

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

PAULO FERNANDO DA SILVA SANTOS JÚNIOR

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ARILIDRAZOIMIDAZÓIS,
ARILIDRAZOPIRIMIDÍNICOS E QUINOLIN-4-HIDRAZOTIAZOLIDINAS SOBRE
AMASTIGOTAS DE *Leishmania chagasi* E POTENCIAL ANTITUMORAL**

MACEIÓ

2017

PAULO FERNANDO DA SILVA SANTOS JUNIOR

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ARILIDRAZOIMIDAZÓIS,
ARILIDRAZOPYRIMIDÍNICOS E QUINOLIN-4-HIDRAZOTIAZOLIDINAS SOBRE
AMASTIGOTAS DE *Leishmania chagasi* E POTENCIAL ANTITUMORAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Escola de Enfermagem e Farmácia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

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

Maceió

2017

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S237s Santos Júnior, Paulo Fernando da Silva.
Síntese e avaliação biológica de arilidrazoimidazóis, arilidrazopirimidínicos e quinolin-4-hidrazotiazolidinas sobre amastigotas de *Leishmania chagasi* e potencial antitumoral / Paulo Fernando da Silva Santos Júnior. - 2018.
195 f.: il.

Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.

Coorientador: Thiago Mendonça de Aquino.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Maceió, 2017.

Bibliografia: f. 129-142.

Anexo: f. 144-194.

1. *Leishmania chagasi*. 2. Anticâncer. 3. Tiazolina. 4. Quinolina. 5. Imidazol/Pirimidina

I. Título.

CDU: 615.28:616.993.161



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Ata do Exame de Defesa de Dissertação

Aos **vinte e seis dias** do mês de **outubro** de **2017**, às nove horas, reuniu-se no Miniauditório da ESENFAR do PPGCF/UFAL, a banca examinadora composta pelos docentes doutores João Xavier de Araújo Júnior; Mario Roberto Meneghetti e Johnnatan Duarte de Freitas, para o **Exame de Defesa da dissertação** intitulada: **“SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ARILIDRAZOIMIDAZÓIS, ARILIDRAZOPIRIMIDÍNICOS E QUINOLIN-4-HIDRAZOTIAZOLIDINAS SOBRE AMASTIGOTAS DE *Leishmania chagasi* E POTENCIAL ANTITUMORAL,”** elaborada pelo Mestrando **Paulo Fernando da Silva Santos Junior**, regularmente matriculado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Nível Mestrado, **sob a orientação do Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior**, que presidiu os trabalhos. Após apresentação por 50 minutos, o mestrando foi arguido pela banca. Em seguida, reunidos em sessão secreta às 11:30 horas, os examinadores emitiram o seguinte parecer: aprovado.

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada às 11:35 horas e eu, Daniel de Brito Ricarte, Secretário do PPGCF, Mestrado, lavrei à presente ata que será assinada pela Banca Examinadora e pelo Mestrando. **Maceió, 26 de outubro de 2017.**

Presidente (Orientador): Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior

Examinador Interno: Prof. Dr.: Mario Roberto Meneghetti

Examinador Externo: Prof. Dr. Johnnatan Duarte de Freitas

Mestrando: Paulo Fernando da Silva Santos Junior

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e toda a sabedoria.

Ao meu Pai, Paulão (*in memoriam*), por todos os ensinamentos em vida, e por ter sido um dos idealizadores para que eu tivesse feito este curso. Á minha mãe, Antônia, minha vida. Sem ela não seria absolutamente nada. E a meu irmão Lekinho, por todo o companheirismo.

À Darlene Nonato, por todo o amor, carinho e compreensão ao longo desses anos todos.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. João Xavier, pelo acolhimento no LQM desde o início da graduação, tendo me dado a oportunidade de trabalhar neste laboratório, e Prof. Dr. Thiago Aquino, por todos os ensinamentos passados perante a execução deste trabalho.

Aos meus amigos do laboratório para a vida: Edeildo Jr, Igor, Giovanni Ortiz, Ednaldo e Genildo por todo o companheirismo e parceria, em especial nos momentos mais difíceis.

Aos amigos do LQM, Érica, Rafa, Kadja, Nathan, Marccone, Marianny, Karol, Dália e em especial Luiz Paulo, pela grande força no andamento deste trabalho.

Á banca julgadora deste trabalho, Prof. Dr. Mário Meneghetti e Prof. Dr. Johnnatan Freitas, por todas as contribuições acerca das melhorias a serem feitas.

À Prof. Dra. Magna Suzana e à doutoranda Mariana, do Laboratório de Farmacologia de Imunidade – LaFI/UFAL, pela realização das análises leishmanicida.

À Prof. Dra. Cláudia Pessoa, do Laboratório de Oncologia Experimental/LOE - Universidade Federal do Ceará, pela realização das análises anticâncer.

Ao Prof. Dr. Prof. Dr. Johnnatan Freitas e seus alunos Jennifer e Pablo Henrique – IFAL, pelas análises de infravermelho e todo o acolhimento recebido por estes.

Ao Dr. Adilson Sabino, do NAPRMN – IQB/UFAL, pela realização dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

Aos professores do PPGCF e PPGQB, por todos os ensinamentos e contribuições.

*There is a land, far far away
Where there's no night, there's only day
Look into the book of life, and you will see
That there's a land, far far away*

Satta Massagana, Abyssinians

RESUMO

As leishmanioses referem-se à segunda maior causa de doenças infecciosas letais relacionadas a protozoários, acometendo cerca de 12 milhões de pessoas em 98 países, sendo 96% proveniente da forma visceral (*Leishmania chagasi*). No que diz respeito ao tratamento destas doenças, o arsenal terapêutico contra as leishmanioses encontra-se limitado e ineficaz, com drogas utilizadas há mais de 70 anos. Da mesma forma, o câncer está entre os líderes de causas de morte do mundo. Das 58 milhões de morte em 2005, 7,6 milhões (13%) foram causadas pelo câncer. Mais de 70% destas mortes acometem países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde os recursos disponíveis para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer são limitados ou inexistentes. Com isto, objetivamos a síntese e avaliação das atividades biológicas frente linhagens tumorais, bem como amastigotas do parasito *L. chagasi* de novos derivados arilimidazólicos/pirimidínicos e quinolin-4-hidrazinotiazolidina via hibridação/rigidificação molecular, caracterizados via espectroscopia de RMN de ¹³C, ¹³C, IV e HPLC-UV, sendo todos os finais inéditos na literatura. Assim, foram obtidos 8 compostos finais imidazólicos/pirimidínicos bem como 7 compostos finais quinolin-4-hidrazinotiazolidina. Comparativamente, a metodologia sintética via irradiação por micro-ondas apresentou-se satisfatória para os compostos imidazólicos/pirimidínicos (85-95%, 20-40min) frente 65-80%, por 24h. Para a série quinolin-4-hidrazinotiazolidina, obteve-se rendimento entre 87-95% (20-55min) via sonicação, comparando-se a 43-80%, por 24-36h, com pureza entre 90-98%. As substâncias **(72)**, **(75)** e **(76)** apresentaram muita atividade citotóxica contra uma das linhagens celulares de câncer humano utilizadas, onde as substâncias **(72)** e **(75)** destacaram-se por apresentar RCV % > 70 % contra todas linhagens testadas. Porém, a substância **(72)** mostrou um potencial citotóxico relevante frente a linhagem tumoral HL-60, apresentando CI₅₀= 2,4 µM, sendo assim a mais potente frente esta linhagem.

Palavras-chave: *Leishmania chagasi*; Anticâncer; Tiazolidina; Quinolin Imidazol/pirimidina.

ABSTRACT

Leishmaniasis refers to the second largest cause of protozoan-related lethal infectious diseases, affecting about 12 million people in 98 countries, with 96% coming from the visceral (*Leishmania chagasi*). With regard to the treatment of these diseases, the therapeutic arsenal against leishmaniasis is limited and ineffective with drugs used for more than 70 years. Similarly, cancer is among the leading causes of death in the world. Of the 58 million deaths in 2005, 7.6 million (13%) were caused by cancer. Over 70% of these deaths occur in underdeveloped and developing countries, where resources available for cancer prevention, diagnosis and treatment are limited or non-existent. The aim of this study was to synthesize and evaluate the biological activities against tumoral strains, as well as amastigotes of the *L. chagasi* parasite of new arylimidazole / pyrimidine derivatives and quinolin-4-hydrazino thiazolidine via molecular hybridization / rigidification, characterized by ^{13}C NMR spectroscopy, IR and HPLC-UV, all of which are unpublished in the literature. Thus, 8 imidazole / pyrimidine end compounds as well as 7 quinolin-4-hydrazino thiazolidine end compounds were obtained. Comparatively, the synthetic methodology via microwave irradiation was satisfactory for imidazole / pyrimidine compounds (85-95%, 20-40min) and 65-80% for 24h. For the quinolin-4-hydrazino thiazolidine series, yield was obtained between 87-95% (20-55min) via sonication, comparing to 43-80%, for 24-36h, with purity between 90-98%. Substances (72), (75) and (76) showed a high cytotoxic activity against one of the human cancer cell lines used, where substances (72) and (75) tested. However, the substance (72) showed a relevant cytotoxic potential against the HL-60 tumor line, presenting $\text{IC}_{50} = 2.4 \mu\text{M}$, being therefore the most potent in this lineage.

Keywords: *Leishmania chagasi*; Anticancer; Thiazolidine; Quinoline; Imidazole/Pyrimidine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Flebotomíneo <i>L. longipalpis</i> fêmea	23
Figura 2: Formas promastigotas (a) e amastigotas (b) da <i>L. chagasi</i>	23
Figura 3: Ciclo biológico do parasito	24
Figura 4: Manifestações clínicas na infecção aguda	24
Figura 5: Lesões cutâneo-mucosas causadas pela LV	25
Figura 6: Fármacos atualmente utilizados na terapêutica leishmanicida	26
Figura 7: Obtenção de tiazolidinonas a partir da ciclização de tiossemicarbazonas por ácidos α -haloacéticos	31
Figura 8: Ciclização de Hantzsch para obtenção de tiazóis	31
Figura 9: Síntese de tiazolidinas/tiazinas a partir de haloalcanos e tiouréias	32
Figura 10: Derivados de aminas e seus respectivos pKa	33
Figura 11: Estrutura química da Aminoguanidina e aminoguanilidrazona	33
Figura 12: Heterociclo planar imidazol, bem como seus híbridos de ressonância	34
Figura 13: Fármacos atualmente no mercado contendo o núcleo imidazol	35
Figura 14: Vias sintéticas de obtenção dos heterociclos imidazol/pirimidina	37
Figura 15: Derivado tiossemicarbazônico de conformação livre e tiazolidínico (conformação restrita)	39
Figura 16: Diminuição da toxicidade dos derivados tiossemicarbazônicos rigidificados	39
Figura 17: Compostos híbridos a partir da 4,7-dicloroquinolina, etambutol e isoxil	42
Figura 18: Processo de diferenciação celular cancerígeno	44
Figura 19: Tipos de câncer recorrentes no Brasil	45
Figura 20: Estimativa por localização	45
Figura 21: Principais causas do câncer	46
Figura 22: Principais agentes intercalantes de DNA reportados na literatura	48
Figura 23: Representação esquemática das formas de intercalação perante o DNA	49
Figura 24: Principais quinolinas utilizadas na farmacoterapia anticâncer	51
Figura 25: Espectro eletromagnético demonstrando a região de microondas	57
Figura 26: Mapa de densidade eletrônica HOMO para os compostos LQM05 (A) e 17 (B), na forma de cloridrato	81
Figura 27: Mapa de densidade eletrônica HOMO para os compostos LQM05 (A) e 17 (B), na forma neutra	81

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Seleção do heterociclo quinolina 4,7-substituído	64
Esquema 2: Seleção do heterociclo tiazolidina 4,5-substituído	65
Esquema 3: Aplicação da rigidificação molecular/hibridação para obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina	66
Esquema 4: Aplicação do bioisosterismo divalente na substância LQM17.1	67
Esquema 5: Aplicação da rigidificação conformacional nas substâncias LQM05 e LQM17	68
Esquema 6: Obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina	69
Esquema 7: Obtenção da série Arilimidazol substituídos	71
Esquema 8: Obtenção dos derivados arildiidroimidazólicos não-substituídos	72
Esquema 9: Obtenção dos derivados ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos	72
Esquema 10: Mecanismo reacional dos derivados LQM05 e LQM17	78
Esquema 11: Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo o dieletrófilo 2-bromoacetofenona	82
Esquema 12: Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo o dieletrófilo cloroacetato de etila	84
Esquema 13: Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo arilidrazodiidroimidazólicos e ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos (formação da aminoguanidina rigidificada)	87
Esquema 14: Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo arilidrazodiidroimidazólicos e ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos (substituição nucleofílica envolvendo aminoguanidna ciclizada e os respectivos benzaldeídos)	88
Esquema 15: Mecanismo reacional para o composto (71)	96
Esquema 16: Mecanismo reacional envolvendo a molécula (72)	99
Esquema 17: Mecanismo reacional da molécula (73)	101
Esquema 18: Mecanismo reacional da molécula (74)	103
Esquema 19: Mecanismo reacional da molécula (75)	106
Esquema 20: Mecanismo reacional envolvendo o composto (76)	108
Esquema 21: Mecanismo reacional envolvendo o composto (77)	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais bandas de absorção no Espectro de Infravermelho para a série Arilimidazol e Arilpirimidínico	92
Tabela 2: Rendimentos e tempos reacionais dos derivados arilimidazólicos e arilpirimidínicos	93
Tabela 3: Análise do grau de pureza dos compostos da série arilimidazólicos e arilpirimidínicos	94
Tabela 4: Principais bandas de absorção no Espectro de Infravermelho para a série quinolin-4-hidrazinotiazolidina	114
Tabela 5: Rendimentos e tempos reacionais dos derivados quinolin-4-hidrazinotiazolidina	115
Tabela 6: Análise do grau de pureza dos compostos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina	116
Tabela 7: Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 e atividade leishmanicida sobre o parasito <i>Leishmania chagasi</i>	118
Tabela 8: Citotoxicidade das amostras em linhagens celulares de câncer humano	121
Tabela 9: Citotoxicidade das amostras em diferentes linhagens celulares, tumoral e não tumoral	122

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOET	Acetato de etila
AcONa	Acetato de sódio
DMSO- d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
DMF	Dimetilformamida
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
LQM	Laboratório de Química Medicinal
LV	Leishmaniose visceral
MeOH	Metanol
MEOH:AF	Metanol:Ácido Fórmico
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A.	Para análise
P.F.	Ponto de fusão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1 Transmissão, Ciclo Biológico e Patogenia	22
2.2 Farmacologia atual da leishmaniose visceral	25
2.3 Quinolinas frente leishmaniose	26
2.4 Tiossemicarbazonas e tiazolidinas leishmanicida	28
2.4.1 Obtenção sintética das Tiazolidinas/tiazinas	30
2.5 Aminoguanidinas, imidazóis e pirimidinas antileishmania	32
2.6 Imidazóis/pirimidinas antileishmania	34
2.6.1 Obtenção sintética dos imidazóis/pirimidinas	36
2.7 Rigidificação molecular (restrição conformacional): potencial estratégia da química medicinal no desenvolvimento novos derivados antiparasitários	38
2.8 Hibridação molecular como estratégia de desenvolvimento de novos derivados leishmanicida.....	40
2.9 Considerações gerais sobre o Câncer	43
2.9.1 Patologia do câncer.....	43
2.9.2 Epidemiologia e principais tipos de câncer	44
2.9.3 Principais causas do câncer	45
2.9.4 Tratamento do câncer: Agentes intercalantes de DNA como fármacos anticâncer	46
2.10 Quinolinas como Agentes Anticâncer - Intercalantes de DNA.....	50
2.11 Tiazolidinas como Agentes Anticâncer	53
2.12 Hibridação molecular como estratégia de obtenção de novos derivados anticâncer	55
2.13 Otimização de metodologia racional via irradiação por ultrassom (sonicação).....	55
2.14 Otimização de metodologia racional via irradiação por micro-ondas.....	56
2. OBJETIVOS	59
3.1 Objetivo geral	59
3.1.1 Objetivos específicos	59
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	61
4.1 Seção experimental.....	61
4.1.1 Cromatografias.....	61
4.1.2 Pontos de Fusão.....	61
4.1.3 Reações via sonicação.....	61
4.1.4 Reações via micro-ondas.....	61

4.1.5	Caracterização estrutural por RMN de ¹ H e ¹³ C.	62
4.1.6	Análise do grau de pureza	62
4.1.7	Caracterização estrutural por Infravermelho (IV)	62
4.1.8	Reagentes e solventes (Sigma®)	63
4.1.9	Equipamentos	63
4.2	Planejamento racional da série quinolin-4-hidrazotiazolidinas	64
4.2.1	Seleção dos heterociclo quinolina e tiazolidina	64
4.2.2	Aplicação da rigidificação molecular para obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina e interações químicas planejadas.	66
4.3	Planejamento racional da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos	66
4.4	Procedimentos reacionais.....	68
4.4.1	Procedimento geral de síntese da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina.....	68
4.4.2	Procedimento geral de síntese da série dos derivados Arilimidazólicos substituídos	70
4.4.3	Procedimento geral de síntese da série Arildiidroimidazol e ariltetraidropirimidínicos não-substituídos	71
4.5	Avaliação da viabilidade celular frente macrófagos.....	72
4.5.1	Ensaio de citotoxicidade.....	73
4.6	Avaliação leishmanicida em amastigotas de <i>L. chagasi</i> in vitro	73
4.7	Estudo da Citotoxicidade em Linhagens Celulares de Câncer Humano in vitro	73
4.8	Determinação das CI ₅₀ em Linhagens Celulares de Câncer Humano in vitro	74
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1	Compostos obtidos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos	77
5.1.1	Obtenção do composto LQM05 (53) e LQM17(54).....	77
5.1.1.2	Mecanismo reacional	77
5.1.1.3	Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	78
5.1.1.4	Cloridrato de (3,4-dimetóxi-benzilideno-amino) guanidina (LQM05 - (53)).....	79
5.1.1.5	Cloridrato de (3,4-dicloro-benzilideno-amino) guanidina (LQM17 - (54)).....	79
5.1.2	Aplicação da rigidificação para obtenção da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos	79
5.1.3	Mecanismos reacionais envolvendo a rigidificação promovida pelo dieletrófilo 2-bromoacetofenona	81
5.1.4	Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	82
5.1.4.1	(E) -1-(3,4-dimetóxi-benzilideno-2-(5-fenil-1H-imidazol-2-il)hidrazina (55)....	83
5.1.4.2	(E) -1-(3,4-dicloro-benzilideno-2-(5-fenil-1H-imidazol-2-il)hidrazina (56).....	83
5.1.5	Mecanismos reacionais envolvendo a rigidificação promovida pelo dieletrófilo cloroacetato de etila	84

5.1.6	Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	84
5.1.6.1	(E)-2-(2-(3,4-diclorobenzilideno)hidrazinil)-1H-imidazol-5(4H)-ona (57)	85
5.1.6.2	(E)-2-(2-(3,4-dimetóxi-benzilideno)hidrazinil)-1H-imidazol-5(4H)-ona (58)	85
5.2	Compostos obtidos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos não-substituídos	86
5.2.1	Obtenção dos compostos rigidificados arilidrazoimidazólicos não-substituídos	86
5.2.2	Mecanismos reacionais	87
5.2.3	Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	88
5.2.3.1	Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-diclorobenzilideno)hidrazinil]-4,5-diidro-1H-imidazol (59)	89
5.2.3.2	Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-dimetoxibenzilideno)hidrazinil]-4,5-diidro-1H-imidazol (60).....	89
5.2.3.2	Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-diclorobenzilideno)hidrazinil]-1,4,5,6-tetraidropirimidina (61).....	90
5.2.3.2	Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-dimetoxibenzilideno)hidrazinil]-1,4,5,6-tetraidropirimidina (62)	90
5.3	Caracterização da série por Espectroscopia de Infravermelho (IV)	91
5.4	Comparação de tempo reacional envolvendo metodologia sintética convencional e irradiação por micro-ondas	92
5.5	Análise do grau de pureza por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC-UV).....	93
5.6	Compostos obtidos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina.....	94
5.6.1	Obtenção do composto intermediário 1- (7-cloroquinolin-4-il) tiossemicarbazida (63)	95
5.6.1.1	Mecanismos reacionais envolvidos na obtenção do composto (63)	95
5.6.1.2	Caracterização por RMN de ¹ H e ¹³ C	96
5.6.1.2.	1-(7-cloroquinolin-4-il) tiossemicarbazida (63).....	96
5.7	Obtenção dos compostos ciclizados da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina	97
5.7.1	Obtenção do composto (Z) -etil-2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-metil-2,3-diidrotiazol-5-carboxilato (64)	98
5.7.1.1	Mecanismos reacionais.....	98
5.7.1.2	Caracterização por RMN de ¹ H e ¹³ C	99
5.7.1.2.	1-(Z) -etil-2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-metil-2,3-diidrotiazol-5-carboxilato (64)	99
5.7.2	Obtenção do composto (Z) -2- (2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-oxotiazolidin-5-il) ácido acético (65)	100
5.7.2.1	Mecanismos reacionais	100
5.7.2.2	Caracterização por RMN de ¹ H e ¹³ C	101

5.6.2.2.1 (Z) -2- (2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-oxotiazolidin-5-il) ácido acético (65).....	102
5.7.3 Obtenção do composto (Z) -2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) tiazolidin-4-ona (66) 102	
5.7.3.1 Mecanismos reacionais	103
5.7.3.2 Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	103
5.7.3.2.1 (Z) -2- (2- (7-cloroquinolin-4-il)-hidrazono)-tiazolidin-4-ona (66).....	104
5.7.4 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina (67).....	104
5.7.4.1 Mecanismos reacionais	105
5.7.4.2 Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	106
5.7.4.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina (67).....	107
5.7.5 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(tiazolidina-2-ilideno)hidrazina (68) 107	
5.7.5.1 Mecanismos reacionais	107
5.7.5.2 Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	108
5.7.5.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(tiazolidina-2-ilideno)hidrazina (68).....	109
5.7.6 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-il)hidrazina (69)	109
5.7.6.1 Mecanismos reacionais	110
5.7.6.2 Caracterização por RMN ¹ H e ¹³ C.....	110
5.7.6.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-il)hidrazina (69).....	111
5.8 Caracterização da série por Espectroscopia de Infravermelho (IV)	111
5.9 Comparação dos tempos reacionais envolvendo as metodologias convencionais e por sonicação.....	114
5.10 Análise do grau de pureza por Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC-UV).....	115
5.11 Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 e leishmanicida sobre o parasito Leishmania chagasi	116
5.11.1 Relação estrutura-atividade.....	118
5.12 Avaliação da citotoxicidade em linhagens celulares de câncer humano.....	120
5.11 Determinação das CI ₅₀ em linhagens de celulares de câncer humano	121
5.13.1 Relação Estrutura-Atividade.....	122
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	127

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), doenças negligenciadas tropicais referem-se a um conjunto de 17 patologias de origem bacteriana, parasitária ou viral, que envolvem vetores, hospedeiros e ciclo de vida complexos, acometendo cerca de 1 bilhão de indivíduos e comunidades que vivem em exclusão social e pobreza, acarretando em um grande problema de saúde pública mundial (ALVAR et al., 2012; WHO et al., 2013).

Dentre os anos de 2000 e 2011, apenas 4% de todos os fármacos aprovados (e 1% de novos fármacos) referiam-se ao tratamento de doenças negligenciadas, o que demonstra profundo desinteresse em pesquisas que visam descobrir novos fármacos e tratamentos para tais patologias (PEDRIQUE et al., 2013).

Dentre estas patologias, as leishmanioses, segunda infecção parasitária mais letal, configuram grande importância no contexto mundial e brasileiro, caracterizada por ser um complexo de doenças infecciosas causadas por mais de 20 protozoários do gênero *Leishmania spp.*, transmitidas pelo inseto flebotomíneo *Lutzomyia spp.* (WHO et al., 2013).

Como manifestações clínicas, podem causar lesões e nódulos na pele e mucosa (leishmaniose cutânea – LC), bem como atingir as vísceras (leishmaniose visceral – LV), forma mais grave, causando perda de peso, hepato-esplenomegalia, além de levar a óbito (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014; WHO, 2013).

As principais espécies encontradas no Brasil causadoras da forma cutânea são *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis*, além da *L. chagasi*, agente etiológico da forma visceral da doença (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014).

As leishmanioses afetam cerca de 12 milhões de pessoas em 98 países, com aproximados 200 a 400 mil novos casos de leishmaniose visceral - 90% destes ocorrentes em Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão - e 700 a 1 milhão referentes à leishmaniose cutânea, com 20-40 mil mortes a cada ano. Ressalta-se, ainda, que em apenas 33 países os dados desta enfermidade são reportados (ALVAR et al., 2012; WHO, 2013).

No que diz respeito à América Latina, o Brasil representa uma das maiores áreas endêmicas da leishmaniose, sendo responsável por 96% dos casos de LV, sendo a maior parte destes localizados na região nordeste (BRASIL, 2014), além de 38% dos casos de LC, no ano de 2013 (BRASIL, 2013).

Atualmente, o arsenal terapêutico contra as leishmanioses dispõe de poucos fármacos (Figura 6, página 27), onde grande parte dos compostos conferem severa toxicidade e diversos efeitos secundários, somados à quimiorresistência apresentada pelo parasita, o que configura uma terapia ineficiente (ANTINARELLI et al., 2016; MENDONÇA-JUNIOR & AQUINO, 2015; RAMÍREZ-PRADA et al., 2017).

Sendo assim, os fármacos de escolha para o tratamento das leishmanioses são antimoniais pentavalentes, como o Antimoniato de *N*-metilglucamina (NMG – Glugantime[®]), distribuído pela rede única de saúde gratuitamente no Brasil, e o Estibogluconato de Sódio (SGS – Pentostam[®]), em que estes são usados desde os anos 1940, apresentando importante toxicidade cardiovascular, além já terem sido reportados alguns casos de resistência (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014).

Como tratamento de segunda escolha observa-se a Anfotericina B e a pentamidina, utilizadas no Brasil, além da paromomicina e miltefosina, em que tais fármacos são administrados, especialmente, em casos de resistência. Porém, assim como os antimoniais, apresentam importante toxicidade em sua administração, além de possuírem baixo índice terapêutico (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014; DUTRA et al., 2014).

Vários derivados estão sendo desenvolvidos atualmente em busca de novas moléculas com atividade leishmanicida (ALVES et al., 2015). Dentre estas, pode-se citar os compostos aminoguanidínicos e tiossemicarbazonas, em que estes estão sendo reportados como potenciais agentes antiparasitários, por possivelmente atuarem como moléculas amidamimética que agem na inibição proteolítica do parasito, o que impede seu crescimento e consequente morte, sendo bastante estudados em pesquisas recentes de nosso grupo de pesquisa (FRANÇA, 2014).

Com isto, este trabalho aborda a realização de modificações em torno de tais estruturas, a partir da rigidificação envolvendo diferentes dieletrófilos, obtendo-se, assim, os heterociclos imidazol e pirimidina a partir da aminoguanidina, bem como tiazolidina e pirimidina mediante tiossemicarbazona, configurando novas classes com potencial atividade antileishmania, tendo-se reportado alguns trabalhos recentemente (CHADHA et al., 2015; MARRAPU et al., 2011; OH et al., 2014).

Assim, há uma grande necessidade em desenvolver novas moléculas ativas contra *L. chagasi*, que possam ter maior eficácia, maior segurança, acesso e baixo custo à população.

Da mesma forma, o câncer está entre os líderes de causas de morte do mundo. Das 58 milhões de morte em 2005, 7,6 milhões (13%) foram causadas pelo câncer. Mais de 70% destas mortes acometem países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, onde os recursos disponíveis para prevenção, diagnóstico e tratamento do câncer são limitados ou inexistentes. Em adição, projeções apontam que as mortes devido ao câncer tendem a aumentar: 9 milhões, em 2015, e 11,4 milhões, em 2030 (GLOBOCAN, 2012; INCA, 2011).

Os agentes antineoplásicos mais empregados no tratamento do câncer são: agentes antimetabólitos, agentes túbulo-afins, inibidores da topo I, Inibidores da topo II, análogos das purinas, análogos das pirimidinas, agentes alquilantes, inibidores da RNA-polimerase, agentes intercalantes, inibidores da síntese de proteínas e agentes cindidores de DNA. Nos últimos anos, compostos intercalantes de DNA têm recebido muita atenção por parte dos cientistas, devido ao potencial terapêutico no tratamento do câncer em geral (PETERSON et al., 2009; SMITH et al, 2009).

Dentre estes intercalantes, podemos citar as quinolinas, onde o seu potencial terapêutico anticâncer está relacionado com a capacidade de interagir especificamente com o DNA, bem como com outros alvos biológicos, incluindo as topoisomerases I e II e proteínas quinases (AFZAL et al, 2014).

Além das quinolinas, outra classe de heterociclos desperta o interesse em diversos grupos de pesquisa na área de química medicinal. Estamos falando das tiazolidinas, as quais são compostos heterocíclicos pentagonais contendo em sua estrutura um átomo de enxofre e um de nitrogênio. Sua utilização em síntese orgânica é de grande importância, tendo em vista as diversas atividades biológicas relacionadas a seus análogos estruturais, tais como anticancerígena, anti-inflamatória, anticonvulsivante, hipoglicemiante e antiviral (ASSATI et al., 2014).

Diante do conteúdo exposto, objetivamos sintetizar novos compostos quinolínicos, a partir do potencial biológico desta classe de compostos, introduzindo os anéis tiazolidinona ou 4-tiazolidinona, para que estes sejam avaliados quanto suas respectivas citotoxicidades e CI_{50} .

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nos dias atuais, as doenças negligenciadas afetam mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo. Deste total, observa-se um número de 12 milhões de pessoas em 98 países acometidos pelas leishmanioses (ALVAR et al., 2012; BRASIL, 2013; BRASIL, 2014, TAHA et al., 2017; RAMÍREZ-PRADA, 2017; WHO, 2013).

No entanto, o presente arsenal terapêutico contra as leishmanioses apresentam poucos fármacos, constituindo uma farmacoterapia ineficaz, em que já foram reportados casos de quimiorresistência apresentada pelo parasita, além de toxicidade e vários efeitos deletérios (ANTINARELLI et al., 2016; MENDONÇA-JUNIOR & AQUINO; 2015).

Desta forma, algumas modificações moleculares apresentam grande eficácia no que diz respeito ao desenvolvimento de novos derivados antiparasitários, em especial leishmanicidas. Assim, a rigidificação molecular, bem como hibridação molecular, constituem importantes ferramentas na obtenção de moléculas ativas frente as leishmanias, em que a química medicinal tem voltado os olhos para tais métodos, sendo reportados alguns trabalhos recentes (CARDOSO et al., 2014; GOMES et al., 2016; MOREIRA et al., 2014; RASHID et al., 2016).

Com o intuito de reduzir a incidência das leishmanioses, o controle desta doença vem sendo feito através da eliminação do vetor com inseticidas, bem como o tratamento de pessoas infectados, a fim de se reduzir a transmissão através destes (BRASIL, 2014; CAPUTTO et al., 2011; WHO, 2013).

2.1 Transmissão, Ciclo Biológico e Patogenia

A transmissão da leishmaniose visceral (LV) ocorre através da ação do vetor *Lutzomyia longipalpis* ou *L. cruzi* (Figura 1, página 23) onde as fêmeas destes invertebrados, quando infectados pelo parasito *L. chagasi*, acabam transmitindo-o aos humanos através do repasto sanguíneo (BRASIL, 2014; KONE et al., 2016; RAMÍREZ-PRADA et al., 2017).

Figura 1 - Flebotomíneo *L. longipalpis* fêmea

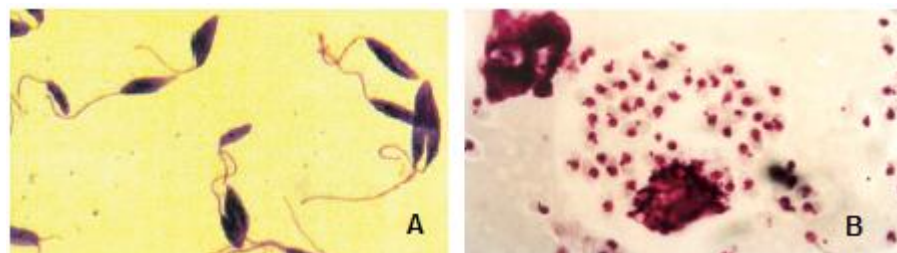


FONTE: BRASIL, 2014.

Desta forma, havendo parasito no sangue periférico, o vetor irá se reinfectar no momento do repasto e logo após, da mesma forma, transmiti-lo a um indivíduo que não esteja infectado. No entanto, vale ressaltar que não existe casos reportados, até os dias atuais, de transmissão de indivíduo-indivíduo de LV (BRASIL, 2014; KEVRIC et al., 2015; WHO, 2013).

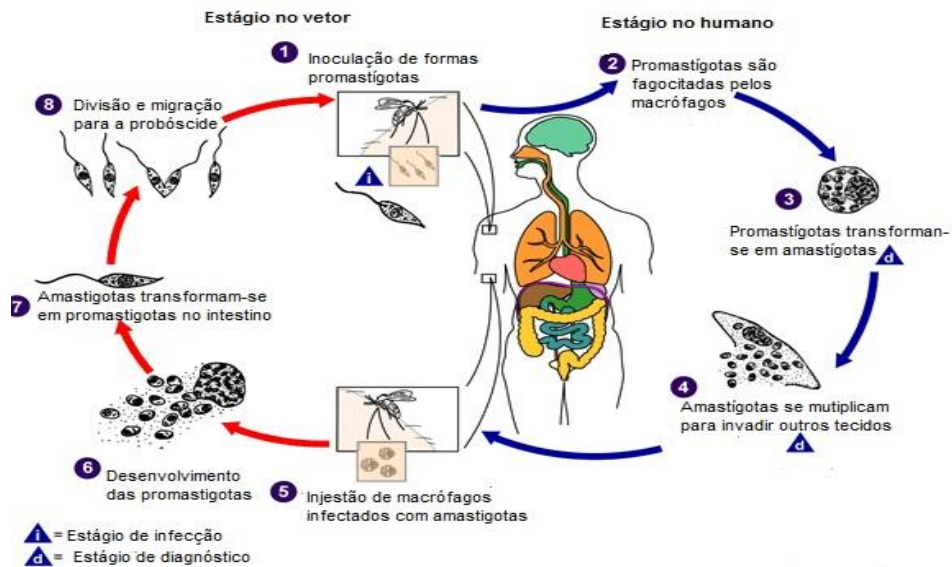
O ciclo infeccioso ocorre no momento do repasto, o vetor ingere macrófagos contendo a forma amastigota (Figura 2b, página 23) do parasito, sendo então liberadas no intestino deste. Logo após, a forma amastigota multiplica-se sob a forma de promastigotas (Figura 2a, página 23), que irão infectar o hospedeiro vertebrado no momento em que for picado pelo mosquito. Novamente, as promastigotas infectam os macrófagos, multiplicando-se sob a forma de amastigotas, fazendo com que haja rompimento destes, e, assim, liberando-as (Figura 3, página 24).

Figura 2 - Formas promastigotas (a) e amastigotas (b) da *L. chagasi*.



FONTE: BRASIL, 2014 (EDITADO).

Figura 3 - Ciclo biológico do parasito.



FONTE: CDC, 2017.

Dentre as manifestações clínicas, ocorre comumente no indivíduo acometido pelo parasito em sua forma inicial: palidez cutânea, febre normalmente por menos de quatro semanas e, principalmente, hepatoesplenomegalia (Figura 4, página 24).

Figura 4 - Manifestações clínicas na infecção aguda.



FONTE: BRASIL, 2014 (EDITADO).

No entanto, na fase crônica da infecção, o indivíduo acometido apresenta manifestações clínicas mais severas, ocasionando diversas lesões cutâneo-mucosas, febre persistente, imunossupressão devida linfadenopatia, podendo levar a óbito (Figura 5, página 25).

Figura 5 - Lesões cutâneo-mucosas causadas pela LV.



FONTE: KEVRIC et al., 2015 (EDITADO).

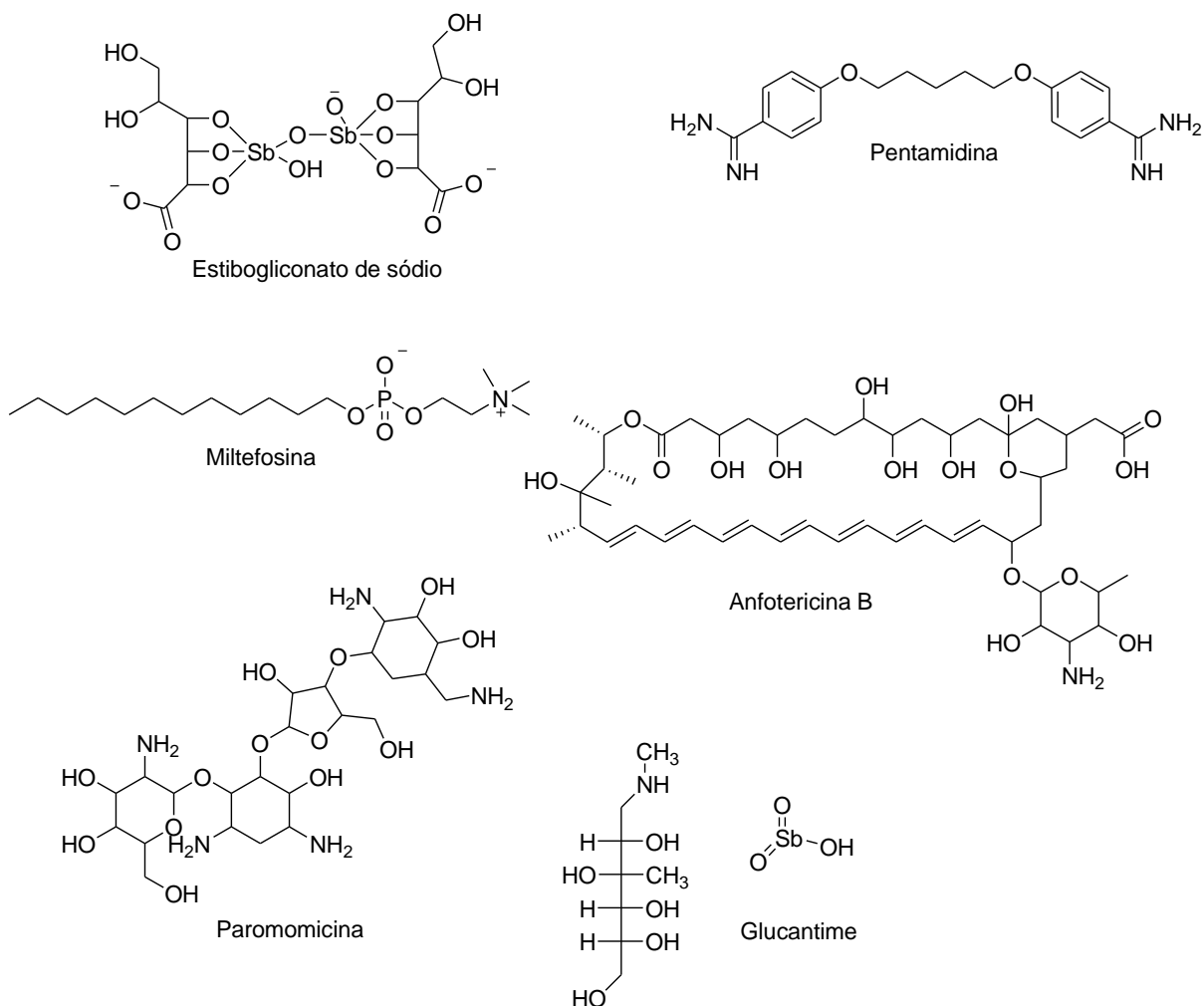
2.2 Farmacologia atual da leishmaniose visceral

Dentre os aspectos farmacológicos abordados frente a terapia leishmanicida, observa-se, nos dias atuais, um arsenal terapêutico limitado, ineficiente, além de conferir aos indivíduos acometidos por tal infecção severos efeitos deletérios (Figura 6, página 20) (ANTINARELLI et al., 2016; ELMAHALLAWY & AGIL, 2015; MENDONÇA-JUNIOR & AQUINO; 2015; RAMÍREZ-PRADA et al., 2017).

Desta forma, como tratamento de escolha no Brasil para infecções causadas por leishmanioses, são utilizados os antimoniais pentavalentes - Antimoniato de *N*-metilglucamina (NMG – Glugantime®; Estibogluconato de Sódio - SGS – Pentostam®), sendo o primeiro distribuído gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2014) (Figura 6, página 26). No entanto, são fármacos que, pelo fato de estarem sendo administrados a partir da década de 1940, apresentam resistência parasitária, bem como diversos efeitos deletérios no paciente (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014).

Além dos antimoniais, são também utilizados os fármacos Anfotericina B e a pentamidina, bem como a paromomicina e miltefosina, sendo este o único de via oral (Figura 6, página 26), normalmente utilizados quando se há caso de resistência parasitária, em que também demonstram importante toxicidade para o indivíduo (BRASIL, 2013; BRASIL, 2014; ELMAHALLAWY & AGIL, 2015; KOVRIC at al., 2015; RAMÍREZ-PRADA et al., 2017).

Figura 6 - Fármacos atualmente utilizados na terapêutica leishmanicida.



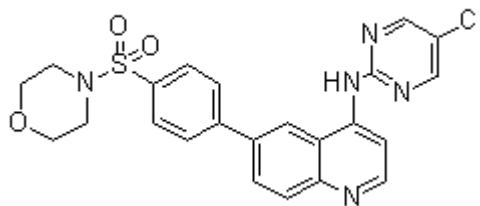
FONTE: BRASIL, 2013; BRASIL, 2014; DUTRA et al., 2014; MENDONÇA-JUNIOR & AQUINO, 2015 (EDITADO).

2.3 Quinolinas frente leishmaniose

Quinolinas são importantes heterociclos de ocorrência natural que possuem potencial atividade farmacológica descrita para diversas patologias. Dentre os fármacos mais conhecidos, pode-se citar os antimaláricos Quinina, Quinidina, Cloroquina, Mefloquina, Amodiaquinina, Primaquine, dentre outros. Como antibacteriano as fluoroquinolonas Ciprofloxacino, Gatifloxacino. O antiviral Saquinavir, antiprotozoários/fungos o Clioquinol, anti-helmíntico Oxamniquina, anestésico local Dibucaina, o antiasmático Montelukast, antipsicóticos como Aripiprazol e Brexpiprazol, antiglaucoma Cartirolol e Vesnarinona como cardiotônico (BAWA et al., 2010; KUMAR et al., 2009).

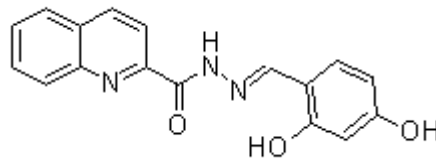
Desta forma, pelo seu potencial farmacológico antiparasitário, as quinolinas vêm sendo reportadas em diversos estudos, atualmente, como um potencial heterociclo no desenvolvimento de derivados frente as leishmanioses (ANTINARELLI et al., 2016; COIMBRA et al., 2016; RAMÍREZ-PRADA et al., 2017).

Em estudo recente realizado por Devine e colaboradores (2017), foi reportado um novo derivado amino-quinolínico (**1**) frente amastigotas do parasito *L. major*, onde o estudo demonstrou que tal molécula possui uma $CI_{50}=0.37 \mu M$, configurando um esqueleto promissor frente tal parasito.



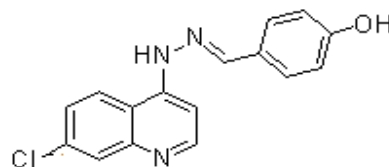
(1)

Também em estudo recente, Coa e colaboradores (2015) demonstraram um novo composto quinolínico (**2**) com potencial atividade frente amastigotas do parasito *L. panamensis*, em que este possui uma $CI_{50}=0.8 \mu M$, sendo analisado o potencial deste heterociclo frente diferentes leishmanioses.



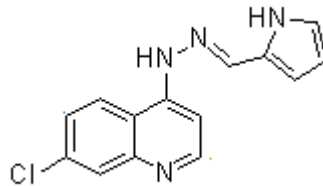
(2)

Foi observado, também, em estudo desenvolvido por Antinarelli e colaboradores (2016), que a substituição do esqueleto quinolínico por um átomo de cloro na posição 7, bem como a inserção de um grupamento hidrazino na posição 4 favorece a ação leishmanicida deste heterociclo, onde o composto obtido (**3**) possui uma $CI_{50}=8.1 \mu M$ frente amastigotas da espécie *L. amazonensis*.



(3)

Ainda relacionado ao desenvolvimento de novos derivados quinolínicos 4,7-cloro, hidrazino-substituídos frente à espécie *L. chagasi*, foi reportado um novo composto (4) em estudo realizado por Coimbra e colaboradores (2013), onde este demonstrou $CI_{50}=0.8 \mu M$ frente promastigotas desta espécie. Assim, observou-se, em tal estudo, que a substituição por um átomo de cloro na posição 7, bem como a inserção de um espaçador hidrazino na posição 4 favorece a atividade leishmanicida.



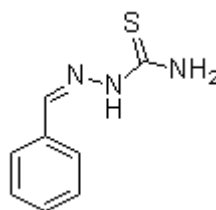
(4)

2.4 Tiossemicarbazonas e tiazolidinas leishmanicida

As tiossemicarbazonas configuram um importante grupamento privilegiado, contendo três átomos de nitrogênio agrupados em uma tionila, que confere atividade farmacológica frente várias doenças, como anticâncer, antiparasitário e antimicrobiano (MANZANO et al., 2016; MOREIRA et al., 2014; SILVA & SILVA, 2017).

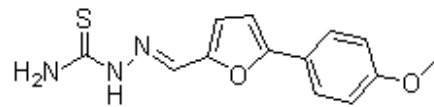
Nesse sentido, tal grupamento químico foi descrito em diversos estudos como sendo um potente inibidor de cisteína protease, enzima esta presente em parasitos como os do gênero *Leishmania*. Com isto, tal enzima configura importante alvo de desenvolvimento de novos derivados leishmanicidas, conforme reportado em trabalhos recentes (BRITTA et al., 2014; MELOS et al., 2015; PERVEZ et al., 2014).

Foi citado por Manzano e colaboradores (2016) um novo derivado ariltiossemicarbazônico promissor (5), composto por um benzil imino-substituído com o grupamento tiossemicarbazona, demonstrando $CI_{50}=0.8 \mu M$ frente amastigotas de *L. donovani*.



(5)

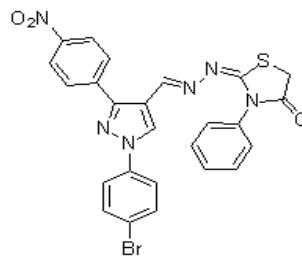
No mesmo sentido, foi proposto por Schröder e colaboradores (2013) a síntese de um composto ariltiossemicarbazônico (6), possuindo um anel furano em sua composição, em que tal derivado apresentou uma $CI_{50}=0.07 \mu M$ promissora frente amastigotas de *L. mexicana*.



(6)

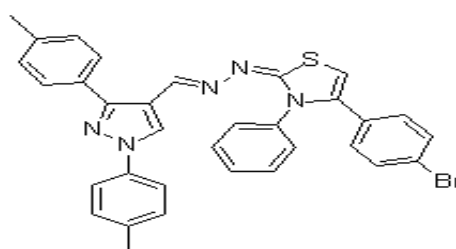
O heterociclo tiazolidina, um anel planar de 5 membros, tem sido reportado como um importante agente utilizado no desenvolvimento de novos derivados para a terapia leishmanicida, despertando o interesse da química medicinal pelo fato de apresentar diversas atividades biológicas: antidiabético, anti-inflamatório, antioxidante, antimicrobiano, bem como atividade contra o câncer (BHUNIYA et al., 2015; BEKHIT et al., 2015; CHADHA et al., 2015; SWATHI et al., 2014).

Desta forma, foi demonstrada recentemente por Bekhit e colaboradores (2015) a atividade frente amastigotas de *L. aethiopica* de um novo derivado tiazolidínico (7), configurando um importante heterociclo no desenvolvimento de novas moléculas frente a terapia leishmanicida. Tal derivado possui uma $CI_{50}=0.19 \mu M$.



(7)

No mesmo trabalho, o referido autor apresentou outro promissor derivado frente amastigotas do parasito supracitado, tendo este derivado tiazolidínico (8) uma $CI_{50}=0.3 \mu M$.



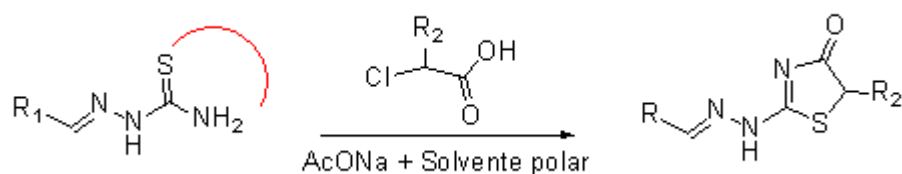
(8)

2.4.1 Obtenção sintética das Tiazolidinas/tiazinas

No que diz respeito à obtenção sintética do heterociclo tiazolidina, este pode ser produzido a partir de diversos grupamentos, como, tiouréias, tiocarbamatos, tiossemicarbazonas, tiocianatos (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016; SILVA-JUNIOR et al., 2016).

No entanto, consiste num método de importante eficácia e simplicidade a obtenção do heterociclo tiazolidinona 4-substituído, em que se é utilizado como material de partida as tiossemicarbazonas, bem como ácidos α -haloacéticos, em que haverá a ciclização da região tioamida das tiossemicarbazonas através deste agente dieletrofilico (Figura 7, página 31) (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016). Contudo, faz-se de suma importância para a eficácia sintética deste núcleo a utilização de solvente polar num pH básico, utilizando-se para isto bases como acetato de sódio anidro ou piridina. Tal fato se dá por conta do grupamento imino formado ser vulnerável a hidrólise ácida (AQUINO et al., 2010; CHADHA et al., 2015).

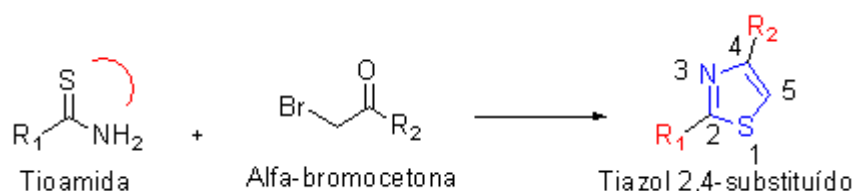
Figura 7 - Obtenção de tiazolidinonas a partir da ciclização de tiossemicarbazonas por ácidos α -haloacéticos



FONTE: AQUINO et al., 2010; CHADHA et al., 2015 (ADAPTADO).

A ciclização de Hantzsch incide importante metodologia para a obtenção sintética de tiazóis (Figura 8, página 31), onde, a partir da utilização desta via, pode-se obter os produtos idealizados de forma simples, rápida, com rendimentos elevados e pouca formação de subprodutos, favorecendo a purificação da reação (CARDOSO et al., 2014; KIM et al., 2013). Desta forma, tal metodologia utiliza como substrato α -bromocetonas, em que estes dieletrófilos funcionam como agentes ciclizantes de metil ou feniltioamidas, em solvente prótico polar (etanol, principalmente), obtendo-se o heterociclo tiazol 3,5-substituído (KIM et al., 2013).

Figura 8 - Ciclização de Hantzsch para obtenção de tiazóis

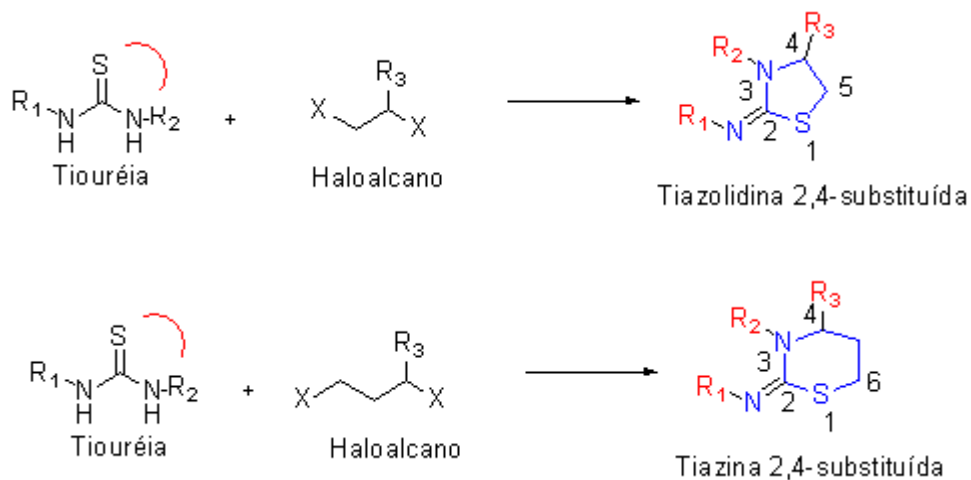


FONTE: KIM et al., 2013 (ADAPTADO).

Como metodologia sintética de obtenção de tiazolidinas ou diidrotiazóis substituídos bastante utilizada, observa-se a ciclização de tiouréias substituídas a partir de haloalcanos como agentes dieletrofílicos, de forma semelhantes à ciclização de Hantzsch (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016). Desta forma, um haloalcano utilizado de forma corriqueira na síntese destes compostos é o 1,2-dibromoetano, em que este pode ser utilizado como agente dieletrofílico que irá ciclizar a região tioamida da tiouréia substituída, obtendo-se, então, o requerido heterociclo tiazolidínico devidamente substituído (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016).

A obtenção do heterociclo tiazina pode ser feita na mesma via das tiazolidinas (Figura 9, página 32), utilizando-se, de maneira semelhante, tiouréias como substratos, além de haloalcanos como agentes dieletrofilicos para ciclização desta. No entanto, utiliza-se um haloalcano com cadeia alifática em número de três carbonos, como o 1,3-dibromopropano, para que este seja utilizado para ciclizar a tioamida e, assim, obter o requerido heterociclo substituído (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016; KIM et al., 2013).

Figura 9 - Síntese de tiazolidinas/tiazinas a partir de haloalcanos e tiouréias.

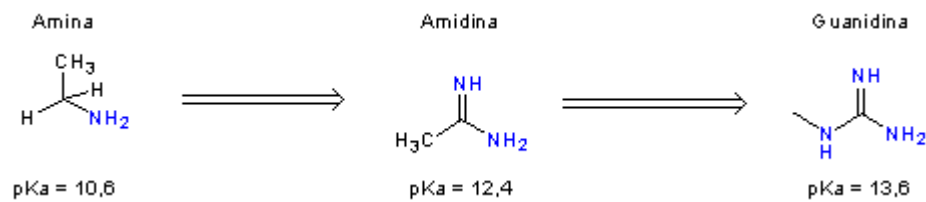


FONTE: CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016 (ADAPTADO).

2.5 Aminoguanidinas, imidazóis e pirimidinas antileishmania

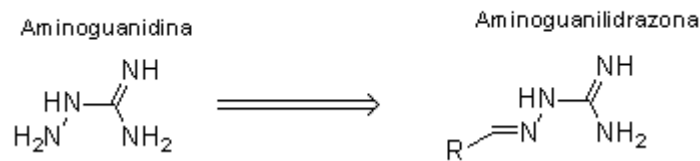
Guanidina refere-se a uma substância alcalina em que esta contém um átomo de carbono hibridizado sp^2 em seu centro, sendo este ligado a um grupo -NH, além de dois grupos -NH₂. Desta forma, denomina-se guanilidrazona ou aminoguanilidrazona (AGH) determinada substância em que o grupamento aminoguanidina (ou seja, um grupo -NH₂ ligado a uma das duas extremidades da guanidina) ligado a um grupamento -R por meio de uma ligação hidrazona (R-C=N-NH-R') (BAIRWA et al., 2010; CLAYDEN et al., 2009; RACZYNSKA et al., 1994; SOLOMONS, FRYHLE, SNYDER, 2014) (Figuras 10 e 11, página 33).

Figura 10 - Derivados de aminas e seus respectivos pKa.



FONTE: RACZYNSKA et al., 1994 (ADAPTADO).

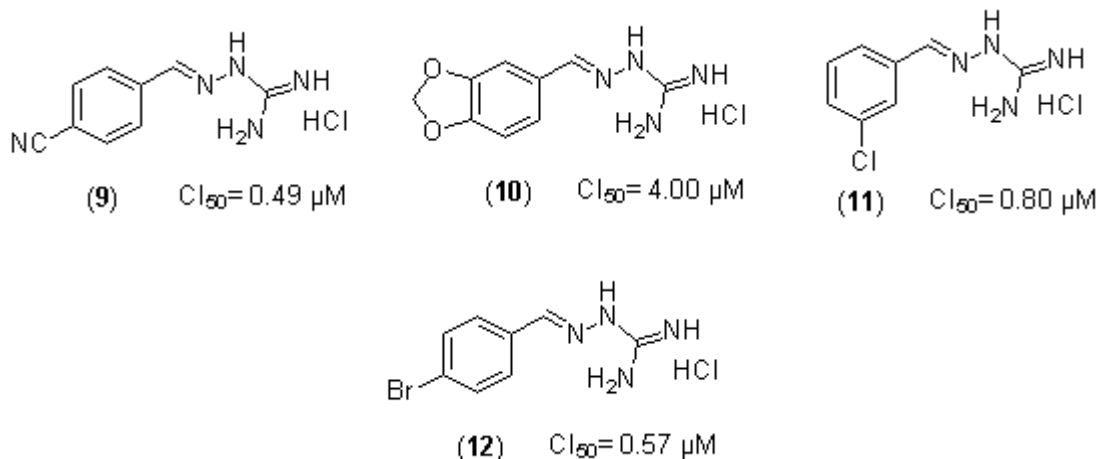
Figura 11 - Estrutura química da Aminoguanidina e Aminoguanilidrazona.



FONTE: AUTOR, 2017.

À luz da química medicinal, as aminoguanilidrazonas representam importante grupamento para o desenvolvimento de compostos bioativos, onde diversos estudos são reportados na literatura relatando atividade antituberculose (BAIRWA et al., 2010); antimalária (LIU et al., 2011); antifúngica (AJDAČIĆ et al., 2016), além de trabalho citado por nosso grupo de pesquisa referente à atividade anticâncer (FRANÇA et al., 2016).

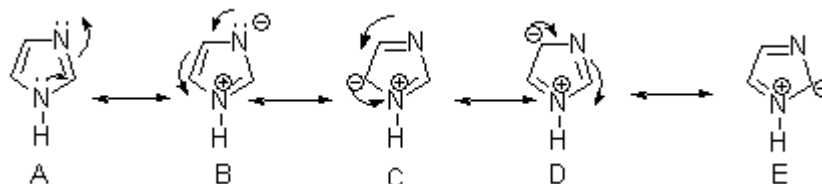
Foi também reportada por nosso grupo de pesquisa em estudo realizado por França (2014) atividade leishmanicida frente promastigotas de *Leishmania braziliensis* de alguns derivados aminoguanilidrazônicos. Assim, foram observados compostos com Cl_{50} abaixo do fármaco padrão pentamidina ($\text{Cl}_{50}=4.70 \mu\text{M}$), que também é uma amidina, demonstrando potencial leishmanicida a ser explorado destas substâncias (**9-12**) (Cl_{50} entre 0.49 e 4.00 μM dentre quatro compostos mais ativos da série proposta em tal estudo).



2.6 Imidazóis/pirimidinas antileishmania

O núcleo imidazol refere-se a um heterociclo planar de 5 membros, sendo 3 carbonos e 2 nitrogênios nas posições 1 e 3 (Figura 12, página 34), estando este presente no aminoácido histidina, bem como diversos fármaco atualmente no mercado farmacêutico (Figura 13, página 35) (KHAN et al., 2014; MUÑOZ, 2015; NARASIMHAN et al., 2011).

Figura 12 - Heterociclo planar imidazol, bem como seus híbridos de ressonância

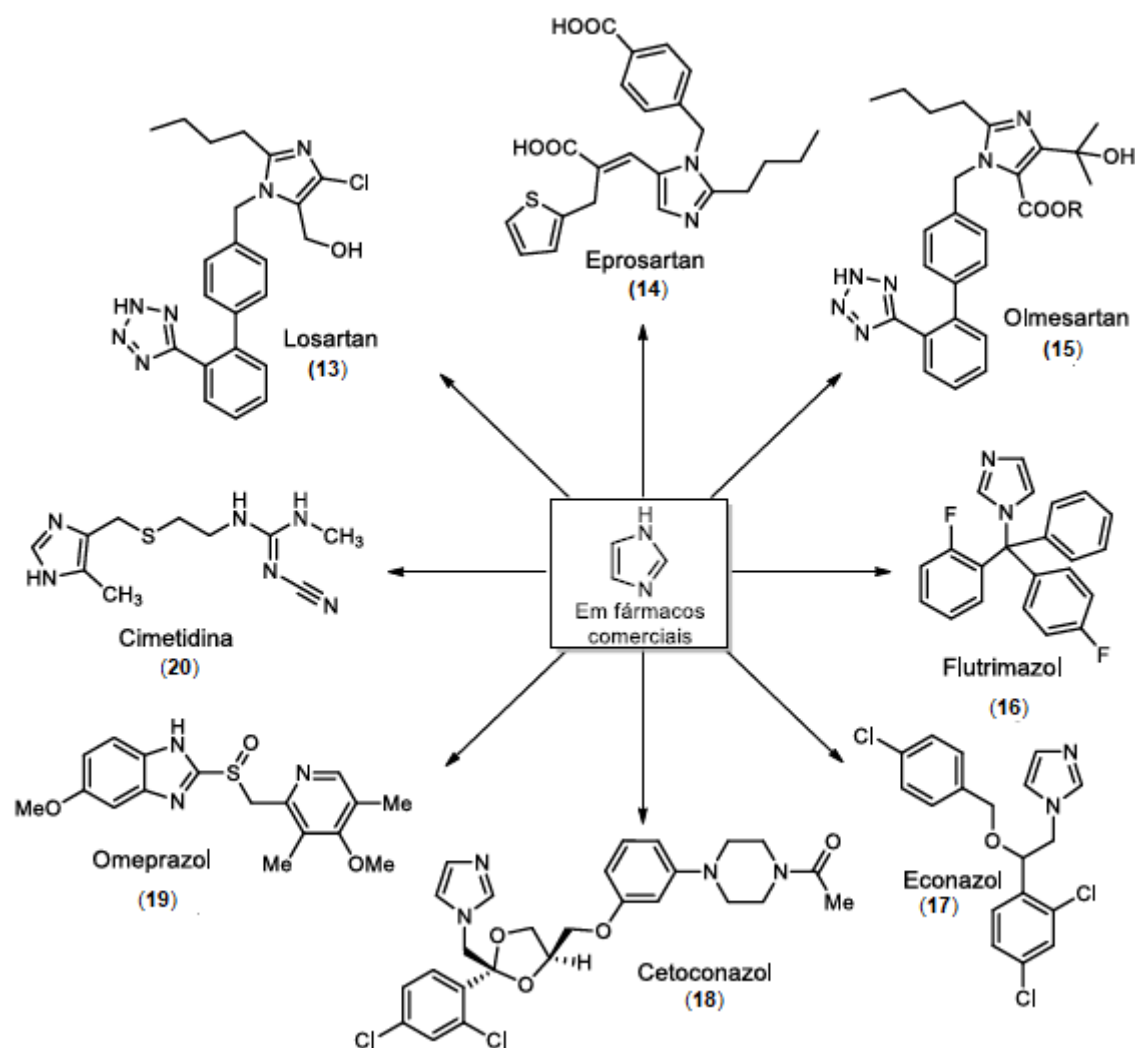


FONTE: MUÑOZ, 2015 (ADAPTADO).

Desta forma, observa-se uma grande versatilidade no que diz respeito às atividades farmacológicas encontradas neste heterociclo, em especial anti-hipertensivo (13,14,15), anti-fúngica (todos comercializados como misturas

racêmicas) (16,17,18), bem como utilizado no tratamento de úlceras gástricas (19,20) (Figura 13, página 35).

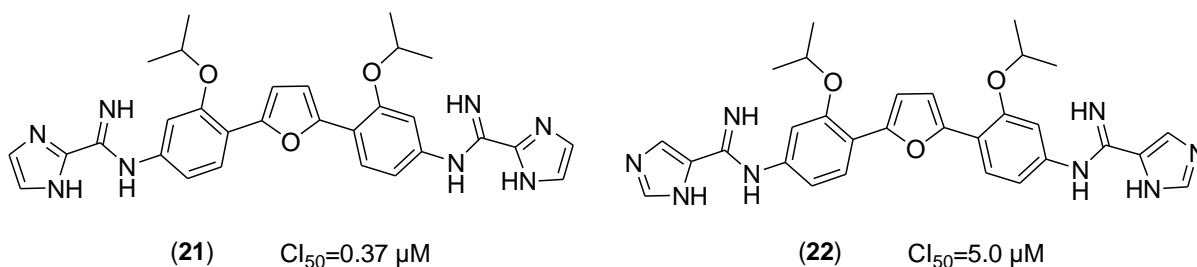
Figura 13 - Fármacos atualmente no mercado contendo o núcleo imidazol



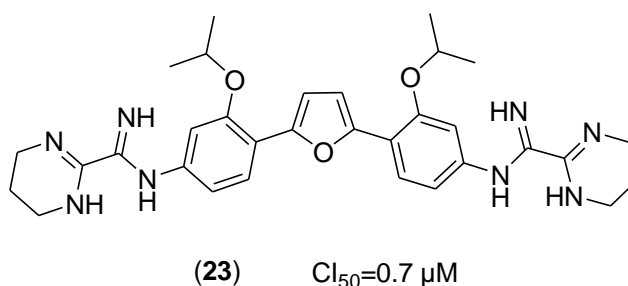
FONTE: MUÑOZ, 2015 (ADAPTADO).

Além destas atividades descritas, este heterociclo também tem demonstrado atividade frente espécies de leishmania, onde foi observado em trabalho reportado por Liu e colaboradores (2014) atividade perante amastigotas de *Leishmania amazonensis*

(21,22), onde o composto (21) obteve resultado abaixo, quantitativamente, do fármaco-padrão pentamidina ($Cl_{50}=0.83 \mu\text{M}$ para a mesma espécie analisada).



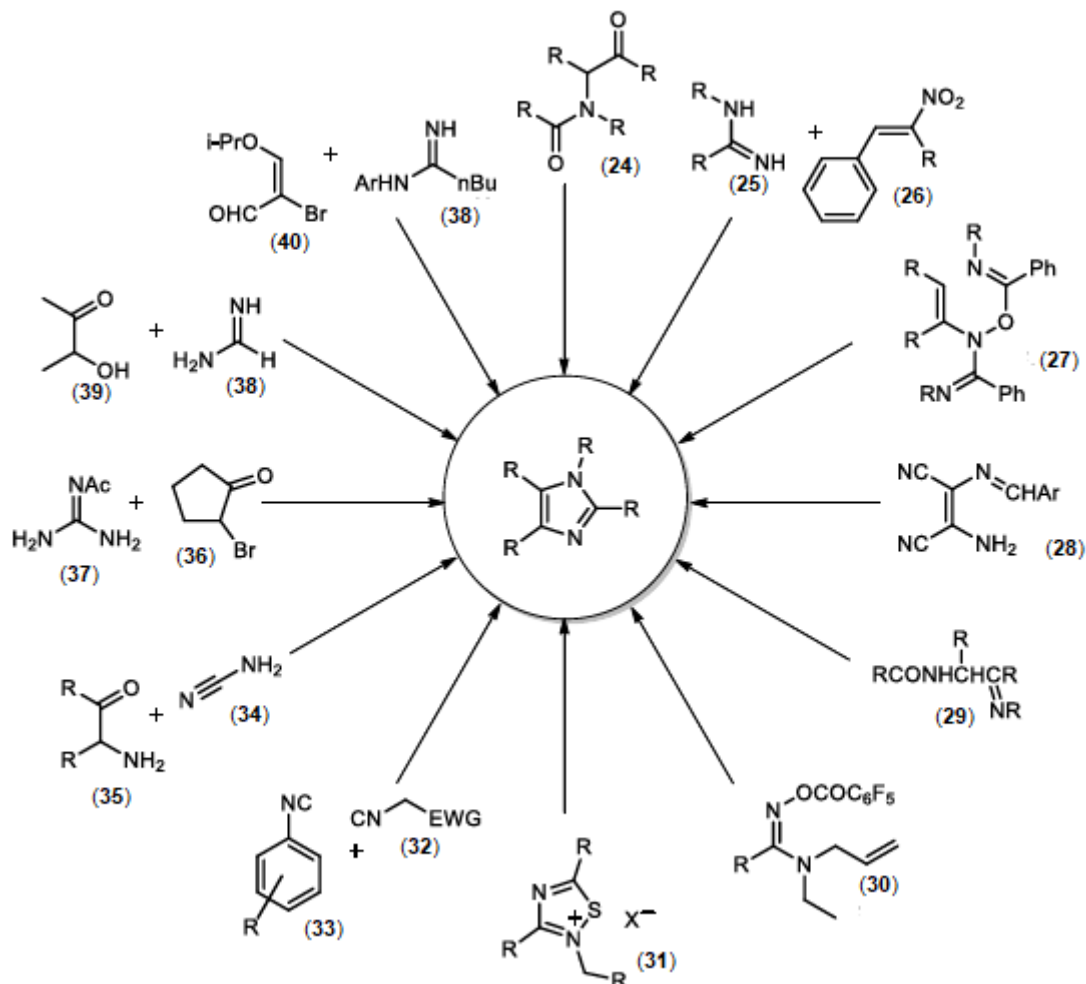
Neste mesmo estudo, os autores reportaram a mesma atividade leishmanicida em derivado pirimidínico (23), em que este referido composto apresentou uma $Cl_{50}=0.7 \mu\text{M}$, onde este também apresentou resultado quantitativo abaixo do fármaco-padrão pentamidina.



2.6.1 Obtenção sintética dos imidazóis/pirimidinas

O heterociclo imidazol (5 membros) pode ser obtido sinteticamente de forma semelhante por diversas vias bem conhecidas na literatura química, da mesma forma que o heterociclo pirimidina. Neste, basta utilizar um substrato com um carbono a mais para que se produza tal heterociclo (6 membros) (Figura 14, página 37). Exemplo disto é a obtenção via reação de Radziszewski (RADZISZEWSKI, 1882), uma das mais difundidas e utilizadas.

Figura 14 - Vias sintéticas de obtenção dos heterociclos imidazol/pirimidina



FONTE: MUÑOZ, 2015 (ADAPTADO).

Sendo assim, conforme se observa na figura a cima, diversas maneiras de se obter estes heterociclos são reportadas na literatura. Desta forma, pode-se sintetizar utilizando metodologia em que se utiliza *N*-(β-ceto)-amidas (**24**) e amônia (LEE & BALASUBRAMANIAN, 2000; CLAIBORNE et al., 1998; BLEICHER et al., 2002; LI & LAW, 2005); por meio de reação de cicloadição (**25**) e (**26**) [3+2], utilizando cobre como catalizador (TANG et al., 2013); por meio de rearranjo de *Hetero-Cope* (**27**) (LANTOS et al., 1993); pode-se obter também via bases de Schiff (**28**) e ciclização de α-acilamino (**29**) (KATRITZKY, 2000); pode ser obtido também por meio de ciclização de *o*-pentafluorobenzoilamidoximas (**30**) catalisada com paládio (ZAMAN et al., 2005); além destes, também foi reportada na literatura a obtenção via sais de 1,2,4-tiadiazóis (**31**)

(ROLFS & LIEBSCHER, 1997), bem como via cicloadição cruzada entre isocianetos (32) e (33) (KANAZAWA et al., 2006); foi demonstrada também a condensação entre aminonitrilas (34) e derivados α -aminocarbonílicos (35) (EICHER e HAUPTMANN, 2003); ainda, compostos carbonílicos funcionalizados como α -halocetonas (36) podem ser utilizados como substrato para ciclização de N-acetil guanidinas (37) (LITTLE & WEBBER 1994). Por fim, pode ser, ainda, obtidos via reação de ciclização entre amidinas (38) com derivados α -hidroxicetonas (39) e acroleínas substituídas (40) (SHILCRAT et al., 1997).

2.7 Rigidificação molecular (restrição conformacional): potencial estratégia da química medicinal no desenvolvimento novos derivados antiparasitários

Restrição conformacional tem sido utilizada pela química medicinal como sendo uma potencial alternativa frente o desenvolvimento de novos derivados perante várias doenças (MOREIRA et al., 2014; RASHID et al., 2016).

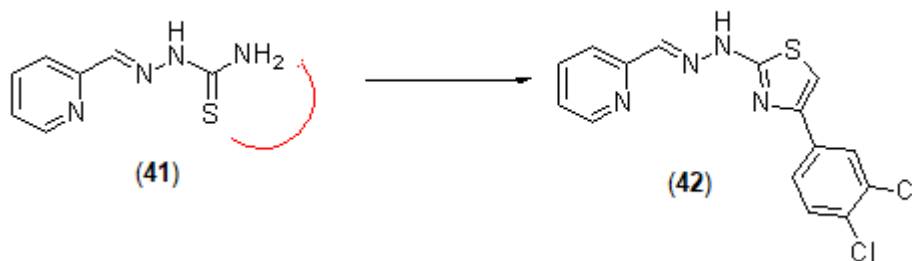
Vários estudos recentes demonstraram que a restrição conformacional de compostos constitui numa virtual estratégia de aumento de suas atividades farmacológicas, haja vista que esta técnica eleva a energia rotacional numa determinada ligação que poderia ter rotação livre. Desta forma, a restrição promove uma melhor interação farmacodinâmica entre ligante e alvo, uma vez que, restringindo possíveis rotações na molécula, promove maior rigidez na porção farmacofórica que poderia não interagir com grande eficácia com o alvo farmacológico, bem como auxilia na redução da citotoxicidade de tais compostos (BLAU et al., 2013; CARVALHO et al., 2012; KAMAL et al., 2011; YONEZAWA et al., 2013).

No que diz respeito ao desenvolvimento de novos derivados antiparasitários, esta estratégia vem sendo vista com bons olhos pela química medicinal, resultando em alguns estudos que demonstraram a eficácia restrição conformacional frente a parasitas (BLAU et al., 2013; CARVALHO et al., 2012; KAMAL et al., 2011; YONEZAWA et al., 2013).

Desta forma, Cardoso e colaboradores (2014) publicaram estudo em que foi avaliada a influência da rigidificação da tiossemicarbazona em vários derivados, ciclizando sua porção tioamida para obter o heterociclo tiazolidina. Com isto, foi concluído que tal estratégia elevou a seletividade dos compostos frente o parasito

Trypanosoma cruzi, produzindo compostos mais efetivos e menos tóxicos. Conforme pode-se observar na figura 15, página 39, a atividade frente tripomastigota e epimastigota foi elevada de $Cl_{50}=17.3$ e $119.5\mu\text{M}$ referente ao composto de conformação livre (41) para 1.2 e $4\mu\text{M}$ para o composto de conformação restrita (42).

Figura 15 – Derivado tiossemicarbazônico de conformação livre e tiazolidínico (conformação restrita)



FONTE: CARDOSO et al., 2014 (ADAPTADO).

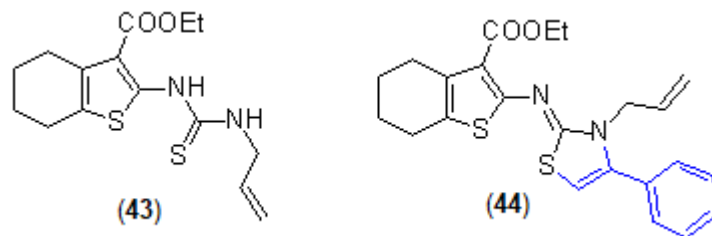
Em recente estudo, Gomes e colaboradores (2016), demonstraram o aumento da atividade tripanocida de alguns derivados tiossemicarbazônicos, em que estes foram rigidificados em sua porção tioamida com vários dieletrófilos, produzindo moléculas com maior seletividade frente *T. cruzi*, além de reduzi a citotoxicidade destes, conforme se observa na figura 16, página 39. Desta forma, foi apresentada, para o composto não-rigidificado, uma toxicidade de $34.94\mu\text{M}$. No entanto, para os compostos rigidificados, foi elevada a uma concentração $>100\mu\text{M}$, tornando-o menos tóxico.

Figura 16 – Diminuição da toxicidade dos derivados tiossemicarbazônicos rigidificados



FONTE: GOMES et al., 2016 (ADAPTADO).

Em estudo realizado por Silva-Junior e colaboradores (2016), foi reportado o planejamento, síntese e atividade de derivados tiofen-2-iminotiazolidina, em que os autores analisaram a influência do derivado não rigidificado (**43**) e rigidificado (**44**) frente a inibição da enzima cruzaina do parasito *Trypanosoma cruzi*. Desta forma, foi apresentado como resultado, após os devidos ensaios, que os derivados não ciclizados não demonstraram valores quantitativos de inibição da enzima em μM . No entanto, ao rigidificar tais compostos em sua região tioamida do grupamento tiossemicarbazona, um derivado demonstrou potencial inibição com valor quantitativo de $\text{CI}_{50}=2.4 \mu\text{M}$.



2.8 Hibridação molecular como estratégia de desenvolvimento de novos derivados leishmanicida

A hibridação molecular consiste numa das recentes e mais utilizadas técnicas de obtenção de moléculas advindas da química medicinal, referindo-se numa metodologia de planejamento pela qual une-se numa só molécula duas unidades farmacofóricas, com o objetivo de potencializar a ação farmacológica que se deseja (FÉLIX et al., 2016; JACOMINI et al., 2016; MASOOD et al., 2017; SHARMA et al., 2014).

Esta união pode ser feita de algumas formas: unindo 2 fármacos (ou mais), bem como fusão destes dois fármacos, sem espaçador; união de 2 fármacos por meio de um espaçador flexível ou rígido. Podem ser, ainda, referentes à grupamentos farmacofóricos: a simples união de dois grupos farmacofóricos de 2 fármacos, sem espaçador, ou ainda a união por meio de um espaçador flexível ou rígido (JACOMINI et al., 2016; MASOOD et al., 2017; NEPALI et al., 2014).

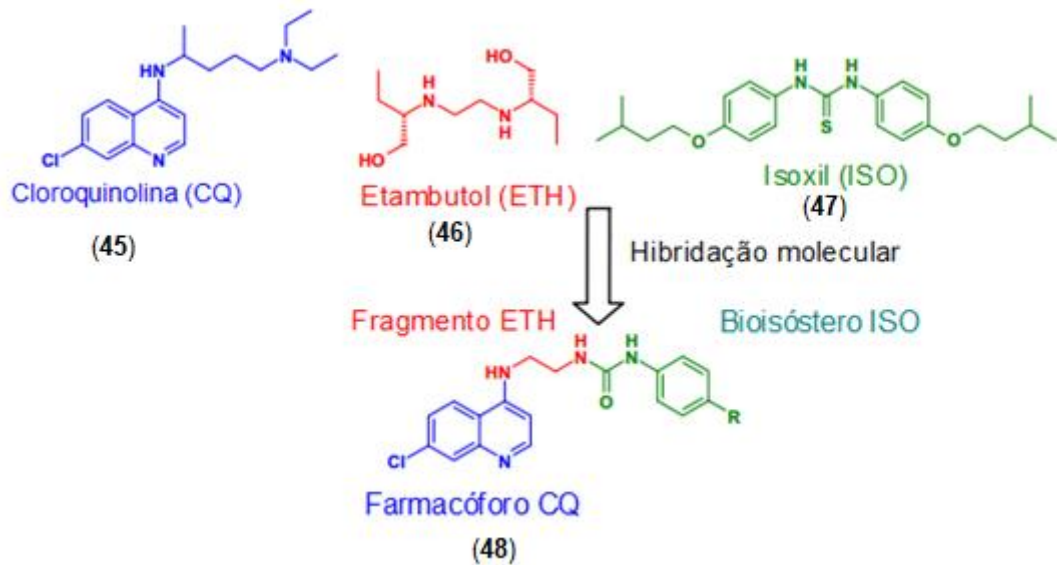
Desta forma, segundo Nepali e colaboradores (2014), as drogas híbridas são, normalmente, planejadas com o intuito de se reduzir possíveis efeitos adversos associados aos fármacos, bem como potencializar o efeito terapêutico num alvo biológico. Ainda segundo o autor, a associação híbrida também remete interações em vários alvos com apenas uma molécula, o que reduz as chances de potenciais resistências aos fármacos, além de tornar menores os riscos de interações medicamentosas.

Assim, a hibridação molecular perfaz uma estratégia racional e de obtenção de novos produtos, nas mais diversas classes químicas, consistindo num novo conceito de planejamento e desenvolvimento de produtos eficazes e com um maior direcionamento ao alvo requerido (JACOMINI et al., 2016; MASOOD et al., 2017).

No que diz respeito à farmacoterapia do leishmanicida, diversos trabalhos recentes vêm sendo reportados na literatura utilizando esta técnica como fonte de desenvolvimento de novas moléculas ativas, em especial, utilizando os heterociclos 4,7-dicloroquinolina e tiazolidina (NAVA-ZUAZO et al., 2010; JACOMINI et al., 2016; MASOOD et al., 2017).

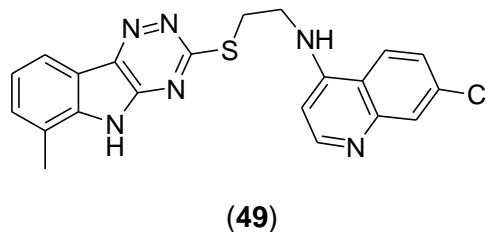
Desta forma, Nava-Zuazo e colaboradores (2010) publicaram estudo em que foram sintetizadas novas séries de moléculas híbridas antiparasitárias a partir do heterociclo 4,7-dicloroquinolina (cloroquina (**45**)), juntamente dos fármacos etambutol (**46**) e isoxil (**47**). Assim, foi obtido um composto com $CI_{50}=9.9 \mu M$ (**48**) para amastigotas de *L. mexicana* (Figura 17, página 42) demonstrando variância quantitativa relativamente melhor quando comparado com a pentamidina ($CI_{50}=13.32 \mu M$), que é o fármaco de segunda escolha para o tratamento da doença.

Figura 17 - Compostos híbridos a partir da 4,7-dicloroquinolina, etambutol e isoxil.



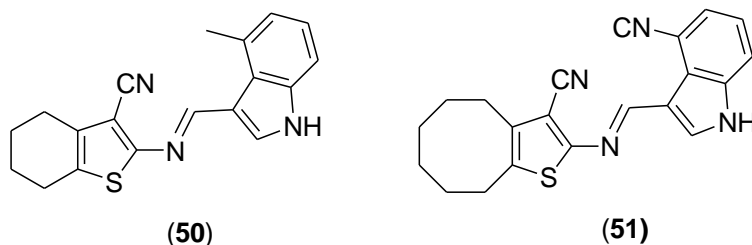
FONTE: NAVA-ZUAZO et al., 2010 (ADAPTADO).

Em estudo reportado por Sharma e colaboradores (2014), foi demonstrada a hibridação a partir do heterociclo 4,7-dicloroquinolina juntamente com o núcleo triazino indol, em que foi obtido um composto com $Cl_{50}=0.36 \mu\text{M}$ (49) frente amastigotas de *Leishmania donovani*, corroborando o potencial desta técnica no que diz respeito ao desenvolvimento de novas moléculas frente o gênero *Leishmania*. Em adição, o composto apresentou-se mais ativo que os fármacos padrão-ouro no tratamento leishmanicida, em que a miltefosina possui $Cl_{50}=8.1 \mu\text{M}$ e o estibo-gliconato sódico $Cl_{50}=54.6 \mu\text{M}$ frente amastigotas desta espécie.



Mais recentemente, Félix e colaboradores (2016) sintetizaram uma nova série de híbridos tiofeno-indol com o objetivo de avaliar a sua atividade frente o parasito *Leishmania amazonensis* em sua forma promastigotas, haja vista o potencial destes dois heterociclo frente tal parasito, onde obtiveram dois promissores compostos, com

$CI_{50}=2.3$ (**50**) e $2.1\mu M$ (**51**) respectivamente. No entanto, os fármacos escolhidos como padrão, Anfotericina B e Antimônio trivalente, apresentam $CI_{50}=0.2$ e $9\mu M$ respectivamente, onde os autores sugerem que a técnica de hibridação molecular apresentou potencial objeto de estudo frente o desenvolvimento de novas moléculas leishmanicida.



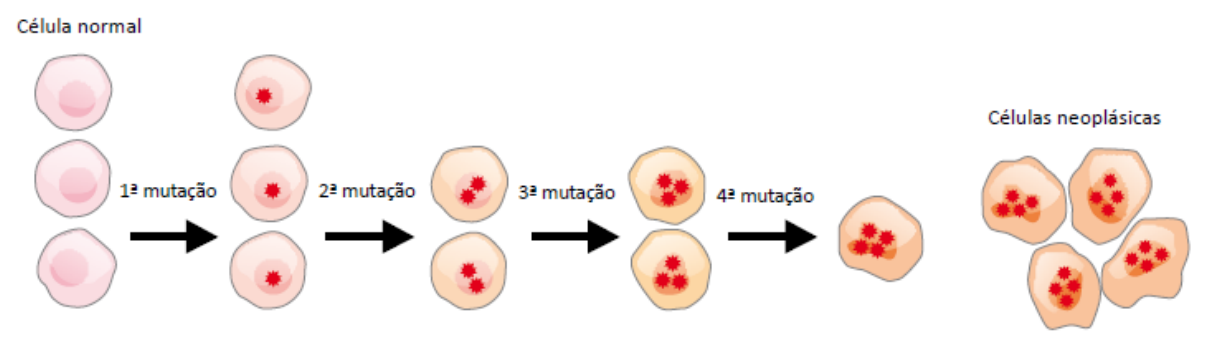
2.9 Considerações gerais sobre o Câncer

O câncer remete à antiga história, sendo datado em múmias egípcias há mais de 3 mil anos antes de Cristo. Refere-se a um conjunto de 100 doenças que apresentam o crescimento celular desenfreado, que acabam por invadir diversos órgãos e tecidos em sua volta (ASSATI et al., 2014; INCA, 2011; PETERSON et al, 2009).

2.9.1 Patologia do câncer

Uma célula qualquer pode sofrer, em seu processo de diferenciação, mutação gênica, em que estas acabam por receber instruções erradas para o desempenho de suas atividades, mas que não alteram seu desenvolvimento normal (Figura 18, página 44). Tais alterações podem ser em genes especiais conhecidos como proto-oncogenes, normalmente inativos em células normais. Assim, ao ser ativado, diferenciam-se em oncogenes, que desenvolvem a forma maligna das células normais (malignização), sendo estas chamadas de células cancerosas (INCA, 2011; KUMAR et al, 2013; SMITH et al, 2009).

Figura 18 - Processo de diferenciação celular cancerígeno.



FONTE: INCA, 2011.

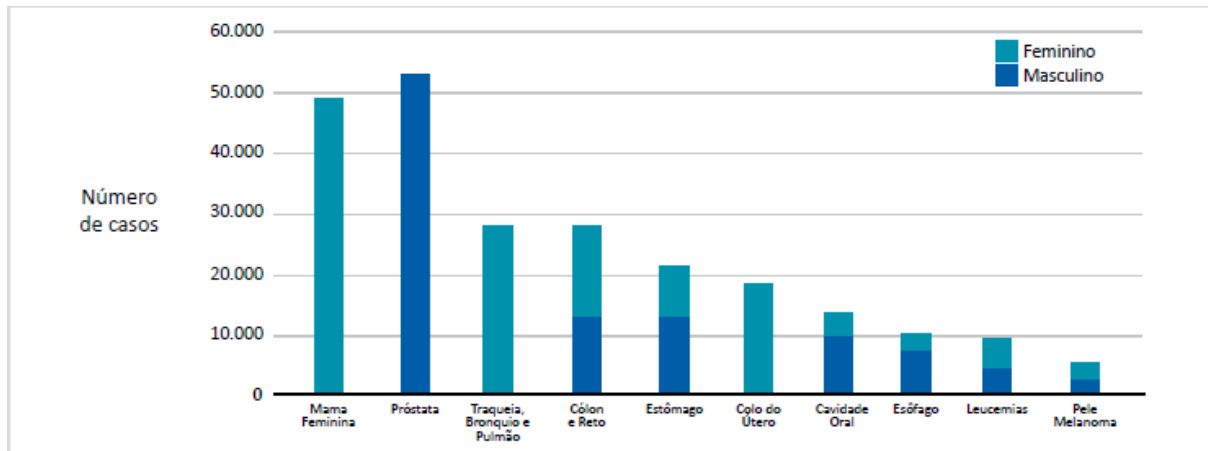
2.9.2 Epidemiologia e principais tipos de câncer

De acordo com dados da OMS (2014), houve em 2012 14,1 mi novos casos da doença e aproximadamente 8,2 mi mortes causadas por esta. Para 2030, estima-se 21,4 mi novos casos, além de 13,2 mi mortes. No Brasil, para 2015, estimou-se aproximadamente 576 mil novos casos, onde Alagoas seria responsável por 4.350 mil destes; com isto, Maceió ficaria com 1.760 mil casos ocorrentes (INCA, 2011; GLOBOCAN, 2012).

Desta forma, refere-se à segunda maior causa de morte no mundo, sendo responsável por 1 em cada 7, além de causar mais mortes que AIDS, tuberculose e malária juntas. Com isto, números dão conta que ocorram 22 mil mortes por dia causadas por esta importante e severa doença (GLOBOCAN, 2012).

No Brasil, os principais tipos de câncer recorrentes masculino são de próstata, com mais de 50.000 novos casos por ano, seguido de cólon e reto e estômago, com aproximadamente 15.000 novos casos. Além destes, cavidade oral, esôfago, leucemias e pele (melanoma) ocorrem numa média de menos de 10.000 novos casos em cada ano. Assim, para as mulheres, o mais frequente é o de mama, com quase 50.000 novos casos, seguidos de traqueia, brônquio e pulmão, além de cólon e reto, com quase 30.000 novos casos. Ainda, colo do útero com quase 20.000 casos, seguido de cavidade oral com 15.000 e esôfago, leucemias e pele melanoma com quase 10.000 casos cada (Figuras 19 e 20, página 45) (INCA, 2011).

Figura 19 - Tipos de câncer recorrentes no Brasil



FONTE: INCA, 2011.

Figura 20 - Estimativa por localização

Localização primária	Estimativas de casos novos		
	Masculino	Feminino	Total
Próstata	52.350	-	52.350
Mama feminina	-	49.240	49.240
Traqueia, brônquios e pulmões	17.800	9.830	27.630
Cólon e reto	13.310	14.800	28.110
Estômago	13.820	7.680	21.500
Colo do útero	-	18.430	18.430
Cavidade oral	10.330	3.790	14.120
Esôfago	7.890	2.740	10.630
Leucemias	5.240	4.340	9.580
Pele melanoma	2.960	2.970	5.930
Outras localizações	59.130	78.770	137.900
Subtotal	182.830	192.590	375.420
Pele não melanoma	53.410	60.440	113.850
Todas as neoplasias	236.240	253.030	489.270

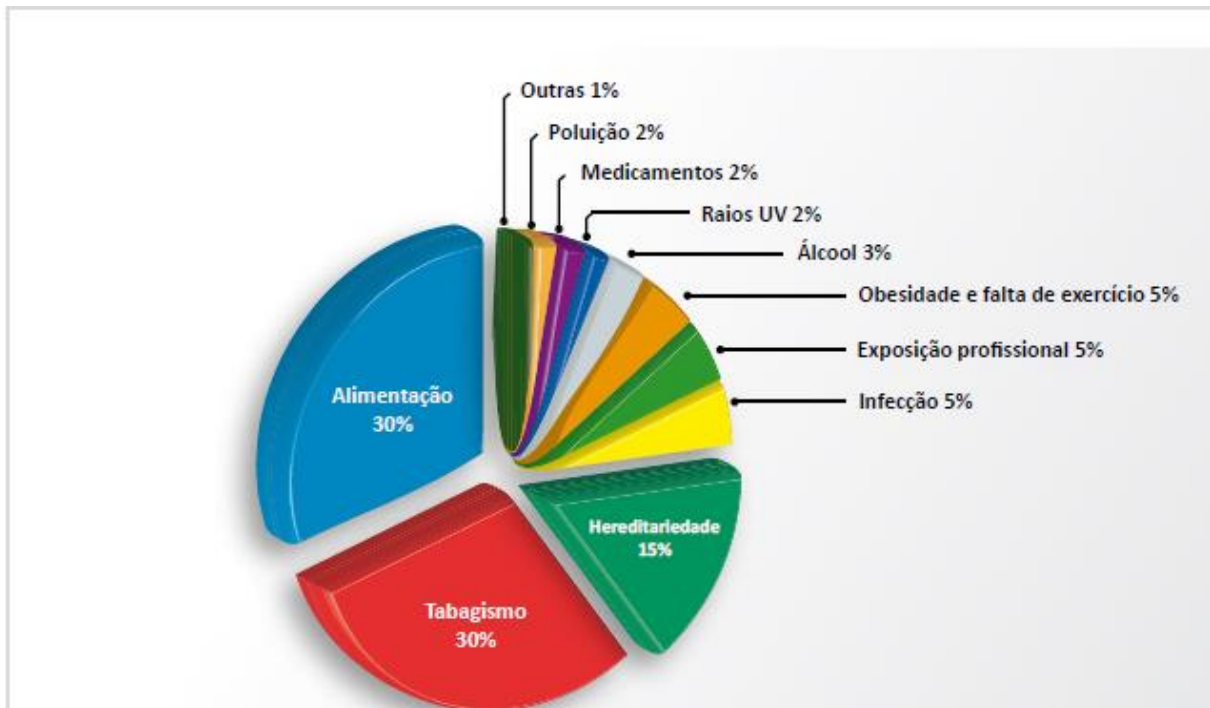
FONTE: INCA, 2011.

2.9.3 Principais causas do câncer

Dentre as principais causas do câncer, pode-se citar as relacionadas ao estilo de vida, como alimentação, sedentarismo, tabagismo, etc. Além destas, há também os fatores genéticos, que são responsáveis por uma parcela considerável (15%). Assim, as principais causas referem-se à alimentação, que somadas ao tabagismo

perfazem 60% das causas totais. Há ainda, numa parcela bem menor, outros fatores diversos, como poluição, medicamentos, raios UV, álcool, sedentarismo, exposição profissional e infecções, que somados perfazem aproximadamente 25% das causas (Figura 21, página 46) (INCA, 2011).

Figura 21 - Principais causas do câncer



FONTE: INCA, 2011.

2.9.4 Tratamento do câncer: Agentes intercalantes de DNA como fármacos anticâncer

A busca por fármacos com atividade frente o câncer teve importante avanço após a determinação da estrutura do DNA descrita por Watson e Crick no ano de 1953, em que se pode determinar seu arranjo espacial confere à sua forma várias conformações tridimensionais que podem ser encontradas. A conformação mais comum encontrada é a dupla hélice, que se refere numa cadeia dupla elipsada em seu próprio eixo no sentido anti-horário (WATSON et al., 1974).

Desta forma, tal estrutura do DNA está diretamente relacionada à pares de bases nitrogenadas, em que, ligadas a estas, encontram-se grupamentos específicos de fosfato e açúcar, de forma que tais grupamentos são capazes de formas ligações

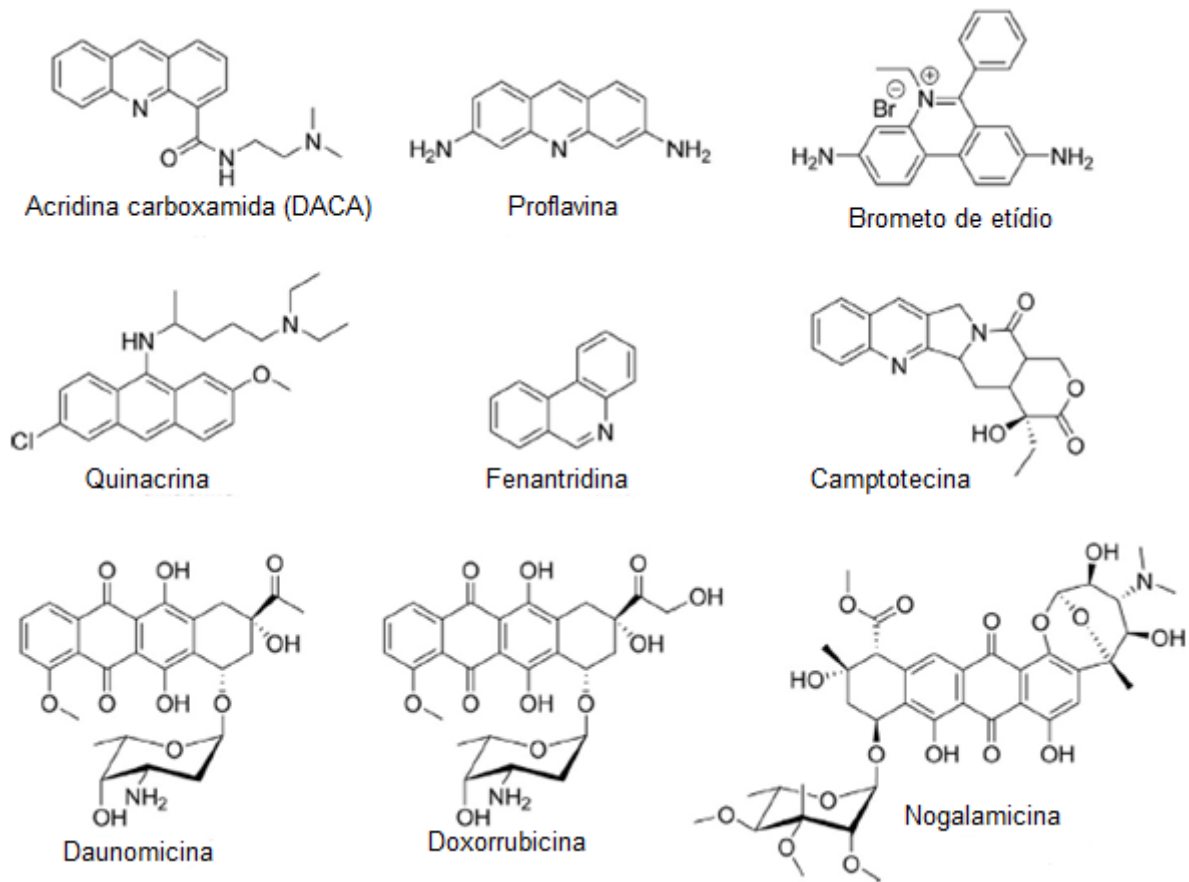
de hidrogênio. Assim, tais ligações mantêm as bases ligadas de forma coordenada, capacidade de formar ligação alternância de grupamentos os grupos de açúcar e fosfato com a base ligada a cada par de açúcar como cadeia lateral, realizado por ligações de hidrogênio entre pares de bases específicas (WATSON et al., 1953).

Logo após notória descoberta, estudos foram feitos com o DNA, em que se pode observar que este era responsável por determinar as condições genéticas de hereditariedade, funcionando como uma molécula de “identidade” única em cada indivíduo (LEONE, 1992). Assim, pode-se observar que esta referia-se num fator determinante para a replicação celular, constatando-se no grande alvo de agentes quimioterápicos, para que impedisse a replicação das células cancerígenas (LI et al., 2012).

Assim, diversos fármacos intercalantes atuam na farmacoterapia atual quimioterápica (Figura 22, página 48), em especial as quinolinas (como a camptotecina), constituindo-se numa classe de moléculas que interferiam na replicação cancerígena com a finalidade de se ligarem à dupla hélice, por meio de ligações não covalentes com as bases nitrogenadas. Em sua maior parte, realizadas pela inserção de anéis aromáticos planares ou semi-planares por entre tais bases no chamado sulco maior do DNA, bem como de forma menos profunda (ou mais periférica), no chamado sulco menor, que causa menos perturbação (FAIDALLAH et al., 2013; IHMELS et al., 2011; PERIN et al., 2014).

De forma geral, as moléculas intercalantes agem de forma a introduzir anéis de conformação planar entre os pares de bases, ocorrendo algumas interações químicas que acabam fixando estes anéis e seus possíveis substituintes: interações entre o sistema de elétrons π dos anéis intercalantes com os das bases, bem como ligações de hidrogênio e ligações iônicas entre substituintes eletronegativos dos heterociclos planares (como o átomo de nitrogênio de acridinas e quinolinas) e o grupamento fosfato ligado às bases, por meio de seu átomo de oxigênio (KRAUSE et al., 2011; NAKAMOTO et al., 2008).

Figura 22 - Principais agentes intercalantes de DNA reportados na literatura.



FONTE: RESCIFINA et al., 2014 (ADAPTADO)

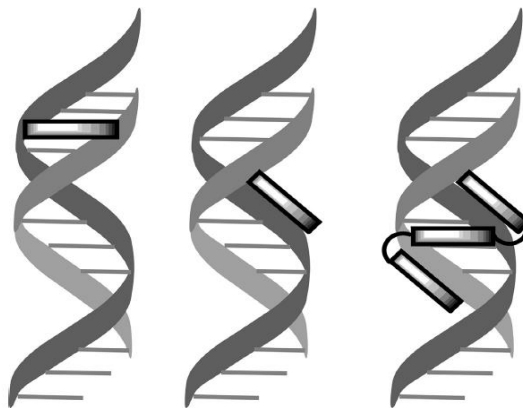
Como consequência destas interações químicas, diversas mudanças na conformação helicoidal do DNA ocorrem, a saber: alongamento da cadeia, rigidez conformacional, bem como o rompimento de sua estrutura em hélice. Tais efeitos são possíveis graças à forma pela qual acontecem a interação do anel intercalante, que acaba ocasionando uma mudança nos ângulos de torção do grupamento fosfato-açúcar. Assim, as bases são então separadas, pois não há mais as interações que as fazem unidas, de forma que o alongamento helicoidal seja aproximadamente 3.4 Å, o que ocasiona desenovelamento da hélice, impedindo, logicamente, a sua replicação, uma vez que o organismo a reconhece como “defeituosa” (WHEATE et al., 2007).

Com isto, tal fato foi estudado por Rao e colaboradores (1987), em que foi possível constatar uma importante informação quanto ao modo de intercalação dos agentes quimioterápicos, o “princípio de exclusão do vizinho”, que constata a mudança conformacional adquirida pela acomodação de uma molécula intercalante. Assim, este

refere-se ao fato de que quando um agente é inserido em um par de base nitrogenada, o outro par subsequente acaba não sendo afetado por outra molécula deste agente, que pode ser explicado por conta da mudança conformacional decorrente intercalação da molécula primeiramente inserida, ocorrendo, desta maneira, ao longo do filamento helicoidal.

Quanto às formas que a intercalação pode ocorrer, estas constituem em três (Figura 23, página 49): intercalantes clássicos, que não possuem substituintes volumosos e se inserem por entre as bases nitrogenadas; intercalantes em *groove*, em que as moléculas com substituintes volumosos inserem-se no sulco menor da dupla hélice, não estando, desta forma, exatamente por entre as bases, mas sim como se fosse pelo “lado de fora”; por fim, intercalantes *threading*, que ocorre de forma mista, ou seja, inserem-se por entre as bases e uma outra parte da molécula no sulco menor (RESCIFINA et al., 2014).

Figura 23 - Representação esquemática das formas de intercalação perante o DNA.



FONTE: RESCIFINA et al., 2014.

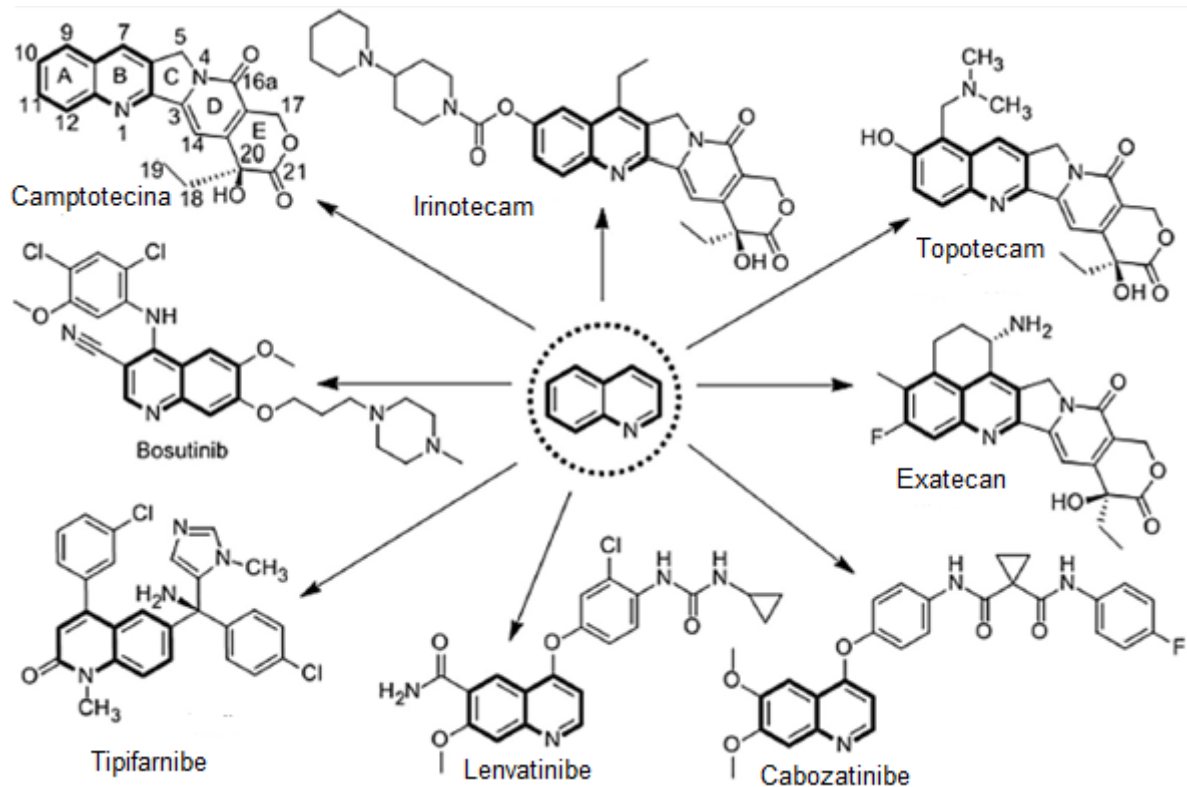
Por fim, os agentes intercalantes de DNA constituem uma importante classe de moléculas que atuam frente a terapia anticâncer atual, em que são alvos constantes de estudos por parte da química medicinal com a finalidade de se descobrir novos protótipos de fármacos quimioterápicos, contribuindo para a farmacoterapia desta severa doença.

2.10 Quinolinas como Agentes Anticâncer - Intercalantes de DNA

Quinolinas são importantes heterociclos de ocorrência natural que possuem potencial atividade farmacológica descrita para diversas patologias. Dentre os fármacos mais conhecidos, pode-se citar os antimaláricos Quinina, Quinidina, Cloroquina, Mefloquina, Amodiaquinina, Primaquine, dentre outros. Como antibacteriano as fluoroquinolonas Ciprofloxacino, Gatifloxacino etc. O antiviral Saquinavir, antiprotozoários/fungos o Clioquinol, anti-helmíntico a Oxamniquina, anestésico local a Dibucaina, o antiasmático Montelukast, antipsicóticos como Aripiprazol e Brexpiprazol, antiglaucoma Cartiolol e Vesnarinona como cardiotônico (BAWA et al., 2010; KUMAR et al., 2009).

Além desta gama de atividades farmacológicas, as quinolinas têm apresentado notória presença frente diversos tipos de cânceres, sendo uma importante classe de fármacos utilizados atualmente (Figura 24, página 51). Dentre estes, observam-se a Camptotecina, de origem natural, descrita em 1966 por M. E. Wall and M. C. Wani, além de seus análogos sintéticos Irinotecan, Topotecan, Exatecan etc. Em adicional, ressalta-se também os recentes inibidores de proteína quinase descritos, a saber Bosutinibe, Lenvatinibe e Cabozantinibe, bem como o inibidor da farnesiltransferase Tipifarnibe, sendo objetos de estudos atuais para a introdução na farmacoterapia anticâncer (BAWA et al., 2010; KUMAR et al., 2009).

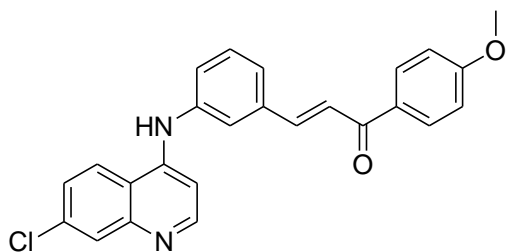
Figura 24 - Principais quinolinas utilizadas na farmacoterapia anticâncer.



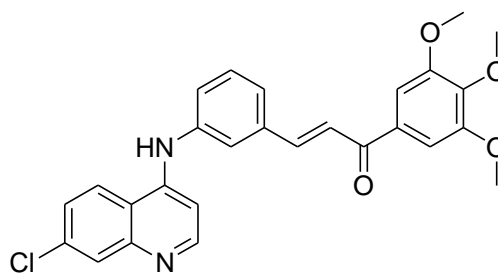
FONTE: AFZAL et al., 2014 (ADAPTADO).

Desta forma, observa-se também que as quinolinas apresentam diversos mecanismos de ação frente diversas linhagens de células cancerígenas, dentre os quais: indução de apoptose, inibição do crescimento celular, inibição da angiogênese, interrupção da migração celular, além de serem intercalantes de DNA, mecanismo este que vem sendo objeto de estudo pela química medicinal no que diz respeito ao desenvolvimento de novas moléculas com atividade anticâncer (CHAVDA et al., 2010; KRAUSE et al., 2011; AFZAL et al., 2014).

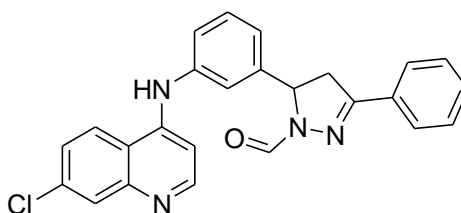
Diversos derivados quinolínicos com atividade anticancerígena que agem através do mecanismo de intercalação de DNA têm sido reportados na literatura, sendo objeto de estudo recente no desenvolvimento de potenciais moléculas para tal finalidade. Desta maneira, observa-se o trabalho descrito por Ramírez-Prada et al., 2017, onde foi obtido um derivado 7-cloroquinolínico (**52**) com $Cl_{50}=0.49 \mu\text{M}$ para linhagem celular leucêmica, derivado (**53**) com $Cl_{50}=0.35 \mu\text{M}$ para linhagem celular de câncer de cólon (HCT-116), além do composto (**54**) que apresentou uma $Cl_{50}=0.38 \mu\text{M}$ para melanoma (MDA-MB-435).



(52)

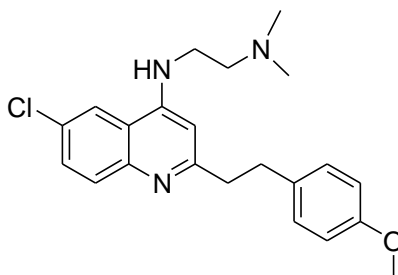


(53)



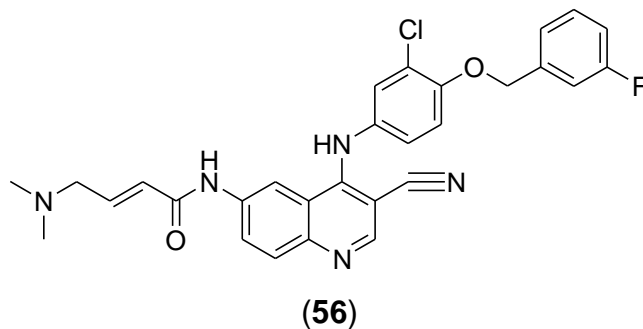
(54)

Da mesma maneira, em estudo feito por Jiang e colaboradores (2012) o composto **(55)** Cl_{50} de 0.03 μ M, 0.55 μ M, 0.33 μ M and 1.24 μ M, frente as linhagens de câncer H-460, HT-29, HepG2 e SGC-7901.



(55)

Em outro estudo citando a atividade anticâncer de derivados quinolínicos, IBRAHIM e colaboradores (2015) sintetizaram um derivado **(56)** com potencial atividade frente a linhagem de câncer MCF-7, demonstrando Cl_{50} de 0.65 μ M para esta.



Assim, o esqueleto molecular das quinolinas intercalantes demonstram a fusão de anéis aromáticos ao heterociclo fundamental das quinolinas, com a finalidade de se obter moléculas que interajam com a dupla hélice do DNA. Estas importantes interações químicas referem-se à inserção da molécula por entre os pares de bases nitrogenados, em especial G-C, ligando-se a estas através de forças de van der Waals, além de ligações-de-hidrogênio. Em adição, após a interação com as bases, as quinolinas intercalantes promovem ação anticâncer pelo fato de provocarem, assim, o bloqueio do processo de transcrição, impedindo a replicação do DNA, neste caso, deformado por acomodar em sua estrutura a molécula intercaladora. Podem promover, ainda, inibição da enzima topoisomerase I e II e quebra da dupla hélice gerando radicais livres (AFZAL et al., 2014).

2.11 Tiazolidinas como Agentes Anticâncer

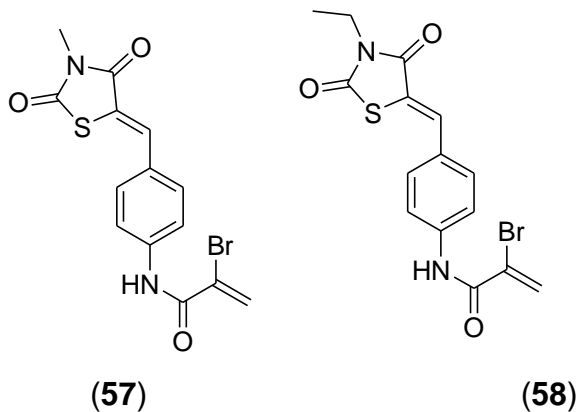
O heterociclo tiazolidina, um anel planar de 5 membros, tem sido reportado como um importante agente utilizado no desenvolvimento de novos derivados para a terapia anticâncer, despertando o interesse da química medicinal pelo fato de apresentar ação frente células cancerígenas. Tal fato se dá por conta deste heterociclo inibir a proliferação celular, uma vez que são agonistas do receptor nuclear PPAR γ (GRILLIER-VUISSOZ et al., 2012).

Assim, as tiazolidinas promovem importantes alterações celulares mediadas por este receptor, em que modificam o pH intracelular, promovem a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres), degradação proteossomal, além de interferirem no processo de mitose mediada por MAPK (proteínas quinases) (GRILLIER-VUISSOZ et al., 2012).

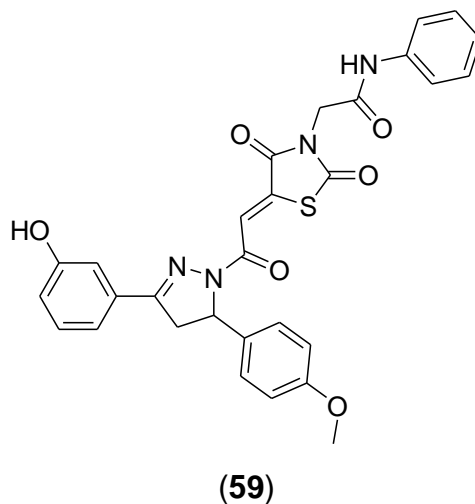
Por fim, inibem a diferenciação celular mitótica, o que interfere em todo o processo de multiplicação celular cancerígena, fazendo com que haja inibição do seu

crescimento celular e, conseqüentemente, inibição do crescimento e proliferação do tumor cancerígeno (ASSATI et al., 2014).

Em estudo feito por Romagnoli et al, 2013, foram sintetizados dois novos derivados tiazolidínicos frente a linhagem leucêmica L1210, demonstrando CI_{50} de 0.19 μ M para o composto (57), além de 0.50 μ M para o composto (58).



Desta forma, em trabalho reportado por Havrylyuk e colaboradores (2013), foi demonstrada a atividade potencial anticâncer do derivado (59) frente a linhagem leucêmica CCRF-CEM, onde este apresentou uma CI_{50} de 2.85 μ M.



2.12 Hibridação molecular como estratégia de obtenção de novos derivados anticâncer

A hibridação molecular perfaz uma estratégia racional e de obtenção de novos produtos, nas mais diversas classes químicas, consistindo num novo conceito de planejamento e desenvolvimento de produtos eficazes e com um maior direcionamento ao alvo requerido (TIETZE et al., 2003; VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

No que diz respeito à farmacoterapia do câncer, atualmente esta consiste na administração de vários fármacos combinados, ao longo do dia, sendo conhecido como “coquetel”. Desta forma, administra-se vários fármacos que agem sobre o câncer de diferentes formas, por diferentes vias medicamentosas (CONTELLES et al., 2011; GEDIYA et al., 2009).

Assim, a hibridação molecular torna-se bastante interessante e tem sido explorada pelos químicos medicinais justamente para que se otimize tal farmacoterapia, pois, através desta, pode-se combinar vários fármacos num só, unindo-os numa só molécula, tornando a farmacoterapia mais cômoda para o paciente, que reduzirá drasticamente a quantidade de medicamento que deverá administrar. Em adicional, observa-se, também, a redução de efeitos colaterais causados pela elevada ingestão de fármacos, em especial irritações no TGI, bem como a redução do surgimento de resistência à tais medicamentos (CONTELLES et al., 2011; GEDIYA et al., 2009).

2.13 Otimização de metodologia racional via irradiação por ultrassom (sonicação)

A sonoquímica tem sido bastante estudada nos últimos anos devido as suas aplicações para as mais diversas áreas da química, como por exemplo síntese, sonoeletroquímica, catálise, metalurgia, ultrassom terapêutico, dentre várias outras. Refere-se a um fenômeno resultante da interação de ondas e cavitação acústicas que potencializam a reatividade de um sistema químico (BANERJEE, 2017; MASON, 2002; SONG et al., 2015).

Assim, o fenômeno da cavitação é um processo que envolve a formação de bolhas até seu crescimento e quebra, com conseqüente elevação da pressão e temperatura de um microssistema, o que facilita interação química com a vizinhança,

entre as moléculas existentes em tal microsistema (CRAVOTTO et al., 2006; MASON, 2002; SHABALALA et al., 2015).

Desta forma, a sonicação promove a redução do tempo das reações químicas quando comparadas com o aquecimento convencional, pelo fato de promover um aumento das colisões entre as moléculas de forma bastante elevada e, ainda, eleva os rendimentos e reduz a formação de subprodutos (BAZGIR et al., 2010; MAMAGHANI et al., 2011; NI et al., 2010).

Por fim, vários trabalhos foram reportados recentemente na utilização da metodologia por irradiação por ultrassom como metodologia otimizada na obtenção de tiazolidinas. Nestes, tal metodologia foi bastante promissora no que diz respeito à formação dos anéis tiazolidínicos, em que tais reações demonstraram maior formação do produto desejado, menor formação de subprodutos e até a não formação destes, somadas à consequente facilidade na purificação de tais produtos. Sendo assim, promove-se uma elevação dos rendimentos reacionais dos produtos tiazolidínicos (GOUVÊA et al., 2012; NEUENFELDT et al., 2011; MAMAGHANI et al., 2011; ZHANG et al., 2012).

2.14 Otimização de metodologia racional via irradiação por micro-ondas

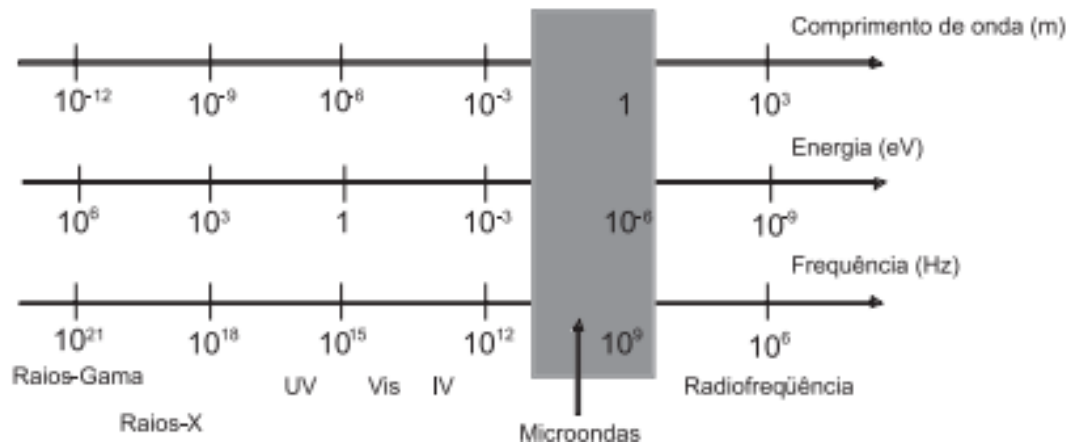
Com início datado na década de 40, a tecnologia de irradiação de energia micro-ondas evoluiu ao longo dos anos até ser utilizada no campo da química orgânica por volta dos anos 80, constituindo importante ferramenta no desenvolvimento de reações químicas diversas (FRACENTESE et al., 2016; SOUZA & MIRANDA, 2011).

Assim, a formação das micro-ondas se ocorre mediante ondas eletromagnéticas, sendo estas a partir de frequência entre 0,3 e 300 GHz, gerando, assim, comprimentos de onda entre de 1 cm a 1 m. Estas são observadas na região situada, no espectro eletromagnético, entre o infravermelho e as radiofrequências (Figura 25, página 57) (MAJUMDER et al., 2013; SOUZA & MIRANDA, 2011).

Desta forma, a utilização do aquecimento de reações perante irradiação de micro-ondas se dá por duas maneiras: polarização dipolar, bem como condução iônica. Sendo assim, os dipolos ou íons presentes na mistura reacional acabam se alinhando ao campo elétrico incidido. No entanto, devida oscilação deste, acaba-se promovendo uma reorganização dos íons ou dipolos, ocorrendo choques entre as

substâncias presentes (FRACENTESE et al., 2016; MAJUMDER et al., 2013; SOUZA & MIRANDA, 2011).

Figura 25 - Espectro eletromagnético demonstrando a região de micro-ondas



FONTE: SOUZA & MIRANDA, 2011

Diversas reações são descritas na literatura mediante utilização por irradiação de micro-ondas, em especial na química de heterociclos. Em especial, observa-se em trabalho reportado por Jacob e colaboradores (2009), a utilização desta ferramenta para a obtenção do heterociclo imidazol em cerca de 1,5 minutos, mediante irradiação de 300W.

No entanto, quando comparada com o aquecimento convencional, observam-se algumas vantagens que podem ser elencadas: super-aquecimento de solventes mesmo à pressão atmosférica, bem como aquecimento seletivo entre reagentes, em que tal forma de aquecimento via micro-ondas configura importante ferramenta no que se diz respeito à química orgânica, sobretudo sintética de heterociclos, promovendo obtenção de derivados em menor tempo reacional, com menor formação de subprodutos, gerando maior facilidade nas etapas de purificação, elevando-se o rendimento reacional (FRACENTESE et al., 2016; KAPPE et al., 2012; MAJUMDER et al., 2013)

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Síntese de novos derivados Arilidrazoimidazólicos, Arilidrazopirimidínicos e Quinolin-4-hidrazotiazolidinas planejados com potencial atividade frente o parasito *Leishmania chagasi*, bem como avaliar a atividade antitumoral dos derivados Quinolin-4-hidrazotiazolidinas

3.1.1 Objetivos específicos

- Sintetizar derivados Arilidrazoimidazólicos e Arilidrazopirimidínicos com o anel imidazólico e pirimidínico não substituído e substituído;
- Comparar a síntese dos produtos Arilidrazoimidazólicos e Arilidrazopirimidínicos com o anel imidazólico e pirimidínico não substituído e substituído via irradiação por microondas;
- Sintetizar derivados Quinolin-4-hidrazotiazolidina com o anel tiazolidina não substituído e substituído;
- Comparar a síntese dos derivados Quinolin-4-hidrazotiazolidina com o anel tiazolidina não substituído e substituídos via irradiação por ultrassom (sonicação);
- Caracterizar estruturalmente os derivados obtidos através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de hidrogênio (^1H), carbono treze (^{13}C), Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) e Infravermelho (IV);
- Avaliar a viabilidade celular (citotoxicidade) através do ensaio de MTT;
- Avaliar, *in vitro*, a atividade leishmanicida das duas séries frente a macrófagos infectados com formas amastigotas de *Leishmania chagasi*;
- Avaliar, *in vitro*, a atividade antitumoral dos derivados Quinolin-4-hidrazotiazolidina frente linhagens celulares de câncer humano.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seção experimental

4.1.1 Cromatografias

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas de Sílica Gel 60 F254 (MERCK®) de 0,25 mm de espessura. Para a visualização destas e interpretação dos resultados, fez-se utilização de luz emissora de radiação ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 254 nm. Para cromatografia em coluna clássica, utilizou-se sílica gel 60 (230-400 Mesh, MERCK®), em gradiente isocrático com sistema eluente pré-determinado para respectiva reação.

4.1.2 Pontos de Fusão

Para a determinação dos pontos de fusão, fez-se utilização do equipamento MSTecnoPON®, modelo PFMII Digital, em tubos capilares contendo cada uma das amostras individualmente.

4.1.3 Reações via sonicação

As reações via sonicação foram feitas utilizando o equipamento Ultrassom Soniclean 2 aquecida (Sanders medical®), 40 kHz, sob as temperaturas pré-determinadas em cada respectiva reação.

4.1.4 Reações via micro-ondas

As reações via irradiação por micro-ondas foram feitas por meio de uso do equipamento Micro-ondas CEM Discover®, sob condições específicas para cada reação, conforme descrito ao longo desta dissertação.

4.1.5 Caracterização estrutural por RMN de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos através do equipamento Brüker®, modelo Avance DRX 400 MHz – UltraShield®, do Núcleo de Análises de Produtos por Ressonância Magnética Nuclear – IQB/UFAL, direção do Prof. Dr. Edson Bento. Foi utilizado DMSO- d_6 como solvente analítico. Referente aos espectros, os deslocamentos químicos (δ) foram computados em partes por milhão (ppm), onde foi empregado tetrametilsilano (TMS) ou o solvente DMSO- d_6 como referência interna. As constantes de acoplamento (J) inerentes aos sinais de RMN de ^1H foram computadas em Hertz (Hz) e as multiplicidades dos sinais foram instituídas da seguinte maneira: singlete (*s*), singlete largo (*sl*), dubleto (*d*), duplo dubleto (*dd*), tripleto (*t*), quarteto (*q*), quinteto (*qi*), sexteto (*sex*), septeto (*sep*), e multipletto (*m*).

4.1.6 Análise do grau de pureza

A análise do grau de pureza dos respectivos compostos foi feita por meio de cromatografia líquida de alta pressão acoplado a luz ultravioleta a 254 nm (CLAE/HPLC-UV), utilizando o equipamento Shimadzu®, modelo SIL-20AHT, além de coluna C-18 Supelco Discovery®, 25 cm x 4.6 mm, 5 μM , utilizando como fase móvel isocrática MeOH 100% ou MeOH:Ácido Fórmico 0,1%.

4.1.7 Caracterização estrutural por Infravermelho (IV)

Os espectros de Infravermelho foram obtidos em transmitância em equipamento IRAffinity-, Shimadzu®, no Laboratório de Análise Instrumental, Departamento de Química, do Instituto Federal de Alagoas – IFAL, direção do Prof. Dr. Johnnatan Freitas.

4.1.8 Reagentes e solventes (Grau de pureza $\geq 99\%$) (Sigma®)

1,2-Dibromoetano	Dimetil-formamida anidra (DMF)
1,3-Dibromopropano	Dimetil-sulfóxido deuterado (DMSO- d_6)
2-Bromoacetofenona	Etanol absoluto
2-Cloroacetato de etila	Éter dietílico absoluto
2-Cloroacetoacetato de etila	Hexano absoluto
Acetato de etila absoluto	Imidazolidinona
Acetato de sódio anidro	Metanol absoluto
Ácido bromídrico	
Água destilada	
Anidrido maléico	
Diclorometano absoluto	

4.1.9 Equipamentos

Balança analítica (4 casas decimais)
(IKA®)

Bomba de alto vácuo (IKA®)

Capela com exaustão

Computadores (i7) (Dell®)

Estufa (Nova ética®)

Evaporador rotativo (IKA®)

Freezer (Brastemp®)

Placas de agitação e aquecimento (IKA)

Vidrarias apropriadas

4.2 Planejamento racional da série quinolin-4-hidrazotiazolidinas

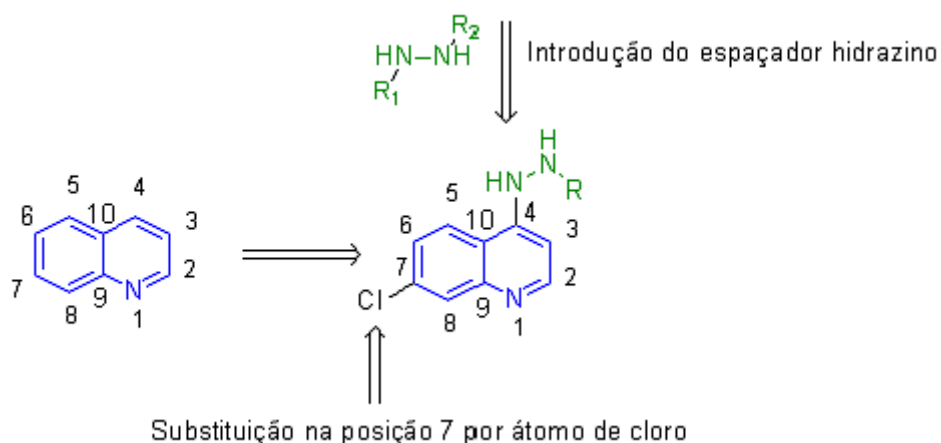
Após a análise bibliográfica nas bases literárias que abordam o assunto, optou-se por planejar moléculas com regiões estruturais previstas em diversos estudos relevantes realizados *in silico* e *in vitro*.

4.2.1 Seleção dos heterociclo quinolina e tiazolidina

O heterociclo quinolina, importante núcleo amplamente utilizado no desenvolvimento de moléculas leishmanicida, possui vários trabalhos demonstrando a sua importância frente doenças parasitárias (ANTINATELLI et al., 2016; COIMBRA et al., 2013; COIMBRA et al., 2016), bem como anticâncer (JAIN et al., 2016; MANDEWALE et al., 2017). Desta forma, optou-se pela utilização de tal núcleo 4-cloro substituído (Esquema 1, página 51), onde substituição nesta posição tem demonstrado importantes efeitos positivos no que diz respeito à estabilidade metabólica de derivados deste núcleo (ANTINARELLI et al., 2016; COIMBRA et al., 2016; MANDEWALE et al., 2017).

Ainda relativo ao núcleo quinolínico, observou-se, também, que a substituição na posição 4 por um grupamento espaçador hidrazino (Esquema 1, página 64) tem conferido reativa importância nestes derivados, uma vez que tal espaçador pode promover interações de hidrogênio com possíveis alvos enzimáticos (COIMBRA et al., 2013; COIMBRA et al., 2016; MANDEWALE et al., 2017).

Esquema 1 - Seleção do heterociclo quinolina 4,7-substituído

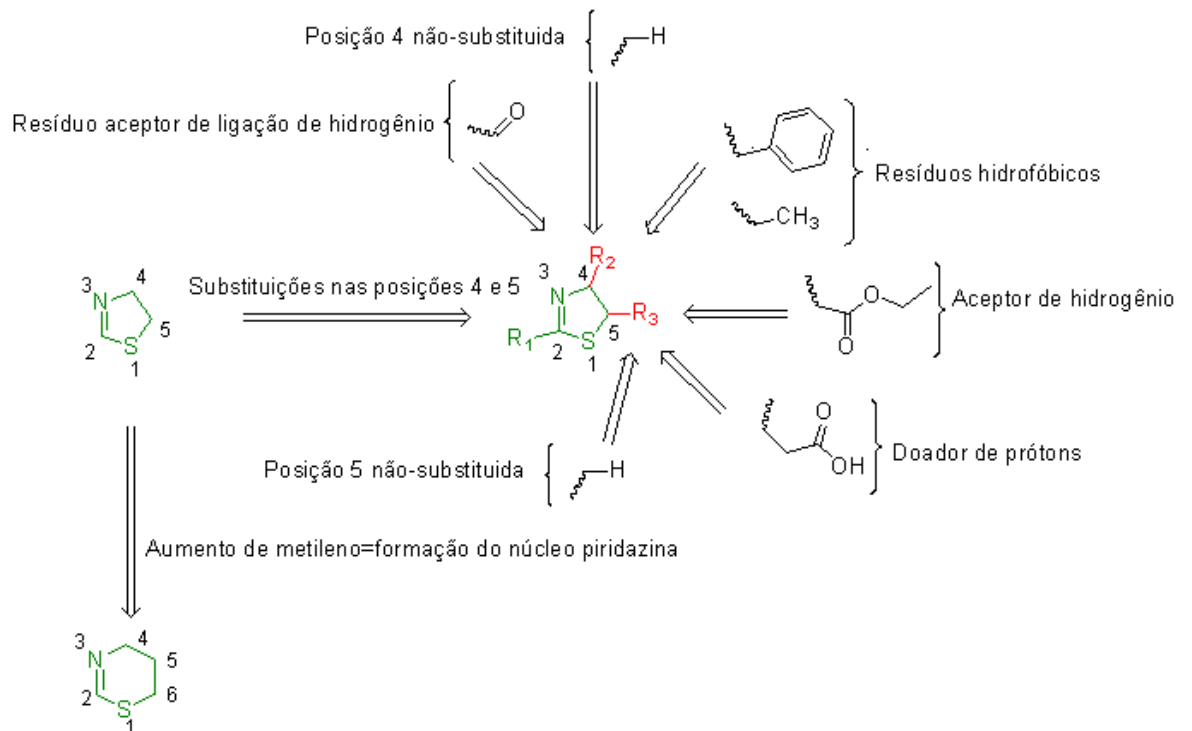


FONTE: AUTOR, 2017.

Da mesma forma, o núcleo tiazolidina também possui diversos estudos que demonstram sua relevância frente doenças parasitárias, em especial a leishmaniose, sendo reportadas pesquisas recentes demonstrando o potencial antiparasitário deste heterociclo (BEKHIT et al., 2015; BRUNIYA et al., 2015; CHADHA et al., 2015), bem como anticâncer (ASSATI et al., 2014; HAVRYUYUK et al., 2016).

Neste sentido, observou-se a variação de substituições nas posições 4 e 5, variando entre resíduos hidrofóbicos, como metil e fenil, além de resíduos aceptores, como carbonila e éster etílico, bem como doadores de ligação de hidrogênio, como ácido carboxílico (Esquema 2, página 65) (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016; SCHRÖDER et al., 2013; SWATHI et al., 2014).

Esquema 2 - Seleção do heterociclo tiazolidina 4,5-substituído



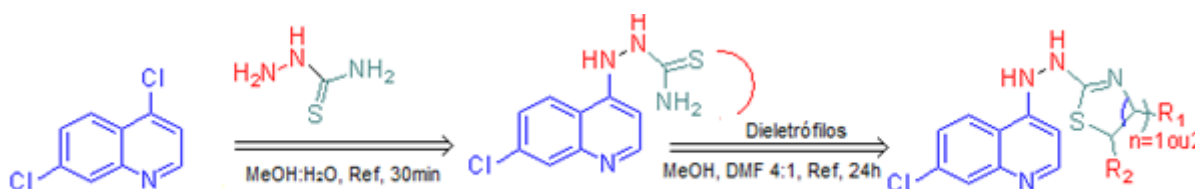
FONTE: AUTOR, 2017.

4.2.2 Aplicação da rigidificação molecular para obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina e interações químicas planejadas.

Após a seleção dos núcleos quinolina e tiazolidina, foi planejada a fusão de tais anéis por hibridação molecular, conforme esquema demonstrado no esquema 3, página 66. Desta forma, a condensação entre os anéis se deu pela condensação do grupamento tiossemicarbazida com o núcleo quinolina via reação SN2, em que tal grupamento substitui o átomo de cloro da posição 4, que fica no meio reacional na forma ácida - HCl (SOLOMONS, 2012), formando-se, assim, o intermediário proposto.

Logo após, optou-se pela realização da ciclização do grupamento tiossemicarbazida entre o átomo de enxofre e o átomo de nitrogênio *N*-terminal, fazendo-se uso de diferentes dieletrófilos, originando-se, desta forma, o anel tiazolidina R₁ / R₂ substituído (CHADHA et al., 2015; HAVRYLYUK et al., 2016; SCHRÖDER et al., 2013; SWATHI et al., 2014; SILVA-JUNIOR et al., 2016).

Esquema 3 - Aplicação da rigidificação molecular/hibridação para obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina.

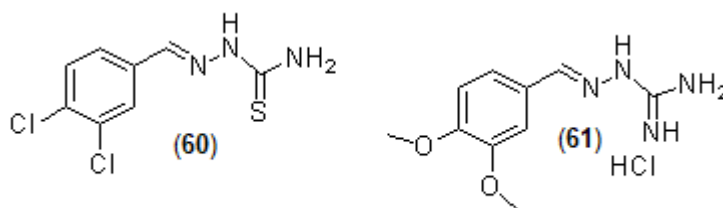


FONTE: AUTOR, 2017.

4.3 Planejamento racional da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos

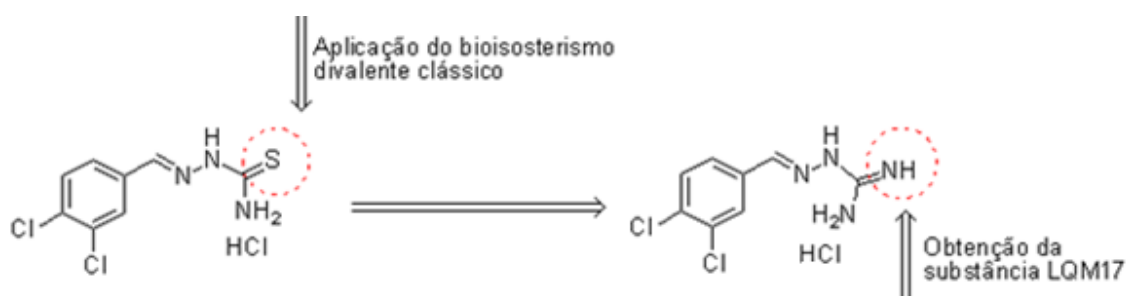
Inicialmente, os compostos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos foram idealizados com base na ciclização *N,N*-terminal de guanilidrazonas.

Desta forma, tais produtos foram obtidos a partir da quimioteca do nosso grupo de pesquisa, em que estas foram selecionadas de acordo com sua melhor avaliação leishmanicida frente amastigotas de *L. chagasi*. Em adição, as moléculas LQM17.1 (derivado tiossemicarbazona-TSC) (**60**) e LQM05 (**61**) (derivado aminoguanidina-AGH) foram os mais promissores, apresentando, respectivamente, $Cl_{50}=2.2$ e $0.77 \mu M$, além de inibição=66 e 56%.



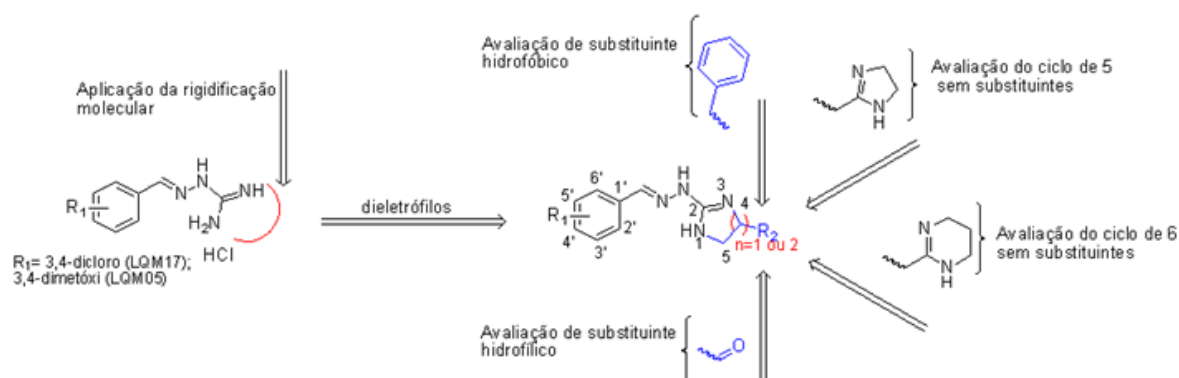
Com isto, a partir de tais compostos citados, foram realizadas modificações em torno destas estruturas, dentre as quais: modificação bioisostérica divalente para a substância LQM17.1 (**60**) (Esquema 4, página 67), alterando, assim, o átomo de enxofre por um átomo de nitrogênio, obtendo-se a substância LQM17 (**62**); rigidificação conformacional das substâncias LQM17 (**62**) e LQM05 (**61**) (Esquema 5, página 68), envolvendo os dieletrófilos 2-bromoacetofenona, cloroacetato de etila, além da condensação dos heterociclo diidroimidazol e tetraidropirimidina, obtendo-se, assim, os heterociclos imidazol e pirimidina .

Esquema 4 - Aplicação do bioisosterismo divalente na substância LQM17.1



FONTE: AUTOR, 2017.

Esquema 5 - Aplicação da rigidificação conformacional nas substâncias LQM05 e LQM17



FONTE: AUTOR, 2017.

4.4 Procedimentos reacionais

4.4.1 Procedimento geral de síntese da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina

Uma solução de 4,7-dicloroquinolina (1 mmol dissolvido em 10mL de metanol) foi adicionada a uma solução de tiossemicarbazida (1 mmol) dissolvida numa mistura de metanol-água destilada na proporção de 10:5 v/v. A mistura reacional foi posta sob agitação a 85 °C por 40 minutos, constatado seu término via CCD analítica e, após, resfriada a temperatura ambiente. Assim, formaram-se cristais amarelos do produto (**71**), sendo então filtrado e lavado algumas vezes com metanol quente e secado sob vácuo, obtendo-se o produto intermediário em rendimento de de 99% (MELHA, 2008).

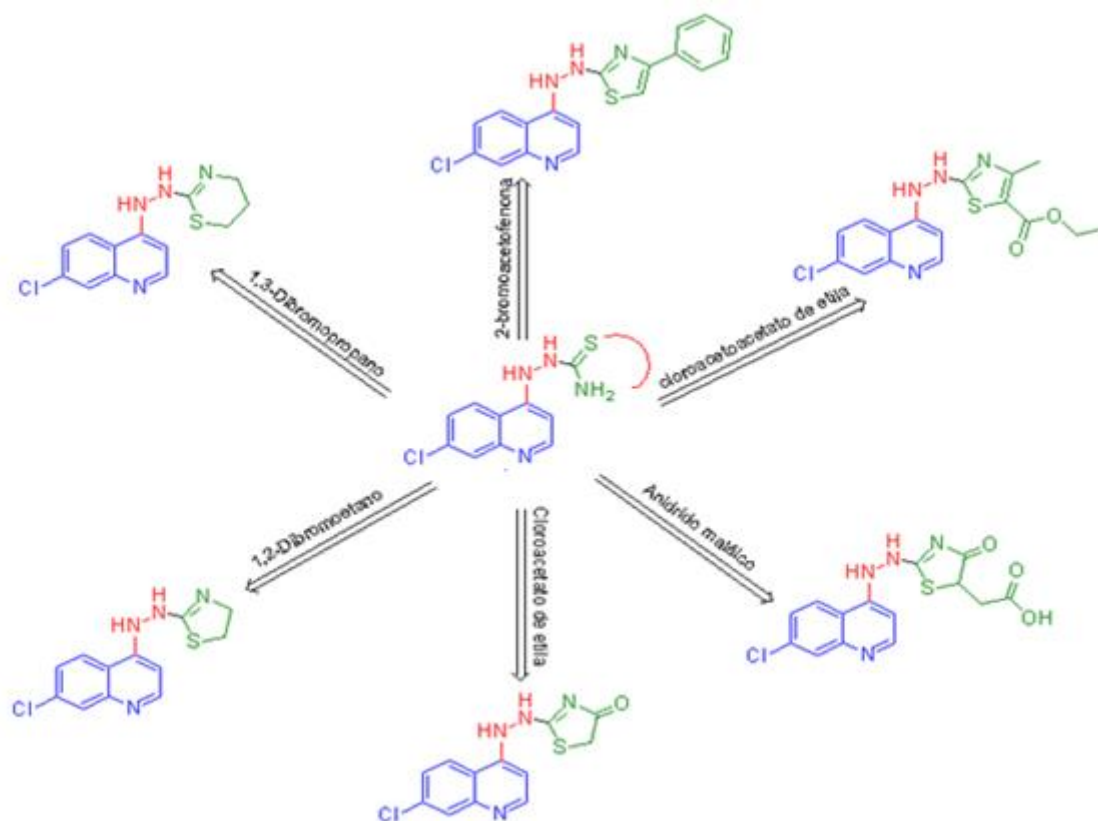
Após isto, uma mistura de (**71**) (1 mmol) foi posta sob agitação a 85 °C por 24 horas em MeOH:DMF 4:1, juntamente dos dieletrófilos (1,5 mmol – bromoacetofenona, cloroacetoacetato de etila, cloroacetado de etila, anidrido maleico, dibromoetano e dibromopropano), responsáveis pela rigidificação da região tioamida do produto (**63**). Em seguida foram adicionados 2 mmol da base acetato de sódio, (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016) (Esquema 6, página 69).

Assim, após o material de partida ser totalmente consumido, a mistura reacional foi resfriada a temperatura ambiente, evaporada a seco sob vácuo (rotaevaporador), lavada com água destilada e éter etílico gelado, sendo mais uma vez seca sob vácuo e purificado por recristalização em MeOH:água destilada (com exceção do composto (**73**), que foi submetido a uma coluna clássica).

Da mesma forma, as condições reacionais foram mantidas para a obtenção dos derivados via sonicação. Sendo assim, em um tubo selado, foram mantidas as mesmas proporções molares dos respectivos reagentes, bem como da base acetato de sódio, além dos solventes e temperatura.

Contudo, foi requerido um tempo menor para a formação dos produtos, em que este variou entre 25-55 minutos, sendo a reação monitorada por CCD analítica a cada 5 minutos. Tal fato se deve ao processo de cavitação ultrassônica promover uma maior taxa de colisões efetivas para que, desta maneira, sejam formados os derivados propostos em poucos minutos, com uma menor formação de produtos indesejáveis e, então, mais facilidade de purificação, culminando numa elevação dos rendimentos reacionais (BANERJEE, 2017; SHABALALA et al., 2015; SONG et al., 2015).

Esquema 6: - Obtenção da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina



FONTE: AUTOR, 2017.

4.4.2 Procedimento geral de síntese da série dos derivados Arilimidazólicos substituídos

Após a obtenção das substâncias **LQM05** e **LQM17**, conforme reportado em estudo publicado por nosso grupo de pesquisa, de acordo com França e colaboradores (2016), deu-se início ao processo de síntese dos novos derivados rigidificados, sendo então formados os anéis imidazol 4-substituídos, conforme demonstrado no esquema 7, página 71.

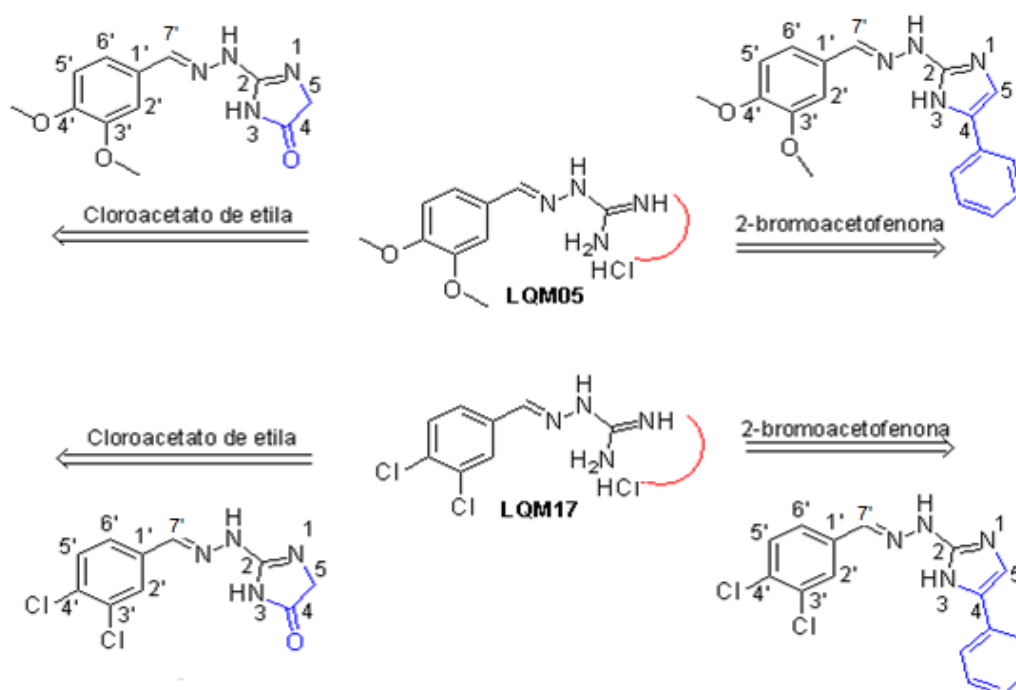
Desta forma, 1 mmol dos compostos **LQM05 (61)** e **LQM17 (62)** foram submetidos à agitação magnética com os correspondentes dieletrófilos (2-bromoacetofenona e cloroacetato de etila), em quantidades equimolares, utilizando como solvente 5 mL de dioxano anidro, além de 3 mmol de trietilamina, sob 85°C por 24h, sendo as reações monitoradas por CCD analítica (HASANEN et al., 2014; SHESTAKOV et al., 2007).

Logo após o término, a respectiva reação foi evaporada a seco, lavada com água e submetida a uma recristalização em MeOH:Água destilada. Por fim, após a recristalização, a mesma foi levada a resfriamento sob 0°C por 24h, onde logo após, o sólido obtido foi filtrado e seco sob vácuo.

Contudo, após obtenção e caracterização dos novos derivados, a metodologia sintética foi então analisada para redução dos tempos reacionais concomitantemente com a redução de formação dos produtos sob irradiação por micro-ondas. Para tanto, foram mantidas as mesmas condições reacionais, acrescentando-se, no entanto, a irradiação micro-ondas de 60 watts, variando-se o tempo reacional entre 20-40 min, onde estes foram acompanhados via CCD a cada 5 minutos (FRECENTESE et al., 2016).

Sendo assim, este promove uma maior vibração molecular e, com isto, acelera as colisões efetivas entre as moléculas reagentes, culminando numa formação de produtos mais rápida, com tempo mínimo, com pouca/nenhuma formação de subprodutos, o que facilita a purificação e eleva os rendimentos reacionais (FRECENTESE et al., 2016; KAPPE et al., 2012).

Esquema 7 - Obtenção da série Arilimidazol substituídos



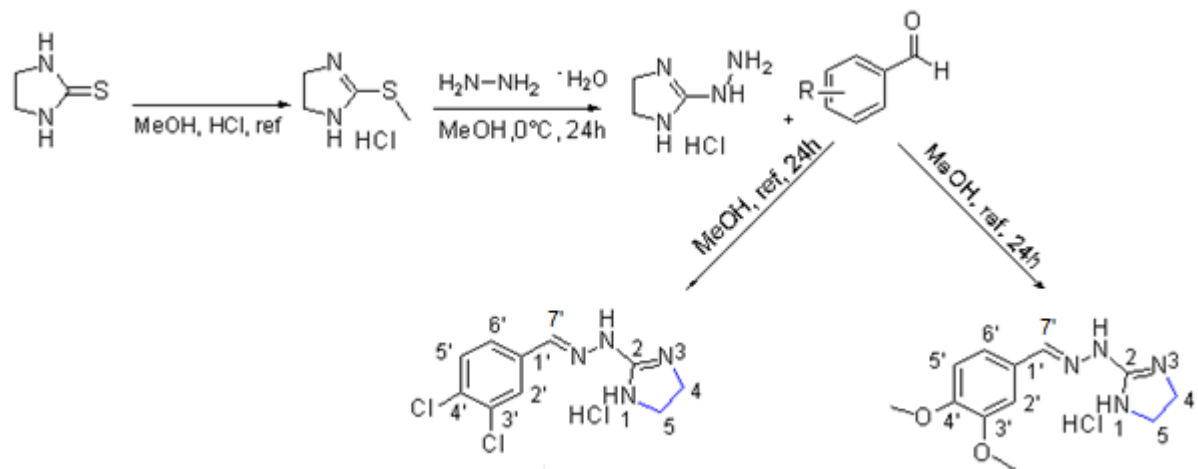
FONTE: AUTOR, 2017.

4.4.3 Procedimento geral de síntese da série Arildiidroimidazol e ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos

Os derivados rigidificados da série Arildiidroimidazol e ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por Shao e colaboradores (2009). Neste estudo os autores descrevem a S-metilação do heterociclo 2-imidazolidina-tiona e 2-pirimidina-tiona, utilizando ácido forte (HCl) e Metanol, sob refluxo por 24 horas, onde a reação foi monitorada via CCD analítica. A solução foi evaporada e o sólido resultante foi triturado em éter etílico.

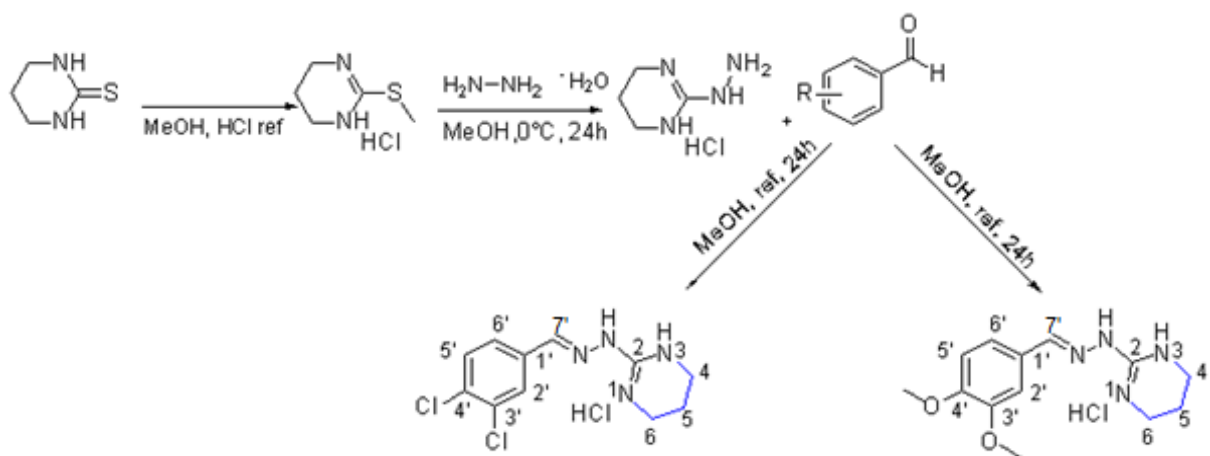
Após esta etapa, foi feita a condensação com hidrazina hidratada em metanol, sob agitação constante por 24 horas, a 0°C. Constatando seu término via CCD analítica, a solução foi evaporada a seco e o sólido obtido triturado em éter etílico, sendo, por fim, condensado com o requerido aldeído para a obtenção dos respectivos derivados de acordo com metodologia descrita por nosso grupo de pesquisa em estudo feito por Epifânio (2011), conforme demonstrado nos esquemas 8 e 9, página 72.

Esquema 8 - Obtenção dos derivados arildiidroimidazólicos não-substituídos



FONTE: AUTOR, 2017.

Esquema 9 - Obtenção dos derivados ariltetrahidropirimidínicos não-substituídos



FONTE: AUTOR, 2017.

4.5 Avaliação da viabilidade celular frente macrófagos

Após a obtenção dos derivados rígidos, estes serão submetidos a ensaio de viabilidade celular, através do ensaio colorimétrico do sal de tetrazólio (MTT - [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5- difenilbrometo de tetrazólio]) em células de macrófagos murinas da linhagem J774. O ensaio se dá pela conversão do sal em azul de formazan, onde apenas acontece em células metabolicamente ativas, uma vez que estas produzem

mais formazan que as inativas, mensurando-se a citotoxicidade dos compostos (MOSMANN, 1983).

4.5.1 Ensaio de citotoxicidade

Os macrófagos da linhagem J774 serão tratados em concentrações de 0,1-100 μM dos compostos diluídos em série em dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,1 % e tampão fosfato (PBS) para obtenção das concentrações finais (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), plaqueados em concentração de 1×10^5 células/mL. Logo após, serão adicionados em placa de 96 poços (100 μL / poço, a serem incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO_2 a 37°C. Logo após, serão adicionados 25 μL da solução de MTT (sal de tetrazolium), com reincubação das placas por 3h. Por fim, feita a dissolução dos cristais obtidos em DMSO, a absorbância em espectrofotômetro de placa a 550nm será analisada (HUSSAIN, 1993; MOSMANN, 1983).

4.6 Avaliação leishmanicida em amastigotas de *L. chagasi in vitro*

Os macrófagos da linhagem J774 (murino) serão tratados em placas de 24 poços com 1 mL de meio de cultura contendo 2×10^5 de células a serem infectados com 2×10^6 de promastigotas, em duplicata. Logo após o cultivo das células, estas serão tratadas em concentrações de 10^3 -100 μM com os compostos a serem testados ou padrão, mantidos durante 24 h a 37 ° C, 5% de CO_2 . Passadas 24 h, a placa será lavada e corada com Giemsa-Grünswald, obtendo-se as formas amastigotas intracelulares, contadas em 100 macrófagos. Desta forma, os dados obtidos serão analisados por média \pm S.E.M, com as diferenças estatísticas entre o grupo tratado e o grupo de controle avaliadas pelo teste de ANOVA e Dunnett hoc onde, de acordo com este teste, as diferenças com valor de $p < 0,05$ ou inferior consideram-se significativas. Por fim, os valores de CI_{50} serão calculados através de análise de regressão linear por valores de Kc nas concentrações propostas (ALVES et al., 2015).

4.7 Estudo da Citotoxicidade em Linhagens Celulares de Câncer Humano *in vitro*

As linhagens celulares de câncer humano utilizadas, HL-60 (leucêmica), PC-3 (adenocarcinoma de próstata) e SF-295 (glioblastoma), foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA). As linhagens foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, e mantidas em estufa a 37 °C e 5 % de CO₂ (MOSMANN, 1983).

Os compostos foram dissolvidos em DMSO na concentração estoque de 2 mg. Os estoques foram mantidos sob refrigeração (- 20 °C) até o momento do uso.

A citotoxicidade das amostras foi avaliada pelo método do MTT (Mosman, 1983). As células neoplásicas foram plaqueadas em placas de 96 poços (0,7 x 10⁵ células/mL) e as amostras foram adicionadas após 24 h. Em seguida, as placas foram incubadas por 72 h em estufa a 5 % de CO₂ e 37°C. O controle negativo recebeu a mesma quantidade de DMSO e as absorbâncias foram obtidas com o auxílio de um espectrofotômetro de placa a 595 nm.

As 7 amostras foram testadas em concentração única (10 µg). Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas, a partir do percentual de redução da viabilidade celular (RVC %) determinado:

- a) Amostra sem atividade (SA, percentual de redução da viabilidade celular menor que 1 %);
- b) Amostra com pouca atividade (PA, percentual de redução da viabilidade celular variando de 1 a 50 %);
- c) Amostra com atividade moderada (MO, percentual de redução da viabilidade celular variando de 50 a 70 %)
- d) Amostra com muita atividade (MA, percentual de redução da viabilidade celular variando de 70 a 100 %).

Amostras com RVC % maior que 70 % em pelo menos uma linhagem celular serão selecionadas para a determinação da CR₅₀ (concentração capaz de reduzir a viabilidade celular a 50 %).

As absorbâncias obtidas foram utilizadas para calcular o RVC % pelo programa *GraphPad Prism* versão 6.0. Cada amostra foi testada em quadruplicada a partir de dois experimentos independentes.

4.8 Determinação das CI₅₀ em Linhagens Celulares de Câncer Humano *in vitro*

As linhagens celulares de câncer humano utilizadas, HCT-116 (carcinoma de cólon), PC3(adenocarcinoma de próstata) , SF-295 (glioblastoma), HI-60 (leucêmica) e L929(Fibroblasto de tecido conectivo subcutâneo, origem murina) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA). As linhagens foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, e mantidas em estufa a 37 °C e 5 % de CO₂ (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

Os compostos foram dissolvidos em DMSO na concentração estoque de 2 mg/mL e testados na concentração máxima de 10 µg/mL. Os estoques foram mantidos sob refrigeração (- 20 °C) até o momento do uso.

A citotoxicidade das amostras foi avaliada pelo método do MTT (Mosman, 1983). As células neoplásicas foram plaqueadas em placas de 96 poços nas seguintes densidades (células/mL): 0,7 x 10⁵ (HCT-116); 0,1 x 10⁶ (SF-295), 0,1 x10⁶ (PC3), 1x 10⁵ (L929). As amostras foram adicionadas incubadas com as células em placas de 96 poços por 72 h em estufa a 5 % de CO₂ a 37°C. Doxorrubicina foi utilizada como controle positivo. As absorbâncias foram obtidas com o auxílio de um espectrofotômetro de placa a 595 nm.

As absorbâncias obtidas foram utilizadas para calcular a CI₅₀ (concentração capaz de inibir 50 % do crescimento celular) ou a CE₅₀ (concentração capaz de promover 50 % do efeito máximo) das amostras por regressão não-linear pelo programa *GraphPad Prism* versão 6.0. Cada amostra foi testada em triplicatas em dois experimentos independentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Compostos obtidos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos

Os compostos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos foram obtidos a partir da rigidificação da região amidina das aminoguanidinas LQM05(**61**) e LQM17(**62**), formando-se os respectivos heterociclos a partir destes intermediários.

5.1.1 Obtenção dos compostos **LQM05 (61)** e **LQM17(62)**

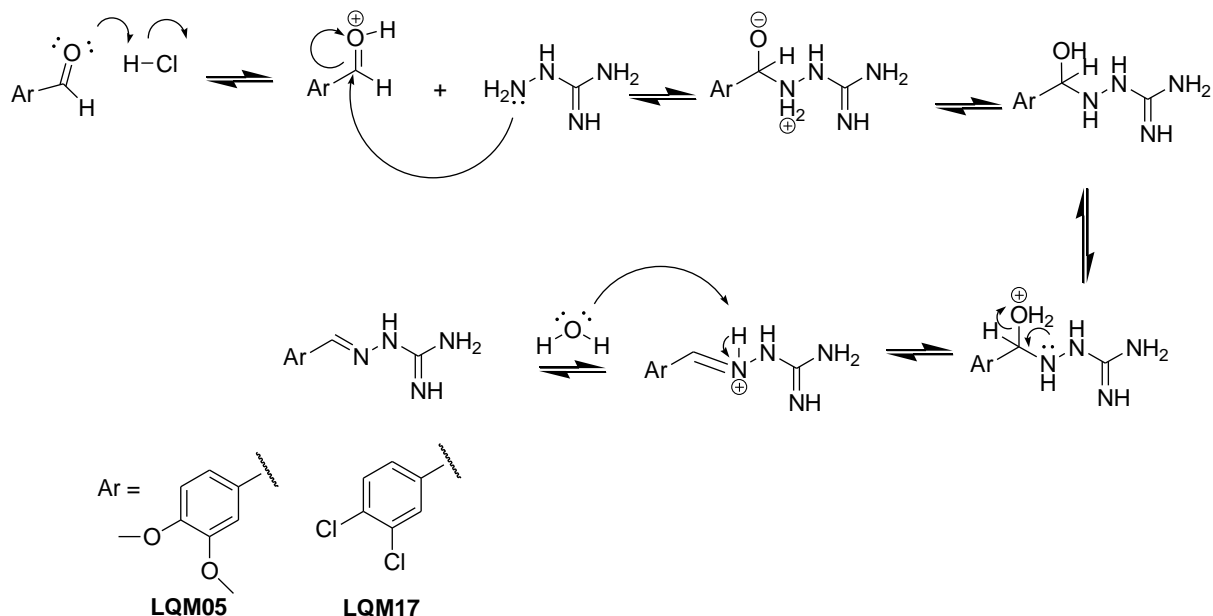
As guanilidrazonas foram obtidas com base em publicação anterior do nosso grupo de pesquisa, segundo França e colaboradores (2016), bem como Epifânio (2011), sendo estas adquiridas sem maiores problemas. Desta forma, seguiu-se a condensação do grupamento cloridrato de aminoguanidina (1 mmol) com os respectivos benzaldeídos 3,4-dissubstituídos (1,2 mmol): 3,4-diclorobenzaldeído e 3,4-dimetóxi-benzaldeído, dispersos em 5 mL de etanol sob 85°C e irradiação de 60W de potência em micro-ondas por 20 minutos. Logo após, a mistura reacional foi evaporada e o sólido obtido triturado com acetato de etila, rendendo os respectivos derivados.

5.1.1.2 Mecanismo reacional

Segundo relatado em estudo realizado por Epifânio (2011), o mecanismo reacional para a formação dos derivados arilaminoguanidínicos dar-se-á a partir da protonação do grupamento carbonila dos respectivos benzaldeídos a partir da ação do ácido clorídrico (HCl) presente no cloridrato de aminoguanidina, ocorrendo, logo após, um ataque nucleofílico da aminoguanidina à carbonila protonada. Deste modo, haverá, então, formação de um intermediário dipolar, seguido de uma transferência intramolecular do próton do átomo de nitrogênio para o oxigênio, ocorrendo como produto um aminoálcool. Por fim, como há protonação da hidroxila formada no aminoálcool, esta torna-se um excelente grupo abandonador, culminando com a perda de água, gerando um intermediário imínio iônico, em que este terá um próton

capturado por água, ocasionando os derivados LQM05 e LQM17 (Esquema 10, página 78).

Esquema 10 - Mecanismo reacional dos derivados LQM05(61) e LQM17(62)

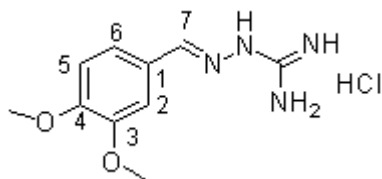


FONTE: EPIFÂNIO, 2011.

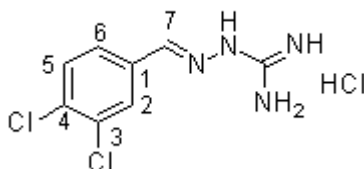
5.1.1.3 Caracterização por RMN ¹H e ¹³C

A partir da obtenção do espectro de hidrogênio para os derivados, foi observado um singleto em torno de δ 8.0 ppm, em que este se refere ao próton imínico, corroborando com a formação da ligação imina nas moléculas requeridas, além dos prótons aromáticos e amínicos.

Para o espectro de carbono, foi observado o carbono imínico num deslocamento em torno de 145 ppm, bem como o carbono guanidínico em torno de 155 ppm, somados aos carbonos aromáticos e metílicos (**LQM05 - 61**), o que induz à caracterização e, conseqüentemente, formação dos produtos idealizados.

5.1.1.4 Cloridrato de (3,4-dimetóxi benzilidenoamino) guanidina (**LQM05** - (61))

- Aspecto: Sólido amorfo branco; MM: 258,09 g/mol; rendimento: 98%; Rf: 0,50 (Hex/AcOEt1:1).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 3.80 (s, 6H, -OCH₃); 6.97 (d, 1H, J = 7.9, H5); 7.23 (d, 1H, J = 7.9, H6); 7.54 (s, 1H, H2); 8.09 (s, 1H, H7) (Retirado de Epifânio, 2011).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 109.17 (-OCH₃); 111.60 (-OCH₃); 123.09 (C2); 126.53 (C5); 147.39 (C7); 149.51 (C1); 151.47 (C6); 155.63 (-C=NH); 155.70 (C3); 156.16 (C4) (Retirado de Epifânio, 2011).

5.1.1.5 Cloridrato de (3,4-diclorobenzilidenoamino) guanidina (**LQM17** - (62))

- Aspecto: Sólido amorfo branco; MM: 265,99 g/mol; rendimento: 99%; Rf: 0,50 (Hex/AcOEt1:1).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 7.68 (d, 1H, J = 8.4Hz, H5); 7.79 (dd, 1H, J_1 = 8.4, J_2 = 2.0Hz, H6); 8.16 (s, 1H, H7); 8.24 (d, 1H, J = 2.0Hz, H2) (Retirado de Epifânio, 2011).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 128.45 (C2); 129.02 (C5); 131.33 (C1); 132.25 (C6); 133.13 (C3); 134.66 (C4); 144.75(C7); 155.81(-C=NH) (Retirado de Epifânio, 2011).

5.1.2 Aplicação da rigidificação para obtenção da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos 4-substituídos

Para obtenção da série ciclizada, a partir da obtenção dos compostos **LQM05** e **LQM17**, estes foram submetidos a uma rigidificação da região amidina da guanidina, para que, a partir de tal restrição conformacional, fosse obtido o heterociclo imidazol 4-fenil substituído.

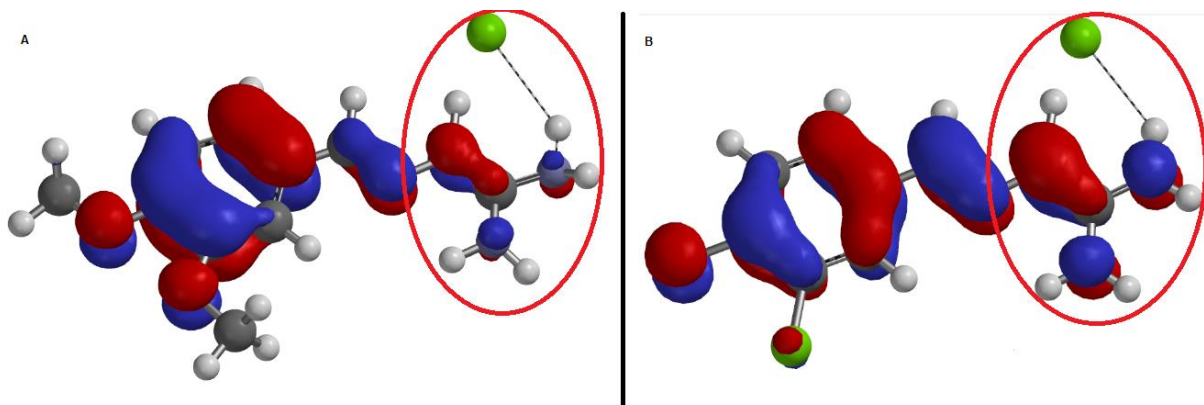
Para tanto, seguiu-se a metodologia descrita por Shestakov e colaboradores (2007), onde o composto **LQM05(61)** ou **LQM17(62)** foi dissolvido em 5 mL de dioxano anidro num balão juntamente com os correspondentes dieletrófilos (2-bromoacetofenona ou cloroacetato de etila), em proporções equimolares (1:1 mmol), para que este rigidifique a região proposta, adicionando-se, ainda, 3mmol da base trietilamina (pKa= 10.8, pH=13).

Ainda de acordo com o autor supracitado, o fato de se adicionar a base justifica-se devida à guanidina encontrar-se em sua forma de cloridrado, assim como os compostos **LQM05(61)** e **LQM17(62)**, em que a base irá neutralizar o ácido clorídrico, tornando o composto em sua forma neutra em solução. Justifica-se, ainda, a utilização de solvente polar aprótico (neste caso, dioxano anidro), pelo fato de haver risco do solvente prótico polar (MeOH, por exemplo), agir como base (pKa= 15.5), onde a forma CH_3OH_2^+ é uma fonte de metila susceptível a ataque nucleofílico pelo nitrogênio guanidínico.

Desta forma, assim como o estudo analisado de Shestakov e colaboradores (2007) sugere, foi feita a análise do mapa de densidade eletrônica HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital ou Orbital Molecular de mais Alta Energia Ocupado), mapa de densidade eletrônica LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital ou Orbital Molecular de mais Baixa Energia Desocupado), para os 2 compostos o com o auxílio do programa Spartan'08[®] (Wavefunction Inc., em ambiente Windows[®]) (Figura 26 e 27, página 81).

Com isto, é possível notar a deslocalização de densidade eletrônica HOMO para os dois compostos, conforme demonstrado na figura 20, página 66, onde tal fato se deve à protonação da região amidina da guanidina, havendo, então, deslocalização da carga positiva adquirida através dos nitrogênios guanidínicos, o que impede, conseqüentemente, o andamento da reação idealizada através do ataque nucleofílico entre os nitrogênios amidínicos e os respectivos dieletrófilos (SHESTAKOV et al., 2007).

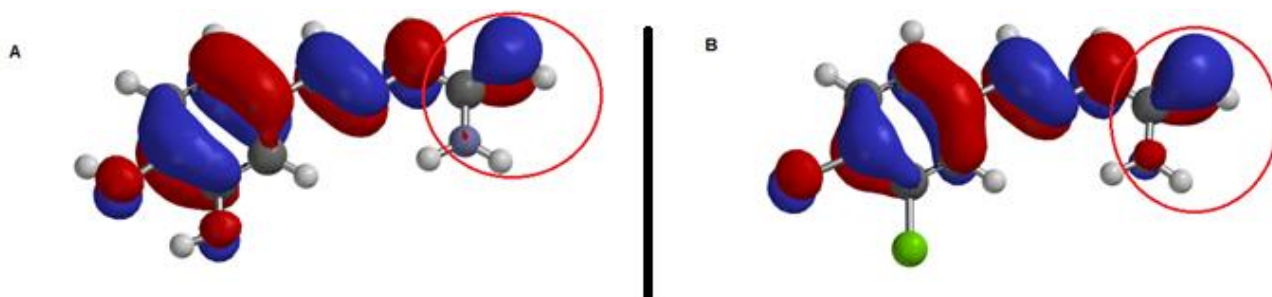
Figura 26 - Mapa de densidade eletrônica HOMO para os compostos LQM05 (A) e 17 (B), na forma de cloridrato



FONTE: AUTOR, 2017 (Spartan'08® (Wavefunction Inc., em ambiente Windows®)).

No entanto, ao observar a figura 27, página 81, nota-se que, após neutralização com a base trietilamina, os compostos LQM05 e 17, em suas formas neutras, apresentam orbitais de maior densidade eletrônica (HOMO) no nitrogênio -C=NH da amidina, que é o responsável pelo primeiro ataque nucleofílico ao correspondente dieletrófilo. Logo após, então, observa-se segundo ataque nucleofílico é gerado pelo nitrogênio -NH₂ amidínico, uma vez que existe tautomerismo entre os nitrogênios hidrazínicos (-NH-NH-) da aminoguanilidrazona, promovendo a rigidificação proposta (SHESTAKOV et al., 2007).

Figura 27 - Mapa de densidade eletrônica OMO para os compostos LQM05 (A) e 17 (B), na forma neutra

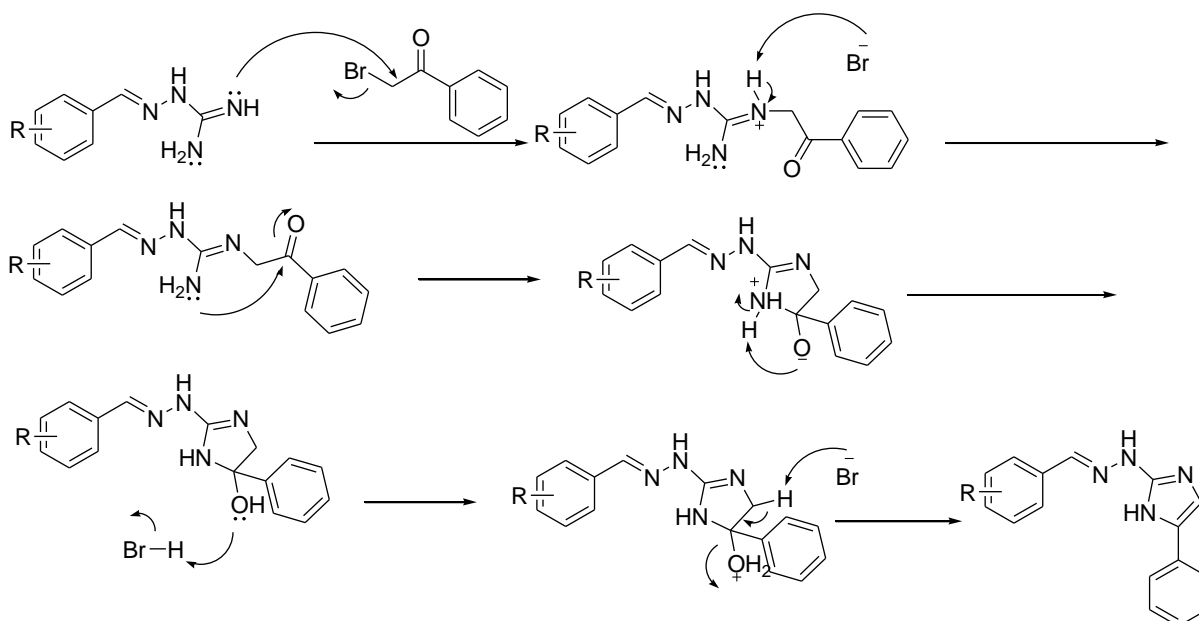


FONTE: AUTOR, 2017 (Spartan'08® (Wavefunction Inc., em ambiente Windows®)).

5.1.3 Mecanismos reacionais envolvendo a rigidificação promovida pelo dieletrófilo 2-bromoacetofenona

O mecanismo reacional encontra-se demonstrado no esquema 11, página 82. Inicialmente, ocorre a neutralização da forma cloridrato dos compostos LQM05 e 17, em que, logo após, ocorre um ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio =NH da amidina, uma vez que este possui maior densidade eletrônica que o nitrogênio -NH₂ desta, uma vez que é hibridizado sp^2 , ao carbono α -halogenado da 2-bromoacetofenona. Em seguida, ocorre saída do grupo abandonador (-Br) em que o íon brometo, então grupo abandonador, abstrai o próton amínico, de forma a estabilizá-lo. Seguindo o mecanismo reacional, ocorre um ataque intramolecular do par de elétrons livre da amina à carbonila do dieletrófilo, onde o oxigênio, carregado negativamente, abstrai o próton do nitrogênio positivamente carregado, estabilizando a estrutura formada. Finalmente, com a espécie ácida protonando a hidroxila do anel formado, haverá o favorecimento de uma β -eliminação por desidratação, formando a molécula requerida (SHESTAKOV et al., 2007; SILVA-JUNIOR et al., 2016).

Esquema 11 - Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo o dieletrófilo 2-bromoacetofenona



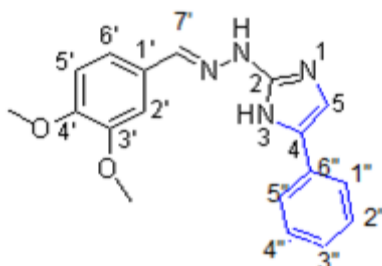
FONTE: AUTOR, 2017.

5.1.4 Caracterização por RMN ¹H e ¹³C

Para caracterização estrutural, foi um singleto relativo ao próton do -CH do imidazol formado num deslocamento em torno de 7.90 ppm nas duas ciclizações, no

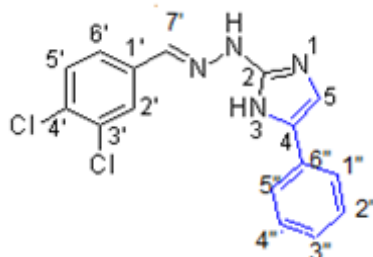
espectro de ^1H . Já para o espectro de ^{13}C , foi observado no deslocamento em torno de 100 ppm um sinal relativo ao $-\text{CH}$, onde os dados de ^1H e ^{13}C corroboram para a identificação da molécula.

5.1.4.1 (E) -1-(3,4-dimetóxi benzilideno-2-(5-fenil-1H-imidazol-2-il)hidrazina (63)



- Aspecto: Sólido cristalino marrom escuro; MM: 332.14 g/mol; rendimento: 75%; PF:245°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 3.81 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); 3.85 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); 6.17 (2H, s, NH); 7.06 (1H, d, $J=8.44\text{Hz}$, H5'); 7.18 (1H, t, $J=7.29\text{Hz}$, H6); 7.34 (3H, t, $J=7.65\text{Hz}$, H2'', 3'', 4''); 7.62 (1H, s, H2'); 7.79 (2H, $J=7.54\text{Hz}$, H1'', 5''); 7.96 (1H, s, H5'); 8.47 (1H, s, H7') (Ver anexo C).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 55.57 ($-\text{OCH}_3$); 55.61 ($-\text{OCH}_3$); 101.24 (C5); 108.68 (C1''); 111.21 (C2''); 111.33 (C4''); 122.89 (C5''); 123.99 (C2'); 126.28 (C4); 126.42 (C6'); 128.40 (C5'); 134.40 (C3'); 136.20 (C4'); 146.73 (C2); 146.78 (C7'); 149.12 (C1'); 149.32 (C6''); 151.15 (C3'').

5.1.4.2 (E) -1-(3,4-diclorobenzilideno-2-(5-fenil-1H-imidazol-2-il)hidrazina (64)



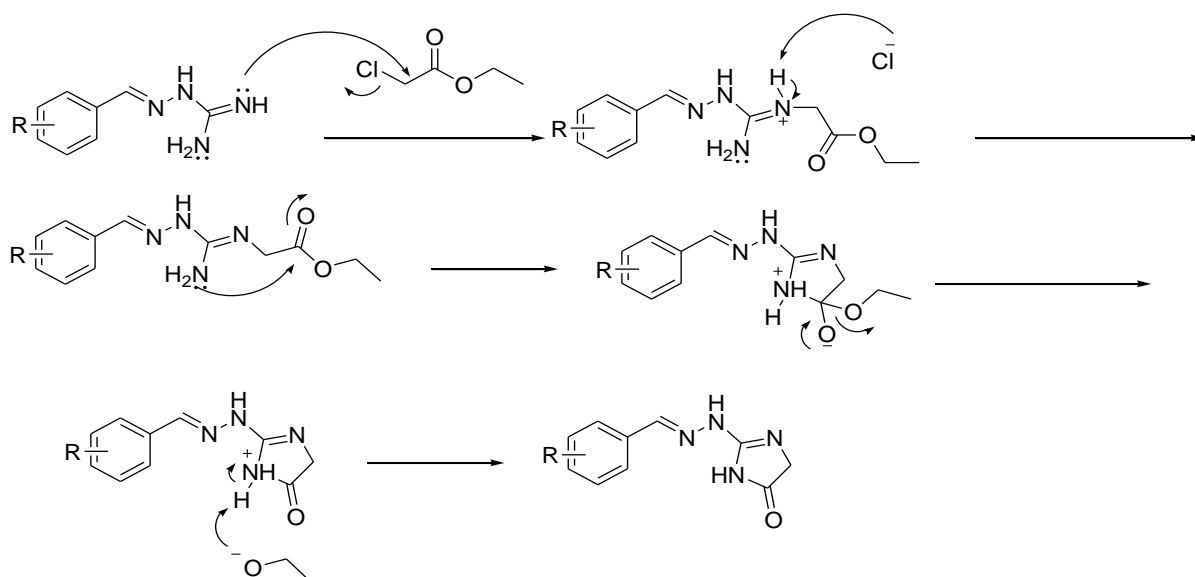
- Aspecto: Sólido cristalino marrom escuro; MM: 330.04 g/mol; rendimento: 70%; PF:232°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 6.41 (2H, s, NH); 7.21 (1H, t, $J=7.19\text{Hz}$, H3''); 7.36 (2H, t, $J=7.68\text{Hz}$, H2'', 4''); 7.70 (2H, d, $J=7.56\text{Hz}$, H5', 6'); 7.79 (2H, dd, $J_1=12.06$; $J_2=8.18$, H1'', 5''); 7.93 (1H, s, H5); 8.29 (1H, s, H2'); 8.53 (1H, s, H7') (Ver anexo D).

- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 100.92 (C5); 124.04 (C1''); 124.44 (C2''); 124.81 (C4''); 126.43 (C5''); 128.00 (C2'); 128.35 (C4); 129.12 (C6'); 130.99 (C5'); 131.83 (C3'); 132.53 (C4'); 134.21 (C2); 134.61 (C7'); 137.10 (C1'); 143.68 (C6''); 149.87 (C3'').

5.1.5 Mecanismos reacionais envolvendo a rigidificação promovida pelo dieletrófilo cloroacetato de etila

Dando-se início ao mecanismo reacional de rigidificação por meio do dieletrófilo cloroacetato de etila, ocorre um ataque nucleofílico entre o par de elétrons livre do nitrogênio =NH da amidina e o carbono α -halogenado do dieletrófilo. Desta forma, haverá um ataque intramolecular do par de elétrons do nitrogênio -NH₂ amidínico e a carbonila da função éster, seguido da saída de etanol, culminando na formação do anel imidazol-4-ona substituído (Esquema 12, página 84) (SHESTAKOV et al., 2007; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

Esquema 12 - Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo o dieletrófilo cloroacetato de etila



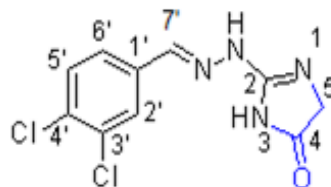
FONTE: AUTOR, 2017.

5.1.6 Caracterização por RMN ^1H e ^{13}C

A partir da análise dos produtos formados, observou-se no espectro de ^1H um singlete na região de 4.00-4.60 ppm referente aos hidrogênios do metileno da posição 4-imidazólica, inferindo a formação do heterociclo requerido. Corroborando com estes

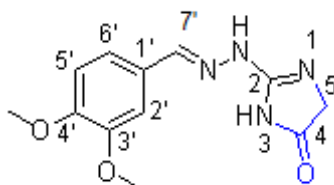
dados, observou-se no espectro de ^{13}C o carbono metileno em sinal na região de 55.00-60.00 ppm, indicando a formação dos produtos propostos (SHESTAKOV et al., 2007; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

5.1.6.1 (E)-2-(2-(3,4-diclorobenzilideno)hidrazinil)-1H-imidazol-5(4H)-ona (**65**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 270.01 g/mol; rendimento: 80%; PF:255°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 4.07 (2H, s, H5); 7.70 (2H, t, $J=4.36\text{Hz}$, H5',6'); 7.76 (1H, d, $J= 8.72\text{Hz}$, H2'); 8.07 (1H, s, NH); 8.25 (1H, s, H7'); 8.42 (1H, s, NH) (Ver anexo E).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): $\delta=$ 54.39 (C5); 132.80 (C2'); 133.20 (C6'); 136.11 (C5'); 136.95 (C3'); 137.00 (C4'); 140.46 (C2); 144.35 (C7'); 173.46 (C1'); 186.16 (C4).

5.1.6.2 (E)-2-(2-(3,4-dimetóxi benzilideno)hidrazinil)-1H-imidazol-5(4H)-ona (**66**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 262.11 g/mol; rendimento: 68%; PF:278°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 3.80 (6H, s, $-\text{OCH}_3$); 4.29 (1H, s, H5); 4.57 (1H, s, H5); 7.05 (1H, d, ar, $J=8.24\text{ Hz}$, H2'); 7.25 (1H, d, ar, $J=8.85\text{Hz}$, H5'); 7.32 (1H, s, H6'); 7.85 (1H, s, H7') (Ver anexo F).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): $\delta=$ 55.44 ($-\text{OCH}_3$); 55.54 ($-\text{OCH}_3$); 61.44 (C5); 108.52 (C2'); 111.55 (C6'); 121.59 (C5'); 126.57 (C3'); 144.62 (C7'); 149.02 (C2); 150.63 (C4'); 152.14 (C1'); 167.25 (C4).

5.2 Compostos obtidos da série arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos não-substituídos

Para os compostos arilidrazoimidazólicos não-substituídos, seguiu-se a metodologia descrita por Shao e colaboradores (2009), juntamente com a de Ulrich & Cerami (1984), as quais relatam o processo de obtenção dos derivados arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos não-substituídos a partir da condensações do heterociclo não-substituídos com os respectivos aldeídos aromáticos, culminando com os derivados propostos, bem como os mecanismos reacionais envolvidos.

5.2.1 Obtenção dos compostos rigidificados arilidrazoimidazólicos não-substituídos

Seguindo a metodologia descrita por Shao e colaboradores (2009), iniciou-se a metodologia sintética a partir do composto 2-imidazolidinona, em que o mesmo foi submetido a uma S-metilação utilizando HBr concentrado na proporção de 3mmol, além de MeOH como fonte de metila na proporção de 3mmol, postos à agitação constante num tubo selado sob 85°C, constado o término da reação por CCD analítica após 24h. Logo após, a mistura reacional foi evaporada a seco e triturada com éter etílico, em que o precipitado obtido, a 2-imidazolidina S-metilada, foi submetida a agitação constante em tubo selado para condensação com hidrazina hidratada em proporções equimolares, dissolvidos em etanol a 0°C.

Após obtenção do composto referido, este foi submetido a condensação por substituição nucleofílica com os respectivos benzaldeídos, seguindo a metodologia descrita por Ulrich & Cerami (1984) e adaptada por nosso grupo de pesquisa em trabalho realizado por França (2014), semelhantemente à obtenção dos compostos LQM05 e LQM17. Assim, a condensação foi realizada utilizando 1 mmol da aminoguanidina ciclizada para 1,2 mmol do respectivo benzaldeído, dissolvidos em etanol e submetidos a agitação constante por 24h sob 85°C. Desta forma, após constatação do término reacional por CCD analítica, a mistura reacional foi evaporada e o sólido obtido triturado com acetato de etila, rendendo os respectivos derivados propostos.

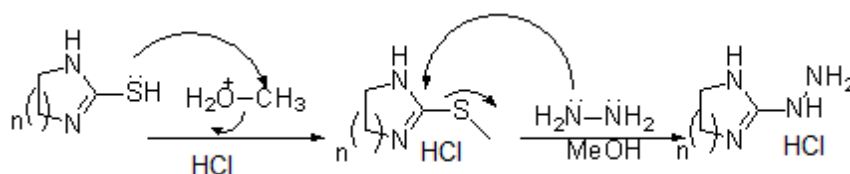
5.2.2 Mecanismos reacionais

Os mecanismos reacionais envolvendo a obtenção dos derivados arilidrazoimidazólicos e arilidrazopirimidínicos não-substituídos encontra-se ilustrada conforme esquema 13 e 14 (páginas 87 e 88, respectivamente).

Desta forma conforme observado no esquema 13, página 87, o mecanismo reacional inicia-se com a forma tautomérica da 2-imidazolidinona/2-pirimidinona, assim como a protonação do metanol pelo ácido clorídrico. Devido a tal fato, as condições reacionais propiciam o par de elétrons livre do tiol formado atacar o metanol protonado, havendo saída de água. Logo após, ocorre mais um ataque nucleofílico, desta vez envolvendo o par de elétrons livre do nitrogênio hidrazínico e o carbono S-metilado, uma vez que este constitui grupo abandonador, formando o derivado aminoguanidínico rígido de 5 ou 6 membros.

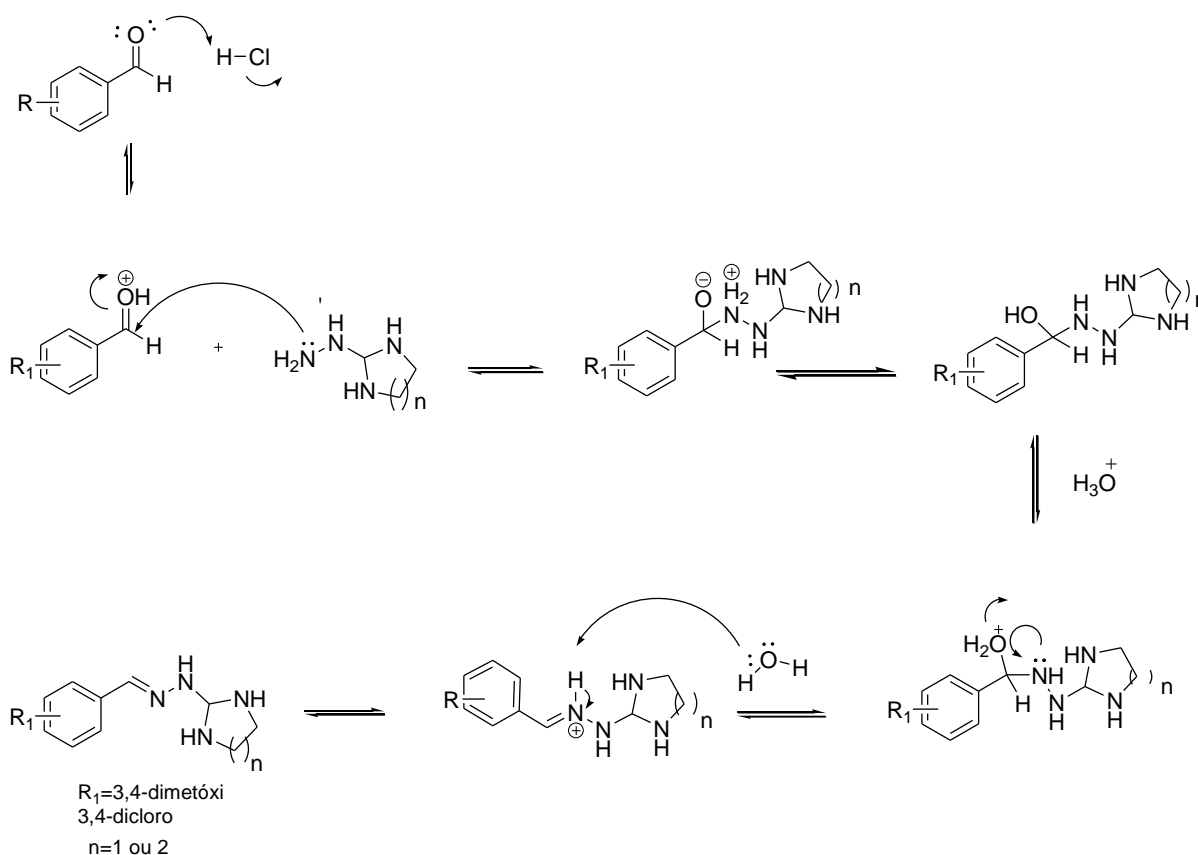
Logo após a obtenção da aminoguanidina rigidificada, foi feita uma substituição nucleofílica para que esta fosse condensada aos respectivos benzaldeídos, da mesma forma que os compostos LQM05 e LQM07 (Esquema 14, página 88).

Esquema 13 - Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo arilidrazodiidroimidazólicos e ariltetraidropirimidínicos não-substituídos (formação da aminoguanidina rigidificada).



AUTOR, 2017 (ADAPTADO de SHAO et al., 2009).

Esquema 14 - Mecanismo reacional para a rigidificação envolvendo arilidrazodiidroimidazólicos e ariltetraidropirimidínicos não-substituídos (substituição nucleofílica envolvendo aminoguanidina ciclizada e os respectivos benzaldeídos).



AUTOR, 2017 (ADAPTADO de ULRICH & CERAMI, 1984).

5.2.3 Caracterização por RMN ^1H e ^{13}C

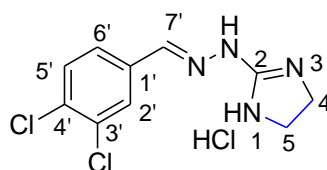
Para os compostos obtidos, a caracterização dos heterociclo formados seguiu observando os metilenos destes, sendo 2 metilenos para o derivado arildiidroimidazólico e 3 para o ariltetraidroimidínico.

Contudo, os mesmos foram observados nos respectivos espectros de ^1H para o ciclo de 5 membros, observou um singlete para 4 hidrogênios em torno de 3.73-3.74 ppm, sendo o sinal característico do heterociclo diidroimidazol. No entanto, para o espectro de ^{13}C , observou-se um sinal em torno de 43.26-43.27 ppm referente aos carbonos metileno do heterociclo (SHAO et al., 2009; SILVERSTEIN, 2000).

De maneira semelhante, observou-se os espectros de ^1H para os compostos relativos ao heterociclo de 6 membros. Assim, foi analisado um singlete para 2 hidrogênios em torno de 1.90 ppm referente ao H5, bem como um singlete em torno de 3.33-3.37 ppm caindo junto do sinal da água, referente à 4 hidrogênios referentes aos H3 e H4 do heterociclo formado. Contudo, para o espectro de ^{13}C , foi visto um

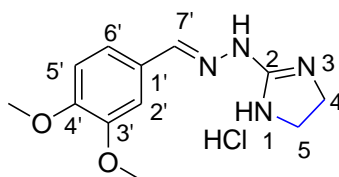
sinal em torno de 20.00 ppm para o C5, uma vez que este é o átomo de carbono mais blindado do heterociclo, além de um sinal em torno de 38.00 ppm referentes aos C3 e C4. Em adição, tais átomos saem no mesmo sinal pelo fato de serem quimicamente equivalentes, pois os nitrogênios do ciclo estão em ressonância, compartilhando entre si a dupla ligação, somados a um equilíbrio tautomérico (SHAO et al., 2009; SILVERSTEIN, 2000).

5.2.3.1 Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4'')-diclorobenzilideno)hidrazinil]-4,5-diidro-1H-imidazol (**67**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 293.58 g/mol; rendimento: 68%; PF:278°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 3.74 (4H, s, H4 e H5); 7.73 (1H, *d*, $J=8.36$ Hz, H5'); 7.79 (1H, *dd*, $J_1=8.44$ Hz, $J_2=1.55$ Hz, H6'); 8.21 (1H, *d*, $J=1.63$ Hz, H2'); 8.27 (1H, s, H7'); 8.82 (2H, *sl*, NH) (Ver anexo G).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): $\delta=$ 43.26 (C4 e C5); 128.38 (C2'); 128.95 (C5'); 131.43 (C6'); 132.30 (C1'); 133.25 (C3'); 134.68 (C4'); 145.78 (C7'); 158.37 (C2).

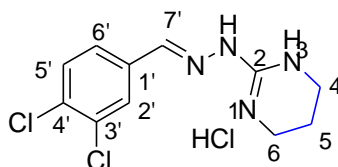
5.2.3.2 Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4'')-dimetoxibenzilideno)hidrazinil]-4,5-diidro-1H-imidazol (**68**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 284.10 g/mol; rendimento: 68%; PF:278°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 3.73 (4H, s, H4 e H5); 3.81 (3H, s, -OCH₃); 3.84 (3H, s, -OCH₃); 7.02 (1H, *d*, $J=8.21$ Hz; H5'); 7.25 (1H, *dd*, $J_1=8.34$ Hz, $J_2=1.61$ Hz); 7.52 (1H, *d*, $J=1.75$ Hz, H2'); 8.21 (1H, s, H7') (Ver anexo H).

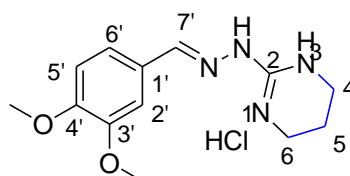
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 43.21 (C4 e C5); 56.10 (-OCH $_3$); 56.22 (-OCH $_3$); 109.22 (C2'); 111.84 (C5'); 122.98 (C6'); 126.55 (C1'); 148.42 (C7'); 149.61 (C3'); 151.66 (C4'); 158.20 (C2).

5.2.3.2 Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-diclorobenzilideno)hidrazinil]-1,4,5,6-tetraidropirimidina (**69**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 306.02 g/mol; rendimento: 68%; PF:278°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 1.92 (2H, s, H5); 3.34 (4H, s, H3 e H4); 7.73 (1H, *d*, J =8.09 Hz, H5'); 7.82 (1H, *d*, J =8.09 Hz, H6'); 8.17 (1H, s, H2'); 8.26 (1H, s, H7'); 8.53 (2H, s, NH) (Ver anexo I).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 19.95 (C5); 38.48 (C3 e C4); 128.35 (C2'); 128.86 (C5'); 131.38 (C6'); 132.25 (C1'); 132.94 (C3'); 134.97 (C4'); 143.64 (C7'); 151.61 (C2).

5.2.3.2 Cloridrato de (E)-2-[2'-(3'',4''-dimetoxibenzilideno)hidrazinil]-1,4,5,6-tetraidro-pirimidina (**70**)



- Aspecto: Sólido cristalino branco; MM: 298.12 g/mol; rendimento: 68%; PF:278°C; Rf: 0,50 (DCM:MeOH 15%).
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ 1.90 (2H, *qt*, J =5.13 Hz, H5); 3.80 (3H, s, -OCH $_3$); 3.83 (3H, s, -OCH $_3$); 7.00 (1H, *d*, J =8.51 Hz, H5'); 7.27 (1H, *dd*, J_1 =8.29 Hz, J_2 =1.62 Hz, H6'); 7.52 (1H, *d*, J =1.81 Hz, H2'); 8.09 (1H, s, H7'); 8.38 (2H, s, NH) (Ver anexo J).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6): δ = 20.11 (C5); 38.46 (C3 e C4); 56.08 (-OCH $_3$); 56.32 (-OCH $_3$); 109.73 (C2'); 111.85 (C5'); 122.67 (C6'); 126.80 (C1'); 146.34 (C7'); 149.56 (C3'); 151.44 (C4'); 151.58 (C2).

5.3 Caracterização da série por Espectroscopia de Infravermelho (IV)

A partir da análise por Espectroscopia de Infravermelho (IV), foi possível evidenciar a formação dos referidos compostos da série Arilimidazólicos e Arilpirimidínicos, corroborando com as análises via Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C .

Sendo assim, as principais bandas de absorção nos Espectros de IV para a referida série estão descritas conforme tabela 1, página 92, onde para a molécula **LQM05** foi evidenciado duas bandas de absorção: em 1634 cm^{-1} , estiramento (ν) referente ao grupamento amidina, bem como em 1209 cm^{-1} , grupamento éster fenólico do substituinte aril (3,4-dimetóxi), corroborando com a formação da substância. De maneira semelhante, foi evidenciado para a molécula **LQM17** duas bandas, onde em 1633 cm^{-1} , estiramento (ν) referente ao grupamento amidina, da mesma maneira que o composto anterior. Porém, devido ao substituinte aril ser grupamento 3,4-Cl-, observou-se em 819 cm^{-1} , estiramento (ν) característica da ligação C (aromático)-Cl, o que se repete nos derivados ciclizados a partir destes dois intermediários (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Para os derivados rigidificados a partir dos intermediários **LQM05 e LQM17**, foram evidenciados os seguintes grupamentos: para os compostos substituintes 4-fenil imidazólicos, 3 bandas de absorção, onde para o composto (**63**) observou-se em 1644 cm^{-1} , estiramento (ν) do grupo amidina, bem como em 754 e 696 cm^{-1} , estiramento (ν) característico do substituinte 4-fenil imidazol (fenil monossustituído). Da mesma maneira, para a substância (**64**), em 1642 cm^{-1} , estiramento (ν) do grupo amidina, bem como em 770 e 695 cm^{-1} , estiramento (ν) do substituinte fenil (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

No entanto, para os derivados 4-ona imidazol substituídos, foram evidenciados três bandas de absorção, onde para o composto (**65**), observou-se em 1722 cm^{-1} , estiramento (ν) referente ao grupamento carbonila substituinte do anel imidazol na posição 4, bem como em 1644 cm^{-1} , estiramento (ν) do grupamento amidina e, por fim, em 1465 cm^{-1} , estiramento (ν) característico de metileno, corroborando com a formação do anel imidazol na posição 5. De maneira semelhante, para o composto (**66**), os mesmos grupamentos foram encontrados, onde em 1727 cm^{-1} , estiramento (ν) referente à carbonila da posição 4-imidazol, bem como em 1599 cm^{-1} , estiramento

(v) do grupo amidina, culminando com uma banda em 1449 cm^{-1} , referente ao estiramento (v) do metileno 5-imidazol (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Por fim, para os derivados não substituídos, foram evidenciadas duas bandas de absorção, onde em torno de 1644 a 1662 cm^{-1} , estiramento (v) do grupamento amidina, bem como em 1460 a 1471 cm^{-1} , estiramento (v) característico dos metilenos das posições 4 e 5 – anel imidazol (**67** e **68**), além das posições 4,5 e 6 – anel pirimidina (**69** e **70**), corroborando com a formação de tais substâncias (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Tabela 1 – Principais bandas de absorção no Espectro de Infravermelho para a série Arilimidazol e Arilpirimidínico

BANDAS DE ABSORÇÃO E SEUS GRUPAMENTOS EM CM^{-1}

CÓDIGO	C=O	Amidina	-CH₂-	Fenil	Substituinte aril	Anexo
LQM05	-	1634	-	-	Éster fenólico (3,4-dimetóxi): 1209	A
LQM17	-	1633	-	-	C(aromático)-Cl (3,4-Cl): 819	B
63	-	1644	-	754/696	-	C
64	-	1642	-	770/695	-	D
65	1722	1644	1465	-	-	E
66	1727	1599	1449	-	-	F
67	-	1658	1460	-	-	G
68	-	1660	1461	-	-	H
69	-	1662	1461	-	-	I
70	-	1644	1461	-	-	J

FONTE: AUTOR, 2017.

5.4 Comparação de tempo reacional envolvendo metodologia sintética convencional e irradiação por micro-ondas

As condições reacionais para obtenção dos derivados imidazólicos e pirimidínicos sob irradiação por micro-ondas foram mantidas conforme metodologia

convencional. No entanto, a irradiação por micro-ondas promove uma energia superior reacional em comparação com a metodologia convencional, uma vez que tal irradiação constitui aquecimento sem variações, bem como eleva as colisões efetivas entre as moléculas reagentes. Sendo assim, os produtos são obtidos em tempos reacionais menores e em rendimentos reacionais maiores, uma vez que o aquecimento sem variações promove menor formação de subprodutos, bem como facilidade na purificação dos produtos reacionais (FRANÇA et al., 2016; FRECENTESE et al., 2016).

Os compostos **LQM05** e **LQM17** foram obtidos conforme descrito em trabalho publicado por nosso grupo de pesquisa (FRANÇA et al., 2016), onde o tempo reacional foi reduzido de 24h para 25min. Com isto, seguindo as mesmas condições de irradiação por micro-ondas – 60Watts – os compostos (**63-66**) foram obtidos também em tempos reacionais menores (20-40min), além de aumentar seus rendimentos (85-92%). Para os compostos (**67-70**), as reações foram feitas em duas etapas, cada uma de 20 min, reduzindo o tempo da reação convencional que era, também em cada etapa, de 12h (Tabela 2, página 93).

Tabela 2 - Rendimentos e tempos reacionais dos derivados arilimidazólicos e arilpirimidínicos

CÓDIGO	CONVENCIONAL			MICRO-ONDAS		
	Tempo(h)	T(°C)	Rend(%)	Tempo(min)	T(°C)	Rend(%)
(63)	24	85	75	25	85	85
(64)	24	85	70	25	85	87
(65)	24	85	80	35	85	85
(66)	24	85	68	40	85	90
(67)	24	85	79	40	85	90
(68)	24	85	70	40	85	92
(69)	24	85	65	40	85	90
(70)	24	85	65	40	85	95

FONTE: AUTOR, 2017.

5.5 Análise do grau de pureza por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC-UV)

A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de luz ultravioleta constitui importante ferramenta na análise físico-química de diversas substâncias, onde se utiliza um sistema de solventes como fase móvel, que será

eluído por meio de uma bomba de alta pressão perante uma coluna cromatográfica, configurando uma fase móvel (COLLINS et al., 2006; RUGGENTHALER et al., 2017).

Desta maneira, logo após a obtenção, os derivados (**63-70**) foram analisados quanto seus respectivos graus de pureza, através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detector de luz ultravioleta visível.

Com isto, foi utilizado como fase móvel o sistema de solventes MeOH 100% para os compostos arilimidazólicos substituídos, bem como MeOH:AF 0,1% para os compostos arilimidazólicos e arilpirimidínicos não-substituídos, conforme apresentados na tabela 3, página 94 (GARCIA et al., 2016; RUGGENTHALER et al., 2017).

Tabela 3 - Análise do grau de pureza dos compostos da série arilimidazólicos e arilpirimidínicos

CÓDIGO	TEMPO DE RETENÇÃO (MIN)	GRAU DE PUREZA (%)	FASE MÓVEL	ANEXO
LQM05 (61)	6.2	96	MeOH 100%	A
LQM17 (62)	1.98	95	MeOH 100%	B
(63)	9.9	95	MeOH 100%	C
(64)	3.4	99	MeOH 100%	D
(65)	3.2	97	MeOH 100%	E
(66)	3.01	95	MeOH 100%	F
(67)	2.01	98	MeOH:AF 0,1%	G
(68)	2.9	95	MeOH:AF 0,1%	H
(69)	1.85	98	MeOH:AF 0,1%	I
(70)	3.0	98	MeOH:AF 0,1%	J

FONTE: Autor, 2017.

.Desta forma, observa-se conforme tabela supracitada que todos os derivados, incluindo os intermediários LQM05 (**61**) e LQM17 (**62**), foram obtidos mediante grau de pureza satisfatório, variando entre 95-99%, o que corrobora com a caracterização satisfatória mediante espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C .

5.6 Compostos obtidos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina

Todos os compostos finais foram obtidos de acordo com a literatura descrita por Aquino (2010) e Silva-Junior e colaboradores (2016), tendo tais metodologias adaptadas para os compostos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina, além dos mecanismos reacionais.

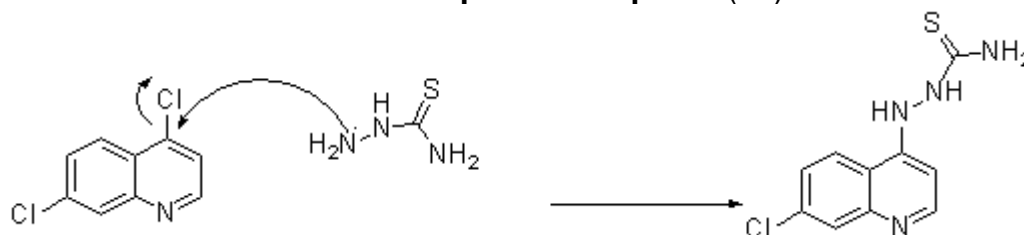
5.6.1 Obtenção do composto intermediário 1- (7-cloroquinolin-4-il) tiossemicarbazida (71)

O composto intermediário (71) foi obtido de forma simples, sem dificuldades no que diz respeito à etapa reacional, bem como sua purificação, conforme descrito na literatura para um composto semelhante (MELHA, 2008). Desta forma, obteve-se tal composto com rendimento de 99%, não sendo necessário otimizar os parâmetros reacionais sob irradiação por ultrassom, pelo fato deste ser quantitativo.

5.6.1.1 Mecanismos reacionais envolvidos na obtenção do composto (71)

O mecanismo reacional envolvendo a formação do composto (71) se dá por meio de ataque do par de elétrons livres do nitrogênio da amina primária da tiossemicarbazida ao carbono 4 do heterociclo 4-7-dicloroquinolina, via SN2. Tal ataque se dá pela eletrofilicidade do referido carbono, em que este se encontra ligado a um átomo de cloro, perfazendo uma carga parcial positiva ao mesmo. Conforme o átomo de cloro consiste em um bom grupo abandonador, o mesmo abstrai um átomo de hidrogênio do nitrogênio responsável pelo ataque nucleofílico, gerando HCl no meio reacional (SOLOMONS, 2012) (Esquema 15, página 96).

Esquema 15 - Mecanismo reacional para o composto (71)



FONTE: AUTOR, 2017.

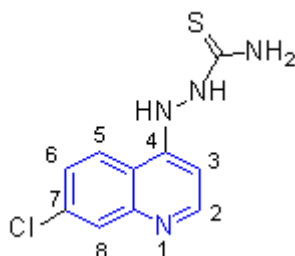
5.6.1.2 Caracterização por RMN de ^1H e ^{13}C

Foi evidenciada, no espectro de RMN ^1H , a formação do dado composto, de acordo com os deslocamentos químicos para os respectivos hidrogênios. Assim, observou-se em 8.12 e 8.30 ppm, dois singletos referentes à hidrogênios amínicos, em que estes referem-se às aminas presentes na tiossemicarbazona condensada ao núcleo quinolina. Por fim, no deslocamento de 10.17 ppm foi visto um singletto referente ao hidrogênio da tioamida, corroborando a formação do produto idealizado (MELHA, 2008).

Desta forma, para o heterociclo, foi evidenciado um dubleto em 6.74 ppm para H2, um duplo-dubleto em 7.84 para o H6, um singletto em 8.20 ppm indicativo do H8. Além disto, observou-se, também, em 8.55 ppm um dubleto referente ao H5, bem como entre 8.69 ppm um dubleto característico do H2 (MELHA, 2008; ROJAS et al., 2011; SILVERSTEIN, 2000).

De maneira semelhante, observou-se no espectro de ^{13}C um sinal em 98.82 ppm caracterizando C3, em 114.33 referente ao C5, em 118.95 característico do C6, bem como em 126.40 e 127.11 ppm, um sinal indicativo do C9 e do C4, respectivamente. Por fim, foi evidenciado sinal em 130.93 ppm para C8, em 138.25 ppm para C10 e, ainda, em 138.56 ppm um sinal característico do C7 e em 143.75 ppm sinal do C2. Já para a tiocarbonila (C=S), o sinal demonstrado foi o mais deslocado do espectro, em 156.09 ppm (MELHA, 2008; ROJAS et al., 2011; SILVERSTEIN, 2000).

5.6.1.2. 1-(7-cloroquinolin-4-il) tiossemicarbazida (**71**)



- Aspecto: Sólido cristalino amarelo ouro; MM: 252.02 g/mol; rendimento: 99%; PF: 222°C; Rf: 0,50 (Hex/AcOEt1:1).

- RMN ¹H (400 MHz, ppm, DMSO-*d*₆): δ= 6.74 (1H, *d*, J=3.55 Hz, H3); 7.84 (1H, *dd*, J₁=2.09 Hz, J₂=9.15 Hz, H6); 8.12 (1H, *s*, NH); 8.20 (1H, *s*, H8); 8.30 (1H, *s*, NH); 8.55 (1H, *d*, J=4.56 Hz, H5); 8.69 (1H, *d*, J=3.31 Hz, H2); 10.17 (1H, *s*, NH). (Ver anexo L).
- RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-*d*₆): δ= 98.82 (C3); 98.65 (C3); 114.33 (C5); 118.95 (C6); 126.40 (C9); 127.11 (C4); 130.93 (C8); 138.25 (C10); 138.56 (C7); 143.75 (C2); 156.09 (C=S).

5.7 Obtenção dos compostos ciclizados da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina

Foram obtidos 6 compostos a partir da ciclização da porção tioamida do intermediário - (7-cloroquinolin-4-il) tiossemicarbazida (**71**), todos inéditos na literatura, de acordo com a metodologia descrita por Aquino e colaboradores (2010) e Silva-Junior e colaboradores (2016), assim como os respectivos mecanismos reacionais.

Inicialmente, a série foi obtida com baixos rendimentos – 25% a 40% - devido a problemas de solubilidade, bem como a formação de subprodutos, o que veio a acarretar dificuldades na etapa de purificação. Desta forma, ao solvente MeOH foi adicionado DMF, de forma a tornar os reagentes totalmente solúveis. Em adição, as reações foram desenvolvidas na presença da base acetato de sódio anidro, a fim de evitar possível hidrólise ácida do grupo imino formado (AQUINO et al., 2010; OTTANÀ et al., 2005). Com isto, o rendimento reacional foi obtido de forma quantitativa.

Sendo assim, com a finalidade de se otimizar os parâmetros reacionais, de forma a reduzir a formação de subprodutos, o que torna a facilitar as etapas de purificação, com consequente aumento dos rendimentos, as reações foram feitas em ultrassom, mantidas as condições reacionais iniciais.

Tal fato se deve por conta da otimização das colisões efetivas entre os reagentes, uma vez que a cavitação promovida pelo banho ultrassom eleva-as cerca de 10⁵ vezes, diferentemente do banho em óleo (metodologia convencional) (SHABALALA et al., 2015; ZHANG et al., 2011). Neste caso, os rendimentos reacionais foram obtidos entre 70% a 92%.

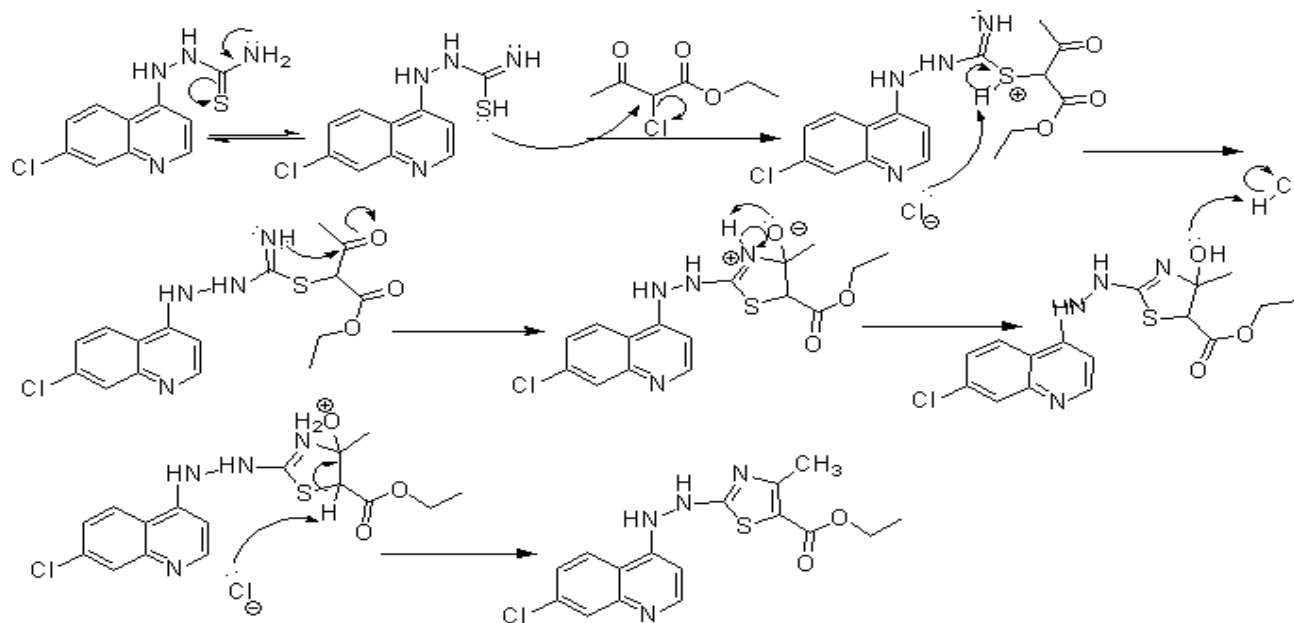
5.7.1 Obtenção do composto (Z) -etil-2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-metil-2,3-diidrotiazol-5-carboxilato (**72**)

O referido composto foi obtido por meio da ciclização da porção tioamida do intermediário supracitado a partir do di-eletrófilo cloroacetoacetato de etila, obtendo-se um rendimento reacional de 70% em banho de óleo e 92% em banho ultrassom.

5.7.1.1 Mecanismos reacionais

O mecanismo reacional para o dado composto inicia-se a partir do equilíbrio tautomérico na região da tiocarbonila no composto intermediário (**71**), ocorrendo-se, assim, um ataque nucleofílico da tiocarbonila (mais elétron-disponível) via S-alquilação, no di-eletrófilo cloroacetoacetato de etila, havendo saída de um átomo de cloro. Assim, o íon cloreto abstrai o átomo de hidrogênio do enxofre, de forma a estabilizar sua carga então positiva. Com isto, ocorre um ataque do par de elétrons livres do nitrogênio da tioamida à carbonila cetônica do di-eletrófilo supracitado, havendo formação do heterociclo de 5 membros. Tal fato é seguido da captura, por meio do oxigênio carregado negativamente, do próton adjacente, em que a hidroxila formada captura um próton do HCl formado inicialmente. Culminando com a estabilização do heterociclo tiazolidínico formado, ocorre, então, uma β -eliminação por meio da captura de um próton por meio do íon cloreto, havendo liberação de uma molécula de água (Esquema 16, página 99) (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016).

Esquema 16 - Mecanismo reacional envolvendo a molécula (72**)**



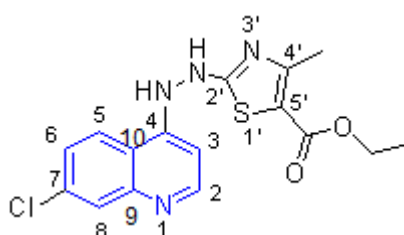
FONTE: AUTOR, 2017.

5.7.1.2 Caracterização por RMN de ^1H e ^{13}C

A partir do espectro de RMN ^1H , observou-se a formação do dado composto, de acordo com os deslocamentos químicos para os respectivos hidrogênios: Para a formação do substituinte éster etílico no anel tiazolidínico, observa-se um quarteto para 2 hidrogênios em δ 4.16 referente ao metileno, bem como um tripleto para 3 hidrogênios em δ 1.21 caracterizando a metila. Culminando com a caracterização do referido anel formado, analisa-se em δ 2.45 um singlete alusivo à 3 hidrogênios, caracterizando a metila substituinte do anel tiazolidínico (Aquino et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

No entanto, ao ser realizado experimento de RMN ^{13}C , foi possível evidenciar o substituinte éster etílico do anel tiazolidínico formado, sendo $-\text{CH}_3$ em δ 14.17 e $-\text{CH}_2$ em δ 60.45. Em adição, observou-se o $-\text{CH}_3$ ligado ao Carbono 4' em δ 14.12.

5.7.1.2. 1-(Z)-etil-2-(2-(7-cloroquinolin-4-il)hidrazono)-4-metil-2,3-diidrotiazol-5-carboxilato (**72**)



- Aspecto: Sólido cristalino amarelo ouro; MM: 362.06 g/mol; rendimento: 70%; PF: 282°C; Rf: 0,50 (Hex/AcOEt1:1).
- RMN ¹H (400 MHz, ppm, DMSO-*d*₆): δ= 1.21 (3H, *t*, *J*=7.19 Hz, CH₃); 2.45 (3H, *s*, CH₃ etileno); 4.16 (2H, *qt*, *J*=7.03 Hz, CH₂); 6.92 (1H, *s*, H3); 7.80 (1H, *d*, *J*=8.0 Hz, H6); 8.09 (1H, *s*, H8); 8.53 (1H, *s*, H5); 8.66 (1H, *d*, *J*=7.47 Hz, H2); 11.96 (1H, *s*, NH); 14.53 (1H, *s*, NH). (Ver anexo M).
- RMN ¹³C (100 MHz, ppm, DMSO-*d*₆): δ= 14.12 (-CH₃); 14.17 (-CH₃ éster); 60.45 (-CH₂); 98.60 (C3); 98.68 (C2); 100.42 (C5'); 113.91 (C4'); 119.17 (C5); 125.59 (C6); 127.41 (C8); 130.06 (C4); 138.26 (C10); 138.64 (C7); 140.07 (C9); 161.23 (C=O); 161.32 (C2').

5.7.2 Obtenção do composto (Z)-2-(2-(2-(7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-oxotiazolidin-5-il) ácido acético (**73**)

O referido composto foi obtido por meio da ciclização da porção tioamida da tiossemicarbazida a partir do di-eletrófilo anidrido maleico. Inicialmente, mesmo após 72 horas de reação em banho de óleo, pouco se foi evidenciado formação de produto, uma vez que ainda havia reagente limitante presente na reação. Desta forma, optou-se por modificar a estequiometria da reação de 1: 1,5 para 1:4,5, onde pode-se obter o produto esperado após 24 horas, tendo-se obtido um rendimento de 43 % para a reação em banho de óleo e 87% para a mesma em ultrassom.

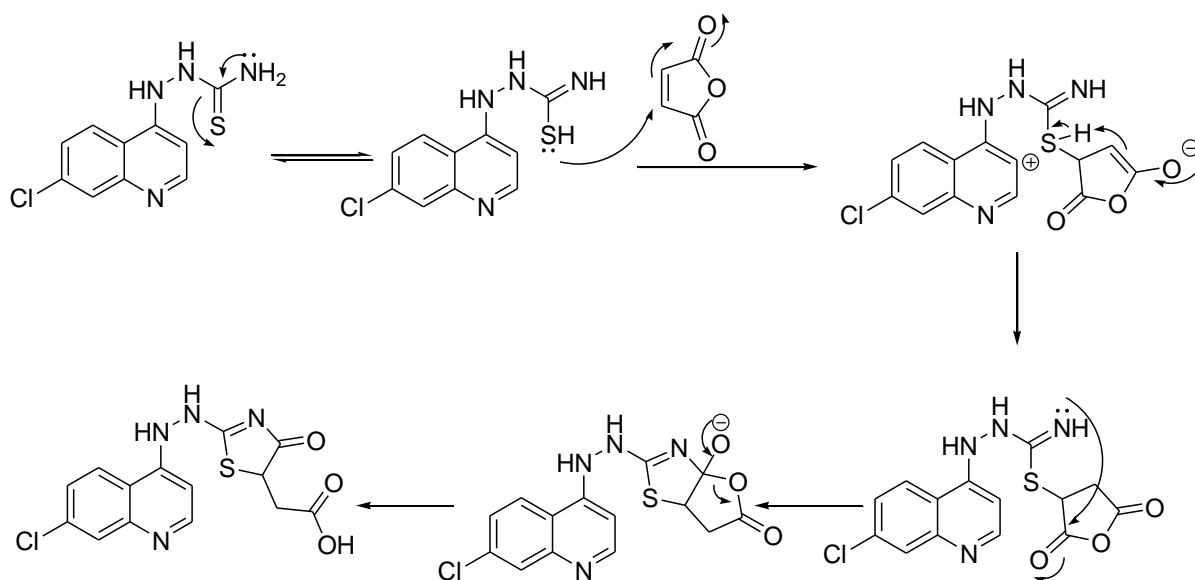
5.7.2.1 Mecanismos reacionais

Para a formação deste produto, a partir da utilização do anidrido maleico como di-eletrófilo, pode gerar o mesmo produto por duas direções envolvendo um único mecanismo reacional (esquema 17, página 101).

Desta forma, em uma das direções, inicia-se com aminólise seguida de uma adição tia-Michael, enquanto, a outra pode ser desenvolvida na direção contrária (AQUINO et al., 2010). Inicialmente, ocorre a formação de um equilíbrio tautomérico entre as formas da tiouréia. Em seguida, o par de elétrons da tiocarbonila (R-SH, (mais elétron-disponível) ataca o carbono α,β-insaturado do heterociclo do anidrido maléico, deslocando a dupla ligação, deixando a carbonila negativamente carregada, mas logo

retornando, via efeito de ressonância. Logo após, ocorre o segundo ataque, o par de elétrons da amina (R_2NH) ataca a carbonila e, em seguida, ocorre uma protonação do enolato intermediário formado, seguida de uma aminólise, conduzindo à formação do anel 4-tiazolidinona com uma função ácida na posição 5 deste (CAREY & SUNDBERG, 2007; AQUINO et al., 2010).

Esquema 17 - Mecanismo reacional da molécula (73)



FONTE: AUTOR, 2017.

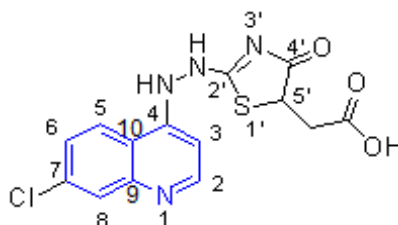
5.7.2.2 Caracterização por RMN de H^1 e ^{13}C

Após sua obtenção, a molécula foi caracterizada por RMN de 1H , evidenciando a formação do heterociclo tiazolidínico substituído: observou-se no deslocamento de δ 1.10 um tripleto correspondente a 2 hidrogênios, característicos do metileno adjacente ao ácido carboxílico substituinte do anel tiazolidínico. Em adição, os prótons do metileno acoplam com o hidrogênio adjacente do anel tiazolidina, mas também acoplam entre si, ocasionando, assim, no tripleto supracitado (SILVERSTEIN, 2000). Por fim, observou-se também em deslocamento de δ 10.77 um singlete largo para 1 hidrogênio, característico de hidroxila, correspondente à hidroxila do ácido carboxílico substituinte do heterociclo. Além disto, num deslocamento de δ 1.22 observou-se um singlete para 1 hidrogênio, correspondente ao hidrogênio do carbono 5 do anel

tiazolidinona, caracterizando o fechamento deste (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

No entanto, para a análise por RMN ^{13}C , foi observado um sinal em 33.5, bem como em 34.20 ppm, característicos do grupo $-\text{CH}_2$ (C5') e $-\text{CH}$ do substituinte ácido carboxílico nesta mesma posição. Culminando com a caracterização da formação do composto, foi evidenciado um sinal em 173.19 ppm, referindo-se à carbonila da função ácido carboxílico, bem como em 173.45 ppm a carbonila substituinte da posição C4' do heterociclo tiazol (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

5.6.2.2.1 (Z) -2- (2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) -4-oxotiazolidin-5-il) ácido acético (**73**)



- Aspecto: Cristais sólidos amarelos; MM: 350.02 g/mol; rendimento: 43%; PF: 285 °C; Rf: 0,50 (Diclorometano:MeOH 10%); Purificação: Coluna clássica diclorometano: MeOH 5%.
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 1.10 (2 H, t, J =7.12 Hz, $-\text{CH}_2$); 1.22 (1H, s, H5'); 6.01 (1H, s, NH); 6.35 (1H, d, J =7.96 Hz, H3); 6.48 (1H, s, H5); 7.17 (1H, dd, J_1 =2.1Hz, J_2 =8.66Hz, H6); 7.21-7.26 (1H, m, H8); 8.08 (1H, d, J =8.7 Hz, H2); 10.77 (1H, s, OH) (Ver anexo N).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 33.5 (CH_2); 34.20 (CH); 98.65 (C3); 118.76 (C5); 125.69 (C6); 126.48 (C9); 126.71 (C4); 137.66 (C8); 137.99 (C10); 138.59 (C7); 151.27 (C2); 152.52 (C2'); 173.19 (C=O ácido carboxílico); 173.45 (C4').

5.7.3 Obtenção do composto (Z) -2- (2- (7-cloroquinolin-4-il) hidrazono) tiazolidin-4-ona (**74**)

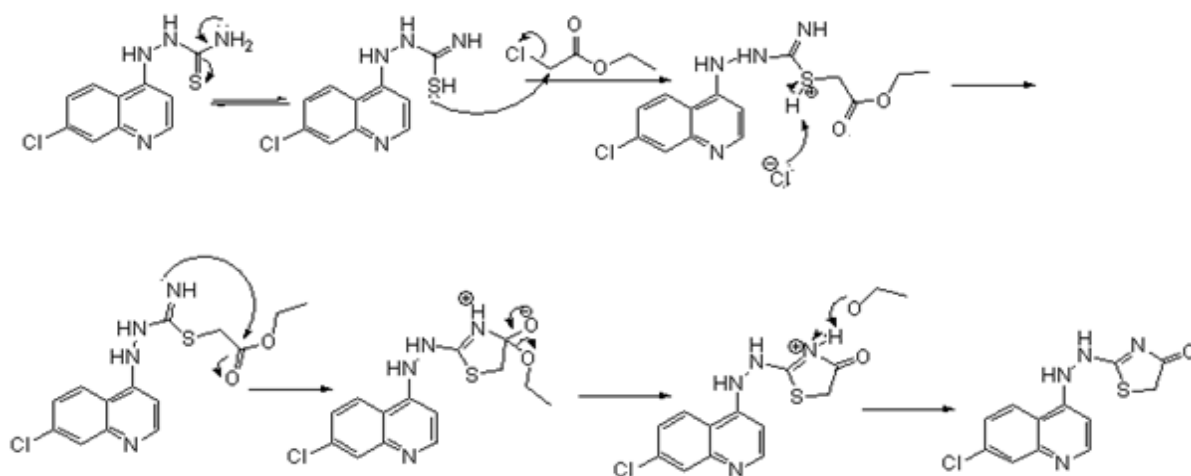
Para a obtenção do composto citado, utilizou-se inicialmente EtOH como solvente, bem como 1:1,5 equivalentes, não sendo formado o produto em reação, devido à baixa solubilidade dos reagentes. Assim, o solvente foi alterado para DMF,

mantendo-se a equivalência, havendo formação de produto, porém, ao longo de 48H. Não obstante, foi elevada, então, a equivalência para 1:4,5, sendo então observada a formação de produto em 24 horas.

5.7.3.1 Mecanismos reacionais

Dando-se início ao mecanismo, ocorre a formação de um equilíbrio tautomérico na região da tioureia. Em seguida, a tiocarbonila (mais elétron-disponível) ataca o dieletrófilo, 2-cloroacetato de etila, via S-alkilação, no carbono α -halogenado. Desta forma, devido ao ataque intramolecular do par de elétrons da amina à carbonila da função éster, seguido pela saída de etanol, dar-se-á à formação do anel tiazolidinona, neste caso, não substituído na posição 5 (Esquema 18, página 103) (AQUINO et al., 2010, SILVA-JUNIOR et al., 2016).

Esquema 18 - Mecanismo reacional da molécula (74)



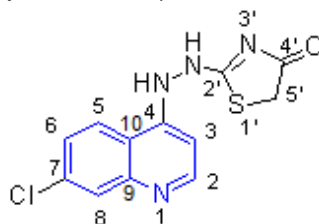
FONTE: AUTOR, 2017.

5.7.3.2 Caracterização por RMN ^1H e ^{13}C

Para a caracterização da molécula, foi observado no deslocamento de δ 4.08 ppm um singlete para 2 hidrogênios (AQUINO et al., 2010; CHADHA et al., 2015; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000), correspondente ao metileno do anel tiazolidina, evidenciando a formação do mesmo. Além disto, não foi evidenciado nenhum deslocamento anterior ao supracitado, indicando que não há mais nenhum radical alquila presente na amostra, corroborando com a formação da molécula.

Já para o espectro de ^{13}C , foi evidenciado um sinal em δ 34.25 para o C5', bem como sinal em δ 173.49 para o C4' carbonílico, inferindo a formação do heterociclo requerido.

5.7.3.2.1 (Z) -2- (2- (7-cloroquinolin-4-il)-hidrazono)-tiazolidin-4-ona (74)



- Aspecto: sólidos amarelo pálido; MM: 292.02 g/mol; rendimento: 50%; PF:210 °C; Rf: 0,50 (Hexano:AcOET 70%); Purificação: recristalização em metanol:água destilada.
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 4.08 (2H, s, CH₂); 4.15 (1H, s, NH); 6.78 (1H, d, J =7.01 Hz, H do C3 quinolínico); 7.75 (1H, d, J =8.59, H do C6 quinolínico); 8.06 (1H, s, H do C8 quinolínico); 8.44 (1H, s, H do C5 quinolínico); 8.59 (1H, s, H do C2 quinolínico); 12.28 (1H, s, NH) (Ver anexo O).
- RMN ^{13}C (100 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 34.25 (C5'); 98.78 (C3); 118.87 (C5); 125.70 (C6); 126.71 (C9); 134.46 (C4); 137.64 (C8); 137.98 (C10); 138.52 (C2); 152.54 (C7); 152.50 (C2'); 173.49 (C4').

5.7.4 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina (75)

Para a obtenção do composto (75), foi aplicada a metodologia até então utilizada, descrita por Aquino (2007) e Silva-Junior e colaboradores (2016). Desta forma, para a ciclização da porção tioamida pelo dieletrófilo 2-bromoacetofenona, foi-se aplicada uma proporção molar de 1:1,2, sob 85°C, banho de óleo, em solvente MeOH. No entanto, após 24h de reação, a análise por CCD demonstrou, apesar do consumo total do reagente limitante, a formação de vários subprodutos, não sendo possível, assim, a purificação de algum produto para caracterização.

Desta forma, foi-se, então, analisada a proporção equimolar dos reagentes, mantendo-se as condições reacionais supracitadas. Ao fim de 24h, analisou-se por CCD o término da reação, no entanto, com menor formação de subprodutos, mas ainda não sendo possível a purificação de algum produto formado.

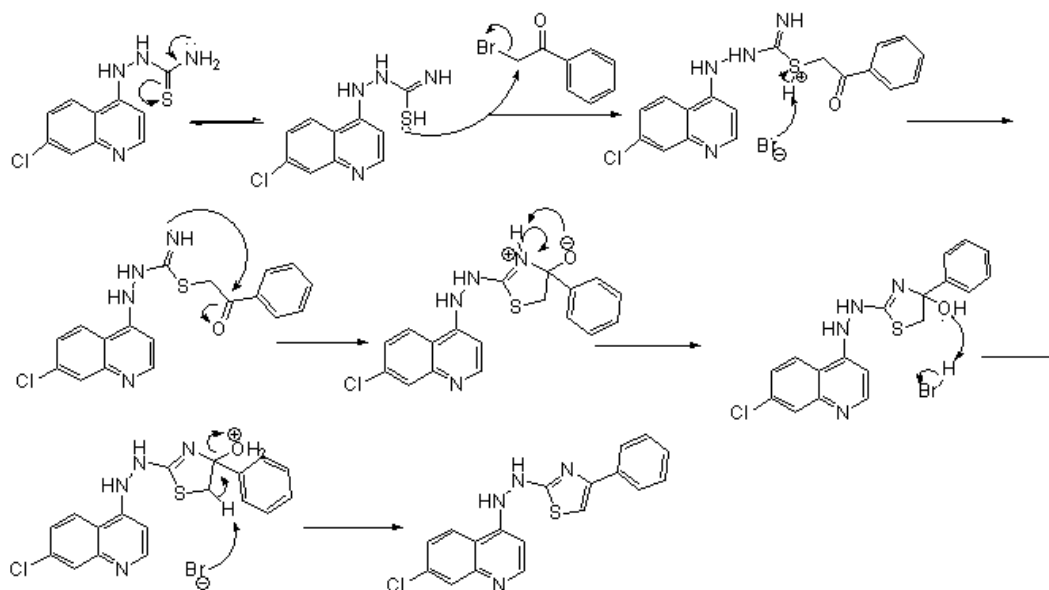
Idealizou-se, então, a formação do produto em temperatura ambiente, mantendo-se a proporção equimolar. Após 72 horas, foi analisado por CCD que havia pouca formação de produto, estando-se, ainda, todos os reagentes em solução, sugerindo a não formação de produto na ausência de temperatura.

Sendo assim, após constatada que, para a formação do produto, provavelmente, deveria se manter a proporção equimolar dos reagentes, sob temperatura, foi-se analisada a formação do produto em diferentes temperaturas, de forma gradativa. Com isto, culminou-se à temperatura ótima de formação do produto idealizado em 60°C, sendo, então, purificado por trituração em éter etílico, seguida de recristalização em MeOH: Água destilada.

5.7.4.1 Mecanismos reacionais

Para a formação do produto idealizado, ocorre, inicialmente, um equilíbrio tautomérico, com formação do tiol no lugar da tioamida. Sendo assim, o par de elétrons do tiol (mais elétron-disponível) ataca o carbono α -halogenado da bromoacetofenona, ocasionando a saída do grupo abandonador, em que, posteriormente, o íon brometo abstrai o próton do tiol, de forma a estabilizá-la. Seguindo o mecanismo reacional, ocorre um ataque intramolecular do par de elétrons livre da amina à carbonila do dieletrófilo, onde o oxigênio, carregado negativamente, abstrai o próton do nitrogênio positivamente carregado, estabilizando a estrutura formada. O mecanismo culmina com a espécie ácida protonando a hidroxila do anel formado, favorecendo uma β -eliminação por desidratação (Esquema 19, página 106) (CAREY & SUNDBERG, 2007; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SMITH & MARCH, 2001; VARA et al., 2008).

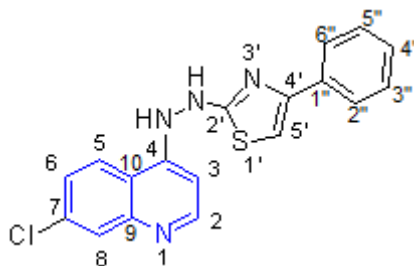
Esquema 19 - Mecanismo reacional da molécula (75)



FONTE: AUTOR, 2017.

5.7.4.2 Caracterização por RMN ^1H e ^{13}C

O produto foi caracterizado através de sua análise por RMN de ^1H , onde observou-se um dubleto em 7.84 ppm para 2H, referente ao carbono da posição 5, desdobrando no mesmo deslocamento que o hidrogênio do C6 quinolínico. Analisou-se, ainda, a substituição na posição 4 do anel, em que se observou no deslocamento de 7.23-7.31 ppm um multiplete e em 7.39 ppm um triplete, 3 e 2 hidrogênios, respectivamente, caracterizando os hidrogênios aromáticos do substituinte fenil na referida posição, formando o anel tiazolidina requerido. Além disto, observou-se no espectro de ^{13}C um sinal em 48.58 ppm referente ao -CH tiazolidínico da posição 5, bem como um sinal em 169.99 ppm alusivo ao C4', corroborando a formação deste (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

5.7.4.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(4-feniltiazol-2(3H)-ilideno)hidrazina (**75**)

- Aspecto: sólido verde escuro; MM: 352.05 g/mol; rendimento: 80%; PF:295 °C; Rf: 0,50 (Hexano:AcOET 70%); Purificação: Recristalização MeOH:Água destilada.
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 6.78 (1H, s, H2); 7.23-7.31 (3H, m, H3'',H4'',H5''); 7.39 (2H, t, J =7.55 Hz, H2'',H6''); 7.59-7.65 (1H, m, H5). 7.75 (1H, s, NH); 7.84 (2H, d, J =7.42, H5', H6); 8.13 (1H, s, H8); 8.34 (1H, d, J =6.93 Hz, H2); 10.52 (1H, s, NH) (Ver anexo P).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 48.58 (C5'); 98.09 (C3); 103.54 (C6''); 119.00 (C5); 125.02 (C6); 125.52 (C2''); 127.40 (C9); 127.59 (C3''); 128.25 (C5''); 128.59 (C4''); 130.04 (C1''); 134.52 (C4); 136.27 (C8); 139.79 (C10); 150.81 (C2); 158.87 (C2'). 164.17 (C7); 169.99 (C4').

5.7.5 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(tiazolidina-2-ilideno)hidrazina (**76**)

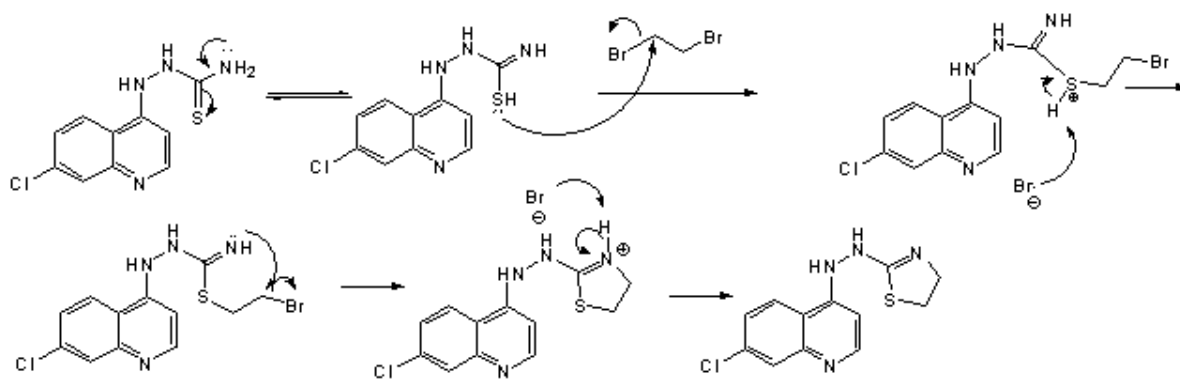
O composto referido foi obtido através da ciclização da porção tioamida do produto intermediário através do dieletrófilo dibromoetano. Para a reação, foi adicionado uma proporção de 1:4 equivalentes, sob 85° em metanol, onde, após 12h, foi observada a formação de um produto, com consumo parcial do reagente limitante. Desta forma, foi adicionado mais 2 equivalentes do dieletrófilo referido, consumindo, assim, todo o reagente limitante, obtendo-se o produto idealizado.

5.7.5.1 Mecanismos reacionais

Para a formação do composto idealizado, ocorre inicialmente o equilíbrio tautomérico com formação do tiol no lugar da tioamida. Com isto, o par de elétrons

do tiol (mais elétron-disponível) ataca nucleofilicamente o carbono α -halogenado do dibromoetano, via S_N2 , ocasionando a saída do grupo abandonador, onde, posteriormente, o íon brometo abstrai o próton do tiol, de forma a estabilizá-lo. Logo depois, mais uma vez ocorre um ataque intramolecular nucleofílico, desta vez do par de elétrons livre da amina, ao outro carbono α -halogenado, mais uma vez havendo saída de íon brometo, que abstrai o próton amínico, estabilizando o produto formado (Esquema 20, página 108).

Esquema 20 - Mecanismo reacional envolvendo o composto (76)



FONTE: AUTOR, 2017

5.7.5.2 Caracterização por RMN 1H e ^{13}C

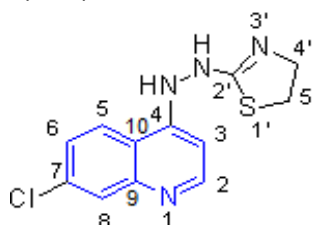
Culminando com a caracterização da molécula requerida, observou-se 2 tripletos em δ 3.66 e 4.00, acoplado entre si, uma vez que possuem a mesma constante de acoplamento, com $J=7.4$ Hz. Os sinais são característicos dos carbonos das posições 4 e 5, uma vez que estes não são substituídos (AQUINO et al., 2010; SILVA-JUNIOR et al., 2016).

Em adicional, foi visto, para esta molécula, um singlete em δ 12.04 para 1H referente à hidrogênio amínico. No entanto, já havia sido descrito os sinais referentes aos dois hidrogênios amínicos, em δ 7.79 e 9.46. Desta forma, foi suposto que o sinal amínicos adicional seria da forma tautomérica entre os nitrogênios conjugados da molécula. Para tanto, foram feitos seis espectros de hidrogênio, alterando a temperatura do experimento: 25, 30, 50, 70, 90, 110°C, onde, na temperatura de 70°C, a integral para os sinais de hidrogênio amínicos

estão em 0,5; na temperatura de 90°C, o sinal em δ 12.04 ppm começa a ser suprimido, culminando com sua completa supressão em 110°C, prevalecendo dois sinais amínicos (CLARAMUNT et al., 2006; CHADHA et al., 2015; SILVERSTEIN, 2000) (Ver anexo Q).

Para o espectro de ^{13}C , observou-se dois sinais, sendo no deslocamento de δ 25.89 e outro em δ 53.11, sendo característicos de metilenos, o que corrobora com a formação do ciclo tiazolidina não-substituído (AQUINO et al., 2010; CHADHA et al., 2015; SILVERSTEIN, 2000).

5.7.5.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(tiazolidina-2-ilideno)hidrazina (76)



- Aspecto: sólido amarelo pálido; MM: 278.04 g/mol; rendimento:77%; PF: 230 °C; Rf: 0,50 (Hexano:AcOET 70%); Purificação: recristalização em MeOH: Água destilada.
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 3.66 (2H, *t*, J =7.4 Hz, CH_2); 4.00 (2H, *t*, J =7.4 Hz, CH_2); 6.23 (1H, *s*, H do C3 quinolínico); 7.41 (1H, *d*, J =8.24 Hz, H do C6 quinolínico); 7.66 (1H, *s*, H do C8 quinolínico); 7.80 (1H, *s*, NH); 8.30 (1H, *d*, J =8.58 Hz, H do C5 quinolínico); 8.62 (1H, *s*, H do C2 quinolínico); 9.52 (1H, *s*, NH); 12.15 (1H, NH) (Ver anexo Q).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 25.89 (C4'); 53.11(C5'); 97.04(C3); 117.06(C5); 117.94(C6); 124.11(C9); 126.63(C4); 136.04(C8); 138.51(C10); 138.98(C7); 161.78(C2); 165.14 (C2').

5.7.6 Obtenção do composto 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(5,6-dihidro-4H-1,3-thiazin-2-il)hidrazina (77)

O composto referido foi obtido da mesma forma que a substância (76). Desta forma, a reação seguiu-se através da ciclização da porção tioamida do produto intermediário através do dieletrófilo dibromopropano. Para obtenção do mesmo, foi

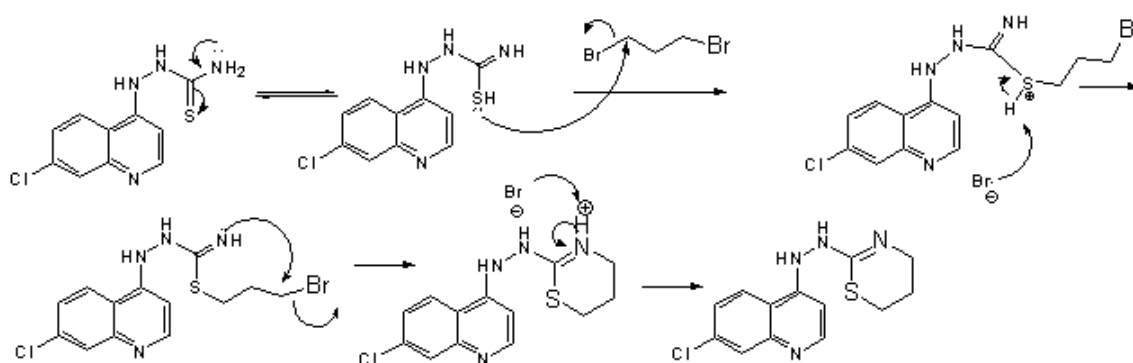
adicionado uma proporção de 1:4 equivalentes, sob 85° em metanol, onde, após 12h, foi observada a formação de um produto, com consumo parcial do reagente limitante. Assim, seguiu-se com a adição de mais 2 equivalentes do dieletrófilo referido, consumindo, então, todo o reagente limitante, obtendo-se o produto idealizado.

5.7.6.1 Mecanismos reacionais

Dando-se início à obtenção da substância idealizada, ocorre inicialmente o equilíbrio tautomérico com formação do tiol no lugar da tioamida. Com isto, o par de elétrons do tiol (mais elétron-disponível) ataca nucleofilicamente o carbono α -halogenado do dibromopropano, via S_N2 , ocasionando a saída do grupo abandonador, onde, posteriormente, o íon brometo abstrai o próton do tiol, de forma a estabilizá-lo.

Por fim, mais uma vez ocorre um ataque intramolecular nucleofílico, desta vez do par de elétrons livre da amina ao outro carbono α -halogenado. Logo após há saída de íon brometo, que abstrai o próton amínico, estabilizando o produto formado (Esquema 21, página 110).

Esquema 21 - Mecanismo reacional envolvendo o composto (77)



FONTE: AUTOR, 2017

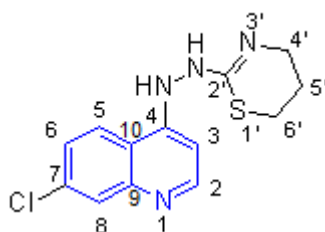
5.7.6.2 Caracterização por RMN 1H e ^{13}C

O espectro de hidrogênio para a referida substância demonstrou um singlete para 2 hidrogênios no deslocamento de δ 2.35 e outro em δ 3.60 referentes aos

metilenos dos carbonos 4 e 6 do heterociclo formado. Observou-se, também, no deslocamento entre δ 3.31 um tripleto, relacionado ao carbono 5, uma vez que, por este encontrar-se entre os outros dois metilenos, acopla com estes, justificando o sinal encontrado (CHADHA et al., 2015; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

Seguindo a análise por RMN de ^{13}C , observou-se três sinais característicos da formação deste anel, referentes aos três metilenos relacionados à ciclização da porção tioamida do produto intermediário pelo dieletrófilo 1,3-dibromopropano: em δ 25.19, 25.81 e 48.47 (CHADHA et al., 2015; SILVA-JUNIOR et al., 2016; SILVERSTEIN, 2000).

5.7.6.2.1 1-(7-cloroquinolin-4-il)-2-(5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-il)hidrazina (**77**)



- Aspecto: sólido amarelo pálido; MM: 292.05 g/mol; rendimento:70%; PF: 245 °C; Rf: 0,50 (Hexano:AcOET 70%); Purificação: recristalização em MeOH: Água destilada.
- RMN ^1H (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 2.35 (2H, s, C5'); 3.31 (2H, s, C4'); 3.60 (2H, s, C6'); 6.00 (1H, d, J =5.34 Hz, H3); 7.40 (1H, d, J =8.18 Hz, H6); 7.62 (1H, s, H8); 7.77 (1H, sl, NH); 8.05 (1H, s, H5); 8.29 (1H, d, J =8.44 Hz, H2); 8.80 (1H, s, NH); 12.01 (1H, NH) (Ver anexo R).
- RMN ^{13}C (400 MHz, ppm, DMSO- d_6) δ = 23.19 (C5'); 25.81 (C4'); 48.47(C6'); 96.26(C3); 116.95(C5); 118.23(C6); 123.99(C9); 127.04(C4); 136.04(C8); 138.63(C10); 139.16(C2); 157.36(C7); 161.13(C2').

5.8 Caracterização da série por Espectroscopia de Infravermelho (IV)

Em conjunto com as análises de espectroscopia de RMN, os derivados Quinolin-4-hidrazinotiazolidina foram caracterizados via espectroscopia de

Infravermelho, onde foi possível corroborar a formação dos produtos requeridos, de acordo com a tabela 4, página 114.

Desta maneira, a partir do intermediário **(71)**, observou-se a formação do composto através quatro bandas de absorção, sendo elas: em 1643 cm^{-1} , estiramento (ν) característico do grupamento -NH_2 , em que apenas este derivado apresenta amina primária; em 1314 cm^{-1} , estiramento (ν) do grupamento -N-C-S- , o que também indica a condensação do grupo tiossemicarbazida para formação do derivado, juntamente com uma banda de absorção em 1160 cm^{-1} , sendo este um estiramento (ν) característico de grupo -C=S , mais uma vez do grupo tiossemicarbazida condensado. Además, foi também evidenciada uma banda de absorção variando de 796 a 818 cm^{-1} , sendo este um estiramento (ν) de ligação C (aromático) -Cl , que se refere ao substituinte -Cl da posição 7 do anel quinolínico (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Logo após, a partir do intermediário **(71)**, os derivados inéditos rigidificados foram obtidos, sendo analisada a formação dos compostos da seguinte maneira, indicando a formação do heterociclo tiazolidina devidamente substituído: pelo fato destes não apresentarem grupamento amina secundária, o estiramento em torno de 1643 cm^{-1} foi suprimido; o estiramento em torno de 1314 cm^{-1} também foi suprimido, dando lugar a uma banda em torno de $1583\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$, sendo esta característica do grupamento S-C=N , bem como o estiramento em torno de 1160 cm^{-1} característico do grupo -C=S também foi suprimido, indicando, em conjunto, a formação do requerido heterociclo (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Por fim, analisou-se os devidos substituintes do heterociclo tiazolidina, onde o derivado **(72)** apresentou uma banda de absorção em 1446 cm^{-1} , em que este estiramento (ν) caracteriza o substituinte metil na posição 4 do anel, bem como três bandas para evidenciar o substituinte éster etílico na posição 5. Sendo assim, em 1701 cm^{-1} , foi demonstrado um estiramento (ν) referente à carbonila do éster, além de bandas em torno de 1477 e 1446 cm^{-1} , sugestivas do grupo -CH_2 e -CH_3 , respectivamente (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Para a molécula **(73)**, foram evidenciados quatro sinais para caracterizar os substituintes tiazolidínicos: em 1720 cm^{-1} , estiramento (ν) referente à carbonila substituinte da posição 4, bem como do ácido carboxílico da posição 5. Además, sinais em torno de 3130 cm^{-1} indicam formação de -OH de ácido carboxílico, bem como uma

banda em 2748 cm^{-1} característico do grupo $-\text{COOH}$, além de uma banda em 1442 cm^{-1} do grupo $-\text{CH}_2$ (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Para o composto **(74)**, analisou-se uma banda de absorção em torno de 1723 cm^{-1} , característico de grupo $-\text{C}=\text{O}$, referente à posição 4, bem como banda em 1446 cm^{-1} , sendo um estiramento (ν) referente ao grupo $-\text{CH}_2-$ da posição 5 do heterociclo formado (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Já para o composto **(75)**, foram evidenciadas duas bandas em torno de 767 e 699 cm^{-1} , em que estas são características do fenil monossustituído na posição 4 do anel tiazolidínico (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

De maneira semelhante, para os compostos **(76)** (anel de 5 membros) e **(77)** (anel de 6 membros), que não possuem substituintes no heterociclo tiazolidina, foi evidenciada uma banda de absorção em 1461 cm^{-1} para ambos, em que este estiramento (ν) refere-se ao grupo metileno ($-\text{CH}_2$), corroborando com a formação de tais moléculas (PRETSCH et al., 2009, SILVERSTEIN, 2000).

Tabela 4 – Principais bandas de absorção no Espectro de Infravermelho para a série quinolin-4-hidrazinotiazolidina

BANDAS DE ABSORÇÃO E SEUS GRUPAMENTOS EM CM^{-1}

CÓDIGO	-NH ₂	S-C=N	N-C-S	C=S	Substituinte 4-tiazol	Substituinte 5-tiazol	Substituinte 7-quinolina	Anexo
71	1643	-	1314	1160	-	-	C-Cl:798	L
72	-	1583	-	-	-CH ₃ : 1446	-C=O: 1701; -CH ₂ : 1477	C-Cl:815	M
73	-	1602	-	-	-C=O: 1720	-OH ácido carboxílico:3130; -COOH: 2748; -CH ₂ :1442;	C-Cl:813	N
74	-	1608	-	-	-C=O: 1723	-CH ₂ : 1446	C-Cl:816	O
75	-	1608	-	-	Fenil monossustituído : 767/699		C-Cl:818	P
76	-	1606	-	-	-CH ₂ : 1461	-CH ₂ : 1461	C-Cl:802	Q
77	-	1604	-	-	-CH ₂ : 1461	-CH ₂ : 1461	C-Cl:796	R

5.9 Comparação dos tempos reacionais envolvendo as metodologias convencionais e por sonicação

As condições reacionais para obtenção das hidrazinotiazolidinas propostas por meio de irradiação com ultrassom foram mantidas conforme metodologia convencional. Desta forma, a sonicação promove uma maior efetividade reacional quando comparada à metodologia convencional, em que as colisões entre as moléculas ocorrem na ordem de 10^5 vezes a mais (MASON, 2002), o que reflete em um menor tempo de reação, como é mostrado na Tabela 1. Assim, observa-se que na metodologia convencional, o tempo reacional ocorre entre 16-24 horas, porém, por meio de sonicação, o tempo é reduzido para 20-55 minutos. Pode-se observar que as reações por meio de ultrassom demonstraram um maior rendimento frente à metodologia convencional, para todos os produtos obtidos, que pode ser explicado

devido a uma menor formação de produtos secundários através desta metodologia (Tabela 5, página 115).

Desta forma, tal fato também pode proporcionar maior facilidade de purificação dos compostos, como pode-se citar o produto **(73)**, em que, por meio de reação clássica, foi-se necessária uma coluna clássica para a purificação do mesmo; porém, quando obtido por meio de sonicação, foi facilmente purificado por meio de recristalização em MeOH:Água destilada. Sendo assim, os produtos obtidos foram caracterizados por meio de RMN ^1H , tendo suas estruturas propostas confirmadas.

Tabela 5 – Rendimentos e tempos reacionais dos derivados quinolin-4-hidrazinotiazolidina

CÓDIGO	CONVENCIONAL			SONICAÇÃO		
	Tempo(h)	T(°C)	Rend(%)	Tempo(min)	T(°C)	Rend(%)
(72)	24	85	70	20	85	90
(73)	36	85	43	40	85	87
(74)	24	85	50	55	85	87
(75)	24	85	80	25	85	92
(76)	24	85	77	35	85	90
(77)	24	85	70	35	85	95

AUTOR, 2017.

5.10 Análise do grau de pureza por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC-UV)

Da mesma maneira que os compostos da série arilimidazóis/arilpirimidinas, os compostos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina **(71-77)** foram analisados quanto seus respectivos graus de pureza mediante cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um detector de luz ultravioleta visível no comprimento de onda de 254 nm.

Sendo assim, foi utilizado como fase móvel o sistema de solventes MeOH 100% para o composto intermediário **(71)**, além do composto **(73)**, sendo este um ácido carboxílico. No entanto, para os demais compostos da série **(72, 74, 75, 76 e 77)**, a análise foi feita utilizando como fase móvel MeOH:AF 0,1%, conforme apresentados na tabela 6, página 116 (GARCIA et al., 2016; RUGGENTHALER et al., 2017).

Tabela 6 - Análise do grau de pureza dos compostos da série quinolin-4-hidrazinotiazolidina

CÓDIGO	TEMPO DE RETENÇÃO (MIN)	GRAU DE PUREZA (%)	FASE MÓVEL	ANEXO
(71)	3.2	97	MeOH 100%	L
(72)	2.2	95	MeOH:AF 0,1%	M
(73)	7.5	95	MeOH 100%	N
(74)	6.5	96	MeOH:AF 0,1%	O
(75)	1.7	95	MeOH:AF 0,1%	P
(76)	2.6	99	MeOH:AF 0,1%	Q
(77)	1.75	97	MeOH:AF 0,1%	R

FONTE: Autor, 2017.

Desta forma, observa-se conforme tabela supracitada que todos os derivados, incluindo o intermediário (71), foram obtidos mediante grau de pureza satisfatório, variando entre 95-99%, o que corrobora com a caracterização de tais substâncias mediante espectroscopia de RMN ^1H , ^{13}C e IV.

5.11 Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 e leishmanicida sobre o parasito *Leishmania chagasi*

Os resultados da análise de citotoxicidade em macrófagos J774, bem como da atividade leishmanicida frente o parasito *Leishmania chagasi* estão descritos conforme tabela 7, página 118, onde toda molécula que apresentou citotoxicidade até 30%

sobre os macrófagos foi analisada quanto sua atividade antileishmania, na concentração de 10 μ M.

Desta forma, para a série quinolin-4-hdrazinotiazolidina, o composto não rígido (**71**) não apresentou citotoxicidade, bem como 3 compostos rigidificados, frente os macrófagos J774: (**73**), (**74**) e (**77**). Además, o composto rígido (**76**) apresentou $26,62 \pm 1,46$ % de toxicidade, sendo então testado frente o parasito referido.

Com isto, para a série Arilidrazoimidazol/Pyrimidina, apenas o composto (**65**) não demonstrou citotoxicidade frente os macrófagos J774. Porém, 3 compostos apresentaram citotoxicidade até 30%, onde os compostos (**69**) - 27.4 ± 0.3 e (**70**) - 27.2 ± 1.8 sugerem toxicidade comparativamente semelhantes, além do composto (**66**) com $20,42 \pm 3,21$ %.

Por sua vez, os compostos que apresentaram citotoxicidade $\geq 30\%$ foram analisados perante sua atividade leishmanicida, conforme dados da tabela 9, página 118. No entanto, os compostos (**73**) e (**74**) demonstraram $CI_{50} > 10 \mu$ M, onde apenas para o composto (**73**) foi possível determinar o efeito máximo de atividade, em que este demonstrou somente 25.51 ± 6.48 %.

Tabela 7 - Avaliação da citotoxicidade em macrófagos J774 e atividade leishmanicida sobre o parasito *Leishmania chagasi*

Código	CI_{50} (μ m)	Efeito máximo (%)	Citotoxicidade (%) Mtt 24 H (10 μ m)
63	-	-	$82,77 \pm 3,90^{***}$
64	-	-	$96,87 \pm 1,13^{***}$
65	-	-	NT

66	-	-	20,42±3,21*
67	-	-	46.8 ± 2.5***
68	-	-	42.05 ± 2***
69	-	-	27.4 ± 0.3***
70	-	-	27.2 ± 1.8***
71	-	-	NT
72	-	-	92,94±4,41***
73	>10	25.51±6.48*	NT
74	>10	NA	NT
75	-	-	82,95±5,09***
76	-	-	26,62±1,46*
77	-	-	NT
PENTAMIDINA	4.43±0.9	67.34±2.16	NT

AUTOR, 2017.

Os resultados referem-se a: CI_{50} - concentração inibitória 50% das formas amastigotas, calculadas pelas curvas concentração-resposta tóxicas e expressas como média ± erro padrão da média; Efeito máximo - significado da toxicidade máxima ± erro padrão da média em triplicado de uma experiência representativa; Citotoxicidade - média da citotoxicidade máxima ± erro padrão da citotoxicidade média na concentração de 10 μ M em duplicados de uma experiência representativa. O efeito máximo e os valores de citotoxicidade foram considerados significativos quando * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ em comparação com o grupo DMSO a 0,1%; na - não ativo, a substância não mostrou atividade letal significativa para amastigotas de *Leishmania chagasi* até a concentração de 10 μ M em relação ao grupo DMSO; nt - não tóxico, a substância não apresentou atividade letal significativa para macrófagos J774.A1 à concentração de 10 μ M em relação ao grupo DMSO; nd - A atividade leishmanicida não foi determinada, porque a substância apresentou citotoxicidade até a concentração de 10 μ M em relação ao grupo DMSO.

5.11.1 Relação estrutura-atividade

Para a série Arilidrazoimidazol/Pirimidina, observou-se que a rigidificação para formar o heterociclo imidazole (5 membros) não substituído, confere aumento da citotoxicidade, onde para o derivado aril (3,4-Cl) de 5 membros (67) apresentou aumento desta em aproximadamente 45% (46.8 ± 2.5), no entanto o análogo aril (3,4-OMe) (69) demonstrou aumento da toxicidade em relação ao derivado não rígido (LQM05) apenas em aproximadamente 25% (27.4±0.3).

Desta forma, ao se substituir os referidos heterociclos na posição 4 por substituinte volumoso (fenil, neste caso), observa-se que a citotoxicidade elevou-se drasticamente a cerca de 80-90%, onde para o derivado aril (3,4-Cl) (64) foi de 96.8±1.13 %, bem como para o análogo aril (3,4-OMe) (63) foi de 82.77±3.90 %.

No entanto, ao se obter substituições na posição 4 do heterociclo imidazol por grupamento carbonila, os derivados demonstraram a menor citotoxicidade da série,

chegando a não configurar citotoxicidade para o derivado aril (3,4-Cl) (**65**), onde para o seu análogo aril (3,4-OMe) (**66**) foi de 20.42 ± 3.21 .

Contudo, foi também demonstrado que a expansão do heterociclo de 5 membros para um análogo de 6 membros (formando heterociclo pirimidina) configura relativa manutenção das citotoxicidades dos seus respectivos análogos, em que para o derivado aril (3,4-Cl) (**68**) foi de 42.05 ± 2.0 %, além do seu análogo 3,4-OMe (**70**) apresentar 27.2 ± 1.8 %, sendo então menos tóxico.

Por fim, os derivados que apresentaram citotoxicidades abaixo de 30% foram analisados quanto atividade leishmanicida, porém, tanto os 2 compostos de substituintes carbonílicos na posição 4 (**65-66**) quanto os derivados aril 3,4-OMe (**69-70**) de 5 e 6 membros, respectivamente, não chegaram a demonstrar CI_{50} na concentração analisada até 10 μ M, tampouco efeito máximo.

Já para a série Quinolin-4-hidrazotiazolidina, a partir do derivado não rígido (**71**), observou-se que este não demonstrou citotoxicidade aos macrófagos analisados. Contudo, ao tornar tal derivado rígido, configurando heterociclo tiazol (5 membros) (**68**) sem quaisquer substituintes, a toxicidade teve aumento médio de 25% (26.62 ± 1.46 %), ao passo que o derivado análogo de 6 membros (**69**) manteve a não apresentação de toxicidade juntamente com o seu intermediário não rígido (**71**).

Desta forma, ao substituir o derivado de 5 membros na posição 4 por fenil (resíduo hidrofóbico), juntamente com uma insaturação entre a posição 4 e 5, configurou-se aumento médio de 80% de citotoxicidade, onde para o composto (**75**) foi de 82.85 ± 5.09 %. Contudo, ao reduzir o substituinte da posição 4 para alquil menos volumoso (metila) concomitantemente com substituinte hidrofílico/acceptor de ligação de hidrogênio na posição 5 (éster etílico), a toxicidade foi elevada a cerca de 90% (92.94 ± 4.41 %).

No entanto, ao substituir a posição 4 por resíduo acceptor de ligação de hidrogênio (C=O), inalterando a posição 5 (**74**), o derivado se manteve acitotóxico conforme o intermediário não rigidificado. Contudo, ao substituir concomitantemente a posição 5 do heterociclo tiazolidina por substituinte ácido carboxílico (doador de prótons), mais uma vez a ausência de citotoxicidade foi mantida .

Sendo assim, os derivados que apresentaram citotoxicidade abaixo de 30% foram testados quanto sua atividade leishmanicida: (**71,73,74,76,77**). Porém, os derivados citados não demonstraram considerável atividade, em que os compostos

(73 e 74) configuraram $CI_{50} > 10 \mu M$, onde o apenas para o derivado (73) foi possível evidenciar o efeito máximo – $25.51 \pm 6.48\%$.

Por fim, ao analisar os dados em conjunto, pode-se demonstrar que a rigidificação, em linhas gerais, elevou a citotoxicidade dos compostos, em especial os que apresentam insaturação entre as posições 4 e 5 dos respectivos heterociclos de 5 membros, além da substituição na posição 4 radical volumoso (fenil) elevou a citotoxicidade drasticamente a aproximadamente 80-95%. Em adição, para tal caso de insaturação supracirado, quando o substituinte da posição 4 for menos volumoso (metila) juntamente de substuinte hidrofílico/acceptor de ligação de hidrogênio, a citotoxicidade eleva-se consideravelmente a cerca de 90%.

5.12 Avaliação da citotoxicidade em linhagens celulares de câncer humano

Os compostos da série Quinolin-4-hidrazinotiazolidina foram testados frente citotoxicidade em amostras de linhagens celulares de câncer humano, sendo estas a linhagem HL-60 (leucêmica), PC-3 (adenocarcinoma de próstata) e SF-295 (glioblastoma), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), onde estão descritos conforme tabela 8, página 121.

Desta forma, dentre as amostras testadas, os compostos **(72)**, **(75)** e **(77)** apresentaram muita atividade citotóxica contra uma das linhagens celulares de câncer humano utilizadas.

Assim, o composto **(72)** demonstrou RCV% de 93.2 ± 0.5 para a linhagem HL-60, 97.3 ± 0.7 para SF-295, além de 98.8 ± 0.2 para PC-3. Já para o composto **(75)**, a RCV% foi de 79.3 ± 0.9 para SF-295, 79.8 ± 1.9 para PC-3 bem como 91.3 ± 0.6 para linhagem HL-60. Por fim, o composto **(77)** demonstrou RVC% de 70.4 ± 1.3 para a linhagem HL-60. No entanto, os compostos **(72)** e **(75)** destacaram-se por apresentar RCV % > 70 % contra todas linhagens testadas.

Tabela 8 - Citotoxicidade das amostras em linhagens celulares de câncer humano.

Código	Linhagem Celular					
	SF-295		HL-60		PC-3	
	RVC %	EPM	RVC %	EPM	RVC %	EPM
71	20.7	3.8	30.9	0.8	23.5	2.7
72	97.3	0.7	93.2	0.5	98.8	0.2
73	18.2	0.5	40.8	3.0	17.2	2.9
74	2.5	2.5	34.5	1.2	12.3	3.2
75	79.3	0.9	91.3	0.6	79.8	1.9
76	40.0	1.7	70.4	1.3	32.2	2.4
77	25.8	0.9	19.4	5.9	10.1	4.6

^a Os dados estão apresentados como percentuais de redução da viabilidade celular (RVC % \pm EPM) obtidos pelo Programa GraphPad Prism versão 6.0, a partir de 2 experimentos independentes realizados em quadruplicada após 72 h de incubação.

5.11 Determinação das CI_{50} em linhagens de celulares de câncer humano

Logo após a análise de citotoxicidade frente linhagens de câncer humano, os derivados que melhor se apresentaram, **(72)**, **(75)** e **(77)** foram analisados quanto suas respectivas CI_{50} frente as linhagens celulares de câncer humano utilizadas, HCT-116 (carcinoma de cólon), PC3 (adenocarcinoma de próstata) , SF-295 (glioblastoma), HL-60 (leucêmica) e L929 (Fibroblasto de tecido conectivo subcutâneo, origem murina),

cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), onde estão descritos conforme tabela 9, página 122.

Desta forma, o composto (**72**) potencial citotóxico relevante frente a linhagem tumoral HL-60, com valor de CI_{50} de 2.4 μM , sendo assim a mais potente frente esta linhagem.

Fundamentado nos resultados obtidos sugere-se a realização de mais testes com o composto (**72**) a fim de subsidiar a referida citotoxicidade da molécula testadas, com o intuito de aprofundar conhecimentos sobre seletividade e mecanismo de ação da mesma, delineando, assim, seu comportamento antitumoral.

Tabela 9 – Citotoxicidade das amostras em diferentes linhagens celulares, tumoral e não tumoral.

COMPOSTO	HCT-116	PC-3	HL-60	SF-295	L929
72	14,99 (14,01 – 16,03)	20.7 (18.3 – 23.2)	2,41 (2,02 – 2,87)	>27,62	25,32 (21,21 – 30,21)
75	17,74 (15,80 – 19,91)	>28,40	14,72 (12,72 – 17,04)	>28,40	>28,40
76	>35,97	>35,97	25.5 (20.5 – 31.3)	>35,97	>35,97
DOX	0,12 (0,09-0,17)	0,76 (0,59-0,93)	0,02 (0,01-0,02)	0,24 (0,2-0,27)	0,66 (0.49-0.83)

^a Os dados estão apresentados como valores de CI_{50} ou CE_{50} em μM e o intervalo de confiança. Obtidos por regressão não-linear pelo Programa GraphPad Prism versão 6.0, a partir de 2 experimentos independentes realizados em duplicata após 72 h (células de câncer e células não tumorais).

^b Doxorubicina (Dox) foi utilizada como controle positivo.

5.13.1 Relação Estrutura-Atividade

A partir do composto de conformação livre (**71**), foi observada a relação estrutura-atividade dos compostos rigidificados da série Quinolin-4-hidrazinotiazolidina.

Sendo assim, o derivado de não rígido (**71**) demonstrou pouca atividade antitumoral frente todas as linhagens testadas (SF-295 – glioblastoma: $20.7 \pm 3.8\%$,

HL-116 – carcinoma de cólon: 30.9 ± 0.8 % além de PC-3 – adenocarcinoma de próstata: 23.5 ± 2.7 %) sendo então descartado.

Logo após, ao analisar a rigidificação de anel de 5 membros, demonstra-se que a atividade é relativamente elevada para a linhagem SF-255 (40.0 ± 1.7 %), bem como para PC-3 (32.2 ± 2.4 %). No entanto, a atividade é consideravelmente elevada para 70.4 ± 1.3 % para HL-116, configurando aumento de pouca atividade para moderada atividade neste composto.

Contudo, ao se analisar a rigidificação para produzir derivado de 6 membros tiazolidínico, foi demonstrado que para a linhagem SF-295 a atividade foi praticamente dobrada (25.8 ± 0.9 %), porém ainda configurando baixa atividade. Já para a linhagem HL-116, a atividade foi relativamente decrescida (19.4 ± 5.9 %), bem como para PC-3 (10.1 ± 4.6 %), em que a formação de derivado com 5 membros não-substituído apresenta relativa redução de atividade, ou seja, o derivado mantém a baixa atividade.

Sendo assim, para as modificações com substituintes hidrofílicos/acceptor de ligação de hidrogênio na posição 4 (C=O) do heterociclo de 5 membros, quando mantida a não substituição da posição 5, observa-se que a atividade mantém-se baixa, em que para SF-295 reduziu-se a 2.5 ± 2.5 %, para HL-116 elevou-se levemente para 34.5 ± 1.2 %, além de reduzir a 12.3 ± 3.2 % para a linhagem PC-3, todas estas mantendo pouca atividade antitumoral.

De maneira semelhante, ao manter a substituição da posição 4 por grupo carbonila, porém concomitantemente introduzir um grupamento ácido carboxílico na posição 5 (doador de prótons), a atividade antitumoral mantém-se reduzida, em que para linhagem SF-295 foi de 18.2 ± 0.5 %, 40.8 ± 3.0 % para HL-116, bem como 17.2 ± 2.9 % para PC-3.

No entanto, ao se introduzir uma insaturação entre os membros da posição 4 e 5 do heterociclo de 5 membros, pode-se demonstrar considerável melhora da atividade antitumoral, em que a atividade para as 3 linhagens foi considerada moderada. Desta forma, para substituição na posição 4 por grupamento volumoso hidrofóbico (fenil), houve grande elevação da atividade de 20.7 ± 3.8 % para 79.3 ± 0.9 % para SF-295, além de 23.5 ± 2.7 % para PC-3, somados a um aumento de 30.9 ± 0.8 % para 91.3 ± 0.6 % para HL-116.

De forma análoga, a insaturação foi mantida, porém, foi substituído o grupo volumoso fenil para grupamento de menor volume, porém ainda hidrofóbico (metila) na posição 4, juntamente com grupamento acceptor de ligação de hidrogênio (éster

etílico). Assim perante tais modificações, foram observadas as melhores atividades antitumorais, em que para linhagem SF-295 $97.3\pm 0.7\%$, HL-116 de $93.2\pm 0.5\%$, somados à maior atividade frente todas as linhagens para tal série, onde para PC-3 foi de $98.8\pm 0.2\%$.

Logo após a triagem, os melhores compostos, ou seja, os que apresentaram atividade antitumoral acima de 70%, foram analisados quanto determinação de suas respectivas CI_{50} , bem como seletividade perante linhagens cancerígenas e não cancerígenas.

Sendo assim, o composto (**76**) demonstrou menor seletividade dentre todas as linhagens, frente determinação das respectivas CI_{50} , em que $25.5 \mu\text{M}$ para HL-60, além de apresentar-se acima de $35 \mu\text{M}$ para as demais linhagens (HCT, PC-3, SF295, bem como a não tumoral L929).

De maneira semelhante, o composto (**75**) também não demonstrou relativa distinção entre os tipos de câncer, além de apresentar CI_{50} todas acima de $14.72 \mu\text{M}$. Porém, ao se analisar o composto (**72**), o mesmo apresentou considerável seletividade perante os diferentes tipos de linhagens tumorais, onde para HL-60 foi de $2.41 \mu\text{M}$, em que para as demais foi acima de $14.99 \mu\text{M}$.

Faz-se, por fim, necessário ressaltar que tal derivado, além de demonstrar valor consideravelmente baixo de CI_{50} , caracterizando uma excelente atividade atitumoral seletiva para o tipo de linhagem HL-60 (leucêmico), o mesmo também apresentou distinção entre células tumorais e não tumorais ($CI_{50}=25.32 \mu\text{M}$), o que configura importante segurança em futuros testes mais aprofundados para tal composto, uma vez que este possui seletividade tumoral.

Não obstante, em linhas gerais, analisou-se que a rigidificação produziu importantes derivados com atividade antitumoral, em especial o composto (**72**) com $CI_{50}=25.32 \mu\text{M}$, somados a uma considerável seletividade tumoral, apresentando insaturação entre os membros 4 e 5, bem como resíduos hidrofílicos (acceptor de prótons) e hidrofóbicos. Porém, ao se introduzir grupamento acceptor de ligação de hidrogênio na posição 4 (C=O), a atividade cai consideravelmente, bem como a ausência de substituição nas posições 4 e 5, somadas a uma expansão do anel de 5 para 6 membros não demonstraram interesse no que diz respeito a atividade antitumoral.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6 CONCLUSÕES E PERSPERTIVAS

Foram obtidos ao término deste trabalho 3 compostos de caráter intermediário, além de 8 compostos finais imidazólicos/pirimidínicos via estratégia de rigidificação molecular, bem como 7 compostos finais quinolin-4-hidrazinotiazolidina via hibridação/rigidificação molecular, sendo todos os finais inéditos na literatura.

A metodologia sintética via irradiação por micro-ondas apresentou-se satisfatória para os compostos imidazólicos/pirimidínicos, obtendo-se rendimento quantitativo entre 85-95%, bem como tempo reacional 20-40min, onde a metodologia convencional demonstrou rendimento entre 65-80%, além de tempo reacional de 24h.

Da mesma forma, a metodologia sintética via sonicação apresentou-se satisfatória para os compostos quinolin-4-hidrazinotiazolidina, obtendo-se rendimento entre 87-95%, somado a tempo reacional entre 20-55min, em que a metodologia sintética convencional demonstrou rendimento entre 43-80%, entre 24-36h.

Os compostos foram caracterizados por meio de Espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , bem como de Infravermelho, onde foi possível evidenciar os referidos sinais e deslocamentos químicos que caracterizam especificamente a formação de cada composto idealizado.

Todos os compostos foram analisados quanto ao grau de pureza via CLAE-UV, em que apresentaram pureza satisfatória variando entre 95-98%, corroborando com a eficácia dos métodos sintéticos e de purificação dos compostos.

As substâncias **(72)**, **(75)** e **(76)** apresentaram muita atividade citotóxica contra uma das linhagens celulares de câncer humano utilizadas, onde as substâncias **(72)** e **(75)** destacaram-se por apresentar RCV % > 70 % contra todas linhagens testadas.

A substância **(72)** mostrou um potencial citotóxico relevante frente a linhagem tumoral HL-60, apresentando $\text{CI}_{50} = 2.4 \mu\text{M}$, sendo assim a mais potente frente esta linhagem. Desta forma, sugere-se a realização de testes mais aprofundados relativos à substância **(72)** a fim de subsidiar a referida citotoxicidade desta, com o intuito de aprofundar conhecimentos sobre seletividade e mecanismo de ação da mesma, delineando, assim, seu comportamento antitumoral, bem como modificações estruturais em torno desta, afim de se obter melhorias moleculares.

REFERÊNCIAS

ACTIVITY, K. A. Synthesis of Novel Hybrid Molecules from Precursors With Known Antiparasitic Activity. v. 50, p. 1483–1494, 2009.

AFZAL, O.; KUMAR, S.; HAIDER, M. R.; ALI, M. R.; KUMAR, R.; JAGGI, M.; BAWA, S. **Eur. J. Med. Chem.**, p. 1-40, 2014.

AJDAČIĆ, V. et al. Synthesis and evaluation of thiophene-based guanylhydrazones (iminoguanidines) efficient against panel of voriconazole-resistant fungal isolates. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 1277–1291, 2016.

ALVAR, J.; VÉLEZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; et al. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. **PLoS ONE** 7, 2012.

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

ANTINARELLI, L. M. R. et al. Aminoquinoline compounds: Effect of 7-chloro-4-quinolinylhydrazone derivatives against *Leishmania amazonensis*. **Experimental Parasitology**, v. 171, p. 10–16, 2016.

AQUINO, T.M. **Síntese e Avaliação das Atividades Anti-Toxoplasma gondii e Antimicrobiana de Benzaldeído 4-Fenil-3-tiosemicarbazonas e Derivados 2[(Fenilmetileno)hidrazono]-3-fenil-4-tiazolidinona-5-substituídos**. 2007. 217 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Recife, PE, 2007.

ASSATI, V.; MAHAPATRA, D. K.; BHATI, S. K. **Eur. J. Med. Chem**, v. 87, p. 814-833, 2014.

BARROS, C.D., AMATO, A.A., OLIVEIRA, T.B., IANNINI, K.B.R., SILVA, A.L., SILVA, T.G., LEITE, E.S., HERNANDES, M.Z., LIMA, M.C.A., GALDINO, S.L., NEVES, F.A.R., PITTA, I.R. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-dione as PPAR ligands. **Bioorg. Med. Chem.**, v.18, p. 3805-3811, 2010.

BAWA, S., KUMAR, S., DRABU, S., KUMAR, R. Structural modifications of quinoline based antimalarial agents: recent developments. **J. Pharm. Bioallied Sci**, v. 2, p.4-71, 2010.

BAZGIR, A., AHADI, S., GHAREMANZADEH, R., KHAVASI, H.R., MIRZAEI, P. Ultrasoundassisted one-pot, three-component synthesis of spiro[indoline-3,40-

pyrazolo[3,4-b]pyridine]-2,6(10H)-diones in water. **Ultrason. Sonochem.** V. 17, p. 447, 2010.

BELFIORE, A., GENUA, M., MALAGUARNERA, R. PPAR-gamma agonists and their effects on IGF-I receptor signaling: implications for câncer. **PPAR Res**, 2009.

BERGER, J., MOLLER, D.E. The mechanisms of action of PPARs. **Annu. Rev. Med.**, v. 53, p. 409-435, 2002.

BAIRWA, R. et al. Novel molecular hybrids of cinnamic acids and guanyldrazones as potential antitubercular agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 5, p. 1623–1625, 2010.

BEKHIT, A. A. et al. European Journal of Medicinal Chemistry New heterocyclic hybrids of pyrazole and its bioisosteres : Design , synthesis and biological evaluation as dual acting antimalarial-antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 94, p. 30–44, 2015.

BABA, N.; AKAHO, E. VSDK: Virtual Screening of Small Molecules Using AutoDock Vina on Windows Platform. **Bioinformation**, v. 6, n. 10, p. 387-388, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**– 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. – 2. ed. atual, 3. reimpr. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013.

BLEICHER, K. H.; GERBER, F.; WUTHRICH, Y.; ALANINE, A.; CAPRETTA, A. Parallel synthesis of substituted imidazoles from 1,2-aminoalcohols. **Tetrahedron Letters**. v. 43, n. 43, p. 7687-7690, 2002.

BOJARSKI, A.J., DUSZYŃSKA, B., KOLACZKOWSKI, M., et al. The impact of spacer structure on 5-HT₇ and 5-HT_{1A} receptor affinity in the group of long-chain arylpiperazine ligands. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, vol 14, p. 5863-5866, 2004.

BLAU, L. et al. AC SC. 2013.

BRITTA, E. A. et al. Cell death and ultrastructural alterations in *Leishmania amazonensis* caused by new compound 4-Nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone

derived from S -limonene. p. 1–12, 2014.

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

CHAVDA, S., BABU, B., YANOW, S.K., JARDIM, A., SPITHILL, T.W., KIAKOS, K., KLUZA, J., HARTLEY, J.A., LEE, M. A novel achiral seco-cyclopropylpyrido[e]indolone (CPyl) analog of CC-1065 and the duocarmycins: synthesis, DNA interactions, in vivo anticancer and anti-parasitic evaluation. **Bioorg. Med. Chem.**, v.18, p.5016-5024, 2010.

CONTELLES, J.M., SORIANO, E. The medicinal chemistry of hybrid-based drugs targeting multiple sites of action. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, v.11, p.2714-2715, 2011.

CHADHA, N. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Thiazolidine-2 , 4-dione derivatives: Programmed chemical weapons for key protein targets of various pathological conditions. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 13, p. 2953–2974, 2015.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: **Editora da UNICAMP**, 2006.

CLAIBORNE, C. F.; LIVERTON, N. J.; NGUYEN, K. T. An efficient synthesis of tetrasubstituted imidazoles from *N*-(2-Oxo)-amides. **Tetrahedron Letters**. v. 39, n. 49, p. 8939-8942, 1998.

CRAVOTTO, G., CINTAS, P. **Chem. Soc. Rev.**, v.35, p. 180, 2006.

CHAPPUIS, F.; SUNDAR, S.; HAILU, A.; GHALIB, H.; RIJAL, S.; PEELING, R.W. et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nat. Rev. Microbiol**, vol 5, p. 873-882, 2007.

CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry**. New York: Oxford University Press, 2009.

COA J. C., CASTRILLÓN W., CARDONA W., CARDA M., OSPINA V., MUÑOZ J. A., V. I. D.; M., R. S. Synthesis, leishmanicidal, trypanocidal and cytotoxic activity of quinoline-hydrazone hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 746–753, 2015.

COIMBRA, E. S. et al. 7-chloro-4-quinolinyl hydrazones: A promising and potent class of antileishmanial compounds. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 81, n. 5, p. 658–665, 2013.

COIMBRA, E. S. et al. Quinoline derivatives: Synthesis, leishmanicidal activity and involvement of mitochondrial oxidative stress as mechanism of action. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 50–57, 2016.

CARVALHO, S.A., FEITOSA, L.O, SOARES, M., et al. Design and synthesis of new (E)-cinnamic N-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 512-721, 2012.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) **Neglected Tropical Diseases**. Disponível em <<http://www.cdc.gov/globalhealth/ntd/>>, a. Acesso em 30 out. 2015.

CAPUTTO, M. E.; FABIAN, L. R.; BENÍTEZ, D. et al. Thiosemicarbazones Derived From 1-indanones as New Anti-*Trypanosoma cruzi* Agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 22, p. 6818-6826, 2011.

SOUZA, R. O. M. A.; M., L. S.; MIRANDA. Irradiação de micro-ondas aplicada à síntese orgânica: Uma história de sucesso no Brasil. **Quimica Nova**, v. 34, n. 3, p. 497–506, 2011.

DEVINE, W. et al. Antiparasitic Lead Discovery: Toward Optimization of a Chemotype with Activity Against Multiple Protozoan Parasites. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 8, n. 3, p. 350–354, 2017.

DIMMOCK, J.R., PUTHUCODE, R.N., SMITH, J.M., HETHERINGTON, M., et al. Stables, (Aryloxy)aryl semicarbazones and related compounds: a novel class of anticonvulsant agents possessing high activity in the maximal electroshock screen. **Journal of Medicinal Chemistry**, vol 39, p. 3984-3997, 1996.

DUTRA, L.A., L. ALMEIDA, T.G. PASSALACQUA, J.S. REIS, F. E. TORRES, I. MARTINEZ, et al. Leishmanicidal activities of novel synthetic furoxan and benzofuroxan derivatives, Antimicrob. **Agents Chemother**, vol 58, p. 4837-4847, 2014.

ELMAHALLAWY, E. K.; AGIL, A. Treatment of leishmaniasis: A review and assessment of recent research. **Current Pharmaceutical Design**, v. 21, n. 17, p. 2259–2275, 2015.

EICHER, T.; HAUPTMANN, S. The Chemistry of Heterocycles. Structures, Reactions, Synthesis, and Applications. Second edition, **Wiley-VCH**, Germany, p. 165-174, 2003.

EPIFÂNIO, W. A. DO N. **Síntese e avaliação citotóxica de derivados aminoguanidínicos planejados como protótipos de fármacos antineoplásicos.** [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2011.

FÉLIX, M. B. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Antileishmanial activity of new thiophene – indole hybrids : Design , synthesis , biological and cytotoxic evaluation , and chemometric studies. v. 24, p. 3972–3977, 2016.

FRECENTESE, F. et al. Microwave Assisted Organic Synthesis of Heterocycles in Aqueous Media : Recent Advances in Medicinal Chemistry. p. 1–13, 2016.

FAIDALLAH, H.M., ROSTOMB, S.A.F. Synthesis, in vitro antitumor evaluation and DNA-binding study of novel tetrahydroquinolines and some derived tricyclic and tetracyclic ring systems, **Eur. J. Med. Chem**, v.63, p.133-143, 2013.

GEDIYA, L.K., NJAR, V.C.O. Promise and challenges in drug discovery and development of hybrid anticancer drugs. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v.4, p.1099-1111, 2009.

GLOBOCAN, **IARC**, 2012.

GRILLIER-VUISSOZ, I., MAZERBOURG, S., BOISBRUN, M., KUNTZ, S., CHAPLEUR, Y., FLAMENT, S. PPAR γ -independent activity of thiazolidinediones: a promising mechanism of action for new anticancer drugs. **J. Carcinog. Mutagen**, S8-002, p.2157-2518, 2012.

GARCIA, J. et al. Quantification of alpha-amanitin in biological samples by HPLC using simultaneous UV- diode array and electrochemical detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 997, p. 85–95, 2015.

HASANEN, J. A.; ABDALLA, A. M. Synthesis of some nitrogen heterocycles and in vitro evaluation of their antimicrobial and antitumor activity. p. 537–553, 2014.

HUSSAIN, R. F.; NOURI, A. M.; OLIVER, R. T. **J Immunol Method**. Vol, 160, p. 89, 1993.

HAVRYLYUK, D. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Synthetic

approaches , structure activity relationship and biological applications for pharmacologically attractive pyrazole / pyrazoline e thiazolidine-based hybrids.

European Journal of Medicinal Chemistry, v. 113, p. 145–166, 2016.

HULSMAN, N., MEDEMA, J.P., BOS, C., et al. Chemical insights in the concept of hybrid drugs: the antitumor effect of nitric oxide-donating aspirin involves a quinone methide but not nitric oxide nor aspirin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.50, p. 2424-2431, 2007.

HULSMAN, N., MEDEMA, J.P., BOS, C., JONGEJAN, A., LEURS, R., SMIT, M.J., ESCH, I.J., RICHEL, D., WIJTMANS, M. Chemical insights in the concept of hybrid drugs: the antitumor effect of nitric oxide-donating aspirin involves a quinone methide but not nitric oxide nor aspirin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.50, p. 2424-2431, 2007.

IHMELS, H., THOMAS, L. Intercalation of organic ligands as a tool to modify the properties of DNA, in: J.-I. Jin, J. Grote (Eds.), *Materials Science of DNA*, CRC Press, **Boca Raton**, p. 49-76, 2011.

INCA - Instituto Nacional de Câncer (Brasil). **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. Rio de Janeiro: Inca, 2011.

IBRAHIM, D.A,EL- ELLA, D.A.A., EL-MOTWALLY, A.M, et al. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 102, p. 115-131, 2015.

JACOMINI, A. P. et al. Synthesis and evaluation against *Leishmania amazonensis* of novel pyrazolo[3,4-d]pyridazinone-N-acylhydrazone-(bi)thiophene hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 124, p. 340–349, 2016a.

JACOMINI, A. P. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry* Synthesis and evaluation against *Leishmania amazonensis* of novel pyrazolo [3 , 4- d] pyridazinone- N -acylhydrazone- (bi) thiophene hybrids. v. 124, p. 340–349, 2016.

JACOB, R. G.; DUTRA, L. G.; RADATZ, C. S.; MENDES, S. R.; PERIN, G.; LENARDAO, E. J.; **Tetrahedron Lett.**, p. 50, v. 1495, 2009.

JIANG, N., ZHAI, X., LI, T., LIU, D., ZHANG, T., WANG, B., GONG, P. **Molecules**, v. 17, p. 5870, 2012.

KATRITZKY, A. R., POZHARSKII, A. F. **Handbook of heterocyclic chemistry**, ELSEVIER SCIENCE Ltd., p. 570-571, 2000.

KRAUSE, F.R., EICK, A., GRÜNERT, R., BEDNARSKI, P.J., WEISZ, K. In vitro anticancer activity and evaluation of DNA duplex binding affinity of phenyl-substituted indoloquinolines. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v.21, p.2380-2383, 2011.

KUMAR, R., Ankita Sharma a, Sarita Sharma b, Om Silakari c, Mandeep Singh a, Manmeet Kaur. Synthesis, characterization and antitumor activity of 2-methyl-9-substituted acridines. **Arabian Journal of Chemistry**, 2013.

KANAZAWA, C.; KAMIJO, S.; YAMAMOTO, Y.; Synthesis of Imidazoles through the Copper-Catalyzed Cross-Cycloaddition between Two Different Isocyanides. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 128, n. 33, p. 10662-10663, 2006.

KAPPE, O.; STADLER, A.; DALLINGER, D. Literature Survey Part B: Miscellaneous Organic Transformations. Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry. **Ed. Wiley VCH**. 2012.

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.

KAPPE, O.; STADLER, A.; DALLINGER, D. Literature Survey Part B: Miscellaneous Organic Transformations. Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry. **Wiley VCH**, 2012.

KHAN, N.; PAL, S.; KARAMTHULLA, S.; CHOUDHURY, L. H.; **RSC Adv**, v. 4, p. 3732, 2014.

KAMAL, A., PRABHAKAR, S., RAMAIAH, M.J. et al. Synthesis and anticancer activity of chalcone–pyrrolobenzodiazepine conjugates linked via 1,2,3-triazole ring side-armed with alkane spacers. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 3820-3831, 2011.

LIU, X. et al. Synthesis and Antimalarial Activity of 2-Guanidino-4-oxoimidazoline Derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, p. 4523–4535, 2011.

LITTLE, T. L.; WEBBER, S. E. A Simple and Practical Synthesis of 2-Aminoimidazoles. **J. Org. Chem.**, v. 59, n. 24, p. 7299-7305, 1994.

LI, L., CAO, W., ZHENG, W., FAN, C., CHEN, T. Ruthenium complexes containing 2,6-bis(benzimidazolyl)pyridine derivatives induce cancer cell apoptosis by triggering

DNA damage-mediated p53 phosphorylation, **Dalton Trans**, v.41, p.12766-12772, 2012.

LIU, Z. Y. et al. Synthesis and antiparasitic activity of new bis-arylimidamides: DB766 analogs modified in the terminal groups. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 83, p. 167–173, 2014.

LI, W.; LAM, Y. A Facile Solid-Phase Synthesis of 1,2,4,5-Tetrasubstituted Imidazoles Using Sodium Benzenesulfinate as a Traceless Linker. **J. Comb. Chem.**, v. 7, n. 5, p. 644-647, 2005.

LANTOS, I.; ZHANG, W. Y.; SHUI, X.; EGGLESTON, D. S. Synthesis of imidazoles via hetero-cope rearrangements. **J. Org. Chem.**, v. 58, n 25, p. 7092-7095, 1993.

LEE, H. B.; BALASUBRAMANIAN, S. Solid-phase synthesis of *N*-alkyl-*N*-(α -keto) amides and 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles using a traceless cleavage strategy. **Org. Lett.**, v. 2, n. 3, p. 323-326, 2000.

MANZANO, I. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Arylthiosemicarbazones as antileishmanial agents Jos e. v. 123, p. 161–170, 2016.

MARI, M. D. S. The use of NMR spectroscopy to study tautomerism. n. **March 2007**, 2016.

MAJUMDER, A.; GUPTA, R.; JAIN, A. Microwave-assisted synthesis of nitrogen-containing heterocycles. **Green Chem. Lett. Rev.**, v. 6, ed. 2, p. 151-182, 2013.

MOLINO, J.V.D., VITAL, D.G., CICARELLI, R.M.B., et al. Design, synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, p.142-151, 2013.

MASOOD, M. M. et al. Anti-leishmanial and cytotoxic activities of amino acid-triazole hybrids: Synthesis, biological evaluation, molecular docking and in silico physico-chemical properties. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 9, p. 1886–1891, 2017.

MARRAPU, V.K. et al. Synthesis and evaluation of new furanyl and thiophenyl azoles as antileishmanial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, vol 46, p. 1694-1700, 2011.

MASON, T.J., D. PETERS, Practical Sonochemistry, second ed., **Ellis Horwood**, London, 2002.

MELHA, K. S. A. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23(4), p. 493–503, 2008.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunology Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOREIRA, D. R. M.; OLIVEIRA, A. D. T.; GOMES, P. A. T. M. et al. Conformational Restriction of Aryl Thiosemicarbazones Produces Potent and Selective anti-Trypanosoma cruzi Compounds Which Induce Apoptotic Parasite Death. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 75, n. [sl], p. 467-478, 2014.

MORPHY, R., KAY, C., RANKOVIC, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. **Drug Discovery Today**, v.9, p.641-651, 2004.

NAKAMOTO, K., TSUBOI, M., STRAHAN, G.D. Intercalating Drugs, in: *DrugsDNA Interactions*. **John Wiley & Sons**, Inc, pp. 119-208, 2008.

MOHAMMAD, M. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* Anti-leishmanial and cytotoxic activities of amino acid-triazole hybrids : Synthesis , biological evaluation , molecular docking and in silico physico-chemical properties. v. 27, p. 1886–1891, 2017.

MUÑOZ, JULY ANDREA HERNÁNDEZ. O carbonato de propileno como solvente verde na síntese de imidazóis trissubstituídos via Reação de Radziszewski / July Andrea Hernández Muñoz. –Rio de Janeiro : UFRJ, 2015.

NAVA-ZUAZO, C. et al. Design, synthesis, and in vitro antiprotozoal, antimycobacterial activities of N-{2-[(7-chloroquinolin-4-yl)amino]ethyl}ureas. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 6398–6403, 2010.

NARASIMHAN, B.; SHARMA, D.; KUMAR, P.; **Med. Chem. Res.**, v. 20, p.1119, 2011.

NEPALI, K., SHARMA, S., SHARMA, M. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 422-487, 2014.

NI, C.-L., Song, X.-H., Yan, H., Song, X.-Q., Zhong, R.-G. Improved synthesis of diethyl 2,6-dimethyl-4-aryl-4H-pyran-3,5-dicarboxylate under ultrasound irradiation. **Ultrason. Sonochem**, v.17, p. 367, 2010.

OYA, B., OZEN, O., ARZU, M. , ENGIN, K., RAHMIYE, E. **Synthesis and antimicrobial activity of some new thiazolyl thiazolidine-2,4-dione derivatives**, **Bioorg. Med. Chem**, v.15, p.6012-6017, 2007.

OH, S. et al. Synthesis and biological evaluation of 2,3-dihydroimidazo[1,2-a]benzimidazole derivatives against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, vol 84, p. 39-403, 2014.

OTTANÀ, R.; MACCARI, R.; BARRECA, M. L.; BRUNO, G.; ROTONDO, A.; ROSSI, A.; CHIRICOSTA, G.; DI PAOLA, R.; SAUTEBIN, L.; CUZZOCREAD, S.; VIGORITA, M. G. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and Synthesis of Novel Anti-inflammatory Agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 4243-4252, 2005.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. LEISHMANIASES Epidemiological Report of the Americas. Report Leishmaniases N° 3 - July, 2015. p. 5, 2015.

PAPADOPOULOU, M. V. et al. Novel nitro(triazole/imidazole)-based heteroarylamides/sulfonamides as potential antitrypanosomal agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 87, p. 79–88, 2014.

PATTAN, S.R., ALAGWADI, K.R., BHAT, A.R., REDDY, V.V.K., PATTAN, J.S., KHADE, A.B., BHATT, K.G. Synthesis and evaluation of some 5-[1-(4-4-substituted phenyl amino)-meth-(Z)-ylidene]-thiazolidine-2,4-dione for antitubercular activity. **Indian Drugs**, v.45, p.532-535, 2008.

PERIN, N., NHILI, R., ESTER, K., LAINE, W., KARMINSKI-ZAMOLA, G., KRALJ, M., DAVID-CORDONNIER, M.H., HRANJE, M. Synthesis, antiproliferative activity and DNA binding properties of novel 5-aminobenzimidazo[1,2-a]quinoline-6-carbonitriles, **Eur. J. Med. Chem**, v.80, p.218-227, 2014.

PETERSON, Q.P., HSU, D.C., GOODE, D.R., NOVOTNY, C.J., TOTTEN, R.K., HERGENROTHER, P.J. Procaspase-3 activation as an anti-cancer strategy: structure-activity relationship of procaspase-activating compound 1 (PAC-1) and its cellular colocalization with caspase-3. **J. Med. Chem.**, v.52, p.5721-5731, 2009.

PEDRIQUE, B.; STRUB-WOURGAFT, N.; SOME, C.; OLLIARO, P.; TROUILLER, P.; FORD, N.; PECOUL, B.; BRADOL, J.H. The drug and vaccine landscape for neglected diseases (2000 e 11): a systemic assessment, **Lancet Glob. Health** **1**, p. 371-379, 2013.

PERVEZ, H. et al. 5-Nitroisatin-derived thiosemicarbazones : potential antileishmanial agents. v. 6366, n. 5, p. 628–632, 2014.

RAMÍREZ-PRADA, J. et al. Synthesis of novel quinoline based 4,5-dihydro-1H-pyrazoles as potential anticancer, antifungal, antibacterial and antiprotozoal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 131, p. 237–254, 2017.

RESOURCES, N.; SCIENCES, H.; SCIENCES, H. Preliminary in vitro evaluation of the anti-proliferative activity of guanyldrazone derivatives. v. 66, p. 129–137, 2016.

RACZYNSKA, E. D.; LAURENCE, C.; BERTHELOT, M. Application of infrared spectrometry to the study of tautomeric equilibria and hydrogen bonding basicity of medical and biochemical agents: *N,N'*-disubstituted amidines. **Analyst**, v. 119, p. 683-687, 1994.

ROLFS, A.; LIEBSCHER, J.; Versatile Novel Syntheses of Imidazoles. **J. Org. Chem.**, v. 62, n. 8, p. 3480-3487, 1997.

RUGGENTHALER, M. et al. Impurity profiling of liothyronine sodium by means of reversed phase HPLC, high resolution mass spectrometry, on-line H/D exchange and UV/Vis absorption. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 143, p. 147–158, 2017.

RESCIFINA, A., ZAGNI, C., VARRICA, M.G., PISTARÀ, V., CORSARO, A. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.74, p. 95-115, 2014.

SIKKA, S., CHEN, L., SETHI, G., KUMAR, A.P. Targeting PPAR γ signaling cascade for the prevention and treatment of prostate cancer. **PPAR Res.** **2012**, 968040, 2012.

SMITH, H.J., WILLIAMS, H. Introduction to the Principles of Drug Design and Action, fourth ed. **CRC Press**, p. 448, 2005.

SMITH, R.A., COKKINIDES, V. , BRAWLEY, O.W. **Cancer J. Clin.**, v.59, p.27-41, 2009.

SWATHI, N., RAMU, Y., SUBRAHMANYAM, C.V.S., SATYANARAYANA, K. Synthesis, quantum mechanical calculation and biological evaluation of 5-(4-

substituted aryl/hetero aryl methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-diones, **Int. J. Pharm. Sci.**, v.4, p.561-566, 2014.

SCHRÖDER, J. et al. Identification of Semicarbazones , Thiosemicarbazones and Triazine Nitriles as Inhibitors of *Leishmania mexicana* Cysteine Protease CPB. v. 8, n. 10, p. 1–12, 2013.

SHABALALA, N. G.; PAGADALA, R.; JONNALAGADDA, S. B. Ultrasonics Sonochemistry Ultrasonic-accelerated rapid protocol for the improved synthesis of pyrazoles. **ULTRASONICS SONOCHEMISTRY**, v. 27, p. 423–429, 2015.

SELVAKUMAR, N., RAHEEM, M.A., KHERA, M.K., et al. Influence of ethylene-oxy spacer group on the activity of linezolid: synthesis of potent antibacterials possessing a thiocarbonyl group. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, vol 13, p. 4169-4172, 2003

SHAO, Y. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Synthesis and DNA cleavage activity of 2-hydrazinyl-1 , 4 , 5 , 6-tetrahydro- pyrimidine containing hydroxy group. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 13, p. 4274–4279, 2009.

SHARMA, R. et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Triazino indole – quinoline hybrid : A novel approach to antileishmanial agents. v. 24, p. 298–301, 2014.

SILVA, B. V; SILVA, B. N. M. Thio- and Semicarbazones: Hope in the Search for Treatment of Leishma- niasis and Chagas Disease. p. 110–126, 2017.

SILVA, E.R. et al. Novel Selective Inhibitor of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Arginase. **Chemical Biology & Drug Design**, vol 86, p. 969-978, 2015.

SHILCRAT, S. C.; MOKHALLALATI, M. K.; FORTUNAK, J. M. D.; PRIDGEN, L. N. A New Regioselective Synthesis of 1,2,5-trisubstituted 1*H*-Imidazoles and Its Application to the Development of Eprosartan. **J. Org. Chem.**, v. 62, n. 24, p. 8449-8454, 1997.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A. **Organic Chemistry**. 11. ed. Honoken: John Wiley & Sons, 2014.

SHAO, Y. et al. Synthesis and DNA cleavage activity of 2-hydrazinyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidine containing hydroxy group. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, n.

Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., p. 4274–4279, 2009.

TIETZE, L.F., BELL, H.P., Chandrasekhar, S. Natural product hybrids as new leads for drug Discovery. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 42, p.3996-4028, 2003.

TROTT, O.; OLSON, A. J. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455-461, 2009.

TAHA, M. et al. Molecular hybridization conceded exceptionally potent quinolinyl-oxadiazole hybrids through phenyl linked thiosemicarbazide antileishmanial scaffolds: In silico validation and SAR studies. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 192–200, 2017.

TENÓRIO, R. P. et al. Revisão. v. 28, n. 6, p. 1030–1037, 2005.

TANG, D.; WU, P.; LIU, X.; Chen, Y. X.; GUO, S. B.; CHEN, W. L.; LI, J. G.; CHEN, B. H. Synthesis of multisubstituted imidazoles via copper-catalyzed [3+2] cycloadditions. **J. Org. Lett.**, v. 78, n. 6, p. 2746-2750, 2013.

ULRICH, P.; CERAMI, A. Trypanocidal 1,3-arylene diketone bis(guanylhydrazone)s. Structure-activity relationships among substituted and heterocyclic analogues. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 35–40, 1984.

VIEGAS, A.; NOBREGA, F. L.; CABRITA, E. J. Saturation-Transfer Difference (STD) NMR: A Simple and Fast Method for Ligand Screening and Characterization of Protein Binding. p. 990–994, 2011.

VIEGAS-JUNIOR, C., DANUELLO, A., DA SILVA, et al. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 1829-1852, 2007.

WATSON, J.D., CRICK, F.H. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. **Nature**, v.171, p.964-967, 1953.

WATSON, J.D., CRICK, F.H. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, n.4356, 1953, **Nature** 248, 1974.

WHEATE, N.J., BRODIE, C.R., COLLINS, J.G., KEMP, S., ALDRICH-WRIGHT, J.R. DNA intercalators in cancer therapy: organic and inorganic drugs and their spectroscopic tools of analysis, **Mini Rev. Med. Chem**, v.7, p.627-648, 2007.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected diseases**, 2013.

YU, M., TSUYOSHI, M., TOHRU, Y., MITSURU, K. , HIROYUKI, O. , HITOSHI, I., TAKASHI, S. Novel 5-substituted 2,4-thiazolidinedione and 2,4-oxazolidinedione derivatives as insulin sensitizers and anti-diabetic activities. **J. Med. Chem.**, v.45, p.1518-1534, 2002.

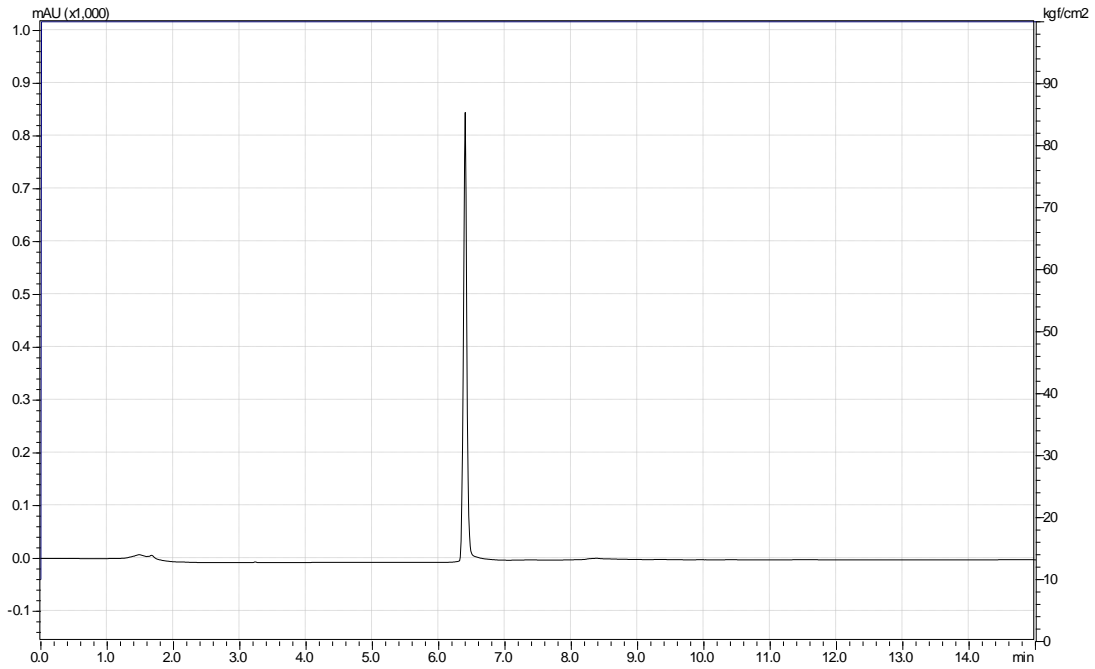
YONEZAWA, S., YAMAKAWA, H., MUTO, C. et al. Conformational restriction approach to BACE1 inhibitors II: SAR study of the isocytosine derivatives fixed with a cis-cyclopropane ring. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.23, p. 2912-2915, 2013.

ZHANG, D. et al. Ultrasonics Sonochemistry Efficient one-pot three-component synthesis of N- (4-arylthiazol-2-yl) hydrazones in water under ultrasound irradiation. v. 19, p. 475–478, 2012.

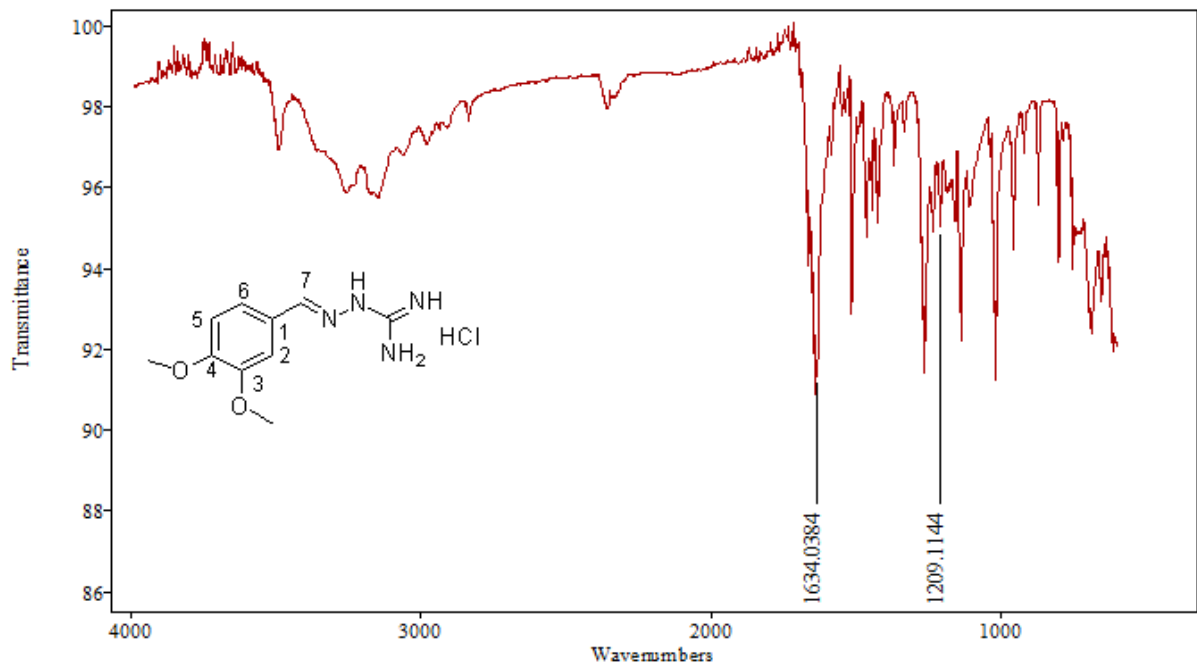
ZAMAN, S.; MITSURU, K.; ANDREW, D. A.; Synthesis of Trisubstituted Imidazoles by Palladium-Catalyzed Cyclization of *o*-Pentafluorobenzoylamidoximes: Application to Amino Acid Mimetics with a CTerminal Imidazole. **Org. Lett.**, v. 7, n. 4, p. 609-611, 2005.

ZUNINO, F., S. DALLAVALLE, D. LACCABUE, G. BERETTA, L. MERLINI, G. PRATESI. Current status and perspectives in the development of camptothecins, **Curr. Pharm. Des**, v. 8, p. 2505-2520, 2002.

ANEXOS**Anexo A****Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto LQM05 (61)**

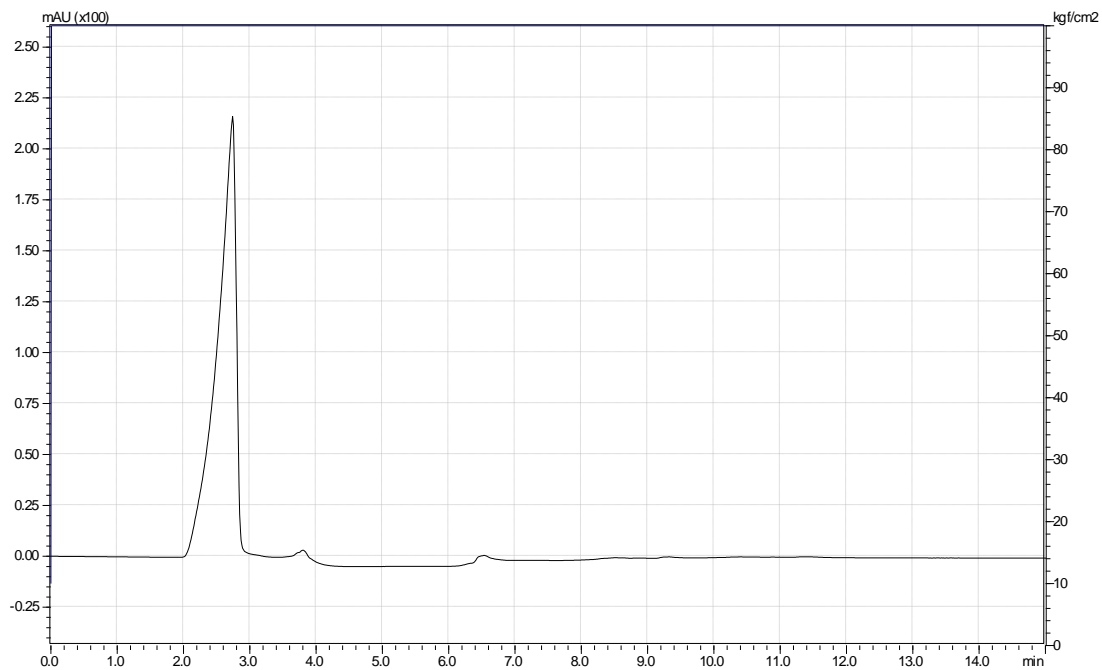


Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto LQM05 (61)

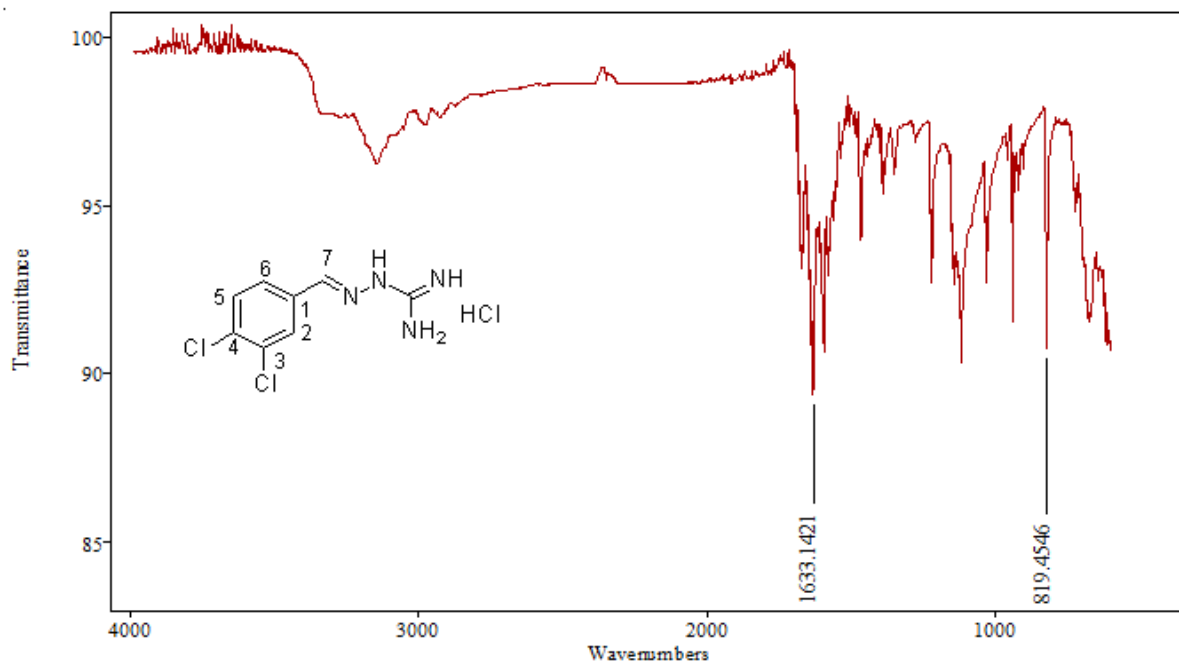


Anexo B

Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto LQM17 (62)

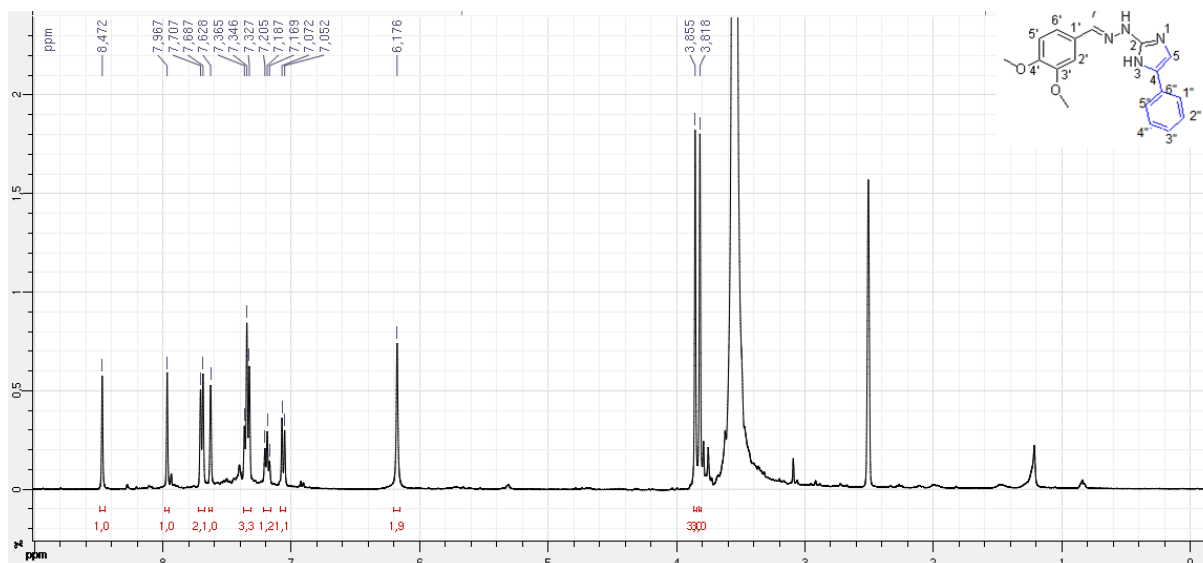


Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto LQM17 (62)

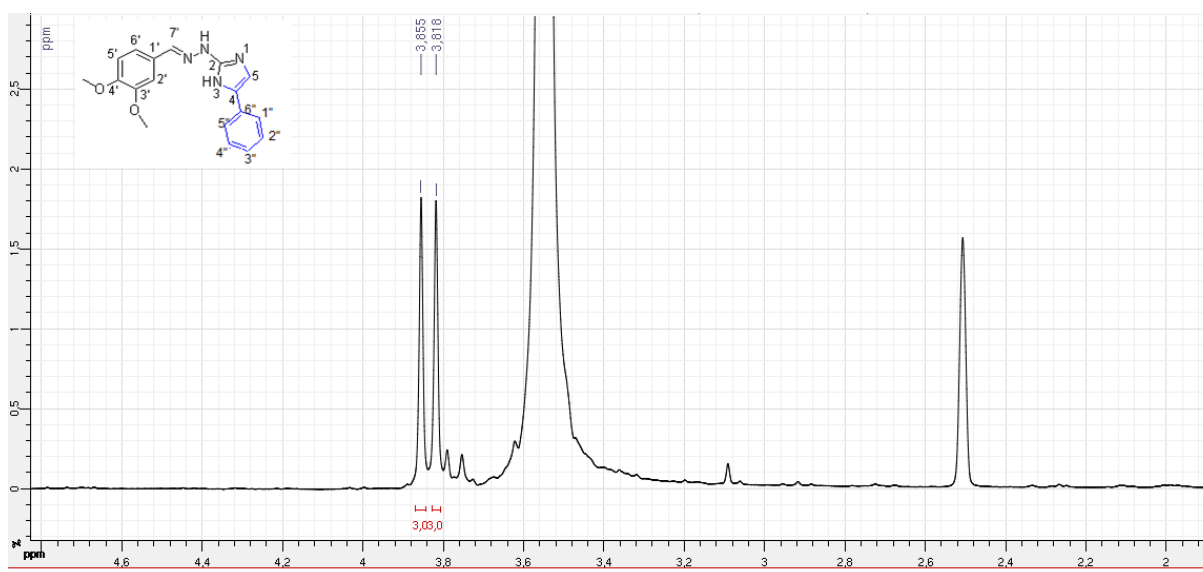


Anexo C

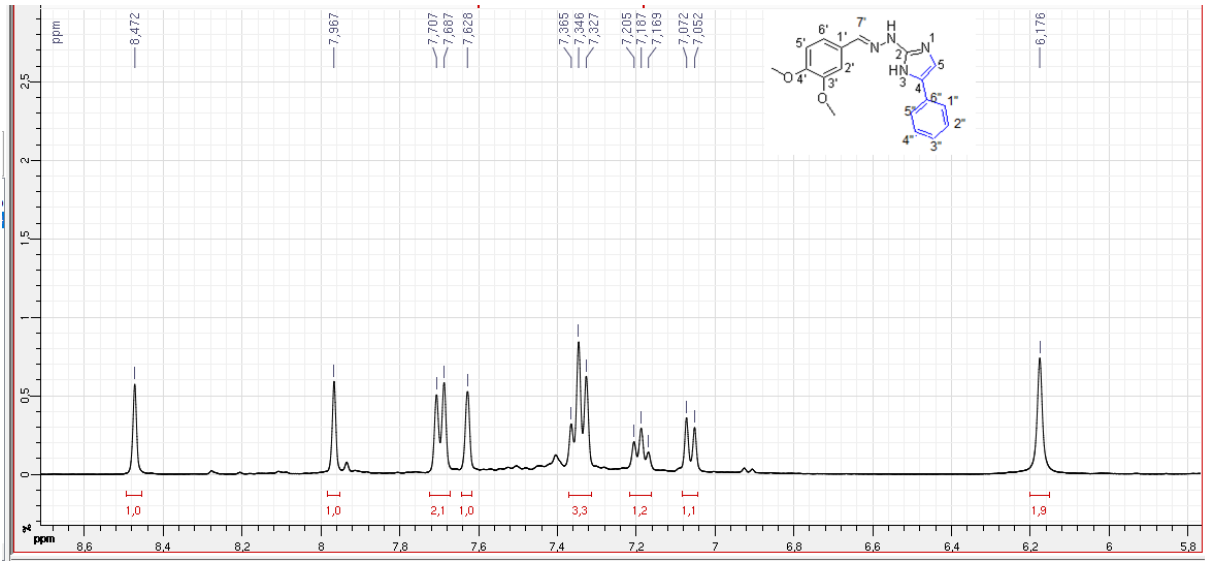
Espectro de RMN ¹H do composto (63) (400MHz, DMSO-*d*₆)



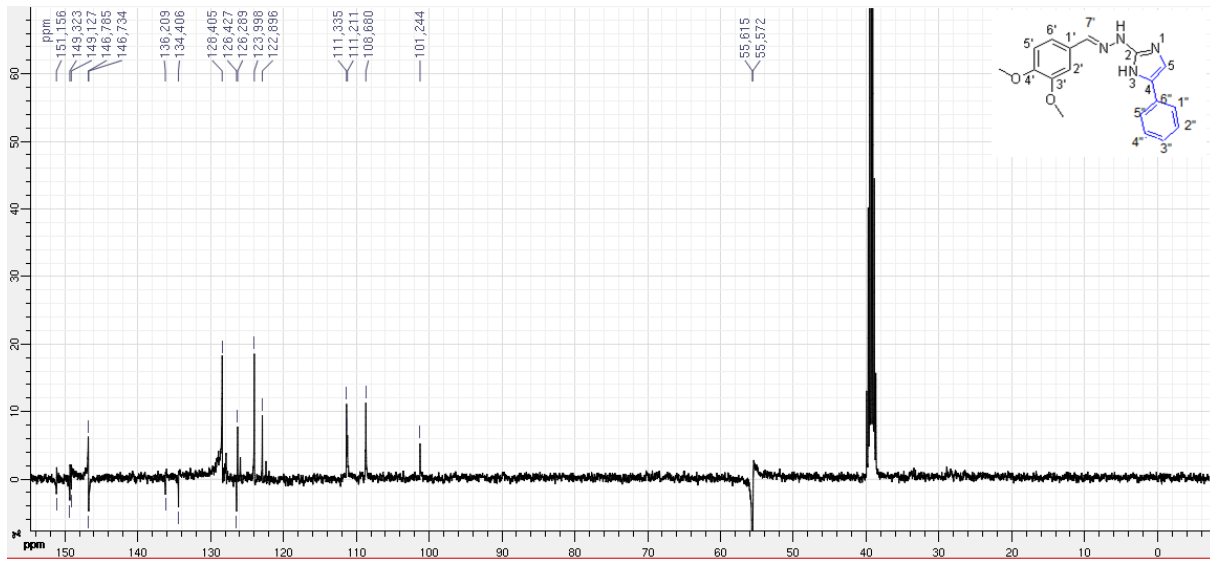
Ampliação de δ 2 – 4.6 do Espectro de RMN ^1H do composto (63) (400MHz, DMSO- d_6)



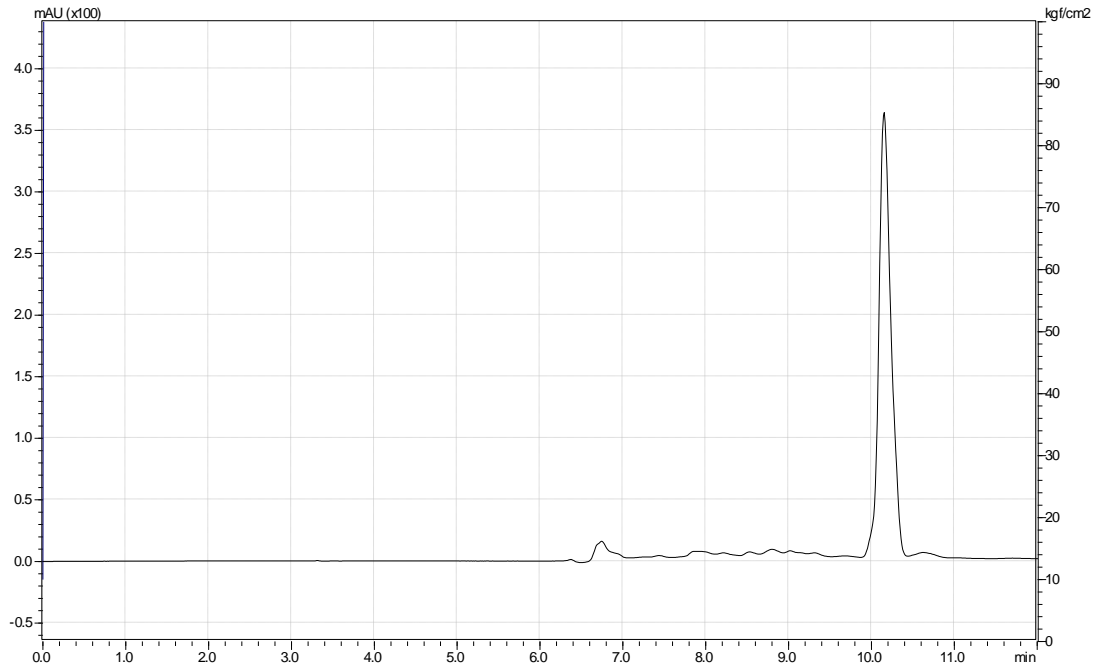
Ampliação de δ 6.0 – 8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (63) (400MHz, DMSO- d_6)



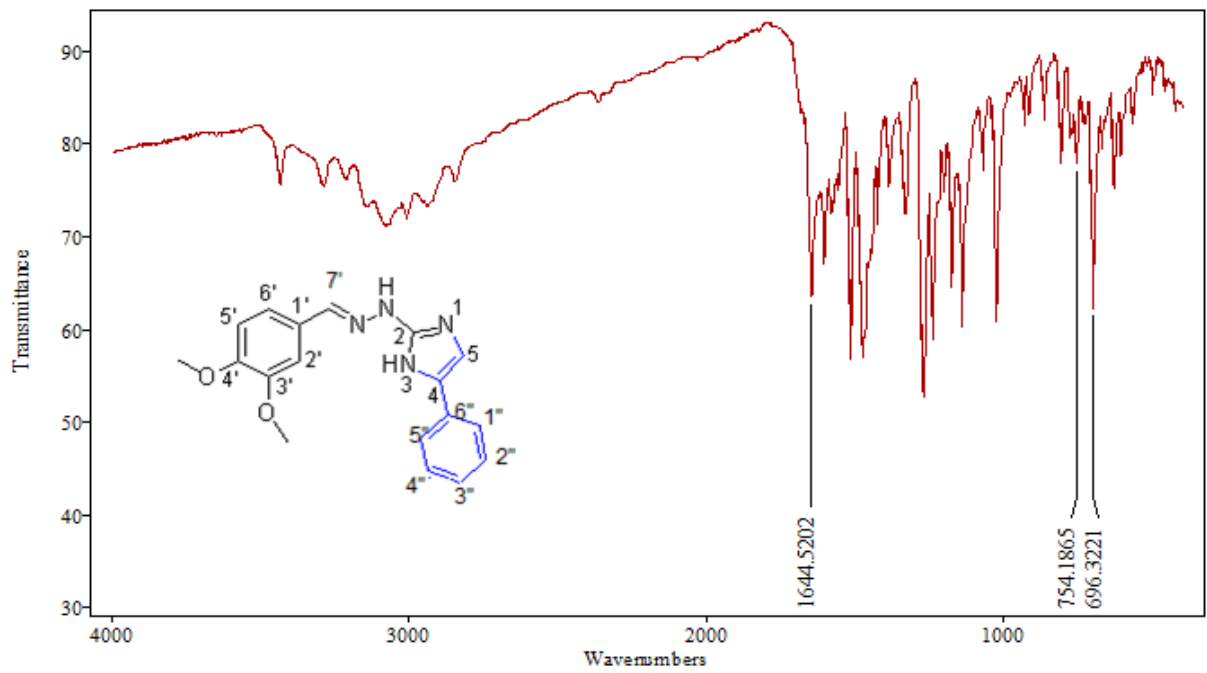
Espectro de RMN ¹³C (Dept) do composto (63) (100MHz, DMSO-d₆)



Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto (63)

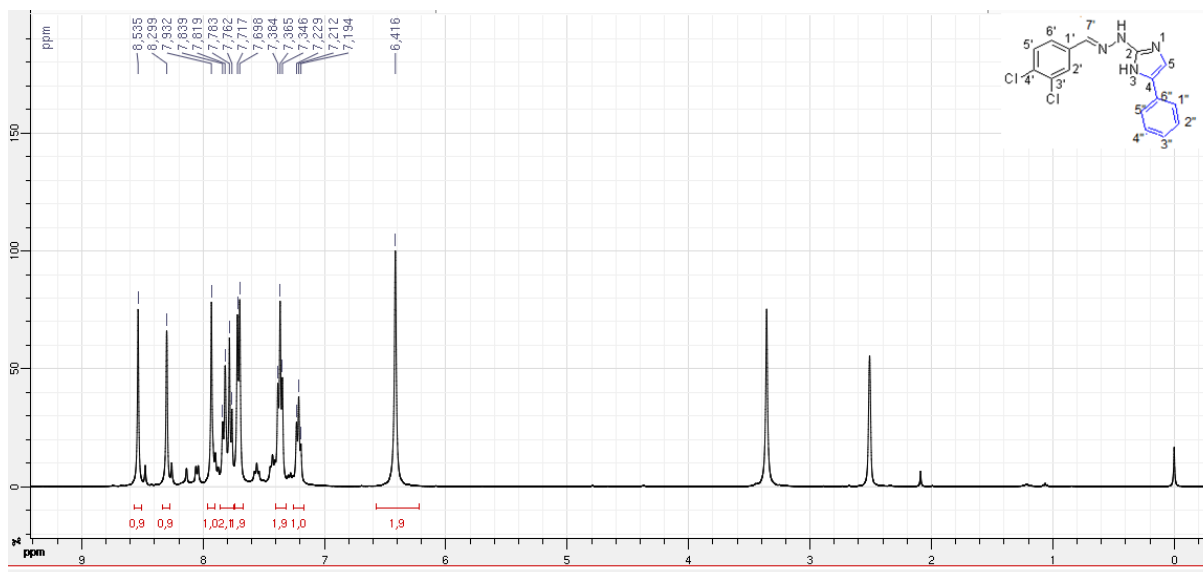


Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (63)

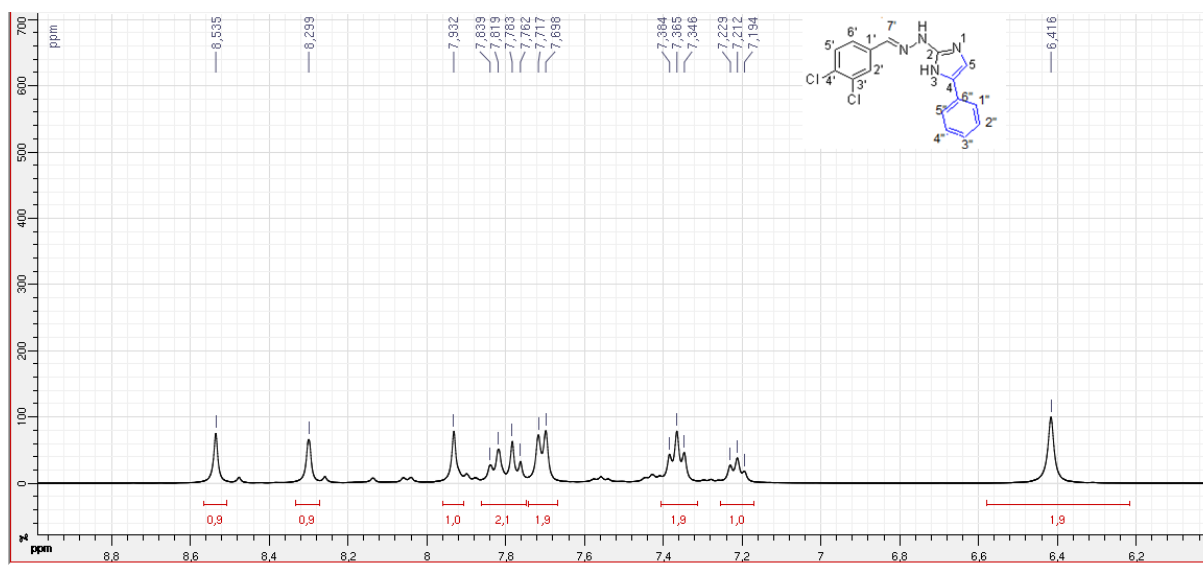


Anexo D:

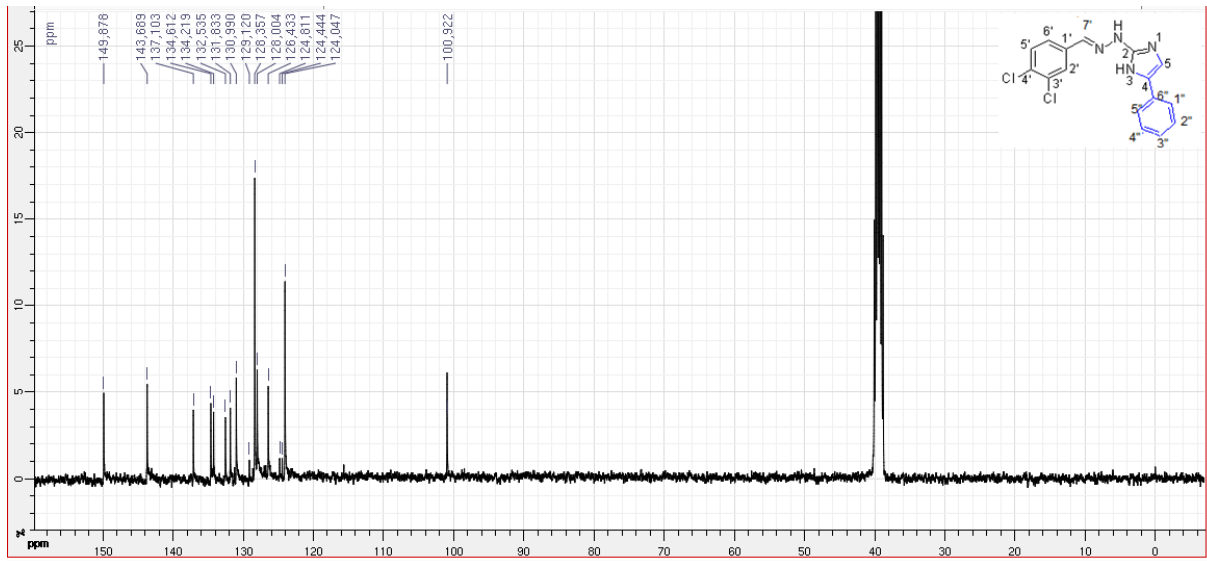
Espectro de RMN ^1H do composto (64) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



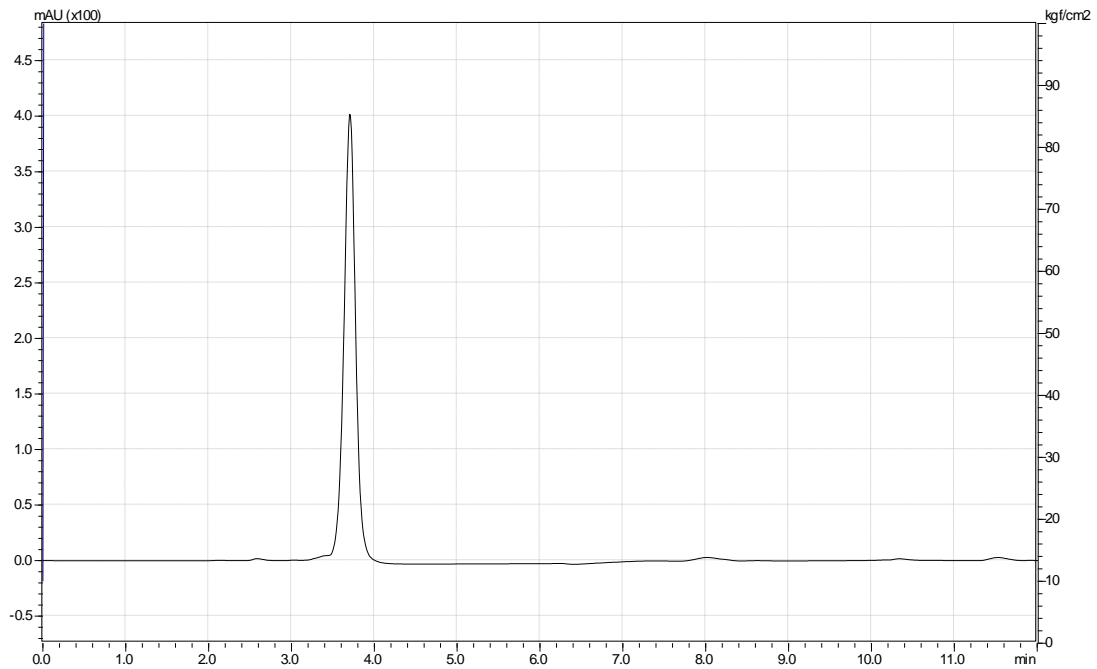
Ampliação de δ 6.2 – 8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (64) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

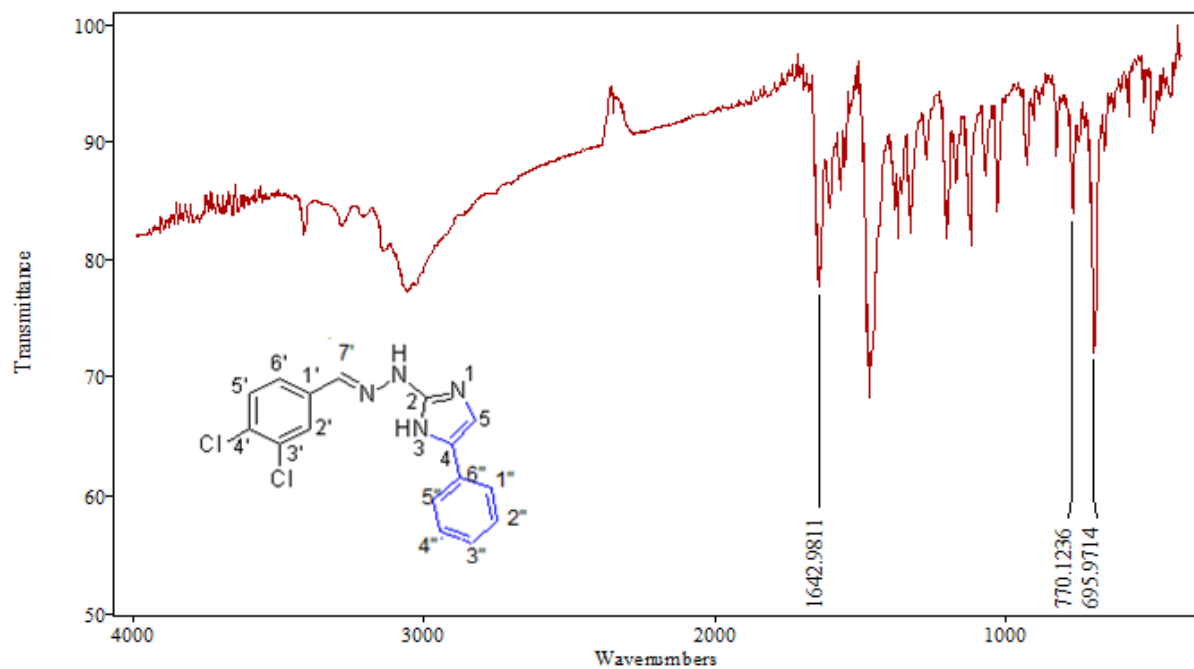


Espectro de RMN ^{13}C do composto (64) (100MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

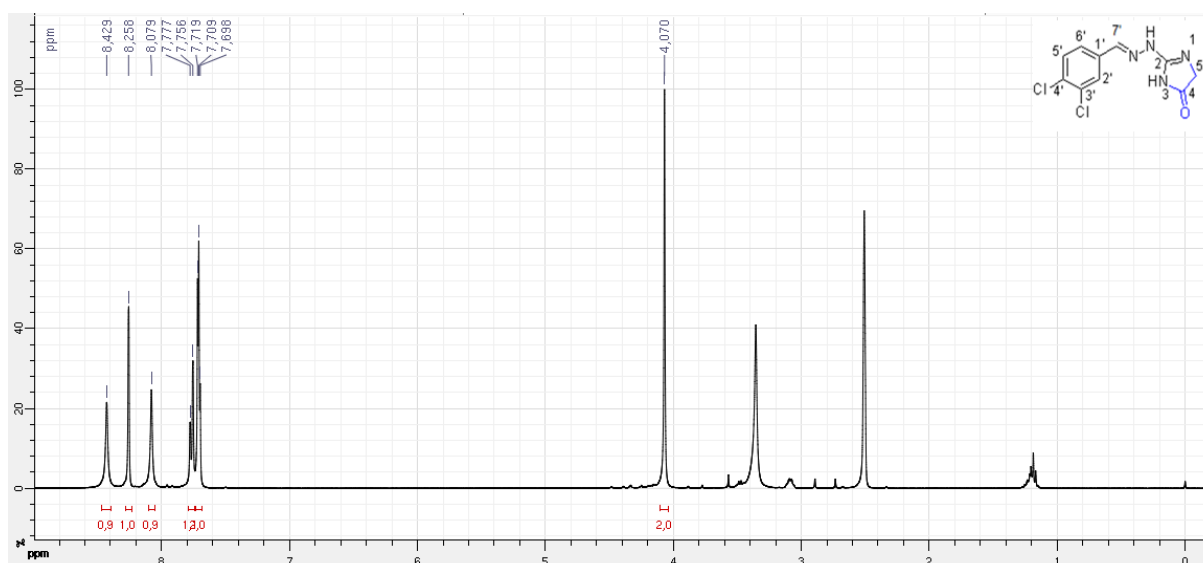
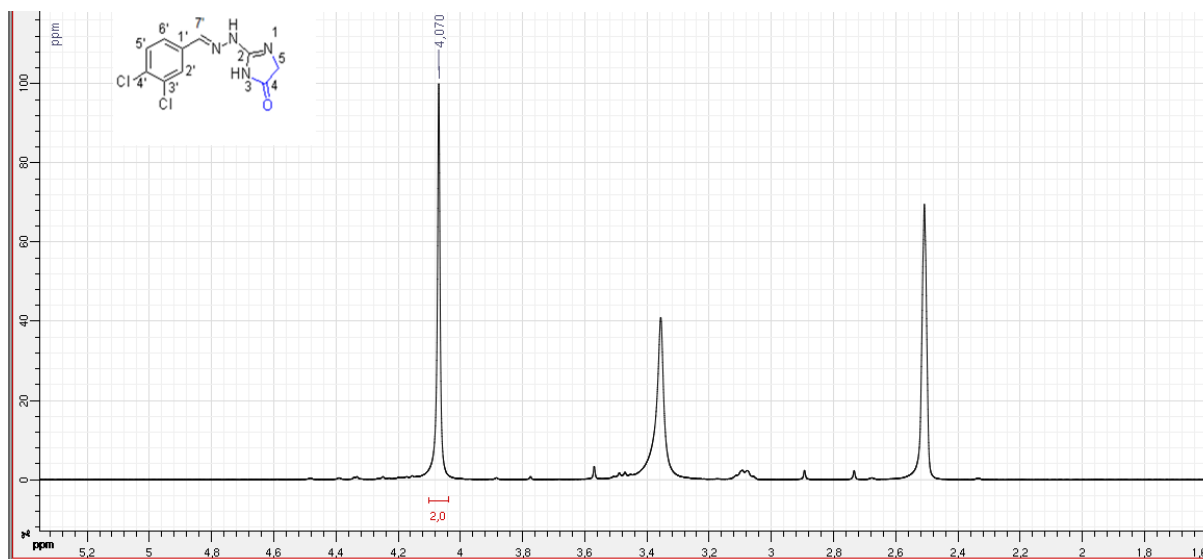


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto (64)

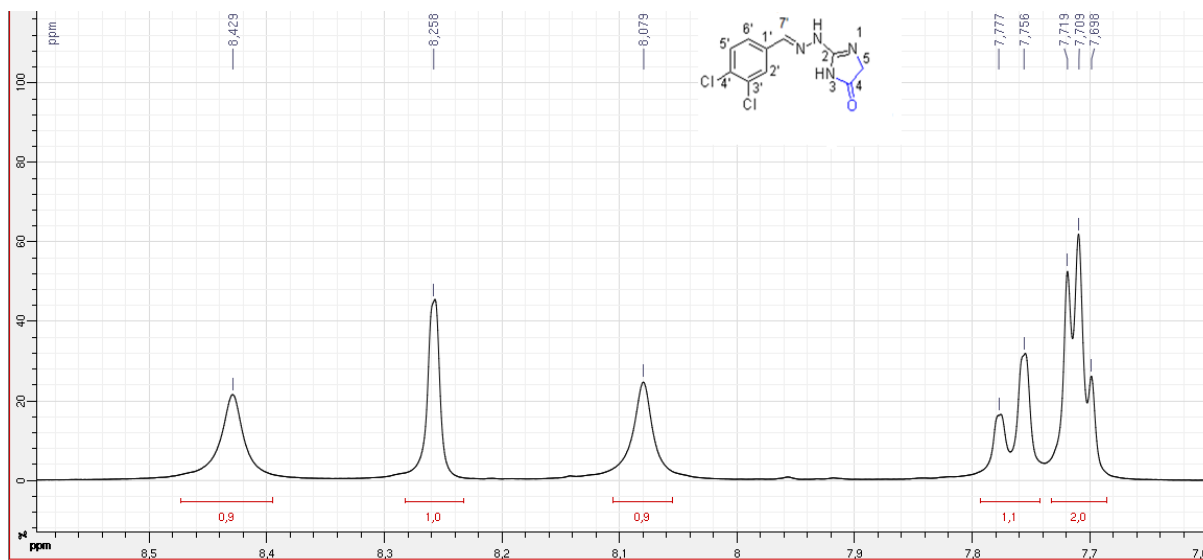


Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (64)

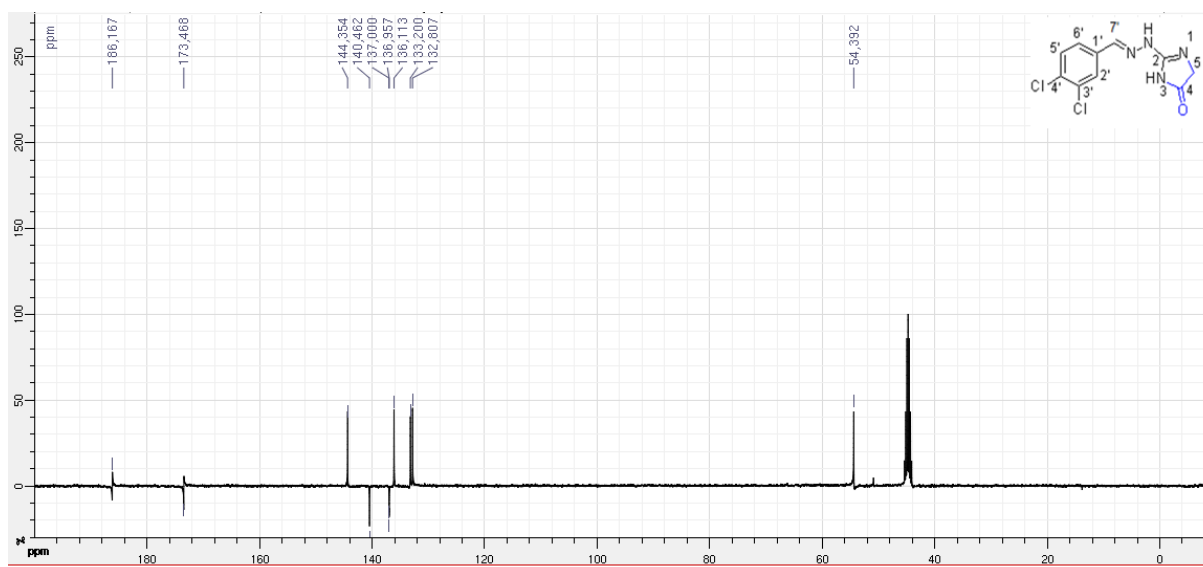
Anexo E:

Espectro de RMN ^1H do composto (65) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 2.5 – 5.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (65) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

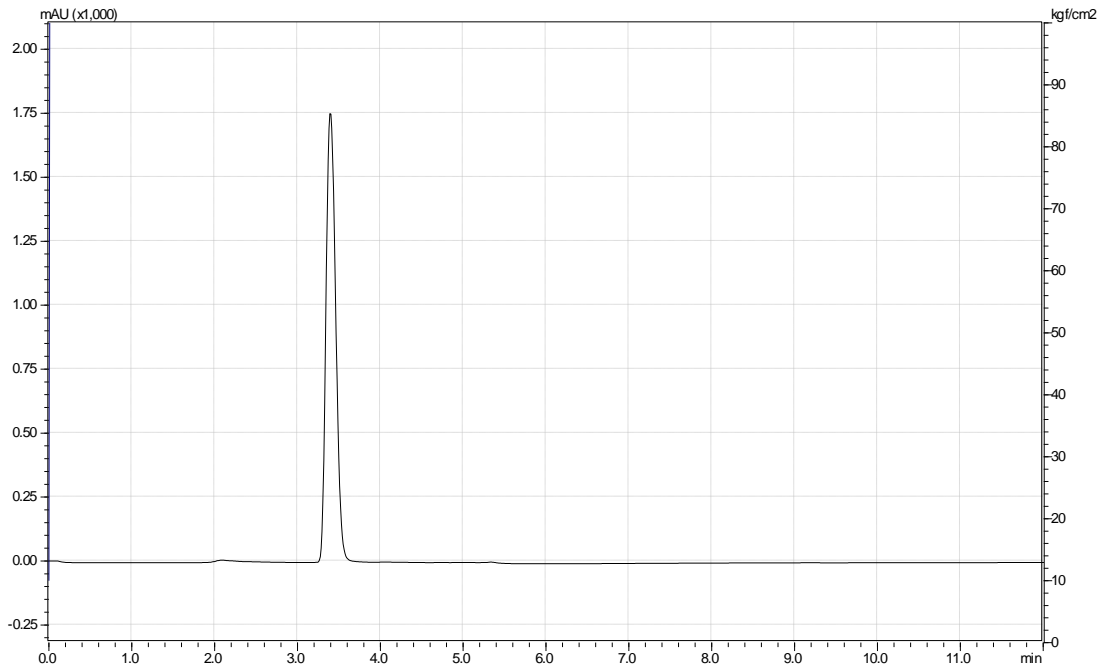
Ampliação de δ 7.5 – 8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (65) (400MHz, DMSO- d_6)



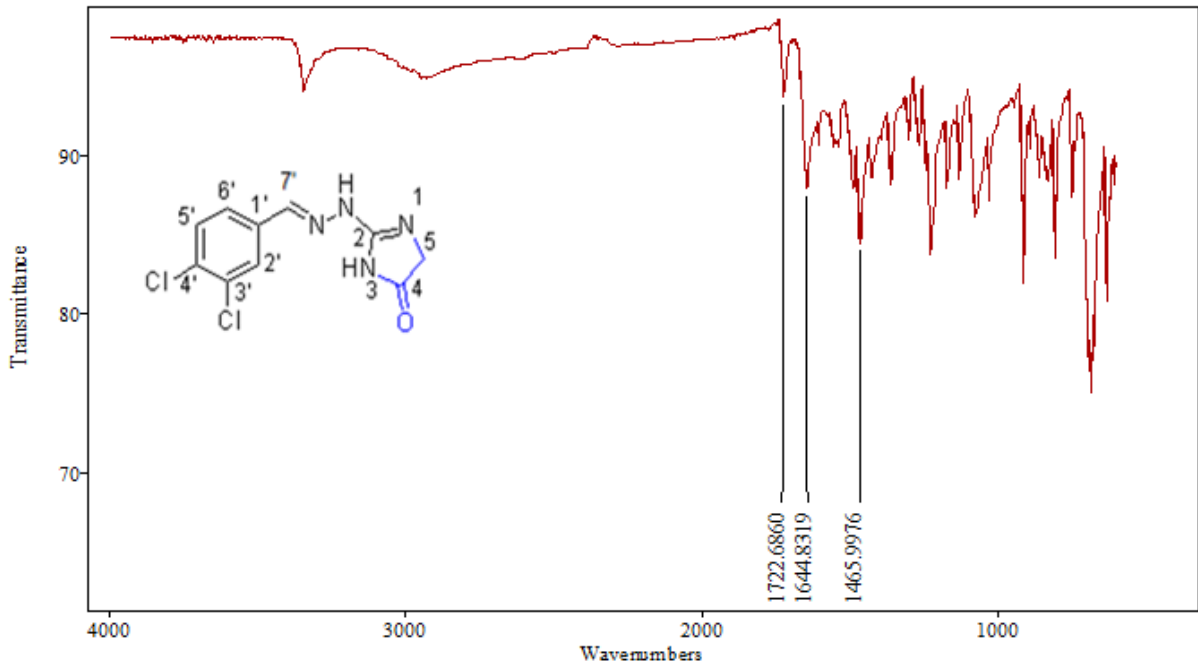
Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (65) (100MHz, DMSO- d_6)



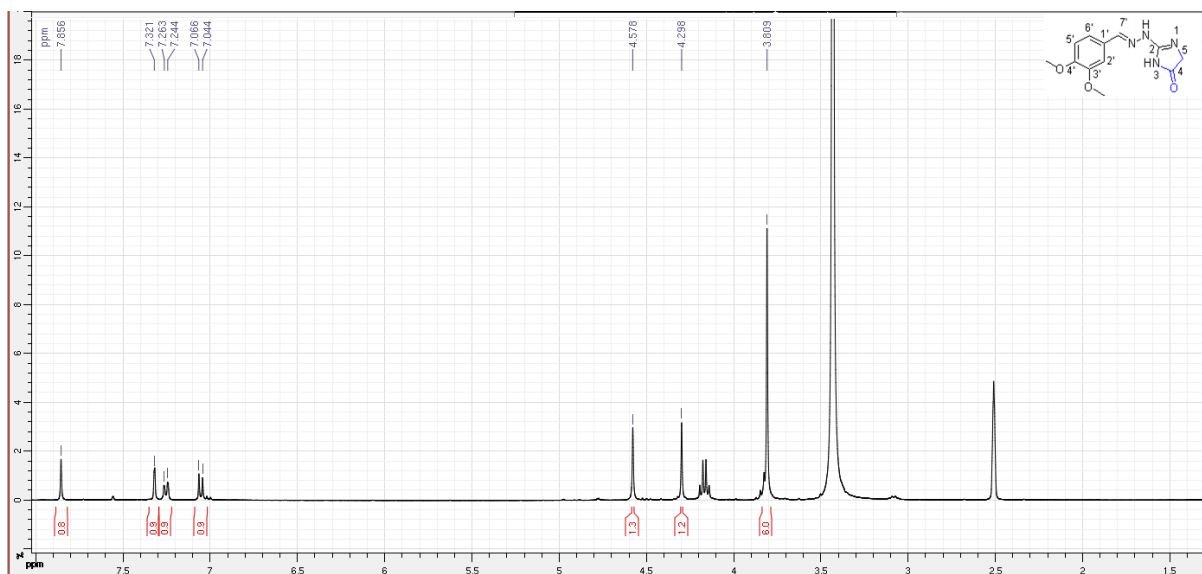
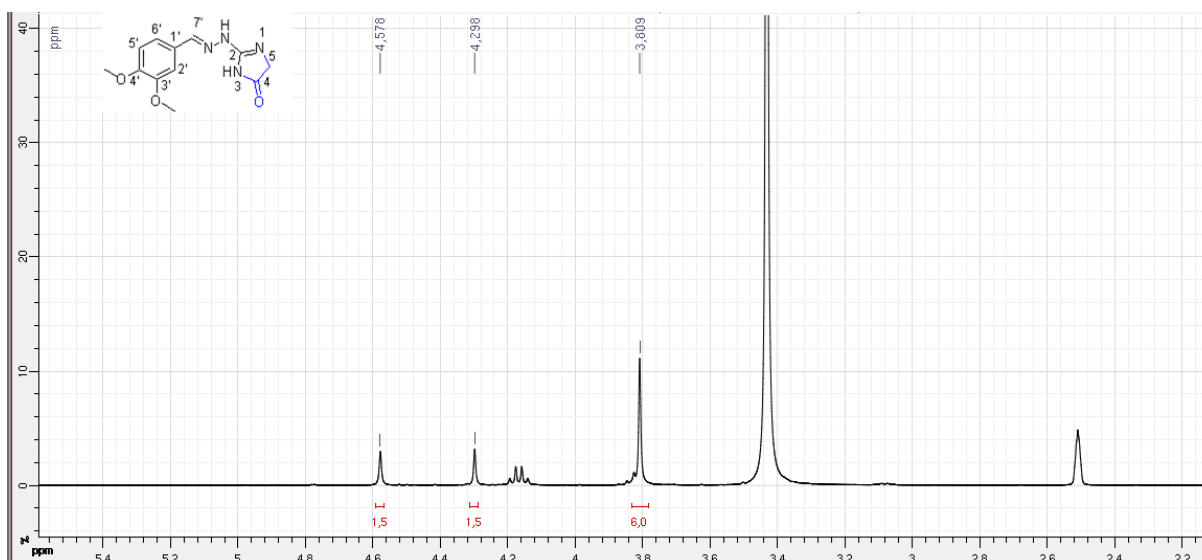
Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto (65)



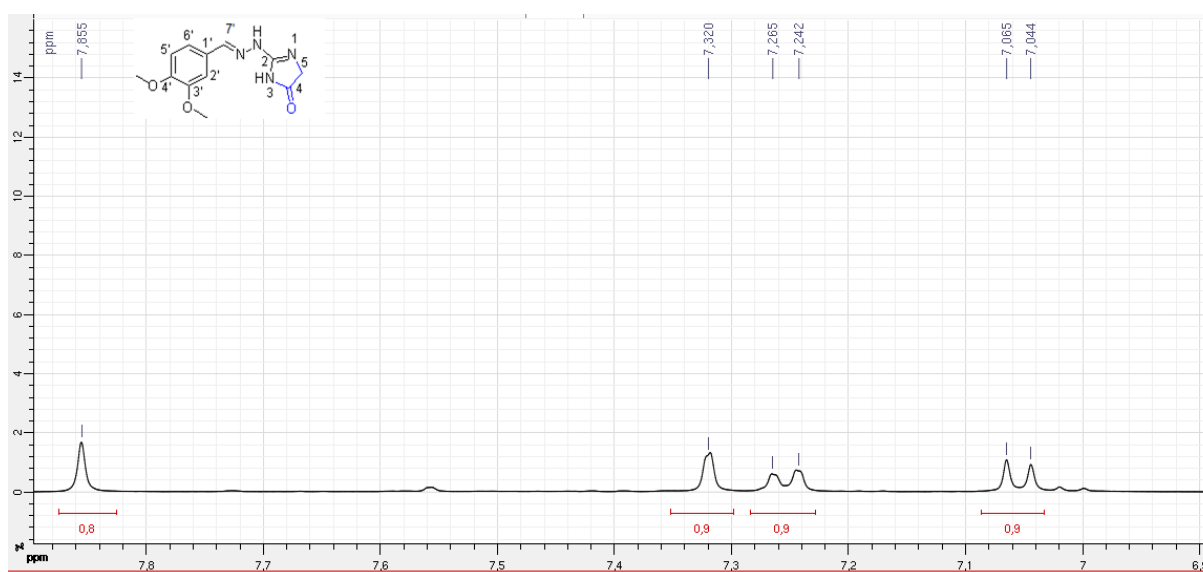
Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (65)



Anexo F:

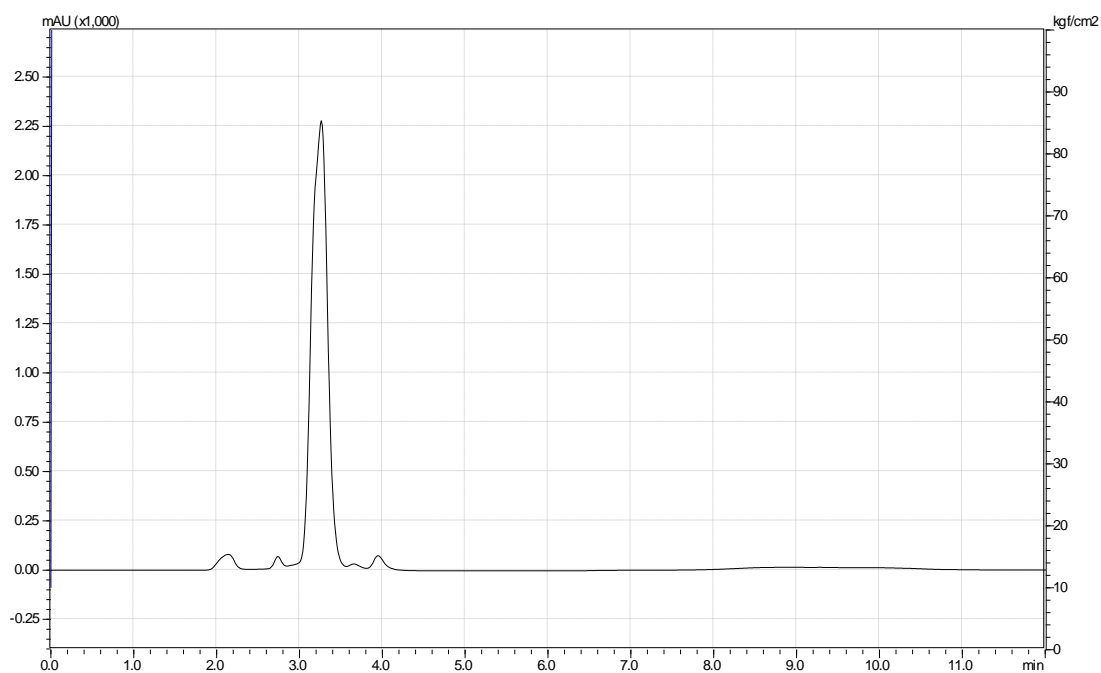
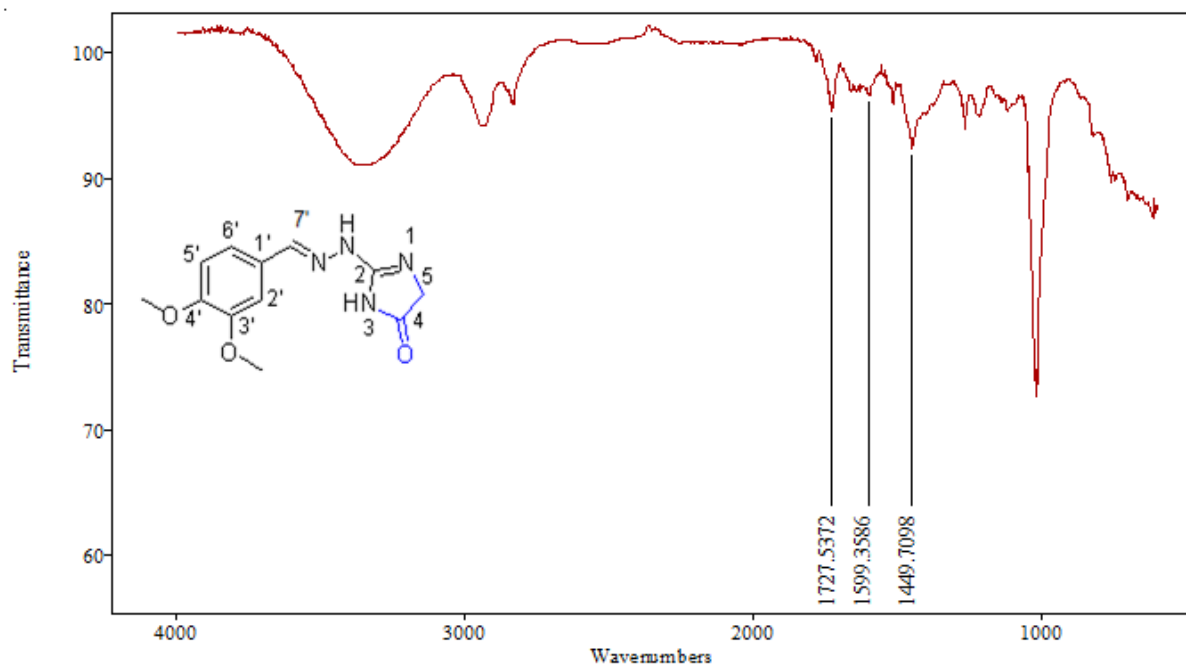
Espectro de RMN ^1H do composto (66) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 2.5 – 4.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (66) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

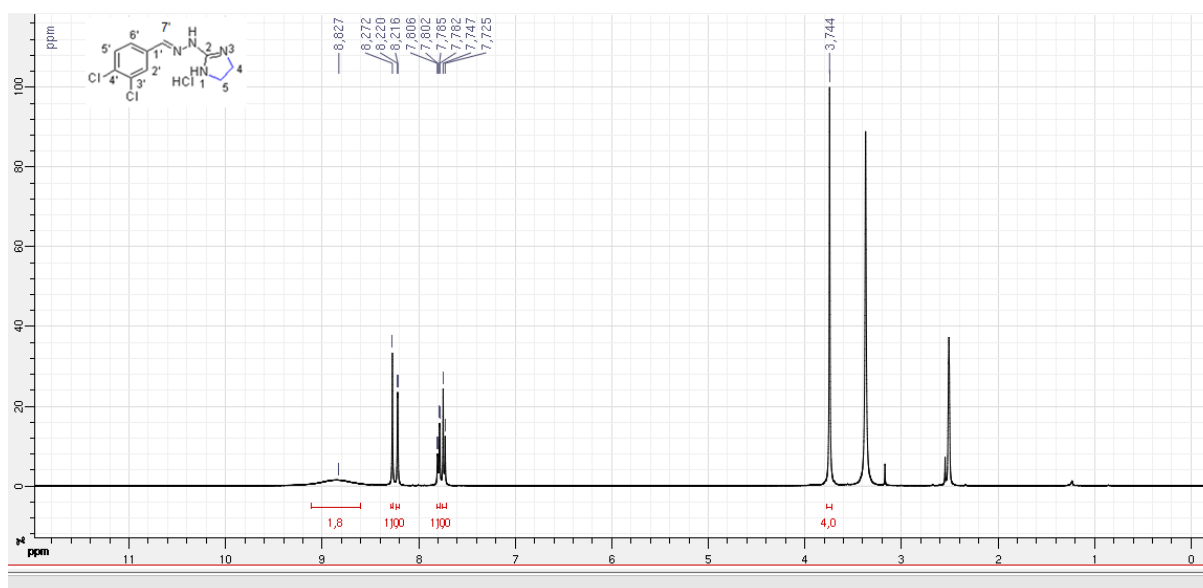
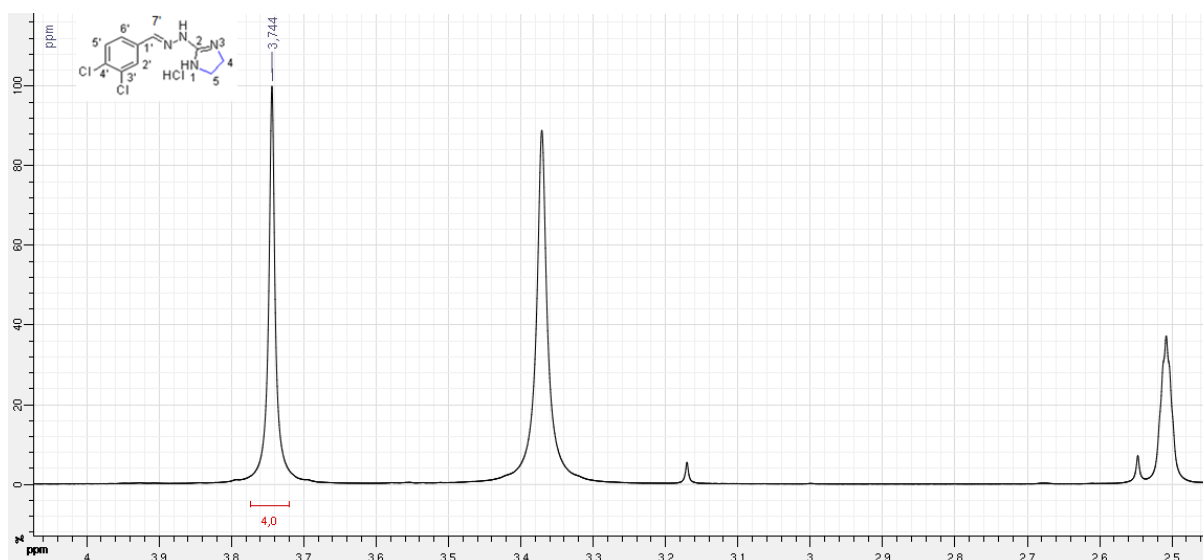
Ampliação de δ 7.0 – 7.85 do Espectro de RMN ^1H do composto (66) (400MHz, DMSO- d_6)



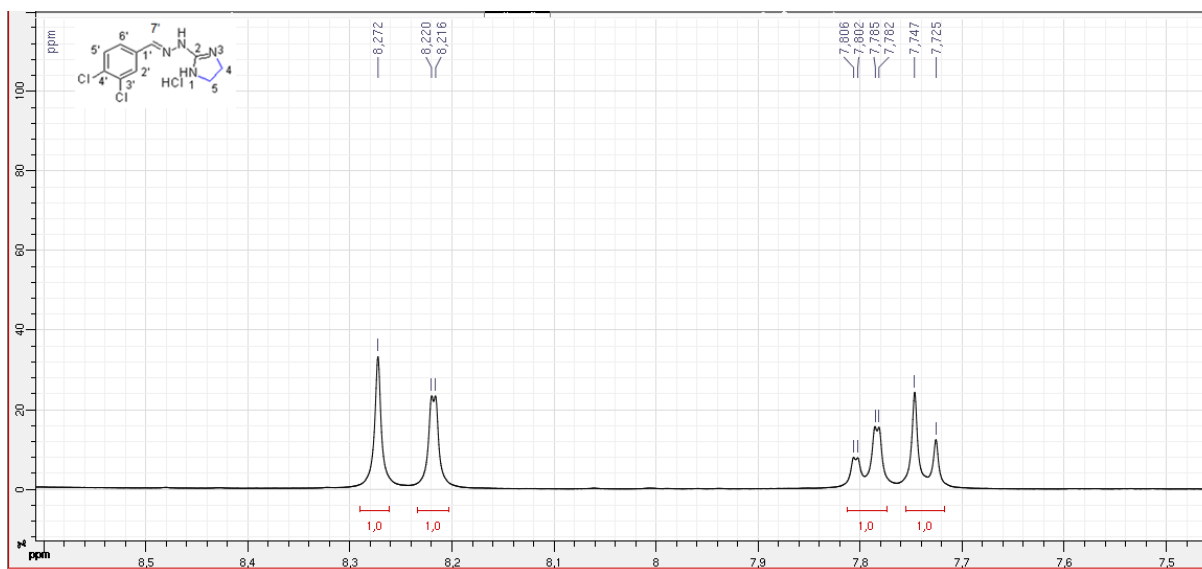
Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (66) (100MHz, DMSO- d_6)



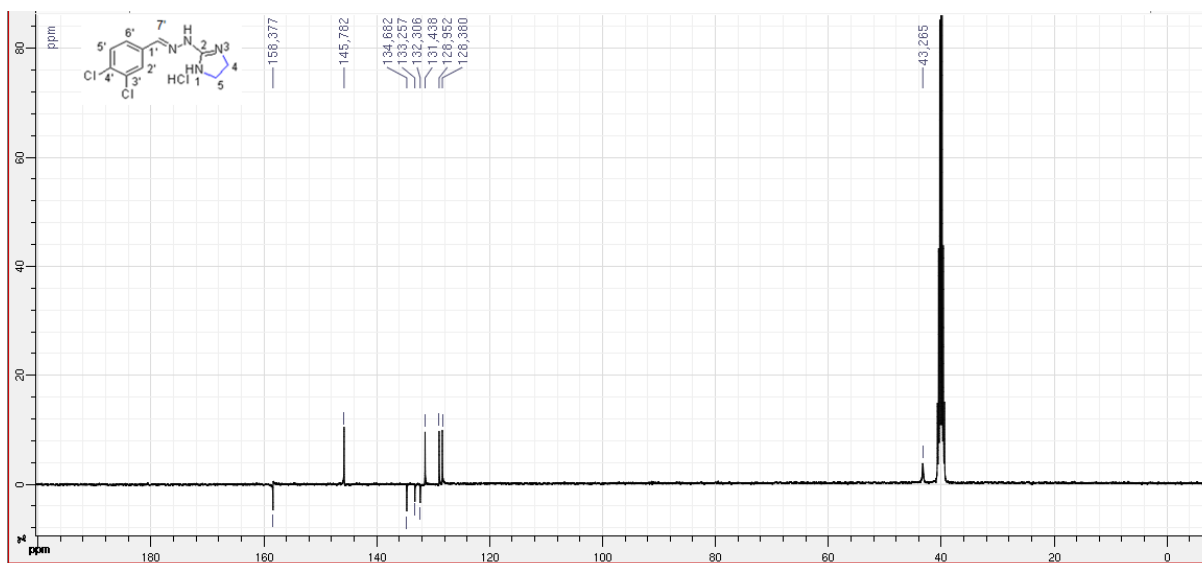
Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto (66)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (66)**

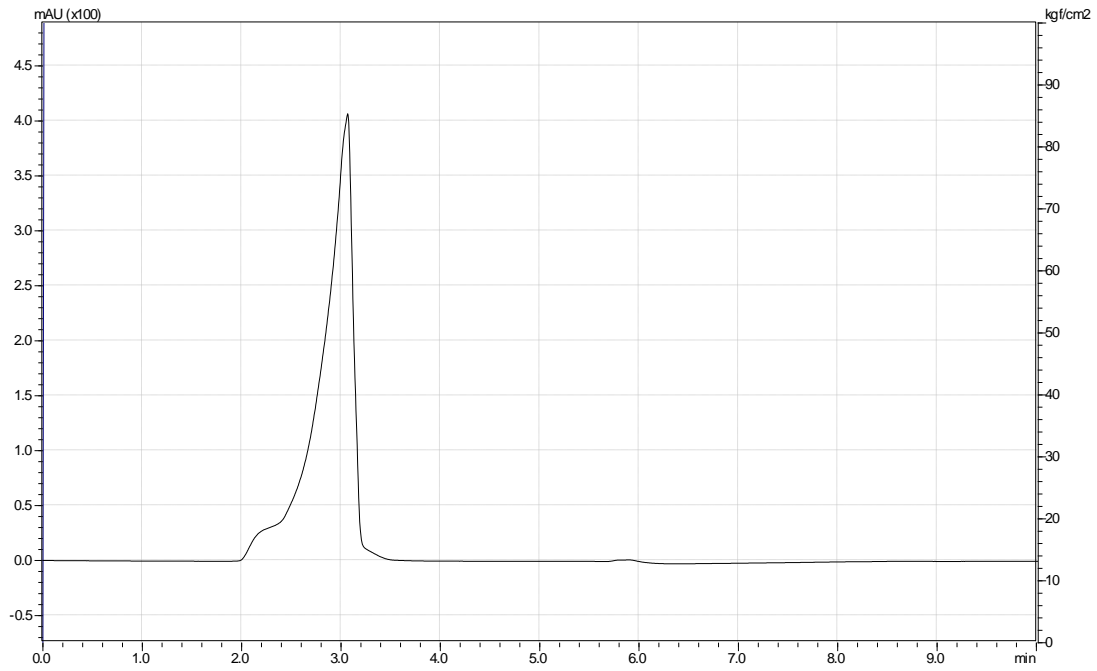
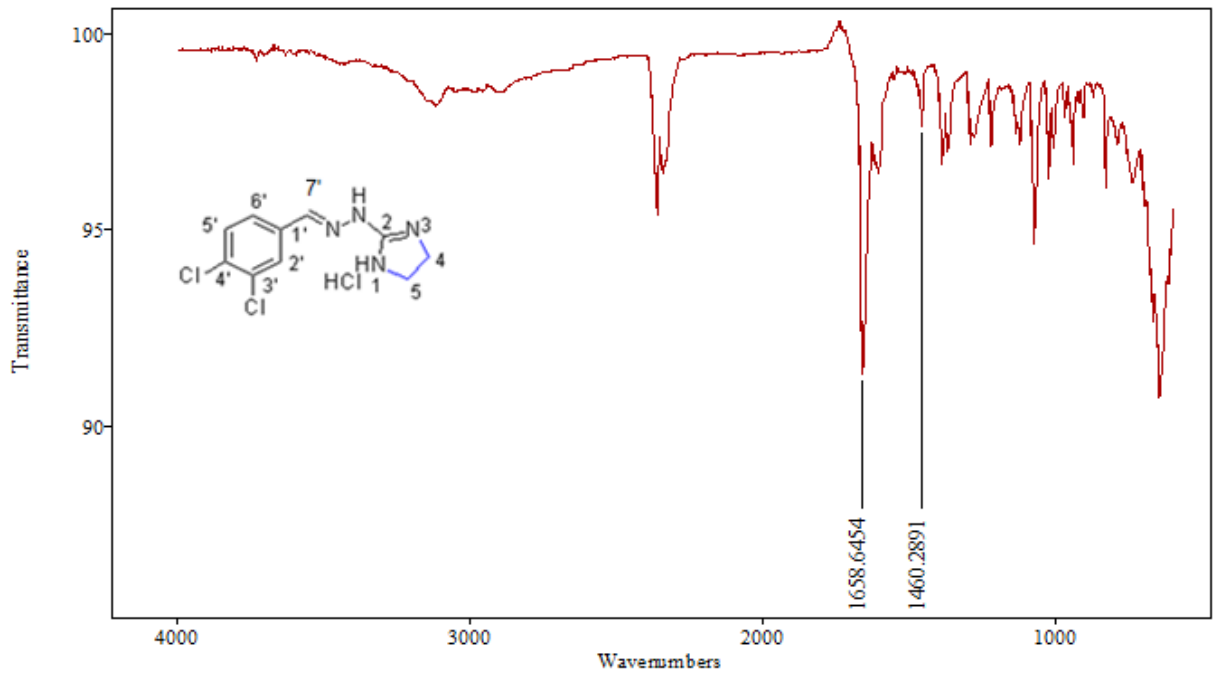
Anexo G:**Espectro de RMN ^1H do composto (67) (400MHz, DMSO- d_6)****Ampliação de δ 2.5 – 4.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (67) (400MHz, DMSO- d_6)**

Ampliação de δ 7.5-8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (67) (400MHz, DMSO- d_6)

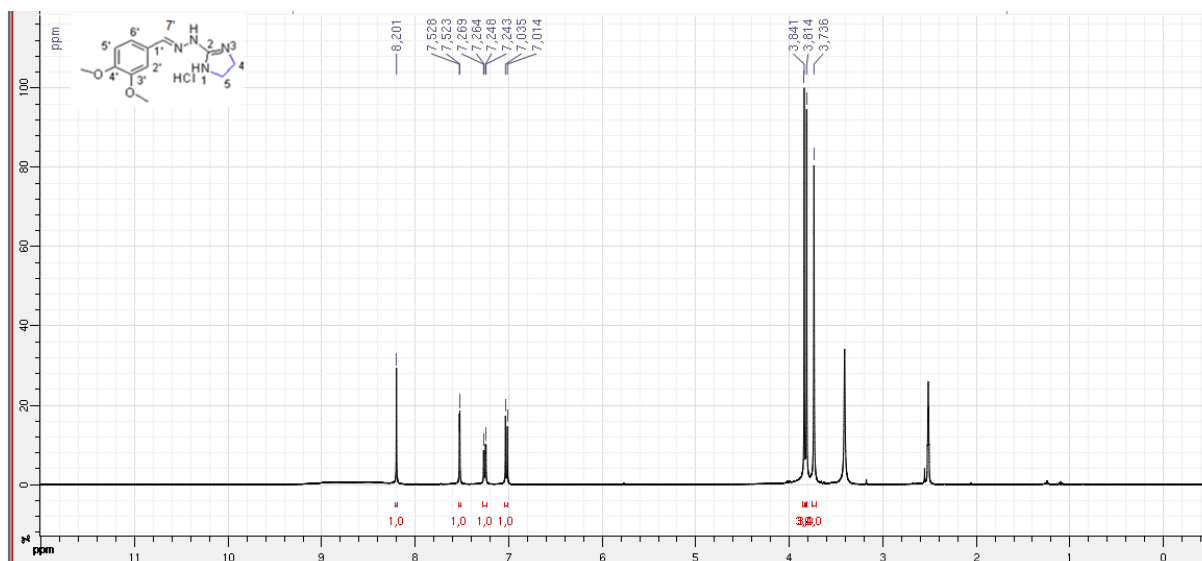
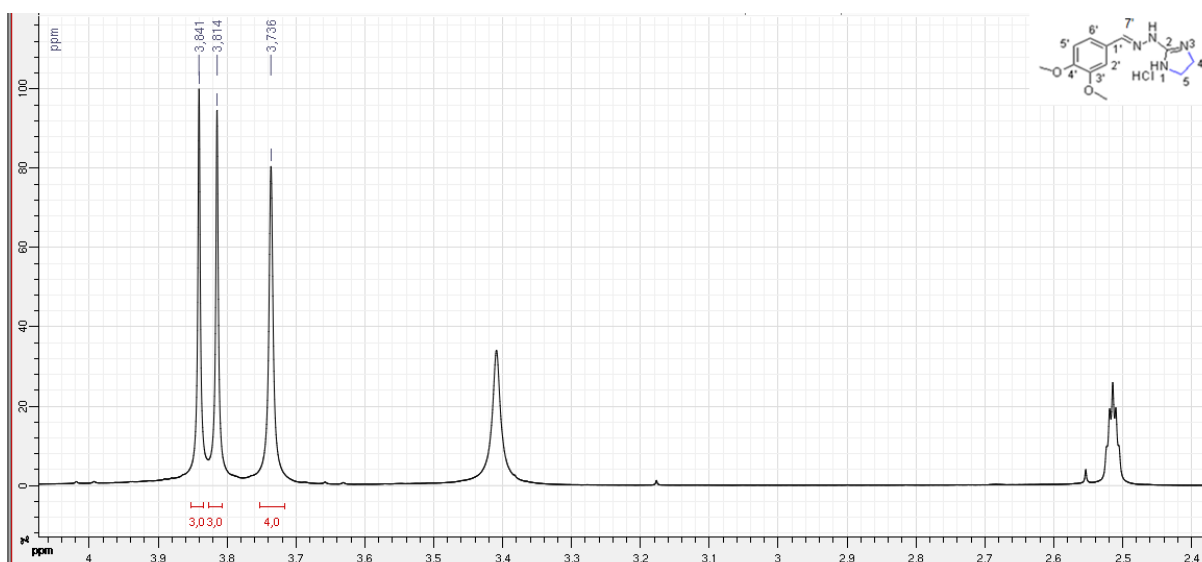


Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (67) (100MHz, DMSO- d_6)

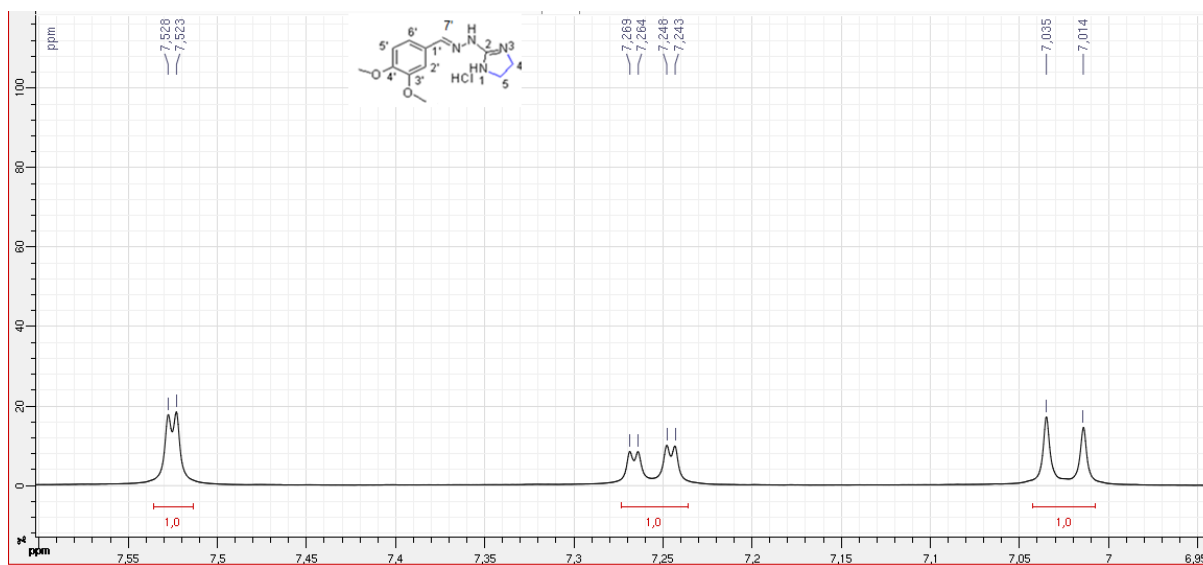


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (67)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (67)**

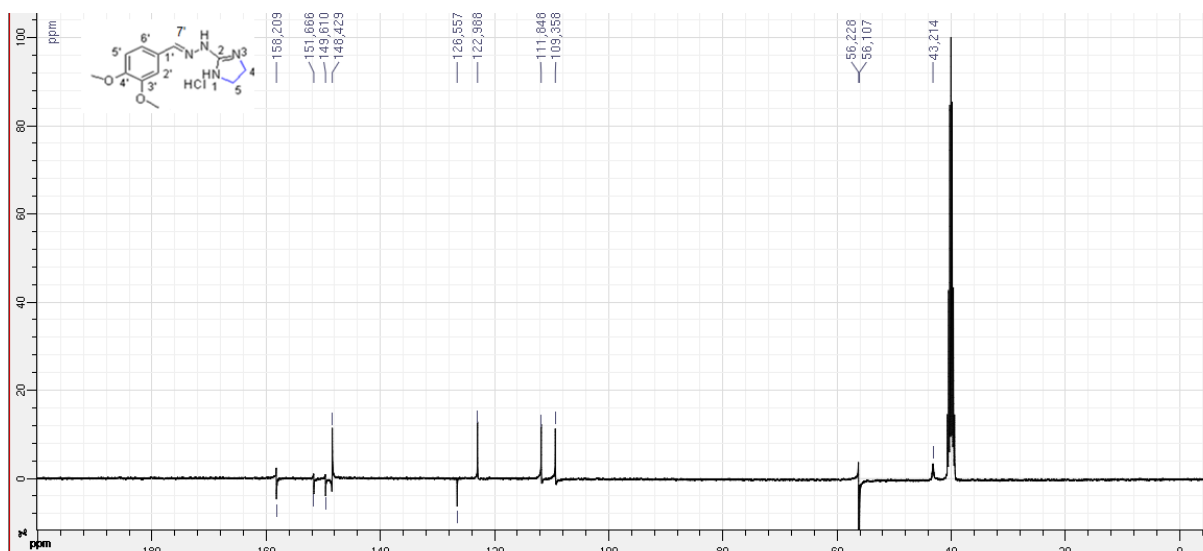
Anexo H:

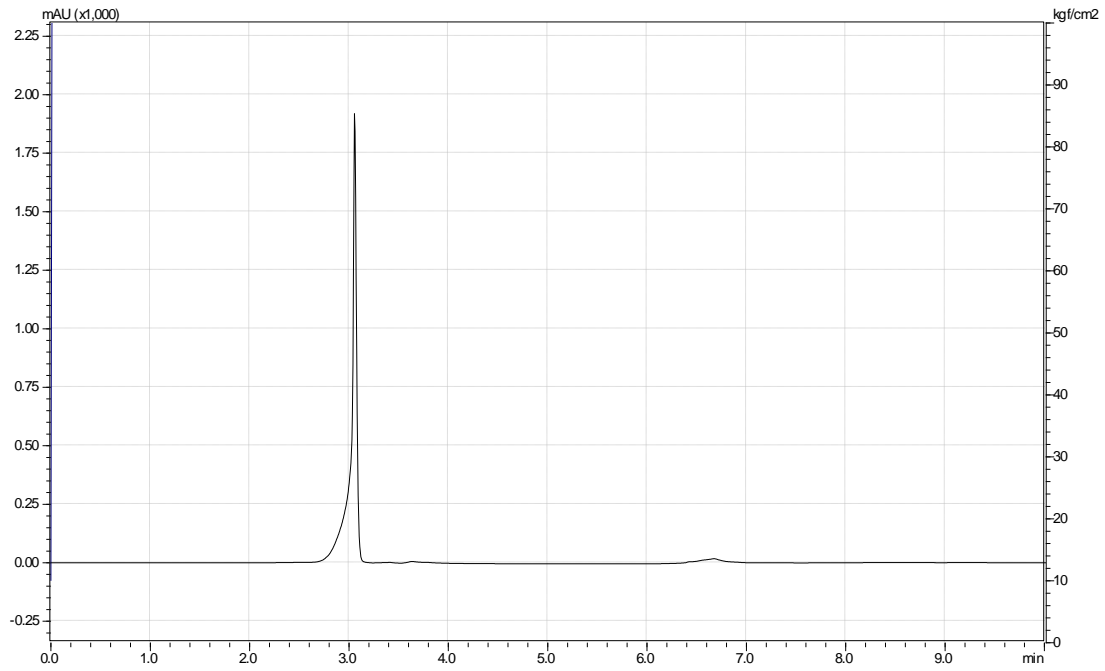
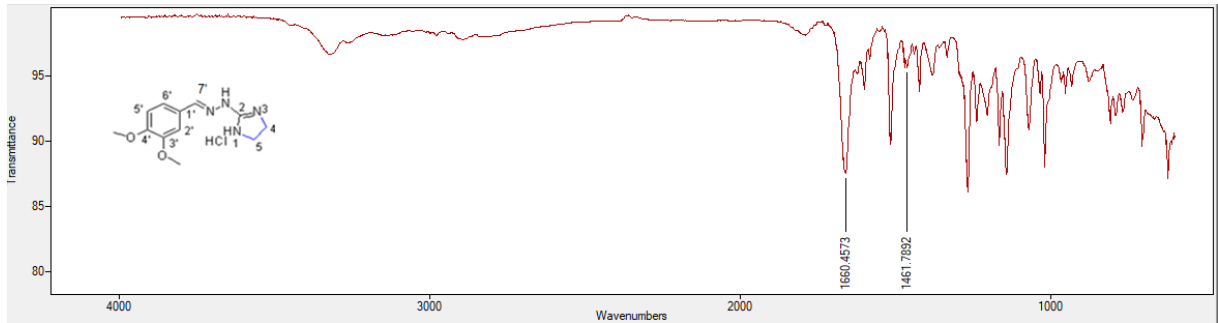
Espectro de RMN ^1H do composto (68) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 2.5-4.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (68) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 7.0-7.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (68) (400MHz, DMSO- d_6)

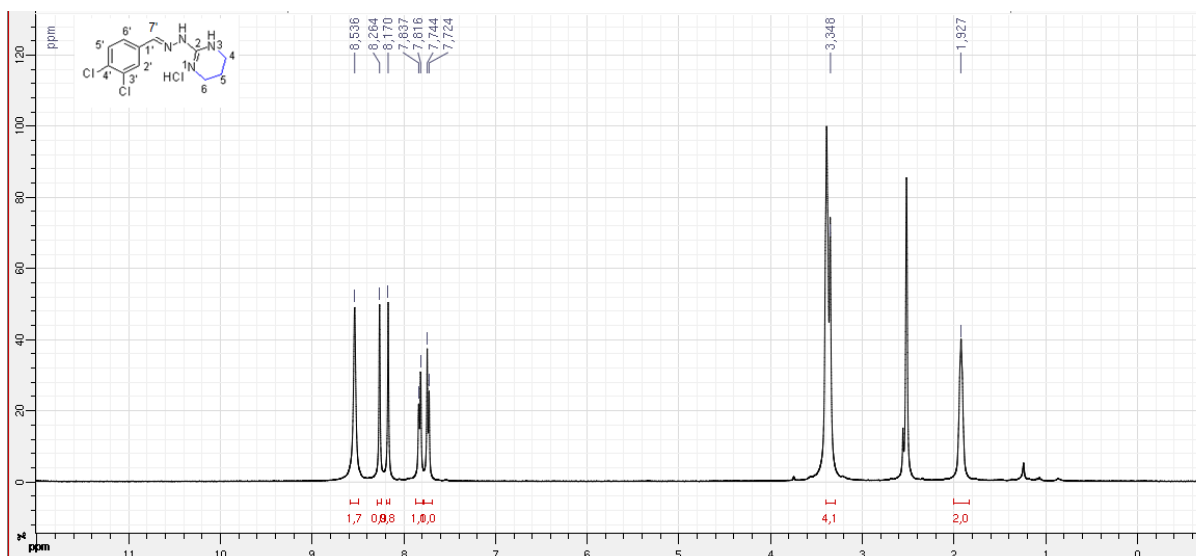
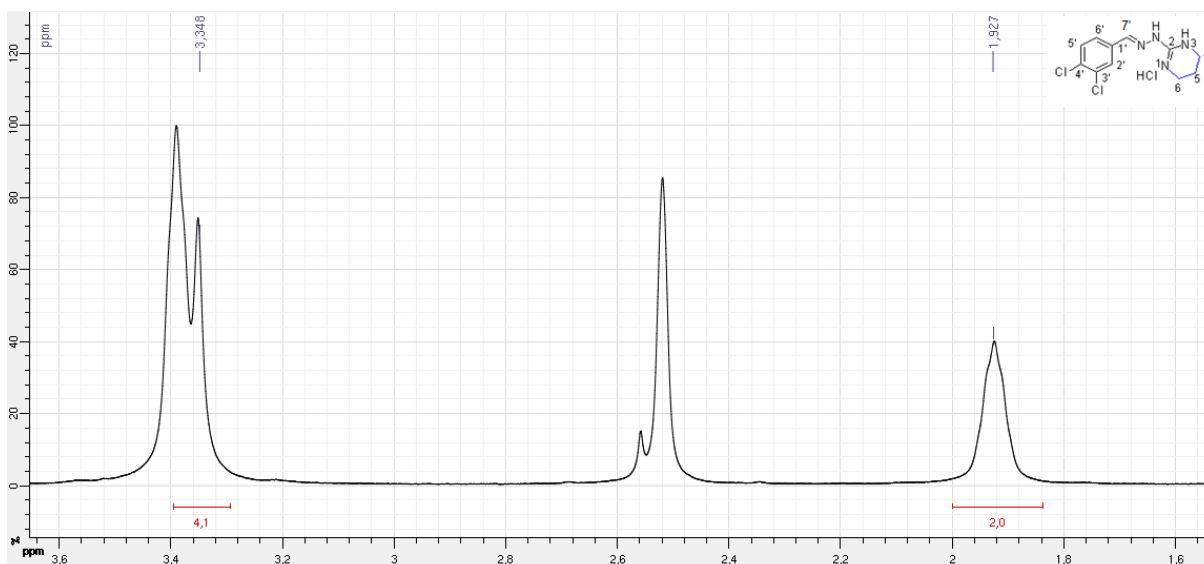


Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (68) (100MHz, DMSO- d_6)

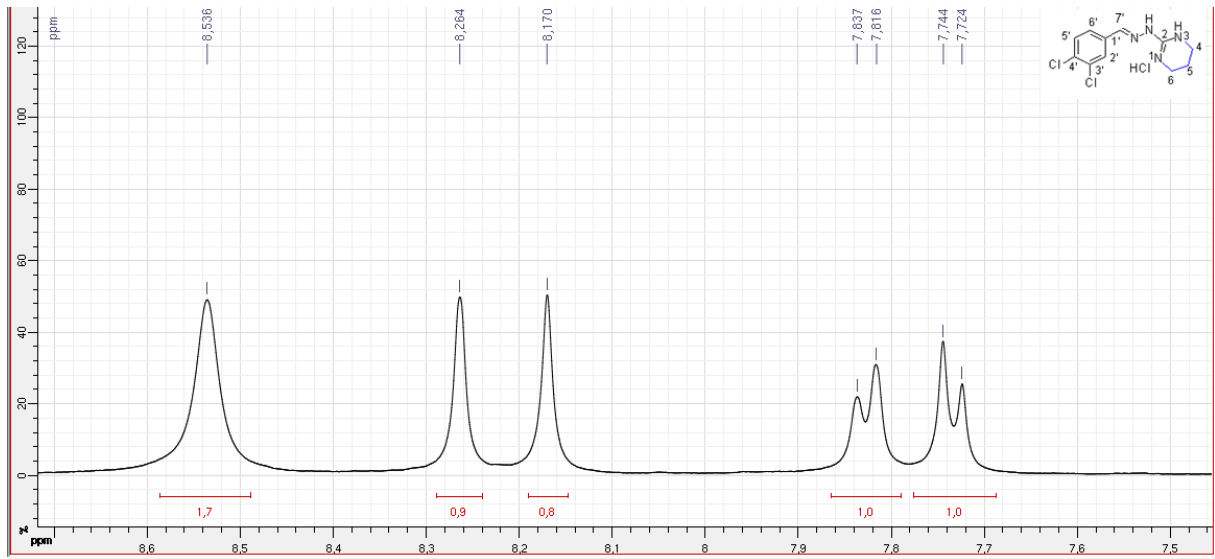


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (68)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (68)**

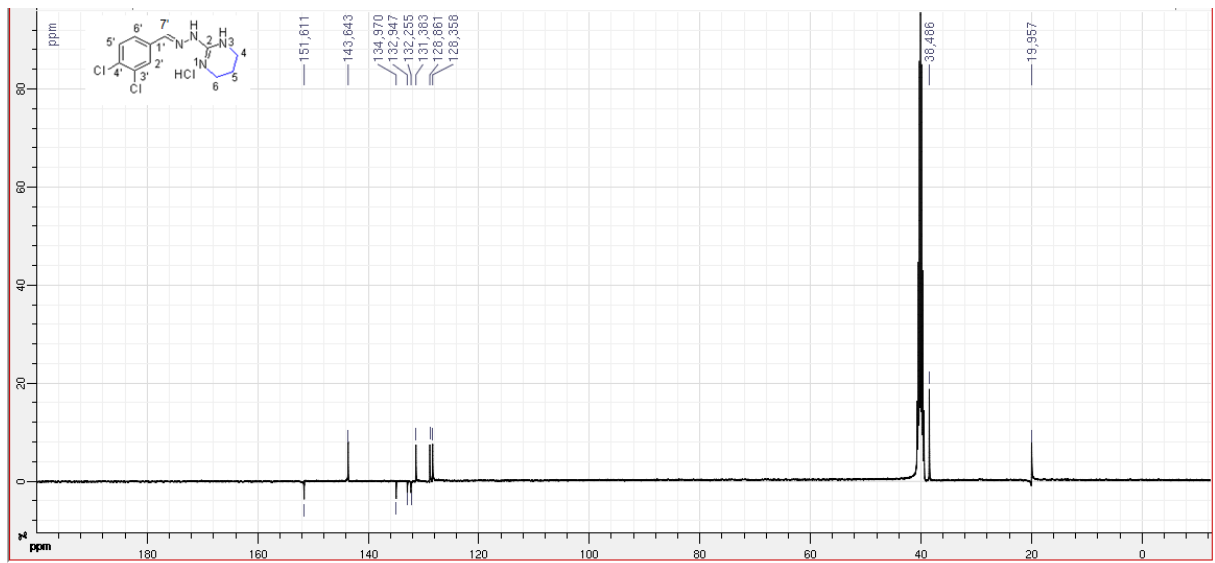
Anexo I:

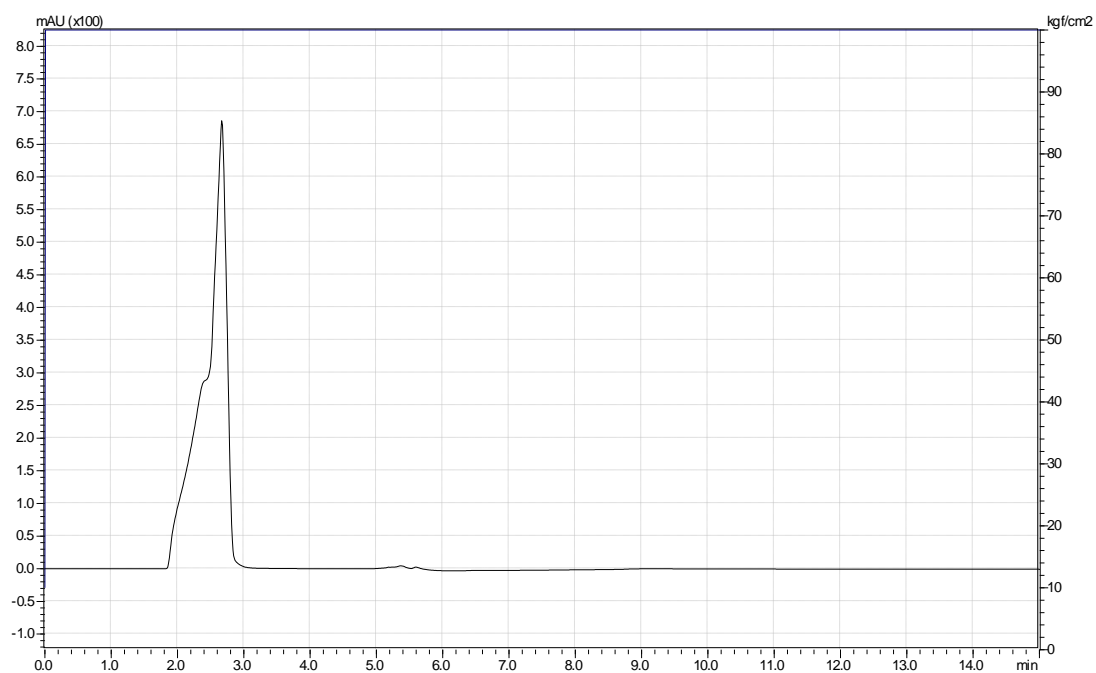
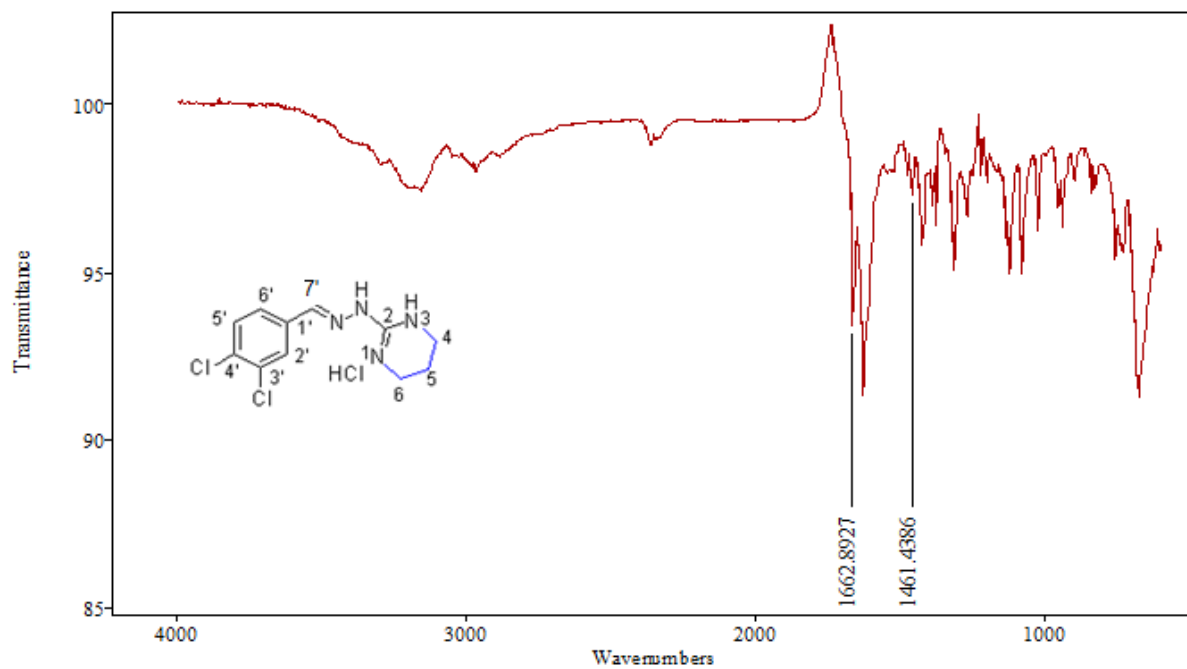
Espectro de RMN ^1H do composto (69) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 2.0-3.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (69) (400Hz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 7.5-8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (69) (400Hz, DMSO- d_6)

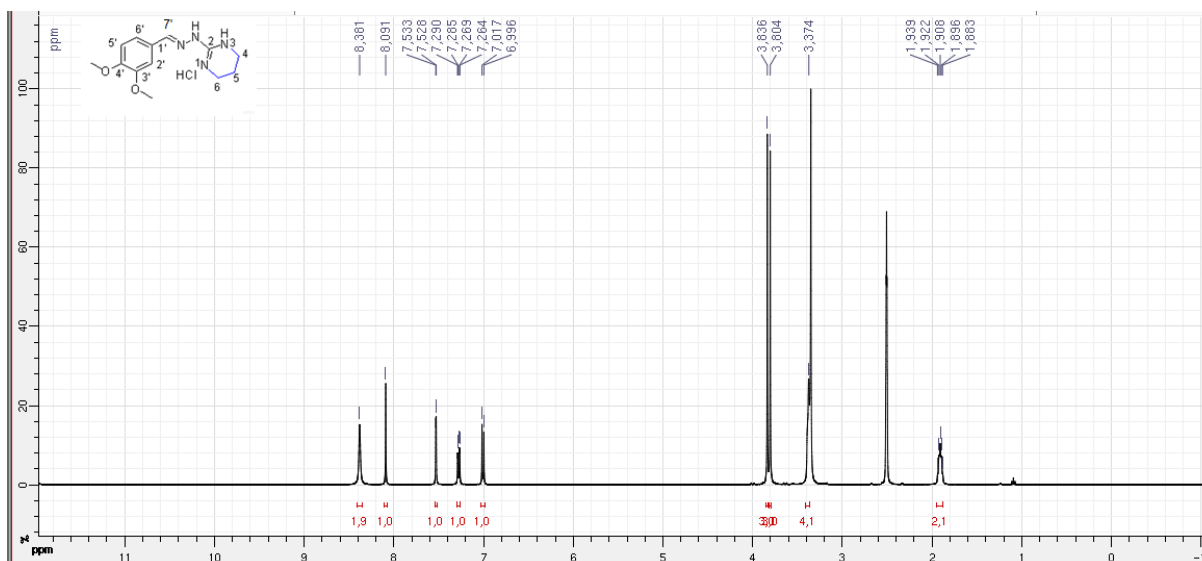
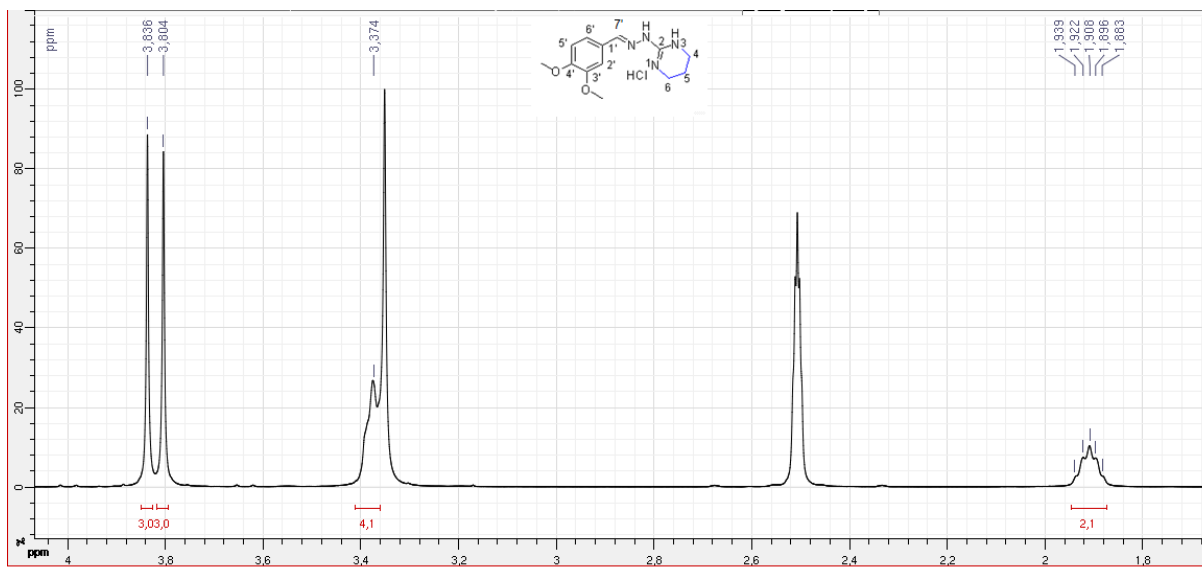


Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (69) (100MHz, DMSO- d_6)

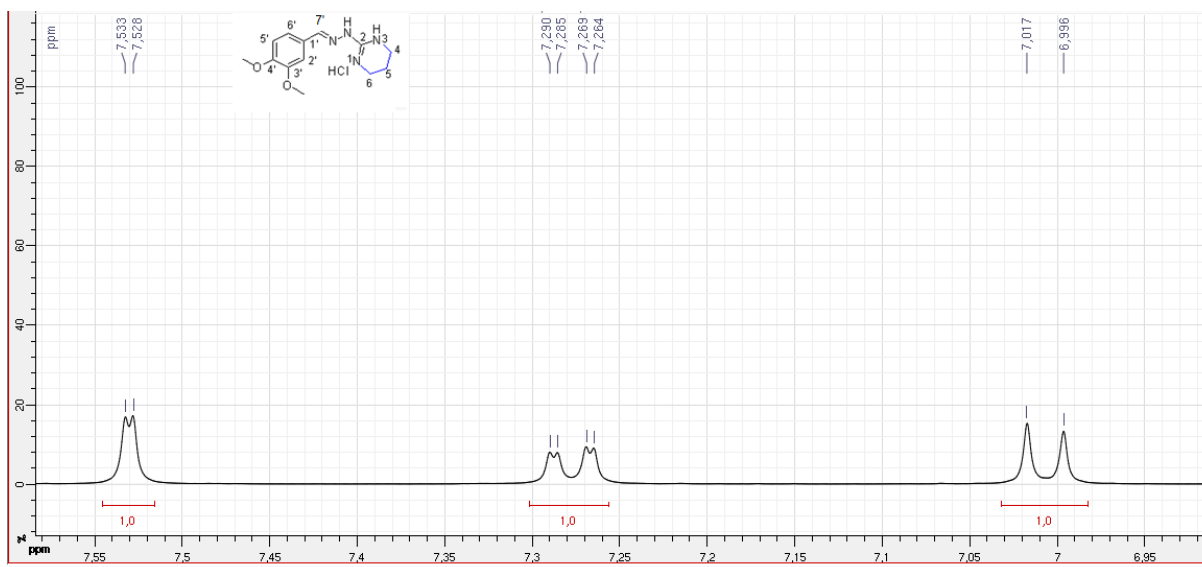


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (69)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (69)**

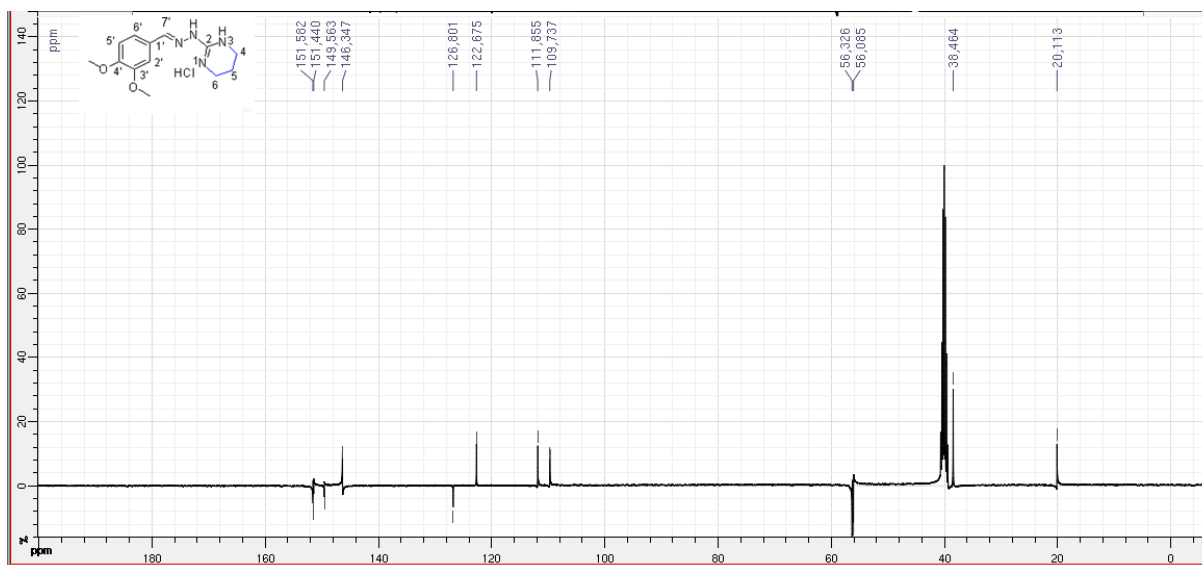
Anexo J:

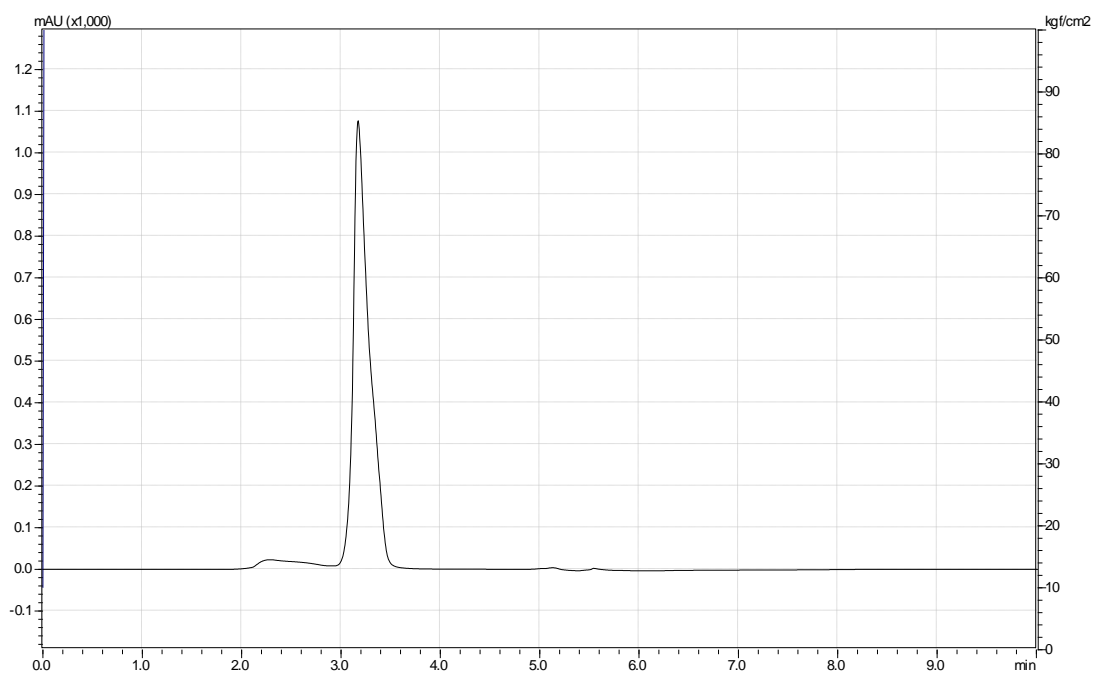
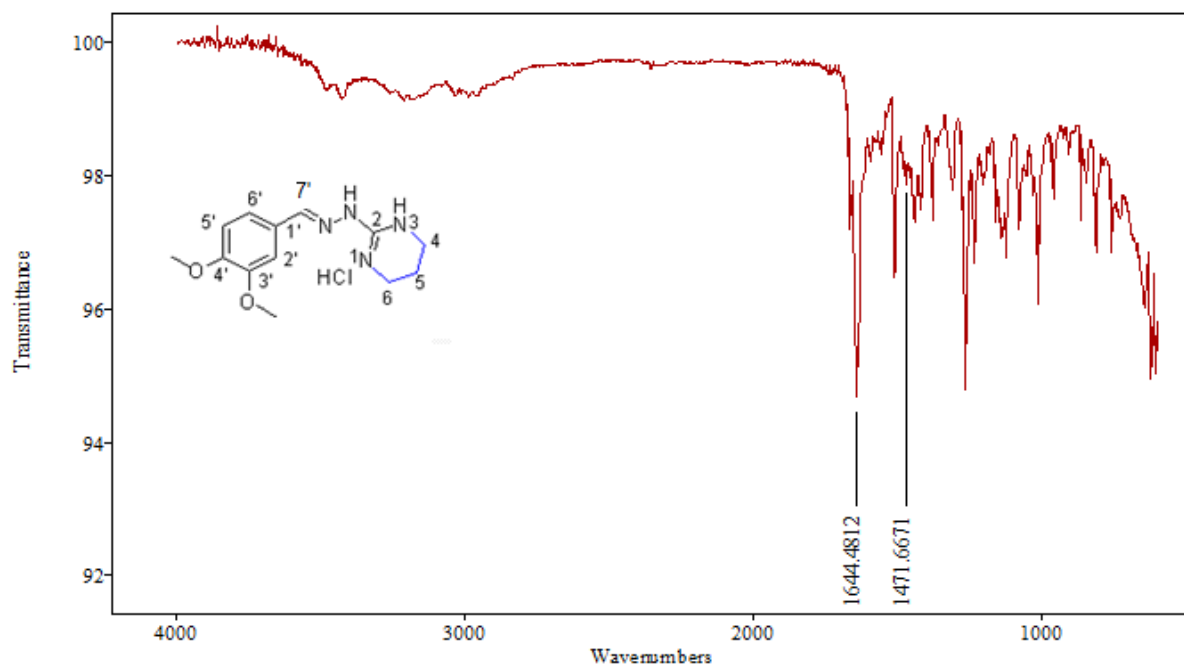
Espectro de RMN ^1H do composto (70) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 1.8-4.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (70) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 6.95-7.55 do Espectro de RMN ^1H do composto (70) (400MHz, DMSO- d_6)

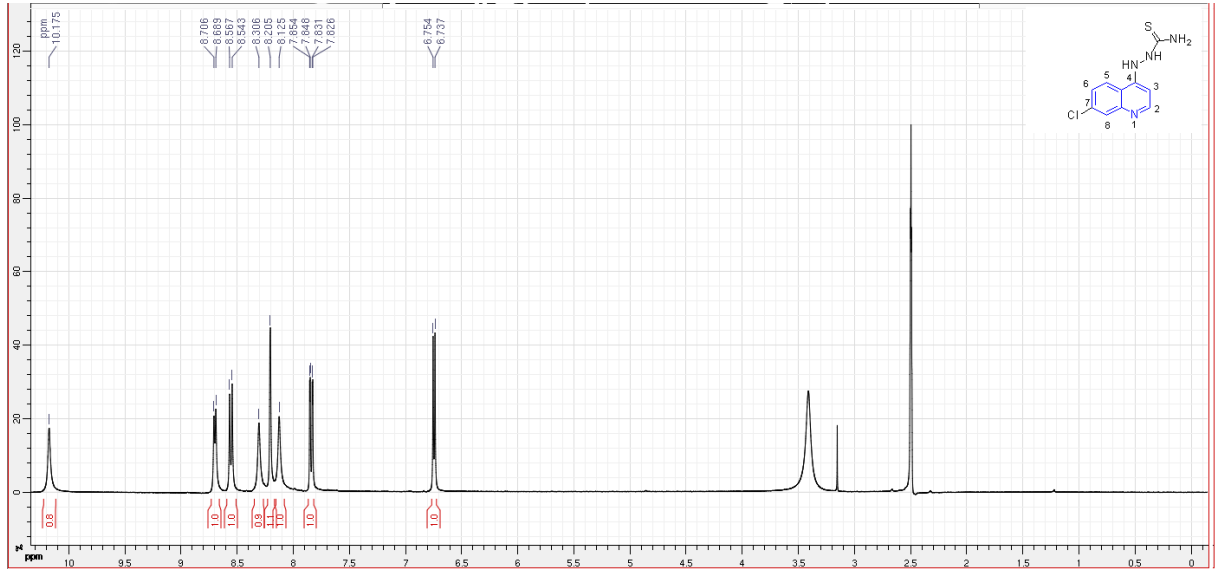
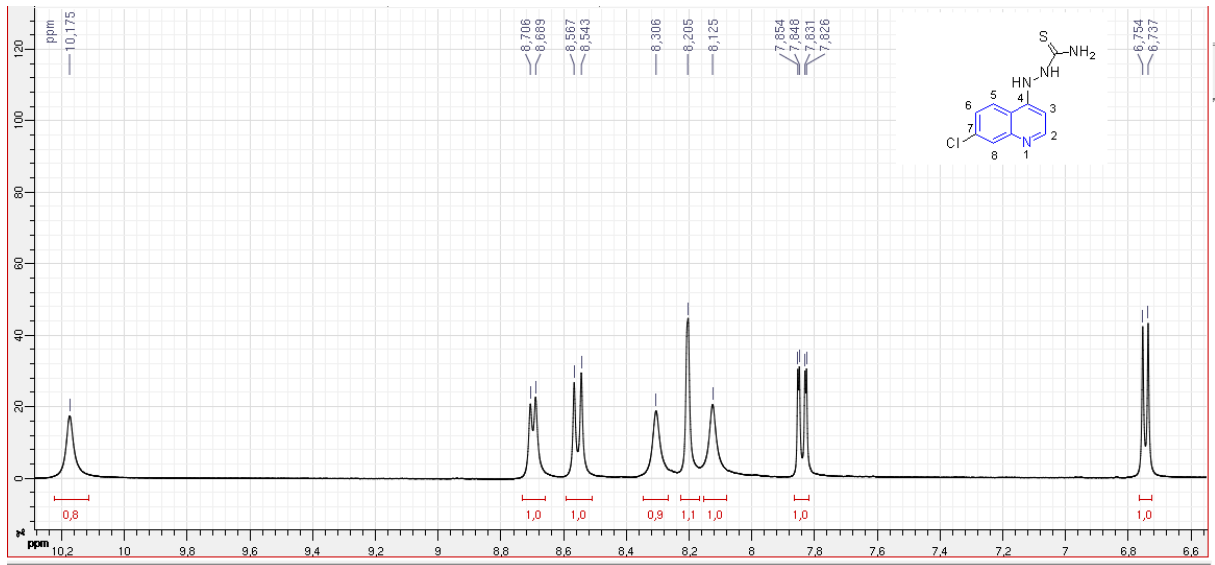


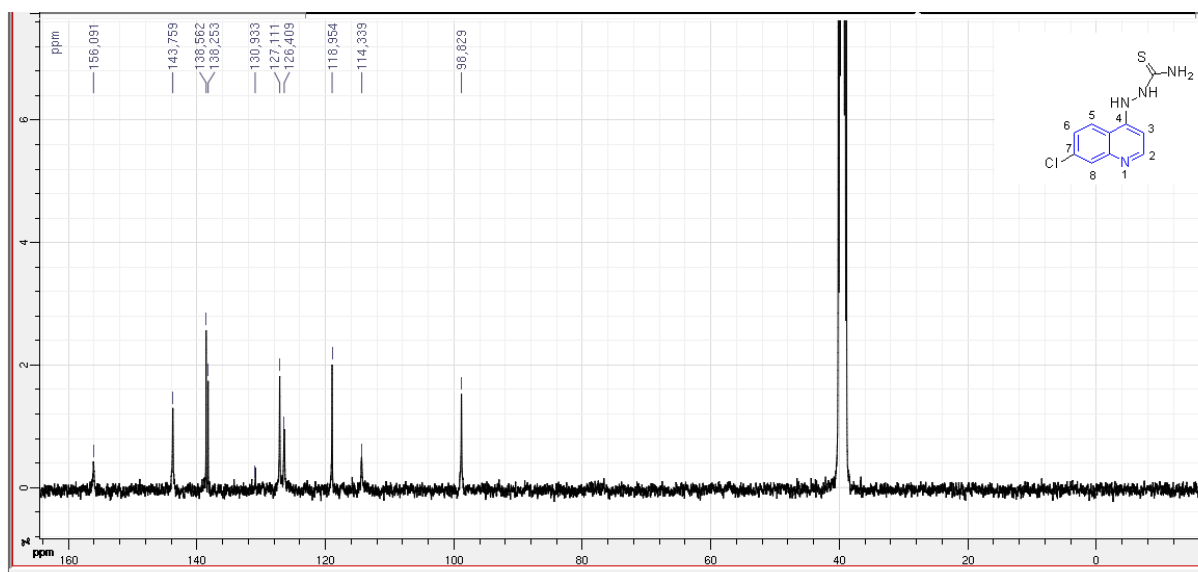
Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (70) (100MHz, DMSO- d_6)

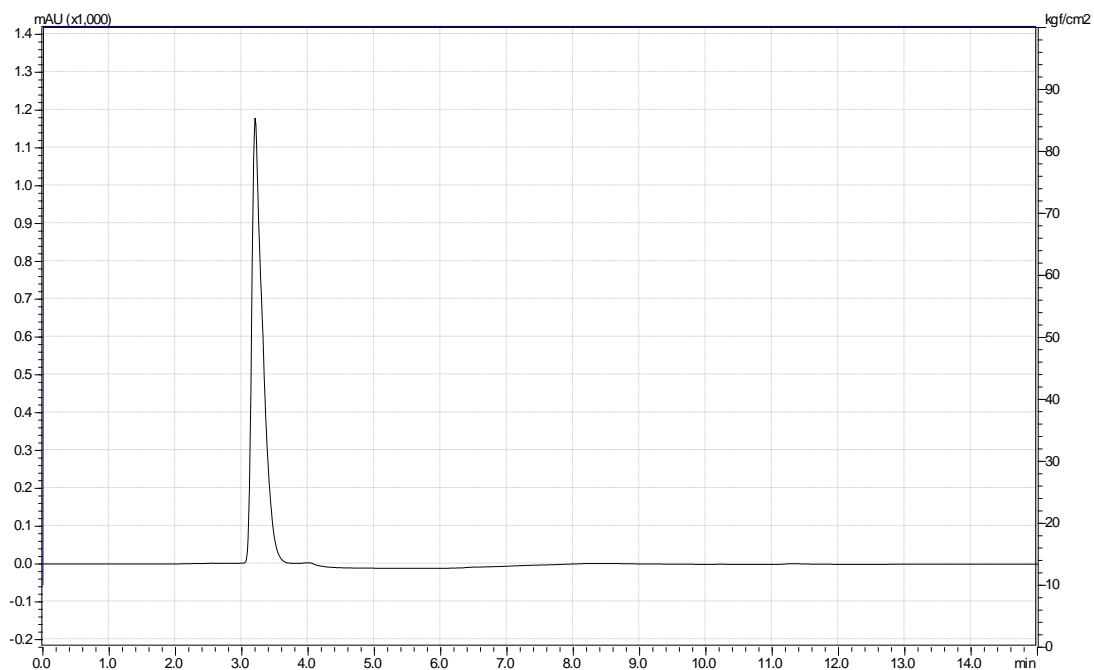
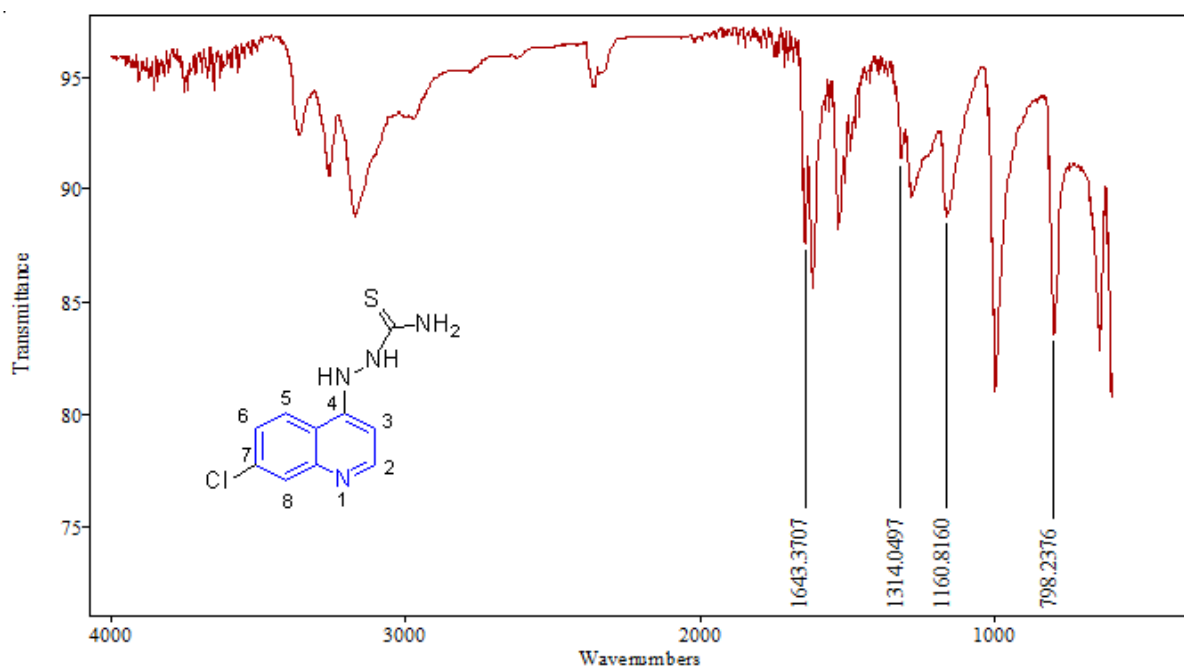


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (70)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (70)**

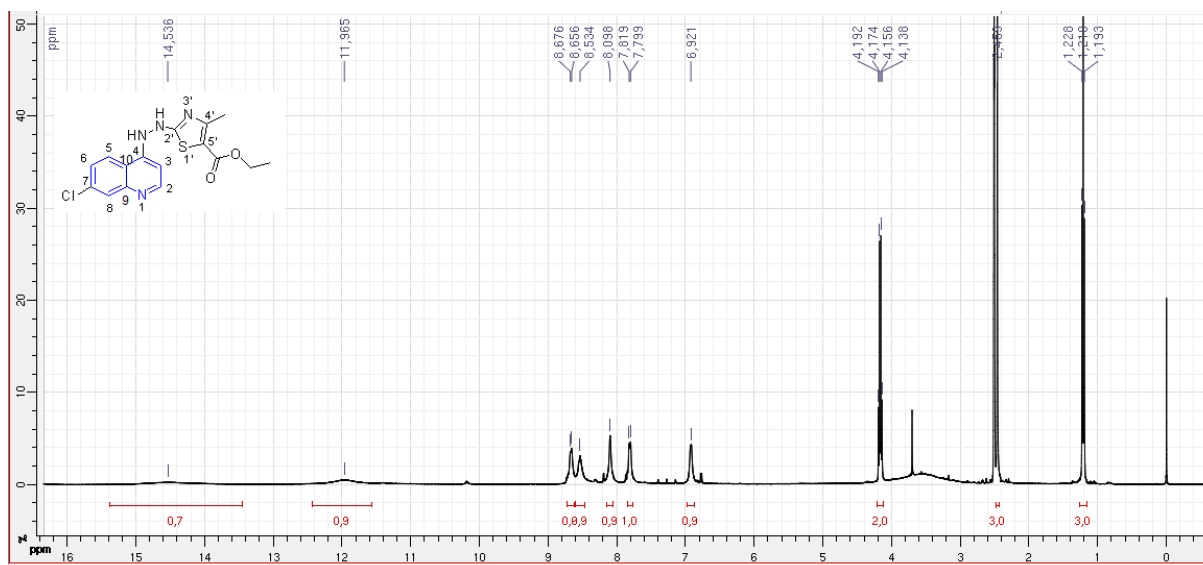
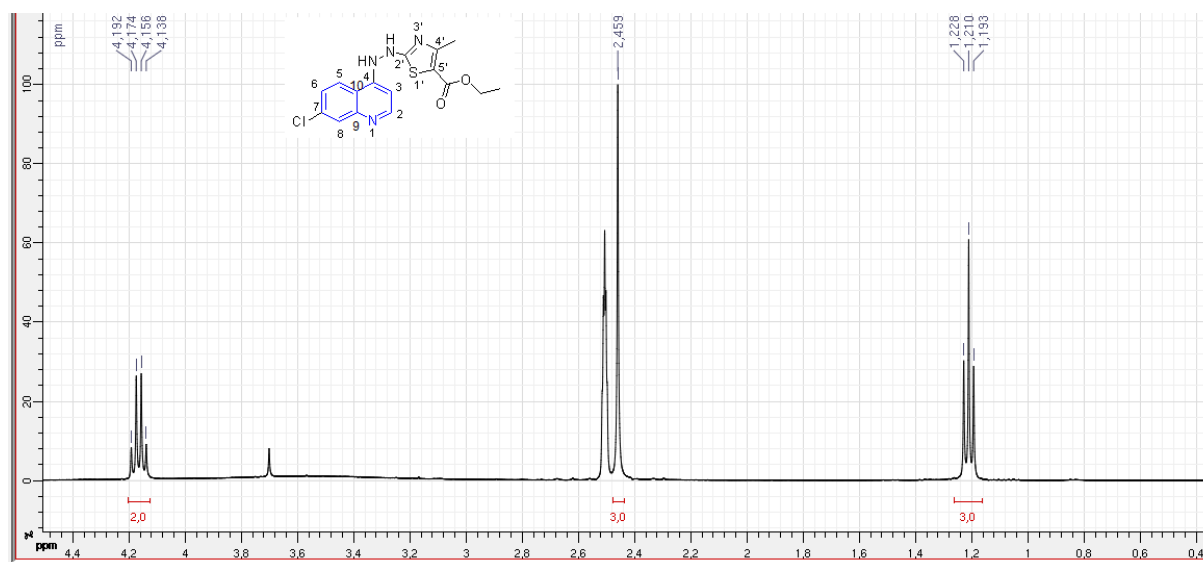
Anexo L:

Espectro de RMN ^1H do composto (71) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 6.6-8.8 do Espectro de RMN ^1H do composto (71) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

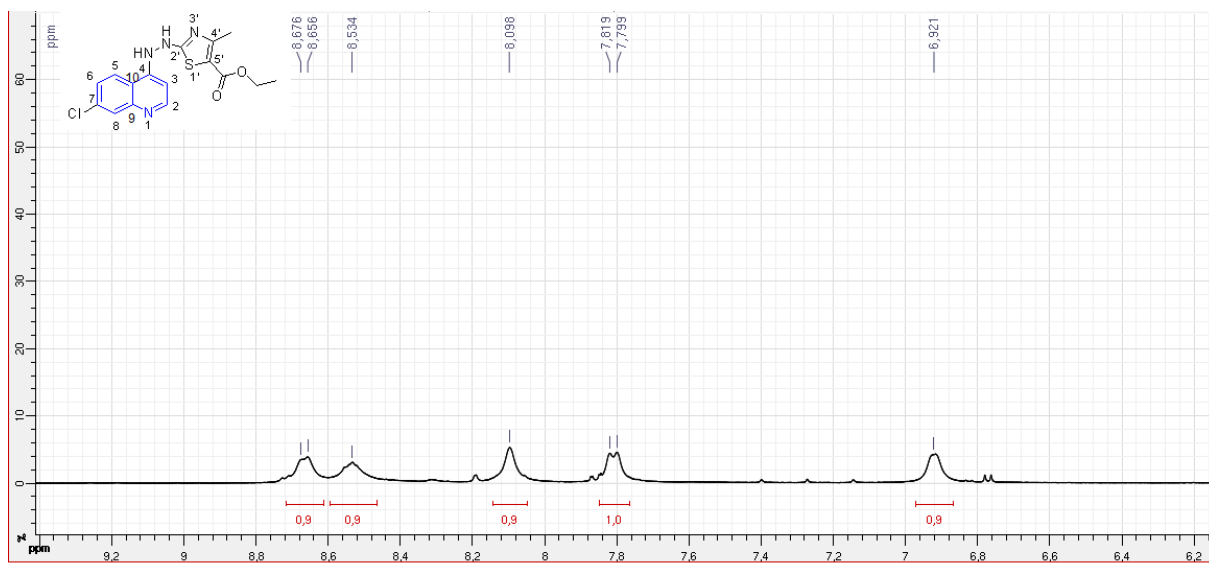
Espectro de RMN ^{13}C do composto (71) (100MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Cromatograma de HPLC-UV em MeOH 100% do Composto (71)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (71)**

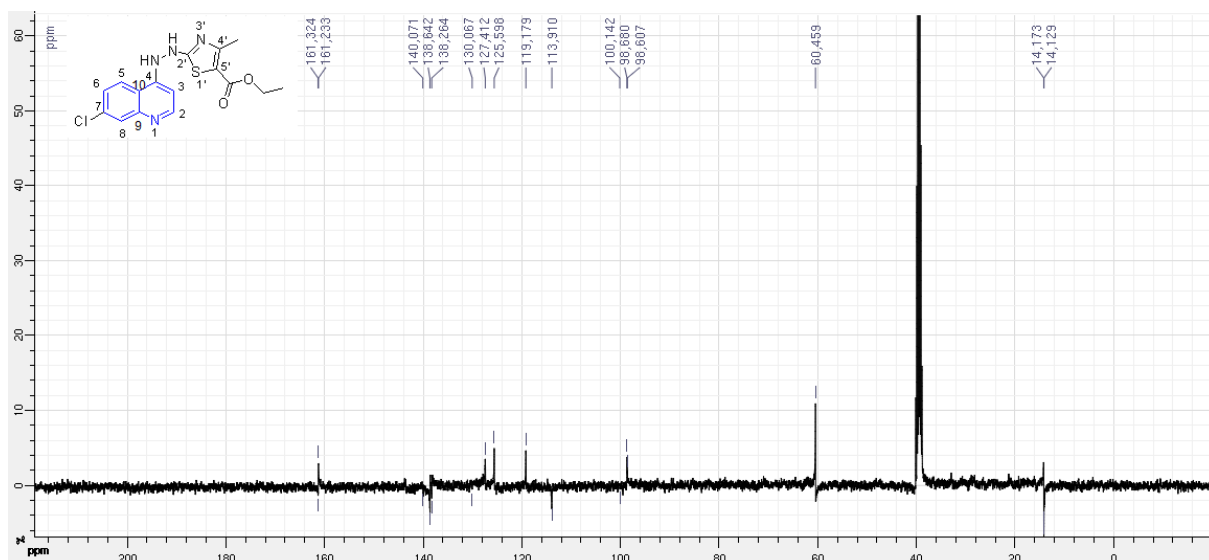
Anexo M:

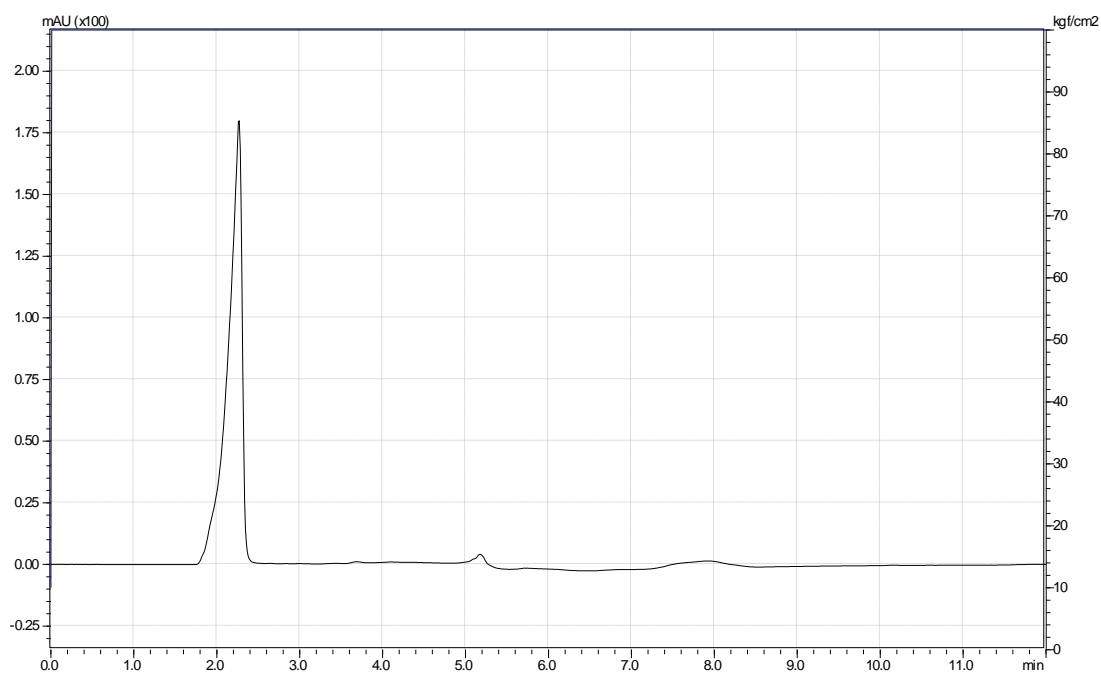
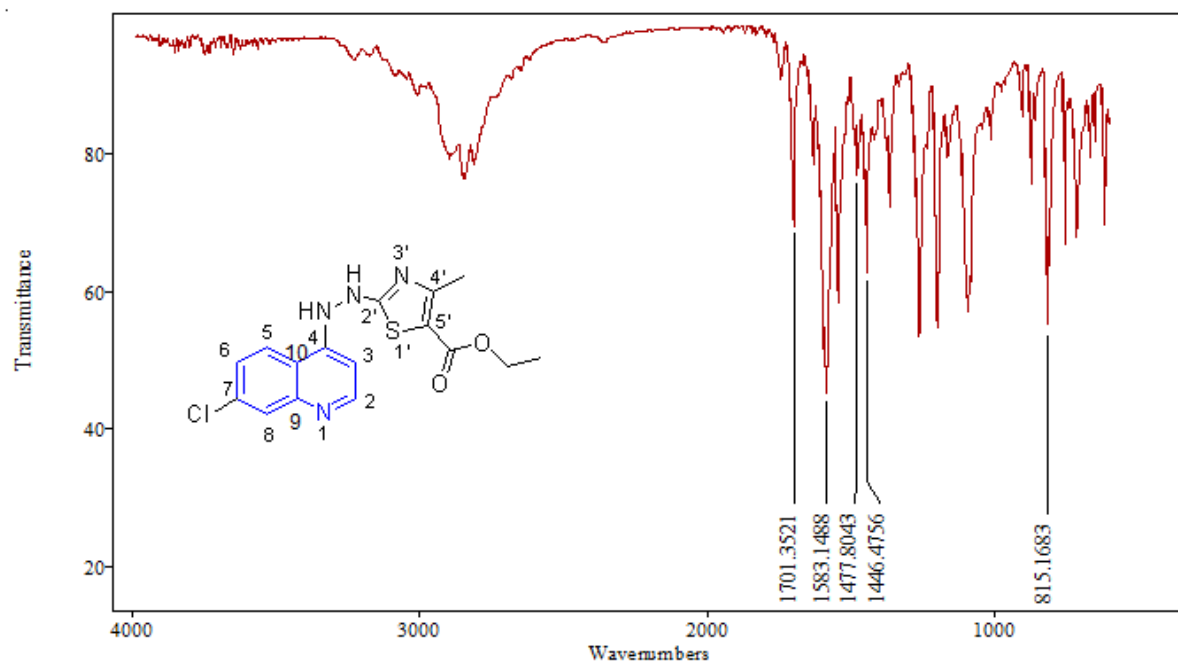
Espectro de RMN ^1H do composto (72) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 1.0-4.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (72) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 6.5-9.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (72) (400MHz, DMSO- d_6)

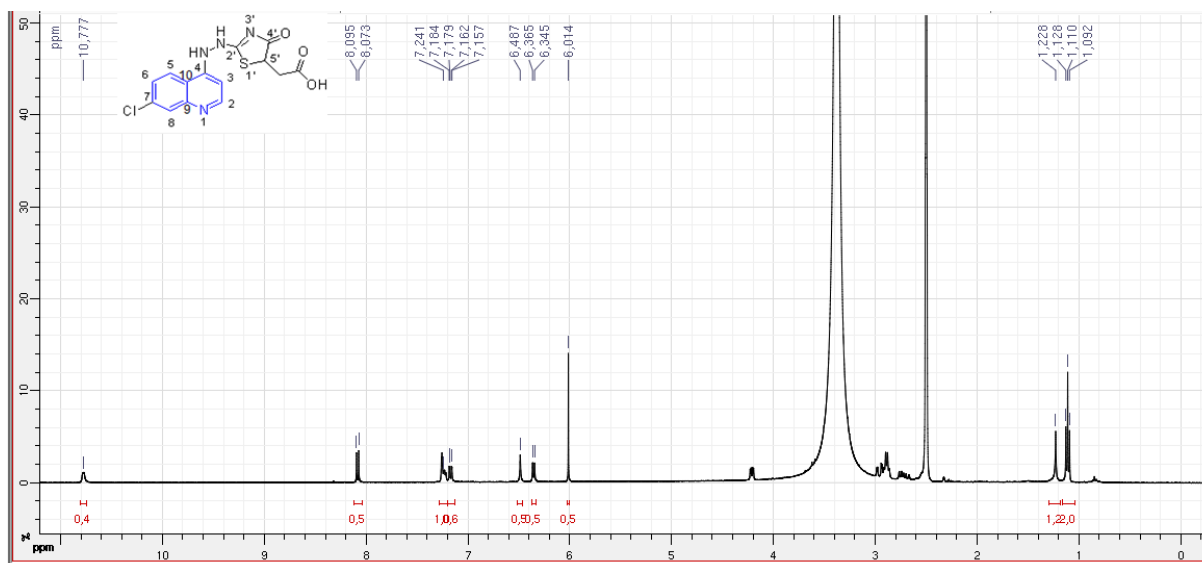
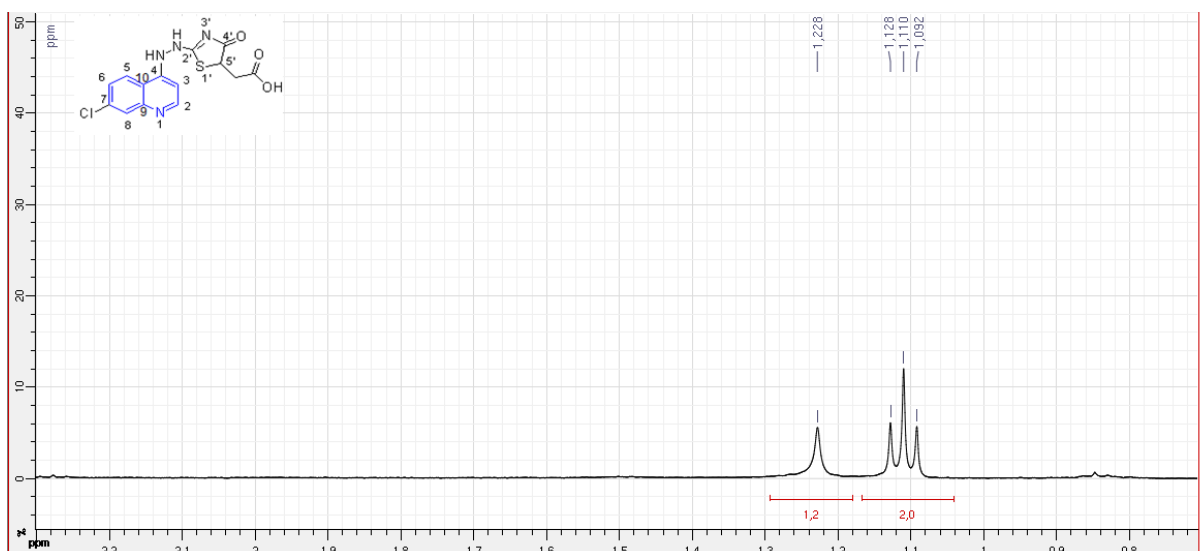


Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (72) (100MHz, DMSO- d_6)

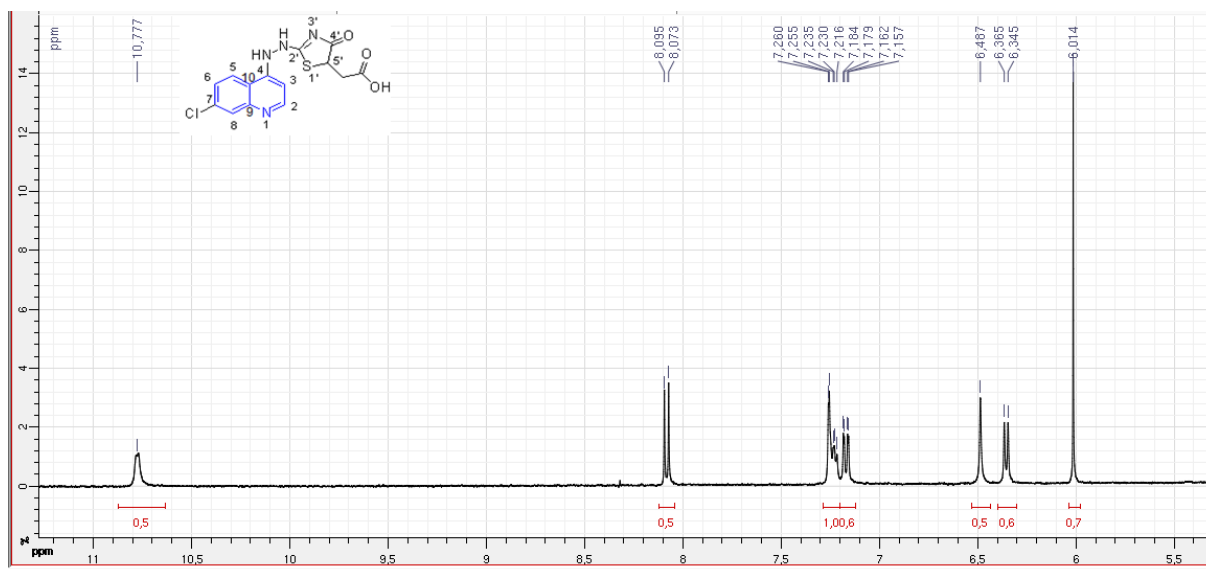


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (72)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (72)**

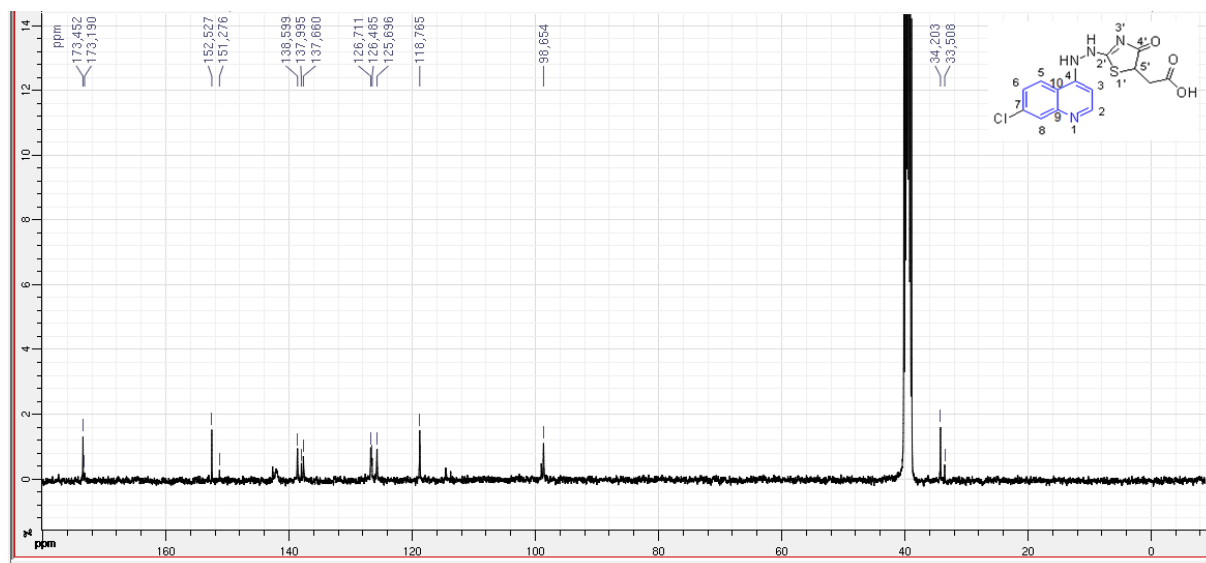
Anexo N:

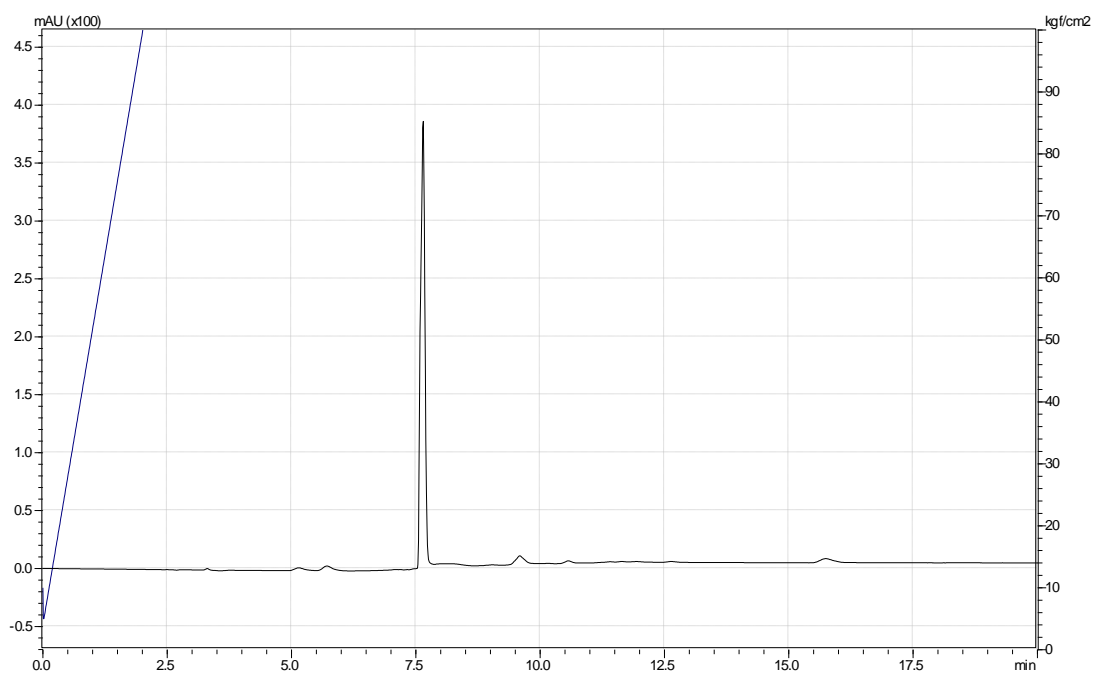
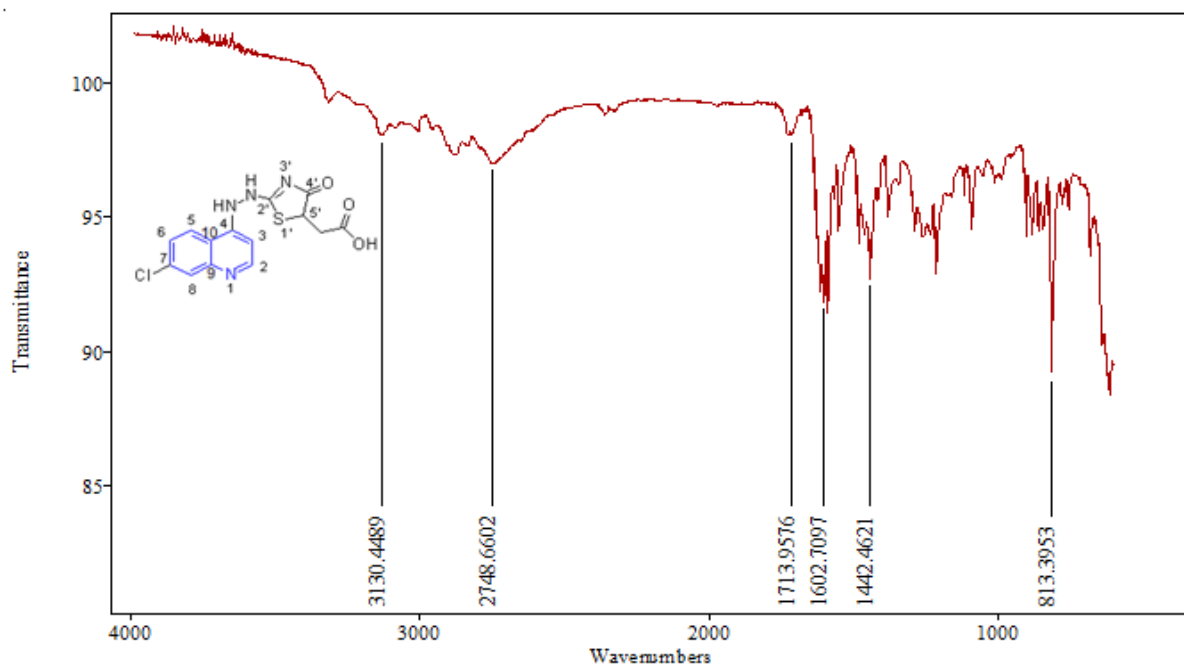
Espectro de RMN ^1H do composto (73) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 1.0-2.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (73) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 6.0-11.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (73) (400MHz, DMSO- d_6)

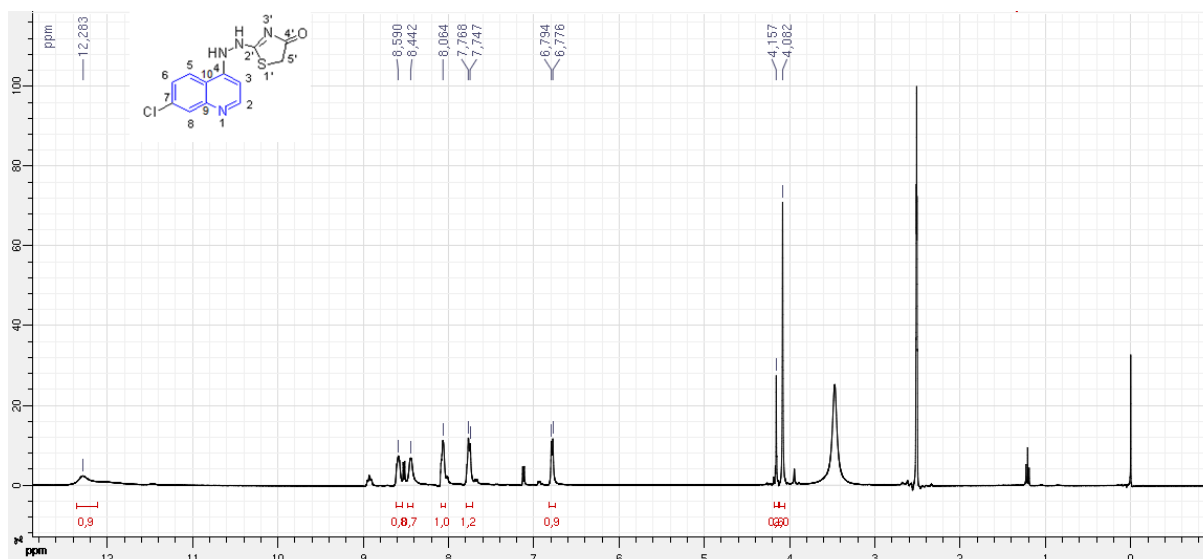
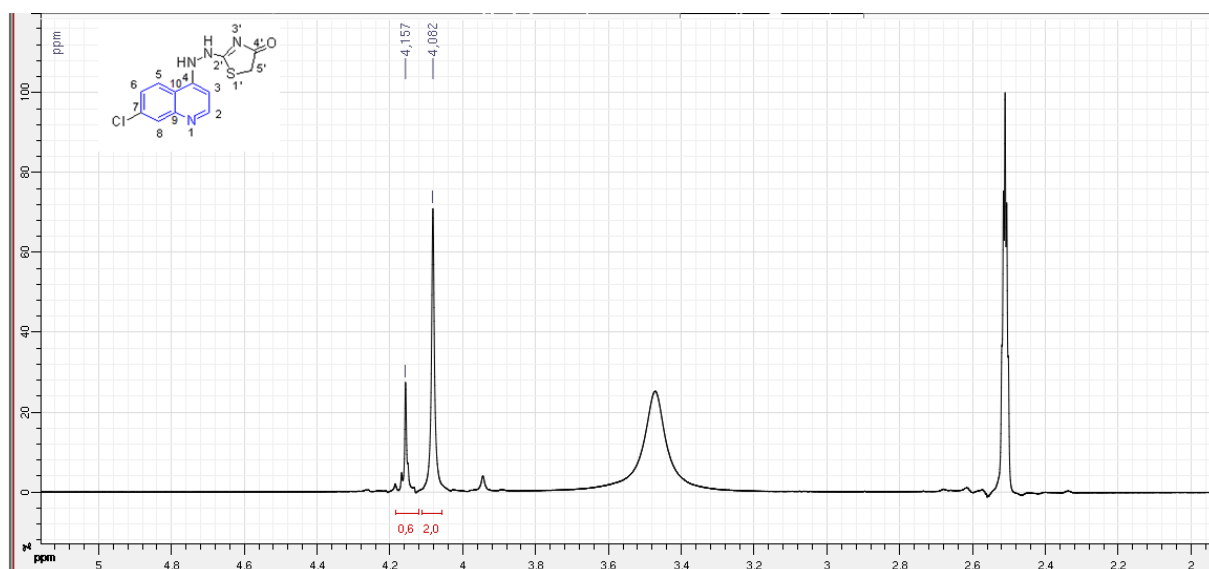


Espectro de RMN ^{13}C do composto (73) (100MHz, DMSO- d_6)

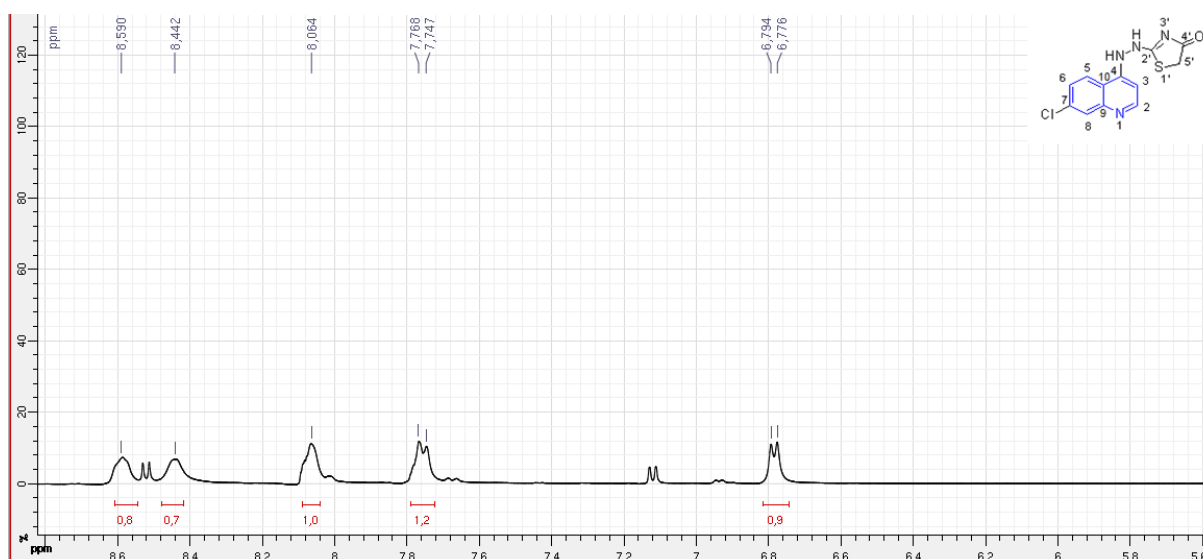


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:100 % do Composto (73)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (73)**

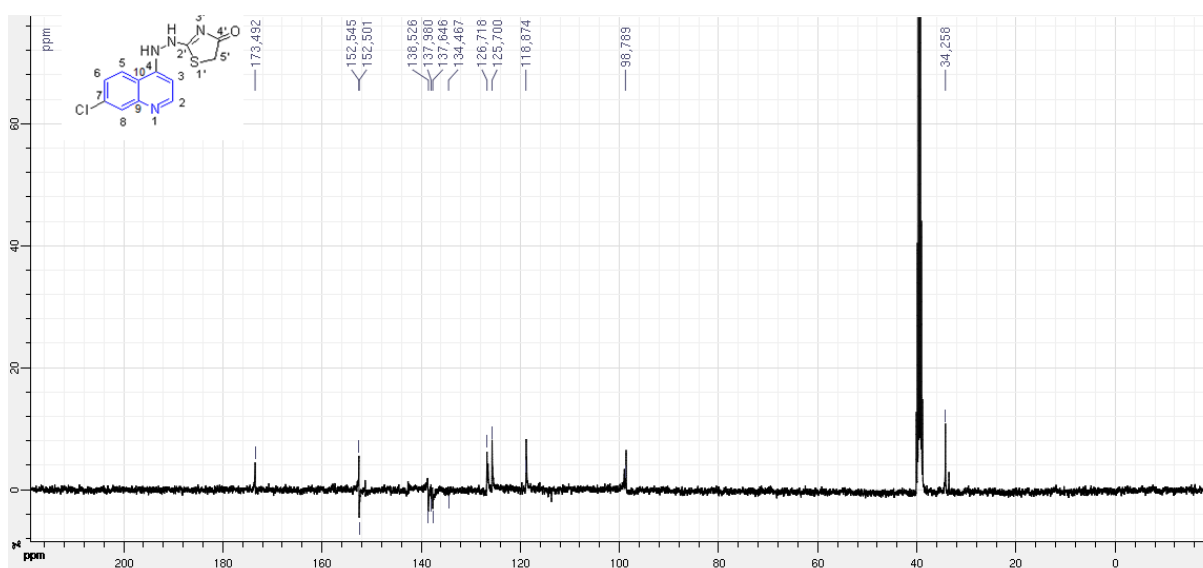
Anexo O:

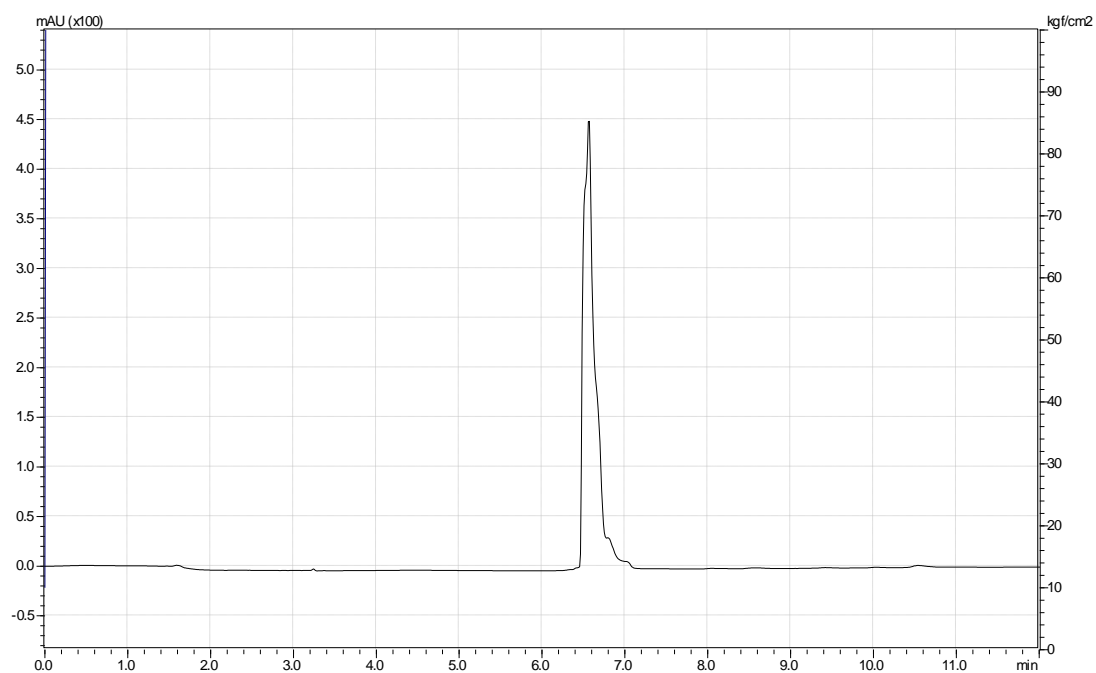
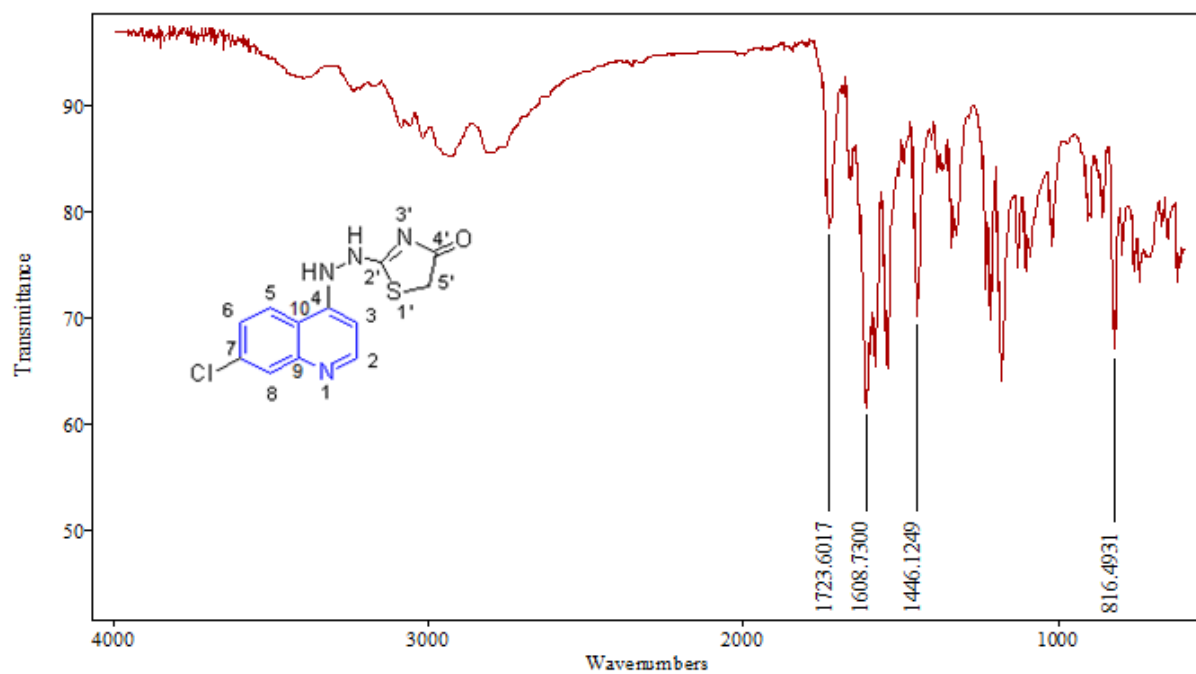
Espectro de RMN ^1H do composto (74) (400MHz, DMSO- d_6)Ampliação de δ 2.0-4.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (74) (400MHz, DMSO- d_6)

Ampliação de δ 6.5-8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (74) (400MHz, DMSO- d_6)

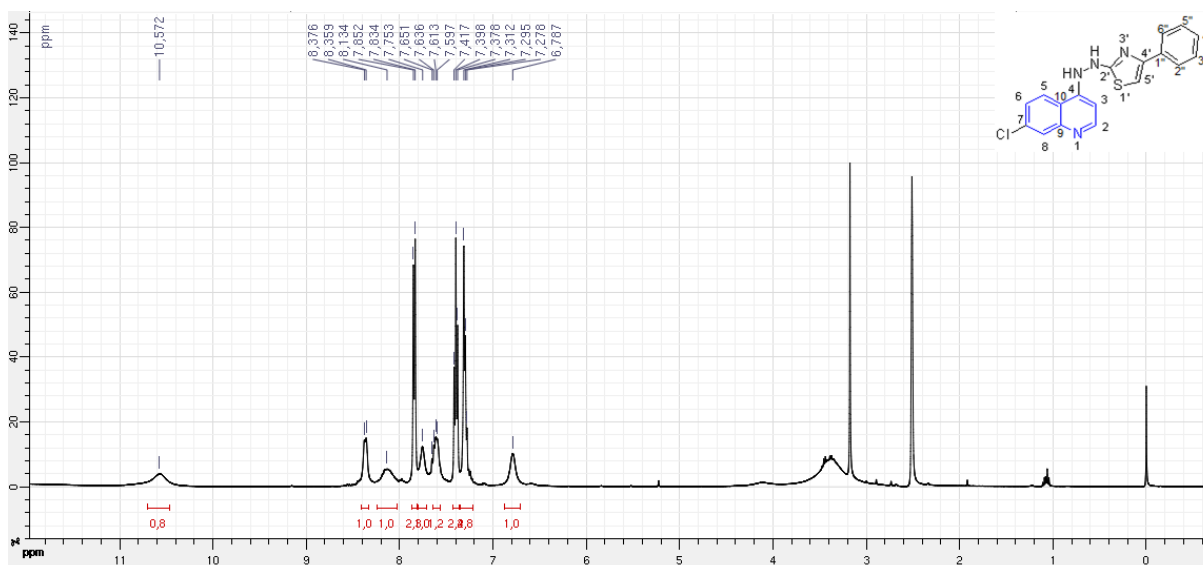
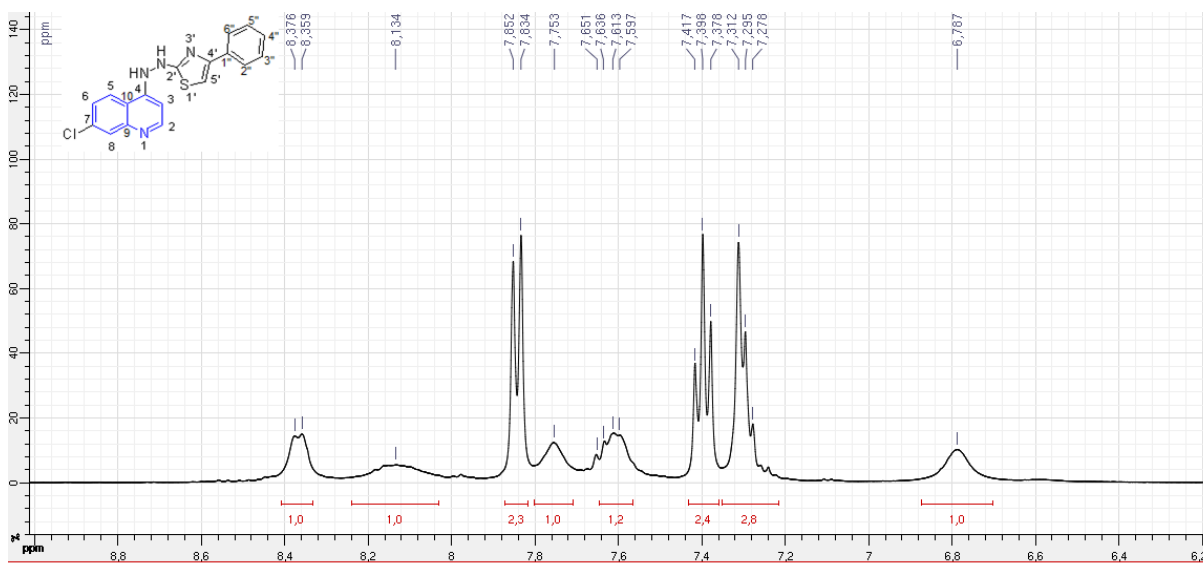


Espectro de RMN ^{13}C (Dept) do composto (74) (100MHz, DMSO- d_6)

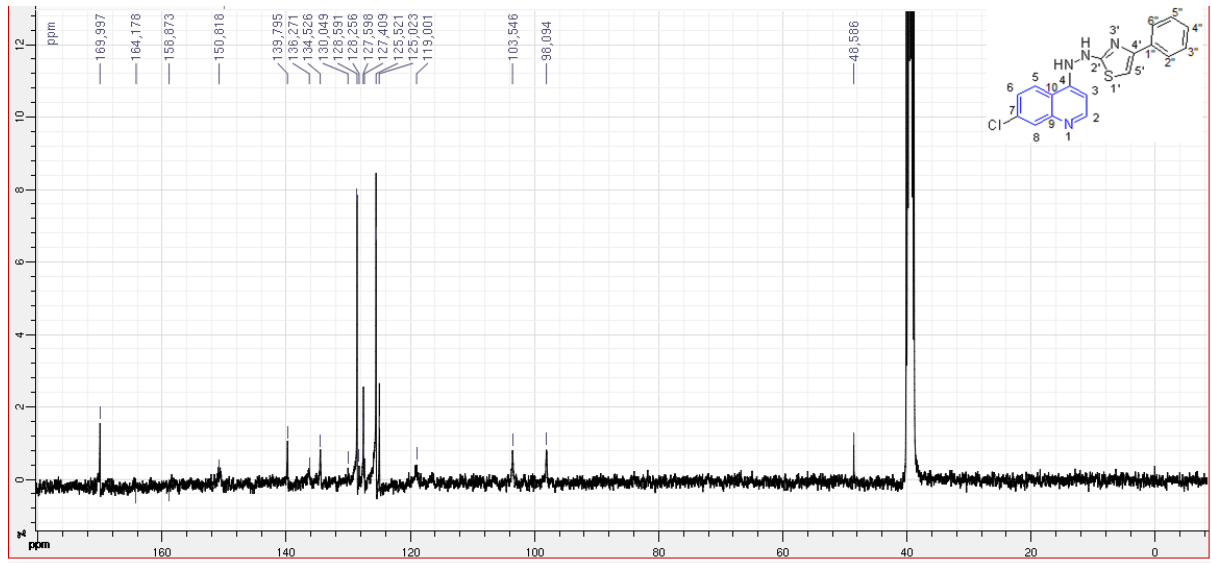


Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (74)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (74)**

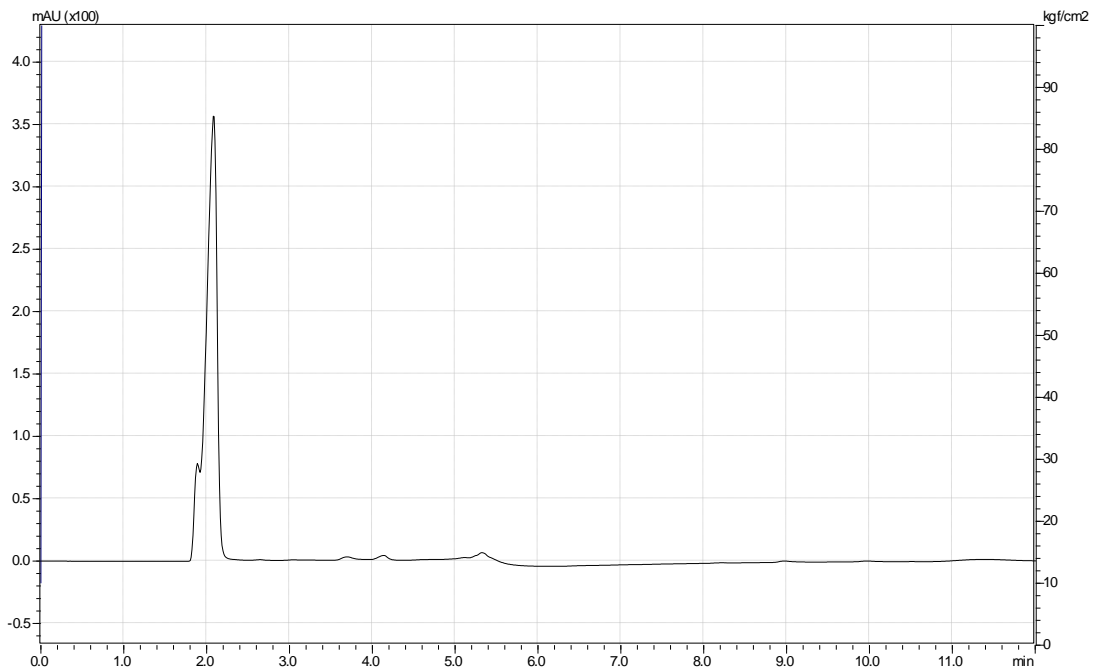
Anexo P:

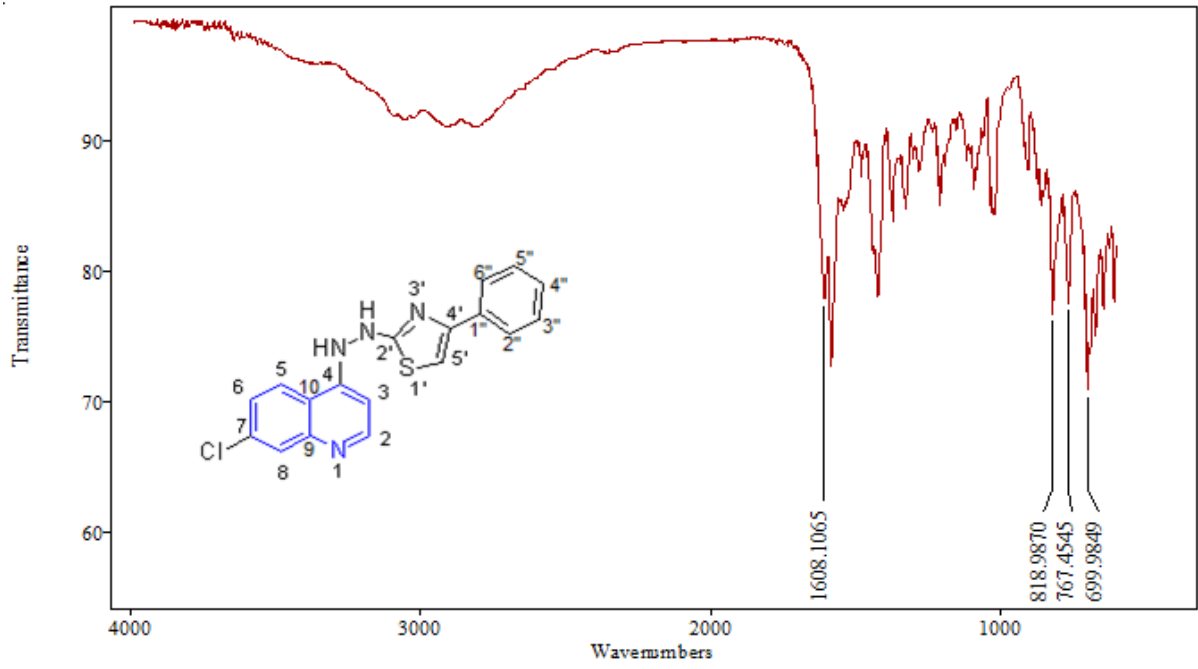
Espectro de RMN ^1H do composto (75) (400MHz, DMSO- d_6)Ampliação de δ 6.5-8.5 do Espectro de RMN ^1H do composto (75) (400MHz, DMSO- d_6)

Espectro de RMN ^{13}C do composto (75) (100MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

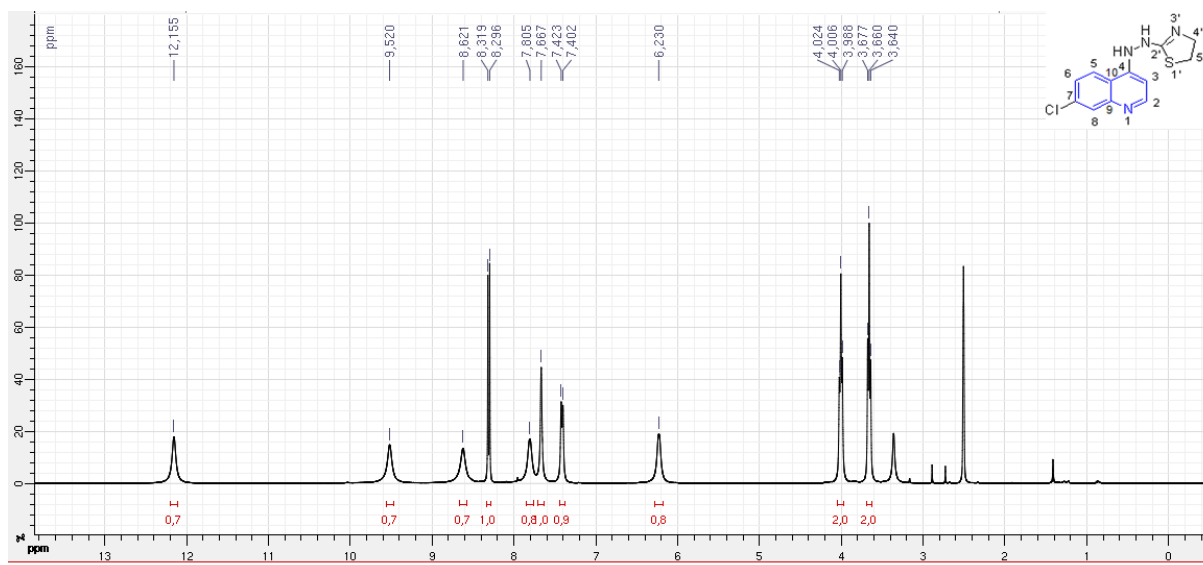
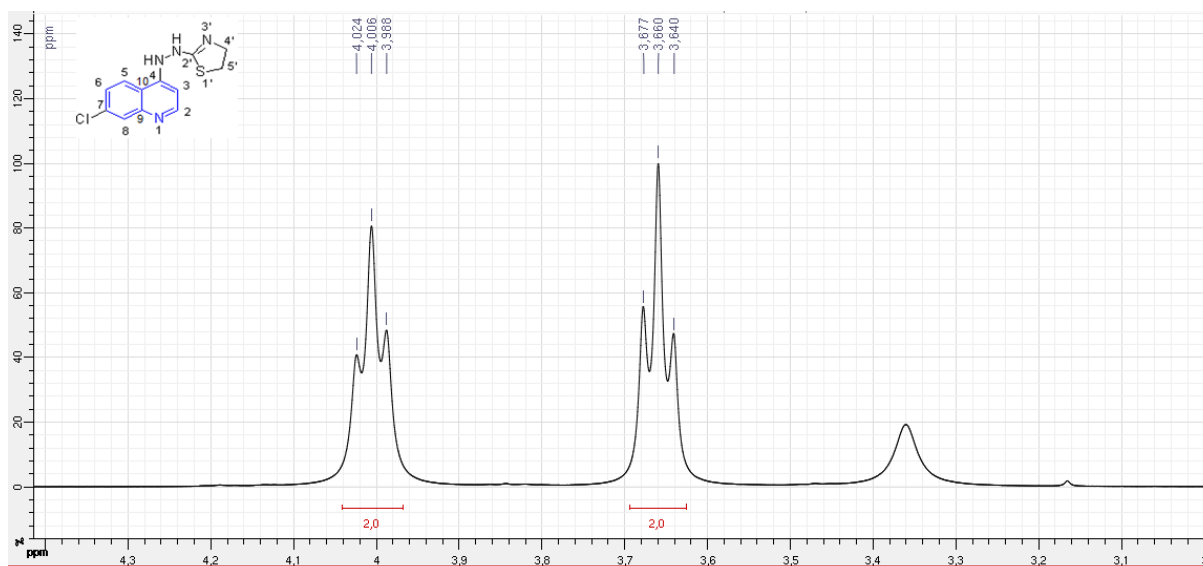


Cromatograma de HPLC-UV em $\text{MeOH:AF } 0,1\%$ do Composto (75)

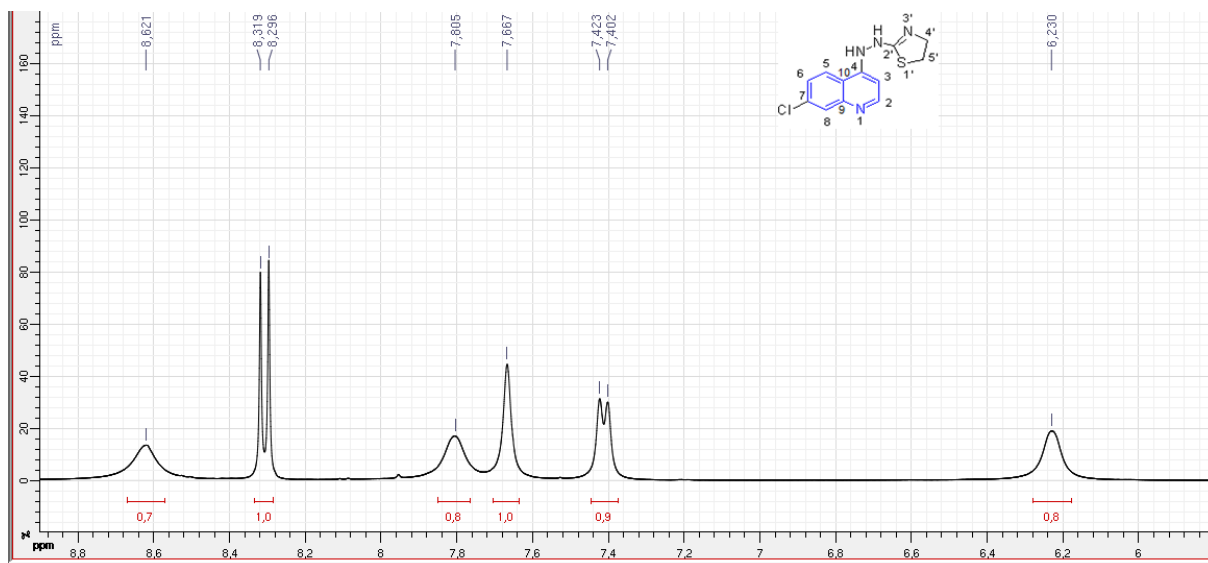


Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (75)

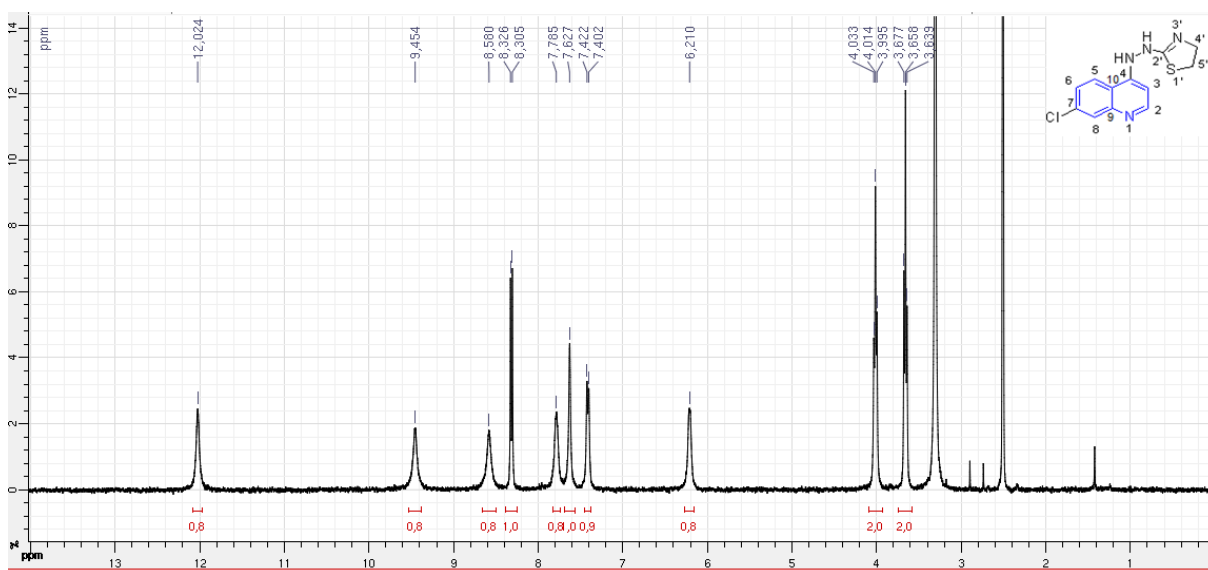
Anexo Q:

Espectro de RMN ^1H do composto (76) a 25°C (400MHz, DMSO- d_6)Ampliação de δ 3.0-4.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, DMSO- d_6)

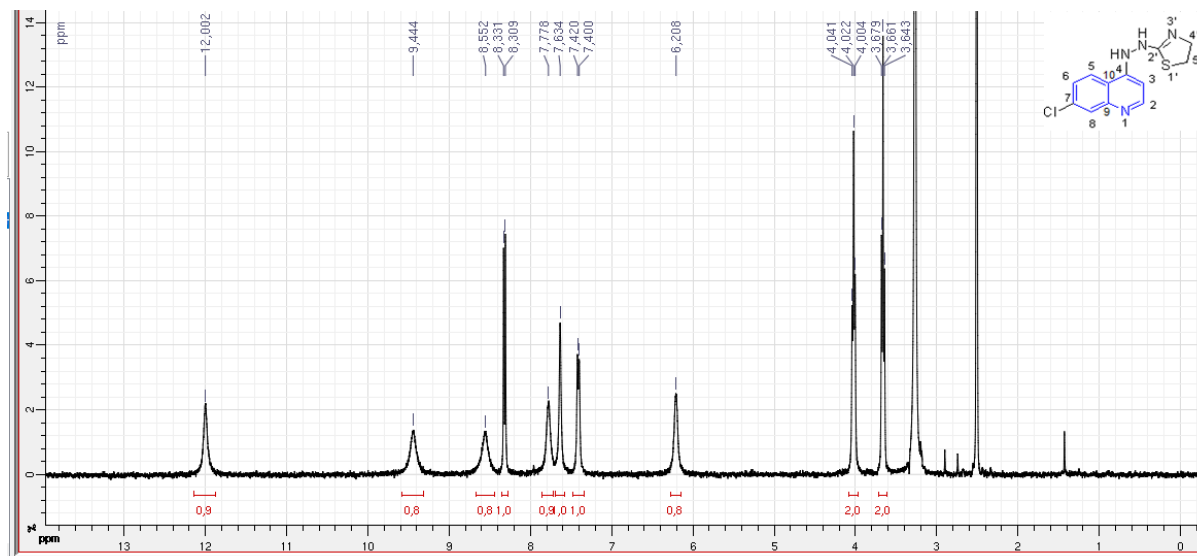
Ampliação de δ 6.0-8.8 do Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, DMSO- d_6)



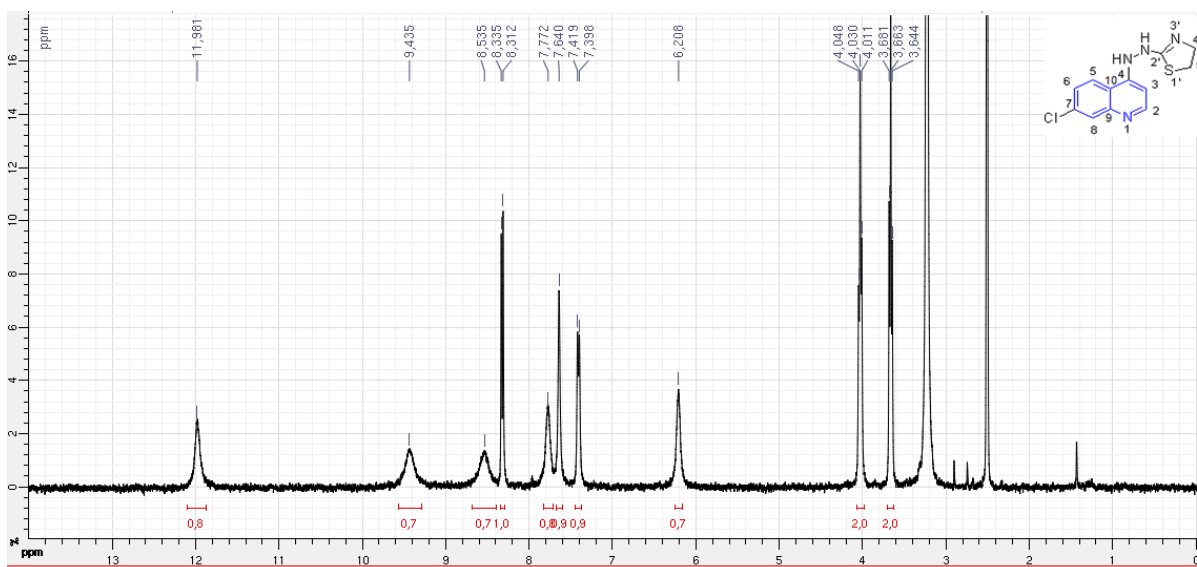
Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, DMSO- d_6) a 30°C



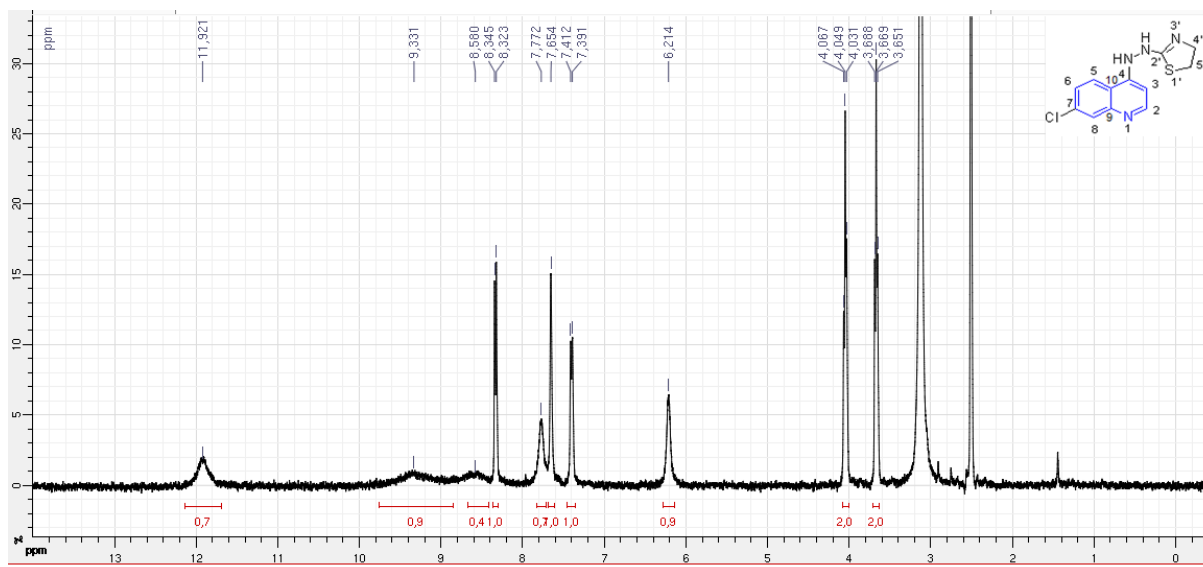
Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, DMSO- d_6) a 40°C



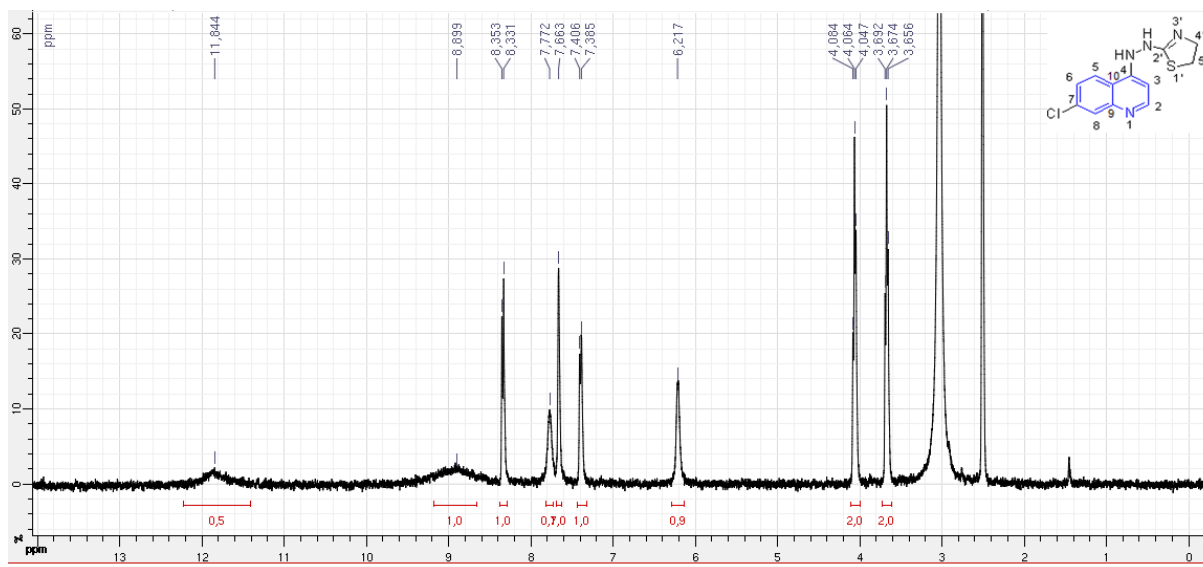
Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, DMSO- d_6) a 50°C

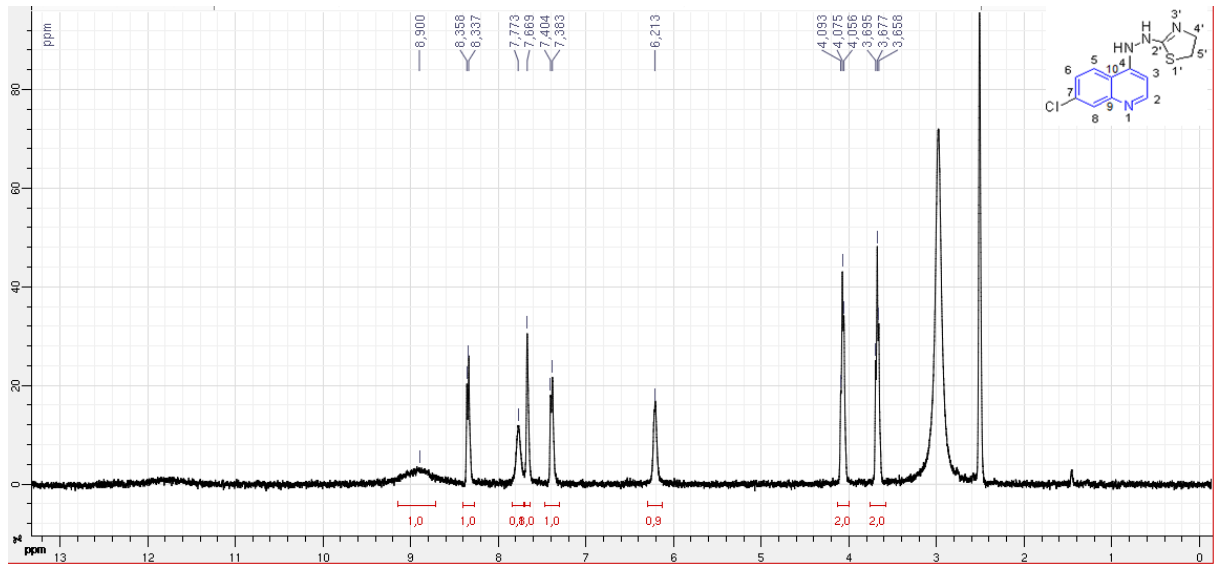


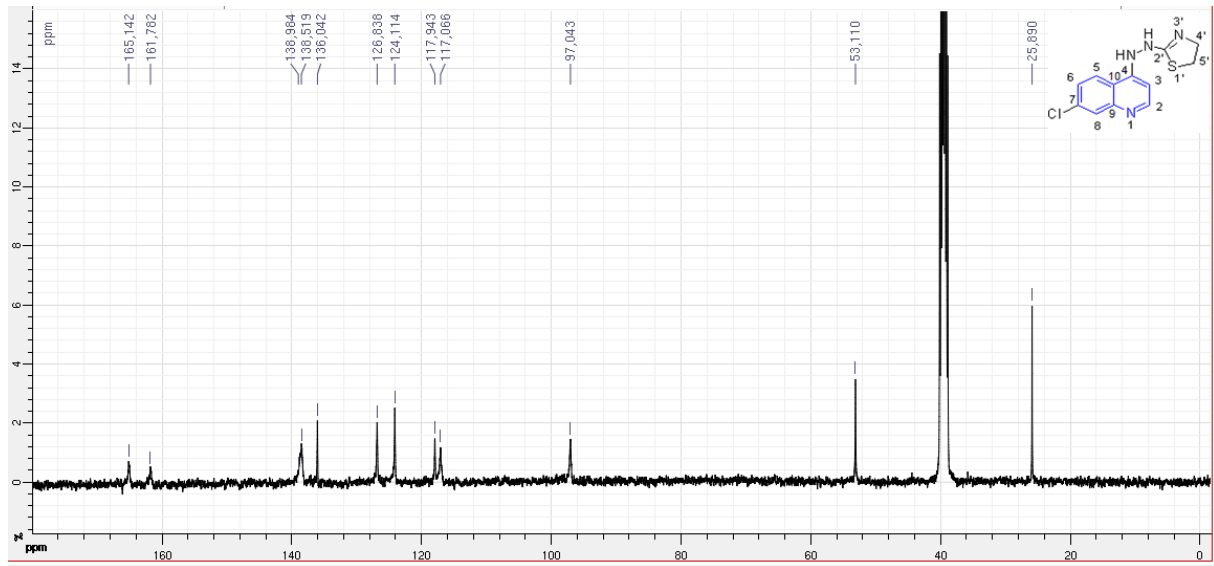
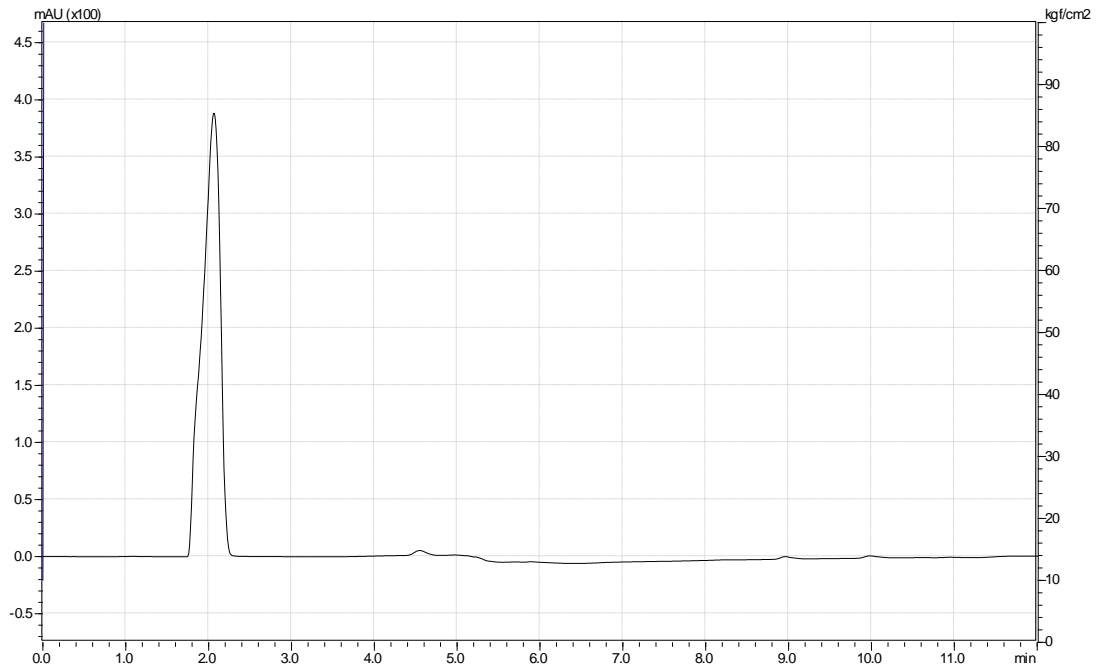
Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) a 70°C

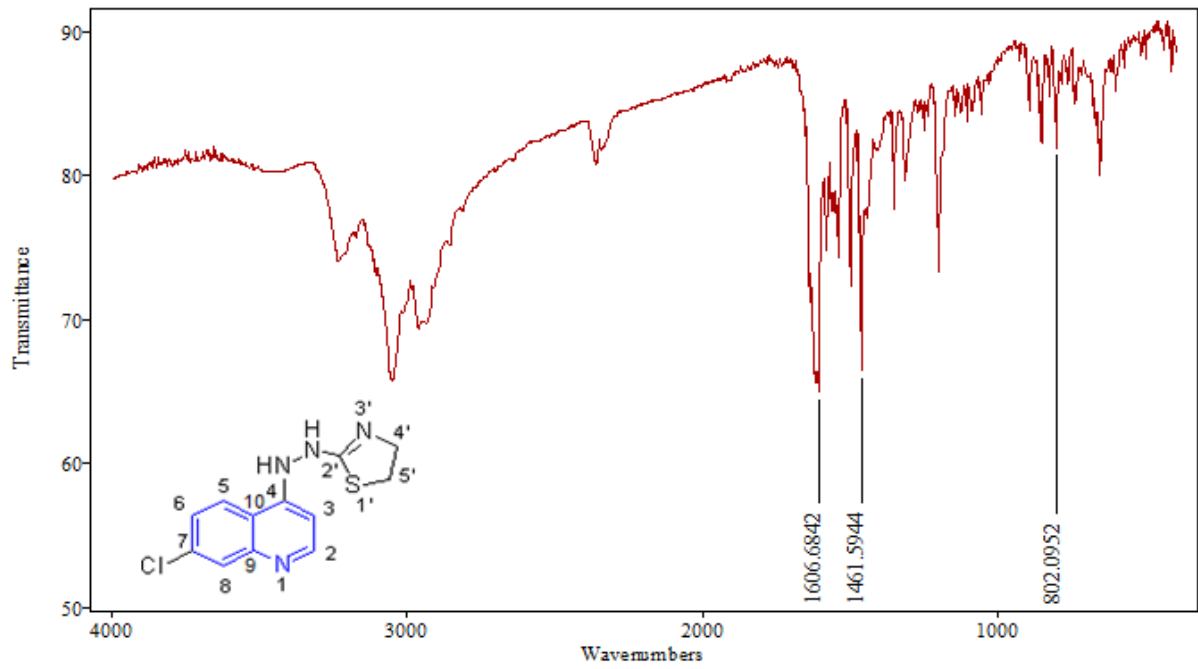


Espectro de RMN ^1H do composto (76) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$) a 90°C

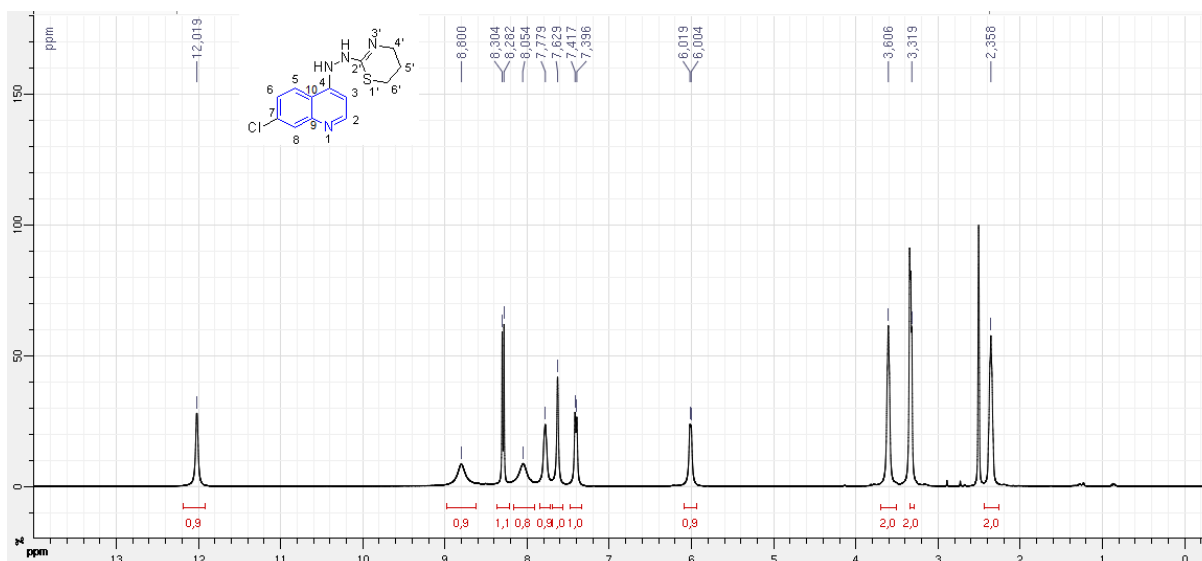
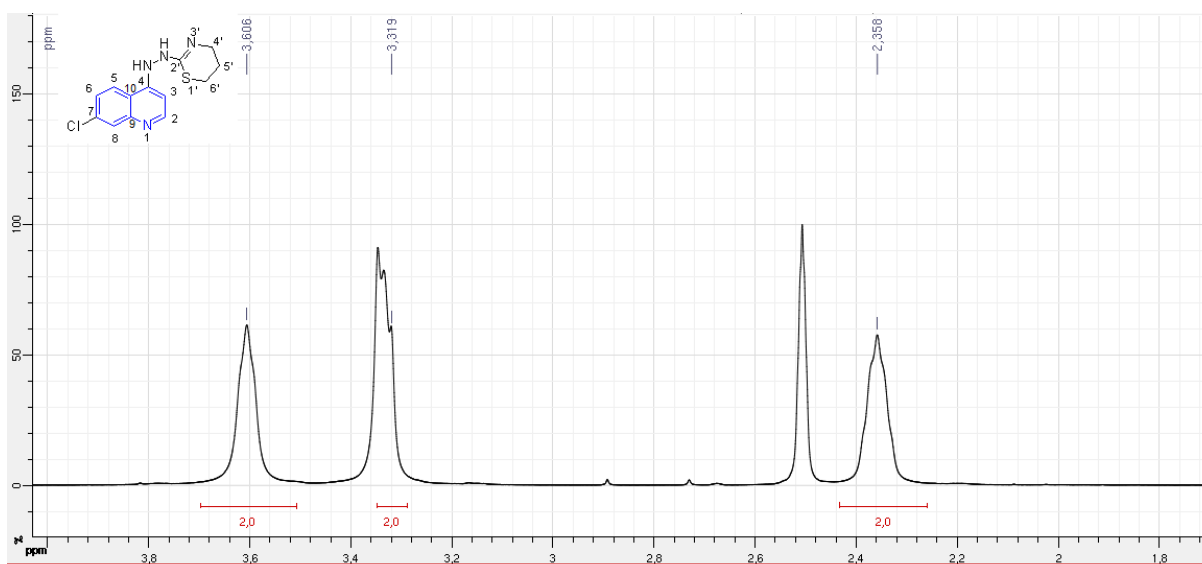


Espectro de RMN ¹H do composto (76) (400MHz, DMSO-*d*₆) a 110°C

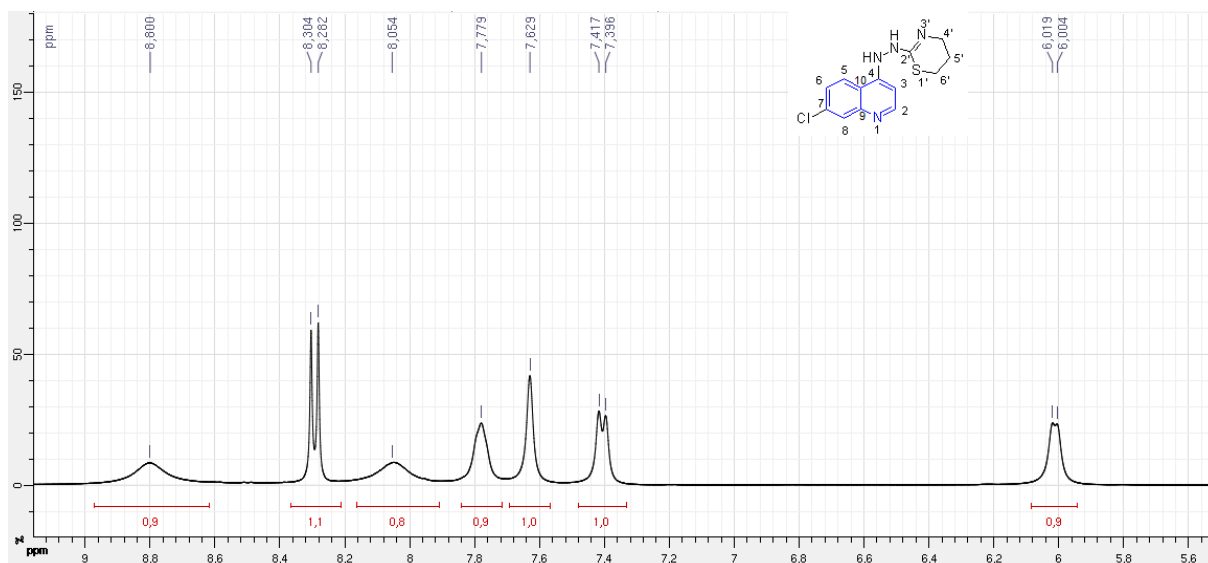
Espectro de RMN ^{13}C do composto (76) (100MHz, $\text{DMSO-}d_6$)**Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (76)**

Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (76)

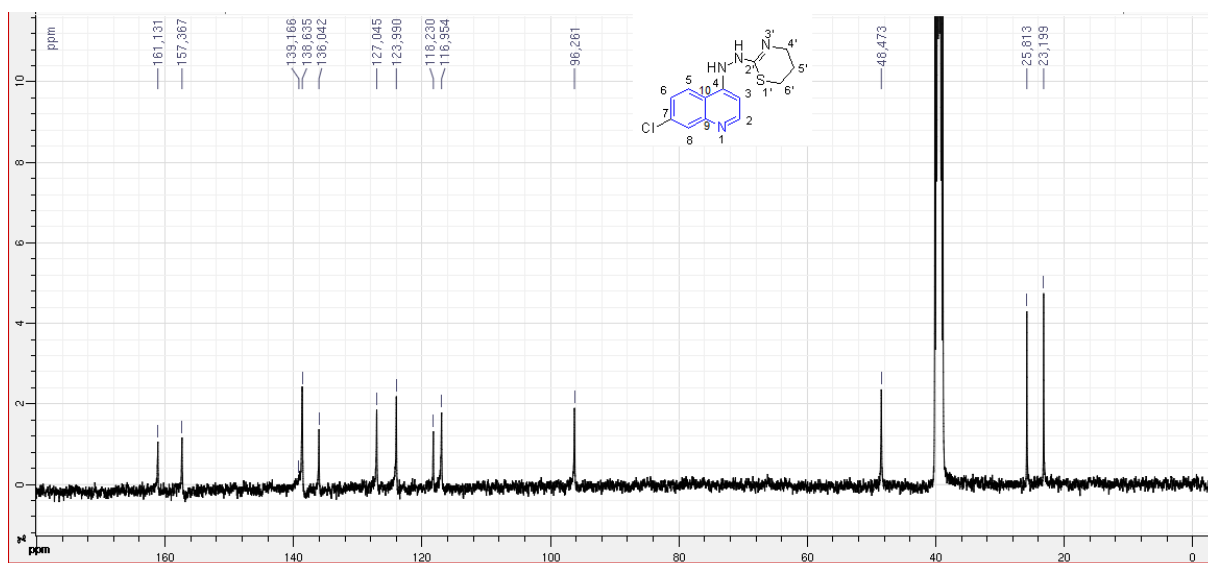
Anexo R:

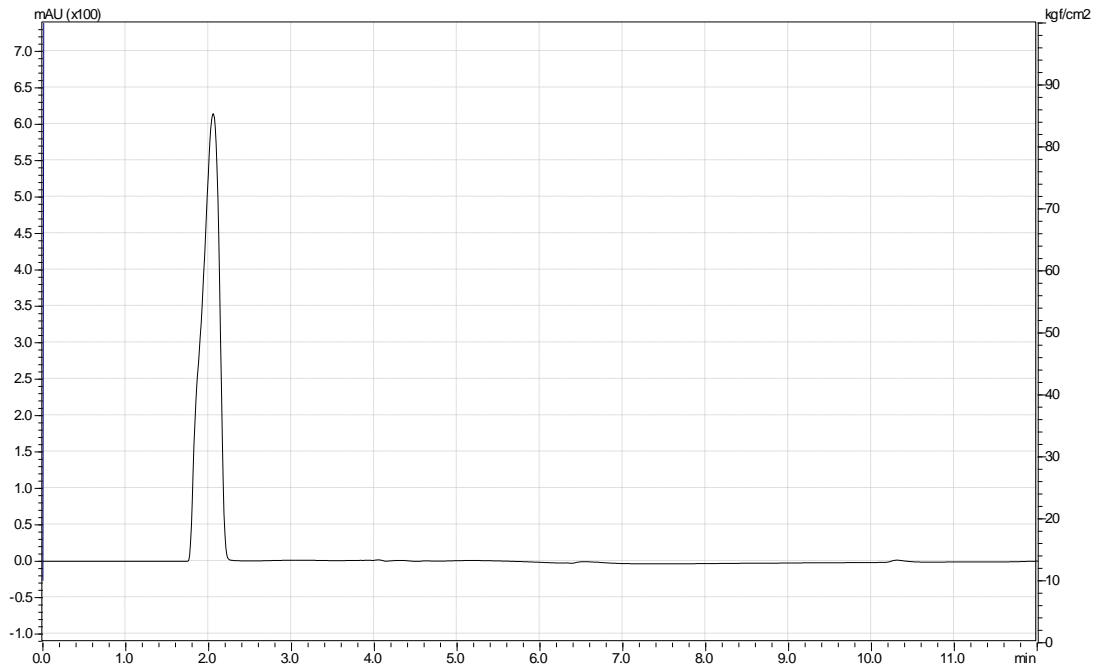
Espectro de RMN ^1H do composto (77) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)Ampliação de δ 2.0-4.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (77) (400MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

Ampliação de δ 6.0-9.0 do Espectro de RMN ^1H do composto (77) (400MHz, DMSO- d_6)



Espectro de RMN ^{13}C do composto (77) (100MHz, DMSO- d_6)



Cromatograma de HPLC-UV em MeOH:AF 0,1% do Composto (77)**Espectro de Infravermelho em Transmitância do Composto (77)**