

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



PATRÍCIA SANTOS BARBOSA

**ANÁLOGOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E 4-TIAZOLIDINONAS: SÍNTESE,
CITOTOXICIDADE E EFICIÊNCIA DO LIGANTE**

Recife, 2016

PATRÍCIA SANTOS BARBOSA

**ANÁLOGOS DE TIOSSEMICARBAZONAS E 4-TIAZOLIDINONAS: SÍNTESE,
CITOTOXICIDADE E EFICIÊNCIA DO LIGANTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Planejamento e síntese de fármacos.

Orientador: José Gildo de Lima

Recife

2016

PATRÍCIA SANTOS BARBOSA

Análogos de tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas: Síntese, citotoxicidade e eficiência do ligante.

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

Aprovada em: 17/02/16

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Gildo de Lima (Presidente)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. José Dalci Brondani (Examinador interno)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Marcelo Zaldini Hernandes (Examinador externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Terezinha Gonçalves da Silva (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco



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

Reitor

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-Reitor

Sílvio Romero Marques

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Nicodemos Teles de Pontes Filho

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Vânia Pinheiro Ramos

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Antônio Rodolfo de Faria

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Dalci José Brondani

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Almir Gonçalves Wanderley

Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Rafael Matos Ximenes

“O tamanho dos seus sonhos deve sempre exceder sua capacidade para alcançá-los. Se seus sonhos não te assustam, eles não são grandes o suficiente.”

(Ellen Johnson-Sirleaf)

AGRADECIMENTOS

Á minha **família**, em especial meus pais, **Dilson e Gildete**, e minha irmã, **Juliana**, por todos esforços, valores e educação. Devo tudo ao apoio de vocês;

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (UFPE)**, pela oportunidade de realização do mestrado;

Ao **Prof. José Gildo de Lima**, por ter aceitado ser meu orientador e pelos conhecimentos transmitidos durante esta etapa;

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo auxílio financeiro concedido;

Ao **Prof. Nicácio Henrique da Silva** e a **Profa. Mônica Cristina Barroso Martins**, por terem me orientado na iniciação científica e assim, me apresentado o mundo científico;

À **Central Analítica – DQF/UFPE**, pela realização de análises espectroscópicas;

Ao **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM/UFPE)**, representado pelo Prof. Pedro Rolim e pelos alunos Larissa Morgana e Thalita, pela realização de análises espectroscópicas;

Á **Gibson Gomes**, integrante do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Sintéticos (USP – Ribeirão Preto), pela realização de análises espectrométricas;

Á **Profa. Teresinha Gonçalves da Silva**, e pelos pesquisadores **Maria, Karla, Nelson e Jaciana**, integrantes do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos (UFPE) pela realização dos ensaios de citotoxicidade;

Aos integrantes do **Núcleo de Controle de Qualidade em Medicamentos e Correlatos (NCQMC)**, professores, pesquisadores, alunos, colegas e amigos, por todo o suporte durante esta etapa;

Á **todos** aqueles que ajudaram direta ou indiretamente em alguma etapa deste projeto, em especial ao Prof. Dalci, e aos amigos e colegas Dayane, Gevânio, Jackson, Mirelly, Marlene e Natanael;

Aos **amigos** que conquistei durante a vida, sem o desatino de vocês eu não teria tantas histórias;

Ao **mestre** dos mestres, **doutor** dos doutores.

RESUMO

A primeira parte do trabalho teve como objetivo a análise da eficiência do ligante de compostos com atividade citotóxica *in vitro* contendo o núcleo 4-tiazolidinona em sua estrutura química. Foram encontrados 121 compostos na literatura e as métricas EL, FQ e LipE foram calculadas. Os valores médios calculados de EL e LipE foram abaixo dos valores mínimos adequados. Para os compostos estudados, 14% obtiveram $EL \geq 0,3$ e somente um composto obteve $LipE \geq 5-7$. Para o FQ, 29% dos compostos obtiveram valores acima de 0,8 e três compostos apresentaram valores acima de 1,0, mostrando excepcional eficiência do ligante. A segunda parte do trabalho foi a síntese e avaliação da citotoxicidade de análogos tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidinônicos. Os compostos foram planejados com o objetivo de avaliar a influência dos grupos substituintes pirrolidinil, piperidinil e morfolinil na posição *para* do anel aromático. A citotoxicidade foi avaliada através do método do MTT em linhagens celulares de carcinoma de laringe humano (HEp-2), câncer de cólon humano (HT-29), câncer de mama humano (MCF-7), leucemia humana (MOLT-4) e carcinoma mucoepidermóide de pulmão (NCI-H292). As tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas propostas foram sintetizadas e purificadas, obtendo-se rendimentos entre 58-87 % e 31-93%, respectivamente. Os compostos foram caracterizados através de RMN 1H e ^{13}C , IV e EMAR. Quanto ao ensaio de citotoxicidade, a triagem inicial, realizada através da avaliação do percentual de inibição celular indicou que cinco tiossemicarbazonas foram ativas nas linhagens celulares HEp-2 e MOLT-4 e uma 4-tiazolidinona apresentou citotoxicidade na linhagem celular MCF-7.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer. Síntese química. Tiossemicarbazonas.

ABSTRACT

The first part of this study aimed to analyze ligand efficiency of compounds with cytotoxic activity tested *in vitro* containing 4-thiazolidinone nucleus in their chemical structure. 121 compounds were found in the literature and EL, FQ and LipE metrics were calculated. The mean values of EL and LipE were below the appropriate minimum. For the studied compounds, 14% showed $EL \geq 0.3$ and one compound obtained $LipE \geq 5-7$. For FQ 29% of compounds obtained scores above 0.8 and three compounds showed scores above 1.0, showing exceptional ligand efficiency. The second part of this study describes the synthesis and cytotoxic activity of thiosemicarbazone and 4-thiazolidinone analogues. The compounds were planned to evaluate the influence of pyrrolidinyl, piperidinyl and morpholinyl groups at the *para* position of the aromatic ring. Cytotoxicity was evaluated by the MTT assay in cell lines of human laryngeal carcinoma (HEp-2), human colon cancer (HT-29), human breast cancer (MCF-7), human leukemia (MOLT-4) and lung mucoepidermoid carcinoma (NCI-H292). Thiosemicarbazones and 4-thiazolidinones proposed were synthesized and purified to give yields between 58-87% and 31-93%, respectively. Compounds were characterized by 1H and ^{13}C NMR, IR and HRMS. As for cytotoxic assay, the initial screening, performed by evaluating the percentage of cell inhibition indicated that the five thiosemicarbazones were active in the cell lines HEp-2 and MOLT-4. 4-thiazolidinone did not show cytotoxicity.

KEY-WORDS: Cancer. Chemical synthesis. Thiosemicarbazones.

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Câncer: aspectos gerais.....	13
2.1.1 O ciclo celular	15
2.1.2 A célula cancerígena e o processo de carcinogênese	17
2.1.3 Terapias medicamentosas utilizadas no tratamento do câncer	19
2.1.4 Problemas encontrados na terapia do câncer	21
2.2 Tiossemicarbazonas	22
2.2.1 Análogos tiossemicarbazônicos com propriedades anticâncer	24
2.2 4-Tiazolidinonas	25
2.2.1 Análogos 4-Tiazolidinônicos com propriedades anticâncer.....	28
2.3 Eficiência do ligante	29
3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL DA SÉRIE PROPOSTA	33
4 OBJETIVOS	39
4.1 Objetivo geral.....	39
4.2 Objetivos específicos	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 Análise da eficiência do ligante de derivados 4-tiazolidinônicos com atividade antitumoral.....	40
5.2 Síntese e citotoxicidade de novos análogos tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidinônicos	48
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXOS	79
ANEXO A: Espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C	80

ANEXO B: Espectros de infravermelho	115
ANEXO C: Espectros de massas de alta resolução	129

1. APRESENTAÇÃO

Em 2012, o câncer causou 8,2 milhões de mortes no mundo. A projeção da Organização Mundial de Saúde (OMS) para 2030 é de que esses números aumentarão para 13,2 milhões de mortes (WHO, 2014). No Brasil, o câncer é conhecido como problema de saúde pública desde 1919. Embora existam constantes ações e estratégias de prevenção e controle, o câncer ainda ocupa o segundo lugar entre os óbitos no país.

Mesmo com o progresso na compreensão de mecanismos genéticos e epigenéticos do câncer, ainda existem obstáculos colossais na quimioterapia do câncer, como a resistência e persistência, além da toxicidade e onerosidade. Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de novos agentes citotóxicos com melhores potência e seletividade terapêutica e menores custos e toxicidade.

4-Tiazolidinonas (4-TZD) são heterociclos de grande interesse para os químicos orgânicos e medicinais devido a sua variedade de atividades farmacológicas, dentre estas, a atividade anticâncer. Recentemente pesquisadores tem direcionado a síntese de forma a otimizar derivados 4-TZD quanto a atividade citotóxica contra as mais diversas linhagens celulares, inclusive células resistentes. Tiossemicarbazonas (TSC), análogos resultantes da simplificação molecular de 4-TZD, também têm sido descritos na literatura como potenciais agentes anticâncer.

Apesar da potência ser um fator crucial para que um composto se torne um fármaco, é necessário que este possua propriedades físico-químicas adequadas, como atravessar membranas biológicas e estar solúvel na corrente sanguínea. A Regra dos Cinco, proposta por Lipinski et al. (2001), é a regra mais utilizada no planejamento de novas entidades químicas. Após avaliação biológica, é possível realizar análises de eficiência do ligante, que são métricas com valores de referência estabelecidos e que correlacionam a afinidade da molécula bioativa com suas propriedades físico-químicas.

Dessa forma, o presente trabalho está dividido em duas partes. A primeira parte, descreve a análise de eficiência do ligante para compostos contendo o núcleo 4-TZD em sua estrutura química com atividade anticâncer avaliada *in vitro*, provenientes da literatura. Foram encontrados 121 compostos e calculou-se as métricas eficiência do ligante (EL), *fit quality* (FQ)

e eficiência lipofílica do ligante (LipE). A importância desta etapa deu-se em avaliar o perfil físico-químico desses compostos comparando-o com a potência apresentada.

Na etapa posterior, é descrita a síntese e citotoxicidade *in vitro*, através do método do brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de análogos TSC e 4-TZD. Esses análogos foram planejados baseados em evidências de estudos anteriores. Duas séries foram propostas com o objetivo de comparar a influência dos grupos pirrolidinil, piperidinil e morfolinil substituídos na posição *para* do anel aromático, além dos grupos hidrogênio (H), metil (Me), etil (Et), e fenil (Ph) em N(4) de TSC e N(3) de 4-TZD.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer: aspectos gerais

Câncer é o conjunto de mais de cem doenças caracterizadas pelo crescimento disseminado e descontrolado de células e que pode afetar qualquer parte de um organismo, havendo ainda a possibilidade do desenvolvimento de metástase. O câncer é uma doença complexa que envolve inúmeras alterações na fisiologia celular, levando ao surgimento de tumores malignos (MODIANO & BREEN, 2013). Componentes genéticos e ambientais, ambos interligados, estão relacionados no surgimento de vários tumores. Indivíduos com diferente constituição genética e que vivem em locais geográficos distintos devem ter diferenças marcantes no tipo e agressividade do câncer (BRASILEIRO FILHO, 2012).

As primeiras evidências de câncer foram encontradas em tumores ósseos fossilizados de múmias humanas no Egito Antigo e em manuscritos antigos. A mais antiga descrição de câncer é encontrada no Papiro de Edwin Smith, escrito há cerca de 3.000 anos antes de Cristo (a. C.). Ele descreve oito casos de tumores ou úlceras da mama que foram removidos por cauterização. A origem da palavra câncer é creditada ao médico grego Hipócrates (460 – 370 a. C.), considerado o pai da medicina. Hipócrates usou os termos *carcinos* e *carcinoma* (em grego, caranguejo) para descrever tumores não formadores e formadores de úlcera, respectivamente. (HAJDU, S.I., 2011).

De acordo com estimativas do projeto Globocan 2012, da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (do inglês, *International Agency for Research on Cancer*), da OMS, em 2012, o câncer foi a segunda maior causa de morte do mundo, com 14,1 milhões de novos casos e somando mais de 8,2 milhões de mortes. No mesmo ano, nos Estados Unidos, os tumores malignos foram responsáveis pela morte de 22,9% da população, sendo a terceira maior causa de mortes. (WHO, 2014; NCI, 2015).

No Brasil, em 2012, houve um total de aproximadamente 225.000 mortes causadas por câncer. Dentre as neoplasias malignas, as que lideraram o *ranking* de óbitos nesse mesmo ano foram os cânceres de pulmão, colorretal, próstata, mama e estômago, como indicado na Figura 1. Além disso, a projeção desses dados não é positiva. O ônus do câncer continuará aumentando

em países em desenvolvimento se medidas preventivas não forem aplicadas de forma efetiva (IARC, 2012).

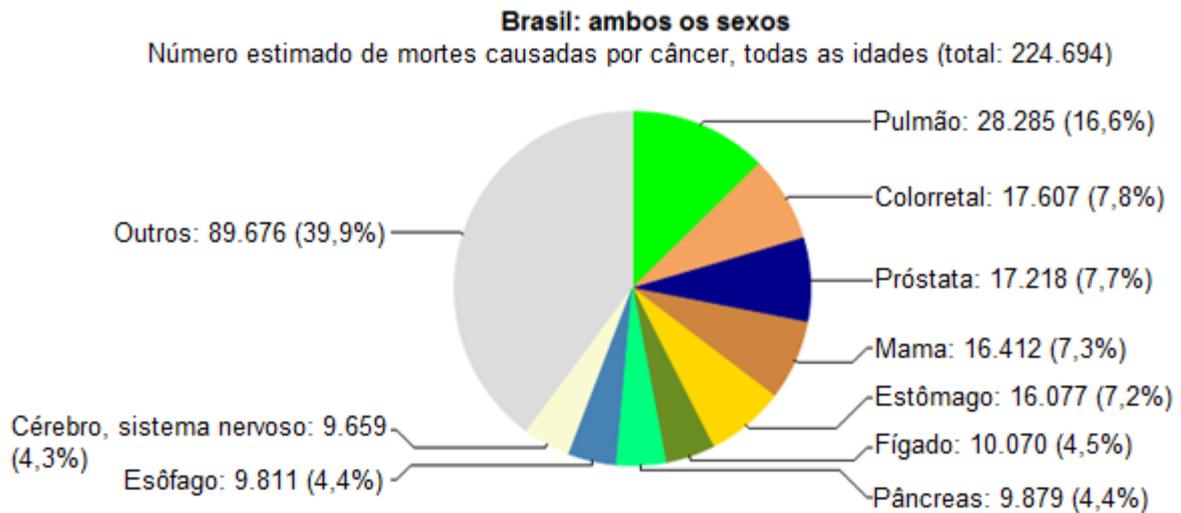


Figura 1. Mortalidade causada por cânceres no Brasil em 2012 (adaptado de IARC, 2012).

A estimativa para o ano de 2015 para a população brasileira aponta para a ocorrência de aproximadamente 395 mil novos casos de câncer, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma. Estimam-se 204 mil novos casos para o sexo masculino, com maior incidência dos cânceres de próstata, pulmão, cólon e reto, estômago e cavidade oral. Para o sexo feminino, espera-se 190 mil novos casos, com maior incidência dos cânceres de mama, cólon e reto, colo do útero, pulmão e glândula tireóide (INCA, 2014).

Segundo a OMS, o ônus global do câncer, em 2030, será de 21,4 milhões de novos casos e 13,2 milhões de mortes, em consequência do crescimento e envelhecimento da população e da redução nas mortalidades infantil e por doenças infecciosas em países em desenvolvimento (INCA, 2014). Os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística corroboram com a previsão da OMS. A projeção para 2050 é de que no Brasil exista 17 idosos para cada criança, o que comprova o envelhecimento a médio e longo prazo da população (IBGE, 2014).

2.1.1 O ciclo celular

No organismo humano, a reprodução celular é necessária para a manutenção do indivíduo. Nos gametas, a reprodução ocorre através da meiose, um tipo de divisão reducional na qual uma célula diploide origina quatro células haploides. A reprodução de células somáticas envolve a mitose (M) e a citocinese. Na mitose, acontece a divisão nuclear, enquanto a citocinese está relacionada com a divisão do citoplasma. O período que antecede a mitose chama-se intérfase e nele ocorre a duplicação do material genético celular. A alternância entre mitose e intérfase é conhecida como ciclo celular (ARGYLE & LOUIS, 2013).

A intérfase é a fase mais longa do ciclo celular e compreende as fases: primeiro intervalo (G1), síntese (S) e segundo intervalo (G2). Assim, o ciclo celular é comumente dividido em quatro fases subsequentes: G1, S, G2 e M. Na fase G1, ocorre a síntese proteica e, conseqüentemente, o crescimento celular. O período seguinte (S) está relacionado com a replicação do DNA. Na fase G2, ocorre o crescimento celular com a síntese de moléculas necessárias à divisão celular. No período M, as cromátides irmãs são separadas e distribuídas nas células-filhas que estão sendo formadas. A citocinese, que não está inclusa no ciclo celular, é a etapa seguinte a mitose e termina a divisão celular, com a formação de duas células-filhas separadas por uma membrana plasmática. (HARASHIMA, DISSMEYER & SCHNITTGER, 2013).

A progressão do ciclo celular é regulada pela ativação e inativação adequada de proteínas. Três famílias principais de proteínas são responsáveis pela regulação: ciclinas, kinases dependentes de ciclina (CDK) e inibidores de kinases dependentes de ciclina (CKI). Ciclinas e CDKs são responsáveis pela ativação de fatores essenciais para o início da fase seguinte do ciclo celular. Por outro lado, CKIs agem como reguladores negativos, inibindo ciclinas e CDK2 e CDK4 (OGASAWARA, 2013). A Figura 2 mostra as fases e regulação do ciclo celular.

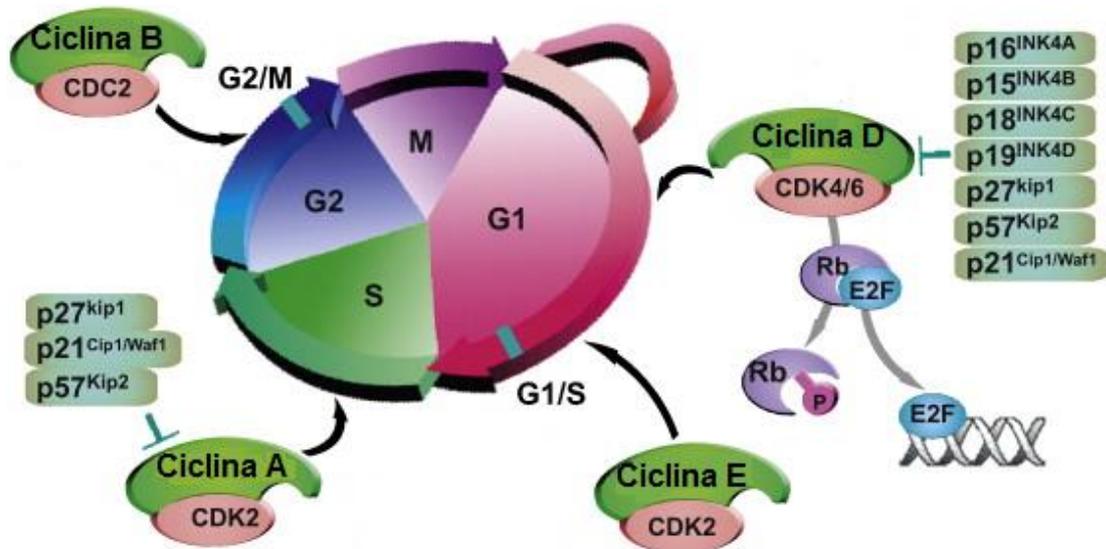


Figura 2. Fases e regulação do ciclo celular. Adaptado com permissão de *Macmillan Publishers Ltd: Progress in Neurobiology* (WANG et al, 2009), copyright 2009.

A ciclina D interage com CDK4 ou CDK6 para formar o complexo ciclina D-CDK4/6, responsável pela entrada da célula na fase G1. O complexo ciclina D-CDK4/6 fosforila a proteína retinoblastoma (Rb) e libera o fator de transcrição E2F, responsável por ativar a transcrição do DNA. Com a entrada das células na fase S, os complexos de ciclina E-CDK2 são desfeitos para evitar que o DNA seja replicado novamente. A ciclina E é degradada e clivada pelo Sistema Proteassoma-Ubiquitina (SPU), liberando a CDK-2, que vai interagir com a ciclina A. O complexo ciclina A-CDK2 é responsável por fosforilar proteínas necessárias à fase S. Na fase G2, as ciclinas A são degradadas e clivadas pelo SPU, enquanto os complexos ciclina B-CDK1, essenciais ao desencadeamento da mitose, são ativados. A fosforilação do complexo ciclina B-CDK1 conduz ao aumento da condensação de cromossomas e repartição do envelope nuclear. A perda progressiva da atividade do complexo B-CDK1 é essencial para o sucesso da segregação cromossômica e conclusão da divisão celular (WANG et al, 2009).

Os complexos ciclina-CDK são regulados negativamente pelas CDKIs, que são divididas em duas famílias: INK4 e Cip/Kip. Os membros da família INK4 incluem as proteínas p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p18^{INK4C} e p19^{INK4D} e inibem exclusivamente CDK4 e CDK6. Em

contrapartida, os membros da família Cip/Kip, p27^{Kip1}, p57^{Kip2} e p21^{Cip1/Waf1}, não são seletivos e inibem mais de um complexo ciclina-CDK. As CKIs exibem atividade supressora de tumor e frequentemente estão inativadas em tumores por diferentes mecanismos (QUEREDA et al, 2016).

2.1.2 A célula cancerígena e o processo de carcinogênese

As células cancerígenas resultam da aquisição sequencial de mutações genéticas, podendo haver a superexpressão de proto-oncogenes ou a supressão de genes supressores de tumor. É possível relacionar o tipo de mutação com o câncer decorrente. Por exemplo, os casos de câncer renal metastático estão relacionados com mutação do gene von Hippel Lindau e perda de uma região no cromossomo 3p (KRESO & DICK, 2014). Uma característica peculiar das células cancerígenas é conhecida como imortalidade. A inativação da via fosfatidilinositol 3-quinase e do gene p53 induz a mitogênese e o bloqueio da apoptose, resultando na divisão celular ilimitada (FLOOR, 2012).

Essas células também podem estimular a angiogênese, garantindo o aporte de nutrientes e oxigênio, além de adquirir a capacidade de invadir outros tecidos e/ou órgãos do organismo. A formação de novos vasos está relacionada com a família de fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF-A, -B, -C, -D e fator de crescimento placentário, PIGF). VEGF-A é o indutor do desenvolvimento da angiogênese, através da ativação do receptor de VEGF 2 (VEGFR-2) (EKLUND, BRY & ALITALO, 2013). Para a disseminação metastática, as células tumorais adentram em vasos sanguíneos e linfáticos (intravasamento), são transportadas através da corrente sanguínea e saem desses vasos em tecidos diferentes (extravasamento), onde vão iniciar a formação de um tumor secundário (colonização) (CHAFFER & WEINBERG, 2011).

A carcinogênese engloba todo o processo de crescimento desregulado das células tumorais, resultante da aquisição de alterações genéticas e epigenéticas em células normais. É possível identificar três estágios da carcinogênese: 1) iniciação, estágio no qual os genes celulares de uma célula individual sofrem modificações por ação dos agentes oncoiniciadores; 2) promoção, que reflete a multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas, dependentes do estímulo oncopromotor; e 3) progressão, estágio no qual o crescimento

descontrolado de células alteradas torna-se autônomo, ou seja, as células se tornam malignas e não é mais necessário o estímulo dos oncoiniciadores ou oncopromotores. Ao final deste processo, tem-se o câncer, caracterizado pela capacidade de invasão e formação de metástase (COHEN & ARNOLD, 2011).

Classifica-se no grupo de agentes oncoiniciadores os carcinógenos químicos, energia radiante ou vírus oncogênicos. Normalmente, o agente oncoiniciador está relacionado com o tipo de câncer. Por exemplo, o *Papilomavirus humano* (HPV), transmitido sexualmente, codifica as proteínas E6 e E7, que, juntas, promovem a proliferação celular, prolonga a progressão do ciclo celular e bloqueia a apoptose. Dessa forma, sabe-se que a infecção por HPV está relacionada com o risco de câncer de cólon uterino (CROSBIE ET AL., 2013).

O vírus Epstein-Barr (EBV), pertencente à família dos vírus do herpes, está relacionado com o desenvolvimento do carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt (câncer de linfócitos B) e sarcoma de Kaposi. O EBV codifica a proteína latente da membrana 1, os antígenos nucleares 2 e 3 – subtipo c, todos responsáveis pela imortalização dos linfócitos B *in vitro* e pela formação de tumores em animais (LIEBERMAN, 2014). Existem outros exemplos clássicos de relação entre os carcinógenos e o tipo de câncer, como o uso excessivo do tabaco e o câncer de pulmão, exposição excessiva à radiação ultravioleta e o câncer de pele, entre outros (LO & FISHER, 2014; KARIMKHANE ET AL., 2015).

Para que haja o desenvolvimento da neoplasia, são necessárias sucessivas alterações genéticas e epigenéticas em genes que controlam o crescimento e a diferenciação celular ou que cuidam da integridade do genoma. Eventos genéticos incluem mutações em protooncogenes, que se transformam em oncogenes, e/ou genes supressores de tumor. Alterações epigenéticas incluem hipometilação do ácido desoxirribonucléico, hiper ou hipometilação de genes específicos, alterações na cromatina e perda de impressão. Atualmente, sabe-se que os eventos epigenéticos são prevalentes no processo de formação do tumor, como mostra a Figura 2 (DE CARVALHO ET AL., 2012; SANDOVAL & ESTELLER, 2012; YOU & JONES, 2012).

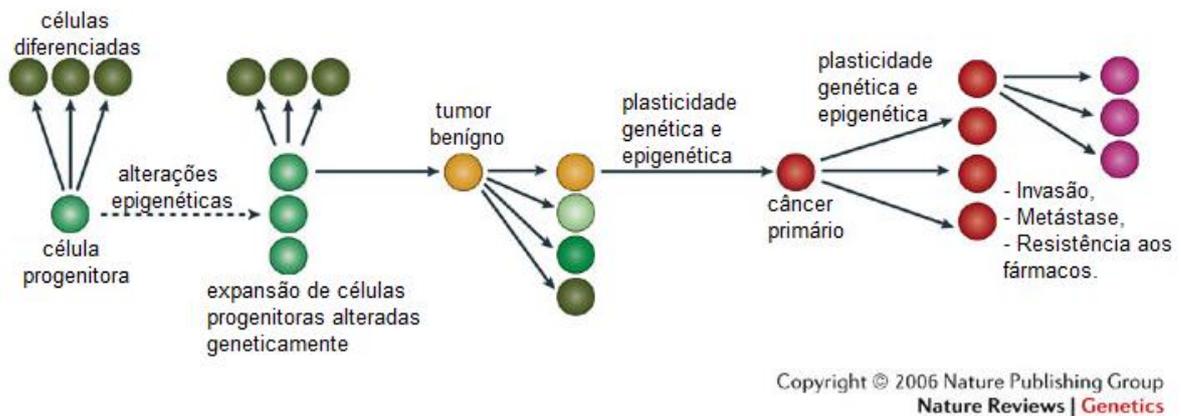


Figura 3. O modelo progenitor epigenético do câncer. Adaptado com permissão de *Macmillan Publishers Ltd: Nature Genetics* (FEINBERG; OHLSSON & HENIKOFF, 2006), copyright 2006.

2.1.3 Terapias medicamentosas utilizadas no tratamento do câncer

Normalmente, o tratamento do câncer é realizado através de terapias sistêmicas, que incluem hormonioterapia, terapias-alvo e quimioterapia, cirurgias e/ou radioterapias. No estágio inicial da doença, pacientes de baixo risco podem ser tratados com cirurgias, entretanto, em outros casos pode haver a necessidade da combinação de tratamentos. Tendo em vista que a circulação sanguínea dissemina os fármacos pelo organismo, terapias sistêmicas são os recursos terapêuticos de escolha nos casos de cânceres metastáticos. Os fármacos utilizados no tratamento do câncer agem, de maneira geral, interferindo em processos envolvidos no ciclo celular. Esses fármacos podem ser agrupados conforme suas propriedades bioquímicas (CALEY & JONES, 2012).

Agentes alquilantes são uma classe de fármacos que possuem em comum a habilidade de formar ligações covalentes com o DNA. Essa classe pode ser subdividida em mostardas nitrogenadas, etileniminas, alquilsulfonatos, nitrosureias e triazenos. Os principais representantes dessa classe são ciclofosfamida e clorambucila. Esses fármacos exercem ação citotóxica através da alquilação do DNA, provavelmente no átomo N-7 do resíduo de guanina, pelo grupo 2-cloroetil dos fármacos após ativação e metabolismo pelo organismo humano.

Como resultado disso, tem-se erros na replicação e depuração, com subsequente clivagem do DNA (GERMANAS & PANDYA, 2002).

Os antimetabólitos exercem seus efeitos através do bloqueio de uma ou mais vias metabólicas envolvidas na síntese do DNA. Essa classe pode ser subdividida em antagonistas do folato, análogos de pirimidina e análogos de purina. Os antagonistas do folato e análogos de pirimidina possuem como representantes o metotrexato e fluoruracila, respectivamente, e exercem seus efeitos através da inibição da síntese de timidilato, com consequente inibição da síntese de DNA. Os análogos de purina exercem diferentes mecanismos de ação envolvendo vias críticas do metabolismo da purina. A fludarabina, após fosforilação dentro da célula-alvo, inibe a enzima DNA polimerase. Já a pentostatina inibe a enzima adenosina desaminase (RANG & DALE).

Outras classes de fármacos citotóxicos incluem antibióticos e derivados de plantas. A doxorrubicina é o principal antibiótico citotóxico, pertencente à classe das antraciclinas, e é amplamente utilizado no tratamento de leucemias. Como exemplo de derivados de plantas temos as epipodofilotoxinas, o etoposídeo e tenoposídeo. Esses fármacos possuem diversos mecanismos de ação, entretanto, o principal deles é através da interação com o DNA por intercalação, levando ao bloqueio da síntese do DNA e redução da atividade da enzima topoisomerase II (THAKUR, 2011; YANG et al, 2014).

A terapia endócrina consiste em utilizar hormônios para inibir o crescimento do tumor, sendo indicada apenas quando existem receptores hormonais nas células cancerígenas. Esse tipo de tratamento é comum em casos de cânceres de mama, nos quais utiliza-se tamoxifeno e/ou inibidores de aromatase, como o letrazol e anastrozol (BRITO, PORTELA & VASCONCELLOS, 2014). Anticorpos monoclonais surgiram como uma nova classe de terapia utilizada no tratamento do câncer e seu principal objetivo é exercer o efeito antitumoral como o mínimo de toxicidade sistêmica. Os anticorpos monoclonais podem ser simples, como o rituximabe, ou serem conjugados com agentes citotóxicos, como o inotuzumabe, que é um anticorpo conjugado à calicheamicina (SIKARIA, ALDOSS & AKHTARI, 2016).

Outra nova classe de agentes anticâncer são os inibidores de proteína quinase. Essa classe surgiu com o progresso dos estudos genômicos de câncer, que beneficiou a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos antineoplásicos. A identificação de mutações genéticas específicas de subtipos de neoplasias permitiu o desenho racional de novos fármacos

(CHABNER, RICHON, 2015). Os fármacos imatinibe e dasatinibe são inibidores específicos da tirosina quinase BCR-ABL, oncoproteína que causa leucemia mielóide crônica (KANTARJIAN ET AL., 2012). Outros fármacos desenvolvidos foram os inibidores de fator de crescimento do endotélio vascular, como o bevacizumabe, e de seus receptores, como o ramucirumabe, sunitinibe, sorafenibe e pazopanibe (NORTON ET AL, 2014).

Apesar do avanço no desenvolvimento de novos antineoplásicos, os mecanismos de desenvolvimento e progressão do câncer são bastante complexos e sabe-se que, nos diversos tipos de câncer, existem múltiplas alterações genéticas e epigenéticas, dificultando mais ainda o tratamento do paciente. Atualmente, devido à ausência de um quimioterápico eficaz, a solução encontrada pelos oncologistas é o uso combinado de dois ou mais antineoplásicos. Como resultado da terapia combinada, tem-se a indução de respostas completas ou parciais significativas, entretanto, associadas de grandes efeitos colaterais (PELICANO ET AL., 2006).

2.1.4 Problemas encontrados na terapia do câncer

Apesar das novas descobertas e muitos sucessos clínicos ainda existem obstáculos para o tratamento efetivo do câncer. O maior deles continua sendo a resistência das células cancerígenas aos fármacos disponíveis, não havendo resposta ao tratamento em 90% dos cânceres metastáticos. A resistência pode ser intrínseca, quando não há resposta desde o início do tratamento, ou adquirida, quando surge pós-terapia. O principal fenômeno de resistência é conhecido como (MDR), um tipo de resistência adquirida, na qual se observa ausência de resposta de diversos fármacos sem semelhança estrutural ou farmacológica (HUBER, MARUIAMA & ALMEIDA, 2010).

Os mecanismos de MDR incluem redução do acúmulo de fármacos devido à amplificação gênica de proteínas pertencentes à superfamília ABC (*ATP-binding cassette*), como a glicoproteína P (Pgp) e proteínas associadas à MDR, detoxificação do fármaco via sistema enzimático glutatona/glutathione transferase, alterações de alvos envolvendo topoisomerase II e bloqueio da apoptose induzida por fármacos devido à alterações na família Bcl-2, mutação T790M – receptor do fator de crescimento epidérmico e amplificação do oncogene MET. (RHO ET AL., 2013; HONG ET AL., 2013).

Em muitos casos, apenas uma pequena fração de células adquirem resistência. Essas células cancerígenas resistentes são responsáveis pela recidiva e disseminação posterior da doença, resultando em fracasso do tratamento. Desse modo, o reaparecimento da doença é marcado por células que dividem-se rapidamente e com maior agressividade, resultando em um fenômeno conhecido como persistência (POTTER & GREAVES, 2014; SHLUCH ET AL., 2014).

Outro importante obstáculo é integrado pelos graves efeitos colaterais apresentados pelos fármacos antineoplásicos. Sabe-se que antraciclina, como a doxorrubicina e daunorrubicina, apresentam cardiotoxicidade desde seu uso inicial, em 1960. Cardiomiopatia dilatada, a complicação a longo prazo mais temida, é marcada por disfunção ventricular esquerda sistólica e insuficiência cardíaca congestiva. Os pacientes que sofrem com isso têm sobrevivência média de aproximadamente um ano após o início dos sintomas (AZAMBUJA ET AL., 2015). Os compostos de platina apresentam mielossupressão e neurotoxicidade, esta última, em casos mais graves, pode causar perda da audição e visão (GREEN ET AL., 2011).

Um grande infortúnio da quimioterapia oncológica está relacionado à onerosidade. Estudo realizado por Pinto e Ugá (2011) em hospital especializado na cidade do Rio de Janeiro, entre 2000 e 2006, mostrou que o custo médio da quimioterapia por paciente foi de R\$ 28.901,00, R\$ 37.529,00 e R\$ 33.164,00 para câncer de pulmão, laringe e esôfago, respectivamente. Outro estudo, realizado por Souza et al. (2011), estimou em R\$ 63.414.420,66 o custo total do tratamento de pacientes diagnosticados com melanomas malignos no estado de São Paulo, entre janeiro de 2000 e dezembro de 2007.

2.2 Tiossemicarbazonas

TSC são uma importante classe de bioisómeros acíclicos clássicos de 2-pirazolina-1-tiocarboxamidas (Figura 3). Esses compostos são bastante estudados na Química Medicinal devido ao seu amplo perfil farmacológico (LEITE et al., 2007). Outra grande importância de TSC é a versatilidade em formar ligações coordenadas com metais através dos átomos de enxofre e de nitrogênio do grupo azometina (C=N) (TENÓRIO et al., 2005).

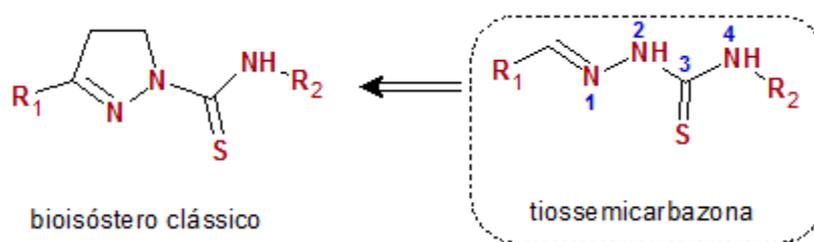


Figura 4. Estrutura geral de tiosemicarbazona e seu bioisómero.

TSC podem ser obtidas através da reação de condensação entre tiosemicarbazidas e aldeídos ou cetonas. A formação da TSC é mais rápida em pH entre 4 e 5: em pH inferior a 4, existe a possibilidade de protonação do nitrogênio N(1) da tiosemicarbazida, dificultando o ataque nucleofílico no grupo carbonilado, já em pH superior a 5, existe um déficit na protonação da carbonila. Dessa forma, é comum o uso de catálise ácida nessas reações. Entretanto, esta condição não é indispensável para o sucesso da reação, que também acontece em meio neutro. (TENÓRIO et al., 2005).

Outra grande atribuição de TSC é na participação, como intermediários, na síntese de heterociclos (TENÓRIO et al, 2005). Mohareb et al. (2012) reagiu TSC com o 2-bromo-feniletan-1-ona e obteve derivados contendo o heterociclo 1,3-tiazol. Shih e Wu (2005) sintetizaram compostos contendo o anel 1,3,4-tiadiazol a partir de TSC e cloreto férrico ou anidrido acético. Markovic et al (2010) sintetizaram derivados de 5-aminopirazol a partir de TSC e iodeto de metila e pentano-2,4-diona. Cihan-Ustudag et al (2016) sintetizaram 4-tiazolidinonas a partir de TSC e bromoacetato de etila, na presença de acetato de sódio anidro.

TSC possuem vasta ação farmacológica devido a possibilidade de atuação como agentes quelantes, de formação de complexos com metais presentes em enzimas, inibindo ou modulando-as, e de participação em reações redox (BERALDO, 2004). Esses compostos são descritos como potenciais agentes antitumorais, antiparasitários, antifúngicos, antibacterianos, entre outros. A Figura 4 ilustra TSC encontradas na literatura com potencial farmacológico. Espíndola et al. (2015) (Figura 5a) sintetizaram duas aril-tiosemicarbazonas, descritas com excelente atividade anti-*Trypanossoma cruzi*. Ainda, o composto substituído com o grupo dimetilformamida não apresentou toxicidade em células de esplenócitos de ratos, mesmo nas maiores concentrações. De Melos et al. (2015) (figura 5b) sintetizaram duas novas 6-X-piperonal-tiosemicarbazonas com significativa atividade leishmanicida.

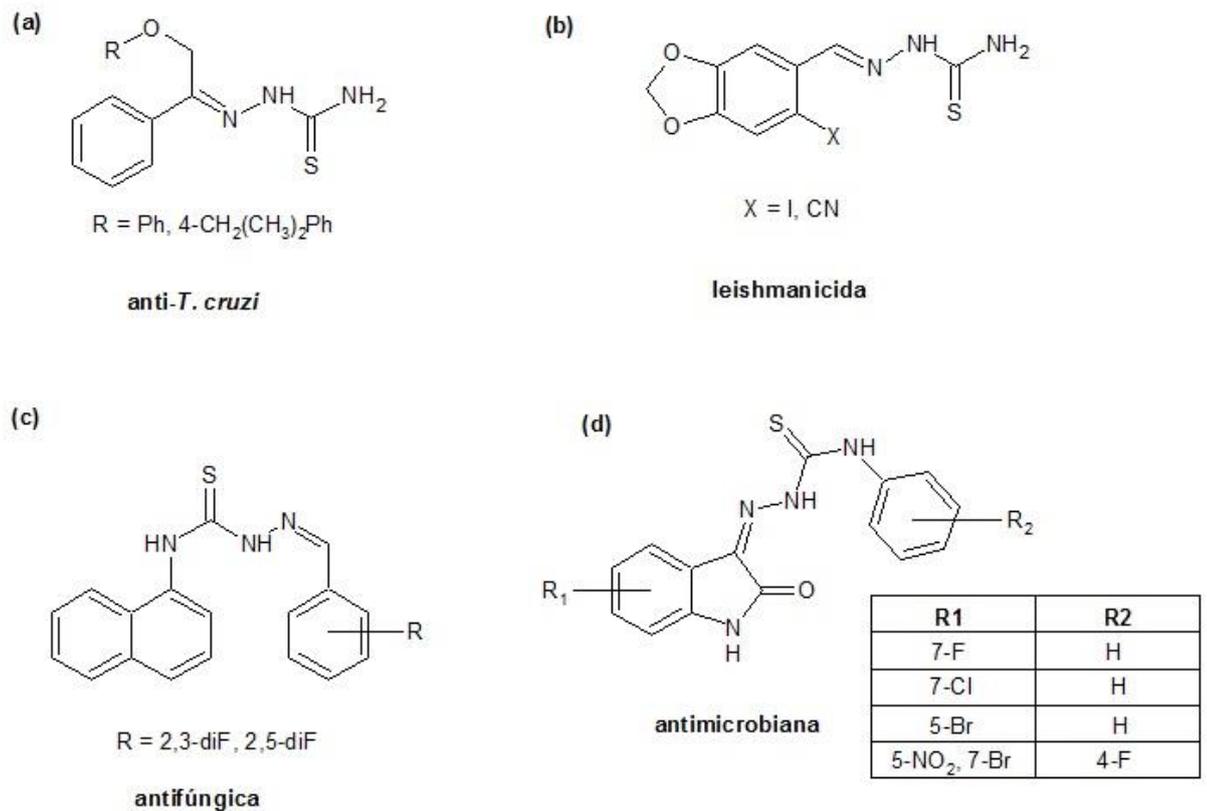


Figura 5. Tiossemicarbazonas encontradas na literatura com potencial farmacológico.

Altintop et al. (2016) (figura 5c) identificaram duas naftaleno-tiossemicarbazonas como potenciais agentes anticâncer. Zhang et al. (2015) (figura 5d) sintetizaram uma série de isatin-β-tiossemicarbazonas com ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente à metecilina e *Enterococcus* resistente à vancomicina.

2.2.1 Análogos tiossemicarbazônicos com propriedades anticâncer

Muitas TSC têm sido descritas na literatura como agentes antitumorais. Altintop et al. (2016) testaram a citotoxicidade de uma série composta por dez TSC e encontraram um composto ativo contra células de adenocarcinoma pulmonar humano (A549). Akgemci et al. (2015) identificaram três derivados TSC ativos contra carcinomas humanos cervical (HeLa), de mama (MCF-7) e de próstata (PC-3). Gan et al. (2014) sintetizaram uma série de 6-

tiossemicarbazonas com significativa atividade antiproliferativa *in vitro*. Um dos compostos apresentou CI_{50} de 4,2 μM em célula de carcinoma hepatocelular humano (BEL-7404), mostrando citotoxicidade melhor que a cisplatina, que apresentou CI_{50} de 23,2 μM .

Soares et al. (2012) sintetizaram uma série composta por treze TSC, descritas na figura 6, diferenciando os grupos fluoro, cloro, iodo e nitro nas posições *orto*, *meta* e *para*, e testaram a citotoxicidade desses compostos nas linhagens celulares MCF-7 e glioblastomas (T98G e U87). Como resultado, verificaram que todos os compostos testados possuem CI_{50} inferior ao Etoposídeo, controle utilizado no teste, em todas as linhagens testadas. Também verificaram que TSC podem estar envolvidas na indução da morte celular programada, induzindo apoptose e autofagia nas células tumorais estudadas.

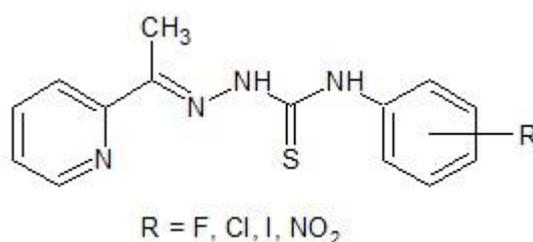


Figura 6. Tiossemicarbazonas identificadas por Soares et al. (2012) com citotoxicidade.

Markovic et al. (2013) sintetizaram novos derivados de antraquinonas-tiossemicarbazonas e verificaram atividade antiproliferativa em várias linhagens celulares, em especial em células eritroleucêmicas humanas (K562) com potencial citotóxico melhor que a cisplatina. Neste estudo, foi demonstrado que os novos compostos sintetizados inibem a proliferação celular, levando a um aumento na fase pré-sintética do ciclo celular, e promovendo apoptose pela via dependente de caspase na linhagem celular HeLa.

2.3 4-Tiazolidinonas

4-TZD (Figura 7) consiste de uma importante classe de heterociclos com grande variedade de aplicações biológicas e farmacológicas. O núcleo 4-TZD pode ser descrito como um heterociclo pentagonal, derivado da tiazolidina, que possui um átomo de enxofre na posição

1, um átomo de nitrogênio na posição 3 e um grupo carbonila na posição 4. Novos derivados 4-TZD podem ser obtidos através da adição de substituintes nas posições 2, 3 e 5, entretanto, a principal diferença estrutural e em propriedades químicas é exercida pelos substituintes adicionados a C(2) e C(5). O grupo carbonila, presente em C-4, é bastante estável e participa de reações em raras ocasiões, como no caso do reagente de Lawesson, dando origem à 4-tiona correspondente (TRIPATHI ET AL., 2014).

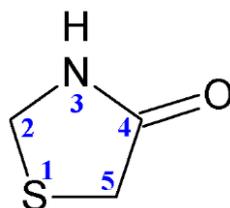


Figura 7. Núcleo 4-tiazolidinônico e possibilidades de substituições.

O anel 4-TZD pode ser sintetizado através de reações envolvendo compostos α -aceto-halogenados e tioamidas, ácido α -mercaptoacético e iminas substituídas ou compostos carbonilados α,β -insaturados e tioamidas. Uma maneira bastante simples de sintetizar 4-TZD, ilustrada na figura 8, é através de reações entre ácidos α -haloacéticos e TSC, na presença de uma base, já que o grupo imino é susceptível à hidrólise ácida (LIESEN et al., 2008).

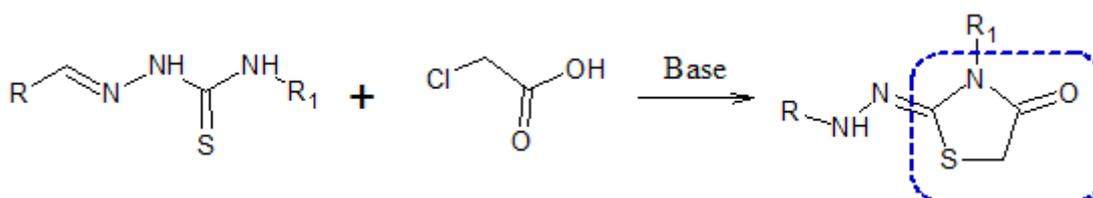


Figura 8. Reação entre tiossemicarbazona e ácido cloroacético para formação do heterociclo 4-tiazolidinona.

4-TZD são compostos bastante investigados devido ao seu potencial farmacológico e de inovação na química medicinal. Diversos fármacos contendo o núcleo 4-TZD em sua estrutura (Figura 9) já estão disponíveis para uso pela população em benefício da saúde, como a Pioglitazona (hipoglicêmico), Epalrestate (inibidor de aldose redutase) e Darbufelona (anti-

inflamatório, inibidor dual de ciclooxigenase-2 (COX-2)/ 5-lipooxigenase (YE ET AL., 2010; GAO ET AL., 2015; LI ET AL., 2015)

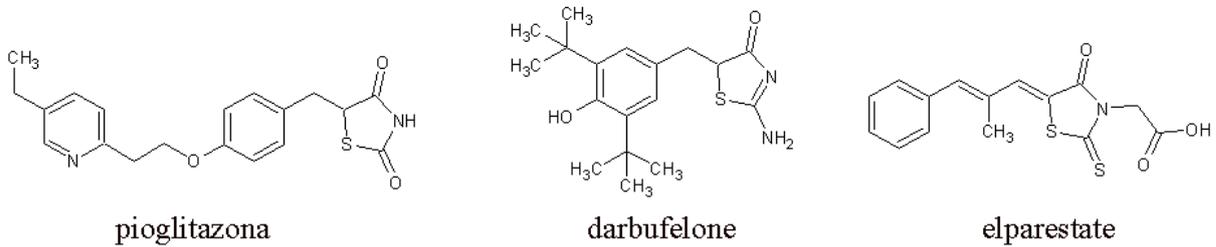


Figura 9. Fármacos contendo o núcleo 4-tiazolidinônico.

Além disso, estudos têm relacionado 4-TZD com as mais diversas atividades farmacológicas, como antiparkinsoniana, antiparasitária, anti-inflamatória, antimicrobiana, cardiovascular, antidiabética, antituberculosa, antiartrítica e anticâncer. Ren et al. (2015) confirmaram os efeitos neuroprotetores de um análogo de 4-TZD, derivado da rodanina, através da indução de neurotoxicidade do MPTP/MPP⁺, neurotoxina que provoca permanentemente os sintomas da doença de Parkinson, indicando um candidato promissor ao tratamento desta doença.

Carvalho et al. (2010) e Pizzo et al. (2011) sintetizaram 4-TZD com propriedades antiparasitárias, como anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*T. cruzi*, respectivamente. Singh et al. (2015) sintetizaram análogo estrutural de 4-TZD e comprovaram sua excelente atividade anti-inflamatória em modelos agudos *in vivo* (74,47% - de inibição de edema de pata induzido por carragenina) e *in vitro* (80,2% - de inibição da desnaturação da albumina).

Desai, Dodiya e Shihora (2012) sintetizaram compostos contendo os núcleos quinazolinona e 4-TZD em sua estrutura e verificaram as atividades antibacteriana, contra cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, e antifúngica, contra cepas de *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *A. clavatus*. Ainda, atribuíram a atividade antimicrobiana à união dos anéis 4-TZD e quinazolinona seguida de substituições em C(5) do anel 4-TZD, através da Reação de Knoevenagel.

Bhandari et al. (2009) estudaram quatro derivados 4-TZD com atividade hipotensiva e antiarrítmica. Esses pesquisadores verificaram que esses compostos exercem efeito inibidor sobre a resposta contrátil causada por noradrenalina na aorta torácica de ratos devido à inibição

do influxo de cálcio, através do bloqueio de canais de cálcio dependentes de voltagem. Os efeitos antiarrítmicos foram relacionados com suas propriedades adrenolíticas. Ottanà et al. (2011) estudaram compostos 4-TZD inibidores de aldose redutase.

2.2.1 Análogos 4-tiazolidinônicos com propriedades anticâncer

Estudos recentes mostram que 4-TZD são potenciais agentes antitumorais contra linhagens celulares de cânceres de mama, pulmão, cólonrretal, cervical, ovário e fígado, entre outros. Poucos estudos descrevem 4-TZD com citotoxicidade em linhagens celulares de leucemia. As propriedades antitumorais de 4-TZD provavelmente estão relacionadas com sua afinidade por alvos específicos, como o JNK estimulador de fosfatase-1, receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gamma, fator de necrose tumoral alfa, biocomplexo antiapoptótico Bcl-XL-BH3, receptor de integrina $\alpha v \beta 3$, sphingosina kinase, fosfatase do fígado em Regeneração-3 e COX-2 (TRIPHATI ET AL., 2014).

Através de estímulos ou inibição de moléculas específicas, as 4-TZD exercem diferentes mecanismos de ação, sempre resultando em morte da célula cancerígena. Uma característica particular de derivados 4-TZD é sua atividade contra linhagens celulares resistentes. Zhang et al. (2014) sintetizaram quatro derivados 4-TZD com significativa atividade nas linhagens celulares humanas câncer de pulmão (H460) e em sua variação resistente ao Taxol (H460_{TaxR}), em relação ao Taxol, apresentando GI₅₀ entre 0,46-1,45 μ M e 0,56-1,75 μ M, respectivamente.

Sabe-se que o principal mecanismo de MDR é através da superexpressão de Pgp, um transportador que utiliza a energia proveniente da hidrólise do ATP para bombear substratos através da membrana celular (JIN ET AL., 2012). As interações entre as 4-TZD e a Pgp ainda não foram completamente elucidadas, entretanto, acredita-se que as 4-TZD possam funcionar como substratos ou moduladores de Pgp, em ambos os casos interagem com os resíduos de Ser222, um resíduo no domínio TM4 da Pgp, e Pro223, resíduo vizinho de Ser222 que age como assistente, aumentando a eficácia da interação entre Pgp e 4-TZD (WANG ET AL., 2015).

2.3 Eficiência do ligante

A taxa de fármacos reprovada nas fases clínicas e pré-clínicas de desenvolvimento de drogas é elevada. Estima-se que a taxa de reprovação cumulativa de candidatos a fármacos seja de 96%, o que representa um risco significativo em termos de capital investido no desenvolvimento de fármacos. Em 2013, apenas 25 fármacos pequenos e 02 produtos biológicos foram aprovados pela agência reguladora dos Estados Unidos *Food and Drug Administration*. O processo de descoberta de fármacos é multidisciplinar e envolve diversas etapas. Apenas uma a cada 10.000 novas entidades químicas entra no mercado para uso humano (GIRI & BADER, 2015).

O uso de conhecimentos de Química Medicinal é indispensável nos estágios pré-clínicos da descoberta de fármacos. Para que uma nova entidade química tenha chances de se tornar um fármaco no futuro, é necessário que ela tenha propriedades físico-químicas adequadas de um fármaco. No geral, a molécula deve ser pequena para ser transportada dentro do organismo, hidrofílica o suficiente para se dissolver na corrente sanguínea e lipofílica o suficiente para atravessar membranas (barreiras) dentro do organismo. Também deve conter quantidade adequada de grupos polares para que haja uma eficiente interação com o receptor, porém sem rápida metabolização e eliminação (NOGRADY & WEAVER, 2005).

Após um levantamento de mais de 2.000 fármacos e candidatos a fármacos em estágio clínico, Lipinski et al. (2001) enumeraram quatro características físico-químicas necessárias para fármacos com boa disponibilidade oral. A Regra dos Cinco prevê que o peso molecular (PM) deve ser menor ou igual a 500 Da, os números de sítios aceptores de ligações de H e doadores de ligações de H não devem ser superiores a 10 e 5, respectivamente, e o LogP deve ser menor ou igual a 5.

Estudos anteriores com dados sobre fármacos pequenos permitiram correlacionar propriedades fundamentais, como peso molecular e lipofilia, com diferentes características intrínsecas aos fármacos, como solubilidade, permeabilidade, estabilidade metabólica, toxicidade, entre outras. As métricas de eficiência do ligante permitem quantificar a eficiência em que uma molécula bioativa utiliza suas propriedades moleculares na interação com o alvo terapêutico (HOPKINS ET AL., 2014).

A análise de eficiência do ligante é utilizada no processo de descoberta de fármacos, mais precisamente durante a identificação e otimização de fragmentos, moléculas bioativas e compostos líderes. Seu principal objetivo é normalizar a afinidade pelo alvo molecular em relação às propriedades físico-químicas do ligante. Atualmente, a métrica mais utilizada é EL, definida como a média da energia livre de ligação, em Kcal/mol, por átomo pesado (HOPKINS ET AL., 2014). EL foi descrita pela primeira vez em 1999 e foi facilmente aceita pelos químicos medicinais, provavelmente pelo sucesso da aplicação dos parâmetros de Lipinski e também pelo crescente interesse em abordagens baseadas em fragmentos no processo de descoberta de fármacos (KUNTZ, 1999; REYNOLDS, 2015).

EL foi proposto como uma quantificação da energia livre de ligação (ΔG_b) dividida pelo número de átomos diferentes de hidrogênio (HA). A energia livre de ligação é definida como: $\Delta G_b = -2,303RT \log(K_d/C^0)$, onde R é a constante dos gases ideais ($1,987 \times 10^{-3}$ Kcal/K/mol), T é a temperatura em Kelvin (K), C^0 é a concentração padrão e K_d é a constante de dissociação. Assumindo as condições padrões de soluções aquosas à 300K, pH neutro e concentrações remanescentes de 1M, podemos afirmar que $\Delta G_b \approx 1,3 \log K_d$. É comum a prática de substituição do pK_d pela pCI_{50} , assim, o EL é facilmente calculado, de forma simplificada, utilizando a fórmula descrita na Tabela 1 (HOPKINS ET AL., 2014). A partir da necessidade de otimizar outras características dos fármacos, novas métricas e índices foram criados. A Tabela 1 mostra as principais métricas utilizadas no processo de descoberta de fármacos e seus valores de referência.

Tabela 1. Nomes, equação e valores de referência para as principais métricas de eficiência do ligante utilizadas no processo de descoberta de fármacos.

Nome	Equação	Valores de referência
Eficiência do ligante (EL)	$\frac{1,4}{HA} \times pCI_{50}$	$\geq 0,3$
<i>Fit Quality</i> (FQ)	$0,075 + \frac{7,5328}{HA} + \frac{25,7079}{HA^2} - \frac{361,4722}{HA^3}$	$\geq 1,0$
Eficiência lipofílica do ligante (LipE)	$pCI_{50} - \text{Log}P$	$\geq 5,0$

Eficiência de grupos (EG)	$-\frac{\Delta\Delta G}{\Delta HA}$	-
Índice de eficiência em percentual (PEI)	$\frac{\% \text{ inibição [composto]}}{PM}$	$\geq 1,5$
Índice de eficiência de ligação (BEI)	$\frac{pCI_{50}}{PM}$	$\geq 27,0$
Índice de eficiência de superfície (SEI)	$\frac{pCI_{50}}{PSA}$	$\geq 18,0$

HA: número de átomos pesados, pCI_{50} : $-\text{Log}CI_{50}$ (concentração inibitória média), $\text{Log}P$: logaritmo do coeficiente de partição calculado, PM: peso molecular, PSA: área de superfície polar.

Apesar do sucesso da aplicação do EL na descoberta de fármacos, existem fármacos que não obedecem o valor mínimo de EL. Um motivo plausível para isso é que o EL não considera as diferenças nos tipos de átomos e funcionalidades. Dessa forma, o EL não deve ser utilizado quando se compara ligantes de tamanhos muito diferentes. Nesse caso, utiliza-se a métrica FQ, a qual se traduz como a aplicação de um fator de correção na eficiência do ligante para normalizar as diferenças entre os átomos. No FQ, há a correção de escala de forma que os ligantes eficientes têm pontuações próximas independente do seu tamanho (REYNOLDS, 2015).

Verdonk e Rees, em 2008, introduziram o conceito de eficiência de grupos (EG), uma extensão ao conceito de EL, que é considerado bastante útil durante os estágios de otimização de moléculas bioativas à compostos líderes. O EL é uma propriedade de uma molécula inteira, entretanto, em alguns casos é necessário estimar a eficiência do ligante de partes da molécula ou de grupos adicionados para a otimização da molécula. EG representa a eficiência de ligação de um grupo funcional que foi adicionado à uma molécula para formar uma nova molécula.

Outros três índices surgiram a partir do conceito inicial de EL: 1) Índice de eficiência em percentual, definido como o percentual de inibição do alvo por PM, 2) Índice de eficiência de ligação, que relaciona potência e PM, e 3) Índice de eficiência de superfície, que monitora os ganhos de potência relacionados ao aumento da área de superfície polar (ABAD-ZAPATERO, 2007).

O coeficiente de partição (LogP) é um dos critérios utilizados na Química Medicinal que avalia o potencial de uma molécula se tornar um fármaco. De maneira simplificada, altos valores de LogP estão associados a baixa solubilidade, absorção e estabilidade metabólica e aumento do risco de interações não específicas, com consequente toxicidade. Através de um cálculo matemático simples, LipE relaciona potência e lipofilia de moléculas bioativas em estudo e penaliza compostos que possuem o aumento da potência associada ao aumento da lipofilia (SCHULTES ET AL., 2010).

3. PLANEJAMENTO DA SÉRIE PROPOSTA

A principal estratégia disponível para o desenho molecular de protótipos é denominada abordagem fisiológica. O planejamento estrutural de substâncias bioativas baseada no mecanismo de ação baseia-se no conhecimento do processo fisiopatológico de interesse, podendo o alvo terapêutico ser conhecido ou não. Em função do mecanismo de ação pretendido para o composto a ser planejado, desenha-se o padrão estrutural com possibilidades de variações em sua estrutura química, com o objetivo de identificar outros análogos ativos (BARREIRO & FRAGA, 2005).

A modificação molecular de compostos líderes proporciona a identificação de novos candidatos a fármacos com atividade farmacológica semelhante. O uso da modificação molecular na etapa de descoberta de fármacos é essencial para obtenção de novos candidatos com melhores chances de aprovação nos testes clínicos. Diversas técnicas de modificação molecular podem ser empregadas na otimização de protótipos, tais como bioisosterismo, restrição conformacional, hibridação molecular e simplificação molecular. A escolha da técnica ideal depende da necessidade encontrada no desenho molecular de novos compostos líderes (BARREIRO & FRAGA, 2008).

Os compostos propostos neste trabalho baseiam-se na modificação molecular de TSC e 4-TZD descritas na literatura com potencial citotóxico. Em 2008, Zhou et al. identificaram dez 4-TZD com citotoxicidade nas linhagens celulares H460 e H460_{taxR}. Essas moléculas, mostradas na Figura 10, apresentaram CI_{50} entre 0,21 e 2,93 μ M, apresentando uma excelente atividade citotóxica, além de apresentarem baixa toxicidade em células humanas de fibroblastos. Ainda, esses pesquisadores propuseram uma relação estrutura-atividade para a atividade citotóxica de derivados 4-TZD: a substituição do nitrogênio presente no anel 4-tiazolidinônico causa perda total da atividade, o sítio R_1 é passível de várias substituições, enquanto o R_2 requer o grupo dimetilformamida na posição 4 para ótima atividade.

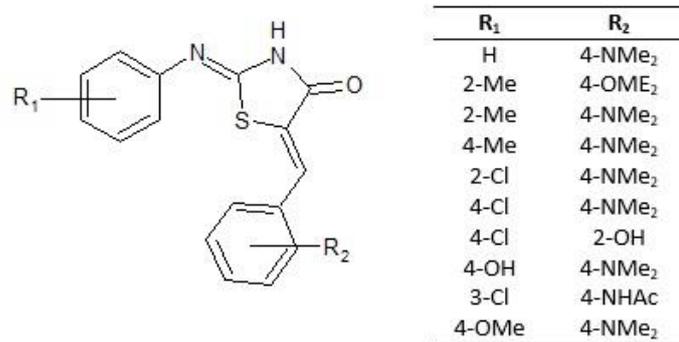
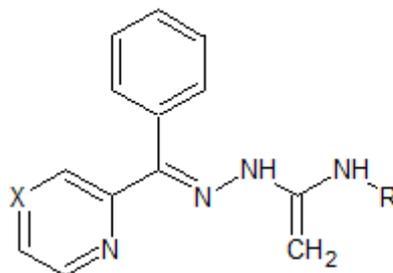


Figura 10. Derivados 4-tiazolidinônicos citotóxicos identificados por Zhou et al. (2008).

TSC podem ser vistas como análogos de 4-tiazolidinonas resultantes da simplificação molecular destas últimas (Figura 12). A simplificação molecular é utilizada na obtenção de compostos estruturalmente mais simples, preservando-se as unidades farmacofóricas identificadas no composto líder (BARREIRO & FRAGA, 2008). Assim como 4-TZD, encontra-se na literatura TSC com citotoxicidade em células cancerígenas. Em 2009, Li et al. sintetizaram análogos de tiossemicarbazonas (Figura 11) com excelente citotoxicidade na linhagem celular K562, apresentando CI_{50} entre 0,002-47,5 μ M.



X = N, CH

R = H, CH₃

Figura 11. Tiossemicarbazonas com citotoxicidade em células leucêmicas sintetizadas por Li et al. (2009).

A partir desses trabalhos, nosso grupo de pesquisa tem proposto novas TSC e 4-TZD com propriedades citotóxicas em linhagens celulares neoplásicas. Os estudos seguintes avaliaram a regioseletividade do anel piridínico. Em 2012, Feitoza et al. sintetizaram uma série regioisômeros C(4) de derivados 4-TZD e identificaram duas moléculas ativas nas linhagens celulares K-562 e carcinoma mucoepidermóide de pulmão humano (NCI-H292). As estruturas químicas e CI_{50} dos compostos ativos são descritas na Figura 12. Analisando a estrutura desses compostos com o que Zhou et al. propuseram, verificou-se que substituições no nitrogênio N(3) presente no anel 4-TZD não causam perda da atividade e que a presença de derivados do grupamento benzilideno em C(5) do anel não é essencial para a atividade. Complementando, o derivado sintetizado por Feitoza et al. em substituições em N(3) do anel 4-TZD e com o grupo $N(Me)_2$ na posição *para* do benzilideno não apresentou atividade contra nenhuma linhagem celular.

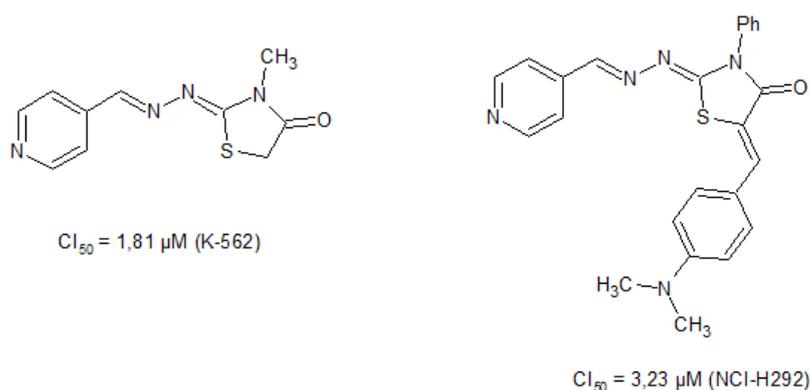


Figura 12. Derivados 4-tiazolidinônicos citotóxicos identificados por Feitoza et al. (2012).

Em 2012, Guimarães Neto et al. sintetizaram uma série de regioisômeros C(2) de derivados 4-TZD (Figura 13) e identificaram quatro compostos citotóxicos, com CI_{50} entre 1,42 e 7,26 μM , contra linhagens celulares de carcinoma epidermóide de laringe (HEp-2). Observando a estrutura desses compostos, confirmou-se que a presença do grupo $N(Me)_2$ *o*-substituído no grupamento benzilideno não é essencial para atividade, que a presença do grupamento benzilideno em C(5) do anel 4-TZD não é essencial para citotoxicidade e que substituições no nitrogênio N(3) do anel 4-TZD não causam perda total da atividade.

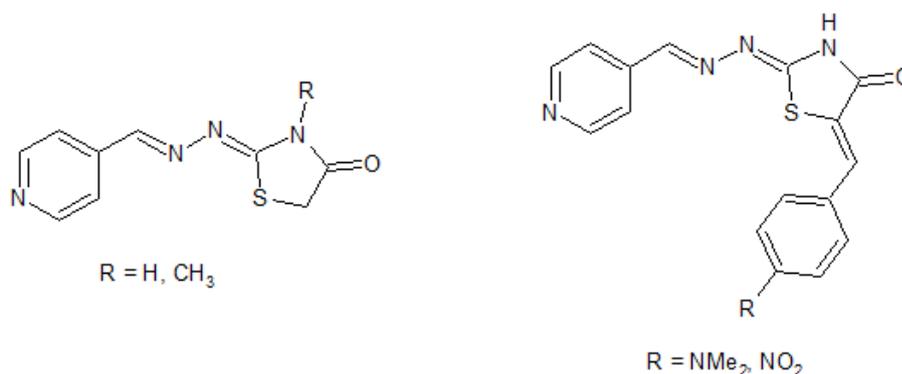


Figura 13. Derivados 4-tiazolidinônicos citotóxicos identificados por Guimarães Neto et al. (2012).

A etapa seguinte foi a síntese e citotoxicidade de regioisômeros C(3) de piridina em derivados 4-TZD. A síntese desses regioisômeros foi realizada por Dias et al. (2013). Quanto à avaliação da citotoxicidade, verificou-se perda total da atividade. Outra observação importante foi a presença dos grupos pirrolidinil, piperidinil e morfolinil na estrutura química de entidades químicas citotóxicas, encontradas na literatura (HUANG et al., 2013; GUO, LIU & PEI, 2015).

A partir da observação desses resultados, análogos de TSC e 4-TZD foram propostos, como mostra a Figura 14. O grupamento benzilideno em C(5) no anel 4-TZD foi retirado, já que estudos anteriores mostraram que a presença dele não é essencial para atividade; em substituição ao anel piridina, utilizou-se o grupo fenil *p*-substituído pelas seguintes amins secundárias cíclicas: pirrolidina, piperidina e morfolina. Também foram analisadas as diferentes influências dos grupos H, Me, Et e Ph em N(4) de TSC e N(3) de 4-TZD.

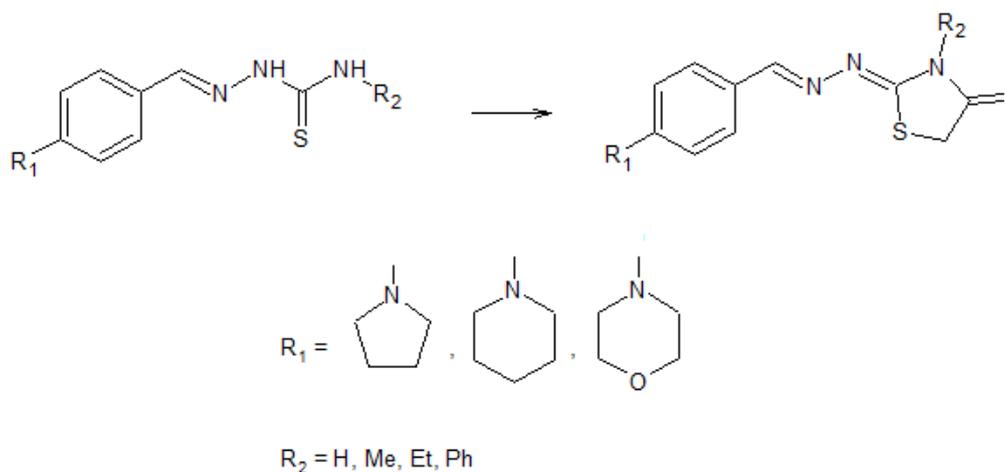


Figura 14. Análogos tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidinônicos propostos.

Analisou-se as séries propostas segundo os critérios da Regra de Lipinski (Regra dos Cinco) e o resultado disto é mostrado nas Tabelas 2 e 3. O PM, em g/mol, e o cLogP foram calculados utilizando o *software* ChemAxon (versão *online chemicalize.org*). Todas as moléculas obedecem os parâmetros da Regra dos Cinco e são, portanto, possíveis candidatos a fármacos com boa biodisponibilidade oral (LIPINSKI et al., 2001).

Tabela 2. Parâmetros de Lipinski calculados para as tiossemicarbazonas propostas.

Composto	R ₁	R ₂	PM (g/mol)	cLogP	Doadores de H	Aceptores de H
2a	Pirrolidina	H	248,4	2,18	3	4
2b	Pirrolidina	Me	262,4	2,40	2	4
2c	Pirrolidina	Et	276,4	2,76	2	4
2d	Pirrolidina	Ph	324,4	4,42	2	4
2e	Piperidina	H	262,4	2,62	3	4
2f	Piperidina	Me	276,4	2,85	2	4
2g	Piperidina	Et	290,4	3,20	2	4
2h	Piperidina	Ph	338,5	4,86	2	4
2i	Morfolina	H	264,4	1,55	3	5
2j	Morfolina	Me	278,4	1,78	2	5
2k	Morfolina	Et	292,4	2,14	2	5
2l	Morfolina	Ph	340,4	3,80	2	5

Tabela 3. Parâmetros de Lipinski calculados para as 4-tiazolidinonas propostas.

Composto	PM (g/mol)	cLogP	Doadores de H	Aceptores de H
3a	288,4	1,99	1	5
3b	302,4	2,21	0	5
3c	316,4	2,57	0	5
3d	364,5	3,87	0	5

3e	302,4	2,44	1	5
3f	316,4	2,66	0	5
3g	330,5	3,02	0	5
3h	378,5	4,32	0	5
3i	304,4	1,37	1	6
3j	318,4	1,59	0	6
3k	332,4	1,95	0	6
3l	380,5	3,25	0	6

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Obter análogos tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidinônicos com potencial atividade anticâncer.

4.2. Objetivos específicos

- Analisar a eficiência do ligante de derivados 4-tiazolidinônicos encontrados na literatura;
- Síntetizar as tiossemicarbazonas propostas;
- Sintetizar as 4-tiazolidinonas propostas;
- Caracterizar os compostos propostos utilizando métodos espectroscópicos convencionais;
- Avaliar *in vitro* a citotoxicidade dos compostos propostos nas linhagens neoplásicas HEP-2, MCF-7, MOLT-4 e NCI-H292.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise da eficiência do ligante de derivados 4-tiazolidinônicos com atividade antitumoral

INTRODUÇÃO

O câncer é comumente definido como grupo composto por mais de 100 doenças caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células anormais no corpo, sendo uma das maiores causas de mortes no mundo (RUBIN, 2006). Em 2012, surgiram 14 milhões de novos casos e 8,2 milhões de mortes causadas pelo câncer. Mais de 70% das mortes ocorreram na África, Ásia e nas Américas do Sul e Central (WHO, 2014; NCI, 2015). Terapias avançadas vêm sendo utilizadas no tratamento de pacientes com câncer, porém as células têm adquirido MDR rapidamente (HUANG et al., 2012). O principal mecanismo de MDR é através da superexpressão de Pgp, uma proteína transportadora que age como uma bomba de efluxo de fármacos anticancerígenos (AMBUDKAR et al., 1999).

4-TZD possuem contínuo interesse pela indústria farmacêutica devido a sua diversidade de atividades farmacológicas, como hipoglicemiante, anti-inflamatória, anticonvulsivante, antiviral, antidiabética, antitumoral, cardiovascular, entre outras (TRIPHATI et al., 2014). Diversos compostos contendo o núcleo 4-tiazolidinona com substituintes nas posições 2, 3 e 5 têm demonstrado boa citotoxicidade contra linhagens de células cancerígenas, incluindo células com superexpressão de Pgp (LIESEN et al., 2008; ZHOU et al., 2008; ZHANG et al., 2014; WANG et al., 2015).

Métricas de eficiência do ligante quantificam propriedades moleculares necessárias para garantir afinidade do composto pelo alvo terapêutico. Cálculos de eficiência do ligante têm sido aplicados com sucesso na seleção e otimização de fragmentos, moléculas bioativas e compostos líderes (HOPKINS et al., 2014). Os conceitos de EL, energia livre de ligação por átomo pesado, e LipE, que combina potência e lipofilia, são os mais utilizados na descoberta de fármacos (KUNTZ et al., 1999; REYNOLDS, TOUNGE & BEMBENEK, 2008; RYCKMANS et al.,

2009; MORTENSON & MURRAY, 2011). No cálculo do EL, os NHA são tratados sem distinção, mesmo que os tamanhos e propriedades de ligação sejam diferentes. Prevendo esse inconveniente, o FQ propõe uma correção nos valores de EL, tornando essa métrica independente da influência das diferenças de tamanho dos átomos (HOPKINS et al., 2014; ZHANG et al., 2014). Já existem diversos estudos publicados utilizando análise da eficiência do ligante como auxílio no planejamento de novos fármacos (MASOOD et al., 2011; TANAKA et al., 2011; JABEEN et al., 2012; RACKHAM et al., 2014; TURLINGTON et al., 2014). Baseado na necessidade de direcionar o planejamento de novas 4-tiazolidinonas para uma melhor citotoxicidade contra células cancerígenas, o presente estudo teve como objetivo a análise do EL, FQ e LipE de moléculas com atividade anticâncer *in vitro* comprovada contendo o núcleo 4-TZD em sua estrutura química.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização da pesquisa, um banco de dados de compostos 4-TZD provenientes da literatura foi gerado. Somente os artigos que apresentaram a CI_{50} dos derivados 4-TZD para atividade citotóxica *in vitro* foram incorporados ao banco de dados. Alguns compostos apresentaram a concentração inibitória média (CI_{50}) na unidade peso/volume, nesses casos, foi necessário realizar a conversão da CI_{50} para a unidade molaridade. Os valores de LogP foram calculados usando o programa computacional ChemAxon (versão 5.4 *online chemicalize.org*). Compostos com $cLogP$ negativo não foram inclusos no banco de dados. Para o cálculo de EL (SEGALL, 2012), FQ (ZHANG et al., 2014) e LipE (HOPKINS et al., 2014) foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{Equação 1: } EL = \frac{1,4}{NHA} \times pCI_{50}$$

$$\text{Equação 2: } FQ = \frac{EL}{0,0715 + (7,5328 \times NHA^{-1}) + (25,7079 \times NHA^{-2}) - (361,4722 \times NHA^{-3})}$$

$$\text{Equação 3: } LipE = pCI_{50} - cLogP$$

Onde o NHA é o número de átomos diferentes de hidrogênio; $pCI_{50} = -\text{Log}CI_{50}$; cLogP é o coeficiente de partição calculado. O banco de dados foi criado e analisado utilizando o *software* Microsoft Excel®. Os gráficos foram gerados utilizando o *software* OriginPro 8 SR2 v8.0891 (B891).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 121 compostos derivados 4-TZD com atividade anticâncer avaliada *in vitro*, provenientes das seguintes referências: Gududuru et al. (2004), Ottana et al. (2005), Kamel et al. (2010), Modha et al. (2010), Ma et al. (2011), Wang et al. (2011), Feitoza et al. (2012), George et al. (2012), Guimarães Neto et al. (2012), Hanna & George (2012), Paulikova et al. (2012), Dawood et al. (2013), Masoud et al. (2013), Sharath Kumar et al. (2014), Revelant et al. (2015). Realizou-se a análise de eficiência do ligante calculando-se as métricas EL, FQ e LipE dos compostos encontrados. A Tabela 3 mostra a média dos valores encontrados para os compostos estudados. O valor médio calculado para EL foi 0,26, inferior a 0,3 – limite mínimo aceitável para EL. Quando aplicou-se o FQ para correção do valor médio de EL, o novo valor médio encontrado foi 0,75. O cLogP médio encontrado foi 4,51, obedecendo a Regra dos Cinco, proposta por Lipinski et al. (2001). Entretanto, a média da pCI50 (5,42) não foi muito diferente da média do cLogP e por isso o LipE (0,91) foi bem abaixo de $\geq 5-7$, valor ideal (HOPKINS et al., 2014). Além disso, Schultes et al. (2010) mostraram que compostos bem sucedidos têm, em média, pCI50 igual a 8.

Tabela 3. Valores médios calculados para eficiência do ligante (EL), fit quality (FQ) e eficiência lipofílica do ligante (LipE) para os 121 compostos contendo o núcleo 4-tiazolidinona estudados.

Quantidade de compostos	pCI ₅₀	NHA	EL	FQ	cLogP	LipE
121	5,42 ± 0,62	30,12 ± 4,33	0,26 ± 0,05	0,75 ± 0,08	4,51 ± 1,44	0,91 ± 1,59

O histograma (Figura 15) mostra o número de compostos em função dos valores calculados para EL. Somente 14% dos compostos possuem valores de $EL \geq 0,3$, isto é, possuem maiores chances de serem bem sucedidos (ABAD-ZAPATERO, 2007). A grande maioria dos compostos teve valores de EL calculados abaixo do ideal devido ao NHA. Sabe-se que o NHA pode influenciar na lipofilia, considerada um fator de risco no planejamento de fármacos. Em sua maioria, compostos com alta lipofilia possuem farmacocinética e toxicologia inadequadas. Por outro lado, a afinidade do composto pelo alvo também aumenta em função da lipofilia (LEESON & SPRINGTHORPE, 2007; JOSEPH-MC CARTHY et al., 2014).

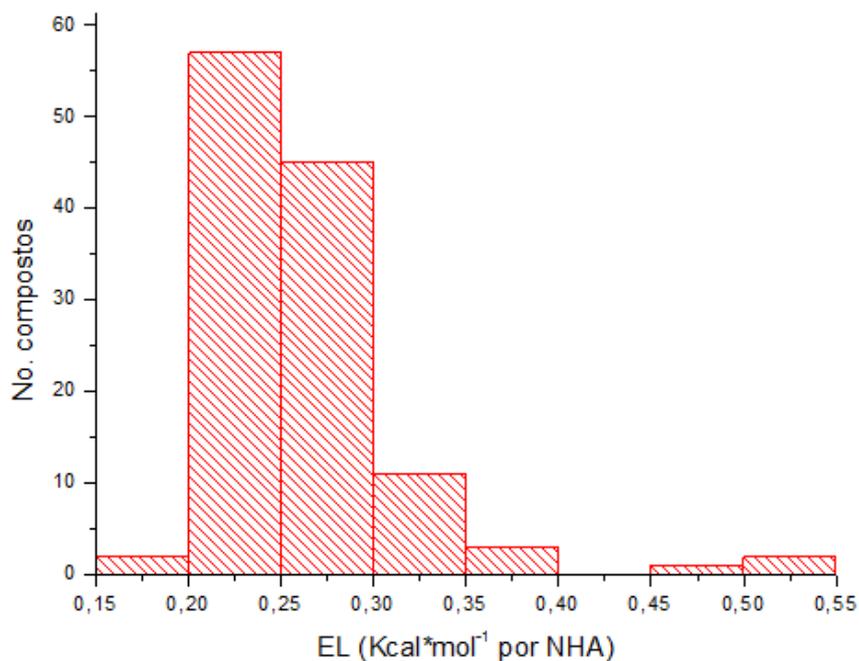


Figura 15. Distribuição dos valores de eficiência do ligante para 121 compostos derivados 4-tiazolidinônicos encontrados na literatura.

Com o objetivo de verificar a influência do NHA sobre os valores de EL, seis derivados 4-TZD presentes no banco de dados foram selecionados e comparados seus valores de EL, CI_{50} e NHA (Tabela 4). Os compostos A, B e C possuem CI_{50} igual a $0,9 \mu M$, entretanto, somente o composto C possui EL aceitável. Provavelmente, isto é devido ao NHA. No composto C, foram necessários 27 NHA para produzir uma CI_{50} igual à dos compostos A e B, que necessitaram de 34 e 33 NHA, respectivamente. Os compostos D, E e F se encaixam nesse mesmo perfil. Ambos

possuem CI_{50} de 9 μM e somente o composto D possui EL aceitável, ou seja, o composto D, com 0,37 $Kcal \cdot mol^{-1}$ por NHA, necessita de 19 NHA para produzir uma CI_{50} igual à dos compostos E e F. Em contrapartida, estes últimos necessitam de muito mais átomos pesados para produzir uma CI_{50} igual à do composto D.

Tabela 4. Valores para eficiência do ligante (EL), concentração inibitória mínima (CI_{50}) e número de átomos diferentes de hidrogênio (NHA) para 6 derivados 4-tiazolidinônicos encontrados na literatura.

Composto	EL ($Kcal \cdot mol^{-1}$ por NHA)	CI_{50} (μM)	NHA	Referência
A	0,24	0,9	34	Wang et al. (2011)
B	0,26	0,9	33	
C	0,31	0,9	27	Revelant et al. (2015)
D	0,37	9	19	
E	0,27	9	26	Ma et al. (2011)
F	0,17	9	41	Dawood et al. (2013)

Valores de FQ (Figura 16) próximo a 1,0 indicam uma ótima afinidade de ligação da molécula pelo alvo terapêutico. Assim, temos 29% dos compostos com $FQ > 0,8$. Ainda, compostos com valores de $FQ > 1$ possuem uma afinidade excepcional pelo alvo molecular (HOPKINS et al., 2014). Na Figura 16 estão destacados três compostos com FQ acima de 1.

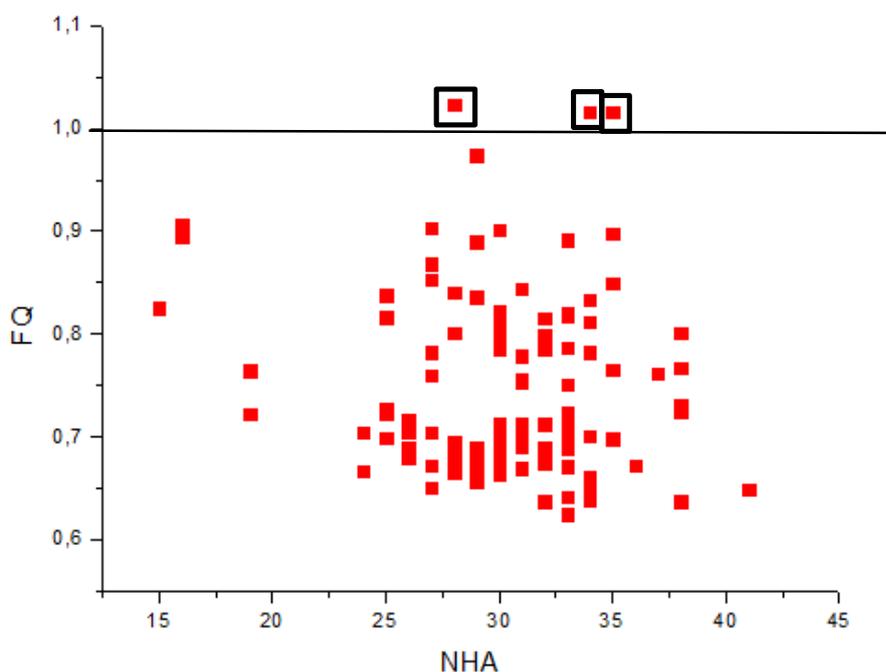


Figura 16. Gráfico dos valores de fit quality (FQ) x número de átomos diferentes de hidrogênio (NHA) para os 121 derivados 4-tiazolidinônios encontrados na literatura.

Segundo Lipinski et al. (2001), os valores de LogP para compostos com boa biodisponibilidade oral devem ser iguais ou menores que 5. A Figura 17 apresenta os gráficos cLogP x pCI₅₀ (Figura 17a) e NHA x pCI₅₀ (Figura 17b). Um total de 37% dos compostos em estudo possuem valores de cLogP superiores a 5, ou seja, desobedecem uma das regras de Lipinski et al. (2001) para fármacos com boa biodisponibilidade oral³⁶. Analisando a Figura 17a, não notamos uma tendência em aumentar a pCI₅₀ em função do cLogP. Isso demonstra que a pCI₅₀ para citotoxicidade de 4-TZD não é dependente do aumento da lipofilia e que é possível sintetizar novas entidades químicas obedecendo o limite do valor de LogP estabelecido na Regra dos Cinco e com excelente atividade anticâncer. Percebemos o mesmo quando observamos o gráfico NHA x pCI₅₀ (figura 17b). A maioria dos compostos possuem NHA entre 25 e 35, entretanto, não existe uma tendência em aumentar a pCI₅₀ em função do NHA.

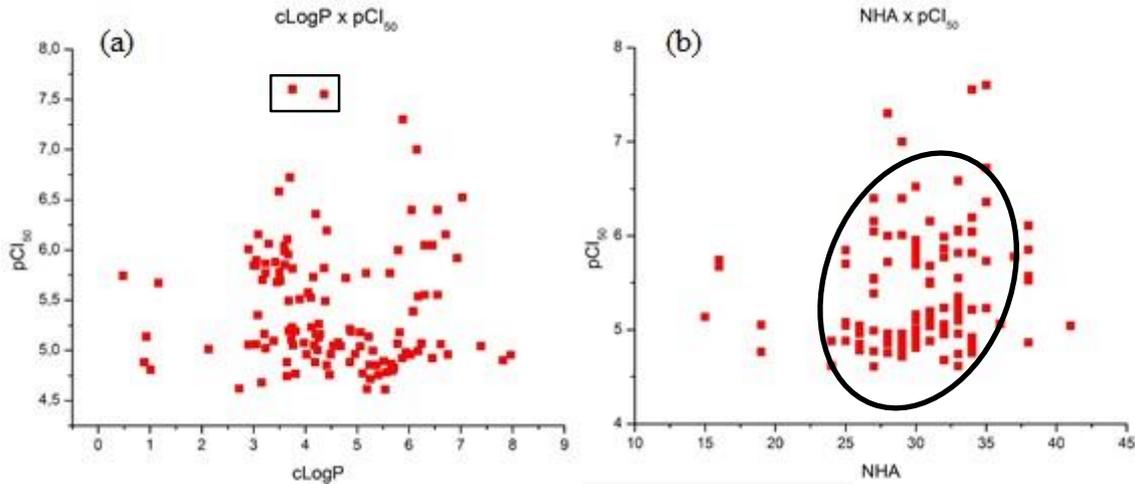


Figura 17. Gráficos dos valores de $c\text{LogP} \times p\text{CI}_{50}$ (3a) e número de átomos diferentes de hidrogênio (NHA) $\times p\text{CI}_{50}$ (3b) para 121 compostos derivados 4-tiazolidinônicos com atividade anticâncer encontrados na literatura.

Na figura 17a estão destacados dois compostos sintetizados por Wang et al. (2011). Esses compostos (Figura 18) são exemplos de moléculas bioativas com LogP dentro dos padrões de Lipinski et al. (2001) com $p\text{CI}_{50}$ próximo a 8 (SCHULTES et al., 2010). Além disso, possuem valores de $\text{EL} \geq 0,3$ e $\text{FQ} > 1$, se encaixando no seletivo grupo de moléculas que possuem afinidade excepcional pelo alvo terapêutico.

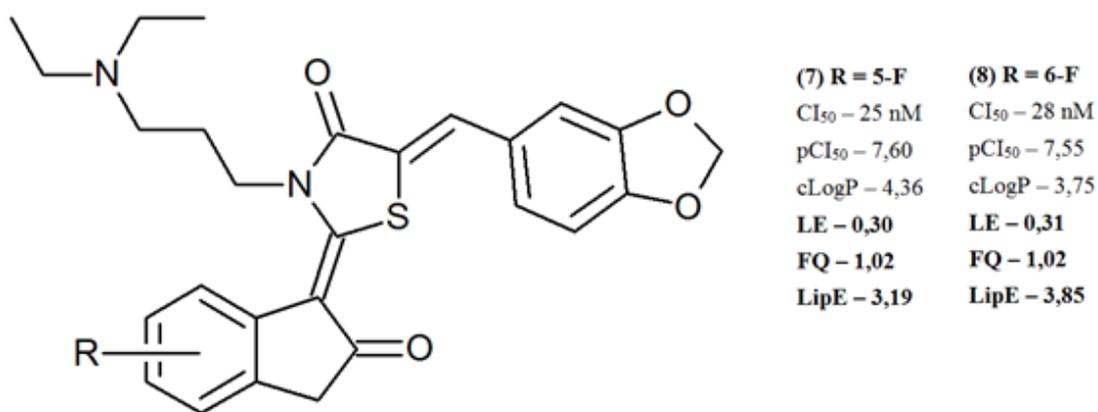


Figura 18. Compostos sintetizados por Wang et al. (2011) com $c\text{LogP}$ dentro dos padrões de Lipinski et al. (2001).

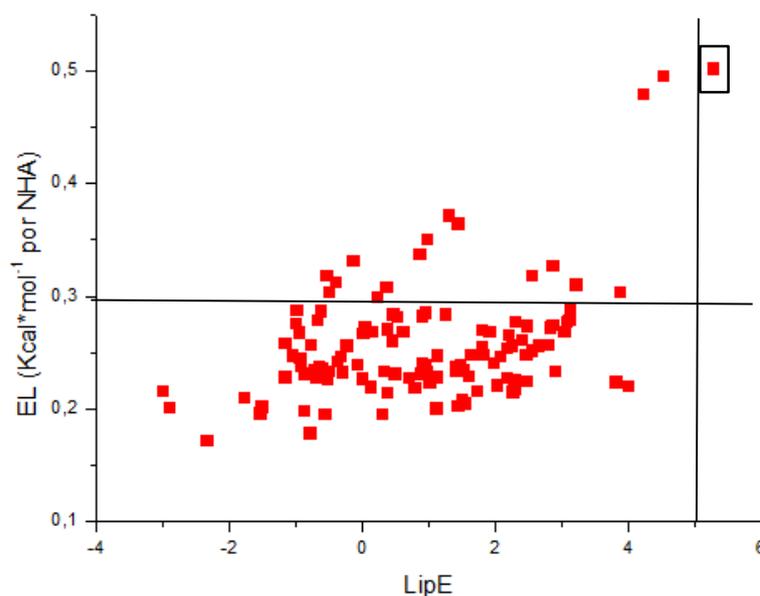
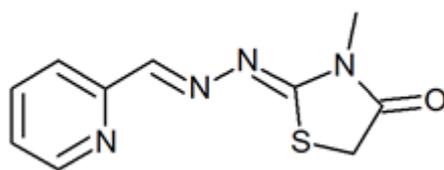


Figura 19. Gráfico eficiência do ligante (EL) x eficiência lipofílica do ligante (LipE) para os 121 compostos derivados 4-tiazolidinônicos encontrados na literatura.

O gráfico EL x LipE (Figura 19) nos permite analisar o EL e LipE em conjunto. Com o $c\text{LogP}$ maior que a $p\text{CI}_{50}$, 31% dos compostos tiveram valores de LipE menores que zero. Isso significa que essas moléculas possuem afinidade maior pelo n-octanol do que pelo alvo molecular (HOPKINS et al., 2014). Duas linhas dividem os compostos com valores favoráveis mínimos de EL e LipE. Observa-se que, dos 121 compostos estudados, somente um, em destaque, possui valores de EL e LipE adequados. Esse composto (Figura 20), sintetizado por Feitoza et al. (2012), possui melhores chances de ser bem sucedido que os demais compostos em estudo. A métrica EL penaliza compostos com mesma potência e diferentes NHA, visto que compostos mais pesados possuem piores propriedades físico-químicas e farmacocinética. Já a métrica LipE penaliza compostos que possuem o aumento da potência em função do aumento da lipofilia. Altos valores de LogP são associados a baixas solubilidade, absorção e estabilidade metabólica, além do aumento do risco de interações não-específicas e toxicidade (LEESON & SPRINGTHORPE, 2007).



pCI₅₀ – 5,74

NHA – 16

cLogP – 0,48

LE – 0,50

FQ – 0,73

LipE – 5,26

Figura 20. Estrutura química e dados do composto sintetizado por Feitoza et al. (2012).

CONCLUSÃO

A análise da eficiência do ligante e da eficiência lipofílica do ligante dos 121 compostos 4-TZD citotóxicos em estudo mostraram que 14% deles possuem $EL \geq 0,3$, 29% possuem FQ acima de 0,8 e somente 1 composto possui $LipE \geq 5-7$. Isso se deve à uma desproporção entre a pCI_{50} e o $cLogP$, ou seja, no geral, os compostos estudados possuem uma alta lipofilia em relação à potência. Entretanto, os dados mostraram que o aumento da potência é independente da lipofilia. Mesmo com o conhecimento a respeito da Regra dos Cinco, ainda tivemos 37% dos compostos com $cLogP$ superior a cinco. À vista disto, destacamos a necessidade do uso adequado da análise de eficiência do ligante durante o planejamento e síntese de novos análogos 4-tiazolidinônicos antitumorais.

5.2 Síntese e citotoxicidade de análogos de tiossemicarbazonas e 4-tiazolidinonas

INTRODUÇÃO

Em 2012, o câncer causou 8,2 milhões de mortes no mundo e a projeção é de que esse número aumente para 13,2 milhões em 2030 (WHO, 2014; NCI, 2015). Apesar de novos fármacos estarem disponíveis, ainda existem obstáculos no tratamento quimioterápico, sendo o principal deles a MDR (HUBER, MARUIAMA & ALMEIDA, 2010). Assim, faz-se necessário

a necessidade de obter-se novos agentes antineoplásicos. TSC e 4-TZD tem sido estudadas como potenciais agentes anticâncer. São encontradas na literatura TSC com citotoxicidade em diversas linhagens celulares, entre elas A549, HeLa, MCF-7, BEL-7404, T98G, U87 e K-562 (MARKOVIC et al., 2013; GAN et al., 2014; SOARES et al., 2014; AKGEMCI et al., 2015; ALTINTOP et al., 2016). Em 2008, Zhou et al. identificou dez 4-TZD com citotoxicidade nas linhagens celulares H460 e H460_{TaxR}. Em 2012, Feitoza et al. sintetizaram duas 4-TZD com citotoxicidade nas linhagens celulares K-562 e NCI-H292. No mesmo ano, Guimarães Neto et al. identificaram quatro derivados 4-TZD com citotoxicidade na linhagem celular HEp-2. Outra observação, é a presença dos grupos pirrolidinil, piperidinil e morfolinil em entidades químicas com citotoxicidade (RIPAMONTI et al., 1996; BADISA et al., 2009).

Assim, o presente estudo teve como objetivo a síntese e citotoxicidade de análogos de TSC e 4-TZD. Duas séries foram planejados de forma a verificar as influências das amins cíclicas pirrolidina, piperidina e morfolina e dos grupos H, Me, Et, Ph para a citotoxicidade de TSC e 4-TZD.

PARTE EXPERIMENTAL

Os pontos de fusão foram medidos através do aparelho para ponto de fusão a seco Quimis modelo Q340S e não foram corrigidos. As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando placas de sílica gel (Sigma-Aldrich 60 F₂₅₄) de 250 µm de espessura. A revelação foi realizada por ultravioleta (UV) (254 nm). Os espectros de infravermelho (IV) (ν , cm⁻¹) foram obtidos em espectrômetro Bruker modelo IFS66 (pastilha de KBr) ou Shimadzu modelo UV-mini 1240. Os espectros de RMN ¹H e ¹³C foram obtidos em aparelho Unity Plus, Varian, 300 e 75 MHz, respectivamente. Os deslocamentos químicos (δ) indicados, expressos em ppm, foram medidos em relação ao tetrametilsilano, utilizado como referência interna. As multiplicidades dos sinais foram designadas da seguinte forma: singlete (s), dubleto (d), tripleto (t), quintupletto (q) e multipletto (m). Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) foram obtidos em espectrômetro de massas híbrido, modelo micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics), onde utilizou-se a técnica de ionização por *electrospray* (ESI) no modo positivo.

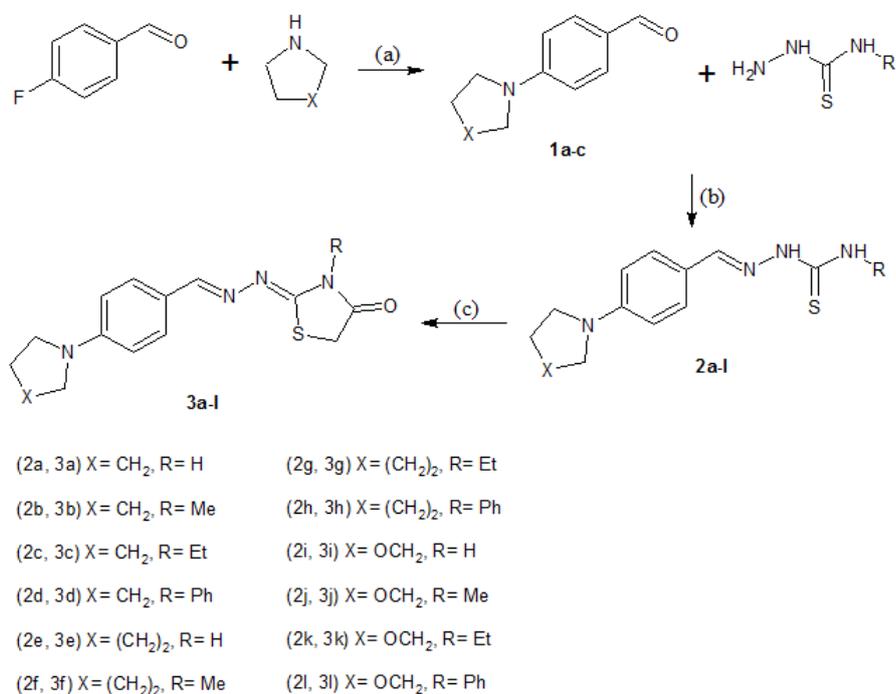


Figura 15. Esquema da síntese dos derivados tiossemicarbazônicos e 4-tiazolidinônicos.

Reagentes e condições: (a) K₂CO₃ (2 eq.), DMF, 90°C, 7-22 horas; (b) HCl_(cat.), EtOH, refluxo, 3-7 horas; (c) AcONa anidro (4 eq.), Cloroacetato de etila (1,5 eq.), EtOH, refluxo, 23-76 horas.

Procedimento geral para obtenção dos intermediários benzaldeídos (**1a-c**)

A uma solução contendo 0,2 mmol de K₂CO₃ e 20 mL de dimetilformamida (DMF), adicionou-se 0,15 mmol da amina secundária cíclica e 0,1 mmol de 4-fluorbenzaldeído. A mistura foi mantida sob agitação constante e aquecida até 90°C até o término da reação, confirmado por CCD. Em seguida, a solução final foi resfriada até a temperatura ambiente. Para obtenção de 1a-b, adicionou-se gelo para precipitação, com posterior filtração. Para obtenção de 1c, realizou-se uma extração com acetato de etila com posterior rotaevaporação. Os compostos obtidos foram purificados em metodologia adequada.

4-(pirrolidin-1-il)benzaldeído (1a)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 8 horas. Rf 0,53 (Hexano/Ac. Etila 1:1). Purificação: Recristalização em água:etanol 2:1. Rendimento: 86%. PF (°C) (lit.): 83-84 (84-85).

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1669 (C=O), 1167 (C-N).

4-(piperidin-1-il)benzaldeído (1b)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 8 horas. Rf 0,48 (Hex/Ac. Etila 7:3). Purificação: Recristalização em água:etanol 3:1. Rendimento: 80%. PF (°C) (lit.): 62-63 (62-64).

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 1664 (C=O), 1158 (C-N).

4-(morfolin-1-il)benzaldeído (1c)

Sólido branco. Tempo de reação: 22 horas. Rf 0,59 (Hexano/Ac. Etila 1:9). Purificação: Recristalização em 2-propanol¹⁶. Rendimento: 66%. PF (°C) (lit.): 51-52 (61-63).

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 1658 (C=O), 1173 (C-N).

Procedimento geral para obtenção dos intermediários tiossemicarbazônicos (2a-l)

A uma solução contendo 0,1 mmol da requerida tiossemicarbazida em 20 mL de etanol, adicionou-se 0,11 mmol dos benzaldeídos sintetizados previamente (1a-c) e 2 gotas de ácido clorídrico. A mistura foi mantida sob agitação constante e aquecida em temperatura de refluxo até o término da reação, confirmado por CCD. Em seguida, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e o precipitado obtido foi filtrado e purificado em metodologia adequada.

[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (2a)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 3 horas. Rf 0,51 (CHCl₃/EtOH 10:1). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 87%. PF (°C): 211-212 (decomposição).

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3366, 3346, 3253 (N-H), 1596 (C=N), 1389 (C-N), 1182 (C=S).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 2,02 (4H, t, CH₂), 3,24 (3H, d, CH₃), 3,33 (4H, t, CH₂), 6,54 (2H, d, Ar-H), 7,41 (H, s, C-H), 7,50 (2H, d, Ar-H), 7,69 (H, s, N-H), 9,32 (H, s, N-H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) 25,44, 31,07, 47,54, 111,56, 119,97, 128,92, 143,84, 149,37, 117,60.

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₂H₁₆NaN₄S⁺ [M+Na]⁺ 271,3354, encontrado 271,0988.

3-metil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2b**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 3 horas. Rf 0,59 (CHCl₃/EtOH 20:1). Purificação: Recristalização em etanol. Rendimento: 88% PF (°C): 224-226 (decomp.).

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3272, 3110 (N-H), 1617 (C=N), 1255 (C-N), 1179 (C=S). RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 1,95 (4H, t, CH₂), 3,26 (4H, t, CH₂), 6,54 (2H, d, Ar-H), 7,57 (2H, d, Ar-H), 7,73 (H, s, C-H), 7,92 (2H, s, N-H₂), 11,14 (H, s, N-H).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) δ (ppm) 24,94, 47,21, 111,43, 120,70, 128,75, 143,57, 148,76, 176,87.

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₃H₁₈NaN₄S⁺ [M+Na]⁺ 285,3618, encontrado 285,1156.

3-etil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2c**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 4 horas. Rf 0,6 (CHCl₃/EtOH 20:1). Purificação: Recristalização em etanol. Rendimento: 81%. PF (°C): 214-216.

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3309, 3173 (N-H), 1600 (C=N), 1383 (C-N), 1175 (C=S).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 1,14 (3H, t, CH₃), 1,95 (4H, t, CH₂), 3,27 (4H, t, CH₂), 3,58 (2H, q, CH₂), 6,55 (2H, d, Ar-H), 7,58 (2H, d, Ar-H), 7,92 (H, s, C-H), 8,28 (H, t, N-H), 11,12 (H, s, N-H).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 14,76, 24,92, 38,10, 47,22, 111,39, 120,77, 128,68, 143,08, 148,71, 175,90.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NaN}_4\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 299,1310, encontrado 315,4967.

1-fenil-3-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2d**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 4,5 horas. Rf 0,64 ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 20:1). Purificação: Recristalização em clorofórmio. Rendimento: 58%. PF($^\circ\text{C}$): 206-209.

IV (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3288, 3152 (N-H), 1589 (C=N), 1386 (C-N), 1179 (C=S).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,96 (4H, t, CH_2), 3,28 (4H, t, CH_2), 6,57 (2H, d, Ar-H), 7,18 (H, t, Ar-H), 7,35 (2H, t, Ar-H), 7,62 (2H, d, Ar-H), 7,69 (2H, d, Ar-H), 8,04 (H, s, C-H), 9,90 (H, s, N-H), 11,56 (H, s, N-H).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 24,94, 47,22, 111,40, 120,45, 124,91, 125,37, 127,94, 129,17, 139,21, 144,20, 148,91, 174,73.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NaN}_4\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 324,4412, encontrado 347,4310.

[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2e**)

Sólido róseo. Tempo de reação 4 horas. Rf 0,55 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 60%. PF($^\circ\text{C}$): 197-200.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 3349, 3278, 3174 (N-H), 1695 (C=N), 1355 (C-N), 1249 (C=S).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,69 (2H, s, CH_2), 1,98 (4H, s, CH_2), 3,50 (4H, t, CH_2), 7,79 (2H, s, Ar-H), 7,93 (2H, d, Ar-H), 8,08 (2H, s, NH_2), 8,26 (H, s, CH), 11,52 (H, s, NH).

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 263,3798, encontrado 263,1362.

3-metil-1-[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2f**)

Sólido róseo. Tempo de reação: 4 horas. Rf 0,51 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 80%. PF(°C): 203-204.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 3249, 3115 (N-H), 1533 (C=N), 1293 (C-N), 1239 (C=S).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 1,65 (2H, s, CH₂), 1,95 (4H, s, CH₂), 3,01 (3H, d, CH₃), 3,47 (4H, t, CH₂), 7,93 (2H, d, Ar-H), 7,77 (2H, s, Ar-H), 8,04 (H, s, CH), 8,56 (H, d, NH), 11,53 (H, s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) δ (ppm) 21,34, 23,16, 30,78, 54,32, 120,50, 121,06, 128,36, 140,19, 144,99, 177,71.

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₄H₂₁N₄S⁺ [M+H]⁺ 277,4062, encontrado 277,1497.

3-etil-1-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2g**)

Sólido róseo. Tempo de reação: 5 horas. Rf 0,57 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 80%. PF(°C) 203-204.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 3255, 3122 (N-H), 1527 (C=N), 1307 (C-N), 1188 (C=S).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 1,13 (3H, t, CH₃), 1,63 (2H, s, CH₂), 1,92 (4H, s, CH₂), 3,45 (4H, t, CH₂), 3,58 (2H, q, CH₂), 7,72 (2H, s, Ar-H), 7,90 (2H, d, Ar-H), 8,02 (H, s, CH), 8,56 (H, t, NH), 11,44 (H, s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) δ (ppm) 15,05, 21,93, 23,74, 38,74, 54,62, 120,26, 120,83, 128,92, 140,89, 146,07, 177,15.

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₅H₂₃N₄S⁺ [M+H]⁺ 291,4326, encontrado 291,1645.

1-fenil-3-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2h**)

Sólido róseo. Tempo de reação: 7 horas. Rf 0,47 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 76%. PF(°C): 184-186.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 3285, 3077 (N-H), 1530 (C=N), 1322 (C-N), 1183 (C=S).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,69 (2H, s, CH_2), 1,95 (4H, s, CH_2), 3,51 (4H, t, CH_2), 7,25 (H, t, Ar-H), 7,42 (2H, t, Ar-H), 7,59 (2H, t, Ar-H), 7,74 (2H, s, Ar-H), 8,02 (2H, t, Ar-H), 8,19 (H, s, CH), 10,16 (H, s, NH), 11,90 (H, s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 21,57, 23,36, 38,93, 53,89, 119,99, 125,37, 125,92, 128,05, 128,90, 139,04, 141,65, 146,00, 175,99.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 339,4754, encontrado 339,1647.

[(E)-{[4-(morfolin-1-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2i**)

Sólido laranja. Tempo de reação: 3 horas. Rf 0,59 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 78%. PF($^\circ\text{C}$): 196-198 (decomp.).

IV ν_{max} (cm^{-1}) 3384, 3245, 3157 (N-H), 1607 (C=N), 1340 (C-N), 1252 (C=S).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 3,24 (4H, t, CH_2), 3,78 (4H, t, CH_2), 7,09 (2H, d, Ar-H), 7,70 (2H, d, Ar-H), 7,99 (2H, s, NH_2), 8,13 (H, s, CH), 11,37 (H, s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 47,05, 48,81, 66,03, 113,67, 115,76, 129,00, 143,25, 151,25.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NaN}_4\text{OS}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 287,3348, encontrado 287,0945.

3-metil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2j**)

Sólido roxo. Tempo de reação 3 horas. Rf 0,57 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em clorofórmio à quente. Rendimento: 84%. PF($^\circ\text{C}$): 207-208.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 3301, 3238 (N-H), 1542 (C=N), 1410 (C-N), 1242 (C=S).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 3,01 (3H, d, CH_3), 3,27 (4H, t, CH_2), 3,80 (4H, t, CH_2), 7,15 (2H, d, Ar-H), 7,72 (2H, d, Ar-H), 7,97 (H, s, CH), 8,42 (H, d, NH), 11,34 (H, s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 31,22, 49,15, 65,93, 66,23, 116,11, 128,83, 142,17, 150,84, 117,80.

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{13}H_{18}NaN_4OS^+$ $[M+Na]^+$ 301,3612, encontrado 301,1089.

3-etil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2k**)

Sólido branco. Tempo de reação 4 horas. Rf 0,47 (acetato de etila/hexano 3:2). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 78%. PF(°C): 209-210.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 3304, 3135 (N-H), 1538 (C=N), 1379 (C-N), 1238 (C=S).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,14 (3H, t, CH₃), 3,19 (4H, t, CH₂), 3,58 (2H, q, CH₂), 3,71 (4H, t, CH₂), 6,96 (2H, d, Ar-H), 7,65 (2H, d, Ar-H), 7,95 (H, s, CH), 8,39 (H, t, NH), 11,22 (H, s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 15,17, 38,62, 47,96, 66,39, 114,70, 124,92, 128,85, 142,70, 152,46, 176,65.

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{14}H_{20}NaN_4OS^+$ $[M+Na]^+$ 315,3876, encontrado 315,1245.

1-fenil-3-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2l**)

Sólido verde. Tempo de reação: 4 horas. Rf 0,45 (acetato de etila/hexano 3:2). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 81%. PF (°C): 194-196.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 3298, 3219 (N-H), 1581 (C=N), 1329 (C-N), 1187 (C=S). RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm). RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm)

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{18}H_{20}NaN_4OS^+$ $[M+Na]^+$ 363,4304, encontrado 363,1235.

Procedimento geral para obtenção dos compostos finais 4-tiazolidinônicos (**3a-l**)

A uma solução contendo 0,1 mmol de tiossemicarbazona sintetizada previamente (5a-l), 0,4 mmol de acetato de sódio anidro e 25 mL de etanol, adicionou-se 0,15 mmol de cloroacetato de etila. A mistura foi mantida sob agitação constante e temperatura de refluxo até o fim da reação, confirmado por CCD. Em seguida, a solução final foi resfriada até temperatura ambiente e o precipitado obtido foi filtrado e purificado em metodologia adequada.

(2Z)-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona
(3a)

Sólido amarelo. Tempo de reação 23 horas. Rf 0,48 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em etanol à quente. Rendimento: 90%. PF(°C): 268-270 (decomp.).

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1725 (C=O), 1602 (C=N), 1390 (C-N).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz) δ (ppm) 1,96 (4H, t, CH₂), 3,28 (4H, t, CH₂), 3,85 (2H, s, CH₂), 6,59 (2H, d, Ar-H), 7,56 (2H, d, Ar-H), 8,21 (H, s, CH), 11,80 (H, s, NH).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 75 MHz) δ (ppm) 25,40, 33,36, 47,69, 110,00, 111,96, 121,28, 129,67, 149,70, 156,97.

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₄H₁₆NaN₄OS⁺ [M+Na]⁺ 311,3562, encontrado 311,0915.

(2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona **(3b)**

Sólido amarelo. Tempo de reação: 49 horas. Rf (F). Purificação: Lavagem em etanol à quente. Rendimento: 93%. PF (°C): 193-195.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 1717 (C=O), 1594 (C=N), 1344 (C-N).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ (ppm) 2,02 (4H, q, CH₂), 3,30 (3H, s, CH₃), 3,34 (4H, t, CH₂), 3,76 (2H, s, CH₂), 6,56 (2H, d, Ar-H), 7,65 (2H, d, Ar-H), 8,32 (H, s, CH).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ (ppm) 25,39, 29,67, 32,41, 47,48, 111,37, 121,17, 128,85, 129,77, 149,63, 158,96, 172,10.

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{15}H_{18}NaN_4OS^+$ $[M+Na]^+$ 325,3862, encontrado 325,1088.

(2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3c**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 53 horas. Rf 0,55 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: recristalização em etanol/água 2:1. Rendimento: 31%. PF(°C): 151-153.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 1717 (C=O), 1594 (C=N), 1384 (C-N).

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{16}H_{21}N_4OS^+$ $[M+H]^+$ 317,4270, encontrado 317,1450.

(2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**)

Sólido branco. Tempo de reação: 57 horas. Rf 0,49 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: recristalização em DMSO/água 15:1. Rendimento: 68%. PF(°C): 247-248 (decomp.).

IV ν_{max} (cm^{-1}) 1719 (C=O), 1597 (C=N), 1376 (C-N).

RMN 1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 2,00 (4H, t, CH_2), 3,31 (4H, t, CH_2), 3,92 (2H, s, CH_3), 6,52 (2H, d, Ar-H), 7,36 (2H, d, Ar-H), 7,47 (3H, m, Ar-H), 7,58 (2H, d, Ar-H), 8,15 (H, s, CH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 25,43, 32,51, 47,51, 111,40, 121,08, 127,82, 128,89, 129,29, 129,83, 134,70, 149,69, 159,44, 161,11, 171,87.

EMAR (ESI positivo) calculado para $C_{20}H_{20}KN_4OS^+$ $[M+K]^+$ 403,5603, encontrado 403,1187.

(2Z)-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 24 horas. Rf 0,50 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 62%. PF(°C) (lit.): 269-272 (decomp.) (270-272).

IV ν_{\max} (cm^{-1}) 1709 (C=O), 1632 (C=N), 1312 (C-N).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,55 (6H, s, CH_2), 3,25 (4H, s, CH_2), 3,83 (2H, s, CH_2), 6,95 (2H, d, Ar-H), 7,55 (2H, d, Ar-H), 8,21 (H, s, CH), 11,82 (H, s, NH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 24,39, 25,38, 33,37, 48,74, 110,00, 114,84, 123,58, 129,46, 153,12, 156,57, 174,60.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{OS}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 303,4007, encontrado 303,1306.

(2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 26 horas. Rf 0,47 (hexano/acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 66%. PF($^{\circ}\text{C}$): 170-171.

IV ν_{\max} (cm^{-1}) 1707 (C=O), 1618 (C=N), 1344 (C-N).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,58 (6H, s, CH_2), 3,15 (3H, s, CH_3), 3,29 (4H, s, CH_2), 3,93 (2H, s, CH_2), 6,98 (2H, d, Ar-H), 7,60 (2H, d, Ar-H), 8,33 (H, s, CH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 24,39, 25,37, 29,73, 32,48, 48,72, 114,81, 123,42, 129,61, 153,25, 157,95, 162,76, 172,56.

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{OS}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 317,4270, encontrado 317,1488.

(2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3g**)

Sólido amarelo. Tempo de reação: 47 horas. Rf 0,49 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 54%. PF($^{\circ}\text{C}$): 133-134.

IV ν_{\max} (cm^{-1}) 1716 (C=O), 1696 (C=N), 1335 (C-N).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,17 (3H, t, CH_3), 1,58 (6H, s, CH_2), 3,28 (4H, s, CH_2), 3,75 (2H, q, CH_2), 3,93 (2H, s, CH_2), 6,98 (2H, d, Ar-H), 7,60 (2H, d, Ar-H), 8,33 (H, s, CH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 12,81, 24,39, 25,38, 32,48, 38,09, 48,71, 114,81, 123,44, 129,60, 153,23, 157,89, 161,98, 172,30.

(2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3h**)

Sólido amarelo. Tempo de reação 52 horas. Rf 0,54 (hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: recristalização em metanol. Rendimento: 60%. PF (°C): 215-216.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 1727 (C=O), 1601 (C=N), 1382 (C-N).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ (ppm) 1,57 (6H, s, CH_2), 3,27 (4H, s, CH_2), 4,07 (2H, s, CH_2), 6,95 (2H, d, Ar-H), 7,39 (2H, d, Ar-H), 7,52 (5H, m, Ar-H), 8,14 (H, s, CH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ (ppm) 24,39, 25,37, 32,65, 48,69, 114,78, 123,39, 128,71, 129,02, 129,49, 129,60, 135,61, 153,25, 158,12, 163,25, 172,37.

(2Z)-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3i**)

Sólido branco. Tempo de reação 25 horas. Rf 0,41 (hexano/acetato de etila 2:3). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 66%. PF(°C): 253-254.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 1713 (C=O), 1631 (C=N), 1328 (C-N).

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{NaN}_4\text{O}_2\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 327,3556, encontrado 327,0881.

(2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3j**)

Sólido branco. Tempo de reação: 48 horas. Rf 0,50 (Hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em metanol. Rendimento: 89%. PF(°C): 183-185.

IV ν_{max} (cm^{-1}) 1714 (C=O), 1622 (C=N), 1373 (C-N).

EMAR (ESI positivo) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 319,4000, encontrado 319,1259.

(2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3k**)

Sólido branco. Tempo de reação: 72 horas. Rf 0,51 (Hexano/acetato de etila 1:1). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 64%. PF(°C): 215-217.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 1703 (C=O), 1618 (C=N), 1388 (C-N).

EMAR (ESI positivo) calculado para C₁₆H₂₀NaN₄O₂S⁺ [M+Na]⁺ 355,4083, encontrado 355,1189.

(2Z)-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-3-fenil-1,3-tiazolidin-4-ona (**3l**)

Sólido branco. Tempo de reação 76 horas. Rf 0,55 (Hexano/Acetato de etila 3:2). Purificação: lavagem em metanol à quente. Rendimento: 71%. PF(°C): 232-234.

IV ν_{\max} (cm⁻¹) 1729 (C=O), 1603 (C=N), 1382 (C-N).

EMAR (ESI positivo) calculado para C₂₀H₂₀NaN₄O₂S⁺ [M+Na]⁺ 403,4512, encontrado 403,1187.

Atividade citotóxica

As linhagens neoplásicas humanas HEp-2, HT-29, MCF-7, MOLT-4 e NCI-H292 foram obtidas do banco de células do Rio de Janeiro, e mantidas em estufa a 37 °C contendo 5% de CO₂, em meios específicos RPMI 1640 (Gibco) e DMEN (Gibco), com 10% de soro fetal bovino (Gibco), 10 mM de HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid) (Gibco) e 1% de Penicilina/Estreptomicina (Gibco). Para o repique utilizou-se de tripsina/EDTA (0,25%).

As células foram plaqueadas numa densidade de 0,3x10⁵ (MOLT-4) e 1x10⁴ (HEp-2, HT-29, MCF-7 e NCI-H292), por poço em placas de 96 poços. As linhagens neoplásicas foram

tratadas com os compostos e com o controle doxorrubicina (2 µg/mL) na concentração final de 25 µg/mL e, em seguida incubadas por 72 horas. Após este período 25 µL de MTT foi adicionado e as células foram reincubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 µL de DMSO em espectrofotômetro de placa a 560 nm. Os experimentos foram realizados em quadruplicatas e a percentagem de inibição foi calculada no programa *GraphPadPrism 5.0*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os intermediários, 4-pirrolidin-1-ilbenzaldeído **1a**, 4-piperidin-1-ilbenzaldeído **1b** e 4-morfolin-1-ilbenzaldeído **1c**, descritos anteriormente na literatura, foram preparados através da substituição nucleofílica entre o 4-fluorbenzaldeído e aminas secundárias cíclicas em dimetilformamida, na presença de carbonato de potássio (DREIKORN & UNGER, 1989; MAGDOLEN, MECIAROVA & TOMA, 2001; ABDEL-AZIZ et al, 2009). Foram encontrados PF de 83-84 °C e 62-63°C para os derivados **1a** e **1b**, respectivamente. Os rendimentos obtidos (66-86%) foram satisfatórios as estruturas dos intermediários **1a-c** foram confirmada utilizando IV. Verificou-se a presença das bandas de deformação axial de C=O de aldeído em 1658-1669 cm⁻¹ e de deformação axial de C-N em 1158-1173 cm⁻¹. A presença dessas bandas e a ausência da banda de deformação axial de N-H, entre 3350-3310 cm⁻¹, confirmam a formação da ligação C-N e a estrutura dos compostos sintetizados.

O tratamento dos aldeídos **1a-c** com as tiossemicarbazidas em ácido clorídrico catalítico e etanol em refluxo deu origem aos derivados TSC **2a-l** com rendimentos acima de 58% (TENÓRIO et al., 2005). Os derivados TSC foram caracterizados utilizando técnicas de IV, RMN ¹H e ¹³C e EMAR, com exceção do composto **2e**, já descrito e caracterizado anteriormente por El-Gaby (2004), o qual foi caracterizado apenas por RMN ¹H, IV e EMAR. O derivado **2a** também já havia sido descrito na literatura, entretanto nenhum dado foi encontrado (HOGGARTH et al., 1949). Os compostos sintetizados **2a-l** foram elucidados e encontradas bandas entre 3384-3077 cm⁻¹, referentes ao estiramento axial de N-H, entre 1527-1695 cm⁻¹, referentes ao estiramento axial de C=N, entre 1293-1410 cm⁻¹, referentes ao estiramento axial de C-N, e entre 1175-1252 cm⁻¹, referentes ao estiramento axial de C=S, comprovando a condensação entre os intermediários benzaldeídicos **1a-c** e as tiossemicarbazidas. Outro forte

indicativo é a ausência de absorção na região de estiramento axial de carbonilas de benzaldeídos (1710-1685 cm^{-1}). A análise dos espectros de RMN ^1H permitiu observar singletos com deslocamento químico entre 9,32 e 11,90 ppm, integrando para um hidrogênio, correspondentes ao hidrogênio da posição N(2). A presença do singlete nessa região significa que não há acoplamento a hidrogênios ligados à átomos vicinais ao N(3), confirmando mais uma vez a formação da ligação C=N entre o carbono proveniente da carbonila e o N(1). Os espectros de RMN ^{13}C permitiram observar picos entre 151,25-177,80, referentes ao C(3).

Para obtenção das respectivas 4-TZD **3a-l**, as TSC **2a-l** reagiram com cloroacetato de etila na presença de acetato de sódio anidro e etanol sob refluxo (NURKENOV et al., 2013). No geral, os derivados de 4-TZD foram obtidos com rendimentos satisfatórios, entre 60-93%, com exceção dos derivados **3c** e **3g**, que foram obtidos com rendimentos de 31 e 54%, respectivamente. As 4-TZD obtidas **3a-l** foram caracterizadas estruturalmente através de IV, RMN ^1H e ^{13}C e EMAR. A análise dos espectros de IV permitiu observar as bandas entre 1707-1729 cm^{-1} , referentes ao estiramento axial de C=O, entre 1594-1696, referentes ao estiramento axial de C=N, e entre 1312-1390, referentes ao estiramento axial de C-N. Além da observação das bandas de estiramento axial de C=O, a ausência das bandas de estiramento de C=S confirmou a formação do anel 4-TZD. Nos espectros de RMN ^1H , constatou-se a presença do singlete entre 3,76 e 4,07 ppm, integrando para dois hidrogênios, correspondente aos hidrogênios da posição 5 do anel 4-TZD. Nos espectros de RMN ^{13}C , observou-se a presença de picos em 156,97-174,60, referentes ao C(4) do anel 4-TZD. Não foram observados picos referentes ao C=S, presentes em TSC, confirmando mais uma vez a obtenção de 4-TZD. De modo geral, os análogos de TSC e 4-TZD foram obtidos com rendimentos satisfatórios e tiveram suas estruturas elucidadas pelos dados espectroscópicos.

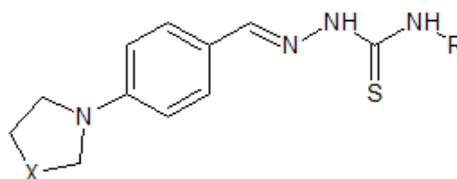
Atividade citotóxica

Os análogos de TSC **2a-l** e 4-TZD **3a-l** sintetizados foram submetidos a testes de citotoxicidade *in vitro*, através do método do MTT, nas linhagens celulares de câncer humano HEP-2, HT-29, MCF-7, MOLT-4 e NCI-H292. O método do MTT é atualmente o ensaio de citotoxicidade *in vitro* mais utilizado. Este teste baseia-se na capacidade que as células viáveis possuem em reduzir o MTT em formazan, um outro composto que possui a coloração roxa e

absorbância máxima próximo a 570 nm. Células inviáveis perdem a capacidade de reduzir o MTT, assim, a mudança de cor é utilizada como um marcador de células viáveis (RISS et al., 2005).

As Tabelas 5 e 6 mostram o percentual de inibição do crescimento tumoral que os compostos e o controle Doxorubicina apresentaram nas linhagens testadas. A determinação do percentual de inibição do crescimento tumoral faz parte do *screening* inicial para determinar o potencial antitumoral das moléculas testadas. Apenas os compostos que apresentarem $\geq 75\%$ de inibição são considerados ativos e tem suas CI_{50} determinadas. Os compostos que apresentarem percentual de inibição entre 50 e 75% são considerados moderadamente ativos, já os que apresentarem percentual de inibição $\leq 50\%$ são considerados inativos.

Tabela 5. Percentual de inibição do crescimento tumoral dos análogos de tiossemicarbazonas sintetizados.

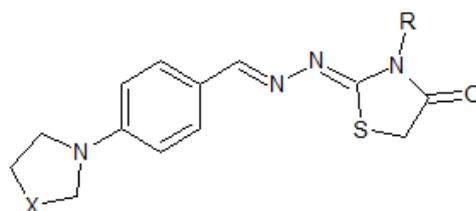


Composto	X	R	% inibição \pm desvio padrão					NCI-H292
			Hep-2	HT-29	MCF-7	MOLT-4		
2a	CH ₂	H	50,2 \pm 0,3	23,9 \pm 0,3	46,4 \pm 0,2	86,0 \pm 1,4	30,2 \pm 0,4	
2b	CH ₂	Me	39,2 \pm 1,5	3,5 \pm 0,1	21,8 \pm 0,4	47,2 \pm 1,0	9,9 \pm 0,8	
2c	CH ₂	Et	12,2 \pm 0,9	31,8 \pm 0,05	18,1 \pm 0,05	26,9 \pm 0,5	8,2 \pm 0,7	
2d	CH ₂	Ph	19,5 \pm 0,5	9,1 \pm 0,5	50,1 \pm 0,1	52,4 \pm 1,4	51,9 \pm 1,8	
2e	(CH ₂) ₂	H	76,6 \pm 3,3	32,2 \pm 1,9	69,4 \pm 2,1	94,9 \pm 0,3	38,9 \pm 1,9	
2f	(CH ₂) ₂	Me	45,7 \pm 4,3	24,4 \pm 0,05	53,5 \pm 0,7	88,9 \pm 1,0	13,4 \pm 1,0	
2g	(CH ₂) ₂	Et	64,2 \pm 2,3	18,3 \pm 1,5	52,8 \pm 4,9	79,6 \pm 1,1	25,3 \pm 1,5	
2h	(CH ₂) ₂	Ph	56,1 \pm 2,6	24,0 \pm 1,3	46,2 \pm 1,7	79,6 \pm 1,9	23,8 \pm 0,9	
2i	OCH ₂	H	23,5 \pm 1,9	3,1 \pm 0,1	NT	NT	NT	
2j	OCH ₂	Me	43,0 \pm 3,8	22,2 \pm 0,3	NT	16,3 \pm 1,6	NT	

2k	OCH ₂	Et	48,2±1,2	28,0±2,5	NT	NT	NT
2l	OCH ₂	Ph	41,4±1,7	49,3±0,3	NT	38,01±1,9	NT

NT – não testadas. Dox. – Doxorubicina.

Tabela 5. Percentual de inibição do crescimento tumoral dos análogos de 4-tiazolidinonas sintetizados.



Composto	X	R	% inibição ± desvio padrão					NCI-H292
			Hep-2	HT-29	MCF-7	MOLT-4		
3a	CH ₂	H	26,4±1,6	25,8±2,4	40,3±0,2	54,3±2,0	15,5±0,6	
3b	CH ₂	Me	26,3±0,0	20,0±0,7	44,4±1,1	NT	21,3±0,6	
3c	CH ₂	Et	62,2±5,3	15,6±1,2	32,2±1,9	67,0±3,0	18,4±1,6	
3d	CH ₂	Ph	33,4±1,5	22,1±2,0	42,9±1,1	43,6±0,9	15,8±0,8	
3e	(CH ₂) ₂	H	36,8±2,5	NT	31,5±2,5	48,4±0,7	26,7±1,7	
3f	(CH ₂) ₂	Me	34,0±1,3	29,5±2,0	NT	NT	45,0±1,5	
3g	(CH ₂) ₂	Et	44,4±4,5	60,7±1,3	74,4±2,5	24,5±0,2	44,6±1,6	
3h	(CH ₂) ₂	Ph	44,5±0,7	7,0±0,6	NT	NT	NT	
3i	OCH ₂	H	44,4±0,0	22,8±1,1	NT	NT	8,4±0,6	
3j	OCH ₂	Me	36,3±0,0	31,9±0,07	58,3±1,8	NT	NT	
3k	OCH ₂	Et	15,0±1,2	27,3±2,2	41,8±4,0	NT	NT	
3l	OCH ₂	Ph	36,3±0,0	29,3±2,2	53,4±2,8	NT	NT	
Dox.	-	-	79,4±2,6	75,3±1,3	74,8±2,1	96,6±0,9	94,2±1,9	

NT – não testadas. Dox. – Doxorubicina.

Dentre os compostos submetidos ao ensaio de citotoxicidade, cinco TSC e apenas 1 4-TZD apresentaram atividade. Os derivados **2a** e **2e-h** foram considerados ativos na linhagem celular MOLT-4 e **2e** na linhagem HEp-2. Analisando a influência dos grupos pirrolidina, piperidina e morfolina nos derivados TSC **2a-l**, percebemos que a substituição da pirrolidina pela piperidina incrementou a atividade. Todos os derivados contendo a morfolina em sua estrutura **2i-l** foram considerados inativos frente as linhagens celulares testadas. Os derivados com o grupo piperidina **2e-h**, apresentaram forte citotoxicidade na linhagem celular MOLT-4. O derivado **2e**, com o nitrogênio N(4) não substituído, apresentou forte citotoxicidade também na linhagem celular HEp-2. Dentre os derivados substituídos com a pirrolidina **2a-d**, verificamos que apenas o derivado **2a**, com o nitrogênio N(4) não substituído, foi considerado fortemente ativo na linhagem celular MOLT-4. Comparando os derivados TSC considerados citotóxicos **2a** e **2e-h** com suas respectivas 4-TZD **3a** e **3e-h** observa-se perda de atividade. Quanto às 4-TZD, apenas o derivado **3g** foi considerado ativo na linhagem celular MCF-7.

CONCLUSÕES

Os análogos de TSC **2a-l** e 4-TZD **3a-l** foram sintetizados, em sua maioria, com bons rendimentos e caracterizados segundo seus dados físicos e espectroscópicos e espectrométricos. As duas séries foram submetidas a avaliação da atividade citotóxica *in vitro* através do método do MTT. Foram calculados os percentuais de inibição de crescimento tumoral em quatro linhagens celulares. As TSC **2a** e **2e-h** apresentaram citotoxicidade nas linhagens celulares HEp-2 e MOLT-4. Apenas um derivado 4-TZD **3g** apresentou citotoxicidade na linhagem celular MCF-7. As próximas etapas deste estudo devem compreender a determinação da CI_{50} desses compostos para a posterior realização de estudos de análises da eficiência do ligante.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Na primeira parte do trabalho, foi realizada a análise da eficiência do ligante de 121 derivados 4-TZD com atividade anticâncer *in vitro* encontrados na literatura. Com esse estudo, foi possível perceber que esses compostos possuem uma desproporção entre lipofilia e potência, ou seja, possuem uma alta lipofilia em relação à potência apresentada na atividade anticâncer. Também foi verificado que o aumento da potência é independente da lipofilia e que o uso de métricas de eficiência do ligante deve ser aplicado durante o planejamento e síntese de futuros derivados 4-TZD anticancerígenos.

Na etapa seguinte, realizou-se a síntese e citotoxicidade de análogos de TSC e 4-TZD. Todas as TSC e 4-TZD propostas foram sintetizadas e purificadas em rendimentos satisfatórios e tiveram suas estruturas elucidadas com sucesso. Os derivados sintetizados foram submetidos ao ensaio de citotoxicidade, através do método do MTT, nas linhagens HEp-2, HT-29, MCF-7, MOLT-4 e NCI-H292. Os derivados TSC **2a** e **2e-h** apresentaram citotoxicidade na linhagem celular MOLT-4. O derivado **2e** também foi citotóxico na linhagem HEp-2. Nenhuma 4-TZD foi considerada citotóxica nas linhagens celulares testadas. Não foi possível analisar a eficiência do ligante das TSC citotóxicas, visto que as CI_{50} não foram determinadas até o presente momento.

REFERÊNCIAS

- ABAD-ZAPATERO. Ligand efficiency indices for effective drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v.2, n.4, p.469-488, 2007.
- ABDEL-AZIZ, H.A. Synthesis and anti-arrhythmic activity of some piperidine-based 1,3-thiazole, 1,3,4-thiadiazole, and 1,3-thiazolo[2,3-c]-1,2,4-triazole derivatives. **Monatshefte fur Chemie**, v. 140, p. 431-437, 2009.
- AKGEMCI, E. G. et al. Spectrophotometric, voltammetric and cytotoxicity studies of 2-hydroxy-5-methoxyacetophenone thiosemicarbazone and its N(4)-substituted derivatives: A combined experimental-computational study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, p. 719-725, 2015.
- ALTINTOP, M. D. et al. Synthesis and biological evaluation of new naphthalene substituted thiosemicarbazone derivatives as potent antifungal and anti-cancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 108, p. 406-414, 2016.
- AMBUDKAR, S. V. et al. Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 39, p. 361-398, 1999.
- AZAMBUJA, E. et al. Cardiac assement of early breast cancer patients 18 years after treatment with cyclophosphamide-, methotrexate-, fluorouracil- or epirubicin-based chemotherapy. **European Journal of Cancer**, Artigo *in press*, ago. 2015.
- BADISA, R.B. et al. Selective cytotoxic activities of two novel synthetic drugs on human breast carcinoma MCF-7 cells. **Anticancer Research**, v. 29, p. 2993-2996, 2009.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2a ed. Porto Alegre: Artmed, 2008
- BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.
- BHANDARI, S.V. Design, synthesis and pharmacological screening of novel antihypertensive agentes using hybrid approach. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 390-400, out. 2009.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

CARVALHO, C.S. et al. Anti-parasitic action and elimination of intracellular *Toxoplasma gondii* in the presence of novel thiosemicarbazone and its 4-thiazolidinone derivatives. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.43, n.2, p.139-149, fev. 2010.

CHABNER, B.; RICHON, V. Structural approaches to cancer drug development. **The New England Journal of Medicine**, v.373, n.5, p. 402-403, jul. 2015.

CIHAN-USTUNDAG, G. et al. Synthesis and antiviral properties of novel indole-based thiosemicarbazides and 4-thiazolidinones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, p. 240-246, 2016.

COHEN, S.M.; ARNOLD, L.L. Chemical carcinogenesis. **Toxicological science**, v. 120, S.1, p. S76-S92, 2011.

CROSBIE et al. Human papillomavirus and cervical cancer. **The Lancet**, v. 382, p. 889-899, set. 2013.

DAWOOD, K.M. et al. Synthesis of some new pyrazole-based 1,3-thiazoles and 1,3,4-thiadiazoles as anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 70, p. 740-749, 2013.

DE CARVALHO, D.D. et al. DNA methylation screening identifies driver epigenetic events of cancer cell survival. **Cancer cell**, v. 21, p. 655-667, mai. 2012.

DE MELOS, J. L. R. et al. Novel 3,4-methylenedioxyde-6-X-benzaldehyde-thiosemicarbazones: synthesis and antileishmanial effects against *Leishmania amazonensis*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 103, p. 409-417, set. 2015.

DESAI, N.C.; DODIYA, A.M.; SHIHORA, P.N. A clubbed quinazolinone and 4-thiazolidinone as potential antimicrobial agents. **Medicinal Chemistry Research**, v.21, n.8, p. 1577-1586, 2012.

DREIKORN, B.A.; UNGER, P. Synthesis and identification of 4-methyl-N-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)-2-benzothiazolamine, an impurity in the synthesis of tricyclazole. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 26, p. 1735-1737, 1989.

EL-GABY, M.S.A. Syntheses of Hitherto Unknown Thiazole, Ylidene and Pyridinethione Derivatives Having a Piperidin-1-yl Moiety and Their Use as Antimicrobial Agents. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 51, p. 125-134, 2004.

ESPÍNDOLA, J. W. P. et al. Synthesis and structure-activity relationship study of a new series of anti-parasitic aryloxy thiosemicarbazones inhibiting *Trypanosoma cruzi* cruzain. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 818-835, jul. 2015.

FEINBERG, A. P.; OHLSSON, R.; HENIKOFF, S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. **Nature Reviews Genetics**, v. 7, p. 21-33, jan. 2006.

FEITOZA, D.D. et al. Synthesis, antimicrobial and cytotoxic activities of 5-benzylidene-2[(pyridine-4-ylmethylene)hydrazono]-thiazolidin-4-one and 2-[(pyridine-4-ylmethylene)hydrazono]-thiazolidin-4-one derivatives. **Química Nova**, v. 35, n.4, p. 694-698, 2012.

FONSECA, C.A.M. et al. O tubo gástrico isoperistáltico no tratamento paliativo do cancer do esôfago. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 29, n. 4, p. 202-208, ago. 2002.

FOLTINOVÁ, V. et al. Mechanisms of effects of Platinum (II) and (IV) complexes. Comparison of cisplatin and oxaliplatin with satraplatin and LA-12, new Pt (IV)-based drugs. A minireview. **Scripta Medica (BRNO)**, v.81, n.2, p. 106-116, jun. 2008.

FUCHS, L. W. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

GAN, C. et al. Synthesis and antiproliferative activity of some steroidal thiosemicarbazones, semicarbazones and hydrozones. **Steroids**, v. 87, p. 99-107, jun. 2014.

GAO, B.T. et al. Pioglitazone alters monocyte populations and stimulates recent thymic emigrants in the BBDZR/Wor type 2 diabetes rat model. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v.7, p. 72-83, set. 2015.

GEORGE, R.F. Stereoselective synthesis and QSAR study of cytotoxic 2-(4-oxo-thiazolidin-2-ylidene)-2-cyano-N-arylacetamides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.47, p.377-386, 2012.

GIRI, S.; BADER, A. A low-cost, high-quality newdrug discovery process using patient-derived induced pluripotent stem cells. **Drug Discovery Today**, v.20, n.1, p.37-49, 2015.

GREEN, H. et al. Impacto f CYP3A5*3 and CYP2C8-HapC on Paclitaxel/Carboplatin-induced myelosuppression in patients with ovarian câncer. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.100, n.10, p.4205-4209, out. 2011.

GUDUDURU, V. et al. Synthesis and antiproliferative activity of 2-aryl-4-oxo-thiazolidin-3-yl-amides for prostate cancer. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 21, p. 5289-5293, 2004.

GUIMARÃES NETO, E. A. et al. Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of 5-benzylidene-2-[(pyridine-2-ylmethylene)hydrazono]-thiazolidin-4-one derivatives. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 31, n. 2, p. 235-239, 2012.

HAJDU, S.I. A note from history: Landmarks in history of cancer, part 1. **Cancer**, v. 117, n. 5, p. 1097–1102, mar. 2011.

HANNA, M.M.; GEORGE, R.F. Facile synthesis and quantitative structure-activity relationship study of antitumor active 2-(4-oxo-thiazolidin-2-ylidene)-3-oxo-propionitriles. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 60, n. 9, p. 1195-1206, 2012.

HOGGARTH, E. et al. Studies in the chemotherapy of tuberculosis Part V: Thiosemicarbazones and related compounds. **British Journal of Pharmacology**, v. 4, p. 248-253, 1949.

HONG, W. et al. Reversing multidrug resistance by intracellular delivery of Pluronic® P85 unimers. **Biomaterials**, v.34, p.9602-9614, set. 2013.

HOPKINS, A.L. et al. The role of ligand efficiency metrics in drug discovery. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v.13, n.2, p.105-121, fev. 2014.

HUANG, S. et al. MED12 controls the response to multiple cancer drugs through regulation of TGF- β receptor signaling. **Cell**, v. 151, p. 937-950, nov. 2012.

HUBER, P.C.; MARUIAMA, C.H.; ALMEIDA, W.P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, v.33, n.10, p.2148-2154, ago. 2010.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr/Pages/online.aspx>>. Acesso em: 19 out. 2015.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores sociodemográficos e de saúde no Brasil. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/english/estatistica/populacao/indic_sociosaude/2009/indicsaude.pdf>. Acesso em: 22 out. 2015.

INCA – Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>>. Acesso em: 21 out. 2015.

JABEEN, I. et al. Structure-activity relationships, ligand efficiency, and lipophilic efficiency profiles of benzophenone-type inhibitors of the multidrug transporter P-glycoprotein. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 3261-3273, 2012.

JIN, M.S. Crystal structure of the multidrug transporter P-glycoprotein from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v.490, p.566-570, out. 2012.

JOSEPH-MCCARTY, D. et al. Fragment-based lead discovery and design. **Journal of chemical information and modeling**, v. 54, p. 693-704, 2014.

KAMEL, M.M. et al. Synthesis, antitumor activity and molecular docking study of novel sulfonamide-Schiff's bases, thiazolidinones, benzothianones and their C-nucleoside derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 572-580, 2010.

KANTARJIAN, H.M. et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2 year follow up from a randomized phase 3 trial (DASISION). **Blood**, v.119, n.5, p.1123-1129, fev. 2012.

KARIMKHANE et al. The surgeon general should say that indoor ultraviolet radiation tanning causes in skin cancer. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 49, n. 3, p. 437-440, nov. 2015.

KENNY, P.W.; LEITÃO, A.; MONTANARI, C.A. Ligand efficiency metrics considered harmful. **Journal of computer-aided molecular design**, v.28, n.7, jun. 2014.

KUNTZ, I.D. et al. The maximal affinity of ligands. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 18 p. 9997-10002, ago. 1999.

LEESON, P.D.; SPRINGTHORPE, B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, n. 11, p. 881-890, 2007.

LEITE, A.C.L. et al. Synthesis, cruzain docking, and in vitro studies of aryl-4-oxothiazolylhydrazones against *Trypanosoma cruzi*. **ChemMedChem**, v. 2, n. 9, p. 1339-1345, 2007.

LEMKE, T.L. et al. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 6.ed. Lippincott Williams & Wilkins, North American Edition, 2008.

LI, X. et al. Cytotoxicity and structure–activity relationships of four α -N-heterocyclic thiosemicarbazone derivatives crystal structure of 2-acetylpyrazine thiosemicarbazone. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 10, p. 2704-2706, mai. 2009.

LI, X. et al. Amelioration of bleomycin-induced pulmonary fibrosis of rats by an aldose reductase inhibitor, Epalrestat. **Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, v.19, n.5, p.401-411, set. 2015.

LIEBERMAN, P.M. Epstein-Barr virus turns 50. **Science**, v. 343, p. 1323-1324, mar. 2014.

LIESEN, A.P. et al. Preparation methods, reactivity and biological importance of 4-thiazolidinones. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 369-372, fev. 2008.

LIPINSKI, C.A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Discovery Reviews**, v.46, p.3-26, 2001.

LO, J.A.; FISHER, D.E. The melanoma revolution: From UV carcinogenesis to a new era in therapeutics. **Science**, v. 346, n. 6212, p. 945-949, nov. 2014.

MA, Z. et al. Microwave-assisted synthesis of new 1,3-thiazolidin-4-ones and evaluation of their anticancer efficacy. **Modern Applied Science**, v. 5, n. 3, p. 207-212, jun. 2011.

MAGDOLEN, P.; MECIAROVA, M.; TOMA, S. Ultrasound effect on the synthesis of 4-alkyl-(aryl)aminobenzaldehydes. **Tetrahedron**, v. 57, p. 4781-4785, 2001.

MARKOVIC, S. et al. Theoretical study on structural and mechanistic aspects of synthesis of a aminopyrazole derivative. **Tetrahedron**, v. 66, p. 6205-6211, 2010.

MARKOVIC, S. et al. Synthesis, cytotoxic activity and DNA-interaction studies of novel anthraquinone-thiosemicarbazones with tautomerizable methylene group. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 228-238, abr. 2013.

MASSOD, M.A. et al. Discovery of a series of potent and selective human H4 antagonists using ligand efficiency and libraries to explore structure-activity relationship (SAR). **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 6591-6595, ago. 2011.

MASOUD, G.N. et al. Design, synthesis and biological evaluation of new 4-thiazolidinone derivatives substituted with benzimidazole ring as potential chemotherapeutic agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 2, p.707-725, 2013.

MODHA, S.G. et al. Microwave-assisted synthesis of a novel class of imidazolylthiazolidin-4-ones and evaluation of its biological activities. **Molecular diversity**, v. 14, n. 4, p. 767-776, 2010.

MOHAREB, R. M. et al. Heterocyclizations of pregnenolone: novel synthesis of thiosemicarbazone, thiphenes, thiazole, thieno[2,3-b]pyridine derivatives and their cytotoxicity evaluations. **Steroids**, v. 77, p. 1560-1569, out. 2012.

MORTENSON, P.N. MURRAY, C.W. Assessing the lipophilicity of fragments and early hits. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 25, n.7, p. 663-667, mai. 2011.

MOURTADA, R. et al. Re-directing an alkylating agent to mitochondrial alters drug target and cell death mechanism. **Plos One**, v.8, n.4, p. 1-9, abr. 2013.

NCI – NATIONAL CANCER INSTITUTE. SEER Cancer Statistics Review 1975–2012. Disponível em: <http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/results_merged/topic_lead_cod.pdf>. Acesso em: 21 out. 2015.

NOGRADY, T.; WEAVER, D.F. **Medicinal Chemistry: a molecular and biochemical approach**. New York: Oxford University Press, 3.ed., p.9-66, 2005.

NORTON, K.A. et al. Antiangiogenic cancer drug sunitinib exhibits unexpected proangiogenic effects on endothelial cells. **OncoTargets and Therapy**, v.7, p. 1571-1582, set. 2014.

NURKENOV, O.A. et al. Synthesis, Structure and Chemical Transformations of 4-Aminobenzaldehyde. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 83, n. 10, p. 1864-1868, 2014.

OTTANA, R. et al. In vitro antiproliferative activity against human colon cancer cell lines of representative 4-thiazolidinones. Part I. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 17, p. 3930-3933, 2005.

OTTANÀ, R. et al. Identification of 5-arylidene-4-thiazolidinone derivatives endowed with dual activity as aldose reductase inhibitors and antioxidant agents for the treatment of diabetic complications. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 2797-2806, abr. 2011.

PAULIKOVA, H. et al. DNA binding acridine-thiazolidinone agents affecting intracellular glutathione. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 24, p. 7139-7148, 2012.

PELICANO, H. et al. Glycolysis inhibition for anticancer treatment. **Oncogene**, v.25, p.4633-4646, 2006.

PINTO, M.; UGÁ, M.A.D. Custo do tratamento de pacientes com histórico de tabagismo em hospital especializado em câncer. **Revista de Saúde Pública**, v. 45, n. 3, p. 575-582, 2011.

PIZZO, C. et al. Synthesis of 2-hydrazolyl-4-thiazolidinones based on multicomponent reactions and biological evaluation against *Trypanosoma cruzi*. **Chemical Biology & Drug Design**, v.77, p.166-172, 2011.

POTTER, N.E.; GREAVES, M. Persistence of leukaemic ancestor. **Nature**, v.506, p.300-301, fev. 2014.

QU, L.; TANG, X. Bexarotene: a promising anticancer agent. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 65, n.2, p. 201-205, 2010.

RACKHAM, M. D. et al. Design and synthesis of high affinity inhibitors of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* N-myristoyltransferases directed by ligand efficiency dependent lipophilicity (LELP). **Journal of Medicinal Chemistry**, v.57, p. 2773-2788, 2014.

REN, Z. et al. Neuroprotective effects of 5-(4-hydroxy-3-dimethoxybenzylidene)-thiazolidinone in MPTP induced Parkinsonism model in mice. **Neuropharmacology**, v. 93, p.209-218, fev. 2015.

REVELANT, G. et al. Synthesis and biological evaluation of novel 2-heteroarylimino-1,3-thiazolidin-4-ones as potential anti-tumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 94, p. 102-112, 2015.

REYNOLDS, C.H. Ligand efficiency metrics: why all the fuss? **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 11, p. 1363-1365, 2015.

REYNOLDS, C.H.; TOUNGE, B.A.; BEMBENEK, S.D. Ligand binding efficiency: Trends, physical basis, ad implications. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2432-2438, fev. 2008.

RHO, J.K. MET and AXL inhibitor NPS-1034 exerts efficacy against lung cancer cells resistant to EGFR kinase inhibitor because of MET or AXL activation. **Cancer Research**, v.74, n.1, p.253-262, jan. 2014.

RIPAMONTI, M. et al. Morpholinylanthracyclines: cytotoxicity and antitumor activity of differently modified derivatives. **Investigational New Drugs**, v. 14, p. 139-146, 1996.

RUBIN, E. **Patologia: bases clinicopatológicas da medicina**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

RYCKMANS, T. et al. Rapid assessment of a novel series of selective CB₂ agonists using parallel synthesis protocols: A lipophilic efficiency (LipE) analysis. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 15, p. 4406-4409, mai. 2009.

SANDOVAL, J.; ESTELLER, M. Cancer epigenomics: beyond genomics. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 22, n. 1, p. 50-55, fev. 2012.

SHARATH KUMAR, K.S. et al. Synthesis and antiproliferative effect of novel 4-thiazolidinone-, pyridine- and piperazine-based conjugates on human leukemic cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.81, p.341-349, 2014.

SCHULTES, S. et al. Ligand efficiency as a guide in fragment hit selection and optimization. **Drug Discovery Today: Technologies**, v.7, n.3, p.157-162, 2010.

SEGALL, M.D. Multi-parameter optimization: identifying high quality compounds with a balance of properties. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, p. 1292-1310, 2012.

SHIH, M. H. e WU, C. L. Efficient synthesis of thiazoline and thiadiazole derivatives by the cyclization of 3-aryl-4-formylsydnone thiosemicarbazones with acetic anhydride and ferric chloride. **Tetrahedron**, v. 61, p. 10917-10925, set. 2005.

SHLUSH, L.I. et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. **Nature**, v.506, p.328-333, fev. 2014.

SINGH, N. et al. Ulcerogenicity devoid novel non-steroidal anti-inflammatory agents (NSAIDs): syntheses, computational studies, and activity of 5-arylidene-2-imino-4-thiazolidinones. **Medicinal Chemistry Research**, v.24, p. 1927-1941, 2015.

SOARES, M. A. et al. N⁴-Phenyl-substituted 2-acetylpyridine thiosemicarbazones: cytotoxicity against human tumor cells, structure-activity relationship studies and investigation on the mechanism of action. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 3396-3409, 2012.

SOUZA, F.O.; ANTUNES, L.C.M.; SANTOS, L.H.R.; Palliative treatment of gastric adenocarcinoma. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 24, n. 1, p. 74-80, mar. 2011.

SOUZA, R.J.S.P. et al. An estimate of the cost of treating melanoma disease in the state of Sao Paulo – Brazil. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n.3, p. 237-243, 2009.

TANAKA, D. et al. A practical use of ligand efficiency indices out of the fragment-based approach: ligand efficiency-guided lead identification of soluble epoxide hydrolase inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.54, n.3, p. 851-857, 2011.

TENÓRIO, R.P. et al. Tiossemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p.1030-1037, 2005.

TRIPATHI, A.C. et al. 4-Thiazolidinones: The advances continue...**European Journal of Medicinal Chemistry**, v.72, p.52-77, jan. 2014.

TURLINGTON, M. et al. Discovery and SAR of a novel series of metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulators with high ligand efficiency. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, n. 15, p. 3641-3646, 2014.

VALEJO, F.A.M. et al. Volume of breast tissue excised during breast-conserving surgery in patients undergoing preoperative systemic therapy. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, n. 3, p. 221-225, mai. 2013.

VERDONK, M. L.; REES, D. C. Group efficiency: A guideline for hits-to-lead chemistry. **ChemMedChem**, v. 3, p. 1179-1180, 2008.

WANG, F. et al. The interaction of 4-thiazolidinone derivatives containing indolin-2-one moiety with P-glycoprotein studied using K562 cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.101, p.126-132, jun. 2015.

WANG, S. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel 4-thiazolidinones containing indolin-2-moiety as potential antitumor agent. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 3509-3518, 2011.

WANG, W. et al. Neural cell cycle dysregulation and central nervous system diseases. **Progresso in neurobiology**, v.89, p.1-17, jan. 2009.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global status report on noncommunicable diseases* 2014. Disponível em:

<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf?ua=1>. Acesso em:21 out. 2015.

YE, X. et al. Darbufelone, a novel anti-inflammatory drug, induces growth inhibition of lung cancer cells both in vitro and in vivo. **Cancer Chemoterapy and Pharmacology**, v.66, p.277-285, mar. 2010.

YELLA, R.; GHOSH, H.; PATTEL, B.H. It is “2-imino-4-tiazolidinones” and not thiohydantoin as the reaction product of 1,3-disubstituted thioureas and chloroacetylchloride. **Green Chemistry**, v. 10, p. 1307-1312, 2008.

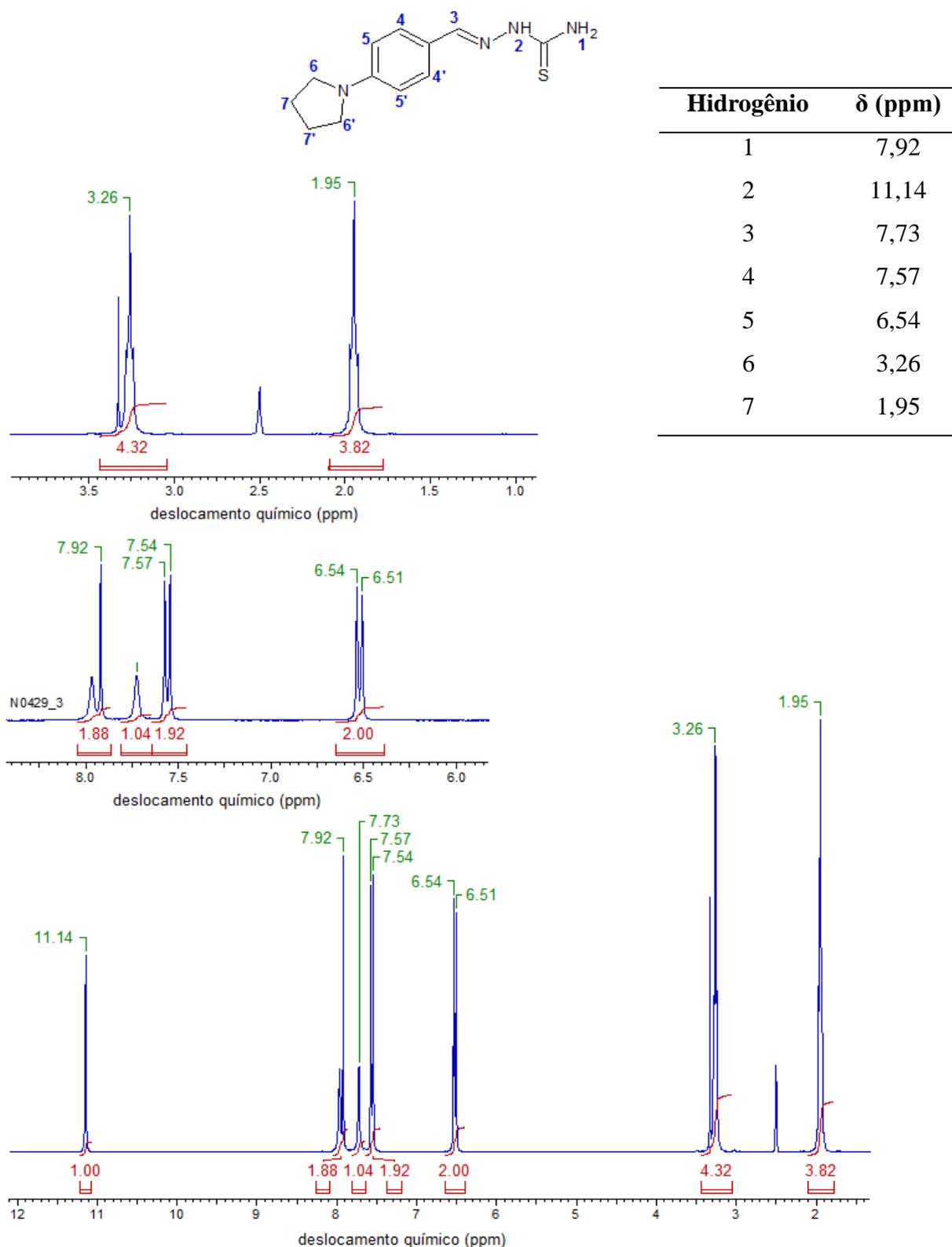
YOU, J.S.; JONES, P.A. Cancer genetics and epigenetics: Two sides of the same coin? **Cancer Cell**, v. 22, p. 9-20, jul. 2010.

ZHANG, C. et al. Synergistic action by multi-targeting compounds produces a potente compound combination for human NSCLC both in vitro and in vivo. **Cell Death & Disease**, v.5, p.1138-1150, mar. 2014.

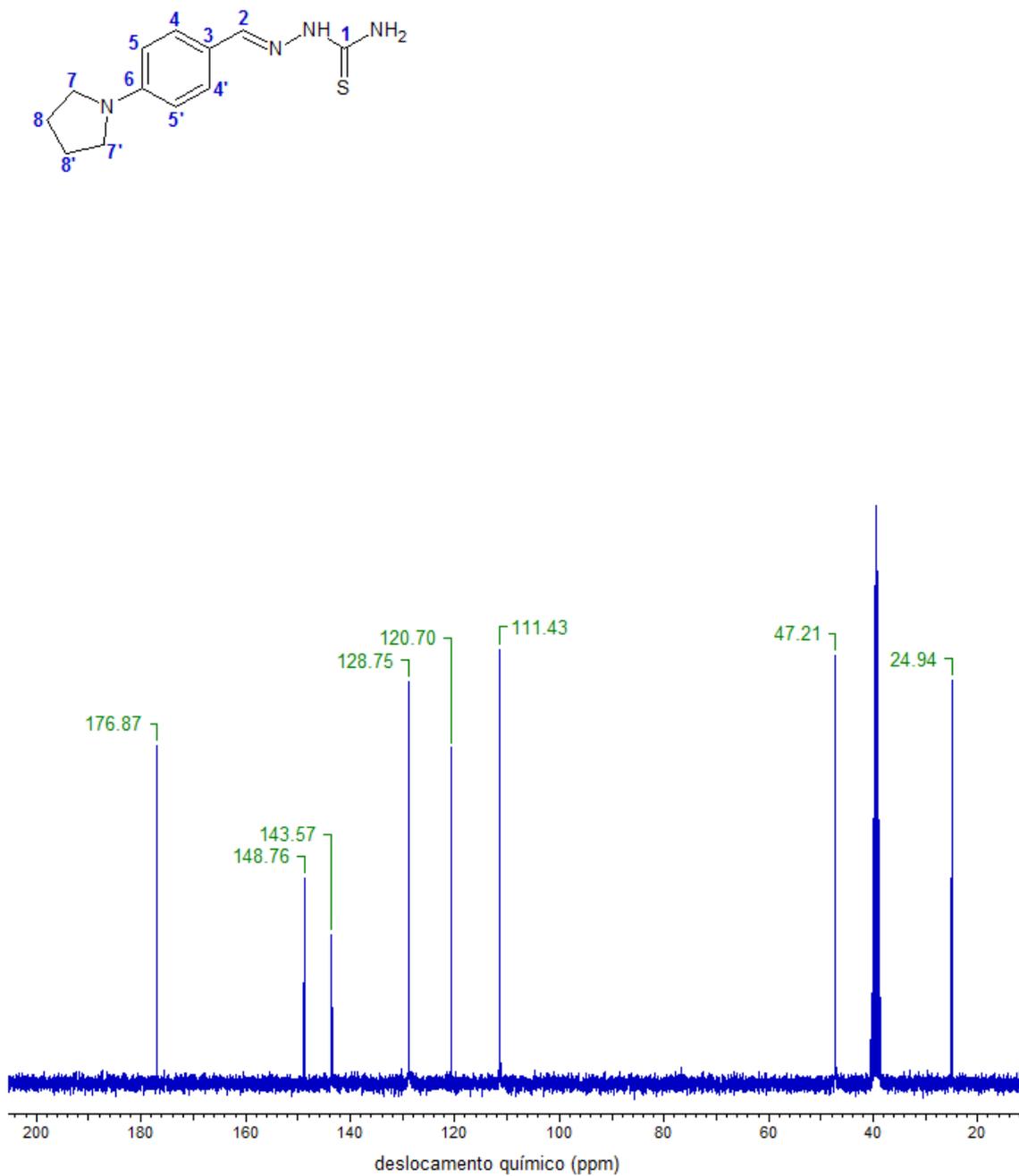
ZHANG, X. M. et al. Synthesis and evaluation of isatin- β -thiosemicarbazones as novel agents against antibiotic-resistant Gram-positive bacterial species. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 419-430, 2015.

ZHOU, H. et al. Design, synthesis, cytoselective toxicity, structure-activity relationships, and pharmacophore of thiazolidinone derivatives targeting drug-resistant lung câncer cells. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 5, p. 1242-1251, ago. 2008.

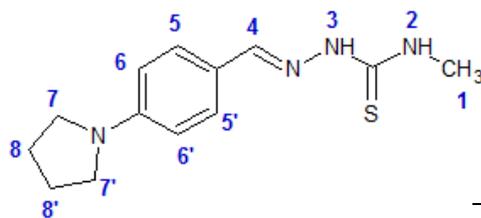
ANEXOS

ANEXO A: Espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C 

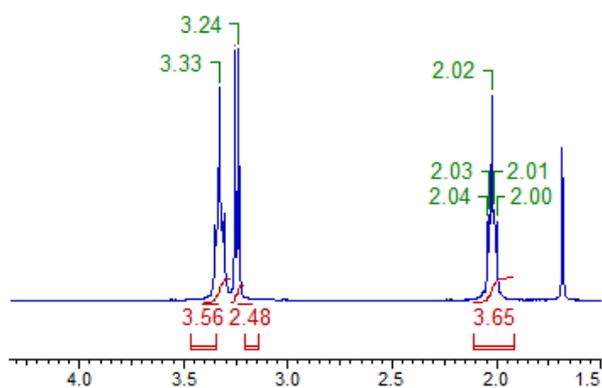
Espectro 1. Espectro de RMN ^1H para o derivado [(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno } amino]tiouréia (**2a**) (DMSO- d_6 /300 MHz)



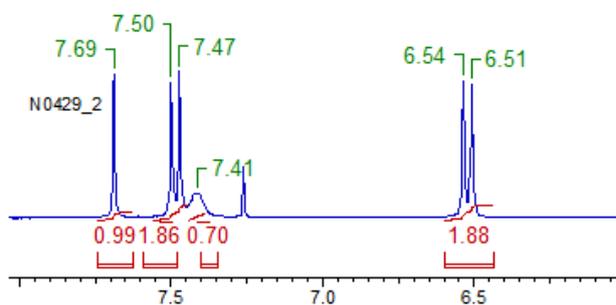
Espectro 2. Espectro de RMN ¹³C para o derivado [(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2a**) (DMSO-d₆/75 MHz).



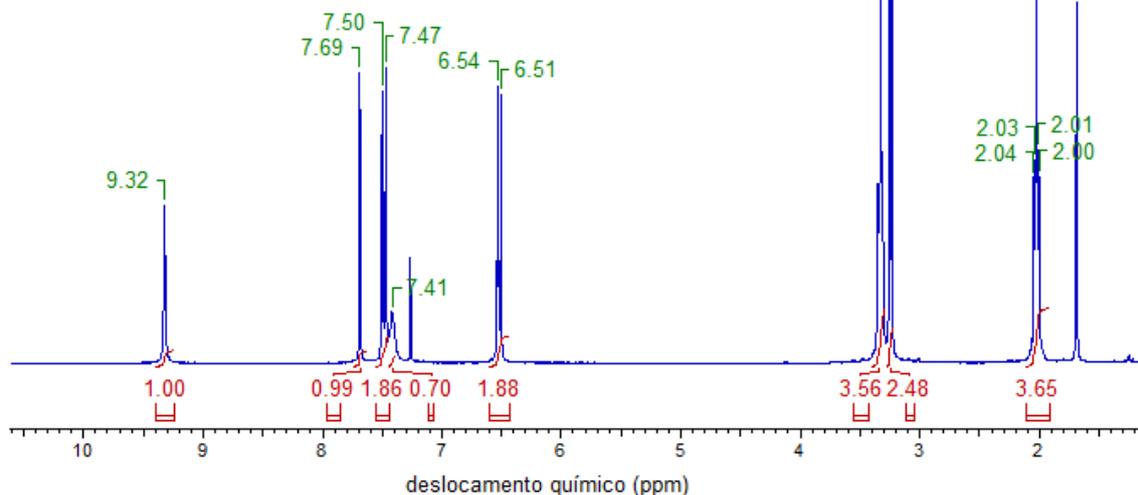
Hidrogênio	δ (ppm)
1	3,24
2	7,69
3	9,32
4	7,41
5	7,50
6	6,54
7	3,33
8	2,02



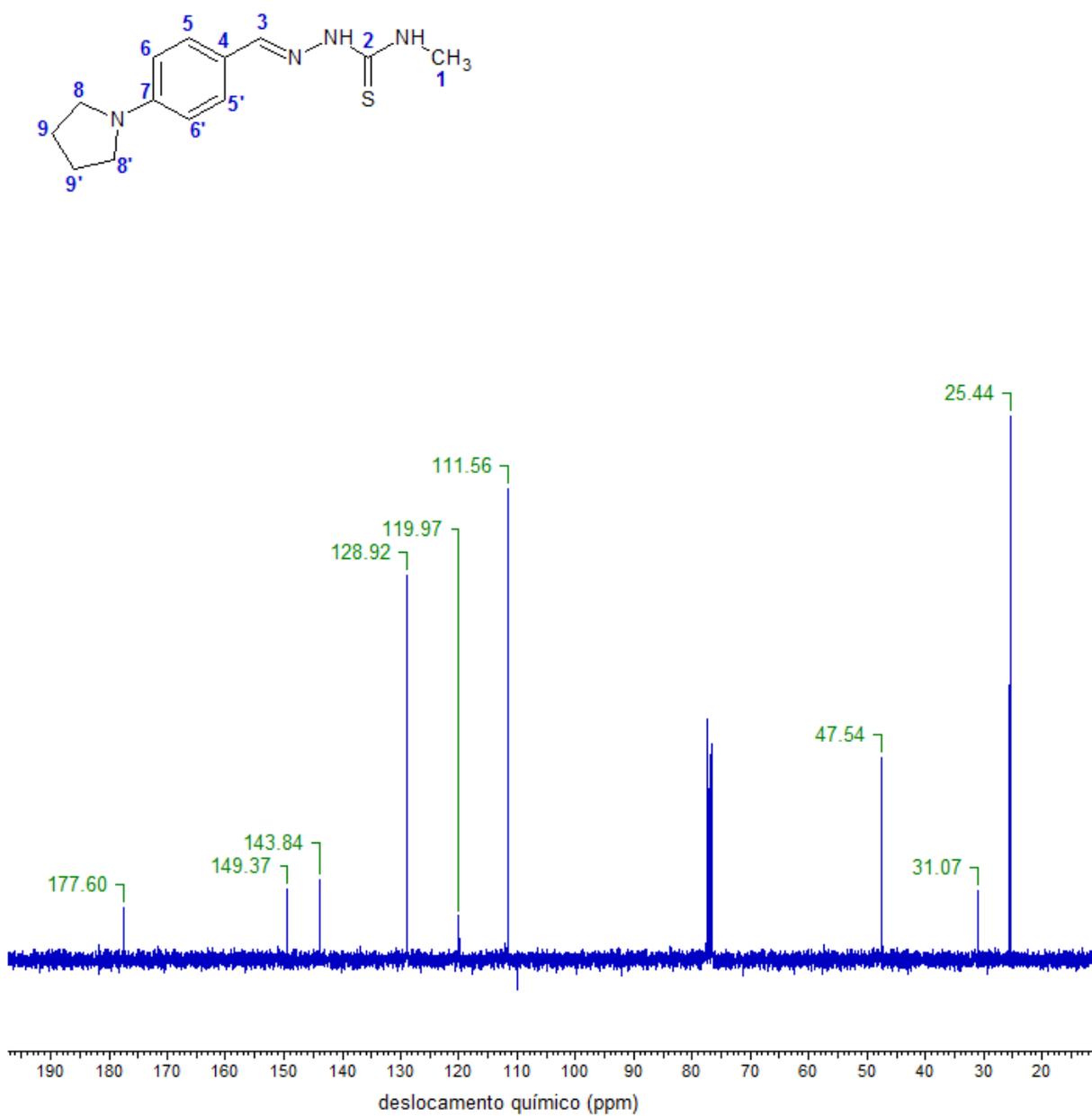
deslocamento químico (ppm)



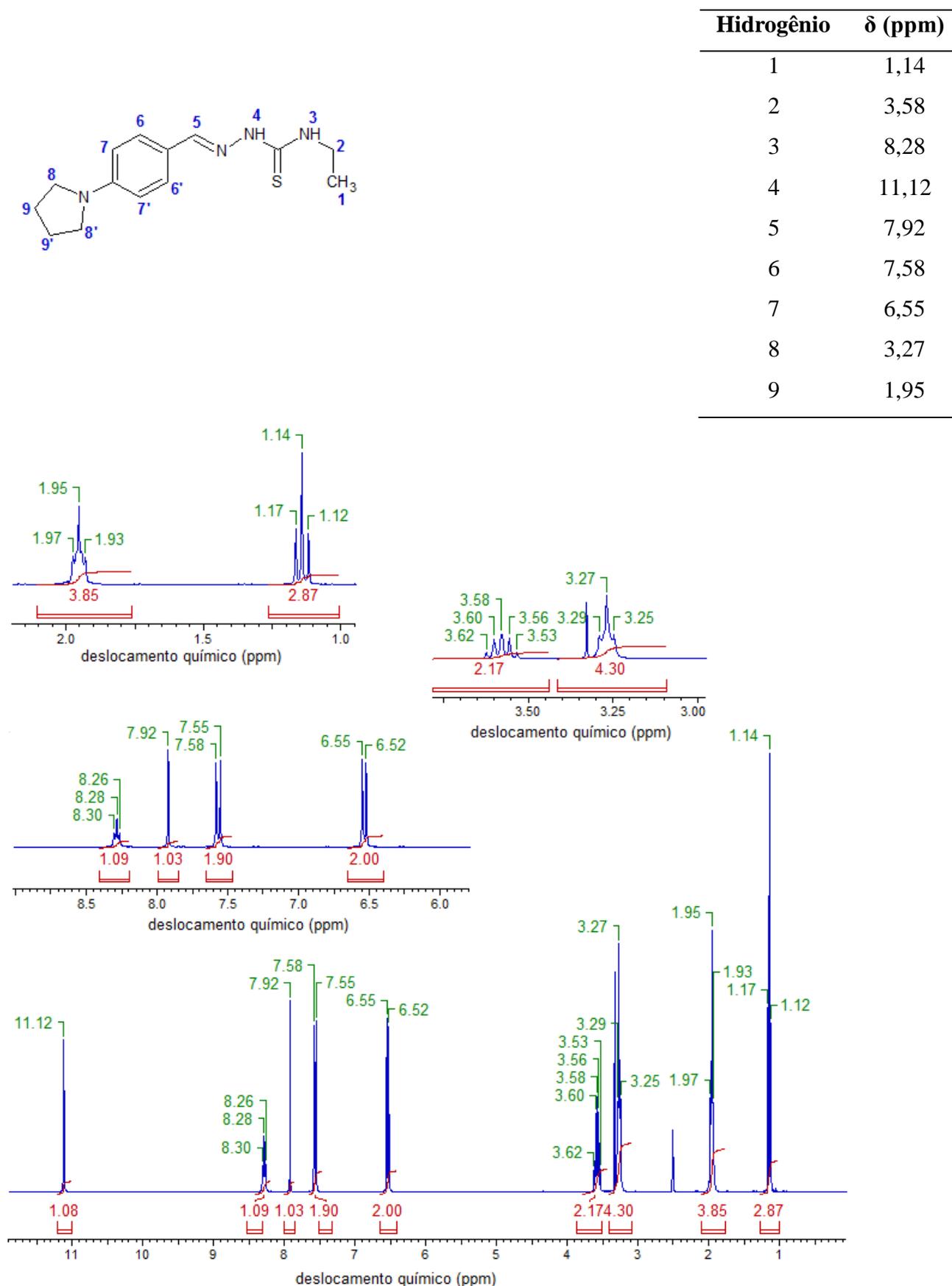
deslocamento químico (ppm)



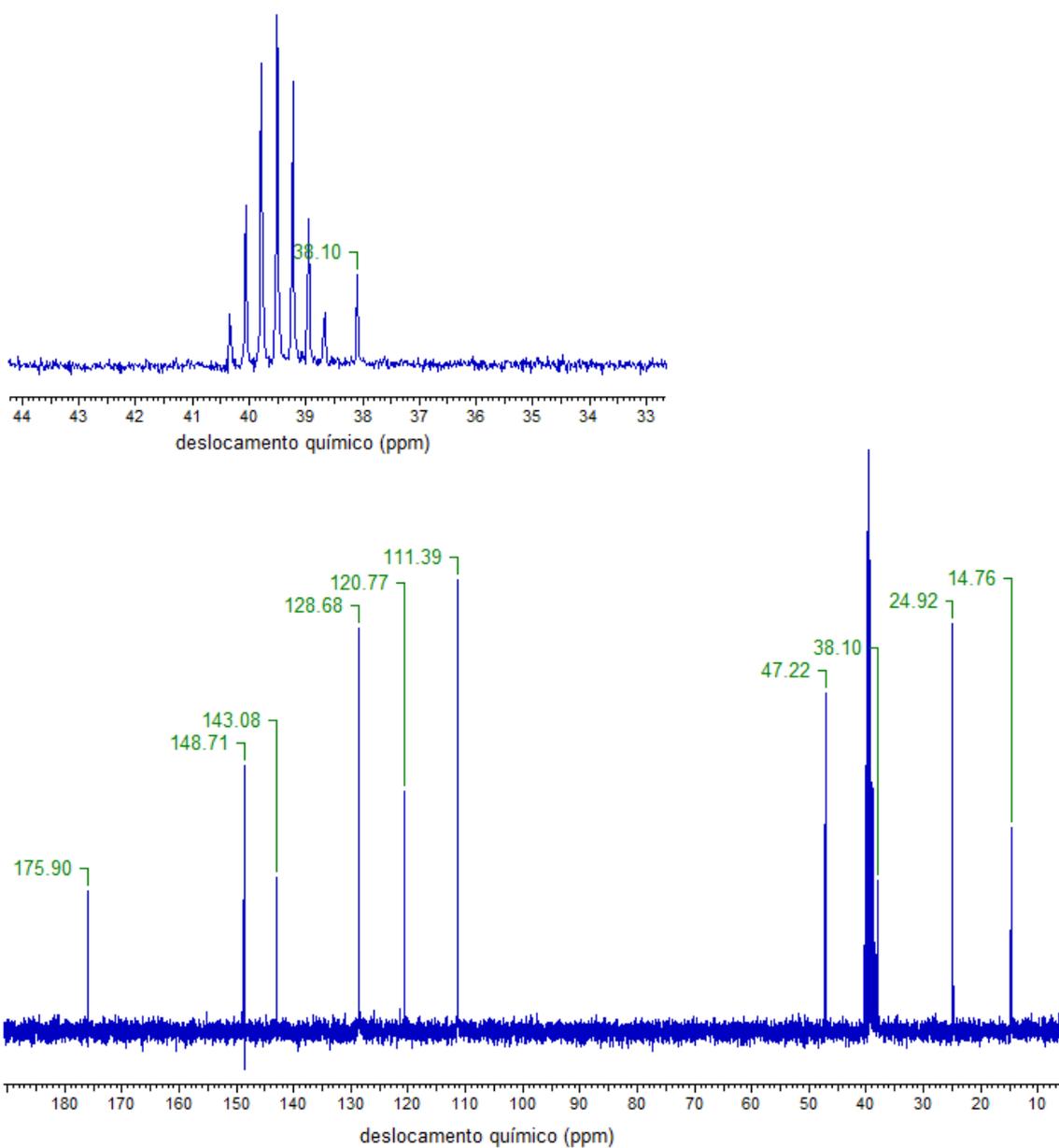
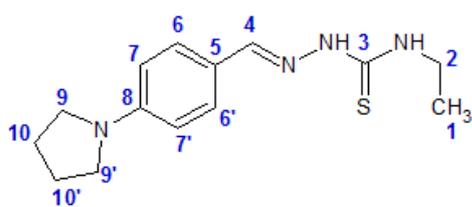
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2b**) ($\text{CDCl}_3/300\text{ MHz}$).



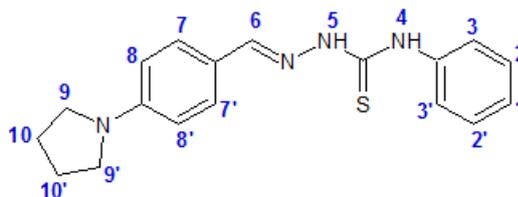
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 3-metil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2b**) ($\text{CDCl}_3/75\text{ MHz}$).



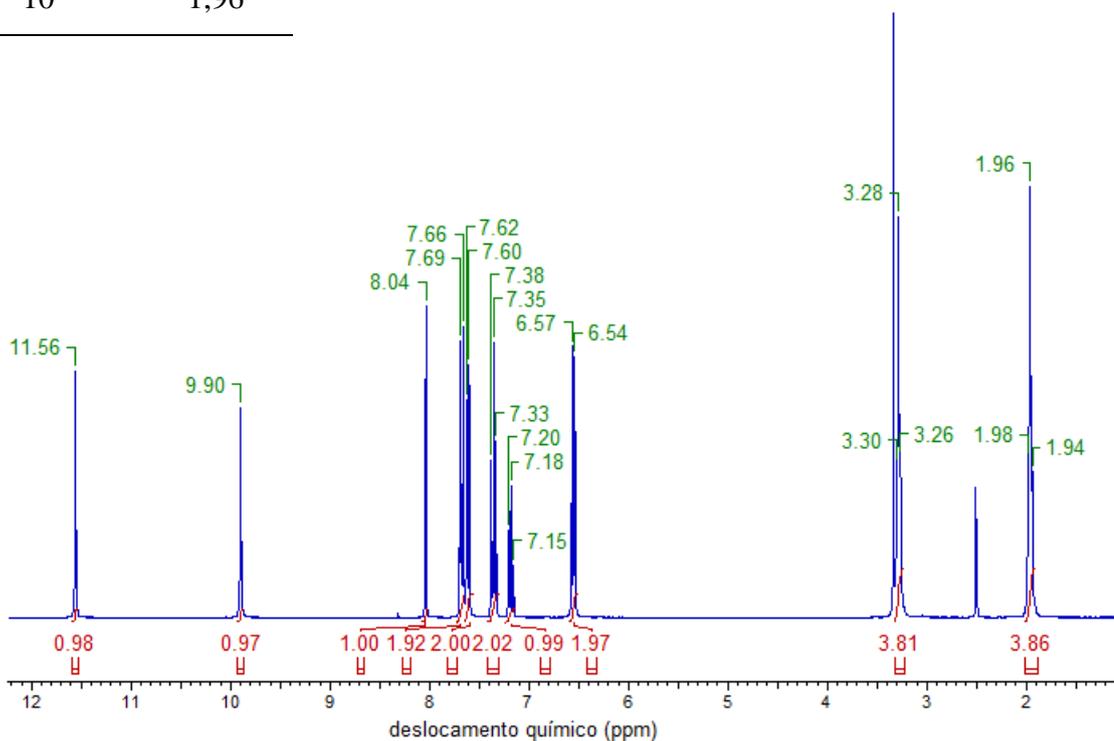
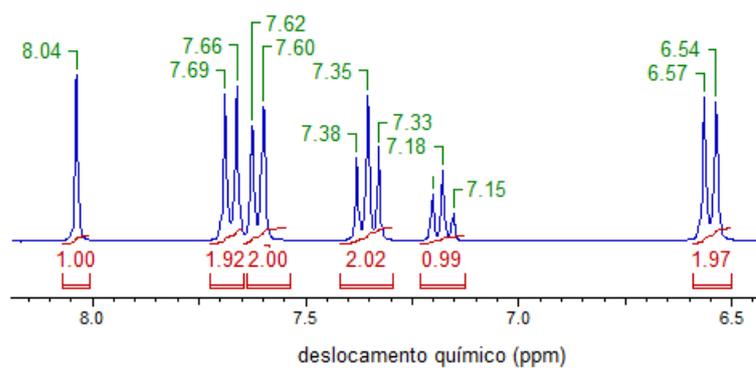
Espectro 5. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2c**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



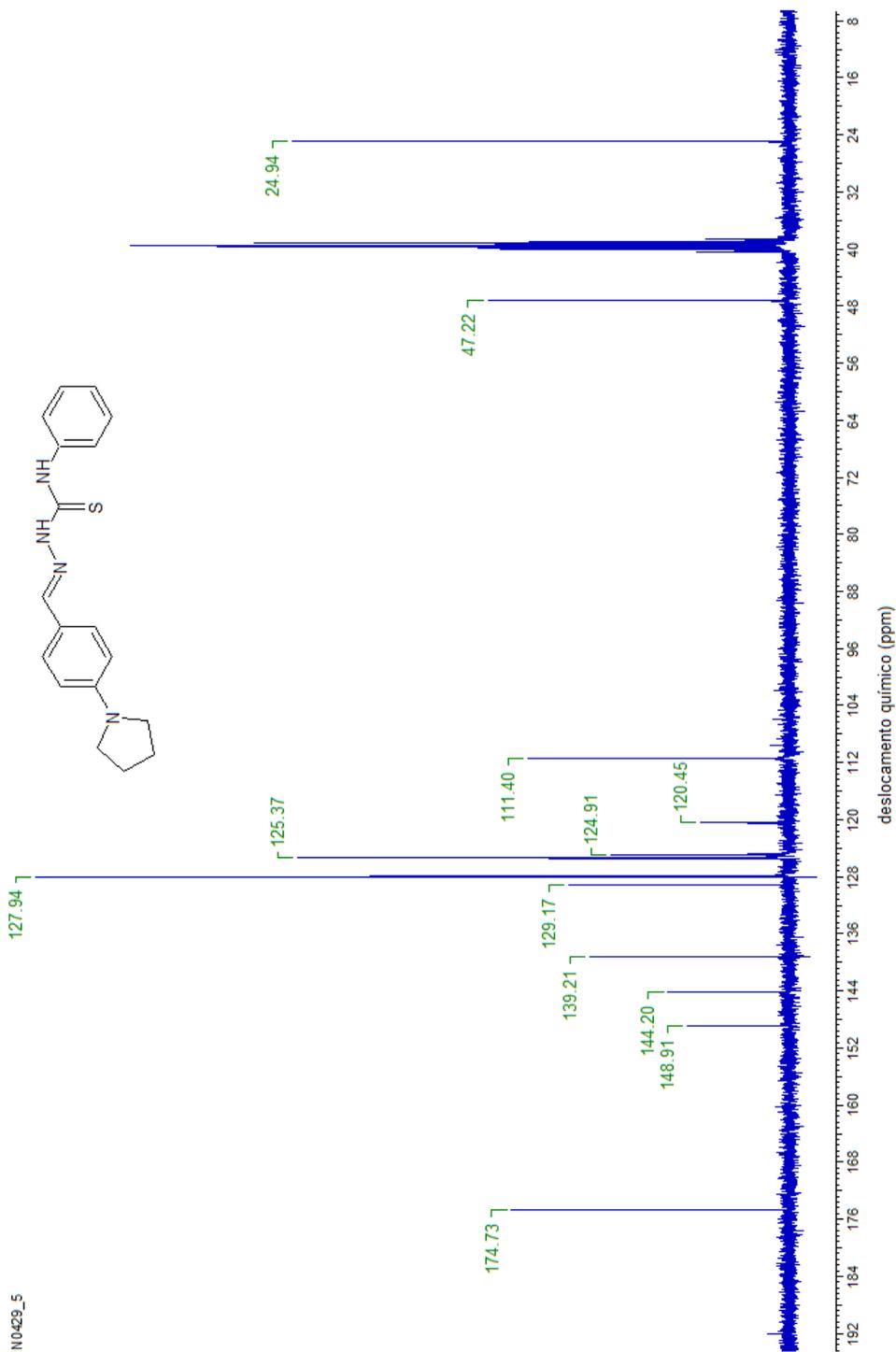
Espectro 6. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2c**) ($\text{DMSO-d}_6/75$ MHz).



Hidrogênio	δ (ppm)
1	7,18
2	7,35
3	7,62
4	9,90
5	11,56
6	8,04
7	7,69
8	6,57
9	3,28
10	1,96

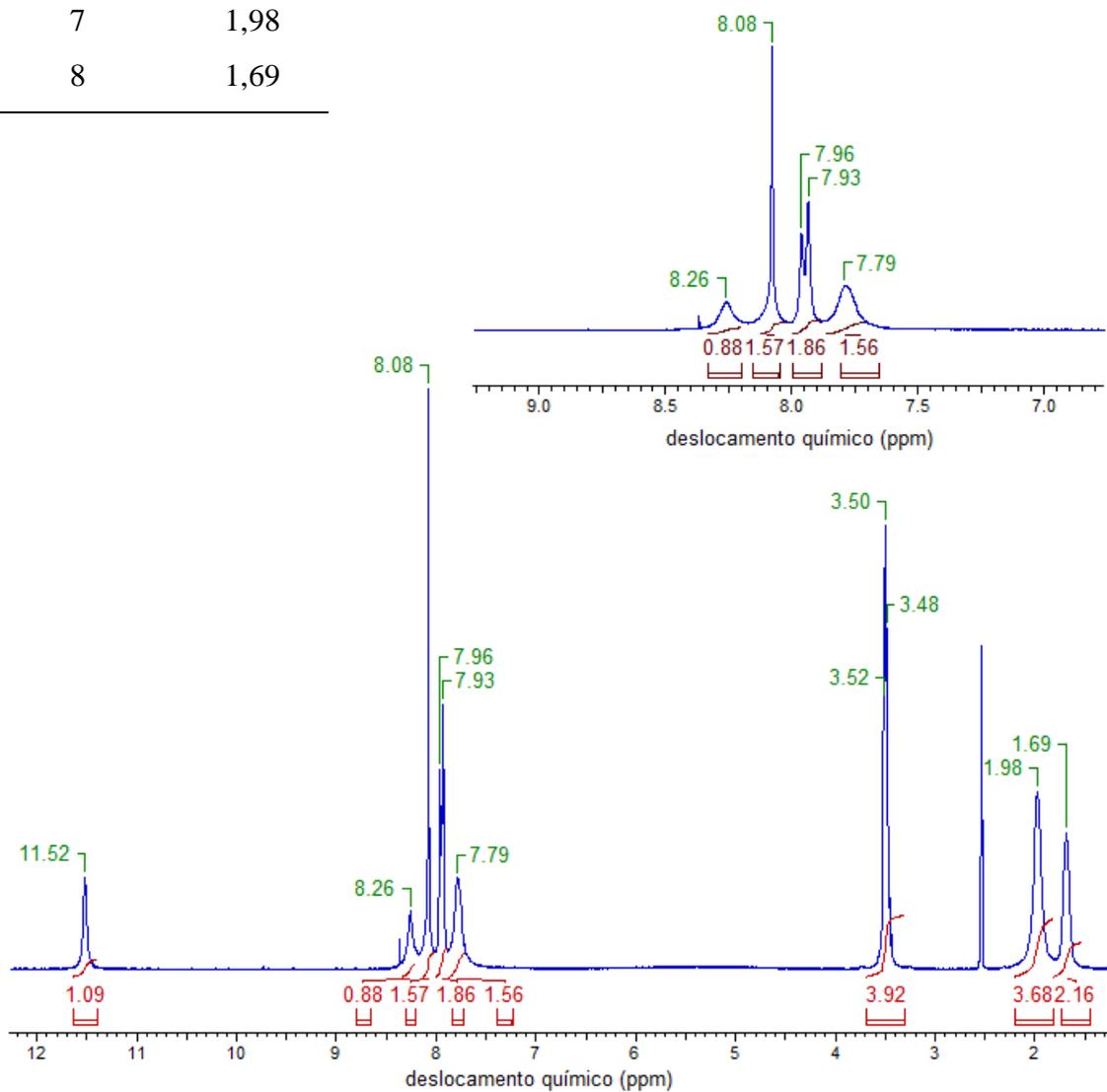
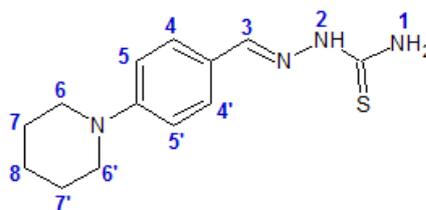


Espectro 7. Espectro de RMN ^1H para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2d**) (DMSO- d_6 /300 MHz).

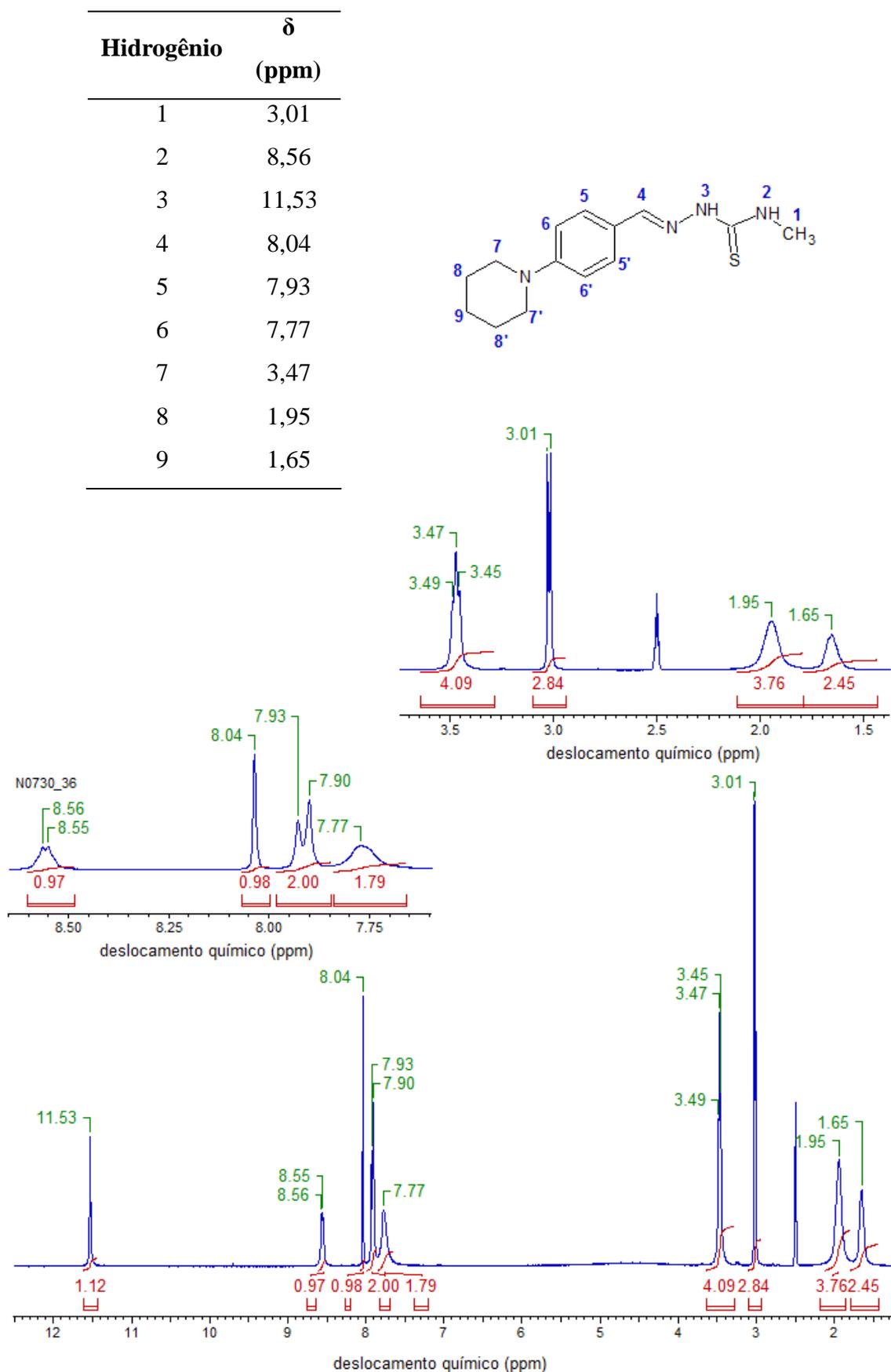


Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(pirrolidín-1-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2d**) (DMSO- d_6 /75 MHz).

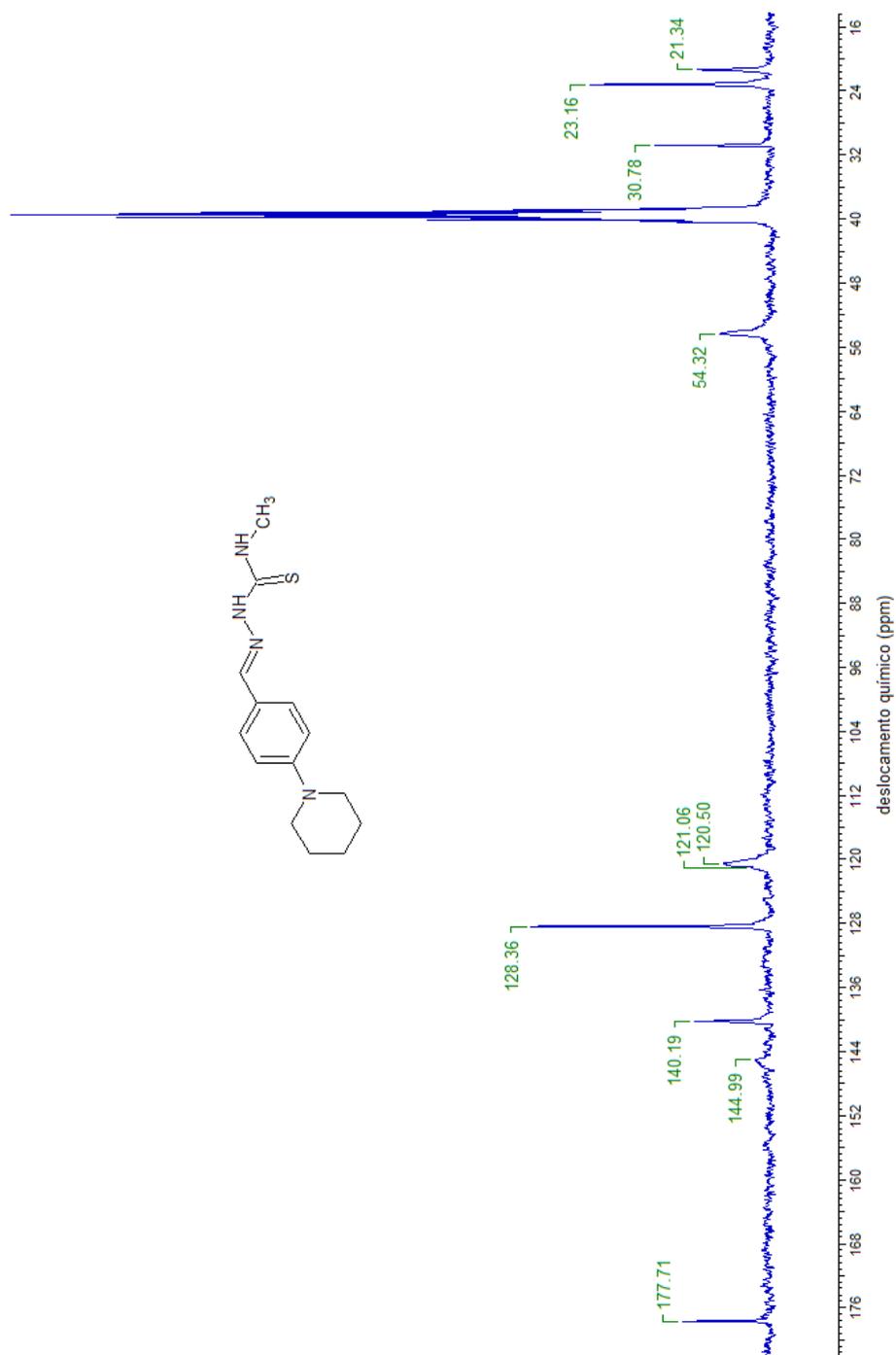
Hidrogênio	δ (ppm)
1	8,08
2	11,52
3	8,26
4	7,93
5	7,79
6	3,50
7	1,98
8	1,69



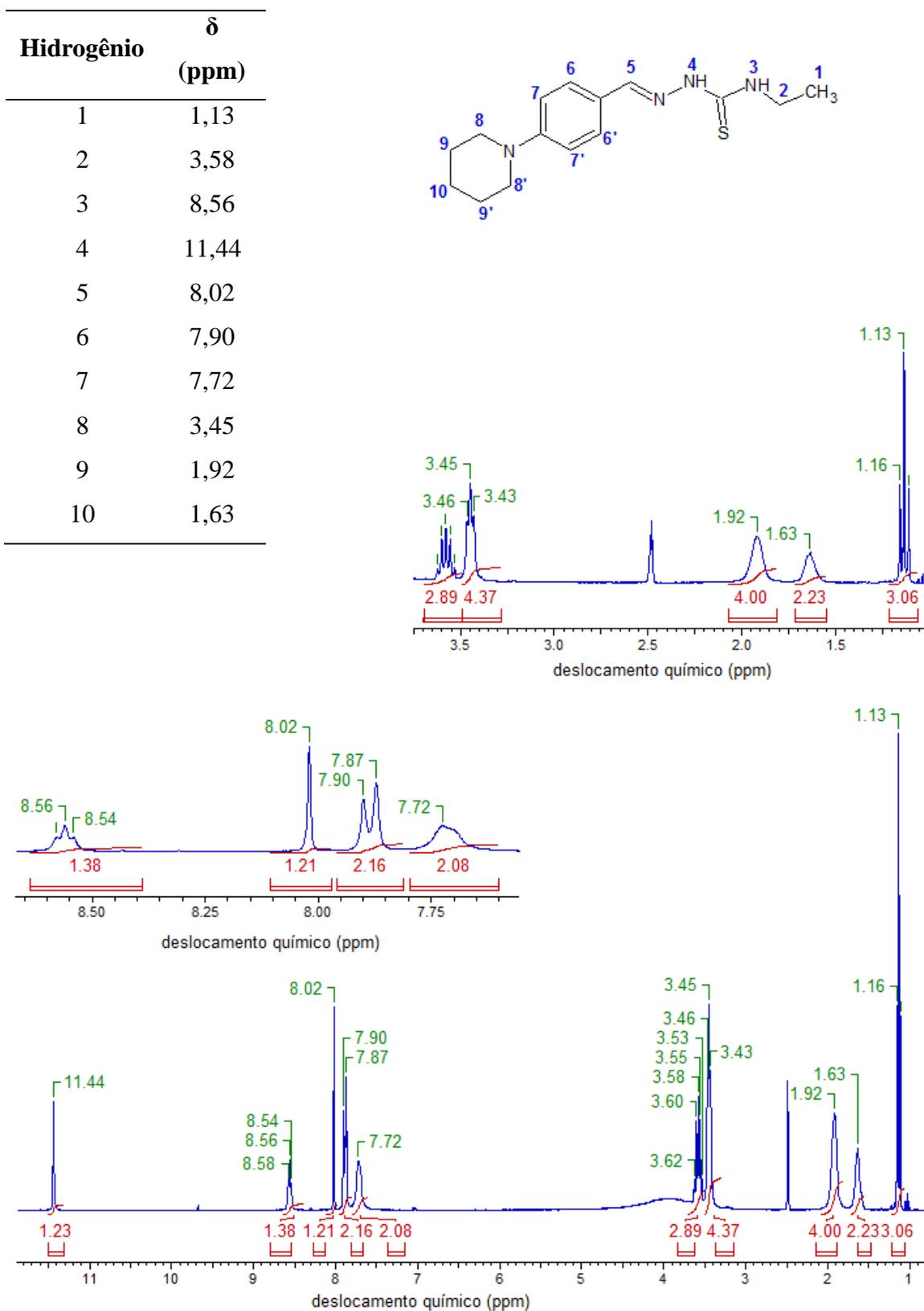
Espectro 9. Espectro de RMN ^1H do derivado [(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil}metilideno}amino]tiouréia (**2e**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



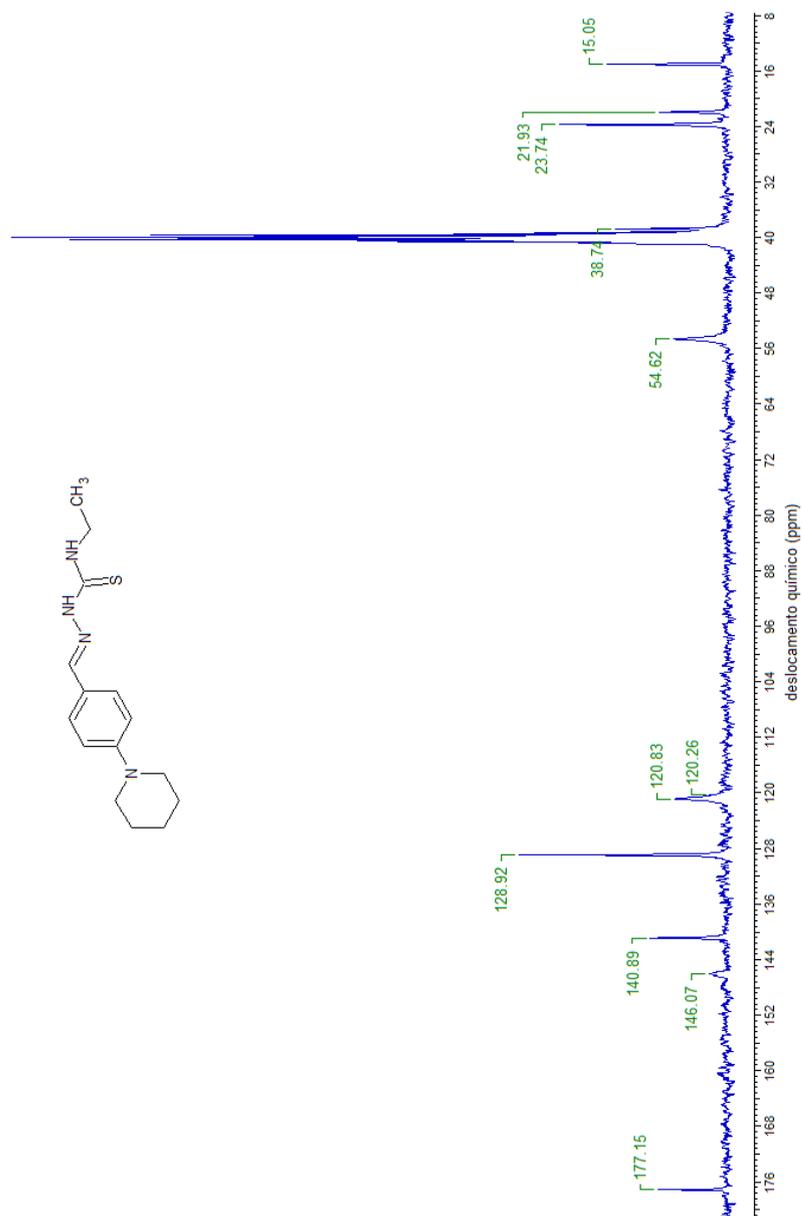
Espectro 10. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2f**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



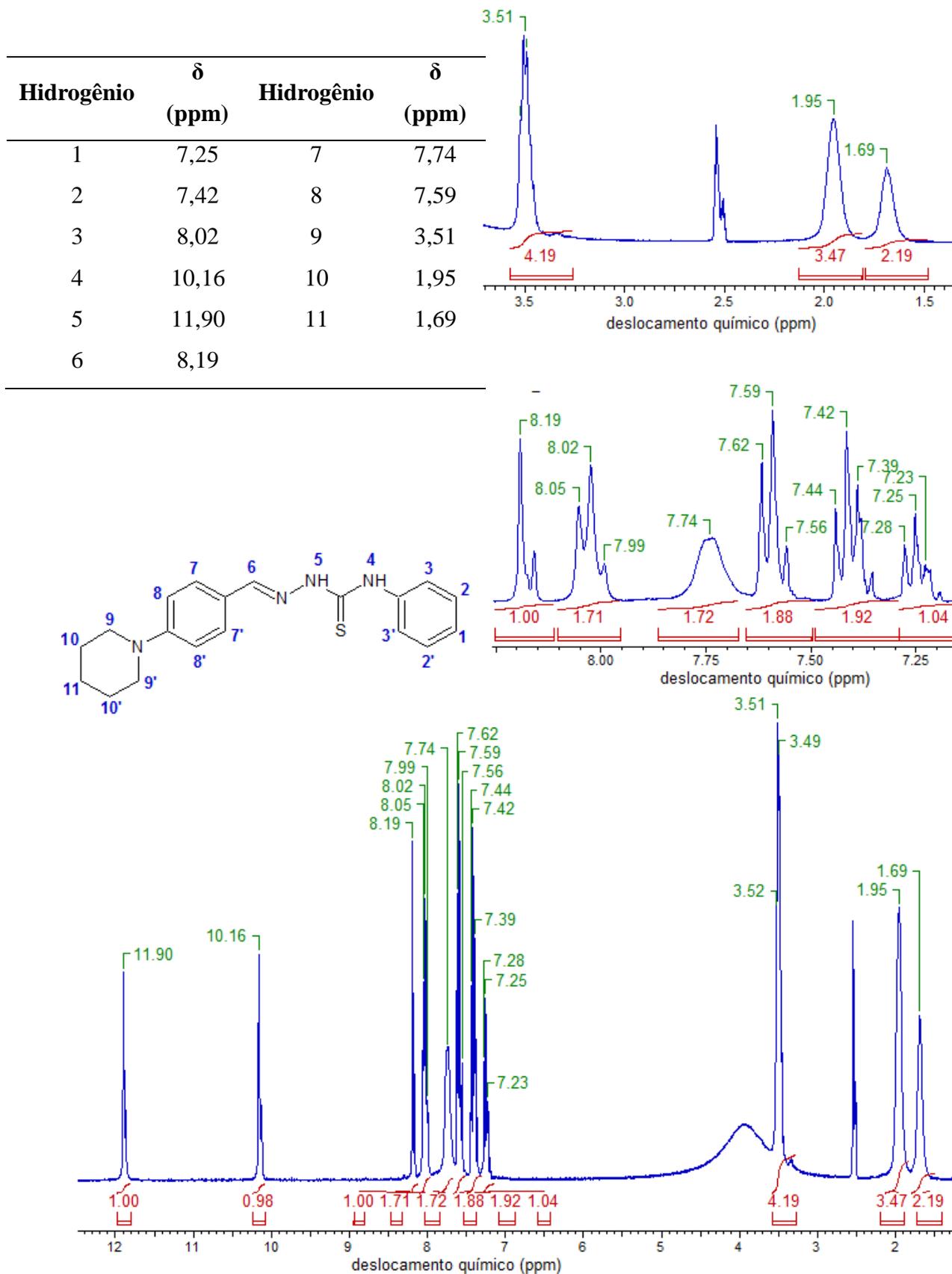
Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 3-metil-1-[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2f**) (DMSO- d_6 /75 MHz).



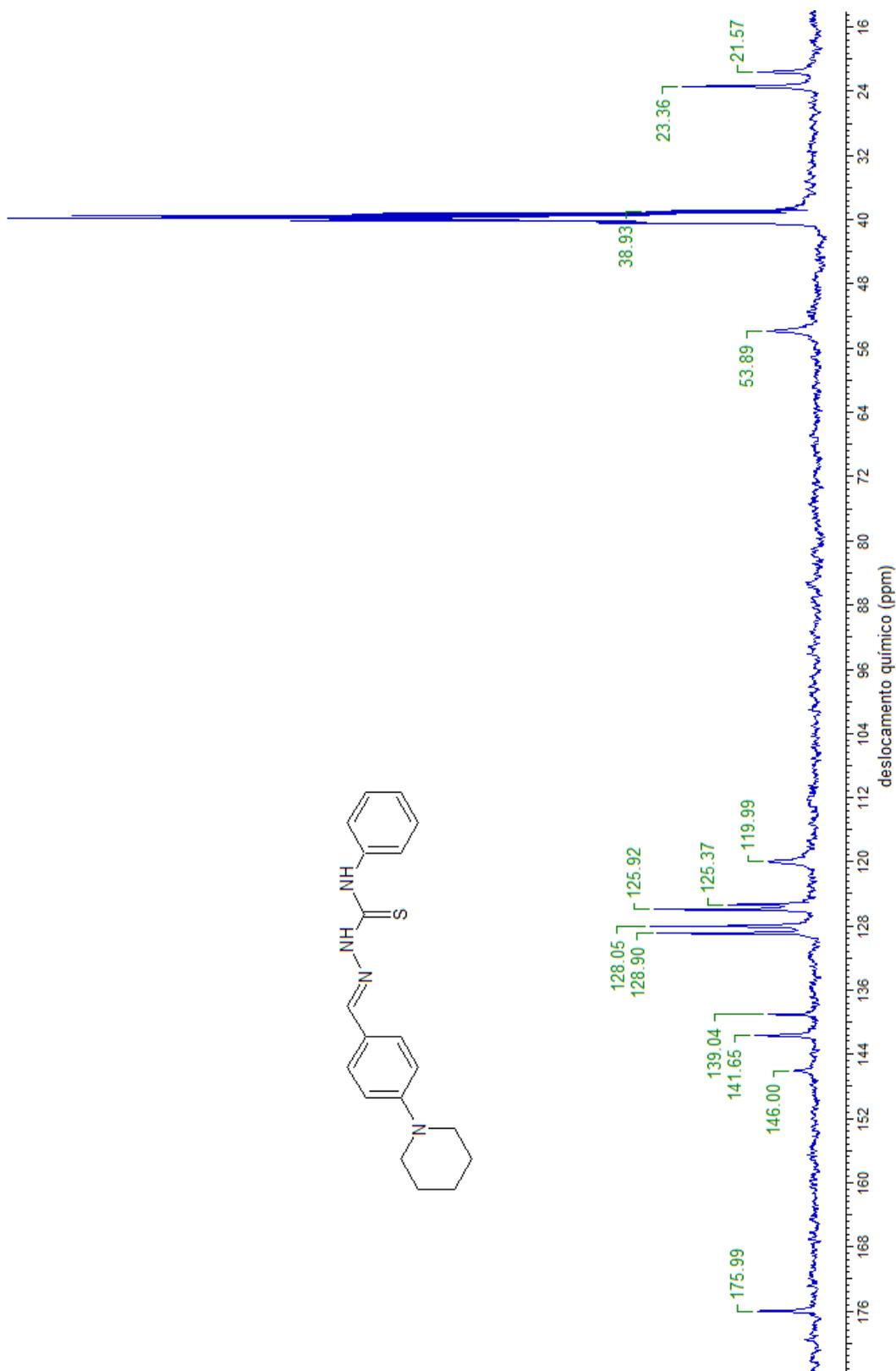
Espectro 12. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-etil-1-[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2g**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



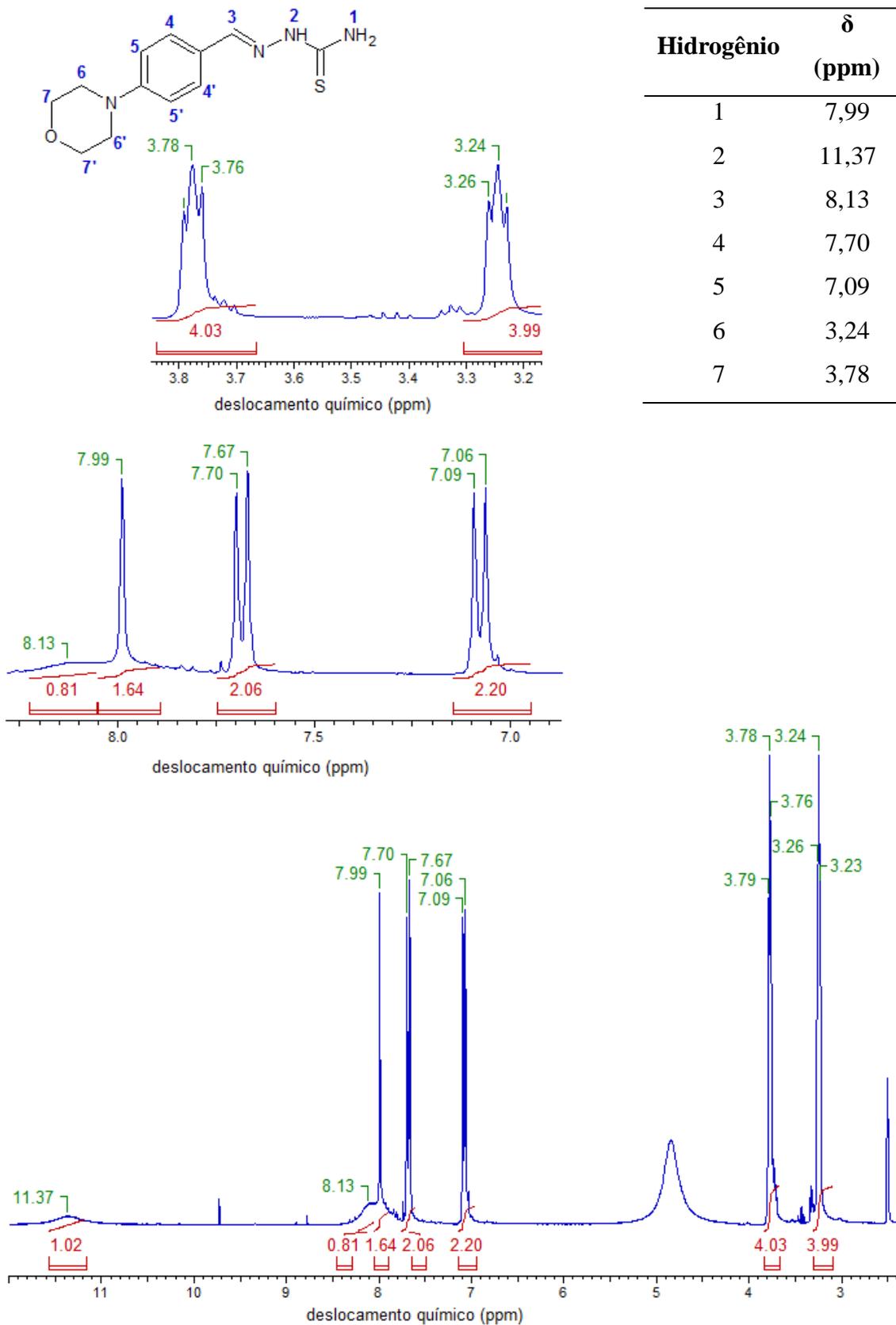
Espectro 13. Espectro de RMN ¹³C para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(piperidin-1-yl)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2g**) (DMSO-d₆/75 MHz).



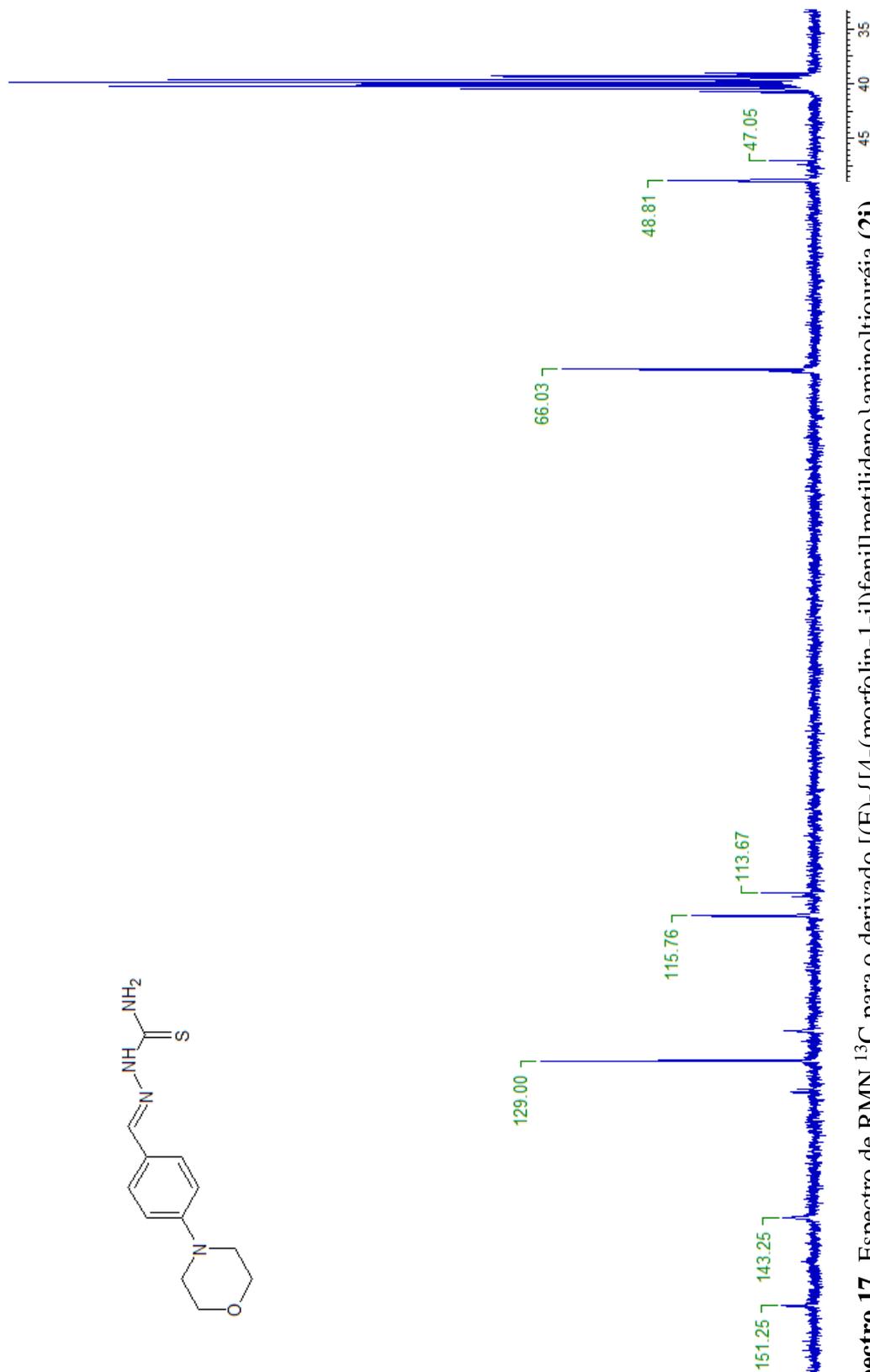
Espectro 14. Espectro de RMN ^1H para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2h**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



Espectro 15. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tio

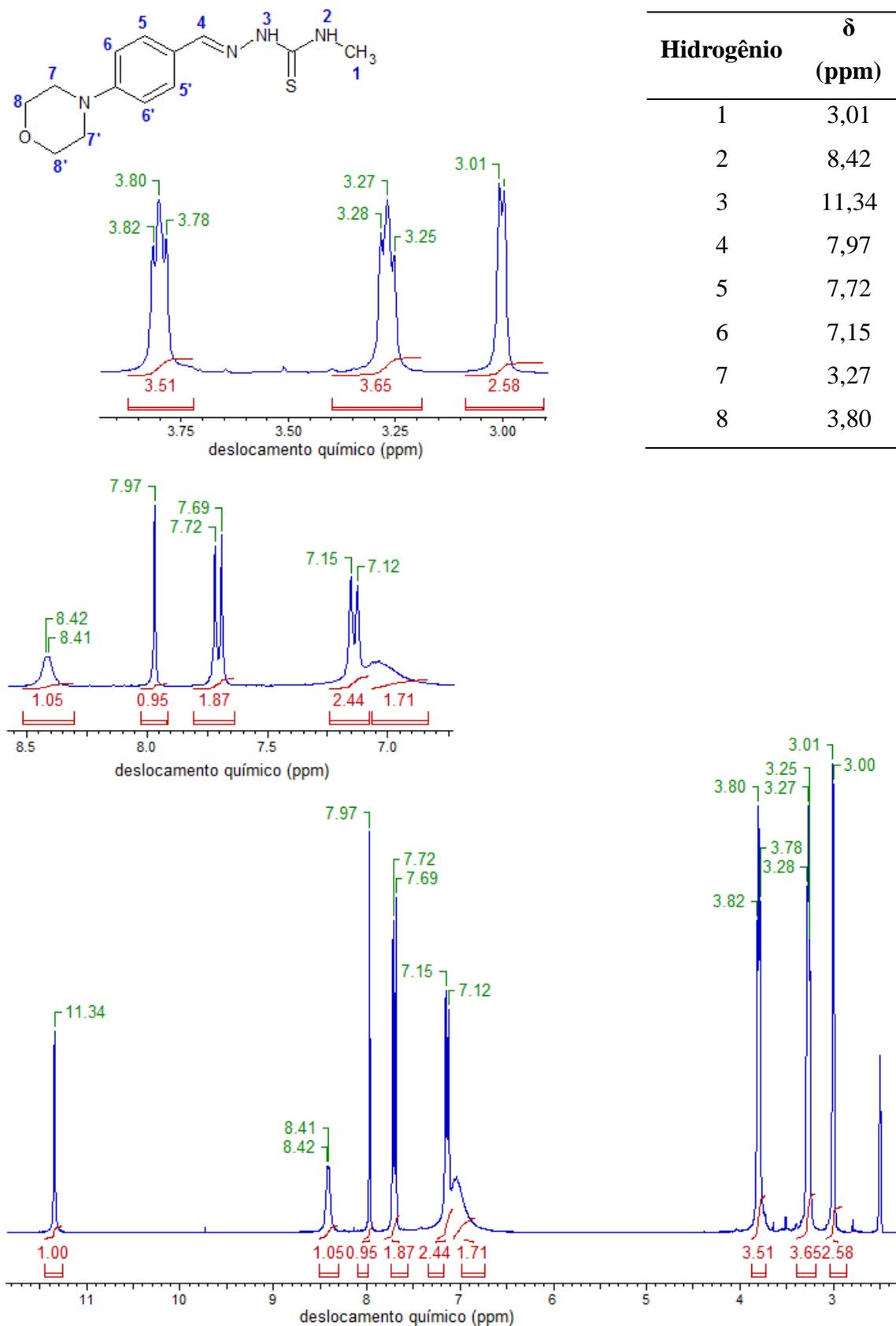


Espectro 16. Espectro de RMN ^1H para o derivado [(E)-{[4-(morfolin-1-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2i**) (DMSO- d_6 /300 MHz).

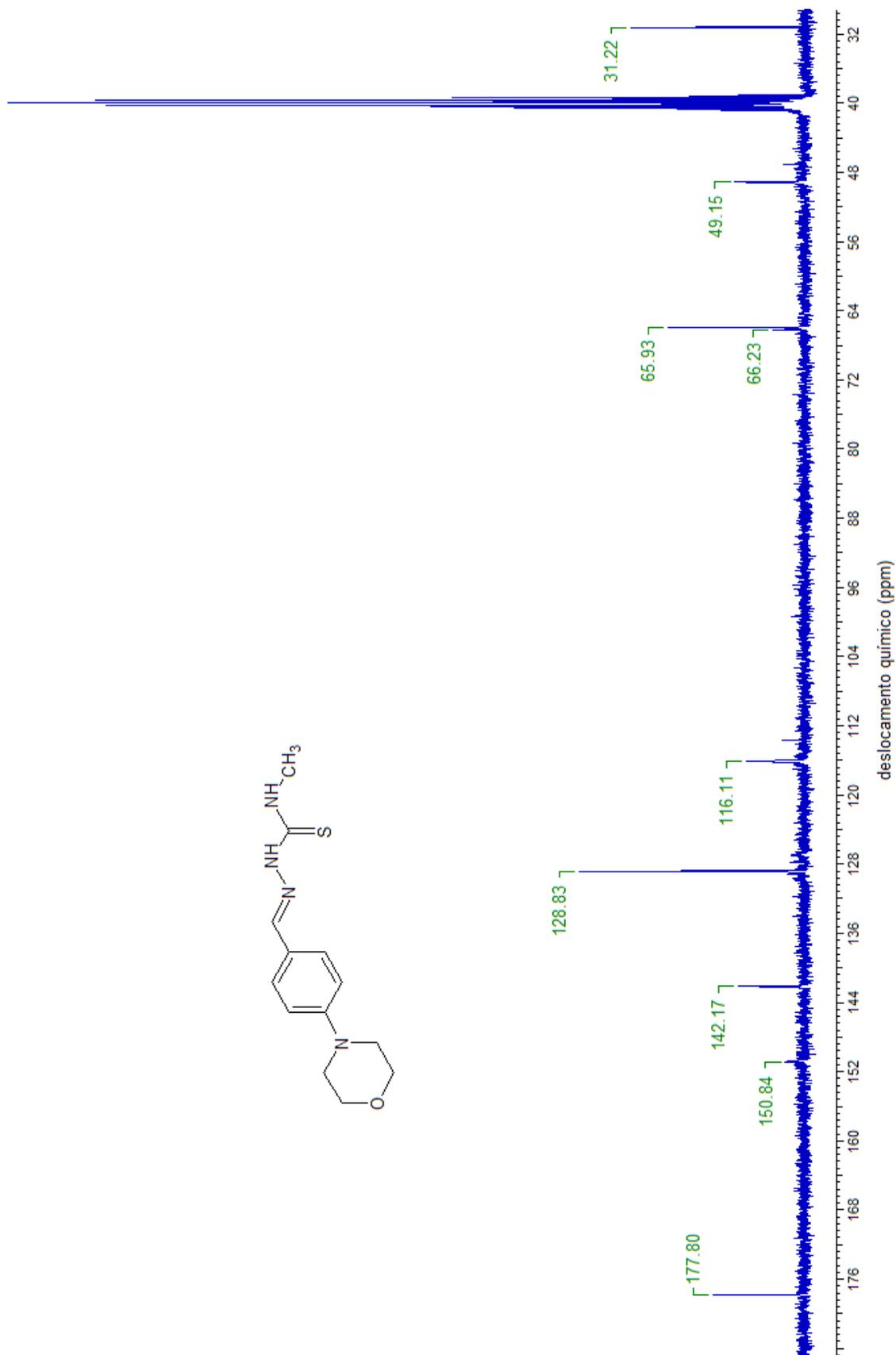


Espectro 17. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado [(E)-{[4-(morfolin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2i**)

($\text{DMSO-d}_6/75\text{ MHz}$).

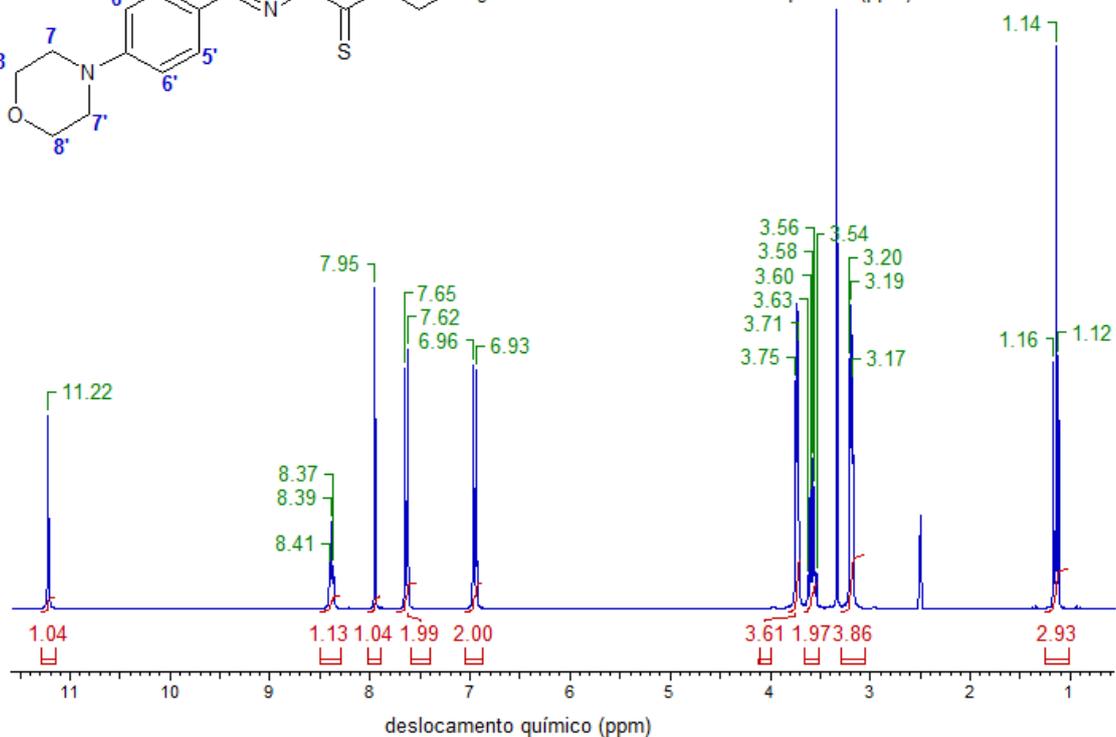
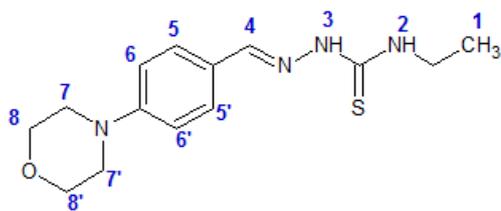
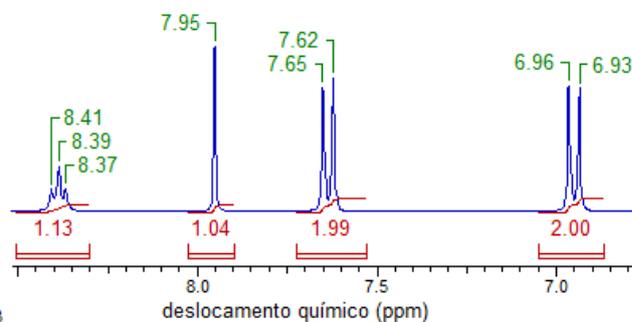
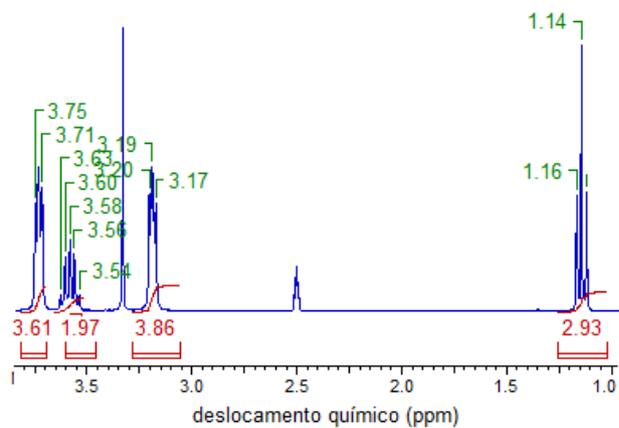


Espectro 18. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2j**) ($\text{DMSO-d}_6/300\text{ MHz}$).

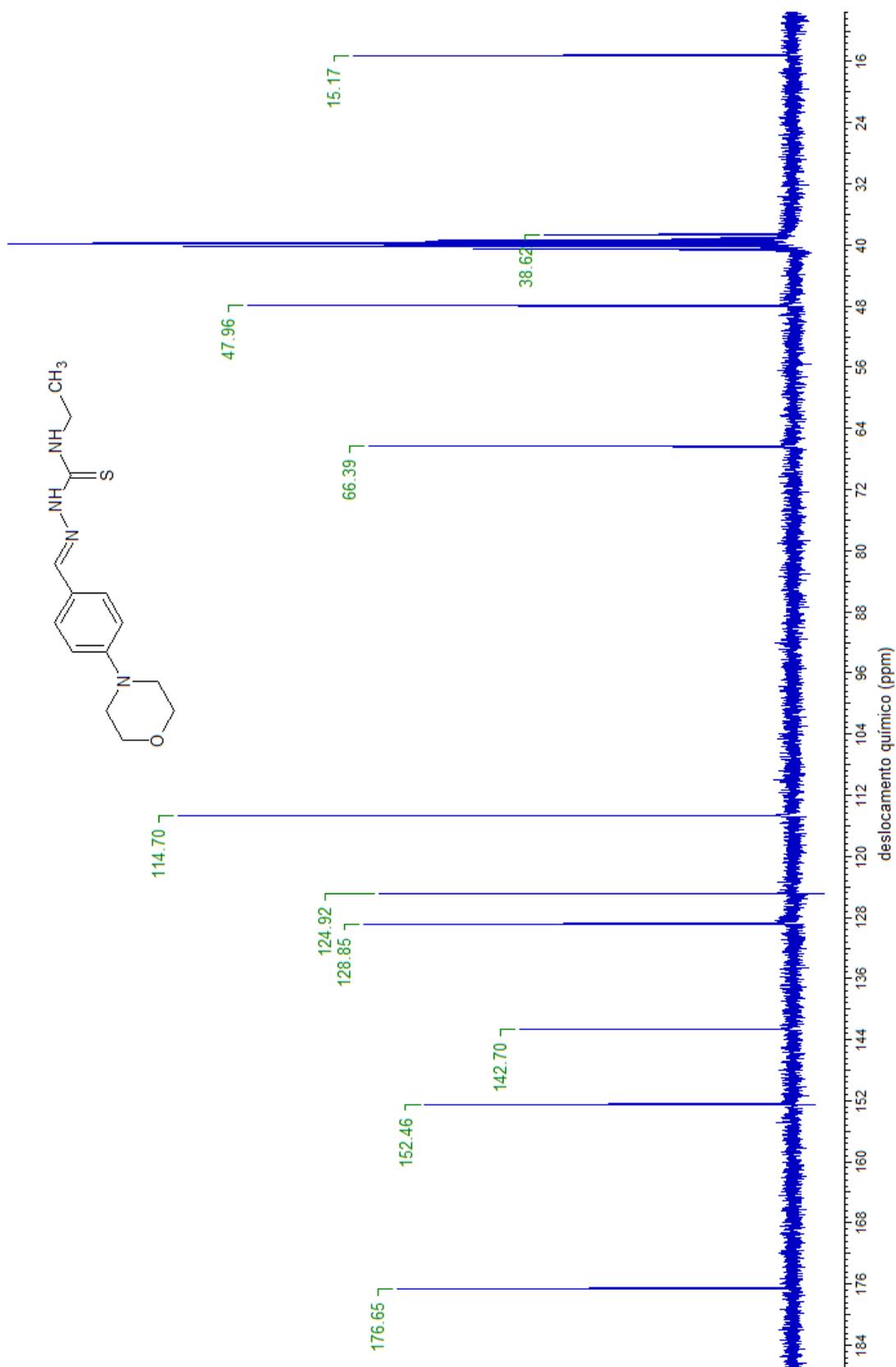


Espectro 19. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-
il)fenil]metilideno}amino]tiouréa (**2j**) (DMSO- d_6 /75 MHz).

Hidrogênio	δ (ppm)
1	1,14
2	3,58
3	8,39
4	11,22
5	7,65
6	6,96
7	3,19
8	3,71

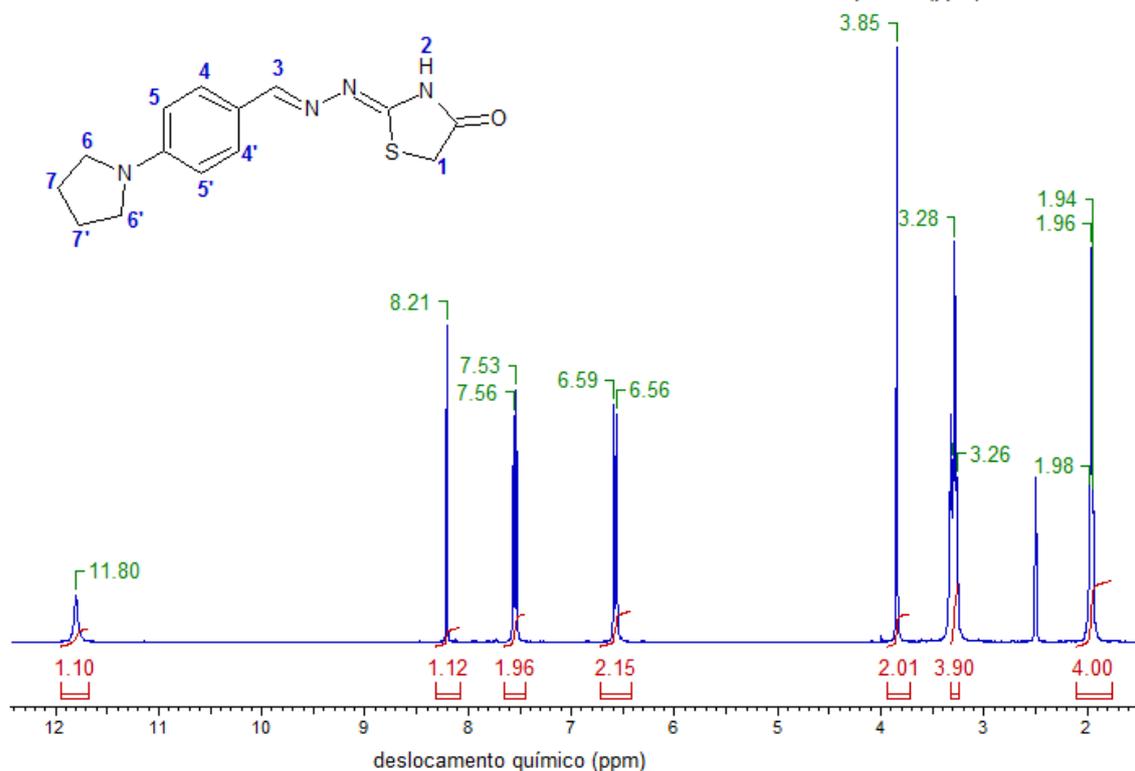
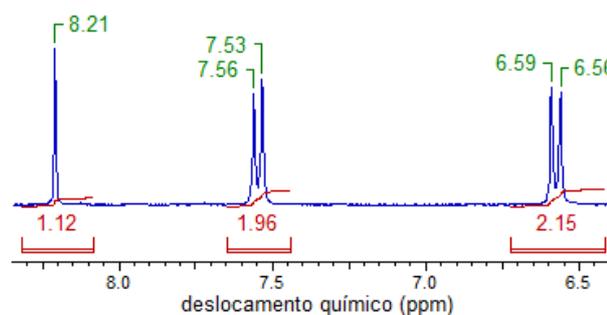
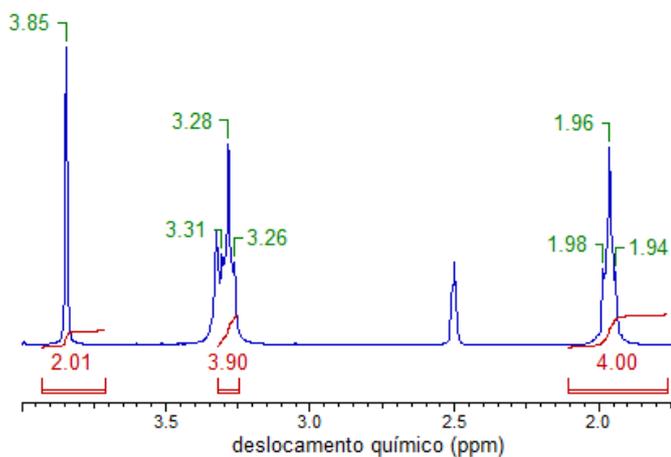


Espectro 20. Espectro de RMN ^1H para o derivado 3-etil-1-[(E)-{4-(morfolin-4-il)fenil}metilideno}amino]tiouréia (**2k**) (DMSO- d_6 /300 MHz).

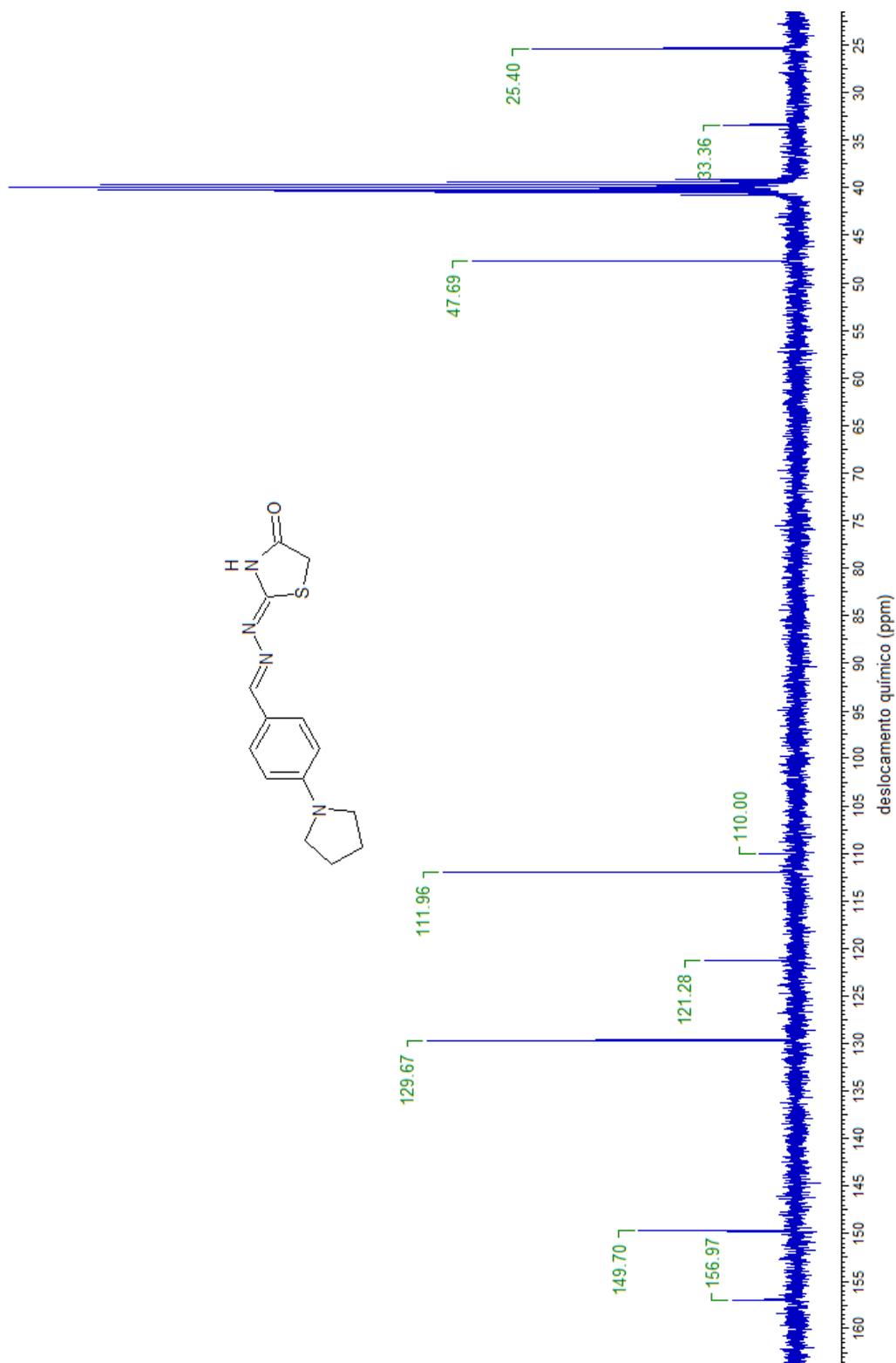


Espectro 21. Espectro de RMN ¹³C para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-
id)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2k**) (DMSO-d₆/75 MHz).

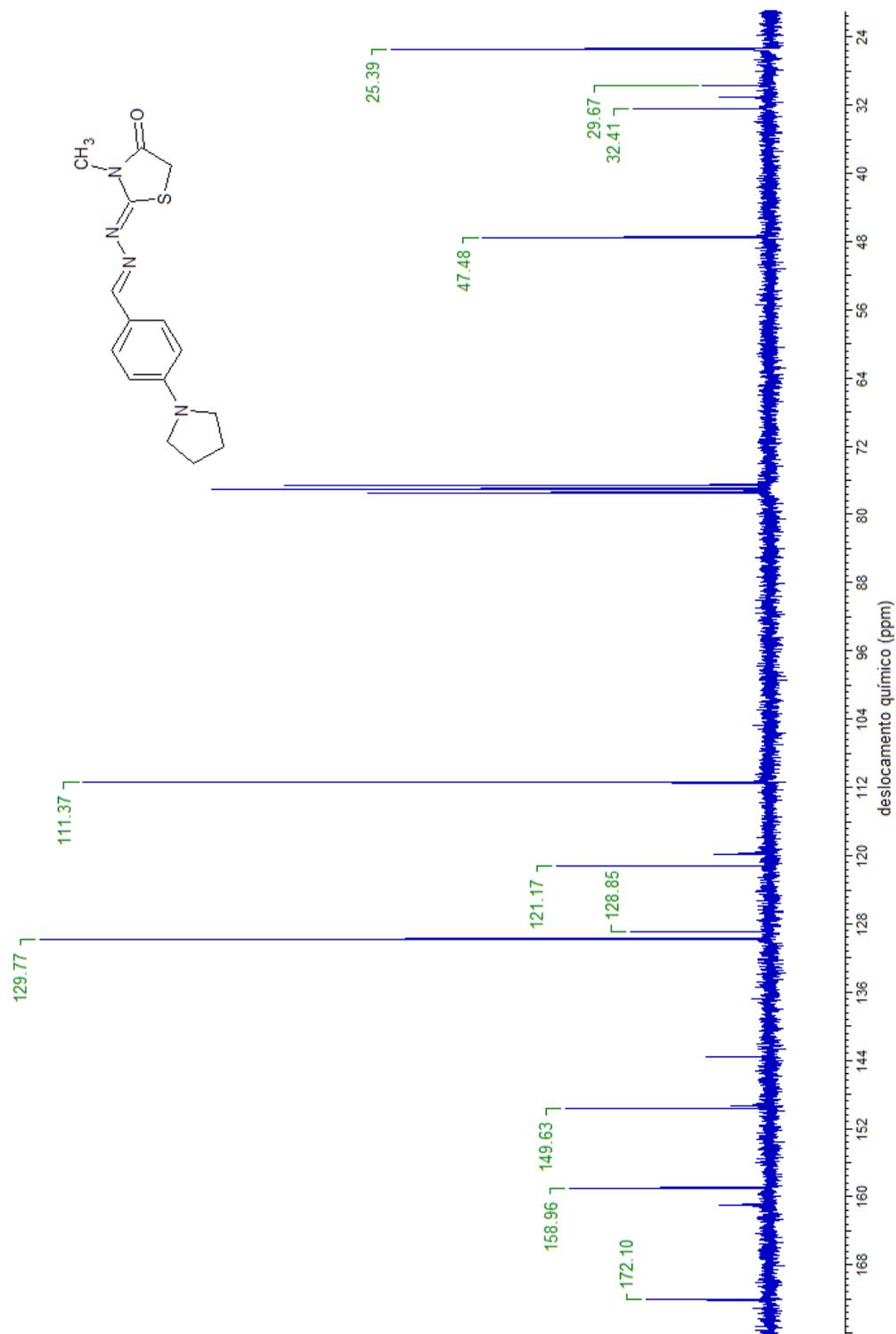
Hidrogênio	δ (ppm)
1	3,85
2	11,80
3	8,21
4	7,56
5	6,59
6	3,28
7	1,96



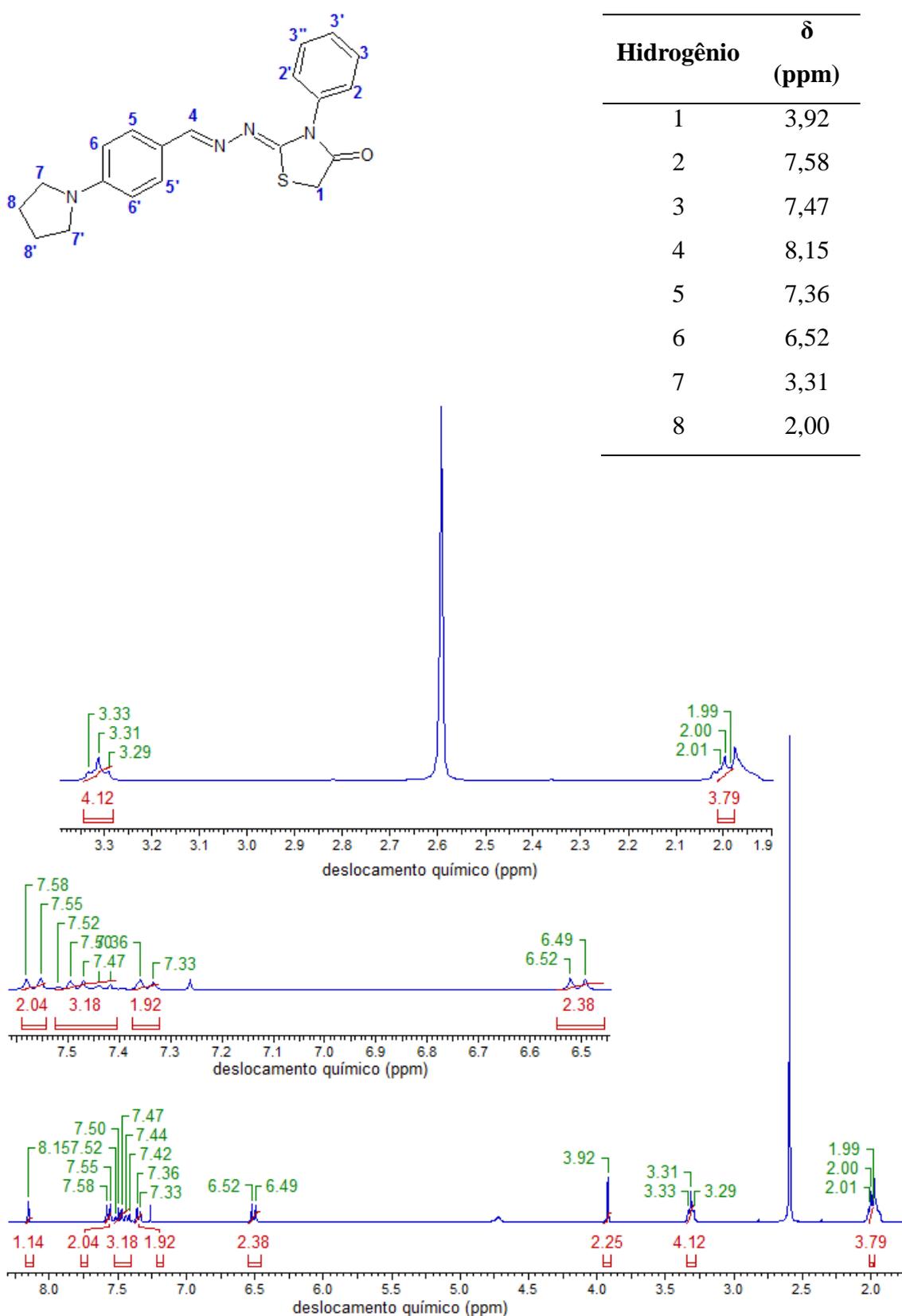
Espectro 24. Espectro de RMN ^1H para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3a**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



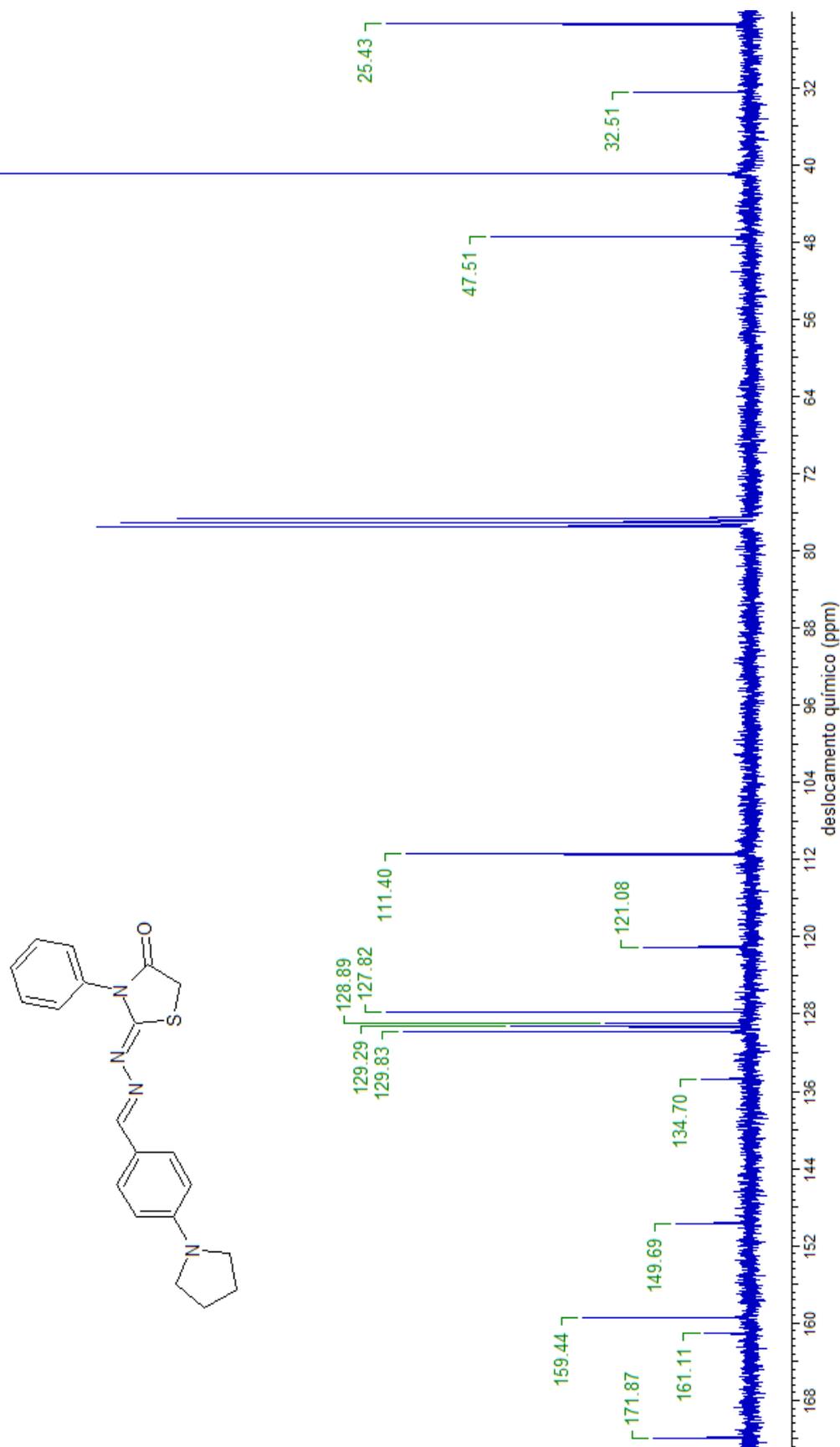
Espectro 25. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3a**) ($\text{DMSO-d}_6/75\text{ MHz}$).



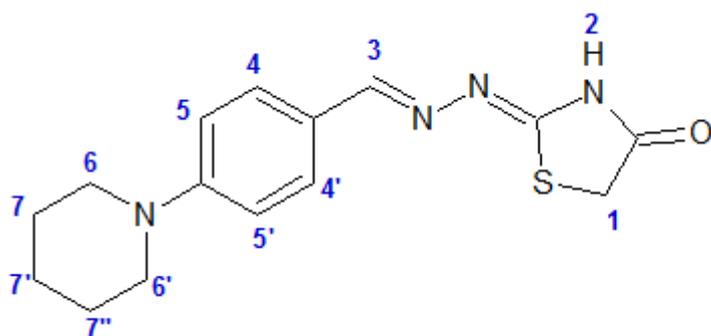
Espectro 27. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3b**) ($\text{CDCl}_3/75\text{ MHz}$).



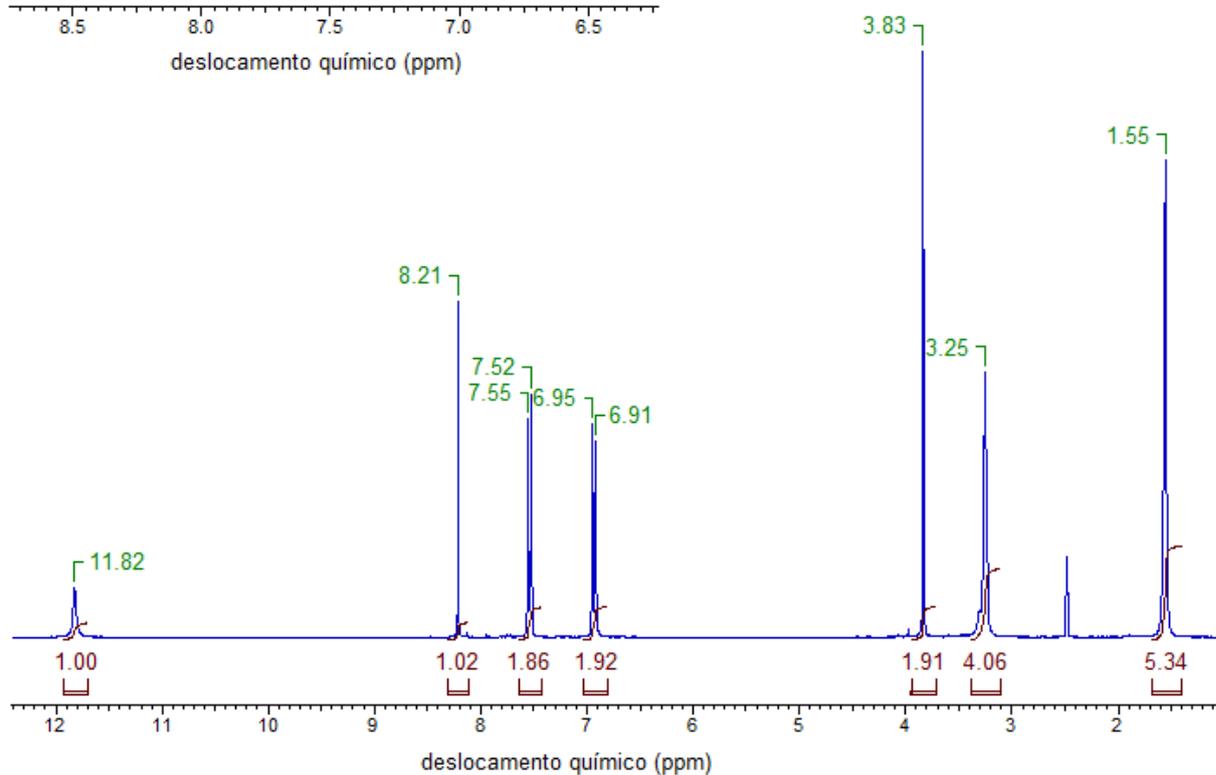
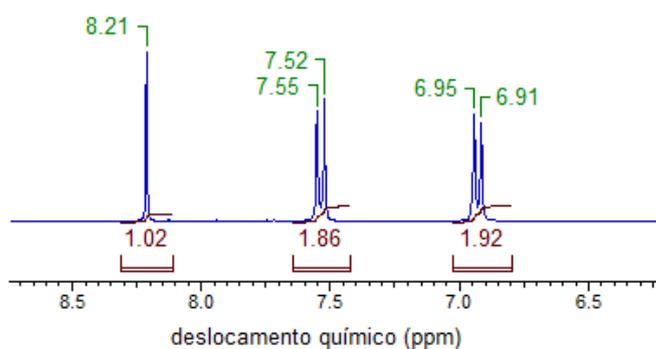
Espectro 30. Espectro de RMN ^1H para o derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



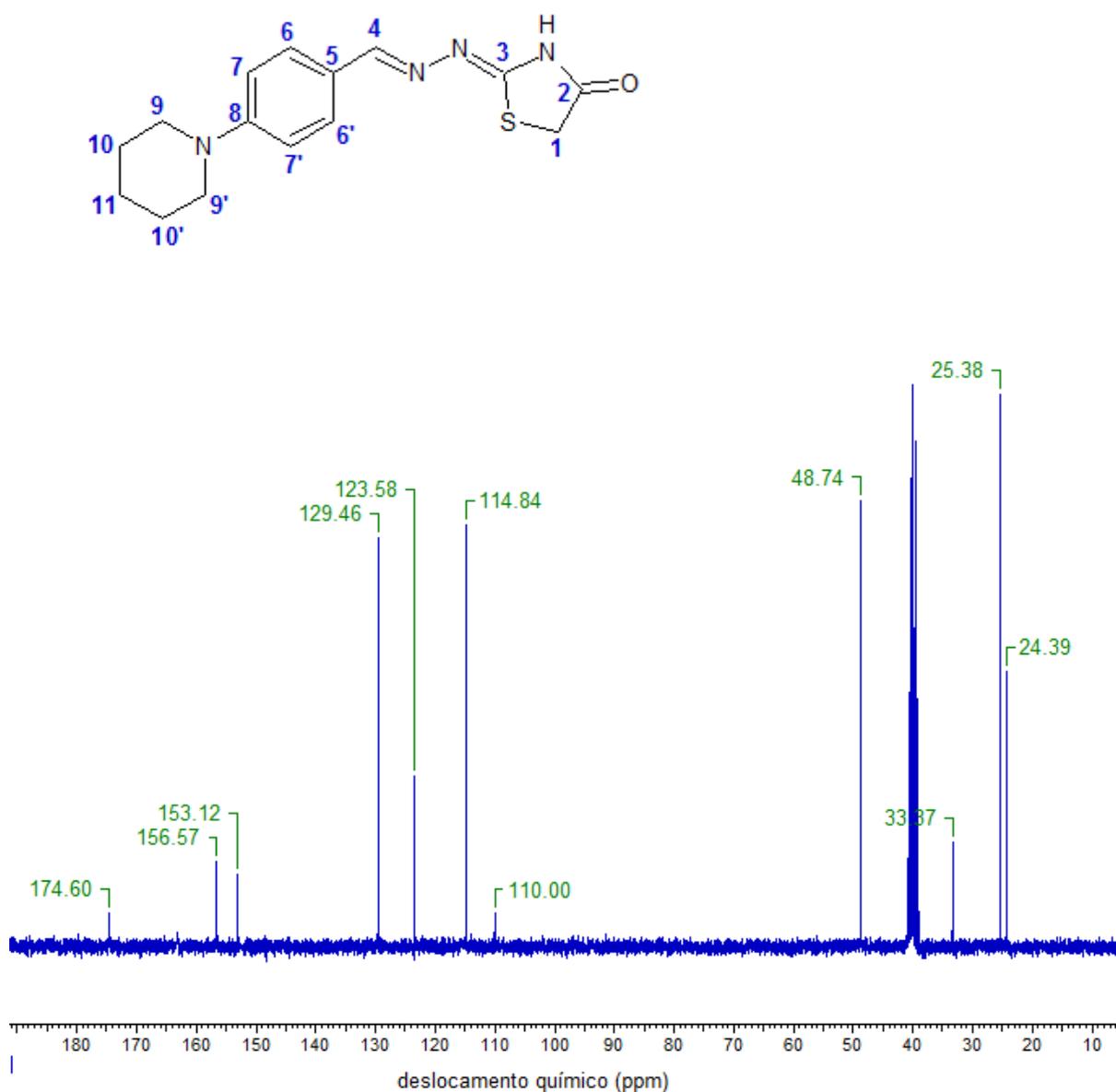
Espectro 31. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metileno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**) ($\text{DMSO-}d_6/75$ MHz).



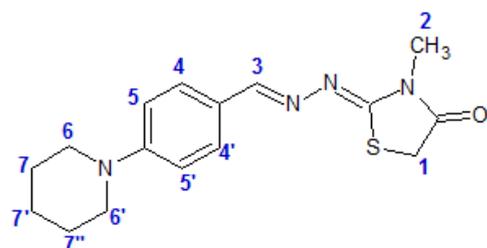
Hidrogênio	δ (ppm)
1	3,83
2	11,82
3	8,21
4	7,52
5	6,91
6	3,25
7	1,55



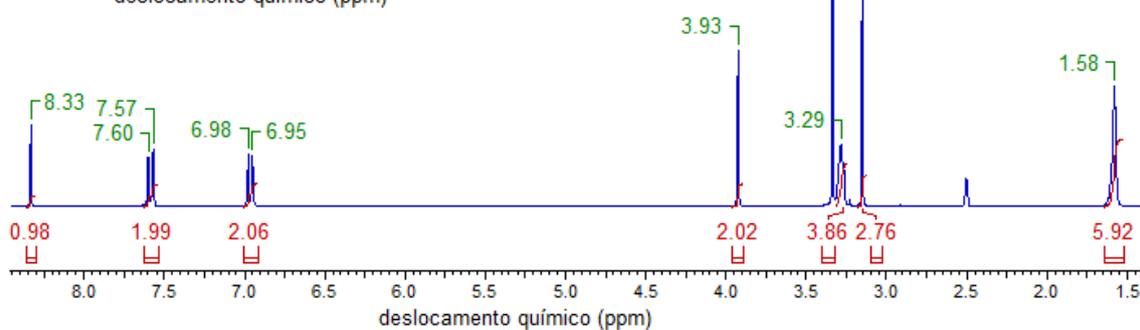
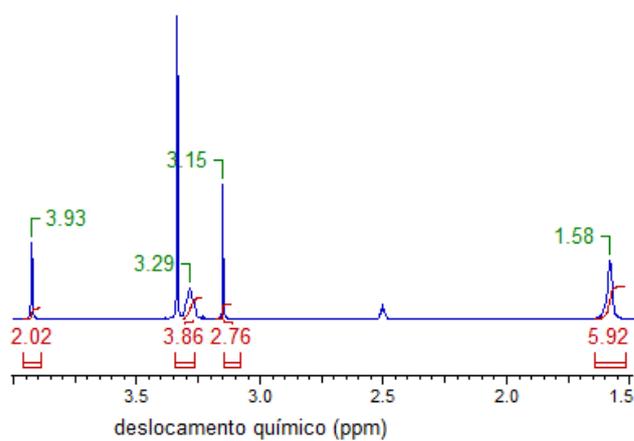
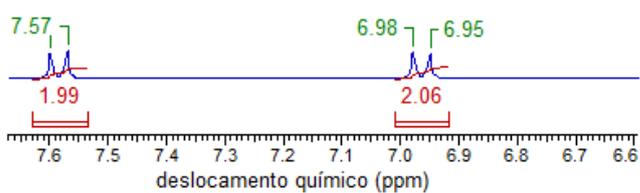
Espectro 32. Espectro de RMN ^1H do derivado (2Z)-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



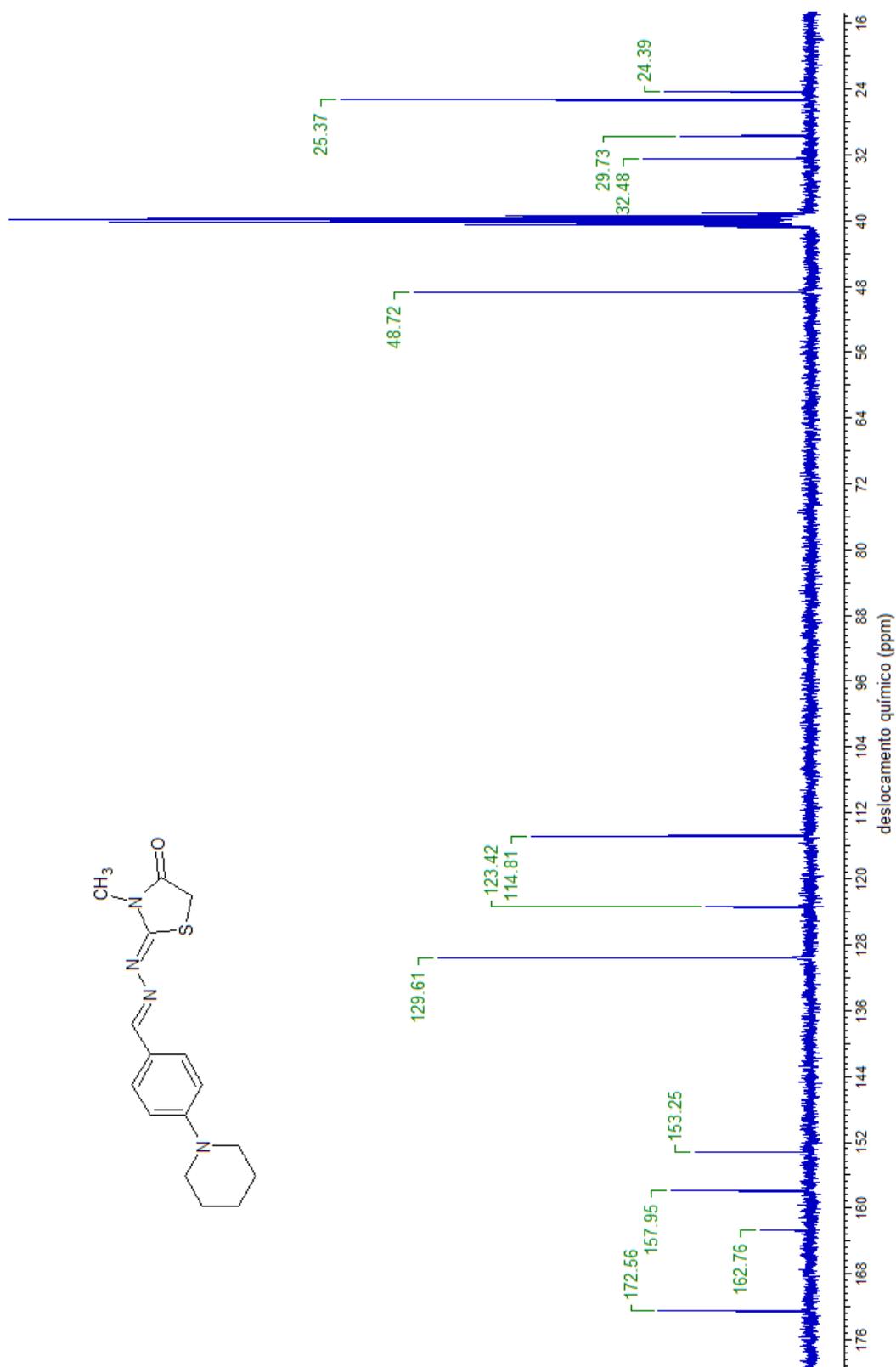
Espectro 33. Espectro de RMN ¹³C do derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**) (DMSO-d₆/75 MHz).



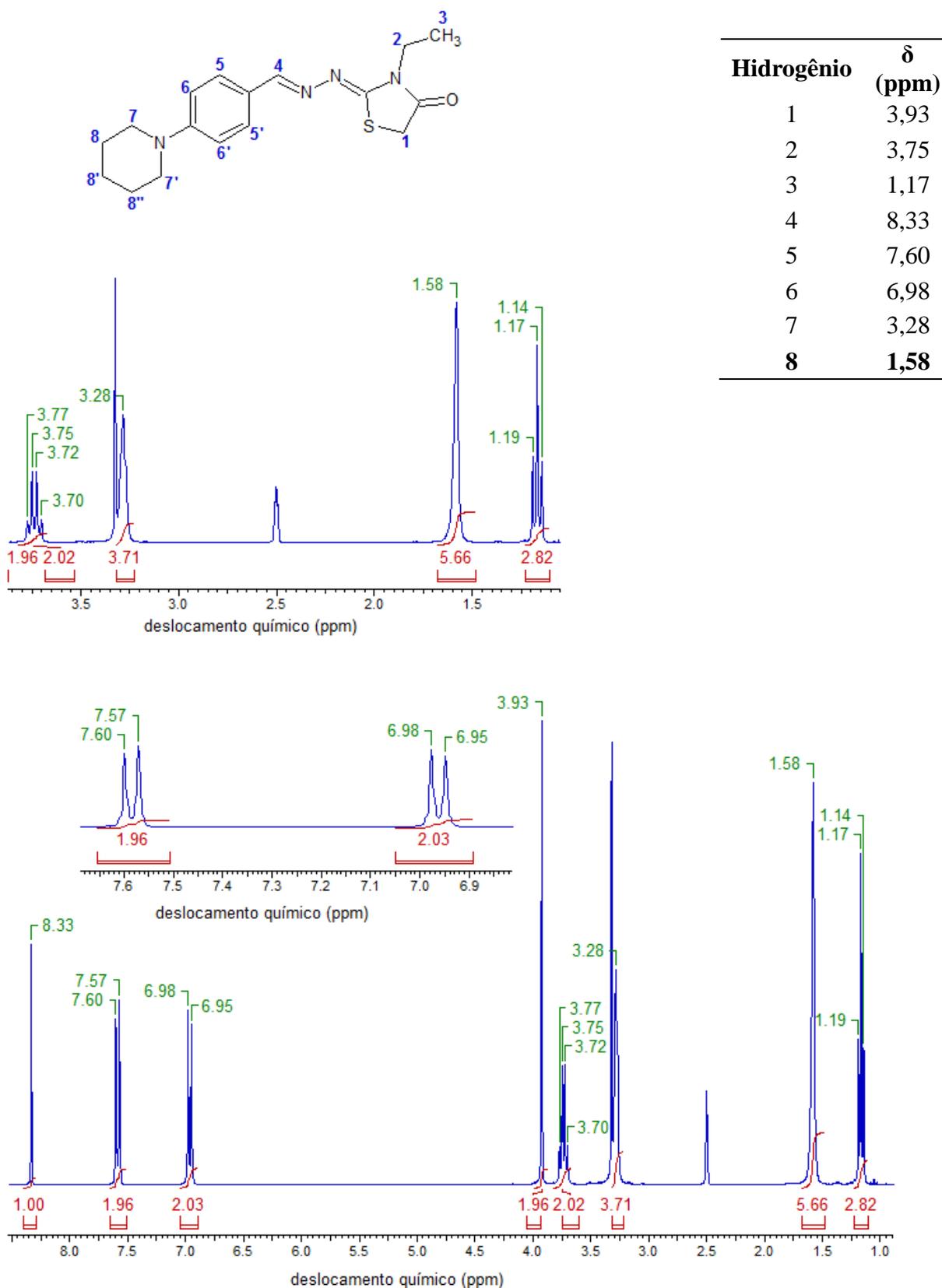
Hidrogênio	δ (ppm)
1	3,93
2	3,15
3	8,33
4	7,60
5	6,98
6	3,29
7	1,58



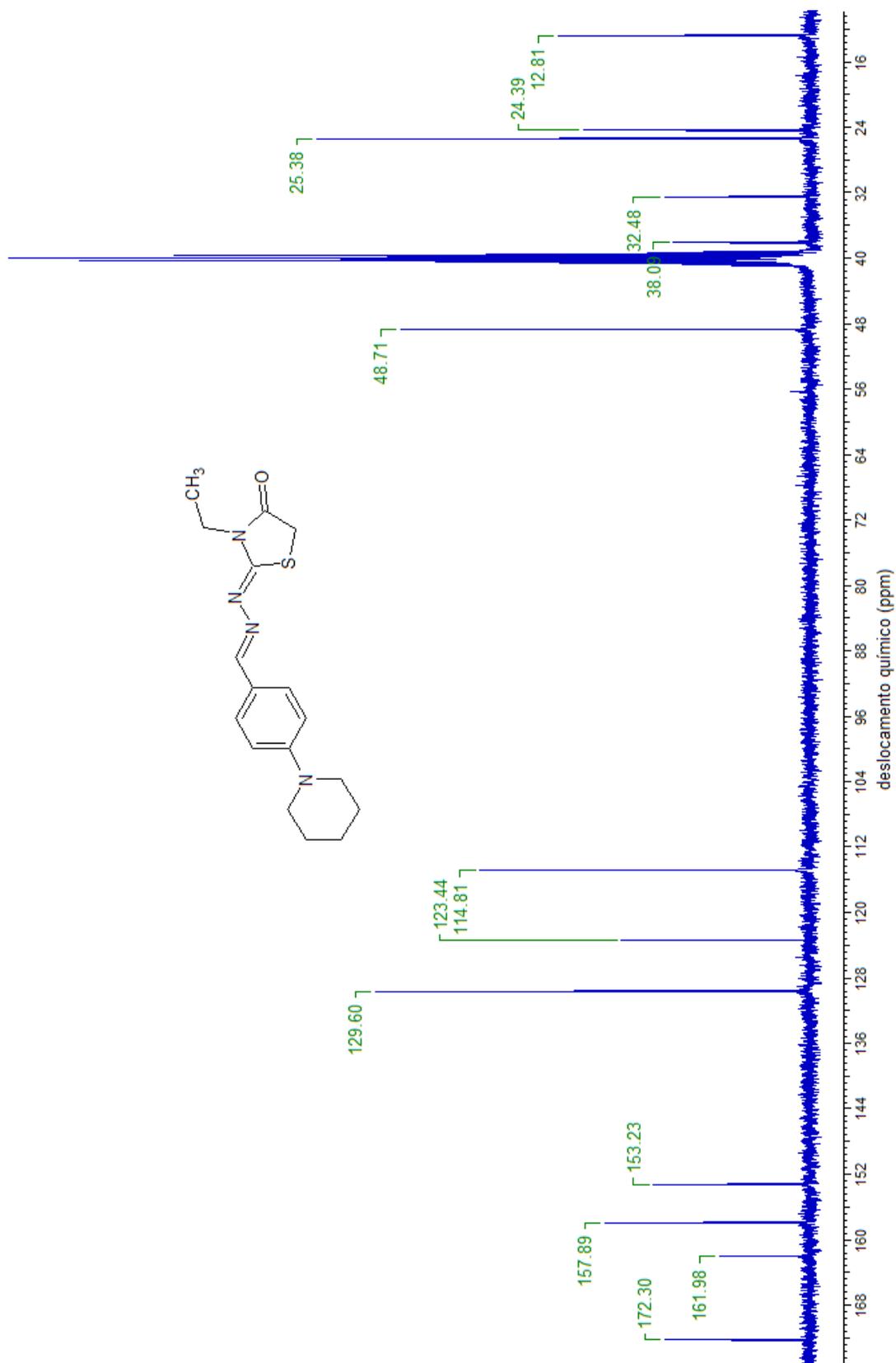
Espectro 34. Espectro de RMN ^1H do derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



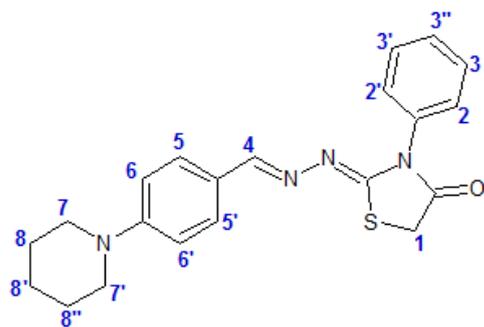
Espectro 35. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-*il*)fenil]metilideno}hidrazin-1-*il*ideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**) ($\text{DMSO}-d_6/75$ MHz).



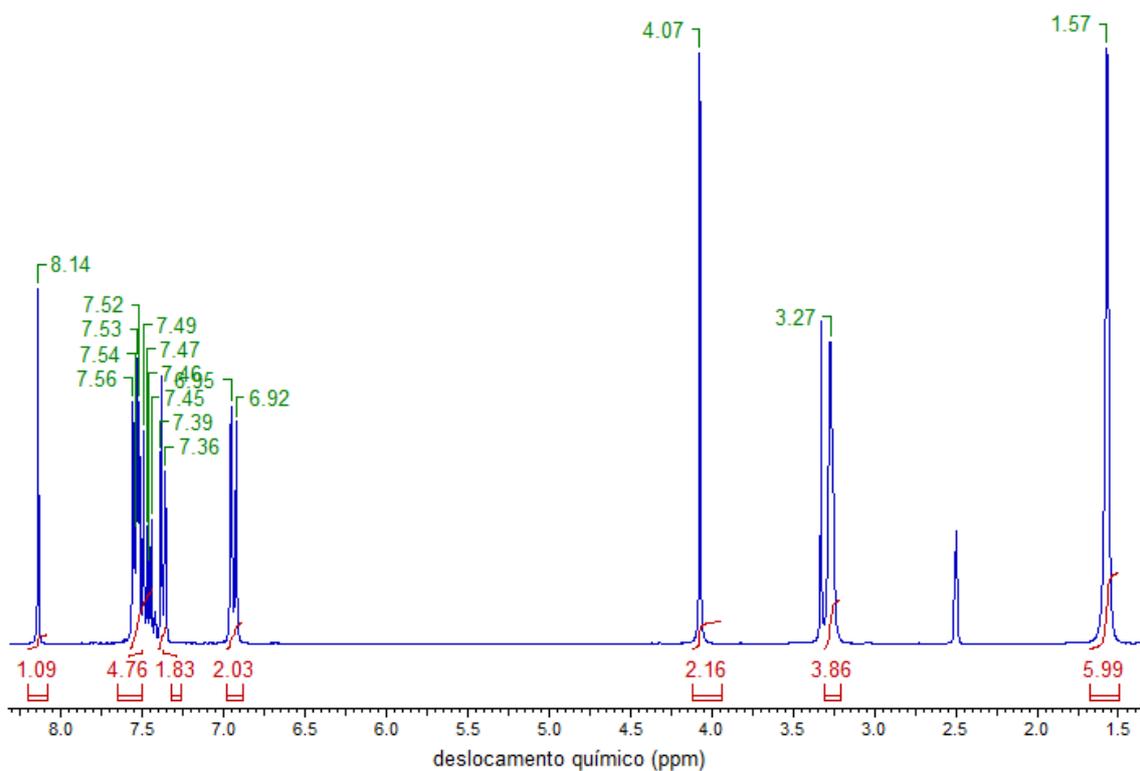
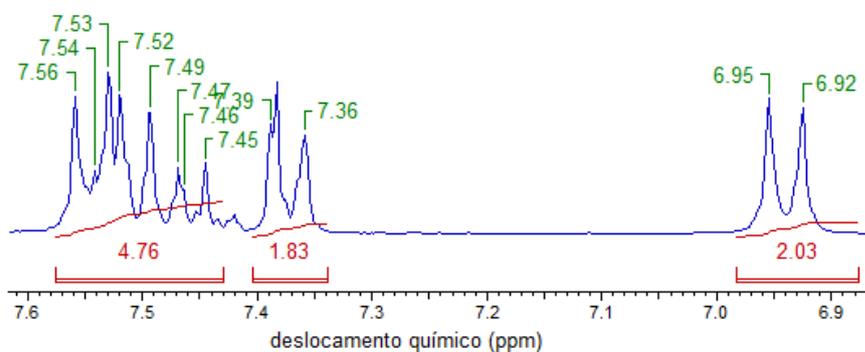
Espectro 36. Espectro de RMN ^1H do derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3g**) (DMSO- d_6 /300 MHz).



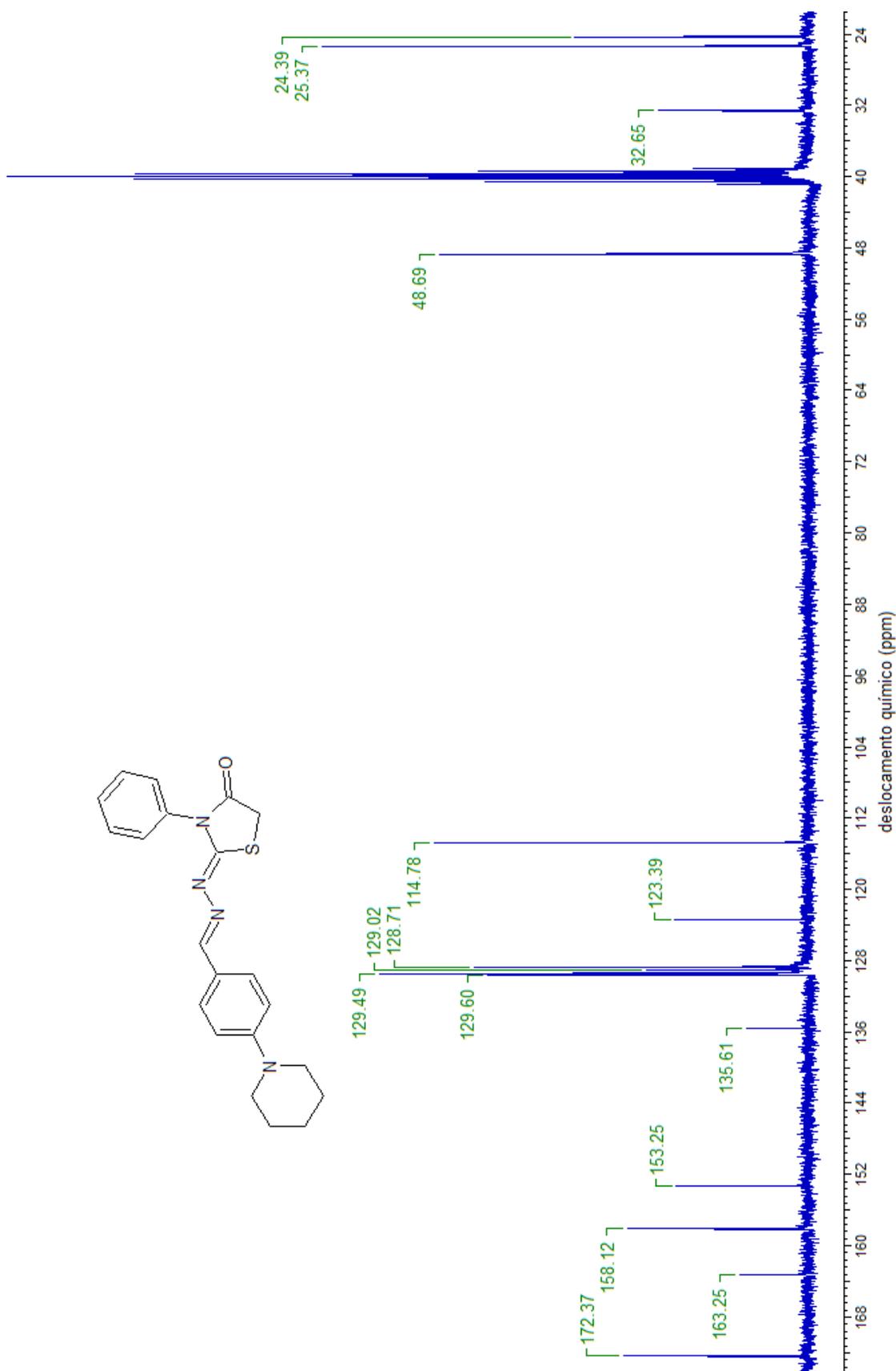
Espectro 37. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-[[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**37**) ($\text{DMSO-d}_6/75\text{ MHz}$).



Hidrogênio	δ (ppm)
1	4,07
2, 3	7,52
4	8,14
5	7,39
6	6,95
7	3,27
8	1,57

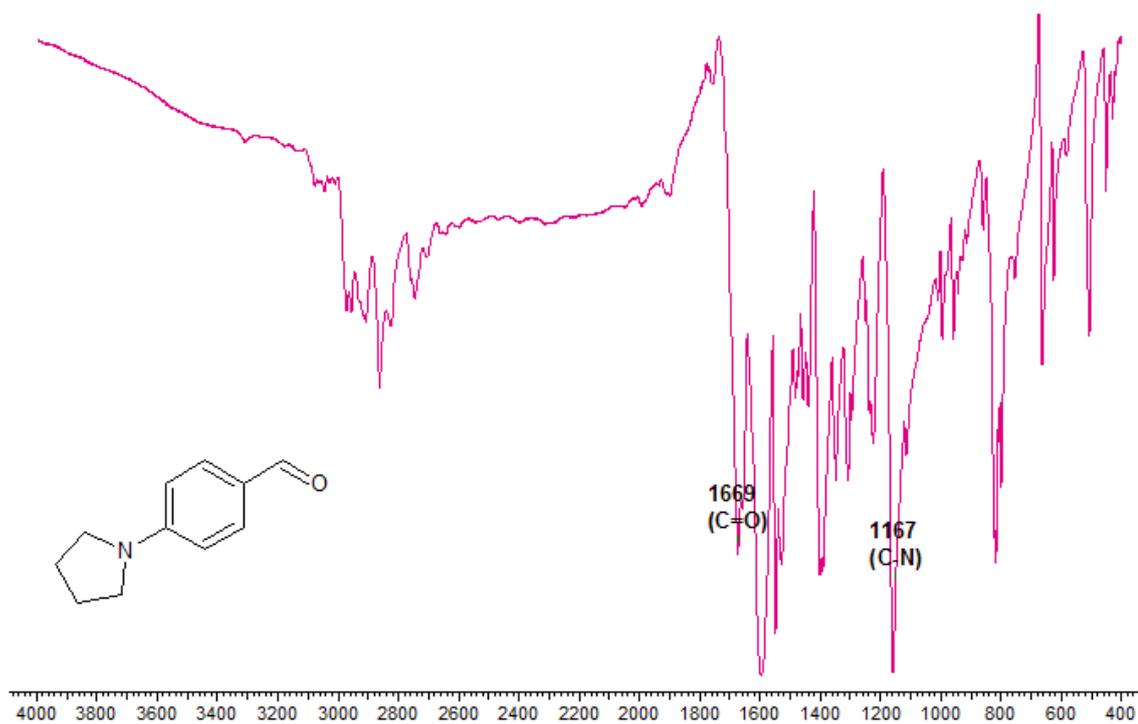


Espectro 38. Espectro de RMN ^1H do derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{4-(piperidin-1-il)fenil}metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3h**) (DMSO- d_6 /300 MHz).

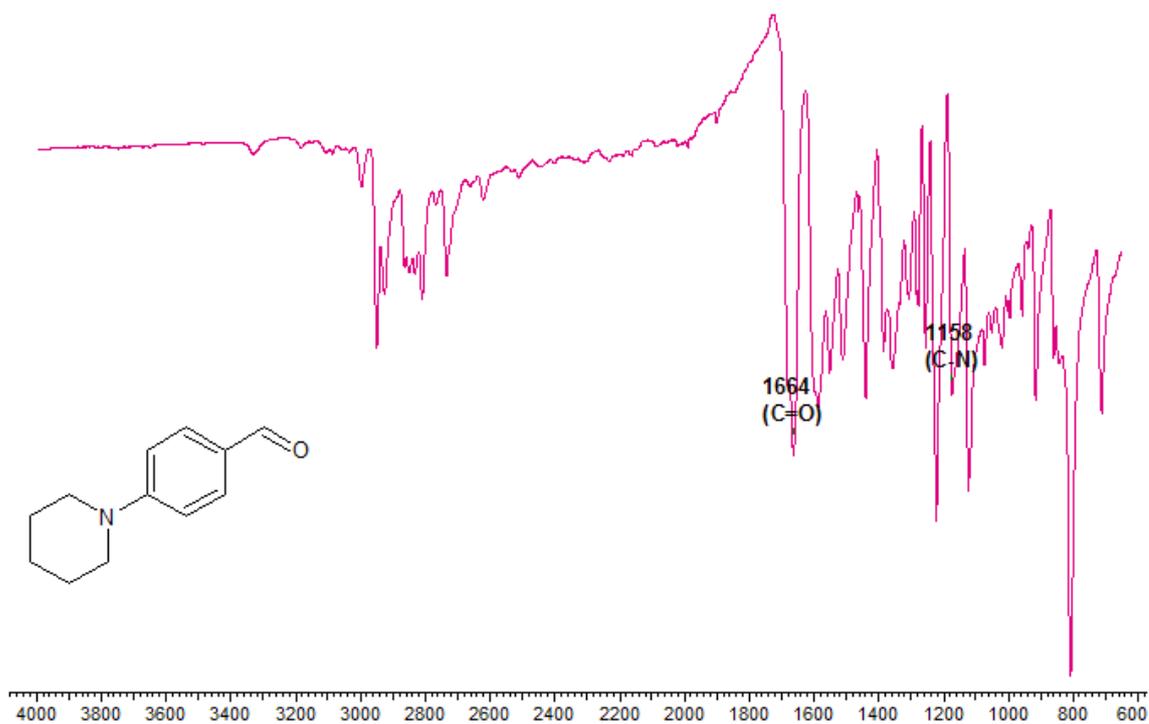


Espectro 39. Espectro de RMN ^{13}C para o derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3h**) (DMSO- d_6 /75 MHz).

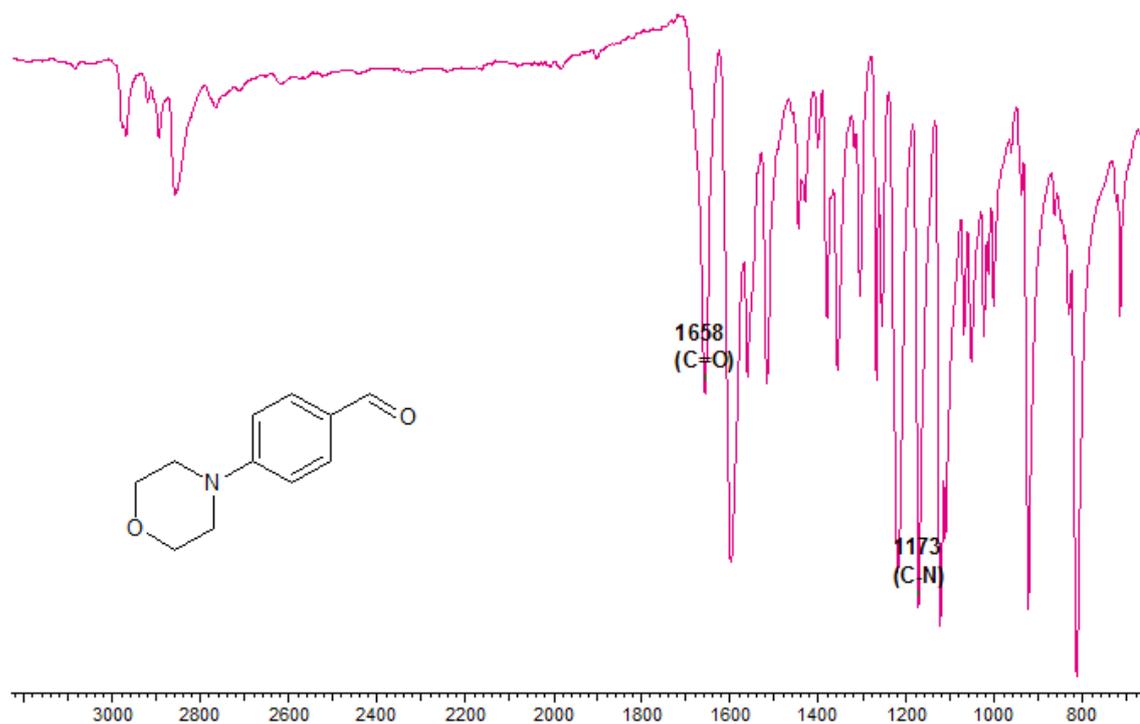
ANEXO B: Espectros de infravermelho



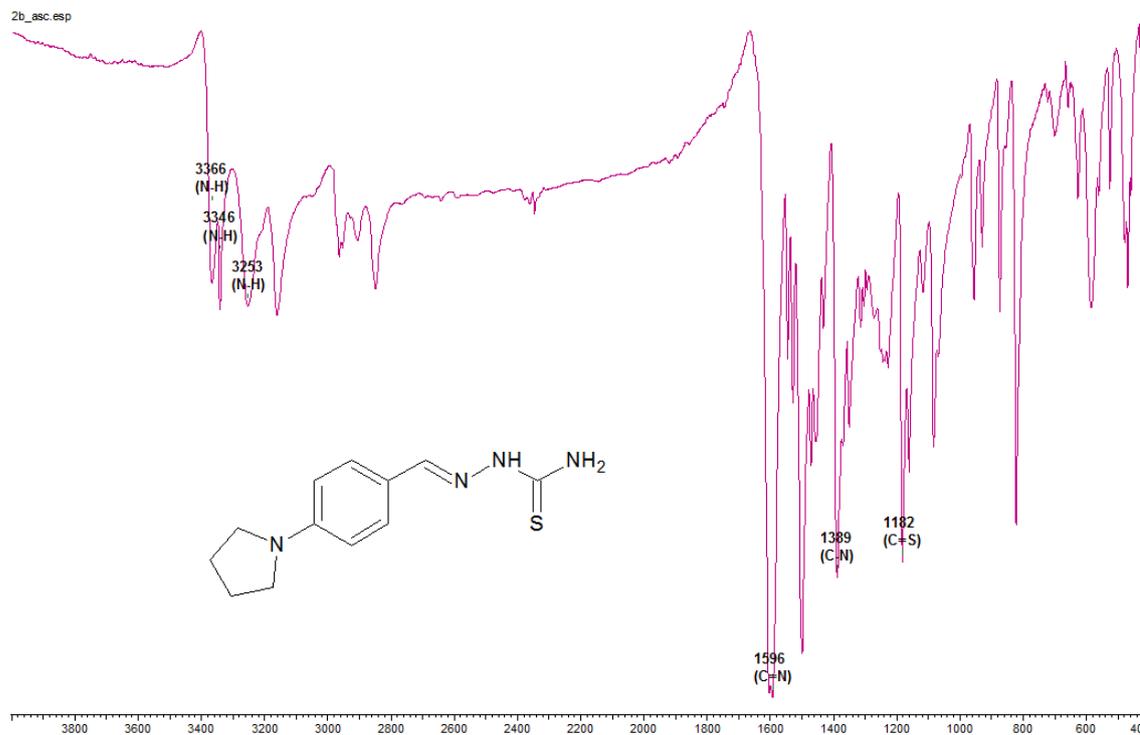
Espectro 1. Espectro de IV do intermediário 4-(pirrolidin-1-il)benzaldeído (**1a**) (pastilha de KBr) (cm⁻¹).



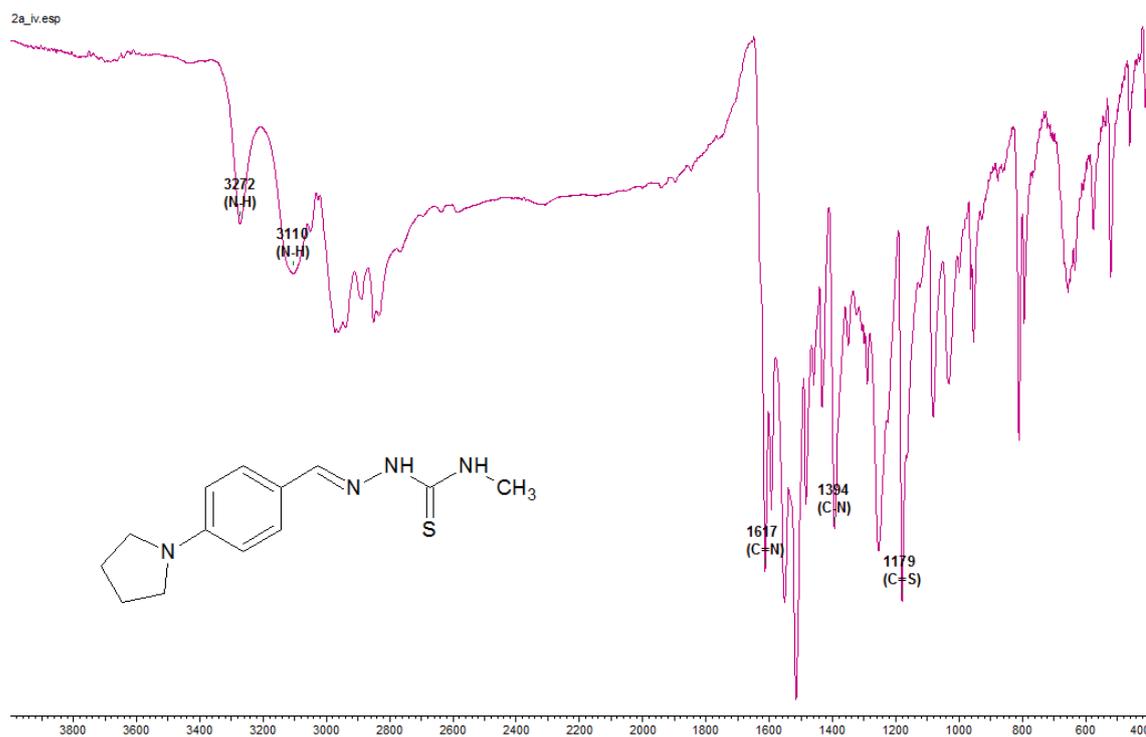
Espectro 2. Espectro de IV do intermediário 4-(piperidin-1-il)benzaldeído (**1b**) (cm⁻¹).



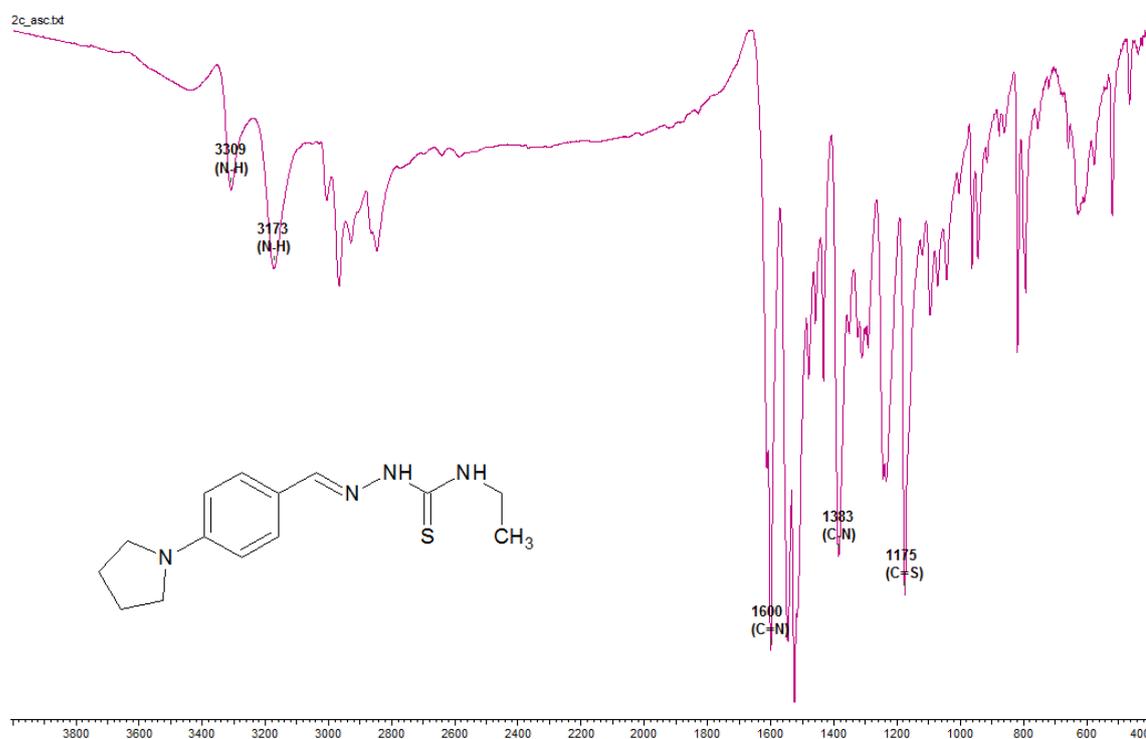
Espectro 3. Espectro de IV do intermediário 4-(morfolin-1-il)benzaldeído (**1c**) (cm⁻¹).



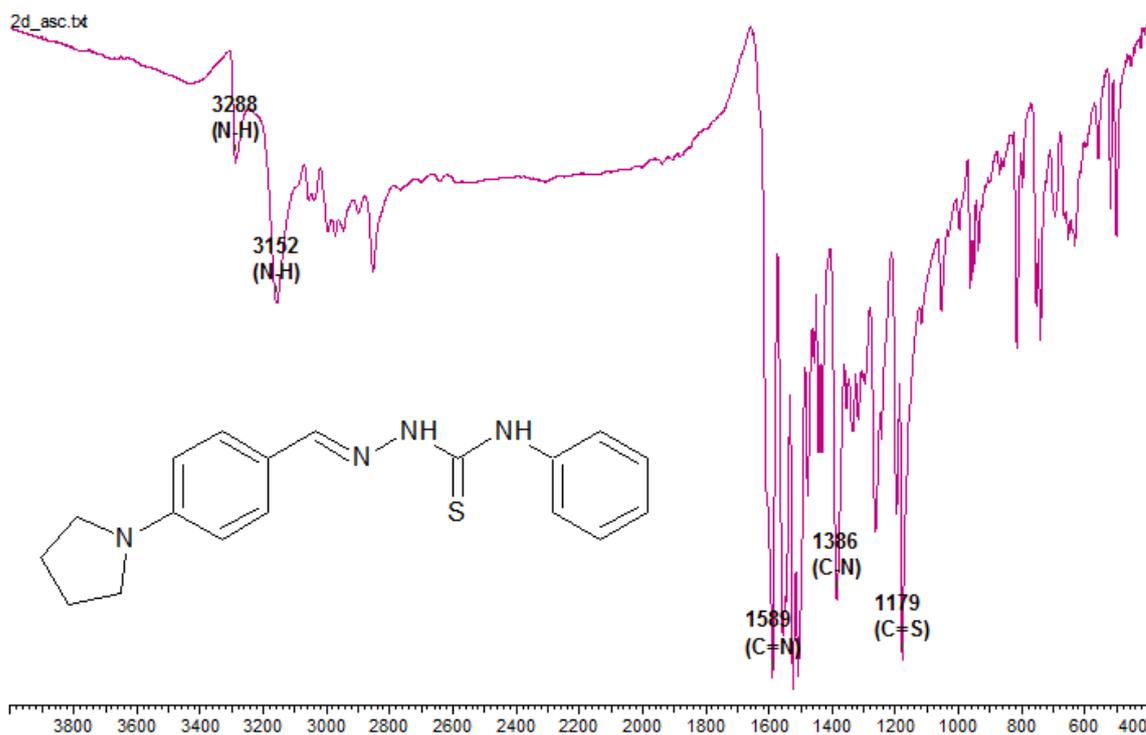
Espectro 4. Espectro de IV do derivado [(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2a**) (pastilha de KBr) (cm⁻¹).



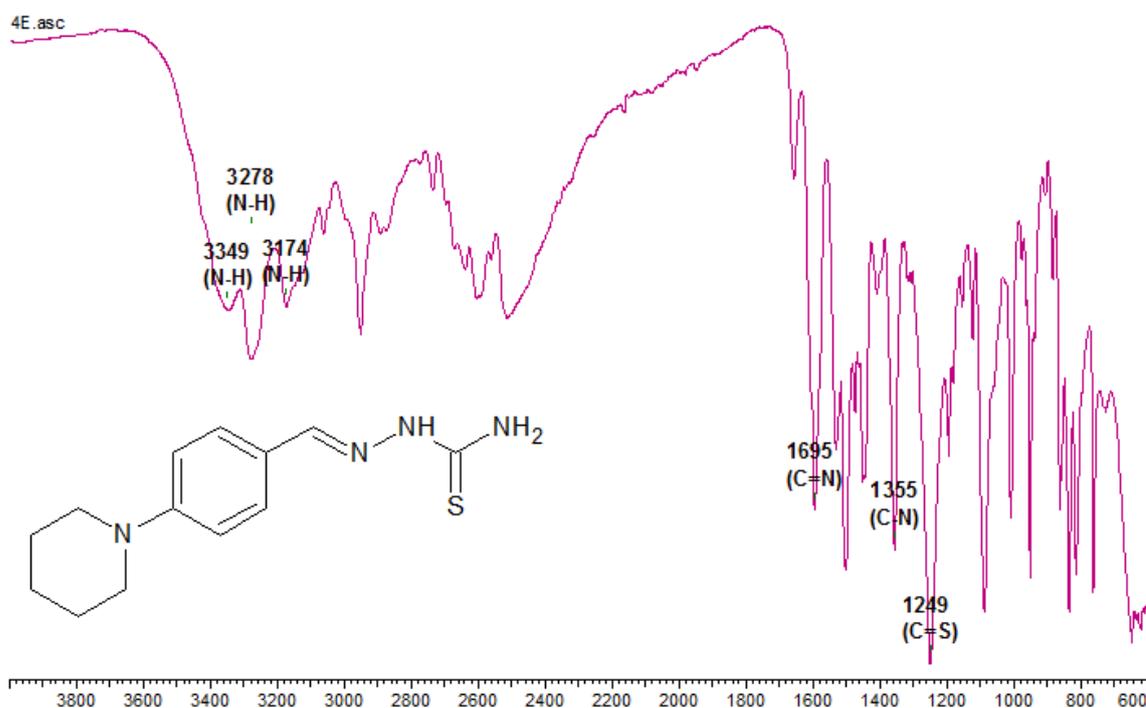
Espectro 5. Espectro de IV do derivado 3-metil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2b**) (pastilha de KBr) (cm^{-1}).



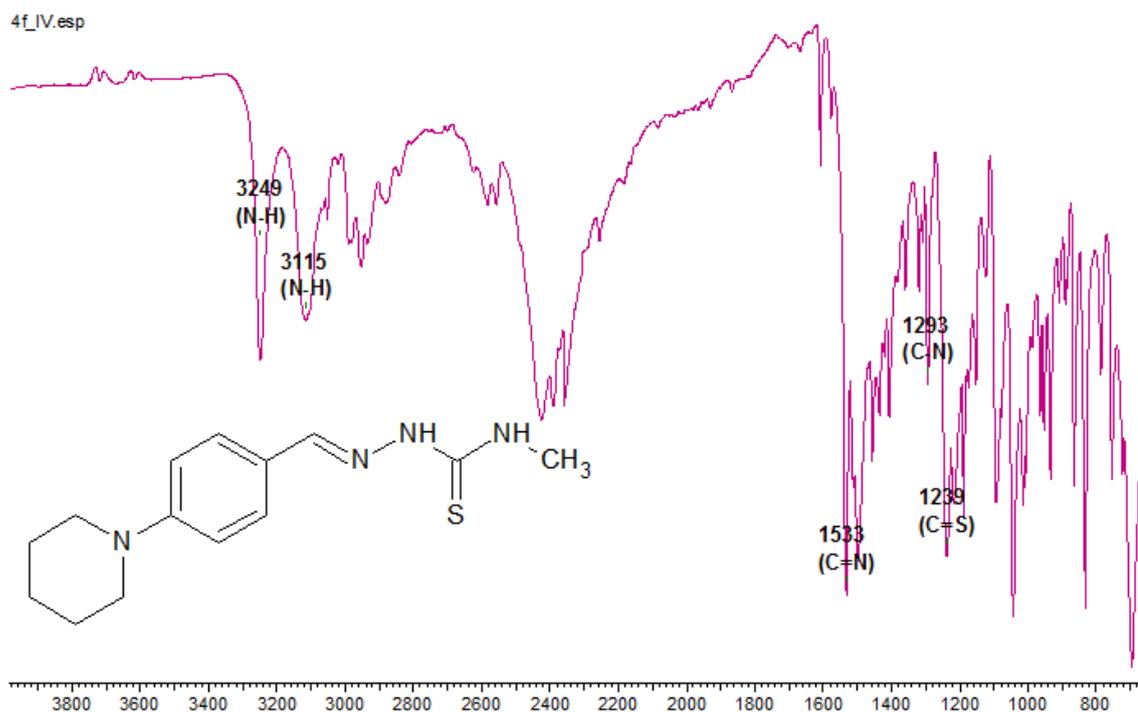
Espectro 6. Espectro de IV do derivado 3-etil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2c**) (pastilha de KBr) (cm^{-1}).



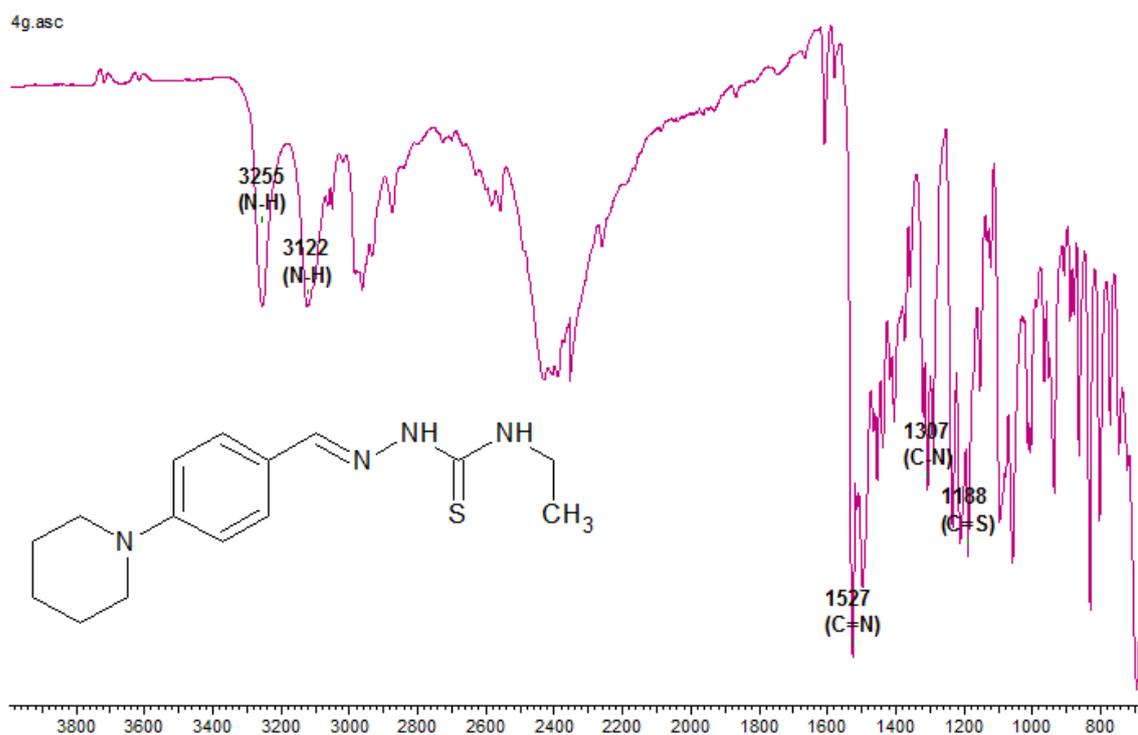
Espectro 7. Espectro de IV do derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2d**) (pastilha de KBr) (cm^{-1}).



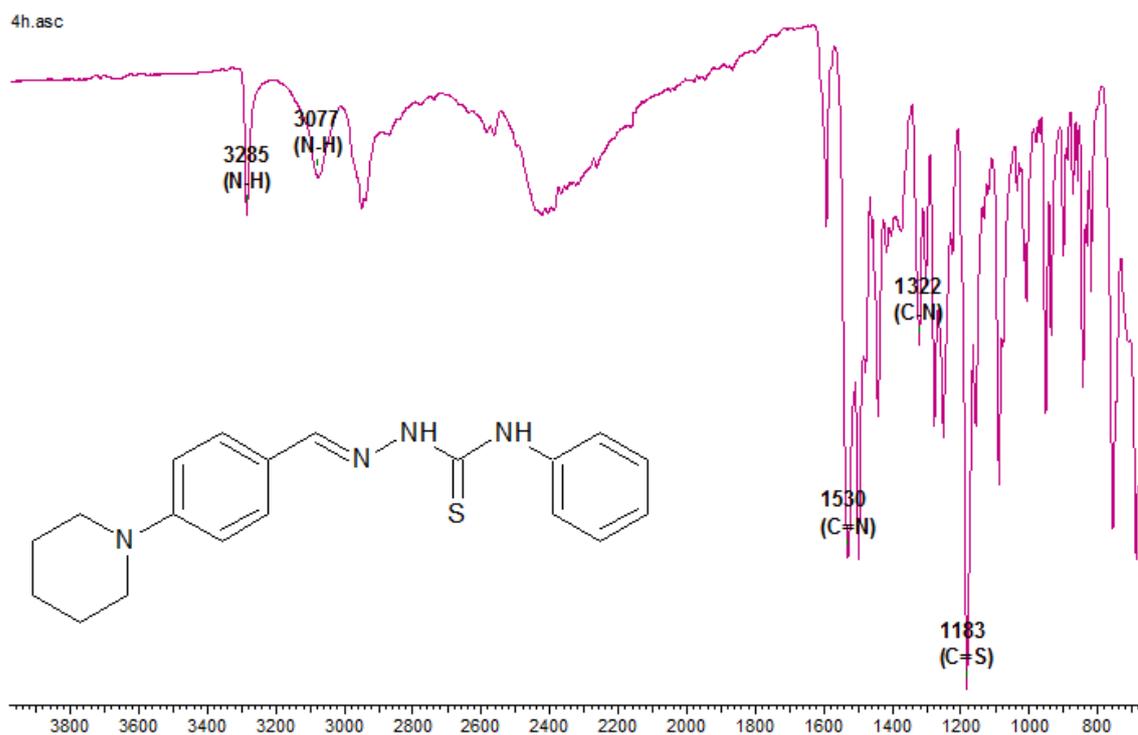
Espectro 8. Espectro de IV do derivado [(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2e**) (cm^{-1}).



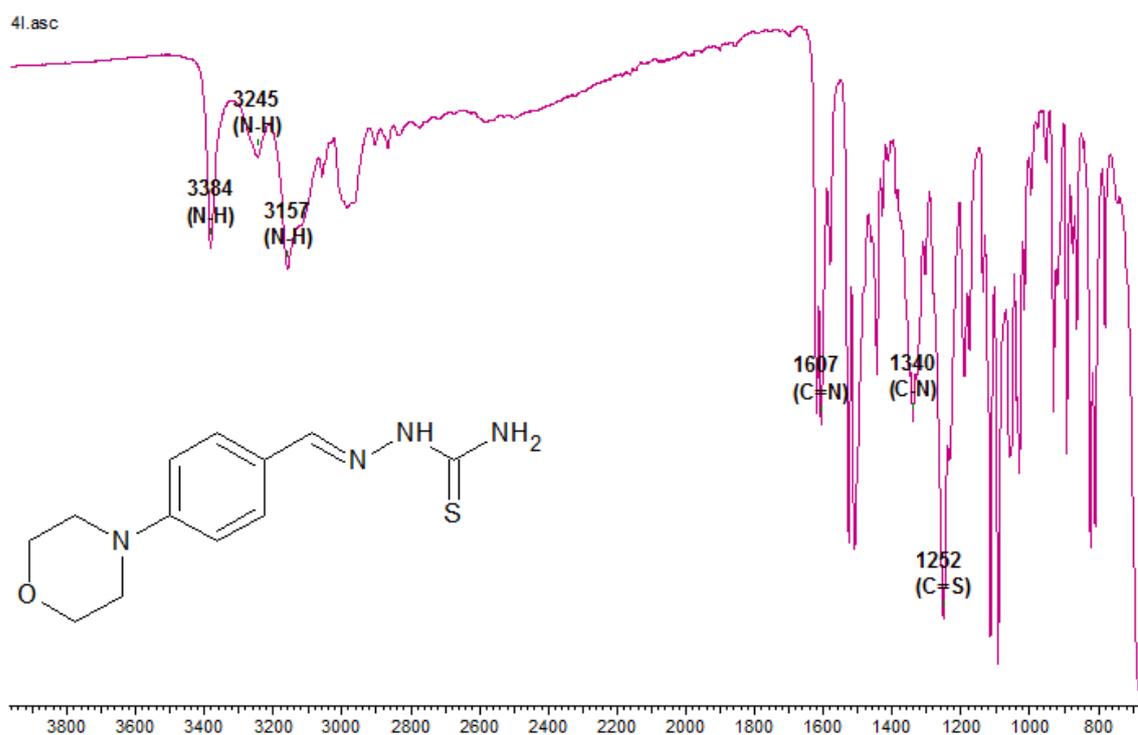
Espectro 9. Espectro de IV do derivado 3-metil-1-[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2f**) (cm^{-1}).



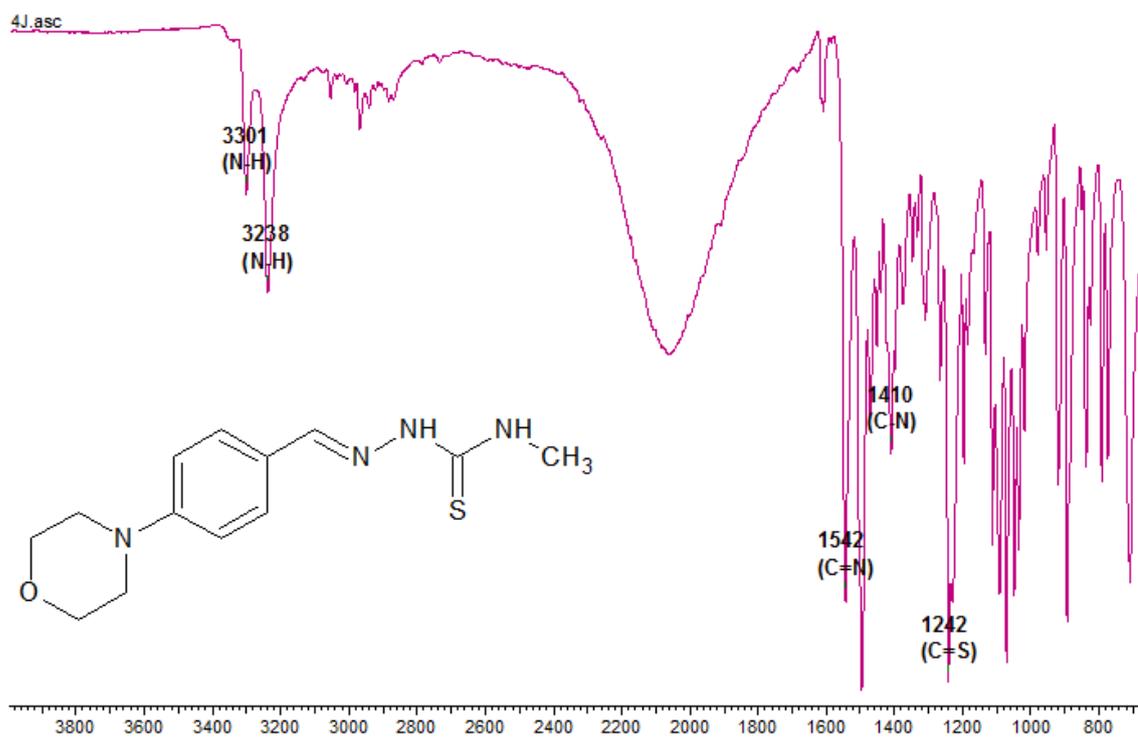
Espectro 10. Espectro de IV do derivado 3-etil-1-[(E)-{4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2g**) (cm^{-1}).



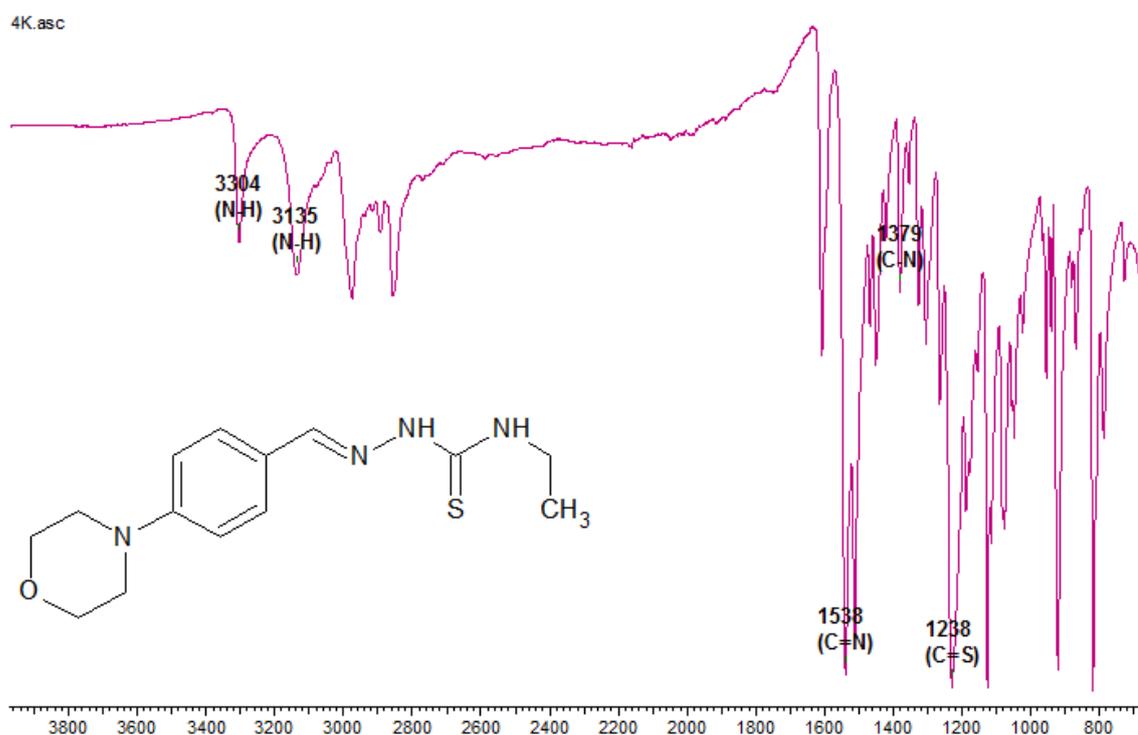
Espectro 11. Espectro de IV do derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2h**) (cm^{-1}).



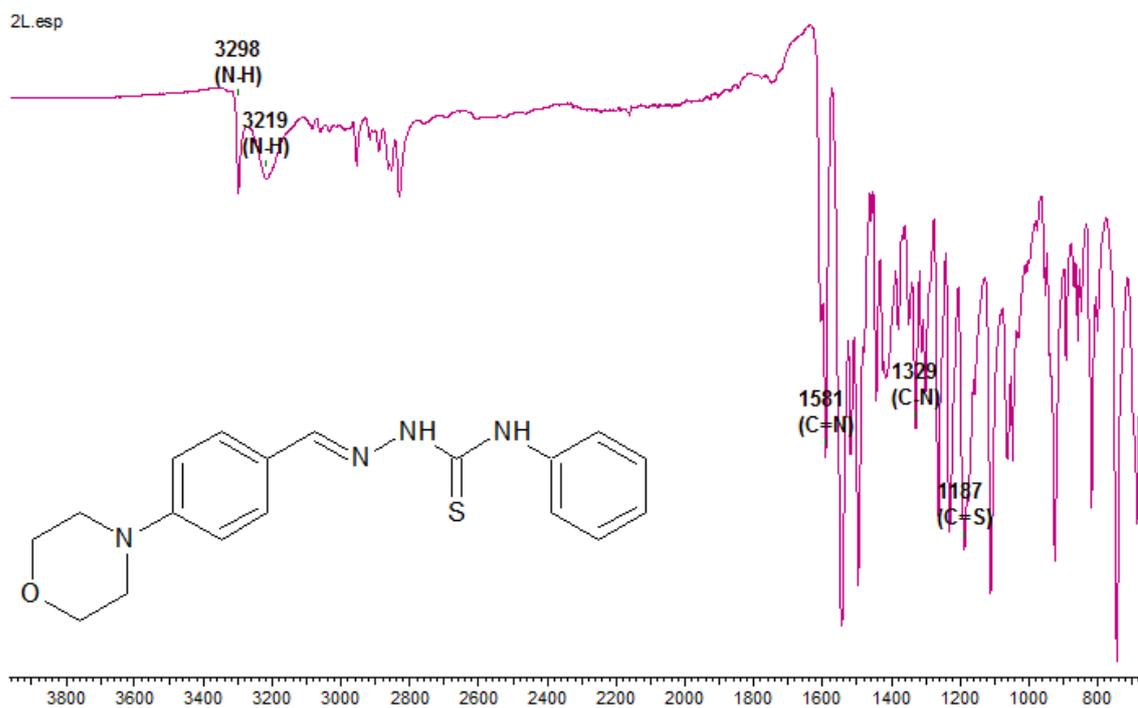
Espectro 12. Espectro de IV do derivado [(E)-{[4-(morfolin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2i**) (cm^{-1}).



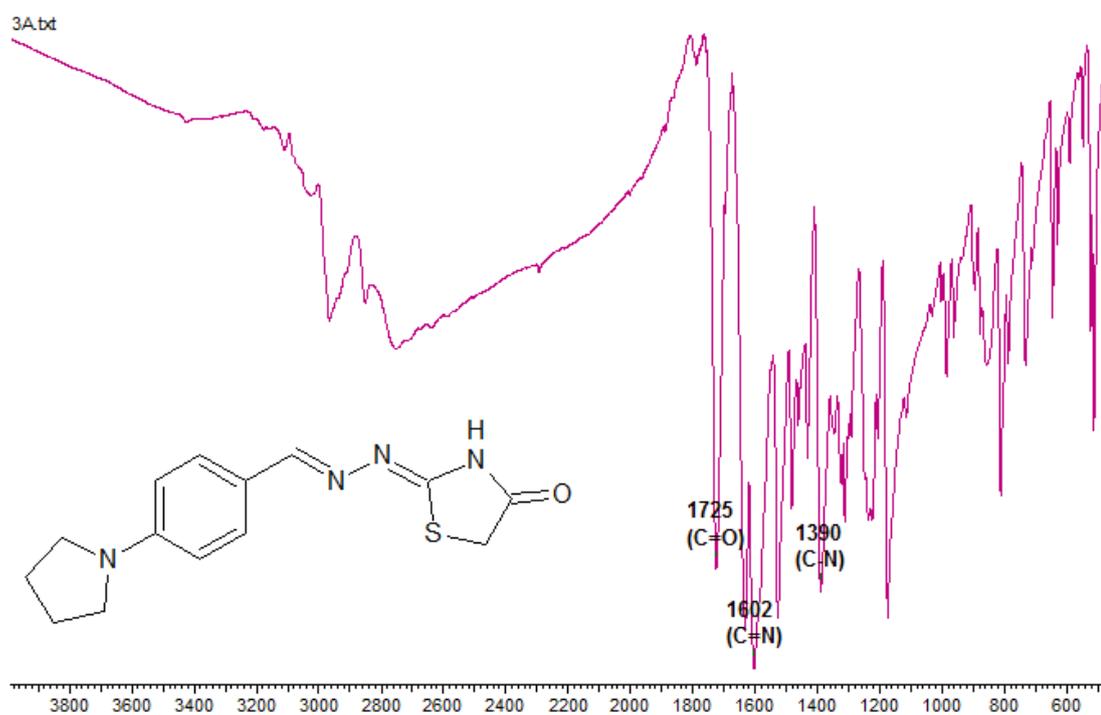
Espectro 13. Espectro de IV do derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2j**) (cm^{-1}).



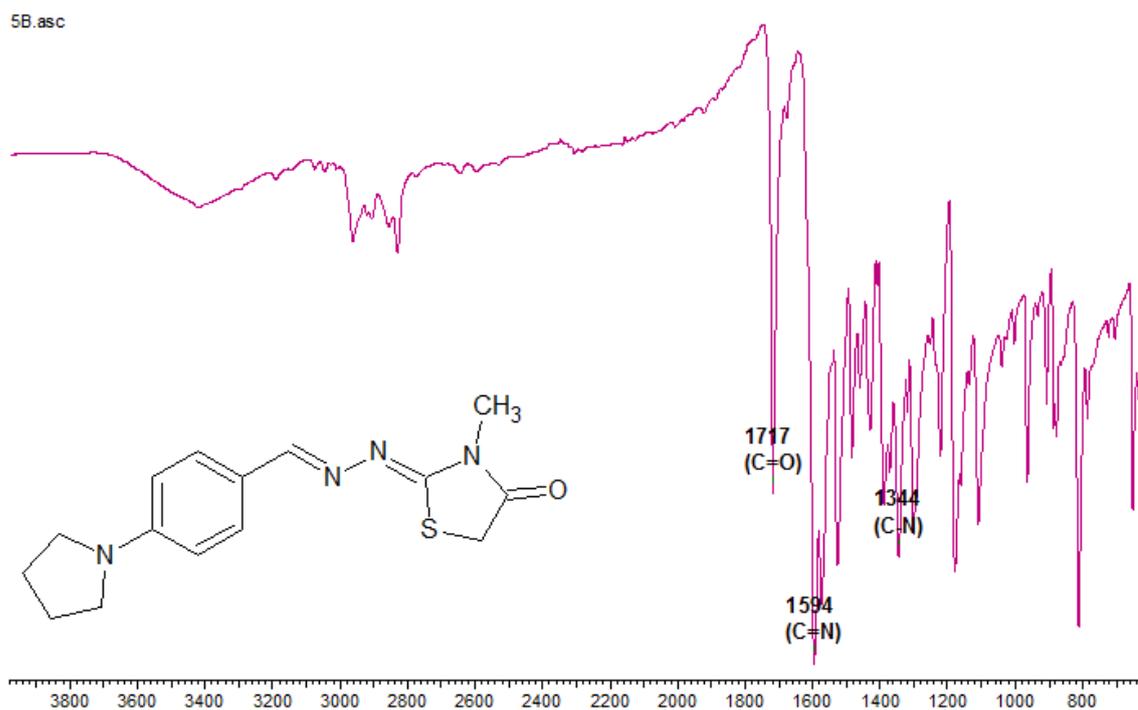
Espectro 14. Espectro de IV do derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2k**) (cm^{-1}).



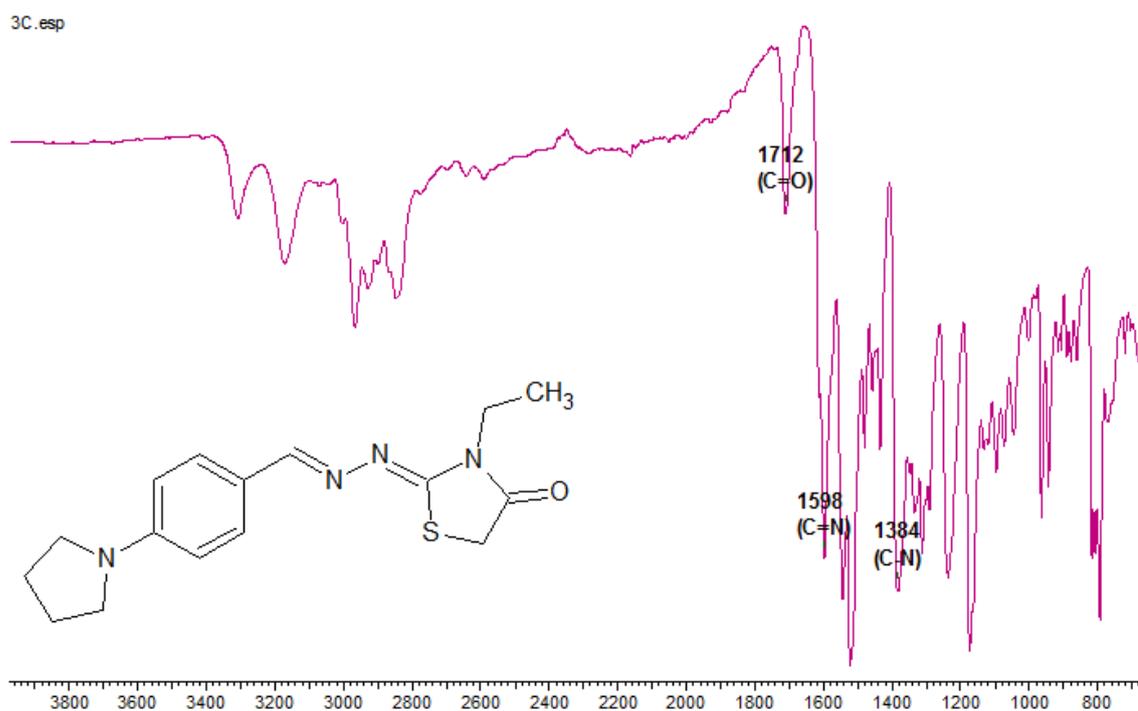
Espectro 15. Espectro de IV do derivado 1-fenil-3-[(E)-{4-(morfolin-4-il)fenil}metilideno]amino]tiouréia (**2l**) (cm^{-1}).



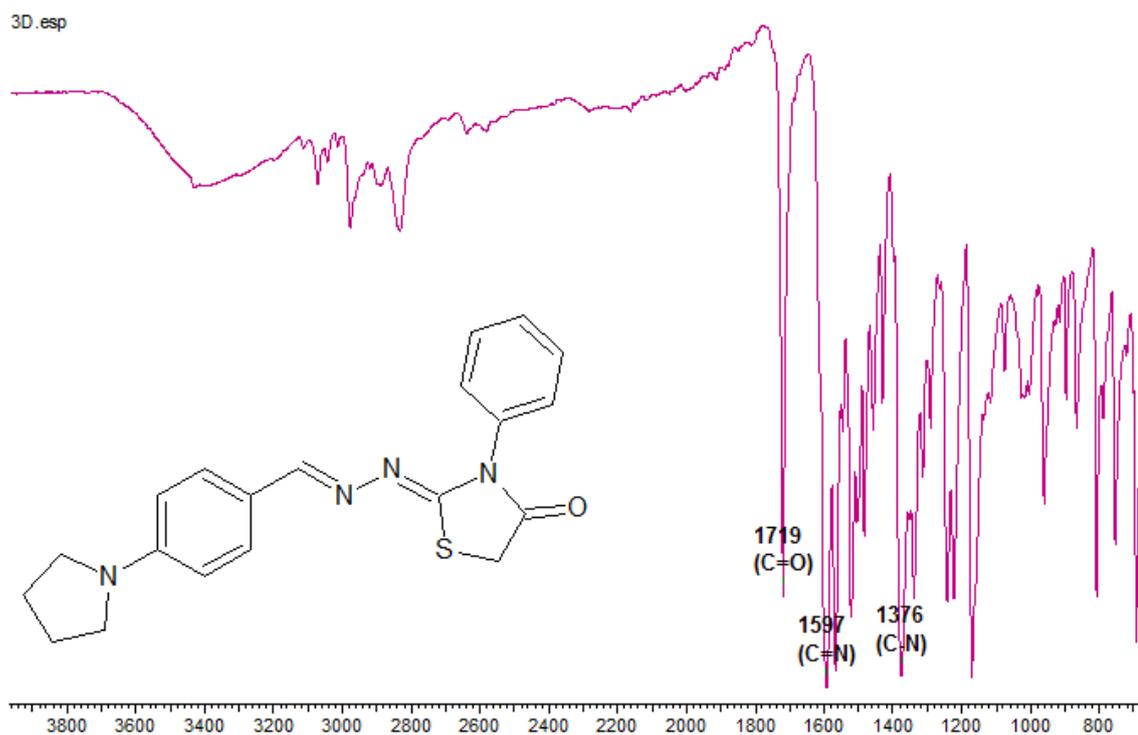
Espectro 16. Espectro de IV do derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3a**) (pastilha de KBr) (cm^{-1}).



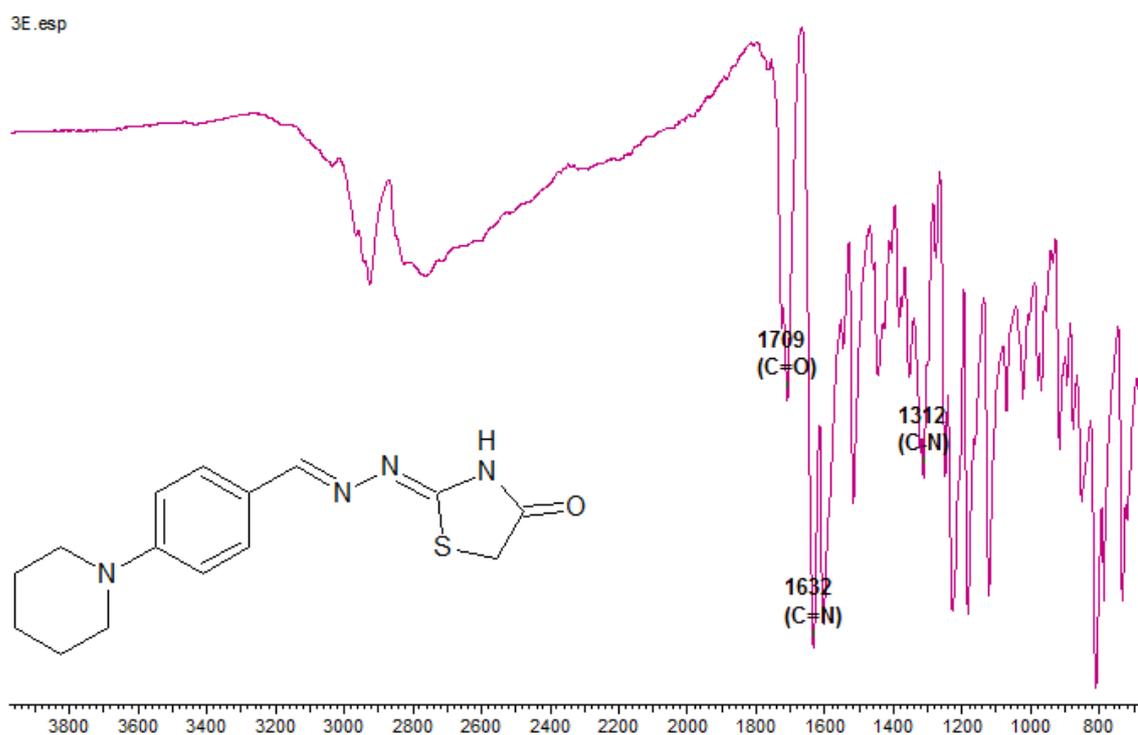
Espectro 17. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-[[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3b**) (cm⁻¹).



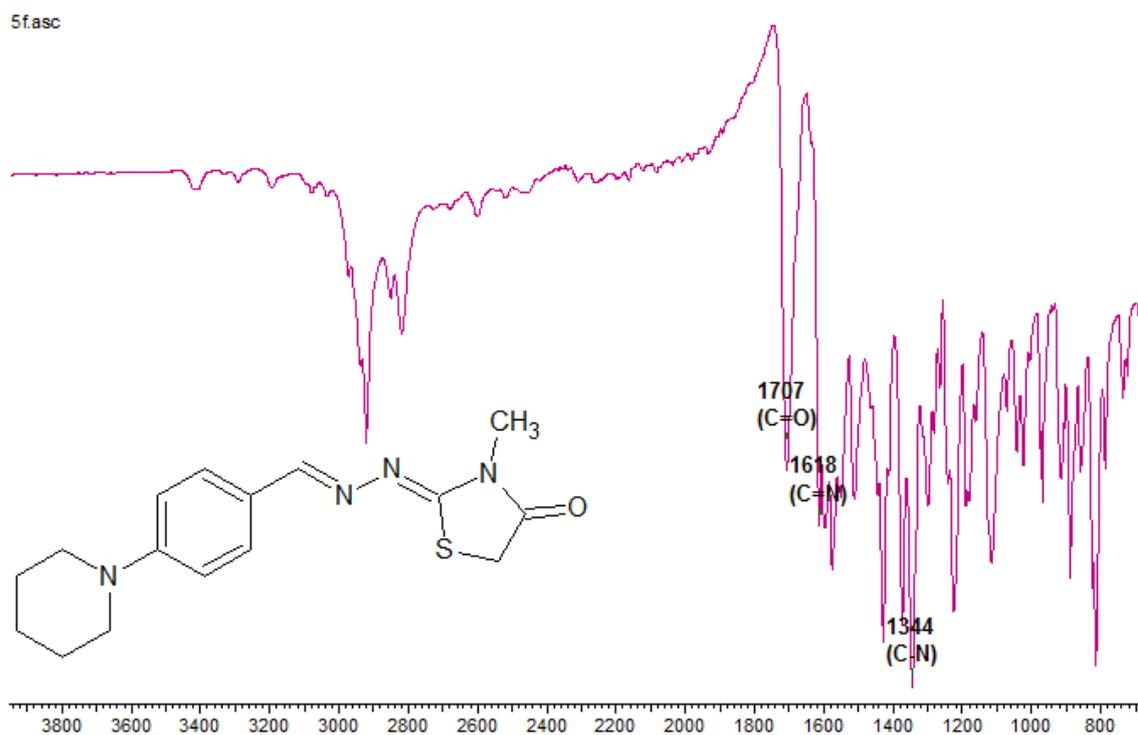
Espectro 18. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-[[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3c**) (cm⁻¹).



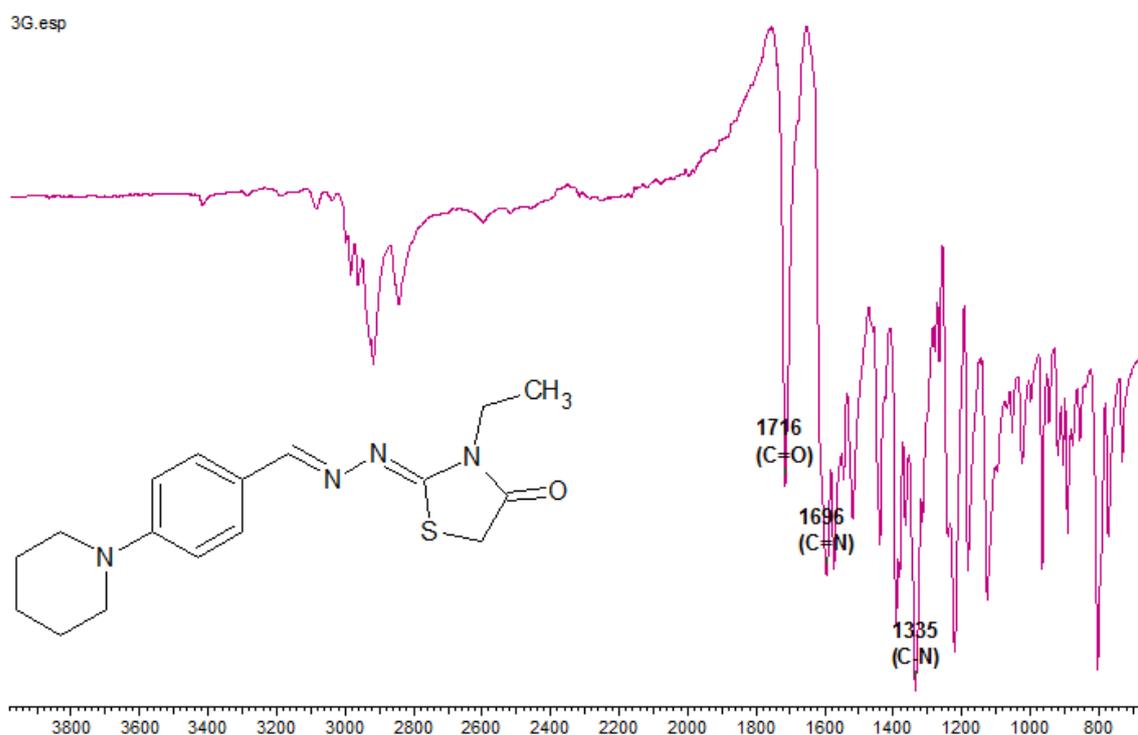
Espectro 19. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**) (cm^{-1}).



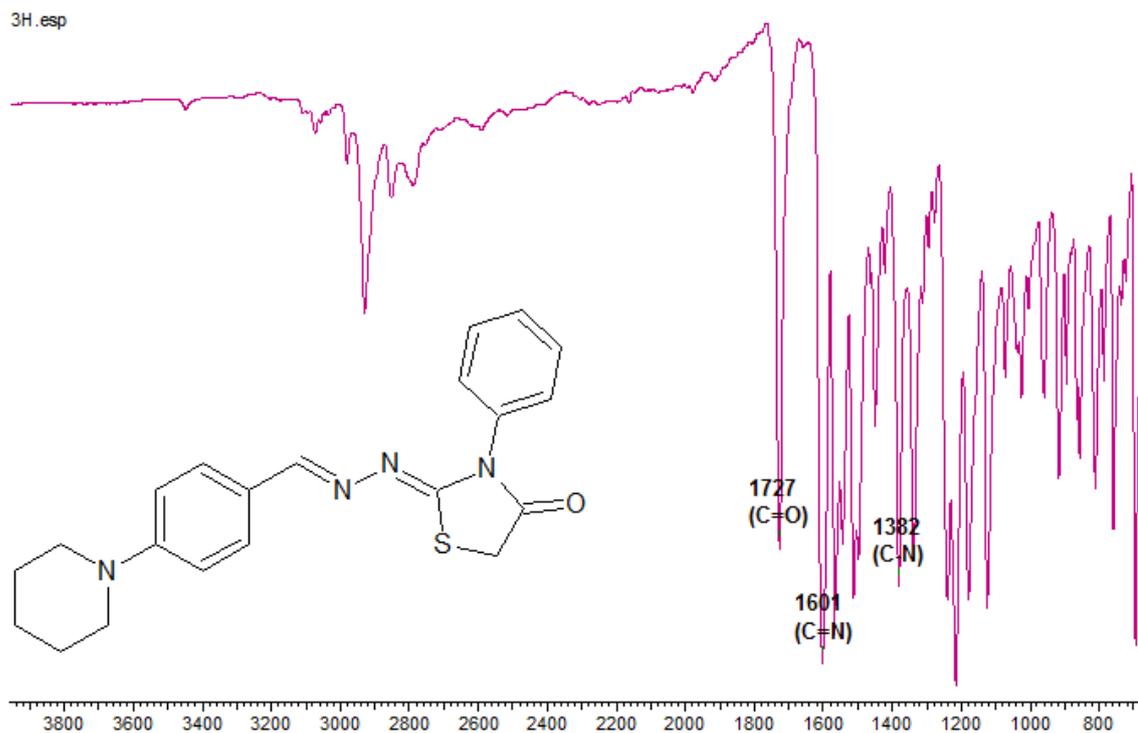
Espectro 20. Espectro de IV do derivado (2Z)-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**) (cm^{-1}).



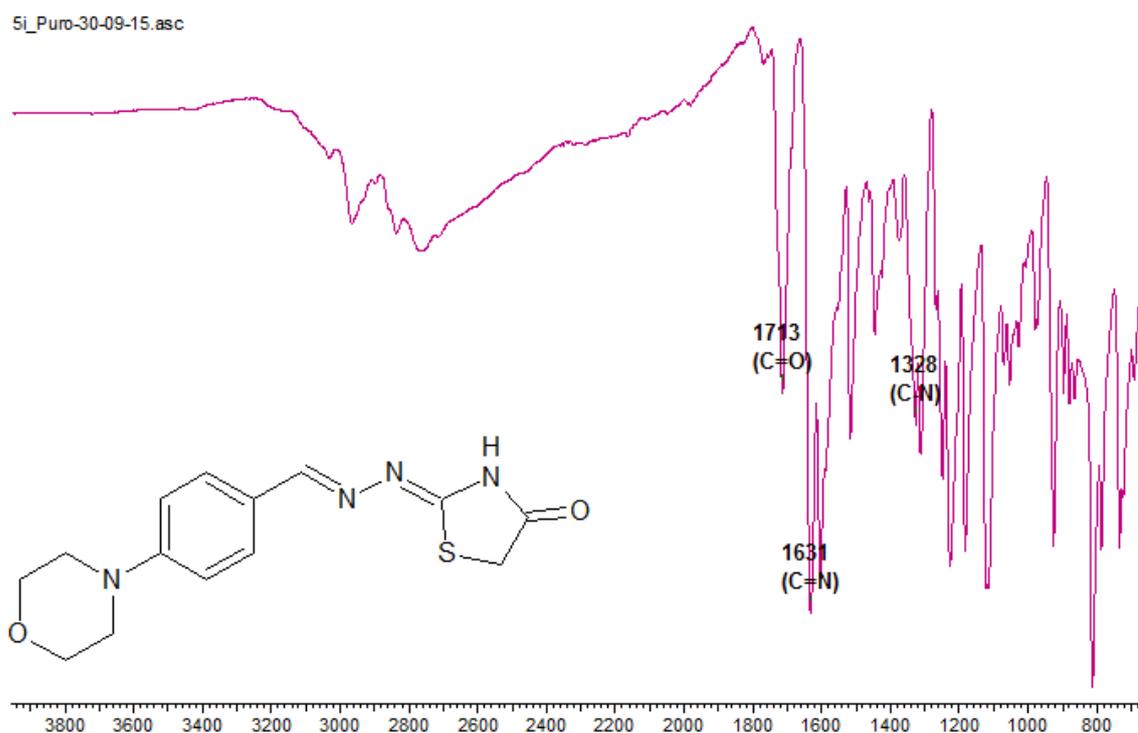
Espectro 21. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**) (cm^{-1}).



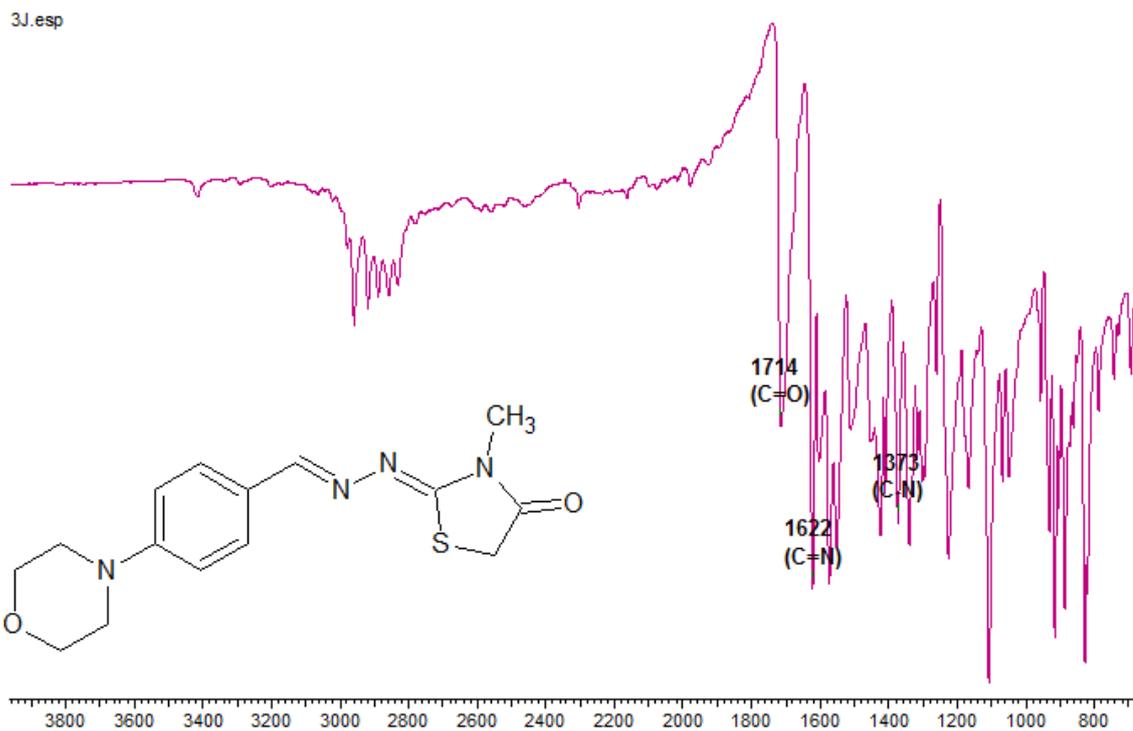
Espectro 22. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3g**) (cm^{-1}).



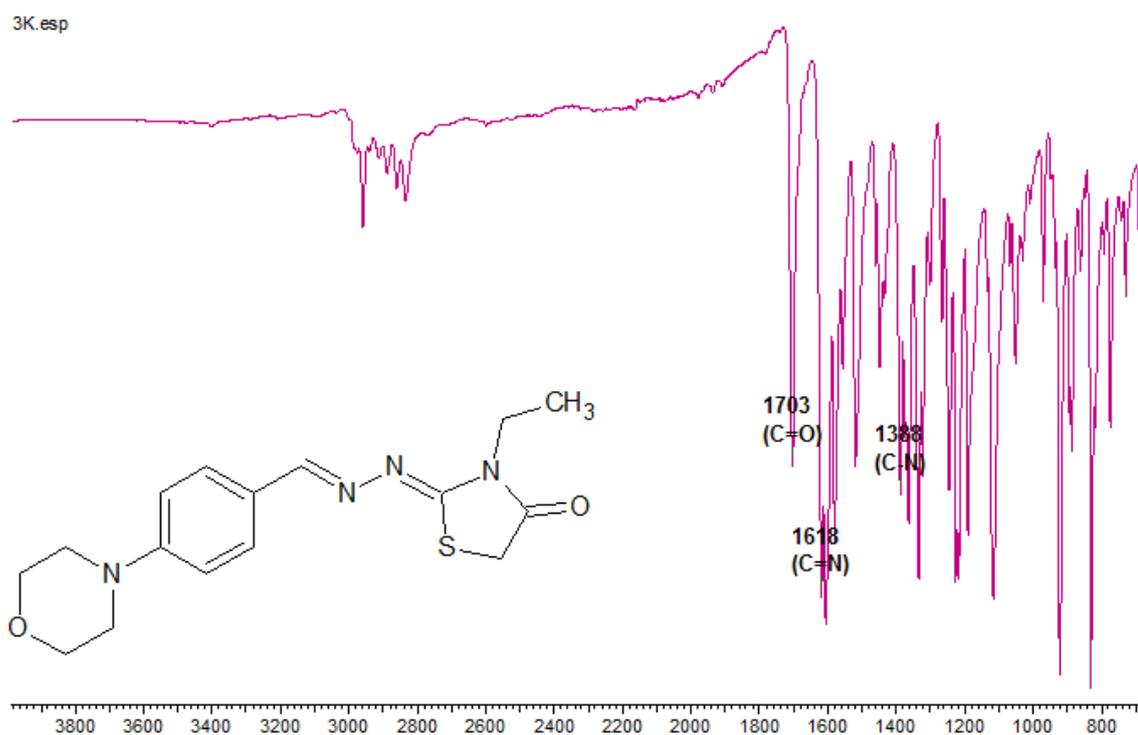
Espectro 23. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-[[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3h**) (cm^{-1}).



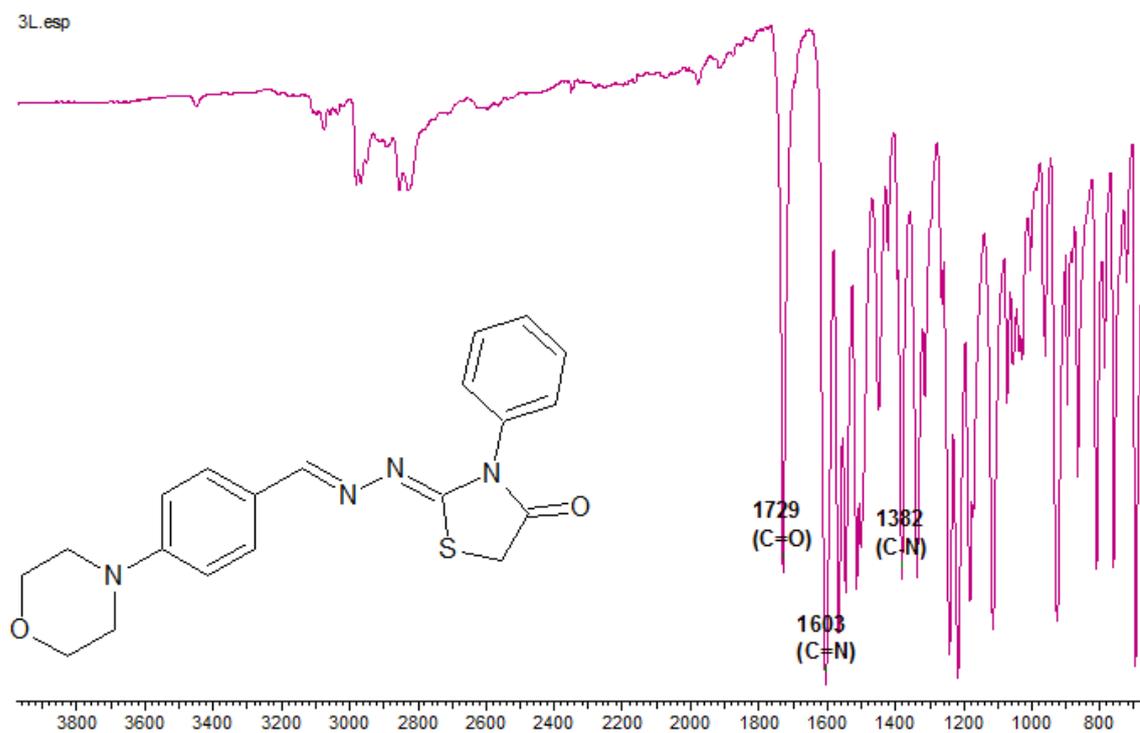
Espectro 24. Espectro de IV do derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3i**) (cm^{-1}).



Espectro 25. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3j**) (cm^{-1}).

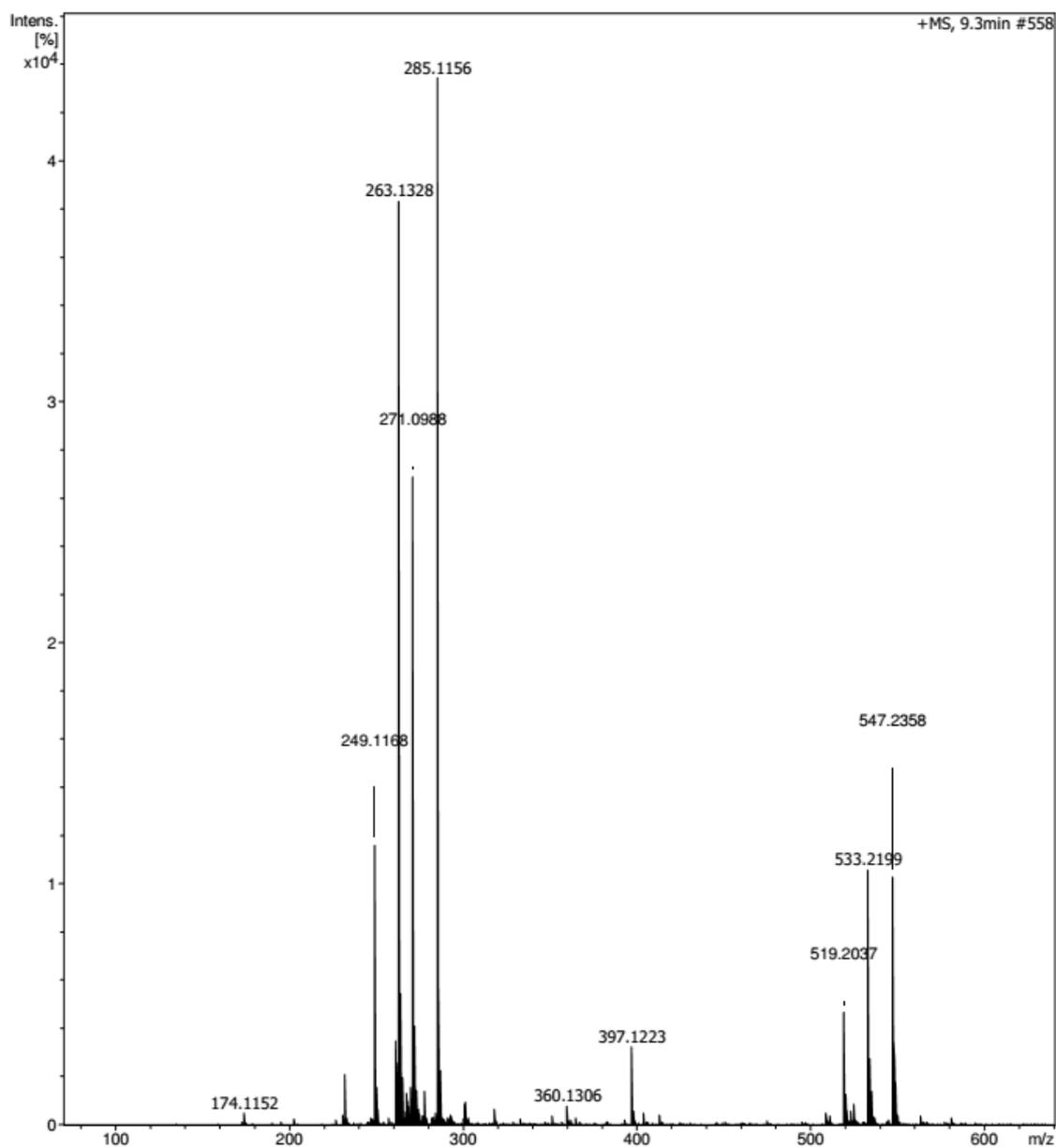


Espectro 26. Espectro de IV do derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3k**) (cm^{-1}).

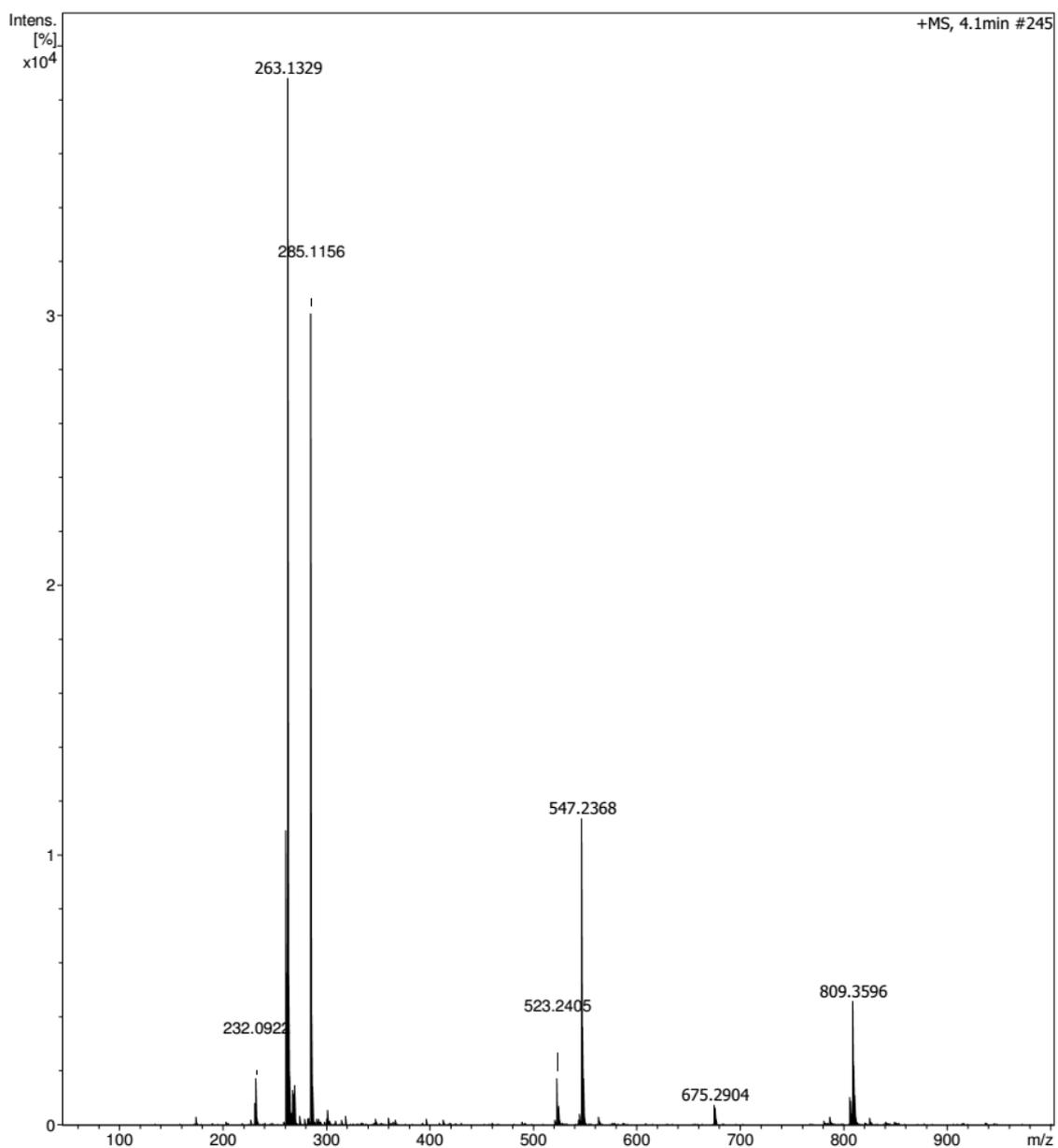


Espectro 27. Espectro de IV do derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-3-fenil-1,3-tiazolidin-4-ona (**3**) (cm^{-1}).

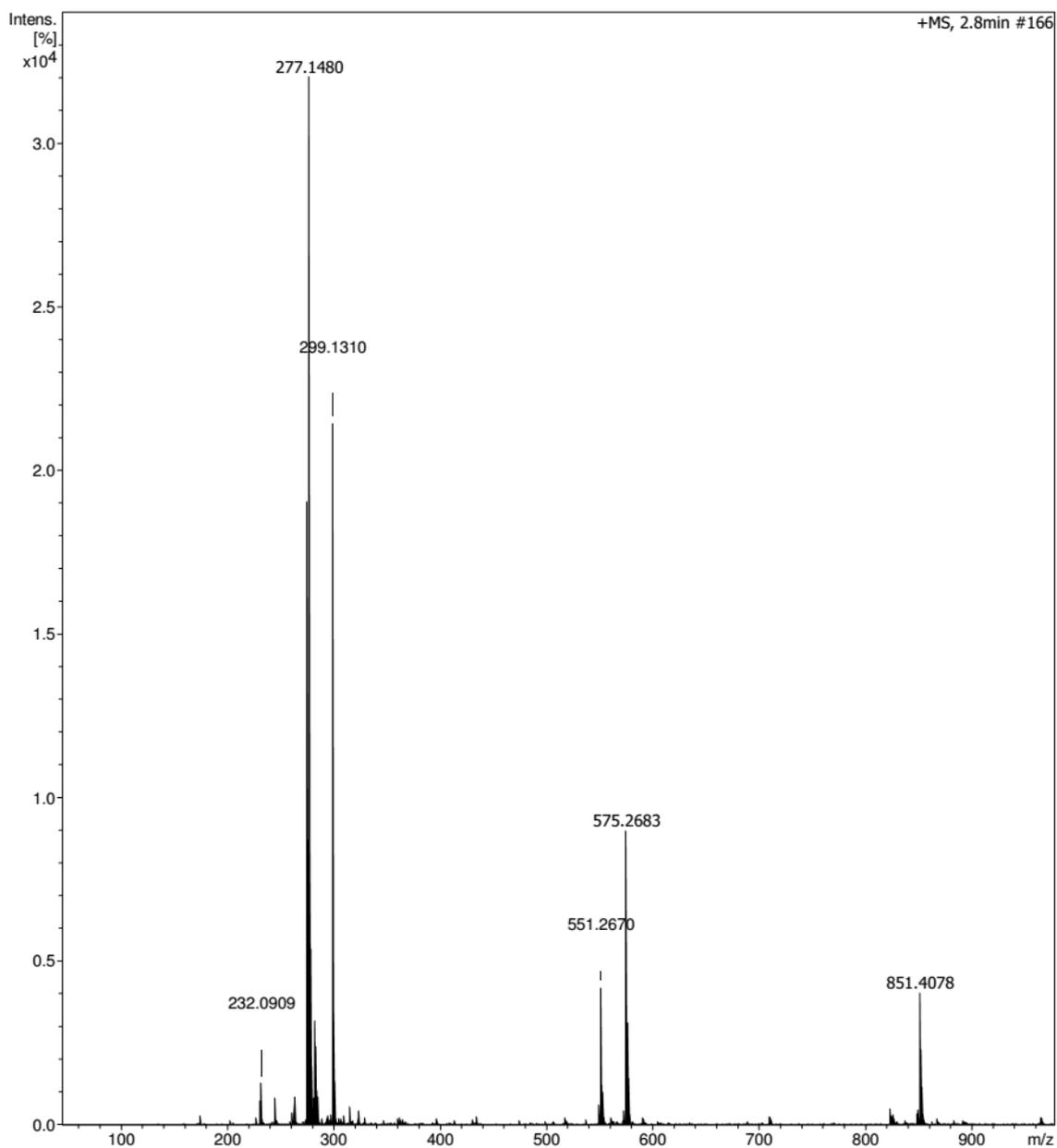
ANEXO C: Espectros de massas de alta resolução.



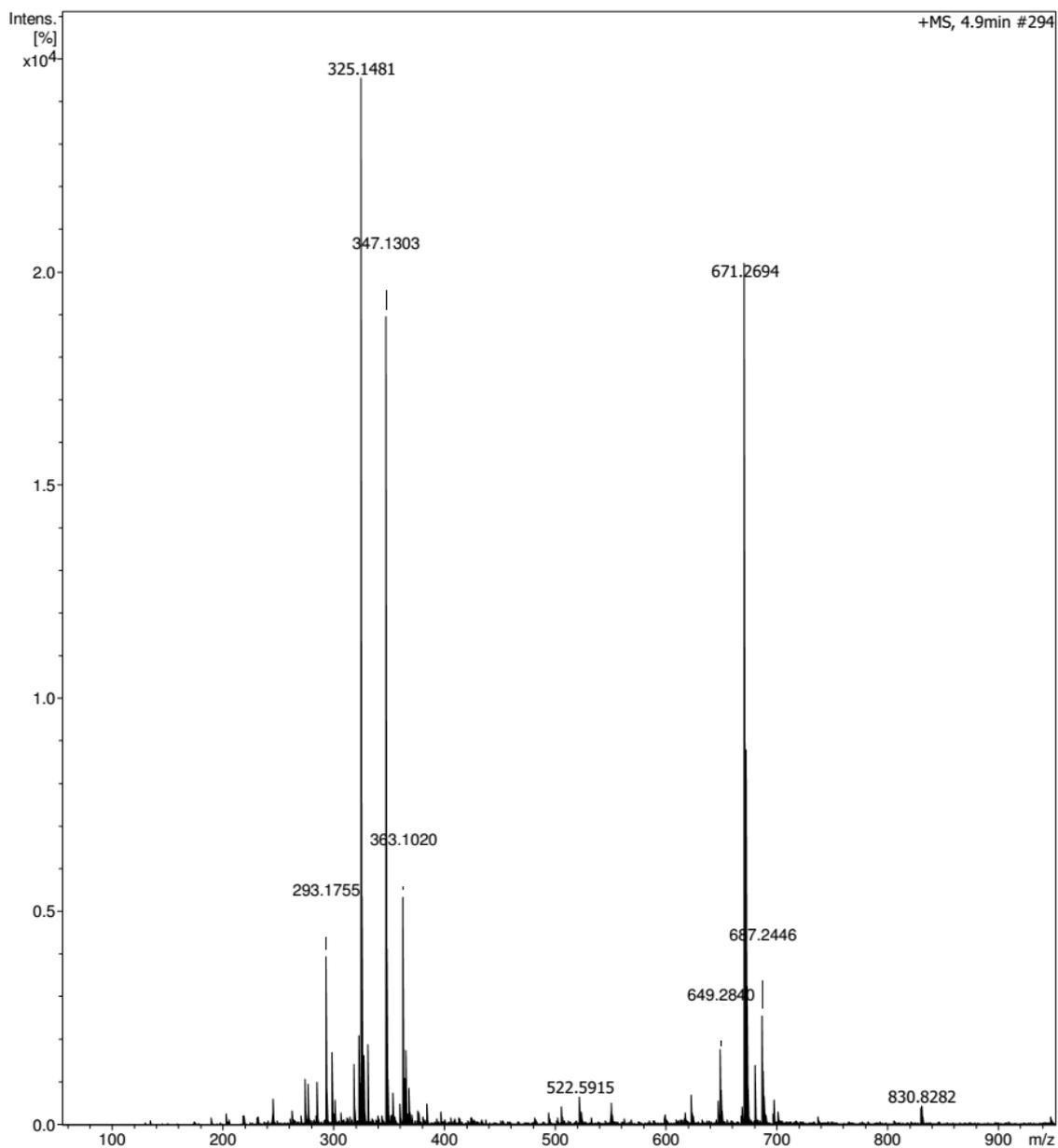
Espectro 1. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado [(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno }amino]tiouréia (**2a**) [M+Na]⁺.



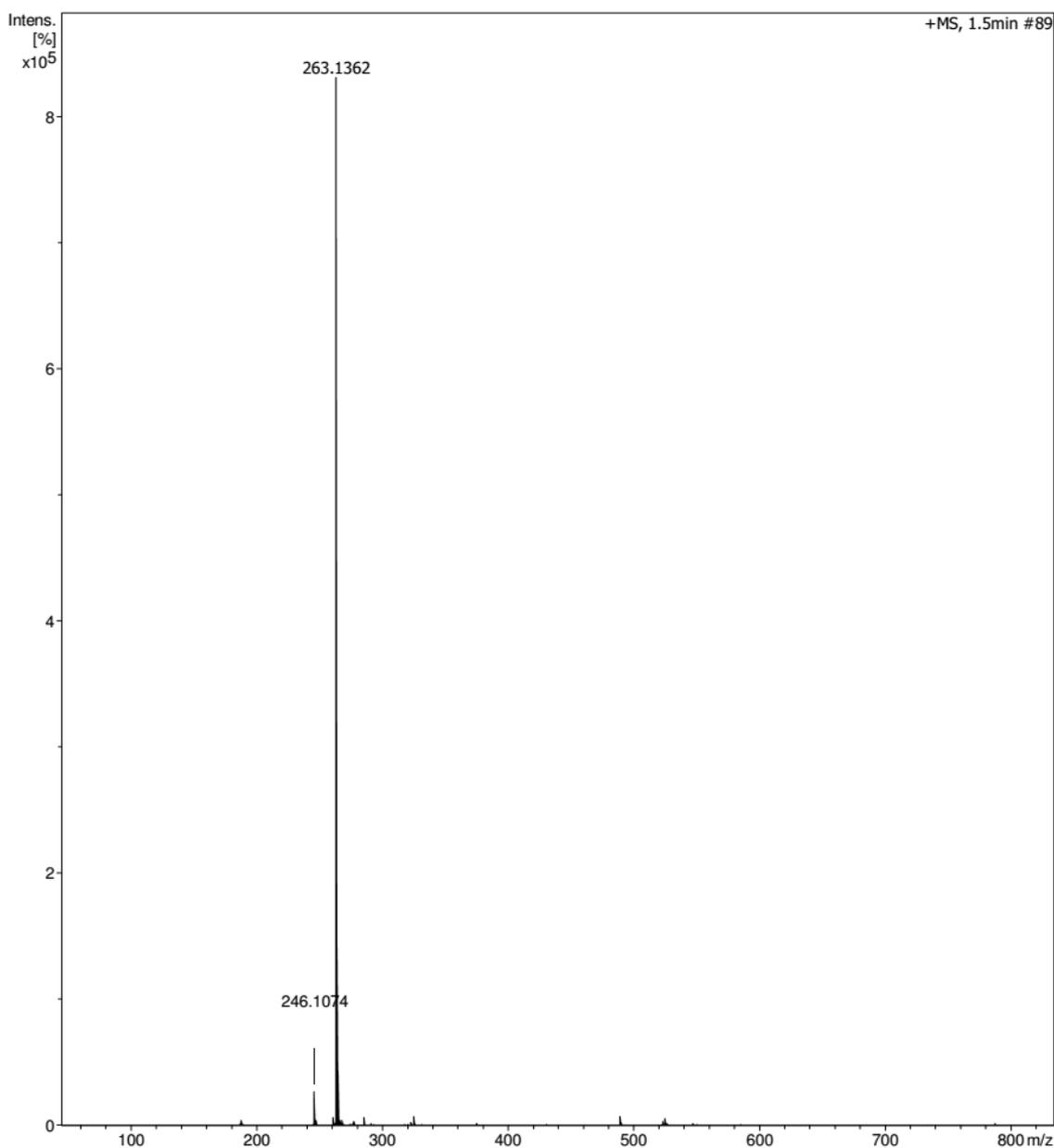
Espectro 2. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2b**) [M+Na]⁺.



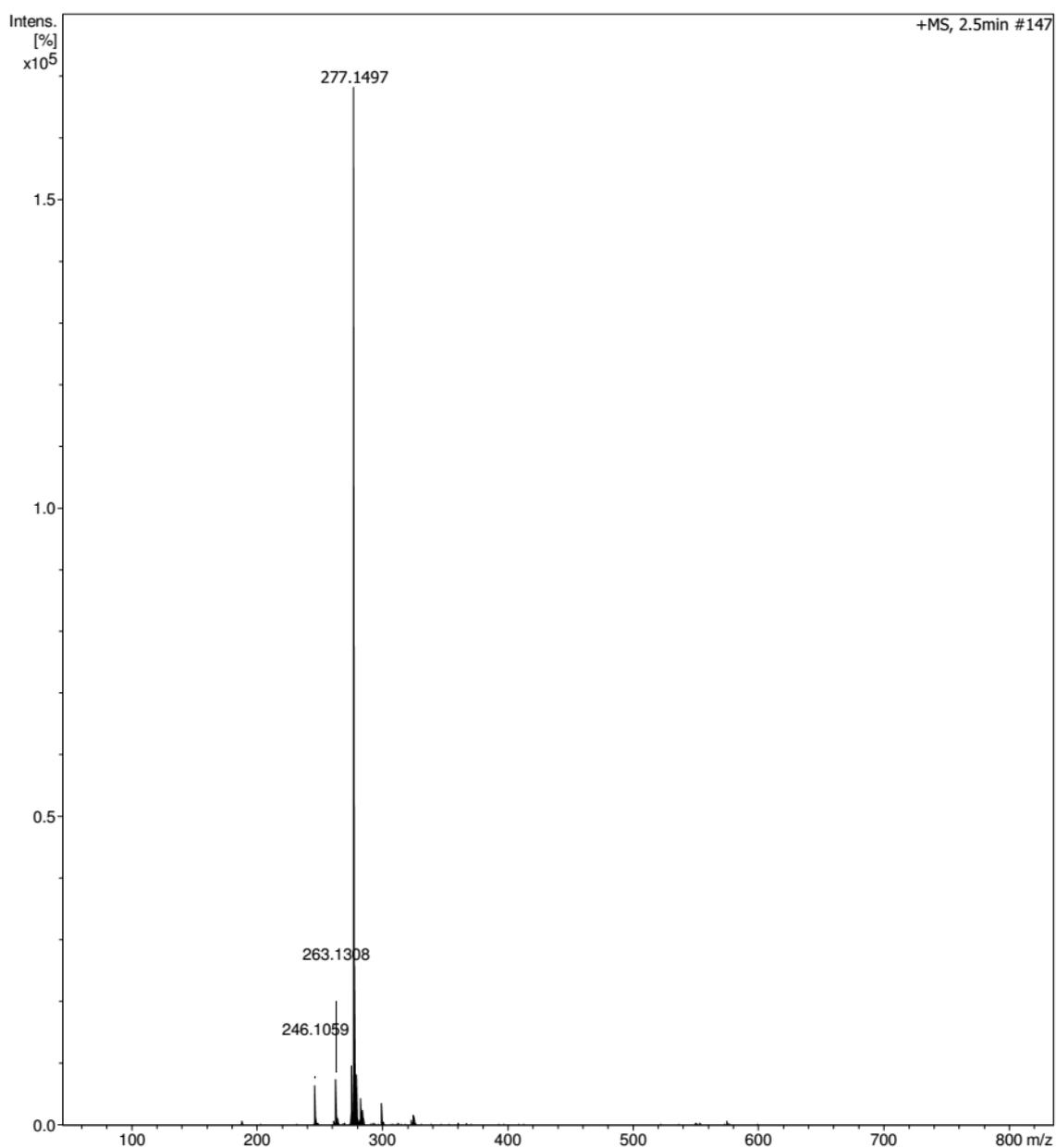
Espectro 3. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-etil-1-[(E)-{4-(pirrolidin-1-il)fenil}metilideno }amino]tiouréia (**2c**) [M+Na]⁺.



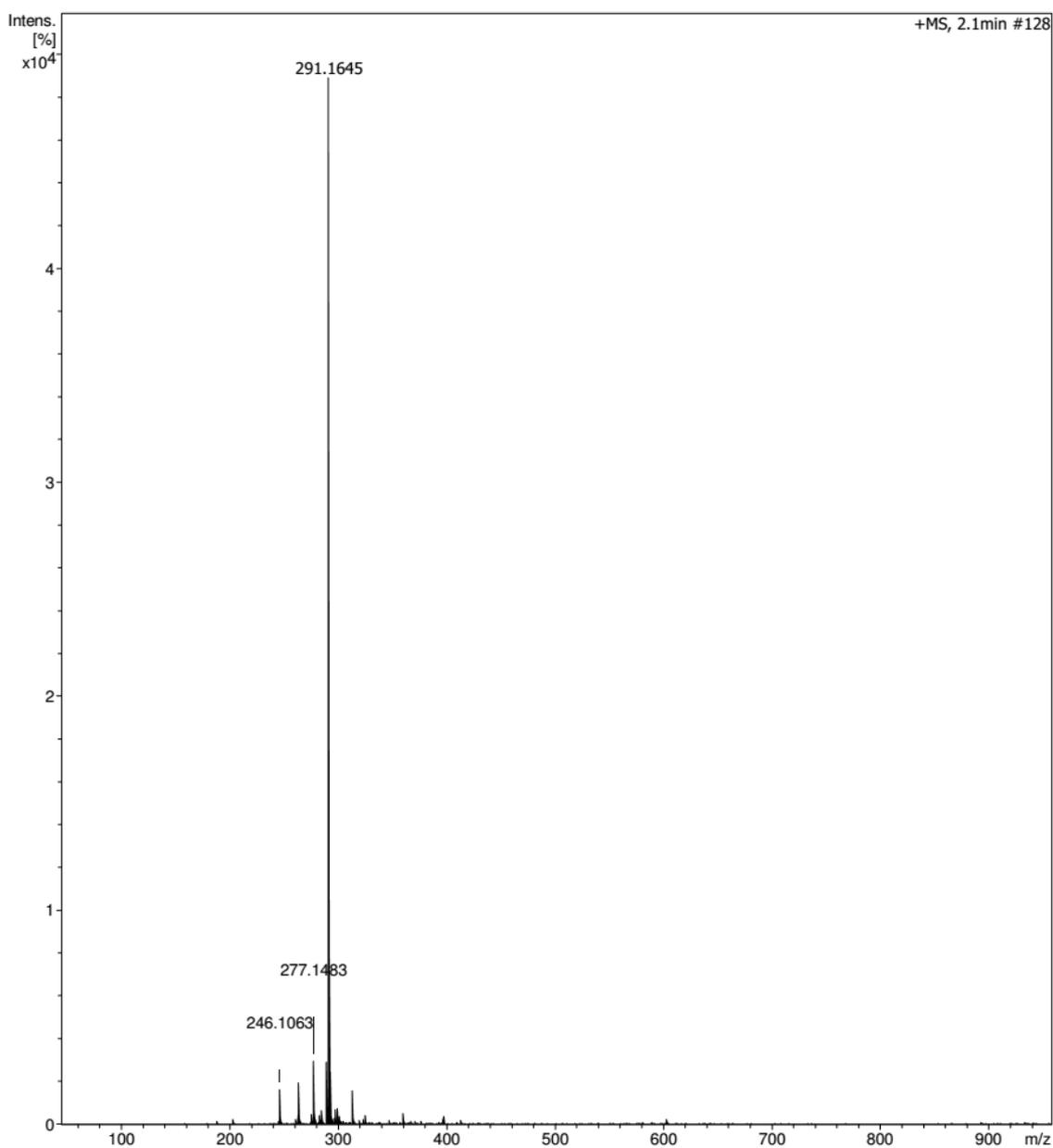
Espectro 4. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o 1-fenil-3-[(E)-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2d**) [M+Na]⁺.



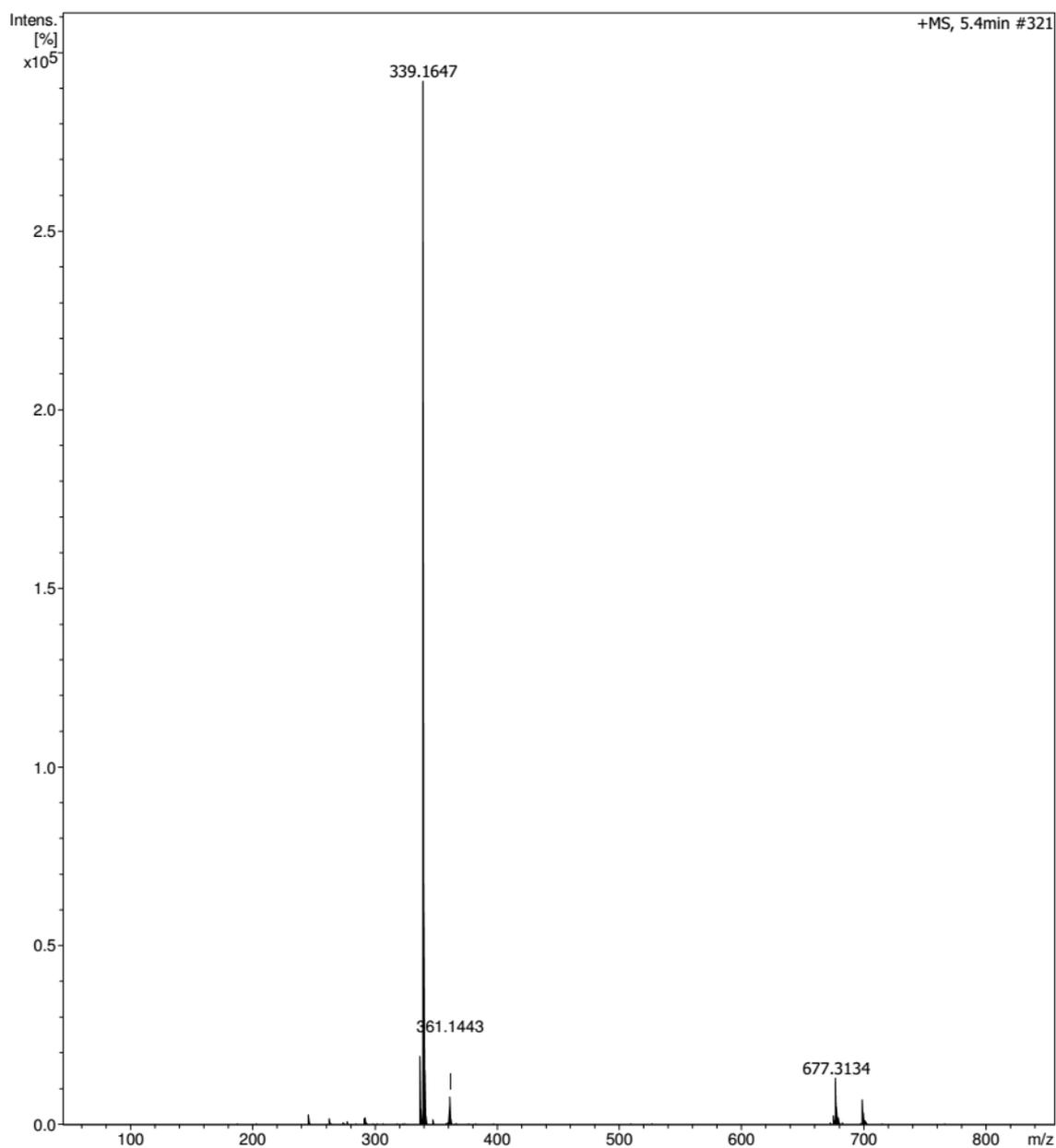
Espectro 5. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado [(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2e**) [M+H]⁺.



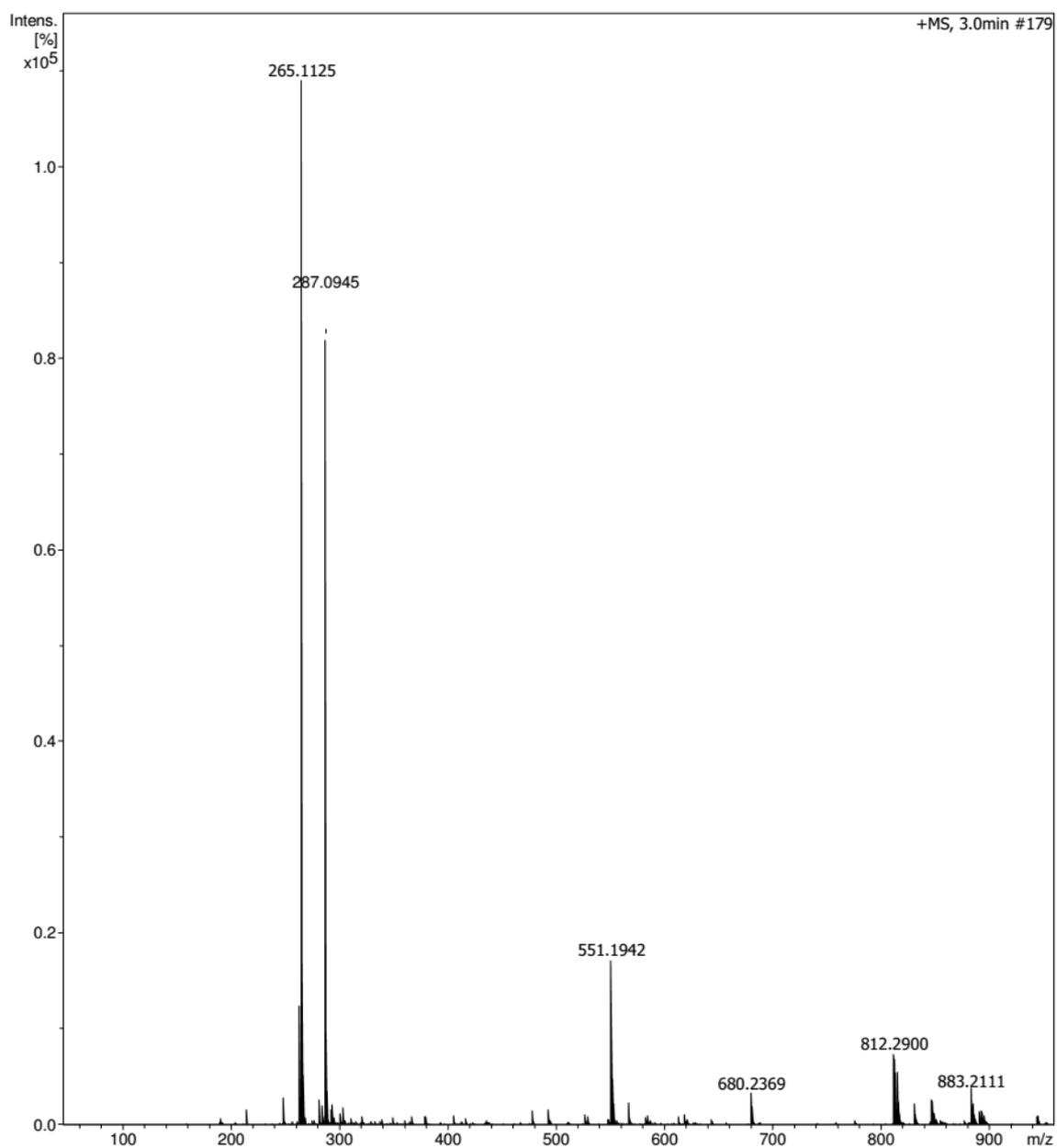
Espectro 6. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2f**) [M+H]⁺.



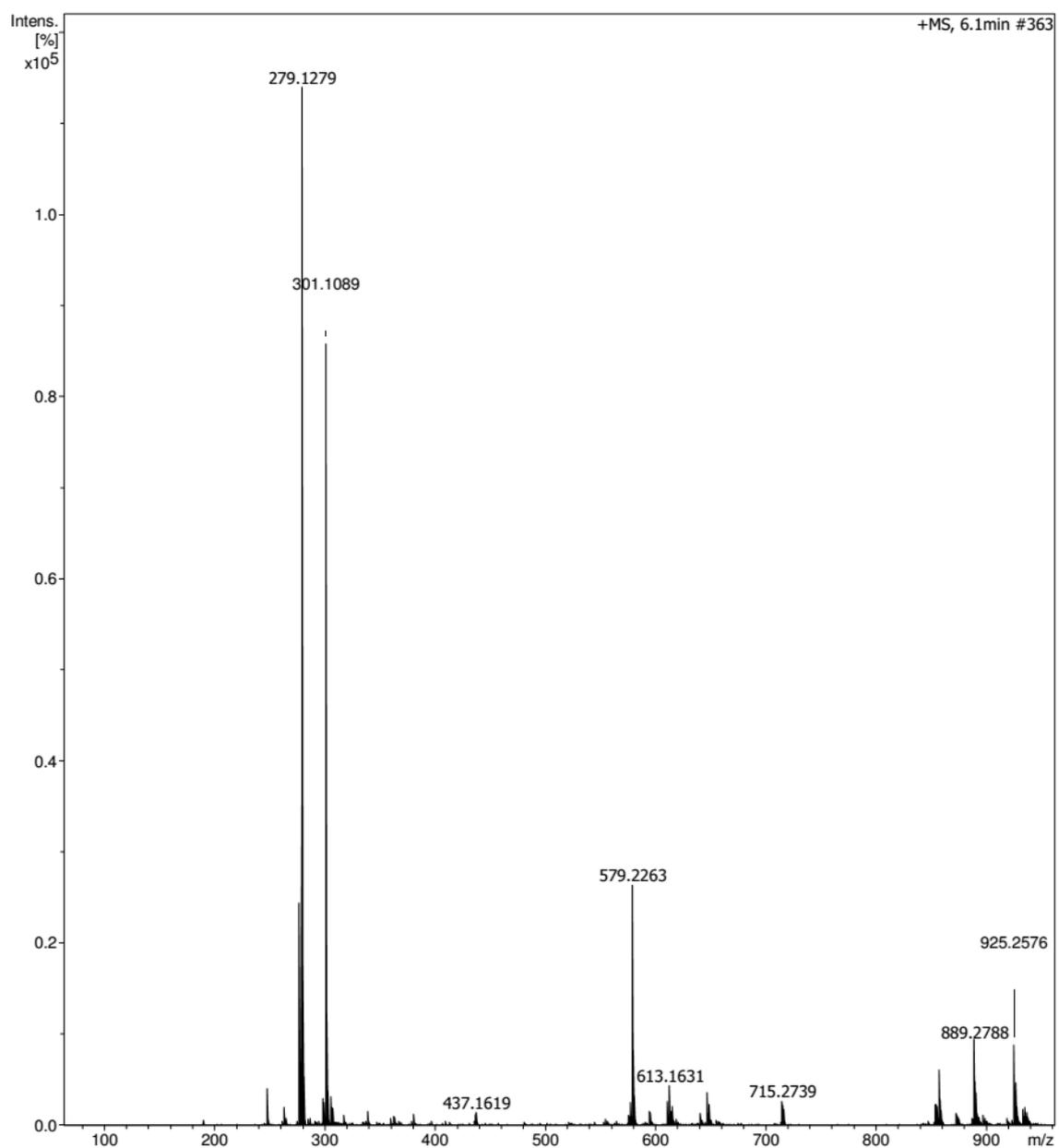
Espectro 7. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2g**) [M+H]⁺.



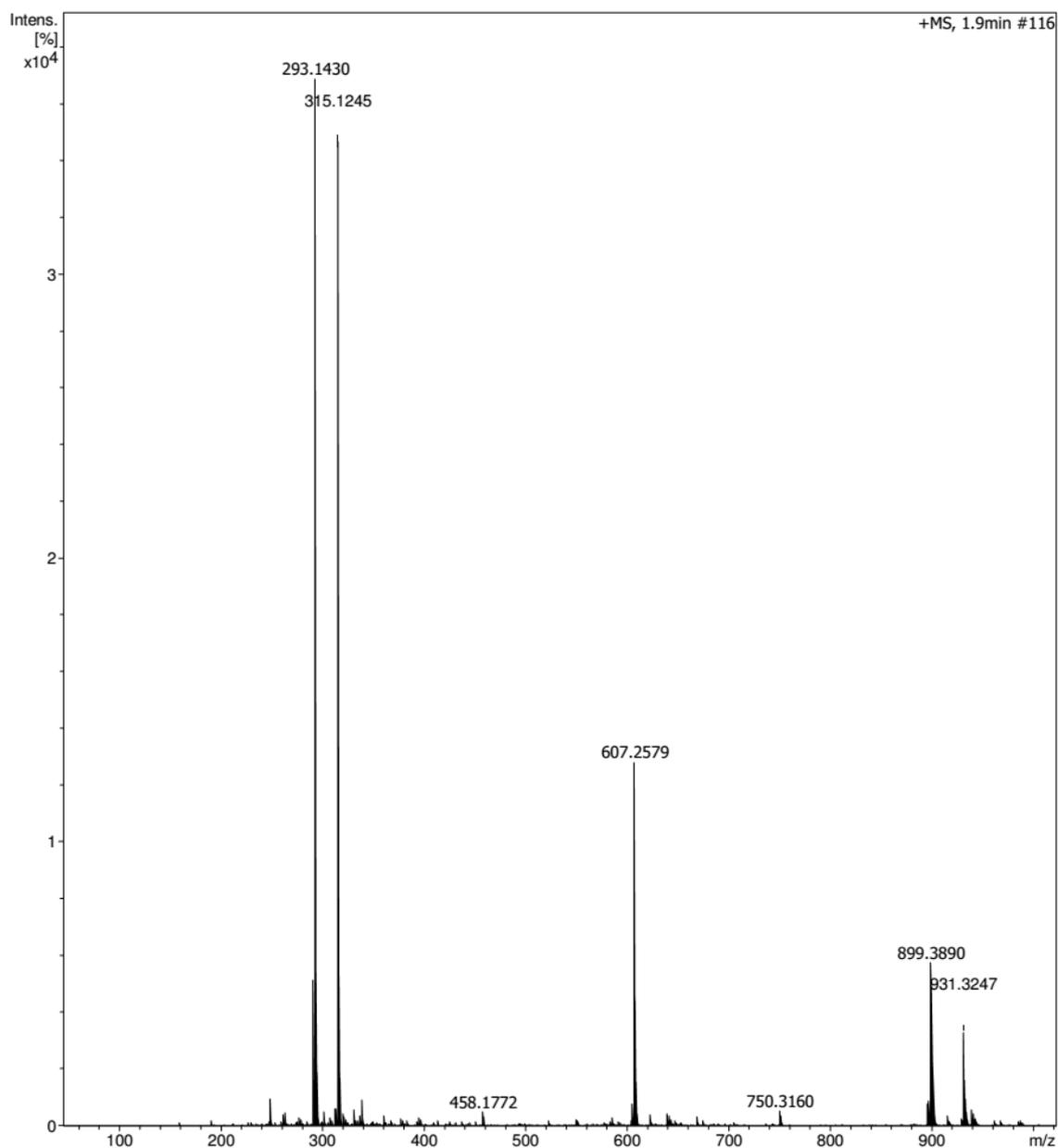
Espectro 8. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}amino]tiouréia (**2h**) [M+H]⁺.



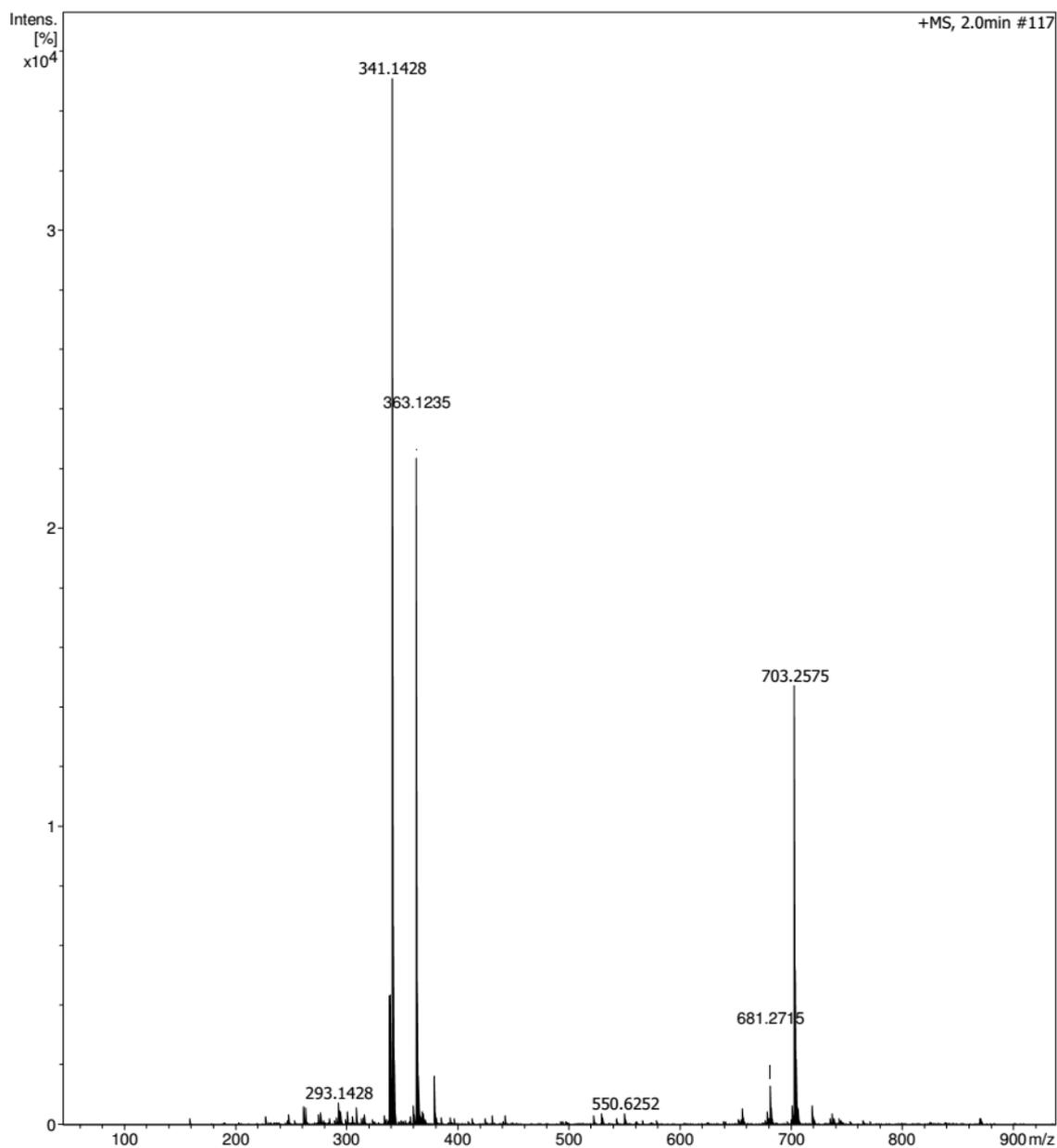
Espectro 9. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado [(E)-{4-(morfolin-1-il)fenil]metilideno } amino]tiouréia (**2i**) [M+Na]⁺.



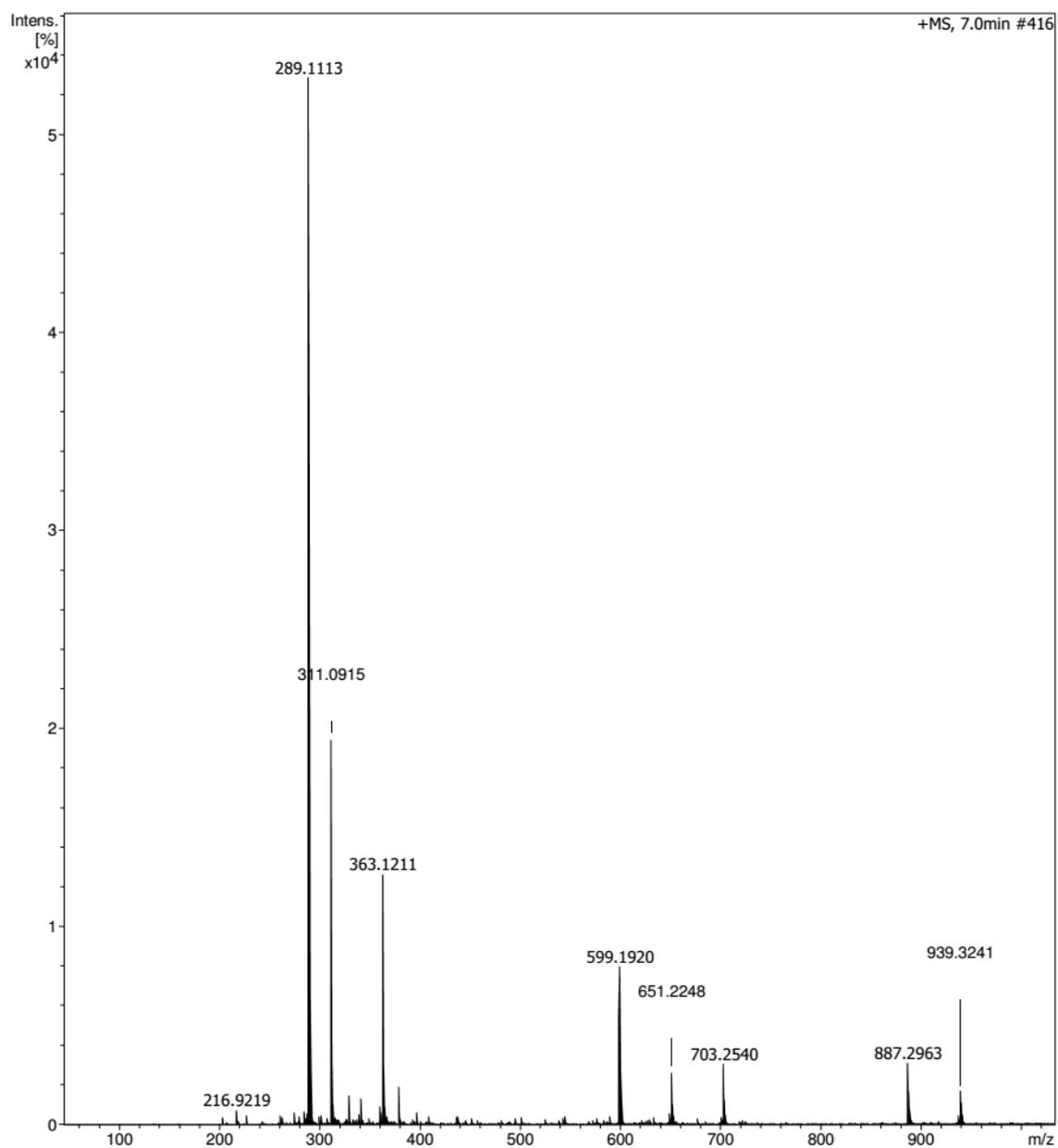
Espectro 10. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-metil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2j**) $[M+Na]^+$.



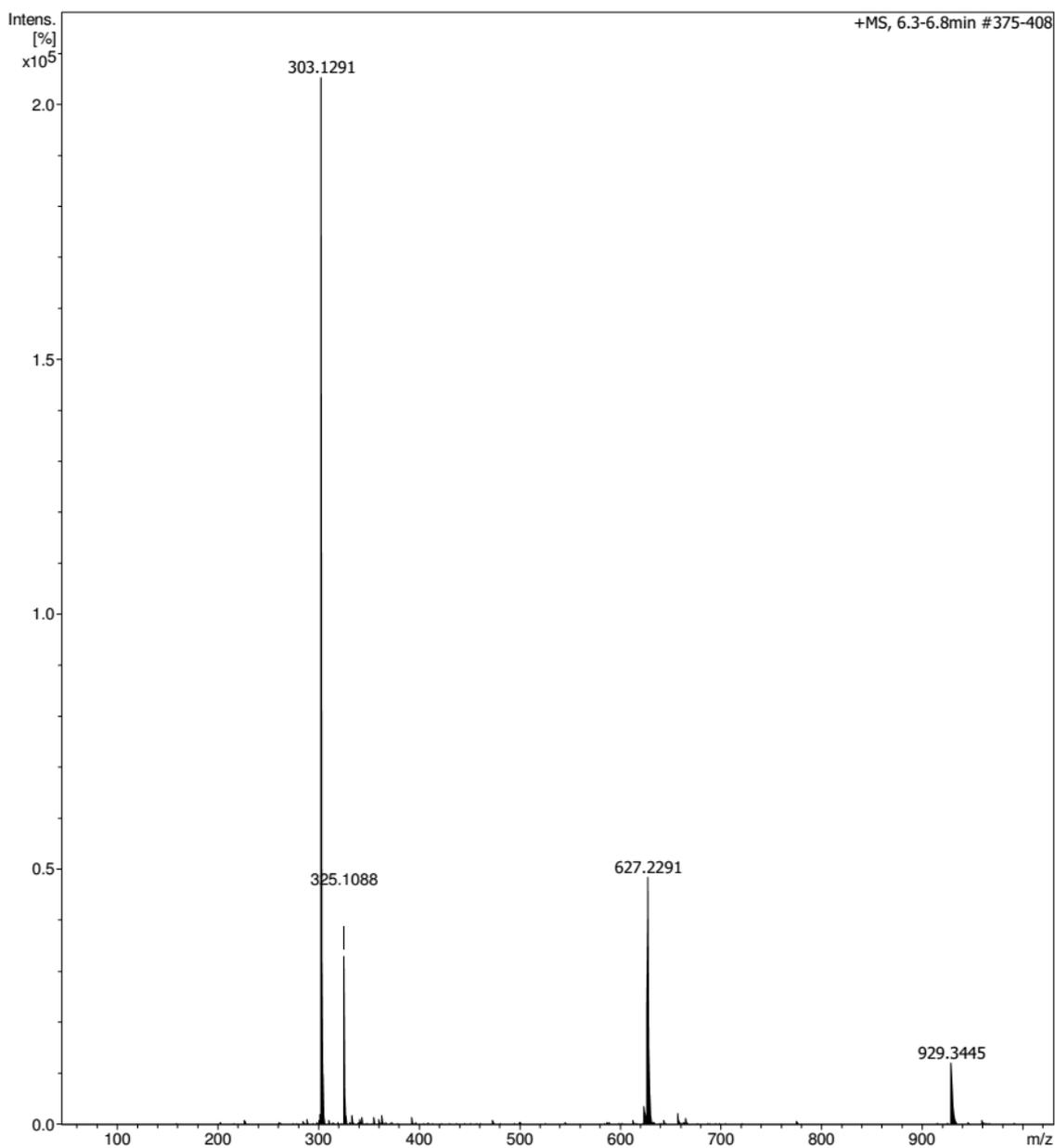
Espectro 11. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 3-etil-1-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2k**) [M+Na]⁺.



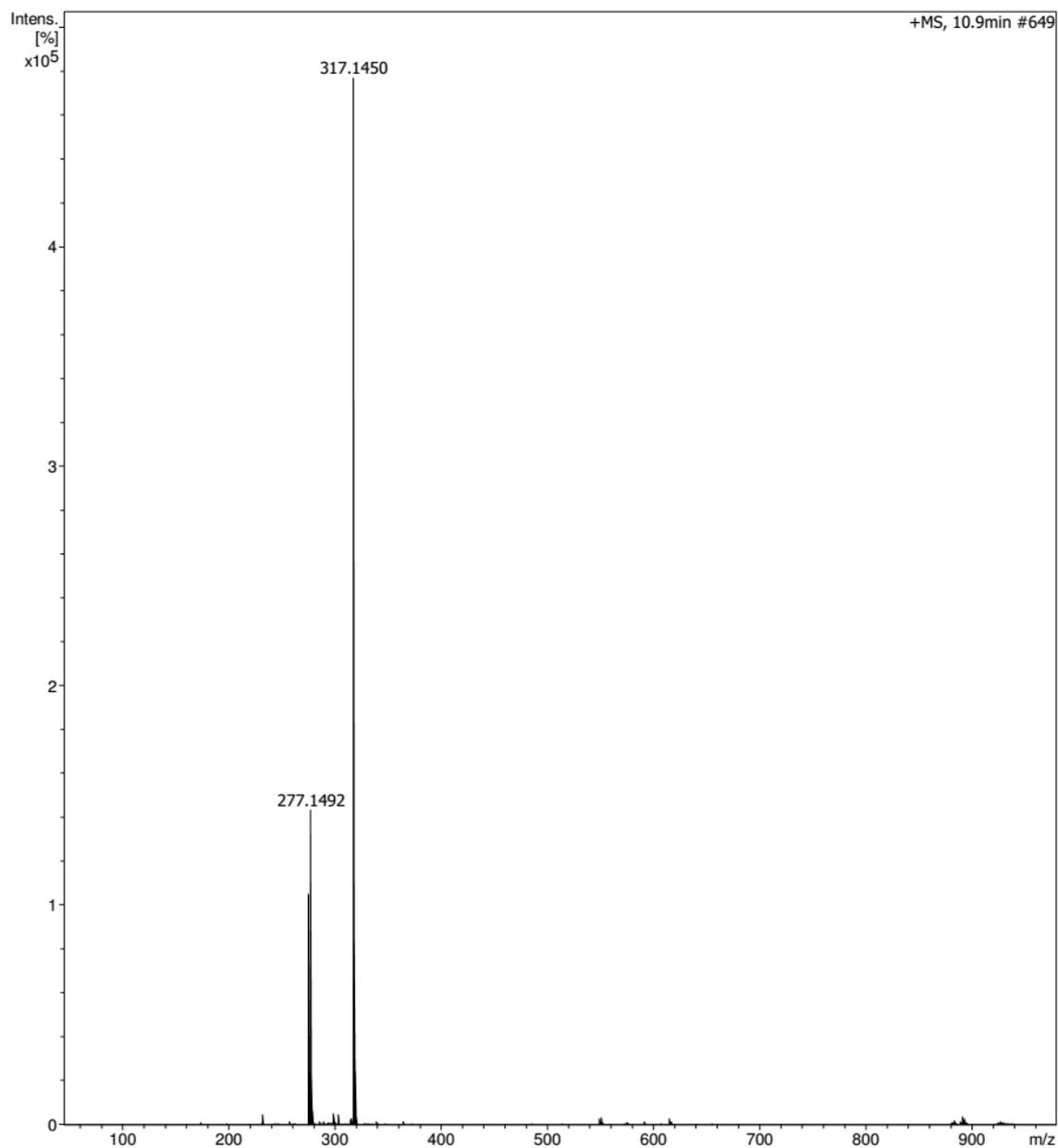
Espectro 12. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado 1-fenil-3-[(E)-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno} amino]tiouréia (**2I**) [M+Na]⁺.



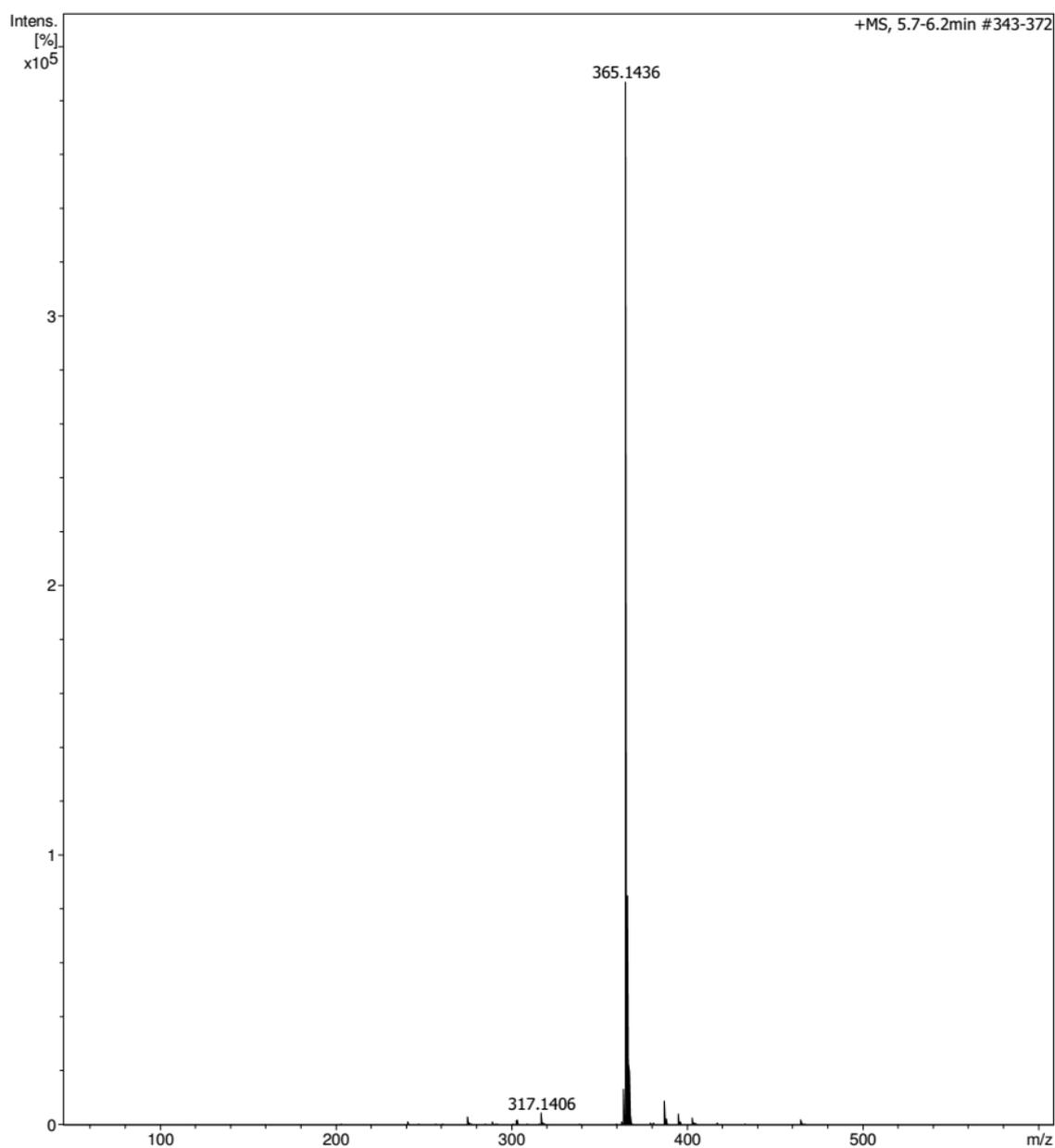
Espectro 13. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(pirrolidin-1-il) fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3a**) [M+Na]⁺.



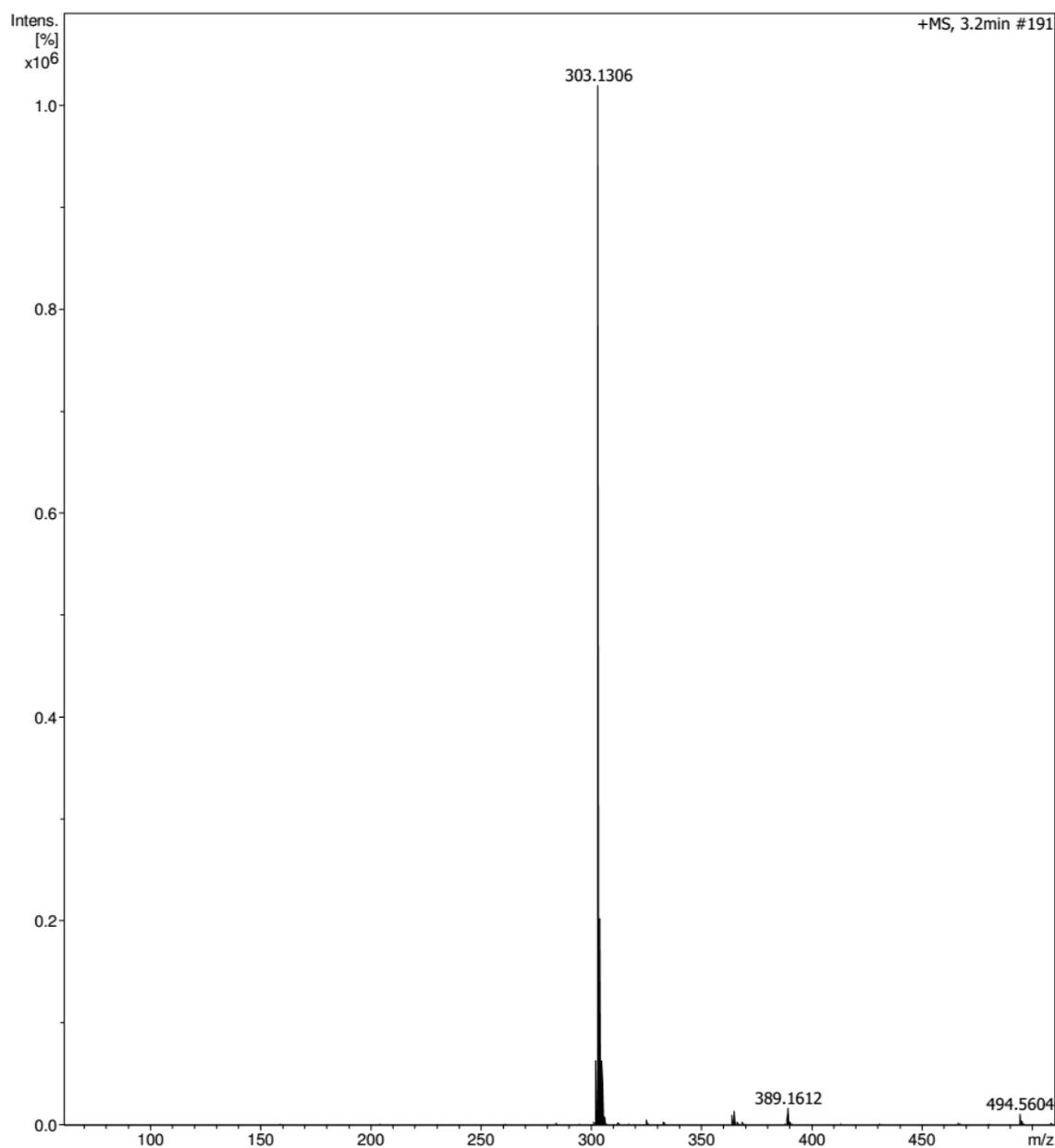
Espectro 14. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3b**) [M+Na]⁺.



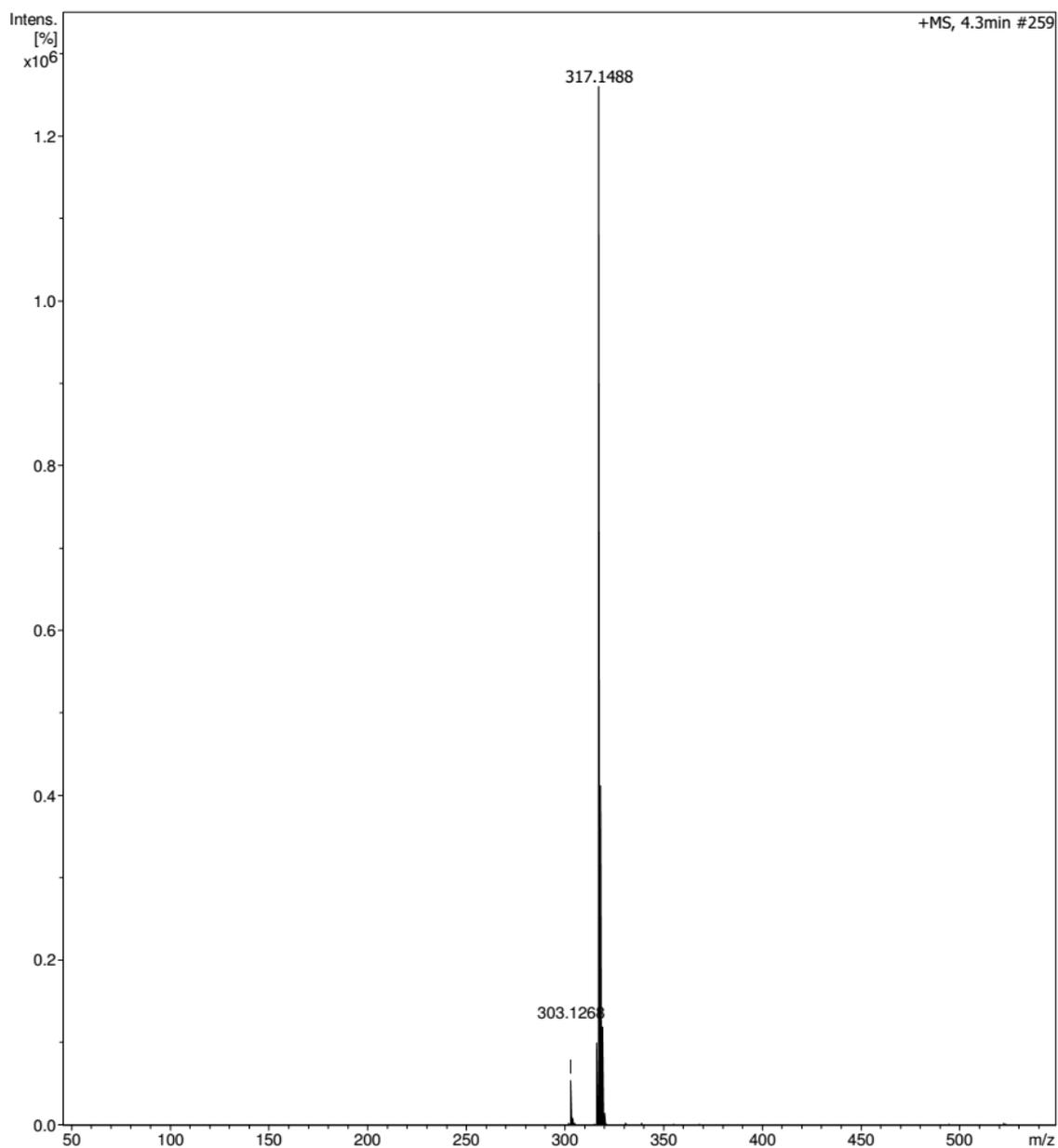
Espectro 15. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3c**) [M+H]⁺.



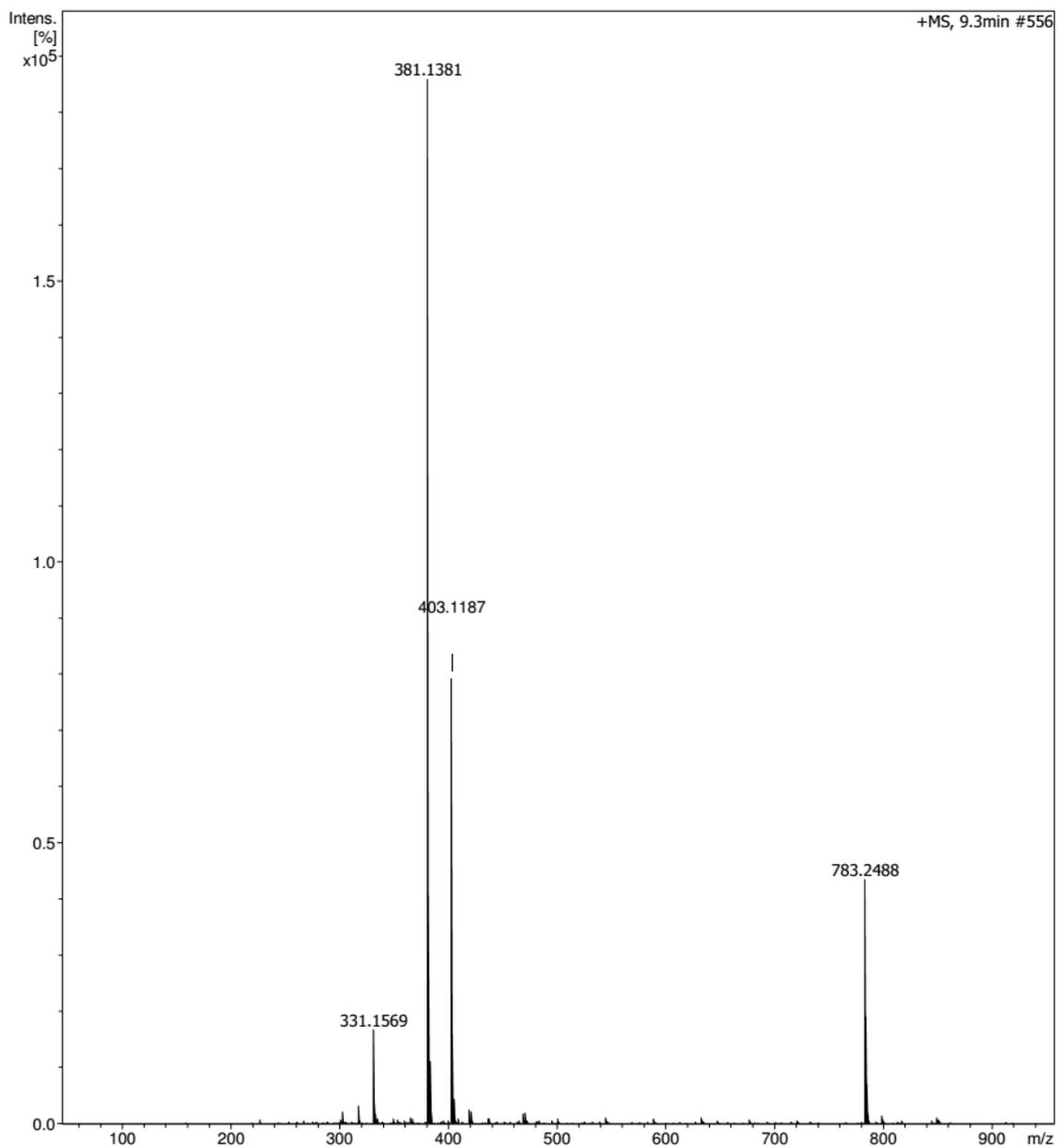
Espectro 16. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-fenil-2-[(E)-2-{[4-(pirrolidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3d**) [M+K]⁺.



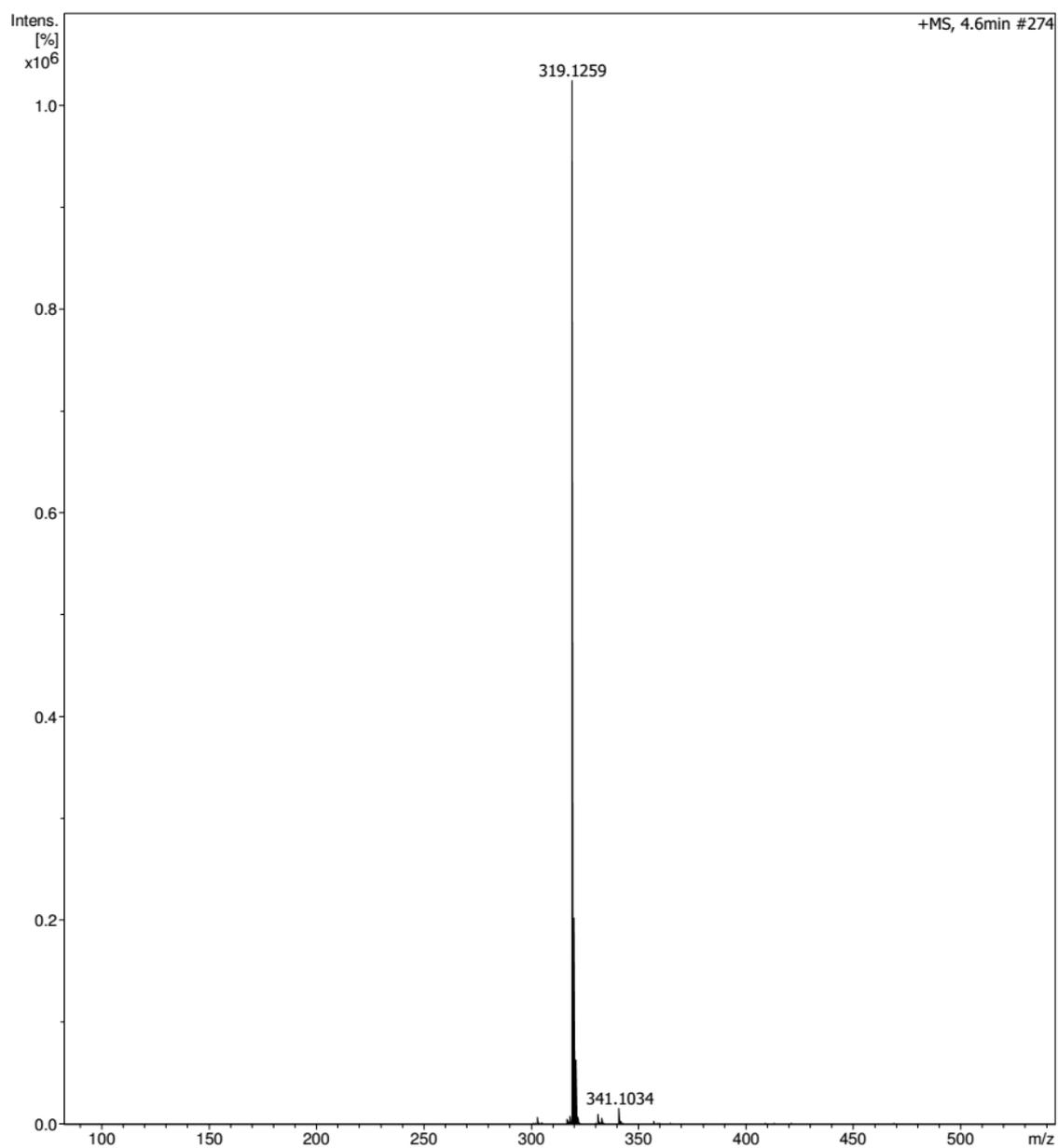
Espectro 17. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno]hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3e**) [M+H]⁺.



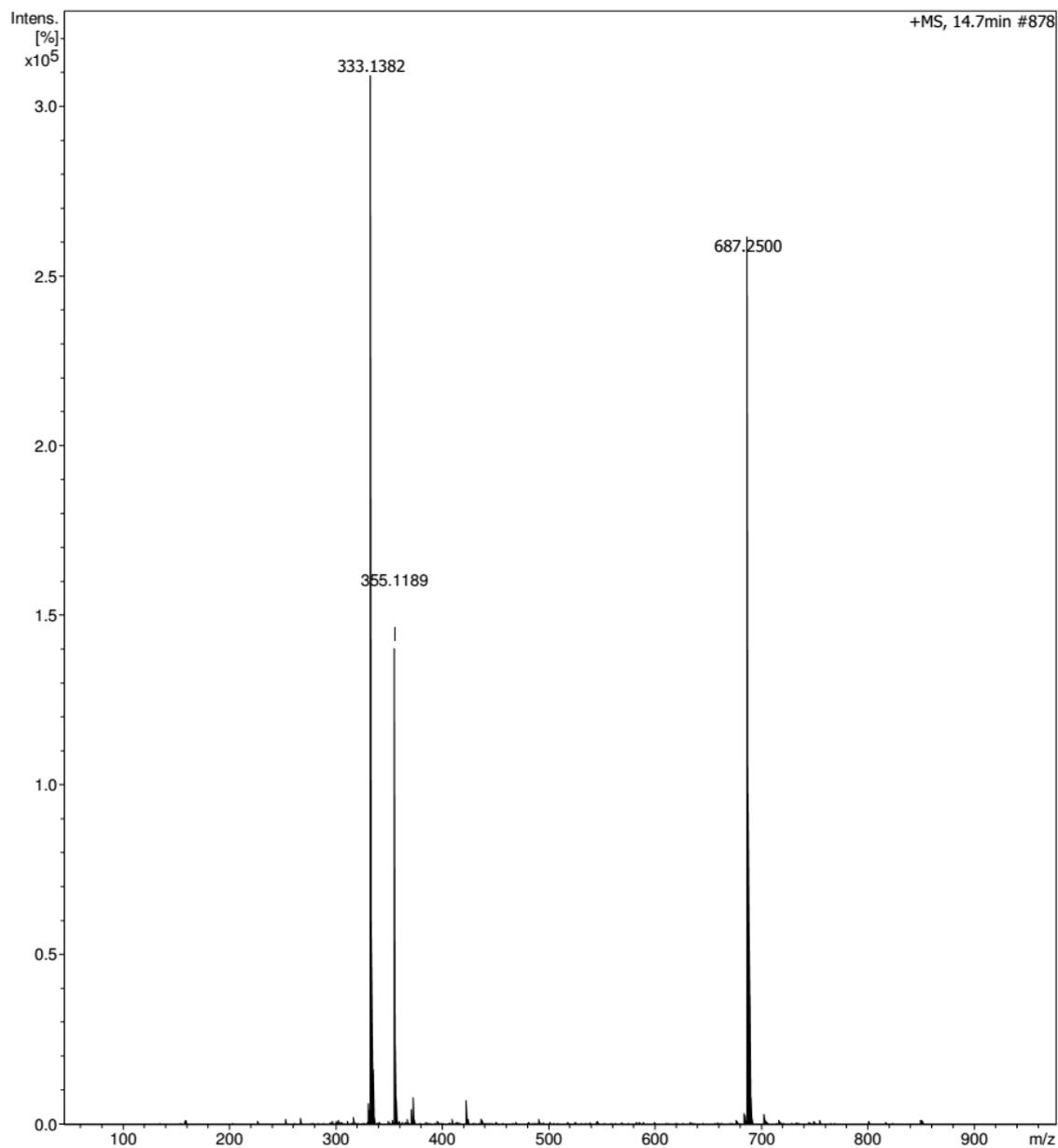
Espectro 18. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(piperidin-1-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3f**) [M+H]⁺.



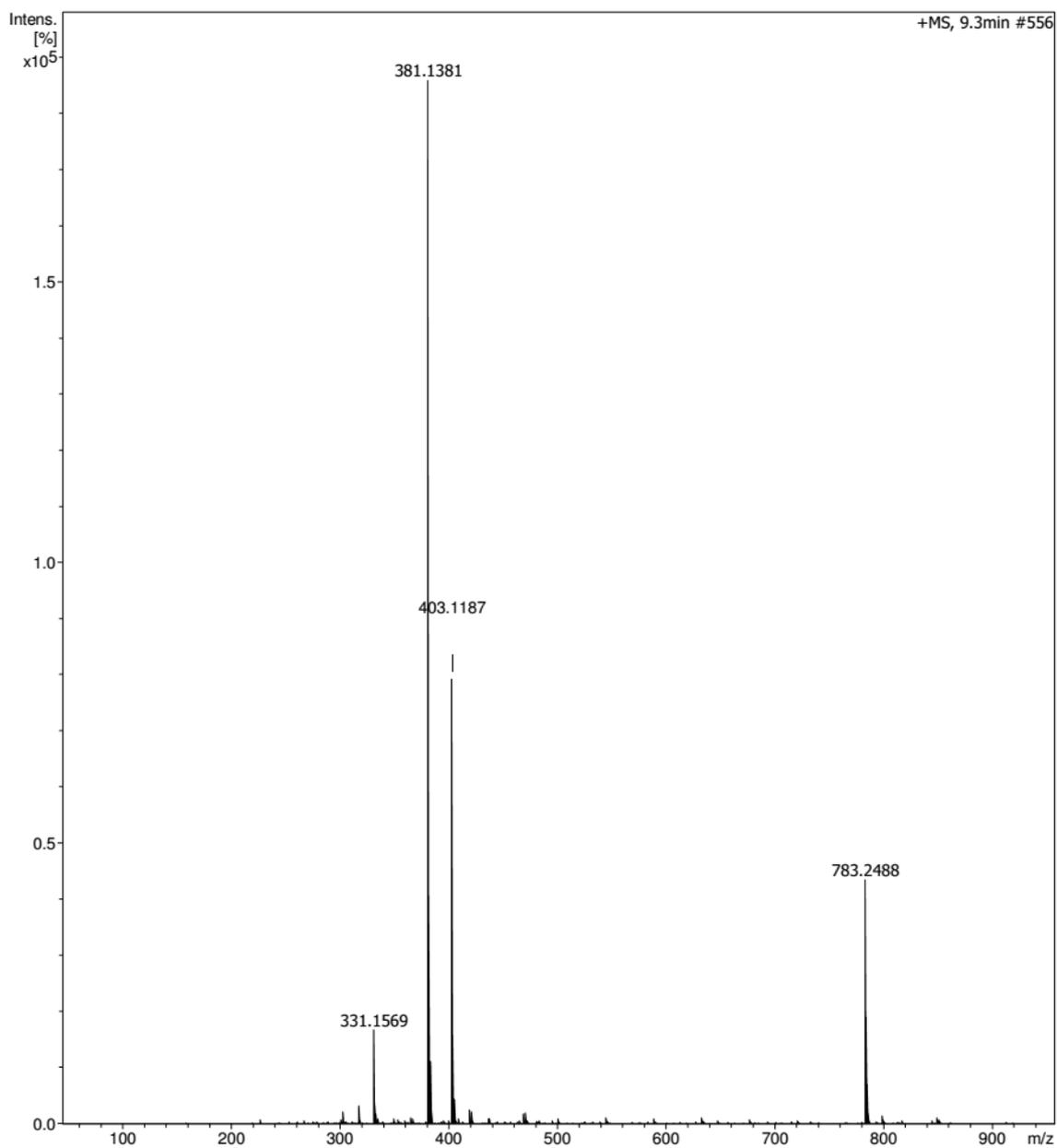
Espectro 19. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-{{4-(morfolin-4-il)fenil}metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3i**) [M+Na]⁺.



Espectro 20. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-metil-2-[(E)-2-{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3j**) [M+H]⁺.



Espectro 21. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-3-etil-2-[(E)-2-{{[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-1,3-tiazolidin-4-ona (**3k**) $[M+Na]^+$.



Espectro 22. Espectro de EMAR (ESI positivo) para o derivado (2Z)-2-[(E)-2-[[4-(morfolin-4-il)fenil]metilideno}hidrazin-1-ilideno]-3-fenil-1,3-tiazolidin-4-ona (**31**) [M+Na]⁺.