrutura mais estável da CPLa, *docking* molecular foi realizado com os compostos mais ativos, **2f** e **3f**, e suas interações no sítio ativo da CPLa comparadas com um inibidor descrito na literatura (Almeida *et al.*, 2015), apresentando IC₅₀ de 2,9 e 4,3 μM em diferentes isoformas da cisteína protease de *Leishmania amazonensis*. A figura 64A mostra as interações do padrão e 64B e 64C dos compostos mais ativos **2f** e **3f**. De fato, ambos os compostos mostram interações semelhantes ao inibidor padrão no sítio ativo da enzima. O inibidor padrão mostra interação com os resíduos catalíticos da enzima Cys¹⁵³ (π -alquila) e His²⁸⁹ (ligação de hidrogênio). De forma semelhante, **2f** mostra interação π -enxofre com a Cys¹⁵³ e van der Waals com His²⁸⁹, semelhante ao **3f**, com as mesmas interações. Esses resultados sugerem que os compostos podem ser ativos contra esta enzima. Adicionalmente, interações de van der Waals e π -alquila com Leu¹⁹⁵ e Ala²⁶⁵, respectivamente, foram encontradas para os três compostos. Cabe destacar que **2f** mostrou melhores interações com Gly¹⁹⁴ (ligação de hidrogênio doador π), e com Asn²⁸⁸ (π -alquila), enquanto que **3f** mostrou interações mais fortes com Leu²⁸⁷ (π -alquila) e com Met¹⁹⁶ (π -enxofre). Esses resultados demonstram que os compostos podem ser promissores nos ensaios biológicos contra a cisteína protease do *Leishmania amazonensis*.

Figura 64: Principais interações do inibidor padrão (A) e compostos mais ativos **2f** (B) e **3f** (C) no sítio ativo da CPLa



Fonte: Autor, 2022 (Figura produzida por meio do software *Chimera*[®])

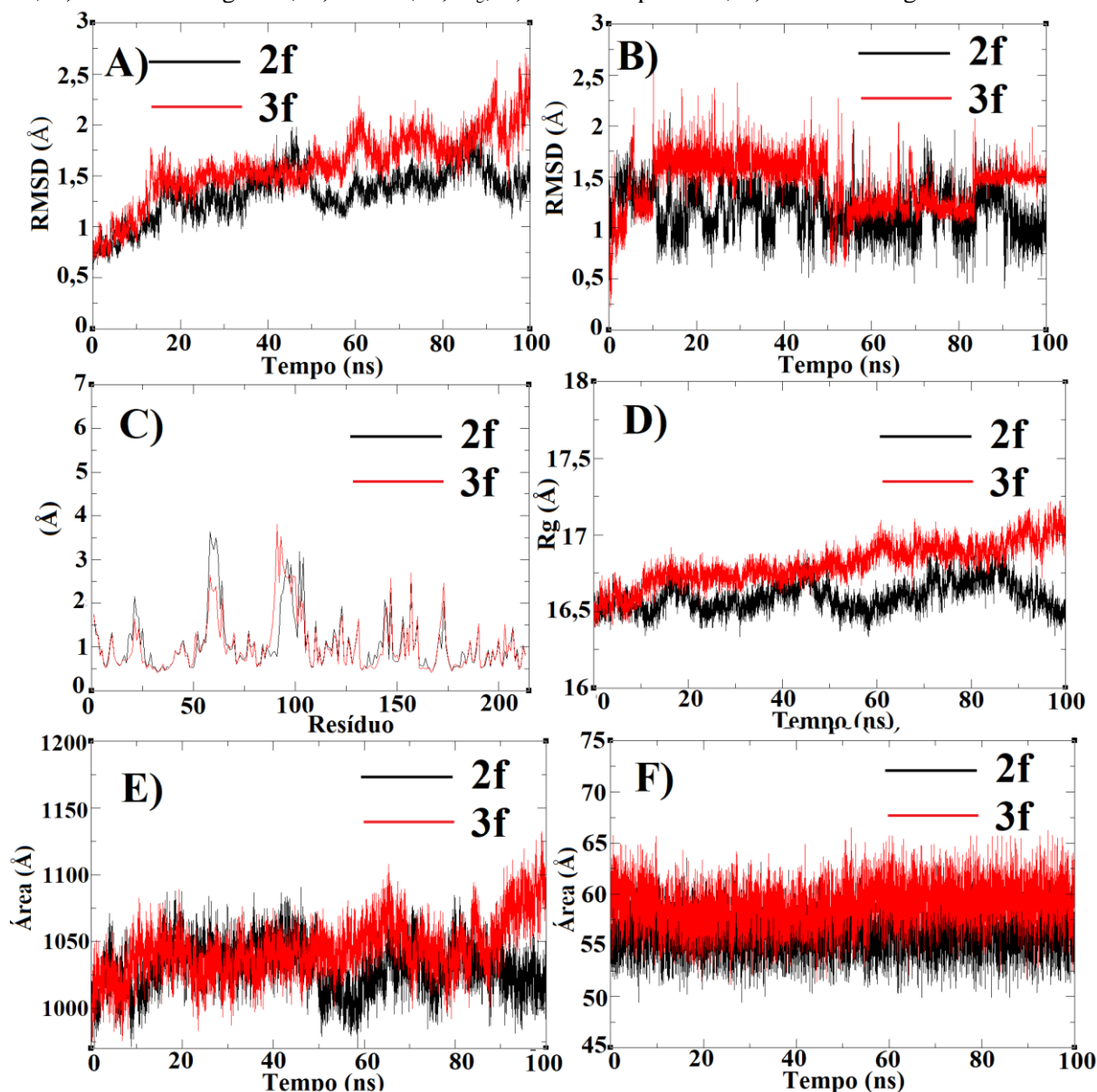
5.7.6 Simulação de dinâmica molecular para os complexos com **2f** e **3f**.

Após os procedimentos de docking molecular, simulações de dinâmica molecular foram realizadas no intuito de determinar a estabilidade dos complexos formados, segundo protocolos bem descritos por nosso grupo de pesquisa (NASCIMENTO *et al.*, 2022; PEREIRA *et al.*, 2022). A estabilidade estrutural dos complexos com **2f** e **3f** foi avaliada usando os gráficos RMSD obtidos após simulações MD em uma trajetória de 100 ns (Figura 65A). Ao longo da trajetória, pode-se observar que os complexos com **2f** e **3f** apresentaram variação estrutural mínima (Figura 65A), com valores de RMSD entre 0,5 – 2 Å. Os ligantes também apresentaram estabilidade no sítio ativo (Figura 65B), com variação de RMSD entre 0,5 – 2,5 Å. Tais resultados sugerem que esses compostos selecionados apresentam afinidade pela enzima sem alterar sua estabilidade e podem representar inibidores promissores. Conforme apresentado por Kumar e colaboradores (2018), a estabilidade do complexo após a simulação de MD é um parâmetro importante para avaliar se a molécula pode apresentar afinidade pelo sítio ativo.

A estabilidade dos complexos também foi avaliada usando os gráficos de RMSF (Figura 65C) para observar a baixa flutuação dos resíduos catalíticos (His²⁸⁹ e Cys¹⁵³). Assim, a presença de ligantes não gera alterações significativas na estrutura (GORHAM *et al.*, 2014). Além disso, valores de R_g (Figura 65D) abaixo de 17 Å indicam maior rigidez e compactação

da proteína (IDRIS *et al.*, 2020). Finalmente, SASA de complexos entre 1000 - 1100 Å indicam estabilidade (ZHANG *et al.*, 2017) (Figura 65E), e valores SASA abaixo de 60 Å para ligantes (Figura 65F) indicam permanência mais excelente no ambiente hidrofóbico da proteína e menor exposição ao solvente (ZHANG *et al.*, 2017). Estes comprovam a estabilidade dos complexos e a eficácia do protocolo MD (PHILOPPES *et al.*, 2020).

Figura 65: Resultados da simulação de dinâmica molecular dos complexos com **2f** e **3f**: A) RMSD de C α ; B) RMSD dos ligantes; C) RMSF; D) R $_g$; E) SASA da proteína; F) SASA dos ligantes.



Fonte: autor, 2022

5.7.7 Docking dos compostos contra cruzaina

Por fim, foi realizado *docking* molecular dos compostos contra a cruzaina para propor se podem ser promissores contra este alvo, mostrados nas tabelas 8. Os compostos mostraram

fitscore variando entre 42,84 – 56,65, e a maior parte com interações com os resíduos catalíticos de Cys²⁵ e His¹⁵⁹, bem como com resíduos de Gly²³ e Gly⁶⁵ que são considerados resíduos chave para a inibição da cruzaina (SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2017). Até o presente momento, não foi possível realizar os ensaios frente ao *T. cruzi*. Porém, mesmo sem os resultados biológicos, os ensaios de *docking* demonstraram que os compostos interagiram de forma satisfatória no sitio catalítico da enzima, e que estes resultados podem ser um indício que a cruzaina seja o alvo principal desta série. Por outro lado, apenas com os resultados experimentais frente ao parasita e a enzima, tais hipóteses poderão ser confirmadas

Tabela 8. Resultados de *docking* molecular dos compostos tiazólicos

Composto	Fit score	Interações			
		Gly ²³	Cys ²⁵	Gly ⁶⁵	His ¹⁵⁹
8c (padrão)	56,26	VDW	LH	VDW	LH doador π
1a	44,26	VDW	LH	VDW	π -enxofre
1b	47,54	VDW	VDW	---	σ - π
1c	46,02	VDW	VDW	---	σ - π
1d	48,60	VDW	VDW	---	σ - π
1e	48,89	VDW	VDW	---	σ - π
1f	48,17	VDW	---	---	σ - π
2a	50,59	VDW	π -alquila	VDW	VDW
2b	51,38	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
2c	51,90	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
2d	49,28	VDW	VDW	---	σ - π
2e	49,71	LCH	LH	VDW	π -enxofre
2f	49,84	VDW	π -alquila	VDW	Empilhamento π - π
3a	47,69	VDW	π -alquila	VDW	Empilhamento T
3b	52,62	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
3c	54,07	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
3d	54,05	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
3e	52,91	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
3f	49,14	VDW	π -alquila	VDW	Empilhamento T
4a	56,51	VDW	---	VDW	π -enxofre
4b	51,67	VDW	---	VDW	π -enxofre
4c	51,12	VDW	π -alquila	---	LH doador π
4d	52,74	VDW	---	VDW	π -enxofre
4e	52,95	VDW	π -alquila	VDW	VDW
4f	56,61	VDW	---	VDW	π -enxofre
5a	45,45	VDW	π -alquila	VDW	VDW
5b	48,74	---	---	---	VDW
5c	49,56	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
5d	52,06	VDW	VDW	---	π -enxofre
5e	48,32	VDW	LH	VDW	π -enxofre
5f	50,67	---	---	---	VDW
6a	45,12	VDW	π -alquila	VDW	LH doador π
6b	46,88	VDW	---	---	VDW
6c	46,22	VDW	---	---	σ - π

6d	48,17	VDW	VDW	---	σ - π
6e	46,83	VDW	VDW	---	σ - π
6f	46,30	VDW	π -alquila	VDW	LH doador π
7a	44,81	VDW	VDW	VDW	VDW
7b	48,61	LH doador π	LH doador π	VDW	LH doador π
7c	48,09	LH doador π	LH doador π	VDW	LH doador π
7d	42,84	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
7e	47,58	LH doador π	LH doador π	VDW	LH doador π
7f	45,64	VDW	π -alquila	VDW	VDW
8a	49,91	VDW	π -alquila	VDW	VDW
8b	49,64	LH doador π	LH doador π	VDW	LH doador π
8c	49,71	LH doador π	LH doador π	VDW	LH doador π
8d	49,32	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
8e	49,71	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
8f	49,30	VDW	π -alquila	VDW	Empilhamento π - π
9a	50,20	VDW	---	VDW	VDW
9b	52,77	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
9c	53,04	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
9d	46,62	VDW	π -alquila	VDW	VDW
9e	43,63	VDW	π -alquila	VDW	VDW
9f	51,50	VDW	---	VDW	VDW
10a	54,77	VDW	π -enxofre	VDW	LH doador π
10b	53,18	VDW	VDW	---	Cátion- π
10c	55,01	VDW	VDW	---	VDW
10d	54,27	VDW	VDW	---	VDW
10e	55,63	VDW	VDW	---	Cátion- π
10f	54,24	VDW	VDW	---	VDW
11a	53,74	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
11b	53,93	VDW	π -enxofre	VDW	VDW
11c	53,90	VDW	LH doador π	VDW	LH doador π
11d	56,65	VDW	π -enxofre	---	σ - π
11e	51,68	VDW	LH doador π	VDW	Empilhamento π - π
11f	55,25	LH	VDW	LH	VDW
12a	53,28	VDW	VDW	VDW	π -enxofre
12b	53,30	VDW	π -enxofre	LCH	σ - π
12c	52,88	VDW	π -enxofre	LCH	LH
12d	48,07	VDW	LH	VDW	π -enxofre
12e	53,56	VDW	π -enxofre	VDW	LH
12f	48,28	VDW	VDW	VDW	π -enxofre

Fonte: Autor, 2022.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Igor J. S. Nascimento

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A doença de Chagas e leishmanioses são doenças de impacto global, ocorrendo principalmente na América, ameaçando a população que vive na pobreza sem saneamento básico. Apesar de serem responsáveis por milhares de mortes todos os anos, são doenças negligenciadas pelas empresas farmacêuticas, resultando em um arsenal terapêutico limitado. Assim, é necessário investir mais na descoberta de novos medicamentos que possam ser utilizados no tratamento, protegendo a população desfavorecida.

O presente trabalho mostrou métodos de síntese e purificação eficazes para tioureias, tiossemicarbazidas, tiazóis e tiadiazinas, com a obtenção de 11 compostos intermediários e 99 compostos finais, apresentando rendimentos variando entre 50 – 95%.

As técnicas de RMN foram efetivas em caracterizar os compostos, de forma que para os compostos *N*-etila, *N*-alila, e *N*-benzila substituídos tiveram sua conectividade confirmada por meio da técnica RMN 2D HMBC, observado o acoplamento entre o hidrogênio metilênico e o carbono tiazólico ligado ao anel aromático. Já para os compostos *N*-fenila substituídos a confirmação da conectividade foi por meio do experimento de RMN 2D NOESY, com o acoplamento dos hidrogênios dos anéis aromáticos.

A técnica de DFT, por meio dos cálculos de otimização geométrica e orbitais moleculares de fronteira, mostrou ser de grande importância para explicar tanto o mecanismo de reação para os compostos *N*-fenila substituídos, quanto a estabilidade dos possíveis produtos, o que ajudou a explicar a formação dos produtos preferenciais.

Os resultados biológicos contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* mostrou atividade satisfatória de 42 análogos, com CI_{50} variando entre 1,37 – 9,67 μ M contra formas amastigotas, com baixa toxicidade e índice de seletividade satisfatórios. Dessa forma, foram apresentados os compostos **2f**, **3f**, **5c** e **11f** com os melhores resultados (CI_{50} de 1,78, 1,37, 2,09, e 1,85 μ M, respectivamente).

O protocolo de docking molecular foi devidamente validado, e os estudos de modelagem molecular foram efetivos na construção da enzima CPLa, no qual *docking* molecular com os compostos **2f** e **3f** mostrou interações com resíduos críticos (Cys¹⁵³ e His²⁸⁹), similar a inibidores encontrados na literatura. Além disso, simulações de dinâmica molecular demonstraram a formação de complexos estáveis com a enzima. Tais resultados propõem que os compostos podem apresentar atividade contra a CPLa. Finalmente, *docking* molecular contra a cruzaina mostrou que os compostos apresentam afinidade e interações com resíduos críticos (Cys²⁵ e His¹⁵⁹), propondo que podem apresentar atividade contra cruzaina.

Por meio dos estudos computacionais para a validação da regra de Lipinski e de Veber, foi possível mostrar que todos os compostos podem apresentar ótimas propriedades biofarmacêuticas, sendo considerados bons candidatos a fármacos.

Como perspectivas deste trabalho serão os ensaios biológicos frente as formas tripomastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi*, bem como a confirmação dos alvos biológicos cruziína e CPLa, verificando a influência das modificações moleculares na atividade biológica. Além disso, estudos computacionais de *docking* molecular, dinâmica molecular, e DFT serão realizados para caracterizar os principais mecanismos envolvidos na inibição desses alvos.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, M.; RAZA, H.; AZIZ-UR-REHMAN; SIDDIQUI, S.; SHAH, S.; HASSAN, M.; SEO, S. Y. Synthesis of Novel N-(1,3-Thiazol-2-Yl)Benzamide Clubbed Oxadiazole Scaffolds: Urease Inhibition, Lipinski Rule and Molecular Docking Analyses. **Bioorg. Chem.** v. 83, p. 63–75, 2019.
- ALMEIDA, O. L. S.; SANTOS, J. B. Advances in the treatment of cutaneous leishmaniasis in the new world in the last ten years: A systematic literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 497–506, 2011.
- ALMEIDA, L.; ALVES, K. F.; MACIEL-REZENDE, C. M.; et al. Benzophenone derivatives as cysteine protease inhibitors and biological activity against *Leishmania (L.) amazonensis amastigotes*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. Vol. 75, p. 93–99, 2015.
- ÁLVAREZ, G.; MARTÍNEZ, J.; VARELA, J.; BIRRIEL, E.; et al. Development of Bis-Thiazoles as Inhibitors of Triosephosphate Isomerase from *Trypanosoma Cruzi*. Identification of New Non-Mutagenic Agents That Are Active *in Vivo*. **Eur. J. Med. Chem.** v. 100, p. 246–256, 2015.
- ALVES, M. A.; DE QUEIROZ, A. C.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; VARELA, J.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; DORIGUETTO, A. C.; LANDRE, I. M.; BARREIRO, E. J.; LIMA, L. M. Design, Synthesis and in Vitro Trypanocidal and Leishmanicidal Activities of Novel Semicarbazone Derivatives. **Eur. J. Med. Chem.** v. 100, p. 24–33, 2015.
- ALY, A. A.; EL-SHEREF, E. M.; BROWN, A. B.; BRÄSE, S.; NIEGER, M.; ABDELHAFEZ, E. S. M. N. New One-Pot Synthesis of 2-Ylidenehydrazono-Thiazoles. **J. Sulfur Chem.** v. 40(6), p. 641–647, 2019.
- AQUINO, T. M.; FRANÇA, P. H. B.; RODRIGUES, E. E. S; NASCIMENTO, I. J. S.; et al. Synthesis, Antileishmanial Activity and in silico Studies of Aminoguanidine Hydrazones (AGH) and Thiosemicarbazones (TSC) Against *Leishmania chagasi* Amastigotes. **Med Chem.** vol. 18(2), p. 151-169, 2022.
- AYATI, A.; EMAMI, S.; ASADIPOUR, A.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. Recent Applications of 1,3-Thiazole Core Structure in the Identification of New Lead Compounds and Drug Discovery. **Eur. J. Med. Chem.** v. 97 (1), p. 699–718, 2015.

BEDANE, K. G.; SINGH, G. S. Reactivity and Diverse Synthetic Applications of Acyl Isothiocyanates. **Arkivoc**, v.6, p, 206–245, 2015.

BERMUDEZ, J.; DAVIES, C.; SIMONAZZI, A.; REAL, J.P.; PALMA, S. Current Drug Therapy And Pharmaceutical Challenges For Chagas Disease. **Acta Trop.** v. 156, p. 1–16, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde SUS. **Doença de Chagas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas>>, b Acesso em: 09 jan. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde SUS. **Leishmaniose visceral**: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral#:~:text=O%20que%20%C3%A9%20Leishmaniose%20Visceral,tubo%20digestivo%20do%20inseto%20transmissor.> > c. Acesso em: 09 jan. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde SUS. **Situação epidemiológica**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas/situacao-epidemiologica>>, c. Acesso em 19 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da saúde. Fundação Oswaldo Cruz. **Doenças Negligenciadas**. Disponível em: <<http://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>> a, acesso em 09 jan. 2022.

CAPUTTO, M. E.; CICCARELLI, A.; FRANK, F.; MOGLIONI, A. G.; et al. Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel 1-Indanone Thiazolyhydrazone Derivatives as Anti-*Trypanosoma cruzi* Agents. **Eur. J. Med. Chem.** v. 55, p. 155–163, 2012.

CARDOSO, M. V. D. O.; SIQUEIRA, L. R. P.; SILVA, E. B.; COSTA, L. B.; et al. 2-Pyridyl Thiazoles as Novel Anti-*Trypanosoma Cruzi* Agents: Structural Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 86, p. 48–59, 2014.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. (Org.). *Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis*. 5. ed., Springer, 2007, Cap 5.

CASTELANI, G.; CAPELLA, L; LEARDINI, R.; MINOZZI, M.; et al. Synthesis and X-ray characterization of a new polycondensed heterocycle obtained by a novel Mn(III)-mediated cascade reaction of 2-cyanophenyl isothiocyanate. **Tetrahedron**. v.57, p. 7221-7233, 2001.

CAVASOTTO, C. N.; and PHATAK, S. S. Homology modeling in drug discovery: current trends and applications. **Drug Discovery Today**. Vol 14, p. 676–683, 2009.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Biology**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>, c. Acesso em 09 jan. 2022.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Biology** <<https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>>, e. Acesso em 09 jan. 2022

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Disease**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/disease.html>>, d. Acesso em 09 jan. 2022.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **Neglected tropical diseases**. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/index.html> >, a, Acesso em 09 jan. 2022.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **What is Chagas disease?** Disponível em: < https://www.cdc.gov/parasites/chagas/gen_info/detailed.html#intro>, b. Acesso em 09 jan. 2022.

CHAWLA, B.; MADHUBALA, R. Drug targets in Leishmania. **J Parasit Dis**, vol 34(1), p. 1–13, 2010.

CHEN, Y. C. Beware of Docking! **Trends Pharmacol. Sci**, v. 36 (2), p. 78–95, 2015.

CHEN, Y.; POHLHAUS, D. T. In Silico Docking and Scoring of Fragments. **Drug Discov. Today Technol**. v. 7 (3), p. 149–e156, 2010.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N. and WARREN, S. Organic Chemistry, 2Th edition Ed. Oxford University Press, 2012, Cap 8

COA, J. C.; CASTRILLÓN, W.; CARDONA, W.; CARDA, M.; OSPINA, V.; MUÑOZ, J. A.; VÉLEZ, I. D.; ROBLEDO, S. M. Synthesis, Leishmanicidal, Trypanocidal and Cytotoxic Activity of Quinoline-Hydrazone Hybrids. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 101, p. 746–753, 2015.

COSTA, L. B.; CARDOSO, M. V.; FILHO, G. B.; GOMES, P. A. T.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; et al. Compound Profiling and 3D-QSAR Studies of Hydrazone Derivatives with Activity against Intracellular *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic Med. Chem.**, v. 24 (8), p. 1608–1618, 2016.

DAINA A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep.**, vol. 7, p. 42717, 2017.

DEMIRCIOGLU, Z.; KAŞTAŞ, Ç. A.; BÜYÜKGÜNGÖR, O. Theoretical Analysis (NBO, NPA, Mulliken Population Method) and Molecular Orbital Studies (Hardness, Chemical Potential, Electrophilicity and Fukui Function Analysis) of (E)-2-((4-Hydroxy-2-Methylphenylimino)Methyl)-3-Methoxyphenol. **J. Mol. Struct.**, v. 1091, p. 183–195, 2015.

ELTSOV, O. S.; MOKRUSHIN, V. S.; TKACHEV, A. V. Synthesis of Novel Derivatives of 2-(Azolylimino)Thiazoline. **Russ. Chem. Bull.**, v. 53(10), p. 2293–2302, 2004.

ENNES-VIDAL, V.; BRANQUINHA, M. H.; SANTOS, A. L. S.; et al. The Diverse Calpain Family in Trypanosomatidae: Functional Proteins Devoid of Proteolytic Activity? **Cells**, vol. 10, p. 299, 2021.

ENGKVIST, O.; NORRBY, P. O.; SELMI, N.; LAM, Y. HONG; PENG, Z.; SHERER, E. C.; AMBERG, W.; ERHARD, T.; SMYTH, L. A. Computational Prediction of Chemical Reactions: Current Status and Outlook. **Drug Discov. Today**, v. 23(6), p. 1203–1218, 2018.

ESPINOZA-HICKS, J. C.; CHACÓN-VARGAS, K. F.; HERNÁNDEZ-RIVERA, J. L.; NOGUEDA-TORRES, B.; TAMARIZ, J.; SÁNCHEZ-TORRES, L. E.; CAMACHO-DÁVILA, A. Novel Prenyloxy Chalcones as Potential Leishmanicidal and Trypanocidal Agents: Design, Synthesis and Evaluation. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 167, p. 402–413, 2019.

FARAG, A. M.; FAHIM, A. M. Synthesis, Biological Evaluation and DFT Calculation of Novel Pyrazole and Pyrimidine Derivatives. **J. Mol. Struct.** v. 1179, p. 304–314. 2019.

FERNÁNDEZ, G. J. M.; MELLET, O. C. Chemistry and Developments of N-Thiocarbonyl Carbohydrate Derivatives: Sugar Isothiocyanates, Thioamides, Thioureas, Thiocarbamates, and Their Conjugates. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** v. 55, p. 35–135, 2000.

FILHO, G. B.; CARDOSO, M. V. de O.; ESPÍNDOLA, J. W. P.; OLIVEIRA, D. A.; et al. Structural Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Thiazoles against *Trypanosoma cruzi*. **Eur. J. Med. Chem.** v. 141, p. 346–361, 2017.

FREITAS, P.G.; CASTILHO, T. E.; ALMEIDA, L.; MACIEL REZENDE, C.M.; et al. An *in silico* Study of Benzophenone Derivatives as Potential Non-Competitive Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis* Cysteine Proteinases. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 29 (3), p. 515-527, 2018.

FRIEBOLIN, H. Basic One-and Two-Dimensional Spectroscopy. 5 ed., Wiley, 2013, Cap 3.

FRIJA, L. M. T.; POMBEIRO, A. J. L.; KOPYLOVICH, M. N. Coordination Chemistry of Thiazoles, Isothiazoles and Thiadiazoles. **Coord. Chem. Rev.** v. 308, p. 32–55, 2016.

FUJII, D. G. V. **Aplicação de planejamento baseado na estrutura do receptor na busca de inibidores de cisteíno -proteases parasitárias (cruzaína (*T. cruzi*) e CPB (leishmanioses))**. USP, 2018, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas (Doutorado em ciências farmacêuticas), 2018.

GANESAN, A.; COOTE, M. L.; BARAKAT, K. Molecular Dynamics-Driven Drug Discovery: Leaping Forward with Confidence. **Drug Discov. Today**, v. 22 (2), p. 249–269, 2017.

GOMES, P. A. T.; BARBOSA, M.; SANTIAGO, E.; CARDOSO, M. V.; et al. New 1,3-Thiazole Derivatives and Their Biological and Ultrastructural Effects on *Trypanosoma cruzi*. **Eur. J. Med. Chem.** v. 121, p. 387–398, 2016.

GORHAM, R. D.; RODRIGUEZ, W.; MORIKIS D. Molecular Analysis of the Interaction between Staphylococcal Virulence Factor Sbi-IV and Complement C3d. **Biophys J**, v. 106, p. 1164–73, 2014

GU, C.; ZHAI, J.; JIANG, J.; LIU, H.; WANG, L.; ZHU, D.; JI, Y. An Efficient One-Pot Synthesis of Aryl-Substituted 1-(Thiazol-2-Yl)-1H- Pyrazole-3-Carboxylates via a Hantzsch Synthesis-Knorr Reaction Sequence. **Chinese J. Chem.** v. 32 (2), p. 179–190, 2014.

GUARNER, J. Chagas disease as example of a reemerging parasite. **Seminars in Diagnostic Pathology.** v.36, p. 164–169, 2019.

GUERRA, A.; GONZALEZ-NARANJO, P.; CAMPILLO, N. E.; VARELA, J.; LAVAGGI, M. L.; MERLINO, A.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M.; GOMEZ-BARRIO, A.; ESCARIO, J. A.; et al. Novel Imidazo[4,5-c][1,2,6]Thiadiazine 2,2-Dioxides as Antiproliferative *Trypanosoma cruzi* Drugs: Computational Screening from Neural Network, Synthesis and *in Vivo* Biological Properties. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 136, p. 223–234, 2017.

GUPTA, M.; SHARMA, R.; KUMAR, A. Docking Techniques in Pharmacology: How Much Promising? **Comput. Biol. Chem.** v. 76, p. 210–217, 2018.

HALAWA, A. H.; ELIWA, E. M.; HASSAN, A. A.; NASSAR, H. S.; EL-EISAWY, R. A.; ISMAIL, M.; FRESE, M.; SHAABAN, M.; EL-AGRODY, A. M.; BEDAIR, A. H.; et al. Synthesis, *in Vitro* Cytotoxicity Activity against the Human Cervix Carcinoma Cell Line and *in Silico* Computational Predictions of New 4-Arylamino-3-Nitrocoumarin Analogues. **J. Mol. Struct.**, v. 1200, p. 127047, 2020.

HAMMOUD, H.; ELHABAZI, K.; QUILLET, R.; BERTIN, I.; UTARD, V.; LABOUREYRAS, E.; BOURGUIGNON, J. J.; BIHEL, F.; SIMONNET, G.; SIMONIN, F.; et al. Aminoguanidine Hydrazone Derivatives as Nonpeptide NPFF1 Receptor Antagonists Reverse Opioid Induced Hyperalgesia. **ACS Chem. Neurosci.**, v. 9 (11), p. 2599–2609, 2018.

HAZHAZI, H.; MELKEMI, N.; SALAH, T.; BOUACHRINE, M. DFT-Based Reactivity and Combined QSAR, Molecular Docking of 1,2,4,5-Tetrazine Derivatives as Inhibitors of Pim-1 Kinase. **Heliyon**, v. 5(9), p. 0–9, 2019.

HIRAYAMA, N. Docking Simulations between Drugs and HLA Molecules Associated with Idiosyncratic Drug Toxicity. **Drug Metab. Pharmacokinet.** v. 32 (1), p. 31–39, 2017.

HOLLINGSWORTH, S. A.; DROR, R. O. Molecular Dynamics Simulation for All. **Neuron**, v. 99 (6), p. 1129–1143, 2018.

HORCHANI, M.; HAJLAOUI, A.; HARRATH, A. H.; MANSOUR, L.; JANNET, H.; ROMDHANE, A. New Pyrazolo-Triazolo-Pyrimidine Derivatives as Antibacterial Agents: Design and Synthesis, Molecular Docking and DFT Studies. **J. Mol. Struct.** v. 1199, p. 127007, 2020.

HORI, Y.; IDA T.; MIZUNO, M. A comparative theoretical study of the hydride transfer mechanisms during LiAlH_4 and LiBH_4 reductions. **Computational and Theoretical Chemistry**. v. 1076, p. 86–93, 2016.

IDRIS, M. O.; YEKEEN, A. A.; ALAKANSE, O. S.; DUROJAYE, O. A. Computer-aided screening for potential Tmprss2 inhibitors: a combination of pharmacophore modeling, molecular docking and molecular dynamics simulation approaches. *J Biomol Struct Dyn*, p. 1–19, 2020.

JIN, R. Y.; ZENG, C. Y.; LIANG, X. H.; SUN, X. H.; LIU, Y. F.; WANG, Y. Y.; ZHOU, S. Design, Synthesis, Biological Activities and DFT Calculation of Novel 1,2,4-Triazole Schiff Base Derivatives. **Bioorg. Chem**, v. 80, p. 253–260, 2018.

JUDICE, W. A.S.; FERRAZ, L. S.; LOPES, R. M.; et al. Cysteine proteases as potential targets for anti-trypanosomatid drug discovery. **Bioorg. Med. Chem.** Vol. 46, p. 116365, 2021.

KHAN, M. O. F. Trypanothione Reductase: A Viable Chemotherapeutic Target for Antitrypanosomal and Antileishmanial Drug Design. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 117739280700200, 2007.

KOLB, P.; FERREIRA, R. S.; IRWIN, J. J.; SHOICHET, B. K. Docking and Chemoinformatic Screens for New Ligands and Targets. **Curr. Opin. Biotechnol.** v. 20 (4), p. 429–436, 2009.

KONE, A. K. et al. Epidemiology of the outbreak, vectors and reservoirs of cutaneous leishmaniasis in Mali: A systematic review and meta-analysis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 985–990, 2016.

KRATZ, J.M. Drug discovery for chagas disease: A viewpoint. **Acta Tropica**. v.198, p. 105-107, 2019.

KUMAR, A.; LIANG, B.; AARTHY, M.; SINGH, S. K.; GARG, N.; MYSOREKAR, I. U.; et al. Hydroxychloroquine Inhibits Zika Virus NS2B-NS3 Protease. **ACS Omega**, v. 3, p. 18132–41, 2018.

LANA, M; TAFURI, W.L. *Trypanossoma cruzi e Doença de Chagas*. In: NEVES, David Pereira (Ed.). *Parasitologia humana*. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap 11.

LARA-SILVA, F. O.; MICHALSKYA, E. M.; FORTES-DIAS, C. L.; et al. Epidemiological aspects of vector, parasite, and domestic reservoir in areas of recent transmission and no reported human cases of visceral leishmaniasis in Brazil. **Acta Tropica**. v. 148, p. 128–136, 2015.

LASAKOSVITSCH, F.; GENTIL, L. G.; SANTOS, M. R. M.; et al. Cloning and characterisation of a cysteine proteinase gene expressed in amastigotes of *Leishmania* (L.) *amazonensis*. **International Journal for Parasitology**, vol. 33, p. 445–454, 2003.

MATTHEWS, K.R. 25 years of African trypanosome research: From description to molecular dissection and new drug discovery. **Molecular & Biochemical Parasitology**. v. 200, p. 30–40, 2015.

MELO-FILHO, C.C.; BRAGA, R.C.; MURATOV, E. N.; FRANCO, C.H.; MORAES, C.B.; FREITAS-JUNIOR, L.H.; ANDRADE, C.H. Discovery of new potent hits against intracellular *Trypanosoma cruzi* by QSAR-based virtual screening. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.163, p. 649-659, 2019.

METWALLY, M. A.; BONDOCK, S.; EL-AZAP, H.; KANDEEL, E. E. M. Thiosemicarbazides: Synthesis and Reactions. **J. Sulfur Chem**. v. 32(5), p. 489–519. 2011.

METZDORF, I. P; LIMA-JUNIOR, M, S, C; MATOS, M. F. C; et al. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**. v. 166, p. 121–125, 2017.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, David Pereira (Ed.). **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap 7.

MISHRA, A.; RAI, P.; SINGH, J.; SINGH, J. A Visible-Light-Mediated Protocol: One-Pot-Three-Component, Sustainable Synthesis of 1,3,4-Thiadiazines. **ChemistrySelect**, v. 3 (29), p. 8408–8414, 2018.

MISHRA, C. B.; KUMARI, S.; TIWARI, M. Thiazole: A Promising Heterocycle for the Development of Potent CNS Active Agents. **Eur. J. Med. Chem.** v. 92, p. 1–34, 2015.

MORTIER, J.; RAKERS, C.; BERMUDEZ, M.; MURGUEITIO, M. S.; RINIKER, S.; WOLBER, G. The Impact of Molecular Dynamics on Drug Design: Applications for the Characterization of Ligand-Macromolecule Complexes. **Drug Discov. Today**, v. 20 (6), p. 686–702, 2015.

MOTTRAM, J. C.; BROOKS, D. R.; e COOMBS, G. H. Roles of cysteine proteinases of trypanosomes and leishmania in host-parasite interactions. **Current Opinion in Microbiology**. Vol. 1, p. 455-460, 1998.

MULLARD, A. Re-assessing the rule of 5, two decades on. **Nature Reviews Drug Discovery**. Vol. 17, p. 777, 2018.

MUNCH, H.; HANSEN, J.S.; PITTELKOW, M.; CHRISTENSEN, J.B.; BOAS, U. A new efficient synthesis of isothiocyanates from amines using di-tert-butyl decarbonate. **Tetrahedron Letters**. v. 49, p. 3117–3119, 2008.

NASCIMENTO, I. J. DOS; AQUINO, T. M. DE; SILVA-JÚNIOR, E. F. DA. Cruzain and Rhodesain Inhibitors: Last Decade of Advances in Seeking for New Compounds Against American and African Trypanosomiases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 21, 31 mar. 2021.

NASCIMENTO, I. J. S.; e SILVA-JÚNIOR, E.F. TNF- α Inhibitors from Natural Compounds: An Overview, CADD Approaches, and Their Exploration for Anti-Inflammatory Agents. **Comb. Chem. High Throughput Screen.**, vol. 24, 2021

NASCIMENTO, I. J. S.; AQUINO, T.M.; SILVA-JÚNIOR, E. F. Repurposing FDA-Approved Drugs Targeting SARS-CoV2 3CLpro: A Study by Applying Virtual Screening, Molecular Dynamics, MM-PBSA Calculations and Covalent Docking. **Lett. Drug Des. Discov.** vol. 19, 2022.

NJOGU, P. M.; GUANTAI, E.M.; PAVADAI, E.; CHIBALE, K. Computer-Aided Drug Discovery Approaches against the Tropical Infectious Diseases Malaria, Tuberculosis, Trypanosomiasis, and Leishmaniasis. **ACS Infect. Dis.** v. 2, p. 8–31, 2016.

NUNES, T. A. L. *et al.* Curzerene antileishmania activity: Effects on *Leishmania amazonensis* and possible action mechanisms. **International Immunopharmacology**, v. 100, p. 108130, 2021.

OLIVEIRA, O.V. **Simulação por dinâmica molecular da enzima cruzaina do *Trypanosoma cruzi***. In: FREITAS, L.C.G., and OLIVEIRA, G.S., orgs. Aplicações de química teórica no estudo de materiais: métodos in silico para nanomateriais [online]. São Carlos: EdUFSCar, p. 227-244, 2018.

ORYAN, A.; AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. Vol 9(10), p. 925–932, 2016.

PAZDERA, P.; NOVÁČEK, E.; ONDRÁČEK, D. A new knowledge about the synthesis of 1-phenyl-3-(2-cyanophenyl)thiourea. **Chem. Papers**. v. 43, No. 3, p. 465-470, 1989.

PEREIRA, C.; DE LYRA, A.; OLIVEIRA, B.; NASCIMENTO, I; *et al.* 2-(Pyridin-4yl)Benzothiazole and Its Benzimidazole-Analogue: Biophysical and in Silico Studies on Their Interaction with Urease and *in Vitro* Anti-Helicobacter Pylori Activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, 2022.

PHILOPPES, J. N.; KHEDR, M. A.; HASSAN, M. H. A.; KAMEL, G.; LAMIE, P. F. New pyrazolopyrimidine derivatives with anticancer activity: Design, synthesis, PIM-1 inhibition, molecular docking study and molecular dynamics. **Bioorg Chem**, v. 100, p. 103944, 2020.

REZANIA, J.; BEHZADI, H.; SHOCKRAVI, A.; EHSANI, M.; AKBARZADEH, E. Synthesis and DFT Calculations of Some 2-Aminothiazoles. **J. Mol. Struct**, v. 1157, p. 300–305. 2018

RODRIGUES, K. A. da F.; DIAS, C. N. de S.; NÉRIS, P. L. do N.; ROCHA, J. da C.; SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L.; MASCARENHAS, S. R.; VERAS, R. C.; MEDEIROS, I. A. de; KEESSEN, T. de S. L.; *et al.* 2-Amino-Thiophene Derivatives Present Antileishmanial

Activity Mediated by Apoptosis and Immunomodulation *in Vitro*. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 106, p. 1–14, 2015.

ROMERO, A. H.; LÓPEZ, S. E. *In Silico* Molecular Docking Studies of New Potential 4-Phthalazinyl-Hydrazones on Selected *Trypanosoma cruzi* and Leishmania Enzyme Targets. **J. Mol. Graph. Model.**, v. 76, p. 313–329, 2017

ROSKOSKI, R. Properties of FDA-Approved Small Molecule Protein Kinase Inhibitors: A 2020 Update. **Pharmacol. Res.**, v. 152, p. 104609, 2020.

SALSBURY, F. R. Molecular Dynamics Simulations of Protein Dynamics and Their Relevance to Drug Discovery. **Curr. Opin. Pharmacol.** v. 10 (6), p. 738–744, 2010.

SARAVANAN, V.; DAS, P. Recent progress in drug targets and inhibitors towards combating leishmaniasis. **Acta Tropica**, vol. 181, p. 95-104, 2018.

SCARIM, C. B.; JORNADA, D. H.; CHELUCCI, R.C.; ALMEIDA, L. Current advances in drug discovery for Chagas disease. **European Journal of Medicinal Chemistry.** v. 155, p. 824-838, 2018.

SCARIM, C. B.; JORNADA, D. H.; MACHADO, M. G. M.; FERREIRA, C. M. R.; et al. Thiazole, Thio and Semicarbazone Derivatives against Tropical Infective Diseases: Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis (HAT), Leishmaniasis, and Malaria. **Eur. J. Med. Chem.** v. 162, p. 378–395, 2019.

SHIRAN, J. A.; YAHYAZADEH, A.; MAMAGHANI, M.; YAMIN, B. M.; SHIRINI, F. One-Pot, Three Component Synthesis of Thiazol-2(3H)-Imines Using Poly(4-Vinylpyridine) as an Efficient Reusable Heterogeneous Basic Catalyst. **Heterocycles**, v. 91(1), p. 113–122, 2015.

SHIRAN, J. A.; YAHYAZADEH, A.; MAMAGHANI, M.; YAMIN, B. M.; SHIRINI, F. One-Pot, Three Component Synthesis of Thiazol-2(3H)-Imines Using Poly(4-Vinylpyridine) as an Efficient Reusable Heterogeneous Basic Catalyst. **Heterocycles**, v. 91(1), p. 113–122, 2015.

SHOICHET, B. K.; MCGOVERN, S. L.; WEI, B.; IRWIN, J. J. Lead Discovery Using Molecular Docking. **Curr. Opin. Chem. Biol.** v. 6 (4), p. 439–446, 2002.

SHUBAKAR, K.; UMESHA, K. B.; SRIKANTAMURTHY, N.; CHETHAN, J. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Novel Derivatives of 1,3,4-Thiadiazine Incorporated with Pyrazole-4-Carboxylic Acid Moiety. **Bulg. Chem. Commun.** v. 45 (3), p. 274–279, 2013.

SILVA, E. B.; OLIVEIRA, D. A.; OLIVEIRA, A. R.; MENDES, C. H.; SANTOS, T. A. R.; et al. Design and Synthesis of Potent Anti-*Trypanosoma cruzi* Agents New Thiazoles Derivatives Which Induce Apoptotic Parasite Death. **Eur. J. Med. Chem.** v. 130, p. 39–50, 2017.

SILVA, L. E.; JOUSSEF, A. C.; PACHECO, L. K.; da SILVA, D. G.; STEINDEL, M.; REBELO, R. A. Synthesis and in Vitro Evaluation of Leishmanicidal and Trypanocidal Activities of N-Quinolin-8-Yl-Arylsulfonamides. **Bioorganic Med. Chem.** v. 15 (24), p. 7553–7560, 2007.

SILVA, L. R.; GUIMARÃES, A. S.; NASCIMENTO, J.; et al. Computer-aided design of 1,4-naphthoquinone-based inhibitors targeting cruzain and rhodesain cysteine proteases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry.** vol. 41(1), p. 116213, 2021.

SILVA-JÚNIOR, E. F.; SILVA, E. P. S.; FRANÇA, P. H. B.; SILVA, J. P. N.; et al. Design, Synthesis, Molecular Docking and Biological Evaluation of Thiophen-2-Iminothiazolidine Derivatives for Use against *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic Med. Chem.** v. 24 (18), p. 4228–4240, 2016.

SILVA-JÚNIOR, E.F.; BARCELLOS P.H. F.; RIBEIRO, F.F.; et al. Molecular Docking Studies Applied to a Dataset of Cruzain Inhibitors. **Curr. Comput. Aided. Drug Des.** Vol. 14, p. 68–78, 2017.

ŚLEDŹ, P.; CAFLISCH, A. Protein Structure-Based Drug Design: From Docking to Molecular Dynamics. **Curr. Opin. Struct. Biol.** v. 48, p. 93–102, 2018.

SMITH, M. B.; MARCH, J. (Org.). **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure.** 5. ed., Wiley Inter-Science, 2001, cap 16.

SOLOMONS, G. T. W.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**. 10^a ed. Rio de Janeiro: LTC editora, 2012, Cap 17

STEINEBACH, C.; SCHULZ, A. C. f.; SCHNAKENBURG, G.; GUTSCHOW, M. In situ generation and trapping of thioimidates: an intermolecular tandem reaction to 4-acylimino-4H-3,1-benzothiazines. **RSC Adv**, v. 6, p. 15430–1544, 2016.

TANDON, H.; CHAKRABORTY, T.; SUHAG, V. A Brief Review on Importance of DFT In Drug Design, **Res Med Eng Scip**. v. 7(4), p. 791–795, 2019.

TAYLOR, E.C.; RAVINDRANATHAN, R. V. Reaction of Anthranilonitrile and N-Methylantranilonitrile with Phenyl Isocyanate and Phenyl Isothiocyanate. **J. Org. Chem.** v. 27, No. 7, p. 2622-2627, 1962.

THAIJARERNA, J.; TANGKAWANITB, U.; WONGPAKAMC, K.; et al. Molecular detection of Trypanosoma (Kinetoplastida: *Trypanosomatidae*) in black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. **Acta Tropica**, vol. 200, p. 105196, 2019.

THANIGAIMALAI, P.; HOANG, T. A.; LEE, K. C.; BANG, S. C.; SHARMA, V. K.; YUN, C. Y.; ROH, E.; HWANG, B. Y.; KIM, Y.; JUNG, S. H. Structural Requirement(s) of N-Phenylthioureas and Benzaldehyde Thiosemicarbazones as Inhibitors of Melanogenesis in Melanoma B 16 Cells. **Bioorganic Med. Chem. Lett.** v. 20(9), p. 2991–2993, 2010.

THOMPSON, A. M.; BLASER, A.; PALMER, B. D.; ANDERSON, R. F.; et al. 6-Nitro-2,3-Dihydroimidazo[2,1-b][1,3]Thiazoles: Facile Synthesis and Comparative Appraisal against Tuberculosis and Neglected Tropical Diseases. **Bioorganic Med. Chem. Lett.** v. 27 (11), p. 2583–2589, 2017.

VASSILEV, G. N.; VASSILEV, N. G. Synthesis And Cytokinin Activity Of Some New Ecologically Safe 3-Alkyl-4-Oxo-2-Thion-1,2,3,4-Tetrahydroquinazolines, Alkylthioureidobenzoic Acids And Their Alkyl Esters. **Oxidation Communications**. v. 30, No 1, 228–235, 2007.

VIJAYAKUMAR, S.; MANOGAR, P.; PRABHU, S.; PUGAZHENTHI, M.; PRASEETHA, P. K. A Pharmacoinformatic Approach on Cannabinoid Receptor 2 (CB2) and Different Small

Molecules: Homology Modelling, Molecular Docking, MD Simulations, Drug Designing and ADME Analysis. **Comput. Biol. Chem**, v. 78, p. 95–107, 2019.

WHO (World Health Organization). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <<http://www.who.int/chagas/en/>>, b. Acesso em 09 jan. 2022.

WHO (World Health Organization). **Neglected tropical diseases**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1>, a. Acesso em 09 jan. 2022

WHO (World Health Organization). Leishmaniasis. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1> c. Acesso em: 09 jan. 2022.

WHO (World Health Organization). **Chagas disease (also known as American trypanosomiasis)**. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>, d. Acesso em 09 jan. 2022.

WHO (World Health Organization). **Chagas disease (also known as American trypanosomiasis), treatment**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_3>, e. Acesso em 09 jan. 2022

YAZICI, A.; AKGÜN, F. Synthesis and Characterization of Two New Schiff Base Ligands and Their Complexes with Cobalt(II), Nickel(II) and Copper(II). **Transit. Met. Chem**, p. 31 (2), v. 152–156, 2006.

YURCHENKO, V.; BUTENKO, A.; e KOSTYGOV, A. Y. Genomics of Trypanosomatidae: Where We Stand and What Needs to Be Done? **Pathogens**, vol. 10, p. 1124, 2021.

WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; et al. SWISS-MODEL: Homology Modelling of Protein Structures and Complexes. **Nucleic Acids Res**. Vol. 46, p. 296–W303, 2018.

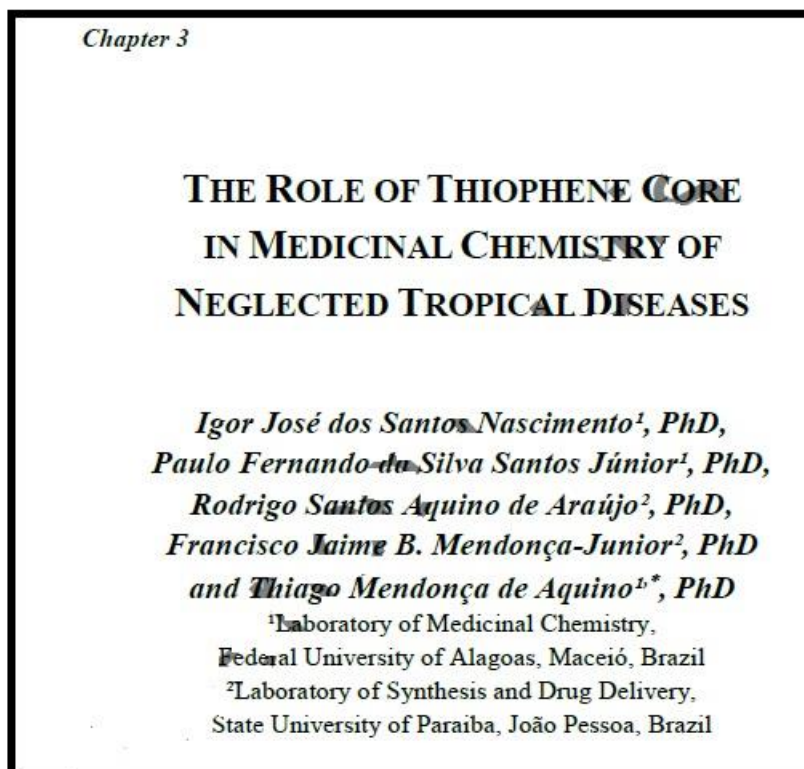
ZHANG, M. Q.; WILKINSON, B. Drug discovery beyond the ‘rule-of-five’. **Current Opinion in Biotechnology**. Vol 8(6), p. 478-488, 2007

ZHANG, D.; LAZIM, R. Application of conventional molecular dynamics simulation in evaluating the stability of apomyoglobin in urea solution. **Sci Rep**, v. 7, p. 44651, 2017

APÊNDICE A – Capítulos de livro publicados versando sobre temas relacionados à presente tese, como planejamento de fármacos contra doenças negligenciadas, anti-Chagas, e técnicas em modelagem molecular.

Scaffold de Tiofenos e seus derivados 2-aminotiofenos, nitrotiofenos e benzotiofenos são estruturas privilegiadas no desenvolvimento e descoberta de fármacos. Sua ampla gama de atividades biológicas culminou na descoberta de vários compostos hits e leads, especialmente contra doenças tropicais negligenciadas. O presente capítulo relata as características atraentes desses derivados como material de partida na síntese de compostos orgânicos à base de tiofeno e híbridos moleculares, destacando novos avanços no planejamento racional de medicamentos contendo tiofeno contra tuberculose, leishmaniose e hepatite (figura 1A).

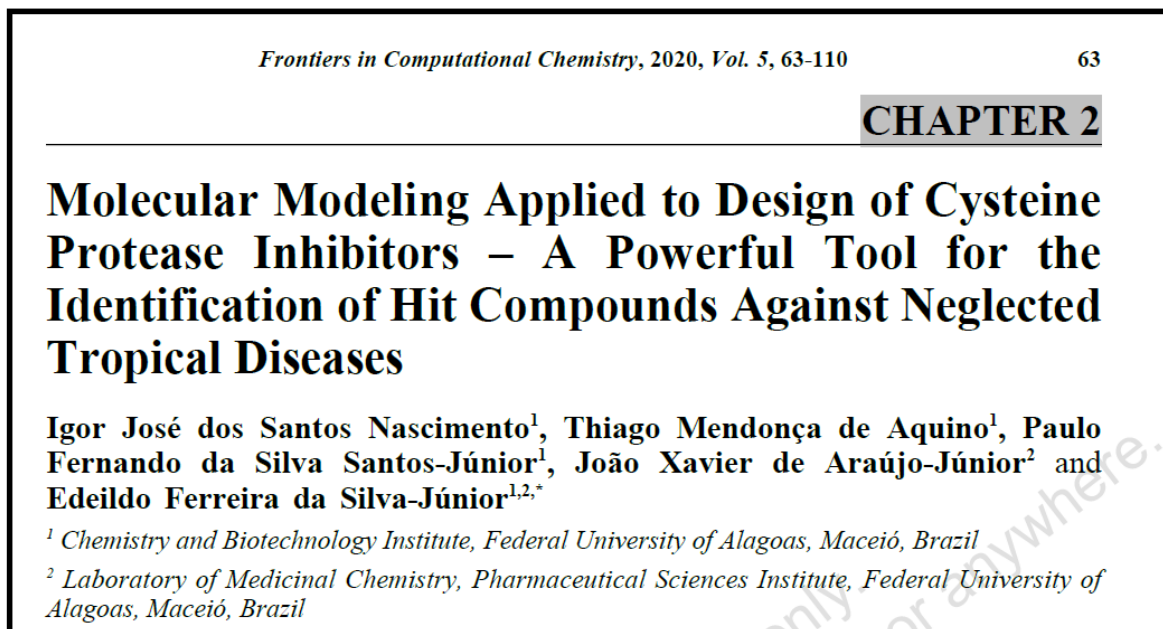
Figura 1A: A função do núcleo tiofeno em química medicinal de doenças tropicais negligenciadas



Fonte: Autor, 2022

O uso de técnicas computacionais tornou-se cada vez mais comum em laboratórios de química medicinal com foco em descobrir novos inibidores de cisteíno proteases presentes em diversos parasitas que fazem parte das doenças tropicais negligenciadas, principalmente devido aos baixos custos e alta correlação com os resultados experimentais dos ensaios. Uma técnica amplamente utilizada no design racional de compostos ativos é o docking molecular de pequenos ligantes no local ativo a partir dos alvos biológicos. Neste capítulo, foi demonstrado em detalhes das diferentes técnicas de modelagem molecular aplicadas ao desenvolvimento de novos inibidores contra a cruzaina (*Trypanosoma cruzi*); falcipaina (*Plasmodium falciparum*); SmHDAC8 (*Schistosoma mansoni*); nsP2 (vírus Chikungunya); e outros, como a família catepsina; família caspase, e virais (3C^{pro}, no Enterovirus 71 e 3CL^{pro}, no Coronavírus). Finalmente, os estudos revelaram que a aplicação da modelagem molecular é uma ferramenta poderosa para prever novas moléculas ativas e eficazes contra doenças infecciosas (Figura 2A).

Figura 2A: Modelagem molecular aplicada no planejamento de inibidores de cisteíno proteases – Uma poderosa ferramenta na identificação de compostos hits contra doenças tropicais negligenciadas.



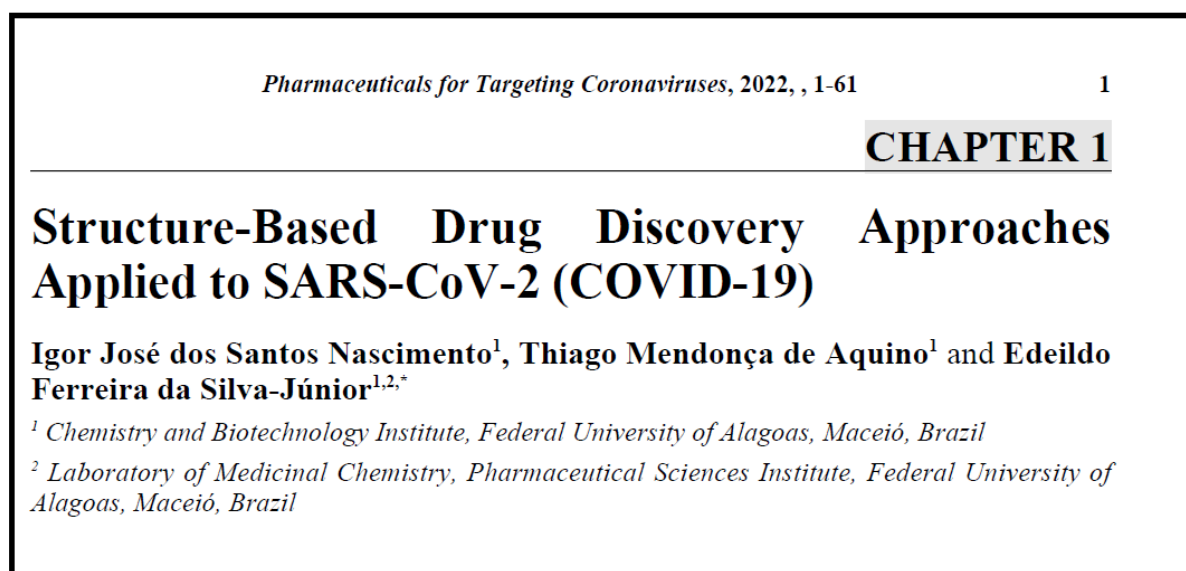
Fonte: Autor, 2022

A aplicação das técnicas de SBDD melhorou o arsenal farmacológico contra diversas doenças, o que permitiu a descoberta de tratamentos inovadores, como os inibidores das proteases do HIV-1. Neste capítulo, as principais técnicas de SBDD (ou seja, modelagem de homologia; dinâmica molecular e *docking*; descoberta de drogas *de novo*; modelagem de

Igor J. S. Nascimento

farmacoforos; descoberta de drogas baseada em fragmentos; e triagens virtuais de alto rendimento) aplicadas para descobrir novos compostos de sucesso SARS-CoV-2 (COVID - 19) foram discutidas em detalhes (Figura 3A).

Figura 3A: Abordagens em planejamento de fármacos baseado em estrutura aplicadas contra SARS-CoV-2 (COVID-19)



Fonte: Autor, 2022

Apêndice B: Artigos de revisão de literatura publicados relacionados com a referida tese, apresentando estratégias em planejamento de fármacos, modelagem molecular e planejamento de inibidores de enzimas chave de alguns patógenos.

As doenças virais são responsáveis por várias mortes em todo o mundo. Nos últimos anos, o mundo viu vários surtos causados por doenças virais que, por muito tempo, pareciam não apresentar risco. São doenças há muito esquecidas e, até hoje, não existem medicamentos ou vacinas aprovados, levando a indústria farmacêutica e diversos grupos de pesquisa a correrem contra o tempo na busca por novos tratamentos farmacológicos ou métodos de prevenção. Nesse contexto, o reaproveitamento de medicamentos mostra-se uma técnica rápida e economicamente viável, visto que utiliza medicamentos com perfil de segurança bem estabelecido. Assim, nesta revisão, apresentamos os principais avanços no reaproveitamento de medicamentos e seu benefício para a busca de novos tratamentos contra doenças virais emergentes (Figura 1B).

Figura 1B: Reposicionamento de fármacos: Uma estratégia para descobrir inibidores contra infecções virais emergentes

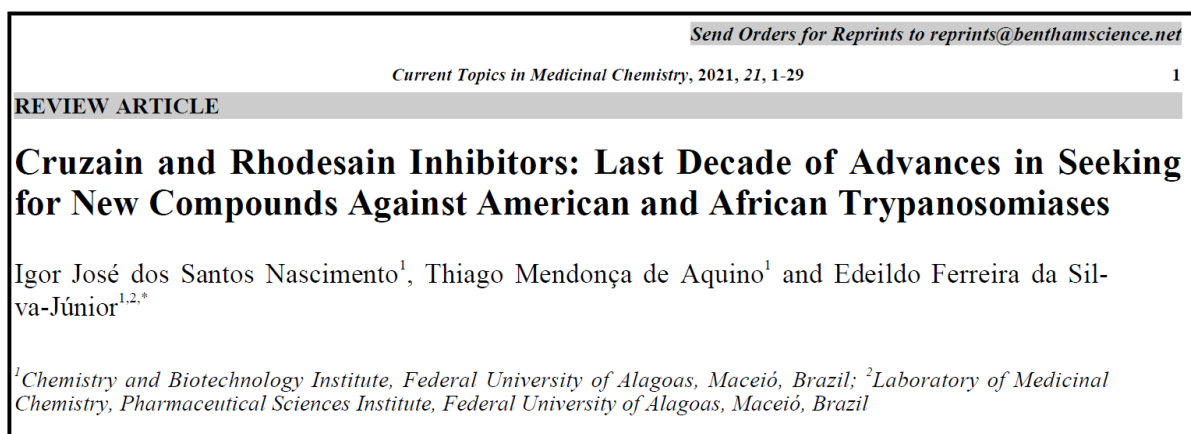


Fonte: Autor, 2022

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um grupo de aproximadamente 20 doenças que afetam parte da população em países Sub e Tropicais. A busca por novas alternativas terapêuticas contra tais doenças vem crescendo nos últimos anos, apresentando as cisteína proteases como a principal estratégia para a descoberta de novos fármacos antitripanossômicos. Assim, as enzimas cruzaina e rodesaina são alvos amplamente estudados, uma vez que a cruzaina está presente em todas as fases da vida do parasita,

relacionadas às fases de proliferação e diferenciação e infecção de macrófagos; enquanto a rodesaína está relacionada ao processo de defesa imunológica. Assim, este manuscrito de revisão será direcionado aos inibidores de cruzaina e rodesaína desenvolvidos nos últimos 10 anos, que poderão fornecer base para novos compostos líderes na descoberta de novas drogas tripanocidas (Figura 2B).

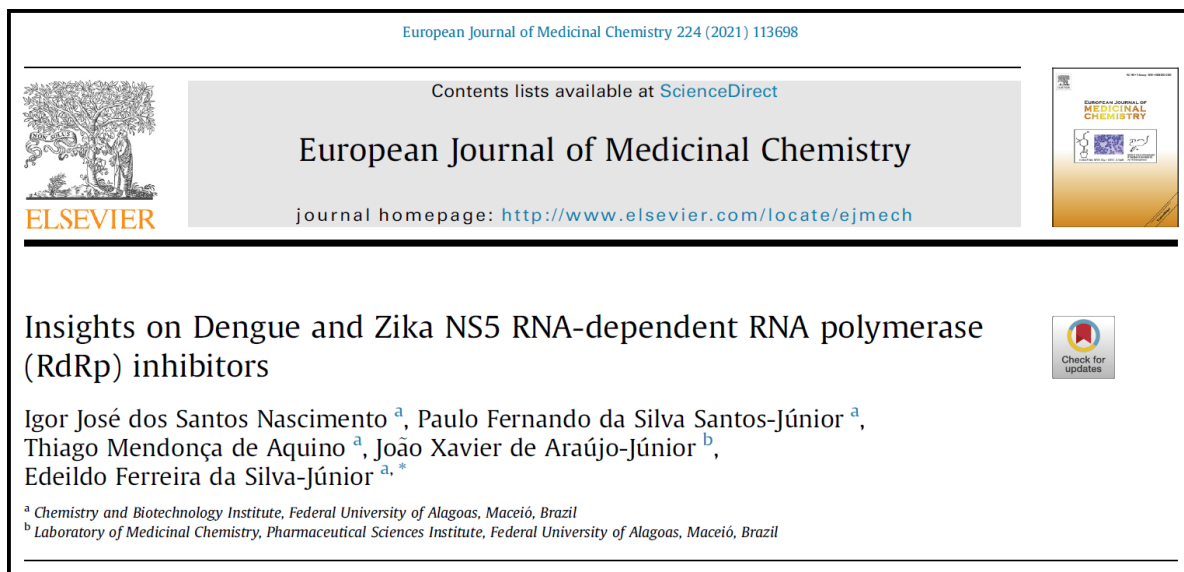
Figura 2B: Inibidores de cruzaina e rodesaína: Última década de avanços na busca de novos compostos contra tripanossomíase africana e americana



Fonte: Autor, 2022

Nos últimos anos, muitos surtos causados por vírus de RNA (re)emergentes foram relatados em todo o mundo, incluindo Flavivírus com risco de vida, como Dengue (DENV) e Zika (ZIKV). Atualmente, existe apenas uma vacina licenciada contra a Dengue, a Dengvaxia®. No entanto, sua administração não é recomendada para crianças menores de nove anos. Ainda assim, não há inibidores específicos disponíveis para tratar essas doenças infecciosas. Dentre as proteínas flavivirais, a RNA polimerase dependente de RNA NS5 (RdRp) é uma metaloenzima essencial para a replicação viral, sugerindo que é um alvo macromolecular promissor, pois não possui homólogo humano. Atualmente, vários inibidores de NS5 RdRp foram relatados, enquanto nenhum inibidor está atualmente em desenvolvimento clínico. Nesse contexto, esta revisão constitui um trabalho abrangente focado em inibidores de RdRp de fontes naturais, sintéticas e até mesmo de reaproveitamento. Além disso, seus principais aspectos associados à relação estrutura-atividade (SAR), mecanismos de ação propostos, estudos computacionais e outros tópicos serão discutidos em detalhes (Figura 3B).

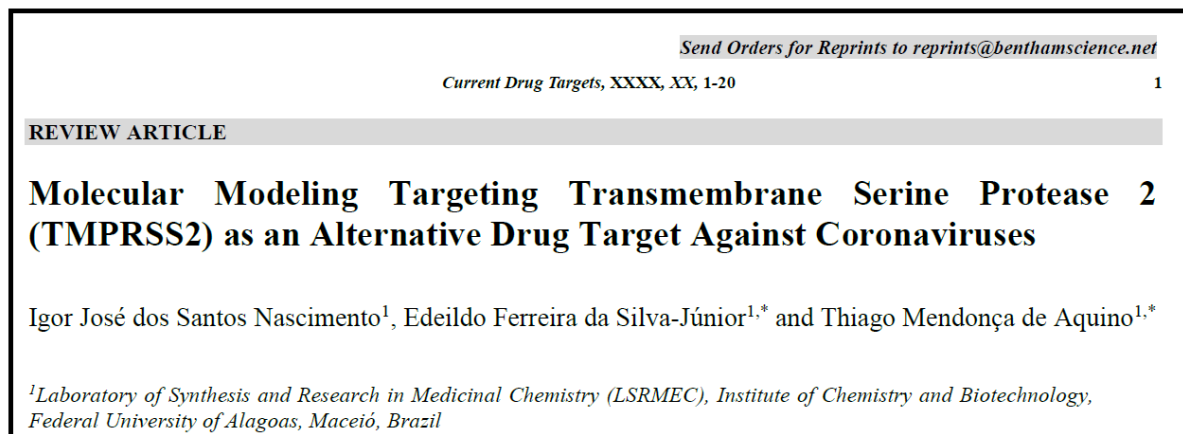
Figura 3B: Insights sobre a inibidores da RNA polimerase dependente de RNA NS5 (RdRp) de Dengue e Zika.



Fonte: Autor, 2022

Desde novembro de 2019, a doença do novo Coronavírus (COVID-19) causada pelo agente etiológico SARS-CoV-2 tem sido responsável por vários casos em todo o mundo, tornando-se pandêmica em março de 2020. Indústrias farmacêuticas e acadêmicos uniram seus esforços para descobrir novas terapias para controlar a doença, uma vez que não existem medicamentos específicos para combater este vírus emergente. Assim, vários alvos foram explorados; entre eles, a protease transmembrana serina 2 (TMPRSS2) tem ganhado maior interesse na comunidade científica. Nesse contexto, esta revisão descreverá a importância da protease TMPRSS2 e os avanços significativos na triagem virtual com foco na descoberta de novos inibidores. Nesta revisão, observou-se que os métodos de modelagem molecular podem ser ferramentas poderosas na identificação de novas moléculas contra o SARS-CoV-2. Assim, esta revisão pode ser usada para orientar pesquisadores em todo o mundo a explorar o potencial biológico e clínico de compostos que podem ser candidatos promissores a medicamentos contra o SARS-CoV-2, agindo pela inibição da proteína TMPRSS2 (Figura 4B).

Figura 4B: Modelagem molecular direcionada à serina protease 2 transmembrana (TMPRSS2) como um alvo alternativo de drogas contra coronavírus



Fonte: Autor, 2022

Apêndice C: Artigos experimentais publicados utilizando técnicas de modelagem molecular apresentados nessa tese, como *docking* e dinâmica molecular, na descoberta de novos compostos ou *insights* para o planejamento de fármacos.

Desde o final de 2019, o agente etiológico SAR-CoV-2 responsável por uma das epidemias mais significativas da história tem causado graves danos econômicos, sociais e de saúde globais. A abordagem de reaproveitamento de fármacos e a aplicação de Structure-based Drug Discovery (SBDD) utilizando técnicas *in silico* são cada vez mais frequentes, levando à identificação de diversas moléculas que podem representar um potencial promissor. Nesse contexto, utilizamos métodos *in silico* de triagem virtual, modelagem farmacofórica e design de drogas baseado em fragmentos, além de dinâmica molecular, mecânica molecular/área de superfície de Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) e *docking* covalente para a identificação de potenciais tratamentos contra SARS-CoV-2 (Figura 1C).

Figura 1C: Reposicionamento de fármacos aprovados pela FDA direcionados a 3CL^{pro} do SARS-CoV2: Um estudo aplicando Triagem Virtual, Dinâmica Molecular, MM-PBSA Cálculos e *docking* covalente

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Letters in Drug Design & Discovery, 2022, 19, 000-000

1

RESEARCH ARTICLE

Repurposing FDA-approved Drugs Targeting SARS-CoV2 3CL^{pro}: A Study by Applying Virtual Screening, Molecular Dynamics, MM-PBSA Calculations and Covalent Docking

Igor José dos Santos Nascimento^{1,3,*}, Thiago Mendonça de Aquino^{1,3} and Edeildo Ferreira da Silva-Júnior^{2,3*}

¹Laboratory of Computational Chemistry and Modeling of Biomolecules, Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas, Maceió-AL, Brazil; ²Laboratory of Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Sciences Institute, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil; ³Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil

Fonte: Autor, 2022

A defesa do organismo contra agentes agressivos é realizada pelo sistema imune inato por meio da ativação de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs). Inicialmente, esses agentes são reconhecidos pelo sistema imunológico, resultando na resposta inflamatória que ativa a eliminação do patógeno e o reparo tecidual. Os inflamassomas são macromoléculas relacionadas à resposta do hospedeiro a agentes agressivos endo ou exógenos. Assim, a

inflamação mediada por inflamassomas desempenha um papel importante na patogênese de doenças, como distúrbios neurodegenerativos, doenças autoimunes e diabetes tipo 2, justificando sua atratividade como alvos de drogas. Uma das tarefas mais importantes permanece no domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos ATPase domínio de ligação de nucleotídeos proteína 3 de receptores de repetição rica em repetições (NLRP3), no qual o bloqueio de sua oligomerização está relacionado à inibição funcional de inflamassomas. Aqui, realizamos *docking* molecular e simulações de dinâmica para NP3-146, um análogo de MCC950, para obter informações sobre a estabilidade do complexo e as principais interações com resíduos de aminoácidos de NLRP3 (Figura 2C).

Figura 2C: Estudos de simulação de *docking* molecular e dinâmica de um conjunto de dados de inibidores de inflamassoma NLRP3

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Recent Advances in Inflammation & Allergy Drug Discovery, xxxx, xx, 1-0 1

RESEARCH ARTICLE

Molecular Docking and Dynamics Simulation Studies of a Dataset of NLRP3 Inflammasome Inhibitors

Igor José dos Santos Nascimento^{1,2,*}, Thiago Mendonça de Aquino² and Edeildo Ferreira da Silva-Júnior²

¹Pharmacy Department, Estácio of Alagoas College, Maceió, Brazil; ²Laboratory of Computational Chemistry and Modeling of Biomolecules, Institute of Chemistry and Biotechnology, Federal University of Alagoas, Maceió-AL, Brazil

Fonte: Autor, 2022

Apêndice D: Trabalhos completos publicados em anais de eventos internacionais versando sobre inibidores de cruzaina úteis contra Doença de Chagas.

Este trabalho teve como objetivo realizar uma triagem virtual usando um protocolo de *docking* covalente e MM-PBSA em um conjunto de dados de biblioteca de medicamentos aprovados pela FDA para buscar novos compostos úteis contra esta cruzaina. Inicialmente, 1615 compostos aprovados pela FDA foram inspecionados visualmente quanto à presença de grupos químicos reativos contra cisteína reativa a cruzaina (Cys²⁵), seguido da escolha da estrutura 3D mais adequada para os protocolos virtuais. Assim, 241 compostos foram selecionados e os ensaios de *docking* covalente e os medicamentos com fit score covalente superior a 100, foram selecionados para os cálculos de MM-PBSA. Finalmente, os medicamentos neratinib, sacubitril, alprostadil, trandolapril e florbetapir mostraram um escore covalente entre 102,14 e 116,59; Valores de ΔG de ligação entre -72,851 e -148,811 Kcal/mol calculados por MM-PBSA; e interações com os principais resíduos da cruzaina (Cys²⁵, His¹⁵⁹, Gly²³ e Gly⁶⁵), apresentando melhores valores do que outros inibidores da cruzaina testados experimentalmente. Nossos achados sugerem que essas drogas podem ser possíveis inibidores da cruzaina, e ensaios biológicos devem ser realizados para confirmar seu potencial.

Figura 1D: Triagem virtual baseada em *docking* covalente e cálculos de MM-PBSA preveem os medicamentos neratinib, sacubitril, alprostadil, trandolapril e florbetapir como promissores inibidores da cruzaina úteis contra a doença de Chagas.

MOL2NET, 2021, 7, ISSN: 2624-5078 <https://mol2net-07.sciforum.net/> 1



MDPI
sciforum

**MOL2NET, International Conference Series
on Multidisciplinary Sciences**

Virtual screening based on covalent docking and MM-PBSA calculations predict the drugs neratinib, sacubitril, alprostadil, trandolapril, and florbetapir as promising cruzain inhibitors useful against Chagas disease.

Lucas Gabriel dos Santos Costa^a, Thiago Mendonça de Aquino^b, and Igor José dos Santos Nascimento^{a}*

^a*Estácio of Alagoas College, Pharmacy Department, Maceió-AL, Brazil*

^b*Laboratory of Computational Chemistry and Biomolecule Modeling, Federal University of Alagoas, Maceio-AL, Brazil*

* Corresponding Author: igorjsn@hotmail.com

Fonte: Autor, 2022

